

Recent Science and Technology

ISSN 3057-0786 (Online)

Volume 17
Issue 1

(January – April 2025)



Rajamangala University of Technology Srivijaya



TABLE OF CONTENTS

Design of a Lidar-Based Safe Braking Distance Warning System for Small Electric Vehicle	260376
Soontorn Odngam and Chaikut Sumpavakup	
Phytochemical Screening and Study of Cholesterol Esterase Inhibitory Activity of Extracts from Stem of <i>Dipterocarpus intricatus</i> Dyer	260764
Orapun Jaisamut, Sunan Jaisamut, Pornnapat Yanpanya, Kronkanok Harinsalai, Supunsa Phuthepkham and Apirak Sakunpak	
A New Yeast Strain, <i>Nakaseomyces glabratus</i> DL5, Isolated from a Mangrove Forest in Chonburi Province and Its Potential for Lipid Production	258832
Nisarut Sitthisom, Voranittha Vorawech and Patcharanan Amornrattanapan	
Rice (<i>Oryza sativa</i> L.) Seed Quality after Storage in the Humid Tropics and after Accelerated Aging	259351
Pongsit Chor-Unchun and Vichai Wongvarodom	
Study on Physical and Chemical Quality of Fourfinger Threadfin (<i>Eleutheronema tetradactylum</i>) from Bang Tawa Sub-district, Nong Chik District, Pattani Province	259943
Phattharawadee Aedtem and Kamontip Kanpairo	
Determination of Benzoic Acid and Sorbic Acid in Salad Cream and Mayonnaise Samples Using Optimized Microextraction Followed by High Performance Liquid Chromatography	259873
Pimpimol Phukpattaranont, Niwan Tanmanee and Chanpa Tanthana	
Utilization of Avocado as a Fat Replacer in Healthy Chocolate Custard Filling	258849
Achara Dholvitayakhun, Sirivimol Sungkum, Supattra Janya and Mutita Lawan	

Genetic Variation of Long-Whiskered Catfish (<i>Mystus gulio</i>) Population Using Microsatellite DNA for Hatchery Broodstock Management	257917
Chaowalee Jaisuk, Patchara Nithirojpakdee, Anocha Kiriyaakit, Kitipong Suwannaket, Piyachat Srisakda and Khanoksinee Sirirak	
Techno-economic Analysis of Heat Pump Assisted Solar Dryer for Krajoed	263311
Jaruwat Jareanjit, Worapong Boonchouytan and Thanwit Naemsai	
Cricket Frass Decomposition of Ammonia and Carbon Dioxide Emission	260490
Sarawut Saenkham, Nuntawat Butwong and Sopa Cansee	
Biogas Production Potential from Anaerobic Digestion of Food Waste and Pre-Treated Water Hyacinth by Hot Air Oven and Hot Water Bath	251879
Nanthanat Sriprasert and Pakpong Sriprasert	
Development of an E-commerce Application System for Durian Entrepreneurs in Narathiwat Province, Thailand	263648
Surachet Sangkhapan, Katekaew Pradit, Pakarat Thongjan, Prarak Amornsak and Jaeniyas Totayong	
The Statistical Forecasting of COVID-19 Infected People in Thailand	261074
Jutharath Voraprateep	
Effect of Chicken Meat Protein on Gel Properties of Different Surimi Quality	260393
Daungdoen Kulwilai	
Development of an Electric Tugger for Patient Bed Transportation	263690
Chanisa Nimitpanyakul, Sarawut Gonsrang and Nitipat Laomongkhochaisri	
Development of Mobile Application for Disseminating Baan Chin Community's Local Food and Desserts	260075
Aroonrak Tunpanit, Patcharin Bunnun, Suppachai Maduea and Orasa Mangsakul	
The Effects of Dry Yeast Supplementation on Rumen Ciliated Protozoa Population and Volatile Fatty Acid Production in Lactating Beef Cows	261372
Wiruntita Bohman, Titipong Nokkeaw, Supinya Chujai, Jirawan Kotcharat, Ratthasat Daorueng, Rutdanai Sriboonnak, Teerapong Muadsri and Kittaya Nusai	

- The Effect of Vulcanization Temperature on the Properties of Natural Rubber Latex to Prepare the Suturing Training Pad** 264500
Korn Taksapattanakul, Suchada Saengwiman, Arom Puteh, Niasmihan Niseng and Suchada Srichai
- Mechanical, Thermal and Barrier Properties of Poly(butylene adipate-co-terephthalate) Biocomposite Films Incorporated with Nano-Calcium Carbonate and Glycerol** 262509
Kannika Yimnak and Atchareeya Nopwinyuwong
- Development of Shredded Catfish as a Health Food Product for the Elderly** 263980
Rattanakorn Saenthumpol, Nuttarin Sirirustananun and Thammasart Chantarat



Research Article

การออกแบบระบบแจ้งเตือนระยะเบรกที่ปลอดภัยด้วยไลดาร์
สำหรับยานยนต์ไฟฟ้าขนาดเล็ก

Design of a Lidar-Based Safe Braking Distance Warning System
for Small Electric Vehicles

สุนทร โธษฐงาม และ ชัยยุทธ์ สัมภาวะคุปต์ *

Soontorn Odngam and Chaiyut Sumpavakup *

ศูนย์วิจัยเทคโนโลยีการเผาไหม้และพลังงานทางเลือก ภาควิชาเทคโนโลยีวิศวกรรมเครื่องต้นกำลัง วิทยาลัยเทคโนโลยีอุตสาหกรรม
มหาวิทยาลัยเทคโนโลยีพระจอมเกล้าพระนครเหนือ เขตบางซื่อ กรุงเทพมหานคร 10800

Research Centre for Combustion Technology and Alternative Energy, Department of Power Engineering Technology, College of Industrial
Technology, King Mongkut's University of Technology North Bangkok, Bangsue, Bangkok 10800, Thailand.

ABSTRACT

Article history:

Received: 2023-09-12

Revised: 2023-12-11

Accepted: 2023-12-27

Keywords:

brake distance;

LiDAR technology;

warning system

This paper presents a braking distance warning system design using LiDAR technology to measure distances when approaching an object. The objective was to study and develop a system for vehicles that provides warnings before a potential collision occurs. The proposed system was designed for installation in small vehicles that lack basic driving assistance systems to detect objects in front of the vehicle. The current research divides the braking distance for testing into four zones: Zone 1 - Safe distance (greater than 700 cm from an object), Zone 2 - Caution distance (250 - 700 cm), Zone 3 - Brake distance (25 - 250 cm) and Zone 4 - Stop distance (less than 25 cm). In order to conduct this study, a prototype vehicle was moving toward an object at a constant speed of 15 km/hr. It was found that when the prototype was positioned 767.67 cm in front of the object, the warning system would display a green light to indicate a safe distance. When the prototype approached the object at a distance of 593 cm, it would indicate a yellow light for a caution distance. Once the vehicle reached the object at a distance of 237.67 cm, a red status indicator for braking distance was shown. Finally, when approaching the object at a distance of 23 cm, the system would initiate a speed reduction with a deceleration of 0.524 m/s². This investigation showed that the proposed system was able to operate according to the specified conditions with a braking error of 5.77% from the designated distances. The system developed in this work can be applied to larger-sized vehicles to assist in braking or automatically reduce speed, thereby minimizing the occurrence of accidents.

* Corresponding author.

E-mail address: chaiyut.s@cit.kmutnb.ac.th

Cite this article as:

Odngam, S. and Sumpavakup, C. 2025. Design of a Lidar-Based Safe Braking Distance Warning System for Small Electric Vehicles. **Recent Science and Technology** 17(1): 260367.

บทคัดย่อ

บทความนี้นำเสนอการออกแบบระบบแจ้งเตือนระยะเบรกของยานยนต์โดยใช้เทคโนโลยีไลดาร์ในการวัดระยะขณะเคลื่อนที่เข้าใกล้วัตถุ โดยมีวัตถุประสงค์เพื่อศึกษาและพัฒนาาระบบแจ้งเตือนระยะเบรกสำหรับยานยนต์ในการแจ้งเตือนก่อนเกิดการชนที่อาจเกิดขึ้น ซึ่งระบบที่นำเสนอถูกออกแบบไว้สำหรับติดตั้งในยานยนต์ขนาดเล็กที่ไม่มีระบบช่วยเหลือการขับขี่พื้นฐานในการตรวจสอบวัตถุด้านหน้าตัวรถ งานวิจัยนี้ได้แบ่งระยะเบรกออกเป็น 4 โซนสำหรับการทดสอบ ได้แก่ โซนที่ 1 ระยะปลอดภัย (มากกว่า 700 เซนติเมตร) โซนที่ 2 ระยะระวัง (250 – 700 เซนติเมตร) โซนที่ 3 ระยะเบรก (25 – 250 เซนติเมตร) และระยะหยุด (น้อยกว่า 25 เซนติเมตร) และเมื่อทำการทดสอบด้วยยานยนต์ต้นแบบที่ความเร็วคงที่ที่ 15 กิโลเมตรต่อชั่วโมง จะได้ว่าเมื่อยานยนต์อยู่ห่างจากวัตถุด้านหน้าที่ระยะ 767.67 เซนติเมตร ให้แสดงสถานะไฟสีเขียว (ระยะปลอดภัย) เมื่อยานยนต์เคลื่อนที่เข้าหาวัตถุที่ระยะ 593 เซนติเมตร ให้แสดงสถานะไฟสีเหลือง (ระยะระวัง) เมื่อยานยนต์เคลื่อนที่เข้าหาวัตถุระยะ 237.67 เซนติเมตร ให้แสดงสถานะไฟสีแดง (ระยะเบรก) และเมื่อยานยนต์เคลื่อนที่เข้าหาวัตถุที่ระยะ 23 เซนติเมตร ให้ชะลอความเร็วด้วยความหน่วง 0.524 เมตรต่อวินาที² จากผลการทดสอบพบว่าระบบสามารถทำงานได้ตามเงื่อนไข โดยมีความคลาดเคลื่อนในการเบรกอยู่ที่ 5.77 % จากระยะที่กำหนด ระบบดังกล่าวสามารถนำไปประยุกต์ใช้งานกับยานยนต์ที่มีขนาดใหญ่ในการช่วยเบรกหรือลดความเร็วแบบอัตโนมัติเพื่อลดการเกิดอุบัติเหตุได้

คำสำคัญ: ระยะทางเบรก, เทคโนโลยีไลดาร์, ระบบแจ้งเตือน

1. บทนำ

ในประเทศไทยยานพาหนะเป็นสิ่งหนึ่งที่มีความสำคัญต่อชีวิตประจำวันเป็นอย่างมากในการอำนวยความสะดวกสำหรับการเดินทางไปยังสถานที่ต่าง ๆ โดยในปี 2565 จำนวนยานยนต์ที่จดทะเบียนมีจำนวนสูงถึง 41,955,920 คัน (Transport Statistics Group, Planning Division, Department of Land Transport, 2022) โดยชนิดของยานยนต์ที่มีการจดทะเบียนมากที่สุด คือ รถยนต์นั่งส่วนบุคคล 7 ที่นั่ง มีจำนวน 11,314,722 คัน และเทคโนโลยีในยานยนต์ได้มีการพัฒนาอย่างก้าวกระโดดที่มาพร้อมกับระบบช่วยเหลือต่าง ๆ เช่น ระบบนำทาง ระบบรักษาความเร็ว ระบบเว้นระยะห่าง ระบบแจ้งเตือนการชน และระบบช่วยเบรกอัตโนมัติ เป็นต้น ซึ่งระบบเหล่านี้มีประโยชน์อย่างมากในการช่วยลดอุบัติเหตุ แต่สำหรับยานยนต์ที่มีอายุมากกว่า 20 ปี จะอาศัยความชำนาญและประสบการณ์การของผู้ขับขี่เท่านั้น เมื่อผู้ขับขี่ใช้ขับรถเป็นระยะเวลานานก็จะทำให้เกิดความเมื่อยล้าหรืออ่อนเพลียจึงส่งผลให้เกิดอุบัติเหตุได้ง่าย งานวิจัยนี้จึงได้พัฒนาระบบแจ้งเตือนระยะเบรกที่ปลอดภัยสำหรับยานยนต์ขึ้น เพื่อให้สามารถนำไปใช้งานและติดตั้งได้กับรถทุกประเภทด้วยเทคโนโลยีไลดาร์ (Roriz *et al.*, 2022)

ระบบเบรกเป็นระบบที่ใช้สำหรับการชะลอหรือหยุดการเคลื่อนที่ของยานพาหนะทุกชนิด (Ebrahimi-Nejad and Kheybari, 2017) โดยระบบเบรกจะแบ่งตามลักษณะการทำงานออกเป็น 3 รูปแบบ ได้แก่ ระบบเบรกแบบกลไก ระบบเบรกแบบไฮดรอลิก และระบบเบรกแบบไฮดรอลิก (Wang *et al.*, 2017; He and Jing, 2019; Hua *et al.*, 2023) สำหรับระบบเบรกแบบไฮดรอลิกนั้นจะมีการใช้งานอย่างมากในรถยนต์

ส่วนบุคคล เนื่องจากมีความง่ายต่อการบำรุงรักษา กลไกไม่ซับซ้อน และได้มีการพัฒนาอย่างต่อเนื่องเพื่อเพิ่มประสิทธิภาพในการเบรก เช่น การเพิ่มระบบช่วยผ่อนแรง (Brake Booster) (Wu *et al.*, 2020; Nugraha *et al.*, 2021; Meng *et al.*, 2023) ระบบป้องกันล้อล็อก (Anti-Lock Brake System) และระบบกระจายแรงเบรก (Electronic Brake force Distribution) (Aly *et al.*, 2011; Gaurkar *et al.*, 2022) เป็นต้น

ปัจจุบันได้มีการนำเทคโนโลยีไลดาร์ (LiDAR) มาใช้งานร่วมกับระบบเบรก ซึ่งเป็นการตรวจวัดระยะและตรวจจับวัตถุพร้อมการแจ้งเตือน (Light detection and ranging) (Yeong *et al.*, 2021; Dai *et al.*, 2022) เพื่อให้ผู้ขับขี่ทราบถึงระยะห่างจากวัตถุด้านหน้าหรือรถคันข้างหน้าและแจ้งเตือนก่อนที่จะเกิดอุบัติเหตุ นอกจากนี้ยังมีการนำไลดาร์มาช่วยควบคุมระบบเบรก ที่เรียกว่า “ระบบเบรกฉุกเฉินอัตโนมัติ (Autonomous Emergency Braking)” (Mustafar and Bakar, 2020; Guo *et al.*, 2022) และองค์กรทดสอบการชนเพื่อความปลอดภัย EURO Ncap หรือ ANcap ได้บรรจุให้อยู่ในมาตรฐานความปลอดภัยของรถยนต์ (Euro NCAP, Vehicle Safety, The Rating Explained, Safety Assist, AEB Car to Car., 2020)

จากข้อมูลข้างต้นทางคณะผู้วิจัยได้นำเทคโนโลยีไลดาร์มาประยุกต์ใช้ร่วมกับระบบเบรกสำหรับการชะลอความเร็วและแจ้งเตือนการเกิดการชนด้านหน้าสำหรับยานยนต์ขนาดเล็กเพื่อเป็นต้นแบบในการนำไปประยุกต์ใช้งาน โดยการออกแบบระบบควบคุมความเร็วและระบบการตรวจวัดระยะห่างระหว่างวัตถุในการแจ้งเตือนผู้ขับขี่ให้ทราบถึงระยะก่อนถึงสิ่งกีดขวาง และสั่งการให้รถหยุดการเคลื่อนที่ได้ทันก่อนเกิดการชนกับวัตถุด้านหน้า

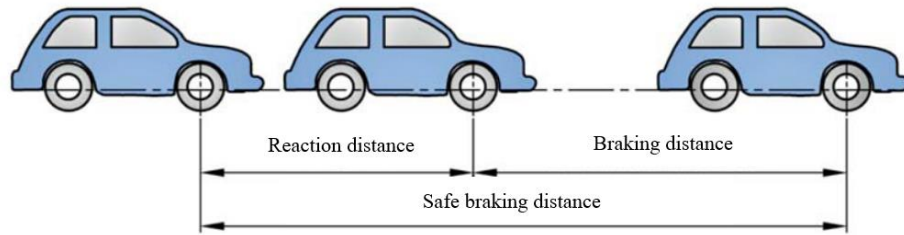


Figure 1 Safe braking distance

2. วิธีดำเนินการวิจัย

$$t = \frac{V}{a} \quad (3)$$

2.1 การคำนวณระยะเบรกของยานยนต์

โดยที่ t คือ เวลา (วินาที)

2.1.1 ระยะปลอดภัยในการเบรก

ระยะปลอดภัยในการเบรกคือ ผลรวมระหว่างระยะปฏิบัติการในการเบรกรวมกับระยะที่ใช้ในการเบรก (Figure 1)

จากภาพสามารถคำนวณหาระยะเบรกที่ปลอดภัยได้ ดังสมการที่ (1)

$$S_s = S + (V \times T) \quad (1)$$

โดยที่ S_s คือ ระยะเบรกที่ปลอดภัย (เมตร)

S คือ ระยะทางที่ใช้ในการเบรก (เมตร)

V คือ ความเร็วของรถ (กิโลเมตรต่อชั่วโมง)

T คือ เวลาปฏิบัติการหรือเวลาตัดสินใจในการเบรก (วินาที)

2.1.2 ระยะทางในการเบรก

ระยะทางในการเบรก คือ ระยะทางจากการเริ่มเบรกไปจนกระทั่งรถไม่เกิดการเคลื่อนที่หรือหยุดนิ่ง สามารถคำนวณได้ ดังสมการที่ (2)

$$S = \frac{V^2}{2a} \quad (2)$$

โดยที่ a คือ ความหน่วง (เมตรต่อวินาที²)

S คือ ระยะทางที่ใช้ในการเบรก (เมตร)

2.1.3 เวลาในการเบรก

เวลาในการเบรก คือ เวลาที่ใช้ในการเบรกจนกระทั่งรถหยุดนิ่งหรือไม่เกิดการเคลื่อนที่ ซึ่งจะขึ้นอยู่กับความเร็วและอัตราหน่วงของรถ สามารถคำนวณได้ ดังสมการที่ (3)

2.1.4 การควบคุมความเร็ว

การควบคุมความเร็วของรถในงานวิจัยนี้เป็นการคำนวณเชิงเปรียบเทียบอัตราส่วนระหว่างยานยนต์ขนาดเล็กกับยานยนต์ต้นแบบขับเคลื่อนด้วยมอเตอร์ไฟฟ้า ซึ่งเคลื่อนที่ด้วยความเร็ว 15 กิโลเมตรต่อชั่วโมง ที่ความเร็วรอบของมอเตอร์สูงสุดที่ 104 รอบต่อนาที ถูกสั่งงานด้วยไมโครคอนโทรลเลอร์บอร์ด โดยความเร็วของยานยนต์ต้นแบบ สามารถคำนวณได้ ดังสมการที่ (4)

$$V = \left(\frac{2\pi r}{60} \right) \times RPM \quad (4)$$

โดยที่ r คือ รัศมีของล้อ (เมตร)

RPM คือ ความเร็วรอบของมอเตอร์ (รอบต่อนาที)

เนื่องจากการควบคุมความเร็วของยานยนต์ต้นแบบนั้น จะเป็นการส่งสัญญาณในลักษณะของมอดูเลตความกว้างพัลส์ (Pulse width modulation, PWM) ตั้งแต่ 0 – 100 เปอร์เซ็นต์ของ Duty Cycle (Figure 2) โดยที่ค่า Percent duty cycle สามารถคำนวณได้ ดังสมการที่ (5)

$$\%Duty - cycle = \frac{Pulse}{Period} \times 100 \quad (5)$$

โดยที่ $Pulse$ คือ ความกว้างของพัลส์ (วินาที)

$Period$ คือ คาบเวลา (วินาที)

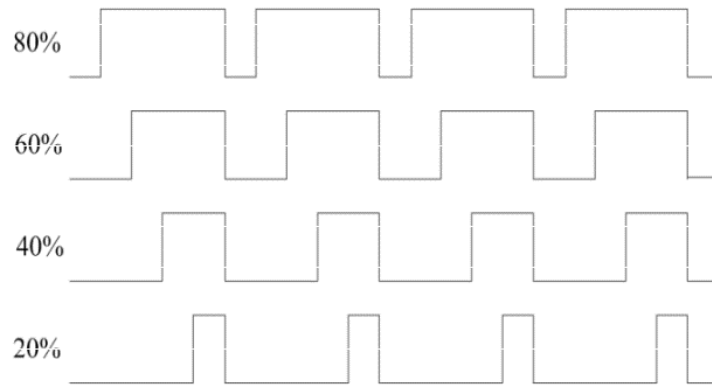


Figure 2 Characteristics of a pulse signal (Tsai *et al.*, 2023)

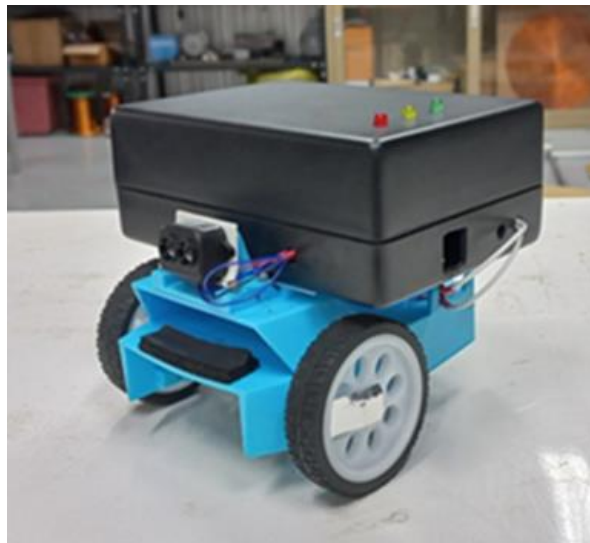


Figure 3 Prototype vehicle for testing warning systems

2.2 การออกแบบยานยนต์ต้นแบบสำหรับงานวิจัย

ยานยนต์ที่ใช้สำหรับการทดสอบจะสร้างจากเครื่องพิมพ์สามมิติเพื่อเป็นฐานสำหรับเป็นโครงสร้างต้นแบบพร้อมติดตั้งอุปกรณ์และระบบต่าง ๆ ประกอบด้วย 2 ส่วน คือ ส่วนที่ 1 ฐานส่วนล่างสำหรับมอเตอร์ขับเคลื่อนจำนวน 2 ล้อ มีรัศมีล้อ 3.25 เซนติเมตร และล้อลูกกลิ้งจำนวน 1 ล้อ และส่วนที่ 2 ฐานส่วนบน สำหรับติดตั้งระบบตรวจวัดระยะทางและระบบแจ้งเตือน มิติของรถต้นแบบเมื่อรวมทั้งฐานส่วนบนและส่วนล่างมีขนาดหน้ากว้าง 15 เซนติเมตร ยาว 14 เซนติเมตร สูง 13 เซนติเมตร (Figure 3)

2.3 อุปกรณ์ระบบแจ้งเตือนและการวัดระยะทาง

ระบบแจ้งเตือนและการวัดระยะเบรกที่ปลอดภัยประกอบด้วย 5 ส่วน ดังนี้ ส่วนที่ 1 หลอดไฟแสดงสถานะ สีเขียว สีเหลือง และสีแดง ส่วนที่ 2 ไมโครคอนโทรเลอร์ ส่วนที่ 3 บอร์ดขับเคลื่อนแบบแยกอิสระ L298N ส่วนที่ 4 ไลดาร์เซ็นเซอร์ TF-Luna ระยะทำการตรวจวัด 0.2 - 8 เมตร ขอบเขตภาพ 2 องศา และส่วนที่ 5 แบตเตอรี่ (Figure 4)

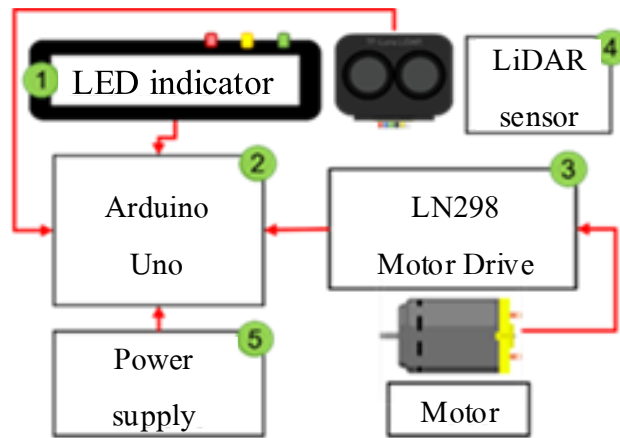


Figure 4 Block diagram of a prototype vehicle

2.4 การทำงานของระบบแจ้งเตือนและการวัดระยะทาง

หลักการทำงานของระบบ ประกอบด้วย 2 ส่วน คือ ส่วนที่ 1 ระบบตรวจวัดระยะทาง (Distance detection system) งานวิจัยนี้ใช้ไลดาร์ เนื่องจากมีความแม่นยำในการวัดระยะด้วยหลักการสะท้อนของแสงเลเซอร์เมื่อไปกระทบกับวัตถุโดยการวัดระยะเวลาการเคลื่อนที่ของแสง ซึ่งมีความรวดเร็วในการวัดสูงกว่าวิธีการวัดระยะทางด้วยวิธีอื่น ๆ และส่วนที่ 2 ระบบแจ้งเตือนระยะปลอดภัย (Safety distance notification system) ในส่วนนี้จะนำข้อมูลที่ได้อาจจากไลดาร์มากำหนดระยะที่ใช้ในการแจ้งเตือนด้วยการเขียนโปรแกรมในไมโครคอนโทรลเลอร์ (Arduino) พร้อมกับการแสดงผลด้วยหลอดไฟสีเขียว สีเหลือง สีส้ม และสีแดง

ส่วนที่ 1 ระบบตรวจวัดระยะทางจะวัดระยะห่างระหว่างไลดาร์เซ็นเซอร์และวัตถุแล้วส่งข้อมูล ไปยังไมโครคอนโทรลเลอร์ เพื่อทำหน้าที่ประมวลผลข้อมูลในการ

สั่งควบคุมบอร์ดขับเคลื่อนมอเตอร์ และหลอดไฟแสดงสถานะ สำหรับแจ้งเตือนระยะปลอดภัยตามโซนต่าง ๆ ที่ได้ออกแบบไว้ ในส่วนนี้จะออกแบบให้ยานยนต์ต้นแบบมีความเร็วสูงสุดที่ 15 กิโลเมตรต่อชั่วโมง

ส่วนที่ 2 ระบบแจ้งเตือนระยะปลอดภัย จะแบ่งออกเป็น 4 โซน ประกอบไปด้วย โซนที่ 1 ระยะปลอดภัย (Safety Zone) คือ ช่วงระยะห่างระหว่างไลดาร์กับวัตถุมากกว่า 700 เซนติเมตร โซนที่ 2 ระยะระวัง (Warning Zone) เป็นโซนที่แจ้งเตือนเมื่อระยะห่างของรถต้นแบบกับวัตถุอยู่ในช่วง 250 – 700 เซนติเมตร โซนที่ 3 ระยะเบรก (Braking Zone) โซนระยะเบรก เป็นเขตแจ้งเตือนเมื่อระยะห่างรถต้นแบบกับวัตถุอยู่ในช่วง 25 - 250 เซนติเมตร เพื่อเบรกชะลอความเร็วรถ และโซนที่ 4 ระยะหยุด (Stopping Zone) โซนนี้จะแจ้งเตือนเมื่อระยะห่างน้อยกว่า 25 เซนติเมตร เพื่อสั่งการให้รถต้นแบบหยุดการเคลื่อนที่ แสดงแผนผังการทำงานของระบบ (Figure 5)

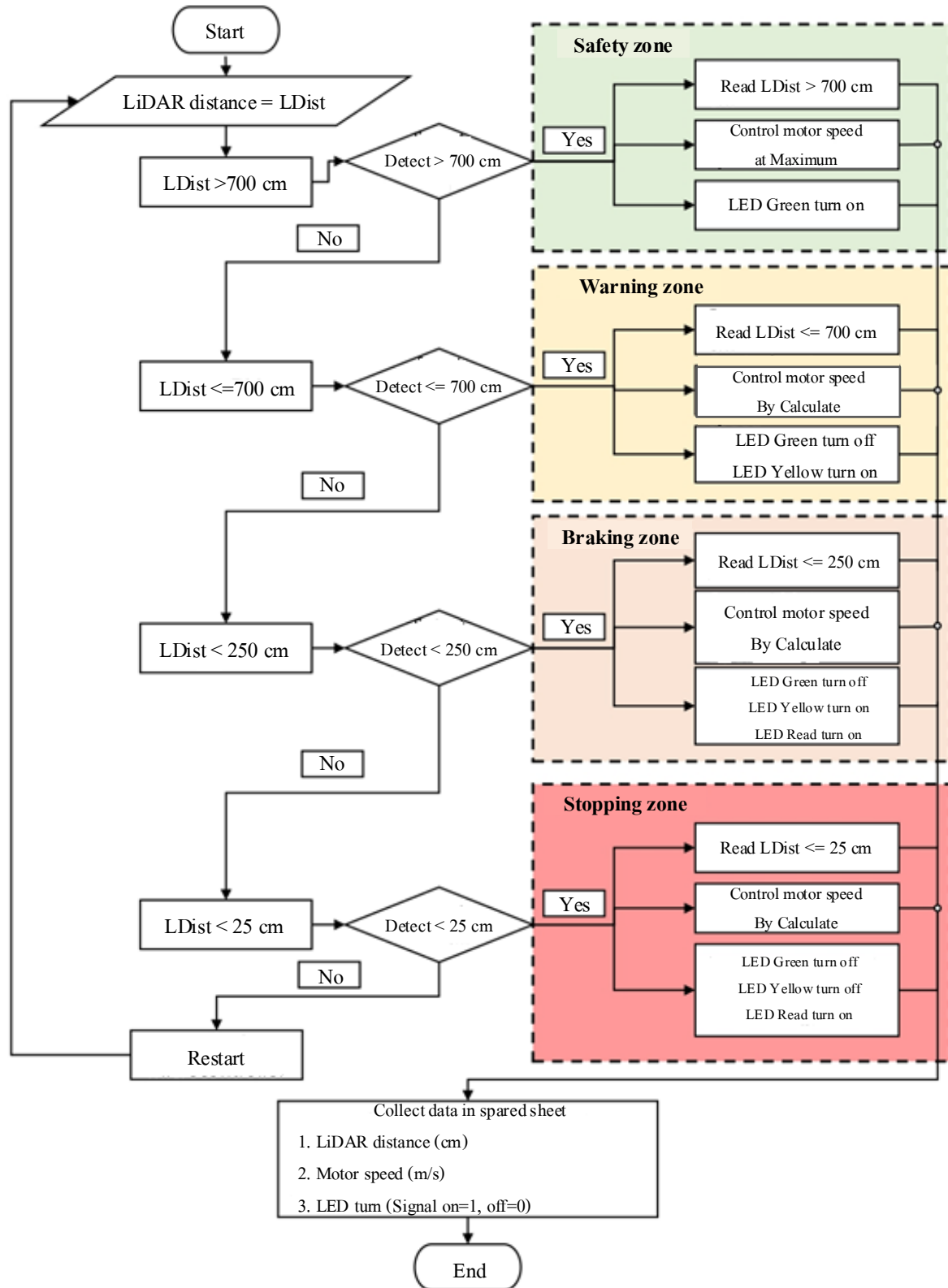


Figure 5 Working diagram of distance detection and safety distance warning system

3. ผลการวิจัยและวิจารณ์ผล

การทดลองจะควบคุมให้รถต้นแบบวิ่งเป็นเส้นตรงเป็นระยะทางมากกว่า 700 เซนติเมตร เพื่อวัดและเก็บข้อมูลของระยะห่างจากวัตถุ ความเร็วตัวรถ พร้อมกับการแสดงสถานะไฟแจ้งเตือนเมื่อยานยนต์ต้นแบบเคลื่อนที่ผ่านโซนต่าง ๆ (Vasile *et al.*, 2021) (Figure 6)

ในส่วนนี้จะทำการทดสอบ 3 ครั้ง เพื่อหาค่าเฉลี่ยของการวัดระยะทางจากไลดาร์สำหรับใช้เป็นข้อมูลอ้างอิง การเขียนโปรแกรมควบคุมการทำงานของระบบภายในตัวยานยนต์ต้นแบบ (Popa *et al.*, 2022) (Figure 7 – 9) ที่เป็นผลของการทดสอบในแต่ละครั้ง

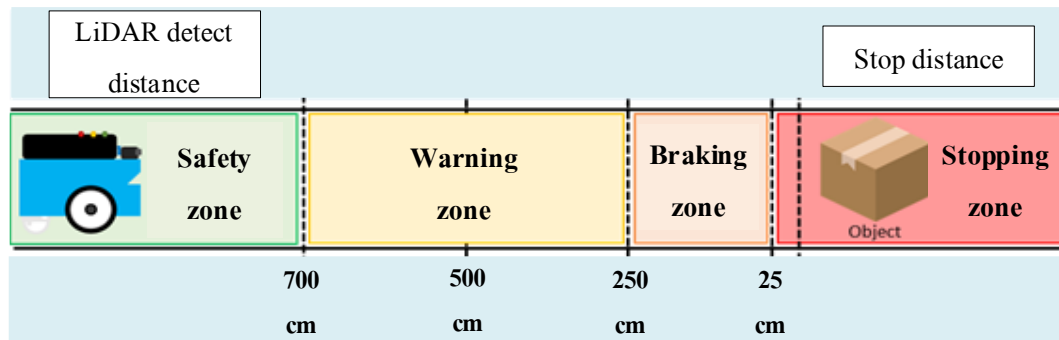


Figure 6 Design of safety warning and distance measurement system

Operation LED indicator of Exp.1

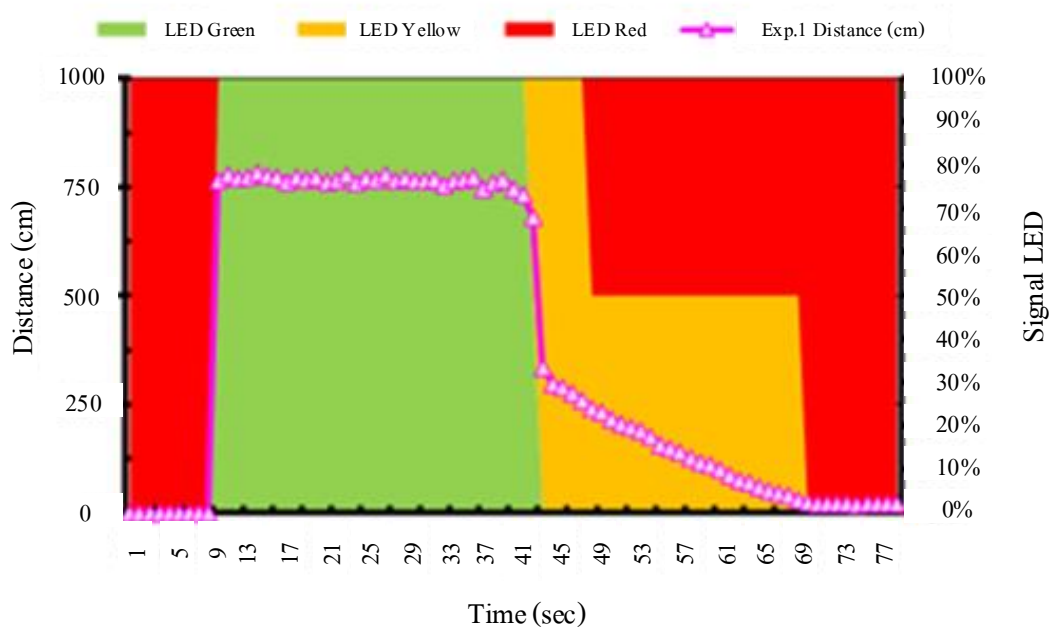


Figure 7 Experiment 1: Relationship between distance and time in various zones

Operation LED indicator of Exp.2

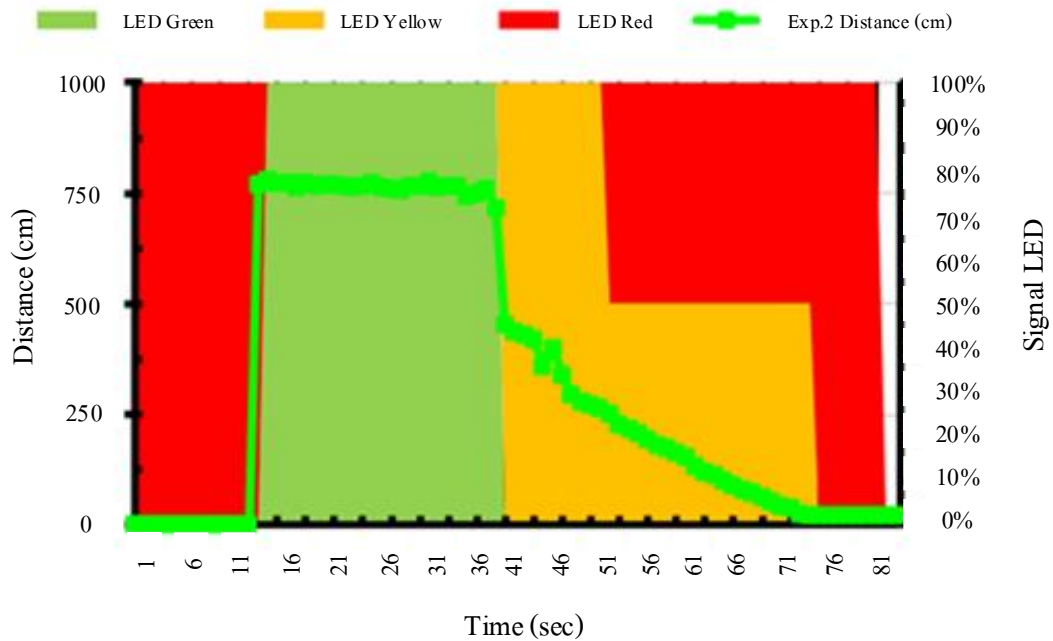


Figure 8 Experiment 2: Relationship between distance and time in different zones

Operation LED indicator of Exp.3

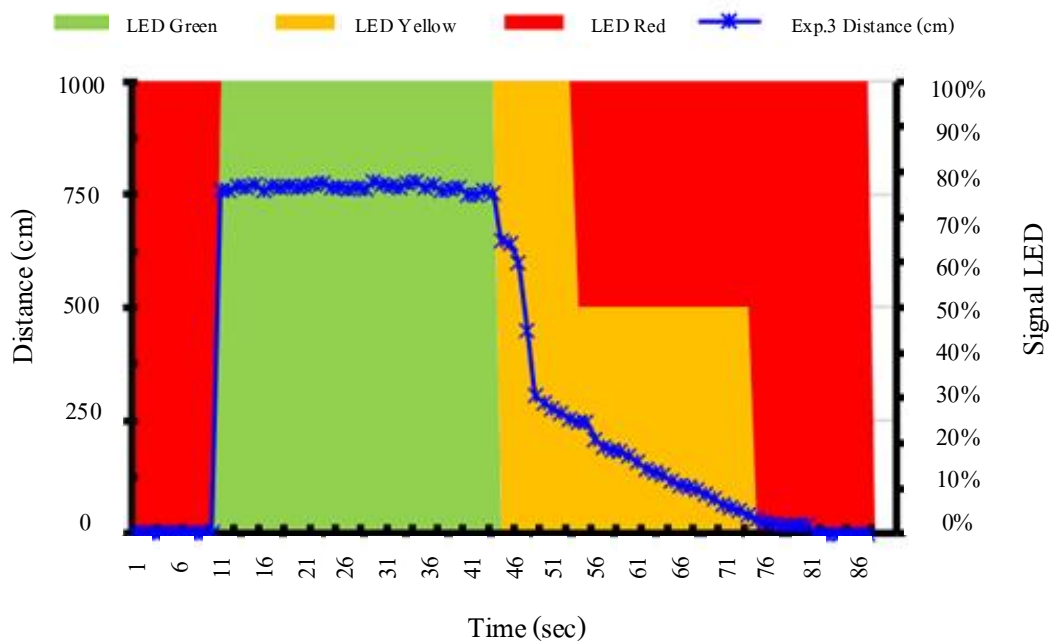


Figure 9 Experiment 3: Relationship between distance and time in different zones

จาก Figure 7-9 แสดงความสัมพันธ์ระหว่างระยะห่างของวัตถุด้านหน้ายานยนต์ต้นแบบกับเวลาในการเคลื่อนที่ผ่านโซนต่าง ๆ ด้วยความเร็ว 15 กิโลเมตรต่อชั่วโมง พร้อมการแจ้งเตือนสถานะของหลอดไฟ LED ซึ่งแบ่งออกเป็น 3 สถานะ ได้แก่ สถานะไฟสีเขียว (ระยะปลอดภัย) สถานะไฟสีเหลือง (ระยะระวัง) และสถานะไฟสีแดง (ระยะเบรก) จากการทดสอบทั้ง 3 ครั้งพบว่า ระบบ

การแจ้งเตือนด้วยหลอดไฟ LED สามารถทำงานได้อย่างถูกต้องและรวดเร็วโดยไม่เกิดความผิดพลาด เมื่อทำงานวัดระยะจากไลดาร์ในแต่ละโซน พบว่า ที่โซนสีเขียวสถานะไฟ LED สีเขียวจะสว่างจนถึงระยะห่างจากวัตถุ 767.67 เซนติเมตร และจะเปลี่ยนสถานะไฟ LED เป็นสีเหลืองเมื่อยานยนต์เข้าใกล้วัตถุด้านหน้าในระยะ 593 เซนติเมตร และ

จะเปลี่ยนสถานะไฟ LED เป็นสีแดง เมื่อยานยนต์เข้าใกล้วัตถุด้านหน้าในระยะ 237.67 เซนติเมตร ตามลำดับ

จากการทดสอบเมื่อนำข้อมูลเฉพาะระยะห่างจากวัตถุด้านหน้าของยานยนต์ต้นแบบมาพล็อตกราฟแสดงความสัมพันธ์ระหว่างระยะห่างระหว่างวัตถุกับเวลาที่ความเร็ว 15 กิโลเมตรต่อชั่วโมง เพื่อมาใช้เป็นข้อมูลในการคำนวณหาความหน่วงที่ใช้ในการเบรกมอเตอร์ไฟฟ้าของยานยนต์ต้นแบบ (Vaibhav *et al.*, 2022) (Figure 10)

จาก Figure 10 เมื่อนำผลระยะห่างระหว่างวัตถุด้านหน้าของยานยนต์ต้นแบบทั้ง 3 ครั้งมาทำการเปรียบเทียบกัน

โดยยานยนต์ไฟฟ้าจะใช้เวลาอยู่ในโซนสีแดง (ระยะระวัง) ประมาณ 20 วินาที และอยู่ในโซนสีแดง (ระยะเบรก) ก่อนเกิดการชนกับวัตถุด้านหน้าตัวรถ ประมาณ 10 วินาที ในส่วนนี้ได้ออกแบบให้ยานยนต์เริ่มเบรกตั้งแต่โซนสีแดง ซึ่งจะมีเวลาในการเบรกที่ 20 วินาที สามารถนำมาคำนวณหาความหน่วงได้ 0.524 เมตรต่อวินาที² โดยค่าความหน่วงนี้ได้รับการประมวลผลโดยไมโครคอนโทรลเลอร์ ซึ่งอยู่กับความเร็วยานยนต์ที่ใช้ สำหรับงานวิจัยนี้ทุกการทดสอบจะใช้ความเร็วคงที่ที่ 15 กิโลเมตรต่อชั่วโมง

Comparison distance form LiDAR sensor

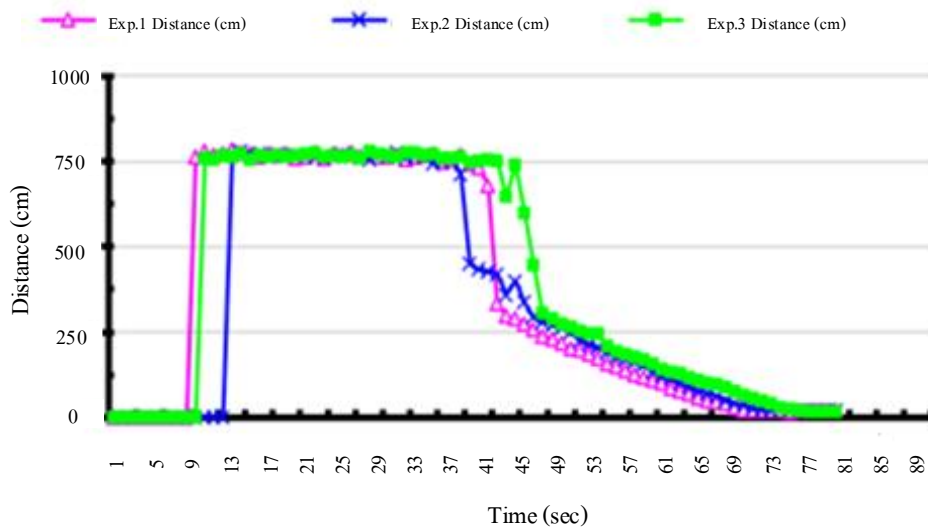


Figure 10 Relationship between distance and time

Comparison motor speed by calculating braking distance

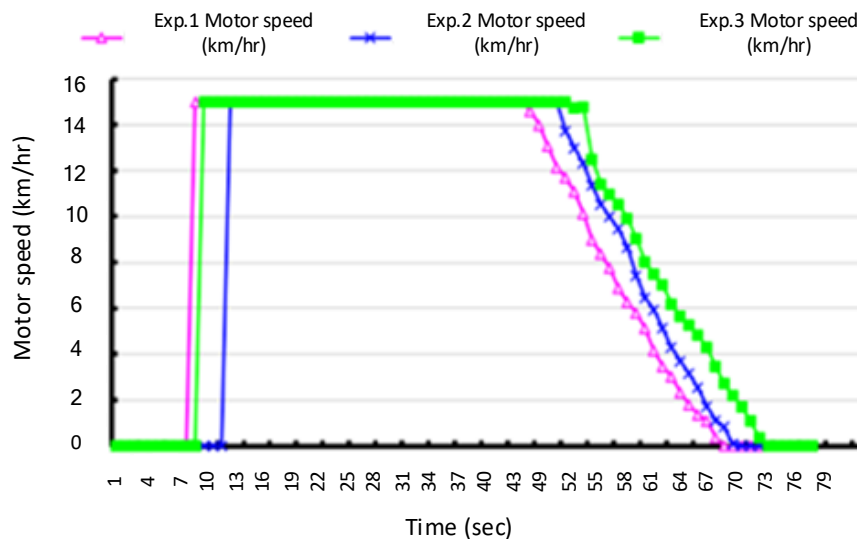


Figure 11 Relationship between distance and time

จาก Figure 11 จะเห็นว่าเมื่อเริ่มเบรค ยานยนต์ต้นแบบด้วยความหน่วง $0.524 \text{ เมตรต่อวินาที}^2$ จะสามารถหยุดรถได้ที่ 20 วินาที โดยเริ่มเบรคที่วินาทีที่ 52 ไปจนถึงวินาทีที่ 72 ซึ่งเป็นตำแหน่งที่รถหยุดนิ่ง และไม่เกิดการชนกับวัตถุด้านหน้า ในการทดสอบระบบเบรคของการทดลองนี้ผลที่ได้เป็นไปตามที่ออกแบบไว้โดยไม่เกิดการชน และเมื่อคำนวณหาค่าความคลาดเคลื่อนของการเบรคของการทดสอบทั้ง 3 ครั้ง จะมีค่าความคลาดเคลื่อนอยู่ที่ 5.77 เปอร์เซ็นต์ ซึ่งเป็นค่าที่ยอมรับได้สำหรับการทดสอบนี้

4. สรุป

จากผลการทดสอบสรุปได้ว่าเทคโนโลยีโลดาร์สามารถนำมาประยุกต์ใช้กับการทำงานของระบบเบรคของยานยนต์ได้ โดยการทดสอบการทำงานของระบบการแจ้งเตือนและระบบเบรคสามารถทำงานได้ตามเงื่อนไขทั้ง 3 ครั้ง โดยมีความคลาดเคลื่อนในการเบรคอยู่ที่ 5.77 % จากระยะที่กำหนดไว้จากการคำนวณ ซึ่งเป็นค่าที่ยอมรับได้ไม่ก่อให้เกิดอุบัติเหตุต่อผู้ขับขี่ สำหรับปัจจัยที่ส่งผลต่อความคลาดเคลื่อนของค่าที่กำหนดไว้และผลลัพธ์ เช่น สภาพแวดล้อม พื้นผิวของวัตถุ กำลังขับของมอเตอร์ และขนาดลำแสงของโลดาร์ เป็นต้น ทั้งนี้การออกแบบดังกล่าวสามารถนำไปประยุกต์ใช้กับยานยนต์อัตโนมัติที่มีขนาดใหญ่ขึ้นได้

5. เอกสารอ้างอิง

- Aly, A.A., Zeidan, E., Hamed, A. and Salem, F. 2011. An Antilock-Braking System (ABS) Control: A Technical Review. **Intelligent Control and Automotive** 2(3): 186-195.
- Dai, Z., Wolf, A., Ley, P., Gluck, T., Sundermerier, M.C. and Lachmayer, R. 2022. Requirements for Automotive LiDAR System. **Sensor** 22(19): 7532.
- Ebrahimi-Nejad, S. and Kheybari, M. 2017. Brake System Design for Sports Cars using Digital Logic Method. **International Journal of Automotive Engineering** 7(4): 2570-2582.
- Euro NCAP, Vehicle Safety, The Rating Explained, Safety Assist, AEB Car to Car. 2020. **AEB Car to Car System Are Tested Across A Wide Range of Speed and Vehicle Overlaps and Traffic Situations.** Available Source: <https://www.euroncap.com/en/vehicle-safety/the-ratings-explained/safety-assist/aeb-car-to-car/>, August 10, 2020.
- Gaurkar, P.V., Ramakrushnan, K., Challa, A., Subramanian, S.C., Vivekanandan, G. and Sivaram, S. 2022. An Anti-Lock Braking System Algorithm using Real-Time Wheel Reference Slip Estimation and Control. **Journal of Automobile Engineering** 236(4): 676-688.
- Guo, J., Wang, Y., Yin, X., Liu, P., Hou, Z. and Zhao, D. 2022. Study on the Control Algorithm of Automatic Emergency Braking System (AEBS) for Commercial Vehicle Based on Identification of Driving Condition. **Machines** 10(10): 895.
- He, R. and Jing, Z. 2019. Study on Braking Stability of Commercial Vehicles: And optimized Air Brake System. **Advances in Mechanical Engineering** 11(5): 168781401984859.
- Hua, X., Zeng, J., Li, H., Huang, J., Luo, M., Feng, X., Xiong, H. and Wu, W. 2023. A Review of Automobile Brake-by-Wire Control Technology. **Processes** 11(4): 994.
- Meng, B., Zhou, Z., Zhang, C. and Yang, F. 2023. A Design Method for Booster Motor of Brake-by-Wire System Based on Intelligent Electric Vehicle. **Green Energy and Intelligent Transportation** 2(4): 100110.
- Mustafar, M.Z.C. and Bakar, S.A.A. 2020. Optimal Design of an Autonomous Emergency Braking (AEB) System for a Passenger Vehicle. **IOP Conference Series: Materials Science and Engineering** 884(1): 012088.
- Nugraha, A.A., Sumarsono, D.A., Adhitya, M. and Prasetya, S. 2021. Development of Brake Booster Design for Electric City Cars. **International Journal of Technology** 12(4): 802-812.
- Popa, G., Gheti, M.A., Tudor, E., Vasile, I. and Sburlan, I.C. 2022. Experimental Study Regarding Long Range LiDAR Capabilities in Sensing Safety Distance for Vehicle Application. **Sensors** 22(15): 5731.

- Roriz, R., Cabral, J. and Gomes, T. 2022. Automotive LiDAR Technology: A Survey. **IEEE Transactions on Intelligent Transportation System** 23(7): 6282-6297.
- Transport Statistics Group, Planning Division, Department of Land Transport. 2022. **Report on transportation statistics for 5 years**. Other analytical statistics reports. Available Source: https://www.nso.go.th/nsoweb/nso/survey_detail/sK, July 31, 2023. (in Thai)
- Tsai, P.S., Wu, T.F., Chen, J.Y. and Teng, P.T. 2023. Micro-Stepping Motor for Instrument Panel Using PWM Drive Method. **Processes** 11(12): 329.
- Wang, Z., Zhou, X., Yang, C., Chen, Z. and Wu, X. 2017. An Experimental Study on Hysteresis Characteristics of a Pneumatic Braking System for a Multi-Axle Heavy Vehicle in Emergency Braking Situations. **Sciences** 7(8): 799.
- Vaibhav, R., Amutha Prabha, N., Indragandhi, V., Bharathidasan, M., Vasantharaj, S. and Sam, A.J. 2022. Autonomous Braking System Using Linear Actuator. **Journal of Sensors** 2022(1): 7707600.
- Vasile, I., Tudor, E., Sburlan, I.C., Gheti, M.A. and Popa, G. 2021. Experimental Validation of LiDAR Sensors Used in Vehicular Applications by Using a Mobile Platform for Distance and Speed Measurements. **Sensors** 21(23): 8147.
- Wu, J., He, H.Z.R., Chen, P. and Chen, H. 2020. A Mechatronic Brake Booster for Electric Vehicles: Design, Control and Experiment. **IEEE Transactions on Vehicular Technology** 69(7): 7040-7053.
- Yeong, D.J., Velasco-Hernandez, G., Barry, J. and Walsh, J. 2021. Sensor and Sensor Fusion Technology in Autonomous Vehicles: A Review. **Sensor** 21(6): 2140.

Research Article

Phytochemical Screening and Study of Cholesterol Esterase Inhibitory Activity of Extracts from Stem of *Dipterocarpus intricatus* Dyer

Orapun Jaisamut ^a, Sunan Jaisamut ^{b,*}, Pornnapat Yanpanya ^b, Kronkanok Harinsalai ^b,
 Supunsa Phuthepkham ^b and Apirak Sakunpak ^c

^a Faculty of Science and Technology, Rajamangala University of Technology Tawan-OK, Bangpra Campus, Sriracha, Chonburi 20110, Thailand.

^b Faculty of Pharmaceutical Sciences, Burapha University, Mueang, Chonburi 20131, Thailand.

^c Department of Pharmacognosy, College of Pharmacy, Rangsit University, Mueang, Pathum Thani 12000, Thailand.

ABSTRACT

Article history:

Received: 2023-10-02

Revised: 2023-12-05

Accepted: 2024-05-16

Keywords:

Dipterocarpus intricatus Dyer;
 cholesterol esterase;
 phytochemical screening;
 spectroscopic methods

Dipterocarpus intricatus Dyer is a medicinal plant used for relieving muscle soreness (bark) and curing wounds (resin). This study investigates chemical composition and cholesterol esterase inhibitory activity of *D.intricatus* stem harvested from Phrasaeng District, Surat Thani Province, Thailand. Using chromatographic method and spectroscopic analysis, two known compounds, dipterocarpolic acid (1) and bergenin (2), were isolated and identified as a triterpene and a coumarin, respectively. Cholesterol esterase inhibition activity of dipterocarpolic acid (1) and bergenin (2) at concentration of 1.0 mg/mL was 35.22±1.44%, and 42.01±1.65%, respectively, whereas methanolic extract showed activity of 31.70±1.23% at 5.0 mg/mL, compared to orlistat (99.55±0.53%). Therefore, *D. intricatus* extracts are another alternative for further studies in herbal medicine and natural product development.

© 2025 Jaisamut, O., Jaisamut, S., Yanpanya, P., Harinsalai, K., Phuthepkham, S. and Sakunpak, A. Recent Science and Technology published by Rajamangala University of Technology Srivijaya

1. Introduction

Phytochemical constituents are great sources of therapeutic drugs. These natural bioactive compounds, often referred as secondary metabolites, are formed during plant's normal metabolic processes. Commonly these chemicals include flavonoids, anthraquinones, alkaloids, terpenoids, tannins, saponins, steroids and glycosides. Many secondary metabolites from plants are widely used as anti-inflammatory, antioxidants,

anti-diabetic, anti-pancreatic cholesterol esterase and antibacterial agents. Traditionally, plant crude extracts or decoctions are commonly used to treat infections. It is important for the phytochemical constituents to be determined and tested for their biological activities in order to support their medicinal use. (Vasanthi *et al.*, 2014).

Hypercholesterolemia is a genetic disorder, defined as high levels of cholesterol in the blood circulation (Ghule *et al.*, 2009; Cho *et al.*, 2006; Sergeant

* Corresponding author.

E-mail address: sunan.jais@gmail.com

Cite this article as:

Jaisamut, O., Jaisamut, S., Yanpanya, P., Harinsalai, K., Phuthepkham, S. and Sakunpak, A. 2025. Phytochemical Screening and Study of Cholesterol Esterase Inhibitory Activity of Extracts from Stem of *Dipterocarpus intricatus* Dyer. *Recent Science and Technology* 17(1): 260764.

et al., 2012). Low-density lipoproteins (LDL) are the primary carrier of cholesterol in the blood to liver cells and throughout the body. High LDL-cholesterol is associated with an increased risk of cardiovascular diseases (Handa *et al.*, 2013; Al-Shaer *et al.*, 2004; Ngamukote *et al.*, 2011).

Pancreatic cholesterol esterase is the only important enzyme synthesized in the pancreas that catalyzes the hydrolysis of cholesterol esters to free cholesterol. The inhibition of pancreatic cholesterol esterase may provide a method for treating hypercholesterolemia and atherosclerosis by limiting the absorption of free cholesterol derived from cholesterol esters. (Wei *et al.*, 2014). Simvastatin, is used for decades to lower LDL cholesterol by inhibiting HMG-CoA reductase required for the biosynthesis of cholesterol (Endo, 2008). More recently, simvastatin has been reported to inhibit cholesterol esterase *in vitro* and *in vivo* (Chiou *et al.*, 2006). However, simvastatin can cause a condition that results in the breakdown of muscle tissue, potentially leading to renal failure (Endo, 2008). Therefore, the search for a natural, safe and highly effective cholesterol esterase inhibitor produced from botanical materials may be beneficial.

Among Dipterocarpaceaeous plants, *Dipterocarpus* has been known as the third largest genus with 75 species distributed in tropical regions of Asia, particularly in Southeast Asia (Ashton, 2014). Many species in this genus have been used as folk medicine for treatments of rheumatism, dysmenorrhea (Wibowo *et al.*, 2012; Pauline, 2000), gonorrhea, urinary gleet, ulcer, ringworm, and skin diseases (Aslam *et al.*, 2015). *Dipterocarpus intricatus* Dyer is a deciduous species, 15 - 25 meters tall, whose habitat is dry deciduous dipterocarp forest. In Thailand, parts of *Dipterocarpus intricatus* have been traditionally used as treatments for several diseases. Liquid gum is ground and used to treat gonorrhea and skin diseases. The barks are used to treat rheumatism. Several groups of active compounds have been isolated and identified from Dipterocarpaceaeous plants including sesquiterpenes, triterpenes and coumarin derivatives as well as their bioactivities isolated using different solvents (Wibowo *et al.*, 2012; Aslam *et al.*, 2015). Extracts of *Dipterocarpus*

plants show many bioactivities. For example, extract from the flowers of *D. intricatus* exhibits antibacterial, antioxidant and cytotoxic activity (Le *et al.*, 2021). In addition, Bergenin, an isocoumarin derivative in woody parts of the Dipterocarpaceae family, was reported to significantly reduced the levels of triglycerides (TG), total cholesterol (TC), and low-density lipoprotein cholesterol (LDL-c) while simultaneously increasing high-density lipoprotein cholesterol (HDL-c) levels in zebrafish model (Zhang *et al.*, 2023). Oral administration of bergenin at 10 mg/kg reduced blood glucose level after 60 and 90 minutes in rat oral glucose tolerance test. In the same study, administration of 10 mg/kg bergenin reduced blood glucose levels and improved lipid profiles in streptozotocin-nicotinamide induced diabetic rats after 14 days. Kumar *et al.* (2012), it is reported that bergenin reduced the lipid profile of diabetic rats, though not total cholesterol and triglycerides. Therefore, the study on chemical profiles of *D. intricatus* and their bioactivity is required to investigate its potential for use and development into food, nutraceutical, and pharmaceutical products. This study is the first to report anti-pancreatic cholesterol esterase activity of methanolic extract of *D. intricatus* and two known compounds, a triterpene: dipterocarpolic acid (1), and a coumarins: bergenin (2) isolated from *D. intricatus* stems.

2. Materials and Methods

2.1 Extract preparation

Stem of *Dipterocarpus intricatus* Dyer were collected from Phrasaeng District, Surat Thani Province, Thailand in November 2022. It was cut and dried in a hot air oven at 50°C before being ground. Air-dried ground stem of *D. intricatus* (1.2 kg) was macerated with 10 L methanol for 5 days at room temperature twice. Crude methanolic extracts were combine and filtered. It was concentrated using a rotary evaporator under reduced pressure to give crude extract (71.6 g). Yield of crude extract from dry weight was 6.0%.

2.2 Preliminary screening of phytochemical test

The qualitative phytochemical screening tests were performed to identify the main groups of chemical constituents (alkaloids, flavonoids, anthraquinones, coumarin, saponins, tannins, phlobatannins, terpenoids, steroids and cardiac glycosides) present in the extracts using the color reactions described elsewhere (Tukiran, 2013; Bhatt and Dhyani, 2012; Mouafi *et al.*, 2014 and Vittaya and Chalad, 2016) as follows:

2.2.1 Test for alkaloids

0.2 g of the extract was boiled with 1.0 mL of 10% sulfuric acid for 5 minutes in a water bath, filtered, and allowed to cool. The filtrate was added 5 drops of Dragendroff's reagent was added to filtrate and shaken gently. The formation of a reddish brown precipitate (with Dragendroff's reagent) was taken as positive for a test for alkaloids.

2.2.2 Test for alkaloids

Development of a yellow or orange color appearance after addition of few magnesium turning followed by dropwise addition of conc. hydrochloric acid to 0.2 g of the extract to 1.0 mL of distilled 50% Ethanol indicates the presence of flavonoids.

2.2.3 Test for anthraquinone

0.2 g of the extract was boiled with 1.0 mL of 10% sulfuric acid for 5 minutes in a water bath, filtered, and allowed to cool. The filtrate was added 0.5 mL of 10% NH_3 . The formation of a rose pink color in the ammonia layer indicated the presence of anthraquinone.

2.2.4 Test for coumarin

Development of intense yellow color after addition of 1.0 mL of 50% EtOH followed by 1.0 mL of 6 M NaOH to 0.2 g of the extract indicates the presence of coumarin.

2.2.5 Test for saponins

0.2 g of the extract was heated with 5 mL of water for 5 minutes in a water bath. After filtration, 5 mL of distilled water was added and shaken well. The formation of froth showed the presence of saponin.

2.2.6 Test for tannins

0.2 g of the extract was boiled with 1.0 mL of water for 5 minutes in a water bath, filtered, and allowed to cool. The filtrate was added 5 drops of 1% FeCl_3 and shaken. Then, it was observed for brownish green or a blue black coloration.

2.2.7 Test for phlobatannins

0.2 g of the extract was boiled with 1.0 mL of water for 5 minutes in a water bath, filtered, and allowed to cool. The filtrate was added 5 drops of 1% H_2SO_4 and shaken. The solution was heated for 5 minutes in a water bath, it was observed for brownish green or a blue black coloration.

2.2.8 Test for terpenoids

Development of a reddish brown coloration at the interface after addition of 1.0 mL of chloroform followed by 0.5 mL of concentrated sulfuric acid to 0.2 g of the extract indicates the presence of terpenoids.

2.2.9 Test for steroids

Development of a dark green or dark blue color after addition of 1.0 mL of chloroform followed by further addition of 0.5 mL of glacial acetic acid followed by further addition of 3 drop of concentrated sulfuric acid to 0.2 mg of extract indicate the presence of steroids.

2.2.10 Test for cardiac glycosides

Development of a brown ring at the interface after addition of 2 mL of glacial acetic acid that contained 5 drops of 1% of ferric chloride solution followed by further addition of 0.5 mL of concentrated sulfuric acid to 0.2 mg of extract dissolved with 1.0 mL of chloroform indicate the presence of cardiac glycosides.

2.3 Chemical isolation and structure elucidation

The crude extract (50.6 g) was dissolved in methanol and then partitioned by using n-hexane. The methanol fraction was concentrated by using rotary evaporator. The crude methanol extract (2.43 g) was further purified by Quick Column Chromatography on silica gel using hexane as eluent and increasing polarity with EtOAc and methanol, successively giving nine fractions (M1-M9). Fraction M3 (112.9 mg) was purified by column chromatography (CC) on silica gel using EtOAc: hexane (3:7) as eluent to give compound 1 (25.4 mg, 0.050% of crude extract: R_f = 0.36, EtOAc: hexane, 3:7). Fraction M7 (354.4 mg) was subjected to CC on silica gel using EtOAc: acetone: methanol (4:5:1) to yield compound 2 (39.7 mg, 0.078% of crude extract: R_f = 0.72, EtOAc: acetone: methanol, 4:5:1). The compound was structurally elucidated by using 400 MHz Bruker FTNMR Ultra Shield™ spectrometers recorded in deuteriochloroform and deuteromethanol, respectively and were recorded as δ value in ppm downfield from TMS (internal standard δ 0.00 ppm).

2.4 Identification of compounds 1 and 2

Compound 1 colorless viscous oil; IR $\nu_{\max}$ (KBr) cm^{-1} : 3415 (OH), 1686 (C=O); ^1H NMR (CDCl_3 , 400 MHz) δ 5.11 (1H, t, J = 6.8 Hz, H-24), 2.50 (1H, ddd, J = 8.4, 9.6, 15.6 Hz, H-2) 2.43 (1H, ddd, J = 4.4, 7.2, 14.4 Hz, H-2), 2.17 (2H, m, H-23), 2.00 (1H, dd, J = 7.2, 14.4 Hz, H-1), 1.87 (1H, m, H-12), 1.77 (1H, m, H-17), 1.75 (1H, m, H-16), 1.73 (1H, m, H-13), 1.67 (3H, m, H-27), 1.59 (3H, m, H-26), 1.57 (1H, m, H-6), 1.55 (1H, m, H-5), 1.53 (1H, m, H-11), 1.50 (1H, m, H-16), 1.47 (1H, m, H-5), 1.47 (1H, m, H-22), 1.46 (1H, m, H-22), 1.45 (1H, m, H-1), 1.45 (1H, m, H-15), 1.40 (1H, m, H-9), 1.38 (2H, m, H-7), 1.36 (1H, m, H-6), 1.36 (1H, m, H-11), 1.32 (1H, m, H-12), 1.13 (1H, m, H-15), 1.08 (3H, m, H-29), 1.04 (3H, m, H-28), 0.99 (3H, m, H-18), 0.94 (3H, m, H-19), 0.86 (3H, m, H-30); ^{13}C NMR (CDCl_3 , 100 MHz) δ 218.9 (C=O, C-3), 180.8 (COOH, C-21), 132.7 (C, C-25), 123.4 (CH, C-24), 77.8 (C, C-20), 55.6 (CH, C-5), 50.1 (CH_2 , C-7), 50.0 (C, C-14), 48.0 (CH, C-9), 47.6 (CH, C-17), 40.6 (C, C-4), 40.3 (CH, C-13), 40.2 (C, C-8), 38.4 (CH_2 , C-22), 36.8 (CH_2 ,

C-1), 34.6 (C, C-10), 34.1 (CH_2 , C-2), 30.5 (CH_2 , C-15), 29.7 (CH_2 , C-12), 26.5 (CH_3 , C-28), 25.7 (CH_3 , C-27), 23.9 (CH_2 , C-16), 22.4 (CH_2 , C-11), 22.1 (CH_2 , C-23), 21.0 (CH_3 , C-29), 19.5 (CH_2 , C-6), 17.6 (CH_3 , C-26), 16.1 (CH_3 , C-30), 15.9 (CH_3 , C-19), 15.3 (CH_3 , C-18). Compound 2 colorless viscous oil; IR $\nu_{\max}$ (KBr) cm^{-1} : 3381 (OH), 1699 (C=O); ^1H NMR (CD_3OD , 400 MHz) δ 7.08 (1H, s, H-2'), 4.97 (1H, d, J = 10.4, Hz, H-1), 4.06 (1H, dd, J = 10.4, 9.6 Hz, H-2), 3.90 (3H, s, OMe), 3.79 (1H, t, J = 9.2 Hz, H-3), 3.72 (1H, m, H-6a), 3.67 (1H, m, H-5), 3.43 (1H, t, J = 9.2 Hz, H-4), 3.01 (1H, m, H-6b); ^{13}C NMR (CDCl_3 , 100 MHz) δ 164.4 (C, C-7), 151.0 (C, C-3'), 148.1 (C, C-5'), 141.0 (C, C-4'), 118.0 (C, C-1'), 115.9 (C, C-6'), 109.7 (CH, C-2'), 81.7 (CH, C-5), 80.0 (CH, C-2), 74.2 (CH, C-3), 72.9 (CH, C-1), 70.5 (CH, C-4), 61.3 (CH_2 , C-6), 59.5 (OCH_3).

2.5 Pancreatic cholesterol esterase inhibitory activity

A modification of the method detailed by Gururaja *et al.* (2015) was used. Fractions and isolated compounds were prepared in ethanol as a stock solution (2 mg/mL) and diluted to 0.2 mg/mL with deionized water. Twofold serial dilutions were performed for IC_{50} determination. The final proportion of ethanol in the reaction was 2%. Pancreatic cholesterol esterase solution (2 $\mu\text{g/mL}$) was dissolved in 100 mM sodium phosphate buffer (pH 7.0). Various concentrations of the tested substances (100 μl) were pre-incubated with 50 μl of pancreatic cholesterol esterase solution at 37 °C for 15 min. p-nitrophenyl butyrate (p-NPB), a substrate, was used to assay enzyme activity. The substrate solution was combined with a sodium phosphate buffer (0.1 M, pH 7.0) containing 1 volume each of 5.16 mM taurocholic acid sodium salt, 0.2 mM p-NPB, and 100 mM NaCl. After pre-incubation, the reaction was initiated by adding 50 μl of substrate solution to the mixtures, which were then continuously incubated at 37 °C for 15 min. The reaction was stopped with the addition of 100 μl of ethanol. After incubation, the absorbance of the mixtures was measured at 405 nm. Orlistat was used as positive controls.

Table 1 Qualitative phytochemical analysis in the extract of stem of *D. intricatus*

Phytoconstituents	Crude methanolic extract
Alkaloids	-
Flavonoids	+
Anthraquinones	-
Coumarins	-
Saponins	-
Tannins	+
Phlobatannins	-
Terpenoids	+
Steroids	-
Cardiac glycosides	-

Note: + means present and - means absent

3. Results and Discussion

3.1 Phytochemical screening

The qualitative phytochemical screening of crude methanolic extract of stem of *D. intricatus* revealed the presence of some secondary metabolites or bioactive compounds such as flavonoids, tannins, and terpenoids as shown in Table 1. These phytochemical compounds are known to have medicinal and pharmacological importance (Adebayo and Ishola, 2009), giving reason for their study as potential pharmaceuticals. In this work, the stem contained flavonoid, tannin, and terpenoid compounds, which are one of the most unique groups of plant metabolites (Singh *et al.*, 2007)

3.2 Structure elucidation

The methanolic extract of the *D. intricatus* stem was purified using silica gel column chromatography, yielding a terpenoid dipterocarpolic acid (1), and a coumarin: bergenin (2).

Compound 1 was obtained as a colorless viscous oil. The IR spectrum showed absorption band of a hydroxyl group at 3415 cm^{-1} and a carbonyl group at 1686 cm^{-1} . The ^{13}C and ^1H NMR spectra data showed characteristic of the 3-oxodammarane skeleton. The ^{13}C NMR spectral data (Figure 1) recorded in CDCl_3 showed 31 signals for 31 carbons. Analysis of DEPT

90° and DEPT 135° spectra of this compound suggested the presence of seven methyl [δ 26.5 (C-28), 25.7 (C-27), 21.0 (C-29), 17.6 (C-26), 16.1 (C-30), 15.9 (C-19) and 15.3 (C-18)], two carbonyl [δ 218.9 (C-3), 180.8 (C-21)], two olefinic [δ 132.7 (C-25), 123.4 (C-24)] and a oxyquaternary carbons [δ 77.8 (C-20)]. The ^1H NMR spectral data (Figure 1) showed seven methyl singlet signals at δ 1.08, 1.04, 0.99, 0.94 and 0.86 including two vinylic methyl at δ 1.67 and 1.59, an olefinic methine proton were shown at δ 5.11 (1H, t, $J = 6.8\text{ Hz}$, H-24) and a typical dammarane δ_{H} -17 proton at δ 1.77 (m). The position of the hydroxyl group at C-20 was determined through an HMBC experiment in which the methine proton at δ 1.77 (H-17) showed correlations with C-12 (δ 29.7), C-14 (δ 50.0), C-15 (δ 30.5), C-20 (δ 77.8), C-21 (δ 180.8) and C-22 (δ 38.4). The position of an olefin methine proton at C-24 was determined from HMBC correlation of H-24 (δ 5.11) with C-22 (δ 38.4), C-26 (δ 17.6) and C-27 (δ 25.7). These data confirmed the side chain consisted of a carboxylic acid, a hydroxyl group as well as one double bond between quaternary carbon and methine carbon. Thus, on the basis of its spectroscopic data and comparison of the ^1H and ^{13}C NMR spectral data with the previously reported data of dipterocarpolic acid (Smirnovaa *et al.*, 2012), compound 1 was assigned as dipterocarpolic acid.

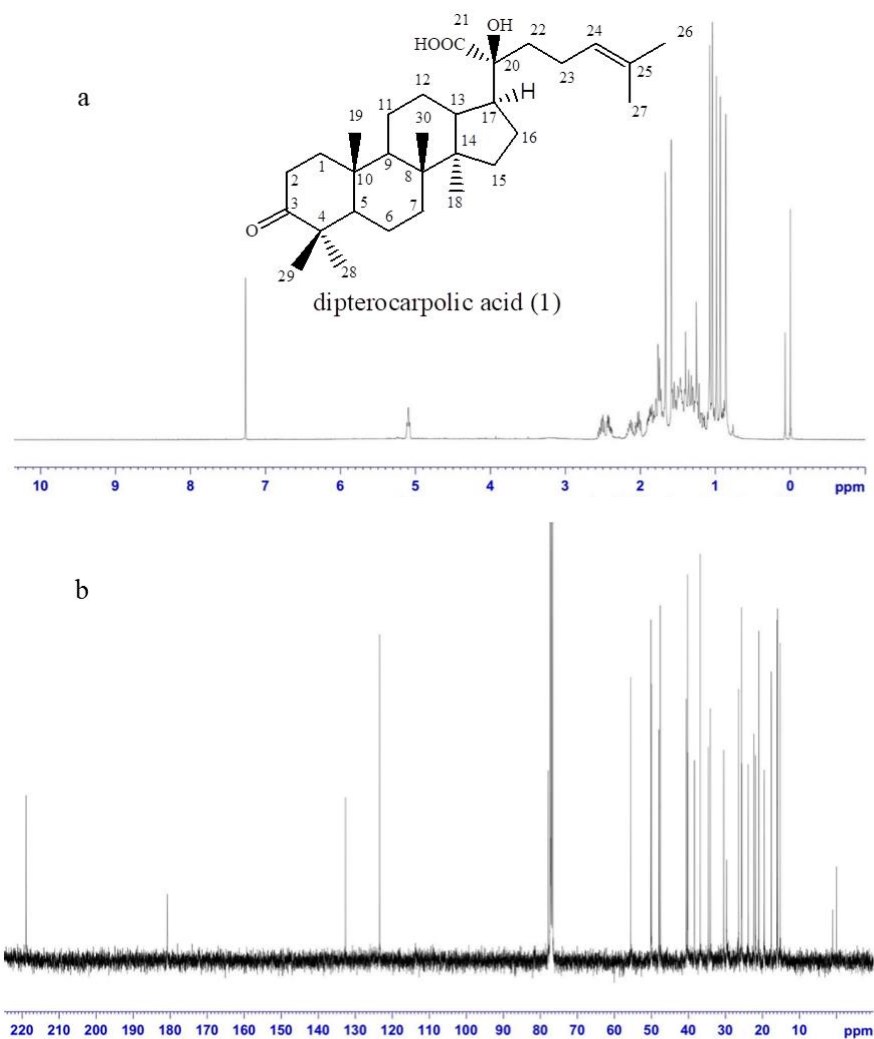


Figure 1 The ^1H (400 MHz, a) and ^{13}C NMR (100 MHz, b) spectrum of diptercarpolic acid (1) (in CDCl_3)

Compound 2 was obtained as a colorless viscous oil. The IR spectrum showed absorption band of a hydroxyl group at 3381 cm^{-1} and a carbonyl group at 1699 cm^{-1} . The ^{13}C NMR spectral data (Figure 2) indicated the presence of 14 carbons including six aromatic, five oxymethine, one oxymethylene, one methoxyl and one carbonyl carbons. The ^1H NMR spectral data (Figure 2) displayed the presence of characteristic signal of sugar moiety. The anomeric proton at $\delta 4.97$ (d, $J = 10.4\text{ Hz}$, H-1), was inferred to β -configuration of sugar moiety based on the value of the coupling constant. Other proton signal of sugar moiety were resonances at $\delta 3.01$ (m, H_b -6), 3.43 (t, $J = 9.2\text{ Hz}$, H-4), 3.67 (m, H-5), 3.79 (t, $J = 9.2\text{ Hz}$, H-3), 3.72 (m, H_a -6) and 4.06 (dd, $J = 10.4, 9.2\text{ Hz}$, H-2) and the large vicinal coupling constants ($J_{\text{ax,ax}} =$

$10.4, 9.2\text{ Hz}$), confirming the β -C-glucoside ring. The proton signal displayed the presence of a one proton singlet at $\delta 7.08$ which was assigned as H-2'. From the HMBE experiments, the aromatic proton at $\delta 7.08$ (H-2') showed correlations with the carbons at $\delta 72.9$ (C-1), 115.9 (C-6'), 118.0 (C-1'), 141.0 (C-4'), 151.0 (C-3') and 164.4 (C-7), the oxymethine proton at $\delta 4.06$ (H-2) with the carbons at $\delta 72.9$ (C-1), 74.2 (C-3), 115.9 (C-6') and 164.4 (C-7), and the anomeric proton at $\delta 4.97$ (H-1) with the carbons at $\delta 74.2$ (C-3), 80.0 (C-2), 81.7 (C-5), 115.9 (C-6'), 118.0 (C-1'), 141.0 (C-4') and 148.1 (C-5'). These data suggested an aryl β -C-glucoside and an aryl δ -lactone ring. Therefore, compound 2 was identified as bergenin (Wang *et al.*, 2005)

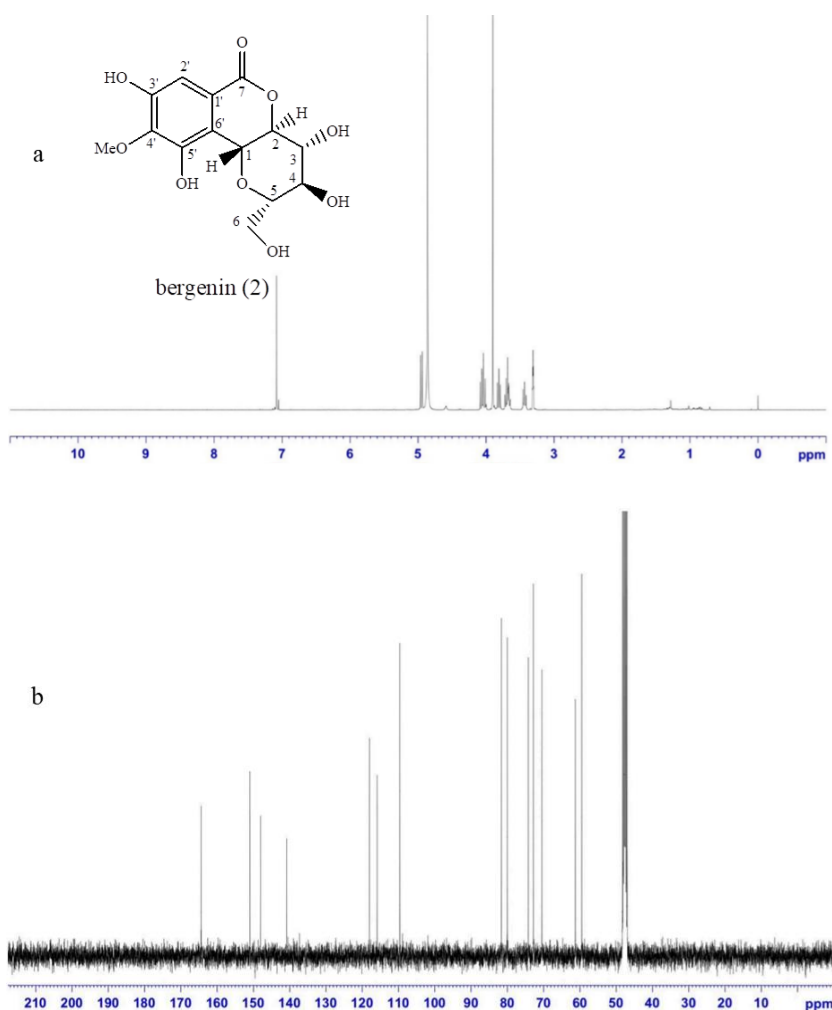


Figure 2 The ¹H (400 MHz, a) and ¹³C NMR (100 MHz, b) spectrum of bergenin (2) (in CD₃OD)

All isolated from the *D. intricatus* stem were evaluated for their pancreatic cholesterol esterase inhibitory activity. The percentage inhibition of this radical was concentration-dependent. Cholesterol esterase inhibition of 1.0 mg/mL of dipterocarpolic acid (1), bergenin (2) and methanolic extract (5.0 mg/mL) were 35.22±1.44%, 42.01±1.65% and 31.70±1.23% respectively. The activities of isolated compounds and methanolic extract were weaker compared with orlistat

(99.55±0.53%) in Figure 3. Bergenin was reported to reduce the lipid profile of diabetic rats. Significant reduction in total lipid levels was also observed in hyperlipidaemic rats given oral berginin for 14 (Jahromi *et al.*, 1992; Kumar *et al.*, 2012). To our knowledge, this study is the first to report *D. intricatus* phytochemical profile and pancreatic cholesterol esterase inhibitory activity of the extract, along with dipterocarpolic acid and bergenin isolated from *D. intricatus* stems.

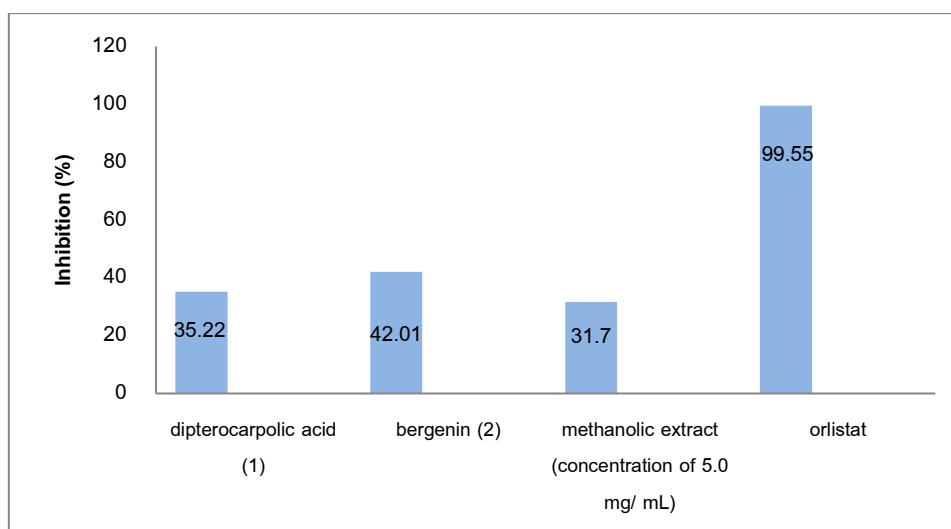


Figure 3 Percentage inhibitory pancreatic cholesterol esterase activity of dipterocarpolic acid (1), bergenin (2), methanolic extract, and orlistat at concentration of 1.0 mg/mL. Values represent mean $\pm$ SD ($n = 3$), $p < 0.05$.

4. Conclusion

The results of this study revealed that different medically important phytochemicals were present in extracts from *D. intricatus* stem. The result revealed that terpenoid dipterocarpolic acid (1), and coumarins: bergenin (2) exhibited moderate activity pancreatic cholesterol esterase inhibitory. This study has helped in establishing scientific evidences in the rationality of traditional use of plants for curing different human diseases. It has also assisted in exploring the medicinal values and creating a database of medicinal plants available in Thailand.

5. Acknowledgments

The authors thank for faculty of pharmaceutical sciences, Burapha University for providing laboratory facilities and finance in this research.

6. References

- Adebayo, E.A. and Ishola, O.R. 2009. Phytochemical and antimicrobial screening of crude extracts from the root, stem, bark, and leaves of *Terminalia glaucescens*. **African Journal of Pharmacy and Pharmacology** 3(5): 217-221.
- Al-Shaer, M.H., Choueiri, N.E. and Suleiman, E.S. 2004. The pivotal role of cholesterol

absorption inhibitors in the management of dyslipidemia. **Lipids Health Dis** 3: 1-6.

- Ashton, P. 2014. *Dipterocarpus baudi*. **The IUCN red list of threatened species**. Available Source: www.iucnredlist.org, January 7, 2023.
- Aslam, M.S., Ahmad, M.S. and Mamat, A.S. 2015. A phytochemical, ethnomedicinal and pharmacological review of genus *Dipterocarpus*. **International Journal of Pharmacy and Pharmaceutical Sciences** 7(4): 27-38.
- Bhatt, S. and Dhyani, S. 2012. Preliminary phytochemical screening of *Ailanthus excelsa* Roxb. **International Journal of Current Pharmaceutical Research** 4(1): 87-89.
- Chiou, S.Y., Lai, G.W., Lin, L.Y. and Lin, G. 2006. Kinetics and mechanisms of cholesterol esterase inhibition by cardiovascular drugs in vitro. **Indian Journal of Biochemistry and Biophysics** 43: 52-55.
- Cho, W.C.S., Chung, W.S., Lee, S.K.W., Leung, A.W.N., Cheng, C.H.K. and Yue, K.K.M. 2006. Ginsenoside Re of *Panax ginseng* possesses significant antioxidant and antihyperlipidemic efficacies in streptozotocin-induced diabetic rats. **European Journal of Pharmacology** 550: 173-179.
- Endo, A. 2008. A gift from nature: the birth of the statins. **Nature Medicine** 14: 1050-1052.

- Ghule, B.V., Ghante, M.H., Saoji, A.N. and Yeole, P.G. 2009. Antihyperlipidemic effect of the methanolic extract from *Lagenaria siceraria* Stand. fruit in hyperlipidemic rats. **Journal of Ethnopharmacology** 124: 333-337.
- Gururaja, G.M., Mundkinajeddu, D., Dethe, S.M., Sangli, G.K., Abhilash, K. and Agarwal, A. 2015. Cholesterol esterase inhibitory activity of bioactives from leaves of *Mangifera indica* L. **Pharmacognosy Research** 7: 355-362.
- Handa, M., Murata, T., Kobayashi, K., Selenge, E., Miyase, T., Batkhuu, J. and Yoshizaki, F. 2013. Lipase inhibitory and LDL anti-oxidative triterpenes from *Abies sibirica*. **Phytochemistry** 86: 168-175.
- Jahromi, M.A.F., Chansouria, J.P.N. and Ray, A.B. 1992. Hypolipidaemic Activity in Rats of Bergenin, the Major Constituent of *Flueggea microcarpa*. **Phytotherapy Research** 6: 180-183.
- Kumar, R., Patel, D.K., Prasad, S.K., Laloo, D., Krishnamurthy, S. and Hemalatha, S. 2012. Type 2 antidiabetic activity of bergenin from the roots of *Caesalpinia digyna* Rottler. **Fitoterapia** 83: 395-401.
- Le, H.T., Luu, T.N., Nguyen, H.M.T., Nguyen, D.H., Le, P.T.Q., Tr[unh, N.N., Le, V.S., Nguyen, H.D. and Van, H.T. 2021. Antibacterial, antioxidant and cytotoxic activities of different fractions of acetone extract from flowers of *Dipterocarpus intricatus* Dyer (Dipterocarpaceae). **Plant Science Today** 8(2): 273-277.
- Mouafi, F.E., Abdel-Aziz, S.M., Bashir, A.A. and Fyiad, A.A. 2014. Phytochemical analysis and antimicrobial activity of mangrove leaves (*Avicenna marina* and *Rhizophora stylosa*) against some pathogens. **Journal World Applied Sciences** 29(4): 547-554.
- Ngamukote, S., Makynen, K., Thilawech, T. and Adisakwattana, S. 2011. Cholesterol-lowering activity of the major polyphenols in grape seed. **Molecules** 16: 5054-5061.
- Pauline, D.Y.P. 2000. **Plants used in Cambodia. Self-published**. Imprimerie Olympic, Phnom Penh.
- Sergent, T., Vanderstraeten, J., Winand, J., Beguin, P. and Schneider, Y.J. 2012. Phenolic compounds and plant extracts as potential natural anti-obesity substances. **Food Chemistry** 135: 68-73.
- Singh, R., Singh, S.K. and Aroma, S. 2007. Evaluation of antioxidant potential of ethyl acetate extract/fractions of *Acacia auriculiformis* A. Cunn. **Food Chemical Toxicology** 45(7): 1216-1223.
- Smirnovaa, I.E., Do Thi Thub, H., Kazakovaa, O.B., Tolstikova, G.A., Kukovinetza, O.S., Lobova, A.N. and Suponitskiic, K.Y. 2012. Ozonolysis of dipterocarpol and its derivatives. **Russian Journal of Organic Chemistry** 10(48): 1370-1376.
- Tukiran. 2013. Phytochemical analysis of some plants in Indonesia. **Journal of Biology Agriculture and Healthcare** 3(4): 6-10.
- Vasanthi, P., Ganapathy, M., Evanjelene, V.K., Ayyavuv, N. and Angamuthu, J. 2014. Phytochemical screening and antioxidant activity of extracts of the leaf and bark of *Albizzia lebbek* (Benth). **Academic Journal of Medicinal plants** 2(2): 26-31.
- Vittaya, L. and Chalad, C. 2016. Effect of solvent on phytochemical analysis and antibacterial activity of leaf and bark extracts from *Rhizophora apiculata*. **Rajamangala University of Technology Srivijaya Research Journal** 8(1): 31-38.
- Wang, D., Zhu, H.T., Zhang, Y.J. and Yang, C.R. 2005. A carbon-carbon-coupled dimeric bergenin derivative biotransformed by *Pleurotus ostreatus*. **Bioorganic & Medicinal Chemistry Letters** 15(18): 4073-4075.
- Wei, Y., Peng, A.Y., Wang, B., Ma, L., Peng, G., Du, Y. and Tang, J. 2014. Synthesis and biological evaluation of phosphorylated flavonoids as potent and selective inhibitors of cholesterol esterase. **European Journal of Medicinal Chemistry** 74: 751-758.
- Wibowo, A., Ahmat, N., Hamzah, A.S., Ismail, N.H., Ahmad, R. and Jaafar, F.M. 2012.

Resveratrol oligomers from the stem bark of
Dryobalanops aromatica. **Biochemical
Systematics and Ecology** 40: 62-64.

Zhang, L., Tong, Y., Fang, Y., Pei, J., Wang, Q. and Li,
G. 2023. Exploring the hypolipidemic effects
of bergenin from *Saxifraga melanocentra*
Franch: mechanistic insights and potential for
hyperlipidemia treatment. **Lipids in Health
and Disease** 22: 1-16.



Research Article

ยีสต์สายพันธุ์ใหม่ *Nakaseomyces glabratus* DL5 ที่แยกได้จากป่าชายเลน
ในจังหวัดชลบุรี และศักยภาพสำหรับการผลิตไขมัน

A New Yeast Strain, *Nakaseomyces glabratus* DL5, Isolated from a Mangrove
Forest in Chonburi Province and Its Potential for Lipid Production

นิสราตน์ สิทธิสม วรนิษฐา วรเวช และ พัชรนันท์ อมรรัตนพันธ์ *

Nisarat Sitthisom, Voranittha Vorawech and Patcharanan Amornrattanapan *

ภาควิชาจุลชีววิทยา คณะวิทยาศาสตร์ มหาวิทยาลัยบูรพา อำเภอเมือง จังหวัดชลบุรี 20131

Department of Microbiology, Faculty of Science, Burapha University, Mueang, Chonburi 20131, Thailand.

ABSTRACT

Article history:

Received: 2023-05-03

Revised: 2023-10-16

Accepted: 2023-11-13

Keywords:

oleaginous yeasts;

isolation of yeasts;

mangrove forest;

lipid production

This research aimed to search for oleaginous yeasts from mangrove forest resources and primarily investigated their potentials for lipid production. Ten of soil and decaying leaf samples from the Nature Education Center for Mangrove Conservation in Chonburi province were collected and used for the isolation of yeasts on Yeast extract peptone dextrose medium. A total of 38 yeast strains were isolated in which 11 yeast isolates (DL1-DL11) and 27 yeast isolates (S1-S27) were obtained from decaying leaf and soil samples, respectively. These yeast isolates were screened for their high lipid accumulation by Nile red fluorescence assay. Of 38 yeast isolates, five isolates, DL5, S7, S8, S10 and S2, showed the possibility of being oleaginous strains. Those five isolates of yeast were selected based on their potentials of lipid accumulation and further visualized for their ability to accumulate intracellular lipid by Sudan Black B staining. Results showed that isolate DL5 obtained from the decaying leaf sample had the most distinct intracellular lipid accumulation in comparison with the other isolates. Identification of isolate DL5 was found to be *Nakaseomyces glabratus* on the basis of ITS1- 5.8S rDNA - ITS2 sequence. Further investigation of lipid production by *N. glabratus* DL5 showed that this strain achieved a lipid content of 9.61 ± 2.17 % of dry biomass weight at 120 hours of growth in DMY broth. These results are important preliminary data for further optimization to improve lipid production and accumulation in the yeast for future applications.

© 2025 Sitthisom, N., Vorawech, V. and Amornrattanapan, P. Recent Science and Technology published by Rajamangala University of Technology Srivijaya

* Corresponding author.

E-mail address: patcharanan@go.buu.ac.th

Cite this article as:

Sitthisom, N., Vorawech, V. and Amornrattanapan, P. 2025. A New Yeast Strain, *Nakaseomyces glabratus* DL5, Isolated from a Mangrove Forest in Chonburi Province and Its Potential for Lipid Production. *Recent Science and Technology* 17(1): 258832.

บทคัดย่อ

งานวิจัยครั้งนี้มีจุดมุ่งหมายเพื่อแสวงหายีสต์ไขมันสูงจากทรัพยากรป่าชายเลนและศึกษาศักยภาพเบื้องต้นในการผลิตไขมันของยีสต์ จึงได้ทำการเก็บตัวอย่างดินและซากใบไม้จากบริเวณศูนย์ศึกษารวมชาติและอนุรักษ์ป่าชายเลน จังหวัดชลบุรี จำนวน 10 ตัวอย่าง เพื่อนำมาแยกยีสต์ พบว่าแยกยีสต์ได้ทั้งหมด 38 ไอโซเลท แบ่งเป็นไอโซเลทของยีสต์ที่แยกได้จากซากใบไม้และดิน จำนวน 11 ไอโซเลท (DL1- DL11) และ 27 ไอโซเลท (S1-S27) ตามลำดับ เมื่อนำยีสต์ที่แยกได้มาคัดกรองยีสต์ไขมันสูงโดยประเมินการสะสมไขมันภายในเซลล์ด้วยวิธี Nile red fluorescence assay จากยีสต์ทั้งหมด 38 ไอโซเลท มียีสต์ 5 ไอโซเลท ได้แก่ DL5, S7, S8, S10 และ S26 ที่มีความเป็นไปได้ที่จะเป็นยีสต์ไขมันสูง จากนั้นจึงนำยีสต์ทั้ง 5 ไอโซเลทที่มีศักยภาพดังกล่าวมาตรวจดูการสะสมไขมันภายในเซลล์ด้วยการย้อมสี Sudan Black B พบว่าไอโซเลท DL5 ที่แยกได้จากซากใบไม้แสดงการสะสมไขมันภายในเซลล์สูงที่สุดเมื่อเปรียบเทียบกับไอโซเลทอื่น ๆ ซึ่งไอโซเลทนี้ถูกจำแนกได้เป็น *Nakaseomyces glabratus* จากข้อมูลลำดับนิวคลีโอไทด์บริเวณ ITS1- 5.8S rDNA - ITS2 ต่อมาเมื่อวิเคราะห์การผลิตไขมันของ *N. glabratus* DL5 พบว่ามีปริมาณไขมัน 9.61 ± 2.17 เปอร์เซ็นต์ของน้ำหนักชีวมวลแห้ง ที่เวลา 120 ชั่วโมงของการเพาะเลี้ยงในอาหารเหลว DMY ผลเหล่านี้เป็นข้อมูลเบื้องต้นที่สำคัญสำหรับการนำไปศึกษาต่อยอดเพื่อปรับปรุงการผลิตและการสะสมไขมันของยีสต์สำหรับการพัฒนาเพื่อนำไปใช้ประโยชน์ต่อไป

คำสำคัญ: ยีสต์ไขมันสูง, การแยกยีสต์, ป่าชายเลน, การผลิตไขมัน

1. บทนำ

ปัจจุบันสภาวะทางเศรษฐกิจทั่วโลกมีการฟื้นตัวดีขึ้นหลังจากการระบาดใหญ่ของโควิด-19 ส่งผลให้หลายประเทศกลับมามีการลงทุนทางด้านพลังงานเพิ่มขึ้น โดยเฉพาะอย่างยิ่งในส่วนของการพลังงานสะอาดซึ่งเป็นพลังงานทดแทนที่มีความยั่งยืน (IEA, 2023) ในส่วนของประเทศไทยนั้นมีการใช้พลังงานขั้นสุดท้ายเพิ่มขึ้นในช่วง 5 เดือนแรกของปี พ.ศ. 2566 เมื่อเทียบกับช่วงเวลาเดียวกันของปีที่ผ่านมา อีกทั้งยังมีแนวโน้มในการใช้พลังงานทดแทนที่มากขึ้นด้วย (Department of Alternative Energy Development and Efficiency, 2023) โดยทั่วไปแล้วพลังงานทดแทนที่สามารถนำมาใช้แทนเชื้อเพลิงฟอสซิลนั้นจะต้องมีราคาถูก เป็นมิตรต่อสิ่งแวดล้อม และมีคุณสมบัติที่คล้ายคลึงกับเชื้อเพลิงฟอสซิล (Pankin *et al.*, 2011; Müller-Langer *et al.*, 2014) “ไบโอดีเซล” เป็นหนึ่งในพลังงานทดแทน ซึ่งเป็นพลังงานสะอาดและเป็นมิตรกับสิ่งแวดล้อม สามารถผลิตได้จากน้ำมันพืช ไขมันสัตว์ หรือแม้แต่ไขมันที่ผ่านการเปลี่ยนสภาพโดยการปรุงอาหาร ทุกวันนี้การผลิตไบโอดีเซลจากน้ำมันพืชและไขมันสัตว์ไม่สามารถตอบสนองความต้องการของประชากรโลกเนื่องจากไม่เพียงพอและไม่ยั่งยืนทั้งทางด้านเศรษฐกิจและสิ่งแวดล้อม (Chang *et al.*, 2013) ดังนั้นการแสวงหาแหล่งวัตถุดิบทางเลือกเพื่อการผลิตไบโอดีเซลที่มีต้นทุนต่ำจึงกำลังเป็นที่สนใจและหลายประเทศให้ความสำคัญ หนึ่งในทางเลือกของแหล่งวัตถุดิบที่มีความเป็นไปได้คือไขมันจากยีสต์ไขมันสูง เนื่องจากสามารถผลิตและสะสมไขมันภายในเซลล์ได้มากกว่าจุลินทรีย์ไขมันสูงชนิดอื่น (Saran *et al.*, 2017)

ยีสต์ (Yeast) จัดเป็นจุลินทรีย์ชนิดยูคาริโอตในกลุ่มฟังไจ มีการดำรงชีวิตเป็นแบบเซลล์เดี่ยว รูปร่างกลมรูปไข่ หรือเหมือนผลเลมอน มีการสืบพันธุ์ทั้งแบบอาศัยเพศและไม่อาศัยเพศ พบได้ทั่วไปในธรรมชาติ ทั้งบนบกและในน้ำ รวมทั้งแหล่งที่อยู่ที่มีสภาพรุนแรง เช่น มีความเค็มสูง และมีความเย็นจัด นอกจากนี้ ยีสต์ยังมีความคงตัวทางพันธุกรรมสูงและไม่ก่อโรค (Limtong, 2006) ยีสต์ไขมันสูง (oleaginous yeasts) คือ ยีสต์ที่สามารถผลิตและสะสมไขมันหรือที่เรียกว่าลิพิด (lipid) ไว้ภายในเซลล์สูงกว่าร้อยละ 20 ของน้ำหนักเซลล์แห้ง เช่น *Rhodotorula spp.*, *Candida spp.*, *Lipomyces starkeyi*, *Cryptococcus curvatus* และ *Yarrowia lipolytica* ซึ่งสามารถสะสมไขมันได้ 40-70 เปอร์เซ็นต์ของน้ำหนักเซลล์แห้ง (Ratledge, 1997; Ratledge, 2001; Papanikolaou *et al.*, 2001) ปริมาณการผลิตและการสะสมไขมันภายในเซลล์ยีสต์จะแตกต่างกันตามสายพันธุ์และสภาวะในการเพาะเลี้ยง (Fakankun *et al.*, 2019) ทั้งนี้ยังขึ้นอยู่กับหลายปัจจัย ได้แก่ ปัจจัยภายนอก คือ สภาพแวดล้อมที่ยีสต์อาศัยอยู่ และอาหารที่ยีสต์ใช้ในการเจริญ และปัจจัยภายในเซลล์ยีสต์ คือ ยีนที่เกี่ยวข้องกับการผลิตและสะสมไขมันภายในเซลล์ (Sha, 2013) ไขมันชนิดหลักที่ยีสต์ไขมันสูงผลิตและสะสมไว้ในเซลล์ ได้แก่ ไตรกลีเซอไรด์ (triglycerides) ซึ่งอยู่ในรูปของหยดไขมัน (lipid droplets) ภายในเซลล์และมีองค์ประกอบเป็นกรดไขมันชนิดสายยาว เช่น กรดปาล์มมิติก (palmitic acid; C16:0) กรดโอเลอิก (oleic acid; C18:1) และกรดสเตียริก (stearic acid; C18:0) ซึ่งเป็นกรดไขมันที่มีความคล้ายคลึงกับกรดไขมันที่พบในน้ำมันพืช (Kumar *et al.*, 2017) นอกจากนี้ยีสต์ไขมันสูงยังสามารถเจริญในแหล่งคาร์บอนได้หลายชนิด เช่น กลูโคส กรด

ไขมัน สารประกอบไฮโดรคาร์บอน กรดอินทรีย์และกลีเซอรอล รวมทั้งของเสียจากอุตสาหกรรมและเกษตรกรรม เช่น กลีเซอรอลดิบ กากน้ำตาลหรือเศษพืชผัก เป็นต้น และยังมีส่วนได้เปรียบมากกว่าการปลูกพืชน้ำมัน เช่น การเพาะเลี้ยงได้ตลอดปีไม่ขึ้นกับฤดูกาลและสภาพอากาศ เจริญเร็ว ใช้เวลาในการเพาะเลี้ยงสั้นและใช้พื้นที่น้อย สามารถควบคุมการผลิตได้ (Ageitos *et al.*, 2011) ยีสต์ไขมันสูงพบได้ในสิ่งแวดล้อมทั่วไป รวมถึงสภาพแวดล้อมในป่าชายเลน เช่น Sriwongchai *et al.* (2018) รายงานการพบยีสต์ไขมันสูง *Rhodotorula mucilaginosa* จากดินที่เก็บจากป่าชายเลนในเขตภาคตะวันออกของประเทศไทย (ฉะเชิงเทรา จันทบุรี ชลบุรี สมุทรปราการ และตราด) และ Jaingam *et al.* (2016) รายงานการพบยีสต์ไขมันสูง *Pichia kudriavzevii* จากตัวอย่างใบไม้ที่เน่าเปื่อยจากพื้นที่ป่าชายเลนในจังหวัดต่าง ๆ (เช่น กรุงเทพฯ จ.สมุทรสาคร และ จ.ระนอง เป็นต้น) ในขณะที่ Chanklan *et al.* (2012) รายงานการพบยีสต์ *P. kudriavzevii* จากตัวอย่างดิน ซากใบไม้จมเลน ขอนไม้ลอยน้ำ น้ำ ใบและดอกแสมดำ ใบแสมดำที่มีแมลงกัดแทะ รวมทั้งกิ่งไม้ เปลือกและรากหายใจของต้นโกงกาง รวมถึงใบไม้แห้งที่ตกหล่นในป่าชายเลนในจังหวัดชลบุรี

ดังนั้น ในงานวิจัยนี้ คณะผู้วิจัยจึงมีความสนใจที่จะแยกและคัดกรองยีสต์ไขมันสูงจากดินและซากใบไม้บริเวณป่าชายเลน จังหวัดชลบุรี และนำไปตรวจสอบปริมาณไขมันที่ยีสต์ผลิตได้ เพื่อเก็บรวบรวมเป็นข้อมูลเบื้องต้นสำหรับการศึกษาและพัฒนาเพื่อนำไขมันจากยีสต์มาใช้ประโยชน์เป็นสารตั้งต้นสำหรับการผลิตไบโอดีเซลในอนาคต

2. วิธีดำเนินการวิจัย

2.1 การเก็บตัวอย่าง

เก็บตัวอย่างดินและซากใบไม้มาจากศูนย์ศึกษาธรรมชาติและอนุรักษ์ป่าชายเลน จังหวัดชลบุรี โดยสุ่มเก็บตัวอย่างดินบริเวณใต้ต้นไม้ที่แตกต่างกันจำนวน 5 จุด โดยขุดดินให้ลึกลงไปจากผิวน้ำดินประมาณ 5-10 เซนติเมตร เก็บใส่ในถุงพลาสติกปลอดเชื้อ และสุ่มเก็บตัวอย่างซากใบไม้จากบริเวณที่แตกต่างกัน 5 จุด โดยเก็บใบไม้ที่มีสีเหลืองน้ำตาลที่ร่วงหล่นอยู่บนพื้นจำนวน 20 ใบต่อ 1 บริเวณที่เก็บ นำใบไม้ใส่ในถุงพลาสติกปลอดเชื้อ จากนั้นนำตัวอย่างมาแยกเชื้อยีสต์ที่ห้องปฏิบัติการจุลชีววิทยาทันที

2.2 การแยกยีสต์

ใส่ตัวอย่างดินปริมาณ 5 กรัม ลงในอาหารเหลว YEPD (yeast extract 10 กรัมต่อลิตร, peptone 20 กรัมต่อลิตร, dextrose 20 กรัมต่อลิตร) ปริมาตร 50 มิลลิลิตร และใส่ตัวอย่างซากใบไม้ปริมาณ 2 กรัม ลงในอาหารเหลว YEPD ปริมาตร 50 มิลลิลิตร นำไปบ่มที่อุณหภูมิ 30 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 3 วัน โดยการเขย่าด้วยความเร็ว 150 รอบต่อนาที เพื่อเพิ่มจำนวนเชื้อยีสต์ในอาหาร นำตัวอย่างเซลล์ที่เพาะเลี้ยงในอาหารเหลว YEPD แต่ละตัวอย่างมาเจือจางในสารละลายโซเดียมคลอไรด์ความเข้มข้น 0.85 เปอร์เซ็นต์ แล้วนำมาเกลี่ย (Spread plate) ลงบนผิวหน้าอาหารแข็ง YEPD บ่มที่อุณหภูมิ 30 องศาเซลเซียสเป็นเวลา 2 วัน คัดเลือกโคโลนีของยีสต์ที่มีลักษณะแตกต่างกันมาแยกให้เป็นเชื้อบริสุทธิ์โดยการ cross streak บนผิวหน้าอาหารแข็ง YEPD สังเกตสัณฐานวิทยาของโคโลนี (รูปร่าง ความหนา ขอบ ผิว และสีโคโลนี) ที่เจริญบนผิวหน้าอาหารแข็ง YEPD จากนั้นศึกษารูปร่างของเซลล์ยีสต์โดยการทำ wet mount และนำสไลด์ไปตรวจดูภายใต้กล้องจุลทรรศน์โดยใช้เลนส์ใกล้วัตถุกำลังขยาย 40X

เชื้อบริสุทธิ์ของไอโซเลทยีสต์ที่แยกได้ ถูกเก็บรักษาไว้ในอาหารแข็ง YEPD ที่อุณหภูมิ 4 องศาเซลเซียส เพื่อเป็น stock สำหรับใช้ในการทดลอง และเก็บรักษาเชื้อยีสต์ในระยะยาวโดยนำยีสต์ที่เลี้ยงในอาหารเหลว YEPD ที่อุณหภูมิ 30 องศาเซลเซียสเป็นเวลา 2 วันมาผสมกับสารละลายกลีเซอรอลให้มีความเข้มข้นสุดท้าย 20 เปอร์เซ็นต์ แล้วนำไปเก็บที่อุณหภูมิ -80 องศาเซลเซียส

2.3 การคัดกรองยีสต์ไขมันสูงโดยใช้วิธี Nile red fluorescence assay

วิธีนี้ถูกนำมาใช้เพื่อตรวจสอบศักยภาพของยีสต์ในการสะสมไขมันโดยเป็นวิธี high throughput ที่สามารถทำการทดสอบกับยีสต์ได้ครั้งละหลายไอโซเลท (Sitepu *et al.*, 2012) จึงเหมาะสำหรับนำมาใช้ในการคัดกรองคุณสมบัติของยีสต์ที่ต้องการ วิธีนี้ทำได้โดยเริ่มจากการเตรียมหัวเชื้อโดยนำไอโซเลทของยีสต์จากตัวอย่างดินและซากใบไม้ที่แยกได้ และ *Saccharomyces cerevisiae* (ชุดควบคุมผลลบ) โดยเชื้อโคโลนีเดี่ยวของแต่ละไอโซเลท ๆ ละ 2-3 โคโลนี ใส่ลงในอาหารเหลว YEPD 10 มิลลิลิตร บ่มที่อุณหภูมิ 30 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 24 ชั่วโมง เขย่าด้วยความเร็ว 150 รอบต่อนาที จากนั้นย้ายหัวเชื้อปริมาตร 1 มิลลิลิตร ใส่ลงในอาหารเหลว DMY (dextrose 40 กรัมต่อลิตร, $MgSO_4 \cdot 7H_2O$ 0.5 กรัมต่อลิตร, yeast extract 3 กรัมต่อลิตร, KH_2PO_4 8 กรัมต่อลิตร) 20 มิลลิลิตร นำไปบ่มที่อุณหภูมิ 30 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 3 วัน โดยการเขย่า

ด้วยความเร็ว 150 รอบต่อนาที เมื่อบ่มครบ 3 วัน ให้ย้ายเชื้อยีสต์มาใส่ในอาหารเหลว DMY 10 มิลลิลิตร และปรับให้มีค่าความขุ่น ($OD_{600\text{ nm}}$) เริ่มต้นเท่ากับ 1.0 จากนั้นเตรียมชุดทดสอบ (ไอโซเลทละ 3 ข้าง) (Sitepu *et al.*, 2012) โดยเปิดเซลล์แขวนลอยของไอโซเลทยีสต์ที่ปรับค่าความขุ่น ($OD_{600\text{ nm}}$) เริ่มต้นเท่ากับ 1.0 แล้วปริมาตร 250 ไมโครลิตร ผสมกับ DMSO/อาหารเหลว DMY (1:1, โดยปริมาตรต่อปริมาตร) ปริมาตร 25 ไมโครลิตร จากนั้นเติมสารละลาย Nile red ให้มีความเข้มข้นสุดท้ายเท่ากับ 5 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร และเตรียมชุดควบคุมผลลบโดยใช้เซลล์แขวนลอยของเชื้อ *S. cerevisiae* แทนยีสต์แต่ละไอโซเลท จากนั้นเปิดเซลล์แขวนลอยของเชื้อยีสต์ที่เป็นชุดทดลองและชุดควบคุมผลลบ ตัวอย่างละ 200 ไมโครลิตร ใส่ลงไปในหลุมของ 96-well black microplate แล้วนำไปตรวจดูการสะสมไขมันของยีสต์โดยวัดค่าความเข้มของแสงฟลูออเรสเซนซ์ เพื่อประเมินปริมาณไขมันภายในเซลล์ยีสต์ด้วยเครื่อง Fluorescence spectrophotometer (Cary Eclipse, Agilent Technologies, USA) โดยตั้งค่าความยาวคลื่นที่ใช้กระตุ้นที่ 530 นาโนเมตร และค่าความยาวคลื่นที่คายแสงที่ 590 นาโนเมตร คัดเลือกไอโซเลทของยีสต์ที่มีความเข้มของแสงฟลูออเรสเซนซ์สูงกว่าชุดควบคุมผลลบ (*S. cerevisiae*) ไปตรวจดูการสะสมไขมันโดยการย้อมสี Sudan Black B ต่อไป

2.4 การวิเคราะห์ความสามารถในการสะสมไขมันของยีสต์ด้วยวิธีย้อมสี Sudan Black B

นำไอโซเลทยีสต์ที่ถูกคัดกรองมาแล้วโดยวิธี Nile red fluorescence assay มาทำการย้อมสี Sudan Black B เพื่อยืนยันความสามารถของยีสต์ในการสะสมไขมันภายในเซลล์ (Burdon, 1946; Jape *et al.*, 2014) วิธีนี้ทำได้โดยเริ่มจากการนำไอโซเลทของยีสต์มาเลี้ยงในอาหารเหลว DMY 20 มิลลิลิตร บ่มที่อุณหภูมิ 30 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 6 วัน เขย่าด้วยความเร็ว 150 รอบต่อนาที เก็บเซลล์ยีสต์มาเกลี่ยบนแผ่นสไลด์ รอแห้ง จากนั้นนำสไลด์ไปผ่านเปลวไฟเพื่อตรึงเซลล์ จากนั้นทำการย้อมสี 0.3 เปอร์เซ็นต์ Sudan Black B ทั้งไว้ให้ท่วมรอยเกลี่ย ทั้งไว้ 15 นาที เทสีทิ้งแล้วชะด้วยสีย้อม 0.5 เปอร์เซ็นต์ Safranin O จากนั้นหยดสีย้อม 0.5 เปอร์เซ็นต์ Safranin O ทั้งไว้ 30 วินาที ล้างออกด้วยน้ำ แล้วซับให้แห้ง (Burdon, 1946; Jape *et al.*, 2014) ตรวจดูสไลด์ภายใต้กล้องจุลทรรศน์ โดยใช้เลนส์ใกล้วัตถุกำลังขยาย 100X ตรวจดูการสะสมไขมันภายในเซลล์ยีสต์ซึ่งจะติดสีเทาเข้มหรือดำของสีย้อม Sudan Black B และภายในไซโทพลาสซึมที่ติดสีแดงของ Safranin O

2.5 การวิเคราะห์การเจริญและการสะสมไขมันของยีสต์โดยการเพาะเลี้ยงแบบ Batch

เตรียมหัวเชื้อยีสต์โดยเชื้อโคโลนีเดี่ยวของยีสต์ลงในอาหารเหลว YEYP 10 มิลลิลิตร บ่มที่อุณหภูมิ 30 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 24 ชั่วโมง เขย่าด้วยความเร็ว 150 รอบต่อนาที ถ่ายหัวเชื้อปริมาตร 1 มิลลิลิตร ลงในอาหารเหลว DMY 50 มิลลิลิตร บ่มที่อุณหภูมิ 30 องศาเซลเซียส เขย่าด้วยความเร็ว 150 รอบต่อนาที เป็นเวลา 5 วัน เก็บเซลล์ทั้งหมดในแต่ละฟลasks มาใส่ลงในหลอดเซนตริฟิวจ์ ล้างเซลล์โดยใช้น้ำกลั่นปลอดเชื้อ จำนวน 2 ครั้ง ๆ ละ 20 มิลลิลิตร นำไปปั่นเหวี่ยงที่อุณหภูมิ 4 องศาเซลเซียส 5000 x g เป็นเวลา 10 นาที จากนั้นแขวนลอยเซลล์ในน้ำกลั่นอีกครั้งแล้วนำไปอบแห้งในตู้อบลมร้อน (hot air oven) ที่อุณหภูมิ 60 องศาเซลเซียส จนได้น้ำหนักคงที่ บันทึกน้ำหนักชีวมวลแห้ง

นำเซลล์แห้งมาสกัดไขมัน (Castanha *et al.*, 2013; Tapia *et al.*, 2012) โดยเติมสารละลายกรดไฮโดรคลอริก 2 โมลาร์ ในอัตราส่วน 10:1 โดยปริมาตรต่อน้ำหนัก ตั้ทิ้งไว้เป็นเวลา 1 ชั่วโมง ปั่นเหวี่ยงที่ 6000 x g เป็นเวลา 15 นาที จากนั้นนำเซลล์ที่ได้มาแขวนลอยในน้ำกลั่นปลอดเชื้อ, เมทานอล และคลอโรฟอร์มในอัตราส่วน 4:10:5 โดยปริมาตร ปั่นเหวี่ยงที่ 180 x g อุณหภูมิห้องเป็นเวลา 2 นาที เก็บของเหลวในชั้นคลอโรฟอร์มมาระเหยคลอโรฟอร์มออกให้หมด แล้วเก็บส่วนไขมันมาอบแห้งในตู้อบลมร้อน ที่อุณหภูมิ 60 องศาเซลเซียส จนได้น้ำหนักคงที่ นำตัวอย่างไขมันที่ได้มาชั่งน้ำหนัก คำนวณปริมาณไขมันจากน้ำหนักไขมันที่ได้ต่อปริมาตรอาหาร 1 ลิตร และคำนวณน้ำหนักไขมันที่ได้ต่อน้ำหนักชีวมวลแห้ง 100 กรัม

2.6 การจำแนกชนิดของยีสต์โดยอาศัยข้อมูลลำดับนิวคลีโอไทด์บริเวณ ITS1- 5.8S rDNA - ITS2

2.6.1 การเลี้ยงเชื้อยีสต์และการสกัดจีโนมิกดีเอ็นเอ

เชื้อโคโลนีเดี่ยวของยีสต์ที่อยู่บนอาหารแข็ง YEYP มา 2-3 โคโลนี ใส่ลงในอาหารเหลว YEYP ปริมาตร 25 มิลลิลิตร นำไปบ่มที่อุณหภูมิ 30 องศาเซลเซียส เขย่าด้วยความเร็ว 150 รอบต่อนาที เป็นเวลา 1 วัน เก็บเซลล์มาสกัดจีโนมิกดีเอ็นเอโดยใช้ชุดสกัดดีเอ็นเอสำเร็จรูป Nucleic acid extraction kit (Vivantis, Malaysia) เก็บดีเอ็นเอที่อุณหภูมิ -20 องศาเซลเซียส เพื่อใช้สำหรับเป็นดีเอ็นเอต้นแบบ (template) ในปฏิกิริยา Polymerase Chain Reaction (PCR)

2.6.2 การเพิ่มปริมาณยีน ITS1- 5.8S rDNA - ITS2 โดยวิธี PCR

เตรียมส่วนผสมสำหรับปฏิกิริยา PCR โดยมีจีโนมิก ดีเอ็นเอของยีสต์ 500 นาโนกรัม เป็นดีเอ็นเอต้นแบบ และ ใช้คู่ไพรเมอร์ ITS1 (5'- TCCGTAGGTGAACCTGCGG -3') และ ITS4 (5'- TCCTCCGCTTAT TGATATGC -3') (White *et al.*, 1990) อย่างละ 0.5 ไมโครโมลาร์, 2.5 U *Taq* polymerase, 0.2 ไมโครโมลาร์ dNTP และ 1.5 มิลลิโมลาร์ $MgCl_2$ ดำเนินปฏิกิริยา PCR ในเครื่อง Thermal cycler (T-Gradient, Biometra®, Germany) ภายใต้สภาวะดังนี้ 94 องศาเซลเซียส 3 นาที (1 รอบ); 94 องศาเซลเซียส 45 วินาที, 53 องศาเซลเซียส 30 วินาที, 72 องศาเซลเซียส 45 วินาที (30 รอบ); และ 72 องศาเซลเซียส 5 นาที (1 รอบ) ตรวจสอบขนาดของผลผลิตพีซีอาร์ (PCR product) โดยวิธีอะกาโรสเจลอิเล็กโตรโฟรีซิส โดยใช้ 1.2 เปอร์เซ็นต์ อะกาโรสเจล โดยมี SYBR® Safe DNA Gel Stain (Invitrogen, USA) ในการย้อมดีเอ็นเอ และใช้ VC 100 bp plus DNA ladder เป็น marker สำหรับเทียบขนาดดีเอ็นเอ และให้กระแสไฟฟ้าโดยใช้ความต่างศักย์ที่ 80 โวลต์ เป็นเวลา 40 นาทีและถ่ายภาพโดยใช้ Omega Fluor Plus™ Gel Documentation System (Aplegen, USA)

2.6.3 การวิเคราะห์ข้อมูลลำดับนิวคลีโอไทด์

นำผลผลิตพีซีอาร์มาทำให้บริสุทธิ์ด้วย PCR clean-up kit (Vivantis, Malaysia) ก่อนส่งไปวิเคราะห์หาลำดับนิวคลีโอไทด์ ข้อมูลลำดับนิวคลีโอไทด์ที่ได้ถูกนำมาตรวจสอบแก้ไขโดยใช้โปรแกรม BioEdit 7.2 (Hall, 2013) แล้วนำไปวิเคราะห์เปรียบเทียบความคล้ายคลึงกับลำดับนิวคลีโอไทด์บนฐานข้อมูล Genbank โดยใช้โปรแกรม nucleotide BLAST เพื่อระบุแท็กซอนของยีสต์ไขมันสูงที่ศึกษา และดำเนินการฝากเก็บข้อมูลลำดับ นิวคลีโอไทด์บริเวณ ITS1- 5.8S rDNA - ITS2 ของยีสต์ที่ศึกษาไว้ในฐานข้อมูล Genbank โดยมี Accession No. OR658437

3. ผลการวิจัยและวิจารณ์ผล

3.1 การเก็บตัวอย่างและการแยกยีสต์จากดินและซากใบไม้บริเวณป่าชายเลน

จากการแยกยีสต์จากตัวอย่างดินและซากใบไม้ที่เก็บจากบริเวณป่าชายเลน จำนวน 10 ตัวอย่าง มาเติมลงในอาหารเหลว YEPD บ่มที่อุณหภูมิ 30 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 3 วัน ภายใต้สภาวะเขย่า จากนั้นนำตัวอย่างมา

เจือจางและเกลี่ยลงบนอาหารแข็ง YEPD บ่มที่อุณหภูมิ 30 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 2 วัน สามารถคัดเลือกโคโลนียีสต์ที่มีลักษณะแตกต่างกันบนอาหารแข็ง YEPD มาแยกให้เป็นเชื้อบริสุทธิ์ได้ทั้งหมด 38 ไอโซเลท โดยแบ่งเป็นยีสต์ที่แยกได้จากซากใบไม้จำนวน 11 ไอโซเลท ได้แก่ DL1-DL11 และยีสต์ที่แยกได้จากดินจำนวน 27 ไอโซเลท ได้แก่ S1-S27 เมื่อศึกษาลักษณะทางสัณฐานวิทยาของโคโลนียีสต์ทั้ง 38 ไอโซเลท พบว่ามีลักษณะโคโลนีที่ต่างกัน 7 แบบ โดยทุกไอโซเลทมีโคโลนีสีขาว ทึบแสง และไอโซเลทยีสต์ส่วนใหญ่ (คิดเป็น 42.11 เปอร์เซ็นต์ของไอโซเลทยีสต์ทั้งหมด) มีโคโลนีรูปร่างกลม (circular) หนูนูนมาจากผิวหน้าอาหารเล็กน้อย (convex) ขอบเรียบ (entire) ผิวหน้าเรียบ (smooth) มีขนาดตั้งแต่ 2.8-4.0 มิลลิเมตร (Table 1) และเมื่อศึกษาลักษณะเซลล์ภายใต้กล้องจุลทรรศน์โดยการทำเว็ทเมานต์ (wet mount) พบว่าทุกไอโซเลทมีการสืบพันธุ์แบบไม่อาศัยเพศด้วยการแตกหน่อ (budding) ไอโซเลทส่วนใหญ่ (คิดเป็น 42.11 เปอร์เซ็นต์ของไอโซเลทยีสต์ทั้งหมด) มีเซลล์รูปร่างรี (ellipsoidal) และมีไอโซเลทยีสต์ร้อยละ 47.36 ของไอโซเลททั้งหมดสามารถสร้างเส้นใยเทียม (pseudohyphae) (Table 2) ยีสต์เป็นฟงไจที่มีการดำรงชีพแบบเซลล์เดี่ยว โดยมีทั้งชนิดที่มีการแบ่งเซลล์โดยการแตกหน่อและชนิดที่มีการแบ่งเซลล์ตามขวาง (fission) อีกทั้งยังมียีสต์หลายชนิดที่สามารถสร้างเส้นใยแท้และเส้นใยเทียมได้ (Satyanarayana and Kunze, 2009) ยีสต์สามารถพบได้ทั่วไปในธรรมชาติทั้งบนบกและในน้ำ โดยก่อนหน้านี้มีรายงานการพบยีสต์จากตัวอย่างหลายชนิดจากป่าชายเลน เช่น กิ่งไม้ร่วง เปลือกไม้ และลูกไม้ร่วง (Prasatsri, 2006) ตัวอย่างน้ำ ตะกอนดิน น้ำกร่อย ใบไม้ ดอกไม้ รากไม้ ซากใบไม้ (Chanklan *et al.*, 2012) น้ำ ดิน วัสดุชีวภาพที่เน่าเปื่อย (Hoondae *et al.*, 2019) ตะกอนดิน ใบผล และรากหายใจของต้นลำแพน (*Sonneratia alba*) (Lee *et al.*, 2020) เป็นต้น เช่นเดียวกับในการศึกษาครั้งนี้ที่พบยีสต์จากตัวอย่างดินและซากใบไม้ที่เก็บมาจากป่าชายเลน

Table 1 Colony morphology of yeasts isolated from soil and decaying leaf samples when grown on YEPD agar at 30°C for 2 days. Frequency of yeast isolates for each colony morphology are also shown here.

Colony morphology						No. of yeast isolates	Frequency of yeast isolates
Form	Elevation	Margin	Surface	Color/ Opacity	Size (mm)		
circular	convex	entire	smooth	white / opaque	2.8 – 4.0	16	42.11
circular	convex	entire	glistening	white / opaque	2.7 – 3.0	5	13.16
circular	convex	entire	rough	white / opaque	2.8 – 3.3	2	5.26
circular	umbonate	entire	smooth	white / opaque	2.8 – 3.5	3	7.89
spindle	convex	erose	rough	white / opaque	3.0 – 3.5	7	18.42
irregular	raised	undulate	wrinkled	white / opaque	4.0 - 4.8	2	5.26
irregular	umbonate	undulate	rough	white / opaque	2.7 – 4.0	3	7.89
Total						38	100

Table 2 Microscopic characteristics of isolated yeasts when grown on YEPD agar at 30°C for 2 days. Frequency of yeast isolates for each cell morphology are also shown here.

Cell shape	Presence of Budding	Pseudohyphae formation	No. of yeast isolates	Frequency of yeast isolates
ellipsoidal	+	-	16	42.11
ellipsoidal	+	+	15	39.47
spherical	+	-	4	10.53
spherical	+	+	2	5.26
ellipsoidal and spherical	+	+	1	2.63
Total			38	100

Note : + means presence, - means absence

3.2 การคัดกรองยีสต์ไขมันสูงและการวิเคราะห์ความสามารถในการสะสมไขมันของยีสต์

เมื่อนำยีสต์ที่แยกได้มาเพาะเลี้ยงในอาหารเหลว DMY บ่มที่อุณหภูมิ 30 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 3 วัน ภายใต้สภาวะเขย่า แล้วเก็บเซลล์ยีสต์มาคัดกรองยีสต์ไขมันสูงโดยวิธี Nile red fluorescence assay พบว่าจากยีสต์ทั้งหมด 38 ไอโซเลท มีเพียง 5 ไอโซเลท ได้แก่ DL5, S7, S8, S10 และ S26 ที่มีค่าสัญญาณฟลูออเรสเซนซ์สูงกว่า *S. cerevisiae* ที่เป็นชุดควบคุมผลลบอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p < 0.05$) โดยไอโซเลท DL5 มีค่าสัญญาณฟลูออเรสเซนซ์สูงที่สุด ซึ่งเป็นการบ่งชี้ว่าไอโซเลท DL5 มีศักยภาพในการสะสมไขมันสูงกว่าไอโซเลทอื่น ๆ (Figure 1) วิธี Nile red fluorescence assay เป็นเทคนิคของการใช้สี Nile red ที่มีคุณสมบัติละลายได้ในไขมันและเรืองแสงได้ เป็นเทคนิครวดเร็วที่ใช้

ประเมินการสะสมไขมันภายในเซลล์ยีสต์ได้ โดยระดับความเข้มแสงของสัญญาณฟลูออเรสเซนซ์จะแปรผันตรงกับปริมาณไขมันภายในเซลล์ ทำให้สามารถคัดเลือกไอโซเลทของยีสต์ที่มีศักยภาพสูงสุดในการสะสมไขมันได้ (Sitepu *et al.*, 2012)

ต่อมาเมื่อนำยีสต์ทั้ง 5 ไอโซเลทมาวิเคราะห์ความสามารถในการสะสมไขมันภายในเซลล์ด้วยการย้อมสี Sudan Black B โดยหากยีสต์มีความสามารถในการสะสมไขมันได้จะพบการติดสีเทาเข้มหรือดำของสีย้อม Sudan Black B และบริเวณอื่นภายในไฮโดพลาสซึมที่ไม่มีการสะสมไขมันจะติดสีแดงของ Safranin O ซึ่งผลการทดลองที่ได้คือมีเพียงไอโซเลท DL5 ที่พบการสะสมไขมันภายในเซลล์ที่ชัดเจนกว่ายีสต์ไอโซเลทอื่น ๆ เนื่องจากสังเกตเห็นถุงสะสมไขมันรูปร่างกลม ติดสีเทาเข้มของ Sudan Black B อย่างชัดเจน (Figure 2) Sudan Black B เป็นสีย้อมที่นิยมใช้สำหรับการย้อมดูการสะสมไขมันภายในเซลล์ โดยเป็นสี

ชนิด Azo dye ที่ใช้ย้อมไขมันได้ทั้งชนิดที่เป็นไตรกลีเซอไรด์ และฟอสโฟลิพิด โดยเมื่อสังเกตดูภายใต้กล้องจุลทรรศน์แบบใช้แสงจะเห็นไขมันที่สะสมอยู่ในถุงสะสมไขมันของเซลล์ติดสีดำของ Sudan Black B และบริเวณอื่นภายในไซโทพลาสซึมติดสีแดงของ Safranin O (Mokobi, 2022)

มีงานวิจัยก่อนหน้านี้ที่ใช้วิธีข้างต้นในการคัดกรองยีสต์ไขมันสูง ดังรายงานของ Amornrattanapan and Thongthep (2019) ที่ใช้สีย้อม Sudan Black B ร่วมกับวิธี Nile red fluorescence assay ในการวิเคราะห์ความสามารถในการสะสมไขมันภายในเซลล์ยีสต์ที่แยกได้จากตัวอย่างใบไม้และดินบริเวณป่าชายเลน จังหวัดชลบุรี พบว่ามียีสต์ 7 ไอโซเลทจากทั้งหมด 26 ไอโซเลท ที่พบการสะสมไขมันภายในเซลล์ งานวิจัยของ Chomchuen *et al.* (2021) ที่ใช้สีย้อม Sudan Black B ร่วมกับวิธี Nile red fluorescence assay ในการคัดกรองยีสต์ไขมันสูงที่แยกได้จากดินบริเวณอ่างเก็บน้ำบางพระ จังหวัดชลบุรี พบว่ามียีสต์ 8 ไอโซเลทจากทั้งหมด 39 ไอโซเลทที่มีศักยภาพในการสะสมไขมันสูง งานวิจัยของ Sriwongchai *et al.* (2018) ที่ใช้สีย้อม Sudan Black B ย้อมไขมันภายในเซลล์ยีสต์ที่แยกได้จากตัวอย่างดินป่าชายเลนในเขตภาคตะวันออกของประเทศไทย พบว่ามียีสต์ 23 ไอโซเลทจากทั้งหมด 51

ไอโซเลทที่พบการสะสมไขมันภายในเซลล์ งานวิจัยของ Berikten *et al.* (2021) ที่ใช้ Sudan Black B ในการตรวจสอบการสะสมไขมันในยีสต์ 92 สายพันธุ์ พบว่ามียีสต์ 62 สายพันธุ์ที่มีศักยภาพในการสะสมไขมันภายในเซลล์ และงานวิจัยของ Miranda *et al.* (2020) ที่ใช้วิธี Nile red fluorescence assay ในการตรวจสอบการสะสมไขมันของยีสต์จำนวน 366 ไอโซเลท พบว่ามียีสต์ 19 ไอโซเลทที่มีความสามารถในการสะสมไขมันสูง โดยวิธีที่ใช้ Sudan Black B และ Nile red ในการตรวจสอบการสะสมไขมันในเซลล์ยีสต์นี้ให้ผลสอดคล้องกับปริมาณไขมันของยีสต์ที่สกัดออกมาจากเซลล์ซึ่งแสดงให้เห็นว่าวิธีเหล่านี้สามารถใช้ในการคัดกรองศักยภาพในการสะสมไขมันของยีสต์ได้ (Sitepu *et al.*, 2012; Miranda *et al.*, 2020; Jape *et al.*, 2014) อย่างไรก็ตาม ไม่มีงานวิจัยใดที่เปรียบเทียบวิธีที่ใช้ Sudan Black B และ Nile red กับวิธีอื่น เช่น Gas chromatography ในการตรวจสอบปริมาณไขมันภายในเซลล์ เนื่องจากวิธี Gas chromatography เหมาะสำหรับการนำมาใช้ในการวิเคราะห์ชนิดและปริมาณของกรดไขมันที่เป็นองค์ประกอบของไขมันที่สร้างโดยยีสต์ (Schulze *et al.*, 2014; Berikten *et al.*, 2021)

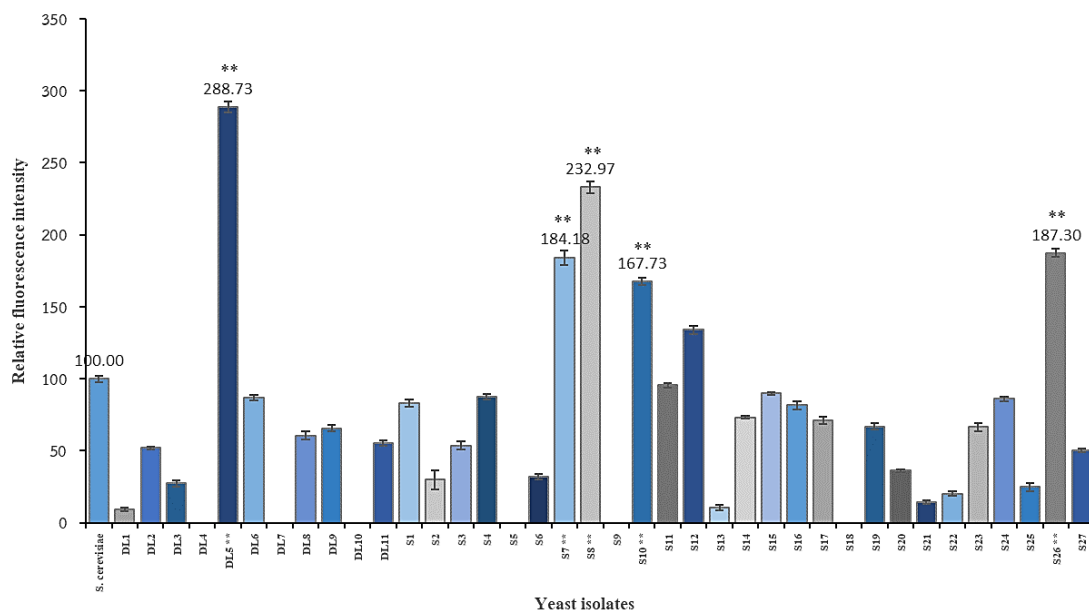


Figure 1 Relative fluorescence intensity of Nile red-stained isolated yeasts in comparison with that of a negative control, *S. cerevisiae*. Symbol ** indicates yeast isolates that showed significantly higher fluorescence intensity than *S. cerevisiae* ($p < 0.05$); Error bar represents the standard deviation of three replicates.

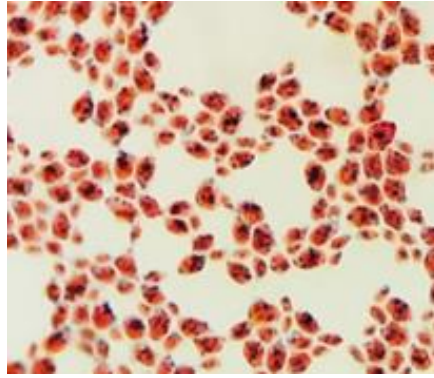


Figure 2 Microscopic image showing intracellular lipid accumulation in the isolate DL5 that were grown in DMY broth for 6 days and stained with Sudan Black B. (Total magnification; 1,000X)

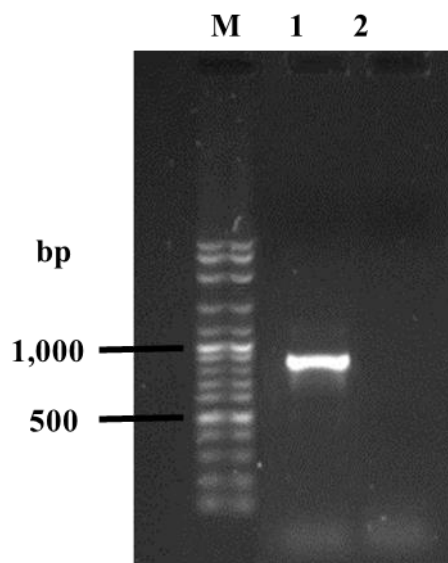


Figure 3 Agarose gel electrophoresis of PCR amplicon of ITS1- 5.8S rDNA - ITS2 of the isolate DL5. Lane M: VC 100 bp plus DNA ladder; Lane 1: PCR amplicon of ITS1- 5.8S rDNA - ITS2 using genomic DNA of the isolate DL5 as template; Lane 2: NTC (no template control)

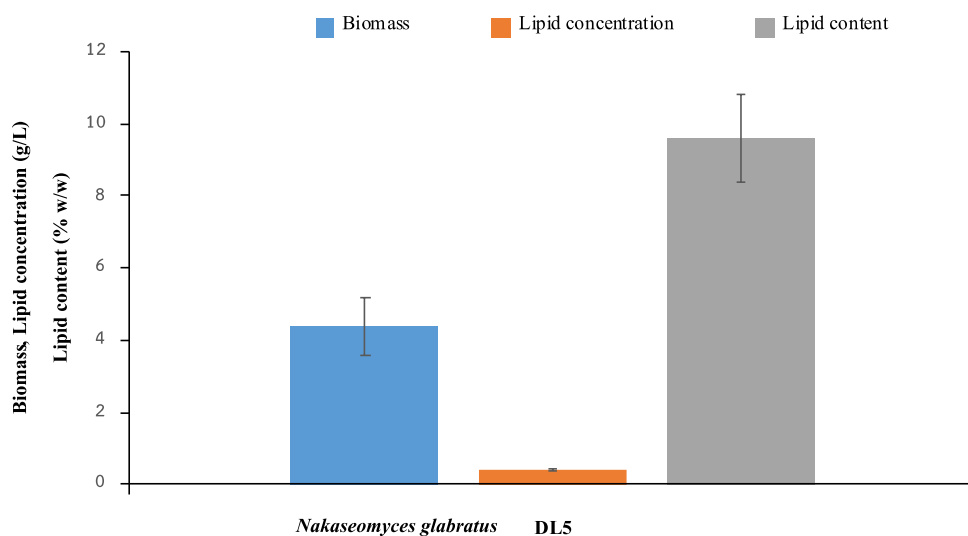
3.3 การจำแนกชนิดของยีสต์โดยวิธีทางอณูชีววิทยา

เนื่องจากไอโซเลท DL5 แสดงศักยภาพในการสะสมไขมันที่โดดเด่นกว่ายีสต์ไอโซเลทอื่น ๆ จึงได้นำไอโซเลท DL5 มาจัดจำแนกโดยการวิเคราะห์ลำดับนิวคลีโอไทด์บริเวณ ITS1- 5.8S rDNA - ITS2 พบว่าผลผลิตพีซีอาร์ มีขนาดประมาณ 850 คู่เบส (Figure 3)

จากการวิเคราะห์พบว่าบริเวณ ITS1- 5.8S rDNA - ITS2 ของไอโซเลท DL5 มีความคล้ายคลึงสูงสุด 100 เปอร์เซ็นต์เมื่อเทียบกับ *Nakaseomyces glabratus* (*Candida glabrata*) หลายสายพันธุ์รวมถึงสายพันธุ์ที่เป็น Type strain ได้แก่ CBS 138 และ ATCC 2001 (Table 3) จึงระบุแทกซอนของยีสต์ไอโซเลท DL5 เป็น *Nakaseomyces glabratus* (*Candida glabrata*)

Table 3 BLAST search results for nucleotide sequence of ITS1- 5.8S rDNA - ITS2 of the isolate DL5 in comparison with closely related strains in Genbank database.

No.	Accession no.	Genus / Species / Strains	%Coverage (279 bp)	%Identity
1	MH545922.1	<i>Nakaseomyces glabratus</i> CBS 138	100	100
2	CP048130.1	<i>Nakaseomyces glabratus</i> ATCC 2001	100	100
3	MN699479.1	<i>Nakaseomyces glabratus</i> isolate ITG22	100	100
4	MN540214.1	<i>Nakaseomyces glabratus</i> isolate L-3329/2012	100	100

**Figure 4** Biomass (g/L), lipid concentration (g/L) and lipid content (% of cell dry weight) of *N. glabratus* DL5 that was grown in DMY broth for 120 hours under a shaking condition. Error bar represents the standard deviation of three replicates.

ยีสต์ไอโซเลท DL5 จัดจำแนกได้เป็น *Nakaseomyces glabratus* จัดอยู่ใน Phylum Ascomycota, Class Saccharomycetes, Order Saccharomycetales และ Family Saccharomycetaceae เมื่อก่อนถูกเรียกว่า *Cryptococcus glabrata* จากนั้นถูกเปลี่ยนเป็น *Torulopsis glabrata* ต่อมาเป็น *Candida glabrata* และปัจจุบันเป็น *Nakaseomyces glabratus* ตามลำดับ (Kumar *et al.*, 2019) *N. glabratus* (*C. glabrata*) สามารถพบได้บริเวณพื้นผิวเยื่อของมนุษย์ เช่น ช่องปาก ทางเดินอาหาร ช่องคลอด ผิวหนัง หรือในอุจจาระ ซึ่งอาจปนเปื้อนไปอยู่ในสิ่งแวดล้อมทางธรรมชาติได้ (Gabaldón and Fairhead, 2018) จึงสามารถพบยีสต์ชนิดนี้ในตัวอย่างจากป้าชายเลนที่งานวิจัยนี้ศึกษา

3.4 การศึกษาการผลิตชีวมวลและการสะสมไขมันของยีสต์ *Nakaseomyces glabratus* DL5

จากการนำยีสต์ *N. glabratus* DL5 มาเพาะเลี้ยงในอาหารเหลว DMY บ่มที่อุณหภูมิ 30 องศาเซลเซียสเป็นเวลา 5 วัน ภายใต้สภาวะเขย่า จากนั้นเก็บเซลล์ทั้งหมดมาวิเคราะห์ชีวมวล พบว่า *N. glabratus* DL5 มีชีวมวลเท่ากับ 4.37 ± 0.82 กรัมต่อลิตร และเมื่อนำชีวมวลแห้งมาสกัดไขมันโดยใช้เมทานอลและคลอโรฟอร์ม พบว่ามีการผลิตไขมัน 0.41 ± 0.02 กรัมต่อลิตร และคิดเป็นปริมาณของไขมันต่อน้ำหนักชีวมวลแห้ง 9.61 ± 2.17 เปอร์เซ็นต์ ดังแสดงใน Figure 4

มีงานวิจัยที่ศึกษาการสะสมไขมันของ *N. glabratus* (*Candida glabrata*) มาก่อน โดย Berikten *et al.* (2021) รายงานว่า *C. glabrata* ที่นำมาศึกษาสามารถใช้กลีเซอรอลเป็นแหล่งคาร์บอนและสามารถสะสมไขมันได้ 5.54 ± 0.17 กรัมต่อลิตร คิดเป็นปริมาณไขมันเท่ากับ 44.34 ± 1.33 % ของน้ำหนักชีวมวลแห้ง ในสภาวะเขย่า 150 รอบต่อนาที ที่ 25 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 72 ชั่วโมง และมีงานวิจัยอื่น ๆ ที่แสดงให้เห็นปริมาณไขมันที่แตกต่างกันใน *Candida* สปีชีส์ต่าง ๆ โดย Thangavelu *et al.* (2021) รายงานว่า *Candida tropicalis* ASY2 สามารถผลิตและสะสมไขมันได้ 1.20 กรัมต่อลิตร คิดเป็นปริมาณไขมันเท่ากับ 48 เปอร์เซ็นต์ของน้ำหนักชีวมวลแห้งเมื่อใช้กลูโคสเป็นแหล่งคาร์บอน ในสภาวะเขย่า 150 รอบต่อนาที ที่ 30 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 5 วัน Kolouchová *et al.* (2015) รายงานว่า *Candida* sp. สามารถผลิตและสะสมไขมันได้ 1.58 กรัมต่อลิตร คิดเป็นปริมาณไขมันเท่ากับ 35.40 เปอร์เซ็นต์ของน้ำหนักชีวมวลแห้งเมื่อมีกลูโคสเป็นแหล่งคาร์บอน ในสภาวะเขย่า 150 รอบต่อนาที ที่ 28 องศาเซลเซียส จนถึง stationary phase การที่ปริมาณไขมันที่สะสมภายในเซลล์ยีสต์มีค่าแตกต่างกันนั้นอาจเป็นผลมาจากความแตกต่างของสายพันธุ์ยีสต์ การขาดแคลนสารอาหารบางชนิด และสภาวะในการเพาะเลี้ยงที่ต่างกัน เช่น อุณหภูมิ ค่าพีเอช ระยะเวลาในการเพาะเลี้ยง เป็นต้น (Sha, 2013; Fakankun *et al.*, 2019) อีกทั้งยังขึ้นอยู่กับปัจจัยภายในเซลล์ยีสต์ได้แก่ ยีนสำหรับเอนไซม์ที่เกี่ยวข้องกับเมแทบอลิซึมของการผลิตและสะสมไขมันภายในเซลล์ยีสต์ (Dourou *et al.*, 2018) อย่างไรก็ตาม จากผลการทดลองนี้ *N. glabratus* DL5 ยังมีปริมาณไขมันภายในเซลล์ที่สูงไม่ถึง 20 เปอร์เซ็นต์ของน้ำหนักชีวมวลแห้งที่เป็นขีดจำกัดขั้นต่ำของปริมาณไขมันที่นิยามให้พบในจุลินทรีย์ไขมันสูง ทั้งนี้เนื่องจากสภาวะที่เพาะเลี้ยงยีสต์ในงานวิจัยนี้อาจยังไม่เหมาะสมที่จะกระตุ้นให้ยีสต์สะสมไขมันได้ดี ดังนั้น การหาสภาวะที่เหมาะสมในการเพาะเลี้ยงยีสต์เพื่อให้สามารถผลิตและสะสมไขมันได้ในปริมาณสูงจึงเป็นประเด็นสำคัญที่ควรนำไปศึกษาเพิ่มเติมต่อไป

4. สรุป

งานวิจัยนี้แสดงให้เห็นว่าดินและซากใบไม้จากป่าชายเลนเป็นแหล่งอาศัยที่นาสนใจของยีสต์ที่มีประโยชน์ในทางเทคโนโลยีชีวภาพ โดยสามารถแยกยีสต์ได้ทั้งหมด 38 ไอโซเลท แบ่งเป็นยีสต์ที่แยกได้จากซากใบไม้ จำนวน 11 ไอโซเลท และยีสต์ที่แยกได้จากดิน จำนวน 27 ไอโซเลท เมื่อนำยีสต์ที่แยกได้ไปคัดกรองการสะสมไขมันโดยวิธี Nile

red fluorescence assay และตรวจดูการสะสมไขมันภายในเซลล์ยีสต์ด้วยการย้อมสี Sudan Black B พบว่า ไอโซเลท DL5 มีการสะสมไขมันภายในเซลล์สูงสุด ซึ่งจัดจำแนกได้เป็น *Nakaseomyces glabratus* จากการวิเคราะห์ลำดับนิวคลีโอไทด์บริเวณ ITS1- 5.8S rDNA - ITS2 เมื่อนำ *N. glabratus* DL5 ไปวิเคราะห์การผลิตชีวมวลและการสะสมไขมัน พบว่าที่เวลา 120 ชั่วโมงของการเพาะเลี้ยงในอาหารเหลว DMY *N. glabratus* DL5 ผลิตชีวมวลได้เท่ากับ 4.37 ± 0.82 กรัมต่อลิตร สะสมไขมันได้เท่ากับ 0.41 ± 0.02 กรัมต่อลิตร และคิดเป็นปริมาณไขมัน 9.61 ± 2.17 เปอร์เซ็นต์ของน้ำหนักชีวมวลแห้ง ซึ่งหากต้องการที่จะปรับปรุงการผลิตและสะสมไขมันของยีสต์สายพันธุ์นี้ ควรที่จะต้องศึกษาสภาวะที่เหมาะสมของปัจจัยต่าง ๆ เช่น อัตราส่วนของคาร์บอนต่อไนโตรเจน ชนิดและปริมาณของแหล่งคาร์บอนและแหล่งไนโตรเจน อุณหภูมิ ค่าพีเอช และระยะเวลาในการเพาะเลี้ยง เป็นต้น เพื่อให้สามารถนำไขมันจากยีสต์ไปใช้ประโยชน์ในด้านต่าง ๆ ไม่ว่าจะเป็นการผลิตเชื้อเพลิงชีวภาพหรือประโยชน์ในด้านอื่น ๆ ได้อย่างมีประสิทธิภาพต่อไป

5. เอกสารอ้างอิง

- Ageitos, J.M., Vallejo, J.A., Veiga-Crespo, P. and Villa, T.G. 2011. Oily yeasts as oleaginous cell factories. **Applied Microbiology and Biotechnology** 90(4): 1219-1227.
- Amornrattanapan, P. and Thongthep, P. 2019. Isolation and screening of oleaginous yeasts capable of using glycerol as a carbon source. **Ramkhamhaeng Research Journal of Sciences and Technology** 22(2): 61-70.
- Berikten, D., Hoşgün, E.Z., Gökdağ Otuzbiroğlu, A., Bozan, B. and Kivanç, M. 2021. Lipid production from crude glycerol by newly isolated oleaginous yeasts: Strain selection, molecular identification and fatty acid analysis. **Waste and Biomass Valorization** 12: 5461-5470.
- Burdon, K.L. 1946. Fatty material in bacteria and fungi revealed by staining dried and fixed slide preparations. **Journal of Bacteriology** 52(6): 665-678.
- Castanha, R.F., Morais, L.A.S., Mariano, A.P. and Monteiro, R.T.R. 2013. Comparison of two lipid extraction methods production methods

- produced by yeast in cheese whey. **Brazilian Archives of Biology and Technology** 56(4): 629-636.
- Chang, Y.H., Chang, K.S., Hsu, C.L., Chuang, L.T., Chen, C.Y., Huang, F.U. and Jang, H.D. 2013. A comparative study on batch and fed-batch cultures of oleaginous yeast *Cryptococcus* sp. in glucose-based media and corn cob hydrolysate for microbial oil production. **Fuel** 105(1): 711-717.
- Chanklan, R., Kungkaew, P., Am-In, S. and Jindamorakot, S. 2012. Diversity of yeasts in the Nature Education Center for mangrove Conservation and Ecotourism, Chonburi Province. **Thai Journal of Science and Technology** 1(3): 155-168. (in Thai)
- Chomchuen, S., Arkornnak, M. and Amornrattanapan, P. 2021. Isolation and identification of oleaginous yeasts from soils at Bang Phra Reservoir, Chonburi province. **Burapha Science Journal** 26(2): 886-906. (in Thai)
- Department of Alternative Energy Development and Efficiency. 2023. **Energy Situation in Thailand from January to May 2023**. Available Source: <https://kc.dede.go.th/knowledge-view.aspx?p=478>, September 20, 2023. (in Thai)
- Dourou, M., Aggeli, D., Papanikolaou, S. and Aggelis, G. 2018. Critical steps in carbon metabolism affecting lipid accumulation and their regulation in oleaginous microorganisms. **Applied Microbiology and Biotechnology** 102(6): 2509-2523.
- Fakankun, I., Mirzaei, M. and Levin, D.B. 2019. Impact of culture conditions on neutral lipid production by oleaginous yeast, pp. 311-325. In Balan, V., eds. **Microbial Lipid Production. Methods in Molecular Biology, Vol. 1995**. Humana, New York.
- Gabaldón, T. and Fairhead, C. 2018. Genomes shed light on the secret life of *Candida glabrata*: not so asexual, not so commensal. **Current Genetics** 65(1): 93-98.
- Hall, T. 2013. **BioEdit V7.2**. Available Source: <https://bioedit.software.informer.com/versions/>, February 10, 2022.
- Hoonddee, P., Wattanagonniyom, T., Weeraphan, T., Tanasupawat, S. and Savarajara, A. 2019. Occurrence of oleaginous yeast from mangrove forest in Thailand. **World Journal of Microbiology and Biotechnology** 35(7): 108.
- IEA. 2023. **World Energy Investment 2023**. Available Source: <https://www.iea.org/reports/world-energy-investment-2023>, September 20, 2023.
- Jaingam, S., Sanevas, N. and Sirikhachornkit, A. 2016. Lipid production of a yeast strain isolated from a mangrove forest in Thailand, pp. 553-557. In **The Proceedings of the 5th Marine Science Conference 2016**. Bangkok. (in Thai)
- Jape, A., Harsulkar, A. and Sapre, V.R. 2014. Modified Sudan Black B staining method for rapid screening of oleaginous marine yeasts. **International Journal of Current Microbiology and Applied Sciences** 3(9): 41-46.
- Kolouchová, I., Schreiberová, O., Sigler, K., Masák, J. and Řezanka, T. 2015. Biotransformation of volatile fatty acids by oleaginous and non-oleaginous yeast species. **FEMS Yeast Research** 15(7): fov076.
- Kumar, D., Singh, B. and Korstad, J. 2017. Utilization of lignocellulosic biomass by oleaginous yeast and bacteria for production of biodiesel and renewable diesel. **Renewable and Sustainable Energy Reviews** 73: 654-671.
- Kumar, K., Askari, F., Sahu, M. and Kaur R. 2019. *Candida glabrata*: A lot more than meets the eye. **Microorganisms** 7(2): 39.
- Lee, N.L.Y., Huang, D., Quek, Z.B.R., Lee, J.N. and Wainwright, B.J. 2020. Distinct fungal communities associated with different organs of the mangrove *Sonneratia alba* in the Malay Peninsula. **IMA Fungus** 11: 17.
- Limtong, S. 2006. **Yeasts: Diversity and Biotechnology**. Kasetsart University Press, Bangkok. (in Thai)

- Miranda, C., Bettencourt, S., Pozdniakova, T., Pereira, J., Sampaio, P., Franco-Duarte, R. and Pais, C. 2020. Modified high-throughput Nile red fluorescence assay for the rapid screening of oleaginous yeasts using acetic acid as carbon source. **BMC Microbiology** 20: 60.
- Mokobi, F. 2022. **Sudan Black B staining**. Available Source: <https://microbenotes.com/sudan-black-b-staining/>, October 28, 2022.
- Müller-Langer, F., Majer, S. and O'Keeffe, S. 2014. Benchmarking biofuels - a comparison of technical, economic and environmental indicators. **Energy Sustainability and Society** 4: 20.
- Pankin, K.E., Ivanova, Y.V., Kuz'mina, R.I. and Shtykov, S.N. 2011. Comparison of the physicochemical characteristics of biofuels and petroleum fuels. **Chemistry and Technology of Fuels and Oils** 47: 7-11.
- Papanikolaou, S., Chevalot, I., Komaitis, M., Marc, I. and Aggelis, G. 2001. Single cell oil production by *Yarrowia lipolytica* growing on an industrial derivative of animal fat in batch cultures. **Applied Microbiology and Biotechnology** 58(3): 308-312.
- Prasatsri, K. 2006. Identification of yeast isolated from organic matters in mangrove forests by conventional and molecular taxonomy. Master of Science (Microbiology), Kasetsart University. (in Thai)
- Ratlledge, C. 1997. Microbial Lipids, pp. 133-197. In Rehm, H.J., Reed, R., Pulher, A., Stadler, P., Kleinkauf, H. and von Dohren, H., eds. **Biotechnology: Products of Secondary Metabolism**. Wiley-VCH, Weinheim.
- Ratlledge, C. 2001. Regulation of lipid accumulation in oleaginous microorganisms. **Biochemical Society Transactions** 30: 1047-1050.
- Saran, S., Mathur, A., Dalal, J. and Saxena, R.K. 2017. Process optimization for cultivation and oil accumulation in an oleaginous yeast *Rhodospiridium toruloides* A29. **Fuel** 188: 324-331.
- Satyanarayana, T. and Kunze, G. 2009. **Yeast biotechnology: Diversity and applications** (1st ed). Springer, Dordrecht.
- Schulze, I., Hansen, S., Großhans, S., Rudszyk, T., Ochsenreither, K., Syldatk, C. and Neumann, A. 2014. Characterization of newly isolated oleaginous yeasts - *Cryptococcus podzolicus*, *Trichosporon porosum* and *Pichia segobiensis*. **AMB Express** 4: 24.
- Sha, Q. 2013. A comparative study on four oleaginous yeasts on their lipid accumulating capacity. Master of Science (Microbiology), Swedish University of Agricultural Science.
- Sitepu, I.R., Ignatia, L., Franz, A.K., Wong, D.M., Faulina, S.A., Tsui, M., Kanti, A. and Mills, K.B. 2012. An improved high-throughput Nile red fluorescence assay for estimating intracellular lipids in a variety of yeast species. **Journal of Microbiological Methods** 91: 321-328.
- Sriwongchai, S., Prasongsuk, S., Leerat, N. and Kitleartpornpaioat, R. 2018. Possibility of soil mangrove-derived oleaginous yeast *Rhodotorula mucilaginosa* on nutritionally optimized medium for lipid production for alternative biodiesel feedstock. **Burapha Science Journal** 23(1): 304-317. (in Thai)
- Tapia, E.V., Anschau, A.A., Coradini, A.L., Franco, T.T. and Deckmann, A.C. 2012. Optimization of lipid production by the oleaginous yeast *Lipomyces starkeyi* by random mutagenesis coupled to cerulenin screening. **AMB Express** 2: 64.
- Thangavelu, K., Sundararaju, P., Srinivasan, N. and Uthandi, S. 2021. Bioconversion of sago processing wastewater into biodiesel: Optimization of lipid production by an oleaginous yeast, *Candida tropicalis* ASY2 and its transesterification process using response surface methodology. **Microbial Cell Factories** 20: 167.
- White, T.J., Bruns, T., Lee, S.J.W.T. and Taylor, J. 1990. Amplification and direct sequencing of fungal ribosomal RNA genes for phylogenetics,

pp. 315 - 322. *In* Innis, M.A., Gelfand, D.H.,
Sninsky, J.J. and White, T.J., eds. **PCR
protocols: A Guide to Methods and
Applications**. Academic Press, New York.



Research Article

Rice (*Oryza sativa* L.) Seed Quality after Storage in the Humid Tropics and after Accelerated Aging

Pongsit Chor-unchun * and Vichai Wongvarodom

Agricultural Innovation and Management Division, Faculty of Natural Resources, Prince of Songkla University, Hat Yai Campus, Hat Yai, Songkhla 90112, Thailand.

ABSTRACT

Article history:

Received: 2023-06-11

Revised: 2023-12-01

Accepted: 2023-12-20

Keywords:

accelerated aging;

germination;

rice seed;

seed storability

Accelerated aging test (AA) has been applied as a technique to evaluate seed vigor and to predict seed storability. This study evaluated the storability and vigor of Sang Yod Phatthalung, Leb Nok Pattani, and Chaing Phatthalung rice seeds by the AA. The seeds were subjected to AA at 42, 44, 46, and 48°C for durations of 48, 72, 96, and 120 h at 100% relative humidity. The seeds were stored in woven plastic bags at room temperature (28±1°C) for 12 months, and were sampled for physical and physiological quality tests every two months. The results showed that Sang Yod Phatthalung, Leb Nok Pattani, and Chaing Phatthalung rice seeds had 94.75-97.25% germination and 9.05-9.98% seed moisture content, and could be stored in the humid tropics for six months with above 80% germination. It suggests that the appropriate AA conditions for the evaluation of rice seed storability in the humid tropics should be done at 46°C for 96 h and 100% relative humidity. This aging regime gave seed vigor separation among varieties with a germination gap of about 10%, while a greater classification (10-30%) occurred after aging at 44°C for 120 h. These AA regimes (46°C for 96 h) serve as a potential tool for predicting the seed storability and classifying rice seeds by their vigor.

© 2025 Chor-unchun, P. and Wongvarodom, V. Recent Science and Technology published by Rajamangala University of Technology Srivijaya

1. Introduction

Nowadays, the adverse planting conditions resulting from climate change or global warming are of concern to farmers. High-quality seeds are the most important fundamental factor in rice cultivation, significantly determining the yield and income of farmers. High emergence capacity and maintenance of high germination during storage are the two main characteristics of high vigor seeds. However, the seeds

begin to deteriorate after physiological maturity and continue to do so during further storage (Duangpatra, 1986). The seeds used in the humid tropics of Thailand will require storage up to the next planting season, for about 5-8 months (Rice Department, 2016). The germination ability of seeds stored in woven plastic bags under ambient conditions can last for a period ranging from three months (Sukkaew and Wongvarodom, 2022) to eight months (Alahakoon *et al.*,

* Corresponding author.

E-mail address: Pongsitchor@gmail.com

Cite this article as:

Chor-unchun, P. and Wongvarodom, V. 2025. Rice (*Oryza sativa* L.) Seed Quality after Storage in the Humid Tropics and after Accelerated Aging. **Recent Science and Technology** 17(1): 259351.

2021). Many seed vigor tests are needed to classify the vigor of any lot and to assess its relation to storage (Demir *et al.*, 2020). The accelerated aging (AA) test was initially employed to assess seed storage potential and longevity (Delouche and Baskin, 1973) and has since been utilized as a seed vigor descriptor in various crops (Hampton and TeKrony, 1995; AOSA, 2002). The AA test, in which seeds are placed in high relative humidity and elevated temperature for a specified duration, is intended to induce seed aging for subsequent standard germination test (ISTA, 2019). Different accelerated aging responses have been found in various crop seeds. Santipracha *et al.* (1997) suggested that the accelerated aging conditions of 100% relative humidity at 44°C for 96 h can be used to evaluate hybrid corn seed quality in the humid tropics. Accelerated aging at 45°C for 48, 72, and 120 h was shown to be practicable as a seed vigor test for many vegetable crops such as aubergine, cucumber, and melon, respectively (Demir *et al.*, 2004). Also, the accelerated aging conditions at 44°C for 72 h could be used in a rice seed vigor test (Chhetri, 2009).

However, accelerated aging studies to assess the potential of the test in evaluating rice seed's storability in the humid tropics and indicating seed vigor differences are scarce. Therefore, this study aims to investigate the seed quality after storage under ambient conditions in the humid tropics, and the responses of rice seeds and their quality to accelerated aging.

$$SGI = \frac{\text{number of normal seedlings}}{\text{days of first count}} + \dots + \frac{\text{number of normal seedlings}}{\text{days of final count}}$$

Seedling growth rate Seedling growth rate tests were conducted using twenty normal seedlings per replication from the first count germination evaluation. The shoot and root lengths were measured and calculated in cm per seedling. The seedling axis were separately dried at 80°C for 24 h. Dry seedlings were weighed and calculated as mg per seedling.

Accelerated aging The test was conducted according to the procedure described by Hampton and TeKrony (1995). Seeds were placed on a wire mesh tray inside

2. Materials and Methods

Seeds of Leb Nok Pattani, Chiang Phatthalung, and Sang Yod Phatthalung rice varieties were obtained from Phatthalung Rice Seed Center (production year 2020/2021). The seed quality test including moisture content, standard germination, speed of germination, and seedling growth rate was evaluated using four replicates (AOSA, 2001 and 2002), as follows.

Moisture content Twenty seeds per replication were weighed and tested for moisture content by drying them at 105°C for 24 h. The dry seeds were then weighed, and their moisture content was calculated as a percentage of the wet weight.

Standard germination Standard germination test was performed using one hundred seeds per replication on top of paper (TP) at 30 °C (Kapoor *et al.*, 2011; Santipracha, 2017). First and final counts were evaluated at 5, 10, and 14 days, respectively (ISTA, 2019).

Speed of germination Seedlings that exhibited normal growth at 5, 10, and 14 days after germinating in the standard germination test were used to calculate the Speed of Germination Index (SGI) (AOSA, 2002), with the following formula:

a plastic box over water. The tightly closed plastic boxes were incubated in an oven at 42, 44, 46, and 48°C. After 48, 72, 96, and 120 h of accelerated aging, the seed quality was conducted similarly to that for the unaged seeds.

Seed storage These seeds were contained in woven plastic bags and stored in ambient conditions (28±1°C) in a room at the Phatthalung Rice Seed Center's warehouse. The average relative humidity and temperature in the room were 72-81% and 26.3-29.0°C.

Seven storage durations were evaluated: 0, 2, 4, 6, 8, 10, and 12 months.

Quality indicators between unaged samples and those after accelerated aging were analyzed using a completely randomized design. The statistical significance of means was tested by Duncan's multiple range test (DMRT), with a significance level set at $p < 0.01$ using R software version 4.2.0.

3. Results and Discussion

3.1 Rice seed quality before storage

The rice seeds of Leb Nok Pattani, Chaing Phatthalung, and Sang Yod Phatthalung varieties, with moisture content ranging from 9.05% to 9.98%,

exhibited a germination rate in the range of 94.75% to 97.25% (Table 1). There was no significant difference ($p < 0.01$) among the three varieties in terms of seed vigor, as indicated by the Speed of Germination Index (18.68-19.42) or seedling dry weight (3.32-3.66 mg/seedling). However, there were notable variations in seedling growth concerning shoot and root length, with significant differences observed among the rice varieties. The shoot lengths of the varieties before storage ranged from 2.78 cm (Leb Nok Pattani) to 4.23 cm (Sang Yod Phatthalung), while the root lengths before storage ranged from 3.34 cm (Chaing Phatthalung) to 5.24 cm (Sang Yod Phatthalung).

Table 1 Moisture content, germination, Speed of Germination Index, shoot length, root length, and seedling dry weight of rice seeds of Leb Nok Pattani, Chaing Phatthalung, and Sang Yod Phatthalung varieties before storage

Variety	Moisture content (%)	Germination (%)	Speed of Germination Index	Shoot		Root		Seedling dry weight (mg/seedling)
				length		length		
				(cm/seedling)				
Leb Nok Pattani	9.05	97.25	19.42	2.78	b	3.40	b	3.66
Chaing Phatthalung	9.98	96.50	19.28	3.34	b	3.34	b	3.32
Sang Yod Phatthalung	9.71	94.75	18.68	4.23	a	5.24	a	3.47
F test	ns	ns	ns	**		**		ns
%CV	8.67	2.15	2.14	8.13		9.15		6.36

ns = non-significant; ** = significant at $p < 0.01$

Different letters in the same column indicate statistically significant differences at $p < 0.01$ by DMRT.

3.2 Rice seed quality after storage at room temperature in the humid tropical conditions

Seed moisture content after storage of Leb Nok Pattani and Sang Yod Phatthalung significantly ($p < 0.01$) increased from 9.05-9.71% to 12.00-12.08%, and varied depending on storage duration (Tables 2, 3, and 4). In contrast, the seeds of Chaing Phatthalung variety had no significant change in seed moisture content (8.35-11.30%). The germination of Leb Nok Pattani, Chaing Phatthalung, and Sang Yod Phatthalung decreased after six months of storage. Leb Nok Pattani (initially 97.25%), Chaing Phatthalung (96.50%) and Sang Yod Phatthalung (94.75%) could maintain germination above 80% for six months of storage. Seed germination rapidly decreased after storage for eight

months. A similar result was found for the Speed of Germination Index, which drastically declined from the initial range of 18.68-19.42 to 1.70-6.15 after storage for eight months. Prolonged storage reduced seedling growth rates in terms of shoot length, root length, and seedling dry weight for both Leb Nok Pattani and Chaing Phatthalung when stored for eight months. In contrast, those of Sang Yod Phatthalung decreased after storage for six months (Tables 2, 3, and 4).

Rapid seed deterioration of rice during storage in the humid tropics is a crucial problem for seed producers and farmers due to the high relative humidity (more than 80%) and high temperature (average 30°C) in a typical ambient storage environment (Chuthamat *et al.*, 2009). This study found that the rice

seeds with 9.05-9.98% initial moisture content and 94.75-97.25% germination could be maintained for germination above 80% only for up to six months. This result aligns with the earlier reports by Santipracha and Santipracha (1998) and Choudhury and Rajanna (2011), who found that rice seeds stored at room temperature maintained a standard germination rate of 80% after six months, despite the various factors influencing seed quality during storage (Tang and Ngome, 2015; Nabila *et al.*, 2016; Songkrait *et al.*, 2019; Oke *et al.*, 2020). The severe storage conditions in the humid tropics cause a raise in seed moisture content and respiratory activity during storage, which increases biochemical levels of hydrolytic enzyme activity, free fatty acids, and enzymes, causing a

speedy rate of deterioration (Perveen *et al.*, 2010; Sudhakaran, 2020). Moreover, during seed deterioration, free radicals increase as a result of lipid peroxidation, stimulating damage to enzymes that are important for transforming stored reserve in the embryo into a usable form, thus affecting the production of normal seedlings (Iqbal *et al.*, 2002). The decrease in energy supply necessary for germination is caused by free radicals which damage the mitochondrial membrane, thereby rapidly reducing seed germination (Santipracha, 1997; Gidrol *et al.*, 1998; Zhang *et al.*, 2021). Therefore, additional evaluations of appropriate storage protocols in humid tropics are needed to maintain rice seed quality under storage until the planting date.

Table 2 Moisture content, germination, Speed of Germination Index, shoot length, root length, and seedling dry weight of Leb Nok Pattani rice seeds after different storage periods at ambient conditions

Storage period (months)	Moisture content (%)		Germination (%)		Speed of			Root			Seedling	
					Germination Index	Shoot length		length		dry weight		
						(cm/seedling)				(mg/seedling)		
0	9.05	c	97.25	a	19.42	a	2.78	b	3.40	ab	3.66	ab
2	12.00	a	95.75	a	19.10	a	4.02	a	3.05	b	3.88	a
4	9.74	bc	94.75	a	18.82	a	3.74	a	3.97	a	3.42	b
6	10.49	abc	86.00	b	17.02	b	3.65	a	3.92	a	3.39	b
8	11.20	ab	14.00	c	2.38	c	2.21	c	2.99	b	2.08	c
10	11.12	ab	0.00	d	0.00	d	0.00	d	0.00	c	0.00	d
12	11.31	ab	0.00	d	0.00	d	0.00	d	0.00	c	0.00	d
F test	**		**		**		**		**		**	
%CV	7.25		3.90		3.81		7.62		12.49		8.84	

** = significant at $p < 0.01$

Different letters in the same column indicate statistically significant differences at $p < 0.01$ by DMRT.

Table 3 Moisture content, germination, Speed of Germination Index, shoot length, root length, and seedling dry weight of Chaing Phatthalung rice seeds after different storage periods at ambient conditions

Storage period (months)	Moisture content (%)	Germination (%)		Speed of Germination Index		Shoot		Root length		Seedling	
						length				dry weight	
						(cm/seedling)				(mg/seedling)	
0	9.98	96.50	a	19.28	a	3.34	c	3.34	bc	3.32	ab
2	10.87	96.00	a	19.20	a	4.46	a	4.06	a	3.67	a
4	10.51	91.00	b	17.98	b	4.02	b	2.93	cd	3.08	b
6	8.35	79.75	c	15.84	c	4.10	ab	3.92	ab	3.40	ab
8	10.92	8.50	d	1.70	d	2.02	d	2.34	d	1.87	c
10	10.65	0.00	e	0.00	e	0.00	e	0.00	e	0.00	d
12	11.30	0.00	e	0.00	e	0.00	e	0.00	e	0.00	d
F test	ns	**		**		**		**		**	
%CV	13.31	4.59		4.49		7.50		14.21		9.75	

ns = non-significant; ** = significant at $p < 0.01$ Different letters in the same column indicate statistically significant differences at $p < 0.01$ by DMRT.**Table 4** Moisture content, germination, Speed of Germination Index, shoot length, root length, and seedling dry weight of Sang Yod Phatthalung rice seeds after different storage periods at ambient conditions

Storage period (months)	Moisture content (%)		Germination (%)		Speed of Germination Index		Shoot length		Root length		Seedling dry weight	
							(cm/seedling)		(cm/seedling)		(mg/seedling)	
0	9.71	d	94.75	ab	18.68	b	4.23	c	5.24	b	3.47	b
2	9.10	e	97.00	a	19.40	a	5.48	a	6.11	a	4.20	a
4	10.60	c	95.25	ab	19.05	ab	4.68	b	4.69	c	3.43	b
6	10.50	c	91.00	b	17.90	c	3.53	d	3.78	d	2.75	c
8	10.54	c	37.75	c	6.15	d	1.97	e	2.80	e	1.86	d
10	12.08	a	0.00	d	0.00	e	0.00	f	0.00	f	0.00	e
12	10.94	b	0.00	d	0.00	e	0.00	f	0.00	f	0.00	e
F test	**		**		**		**		**		**	
%CV	0.89		4.03		3.28		4.40		4.92		5.04	

** = significant at $p < 0.01$ Different letters in the same column indicate statistically significant differences at $p < 0.01$ by DMRT.

3.3 Rice seed quality after accelerated aging

The seed moisture content after accelerated aging had increased from the initial 9.05-9.98% to 16.62-33.97% and differed depending on aging temperature, duration, and rice variety (Tables 5, 6, and 7). Response patterns in the germination of rice seeds after accelerated aging also varied depending on those factors: aging temperature, duration, and variety. In terms of seed germination, the Leb Nok Pattani and Chaing Phatthalung varieties had almost the same responses to accelerated aging (Tables 5, 6, and 7), while the Sang Yod Phatthalung variety showed a very strong response at 42 °C with a dramatic reduction in germination from 94.75% to 71.75-42.00%. However, as the level of stress was raised (44 and 46 °C), the pattern of germination response to accelerated aging by Sang Yod Phatthalung was approximately similar to that of Leb Nok Pattani and Chaing Phatthalung. The remarkable reduction in germination for all varieties first started at an accelerated aging temperature of 44 °C over 120 h, mostly falling below 75% germination. However, the highest stress at 48 °C accelerated aging temperature led to a sharp decrease in germination for all rice seed varieties to very low values (Tables 5, 6, and 7). The same response pattern to accelerated aging regimes as seen in germination was also found in the Speed of Germination Index for all rice varieties. Accelerated aging reduced seedling growth rates in terms of root length and seedling dry weight for Leb Nok Pattani, in shoot length and seedling dry weight for Chaing Phatthalung at 44 °C for 120 h, and in shoot length and seedling dry weight for Sang Yod Phatthalung at 46 °C for 96 h. In addition, all these varieties showed a marked reduction under the more stressful aging conditions at 48 °C for 96 h.

The results indicate that the response of rice seeds to accelerated aging depends not only on the stress conditions (temperature and duration of AA) but

also varies by rice variety (Tables 5, 6 and 7). This agrees with earlier reports on hybrid corn and Bambara groundnut (Santipracha *et al.*, 1997; Wongvarodom and Naulkong, 2006). The results showed that seeds of the Sang Yod Phatthalung variety initially had a strong response at 42 °C with a dramatic reduction in germination from 94.75% to 71.75-42.00%, while the germination abilities of Leb Nok Pattani and Chaing Phatthalung seeds were still maintained at high levels. In addition, the rice seeds of all varieties showed a very mild response to an AA duration of 48 h at most of the temperature levels tested. However, the same trend of germination response by all varieties tested, with a sharp decline in germination, was found at AA 44 and 46 °C for 72-120 h. Also, at the highest AA temperature studied (48 °C for 96-120 h), all the seeds lost their germination ability sharply, dropping to near zero (Tables 5, 6, and 7). These results indicate that higher aging temperatures and longer aging durations reduced seed germination to very low values (Wongvarodom, 1995; Wongvarodom and Naulkong, 2006; Chhetri, 2009).

The results also revealed that the Speed of Germination Index followed the same trend in response to AA as the germination percentage (Tables 5, 6, and 7). The Speed of Germination Index exhibited the strongest response to accelerated aging in hybrid corn seeds (Santipracha *et al.*, 1997). In contrast to the Speed of Germination Index, the seedling growth rate in terms of shoot length, root length, and seedling dry weight showed pronounced declines at the higher temperature of 48 °C applied for 96 h. The same was found for all three varieties, Leb Nok Pattani, Chaing Phatthalung, and Sang Yod Phatthalung, suggesting that the seedling dry weight could not be used to indicate the degeneration after AA of rice seeds, as in groundnut (Wongvarodom, 1995) and Bambara groundnut seeds (Wongvarodom and Naulkong, 2006).

Table 5 Moisture content, germination, Speed of Germination Index, shoot length, root length, and seedling dry weight of Leb Nok Pattani rice seeds after accelerated aging at different temperatures and durations

Accelerate d aging conditions °C/h	Moisture content (%)		Germination (%)		Speed of Germination Index		Shoot length		Root length		Seedling dry weight (mg/seedling)	
							(cm/seedling)					
0/0	9.05	f	97.25	a	19.42	a	2.78	gh	3.40	de	3.66	efg
42/48	21.65	bc	92.00	abc	18.12	ab	3.90	bcd	3.90	b-e	3.55	fg
42/72	22.28	abc	89.00	abc	17.52	bc	3.95	bcd	4.22	abc	4.00	b-e
42/96	22.72	ab	89.75	abc	17.62	b	3.72	cde	4.05	bcd	3.62	efg
42/120	23.42	a	93.25	ab	18.45	ab	3.35	ef	3.52	cde	3.60	efg
44/48	20.95	c	95.50	ab	19.08	a	4.25	ab	3.98	b-e	4.18	abc
44/72	22.12	abc	88.00	bc	17.30	bc	3.80	b-e	3.72	b-e	3.42	g
44/96	21.12	c	79.00	de	14.92	d	3.58	de	4.12	bcd	3.60	efg
44/120	21.80	bc	55.50	g	9.58	g	2.92	fg	2.40	f	2.78	h
46/48	21.90	bc	93.50	ab	18.65	ab	4.45	a	4.05	bcd	4.35	ab
46/72	21.85	bc	88.25	bc	17.42	bc	4.12	abc	4.40	ab	3.98	b-f
46/96	19.05	d	84.50	cd	16.20	c	3.68	cde	4.10	bcd	3.68	d-g
46/120	21.02	c	64.50	f	11.75	f	3.52	de	4.00	bcd	4.08	bcd
48/48	16.62	e	92.50	abc	18.32	ab	4.48	a	4.88	a	4.52	a
48/72	22.28	abc	74.25	e	13.05	e	4.12	abc	3.78	b-e	3.90	c-f
48/96	21.00	c	54.00	g	7.70	h	2.42	h	3.25	e	2.72	h
48/120	23.00	ab	9.50	h	0.90	i	0.00	i	0.00	g	0.00	i
F test	**		**		**		**		**		**	
%CV	3.23		5.17		4.42		6.59		9.60		5.75	

** = significant at $p < 0.01$ Different letters in the same column indicate statistically significant differences at $p < 0.01$ by DMRT.

Table 6 Moisture content, germination, Speed of Germination Index, shoot length, root length, and seedling dry weight of Chaing Phatthalung rice seeds after accelerated aging at different temperatures and durations

Accelerated aging conditions °C/h	Moisture content (%)		Germination (%)		Speed of Germination Index		Shoot length		Root length		Seedling dry weight	
							(cm/seedling)		(cm/seedling)		(mg/seedling)	
0/0	9.98	e	96.50	ab	19.28	ab	3.34	f	3.34	cd	3.32	def
42/48	20.74	bcd	87.50	c-f	16.38	de	3.68	def	4.14	ab	3.06	fg
42/72	22.09	abc	82.50	d-g	15.64	ef	4.22	bc	3.49	bcd	3.32	def
42/96	22.65	a	87.75	c-f	17.22	cd	3.87	cde	3.07	cd	3.22	ef
42/120	22.59	a	89.00	b-e	17.42	cd	3.77	de	3.20	cd	3.57	b-e
44/48	21.40	abc	94.00	abc	18.75	abc	4.57	ab	3.46	cd	3.65	bcd
44/72	21.66	abc	91.25	abc	18.05	abc	4.75	a	3.60	bc	3.54	b-e
44/96	19.75	d	80.25	fgh	15.20	ef	4.23	bc	3.52	bcd	3.56	b-e
44/120	20.93	a-d	74.25	h	13.45	gh	2.59	g	3.28	cd	2.76	g
46/48	22.01	abc	97.25	a	19.45	a	4.87	a	3.37	cd	3.65	bcd
46/72	21.99	abc	90.50	a-d	17.75	bcd	4.76	a	3.44	cd	3.80	abc
46/96	20.55	cd	81.50	e-h	15.47	ef	4.11	cd	2.83	d	3.92	ab
46/120	21.26	a-d	65.75	i	12.08	h	3.45	ef	3.01	cd	3.50	cde
48/48	21.45	abc	92.50	abc	18.38	abc	4.58	ab	4.30	a	3.73	bc
48/72	22.16	abc	79.25	gh	14.31	fg	3.90	cd	4.68	a	4.14	a
48/96	21.75	abc	35.00	j	4.48	i	2.28	g	1.92	e	2.06	h
48/120	22.29	ab	4.50	k	0.43	j	0.00	h	0.00	f	0.00	i
F test	**		**		**		**		**		**	
%CV	3.73		4.95		5.36		5.74		10.10		5.55	

** = significant at $p < 0.01$ Different letters in the same column indicate statistically significant differences at $p < 0.01$ by DMRT.

Table 7 Moisture content, germination, Speed of Germination Index, shoot length, root length, and seedling dry weight of Sang Yod Phatthalung rice seeds after accelerated aging at different temperatures and durations

Accelerated aging conditions °C/h	Moisture content (%)		Germination (%)		Speed of Germination Index		Shoot length		Root length		Seedling dry weight (mg/seedling)	
							(cm/seedling)					
0/0	9.71	i	94.75	a	18.68	ab	4.23	ef	5.24	a-d	3.47	de
42/48	22.89	h	71.75	b	14.19	cd	5.45	ab	6.27	ab	4.26	ab
42/72	24.09	efg	53.75	cd	10.70	e	4.58	cde	5.48	a-d	3.48	de
42/96	24.68	de	56.00	c	11.08	e	4.92	b-e	5.83	abc	3.62	de
42/120	24.81	de	42.00	e	8.32	f	4.78	b-e	5.75	abc	3.53	cde
44/48	22.96	h	93.00	a	18.54	ab	5.63	a	6.39	a	4.33	a
44/72	23.49	gh	78.00	b	15.55	c	5.08	abc	5.97	abc	3.90	bc
44/96	24.42	ef	55.75	c	11.08	e	4.54	cde	5.46	a-d	3.23	efg
44/120	24.74	de	45.75	de	9.08	f	4.51	cde	6.02	abc	3.30	def
46/48	23.66	fgh	97.50	a	19.42	a	4.98	a-d	5.67	a-d	3.71	cd
46/72	24.43	ef	95.25	a	18.92	ab	4.63	cde	5.42	a-d	3.56	cde
46/96	24.11	efg	90.50	a	17.59	b	3.36	g	4.98	bcd	2.86	gh
46/120	25.50	d	74.00	b	14.22	cd	3.69	fg	4.78	cd	3.04	fg
48/48	31.21	c	91.00	a	17.68	b	4.32	def	5.01	a-d	3.31	def
48/72	32.77	b	74.50	b	13.25	d	3.20	g	4.33	d	2.51	hi
48/96	33.87	a	23.00	f	2.69	g	1.01	i	1.31	f	0.62	j
48/120	33.97	a	5.00	g	0.58	h	2.00	h	2.87	e	2.15	i
F test	**		**		**		**		**		**	
%CV	1.71		6.78		6.28		7.84		12.36		6.01	

** = significant at $p < 0.01$ Different letters in the same column indicate statistically significant differences at $p < 0.01$ by DMRT.

3.4 Comparison between seed quality after storage and accelerated aging

Analysis of variance was undertaken to assess rice seed germination and the Speed of Germination Index among the AA treatments performed at 42, 44, 46, and 48°C for 48, 72, 96, and 120 h, and after six months of storage at room temperature (Table 8). The seeds treated with accelerated aging at 46°C for 96 h showed statistically similar germination percentages and Speed of Germination Indexes as those after room temperature storage for six months, across all three varieties tested.

Differences in germination among seeds of the three varieties are shown in Figures 1, 2 and 3 for the various treatments. The difference in germination varied by accelerated aging regime and variety, while aging at 44°C for 120 h provided a separation among the Leb Nok Pattani, Chaing Phatthalung, and Sang Yod Phatthalung varieties with a germination gap of about 10-30%, similar to aging at 48°C for 96 h. However, the latter gave a more severe germination reduction.

The results show that AA tests carried out on rice seeds at 46°C for 96 h had the potential to estimate seed storage longevity (at room temperature for six months) and distinguish between seed vigor levels among different varieties. The aging regimes gave seed vigor classification among varieties with a germination gap of about 10%. However, a larger separation (10-30%) took place after aging at 44°C for 120 h. High temperature and relative humidity caused rapid seed aging or loss of seed viability (ISTA, 2019). High-vigor seed lots will tolerate these intense stress conditions and deteriorate more slowly than low-vigor seed lots. Therefore, after AA, high-vigor lots maintain high germination rates, while that of low-vigor lots is decreased (AOSA, 2002; ISTA, 2019). The germination test, however, is practical for evaluating seed viability under favorable conditions (ISTA, 2019). Nevertheless, the results of the germination test do not necessarily reflect seed vigor and often fail to correlate with field establishment under various sowing conditions (Wongvarodom, 2006).

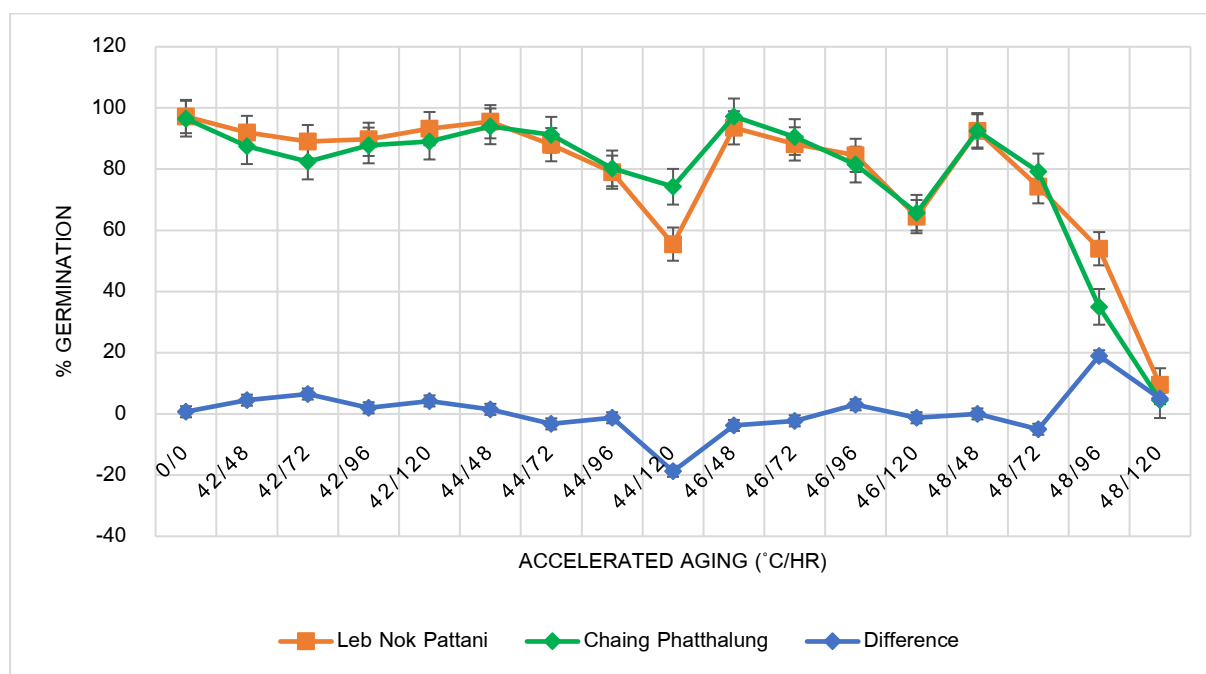


Figure 1 Germination and difference in germination between the varieties Leb Nok Pattani and Chaing Phatthalung after accelerated aging at different temperatures and durations.

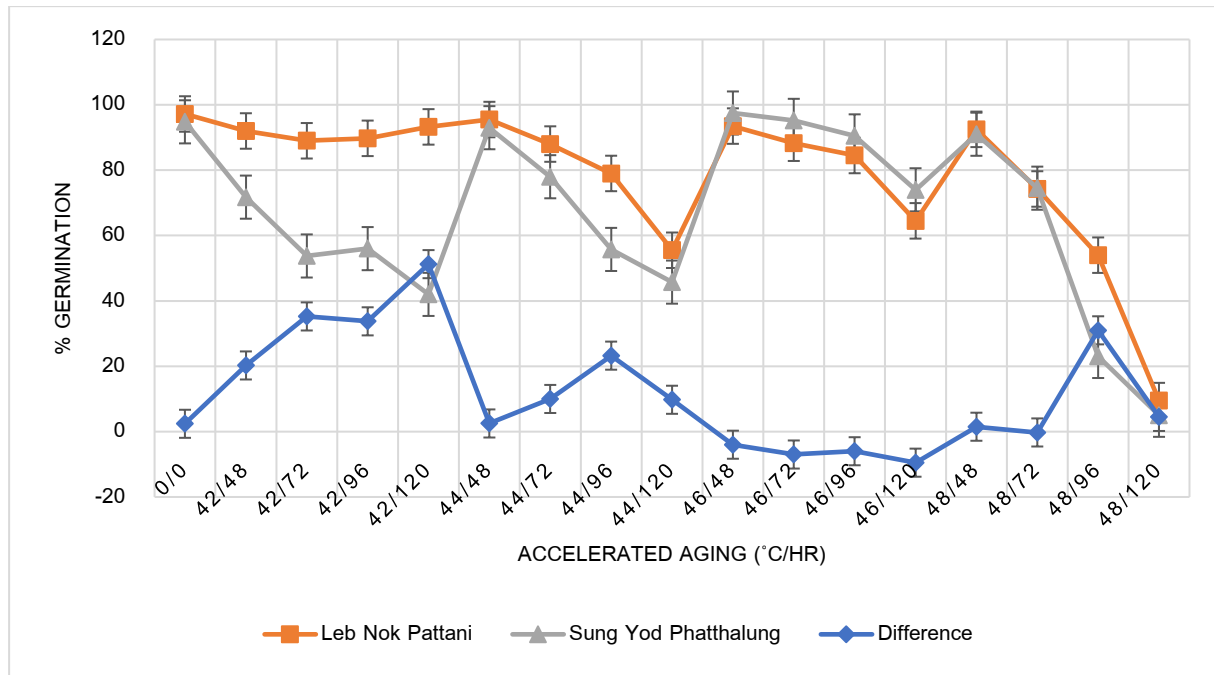


Figure 2 Germination and difference in germination between the varieties Leb Nok Pattani and Sang Yod Phatthalung after accelerated aging at different temperatures and durations.

Table 8 Germination and speed germination index of Leb Nok Pattani, Chaing Phatthalung, and Sang Yod Phatthalung rice seeds stored for six months at ambient room conditions, and over accelerated aging conditions

Treatment	Leb Nok Pattani				Chaing Phatthalung				Sang Yod Phatthalung			
	Germination (%)		SGI		Germination (%)		SGI		Germination (%)		SGI	
6 months (ambient)	86.00	bcd	17.02	cd	79.75	ef	15.84	d-g	91.00	a	17.90	ab
42/48	92.00	abc	18.12	abc	87.50	b-e	16.38	c-f	71.75	b	14.19	cd
42/72	89.00	abc	17.52	bcd	82.50	c-f	15.64	efg	53.75	cd	10.70	e
42/96	89.75	abc	17.62	bc	87.75	b-e	17.22	b-e	56.00	c	11.08	e
42/120	93.25	abc	18.45	abc	89.00	a-d	17.42	bcd	42.00	e	8.32	f
44/48	95.50	a	19.08	a	94.00	ab	18.75	ab	93.00	a	18.54	ab
44/72	88.00	abc	17.30	bcd	91.25	ab	18.05	abc	78.00	b	15.55	c
44/96	79.00	de	14.92	e	80.25	ef	15.20	fg	55.75	c	11.08	e
44/120	55.50	g	9.58	h	74.25	f	13.45	hi	45.75	de	9.08	f
46/48	93.50	ab	18.65	ab	97.25	a	19.45	a	97.50	a	19.42	a
46/72	88.25	abc	17.42	bcd	90.50	abc	17.75	abc	95.25	a	18.92	ab
46/96	84.50	cd	16.20	d	81.50	def	15.47	fg	90.50	a	17.59	b
46/120	64.50	f	11.75	g	65.75	g	12.08	i	74.00	b	14.22	cd

Table 8 (Continuous)

Treatment	Leb Nok Pattani				Chaing Phatthalung				Sang Yod Phatthalung			
	Germination (%)		SGI		Germination (%)		SGI		Germination (%)		SGI	
48/48	92.50	abc	18.32	abc	92.50	ab	18.38	ab	91.00	a	17.68	b
48/72	74.25	e	13.05	f	79.25	ef	14.31	gh	74.50	b	13.25	d
48/96	54.00	g	7.70	i	35.00	h	4.48	j	23.00	f	2.69	g
48/120	9.50	h	0.90	j	4.50	i	0.43	k	5.00	g	0.58	h
F test	**		**		**		**		**		**	
%CV	5.20		4.44		5.21		5.60		6.90		6.40	

** = significant at $p < 0.01$

Different letters in the same column indicate statistically significant differences at $p < 0.01$ by DMRT.

4. Conclusion

It is concluded that these rice seeds can be stored for a duration not exceeding six months with seed germination rates consistently above 80%. The responses of these seeds to accelerated aging varied by variety. The Sang Yod Phatthalung and Chaing Phatthalung varieties were more sensitive to accelerated aging than Leb Nok Pattani. Seeds of Sang Yod Phatthalung and Chaing Phatthalung exhibited reduced germination and vigor after accelerated aging at 42°C for 48 h. However, subjecting the seeds to the highest stress at 48°C during accelerated aging resulted in a significant decrease in germination for all rice seed varieties, reaching very low values. Accelerated aging to evaluate rice seed storability in the humid tropics should be conducted at nearly 100% relative humidity and at 46°C for 96 h. This aging regime provided seed vigor separation by variety with a germination gap of about 10%, while a more significant classification (10-30%) occurred after aging at 44°C for 120 h. These findings might assist in classifying rice varieties based on their seed vigor.

5. References

Alahakoon, A.A.C.B., Abeysirwardena, D.D.Z. and Gama-Arachchige, N.S. 2021. Low seed moisture and polythene packaging improve

storability of seed paddy. **Journal of Stored Products Research** 94: 101884.

Association of Official Seed Analysts (AOSA). 2001.

Rules for Testing Seeds. The Association of Official Seed Analysts, Lincoln.

Association of Official Seed Analysts (AOSA). 2002.

Seed Vigor Testing Handbook: Contribution No. 32 to the Handbook on Seed Testing. The Association of Official Seed Analysts, Lincoln.

Chhetri, S. 2009. Identification of accelerated aging conditions for seed vigor test in rice (*Oryza sativa* L.). Master of Science (Crop Production Technology), Suranaree University of Technology.

Choudhury, M.M. and Rajanna, C.M. 2011. Influence of packaging materials and seed treatments on physiological attributes during storage of rice (*Oryza sativa* L.). **Seed Science and Biotechnology** 5(1): 15-20. (in Thai)

Chuthamat, P., Wongkiatkajorn, W. and Sengsim, P. 2009. Semi hermetic storage of foundation rice seed by using tarpoulin membrane in southern region, pp. 353-364. *In* Prasertsak, A., eds. **Annual Rice Seeds Research Report Year 2001-2008.** Rice Department, Bangkok. (in Thai)

Delouche, J.C. and Baskin, C.C. 1973. Accelerated aging techniques for predicting the relative

- storability of seed lots. **Seed Science and Technology** 1: 427-452.
- Demir, I., Erturk, N. and Gokdas, Z. 2020. Seed vigor evaluation in petunia seed lots to predict seedling emergence and longevity. **Seed Science and Technology** 48(3): 391-400.
- Demir, I., Ozden, Y.S. and Yilmaz, K. 2004. Accelerated ageing test of aubergine, cucumber and melon seeds in relation to time and temperature variables. **Seed Science and Technology** 32(3): 851-855.
- Duangpatra, J. 1986. **Seed Technology**. Agri Book Group, Bangkok. (in Thai)
- Gidrol, X., Noubhani, A., Mocquot, B., Fournier, A. and Pradet, A. 1998. Effect of accelerated aging on protein synthesis in two legume seeds. **Plant Physiology and Biochemistry** 26(3): 281-288.
- Hampton, J.G. and TeKrony, D.M. 1995. **Handbook of Vigor Test Methods** (3rded). International Seed Testing Association, Zurich.
- International Seed testing Association (ISTA). 2019. **International Rule for Seed Testing**. International Seed testing Association, Bassersdorf.
- Iqbal, N., Shahzad, A., Basra, M., and Rehman, K.U. 2002. Evaluation of vigor and oil quality in cotton seed during accelerated aging. **International Journal of Agriculture and Biology** 4(3): 318-322.
- Kapoor, N., Arya, A., Siddiqui, M.A., Kumar, H. and Amir, A. 2011. Physiological and biochemical changes during seed deterioration in aged seed of rice (*Oryza sativa* L.). **American Journal of Plant Physiology** 6(1): 28-35.
- Perveen, S., Nigar, S., Khalil, S. and Zubair, M. 2010. Vigor tests used to rank seed lot quality and predict field emergence in wheat. **Pakistan Journal of Botany** 42(5): 3147-3155.
- Nabila, S.M., Amin, A.K.M.R., Islam, M.O., Haque, M.N. and Achakzai, A.K.K. 2016. Effect of storage containers on the quality of wheat seed at ambient storage condition. **American-Eurasian Journal of Agricultural and Environmental Sciences** 16(2): 402-409.
- Oke, C.O., Oluwatobi, A.S., Bamisaye, V.J. and Akanbi-gada, M.A. 2020. Influence of storage conditions and packaging materials on germination and growth of sorghum seeds. **Annales of West University of Timisoara, Series of Biology** 23(2): 97-106.
- Santipracha, W. 1997. **Seed Technology**. Department of Plant Science Faculty of Natural Resources, Prince of Songkla University, Songkhla. (in Thai)
- Santipracha, W. 2017. **Research Report on Practice of Seed Technology**. Prince of Songkla University, Songkhla. (in Thai)
- Santipracha, W. and Santipracha, Q. 1998. **Research Report on Seed Accelerated Aging Technique for the Humid Tropics**. Department of Plant Science, Faculty of Natural Resources, Prince of Songkla University, Songkhla. (in Thai)
- Santipracha, W., Santipracha, Q. and Wongvarodom, V. 1997. Hybrid corn seed quality and accelerated aging. **Seed Science and Technology** 25: 203-208. (in Thai)
- Songkrait, M., Jaisong, S. and Prasertsak, A. 2019. Seed accelerated aging to evaluate storability of Pathum Thani 1 rice seeds in the tropical. **Thai Rice Research Journal** 10: 66-73. (in Thai)
- Sudhakaran, I. 2020. Effect of seed ageing in biochemical and molecular changes in oilseeds: a review. **Agricultural Reviews** 41(4): 408-412.
- Sukkaew, N. and Wongvarodom, V. 2022. Effect of storage periods on seed quality of Sang Yod Phatthalung rice. **Rajamangala University of Technology Srivijaya Research Journal** 14(2): 372-384. (in Thai)
- Tang, E.N. and Ngome, A.F. 2015. Rice seed quality as influenced by storage duration and package type in Cameroon. **International Journal of Biological and Chemical Sciences** 9(3): 1229-1242.
- Rice Department. 2016. **Rice cropping calendar**. Rice Knowledge Bank. Available Source: <https://>

newwebs2. ricethailand.go.th/webmain/rkb3/
July 1, 2021.

Wongvarodom, V. 1995. Accelerated aging of groundnut seed for longevity evaluation in the humid tropics. Master of Science (Plant Science), Prince of Songkla University. (in Thai)

Wongvarodom, V. 2006. Soybean seed field emergence and its evaluation under water stress conditions by water-limited germination test. Doctoral dissertation, Prince of Songkla University.

Wongvarodom, V. and Naulkong, S. 2006. Response of bambara groundnut seed to accelerated aging. **Agriculture and Natural Resources** 40(4): 848-853.

Zhang, K., Zhang, Y., Sun, J., Meng, J. and Tao, J. 2021. Deterioration of orthodox seeds during ageing: Influencing factors, physiological alterations and the role of reactive oxygen species. **Plant Physiology and Biochemistry** 158: 475-485.



Research Article

การศึกษาคุณภาพทางกายภาพและเคมีของปลากุลเลา
(*Eleutheronema tetradactylum*) ในพื้นที่ตำบลบางตาawa อำเภอหนองจิก จังหวัดปัตตานี

Study on Physical and Chemical Quality of Fourfinger Threadfin

(*Eleutheronema tetradactylum*) from Bang Tawa Sub-district,

Nong Chik District, Pattani Province

ภัทรวดี เอียดเต็ม * และ กมลทิพย์ กรรไพบระ

Phattharawadee Aedtem * and Kamontip Kanpairo

สาขาการประกอบอาหารฮาลาล คณะวิทยาศาสตร์เทคโนโลยีและเกษตร มหาวิทยาลัยราชภัฏยะลา อำเภอเมือง จังหวัดยะลา 95000
Department of Halal Culinary, Faculty of Science Technology and Agriculture, Yala Rajabhat University, Mueang, Yala 95000, Thailand.

ABSTRACT

Article history:

Received: 2023-08-04

Revised: 2023-10-30

Accepted: 2023-11-20

Keywords:

Pla Kulao fish (fourfinger threadfin);
catch quantity;
quality;
storage;
frozen

Bang tawa Sub-district, located in Nong Jik District, Pattani Province, is known as an important fishing ground for "Pla Kulao" (Fourfinger threadfin). The fish caught in this area are primarily processed for salting. However, there is a lack of statistical data on the quantity of Fourfinger threadfins in this area and their post-harvest quality. Hence, this research aims to study the quantity and quality of catches, as well as their storage, during the fishing season. The study revealed that the catch quantity of Fourfinger threadfin in the Bang tawa Sub-district amounted to 8,366.6 kilograms/year. The highest catch quantity was recorded in January, with 2,013.6 kilograms/year. The physical and chemical quality of Fourfinger threadfin with three sizes was studied, and the fish were classified into three weight ranges. Samples were collected every 3 months, namely in January, April, July, and October. The average protein content for each weight range was as follows: 19.97%, 22.79%, 24.35%, and 22.99%, respectively. The 1-2 kilograms Fourfinger threadfin showed the highest protein content in every month ($p < 0.05$). For each weight range, the average fat content was 2.52%, 2.20%, 2.82%, and 2.84%, respectively. Additionally, the fat content in female Fourfinger threadfin was 1.32 times higher than that in males. The TVB-N value, which indicates fish deterioration, had the highest value of 21.51 (mg/100 g) in April. When analyzing the correlation between chemical properties and freshness score of Fourfinger threadfin, it was found that physical characteristics were positively correlated with chemical properties ($p < 0.01$). Regarding the preservation of fresh Fourfinger threadfin for salted fish production, chilling ($10 \pm 2^\circ\text{C}$) allowed preservation for 3 days, whereas freezing ($-18 \pm 2^\circ\text{C}$) extended preservation beyond 30 days.

* Corresponding author.

E-mail address: phattharawadee.a@yru.ac.th

Cite this article as:

Aedtem, P. and Kanpairo, K. 2025. Study on Physical and Chemical Quality of Fourfinger Threadfin (*Eleutheronema tetradactylum*) from Bang Tawa Sub-district, Nong Chik District, Pattani Province. **Recent Science and Technology** 17(1): 259943.

บทคัดย่อ

ตำบลบางตาหลวง อำเภอหนองจิก จังหวัดปัตตานี เป็นแหล่งจับปลากุเลาที่สำคัญแห่งหนึ่ง โดยมีการส่งจำหน่ายนอกพื้นที่เพื่อการแปรรูปปลากุเลาเค็ม แต่ไม่มีรายงานสถิติปริมาณปลากุเลาในพื้นที่ และการศึกษาคุณภาพหลังการจับ ดังนั้นงานวิจัยนี้จึงมีวัตถุประสงค์เพื่อศึกษาปริมาณการจับ คุณภาพแต่ละช่วงฤดูและคุณภาพของปลากุเลาเก็บรักษาที่อุณหภูมิต่างกันจากการศึกษาพบว่าปริมาณการจับปลากุเลาในพื้นที่ตำบลบางตาหลวง มีปริมาณ 8,366.6 กิโลกรัมต่อปี โดยเดือนมกราคมมีปริมาณการจับสูงสุด เท่ากับ 2,013.6 กิโลกรัมต่อปี และจากการศึกษาคุณภาพทางกายภาพและเคมีของปลากุเลา 3 ขนาด โดยทำการเก็บตัวอย่างทุก ๆ 3 เดือน ได้แก่ เดือนมกราคม เมษายน กรกฎาคม และตุลาคม พบว่ามีปริมาณโปรตีนเฉลี่ย เท่ากับร้อยละ 19.97, 22.79, 24.35 และ 22.99 ตามลำดับ โดยขนาดปลากุเลาน้ำหนัก 1-2 กิโลกรัม มีปริมาณโปรตีนสูงสุดในทุกช่วงเดือน ($p < 0.05$) และปริมาณไขมันเฉลี่ย เท่ากับ ร้อยละ 2.52, 2.20, 2.82 และ 2.84 ตามลำดับ นอกจากนี้ยังพบว่าปลากุเลาเพศเมียจะมีปริมาณไขมันสูงกว่าเพศผู้ 1.32 เท่า ส่วนค่า TVB-N ซึ่งแสดงถึงการเสื่อมเสียของปลา พบว่าปลากุเลาที่จับในเดือนเมษายน มีค่าสูงสุดเท่ากับ 21.51 (mg/100 g) และเมื่อวิเคราะห์ค่าสหสัมพันธ์ของสมบัติทางเคมีกับลักษณะทางกายภาพที่แสดงถึงความสดของปลากุเลา พบว่าลักษณะทางกายภาพมีความสัมพันธ์เชิงบวกกับสมบัติทางเคมี ($p < 0.01$) การเก็บรักษาปลากุเลาสดที่อุณหภูมิแช่เย็น (10 ± 2 °C) และแช่แข็ง (-18 ± 2 °C) เพื่อให้เหมาะสมในการผลิตปลากุเลาเค็ม พบว่าที่อุณหภูมิแช่เย็นสามารถเก็บรักษาปลากุเลาได้เป็นเวลา 3 วัน ส่วนที่อุณหภูมิแช่แข็งเก็บได้เป็นเวลามากกว่า 30 วัน

คำสำคัญ: ปลากุเลา, ปริมาณการจับ, คุณภาพ, เก็บรักษา, แช่แข็ง

1. บทนำ

ชุมชนตำบลบางตาหลวง อำเภอหนองจิก จังหวัดปัตตานี ประกอบอาชีพประมงพื้นบ้านเป็นหลัก ผลิตภัณฑ์ของชุมชนส่วนใหญ่จะเป็นประเภทอาหารทะเลสด ปลาเค็ม ปลาแห้ง ปลาหวาน โดยเฉพาะปลากุเลาเค็มเป็นผลิตภัณฑ์ที่ทำรายได้จำนวนมากให้กับชุมชน แต่ยังมีปัญหาเรื่องคุณภาพของผลิตภัณฑ์ และกำลังการผลิตไม่เพียงพอในช่วงเวลาที่มีปลากุเลาสดปริมาณมาก

ปลากุเลา มีชื่อวิทยาศาสตร์ *Eleutheronema tetradactylum* และชื่อสามัญ fourfinger threadfin (Vinoth, 2014) มีรูปร่างเรียวยาว ลำตัวแบนข้างและค่อนข้างหนา หัวค่อนข้างเล็ก จะงอยปากสั้นเฉียงขึ้นเล็กน้อย มีเยื่อไขมันปกคลุมอยู่ใกล้ปลายตา พันแหลมคม และก้านครีบบางส่วนของครีบทูแยกเป็นระยะ 4 เส้น พบทั่วไปบริเวณชายฝั่งทะเล เช่น จังหวัดตราด จันทบุรี ระยอง ชลบุรี สงขลา ปัตตานี และนราธิวาส (Sritakon *et al.*, 2019) รายงานสถิติปริมาณการจับสัตว์ทะเลจากการทำประมงพื้นบ้านปี 2563 พบว่าปริมาณการจับปลากุเลามีอัตราสูงสุดในช่วงเดือนมิถุนายน-เดือนตุลาคม โดยมีปริมาณปลากุเลาเท่ากับ 243.22 231.18 254.18 167.65 และ 247.22 ตันตามลำดับ (Fishery Statistics Group, 2021) อย่างไรก็ตามจากการสัมภาษณ์ชาวประมงพื้นบ้าน พบว่าในพื้นที่ตำบลบางตาหลวง ในปี 2564 สามารถจับปลากุเลาได้ไม่ต่ำกว่า 10 ตัน/ปี มีปริมาณมากในช่วงเดือนพฤศจิกายนถึงเดือนมีนาคมของทุกปี จำหน่ายในราคากิโลกรัมละ 150 บาท ส่งออกนอกพื้นที่เพื่อแปรรูปร้อยละ 60 และแปรรูปในพื้นที่ร้อยละ 40 เมื่อแปรรูปเป็นปลากุเลาเค็มจะจำหน่ายในราคา

ขายต่อกิโลกรัมละ 800-1,100 บาท โดยในช่วงฤดูกาลของปลากุเลาผู้ประกอบการแปรรูปปลากุเลามีกำลังการผลิตไม่เพียงพอ แต่ไม่สามารถเก็บรักษาปลากุเลาเพื่อรอการผลิตได้เนื่องจากมีความเข้าใจว่าจะทำให้ได้คุณภาพของปลากุเลาเค็มที่ไม่ตรงความต้องการของผู้บริโภค ซึ่งในการผลิตปลากุเลาเค็มให้ได้คุณภาพมาตรฐานจะต้องมีปัจจัยที่เกี่ยวข้อง ได้แก่ ความสด ขนาดของปลา ปริมาณไขมันปลา อุณหภูมิในการหมัก และคุณภาพเกลือ (Jirapong *et al.*, 2018) โดยปลาเป็นอาหารที่เน่าเสียได้ง่ายซึ่งการเน่าเสียเกิดจากการสลายตัวของโปรตีนด้วยเอนไซม์ที่มีอยู่ในตัวปลา (endogenous enzymes) กิจกรรมของจุลินทรีย์ และปฏิกิริยาออกซิเดชันของไขมันทำให้เกิดกลิ่นเหม็นหืน ดังนั้น จึงจำเป็นต้องเก็บรักษาปลาอย่างรวดเร็วหลังจากจับ ซึ่งการเปลี่ยนแปลงคุณภาพของปลาหลังการจับ และหลังจากปลาตาย ขึ้นกับความเข้มข้นของสารประกอบตั้งต้น และผลิตภัณฑ์จากกระบวนการเมแทบอลิซึม เอนไซม์ที่มีอยู่ในตัวปลาการปนเปื้อนของจุลินทรีย์ และสภาวะการเก็บรักษา (Yongsawatdigul, 2014) ความสดของปลามีความสำคัญต่อการประเมินคุณภาพของปลาเป็นอย่างมาก ซึ่งสามารถวิเคราะห์ความสดได้จากสมบัติทางเคมี กายภาพ และทางจุลินทรีย์ (Zhelyazkov and Stratev, 2018) จากการทดลองเก็บปลาอินทรีบรรจุในถุงโฟลีโอเทธิลินและดองในน้ำแข็งเป็นเวลา 10 วัน ค่าดัชนีความสด ที่แสดงลักษณะทางกายภาพของปลาอินทรีเพิ่มขึ้นจาก 0 ในวันแรกเป็น 23 คะแนนในวันที่ 10 และค่า K เพิ่มขึ้นจากร้อยละ 22.49 เป็นร้อยละ 82.56 และ total volatile base nitrogen (TVB-N) เพิ่มขึ้นจาก 12.47 มิลลิกรัมต่อ 100 กรัม เป็น 20.59 มิลลิกรัมต่อ 100 กรัม (Kwan-on *et al.*,

2015) และจากการศึกษาของ Viana *et al.* (2022) การเปลี่ยนแปลงของลักษณะทางกายภาพของปลาที่มีผลต่อการเลือกซื้อปลาสดเป็นอย่างสูง ถึงแม้ผลการวิเคราะห์คุณภาพทางจุลินทรีย์จะมีปริมาณเกินเกณฑ์มาตรฐาน แต่หากลักษณะภายนอกของปลาสดยังมีลักษณะทางกายภาพที่ดี ผู้บริโภคก็ยังยอมรับได้ Koral *et al.* (2023) ศึกษาผลของการแช่แข็งวัตถุดิบต่อการเปลี่ยนแปลงคุณภาพและความปลอดภัยของปลากะตักเค็ม รายงานว่าความเข้มข้นของเกลือและวิธีการเคลือบเกลือก่อนเก็บด้วยการแช่แข็งมีผลต่อคุณภาพผลิตภัณฑ์ปลากะตักเค็ม โดยพบว่า การเคลือบด้วยเกลือเม็ดส่งผลให้ปลามีคุณภาพที่ดีกว่าการเคลือบด้วยน้ำเกลือเข้มข้นร้อยละ 20 ดังนั้น งานวิจัยนี้จึงมีวัตถุประสงค์เพื่อศึกษาปริมาณการจับ คุณภาพแต่ละช่วงฤดูและคุณภาพของปลากุเลาเก็บรักษาที่อุณหภูมิต่างกัน ซึ่งผลที่ได้จากการวิจัยครั้งนี้จะเป็นข้อมูลทางวิทยาศาสตร์พื้นฐาน ที่เป็นประโยชน์ในการนำไปถ่ายทอดความรู้เพื่อปรับปรุงคุณภาพของผลิตภัณฑ์จากปลากุเลา และยืดระยะเวลาในการแปรรูปได้ในอนาคต

2. วิธีดำเนินการวิจัย

2.1 ศึกษาปริมาณการจับปลากุเลา ตำบลบางตาอา อำเภอนาทม จังหวัดปัตตานี ในรอบ 12 เดือน

บันทึกข้อมูลลงในแบบฟอร์มการแบ่งชั้นคุณภาพปลากุเลาตั้งแต่เดือนตุลาคม 2564 ถึงเดือนกันยายน 2565 โดยมีผู้รวบรวมปลากุเลาจำนวน 2 กลุ่ม และกลุ่มชาวประมงพื้นบ้าน 3 กลุ่ม ในพื้นที่ตำบลบางตาอา อำเภอนาทม จังหวัดปัตตานี ทำหน้าที่จัดบันทึกข้อมูลปริมาณการจับเป็นรายวัน และสรุปปริมาณเป็นรายเดือน แบ่งปริมาณการจับปลากุเลาแยกตามขนาดของปลาเป็น 4 ขนาด ได้แก่ น้ำหนักต่ำกว่า 1 กิโลกรัม น้ำหนัก 1-2 กิโลกรัม น้ำหนัก 2-3 กิโลกรัม และน้ำหนักมากกว่า 3 กิโลกรัม

2.2 ศึกษาคุณภาพทางกายภาพและเคมีของปลากุเลาทุก ๆ 3 เดือน

สุ่มตัวอย่างปลากุเลาทุก ๆ 3 เดือน โดยปลากุเลาที่ทำการศึกษาคือปลาที่ตายหลังการจับไม่เกิน 6 ชั่วโมง บรรจุในถุงพลาสติกโพลีเอทิลีน จำนวน 1 ตัวต่อ 1 ถุง แล้วเก็บในกล่องโฟมที่บรรจุด้วยน้ำแข็งใช้เวลาในการขนส่งไปยังห้องปฏิบัติการไม่เกิน 3 ชั่วโมง ควบคุมอุณหภูมิไม่ให้เกิน 10 ± 2 องศาเซลเซียส ประกอบด้วย ปลากุเลาขนาดน้ำหนักต่ำกว่า 1 กิโลกรัม น้ำหนัก 1-2 กิโลกรัม น้ำหนักมากกว่า 2 กิโลกรัม (ปริมาณการจับปลาขนาด 3

กิโลกรัม มีปริมาณน้อยจึงรวมเป็น 1 ขนาด) ศึกษาคุณภาพทางกายภาพและเคมี และนำปลากุเลาขนาด 1-2 กิโลกรัม (เป็นขนาดที่ผู้ประกอบการต้องการและมีปริมาณการจับสูงสุด) จากพื้นที่ตำบลบางตาอา อำเภอนาทม จังหวัดปัตตานี กับพื้นที่อำเภอนาทม จังหวัดนราธิวาส (เพื่อเป็นตัวแทนคุณภาพปลากุเลาในการผลิตปลากุเลาเค็ม) และเปรียบเทียบระหว่างปลาเค็มและผู้และเค็ม

2.2.1 ประเมินคุณภาพความสดของปลาด้วยวิธีทางประสาทสัมผัส

ดัดแปลงวิธีจาก Kwan-on *et al.* (2015) โดยสังเกตการเปลี่ยนแปลงลักษณะของส่วนต่าง ๆ ของปลาทั้งหมด 6 ส่วน คือ ตา เหงือก ลำตัว ครีบ ลักษณะเนื้อภายใน และอวัยวะภายใน ตามลำดับ ใช้ผู้ประเมิน 10 คน ที่ผ่านการฝึกฝน โดยประเมินจากการดม การดมกลิ่น การสัมผัสปลา โดยกำหนดคะแนนลักษณะที่สดมากที่สุดมีค่าคะแนนเป็น 0 และความสดลดลงเมื่อคะแนนเพิ่มขึ้น สูงสุด 4 คะแนน

2.2.2 วิเคราะห์คุณภาพทางเคมี

2.2.2.1 ปริมาณองค์ประกอบทางเคมี ได้แก่ ความชื้น โปรตีน ไขมัน โดยใช้วิธีวิเคราะห์ตามวิธีของ AOAC (2016)

2.2.2.2 สารประกอบไนโตรเจนที่ระเหยได้ทั้งหมด (Total volatile base nitrogen; TVB-N) ด้วยวิธีของ ด้วยวิธี Conway's micro-diffusion method (Conway and Byrne, 1936) โดยนำปลากุเลามาแล่เนื้อชิ้นน้ำหนัก 4 กรัม สับให้ละเอียดแล้วทำการสกัดด้วยสารละลายกรดไตรคลอโรอะซิติก ความเข้มข้นร้อยละ 4 ปริมาตร 16 มิลลิลิตร วางไว้ที่อุณหภูมิห้อง 30 นาที จากนั้นนำตัวอย่างกรองด้วยกระดาษกรอง whatman No.41 ปีเปิดสารละลายกรดบอริกที่ผสมกับอินดิเคเตอร์ แล้วปริมาตร 1 มิลลิลิตร ลงในวงในของจาน Conway dish ปีเปิดสารละลายตัวอย่างและสารละลายอ้อมตัวโพแทสเซียมคาร์บอเนต อย่างละ 1 มิลลิลิตร เติมน้ำในวงนอกจาน แล้ววาง Conway dish เบบ่า ๆ ให้สารละลายตัวอย่างและสารละลายอ้อมโพแทสเซียมคาร์บอเนตผสมเข้ากัน บ่มที่อุณหภูมิ 37 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 1 ชั่วโมง เมื่อครบเวลา ใส่น้ำตาลทรายที่อยู่วงในของ Conway dish ด้วยกรดไฮโดรคลอริก ความเข้มข้น 0.02 โมลาร์ จนสารละลายเปลี่ยนจากสีเขียวเป็นสีชมพู นำปริมาตรกรดไฮโดรคลอริกที่ใช้ในการไตเตรทไปคำนวณค่า TVB-N แสดงได้ดังสมการดังต่อไปนี้

$$\text{TVB-N (mg/100g)} = \frac{(V_s - V_B) \times (N_{\text{HCl}} \times A_N) \times V_{\text{Ex}} \times 100}{W_s}$$

- V_s = ปริมาตรของ HCl ที่ใช้ในการไตเตรตตัวอย่าง (มิลลิลิตร)
 V_B = ปริมาตรของ HCl ที่ใช้ในการไตเตรต Blank (มิลลิลิตร)
 (ใช้กรดไตรคลอโรอซิติกแทนสารละลายตัวอย่าง)
 N_{HCl} = Normolity ของ HCl
 A_N = น้ำหนักโมเลกุลของ N
 V_{Ex} = ปริมาตรของ TCA ความเข้มข้นร้อยละ 4 ที่ใช้ในการสกัด (มิลลิลิตร)
 W_s = น้ำหนักของตัวอย่าง (ก่อนการสกัด) (กรัม)

2.2.2.3 การเกิดปฏิกิริยาออกซิเดชัน

ของไขมัน (Thiobarbituric acid reactive substances; TBARS) ตามวิธีของ Buege and Aust (1978) นำตัวอย่างเนื้อปลากุเลาสดละเอียดน้ำหนัก 0.5 กรัม ใส่ในหลอดทดลองจากนั้นเติมสารละลาย Thiobarbituric acid (TBA) ปริมาตร 5 มิลลิลิตร ผสมให้เข้ากันนำไปต้มในน้ำอุณหภูมิ 100 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 10 นาที สารละลายตัวอย่างจะเป็นสีชมพูเข้ม วางไว้ที่อุณหภูมิห้อง จนตัวอย่างมีอุณหภูมิ 40 องศาเซลเซียส นำไปหมนเหวี่ยงที่ความเร็วรอบ 4000 รอบต่อนาที เป็นเวลา 15 นาที เทส่วนใสนำไปวัดค่าดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 532 นาโนเมตร วิเคราะห์เปรียบเทียบกับค่า TBA ของกราฟมาตรฐาน malondialdehyde bis (diethyl acetal)

2.2.2.4 ความเป็นกรด-ด่าง (pH) ตามวิธีการ AOAC (2016) โดยนำเนื้อปลากุเลาสดน้ำหนัก 10 กรัม ผสมกับน้ำกลั่นปราศจากไอออน ปริมาตร 90 มิลลิลิตร บั่นด้วยเครื่องไฮโมจิไนซ์ความเร็ว 10000 รอบต่อนาที แล้วนำไปวัดค่าความเป็นกรด-ด่าง ด้วยเครื่อง pH meter (Schott, รุ่น G0840, Switzerland)

2.2.2.5 ศึกษาคุณสมบัติทางเคมีกับลักษณะทางกายภาพที่แสดงถึงรสชาติของปลา โดยใช้โปรแกรม Excel

2.3 ศึกษาคุณภาพของปลากุเลาที่เก็บรักษาในสภาวะแช่เย็นและแช่แข็ง

การศึกษาเปรียบเทียบการเก็บปลากุเลาสดขนาด 1-2 กิโลกรัม ที่สภาวะต่างกัน ได้แก่ (1) ปลากุเลาแช่เย็นในน้ำแข็งชนิดบด อัตราส่วนปลาต่อน้ำแข็งเท่ากับ 1 ต่อ 2 (น้ำหนักต่อน้ำหนัก) โดยล้างปลาให้สะอาดด้วยน้ำไหลผ่าน คั่วกั๊สออกจากทางปากล่างช่องท้องให้สะอาด ซับให้แห้งแล้วบรรจุปลาแต่ละตัวในถุงพลาสติกโพลีเอทิลีน ปิดผนึกโดยเครื่องปิดปากถุงเพื่อป้องกันน้ำเข้าภายในถุง จากนั้นบรรจุในลังโฟมที่เจาะรูเพื่อระบายน้ำจากน้ำแข็งที่ละลาย วางไว้ที่อุณหภูมิห้อง ควบคุมอุณหภูมิไม่ให้สูงเกิน 10±2 องศาเซลเซียส เติมน้ำแข็งทุกวันให้ได้ตามปริมาณที่หายไป สุ่มตัวอย่างในวันที่ 0 1 3 5 และ 7 วัน ตามลำดับ (2) ปลากุเลาแช่แข็งที่อุณหภูมิ -18±2 องศาเซลเซียส โดยล้างปลาให้สะอาดแล้วบรรจุปลาแต่ละตัวในถุงพลาสติกโพลีเอทิลีน จากนั้นนำไปแช่ในตู้แช่แข็ง สุ่มตัวอย่าง 0 15 และ 30 วัน ตามลำดับ วิเคราะห์คุณภาพทางกายภาพและทางเคมี ดังนี้

2.3.1 ความสามารถในการอุ้มน้ำ (Water holding capacity: WHC) ตามวิธีของ Thorarinsdottir *et al.* (2001) นำเนื้อปลากุเลาสดละเอียด 1.5 กรัม ชั่งบนกระดาษกรอง Whatman No.41 ที่ทราบน้ำหนักแล้ว ด้วยเครื่องชั่งทศนิยม 4 ตำแหน่ง จากนั้นนำไปหมนเหวี่ยงที่ความเร็วรอบ 1,500 รอบต่อนาที เป็นเวลา 15 นาที แยกของเหลวออกแล้วชั่งน้ำหนักตัวอย่าง คำนวณร้อยละความสามารถในการอุ้มน้ำดังสมการต่อไปนี้

$$\text{WHC (\%)} = \frac{\text{น้ำหนักที่คงเหลืออยู่ในเนื้อปลา} \times 100}{\text{น้ำหนักปลาเริ่มต้น}}$$

2.3.2 ปริมาณองค์ประกอบทางเคมี ได้แก่ ความชื้น โปรตีน และไขมัน ตามวิธีการ AOAC (2016)

2.3.3 สารประกอบไนโตรเจนที่ระเหยได้ทั้งหมด (Total volatile base nitrogen; TVB-N) ด้วยวิธี Conway's micro-diffusion method (Conway and Byrne, 1936) เช่นเดียวกับข้อ 2.2.2.2

2.3.4 ความเป็นกรด-ด่าง (pH) ตามวิธีการ AOAC (2016) เช่นเดียวกับข้อ 2.2.2.4

2.3.5 ปริมาณกรดไขมันอิสระ (Free fatty acid) ตามวิธีการ AOAC (2016) ด้วยวิธี Gas chromatography, GC

2.3.6 ปริมาณ Histamine ตามวิธีการ AOAC (2016) ด้วยวิธี spectrophotometer

2.4 การวิเคราะห์ทางสถิติ

วางแผนการทดลองแบบ Complete Randomized Design (CRD) วิเคราะห์ความแปรปรวน (ANOVA) และเปรียบเทียบค่าเฉลี่ยโดยวิธี Duncan's Multiple Range Test โดยโปรแกรมวิเคราะห์ทางสถิติที่ระดับความเชื่อมั่น 95 เปอร์เซ็นต์ ทดลองทั้งหมด 3 ซ้ำ

วิเคราะห์สหสัมพันธ์ระหว่างคุณภาพทางกายภาพที่ผ่านการประเมินความสดทางประสาทสัมผัสกับ

คุณภาพทางเคมี โดยโปรแกรมวิเคราะห์ทางสถิติที่ระดับความเชื่อมั่น 99 เปอร์เซ็นต์ ทดลองทั้งหมด 3 ซ้ำ

3. ผลการวิจัยและวิจารณ์ผล

3.1 ผลการศึกษาปริมาณการจับปลากุลเลา ตำบลบางตาวา อำเภอเมือง จังหวัดปัตตานี ในรอบ 12 เดือน

ปริมาณการจับปลากุลเลาในรอบ 12 เดือน ในพื้นที่ตำบลบางตาวา อำเภอหนองจิก จังหวัดปัตตานี ตั้งแต่เดือนตุลาคม 2564 จนถึงเดือนกันยายน 2565 พบว่าปลากุลเลาที่จับได้ตลอดช่วงเวลามีปริมาณ 8,366.6 กิโลกรัม ต่อปี คิดเป็นปลากุลเลาจำนวน 4,952 ตัวโดยอัตราการจับในเดือนมกราคม 2565 มีปริมาณปลากุลเลาสูงสุด เท่ากับ 2,013.6 กิโลกรัม คิดเป็นปลากุลเลาจำนวน 1,540 ตัว อาจเนื่องจากในช่วงเวลาดังกล่าวเป็นลมมรสุมตะวันออกเฉียงเหนือ ซึ่งมีคลื่นลมแรงทำให้ปริมาณแพลงตอนก์ที่เป็นแหล่งอาหารของปลากุลเลามีจำนวนมาก ส่งผลให้ปลากุลเลามีจำนวนมากในช่วงเดือนดังกล่าว และในเดือนสิงหาคม 2565 มีปริมาณปลากุลเลาที่จับได้ต่ำสุด เท่ากับ 20 กิโลกรัม คิดเป็นปลากุลเลาจำนวน 13 ตัว แสดงได้ดัง Figure 1

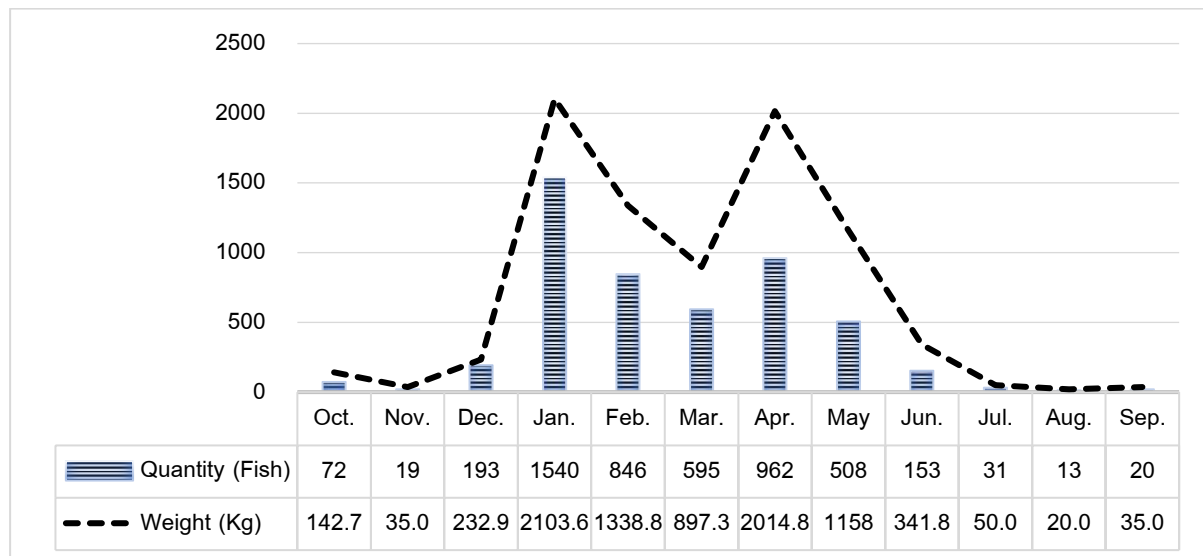


Figure 1 The capture production of fourfinger threadfin in the area of Bang Tawaa Sub-district, Nong Chik District, Pattani Province during October 2021 to September 2022.

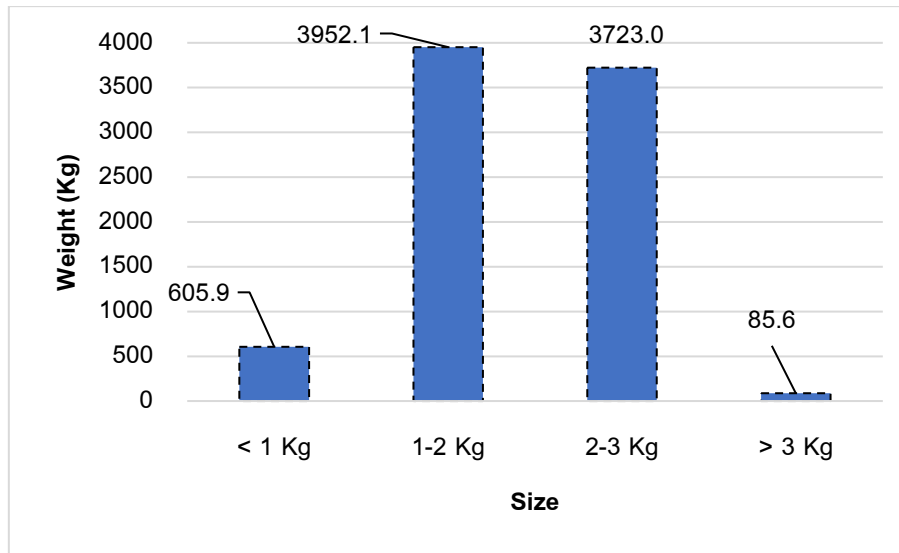


Figure 2 Size distribution of fourfinger threadfin fish in Ban Bang Tawaa Sub-district, Nong Chik District, Pattani Province, during October 2021 to September 2022.

ข้อมูลปริมาณจับปลาที่พบสอดคล้องกับการรายงานของ Fishery Statistics Group (2021) ซึ่งรายงานสถิติปริมาณการจับสัตว์ทะเลจากการทำประมงพื้นบ้านในปี 2563 ทั้งทะเลฝั่งอันดามันและฝั่งอ่าวไทย พบว่าในเดือนมกราคมมีอัตราการจับปลาสูงสุด เท่ากับ 358.8 ตัน เครื่องมือที่ทำประมงสามารถจับปลาได้สูงสุด คือ อวนติดตา โดยมีค่าเท่ากับ 313.21 ตัน ซึ่งอวนติดตาเป็นเครื่องมือชนิดเดียวกับการจับปลาของชาวประมงพื้นบ้านตำบลบางตา อำเภอนงจิก ที่ใช้ในช่วงเดือนมกราคมถึงเดือนเมษายน โดยสามารถจับปลาขนาด 1-2 กิโลกรัมได้สูงสุด และจากรายงานของ Fishery Statistics Group (2022) พบว่าในช่วงเดือนพฤษภาคมมีปริมาณการจับปลาทั้งทะเลฝั่ง อันดามันและฝั่งอ่าวไทยสูงสุด มีปริมาณรวมเท่ากับ 2794.66 ตัน โดยพบว่าอัตราการจับปลาในพื้นที่จังหวัดนครศรีธรรมราช สงขลา ปัตตานี และนราธิวาส ในปี 2564 มีปริมาณ 981.44 ตัน โดยใช้อวนติดตาจับปลาได้สูงสุดปริมาณ 956.78 ตัน และจากผลการเก็บข้อมูลปริมาณการจับปลาในพื้นที่ตำบลบางตา อำเภอนงจิก จังหวัดปัตตานี ตั้งแต่เดือนตุลาคม 2564 จนถึงเดือนกันยายน 2565 สามารถแบ่งขนาดของปลาตามขนาดได้แก่ (1) น้ำหนักต่ำกว่า 1 กิโลกรัม (2) น้ำหนัก 1-2 กิโลกรัม (3) น้ำหนัก 2-3 กิโลกรัม (4) น้ำหนักมากกว่า 3 กิโลกรัม โดยแต่ละขนาดมีปริมาณการจับแสดงได้ดัง Figure 2

ปลาที่จับได้ในช่วงเดือนเดือนตุลาคม 2564 จนถึงเดือนกันยายน 2565 ในพื้นที่ตำบลบางตา อำเภอนงจิก จังหวัดปัตตานี พบว่าปลาน้ำหนัก 1-2 กิโลกรัม มีปริมาณสูงสุด เท่ากับ 3,952.1 กิโลกรัม รองลงมาได้แก่ ปลาน้ำหนัก 2-3 กิโลกรัม เท่ากับ 3,723 กิโลกรัม ปลาน้ำหนักน้อยกว่า 1 กิโลกรัม เท่ากับ 605.9 กิโลกรัม และขนาดน้ำหนักมากกว่า 3 กิโลกรัม มีปริมาณต่ำสุดเท่ากับ 85.6 กิโลกรัม โดยพบว่าการจับปลาโดยใช้เบ็ดราวในช่วงเดือนเมษายนและพฤษภาคมทำให้ได้ปลาน้ำหนักมากกว่า 3 กิโลกรัม โดยปลาสดเมื่อนำมาผลิตเป็นปลาเค็มจะมีน้ำหนักลดลงร้อยละ 40 ดังนั้นหากใช้ปลาน้ำหนัก 1-2 กิโลกรัม จะได้ปลาเค็มที่มีน้ำหนักประมาณ 0.5-1 กิโลกรัม จากการสัมภาษณ์ผู้ประกอบการผลิตปลาเค็มในพื้นที่ตำบลบางตา และในพื้นที่อำเภอดำรงวิทยะปาลณ์พบว่าขนาดดังกล่าวที่เป็นที่ต้องการของผู้บริโภคเนื่องจากจัดส่งง่าย และตัดชิ้นแล้วเหมาะต่อการประกอบอาหาร และไม่ต้องเก็บไว้นาน ซึ่งทางผู้ประกอบการในชุมชนทำการผลิตปลาเค็มในช่วงฤดูการจากนั้นเก็บปลาเค็มในรูปแบบแช่แข็ง และก่อนส่งผู้บริโภคนำปลาเค็มออกมาตากเพื่อควบคุมความชื้นให้อยู่ในเกณฑ์มาตรฐาน ทำให้มีปลาเค็มจำหน่ายเพียงพอทั้งปี

Table 1 The chemical properties of fresh four finger threadfin with different size in January, June, July, and October 2022.

Month	Size (Kg)	Chemical properties (Mean±SD)					
		Moisture (%)	Protein (%)	Fat (%)	TVB-N (mg/100 g)	TBAR (mg MDA/Kg)	pH
January	< 1	61.98±4.63 ^f	20.03±0.29 ^e	1.20±0.14 ^j	13.18±1.43 ^j	0.37±0.00 ^e	5.43±0.01 ^h
	1-2	61.88±6.44 ^f	21.82±0.19 ^d	2.35±0.41 ^f	18.41±1.50 ^e	0.20±0.02 ⁱ	5.90±0.01 ^e
	> 2	71.42±6.26 ^a	18.07±0.25 ^g	4.01±0.14 ^a	21.47±1.57 ^a	0.55±0.01 ^a	6.19±0.01 ^a
	total	65.09±5.48	19.97±1.87	2.52±1.41	17.68±4.19	0.37±1.07	5.84±0.38
April	< 1	58.97±2.34 ^g	23.48±0.31 ^c	1.06±0.21 ^k	20.16±1.43 ^d	0.23±0.01 ^h	5.56±0.01 ^g
	1-2	59.34±3.17 ^g	24.29±0.24 ^b	1.98±0.19 ^g	21.23±0.97 ^c	0.35±0.02 ^f	5.89±0.01 ^e
	> 2	66.63±3.25 ^c	20.62±0.29 ^e	3.57±0.20 ^c	23.15±1.21 ^b	0.42±0.03 ^d	6.05±0.02 ^d
	total	61.64±4.32	22.79±1.92	2.20±1.26	21.51±1.51	0.33±0.09	5.83±0.84
July	< 1	60.13±5.12 ^g	24.21±0.28 ^b	1.63±0.15 ⁱ	19.34±0.89 ^f	0.29±0.01 ^g	5.67±0.01 ^f
	1-2	59.45±4.74 ^g	25.46±0.25 ^a	2.87±0.19 ^d	16.25±0.98 ^h	0.46±0.02 ^c	6.01±0.01 ^d
	> 2	69.81±3.91 ^b	23.38±0.32 ^c	3.96±0.14 ^b	21.33±1.13 ^c	0.48±0.02 ^b	6.25±0.01 ^a
	total	63.13±5.79	24.35±1.07	2.82±1.16	18.97±2.55	0.41±0.10	5.97±0.29
October	< 1	62.76±5.34 ^e	19.45±0.26 ^f	1.85±0.36 ^h	16.67±1.06 ^h	0.35±0.01 ^f	5.56±0.02 ^g
	1-2	63.28±4.26 ^d	20.12±0.18 ^e	2.56±0.25 ^e	15.28±1.24 ⁱ	0.43±0.02 ^d	6.04±0.01 ^d
	> 2	70.37±3.71 ^a	17.53±0.19 ^h	4.12±0.16 ^a	19.32±1.16 ^f	0.57±0.01 ^a	6.14±0.01 ^b
	total	62.76±4.25	19.03±1.34	2.84±1.16	17.09±2.05	0.45±0.11	5.91±0.31

Note: Means followed by distinct letters in the same column are significantly different ($p < 0.05$)

3.2 ผลการศึกษาคุณภาพทางกายภาพและเคมีของปลา กุลเลตามฤดูกาล

ผลการวิเคราะห์คุณภาพทางเคมี จาก Table 1 ผลการวิเคราะห์องค์ประกอบทางเคมีของปลากุเลาสตที่มีน้ำหนักแตกต่างกัน 3 ขนาด ได้แก่ ขนาดน้ำหนักต่ำกว่า 1 กิโลกรัม ขนาดน้ำหนัก 1-2 กิโลกรัม และขนาดน้ำหนักมากกว่า 2 กิโลกรัม พบว่าเมื่อขนาดน้ำหนักปลาเพิ่มขึ้น โดยปลากุเลาสตขนาดน้ำหนักมากกว่า 2 กิโลกรัม มีปริมาณความชื้นมากที่สุดในทุกช่วงเดือนที่ศึกษามีค่าสูงสุดเท่ากับร้อยละ 71.42 ($p < 0.05$) ส่วนปริมาณโปรตีน พบว่าปลากุเลาสตขนาดน้ำหนัก 1-2 กิโลกรัม มีปริมาณมากที่สุดในทุกช่วงเดือนที่ศึกษามีปริมาณสูงสุดเท่ากับร้อยละ 25.46 นอกจากนี้ ยังพบว่าเมื่อน้ำหนักปลากุเลาสตเพิ่มขึ้นส่งผลทำให้ปริมาณไขมันเพิ่มขึ้นตามกัน ซึ่งปลากุเลาสตขนาดน้ำหนักต่ำกว่า 1 กิโลกรัม จัดอยู่ในกลุ่มปลาไขมันต่ำมาก (ร้อยละน้อยกว่า 2) ปลากุเลาสตขนาดน้ำหนัก 1-2 กิโลกรัม จัดอยู่ในกลุ่มปลาไขมันต่ำ (ร้อยละ 2-4) ส่วนปลากุเลาสตขนาดน้ำหนักมากกว่า 2 กิโลกรัม จัดอยู่ในกลุ่มปลาไขมันปานกลาง (ร้อยละ 4-8) โดยปริมาณไขมันจะส่งผลกระทบต่อคุณภาพของผลิตภัณฑ์อาหาร โดยเฉพาะในด้านประสาทสัมผัสที่เกี่ยวข้องกับกลิ่นรส และ

เนื้อสัมผัส เนื่องจากไขมันช่วยสร้างความชุ่มชื้น ทำให้ผลิตภัณฑ์ปลากุเลาเค็มมีกลิ่นรสที่ดี เนื้อนุ่มฟู นอกจากนี้ น้ำหนักของปลากุเลาที่มีผลต่อคุณภาพของปลากุเลาแล้วยังพบว่าช่วงเดือนในการเก็บตัวอย่างยังมีผลต่อคุณภาพของปลากุเลา โดยพบว่าปลากุเลาที่จับในช่วงเดือนกรกฎาคม มีปริมาณโปรตีน และไขมันที่สูงกว่าช่วงเดือนอื่น ๆ มีค่าเฉลี่ยเท่ากับร้อยละ 24.35 และ 2.82 ตามลำดับ ซึ่งปลากุเลาที่จับโดยการใช้อวนลากทำให้ปลากุเลาที่จับได้มีขนาดน้ำหนักส่วนใหญ่มากกว่า 2 กิโลกรัม ส่วนในเดือนมกราคม ปลากุเลาที่จับได้มีปริมาณโปรตีนต่ำ อาจเนื่องจากในช่วงเวลาดังกล่าวปลากุเลาเพศเมียจำนวนมากที่จับได้พบว่ามีการวางไข่ ส่งผลให้ปริมาณโปรตีนในเนื้อปลากุเลามีปริมาณต่ำกว่าในช่วงเดือนอื่น ๆ

ค่า TVB-N ได้จากการวัดสารที่เกิดจากการสลายตัวของสารประกอบไนโตรเจนทั้งหมดจากการย่อยสลาย ไกลโคเจนด้วยเอนไซม์และจุลินทรีย์ภายในอวัยวะของปลา เกิดการสร้างเป็นกรดอะมิโนอิสระ และส่งผลให้มีการสะสมของ trimethylamine, dimethylamine, monoethylamine, แอมโมเนีย และสารระเหยอื่น ๆ ซึ่งทำให้เกิดกลิ่นเหม็นเน่าในสัตว์น้ำ (Chaimano *et al.*, 2019) โดยมีข้อกำหนด ดังนี้ ค่า TVB-N น้อยกว่า 12 มิลลิกรัม/100 กรัมตัวอย่าง แสดงถึงปลาสดมาก TVB-N อยู่ในช่วง

12-20 มิลลิกรัม/100 กรัมตัวอย่าง แสดงถึงปลาสดบริโภคได้ TVB-N อยู่ในช่วง 20-25 (มิลลิกรัม/100 กรัมตัวอย่าง) แสดงถึงปลาเริ่มเน่าแต่บริโภคได้ แต่หากมีค่ามากกว่า 25 (มิลลิกรัม/100 กรัมตัวอย่าง) แสดงว่าปลาเน่าไม่สามารถบริโภคได้ (Srimgarm *et al.*, 2020) โดยจากตาราง พบว่ามีค่า TVB-N ของปลากุเลาอยู่ในช่วง 13.18-24.47 มิลลิกรัม/100 กรัมตัวอย่าง โดยปลากุเลาที่มีขนาดน้ำหนักน้อยกว่า 1 กิโลกรัมและขนาด 1-2 กิโลกรัมอยู่ในระดับความสดบริโภคได้ ส่วนปลาที่มีขนาดมากกว่า 2 กิโลกรัม อยู่ในระดับปลาเริ่มเน่าแต่บริโภคได้ จากการรายงานของ Jirapong *et al.* (2018) พบว่า ปลาไม่สดเกลียวจะซึมผ่านได้เร็วกว่าปลาสดถึงร้อยละ 30 เนื่องจากผนังเซลล์เกิดการเปลี่ยนแปลงทำให้น้ำซึมผ่านได้เร็ว ลดระยะเวลาทำให้เน่าให้สั้นลง อย่างไรก็ตาม ควรมีค่า TVB-N ไม่เกิน 25 (มิลลิกรัม/100 กรัมตัวอย่าง) และควรนำปลาสดมาทำเค็มเพราะทำให้ได้ปลาเค็มที่มีคุณภาพดี

ปริมาณ TBARS เป็นการวิเคราะห์การเกิดออกซิเดชันของไขมัน ซึ่งปฏิกิริยาออกซิเดชันของไขมันจากผลการวิเคราะห์ พบว่าค่า TBARS ของปลากุเลาสดมีค่าอยู่ในช่วง 0.20-0.57 (มิลลิกรัม MDA ต่อกิโลกรัม) พบว่าช่วงเดือนกรกฎาคม และตุลาคม มีค่า TBARS สูงกว่าช่วงเดือนมกราคมและเมษายน โดยมีค่าเฉลี่ยของทุกขนาดเท่ากับ 0.41 และ 0.45 (มิลลิกรัม MDA ต่อกิโลกรัม) โดยปลากุเลาที่มีขนาดน้ำหนักมากกว่า 2 กิโลกรัม ที่จับได้ช่วงเดือนตุลาคม มีปริมาณสูงสุด เท่ากับ

0.57 (มิลลิกรัม MDA ต่อกิโลกรัม) ซึ่งสอดคล้องกับปริมาณไขมันของปลากุเลา โดยปลากุเลาที่มีขนาดน้ำหนักมากกว่า 2 กิโลกรัม ที่จับได้ช่วงเดือนตุลาคม มีปริมาณสูงสุด เท่ากับร้อยละ 4.12

ค่า pH โดยหลังสัตว์น้ำตายในช่วงแรกค่า pH ในเนื้อของสัตว์น้ำจะเปลี่ยนไปโดยลดลงซึ่งเกิดจากปริมาณกรดแล็กติกที่เพิ่มขึ้นจากกระบวนการไกลโคไลซิส (Yongsawatdikul, 2014) จากการวิเคราะห์ค่า pH ของปลากุเลาจาก 2 แหล่ง พบว่ามีค่าอยู่ในช่วง 5.43 และ 6.25 ตามลำดับ อย่างไรก็ตามการเปลี่ยนแปลงค่า pH ของสัตว์น้ำขึ้นอยู่กับกระบวนการปลดปล่อยฟอสเฟตและแอมโมเนียในกระบวนการสลาย ATP และสมบัติการเป็นบัฟเฟอร์ของเนื้อปลาด้วย กระบวนการทำให้สัตว์น้ำเสียชีวิตมีผลต่อการลดลงของปริมาณไกลโคเจนในกล้ามเนื้อ โดยทำให้ค่า pH สุดท้ายลดลง กล้ามเนื้อมีความเป็นกรดมากขึ้น ส่งผลกระทบต่อค่าสีและความสามารถในการอุ้มน้ำของเนื้อ (Jaturasitha *et al.*, 2011) จากการรายงานของ Ozogul *et al.* (2011) พบว่า สารประกอบไนโตรเจนที่ระเหยได้ทั้งหมด (TVB-N) เพิ่มขึ้น ทำให้ค่าความเป็นกรดต่างสูงขึ้นด้วย โดยจาก Table 1 พบว่าปลากุเลาที่มีขนาดน้ำหนักน้อย โปรตีนและไขมันต่ำ ทำให้การเน่าเสียช้าลงซึ่งหมายถึงการเกิดสารประกอบในกลุ่มต่างที่ระเหยได้มีน้อยลงจึงยังคงทำให้ค่าความเป็นกรดต่างต่ำ

Table 2 Chemical properties of fresh male and female fourfinger threadfin from Bang Tawaa Sub-district, Nong Jik District, Pattani Province, and Tak Bai District, Narathiwat Province. (in January 2022.)

Month	Gender	Chemical properties (Mean±SD)					
		Moisture (%)	Protein (%)	Fat (%)	TVB-N (mg/100 g)	TBAR (mg MDA/Kg)	pH
Bang Tawa	female	62.54±5.31 ^c	22.19±0.17 ^a	3.15±0.28 ^b	20.15±1.43 ^b	0.35±0.02 ^b	5.94±0.01 ^b
Sub-district	Male	61.88±6.44 ^d	21.82±0.19 ^a	2.35±0.41 ^d	13.18±1.43 ^d	0.20±0.02 ^d	5.43±0.01 ^c
Tak Bai	female	77.05±0.33 ^a	18.89±0.02 ^b	3.70±0.10 ^a	24.47±1.57 ^a	0.44±0.01 ^a	6.19±0.01 ^a
District	Male	73.65±2.63 ^b	18.22±0.07 ^b	2.83±0.64 ^c	18.41±1.57 ^c	0.25±0.01 ^c	5.90±0.01 ^b

Note: Means followed by distinct letters in the same column are significantly different ($p < 0.05$)

จาก Table 2 ผลการเปรียบเทียบสมบัติทางเคมีของปลากุเลาขนาดน้ำหนัก 1-2 กิโลกรัม เป็นขนาดที่ได้รับความนิยมของผู้บริโภคที่ซื้อปลากุเลา จากตำบลบางตาวา อำเภอหนองจิก กับปลากุเลาอำเภอตากใบ และทำการวิเคราะห์แยกตามเพศ (Figure 3) เพื่อเป็นการยืนยันคุณภาพของปลากุเลาจากตำบลบางตาวา อำเภอหนองจิก มีคุณภาพเทียบเท่าปลากุเลาจากอำเภอตากใบ จังหวัดนราธิวาส ซึ่งเป็นสินค้า GI (geographical incidation) โดยปลากุเลาจากทั้งสองแหล่ง มีปริมาณความชื้น อยู่ในช่วงร้อยละ 61.88-77.05 และปลากุเลาจากตำบลบางตาวา มีปริมาณโปรตีนสูงกว่าปลากุเลาจากอำเภอตากใบทั้งในเพศผู้และเพศเมีย ส่วนปริมาณไขมัน พบว่าปลากุเลาจากอำเภอตากใบ มีปริมาณไขมันสูงกว่าปลากุเลาจากตำบลบางตาวา และเมื่อเปรียบเทียบปริมาณไขมันระหว่างปลากุเลาเพศผู้และเพศเมีย พบว่าปลากุเลาเพศเมียมีปริมาณไขมันที่สูงกว่าเพศผู้คิดเป็น 1.3 เท่า ส่งผลให้เมื่อนำปลาเพศเมียไปผลิตปลากุเลาเค็มจะมีลักษณะสีเหลืองทอง เนื่องจากมีไขมันเคลือบผิว

ปริมาณ TBARS ระหว่างขนาดน้ำหนักของปลากุเลาสดจากตำบลบางตาวา 3 ขนาด (Table 2) เมื่อเปรียบเทียบ TBARS ของปลากุเลาสดขนาดน้ำหนัก 1-2 กิโลกรัม ระหว่างปลากุเลาจากตำบลบางตาวากับปลากุเลาจากอำเภอตากใบ แบ่งเป็นเพศผู้และเพศเมีย โดยการ

วิเคราะห์ TBARS เป็นการวิเคราะห์การเกิดออกซิเดชันของไขมัน ซึ่งปฏิกิริยาออกซิเดชันของไขมัน เป็นปฏิกิริยาเคมีที่มีความสำคัญต่ออายุการเก็บของอาหาร เนื่องจากสารเคมีที่เกิดขึ้นส่งผลต่อการเกิดกลิ่นหืนในอาหาร กำหนดให้ค่าการวิเคราะห์ไม่ควรเกิน 1-2 (มิลลิกรัม MDA ต่อกิโลกรัม) (Kiettiolam and Tepwong, 2022) และพบว่าปลากุเลาสดจากตำบลบางตาวา ขนาดน้ำหนัก 1-2 กิโลกรัม เพศเมียมีปริมาณไขมันสูงจึงเกิดปฏิกิริยาออกซิเดชันได้ง่ายกว่า อย่างไรก็ตาม พบว่าปริมาณไขมัน ยังมีผลต่อค่า TVB-N, TBAR และ pH ของปลากุเลา นอกจากปริมาณไขมันแล้วสภาวะความเครียดของปลาก่อนที่ปลาทาย เป็นสาเหตุของการหมิ่นหืนในเนื้อปลาเช่นกัน (Chaimano *et al.*, 2019)

ผลการประเมินคุณภาพความสดของปลากุเลาด้วยวิธีทางประสาทสัมผัส จาก Table 3 พบว่าปลากุเลาสดส่วนใหญ่อยู่ในระดับเกณฑ์ความสดที่ดี เนื่องจากคะแนนที่ได้รับจากการประเมิน ไม่เกิน 10 คะแนน ยกเว้นปลากุเลาสดขนาดน้ำหนักมากกว่า 2 กิโลกรัม ที่จับได้ในช่วงเดือนเมษายน อาจเป็นเพราะเป็นช่วงที่มีอุณหภูมิค่อนข้างสูงในระหว่างการขนส่งจากเรือประมงมีอุณหภูมิที่ทำให้จุลินทรีย์เจริญได้ดี ส่งผลให้ปลากุเลามีความสดลดลงกว่าเดือนอื่น ๆ

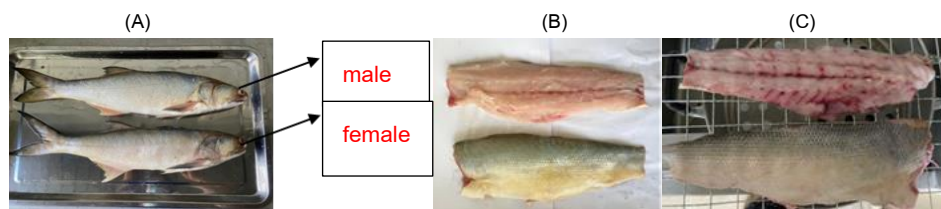


Figure 3 Characteristics of fourfinger threadfin (A) male and female (B) fillet female (C) fillet male

Table 3 Freshness of fourfinger threadfin with different sizes in January, June, July, and October 2022.

Month	Size (Kg)	Fish freshness (Score)					
		eye	gills	body	meat	fillet	total
January	< 1	0	0	0	0	0	0
	1-2	1	1	1	1	0	5
	> 2	2	2	1	1	0	6
April	< 1	2	2	1	1	0	6
	1-2	2	4	1	2	0	9
	> 2	3	4	2	2	1	12
July	< 1	1	1	0	0	0	2
	1-2	2	2	0	1	0	5
	> 2	2	2	1	1	0	6
October	< 1	0	0	0	0	0	0
	1-2	1	1	1	1	0	4
	> 2	1	1	1	1	1	5

Note: Freshest at a score of 0 and freshness decreases as the score increases.

Table 4 Correlation between chemical properties and physical quality of Fourfinger threadfin

	Physical quality	Moisture	TVB-N	TBAR	pH
Physical quality	1.000	0.214*	0.729**	0.160*	0.576**
Moisture		1.000	0.487*	0.764**	0.692**
TVB-N			1.000	0.381*	0.535**
TBAR				1.000	0.686**
pH					1.000

Note: * Demonstrating a statistically significant relationship ($p < 0.05$)

** Demonstrating a statistically significant relationship ($p < 0.01$)

Table 5 Free fatty acid, histamine, and protein content of chilled and frozen Fourfinger threadfin during storage time.

Condition	Storage time (Day)	Chemical properties of fourfinger threadfin (Mean $\pm$ SD)			
		Free fatty acid ^{ns} (mg/100 g)	Histamine (mg/kg)	pH	TVB-N (mg/100 g)
chilled	0	0.01 $\pm$ 0.01	9.84 $\pm$ 0.01 ^e	5.35 $\pm$ 0.03 ^e	12.15 $\pm$ 1.01 ^f
	1	0.01 $\pm$ 0.01	10.03 $\pm$ 0.01 ^d	5.56 $\pm$ 0.02 ^d	14.56 $\pm$ 0.98 ^e
	3	0.02 $\pm$ 0.01	12.40 $\pm$ 0.01 ^c	5.71 $\pm$ 0.00 ^c	19.43 $\pm$ 1.22 ^c
	5	0.02 $\pm$ 0.00	28.76 $\pm$ 0.01 ^a	5.94 $\pm$ 0.00 ^b	25.78 $\pm$ 0.95 ^b
	7	0.02 $\pm$ 0.00	31.84 $\pm$ 0.01 ^a	6.02 $\pm$ 0.00 ^a	28.32 $\pm$ 1.13 ^a
frozen	15	0.02 $\pm$ 0.01	24.78 $\pm$ 0.01 ^b	5.59 $\pm$ 0.00 ^d	13.18 $\pm$ 1.45 ^e
	30	0.02 $\pm$ 0.01	26.79 $\pm$ 0.01 ^b	5.85 $\pm$ 0.01 ^c	16.32 $\pm$ 1.36 ^d

note: Means followed by distinct letters in the same column are significantly different ($p < 0.05$)

^{ns} followed by distinct letters in the same column are non-significantly different ($p > 0.05$)

Table 6 Moisture content fat content water holding and pH of chilled and frozen Fourfinger threadfin during storage time

Condition	Storage time (Day)	Physical and chemical properties of fourfinger threadfin (Mean $\pm$ SD)			
		Moisture (%)	Protein ^{ns} (g/100g)	Fat (%)	Water holding (%)
chilled	0	68.30 $\pm$ 0.23 ^b	20.90 $\pm$ 0.01	0.56 $\pm$ 0.23 ^c	80.33 $\pm$ 0.63 ^a
	1	66.53 $\pm$ 0.05 ^c	20.89 $\pm$ 0.01	0.73 $\pm$ 0.16 ^c	79.41 $\pm$ 0.49 ^a
	3	53.16 $\pm$ 0.45 ^d	20.84 $\pm$ 0.01	1.25 $\pm$ 0.13 ^b	72.58 $\pm$ 0.68 ^b
	5	50.26 $\pm$ 1.31 ^e	20.58 $\pm$ 0.01	1.64 $\pm$ 0.16 ^a	66.48 $\pm$ 0.28 ^c
	7	42.84 $\pm$ 0.36 ^f	20.46 $\pm$ 0.01	1.73 $\pm$ 0.07 ^a	58.54 $\pm$ 0.47 ^d
frozen	15	77.61 $\pm$ 0.15 ^a	22.15 $\pm$ 0.01	0.13 $\pm$ 0.02 ^d	78.77 $\pm$ 0.42 ^a
	30	77.26 $\pm$ 0.08 ^a	22.18 $\pm$ 0.01	0.18 $\pm$ 0.03 ^d	79.71 $\pm$ 1.49 ^a

จาก Table 4 คุณภาพทางกายภาพของปลาทุเลา ที่ผ่านการประเมินความสดทางประสาทสัมผัส จากลักษณะ ของตา เหงือก ลำตัว เนื้อ ท้อง แล้วคำนวณเป็นค่าประเมิน โดยรวม พบว่ามีความสัมพันธ์เชิงบวกกับค่าทางเคมี โดย เมื่อค่าการประเมินความสดทางประสาทสัมผัสเพิ่มขึ้นค่า

คุณภาพทางเคมีก็มีค่าเพิ่มขึ้นเช่นกัน ซึ่ง TVB-N แสดงถึง ค่าเสื่อมเสียของสัตว์น้ำ และ pH มีค่าสหสัมพันธ์เชิงบวก กับค่าประเมินทางประสาทสัมผัส เท่ากับ 0.729 และ 0.576 ตามลำดับ

3.3 ผลการศึกษาคุณภาพของปลากุเลาที่เก็บรักษาในสภาวะแช่เย็นและแช่แข็ง

จากการศึกษาคุณภาพของปลากุเลาที่เก็บรักษาในสภาวะแช่เย็นและแช่แข็ง โดยเก็บรักษาปลากุเลาสดที่อุณหภูมิแช่เย็น เป็นเวลา 7 วัน และที่อุณหภูมิแช่แข็ง เป็นเวลา 30 วัน โดยในวันที่ 0 เป็นการวิเคราะห์ปลากุเลาสดก่อนการแช่ทั้ง 2 อุณหภูมิ แสดงได้ดัง Table 5 และ Table 6 พบว่า เมื่อเวลาเก็บรักษาเพิ่มขึ้นทั้งอุณหภูมิแช่เย็นและแช่แข็ง มีค่าปริมาณกรดไขมันอิสระและปริมาณโปรตีนไม่แตกต่างกันโดยมีค่าอยู่ในช่วง 0.01-0.02 (มิลลิกรัมต่อ 100 กรัม) และ 20.46-22.18 (กรัมต่อ 100 กรัม) ตามลำดับ อย่างไรก็ตามพบว่าที่อุณหภูมิแช่เย็นเมื่อเวลาเก็บรักษานานขึ้นค่าความชื้น และ Water holding ลดลง อาจเกิดจากความสามารถในการอุ้มน้ำของโปรตีนในเนื้อปลาที่ลดลง การสูญเสียในสัตว์น้ำผนังเซลล์ของกล้ามเนื้อถูกทำลายจากจุลินทรีย์ ทำให้ไมโอซินสูญเสียความสามารถในการอุ้มน้ำ (Koral *et al.*, 2023) ส่วนค่า pH มีค่าเพิ่มขึ้นเนื่องจากการเพิ่มขึ้นของสารประกอบไนโตรเจนที่ระเหยปริมาณต่างที่ระเหยได้ที่เกิดจากกิจกรรมของเอนไซม์ในตัวปลาหรือเอนไซม์จากจุลินทรีย์ที่เพิ่มขึ้นตามระยะเวลาการเก็บรักษา (Kiettiolarn and Tepwong, 2022)

นอกจากนี้ ยังพบว่า เมื่อเวลาการเก็บรักษาเพิ่มขึ้นส่งผลให้ปริมาณ Histamine เพิ่มขึ้น โดยการเก็บปลากุเลาที่อุณหภูมิแช่เย็น เป็นเวลา 7 วัน มีปริมาณ Histamine สูงสุดมีค่าเท่ากับ 31.80 ± 0.01 (มิลลิกรัมต่อกิโลกรัม) ($p < 0.05$) นอกจากนี้ยังพบว่า การเก็บรักษาปลากุเลาแบบแช่แข็งมีปริมาณ Histamine สูงกว่าการเก็บรักษาที่อุณหภูมิแช่เย็นในช่วงเวลา 0-3 วัน เมื่อเก็บปลาสดไว้ที่อุณหภูมิต่ำกว่าหรือเท่ากับ 0 องศาเซลเซียส จุลินทรีย์ที่ปนเปื้อนในปลาจะยังไม่ผลิตฮิสตามีน แต่เมื่ออยู่ในภาวะที่เหมาะสม เช่นอุณหภูมิสูงขึ้น จุลินทรีย์ที่ปนเปื้อนจะเพิ่มจำนวน และผลิตฮิสตามีนในปริมาณมากขึ้น (Chaikulsaareewath, 2014) ดังนั้น Histamine ที่เพิ่มขึ้นของการเก็บรักษาที่อุณหภูมิแช่แข็งอาจเกิดจากการปนเปื้อนจุลินทรีย์จากภายนอกที่สร้าง Histamine เมื่อทำการละลายปลากุเลาแล้วทำการวิเคราะห์ส่งผลให้ปริมาณ Histamine เพิ่มขึ้น จากการรายงานของ Klongnganchul and Muangthai (2017) ระบุว่าองค์การอาหารและยาของสหรัฐอเมริกากำหนดให้ฮิสตามีนในปลาไม่ควรเกิน 50 มิลลิกรัมต่อกิโลกรัม เนื่องจาก Histamine ก่อให้เกิดอาการอาหารเป็นพิษ โดยแสดงอาการเช่น ผื่นคัน แสบร้อนบริเวณปาก Histamine เกิดขึ้นจากการปนเปื้อนของจุลินทรีย์ในสัตว์น้ำภายหลังจากการตายหากเก็บในอุณหภูมิที่สูงกว่า 0 องศาเซลเซียส จุลินทรีย์จะผลิต

เอนไซม์ฮิสติดีนดีคาร์บอกซิลเลสจากนั้นจะย่อยสลายกรดอะมิโนฮิสติดีนอิสระซึ่งเป็นองค์ประกอบของโปรตีนในเนื้อปลาเปลี่ยนเป็น Histamine ส่วนค่า TVB-N ที่แสดงการเสื่อมเสียของสัตว์น้ำมีค่าลดลงอย่างช้า ๆ เนื่องจากความเย็นหรืออุณหภูมิที่ต่ำจากการใช้น้ำแข็งหรือการแช่แข็งทำให้การทำงานของน้ำย่อยในตัวของสัตว์น้ำ และการเจริญเติบโตของจุลินทรีย์ที่จะทำให้เกิดการเสื่อมเสียนั้นทำงานได้ช้าลง ปริมาณ TVB-N จึงเพิ่มขึ้นอย่างช้า ๆ

4. สรุป

พื้นที่ตำบลบางตาawa อำเภอหนองจิก จังหวัดปัตตานี สามารถจับปลากุเลาได้ปริมาณมากในเดือนมกราคมถึงเดือนพฤษภาคม ปลากุเลาขนาดที่จับได้สูงสุดคือขนาด 1-2 กิโลกรัม โดยในช่วงเดือนกรกฎาคมปลากุเลาที่จับได้มีปริมาณโปรตีนและไขมันสูง และมีค่า TVB-N ที่เหมาะสมในการผลิตปลากุเลา นอกจากช่วงเดือนในการจับปลาแล้วขนาดและเพศของปลากุเลาก็มีผลต่อคุณภาพเช่นกัน โดยปลากุเลาเพศเมีย ขนาดมากกว่า 2 กิโลกรัม มีปริมาณไขมันสูงสุด ($p < 0.05$) ส่งผลทำให้ TVB-N และ TBAR มีค่าสูงขึ้นตามปริมาณไขมันของปลากุเลา และเมื่อศึกษาการเก็บรักษาปลากุเลาที่อุณหภูมิแช่เย็นและแช่แข็งพบว่าที่อุณหภูมิแช่เย็นสามารถเก็บรักษาปลากุเลาได้เป็นเวลา 3 วัน ทำให้ผู้ประกอบการสามารถเก็บปลากุเลาสดที่มีมากในช่วงฤดูกาลทำให้เพิ่มระยะเวลาการรักษาคุณภาพของปลากุเลาเพื่อรอการผลิตในแต่ละรอบวันการน่านขึ้นและลดการนำปลากุเลาสดออกจำหน่ายนอกพื้นที่ และสามารถผลิตเป็นปลากุเลาเค็มที่มีคุณภาพได้ และเมื่อเทียบอุณหภูมิแช่แข็งเก็บได้เป็นเวลามากกว่า 30 วัน แต่เมื่อนำมาผลิตเป็นปลากุเลาเค็มเนื้อปลาเค็มที่ได้จะมีความกระด้างไม่เป็นที่ยอมรับของผู้บริโภค

5. ข้อเสนอแนะ

5.1 ควรมีการศึกษาสภาวะในการเก็บรักษาในอุณหภูมิแช่แข็งปลากุเลาในสารละลายอื่น เพื่อลดการกระด้างของเนื้อปลาเมื่อนำมาผลิตเป็นปลากุเลาเค็ม

5.2 ควรเก็บข้อมูลปริมาณการจับปลากุเลาในช่วงปีถัดไปเพื่อความชัดเจนของข้อมูลและเป็นประโยชน์กับชาวประมงพื้นบ้าน และผู้ประกอบการผลิตปลากุเลาเค็มสามารถวางแผนการผลิตได้อย่างแม่นยำ

6. กิตติกรรมประกาศ

งานวิจัยนี้ได้รับการสนับสนุนทุนวิจัยจากสนับสนุนโดยกองทุนส่งเสริมวิจัยด้านวิทยาศาสตร์ วิจัยและนวัตกรรม หน่วยบริหารและจัดการทุนด้านการพัฒนา ระดับพื้นที่ (บพท.) ปีงบประมาณ 2564

7. เอกสารอ้างอิง

- AOAC. 2016. **Official methods of analysis** (17th ed). Association of Official Analytical Chemists, Arlington.
- Buege, J.E. and Aust, S.D. 1978. Microsomal Lipid Peroxidation. **Method in Enzymology** 52: 302-304.
- Chaikulsareewath, A. 2014. Histamine Reduction in Fish and Fishery Products by Microorganisms. **Journal of Food Technology, Siam University** 9(1): 1-8. (in Thai)
- Chaimano, K., Tragoonsawang, T., Chansupasen, W. and Worananthakij, W. 2019. Preserved chilled Nile tilapia (*Oreochromis niloticus*) by medical plant crude extract. **Khon Kaen Agriculture Journal** 47(2): 475-482. (in Thai)
- Conway, E.J. and Byrne, A. 1936. An absorption apparatus for the micro determination of certain volatile substances I. The micro determination of ammonia. **Journal of Biochemistry** 27: 419-429.
- Fishery Statistics Group. 2021. **Research Report on Statistics of Marine Capture of Artisanal Fisheries 2020**. Department of Fisheries, Ministry of Agriculture and Cooperatives, Bangkok. (in Thai)
- Fishery Statistics Group. 2022. **Research Report on Statistics of Marine Capture of Artisanal Fisheries 2021**. Department of Fisheries, Ministry of Agriculture and Cooperatives, Bangkok. (in Thai)
- Jaturasitha, S., Pornsopin, P. and Dechanuwat. 2011. **Research Report on Carcass and Meat Quality of Sturgeon (Huso huso) Produced by Royal Project Foundation**. Department of Animal and Aquatic Science, Faculty of Agriculture, Chiang Mai University. (in Thai)
- Jirapong, C., Soonthornwat, S., Dechwutthiphon, C., Kanchanawat, P. and Noirod, P. 2018. **Research Report on Changes in Quality of Dried Snakeskin Gourami under Active Packaging: A Case Study of Moisture Absorbent Pad Bergamot Peel**. Agricultural Research Development Agency (Public Organization), Bangkok. (in Thai)
- Kiettiolarn, M. and Tepwong, P. 2022. Effects of Mushroom Extract and Gelatin Coating on the Storage Quality of Refrigerated Tilapia (*Oreochromis niloticus*) Fillets. **Rajamangala University of Technology Srivijaya Research Journal** 14(3): 660-675. (in Thai)
- Klongnganchul, K. and Muangthai, P. 2017. Taurine and Histamine in Seafish and Freshwater Fish Samples. **Srinakharinwirot University (Journal of Science and Technology)** 9(18): 1-10. (in Thai)
- Koral, S., Kose, S., Pompe, M. and Kocar, D. 2023. The Effect of Freezing Raw Material on the Quality Changes and Safety of Salted Anchovies (*Engraulis encrasicolus*, Linnaeus, 1758) at Cold Storage Conditions. **Applied Sciences** 13(6200): 2-23.
- Kwan-on, P., Suwansakornkul, P, Raksakulthai, N. and Runglertkriangkrai, J. 2015. Effect of Freshness on Physicochemical Properties of Flesh and Protein Gel from Spanish mackerel (*Scomberomorus commerson*) During Iced Storage. **Journal RMUTTO** 8(2): 35-44. (in Thai)
- Ozogul, F., Kuley, E. and Kenar, M. 2011. Effects of rosemary and sage tea extract on biogenic amines formation of sardine (*Sardina pilchardus*) fillets. **International Journal of Food Science and Technology** 46: 761-766.
- Sringarm, C., Numthuam, S. and Rungchang, S. 2020. Shelf-life evaluation from total volatile basic nitrogen of chilled White shrimp. **Naresuan Agriculture Journal** 17(2): 1-8. (in Thai)
- Sritakon, T., Nooklum, R., Vibunpant, S., Songkaew, N. and Kongchai, T. 2019. **Research Report on Reproductive Biology of Fourfinger**

Threadfin (*Eleutheronema tetradactylum* (Shaw, 1804)) in Nakhon Si Thammarat and Songkhla Provinces. Department of Fisheries, Ministry of Agriculture and Cooperatives, Bangkok. (in Thai)

Thorarinsdottir, K. A. , Aragon, S. , Bogason, S. G. and Krisbergson, K. 2001. Effect of phosphate on yield, quality, and water holding capacity in the processing of salted cod (*Gadus morhua*). **Journal of food science** 66: 821-826.

Viana, F.M., Monteiro, M.L.G., Ferrari, R.G., Mutz, Y.Z., Martins, I. B. A. , Salim, I. P. A. A. , Alcantara, M. D. , Deliza, R. , Mano, S. B. and Conte-Junior, C. A. 2022. Multivariate Nature of Fish Freshness Evaluation by Consumers. **Foods** 11(2144): 3-15.

Vinoth, A. 2014. Fishing ground of *Eleutheronema tetradactylum* (Indian salmon) in Pulicat coast. **International Journal of Development Research** 4(10): 2048-2051.

Yongsawatdigul, J. 2014. **Research Report on Chemical parameters for traceability of raw material freshness of tropical surimi.** Suranaree University of Technology, Nakhon Ratchasima. (in Thai)

Zhelyazkov, G. and Stratev, D. 2018. Some Physicochemical Characteristics of Fish Products Sampled from Bulgarian Retail Markets. **Journal of Food Quality and Hazards Control** 5: 33-36.

Research Article

การหาปริมาณกรดเบนโซอิกและกรดซอร์บิกในตัวอย่างสลัดครีมและมายองเนสโดยใช้เทคนิคการสกัดระดับจุลภาคที่เหมาะสมร่วมกับโครมาโทกราฟีของเหลวสมรรถนะสูง

Determination of Benzoic Acid and Sorbic Acid in Salad Cream and Mayonnaise Samples Using Optimized Microextraction Followed by High Performance Liquid Chromatography

พิมพ์พิมล พุกพัทธารนต์^{a*}, นิวรรณ แท่นมณี^b และ จันทน์ผา ตันธนา^b

Pimpimol Phukpattaranont^{a*}, Niwan Tanmanee^b and Chanpa Tanthana^b

^a สำนักเครื่องมือวิทยาศาสตร์และการทดสอบ มหาวิทยาลัยสงขลานครินทร์ อำเภอหาดใหญ่ จังหวัดสงขลา 90110

^a Office of Scientific Instrument and Testing, Prince of Songkla University, Hatyai, Songkhla 90110, Thailand.

^b คณะเภสัชศาสตร์ มหาวิทยาลัยสงขลานครินทร์ อำเภอหาดใหญ่ จังหวัดสงขลา 90110

^b Faculty of Pharmaceutical Sciences, Prince of Songkla University, Hatyai, Songkhla 90110, Thailand.

ABSTRACT

Article history:

Received: 2023-07-25

Revised: 2024-01-09

Accepted: 2024-03-22

Keywords:

high performance liquid;

chromatography;

Benzoic acid;

Sorbic acid;

fat content in food matrix

This research has developed an analytical method for simultaneously determining two preservatives, namely benzoic acid and sorbic acid, in salad cream and mayonnaise by high performance liquid chromatography (HPLC). The chromatographic separation was performed on a Hypersil GOLD (5 micrometers, ID 4.6 mm, length 150 mm) column with gradient elution of 0.02 M aqueous KH₂PO₄ (pH 5) and acetonitrile with a 1.0 mL/min flow rate and UV detection at 220 nm. For both benzoic acid and sorbic acid, the limit of quantification (LOQ) was 0.02 mg/L, whereas the limits of detection (LOD) were 0.007 and 0.006 mg/L, respectively. Excellent linearity ($R^2 > 0.9997$) was obtained over the concentration range of 0.02-100 mg/L. The high accuracy of two compounds was presented by % recovery. While the % recovery of benzoic acid and sorbic acid in the salad cream sample was in the range of 89.6–99.4% and 90.6–98.3%, respectively, the % recovery of benzoic acid and sorbic acid in the mayonnaise sample was in the range of 99.4-104.3% and 101.3-103.9%, respectively. For benzoic acid and sorbic acid in salad cream samples, the repeatability (intra-day) values were 0.1%, and the intermediate precision (in 3 days) values were 0.2%. In addition, benzoic acid and sorbic acid in mayonnaise samples had repeatability (intra-day) values of 0.1% and intermediate precision (in 3 days) values of 0.2%. For the sample preparation method, the study indicates that dispersive liquid-liquid microextraction (DLLME) can reduce matrix interferences better than liquid-liquid extraction (LLE) does. The matrix effect evaluated by one-way analysis of variance (ANOVA) from DLLME was significantly different at the 95% confidence level compared with that from LLE. The advantages of DLLME also include environmental friendliness by reducing the amount of organic solvent used, simple extraction, low cost, and time efficiency.

© 2025 Phukpattaranont, P., Tanmanee, N. and Tanthana, C. Recent Science and Technology published by Rajamangala University of Technology Srivijaya

* Corresponding author.

E-mail address: ppimpimo@yahoo.com

Cite this article as:

Phukpattaranont, P., Tanmanee, N. and Tanthana, C. 2025. Determination of Benzoic Acid and Sorbic Acid in Salad Cream and Mayonnaise Samples Using Optimized Microextraction Followed by High Performance Liquid Chromatography. **Recent Science and Technology** 17(1): 259873.

บทคัดย่อ

งานวิจัยนี้ได้พัฒนาวิธีการทดสอบวัตถุกันเสียสองชนิดในคราวเดียวกัน ได้แก่ กรดเบนโซอิกและกรดซอร์บิก ที่มีอยู่ในสลัตครีมและมายองเนสด้วยเทคนิคโครมาโทกราฟีของเหลวสมรรถนะสูง ร่วมกับตัวตรวจวัดชนิดยูวีวิชันเบิล ที่ความยาวคลื่น 220 นาโนเมตร คอลัมน์รีเวิร์สเฟสที่ใช้แยกคือ Hypersil GOLD ความยาว 150 มิลลิเมตร ขนาดเส้นผ่านศูนย์กลาง 4.6 มิลลิเมตร และขนาดอนุภาค 5 ไมโครเมตร เฟสเคลื่อนที่ผสมระหว่างสารละลายโพแทสเซียมไดไฮโดรเจนฟอสเฟตความเข้มข้น 0.02 โมลาร์ในน้ำ (pH 5) และอะซิโตนไตรล อัตรการไหลเฟสเคลื่อนที่ 1 มิลลิตรต่อนาทีในสภาวะกราเดียนท์ วิธีดังกล่าวมีขีดจำกัดในการตรวจพบสำหรับกรดเบนโซอิกและกรดซอร์บิก คือ 0.007 และ 0.006 มิลลิกรัมต่อลิตรตามลำดับ และขีดจำกัดในการวัดเชิงปริมาณสำหรับกรดเบนโซอิกและกรดซอร์บิกมีค่าเท่ากัน คือ 0.02 มิลลิกรัมต่อลิตร ช่วงการตอบสนองความเป็นเส้นตรงอยู่ในช่วง 0.02-100 มิลลิกรัมต่อลิตร ค่า R^2 มากกว่า 0.9997 มีความแม่นยำแสดงด้วยค่าร้อยละการคืนกลับโดยกรดเบนโซอิกและกรดซอร์บิกในตัวอย่างสลัตครีมอยู่ในช่วง 89.6-99.4% และ 90.6-98.3% และในตัวอย่างมายองเนสอยู่ในช่วง 99.4-104.3% และ 101.3-103.9% ตามลำดับ และความเที่ยงพิจารณา Repeatability (intra-day) และ Intermediate precision (in 3 days) แสดงด้วยค่าร้อยละเบี่ยงเบนมาตรฐานสัมพัทธ์ โดยค่า Repeatability (intra-day) ของกรดเบนโซอิกและกรดซอร์บิกในตัวอย่างสลัตครีม คือ 0.1 % และค่า Intermediate precision (in 3 days) ของกรดเบนโซอิกและกรดซอร์บิกในตัวอย่างสลัตครีม คือ 0.2 % ค่า Repeatability (intra-day) ของกรดเบนโซอิกและกรดซอร์บิกในตัวอย่างมายองเนส คือ 0.1 % และค่า Intermediate precision (in 3 days) ของกรดเบนโซอิกและกรดซอร์บิกในตัวอย่างมายองเนส คือ 0.2 % การศึกษาพบว่าการเตรียมตัวอย่างด้วยการสกัดระดับจุลภาคด้วยของเหลวแบบกระจาย (DLLME) สามารถลดผลรบกวน Matrix effect ได้ดีกว่าเทคนิคการเตรียมตัวอย่างด้วยวิธีการสกัดด้วยเฟสของเหลว (LLE) จากการเปรียบเทียบค่าทางสถิติด้วยการวิเคราะห์ความแปรปรวนทางเดียว (ANOVA) พบว่ามีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติที่ระดับความเชื่อมั่น 95 % คุณสมบัติอื่น ๆ ของเทคนิคการเตรียมตัวอย่างด้วยการสกัดระดับจุลภาคด้วยของเหลวแบบกระจายยังรวมถึงการมีความเป็นมิตรต่อสิ่งแวดล้อมโดยการลดปริมาณการใช้ตัวทำละลายอินทรีย์ มีขั้นตอนการสกัดง่าย ราคาถูกและใช้เวลาน้อย

คำสำคัญ: โครมาโทกราฟีของเหลวสมรรถนะสูง, กรดเบนโซอิก, กรดซอร์บิก, อาหารที่มีไขมันเป็นองค์ประกอบ

1. บทนำ

วัตถุเจือปนอาหารใช้เพื่อประโยชน์ทางเทคโนโลยีการผลิต การแต่งสีอาหาร การปรุงแต่งกลิ่นรส การบรรจุ การเก็บรักษา และการขนส่ง จากประกาศกระทรวงสาธารณสุข ฉบับที่ 418 พ.ศ. 2563 เรื่อง วัตถุเจือปนอาหาร (ฉบับที่ 2) (Notification of the Ministry of Public Health (No. 418), 2020) กำหนดให้ต้องใช้วัตถุเจือปนอาหาร หมดหรือชนิดอาหารและปริมาณสูงสุดที่อนุญาตตามที่กำหนดไว้ ซึ่งปริมาณดังกล่าวสอดคล้องกับปริมาณที่คณะกรรมการอาหารระหว่างประเทศ (Codex Alimentarius Commission; Codex) อนุญาตให้นำมาใช้ในการผลิตอาหารได้ เพราะผ่านการประเมินความปลอดภัยทางพิษวิทยาแล้วว่าเป็นพิษต่ำ โดย The Joint FAO/ WHO Expert Committee of Food Additives (JECFA) ได้กำหนดค่าความปลอดภัยไว้เป็นค่า Acceptable Daily Intake (ADI) ซึ่งเป็นปริมาณที่ร่างกายสามารถได้รับสารนั้นต่อวันโดยไม่ก่อให้เกิดผลกระทบใด ๆ ต่อสุขภาพ (WHO, 2000) จากประกาศกระทรวงสาธารณสุขดังกล่าวทำให้ผู้ผลิตด้านอาหารต้องตรวจสอบวัตถุกันเสีย ในส่วนการให้บริการทดสอบวัตถุกันเสียของ

สำนักเครื่องมือวิทยาศาสตร์และการทดสอบได้เปิดให้บริการแล้วในตัวอย่างอาหาร 3 ประเภท คือ ลูกชิ้น ชอส แป้งและเส้นก๋วยเตี๋ยว (Office of Scientific Instrument and Testing, 2023) ขณะเดียวกันมีผู้ประกอบการด้านอาหารให้ความสนใจทดสอบวัตถุกันเสียในอาหารที่มีไขมันเป็นองค์ประกอบจึงเป็นที่มาของการพัฒนาวิธีการสกัดและทดสอบวัตถุกันเสียในอาหารดังกล่าว ได้แก่ สลัตครีมและมายองเนส

งานวิจัยนี้จะทำการศึกษาสารมาตรฐานวัตถุกันเสีย 2 ชนิด ได้แก่ กรดเบนโซอิก (Benzoic acid) กรดซอร์บิก (Sorbic acid) ในการหาปริมาณของกรดเบนโซอิกและกรดซอร์บิกด้วยวิธีการมาตรฐาน AOAC (1990) พบว่ามีความยุ่งยากในขั้นตอนของการสกัดและสันเป็ลียงสารเคมีต่าง ๆ เพราะใช้ปริมาณมาก ดังนั้นจึงมีการนำเทคนิคของแก๊สโครมาโทกราฟีมาใช้ ซึ่งพบว่าการหาปริมาณของกรดเบนโซอิกและกรดซอร์บิกด้วยวิธีการนี้มีความไว มีความจำเพาะเจาะจงและมีความถูกต้องสูง (Ferreira *et al.*, 2000) แต่ก็มีข้อเสียคือ ต้องใช้เวลานานในการสกัดและการเตรียมตัวอย่าง อีกทั้งจะต้องเตรียมสารอนุพันธ์ของกรดด้วย (Ferreira *et al.*, 2000) เพื่อเป็นการแก้ไขข้อเสียดังกล่าวจึงได้มีการนำเทคนิค

โครมาโทกราฟีของเหลวสมรรถนะสูงมาใช้แล้วพบว่าเป็นวิธีการที่ดีกว่าในเรื่องของเวลาในการเตรียมตัวอย่างที่สั้นลง (Ali, 1985) และไม่จำเป็นต้องเตรียมสารอนุพันธ์ (Ferreira *et al.*, 2000)

ก่อนที่จะทำการวิเคราะห์หาปริมาณของกรดเบนโซอิกและกรดซอร์บิกด้วยเทคนิคโครมาโทกราฟีของเหลวสมรรถนะสูงจะต้องมีการเตรียมสารตัวอย่าง ซึ่งวิธีการดั้งเดิมมี 2 วิธี คือ วิธีการสกัดด้วยเฟสของเหลว (Liquid-liquid extraction) และวิธีการสกัดด้วยเฟสของแข็ง (Solid-phase extraction) วิธีการสกัดด้วยเฟสของเหลวเป็นวิธีที่มีประสิทธิภาพสำหรับการแยกและการเพิ่มความเข้มข้น (Mota *et al.*, 2003) แต่จำเป็นต้องใช้ตัวทำละลายอินทรีย์ในปริมาณมากและมีหลายขั้นตอน เช่น Gören *et al.* (2015) สกัดซอสมะเขือเทศ 20 กรัม ต้องใช้ตัวทำละลายผสมระหว่างสารละลายแอมโมเนียมอะซิเตตและอะซิโตนไตรล์ปริมาตร 100 มิลลิลิตร จากนั้นผสมด้วยเครื่องผสมสารละลาย (Vortex mixer) เป็นระยะเวลา 5 นาทีและสกัดด้วยเทคนิคอัลตราโซนิก (Ultrasonic extraction) เป็นระยะเวลา 3 นาที ขณะที่ Fuselli *et al.* (2012) ผสมเนยแข็ง 2 กรัมด้วยสารละลายบัฟเฟอร์ผสมระหว่างสารละลายโซเดียมคลอไรด์ความเข้มข้น 1 โมลาร์และสารละลายอะซิเตตบัฟเฟอร์และเมทานอลปริมาตร 30 มิลลิลิตร จากนั้นใช้เครื่องปั่นสารให้เป็นเนื้อเดียวกัน (Homogenizer) เป็นระยะเวลา 1 นาที สกัดด้วยเทคนิคอัลตราโซนิกและปั่นเหวี่ยงเพื่อตกตะกอนระยะเวลา 10 นาที ส่วนการสกัดด้วยเฟสของแข็งในอาหารที่มีไขมันเป็นองค์ประกอบนั้น พบว่าเป็นวิธีที่มีประสิทธิภาพสำหรับการแยกและการเพิ่มความเข้มข้น (Mota *et al.*, 2003) แต่เทคนิคการสกัดด้วยเฟสของแข็ง ต้องเลือกวัสดุเฟสของแข็งให้เหมาะสม (Techakriengkrai and Surakamkul, 2007) และมีค่าใช้จ่ายสูง (Saad *et al.*, 2005) โดยสรุปข้อเสียของเทคนิคการสกัดด้วยเฟสของเหลวต้องใช้สารเคมีปริมาณมากส่งผลให้มีค่าใช้จ่ายในการกำจัดและข้อเสียของเทคนิคการสกัดด้วยเฟสของแข็งมีค่าใช้จ่ายสูง

การวิจัยนี้มีวัตถุประสงค์หลักที่จะกำจัดข้อเสียเหล่านี้ โดยเทคนิคที่เลือก คือ การสกัดระดับจุลภาคด้วยของเหลวแบบกระจาย (Dispersive liquid - liquid microextraction, DLLME) ซึ่งเป็นเทคนิคการเตรียมตัวอย่างทางเคมีวิเคราะห์ที่มีความเป็นมิตรต่อสิ่งแวดล้อมโดยการลดปริมาณการใช้ตัวทำละลายอินทรีย์ มีขั้นตอนการสกัดง่ายราคาถูก (Navakhun, 2015) และใช้เวลาน้อย (Mazloomifar and Shiekhi, 2015) และจะทำการศึกษากลุ่มอาหารที่มีไขมันเป็นองค์ประกอบ ได้แก่ สลัดครีมและมายองเนส โดยมีขั้นตอนการกำจัดไขมันร่วมด้วย

นอกจากนี้งานวิจัยทำการเปรียบเทียบการสกัดระดับจุลภาคด้วยของเหลวแบบกระจายกับเทคนิคการสกัดดั้งเดิม คือ เทคนิคการสกัดด้วยเฟสของเหลว ก่อนจะทำการวิเคราะห์เชิงปริมาณโดยเทคนิคโครมาโทกราฟีของเหลวสมรรถนะสูงเพื่อให้เห็นถึงข้อดีต่าง ๆ ของการสกัดระดับจุลภาคด้วยของเหลวแบบกระจายดังที่ได้กล่าวไว้ด้วย

2. วิธีดำเนินการวิจัย

2.1 สารเคมี

สารมาตรฐานวัตถุกันเสีย 2 ชนิด ได้แก่ กรดเบนโซอิกและกรดซอร์บิก (AR grade) จากบริษัท Sigma-Aldrich ประเทศสหรัฐอเมริกา เตรียมสารละลายมาตรฐานแต่ละชนิดที่ความเข้มข้น 1000 มิลลิกรัมต่อลิตร โดยชั่งสารมาตรฐานแต่ละชนิดหนัก 10 มิลลิกรัม แล้วปรับปริมาตรด้วยเมทานอลให้ได้ปริมาตร 10 มิลลิลิตร สารละลายมาตรฐานนี้ใช้สำหรับการเตรียมสารละลายที่นำไปใช้ (working standard solution) ที่ความเข้มข้นต่าง ๆ โดยใช้ตัวทำละลายเมทานอล ซึ่งจะเตรียมใหม่ก่อนใช้ทุกครั้ง

สารเคมีอื่น ๆ ได้แก่ โพแทสเซียมไดไฮโดรเจนฟอสเฟต แอมโมเนียมอะซิเตต สารประกอบซิงค์แอสซีเตต ไดไฮเดรต (Carrez I) และสารประกอบโพแทสเซียมเพอร์โรซายาไนต์ (Carrez II) เป็นประเภทสำหรับงานวิเคราะห์ทางเคมี (AR grade) จากบริษัท Sigma-Aldrich ประเทศสหรัฐอเมริกา สำหรับตัวทำละลายอะซิโตนไตรล์ เมทานอล เป็นประเภทสำหรับงานโครมาโทกราฟีของเหลวสมรรถนะสูง (HPLC grade) จากบริษัท Merck ประเทศสหรัฐอเมริกา และใช้น้ำกลั่นปราศจากไอออนสำหรับการเตรียมสารละลายทุกครั้ง

2.2 เครื่องมือและสภาวะของเทคนิคโครมาโทกราฟีของเหลวสมรรถนะสูง

ในการวิเคราะห์ใช้เครื่องโครมาโทกราฟีของเหลวสมรรถนะสูงของบริษัท Agilent รุ่น 1200 ร่วมกับตัวตรวจวัดชนิดยูวี-วิสิเบิล ที่ความยาวคลื่น 220 นาโนเมตร คอลัมน์รีเวิร์สเฟสที่ใช้แยกคือ Hypersil GOLD ความยาว 150 มิลลิเมตร ขนาดเส้นผ่านศูนย์กลาง 4.6 มิลลิเมตรและขนาดอนุภาค 5 ไมโครเมตร อุณหภูมิคอลัมน์ 30 องศาเซลเซียส อัตราการไหล 1 มิลลิลิตรต่อนาที เฟสเคลื่อนที่ผสม 2 ส่วน ได้แก่ เฟสเคลื่อนที่ที่ 1 คือสารละลายโพแทสเซียมไดไฮโดรเจนฟอสเฟตความเข้มข้น 0.02 โมลาร์ในน้ำ (pH 5) และเฟสเคลื่อนที่ที่ 2 คืออะซิโตนไตรล์

ใช้สภาวะการแยกดังนี้ เวลาเริ่มต้น สัดส่วนของเฟสเคลื่อนที่ที่ 1 สัดส่วน 85% และเฟสเคลื่อนที่ที่ 2 สัดส่วน 15% คงที่ 3 นาที เวลาที่ 7.5 นาที เฟสเคลื่อนที่ที่ 1 สัดส่วน 35% และเฟสเคลื่อนที่ที่ 2 สัดส่วน 65% คงที่ 2.5 นาที เวลาที่ 13.0 นาที เฟสเคลื่อนที่ที่ 1 สัดส่วน 85% และเฟสเคลื่อนที่ที่ 2 สัดส่วน 15% คงที่ 2 นาที รวมระยะเวลา 15 นาที ปริมาตรตัวอย่าง 10 ไมโครลิตร

2.3 การเตรียมตัวอย่าง

2.3.1 การสกัดด้วยเฟสของเหลว

ใช้กระบวนการสกัดที่ดัดแปลงมาจากงานวิจัยที่นำเสนอโดย Mota *et al.* (2003) ดังมีรายละเอียดดังนี้ นำตัวอย่างสลัดครีมหรือมายองเนสน้ำหนัก 0.1 กรัม เจือจางด้วยตัวทำละลายเฮกเซนปริมาตร 2 มิลลิลิตร สกัดด้วยสารละลายแอมโมเนียมอะซิเตตความเข้มข้น 0.005 โมลาร์ (pH 4.4) ปริมาตร 10 มิลลิลิตร แล้วจึงปั่นเหวี่ยงเพื่อตกตะกอนที่ 2500 รอบต่อนาที เป็นเวลา 5 นาที และกรองด้วยเมมเบรน 0.22 ไมโครเมตร แล้วทำการฉีดตัวอย่างเข้าเครื่องโครมาโทกราฟของเหลวสมรรถนะสูงเพื่อทำการวิเคราะห์ต่อไป

2.3.2 การสกัดระดับจุลภาคด้วยของเหลวแบบกระจาย ประกอบด้วยรายละเอียด 2 ขั้นตอน ดังนี้

ขั้นตอนที่ 1 ขั้นตอนการกำจัดไขมัน นำตัวอย่างสลัดครีมหรือมายองเนสน้ำหนัก 0.1 กรัม ใส่ขวดวัดปริมาตรขนาด 10 มิลลิลิตร เจือจางด้วยน้ำปริมาตร 3 มิลลิลิตร เติมน้ำสารประกอบสารประกอบซิงค์แอสซิเตตไดไฮเดรตและสารประกอบโพแทสเซียมเพอร์โรซายาไนต์ ปรับปริมาตร

ให้ได้ 10 มิลลิลิตรด้วยน้ำกลั่น ผสมให้เข้ากันนำไปปั่นเหวี่ยงเพื่อตกตะกอนที่ความเร็วรอบ 4000 รอบต่อนาทีเป็นเวลา 10 นาที จะได้สารละลายส่วนใสด้านบน นำสารละลายส่วนใสที่ได้สกัดด้วยเทคนิคการสกัดระดับจุลภาคด้วยของเหลวแบบกระจายต่อไป

ขั้นตอนที่ 2 ขั้นตอนการสกัดระดับจุลภาคด้วยของเหลวแบบกระจาย นำสารละลายส่วนใสที่ได้จากขั้นตอนที่ 1 ปริมาตร 5 มิลลิลิตรปรับ pH 4 ด้วย กรดไฮโดรคลอริก 0.7 โมลาร์ เติมน้ำโซเดียมคลอไรด์ผสมให้เข้ากันและตั้งทิ้งไว้ 30 นาที เติมน้ำทำละลายสกัด (ไดคลอโรมีเทนปริมาตร) และตัวทำละลายช่วยกระจายผสมให้เข้ากันทันทีด้วย Vortex mixer ระยะเวลา 10 นาที นำไปปั่นเหวี่ยงเพื่อแยกเฟสที่ความเร็วรอบ 4000 รอบต่อนาที ระยะเวลา 10 นาที ขั้นตอนนี้ชั้นของตัวทำละลายสกัดและตัวทำละลายช่วยกระจายเกิดการแยกชั้นอยู่ส่วนบนของสารสกัด (ชั้นของตัวทำละลายอินทรีย์) นำเฉพาะชั้นของตัวทำละลายอินทรีย์ที่แยกชั้นส่วนบนระเหยด้วยแก๊สไนโตรเจน และปรับปริมาตรสุดท้ายด้วยเมทานอล ปริมาตร 1 มิลลิลิตร และกรองด้วยเมมเบรน 0.22 ไมโครเมตร แล้วทำการฉีดตัวอย่างเข้าเครื่องโครมาโทกราฟของเหลวสมรรถนะสูงเพื่อทำการวิเคราะห์ต่อไป

ประสิทธิภาพการสกัดระดับจุลภาคด้วยของเหลวแบบกระจาย พิจารณาได้จากค่าการเพิ่มความเข้มข้น (enrichment factor, EF) และค่าร้อยละการคืนกลับของการสกัด (extraction recovery, ER) ซึ่งสามารถคำนวณได้ดังสมการ (1) และ (2) ตามลำดับ (Rezaee *et al.*, 2006) ถ้าค่า EF และ ER มีค่าสูง แสดงว่าเป็นวิธีที่มีประสิทธิภาพของการสกัดสูง

$$\text{Enrichment factor} = \frac{C_{\text{sed}}}{C_0} \quad \text{สมการ (1)}$$

$$\text{Extraction recovery} = \frac{n_{\text{sed}}}{n_0} \times 100 = \frac{C_{\text{sed}} \times V_{\text{sed}}}{C_0 \times V_{\text{aq}}} \times 100 \quad \text{สมการ (2)}$$

โดยที่ C_{sed} คือ ความเข้มข้นของสารที่สนใจในเฟสสกัด
 C_0 คือ ความเข้มข้นของสารที่สนใจในตัวอย่าง
 n_{sed} คือ ปริมาณสารที่สนใจในเฟสสกัด
 n_0 คือ ปริมาณสารที่สนใจในตัวอย่าง
 V_{sed} คือ ปริมาตรของเฟสสกัด
 V_{aq} คือ ปริมาตรของสารละลายในตัวอย่าง

การศึกษาปัจจัยต่อประสิทธิภาพการสกัดของเทคนิคการสกัดระดับจุลภาคด้วยของเหลวแบบกระจายแสดงในตารางที่ 1

Table 1 Level values of the factors used for DLLME optimization

Factor No.	Name	Level value / Types of solvent
1	Amount of Carrez I (g)	0.45, 0.60, 0.75
	Amount of Carrez II (g)	0.45, 0.60, 0.75
	Amount of NaCl salt (g)	0.65, 0.75, 0.85
2	Dispersive solvent	Acetone / Methanol / Ethanol/ Acetonitrile
3	Extracting time (min)	5, 10, 15
	Extracting solvent	Chloroform / Dichloromethane
4	Dispersive solvent volume (mL)	0.65, 0.75, 0.85, 0.95, 1.05, 1.15
5	Extracting solvent volume (μ L)	150, 200, 250, 300, 350, 400, 450, 500

2.4 การตรวจสอบความใช้ได้ของวิธี

การตรวจสอบความใช้ได้ของวิธีประกอบด้วย 2 การตรวจสอบ ได้แก่ (1) การตรวจสอบเหมาะสมของระบบ (System suitability) และ (2) การตรวจสอบความใช้ได้ของวิธีที่พัฒนาขึ้น ในส่วนของการตรวจสอบเหมาะสมของระบบ จะใช้สารมาตรฐานของกรดเบนโซอิกและกรดซอร์บิกที่มีความเข้มข้น 10 มิลลิกรัมต่อลิตร โดยใช้สภาวะดังที่ได้กล่าวไว้ในหัวข้อที่ 2 ซึ่งพารามิเตอร์ที่ศึกษาได้แก่ capacity factor (k'), selectivity (α), resolution (R_s), tailing factor, plate number (N), และ injection precision

ในส่วนของการตรวจสอบความใช้ได้ของวิธีที่พัฒนาขึ้นจะพิจารณา 5 คุณลักษณะเฉพาะดังนี้ (1) ขีดจำกัดในการตรวจพบ (2) ขีดจำกัดในการวัดเชิงปริมาณ (3) ช่วงการตอบสนองความเป็นเส้นตรง (4) ความแม่นยำ และ (5) ความเที่ยงโดยทำการศึกษาทั้งค่า Repeatability (intra-day) และ Intermediate precision (in 3 days) รายละเอียดของแต่ละคุณลักษณะมีดังนี้

2.4.1 ขีดจำกัดในการตรวจพบ

เป็นค่าที่ได้จากการวิเคราะห์สารมาตรฐานที่มีความเข้มข้นต่ำ ๆ 3 ซ้ำ แล้วคำนวณจากสูตร 3.3 σ โดย σ คือ ค่าเบี่ยงเบนมาตรฐานและ S คือ ค่าความชันของเส้นโค้งการสอบเทียบ (ICH Harmonised Tripartite Guideline, 2005) จากนั้นเตรียมสารมาตรฐานกรดเบนโซอิก กรดซอร์บิกให้มีความเข้มข้นเท่ากับขีดจำกัดในการตรวจพบ วิเคราะห์ด้วยเทคนิคโครมาโทกราฟีของเหลวสมรรถนะสูงและวัดค่าอัตราส่วนสัญญาณต่อสัญญาณรบกวนให้ได้ 3:1

2.4.2 ขีดจำกัดในการวัดเชิงปริมาณ

เป็นค่าที่ได้จากการวิเคราะห์สารมาตรฐานที่มีความเข้มข้นต่ำ ๆ 3 ซ้ำ แล้วคำนวณจากสูตร 10 σ S (ICH, 2005) จากนั้นเตรียมสารมาตรฐานกรดเบนโซอิก กรดซอร์บิกให้มีความเข้มข้นเท่ากับขีดจำกัดในการวัดเชิงปริมาณ วิเคราะห์ด้วยเทคนิคโครมาโทกราฟีของเหลวสมรรถนะสูงและวัดค่าอัตราส่วนสัญญาณต่อสัญญาณรบกวนให้ได้ 10:1

2.4.3 ช่วงการตอบสนองความเป็นเส้นตรง

กำหนดช่วงความเข้มข้นของกรดเบนโซอิก กรดซอร์บิก ในช่วง 0.02-100.0 มิลลิกรัมต่อลิตร เตรียมสารมาตรฐาน 8 ระดับความเข้มข้นได้แก่ 0.02, 0.1, 0.5, 1.0, 5.0, 10.0, 50.0 และ 100.0 มิลลิกรัมต่อลิตร วิเคราะห์ด้วยเทคนิคโครมาโทกราฟีของเหลวสมรรถนะสูง ความเข้มข้นละ 2 ซ้ำ สร้างกราฟมาตรฐานระหว่างพื้นที่พีคและความเข้มข้นสารมาตรฐาน โดยค่าสัมประสิทธิ์สหสัมพันธ์ของกราฟมาตรฐานต้องมีค่าไม่น้อยกว่า 0.995 (ICH Harmonised Tripartite Guideline, 2005)

2.4.4 ความแม่นยำ

ความแม่นยำจะศึกษาพารามิเตอร์ของค่าร้อยละการคืนกลับโดยการเติมสารมาตรฐานลงในตัวอย่างที่ทราบความเข้มข้นแล้ว 3 ความเข้มข้น ความเข้มข้นละ 3 ชุด ได้แก่ 10, 20 และ 30 มิลลิกรัมต่อลิตร วิเคราะห์เทียบกับความเข้มข้นเดิมและคิดเป็นค่าร้อยละการคืนกลับ เกณฑ์การพิจารณาอ้างอิงจาก ICH Harmonised Tripartite Guideline (2005); AOAC (2019)

2.4.5 ความเที่ยง

ความเที่ยงศึกษา 2 พารามิเตอร์ Repeatability (intra-day) และ Intermediate precision (in 3 days) Repeatability (intra-day) ศึกษาโดยการวิเคราะห์ตัวอย่าง

6 ชุด ภายในวันเดียวกัน และ Intermediate precision (in 3 days) ศึกษาโดยการวิเคราะห์ตัวอย่างเดียวกันที่เวลาต่างกัน 3 วัน รายงานค่าเบี่ยงเบนมาตรฐานที่ได้จากการวิเคราะห์ในรูปของร้อยละค่าเบี่ยงเบนมาตรฐานสัมพัทธ์ และเลือกศึกษาสารประกอบที่ตรวจพบอยู่ในตัวอย่างแล้วเท่านั้น เกณฑ์การพิจารณาอ้างอิงจาก ICH Harmonised Tripartite Guideline (2005); AOAC (2019)

3. ผลการวิจัยและวิจารณ์ผล

3.1 สภาวะการแยกที่เหมาะสมของเทคนิคของเหลวโครมาโทกราฟีสมรรถนะสูง

เมื่อทำการศึกษาการแยกสารละลายของสารมาตรฐานทั้ง 2 ชนิดได้แก่ กรดเบนโซอิก กรดซอร์บิก ที่ความเข้มข้น 10 มิลลิกรัมต่อลิตร โดยใช้เฟสเคลื่อนที่ผสมระหว่างเฟสเคลื่อนที่ที่ 1 คือสารละลายโพแทสเซียมไดไฮโดรเจนฟอสเฟตความเข้มข้น 0.02 โมลาร์ในน้ำ (pH 5) และเฟสเคลื่อนที่ที่ 2 คืออะซิโตนไตริลใช้สภาวะการเดินที่ ดังนี้ เวลาเริ่มต้น สัดส่วนของเฟสเคลื่อนที่ที่ 1 สัดส่วน 85% และเฟสเคลื่อนที่ที่ 2 สัดส่วน 15% คงที่ 3 นาที เวลาที่ 7.5 นาที เฟสเคลื่อนที่ที่ 1 สัดส่วน 35% และเฟสเคลื่อนที่ที่ 2 สัดส่วน 65% คงที่ 2.5 นาที เวลาที่ 13.0 นาที เฟสเคลื่อนที่ที่ 1 สัดส่วน 85% และเฟสเคลื่อนที่ที่ 2 สัดส่วน 15% คงที่ 2 นาที รวมระยะเวลา 15 นาที

พบว่าสารมาตรฐานกรดเบนโซอิกและกรดซอร์บิกแยกออกจากกันได้อย่างดี (ค่า $R_s > 2$) โดยที่กรดเบนโซอิกแยกได้ลำดับที่แรกที่เวลาเรเทนชัน 7.051 นาที กรดซอร์บิกแยกได้ลำดับที่ 2 ที่เวลา 9.424 นาที ค่าการแยกระหว่างกรดเบนโซอิกและกรดซอร์บิกเท่ากับ 4.4 ซึ่งค่า $R_s > 2$ ตามเกณฑ์อ้างอิง (CDER, 1994) นอกจากนี้ค่าพารามิเตอร์ System suitability อื่น ๆ ที่ได้ผ่านเกณฑ์ดังนี้ ค่า Tailing factor กรดเบนโซอิกและกรดซอร์บิก มีค่า 0.960 และ 0.831 ตามลำดับ (เกณฑ์ CDER (1994) กำหนด Tailing factor < 2) ค่า Plates number กรดเบนโซอิกและกรดซอร์บิก มีค่า 5164 และ 7644 ตามลำดับ (เกณฑ์ CDER (1994) กำหนด Plates number > 2000) ค่า Capacity factor กรดเบนโซอิกและกรดซอร์บิก มีค่า 2.1 และ 2.8 ตามลำดับ (เกณฑ์ CDER (1994) กำหนด Capacity factor > 2) ค่า Injection repeatability กรดเบนโซอิกและกรดซอร์บิก มีค่า 0.859 และ 0.489 ตามลำดับ (เกณฑ์ CDER (1994) กำหนด Injection repeatability < 1) ซึ่งโครมาโทแกรมที่ได้มีความสอดคล้องกันกับการศึกษาวัตถุกันเสียในหมวยอ (Pichai, 2022) จากผลการวิเคราะห์จะเห็นได้ว่าสภาวะการแยกที่พัฒนาขึ้นสามารถแยกกรดเบนโซอิกและกรดซอร์บิกได้ตามเกณฑ์ที่กำหนดสามารถนำไปวิเคราะห์เชิงปริมาณในตัวอย่างได้ใช้เวลาในการวิเคราะห์สั้น ดังแสดงให้เห็นตัวอย่างโครมาโทแกรมในภาพที่ 1

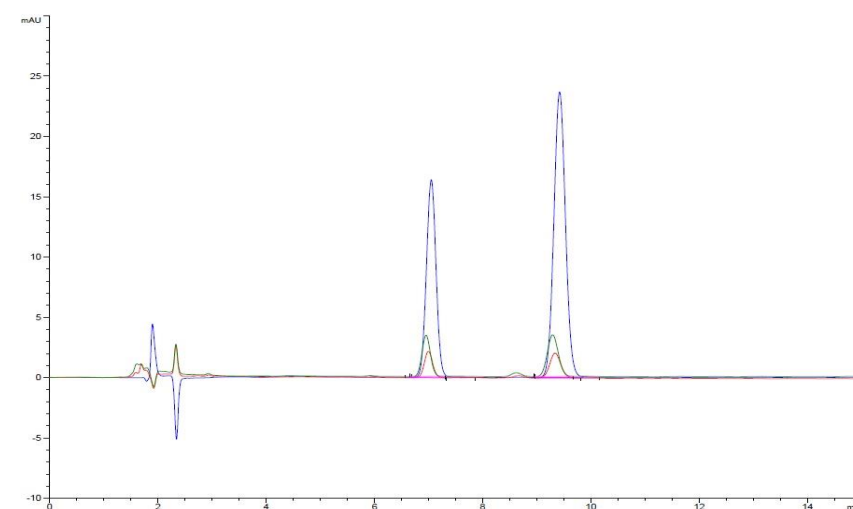


Figure 1 Chromatogram of benzoic acid and sorbic acid from standard (Blue line) salad cream (Green line) and mayonnaise (Red line)

3.2 สภาวะที่เหมาะสมในการสกัดกรดเบนโซอิกและซอร์บิคด้วยเทคนิค DLLME

3.2.1 ปริมาณที่เหมาะสมของสารประกอบซิงค์แอซีเทตไดไฮเดรต สารประกอบโพแทสเซียมเพอร์โรซายาไนต์และโซเดียมคลอไรด์

เทคนิคการสกัดระดับจุลภาคด้วยของเหลวแบบกระจายเป็นการสกัดระบบตัวทำละลาย 3 องค์ประกอบ ได้แก่ ตัวทำละลายสกัด ตัวทำละลายช่วยกระจายตัว และสารตัวอย่งที่เป็นน้ำ ซึ่งตัวทำละลายสกัดจะต้องมีความหนาแน่นมากกว่าน้ำและละลายในน้ำได้เพียงเล็กน้อย ตัวทำละลายช่วยกระจายตัวจะต้องทำให้ตัวทำละลายสกัดเกิดการกระจายตัวเป็นหยดเล็ก ๆ ได้ดี และสามารถละลายได้ทั้งในตัวทำละลายสกัดและตัวอย่ง (Soisungnoen, 2018)

นอกจากนี้ การเติมเกลือจะทำให้การละลายของสารที่ต้องการวิเคราะห์และสารอินทรีย์ในน้ำลดลงเมื่อความแรงไอออนของสารละลาย (Ionic strength) เพิ่มขึ้นตามหลักของ salting out effect (Navakhun, 2015) และเนื่องด้วยตัวอย่งที่ศึกษาเป็นอาหารที่มีไขมันเป็นองค์ประกอบทางที่มวิจัยได้นำสารประกอบซิงค์แอซีเทตไดไฮเดรตและสารประกอบโพแทสเซียมเพอร์โรซายาไนต์มาใช้ในขั้นตอนการเตรียมตัวอย่งเพื่อช่วยในการกำจัดไขมัน ความขุ่นและตกตะกอนโปรตีน ซึ่งจากการศึกษาก่อนหน้านี้เลือกศึกษาปริมาณสารประกอบซิงค์แอซีเทตไดไฮเดรตและสารประกอบโพแทสเซียมเพอร์โรซายาไนต์ในช่วง

0.45 - 0.75 กรัม และผลการศึกษาพบว่าปริมาณสารประกอบซิงค์แอซีเทตไดไฮเดรตและสารประกอบโพแทสเซียมเพอร์โรซายาไนต์ที่ทำให้ปริมาณวัตถุกันเสียมีความเข้มข้นสูงสุดคือที่ 0.45 และ 0.45 กรัมตามลำดับ

จากตารางที่ 1 ที่มวิจัยออกแบบการทดลองเพื่อศึกษาปริมาณที่เหมาะสมของปัจจัยกลุ่มที่ 1 โดยการใช้การทดลองแบบลูกบาศก์ (Cubic Experimental Design) มีจำนวนชุดทดลองทั้งหมด 27 ชุดการทดลอง พบว่าชุดการทดลองที่สกัดกรดเบนโซอิกและกรดซอร์บิคได้ประสิทธิภาพการสกัดสูงที่สุดคือชุดการทดลองที่ 2 โดยแสดงความเข้มข้นเฉลี่ยของกรดเบนโซอิกและกรดซอร์บิคจากชุดการทดสอบที่สำคัญในตารางที่ 2 จากผลการทดสอบชุดที่ 2 ใช้สารประกอบซิงค์แอซีเทตไดไฮเดรต 0.45 กรัม สารประกอบโพแทสเซียมเพอร์โรซายาไนต์ 0.45 กรัมและโซเดียมคลอไรด์ 0.75 กรัม เนื่องจากปริมาณสารประกอบซิงค์แอซีเทตไดไฮเดรตและสารประกอบโพแทสเซียมเพอร์โรซายาไนต์เหมาะสมในการกำจัดไขมัน ความขุ่นและตกตะกอนโปรตีนในตัวอย่าง และโซเดียมคลอไรด์ทำให้เกิดความแรงไอออนของสารละลายเพิ่มขึ้นตามหลักของ salting out effect ส่งผลให้ได้ประสิทธิภาพการสกัดสูงสุด ดังนั้นจึงเลือกใช้ปริมาณสารประกอบซิงค์แอซีเทตไดไฮเดรต 0.45 กรัม สารประกอบโพแทสเซียมเพอร์โรซายาไนต์ 0.45 กรัม และโซเดียมคลอไรด์ 0.75 กรัมเป็นปริมาณที่เหมาะสมที่สุดของปัจจัยกลุ่มที่ 1 และนำปริมาณดังกล่าวมาใช้ในการศึกษาปริมาณที่เหมาะสมของปัจจัยกลุ่มที่ 2

Table 2 Result of the optimum amount from factor No. 1

Test No.	Amount of Carrez I (g)	Amount of Carrez II (g)	Amount of NaCl (g)	Concentration (mg/g)	
				Benzoic acid	Sorbic acid
1/27	0.45	0.45	0.65	0.0079	0.0075
2/27	0.45	0.45	0.75	0.0101	0.0088
5/27	0.45	0.60	0.75	0.0064	0.0035
6/27	0.45	0.60	0.85	0.0077	0.0045
7/27	0.45	0.75	0.65	0.0054	0.0021
8/27	0.45	0.75	0.75	0.0085	0.0058
10/27	0.60	0.45	0.65	0.0028	0.0024
11/27	0.60	0.45	0.75	0.0029	0.0035
19/27	0.75	0.45	0.65	0.0020	0.0026
20/27	0.75	0.45	0.75	0.0022	0.0031
23/27	0.75	0.60	0.75	0.0036	0.0032
25/27	0.75	0.75	0.65	0.0079	0.0078

3.2.2 ชนิดตัวทำละลายช่วยกระจายตัว

ตัวทำละลายช่วยกระจายตัวจะต้องละลายได้ในน้ำและในตัวทำละลายที่ใช้สกัดเพื่อให้เกิดอิมัลชันของตัวทำละลายที่ใช้สกัดในชั้นน้ำ และขนาดของหยดตัวทำละลายที่ใช้สกัด จากตารางที่ 1 ที่มีวิจัยเลือกศึกษาตัวทำละลายช่วยกระจายตัว 4 ชนิด ได้แก่ อะซิโตน / เมทานอล / เอทานอล / อะซิโตนไไตรล์ ปริมาตร 0.85 มิลลิลิตร โดยตัวทำละลายช่วยกระจายตัวแต่ละชนิดจับคู่กับตัวทำละลายสกัดคือไดคลอโรมีเทนปริมาตร 0.40 มิลลิลิตร จะได้ 4 ชุดการทดลอง พบว่าทุกคู่ของตัวทำละลายช่วยกระจายตัวและตัวทำละลายสกัดสามารถแยกเฟสตัวทำละลายออกจากกันได้ยกเว้นเมทานอลซึ่งละลายเข้ากันกับตัวอย่างทำให้ไม่สามารถศึกษาได้ และเมื่อพิจารณาประสิทธิภาพการสกัดกรดเบนโซอิกและกรดซอร์บิกของแต่ละชุดการทดลองดังภาพที่ 2 พบว่าชุดการทดลองที่ใช้อะซิโตนเป็นตัวทำละลายช่วยกระจายตัวสามารถสกัดกรดเบนโซอิกและกรดซอร์บิกได้มากที่สุด ดังนั้นตัวทำละลายช่วยกระจายตัวที่เหมาะสมที่สุดคืออะซิโตน

3.2.3 ระยะเวลาการสกัดและชนิดตัวทำละลายสกัดที่เหมาะสม

จากการออกแบบชุดทดลองแบบลูกบาศก์ของปัจจัยกลุ่มที่ 3 มีจำนวนชุดทดลองทั้งหมด 6 ชุดการทดลอง ดังแสดงตารางที่ 3 ตัวทำละลายสกัดคือไดคลอโรมีเทนและใช้อะซิโตนเป็นตัวทำละลายช่วยกระจายตัวทำให้ได้ประสิทธิภาพการสกัดสูงที่สุด เนื่องจากอะซิโตนที่มีไดคลอโรมีเทนเกิดการกระจายตัว (ลักษณะ cloudy solution) ทัวทั้งหลอดสกัดกรดเบนโซอิกและกรดซอร์บิกจะถูกสกัดเข้าไปในไดคลอโรมีเทนซึ่งกระจายตัวทั่วสารละลายตัวอย่างด้วยการสกัดด้วยเครื่องเขย่าสารหลังจากปั่นเหวี่ยงไดคลอโรมีเทนเกิดการแยกชั้นและสามารถนำไปวิเคราะห์ต่อไป (Soisungnoen, 2018) ผลการทดลองพบว่าชุดที่ 4 คือระยะเวลาการสกัด 10 นาทีและไดคลอโรมีเทนสามารถสกัดและแยกชั้นออกจากสารละลายทั้งหมดได้ดีที่สุด จึงเป็นตัวแปรที่เหมาะสมของปัจจัยกลุ่มที่ 3 และนำมาศึกษาตัวแปรที่เหมาะสมของปัจจัยกลุ่มที่ 4

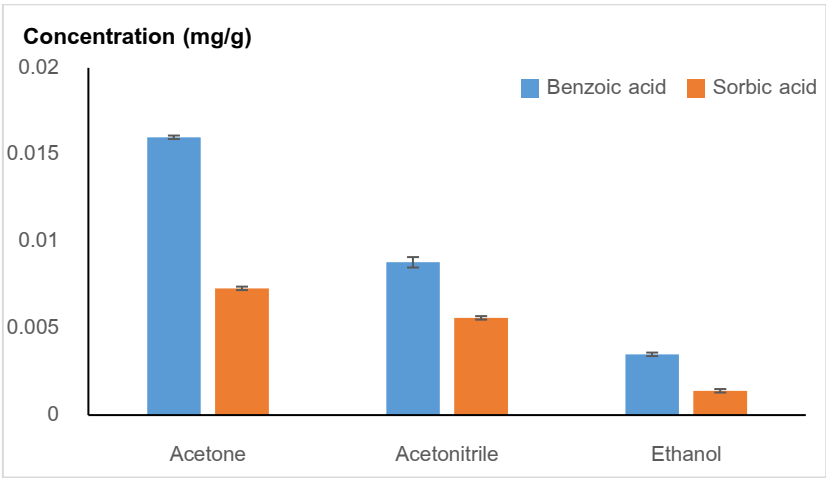


Figure 2 Effect of different dispersive solvents with the same extraction solvent (Dichloromethane) on concentrations of benzoic acid and sorbic acid

Table 3 Result of the optimum amount from factor No. 3

Test No.	Extracting time (min)	Type of dispersive solvent and type of extracting solvent	Concentration (mg/g)	
			Benzoic acid	Benzoic acid
1/6	5	Acetone - Chloroform	0.0047	0.0011
2/6	5	Acetone - Dichloromethane	0.0202	0.0130
3/6	10	Acetone - Chloroform	0.0270	0.0194
4/6	10	Acetone - Dichloromethane	0.0527	0.0301
5/6	15	Acetone - Chloroform	0.0179	0.0071
6/6	15	Acetone - Dichloromethane	0.0091	0.0020

3.2.4 ปริมาตรตัวทำละลายช่วยกระจายตัวที่เหมาะสม

ปริมาตรของตัวทำละลายช่วยกระจายตัวมีผลโดยตรงต่อการกระจายตัวของตัวทำละลายที่ใช้สกัดและส่งผลกระทบต่อประสิทธิภาพการสกัดจากตารางที่ 1 ที่มีการศึกษาปริมาตรของอะซิโตน 0.65, 0.75, 0.85, 0.95, 1.05, 1.15 มิลลิลิตรและใช้ปริมาตรไดคลอโรมีเทน 0.40 มิลลิลิตร จะได้ 6 ชุดการทดลอง ผลการทดลองแสดงดังภาพที่ 3 พบว่าปริมาตรที่เหมาะสมของอะซิโตนที่ช่วยกระจายตัวไดคลอโรมีเทนได้ดีที่สุดและให้การสกัดกรดเบนโซอิกและกรดซอร์บิกสูงสุด คือ 0.85 มิลลิลิตร จากกราฟจะเห็นว่าถ้าปริมาณอะซิโตนมีค่าน้อยกว่า 0.85 มิลลิลิตรจะทำให้ไดคลอโรมีเทนกระจายตัวน้อยส่งผลให้พื้นผิวของหยดไดคลอโรมีเทนน้อย ทำให้การสกัดไม่สมบูรณ์ ปริมาณกรดเบนโซอิกและกรดซอร์บิกที่สกัดได้จึงมีปริมาณน้อย แต่ถ้า

เติมอะซิโตนมากกว่า 0.85 มิลลิลิตรจะทำให้ไดคลอโรมีเทนบางส่วนละลายน้ำออกไปส่งผลให้ประสิทธิภาพการสกัดลดลงจึงเห็นปริมาณกรดเบนโซอิกและกรดซอร์บิกมีปริมาณน้อยลง (Soisungnoen, 2018)

3.2.5 ปริมาตรตัวทำละลายสกัดที่เหมาะสม

ปริมาตรของตัวทำละลายสกัดที่เหมาะสมมีความสำคัญต่อการเพิ่มความเข้มข้นของสารที่สนใจ โดยจะต้องเพิ่มความเข้มข้น (enrichment factor) สูง และต้องแยกเฟสสารได้มากพอที่จะนำไปวิเคราะห์ต่อไป จากตารางที่ 1 ที่มีการศึกษาปริมาตรของไดคลอโรมีเทน 150, 200, 250, 300, 350, 400, 450, 500 ไมโครลิตร โดยใช้อะซิโตน 0.85 มิลลิลิตรเป็นตัวทำละลายช่วยกระจายตัว จะได้ 8 ชุดการทดลอง ผลการทดลองแสดงดังภาพที่ 4

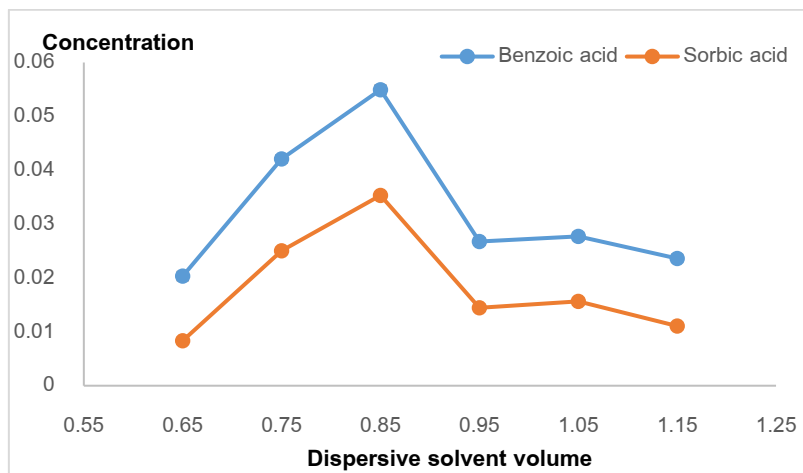


Figure 3 Effect of different dispersive solvent volumes with the same extraction solvent volume (Dichloromethane) on concentrations of benzoic acid and sorbic acid

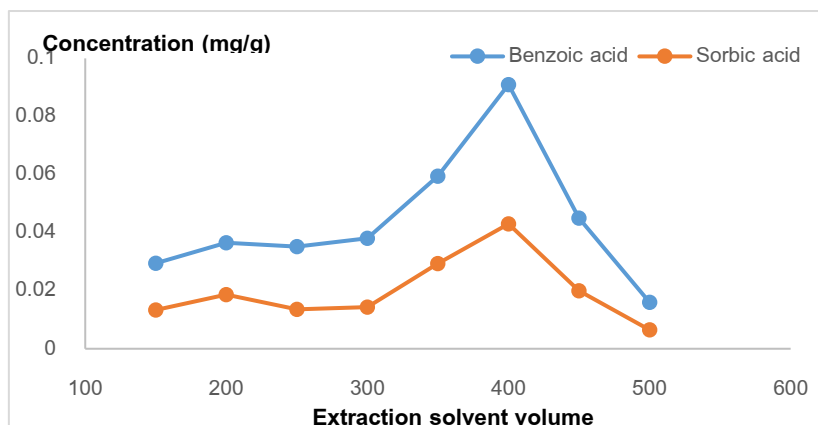


Figure 4 Effect of different extracting solvent volumes with optimum dispersive solvent volumes (0.85 mL) on concentrations of benzoic acid and sorbic acid

พบว่าปริมาณที่เหมาะสมของไดคลอโรมีเทนที่สกัดกรดเบนโซอิกและกรดซอร์บิกได้ปริมาณสูงสุดคือ 400 ไมโครลิตร ถ้าเติมปริมาณไดคลอโรมีเทนน้อยเกินไป จะทำให้หยดของไดคลอโรมีเทนมีปริมาณน้อย ส่งผลให้สกัดปริมาณกรดเบนโซอิกและกรดซอร์บิกได้น้อย และหากใช้ไดคลอโรมีเทนมากเกินไปจะทำให้ปริมาตรของตัวทำละลายสกัดหลังปั่นเหวี่ยงมากส่งผลให้ enrichment factor มีค่าน้อย ประสิทธิภาพการสกัดจึงน้อยลงด้วย (Soisungnoen, 2018)

จากการศึกษาสภาวะที่เหมาะสมในการสกัดกรดเบนโซอิกและซอร์บิกด้วยเทคนิคการสกัดระดับจุลภาคด้วยของเหลวแบบกระจายที่มีวิจัยศึกษาเปรียบเทียบการสกัด

ตัวอย่าง 2 เทคนิคโดยเปรียบเทียบผลการศึกษา Matrix effect ของตัวอย่างที่สกัดจากความเข้มข้นของกราฟ External standard calibration curve และ Standard addition calibration curve (ดังภาพที่ 5 ถึงภาพที่ 8) ของส่วนสกัด 2 เทคนิคคือเทคนิคการสกัดด้วยเฟสของเหลว และเทคนิคการสกัดระดับจุลภาคด้วยของเหลวแบบกระจายโดยใช้ค่า P-value ที่ระดับความเชื่อมั่น 95% โดยศึกษาในตัวอย่างอาหารที่มีไขมันเป็นองค์ประกอบ 2 ชนิดได้แก่ สลัดครีม และมายองเนสพบว่าเทคนิคการสกัดระดับจุลภาคด้วยของเหลวแบบกระจายสามารถกำจัด matrix effect ได้ดีกว่าเทคนิคการสกัดด้วยเฟสของเหลวโดยพิจารณาจากค่า P-value ดังแสดงตารางที่ 4

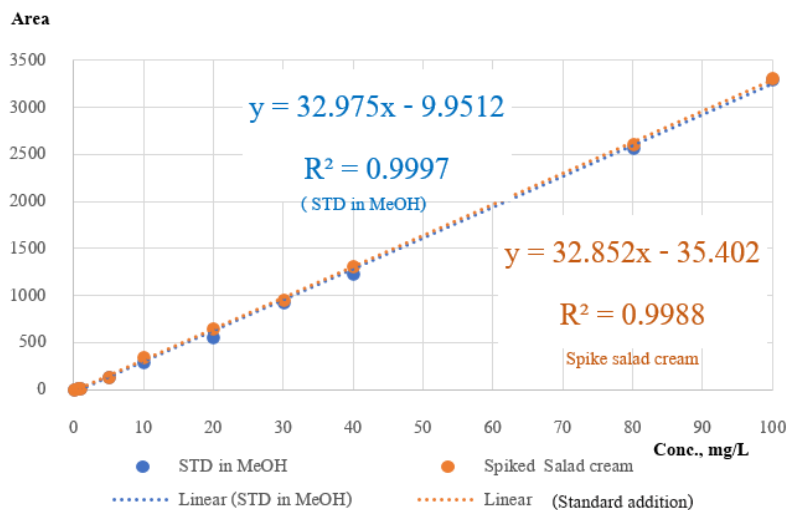


Figure 5 External standard calibration curve of benzoic acid in methanol and standard addition calibration curve (Extraction-DLLME) of benzoic acid in salad cream.

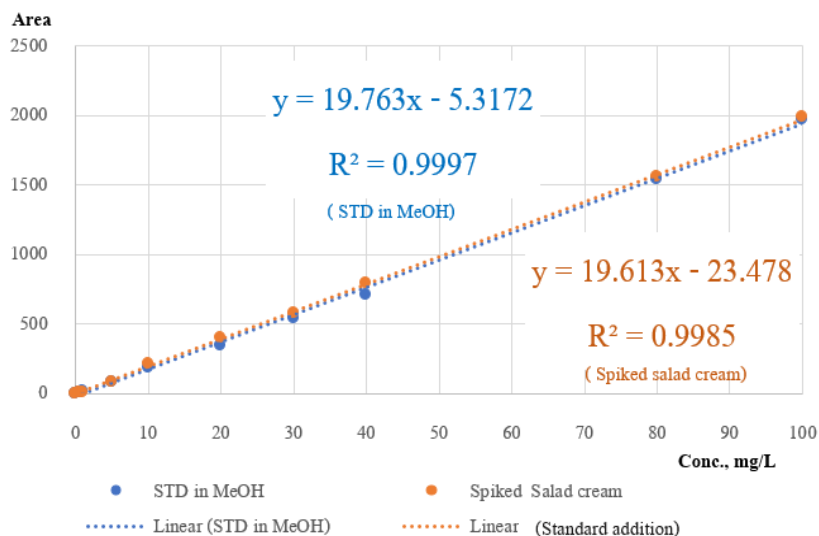


Figure 6 External standard calibration curve of benzoic acid in methanol and standard addition calibration curve (Extraction-DLLME) of sorbic acid in salad cream.

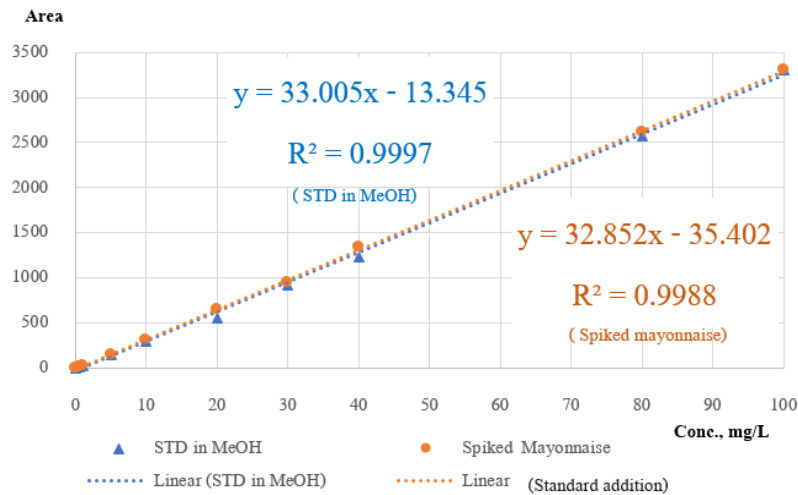


Figure 7 External standard calibration curve of benzoic acid in methanol and standard addition calibration curve (Extraction-DLLME) of benzoic acid in mayonnaise.

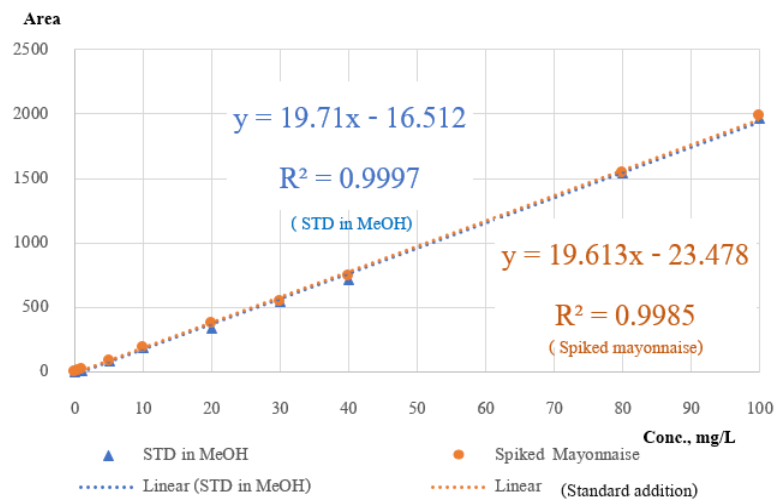


Figure 8 External standard calibration curve of benzoic acid in methanol and standard addition calibration curve (Extraction-DLLME) of sorbic acid in mayonnaise.

Table 4 Result of studying the matrix effect of salad cream and mayonnaise

Matrix - Preservative	Extraction method 1 (LLE)		Extraction method 2 (DLLME)		F crit
	F	P-value	F	P-value	
Salad cream – Benzoic acid	534.5789	2.07E-05	2.49763	0.18917	7.70865
Salad cream – Sorbic acid	523.5914	2.16E-05	0.13379	0.73306	7.70865
Mayonnaise – Benzoic acid	531.7789	3.07E-05	2.49763	0.18917	7.70865
Mayonnaise – Sorbic acid	521.7914	3.16E-05	0.13379	0.73306	7.70865

การสกัดด้วยเทคนิคการสกัดระดับจุลภาคด้วยของเหลวแบบกระจายได้ค่า P-value มากกว่า 0.05 ทั้ง 2 สารประกอบ แสดงว่าผลของ Matrix effect ไม่มีผลอย่างมีนัยสำคัญที่ระดับความเชื่อมั่น 95% ขณะที่การสกัดด้วยเทคนิคการสกัดด้วยเฟสของเหลว ได้ค่า P-value น้อยกว่า 0.05 ทั้ง 2 สารประกอบในตัวอย่างสลัดครีมและมายองเนส

แสดงว่าการสกัดด้วยเทคนิคการสกัดด้วยเฟสของเหลว มีผลของ Matrix effect อย่างมีนัยสำคัญที่ระดับความเชื่อมั่น 95% นอกจากนี้ยังสังเกตพบว่าส่วนสกัดที่ได้จากการสกัดเทคนิคการสกัดระดับจุลภาคด้วยของเหลวแบบกระจายมีลักษณะใสไม่มีตะกอนสีขาวมากกว่าส่วนสกัดที่ได้จากการสกัดเทคนิคการสกัดด้วยเฟสของเหลว ซึ่งมีลักษณะขุ่นกว่า

Table 5 Quantitative characteristics of the proposed method in HPLC

Preservatives	LOD, (mg/L)	LOQ, (mg/L)	Range (mg/L)	Linearity	R ²
Benzoic acid	0.007	0.02	0.02 – 100.0	y = 39554x + 1205.4	0.9997
Sorbic acid	0.006	0.02	0.02 – 100.0	y = 39093x + 4776.3	0.9999

Table 6 Quantitative characteristics of DLLME-HPLC

Preservatives	Precision (%RSD)		Accuracy (% Recovery)		
	Repeatability (n=6*)	Intermediate precision (n=6*3 days)	Level-1 10 mg/L	Level-2 20 mg/L	Level-3 30 mg/L
Benzoic acid in salad cream	0.1	0.2	99.4%	89.6%	92.5 %
Sorbic acid in salad cream	0.1	0.2	98.3%	90.6%	91.5 %
Benzoic acid in mayonnaise	0.1	0.2	104.3 %	99.6%	99.4%
Sorbic acid in mayonnaise	0.1	0.2	102.1%	103.9%	101.3%
Criteria (AOAC, 2019)	< 7.3%	< 7.3%	80-110%	80-110%	80-110%

3.3 การตรวจสอบความใช้ได้ของวิธี

การตรวจสอบความใช้ได้ของวิธีที่พัฒนาขึ้นในตัวอย่างอาหารที่มีไขมันเป็นองค์ประกอบ ได้แก่ สลัดครีมและมายองเนสอ้างอิงมาตรฐาน AOAC (2019) และมาตรฐาน ICH Harmonised Tripartite Guideline (2005) ซึ่งปัจจัยที่ใช้ตรวจสอบคุณลักษณะเฉพาะ ได้แก่ ชีตจำกัดในการตรวจพบ ชีตจำกัดในการวัดเชิงปริมาณ การทดสอบความเป็นเส้นตรงและช่วงการตอบสนองความเป็นเส้นตรง ดังแสดงในตารางที่ 5 การทดสอบความแม่นยำและความเที่ยงประกอบด้วย 2 พารามิเตอร์ ได้แก่ Repeatability และ Intermediate precision ดังแสดงในตารางที่ 6

จากผลการวิจัยพบว่า เทคนิคการสกัดระดับจุลภาคด้วยของเหลวแบบกระจายให้ประสิทธิภาพการสกัดกรดเบนโซอิกและกรดซอร์บิกได้ดีที่สุดเมื่อใช้ตัวทำละลายสกัด 400 ไมโครลิตรและตัวทำละลายช่วยกระจายตัว 0.85 มิลลิลิตร โดยสกัดด้วยเครื่องเขย่าสารระยะเวลา 10 นาที ซึ่งเป็นขั้นตอนการสกัดที่ใช้เวลาในการสกัดสั้น ขั้นตอนการสกัดง่าย ราคาถูก ใช้ตัวทำละลายอินทรีย์น้อย มีความเป็นมิตรต่อสิ่งแวดล้อม (Soisungnoen *et al.*, 2022) และจากการเปรียบเทียบทางสถิติพบว่าผลของ Matrix effect ไม่มีผลอย่างมีนัยสำคัญที่ระดับความเชื่อมั่น 95%

4. สรุป

งานวิจัยนี้เป็นการพัฒนาเทคนิคการวิเคราะห์กลุ่มวัตถุกันเสีย 2 ชนิดคือกรดเบนโซอิกและกรดซอร์บิกในอาหารที่มีไขมันเป็นองค์ประกอบให้วิเคราะห์คราวเดียวกัน ซึ่งสอดคล้องกับลักษณะที่พบกลุ่มสารดังกล่าวอยู่

ในอาหารต่าง ๆ ได้แก่ สลัดครีมและมายองเนสโดยใช้เทคนิคโครมาโทกราฟีของเหลวสมรรถนะสูงร่วมกับตัวตรวจวัดชนิดยูวีวิสซิเบิล ที่ความยาวคลื่น 220 นาโนเมตร คอลัมน์รีเวิร์สเฟสที่ใช้แยกคือ Hypersil GOLD ความยาว 150 มิลลิเมตร ขนาดเส้นผ่านศูนย์กลาง 46 มิลลิเมตร และขนาดอนุภาค 5 ไมโครเมตร เฟสเคลื่อนที่ผสมระหว่างสารละลายโพแทสเซียมไดไฮโดรเจนฟอสเฟตความเข้มข้น 0.02 โมลาร์ในน้ำ (pH 5) และอะซิโตนไตริลใช้สภาวะกราเดียนท์มีอัตราการไหล 1.0 มิลลิลิตรต่อนาที นีตตัวอย่างปริมาตร 10 ไมโครลิตร เวลาที่ใช้ในการวิเคราะห์ 15 นาที วิธีดังกล่าวมีชีตจำกัดในการตรวจพบของสารประกอบทั้ง 2 ชนิดคือ 0.007 และ 0.006 มิลลิกรัมต่อลิตรสำหรับกรดเบนโซอิกและกรดซอร์บิกตามลำดับ และชีตจำกัดในการวัดเชิงปริมาณของสารประกอบทั้ง 2 ชนิดเท่ากับ 0.02 มิลลิกรัมต่อลิตร ช่วงการตอบสนองความเป็นเส้นตรงอยู่ในช่วง 0.02-100.0 มิลลิกรัมต่อลิตร ค่า R² มากกว่า 0.9997 เทคนิคการสกัดระดับจุลภาคด้วยของเหลวแบบกระจายสามารถสกัดตัวอย่างอาหารที่มีไขมันเป็นองค์ประกอบได้ดี ใช้ตัวทำละลายอินทรีย์ในการสกัดน้อยมีความเป็นมิตรต่อสิ่งแวดล้อมโดยการลดปริมาณการใช้ตัวทำละลายอินทรีย์ เวลาในการสกัดสั้น และตรวจสอบความใช้ได้ของวิธีตรงตามวัตถุประสงค์

5. กิตติกรรมประกาศ

งานวิจัยนี้เป็นโครงการที่ได้รับการสนับสนุนจากมหาวิทยาลัยสงขลานครินทร์ ประเพณททุนทั่วไป รหัสโครงการ EQU530121S และทีมวิจัยขอขอบคุณศูนย์บริการปฏิบัติการทางเภสัชศาสตร์ คณะเภสัชศาสตร์

และสำนักเครื่องมือวิทยาศาสตร์และการทดสอบ
มหาวิทยาลัยสงขลานครินทร์ สนับสนุนอุปกรณ์และ
เครื่องมือวิทยาศาสตร์ในการทำวิจัย

6. เอกสารอ้างอิง

- Ali, M.S. 1985. Rapid quantitative method for simultaneous determination of benzoic acid, sorbic acid, and four parabens in meat and nonmeat products by liquid chromatography. **Journal - Association of Official Analytical Chemists** 68: 488-492.
- AOAC. 1990. **Official Methods of Analysis**. 15th ed. Association of Official Analytical Chemist, Washington DC., U.S.A.
- AOAC. 2019. **Official Methods of Analysis**. 21st ed. Association of Official Analytical Chemist, Washington DC., U.S.A.
- CDER. 1994. **Reviewer Guidance: Validation of Chromatographic Method**. Rockville, U.S.A.
- Ferreira, I., Mendes, E., Brito, P. and Ferreira, M. 2000. Simultaneous determination of benzoic and sorbic acids in quince jam by HPLC. **Food Research International** 33: 113-117.
- Fuselli, F., Guarino, C., La Mantia, A., Longo, L., Faberi, A. and Marianella, R.M. 2012. Multi-detection of preservatives in cheeses by liquid chromatography-tandem mass spectrometry. **Journal of Chromatography B** 906: 9-18.
- Gören, A.C., Bilsel, G., Simsek, A., Bilsel, M., Akçadağ, F., Topal, K. and Ozgen, H. 2015. HPLC and LC-MS/MS methods for determination of sodium benzoate and potassium sorbate in food and beverages: performances of local accredited laboratories via proficiency tests in Turkey. **Food Chemistry** 175: 273-279.
- ICH Harmonised Tripartite Guideline. 2005. Validation of Analytical Procedures: Text and Methodology Q2(R1), pp. 1-13. *In International Conference on Harmonisation of Technical Requirements for Registration of Pharmaceuticals for Human Use*. Geneva.
- Mota, F., Ferreira, I.M., Cunha, S.C., Beatriz, M. and Oliveira, P. 2003. Optimisation of extraction procedures for analysis of benzoic and sorbic acids in foodstuffs. **Food Chemistry** 82: 469-473.
- Mazloomifar, A. and Shieghi, P. 2015. Dispersive Liquid-Liquid Microextraction and Determination of Platinum (IV) by High Performance Liquid Chromatography. **Oriental Journal of Chemistry** 31: 1299-1305.
- Navakhun, A. 2015. Environmental friendly sample preparation method by microextraction. **Burapha Science Journal** 20(1): 227-235. (in Thai)
- Notification of the Ministry of Public Health (No. 418). 2020. **Prescribing the Principle, Conditions, Methods and Proportion of Food Additives (No.2)**. Available Source: https://www.ratchakitcha.soc.go.th/DATA/PDF/2563/E/237_2/18.PDF, August 3, 2023. (in Thai)
- Office of Scientific Instrument and Testing. 2023. **Price rate**. Available Source: <https://osit.psu.ac.th/th/pricerate/>, December 22, 2023. (in Thai)
- Pichai, P. 2022. Method validation for determination of benzoic acid, salicylic acid and sorbic acid in Vietnamese pork sausage by high performance liquid chromatography. **The Bulletin of the Department of Medical Sciences** 61(2): 48-59. (in Thai)
- Rezaee, M., Assadi, Y., Hosseini, M.R.M., Aghaee, E., Ahmadi, F. and Berijani, S. 2006. Determination of organic compounds in water using dispersive liquid-liquid microextraction. **Journal of Chromatography A** 1116: 1-9.
- Saad, B., Bari, M.F., Saleh, M.I., Ahmad, K. and Talib, M.K. 2005. Simultaneous determination of preservatives (benzoic acid, sorbic acid, methylparaben and propylparaben) in foodstuffs using high-performance liquid chromatography. **Journal of Chromatography A** 1073: 393-397.
- Soisungnoen, P. 2018. Dispersive liquid- liquid microextraction: Principle and development of extraction solvent. **Burapha Science Journal** 21(3): 1284-1300. (in Thai)

- Soisungnoen, P., Yokbat, S. and Nambunlue, P. 2022.
Determination of polycyclic aromatic hydrocarbons
in grilled pork using microwave- assisted
extraction and microextraction followed by
high- performance liquid chromatography.
**Journal of Science and Technology, Ubon
Ratchathani University** 21(1): 28-36. (in Thai)
- Techakriengkrai, I. and Surakarnkul, R. 2007. Analysis
of benzoic acid and sorbic acid in Thai rice
wines and distillates by solid-phase sorbent
extraction and high- performance liquid
chromatography. **Journal of Food Composition
and Analysis** 20: 220-225.
- WHO. 2000. **Benzoic acid and sodium benzoate
(Concise international chemical assessment
document 26)**. World Health Organization,
Geneva.



Research Article

การใช้ประโยชน์จากอะโวคาโดเป็นสารทดแทนไขมันในผลิตภัณฑ์ ไส้คัสตาร์ดช็อกโกแลต เพื่อสุขภาพ

Utilization of Avocado as a Fat Replacer in Healthy Chocolate Custard Filling

อัจฉรา ดลวิทยาคุณ*, สิริวิมล สังข์คำ สุภัทรา จรรยา และ มุทิตา หละวัน

Achara Dholvitayakhun*, Sirivimol Sungkum, Supattra Janya and Mutita Lawan

คณะวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยีการเกษตร มหาวิทยาลัยเทคโนโลยีราชมงคลล้านนา ตาก อำเภอเมือง จังหวัดตาก 63000

Faculty of Science and Agricultural Technology, Rajamangala University of Technology Lanna Tak, Muang, Tak 63000, Thailand.

ABSTRACT

Article history:

Received: 2023-05-05

Revised: 2023-09-18

Accepted: 2023-10-11

Keywords:

avocado;

health food products;

chocolate custard filling;

maltitol

This research aimed to develop a healthy chocolate custard filling product by replacing fat with avocado and using maltitol to replace sucrose in varying ratios. The study investigated fat replacement with avocado in products by substituting 25, 50, 75, and 100 of butter by weight. The results showed that increasing the amount of avocado resulted in lower lightness (L^*) and yellowness (b^*) values, while redness (a^*) and moisture content were increased ($p \leq 0.05$). The sensory evaluation revealed that the overall liking score for 100% avocado replacing butter was moderate (7.09 ± 1.41), which reduced butter use in the chocolate custard filling by 100%. Moreover, the sucrose was replaced with maltitol at levels of 25, 50, 75, and 100 by weight of the total sucrose. The results showed that increasing the amount of maltitol resulted in higher values of lightness (L^*) and yellowness (b^*), moisture content, and water activity. At the same time, the redness (a^*) and spread ratio were decreased ($p \leq 0.05$). However, replacing 100% avocado and 100% maltitol in the chocolate custard filling product showed the highest overall ranking, with scores falling within a medium range (7.23 ± 1.91). The nutrition values per serving (15 grams) showed that the developed product consisted of 5 grams of carbohydrates, 1 gram of fat, 1 gram of sugar, and 31 kilocalories of energy. This provided no more than 40 kilocalories of energy per serving aligning with the criteria set by the Ministry of Public Health of Thailand (issue182), making this chocolate custard filling, which replaces butter with avocado, to be classified as a low-calorie. Therefore, this product can be developed into a healthy food option in the future.

© 2025 Dholvitayakhun, A., Sungkum, S., Janya, S. and Lawan, M. Recent Science and Technology published by Rajamangala University of Technology Srivijaya

* Corresponding author.

E-mail address: achara2518@yahoo.co.th

Cite this article as:

Dholvitayakhun, A., Sungkum, S., Janya, S. and Lawan, M. 2025. Utilization of Avocado as a Fat Replacer in Healthy Chocolate Custard Filling. **Recent Science and Technology** 17(1): 258849.

บทคัดย่อ

งานวิจัยนี้มีวัตถุประสงค์เพื่อพัฒนาผลิตภัณฑ์ไส้คัสตาร์ดช็อกโกแลตที่มีประโยชน์ต่อสุขภาพโดยการทดแทนไขมันด้วยอะโวคาโดและใช้มอลทิทอลทดแทนน้ำตาลซูโครสในอัตราส่วนต่าง ๆ การทดแทนไขมันด้วย อะโวคาโดในผลิตภัณฑ์ที่ร้อยละ 25 50 75 และ 100 ของน้ำหนักเนยทั้งหมด ผลการศึกษาพบว่า ปริมาณอะโวคาโดที่เพิ่มขึ้นส่งผลให้ค่าความสว่างและค่าสีเหลืองลดลง ในขณะที่ค่าสีแดงและความชื้นของผลิตภัณฑ์มีแนวโน้มเพิ่มขึ้น ($p \geq 0.05$) การประเมินทางประสาทสัมผัสพบว่า การทดแทนเนยด้วยอะโวคาโดร้อยละ 100 ได้รับคะแนนความชอบรวมอยู่ในเกณฑ์ชอบปานกลาง (7.09 ± 1.41) ทำให้สามารถลดการใช้เนยในไส้คัสตาร์ดช็อกโกแลตลงได้ร้อยละ 100 นอกจากนี้ การทดแทนซูโครสด้วยมอลทิทอลในไส้คัสตาร์ดช็อกโกแลตอะโวคาโด ที่ร้อยละ 25 50 75 และ 100 ของน้ำหนักน้ำตาลทั้งหมด ผลการทดลองพบว่า เมื่อปริมาณของมอลทิทอลเพิ่มขึ้นส่งผลให้ค่าความสว่าง ค่าสีเหลือง ความชื้นและปริมาณน้ำอิสระเพิ่มขึ้น ในขณะที่ค่าสีแดง และค่าการแผ่ขยายตัวลดลง อย่างไรก็ตาม การใช้อะโวคาโดแทนไขมันร้อยละ 100 และใช้มอลทิทอลทดแทนซูโครสร้อยละ 100 ในผลิตภัณฑ์ไส้คัสตาร์ดช็อกโกแลต มีคะแนนความชอบรวมสูงที่สุดอยู่ในเกณฑ์ชอบปานกลาง (7.23 ± 1.91) คุณค่าทางโภชนาการต่อหนึ่งหน่วยบริโภค (15 กรัม) ประกอบด้วยคาร์โบไฮเดรต 5 กรัม ไขมัน 1 กรัม น้ำตาล 1 กรัม และพลังงาน 31 กิโลแคลอรี ซึ่งมีพลังงานไม่เกิน 40 กิโลแคลอรีต่อหนึ่งหน่วยบริโภคตามเกณฑ์ประกาศกระทรวงสาธารณสุข (ฉบับที่ 182) ทำให้สามารถกล่าวอ้างได้ว่าเป็นไส้คัสตาร์ดช็อกโกแลตพลังงานต่ำทดแทนเนยด้วยอะโวคาโดได้ จึงสามารถพัฒนาเป็นอาหารเพื่อสุขภาพได้ในอนาคต

คำสำคัญ: อะโวคาโด, อาหารสุขภาพ, ไส้คัสตาร์ดช็อกโกแลต, มอลทิทอล

1. บทนำ

อะโวคาโดเป็นผลไม้ที่คุณค่าทางโภชนาการสูงจัดอยู่ในกลุ่มของ ซุปเปอร์ฟู้ด (Superfood) รสชาติมันคล้ายเนย มีสีเหลืองหรือสีเหลืองปนเขียว จึงนิยมเรียกว่า “ลูกเนย” อย่างไรก็ตาม อะโวคาโดไม่เป็นที่นิยมบริโภคในประเทศไทย เนื่องจาก กลิ่น รสชาติจัดคล้ายเนย และเนื้อสัมผัสที่ไม่คุ้นเคย (Wareepitak *et al.*, 2017) ประกอบกับอะโวคาโดมีอายุการเก็บสั้นประมาณ 3-4 วัน (Dantas *et al.*, 2018) เมื่อสุกเกินหรือผลเริ่มมีสีดำคล้ำและไม่สามารถจำหน่ายได้ จึงทำให้มีผลอะโวคาโดสุกเหลือจากการจำหน่ายก่อให้เกิดขยะเหลือทิ้ง (Food Waste) จำนวนมาก (Arachchige *et al.*, 2019) ทำให้ปัจจุบันมีการศึกษาหรือวิจัยเพื่อนำอะโวคาโดมาแปรรูปนอกเหนือจากการบริโภคสด ซึ่งส่วนใหญ่จะนิยมนำมาสกัดเป็นผง (Dantas *et al.*, 2018) หรือนำมาปั่นเพื่อใช้ทำครีมบำรุงผิว (Cervantes-Paz and Yahia, 2021) นอกจากนี้ ยังมีความพยายามนำอะโวคาโดที่จัดเป็นพืชน้ำมัน มาทดแทนไขมันหรือน้ำมันในผลิตภัณฑ์เบเกอรี่ เช่น เนยผสม (Butter Blend) มาร์การีน และเนยขาว ที่มีกรดไขมันทรานส์ในปริมาณสูงกว่าข้อแนะนำขององค์การอาหารและเกษตรแห่งสหประชาชาติและองค์การอนามัยโลก (>0.5 กรัมต่อหน่วยบริโภค) และมีกรดไขมันอิ่มตัวสูงกว่าปริมาณที่แนะนำ (>5 กรัมต่อหน่วยบริโภค) (Photi *et al.*, 2019) ซึ่งการบริโภคอาหารที่มีกรดไขมันทรานส์จะเพิ่มโอกาสเสี่ยงต่อการเกิดโรคหัวใจและหลอดเลือดตีบตัน ทำให้ปัจจุบันมีการวิจัยเพื่อนำอะโวคาโดซึ่งมีปริมาณไขมันร้อยละ 27-35 ประกอบด้วยกรดไขมันไม่อิ่มตัวร้อยละ 85-87 (Klinhom *et al.*, 2002) ชนิด Mono-unsaturated Fatty Acid ช่วยเพิ่ม

คอเลสเตอรอลชนิดดี (HDL-Cholesterol) และลดคอเลสเตอรอลชนิดไม่ดี (LDL-Cholesterol) ป้องกันการสะสมของไขมันเลื้อด ช่วยลดโอกาสเสี่ยงของโรคหลอดเลือดตีบตัน โรคหัวใจ และภาวะผนังหลอดเลือดแดงแข็ง (Romphet and Wongpakorn, 2011) มาเสริมในผลิตภัณฑ์เบเกอรี่ เช่น เสริมในครีมแต่งหน้าเค้กเพื่อสุขภาพได้ร้อยละ 50 (Phungbunhan *et al.*, 2021) หรือเสริมในผลิตภัณฑ์คุกกี้ได้ ร้อยละ 25 (Romphet and Wongpakorn, 2011) อย่างไรก็ตาม ยังไม่สามารถเสริมได้มาก เนื่องจากข้อจำกัดในเรื่องรสชาติ เพราะเมื่ออะโวคาโดผ่านความร้อนจะเกิดรสชาติ (Klinhom *et al.*, 2002) และสีคล้ำจากปฏิกิริยาการเกิดสีน้ำตาลในระหว่างเก็บรักษา ทำให้ไม่สามารถเสริมหรือทดแทนไขมันในปริมาณมาก

ดังนั้น เพื่อเป็นการลดข้อจำกัดดังกล่าว ผู้วิจัยจึงมีแนวคิดที่จะนำอะโวคาโดมาทดแทนเนยในไส้คัสตาร์ดช็อกโกแลต ซึ่งนิยมใช้เป็นวัตถุดิบในผลิตภัณฑ์เบเกอรี่หลากหลายชนิด เช่น ไอศกรีม ชนมปัง โดนัทหรือซาลาเปา เป็นต้น การใช้ช็อกโกแลตซึ่งมีรสชาติที่ผู้บริโภคมองว่าจะช่วยกลบรสชาติของอะโวคาโดได้ ทำให้คาดว่าจะสามารถทดแทนในผลิตภัณฑ์ได้มากกว่าร้อยละ 50 และศึกษาการใช้มอลทิทอลเป็นสารให้ความหวานทดแทนน้ำตาลซูโครสในผลิตภัณฑ์ไส้คัสตาร์ดช็อกโกแลต เพื่อพัฒนาให้เป็นอาหารสุขภาพที่เหมาะสมกับบุคคลทุกวัยและนำไปประยุกต์ใช้เป็นวัตถุดิบในการทำไส้ขนมชนิดต่าง ๆ ต่อไป

2. วิธีดำเนินการวิจัย

2.1 วัตถุดิบ

อะโวคาโดพันธุ์พื้นเมืองลูกผสมระหว่างพันธุ์ กัวเตมาลา และพันธุ์กัมปง (ตลาดมุเซอสามแยกแม่สอด จังหวัดตาก) น้ำตาลทรายขาว (บริษัทกลุ่มน้ำตาลไทย รุ่งเรือง ตราลิน, ประเทศไทย) แป้งข้าวโพด (บริษัทอาร์ แอนด์ บี ฟู้ด ซัพพลาย จำกัด, ประเทศไทย) ไข่ไก่ เบอร์ 2 (บริษัทเจริญโภคภัณฑ์อาหาร จำกัด, ประเทศไทย) นมข้นจืด ตรานกเหยี่ยว (บริษัทฟริสแลนด์คัมพินา, ประเทศไทย) เกลือปรงทิพย์ (บริษัทอุตสาหกรรมเกลือบริสุทธิ์ จำกัด, ประเทศไทย) ผงโกโก้และดาร์กช็อกโกแลตตราทิวลิป (บริษัทอำพลฟู้ดส์ จำกัด, ประเทศไทย) เนยสดชนิดเค็ม ตรา Home Fresh Butter (บริษัทพรีเมียร์ แดรี่ โปรดักส์ จำกัด, ประเทศไทย) มอลทิทอล (บริษัทกรุงเทพเคมี จำกัด, ประเทศไทย) และซูคราโลส (เวชกิจเคมีภัณฑ์ พิษณุโลก, ประเทศไทย)

2.2 ขั้นตอนการผลิตไส้คัสตาร์ดช็อกโกแลต

การผลิตไส้คัสตาร์ดช็อกโกแลตใช้สูตรพื้นฐาน ไส้คัสตาร์ดที่ดัดแปลงจาก Dholvitayakhun (2017) เริ่มจากการนำแป้งข้าวโพดร้อยละ 5.52 ผงโกโก้ร้อยละ 2.07 ละลายกับน้ำร้อยละ 20.72 คนให้เข้ากันพักไว้ นำไข่ไก่ร้อยละ 14.78 มาตีด้วยเครื่องตีมือ (ยี่ห้อ Scarlett) กำลังไฟ 180 วัตต์ 220 โวลต์ ใช้ความเร็วเบอร์ 1 นาน 2 นาที จนไข่มีสีอ่อน เทส่วนผสมลงในน้ำแป้งข้าวโพด ไส้เกลียวร้อยละ 0.28 น้ำตาลทรายร้อยละ 16.58 และนมข้นจืด ร้อยละ 20.72 คนให้เข้ากัน กรองด้วยกระชอนในหม้อ (เส้นผ่านศูนย์กลาง 20 เซนติเมตร) เพื่อแยกส่วนที่ไม่ละลายออก นำไปตุ๋นในกระทะกันล้น (รุ่น The cookware series เส้นผ่านศูนย์กลาง 30 เซนติเมตร) ใส่ไฟ 1/4 ของ กระทะใช้ไฟอ่อนคนไปในทางเดียวกัน เมื่อส่วนผสมมี อุณหภูมิ 80 องศาเซลเซียส ใส่ดาร์กช็อกโกแลตร้อยละ 5.52 คนนาน 10 นาที ใส่เนยเค็มร้อยละ 13.81 ลงไป คนต่อเป็นเวลา 2 นาที ปิดไฟยกลงจากเตา พักทิ้งให้อุณหภูมิลดลงเหลือ 50 องศาเซลเซียส บรรจุใส่ถุง อลูมิเนียมฟอยล์นำเข้าตู้เย็นอุณหภูมิ 7 ± 5 องศาเซลเซียส

2.3 วิธีการเตรียมอะโวคาโด

นำอะโวคาโดพันธุ์พื้นเมืองลูกผสมระหว่าง กัวเตมาลาผสมกัมปงระดับความสุกร้อยละ 100 (เปลือกมีสี ดำเข้ม เนื้อมีสีออกน้ำตาลคล้ำ) ผ่าครึ่ง ควักเนื้อออก ใส่ถุงออลูมิเนียมฟอยล์บรรจุแบบ สูญญากาศ เก็บรักษาในตู้เย็นอุณหภูมิ -7 ± 5 องศาเซลเซียส

2.4 การศึกษาอัตราส่วนที่เหมาะสมของอะโวคาโดเพื่อทดแทนไขมันในไส้คัสตาร์ดช็อกโกแลต

ทำการศึกษาอัตราส่วนการทดแทนเนยด้วย อะโวคาโด ในการผลิตไส้คัสตาร์ดช็อกโกแลต ทำการศึกษา 4 ระดับ คือ ร้อยละ 25 50 75 และ 100 ของน้ำหนักเนย ที่ใช้ในการทดลอง นำแต่ละสูตรมาผลิตเป็นไส้คัสตาร์ด ช็อกโกแลต โดยนำเนื้ออะโวคาโดมาปั่นกับนมข้นจืดและ ในขั้นตอนการผสมน้ำตาล ตามขั้นตอนการผลิตข้อ 2 นำผลิตภัณฑ์ไส้คัสตาร์ดช็อกโกแลต บรรจุใส่ถุงออลูมิเนียม ฟอยล์ นำ 4 สูตร และสูตรควบคุม (เนยสด) มาวิเคราะห์ คุณภาพทางกายภาพ ทางเคมีและทางประสาทสัมผัส โดย การวัดค่าสีไส้คัสตาร์ดช็อกโกแลต ทั้ง 4 สูตร มาวิเคราะห์ ค่าสีเทียบกับสูตรควบคุม (ไส้คัสตาร์ดช็อกโกแลตที่ใช้เนยสด) โดยวัดค่าสีในระบบ CIE ด้วยเครื่องวัดค่าสี (Henter Lab รุ่น MiniScan EZ LAV) วัดค่าความสว่าง (L^*) ค่าความเป็น สีแดง (a^*) และค่าความเป็นสีเหลือง (b^*) ตัวอย่างละ 3 ซ้ำ, วัดอัตราการแผ่ ดัดแปลงจากวิธีของ Mc Milliam (1990) โดยนำไส้คัสตาร์ดน้ำหนัก 50 กรัม อุณหภูมิ (28 ± 5 องศา เซลเซียส) ใส่พิมพ์วงกลมทรงกระบอกขนาดเส้นผ่าน ศูนย์กลาง 6 เซนติเมตร สูง 5 เซนติเมตร ยกพิมพ์ขึ้นตาม แนวตั้ง จับเวลาการแผ่กระจายนาน 5 นาที วัดค่า 4 จุด ตัวอย่างละ 3 ซ้ำ คุณภาพทางเคมี วัดความชื้น, ปริมาณน้ำ อิสระ water activity (a_w) ด้วยเครื่องวัดค่า a_w (novasina รุ่น LabSwift- a_w) วัดตัวอย่างละ 3 ซ้ำ และคุณภาพทาง ประสาทสัมผัส โดยนำไส้คัสตาร์ดช็อกโกแลต 4 สูตรบีบใส่ ถ้วยพลาสติกเสิร์ฟพร้อมขนมปังแ่ง นำไปประเมิน คุณภาพทางประสาทสัมผัส โดยวิธีให้คะแนนความชอบกับ ผู้ทดสอบที่เคยบริโภคไส้คัสตาร์ด จำนวน 35 คนผู้ทดสอบ จะได้รับตัวอย่าง 1 ชุด ประกอบด้วยตัวอย่าง 4 ตัวอย่าง (เสิร์ฟพร้อมกัน) ประเมินความชอบที่มีต่อคุณลักษณะ ปรากฏ (สี) กลิ่น (กลิ่นโดยรวม) รสชาติ (รสหวาน รสขม รสชาติโดยรวม) เนื้อสัมผัส (ความเนียน) และความชอบ รวม ด้วยแบบทดสอบสเกลความชอบ 9 Point Hedonic Scales นำผลการทดสอบที่ได้มาวิเคราะห์ความแปรปรวน (ANOVA) และเปรียบเทียบความแตกต่างค่าเฉลี่ยด้วยวิธี Duncan's New Multiple Test เพื่อคัดเลือกไส้คัสตาร์ดที่ ผู้ทดสอบชอบมากที่สุดสำหรับการศึกษาในลำดับต่อไป

2.5 การศึกษาปริมาณที่เหมาะสมของมอลทิทอลในไส้ คัสตาร์ดช็อกโกแลตอะโวคาโด

เลือกไส้คัสตาร์ดช็อกโกแลตทดแทนเนยด้วย อะโวคาโดที่เหมาะสมจากข้อที่ 4 มาศึกษาปริมาณที่ เหมาะสมของสารให้ความหวาน คือ มอลทิทอล (Maltitol) นำมาทดแทนน้ำตาลซูโครส 4 ระดับ คือ ร้อยละ 25 50 75

และ 100 ของน้ำหนักน้ำตาลที่ใช้ในการทดลอง เพื่อปรับค่าความหวานให้เท่ากับความหวานต้นฉบับจะต้องมีการเติมซูคราโลส (ความหวาน 600 เท่าของซูโครส) นิยมใช้เสริมรสหวานให้กับสารให้ความหวานที่ให้มีวล (Srisangwan and Kaewmaneechai, 2012) เป็นตัวปรับระดับความหวานให้เท่ากับความหวานของสูตรพื้นฐาน (คำนวณจากค่า Relative Sweetness) อัตราส่วนดังแสดงใน Table 1 นำแต่ละสูตรมาผลิตเป็นไส้คัสตาร์ดช็อกโกแลตอะโวคาโดที่ใช้สารให้ความหวานทดแทนน้ำตาลซูโครส ตามกรรมวิธีการเตรียมสูตรพื้นฐานไส้คัสตาร์ดช็อกโกแลต จากนั้นนำมาวิเคราะห์คุณภาพทางกายภาพ โดยวัดค่าสี วัดอัตราการแผ่คุณภาพทางเคมีวัดค่าความชื้น วัดปริมาณน้ำอิสระเทียบกับสูตรควบคุม และวัดคุณภาพทางประสาทสัมผัส เช่นเดียวกับข้อที่ 4 เพื่อคัดเลือกตัวอย่างที่มีคะแนนความชอบรวมสูงสุดไปใช้ในขั้นต่อไป

2.6 การวิเคราะห์คุณค่าทางโภชนาการของผลิตภัณฑ์ไส้คัสตาร์ดช็อกโกแลตอะโวคาโดที่ใช้อมอลทิทอลทดแทนน้ำตาล

นำผลิตภัณฑ์ไส้คัสตาร์ดช็อกโกแลตอะโวคาโดที่ใช้อมอลทิทอลทดแทนน้ำตาลซูโครส ที่ได้รับคะแนนการทดสอบทางด้านประสาทสัมผัสที่มีคะแนนเฉลี่ยมากที่สุดมาวิเคราะห์คุณค่าทางโภชนาการ ปริมาณความชื้น ไขมัน เส้นใย เถ้า โปรตีน และคำนวณปริมาณคาร์โบไฮเดรต ตามวิธี AOAC (2019) พลังงาน โดยใช้เครื่อง Bomb calorimeter, AC500 และนำข้อมูลที่ได้มาจัดทำข้อมูลโภชนาการแบบย่อ เพื่อเปรียบเทียบกับไส้คัสตาร์ดช็อกโกแลตที่จำหน่ายทั่วไปในท้องตลาด

2.7 การวิเคราะห์ผลทางสถิติ

วางแผนการทดลองแบบ Completely Randomized Design (CRD) สำหรับการวิเคราะห์คุณลักษณะทางกายภาพ ทางเคมี โดยวิเคราะห์คุณภาพด้านต่าง ๆ ของตัวอย่างทั้งหมด 3 ซ้ำ ส่วนการทดสอบทางประสาทสัมผัส วางแผนการทดลองแบบ Randomized Completed Block Design (RCBD) วิเคราะห์ค่าความแปรปรวนด้วยวิธี ANOVA ที่ระดับนัยสำคัญ 0.05 จากนั้นเปรียบเทียบค่าความแตกต่างของค่าเฉลี่ยด้วยวิธี Duncan's Multiple Range Test (DMRT)

Table 1 Formulation for chocolate custard filling preparation

Ingredients	Control recipe	Ratio of maltitol supplement			
	(%)	25	50	75	100
Condensed Milk	20.72	20.72	20.72	20.72	20.72
Water	20.72	20.72	20.72	20.72	20.72
Whole egg	14.78	14.78	14.78	14.78	14.78
Salt	0.28	0.28	0.28	0.28	0.28
Dark chocolate	5.52	5.52	5.52	5.52	5.52
Corn starch	5.52	5.52	5.52	5.52	5.52
Cocoa powder	2.07	2.07	2.07	2.07	2.07
Salted butter	13.81	-	-	-	-
Avocado	-	13.81	13.81	13.81	13.81
Granulated sugar	16.58	12.43	8.29	4.14	-
Sucralose ¹	-	0.0014	0.0028	0.0041	0.0055
Maltitol powder ¹	-	4.14	8.29	12.43	16.57

Table 2 Chemical and physical properties of chocolate custard filling products instead of butter with avocado

Ratio Butter: Avocado	Spread (mm.)	Moisture (%)	a_w	Colors		
				L*	a*	b*
100:0*(Control)	39.78±0.41 ^a	43.55±0.20 ^e	0.91±0.00 ^c	22.81±0.17 ^a	5.78±0.04 ^d	11.35±0.15 ^a
75:25	29.15±1.56 ^b	45.40±0.00 ^d	0.94±0.00 ^a	21.47±0.24 ^b	9.30±0.17 ^c	10.40±0.54 ^b
50:50	32.42±0.87 ^b	48.63±0.02 ^c	0.94±0.00 ^a	20.53±0.01 ^c	9.54±0.06 ^{cd}	9.73±0.21 ^b
25:75	31.09±1.51 ^b	52.64±0.03 ^b	0.93±0.00 ^b	18.36±0.00 ^d	9.81±0.03 ^{ab}	9.83±0.08 ^b
0:100	30.20±1.73 ^b	54.12±0.02 ^a	0.92±0.01 ^c	16.59±0.07 ^d	9.84±0.07 ^a	4.82±0.01 ^c

3. ผลการวิจัยและวิจารณ์ผล

3.1 การศึกษาอัตราส่วนที่เหมาะสมของอะโวคาโดเพื่อทดแทนไขมันในไส้คัสตาร์ดช็อกโกแลต

จากผลการศึกษาอัตราส่วนของอะโวคาโดเพื่อทดแทนไขมันในไส้คัสตาร์ดช็อกโกแลต 4 ระดับ พบว่าอัตราส่วนของอะโวคาโดมีผลต่อค่าความสว่าง (L*) ค่าสีแดง (a*) และค่าสีเหลือง (b*) อย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p \leq 0.05$) เมื่อทดแทนด้วยอะโวคาโดในปริมาณที่เพิ่มขึ้น ส่งผลให้ผลิตภัณฑ์มีค่าความสว่าง (L*) และ ค่าสีเหลือง (b*) ลดลง ในขณะที่ค่าสีแดง (a*) มีแนวโน้มเพิ่มขึ้นเมื่อเทียบกับสูตรควบคุม ($p \leq 0.05$) เนื่องจากอะโวคาโดมีค่าความสว่าง (L*) 16.59 ที่น้อยกว่าค่าความสว่างของเนย (L*) 22.81 ดังนั้น เมื่อปริมาณของอะโวคาโดเพิ่มขึ้น ส่งผลให้ค่าความสว่างลดลง ส่วนผลิตภัณฑ์ที่ได้มีสีน้ำตาลเข้มออกแดง เนื่องจากในเนื้ออะโวคาโด มีคลอโรฟิลล์ (Chlorophyll) ซึ่งเป็นสารสีที่จะลดลงเมื่อผลไม้สุกได้หรือแก่จัดจึงทำให้ค่าสีแดงเพิ่มขึ้นเมื่อปริมาณการทดแทนเพิ่มขึ้น (Khumkhom and Hongthong, 2021) การแผ่ขยาย (Spread) พบว่า ไส้คัสตาร์ดช็อกโกแลตทดแทนเนยด้วยอะโวคาโด มีอัตราการแผ่ขยายตัวน้อยกว่าเมื่อเปรียบเทียบกับสูตรควบคุม ($p \leq 0.05$) การใช้อะโวคาโดทดแทนเนยจะทำให้ผลิตภัณฑ์มีการแผ่ขยายตัวน้อยกว่าหรือความหนืดมากกว่าสูตรควบคุม สอดคล้องกับผลการศึกษาของการใช้วัตถุดิบชนิดทดแทนไขมัน เช่น แกนสับปะรดทดแทนไขมัน (Kangsanant *et al.*, 2021) และการใช้ถั่วลิสงทดแทนเนยและมาการีน (Tantakasem and Ruangchai, 2011) มีผลทำให้อัตราการแผ่ขยายของคุกกี้ลดลง เนื่องจากเส้นใยที่มีอยู่ช่วยเพิ่มความหนืดของผลิตภัณฑ์ อัตราส่วนของอะโวคาโดที่แตกต่างกันมีผลต่อค่าความชื้นอย่างมีนัยสำคัญทาง ($p \leq 0.05$) เนื่องจากอะโวคาโดมีปริมาณน้ำ

อยู่ 76-85 กรัม/100 กรัม (Thanongjit *et al.*, 2009) เนยสดมีปริมาณน้ำ 11.4 กรัม (Department of Health, 2018) ดังนั้น เมื่อปริมาณอะโวคาโดเพิ่มขึ้นจึงส่งผลให้ค่าความชื้นเพิ่มมากขึ้นเมื่อเทียบกับสูตรควบคุม ในขณะที่ปริมาณน้ำอิสระ Water Activity (a_w) พบว่า อัตราส่วนของอะโวคาโดที่แตกต่างกัน มีผลต่อปริมาณน้ำอิสระอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p \leq 0.05$) โดยเมื่อปริมาณอะโวคาโดเพิ่มขึ้น ส่งผลให้ปริมาณน้ำอิสระมีแนวโน้มลดลง อย่างไรก็ตาม สูตรที่ใช้อะโวคาโดทดแทนเนยร้อยละ 100 ไม่แตกต่างเมื่อเทียบกับสูตรควบคุม ดังแสดงใน Table 2

จากการศึกษาอัตราส่วนที่เหมาะสมของอะโวคาโดเพื่อทดแทนไขมันในไส้คัสตาร์ดช็อกโกแลต พบว่าปริมาณอะโวคาโดที่เพิ่มขึ้น ไม่มีผลต่อคะแนนความชอบของผู้ทดสอบในคุณลักษณะด้านเนื้อสัมผัส กลิ่น รสชาติ และความชอบโดยรวมของผลิตภัณฑ์ ($p > 0.05$) แต่ปริมาณอะโวคาโดที่เพิ่มขึ้นมีผลต่อคะแนนความชอบด้านสี ($p \leq 0.05$) โดยเมื่ออัตราส่วนของอะโวคาโดเพิ่มขึ้น จะส่งผลให้คะแนนความชอบด้านสีเพิ่มขึ้น จนถึงระดับ อะโวคาโดที่ทดแทนร้อยละ 50 และเมื่อเพิ่มอะโวคาโดมากกว่านั้นจะส่งผลให้ระดับคะแนนความชอบด้านสีลดลง ดังแสดงใน Table 3 โดยสูตรที่ได้รับคะแนนเฉลี่ยความชอบโดยรวมมากที่สุด คือ ไส้คัสตาร์ดช็อกโกแลตทดแทนเนยด้วยอะโวคาโดร้อยละ 50 อย่างไรก็ตาม ทั้ง 4 สูตร มีค่าความชอบโดยรวมไม่แตกต่างกัน (อยู่ในเกณฑ์ความชอบปานกลาง) ในการทดลองครั้งนี้จึงเลือกสูตรการทดแทนเนยด้วยอะโวคาโดร้อยละ 100 เนื่องจากสามารถทดแทนอะโวคาโดได้มากที่สุด โดยไม่พบความแตกต่างด้านความชอบโดยรวม ทำให้สามารถนำมาทำให้เกิดประโยชน์ในด้านการพัฒนาเป็นผลิตภัณฑ์อาหารเพื่อสุขภาพ และการลดปัญหาขยะที่เพิ่มขึ้น จึงเลือกสูตรที่ร้อยละ 100 มาทำการทดลองในขั้นตอนต่อไป

Table 3 Sensory acceptance of chocolate custard filling products instead of butter with avocado

Ratio Butter: Avocado	Color	Texture ^{ns}	Odor ^{ns}	Taste ^{ns}	Overall liking ^{ns}
75:25	6.94±1.84 ^{ab}	6.83±2.09	6.37±2.22	6.77±2.01	7.06±1.67
50:50	7.66±1.62 ^a	7.51±1.75	6.69±1.62	6.91±1.57	7.39±1.26
25:75	6.86±1.47 ^{ab}	6.77±1.68	6.40±1.51	6.80±1.82	7.11±1.38
0:100	6.77±1.76 ^b	6.87±1.98	6.13±1.77	6.50±1.93	7.09±1.41

3.2 การศึกษาปริมาณที่เหมาะสมของมอลทิทอลในไส้คัสตาร์ดช็อกโกแลตอะโวคาโด

ทำการศึกษาริมาณสารให้ความหวานทดแทนน้ำตาลในไส้คัสตาร์ดช็อกโกแลตอะโวคาโด โดยใช้มอลทิทอลเป็นสารให้ความหวานทดแทนน้ำตาลซูโครสในปริมาณที่ใช้ทดแทน 4 ระดับ คือ ร้อยละ 25 50 75 และ 100 ของน้ำหนักน้ำตาลซูโครสที่ใช้ในการทดลอง จากผลการศึกษาปริมาณมอลทิทอล 4 ระดับในไส้คัสตาร์ดช็อกโกแลตอะโวคาโดทดแทนร้อยละ 100 พบว่า ปริมาณของมอลทิทอลที่แตกต่างกัน มีผลต่อค่าความสว่าง (L^*) ค่าสีแดง (a^*) และค่าสีเหลือง (b^*) อย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p \geq 0.05$) โดยเมื่อปริมาณของมอลทิทอลเพิ่มขึ้นจะส่งผลให้ค่าความสว่างและค่าสีเหลืองเพิ่มขึ้น ในขณะที่ค่าสีแดงลดลง มากกว่าสูตรควบคุมที่ใช้น้ำตาลซูโครส เนื่องจากมอลทิทอลจัดเป็นสารในกลุ่มของน้ำตาลแอลกอฮอล์ ไม่มีหมู่อัลดีไฮด์ และคีโตนอยู่ จึงไม่สามารถเกิดปฏิกิริยาเมลลาร์ด (Maillard reaction) ทำให้เกิดสารสีน้ำตาลในผลิตภัณฑ์ (Kim *et al.*, 2014) น้ำตาลซูโครสสามารถเกิดปฏิกิริยาคาราเมลไลเซชัน (Caramelization) จากการใช้ความร้อนสูงสลายโมเลกุลน้ำตาลให้แยกออก เกิดพอลิเมอร์ไฮดรอกซีของสารประกอบคาร์บอนเป็นสารสีน้ำตาล สอดคล้องกับงานวิจัยของแยมเสาวรสพลงานต่ำ (Norsuwan and Tantechai, 2018) และคุกกี้เนยพลงานต่ำ (Noiduang and Bandit, 2015) ที่ใช้มอลทิทอลเพิ่มขึ้น ค่าความสว่างจะเพิ่มมากขึ้น การแผ่ขยาย (Spread) พบว่า ปริมาณของมอลทิทอลที่ใช้ทดแทนน้ำตาลซูโครสที่ แตกต่างกัน มีผลต่อการแผ่ขยายอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p \geq 0.05$) โดยเมื่อปริมาณของมอลทิทอลเพิ่มขึ้น

จะส่งผลให้การแผ่ขยายเพิ่มขึ้นเมื่อเทียบกับสูตรควบคุมที่ใช้น้ำตาลซูโครส (Table 4) เนื่องจากผลิตภัณฑ์ที่มีน้ำตาลซูโครสเป็นส่วนประกอบ น้ำตาลจะช่วยเพิ่มน้ำหนักและให้เป็นเนื้อ (Body) ช่วยให้ผลิตภัณฑ์มีความหนืด ค่าการแผ่ขยายตัวน้อย เมื่อมีการใช้สารให้ความหวานแทนน้ำตาลจะส่งผลให้ปริมาณการไหลลดลงความเป็นเนื้อและความหนืดลดลง (Dholvitayakhun, 2013) สอดคล้องกับงานวิจัยของ Norsuwan and Tantechai (2018) ที่พบว่า เมื่อปริมาณมอลทิทอลเพิ่มขึ้นส่งผลให้แยมเสาวรสพลงานต่ำมีความเหนียวและค่าการยืดเคาะลดลง ดังนั้น การลดปริมาณน้ำตาลลงจะทำให้ผลิตภัณฑ์มีความหนืดลดลงค่าการแผ่ขยายตัวจึงเพิ่มขึ้น และการหาผลิตภัณฑ์บนขนมปังจะทาง่ายเนื่องจากโครงสร้างภายในผลิตภัณฑ์ไม่แข็งแรง (Ngampeerpong, 2014) อัตราส่วนของมอลทิทอลที่ แตกต่างกันมีผลต่อค่าความชื้นอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p \geq 0.05$) โดยพบว่า เมื่อปริมาณมอลทิทอลเพิ่มขึ้นจะส่งผลให้แนวโน้มค่าความชื้นเพิ่มขึ้นเมื่อเทียบกับสูตรควบคุม ทั้งนี้เนื่องจากมอลทิทอลเป็นสารกลุ่มพอลิออล โครงสร้างทางเคมีของมอลทิทอลมีหมู่ไฮดรอกซิล 9 หมู่ รวมกับพันธะไฮโดรเจนระหว่างโมเลกุลจึงจับกับโมเลกุลของน้ำได้ดี (Siriwattanasilp, 2022) ดังนั้น ไส้คัสตาร์ดช็อกโกแลตที่มีปริมาณมอลทิทอลเพิ่มขึ้น จึงมีค่าปริมาณความชื้นสูงกว่าไส้คัสตาร์ดช็อกโกแลตที่ใช้น้ำตาลซูโครส ปริมาณน้ำอิสระ Water Activity (a_w) พบว่า ปริมาณมอลทิทอลเพิ่มขึ้น ส่งผลให้ค่าปริมาณน้ำอิสระเพิ่มขึ้นเมื่อเทียบกับสูตรควบคุม ($p \geq 0.05$) ดังแสดงใน Table 4

Table 4 Chemical and physical properties of maltitol at different degree substitution in the chocolate custard filling products instead of butter with avocado

Ratio Sucrose : Maltitol	Spread (mm.)	Moisture (%)	a_w	Colors		
				L*	a*	b*
100:0(Control)	30.65±0.43 ^c	54.13±0.02 ^c	0.91±0.02 ^b	16.02±0.01 ^c	9.91±0.02 ^a	4.62±0.10 ^d
75:25	32.40±0.44 ^b	55.40±0.01 ^b	0.92±0.01 ^a	16.23±0.32 ^c	9.90±0.02 ^a	9.24±0.05 ^c
50:50	31.59±0.29 ^{bc}	58.30±0.57 ^a	0.93±0.01 ^a	17.61±0.24 ^b	8.35±0.18 ^b	9.92±0.08 ^b
25:75	34.69±0.24 ^a	58.65±0.04 ^a	0.93±0.02 ^a	18.52±0.31 ^b	6.61±0.32 ^c	10.37±0.13 ^b
0:100	35.77±0.37 ^a	59.17±0.33 ^a	0.93±0.00 ^a	20.42±0.36 ^a	5.23±0.03 ^d	10.99±0.36 ^a

^{abc} means ± SD in the same columns with difference superscripts are significantly different ($p \geq 0.05$)

Table 5 Sensory acceptance of maltitol at different degree substitution in the chocolate custard filling products instead of butter with avocado

Ratio Sucrose : Maltitol	Color ^{ns}	Texture	Odor ^{ns}	Taste ^{ns}	Overall liking ^{ns}
75:25	6.89±1.81	6.49±1.61 ^b	6.40±1.71	6.00±2.23	6.17±2.41
50:50	7.51±1.38	6.77±1.80 ^{ab}	6.63±1.91	6.74±2.25	7.00±2.11
25:75	7.37±1.76	7.03±1.46 ^{ab}	6.23±1.95	6.23±2.04	6.71±1.82
0:100	6.94±1.74	7.43±1.06 ^a	6.83±1.52	6.77±2.14	7.23±1.91

^{ab} means ± SD in the same columns with difference superscripts are significantly different ($p \geq 0.05$)

^{ns} not significantly different ($p > 0.05$)

จากการทดสอบทางประสาทสัมผัสของผลิตภัณฑ์ไส้คัสตาร์ดช็อกโกแลตอะโวคาโดที่ใช้มอลทิทอลทดแทนน้ำตาลซูโครส ผลแสดงดัง Table 5 พบว่า ปริมาณมอลทิทอลที่แตกต่างกัน ไม่มีผลต่อค่าคะแนนความชอบของผู้ทดสอบในคุณลักษณะด้านสี กลิ่น รสชาติ และความชอบโดยรวม ($p > 0.05$) แต่ปริมาณมอลทิทอลที่เพิ่มขึ้นมีผลต่อคะแนนความชอบด้านเนื้อสัมผัสอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p \geq 0.05$) ปริมาณมอลทิทอลเพิ่มขึ้นส่งผลให้คะแนนเนื้อสัมผัสเพิ่มขึ้นอยู่ในช่วงชอบปานกลาง สอดคล้องกับค่าการแผ่ขยายตัวของผลิตภัณฑ์ที่พบว่าการลดปริมาณน้ำตาลลงจะทำให้ผลิตภัณฑ์มีการแผ่ขยายลดลงและความชื้นเพิ่มขึ้น ส่งผลให้สามารถแผ่ได้ง่ายเมื่อนำผลิตภัณฑ์มาทาบขนบมั้ง จึงทำให้ได้คะแนนเนื้อสัมผัสเพิ่มขึ้น โดยผลิตภัณฑ์ทั้ง 4 สูตร มีคะแนนความชอบด้านกลิ่น รสชาติ และความชอบโดยรวม อยู่ในช่วงชอบเล็กน้อยถึงชอบปานกลาง ค่าที่อยู่ในช่วงชอบปานกลางถึง

ชอบมาก โดยสูตรที่ได้คะแนนความชอบในภาพรวมมากที่สุด คือสูตรไส้คัสตาร์ดช็อกโกแลตที่ใช้มอลทิทอลทดแทนน้ำตาลซูโครสในอัตราส่วนร้อยละ 100 ดังนั้น จึงเลือกตัวอย่างของไส้คัสตาร์ดช็อกโกแลตใช้อะโวคาโดแทนเนยร้อยละ 100 และใช้มอลทิทอลร้อยละ 100 มาใช้ในการศึกษาขั้นต่อไป

3.3 การวิเคราะห์คุณค่าทางโภชนาการของผลิตภัณฑ์ไส้คัสตาร์ดช็อกโกแลตอะโวคาโดที่ใช้มอลทิทอลทดแทนน้ำตาล

ผลการวิเคราะห์คุณค่าทางโภชนาการของผลิตภัณฑ์ไส้คัสตาร์ดช็อกโกแลตทดแทนเนยด้วยอะโวคาโดร้อยละ 100 และใช้มอลทิทอลทดแทนน้ำตาลร้อยละ 100 พบว่า มีปริมาณความชื้น โปรตีน ไขมัน เถ้า คาร์โบไฮเดรต คิดเป็นร้อยละ 55.08, 4.00, 6.40, 1.12, 33.4 ตามลำดับและพลังงาน 207 กิโลแคลอรี/100 กรัม ดังแสดงใน Table 6 นำข้อมูลดังกล่าวมาจัดทำข้อมูลโภชนาการแบบย่อได้ดังแสดงใน Table 7

Table 6 Proximate composition of low energy chocolate custard filling product instead of butter with avocado

Nutritional values	amount (100 g)
Total energy (Kcal)	207
Fat content (g)	6.4
Protein content (g)	4
Carbohydrate content (g)	33.4
Moisture content (g)	55.09
Ash content (g)	1.12

Table 7 Nutrition label of low energy chocolate custard filling product instead of butter with avocado

Nutrition Facts	
25 servings per container	
Serving size 1 tablespoon (15 g)	
Amount per serving	
Calories	31
% Daily Value *	
Total Fat 1 g	
2 %	
Protein <1 g	
Total Carbohydrate 5 g	
2 %	
Sugars 1 g	
Sodium 29 mg	
2 %	
* The % Daily Value (DV) tells you how much a nutrient in a serving of food contributes to a daily diet 2,000 calories a day is used for general nutrition advice.	

เมื่อเปรียบเทียบกับผลิตภัณฑ์ไส้ช็อกโกแลตที่มีลักษณะใกล้เคียงกัน ที่วางจำหน่ายในท้องตลาด พบว่าผลิตภัณฑ์ไส้คัสตาร์ดช็อกโกแลตที่พัฒนาขึ้นให้คาร์โบไฮเดรต ไขมัน น้ำตาลและพลังงานรวมน้อยกว่าผลิตภัณฑ์ที่วางจำหน่ายในท้องตลาดในปริมาณต่อหนึ่งหน่วยบริโภคเท่ากัน (15 กรัม) โดยผลิตภัณฑ์ที่พัฒนาขึ้นสามารถลดคาร์โบไฮเดรตลงได้ 1.8 เท่าหรือลดลง 4 กรัม ไขมันลดลง 4.5 เท่าหรือลดลง 3.5 กรัม น้ำตาลลดลง 8 เท่าหรือลดลง 7 กรัม และพลังงานลดลง 2.7 เท่าหรือลดลง 51 กิโลแคลอรี ตามลำดับ ดังแสดงใน Table 8

และตามเกณฑ์ประกาศกระทรวงสาธารณสุข (ฉบับที่ 182) พ.ศ. 2541 เรื่อง ฉลากโภชนาการ ในกรณีที่ต้องการกล่าวอ้างทางโภชนาการว่า “พลังงานต่ำ” จะต้องมีความพลังงานไม่เกิน 40 กิโลแคลอรีต่อหนึ่งหน่วยบริโภค จึงจะสามารถใช้ชื่อกล่าวอ้าง พลังงานต่ำได้ (Ministry of Public Health, 1998) ซึ่งจะเห็นได้ว่าผลิตภัณฑ์ที่พัฒนาขึ้นมีความพลังงาน 31 กิโลแคลอรีต่อหนึ่งหน่วยบริโภค จึงสามารถใช้คำว่าไส้คัสตาร์ดช็อกโกแลตพลังงานต่ำทดแทนเนยด้วยอะโวคาโดได้ เนื่องจากปริมาณพลังงานต่ำกว่า ตามเงื่อนไขที่กำหนดในประกาศ

Table 8 Nutrition value of the developed chocolate custard filling product instead of butter with avocado compared to commercially available chocolate spread products

Nutritional values	Developed chocolate custard filling product	Commercial Chocolate Spread
	(15 g / serving size)	(15 g / serving size)
Protein content (g)	<1	<1
Carbohydrate content (g)	5	9
Total sugar (g)	1	8
Total fat (g)	1	4.5
Sodium (mg)	29	5
Total energy (Kcal)	31	80

4. สรุป

การใช้ประโยชน์จากอะโวคาโดเป็นสารทดแทนไขมันในผลิตภัณฑ์ไส้คัสตาร์ดช็อกโกแลต เพื่อพัฒนาเป็นอาหารสุขภาพ พบว่า สามารถใช้อะโวคาโดแทนเนยในไส้คัสตาร์ดช็อกโกแลตได้ร้อยละ 100 และสามารถพัฒนาเป็นอาหารพลังงานต่ำได้ โดยใช้มอลทิทอลเป็นสารให้ความหวานทดแทนน้ำตาลได้ร้อยละ 100 มีคะแนนความชอบอยู่ในระดับชอบปานกลาง โดยปริมาณหน่วยบริโภค (15 กรัม) ให้พลังงาน 31 กิโลแคลอรี พลังงานไขมันทั้งหมด 1 กรัม โปรตีนน้อยกว่า 1 กรัม น้ำตาล 1 กรัม และคาร์โบไฮเดรต 5 กรัม โดยผลิตภัณฑ์ที่พัฒนาขึ้นจะให้พลังงาน ไขมันและคาร์โบไฮเดรตลดลง เมื่อเทียบกับผลิตภัณฑ์ช็อกโกแลตทาขนมปังทั่วไปที่มีวางจำหน่ายในท้องตลาด และสามารถกล่าวอ้างได้ว่าเป็นไส้คัสตาร์ดช็อกโกแลตพลังงานต่ำทดแทนเนยด้วยอะโวคาโดได้ ตามเกณฑ์ประกาศกระทรวงสาธารณสุข (ฉบับที่ 182) จึงสามารถนำไปใช้เป็นอาหารสุขภาพได้ต่อไปในอนาคต

5. กิตติกรรมประกาศ

คณะผู้จัดทำโครงการงานวิจัยขอขอบคุณมหาวิทยาลัยเทคโนโลยีราชมงคลล้านนา ที่ให้ทุนสนับสนุนการวิจัย ภายใต้ทุนสนับสนุนงานมูลฐาน ประจำปีงบประมาณ พ.ศ. 2566 (Fundamental Fund; FF) ในครั้งนี้

6. เอกสารอ้างอิง

- AOAC. 2019. **Official Methods of Analysis** (21th ed). Association of Official Analytical Chemists, Washington DC, USA.
- Arachchige, U., Ranaweera, S., Ampemohotti, A., Nayanakanthi, P., Edirisinghe, D. and Wimalaratne, N. 2019. Preparation of Avocado Butter. **International**

Journal of Scientific and Technology Research

8(10): 3527-3530. (in Thai)

- Cervantes-Paz, B. and Yahia, E.M. 2021. Avocado oil: Production and market demand, bioactive components, implications in health, and tendencies and potential uses. **Comprehensive Reviews in Food Science and Food Safety** 20(4): 4120-4158.
- Dantas, D., Pasquali, M., Cavalcanti-Mata, M., Duarte, M., Duarte, M. and Lisboa, H. 2018. Influence of spray drying conditions on the properties of avocado powder drink. **Food Chemistry** 266(15): 284-291.
- Department of Health. 2018. **Food Composition Table of Thai Foods**. The Printing Office Agency to assist veterans in Royal Shu patham, Bangkok. (in Thai)
- Dholvitayakhun, A. 2013. **Experimental Cookery** (2nd ed). Odeon Store, Bangkok. (in Thai)
- Dholvitayakhun, A. 2017. **Principles of food preparation practice: A manual for students of food business and nutrition**. Published documents, Food Business and Nutrition program, Tak. (in Thai)
- Kangsanant, S., Saleerod, K., Chaithip, S. and Phopiban, A. 2021. The Study of Toddy Palm Pulp Supplementation and Pineapple Core as Fat Replacer in Cookie. **Rajamangala University of Technology Srivijaya Research Journal** 14(3): 815-826. (in Thai)
- Khumkhom, S. and Hongthong, V. 2021. Result of Partial Fat Replacement with Avocado (*Persea*

- americana* mill.) Pulp in Healthy Salad Dressing Product. **VRU Research and Development Journal** 16(3): 81-92. (in Thai)
- Kim, J.N., Park, S. and Shin, W.S. 2014. Textural and Sensory Characteristics of Rice Chiffon Cake Formulated with Sugar Alcohols instead of Sucrose. **Journal of Food Quality** 37(4): 281-290.
- Klinhom, C., Phantraksa, C. and Udom Ang, N. 2002. **Research Report on Study on Compositions of Avocado in Changmai and Feasibility Study on Food Product Development from Avocado**. Changmai University, Changmai. (in Thai)
- Mc William, M. 1990. **Food: Experimental perspective** (3rd ed). Prentice-Hall, Inc., New Jersey.
- Ministry of Public Health. 1998. **Notification of the Ministry of Public Health (No. 182) B.E.1998 Re: Nutrition Labelling**. Available Source: http://www.fda.moph.go.th/law/data/announ_moph/V.English/No.18241%20Nutrition%20Labelling.pdf, May 3, 2022.
- Ngampeerpong, N. 2014. Development of Reduced Sugar Roselle Jam Product. Master of Science (Agro-Industrial Product Development), Kasetsart University. (in Thai)
- Noiduang, P. and Bandit, N. 2015. Utilization of Maltitol and Sucralose in Low-Calories Butter Cookies Production. **APHEIT Journal** 4(2): 42-51. (in Thai)
- Norsuwan, T. and Tantechai, S. 2018. Effect of maltitol on physical and chemical properties of low calorie passion fruit jam, pp. 863-870. *In Proceedings of 56th Kasetsart University Annual Conference*. Kasetsart University, Bangkok. (in Thai)
- Photi, J. , Chavasit, V. , Kriengsinyos, W. and Ditmetharo, M. 2019. Thailand's Situation and Food Policy on Trans Fat. **Journal of Nutrition Association of Thailand** 54(1): 85-93. (in Thai)
- Phungbunhan, C., KetKham, K., Phungbunhan, K. and Khantaree, N. 2021. Product development of healthy avocado cake cream. **RMUTSB Academic Journal** 9(1): 38-51. (in Thai)
- Romphet, W. and Wongpakorn, S. 2011. **Research Report on Study on Development of Bakery Products supplement avocado**. Chandrakasem Rajabhat University, Bangkok. (in Thai)
- Siriwattanasilp, A. 2022. The effect of sugar substitutes on physicochemical and microstructure properties of reduced sugar coconut milk jelly. Master of Science (Food Technology), Silpakorn University. (in Thai)
- Srisangwan, N. and Kaewmaneechai, E. 2012. Nutritional Improvement of A- Lua and Foi-Thong desserts by using nonsugar sweeteners, pp. 868- 882. *In The 2nd National and International Graduate Study Conference*. Silpakorn University, Nakhon Pathom. (in Thai)
- Tantakasem, S. and Ruangchai, S. 2011. Using Ground Peanuts as a Fat Substitute in Cookies. **University of the Thai Chamber of Commerce Journal** 31(2): 114-125. (in Thai)
- Thanongjit, K., Chobkua, R. and Hanchanlert, O. 2009. Avocado: The Health Food, pp. 1- 4. *In Research Exhibition on the Research path Kasetsart University at the National Agriculture Day*. Kasetsart University, Bangkok. (in Thai)
- Wareepitak, C., Julakal, P., Chanburi, S. and Sisopha, P. 2017. Development of facial night cream from avocado seed extracts, pp. 223-229. *In the 3rd Pibulsongkram Research National Conference*. Phibunsongkhram Rajabhat University, Phitsanulok. (in Thai)



Research Article

ความแปรปรวนทางพันธุกรรมในประชากรปลาแขยงก (Mystus gulio)
จากไมโครแซทเทลไลท์ดีเอ็นเอเพื่อการจัดการประชากรโรงเพาะฟัก
Genetic Variation of Long-Whiskered Catfish (*Mystus gulio*) Population Using
Microsatellite DNA for Hatchery Broodstock Management

ชาวลีย์ ใจสุข^a, พัชรา นิธิโรจน์ภักดี^b, อโนชา กิริยากิจ^b, กิตติพงษ์ สุวรรณเกตุ^b, ปิยชาติ ศรีศักดิ์^c และ กนกสนธิ์ ศิริรักษ์^d

Chaowalee Jaisuk^a, Patchara Nithirojpakdee^b, Anocha Kiriyaakit^b, Kitipong Suwannaket^b,
Piyachat Srisakda^c and Khanoksinee Sirirak^d

^a คณะวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยีการเกษตร มหาวิทยาลัยเทคโนโลยีราชมงคลล้านนา วิทยาเขตน่าน อำเภอภูเพียง จังหวัดน่าน 55000

^a Faculty of Science and Agricultural Technology, Rajamangala University of Technology Lanna, Nan Campus, Phu Phiang, Nan 55000, Thailand.

^b คณะเทคโนโลยีอุตสาหกรรมการเกษตร มหาวิทยาลัยเทคโนโลยีราชมงคลตะวันออก วิทยาเขตจันทบุรี อำเภอเขาชะเมา จังหวัดจันทบุรี 22210

^b Faculty of Argo-Industrial Technology, Rajamangala University of Technology Tawan-Ok, Chanthaburi Campus, Khao Khitchakut, Chanthaburi 22210, Thailand.

^c ศูนย์ศึกษาการพัฒนาอ่าวคุ้งกระเบนอันเนื่องมาจากพระราชดำริ อำเภอท่าใหม่ จังหวัดจันทบุรี 22120

^c Kung Krabaen Bay Royal Development Study Centre, Tha Mai, Chanthaburi 22120, Thailand.

^d คณะวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยี มหาวิทยาลัยเทคโนโลยีราชมงคลสุวรรณภูมิ ศูนย์นนทบุรี อำเภอเมือง จังหวัดนนทบุรี 11000

^d Faculty of Science and Technology, Rajamangala University of Technology Suvarnabhumi, Nonthaburi Center, Mueang, Nonthaburi 11000, Thailand.

ABSTRACT

Article history:

Received: 2023-02-13

Revised: 2023-11-11

Accepted: 2023-12-01

Keywords:

Long - whiskered catfish;

Mystus gulio;

microsatellite;

genetic variation

Long-whiskered catfish (*Mystus gulio*) is attractive and promoted in aquaculture due to consumer demand, but there is a lack of fry. This study emphasizes on good management for offspring production to support aquaculture. Therefore, operations should possess sufficient population genetics information to effectively manage broodstock for producing the target offspring. Brood-stock samples were collected from a farm located in Chanthaburi province, Thailand. They were divided into two groups: male and female. Six microsatellite loci developed for *M. nemurus* were used to assess population genetic variation of *M. gulio* in the study. The results revealed that the markers could be used for cross-species studies with *M. gulio*. These microsatellites were polymorphisms. *M. gulio* males and females showed no significant difference in genetic diversity ($p > 0.05$), and the effective population size (N_e) was infinite. A bottleneck was detected in males, considering that N_e was exceeded. The results indicated that increasing broodstock numbers could enhance genetic diversity. Genetic differentiation between males and females showed significant values ($p < 0.05$). Consequently, maintaining genetic diversity level and phenotype of domesticated stock requires careful brood-stocks management to prevent inbreeding, genetic drift, and negative selection. Improvement of broodstock management practices will have a positive long-term impact of *M. gulio* production.

* Corresponding author.

E-mail address: patchara_ni@rmutto.ac.th

Cite this article as:

Jaisuk, C., Nithirojpakdee, P., Kiriyaakit, A., Suwannaket, K., Srisakda, P. and Sirirak, K. 2025. Genetic Variation of Long-Whiskered Catfish (*Mystus gulio*) Population Using Microsatellite DNA for Hatchery Broodstock Management. *Recent Science and Technology* 17(1): 257917.

บทคัดย่อ

ปลาแขยงก (Mystus gulio) ได้รับความสนใจและได้รับการส่งเสริมให้มีการเพาะเลี้ยงมากขึ้นด้วยความต้องการของผู้บริโภคแต่ในขณะเดียวกันยังขาดแคลนลูกพันธุ์ การศึกษานี้ให้ความสำคัญต่อการผลิตลูกพันธุ์ที่ดีเพื่อส่งเสริมการเพาะเลี้ยง ซึ่งในการดำเนินงานควรมีข้อมูลทางพันธุศาสตร์ประชากรช่วยในการตัดสินใจวางแผนจัดการพ่อแม่พันธุ์โรงเพาะฟักเพื่อให้ลูกพันธุ์ที่ผลิตได้ตรงตามเป้าหมายของการดำเนินงาน จึงได้รวบรวมตัวอย่างพ่อแม่พันธุ์ปลาจากโรงเพาะฟักเอกชนในจังหวัดจันทบุรี 1 แหล่ง แยกปลาออกเป็น 2 กลุ่มคือ ปลาเพศผู้และปลาเพศเมีย นำมาศึกษาความแปรปรวนทางพันธุกรรมด้วยไมโครแซทเทลไลท์ 6 ตำแหน่ง ซึ่งเป็นเครื่องหมายที่พัฒนามาจากปลา *M. nemurus* ผลการศึกษาพบว่าเครื่องหมายที่เลือกสามารถใช้ศึกษาข้ามชนิดกับปลา *M. gulio* ได้และมีความหลากหลายรูปแบบ กลุ่มตัวอย่างปลาเพศผู้และเพศเมียมีความหลากหลายทางพันธุกรรมไม่ต่างกัน ($p > 0.05$) พบการมีสภาวะคอขวดในปลาเพศผู้ ซึ่งเมื่อพิจารณาพร้อมกับจำนวน N_e ที่มีจำนวนมากเกินการประเมิน (Infinite) แสดงถึงปลาเพศผู้สามารถใช้เป็นพ่อพันธุ์ได้แต่ควรเพิ่มจำนวนประชากรพ่อแม่พันธุ์เพื่อเพิ่มความหลากหลายทางพันธุกรรม พบความต่างทางพันธุกรรมระหว่างปลาเพศผู้และเพศเมีย ($p < 0.05$) ทั้งนี้เพื่อการรักษาระดับพันธุกรรมและลักษณะปรากฏของประชากรโรงเพาะฟักในการดำเนินงานต้องวางแผนจัดการพันธุกรรมพ่อแม่พันธุ์เพื่อป้องกันการเกิดเลือดชิด การขาดช่วงทางพันธุกรรมและการคัดเลือกทางลบ การปรับปรุงแนวทางปฏิบัติงานด้านการจัดการพ่อแม่พันธุ์จะส่งผลดีต่อการผลิตปลาแขยงกในระยะยาว

คำสำคัญ: ปลาแขยงก, ปลาอีกริง, ไมโครแซทเทลไลท์, ความแปรปรวนทางพันธุกรรม

1. บทนำ

ปลาแขยงก หรือปลาอีกริง long whiskered catfish (*Mystus gulio* Hamilton, 1822) สามารถพบได้บริเวณแม่น้ำสายใหญ่ ๆ ที่ติดต่อกับทะเลโดยเฉพาะบริเวณน้ำกร่อย ปลาชนิดนี้จัดเป็นปลาสองน้ำ เนื่องจากมีความทนต่อการเปลี่ยนแปลงความเค็มของน้ำได้ถึง 0 - 30 ppt ปลาแขยงกจึงสามารถเลี้ยงได้ทั้งในพื้นที่น้ำจืดและน้ำกร่อย สามารถเลี้ยงได้หลายรูปแบบ เช่น เลี้ยงในกระชัง บ่อดิน เลี้ยงแบบเดี่ยว เลี้ยงร่วมกับสัตว์น้ำอื่น เช่น ปลานิล ปลากะพง กุ้งทะเล เพื่อช่วยในการเก็บเศษอาหารของกุ้งลดของเสียภายในบ่อและเพิ่มผลผลิตและมูลค่าในการเลี้ยงกุ้ง ปัจจุบันเกษตรกรมีการเลี้ยงปลาแขยงกในบ่อดินเพิ่มมากขึ้น จึงมีความต้องการพัฒนาแหล่งพันธุ์เพื่อให้เพียงพอต่อความต้องการลูกพันธุ์ของเกษตรกร ทั้งนี้การผลิตลูกพันธุ์ที่มีคุณภาพต้องเริ่มจากการสร้างประชากรโรงเพาะฟักที่ดี การนำประชากรปลาจากธรรมชาติมาปรับสภาพให้เป็นประชากรโรงเพาะฟัก (Domesticated) ซึ่งเมื่อสร้างประชากรตั้งต้นได้แล้วกระบวนการสำคัญต่อจากนี้เป็นการรักษาคุณภาพของลักษณะที่พึงประสงค์โดยการจัดการพ่อแม่พันธุ์ (Broodstock management) จัดได้ว่าเป็นกระบวนการที่มีความสำคัญในการเพาะเลี้ยงสัตว์น้ำและการปรับปรุงพันธุ์เป็นการวางแผนการผสมพันธุ์และการดำรงรักษาสายพันธุ์ที่เหมาะสมโดยควบคุมกิจกรรมในโรงเพาะฟักทั้งหมดเพื่อจัดการพันธุกรรมของประชากร/สายพันธุ์ ให้คงไว้ซึ่งความหลากหลายทางพันธุกรรมในระดับที่เหมาะสม อีกทั้งควบคุมการเปลี่ยนแปลงทางพันธุกรรมให้เป็นไปในทิศทางที่ดี ซึ่งจะส่งผลให้กระบวนการปรับปรุงพันธุ์ประสบผลสำเร็จและมีความก้าวหน้าในการปรับปรุงพันธุ์อย่างรวดเร็ว

สามารถผลิตลูกพันธุ์ดีที่มีคุณภาพทั้งในด้านพันธุกรรมและลักษณะปรากฏ ซึ่งในการดำเนินงานด้านพันธุศาสตร์ประชากรหรือการศึกษาความเปลี่ยนแปลงทางพันธุกรรมที่เกิดขึ้นในประชากรโรงเพาะฟักหรือประชากรธรรมชาติ เครื่องหมายพันธุกรรมไมโครแซทเทลไลท์มีความเหมาะสมเนื่องจากการถ่ายทอดแบบข่มร่วม มีความหลากหลายสูงจึงสามารถใช้ศึกษาประชากรที่มีความแตกต่างกันเพียงเล็กน้อยได้ดี ดังการศึกษาของ Wachirachakama and Na-Nakom (2019) ได้ศึกษาความแปรปรวนทางพันธุกรรมประชากรปลาดุกรัสเชีย (*Clarias gariepinus*) จาก 4 โรงเพาะฟัก ด้วยไมโครแซทเทลไลท์ 6 ตำแหน่ง พบ 3 ประชากรที่มีสภาวะจำนวนโฮโมไซโกตที่เกิดขึ้นมากกว่าที่คาดหวัง (homozygote excess) ไม่พบการมีสภาวะคอขวด แต่พบว่ามีการไม่อยู่ในสมดุลของรูปแบบจีโนไทป์ (genotype disequilibrium) ของกลุ่มตัวอย่างทั้ง 3 ประชากรโดยรวมแล้วประชากรที่ศึกษามีความหลากหลายต่ำ มีค่าเฮตเอโรไซโกตระดับปานกลาง และพบกลุ่มตัวอย่างปลาดุกรัสเชีย จาก 4 โรงเพาะฟัก มีการแยกกลุ่มทางพันธุกรรมออกเป็น 2 กลุ่ม ซึ่งข้อมูลที่ได้จากการศึกษาเป็นประโยชน์ในการวางแผนสร้างประชากรเพื่อการปรับปรุงพันธุ์ปลาดุกรัสเชีย

ดังนั้น การสร้างข้อมูลพันธุกรรมในการศึกษานี้จะทำให้ทราบถึงสถานการณ์ทางพันธุกรรมประชากรปลาแขยงกในปัจจุบันเพื่อเป็นประโยชน์ต่อการจัดการพ่อแม่พันธุ์ การดำเนินงานเพื่อวางแผนเพาะพันธุ์ การเลือกใช้แหล่งพันธุ์ที่เหมาะสม กระบวนการเหล่านี้จะช่วยป้องกันการถดถอยทางพันธุกรรมและเพื่อการติดตามการเปลี่ยนแปลงทางพันธุกรรมในอนาคตได้

2. วิธีดำเนินการวิจัย

2.1 การเก็บตัวอย่างภาคสนาม

รวบรวมตัวอย่างครีบท่อแม่พันธุ์ปลาแขยงกจากโรงเพาะฟักเอกชน จ.จันทบุรี จำนวน 1 โรงเพาะฟักซึ่งเป็นฟาร์มเพาะพันธุ์ลูกปลาหลายชนิดรวมถึงปลาแขยงก การเพาะพันธุ์จะคัดเลือกพ่อแม่พันธุ์มาจากลูกปลาที่เลี้ยงในฟาร์มโดยใช้พ่อแม่พันธุ์อายุตั้งแต่ 1 ปีขึ้นไปเพื่อความสมบูรณ์เพศและการจำแนกเพศที่ชัดเจน ในการเพาะพันธุ์ปลาแขยงกจะเพาะในบ่อซีเมนต์ขนาด 2 x 3 เมตร อัตราส่วนเพศ 1 : 1 จำนวน 20 คู่ต่อบ่อ การศึกษานี้นำปลาแขยงกมาแยกเป็น 2 กลุ่ม คือ พ่อพันธุ์และแม่พันธุ์ โดยพิจารณาจากลักษณะภายนอกของปลา คือ ปลาแขยงกเพศผู้มีติ่งเพศ (urogenital papillae) เป็นติ่งเรียวยาวแหลม มีขนาดลำตัวเล็กกว่าเพศเมีย น้ำหนักประมาณ 10 - 15 กรัม ความยาวประมาณ 10 - 11 เซนติเมตร ขณะที่ปลาแขยงกเพศเมียมีติ่งเพศมีลักษณะกลม มีขนาดใหญ่กว่าเพศผู้ น้ำหนักประมาณ 20 - 30 กรัม ความยาวประมาณ 11 - 14 เซนติเมตร ได้ตัวอย่างเป็นปลาเพศผู้จำนวน 47 ตัวอย่าง และปลาเพศเมีย 48 ตัวอย่าง รวมทั้งสิ้น 95 ตัวอย่าง ในการตัดครีบท่อจะใช้ผ้าชุบน้ำในการจับปลาเพื่อให้ปลานิ่งนำไปทำให้สลบด้วยน้ำมันกานพลูความเข้มข้น 15 มิลลิกรัมต่อลิตร เมื่อปลาสงบนิ่งแล้วจึงตัดครีบท่อขนาด 0.5 เซนติเมตร เก็บรักษาตัวอย่างครีบท่อในแอลกอฮอล์ 95 % หลังจากตัดครีบท่อแล้วทาล้างด้วยยาโพวิโดน ไอโอดีนแล้วนำไปพักรอพื้นในถังน้ำสะอาดที่มีการให้อากาศและเมื่อปลาฟื้นตัวว่ายน้ำเป็นปกติจึงปล่อยคืนลงบ่อเลี้ยง

2.2 การวิเคราะห์ในห้องปฏิบัติการ

2.2.1 การสกัดดีเอ็นเอ

สกัดดีเอ็นเอจากครีบท่อด้วยวิธี Salt extraction (Aljanabi and Martinez, 1997) วัดปริมาณดีเอ็นเอโดยเทคนิคอิลิกโตรโฟรีซิสโดยอะกาโรสเจล 1% ด้วยเครื่องอิลิกโตรโฟรีซิสแบบนอน (BIO-RAD SubcellGT, Italy) และผ่านกระแสไฟฟ้า 70 โวลต์ เป็นเวลา 45 นาที หลังจากนั้นนำแผ่นเจลมาย้อมด้วยสีย้อมดีเอ็นเอ (FluoroVue Nucleic Acid Gel Stain, SMOBIO, Malaysia) เทียบปริมาณดีเอ็นเอของตัวอย่างกับดีเอ็นเอมาตรฐานที่ทราบปริมาณแน่นอน โดยดูความเข้มของการเรืองแสงของดีเอ็นเอที่

ย้อมติดด้วยสีย้อมไต้แสงยูวี ด้วยเครื่องถ่ายภาพและบันทึกภาพ (Gel Documentation System, BIO-RAD)

2.2.2 การเพิ่มจำนวนดีเอ็นเอโดยปฏิกิริยาลูกโซ่พอลิเมอร์ด้วยเครื่องหมายไมโครแซทเทลไลท์

เพิ่มจำนวนดีเอ็นเอโดยปฏิกิริยาลูกโซ่พอลิเมอร์ (Polymerase Chain Reaction; PCR) โดยเครื่อง Thermal cycle (BioRad, MJ Mini Cycder, Italy) ด้วยไมโครแซทเทลไลท์ 6 ตำแหน่ง MnRmCT6-2, MnRmE11-1 และ Mns432 (Usmani *et al.*, 2003) และ MnBp8-1-30, MnVj2-1-62 และ MnBp8-4-43b (Hoh *et al.*, 2008) (Table 1) ที่ได้มีการติดแถบสีฟลูออเรสเซนต์ สารละลายพีซีอาร์ 10 ไมโครลิตร ประกอบด้วยดีเอ็นเอต้นแบบ 1 ไมโครลิตร (ความเข้มข้น 10 นาโนกรัมต่อไมโครลิตร) ใช้สารละลายพีซีอาร์ (i-taq PCR Master mix Solution, iNtRON BIOTECHNOLOGY, Gyeonggi-do, South Korea) 5 ไมโครลิตรไพรเมอร์ Forward และ Reverse อย่างละ 0.2 ไมโครโมลาร์ วัฏจักรของการเพิ่มลดอุณหภูมิประกอบไปด้วย 5 ขั้นตอน คือ อุณหภูมิที่ทำให้สายดีเอ็นเอแยกออกจากกัน (Denaturation) 94 องศาเซลเซียส นาน 2 นาที จำนวน 1 รอบ อุณหภูมิ 94 องศาเซลเซียส นาน 30 วินาที อุณหภูมิที่ไพรเมอร์มาเกาะกับสายดีเอ็นเอตั้งต้น (Annealing temperature; Ta) ที่ตำแหน่ง MnBp8-4-43b Ta 50 องศาเซลเซียส, MnVj2-1-62 และ MnRmCT6-2 Ta 55 องศาเซลเซียส ตำแหน่ง Mns432, MnRmE11-1 และ MnBp8-1-30 Ta 60 องศาเซลเซียส โดยใช้เวลาในช่วง Annealing temperature นาน 30 วินาที และอุณหภูมิที่ Taq Polymerase สามารถซ่อมสายดีเอ็นเอให้สมบูรณ์เป็นดีเอ็นเอเส้นใหม่ (Extension temperature) 72 องศาเซลเซียส นาน 30 วินาที จำนวน 40 รอบ และ อุณหภูมิ 72 องศาเซลเซียส นาน 5 นาที (Table 2) ตรวจสอบผลิตภัณฑ์พีซีอาร์โดยนำสารละลายพีซีอาร์มาแยกขนาดดีเอ็นเอด้วยเทคนิคอิลิกโตรโฟรีซิสผ่านพอลิอะครีลาไมด์เจล 6 เปอร์เซ็นต์ ด้วยเครื่องแยกสารพันธุกรรมชนิดแนวตั้ง (Mini PROTEAN®Tetra Cell, BIO-RAD) ผ่านกระแสไฟฟ้า 280 โวลต์ เป็นเวลา 15 นาที หลังจากนั้นนำแผ่นเจลมาย้อมด้วยสีย้อมดีเอ็นเอ (FluoroVue Nucleic Acid Gel Stain, SMOBIO, Malaysia) เทียบขนาดดีเอ็นเอของตัวอย่างกับดีเอ็นเอมาตรฐานภายใต้แสงยูวีด้วยเครื่องถ่ายภาพและบันทึกภาพ(Gel Documentation System, BIO-RAD) เพื่อตรวจการมีผลิตภัณฑ์พีซีอาร์ที่เครื่องหมาย

Table 1 Descriptions of primer sequences and annealing temperature (Ta) (°C) of microsatellite loci analyzed in this study.

	Locus name	Primer sequence 5'----> 3'	Expect allele size (bp)	Ta (°C)	Reference
1	MnRmCT6-2	F: TGCAGTCGACCTTAGCACAC R: GCATGGACATCACATCTCTC	198	55	Usmani <i>et al.</i> (2003)
2	MnRmE11-1	F: ATGTTGATGTTGTGGGATGC R: GCCCAAAAAGAAACATCTGG	204	60	
3	Mns432	F: AGTGCGTTAGTGTGAGTGCTTC R: GAACTTTTCCCCTCCCCTTTAT	150	60	
4	MnBp8-1-30	F: GGCTTATCTGTTGTTGTTG R: TGAATCTTTAGCCTGCTTTG	194	60	Hoh <i>et al.</i> (2008)
5	MnVj2-1-62	F: TTTGGCAGATACGACCAC R: TTCTTCCCCACTCCTCCT	131	55	
6	MnBp8-4-43b	F: CACGTGTGTAAGATAAATAG R: GCACTGAGAAATGTGAGAAA	317	50	

Table 2 Temperature profile of the polymerase chain reaction (PCR) used in this study.

Step	Temperature (°C)	Time	Cycle
1	94	2 minutes	1
2	94	30 seconds	Back to step 2 for 40 cycles
3	50, 55, 60	30 seconds	
4	72	30 seconds	
5	72	5 minutes	1

ไมโครแซทเทลไลท์แต่ละตำแหน่งเบื้องต้นก่อนนำตัวอย่างมารวมกันเพื่อส่งวิเคราะห์ในลำดับต่อไป

ส่งตัวอย่างพีซีอาร์ที่เพิ่มจำนวนดีเอ็นเอโดยปฏิกิริยาลูกโซ่พอลิเมอร์เรสได้ไปวิเคราะห์ขนาดดีเอ็นเอที่เพิ่มจำนวนได้โดยวิธี Fragment analysis นำผลวิเคราะห์ที่ได้มาตรวจสอบขนาดดีเอ็นเอและบันทึกข้อมูลจีโนไทป์ของตัวอย่างที่แต่ละตำแหน่งไมโครแซทเทลไลท์ด้วยโปรแกรม Peak Scanner Software v1.0

2.3 การวิเคราะห์ข้อมูล

ประเมินความหลากหลายทางพันธุกรรมภายในประชากรโดยใช้การทดสอบต่อไปนี้ จำนวนอัลลีลต่อตำแหน่ง (Number of alleles per locus, A) ค่าเฮเทอโรไซโกซิติ (Heterozygosity) ค่าสัมประสิทธิ์เอฟ (F- Coefficients) โดยใช้โปรแกรม GenAlEx version 6.1 (Peakall and

Smouse, 2006) คำนวณค่า Allelic Richness (A_r) โดยใช้โปรแกรม FSTAT version 2.9.3 (Goudet, 2001) เปรียบเทียบระดับความแตกต่างของความหลากหลายทางพันธุกรรมระหว่างกลุ่มตัวอย่างโดยวิธี Mann–Whitney U จากค่า A_r เนื่องจากค่า A_r คือ จำนวนอัลลีลต่อตำแหน่งที่คำนวณโดยปรับตามจำนวนตัวอย่างที่เท่ากันในทุกประชากรที่มีการปรับค่าด้วยจำนวนตัวอย่างที่น้อยที่สุดในประชากร ดังนั้นจึงสามารถใช้ค่านี้ในการเปรียบเทียบความหลากหลายของอัลลีลในประชากรที่มีจำนวนตัวอย่างไม่เท่ากัน (Foulley and Olivier, 2006) ประเมินจำนวน Effective population size (N_e) โดยโปรแกรม NeEstimator version 2.01 (Do *et al.*, 2014) ตรวจสอบการมีสภาวะคอขวดในกลุ่มตัวอย่างโดยโปรแกรม Bottleneck version 1.2.02 (Piry *et al.*, 1999) ทดสอบการเบี่ยงเบนจากสมดุลฮาร์ดี – ไวน์เบิร์กของความถี่จีโนไทป์ที่แต่ละตำแหน่ง

ภายในประชากร โดยการประเมินค่า exact p-value ด้วยวิธี markov chain ตามวิธีของ Guo and Thompson (1992) (Dememorization = 1000, Batches = 1000, Iterations per batch = 1000) ในโปรแกรม GENEPOP version 4 (Rousset, 2008) และปรับระดับความน่าจะเป็น (p-value) สำหรับการใช้อนุโลมิเคราะห์ซ้ำหลายครั้ง (multiple tests) ด้วยวิธี Bonferroni correction (Rice, 1989) ทดสอบ Genotypic linkage disequilibrium ด้วย GENEPOP version 4 วิเคราะห์การมี Null allele โดยใช้โปรแกรม Micro Checker version 2.2.3 (Oosterhout *et al.*, 2004)

ประเมินความแปรปรวนทางพันธุกรรมระหว่างประชากรโดยใช้การทดสอบต่อไปนี้ Analysis of Molecular Variance (AMOVA) โดยวิเคราะห์ความแปรปรวนระหว่างประชากรเมื่อเทียบกับความแปรปรวนภายในประชากร ทดสอบค่าสถิติ Φ_{ST} ระหว่างคู่ตัวอย่างด้วยโปรแกรม ARLEQUIN version 3.11 (Excoffier *et al.*, 2007) ค่าระยะห่างทางพันธุกรรม (Genetic distance) ใช้โปรแกรม GenAlEx version 6.1 (Peakall and Smouse, 2006) และทดสอบความแตกต่างทางพันธุกรรม (Genetic differentiation) โดยทดสอบความแตกต่างของความถี่อัลลีลของแต่ละประชากรโดย Exact test ตามวิธีของ Guo and Thompson (1992) (Dememorization = 1000, Batches = 1000, Iterations per batch = 1000) โปรแกรม GENEPOP version 4 (Rousset, 2008) และปรับระดับความน่าจะเป็น (p-value) สำหรับการใช้อนุโลมิเคราะห์ซ้ำหลายครั้ง (multiple test) ด้วย Bonferroni correction (Rice, 1989)

3. ผลการวิจัยและวิจารณ์ผล

3.1 ความหลากหลายภายในประชากรของกลุ่มตัวอย่าง

ความหลากหลายรูปแบบของเครื่องหมายพันธุกรรม ไมโครแซทเทลไลต์ทั้ง 6 ตำแหน่ง ได้แก่ Mns432, MnRmE11-1, MnBp8-1-30, MnVj2-1-62, MnRmCT6-2 และ MnBp8-4-43b ที่พบได้จากกลุ่มตัวอย่างปลาแขยงกบ เพศผู้ 47 ตัวอย่างและเพศเมีย 48 ตัวอย่าง มีรายละเอียดดังนี้ ปลาแขยงกบเพศผู้ พบมีจำนวนอัลลีลต่อตำแหน่ง (A) มีค่าอยู่ระหว่าง 3.00 - 17.00 อัลลีล (MnRmE11-1 - MnRmCT6-2) มีค่าเฉลี่ยเท่ากับ 10.50 ± 4.55 อัลลีล ค่า Effective number of allele (A_e) 2.04 - 6.31 อัลลีล (MnRmE11-1 - MnBp8-1-30) เฉลี่ย 4.07 ± 1.51 อัลลีล ค่า Allelic richness (A_r) 2.98 - 17.62 อัลลีล (MnRmE11-1 - MnRmCT6-2) เฉลี่ย 10.59 ± 4.74 อัลลีล ค่าเฮเทอโรไซโกซิตี จากการสังเกต (Observed heterozygosity: H_o) 0.33 - 0.63 (MnRmE11-1, MnBp8-1-30, MnVj2-1-62 - Mns432) เฉลี่ย

0.40 ± 0.12 และค่าเฮเทอโรไซโกซิตีจากการคำนวณ (Expected heterozygosity: H_e) 0.51 - 0.84 (MnRmE11-1 - MnBp8-1-30) เฉลี่ย 0.72 ± 0.12 ในขณะที่ปลาแขยงกบ เพศเมีย พบมีค่า A 2.00 - 17.00 อัลลีล (MnRmE11-1 - MnRmCT6-2) เฉลี่ย 9.00 ± 4.77 อัลลีล ค่า A_e 1.97 - 4.80 อัลลีล (MnRmE11-1 - MnBp8-1-30) เฉลี่ย 3.36 ± 1.16 อัลลีล ค่า A_r 2.00 - 16.89 อัลลีล (MnRmE11-1 - MnRmCT6-2) เฉลี่ย 8.96 ± 4.74 อัลลีล ค่า H_o 0.23 - 0.67 (MnVj2-1-62 - Mns432) เฉลี่ย 0.44 ± 0.14 และค่า H_e 0.49 - 0.79 (MnRmE11-1 - MnBp8-1-30) เฉลี่ย 0.67 ± 0.05 โดยมีค่าเฉลี่ยโดยรวมของตัวอย่างทั้ง 95 ตัวอย่างมีค่า A 9.75 อัลลีล ค่า A_e 3.71 อัลลีล ค่า A_r 9.77 อัลลีล ค่า H_o 0.42 และค่า H_e 0.69 (Table 3) ไม่พบการมี Genotypic linkage disequilibrium และไม่พบ Null allele ในทุกตำแหน่งไมโครแซทเทลไลต์ทั้งในปลาเพศผู้และเพศเมีย

จากดัชนีความหลากหลายทางพันธุกรรมที่กล่าวมาข้างต้นพบว่ากลุ่มตัวอย่างปลาแขยงกบทั้งเพศผู้และเพศเมียมีความหลากหลายทางพันธุกรรมไม่ต่างกัน ($p > 0.05$) การพบกลุ่มตัวอย่างที่มาจากโรงเพาะฟักมักจะมีระดับความหลากหลายทางพันธุกรรมไม่ต่างกันซึ่งพบได้เช่นเดียวกับการศึกษาของ Chailertit *et al.* (2020) รายงานว่าปลาดุกอูย (*Clarias macrocephalus*) จากโรงเพาะฟักศูนย์วิจัยและพัฒนาพันธุกรรมสัตว์น้ำชุมพรและฟาร์มปลาสุภาภรณ์แหล่งละ 50 ตัว ที่เครื่องหมายไมโครแซทเทลไลต์ 5 ตำแหน่ง พบประชากรปลาดุกอูยจากโรงเพาะฟักทั้ง 2 แหล่งมีความหลากหลายทางพันธุกรรมไม่แตกต่างกัน โดยปลาดุกอูยจากโรงเพาะฟักศูนย์วิจัยและพัฒนาพันธุกรรมสัตว์น้ำชุมพรมีค่าเฉลี่ย A เท่ากับ 5.00 ± 2.5495 อัลลีล ค่า A_e 3.20 ± 1.6654 อัลลีล ค่า H_o 0.47 ± 0.1096 และค่า H_e 0.62 ± 0.1761 ฟาร์มปลาสุภาภรณ์พบค่า A เท่ากับ 4.60 ± 2.7019 อัลลีล ค่า A_e 3.20 ± 1.5989 อัลลีล ค่า H_o 0.45 ± 0.1129 และค่า H_e 0.63 ± 0.1696 เช่นเดียวกับ Wachirachaikarna and Nakorn (2019) ซึ่งทำการศึกษาความหลากหลายทางพันธุกรรมปลาดุกรัสเซียจาก 4 โรงเพาะฟักจาก จ. สกลนคร จ.หนองคาย จ.นครราชสีมา และจ.นครนายก จำนวน 50 ตัวอย่างต่อ 1 โรงเพาะฟัก ด้วยไมโครแซทเทลไลต์ 6 ตำแหน่ง พบปลาดุกรัสเซียจากทั้ง 4 โรงเพาะฟักมีจำนวน A มีค่าอยู่ระหว่าง 6.00 - 7.00 อัลลีล ค่า A_e 3.43 - 4.59 อัลลีล ค่า H_o 0.52 - 0.72 และ H_e 0.67 - 0.77 และรายงานของ Afanas'ev *et al.* (2006) ทำการศึกษาความหลากหลายของประชากรปลาแซลมอน (*Oncorhynchus keta*) จาก 5 โรงเพาะฟัก จำนวนทั้งหมด 250 ตัวอย่างด้วยไมโครแซทเทลไลต์ 8 ตำแหน่ง พบมีค่าเฉลี่ยอัลลีล A 8.21 อัลลีล

ค่า H_0 0.6271 และค่า H_0 0.6277 ซึ่งความหลากหลายทางพันธุกรรมที่พบในประชากรโรงเพาะฟักทั้งปลาตุ๋น ปลาตุ๋น และปลาแซลมอน (Chailertit *et al.*, 2020; Wachirachakarna and Na-Nakorn, 2019; Afanas'ev *et al.*, 2006) และเมื่อเปรียบเทียบพบในปลาสกุล *Mystus* ชนิดอื่น ดังการศึกษาของ Usmani *et al.* (2003) ศึกษาโครงสร้างประชากรของปลา *M. nemurus* ที่รวบรวมจาก 6 แหล่งประชากรธรรมชาติ (Perak, Kedah, Johor, UPM, Sarawak and Terengganu) ของประเทศมาเลเซีย ด้วยไมโครแซทเทลไลท์ 12 ตำแหน่ง พบปลา *M. nemurus* มีค่า A อยู่ระหว่าง 2 - 11 อัลลีล มีค่าเฉลี่ย 6.3 อัลลีล ค่า H_0 0.4350 - 0.5410 และ H_0 0.4418 - 0.5730 ในการศึกษาของ Hoh *et al.* (2008) ปลา *M. nemurus* จากแหล่งน้ำธรรมชาติในประเทศมาเลเซีย 6 แหล่งรวมเป็น 90 ตัวอย่างด้วยไมโครแซทเทลไลท์ 12 ตำแหน่ง พบ A มีค่าอยู่ระหว่าง 2 - 12 อัลลีล

นอกจากนี้ได้เปรียบเทียบกับความหลากหลายที่พบระหว่างเครื่องหมายไมโครแซทเทลไลท์ตำแหน่งเดียวกันที่การศึกษานี้เลือกใช้กับปลาแซลมอน (*M. gulo*) กับการศึกษาของ Usmani *et al.* (2003) และ Hoh *et al.* (2008) ที่ใช้กับปลา *M. nemurus* พบมีจำนวนอัลลีลต่อตำแหน่งและค่าเฮเทอโรไซโกตีใกล้เคียงกับการศึกษานี้ แสดงถึงเครื่องหมายพันธุกรรมไมโครแซทเทลไลท์ที่เลือกสามารถใช้ข้ามชนิดได้เนื่องจากไมโครแซทเทลไลท์จะใช้ข้ามชนิดได้ต่อน้อยในระดับความสฤกเดียวกันและหากยังมีความสัมพันธ์ใกล้เคียงกันยิ่งมีโอกาสที่จะใช้เครื่องหมายร่วมกันได้ดี (Morelli *et al.*, 2006) รายละเอียดดังนี้ การศึกษาของ Usmani *et al.* (2003) ศึกษาจากปลาจำนวนเฉลี่ย 24.50 ตัวอย่าง ไมโครแซทเทลไลท์ที่ใช้เหมือนกันได้แก่ ตำแหน่ง Mns432 พบ $A = 9.00$, $H_0 = 0.66$, $H_e = 0.73$ ตำแหน่ง MnRmE11-1 พบ $A = 10.00$ ค่า $H_0 = 0.76$ และ $H_e = 0.83$ ตำแหน่ง MnRmCT6-2 พบ $A = 8.00$, $H_0 = 0.72$ และ $H_e = 0.75$ และ Hoh *et al.* (2008) ทำการศึกษาในปลาจำนวน 90 ตัวอย่าง ที่ตำแหน่ง MnBp8-1-30 พบ $A = 9.00$ ค่า $H_0 = 0.3429$ และ $H_e = 0.6288$, MnVj2-1-62 พบ $A = 6.00$ ค่า $H_0 = 0.6167$ และ $H_e = 0.7232$ และ MnBp8-4-43b พบ $A = 12.00$ ค่า $H_0 = 0.6279$ และ $H_e = 0.8317$ (Table 4)

3.2 การทดสอบสมดุลฮาร์ดี - ไวน์เบิร์ก (Hardy-Weinberg Equilibrium)

การทดสอบความเบี่ยงเบนของสัดส่วนจีโนไทป์ที่สังเกตได้กับค่าที่คาดหวังตามสมดุลฮาร์ดี - ไวน์เบิร์ก การออกจากสมดุลฮาร์ดีไวน์เบิร์กพบได้ในทั้งปลาเพสคูและ

เพสเมีย ที่ตำแหน่ง MnBp8-1-30, MnVj2-1-62, MnRmCT6-2 และ MnBp8-4-43b และผลรวมที่ทุกตำแหน่งปลาทั้งสองกลุ่มตัวอย่างไม่อยู่ในสมดุล และเมื่อพิจารณาค่า F_{IS} หรือค่าสัมประสิทธิ์การผสมเลือดชิด (Inbreeding coefficient) ที่บ่งบอกระดับการเบี่ยงเบนจากสมดุลฮาร์ดี-ไวน์เบิร์กของประชากรย่อยพบว่ามีค่าเป็นลบ แสดงถึงการออกจากสมดุลมีค่าเฮเทอโรไซโกตีจากการคาดหวัง (H_0) มากกว่าค่าเฮเทอโรไซโกตีจากการสังเกต (H_0) หรืออาจกล่าวได้ว่ากลุ่มตัวอย่างทั้ง 2 กลุ่มอยู่ในสภาวะโฮโมไซโกต (Homozygote) มากกว่าที่ควรจะเป็นเมื่อประชากรอยู่ในสมดุลฮาร์ดี-ไวน์เบิร์ก ซึ่งการพบ $H_e > H_0$ เกิดขึ้นได้จากหลายสาเหตุ เช่น การผสมพันธุ์ระหว่างเครือญาติ การคัดเฮเทอโรไซโกตออก หรือเกิดการปะปนกันของประชากรที่ต่างกัน 2 ประชากร ปรากฏการณ์นี้เรียกว่า วาลันด์ เอฟเฟกต์ (Wahlund's effect) หรือภาวะที่มีเฮเทอโรไซโกต (Heterozygote) ต่ำกว่าปกติเมื่อเปรียบเทียบกับที่คาดว่าควรจะเป็นในภาวะสมดุล ฮาร์ดี-ไวน์เบิร์ก (Na-Nakorn, 2000) การออกจากสมดุลของปลาแซลมอนในการศึกษานี้ อาจเป็นผลมาจากการคัดพันธุ์ ในการเพาะพันธุ์ใช้พ่อแม่พันธุ์จำนวนน้อย และคัดเลือกพ่อแม่พันธุ์มาจากลูกปลาที่เลี้ยงในฟาร์ม เมื่อมีการเพาะพันธุ์ในรุ่นต่อ ๆ มาจึงมีโอกาสเกิดการผสมพันธุ์ระหว่างเครือญาติ

3.3 การประเมิน Effective population size (N_e) และสถานะคอขวด (Bottleneck)

การประเมินจำนวน Effective population size (N_e) ทั้งปลาเพสคูและเพสเมียพบมีจำนวนมากเกินการประเมิน (Infinite) ผลการตรวจสอบสถานะคอขวดพบในกลุ่มตัวอย่างปลาแซลมอนเพสคู $P_{BottN} = 0.015$ (Table 5) การพบสถานะคอขวดในกลุ่มตัวอย่างปลาเพสคูเป็นข้อมูล que แสดงถึงการลดลงของประชากรปลาเพสคูที่เป็นผลมาจากการคัดพันธุ์ที่ส่งผลต่อกลุ่มตัวอย่างปลาเพสคู เช่นเดียวกับการศึกษาของ Chailertit *et al.* (2020) ที่พบว่าประชากรปลาตุ๋นจากฟาร์มเอกชนแห่งหนึ่งเกิดปรากฏการณ์คอขวดขึ้น ($P_{BottN} = 0.041$) เนื่องมาจากดำเนินการของฟาร์มที่เพาะปลาตุ๋นอยู่ปีละครั้งแล้วนำลูกพันธุ์ปลาตุ๋นที่เพาะได้ไปเลี้ยงที่จังหวัดสมุทรปราการ เมื่ออายุได้ 7 - 8 เดือน จึงคัดเอาตัวเมียที่มีไข่มาใช้ผลิตลูกปลาตุ๋นเพาะในฟาร์มและนำตัวเมียไข่ส่วนหนึ่งพร้อมตัวผู้มาผสมเพื่อสร้างประชากรปลาตุ๋นรุ่นถัดไป ซึ่งจากกระบวนการข้างต้นกล่าวได้ว่าฟาร์มปลาตุ๋นมีการคัดเลือกพ่อแม่พันธุ์โดยที่ไม่ได้ตั้งใจ เนื่องจากการในการเพาะพันธุ์ใช้พ่อแม่พันธุ์จำนวนน้อยมาผสมพันธุ์กันและพ่อแม่

พันธุ์ที่คัดมาไม่ได้มีการวางแผนการคัดพันธุ์หรือการบันทึกประวัติของปลาแต่ละครอบครัว รวมถึงการเพาะพันธุ์ไม่มีการจัดการเรื่องสัดส่วนเพศหรือจำนวนพ่อแม่พันธุ์ที่เหมาะสม ไม่มีแผนงานเพื่อป้องกันการเกิดสภาวะคอขวด จึงมีผลทำให้ความหลากหลายทางพันธุกรรมในรุ่นลูกลดลง ซึ่งการพบสภาวะคอขวดในปลาแขยงกบเพศผู้ในการศึกษานี้ อาจเป็นผลมาจากสาเหตุเดียวกับการศึกษาข้างต้น เนื่องจากการจัดการเพาะพันธุ์ในฟาร์มใช้พ่อแม่พันธุ์จำนวน 20 คู่ ซึ่งเป็นจำนวนที่น้อยเมื่อพิจารณาตามแนวทางของ Kincaid (1983) ที่ได้แนะนำว่าการเพาะพันธุ์แต่ละครั้งควรใช้พ่อแม่พันธุ์อย่างน้อย 50 คู่ และ Tave (1993) แนะนำจำนวน N_e ขั้นต่ำในการสร้างประชากรโรงเพาะฟักควรมีพ่อแม่พันธุ์อย่างน้อย 45 - 50 ตัว เพื่อป้องกันการเกิดเลือดชิด นอกจากนี้ตามแนวทางของโรงเพาะฟักที่ดีการสร้างประชากรเริ่มต้นควรดำเนินการตามข้อแนะนำของ Na-Nakorn (2000) ที่ว่าการสร้างพ่อแม่พันธุ์เริ่มต้นในโรงเพาะฟักการดำเนินการควรคัดพ่อแม่พันธุ์ให้มีจำนวนมากเพื่อให้เพียงพอต่อการคงไว้ซึ่งการรักษาความถี่จีโนไทป์ เนื่องจากการที่ประชากรจะอยู่ในสมดุลฮาร์ดี-ไวน์เบิร์ก ประชากรจะต้องมีความถี่ยีนและความถี่จีโนไทป์คงที่ทุกชั่วอายุ ซึ่งจะต้องเป็นประชากรขนาดใหญ่ และความหลากหลายทางพันธุกรรมจะคงอยู่ในประชากรตลอดไป กล่าวคือในประชากรที่มีขนาดใหญ่จะมีการผสมพันธุ์กันแบบสุ่มโดยที่ไม่มีปัจจัยอื่นมากระทบต่อการเปลี่ยนแปลงความถี่ยีนได้แก่ ประชากรควรมีขนาดใหญ่

มีการผสมพันธุ์แบบสุ่ม ไม่มีการกลายพันธุ์ (Mutation) ไม่มีการอพยพย้ายถิ่น (Migration) และไม่มีการคัดพันธุ์ (Selection) จะส่งผลให้ความถี่ยีนในรุ่นลูกเข้าสู่ภาวะสมดุล (Genetic equilibrium) โดยความถี่ยีนจะคงที่ในประชากรทุกชั่วอายุ

อย่างไรก็ตาม แม้จะพบการมีสภาวะคอขวดในปลาแขยงกบเพศผู้แต่ด้วยจำนวน N_e ที่ยังพบว่ามีจำนวนมากเกินการประมาณได้ (Infinite) แสดงถึงประชากรปลาแขยงกบกลุ่มดังกล่าวยังคงสามารถใช้เป็นพ่อแม่พันธุ์ได้ โดยที่ฟาร์มอาจต้องหาพ่อแม่พันธุ์ปลาแขยงกบจากแหล่งอื่นหรือจากธรรมชาติมาเสริมเพื่อเพิ่มระดับความหลากหลายทางพันธุกรรมแต่ไม่ควรนำมาเสริมมากเกินไปเพื่อรักษาสถานภาพ Domesticated ของประชากรโรงเพาะฟักไม่ให้เปลี่ยนไปมากนัก นอกจากนี้ Na-Nakorn (2008) รายงานไว้ว่าในการดำเนินการควรมีวิธีการจัดการพันธุกรรมพ่อแม่พันธุ์ในโรงเพาะฟัก เช่น การจัดการเพื่อป้องกันการเกิดเลือดชิดซึ่งสามารถทำได้โดยการติดเครื่องหมายพ่อแม่พันธุ์และมีข้อมูลประวัติ การป้องกันการขาดช่วงพันธุกรรมซึ่งมักจะเกิดจากการเปลี่ยนแปลงความถี่อัลลีลในประชากรแบบไม่มีทิศทางและไม่สามารถทำนายได้ในแต่ละชั่วรุ่นซึ่งมีสาเหตุมาจากการมีประชากรขนาดเล็ก (Poompuang, 2008) หรือการใช้พ่อแม่พันธุ์จำนวนน้อย และการป้องกันการคัดเลือกทางลบทำได้โดยการติดตามข้อมูล การเจริญเติบโต การเจริญพันธุ์และติดตามผลการจัดการในโรงเพาะฟักอย่างต่อเนื่อง

Table 3 Average allelic variability at 6 microsatellite loci of *M. gulio*. The indices included the sample size (N), number of alleles per locus (A), effective number of alleles (A_e), allelic richness (A_r), observed heterozygosity (H_o), expected heterozygosity (H_e) and fixation index (F_{is})

Sample	Locus	N	A	A_e	A_r	H_o	H_e	F_{is}
Male	Mns432	46.00	9.00	4.59	9.00	0.63	0.78	0.19
	MnRmE11-1	46.00	3.00	2.04	2.98	0.33	0.51	0.36
	MnBp8-1-30	46.00	11.00	6.31	10.96	0.33	0.84	<u>0.61</u>
	MnVj2-1-62	46.00	11.00	2.70	10.96	0.33	0.63	<u>0.48</u>
	MnRmCT6-2	47.00	17.00	4.29	17.62	0.40	0.77	<u>0.47</u>
	MnBp8-4-43b	45.00	12.00	4.48	12.00	0.38	0.78	<u>0.51</u>
	Average	46.00	10.50	4.07	10.59	0.40	0.72	0.44
	SD	0.63	4.55	1.51	4.74	0.12	0.12	0.14

Table 3 (Continuous)

Sample	Locus	<i>N</i>	<i>A</i>	<i>A_e</i>	<i>A_r</i>	<i>H_o</i>	<i>H_e</i>	<i>F_{is}</i>
Female	Mns432	48.00	9.00	4.22	8.96	0.67	0.76	0.13
	MnRmE11-1	48.00	2.00	1.97	2.00	0.46	0.49	0.07
	MnBp8-1-30	48.00	9.00	4.80	8.98	0.50	0.79	0.37
	MnVj2-1-62	48.00	9.00	2.31	8.94	0.23	0.57	0.60
	MnRmCT6-2	48.00	17.00	4.10	16.89	0.42	0.76	0.45
	MnBp8-4-43b	48.00	8.00	2.76	7.96	0.40	0.64	0.38
	Average	48.00	9.00	3.36	8.96	0.44	0.67	0.33
	SD	0.00	4.77	1.16	4.74	0.14	0.05	0.08
Total	Average	47.00	9.75	3.71	9.77	0.42	0.69	0.39
	SD	1.13	4.52	1.34	4.60	0.13	0.12	0.17

Note: F_{is} values and probability of significant deviation from Hardy-Weinberg equilibrium (p) are given for each population and locus. Values underlined indicate statistical significance, $p < 0.0042$, after Bonferroni correction = $0.05/12$ (Rice, 1989)

Table 4 Average allelic variability of *M. gulio* in this study compare with *M. nemurus* in previous study at same microsatellite loci. The indices included the sample size (*N*), number of alleles per locus (*A*), observed heterozygosity (H_o) and expected heterozygosity (H_e)

This research (<i>M. gulio</i>)	Locus					
	Mns432	MnRmE11-1	MnRmCT6-2	MnBp8-1-30	MnVj2-1-62	MnBp8-4-43b
<i>N</i>	47	47	47	47	47	47
<i>A</i>	9.00	2.50	17.00	10.00	10.00	10.00
H_o	0.65	0.40	0.41	0.42	0.28	0.39
H_e	0.77	0.50	0.77	0.82	0.60	0.71
Usmani <i>et al.</i> (2003) (<i>M. nemurus</i>)						
<i>N</i>	24	24	24	-	-	-
<i>A</i>	9.00	10.00	8.00	-	-	-
H_o	0.66	0.76	0.72	-	-	-
H_e	0.73	0.83	0.75	-	-	-
Hoh <i>et al.</i> (2008) (<i>M. nemurus</i>)						
<i>N</i>	-	-	-	90	90	90
<i>A</i>	-	-	-	9.00	6.00	12.00
H_o	-	-	-	0.3429	0.6167	0.6279
H_e	-	-	-	0.6288	0.7232	0.8317

Table 5 Estimates and 95% confidence intervals of contemporary effective population size (N_e) and the detection of bottlenecks based on Wilcoxon's test for two population samples at 6 microsatellite loci.

Samples	Effective population size			Bottleneck test
	N_e	Lower bound	Upper bound	TPM (p -value)
Male	Infinite	Infinite	Infinite	0.015
Female	Infinite	Infinite	Infinite	0.11

3.4 ความแตกต่างทางพันธุกรรมระหว่างประชากร

กลุ่มตัวอย่างปลาแขยงกบเพศผู้และเพศเมียมีความแตกต่างทางพันธุกรรมมีค่า $Global F_{ST} = 0.01562$; AMOVA, $p = 0.02151$ ซึ่งผลการทดสอบความแปรปรวนทางพันธุกรรม AMOVA พบว่า 1.56 % ของความแปรปรวนเกิดจากความแตกต่างระหว่างประชากร และ 98.44 % ของความแปรปรวนที่เกิดจากความแตกต่างระหว่างสมาชิกในประชากร สำหรับการทดสอบระยะห่างทางพันธุกรรม (Genetic distance) ของกลุ่มตัวอย่างมีค่า 0.057 ซึ่งกล่าวได้ว่าปลาแขยงกบในการศึกษานี้มีระยะห่างทางพันธุกรรมน้อยมากเมื่อเทียบกับปลา *M. nemurus* ในการศึกษาของ Usmani *et al.* (2003) ที่ได้รวบรวมปลามาจากแม่น้ำ 6 แหล่ง ที่พบว่าค่าระยะห่างทางพันธุกรรมมีค่าอยู่ระหว่าง 0.2238 - 0.8039 ทั้งนี้อาจเป็นผลมาจากประชากรโรงเพาะฟักที่แม้จะเกิดจากการนำปลาธรรมชาติมาสร้างประชากรตั้งต้นแล้วเมื่อผ่านกระบวนการ Domesticate ประชากรโรงเพาะฟักจะมีความแตกต่างทางพันธุกรรมลดลง ซึ่งผลของค่าระยะห่างทางพันธุกรรมเป็นไปในทิศทางที่สอดคล้องกับผลความต่างระหว่างคู่ของตัวอย่างจากค่า pairwise $F_{ST} = 0.01562$ ที่ระดับ $p = 0.02703$ ($p < 0.05$) แสดงถึงปลาเพศผู้และเพศเมียมีพันธุกรรมต่างกัน ทั้งนี้อ้างอิงตาม Wright (1978) ที่ได้ให้เกณฑ์ไว้ว่าค่า $F_{ST} = 0.00 - 0.05$ มีความแตกต่างทางพันธุกรรมต่ำ ค่า $F_{ST} = 0.05 - 0.15$ มีความแตกต่างทางพันธุกรรมปานกลาง ค่า $F_{ST} = 0.15 - 0.25$ มีความแตกต่างทางพันธุกรรมสูงค่า $F_{ST} > 0.25$ มีความแตกต่างทางพันธุกรรมสูงมาก ดังนั้นในการศึกษานี้ที่พบค่า F_{ST} ปลาเพศผู้และเพศเมียจัดได้ว่ามีความแตกต่างทางพันธุกรรมต่ำ ซึ่งการพบประชากรโรงเพาะฟักมีความแตกต่างทางพันธุกรรมต่ำ พบได้เช่นเดียวกับ Chailertit *et al.* (2020) ศึกษาความหลากหลายทางพันธุกรรมประชากรปลาดุกอุยจากโรงเพาะฟัก 2 แหล่งคือ ศูนย์วิจัยและพัฒนาพันธุกรรมสัตว์น้ำชุมพรและฟาร์มปลาสุภาภรณ์ โดยใช้เครื่องหมายไมโครแซทเทลไลท์ 5 ตำแหน่ง พบว่าความหลากหลายทางพันธุกรรมของประชากรปลาดุกอุยจาก 2 แหล่งไม่แตกต่างกัน ($p > 0.05$) และค่า F_{ST} มีค่าเท่ากับ 0.103 แสดงถึงปลาดุกอุยจากทั้ง 2 แหล่งมีความแตกต่าง

ทางพันธุกรรมปานกลางการพบว่าประชากรโรงเพาะฟักมีความแตกต่างทางพันธุกรรมต่ำอาจเกิดได้จากกระบวนการสร้างประชากรโรงเพาะฟัก Na-Nakorn (2008) การสร้างประชากรโรงเพาะฟักเกิดกระบวนการที่ส่งผลต่อการเปลี่ยนแปลงทางพันธุกรรมที่เกิดขึ้นในโรงเพาะฟักและส่งผลกระทบต่อประชากร เช่น การเกิดผลกระทบที่มาจาก การเริ่มจากประชากรตั้งต้นจำนวนน้อย (Founder effects) โดยเกิดความแตกต่างอัลลีลระหว่างประชากรเดิมกับประชากรใหม่ เนื่องจากการนำปลาจากแหล่งหนึ่งมาเป็นพ่อแม่พันธุ์สำหรับสร้างประชากรใหม่ในโรงเพาะฟักอาจไม่ได้คำนึงถึงผลทางพันธุกรรมที่เกิดขึ้นจากจำนวนพ่อแม่พันธุ์เริ่มต้นเนื่องจากปลาส่วนใหญ่มีไข่จำนวนมากในการเพาะพันธุ์นั้นอาจมีการใช้พ่อแม่พันธุ์จำนวนน้อย ซึ่งหากในการสร้างประชากรเริ่มต้นใช้พ่อแม่พันธุ์จำนวนน้อย จะส่งต่อการเปลี่ยนแปลงทางพันธุกรรม 2 กระบวนการ คือ การขาดช่วงพันธุกรรมคือการที่ความถี่ของอัลลีลเปลี่ยนแปลงไปแบบไม่มีทิศทาง พันธุกรรมในประชากรรุ่นพ่อแม่ถูกส่งไปยังรุ่นลูกเพียงบางส่วน ส่งผลทำให้ประชากรรุ่นลูกแตกต่างจากรุ่นพ่อแม่ และประชากรสูญเสียความหลากหลายทางพันธุกรรมโดยอัลลีลจำนวนหนึ่งจะหายไป จำนวนอัลลีลต่อตำแหน่งจะลดลงเมื่อเทียบกับรุ่นพ่อแม่ หรือในธรรมชาติและการผสมเลือดชิดที่เป็นผลมาจากการที่มีพ่อแม่พันธุ์จำนวนน้อยส่งผลให้ประชากรรุ่นต่อ ๆ มามีความสัมพันธ์ทางสายเลือดมากขึ้นและอาจเกิดการผสมเลือดชิดเกิดขึ้นได้

4. สรุป

ความแปรปรวนทางพันธุกรรมในประชากรปลาแขยงกบ (*M. gulio*) จากไมโครแซทเทลไลท์ดีเอ็นเอจำนวน 6 ตำแหน่ง พบปลาแขยงกบมีความหลากหลายทางพันธุกรรมและความหลากหลายในกลุ่มตัวอย่างทั้งเพศผู้และเพศเมียไม่ต่างกัน พบสภาวะคอขวดในกลุ่มตัวอย่างเพศผู้แต่ด้วยการประเมินจำนวน N_e ที่พบว่ามีจำนวนมากแสดงถึงประชากรเพศผู้ยังสามารถใช้เป็นพ่อแม่พันธุ์ได้ พบความแตกต่างทางพันธุกรรมระหว่างเพศผู้และเพศเมีย ค่า pairwise F_{ST} แสดงถึงการมีความแตกต่างทางพันธุกรรมอยู่ในเกณฑ์ที่มีความต่างต่ำ เป็นผลมาจากการจัดการประชากรโรงเพาะฟักที่เมื่อมีการคัดพันธุ์จาก

กระบวนการสร้างประชากรโรงเพาะฟักที่อาจเริ่มจากพ่อแม่พันธุ์จำนวนน้อยส่งผลให้ประชากรรุ่นต่อ ๆ มามีความสัมพันธ์ทางสายเลือดมากขึ้นและอาจเกิดการผสมเลือดชิดเกิดขึ้นได้ สำหรับการศึกษานี้มีข้อแนะนำในทางปฏิบัติเพื่อป้องกันการเกิดความเสื่อมของลักษณะเนื่องจากการผสมเลือดชิด (Inbreeding depression) จึงควรเพิ่มจำนวนพ่อแม่พันธุ์จากแหล่งพันธุ์อื่นหรือจากธรรมชาติเข้ามาเพิ่มเติมต้องคำนึงถึงการคงไว้ซึ่งสายพันธุ์ที่ผ่านการปรับปรุงให้เป็นประชากรโรงเพาะฟักแล้วเพื่อไม่ให้อุบัติของลักษณะสำคัญที่คัดไว้ และในการดำเนินงานควรมีวิธีการจัดการพันธุ์กรรมพ่อแม่พันธุ์ในโรงเพาะฟักที่เป็นระบบเพื่อให้ประชากรปลาแซลมอนในโรงเพาะฟักมีระดับพันธุ์กรรมที่เหมาะสมและมีคุณลักษณะที่ดีต่อการเป็นพ่อแม่พันธุ์ในการผลิตลูกพันธุ์ที่ดีทั้งลักษณะคุณภาพและลักษณะปริมาณซึ่งจะส่งผลดีต่อการเพาะเลี้ยงปลาแซลมอนเพื่อสร้างรายได้ให้กับเกษตรกรต่อไป

5. กิตติกรรมประกาศ

โครงการวิจัยนี้ได้รับการสนับสนุนงบประมาณเพื่อการวิจัยจากสำนักงานคณะกรรมการส่งเสริมวิทยาศาสตร์วิจัยและนวัตกรรม (ววน.) ปี พ.ศ. 2565 และครุภัณฑ์ ที่เป็นประโยชน์ต่อการวิจัยจากมหาวิทยาลัยเทคโนโลยีราชมงคลธัญบุรีและมหาวิทยาลัยเทคโนโลยีราชมงคลตะวันออก

6. เอกสารอ้างอิง

Afanas' ev, I. K. , Rubtsova, A.G., Malinina, V.T., Salmenkova, A.E., Omel'chenko, T.V. and Zhivotovsky, A.L. 2006. Microsatellite Variability and Differentiation of Hatchery Stocks of Chum Salmon *Oncorhynchus keta* Walbaum in Sakhalin. **Russian Journal of Genetics** 42(12): 1431-1438.

Aljanabi, S.M. and Martinez, I. 1997. Universal and rapid salt-extraction of high quality genomic DNA for PCR-based techniques. **Nucleic Acids Research** 25(2): 4692-4693.

Chailertit, V., Suntomchot, S., Umpolsak, K., Baoprasertkul, P., Theeratidechakul, T., Prachak Buaneam, P. and Borriboon, C. 2020. Genetic Diversity and Performance in Hatchery Stocks of Günther's Walking Catfish, *Clarias macrocephalus*. **Journal of fisheries technology research** 14(2): 32-47. (in Thai)

Do, C., Waples, R.S., Peel, D., Macbeth, G.M., Tillett, B.J. and Ovenden, J.R. 2014. NeEstimator v2: reimplementation of software for the estimation of contemporary effective population size (N_e) from genetic data. **Molecular Ecology Resources** 14: 209-214.

Excoffier, L., Laval, G. and Schneider, S. 2007. An Integrated Software Package for population Genetics Data Analysis. Computational and Molecular Population Genetics Lab (CMPG). **Evolutionary Bioinform Online** 23(1): 47-50.

Foulley, J.L. and Olivier, L. 2006. Estimating allelic richness and its diversity. **Livestock Science** 101: 150-158.

Goudet, J. 2001. **FSTAT, a program to estimate and test gene diversities and fixation indice (version 2.9.3)**. Available Source: <http://WWW2.unil.ch/popgen/softwares/fstat.htm>, March 27, 2023.

Guo, S.W. and Thompson, E.A. 1992. Performing the exact test of Hardy-Weinberg proportions for multiple alleles. **Biometrics** 48: 361-372.

Hoh, P.B., Siraj, S.S., Tan, S.G. and Yusoff, Y. 2008. Isolation of Trinucleotide Microsatellite Markers for *Mystus nemurus*. **Russian Journal of Genetics** 44(3): 369-371.

Kincaid, H.L. 1983. Inbreeding in fish populations used for aquaculture. **Aquaculture** 33: 215-227.

Morelli, K.A., Revaldaves, E., Oliveira, C. and Foresti, F. 2006. Isolation and characterization of eight microsatellite loci in *Leporinus macrocephalus* (Characiformes: Anostomidae) and cross-species amplification. **Molecular Ecology Notes** 7: 32-34.

Na-Nakorn, U. 2000. **Genetics of aquatic animals** (2nded). Kasetsart University Publisher, Bangkok. (in Thai)

Na-Nakorn, U. 2008. Founder population for aquaculture and domestication selection, pp. 78-93. In Na-Nakorn, U. and Kamonrat, W., eds. **Genetic population for aquaculture**. Kasetsart University, Bangkok. (in Thai)

Oosterhout, C.R., Hutchinson, W.F., Will, D.P.M. and Shipley, P. 2004. MICRO-CHECKER : software for identifying and correcting

- genotyping errors in microsatellite data. **Molecular Ecology Notes** 4: 535-538.
- Peakall, R. and Smouse, P.E. 2006. GENALEX 6: genetic analysis in Excel. Population genetic software for teaching and research. **Molecular Ecology Notes** 6: 288-295.
- Piry, S., Luikart, G. and Cornuet, J.M. 1999. BOTTLENECK: a computer program for detecting recent reductions in the effective population size using allele frequency data. **Journal of Heredity** 90: 502-503.
- Poompuang, S. 2008. Inbreeding and genetic drift in small population, pp 78-93. *In* Na-Nakorn, U. and Kamonrat, W., eds. **Genetic population for aquaculture**. Kasetsart University, Bangkok. (in Thai)
- Rice, W.R. 1989. Analyzing tables of statistical test. **Evolution** 43(1): 223-225.
- Rousset, F. 2008. GENEPOP'007: a complete re-implementation of the GENEPOP software for Windows and Linux. **Molecular Ecology Resources** 8: 103-106.
- Tave, D. 1993. **Genetics for Hatchery Managers** (2nded). Kluwer Academic Publisher, Boston.
- Usmani, S., Tan, S.G., Siraj, S.S. and Yusoff, K. 2003. Population structure of the Southeast Asian river catfish *Mystus nemurus*. **International Society for Animal Genetics, Animal Genetics** 34: 462-464.
- Wachirachaikarn, A. and Na-Nakorn, U. 2019. Genetic diversity of the North African catfish, *Clarias gariepinus* (Burchell, 1822) hatchery stocks in Thailand. **ScienceAsia** 45: 301-308.
- Wright, S. 1978. **Evolution and the Genetics of Populations**. University of Chicago Press, Chicago.



Research Article

Techno-economic Analysis of Heat Pump Assisted Solar Dryer for Krajood

Jaruwat Jareanjit ^a, Worapong Boonchouytan ^b and Thanwit Naemsai ^{a*}^a Department of Mechanical Engineering, Faculty of Engineering, Rajamangala University of Technology Srivijaya, Mueang, Songkhla 90000, Thailand.^b Department of Industrial Engineering, Faculty of Engineering, Rajamangala University of Technology Srivijaya Mueang, Songkhla 90000 Thailand.

ABSTRACT

Article history:

Received: 2024-05-08

Revised: 2024-07-30

Accepted: 2024-08-05

Keywords:

techno-economic analysis;

dryer;

heat pump;

solar energy;

Krajood

This study applies solar energy-assisted heat pump dryer for Krajood. The prototype solar-assisted heat pump drying system was designed to evaluate heat transfer efficiency and to conduct economic analysis for potential implementation. In the study, temperatures of 45°C, 55°C, and 65°C were investigated. Experimental results indicated that the optimal drying temperature was 55°C, achieving a balance between energy efficiency and product quality. The solar-assisted heat pump drying system exhibited a specific energy consumption of 2.67 kWh/kg and a thermal efficiency of 22.13%. The drying time with the solar-assisted heat pump dryer (22 hours) for 10 kg of Krajood was proven to be shorter compared to open solar drying of Krajood (batch 24 h or 3 days). An economic analysis employing Net Present Value and payback period revealed significant economic benefits over a 5-year lifespan. The payback period for Krajood drying (2.9 years) aligned well with previous studies. These findings demonstrate the economic feasibility and potential of solar-assisted heat pump dryer for reducing postharvest losses of Krajood, particularly in developing countries.

© 2025 Jareanjit, J., Boonchouytan, W. and Naemsai, T. Recent Science and Technology published by Rajamangala University of Technology Srivijaya

1. Introduction

Krajood trees are an important economic crop in the southern region of Thailand with significant growing areas such as Phru Kuan Kreng in Cha-uat District, Nakhon Si Thammarat Province, Taley Noi in Khuan Khanun District, Phatthalung Province and Khlong U-Taphao area in Singhanakhon District, Province Songkhla. Phru Kuan Kreng is known for its Krajood products, especially weaving, which is an essential household item for daily life. Knowledge of Krajood handicraft has been passed down through

generations, particularly in southern communities. Krajood handicraft produces various products for everyday use, such as mats, boat sheets, ropes, food bags and other items. The characteristics of products in each province vary depending on the type of raw materials, local customs, cultures, preferences and uses. Krajood handicraft is culturally significant and a vital occupation for the people of the southern region (Community development department, 2024). Entrepreneurs often use Krajood to dry them for use in weaving and making various products such as bags and various tools. The process of Krajood weaving includes four main steps:

* Corresponding author.

E-mail address: thanwit.n@rmutsv.ac.th

Cite this article as:

Jareanjit, J., Boonchouytan, W. and Naemsai, T. 2025. Techno-economic Analysis of Heat Pump Assisted Solar Dryer for Krajood. **Recent Science and Technology** 17(1): 263311.

raw material preparation, Krajoood threading, product decoration and product preservation (Sompoangeon and Kongsom, 2021). Problems arise in the Krajoood handicraft process, from the extraction of the Krajoood trees to the manual harvesting, which can result in uneven or non-standard tree felling. Challenges during the drying phase include longer drying times, difficulties during the rainy season and the risk of fungal growth due to inadequate drying. Finally, pressing Krajoood is a labor-intensive and equipment-dependent process that can lead to inconsistent yields. Inadequate drying or pressing may necessitate reprocessing with smaller presses or additional drying, causing delays, repetition, and ultimately, lower output.

Heat pump drying technology has been developed to address the issue of drying heat-sensitive materials such as bioactive food and pharmaceutical products (Masud *et al.*, 2020). This technology is well recognized as one of the energy-efficient ways to achieve this drying at comparatively low temperatures. In addition, solar energy combination technology can be used in heat pump drying because of energy efficiency, reduced reliance on weather conditions and improved product quality (Sabarez, 2020). While solar drying methods such as indirect and direct drying through solar radiation have been explored, recent research on hybrid heat pump dryers is exploring how heat pumps can be further combined with various technologies to improve the drying process (EL-Mesery *et al.*, 2022; Zhou *et al.*, 2022). The indirect sunlight approach was chosen for this study because it minimally affects the color of the woven Krajoood products compared to direct sunlight. Due to the southern region's hot and humid climate caused by year-round monsoons, this research prioritizes a hybrid approach utilizing heat pumps for their efficient moisture removal and indirect solar radiation for additional drying power (Zhou *et al.*, 2022). Based on previous research, Qiu *et al.* (2016) a method of heat recovery with drying systems that use primary thermal energy from heat pumps. To increase the power coefficient and drying efficiency. In addition, the concept of heat recovery was developed for dryers that mainly use solar energy. Naemsai *et al.* (2019) have

proposed drying Krajoood using solar dryers combined with heat pumps, using the thermal conductivity method left over from room drying. The condenser is used in a lower temperature chamber, the evaporator chamber, which has been proven to reduce drying time and provide significantly better efficiency than traditional drying methods (Do *et al.*, 2018). While research on heat pumps often prioritizes performance improvement, economic analysis, particularly payback periods, is equally crucial for solar dryers. Economic evaluation reveals whether a proposed dryer is cost-effective, sustainable, and likely to be adopted by users. This information is vital for encouraging investment in and widespread adoption of this technology. Combining energy analysis with economic considerations allows for selecting dryer operating conditions that are both efficient and commercially viable. Expanding upon the findings of Rulazi *et al.* (2024), this research validates the efficacy and sustainability of Solar-Assisted Heat Pump Dryers (SAHPDs) in the dehydration of fruits and vegetables. By substantially curtailing drying times and energy consumption relative to conventional methods, SAHPDs demonstrate significant potential for agricultural applications. The prototype evaluated in this study attained a commendable Coefficient of Performance (COP) of 3.4 and a thermal efficiency of 54%. Moreover, the economic viability of the technology is underscored by calculated payback periods of merely 3 years for tomato drying and 2.6 years for carrot dehydration. These results suggest SAHPDs are a viable solution for developing countries to minimize post-harvest losses and reduce reliance on harmful biomass fuels. Recently, Deymi-Dashtebayaz *et al.* (2024) explored the potential of integrating solar energy storage, heat exchangers, and heat pumps into food waste drying systems. Their research evaluated the dryer's performance with a 100 kg load and a moisture removal rate of 71.42 kg/h under various weather conditions. They also discussed the dryer's potential application in future food production systems, focusing on its ability to improve energy efficiency and reduce carbon dioxide emissions. Moreover, the effective performance of SAHPDs demonstrated in previous studies (Yu *et al.*, 2024;

Loemba *et al.*, 2024) is further confirmed in this research through its application to agricultural products.

A review of existing literature reveals a scarcity of research exploring the application of indirect solar radiation, in combination with heat pumps and heat recovery, for drying agricultural woven products, particularly Krajood. To fill this gap, this study designed and built a Heat Pump Assisted Solar Dryer (HPASD) specifically for drying Krajood products. The performance of the HPASD is analyzed to assess its efficiency and potential benefits. Moreover, this study investigates the techno-economic feasibility of using a HPASD for drying Krajood. This initiative seeks to address the knowledge translation gap between academic research and practical solutions applicable to community enterprises in southern Thailand. By demonstrating the economic viability of HPASD technology, this study aims to facilitate the widespread adoption of HPASD thereby promoting sustainable energy use and contributing to social development within the region.

2. Materials and Methods

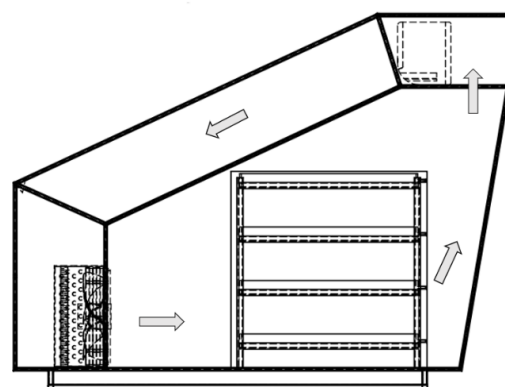
2.1 Materials and experimental setup

The samples of Krajood (*Lepironia articulata*) with an average size (length, 1 m; diameter, 2 cm; thickness, 3 mm) were collected from a Khlong U-Taphao area in Singhanakhon District, Songkhla, Thailand. Approximately 5 kg of fresh fruit was used in each experiment. The samples were cleaned and all foreign matter was removed. The average moisture content of fresh red Krajood was controlled to be about 233.33% (dry basis) before the drying process. An HPASD was designed and installed in Songkhla, Thailand. The dryer uses a combined solar thermal and heat pump system. The drying chamber itself is made of black box steel for durability. The walls are made of polycarbonate panels, which make up about 20% of the total area, to allow some light transmission and possible solar heat gain. A 0.78 kW heat pump unit with the environmentally friendly refrigerant R32 serves as the primary heating source. This unit works with a control system to maintain the desired drying conditions in the chamber. To complement the solar and heat pump system, an

additional 500W infrared heater is available if additional heat is needed. The drying chamber offers space for five 0.6 x 0.6 meter drying trays designed to hold baskets with the products to be dried. In addition, as shown in Figure 1(a), the drying system operates as a closed loop with heat recovery. The drying air circulates in the system at a wind speed of 3 m/s, so there is no need to extract or resupply air from the outside environment. This design enables efficient heat recovery by capturing both latent heat (humidity) and sensible heat (temperature) from the exhaust air exiting the evaporator after drying. A key advantage of this system is its independence from external weather conditions such as temperature and relative humidity. This enables reliable operation regardless of the prevailing weather. The airflow characteristics of the system are shown in Figure 1(b).



(a)

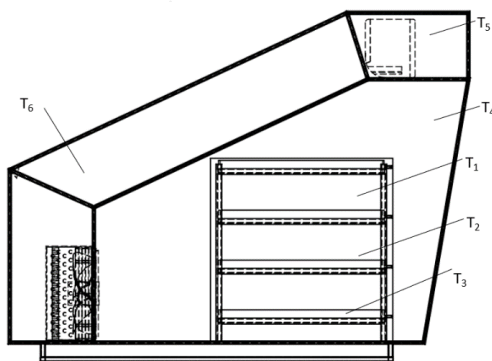


(b)

Figure 1 Heat pump assisted solar dryer; (a) real machine and (b) schematic diagram

2.2 Experimental procedure

In the experiment, three drying temperatures were evaluated in the experiment: 45 °C, 55 °C and 65 °C. The experiments were carried out on cloudy days during the rainy season with a quasi-constant relative humidity of 50% relative humidity. The Krajood samples were dried horizontally. Temperature data were collected using Chromel-Alumel (Type K) thermocouple cables with an uncertainty of 0.5°C. Relative humidity was measured using a Primus brand HM-005-01 detector with an uncertainty of 0.5%. Electricity consumption was monitored using a Schneider Electric PM 2100 series device with an uncertainty of 0.1 kWh. The temperature measurement points in the dryer are shown in Figure 2. T_1 through T_3 represent temperature readings at different shelf levels in the dryer. T_4 , T_5 , and T_6 measure room temperature, inlet temperature, and outlet temperature, respectively. The dryer was positioned in a north-south direction for a period of six hours (9:00 a.m. - 5:00 p.m.). The moisture content was determined to analyze energy consumption. One kilogram of fresh Krajood was oven-dried in a 3,000 W Binder electric incubator at 103 °C for 48 h to determine its dry weight (approximately 0.35 kg). For each experiment, the condenser temperature controller was set to a maximum of 65 °C. A temperature difference of 50°C was maintained with the evaporator set at 18°C to avoid extreme operating temperatures for the heat pump. All experimental cases were tested at least three times to ensure statistical accuracy. Furthermore, the open sun method dried fresh Krajood for six hours daily (9:00 AM - 5:00 PM), a timeframe that overlaps with the operating hours of the HPASD.



(a)



(b)

Figure 2 Temperature positioning for the experiment, (a) schematic diagram and (b) real positioning in the machine

2.3 Techno-economic Analysis

HPASD performance was evaluated by determining the moisture content (MC), weight of water evaporated from the product (m_{out}), Specific Energy Consumption (SEC) and thermal efficiency of the drying system (η_{th}). The thermal efficiency or drying efficiency is a crucial factor in evaluating the energy consumption. This research analyzed energy use by first calculating the moisture content removed from the product during drying. Equation (1) is used for this calculation.

$$m_{out} = m_i - m_f \quad (1)$$

where m_{out} is weight of water evaporated from the product m_i is weight of the initial product and m_f is weight of the final product

The moisture content in dry basis was determined by using the gravimetric oven drying method, in which 1 kg of Krajood was accurately weighed in a clean, dry petridish and the weight of the sample was recorded. The percentage of moisture content was calculated using Equation (2).

$$MC_{db} = \frac{m_w - m_D}{m_D} \times 100 \quad (2)$$

where MC_{db} is moisture content on a percent basis, m_w is weight of the wet product and m_D is weight of the dried product

The total energy consumption in the drying system is calculated from Equation (3).

$$E_t = GA_c + E_e t \quad (3)$$

where E_t is the total energy consumed in the drying system, A_c is the sunlight-absorbed area, G is the solar radiation, E_e is the electrical energy in the drying system and t is the drying time.

Specific energy consumption (SEC) is the ratio of energy consumed in a drying system to the moisture evaporated from the material during the drying process. It is calculated from equation (4). The thermal efficiency of the drying system was determined by using Equation (5)

$$SEC = \frac{E_t}{m_{out}} \quad (4)$$

$$\eta_{th} = \frac{m_{out} h_{fg}}{E_t} \quad (5)$$

where h_{fg} is heat of vaporization

Color changes are a crucial variable in consumers' food purchasing decisions. To comprehensively evaluate the influence of drying temperature on color quality, this study employed a colorimeter to quantify the color shift of Krajood samples dried for 24 h at various temperatures compared to open sun drying. Using CIE $L^*a^*b^*$ coordinate system provided a precise and objective method for color measurement. Within this system, L represents lightness, ranging from 0 (black) to 100 (white). Values of a^* range from - a^* (green) to $+a^*$ (red), indicating variations on the green-red axis. Similarly, b^* values range from - b^* (blue) to $+b^*$ (yellow), reflecting changes on the blue-yellow axis. By measuring these L^* , a^* , and b^* values, the study could assess the impact of drying temperature on the perceived lightness, green-red hue, and blue-yellow hue of the dried Krajood compared to the sun-dried samples.

Moreover, the economic analysis of the HPASD was evaluated using two standard economic methods, namely net present value and payback period. To conduct an economic analysis of the dryer, several key parameters were established based on Thai economic conditions and previous research findings. The solar dryer's lifespan was assumed to be five years, aligned with industry standards. Average inflation rates of 0.5% were derived from the Bank of Thailand's monthly economic report. (Bank of Thailand, 2024) An annual interest rate of 7% was applied. Given the HPASD's low maintenance requirements, maintenance costs and residual value were estimated at 5% of the annual capital cost. Table 1 provides a comprehensive overview of these parameters. When designing the drying system, it is very important to consider the economics. The payback period (PP) depends on the capital (or investment) cost (CC) and profit (PR) according to the following equation (6).

$$PP = \frac{CC}{PR} \quad (6)$$

where the CC consists of the construction material cost and the construction labor cost, the PR is defined as the difference between total sales and expenses. The economic analysis also took into account the net present value (NPV) was also considered for the economic analysis as it is the difference between the value of cash inflow and the value of cash outflow during a given period. Net present value is used in capital budgeting to analyze the profitability of an investment, which can be calculated from Equation (7)

$$NPV = -C_0 + \sum_{t=1}^T \frac{C}{(1+r)^t} \quad (7)$$

where $-C_0$ is total initial investment costs, C is net cash inflow during the period t , r is the discount rate, t is a number of time periods. A positive net present value means that the projected returns of a project or

investment exceed the expected costs. Typically, an investment of a positive NPV results in a profit, while a negative NPV results in a net loss.

3. Results and Discussion

This section analyzes the experimental results obtained from drying jute using the solar-combined heat pump dryer. The goal is to identify the most suitable drying conditions for producing jute with qualities fit for different end products. Data from various test cases will be compared to determine the optimal drying parameters. Details of the test procedures and corresponding results are presented below.

3.1 Optimal temperature for Krajood drying kinetics

The experiments were conducted over a period of 24 h each (or any specific duration that applies) during the rainy season in southern Thailand, between December 2023 and March 2024. Solar radiation ranged from 90 W/m² to 910 W/m². Minimum radiation was observed in the morning and evening, while maximum radiation was observed around midday. This case study investigated the effect of drying temperature on the drying performance of Krajood. Three drying temperatures were tested: 45°C, 55°C, and 65°C (Zhou *et al.*, 2022). Open sun drying was also included as a comparison point. The experiments were conducted during a period of solar energy availability, from 9:00 AM to 5:00 PM (8 h). A data logger recorded

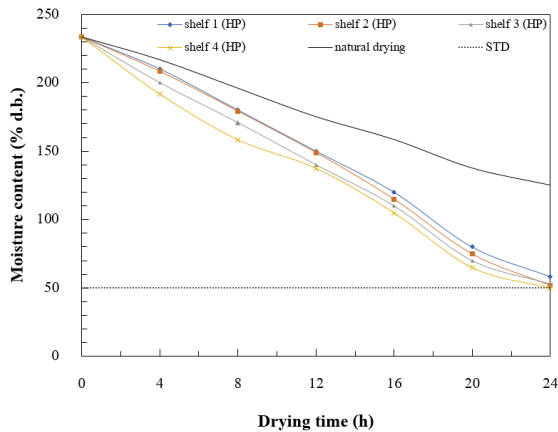
moisture content readings every 10 minutes. After drying, the final moisture content of the Krajood samples was conducted to compared with the standard moisture content of commercial Krajood, which is 50% (dry basis).

The moisture contents at different drying temperatures were shown in Figure 3. The moisture content of the Krajood samples varied depending on the shelf position under the drying temperature in the initial state of the drying process (during 12 h). It was indicated that the top shelf (shelf 1) generally exhibited higher moisture content compared to the lower shelf (shelf 4). This suggested that the weight of water evaporated from the product was greater on the top shelf. The reason for this result could be that heating sources in dryers, such as heating elements or air vents, may not distribute heat evenly throughout the drying chamber. Top shelves might receive more direct heat, leading to faster initial moisture removal and potentially lower final moisture content compared to lower shelves as shown in Figure 2. Even with a modest temperature difference of about 3°C between the top (T_1) and bottom (T_3) of the drying chamber (Figure 3a), the final MC of the dried Krajood exhibited minimal variation. The maximum difference observed was only 10% (dry basis) at a drying temperature of 45°C. Notably, the final MCs at other drying temperatures were all lower than the standard moisture content of commercial Krajood products.

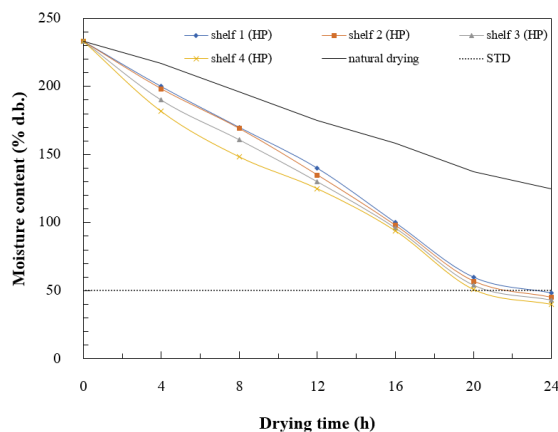
Table 1 Summary of parameters for economic analysis of the HPASD

S/n	Parameters	Value
1	Capital investment cost	62,500 THB
2	Maintenance cost 5% of annual capital cost	5% of annual capital cost
3	Salvage value	5% of annual capital cost
4	Inflation rate	0.5%
5	Dryer life span	5 years
6	Cost of fresh Krajood	50 THB/kg
7	Selling price of the dried Krajood	500 THB/kg
8	Interest rate	7%
9	Dryer drying capacity	5 kg/batch/day
10	Cost for electricity	4.5 THB/kWh

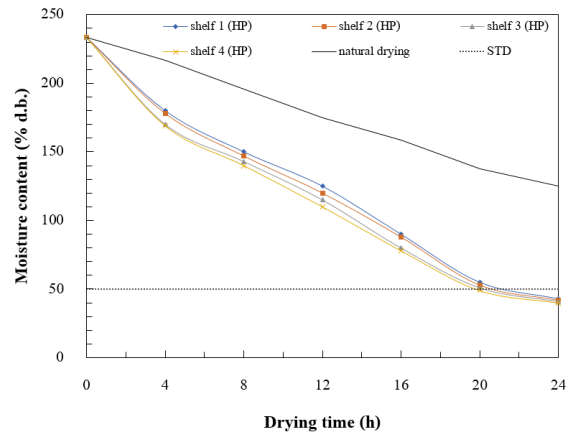
Therefore, Krajoood drying times decreased with increasing drying temperature, reaching the desired moisture content in 24, 22, and 21 h at 45°C, 55°C, and 65°C, respectively. The drying trend matched the previous works (Naemsai *et al.*, 2019; EL-Mesery *et al.*, 2022; Zhou *et al.*, 2022). Furthermore, all drying temperature conditions provided the faster drying time than the that of open sun condition, as depicted in Figure 3. The HPASD demonstrated promising results as an alternative to open sun drying for Krajoood. However, to definitively establish its superior performance, a detailed analysis of the drying efficiency is necessary.



(a)



(b)



(c)

Figure 3 The moisture contents at different drying temperatures (a) 45 °C (b) 55°C and (c) 65 °C

The energy analysis focused on drying efficiency and energy consumption at different drying temperatures. The experiment revealed that controlling the drying temperature at 5 °C yielded the most favorable outcome: a drying efficiency of 2.67 kWh/kg and the lowest energy consumption of 22.13%. This is likely due to the balance between achieving sufficient drying power and minimizing energy expenditure. The surrounding environment, with a relative humidity of 70 % and an average solar radiation of 550 W/m² (cloudy day), also plays a role in the dehumidification process, which requires additional energy input. Interestingly, while controlling the temperature at 45°C resulted in slightly lower drying efficiency (higher energy consumption at 2.72 kWh/kg), 55°C emerged as the optimal control temperature for this HPASD system as shown in Table 2. Compared with related works, the thermal efficiency of HPASD with heat recovery system was 22.13%, which is consistent with the result range studied in the literature and is desirable: 15-30% (Rulazi *et al.*, 2024) due to the different products and the higher Drying temperature generated by the combination of heat pump and solar collector. Moreover, HPASDs generally exhibit superior drying efficiency compared to SAHPDs (Yu *et al.*, 2024; Loemba *et al.*, 2024) due to the more stable heating process directly generated by the heat pump, which is independent of intermittent renewable energy sources.

Table 2 Drying performance at the different temperatures

Drying temperature (°C)	SEC (kWh/kg)	Drying efficiency (%)	Drying time (h)
45	2.72	18.92	24.0
55	2.67	22.13	22.0
65	2.85	20.09	21.0

The analysis of CIE Lab* coordinates revealed a color difference between Krajood samples dried using HPASD (55°C) and open sun methods. At the optimal temperature, HPASD resulted in a lighter ($L = 45.56$), less red ($a = 48.45$), and more yellow ($b = 16.12$)* sample compared to the open sun dried sample ($L^* = 40.66$, $a^* = 37.75$, $b^* = 10.15$). This indicates that HPASD can potentially produce Krajood with a color that better aligns with commercial requirements for lightness, redness, and yellowness, especially when considering the desired standard moisture content (MC).

3.2 Economic analysis

The total initial capital investment for the HPASD system, including material costs for fabrication, was approximately 62,500 THB (details in Table 1). This value was used to calculate the economic feasibility of the system for drying Krajood. Southern Thailand experiences high global horizontal radiation, ranging from 400-1100 W/m², with sunshine hours varying throughout the year. Notably, even during the rainy season with as low as 5 sunshine hours, the HPASD can function due to its ability to operate independently of direct sunlight. For this study, we assumed 300 operating days per year, allocating the remaining days for dryer maintenance. Ten kilograms of fresh Krajood were loaded into the dryer for consecutive days, resulting in a dried product weight of approximately 5.3 kg per batch. Table 1 summarizes the key parameters used in the economic analysis. Based on these values, the estimated income stream is 18,000 THB/month, while the expense stream is 9,050 THB/month. Using these Equations 6 and 7, the Net Present Value (NPV) is estimated at 27,890 THB and the payback period is calculated to be 2.9 years, and This means it takes 3 years to recover the initial investment of 62,500 THB

from the HAHPD for tomatoes and 2.9 years. Hence, this study investigated the potential profitability of utilizing Heat Pump Assisted Solar Drying (HPASD) for Krajood compared to conventional drying methods. Our findings suggest that HPASD drying offers a potentially superior economic proposition based on a comprehensive life-cycle cost assessment (Rulazi *et al.*, 2024). Notably, the payback period for HPASD in Krajood drying is demonstrably shorter than the 5-year period reported by Qiu *et al.* (2016) for drying radishes, peppers, and mushrooms using a heat recovery and thermal HPASD system. In the aforementioned study by Qiu *et al.* (2016), 10 kg each of radish, pepper, and mushroom were dried using a heat recovery and thermal storage HPASD system. The payback periods reported for radish, pepper, and mushroom were 6 years, 4 years, and 2 years, respectively. In comparison, our study demonstrates a significantly shorter payback period for Krajood drying using HPASD. Since this payback period falls within the typical lifespan of a solar dryer (approximately 5 years), HPASD emerges as an economically attractive proposition for Krajood drying applications.

4. Conclusion

This study presents the design, fabrication, and performance testing of a prototype Heat Pump Assisted Solar Dryer (HPASD) specifically for drying Krajood. A comprehensive techno-economic analysis was conducted to assess the viability of this approach. The optimal drying temperature for Krajood using HPASD was established as 55°C, balancing energy efficiency with product quality. The performance of the HPASD was evaluated using Specific Energy Consumption (SEC) and thermal efficiency, resulting in values of 2.67 kWh/kg and 22.13%, respectively. Drying

time to achieve the final moisture content in Krajoood was 22 ho. Notably, open sun drying of Krajoood typically requires 24 h or 3 days, highlighting the potential time savings offered by HPASD. The techno-economic analysis employed Net Present Value (*NPV*) and payback period (*PP*) calculations over a 5-year lifespan, representing the assumed operational life of the dryer before replacement. The analysis revealed significant economic benefits compared to the initial investment cost. The payback period for Krajoood drying (2.9 years) aligns well with findings from previous studies. These results demonstrate the economic feasibility of HPASD for Krajoood drying, suggesting its potential to reduce postharvest losses, particularly in developing countries. Further research is warranted to explore the applicability of HPASD for large-scale drying of commercial Krajoood products. While Krajoood was once considered a weed, its value as an export commodity has seen a remarkable transformation. Investigating the suitability of HPASD for high-volume commercial applications holds significant promise for this increasingly valuable crop.

5. Acknowledgment

The authors would like to thank Thailand Science Research and Innovation (research grant code: 66A171000025) for financial support during this work and Rajamangala University of Technology Srivijaya (RMUTSV), Thailand.

6. References

- Bank of Thailand. 2024. **Bank of Thailand**. Available Source: <https://tradingeconomics.com/thailand/inflation-cpi>, May 1, 2024.
- Community development department. 2024. **Otop today: Krajoood product**. Available Source: <https://www.otop today .com/index.php>, April 27, 2024.
- Deymi-Dashtebayaz, M., Abadi, M.K., Asadi, M. Khutomaya, J. and Sergienko, O. 2024. Investigation of a new solar-wind energy-based heat pump dryer for food waste drying based on different weather conditions. **Energy** 290: 130328.
- Do, T.X., Lim, Y., Cho, H., Shim, J., Yoo, J., Rho, K., Choi, S.G., Park, C. and Park, B.Y. 2018. Techno-economic analysis of fry-drying and torrefaction plant for bio-solid fuel production. **Renewable Energy** 119: 45-53.
- EL-Mesery, H.S., EL-seesy, A.I., Hu, Z. and Li, Y. 2022. Recent developments in solar drying technology of food and agricultural products: A review. **Renewable and Sustainable Energy Reviews** 157: 112070.
- Loemba, A.B.T., Kichonge, B. and Kivevele, T. 2024. Thermal Performance and Technoeconomic Analysis of Solar-Assisted Heat Pump Dryer Integrated with Energy Storage Materials for Drying Cavendish Banana (*Musa acuminata*). **Journal of Food Processing and Preservation** 2024(1): 7496826.
- Masud, M.H., Ananno, A.A., Ahmed, N., Dabnichki, P. and. Salehin. K.N. 2020. Experimental investigation of a novel waste heat based food drying system. **Journal of Food Engineering** 281: 110002.
- Naemsai, T., Jareanjit, J. and Thongkaew, K. 2019. Experimental investigation of solar-assisted heat pump dryer with heat recovery for the drying of Krajoood peppers. **Journal of Food Process Engineering** 42: e13193.
- Qiu, Y., Li, M., Hassanien, R.H., Wang, Y., Luo, X. and Yu, Q. 2016. Performance and operation mode analysis of a heat recovery and thermal storage solar-assisted heat pump drying system. **Solar Energy** 137: 225-235.
- Rulazi, E.L., Marwa, J., Kichonge, B. and Kivevele, T.T. 2024. Techno-economic analysis of a solarassisted heat pump dryer for drying agricultural products. **Food Science & Nutrition** 12: 952-970.
- Sabarez, H. 2020. **Advanced Drying Technologies of Relevance in the Food Industry**. Elsevier Inc., Netherlands.

- Sompoangeon, S. and Kongsom, W. 2021. Ecological Design in the Case Study of the Contemporary Lamp from Krajood Residue. **Journal of Fine and Applied Arts Khon Kaen University** 13(2): 148-174.
- Yu, M., Zou, L. and Yu, J. 2024. Experimental investigation on the drying characteristics in a solar assisted ejector enhanced heat pump dryer system. **Solar Energy** 267: 112265.
- Zhou, J., Zeng, C., Wang, Z.W., Lyu, Y., Tang, D., Jia, W. and Yuan, Y. 2022. Indirect expansion solar assisted heat pump system: A review. **Sustainable Energy Technologies and Assessments** 5: 102409.



Research Article

การย่อยสลายมูลจิ้งหรีดต่อแก๊สแอมโมเนียและคาร์บอนไดออกไซด์ Cricket Frass Decomposition of Ammonia and Carbon Dioxide Emission

ศราวุธ แสนคำ นันทวัฒน์ บุตรวงศ์ และ โสภา แคนสี *

Sarawut Saenkham, Nuntawat Butwong and Sopa Cansee *

สาขาวิศวกรรมเครื่องกล คณะวิศวกรรมศาสตร์ มหาวิทยาลัยมหาสารคาม อำเภอกันทรวิชัย จังหวัดมหาสารคาม 44150
Mechanical Engineering, Faculty of Engineering, Mahasarakham University, Kantharawichai, Maha Sarakham 44150, Thailand.

ABSTRACT

Article history:

Received: 2023-09-20

Revised: 2024-02-29

Accepted: 2024-04-05

Keywords:

cricket frass;
decomposition rate;
ammonia;
carbon dioxide

Cricket frass in ponds is a waste that continually accumulates, potentially affecting the quantity and quality of cricket farming. This research aims to study the factors of temperature (28, 35, and 40 °C), moisture content (20, 25, and 30%w.b.), and cricket frass (4.17, 8.68, and 12.86 kg/m²) affecting decomposition, NH₃, and CO₂. A fractional factorial experiment planned with 15 treatments, each condition repeated three times, was conducted in a temperature-controlled sample box measuring 0.40 meters in width, 0.60 meters in length, and 0.37 meters in height. New cricket frass was prepared after harvesting and cleaning, with moisture content levels adjusted as needed. The bio decomposition test involved sampling cricket frass according to specified moisture content levels, placing 15-gram samples in aluminum containers, packing them in temperature-controlled sample boxes under 15 conditions with 18 samples per box, and removing them weekly for 6 weeks to determine dry weight (without returning the samples). NH₃ and CO₂ were tested under temperature and moisture content conditions corresponding to cricket frass quantity. Gas production was recorded daily for 42 days. Decomposition rate, NH₃, and CO₂ were analyzed statistically, along with their relationship to the test factors. The results revealed that NH₃ was primarily found at the bottom of the pond, whereas CO₂ was distributed throughout the experimental pond. Decomposition was more pronounced in the high-factor level group compared to the medium and low-level groups. Over the six-week test period, cricket frass mass decreased by approximately 10% compared to the initial mass. NH₃ and CO₂ behavior indicated that NH₃ generation peaked quickly, reaching a maximum value of 90-63 ppm between days 2 and 7 before gradually decreasing until the end of the experiment. CO₂ production peaked rapidly within 1-3 days, reaching a maximum value between 1050-960 ppm, followed by a rapid decline until stabilizing at a level similar to atmospheric levels. Therefore, at low factor levels, low decomposition results in low values of both NH₃ and CO₂, making them suitable for cricket farming conditions.

* Corresponding author.

E-mail address: sopa.c@msu.ac.th

Cite this article as:

Saenkham, S., Butwong, N. and Cansee, S. 2025. Cricket Frass Decomposition of Ammonia and Carbon Dioxide Emission. **Recent Science and Technology** 17(1): 260490.

บทคัดย่อ

มูลจิ้งหรีดในบ่อเลี้ยงเป็นของเสียที่สะสมต่อเนื่อง ซึ่งสามารถส่งผลกระทบต่อปริมาณและคุณภาพของการเลี้ยงจิ้งหรีดได้ งานวิจัยนี้มีวัตถุประสงค์เพื่อศึกษาปัจจัยอุณหภูมิ (28 35 และ 40 °C) ความชื้น (20 25 และ 30% w.b.) และมูลจิ้งหรีด (4.17 8.68 และ 12.86 kg/m²) ที่มีผลต่อการย่อยสลาย แอมโมเนีย (NH₃) และแก๊สคาร์บอนไดออกไซด์ (CO₂) วางแผนการทดลองแฟกทอเรียลบางส่วน จำนวน 15 เงื่อนไข เงื่อนไขละ 3 ซ้ำ ทดสอบในกล่องตัวอย่างควบคุมอุณหภูมิได้ ความกว้าง ความยาว และความสูงเป็น 0.40 0.60 และ 0.37 m ตามลำดับ การเตรียมมูลจิ้งหรีดใหม่หลังเก็บเกี่ยวผลผลิตแล้วทำความสะอาด ความชื้นและปรับระดับความชื้นตามต้องการ วิธีการทดสอบการย่อยสลาย สุ่มตัวอย่างมูลจิ้งหรีดตามความชื้นที่กำหนดบรรจุภาชนะอลูมิเนียมตัวอย่างละ 15 กรัม ใส่ในกล่องตัวอย่างควบคุมอุณหภูมิจำนวน 15 เงื่อนไข กล่องละ 18 ตัวอย่าง และนำออกมาเพื่อหาน้ำหนักแห้ง (ไม่ใส่ดิน) ทุกสัปดาห์ เป็นเวลานาน 6 สัปดาห์ ส่วน NH₃ และ CO₂ นำตัวอย่างมูลจิ้งหรีดที่มีความชื้นและปริมาณตามกำหนด บรรจุในกล่องตัวอย่าง วัดปริมาณแก๊สที่เกิดขึ้นทุก ๆ วัน เป็นเวลานาน 42 วัน ค่าอัตราการย่อยสลาย NH₃ และ CO₂ วิเคราะห์สถิติ และความสัมพันธ์กับปัจจัยทดสอบ ผลการวิจัยพบว่า NH₃ พบได้ที่ตำแหน่งพื้นล่างของบ่อ แต่ CO₂ จะพบที่ทุกตำแหน่งในบ่อทดลอง การย่อยสลายของกลุ่มระดับปัจจัยสูงมีมากกว่าระดับปานกลาง และกลุ่มระดับต่ำ ระยะเวลาการทดสอบจำนวน 6 สัปดาห์ มวลของมูลจิ้งหรีดลดลงประมาณ 10% เปรียบเทียบกับมวลเริ่มต้น NH₃ และ CO₂ ที่เกิดขึ้นนั้นตลอด 42 วัน พบว่า พฤติกรรมในการเกิด NH₃ จะเกิดขึ้นในปริมาณสูงอย่างรวดเร็วในช่วง 2-7 วัน มีค่าสูงสุด 90-63 ppm หลังจากนั้นจึงมีปริมาณค่อย ๆ ลดลงจนสิ้นสุดการทดลอง ส่วน CO₂ จะเกิดขึ้นอย่างรวดเร็วในช่วง 1-3 วัน มีค่าสูงสุดในช่วง 1050-960 ppm หลังจากนั้นจะลดลงอย่างรวดเร็ว และมีค่าใกล้เคียงกับปริมาณอากาศ ดังนั้นที่ระดับปัจจัยต่ำ การย่อยสลายต่ำจะทำให้ NH₃ และ CO₂ มีค่าน้อยจึงเหมาะสมกับสภาพการเลี้ยงจิ้งหรีด

คำสำคัญ: มูลจิ้งหรีด, อัตราการย่อยสลาย, แอมโมเนีย, แก๊สคาร์บอนไดออกไซด์

1. บทนำ

จิ้งหรีดเป็นแหล่งอาหารทางเลือกใหม่ มีคุณค่าทางโภชนาสูง มีโปรตีนสูงถึง 12.9% ใกล้เคียงกับโปรตีนในไก่ไข่ 12.7% (Halloran *et al.*, 2017) อีกทั้งจิ้งหรีดมีวงจรชีวิตสั้น เลี้ยงง่าย โตเร็ว เหมาะเป็นแหล่งอาหารทดแทนได้ (Rumpold and Schluter, 2013; Van Huis, 2020; Magara *et al.*, 2021) เกษตรกรของประเทศไทยทำฟาร์มจิ้งหรีดกว่า 20,000 ฟาร์ม กระจายอยู่ 26 จังหวัด ในพื้นที่ภาคตะวันออกเฉียงเหนือ ภาคเหนือ และภาคตะวันออก มีกำลังการผลิตสูงถึง 7,500 ตันต่อปี (Hanboonsong *et al.*, 2013) เกษตรกรนิยมเลี้ยงจิ้งหรีดในบ่ออียิปต์ขนาด 2.88 m² ด้วยอาหารสำเร็จรูปและอาหารเสริมจากพืชผักในท้องถิ่นหลากหลายชนิด (Vaga *et al.*, 2021) พืชผักความชื้นสูงจะทำให้เป็นกากอาหาร (Ssepuyaya *et al.*, 2021) และเป็นของเสียรวมทั้งซากจิ้งหรีด และมูลจิ้งหรีดสะสมภายในบ่อเลี้ยง การย่อยสลายของเสียนั้นอาจทำให้เกิดแก๊สพิษมากจึงเป็นสาเหตุทำให้จิ้งหรีดตาย (Nischalke *et al.*, 2020) หรืออ่อนแอ การกินอาหารลดลง ผลผลิตลดลง (Alarefee *et al.*, 2023) ทำให้ผลผลิตที่ได้มีความแปรปรวน (Ruangsuriya, 2010; Phoset and Thitkun, 2022)

มูลจิ้งหรีดอุดมไปด้วยสารอาหารสำคัญของพืช (Beesigamukama *et al.*, 2022) ซึ่ง Yaemkong *et al.* (2022) รายงาน *Acheta domesticus* (4.375%N, 2.97%P, และ 2.37%K) Halloran *et al.* (2017) รายงาน *Gryllus bimaculatus* (2.58%N, 1.55%P, และ 1.78%K) และ

Acheta domesticus (2.27%N, 2.02%P, และ 2.26%K) และ Treelokes (2013) รายงาน (2.4%N, 1.1%P, และ 2.6%K) มูลจิ้งหรีดเป็นอินทรีย์วัตถุที่จุลินทรีย์ย่อยสลาย เปลี่ยนเป็นแก๊สแอมโมเนีย (NH₃) และแก๊สคาร์บอนไดออกไซด์ (CO₂) (Ritz *et al.*, 2004; Brahushi *et al.*, 2013) เมื่ออุณหภูมิและความชื้นเหมาะสมเกิดเป็นแก๊สพิษ (Kristensen and Wathes, 2000) การศึกษาวิจัยการย่อยสลายมูลของแมลงที่ปรากฏส่วนใหญ่มุ่งประโยชน์ปรับปรุงดินเพื่อการเจริญเติบโตของพืช (Frost and Hunter, 2004; Kagata and Ohgushi, 2012; Kagata and Ohgushi, 2013; Zahn and Quilliam, 2017) และศึกษาการปลดปล่อย NH₃ และ CO₂ พบได้ในฟาร์มปศุสัตว์ (Mustin, 1987; Paillat *et al.*, 2005) มูลสัตว์ปีกและมูลสุกร (Ritz *et al.*, 2004; Ni *et al.*, 2010; Meda *et al.*, 2011; Zhu *et al.*, 2020)

ขณะที่ผลของ CO₂ ต่อชีววิทยาของแมลงทำให้ขาดออกซิเจน เพิ่มอัตราการเสียชีวิตได้ (Birkenmeyer and Dame, 1970) ลดการผสมพันธุ์ลง (Green *et al.*, 1967) ชะลอการเติบโต (Edwards and Patton, 1965) ลดน้ำหนักไข่ เปลี่ยนแปลงพฤติกรรม (Van Dijken *et al.*, 1977) จึงส่งผลกระทบต่อสุขภาพ และผลผลิตลดลง Woodring *et al.* (1978) รายงานผลกระทบของ CO₂ และภาวะการขาดออกซิเจนต่อการกินอาหาร การเจริญเติบโตการเผาผลาญ ความสมดุลของน้ำ และองค์ประกอบเลือดของตัวอ่อนจิ้งหรีด *Acheta domesticus* การกินอาหารโดยรวมลดลง

ประสิทธิภาพของการเปลี่ยนอาหารเป็นน้ำหนักตัวลดลง ค่า pH ในเลือดลดลง และการได้รับไนโตรเจนทำให้หายใจไม่ออกเกิดภาวะขาดออกซิเจนทันที

การทบทวนงานวิจัยดังกล่าวข้างต้นพบว่า มูลจิ้งหรีดเป็นอินทรีย์วัตถุที่มีธาตุ N P และ K สูง สามารถย่อยสลายเป็น NH_3 และ CO_2 ส่งผลต่อผลผลิตของจิ้งหรีดได้ แต่ยังไม่พบการศึกษาปัจจัยการย่อยสลายมูลจิ้งหรีดและการเกิดแก๊สในขอบเขตของการเลี้ยงจิ้งหรีดของเกษตรกร งานวิจัยนี้มีวัตถุประสงค์เพื่อศึกษาปัจจัยที่มีผลต่อการย่อยสลายมูลจิ้งหรีด การเกิด NH_3 และ CO_2 ในบ่อเลี้ยงจิ้งหรีด และความสัมพันธ์ของการย่อยสลายต่อการเกิดแก๊สทั้งสอง

2. วิธีดำเนินการวิจัย

2.1 วัสดุ อุปกรณ์การศึกษา

กล่องตัวอย่างพลาสติกขนาดความกว้าง ความยาวและความสูงเป็น 0.40, 0.60, และ 0.37 m ตามลำดับ เป็นขนาดย่อยส่วนจากบ่อเลี้ยงโดยทั่วไป 1 ต่อ 10 ติดตั้งเครื่องมือวัดและควบคุมอุณหภูมิด้วยหลอดไฟ ขนาด 100 วัตต์ จำนวน 2 หลอด ถูกติดตั้งด้านบนฝากล่องเพื่อกำหนดระดับอุณหภูมิ และบนฝากล่องปิดมีช่องระบายอากาศเล็กน้อยเพื่อไม่ให้เกิดการสะสมของไอน้ำมากเกินไป แสดงดัง Figure 1



Figure 1 Experimental sample box to study the degradation and generation of NH_3 and CO_2

เครื่องมือวัดแก๊สแอมโมเนียในบรรยากาศ Smart sensor model AR8500 ซึ่งมีระดับการวัดได้ที่ 0.0-99.9 ppm ซึ่งมีความแม่นยำ $\pm 2\%$ และเครื่องมือวัดคาร์บอนไดออกไซด์ EXTECH CO260 gas meter มีระดับ

การวัดได้ที่ 0-9,999 ppm ซึ่งมีความแม่นยำ 170 ppm ต่อ 3 เปอร์เซ็นต์

2.2 การเตรียมตัวอย่าง

การเตรียมตัวอย่างมูลจิ้งหรีดเพื่อทดสอบการย่อยสลาย การเกิด NH_3 และ CO_2 ด้วยน้ำหนักของเสียจากบ่อเลี้ยงจิ้งหรีดของเกษตรกรบ้านอ้งอี อำเภอยางตลาด จังหวัดกาฬสินธุ์ ที่เพิ่งเก็บผลผลิต ทำความสะอาดด้วยการร่อนเศษพืช และซากของจิ้งหรีดออก แล้วสุ่มตัวอย่างเพื่อหาความชื้นด้วยการอบแห้งที่อุณหภูมิ 105 °C เป็นเวลา 72 ชั่วโมง และคำนวณหาความชื้น (Kiriratnikom *et al.*, 2016) ตามสมการที่ (1) และความชื้นที่ได้เป็นค่าเริ่มต้น และทำการผสมเติมน้ำเข้าไปเพื่อให้ได้ความชื้นตัวอย่างของปัจจัยตามต้องการ

$$M_w(\%) = \frac{(w-d)}{w} \times 100 \quad (1)$$

โดยที่

M_w	=	ความชื้นมาตรฐานเปียก (%w.b.)
w	=	น้ำหนักวัสดุเริ่มต้น (g)
d	=	น้ำหนักวัสดุแห้ง (g)

2.3 การกำหนดปัจจัยและระดับของปัจจัย

จากการสำรวจข้อมูลฟาร์มเลี้ยงจิ้งหรีดพบผลผลิตที่ได้มีความแปรปรวนขึ้นกับฤดูกาลหรือสภาพอากาศและกรมอุตุนิยมวิทยาสถานี จังหวัดมหาสารคาม 2566 พบว่าอุณหภูมิมีค่าระหว่าง 22 ถึง 40 °C แต่การทดลองนี้อยู่ในช่วงเดือน พฤศจิกายน-ธันวาคม จึงกำหนดอุณหภูมิต่ำสุดตามสภาพแวดล้อมมีค่าประมาณ 28 °C ปัจจัยความชื้นของมูลจิ้งหรีดได้สุ่มตัวอย่างจากหลายฟาร์มของเกษตรกรที่มีการเลี้ยงจิ้งหรีดแตกต่างกันทำให้ทราบความชื้นของมูลจิ้งหรีดต่ำ 20 %w.b. ที่เลี้ยงจิ้งหรีดด้วยอาหารสำเร็จรูป และความชื้นสูง 30 %w.b. จากฟาร์มที่เลี้ยงจิ้งหรีดด้วยอาหารสำเร็จรูปและเสริมด้วยพืชผัก และมีการตายหรือซากของจิ้งหรีดสูงด้วย ขณะที่ปัจจัยของเสียในบ่อเลี้ยงแบบยิปซัมบอร์ดมีจำนวน 12-36 kg ขึ้นกับจำนวนผลผลิตและอาหารที่ใช้เลี้ยงจิ้งหรีด ทั้งนี้เมื่อคำนวณต่อพื้นที่จะได้ 4.17-12.86 kg/m² ดังนั้นจากปัจจัยช่วงอุณหภูมิ ความชื้น และมูลจิ้งหรีด จึงกำหนดระดับของปัจจัยตำแหน่งกลางเพิ่มอีกหนึ่งค่าระดับทำให้ปัจจัยของอุณหภูมิ (28 35 และ 40 °C) ความชื้น (20 25 และ 30%w.b.) และมูลจิ้งหรีด (4.17, 8.68 และ 12.86 kg/m²) และเรียกกระดุมขบถกลางและบนของปัจจัยว่า ต่ำ กลาง

Table 1 Experimental planning of fractional factorial design

Treatment No.	Temperature (°C)	Moisture content (%w.b.)	Cricket frass kg/m ²
1	28	20	4.17
2	28	25	8.68
3	28	25	12.86
4	28	30	4.17
5	28	30	12.86
6	35	20	4.17
7	35	20	12.86
8	35	25	8.68
9	35	30	4.17
10	35	30	12.86
11	40	20	4.17
12	40	20	12.86
13	40	25	4.17
14	40	25	8.68
15	40	30	12.86

และสูง ตามลำดับ (Connor and Zelen, 1959) ปัจจัยและระดับของปัจจัยนี้ได้ออกแบบการทดลองแฟกทอเรียลบางส่วน (Fractional factorial design) จำนวน 15 เงื่อนไขเงื่อนไขละ 3 ซ้ำ รายละเอียดดังแสดงใน Table 1 ซึ่งจัดกลุ่มของปัจจัยดังกล่าวแบ่งเป็น กลุ่มปัจจัยต่ำ (Low level factor group) ได้แก่ ทรีตเมนต์ที่ 1 4 6 และ 11 กลุ่มปัจจัยสูง (High level factor group) ได้แก่ ทรีตเมนต์ที่ 5 10 12 และ 15 และทรีตเมนต์ที่เหลือเป็นกลุ่มปัจจัยระดับกลาง (Moderate level factor group)

2.4. การศึกษาการย่อยสลายของมูลจิ้งหรีด

นำมูลจิ้งหรีดเตรียมไว้ปรับความชื้นตามต้องการใส่ภาชนะอลูมิเนียมอย่างละ 15 กรัม บรรจุในกล่องพลาสติก กล่องละ 18 ตัวอย่าง ตามเงื่อนไข (15 เงื่อนไข) เป็นจำนวน 270 ตัวอย่าง ปิดฝากล่องพลาสติกและควบคุมอุณหภูมิ นำตัวอย่างมูลจิ้งหรีดในภาชนะอลูมิเนียมของแต่ละเงื่อนไขหาน้ำหนักแห้งที่เปลี่ยนไป จำนวน 3 ตัวอย่าง ทุกสัปดาห์โดยไม่ใส่กลับคืน ทดสอบซ้ำเป็นเวลานาน 6 สัปดาห์ นำข้อมูลเพื่อไปประเมินอัตราการย่อยสลายคำนวณอัตราการย่อยสลาย จากสมการ Exponential decay model ด้วยวิธีของ (Olson, 1963) ดังสมการที่ 2

$$\frac{X_t}{X_0} = e^{-kt} \quad (2)$$

โดยที่

k	=	ค่าคงที่อัตราการย่อยสลาย
X_t	=	น้ำหนักแห้ง (g) เมื่อเวลา t
X_0	=	น้ำหนักแห้งเริ่มต้น (g)
t	=	ช่วงเวลาการศึกษา (week)

2.5 การศึกษาปริมาณ NH_3 และ CO_2

นำมูลจิ้งหรีดเตรียมไว้ปรับความชื้นตามต้องการแล้วบรรจุใส่กล่องพลาสติกจำนวนกล่องละ 1.0 2.1 และ 3.1 kg สอดคล้องกับขอบเขตมูลจิ้งหรีด 4.17 8.68 12.86 kg/m² ตามลำดับ ปิดฝาและควบคุมอุณหภูมิตามต้องการของแต่ละเงื่อนไข ก่อนวัดแก๊สจะเปิดฝาท่ออย่างทดลองไว้ประมาณ 10 นาที เพื่อให้แก๊สกระจายตัวและมีค่าลดต่ำลง สอดคล้องกับบ่อเลี้ยงจิ้งหรีดที่มีสภาพเปิดอากาศถ่ายเทได้สะดวก ปริมาณแก๊สในบ่อทดลองขึ้นกับตำแหน่งและเวลาของการวัด จึงได้ทดสอบเบื้องต้นก่อนจำนวน 7 วัน ของเงื่อนไข (No.1, No. 8, No.15) เลือกวัดแก๊สวันละครั้งที่เวลาประมาณ 14.00 น. เนื่องจากเป็นช่วงที่มีอุณหภูมิสูงสุดของแต่ละวัน พบว่า NH_3 วัดได้สูงสุดตำแหน่งพื้นล่างของบ่อ แต่ CO_2 จะพบทั่วทุกตำแหน่งในบ่อทดลองจึงเลือกวัดแก๊สในตำแหน่งนั้น ๆ การศึกษา NH_3 และ CO_2 ทดสอบนาน 42 วัน เพื่อให้สอดคล้องกับวงจรการเลี้ยงจิ้งหรีดของเกษตรกรเช่นเดียวกับการย่อยสลาย

2.6 การวิเคราะห์ผลการทดลอง

ปัจจัยของอุณหภูมิ ความชื้นและมูลจิ้งหรีดที่มีผลต่อการย่อยสลาย การเกิด NH_3 และ CO_2 เพื่อสามารถวิเคราะห์ถึงผลกระทบหลัก และผลกระทบของปัจจัยร่วมซึ่งผลที่ได้จะนำมาวิเคราะห์ความแปรปรวน (ANOVA) และเปรียบเทียบความแตกต่างของค่าเฉลี่ยด้วยวิธีของ Duncan โดยโปรแกรม IBM SPSS Statistics 21 ที่ระดับความเชื่อมั่น 0.05 นอกจากนี้การย่อยสลาย การเกิด NH_3 และ CO_2 แต่ละช่วงสัปดาห์ถูกนำเสนอ และปฏิสัมพันธ์ระหว่างค่าชี้ผลนี้ด้วย

3. ผลการวิจัยและวิจารณ์ผล

3.1 การย่อยสลาย การเกิด NH_3 และ CO_2

Table 2 อัตราการคงอยู่ของมวล NH_3 และ CO_2 ปัจจัยหลักอุณหภูมิ ความชื้น และมูลจิ้งหรีด และปฏิสัมพันธ์ระหว่างปัจจัย โดยใช้ข้อมูลจำนวนหนึ่งสัปดาห์มาวิเคราะห์หาค่าเฉลี่ยเนื่องจากค่าชี้ผลนี้จะมีค่าเปลี่ยนแปลงไปในแต่ละช่วงเวลา ดังนั้นจึงเลือกเฉพาะสัปดาห์แรกเนื่องจากมีอัตราสูงสุด จะเห็นได้ว่าค่าชี้ผลมีนัยสำคัญทางสถิติกับทุกปัจจัยหลัก แต่จะมีค่าชี้ผลของค่าคงอยู่ของมูลจิ้งหรีดและ NH_3 ที่ไม่มีนัยสำคัญทางสถิติต่อปฏิสัมพันธ์ของความชื้นและมูลจิ้งหรีด ซึ่งให้เห็นอย่างชัดเจนว่าปัจจัยและระดับปัจจัยที่ศึกษานี้มีนัยสำคัญต่อการย่อยสลาย NH_3 และ CO_2

Table 2 showed two-way ANOVAs for Remaining mass, NH_3 , and CO_2 in the cricket frass

	<i>df</i>	<i>F</i> value	<i>P</i> value
Remaining mass (% of initial)			
Temperature ($^{\circ}\text{C}$)	2	5.522	<0.0090
Moisture content (%)	2	69.701	<0.0001
Cricket frass (kg/m^2)	2	15.014	<0.0001
Temperature $\times$ Moisture content	2	12.876	<0.0001
Temperature $\times$ Cricket frass	2	12.845	<0.0001
Moisture content $\times$ Cricket frass	1	0.973	0.3320
Ammonia (ppm)			
Temperature ($^{\circ}\text{C}$)	2	714.363	<0.0001
Moisture content (%)	2	18415.976	<0.0001
Cricket frass (kg/m^2)	2	775.433	<0.0001
Temperature $\times$ Moisture content	2	26.673	<0.0001
Temperature $\times$ Cricket frass	2	36.518	<0.0001
Moisture content $\times$ Cricket frass	1	0.370	0.5480
Carbon dioxide (ppm)			
Temperature ($^{\circ}\text{C}$)	2	3022.113	<0.0001
Moisture content (%)	2	23759.414	<0.0001
Cricket frass (kg/m^2)	2	28892.047	<0.0001
Temperature $\times$ Moisture content	2	488.408	<0.0001
Temperature $\times$ Cricket frass	2	254.633	<0.0001
Moisture content $\times$ Cricket frass	1	2173.244	<0.0001

Significantly different level ($p < 0.05$) according to Duncan's multiple range test

การย่อยสลายมูลจิ้งหรีดจะเปลี่ยนแปลง Figure 2 พบว่ามูลจิ้งหรีดที่เปลี่ยนแปลงในแต่ละสัปดาห์มีความแตกต่างกันทางสถิติตามระดับของปัจจัย ซึ่งหมายถึงกลุ่มระดับของปัจจัยสูงจะมีค่ามวลที่ลดลง (0.88-1.24 g) มากกว่ากลุ่มของปัจจัยระดับปานกลางและกลุ่มปัจจัยระดับต่ำ สอดคล้องกับการคงอยู่ของมูลจิ้งหรีดเปรียบเทียบกับมวลแห้งเริ่มต้นแสดงใน Figure 3 พบว่าการย่อยสลายเกิดขึ้นสูงในสัปดาห์แรก หลังจากนั้นที่กลุ่มระดับปัจจัยสูงจะลดลงต่อเนื่องจนถึงสัปดาห์ที่ 6 มีค่ามวลคงเหลือ 90%

เปรียบเทียบกับระดับกลุ่มปัจจัยปานกลางและกลุ่มระดับปัจจัยต่ำมีค่ามวลคงเหลือ 94 และ 96 % ตามลำดับ Kagata and Ohgushi (2012) ศึกษาคุณภาพการย่อยของมูลแมลง (*M. brassicae larvae*) ผสมกับดินเป็นเวลา 5 สัปดาห์พบว่าอัตราการย่อยสลายเป็น 35-40% ของมวลเริ่มต้น ซึ่งชี้ให้เห็นว่าสภาพแวดล้อมแตกต่างกัน การผสมในดินจะมีอัตราการย่อยสลายที่รวดเร็วมากเนื่องจากความสามารถและความหลากหลายของจุลินทรีย์ในดินมีมากนั่นเอง

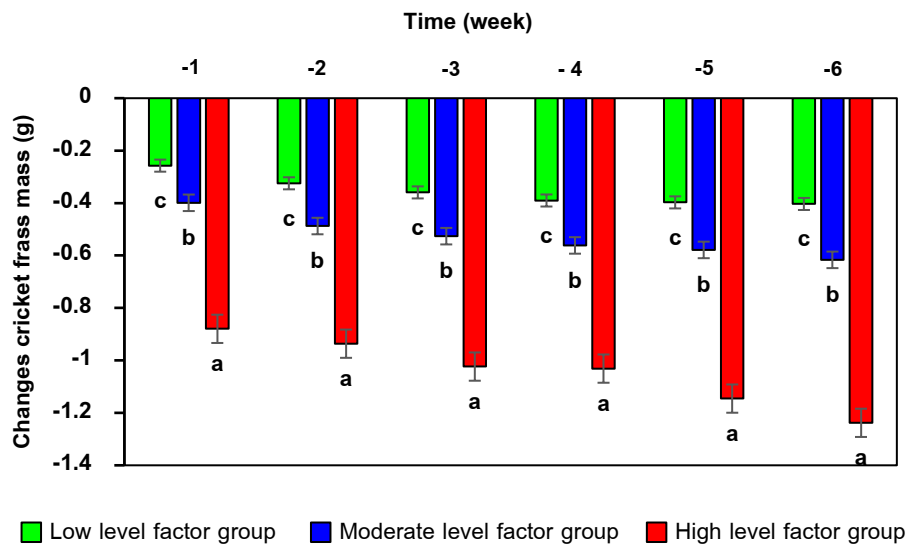


Figure 2 Amount of cricket frass mass changing 6 weeks

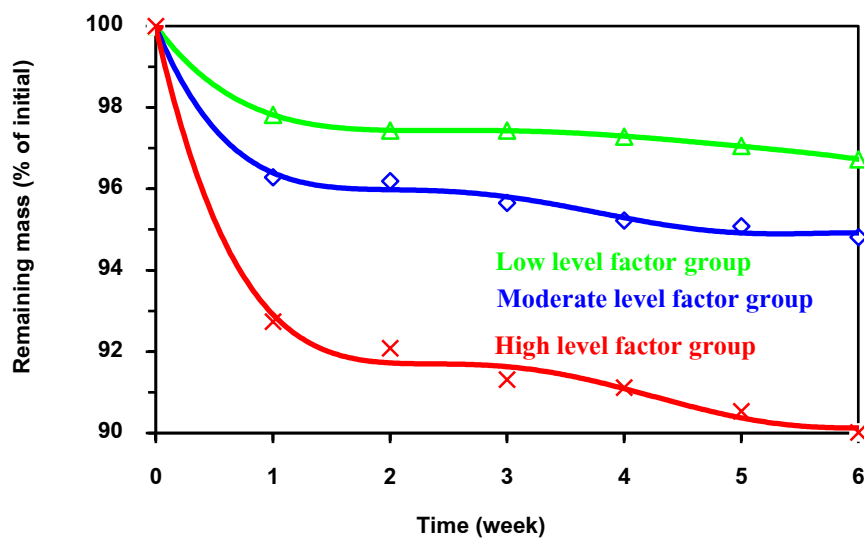


Figure 3 Remaining cricket frass compared with initial mass at various group level factors

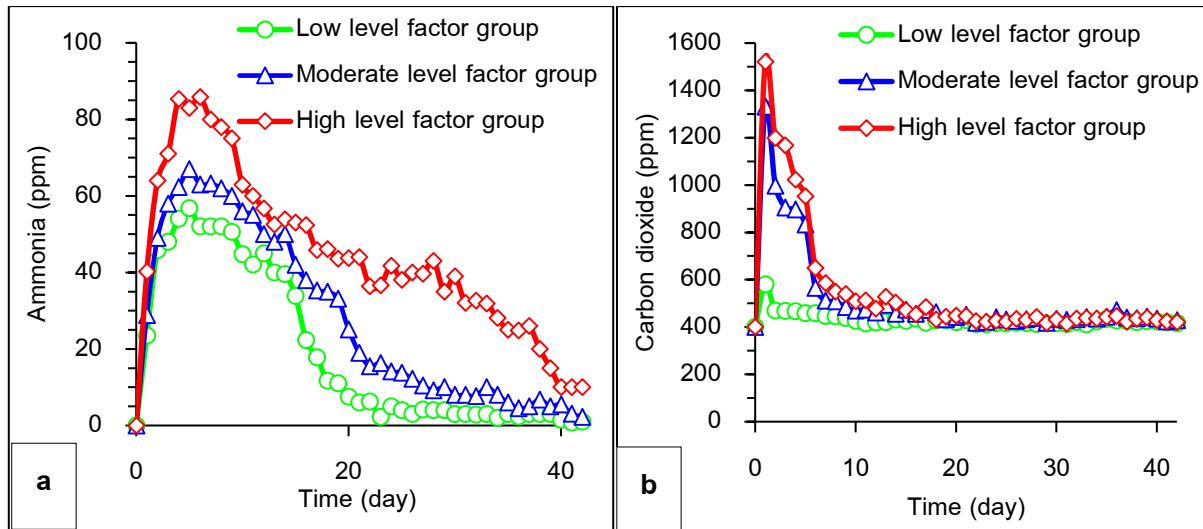


Figure 4 Behavior of NH_3 and CO_2 generation over 42 days (a) NH_3 (b) CO_2

3.2 การเกิด NH_3 และ CO_2

Figure 4a และ Figure 4b เป็นพฤติกรรมการเกิด NH_3 และ CO_2 ตามลำดับ พฤติกรรมของแก๊สทั้งสองจะเพิ่มขึ้นอย่างรวดเร็วและค่อย ๆ ลดลงอย่างต่อเนื่องตลอด 42 วัน อาหารจิ้งหรีดมีปริมาณโปรตีนสูง มูลจิ้งหรีดขับออกรูปกรดยูริก ยูเรียและมีปริมาณไนโตรเจนมาก ตามรายงานของ Yaemkong *et al.* (2022); Halloran *et al.* (2017); Treelokes (2013) มูลจิ้งหรีดได้รับอนุญหมี ความชื้น ทำให้เกิดการไฮโดรไลซิสของยูเรียและกรดยูริกเพื่อสร้าง NH_3 ระเหยสู่บรรยากาศเกิดอย่างรวดเร็วในช่วงวันที่ 2-7 มีค่าในช่วง 60-90 ppm สอดคล้องกับการรายงานของ Olesen and Sommer (1993) NH_3 เกิดขึ้นจากการทำงานของแบคทีเรียบนพื้นฐานของสารไนโตรเจนอินทรีย์เกิดขึ้นอย่างรวดเร็วซึ่งอยู่ในรอบเวลาตั้งแต่ชั่วโมงถึงสองสามวันสามารถคิดเป็นสัดส่วนได้ถึง 35% ของกระบวนการทั้งหมด การเกิด CO_2 (Figure 4b) จะมีปริมาณสูงขึ้นอย่างรวดเร็วในช่วงสั้น ๆ 1-3 วัน หลังจากนั้นก็จะลดลงอย่างรวดเร็ว

เช่นกัน แสดงให้เห็นว่าแก๊สนี้จะมีน้ำหนักใกล้เคียงกับอากาศเพราะเป็นแก๊สของส่วนผสมของอากาศปกติ 400-500 ppm ซึ่งสังเกตจากการวัดที่ตำแหน่งทดสอบจะพบได้ทั่วไปไปทั่วทั้งบ่อทดลอง ปริมาณ CO_2 มากมีค่าระหว่าง 900-1500 ppm และลดลงอย่างรวดเร็ว ดังนั้นจึงทำให้เกิดการสลายรวมกันไปในสภาพอากาศปกติได้ง่าย

NH_3 และ CO_2 ที่เกิดขึ้นรายสัปดาห์ (Figure 5) พบว่า NH_3 เกิดขึ้นต่อเนื่องตลอดเวลาทดสอบ มีปริมาณมากในช่วงสัปดาห์แรก กลุ่มของระดับปัจจัยสูง กลางและต่ำ มีค่า 66 50 และ 44 ppm ตามลำดับ และ ตลอดสัปดาห์ 1-6 NH_3 มีค่าระหว่าง เป็น 66-24, 50-6 และ 44-4 ppm ตามลำดับ ส่วนปริมาณ CO_2 (Figure 5b) มีค่ามากในสัปดาห์แรกระหว่าง 1000 811 และ 475 ppm ของกลุ่มระดับปัจจัยสูง กลางและต่ำ ตามลำดับ และหลังจากนั้น CO_2 มีค่าไม่แตกต่างกัน ซึ่งอาจเป็นไปได้ว่ากระบวนการเกิด CO_2 จากมูลจิ้งหรีดได้สิ้นสุด ปริมาณที่ตรวจพบมีค่าใกล้เคียงกับค่าที่ตรวจพบในอากาศ

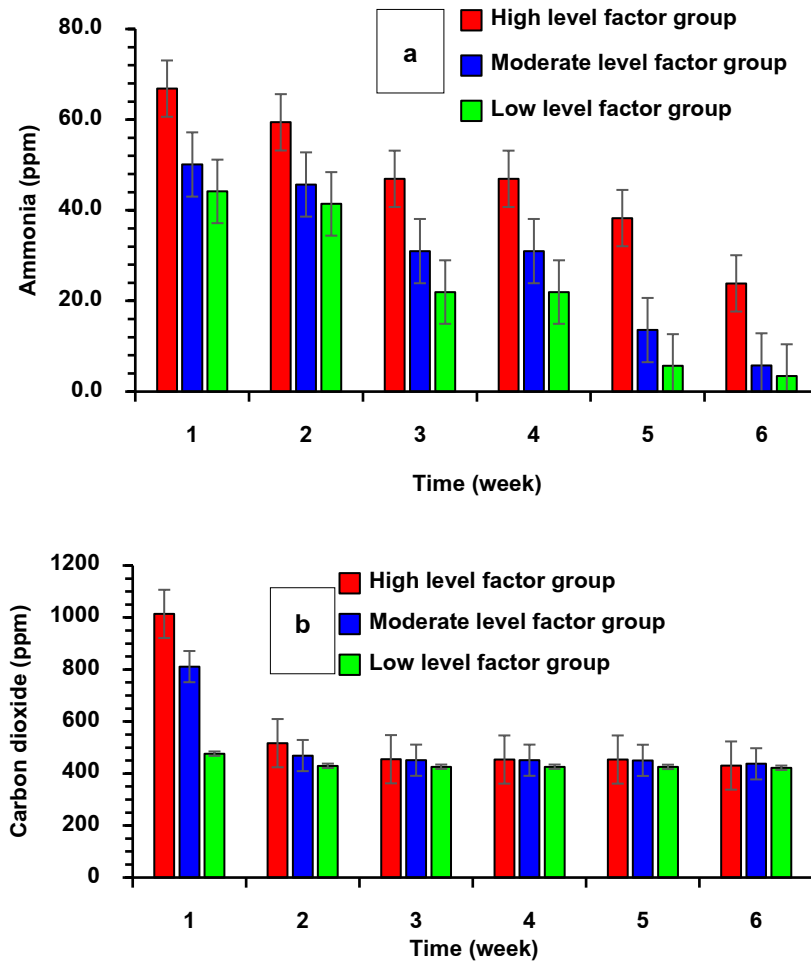


Figure 5 NH_3 and CO_2 gas generation at the time as various group treatment factors (a) NH_3 (b) CO_2

3.3 การย่อยสลายต่อการเกิด NH_3 และ CO_2

Figure 6 แสดงปฏิสัมพันธ์ของค่าคงที่การย่อยสลาย (k) NH_3 และ CO_2 ต่อปัจจัยอุณหภูมิ (Figure 6a) ความชื้น (Figure 6b) และจำนวนมูลจิ้งหรีด (Figure 6c) แสดงความคลาดเคลื่อนและตัวอักษรหมายถึงความแตกต่างทางสถิติ เมื่ออุณหภูมิเพิ่มขึ้นค่า k เปลี่ยนแปลงเล็กน้อยไม่มีความแตกต่างกันทางสถิติ ขณะที่ NH_3 และ CO_2 มีค่าเพิ่มขึ้นตามอุณหภูมิสูงขึ้นในอัตราที่ใกล้เคียงกัน และมีค่าแตกต่างกันทางสถิติตลอดช่วงอุณหภูมิทดสอบระหว่าง 28-40 °C ปัจจัยความชื้นระหว่าง 20-30%w.b. ค่า k มีค่าไม่แตกต่างกันทางสถิติในระดับความชื้นต่ำถึงปานกลาง แต่มีค่าเพิ่มสูงขึ้นอย่างมีนัยสำคัญของระดับความชื้นสูงมีค่า 0.093 ขณะที่ NH_3 และ CO_2 มีปริมาณเพิ่มขึ้นอย่างมีนัยสำคัญตลอดช่วงความชื้นที่ทดสอบ แสดงให้เห็นว่ากระบวนการย่อยสลายยังไม่ตอบสนองกับความชื้นในระดับต่ำถึงปานกลาง แต่ความชื้นทำให้เกิด

แก๊สเพิ่มขึ้นต่อเนื่อง โดยเฉพาะ NH_3 มีอัตราการเพิ่มอย่างรวดเร็วกว่า CO_2 ซึ่งความชื้นของ NH_3 มีค่า 7.80 และ CO_2 มีความชื้น 6.44 และพิจารณาปัจจัยของปริมาณมูลจิ้งหรีดต่อ ค่า k NH_3 และ CO_2 เพิ่มขึ้นในอัตราใกล้เคียงกัน แต่เมื่อมูลจิ้งหรีดมีปริมาณปานกลางถึงระดับสูง ค่า k เพิ่มขึ้นอย่างรวดเร็ว และ CO_2 มีอัตราเพิ่มสูงขึ้นมากกว่า NH_3 อย่างเห็นได้ชัด นอกเหนือจากปัจจัยดังกล่าว การรายงานของ Bernal *et al.* (2009); Chen *et al.* (2020); Alarefee *et al.* (2023) เกี่ยวกับการเกิด NH_3 ขึ้นกับความเข้มข้นของปริมาณไนโตรเจน pH อุณหภูมิ ความเร็วลม กิจกรรมของจุลินทรีย์ พื้นที่ปล่อยก๊าซขนาดใหญ่ พื้นที่และความเร็วลมที่สูง อาจเพิ่มการระเหยของ NH_3 Sommer and Olesen (1991) แสดงให้เห็นว่า NH_3 เพิ่มขึ้นแบบไม่เชิงเส้นกับอุณหภูมิ ความเร็วลม และ pH ของสารละลาย แต่จะเพิ่มขึ้นเชิงเส้นตรงกับความเข้มข้นของปริมาณไนโตรเจนรวม

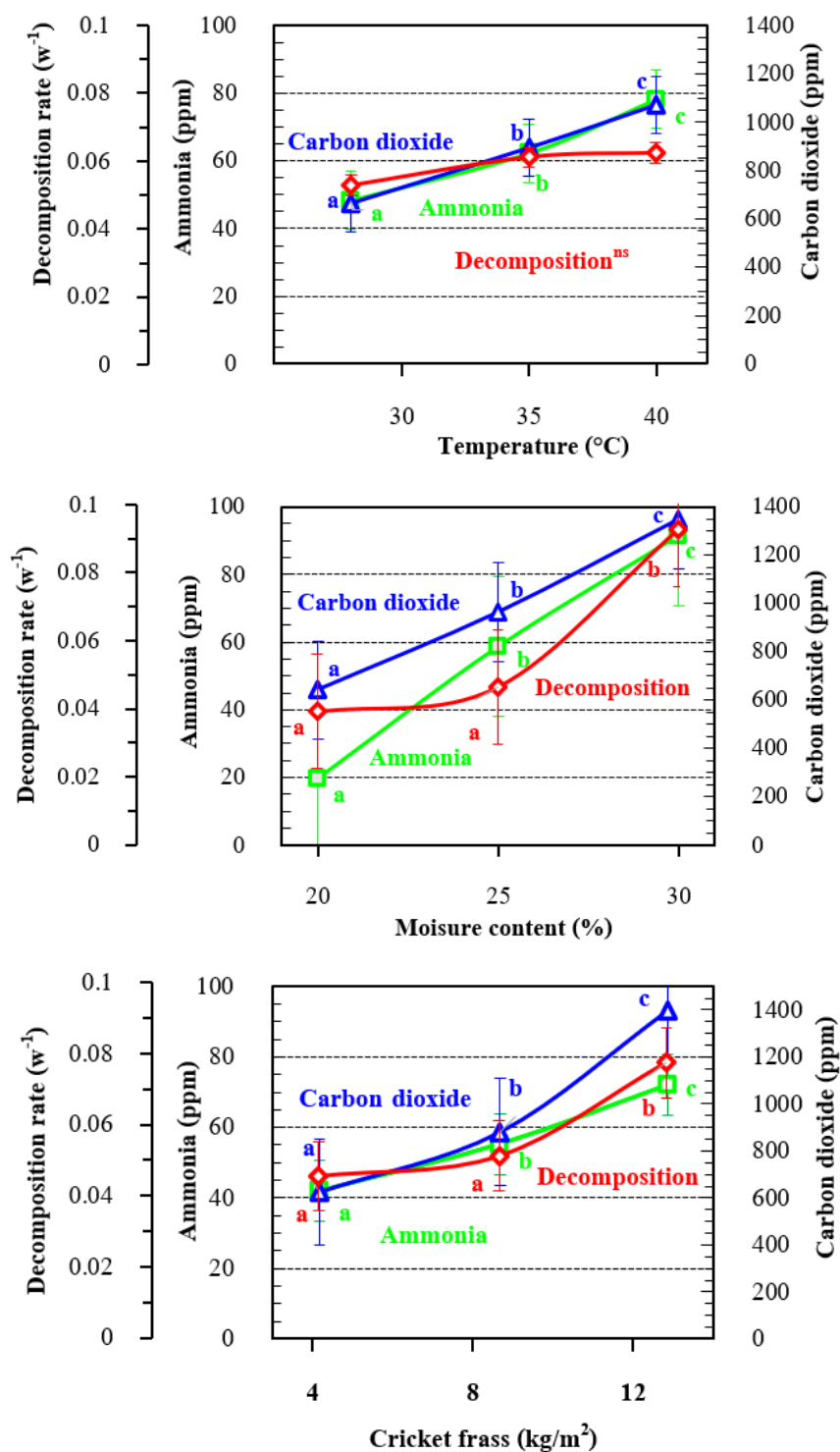


Figure 6 Interaction between decomposition and NH_3 , CO_2 related with factors; (a) Temperature, (b) Moisture content, and (c) Cricket frass

4. สรุป

ปัจจัยอุณหภูมิ ความชื้นและมูลจิ้งหรีดต่อการย่อยสลาย การเกิด NH_3 และ CO_2 สามารถสรุปผลได้ดังนี้ การย่อยสลายของกลุ่มระดับปัจจัยสูงมีมากกว่าระดับปานกลาง และกลุ่มระดับต่ำ โดยตลอดระยะเวลาการทดสอบจำนวน 6 สัปดาห์ มวลของมูลจิ้งหรีดลดลงประมาณ 10% เปรียบเทียบกับมวลเริ่มต้น การย่อยสลายมีนัยสำคัญทางสถิติกับปัจจัยการศึกษาคืออุณหภูมิ ความชื้น และจำนวนมูลจิ้งหรีด NH_3 พบได้ที่ตำแหน่งพื้นล่างของบ่อ แต่ CO_2 จะพบทั่วทุกตำแหน่งในบ่อทดลอง NH_3 และ CO_2 ที่เกิดขึ้นตลอด 42 วัน พบว่า พฤติกรรมการเกิด NH_3 จะเกิดขึ้นในปริมาณสูงอย่างรวดเร็วในช่วง 2-7 วัน มีค่าสูงสุด 63-90 ppm หลังจากนั้นจึงมีปริมาณค่อยๆ ลดลงจนสิ้นสุดการทดลอง ส่วน CO_2 จะเกิดขึ้นอย่างรวดเร็วในช่วง 1-3 วัน มีค่าสูงสุดในช่วง 960-1050 ppm และหลังจากนั้นจะลดลงอย่างรวดเร็ว และมีค่าใกล้เคียงกับปริมาณนอากาศ

ค่าปฏิสัมพันธ์ของ k NH_3 และ CO_2 ต่ออุณหภูมิ ความชื้น และมูลจิ้งหรีด เมื่ออุณหภูมิเพิ่มขึ้นค่า k เปลี่ยนแปลงเล็กน้อย แต่ NH_3 และ CO_2 มีค่าเพิ่มขึ้นตามอุณหภูมิสูงขึ้นในอัตราที่ใกล้เคียงกัน และมีค่าแตกต่างกันทางสถิติตลอดช่วงอุณหภูมิทดสอบระหว่าง 28-40 °C ความชื้นระหว่าง 20-30%w.b. ทำให้ค่า k มีค่าเพิ่มสูงขึ้นอย่างมีนัยสำคัญของระดับความชื้นสูง NH_3 และ CO_2 มีปริมาณเพิ่มขึ้นอย่างมีนัยสำคัญตลอดช่วงความชื้นที่ทดสอบ ปริมาณมูลจิ้งหรีด พบว่าค่า k มีค่าเพิ่มสูงขึ้นอย่างมีนัยสำคัญกับ NH_3 และ CO_2 เพิ่มขึ้นในอัตราที่ใกล้เคียงกัน เมื่อมูลจิ้งหรีดมีจำนวนมาก

5. กิตติกรรมประกาศ

คณะผู้วิจัยขอขอบคุณ ศูนย์เรียนรู้เศรษฐกิจพอเพียง บ้านดอนมัน ตำบลขามเรียง อำเภอกันทรวิชัย จังหวัดมหาสารคาม และคณะวิศวกรรมศาสตรมหาวิทยาลัยมหาสารคาม ที่ให้ความอนุเคราะห์สถานที่และอุปกรณ์ในการดำเนินงานจนสำเร็จลุล่วงด้วยดี

6. เอกสารอ้างอิง

Alarefee, H.A., Ishak, C.F., Othman, R. and Karam, D.S. 2023. Effectiveness of mixing poultry litter compost with rice husk biochar in mitigating ammonia volatilization and carbon dioxide emission. **Journal of Environmental Management** 329: 117051.

- Beesigamukama, D., Subramanian, S. and Tanga, C.M. 2022. Nutrient quality and maturity status of frass fertilizer from nine edible insects. **Scientific Reports** 12: 7182.
- Bernal, M.P., Albuquerque, J.A. and Moral, R. 2009. Composting of animal manures and chemical criteria for compost maturity assessment. A review. **Bioresource Technology** 100(22): 5444-5453.
- Birkenmeyer, D.R. and Dame, D.A. 1970. Effects of carbon dioxide and nitrogen on *Glossina morsitans orientalis* Vanderplank. **Annals of Tropical Medicine and Parasitology** 64(3): 269-275.
- Brahushi, F., Alikaj, M., Belalla, S. and Laze, P. 2013. The measures to control the ammonia emission from agricultural sources in albania. **International Journal of Ecosystems and Ecology Science (IJEES)** 3(2): 377-380.
- Chen, H., Awasthi, S.K., Liu, T., Duan, Y., Ren, X., Zhang, Z., Pandey, A. and Awasthi, M.K. 2020. Effects of microbial culture and chicken manure biochar on compost maturity and greenhouse gas emissions during chicken manure composting. **Journal of Hazardous Materials** 389: 121908.
- Connor, W.S. and Zelen, M. 1959. **Fractional Factorial Experiment Designs for Factors at Three Levels**. Government Printing Office, U.S.
- Edwards, L.J. and Patton, R.L. 1965. Effects of carbon dioxide anesthesia on the house cricket, *Acheta domesticus* (Orthoptera: Gryllidae). **Annals of the Entomological Society of America** 58(6): 828-832.
- Frost, C.J. and Hunter, M.D. 2004. Insect canopy herbivory and frass deposition affect soil nutrient dynamics and export in oak mesocosms. **Ecology** 85(12): 3335-3347.
- Green, N., Jacobson, M., Henneberry, T.J. and Kishaba, A.N. 1967. Insect sex attractants. VI. 7-dodecen-1-ol acetates and congeners. **Journal of Medicinal Chemistry** 10(4): 533-535.

- Halloran, A., Hanboonsong, Y., Roos, N., and Bruun, S. 2017. Life cycle assessment of cricket farming in northeastern Thailand. **Journal of Cleaner Production** 156: 83-94.
- Hanboonsong, Y., Jamjanya, T. and Durst, P.B. 2013. **Six-legged livestock: edible insect farming, collection and marketing in Thailand**. FAO, Bangkok.
- Kagata, H. and Ohgushi, T. 2012. Positive and negative impacts of insect frass quality on soil nitrogen availability and plant growth. **Population Ecology** 54(1): 75-82.
- Kagata, H. and Ohgushi, T. 2013. Home- field advantage in decomposition of leaf litter and insect frass. **Population Ecology** 55(1): 69-76.
- Kiriratnikom, A., Kiriratnikom, S. and Sumpunthamit, T. 2016. Litter Decomposition and Nutrient Release in Ban Nong-Tin Community Forest, Phapayom District, Phatthalung Province. **ASEAN Journal of Scientific and Technological Reports** 19(2): 33-41. (in Thai)
- Kristensen, H.H. and Wathes, C. 2000. Ammonia and poultry welfare: a review. **World's Poultry Science Journal** 56(3): 235-245.
- Magara, H.J., Niassy, S., Ayieko, M.A., Mukundamago, M., Egonyu, J.P., Tanga, C.M. and Ekesi, S. 2021. Edible crickets (Orthoptera) around the world: distribution, nutritional value, and other benefits-a review. **Frontiers in nutrition** 7: 537915.
- Meda, B., Hassouna, M., Aubert, C., Robin, P. and Dourmad, J.Y. 2011. Influence of rearing conditions and manure management practices on ammonia and greenhouse gas emissions from poultry houses. **World's Poultry Science Journal** 67(3): 441-456.
- Mustin, M. 1987. **Le compost: Gestion de la matiere organique**. Francois Dubusc, France.
- Ni, J.Q., Heber, A.J., Hanni, S.M., Lim, T.T. and Diehl, C.A. 2010. Characteristics of ammonia and carbon dioxide releases from layer hen manure. **British Poultry Science** 51(3): 326-334.
- Nischalke, S., Wagler, I., Tanga, C., Allan, D., Phankaew, C., Ratompourison, C., Razafindrakotomamonjy, A. and Kusia, E. 2020. How to turn collectors of edible insects into mini-livestock farmers: Multidimensional sustainability challenges to a thriving industry. **Global Food Security** 26: 100376.
- Olesen, J.E. and Sommer, S.G. 1993. Modelling effects of wind speed and surface cover on ammonia volatilization from stored pig slurry. **Atmospheric Environment. Part A. General Topics** 27(16): 2567-2574.
- Olson, J.S. 1963. Energy storage and the balance of producers and decomposers in ecological systems. **Ecology** 44(2): 322-331.
- Paillat, J.M., Robin, P., Hassouna, M. and Leterme, P. 2005. Predicting ammonia and carbon dioxide emissions from carbon and nitrogen biodegradability during animal waste composting. **Atmospheric environment** 39(36): 6833-6842.
- Phoset, U. and Thitkun, C. 2022. Adjustable temperature in the pond to increase the production of cricket. Undergraduate dissertation (Mechanical Engineering), Mahasarakham University. (in Thai)
- Ritz, C.W., Fairchild, B.D. and Lacy, M.P. 2004. Implications of ammonia production and emissions from commercial poultry facilities: A review. **Journal of applied poultry research** 13(4): 684-692.
- Ruangsuriya, N. 2010. Business Management of Cricket Raising Farm in Si Somdet district, Roi Et Province. Master of Science (Agribusiness), Khon Kaen University. (in Thai)
- Rumpold, B.A. and Schluter, O.K. 2013. Potential and challenges of insects as an innovative source for food and feed production. **Innovative Food Science and Emerging Technologies** 17: 1-11.
- Sommer, S.G. and Olesen, J.E. 1991. Effects of dry matter content and temperature on ammonia loss from surface-applied cattle slurry.

- Journal of Environmental Quality** 20(3): 679-683.
- Ssepunya, G., Sengendo, F., Ndagire, C., Karungi, J., Fiaboe, K. K. M., Efitre, J. and Nakimbugwe, D. 2021. Effect of alternative rearing substrates and temperature on growth and development of the cricket *Modicogryllus conspersus* (Schaum). **Journal of Insects as Food and Feed** 7(2): 163-172.
- Treelokes, R. 2013. Effect of fertilizers application on growth and yield of some vegetable crops. **Prawarun Agriculture Journal** 10(1): 19-27.
- Vaga, M., Berggren, Å. and Jansson, A. 2021. Growth, survival and development of house crickets (*Acheta domesticus*) fed flowering plants. **Journal of insects as food and feed** 7(2): 151-161.
- Van Dijken, F.R., Van Sambeek, M.J.P.W., and Scharloo, W. 1977. Influence of anaesthesia by carbon dioxide and ether on locomotor activity in *Drosophila melanogaster*. **Experientia** 33: 1360-1361.
- Van Huis, A. 2020. Insects as food and feed, a new emerging agricultural sector: a review. **Journal of Insects as Food and Feed** 6(1): 27-44.
- Woodring, J. P. , Clifford, C. W. , Roe, R. M. and Beckman, B. R. 1978. Effects of CO₂ and anoxia on feeding, growth, metabolism, water balance, and blood composition in larval female house crickets, *Acheta domesticus*. **Journal of Insect Physiology** 24(6-7): 499-509.
- Yaemkong, S., Jaipong, P., Gothom, P., Sreela-or, C., Tharungsri, P., Mesangsin, P. and Bang-lam, N. 2022. The effect of different commercial diets on plant nutrient contents in feces of *Acheta domesticus* (Linnaeus) cricket. **Khon Kaen Agriculture Journal** 50(1): 650-655.
- Zahn, N.H. and Quilliam, R. 2017. The effects of insect frass created by *Hermetia illucens* on spring onion growth and soil fertility. Undergraduate dissertation (Environmental Science), University of Stirling.
- Zhu, Z., Li, L., Dong, H. and Wang, Y. 2020. Ammonia and greenhouse gas emissions of different types of livestock and poultry manure during storage. **Transactions of the ASABE** 63(6): 1723-1733.



Research Article

ศักยภาพการผลิตก๊าซชีวภาพจากการย่อยแบบไร้ออกซิเจน
ของเศษอาหารร่วมกับผักตบชวาที่ผ่านการปรับสภาพด้วยเตาอบลมร้อน
และอ่างน้ำควบคุมอุณหภูมิ

**Biogas Production Potential from Anaerobic Digestion of Food Waste
and Pre-Treated Water Hyacinth by Hot Air Oven and Hot Water Bath**

นันทณัฐ ศรีประเสริฐ และ พรรคพงษ์ ศรีประเสริฐ *

Nanthanat Sriprasert and Pakpong Sriprasert *

สาขาเทคโนโลยีสิ่งแวดล้อม คณะสิ่งแวดล้อมและทรัพยากรศาสตร์ มหาวิทยาลัยมหาสารคาม อำเภอกันทรวิชัย จังหวัดมหาสารคาม 44150

Division of Environmental Technology, Faculty of Environment and Resource Studies, Mahasarakham University, Kantarawichai,

Maha Sarakham 44150, Thailand.

ABSTRACT

Article history:

Received: 2021-08-19

Revised: 2023-12-01

Accepted: 2024-03-22

Keywords:

anaerobic digestion;

mono-digestion;

co-digestion;

food waste;

water hyacinth

This research aims to study the treatment and utilization of organic wastes, namely food waste (FW) and the primary surface water weed, water hyacinth (WH), for biogas production through anaerobic digestion. It includes evaluating the effect of thermal pre-treatment of WH by using temperature-controlled hot water bath (WHB) and hot air oven (WHO) techniques for mono-digestion and co-digestion of both substrates in batch experiments at mesophilic temperatures for 40 days. It was found that FW and WH were good substrates for biogas production since they consist of high organic substances in terms of VS, accounting for more than 74 %TS. WHB presented a higher tendency to increase the amount of readily organic fractions as substrate in biogas production compared to WHO when considering CODs, VFAs, and Org_N. The mono-digestion of FW had the highest BY value of 189 mL_{biogas}/gVS_{added} despite having a high F/M of 4.58 with Volatile Solid Destruction (VSD) of 59.19 %. The WHB digestion had 1.9 folds higher Biogas Yield (BY) than the WH digestion, while the BY of WHO digestion was only slightly different from that of WH digestion, with values of 28 and 24 mL_{biogas}/gVS_{added}, respectively, at similar F/M ratios of 1.3-1.4. The results of co-digestion with a substrate mixing ratio of FW and WH (treated and untreated) ~ 80-90 % FW: 10-20 % WH, resulting in an F/M value of ~ 3-3.6 showed that BY was WHB > WH > WHO. Meanwhile, in the ratio ~ 60 % FW: 40 % WH (F/M ~2.3), WH pre-treatment had almost no effect on BY, with WH > WHO > WHB. This is because BY was obtained mainly from the digestion of FW fraction. As a result, BYs of co-digestions were 122-179 mL_{biogas}/gVS_{added} with VSD of 61.1-74.1 %.

© 2025 Sriprasert, N. and Sriprasert, P. Recent Science and Technology published by Rajamangala University of Technology Srivijaya

* Corresponding author.

E-mail address: pakpong.s@msu.ac.th

Cite this article as:

Sriprasert, N. and Sriprasert, P. 2025. Biogas Production Potential from Anaerobic Digestion of Food Waste and Pre-Treated Water Hyacinth by Hot Air Oven and Hot Water Bath. *Recent Science and Technology* 17(1): 251879.

บทคัดย่อ

การศึกษาการบำบัดและการใช้ประโยชน์ของเสียอินทรีย์คือเศษอาหาร (FW) และวัชพืชหลักของแหล่งน้ำผิวดินคือผักตบชวา (WH) เพื่อการผลิตก๊าซชีวภาพจากการย่อยแบบไร้ออกซิเจน รวมถึงศึกษาผลของการปรับสภาพ WH โดยใช้ความร้อนด้วยเทคนิคอ่างน้ำร้อนควบคุมอุณหภูมิ (WHB) และเตาอบลมร้อน (WHO) สำหรับการย่อยเดี่ยวและการย่อยร่วมของวัตถุดิบทั้งสองชนิดด้วยการทดลองแบบแบทช์ในช่วงอุณหภูมิ mesophilic นาน 40 วัน พบว่า FW และ WH เป็นสารตั้งต้นในการผลิตก๊าซชีวภาพได้ดี เนื่องจากมีสารอินทรีย์ในรูปของ VS สูงถึงมากกว่า 74 %TS WHB มีแนวโน้มในการเพิ่มปริมาณสารอินทรีย์ที่พร้อมต่อการเป็นสารตั้งต้นในการผลิตก๊าซชีวภาพสูงกว่า WHO เมื่อพิจารณาจาก CODs, VFAs และ Org_N การย่อยเดี่ยวของ FW มีค่า Biogas Yield (BY) สูงสุด 189 mL_{biogas}/gVS_{added} และมี F/M สูงถึง 4.58 และมี Volatile Solid Destruction (VSD) 59.19 % การย่อยของ WHB มีค่า BY สูงขึ้นคิดเป็น 1.9 เท่าของการย่อย WH ขณะที่ BY ของ WHO มีค่าแตกต่างกันเพียงเล็กน้อยกับกรณีของ WH ซึ่งมีค่า 28 และ 24 mL_{biogas}/gVS_{added} ตามลำดับ ที่ F/M ใกล้เคียงกันคือ 1.3-1.4 ผลของการย่อยร่วมที่มีอัตราส่วนผสมของ FW และ WH (ที่ปรับและไม่ปรับสภาพ) ~ 80-90 %FW : 10-20 % WH ที่ส่งผลให้ F/M มีค่า ~ 3-3.6 พบว่า BY ของ WHB > WH > WHO ขณะที่อัตราส่วน ~ 60 % FW: 40 % WH (F/M ~2.3) การปรับสภาพ WH แทบจะไม่ส่งผลต่อ BY ซึ่งพบว่า BY ของ WH > WHO > WHB ทั้งนี้เนื่องจาก BY ที่เกิดขึ้นส่วนใหญ่เป็นผลมาจากการย่อย FW เป็นหลัก ซึ่งทำให้ BY ของการย่อยร่วมมีค่า 122-179 mL_{biogas}/gVS_{added} และมี VSD 61.1-74.1 %

คำสำคัญ: การย่อยแบบไม่ใช้ออกซิเจน, การย่อยร่วม, การปรับสภาพโดยใช้ความร้อน, เศษอาหาร, ผักตบชวา

1. บทนำ

ผักตบชวา (Water hyacinth, WH) เป็นวัชพืชที่ส่งผลกระทบต่อแหล่งน้ำจืด (Ndimele *et al.*, 2011) เติบโตเป็นแพหนาปกคลุมผิวน้ำอย่างรวดเร็ว ส่งผลต่อการใช้ประโยชน์ของแหล่งน้ำทั้งในเชิงการคมนาคม สุนทรียภาพ และการชลประทาน ลดการส่องผ่านของแสงแดด การสังเคราะห์แสงของพืชน้ำ และการถ่ายเทออกซิเจนจากผิวน้ำ เร่งอัตราการจับใช้และการระเหยของน้ำจากการคายน้ำ เกิดการทับถมสะสมของซากพืชทำให้แหล่งน้ำตื้นเขินและสูญเสียการใช้ประโยชน์ (Barua and Kalamdhad, 2016; Sukasem *et al.*, 2017) เป็นแหล่งเพาะพันธุ์ของสัตว์มีพิษ หนอง แมลง พยาธิและพาหะนำโรค ด้วยเหตุนี้การกำจัดและใช้ประโยชน์จาก WH เพื่อเป็นวัตถุดิบตั้งต้นในการผลิตก๊าซชีวภาพของการย่อยแบบไร้ออกซิเจน (Anaerobic Digestion, AD) จึงเป็นแนวคิดที่ได้รับความนิยม อย่างไรก็ตาม WH เป็นชีวมวลมีองค์ประกอบหลักคือลิกโนเซลลูโลส (Lignocellulosic Biomass, LCB) ได้แก่ เซลลูโลส เฮมิเซลลูโลส และลิกนินที่ยากต่อการย่อยสลายทางชีวภาพ ดังนั้น การปรับสภาพด้วยการให้ความร้อนถือเป็นการเสริมสมรรถนะการเกิดไฮโดรไลซิส ซึ่งเป็นขั้นตอนควบคุมหลักสำหรับ AD (Zheng *et al.*, 2014) การปรับสภาพด้วยความร้อนเริ่มจากการพาความร้อนจากแหล่งกำเนิด ตามด้วยการนำความร้อนโดยอาศัยตัวกลางชนิดต่าง ๆ เช่น ลมร้อน น้ำร้อน หรือไอน้ำร้อน ถ่ายเทสู่ภาชนะและวัตถุดิบจากภายนอกที่ละชั้นสู่แกนกลางโครงสร้างผนังเซลล์ (Barua and Kalamdhad, 2017a) ความร้อนจะช่วยสลายพันธะไฮโดรเจนในรูป

โครงสร้างผลึกเชิงซ้อนของเซลลูโลส โครงสร้างที่แน่นทึบของลิกนินและเฮมิเซลลูโลสทำให้องค์ประกอบโดยรวมสามารถถูกย่อยและเปลี่ยนให้อยู่ในรูปสารอินทรีย์ละลายได้มากขึ้น เพิ่มช่องว่างและความพรุนให้กับชีวมวล ช่วยให้เอนไซม์และจุลินทรีย์สามารถเข้าถึงวัตถุดิบได้ง่ายขึ้นของแข็งระเหยถูกกำจัด (Volatile Solid Destruction, VSD) ได้ดีขึ้น และมีแนวโน้มในการเพิ่มศักยภาพของการผลิตก๊าซชีวภาพ (Shrestha *et al.*, 2017; Sawatdeenarunat *et al.*, 2015; Álvarez *et al.*, 2016)

ของเสียอินทรีย์อีกชนิดหนึ่งซึ่งพบมากจากภาคครัวเรือนคือ เศษอาหาร (Food Waste, FW) มีรายงานจากองค์การอาหารและการเกษตรแห่งสหประชาชาติว่า ในปี พ.ศ.2554 มี FW เหลือทิ้งทั่วโลกคิดเป็น 1.3 พันล้านตันต่อปี (Gustavsson *et al.*, 2011) AD เป็นเทคนิคที่เหมาะสมในการกำจัด FW ซึ่งเป็นสารอาหาร (Substrate) ที่ง่ายต่อการย่อยสลายทางชีวภาพและมีศักยภาพการผลิต CH₄ สูง อย่างไรก็ตาม การใช้ FW เป็นวัตถุดิบเดี่ยว (Mono-substrate) ในกระบวนการย่อยเดี่ยว (Mono-digestion, MD) มักส่งผลกระทบต่อจุลินทรีย์ชนิดสร้าง CH₄ ที่เจริญเติบโตช้า และมีความอ่อนไหวมากกว่าจุลินทรีย์ชนิดสร้างกรดในระบบ AD (Koch *et al.*, 2015) ความอ่อนไหวและเสถียรภาพของ AD มักเป็นผลโดยตรงจากผลิตภัณฑ์ระหว่างกระบวนการย่อยคือ กรดไขมันระเหยและการขาดสมดุลของธาตุอาหารต่าง ๆ ซึ่งมักจะนำไปสู่การล้มเหลวของระบบในที่สุด ด้วยเหตุนี้แนวคิดในการใช้ WH กับ FW ในกระบวนการย่อยร่วม (Co-digestion, CD) จึงเป็นวิธีการที่น่าสนใจ ซึ่งแม้ WH ถูกจำแนกเป็นชีวมวลที่ยากต่อการย่อยสลายและมีศักยภาพต่ำในการเป็นสาร

ตั้งต้นเพื่อการผลิตก๊าซชีวภาพ (Non nutrient-rich substrate) อย่างไรก็ตาม WH จัดเป็นวัตถุดิบไร้มูลค่าที่หาง่ายและมีอยู่อย่างเหลือล้นในธรรมชาติ ขณะที่ FW มีศักยภาพสูงในการผลิต CH_4 แต่มีความอ่อนไหวต่อการดำเนินการ ภาวการณ์ที่รุนแรงของอินทรีย์สูง CD จะช่วยเพิ่มความสามารถในการย่อยโดยรวม ช่วยปรับสมดุลด้านความต้องการของธาตุอาหารต่าง ๆ ของจุลินทรีย์ ช่วยส่งเสริมความสอดคล้องของกิจกรรมต่าง ๆ ของจุลินทรีย์ อันเนื่องมาจากความหลากหลายของสารอาหารซึ่งเป็นผลมาจากองค์ประกอบ และอัตราส่วนการผสมของวัตถุดิบตั้งต้นแต่ละชนิด ส่งผลให้ระบบมีเสถียรภาพต่อการดำเนินการในระยะยาว ถือเป็นแนวทางการจัดการของเสียอย่างมีประสิทธิภาพเพราะนอกจากจะเป็นการกำจัดวัชพืชแล้ว ยังเป็นการใช้ประโยชน์และการเพิ่มมูลค่าจาก LCB ในรูปของการผลิตพลังงานทดแทน (Sawatdeenarunat *et al.*, 2015) มีรายงานจากงานวิจัยหลายฉบับชี้ให้เห็นว่า CD ระหว่าง LCB กับ FW ช่วยเพิ่มประสิทธิภาพในการผลิต CH_4 Capson-Tojo *et al.* (2017) รายงานว่าการย่อยเศษ Cardboard ร่วมกับ FW เพิ่มศักยภาพการผลิต CH_4 สูงขึ้น 71-93 % Yong *et al.* (2015) ระบุว่า CD ของ FW และฟางข้าวช่วยเพิ่ม CH_4 yield เป็น 39.5 และ 149.7 % เมื่อเทียบกับการใช้ MD ของ FW และฟางข้าวตามลำดับ Jiang *et al.* (2018) รายงานว่า CD ของ FW และมูลสุกรช่วยลดความเป็นพิษของสารยับยั้งในระบบ ช่วยปรับสมดุลของความชื้นและพีเอช เพิ่ม buffering capacity และอัตราส่วนของสารอินทรีย์ที่ง่ายต่อการย่อยสลาย และมีความหลากหลายของกลุ่มจุลินทรีย์ในระบบมากขึ้น

การวิจัยนี้จึงมุ่งศึกษาแนวทางการกำจัดและการใช้ประโยชน์ WH และ FW เพื่อการผลิตก๊าซชีวภาพในกระบวนการย่อยเดี่ยวและย่อยร่วมสำหรับ AD โดยมีขอบเขตหลักคือ การศึกษาองค์ประกอบทางกายภาพและทางเคมี การปรับสภาพ WH ด้วยความร้อนโดยเทคนิคการใช้เตาอบลมร้อนและอ่างน้ำควบคุมอุณหภูมิ และผลของอัตราส่วนอาหารต่อจุลินทรีย์ (Food to Microorganisms Ratio, F/M) ซึ่งเป็นผลจากอัตราส่วนผสมระหว่าง FW และ WH โดยประเมินจากศักยภาพการให้ก๊าซชีวภาพทางชีวเคมี รวมถึงศึกษาแนวทางการใช้ประโยชน์จากตะกอนสลัดจ์ที่ผ่านการย่อยแล้วเพื่อใช้เป็นวัสดุปรับปรุงดินทางการเกษตร

2. วิธีดำเนินการวิจัย

2.1 วัตถุดิบ การเตรียมวัตถุดิบ และหัวเชื้อจุลินทรีย์

2.1.1 เศษอาหาร (FW) รวบรวมจากศูนย์อาหารของห้างสรรพสินค้าแห่งหนึ่งใน จ.มหาสารคาม ซึ่งผ่านการ

แยกส่วนของของเหลวด้วยตะแกรงหยาบ คัดแยกองค์ประกอบที่ยากต่อการย่อยสลายทางชีวภาพ เช่น เศษกระดูก เปลือกไข่ เมล็ดผลไม้ กระดาษทิชชู คงไว้เพียงส่วนที่ย่อยได้ง่าย เช่น เศษข้าว เส้นก๋วยเตี๋ยว/บะหมี่ เนื้อสัตว์ และเศษผักผลไม้ จากนั้นนำตัวอย่างมาบด บด ด้วยเครื่องปั่นครัวเรือน คลุกเคล้า FW ทั้งหมดให้เป็นเนื้อเดียวกันแล้วแยกบรรจุในภาชนะ

2.1.2 ผักตบชวา (WH) และการปรับสภาพ WH

เก็บรวบรวมจากแหล่งน้ำในเขตมหาวิทยาลัยมหาสารคาม ล้างด้วยน้ำประปา ตัด WH ทั้งในส่วนใบ ลำต้นและรากเป็นชิ้นขนาดประมาณ 5 cm บดด้วยเครื่องบดทางการเกษตร คลุกเคล้า WH ทั้งหมดให้ผสมเป็นเนื้อเดียวกันเป็นตัวอย่างของ WH จากนั้นทำการปรับสภาพ WH ด้วยความร้อนตามวิธีการศึกษาก่อนหน้านี้ (Sriprasert and Sriprasert, 2023) โดยบรรจุ WH ที่บดแล้ว 50 g ใส่บีกเกอร์ขนาด 250 mL หุ้มปากบีกเกอร์ด้วยกระดาษฟอยด์นำไปปรับสภาพด้วยเตาอบลมร้อน 110 °C นาน 120 นาที เป็นตัวอย่างของ WHO และด้วยอ่างน้ำควบคุมอุณหภูมิ 100 °C นาน 120 นาทีเป็นตัวอย่างของ WHB

2.1.3 หัวเชื้อจุลินทรีย์ (Inoculum) เป็นเม็ดตะกอนจุลินทรีย์ที่ได้จากระบบบำบัดน้ำเสียแบบ UASB ของโรงงานผลิตแอมโมเนียสำหรับผลิตแอมโมเนียใน จ.กาฬสินธุ์ ทำการปั่นเม็ดตะกอนจุลินทรีย์ด้วยเครื่องปั่นครัวเรือนให้ลักษณะเป็นหัวเชื้อแบบกระจายตัว (Dispersed Sludge) แล้วคลุกเคล้าให้เป็นเนื้อเดียวกัน

2.2 การเก็บรักษาวัตถุดิบและหัวเชื้อ

วัตถุดิบและหัวเชื้อจะถูกถ่ายใส่ภาชนะและเก็บในตู้แช่แข็งที่ -18 ถึง -20 °C และถูกละลายที่ 4°C นาน 24 ชั่วโมง ก่อนทำการวิเคราะห์ตัวอย่าง ยกเว้นหัวเชื้อส่วนหนึ่งจะถูกเก็บในภาชนะและแช่ในอ่างน้ำอุณหภูมิ 36 ± 1 °C ตลอดเวลาจนนำไปบรรจุในขวดปฏิกิริยาเพื่อการทดสอบศักยภาพการให้ก๊าซชีวภาพต่อไป

2.3 ศักยภาพการผลิตก๊าซชีวภาพ

ทำการศึกษาในขวดปฏิกิริยาขนาด 500 mL จำนวน 14 ใบ ได้แก่ ชุดควบคุม EP1 ชุด MD EP2-EP5 และชุด CD EP6-EP14 โดยกำหนด F/M และอัตราส่วน FW ต่อ WH (Substrate Mixing Ratio, SMR) ให้เป็นอัตราส่วนโดยน้ำหนักของแข็งระเหย (VS basis) ดังแสดงใน Table 2 จากนั้นเติมน้ำกลั่น 200 mL และ NaHCO_3 เพื่อให้มีสภาพต่างประมาณ 8,000 mg/L as CaCO_3 เขย่า

ให้เป็นเนื้อเดียวกัน ใส่อากาศในขวดด้วยก๊าซ N_2 ปิดฝาขวดด้วยจุกยางที่ติดตั้งท่อส่งก๊าซไปยังคอลัมน์เก็บก๊าซซึ่งภายในบรรจุ 85% อิ่มตัวของสารละลาย NaCl บันทึกปริมาณก๊าซที่เกิดขึ้นในคอลัมน์โดยอาศัยหลักการแทนที่ของเหลว ขวดปฏิกิริยาทั้งหมดวางอยู่ในอ่างน้ำควบคุมอุณหภูมิที่ติดตั้ง heating rods และ circulation pump ให้มีอุณหภูมิ $36 \pm 1^\circ C$ ตลอดระยะเวลาการทดลอง

2.4 การประเมินตะกอนสลัดจ์เพื่อพิจารณาความเป็นไปได้ในการใช้เป็นวัสดุปรับปรุงดิน

ภายหลังสิ้นสุดการย่อย 40 วัน วิเคราะห์ปริมาณธาตุอาหารหลักในตัวอย่างตามวิธีการของสำนักวิทยาศาสตร์เพื่อการพัฒนาที่ดิน (Land Development Department, 2004) ได้แก่ ไนโตรเจนทั้งหมด (TN) โดยวิธีเจลดาร์ห์ล (TKN) ฟอสฟอรัสทั้งหมด (TP) ด้วยวิธี Bray II วัดค่าการดูดกลืนแสงด้วย spectrophotometer (UV-1900 SHIMADZU, Japan) และโพแทสเซียมทั้งหมด (TK) ที่สกัดได้ด้วยเครื่อง AAS (AA-7000 SHIMADZU, Japan) เทียบกับน้ำหนักสดของตะกอนสลัดจ์ ($mg/g_{digestate\ FM}$) เพื่อประเมินคุณสมบัติในการเป็นปัจจัยการผลิตทางการเกษตร

2.5 วิธีการวิเคราะห์

วัตถุดิบ หัวเชื้อ ตะกอนสลัดจ์วันแรกและภายหลังการย่อย 40 วัน ถูกแบ่งเป็น 2 ส่วน โดยส่วนแรกนำไปวิเคราะห์องค์ประกอบของแข็ง ได้แก่ ของแข็งทั้งหมด (TS) ของแข็งระเหยทั้งหมด (VS) เถ้า (ash) และความชื้นและองค์ประกอบไนโตรเจนในรูป TKN แอมโมเนียทั้งหมด (TAN) และ Organic Nitrogen (Org_N) ซึ่งคำนวณจากผลต่างของ TKN และ TAN ส่วนที่ 2 ซึ่งตัวอย่าง 15 g ใส่ในขวดรูปชมพู่ขนาด 500 mL เติมน้ำปราศจากไอออน 300 mL นำไปเขย่าบน orbital shaker 150 rpm ที่อุณหภูมิห้อง 2 ชม. จากนั้นนำตัวอย่างไปปั่นเหวี่ยง 6,000 rpm 20 นาที เก็บตัวอย่าง supernatant ไปวิเคราะห์ CODs pH สภาพต่าง (Alk) และกรดไขมันระเหย (VFAs) ซึ่ง TS, VS, Alk, TKN, TAN, CODs และ VFAs วิเคราะห์ตามวิธีมาตรฐานของ APHA (2012) ได้ทำการวิเคราะห์ซ้ำ (replicate) อย่างน้อย 3 ครั้ง โดยรายงานผลเป็นค่าเฉลี่ยและส่วนเบี่ยงเบนมาตรฐาน

3. ผลการวิจัยและวิจารณ์ผล

3.1 องค์ประกอบและลักษณะสมบัติของวัตถุดิบและหัวเชื้อ

แสดงดัง Table 1

Table 1 Characteristics of substrates and inoculum

Parameters		Substates				Inoculum
		FW	Water hyacinth			
			WH	WHO	WHB	
1. Solids content						
1.1	TS (% FM)	22.58±1.17	6.72±0.08	7.29±0.00	6.68±0.06	7.93±0.02
1.2	VS (%FM)	16.77±1.12	5.25±0.10	5.74±0.20	5.26±0.05	6.20±0.06
1.3	VS (%TS)	74.21±1.18	78.17±1.53	78.72±2.73	78.78±0.82	78.19±0.57
1.4	Ash (% FM)	5.81±0.13	1.47±0.11	1.55±0.20	1.42±0.06	1.73±0.04
1.5	Ash (% TS)	25.79±1.18	21.83±1.53	21.28±2.73	21.22±0.82	21.81±0.57
1.6	Moisture (% FM)	77.42±1.17	93.28±0.08	92.71±0.00	93.32±0.06	92.07±0.02
2.	pH	4.38±0.01	6.99±0.02	7.52±0.02	7.77±0.03	7.41±0.01
3.	CODs (mg/L)	7,000±849	190±151	423±293	518±460	1,227±333
4.	Alk (mg/L)	126±47	206±82	167±3	226±39	513±163
5.	VFAs (mg/L)	103±20	12±3	13±1	17±2	48±11

Table 1 (Continued)

Parameters			Substrates			Inoculum	
			FW	Water hyacinth			
				WH	WHO		WHB
6. Nitrogen content (gN/kgFM)							
6.1	TKN	5.61±0.01	1.24±0.02	2.58±0.01	2.63±0.01	3.52±0.02	
6.2	TAN	0.32±0.01	0.06±0.01	0.14±0.02	0.14±0.01	1.66±0.03	
6.3	Org_N	5.29±0.01	1.19±0.02	2.44±0.01	2.49±0.01	1.86±0.02	

จาก Table 1 หัวเชื้อและวัตถุดิบทั้ง FW และ WH มีความชื้นร้อยละ 77-93 หัวเชื้อมี pH 7.41 Alk ค่อนข้างสูง และมี VFAs สะสมต่ำยืนยันได้ว่าเป็นหัวเชื้อที่ได้จากระบบที่มีเสถียรภาพและมีความสมดุลของจุลินทรีย์ ของแข็งส่วนใหญ่อยู่ในรูป VS โดยพบว่า FW และ WH (ที่ปรับและไม่ปรับสภาพ) มีค่ามากกว่า 74 %TS ใกล้เคียงกับงานวิจัยก่อนหน้านี้ที่มีอัตราส่วน VS/TS ในช่วง 0.75-0.9 (Campuzano and Gonzalez-Martínez, 2015) โดยเฉพาะ FW ที่มีองค์ประกอบหลักคือคาร์โบไฮเดรต โปรตีน ไลปิด และลิกนินในปริมาณเล็กน้อย (Liu *et al.*, 2018) ปริมาณสารอินทรีย์ละลายในรูปของ CODs VFAs และ Org-N ของ FW มีค่าสูงกว่า WH ซึ่งแสดงว่า FW เป็นสารตั้งต้นที่มีความพร้อมและสามารถย่อยได้ง่าย แตกต่างกับ WH ซึ่งมีองค์ประกอบของ LCB ที่สามารถถูกย่อยและเปลี่ยนเป็น CH_4 ได้เพียง 20-30% เท่านั้นในกระบวนการ AD (Kucharska *et al.*, 2018; Sawatdeenarunat *et al.*, 2018) การศึกษาก่อนหน้านี้นพบว่าชีวมวลจาก WH มีองค์ประกอบของเซลลูโลสในช่วง 17.3-34.2% เฮมิเซลลูโลส 17.7-38.1% และลิกนิน 1.1-12.2% โดยน้ำหนักแห้ง (DW) (Ruan *et al.*, 2016; Lay *et al.*, 2013; Ahn *et al.*, 2012) และ Gaurav *et al.* (2020) ระบุว่า WH มีองค์ประกอบรวมของเซลลูโลสและเฮมิเซลลูโลส 58.6 หรือ 24.5 และ 34.1% DW ตามลำดับ เซลลูโลสมีโครงสร้างหลักสองรูปแบบคือรูปผลึก (Crystalline structure) และรูปอสัณฐาน (Amorphous) โดยเฉพาะรูปผลึกซึ่งเป็นโครงสร้างของโมเลกุลน้ำตาลสายยาวที่มีความหนาแน่นและซับซ้อนเนื่องจากการผลานของพันธะไฮโดรเจน (Rodriguez *et al.*, 2017) ขณะที่เฮมิเซลลูโลสเป็นโครงสร้างของโมเลกุลน้ำตาลสายสั้นที่มีระดับของความเป็นรูปผลึกและอสัณฐานน้อยกว่าทำให้เฮมิเซลลูโลสสามารถถูกย่อยสลายทั้งในทางเคมี การใช้ความร้อนและทางชีวภาพได้ง่ายกว่าเซลลูโลส (Sawatdeenarunat *et al.*, 2016) อย่างไรก็ตาม ลิกนินซึ่งไม่ใช่องค์ประกอบประเภทโพลีแซคคาไรด์ทำหน้าที่เป็นตัวเชื่อมประสาน (Binder) เติมเต็มช่องว่างระหว่างเซลลูโลสและเฮมิเซลลูโลส เพิ่มความแข็งแรงและลดความสามารถใน

การซึมผ่านของน้ำให้กับผนังเซลล์พืชจึงทำให้ลิกนินมีความต้านทานและยากต่อการย่อยสลายทางชีวภาพอย่างมาก (Sawatdeenarunat *et al.*, 2015) ด้วยเหตุนี้การปรับสภาพ WH โดยการใช้ความร้อนจึงถูกนำมาประยุกต์ใช้เพื่อทำลายโครงสร้างรูปผลึกเชิงซ้อนของ LCB และเซลลูโลส ด้วยกลไกการสลายพันธะไฮโดรเจน (Kumar *et al.*, 2018) ทำให้ LCB ในรูปของแข็งและ slurry สามารถถูกย่อยและเปลี่ยนให้อยู่ในรูปของสารอินทรีย์ละลายได้มากขึ้น ช่วยลดระยะเวลาการย่อยในขั้นของไฮโดรไลซิส และลดระยะเวลาการปรับตัวของจุลินทรีย์ในช่วง lag phase (Barua and Kalamdhad, 2017b; Phuttaro, *et al.*, 2019) ตัวอย่างเช่น Barua and Kalamdhad (2017a) ศึกษาการปรับสภาพ WH โดยใช้ความร้อนด้วยเทคนิคเตาอบลมร้อน ไมโครเวฟ อ่างน้ำควบคุมอุณหภูมิ และหม้อหนึ่งแรงดันไอน้ำและสรุปว่าการปรับสภาพ WH ด้วยเตาอบลมร้อน 90 °C นาน 90 นาที ให้ประสิทธิภาพสูงที่สุดในการเพิ่มปริมาณสารอินทรีย์ละลายโดยรายงานว่าภายหลังการปรับสภาพพบลิกนินในรูป acid soluble lignin เพิ่มขึ้น 48 % เซลลูโลสในรูปห้วงโซ่สายยาวถูกย่อยและมีสัดส่วนลดลง 40.4 % ขณะที่เฮมิเซลลูโลสในรูปห้วงโซ่น้ำตาลสายสั้นมีค่าเพิ่มขึ้น 185.4 % ส่งผลให้ CODs เพิ่มขึ้น 55.5% คิดเป็น 2.3 เท่า เมื่อเทียบกับ WH ที่ไม่ปรับสภาพ สอดคล้องกับผลการศึกษาในครั้งนี้ที่พบว่า WH ที่ไม่มีการปรับสภาพมีค่า CODs 190 mg/L ภายหลังการปรับสภาพ WHO และ WHB มีค่า CODs เพิ่มขึ้นเป็น 423 และ 518 mg/L คิดเป็น 2.2 และ 2.7 เท่าตามลำดับ ซึ่งให้เห็นว่าการปรับสภาพ WH ด้วยความร้อนมีแนวโน้มทำให้ WH มีความพร้อมต่อการย่อยสลายทางชีวภาพได้มากขึ้น

3.2 การผลิตก๊าซชีวภาพและศักยภาพการผลิตก๊าซชีวภาพ

ปริมาณการเกิดก๊าซชีวภาพรายวันและปริมาณก๊าซชีวภาพสะสมแสดงดัง Figure 1 ปริมาณก๊าซชีวภาพสะสม ณ วันสิ้นสุดการทดลองและศักยภาพการผลิตก๊าซชีวภาพแสดงใน Table 2

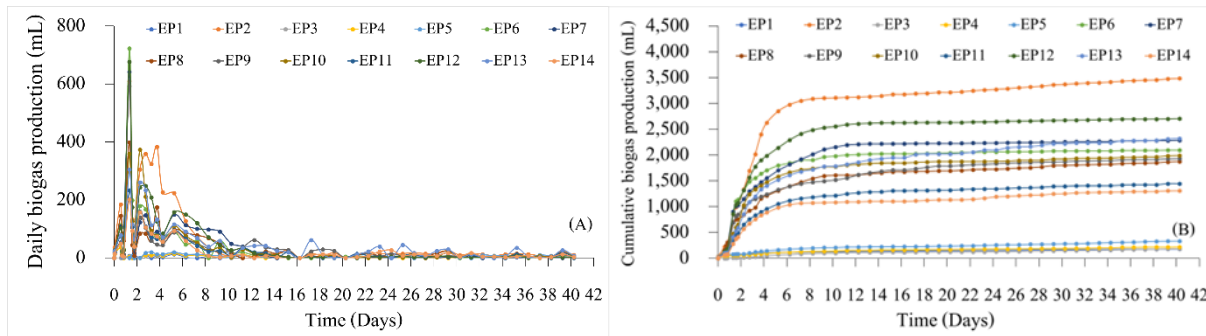


Figure 1 (A) Daily biogas production and (B) Cumulative biogas production

Table 2 Cumulative biogas production by the end of experiments (day 40) and biogas production potential

Digester	SMR	F/M Ratio	Cumulative biogas	Total Volatile Solids	Biogas Yield	VSD
	VS basis		mL	gVS _{added}	mL _{biogas} /gVS _{added}	%TS
EP1	-	0.00	177	3.30	54	76.2
EP2	100% FW	4.58	3,486	18.41	189	59.2
EP3	100% WH	1.26	179	7.45	24	76.1
EP4	100% WHO	1.38	219	7.86	28	74.7
EP5	100% WHB	1.26	334	7.46	45	72.2
EP6	89% FW:11% WH	3.59	2,095	15.12	139	70.0
EP7	78% FW:22 % WH	2.92	2,287	12.93	177	70.5
EP8	61% FW:39% WH	2.26	1,873	10.74	174	63.4
EP9	89% FW:11% WHO	3.62	1,930	15.24	127	71.0
EP10	77% FW:23 % WHO	2.98	1,989	13.13	151	73.1
EP11	59% FW:41% WHO	2.34	1,446	11.03	131	72.2
EP12	89% FW:11% WHB	3.59	2,704	15.12	179	67.2
EP13	78% FW:22 % WHB	2.92	2,318	12.94	179	61.1
EP14	61% FW:39% WHB	2.26	1,310	10.75	122	74.1

3.2.1 การผลิตก๊าซชีวภาพ (Biogas Production, BP)

จาก Figure 1(A) จะเห็นได้ว่าทุกชุดการทดลองสามารถผลิตก๊าซชีวภาพได้ตั้งแต่เริ่มต้นดำเนินระบบ แม้ใน EP1 ซึ่งเป็นชุดควบคุมที่มีเพียงหัวเชื้อเท่านั้น ภาพรวมของทุกชุดการทดลองพบว่า BP มีค่าสูงมากในวันแรกที่เริ่มการย่อยโดยเฉพาะชุดที่เป็นการย่อยร่วม (CD) ระหว่าง FW และ WH (ที่ปรับและไม่ปรับสภาพ) ที่มีอัตราส่วนของ FW:WH สูง ตั้งแต่ 78% : 22% - 89% : 11% (ส่งผลให้ F/M มีค่าในช่วง 2.98-3.62) โดยมี BP สูงสุดในวันแรกเท่ากับ 722.8, 679.1 และ 641.7 mL สำหรับ EP6, EP12 และ EP7 ตามลำดับ ทุกชุดการทดลองมี BP รายวันที่ต่ำลงกว่าในช่วง 2 วันแรกของการย่อย และค่อนข้างคงที่ภายหลังการย่อย

นาน 16 วัน ขณะที่การย่อยเดี่ยว (MD) ของ FW (EP2) มี BP สูงถึง 383.5-609.7 mL ในช่วง 1-4 วันแรก และมีการผลิตก๊าซชีวภาพอย่างต่อเนื่องกระทั่งสิ้นสุดการทดลอง ส่งผลให้ EP2 มี BP สะสมสูงสุดคือ 3,486 mL ซึ่งให้เห็นว่า FW เป็นวัตถุดิบตั้งต้นที่อุดมไปด้วยสารอาหาร (Nutrient-rich substrate) ที่สามารถย่อยสลายได้ง่ายตรงกันข้ามกับชุด MD ที่มี WH เป็นสารตั้งต้น มี BP สะสมต่ำมากเมื่อเทียบกับการมี FW ร่วมเป็น substrate โดยพบว่า EP5 (WHB) EP4 (WHO) และ EP3 (WH) มี BP สะสมภายหลังการย่อย 40 วันเพียง 334, 219 และ 179 mL ตามลำดับ แม้ในการดำเนินการภายใต้ F/M ต่ำในช่วง 1.26-1.38

3.2.2 ศักยภาพการผลิตก๊าซชีวภาพ (Biogas Yield, BY)

3.2.2.1 การย่อยเดี่ยว (Monodigestion, MD) จาก Table 2 เมื่อเปรียบเทียบ EP2-EP5 ซึ่งมี substrate คือ FW, WH, WHO และ WHB พบว่า FW มี BY สูงสุด คือ 189 mL_{biogas}/gVS_{added} แม้จะดำเนินการภายใต้ F/M สูงสุดคือ 4.58 ซึ่งมีค่าใกล้เคียงกับการศึกษาของ Xiaofeng, *et al.* (2014) ผู้ทดสอบ MD ของ FW และ CD ของ FW กับน้ำชะขยะ โดยใช้หัวเชื้อจากถังหมักของโรงอาหาร พบว่า BY กรณี MD ของ FW มีค่า 131 mL_{biogas}/gVS แต่มี CH₄ yield ที่ต่ำมากคือ 1.1 mL_{CH₄}/gVS ซึ่งเป็นผลมาจากการสะสมของ VFAs ภายใต้ภาวะบรรทุกอินทรีย์ที่สูงมาก คือ 41.8 gVS/L_{reactor} อย่างไรก็ตาม BY ของ FW ในการศึกษาครั้งนี้ ถือว่ามีค่าต่ำมากเมื่อเทียบกับงานวิจัยอื่น ๆ ตัวอย่างเช่น Lopez *et al.* (2016) รายงาน CH₄ yield ของ FW จากโรงอาหาร ร้านสะดวกซื้อ โรงแรม และภัตตาคาร ว่ามีค่าในช่วง 363-492 mL_{CH₄}/gVS และพบว่าส่วนประกอบของ starch สามารถถูกย่อยได้สมบูรณ์ที่สุด Yang *et al.* (2022) รายงานผลการย่อย FW 4 ชนิด และ CH₄ yield ของส่วนผสมของ FW ทั้ง 4 ชนิด ที่คล้ายกับ FW ในท้องถิ่น คือ 40 % เศษข้าว 30 % กะหล่ำปลี 20 % เปลือกกล้วย และ 10 % เศษเนื้อ (% wet weight) โดยใช้หัวเชื้อจาก mesophilic AD ของอุตสาหกรรมเครื่องดื่มแอลกอฮอล์ที่ F/M 0.5 มีค่า 476 NmL_{CH₄}/gVS_{added} เช่นเดียวกับ Slopiecka *et al.* (2022) ผู้ศึกษาศักยภาพการผลิตก๊าซมีเทน (BMP) ของอาหารที่หมดอายุแล้ว 88 ชนิด โดยใช้หัวเชื้อจาก AD ทางอุตสาหกรรมที่ F/M 3.33 รายงาน CH₄ yield ในช่วง 216-1,476 mL_{CH₄}/gVS และมีการศึกษาเกี่ยวกับ substrate ที่มีลักษณะคล้ายคลึงกับ FW คือของเสียอินทรีย์จากภาคครัวเรือน (Organic fraction of municipal solid waste, OFMSW) ที่มีองค์ประกอบส่วนใหญ่คือ FW และของเสียในการทำสวนของ Romero De León *et al.* (2021) ผู้ศึกษา CD ของ OFMSW และ WH ที่ 55°C โดยใช้หัวเชื้อจากโรงปุ๋ยหมักพบว่า MD ของ OFMSW ที่ F/M 1:1 และ 2:1 มีค่า 594 และ 474 NL_{biogas}/kgVS_{added} ตามลำดับ และมี CH₄ ทั้งหมดใกล้เคียงกันคือ 65 %

เมื่อพิจารณา MD ของ WH ใน EP3 พบว่า BP สะสมในวันสิ้นสุดการทดลองมีค่า 179 mL มีค่าไม่แตกต่างกับ 177 mL ของ EP1 ซึ่งเป็นชุดควบคุม ส่งผลให้มี BY เพียง 24 mL_{biogas}/gVS_{added} ซึ่งเห็นว่า WH มีศักยภาพในการเป็นสารตั้งต้นเดี่ยวต่ำมากภายใต้สภาวะการทดลองในการศึกษาครั้งนี้ เมื่อพิจารณาผลของการปรับสภาพ WHO ของ EP4 พบว่า BY มีค่าเพิ่มขึ้นเพียงเล็กน้อย คือ 28

mL_{biogas}/gVS_{added} ขณะที่ WHB (EP5) แสดงค่าที่สูงกว่าคือ 45 mL_{biogas}/gVS_{added} คิดเป็น 1.9 เท่าของ WH ทั้งนี้อาจเนื่องมาจาก การปรับสภาพที่ 120 °C ทำให้ WHO สูญเสีย VFAs ซึ่งเป็นสารตั้งต้นในการผลิตก๊าซชีวภาพจากการระเหยที่อุณหภูมิดังกล่าว (Barua and Kalamdhad, 2017a) ขณะที่ Ferrer *et al.* (2010) ทดสอบปรับสภาพ WH บดละเอียด (< 1 mm) ด้วยอ่างน้ำควบคุมอุณหภูมิที่ 80 °C นาน 30 นาที พบว่า sCOD/COD ของ WH มีค่าสูงขึ้นจาก 4 เป็น 12 % แต่ไม่ได้ส่งผลอย่างมีนัยสำคัญต่อ CH₄ yield โดยมีค่า 188.7 และ 151.2 mL_{CH₄}/gVS สำหรับ WH ที่ไม่ปรับและปรับสภาพตามลำดับ อย่างไรก็ตาม BY ของ WH (ปรับและไม่ปรับสภาพ) ในการศึกษาครั้งนี้มีค่าน้อยมากเมื่อเทียบกับงานวิจัยอื่น ทั้งนี้อาจเป็นผลเนื่องมาจากปัจจัยบางประการเช่น ความแตกต่างขององค์ประกอบของ WH ในแต่ละห้องที่ ฤดูการเก็บเกี่ยว ขนาดอนุภาค การเตรียมตัวอย่าง WH การกวนผสมและอุณหภูมิที่ใช้ดำเนินการ โดยเฉพาะองค์ประกอบของลิกนินใน WH Paepatung *et al.* (2009) รายงาน BMP ของ WH โดยใช้หัวเชื้อจาก AD ของฟาร์มสุกรที่ F/M 1:3 มีค่าสูงถึง 350 mL_{CH₄}/gVS_{added} มีค่า VSD 66 % เนื่องจากมีลิกนินใน WH เพียง 5.58 % (VS basis) Romero De León *et al.* (2021) รายงาน BMP ของ WH ที่มีลิกนิน 18.9 % มีค่า 268 และ 246 mL_{CH₄}/gVS_{added} ที่ F/M 1:1 และ 2:1 ตามลำดับ ขณะที่ Priya *et al.* (2018) รายงาน BY กรณี MD ของ WH โดยใช้หัวเชื้อจาก AD ที่มีลิกนินสูง 28-33 % เท่ากับ 142.8 mL_{CH₄}/gVS_{added} และ Barua and Kalamdhad (2017b) ระบุ BMP ของการย่อย WH นาน 32 วัน ใกล้เคียงกันที่ 143 mL_{CH₄}/gVS_{added} โดยใช้หัวเชื้อจากมูลโคที่ F/M 2:1 และมีค่า VSD 33 %

นอกจากการออกแบบสภาวะที่แตกต่างกันแล้ว ปัจจัยสำคัญที่ทำให้ BY ในการศึกษานี้มีค่าต่ำมากคือ ผลจากประเภทและการปรับตัวของหัวเชื้อจุลินทรีย์ต่อ substrate ในทางทฤษฎีหัวเชื้อที่ใช้ในการทดสอบ BMP ควรจะประกอบด้วยกลุ่มจุลินทรีย์ที่เกี่ยวข้องกับทุกขั้นตอนสำคัญของ AD มีความหลากหลายของกลุ่มจุลินทรีย์ สารอาหารและเอนไซม์ที่สามารถทำงานได้อย่างส่งเสริมและสอดคล้องกัน (Koch *et al.*, 2017) ขณะที่การศึกษานี้ใช้หัวเชื้อจากระบบ UASB ของการบำบัดน้ำเสียจากอุตสาหกรรมแป้งมันสำปะหลังซึ่งน้ำเสียดังกล่าวมี substrate ส่วนใหญ่อยู่ในรูปสารละลายและสารอินทรีย์แขวนลอยขนาดเล็กที่ง่ายต่อการถูกไฮโดรไลซ์ ดังนั้น การใช้หัวเชื้อชนิดนี้ในการย่อย substrate ที่ประกอบด้วยสารอินทรีย์หลายประเภทเช่นใน FW และ LCB ใน WH จึงอาจเป็นสาเหตุหลักที่ทำให้ BY ที่ได้มีค่าต่ำมากเมื่อเทียบ

กับผลการวิจัยอื่น ๆ เช่น Dhamodharan *et al.* (2015) ทดสอบใช้หัวเชื้อจากมูลสัตว์ 5 ชนิดได้แก่ โค สุกร สัตว์ปีก แพะ แรด ในการผลิต CH_4 จาก FW ที่ F/M 1-2.5 พบว่า หัวเชื้อมูลโคมี CH_4 yield สูงที่สุด ซึ่งเป็นผลจากการปรับตัวที่ดีของกลุ่มจุลินทรีย์ต่อ substrate โดยมีค่า 227 mL/g VS_{degraded} มี VSD 54.58 % Koch *et al.* (2017) ศึกษาหัวเชื้อ 3 แหล่ง ได้แก่จากระบบบำบัดน้ำเสียชุมชน ระบบผลิตก๊าซชีวภาพจากของเสียทางการเกษตรและพืชพลังงาน และจาก digester ของระบบบำบัดของเสียอินทรีย์ครัวเรือน ต่อ substrate 4 ประเภทได้แก่ ตะกอนจากระบบบำบัดน้ำเสีย เศษข้าวโพด FW และ microcrystalline cellulose ภายใต้ F/M 0.5 ที่ 38 °C พบว่า ชนิดของหัวเชื้อไม่ส่งผลอย่างมีนัยสำคัญต่อ CH_4 yield ยกเว้นในกรณีของ substrate ประเภทเซลลูโลส CH_4 yield เป็นผลอย่างชัดเจนจากชนิดและการปรับตัวของ inoculum ต่อ substrate ช่วยลดระยะเวลาในการย่อยซึ่งทำให้อัตราการผลิต CH_4 มีความคงตัวและค่าสูงขึ้น

3.2.2.2 การย่อยร่วม (Co-digestion, CD) CD ของ FW และ WH (ปรับและไม่ปรับสภาพ) ด้วย SMR 59-78 % FW: 22-41 %WH ซึ่งผลให้ F/M มีค่า 2.26-3.62 พบว่า ที่ F/M ~ 3.6 ที่มี SMR ของ ~90% FW : 10% WH BY ของ EP12 (WHB) มีค่า > EP6 (WH) > EP9 (WHO) ซึ่งมีค่า 179, 139 และ 127 mL_{biogas}/gVS_{added} ตามลำดับ โดยมีค่า VSD 67.16-70.99 % เช่นเดียวกับที่ F/M ~ 3 ที่มี SMR ของ ~80 % FW: 20 %WH BY ของ EP13 (WHB) มีค่า > EP7 (WH) > EP10 (WHO) ที่มีค่า 179, 177 และ 151 mL_{biogas}/gVS_{added} ตามลำดับ และมี VSD 61.06-73.14 % ซึ่งชี้ให้เห็นว่า SMR ของ FW 80-90 % : WH 10-20 % ที่ F/M 3-3.6 การปรับสภาพ WH ด้วย hot water bath ส่งผลดีต่อ BY มากกว่าการใช้ hot air oven สอดคล้องกับชุดการทดลอง MD ขณะที่เมื่อ F/M มีค่าประมาณ 2.3 และ SMR ~60 % FW: 40% WH พบว่า BY ของ EP8 (WH) มีค่า 174 ซึ่ง > EP11 (WHO) 131 > EP14 (WHB) 122 mL_{biogas}/gVS_{added} และมีค่าต่ำกว่างานวิจัยอื่นก่อนหน้า เช่น Barua *et al.* (2018) รายงาน BMP ของ CD ระหว่าง FW และ WH ที่ไม่ปรับและปรับสภาพโดยใช้ hot air oven โดยใช้หัวเชื้อมูลโคที่ F/M =1 และ SMR ของ FW:WH ในช่วง 1:1-1:2.5 พบว่ากรณีที่ไม่มีการปรับสภาพ WH มีค่า BY สะสมสูงสุด 4,328 mL ที่

SMR ของ FW:WH = 1:2 ขณะที่ WH ที่ปรับสภาพมีค่า 5,017 mL ที่ FW:WH = 1:1.5 Priya *et al.* (2018) รายงานผลของ CD ระหว่าง FW และ WH ที่ SMR 1:1 โดยใช้หัวเชื้อจากถังย่อยของเสียทั่วไปมีค่า BY 394 mL/gVS ซึ่งชี้ให้เห็นว่า SMR ของ CD และ F/M ที่เหมาะสมควรมีการศึกษาเพิ่มเติมในอนาคต อย่างไรก็ตาม CD จะส่งผลดีโดยรวมต่อการย่อยในเชิงของการสร้างสมดุลของธาตุอาหาร ความหลากหลายของกลุ่มจุลินทรีย์ เพิ่มความสามารถในการเป็น buffer ช่วยลดการสะสมของ VFAs และมลสารอื่น ๆ ที่ทำให้เกิดการยับยั้งการสร้างก๊าซมีเทน (Barua *et al.*, 2019) นอกจากนี้ยังเป็นการกำจัดและการใช้ประโยชน์จาก WH อีกทางหนึ่ง ตัวอย่างเช่น EP8 (~60% FW: 40% WH ที่ F/M 2.26) มีค่า BY 174 mL_{biogas}/gVS_{added} ใกล้เคียงกับ EP12 (~90% FW: 10% WHB ที่ F/M 3.59) ที่มีค่าสูงสุดของ CD คือ 179 mL_{biogas}/gVS_{added} คล้ายกับผลการศึกษารองของ Romero De León, *et al.*, 2021 ศึกษา MD และ CD ของ OFMSW และ WH (หัวเชื้อจากน้ำชะกองปุ๋ยหมัก) ที่รายงาน CH_4 yield สูงสุด 387 NL_{CH4}/kgVS_{added} สำหรับ MD ของ OFMSW ที่ F/M 1:1 อย่างไรก็ตาม CH_4 yield ดังกล่าวนี้น่าจะใกล้เคียงและไม่แตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญกับ 337 NL_{CH4}/kgVS_{added} ของ CD ระหว่าง 70 % OFMSW: 30 % WH ที่ F/M 1:1 แสดงให้เห็นถึงข้อดีของ CD เพื่อการผลิตพลังงานหมุนเวียนและกำจัดของเสีย

3.3 ลักษณะทางกายภาพเคมีของตะกอนสลัดจ์จากระบบการย่อยแบบไม่ใช้ออกซิเจน

จาก Figure 2(A) และ 2(B) พบว่า TS และ VS removal มีค่า 36-55 % และ 40-60 % by FM ตามลำดับ และมี VSD 59.2-76.2 %TS (Table 2) เมื่อเปรียบเทียบในกลุ่ม MD EP2-EP5 พบว่า VSD ของ EP2 (FW) มีค่า 59.2 % TS ที่ F/M 4.58 ซึ่งมีค่าน้อยกว่า EP3 (WH) EP4 (WHO) และ EP5 (WHB) (72.2-76.1 % TS) ที่มี F/M 1.26-1.38 ทั้งนี้ อาจเนื่องมาจากการมี F/M ที่สูงกว่าถึง 3.3 เท่า ขณะที่ CD ใน EP6-EP14 ที่ F/M ~2.3-3.6 ที่มี SMR ~ 60-90 % FW: 10-40 %WH มีค่า VSD ใกล้เคียงกันในช่วง 61.06-74.09 % TS

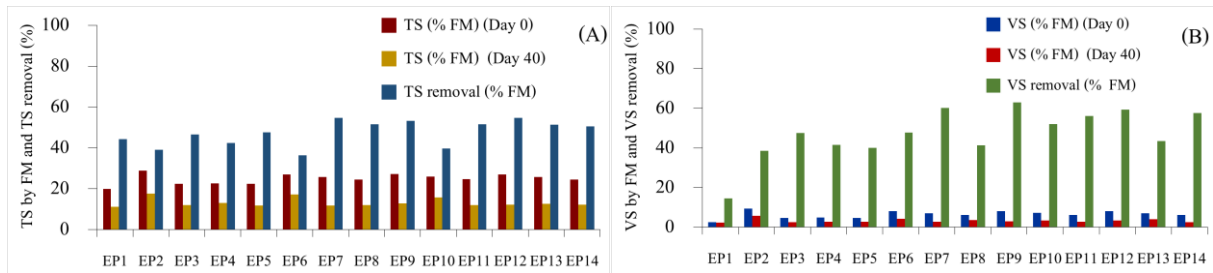


Figure 2 (A) TS by FM and TS removal (% FM) and (B) VS by FM and VS removal (% FM)

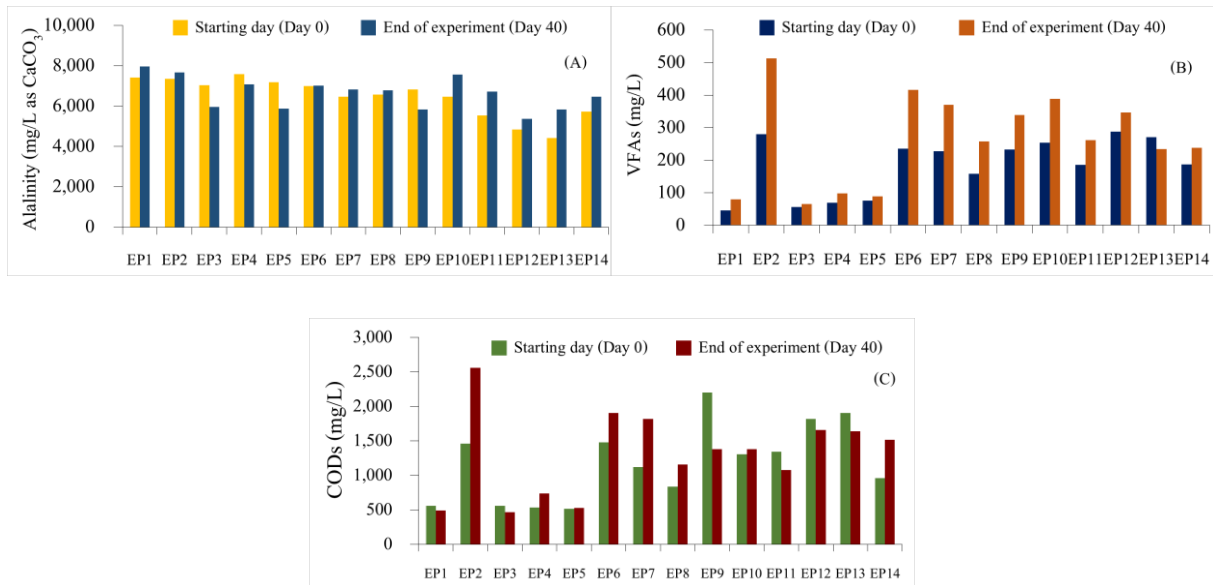


Figure 3 (A) Alkalinity (B) VFAs and (C) CODs

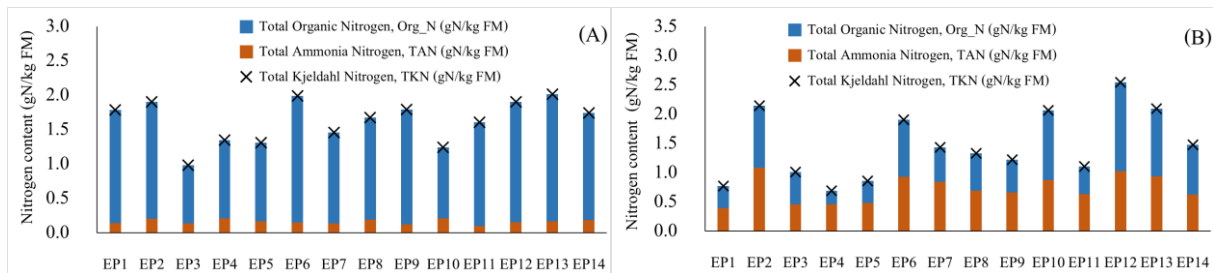


Figure 4 Nitrogen content in digestate for starting day (A) and by the end of experiment (B)

พีเอชของสลัดจ์ในวันแรกและวันสิ้นสุดการทดลองของทุกตัวอย่างมีค่าใกล้เคียงกันในช่วง 7.9-8.8 เช่นเดียวกับสภาพต่าง (Figure 3(A)) โดยมีค่า 5,000-8,000 mg/L as CaCO_3 ทั้งนี้เนื่องจากการเติม Alk ให้กับระบบเพื่อดำเนินการเปลี่ยนแปลงพีเอชที่อาจเกิดจากการสะสมของ VFAs ซึ่ง VFAs และ CODs ในวันสิ้นสุดการทดสอบส่วนใหญ่มีค่าเพิ่มขึ้น (Figure 3(B) และ 3(C)) เนื่องจากสารอินทรีย์ผ่านกระบวนการไฮโดรไลซิสให้เป็น VFAs สะสมอยู่ในระดับที่ไม่ยับยั้งการทำงานของจุลินทรีย์

กลุ่มสร้างมีเทน เกิดสมดุลของกิจกรรมจุลินทรีย์ส่งผลให้ระบบมีเสถียรภาพ

ปริมาณ TN พิจารณาจาก TKN เนื่องจากเป็นการย่อยแบบไม่ใช้ออกซิเจน จึงไม่มีองค์ประกอบของ $\text{NO}_3\text{-N}$ และ $\text{NO}_2\text{-N}$ รวมถึง N_2 ในวันเริ่มต้นทดสอบจาก Figure 4 (A) Org_N มีค่า 83.3-92.6 % เนื่องจากเป็นไนโตรเจนในรูปสารอินทรีย์ที่ยังไม่ผ่านการย่อย และมี TAN 6.1-16.7 % เมื่อสิ้นสุดการทดสอบดัง (Figure 4 (B)) Org_N มีค่าลดลงเหลือ 33.2-59.8 % เนื่องจาก Org_N ถูกย่อยและเปลี่ยนรูปเป็น TAN ส่งผลให้สัดส่วน TAN เพิ่มขึ้นเป็น 40.3-66.9 %

3.4 ลักษณะของตะกอนสลัดจ์ภายหลังการย่อยต่อการเป็นปัจจัยการผลิตทางการเกษตร

สลัดจ์ภายหลังการย่อย 40 วัน มีค่า TKN, TP และ TK ในช่วง 0.001-0.003, 0.001 และ 0.184-0.918 mg/gFM ตามลำดับ ทั้งนี้เนื่องจากองค์ประกอบส่วนใหญ่ของสลัดจ์คือความชื้น ขณะที่องค์ประกอบโดยน้ำหนักของแข็งมีค่า 0.005-0.021, 0.004-0.006 และ 1.651-7.602 mg/gTS ตามลำดับ ซึ่งมีค่าต่ำกว่าเกณฑ์การเป็นปัจจัยการผลิตทางการเกษตรที่รับรองโดยกรมพัฒนาที่ดิน (Office of Science for Land Development, 2013) (ยกเว้น TK ในบางกรณี) ที่กำหนดให้ $TN \geq 10$, $TP \geq 5$ และ $TK \geq 5$ mg/gFM อย่างไรก็ตาม สลัดจ์ดังกล่าวสามารถใช้เป็นของเหลวในการรดกองปุ๋ยหมักเพื่อเพิ่มความชื้น และเป็นวัสดุมูลรวม ซึ่งเป็นแนวทางในการเพิ่มธาตุอาหารพืชเพื่อการกำจัดและใช้ประโยชน์จากสลัดจ์ที่ผ่านการย่อยแล้ว (Martí-Herrero *et al.*, 2019)

4. สรุป

การศึกษาการกำจัดและการใช้ประโยชน์จาก FW และ WH ในการย่อยเดี่ยวและการย่อยร่วม เพื่อการผลิตก๊าซชีวภาพด้วยกระบวนการ AD พบว่า FW และ WH สามารถเป็นสารตั้งต้นได้ดีเนื่องจากมีปริมาณสารอินทรีย์ในรูป VS/TS สูงกว่า 74 % และ FW มีความสามารถในการย่อยสลายได้ง่ายและมีศักยภาพในการผลิตก๊าซชีวภาพสูงกว่า WH เมื่อพิจารณาจากสารอินทรีย์ละลายในรูป CODs และ VFAs เห็นได้ว่าการปรับสภาพ WH ด้วยน้ำร้อน มีแนวโน้มในการเพิ่มความสามารถในการย่อยได้ดีกว่าการใช้เตาอบลมร้อน ซึ่งจะเห็นได้จากกรณีของการย่อยเดี่ยวที่ WHB มีค่า BY สูงกว่า WHO และ WH ในช่วง F/M ที่ใกล้เคียงกัน สอดคล้องกับผลของการย่อยร่วมที่ SMR ระหว่าง FW และ WH สูง 80-90 % FW: 10-20 % WH และ F/M มีค่า 3-3.6 พบว่า $WHB > WH > WHO$ อย่างไรก็ตามเมื่อ SMR มีค่าต่ำลงประมาณ 60 % FW: 40 % WH การปรับสภาพ WH ไม่มีผลต่อ BY กล่าวคือ $WH > WHO > WHB$ เนื่องจากปริมาณการผลิตก๊าซชีวภาพส่วนใหญ่เป็นผลมาจากการย่อย FW เป็นหลัก ซึ่งประเภทของหัวเชื้อรวมถึง SMR ที่ส่งผลต่อ F/M และผลการย่อยร่วมของ FW และ WH โดยปราศจาก nutrient และ alkalinity supplement จากภายนอกควรมีศึกษาเพิ่มเติมต่อไป

5. กิตติกรรมประกาศ

งานวิจัยในครั้งนี้นำได้รับทุนสนับสนุนการวิจัยจากงบประมาณเงินรายได้ คณะสิ่งแวดล้อมและทรัพยากรศาสตร์ มหาวิทยาลัยมหาสารคาม ปีงบประมาณ 2563 และโครงการสนับสนุนทุนนักวิจัยใหม่ (วท.) ประจำปี 2562 ฝ่ายนักเรียนทุนรัฐบาลทางด้านวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยี สำนักงานพัฒนาวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยีแห่งชาติ

6. เอกสารอ้างอิง

- Ahn, D.J., Kim, S.K. and Yun, H.S. 2012. Optimization of pretreatment and saccharification for the production of bioethanol from Water Hyacinth by *Saccharomyces cerevisiae*. **Bioprocess and Biosystems Engineering** 35(1-2): 35-41.
- Álvarez, C., Reyes-Sosa, F.M. and Díez, B. 2016. Enzymatic hydrolysis of biomass from wood. **Microbial Biotechnology** 9(2): 149-156.
- APHA. 2012. **Standard Methods for the Examination of Water and Waste-Water**. 22nd ed. American Public Health Association/American Water Works Association/Water Environment Federation, Washington, DC.
- Barua, V.B. and Kalamdhad, A.S. 2016. Water Hyacinth to biogas: A review. **Pollution Research Paper** 3(35): 491-501.
- Barua, V.B. and Kalamdhad, A.S. 2017a. Effect of various types of thermal pretreatment techniques on the hydrolysis, compositional analysis and characterization of water hyacinth. **Bioresource Technology** 227: 147-154.
- Barua, V.B. and Kalamdhad, A.S. 2017b. Biochemical methane potential test of untreated and hot air oven pretreated water hyacinth: A comparative study. **Journal of Cleaner Production** 166: 273-284.
- Barua, V.B., Rathore, V. and Kalamdhad, A.S. 2018. Comparative evaluation of anaerobic co-digestion of water hyacinth and cooked food waste with and without pretreatment. **Bioresource Technology Reports** 4: 202-208.
- Barua, V.B., Rathore, V. and Kalamdhad, A.S. 2019. Anaerobic co-digestion of water hyacinth and

- banana peels with and without thermal pretreatment. **Renewable Energy** 134: 103-112.
- Campuzano, R. and Gonzalez-Martínez, S. 2015. Extraction of soluble substances from organic solid municipal waste to increase methane production. **Bioresource Technology** 178: 247-253.
- Capson-Tojo, G., Rouez, M., Crest, M., Trably, E., Steyer, J.P., Bernet, N., Delgenes, J.P. and Escudie, R. 2017. Kinetic study of dry anaerobic co-digestion of food waste and cardboard for methane production. **Waste Management** 69: 470-479.
- Dhamodharan, K., Kumar, V. and Kalamdhad, A.S. 2015. Effect of different livestock dungs as inoculum on food waste anaerobic digestion and its kinetics. **Bioresource Technology** 180: 237-241.
- Ferrer, I., Palatsi, J., Campos, E. and Flotats, X. 2010. Mesophilic and thermophilic anaerobic biodegradability of water hyacinth pre-treated at 80°C. **Waste Management** 30: 1763-1767.
- Gaurav, G.K., Mehmood, T., Cheng, L. Klemeš, J.J. and Shrivastava, D.K. 2020. Water hyacinth as a biomass: A review. **Journal of Cleaner Production** 277: 122214.
- Gustavsson, J., Cederberg, C., Sonesson, U., Otterdijk, R.V. and Meybeck, A. 2011. Chapter 3 Extent of food losses and waste, p. 4. In Rural Infrastructure and Agro-Industries Division (AGS). **Global Food Losses and Food Waste: Extent, Causes and Prevention**. Food and Agriculture Organization of the United Nations (FAO), Rome, Italy.
- Jiang, Y., Dennehy, C., Lawlor, P.G., Hu, Z., Zhan, X. and Gardiner, G.E. 2018. Inactivation of enteric indicator bacteria and system stability during dry co-digestion of food waste and pig manure. **Science of The Total Environment** 612: 293-302.
- Koch, K., Helmreich, B. and Drewes, J.E. 2015. Co-digestion of food waste in municipal wastewater treatment plants: Effect of different mixtures on methane yield and hydrolysis rate constant. **Applied Energy** 137: 250-255.
- Koch, K., Lippert, T. and Drewes, J.E. 2017. The role of inoculum's origin on the methane yield of different substrates in biochemical methane potential (BMP) tests. **Bioresource Technology** 243: 457-463.
- Kucharska, K., Hołowacz, I., Konopacka-Łyskawa, D., Rybarczyk, P. and Kamiński, M. 2018. Key issues in modeling and optimization of lignocellulosic biomass fermentative conversion to gaseous biofuels. **Renewable Energy** 129: 384-408.
- Kumar, M., Oyedun, A.O. and Kumar, A. 2018. A review on the current status of various hydrothermal technologies on biomass feedstock. **Renewable and Sustainable Energy Reviews** 81: 1742-1770.
- Land Development Department. 2004. Section 2 Soil Chemistry, pp. 125-140. In Office of Science for Land Development. **Guide to Analyzing Soil, Water, Fertilizer, Plants, Soil Amendments and Analysis to Certify Product Standards Volume 1**. W.J. Property Co., Ltd., Bangkok. (in Thai)
- Lay, C.H., Sen, B., Chen, C.C., Wu, J.H., Lee, S.C. and Lin, C.Y. 2013. Co-fermentation of water hyacinth and beverage wastewater in powder and pellet form for hydrogen production. **Bioresource Technology** 135: 610-615.
- Liu, X., Khalid, H., Amin, F.R., Ma, X., Li, X., Chen, C. and Liu, G. 2018. Effects of hydraulic retention time on anaerobic digestion performance of food waste to produce methane as a biofuel. **Environmental Technology and Innovation** 11: 348-357.
- Lopez, V.M., De la Cruz, F.B. and Barlaz, M.A. 2016. Chemical composition and methane potential of commercial food wastes. **Waste Management** 56: 477-490.
- Martí-Herrero, J., Soria-Castellón, G., Diaz-de-Basurto, A., Alvarez, R. and Chemisana, D. 2019. Biogas from a full scale digester operated in psychrophilic conditions and fed only with fruit

- and vegetable waste. **Renewable Energy** 133: 676-684.
- Ndimele, P.E., Kumolu-Joh, C.A. and Anetekhai, M.A. 2011. The invasive aquatic macrophyte, water hyacinth (*Eichhronia crassipes* (Mart.) Solm-Laubach: Pontedericeae): problems and prospects. **Research Journal of Environmental Sciences** 6(5): 509-520.
- Office of Science for Land Development. 2013. Chapter 2 Agricultural production factor standards certified by the Department of Land Development, pp. 13-14. *In Land Development Department Regulations on the Use of Agricultural Production Factor Standard Certification Marks 2013*. Ministry of Agriculture and Cooperatives., Bangkok. (in Thai)
- Paepatung, N., Nopharatana, A. and Songkasiri, W. 2009. Bio-methane potential of biological solid materials and agricultural wastes. **Asian Journal of Energy and Environment** 10: 19-27.
- Phuttaro, C., Sawatdeenarunat, C., Surendra, K.C., Boonsawang, P., Chaiprapat, S. and Khanal, S.K. 2019. Anaerobic digestion of hydrothermally-pretreated lignocellulosic biomass: Influence of pretreatment temperatures, inhibitors and soluble organics on methane yield. **Bioresource Technology** 284: 128-138.
- Priya, P., Nikhitha, S.O., Anand, C., Dipin Nath, R.S. and Krishnakumar, B. 2018. Biomethanation of water hyacinth biomass. **Bioresource Technology** 255: 288-292.
- Rodriguez, C., Alaswad, A., Benyounis, K.Y. and Olabi, A.G. 2017. Pretreatment techniques used in biogas production from grass. **Renewable and Sustainable Energy Reviews** 68: 1193-1204.
- Romero De León, L.A., Quinto Diez, P., Tovar Gálvez, L.R., Alvarado Perea, L., López Barragán, C.A., García Rodríguez, C.A. and Reyes León, A. 2021. Biochemical methane potential of water hyacinth and the organic fraction of municipal solid waste using leachate from Mexico City's Bordo Poniente composting plant as inoculum. **Fuel** 285: 119132.
- Ruan, T., Zeng, R., Yin, X.Y., Zhang, S.X. and Yang, Z.H. 2016. Water hyacinth (*Eichhornia crassipes*) biomass as a biofuel feedstock by enzymatic hydrolysis. **BioResources** 11(1): 2372-2380.
- Sawatdeenarunat, C., Surendra, K.C., Takara, D., Oechsner, H. and Khanal, S.K. 2015. Anaerobic digestion of lignocellulosic biomass: Challenges and opportunities. **Bioresource Technology** 178: 178-186.
- Sawatdeenarunat, C., Nguyen, D., Surendra, K.C., Shrestha, S., Rajendran, K., Oechsner, H., Xie, L. and Khanal, S.K. 2016. Anaerobic biorefinery: Current status, challenges, and opportunities. **Bioresource Technology** 215: 304-313.
- Sawatdeenarunat, C., Nam, H., Adhikari, S., Sung, S. and Khanal, S.K. 2018. Decentralized biorefinery for lignocellulosic biomass: Integrating anaerobic digestion with thermochemical conversion. **Bioresource Technology** 250: 140-147.
- Shrestha, S., Fonoll, X., Khanal, S.K. and Raskin, L. 2017. Biological strategies for enhanced hydrolysis of lignocellulosic biomass during anaerobic digestion: Current status and future perspectives. **Bioresource Technology** 245: 1245-1257.
- Slopiecka, K., Liberti, F., Massoli, M., Bartocci, P. and Fantozzi, F. 2022. Chemical and physical characterization of food waste to improve its use in anaerobic digestion plants. **Energy Nexus** 5: 100049.
- Sriprasert, N. and Sriprasert, P. 2023. Enhancement of Biogas Production Potential from Water Hyacinth by Thermal and Waved Pre-Treatment. **Rajamangala University of Technology Srivijaya Research Journal** 15(3): 849-864. (in Thai)
- Sukasem, N., Khanthi, K. and Prayoonkham, S. 2017. Biomethane Recovery from Fresh and Dry

Water Hyacinth Anaerobic Co-Digestion with Pig Dung, Elephant Dung and Bat Dung with Different Alkali Pretreatments. **Energy Procedia** 138: 294-300.

Xiaofeng, L., Shuangyan, Z., Delai, Z., Jingping, Z. and Li, L. 2014. Anaerobic co-digestion of food waste and landfill leachate in single-phase batch reactors. **Waste Management** 34: 2278-2284.

Yang, S., Xue, W., Liu, P., Lu, X., Wu, X., Sun, L. and Zan, F. 2022. Revealing the methanogenic pathways for anaerobic digestion of key components in food waste: Performance, microbial community, and implications. **Bioresource Technology** 347: 126340.

Yong, Z., Dong, Y., Zhang, X. and Tan, T. 2015. Anaerobic co-digestion of food waste and straw for biogas production. **Renewable Energy** 78: 527-530.

Zheng, Y., Zhao, J., Xu, F. and Li, Y. 2014. Pretreatment of lignocellulosic biomass for enhanced biogas production. **Progress in Energy Combustion Science** 42: 35-53.



Research Article

Development of an E-commerce Application System for Durian Entrepreneurs in Narathiwat Province, Thailand

Surachet Sangkhapan^{*}, Katekaew Pradit, Pakarat Thongjan, Prarak Amornsak
and Jaeinyas Totayong

Department of Digital Technology for Business, Faculty of Management Sciences, Princess of Naradhiwas University, Mueang,
Narathiwat 96000, Thailand.

ABSTRACT

Article history:

Received: 2023-10-02

Revised: 2023-12-05

Accepted: 2024-05-16

Keywords:

application development;

e-commerce;

durian entrepreneurs

This research and development project aims to create an application for managing processed durian products to support B2B2C e-commerce. The objectives are to 1) study relevant data, 2) design the system architecture, and 3) evaluate system efficiency. The sample group consists of the processed durian community in Bukit Subdistrict, Cho-I-Rong District, Narathiwat Province. The development follows the SDLC model, using NextJS with Server-Side Rendering (SSR) for the frontend, Node.js for the backend, and Firestore on Firebase as a NoSQL database. The system comprises seven core modules: member management, product management, order management, payment channels, database management, multi-vendor management, and reporting. Evaluation by two experts and 30 users shows that the system performs excellently, particularly in meeting user requirements ($\bar{X} = 4.67$, S.D. = 0.49), system functionality ($\bar{X} = 4.62$, S.D. = 0.55), ease of use ($\bar{X} = 4.57$, S.D. = 0.49), and data security ($\bar{X} = 4.60$, S.D. = 0.56). The research results indicate that this system is efficient and can be implemented in real-world scenarios. It helps connect community products to online markets through social media, increases sales channels, and can potentially aid in controlling product prices and quality in the future.

© 2025 Sangkhapan, S., Pradit, K., Thongjan, P., Amornsak, P. and Totayong, J. Recent Science and Technology published by Rajamangala University of Technology Srivijaya

1. Introduction

In the rapidly evolving digital landscape of Thailand, community businesses, particularly those in the local fruit processing industry, face significant challenges in adapting to the online marketplace. Although the e-commerce sector in Thailand has demonstrated remarkable growth (Kemp, 2023), many community businesses still struggle to effectively

access digital technologies and markets. The case study of the durian jam processing community in Bukit Village, Cho-airong District, Narathiwat Province, exemplifies the primary obstacles that local entrepreneurs encounter: limited market access, lack of technological skills, and intensified competition from large online retailers. Despite the unique characteristics and cultural value of southern Thailand's native durian, local producers continue to face difficulties in expanding their

^{*} Corresponding author.

E-mail address: Surachet.sa@pnu.ac.th

Cite this article as:

Sangkhapan, S., Pradit, K., Thongjan, P., Amornsak, P. and Totayong, J. 2025. Development of an E-commerce Application System for Durian Entrepreneurs in Narathiwat Province, Thailand. *Recent Science and Technology* 17(1): 263648.

market reach and boosting sales. This research, focused on "Development of an E-Commerce Application System for Durian Entrepreneurs in Narathiwat Province, Thailand," aims to address critical gaps in the existing literature by integrating cutting-edge technology with local contexts. While previous studies have explored e-commerce potential for Thai SMEs (Wongkhamdi *et al.*, 2020) and the adoption of serverless e-commerce applications (Athreya *et al.*, 2022), this research uniquely applies advanced technologies such as ReactJS, NextJS Server-Side Rendering (SSR), and Firebase to the specific challenges of the durian industry in Narathiwat Province. This approach not only expands the scope of e-commerce studies for specialized agricultural products but also presents novel strategies for developing digital business models tailored to small-scale entrepreneurs. The practical application of e-commerce for community businesses is essential, particularly the implementation of the B2B2C (Business-to-Business-to-Consumer) model. This model facilitates commercial interactions between businesses and aids in selling products directly to consumers, representing a novel business paradigm that unifies customers and sellers on a single platform (Cai *et al.*, 2018). This research builds upon this concept by developing a B2B2C e-commerce system specifically for durian jam products from the Bukit community, aiming to solve market access problems, increase operational efficiency, and foster long-term customer relationships. The proposed approach in this research consists of developing an intuitive mobile application, creating an efficient logistics system, and utilizing data analysis technology to enhance marketing strategies. This approach aligns with recent trends in creating positive customer experiences through transparency and efficiency in the ordering process (Dhayfule *et al.*, 2022). Moreover, the developed system allows entrepreneurs to act as direct sellers, helping to reduce the complexity of business processes and the number of intermediaries in the sales chain (Kamble *et al.*, 2022). Technologically, the developed system leverages web components for faster rendering and uses the React JavaScript library to achieve efficiency comparable to major platforms. Data storage employs real-time NoSQL on Google Firestore, offering

high speed, instant responsiveness, and support for numerous users (Yerlekar *et al.*, 2023). The selection of these technologies not only enhances system performance but also contributes to broadening the knowledge base for applying advanced digital technologies in agriculture. The expected outcomes of this research are diverse and significant, including (1) increased sales and revenue for durian jam producers in the Bukit community; (2) expansion of the customer base into new markets, both domestically and internationally; (3) creation of a sustainable business model for local fruit processed products, applicable to other communities in Thailand; (4) generation of new knowledge in applying technology to agriculture, particularly in the context of e-commerce for specialty products; (5) enhancement of competitiveness for small-scale agricultural entrepreneurs in the digital marketplace; and (6) stimulation of the local economy through improved market access and increased sales (Anwar *et al.*, 2021; Prakarsa and Hafiz, 2022). The integration of traditional trading strategies with online channels through this specially designed e-commerce platform aims not only to expand customer reach and increase revenue for the Bukit community but also to create a replicable model for the digital transformation of Thailand's agricultural sector (Sirisom, 2017; Pongsak, 2017). Consequently, this research contributes to filling important gaps in the literature by providing in-depth insights into the impact of e-commerce technology on local farming communities and presenting innovative approaches to UX/UI design specifically tailored for durian entrepreneurs (Ngamwannakom, 2022). In summary, this study has the potential to make significant contributions both in the practical application of e-commerce in community businesses and in the academic understanding of digital transformation in agriculture. The results of this research have the potential for widespread application, leading to comprehensive digital transformation across Thailand's agricultural industry and potentially serving as a model for similar initiatives in other regions (Alsiddiq and Jamail, 2019). This research not only aims to address the immediate problems of the Bukit community but also lays the foundation for long-term sustainable

development of the Thai agricultural sector in the digital era by balancing the preservation of cultural values of local products with the utilization of market opportunities presented by modern technology (Andoyo *et al.*, 2020).

Furthermore, this study plays a crucial role in promoting grassroots economic development and reducing the digital divide by enhancing the technological capabilities of small-scale entrepreneurs in rural communities, aligning with Thailand's digital economy development policy (Digital Economy Promotion Agency, 2019). Ultimately, the results of this research will not only benefit the Bukit community and the durian industry but also have the potential to create a positive impact on Thailand's agricultural sector as a whole by presenting an adaptable model for elevating other local agricultural products to the global digital market.

2. Materials and Methods

The development of an e-commerce application system for durian entrepreneurs in Narathiwat Province, Thailand, was conducted using a six-step research and development process. The system development followed the Systems Development Life Cycle (SDLC) methodology (Boggs, 2004; Agarwal *et al.*, 2023; Patel, 2023; Leloudas, 2023). The steps are as follows:

1. Literature Review

A comprehensive study and analysis of literature, research, and technologies related to e-commerce systems for community entrepreneurs was conducted, particularly in the context of the durian industry and processed products. In addition to referencing existing research such as (Kemp, 2023; Wongkhamdi *et al.*, 2020; Andoyo *et al.*, 2020), the researcher also included contemporary studies on e-commerce systems and their impact on local economies.

Key findings from the literature review:

- (Luo and Niu, 2019) demonstrated the positive effects of e-commerce on rural economies in China, especially in increasing household income.
- (Chen, 2024) highlighted how rural e-commerce has significantly transformed traditional sales patterns of agricultural products, improving market access for

farmers and enhancing overall economic diversity in rural areas.

These findings helped define the objectives of the current study, emphasizing the development of a system that responds to the specific needs of durian entrepreneurs in the area and measures the impact on the local economy.

2. System Design

Concepts were developed and an e-commerce system was designed to meet the specific needs of durian entrepreneurs in Narathiwat Province. User-Centered Design (UCD) techniques and Rapid Prototyping were employed to design the User Interface (UI) and User Experience (UX) appropriate for the target group.

3. System Architecture Design

The system architecture was planned and designed using Google's Firebase and Firestore for cloud data storage, aligning with the research of (Andoyo *et al.*, 2020; Wongkhamdi *et al.*, 2020), who used Firebase in developing e-commerce systems for entrepreneurs and SMEs in the Thai context. The system comprises:

- a) Frontend: React Native for mobile applications and Next.js for web applications
- b) Backend: Firebase Functions for serverless backend processing
- c) Database: Firestore for NoSQL data storage
- d) Authentication: Firebase Authentication for user verification
- e) Storage: Firebase Storage for image and file storage
- f) Hosting: Firebase Hosting for web application deployment

The use of Firebase ensures system flexibility, scalability, and high security, which is suitable for the needs of durian entrepreneurs in Narathiwat Province.

An example of the data structure in Firestore is as follows:

```
//javascript
"products" collection
{
```

```

      "id": "autogenerated_id",
      "name": "Premium Durian Paste",
      "description": "High-quality durian paste
from Narathiwat",
      "price": 250,
      "category": "Processed",
      "producerId": "user_id_reference",
      "createdAt": Timestamp,
      "updatedAt": Timestamp
    }

```

This structure allows for efficient storage and retrieval of product information, which is crucial for the e-commerce system's performance.

4. System Development

The application was developed following the Agile Systems Development Life Cycle (SDLC) using the Scrum framework, with the following details:

- a) Requirements Analysis: Employed In-depth Interview techniques with durian entrepreneur groups.
- b) Design: Used Figma for UI/UX design.
- c) Development: Used Git for Version Control.
- d) Testing: Black Box Testing was used to test the system from the user's perspective.
- e) Evaluation: Used a 5-level satisfaction assessment form following (Boonchom, 2002) method.
- f) Improvement: Analyzed evaluation results and feedback in Sprint Retrospective.

5. System Implementation

Firebase Hosting was used for web application deployment, while Google Play Console and App Store Connect were utilized for mobile application distribution. User training was conducted using the Train-the-Trainer method.

6. User Manual Creation

The user manual for the e-commerce system was created using Canva as the main tool, with steps including manual structure design, content creation, and manual distribution through interactive PDF and QR codes.

This application development focused on creating a system that responds to the specific needs of durian entrepreneurs in Narathiwat Province, taking into account the cultural context, language, and technological limitations in the area. The study used Purposive Sampling, selecting 10 groups of durian entrepreneurs in Narathiwat Province. The expected outcomes of this research are increased sales and income for the community, expansion of customer base to new markets, and the creation of a sustainable business model for local fruit processed products, which can be applied to other communities in Thailand.

3. Results and Discussion

This study focuses on developing an e-commerce system for durian entrepreneurs in Narathiwat Province, utilizing the B2B2C model. The results of the study are divided into four main sections: 1) the prototype of the durian processed product management system, 2) the system development architecture, 3) the user interface design, and 4) the system performance evaluation results.

1. Prototype of the Durian Processed Product Management System

The system prototype consists of three main components: input, process, and output. The system can comprehensively manage data related to entrepreneurs, products, manufacturers, customers, and orders. The main functional features include a member management system, product management system, order management system, multi-vendor management system, reporting system, and database management system.

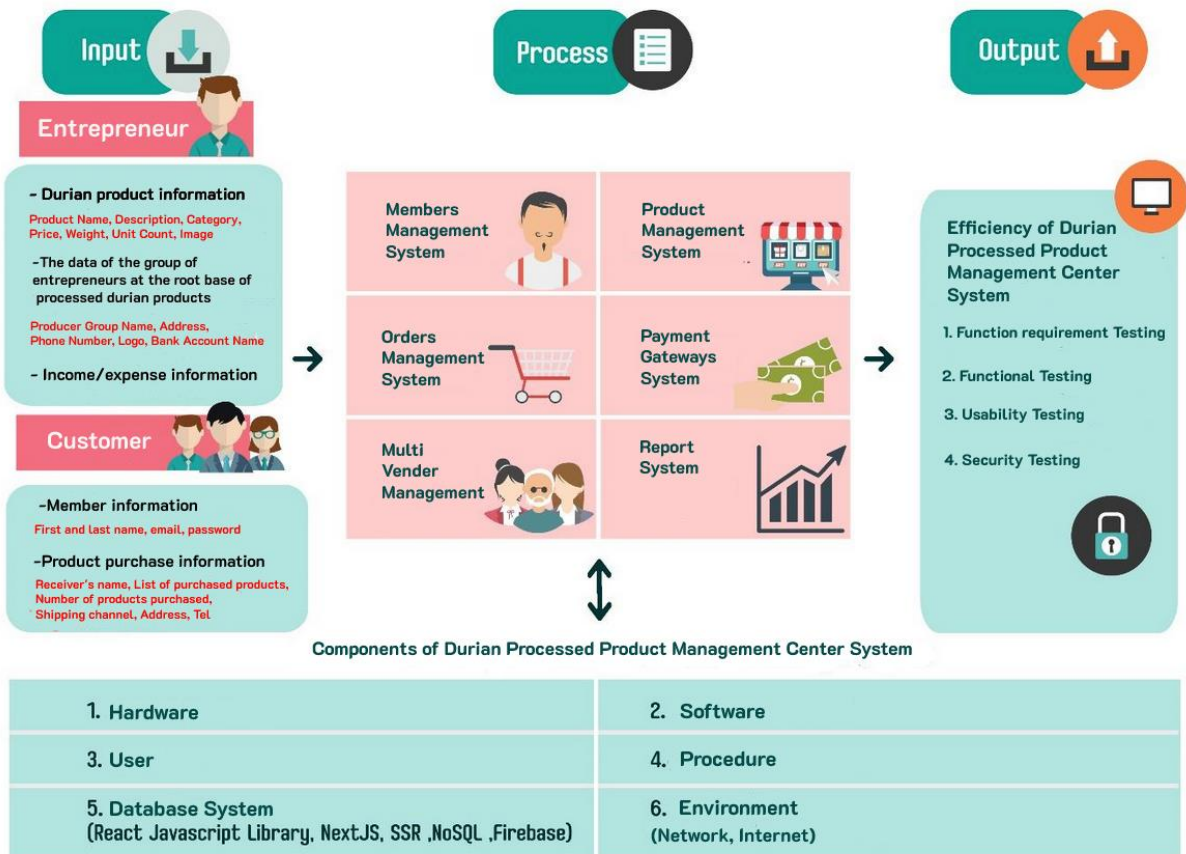


Figure 1 Prototype of the durian processed product management system

The details of Figure 1 are as follows: The input data for the system can be organized in the following manner: Company details: Durian Product Details: The information provided includes the product's name, description, category, price, weight, quantity per unit, and a picture of the product. Information about manufacturers of processed durian products includes the group's name, address, phone number, logo, bank account name, and income and spending data. Client Details: Member Details include the individual's name, email, and password. Purchase Information: Please include the recipient's name, the item(s) purchased, the quantity of products purchased, the delivery method, the delivery address, and the phone number. The journal describes a system development approach that has many components: 1) Members Management System: This system incorporates features such as Google Mail login, assignment of roles and permissions, and registration of memberships for various user roles (Admin, Vendor/Seller, User). The functionality of the system includes the management of member information,

with the ability to display, add, delete, amend, and search for information. 2) Product administration System: Incorporates a range of features for efficient product administration, such as product display, addition, removal, modification, and search capabilities. Additional functionalities encompass inventory management, product commenting, reviewing, rating, sorting, filtering, and issuing notifications for low inventory. Product picture zoom facilitates an improved user experience by enhancing the ability to view and examine the product in detail. 3) Orders Management System: Provides features for managing orders, such as the ability to view, add, remove, modify, and search. Automated notifications of order status via email and SMS enhance contact with users. Order history tracking is active, and secure payment transactions are handled by the Payment Gateways System. 4) Multi-Vendor administration: Facilitates efficient administration of many suppliers by providing functionalities for displaying, adding, deleting, modifying, and searching. 5) Reporting System: Enables comprehensive analysis and evaluation

of many components of the system, such as product reports, administrative insights (Admin Dashboard), user activities (User Dashboard), vendor performance (Vendor Dashboard), and real-time sales tracking. 6) Database Management System: Ensures optimal administration of databases pertaining to members, items, orders, and payments, and provides features for ensuring the consistency and availability of data. The output evaluation is organized in a journal style and includes the following categories: 1) User Requirement Fulfilment: Comprises of 8 sub-questions evaluating the system's effectiveness in managing members, managing products, processing orders, handling payment channels, managing databases, overseeing multiple vendors, generating sales data reports, and facilitating user registration. System Functionality: The evaluation consists of 8 sub-questions that assess the effectiveness of several aspects, including member administration, product management, order processing, payment handling, database management, multi-vendor management,

sales data reporting, and user registration. User-Friendliness: Comprises 8 sub-questions that assess the ease of use and satisfaction regarding the functioning of the system, the consistency of screen design, the appropriateness of symbols and images, the suitability of font size, the suitability of colors, the relevance of text, and overall user contentment. Data security encompasses four sub-questions that evaluate user authentication through the use of user IDs and passwords, precise user access control, prompt communication of product orders and payments, and timely notification of errors or missing data.

2. System Development Architecture

The system is developed based on the B2B2C model, which interconnects producers, merchants, and consumers. The platform serves as an intermediary, helping to reduce sales processes and enhance logistics management efficiency.

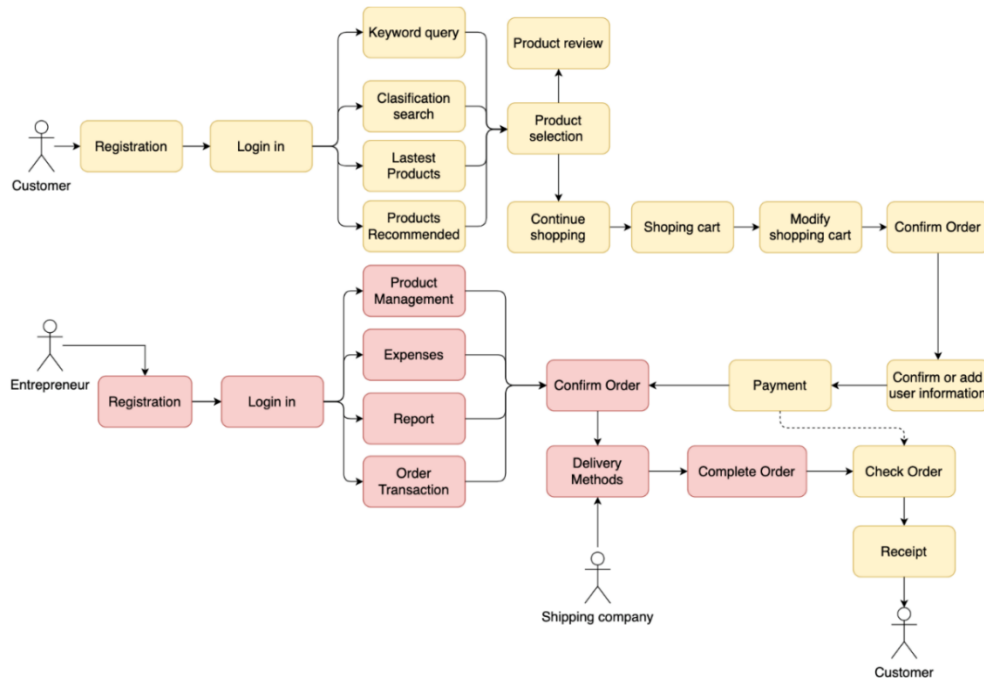


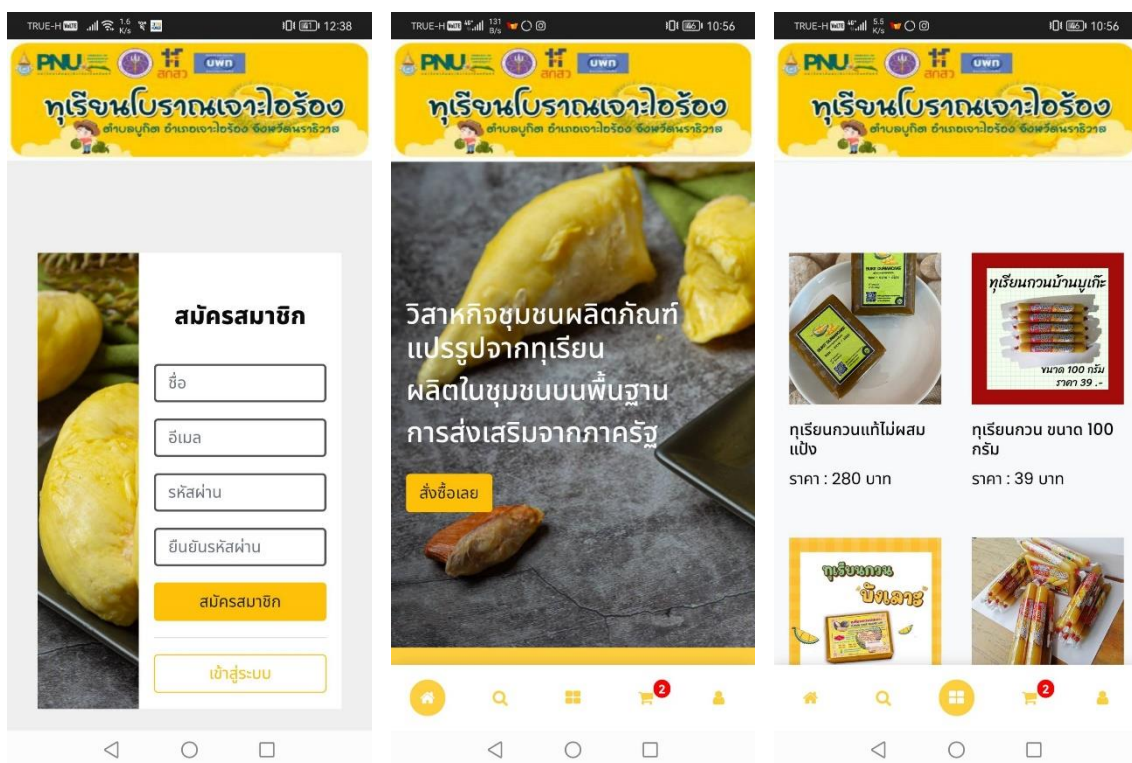
Figure 2 Durian Processed Product Management System Development Architecture

The details of Figure 2 are as follows: The B2B2C (Business-to-Business-to-Customer) model is a business approach that facilitates transactions between business owners and enables them to sell products to consumers. This new business model combines both buyers and sellers on a single platform. The business that owns the platform acts as an intermediary, bringing business owners and consumers together with a focus on user behavior. The B2B2C model is a new sales method that has evolved from and improved upon the B2B and B2C models. In the current e-commerce system, a logistics supply chain has been created through the B2B2C model, offering comprehensive services. The innovation of the B2B2C model lies in providing new e-commerce rules for all consumers. The full-service e-commerce platform using the B2B2C model connects producers, sellers, and consumers,

fully integrating production and retail resources. This platform allows merchants to act as direct sellers, bringing business directly to consumers and shortening the sales chain. Additionally, it has a complete logistics system that selects appropriate transport companies based on consumer needs. As the number of intermediary connections decreases, consumers can purchase satisfactory products at lower prices, while businesses can also achieve higher profits.

3. User Interface Design

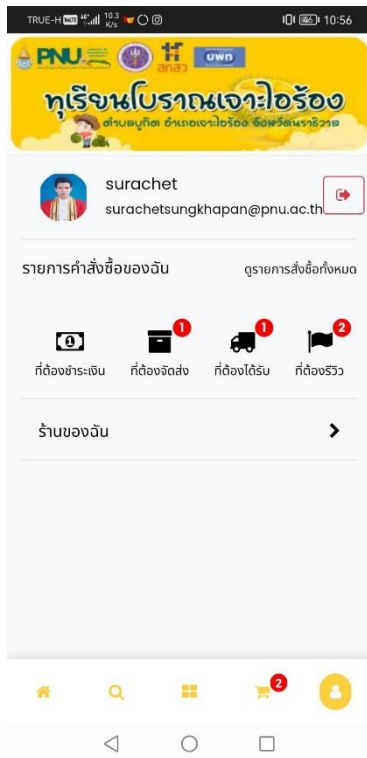
The user interface is designed to be user-friendly for both buyers and sellers. It includes registration pages, sales pages, product listings, order history, shopping cart, payment processing, product reviews, a dashboard for sellers, and a control menu.



(a) Register

(b) Sale page

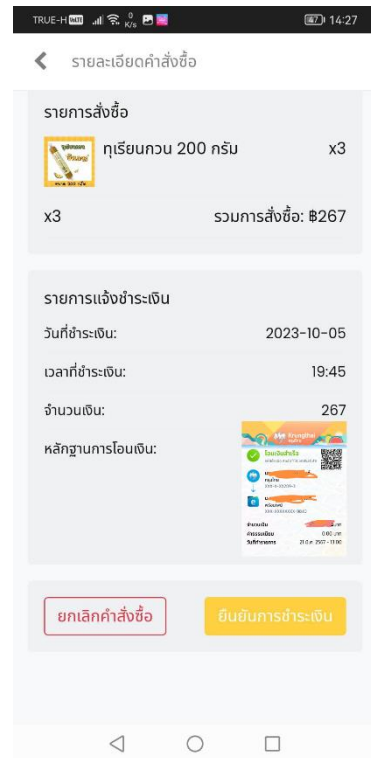
(c) Product



(d) Order Detail



(e) Product cart



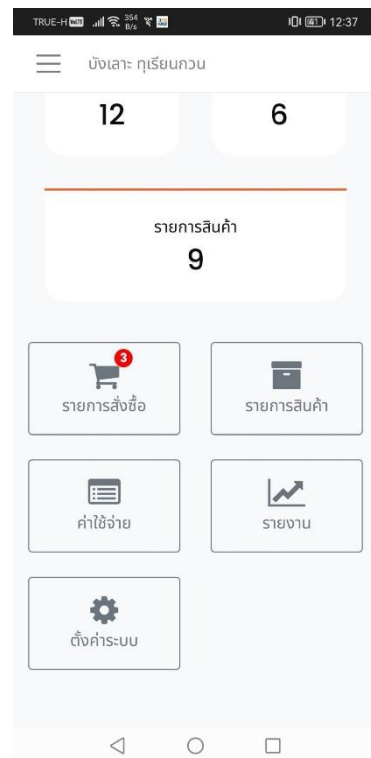
(f) Payment



(g) Review



(h) Control page



(i) Menu control page

Figure3 User Interface Design

The details of Figure 3 are as follows: The UI design of the durian processed product management system is customized to provide a smooth and user-friendly experience for both consumers and suppliers. Figure 3 depicts the essential elements of the user interface design. a) User Registration Page: This page facilitates the creation of an account and registration process for new users to have access to the system. b) Sales Page: After logging in, customers are presented with the sales page, where they may see the available items and are encouraged to make rapid purchase selections via a conspicuous "Buy Now" button. c) Product List: Users may access a complete display of all durian processed items that are currently available, allowing them to easily browse and explore the whole variety of products. d) My Orders: Users may view their order history and control their pending, confirmed, and finished orders. f) Shopping Cart: A specialized shopping cart enables customers to review and manage the items they plan to buy. f) Checkout: The

checkout procedure directs consumers through the stages of selecting payment alternatives and confirming their orders. Product Reviews: Users have the ability to post reviews and ratings on items, offering useful input to other buyers. The backend dashboard allows vendors to have access to a comprehensive picture of client orders, encompassing pending payments, order confirmations, shipping, and completed orders. Additionally, it indicates the overall quantity of things that have been ordered. i) Menu Page: Vendors can access different menu categories to observe and control their product listings and orders.

4. System Efficiency Evaluation Results

The system's efficiency was evaluated by a sample group of 30 people, consisting of entrepreneurs and general users. The evaluation results are divided into two main parts:

Part 1: General Information about the Respondents

Table 1 General Information about the Respondents results

Gender		Age	Educational qualification			Experience in buying andselling durian (Year)
Male	Female	18-68	Lower than Bachelor's degree	Bachelor's degree	Not specified	3-30
10	20	30	12	17	1	30
33.3%	66.7%	100%	40%	56.7%	3.3%	100%

Table 1 shows the following: Gender: 33.3% of the respondents were male (n=10), and 66.7% were female (n=20). Age: 100% of the respondents were aged 18–68 years (n=30). Educational qualifications: 40% had a bachelor's degree (n=12), 56.7% also had a bachelor's degree (n=17), 3.3% did not specify their qualifications (n=1). Experience in buying and selling durian: 100% had 3–30 years of experience (n=30).

Part 2: Evaluation of the Satisfaction Level with the Efficiency of the Development of the Mobile Application for Durian Processed Product Management Center System Application in Narathiwat Province Towards Driving E-Commerce using the Black-Box Testing Method

2.1 Evaluation of Compliance with User Requirements (Functional Requirement Test)

Table 2 Function requirement testing results

Function requirement Testing	$\bar{X}$	S.D.	Interpret results
1. The system can manage members.	4.73	.58	The most
2. The system can manage products.	4.67	.61	The most
3. The system can manage product orders.	4.70	.60	The most
4. The system provides payment channels.	4.60	.62	The most
5. The system can manage databases.	4.57	.68	The most
6. The system can manage multiple sellers.	4.70	.60	The most
7. The system can generate sales reports.	4.73	.52	The most
8. The system allows user registration.	4.63	.56	The most
Total	4.67	.49	The most

Table 2 shows the following conclusions about the functionality of the system: The system can manage members and generating sales reports was the most valued feature ($\bar{X}$ =4.67, S.D.= .49). The three items with which users were most satisfied were: The system can manage members ($\bar{X}$ = 4.73, S.D. = 0.58)

and generate sales reports ($\bar{X}$ = 4.73, S.D. = 0.52). The system can manage product orders and multiple sellers ($\bar{X}$ =4.70, S.D.= .60) and the system can manage products ($\bar{X}$ =4.67, S.D.= 0.61).

2.2 Evaluation of the Efficiency of the System's Functional Performance (Functional Testing)

Table 3 Functional Testing results

Functional Testing	$\bar{X}$	S.D.	Interpret results
1. Accuracy of member management	4.53	.63	The most
2. Accuracy of product management	4.60	.68	The most
3. Accuracy of product order management	4.67	.66	The most
4. Accuracy of payment channels	4.63	.67	The most
5. Accuracy of database management	4.53	.63	The most
6. Accuracy of multiple seller management	4.70	.54	The most
7. Accuracy of sales report generation	4.63	.67	The most
8. Accuracy of user registration	4.63	.62	The most
Total	4.62	.55	The most

Table 3 shows the following conclusions about the functionality of the system: Overall satisfaction with the functionality of the system was the highest ($\bar{X}$ =4.62, S.D.= 0.55). The three items that users were most satisfied with were: Accuracy of multiple seller management

($\bar{X}$ =4.70, S.D.= 0.54), accuracy of product order management ($\bar{X}$ =4.67, S.D.= 0.66), accuracy of payment channels ($\bar{X}$ = 4.63, S.D. = 0.67), accuracy of sales report generation ($\bar{X}$ = 4.63, S.D. = 0.67), and accuracy of user registration ($\bar{X}$ = 4.63, S.D. = 0.62).

Table 4 Usability testing results

Usability Testing	$\bar{X}$	S.D.	Interpret results
1. The system is easy to use.	4.47	.63	The most
2. The system works quickly.	4.50	.63	The most
3. The screen design is standardized.	4.60	.62	The most
4. The use of symbols or images is appropriate.	4.60	.56	The most
5. The font size is appropriate.	3.63	.56	The most
6. The use of text and image colors is appropriate.	3.63	.56	The most
7. The use of text to explain the meaning is appropriate.	3.57	.73	The most
8. Overall satisfaction with the system is high	3.57	.68	The most
Total	4.57	.49	The most

Table 4 shows that the overall satisfaction with the usability of the mobile application was the highest ($\bar{X}$ = 4.57, S.D. = .49). The three items that users were most satisfied with were: 1) The screen design is standardized ($\bar{X}$ = 4.60, S.D. = 0.62); 2) The use of symbols or images is appropriate ($\bar{X}$ = 4.60, S.D. =

0.56); 3) The system works quickly ($\bar{X}$ = 4.50, S.D. = 0.63); and 4) The system is easy to use ($\bar{X}$ = 4.47, S.D. = 0.63).

2.3 Evaluation of the Efficiency of Data Security in the System (Security Testing)

Table 5 Security testing results

Security Testing	$\bar{X}$	S.D.	Interpret results
1. The system can assign usernames and passwords to verify user access.	4.60	.68	The most
2. The system can control access according to user permissions accurately.	4.60	.56	The most
3. The system notifies when ordering products and making payments.	4.53	.63	The most
4. The system notifies when incorrect or incomplete data is entered.	4.62	.62	The most
Total	4.60	.56	The most

Table 5 shows the following conclusions about the system performance: Overall satisfaction with the system's performance was the highest ($\bar{X}$ = 4.60, S.D. = 0.56). The three items that users were most satisfied with were: 1) The system notifies when incorrect or incomplete data is entered ($\bar{X}$ = 4.62, S.D. = 0.62); 2) The system can assign usernames and passwords to verify user access ($\bar{X}$ = 4.60, S.D. = 0.68) and control access according to user permissions accurately ($\bar{X}$ = 4.60, S.D. = 0.56); and 3) The system notifies when ordering products and making payments ($\bar{X}$ = 4.53, S.D. = 0.63).

The research team's comprehensive evaluation of the e-commerce system for durian entrepreneurs in Narathiwat province has yielded impressive results across all four aspects of assessment. Users expressed high satisfaction with the system's alignment to their requirements, awarding it an average score of 4.67. This satisfaction was particularly evident in the system's robust membership management features and its capability to generate detailed sales reports. The system's performance efficiency also received high marks, with an average score of 4.62. Users especially appreciated the accuracy in managing multiple sellers simultaneously. In terms of usability, the system

received a commendable 4.57, with users praising the intuitive screen design and the effective use of symbols and images. Data security, a critical aspect of any e-commerce platform, garnered an average score of 4.60, with users particularly valuing the system's proactive notifications for incorrect or incomplete data entry. These evaluation results paint a picture of a highly efficient system that responds well to user needs. However, it's worth noting that the ease of use score, while still high, is slightly lower than the scores for other aspects. This suggests an area for potential improvement in future iterations of the system. A particularly intriguing finding of this study is the effectiveness of the B2B2C (Business-to-Business-to-Consumer) model in enhancing connections between producers, traders, and consumers. This aligns with previous research by (Cai *et al.*, 2018), which highlighted the model's capacity to reduce supply chain complexity and improve logistics management efficiency. When compared to similar e-commerce systems developed for agricultural products in other regions, this system distinguishes itself through its robust support for multiple sellers and its efficient logistics management capabilities, making it particularly well-suited for the unique context of durian entrepreneurs in Narathiwat province. Despite these positive outcomes, the study does acknowledge certain limitations. Notably, the sample group for system testing did not encompass all user groups, with a particular gap in representation from end customers - a crucial component of the B2B2C model. This highlights the need for more comprehensive customer testing in future system development to ensure a more holistic evaluation. Looking ahead, the research team recommends conducting additional studies to gauge the system's impact on local economic development. They also suggest exploring the possibility of expanding the system to other regions or adapting it for different agricultural products. Such studies would provide a broader perspective on the potential of e-commerce systems for agricultural products across Thailand.

The development of the e-commerce system for durian entrepreneurs in Narathiwat Province has shown promising results, yet it is not without limitations. The study's relatively small sample size of 30 users

may limit the generalizability of the findings. Additionally, the lack of input from end customers, a crucial element in the B2B2C model, presents a gap in the evaluation process. The system's slightly lower score in ease of use compared to other aspects indicates potential for improvement in the user interface design. Despite these limitations, the system offers unique features that set it apart from similar e-commerce platforms for agricultural products. Its robust support for multiple sellers directly addresses the specific needs of the Narathiwat durian industry. The integration of a comprehensive logistics management system enhances product delivery efficiency, while the utilization of the B2B2C model, although less common in agricultural e-commerce, significantly reduces supply chain complexity.

User feedback has been largely positive, with particular praise for the system's multiple seller management capabilities. Users have reported that this feature has streamlined their operations and improved communication with customers through the automated notification system.

Looking ahead, there are several potential avenues for future development. The system could be expanded to accommodate a wider range of agricultural products beyond durian. Implementation of machine learning algorithms could provide personalized product recommendations, enhancing the user experience. Integration of blockchain technology could improve supply chain traceability and build trust among users. Developing a mobile application would increase accessibility, catering to the growing trend of mobile e-commerce.

In the results, while the system demonstrates significant improvements over existing solutions, there is room for refinement, particularly in user interface design. More comprehensive user testing, especially including end customers, would be beneficial for future iterations. Despite its current limitations, the success of this system lays a strong foundation for developing similar e-commerce solutions for other agricultural products, not only in Thailand but potentially beyond its borders as well.

4. Conclusion

The development of an e-commerce system through a mobile application for durian entrepreneurs in Narathiwat Province has marked a significant milestone in addressing the challenges faced by local agricultural businesses. This innovative approach has not only successfully resolved the issues identified in the research but has also paved the way for a more efficient and sustainable business model in the region. The system's effectiveness is evident from the overwhelmingly positive user satisfaction ratings across all four dimensions evaluated: alignment with user requirements, system performance efficiency, ease of use, and data security. With mean scores ranging from 4.57 to 4.67, the application has demonstrated its ability to meet and exceed user expectations, providing a robust platform for e-commerce activities. At the heart of this success lies the application's ability to drive the B2B2C (Business-to-Business-to-Consumer) model effectively. By directly connecting producers with traders and enabling traders to showcase products to consumers through a unified platform, the system has significantly reduced supply chain complexity. Furthermore, its integrated logistics management and data analysis capabilities have empowered stakeholders to make informed business decisions, streamlining the entire process from production to consumption. The impact of this e-commerce system extends far beyond mere technological advancement. Economically, it has opened up new market opportunities both domestically and internationally, increasing revenue and profits for local entrepreneurs. This expansion has had a ripple effect on the local economy, fostering growth and development. Socially, the system has catalyzed digital skills development within the community and fostered collaborative networks among various stakeholders in the supply chain. From an industry perspective, this initiative represents a transformative shift from traditional trading methods to digital formats. It serves as a model for e-commerce system development that can be applied to other agricultural products, potentially revolutionizing the entire sector. Moreover, the system's focus on sustainable business growth and support for local entrepreneurship aligns well with broader

sustainable development goals. Looking ahead, there are numerous opportunities to build upon this success. Recommendations for future applications include adapting the system for other processed agricultural products and extending its use to other regions of the country. Emphasis should also be placed on continuous skill development through training programs and fostering collaborations among entrepreneurs, logistics providers, government agencies, and educational institutions. To ensure long-term relevance and effectiveness, future research should focus on studying the system's long-term impacts on local economic development and changes in consumer and entrepreneur behavior. Expanding the research scope to other regions and agricultural products will provide valuable insights for broader implementation. Additionally, exploring the integration of advanced technologies such as artificial intelligence and big data analytics could further enhance the system's efficiency and predictive capabilities. Sustainability should remain a key focus, with research efforts directed towards understanding the system's impact on environmental and social sustainability in the durian supply chain. Aligning system development with Sustainable Development Goals (SDGs) will ensure that technological advancements contribute positively to overall societal progress.

In conclusion, the development of this e-commerce system via a mobile application for durian entrepreneurs in Narathiwat Province represents a significant leap forward in addressing the challenges faced by local agricultural businesses. By efficiently connecting producers, traders, and consumers through the B2B2C model, it has not only solved existing problems but also created new opportunities for economic and social development. As this model is refined and expanded, it has the potential to significantly advance Thailand's agricultural industry, setting a new standard for digital innovation in the sector. The success of this initiative underscores the transformative power of technology when applied thoughtfully to address real-world challenges, promising a brighter, more connected future for agricultural communities not just in Narathiwat, but potentially across Thailand and beyond.

5. Suggestion

The implementation of the e-commerce system for managing processed durian products has revealed both immediate operational challenges and opportunities for future enhancement. As with any new technology adoption, a learning curve has emerged, particularly affecting some entrepreneurs who have encountered initial difficulties in data entry. This challenge underscores the importance of intergenerational collaboration within the community. Engaging younger individuals to learn and understand the system, and subsequently assist the entrepreneurs, could significantly smooth the transition process. To ensure a successful integration, researchers and affiliated networks will closely oversee this process during the crucial first six months of implementation. Looking towards the future, there are several avenues for improving the application's functionality and user experience. A key recommendation is the integration of consumer behavior tracking capabilities. This feature would provide valuable insights into purchasing trends, allowing the system to offer personalized product recommendations. Such a development would not only enhance the user experience for consumers but also provide entrepreneurs with data-driven insights to inform their business strategies. Furthermore, centralizing the payment processing within the application emerges as another important suggestion for future development. By streamlining the transaction process, this enhancement would significantly improve customer convenience, potentially leading to increased sales and customer satisfaction. This centralized approach could also provide better oversight and security for financial transactions within the system. These recommendations, both for immediate operations and future development, aim to address current challenges while also positioning the system for long-term success. By focusing on user support, data-driven insights, and improved functionality, the central system for managing processed durian products can continue to evolve, meeting the changing needs of entrepreneurs and consumers alike. This adaptive approach ensures that the system remains not just a tool for current use, but a platform for ongoing innovation in the agricultural e-commerce sector.

6. Acknowledgments

The research project "The development of an e-commerce application system for durian entrepreneurs in Narathiwat Province, Thailand" has successfully achieved its objectives of studying production and processing methods, creating production and processing innovations, establishing a centralized system for managing processed durian products, and transferring technology and innovation to grassroots product entrepreneurs in Narathiwat Province for e-commerce development. This accomplishment was made possible through the research and innovation funding support from the Program Management Unit on Area Based Development (PMUA) for the fiscal year 2022. We extend our sincere gratitude for this valuable opportunity. The research team would like to express our deepest appreciation to Assistant Professor Dr. Punyapanya Sampawaphan and Assistant Professor Dr. Aranya Suwannano, who served as qualified advisors for the research on the production process of processed durian products and the information technology system. Their continuous support has significantly enriched this research. We are profoundly grateful for their invaluable assistance and the opportunity to benefit from their expertise. We extend our heartfelt thanks to our families for their unwavering support and encouragement throughout the course of this research. Special appreciation goes to our colleagues and friends at the Faculty of Management Science, Faculty of Agriculture, and the Research and Innovation Center of Naresuan Rajabhat University, whose invaluable advice and guidance greatly contributed to the successful completion of this research project. Furthermore, we would like to express our sincere gratitude to the network of durian product manufacturers, comprising 10 groups, the Provincial Agricultural Office of Narathiwat, the District Agricultural Office of Cho-airong, and all relevant provincial industrial offices. Their collaboration, assistance in various activities, and continuous data collection were instrumental in bringing this project to fruition.

Finally, we would like to acknowledge all those involved in this research endeavor. The success of this project is a result of the support and cooperation

of everyone mentioned, for which the research team is deeply appreciative and thankful.

7. References

- Agarwal, A., Agarwal, A., Verma, D.K., Tiwari, D. and Pandey, R. 2023. A Review on Software Development Life Cycle. **International Journal of Scientific Research in Computer Science, Engineering and Information Technology** 9(3): 384-388.
- Alsiddiq, B.K. and Jamail, N.S.M. 2019. Adapting an Agile Approach in Mobile E – Commerce, pp. 1-8. *In Proceedings of the 9th Computer Science and Information Technology Conference*. Prince Sultan University, Saudi Arabia.
- Andoyo, A., Mukodimah, S. and Maseleno, A. 2020. Implementasi Mobile Commerce Untuk Meningkatkan Pendapatan Anggota Koperasi Gentiaras Pringsewu. **Jurnal Teknologi Komputer dan Sistem Informasi** 3(1): 37-41.
- Anwar, M., Kolte, J.C., Tembhurne, V., Admane, I. and Saba, N. 2021. E-Commerce Application for Local Stores. **Journal of Emerging Technologies and Innovative Research** 8(5): 195-199.
- Athreya, S., Kurian, S., Dange, A. and Bhatsangave, S. 2022. Implementation of serverless e-commerce mobile application, pp. 1-5. *In Proceedings of the 2nd International Conference on Intelligent Technologies*. Institute of Electrical and Electronics Engineers, Hubli, India.
- Boggs, R.A. 2004. The SDLC and Six Sigma an Essay on Which is Which and Why? **Issues in Information Systems** 1(1): 36-42.
- Boonchom, S. 2002. **Basic Research: A new revised edition** (7th ed.). Suweeriyasan, Bangkok. (in Thai)
- Cai, L., He, X., Dai, Y. and Zhu, K. 2018. Research on B2B2C E-commerce website design based on user experience. **In Journal of Physics: Conference Series** 1087(6): 1-8.
- Chen, Y. 2024. Analysis of the Collaborative Development Relationship between Chinese Rural E-commerce and Regional Economy. **Journal Modern Economics & Management Forum** 5(3): 417-420.
- Dhayfule, A.D., Gund, A.S., Ghongade, H.A., Waghmare, S.A. and Bhosale, S.S. 2022. Review of Case Study of E-Commerce Mobile App Development. **International Journal of Advanced Research in Science, Communication and Technology** 2(9): 445-447.
- Digital Economy Promotion Agency. 2019. **Master Plan of Digital Economy B.E. 2561 - 2564. 1st Master Plan Digital Economy**. Available Source: <https://www.depa.or.th/th/master-plan-digital-economy/1st-master-plan-for-digital-economy>, December 22, 2023.
- Kamble, P., Kamble, S., Jadhav, N. and Patil, M. 2022. Online Shopping E-commerce Android Application and E-commerce Website Development. **International Journal for Research in Applied Science and Engineering Technology** 10(7): 4153-4157.
- Kemp, S. 2023. **Digital 2023: DataReportal Global Digital Insights**. Available Source: <https://datareportal.com/reports/digital-2023-thailand?rq=thailand>, December 22, 2023.
- Leloudas, P. 2023. Software Development Life Cycle, pp. 35-55. *In Introduction to Software Testing: A Practical Guide to Testing, Design, Automation, and Execution*. Apress Berkeley, CA, Ilioupoli, Greece.
- Luo, X. and Niu, C. 2019. E-commerce participation and household income growth in Taobao Villages. **China Economic Quarterly International** 1(1): 1-29.
- Ngamwannakorn, C. 2022. **Intelligence Business Thailand: UI Design and Principles of application design**. Available Source: <https://intbizth.com>, December 22, 2023. (in Thai)
- Patel, H. 2023. **Business and Management: An Insight on (SDLC) Software Development Lifecycle Process Models**. Available Source:

<https://authorea.com/users/511828/articles/705050-an-insight-on-sdlc-software-development-lifecycle-process-models>, December 22, 2023.

Pongsak, S. 2017. Technologies used for system development. **Ubon Ratchathani University Journal of Science and Technology** 19(1): 202-209. (in Thai)

Prakarsa, M. and Hafiz, F.K. 2022. Perancangan E-Commerce di Toko Safa Homemade Berbasis Android Dengan Menggunakan MIT App Inventor. **Journal Ilmiah Multidisiplin Indonesia** 2(3): 569-575.

Sirisom, P. 2017. The Computer Software Development for recommending the use of Fertilizer and Integrated Fertilizing System which Suitable for Soil Type and Plant. **Ubon Ratchathani University Journal of Science and Technology** 19(1): 199-214. (in Thai)

Wongkhamdi, T., Cooharajanane, N. and Khaisang, J. 2020. E-Commerce Competence Assessment Mobile Application Development for SMEs in Thailand. **International Journal of Interactive Mobile Technologies** 14(11): 48-75.

Yerlekar, A., Rajpurohit, V., Kunte, S., Shende, N., Kamble, T., Ingole, S. and Admane, S. 2023. Developing An E-Commerce Web Application with ReactJS and Firebase. **International Journal for Research in Applied Science and Engineering Technology** 11(4): 1529-1532.

Research Article

การพยากรณ์ทางสถิติของจำนวนผู้ติดเชื้อไวรัสโควิด-19 ในประเทศไทย

The Statistical Forecasting of COVID-19 Infected People in Thailand

จุฑารัตน์ วรประทีป *

Jutharath Voraprateep *

ภาควิชาสถิติ คณะวิทยาศาสตร์ มหาวิทยาลัยรามคำแหง เขตบางกะปิ กรุงเทพมหานคร 10240

Department of Statistics, Faculty of Science, Ramkhamhaeng University, Bang Kapi, Bangkok 10240, Thailand.

ABSTRACT

Article history:

Received: 2023-10-30

Revised: 2024-01-22

Accepted: 2024-02-27

Keywords:

COVID-19;

global constant mean model;

local constant mean model;

adaptive forecasting;

Box – Jenkins

The research objectives are to compare the statistical forecasting of COVID-19 infected people in Thailand using four techniques: global constant mean model, local constant mean model, adaptive forecasting and Box - Jenkins; and to study the errors from the statistical forecasting using MAD, MSE and MAPE to select the appropriate forecasting. This research has taken the number of COVID-19 infected people from the Center for COVID-19 Situation Administration (CCSA) between 1st April 2022 and 31st October 2022 (7 months or 214 days) for forecasting COVID-19 infected people in Thailand. The research results were summarized as follows: the minimum number of COVID-19 infected people was 26 persons in April and the maximum was 23,418 in August. The average number of COVID-19 infected people for 7 months is 8,802 persons, and the top three with the least MAD, MSE and MAPE for statistical forecasting of COVID-19 infected people in Thailand are single exponential smoothing with smoothing constants of $\alpha = 0.1$ and 0.5 , and single moving average with $n = 2$.

© 2025 Voraprateep, J. Recent Science and Technology published by Rajamangala University of Technology Srivijaya

บทคัดย่อ

การวิจัยเรื่อง การพยากรณ์ทางสถิติของจำนวนผู้ติดเชื้อไวรัสโควิด-19 ในประเทศไทย มีวัตถุประสงค์การวิจัยเพื่อเปรียบเทียบวิธีการพยากรณ์ 4 เทคนิค ได้แก่ ตัวแบบค่าเฉลี่ยคงที่ระยะยาว ตัวแบบค่าเฉลี่ยคงที่ระยะสั้นการพยากรณ์แบบปรับได้ และ Box – Jenkins และทำการศึกษาความคลาดเคลื่อนที่เกิดจากการพยากรณ์โดยใช้เกณฑ์ MAD MSE และ MAPE ในการเลือกวิธีการพยากรณ์ที่เหมาะสม การวิจัยในครั้งนี้ใช้ข้อมูลจำนวนผู้ติดเชื้อไวรัสโควิด-19 จากการรายงานของศูนย์บริหารสถานการณ์โควิด-19 (ศบค.) ระหว่างวันที่ 1 เมษายน 2564 - 31 ตุลาคม 2564 เป็นเวลา 7 เดือน (214 วัน) เพื่อพยากรณ์ทางสถิติของจำนวนผู้ติดเชื้อไวรัสโควิด-19 ในประเทศไทย ผลการวิจัยพบว่าจำนวนผู้ติดเชื้อไวรัสโควิด-19 ในประเทศไทยมีค่าต่ำสุดในเดือนเมษายน เท่ากับ 26 คน และมีค่าสูงสุดในเดือนสิงหาคม เท่ากับ 23,418 คน โดยจำนวนผู้ติดเชื้อไวรัสโควิด-19 ในประเทศไทยเฉลี่ย 7 เดือน เท่ากับ 8,802 คนการพยากรณ์ทางสถิติจำนวนผู้ติดเชื้อไวรัสโควิด-19 ในประเทศไทยที่มีค่า MAD,

* Corresponding author.

E-mail address: jutharath@ru.ac.th

Cite this article as:

Voraprateep, J. 2025. The Statistical Forecasting of COVID-19 Infected People in Thailand. *Recent Science and Technology* 17(1): 261074.

MSE และ MAPE น้อยที่สุด 3 อันดับแรก ได้แก่ การทำให้เรียบแบบเอกซ์โพเนนเชียลขั้นเดียว เมื่อค่าคงที่การทำให้เรียบ (a) เท่ากับ 0.1, 0.5 และวิธีค่าเฉลี่ยเคลื่อนที่ขั้นเดียว เมื่อจำนวนเทอม (n) เท่ากับ 2

คำสำคัญ: โควิด-19, ตัวแบบค่าเฉลี่ยคงที่ระยะยาว, ตัวแบบค่าเฉลี่ยคงที่ระยะสั้น, การพยากรณ์แบบปรับได้, Box – Jenkins

1. บทนำ

ไวรัสโคโรนา (Coronavirus) เป็นไวรัสที่ถูกพบครั้งแรกในปี 1960 แต่ยังไม่ทราบแหล่งที่มาอย่างชัดเจนว่ามาจากที่ใด แต่เป็นไวรัสที่สามารถติดเชื้อได้ทั้งในมนุษย์และสัตว์ ปัจจุบันมีการค้นพบไวรัสสายพันธุ์นี้แล้วทั้งหมด 6 สายพันธุ์ ส่วนสายพันธุ์ที่กำลังแพร่ระบาดหนักทั่วโลกตอนนี้ เป็นสายพันธุ์ที่ยังไม่เคยพบมาก่อน คือ สายพันธุ์ที่ 7 จึงถูกเรียกว่าเป็น “ไวรัสโคโรนาสายพันธุ์ใหม่” และในภายหลังถูกตั้งชื่ออย่างเป็นทางการว่า “โควิด-19” (COVID-19) นั่นเอง การแพร่ระบาดของไวรัสชนิดนี้ถูกพบครั้งแรกที่เมืองอู่ฮั่น เมืองเอกของมณฑลหูเป่ย์ ประเทศจีน ในช่วงปลายปี 2019 และ การแพร่ระบาดได้เกิดขึ้นอย่างต่อเนื่องและรุนแรงในหลายประเทศทั่วโลก ซึ่งในปัจจุบันยังไม่มียาหรือวัคซีนเพื่อใช้รักษาผู้ป่วยที่ติดเชื้อไวรัสโคโรนาสายพันธุ์ใหม่ หรือไวรัสโควิด-19 ได้ (Faculty of Medicine Siriraj Hospital, 2021)

สถานการณ์การแพร่ระบาดของเชื้อโควิด-19 ในประเทศไทยนั้น เริ่มมีการแพร่ระบาดประมาณต้นเดือนมีนาคม 2563 ซึ่งผู้ติดเชื้อมีความเกี่ยวข้องกับกลุ่มผู้ติดเชื้อจากสถานบันเทิงและสนามมวย นอกจากนี้ยังมีความเชื่อมโยงกับชาวต่างชาติและชาวไทยที่เดินทางกลับจากต่างประเทศหรือผู้ที่ทำงานกับนักท่องเที่ยวจากต่างประเทศ นับเป็นการแพร่ระบาดของเชื้อโควิด-19 ในประเทศไทยรอบที่ 1 (ประมาณเดือนมีนาคม – พฤษภาคม 2563) โดยหน่วยงานด้านสาธารณสุขของประเทศไทยและหน่วยงานที่เกี่ยวข้องทุกภาคส่วนได้ร่วมมือ ร่วมแรงและร่วมใจ ควบคุมการแพร่ระบาดของเชื้อไวรัสโควิด-19 ได้เป็นอย่างดี หลังจากนั้นการแพร่ระบาดของเชื้อไวรัสโควิด-19 ได้กลับมาแพร่ระบาดอีกครั้งจากกลุ่มตลาดกลางการค้าชายฝั่งที่จังหวัดสมุทรสาครในเดือนมกราคม 2564 เป็นรอบที่ 2 และได้กระจายการแพร่ระบาดออกไปยังกลุ่มต่าง ๆ ที่เกี่ยวข้อง ต่อมาประมาณต้นเดือนเมษายน 2564 ได้เกิดการแพร่ระบาดของเชื้อไวรัสโควิด-19 เป็นรอบที่ 3 จากสถานบันเทิงย่านทองหล่อ กรุงเทพฯ ซึ่งเป็นรอบที่มีการแพร่ระบาดที่รุนแรงมีผู้ติดเชื้อและเสียชีวิตเป็นจำนวนมาก (Ministry of Public Health, 2021)

การศึกษาทางวิชาการที่เกี่ยวข้องกับสถานการณ์การแพร่ระบาดของเชื้อไวรัสโควิด-19 มีหลากหลายมิติ หนึ่งในการศึกษาที่ได้รับความสนใจคือ การพยากรณ์จำนวนผู้ติดเชื้อไวรัสโควิด-19 ซึ่งงานวิจัยที่พยากรณ์

จำนวน ผู้ติดเชื้อไวรัสโควิด-19 มีความแตกต่างกันในวิธีการศึกษาและผลสรุปที่ได้ เช่น การใช้จำนวนผู้ติดเชื้อสะสม ผู้เสียชีวิตและรักษาหายในประเทศไทยเพื่อศึกษาการใช้แบบจำลองคณิตศาสตร์ในการพยากรณ์ การศึกษาข้อมูลผู้ป่วยโดยใช้ข้อมูลประเทศอื่น ๆ มาใช้การพยากรณ์ตัวอย่างการศึกษาวิจัย ได้แก่ การพยากรณ์จำนวนผู้ติดเชื้อไวรัสโคโรนา 2019 สะสมโดยใช้การเรียนรู้เชิงลึก (Nuanchui, 2021) การใช้แบบจำลองคณิตศาสตร์คาดการณ์การระบาดของโรคติดเชื้อไวรัสโควิด-19 (Auswawanlop and Aeiutrakul, 2021) แบบจำลองการพยากรณ์จำนวนผู้ป่วยโรคติดเชื้อไวรัสโคโรนา 2019 สะสมที่มีผู้เสียชีวิตและรักษาหายในประเทศไทย (Areepong and Sunthornwat, 2021) การวิเคราะห์เชิงคาดการณ์ของผู้ป่วยโรคโควิด-19 ในประเทศไทยโดยใช้ข้อมูลหลายประเทศ (Vorathamthongdee and Congstitvatana, 2023) การพยากรณ์การแพร่ระบาดของไวรัสโควิด-19 ในประเทศไทยแบบเรียลไทม์โดยใช้วิธีการแบบไม่ใช้แบบจำลองอย่างง่ายและแบบจำลองการถดถอยอนุกรมเวลา (Wongsathan, 2021) และการพยากรณ์ยอดผู้ติดเชื้อ COVID-19 โดยใช้หลักทางสถิติ (Panichayakul, 2020)

จะเห็นได้ว่างานวิจัยในอดีตที่เกี่ยวข้องกับการพยากรณ์จำนวนผู้ติดเชื้อไวรัสโควิด-19 ในประเทศไทยเป็นการวิจัยที่ใช้วิธีการหรือตัวแบบทางคณิตศาสตร์ หรือตัวแบบอื่น ๆ ทางระบาดวิทยาในการศึกษา โดยใช้ข้อมูลจำนวนผู้ติดเชื้อในช่วงเวลาและข้อจำกัดที่แตกต่างกัน สำหรับการพยากรณ์ทางสถิติของจำนวนผู้ติดเชื้อไวรัสโควิด-19 ในประเทศไทยเรื่องนี้ ได้นำข้อมูลจำนวนผู้ติดเชื้อไวรัสโควิด-19 รายวัน ซึ่งถูกนำเสนอเป็นประจำวันโดยศูนย์บริหารสถานการณ์โควิด-19 (ศบค.) มาใช้ในการศึกษาด้วยวิธีการพยากรณ์ 4 เทคนิค ได้แก่ ตัวแบบค่าเฉลี่ยคงที่ระยะยาว ตัวแบบค่าเฉลี่ยคงที่ระยะสั้น การพยากรณ์แบบปรับได้ และ Box – Jenkins และทำการศึกษาความคลาดเคลื่อนที่เกิดจากการพยากรณ์โดยใช้เกณฑ์ MAD MSE และ MAPE ในการเลือกวิธีการพยากรณ์ที่เหมาะสม ซึ่งผลการศึกษาจะทำให้ทราบวิธีการพยากรณ์จำนวนผู้ติดเชื้อไวรัสโควิด-19 ในประเทศไทยที่เหมาะสมที่สุด โดยผลการศึกษาจะเป็นประโยชน์ต่อการการศึกษาด้านสถิติและหน่วยงานที่เกี่ยวข้อง นอกจากนี้ผลการศึกษานำมาใช้ในการประกอบการเรียนการสอนให้กับนักศึกษาในทุกระดับชั้น

2. วิธีดำเนินการวิจัย

วิธีดำเนินการวิจัย มีรายละเอียดดังต่อไปนี้

2.1 การจัดเตรียมข้อมูล

ข้อมูลที่นำมาใช้ในการวิจัย คือ ข้อมูลทุติยภูมิ ซึ่งเป็นข้อมูลจำนวนผู้ติดเชื้อไวรัสโควิด-19 จากการรายงานของศูนย์บริหารสถานการณ์โควิด-19 (ศบค.) ระหว่างวันที่ 1 เมษายน 2564 - 31 ตุลาคม 2564 เป็นเวลา 7 เดือน หรือ 214 วัน โดยข้อมูลที่ใช้ในการพยากรณ์ครั้งนี้จัดเป็นข้อมูลอนุกรมเวลาที่มีการจัดเก็บอย่างต่อเนื่องทุกวัน สำหรับข้อมูลในช่วงเวลา 7 เดือนดังกล่าว เป็นช่วงเวลาการแพร่ระบาดของเชื้อไวรัสโควิด-19 รอบที่ 3 ของประเทศไทย การเลือกใช้ข้อมูลในช่วงเวลานี้มาทำการศึกษา เนื่องจากเป็นช่วงเวลาที่การแพร่ระบาดมีความรุนแรงมากที่สุดของประเทศไทย กล่าวคือ มีจำนวนผู้ติดเชื้อไวรัสโควิด-19 และจำนวนผู้เสียชีวิตเป็นจำนวนมาก มาตรการต่าง ๆ ที่ภาครัฐนำมาใช้ในการควบคุมการแพร่ระบาดมีความเข้มงวดเป็นอย่างมาก ดังนั้น ข้อมูลจำนวนผู้ติดเชื้อ ในช่วงเวลาดังกล่าว จึงมีความสมบูรณ์และน่าสนใจในการนำมาใช้ศึกษาการพยากรณ์ทางสถิติ

2.2 การศึกษาความเคลื่อนไหวของข้อมูล

การศึกษาความเคลื่อนไหวของข้อมูลอนุกรมเวลาที่ศึกษา เป็นการพิจารณาเบื้องต้นว่าข้อมูลอนุกรมเวลาจำนวนผู้ติดเชื้อไวรัสโควิด-19 มีลักษณะแบบใดหรือมีแนวโน้มของข้อมูลเป็นอย่างไร โดยการพิจารณาจากแผนภาพที่แสดงความสัมพันธ์ระหว่างเวลาหน่วยเป็นวัน (t) และจำนวนผู้ติดเชื้อไวรัสโควิด-19 (X_t) ด้วยโปรแกรม Microsoft Excel 365

2.3 การวิเคราะห์ข้อมูลทางสถิติ

การวิเคราะห์ข้อมูลทางสถิติและการสร้างแผนภาพในการวิจัยนี้ได้ใช้โปรแกรม Microsoft Excel 365 และโปรแกรม R สำหรับการพยากรณ์ทางสถิติหรือการพยากรณ์เชิงปริมาณที่ใช้มีรายละเอียดพอสังเขป ดังนี้ (Lorjirashunkul and Jittawej, 2005)

2.3.1 ตัวแบบค่าเฉลี่ยคงที่ระยะยาว (global constant mean model) ตัวแบบนี้เขียนแทนด้วยสมการดังนี้

$$X_t = \mu + \varepsilon_t \quad , \quad t = 1, 2, 3, \dots \quad (1)$$

เมื่อ X_t คือ ค่าของตัวแปร X ณ เวลา t

μ คือ ค่าเฉลี่ยของข้อมูล (ค่าคงที่)

ε_t คือ ความคลาดเคลื่อนสุ่ม ณ เวลา t ซึ่ง ε_t เป็นอิสระกันในแต่ละเวลา t ใด ๆ นั่นคือ ε_i และ ε_j เป็นอิสระกัน เมื่อ $i \neq j$ โดยมีข้อตกลงเบื้องต้นเกี่ยวกับ ε_t คือ ε_t มีค่าคาดหวังเท่ากับศูนย์และมีความแปรปรวนคงที่เท่ากับ σ^2

ดังนั้น ค่าพยากรณ์ k หน่วยเวลาล่วงหน้า เมื่อพยากรณ์ ณ เวลา t หรือ X_{t+k} เขียนแทนด้วย $\hat{X}_t(k)$ นั่นคือค่าพยากรณ์ X_{t+k} ซึ่งพยากรณ์ ณ เวลา t คือค่าคาดหวังของสมการ (1) จึงเขียนได้เป็น

$$\hat{X}_t(k) = \mu \quad (2)$$

จากสมการ (2) ค่า μ คือ พารามิเตอร์ที่เราไม่ทราบค่าที่แท้จริง ดังนั้นเราประมาณค่า μ ด้วยค่าเฉลี่ยของข้อมูลที่มีอยู่ทั้งหมดในขณะนั้น ดังนี้

$$\hat{X}_t(k) = \frac{\sum_{i=1}^t X_i}{t} \quad , \quad k = 1, 2, 3, \dots \quad (3)$$

2.3.2 ตัวแบบค่าเฉลี่ยคงที่ระยะสั้น (local constant mean model) ตัวแบบนี้เขียนแทนด้วยสมการดังนี้

$$X_t = \mu_t + \varepsilon_t \quad , \quad t = 1, 2, 3, \dots \quad (4)$$

เมื่อ X_t คือ ค่าของตัวแปร X ณ เวลา t

μ_t คือ ค่าเฉลี่ยของข้อมูล (ค่าคงที่) ณ เวลา t (ช่วงเวลาสั้น ๆ)

ε_t คือ ความคลาดเคลื่อนสุ่ม ณ เวลา t ซึ่ง ε_t เป็นอิสระกันในแต่ละเวลา t ใด ๆ นั่นคือ ε_i และ ε_j เป็นอิสระกัน เมื่อ $i \neq j$ โดยมีข้อตกลงเบื้องต้นเกี่ยวกับ ε_t คือ ε_t มีค่าคาดหวังเท่ากับศูนย์และมีความแปรปรวนคงที่เท่ากับ σ^2

สำหรับวิธีการพยากรณ์ค่า X_t ภายใต้ตัวแบบค่าเฉลี่ยคงที่ระยะสั้น ได้แก่

(1) วิธีค่าเฉลี่ยเคลื่อนที่ขั้นเดียว (single moving average) ถ้าจำนวนข้อมูลในช่วงเวลาสั้น ๆ นั้นมีอยู่ n เทอม แล้วค่าพยากรณ์หนึ่งหน่วยเวลาล่วงหน้าที่พยากรณ์ ณ เวลา t จึงเท่ากับค่าเฉลี่ยเลขคณิตของข้อมูลจำนวน n เทอม ดังนี้

$$\hat{X}_t(1) = \frac{X_{t-n+1} + X_{t-n+2} + \dots + X_t}{n} \quad (5)$$

ข้อมูล	X_1	X_2	X_3	X_4	...	X_{t-2}	X_{t-1}	X_t
น้ำหนัก	a^{t-1}	a^{t-2}	a^{t-3}	a^{t-4}	...	a^2	a^1	a^0

เมื่อ a คือ ค่าคงที่ เรียกว่า ค่าคงที่การทำให้เรียบ (smoothing constant) และ $0 < a < 1$ ค่าพยากรณ์หนึ่งหน่วยเวลาล่วงหน้า เมื่อพยากรณ์ ณ เวลา t ของวิธีการทำให้เรียบแบบเอกซ์โพเนนเชียลขั้นเดียว จึงเป็นค่าเฉลี่ยถ่วงน้ำหนัก ดังนี้

$$\hat{X}_t(1) = \frac{\sum_{r=0}^{t-1} a^r X_{t-r}}{\sum_{r=0}^{t-1} a^r} \quad (6)$$

2.3.3 การพยากรณ์แบบปรับได้ โดยวิธีการพยากรณ์แบบการกรองที่ปรับได้ อาศัยแนวคิดที่จะสร้างตัวแบบ การพยากรณ์ที่สามารถปรับค่าพารามิเตอร์ได้ (adaptive forecasting model) สำหรับการวิจัยนี้เลือกใช้การพยากรณ์แบบการกรองที่ปรับได้ (adaptive filtering) ค่าพยากรณ์จะเขียนได้ในเทอมของข้อมูลในอดีต n ตัว ได้ดังนี้

$$\hat{X}_t(1) = W_0 X_t + W_1 X_{t-1} + \dots + W_{n-1} X_{t-n+1} \quad (7)$$

โดยที่สัมประสิทธิ์ W_i ไม่เป็นค่าคงที่ แต่สามารถปรับค่าให้สอดคล้องกับการเปลี่ยนแปลงของข้อมูลได้

2.3.4 Box - Jenkins เป็นวิธีวิเคราะห์ข้อมูลอนุกรมเวลาในกรณีที่ข้อมูลมีความเกี่ยวข้องหรือสัมพันธ์กัน โดยทำการศึกษาจากฟังก์ชันสหสัมพันธ์ในตัวเอง (autocorrelation function: ACF) และฟังก์ชันสหสัมพันธ์ในตัวเองบางส่วน (partial autocorrelation function: PACF) Box - Jenkins ได้จำแนกตัวแบบการพยากรณ์ออกเป็น 4 ตัวแบบคือ

(1) ตัวแบบการเฉลี่ยเคลื่อนที่หรือตัวแบบเอ็มเอ (Moving Average Model: MA model)

ตัวแบบการเฉลี่ยเคลื่อนที่อันดับ q หรือ MA(q) เขียนได้ดังนี้

(2) การทำให้เรียบแบบเอกซ์โพเนนเชียลขั้นเดียว (single exponential smoothing) ให้น้ำหนักของข้อมูลแตกต่างกันที่หน่วยเวลาต่าง ๆ โดยจะให้น้ำหนักของข้อมูลลดลงแบบเอกซ์โพเนนเชียลตามหน่วยเวลาที่ห่างออกไปในอดีต ลักษณะการให้น้ำหนักกับข้อมูลเป็นดังนี้

$$X_t = \mu + u_t + \theta_1 u_{t-1} + \theta_2 u_{t-2} + \dots + \theta_q u_{t-q} \quad (8)$$

เมื่อ X_t คือ ค่าของตัวแปร X ณ เวลา t

μ คือ ค่าเฉลี่ยของข้อมูล (ค่าคงที่)

$\theta_1, \theta_2, \dots, \theta_q$ คือ พารามิเตอร์ (ค่าคงที่) ของตัวแบบ

$u_t, u_{t-1}, \dots, u_{t-q}$ คือ ความคลาดเคลื่อนสุ่ม (white noise or error terms) ซึ่งเป็นอิสระกันและมีการแจกแจงความน่าจะเป็นแบบเดียวกัน มีค่าคาดหวังเท่ากับศูนย์ และมีความแปรปรวนคงที่เท่ากับ σ^2

(2) ตัวแบบการถดถอยในตัวเองหรือตัวแบบเออาร์ (Autoregressive Model: AR model)

ตัวแบบการถดถอยในตัวเองอันดับ p หรือ AR(p) เขียนได้ดังนี้

$$X_t = \phi_1 X_{t-1} + \phi_2 X_{t-2} + \dots + \phi_p X_{t-p} + \delta + u_t \quad (9)$$

เมื่อ X_t คือ ค่าของตัวแปร X ณ เวลา t

δ คือ ค่าคงที่

$\phi_1, \phi_2, \dots, \phi_p$ คือ พารามิเตอร์ (ค่าคงที่) ของตัวแบบ

u_t คือ ความคลาดเคลื่อนสุ่ม (white noise or error terms)

(3) ตัวแบบผสมการถดถอยในตัวเองกับการเฉลี่ยเคลื่อนที่หรือตัวแบบอาร์มา (Mixed Autoregressive Moving Average Model: ARMA model)

ตัวแบบผสมการถดถอยในตัวเองกับการเฉลี่ยเคลื่อนที่อันดับ (p, q) หรือ ARMA(p, q) คือตัวแบบที่มีเทอมของตัวแบบการถดถอยในตัวเอง (AR) อยู่ p เทอมและตัวแบบการเฉลี่ยเคลื่อนที่ (MA) อยู่ q เทอม และเขียนได้ดังนี้

$$X_t = \phi_1 X_{t-1} + \phi_2 X_{t-2} + \dots + \phi_p X_{t-p} + \delta + u_t + \theta_1 u_{t-1} + \theta_2 u_{t-2} + \dots + \theta_q u_{t-q} \quad (10)$$

(4) ตัวแบบรวมการถดถอยในตัวกับการเฉลี่ยเคลื่อนที่หรือตัวแบบอาร์มา (Autoregressive Integrated Moving Average Model: ARIMA model) เป็นตัวแบบที่นำไปประยุกต์ใช้กับข้อมูลอนุกรมเวลาที่ไม่คงที่ (nonstationary)

กำหนดให้ W_t คือผลต่างที่หนึ่ง (first difference) ของข้อมูลอนุกรมเวลา ดังนั้น

$$W_t = X_t - X_{t-1} \quad (11)$$

ตัวแบบทั่วไปสำหรับ W_t เขียนได้เป็น

$$W_t = \phi_1 W_{t-1} + \phi_2 W_{t-2} + \dots + \phi_p W_{t-p} + u_t + \theta_1 u_{t-1} + \theta_2 u_{t-2} + \dots + \theta_q u_{t-q} \quad (12)$$

ดังนั้น ตัวแบบสำหรับ X_t จึงเป็น

$$X_t = X_{t-1} + \phi_1 (X_{t-1} - X_{t-2}) + \phi_2 (X_{t-2} - X_{t-3}) + \dots + \phi_p (X_{t-p} - X_{t-p+1}) + u_t + \theta_1 u_{t-1} + \dots + \theta_q u_{t-q} \quad (13)$$

แต่ X_t เขียนอยู่ในรูปผลบวกของ W_t ได้เป็น

$$X_t = W_1 + W_{t-1} + W_{t-2} + \dots \quad (14)$$

สมการ (12) ถูกเรียกว่า ตัวแบบรวมการถดถอยในตัวกับการเฉลี่ยเคลื่อนที่หรือตัวแบบอาร์มา (Autoregressive Integrated Moving Average Model: ARIMA model)

การพยากรณ์โดยวิธี Box - Jenkins มีขั้นตอนในการวิเคราะห์ดังนี้

1) การตรวจสอบข้อมูลอนุกรมเวลาเพื่อพิจารณาว่าเป็นอนุกรมเวลาคงที่ (stationary) หรือไม่ โดยพิจารณาจากกราฟฟังก์ชันสหสัมพันธ์ในตัว (autocorrelation function: ACF) และฟังก์ชันสหสัมพันธ์ในตัวบางส่วน (partial autocorrelation function: PACF) ของข้อมูลจำนวนผู้ติดเชื้อไวรัสโควิด-19 (X_t)

2) ในกรณีที่ข้อมูลจำนวนผู้ติดเชื้อไวรัสโควิด-19 เป็นข้อมูลอนุกรมเวลาไม่คงที่ พิจารณาการเลือกใช้ผลต่างที่หนึ่ง, สอง, สาม, ... ทั้งนี้ จะใช้ผลต่างของข้อมูลอนุกรมเวลาอนุกรมแรกที่สุดที่เป็นข้อมูลอนุกรมเวลาที่จะพิจารณาต่อไป โดยพิจารณาจากกราฟ ACF และ PACF ประกอบการตัดสินใจว่าผลต่างของข้อมูลอนุกรมเวลาคงที่หรือไม่

3) การกำหนดตัวแบบ เป็นการหาตัวแบบอนุกรมเวลาที่คาดว่าเหมาะสมกับข้อมูลจำนวนผู้ติดเชื้อไวรัสโควิด-19

4) การประมาณค่าพารามิเตอร์ของตัวแบบที่คาดว่าจะเหมาะสม

5) การตรวจสอบความถูกต้องและเหมาะสมของตัวแบบโดยการทดสอบคุณสมบัติความสุ่มของค่าคลาดเคลื่อนสุ่ม u_t ด้วยตัวสถิติทดสอบ Ljung - Box และการตรวจสอบความเหมาะสมของตัวแบบพยากรณ์ด้วยเกณฑ์สารสนเทศของอะกะอิเกะหรือเอไอซี (Akaike's Information Criterion: AIC)

1. การทดสอบคุณสมบัติความสุ่มของค่าคลาดเคลื่อนสุ่ม u_t ด้วยตัวสถิติทดสอบ Box - Pierce หรือตัวสถิติทดสอบ Ljung - Box โดยมีสมมุติฐานในการทดสอบดังนี้

$H_0: u_t$ มีคุณสมบัติความสุ่ม

$H_a: u_t$ ไม่มีคุณสมบัติความสุ่ม

ถ้าสมมุติฐานว่าง (H_0) ไม่ได้รับการปฏิเสธ แล้ว u_t มีคุณสมบัติความสุ่ม

2. การตรวจสอบความเหมาะสมของตัวแบบพยากรณ์ด้วยเกณฑ์สารสนเทศของอะกะอิเกะหรือเอไอซี (Akaike's Information Criterion: AIC) ซึ่งเป็นเกณฑ์การคัดเลือกตัวแบบที่เหมาะสมภายใต้ตัวแบบที่มีการใช้ข้อมูลชุดเดียวกันแต่มีจำนวนพารามิเตอร์แตกต่างกัน ตัวแบบที่เหมาะสมกว่า คือ ตัวแบบที่มีค่าเอไอซีต่ำกว่านั่นเอง

2.4 การเปรียบเทียบวิธีการพยากรณ์

การเปรียบเทียบวิธีการพยากรณ์ ทำได้โดยการคำนวณค่าพยากรณ์ของจำนวนผู้ติดเชื้อไวรัสโควิด-19 จากวิธีการพยากรณ์ในตัวแบบต่าง ๆ และคำนวณค่าความคลาดเคลื่อนจากการพยากรณ์ ได้แก่ (Sinsomboonthong, 2016)

[illegible]

3.2 การพยากรณ์จำนวนผู้ติดเชื้อไวรัสโควิด-19 ในประเทศไทย

การพยากรณ์เริ่มต้นจากการศึกษาความเคลื่อนไหวของข้อมูลจำนวนผู้ติดเชื้อไวรัสโควิด-19 ในประเทศไทย เพื่อเป็นการพิจารณาเบื้องต้นว่ามีลักษณะแบบใดหรือมีแนวโน้มของข้อมูลเป็นอย่างไร จากการสร้างแผนภาพที่แสดงความสัมพันธ์ระหว่างเวลา หน่วยเป็นวัน (t) และจำนวนผู้ติดเชื้อไวรัสโควิด-19 (X_t) แสดงดังภาพที่ 1 พบว่าจำนวนผู้ติดเชื้อไวรัสโควิด-19 ในประเทศไทยเพิ่มสูงขึ้นจากวันที่ 1 เมษายน 2564 ซึ่งมีจำนวนผู้ติดเชื้อไวรัส

โควิด-19 ต่ำสุดจำนวน 26 คน (ลำดับวันที่ 1) จนถึงวันที่ 13 สิงหาคม 2564 ซึ่งมีจำนวนผู้ติดเชื้อไวรัสโควิด-19 สูงสุดจำนวน 23,418 คน (ลำดับวันที่ 135) หลังจากนั้นจำนวนผู้ติดเชื้อไวรัสโควิด-19 ในประเทศไทยเริ่มลดลงตามลำดับ

หลังจากศึกษาความเคลื่อนไหวของข้อมูลจำนวนผู้ติดเชื้อไวรัสโควิด-19 ในประเทศไทยเรียบร้อยแล้ว จึงเริ่มดำเนินการพยากรณ์จำนวนผู้ติดเชื้อไวรัสโควิด-19 ในประเทศไทย ซึ่งผลการศึกษาโดยใช้การพยากรณ์ทางสถิติตัวแบบต่าง ๆ เป็นดังนี้

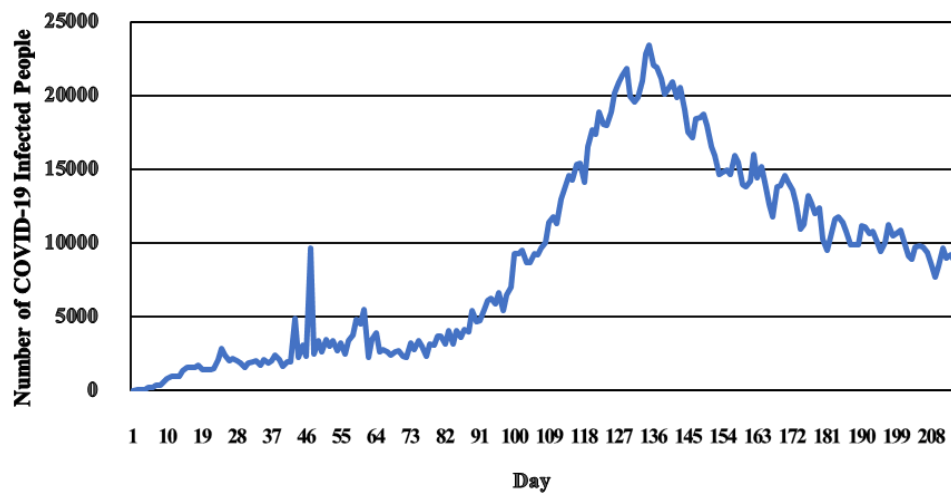


Figure 1 Line chart for COVID-19 infected people in Thailand between April 1, 2021 – October 31, 2021

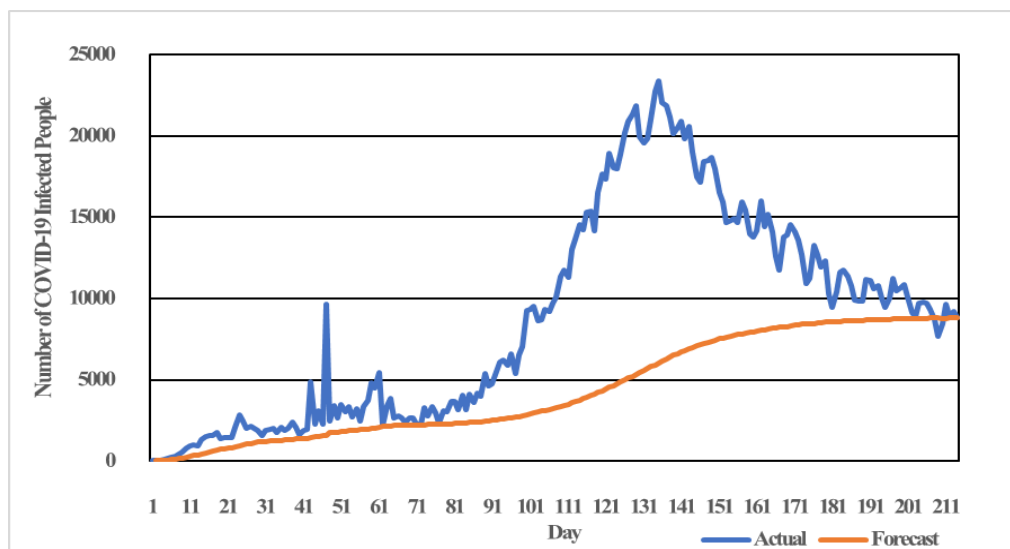


Figure 2 Line chart for COVID-19 Infected People in Thailand and forecast using global constant mean model

3.2.1 ตัวแบบค่าเฉลี่ยคงที่ระยะยาว

การพยากรณ์จำนวนผู้ติดเชื้อไวรัสโควิด-19 ในประเทศไทยด้วยตัวแบบค่าเฉลี่ยคงที่ระยะยาว แสดงผลการพยากรณ์ด้วยแผนภูมิเส้น แสดงดังภาพที่ 2

3.2.2 ตัวแบบค่าเฉลี่ยคงที่ระยะสั้น

การพยากรณ์จำนวนผู้ติดเชื้อไวรัสโควิด-19 ในประเทศไทยด้วยตัวแบบค่าเฉลี่ยคงที่ระยะสั้น ใช้วิธีการพยากรณ์ 2 วิธี ได้แก่ ค่าเฉลี่ยเคลื่อนที่ชั้นเดียว (single moving average) และการทำให้เรียบแบบเอกซ์โพเนนเชียลชั้นเดียว (single exponential smoothing) แผนภูมิเส้นผลการพยากรณ์ แสดงดังภาพที่ 3 และ 4

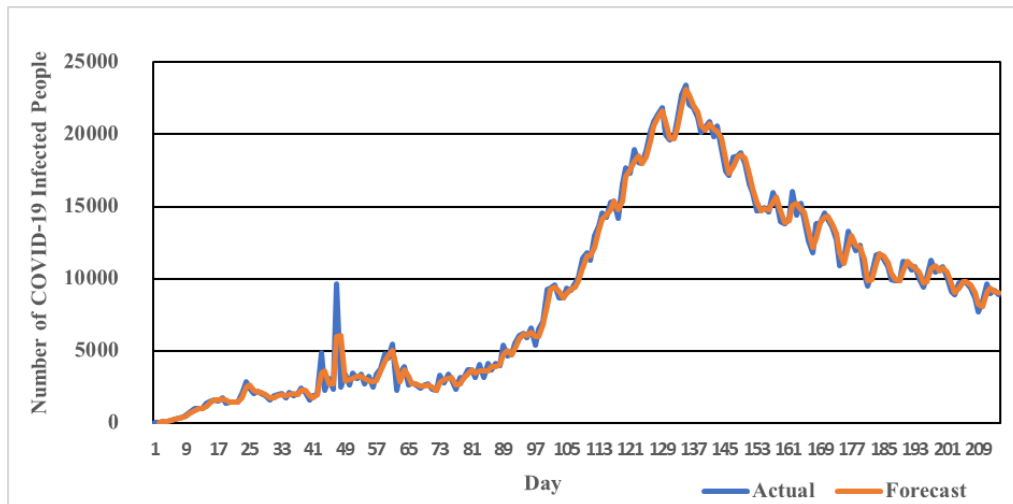


Figure 3 Line chart for COVID-19 Infected People in Thailand and forecast using local constant mean model: single moving average with $n = 2$

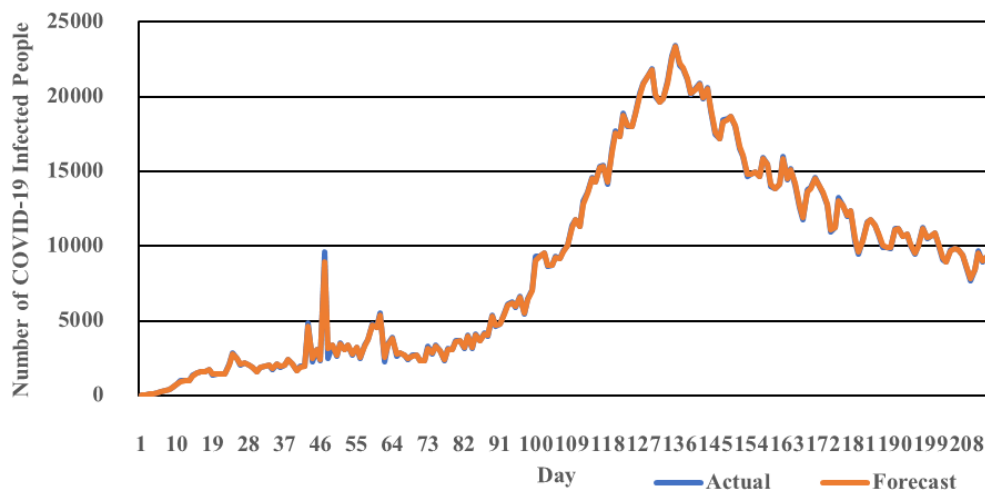


Figure 4 Line chart for COVID-19 Infected People in Thailand and forecast using local constant mean model: single exponential smoothing with α (smoothing constant) = 0.1

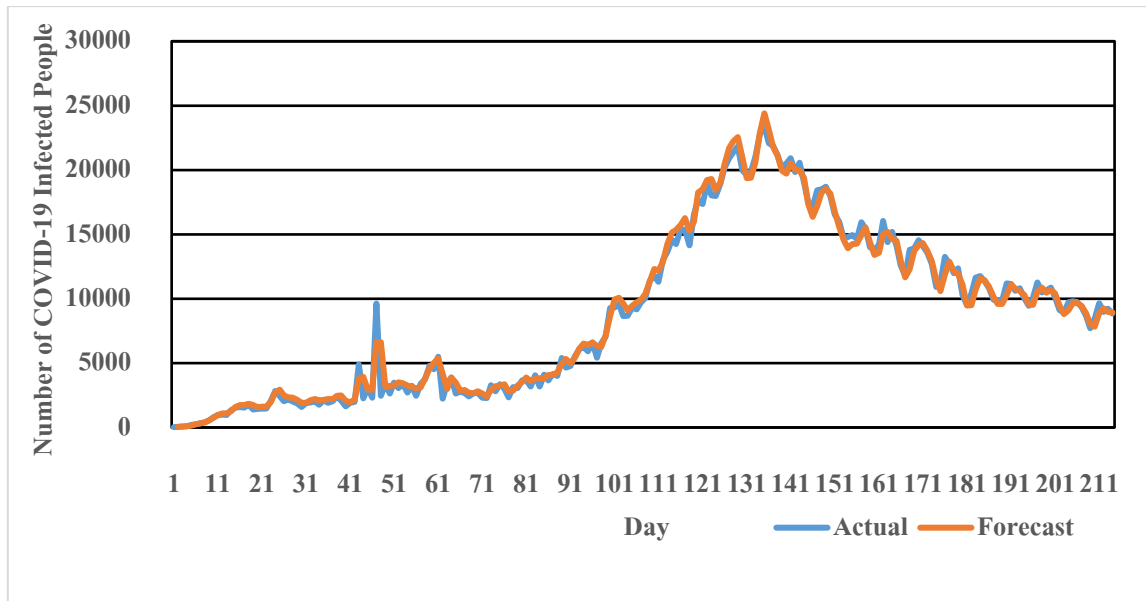


Figure 5 Line chart for COVID-19 Infected People in Thailand and forecast using adaptive forecasting model: adaptive filtering

3.2.3 การพยากรณ์แบบปรับได้

การพยากรณ์จำนวนผู้ติดเชื้อไวรัสโควิด-19 ในประเทศไทยด้วยเทคนิคการพยากรณ์แบบปรับได้ โดยวิธีการพยากรณ์แบบการกรองที่ปรับได้ แสดงดังภาพที่ 5

3.2.4 Box - Jenkins

การพยากรณ์จำนวนผู้ติดเชื้อไวรัสโควิด-19 ในประเทศไทยด้วยตัวแบบการพยากรณ์ของ Box - Jenkins

พบว่า ตัวแบบพยากรณ์ที่เหมาะสมกับข้อมูลจำนวนผู้ติดเชื้อไวรัสโควิด-19 คือ ตัวแบบรวมการถดถอยในตัวกับการเฉลี่ยเคลื่อนที่หรือตัวแบบอาร์มา (Autoregressive Integrated Moving Average Model: ARIMA model) ที่มีค่า $p = 5$, $q = 3$ และ $d = 2$ หรือ ตัวแบบ ARIMA(5, 2, 3) และจากการประมาณค่าพารามิเตอร์ต่าง ๆ ของตัวแบบดังกล่าว สามารถเขียนเป็นสมการพยากรณ์จำนวนผู้ติดเชื้อไวรัสโควิด-19 ในประเทศไทย ได้ดังนี้

$$Y_t = 0.5053Y_{t-1} - 0.5415Y_{t-2} - 0.4773Y_{t-3} - 0.0555Y_{t-4} - 0.3101Y_{t-5} + u_t - 1.9963u_{t-1} + 1.8733u_{t-2} - 0.7693u_{t-3}$$

เมื่อ Y_t คือ ผลต่างที่สองของข้อมูลจำนวนผู้ติดเชื้อไวรัสโควิด-19

$$\text{โดยที่ } Y_t = X_t - 2X_{t-1} + X_{t-2}$$

ทั้งนี้ เกณฑ์สารสนเทศของอะกะอิกะหรือเอไอซี (Akaike's Information Criterion: AIC) ของตัวแบบ ARIMA (5, 2, 3) พบว่า ค่า AIC มีค่าเท่ากับ 3514.41

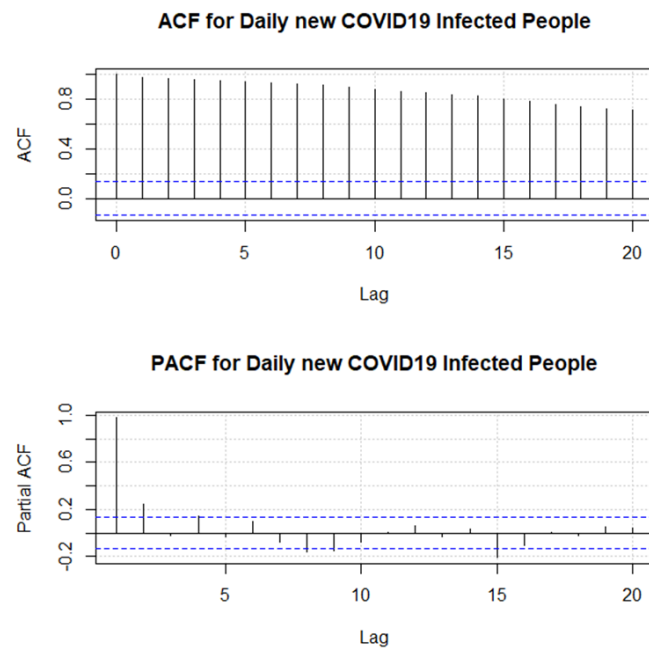
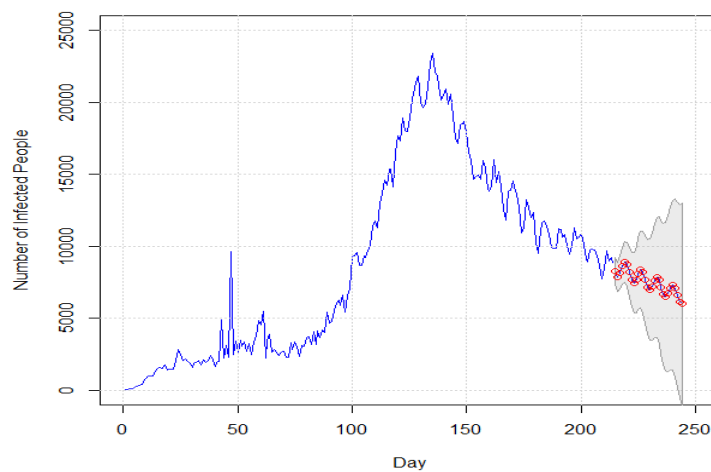
3.3 ความคลาดเคลื่อนที่เกิดจากการพยากรณ์ทางสถิติของจำนวนผู้ติดเชื้อไวรัสโควิด-19 ในประเทศไทย

ความคลาดเคลื่อนที่เกิดจากการพยากรณ์ทางสถิติของจำนวนผู้ติดเชื้อไวรัสโควิด-19 ในประเทศไทยด้วยเทคนิคการพยากรณ์ต่าง ๆ แสดงได้ดังตารางที่ 2 โดยการ

พยากรณ์ทางสถิติของจำนวนผู้ติดเชื้อไวรัสโควิด-19 ในประเทศไทย ที่มีค่า MAD, MSE และ MAPE น้อยที่สุด 3 อันดับแรก ได้แก่ การทำให้เรียบแบบเอกซ์โพเนนเชียลชั้นเดียว เมื่อค่าคงที่การทำให้เรียบ (a) เท่ากับ 0.1, 0.5 และวิธีค่าเฉลี่ยเคลื่อนที่ชั้นเดียว เมื่อจำนวนเทอม (n) เท่ากับ 2 (ช่องสีเหลือง สีส้มและสีน้ำเงิน ตามลำดับ) และการพยากรณ์ด้วยตัวแบบค่าเฉลี่ยคงที่ระยะยาวมีค่า MAD, MSE และ MAPE มากที่สุด (ช่องสีเขียว)

Table 2 MAD, MSE and MAPE of statistical forecasting of COVID-19 infected people in Thailand

Forecasting Technique	MAD	MSE	MAPE
global constant mean model	4,386.42	42,020,383	43.95
local constant mean model			
1) single moving average when $n = 2$	354.05	308,654.08	6.76
2) single exponential smoothing when $\alpha = 0.1$	69.52	11,638.21	1.30
single exponential smoothing when $\alpha = 0.5$	361.67	283,083.80	6.37
adaptive forecasting model: adaptive filtering	388.58	344,299.75	7.28
ARIMA (5, 2, 3)	727.10	682,359.25	11.73

**Figure 6** Autocorrelation function: ACF and partial autocorrelation function: PACF for COVID-19 Infected People in Thailand**Figure 7** Line chart for COVID-19 Infected People in Thailand and forecast using ARIMA (5, 2, 3) between November 1 - 30, 2021

4. สรุป

การวิจัยนี้ได้นำเสนอผลการพยากรณ์ทางสถิติของจำนวนผู้ติดเชื้อไวรัสโควิด-19 ในประเทศไทย รวมถึงเปรียบเทียบค่าพยากรณ์และค่าที่แท้จริง พร้อมทั้งนำเสนอความคลาดเคลื่อนที่เกิดจากการพยากรณ์ทางสถิติด้วยตัวแบบต่าง ๆ ข้อมูลที่นำมาใช้ในการวิจัย คือ ข้อมูลทุติยภูมิ ซึ่งเป็นข้อมูลจำนวนผู้ติดเชื้อไวรัสโควิด-19 จากการรายงานของศูนย์บริหารสถานการณ์โควิด-19 (ศบค.) ระหว่างวันที่ 1 เมษายน 2564 - 31 ตุลาคม 2564 เป็นเวลา 7 เดือน หรือ 214 วัน โดยข้อมูลที่ใช้ในการพยากรณ์ครั้งนี้จัดเป็นข้อมูลอนุกรมเวลาที่มีการจัดเก็บอย่างต่อเนื่องทุกวัน

จำนวนผู้ติดเชื้อไวรัสโควิด-19 ในประเทศไทยมีค่าต่ำสุดในเดือนเมษายน เท่ากับ 26 คน และมีค่าสูงสุดในเดือนสิงหาคม เท่ากับ 23,418 คน และเมื่อพิจารณาจำนวนผู้ติดเชื้อไวรัสโควิด-19 ในประเทศไทยเฉลี่ยพบว่ามีค่าต่ำสุดในเดือนเมษายน เท่ากับ 1,209 คน และมีค่าสูงสุดในเดือนสิงหาคม เท่ากับ 19,595 คน ทั้งนี้จำนวนผู้ติดเชื้อไวรัสโควิด-19 ในประเทศไทยเฉลี่ย 7 เดือน เท่ากับ 8,802 คน

การพยากรณ์ทางสถิติจำนวนผู้ติดเชื้อไวรัสโควิด-19 ในประเทศไทย ที่ใช้ในการศึกษา ได้แก่ ตัวแบบค่าเฉลี่ยคงที่ระยะยาว ตัวแบบค่าเฉลี่ยคงที่ระยะสั้น ด้วยวิธีค่าเฉลี่ยเคลื่อนที่ชั้นเดียว เมื่อจำนวนเทอม (n) เท่ากับ 2 และการทำให้เรียบแบบเอกซ์โพเนนเชียลชั้นเดียว เมื่อค่าคงที่การทำให้เรียบ (α) เท่ากับ 0.1 และ 0.5 การพยากรณ์แบบปรับได้ โดยวิธีการพยากรณ์แบบการกรองที่ปรับได้ และ Box - Jenkins โดยตัวแบบที่เหมาะสมสำหรับการพยากรณ์ คือ ตัวแบบรวม การถดถอยในตัวกับการเฉลี่ยเคลื่อนที่หรือตัวแบบอาร์มา (Autoregressive Integrated Moving Average Model: ARIMA model) ที่มีค่า $p = 5$, $q = 3$ และ $d = 2$ หรือตัวแบบ ARIMA (5, 2, 3)

การศึกษาความคลาดเคลื่อนที่เกิดจากการพยากรณ์ทางสถิติของจำนวนผู้ติดเชื้อไวรัสโควิด-19 ในประเทศไทย โดย คำนวณค่าความคลาดเคลื่อนจากการพยากรณ์ ได้แก่ ค่าเบี่ยงเบนสัมบูรณ์เฉลี่ย (Mean Absolute Deviation, MAD) ค่าคลาดเคลื่อนกำลังสองเฉลี่ย (Mean Square Error, MSE) และร้อยละความคลาดเคลื่อนสัมบูรณ์เฉลี่ยที่ค่าต่ำที่สุด (Mean Absolute Percentage Error, MAPE) พบว่า การพยากรณ์ทางสถิติของจำนวนผู้ติดเชื้อไวรัสโควิด-19 ในประเทศไทย ที่มีค่า MAD, MSE และ MAPE น้อยที่สุด 3 อันดับแรก ได้แก่ การทำให้เรียบแบบเอกซ์โพเนนเชียลชั้นเดียว เมื่อค่าคงที่การทำให้เรียบ (α) เท่ากับ 0.1, 0.5 และวิธีค่าเฉลี่ยเคลื่อนที่ชั้นเดียว เมื่อจำนวนเทอม (n) เท่ากับ 2 และการพยากรณ์

ด้วยตัวแบบค่าเฉลี่ยคงที่ระยะยาวมีค่า MAD, MSE และ MAPE มากที่สุด

เมื่อพิจารณาผลการศึกษานางานวิจัยนี้กับงานวิจัยที่เกี่ยวข้อง พบว่า วิธีการศึกษาและผลสรุปมีความแตกต่างกัน ซึ่งงานวิจัยที่เกี่ยวข้องเป็นการวิจัยที่ใช้วิธีการหรือตัวแบบทางคณิตศาสตร์ หรือตัวแบบอื่น ๆ ทางระบาดวิทยาในการศึกษา โดยใช้ข้อมูลจำนวนผู้ติดเชื้อที่หลากหลายหลายมิติ เช่น จำนวนผู้ติดเชื้อสะสม จำนวนผู้เสียชีวิตและรักษาหายในช่วงเวลาและข้อจำกัดที่แตกต่างกัน ในบางงานวิจัยมีการศึกษาข้อมูลผู้ป่วยจากประเทศอื่น ๆ เพื่อเปรียบเทียบกับประเทศไทย สำหรับการพยากรณ์ทางสถิติของจำนวนผู้ติดเชื้อไวรัสโควิด-19 ในประเทศไทยเรื่องนี้ ได้นำข้อมูลจำนวนผู้ติดเชื้อไวรัสโควิด-19 รายวัน ซึ่งถูกนำเสนอเป็นประจำวันโดยศูนย์บริหารสถานการณ์โควิด-19 (ศบค.) มาใช้ในการศึกษาด้วยวิธีการพยากรณ์ทางสถิติ 4 เทคนิค ได้แก่ ตัวแบบค่าเฉลี่ยคงที่ระยะยาว ตัวแบบค่าเฉลี่ยคงที่ระยะสั้น การพยากรณ์แบบปรับได้ และ Box - Jenkins และทำการศึกษาความคลาดเคลื่อนที่เกิดจากการพยากรณ์โดยใช้เกณฑ์ MAD MSE และ MAPE ซึ่งได้ผลการศึกษที่แตกต่างกันอย่างสิ้นเชิง

5. เอกสารอ้างอิง

- Areepong, Y. and Sunthornwat, R. 2021. Forecasting modeling of the number of cumulative COVID-19 cased with deaths and recoveries removal in Thailand. **Science, Engineering and Health Studies** 15: 21020004.
- Ausawanlop, N. and Aeiutrakul, K. 2021. **The Mathematical Model to forecast of COVID-19 Pandemic.** Available Source: <https://thaipublica.org/2021/05/epidemic-sir-model/>, November 28, 2021. (in Thai)
- Faculty of Medicine Siriraj Hospital. 2021. **What is COVID-19?** Available Source: <https://www.gj.mahidol.ac.th/main/covid19/covid19is/>, October 25, 2021. (in Thai)
- Ingpansatawong, S. 2012. **Statistical Forecasting Techniques.** Khon Kaen University Press, Khon Kaen. (in Thai)
- Lorjirashunkul, W. and Jittaweij, J. 2005. **Forecasting Techniques.** National Institute of Development Administration, Bangkok. (in Thai)

- Ministry of Public Health. 2021. **Coronavirus disease 2019 (COVID-19)**. Available Source: https://www.who.int/docs/default-source/searo/thailand/2020-03-26-tha-sitrep-33-covid19-th-final.pdf?sfvrsn=8f5738e_0, October 25, 2021. (in Thai)
- Nuanchui, T. 2021. COVID-19 cumulative case forecasting by Deep Learning. Master Thesis of Science, Chulalongkorn University.
- Panichayakul, T. 2020. **Forecasting of COVID-19 Infected People Using Principles of Statistics**. Available Source: <https://www.sci.psu.ac.th/news/2020/04/coronavirus-prophecy-via-statistical-principles/>, October 25, 2021. (in Thai)
- Sinsomboonthong, S. 2016. **Data Analysis using MINITAB for Windows**. Chamchuri Product, Bangkok. (in Thai)
- Vorathamthongdee, S. and Congstitvatana, P. 2023. Predictive Analysis of COVID-19 Patients in Thailand using Multiple Countries Data. **ECTI Transaction on Application Research and Development** 3(1): 248647.
- Wongsathan, R. 2021. Real-time Prediction of the COVID-19 Epidemic in Thailand Using Simple Model – Free Method and Time Series Regression Model. **Walailak Journal of Science and Technology** 18(14): 10028.



Research Article

ผลของโปรตีนเนื้อไก่ที่มีต่อสมบัติของเจลซูริมิที่มีคุณภาพแตกต่าง

Effect of Chicken Meat Protein on Gel Properties of Different Surimi Quality

ดวงเดือน กุลวิลัย *

Daungdoen Kulwilai *

ภาควิชาผลิตภัณฑ์ประมง คณะประมง มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์ เขตจตุจักร กรุงเทพมหานคร 10900

Department of Fishery Products, Faculty of Fisheries, Kasetsart University, Chatuchak, Bangkok 10900, Thailand.

ABSTRACT

Article history:

Received: 2023-09-13

Revised: 2024-01-06

Accepted: 2024-04-05

Keywords:

functional properties;

gelation;

mixed gel;

surimi and chicken mixed gel

Surimi is often used as a raw material for fish jelly products, which sometimes face raw material shortages or have low quality. The improvement of functional properties of medium quality (SM) and low quality (SL) surimi gels with breast chicken meat was investigated. The chicken gel preparation conditions were studied by comparing unwashed minced chicken (UW) and minced chicken rinsed 3 times (W) with ground chicken meat to ice water ratio (w/w) of 1:4. The mixtures were heated at 40 °C for 30 min, followed by 90 °C for 20 min (40/90), and at 60 °C for 30 min, followed by 90 °C for 20 min (60/90). Then, the mixtures of surimi and chicken meat at ratios (w/w) of 75:25 and 50:50, heated at 40/90 and 60/90 were compared with mixtures of chicken meat at 60/90 and surimi at 40/90. The 50:50 ratio and 60/90 °C treatment gave optimum gel properties, with breaking force, breaking distance, gel strength, springiness, cohesiveness and chewiness higher than those of 40/90. Breaking force, hardness and chewiness increased from surimi gel by 1.45, 2.14 and 1.92 times, respectively. Moreover, the mixed gel had higher gel strength, hardness, chewiness than those of the 75:25 ratio ($p \geq 0.05$). In contrast, the 50:50 ratio of SL and chicken gels at 60/90 and 40/90 showed no differences in gel properties ($p > 0.05$), while gel strength, springiness, cohesiveness, L^* , b^* , and whiteness were higher than those of the 75:25 ratio ($p \geq 0.05$). The breaking force, hardness, springiness, cohesiveness and chewiness of the 50:50 ratio increased from the surimi gel by 1.34, 1.71, 1.14, 1.71 and 3.31 times, respectively. Therefore, adding water-washed chicken to the surimi could greatly improve the texture of medium-quality surimi and slightly improve the texture of low-quality surimi.

© 2025 Kulwilai, D. Recent Science and Technology published by Rajamangala University of Technology Srivijaya

บทคัดย่อ

ซูริมิเป็นวัตถุดิบที่นิยมใช้กับผลิตภัณฑ์ที่มีการเกิดเจลจากปลา ซึ่งบางครั้งประสบปัญหาขาดแคลนวัตถุดิบ หรือมีคุณภาพต่ำ จึงได้ศึกษาเพื่อปรับปรุงสมบัติเชิงหน้าที่ของเจลซูริมิคุณภาพปานกลาง (SM) และต่ำ (SL) ด้วยเนื้อไก่ส่วนนอก โดยศึกษาการเตรียมเนื้อไก่ที่ไม่ล้างน้ำ (UW) และ ล้างน้ำ 3 ครั้ง (W) สัดส่วนเนื้อไก่ต่อน้ำเย็นเป็น 1:4 (w/w) แล้วให้ความร้อนที่อุณหภูมิ 40 °C นาน 30 นาที ตามด้วย 90 °C นาน 20 นาที (40/90) และ 60 °C นาน 30 นาที ตามด้วย 90 °C นาน 20 นาที (60/90) และศึกษาสมบัติของเจลผสมที่มีสัดส่วนซูริมิต่อเนื้อไก่ล้าง 75:25 และ 50:50 (w/w) ให้ความร้อนที่ 40/90 และ 60/90

* Corresponding author.

E-mail address: ffisdak@ku.ac.th

Cite this article as:

Kulwilai, D. 2025. Effect of Chicken Meat Protein on Gel Properties of Different Surimi Quality *Recent Science and Technology* 17(1): 260393.

เปรียบเทียบกับเนื้อไก่ที่ 60/90 และซูริมิที่ 40/90 ผลการทดลองพบว่าเจลผสมซูริมิ SM และไก่สัดส่วน 50:50 ให้ความร้อน 60/90 ให้คุณสมบัติของเจลที่เหมาะสม มีค่า breaking force, breaking distance, gel strength, springiness, cohesiveness และ chewiness สูงกว่า 40/90 โดย breaking force, hardness และ chewiness เพิ่มขึ้นจากเจลซูริมิเป็น 1.45, 2.14 และ 1.92 เท่า ตามลำดับ และเจลผสมมีค่า gel strength, hardness, chewiness สูงกว่าที่ 75:25 ($p \geq 0.05$) ขณะที่เจลผสมซูริมิ SL และไก่สัดส่วน 50:50 ให้ความร้อน 60/90 และ 40/90 มีคุณสมบัติของเจลไม่แตกต่างกัน ($p > 0.05$) และมีค่า gel strength, springiness, cohesiveness, L^* , b^* และความขาว สูงกว่า ที่ 75:25 ($p \geq 0.05$) โดย breaking force, hardness, springiness, cohesiveness และ chewiness (50:50) เพิ่มขึ้นจากเจลซูริมิเป็น 1.34, 1.71, 1.14, 1.71 และ 3.31 เท่า ตามลำดับ แสดงว่า การผสมเนื้อไก่ล้างน้ำในซูริมิสามารถปรับปรุงเนื้อสัมผัสของซูริมิคุณภาพปานกลางได้ดี และซูริมิคุณภาพต่ำได้เล็กน้อย

คำสำคัญ: การเกิดเจล, สมบัติเชิงหน้าที่, เจลผสม, เจลผสมซูริมิและเนื้อไก่

1. บทนำ

ซูริมิ (Surimi) หรือเนื้อปลาสดที่แยกก้างออก แล้วล้างด้วยน้ำ ใช้เป็นวัตถุดิบสำหรับแปรรูปเป็นผลิตภัณฑ์ต่าง ๆ โดยเฉพาะผลิตภัณฑ์ที่เกิดเจล (Gelation) มีลักษณะยืดหยุ่น เช่น ลูกชิ้นปลา เต้าหู้ปลา คามาโบโกะ ปูอัด ซึ่งให้ความสะดวก และนำไปแปรรูปเป็นผลิตภัณฑ์เพิ่มมูลค่าพร้อมบริโภคได้อีกด้วย การล้างเนื้อปลาล้างด้วยน้ำเป็นขั้นตอนหนึ่งในกระบวนการผลิตเจลโปรตีน เพื่อกำจัดองค์ประกอบที่ไม่ต้องการออกไป เช่น เลือด ไขมัน กลิ่นคาว เอนไซม์ต่าง ๆ รวมทั้ง เอนไซม์โปรตีนเอสในกล้ามเนื้อ ส่งผลให้เนื้อปลามีสีขาวขึ้น และยังกำจัดโปรตีนซาร์โคพลาสซึมซึ่งมีผลยับยั้งความสามารถในการเกิดเจล (Suzuki, 1981) ส่งผลให้โปรตีนไมโอไฟบริลล์มีปริมาณสูงขึ้น จึงทำให้เจลมีความแข็งแรง และยืดหยุ่น

การเกิดเจลเป็นการเปลี่ยนแปลงของโปรตีนเมื่อได้รับความร้อน โดยเมื่อสับผสมกล้ามเนื้อโปรตีนกับเกลือ แล้วเกลือไปละลายโปรตีนไมโอไฟบริลล์ เกิดเป็นแอคโตไมโอซินโซล (Actomyosin sol) ซึ่งมีลักษณะหนืด เมื่อนำโซลไปผ่านความร้อน แอคโตไมโอซินเริ่มคลายตัวส่งผลให้บริเวณผิวหน้าของโมเลกุลโปรตีนมีความว่องไวต่อการเกิดปฏิกิริยา ก่อให้เกิดพันธะระหว่างโมเลกุลของโปรตีนกับโปรตีนที่อยู่ข้างเคียง เกิดเป็นโครงสร้างร่างแห 3 มิติที่สามารถจับน้ำหรือสารอื่นที่มีน้ำหนักโมเลกุลต่ำไว้ภายใน ทำให้โซลแปรสภาพเป็นเจลที่เหนียว (Suzuki, 1981) และอุณหภูมิในการเกิดเจล มีส่วนสำคัญในการสร้างความแข็งแรงของเจล ซึ่งแตกต่างกันไปตามชนิดและองค์ประกอบของเส้นใยกล้ามเนื้อ การเปลี่ยนแปลงของเส้นใยกล้ามเนื้อแบ่งออกเป็น 3 ช่วง คือ 1) ซูวารี (Suwari) หรือการเซ็ตตัวของเจล (Gel setting) เกิดที่ช่วงอุณหภูมิ 3-30 °C 2) โมโดริ (Modori) หรือการแตกตัว (Disintegration) เกิดที่ช่วงอุณหภูมิ 60-70 °C และ 3) อาชิ (Ashi) หรือการตรึงความยืดหยุ่น (Elasticity fixation) เกิดที่ช่วงอุณหภูมิ 80-90 °C (Suzuki, 1981)

โดยทั่วไปการทำให้เกิดเจลของปลามักให้ความร้อน 2 ขั้นตอน (Two-step heating process) กับโซล เพื่อส่งเสริมความแข็งแรงของเจล โดยในขั้นตอนแรก การเซ็ตตัวเพื่อสร้างร่างแหโปรตีนอย่างต่อเนื่อง มีระเบียบ จากนั้นให้ความร้อนที่อุณหภูมิสูงขึ้นประมาณ 90°C เพื่อให้โปรตีนเกิดเจลสมบูรณ์ เจลมีความคงรูปและชุ่ม (Fukushima *et al.*, 2007) การปรับปรุงคุณภาพของซูริมิทำได้หลายวิธี เช่น การใส่สารเติมแต่ง การใช้โปรตีนจากแหล่งอื่นมาผสม ซึ่งหนึ่งในนั้นมีการนำเนื้อไก่มาผสม เนื่องจาก เนื้อไก่มีสีอ่อน มีไขมัน และคอเลสเตอรอลต่ำกว่าเนื้อสุกรและเนื้อโค ช่วยลดโอกาสในการเกิดกลิ่นหืน นอกจากนี้ เนื้อไก่ยังเป็นสารเติมแต่งโปรตีนที่อุดมไปด้วยกล้ามเนื้อโปรตีนไมโอไฟบริลล์ สามารถเติมลงไปนซูริมิเพื่อปรับปรุงคุณภาพ และรสชาติของผลิตภัณฑ์ซูริมิ เช่น ปรับปรุงความแข็งแรงของเจล และคุณภาพเนื้อสัมผัสของเจลซูริมิปลาเตอร์เจียนแบบไม่ล้างได้ (Wang *et al.*, 2019) จากการศึกษาของ Gui *et al.* (2018) ซึ่งศึกษาอุณหภูมิการเซ็ตตัวของเจลจากช่วง 30-50 °C ของเนื้อไก่ล้างผสมเนื้อปลาเกล็ดเงิน พบว่าอุณหภูมิการเซ็ตตัวที่เหมาะสมของเนื้อปลา เนื้อปลาผสมเนื้อไก่ (1:1) และ เนื้อไก่ คือ 40, 45 และ 50°C ตามลำดับ นอกจากนี้ Smyth and O'Neill (1997) ได้ศึกษาเจลของเนื้อไก่ที่แยกออกมาจากเนื้อติดกระดูก และผ่านการล้างตามเทคนิคของการเตรียมซูริมิ เมื่อตรวจสอบด้วย Compression rheology พบว่าค่าความแข็งแรงเจลประเมินได้เมื่อให้ความร้อนที่ 60 °C เป็นต้นไป ในขณะที่แอคโตไมโอซินของปลาทรายแดงเกิดเป็นเจลที่อุณหภูมิสูงกว่า 41 °C (Yongsawatdigul and Park, 2003) การศึกษาของ Kongpun (1999) ซึ่งศึกษาสมบัติการเกิดเจลของปลาปากคม (*Saurida undosquamis* และ *Saurida elongate*) และปลานิล (*Oreochromis niloticus*) พบว่าค่าความแข็งแรงเจลสูงสุดเมื่อล้างเนื้อปลาล้าง และให้ความร้อนที่ 30 และ 40 °C นาน 2 ชั่วโมง ก่อนนำไปให้ความร้อนที่ 90 °C นาน 20 นาที ในขณะที่ค่าความแข็งแรงเจลลดลงอย่างเห็นได้ชัดที่ 60 และ 70 °C เนื่องจากเกิดการเสื่อมสลายของไมโอซินสายหนัก (Myosin heavy chain) โดย

เกิดจาก ปัจจัยที่ทำให้เกิดการเสื่อมสลายโปรตีนที่ละลายในเกลือ (Salt soluble proteolytic degrading factor)

โรงงานผลิตซูรีมีบางครั้งอาจประสบปัญหาเกี่ยวกับวัตถุดิบที่ขาดแคลน และมีคุณภาพต่ำส่งผลให้ซูรีมีมีคุณสมบัติเชิงหน้าที่ต่ำ ผู้วิจัยจึงมีความสนใจที่จะปรับปรุงคุณภาพของเจลซูรีมีเกรดต่าง ๆ ด้วยโปรตีนที่มีศักยภาพคือ เนื้อไก่ โดยการหาสภาวะการเตรียมเจลไก่ที่เหมาะสมทั้งสภาวะการล้าง และการให้ความร้อน จากนั้นนำผลการทดลองมาใช้ในการศึกษาอิทธิพลของสัดส่วนของโปรตีนผสม และสภาวะการเกิดเจล เปรียบเทียบระหว่างซูรีมีเนื้อไก่ และสัดส่วนของโปรตีนผสมทั้งสองแหล่ง โดยศึกษาทั้งซูรีมีที่มีคุณภาพปานกลาง และคุณภาพต่ำ

2. วิธีดำเนินการวิจัย

2.1 วัตถุดิบ และการเตรียม

นำเนื้อไก่ส่วนนอกแช่เย็นซึ่งซื้อจากร้านค้าไม่เกิน 1 วัน มาเลาะหนังออก บดด้วยเครื่องบด (grinder) ที่มีขนาดรูเปิด 5 มิลลิเมตร แบ่งเนื้อไก่บดเป็นสองส่วน คือ เนื้อไก่ไม่ล้าง (UW) และเนื้อไก่ล้าง (W) โดยนำส่วนหนึ่งมาล้างน้ำเย็น (0-4 °C) ทั้งหมด 3 ครั้ง โดยครั้งที่ 1 และ 2 ล้างด้วยน้ำเย็นผสมน้ำแข็ง ส่วนการล้างครั้งที่ 3 ล้างด้วยน้ำเกลือเข้มข้นร้อยละ 0.3 (w/v) อัตราส่วนเนื้อไก่ต่อน้ำล้างเท่ากับ 1:4 (w/w) ขณะล้างกวนด้วยพายนาน 5 นาที ตั้งทิ้งไว้ 10 นาที ตักไขมันที่ลอยบนผิวหน้าออก จากนั้นแยกเนื้อไก่ออกจากน้ำล้างโดยกรองผ่านผ้าขาวบางสองชั้นแล้วบีบน้ำออก และเหวี่ยงแยกน้ำ สุ่มเนื้อไก่ที่ผ่านการล้างมาวิเคราะห์ปริมาณความชื้น

ซูรีมีแช่เยือกแข็งคุณภาพปานกลางได้จากบริษัท สมายธ์อาร์ท ฟู้ดส์ จำกัด (มีส่วนผสมของเนื้อปลาทรายแดง, ไข่ขาว, โซเดียมไทรโพลีฟอสเฟต และ น้ำตาลทราย ร้อยละ 93.5, 0.2, 0.3 และ 6.0 ตามลำดับ) และซูรีมีแช่เยือกแข็งคุณภาพต่ำได้จากบริษัทพรีเมียร์แคนนิ่งอินดัสตรี จำกัด (มีส่วนผสมของ เนื้อปลาปากคม, ไข่ขาว, โซเดียมไทรโพลีฟอสเฟต, เติตระโซเดียมพอลิฟอสเฟต และ น้ำตาลทราย ร้อยละ 93.5, 0.2, 0.2, 0.2 และ 6.0 ตามลำดับ) ขนส่งในกล่องโฟมมายังห้องปฏิบัติการ และ

เก็บรักษาในห้องแช่แข็งที่อุณหภูมิ -20°C เพื่อใช้ในการศึกษาต่อไปภายใน 8 เดือน

2.2 การเตรียมเจล

2.2.1 การเตรียมเจลไก่

สับผสมเนื้อไก่กับเกลือป่นร้อยละ 3 ของน้ำหนักด้วยเครื่องสับผสม (Stephan vertical cutter/mixer) ปรับความชื้นให้เท่ากับร้อยละ 80 ด้วยน้ำเย็นผสมน้ำแข็ง สับผสมรวม 8 นาที ควบคุมอุณหภูมิให้ต่ำกว่า 10 °C จากนั้นบรรจุส่วนผสมที่ได้ในกระบอกสเตนเลสขนาด 25x25 มิลลิเมตร อัดให้แน่นไม่ให้เกิดฟองอากาศ แล้วห่อด้วยฟิล์มพลาสติก มัดหัวท้าย ต้มในอ่างน้ำร้อนควบคุมอุณหภูมิ เปรียบเทียบการให้ความร้อน 2 สภาวะ คือ 1) ให้ความร้อน 2 ครั้ง ที่อุณหภูมิ 40 °C 30 นาที ตามด้วยอุณหภูมิ 90 °C 20 นาที (40/90) 2) ให้ความร้อน 2 ครั้ง ที่อุณหภูมิ 60 °C 30 นาที ตามด้วยอุณหภูมิ 90 °C 20 นาที (60/90) จากนั้นแช่น้ำเย็นผสมน้ำแข็ง 20 นาที นำเจลไปเก็บไว้ที่อุณหภูมิ 4 °C เป็นเวลา 18-24 ชั่วโมง ก่อนนำไปวิเคราะห์คุณภาพ นำตัวอย่าง เจลไก่ ออกจากแท่งทรงกระบอกวางไว้ที่อุณหภูมิห้อง เป็นเวลา 1 ชั่วโมง

2.2.2 การเตรียมเจลซูรีมี

นำซูรีมีแช่เยือกแข็งมาทำให้ نرم โดยวางไว้ที่อุณหภูมิ 4 °C 1 คืน วิเคราะห์หาความชื้น และเตรียมเจลเช่นเดียวกับข้อ 2.1 โดยต้มในอ่างน้ำร้อนควบคุมอุณหภูมิ ให้ความร้อน 2 ครั้ง ที่สภาวะ 40/90

2.2.3 การเตรียมเจลซูรีมีผสมเนื้อไก่ล้าง

นำซูรีมีแช่เยือกแข็ง และเนื้อไก่ล้างมาเตรียมเจลผสมตามวิธีการในข้อ 2.1 แปรสัดส่วนของซูรีมีและเนื้อไก่ล้างเป็นร้อยละ 100:0, 75:25, 50:50 และ 0:100 โดยน้ำหนัก ต้มในอ่างน้ำร้อนควบคุมอุณหภูมิโดยเปรียบเทียบการให้ความร้อน 3 สภาวะ คือ 1) สัดส่วน 100:0 (ซูรีมีล้วน) ให้ความร้อนที่ 40/90 2) สัดส่วน 75:25, 50:50 (ซูรีมีผสมเนื้อไก่) ให้ความร้อน 2 แบบ คือที่ 40/90 และ ที่ 60/90 3) สัดส่วน 0:100 (เนื้อไก่ล้วน) ให้ความร้อนที่ 60/90 โดยตัวอย่างควบคุม ได้แก่ สภาวะที่ 1 (ซูรีมีล้วน) โดยแผนภาพการทดลองแสดงดัง Figure 1

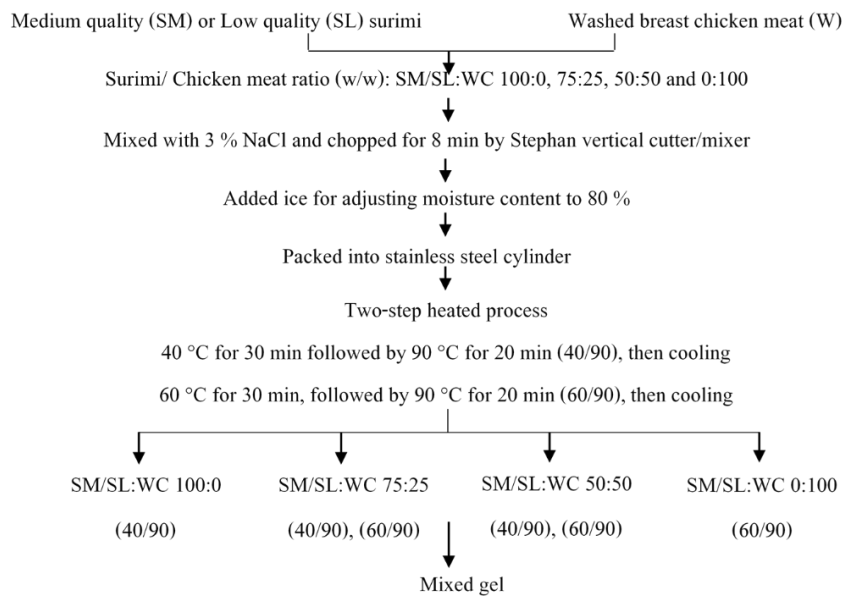


Figure 1 Processing flow chart of chicken gel and mixed surimi gels study

2.3 การวัดค่าความแข็งแรงของเจล

นำตัวอย่างเจลขนาด 25x25 มิลลิเมตร มาวัดค่าความแข็งแรงของเจล (gel strength; GS) ด้วยเครื่อง Texture Analyser Stable Micro System (รุ่น TA-XT Plus, สหราชอาณาจักร) ใช้หัววัดแบบ Spherical p5s ขนาดเส้นผ่านศูนย์กลาง 5 มิลลิเมตร กดลงไปในตัวอย่างด้วยความเร็วคงที่ 1.1 มิลลิเมตร/วินาที เป็นระยะทาง 15 มิลลิเมตร วัดค่าของแรงที่ใช้ในการเจาะทะลุ (Breaking force; BF) (กรัม) และระยะทางที่หัววัดกดก่อนทะลุ (Breaking distance; BD) (เซนติเมตร) แล้วนำค่าทั้งสองมาคูณกัน เพื่อคำนวณค่าความแข็งแรงของเจล (กรัม.เซนติเมตร) แต่ละคุณสมบัติที่วัดคำนวณค่าเฉลี่ยจากการวัด 4 ซ้ำ ดัดแปลงจาก MFRD (Marine Fisheries Research Development) (Tan *et al.*, 1987)

2.4 การวิเคราะห์ Texture profile analysis (TPA)

วิเคราะห์ Texture profile analysis; TPA) ของตัวอย่างเจลด้วยเครื่อง Texture Analyser Stable Micro System (รุ่น TA-XT Plus, สหราชอาณาจักร) โดยใช้หัววัดทรงกระบอกที่มีขนาดเส้นผ่านศูนย์กลาง 50 มิลลิเมตร กดไปในตัวอย่างขนาด 25x25 มิลลิเมตร เป็นระยะทางร้อยละ 60 ของความสูงในรูปแบบของการกดสองครั้ง (two bite) ด้วยความเร็วคงที่ 2 มิลลิเมตร/วินาที วัดค่าความแข็ง (Hardness) (นิวตัน) ความยืดหยุ่น

(Springiness) ค่าการเกาะตัว (Cohesiveness) และค่าความเคี้ยวได้หรือค่าความต้านทานความเคี้ยวของอาหาร (Chewiness) คำนวณค่าเฉลี่ยจาก 4 ซ้ำ

2.5 การวัดค่าสีด้วยระบบ CIE (L^* , a^* , b^*) และค่าความขาว

นำเจล (ทรงกระบอกขนาด 25x25 มิลลิเมตร) มาตัดเป็นชิ้นหนาขนาด 5 มิลลิเมตร แล้วนำไปวางให้ปิดช่องแสง วัดสีในระบบ CIE (L^* , a^* , b^*) ด้วยเครื่องวัดสีแบบตั้งโต๊ะสเปคโตรโฟโตมิเตอร์ Hunter Lab (รุ่น Ultra-Scan VIS, สหรัฐอเมริกา) โดย L^* แสดงค่า ความสว่าง มีค่าระหว่าง 0-100 หรือสีดำถึงขาว a^* แสดงค่า (+) สีแดง หรือ (-) สีเขียว b^* แสดงค่า (+) สีเหลือง หรือ (-) สีน้ำเงิน จากค่า L^* , a^* , b^* นำไปคำนวณค่าความขาวตามสูตรของ Lanier (1992) แต่ละการวัดคำนวณค่าเฉลี่ยจาก 6 ซ้ำ

$$\text{Whiteness} = 100 - [(100 - L^*)^2 + a^{*2} + b^{*2}]^{0.5}$$

2.6 การวัดค่าความสามารถในการอุ้มน้ำ

เจลมาตัดให้มีขนาด 15x15x0.5 ลูกบาศก์ มิลลิเมตร วัดค่าความสามารถในการอุ้มน้ำ (Water holding capacity; WHC) โดยนำเจลวางระหว่างกระดาษกรองชั้นบน 2 แผ่น ชั้นล่าง 3 แผ่น กดด้วยแรงคงที่ 10 กิโลกรัม/เซนติเมตร² นาน 120 วินาที ซึ่งน้ำหนักตัวอย่างก่อนกด (W_1) และตัวอย่างหลังกด (W_2) วัดร้อยละปริมาณความชื้นของตัวอย่าง (M) คำนวณร้อยละของน้ำที่คงอยู่ในตัวอย่าง

ภายหลังการกด ตามสูตรที่ดัดแปลงจาก Motohiro (1981) คำนวณค่าเฉลี่ยจาก 3 ซ้ำ

$$WHC (\%) = \frac{(W_1 \times M) - (W_1 - W_2) \times 100}{(W_1 \times M)}$$

2.7 การวัดการพับ

นำเจลมาตัดเป็นชิ้นหนาขนาด 5 มิลลิเมตร แล้วนำไปทดสอบการพับ (Folding test) โดยนำตัวอย่างมาพับเป็นสองส่วน ถ้าไม่มีรอยแตกให้พับต่อเป็นสี่ส่วนแล้วให้คุณภาพตามเกณฑ์กำหนดตาม MFRD (Marine Fisheries Research Development) (Tan *et al.*, 1987) ดังนี้ AA; ไม่แตกเมื่อพับสี่ส่วน, A; แตกเล็กน้อยเมื่อพับสี่ส่วน, B; แตกเล็กน้อยเมื่อพับครึ่ง, C; แตก (แต่สองชิ้นยังติดกัน) เมื่อพับครึ่ง, D; แตกขาดออกจากกันเมื่อพับครึ่ง ทำ 5 ซ้ำ แล้วเลือกระดับคุณภาพตามจำนวนซ้ำที่มากที่สุด

2.8 การวิเคราะห์โครงสร้างระดับจุลภาค

นำตัวอย่างเจลของซูริมิทั้งคุณภาพปานกลาง (SM) และคุณภาพต่ำ (SL) เจลเนื้อไก่ล้าง (WC) และ เจลผสมระหว่างซูริมิ และเนื้อไก่ล้างที่สัดส่วน 50:50 มาวิเคราะห์โครงสร้างระดับจุลภาคโดยใช้ Scanning electron microscope (SEM) นำเจลมาตัดให้มีขนาด 5x5x5 มิลลิเมตร ทำแห้งด้วยเครื่องทำแห้งแบบแช่เยือกแข็ง (Freeze dryer) นำตัวอย่างแห้งไปเคลือบด้วยแพลทตินัม ก่อนนำไปวิเคราะห์ SEM แบบ Field emission SEM ด้วยเครื่อง Hitachi (รุ่น SU8020, ญี่ปุ่น) ด้วยความต่างศักย์เร่งที่ 5.0 kV

2.9 การวิเคราะห์สถิติ

การศึกษาการล้างเนื้อไก่และอุณหภูมิที่เหมาะสมของการเกิดเจลของเนื้อไก่จัดแผนการทดลองแบบ Factorial 2x2 (สภาวะการล้าง x สภาวะการให้ความร้อน) in RCBD ทำการทดลอง 2 ซ้ำ (แต่ละซ้ำใช้เนื้อไก่จาก lot ที่แตกต่างกัน) นำค่าเฉลี่ยของแต่ละซ้ำมาวิเคราะห์ความแปรปรวน ANOVA ที่ระดับความเชื่อมั่นร้อยละ 95 และวิเคราะห์ความแตกต่างของค่าเฉลี่ยด้วยวิธี Duncan's new multiple range test ($\alpha = 0.05$)

การศึกษาสัดส่วนของซูริมิผสมเนื้อไก่ วางแผนการทดลองแบบ RCBD ทำการทดลอง 2 ซ้ำ นำค่าเฉลี่ยของแต่ละซ้ำวิเคราะห์ความแปรปรวน ANOVA ที่ระดับความเชื่อมั่นร้อยละ 95 และวิเคราะห์ความแตกต่าง

ของค่าเฉลี่ยด้วยวิธี Duncan's new multiple range test ($\alpha = 0.05$)

3. ผลการวิจัยและวิจารณ์ผล

3.1 ผลการศึกษาการล้างเนื้อไก่ และอุณหภูมิที่เหมาะสมของการเกิดเจลของเนื้อไก่

จากการศึกษาเบื้องต้น พบว่า สภาวะการให้ความร้อนที่เหมาะสมของซูริมิทั้งคุณภาพปานกลาง และคุณภาพต่ำคือที่ 40/90 โดยการณีของซูริมิคุณภาพปานกลาง มีคุณสมบัติทางเนื้อสัมผัส และความสามารถในการอุ้มน้ำสูงกว่าที่สภาวะอื่น ๆ (ข้อมูลไม่ได้นำเสนอ) และซูริมิคุณภาพต่ำ มีคุณสมบัติทางเนื้อสัมผัสของ TPA สูงไม่แตกต่างจากที่อุณหภูมิ 90 (ข้อมูลไม่ได้นำเสนอ) ดังนั้นจึงได้ศึกษาสภาวะการให้ความร้อนของเจลไก่นอกจากที่ 60/90 คือ ที่ 40/90 ด้วย เพื่อเป็นแนวทางในการกำหนดสภาวะการให้ความร้อนของเจลผสมต่อไป

ผลของค่า Probability value (p-value) (Table 1) แสดงว่า สภาวะการล้างและสภาวะการให้ความร้อนไม่มีปฏิสัมพันธ์ (Interaction) ทางสถิติต่อทุกคุณสมบัติ ยกเว้นค่า b^* (ค่าสีเหลือง) กรณีคุณสมบัติทางเนื้อสัมผัส สภาวะการล้างไม่มีผลต่อค่าแรงเจาะทะลุ (BF) ขณะที่สภาวะการให้ความร้อนมีผลต่อค่า BF ($p \geq 0.05$) โดยเจลไก่ทั้งที่ W และ UW ที่ 60/90 มีค่า BF (283.44 g) สูงกว่าที่ 40/90 (211.23 g) (Table 2) สภาวะการล้าง และสภาวะการให้ความร้อนมีผลต่อค่าระยะทางที่เจาะทะลุ (BD) และค่าความแข็งแรงของเจล (GS) โดยเจลไก่ UW มีค่า BD, GS (0.64 cm, 160.32 g.cm) สูงกว่า BD, GS ของเจลไก่ W (0.54 cm, 137.54 g.cm) ส่วนเจลที่ 60/90 มีค่า BD, GS (0.63 cm, 179.73 g.cm) สูงกว่าที่ 40/90 (0.54 cm, 118.13 g.cm) ส่วนผลการวิเคราะห์ TPA ที่สภาวะการล้าง และสภาวะการให้ความร้อนไม่มีอิทธิพลต่อค่า Hardness, Springiness และ Cohesiveness แต่การให้ความร้อนที่ 60/90 ทำให้ค่า Chewiness (25.36) สูงกว่าที่ 40/90 (15.84) ขณะที่การล้างไม่มีผลต่อค่า Chewiness โดยค่า Hardness, Springiness, Cohesiveness มีค่าอยู่ในช่วง 32.03-53.10 N, 0.88-0.90, 0.55-0.66 ตามลำดับ

สภาวะการล้างมีผลต่อความสามารถในการอุ้มน้ำ (WHC) โดยเจลไก่ที่ W มีค่า WHC (99.87%) สูงกว่าที่ UW (99.73 %) ($p \geq 0.05$) ขณะที่สภาวะการให้ความร้อนไม่มีอิทธิพลต่อ WHC ผลการทดสอบการพับพบว่า เจลของ UW และ W มีค่าการพับไม่แตกต่างกันที่สภาวะอุณหภูมิเดียวกัน โดยเจลเมื่อให้ความร้อนที่ 60/90 มีคุณภาพการ

พักระดับ A คือแตกเล็กน้อยเมื่อพับสี่ส่วน ดีกว่าที่ 40/90 ซึ่งอยู่ในระดับ C คือแตกเมื่อพับครึ่ง แต่สองชั้นยังติดกัน

สภาวะการล้างมีผลต่อค่า L^* (ความสว่าง) และค่า a^* (ค่าลบ คือค่าสีเขียว) โดยเจลไก UW มีค่า L^* (74.49) สูงกว่า W (70.45) เล็กน้อย และมีค่า a^* (-0.63) น้อยกว่า W (-1.31) แต่สภาวะการให้ความร้อนไม่มีอิทธิพลต่อค่าทั้งสอง ส่วนผลที่มีต่อค่า b^* เมื่อพิจารณาเจลไก UW สภาวะการให้ความร้อนไม่มีผลต่อค่า b^* แต่เจลไก W และให้ความร้อนที่ 60/90 ให้ค่า b^* สูงกว่าที่ 40/90 แต่เมื่อพิจารณาผลของสภาวะการให้ความร้อน ที่ 40/90 ค่า b^* ของเจลไก UW สูงกว่าที่ W แต่ที่ 60/90 ค่า b^* ไม่แตกต่างกันระหว่าง UW และ W ซึ่งเมื่อคำนวณเป็นค่า Whiteness เจลไก UW (71.52) มีค่าสูงกว่าเจลไก W (68.52) เล็กน้อย โดยทั่วไปการล้างทำให้เจลไกมีความขาวเพิ่มขึ้น (Kang *et al.*, 2009) ทั้งนี้ เมื่อตรวจสอบผลของค่าสีเนื้อไก่ เนื้อไก่ล้างน้ำมีค่า L^* และ Whiteness (68.90 ± 0.36 และ 64.77 ± 0.35 ตามลำดับ) มากกว่าเนื้อไก่ไม่ล้าง (57.96 ± 0.85 , และ 54.99 ± 0.87 ตามลำดับ) ($p \leq 0.05$) (ข้อมูลเพิ่มเติม) แต่เมื่อนำไปขึ้นรูปเป็นเจล กลับให้ผลตรงกันข้าม ทั้งนี้อาจเกิดจากเจลไก UW สามารถกักน้ำไว้ในเจลได้ดี ซึ่งความชื้นส่งผลต่อการเพิ่มขึ้นของค่า L^* (Park, 2000) แต่น้ำดังกล่าวบางส่วนอาจอยู่ในรูปน้ำอิสระ สามารถแยกออกจากเจลได้เมื่อนำไปผ่านการกดและระเหยระหว่างการให้ความร้อนอย่างรวดเร็ว (Niwa, 1992) จึงทำให้ค่า WHC ของเจลไก UW ลดลง

จากผลการทดลองสรุปได้ว่าการไม่ล้างเนื้อไก่ทำให้เจลโปรตีนมีค่า BD, GS, L^* และ Whiteness สูงกว่าเจลไก W ขณะที่การล้างไก่ทำให้เจลโปรตีนมีค่า a^* และ WHC สูงกว่าเจลไก UW เจลไกที่ได้จากการให้ความร้อน 60/90 มีค่าลักษณะเนื้อสัมผัส BF, BD, GS และ Chewiness สูงกว่าที่ 40/90 แต่ไม่ให้ผลแตกต่างต่อค่า

Hardness, Springiness และ Cohesiveness เมื่อพิจารณาเนื้อไก่ที่ W จะมีกลืนไกรุนแรงน้อยกว่าเนื้อไก่ UW (สังเกตโดยผู้วิจัย และทีมวิจัย) ซึ่งถ้าเลือกวิธีการเตรียมเนื้อไก่แบบ UW กลืนไกรอาจไปกลบกลืนของซูริมิทำให้ไม่แสดงลักษณะของกลืนปลา แม้ว่าเจลไก W มีค่า BD และ GS ต่ำ แต่เจลไกทั้งที่ W และ UW มีผลต่อค่าเนื้อสัมผัสแบบ TPA ไม่แตกต่างกัน Lee and Chung (1989) กล่าวว่า การทดสอบด้วยวิธีการกด (Compression test) แบบ TPA เป็นวิธีที่เหมาะสมสำหรับการตรวจสอบการเกาะตัวของเจล ขณะที่วิธีการเจาะทะลุ (Penetration test) เป็นวิธีที่เหมาะสมสำหรับการวัดความหนาแน่น และความอัดแน่น (Compactness) ของโครงข่ายเจลซึ่งเป็นผลมาจากการรวมกลุ่มของโปรตีน โดยทั่วไปแล้วการทดสอบด้วยวิธี TPA จะมีความสัมพันธ์ที่สุดกับข้อมูลการทดสอบทางประสาทสัมผัส มากกว่าวิธีการเจาะทะลุ นอกจากนั้นการล้างยังทำให้เจลไกมีค่า WHC สูงกว่าไก่ UW

ผลของการให้ความร้อนที่ 60/90 ดีกว่าที่ 40/90 ซึ่งสอดคล้องกับงานวิจัยของ Smyth and O'Neill (1997) ซึ่งพบว่าการให้ความร้อนน้อยกว่า 60 °C เจลมีความนุ่มและอ่อน แต่เจลแข็งแรงขึ้นระหว่าง 60 - 70 °C ซึ่งเกิดการจับตัวกันระหว่างโปรตีนกับโปรตีน และความแข็งแรงของเจลไม่แตกต่างกันระหว่าง 70 - 80 °C แสดงให้เห็นว่าระหว่างอุณหภูมิ 50 - 60 °C เป็นจุดวิกฤติในโครงสร้างการเกิดเจลของกล้ามเนื้อไก่ นอกจากนี้ Siegel *et al.* (1979) กล่าวว่าความร้อนที่ทำให้เกิดเจลมีความสำคัญ โดยมีผลต่อความคงตัว และเนื้อสัมผัสมากกว่ากระบวนการอื่น ๆ ดังนั้น จึงเลือกวิธีการเตรียมเนื้อไก่ด้วยการล้าง และเลือกอุณหภูมิที่เหมาะสมในการทำให้เกิดเจลที่ 60/90 ไปใช้ศึกษาในขั้นตอนถัดไป

Table 1 Probability value (p-value) from two-level factorial design with effect of factor A (different washing) and factor B (heating conditions) on functional properties of chicken meat gels.

Gel properties	Factor	p-value	Gel properties	Factor	p-value
Breaking force (g)	A	0.602	Chewiness	A	0.340
	B	0.002*		B	0.034*
	A × B	0.358		A × B	0.672
Breaking distance (cm)	A	0.007*	Water holding capacity (%)	A	0.004*
	B	0.010*		B	0.697
	A × B	0.865		A × B	0.895
Gel strength (g.cm)	A	0.028*	L*	A	0.048*
	B	0.002*		B	0.358
	A × B	0.251		A × B	0.874
Hardness (N)	A	0.142	a*	A	0.001*
	B	0.095		B	0.351
	A × B	0.846		A × B	0.663
Springiness	A	0.058	b*	A	0.003*
	B	0.058		B	0.006*
	A × B	0.058		A × B	0.013*
Cohesiveness	A	0.538	Whiteness	A	0.055
	B	0.115		B	0.445
	A × B	0.689		A × B	0.978

* A p-value less than 0.05 means that deviation from the null hypothesis is statistically significant, and the null hypothesis is rejected.

Factor A; Washing condition, Factor B; Heating condition, Factor A × B; A - B interaction

Table 2 Textural properties, color value, whiteness, folding test, and water holding capacity of chicken meat gels at different washing and heating conditions.

Gel properties	Washing conditions	Heating conditions		Mean
		40/90 °C	60/90 °C	
Breaking force (g)	UW	211.20 ± 0.59	284.96 ± 14.94	
	W	211.26 ± 26.61	281.92 ± 13.39	
	Mean	211.23 ^B ± 13.60	283.44 ^A ± 14.17	
Breaking distance (cm)	UW	0.59 ± 0.02	0.68 ± 0.02	0.64 ^a ± 0.02
	W	0.50 ± 0.06	0.58 ± 0.02	0.54 ^b ± 0.04
	Mean	0.54 ^B ± 0.04	0.63 ^A ± 0.02	
Gel strength (g.cm)	UW	125.49 ± 8.42	195.14 ± 17.23	160.32 ^a ± 12.83
	W	110.76 ± 27.42	164.31 ± 13.54	137.54 ^b ± 20.48
	Mean	118.13 ^B ± 17.92	179.73 ^A ± 15.39	

Table 2 (Continuous)

Gel properties	Washing conditions	Heating conditions		Mean
		40/90 °C	60/90 °C	
Hardness ns (N)	UW	32.03 ± 16.20	42.58 ± 21.05	
	W	40.52 ± 21.93	53.10 ± 32.34	
Springiness ns	UW	0.88 ± 0.07	0.90 ± 0.06	
	W	0.90 ± 0.06	0.90 ± 0.06	
Cohesiveness ns	UW	0.59 ± 0.22	0.66 ± 0.16	
	W	0.55 ± 0.30	0.65 ± 0.21	
Chewiness	UW	14.99 ± 0.79	23.32 ± 4.27	
	W	16.68 ± 1.55	27.39 ± 6.56	
	Mean	15.84B ± 1.17	25.36A ± 5.42	
Water holding capacity (%)	UW	99.73 ± 0.01	99.73 ± 0.01	99.73b ± 0.01
	W	99.87 ± 0.05	99.88 ± 0.04	99.87a ± 0.05
Folding test	UW	C	A	
	W	C	A	
L*	UW	73.45 ± 0.15	74.43 ± 1.95	74.49a ± 1.05
	W	69.77 ± 0.70	71.13 ± 2.36	70.45b ± 1.53
a*	UW	-0.69 ± 0.05	-0.57 ± 0.06	-0.63b ± 0.06
	W	-1.51 ± 0.20	-1.47 ± 0.04	-1.31a ± 0.12
b*	UW	11.37aA ± 0.33	11.52aA ± 0.40	
	W	10.16bB ± 0.55	11.23aA ± 0.58	
Whiteness	UW	71.11 ± 0.27	71.94 ± 1.61	71.52a ± 0.94
	W	68.08 ± 0.82	68.97 ± 1.98	68.52b ± 1.40

Results are presented as mean ± standard deviations. UW; Unwashing, W; Washing

^{ns} Means are not significantly different ($p > 0.05$).

^{ab} Different lowercase letters indicate significant differences across washing treatments ($p \geq 0.05$).

^{AB} Different capital letters indicate significant differences across heating treatments ($p \geq 0.05$).

3.2 ผลการศึกษาสัดส่วนของซูรีมีคุณภาพปานกลางผสมเนื้อไก่ล้าง และอุณหภูมิของการเกิดเจลที่เหมาะสม

ผลการศึกษาเปรียบเทียบเจลไก่ เจลซูรีมีคุณภาพปานกลาง และ เจลผสมของซูรีมีและเนื้อไก่ล้างที่ให้ความร้อนทั้งสภาวะที่เหมาะสมของเนื้อไก่ (60/90) และของซูรีมี (40/90) แสดงใน Table 3 โดยค่า BF ของเจลไก่ล้วน [SM:WC (0:100)] ที่อุณหภูมิ 60/90 มีค่าสูงที่สุด ($p \geq 0.05$) เมื่อพิจารณาเจลผสมที่มีสัดส่วนเท่ากันทั้ง 75:25 และ 50:50 ที่ 60/90 มีค่าสูงกว่าที่ 40/90 โดยเฉพาะที่สัดส่วน 50:50 ซึ่งใช้เนื้อไก่มากกว่า ดังนั้นความร้อนมีผลต่อค่า BF โดยค่า BF ที่ 60/90 สัดส่วน 50:50 (315.97 g) สูงกว่าที่ 75:25 (235.55 g) ($p \geq 0.05$) นั่นคือ เมื่อผสมเนื้อ

ไก่ล้างที่สัดส่วนมากขึ้น ค่า BF ของเจลมีแนวโน้มสูงขึ้น และสูงมากเมื่อให้ความร้อนที่เหมาะสมกับการเกิดเจลไก่ ค่า BD ของเจลซูรีมีล้วน [SM:WC (100:0)] ที่ 40/90 มีค่าสูงที่สุด (1.01 cm) ($p \geq 0.05$) ขณะที่ของเจลไก่ล้วน ที่ 60/90 มีค่าต่ำที่สุด (0.57 cm) เมื่อพิจารณาสภาวะการให้ความร้อน พบว่าที่ 60/90 ให้ค่า BD สูงกว่าที่ 40/90 ทุกสัดส่วน ($p \geq 0.05$) และการผสมเนื้อไก่ล้างที่สัดส่วนมากขึ้น ทำให้ค่า BD ลดลง ($p \geq 0.05$) ค่า GS ของเจลซูรีมีล้วน เนื้อไก่ล้วน และสัดส่วน 50:50 ที่ 60/90 มีค่าสูงที่สุด (221.03-231.98 g.cm) ไม่แตกต่างกัน ($p > 0.05$) อย่างไรก็ตาม เมื่อพิจารณาเจลผสมที่สัดส่วนเดียวกัน ที่อุณหภูมิ 60/90 ให้ค่าสูงกว่าที่ 40/90 ทุกสัดส่วน ($p \geq 0.05$) การผสมเนื้อไก่ล้างที่สัดส่วนมากขึ้นนั้น เจลมีแนวโน้มของค่า GS ที่สูงขึ้น

เฉพาะที่ 60/90 ผลของการวัดค่า TPA ค่า Hardness มีค่าสูงที่สุดในเจลไกล้วน (97.99 N) และ มีค่าต่ำสุดในเจลซูริมีล้วน (37.30 N) ค่า Hardness ที่สัดส่วน 50:50 ที่ 60/90 (79.88 N) มีแนวโน้มสูงกว่าที่ 40/90 (65.72 N) และยังให้ผลไม่แตกต่างจากเจลไกล้วนที่มีค่าสูงที่สุด ($p \geq 0.05$) ในขณะที่สัดส่วน 75:25 สภาวะความร้อนไม่ส่งผลต่อความแตกต่างของค่า Hardness และมีค่าลดลง (48.31-50.18 N) ค่า Springiness ของเจลซูริมีล้วน ไกล้วน ที่สัดส่วน 75:25 และ 50:50 ให้ความร้อนที่อุณหภูมิ 60/90 ไม่แตกต่างกัน ($p > 0.05$) มีค่า Springiness ในช่วง 0.85-0.86 ขณะที่ค่าต่ำกว่าที่ 40/90 (0.82-0.83) ค่า Cohesiveness ของเจลซูริมีล้วน สัดส่วน 75:25 และ 50:50 ที่ 60/90 มีค่าสูงที่สุด (0.62-0.70) และในไกล้วนมีค่าต่ำสุด (0.35) ขณะที่ตัวอย่างผสมที่สัดส่วนทั้งสอง ที่ 40/90 มีค่าลดลง ค่า Chewiness ของเจลที่สัดส่วน 50:50 ที่ 60/90 มีค่าสูงที่สุด (42.68) สูงกว่าทุกตัวอย่างซึ่งมีค่า 22.22-29.37 ($p \geq 0.05$) ค่า WHC ของตัวอย่างทุกสัดส่วน และสภาวะการให้ความร้อนแตกต่างกันอย่างไม่มีนัยสำคัญ ($p > 0.05$) มีค่าสูงถึงร้อยละ 99.83-99.89 การพับของเจลซูริมีล้วนมีระดับคุณภาพสูงที่สุด คือ AA นั่นคือ เจลมีความเหนียวดีมาก ไม่แตกเมื่อพับสี่ส่วน และแตกต่างกัน ($p \geq 0.05$) กับเจลอื่น ๆ ทุกสัดส่วน และสภาวะการให้ความร้อน รวมถึงเจลของเนื้อไกล้วน ซึ่งมีระดับคุณภาพการพับที่ระดับ A คือ เจลมีความเหนียวดี แตกเล็กน้อยเมื่อพับสี่ส่วน

ค่าสี L^* และ ค่า Whiteness ของเจลซูริมีล้วน และที่สัดส่วน 75:25 ทั้งสองสภาวะความร้อน (69.95-70.07, 68.38-68.41 ตามลำดับ) มีค่าสูงกว่าที่สัดส่วน 50:50 และเจลไกล้วน (68.58-69.27, 67.00-67.60) เล็กน้อย ยกเว้นเจลที่สัดส่วน 50:50 ที่ 60/90 มีค่า L^* และ Whiteness ต่ำที่สุด ส่วนค่า a^* (สีเขียว) และค่า b^* (สีเหลือง) ของทุกตัวอย่างมีค่าไม่แตกต่างกัน ($p > 0.05$)

จากการทดลองสรุปได้ว่า เจลซูริมีคุณภาพปานกลางที่นำมาศึกษามีคุณลักษณะทางเนื้อสัมผัสที่นุ่มเหนียว ยืดหยุ่น การเกาะตัวสูง และมีความสามารถในการอุ้มน้ำสูง ขณะที่เจลของเนื้อไกล้วนมีเนื้อสัมผัสที่แข็งค่อนข้างเปราะ ยืดหยุ่น การเกาะตัวต่ำ และมีความสามารถในการอุ้มน้ำสูงเช่นเดียวกับเจลซูริมี เจลซูริมีมีคุณสมบัติของสี L^* a^* b^* ไม่แตกต่างจากเจลไกล้วน แต่มีความขาวมากกว่าเจลไกล้วนเล็กน้อย การผสมเนื้อไกล้วนกับซูริมีคุณภาพปานกลางที่สัดส่วน 50:50 ทำให้เจลโปรตีนผสมมีค่า GS, Hardness, Chewiness (231.98 g.cm, 79.88 N, 42.68) สูงกว่าที่สัดส่วน 75:25 (191.28 g.cm, 48.31 N, 26.25) ตามลำดับ ($p \geq 0.05$) ค่า Whiteness ที่สัดส่วน 50:50 จากการให้ความร้อนที่อุณหภูมิ 60/90 (67.00) มีค่าไม่แตกต่าง

จากที่ 40/90 (67.60) ($p > 0.05$) เมื่อพิจารณาอุณหภูมิในการทำให้เกิดเจลที่สัดส่วนเดียวกันพบว่า เจลผสมที่สัดส่วน 50:50 ที่ 60/90 มีค่า BF, BD, GS, Springiness, Cohesiveness และ Chewiness (315.97 g, 0.73 cm, 231.98 g.cm, 0.86, 0.62, 42.68) สูงกว่าที่ 40/90 (235.57 g, 0.63 cm, 160.28 g.cm, 0.82, 0.47, 25.91) ตามลำดับ ($p \geq 0.05$) และเจลผสมที่สัดส่วน 75:25 ที่ 60/90 มีค่า BD และ GS (0.81 cm, 191.28 g.cm) สูงกว่าที่ 40/90 (0.73 cm, 140.59 g.cm) ตามลำดับ ($p \geq 0.05$) ดังนั้นการผสมเนื้อไกล้วนและให้ความร้อนที่อุณหภูมิ 60/90 จึงช่วยปรับปรุงเนื้อสัมผัสของซูริมีได้ดีขึ้น

การนำเนื้อไกล้วนทดแทนซูริมี ช่วยปรับปรุงสมบัติทางเนื้อสัมผัสของซูริมีบางประการคือ เจลผสมที่ได้มีแนวโน้มที่เพิ่มขึ้นของค่า BF, Hardness, Chewiness ได้เป็น 1.45, 2.14 และ 1.92 เท่า ตามลำดับ โดยสภาวะที่ให้ค่าดังกล่าวสูงที่สุดคือ ที่สัดส่วนร้อยละ 50:50 ให้ความร้อนที่อุณหภูมิ 60 °C เวลา 30 นาที ตามด้วย 90 °C เวลา 20 นาที

3.3 ผลการศึกษาสัดส่วนของซูริมีคุณภาพต่ำผสมเนื้อไกล้วน และอุณหภูมิของการเกิดเจลที่เหมาะสม

จาก Table 4 ค่า BF ของเจลไกล้วน ที่อุณหภูมิ 60/90 มีค่าสูงที่สุด ($p \geq 0.05$) (371.10 g) ขณะที่เจลซูริมีล้วน และที่สัดส่วน 75:25 มีค่าต่ำที่สุด (123.34-141.72) เมื่อพิจารณาสัดส่วนที่เท่ากันทั้ง 75:25 และ 50:50 การให้ความร้อนที่ 60/90 ไม่แตกต่างจากที่ 40/90 ส่วนที่สัดส่วน 50:50 ซึ่งใช้เนื้อไกล้วนมากกว่า มีค่า BF (170.74-174.12 g) สูงกว่าที่ 75:25 (123.34-141.72 g) นั่นคือ เมื่อผสมเนื้อไกล้วนที่สัดส่วนมากขึ้น เจลมีแนวโน้มของค่า BF ที่สูงขึ้น ค่า BD ของเจลซูริมีล้วนสูงที่สุด (0.66 cm) ($p \geq 0.05$) ขณะที่ของเจลไกล้วนมีค่าลดลงมา (0.59 cm) เมื่อนำมาผสมกันกลับทำให้ค่า BD ลดลง ($p \geq 0.05$) (0.42-0.48) คือเจลเปราะเพิ่มขึ้น เมื่อพิจารณาสภาวะการให้ความร้อน ที่สัดส่วน 75:25 ความร้อน 60/90 ให้ค่าสูงกว่าที่ 40/90 ($p \geq 0.05$) แต่ที่สัดส่วน 50:50 ไม่แตกต่างกัน ($p > 0.05$) ($p \geq 0.05$) ค่า GS มีแนวโน้มการเปลี่ยนแปลงคล้ายกับค่า BF กล่าวคือ GS ของเจลไกล้วนมีค่าสูงที่สุด (219.46 g.cm) ($p \geq 0.05$) รองลงมาคือเจลซูริมีล้วน (85.92 g.cm) และเจลเนื้อไกล้วนผสมที่สัดส่วน 50:50 (75.77-81.91 g.cm) ขณะที่สัดส่วน 75:25 มีค่าต่ำที่สุด (59.23-59.62 g.cm) โดยการให้ความร้อนตัวอย่างผสมที่ 60/90 ไม่แตกต่างจากที่ 40/90 นั่นคือเจลซูริมีคุณภาพต่ำที่นำมาศึกษาแม้จะผสมเนื้อไกล้วน ทำให้ค่า BF สูงขึ้นเล็กน้อย แต่ไม่ทำให้ค่า GS สูงขึ้น ทั้งนี้อาจเนื่องจากคุณภาพของโปรตีนซูริมีที่ไม่

แข็งแรงมาก เมื่อประสานกับโปรตีนไก่อีกยังไม่สามารถสร้างร่างแหโปรตีนที่แข็งแรงได้ ซึ่งซูริมิปลาปากคมมีระดับกิจกรรมโปรตีนในกล้ามเนื้อสูง (Yongsawatdigul, 2019) จึงอาจก่อให้เกิดการย่อยสลายของเส้นใยโปรตีนได้ ค่า Hardness มีค่าสูงที่สุดในเจลไก่อ้วน (42.11 N) รองลงมาคือ เจลไก่อผสมสัดส่วน 50:50 ที่ 40/90 และ 60/90 และสัดส่วน 75:25 ที่ 40/90 (19.96-24.82 N) ไม่แตกต่างกัน ($p>0.05$) และมีค่าต่ำที่สุดคือ เจลซูริมิล้วน และสัดส่วน 75:25 ที่ 60/90 (14.45-14.62 N) ($p\geq 0.05$) Hardness ของเจลซูริมิเพิ่มขึ้นเมื่อผสมเนื้อไก่ที่สัดส่วน 50:50 ให้ความร้อนได้ทั้งสองสภาวะ หรือที่สัดส่วน 75:25 ซึ่งมีปริมาณซูริมิมาก ต้องให้ความร้อนเฉพาะที่ 40/90 ค่า Springiness และค่า Cohesiveness แสดงผลคล้ายคลึงกัน กล่าวคือ มีค่าสูงสุดในเจลไก่อ้วน (0.91, 0.76 ตามลำดับ) และมีค่าต่ำที่สุดในเจลซูริมิล้วน (0.77, 0.41) การผสมเนื้อไก่ที่สัดส่วน 50:50 ทั้งสองสภาวะความร้อนให้ค่า Springiness และค่า Cohesiveness (0.88, 0.69-0.70) สูงกว่าที่สัดส่วน 75:25 ซึ่งที่สัดส่วน 75:25 นี้ ให้ความร้อนที่ 40/90 ให้ค่าสูงกว่าที่ 60/90 ค่า Chewiness มีแนวโน้มการเปลี่ยนแปลงคล้ายกับค่า Hardness คือ มีค่าสูงสุดในเจลไก่อ้วน (28.83) รองลงมาคือ เจลเนื้อไก่อผสมสัดส่วน 50:50 ที่ 40/90 และ 60/90 และสัดส่วน 75:25 ที่ 40/90 (10.52-15.11) ไม่แตกต่างกัน ($p>0.05$) และมีค่าต่ำที่สุดคือ เจลซูริมิล้วน และสัดส่วน 75:25 ที่ 60/90 (4.57-5.76) ($p\geq 0.05$) Chewiness ของเจลซูริมิเพิ่มขึ้นเมื่อผสมเนื้อไก่ที่สัดส่วน 50:50 ให้ความร้อนได้ทั้งสองสภาวะ หรือที่สัดส่วน 75:25 ต้องให้ความร้อนเฉพาะที่ 40/90

ค่า WHC ของทุกตัวอย่างแตกต่างกันอย่างไม่มีนัยสำคัญ ($p>0.05$) มีค่าสูงถึงร้อยละ 99.75-99.90 การพับของเจลไก่อ้วนมีค่าสูงที่สุดโดยอยู่ในระดับ A คือ เจลมีความเหนียวดี แตกเล็กน้อยเมื่อพับสี่ส่วน ซึ่งแตกต่าง ($p\geq 0.05$) จากค่าการพับของเจลตัวอย่างอื่น ๆ ทุกสัดส่วนและสภาวะการให้ความร้อน รวมถึงเจลของซูริมิล้วน ซึ่งมีค่าการพับที่ระดับ C เท่ากัน คือ เจลมีความเหนียวน้อย แตกเมื่อพับครึ่งแต่สองชิ้นยังติดกัน

ค่า L^* และ Whiteness มีแนวโน้มของการเปลี่ยนแปลงคล้ายคลึงกัน โดยเจลซูริมิล้วน และที่สัดส่วน 75:25 ทั้งสองสภาวะความร้อนมีค่า L^* และ Whiteness (67.03-68.07, 66.54-67.28 ตามลำดับ) น้อยกว่าของเจลไก่อ้วน และที่สัดส่วน 50:50 (69.73-71.52, 68.55-69.64) เล็กน้อย ค่า a^* (สีเขียว) ของเจลซูริมิล้วน และที่สัดส่วน 75:25 ทั้งสองสภาวะความร้อน มีค่า (-2.23 ถึง -2.30) สูงที่สุด ($p\leq 0.05$) ขณะที่เจลไก่อ้วนมีค่าต่ำที่สุด (-1.42) ถ้าเพิ่มสัดส่วนของเนื้อไก่อมากขึ้น (50:50) ให้ความเป็น

สีเขียว (-2.06 ถึง -2.15) ลดลง ค่า b^* (สีเหลือง) ของเจลไก่อ้วนมีค่ามากที่สุด (10.35) และเจลซูริมิมีค่าต่ำที่สุด (5.24) ($p\geq 0.05$) ที่สัดส่วนเดียวกันทั้งสองสภาวะความร้อนให้ค่า b^* ไม่แตกต่างกัน แต่การเพิ่มสัดส่วนของเนื้อไก่อมากขึ้นทำให้เจลมีค่า b^* สูงขึ้น

จากการทดลองสรุปได้ว่า เจลซูริมิคุณภาพต่ำที่นำมาศึกษามีคุณลักษณะทางเนื้อสัมผัสที่นุ่ม ร่วน ยืดหยุ่นเล็กน้อย การเกาะตัวต่ำ กัดขาดง่ายมาก และมีความสามารถในการอุ้มน้ำสูง ขณะที่เจลของเนื้อไก่อ้วนมีเนื้อสัมผัสที่แข็งเล็กน้อย ก่อนข้างเปราะ ยืดหยุ่น การเกาะตัวสูง และมีความสามารถในการอุ้มน้ำสูงเช่นเดียวกับเจลซูริมิ เจลซูริมิมีคุณสมบัติของความสว่าง ความเป็นสีเหลืองและความขาวต่ำ แต่มีความเป็นสีเขียวมากกว่าเจลไก่อ้วน การผสมเนื้อไก่อ้วนกับซูริมิคุณภาพต่ำที่สัดส่วนร้อยละ 50:50 ทำให้เจลโปรตีนผสมมีค่าสมบัติทางเนื้อสัมผัสทุกพารามิเตอร์ที่ได้จากการให้ความร้อนทั้งสองสภาวะแตกต่างกันอย่างไม่มีนัยสำคัญ เมื่อเทียบกับที่สัดส่วน 75:25 ค่า GS, Springiness, Cohesiveness, L^* , b^* และ Whiteness ของเจลที่ 50:50 สูงกว่าอย่างมีนัยสำคัญ

การนำเนื้อไก่อ้วนมาทดแทนซูริมิ ช่วยปรับปรุงสมบัติทางเนื้อสัมผัสของซูริมิบางประการคือ เจลผสมที่ได้มีแนวโน้มที่เพิ่มขึ้นของค่า Breaking force ความแข็ง ค่าความยืดหยุ่น ค่าการเกาะตัว และค่าความเคี้ยวได้ เป็น 1.34, 1.71, 1.14, 1.71 และ 3.31 เท่า ตามลำดับ โดยสภาวะที่ให้ค่าดังกล่าวสูงที่สุดคือ ที่สัดส่วนร้อยละ 50:50 ให้ความร้อนทั้งที่ 40/90 และ 60/90 แต่การเพิ่มขึ้นนี้ยังไม่มากพอที่จะทำให้เจลมีเนื้อสัมผัสที่ดี ในที่นี้จึงเลือกสภาวะการให้ความร้อนที่อุณหภูมิ 60 °C เวลา 30 นาที ตามด้วย 90 °C เวลา 20 นาที ไปตรวจสอบโครงสร้างในระดับจุลภาค



Research Article

Development of an Electric Tugger for Patient Bed Transportation

Chanisa Nimitpanyakul ^a, Sarawut Gonsrang ^{b*} and Nitipat Laomongkholsaisri ^c^a Patient Transportation Department, Faculty of Medicine, Prince of Songkla University, Hat Yai, Songkhla 90110, Thailand.^b Department of Mechanical and Mechatronics Engineering, Faculty of Engineering, Prince of Songkla University, Hat Yai, Songkhla 90110, Thailand.^c Policy and Planning Analysis Section, Faculty of Medicine, Prince of Songkla University, Hat Yai, Songkhla 90110, Thailand.

ABSTRACT

Article history:

Received: 2023-06-15

Revised: 2023-09-01

Accepted: 2024-09-06

Keywords:

electric tugger;

bed mover;

patient bed;

patient bed transportation

Transporting a patient in a bed within Songklanagarind Hospital, Faculty of Medicine, Prince of Songkla University, typically requires at least two workers. During peak hours, insufficient personnel often overburdens the patient transportation team. To address this challenge, this research aims to develop an electric tugger, or e-tugger, to facilitate patient bed transport. The e-tugger is designed to enable a single staff member to haul a patient bed on flat surfaces and up to a 5% incline to the destination. The e-tugger's design includes an electric tugger and a forklift. The tugger's structure provides space to install the necessary components. A 3-kW brushless DC motor, powered by 72V, 15Ah Li-ion batteries, drives the system, allowing it to move a patient bed weighing up to 400 kg on a 5% incline. The staff can control the e-tugger's motion using either a control box or a joystick. The forklift, when viewed from the side, has an L-shape and is equipped with an integrated electric scissor jack that lifts the forklift up and down, operated via the control box. The e-tugger's performance study focuses on two main aspects: (1) the user experience of coupling the e-tugger to the patient bed, and (2) the e-tugger's operation on a 30-meter flat surface and in a passageway. Onsite testing demonstrates that one staff member can effectively transport a patient in a bed using the e-tugger. Coupling the e-tugger to a patient's bed takes only 10 seconds. The e-tugger can propel a 255-kg patient bed at approximately 1.66 m/s. The electric motor consumes 2.46 A on a flat surface and 4.46 A on a 5% incline. Additionally, after transporting a 380-kg patient bed for 2.36 km, the battery's state of charge decreases by 2 %, with the e-tugger's average energy consumption rate being approximately 91.5 Wh/ 10 km.

© 2025 Nimitpanyaku, C., Gonsrang, S. and Laomongkholsaisri, N. Recent Science and Technology published by Rajamangala University of Technology Srivijaya

1. Introduction

Patient transportation is an essential task in healthcare facility management because it affects staff productivity, the quality of treatment that patients receive, and the hospital's efficient operation (Naesens and Gelders, 2006). Moving patients between areas with their beds has typically required healthcare workers

to use their strength, which can be physically demanding and put them at risk of musculoskeletal injuries (Dadashi -Tonkaboni *et al.*, 2023). In addition, the manual process can be quite time-consuming, often requiring the coordination of several staff members. Unorganized patient transport, in addition to delays in patient care, causes higher operational expenses and even leads to patient-life-threatening situations

* Corresponding author.

E-mail address: sarawut.g@psu.ac.th

Cite this article as:

Nimitpanyaku, C., Gonsrang, S. and Laomongkholsaisri, N. 2025. Development of an Electric Tugger for Patient Bed Transportation. *Recent Science and Technology* 17(1): 263690.

(Hendrich and Lee, 2005). Several transportation systems have emerged in recent years to handle this challenge. A bed transfer system can incorporate a bed mover (Guo *et al.*, 2018; Faria *et al.*, 2021), a patient transfer apparatus (Dhelika *et al.*, 2021), and optimization tools to attain high-quality services for patients (Fathollahi-Fard *et al.*, 2020; Schäfer *et al.*, 2023). These technologies make it much easier to move beds or patients between rooms, effectively reducing transportation risks in hospital environments. However, the development of a hospital bed design is still ongoing to achieve more effective patient transportation.

Recently, Songklanagarind Hospital, Faculty of Medicine, Prince of Songkla University, Thailand, has noticed a significant rise in the number of overweight or obese patients seeking healthcare services. According to the collected data from 2021 to 2023, the overall count of obese patients in 2021 was approximately 5,183. The number then increased to around 8,226 in 2022, indicating a significant escalation in obesity instances. In 2023, there were an additional 221 patients added, representing a 2.69% increase in comparison to the previous year. The rise in obese patients emphasizes the need for supplementary medical facilities to accommodate the growing number of people suffering from obesity.

Given the increasing prevalence of obesity as a health concern, it is critical to ensure that suitable resources and services are available to properly assist these patients. Understanding the importance of this matter, Songklanagarind Hospital has taken various measures to cater to the requirements of obese patients. One such measure is to acquire more patient beds specifically designed to accommodate and support obesity treatment. The hospital's objective is to improve the comfort and treatment outcomes of obese patients by providing specialized beds. These specialized beds are a component of the hospital's dedication to providing high-quality healthcare services to all patients, regardless of their weight or size.

Furthermore, in every hospital, the transfer of patients between wards after receiving medical treatments is a critical responsibility. At Songklanagarind Hospital, a minimum of two personnel is necessary to

transfer patients who are in bed. To ensure efficient patient transportation, it is crucial to address the problem of delays that frequently occur during peak hours because of insufficient delivery personnel. According to the average number of patient transportation orders at Songklanagarind Hospital during the weekdays, the hospital experiences a high volume of transportation orders, with as many as 1,300 requests. However, on weekends, the number of orders decreases to around 650. It demonstrated the significant demand for patient transportation services at the hospital. There are two potential solutions to this issue: increasing the workforce or acquiring an electric tugger or cart. One potential solution to the issue of delays in patient transportation is to increase the number of personnel employed to deliver patients. Nevertheless, there are certain drawbacks associated with this approach. First and foremost, recruiting new staff would increase the hospital's reliance on labor. The growing reliance on human resources can have substantial long-term consequences, as it necessitates substantial expenditures on recruiting, training, and salaries. If the demand for patient transportation continues to rise, it may not be a long-term solution either.

An alternative and more favorable approach to addressing delays is to acquire an electric tugger or cart that can assist delivery workers in transporting patients. This alternate technique provides numerous benefits compared to the recruitment of additional staff. Electric tuggers can enhance patient transportation to achieve greater speed and efficiency. Patient transporters, which use bed movers, are safe from the physical strain associated with moving patient beds (Daniell *et al.*, 2014). Furthermore, the use of electric tuggers reduces the need to employ supplementary staff. Rather than relying more on labor, the hospital has the option to invest in this equipment, which can prove to be a more economically efficient alternative in the long term.

Ueno *et al.* (2014) developed a power-assist omni-directional mobile bed and tested how power assist and fuzzy reasoning affect its operation. This is an important step forward in the development of patient bed transportation in hospitals. The results of experiments

demonstrated the power-assist system's effectiveness and highlighted the importance of fuzzy reasoning in reducing the operation burden. Power assist reduced the operating force, but without fuzzy reasoning, it caused vibrations. The fuzzy reasoning method helped reduce vibrations and improve operation times. The study contributes to the development of innovative power-assist omni-directional mobile beds and suggests potential applications in actual nursing-care tasks.

Guo *et al.* (2018) proposed an innovative way to overcome the drawbacks of conventional bed-pushing techniques, such as labor constraints, work-related injuries, and delays in patient transportation. Their study presented a motorized robotic bed mover that offers omnidirectional mobility. It consisted of an omnidirectional mobility unit, a force-sensing-based human-machine interface, and control hardware equipped with batteries and electronics. A single individual can easily attach this device, known as the OmniBed, to a manual hospital stretcher, transforming it into a convenient, powered omnidirectional bed. Their study findings revealed that the OmniBed effectively decreased the need for human resources in patient transportation while also reducing back muscle exertion. This is particularly advantageous for elderly staff members. The study concluded that the OmniBed outperformed conventional powered beds, which only provide forward assistance when using a fifth powered wheel, in terms of comfort, effectiveness, and safety.

In addition, Faria *et al.* (2021) discussed the critical issue of physical exertion experienced by healthcare staff while transferring patients to healthcare facilities. Their study highlighted the increasing strain on healthcare professionals due to the use of heavy equipment, which causes musculoskeletal injuries and necessitates extended medical leave. They conducted finite element method (FEM) evaluations in their study to confirm the structural reliability and operation of the automated device. Their design approach involved structural optimization to minimize expenses and decrease the weight of the equipment, thereby improving its efficiency and benefit in healthcare environments. They designed the automated moving device to adapt to various hospital bed models, enabling its application

in diverse healthcare environments. Their results showed that their technology improves the efficiency of patient care in hospitals by making it easier to move patients and improving their maneuverability with motorized wheels and portable structures.

In addition, Dhelika *et al.* (2021) developed a motorized patient bed that is capable of holonomic mobility. They replaced all the bed's casters with motorized wheels equipped with a swerve mechanism. The motorized wheels with swerve mechanisms were lightweight and enabled a sudden change in the movement direction. However, further development of a sophisticated motor control system was necessary to ensure the synchronization of all wheels. Furthermore, it is necessary to modify all patient beds with motorized wheels and swerving mechanisms.



Figure 1 Delivery staff and a patient bed at Songklanagarind Hospital

According to the studies mentioned earlier, there are several advantages to developing modernized patient bed transportation. Thus, this present study focuses on the creation of a small electric vehicle, called the e-tugger, designed specifically to aid hospital personnel in the transport of patients. The primary goal is to design a cart that can provide enough propulsive force to drive a bed carrying a patient weighing up to 400 kg on a slope with a 5-% grade (2.86°). Moreover, this research investigates the design and engineering considerations essential for the successful development of the compact electric cart. The design of the e-tugger ensures easy operation for the user, enabling them to

effortlessly adjust and control the patient's bed. The creation of such a vehicle would significantly improve the efficiency and convenience of patient transportation within hospitals, thereby enhancing the overall quality of care provided by the hospital.

This paper's organization is as follows: The section titled "MATERIALS AND METHODS" provides an explanation of the requirements and limitations involved in the design and construction of the e-Tugger. Next, this work outlines the e-tugger's design features. This section ends with an instruction to connect the e-tugger to the patient's bed. "RESULTS AND DISCUSSION" reports and discusses the e-tugger's performance test data. The final section, "CONCLUSION," concludes this work and provides outlooks for future development of the e-tugger.

2. Materials and Methods

Before constructing the e-tugger, we reviewed documentation, conducted observations, and interviewed delivery personnel. We have since developed a prototype of the e-tugger and completed its performance evaluation. The following subsections will present the design requirements and limitations identified from the preliminary studies.

Requirements for Patient Transportation

In addition to the maximum payload and gradeability of the e-tugger, several additional design requirements need to be considered. The new patient beds used at Songklanagarind Hospital in Hat Yai are manufactured by Paramount and Berlin. This research based the e-tugger's design on the Paramount bed, as its structure closely resembles that of the Berlin beds. The empty Paramount bed weighs 154 kg and measures 2.19 m in length and 1.06 m in width. It has a safe payload capacity of 240 kg. Figure 1 shows a delivery staff member demonstrating how to transport the Paramount bed. As illustrated in Figure 1, the e-tugger is attached to the bed from the same side where the staff member is pushing it. The tugger must

be positioned underneath the bed. The e-tugger's jaws, shown in Figure 2, connect to one of the transverse circular tubes (highlighted in the red rectangle in Figure 1) of the bed's lower frame. Thus, the tugger's height and width must not exceed 0.8 m and 0.6 m, respectively.

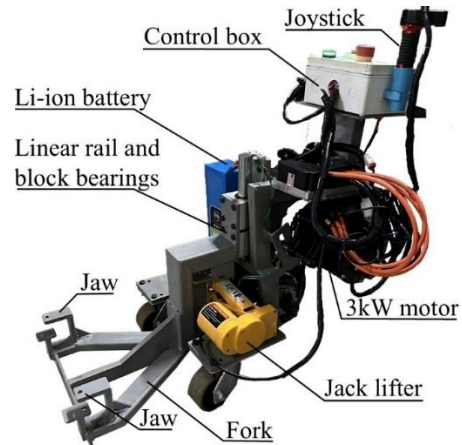


Figure 2 Electric tugger built in this research for patient bed transportation



Figure 3 The e-tugger's main structure for installing other components

Patient transporters frequently use elevators to move between floors. Therefore, the e-tugger must be compact enough to allow for patient bed transportation via elevators. However, the current design does not fully meet this requirement; it only addresses the initial requirements outlined in the introduction. Future development will focus on determining the size limitations of the elevators.

Another crucial aspect of the tugger's design is ensuring a user-friendly experience. Delivery personnel must be able to operate the e-tugger with ease. We conducted a study on bed-wheeling speeds, finding that male transport staff can push a patient bed with a payload ranging from 60 to 100 kg at a speed of approximately 1.2 m/s. When two staff members work together, the bed-wheeling speed increases to 1.4 m/s. Based on these findings, we set the e-tugger's speed limit at 2 m/s. Additionally, the e-tugger should be equipped with basic safety features and be simple to operate. It is also essential to design the e-tugger with sufficient energy storage to ensure it can cover the required distance per charge.

E-Tugger Components

Figure 2 shows the e-tugger designed for this research, which consists of two components: the electric tugger and the forklift. This e-tugger measures 73 cm tall, 85 cm long, 42 cm wide, and weighs 65 kg.

The structure of the tugger is constructed from a rectangular metal pipe measuring 25 mm by 50 mm by 3 mm (Figure 3). One side of the metal frame is attached to a brushless DC motor (BLDCM). A metal chain transmits mechanical power from the BLDCM to the rear wheel. The driven sprocket, connected to the

BLDCM's spindle, has 14 teeth, while the wheel's pinion has 32 teeth.

The driven wheel is the rear wheel, which is a pneumatic wheel with a diameter of 251 mm. A 24-mm shaft, measuring 230 mm in length, supports both the wheel and the 32-tooth sprocket. Additionally, we included two 2-hole flange ball bearings with a 15-mm bore to ensure smooth rotation of the rear wheel. Figure 4 illustrates how the driven wheel is attached to the fork of the main structure.

The strength of the tugger's structure and L-shaped forklift was analyzed using computer-aided design software. Figure 5 (a) and (b) illustrate the points where the estimated weight of the patient bed is transferred to the L-shaped fork and the e-tugger structure, respectively. Given that the patient's bed at its maximum payload weighs 400 kg, the weight transferred to the transverse tube, where the L-shaped fork is connected, is 2.5 kN. Additionally, the weight transferred to the e-tugger frame is approximately 1 kN. Simulation results indicate that the fork deforms by 1.7 mm, with a factor of safety (FoS) of 1.571. Moreover, the e-tugger's structure exhibits minimal deformation, with a FoS of 2.1 at the load of 1 kN.



Figure 4 A rear pneumatic wheel, installed on the fork of the e-tugger structure

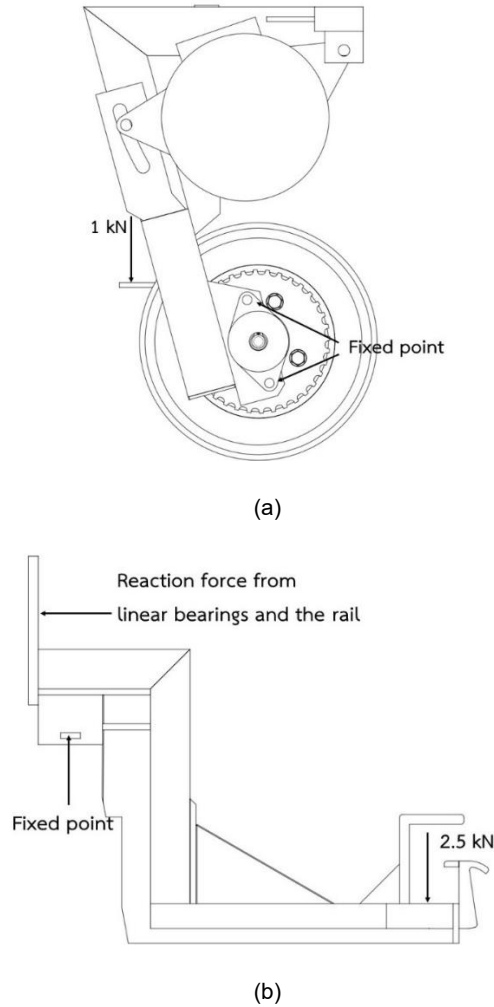


Figure 5 The fixed points and the points, at which the designed load exerting on (a) the L-fork and (b) the structure of the tugger

When selecting the motor and battery size, it is necessary to estimate the maximum power required to push a 400-kg patient bed on a 5-% incline. First, we measured the applied forces that initiate the patient bed's movement at different payloads. Then, the required force, F_{re} [N], for propelling the patient bed

on the flat floor was approximated as a quadratic function of the bed's total mass, m_B [kg], as follows:

$$F_{re} = -0.0003m_B^2 + 0.387m_B - 44.91 \quad 1$$

If the bed is on an incline, its weight generates an additional force; the perpendicular component of the weight equals the total weight times a sine function of the incline's angle. Setting the incline's angle at 2.87° and the bed's total mass at 400 kg results in a traction force of 258.3 N, which initiates the upward movement of the patient's bed

The rear wheel's diameter is 251 mm, and the reduction ratio of the transmission chain and sprockets is 2.57. Thus, the electric motor must generate at least 12.62 Nm. The minimum motor speed is around 41 rad/s or 391 rpm, so the e-tugger moves at a speed of 2 m/s. Thus, for the intended application, the output continuous power from the electric motor equals 517.4 W. Given the specifications in Table 1, the BLDCM appears oversized for the e-tugger. However, initially, the output torque can reach up to three times the continuous propulsive torque. Thus, the selected motor is a reasonable choice for the electric prime mover in the development of the e-tugger.

LiFePO₄ batteries, packed to the size of 72 V and 15 Ah, serve as the primary energy source for the e-tugger in this work. The following equation provides an estimate of the continuous battery current, [A].

$$I_B = DoD \times \frac{C_B}{T} \quad 2$$

Table 1 Technical specification of the brushless DC motor used in this work

Rated power	3 kW
Rated voltage	72 V
Maximum Speed	3,800 rpm
Maximum torque	45-55 Nm
Continuous current	67 A

where DoD is the depth of discharge [-], C_B represents the battery capacity [Ah], and T is the operation time [hrs.]. Also, the battery current, I_B , might be approximated using a power balance between the battery power and the motor's mechanical power: $2\pi\tau N/60 = VI$, where τ is an electric torque from the motor [Nm], N is the motor speed [rpm], and V is the battery nominal voltage. Thus, a simple expression for estimating the operation time of a battery with a certain capacity is as follows:

$$\frac{2\pi\tau N}{60} = \frac{VC_B DoD}{T} \quad 3$$

According to Equation 3, the 72-V and 15-Ah batteries can provide continuous power for 1 hour and 40 minutes, or 100 minutes, as long as the BLDCM operates at 391 rpm, 12.62 Nm, and $DoD=80\%$. Therefore, the selected battery has sufficient power to operate the e-tugger for up to 100 minutes. Consequently, with the chosen battery, the e-tugger can achieve a maximum range of 12 km. Equation 3 indicates that a battery capacity greater than 18 Ah is required to extend the operating period to 120 minutes (2 hours). These calculations will be re-evaluated based on the experimental results obtained at the hospital.

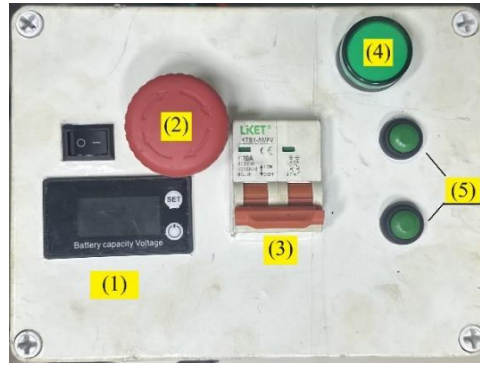
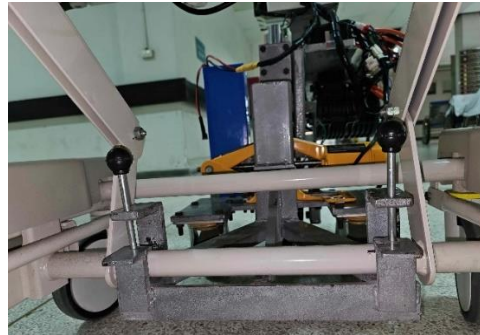


Figure 6 The control panel of the e-tugger's drive includes the following features: (1) a battery state of charge display, (2) an emergency button, (3) the main switch, (4) an LED status lamp, and (5) lifter control buttons.



(a)



(b)

Figure 7 (a) The e-tugger hitched to the patient bed; and (b) two ball lock pins used to safely secure the jaws of the fork to one transverse circular tube of the bed's structure

Figure 2 shows a forklift connected to the e-tugger. The forklift is used to secure the e-tugger to the patient's bed. As shown in Figure 3, attach this machine to the tugger with nuts and bolts. The forklift consists of an L-shaped fork, a 3-ton scissor jack lifter, a metal plate base, and two polyurethane casters. The jack lifter enables the user to connect the L-shaped fork to a bed's frame. Two linear block bearings and a linear rail guide the fork's movement. To hitch the patient bed to the e-tugger, use the two jaws at the end of the fork (Figure 2).

Users can control the e-tugger from the control panel on the circuit containment (Figure 6), which is installed on the back of the e-tugger. Figure 6 shows switches, a lamp, and a battery state of charge display on the control panel on the circuit box. Alternatively, users can operate the e-tugger using a joystick. However, the joystick only allows for regulating the motor and switching the motion directions.

Coupling Instruction

Figure 7 (a) illustrates the combination of the e-tugger and the patient bed. Here are the instructions for securely attaching the e-tugger to the patient bed:

- Raise the tugger's fork until the jaws are at the same height as the bed's frame.
 - Push the tugger under the patient's bed until the jaws fit a transverse circular tube in the bed's frame.
 - The scissor jack lifter raises the fork.
- Then, the ball lock pins are inserted at the jaws to secure the bed frame to the jaws, as shown in Figure 7 (b). The tugger is now ready to pull the bed for delivery.

E-tugger Performance Study

The e-tugger performance evaluation consists of two primary studies. The first study focuses on the usability of the e-tugger in a hospital setting. It aims to determine whether the coupling instructions are easy to follow, whether maneuvering the patient's bed with the e-tugger presents any challenges, and to identify potential improvements to the current e-tugger design.

The second study assesses the e-tugger's performance on both flat surfaces and a 5% incline. The objectives of this study are to evaluate the e-tugger's energy consumption, measure its average travel speed, and assess its ability to transport patient beds under varying payloads. We conducted tests on the e-tugger's performance over a 30-meter flat surface and studied its gradeability in a 120-meter passageway, detailed in the following section. Additionally, we evaluated the e-tugger's energy consumption on a flat surface by transporting a bed with a 225-kg payload 10 times along a 236-meter rectangular track in the hospital hallway.

In this study, motor parameters such as voltage, current, and RPM were recorded using the FarDriver motor controller mobile application (Anonymous, 2024). The average travel speed was calculated by dividing the total distance traveled by the total time taken. We calibrated the FarDriver mobile application measurements using a Lutron CM-9940 clamp multimeter for voltage (up to 400 VDC $\pm$ 1%) and DC current (up to 400 A $\pm$ 1%), as well as a Digicon DT-235T tachometer for motor speeds below 19,999 RPM $\pm$ 0.05%.

3. Results and Discussion

At the hospital, researchers studied the e-tugger's performance. The initial study investigated a coupling between the tugger and the bed. The coupling steps described in the previous section took only 10 seconds to secure the e-tugger to the bed. The hospital staff was also able to finish coupling the machine to the bed with ease after a single demonstration. Thus, we can conclude that connecting the bed mover machine to the patient's bed is simple.

The e-tugger was designed to assist patient transport staff without causing any discomfort to the bedridden patient. The e-tugger slightly lifts the bed using its L-shaped fork, keeping all the bed's casters on the floor. This allows the e-tugger's driven wheel to effectively propel the bed while preventing any wobbling that could disturb the patient during transport. Based on our preliminary study, the carting speed ranges between 1.1 and 1.5 m/s. Setting the speed limit at

2 m/s is reasonable, as it allows the staff to maintain a comfortable pace while ensuring the patient does not experience anxiety. Additionally, the e-tugger cannot cause the bed to overturn because it propels the bed from a position lower than the bed's center of gravity.

The results, reported in the following section, highlight the significance of payload and track grade in affecting the e-tugger's performance and energy consumption. During testing, the jaws shown in Figure 2 securely hold the bed and e-tugger together. The patient bed, propelled by the e-tugger, can cruise, turn, and smoothly climb a 5% incline without detachment. Furthermore, a single member of the transport team can easily detach the jaws from the patient's bed.

Table 2 shows the results from the bed mover's tests on a flat surface with a total distance of 30 m. These tests aimed to evaluate the performance of the motor under different conditions, specifically in relation to the patient's mass. The motor's continuous current, speed, and power vary according to the

patient's mass. The motor's power and current at zero payload are 161 W and 2.24 A, respectively. The motor's continuous current change in terms of a payload's size is subtle. Additionally, an increase in the payload causes a slight drop in motor speed. These findings indicate that the motor's performance is relatively stable and can handle varying loads without significant disruptions.

Using second-order polynomials, we were able to approximate motor currents and powers from specific cases described in Table 2. For example, for all payloads totaling 240 kg, we estimated approximately 3.87 A and 261 W for current and power, respectively. These approximations provide valuable insights into the motor's performance under heavier loads. We can conclude from this observation that the tugger's electric drive is robust enough to support a patient's bed at its full payload on a flat floor. These results emphasize that e-tugger is reliable and capable of meeting patient transportation demands.

Table 2 Results from test runs of the e-tugger on a flat surface of a 30-m distance

Payload [kg]	Motor Current [A]	Power [W]	Motor Speed [rpm]	Travel Speed [m/s]
0	2.24	161	393	2.01
70	2.33	168	387	1.98
80	2.39	172	381	1.95
90	2.43	175	373	1.91
100	2.46	177	370	1.89

Table 3 Results from test runs of the e-tugger in the L-shaped passageway at the hospital, where the horizontal and vertical distances are 75 m and 1.9 m, respectively.

Payload [kg]	Motor Current [A]	Power [W]	Motor Speed [rpm]	Travel Speed [m/s]
0	2.54	183	222	1.13
70	3.54	255	294	1.50
80	4.00	288	308	1.57
90	4.19	302	316	1.62
100	4.46	321	333	1.70

We conducted more tests in Songklanagarind Hospital's L-shaped passageway to further evaluate the bed mover's performance. This passageway leads to an operating room. The area behind the passageway's entrance is flat. After the entrance area, there is an alternation between slopes and 3-meter-long landing areas. The slopes at the passageway have a maximum grade of 5%, which is not too steep for carting the patient's bed. The landing areas allow intermittent stops during carting. The passageway has a 75-meter horizontal distance and a 1.9-meter vertical distance. These measurements provide a complete understanding of the terrain that the tugger must cross to transport a patient. Performance testing in this specific environment sought valuable insights into the e-tugger's capabilities and suitability for hospital use. An overall evaluation of how well the tugger meets hospital patient transportation requirements will include this assessment.

When the tugger pushes the bed up on the passageway, Table 3 shows the motor parameters at different payloads. The motor current and power vary directly with respect to the payload. With no payload, the current in Table 2 is the same as that in Table 3. However, the payload's impact on the incline is more noticeable than that on the flat route. The perpendicular component of the total weight causes the electric drive to draw a greater current. When the payload reaches 240 kg, the motor's current and power are approximately 9.81 A and 840 W, respectively, according to the quadratic polynomials of the data in Table 3. This approximation indicates that the tugger's electric drive can transport the bed at full load on a 5%-incline.

The bed speeds in Table 3 differ from those in Table 2. As the patient's mass increases, the bed speed on an incline tends to be higher. The electric drive controller in this tugger is designed to limit the motor speed to 2 m/s. However, the speed controller performs well at high speeds. One solution to this control challenge is to increase the gear ratio of the transmission system by enlarging the pinion on the driven wheel. A larger pinion would cause the motor to operate faster, resulting in improved speed control for the e-tugger. Additionally, increasing the pinion size

would reduce the required motor torque and current, enabling the e-tugger to better regulate speed differences due to varying patient masses and inclines, ensuring efficient and safe bed movements.

In the final test, the e-tugger hauled a patient's bed with a 226 kg payload around a 236-meter rectangular track for ten laps, covering a total distance of 2.36 km. During the test, the battery voltage ranged from 80.1 to 80.7 V, the battery current was around 3.91 A, and the motor speed was 285 rpm. The average speed of the bed was 1.05 m/s. The total energy consumption was approximately 21.6 Wh, representing 2% of the battery's depth of discharge. Therefore, the e-tugger's average energy consumption was about 91.5 Wh per 10 km.

According to the battery selection discussed in the "MATERIALS AND METHODS" section, the e-tugger may require a larger battery pack to extend its usage time to 2 hours. However, the average energy consumption from the last test suggests that the battery size could be reduced. One reason is that the current design of the e-tugger does not include turning assistance, requiring bed transporters to manually propel the bed during cornering. Additionally, the battery calculation was based on the power required to initiate bed movement at maximum payload on a 5% slope. Therefore, further study on e-tugger usage is needed to determine the appropriate battery size.

Table 4 compares equipment created to solve patient transportation challenges in healthcare centers. Table 4 reveals that bed movers do not have a speed limit of 2 m/s. Dhelika *et al.* (2021) introduced an automated bed-moving device that converts existing beds into motorized ones. However, due to the large number of patient beds in large healthcare centers, converting all beds to motorized beds is not practical and can be time-consuming and costly. The motorized bed mover (Guo *et al.*, 2018), the automated bed moving device (Faria *et al.*, 2021), and the e-tugger proposed in this paper require professional operation rather than full automation for safety reasons. The operator needs to apply a slight force to steer the motorized bed mover and the automated bed-moving

Table 4 A general comparison between the inventions for patient transportation presented in this paper and those proposed by other scholars

References	Inventions	Size [cm×cm×cm]	Weight [kg]	Maximum speed and gradability	Payload [kg]
Guo <i>et al.</i> (2018)	Motorized bed mover	80×217×118	50	2 m/s and 14%	300
Faria <i>et al.</i> (2021)	Automated bed moving device	100 cm wide	40	1.11 m/s and 4%	351
Dhelika <i>et al.</i> (2021)	Swerve Drive module	Not reported	Not reported	Not reported	100
In this work	e-tugger	42×85×73	65	2 m/s and 5%	400

device. The e-tugger, nonetheless, lacks a steering assistance unit, so the operator must manually steer the bed. This weak point needs improvement to enhance the e-tugger's mobility. Thus, the redesign of the e-tugger's main structure appears to be necessary to provide enough room for the installation of a swerve mechanism. Also, the e-tugger's appearance is still like an industrial machine compared to the motorized bed mover (Guo *et al.*, 2018) and the automated bed moving device (Faria *et al.*, 2021). On the one hand, we will consider the e-tugger's appearance in our future work to ensure patient trust and comfort during transfers using our equipment. On the other hand, we will optimize the material and design complexity to reduce manufacturing costs, thereby making the e-tugger suitable for commercialization.

Based on all performance studies and literature reviews, several improvements to the current e-tugger design are still necessary. First, the patient's bed equipped with the e-tugger requires more space to turn corners. Second, the electric drive has a fixed maximum speed, which causes the carting speed to decrease as the payload increases. Adding a speed potentiometer would allow for speed adjustments. Additionally, while operating the e-tugger, users should be able to monitor the battery's current, temperature, and speed of the driven wheel. Furthermore, to prevent collisions, the e-tugger should incorporate an electric brake that locks immediately upon pressing the emergency button. Lastly, the e-tugger weighs 65 kg, which is relatively heavy. Reducing the factor of safety (FoS) of the

L-shaped fork to 1.5 could help lower the e-tugger's weight. Additionally, utilizing a smaller electric drive could further reduce the equipment's overall weight, as the current motor's dimensions are excessively large

4. Conclusion

This research proposes the design of an electric tugger to assist hospital personnel in patient transport. The e-tugger consists of two main components: the tugger and the forklift. The e-tugger's design integrates an electric tugger with a forklift mechanism. The structure of the tugger provides space for installing various e-tugger components. The electric drive system includes a 3-kW brushless DC motor and a 72V, 15Ah Li-ion battery pack, which together provide the power needed to propel a patient bed weighing up to 400 kg on a 5% incline. Additionally, staff can control the e-tugger's movement using either a control box or a joystick. The forklift has an L-shaped design when viewed from the side and is equipped with an electric scissor lift to raise and lower the fork. The control box allows staff to operate the scissor lift with ease.

Onsite testing shows that a single staff member can efficiently transport a patient in a bed using the e-tugger. The coupling process between the e-tugger and the patient bed takes just 10 seconds. The e-tugger successfully propels a 270-kg patient bed, with the electric motor drawing a maximum current of 2.46 A on flat surfaces and 4.46 A on a 5% incline. After transporting the patient bed for 2.36 km on a flat surface, the battery's state of charge decreases by only

2%, with an average energy consumption of approximately 91.5 Wh per 10 km. As a result, the e-tugger's battery capacity is sufficient to handle all routine patient transport tasks without exceeding its limits.

Future efforts will focus on reducing the weight and size of the tugger to improve its maneuverability in medical settings. Additionally, we plan to incorporate more safety features into the e-tugger to ensure the well-being of both staff and patients. For example, we will integrate an emergency brake and speed potentiometer, allowing delivery staff to operate the device more effectively. We will also include meters to display the battery's charge level, temperature, and wheel speed, enabling staff to monitor the e-tugger's operation easily. These improvements aim to make the e-tugger more user-friendly and safer for use in healthcare environments.

5. Acknowledgments

The authors would like to thank the Faculty of Medicine, Prince of Songkla University, Hat Yai, Songkhla, 90110, for awarding grant INN-02-66-009 to promote and support the development of innovative works. Also, the authors appreciate the generosity of the staff of Songklanagarind Hospital, who allowed us to gather the required information in the female internal medicine department.

The authors are thankful to the outstanding people as follows: Mr. Kantapon Charnkarn and Mr. Rachanon Duemalee, who designed the forklift; Mr. Thanawat Sangthong and Mr. Supanat Kongsamrej, who created the electric drive and controller; and Mr. Kangkla Kaikaew, who built the tugger's structure. Their impressive work was essential to the success of this research.

6. References

Anonymous. 2024. **The Controller APP For Android NEW 250 | far-driver**. Far-driver. Available Source: <https://www.far-driver.com/the-controller-app-for-android/>, August 30, 2024.

Dadashi-Tonkaboni, N., Bagheri, M., Gholian-Aval, M., Ghaemi-Amiri, M., Pourhaji, F., Abdollahi, M. and Mahdizadeh, M.S. 2023. Musculoskeletal Disorders due to Patient Transportation in

Health Workers: A Systematic Review in Iran. **International Journal of Musculoskeletal Pain Prevention** 8(2): 864-873.

Daniell, N., Merrett, S. and Paul, G. 2014. Effectiveness of powered hospital bed movers for reducing physiological strain and back muscle activation. **Applied Ergonomics** 45(4): 849-856.

Dhelika, R., Hadi, A.F. and Yusuf, P.A. 2021. Development of a Motorized Hospital Bed with Swerve Drive Modules for Holonomic Mobility. **Applied Sciences** 11(23): 1-9.

Faria, N.M.S., Campilho, R.D.S.G., Silva, F.J.G. and Ferreira, L.P. 2021. Concept and Design of Automated Moving Device for Healthcare Equipment. **FME Transactions** 49(3): 598-607.

Fathollahi-Fard, A.M., Ahmadi, A., Goodarzi, F. and Cheikhrouhou, N. 2020. A bi-objective home healthcare routing and scheduling problem considering patients' satisfaction in a fuzzy environment. **Applied Soft Computing** 93: 1-16.

Guo, Z., Xiao, X. and Yu, H. 2018. Design and Evaluation of a Motorized Robotic Bed Mover With Omnidirectional Mobility for Patient Transportation. **IEEE Journal of Biomedical and Health Informatics** 22(6): 1775-1785.

Hendrich, A.L. and Lee, N. 2005. Intra-unit patient transports: time, motion, and cost impact on hospital efficiency. **Nursing Economic** 23(4): 157-164.

Naesens, K. and Gelders, L. 2006. **Reorganising Patient Transportation**. Available Source: <https://healthmanagement.org/c/hospital/IssueArticle/reorganising-patient-transportation>, June 14, 2024.

Schäfer, F., Walther, M., Grimm, D.G. and Hübner, A. 2023. Combining machine learning and optimization for the operational patient-bed assignment problem. **Health Care Management Science** 26(4): 785-806.

Ueno, Y., Kitagawa, H., Kakiyama, K., Sakakibara, T. and Terashima, K. 2014. Development of an Innovative Power-Assist Omni-Directional Mobile Bed Considering Operator's Characteristics. **International Journal of Automation Technology** 8(3): 490-499.

Table 3 Textural properties, color value, whiteness, folding test, and water holding capacity of medium quality surimi and chicken mixture gels at different proportions and heating

Gel properties	Medium quality surimi per washed chicken meat ratios (w/w) / temperature (°C)							
	SM:WC (100:0) 40/90	SM:WC (75:25) 40/90	SM:WC (75:25) 60/90	SM:WC (50:50) 40/90	SM:WC (50:50) 60/90	SM:WC (0:100) 60/90		
Breaking force (g)	217.49 ^{cd} ± 24.51	193.24 ^d ± 11.96	235.55 ^{cd} ± 13.61	235.57 ^c ± 23.38	315.97 ^b ± 19.74	394.50 ^a ± 64.47		
Breaking distance (cm)	1.01 ^a ± 0.03	0.73 ^c ± 0.01	0.81 ^b ± 0.01	0.63 ^d ± 0.01	0.73 ^c ± 0.01	0.57 ^d ± 0.04		
Gel strength (g.cm)	221.03 ^a ± 32.34	140.59 ^c ± 6.52	191.28 ^b ± 6.94	160.28 ^c ± 18.30	231.98 ^a ± 18.71	223.79 ^a ± 19.82		
Hardness (N)	37.30 ^d ± 3.42	50.18 ^c ± 8.01	48.31 ^c ± 4.49	65.72 ^{bc} ± 11.95	79.88 ^{ab} ± 9.67	97.99 ^a ± 28.35		
Springiness	0.85 ^{ab} ± 0.00	0.83 ^{bc} ± 0.01	0.85 ^{ab} ± 0.01	0.82 ^c ± 0.01	0.86 ^a ± 0.01	0.86 ^a ± 0.01		
Cohesiveness	0.70 ^a ± 0.01	0.60 ^b ± 0.05	0.64 ^{ab} ± 0.00	0.47 ^c ± 0.07	0.62 ^{ab} ± 0.01	0.35 ^d ± 0.01		
Chewiness	22.22 ^b ± 2.36	24.89 ^b ± 6.41	26.25 ^b ± 2.74	25.91 ^b ± 8.85	42.68 ^a ± 6.35	29.37 ^b ± 9.19		
Water holding capacity (%) ^{ns}	99.85 ± 0.01	99.83 ± 0.03	99.86 ± 0.04	99.84 ± 0.03	99.86 ± 0.01	99.89 ± 0.02		
Folding test	AA	A	A	A	A	A		
L *	69.95 ^a ± 0.53	70.07 ^a ± 0.76	70.05 ^a ± 1.42	69.27 ^{ab} ± 1.42	68.58 ^b ± 0.93	69.16 ^{ab} ± 1.71		
a* ^{ns}	-0.95 ± 0.03	-1.14 ± 0.00	-1.19 ± 0.01	-1.30 ± 0.04	-1.33 ± 0.05	-1.14 ± 0.57		
b* ^{ns}	9.77 ± 0.11	10.08 ± 0.21	9.97 ± 0.41	10.15 ± 0.71	9.99 ± 0.66	10.46 ± 1.11		
Whiteness	68.38 ^a ± 0.54	68.39 ^a ± 0.65	68.41 ^a ± 1.22	67.60 ^{ab} ± 1.13	67.00 ^b ± 0.69	67.39 ^b ± 1.29		

Results are presented as mean ± standard deviations. SM; Medium quality surimi, WC; Washed chicken meat

^{ns} Means are not significantly different (p>0.05).

^{a-d} Different letters indicate significant differences across treatments (p≥0.05).

Table 4 Textural properties, color value, whiteness folding test, and water holding capacity of low-quality surimi and chicken mixture gels at different proportions and heating
Results are presented as mean ± standard deviations. SL: Low quality surimi, WC: Washed chicken meat

Gel properties	Low quality surimi per washed chicken meat ratios (w/w) / temperature (°C)							
	SL:WC (100:0)		SL:WC (75:25)		SL:WC (50:50)		SL:WC (50:50)	
	40/90		40/90		60/90		60/90	
Breaking force (g)	129.86 ^c ± 5.44		141.72 ^{bc} ± 14.96		123.34 ^c ± 8.65		170.74 ^b ± 27.88	
Breaking distance (cm)	0.66 ^a ± 0.06		0.42 ^d ± 0.00		0.48 ^c ± 0.01		0.45 ^{cd} ± 0.02	
Gel strength (g.cm)	85.92 ^b ± 3.63		59.62 ^c ± 5.87		59.23 ^c ± 2.61		75.77 ^b ± 8.29	
Hardness (N)	14.45 ^c ± 0.10		19.96 ^b ± 3.04		14.62 ^c ± 0.59		24.82 ^b ± 3.46	
Springiness	0.77 ^a ± 0.01		0.85 ^c ± 0.00		0.81 ^d ± 0.02		0.88 ^b ± 0.01	
Cohesiveness	0.41 ^a ± 0.00		0.63 ^c ± 0.01		0.49 ^d ± 0.04		0.69 ^b ± 0.01	
Chewiness	4.57 ^d ± 0.21		10.52 ^{bc} ± 1.69		5.76 ^{cd} ± 0.41		15.04 ^b ± 2.17	
Water holding capacity (%) ^{ns}	99.78 ± 0.03		99.87 ± 0.02		99.75 ± 0.10		99.85 ± 0.06	
Folding test	C		C		C		C	
L*	67.03 ^c ± 0.65		68.07 ^c ± 1.94		68.02 ^c ± 1.65		70.33 ^{ab} ± 2.35	
a*	-2.27 ^{ab} ± 0.05		-2.23 ^{ab} ± 0.04		-2.30 ^a ± 0.01		-2.06 ^c ± 0.01	
b*	5.24 ^d ± 0.11		6.79 ^{cd} ± 0.32		7.01 ^c ± 0.09		8.25 ^b ± 0.49	
Whiteness	66.54 ^c ± 0.66		67.28 ^{bc} ± 1.83		67.18 ^{bc} ± 1.59		69.11 ^a ± 2.12	
							68.55 ^{ab} ± 2.06	
							371.10 ^a ± 45.17	
							0.59 ^b ± 0.04	
							219.46 ^a ± 10.95	
							42.11 ^a ± 5.61	
							0.91 ^a ± 0.02	
							0.76 ^a ± 0.00	
							28.83 ^a ± 3.16	
							99.90 ± 0.02	
							A	
							71.52 ^a ± 1.98	
							-1.42 ^d ± 0.08	
							10.35 ^a ± 0.96	
							69.64 ^a ± 1.53	

^{ns} Means are not significantly different (p>0.05).
^{a-d} Different letters indicate significant differences across treatments (p≥0.05)

3.4 การวิเคราะห์โครงสร้างระดับจุลภาค

ผลการตรวจสอบโครงสร้างระดับจุลภาคด้วย SEM ของเจลซูริมิคุณภาพปานกลาง เจลเนื้อไก่ล้างและเจลผสมระหว่างซูริมิ และเนื้อไก่ที่สัดส่วน 50:50 (Figure 1) พบว่าที่กำลังขยาย 50 เท่า (A-C) ที่ผิวหน้าของเจลไก่ (B) แสดงการเชื่อมประสานของเส้นใยโปรตีนค่อนข้างแน่น มีระเบียบ และสม่ำเสมอ ขณะที่เจลซูริมิ (A) มีความคล้ายคลึงกับเจลไก่ แต่มีช่องว่างมากกว่า ส่วนเจลผสม (C) มีลักษณะผิวหน้า เรียบ เนียน ส่วนที่กำลังขยาย 400 เท่า (D-F) ทั้งเจลไก่ (E) และเจลซูริมิ (D) มองเห็นการเชื่อมประสานที่แน่น เรียบเป็นเนื้อเดียวกัน ส่วนเจลผสม (F) เกิดการประสานของโปรตีนเส้นใย (Fibrous protein) จากกล้ามเนื้อทั้งสองแหล่งเป็นเนื้อเดียวกัน เสมือนกับเกิดการสร้างพอลิเมอร์ร่วมกันในโครงข่ายโปรตีน โดย Jiang *et al.* (2023) ได้เพิ่มสัดส่วนของเนื้อไก่ในเนื้อปลาเกล็ดเงิน มากขึ้น ทำให้โครงสร้างเจลมีความหนาแน่นมากขึ้น มีรูพรุนน้อยลง และทำให้พื้นผิวโครงสร้างเรียบ ซึ่งสอดคล้องกับการเพิ่มขึ้นของ ค่า BF และ Hardness ของเจลผสม (Table 3)

ผลการตรวจสอบ SEM ของเจลซูริมิคุณภาพต่ำ เจลเนื้อไก่ล้าง และ เจลผสมระหว่างซูริมิ และเนื้อไก่ที่สัดส่วน 50:50 (Figure 2) พบว่าที่กำลังขยาย 50 เท่า (A-C) ที่ผิวหน้าของเจลไก่ (B) แสดงการเชื่อมประสานของเส้นใยโปรตีนค่อนข้างแน่น มีระเบียบ และสม่ำเสมอ ขณะที่ผิวหน้าเจลซูริมิ (A) และเจลผสม (C) มีความขรุขระ มีช่องว่างมากกว่า ส่วนที่กำลังขยาย 400 เท่า (D-F) ทั้งเจลไก่ (E) และเจลซูริมิ (D) มองเห็นการเชื่อมประสานที่แน่น เรียบเป็นเนื้อเดียวกัน แต่เจลซูริมิมีการเชื่อมประสานที่ไม่ต่อเนื่องบ้าง มองเห็นมีหลายชั้น ทั้งนี้อาจเกิดจากเส้นใยกล้ามเนื้อไม่แข็งแรงทำให้การประสานกันเป็นร่างแหของเจลไม่สม่ำเสมอและไม่เป็นระเบียบ สอดคล้องกับลักษณะของเนื้อสัมผัสที่มีคุณภาพต่ำ เนื้อนุ่ม การเกาะตัวต่ำ และขาดง่าย และเมื่อผสมซูริมิ กับเนื้อไก่ ปรากฏภาพว่ามีการประสานของโปรตีนเส้นใยทั้งสองเป็นเนื้อเดียวกัน)

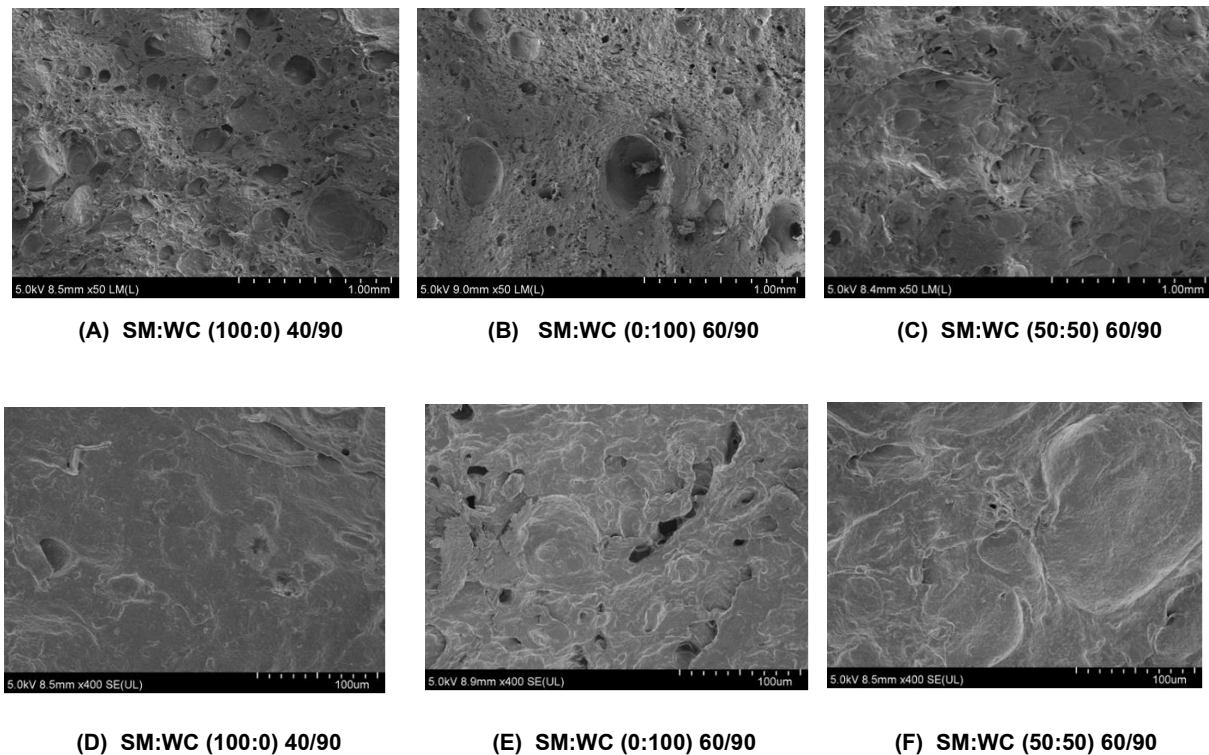


Figure 2 Scanning micrographs of protein gels at different proportions and heating conditions. Magnification: 50 × (A-C), 400 × (D-F) (A, D); medium-quality surimi gels, (B, E); chicken gels, (C, F); SM surimi/chicken mixture gels. SM; Medium quality surimi, WC; Washed chicken meat.

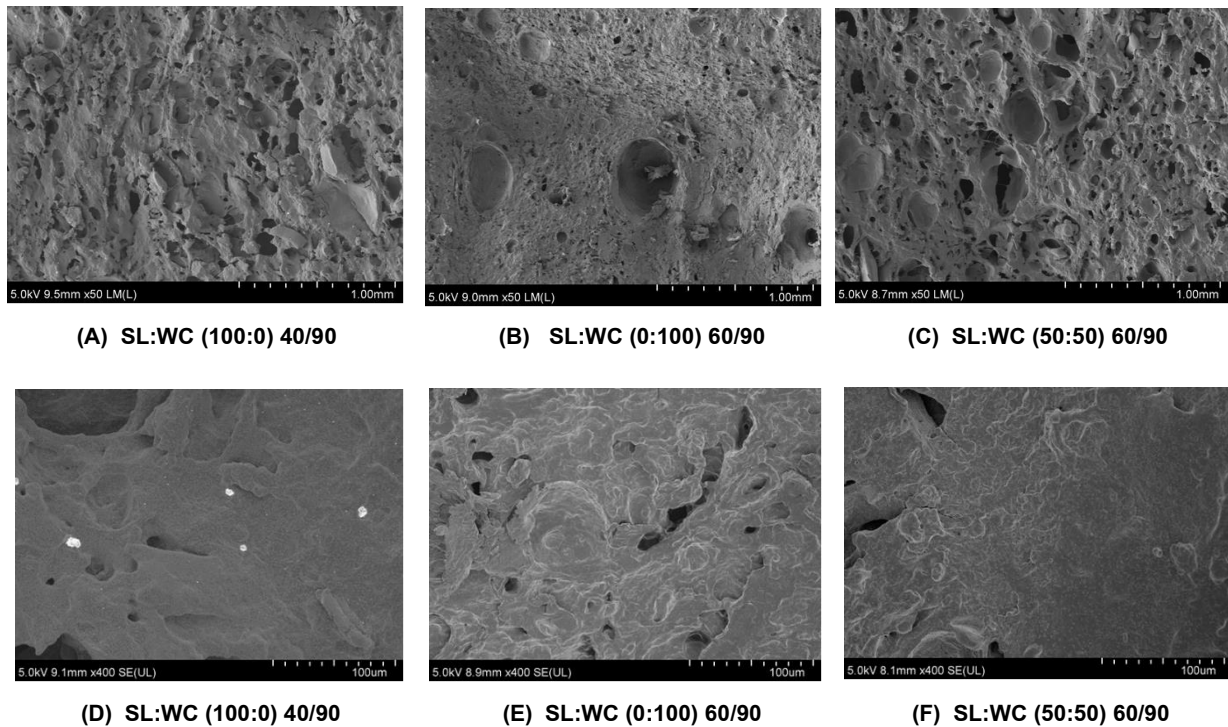


Figure 3 Scanning micrographs of protein gels at different proportions and heating conditions. Magnification: 50 × (A-C), 400 × (D-F) (A, D); low-quality surimi gels, (B, E); chicken gels, (C, F); SM surimi/chicken mixture gels. SL; low-quality surimi, WC; Washed chicken meat.

4. สรุป

สภาวะที่เหมาะสมของการเกิดเจลของเนื้อไก่ คือ ขั้นตอนการล้างเนื้อไก่บด และการให้ความร้อนที่อุณหภูมิ 60 °C 30 นาที ตามด้วย 90 °C 20 นาที (60/90) การนำเนื้อไก่มาทดแทนซูริมิคุณภาพปานกลาง (ปลาทรายแดง) ที่สัดส่วน 50:50 (w/w) ให้ความร้อนที่สภาวะ 60/90 เช่นเดียวกับของเนื้อไก่ ช่วยให้ค่าแรงที่ใช้ในการเจาะทะลุ (BF) ค่าความแข็ง และค่าความเคี้ยวได้ มีแนวโน้มเพิ่มขึ้นจากเจลซูริมิล้วน ในขณะที่เจลผสมระหว่างซูริมิคุณภาพต่ำ (ปลาปากคม) ที่สัดส่วน 50:50 ให้ความร้อนทั้งที่สภาวะ 60/90 และ 40/90 มีแนวโน้มที่เพิ่มขึ้นของค่า BF และค่าเนื้อสัมผัสที่ตรวจด้วยวิธี TPA แต่การเพิ่มขึ้นนี้ยังไม่มากพอที่จะทำให้เจลมีเนื้อสัมผัสที่ดี ดังนั้น การใช้เนื้อไก่ส่วนออกทดแทนจึงเป็นแนวทางในการนำมาปรับปรุงคุณภาพของเจลซูริมิคุณภาพปานกลาง

5. ข้อเสนอแนะ

ในการนำเนื้อไก่มาทดแทนซูริมิบางส่วน ถ้าเนื้อไก่มีราคาสูงกว่าซูริมิ อาจทำให้ต้นทุนการผลิตสูงขึ้น จึงอาจใช้เนื้อไก่ราคาถูกจากส่วนอื่น เช่น เนื้อไก่ที่

แยกออกมาจากเนื้อติดกระดูก ซึ่งจำเป็นต้องมีการศึกษาสภาวะที่เหมาะสมในการเตรียมเนื้อไก่ และสภาวะในการให้ความร้อน

6. กิตติกรรมประกาศ

ขอขอบคุณ คณะประมง มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์ ที่ได้ให้การสนับสนุนทุนสนับสนุนส่งเสริมการศึกษาค้นคว้าวิจัย ประจำปี พ.ศ. 2564

7. เอกสารอ้างอิง

- Fukushima, H. , Okazaki, E. , Fukuda, Y. and Watabe, S. 2007. Rheological properties of selected fish paste at selected temperature pertaining to shaping of surimi-based products. **Journal of Food Engineering** 81(2): 492-499.
- Gui, P. , Zhang, L. , Hong, H. , Feng, L. and Luo, Y. 2018. Gel properties of silver carp (*Hypophthalmichthys molitrix*) and chicken mixture gels as affected by setting temperatures. **International Journal of Food Properties** 21(1): 2250-2264.

- Jiang, Q., Wang, L., Gao, P., Yu, P., Yang, F., Yu, D., Chen, H. and Xia, W. 2023. Study on the effect and mechanism of chicken breast on the gel properties of silver carp (*Hypophthalmichthys molitrix*) surimi. **Journal of the Science of Food and Agriculture** 104: 1132-1142.
- Kang, G. H. , Kim, S. H. , Kim, J. H. , Kang, H. K. , Kim, D.W., Na, J.C., Yu, D.J., Suh, O.S. and Choi, Y.H. 2009. Effects of washing methods on gel properties of chicken surimi prepared from spent hen breast muscle. **Poultry Science** 88: 1438-1443.
- Kongpun, O. 1999. The gel forming ability of washed and unwashed fish meat (lizardfish and Nile tilapia). **Kasetsart Journal (Nat. Sci.)** 33: 258-269.
- Lanier, T.C. 1992. Measurement of surimi composition and functional properties, pp. 311-320. *In* Lanier, T.C. and Lee, C.M., eds. **Surimi Technology**. Marcel Dekker, Inc., New York.
- Lee, C.M. and Chung, K.H. 1989. Analysis of surimi gel properties by compression and penetration test. **Journal of Texture Studies** 20: 363-377.
- Motohiro, T. 1981. General aspect of processing marine food, pp. nd. *In* Motohiro, T., Kadota, H., Hashimoto, K., Kayama, M. and Tokunaga, T., eds. **Science of Processing Marine Food Products vol. II**. Kanagawa International Fisheries Training Center, Japan International Cooperation Agency, Japan.
- Niwa, E. 1992. Chemistry of surimi gelation, pp. 389-427. *In* Lanier, T.C. and Lee, C.M., eds. **Surimi Technology**. Marcel Dekker, Inc. , New York.
- Park, J. W. 2000. Ingredient technology and formulation development, pp. 343-391. *In* Park, J.W., eds. **Surimi and Surimi Seafood**. Marcel Dekker, Inc., New York.
- Siegel, D.G., Church, K.E. and Schmidt, G.R. 1979. Gel structure of nonmeat proteins as relate to their ability to bind meat pieces. **Journal of Food Science** 44: 1276-1284.
- Smyth, A.B. and O'Neill, E. 1997. Heat-induced gelation properties of surimi from mechanically separated chicken. **Journal of Food Science** 62: 326-330.
- Suzuki, T. 1981. **Fish and Krill Protein Processing Technology**. Applied Science Pub, London.
- Tan, S.M. , Ng, M.C. , Fujimara, T. , Hooi, K.K. and Hasegawa, H. 1987. **Handbook on Processing of Frozen Surimi and Fish Jelly Products in Southeast Asia**. Marine Fisheries Research Department, Southeast Asian Fisheries Development Center, Singapore.
- Wang, R. , Gao, R. , Xiao, F. , Zhou, X. , Wang, H. , Xu, H., Gong, C., Huang, P. and Zhao, Y. 2019. Effect of chicken breast on the physicochemical properties of unwashed sturgeon surimi gels. **LWT-Food Science and Technology** 113: 108306.
- Yongsawatdigul, J. 2019. **Science of Fish Proteins**. Active Print Company Ltd., Bangkok. (in Thai)
- Yongsawatdigul, J. and Park, J.W. 2003. Thermal denaturation and aggregation of threadfin bream actomyosin. **Food Chemistry** 83(3): 409-416.



Research Article

การพัฒนาแอปพลิเคชันบนมือถือสำหรับการเผยแพร่อาหาร
และขนมพื้นบ้าน ชุมชนบ้านจีน

Development of Mobile Application for Disseminating Baan Chin
Community's Local Food and Desserts

อรุณรักษ์ ตันพานิช^{a*} พัชรินทร์ บุญหนู^a ศุภชัย มะเดื่อ^b และ อรสา มั่งสกุล^c

Aroonrak Tunpanit^{a*}, Patcharin Bunnun^a, Suppachai Maduea^b and Orasa Mangsakul^c

^a สาขาบริหารธุรกิจ วิทยาลัยรัตนภูมิ มหาวิทยาลัยเทคโนโลยีราชมงคลศรีวิชัย อำเภอรัตภูมิ จังหวัดสงขลา 90180

^a Business Administration, Rattaphum Collage, Rajamangala University of Technology Srivijaya, Rattaphum, Songkhla 90180, Thailand.

^b สาขาวิศวกรรมปัญญาประดิษฐ์ประยุกต์ วิทยาลัยรัตนภูมิ มหาวิทยาลัยเทคโนโลยีราชมงคลศรีวิชัย อำเภอรัตภูมิ จังหวัดสงขลา 90180

^b Applied Artificial Intelligence Engineering, Rattaphum Collage, Rajamangala University of Technology Srivijaya, Rattaphum, Songkhla 90180, Thailand.

^c คณะบริหารธุรกิจ มหาวิทยาลัยเทคโนโลยีราชมงคลศรีวิชัย อำเภอเมือง จังหวัดสงขลา 90000

^c Faculty of Business Administration, Rajamangala University of Technology Srivijaya, Muang, Songkhla 90180, Thailand.

ABSTRACT

Article history:

Received: 2023-08-18

Revised: 2024-01-16

Accepted: 2024-02-29

Keywords:

design and development;

mobile application;

local food;

desserts

Local foods and snacks are local cultural heritages which hold significant value for ongoing conservation. Baan Chin Community in Satun Province is known for its unique local foods and snacks, which are exclusively prepared during important festivals. The application of modern technology in data management allows easy and quick access to all people. It serves as a method for storing and releasing data, including for commercial use. This research aimed to design and develop a mobile application for promoting local foods and snacks of Baan Chin Community. The system was analyzed and designed using "Use Case Diagram" and "Data Flow Diagram". The application was developed using Glide, Google sheets and Canva. The efficiency and satisfaction of the mobile application were evaluated by five experts. The satisfaction of the application was assessed by a sample group of 300 people, selected using a specific selection method. Statistics used in the data analysis consisted of percentage, mean ($\bar{X}$) and standard deviation (S.D.). The efficiency evaluation result showed that the application was highly effective ($\bar{X}$ = 4.63, S.D. = 0.529) because it was easy to use and allowed for quick information searches, aligning well with current technology. The result of satisfaction evaluation from the sample group, which tested the application, were divided into 3 areas: 1) Conformity with User Demand received the highest level of satisfaction ($\bar{X}$ = 4.75, S.D. = 0.545); 2) Application Design received the highest level of satisfaction ($\bar{X}$ = 4.64, S.D. = 0.532); and 3) Functioning of the Application had the high level of satisfaction ($\bar{X}$ = 4.48, S.D. = 0.619), respectively. This showed that the application is easy to use, convenient, and fast, meeting the users' needs. It serves as a channel to preserve the unique identity of local foods and snacks, while also promoting the community's economy. Furthermore, it has potential to extend into the business sector through electronic commerce to be accessible to the target group for selling community products as intended.

* Corresponding author.

E-mail address: aronrak.t@rmutsv.ac.th

Cite this article as:

Tunpanit, A., Bunnun, P., Maduea, S. and Mangsakul, O. 2025. Development of Mobile Application for Disseminating Baan Chin Community's Local Food and Desserts. *Recent Science and Technology* 17(1): 260075.

บทคัดย่อ

อาหารและขนมพื้นบ้านเป็นมรดกทางวัฒนธรรมของท้องถิ่นที่ควรค่าแก่การสืบสานและอนุรักษ์ไว้ ชุมชนบ้านจันทน์ จังหวัดสตูล มีจุดเด่นด้านอาหารและขนมพื้นบ้านที่มีเอกลักษณ์เฉพาะตัว และทำขึ้นเฉพาะในเทศกาลสำคัญ การนำเอาเทคโนโลยีที่ทันสมัยมาใช้ในการจัดการข้อมูล ทำให้ทุกคนสามารถเข้าถึงข้อมูลได้ง่ายและรวดเร็ว จึงเป็นวิธีการหนึ่งที่ช่วยเก็บรักษา เผยแพร่ข้อมูล หรือนำไปใช้ในเชิงพาณิชย์ได้ งานวิจัยนี้มีวัตถุประสงค์เพื่อออกแบบและพัฒนาแอปพลิเคชันบนมือถือสำหรับการเผยแพร่อาหารและขนมพื้นบ้าน ชุมชนบ้านจันทน์ ซึ่งทำการวิเคราะห์และออกแบบระบบ โดยใช้ยูสเคสไดอะแกรมและแผนภาพกระแสข้อมูล และพัฒนาแอปพลิเคชัน โดยใช้ Glide Application, Google sheets และ Canva ผ่านการประเมินประสิทธิภาพและความพึงพอใจต่อแอปพลิเคชันบนมือถือจากผู้เชี่ยวชาญจำนวน 5 คน และการประเมินความพึงพอใจของแอปพลิเคชันจากกลุ่มตัวอย่างจำนวน 300 คน ใช้วิธีการเลือกแบบเจาะจง สถิติที่ใช้ในการวิเคราะห์ข้อมูลประกอบด้วย ค่าร้อยละ (Percentage) ค่าเฉลี่ย ($\bar{X}$) และส่วนเบี่ยงเบนมาตรฐาน (S.D.) ผลการประเมินประสิทธิภาพของแอปพลิเคชัน พบว่า แอปพลิเคชันอาหารและขนมพื้นบ้าน ชุมชนบ้านจันทน์ มีประสิทธิภาพมากที่สุด ($\bar{X}$ = 4.63, S.D. = 0.529) เนื่องจากใช้งานง่าย สามารถสืบค้นข้อมูลได้อย่างรวดเร็ว และสอดคล้องต่อเทคโนโลยีในปัจจุบัน และผลการประเมินความพึงพอใจของกลุ่มตัวอย่างที่ได้ทดลองใช้แอปพลิเคชัน ซึ่งแบ่งการประเมินออกเป็น 3 ด้าน คือ 1) ด้านความสอดคล้องต่อความต้องการของผู้ใช้แอปพลิเคชันมีระดับความพึงพอใจมากที่สุด ($\bar{X}$ = 75.4, S.D. = 0.545) 2) ด้านการออกแบบแอปพลิเคชันมีระดับความพึงพอใจมากที่สุด ($\bar{X}$ = 64.4, S.D. = 0.532) และ 3) ด้านการทำงานของแอปพลิเคชันมีระดับความพึงพอใจมากที่สุด ($\bar{X}$ = 48.4, S.D. = 0.619) ตามลำดับ แสดงให้เห็นว่าแอปพลิเคชันอาหารและขนมพื้นบ้าน ชุมชนบ้านจันทน์ ที่ได้รับการพัฒนาและจัดทำขึ้นสามารถใช้งานได้จริง สะดวก รวดเร็ว สอดคล้องต่อความต้องการของผู้ใช้ ซึ่งเป็นช่องทางหนึ่งในการอนุรักษ์เอกลักษณ์ของอาหารและขนมพื้นบ้าน รวมทั้งส่งเสริมเศรษฐกิจของชุมชน สามารถต่อยอดไปสู่ภาคธุรกิจในรูปแบบของพาณิชย์อิเล็กทรอนิกส์ให้เข้าถึงกลุ่มเป้าหมายสำหรับจำหน่ายผลิตภัณฑ์ของชุมชนได้ตามวัตถุประสงค์ที่ตั้งไว้

คำสำคัญ: การออกแบบและพัฒนา, โมบายแอปพลิเคชัน, อาหาร, ขนมพื้นบ้าน

1. บทนำ

อาหารและขนมพื้นบ้านจัดเป็นมรดกทางวัฒนธรรมที่มีความเก่าแก่มากที่สุดอย่างหนึ่งซึ่งมีประวัติความเป็นมาที่ยาวนาน โดยขนมพื้นบ้านส่วนใหญ่จะนำเอาทรัพยากรธรรมชาติที่มีอยู่ในท้องถิ่นมาใช้หรือเลือกใช้วัตถุดิบตามฤดูกาลของท้องถิ่นนั้น ๆ อาหารหรือขนมพื้นบ้านอาจทำขึ้นสำหรับบริโภคในครัวเรือนหรือในชุมชน ขนมพื้นบ้านจึงเป็นส่วนหนึ่งของวัฒนธรรม ความเชื่อ ค่านิยม และวิถีชีวิตของคนในชุมชนที่มีความสำคัญ ควรค่าแก่การอนุรักษ์และสืบสานผ่านการเรียนรู้จากคนรุ่นหนึ่งไปสู่อีกรุ่นหนึ่งเพื่อให้เกิดความภาคภูมิใจ การทำขนมพื้นบ้านที่ได้รับถ่ายทอดจากรุ่นสู่รุ่นอาจก่อให้เกิดมรดกทางวัฒนธรรมของชุมชนจนเกิดเป็นอัตลักษณ์ของชุมชนได้ ดังนั้นการสืบทอดความรู้ในการทำขนมพื้นบ้านจึงเป็นสิ่งสำคัญ ส่วนใหญ่จะใช้วิธีการบอกเล่าจากปากต่อปากไม่มีการบันทึกเป็นหลักฐาน และมักเป็นการถ่ายทอดสูตรหรือเทคนิคการทำขนมเฉพาะภายในครอบครัว ลักษณะเช่นนี้ทำให้ขนมพื้นบ้านที่มีลักษณะเฉพาะตัวผ่านผู้สืบทอดเท่านั้น เมื่อมีการเปลี่ยนแปลงของยุคสมัยหรือมีการปรับเปลี่ยนสูตรขนมให้เข้ากับค่านิยมของคนรุ่นใหม่ ส่งผลให้สูตรขนมพื้นบ้านที่เก่าแก่เลือนหายไปหรือเปลี่ยนไปได้ ปัจจุบันภูมิปัญญาการทำขนมพื้นบ้านกำลัง

สูญหายไปตามกาลเวลา (Tungseng *et al.*, 2016) เนื่องจากคนรุ่นใหม่ไม่รู้จักและไม่นิยมรับประทานขนมพื้นบ้าน นอกจากนี้คนที่มีความสามารถในการทำขนมพื้นบ้านในชุมชนก็เหลือเพียงไม่กี่คนและส่วนใหญ่มีอายุมาก จึงต้องให้ความสำคัญในการอนุรักษ์อาหารและขนมพื้นบ้านซึ่งเป็นมรดกทางวัฒนธรรม เพื่อสร้างจิตสำนึกในการอนุรักษ์และสืบสานการทำขนมไม่ให้ขนมพื้นบ้านสูญหายไป ด้วยการนำเทคโนโลยีสมัยใหม่เข้ามาช่วยในการจัดเก็บข้อมูลหรือนำมาประยุกต์เพื่อเก็บรวบรวมมรดกภูมิปัญญาทางวัฒนธรรม (Boonchom *et al.*, 2020) สร้างความตระหนักรู้เกี่ยวกับมรดกทางวัฒนธรรมให้อยู่ในรูปแบบดิจิทัล โดยใช้เทคโนโลยีเข้ามามีบทบาทเป็นสื่อกลางในการนำเสนอเนื้อหา (Srisuwan, 2022) สามารถอำนวยความสะดวกให้แก่ผู้ใช้งานที่แสดงข้อมูลเนื้อหาอย่างครบถ้วนในรูปแบบข้อมูลภาพถ่าย หรือวีดิทัศน์ที่เหมาะสมสำหรับสืบค้นข้อมูลผ่านอุปกรณ์สมาร์ตโฟนที่ตรงตามความต้องการของผู้ใช้ (Hongboonmee and Wongpha, 2022) นอกเหนือจากนี้ยังช่วยส่งเสริมและประชาสัมพันธ์ให้กลุ่มผู้ใช้สามารถเรียนรู้มรดกทางวัฒนธรรมในรูปแบบดิจิทัล เป็นหนทางหนึ่งที่สามารถเผยแพร่มรดกทางวัฒนธรรมที่ตกทอดจากบรรพบุรุษ

ชุมชนบ้านจันทน์ ตั้งอยู่ในหมู่ที่ 2 ตำบลฉลุง อำเภอเมือง จังหวัดสตูล มีจุดเด่นด้านอาหารและขนม

พื้นที่ที่ได้รับการสืบทอดวิธีการทำมาจากรุ่นสู่รุ่น โดย “ชุมชนบ้านจิ้น” มีประชากรส่วนใหญ่เป็นคนไทยเชื้อสายจีน และอาศัยอยู่ร่วมกันกับชาวไทยพุทธและชาวไทยมุสลิม ชาวบ้านส่วนใหญ่ในชุมชนไม่ได้ประกอบอาชีพทำอาหาร หรือขนมพื้นบ้านเป็นหลัก แต่จะทำอาหารและขนมเฉพาะ เทศกาลสงกรานต์เท่านั้น เมื่อถึงช่วงเทศกาลสงกรานต์ ลูกหลานจะกลับมาภายในชุมชนเพื่อรดน้ำดำหัวผู้ใหญ่ ภายในครอบครัวและนักท่องเที่ยวต่างจังหวัดจะแวะเวียน มาร่วมกิจกรรมวันสงกรานต์ที่จัดขึ้นภายในชุมชน โดย หน่วยงานเทศบาลตำบลฉลุงจะจัดกิจกรรมการทำขนม พื้นบ้านของชุมชนบ้านจิ้นขึ้น มีการแต่งกายด้วยชุด พื้นเมืองและการจัดภูมิทัศน์ชุมชนบ้านจิ้นแบบย้อนยุค เพื่อ ต้อนรับนักท่องเที่ยวและเยาวชนให้ได้สัมผัสรสชาติของ ขนมพื้นบ้านทั้งในแบบย้อนยุคและรูปแบบร่วมสมัย (Municipal office Chalung Subdistrict, 2016) จึงเป็นแหล่ง ศูนย์กลางสำหรับจัดกิจกรรมสงกรานต์เป็นแหล่งท่องเที่ยว ของคนในจังหวัดสตูลหรือคนที่เคยอยู่อาศัยแล้วกลับมา เยือนบ้านเกิดและกลุ่มนักท่องเที่ยวเพื่อให้นักท่องเที่ยวและ เยาวชนรุ่นหลังได้รู้จักชื่อขนมและรับประทานขนมพื้นบ้าน ที่มีรสชาติกลมกล่อม ได้แก่ ขนมลอบะ ขนมเบือเชื้อ ขนม เต้าฮ้อ ขนมบูดู ข้าวเหนียวเปียก ขนมมอจี ขนมลอบิน ขนมเบงกั๊ก ขนมบิซอ ขนมอังกู (ขนมเต่า) ขนมโกสุย ขนม แฮจี่ ขนมจองกอง ขนมบาติะและขนมบั้งจาด เป็นต้น หน่วยงานเทศบาลตำบลฉลุงจึงให้การสนับสนุนให้มีการจัด ร้านขายขนมพื้นบ้านขึ้น โดยให้คนในชุมชนบ้านจิ้นที่ได้รับการ สืบทอดสูตรขนมพื้นบ้านที่เก่าแก่มาตั้งร้าน เป็นการ ส่งเสริมและสร้างอาชีพให้แก่คนในชุมชน หรือเป็นรายได้ หลักในการเลี้ยงดูครอบครัวต่อไป ขนมพื้นบ้านจึง กลายเป็นอัตลักษณ์เฉพาะถิ่น หรือจุดศูนย์รวมของ วัฒนธรรมและมีความโดดเด่นทางด้านการท่องเที่ยวเชิง วัฒนธรรมและอาหาร (Bunnoon *et al.*, 2020) ซึ่ง ผสมผสานกันอย่างลงตัว

ด้วยเหตุผลดังกล่าว ผู้วิจัยจึงเห็นความสำคัญ ของการอนุรักษ์อาหารและขนมพื้นบ้านของชุมชนบ้านจิ้น ร่วมกับหน่วยงานเทศบาลตำบลฉลุงได้ให้การสนับสนุนการ สืบสานอาหาร ขนมพื้นบ้านและขนมโบราณที่หา รับประทานได้เฉพาะในเทศกาลเท่านั้น และเป็นการ ส่งเสริมการเรียนรู้การประยุกต์ใช้เทคโนโลยีสำหรับ รวบรวมข้อมูลผ่านการประเมินแบบสอบถามเพื่อพัฒนา แอปพลิเคชันและนำเสนอในรูปแบบดิจิทัลคอนเทนต์ ด้วย วิทยาการและเทคโนโลยีในรูปแบบภาพเคลื่อนไหวและวิดีโอ (Rattanachuchok and Maneelert, 2021) ส่งเสริมให้ ผู้ที่สนใจได้เรียนรู้หรืออย่างเหมาะสมร่วมกับการใช้เทคโนโลยี ในปัจจุบัน (Hongboonmee and Khunbun, 2021) โดยใช้

แอปพลิเคชันที่สามารถประมวลผลข้อมูลในรูปแบบดิจิทัล ช่วยให้ผู้ใช้งานมีความสะดวกสบายมากขึ้น ที่รองรับการใช้ งานบนอุปกรณ์พกพา สามารถประยุกต์ใช้กับภาคธุรกิจที่ ปรับเปลี่ยนกระบวนการขยายกลุ่มเป้าหมายให้เพิ่มขึ้น อีกทั้งเป็นการสร้างความได้เปรียบทางธุรกิจด้วยเทคโนโลยี ที่หลากหลายทั้งการพูดคุยอัตโนมัติ การสะสมคะแนนเพื่อ รักษากลุ่มลูกค้าเดิมให้คงอยู่ (Martin *et al.*, 2013) สอดคล้องกับกลุ่มคนรุ่นใหม่ได้เรียนรู้ข้อมูลผ่านแอปพลิเคชัน เพื่อทราบถึงภูมิปัญญาดั้งเดิมเกิดความภาคภูมิใจและเป็น ส่วนหนึ่งที่จะสืบสานมรดกภูมิปัญญาทางวัฒนธรรมให้คง อยู่ อีกทั้งสามารถเข้าถึงแพลตฟอร์มด้านเทคโนโลยีดิจิทัล และนวัตกรรมดิจิทัลที่พัฒนาขึ้นให้เหมาะสม (Jirapanthong *et al.*, 2021) ผ่านอุปกรณ์และเครื่องมือที่สอดคล้องกับกลุ่ม คนรุ่นใหม่ที่ใช้เทคโนโลยีสำหรับการเรียนรู้และการสืบค้น ข้อมูลได้อย่างรวดเร็วและถ่ายทอดเรื่องราวผ่านสื่อดิจิทัล มีเดีย สามารถต่อยอดไปสู่ภาคธุรกิจในรูปแบบของพาณิชย์ อิเล็กทรอนิกส์กลายเป็นที่นิยมและมีการใช้กันอย่าง แพร่หลายในสังคมปัจจุบัน การวิจัยครั้งนี้มีวัตถุประสงค์ เพื่อออกแบบและพัฒนาแอปพลิเคชันบนมือถือสำหรับการ เผยแพร่อาหารและขนมพื้นบ้าน ชุมชนบ้านจิ้น โดย ประเมินจากประสิทธิภาพและความพึงพอใจต่อแอปพลิเคชัน บนมือถือสำหรับการเผยแพร่อาหารและขนมพื้นบ้าน ชุมชนบ้านจิ้น

2. วิธีดำเนินการวิจัย

ผู้วิจัยลงพื้นที่เทศบาลตำบลฉลุง อำเภอเมือง จังหวัดสตูล เพื่อประเมินความต้องการสำหรับพัฒนา แอปพลิเคชันรูปแบบธุรกิจดิจิทัลอาหารและขนมพื้นบ้าน เพื่อส่งเสริมผู้ประกอบการให้สามารถนำเสนออาหารและ ขนมพื้นบ้านในรูปแบบวีดิทัศน์และรับคำสั่งซื้อจากลูกค้า ผ่านระบบสมาร์ตโฟน เป็นการส่งเสริมรายได้แก่ชุมชน และ เพิ่มช่องทางการติดต่อที่สะดวก รวดเร็ว ทันสมัยมากขึ้น ซึ่งการศึกษาประกอบด้วย 3 ขั้นตอน ได้แก่

1. เก็บรวบรวมข้อมูลสำหรับนำเสนอในรูปแบบ ดิจิทัลคอนเทนต์ สำหรับพัฒนาแอปพลิเคชันบนมือถือเพื่อ เผยแพร่อาหารและขนมพื้นบ้าน ชุมชนบ้านจิ้น โดย ออกแบบด้วยแผนภาพยูสเคส (Use Case Diagram) ให้ เห็นกระบวนการทำงานของแอปพลิเคชันในภาพรวมและ ใช้แผนภาพกระแสข้อมูล (Data Flow Diagram) (Preechapanich, 2015) สำหรับอธิบายขั้นตอนการทำงานของ ระบบด้วยแผนภาพยูสเคส (Use Case Diagram) และ แผนภาพกระแสข้อมูล (Data Flow Diagram) ซึ่งโปรแกรม สำหรับพัฒนาประกอบด้วย Glide Application, JAVA Scripts และจัดเก็บข้อมูลด้วยโปรแกรม Google Sheet

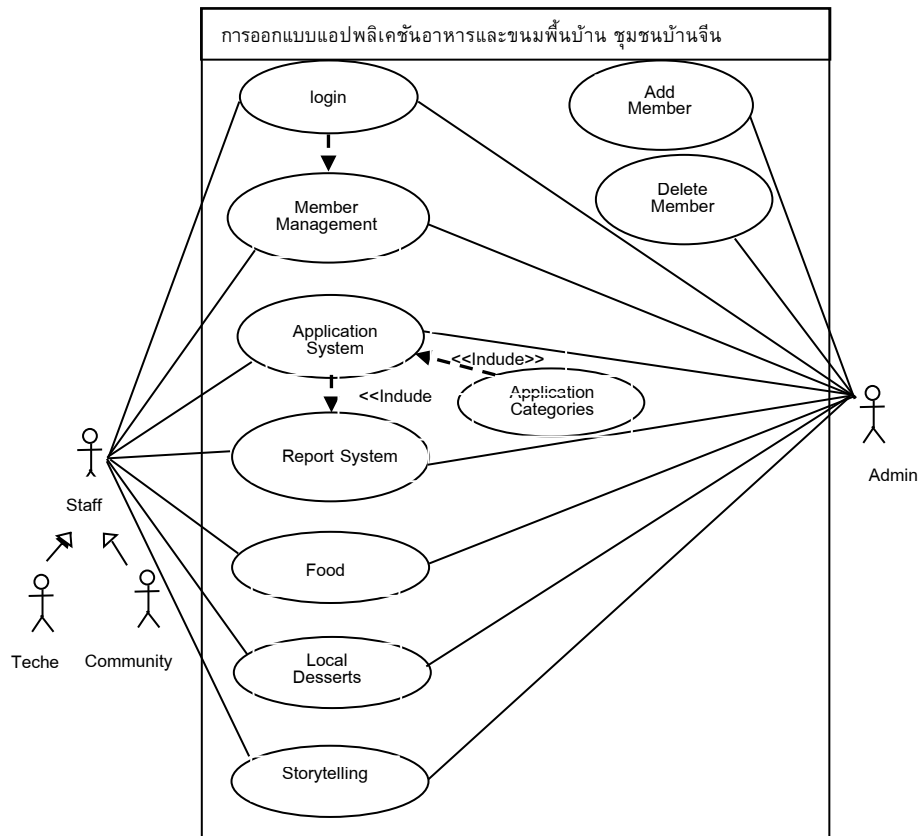


Figure 1 Use case diagram show the design of a local food and dessert application for Baan Chin community

สำหรับแสดงผลบนอุปกรณ์สมาร์ตโฟนด้วยระบบปฏิบัติการแอนดรอยด์ ซึ่งแบ่งผลการศึกษาคำนวณ 2 ตอนดังนี้

1.1 การเก็บรวบรวมข้อมูลสำหรับนำเสนอในรูปแบบดิจิทัลคอนเทนต์แสดงแผนภาพยูสเคส (Use Case Diagram) และเครื่องมือต่าง ๆ ในการเริ่มต้นระบบไปจนถึงขั้นตอนการพัฒนาระบบ ดังภาพที่ 1

แผนภาพยูสเคสแสดงฟังก์ชันของระบบและการทำงานของแอปพลิเคชันอาหารและขนมพื้นบ้าน ชุมชนบ้านจีน ประกอบด้วย อาจารย์ ชุมชน เจ้าหน้าที่และผู้ดูแลระบบ ยูสเคสประกอบไปด้วย การเข้าสู่ระบบ การสมัครสมาชิก แสดงรายการอาหาร แสดงรายการขนมพื้นบ้าน และแสดงกระดานเรื่องราวที่มาและความสำคัญของอาหารและขนมพื้นบ้าน ชุมชนบ้านจีน โดยระบบแอปพลิเคชันจะ

มีผู้ควบคุมโดยแอตมินที่ทำหน้าที่เพิ่มรายการอาหาร รายการขนมพื้นบ้าน และเพิ่ม-ลบ สมาชิกที่เข้าระบบภายในแอปพลิเคชัน

1.2 ขั้นตอนการออกแบบแอปพลิเคชันอาหารและขนมพื้นบ้าน ชุมชนบ้านจีน แสดงผลบนระบบปฏิบัติการบนสมาร์ตโฟนแอนดรอยด์ด้วยวิธีการรวบรวมร้านอาหารและรายการอาหารและขนมพื้นบ้าน ที่แสดงบนแอปพลิเคชัน สามารถกำหนดข้อมูลกฎความสัมพันธ์ได้มาบริหารรายการอาหารเพื่อตอบสนองความต้องการของลูกค้าและแก่ผู้ผลิตอาหารและขนมพื้นบ้าน ชุมชนบ้านจีน ด้วยการแสดงภาพรวมของกระบวนการส่งข้อมูลของแอปพลิเคชันบนแผนภาพกระแสข้อมูล (Data Flow Diagram) แบ่งออกเป็น 2 ระดับ คือ ระดับ 0 และระดับ 1 ดังเช่นแสดงรูปที่ 2-3

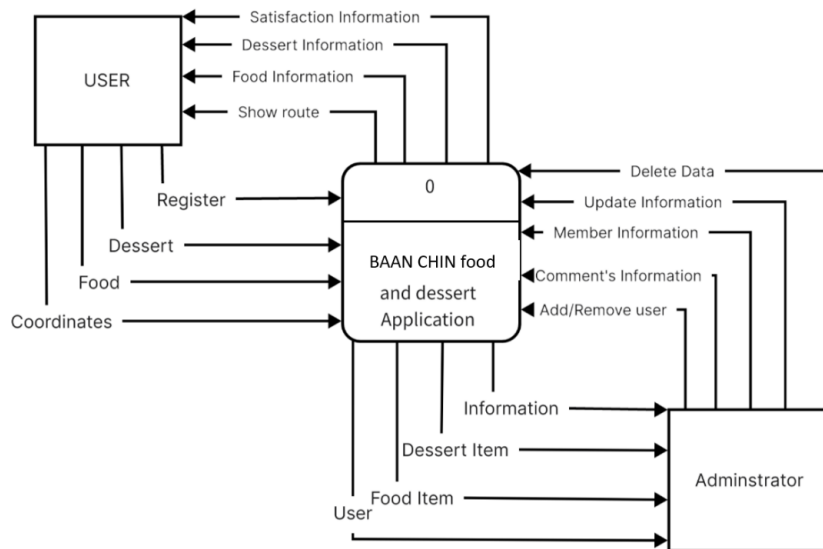


Figure 2 Level 0 data flow diagram

แผนภาพกระแสข้อมูลแสดงถึงภาพรวมของกระบวนการรับส่งข้อมูลโดยผู้ใช้งานระบบจะต้องลงทะเบียน

เพื่อเริ่มต้นใช้งานแอปพลิเคชัน ซึ่งระบบจะทำการบันทึกรหัสสมาชิกเพื่อบันทึกการใช้งานระบบและผู้ใช้

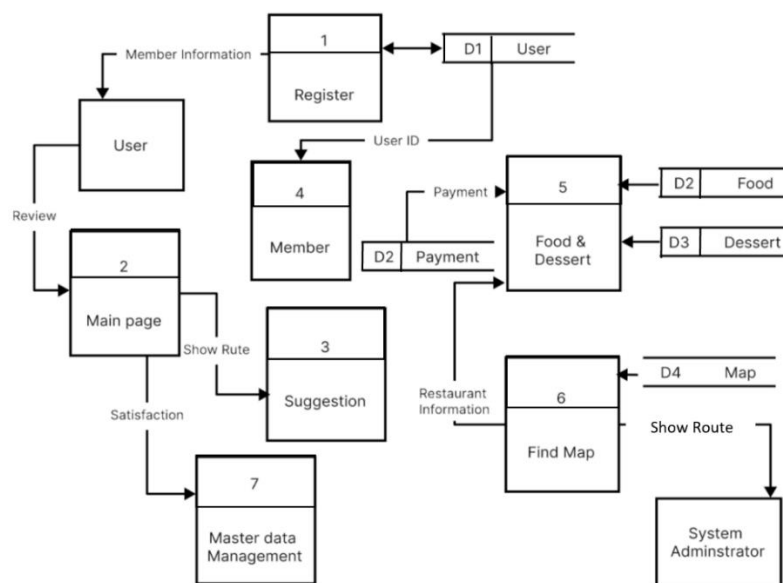


Figure 3 Level 1 data flow diagram

แผนภาพกระแสข้อมูลระดับที่ 1 แสดงระบบจัดเก็บข้อมูลและส่งข้อมูลเพื่อบันทึกภายในระบบฐานข้อมูล ที่จำแนกเป็นตาราง เส้นทางการจัดเก็บและส่งข้อมูลภายในแอปพลิเคชัน ดำเนินการคำสั่งต่าง ๆ ของผู้ใช้งานรวมถึงการกำหนดสิทธิ์ของผู้ใช้งานทั่วไปและผู้ดูแลระบบสำหรับใช้งานหรือแก้ไขข้อมูลภายในแอปพลิเคชัน ซึ่งทั้งแผนภาพข้อมูลระดับ 0 และ 1 สามารถบันทึกข้อมูลผู้เข้าสู่แอปพลิเคชันที่รับชมรายการอาหารและขนมพื้นบ้านสามารถเลือกสินค้าโดยแสดงราคาและจำนวนเพื่อสั่งซื้อ

สินค้าผ่านระบบแอปพลิเคชันหรือสามารถเดินทางไปยังผู้ผลิตอาหารและขนมพื้นบ้านผ่านแผนที่บนแอปพลิเคชัน

2. การประเมินประสิทธิภาพแอปพลิเคชันอาหารและขนมพื้นบ้าน ชุมชนบ้านจีน โดยผ่านการประเมินจากผู้เชี่ยวชาญด้านเทคโนโลยีคอมพิวเตอร์ จำนวน 2 ท่าน ผู้เชี่ยวชาญด้านการตลาดดิจิทัล จำนวน 2 ท่าน และเจ้าหน้าที่ภายในหน่วยงานเทศบาลตำบลลุง จำนวน 1 ท่าน สถิติที่ใช้ ได้แก่ ค่าเฉลี่ยและส่วนเบี่ยงเบนมาตรฐาน

3. การประเมินความพึงพอใจของกลุ่มตัวอย่างที่เป็นบุคคลทั่วไปที่ได้ทดลองใช้แอปพลิเคชันด้วยวิธีสุ่มอย่างง่าย ในพื้นที่หมู่ที่ 2 ตำบลฉลุง อำเภอเมือง จังหวัดสตูล จำนวน 300 คน สำหรับสถิติที่ใช้ ได้แก่ ร้อยละ ค่าเฉลี่ยและส่วนเบี่ยงเบนมาตรฐาน โดยแบ่งผลประเมินความพึงพอใจเป็น 3 ด้าน ได้แก่ 1. ด้านความสอดคล้องต่อความต้องการของผู้ใช้แอปพลิเคชัน 2. ด้านการออกแบบแอปพลิเคชัน และ 3. ด้านการทำงานของแอปพลิเคชัน โดยมีเกณฑ์การตัดสินต้องเป็นผู้ที่ได้ติดตั้งแอปพลิเคชันบนระบบสมาร์ทโฟนเพื่อดูรายการอาหาร ขนมพื้นบ้านชุมชนบ้านจีนและยินยอมตอบแบบสอบถามเพื่อประเมินความพึงพอใจ

3. ผลการวิจัยและวิจารณ์ผล

ผลการออกแบบและพัฒนาแอปพลิเคชันบนมือถือสำหรับการเผยแพร่อาหารและขนมพื้นบ้าน ชุมชนบ้านจีน โดยออกแบบและพัฒนาแอปพลิเคชันด้วยโปรแกรม Glide Application สำหรับแสดงผลบนอุปกรณ์สมาร์ทโฟนด้วยระบบปฏิบัติการแอนดรอยด์ ซึ่งแบ่งผลการศึกษาจำนวน 3 ตอนดังนี้

ตอนที่ 1 ผลการพัฒนาแอปพลิเคชันอาหารและขนมพื้นบ้านชุมชนบ้านจีน

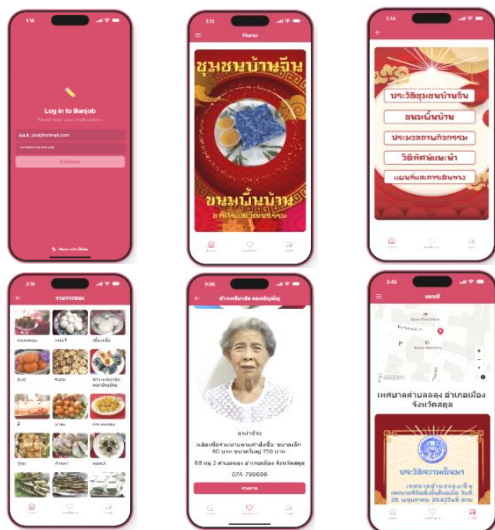


Figure 4 Show the design of the application of local food and desserts, Baan Chin community

ผลการออกแบบและพัฒนาแอปพลิเคชันเพื่อแสดงข้อมูลผ่านระบบสมาร์ทโฟนเพื่อให้กลุ่มผู้ใช้สามารถดูข้อมูลรายการอาหารและขนมพื้นบ้านได้อย่างสะดวก รวดเร็ว สอดคล้องต่อพฤติกรรมของกลุ่มผู้ใช้งานส่วนใหญ่

เพื่อเป็นช่องทางหนึ่งสำหรับประชาสัมพันธ์อาหารและขนมพื้นบ้าน ดังภาพที่ 4

ผลลัพธ์การพัฒนาแอปพลิเคชันอาหารและขนมพื้นบ้าน ชุมชนบ้านจีน เป็นอีกช่องทางหนึ่งที่มีผู้วิจัยรวบรวมข้อมูลอาหารและขนมพื้นบ้านที่มีเฉพาะเทศกาลให้แก่ผู้สนใจสามารถค้นหาข้อมูลเป็นช่องทางที่มีความสะดวกในการใช้งานและเป็นฐานข้อมูลที่สำคัญ ซึ่งสอดคล้องกับ Boonmee *et al.* (2023) นักท่องเที่ยวมีจุดหมายปลายทางสำหรับการท่องเที่ยวชุมชน โดยให้ความสนใจท่องเที่ยวที่มีเอกลักษณ์ในด้านทรัพยากร สิ่งแวดล้อมและวัฒนธรรม ซึ่งได้รับความนิยมมากขึ้นตามยุทธศาสตร์ชาติเน้นการสร้างแพลตฟอร์มด้านเทคโนโลยีคอมพิวเตอร์และดิจิทัลข้อมูลสำหรับเศรษฐกิจในอนาคต เพื่อส่งเสริมชุมชนให้มีช่องทางการประชาสัมพันธ์ขนมพื้นบ้าน อาหารและวัฒนธรรมที่เป็นอัตลักษณ์ของชุมชน สอดคล้องกับ Wiwattanachang *et al.* (2017) การช่วยส่งเสริมอนุรักษ์ภูมิปัญญาและวัฒนธรรมไทยแบบโบราณ ให้เกิดแนวคิดใหม่ในการพัฒนาต่อยอดจากภูมิปัญญาไทยแบบดั้งเดิมไปสู่นวัตกรรมที่เกิดประโยชน์ต่อไปในอนาคต (Tunpanit *et al.*, 2022) สามารถเข้าถึงระบบสารสนเทศที่เป็นปัจจุบัน ระบบแผนที่สำหรับเดินทางสนับสนุนธุรกิจและเพิ่มช่องรวบรวมเป็นฐานความรู้ระบบสมาร์ทโฟนผสมผสานกับวัฒนธรรมการสืบทอดจากรุ่นสู่รุ่น สอดคล้องกับงานวิจัย Krajanchom and Sangkakorn (2019) ซึ่งเป็นส่วนสำคัญต่อนักท่องเที่ยวสำหรับการตัดสินใจซื้อสินค้าและบริการที่เหมาะสมและสอดคล้องกับแนวทางในการปรับปรุงกลยุทธ์การตลาดของธุรกิจท่องเที่ยวและเกิดความยั่งยืนของธุรกิจท่องเที่ยว สามารถสืบค้นข้อมูลได้ตลอดเวลาช่วยเพิ่มช่องทางการติดต่อผ่านช่องทางออนไลน์เพื่อสนับสนุนให้ผู้ประกอบการอาหารและขนมพื้นบ้านภายในชุมชนมีรายได้เพิ่มขึ้น กระตุ้นเศรษฐกิจรองรับนักท่องเที่ยวที่ชื่นชอบการรสชาติอาหารช่วยส่งเสริมการท่องเที่ยวและสร้างรายได้ให้กับชุมชน

ตอนที่ 2 ผลประเมินประสิทธิภาพแอปพลิเคชันอาหารและขนมพื้นบ้าน ชุมชนบ้านจีน

ผลการประเมินประสิทธิภาพของแอปพลิเคชันบนมือถือสำหรับการเผยแพร่อาหารและขนมพื้นบ้าน ชุมชนบ้านจีน โดยผ่านการประเมินประสิทธิภาพจากผู้เชี่ยวชาญจำนวน 5 ท่าน ซึ่งประกอบด้วย ผู้เชี่ยวชาญด้านเทคโนโลยีคอมพิวเตอร์จำนวน 2 ท่าน ผู้เชี่ยวชาญด้านการตลาดดิจิทัลจำนวน 2 ท่าน และเจ้าหน้าที่ภายในหน่วยงานเทศบาลตำบลฉลุง จำนวน 1 ท่าน สถิติที่ใช้ ได้แก่ ค่าเฉลี่ย ค่าร้อยละและส่วนเบี่ยงเบนมาตรฐาน

Table 1 Evaluation of the effectiveness of mobile applications for the dissemination of traditional food and desserts in Baan Chin community

Topics for assessment	$\bar{X}$	S.D.	Interpret performance
1. The font type, the font color and body size displayed on the application are appropriate.	80.4	447.0	most
2. The visuals and video media for public relations can clearly convey the story.	60.4	548.0	most
3. The background colors and graphics are consistent with the content and convey the meaning clearly.	40.4	894.0	very
4. The layout of menu elements and communication channels is simple and uncomplicated.	80.4	447.0	most
5. The application can continuously interact with the user's actions.	00.5	000.0	most
6. The convenient and safe contact with local food and desserts operators.	20.4	837.0	very
combine	63.4	529.0	most

จากตารางที่ 1 ผลการประเมินประสิทธิภาพจากผู้เชี่ยวชาญด้านการพัฒนาแอปพลิเคชันอาหารและขนมพื้นบ้าน ชุมชนบ้านจีน ในภาพรวม พบว่า มีประสิทธิภาพมากที่สุด ($\bar{X}$ = 4.63, S.D. = 0.529) เมื่อพิจารณารายชื่อแอปพลิเคชัน สามารถตอบสนองการใช้งานของผู้ใช้อย่างต่อเนื่อง มีประสิทธิภาพมากที่สุด ($\bar{X}$ = 5.00, S.D. = 0.000) รองลงมาชนิดตัวอักษร สีตัวอักษร ขนาดตัวที่แสดงบนแอปพลิเคชัน และการจัดวางองค์ประกอบของเมนู ช่องทางการติดต่อสื่อสารใช้งานได้ง่ายและไม่ซับซ้อน มีประสิทธิภาพมากที่สุด ($\bar{X}$ = 4.80, S.D. = 0.447) และการแสดงภาพ และสื่อวิดีโอสำหรับประชาสัมพันธ์สามารถถ่ายทอดเรื่องราวได้อย่างชัดเจน มีประสิทธิภาพมากที่สุด ($\bar{X}$ = 4.60, S.D. = 0.548) ตามลำดับ

ตอนที่ 3 ผลประเมินความพึงพอใจต่อแอปพลิเคชันอาหารและขนมพื้นบ้าน ชุมชนบ้านจีน

การประเมินความพึงพอใจของกลุ่มตัวอย่างที่เป็นบุคคลทั่วไปที่ได้ทดลองใช้แอปพลิเคชันอาหารและขนมพื้นบ้าน ชุมชนบ้านจีน ด้วยวิธีสุ่มอย่างง่ายจากผู้ที่ได้ทดลองใช้งานแอปพลิเคชัน จำนวน 300 คน ที่อาศัยอยู่ในพื้นที่หมู่ที่ 2 ตำบลจตุร อำเภอมือง จังหวัดสตูล แบ่งการประเมินออกเป็น 3 ด้าน ได้แก่ ด้านความสอดคล้องต่อ .1 ความต้องการของผู้ใช้แอปพลิเคชัน 2. ด้านการออกแบบแอปพลิเคชัน และ 3. ด้านการทำงานของแอปพลิเคชัน

Table 2 Evaluation of satisfaction in compliance with the needs of application users.

Topics for assessment	$\bar{x}$	S.D.	Interpretation of satisfaction results
In terms of consistency with the needs of application users			
1. The font type and size on the application are presented appropriately.	4.61	0.743	most
2. Publicity of news on the application is appropriate.	4.86	0.353	most
3. Background colors and symbols can be interpreted appropriately.	4.82	0.509	most
4. The vdo and presenting stories in video format is appropriate.	4.76	0.606	most
5. Menus and elements on the application are properly arranged.	4.70	0.513	most
combine	75.4	545.0	most

จากตารางที่ 2 ผลการประเมินความพึงพอใจด้านความสอดคล้องต่อความต้องการของผู้ใช้แอปพลิเคชัน ภาพรวมอยู่ในระดับมากที่สุด ($\bar{X}$ = 75.4, S.D. = 0.545) เมื่อพิจารณารายด้าน พบว่า ความเหมาะสมในการใช้เป็นช่องทางสื่อประชาสัมพันธ์ข่าวสารบนแอปพลิเคชัน มีระดับความพึงพอใจมากที่สุด ($\bar{X}$ = 86.4, S.D. = 0.353)

รองลงมา ความเหมาะสมในการใช้สีพื้นหลัง ภาพและสัญลักษณ์เพื่อสื่อความหมาย มีระดับความพึงพอใจมากที่สุด ($\bar{X}$ = 82.4, S.D. = 0.509) และความเหมาะสมในการเลือกดูวิดีโอและการถ่ายทอดเรื่องราวข้อมูลร้านอาหาร มีระดับความพึงพอใจมากที่สุด ($\bar{X}$ = 76.4, S.D. = 0.606) ตามลำดับ

Table 3 Application design satisfaction assessment results

Topics for assessment	$\bar{X}$	S.D.	Interpretation of satisfaction results
Application design			
1. The familiar texts and vocabulary can be easily followed.	40.4	715.0	very
2. The layout of buttons for choosing the command menu is convenient.	59.4	494.0	most
3. The display items through the application categorized by restaurant.	71.4	455.0	most
4. The search impressions navigate and show restaurant coordinates vendors of local sweets through the application are easy.	83.4	377.0	most
5. The presentation of information on the history of restaurants and traditional snacks through images and videos on the application.	67.4	619.0	most
combine	64.4	532.0	most

จากตารางที่ 3 ผลการประเมินความพึงพอใจด้านการออกแบบแอปพลิเคชัน ภาพรวมอยู่ในระดับมากที่สุด ($\bar{X}$ = 64.4, S.D. = 0.532) เมื่อพิจารณารายด้าน พบว่า การแสดงผลการค้นหา เส้นทางและแสดงตำแหน่งพิกัดร้านอาหารผู้จำหน่ายขนมพื้นบ้านผ่านแอปพลิเคชันได้ง่าย มีระดับความพึงพอใจมากที่สุด ($\bar{X}$ = 83.4, S.D. = 0.377)

รองลงมา การแสดงรายการอาหารผ่านแอปพลิเคชันโดยจำแนกตามร้านอาหารได้ มีระดับความพึงพอใจมากที่สุด ($\bar{X}$ = 71.4, S.D. = 0.455) และการนำเสนอข้อมูลประวัติร้านอาหารและขนมพื้นบ้าน ผ่านภาพและวิดีโอบนแอปพลิเคชันได้ มีระดับความพึงพอใจมากที่สุด ($\bar{X}$ = 67.4, S.D. = 0.619) ตามลำดับ

Table 4 Evaluation of application performance satisfaction

Topics for assessment	$\bar{X}$	S.D.	Interpretation of satisfaction results
Application functionality			
1. The application can save the code and store user information.	21.4	852.0	very
2. The application makes it easy to contact, talk, and interact with each other.	36.4	750.0	very
3. The application is fast to process and reliable.	41.4	603.0	very
4. The application has the correct processing capabilities.	64.4	492.0	most
5. The application is in line with the changing technology of the future.	81.4	397.0	most
combine	48.4	619.0	most

จากตารางที่ 4 ผลการประเมินความพึงพอใจด้านการทำงานของแอปพลิเคชัน ภาพรวมอยู่ในระดับมาก ($\bar{X}$ = 48.4, S.D. = 0.619) เมื่อพิจารณาารายด้าน พบว่า แอปพลิเคชันสอดคล้องต่อเทคโนโลยีที่เปลี่ยนแปลงในอนาคต มีระดับความพึงพอใจมากที่สุด ($\bar{X}$ = 81.4, S.D. = 0.397) รองลงมา แอปพลิเคชันมีความสามารถในการประมวลผลที่ถูกต้อง มีระดับความพึงพอใจมากที่สุด ($\bar{X}$ = 64.4, S.D. = 0.492) และแอปพลิเคชันมีความรวดเร็วในการประมวลผลและมีความน่าเชื่อถือ มีระดับความพึงพอใจมาก ($\bar{X}$ = 41.4, S.D. = 0.603) ตามลำดับ

ผลการออกแบบและพัฒนาแอปพลิเคชันอาหารและขนมพื้นบ้าน ชุมชนบ้านจีน โดยใช้งานผ่านระบบปฏิบัติการบนโทรศัพท์มือถือสามารถแสดงผลข้อมูลของอาหารและขนมพื้นบ้านอันเป็นอัตลักษณ์ของชุมชนเพื่อสามารถสืบค้นข้อมูลอาหารและขนมพื้นบ้านได้อย่างสะดวกรวดเร็ว อีกทั้งจัดเก็บข้อมูลในรูปแบบดิจิทัลประกอบด้วยภาพและวิดีโอซึ่งเป็นส่วนหนึ่งสำหรับส่งเสริมรายได้แก่ชุมชน สอดคล้องกับ Duong and Tung (2023) การส่งเสริมการท่องเที่ยวมีส่วนสำคัญในการพัฒนาเศรษฐกิจของหลายประเทศ โดยการประยุกต์ใช้เทคโนโลยีเพื่อสนับสนุนการท่องเที่ยว (Durand *et al.*, 2023) อีกทั้งการแสดงผลข้อมูลการเดินทางสำหรับนักท่องเที่ยวในรูปแบบดิจิทัล เพื่อเพิ่มความปลอดภัยมากขึ้นในระหว่างการเดินทางและการขยายกลุ่มลูกค้าเพิ่มขึ้นผ่านการนำเสนอสินค้าด้วยการประยุกต์ใช้เทคโนโลยีบนสมาร์ตโฟนเพื่อส่งเสริมการท่องเที่ยวเชิงวัฒนธรรม (Klinjan, 2021) และกิจกรรมท่องเที่ยวชุมชน ซึ่งเทคโนโลยีแอปพลิเคชันเป็นส่วนหนึ่งของการกระตุ้นเศรษฐกิจของชุมชน และอนุรักษ์วัฒนธรรมที่ดั้งเดิมของชุมชนเอาไว้ (Rawangwong *et al.*, 2021) โดยผ่านเทคโนโลยีที่ทันสมัยทันต่อยุคที่มีการเปลี่ยนแปลงในปัจจุบัน

4. สรุป

ผลการประเมินประสิทธิภาพการพัฒนาแอปพลิเคชันบนมือถือสำหรับการเผยแพร่อาหารและขนมพื้นบ้าน ชุมชนบ้านจีน ของกลุ่มตัวอย่างที่ได้ทดลองใช้จากบุคคลทั่วไป พบว่า แอปพลิเคชันที่จัดทำขึ้นใช้งานได้ง่าย สะดวก และรวดเร็ว มีความสอดคล้องต่อความต้องการของผู้ใช้ ลูกค้าสามารถสั่งซื้ออาหารและขนมพื้นบ้านผ่านแอปพลิเคชันได้ ซึ่งเป็นช่องทางหนึ่งในการส่งเสริมเศรษฐกิจของชุมชน ช่วยอนุรักษ์เอกลักษณ์ของอาหารและขนมพื้นบ้าน และสามารถต่อยอดไปสู่ภาคธุรกิจในรูปแบบ

ของพาณิชย์อิเล็กทรอนิกส์ให้เข้าถึงกลุ่มเป้าหมายสำหรับจำหน่ายผลิตภัณฑ์ของชุมชนได้

5. ข้อเสนอแนะ

สำหรับข้อเสนอแนะในการทำวิจัยในอนาคตหน่วยงานเทศบาลตำบลฉลุงควรส่งเสริมการจำหน่ายสินค้าในรูปแบบธุรกิจอิเล็กทรอนิกส์ผ่านช่องทางการจัดจำหน่ายอาหารและขนมพื้นบ้านผ่านระบบออนไลน์ที่สอดคล้องกับกลุ่มลูกค้า และสามารถพัฒนาต่อยอดแอปพลิเคชันโดยใช้เทคนิคกระบวนการเรียนรู้ของเครื่องสำหรับถ่ายภาพขนมเพื่อแสดงข้อมูลในรูปแบบอัตโนมัติ

6. กิตติกรรมประกาศ

บทความวิชาการฉบับนี้เป็นส่วนหนึ่งของงานวิจัยเรื่อง การยกระดับผลิตภัณฑ์ขนมพื้นบ้าน ชุมชนบ้านจีน:กรณีศึกษา เทศบาลตำบลฉลุง อำเภอเมือง จังหวัดสตูล ขอขอบคุณเทศบาลตำบลฉลุง วิทยาลัยรัตภูมิ มหาวิทยาลัยเทคโนโลยีราชมงคลศรีวิชัยและผู้ประกอบการอาหาร ขนมพื้นบ้านชุมชน ที่ให้ความอนุเคราะห์ข้อมูลอันเป็นประโยชน์ให้แก่ทีมวิจัย

7. เอกสารอ้างอิง

- Boonchom, V., Khamdam, K. and Kreutong, R. 2020. The Development of Android Application for Disseminating Thai Cultural Heritage of the Lower Southern Provinces of Thailand. **Thaksin University Journal** 23(3): 31-40. (in Thai)
- Boonmee, S., Putthidech, A., Tumdee, S. and Sookjam, A. 2023. Model of Tourism management of creative community-based tourism on Sustainable agriculture using Digital technology in Thap – Nam Banma Subdistrict, Bang Pahan District, Phra Nakhon Si Ayutthaya province. **Journal of Liberal Art of Rajamangala University of Technology Suvarnabhumi** 5(1): 1-14. (in Thai)
- Bunnoon, P., Nuansoi, W., Tunpanit, A. and Niseng, S. 2020. Factors Affecting Success in the Street Food Restaurant Business: Case Study of Chue- Chang Street Food, Hat Yai District, Songkla Province. **University of the Thai Chamber of Commerce Journal** 40(4): 99-119. (in Thai)

- Duong, T. and Tung, L. 2023. Travel Intention and Travel Behaviour in the Post-Pandemic Era: Evidence from Vietnam. **Organization and Markets in Emerging Economies** 4(1): 171-193.
- Durand, A., Hamersma, M. and Rienstra, S. 2023. **Use and perceived effects of digital travel information for car and public transport travel.** Ministry of Infrastructure and Water Management, Netherlands Institute for Transport Policy Analysis.
- Hongboonmee, N. and Khunbun, P. 2021. Development of an application for forecasting the sweetness of pomelo on smartphone using deep learning technique. **RMUTSB Academic Journal** 9(1): 92-105. (in Thai)
- Hongboonmee, N. and Wongpha, L. 2022. Classification of Chinese Herb Images Using Deep Learning Technique via Android Application. **Rajamangala University of Technology Srivijaya Research Journal** 15(2): 373-389. (in Thai)
- Jirapanthong, W., Intrachamnan, W., Poonsawat, B., Imsombat, A., Niranatumpom, W., Yampray, K. and Deechuay, N. 2021. A study of learning of digital business development with augmented reality technology via online system. **RMUTSB Academic Journal** 9(1): 106-117. (in Thai)
- Klinjan, C. 2121. The Virtual Reality Information System of Cultural Tourism in Lop Buri Province for Elderly Adults. **Rajamangala University of Technology Srivijaya Research Journal** 14(2): 497-512. (in Thai)
- Krajangchom, S. and Sangkakorn, K. 2019. Behaviors and Needs of Thai and Foreign Wellness Tourists in Upper North of Thailand. **University of the Thai Chamber of Commerce Journal** 40(1): 57-76. (in Thai)
- Martin, S., Castro, M., Gago, D. and Torres, D. 2013. Empowering communities on line: A Massive Open Online Community on App Development and Entrepreneurship, pp. 37-40. *In Proceedings of 2013 IEEE International Conference on Teaching, Assessment and Learning for Engineering.* Bali, Indonesia.
- Municipal office Chalung Subdistrict. 2016. **OTOP Chalung.** Business in the subdistrict. Available Source: <https://www.chalungcity.go.th/otop/index.php>, August 20, 2023.
- Preechapanich, O. 2015. **System Analysis and Design.** IDC Premier, Nonthaburi.
- Rattanachuchok, P. and Maneelert, C. 2021. Development of Learning Application on Intakhil Kiln and Earthenware Production. **Rajamangala University of Technology Srivijaya Research Journal** 14(3): 843-857. (in Thai)
- Rawangwong, S., Homkhiew, C., Cheewawuttipong, W., Pirom, T. and Kamnerdwam, A. 2021. Application of Quality Function Development Technique for Designing and Developing Bag-Type Bulrush Reed Products. **Rajamangala University of Technology Srivijaya Research Journal** 14(3): 633-649. (in Thai)
- Srisuwan, P. 2022. Competency-based courses to Enhance skills in Selling products Online. **RMUTSB Academic Journal** 4(3): 457-471. (in Thai)
- Tunpanit, A., Bunnoon, P., Suwanno, P. and Madsa, T. 2022. The Development of Specialty Food Application for Hat Yai: A Case Study. **ASEAN Journal of Scientific and Technological Report** 25(3): 34-44. (in Thai)
- Tungseng, T., Matthayomburut, W. and Sreesoompong, P. 2016. System Development of Community-Based Tourism Network of Satun Province. **Thaksin University Journal** 19(2): 67-80. (in Thai)
- Wiwattanachang, N., Vichalai, C., Jantasuto, O. and Youngsukasem, N. 2017. The innovative paddle-wheel from indigenous knowledge. **RMUTSB Academic Journal** 5(2): 169-178. (in Thai)



Research Article

The Effects of Dry Yeast Supplementation on Rumen Ciliated Protozoa Population and Volatile Fatty Acid Production in Lactating Beef Cows

Wiruntita Bohman ^a, Titipong Nokkeaw ^b, Supinya Chujai ^a, Jirawan Kotcharat ^a, Ratthasat Daorueng ^a

Rutdanai Sriboonnak ^a, Teerapong Muadsri ^c and Krittaya Nusai ^d

^a Faculty of Veterinary Science, Rajamangala University of Technology Srivijaya, Thungyai, Nakhon Si Thammarat 80240, Thailand.

^b Srivijaya Agricultural Development Center, Rajamangala University of Technology Srivijaya, Pathio, Chumphon 86160, Thailand.

^c Faculty of Agro-industry, Rajamangala University of Technology Srivijaya, Thungyai, Nakhon Si Thammarat 80240, Thailand.

^d Faculty of Science and Technology, Rajamangala University of Technology Srivijaya, Thung Song, Nakhon Si Thammarat 80110, Thailand.

ABSTRACT

Article history:

Received: 2023-11-27

Revised: 2024-08-22

Accepted: 2024-11-08

Keywords:

yeast;

protozoa;

ruminal pH;

volatile fatty acid;

beef cow

This present study aims to assess the impact of supplementing dry yeast (*Saccharomyces cerevisiae*: SC) on ruminal ciliated protozoa and volatile fatty acid production in lactating beef cows. Nine lactating beef cows were divided into three groups: the control group (SC0) received a 16% protein commercial concentrate diet without yeast supplementation at 0.5% of body weight (BW) in kilograms, while the second (SC2) and third (SC4) groups were given the basal diet along with 2 or 4 grams per head/day of SC, respectively, plus 10% BW roughage for 21 days. At the last day of experiment, ruminal fluid was collected at 2 time points (0 and 4 h post-feeding) using rumenocentesis technique. The samples underwent analysis for ruminal pH, ciliated protozoa motility and population, and volatile fatty acids production. Results demonstrated that the SC2 group exhibited a lower pre-feeding ruminal pH compared with the other groups ($P < 0.05$), whereas the SC4 group displayed reduced protozoa motility ($P < 0.05$). Although the SC2 group tended to have a higher ciliated protozoa population, this difference was not statistically significant. Total VFA production was significantly elevated in the SC4 group ($P < 0.05$), and both the SC2 and SC4 groups exhibited increased total VFAs and acetate levels post-feeding. The SC2 group displayed significantly higher acetate:propionate and acetate:butyrate ratios compared to the other groups ($P < 0.05$). These findings suggest that dry yeast supplementation can modulate rumen fermentation through alterations in protozoal activity and VFA profiles, with potential implications for digestive efficiency and nutrient absorption in lactating beef cows.

© 2025 Bohman, W., Nokkeaw, T., Chujai, S., Kotcharat, J., Daorueng, R., Sriboonnak, R., Muadsri, T. and Nusai, K. Recent Science and Technology published by Rajamangala University of Technology Srivijaya

* Corresponding author.

E-mail address: wiruntita.c@rmutsv.ac.th

Cite this article as:

Bohman, W., Nokkeaw, T., Chujai, S., Kotcharat, J., Daorueng, R., Sriboonnak, R., Muadsri, T. and Nusai, K. 2025. The Effects of Dry Yeast Supplementation on Rumen Ciliated Protozoa Population and Volatile Fatty Acids Production in Lactating Beef Cows. *Recent Science and Technology* 17(1): 261372.

1. Introduction

During the lactating period, beef cows require high energy to support the milk production process for 6-7 months of calf raising. This phase is considered the most stressful for beef cows as the milk contains both high levels of fat and protein to support calf growth. Changes in body condition score as a marker of energy imbalance have been reported to negatively affect reproductive performances in postpartum cows (Humblot *et al.*, 2008). Providing high-quality nutrition to beef cows during this critical period is essential for optimizing feed utilization and enhancing nutrient absorption, which helps maintain optimal body condition scores, supports substantial milk production, and promotes reproductive function. Feed supplementation, particularly with yeast, has been demonstrated to improve digestive efficiency and nutrient absorption, thereby contributing to increased milk yield, the prevention of metabolic disorders, and enhanced reproductive performance in dairy cows (Szucs *et al.*, 2013; Kalmus *et al.*, 2019). However, the traditional practice of free-range grazing for beef cattle in Thailand often leads farmers to neglect proper nutrition management, including the potential benefits of yeast supplementation, which are crucial to meeting the cows' nutritional needs and sustaining their gut health during lactation.

The cattle rumen serves a pivotal function as the organ responsible for synthesizing volatile fatty acids (VFAs), including acetate, propionate, and butyrate, through microbial fermentation (France and Siddons, 1993). These VFAs act as the primary energy source for ruminants, contributing to around 70% of their total energy requirements. The quantity of each VFA produced is influenced by dietary composition (Moran, 2005). In the realm of rumen ecology, a diverse range of microorganisms, including cellulolytic bacteria, lactate-producing bacteria, and ciliate protozoa, are commonly found. Each type of microorganism plays a specific role in fermenting and breaking down various nutrients (Castillo-González *et al.*, 2014). Notably, rumen ciliated protozoa are recognized for their fibrolytic activity, contributing to 19-28% of the cellulase activity within the total fibrolytic activity in the rumen (Patel and Ambalam, 2008). Their significant role of

microorganisms in rumen function is evident in their association with feed digestion and fermentation, as well as in their impact on nitrogen utilization efficiency and methanogenesis (Newbold *et al.*, 2015; Park *et al.*, 2021). In normal cattle, the pH value typically falls within the range of 6.0 to 7.0. Variation in ruminal pH is a crucial factor that influences the population of microorganisms and the fermentation processes within the rumen, thereby affecting the production of volatile fatty acids (VFAs) and methane. Consequently, maintaining a balanced acid-base environment in the rumen is essential for the overall well-being of cattle (Dijkstra *et al.*, 2020).

Saccharomyces cerevisiae (SC) is commonly used as a probiotic supplement in ruminant feed to reduce the need for antimicrobial drugs. These yeasts can proliferate in the digestive system of animals, aiding in the fermentation and digestion of carbohydrates and cellulose within the rumen. The benefits of supplementing live yeast in cattle feed, especially in dairy cows, have been thoroughly studied (Kowalik *et al.*, 2012; Marden *et al.*, 2008). Previous research suggests that live yeast supplementation within the range of 2-5 grams per individual per day plays a role in regulating rumen acidity (Ambriz-Vilchis *et al.*, 2017). This supplementation also positively influences rumen fermentation processes, promoting the production of propionate. This enhancement contributes to the efficient utilization of starch as an energy source. Furthermore, the incorporation of commercial dry yeast at a dosage ranging from 2 to 10 grams per cow per day in the diet of dairy cows has been shown to enhance milk yield and improve milk composition (Kalmus *et al.*, 2019; Besseboua *et al.*, 2020). Additionally, it reduces somatic cell count, which is indicative of improved udder health, and decreases the concentrations of beta-hydroxybutyrate (BHB) and free fatty acids (FFA) in the blood, which are associated with a reduced risk of ketosis (Kalmus *et al.*, 2009; Yalcin *et al.*, 2011; Szucs *et al.*, 2013). Williams *et al.* (1991) and Ding *et al.* (2014) conducted a study on supplementing yeast in beef cattle. The results of these studies demonstrated an enhancement in the efficiency of roughage digestion in the rumen, along with an increase in the population of beneficial microorganisms in the

rumen. We hypothesize that dietary yeast supplementation in lactating beef cows in tropical regions will enhance digestion and increase volatile fatty acid production, thereby improving nutrient utilization for milk production and ultimately benefiting the calves. These processes may differ from those observed in dairy cows, as current literature on the use of dry yeast in lactating beef cows, particularly its effects on ruminal microbiota and metabolic processes, remains relatively limited. Therefore, this study aims to address this gap by investigating the impact of SC supplementation on ruminal ciliated protozoa populations and VFA production. It will provide insights into the potential of SC as an alternative probiotic, supporting fiber digestion and rumen pH balance, thereby enhancing digestive efficiency and nutrient absorption in lactating beef cows.

2. Materials and Methods

2.1 Animals and Experimental designs

The research focused on Brahman-crossbred beef cows, aged 4 to 7 years and calved within the past 30 days. The nine cows, with an average weight of 349.55 ± 37.20 kilograms, were individually housed in open-sided barn pens at the Srivijaya Agricultural Development Center in Pathio District, Chumphon Province. Prior to the experiment, all cows received vitamin AD3E injections and Ivermectin-F treatment. The animals were randomly assigned to three experimental groups. Cows received fresh Napier grass *ad libitum*, representing 10% of their body weight (BW) daily, and a single daily meal of pelleted feed containing 16% crude protein, comprising 0.5% of their BW. The

chemical composition of the basal diets (concentrate and roughage) fed in the experiment based on dry matter is represented in Table 1. Each group was administered varying levels of commercial dry yeast supplementation (*Saccharomyces cerevisiae*, 20×10^7 cells/gram, RumenYeast®, ICC, Santa Maria, Brazil) at doses of 0g (SC0), 2g (SC2), or 4g (SC4) per individual per day. The 21-day experiment included a 14-day adaptation period and a 7-day sample collection period to acclimate the cows to the experimental conditions and feed. This research has received approval for animal husbandry and scientific research from Institutional Animal Care and Use Committee, Rajamangala University of Technology Srivijaya (ID# IAC 04-12-63).

2.2 Ruminal fluid collection

In the final day of the experiment, rumen fluid samples were collected from each experimental group before (0 hours) and after feeding (4 hours). Using aseptic techniques, rumenocentesis was performed with an 18 G, 4-inch needle inserted through the left abdominal wall. The needle was advanced 20 centimeters above the pelvic brim to collect 25-30 milliliters of rumen fluid (Duffield *et al.*, 2004), which was immediately measured for pH using a tabletop pH meter (HORIBA, Kyoto, Japan). The collected fluid was then divided: 1) One milliliter was mixed with 9 milliliters of 10% formalin solution for preserving rumen protozoa population analysis and 2) Five milliliters were supplemented with 5 milliliters of 1 M H_2SO_4 for volatile fatty acids (VFAs) analysis, specifically acetate (C2), propionate (C3), and butyrate (C4).

Table 1 The chemical composition of the basal diets, including both concentrate and roughage, utilized in the experiment was analyzed on a dry matter basis.

Composition	Concentrate	Roughage
Crude protein (%)	15.71	5.48
Fat (%)	4.74	0.78
Ash (%)	9.94	5.79
Gross Energy (cal/g)	4,306.55	3,942.63

2.3 Evaluation of Protozoa Motility Scores

Rumen fluid was collected and immediately transferred to a sterile glass slide. A coverslip was applied, and protozoal motility was observed under a 40x magnification microscope. Protozoal motility scores were assessed using light microscopy according to the methodology described by Shah *et al.* (2018). Protozoa in the rumen were categorized into four motion levels based on their observed characteristics under the microscope. Level 3 indicates rapid movement and densely packed group, Level 2 represents moderately fast movement and moderately packed group, Level 1 signifies slow movement and small groups, while Level 0 denotes no movement and dispersed protozoa with a low number of living organisms.

2.4 Counting and Classifying the Population of Rumen Ciliated Protozoa

Ciliated protozoa in the rumen were examined by diluting samples with 10 % formalin, using Lugol's iodine staining, and counting under a microscope. Protozoan types based on genus were identified using a microscopic method described by Ogimoto and Imai, (1981) and Dehority (2018). Protozoa counting was conducted by considering the genus types per milliliter.

2.5 Analysis of Volatile Fatty Acids in Rumen Fluid

The analysis of volatile fatty acids (VFAs) in rumen fluid, which are crucial components, including acetate (C2), propionate (C3), and butyrate (C4), was conducted using High-Performance Liquid Chromatography (HPLC; Model LC-20A, Shimadzu, Kyoto, Japan). The HPLC system utilized a C18 column at a temperature of 30 degrees Celsius. The mobile phase consisted of 10mM potassium dihydrogen phosphate (KH_2PO_4) with a flow rate of 1.5 milliliters per minute, and detection was performed at a wavelength of 210 nanometers. The injection volume for the sample was 20 microliters, and the analysis time was set at 20 minutes.

2.6 Statistical Analysis

In this study, statistical analysis was conducted using the software IBM® SPSS® Statistics version 20. The statistical tests employed for hypothesis testing

included One-Way Analysis of Variance (ANOVA) to assess variance and post-hoc tests, specifically Dunnett's method, to compare mean differences between experimental and control groups. The statistical results will be presented as mean values with the corresponding Standard Error of the Mean (SEM). Furthermore, the significance level for all statistical tests will be established at a 95% confidence level ($P < 0.05$) and a 99% confidence level ($P < 0.01$).

3. Results and Discussion

The impact of yeast supplementation on the ruminal pH

Our results demonstrated that the SC2 group exhibited a ruminal pH of 6.91 ± 0.02 , which was significantly different from the control group (7.16 ± 0.66) and the SC4 group (7.39 ± 0.07) before feeding ($P < 0.05$). However, no significant differences were observed in ruminal pH at 4 hours post-feeding among the three experimental groups. Postprandial ruminal pH measurements showed the SC2 group at 6.40 ± 0.16 , the SC4 group at 6.51 ± 0.06 , and the control group at 6.68 ± 0.03 , as illustrated in Figure 1. These findings are consistent with previous studies reporting an increase in ruminal pH following yeast supplementation in sheep and dairy cows (Thrune *et al.*, 2009; Silberberg *et al.*, 2013; Diaz *et al.*, 2018). The consistently low ruminal pH in the SC2 group suggested either enhanced microbial acidogenesis or reduced buffering capacity. Potential mechanisms include alterations in rumen microbiota (Kim *et al.*, 2018), increased fermentation (Li *et al.*, 2021) and decreased saliva production (Dijkstra *et al.*, 2012). In addition, previous studies suggested that the effect of SC supplementation on ruminal pH may vary due to yeast dosage and/or the composition of dietary concentrates, which influence rumen digestibility (Bach *et al.*, 2007; Thrune *et al.*, 2009). Further investigation should involve characterizing the rumen microbiome within each group and assessing saliva flow rates to elucidate the factors contributing to the observed differences in ruminal pH.

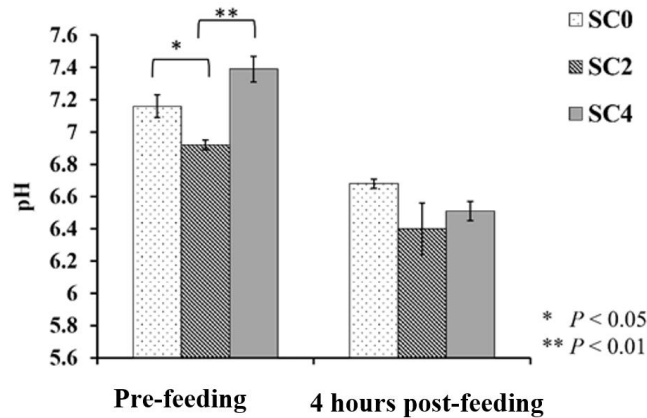


Figure 1 Ruminal pH levels of lactating beef cows that received different quantities of yeast powder at pre-feeding and 4-hours post-feeding on the 21st day of the experiment. The symbols * and ** denote significant differences with *P*-values of < 0.05 and < 0.01, respectively.

Table 2 Comparative Analysis of Rumen Protozoa Motility Scores Pre-feeding and 4 Hours Post-Feeding in Various Yeast-Supplemented Groups.

Time post-feeding	Protozoa Motility Score			<i>P</i> -value
	SC0	SC2	SC4	
0 hours	3.00 ± 0.00 ^a	2.33 ± 0.33 ^a	1.00 ± 0.57 ^b	0.027
4 hours	2.00 ± 1.00	3.00 ± 0.00	2.66 ± 0.33	0.533

a vs b: a significant difference in same row (*P* < 0.05)

The impact of yeast supplementation on the rumen ciliated protozoa

Our results showed that pre-feeding, the movement of ciliated protozoa in the rumen fluid differed significantly among the control group, SC2, and SC4, with scores of 3.00 ± 0.00 , 2.33 ± 0.33 , and 1.00 ± 0.57 , respectively (Table 2). The SC4 group exhibited significantly slower protozoa motility compared to the control group (*P* < 0.05). However, no statistically significant differences in protozoal motility were observed among the groups four hours post-feeding. Mean motility scores were 3.00 ± 0.00 for SC2, 2.66 ± 0.33 for SC4, and 2.00 ± 1.00 for the control group (Table 2).

These findings suggest a potential antiprotozoal effect of the higher yeast supplementation level. However, this effect was not sustained post-feeding, as no significant differences in protozoal motility were observed among groups. The transient nature of this inhibition may be attributed to the complex dynamics of the rumen environment, including fluctuations in pH and substrate availability. The observed decrease in protozoal motility is likely due to an elevated pre-feeding ruminal pH. Ciliated protozoa are known to be sensitive to pH extremes (Clarke, 1977; Dehority, 2005; Franzolin and Dehority, 2010), suggesting that the strongly acidic or alkaline environment indirectly inhibited their movement.

Table 3 Average Number of Rumen Protozoa Genera per Milliliter ($\times 10^5$ cells) in Various Yeast-Supplemented Groups Pre-feeding and 4 Hours Post-Feeding.

Time post-feeding	Protozoa genera	Number of Protozoa ($\times 10^5$ cells/mL)			P-value
		SC0	SC2	SC4	
0 h	<i>Entodinium spp.</i>	8.5 $\pm$ 0.51	17.80 $\pm$ 5.10	5.87 $\pm$ 0.72	0.067
	<i>Diplodinium spp.</i>	0.92 $\pm$ 0.92	1.75 $\pm$ 0.88	0.00 $\pm$ 0.00	0.312
	<i>Polyplaston spp.</i>	0.69 $\pm$ 0.69	0.04 $\pm$ 0.04	0.04 $\pm$ 0.04	0.469
	<i>Eudipladinium spp.</i>	0.87 $\pm$ 0.62	0.32 $\pm$ 0.20	0.83 $\pm$ 0.36	0.627
	<i>Enodinium spp.</i>	0.32 $\pm$ 0.16	0.13 $\pm$ 0.09	0.00 $\pm$ 0.00	0.182
	<i>Metadinium spp.</i>	0.27 $\pm$ 0.27	0.18 $\pm$ 0.09	0.00 $\pm$ 0.00	0.533
	<i>Diploplastron spp.</i>	0.64 $\pm$ 0.64	0.27 $\pm$ 0.21	0.00 $\pm$ 0.00	0.541
	<i>Eremoplastron spp.</i>	0.87 $\pm$ 0.20	1.61 $\pm$ 0.44	0.87 $\pm$ 0.43	0.346
	<i>Chronina spp.</i>	1.38 $\pm$ 0.57	2.08 $\pm$ 0.24	1.29 $\pm$ 0.56	0.500
	<i>Dasytricha spp.</i>	12.11 $\pm$ 7.33	5.04 $\pm$ 0.24	4.76 $\pm$ 2.06	0.465
	<i>Isotricha spp.</i>	4.57 $\pm$ 2.91	1.57 $\pm$ 0.46	3.88 $\pm$ 2.77	0.656
	Total	31.25 $\pm$ 12.57	67.64 $\pm$ 14.61	30.79 $\pm$ 6.96	0.509
4 h	<i>Entodinium spp.</i>	13.40 $\pm$ 4.36	16.27 $\pm$ 4.52	10.81 $\pm$ 5.68	0.744
	<i>Diplodinium spp.</i>	2.17 $\pm$ 2.17	2.91 $\pm$ 1.24	1.15 $\pm$ 1.15	0.747
	<i>Polyplaston spp.</i>	1.06 $\pm$ 0.86	0.00 $\pm$ 0.00	0.23 $\pm$ 0.23	0.370
	<i>Eudipladinium spp.</i>	0.88 $\pm$ 0.88	1.06 $\pm$ 0.46	0.46 $\pm$ 0.33	0.782
	<i>Enodinium spp.</i>	0.00 $\pm$ 0.00	0.18 $\pm$ 0.18	0.00 $\pm$ 0.00	0.422
	<i>Diploplastron spp.</i>	0.00 $\pm$ 0.00	0.09 $\pm$ 0.09	0.00 $\pm$ 0.00	0.422
	<i>Eremoplastron spp.</i>	1.66 $\pm$ 0.42	1.98 $\pm$ 0.40	1.43 $\pm$ 0.36	0.638
	<i>Chronina spp.</i>	1.61 $\pm$ 0.53	1.66 $\pm$ 1.24	4.57 $\pm$ 2.95	0.486
	<i>Dasytricha spp.</i>	32.50 $\pm$ 14.28	50.90 $\pm$ 6.08	41.93 $\pm$ 6.64	0.459
	<i>Isotricha spp.</i>	12.66 $\pm$ 6.93	13.17 $\pm$ 4.40	7.03 $\pm$ 2.56	0.645
	Total	67.56 $\pm$ 5.72	88.26 $\pm$ 20.89	65.97 $\pm$ 28.51	0.690

The research findings revealed that there were 11 genera: *Entodinium*, *Diplodinium*, *Polyplaston*, *Eudipladinium*, *Enodinium*, *Metadinium*, *Diploplastron*, *Eremoplastron*, *Chronina*, *Dasytricha*, and *Isotricha* during the study period (Table 3). These ciliated protozoa significantly contribute to the breakdown of feedstuffs, particularly complex carbohydrates, proteins, and lipids, with each species possessing unique functional capabilities (Choudhury *et al.*, 2015; Newbold *et al.*, 2015). Our investigations reveal that SC supplementation had no discernible impact on the quantities of ruminal protozoa at the genus level across the two examination periods ($P > 0.05$). Moreover, while SC supplementation did not significantly affect the overall abundance of

ruminal protozoa at the genus level, the SC2 group consistently demonstrated higher total protozoal populations both pre- and post-feeding. Prior to feeding, a noticeable tendency toward an increase in the number of *Entodinium* spp. in the rumen of SC2 cows was observed compared to the other groups ($P = 0.067$). These species are key for starch and plant cell wall degradation, contributing significantly to VFA production (Wang *et al.*, 2019). These findings suggest that SC supplementation might be influencing the protozoal community structure rather than simply increasing the total number of organisms. In contrast to the study by Kowalik *et al.* (2012), which observed increased rumen protozoa, including *Entodinium*, in Jersey heifers fed

yeast metabolites, the absence of a similar response to live SC supplementation highlights the complexity of yeast product effects on ruminal protozoa. Furthermore, variations in yeast product composition and dosage across studies hinder direct comparisons and limit definitive conclusions. The observed increase in *Entodinium* spp. within the SC2 group warrants further investigation. These results align with Galip (2006), who reported increased rumen ciliate protozoa populations following dry yeast supplementation in rams. However, contrasting results have been reported. Phesatcha *et al.* (2021) observed decreased rumen protozoa and methanogen populations in Thai native beef cattle following dry yeast supplementation. Concurrently, increased abundances of cellulolytic bacteria, including *Ruminococcus flavefaciens*, *Butyrivibrio fibrisolvens*, and *Fibrobacter succinogenes*, were reported (Zhu *et al.*, 2017; Phesatcha *et al.*, 2021). Our findings suggest that SC supplementation had a minimal effect on rumen ciliated protozoa populations, potentially influencing feed degradation and VFA production. The complex interactions within the rumen microbiome, including dynamic fluctuations in pH, likely play a significant role in determining the response to yeast supplementation. To gain a deeper understanding of these mechanisms, future research should focus on quantifying the relative abundances of total bacteria, fiber-degrading bacteria, and methanogens. This will help elucidate how SC supplementation interacts with the broader rumen microbial community and its impact on key metabolic processes.

The impact of yeast supplementation on the ruminal VFAs production

The results of the ruminal VFA concentrations, as shown in Table 4. Pre-feeding, the SC4 group exhibited significantly higher total VFA concentrations (179.03 ± 1.43 mmol/L) compared to the control and SC2 groups ($P < 0.05$). Acetate (A) concentrations tended to be higher in the SC4 group (103.65 ± 2.40 mmol/L) compared to the other groups ($P = 0.057$), although this difference did not reach statistical significance. No significant differences were observed in propionate (P), butyrate (B), A:P, or A+B:P ratios among the groups. Post-feeding, the SC2 group

displayed the highest total VFA production (280.60 ± 16.86 mmol/L; $P < 0.05$), with both the SC2 and SC4 groups exhibiting significantly elevated acetate concentrations compared to the control group ($P < 0.05$). However, propionate and butyrate levels did not differ significantly among the groups. The SC2 group demonstrated significantly higher A:P and A+B:P ratios compared to the other groups ($P < 0.05$).

The observed pre-feeding elevation in total VFA concentration, particularly acetate, within the SC4 group suggests a potential stimulation of microbial fermentation by the higher yeast supplementation level. This finding is in agreement with previous studies demonstrating increased VFA production following yeast supplementation (Marden *et al.*, 2008). Conversely, Phesatcha *et al.* (2021) reported an increase in total VFAs and propionic acid, accompanied by a decrease in acetic and butyric acid levels, when beef cattle were fed urea-lime-treated rice straw supplemented with 3 g/day of dry yeast. These changes were attributed to the stimulation of cellulolytic bacterial populations. However, the lack of significant differences in other VFA parameters indicates that the influence of yeast on VFA profile may be complex and dependent on dietary factors and experimental conditions.

The post-feeding increases in total VFAs and acetate in both the SC2 and SC4 groups suggests a sustained stimulatory effect of yeast on rumen fermentation. The higher A:P and A+B:P ratios observed in the SC2 group may indicate shifts in microbial populations toward a more fibrolytic profile, leading to increased acetate production. These results are similar to previous research demonstrating that live yeast supplementation can augment fiber digestion in dairy cows fed high-forage diets by stimulating fibrolytic bacteria and fungi, thereby facilitating microbial colonization of fibrous substrates (Chaucheyras-Durand *et al.*, 2016). The lack of significant differences in propionate and butyrate levels suggests that the primary effect of dry yeast supplementation on VFA production is an increase in acetate, potentially through the stimulation of cellulolytic bacteria. However, further research is required to elucidate the specific mechanisms underlying these changes and to determine the long-term implications for animal performance.

Table 4 The concentration (mmol/L) of three major ruminal VFAs (Acetate, Propionate and Butyrate) in the different yeast-supplemented groups, both pre-feeding and 4-hours post-feeding.

Time post-feeding	VFAs (mmol/L)	Treatments			P-value
		SC0	SC2	SC4	
0 hours	Total VFAs	158.25±5.01 ^a	151.19±8.72 ^a	179.03±1.43 ^b	0.036
	Acetate (A)	88.59±3.24	89.36±5.36	103.65±2.40	0.057
	Propionate (P)	27.75±2.26	28.28±1.91	31.57±1.84	0.405
	Butyrate (B)	41.90±0.81	33.56±7.39	43.80±0.80	0.278
	A:P ratio	3.22±0.21	3.17±0.15	3.31±0.27	0.893
	A+B:P ratio	4.75±0.30	4.36±0.15	4.71±0.37	0.605
4 hours	Total VFAs	192.57±13.88 ^a	280.60±16.86 ^b	252.68±17.79 ^b	0.022
	Acetate (A)	100.18±7.99 ^a	168.08±7.27 ^b	143.60±15.07 ^b	0.011
	Propionate (P)	46.20±3.00	52.93±2.08	54.54±1.39	0.084
	Butyrate (B)	37.91±8.06	40.55±8.07	53.38±2.20	0.292
	A:P ratio	2.16±0.05 ^a	3.18±0.06 ^b	2.62±0.22 ^a	0.005
	A+B:P ratio	3.16±0.05 ^a	4.29±0.11 ^b	3.62±0.22 ^a	0.004

4. Conclusion

This study investigated the effects of dry yeast supplementation on ruminal pH, ciliated protozoa, and fermentation parameters in lactating beef cows. While yeast supplementation resulted in a transient decrease in ruminal pH, it had minimal effects on protozoa populations and motility. However, a positive impact on rumen fermentation was evident, as indicated by increased total VFA and acetate production. These findings highlight the intricate relationship between yeast, rumen microorganisms, and fermentation processes. Future research is necessary to clarify the specific mechanisms involved and optimize yeast supplementation strategies for improving the digestive efficiency and nutrient utilization of lactating beef cows.

5. Recommendations

The findings of this study diverge from previous research, likely due to the use of high-quality forage. To induce more pronounced treatment effects in future investigations, it is recommended to employ a lower-quality diet to create a more challenging environment for the animals. Moreover, the study did not identify significant benefits from additional yeast application, suggesting potential methodological limitations. Future research should refine the approach, with a particular

focus on yeast-related factors, to enhance the study's validity and generate more meaningful insights. The relatively small sample size per group may have constrained statistical power, emphasizing the need for larger sample sizes. Alternatively, a Latin square design could help minimize within-group variation, leading to more reliable results.

6. Acknowledgment

This research project received funding from Rajamangala University of Technology Srivijaya for the fiscal year 2022. The researchers express gratitude to the Faculty of Veterinary Sciences, the Faculty of Agro-industry, Rajamangala University of Technology Srivijaya and the Srivijaya Agricultural Development Center for their support in providing tools and equipment for the research.

7. References

- Ambriz-Vilchis, V., Jessop, N.S., Fawcett, R.H., Webster, M., Shaw, D.J., Walker, N. and Macrae, A.I. 2017. Effect of yeast supplementation on performance, rumination time, and rumen pH of dairy cows in commercial farm environments. *Journal of Dairy Science* 100(7): 5449-5461.

- Bach, A., Iglesias, C. and Devant, M. 2007. Daily rumen pH pattern of loose-housed dairy cattle as affected by feeding pattern and live yeast supplementation. **Animal Feed Science and Technology** 136(1-2): 146-153.
- Besseboua, O., Benbarek, H., Hornick, J.L. and Ayad, A. 2020. Effect of yeast *Saccharomyces cerevisiae* feed supplement on milk production and its composition of lactating Holstein Friesian cows from Northern Algeria. **Journal of Istanbul Veterinary Sciences** 4(2): 64-74.
- Castillo-González, A.R., Burrola-Barraza, M.E., Domínguez-Viveros, J. and Chávez-Martínez, A. 2014. Rumen microorganisms and fermentation. **Archivos de Medicina Veterinaria** 46(3): 349-361.
- Chaucheyras-Durand, F., Ameilbonne, A., Bichat, A., Mosoni, P., Ossa, F. and Forano, E. 2016. Live yeasts enhance fibre degradation in the cow rumen through an increase in plant substrate colonization by fibrolytic bacteria and fungi. **Journal of Applied Microbiology** 120(3): 560-570.
- Choudhury, P.K., Salem, A.Z.M., Jena, R., Kumar, S., Singh, R. and Puniya, A. K. 2015. Rumen Microbiology : An Overview, pp. 3-16. In Puniya, A.K., eds. **Rumen Microbiology: From Evolution to Revolution**. Springer India.
- Clarke, R.T.J. 1997. Protozoa in the rumen ecosystem, pp. 251-275. In Clarke, T.T.J. and Bauchop, T. eds. **Microbial ecology of the gut**. Academic Press, New York.
- Dehority, B.A. 2005. Effect of pH on viability of *Entodinium caudatum*, *Entodinium exiguum*, *Epidinium caudatum*, and *Ophryoscolex purkynjei* in vitro. **Journal of Eukaryotic Microbiology** 52(4): 339-342.
- Dehority, B.A. 2018. **Laboratory manual for classification and morphology of rumen ciliate protozoa**. CRC Press.
- Diaz, T.G., Branco, A.F., Jacovaci, F.A., Jobim, C.C., Daniel, J.L.P., Bueno, A.V.I. and Ribeiro, M.G. 2018. Use of live yeast and mannan-oligosaccharides in grain-based diets for cattle: Rumenal parameters, nutrient digestibility, and inflammatory response. **PLoS One** 13(11): e0207127.
- Dijkstra, J., Ellis, J.L., Kebreab, E., Strathe, A.B., López, S., France, J. and Bannink, A. 2012. Rumenal pH regulation and nutritional consequences of low pH. **Animal Feed Science and Technology** 172(1-2): 22-33.
- Dijkstra, J., Van Gastelen, S., Dieho, K., Nichols, K. and Bannink, A. 2020. Review: Rumen sensors: Data and interpretation for key rumen metabolic processes. **Animal** 14 (supplement 1): s176-s186.
- Ding, G., Chang, Y., Zhao, L., Zhou, Z., Ren, L. and Meng, Q. 2014. Effect of *Saccharomyces cerevisiae* on alfalfa nutrient degradation characteristics and rumen microbial populations of steers fed diets with different concentrate-to-forage ratios. **Journal of animal science and biotechnology** 5(1): 24.
- Duffield, T., Plaizier, J.C., Fairfield, A., Bagg, R., Vessie, G., Dick, P., Wilson, J., Aramini, J. and McBride, B. 2004. Comparison of techniques for measurement of rumen pH in lactating dairy cows. **Journal of Dairy Science** 87(1): 59-66.
- France, J. and Siddons, R.C. 1993. Volatile fatty acid production, pp. 157-175. In Dijkstra, J., Forbes, J.M. and France J., eds. **Quantitative aspects of ruminant digestion and metabolism**. (2nd ed). CABI Publishers.
- Franzolin, R. and Dehority, B.A. 2010. The role of pH on the survival of rumen protozoa in steers. **Revista Brasileira de Zootecnia** 39: 2262-2267.
- Galip, N. 2006. Effect of supplemental yeast culture and sodium bicarbonate on ruminal fermentation and blood variables in rams. **Journal of animal physiology and animal nutrition** 90(11-12): 446-452.
- Humblot, P., Grimard, B., Freret, S., Charpigny, G., Ponter, A.A., Seegers, H.E.N.R.I., Ponsart, C., Garnsworthy, P.C. and Wiseman, J. 2008. Impact of energy balance on metabolic changes and reproductive tissues;

- consequences for ovarian activity and fertility in dairy and beef cattle, pp. 1-14. *In* Garnsworthy, P.C., and Wiseman.J., eds. **Recent Advance in Animal Nutrition**. Nottingham University Press, Nottingham.
- Kalmus, P., Orro, T., Waldmann, A., Lindjärv, R. and Kask, K. 2009. Effect of yeast culture on milk production and metabolic and reproductive performance of early lactation dairy cows. **Acta Veterinaria Scandinavica** 51(1): 32.
- Kim, Y.H., Nagata, R., Ohkubo, A., Ohtani, N., Kushibiki, S., Ichijo, T. and Sato, S. 2018. Changes in ruminal and reticular pH and bacterial communities in Holstein cattle fed a high-grain diet. **BMC Veterinary Research** 14: 1-10.
- Kowalik, B., Skomial, J., Pajak, J.J., Taciak, M., Majewska, M. and Belzecki, G. 2012. Population of ciliates, rumen fermentation indicators, and biochemical parameters of blood serum in heifers fed diets supplemented with yeast (*Saccharomyces cerevisiae*) preparation. **Animal Science Papers and Reports** 30(4): 329-338.
- Li, M.M., White, R.R., Guan, L.L., Harthan, L. and Hanigan, M.D. 2021. Metatranscriptomic analyses reveal ruminal pH regulates fiber degradation and fermentation by shifting the microbial community and gene expression of carbohydrate-active enzymes. **Animal Microbiome** 3(1): 32.
- Marden, J.P., Julien, C., Monteils, V., Auclair, E., Moncoulon, R. and Bayourthe, C. 2008. How does live yeast differ from sodium bicarbonate to stabilize ruminal pH in high-yielding dairy cows? **Journal of Dairy Science** 91(9): 3528-3535.
- Moran, J. 2005. **Tropical dairy farming: feeding management for small holder dairy farmers in the humid tropics**. Landlinks Press, Victoria.
- Newbold, C.J., De La Fuente, G., Belanche, A., Ramos-Morales, E. and McEwan, N.R. 2015. The role of ciliate protozoa in the rumen. **Frontiers in Microbiology** 6: 1313.
- Ogimoto, K. and Imai, S. 1981. **Atlas of rumen microbiology**. Japan Scientific Societies Press, Tokyo.
- Park, T., Wijeratne, S., Meulia, T., Firkins, J.L. and Yu, Z. 2021. The macronuclear genome of anaerobic ciliate *Entodinium caudatum* reveals its biological features adapted to the distinct rumen environment. **Genomics** 113(3): 1416-1427.
- Patel, S. and Ambalam, P. 2018. Role of rumen protozoa: Metabolic and fibrolytic. **Advance in Biotechnology and Microbiology** 10(4): 79-84.
- Phesatcha, K., Chunwijitra, K., Phesatcha, B., Wanapat, M. and Cherdthong, A. 2021. Addition of active dry yeast could enhance feed intake and rumen bacterial population while reducing protozoa and methanogen population in beef cattle. **Fermentation** 7(3): 172.
- Shah, O.S., Shaheen, M., Bhat, R.A., Hussain, T. and Amin, U. 2018. Prevalence of Different Rumen Dysfunction in South down Sheep in Kashmir valley. **International Journal of Livestock Research** 8(3): 260-264.
- Silberberg, M., Chaucheyras-Durand, F., Commun, L., Mialon, M.M., Monteils, V., Mosoni, P., Morgavi, D.P. and Martin, C. 2013. Repeated acidosis challenges and live yeast supplementation shape rumen microbiota and fermentations and modulate inflammatory status in sheep. **Animal** 7(12): 1910-1920.
- Szucs, J.P., Suli, A., Halasz, T., Arany, A. and Bodor, Z. 2013. Effect of live yeast culture *Saccharomyces cerevisiae* on milk production and some blood parameters. **Scientific Papers Animal Science and Biotechnologies** 46(1): 40-44.
- Throne, M., Bach, A., Ruiz-Moreno, M., Stern, M.D. and Linn, J.G. 2009. Effects of *Saccharomyces cerevisiae* on ruminal pH and microbial fermentation in dairy cows. *Yeast*

supplementation on rumen fermentation.

Livestock Science 124 (1-3): 261-265.

Wang, L., Abu-Doleh, A., Plank, J., Catalyurek, U.V.,
Firkins, J.L. and Yu, Z. 2019. The transcriptome
of the rumen ciliate *Entodinium caudatum*
reveals some of its metabolic features. **BMC
Genomics** 20: 1-18.

Williams, P.E.V., Tait, C.A.G., Innes, G.M. and
Newbold, C.J. 1991. Effects of the inclusion
of yeast culture (*Saccharomyces cerevisiae*
plus growth medium) in the diet of dairy cows
on milk yield and forage degradation and
fermentation patterns in the rumen of steers.
Journal of Animal Science 69(7): 3016-
3026.

Yalcin, S., Yalcin, S., Can, P., Gurdal, A.O., Bagci, C.
and Eltan, O. 2011. The nutritive value of
live yeast culture (*Saccharomyces cerevisiae*)
and its effect on milk yield, milk composition
and some blood parameters of dairy cows.
**Asian-Australasian Journal of Animal
Sciences** 24(10): 1377-1385.

Zhu, W., Wei, Z., Xu, N., Yang, F., Yoon, I., Chung, Y.,
Liu, J., Wang, J. 2017. Effects of
Saccharomyces cerevisiae fermentation
products on performance and rumen
fermentation and microbiota in dairy cows
fed a diet containing low quality forage.
Journal of Animal Science and Biotechnology
8: 36.



Research Article

The Effect of Vulcanization Temperature on the Properties of Natural Rubber Latex to Prepare the Suturing Training Pad

Korn Taksapattanakul ^{a*}, Suchada Saengwiman ^a, Arom Puteh ^a, Niasmihan Niseng ^b and Suchada Srichai ^b

^a Faculty of Science and Technology, Princess of Naradhiwas University, Muang Narathiwat, Narathiwat 96000, Thailand.

^b PNU Wittayanusorn School, Faculty of Science and Technology, Princess of Naradhiwas University, Muang Narathiwat, Narathiwat 96000, Thailand.

ABSTRACT

Article history:

Received: 2024-08-27

Revised: 2024-12-13

Accepted: 2024-12-17

Keywords:

suturing material;
medical training lab;
natural rubber;
skin simulation;
suture

This study focuses on the controlled curing method for preparing natural rubber latex as a suturing training pad. Local natural rubber latex was transformed into pre-vulcanized rubber latex using a chemical. The natural rubber sheets were cured at temperatures of 30 ± 2 °C, 40 ± 2 °C, and 50 ± 2 °C for 7 days under controlled conditions. Various properties, including stress-strain curves, hardness, crosslink density, swelling, and crosslinking behavior, analyzed using FT-IR spectra, were examined. The FT-IR spectra indicated a decrease in the signal of the C=C bond and an increase in the C-S bond, demonstrating the crosslinking behavior. As the curing temperature increased, crosslinking also increased, resulting in enhanced stress-strain properties at break, higher Young's modulus, greater strain hardening, and increased hardness. Additionally, crosslink density increased while swelling decreased. A curing temperature of 30 ± 2 °C was selected for preparing the natural rubber sheet for use as a suturing training pad. The performance of this rubber sheet was tested and compared with a commercial silicone skin suture practice sheet. The results showed that no cracking occurred around the pinholes, and the rubber surface could be sutured without tearing. A nylon suture placed on the rubber surface demonstrated a tight closure, similar to that of the silicone skin suture practice sheet.

© 2025 Taksapattanakul, K., Saengwiman, S., Puteh, A., Niseng, N. and Srichai, S. Recent Science and Technology published by Rajamangala University of Technology Srivijaya

1. Introduction

Suturing skills are crucial for students training in medical labs. To practice suturing, these labs often use simulation materials designed to mimic real skin. For instance, Cheung *et al.* (2014) created a simulation material using 3D modeling software, which was then printed with silicone rubber. Boyajian *et al.* (2019) explored a method for creating suture training materials using medical-grade silicone and 3D printing

techniques. Similarly, Gallagher *et al.* (2020) developed a silicone material designed specifically for skin suture task training, utilizing a 3D printer. In addition, Serdinšek *et al.* (2019) constructed a model of the pelvic floor, including the uterus/vaginal cuff, bladder, both ureters, and associated ligaments using a variety of materials such as sponge foam paper, felt fabric, chenille stems, foam, plastic ties, and fabric glue. Moreover, Khantasa-Ard (2024) stated that the materials used to create the suture training pad include

* Corresponding author.

E-mail address: korn.t@pnu.ac.th

Cite this article as:

Taksapattanakul, K., Saengwiman, S., Puteh, A., Niseng, N. and Srichai, S. 2025. The Effect of Vulcanization Temperature on the Properties of Natural Rubber Latex to Prepare the Suturing Training Pad. *Recent Science and Technology* 17(1): 264500.

a plate of polyurethane leather. Meanwhile, polymer suture materials are often expensive and involve complex manufacturing processes, and sponge materials are prone to tearing. Despite these advances, animal materials are still commonly used for suturing practice. For example, Wei *et al.* (2014) trained students using chicken thighs, while La and Caruso (2013) employed porcine models for suturing training. However, these animal-based simulation materials have significant downsides, including their perishable nature and degradation over time. To address these issues, there is growing interest in using local natural rubber latex as an alternative to animal, polymer, and sponge materials for suturing practice.

Natural rubber sheets possess excellent elastic properties, characterized by a flexible texture due to rubber chain interactions and crosslinking (Wietor and Sijbesma, 2008; Smitthipong *et al.*, 2013; Suntako, 2014; Xu *et al.*, 2016). Additionally, they are low-cost materials. Natural rubber has been used to create medical training materials, such as sponges designed for practicing basic surgical skills (Gonzalez-Navarro *et al.*, 2021; Ige *et al.*, 2012). Additionally, a blend of silicone rubber and natural rubber has been developed as a material for birthing models used in childbirth simulation (Panmanee *et al.*, 2023). Furthermore, using thin sheets of natural rubber as suturing materials offers a viable option for medical students, providing them with an accessible tool for practice. This approach also adds value by creating a new product through a simple manufacturing process.

This project aims to develop a suturing practice material sheet using locally sourced natural rubber latex. The approach involves a straightforward production process and a controlled curing method,

with the intent of creating an alternative to common skin simulation materials used in medical laboratories. Fourier Transform Infrared Spectroscopy (FT-IR) was employed to investigate the crosslinking of the rubber sheets, as well as to analyze the crosslink density and swelling properties related to the interactions within the rubber chains via a sulfur vulcanization system. Additionally, the tensile strength and hardness properties were examined to assess the stability of the rubber sheet's surface. The performance of the natural rubber sheet was compared to that of a commercial silicone skin suture practice sheet, specifically regarding the effects of pinhole and nylon sutures on the surface. As a result, the natural rubber sheet was effectively developed as a suturing training pad for medical students' laboratories.

2. Materials and Methods

2.1 Controlling the curing temperature for preparing natural rubber latex as a suturing training sheet

The local natural rubber latex was prepared as a concentrated rubber latex and mixed with a chemical formulation, as detailed in Table 1. This mixture produced pre-vulcanized rubber latex at a concentration of 40%. A sheet mold was filled with the pre-vulcanized rubber latex to create a natural rubber sheet, which served as suturing training material with a thickness of 1 mm and 6.0 ± 2.0 mm for the samples used for hardness properties. The sheets were then dried in a hot air oven at temperatures of 30 ± 2 °C, 40 ± 2 °C, and 50 ± 2 °C for 7 days under controlled curing conditions. Once dried, the natural rubber sheets were removed from the mold, resulting in suturing training sheets.

Table 1 The chemical formulation to prepare the pre-vulcanized rubber latex

Materials and Chemicals Dispersion	Source	Parts per hundred rubber [phr]	*Average Particle size
40 % Natural rubber latex concentration	Local Narathiwat province, Thailand	100	-
50% white seal Zine Oxide dispersion	Polymer Innovation Co., Ltd. Thailand	2.0 ± 0.2	0.5 microns
60% ultra fine Sulfur dispersion	Polymer Innovation Co., Ltd. Thailand	1.0 ± 0.2	< 1.5 microns
50% ZMBT, Zinc 2- Mercaptobenzo- thiazole dispersion	Polymer Innovation Co., Ltd. Thailand	0.8 ± 0.02	< 1.5 microns
50% ZDEC, Zinc Diethyldithiocarba mate dispersion	Polymer Innovation Co., Ltd. Thailand	0.6 ± 0.02	< 1.5 microns

* Data sheets

2.2 Fourier transform infrared spectroscopy (FT-IR) analyzed the crosslink reaction

The natural rubber sheets were cured using a sulfur vulcanization system and a temperature-controlled curing method to investigate the changes in crosslink reactions involving the C=C bond and C-S bond within the natural rubber. Fourier Transform Infrared (FT-IR) spectroscopy was employed to identify the signal peaks corresponding to the C=C and C-S bonds. The rubber sheet samples were cut into 1 cm x 1 cm pieces. The attenuated total reflection (ATR) mode on a Bruker Tensor spectrometer was utilized, covering a wavenumber range from 4000.12 to 400.15 cm⁻¹, with a resolution of 2 cm⁻¹. The FT-IR spectra were analyzed using OPUS software and recorded.

2.3 The stress-strain properties of a natural rubber sheet

The tensile testing machine (model H 10KS, manufactured by Hounsfield Test Equipment, Tinius Olsen Ltd, UK) The testing samples were prepared using die D and in accordance with ASTM D412. The tensile testing machine was used at a crosshead speed of 50 ± 5 mm/min for 1 mm thick rubber sheets.

2.4 Young modulus at linear proportionality or elastic region

At low strain, the tensile behavior of natural rubber sheets follows Hooke's law. The modulus of elasticity or Young's modulus was calculated in terms of slope on the stress-strain curve in the linear proportionality or elastic region as follows in Eq. (1) (Roylance, 2001)

$$E = \frac{\text{Stress}}{\text{Strain}} = \frac{\sigma}{\varepsilon} = \text{slope} = \frac{\Delta\sigma}{\Delta\varepsilon} \quad (1)$$

where E is Young's modulus or modulus of elasticity, σ is stress (MPa), ε is strain

2.5 Strain hardening of the stress-strain curve

The resistance to deformation was measured in terms of the strain hardening parameter of the stress-strain curve, according to the equation by Roylance (2001) is

$$\log(\text{stress}) = \log(c) + n \log(\text{strain}) \quad (2)$$

$$\log(\sigma) = \log(c) + n \log(\varepsilon) \quad (3)$$

where n is strain hardening parameter, C is constant, σ is stress (MPa), ε is strain

2.6 The hardness properties on a natural rubber sheet surface

The shore hardness properties of samples (rubber sheet and silicone sheet) were measured according to ASTM D2240 using a type A Durometer (Digital hardness tester, toyoseiki Co. Ltd, Japan). The testing was conducted at 26 ± 2 °C room temperature with a constant load applied to samples that were 6.0 ± 2.0 mm in thickness. Three different points on the surface of samples were measured. After the indenter made contact with the sample surface for 30 second, the hardness readings should be recorded. Hardness tests of the samples were reported on the Shore A scale.

2.7 Determination of the crosslink density and swelling properties

Crosslink density of a natural rubber sheet was determined according to ASTM: D3616 – 95 and the Flory–Rehner equation (Paul and John, 1943; Xu *et al.*, 2016; Kumnuantip and Sombatsompop, 2003) as follows in Eq. (4) and (5)

$$\frac{-\ln(1-V_r) - V_r - \chi V_r^2}{2V_s(V_r^{\frac{1}{3}} - \frac{2V_r}{f})} = \eta_{swell} \quad (4)$$

where V_r is volume fraction of rubber in swollen gel, χ is rubber-toluene solvent interaction parameter (0.3795), V_s is molar volume of the toluene (106.2 cm³/mol), η_{swell} is cross-link density of the rubber (mol/cm³), f is functionality of the crosslinks (being 4 for sulfur curing system)

$$V_r = \frac{\frac{w_d - w_f}{\rho_r}}{\frac{w_d - w_f}{\rho_r} + \frac{w_s - w_d}{\rho_s}} \quad (5)$$

where W_d is the weight of the de-swollen sample, W_f is the weight of the filler in the compound, W_s is the weight of the swollen sample, ρ_s is the density of the toluene solvent (0.87 g/cm³), ρ_r is the density of the rubber (0.91 g/cm³)

The swelling behavior of a natural rubber sheet was investigated by cutting the sheet and weighing it to 0.40 ± 2 g. The samples were immersed in toluene solvent in a 25 mL bottle for 48 h at 25 ± 2 °C. The weight of samples was measured before immersion in the toluene solvent (dry samples) and after immersion in toluene (swollen samples). The swollen samples were taken out, and excess solvent on the surface was removed and weighed. The swelling percent at a given time (Q_t) (Kumnuantip and Sombatsompop, 2003) was calculated from Eq. (6) and according to ASTM: D3616 – 95.

$$Q_t = \frac{(w_t - w_o)}{M_w} \times 100 \quad (6)$$

where W_o is the weight of dry sample, W_t is the weight of swollen sample, M_w is the molar mass of toluene (92.14 g/mol)

3. Results and Discussion

The natural rubber sheet was vulcanized using a sulfur cure system at temperatures of 30 ± 2 °C, 40 ± 2 °C, and 50 ± 2 °C, following a controlled curing temperature method. The properties of the stress-strain curve (Fig. 1(a)) indicated that the stress at break increased, while Young's modulus, represented by the slope of the stress-strain curve in the linear proportionality (elastic region), also showed an increase (Fig. 1(b) and Table 2). Additionally, the strain hardening parameter increased with rising curing temperatures (Fig. 2 and Table 2).

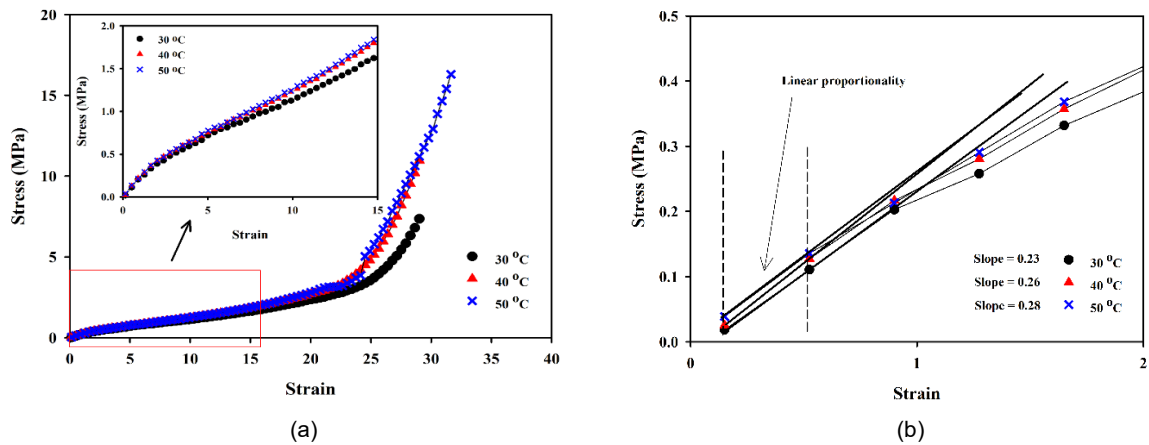


Figure 1 The stress-strain curve of a natural rubber sheet was cured at $30 \pm 2 \text{ }^{\circ}\text{C}$, $40 \pm 2 \text{ }^{\circ}\text{C}$, $50 \pm 2 \text{ }^{\circ}\text{C}$ using sulfur vulcanization system.

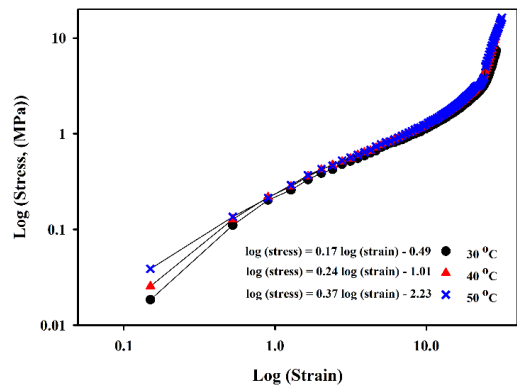


Figure 2 Strain hardening parameter of the stress-strain curve (log) of a natural rubber sheet was cured at $30 \pm 2 \text{ }^{\circ}\text{C}$, $40 \pm 2 \text{ }^{\circ}\text{C}$, $50 \pm 2 \text{ }^{\circ}\text{C}$ using sulfur vulcanization system.

Table 2 The Young's modulus at linear proportionality and strain hardening parameter of a natural rubber sheet

Curing temperature ($^{\circ}\text{C}$)	Young's modulus, E (MPa)	Strain hardening parameter, n
30	0.23	0.17
40	0.26	0.24
50	0.28	0.37

Meanwhile, the hardness properties of the surface of a rubber sheet demonstrated that an increase in curing temperature resulted in higher hardness. This was compared with the hardness properties on the surface of a silicone skin suture practice sheet (a commercial product) (Fig. 3).

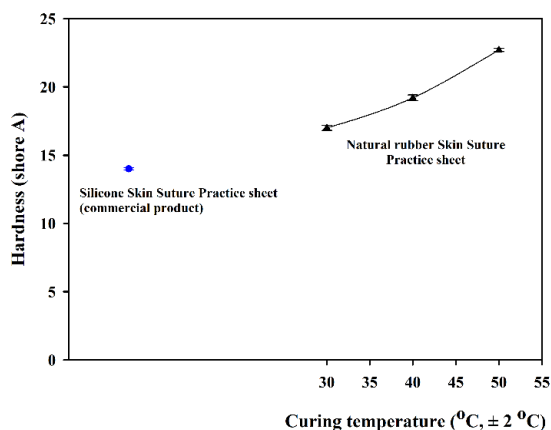


Figure 3 The hardness properties and a curing temperature at 30 ± 2 °C, 40 ± 2 °C, 50 ± 2 °C using sulfur vulcanization system of a natural rubber sheet and silicone skin suture practice sheet (commercial product)

The crosslinking density and swelling properties of the rubber sheet (Fig. 4) indicate that the crosslink density increased while the swelling decreased as the curing temperature increased.

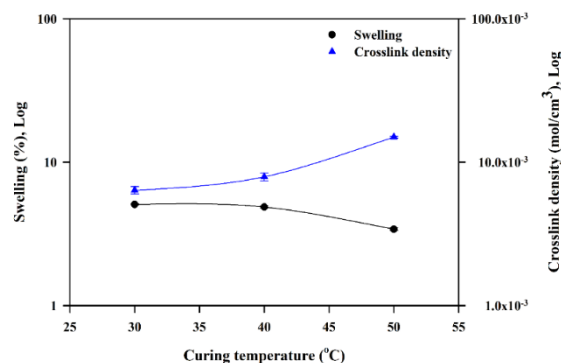


Figure 4 The crosslink density and swelling properties of a natural rubber sheet

FT-IR spectra (Fig. 5) and Table 3 showed that the absorbance peak at 1664.44 cm^{-1} indicates the C=C bond (Coran, 1965; Kishore and Pandey, 1986; Lu and Hsu, 1987; Rai *et al.*, 2006; Posadas *et al.*, 2010; Milani *et al.*, 2013; Sébastien *et al.*, 2015; Kruželák *et al.*, 2016; Bornstein and Pazur, 2020) decreased while the peak at 1134.58 cm^{-1} assigns the C-S bond (Coran, 1965; Kishore and Pandey, 1986; Lu and Hsu, 1987; Rai *et al.*, 2006; Posadas *et al.*, 2010; Milani *et al.*, 2013; Sébastien *et al.*, 2015; Kruželák *et al.*, 2016; Bornstein and Pazur, 2020) increased as the curing temperature increased.

Table 3 The absorbance (a.u.) ratio of FT-IR spectra at C-S bond and C=C bond of a natural rubber sheet

Curing temperature (°C)	Absorbance (a.u.) ratio	
	C-S bond at 1134.58 cm^{-1}	C=C bond at 1664.44 cm^{-1}
30	1.10	1.22
40	1.29	1.09
50	1.34	1.05

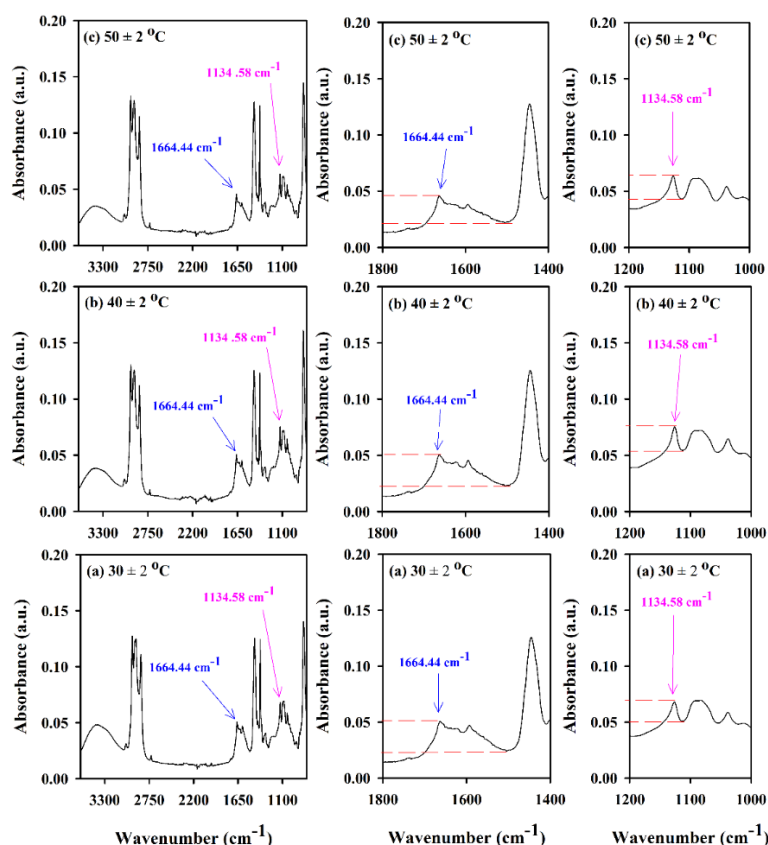


Figure 5 FT-IR of a natural rubber sheet was cured at (a) 30 ± 2 °C, (b) 40 ± 2 °C, (c) 50 ± 2 °C

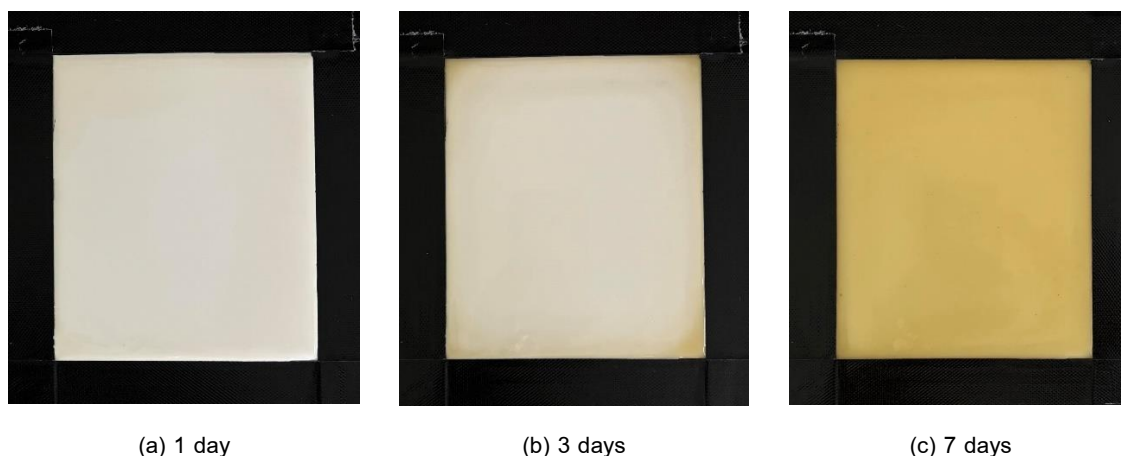


Figure 6 The 1 mm thickness samples of the natural rubber sheet were cured at 30 ± 2 °C for 7 days. (a) 1 day, (b) 3 days, (c) 7 days

The application of a natural rubber sheet as a suturing training pad was tested and compared to a silicone skin suture practice sheet (a commercial product). The natural rubber sheet was cured at a temperature of 30 ± 2 °C (as shown in Fig. 6), using a sulfur vulcanization. This method was selected to prepare the suturing training sheet, as illustrated in

Fig. 7, because the hardness properties of the rubber sheet closely resemble those of the silicone skin suture practice sheet. Furthermore, the stress-strain curve properties of the rubber sheet indicate that its Young's modulus, hardening parameter, and hardness are low. As a result, it is well-suited for easy suturing with a pinhole and nylon suture on its surface.

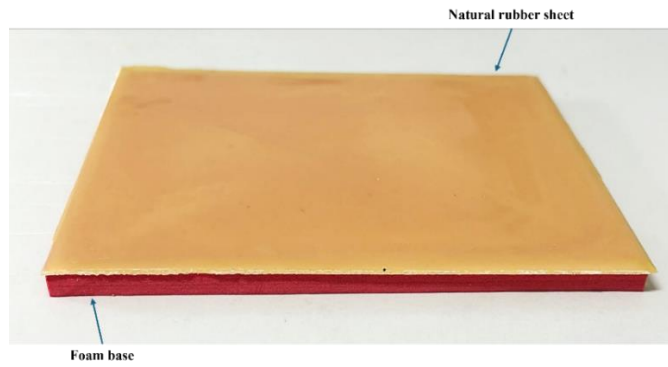
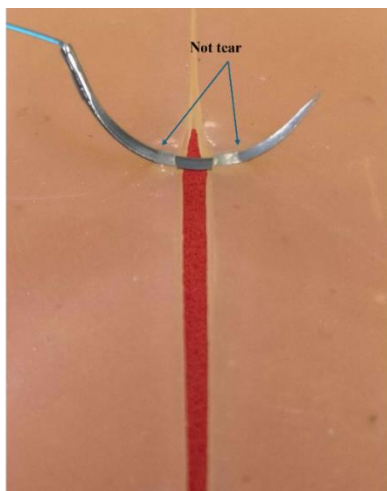
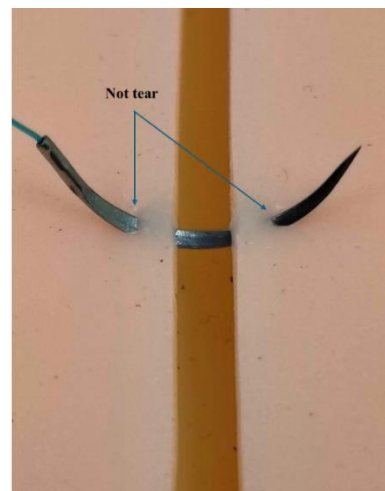


Figure 7 The natural rubber sheet of 1 mm thickness on the foam base is used as a suturing training sheet.

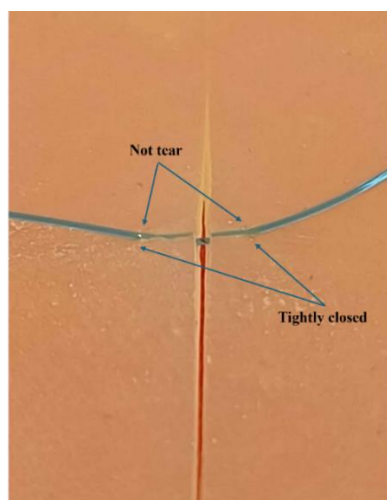


(a) Natural rubber sheet surface

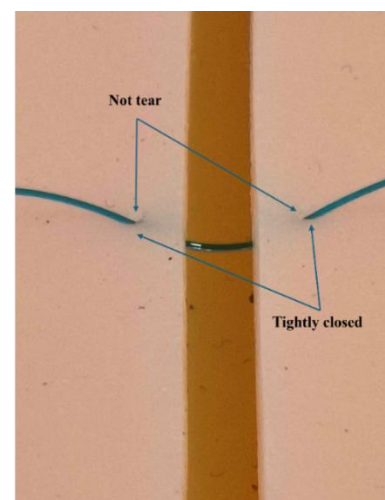


(b) Silicone skin suture practice sheet surface
(commercial product)

Figure 8 Photo (10 x optical) of a surface around the pinhole via sutured (a) natural rubber sheet and (b) silicone skin suture practice sheet (commercial product)



(a) Natural rubber sheet surface



(b) Silicone skin suture practice sheet surface
(commercial product)

Figure 9 Photo (10 x optical) presented tightly closed on around nylon suture of (a) natural rubber sheet surface and (b) silicone skin suture practice sheet surface (commercial product) via sutured

The natural rubber sheet was cut in half with a scalpel blade, as shown in Fig. 8(a). The two separated parts were then sutured together, demonstrating that the area around the pinhole did not tear, thanks to the elastic properties of the material, which allowed it to recover with linear proportionality. Figure 9 illustrates the tightly closed area formed by the nylon sutures. A comparison of the surfaces of a natural rubber sheet (Figs. 8(a) and 9(a)) and a silicone suture practice sheet (a commercial product) (Figs. 8(b) and 9(b)) revealed similar characteristics during suturing with a pinhole and nylon sutures. This indicates that natural rubber sheets are effective for use as suturing training materials.

For discussion, the sulfur vulcanization of natural rubber mainly occurred on the rubber chain at C=C bond (Coran, 1965; Kishore and Pandey, 1986; Lu and Hsu, 1987; Rai *et al.*, 2006; Posadas *et al.*, 2010; Milani *et al.*, 2013; Smitthipong *et al.*, 2013; Sébastien *et al.*, 2015; Kruželák *et al.*, 2016; Bornstein and Pazur, 2020). The increase in curing temperature resulting in the reaction between sulfur and C=C bond increased. FT-IR spectra showed that an unsaturated C=C (Str.) bond converted to a saturated C-C bond and C-S bond (Coran, 1965; Kishore and Pandey, 1986; Lu and Hsu, 1987; Rai *et al.*, 2006; Posadas *et al.*, 2010; Milani *et al.*, 2013; Smitthipong *et al.*, 2013; Sébastien *et al.*, 2015; Kruželák *et al.*, 2016; Bornstein and Pazur, 2020), confirming the crosslink reaction in the natural rubber chain. Based on the analysis of crosslink density and swelling properties, the low swelling of rubber sheets suggests a rigid movement of the rubber chain segments due to a high level of crosslinking. Conversely, high swelling indicates lower crosslinking and allows for easier movement of the entangled rubber chain segments. Consequently, as the crosslink density increases, the mechanical properties of natural rubber sheets improve, including stress-strain at break, Young's modulus, strain hardening, and hardness. Additionally, during the suturing process, the natural rubber sheet exhibited durability around pinholes and nylon sutures on its

surface. It did not tear and maintained elastic behavior in a linear proportional manner, thanks to the effective interactions of crosslinks within the natural rubber chains, achieved through optimized curing chemicals. Natural rubber sheets offer numerous advantages and properties that make them quite appealing. They can serve as a new type of suturing training material, providing a substitute for traditional skin simulation materials used in suturing training for skilled students. These suturing training sheets were crafted using local natural rubber latex at a temperature of 30 ± 2 °C, or room temperature. This approach not only reduces costs and energy consumption but also simplifies the production process, making it more economical compared to commercial silicone sheet products (priced at 6 USD per piece). By utilizing local natural rubber latex, this method also adds value to the material.

4. Conclusion

The development process to prepare local natural rubber latex involved using controlled curing temperature to create a suturing training material. This material aims to replace a common skin simulation product used in medical students' labs. The local natural rubber latex was mixed with chemicals to produce pre-vulcanized natural rubber sheets at controlled curing temperatures of 30 ± 2 °C, 40 ± 2 °C, and 50 ± 2 °C for 7 days. Various properties of the rubber sheets were studied, including the stress-strain curve, stress-strain at break, Young's modulus, strain hardening, hardness, crosslink density, and swelling properties. Additionally, the crosslinking reaction was analyzed using FT-IR spectroscopy. The results indicated that increasing the curing temperature led to improvements in stress-strain at break, Young's modulus in the elastic region, strain hardening, and hardness properties. As the crosslink density increased, the swelling of the rubber sheets decreased as well. FT-IR spectra showed a decrease in the absorbance peak of the C=C bond and an increase in the C-S bond. The optimal process identified was curing at 30 ± 2 °C for 7 days to prepare the natural

rubber sheet as a suturing training material. A comparative study of the rubber sheets during suturing revealed that their surface properties were similar to those of a commercially available silicone skin suture practice sheet. Consequently, natural rubber sheets can effectively replace common skin simulation materials used for suturing training. This application not only helps add value to local natural rubber latex but also introduces a cost-effective product that is easy to prepare at low temperatures, ultimately saving costs and energy. The cost of the natural rubber sheets for suturing training is approximately \$0.10 for 3 pieces, significantly lower than that of a silicone skin suture practice sheet, which costs \$18 for 3 pieces.

5. References

- Boyajian, M.K., Lubner, R.J., Roussel, L.O., Crozier, J.W., Ryder, B.A. and Woo, A.S. 2019. A novel suture training device to innovate the surgical curriculum in medical school. **Plastic and Reconstructive Surgery** 7(8): 121-122.
- Bornstein, D. and Pazur, R.J. 2020. The sulfur reversion process in natural rubber in terms of crosslink density and crosslink density distribution. **Polymer Testing** 88: 106524.
- Coran, A.Y. 1965. Vulcanization. part VII. kinetics of sulfur vulcanization of natural rubber in presence of delayed-action accelerators. **Rubber Chemistry and Technology** 38(1): 1-14.
- Cheung, C.L., Looi, T., Lendvay, T.S., Drake, J.M. and Farhat, W.A. 2014. Use of 3-dimensional printing technology and silicone modeling in surgical simulation: development and face validation in pediatric laparoscopic pyeloplasty. **Journal of Surgical Education** 71(5): 762-767.
- Roylance, D. 2001. **Stress-strain curves**. Massachusetts Institute of Technology study, Cambridge.
- Gallagher, P.O., Bishop, N. and Dubrowski, A. 2020. Investigating the perceived efficacy of a silicone suturing task trainer using input from novice medical trainees. **Cureus** 12(1): e6612.
- Gonzalez-Navarro, A.R., Quiroga-Garza, A., Acosta-Luna, A.S., Salinas-Alvarez, Y., Martinez-Garza, J.H., Garza-Castro, O. de la., Gutierrez-de la O, J., Fuente-Villarreal, D. de la., Elizondo-Omaña, R.E. and Guzman-Lopez, S. 2021. Comparison of suturing models: the effect on perception of basic surgical skills. **BMC Medical Education** 21: 250.
- Ige, O.O., Umore, L.E. and Aribio, S. 2012. Natural Products: A Minefield of Biomaterials. **International Scholarly Research Notices** 983062: 20.
- John, P.L., Peter, S.T., Satyen, G., Mark, W., Vincent, B.H. and Peter, L. 2018. Using 3D printing (additive manufacturing) to produce low-cost simulation models for medical training. **Military Medicine** 183(1): 73-77.
- Khantasa-Ard, P. 2024. Polyurethane leather as a suture training model. **Cureus** 16(10): 1-9.
- Kishore, K. and Pandey, H.K. 1986. Spectral studies on plant rubbers. **Progress in Polymer Science** 12(1-2): 155-178.
- Kumnuantip, C. and Sombatsompop, N. 2003. Dynamic mechanical properties and swelling behaviour of NR/reclaimed rubber blends. **Materials Letters** 57(21): 3167-3174.
- Kruželák, J., Sýkora, R. and Hudec, I. 2016. Sulphur and peroxide vulcanisation of rubber compounds -overview. **Chemical Papers** 70(12): 1533-1555.
- La, T.M. and Caruso, C. 2013. The animal model in advanced laparoscopy resident training. **Surgical Laparoscopy Endoscopy & Percutaneous Techniques** 23(3): 271-275.
- Lu, F.J. and Hsu, S.L. 1987. A vibrational spectroscopic analysis of the structure of natural rubber. **Rubber Chemistry and Technology** 60: 647-658.
- Milani, G., Leroy, E., Milani, F. and Deterre, R. 2013. Mechanistic modeling of reversion phenomenon in sulphur cured natural rubber vulcanization kinetics. **Polymer Testing** 32(6): 1052-1063.
- Panmanee, P., Okhawilai, M., Mora, P., Jubsilp, C., Karagiannidis, P. and Rimdusit, S. 2023. Development of a new birthing model material based on silicone rubber/natural rubber blend. **Polymer Testing** 117: 107849.

- Paul, J.F. and John, R. 1943. Statistical mechanics of cross-linked polymer networks II. swelling. **The Journal of Chemical Physics** 11(11): 521-526.
- Posadas, P., Fernández, T.A., Valentín, J.L., Rodríguez, A. and González, L. 2010. Effect of the temperature on the kinetic of natural rubber vulcanization with the sulfur donor agent dipentamethylene thiuram tetrasulphide. **Journal of Applied Polymer Science** 115: 692-701.
- Rai, A.K., Singh, R., Singh, K.N. and Singh, V.B. 2006. FTIR, Raman spectra and ab initio calculations of 2-mercaptobenzothiazole. **Spectrochimica Acta, Part A: Molecular and Biomolecular Spectroscopy** 63(2): 483-490.
- Sébastien, R., Siriluck, L., Laurent, V., Sainte, B.J. and Frédéric, B. 2015. Investigating natural rubber composition with fourier transform infrared (FT-IR) spectroscopy: a rapid and non-destructive method to determine both protein and lipid contents simultaneously. **Polymer Testing** 43: 83-93.
- Serdinšek, T., Andrić, B.Ž. and But, I. 2019. A new affordable and easy-to-make pelvic model for training in complex urogynecological laparoscopic procedures. **International Urogynecology Journal** 30: 1497-1501.
- Smiththipong, W., Tantatherdtam, R., Rungsanthien, K., Suwanruji, P., Klanarong, S., Radabutra, S., Thanawan, S., Vallat, M.F., Nardin, M., Mougin, K., Chollakup, R. 2013. Effect of non-rubber components on properties of sulphur crosslinked natural rubbers. **Advanced Materials Research** 844: 345-348.
- Suntako, R. 2014. Cure characteristics and mechanical properties of ZnO nanoparticles as activator in unfilled natural rubber. **Advanced Materials Research** 1044-1045: 23-26.
- Wei, F.C., Anas, E., Takumi, Y., Jerrod, K., Grace, L.N. and Lawrence, W.T. 2014. A novel super microsurgery training model: the chicken thigh. **Journal of Plastic and Reconstructive Surgery** 67(7): 973-978.
- Wietor, J.L. and Sijbesma, R. 2008. A self-healing elastomer. **Angewandte Chemie International Edition** 47(43): 8161-8163.
- Xu, C., Cao, L., Lin, B., Liang, X. and Chen, Y. 2016. Design of self-healing supramolecular rubbers by introducing ionic cross-links into natural rubber via a controlled vulcanization. **ACS Applied Materials & Interfaces Journal** 8(27): 17728-17737.



Research Article

สมบัติทางกล สมบัติทางความร้อน และสมบัติด้านการซึมผ่านของฟิล์ม
คอมโพสิตชีวภาพพอลิবিທີลีนอะดิเพต-โค-เทเรฟทาเลตด้วยการเติม
นาโนแคลเซียมคาร์บอเนตและกลีเซอรอล

**Mechanical, Thermal and Barrier Properties of Poly(butylene adipate-co-terephthalate)
Biocomposite Films Incorporated with Nano-Calcium Carbonate and Glycerol**

กรรณิการ์ ยิ้มหนัก ^a และ อัจฉริยา นพวิญญูวงศ์ ^{b*}

Kannika Yimnak ^a and Atchareeya Nopwinyuwong ^{b*}

^a แขนงวิชาเทคโนโลยีอุตสาหกรรม สาขาวิชาวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยี มหาวิทยาลัยสุโขทัยธรรมาธิราช อำเภอปากเกร็ด จังหวัดนนทบุรี 11120

^a Field of Industrial Technology, School of Science and Technology, Sukhothai Thammathirat Open University, Pakkret, Nonthaburi 11120, Thailand.

^b สาขาการจัดการธุรกิจอาหาร (ต่อเนื่อง) คณะการจัดการธุรกิจอาหาร สถาบันการจัดการปัญญาภิวัฒน์ อำเภอปากเกร็ด จังหวัดนนทบุรี 11120

^b Department of Food Business Management (Continuing Program), Faculty of Food Business Management, Panyapiwat Institute of Management, Pakkret, Nonthaburi 11120, Thailand.

ABSTRACT

Article history:

Received: 2024-03-15

Revised: 2024-09-22

Accepted: 2024-10-03

Keywords:

PBAT;

Nano-calcium carbonate;

bioplastic;

food packaging;

plastic film

This research aims to improve the mechanical, thermal and barrier properties of poly (butylene adipate-co-terephthalate) (PBAT) bioplastic by compounding with nano-calcium carbonate (CaCO_3) and glycerol. Firstly, the compounding pellets were prepared by incorporating 5, 7 and 10 wt% CaCO_3 and 5 parts per hundred of resin (phr) of glycerol using a twin-screw extruder. Then, these pellets were processed into films using blown film extrusion. It found that the addition of 5 wt% CaCO_3 into PBAT (PBAT5C) resulted in increasing tensile strength and melting temperature of PBAT. It can also reduce oxygen transmission rate (OTR) and water vapor transmission rate (WVTR) compared with PBAT films. In addition, the inclusion of 5 phr of glycerol in PBAT5C (PBAT5G5C) improved the dispersion of nano-calcium carbonate within the PBAT film, resulting in substantial improvements in the mechanical, thermal and barrier properties of the PBAT5G5C film compared with the PBAT5C film. Therefore, the PBAT5G5C film is suitable for use as a packaging film for food products that require low OTR and WVTR. This provides an alternative to replace conventional plastics that are difficult to decompose.

* Corresponding author.

E-mail address: atchareeyanop@pim.ac.th

Cite this article as:

Yimnak, K. and Nopwinyuwong, A. 2025. Mechanical, Thermal and Barrier Properties of Poly(butylene adipate-co-terephthalate) Biocomposite Films Incorporated with Nano-Calcium Carbonate and Glycerol. *Recent Science and Technology* 17(1): 262509.

บทคัดย่อ

งานวิจัยนี้มีวัตถุประสงค์เพื่อปรับปรุงสมบัติทางกล สมบัติทางความร้อน และสมบัติด้านการซึมผ่านของฟิล์มพลาสติกชีวภาพพอลิবিวทิลีนอะดิเพต-โค-เทเรฟทาเลต (PBAT) ด้วยการเติมนาโนแคลเซียมคาร์บอเนตและกลีเซอรอล โดยขั้นแรกเป็นการเตรียมเม็ดพลาสติกคอมพาวนด์ที่ผสมนาโนแคลเซียมคาร์บอเนตร้อยละ 5, 7 และ 10 โดยน้ำหนัก และกลีเซอรอล 5 ส่วนในร้อยส่วนด้วยเครื่องอัดรีดแบบสกรู จากนั้นทำการขึ้นรูปเป็นฟิล์มด้วยกระบวนการเป่าฟิล์ม จากผลการทดลองพบว่า การผสมนาโนแคลเซียมคาร์บอเนตร้อยละ 5 โดยน้ำหนัก (PBAT5C) ส่งผลให้ค่าความต้านทานแรงดึง และอุณหภูมิหลอมเหลวของ PBAT เพิ่มขึ้น และยังส่งผลให้อัตราการซึมผ่านของก๊าซออกซิเจนและไอน้ำลดลงเมื่อเปรียบเทียบกับฟิล์ม PBAT นอกจากนี้การเติมกลีเซอรอล 5 ส่วนในร้อยส่วนลงไปร่วมด้วย (PBAT5C5G) ช่วยทำให้เกิดการกระจายตัวของอนุภาคนาโนแคลเซียมคาร์บอเนตทั่ว PBAT ส่งผลให้สมบัติทางกล สมบัติทางความร้อน และสมบัติด้านการซึมผ่านของก๊าซออกซิเจนและไอน้ำมีสมบัติที่ดียิ่งขึ้นเมื่อเปรียบเทียบกับ PBAT5C ดังนั้นฟิล์มที่พัฒนาได้จึงเหมาะต่อการนำไปประยุกต์ใช้เป็นฟิล์มบรรจุภัณฑ์สำหรับผลิตภัณฑ์อาหารที่ต้องการอัตราการซึมผ่านของก๊าซออกซิเจนและไอน้ำต่ำ ซึ่งเป็นอีกทางเลือกหนึ่งในการทดแทนการใช้พลาสติกที่ย่อยสลายได้ยาก

คำสำคัญ: พอลิবিวทิลีนอะดิเพต-โค-เทเรฟทาเลต, นาโนแคลเซียมคาร์บอเนต, พลาสติกชีวภาพ, บรรจุภัณฑ์อาหาร, ฟิล์มพลาสติก

1. บทนำ

พอลิবিวทิลีนอะดิเพต-โค-เทเรฟทาเลต (Polybutylene adipate-co-terephthalate, PBAT) เป็นพลาสติกที่สามารถย่อยสลายได้ทางชีวภาพ ที่สังเคราะห์จากพลาสติกมอนอเมอร์ 3 ชนิด ได้แก่ กรดเทเรฟทาเลต (terephthalic acid) กรดอะดิพิค (adipic acid) และ 1,4-বিวเทนไดออล (1,4-butanediol) ซึ่งมีสมบัติด้านความยืดหยุ่นสูง สามารถขึ้นรูปได้ง่าย และสมบัติด้านการซึมผ่านของไอน้ำสูง แต่มีความแข็งแรงทางกลต่ำ เมื่อเทียบกับพลาสติกประเภทพอลิเอทิลีนชนิดความหนาแน่นต่ำ (low density polyethylene, LDPE) (Hemsri *et al.*, 2020) สำหรับสมบัติทางด้านความร้อน PBAT มีอุณหภูมิเปลี่ยนสถานะคล้ายแก้ว (glass transition temperature, T_g) ประมาณ -30 องศาเซลเซียส และอุณหภูมิการหลอมเหลว (melting temperature, T_m) อยู่ที่ช่วง 100-120 องศาเซลเซียส (Arruda *et al.*, 2015; Li *et al.*, 2015) การขึ้นรูปพลาสติกชีวภาพ PBAT สามารถทำได้ด้วยกระบวนการต่าง ๆ เหมือนกับเทอร์โมพลาสติกทั่วไป เช่น กระบวนการอัดรีด (extrusion) กระบวนการเป่า (blow molding) หรือ กระบวนการฉีดเข้าแม่พิมพ์ (injection molding) เป็นต้น ในปัจจุบัน PBAT ได้ถูกนำมาใช้ในงานบรรจุภัณฑ์หลากหลายประเภท เช่น ฟิล์มยืดสำหรับห่ออาหาร ถูหิ้ว ถูขยะ เป็นต้น สำหรับการนำ PBAT มาขึ้นรูปเป็นบรรจุภัณฑ์ที่สัมผัสอาหารโดยตรงหรือบรรจุภัณฑ์ปฐมภูมิ (primary packaging) ตัวอย่างเช่น ฟิล์มห่อหรือถุงสำหรับบรรจุอาหารเบเกอรี่ ขนมปังอบ ขนมขบเคี้ยว ซ็อกโกแลต และลูกกวาด ควรปรับปรุงสมบัติของ PBAT บางประการเพื่อช่วยปกป้องคุ้มครองอาหารให้ปลอดภัยในระหว่างการขนส่ง และช่วยในการยืดอายุการเก็บรักษาอาหารให้นานขึ้น เช่น ความแข็งแรงทางกล ความทนทานต่อความร้อน ความสามารถในการป้องกัน

การซึมผ่านของก๊าซออกซิเจนและไอน้ำ เป็นต้น (Hernandez, 1997; Wei *et al.*, 2015)

แคลเซียมคาร์บอเนต (CaCO_3) เป็นวัสดุที่ผลิตจากวัตถุดิบธรรมชาติ ทั้งพบในรูปของหินปูน หินอ่อน ซอล์ค และแร่แคลไซต์ เป็นต้น หรือพบในสัตว์ เช่น เปลือกหอย กระดุก เป็นต้น โดยแคลเซียมคาร์บอเนต มีลักษณะเป็นของแข็ง สีขาว มีความสว่างสูง ไม่ละลายน้ำ ราคาถูก มีสมบัติไม่เป็นพิษและสามารถสัมผัสกับอาหารได้ (EFSA Panel on Food Additives and Nutrient Sources added to Food (ANS), 2011) นิยมใช้เป็นสารตัวเติม (filler) เพื่อลดต้นทุน หากต้องการใช้แคลเซียมคาร์บอเนตเพื่อช่วยปรับปรุงสมบัติทางกลของวัสดุต้องทำการลดขนาดอนุภาคของแคลเซียมคาร์บอเนตให้มีขนาดเล็กลง หรืออยู่ในระดับนาโน จึงทำให้นาโนแคลเซียมคาร์บอเนตนิยมนำไปใช้กับงานหลากหลายในรูปแบบของพอลิเมอร์คอมโพสิต เช่น การเติมนาโนแคลเซียมคาร์บอเนตลงในพอลิพรอพิลีนเพื่อเพิ่มสมบัติทางกล (Chan *et al.*, 2002; Yang *et al.*, 2006) และการเติมนาโนแคลเซียมคาร์บอเนตลงในพอลิแลคติกแอซิด (polylactic acid, PLA) เพื่อเพิ่มสมบัติทางกลและสมบัติทางความร้อน (Kim *et al.*, 2008; Nekhamanurak *et al.*, 2014; Aframehr *et al.*, 2017) เป็นต้น

สมบัติของพอลิเมอร์คอมโพสิตที่ได้นั้น นอกจากจะขึ้นอยู่กับคุณสมบัติหลักของพอลิเมอร์และสารตัวเติมแล้ว ยังขึ้นกับการกระจายตัวที่ดีและสม่ำเสมอของสารตัวเติมในเนื้อพอลิเมอร์นั้น ๆ ด้วย โดยการปรับปรุงการผสมของพอลิเมอร์คอมโพสิตสามารถทำได้โดยการเลือกกระบวนการการผสมที่เหมาะสมแล้ว การทำให้พอลิเมอร์มีความหนืดลดลงและสามารถไหลได้ง่ายจะช่วยให้เกิดการกระจายตัวของสารตัวเติมในเนื้อพอลิเมอร์ได้ดีมากขึ้น (Avolio *et al.*, 2018; Shaari *et al.*, 2021; George *et al.*,

2023) งานวิจัยการใช้พลาสติกไซเซอ์ของ Avolio *et al.* (2018) ด้วยการเติมพลาสติกไซเซอ์ประเภทเอสเทอร์โอลิโกเมอร์ของกรดแลคติกแอซิด (esterified oligomers of L-lactic acid, OLAs) ลงในพอลิเมอร์คอมโพลิสระหว่าง PLA และแคลเซียมคาร์บอเนต พบว่า การเติมพลาสติกไซเซอ์ช่วยให้เกิดการกระจายตัวของอนุภาคแคลเซียมคาร์บอเนตได้ดีในเฟสของ PLA และช่วยปรับปรุงสมบัติทางกล โดยเฉพาะการยืดตัวของ PLA

จากการศึกษาทางวิจัยที่เกี่ยวข้องจะเห็นได้ว่าการเติมนาโนแคลเซียมคาร์บอเนตลงในพอลิเมอร์ จะช่วยเพิ่มสมบัติต่าง ๆ ให้กับพอลิเมอร์ ได้แก่ สมบัติทางกล สมบัติทางความร้อน และสมบัติการป้องกันการซึมผ่านของก๊าซออกซิเจนและไอน้ำ เป็นต้น และการเติมกลีเซอรอลที่ทำหน้าที่เป็นพลาสติกไซเซอ์ยังช่วยลดความหนืดในกระบวนการการผสมพลาสติก ซึ่งช่วยให้เกิดการผสมหรือการกระจายตัวของสารเติมแต่งในเนื้อพอลิเมอร์ได้ดีขึ้น ซึ่งจากการศึกษาเบื้องต้นยังไม่พบรายงานการศึกษาผลของการเติมพลาสติกไซเซอ์ร่วมกับสารเติมแต่งนาโนแคลเซียมคาร์บอเนตใน PBAT ดังนั้นในงานวิจัยนี้มีวัตถุประสงค์เพื่อศึกษาผลของการเติมอนุภาคนาโนแคลเซียมคาร์บอเนตและกลีเซอรอลใน PBAT เพื่อปรับปรุงสมบัติทั้งทางกลและทางกายภาพของพอลิเมอร์ให้เหมาะสมต่อการขึ้นรูปเป็นฟิล์มพลาสติกชีวภาพที่เป็นมิตรกับสิ่งแวดล้อม และสามารถประยุกต์ใช้เป็นบรรจุภัณฑ์อาหารที่สามารถช่วยยืดอายุการเก็บรักษาได้

2. วิธีดำเนินการวิจัย

2.1 การเตรียมฟิล์มพลาสติกชีวภาพ

2.1.1 การเตรียมเม็ดพลาสติก PBAT, PBAT/CaCO₃ และ PBAT/Glycerol/CaCO₃

เตรียมผสมเม็ดพลาสติก PBAT (Ecoflex® F blend C1200, Germany) กลีเซอรอล (99.5% purity) และนาโนแคลเซียมคาร์บอเนต (NPCC101, Behn Meyer, Thailand) โดยการอบไล่ความชื้นเม็ด PBAT ในตู้อบลมร้อนที่อุณหภูมิ 50 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 24 ชั่วโมง และนาโนแคลเซียมคาร์บอเนต ที่อุณหภูมิ 120 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 5 ชั่วโมง จากนั้นทำการผสมตามสัดส่วน ดังแสดงในตารางที่ 1 ด้วยเครื่องอัดรีดแบบสกรูคู่ (WNM รุ่น TSJ-35A, China) ที่อุณหภูมิจากส่วนป้อนถึงหัวตาย 130-200 องศาเซลเซียส ความเร็วรอบสกรู 400-600 รอบต่อนาที และอัตราการป้อน 40-90 รอบต่อนาที จากนั้นนำเส้นพลาสติกที่ได้มาตัดเป็นเม็ดพลาสติกที่มีความยาว 2.5 มิลลิเมตร

2.1.2 การเตรียมฟิล์มพลาสติก PBAT, PBAT/CaCO₃ และ PBAT/Glycerol/CaCO₃

เตรียมฟิล์มพลาสติก PBAT, PBAT/CaCO₃ และ PBAT/Glycerol/CaCO₃ โดยการนำเม็ดพลาสติกที่เตรียมได้จากข้อ 2.1.1 มาทำการอบไล่ความชื้นในตู้อบลมร้อนที่อุณหภูมิ 50 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 24 ชั่วโมง จากนั้นนำมาขึ้นรูปเป็นฟิล์มด้วยเครื่องเป่าขึ้นรูปฟิล์ม (TPBI Model SE-45 Serial no. E001/15, Thailand) สภาวะในการขึ้นรูปจากส่วนป้อนถึงหัวตายอุณหภูมิ 130-200 องศาเซลเซียส ความเร็วรอบสกรู 200-400 รอบต่อนาที อัตราการเข้าม้วน 100-200 รอบต่อนาที และมีการควบคุมความหนาของฟิล์มอยู่ในช่วง 50-60 ไมโครเมตร

Table 1 Samples and constituents of PBAT, PBAT/CaCO₃, and PBAT/Glycerol/CaCO₃ pellets.

Sample	PBAT (wt%)	CaCO ₃ (wt%)	Glycerol (phr)	Abbreviation Formula
PBAT	100	-	-	PBAT
PBAT-5CaCO ₃	95	5	-	PBAT5C
PBAT-7CaCO ₃	93	7	-	PBAT7C
PBAT-10CaCO ₃	90	10	-	PBAT10C
PBAT-5G-5CaCO ₃	95	5	5	PBAT5G5C
PBAT-5G-7CaCO ₃	93	7	5	PBAT5G7C
PBAT-5G-10CaCO ₃	90	10	5	PBAT5G10C
PBAT-10G-5CaCO ₃	95	5	10	PBAT10G5C

2.2 การวิเคราะห์สมบัติของฟิล์มพลาสติกชีวภาพ

2.2.1 การตรวจสอบค่าดัชนีการหลอมไหล

นำเม็ดพลาสติก PBAT, PBAT/CaCO₃ และ PBAT/Glycerol/CaCO₃ มาทำการตรวจสอบค่าดัชนีการหลอมไหล (Melt flow index, MFI) อ้างอิงตามวิธีมาตรฐาน ASTM D1238 เพื่อวัดความสามารถในการไหลขณะหลอมเหลวของกระบวนการขึ้นรูปของ PBAT และ PBAT เมื่อมีการเติม CaCO₃ และกลีเซอรอล โดยนำเม็ดพลาสติกตัวอย่างมาอบแห้งในตู้อบลมร้อนที่อุณหภูมิ 50 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 24 ชั่วโมง แล้วนำมาตรวจสอบค่าดัชนีการหลอมไหลด้วยเครื่องวัดดัชนีการไหลขณะหลอม (MF30, INSTRON, USA) ในสภาวะการตรวจสอบที่อุณหภูมิ 190 องศาเซลเซียส และน้ำหนักกดทับเท่ากับ 2.16 กิโลกรัม โดยทำการทดลองตัวอย่างละ 5 ซ้ำ

2.2.2 การทดสอบสมบัติทางกลในโหมดแรงดึง

นำตัวอย่างฟิล์ม PBAT, PBAT/CaCO₃ และ PBAT/Glycerol/CaCO₃ ที่เตรียมได้ตัดเป็นรูปสี่เหลี่ยมผืนผ้า มีความกว้าง 2 เซนติเมตร และความยาว 10 เซนติเมตร นำมาทดสอบด้วยเครื่องทดสอบสมบัติทางกล Tensile Tester (C610H Auto Tensile Tester, Labthink, China) เพื่อให้ทราบค่าความต้านทานแรงดึง (tensile strength) (หน่วยเมกะปาสคาล, MPa) ค่าร้อยละการดึงยืด ณ จุดขาด (elongation at break) (หน่วย %) และค่ามอดุลัส (modulus) (หน่วยเมกะปาสคาล, MPa) ในแนวขนานกับเครื่อง (machine direction, MD) และในแนวขวางเครื่อง (cross direction, CD) กำหนดสภาวะที่ใช้ในการทดสอบ อ้างอิงตามมาตรฐาน ASTM D 882-02 โดยใช้โหลดเซลล์ ขนาด 50 กิโลนิวตัน ดึงด้วยอัตราเร็วเท่ากับ 500 มิลลิเมตรต่อนาที และระยะในการทดสอบ 5 เซนติเมตร โดยทำการทดสอบตัวอย่างละ 5 ซ้ำ

2.2.3 การตรวจสอบสมบัติทางความร้อนด้วยเทคนิค Differential scanning calorimetry

การตรวจสอบอุณหภูมิการเปลี่ยนเฟส: อุณหภูมิการเปลี่ยนสถานะคล้ายแก้ว (T_g) อุณหภูมิหลอมเหลว (T_m) และอุณหภูมิการเกิดผลึก (T_c) ของ PBAT, PBAT/CaCO₃ และ PBAT/Glycerol/CaCO₃ ด้วยเครื่อง Differential scanning calorimetry (DSC) (DSC1 STARe, Mettler Toledo, Switzerland) โดยให้ความร้อนกับฟิล์มตัวอย่างตั้งแต่อุณหภูมิ -80 ถึง 250 องศาเซลเซียส ด้วยอัตราการให้ความร้อน เท่ากับ 10 องศาเซลเซียสต่อนาที และทำให้เย็น (cooling) ตั้งแต่อุณหภูมิ 250 ถึง -80

องศาเซลเซียส ด้วยอัตราการทำให้เย็น เท่ากับ 10 องศาเซลเซียสต่อนาที โดยทำการทดลองภายใต้บรรยากาศไนโตรเจน ซึ่งมีอัตราการไหลของก๊าซ เท่ากับ 50 มิลลิลิตรต่อนาที

2.2.4 การตรวจสอบอัตราการซึมผ่านของก๊าซออกซิเจน

ตัดตัวอย่างฟิล์ม PBAT, PBAT/CaCO₃ และ PBAT/Glycerol/CaCO₃ ให้เป็นวงกลมที่มีขนาดเส้นผ่านศูนย์กลาง 50 มิลลิเมตร ตัวอย่างละ 3 ชิ้น นำไปปรับสภาวะที่อุณหภูมิ 25 องศาเซลเซียส ความชื้นสัมพัทธ์ร้อยละ 0 เป็นเวลา 24 ชั่วโมง วัดความหนาของตัวอย่างแต่ละแผ่นด้วยไมโครมิเตอร์แบบดิจิตอลก่อนนำไปตรวจสอบอัตราการซึมผ่านของก๊าซออกซิเจน (ASTM D3985) ด้วยเครื่องวัดอัตราการซึมผ่านของก๊าซออกซิเจน (8001, Illinois, USA) ที่สภาวะอุณหภูมิ 23 องศาเซลเซียส และความชื้นสัมพัทธ์ร้อยละ 0

2.2.5 การตรวจสอบสภาพการซึมผ่านได้ของไอน้ำ

ตัดตัวอย่างฟิล์ม PBAT, PBAT/CaCO₃ และ PBAT/Glycerol/CaCO₃ ให้เป็นวงกลมที่มีขนาดเส้นผ่านศูนย์กลาง 50 มิลลิเมตร ตัวอย่างละ 3 ชิ้น นำไปปรับสภาวะในเดซิเคเตอร์ซึ่งบรรจุซิลิกาเจล เป็นเวลา 24 ชั่วโมง วัดความหนาของตัวอย่างแต่ละแผ่นด้วยไมโครมิเตอร์แบบดิจิตอลก่อนนำไปตรวจสอบอัตราการซึมผ่านของไอน้ำ (ASTM F1249) ด้วยเครื่องวัดอัตราการซึมผ่านของไอน้ำ (Permtran-W 3/34, Mocon, USA) ที่สภาวะอุณหภูมิ 25 องศาเซลเซียส และความชื้นสัมพัทธ์ร้อยละ 50

2.2.6 การวิเคราะห์ด้วยกล้องจุลทรรศน์อิเล็กตรอนแบบส่องกราด

ทำการตรวจสอบโครงสร้างจุลภาคของฟิล์ม โดยนำตัวอย่างฟิล์ม PBAT, PBAT/CaCO₃ และ PBAT/Glycerol/CaCO₃ มายึดลงบนเทปคาร์บอนที่ติดบนสตัปอลูมิเนียม และนำไปเคลือบด้วยทองหรือแพลตตินัมภายใต้สภาวะสุญญากาศเพื่อนำมาตรวจสอบการกระจายตัวของ CaCO₃ (เฟสกระจายตัว) บนแผ่นฟิล์มตัวอย่างด้วยกล้องจุลทรรศน์อิเล็กตรอนแบบส่องกราดชนิดฟิลด์อีมิชัน (Field Emission Scanning Electron Microscope, FE-SEM รุ่น JEOL JSM7800F, JAPAN) โดยใช้ความต่างศักย์ไฟฟ้าระหว่าง 0.5 กิโลวัตต์

2.2.7 การวิเคราะห์ผลทางสถิติ

วิเคราะห์ค่าเฉลี่ยและส่วนเบี่ยงเบนมาตรฐานของข้อมูล และความแปรปรวน ANOVA (Analysis of variance) และทดสอบความแตกต่างของค่าเฉลี่ยด้วยวิธี Duncan's New Multiple Range Test (DMRT) ที่ระดับความเชื่อมั่นร้อยละ 95 โดยใช้โปรแกรม IBM® SPSS® Statistics Version 24

3. ผลการวิจัยและวิจารณ์ผล

3.1 การเตรียมฟิล์มพลาสติกชีวภาพ

การเตรียมเม็ดพลาสติก PBAT/CaCO₃ และ PBAT/Glycerol/CaCO₃ พบว่าสามารถเตรียมเม็ดพลาสติก PBAT/CaCO₃ ได้ทั้ง 3 ระดับความเข้มข้นคือที่ร้อยละ 5 7 และ 10 โดยน้ำหนัก (%wt) สำหรับการเตรียมเม็ดพลาสติก PBAT/Glycerol/CaCO₃ พบว่าการเติมกลีเซอรอลปริมาณ 5 ส่วนในร้อยส่วน (parts per hundred of resin, phr) ช่วยให้เม็ดพลาสติกมีความสามารถในการไหลที่ดีขึ้น ทั้งนี้เนื่องจากกลีเซอรอลทำหน้าที่เป็นพลาสติกไซเซอร์ และส่งผลให้อุณหภูมิในการขึ้นรูปลดลง (Ayoub *et al.*, 2021) แต่เมื่อพิจารณาการเพิ่มปริมาณกลีเซอรอลจาก 5 phr เป็น 10 phr พบว่าไม่สามารถเตรียมเม็ดพลาสติกได้ เนื่องจากการไหลของเม็ดพลาสติกหลอมเหลวที่มากเกินไป ดังนั้นเม็ดพลาสติกที่เตรียมได้ คือ PBAT5C, PBAT7C, PBAT10C, PBAT5G5C, PBAT5G7C และ PBAT5G10C และเมื่อนำเม็ดพลาสติกดังกล่าวมาขึ้นรูปเป็นฟิล์มพลาสติกพบว่าตัวอย่าง PBAT5C, PBAT7C, PBAT10C, PBAT5G5C และ PBAT5G7C สามารถขึ้นรูปเป็นฟิล์มได้ ยกเว้นตัวอย่าง PBAT5G10C ไม่สามารถขึ้นรูปเป็นฟิล์มได้ เนื่องจากความเหลวของเม็ดพลาสติกขณะขึ้นรูปเป็นฟิล์มมากเกินไป ทำให้ความแข็งแรงของพลาสติกเมื่ออยู่ในสถานะหลอมเหลวต่ำ (melt strength) จึงไม่เหมาะสมในการขึ้นรูปเป็นฟิล์มด้วยกระบวนการเป่าฟิล์ม ดังนั้นฟิล์มพลาสติกชีวภาพที่เตรียมได้ คือ PBAT5C, PBAT7C, PBAT10C, PBAT5G5C, PBAT5G7C

3.2 การวิเคราะห์สมบัติของฟิล์มพลาสติกชีวภาพ

3.2.1 การตรวจสอบค่าดัชนีการหลอมไหล

จากการตรวจสอบค่าดัชนีการหลอมไหล (MFI) พบว่า MFI ของเม็ดพลาสติก PBAT มีค่าประมาณ 11.3 กรัมต่อ 10 นาที (g/10 min) เมื่อเติมนาโนแคลเซียมคาร์บอเนต (CaCO₃) ลงไปใน PBAT ที่ระดับความเข้มข้น 5 7 และ 10 %wt พบว่าค่า MFI มีแนวโน้มเพิ่มขึ้นอยู่ในช่วงประมาณ 16.2-18.3 g/10 min ทั้งนี้เนื่องจากนาโน

แคลเซียมคาร์บอเนต เป็นสารตัวเติมในระดับนาโนเมตรที่สามารถเข้าไปแทรกระหว่างสายโซ่ PBAT หลอมเหลวขณะการไหลไปตามแรงเฉือนระหว่างกระบวนการขึ้นรูปเป็นเม็ดพลาสติกคอมพาวด์ในกระบวนการอัดรีดได้ จึงทำให้ค่าดัชนีการหลอมไหลมีแนวโน้มเพิ่มขึ้น (Tuteja *et al.*, 2007; Liang *et al.*, 2011; Shelesh- Nezhad *et al.*, 2013; Nekhamanurak *et al.*, 2014) และเมื่อพิจารณาที่การเติมปริมาณกลีเซอรอลที่ระดับความเข้มข้น 5 และ 10 phr พบว่าค่าดัชนีการหลอมไหลมีค่าเพิ่มขึ้นจากเดิมอยู่ในช่วงประมาณ 18.6-32.1 g/10 min ดังภาพที่ 1 ทั้งนี้เนื่องจากกลีเซอรอลทำหน้าที่เป็นพลาสติกไซเซอร์ จึงส่งผลให้เม็ดพลาสติกที่ได้มีความหนืดลดลง โดยเฉพาะเม็ดพลาสติกคอมพาวด์ PBAT5G10C และ PBAT10G5C ไม่สามารถขึ้นรูปเป็นฟิล์มได้ เนื่องจากค่าดัชนีการหลอมไหลที่มากเกินไป ทำให้ความแข็งแรงของพลาสติกเมื่ออยู่ในสถานะหลอมเหลวต่ำ (melt strength) จึงไม่เหมาะสมในการขึ้นรูปเป็นฟิล์มด้วยกระบวนการเป่าฟิล์ม

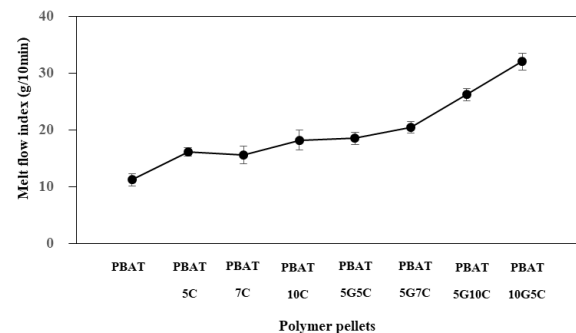


Figure 1 Melt flow index of PBAT, PBAT/CaCO₃, and PBAT/Glycerol/CaCO₃ pellets.

3.2.2 การทดสอบสมบัติทางกลในโหมดแรงดึง

ผลจากการตรวจสอบสมบัติทางกลของฟิล์มด้วยโหมดแรงดึง (ภาพที่ 2) แสดงกราฟค่าความต้านทานแรงดึง (tensile strength) (ภาพที่ 2a) ค่าร้อยละการดึงยืด ณ จุดขาด (elongation at break) (ภาพที่ 2b) และค่ามอดุลัส (modulus) (ภาพที่ 2c) ทั้งในแนวนานกับเครื่อง (machine direction, MD) และในแนวขวางเครื่อง (cross direction, CD) พบว่า ฟิล์ม PBAT มีค่าความต้านทานแรงดึง ค่าร้อยละการดึงยืด ณ จุดขาด และค่ามอดุลัส ในแนวนานกับเครื่อง (MD) เท่ากับ 10.7 MPa 695.3% และ 14.6 MPa ตามลำดับ และในแนวขวางเครื่อง (CD) เท่ากับ 10.3 MPa 609.9% และ 7.2 MPa ตามลำดับ และเมื่อเติมนาโนแคลเซียมคาร์บอเนต (CaCO₃) ลงไปใน PBAT ที่ระดับความเข้มข้น 5 7 และ 10 %wt พบว่าที่ 5 %wt CaCO₃ ทำให้ค่าความต้านทานแรงดึง และค่ามอดุลัส

เพิ่มขึ้นเป็น 13.7 MPa และ 16.9 MPa ในแนว MD และ 9.8 MPa และ 9.6 MPa ในแนว CD ส่วนค่าร้อยละการดึงยืด ณ จุดขาด ทั้งแนว MD และ CD มีค่าลดลงเป็น 365.1% และ 404.7% ตามลำดับ ซึ่งค่าความแข็งแรงที่เพิ่มขึ้นนี้เป็นผลมาจากการเติมนาโนแคลเซียมคาร์บอเนตซึ่งทำหน้าที่เป็นวัสดุเสริมแรง (reinforcement material) จึงช่วยเพิ่มความแข็งแรงทางกลให้กับ PBAT และส่งผลให้ค่าการดึงยืด ณ จุดขาดลดลง ซึ่งสอดคล้องกับงานวิจัยของ Chan *et al.* (2002) และ Aframehr *et al.* (2017) แต่เมื่อพิจารณาที่ความเข้มข้นของนาโนแคลเซียมคาร์บอเนต เพิ่มขึ้นเป็น 7–10 %wt พบว่าค่าความแข็งแรงของฟิล์มมีค่าลดลง ทั้งนี้ อาจเป็นเพราะปริมาณนาโนแคลเซียมคาร์บอเนตที่เพิ่มขึ้นทำให้เกิดการเกาะกลุ่มของนาโนแคลเซียมคาร์บอเนต และการกระจายตัวของนาโนแคลเซียมคาร์บอเนตใน PBAT ลดลง ส่งผลให้สมบัติทางกลมีแนวโน้มที่ลดลงไปด้วย และเมื่อพิจารณาที่การเติมกลีเซอรอลที่ปริมาณ 5 phr ลงใน PBAT/CaCO₃ พบว่าค่าสมบัติทางกลมีแนวโน้มสูงขึ้นเมื่อเปรียบเทียบกับปริมาณความเข้มข้นเดียวกัน โดยเฉพาะ PBAT5G5C มีค่าความต้านทานแรงดึง ค่าร้อยละการดึงยืด ณ จุดขาด และค่ามอดุลัสในแนว MD เท่ากับ 20.4 MPa 624.0% และ 11.1 MPa ตามลำดับ และแนว CD เท่ากับ 14.7 MPa 482.0 % และ 8.8 MPa ตามลำดับ ทั้งนี้ เนื่องจากการเติมกลีเซอรอลลงไปช่วยให้เกิดการกระจายตัวของนาโนแคลเซียมคาร์บอเนตใน PBAT เพิ่มขึ้น ซึ่งสอดคล้องกับการวิเคราะห์โครงสร้างระดับจุลภาคของฟิล์ม PBAT5G5C ด้วยกล้องจุลทรรศน์อิเล็กตรอนแบบส่องกราด ดังแสดงภาพที่ 6 ซึ่งการกระจายตัวที่ดีของ CaCO₃ จะช่วยรับแรงจากภายนอก และขวางการเคลื่อนที่ของวัสดุเมื่อมีแรงมากระทำ ส่งผลให้ฟิล์มที่ได้มีค่าความต้านทานแรงดึง และค่าร้อยละการดึงยืด ณ จุดขาดเพิ่มขึ้น (Rodriguez-Gonzalez *et al.*, 2004; Yimnak *et al.*, 2020; Shaari *et al.*, 2021)

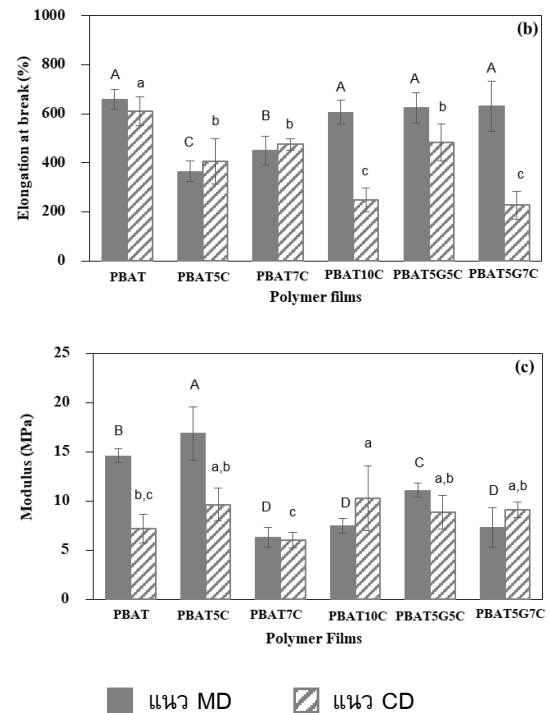
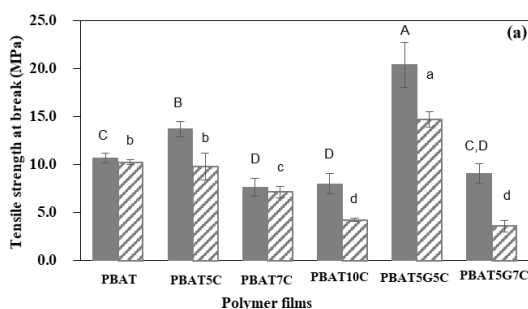


Figure 2 Tensile properties of PBAT, PBAT/CaCO₃, and PBAT/Glycerol/CaCO₃ films.

ABCD different letters in a column are significantly different level ($p < 0.05$) according to Duncan's multiple range test

abcd different letters in a column are significantly different level ($p < 0.05$) according to Duncan's multiple range test

3.2.3 การตรวจสอบสมบัติทางความร้อนด้วย

เทคนิค Differential scanning calorimetry

จากผลการตรวจสอบสมบัติทางกลของฟิล์มด้วยโหมตแรงดึง พบว่าฟิล์มที่มีแนวโน้มสมบัติทางกลที่ดี ได้แก่ ฟิล์ม PBAT5C, PBAT7C, PBAT5G5C และ PBAT5G7C จึงได้นำฟิล์มตัวอย่างดังกล่าวมาตรวจสอบสมบัติทางความร้อนด้วยเทคนิค Differential scanning calorimetry (DSC) จากภาพที่ 3a เมื่อพิจารณาการให้ความร้อนกับฟิล์มตัวอย่างช่วงอุณหภูมิ -50 ถึง 150 องศาเซลเซียส พบว่าสมบัติทางความร้อนของฟิล์ม PBAT แสดงพีคดูดความร้อนปรากฏ 3 ตำแหน่งที่อุณหภูมิ -35.3 50.7 และ 112.8 องศาเซลเซียส ซึ่งแสดงถึงอุณหภูมิการเปลี่ยนสถานะคล้ายแก้ว (glass transition temperature, T_g) อุณหภูมิหลอมเหลวช่วงที่ 1 (melting temperature, T_{m1}) และอุณหภูมิหลอมเหลวช่วงที่ 2 (T_{m2}) ตามลำดับ เนื่องจาก PBAT เป็นโคพอลิเมอร์ที่มีโครงสร้างประกอบด้วย 2 ส่วน ได้แก่ ส่วนอ่อน (soft segment) คือ Polybutylene adipate (PBA) และส่วนแข็ง (rigid segment) คือ Polybutylene

terephthalate (PBT) จึงทำให้มีการหลอมผลึกเกิดขึ้น 2 ช่วง โดยช่วงแรกเป็นของ PBA (T_{m1}) และการหลอมผลึกช่วงที่ 2 เป็นของ PBT (T_{m2}) (Chivrac *et al.*, 2006; da Silva *et al.*, 2017) สำหรับการเติมนาโนแคลเซียมคาร์บอเนตใน PBAT ที่ปริมาณความเข้มข้น 5 และ 7 %wt พบว่าค่า T_g และ T_{m2} มีแนวโน้มเพิ่มขึ้น โดยการเติมนาโนแคลเซียมคาร์บอเนตที่ปริมาณความเข้มข้น 5 %wt (PBAT5C) มีค่า T_g และ T_{m2} เพิ่มขึ้นเป็น -33.5 และ 115.0 องศาเซลเซียส ตามลำดับ ทั้งนี้เนื่องจากนาโนแคลเซียมคาร์บอเนตทำหน้าที่เป็นสารเสริมแรง ที่อนุภาคมีความแข็งเมื่อเติมลงใน PBAT จึงไปช่วยเพิ่มสมบัติทางความร้อนให้กับพอลิเมอร์คอมโพสิตทำให้อนุภาคมีการหลอมเหลวเพิ่มขึ้น (Sahebian and Mosavian, 2019) และเมื่อพิจารณาการเติมกลีเซอรอลปริมาณ 5 phr ลงในพอลิเมอร์คอมโพสิต PBAT5G5C และ PBAT5G7C ค่า T_g มีแนวโน้มลดลงเล็กน้อยเมื่อเปรียบเทียบกับ การเติมนาโนแคลเซียมคาร์บอเนตเพียงอย่างเดียว โดยมีค่าประมาณ -34.2 องศาเซลเซียส ซึ่งเป็นผลมาจากกลีเซอรอลทำหน้าที่เป็นพลาสติกไซเซอร์ไปแทรกตัวอยู่ระหว่างสายโซ่โมเลกุลของ PBAT จึงทำให้สมบัติความยืดหยุ่นเพิ่มขึ้น แต่อย่างไรก็ตามเมื่อพิจารณาค่า T_{m2} พบว่ามีแนวโน้มเพิ่มขึ้น โดยเฉพาะ PBAT5G5C ซึ่งมีค่าเพิ่มขึ้นเป็น 123.2 องศาเซลเซียส ทั้งนี้เนื่องจากกลีเซอรอลช่วยให้เกิดการกระจายตัวที่ดีของนาโนแคลเซียมคาร์บอเนต จึงช่วยเพิ่มสมบัติทางความร้อนของพอลิเมอร์คอมโพสิตได้มากขึ้น จากภาพที่ 3b เมื่อพิจารณาการเย็นตัวของฟิล์มตัวอย่างช่วงอุณหภูมิ 150 ถึง -50 องศาเซลเซียส พบว่า PBAT มีอุณหภูมิการเกิดผลึก (crystallization temperature, T_c) เท่ากับ 67.3 องศาเซลเซียส และเมื่อเติมนาโนแคลเซียมคาร์บอเนตลงไปใน PBAT พบว่า T_c ของ PBAT5C และ PBAT7C เพิ่มขึ้นเป็น 71.0 และ 73.0 องศาเซลเซียส ตามลำดับ ซึ่งแสดงว่าการเติมนาโนแคลเซียมคาร์บอเนตทำหน้าที่เป็นสารก่อผลึก (nucleating agent) ทำให้เหนี่ยวนำให้เกิดการตกผลึกเร็วขึ้น (Jiang *et al.*, 2007; Lv *et al.*, 2008) เมื่อพิจารณาการเติมปริมาณกลีเซอรอลลงไปในพอลิเมอร์คอมโพสิตพบว่า T_c ของ PBAT5G5C และ PBAT5G7C มีแนวโน้มเพิ่มขึ้นเช่นเดียวกัน โดยมีค่า T_c เพิ่มขึ้นเป็น 80.0 และ 83.9 องศาเซลเซียส ตามลำดับ

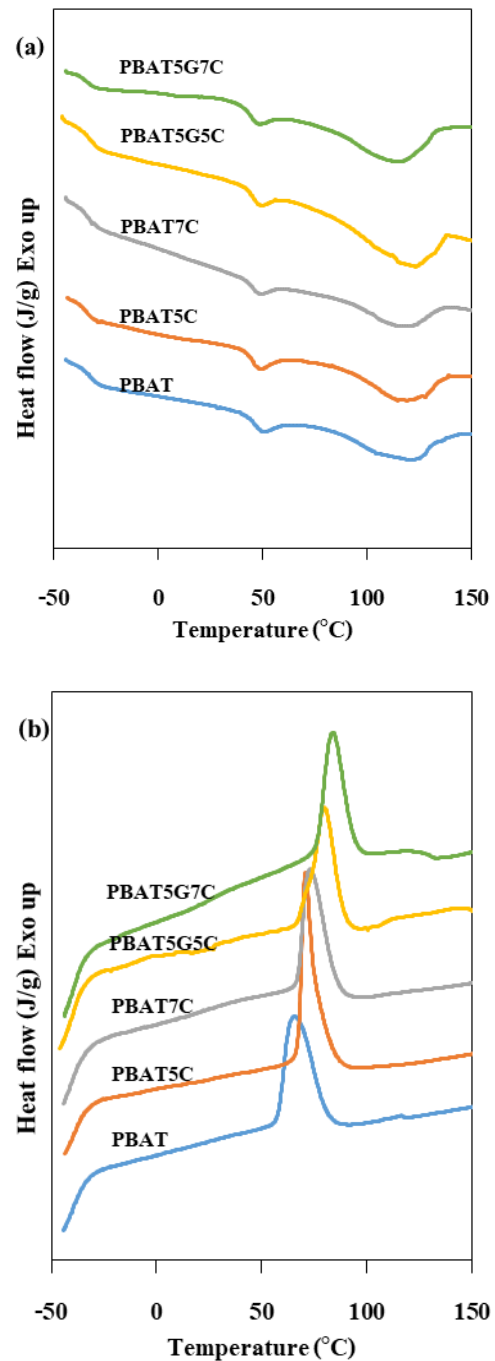


Figure 3 DSC thermograms of PBAT, PBAT/CaCO₃ and PBAT/Glycerol/CaCO₃ films: (a) heating cycle and (b) cooling cycle.

3.2.4 การตรวจสอบอัตราการซึมผ่านของก๊าซออกซิเจน

ผลการตรวจสอบอัตราการซึมผ่านของก๊าซออกซิเจนของ PBAT มีค่าประมาณ 1373.3 ลูกบาศก์เซนติเมตร/ตารางเมตร x 1 วัน (cm³/m².day) และเมื่อเติมนาโนแคลเซียมคาร์บอเนตใน PBAT พบว่าอัตราการซึมผ่านของก๊าซออกซิเจนมีค่าลดลง โดยเฉพาะที่ปริมาณ

ความเข้มข้นของนาโนแคลเซียมคาร์บอเนต 5 %wt มีค่าประมาณ 996.7 cc/m².day และเมื่อพิจารณาการเติมกลีเซอรอลปริมาณ 5 phr ลงในฟิล์มคอมโพสิตโดยเฉพาะ PBAT5G5C ค่าสภาพการซึมผ่านได้ของก๊าซออกซิเจนลดลงเป็น 436.0 cm³/m².day ดังภาพที่ 4 ทั้งนี้เนื่องจากการเติมนาโนแคลเซียมคาร์บอเนตใน PBAT และการเติมกลีเซอรอลซึ่งช่วยให้การกระจายตัวของนาโนแคลเซียมคาร์บอเนตใน PBAT ได้ดีมากขึ้น ช่วยลดพื้นที่ว่างของฟิล์มในการแพร่ผ่านก๊าซออกซิเจน และช่วยเพิ่มระยะทางในการเดินทางของก๊าซออกซิเจนผ่านฟิล์ม PBAT มากขึ้น จึงส่งผลให้อัตราการซึมผ่านของก๊าซออกซิเจนลดลง (Aframehr *et al.*, 2017; Venkatesan and Rajeswari, 2019)

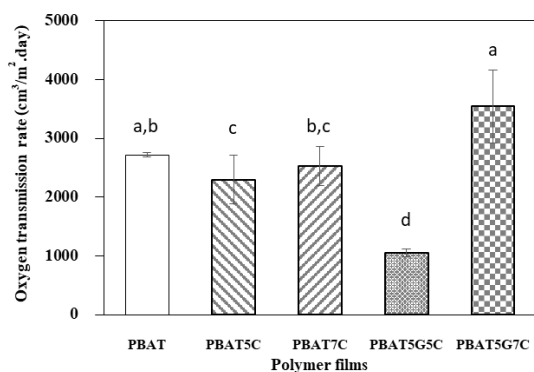


Figure 4 Oxygen transmission rate of PBAT, PBAT/CaCO₃, and PBAT/Glycerol/CaCO₃ films.

3.2.5 การตรวจสอบอัตราการซึมผ่านของไอน้ำ

ผลการตรวจสอบอัตราการซึมผ่านของไอน้ำของ PBAT มีค่าประมาณ 58.4 กรัมต่อตารางเมตร x 1 วัน (g/m².day) ซึ่งเมื่อทำการเติมนาโนแคลเซียมคาร์บอเนตใน PBAT พบว่าอัตราการซึมผ่านของไอน้ำมีค่าลดลงอยู่ในช่วง 54.5–54.7 g/m².day และเมื่อพิจารณาการเติมกลีเซอรอลปริมาณ 5 phr โดยเฉพาะ PBAT5G5C ค่าอัตราการซึมผ่านของไอน้ำลดลงเป็น 45.4 g/m².day ดังภาพที่ 5 ทั้งนี้เนื่องจากอนุภาคนาโนแคลเซียมคาร์บอเนตที่มีการกระจายตัวได้ดี จึงช่วยลดพื้นที่ว่างของฟิล์มในการแพร่กระจาย และช่วยเพิ่มระยะทางในการซึมผ่านของไอน้ำ จึงส่งผลให้อัตราการซึมผ่านของไอน้ำลดลง (Hale *et al.*, 2001; Spence *et al.*, 2011)

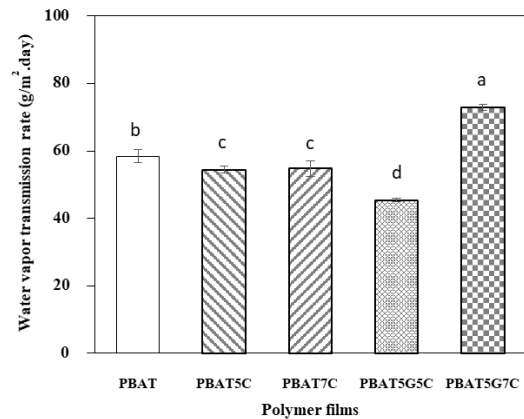


Figure 5 Water vapor transmission rate of PBAT, PBAT/CaCO₃, and PBAT/Glycerol/CaCO₃ films.

3.2.6 การวิเคราะห์ด้วยกล้องจุลทรรศน์

อิเล็กตรอนแบบส่องกราด

จากภาพที่ 6 พบว่าโครงสร้างระดับจุลภาคของอนุภาคนาโนแคลเซียมคาร์บอเนต (CaCO₃) มีลักษณะเป็นทรงลูกบาศก์มีขนาดอนุภาคประมาณ 50-100 นาโนเมตร สำหรับพื้นผิวของ PBAT พบว่าเป็นฟิล์มพื้นผิวเรียบที่มีการหลอมเหลวของเม็ดพลาสติกได้อย่างสมบูรณ์ และเมื่อพิจารณาฟิล์มคอมโพสิต PBAT5C ซึ่งมีการผสม CaCO₃ ที่ระดับความเข้มข้น 5 %wt พบว่าอนุภาคของ CaCO₃ มีการกระจายตัวอยู่บนพื้นผิวของฟิล์ม PBAT แบบกระจายตัว และมีการเกาะกลุ่มกันเล็กน้อย โดยนาโนแคลเซียมคาร์บอเนต ที่กระจายตัวทั่ว PBAT นี้จะทำหน้าที่เป็นวัสดุเสริมแรง จึงทำให้สมบัติทางกลในโหมดแรงดึงสูงขึ้น นอกจากนี้เมื่อพิจารณาการเติมกลีเซอรอลปริมาณ 5 phr ลงในฟิล์มคอมโพสิต PBAT5G5C พบว่าพื้นผิวของฟิล์มมีความเรียบมากขึ้น และมีการกระจายตัวของ CaCO₃ ที่พื้นผิวของฟิล์ม PBAT มากขึ้น ทั้งนี้เนื่องจากการเติมกลีเซอรอลส่งผลให้ความหนืดของพอลิเมอร์คอมโพสิต PBAT/CaCO₃ ลดลง ซึ่งสอดคล้องกับค่าดัชนีหลอมไหลของ PBAT5G5C ที่มีค่ามากกว่า PBAT5C จึงทำให้ลักษณะของฐานนิวทียาเปลี่ยนแปลงไปและช่วยเพิ่มให้เกิดการผสมระหว่างเฟสหลัก PBAT (matrix phase) และเฟสเสริมแรง CaCO₃ (reinforcement phase) ได้ดียิ่งขึ้น ส่งผลให้ค่าความแข็งแรงทางกลเพิ่มขึ้น และอัตราการซึมผ่านของก๊าซออกซิเจนและไอน้ำลดลงด้วย

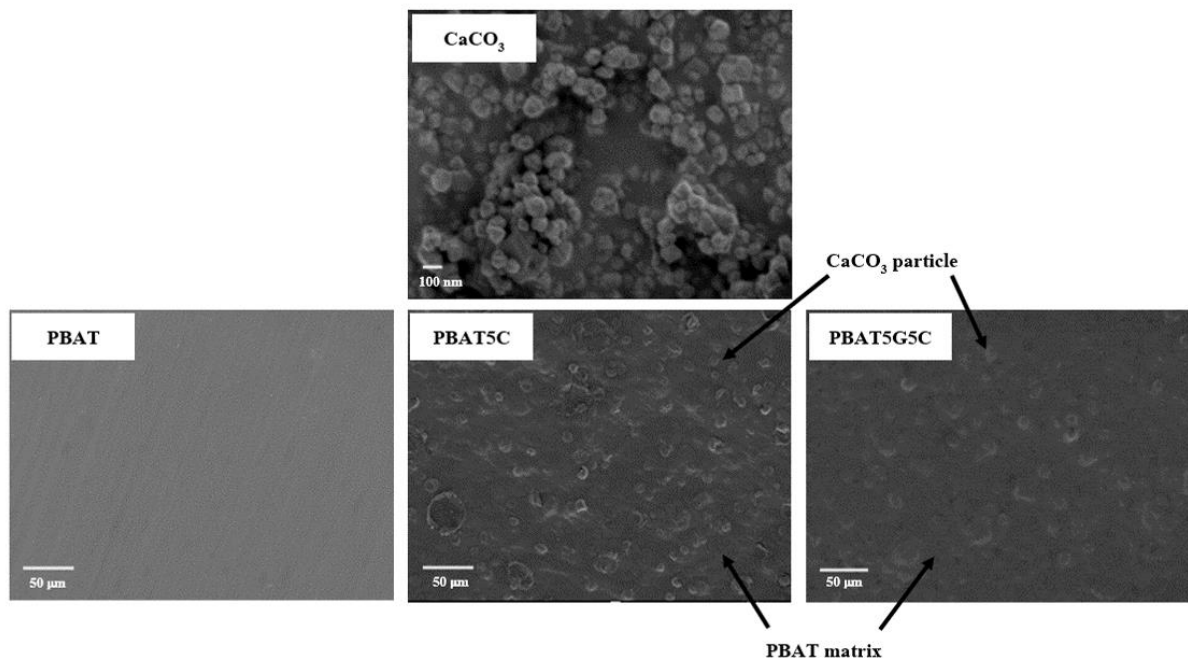


Figure 6 Field emission scanning electron microscopy (FE-SEM) of calcium carbonate particle ($\times 50,000$ magnification) and surface of PBAT, PBAT/ CaCO_3 , and PBAT/Glycerol/ CaCO_3 films ($\times 3,000$ magnification).

4. สรุป

จากการพัฒนาสูตรฟิล์มพลาสติกชีวภาพ ด้วยการเติมนาโนแคลเซียมคาร์บอเนตและกลีเซอรอลเพื่อปรับปรุงสมบัติของพลาสติกชีวภาพพอลิไบทาลีนอะดิเปต-โค-เทเรฟทาเรท พบว่าเม็ดพลาสติก PBAT และ PBAT/ CaCO_3 สามารถทำการเป่าขึ้นรูปเป็นแผ่นฟิล์มได้ รวมทั้งสูตรที่มีการเติมกลีเซอรอลที่ปริมาณ 5 phr สำหรับการเพิ่มปริมาณกลีเซอรอลที่มากขึ้นไปที่ 10 phr ส่งผลให้ความแข็งแรงของพลาสติกหลอมเหลวต่ำจึงไม่เหมาะสมในการขึ้นรูปด้วยกระบวนการเป่าฟิล์ม อย่างไรก็ตามเมื่อพิจารณาการเติมกลีเซอรอลซึ่งทำหน้าที่เป็นพลาสติก-ไซเซอร์นอกจากช่วยให้ความหนืดลดลงและง่ายต่อกระบวนการขึ้นรูปแล้ว กลีเซอรอลยังช่วยทำให้เกิดการกระจายตัวของนาโนแคลเซียมคาร์บอเนตใน PBAT เพิ่มขึ้นด้วย ซึ่งมีผลต่อการปรับปรุงสมบัติทางกลของฟิล์มด้วย โดยเฉพาะฟิล์ม PBAT5G5C มีค่าความต้านทานแรงดึงในแนว MD เท่ากับ 20.4 MPa ซึ่งมีค่าสูงกว่าฟิล์ม PBAT และ PBAT/ CaCO_3 ($p < 0.05$) สำหรับสมบัติทางความร้อนของฟิล์มพลาสติกชีวภาพ พบว่าการเติมนาโนแคลเซียมคาร์บอเนตจะช่วยเพิ่มสมบัติทางความร้อนให้กับพอลิเมอร์คอมโพสิตทำให้อุณหภูมิในการหลอมเหลวเพิ่มขึ้น และการเติมกลีเซอรอลในระบบโดยเฉพาะฟิล์ม PBAT5G5C มีสมบัติทางความร้อนเพิ่มขึ้นด้วย ทั้งนี้เนื่องจากการเติมกลีเซอรอลช่วยทำให้เกิดการกระจายตัวที่ดีของนาโนแคลเซียมคาร์บอเนต สำหรับสมบัติด้านการซึมผ่าน

ของก๊าซออกซิเจนและไอน้ำของฟิล์ม PBAT5G5C พบว่ามีค่าอัตราการซึมผ่านของก๊าซออกซิเจนและไอน้ำของฟิล์มเท่ากับ $436.0 \text{ cm}^3/\text{m}^2 \cdot \text{day}$ และ $45.4 \text{ g}/\text{m}^2 \cdot \text{day}$ ตามลำดับ ซึ่งมีค่าต่ำที่สุดเมื่อเปรียบเทียบกับตัวอย่างฟิล์มอื่น ($p < 0.05$) จากเหตุผลที่กล่าวไปข้างต้น การเติมกลีเซอรอลช่วยให้เกิดการกระจายตัวของนาโนแคลเซียมคาร์บอเนตใน PBAT ได้ดีขึ้น ส่งผลให้พื้นที่ว่างของฟิล์มในการแพร่ผ่านของก๊าซออกซิเจนและไอน้ำลดลง หรือเพิ่มการขัดขวางการแพร่ผ่านของก๊าซออกซิเจนและไอน้ำมากขึ้น ซึ่งพิจารณาได้จากผลการวิเคราะห์ด้วยกล้องจุลทรรศน์อิเล็กตรอนแบบส่องกราด (FESEM) ดังนั้นฟิล์ม PBAT5G5C จึงเหมาะสมกับการขึ้นรูปเป็นฟิล์มที่สามารถประยุกต์ใช้เป็นบรรจุภัณฑ์อาหารได้ เนื่องจากมีความแข็งแรงต่อแรงดึง มีความทนทานต่อความร้อนเพิ่มขึ้น มีสมบัติด้านความยืดหยุ่นสูง และมีอัตราการซึมผ่านของก๊าซออกซิเจนและไอน้ำต่ำ ซึ่งก๊าซออกซิเจนและไอน้ำจากสิ่งแวดล้อมภายนอกจัดว่าเป็นปัจจัยหนึ่งที่ทำให้ก่อให้เกิดการเสื่อมเสียของอาหาร หากป้องกันได้จะช่วยในการยืดอายุของอาหารได้นานขึ้น ฉะนั้นจึงเหมาะต่อการนำมาใช้บรรจุผลิตภัณฑ์อาหารประเภทที่มีไขมันเป็นส่วนประกอบหรือมีเนื้อสัมผัสที่นุ่ม เช่น เบเกอรี่ ขนมปังอบ ลูกก๊ี้ และขนมขบเคี้ยว เป็นต้น นอกจากนี้ยังเป็นมิตรกับสิ่งแวดล้อมอีกด้วย

5. กิตติกรรมประกาศ

งานวิจัยนี้ได้รับทุนอุดหนุนการวิจัยจากสถาบันการจัดการปัญญาภิวัฒน์ ปีงบประมาณ พ.ศ. 2563 และการอนุเคราะห์ห้องปฏิบัติการ การใช้เครื่องมือในการทดสอบวิเคราะห์ผลต่าง ๆ จากสาขาวิชาวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยี มหาวิทยาลัยสุโขทัยธรรมาธิราช และ คณะอุตสาหกรรมเกษตร คณะนวัตกรรมเกษตร สถาบันการจัดการปัญญาภิวัฒน์

6. เอกสารอ้างอิง

- Aframehr, W. M. , Molki, B. , Heidarian, P. , Behzad, T. , Sadeghi, M. and Bagheri, R. 2017. Effect of calcium carbonate nanoparticles on barrier properties and biodegradability of polylactic acid. **Fibers and Polymers** 18(11): 2041-2048.
- Arruda, L. C. , Magaton, M. , Bretas, R. E. S. and Ueki, M.M. 2015. Influence of chain extender on mechanical, thermal and morphological properties of blown films of PLA/PBAT blends. **Polymer Testing** 43(2): 27-37.
- Avolio, R., Castaldo, R., Avella, M., Cocca, M., Gentile, G. , Fiori, S. and Errico, M.E. 2018. PLA-based plasticized nanocomposites: Effect of polymer/ plasticizer/ filler interactions on the time evolution of properties. **Composites Part B: Engineering** 152: 267-274.
- Ayoub, A. , Treasure, T. , Hansen, L. , Nypelö, T. , Jameel, H. , Khan, S. , Chang, H.M. Martin, A. H. and Venditti, R.A. 2021. Effect of plasticizers and polymer blends for processing softwood kraft lignin as carbon fiber precursors. **Cellulose** 28(2): 1039-1053.
- Chan, C.M., Wu, J., Li, J.X. and Cheung, Y.K. 2002. Polypropylene/calcium carbonate nanocomposites. **Polymer** 43(10): 2981-2992.
- Chivrac, F. , Kadlecová, Z. , Pollet, E. and Avérous, L. 2006. Aromatic copolyester-based nanobiocomposites: elaboration, structural characterization and properties. **Journal of Polymers and the Environment** 14(4): 393-401.
- da Silva, N.M.C., Correia, P.R.C., Druzian, J.I., Fakhouri, F.M. , Fialho, R. L.L. and de Albuquerque, E.C.M.C. 2017. PBAT/TPS composite films reinforced with starch nanoparticles produced by ultrasound. **International Journal of Polymer Science** 5: 1-10.
- EFSA Panel on Food Additives and Nutrient Sources added to Food (ANS). 2011. Scientific Opinion on re-evaluation of calcium carbonate (E 170) as a food additive. **EFSA Journal** 9(7): 2318.
- George, J., Poulouse, A.M., Chandran, A. and Somashekar, A. A. 2023. Influence of plasticizer on the dielectric properties of polypropylene/ carbon black composites. **Materials Today: Proceedings**. Available Source: <https://doi.org/10.1016/j.matpr.2023.03.297>, March 22, 2023.
- Hale, W. R. , Dohrer, K. K. , Tant, M. R. and Sand, I. D. 2001. A diffusion model for water vapor transmission through microporous polyethylene/ CaCO₃ films. **Colloids and Surfaces A: Physicochemical and Engineering Aspects** 187-188: 483-491.
- Hemsri, S., Puttiwanit, K., Saeang, K. and Satung, P. 2020. Low density polyethylene/poly(butylene adipate-co-terephthalate) films: Effect of a compatibilizer on morphology and properties. **IOP Conference Series: Materials Science and Engineering** 965(1): 1-7.
- Hernandez, R.J. 1997. Food Packaging Materials, Barrier Properties, and Selection, pp. 296-365. In Valentas, K.J., Rotstein, E. and Singh, R.P., eds. **Handbook of Food Engineering Practice**. CRC Press, New York.
- Jiang, L., Zhang, J. and Wolcott, M.P. 2007. Comparison of polylactide/ nano-sized calcium carbonate and polylactide/ montmorillonite composites: reinforcing effects and toughening mechanisms. **Polymer** 48(26): 7632-7644.
- Kim, H.S., Park, B.H., Choi, J.H. and Yoon, J.S. 2008. Mechanical properties and thermal stability of poly (L-lactide)/calcium carbonate composites. **Journal of Applied Polymer Science** 109(5): 3087-3092.
- Li, G. , Shankar, S. , Rhim, J.W. and Oh, B.Y. 2015. Effects of preparation method on properties of poly (butylene adipate-co-terephthalate) films.

- Food Science and Biotechnology** 24(5) : 1679-1685.
- Liang, J.Z., Tang, C.Y., Zhou, L., He, L. and Tsui, C.P. 2011. Melt density and flow property of PDLLA/ nano- CaCO₃ bio- composites. **Composites Part B: Engineering** 42(7): 1897-1900.
- Lv, Z., Hu, C., Xue, J. and Dou, T. 2008. Effect of zeolite 5A on the crystalline behavior of polypropylene (PP) in PP/ β -nucleating agent system. **Polymer composites** 29(12): 1291-1296.
- Nekhamanurak, B., Patanathabutr, P. and Hongsrirphan, N. 2014. The influence of micro- / nano- CaCO₃ on thermal stability and melt rheology behavior of poly (lactic acid). **Energy Procedia** 56: 118-128.
- Rodriguez-Gonzalez, F. J., Ramsay, B.A. and Favis, B. D. 2004. Rheological and thermal properties of thermoplastic starch with high glycerol content. **Carbohydrate Polymers** 58(2): 139-147.
- Sahebian, S. and Mosavian, M.H. 2019. Thermal stability of CaCO₃/polyethylene (PE) nanocomposites. **Polymers and Polymer Composites** 27(7): 371-382.
- Shaari, N.Z.K., Abd Rahman, N., Taha, A.R., Alauddin, S.M. and Akhbar, S. 2021. Enhancement of strength and flexibility of high- density polyethylene using rubber leaves. **IOP Conference Series: Materials Science and Engineering** 1053(1): 1-11.
- Shelesh-Nezhad, K., Orang, H. and Motallebi, M. 2013. Crystallization, shrinkage and mechanical characteristics of polypropylene/ CaCO₃ nanocomposites. **Journal of Thermoplastic Composite Materials** 26(4): 544-554.
- Spence, K.L., Venditti, R.A., Rojas, O.J., Pawlak, J.J. and Hubbe, M.A. 2011. Water vapor barrier properties of coated and filled microfibrillated cellulose composite films. **BioResources** 6(4): 4370-4388.
- Tuteja, A., Duxbury, P.M. and Mackay, M.E. 2007. Multifunctional nanocomposites with reduced viscosity. **Macromolecules** 40(26) : 9427-9434.
- Venkatesan, R. and Rajeswari, N. 2019. Nanosilica-reinforced poly (butylene adipate-co-terephthalate) nanocomposites: preparation, characterization and properties. **Polymer Bulletin** 76(9): 4785-4801.
- Wei, D., Wang H., Xiao H., Zheng A. and Yang Y. 2015. Morphology and mechanical properties of poly(butylene adipate- co- terephthalate) potato starch blends in the presence of synthesized reactive compatibilizer or modified poly(butylene adipate- co- terephthalate) . **Carbohydrate Polymers** 123: 275-282.
- Yang, K., Yang, Q., Li, G., Sun, Y. and Feng, D. 2006. Morphology and mechanical properties of polypropylene/calcium carbonate nanocomposites. **Materials Letters** 60(6): 805-809.
- Yimnak, K., Thipmanee, R. and Sane, A. 2020. Poly (butylene adipate-co-terephthalate)/thermoplastic starch/zeolite 5A films: Effects of compounding sequence and plasticizer content. **International Journal of Biological Macromolecules** 164: 1037-1045.



Research Article

Development of Shredded Catfish as a Health Food Product for the Elderly

Rattanakorn Saenthumpol^{*}, Nuttarin Sirirustananun and Thammasart Chantarat*Program of Agriculture, Faculty of Agricultural and Industrial Technology, Phetchabun Rajabhat University, Phetchabun 67000, Thailand.*

ABSTRACT

Article history:

Received: 2024-07-11

Revised: 2024-10-02

Accepted: 2024-10-24

Keywords:

shredded fish;

Clarias;

shredded fish product;

elderly;

food safety

This research aimed to develop shredded catfish products for the elderly by studying physical, chemical, and microbiological qualities, and evaluating sensory attributes. Using 30 people with a 9-point hedonic scale, formula 3 was most accepted, leading to the development of two products: original flavor and seaweed with sesame flavor. Results showed lightness (L^*) values of 53.91 ± 1.36 and 50.20 ± 0 , red (a^*) values of 10.50 ± 0.69 and 11.25 ± 0.51 , and yellow (b^*) values of 30.23 ± 0.26 and 28.65 ± 0.51 , respectively, with significant differences ($P < 0.05$). Water activity values (0.57 and 0.56) were not statistically different ($P > 0.05$). Chemical composition of the original and seaweed with sesame products were, respectively, moisture 4.53% and 4.75% , protein 48.06% and 50.12% , fat 6.54% and 7.35% , carbohydrate 32.64% and 33.52% , and ash 7.47% and 7.54% . Moisture content met standards. Microbiological analysis showed total microbial counts of 2.5×10^3 CFU/g (original) and 3×10^3 CFU/g (seaweed with sesame). Both flossed catfish products contained yeast and mold levels of less than 25 CFU/g, which are within the standard limits.

© 2025 Saenthumpol, R., Sirirustananun, N. and Chantarat, T. Recent Science and Technology published by Rajamangala University of Technology Srivijaya

1. Introduction

In the present day, with societal changes, people are living in a hurried state, which has affected their eating habits. There is a growing demand for ready-to-eat and save time in preparation or cooking. Consequently, consumers increasingly seek processed food products, leading to the study and development of innovative food products that are nutritionally valuable and convenient to consume. Moreover, utilizing local agricultural raw materials as much as possible can enhance the value of local produce, thereby creating additional income for the farmers who produce them.

Fish is increasingly becoming a popular choice among health-conscious consumers due to its

nutritional benefits. Fish meat is rich in high-quality protein, low in fat, and the fats present in fish help reduce blood cholesterol levels. The protein in fish is of high quality and easily digestible, which benefits the body by nourishing and developing the brain, promoting growth, and repairing tissues (Jiwaphong, 1999). Freshwater fish (100 grams) provides 95 kilocalories, 0.8 grams of fat, trace amounts of carbohydrates, 18.0 grams of protein, 0.05 grams of calcium, and 0.001 grams of iron (Nutrition Division, 1987). Fish meat can be prepared into a variety of savory dishes such as curry, sour soup, sour curry, hot and sour soup, tom yum, steamed, fried, grilled, stir-fried, and salads. Moreover, the role of diverse food processing methods has increased as alternatives for consumers. For

^{*} Corresponding author.E-mail address: rattanakorn.sae@pcru.ac.th

Cite this article as:

Saenthumpol, R., Sirirustananun, N. and Chantarat, T. 2025. Development of Shredded Catfish as a Health Food Product for the Elderly. **Recent Science and Technology** 17(1): 263980.

instance, fresh fish meat can be cooked and processed into fish floss, mimicking the product made from pork floss. This involves cooking the fish, separating the muscle fibers into strands, and drying them to create a fluffy and shredded texture (Industrial Standards Institute, 1987). Fish floss processing involves moisture reduction through drying, which helps preserve the food. The choice of fish should be one with fibrous meat, whether white or red meat, preferably inexpensive and yielding a high meat-to-bone ratio. Marine fish such as tilapia, mackerel, and threadfin can be used for fish floss (Department of Fisheries, n.d.). There has been the development of herbal-enriched fish floss products, studying steaming and grilling methods for three types of fish: stingray, mackerel, and threadfin. Sensory tests indicated that grilled threadfin fish floss was the most favored. Fish floss products are nutritionally high, with studies showing 87.4% protein and 6.3% fat (Panmanee and Sakulkuhasawan, 2003). Additionally, when dried properly, they can be stored for long periods without becoming rancid due to their low-fat content. (Fitri *et al.*, 2022) Fish floss can serve as a substitute for pork floss, reducing production costs since pork is generally more expensive than fish. It also offers a healthier option for consumers. Especially for the Elderly: In contemporary Thai society, the elderly population is growing, with approximately 13,064,929 elderly individuals across 77 provinces in Thailand as of December 31, 2023, accounting for 20.08% of the total population (Department of Provincial Administration, 2023). The elderly is characterized by physical deterioration rather than enhancement, unlike other age groups. This change impacts various aspects of their lives, including important factors like dietary habits. Thus, food or products designed for the elderly are crucial for their well-being. Fish is particularly suitable for the elderly because it is easy to digest. Fish is a nutritionally rich animal and one of the most popular seafood, providing

good-quality protein and beneficial fats. Fish fats are present in smaller quantities compared to fats from other animals, and certain fish contain Omega-3 fatty acids, which promote heart and vascular health. For example, Omega-3 is found in salmon, particularly wild salmon, which is high in vitamins and minerals, as well as in trout, such as rainbow trout, which has a pleasant taste and high Omega-3 content. (Phogat *et al.*, 2022). However, since salmon is not produced in Thailand and is expensive, catfish becomes a viable alternative. Catfish is beneficial to health, with low calories, low mercury content, and rich in fats, including Vitamin B12, Omega-3, and Omega-6. These are unsaturated fatty acids that the body cannot produce on its own and help reduce blood cholesterol. (Mendivil, 2021) Therefore, this research aims to develop a prototype catfish floss recipe, examine its quality, and assess consumer acceptance of the catfish floss product. This provides a dietary alternative and benefits the health of the elderly.

2. Materials and Methods

2.1 Study the prototype shredded catfish recipes by selecting the basic production recipe from three different formulas

The shredded catfish using the following steps: The catfish was decapitated, the belly was cut open, and the guts were removed. It was cleaned thoroughly with a 4% saline solution. The catfish was steamed at 100°C for 30 minutes. The fish meat was then separated. All seasoning ingredients were measured, including minced garlic, finely chopped galangal, light soy sauce, dark soy sauce, granulated sugar, salt, and water. These ingredients were melted in a pan over heat, then the catfish meat was added and stir-fried until dry. Next, it was placed in an oven at 50°C for 1 hour and 30 minutes. After cooling, it was packaged in polyethylene terephthalate (PET) bags. The ingredient proportions vary as shown in Table 1.

Table 1 Ingredients of shredded catfish in various recipes.

Ingredient	Weight of ingredients in each recipe (grams)		
	1 ^a	2 ^b	3 ^c
cooked fish fillet	500	400	600
minced garlic	-	-	40
chopped galangal	-	-	40
soy sauce	60	50	50
Dark soy sauce	15	45	15
sugar	75	90	50
water	250	175	50
salt	-	30	-

Source: a Department of Fisheries, (n.d.)

b Suban (1984)

c Terdkwanchai and Charoenchai (2011)

After obtaining all 3 recipes, they were tested for product acceptance using the 9-point hedonic scale. The most accepted recipe was selected and further developed into two prototype catfish floss products: Original Flavored Catfish Floss and Catfish Floss with Seaweed and Sesame.

2.2 Study on the quality of shredded catfish and consumer acceptance:

The physical quality was evaluated by measuring the color parameters L*, a*, and b* using a spectrophotometer (model CM-3500d) and the water activity (aw) using a water activity meter (model Pawkit). Chemical quality assessment included moisture content, protein, fat, crude fiber, carbohydrates, and ash content (AOAC, 2000). Microbiological quality was determined by total plate count for total microorganisms and yeast and mold count using a yeast and mold enumeration method in culture media. Consumer acceptance was evaluated by sensory quality assessment using a 9-point hedonic scale (Chompreeda, 2006) focusing on

appearance, color, odor, flavor, texture, and overall acceptability (1 represents "dislike extremely" and 9 represents "like extremely"). The sensory evaluation involved 30 untrained panelists aged 60 and above. The results were analyzed using statistical methods, including analysis of variance (ANOVA) based on a completely randomized design (CRD), and differences in means for each test item were compared using Duncan's New Multiple Range Test (DMRT) at a 95% confidence level, utilizing statistical software.

3. Results and Discussion

3.1 Results of the development of prototype shredded catfish

Three prototype shredded catfish recipes were developed. The appropriate production recipes were derived from three different basic sources with varying ingredients (Table 1). Once all three catfish floss recipes were prepared, they were subjected to sensory evaluation. The average sensory quality scores of the basic catfish floss recipes are presented in Table 2.

Table 2 Sensory properties of shredded catfish

Acceptance Sensory Properties	Recipe		
	1	2	3
Appearance	6.70 ^b ±1.39	6.27 ^b ±1.46	7.60 ^a ±1.19
Color	6.83 ^b ±1.21	5.33 ^c ±1.79	7.70 ^a ±1.18
Odor	6.53 ^b ±1.61	5.43 ^c ±1.59	7.47 ^a ±1.22
Flavor	6.40 ^b ±1.81	5.17 ^c ±2.02	7.40 ^a ±1.74
Texture	6.60 ^b ±1.57	5.47 ^c ±1.78	7.33 ^a ±1.35
Overall	7.23 ^a ±1.45	5.93 ^b ±1.66	7.63 ^a ±1.10

Remark: ^{a,b,c} mean± SD values in the same row with different letters are statistically different ($P < 0.05$)

1 represents "dislike extremely" and 9 represents "like extremely"

Table 3 The physical qualities of the shredded catfish products

Product	Prototype of shredded catfish product	
	Original flavor	Seaweed and sesame seeds flavor
Water activity (a_w) ^{ns}	0.57±0.01	0.56±0.01
Hunter		
L*	53.91 ^a ±1.36	50.20 ^b ±0.01
a*	10.50 ^b ±0.69	11.25 ^a ±0.51
b*	30.23 ^a ±0.26	28.65 ^b ±0.51

Remark: ^{a,b} mean± SD values in the same row with different letters are statistically different ($P < 0.05$)

^{ns} mean non-significant difference in the same row ($P > 0.05$)

All three recipes of shredded catfish have a soft, fluffy, and fibrous appearance. Recipes 1 and 3 have a lighter brown color compared to recipe 2 due to a lower amount of dark soy sauce used in recipes 1 and 3, which affects the color of the shredded catfish. Recipes 1 and 2 have a slight fishy odor because the fish was washed with 4% saltwater, which helps reduce the fishy smell. However, recipe 3 does not have any fishy odor due to the presence of herbal aromas from garlic and galangal, which make it more fragrant than recipes 1 and 2, which do not contain herbs. In terms of taste and texture, recipe 3 has a higher average rating than recipes 1 and 2. Whereas recipe 3 has a softer and fluffier texture than recipe 2 and 1. The overall preference scores for the three recipes are 7.23±1.45, 5.93±1.66, and 7.63±1.10, respectively, showing a statistically significant difference ($P < 0.05$). Therefore, recipe 3 received the highest acceptance score. The researcher chose recipe 3 to develop prototype products of shredded catfish with the original flavor and seaweed-sesame flavor, and further studied their physical, chemical, microbial quality, and consumer acceptance

3.2 Results of product quality study and consumer acceptance

Physical quality

From the experimental results on physical quality, including L*, a*, and b* color values of the original flavored shredded catfish product, it was found that the average values were 53.91±1.36, 10.50±0.69, and 30.23±0.26, respectively. For the shredded catfish with seaweed-sesame flavor, the average values were 50.20±0.01, 11.25±0.51, and 28.65±0.51, respectively, which are significantly different ($P < 0.05$). The analysis of the L*, a*, and b* color values of the shredded catfish products indicates differences in color between the original flavor and the seaweed-sesame flavor. The original flavor exhibits higher lightness and yellow intensity compared to the seaweed-sesame flavor, while the seaweed-sesame flavor shows a higher intensity of red. However, the water activity (a_w) values of both products did not differ statistically ($P > 0.05$), as shown in Table 3.

From Table 3, the physical quality of both shredded catfish products shows that the shredded catfish has a medium lightness value L^* , a positive a^* value, indicating a reddish color, and a high positive b^* value, indicating a deep yellow color. This means that the shredded catfish has a slightly reddish-yellow color and is not dark. The water activity (a_w) value is 0.57, indicating a very low free water content. This water activity level meets the standard criteria, as the industrial product standards require an a_w value of less than 0.6. This result is consistent with Siririksh (2018) in the development of calcium-fortified Nile tilapia chili paste made from Nile tilapia bones, which has an a_w value of 0.388, also less than 0.6, in line with the standards. This indicates that microbial growth is minimal, and consumers can consume the product safely.

Chemical quality

The chemical composition of the original flavored shredded catfish and the seaweed-sesame flavored shredded catfish was found to have a moisture content of $4.53 \pm 0.01\%$ and $4.75 \pm 0.03\%$, respectively. The protein content was $48.06 \pm 0.02\%$ and $50.12 \pm 0.02\%$, respectively, consistent with Thammaratwasik (1989) which reported that catfish is an important protein source with low carbohydrate content and 5% fat, mostly composed of unsaturated fatty acids and no cholesterol. Most of the fat is unsaturated fat, which is beneficial for heart health. Since older adults often face

vascular issues, consuming healthy fats can help control cholesterol levels and improve heart function (Food and Agriculture Organization of the United Nations (FAO), 2020). The fat content was $6.5 \pm 0.014\%$ and $7.35 \pm 0.02\%$, the carbohydrate content was $32.64 \pm 0.03\%$ and $33.52 \pm 0.02\%$, respectively, and the ash content was $7.47 \pm 0.02\%$ and $7.54 \pm 0.02\%$, respectively. Both shredded catfish products have moisture levels within the standard limits due to being roasted and baked with heat to remove water from the food, resulting in moisture levels that prevent microbial growth.

Microbial quality

The results of the microbial quality analysis of the original flavored shredded catfish product showed a total plate count (TPC) of 2.5×10^3 CFU/g, and the seaweed-sesame flavored shredded catfish had a TPC of 3×10^3 CFU/g. Both shredded catfish products had yeast and mold counts of <25 CFU/g. In the processing of shredded catfish products, the methods of washing with saline solution, steaming, roasting, and applying heat while controlling the moisture content of the catfish to not exceed 6 percent resulted in low levels of microorganisms (Mahendra *et al.*, 2016). As shown in Table 5. These microbial counts are within the standard limits (Industrial Standards Institute, 1987) indicating that both shredded catfish products have good microbial quality and are safe for consumers to eat. Examples of the original flavored shredded catfish and the seaweed-sesame flavored shredded catfish are shown in Figure 1.

Table 5 Microbiological quality values of shredded catfish products.

Microbiological quality (CFU/g)	Prototype of shredded catfish product	
	Original flavor	Seaweed and sesame seeds flavor
Total Plate Count, TPC	2.5×10^3	3×10^3
Yeast and mold	< 25	< 25



Figure 1 Shredded catfish product prototype (a) shredded catfish original flavor, (b) shredded catfish mixed with seaweed and sesame seed

Table 6 Consumer acceptance of the prototype product of shredded catfish.

Acceptance Sensory Properties	Prototype of shredded catfish product	
	Original flavor	Seaweed and sesame seeds flavor
Appearance ^{ns}	7.45±1.09	7.05±1.61
Color ^{ns}	7.85±1.93	7.60±1.64
Odor	7.85 ^b ±1.76	8.05 ^a ±1.21
Flavor ^{ns}	7.80±1.77	7.60±1.72
Texture ^{ns}	7.70±1.80	7.50±1.69
Overall	8.91 ^a ±1.76	8.60 ^b ±1.68

Sensory quality evaluation and panelists acceptance

The results of the sensory evaluation and panelists acceptance of both shredded catfish products using a 9-point hedonic scale revealed that consumers rated satisfaction in terms of appearance, color, taste, and texture with statistically insignificant differences ($P>0.05$). However, regarding aroma, panelists rated the seaweed-sesame flavored shredded catfish higher than the original flavored shredded catfish, with average scores of 8.05 ± 1.21 and 7.85 ± 1.76 , respectively. This difference was statistically significant ($P<0.05$), likely due to the enhanced aroma of seaweed and sesame. In addition, sesame seeds and seaweed are rich in important nutrients. They contain healthy fats, particularly unsaturated fats, which are beneficial for heart health. They are also sources of protein, vitamins B1, B6, and E, as well as minerals such as calcium, magnesium, and iron. Seaweed, in particular, is rich in dietary fiber, which aids in digestion and promotes intestinal health

(Wei *et al.*, 2022; Zhang *et al.*, 2021). Overall panelists acceptance of the shredded catfish products showed that consumers rated the original flavored shredded catfish highest in satisfaction compared to the seaweed-sesame flavored product, with average scores of 8.91 ± 1.76 and 8.60 ± 1.68 , respectively. This difference was statistically significant ($P<0.05$), indicating that consumers preferred the original flavored product more.

4. Conclusion

The development of prototype products of original flavored shredded catfish and seaweed-sesame flavored shredded catfish shows that they meet industrial standards in terms of physical, chemical, and microbial quality. Additionally, they have been accepted by panelists, indicating that consumers can safely consume these products. This makes them viable food

options for elderly individuals and health-conscious individuals alike

5. Acknowledgments

Thank you for the research funding support provided for the fiscal by Rajabhat Phetchabun University, aimed at fostering scientific research and innovation. Thank you the community enterprise group and agricultural science students who collaborated effectively in this research.

6. References

- AOAC. 2000. **Official Methods of Analysis**. 17th ed. Association of Official Analytical Chemists, Washington, D.C.
- Chompreeda, P. 2006. **Sensory evaluation and consumer acceptance**. Faculty of Agro-Industry Department of Product Development, Kasetsart University, Bangkok. (in Thai)
- Department of Fisheries. n.d. **Processing of aquatic animals**. Thailand Agricultural Cooperative Community Printing Company Limited, Bangkok. (in Thai)
- Department of Provincial Administration. 2023. **Elderly statistics for the year 2023**. Ministry of Interior. Available Source: <https://www.dop.go.th/th/knownside/1/1/2449>, June 26, 2024.
- Fitri, N., Chan, S.X.Y., Che Lah, N.H., Jam, F.A., Misnan, N.M., Kamal, N., Sarian, M.N., Mohd Lazaldin, M.A., Low, C.F., Hamezah, H.S., Rohani, E.R., Mediani, A. and Abas, F. 2022. A Comprehensive Review on the Processing of Dried Fish and the Associated Chemical and Nutritional Changes. **Foods** 11(19): 2938.
- Food and Agriculture Organization of the United Nations (FAO). 2020. **Nutritional Guidelines for Older Adults**. Available Source: <https://openknowledge.fao.org/server/api/core/bitstreams/6e2d2772-5976-4671-9e2a-0b2ad87cb646/content>, September 15, 2024.
- Industrial Standards Institute. 1987. **Industrial product standards for fish floss, fish flakes and dried fish**. Public Business Print Company Limited, Bangkok. (in Thai)
- Jiwaphong, P. 1999. **Eat fish and live a long life**. Namfon Publishing, Bangkok. (in Thai)
- Mahendra, P., Manyazewal, A. and Asnake, K. 2016. Effect of Processing Techniques on Microbial Quality of Fish Products. **International Journal of Food Science and Technology** 51(7): 1478-1485.
- Mendivil, C.O. 2021. Dietary Fish, Fish Nutrients, and Immune Function: A Review. **Frontiers in Nutrition** 7: 617652.
- Nutrition Division. 1987. **The table shows the qualities of Thai food in the edible portion of 100 grams**. Department of Health, Ministry of Public Health, Nonthaburi. Available Source: <https://www.nutrition2.anamai.moph.go.th/th/thai-food-composition-table>, June 15, 2024. (in Thai)
- Panmanee, M. and Sakulkuhasawan, S. 2003. Production of shredded tilapia supplemented with herbs. Special problems in Food Science and Technology (Agricultural Technology), Phetchaburi Rajabhat Institute, Phetchaburi. (in Thai)
- Phogat, S., Dahiya, T., Jangra, M., Kumari, A. and Kumar, A. 2022. Nutritional Benefits of Fish Consumption for Humans: A Review. **International Journal of Environment and Climate Change** 12(12): 1443-1457.
- Siririkh, C. 2018. Development of the product of calcium-fortified shredded tilapia chili paste from tilapia bones. **Vocational Education Central Region Journal** 2(1): 56-62. (in Thai)
- Suban, J. 1984. **Food preservation textbook**. Phrae Pittaya Publishing, Bangkok. (in Thai)
- Terdkwanchai, S. and Charoenchai, A. 2011. Product development of shredded Nil tilapia. **Journal of Home Economics** (54)1: 5-11. (in Thai)
- Thammaratwasik, P. 1989. **Food processing methods**. O.S. Printing, Bangkok. (in Thai)
- Wei, P., Zhao, F., Wang, Z., Wang, Q., Chai, X., Hou, G. and Meng Q. 2022. Sesame (Sesamum indicum L.): A Comprehensive Review of

Nutritional Value, Phytochemical Composition, Health Benefits, Development of Food, and Industrial Applications. **Nutrients** 14(19): 4079.

Zhang, Y. , Liu, J. and Hu, Y. 2021. Nutritional Composition and Health Benefits of Seaweed: A Comprehensive Review. **Foods** 10(4): 750.



Recent Science and Technology

Research and Development Institute,
Rajamangala University of Technology Srivijaya
179 M.3, Maifad, Sikao, Trang 92150, Thailand.

Tel: +66-0922-6004-39 Email: rst.journal@rmutsv.ac.th