



PBRU Science Journal

Volume 21 Number 2 July - December 2024

ISSN 2773-9716 (online)





PBRU Science Journal

ปีที่ 21 ฉบับที่ 2 เดือนกรกฎาคม – ธันวาคม 2567

Volume 21 Number 2 July – December 2024

ISSN 2773-9716 (online)

A design of temperature control system in wine fermentation process	1
Prapawan Pangsi and Phanwipa Pangsi*	
Product Development of Chaya Tea Gel with roasted Black Sticky Rice.....	15
Sineenart Suktanarak* and Thiranuch Katemanee	
In vitro Anti-inflammatory Activity of Ethanolic Extracts from the Medicinal Plants Used in Thai Analgesic and Antipyretic Formula.....	25
Atchara Kaewnoi*, Supharat Duanyai, Rattana Rungsuk, Jantana Yahuafai, Omboon Vallisuta, Pichapat Thititanaapipong	
Dijkstra's algorithm for the shortest path problem under intuitionistic fuzzy environment.....	38
Darunee Hunwisai	
The Fire Alarm System Architecture via the Intelligent Things Technology for Higher Education.....	49
Rukthin Laoha* Chaiyan Sakulthai Narawich Sriauraya Vutipol Chutjaraskul and Potsirin Limpinan	
Short-term storage of white shrimp (<i>Litopenaeus vannamei</i>) spermatophores.....	60
Sumate Chomphutawach*, Theerawat Onlamool, Manita Kuntapa and Anuwat Lakyat	
Development of skin care product from leaves of <i>Moringa oleifera</i> herbal extracts with antioxidant activities.....	70
Khemika Kieng Na Fah Manok* Charinan Jangklang Parichat Chiworarak and Sasithorn Kalkao	
The Development of Animation Media to Promote Gold panning cultural tourism, Ron Thong Subdistrict, Bang Saphan District, Prachuap Khiri Khan Province.....	86
Siriporn Uamsiri Sukanchalika Boonmatham* Pheerasut Boonmatham Pramote Tongchin Danai Jedsadathitikul Korakrot Charoenphon and Yanisa Atthawara	
Phytochemical Contents, Antioxidant and Antibacterial Activities of Golden and Pink Oyster Mushrooms.....	101
Wethaka Chaocharoen*, Sarinrut Supasathana, Butsarakam Singchai, Suphasuta Limlikhitaksorn, Chonlada Maneerat, Akarapon Susanam and Budsakorn Auiyawong	



PBRU Science Journal

ปีที่ 21 ฉบับที่ 2 เดือนกรกฎาคม – ธันวาคม 2567

Volume 21 Number 2 July – December 2024

ISSN 2773-9716 (online)

ที่ปรึกษา

ผู้ช่วยศาสตราจารย์ ดร. เสนาะ กลิ่นงาม

อธิการบดี

ผู้ช่วยศาสตราจารย์ณรงค์ ไกรเนตร์

คณบดีคณะวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยี

บรรณาธิการ

อาจารย์ ดร.ไกรฤกษ์ ทวีเชื้อ

มหาวิทยาลัยราชภัฏเพชรบุรี

รองบรรณาธิการ

ผู้ช่วยศาสตราจารย์ ดร.บุษกร อู่วงศ์

มหาวิทยาลัยราชภัฏเพชรบุรี

ผู้ช่วยศาสตราจารย์ ดร.กนกรัตน์ จิรสัจจานุกูล

มหาวิทยาลัยราชภัฏเพชรบุรี

ผู้ช่วยศาสตราจารย์เมษิยา แยมเจริญกิจ

มหาวิทยาลัยราชภัฏเพชรบุรี

อาจารย์ ดร.สมิตานันท์ จันทะบุรี

มหาวิทยาลัยราชภัฏเพชรบุรี

ผู้ช่วยบรรณาธิการ

นางสาวอรุณี แก้วบริสุทธิ์

มหาวิทยาลัยราชภัฏเพชรบุรี

กองบรรณาธิการ

ศาสตราจารย์ ดร.ปรัชญนันท์ นิลสุข

มหาวิทยาลัยเทคโนโลยีพระจอมเกล้าพระนครเหนือ

ศาสตราจารย์ ดร.ปรีชา ภูวไพริศริศา

จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

ศาสตราจารย์ ภก.ปิติ จันทวรโชติ

จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

ศาสตราจารย์ ดร.สุนิษฐ์ สุขสำราญ

มหาวิทยาลัยศรีนครินทรวิโรฒ

รองศาสตราจารย์ ดร.โกมล ไพศาล

มหาวิทยาลัยราชภัฏสวนสุนันทา

รองศาสตราจารย์ ดร.จินตนา วิบูลย์ศิริกุล

มหาวิทยาลัยราชภัฏเพชรบุรี

รองศาสตราจารย์ ดร.ณัฐธนนท์ หงส์วิทธิธรร

มหาวิทยาลัยธรรมศาสตร์

รองศาสตราจารย์ ดร.บัญญัติ ยิ่งงาม

มหาวิทยาลัยอุบลราชธานี

รองศาสตราจารย์ ดร.วรรณชัย ขาแท่น

มหาวิทยาลัยมหาสารคาม

รองศาสตราจารย์ ดร.สมิทธิ์ เอี่ยมสอาด

มหาวิทยาลัยเทคโนโลยีมหานคร

รองศาสตราจารย์ ดร.สิริธร สโมสร

มหาวิทยาลัยศรีนครินทรวิโรฒ

รองศาสตราจารย์ ดร.อำไพศักดิ์ ทิบุญมา

มหาวิทยาลัยอุบลราชธานี

ผู้ช่วยศาสตราจารย์ ดร.ชนิสรา ศรีวัฒนาวรรณ

มหาวิทยาลัยนเรศวร

ผู้ช่วยศาสตราจารย์ ดร.ธีรเดช สืบเจริญ

มหาวิทยาลัยเชียงใหม่

ผู้ช่วยศาสตราจารย์ ดร.ปานีศา แก้วสวัสดิ์

มหาวิทยาลัยราชภัฏเพชรบุรี

ผู้ช่วยศาสตราจารย์ ดร.ศิรินันท์ แก่นทอง

มหาวิทยาลัยศรีนครินทรวิโรฒ

ผู้ช่วยศาสตราจารย์ ดร.ศุภลักษณ์ โพธิ์

มหาวิทยาลัยเชียงใหม่

อาจารย์ ดร.ณิรดา สถาปัตยานนท์

มหาวิทยาลัยศรีนครินทรวิโรฒ



PBRU Science Journal

ปีที่ 21 ฉบับที่ 2 เดือนกรกฎาคม – ธันวาคม 2567

Volume 21 Number 2 July – December 2024

ISSN 2773-9716 (online)

สำนักงานกองบรรณาธิการ

คณะวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยี มหาวิทยาลัยราชภัฏเพชรบุรี อำเภอเมือง จังหวัดเพชรบุรี 76000

โทรศัพท์ 0 3270 8633 โทรสาร 0 3270 8661

เว็บไซต์ <http://sciencejournal.pbru.ac.th>

อีเมล sciencejournal@mail.pbru.ac.th

ข้อมูลผู้พิมพ์

คณะวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยี มหาวิทยาลัยราชภัฏเพชรบุรี อำเภอเมือง จังหวัดเพชรบุรี 76000

โทรศัพท์ 0 3270 8633 โทรสาร 0 3270 8661

วัตถุประสงค์ และขอบเขตของวารสาร

PBRU Science Journal เป็นวารสารที่จัดทำโดย คณะวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยี มหาวิทยาลัยราชภัฏเพชรบุรี โดยมีวัตถุประสงค์เพื่อเป็นแหล่งเผยแพร่ผลงานทางวิชาการที่มีคุณค่า และเพื่อนำไปสู่การพัฒนาคำถามความรู้ใหม่และนวัตกรรมที่ทันสมัย ซึ่งผลงานที่สามารถเผยแพร่ในวารสารมีทั้งบทความวิจัย (research article) ทางด้านวิทยาศาสตร์ เช่น ฟิสิกส์ เคมี ชีววิทยา จุลชีววิทยา วิทยาศาสตร์สิ่งแวดล้อม คณิตศาสตร์ สถิติ คอมพิวเตอร์ และเทคโนโลยีสารสนเทศ โดยบทความที่จะขอรับการตีพิมพ์ ต้องเป็นผลงานที่ไม่ได้ทำการคัดลอกจากผลงานของผู้อื่น ต้องไม่เคยเผยแพร่ในวารสารใดมาก่อน และไม่อยู่ระหว่างการพิจารณาตีพิมพ์ในวารสารอื่น โดยทุกบทความต้องผ่านการบรรณาการตรวจสอบความถูกต้องทางวิชาการจากคณะผู้เชี่ยวชาญในแต่ละสาขาที่เกี่ยวข้อง

กำหนดการตีพิมพ์

ปีละ 2 ฉบับ

ฉบับที่ 1 มกราคม – มิถุนายน

ฉบับที่ 2 กรกฎาคม – ธันวาคม

- บทความทุกเรื่องในวารสารฉบับนี้ ได้รับพิจารณาประเมินคุณภาพทางวิชาการก่อนการตีพิมพ์ โดยผู้ทรงคุณวุฒิ (Peer Review) ตามสาขาวิชาที่เกี่ยวข้องจากภายใน หรือภายนอกมหาวิทยาลัยจำนวน 3 ท่านต่อ 1 บทความ
- บทความและแนวกิตติ ๓ ที่พิมพ์ใน PBRU Science Journal เป็นความรับผิดชอบของผู้แต่ง
- กองบรรณาธิการวารสารไม่สนใจสิทธิ์ ในการคัดลอกเพื่อการพัฒนาเชิงวิชาการ แต่ต้องได้รับการอ้างอิงอย่างถูกต้อง
- ไม่มีการเรียกเก็บค่าใช้จ่ายในการตีพิมพ์ในวารสาร PBRU Science Journal

การออกแบบระบบควบคุมอุณหภูมิในกระบวนการหมักไวน์

A Design of Temperature Control System in Wine Fermentation Process

ประภาวรรณ แพงศรี¹ และพรณวิภา แพงศรี^{2*}

Prapawan Pangsri¹ and Phanwipa Pangsri^{2*}

¹คณะเทคโนโลยีอุตสาหกรรม มหาวิทยาลัยราชภัฏวไลยอลงกรณ์ ในพระบรมราชูปถัมภ์

²คณะวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยี มหาวิทยาลัยราชภัฏวไลยอลงกรณ์ ในพระบรมราชูปถัมภ์

¹ Faculty of Industrial Technology, Valaya Alongkorn Rajabhat University under the Royal Patronage

² Faculty of Science and Technology, Valaya Alongkorn Rajabhat University under the Royal Patronage

*Corresponding author; E-mail: phanwipa@vru.ac.th

Received: 19 April 2024 /Revised: 29 May 2024 /Accepted: 05 September 2024

บทคัดย่อ

ปัจจุบันไวน์ได้รับความสนใจจากผู้บริโภคเป็นอย่างมากเนื่องจากไวน์มีประโยชน์ต่อสุขภาพโดยไวน์จะกระตุ้นน้ำย่อยของร่างกาย การผลิตไวน์ผลิตจากองุ่นและผลไม้อื่น ๆ โดยมีการควบคุมกระบวนการหมักภายใต้สภาวะที่เหมาะสม ซึ่งมีผลต่อคุณภาพด้าน สี กลิ่นและรสชาติของไวน์ วัตถุประสงค์งานวิจัยนี้เพื่อศึกษาและออกแบบระบบควบคุมอุณหภูมิแบบ Proportional Integral Derivative Control (PID) ในกระบวนการหมักไวน์ จากการศึกษาโดยทำการหมักไวน์ในสภาวะที่มีการควบคุมอุณหภูมิ 20-25 องศาเซลเซียส ผลการทดลองพบว่าค่าความเป็นกรด-ด่างลดลงจาก 2.85 เป็น 2.70 ปริมาณของแข็งที่ละลายน้ำได้ทั้งหมดลดลงจาก 20.00 เหลือ 4.91 องศาบริกซ์ และปริมาณแอลกอฮอล์เท่ากับ 9.5 เปอร์เซ็นต์โดยปริมาตร ในระยะเวลา 10 วัน จากการศึกษากระบวนการควบคุมอุณหภูมิในกระบวนการหมักไวน์พบว่าระบบควบคุมอุณหภูมิมีความเสถียรและข้อมูลอยู่ในขอบเขตการควบคุม กระบวนการหมักใช้ระยะเวลาในการหมักเพื่อให้เกิดการใช้น้ำตาลและผลิตเป็นแอลกอฮอล์ใช้ระยะเวลาสั้น และให้ผลผลิตของไวน์ที่มีปริมาณแอลกอฮอล์สูง ดังนั้นการศึกษานี้จึงเป็นแนวทางในการจำลองถึงหมักไวน์ที่ควบคุมอุณหภูมิได้ เพื่อต่อยอดและสามารถนำไปประยุกต์ใช้ในอุตสาหกรรมครัวเรือนหรือวิสาหกิจชุมชนได้

คำสำคัญ: ไวน์ กระบวนการหมักไวน์ ระบบควบคุมอุณหภูมิ แผนภูมิควบคุม



Abstract

Wine is currently gaining a lot of attention from consumers because of its health benefits. Wine stimulates the body's digestive juices. Wine production is made from grapes and other fruits. The fermentation process is controlled under appropriate conditions that affect the quality, color, aroma and taste of the wine. Therefore, this research focused on the study and design of a temperature control system by using Proportional Integral Derivative Control (PID) in the wine fermentation process. From this study of wine fermentation under controlled temperature conditions at 20-25 °C. It was found that pH decreased from 2.85 to 2.70, the total soluble solids decreased from 20.00 to 4.91 °Brix and the alcohol content was 9.5 % (v/v) in 10 days. The temperature control system in the wine fermentation process showed that the fermentation process was stability and temperature data was under control limit. The process takes a short time to use sugar and produce alcohol and produce wine with a high alcohol content. Therefore, this study is a guideline for simulating wine fermentation tanks and can be applied in household industries or community enterprises.

Keywords: Wine, Fermentation process, Temperature control system, Control chart

บทนำ

ไวน์เป็นเครื่องดื่มแอลกอฮอล์ที่ได้จากการหมักน้ำองุ่นด้วยยีสต์โดยผ่านกระบวนการหมักที่อาศัยการทำงานของยีสต์เปลี่ยนน้ำตาลเป็นแอลกอฮอล์ และมีผลพลอยได้เป็นก๊าซคาร์บอนไดออกไซด์ โดยมีการควบคุมกระบวนการหมักภายใต้สภาวะที่เหมาะสม จากกระบวนการดังกล่าวประเทศไทยเป็นประเทศที่ผลไม้อาหารหลายชนิด ดังนั้นจึงมีการนำผลไม้ เช่น องุ่น สับปะรด กระเจี๊ยบ ลูกหม่อน เงาะ เป็นต้น มาแปรรูปเป็นน้ำผลไม้หรือไวน์ผลไม้ ไวน์ผลไม้มีการศึกษาโดยนำผลไม้ตามฤดูกาล ผลไม้ในท้องถิ่นรวมถึงสมุนไพรต่างๆ มาเป็นวัตถุดิบในการผลิต มีการนำวัสดุเหลือทิ้งของผลไม้จากกระบวนการผลิตในระดับ

อุตสาหกรรมมาใช้ให้เกิดประโยชน์อีกทางหนึ่ง เพื่อเพิ่มมูลค่าให้กับวัตถุดิบ ปัจจุบันมีการศึกษาผลิตไวน์ผลไม้โดยนำผลไม้ในท้องถิ่นมาเป็นวัตถุดิบในการผลิตและศึกษาปัจจัยที่มีผลต่อคุณภาพของผลิตภัณฑ์ไวน์ เช่น ชนิดของวัตถุดิบ สูตร ปริมาณหัวเชื้อ ที่เหมาะสม ในการผลิตไวน์ผลไม้ในระดับห้องปฏิบัติการเพื่อนำไปต่อยอดให้กับชุมชน เช่น ไวน์สละ สละเป็นผลไม้ที่ปลูกมากในภาคใต้ เนื้อสละมีรสชาติหวานอมเปรี้ยว โดยศึกษาอัตราส่วนของเนื้อสละและชนิดของยีสต์ที่ใช้ในการผลิตไวน์ ซึ่งการใช้เนื้อสละ 100 กรัมต่อลิตร หมักด้วยยีสต์ *Saccharomyces cerevisiae* K1-V1116 ปริมาณ 0.5 กรัมต่อลิตร หมักที่อุณหภูมิห้อง จะให้ผลิตภัณฑ์ไวน์เป็นที่ยอมรับทาง

ประสาทสัมผัสของผู้ทดลองชิมสูงสุด¹ นอกจากนั้น มีการนำน้ำตาลสดผสมกระชายดำหมักด้วยยีสต์ *S. cerevisiae* สายพันธุ์มาตรฐานและยีสต์ที่แยกจากน้ำตาลเมา พบว่ายีสต์สายพันธุ์แยกจากน้ำตาลเมา YAP 3-6 ที่มีปริมาณเชื้อเริ่มต้น 6 เปอร์เซ็นต์ สามารถผลิตปริมาณแอลกอฮอล์สูงที่สุดคิดเป็น 8.30 เปอร์เซ็นต์ (ปริมาตรต่อปริมาตร) ซึ่งผลิตได้มากกว่าสายพันธุ์ YAP 3-3 และสายพันธุ์มาตรฐาน *S. cerevisiae* TISTR 5049¹ สามารถผลิตปริมาณแอลกอฮอล์ได้ 7.50 และ 6.83 เปอร์เซ็นต์ ตามลำดับ² ปัจจุบันไวน์ได้รับความสนใจจากผู้บริโภคเป็นอย่างมากเนื่องจากไวน์มีประโยชน์ต่อสุขภาพโดยไวน์จะกระตุ้นน้ำย่อยของร่างกาย ทำให้เกิดความอยากอาหารเพิ่มมากขึ้น รักษาโรคความดันโลหิตต่ำ ทำให้หลอดเลือดหัวใจไม่ตีบตัน เป็นต้น³ จากประโยชน์ดังกล่าวมีการใช้วัตถุดิบผลไม้ในท้องถิ่น เช่น ลูกหม่อนซึ่งศึกษาถึงสารสำคัญที่มีคุณสมบัติในการเป็นสารต้านอนุมูลอิสระ พบว่าผลลูกหม่อนสดมีปริมาณสารประกอบฟีนอลิกมีค่าเท่ากับ 3,247 mg GAE/100 กรัม และแอนโทไซยานินมีค่าเท่ากับ 57.60 มิลลิกรัมต่อกรัม จากคุณสมบัติดังกล่าวจึงนำมาผลิตไวน์ โดยผสมแก่นตะวันพบว่าไวน์แก่นตะวันผสมลูกหม่อนในอัตราส่วน 1:3 ทำการหมักวัดปริมาณแอลกอฮอล์ได้ 13 เปอร์เซ็นต์ ปริมาณของแข็งที่ละลายในน้ำได้เท่ากับ 14 องศาบริกซ์ ค่าสีของไวน์ สีแดงม่วง³ นอกจากผลไม้แล้วกระเจียบแดงเป็นพืชที่สามารถนำมาผลิตเป็นยาสมุนไพรเพื่อรักษาโรคเนื่องจากกระเจียบมีสรรพคุณช่วยลดไขมันในเส้นเลือดลดความดันโลหิต ด้านเชื้อแบคทีเรีย⁴ จากคุณสมบัติดังกล่าวกระเจียบแดงจึงนิยมนำมาผลิตเครื่องดื่ม

และอาหาร เช่น ชา ไชรป แยม เยลลี่ น้ำสมุนไพร และอีกทางเลือกนำมาผลิตไวน์กระเจียบซึ่งเป็นแปรรูปผลิตผลทางการเกษตรเพื่อเพิ่มมูลค่าผลผลิตทางการเกษตรได้ในอนาคต จากกระบวนการผลิตไวน์จะมีการควบคุมกระบวนการหมักภายใต้สภาวะที่เหมาะสม หากกระบวนการหมักอุณหภูมิที่สูงเกินไปอาจมีผลต่อคุณภาพด้าน สี กลิ่นและรสชาติของไวน์ ซึ่งในการผลิตไวน์อุณหภูมิระหว่างการหมักเป็นอีกปัจจัยหนึ่งที่มีผลต่อกระบวนการเมแทบอลิซึมของยีสต์และส่งผลต่ออัตราการเติบโตของเซลล์ยีสต์⁵ จากเหตุผลดังกล่าวจะเห็นว่ากระบวนการหมักไวน์ควรมีการควบคุมอุณหภูมิให้อยู่ในค่าที่เหมาะสม จากแนวคิดในการออกแบบระบบควบคุมอุณหภูมิในงานด้านต่าง ๆ เช่น การใช้ระบบควบคุมอุณหภูมิในโรงเรือนปลูกผักและเมล็ดพันธุ์เพื่อให้ได้ผลผลิตที่มีคุณภาพ^{6,7} ดังนั้นงานวิจัยนี้จึงต้องการศึกษาและออกแบบระบบควบคุมอุณหภูมิในกระบวนการหมักไวน์เพื่อควบคุมคุณภาพของกระบวนการและผลิตภัณฑ์ นอกจากนี้ยังเป็นแนวทางในการนำไปต่อยอดการผลิตในระดับชุมชนได้

วิธีดำเนินการวิจัย

ผู้วิจัยกำหนดขอบเขตการศึกษานั่นคือกระบวนการหมักเนื่องจากเป็นกระบวนการที่สำคัญในการผลิตไวน์จึงจำเป็นต้องควบคุมอุณหภูมิซึ่งเป็นตัวแปรที่มีผลต่อคุณภาพของผลิตภัณฑ์ไวน์ เนื่องจากในระดับอุตสาหกรรมจะใช้เครื่องหรือถังหมักไวน์ขนาดใหญ่ซึ่งมีมูลค่าสูง ผู้วิจัยจึงมีแนวคิดในการจำลองถังหมักไวน์เพื่อใช้

ในครัวเรือนหรือวิชาหกิจชุมชนและควบคุมอุณหภูมิ ซึ่งมีขั้นตอนการดำเนินงานดังนี้

1. การออกแบบและสร้างระบบควบคุมอุณหภูมิสำหรับกระบวนการหมักไวน์

1.1 การควบคุมความเย็น

ในการทดลองนี้ใช้กล่องโฟมขนาด กว้างxยาวxสูง 45x60x31 เซนติเมตร เพียงพอสำหรับใส่ขวดหมักไวน์ ขนาด 2 ลิตร การทำความเย็นใช้แผ่นเทอร์โมอิเล็กทริกเพลเทียร์ (Peltier) สามารถนำมาควบคุมการทำความเย็นด้วยพลังงานไฟฟ้าเหมาะกับการทำความเย็นในพื้นที่ขนาดเล็กและเหมาะสำหรับการนำไปใช้งานในการหมักไวน์

ในระดับชุมชน โดยแผ่นทำความเย็นใช้แผ่นเทอร์โมอิเล็กทริกเพลเทียร์ รุ่น TEC1-12706 ขนาด 12 VDC 72 W หลักการทำงานเมื่อจ่ายกระแสไฟฟ้า กระแสตรงเข้าไปในแผ่นเทอร์โมอิเล็กทริกเพลเทียร์ สารกึ่งตัวนำชนิด P-N Type ภายในแผ่นเทอร์โมอิเล็กทริกเพลเทียร์ ประกอบด้วยสารกึ่งตัวนำ N Type จะมีประจุส่วนมากเป็นอิเล็กตรอน (Electron) จะมีขั้วเป็นลบ ส่วนสารกึ่งตัวนำ P Type จะมีประจุส่วนมากเป็นโฮล (Hole) จะมีขั้วเป็นบวก ทำให้เกิดความแตกต่างระหว่างอุณหภูมิบนแผ่นเทอร์โมอิเล็กทริกเพลเทียร์โดยด้านบนจะเย็นส่วนด้านล่างจะร้อน⁸ (Figure 1)

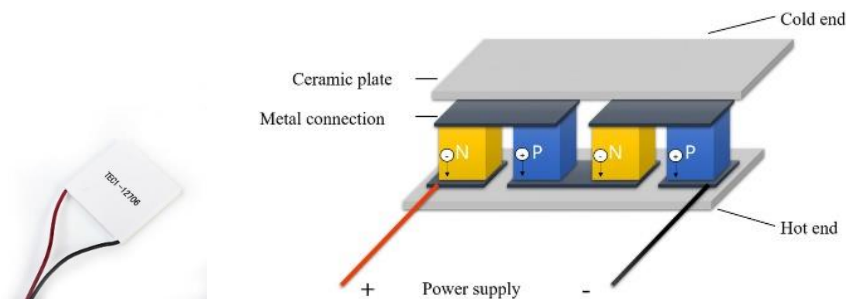


Figure 1 Thermoelectric cooler peltier

1.2 ทฤษฎีระบบการควบคุมอุณหภูมิ

การควบคุมแบบวงปิด (Closed Loop Control) โดยมีหลักการคือใช้ค่าผิดพลาด (Error) ของระบบควบคุมที่ได้มาจากค่าที่ตั้งไว้ ناق่าผิดพลาดมาคำนวณจนได้ผลลัพธ์และนำไปควบคุมระบบจนกระทั่งค่าผิดพลาดเข้าสู่ศูนย์ ในการทดลองนี้เลือกใช้การควบคุมแบบวงปิดแบบ Proportional Integral Derivative Control (PID) เนื่องจากเป็นระบบควบคุมแบบ PID ที่ใช้งานใน

อุตสาหกรรมที่มีการใช้ควบคุมอุณหภูมิอย่างกว้างขวางและมีความน่าเชื่อถือ เมื่อนำระบบควบคุมแบบ PID มาเขียนโปรแกรมลงในชุดควบคุมความเย็นอัตโนมัติ ซึ่งมีหลักการคือลดค่าผิดพลาดให้เหลือน้อยที่สุดด้วยการปรับค่าสัญญาณขาเข้าของระบบควบคุมแบบ PID ตามองค์ประกอบ 3 ส่วนคือ ค่า P (Proportional control) เป็นการควบคุมตอบสนองความเร็วในการควบคุมอุณหภูมิ ค่า I (Integral control)

เป็นการควบคุมเพื่อลดค่าความผิดพลาดเมื่อสถานะคงตัวของระบบให้ค่าผิดพลาดน้อยลงและค่า D (Derivative control action) เป็นการควบคุมเพิ่มเสถียรภาพระบบมากขึ้นด้วยการเพิ่มค่าความหน่วงให้กับระบบ (Figure 2) ระบบควบคุมแบบ PID ค่า $\tau(t)$ คือ Input หรือค่าเป้าหมาย (set point) ที่ตั้งไว้ $y(t)$ คือค่าของตัวแปรกระบวนการ และ $e(t)$ คือค่าคลาดเคลื่อน (error) สามารถคำนวณได้จากค่า $\tau(t) - y(t)$ การทำงานตามกระบวนการค่า error จะถูกนำมา

คำนวณแบบวนลูปเพื่อส่งค่าควบคุมระบบ $u(t)$ วนลูปซ้ำจนกระทั่งค่าผิดพลาดเข้าใกล้ศูนย์ การปรับแต่งระบบให้สามารถตอบสนองได้รวดเร็วและมีเสถียรภาพสามารถทำได้จากการปรับแต่งค่า K_p คือ ค่า Proportional Gain, K_i คือ ค่า Integral Gain, K_d คือ ค่า Derivative Gain ดังนั้น K_p , K_i , K_d ทำให้ค่า output $y(t)$ เข้าสู่ค่า Input set point $\tau(t)$ ได้อย่างถูกต้องและตอบสนองภายในเวลาที่เหมาะสม⁹

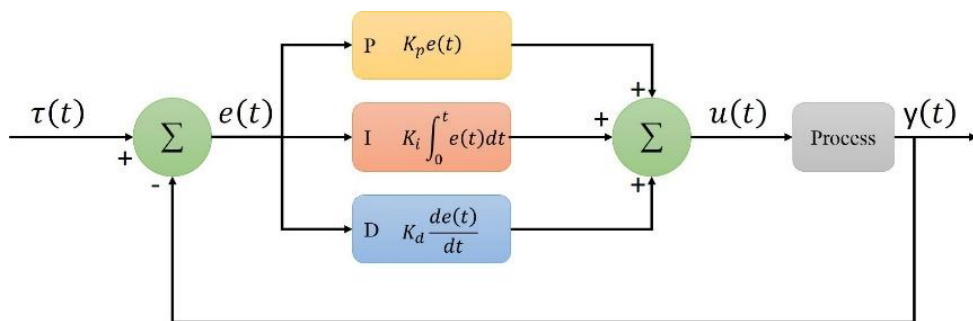


Figure 2 Block diagram of PID control system

จากทฤษฎีการควบคุมแบบวงปิดแบบ PID นำมาประยุกต์ใช้งานด้วยการเขียนโปรแกรมด้วยภาษา C++ ลงในไมโครคอนโทรลเลอร์ Arduino Uno R3 ซึ่งเป็นไมโครคอนโทรลเลอร์ที่นำมาประมวลผลระบบควบคุม โดยในการทดลองนี้ นำมาใช้ควบคุมอุปกรณ์ทำความเย็นแผ่นเทอร์โมอิเล็กทริกเพลเทียร์ รุ่น TEC1-2706 ที่ใช้ไฟฟ้าชนิดกระแสตรงขนาด 12 โวลต์และมีกำลังทำความเย็นภายในกล่อง 60 วัตต์ จึงสามารถทำความเย็นได้ตามอุณหภูมิที่ต้องการ แผ่นเทอร์โมอิเล็กทริกเพลเทียร์พร้อมชุดพัดลมจ่ายความเย็นติดตั้งภายในกล่องโฟมและพัดลมระบายความร้อน

อยู่ด้านนอก มีการตรวจจับสัญญาณอุณหภูมิภายในกล่องโฟมโดยใช้เซนเซอร์ชนิด Thermister NTC 10K ค่าอุณหภูมิจะส่งไปประมวลผลที่ไมโครคอนโทรลเลอร์ และส่งค่าผลลัพธ์ (Output) ไปยังชุดขับ Pulse Width Modulation (PWM) เพื่อควบคุมการทำความเย็นแผ่นเทอร์โมอิเล็กทริกเพลเทียร์ที่ติดตั้งในกล่องโฟมจนกระทั่งได้อุณหภูมิที่ต้องการ โดยใช้ค่าปรับแต่งจากการทดลองด้วยสัดส่วน $K_p:30$, $K_i:5$ และ $K_d: 0.5$ ให้กับชุดทำความเย็นให้เหมาะสมเพื่อความคุมอุณหภูมิให้ได้ตามที่ตั้งค่าไว้แบบอัตโนมัติและแสดงผลสถานะการควบคุมอุณหภูมิผ่านจอ LCD (Figure 3)

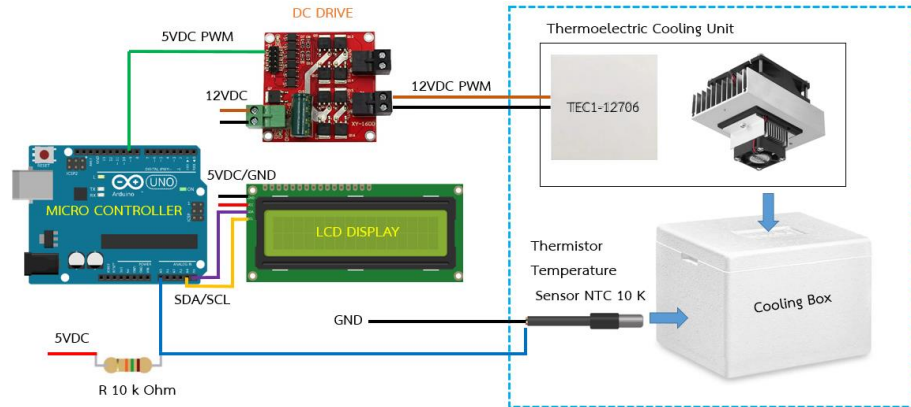


Figure 3 PID cooling control system diagram

2. การทดลองใช้ระบบควบคุมอุณหภูมิในกระบวนการหมักไวน์

จำลองกระบวนการผลิตไวน์กระเจี๊ยบ โดยนำกระเจี๊ยบแห้งมาล้างให้สะอาด จากนั้นนำมา ต้มโดยใช้กระเจี๊ยบ 100 กรัมต่อน้ำ 500 มิลลิลิตร ต้มในน้ำเดือดนาน 10 นาที กรองเนื้อกระเจี๊ยบออก ด้วยผ้าขาวบาง¹⁰ ปรับปริมาตรให้ได้ 1.50 ลิตร จากนั้นเติมน้ำตาลทรายเพื่อปรับค่าปริมาณ ของแข็งที่ละลายได้ให้อยู่ที่ช่วง 20 องศาบริกซ์ จากนั้นนำไปฆ่าเชื้อจุลินทรีย์ด้วยความร้อนที่ อุณหภูมิ 60 องศาเซลเซียส นาน 15 นาที⁴ เมื่อเตรียมเรียบร้อยแล้ว ทิ้งไว้ให้เย็น เทลงในถัง หมักขนาด 2.0 ลิตร เติมห่วงเพื่อยีสต์สำเร็จรูป ลงไปโดยเลือกให้เชื้อยีสต์สำเร็จรูปทางการค้า *S. cerevisiae* EC-1118 ใช้หัวเชื้อเริ่มต้น 1 กรัม ต่อลิตร¹ ทำการบ่มเป็นระยะเวลา 10 วัน ในระบบ ควบคุมอุณหภูมิที่สร้างเสร็จเพื่อทดสอบประสิทธิภาพ การทำงานของระบบ (Figure 4 และ Figure 5)



(a)



(b)

Figure 4 (a) Wine fermentation (b) Wine fermentation in cooling box



(a)



(b)



(c)

Figure 5 (a) PID cooling control (b) Thermoelectric cooling unit (c) LCD display

3. การเก็บข้อมูลผลการทดลอง

3.1. ผลการทำงานของระบบควบคุมอุณหภูมิ

การทดสอบการทำงานของระบบโดยควบคุมอุณหภูมิให้อยู่ในช่วง 20-25 องศาเซลเซียส จึงตั้งค่าอุณหภูมิในระบบที่ 22.50 องศาเซลเซียสเพื่อให้เหมาะสมกับสภาวะการหมัก และเก็บค่าอุณหภูมิโดยใช้การเก็บข้อมูลผ่าน Serial interface โดยใช้โปรแกรม excel จากนั้นยืนยันผลอุปกรณ์ในการอ่านค่าอุณหภูมิในระบบทำความเย็นด้วยค่าอุณหภูมิที่อ่านได้จากเทอร์โมมิเตอร์และเทอร์โมเซนส์เซอร์ด้วยการทดสอบทางสถิติเพื่อเปรียบเทียบผลของอุณหภูมิในระบบทำความเย็น โดยเก็บข้อมูลอย่างละ 15 ค่า เพื่อทำการทดสอบสมมติฐานว่าค่าที่อ่านได้ในระบบจากทั้งสองอุปกรณ์มีความแตกต่างกันหรือไม่โดยมีสมมติฐาน ดังนี้

$$H_0: \mu = 22.50$$

$$H_1: \mu \neq 22.50$$

จากนั้นเก็บข้อมูลของระบบและนำข้อมูลมาสร้างแผนภูมิควบคุม แผนภูมิ Individual Moving Range (I-MR) เพื่อประเมินว่ากระบวนการอยู่ในการควบคุมผ่านการวิเคราะห์ค่าเฉลี่ยและ

ความแปรปรวนของกระบวนการด้วยข้อมูลที่ต่อเนื่อง ค่าเฉลี่ยและค่าความแปรปรวนของชุดข้อมูลจะคำนวณจากพิสัยเคลื่อนที่ (Moving Range, MR) กำหนดค่า $n = 2$ ของข้อมูลที่ติดกัน¹¹

3.2 การวิเคราะห์คุณสมบัติทางเคมีระหว่างการผลิตหมักไวน์

วิเคราะห์คุณสมบัติทางเคมีระหว่างการผลิตหมักไวน์โดยการวัดค่าความเป็นกรด-ด่าง โดยใช้พีเอชมิเตอร์วิเคราะห์ปริมาณของแข็งที่ละลายได้ทั้งหมด (Total soluble solid, TSS) โดยใช้ Hand refractometer วิเคราะห์ปริมาณแอลกอฮอล์โดยใช้เครื่อง Hydrometer¹²

ผลการวิจัย

ผลการทดลองระบบควบคุมอุณหภูมิอัตโนมัติ จากการออกแบบไดอะแกรม นำมาติดตั้งระบบควบคุมอุณหภูมิในกล่องโฟม โดยวัดค่าอุณหภูมิด้วยเทอร์โมเซนส์เซอร์และเก็บข้อมูลผ่านระบบคอมพิวเตอร์ เนื่องจากค่าที่ต้องการควบคุมอยู่ในช่วง 20-25 องศาเซลเซียส และระบบจะเข้าสู่ค่าอุณหภูมิเป้าหมายที่ 22.50 องศาเซลเซียส ผลของอุณหภูมิจะแสดงด้วยจอ LCD ผลการทดลองพบว่าระบบควบคุมอุณหภูมิจะทำงานแบบอัตโนมัติ โดยอุณหภูมิเริ่มต้น 29.43 องศาเซลเซียส จะปรับอุณหภูมิหาค่าเป้าหมายที่ตั้งไว้คือ 22.50 องศาเซลเซียส ซึ่งเป็นข้อมูลช่วงค่าที่ 1 ถึง 10 จากนั้นระบบจะควบคุมอุณหภูมิให้อยู่ในช่วง 22.50 ± 2.50 องศาเซลเซียส และเก็บค่าข้อมูลตัวอย่าง 50 ค่า ด้วย excel เพื่อให้เห็นการควบคุมอุณหภูมิของระบบแสดง (Table 1) และกราฟ (Figure 6)



Table 1 Temperature data in fermentation process control

Period	Temperature (°C)	Period	Temperature (°C)
1	29.43	26	22.18
2	28.25	27	22.27
3	27.16	28	21.92
4	26.18	29	22.27
5	25.39	30	21.92
6	24.87	31	22.10
7	24.26	32	22.18
8	23.65	33	22.10
9	23.30	34	22.27
10	22.90	35	22.53
11	22.79	36	22.27
12	22.27	37	22.18
13	22.50	38	21.92
14	22.35	39	22.18
15	22.35	40	22.18
16	22.01	41	22.01
17	22.01	42	22.18
18	22.27	43	21.92
19	22.01	44	22.10
20	22.61	45	22.01
21	22.53	46	21.84
22	22.10	47	22.18
23	21.75	48	21.92
24	21.84	49	22.18
25	22.18	50	22.18

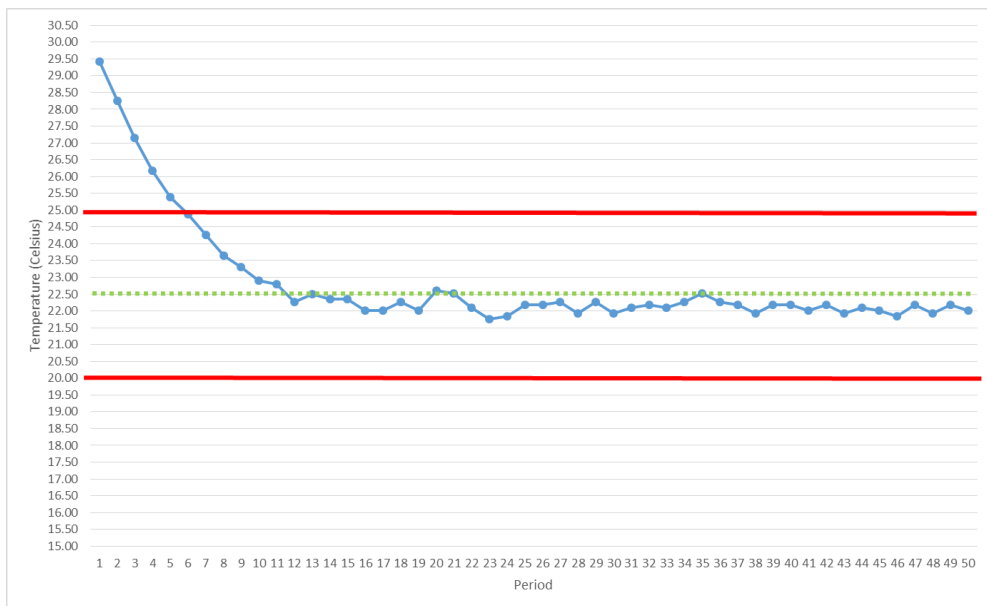


Figure 6 Temperature trend

ผลการทดสอบทางสถิติเพื่อเปรียบเทียบผลของอุณหภูมิในระบบควบคุมความเย็นด้วยข้อมูลจากเทอร์โมมิเตอร์ (Temp in) และเทอร์โมเซนส์เซอร์ (Temp out) มีความแตกต่างกันหรือไม่โดยใช้การทดสอบด้วย t-test ได้ผลดังนี้ (Figure 7) ผลการทดสอบสมมติฐานจาก Figure 7 พบว่าค่า $p\text{-value} = 0.526$ หมายความว่าไม่ปฏิเสธ H_0 สรุปว่าค่าที่อ่านได้จากอุปกรณ์ทั้งสองชนิดมีค่าไม่แตกต่างกัน ดังนั้น ค่าข้อมูลที่อ่านจากจอ LCD จึงมีความน่าเชื่อถือ และผลทดสอบการทำงานของระบบควบคุมเพื่อติดตามความเสถียรของกระบวนการ (Process Stability) โดยใช้แผนภูมิควบคุม I-MR ซึ่งพิจารณาจากค่าเฉลี่ยและค่าความแปรปรวนของข้อมูลที่บันทึกได้จากการควบคุมและแต่ละจุดแสดงรูปแบบการกระจายตัวแบบสุ่ม สรุปได้ว่าเป็นกระบวนการที่เสถียรและอยู่ในขอบเขตการควบคุม

Two-Sample T-Test and CI: Temp in, Temp out

Two-sample T for Temp in vs Temp out

	N	Mean	StDev	SE Mean
Temp in	15	22.173	0.616	0.16
Temp out	15	22.280	0.167	0.043

Difference = μ (Temp in) - μ (Temp out)

Estimate for difference: -0.107

95% CI for difference: (-0.456, 0.243)

T-Test of difference = 0 (vs $\neq$): T-Value = -0.65 P-Value = 0.526

Figure 7 Result of hypothesis test

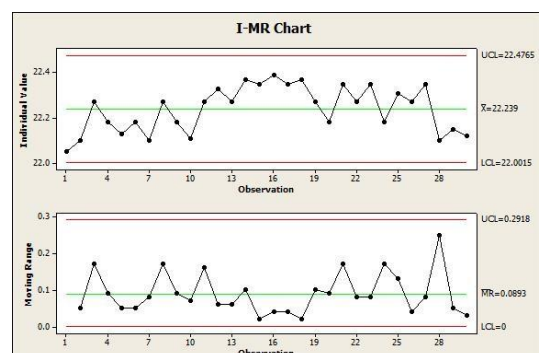


Figure 8 Process monitoring by I-MR Control chart

ผลการศึกษาคคุณสมบัติทางเคมีระหว่าง การหมักไวน์ จากการศึกษาการหมักไวน์กระเจี๊ยบ โดยใช้เชื้อยีสต์ *S. cerevisiae* EC-1118 ทำการหมักที่มีการควบคุมอุณหภูมิ 20-25 องศาเซลเซียส เป็นระยะเวลา 10 วัน เก็บตัวอย่างเพื่อศึกษาคคุณสมบัติทางเคมีของไวน์ด้วยการวัดค่าความเป็นกรด-ด่าง วิเคราะห์ปริมาณของแข็งที่ละลายได้ทั้งหมด วิเคราะห์ปริมาณแอลกอฮอล์ จากผลการศึกษาพบว่าค่าความเป็นกรด-ด่างในกระบวนการหมักมีค่าลดลงจาก 2.85 เป็น 2.70 การลดลงของค่าความเป็นกรดต่างเป็นผลมาจากปริมาณ กรดที่เพิ่มขึ้นระหว่างที่ยีสต์ย่อยสลายน้ำตาลและผลิตแอลกอฮอล์ไปพร้อม ๆ กับการสร้างกรดเพิ่มขึ้นในระหว่างการหมัก¹³ จากการศึกษาองค์ประกอบของปริมาณของแข็งที่ละลายน้ำระหว่างกระบวนการหมักไวน์พบว่าปริมาณของแข็งที่ละลายได้ระหว่างกระบวนการหมักเป็นระยะเวลา 10 วัน ปริมาณของแข็งที่ละลายได้มีค่าลดลงจาก 20 องศาบริกซ์ เหลือ 4.91 องศาบริกซ์ เนื่องจากกิจกรรมของยีสต์เปลี่ยนน้ำตาลไปเป็นแอลกอฮอล์ดัง Figure 9 ส่วนผลการวิเคราะห์ปริมาณแอลกอฮอล์พบว่าในช่วงแรกปริมาณแอลกอฮอล์ยังไม่สามารถวัดค่าได้ เนื่องจากยีสต์ยังไม่มีการผลิตแอลกอฮอล์ และเมื่อทำการหมัก 7 วัน ทำการวัดปริมาณแอลกอฮอล์พบว่ามีความเท่ากับ 7.60 เปอร์เซ็นต์โดยปริมาตรและในวันที่ 10 จะมีปริมาณ แอลกอฮอล์เท่ากับ 9.50 เปอร์เซ็นต์โดยปริมาตรจากการทดลองทำให้ทราบว่ามิกิจกรรมของยีสต์ในการเปลี่ยนน้ำตาลไปเป็นแอลกอฮอล์ เมื่อใช้เวลาในการหมักมากขึ้น ปริมาณแอลกอฮอล์ค่อย ๆ สูงขึ้น พร้อม ๆ

กับปริมาณของแข็งที่ละลายได้และค่าความเป็นกรด-ด่างลดลง

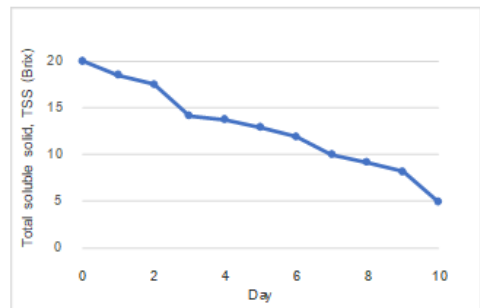


Figure 9 Total soluble solid of Roselle Wine

อภิปรายผลการวิจัย

จากการศึกษาการหมักไวน์กระเจี๊ยบโดยใช้เชื้อยีสต์ *S. cerevisiae* EC-1118 ทำการหมักที่มีการควบคุมอุณหภูมิ 20-25 องศาเซลเซียส เป็นระยะเวลา 10 วัน เก็บตัวอย่างเพื่อศึกษาคคุณสมบัติทางเคมีของไวน์ พบว่าเมื่อสิ้นสุดกระบวนการหมักค่าความเป็นกรด-ด่างมีค่าลดลงเกิดจากปริมาณกรดอินทรีย์ที่เพิ่มขึ้น เนื่องจากการทำงานของยีสต์ในระหว่างที่ยีสต์มีการย่อยสลายน้ำตาลจะทำการผลิตแอลกอฮอล์ไปพร้อมกับการสร้างกรดเพิ่มขึ้นในระหว่างการหมัก⁹ และในระหว่างกระบวนการหมักจนถึงวันที่ 10 ปริมาณของแข็งที่ละลายได้ทั้งหมดจะมีค่าลดลงจาก 20 องศาบริกซ์ เหลือ 4.91 องศาบริกซ์ สอดคล้องกับการศึกษาการผลิตไวน์สละโดยเชื้อ *S. cerevisiae* EC-1118 เมื่อหมักเป็นเวลา 10 วัน ปริมาณของแข็งที่ละลายได้ทั้งหมดจะมีค่าลดลงเหลือ 5.0-6.0 องศาบริกซ์¹⁴ ซึ่งสอดคล้องกับผลการทดลองปริมาณของแข็งที่ละลายได้ (TSS) ที่ลดลงนอกจากนี้ปริมาณแอลกอฮอล์ที่ได้ยังสอดคล้อง

กับงานวิจัยที่ทำการศึกษากการผลิตรไวน์จาก
กระเจี๊ยบและกระเจี๊ยบผสมผลไม้อื่น ๆ ด้วยยีสต์
S. cerevisiae ในสภาวะที่ควบคุมอุณหภูมิในการ
หมัก 10-15 องศาเซลเซียส เป็นระยะเวลา 14 วัน
พบว่า ไวน์ Roselle Sweet Wine มี ปริมาณ
แอลกอฮอล์เท่ากับ 9.22 เปอร์เซ็นต์โดยปริมาตร
และมีปริมาณของแข็งที่ละลายได้เท่ากับ 5.04
องศาบริกซ์¹⁴ จากผลการทดลองศึกษาระบบ
ควบคุมอุณหภูมิในกระบวนการหมักไวน์พบว่า
กระบวนการหมักใช้ระยะเวลาในการหมักเพื่อให้
เกิดการใช้น้ำตาลและผลิตเป็นแอลกอฮอล์ใช้
ระยะเวลาสั้นกว่าการหมักที่อุณหภูมิห้องซึ่งใช้
ระยะเวลาประมาณ 2-4 สัปดาห์ เนื่องจากมีการ
ควบคุมอุณหภูมิระหว่างหมักไวน์ในช่วงที่
เหมาะสมต่อการหมักไวน์คือ 20-25 องศาเซลเซียส
เมื่อใช้เวลา 10 วัน ให้ผลผลิตของไวน์ที่มีปริมาณ
แอลกอฮอล์สูงสอดคล้องกับปริมาณแอลกอฮอล์
ของเทเบิลไวน์ซึ่งเป็นไวน์ที่แรงแอลกอฮอล์ตาม
ธรรมชาติที่เกิดจากการหมักไม่ต่ำกว่า 7 และไม่สูง
กว่า 15 ดีกรี (ร้อยละโดยปริมาตร) และไวน์ผลไม้
มี ปริมาณ แอลกอฮอล์ไม่เกิน 15 ดีกรี
(ร้อยละโดยปริมาตร)ตามมาตรฐานผลิตภัณฑ์
อุตสาหกรรมไวน์⁵

จากแนวคิดในการออกแบบระบบควบคุม
อุณหภูมิในงานด้านต่าง ๆ เช่น ในด้านการเกษตร
ได้นำระบบควบคุมอุณหภูมิและความชื้นมาใช้ใน
โรงเรือนเพาะเห็ดพบว่าระบบทำงานได้อย่างมี
ประสิทธิภาพและช่วยให้ผลผลิตเป็นอย่างดี¹⁶ และ
ยังนำระบบนี้แสดงผลผ่านสมาร์ตโฟนพบว่าระบบ
สามารถควบคุมอุณหภูมิได้ตามค่าที่กำหนด
ในช่วง 26-27 องศาเซลเซียส ซึ่งเหมาะสมกับการ

เพาะปลูกเห็ดนางฟ้า¹⁷ และระบบนี้นำมาเพาะปลูก
เห็ดฟางโดยปรับอุณหภูมิและความชื้นให้เหมาะสม
พบว่าเห็ดฟางมีผลผลิตที่มากขึ้น จึงทำให้
ผู้เพาะปลูกมีรายได้ที่มากขึ้น¹⁸ ในโรงเรือนเมล่อน
สามารถใช้ระบบควบคุมอุณหภูมิเพื่อรักษาระดับ
อุณหภูมิให้เหมาะสมกับการปลูกเมล่อน
ผลการวิจัยพบว่าระบบที่สร้างขึ้นสามารถควบคุม
อุณหภูมิให้อยู่ในระดับที่เหมาะสมได้¹⁹
การออกแบบระบบควบคุมอุณหภูมิยังสามารถ
ประยุกต์เพื่อแก้ไขปัญหาชุมชนที่มีการเลี้ยงไก่และ
ฟักไข่ขาย จึงนำระบบนี้มาทดลองควบคุมอุณหภูมิ
ด้วยไมโครคอนโทรลเลอร์ที่ 37 องศาเซลเซียส และ
ระดับความชื้นที่ 66-69 เปอร์เซ็นต์ เป็นค่าที่
เหมาะสมในตู้ฟักไข่ พบว่าค่าที่ได้อยู่ในเกณฑ์ที่
กำหนด²⁰ หรือในฟาร์มเลี้ยงพ่อแม่พันธุ์กึ่งก้ามแดง
ได้นำระบบนี้ไปใช้ในการควบคุมคุณภาพน้ำด้วย
การควบคุมอุณหภูมิให้อยู่ในช่วง 25-29 องศาเซลเซียส
ค่าความเป็นกรด-ด่าง ในช่วง 7-9 และออกซิเจน
ในน้ำมีค่ามากกว่า 4 ppm ซึ่งควบคุมแบบอัตโนมัติ
ให้มีค่าที่เหมาะสมเพราะปัจจัยเหล่านี้ส่งผลต่อการ
เติบโตของกุ้ง ผลการทดลองพบว่าระบบสามารถ
ปรับค่าปัจจัยให้อยู่ในค่าที่เหมาะสมกับการเติบโต
ของกุ้ง²¹ ในการผลิตไวน์ข้าวมีการออกแบบระบบ
การควบคุมอุณหภูมิโดยใช้ไมโครคอนโทรลเลอร์
ในการปรับค่าอุณหภูมิอัตโนมัติ²² ซึ่งสอดคล้องกับ
งานวิจัยนี้ที่มีการควบคุมอุณหภูมิซึ่งเป็นปัจจัยที่มี
ผลต่อกระบวนการหมักไวน์และเป็นการควบคุม
คุณภาพของกระบวนการและผลิตภัณฑ์ไวน์ ดังนั้น
จะเห็นว่าระบบควบคุมอุณหภูมิแบบอัตโนมัติ
สามารถนำไปประยุกต์ใช้ในงานด้านต่าง ๆ ได้

สรุปผลการวิจัย

งานวิจัยนี้ได้ออกแบบและสร้างระบบควบคุมอุณหภูมิแบบอัตโนมัติในกระบวนการหมักไวน์ ซึ่งเป็นกระบวนการสำคัญที่มีผลต่อคุณภาพของผลิตภัณฑ์ โดยระบบที่สร้างสามารถควบคุมอุณหภูมิการหมักในช่วงที่เหมาะสมคือ 20-25 องศาเซลเซียส และมีการเก็บข้อมูลอุณหภูมิอย่างต่อเนื่องเพื่อควบคุมกระบวนการโดยใช้แผนภูมิควบคุม ผลวิจัยพบว่าเมื่อมีการใช้ระบบควบคุมอุณหภูมิในระดับที่เหมาะสมและผลการตรวจติดตามพบว่าระบบมีความเสถียร ทำให้กระบวนการผลิตมีประสิทธิภาพโดยมีผลทำให้ระยะเวลาในการหมักไวน์สั้นลง และให้ผลผลิตคือปริมาณแอลกอฮอล์ที่ได้มีปริมาณสูง ดังนั้น จึงเป็นแนวทางในการนำระบบควบคุมอุณหภูมิไปต่อยอดการผลิตที่ต้องการผลิตในปริมาณที่มากขึ้นและสามารถนำแนวคิดนี้ไปประยุกต์ในงานด้านอื่น ๆ ที่ต้องการควบคุมปัจจัยที่มีผลต่อคุณภาพของผลิตภัณฑ์ได้

เอกสารอ้างอิง

1. วาสนา สุโยธา, สุรศักดิ์ บุญรุ่ง. การศึกษาอัตราส่วนเนื้อสละและชนิดของยีสต์ที่เหมาะสมต่อการผลิตไวน์. วารสารเกษตรพระจอมเกล้า 2564;39:156-64.
2. ณัฐฐันรี เอกระ, ณิชนันท์ บุญมาก, อานาจ ภักดีโต. การหมักไวน์น้ำตาลสดผสมกระชายดำของ *Saccharomyces cerevisiae* สายพันธุ์มาตรฐานและยีสต์ที่แยกจากน้ำตาลเมา. วารสารเกษตรพระจอมเกล้า 2558;12:41-8.
3. นุจรี สอนสะอาด, นิราภรณ์ ทองปลิว, พรทิพา ทองมั่น. การผลิตไวน์ผสมจากแก่นตะวันและหม่อน. รายงานสืบเนื่องจากการประชุมวิชาการระดับชาติ “ราชชมงคลสุรินทร์ วิชาการ ครั้งที่ 8” “วิจัยเพื่อประเทศไทย 4.0” 22 - 23 ธันวาคม 2559. มหาวิทยาลัยเทคโนโลยีราชมงคลอีสาน วิทยาเขตสุรินทร์. สุรินทร์: 2559.
4. ประภาพันท์ ศิริจันทร์แสง, ณัฐมล แสนโคตร, ละอองทิพย์ ชุ่มเสนา. การศึกษาคุณสมบัติทางเคมีและทางประสาทสัมผัสของไวน์กระเจียบและไวน์กระเจียบผสมลูกหม่อน. วารสารวิจัย 2563;13:111-19.
5. Margean A, Padureanu V, Calefariu G. The Influence of Fermentation Temperature on White Wine Characteristics. Proceedings of ICMS2019&COMEC2019. 21-22 November 2019. Brasov Romania. 2019.
6. ขจรศักดิ์ พงศ์ธนา, ชัยวัฒน์ สากุล. โรงเรือนแบบไฮโดรโปนิคส์ที่มีระบบการควบคุมแบบอัตโนมัติโดยใช้พลังงานแสงอาทิตย์. วารสารราชชมงคลกรุงเทพ 2562;12:65-77.
7. เอกรัฐ ชะอุมเอียด, เตือนแรม แฝงเกี่ยว. การควบคุมความชื้นในดินสำหรับโรงเรือนเมล่อน. วารสารวิจัยมหาวิทยาลัยเทคโนโลยีราชมงคลศรีวิชัย 2562;11:269-78.
8. จิรายุสวัฒน์ ประสม, สิทธิโชค สืบแต่ตระกูล, ทวีเดช ศิริณาทิพัฒน์. การศึกษาคุณลักษณะของการทำความเข้าใจแบบเทอร์โมอิเล็กทริก. รายงานการประชุมวิชาการเครือข่ายวิศวกรรมเครื่องกลแห่งประเทศไทย ครั้งที่ 33



- วันที่ 2-5 กรกฎาคม พ.ศ. 2562; อุตรธานี: 2562.
9. Pacco HC. Simulation in the temperature parameters control in the yogurts manufacturing process. *Procedia Comput Sci* 2023;217:286-95.
 10. Alobo AP, Offonry SU. Characteristics of coloured wine produced from Roselle (*Hibiscus sabdariffa*) calyx extract. *J Inst Brew* 2009;115:91-4.
 11. กิตติศักดิ์ พลอยพานิชเจริญ. การวิเคราะห์ความสามารถของกระบวนการ. กรุงเทพฯ: สำนักพิมพ์ ส.ส.ท.; 2549.
 12. Pambianchi D. Modern Home Winemaking, A Guide to Making Consistently Great Wines. Canada: Véhicule Press; 2021.
 13. Chanprasartsuk O, Pheanudomkitler K, Toonwai D. Pineapple wine fermentation with yeasts isolated from fruit as single and mixed starter cultures. *As J Food Ag-Ind* 2012;5:104-11.
 14. Gaharwar AM, Ughade JD, Madake M, Lokhande C, Nagarkar R. Study on preparation of roselle and fruits blended roselle wine using yeast *Saccharomyces cerevisiae*. *J Pharmacogn Phytochem* 2018;7:1338-41.
 15. สำนักงานมาตรฐานผลิตภัณฑ์อุตสาหกรรม. มาตรฐานผลิตภัณฑ์อุตสาหกรรมไวน์. มอก. 2089-2544. กรุงเทพฯ; 2544.
 16. ศุภวุฒิ ผากา, สันติ วงศ์ใหญ่, อติสร ฅมยา. การพัฒนาระบบควบคุมอุณหภูมิและความชื้นที่เหมาะสมต่อการเจริญเติบโตของเห็ดในโรงเพาะเห็ดบ้านทุ่งบ่อแค้น ตำบลปงยางคก อำเภอห้างฉัตร จังหวัดลำปาง. *วารสารวิชาการคณะเทคโนโลยีอุตสาหกรรม มหาวิทยาลัยราชภัฏลำปาง* 2557;7:58-69.
 17. อัญญาศุภ บุญศรี, นิวัติ คลังสีดา, จารุกิตติ พิบูลนฤดม, ธัญญลักษณ์ บุตรศรีเพชร, เพ็ญภา ทองแจ่ม. การพัฒนาระบบควบคุมความชื้นและอุณหภูมิในโรงเรือนเพาะเห็ดนางฟ้าด้วยระบบสมาร์ตโฟน. การประชุมวิชาการระดับชาติ ครั้งที่ 4 ด้านนวัตกรรมเพื่อการเรียนรู้และสิ่งประดิษฐ์ประจำปี 2563; 17 ธันวาคม 2563 มหาวิทยาลัยเทคโนโลยีราชมงคลธัญบุรี. ปทุมธานี: 2563
 18. พิทักษ์ คล้ายชม, อภิศักดิ์ พรหมฝ่าย, ไพโรจน์ นะเที่ยง, นุภากร พรหมมูล, วชิรินทร์ วัฒนเชษฐ์, ธีรยุทธ พิศพันธุ์. การพัฒนาระบบควบคุมสภาพแวดล้อมอัตโนมัติสำหรับโรงเพาะเห็ดฟางบนพื้นฐานของอินเทอร์เน็ตทุกสรรพสิ่งวารสารเทคโนโลยีและนวัตกรรม มหาวิทยาลัยราชภัฏอุดรดิตถ์ 2565;5:25-39.
 19. วิเชียร ดวงสีเสน. การพัฒนาระบบควบคุมอุณหภูมิภายในโรงเรือนปลูกเมล่อน. สักทองวารสารวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยี (สทวท.) 2565;9:39-50.
 20. ทวีลาภ เสาร์ประโคน, บารมี หริกประโคน, จักรมงคล แป้นประโคน, วิสิทธิ์ ลุ่มชะเนาว์. การออกแบบและสร้างชุดควบคุมตู้พักไข่ด้วยระบบไมโครคอนโทรลเลอร์. *วารสารวิชาการคณะ*

- เทคโนโลยีอุตสาหกรรม มหาวิทยาลัย
ราชภัฏบุรีรัมย์ 2563:2:67-73.
21. ธเนศ ตั้งจิตเจริญเลิศ, ธีรภาพ ศิริมาศเกษม,
อิสริ ศรีคุณ, ศักดิ์ศรี แก่นสม, กวีพจน์ วรเนตร
สุทธิกุล. ระบบควบคุมคุณภาพน้ำแบบ
อัตโนมัติสำหรับเพาะเลี้ยงพ่อแม่พันธุ์กุ้งก้าม
แดง. วารสารวิจัยราชภัฏพระนคร สาขา
วิทยาศาสตร์และเทคโนโลยี 2563;15:111-21.
22. Shengyi Z, Xinming W. The Design of
Temperature Control System for Rice Wine
Fermentation. Proceedings of the 2nd
International Conference on Systems
Engineering and Modeling (ICSEM-13);
21-22 April 2013; Beijing: 2013

การพัฒนาผลิตภัณฑ์เม็ดเจลทรงกลมจากน้ำชาผักชายาผสมข้าวเหนียวดำคั่ว Product Development of Chaya Tea Gel with roasted Black Sticky Rice

สินีนารถ สุขทนารักษ์* และกิรณัฐ เกตุมณี

Sineenart Suktanarak* and Thiranuch Katemanee

คณะวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยี มหาวิทยาลัยราชภัฏวไลยอลงกรณ์ ในพระบรมราชูปถัมภ์

Faculty of Science and Technology, Walailak Rajabhat University under the Royal Patronage

*Corresponding author; E-mail: sineenart@vru.ac.th

Received: 16 May 2024 /Revised: 17 September 2024 /Accepted: 18 September 2024

บทคัดย่อ

วัตถุประสงค์ของงานวิจัยนี้ คือ เพื่อพัฒนาผลิตภัณฑ์เม็ดเจลทรงกลมจากน้ำชาผักชายาผสมข้าวเหนียวดำคั่ว โดยศึกษาระดับความหวานของน้ำชาผักชายาผสมข้าวเหนียวดำคั่วที่แตกต่างกัน 4 ระดับ คือ Control, 3 °Brix, 5 °Brix และ 7 °Brix ประเมินคุณภาพการยอมรับทางประสาทสัมผัส พบว่า ผู้ทดสอบชิมให้คะแนนการยอมรับน้ำชาผักชายาที่มีความหวาน 5 °Brix และ 7 °Brix หลังจากนั้นศึกษาความเข้มข้นของโซเดียมแอลจีเนตที่แตกต่างกัน 4 ระดับ คือ ร้อยละ 0.75, ร้อยละ 1, ร้อยละ 1.25 และร้อยละ 1.5 ตามลำดับ ผลการประเมินคุณภาพการยอมรับทางประสาทสัมผัส พบว่า คะแนนความชอบด้านสี กลิ่น และรสชาติของเม็ดเจLN้ำชาผักชายาที่ความเข้มข้นโซเดียมแอลจีเนตที่แตกต่างกันที่ 4 ระดับ ไม่มีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p>0.05$) ในขณะเดียวกัน พบว่าคะแนนความชอบด้านลักษณะปรากฏมีแนวโน้มเพิ่มมากขึ้นตามความเข้มข้นของโซเดียมแอลจีเนต แต่คะแนนความชอบด้านเนื้อสัมผัสมีแนวโน้มลดลง ค่าความแข็งของเม็ดเจลมีแนวโน้มเพิ่มมากขึ้นตามความเข้มข้นของโซเดียมแอลจีเนต ความเข้มข้นของโซเดียมแอลจีเนตส่งผลให้เม็ดเจลมีความเป็นทรงกลมมากขึ้น และมีค่าความแข็ง (Hardness) เพิ่มขึ้น แต่ความเข้มข้นของโซเดียมแอลจีเนตไม่ส่งผลต่อค่าสี (L^* , a^* และ b^*) ของเม็ดเจล

คำสำคัญ: ใบชา ยา น้ำชา การขึ้นรูปแบบทรงกลม

Abstract

The objective of this research was to develop Chaya tea gel with roasted black sticky rice by spherification technique. The sweetness of Chaya tea with roasted black sticky rice at 4 levels (Control, 3 °Brix, 5 °Brix and 7 °Brix) was studied by sensory evaluations. The results of sensory evaluations found that most panelists were satisfied with Chaya tea at 5 °Brix and 7 °Brix. After that, study the concentration of sodium alginate at 4 levels (0.75%, 1%, 1.25% and 1.5%). Chaya gel at 4 levels showed statistically non-significant differences ($p>0.05$) in terms of liking scores of color, odor and taste. The results of sensory evaluations showed that the trend of appearance score was increased when a high concentration of sodium alginate but the trend of texture score was decreased. The results of the hardness and color of the Chaya gel, it was found that the hardness and color of Chaya gel at 4 different sodium alginate concentrations showed statistically non-significant significant differences ($p>0.05$). Overall, the trend of the hardness of Chaya gel was increased according to a high concentration of sodium alginate. Due to concentrations of sodium alginate affects on the Chaya gel, it became more sphere and increased hardness. However, the concentration of sodium alginate did not affect the color (L^* , a^* and b^*) of the Chaya gel.

Keywords: Chaya leaves, Tea, Spherification

บทนำ

เทคนิคการขึ้นรูปแบบทรงกลม (Spherification) เป็นเทคนิคหนึ่งของโมเลกุลาร์แกสโตรโนมี (Molecular gastronomy) ที่ใช้ความรู้ทางด้านวิทยาศาสตร์มาประยุกต์ใช้ในการประกอบอาหาร โดยอาศัยหลักการปฏิกิริยาทางเคมี โดยใช้สารอัลจินเตมาทำปฏิกิริยากับแคลเซียม เกิดเป็นเม็ดเจล ซึ่งเกิดจากหมู่ G-blocks ของโซเดียมอัลจินเตจับกับประจุบวกของสารแคลเซียมแลคเตส แล้วเกิดโครงสร้างตาข่ายที่มีลักษณะเป็น Egg Box Models ซึ่งทำให้มีลักษณะการสานตัวเป็นโครงสร้างของผนังเซลล์ เกิดห่อหุ้มน้ำหรือของเหลวไว้ภายในซึ่งเม็ดเจลจะมีลักษณะเป็นเจลห่อหุ้มของเหลวเอาไว้ข้างใน วิธีการขึ้นรูปทรงกลมจะมี 2 วิธี คือ

การขึ้นรูปทรงกลมแบบพื้นฐาน (Basic spherification) และการขึ้นรูปทรงกลมแบบย้อนกลับ (Reverse spherification) ลักษณะของเม็ดเจลที่ได้มีความแตกต่างกัน โดยการขึ้นรูปทรงกลมแบบพื้นฐาน เม็ดเจลจะตันเมื่อปล่อยทิ้งไว้เป็นระยะเวลานาน ในขณะที่การขึ้นรูปทรงกลมแบบย้อนกลับ เม็ดเจลจะไม่ตัน มีน้ำหรือของเหลวอยู่ภายใน จุดเด่นของเทคนิคการขึ้นรูปแบบทรงกลม เป็นการพัฒนาผลิตภัณฑ์อาหารให้มีรูปลักษณะอาหารให้มีความแปลกใหม่ มีความน่าสนใจโดยใช้หลักการทางวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยีร่วมกับการสร้างสรรค์เมนูอาหาร ซึ่งในปัจจุบันมีการนำเทคนิคการขึ้นรูปทรงกลมมาใช้ประยุกต์ในงานพัฒนาผลิตภัณฑ์อาหาร เช่น การผลิตเจลง่ายเปลือกแก้ว

มังกรเสริมรสด้วยเทคนิคการขึ้นรูปทรงกลมแบบย้อนกลับ¹ การพัฒนาผลิตภัณฑ์น้ำชาดาวอินคาด้วยเทคนิคการขึ้นรูปแบบทรงกลม² การผลิตเม็ดปิดส่น้ำเสาวรสดด้วยเทคนิครีเวิร์สเฟิยริฟิเคชัน³ การทำเม็ดเจลน้ำหวานโดยใช้เทคนิคการขึ้นรูปทรงกลมแบบพื้นฐาน⁴ เป็นต้น

ผักชಾಯา (*Cnidoscolus aconitifolius*) หรือคะน้ำแม็กชิโก เป็นผักชนิดหนึ่งที่มีคุณค่าทางอาหารสูง โดยผักชಾಯาจะประกอบไปด้วยน้ำโปรตีน โยอาหาร เป็นต้น นอกจากนี้ยังประกอบไปด้วยวิตามินและแร่ธาตุอื่น ๆ โดยมีแคลเซียมอยู่ที่ 164.7 มิลลิกรัม โพแทสเซียม 217.2 มิลลิกรัม วิตามินซี 164.7 มิลลิกรัม และวิตามินเอ 0.085 มิลลิกรัม เป็นต้น⁵ นอกจากนี้ ยังพบว่าสารพฤกษเคมีที่พบในผักชಾಯาประกอบไปด้วยสารในกลุ่มฟลาโวนอยด์และสารประกอบฟีนอลิก ซึ่งมีคุณสมบัติเป็นสารต้านอนุมูลอิสระอีกด้วย ผักชಾಯานิยมนำมาประกอบอาหารในรูปแบบกับข้าว คือนำมาผัด และลวกจิ้มทานคู่กับน้ำพริก เป็นต้น ในปัจจุบันมีงานวิจัยที่นำผักชಾಯามาพัฒนาเป็นผลิตภัณฑ์อาหาร เช่น การนำผักชಾಯามาพัฒนาเป็นผลิตภัณฑ์ผงโรยข้าว⁶ การนำน้ำผักชಾಯามาพัฒนาเป็นผลิตภัณฑ์หมั่นโถวเชิงสุขภาพด้วยการเสริมรสผักชಾಯา ซึ่งส่งผลให้หมั่นโถวเป็นอาหารที่มีสารต้านอนุมูลอิสระและสารประกอบฟีนอลิกสูง⁷ และการนำผักชಾಯามาพัฒนาเป็นสาหร่ายเทียม⁸ เป็นต้น

จากประโยชน์ของผักชಾಯาที่กล่าวมาและยังไม่มีมีการนำผักชಾಯามาพัฒนาเป็นผลิตภัณฑ์อาหารที่หลากหลายมากนัก ผู้วิจัยจึงได้เล็งเห็นการนำผักชಾಯา ซึ่งเป็นผักพื้นบ้านแต่มีคุณค่าทางอาหารสูง มาพัฒนาเป็นเม็ดเจลจากน้ำชาจากผัก

ชಾಯาด้วยเทคนิคการขึ้นรูปแบบทรงกลม เพื่อเป็นการเพิ่มมูลค่าให้แก่ผักชಾಯา โดยวัตถุประสงค์ของงานวิจัยในครั้งนี้ คือ ศึกษาปริมาณความหวานที่เหมาะสมของน้ำชาผักชಾಯาผสมข้าวเหนียวดำคั่ว หลังจากนั้นศึกษาความเข้มข้นของไซเดียมอัลจิเนตที่เหมาะสมในการทำเม็ดเจลน้ำชาผักชಾಯาผสมข้าวเหนียวดำคั่ว

วิธีการวิจัย

1. การเตรียมน้ำชาผักชಾಯาผสมข้าวเหนียวดำ

สำหรับการเตรียมน้ำชาผักชಾಯา จะเตรียมตามงานวิจัย เรื่อง การพัฒนาผลิตภัณฑ์สินค้าชุมชนบ้านคลองอาราง: ชาสมุนไพรชากลิ่นข้าวเหนียวดำคั่ว⁹ ซึ่งมีขั้นตอนหลัก 2 ขั้นตอน คือ การเตรียมน้ำชาผักชಾಯา และการเตรียมข้าวเหนียวดำคั่ว สำหรับการเตรียมชาผักชಾಯามีวิธีการดังนี้ คือ เด็ดผักชಾಯามาจากกิ่ง คัดเลือกเลือกผักชಾಯาที่มีลักษณะสีเขียวเข้ม ขนาดของผักชಾಯามีความยาวประมาณ 7-10 เซนติเมตร นำไปล้างน้ำหั่นเป็นชิ้นเล็ก แล้วนำไปลวกในน้ำร้อนที่อุณหภูมิ 80 องศาเซลเซียส เป็นระยะเวลา 10 นาที หลังจากนั้นนำไปอบที่ตู้อบลมร้อน (Tray Dry) ที่อุณหภูมิ 70 องศาเซลเซียส เป็นระยะเวลา 1 ชั่วโมง แล้วนำไปคั่วในกระทะที่อุณหภูมิ 70 องศาเซลเซียส เป็นระยะเวลา 2 นาที ส่วนการเตรียมข้าวเหนียวดำคั่ว จะนำข้าวเหนียวดำ ตราข้าวทองมาล้างน้ำแล้วแช่ในน้ำเป็นระยะเวลา 1 คืน หลังจากนั้นนำข้าวเหนียวดำไปนึ่งจนสุก แล้วนำมาอบแห้งด้วยตู้อบลมร้อนที่อุณหภูมิ 70 องศาเซลเซียส เป็นระยะเวลา 100 นาที แล้วนำมาบั่นให้ละเอียด หลังจากนั้นทำการคั่วข้าว เก็บรักษาชาผักชಾಯา

อบแห้งและข้าวเหนียวดำคั่วไว้ในถุงซิปล็อกที่อุณหภูมิห้อง ความชื้นของชาผักชಾಯาและข้าวเหนียวดำคั่ว จะต้องมีความชื้นต่ำกว่าร้อยละ 14 โดยวิธีการวัดค่าความชื้นแสดงอยู่ในข้อ 5.2

2. ศึกษาปริมาณความหวานที่เหมาะสมต่อการทำน้ำชาผักชಾಯาผสมข้าวเหนียวดำคั่ว

ต้มชาผักชಾಯาผสมข้าวเหนียวดำคั่ว โดยนำผักชಾಯาและข้าวเหนียวดำคั่วมาต้มกับน้ำสะอาด โดยมีอัตราส่วนผักชಾಯาอบแห้งต่อข้าวเหนียวดำคั่วอยู่ที่ 40:60 ซึ่งใช้อัตราส่วนที่ได้จากงานวิจัยเรื่องการพัฒนาผลิตภัณฑ์สินค้าชุมชนบ้านคลองอาราง : ชาสมุนไพรชากลิ่นข้าวเหนียวดำคั่ว โดยในการทดลองนี้ จะใช้ผักชಾಯาอบแห้ง 8 กรัม ข้าวเหนียวดำคั่ว 12 กรัม และน้ำสะอาด 1,000 มิลลิลิตร ต้มใส่น้ำเชื่อมสำเร็จรูป ยี่ห้อมิตรผล โดยปรับความหวานให้มีความแตกต่างกันที่ 4 ระดับ คือ สูตร Control ซึ่งเป็นสูตรที่ไม่ใส่น้ำเชื่อม, 3 °Brix, 5 °Brix และ 7 °Brix ผสมให้เข้ากัน นำน้ำชาที่ได้มากรองด้วยผ้าขาวบาง

3. ศึกษาความเข้มข้นของไซเดียมแอลจินเตที่เหมาะสมต่อการขึ้นรูปทรงกลมของน้ำชาผักชಾಯาผสมข้าวเหนียวดำคั่ว

นำน้ำชาผักชಾಯาผสมข้าวเหนียวดำคั่วที่ปรับความหวานแล้วผ่านการคัดเลือกโดยวิธีการทดสอบการยอมรับทางประสาทสัมผัสจากข้อที่ 2 มาขึ้นรูปเป็นทรงกลม ศึกษาความเข้มข้นของไซเดียมแอลจินเตที่เหมาะสมต่อการขึ้นรูปทรงกลมเป็นเม็ดเจลชาชากลิ่นข้าวเหนียวดำคั่ว ซึ่งการทดลองนี้ใช้ไซเดียมแอลจินเตจากบริษัทเอสพีซีอาร์ที จำกัด นำน้ำชาผักชಾಯาที่ผสมข้าวเหนียว

ดำคั่ว ไปผสมกับไซเดียมแอลจินเตที่มีความเข้มข้นไซเดียมแอลจินเตที่แตกต่างกัน 4 ระดับ คือ ร้อยละ 0.75, 1.0 , 1.25 และ 1.50 ตีผสมน้ำชาผักชಾಯาผสมข้าวเหนียวดำคั่วกับไซเดียมแอลจินเตให้ละลาย หลังจากนั้นเตรียมสารละลายแคลเซียมแลคเตสที่มีความเข้มข้นร้อยละ 0.5 ของน้ำหนักน้ำเปล่า ในการทดลองนี้จะใช้แคลเซียมแลคเตสจากบริษัทเอสพีซี อาร์ที จำกัด นำช้อนตวงขนาด ¼ ช้อนชา ตักน้ำชาผักชಾಯาผสมข้าวเหนียวดำคั่วที่ผสมกับไซเดียมแอลจินเตแล้วค่อย ๆ เทลงไปในสารละลายแคลเซียมแลคเตส น้ำชาชากลิ่นข้าวเหนียวดำคั่วที่เทลงไปแล้วค่อย ๆ เซตตัวเป็นเม็ดเจล ทั้งไว้เป็นระยะเวลา 5 นาที นำเม็ดเจLN้ำชาผักชಾಯาที่ได้ไปล้างด้วยน้ำเปล่า แล้วนำเม็ดเจลที่ได้เก็บรักษาในกล่องพลาสติกแบบมีฝาปิด แล้วนำไปเก็บไว้ที่อุณหภูมิ 4 องศาเซลเซียส เพื่อเตรียมใช้ในการวิเคราะห์ต่อไป

4. การทดสอบการยอมรับทางประสาทสัมผัส

สำหรับการทดสอบ นำชาผักชಾಯาผสมข้าวเหนียวดำคั่วในหัวข้อที่ 2 และการทดสอบเม็ดเจลชาผักชಾಯาผสมข้าวเหนียวดำคั่วในหัวข้อที่ 3 มาทดสอบกับผู้ชิมที่ไม่ผ่านการฝึกฝน (Untrained panel) จำนวน 30 คน ทดสอบจำนวน 2 ซ้ำ ด้วยวิธีการให้คะแนนความชอบแบบ 9 จุด (9-Point Hedonic Scale Test) ซึ่งมีคะแนน ดังนี้ 1 = ไม่ชอบมากที่สุด, 2 = ไม่ชอบมาก, 3 = ไม่ชอบปานกลาง, 4 = ไม่ชอบเล็กน้อย, 5 = เฉย ๆ, 6 = ชอบเล็กน้อย, 7 = ชอบปานกลาง, 8 = ชอบมาก และ 9 = ชอบมากที่สุด โดยขั้นตอนการทดสอบชิมเม็ดเจลชาผักชากลิ่นข้าวเหนียวดำจะเตรียมตัวอย่างเม็ดเจลปริมาณ 4 เม็ดลงในแก้วทดสอบชิม

5. การวิเคราะห์คุณภาพเคมีและกายภาพ

การวิเคราะห์คุณภาพเคมีและกายภาพ จะทำการวัดที่รีทเมตลอะ 5 ซ้ำ แล้วหาค่าเฉลี่ย ซึ่งค่าที่วิเคราะห์มีดังต่อไปนี้

5.1 การวัดค่าปริมาณของแข็งที่ละลายน้ำได้ (Total Soluble Solids) โดยจะนำน้ำชาผักชಾಯาผสมข้าวเหนียวดำคั่วที่ทดลองในหัวข้อ 1 มาวัดด้วยเครื่อง Refractometer ยี่ห้อ ATAGO รุ่น N-1E

5.2 การวัดค่าความชื้น นำใบชายาอบแห้งและข้าวเหนียวดำคั่วที่เตรียมได้ในหัวข้อการทดลองที่ 1 มาวัดความชื้นด้วยเครื่องวัดความชื้น ยี่ห้อ Scientific Promotion รุ่น Sartorius MA 35

5.3 การวัดค่าสี จะวัดในรูปแบบน้ำชาและเม็ดเจล โดยใช้เครื่องวัดสี Colorimeter รุ่น CR- 10 Plus (Minolta, Japan) โดยวัดผลออกมาในค่า L^* , a^* และ b^* โดย L^* คือ ค่าความสว่าง (ดำ = 0 และขาว = 100) ค่า a^* คือ สีแดงหรือสีเขียว (+ สีแดงและ - เป็นสีเขียว) และค่า b^* หมายถึง

สีเหลืองหรือสีน้ำเงิน (+ สีเหลืองและ - เป็นสีน้ำเงิน)

5.4 การวัดค่าเนื้อสัมผัส นำเม็ดเจลมาวัดค่าเนื้อสัมผัสด้วยเครื่อง Texture Analyzer รุ่น CT 3 (Brookfield Ametek, USA) โดยใช้หัวโพรบทรงกระบอกที่มีขนาดเส้นผ่านศูนย์กลาง 38.1 mm โดยมีความเร็วในการวัดอยู่ที่ 1.00 mm/s และกดลงไปเป็นระยะทาง 5 mm/s

6. การวิเคราะห์ค่าทางสถิติ

ข้อมูลที่ได้จากการประเมินคุณภาพการยอมรับทางประสาทสัมผัส จะวางแผนการทดลองแบบสุ่มบล็อกสมบูรณ์ (Random complete block design, RCBD) ส่วนข้อมูลที่ได้จากการวัดค่าเนื้อสัมผัส (Hardness) และค่าสี จะวางแผนการทดลองแบบสุ่มสมบูรณ์ (Complete randomize design, CRD) วิเคราะห์ความแปรปรวน (Analysis of variance, ANOVA) และเปรียบเทียบค่าเฉลี่ยด้วยวิธี Duncan's new multiple range test (DMRT) ที่ระดับความเชื่อมั่นร้อยละ 95 ด้วยโปรแกรมวิเคราะห์ทางสถิติ

ผลการวิจัยและอภิปรายผล

1. ผลการศึกษาระดับความหวานที่เหมาะสมของน้ำชาผักชಾಯาผสมข้าวเหนียวดำคั่ว

Table 1. Sensory acceptance score of Chaya tea with different sweetness levels

Sensory attributes	Control	3 °Brix	5 °Brix	7 °Brix
Appearance ^{ns}	7.27±0.67	7.27±0.87	7.55±0.63	7.52±0.81
Color	7.15±0.83 ^b	7.07±0.72 ^b	7.50±0.78 ^a	7.40±0.95 ^{ab}
Odor	6.92±1.11 ^b	7.02±1.07 ^{ab}	7.35±0.89 ^a	7.37±1.00 ^a
Taste	6.45±1.01 ^b	6.77±0.91 ^b	7.42±1.05 ^a	7.62±1.12 ^a
Overall acceptance	6.62±1.00 ^b	6.80±0.91 ^b	7.45±1.01 ^a	7.47±1.08 ^a

Note: ^{a,b} Means values with different letters in each column are significantly different ($p \leq 0.05$)

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

ผลการศึกษาระดับความหวานที่เหมาะสมต่อการทำน้ำชาผักชಾಯาผสมข้าวเหนียวดำคั่วแสดงได้ดัง Table 1 โดยพบว่าคุณลักษณะด้านลักษณะปรากฏทั้ง 4 สูตร ไม่มีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p>0.05$) เนื่องจากทั้ง 4 สูตร มีกระบวนการทำชาที่เหมือนกัน คือ นำผักชಾಯาอบแห้ง คั่ว และต้มเป็นน้ำชา แล้วนำมาผ่านการกรอง จึงทำให้น้ำชามีความใสเหมือนกัน ในขณะที่คุณลักษณะด้านกลิ่น รสชาติ และความชอบโดยรวมของน้ำชาสูตรควบคุมมีความแตกต่างกับสูตรที่ใช้น้ำเชื่อม 5 °Brix และ 7 °Brix อย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p\leq 0.05$) เนื่องจากมีปริมาณน้ำเชื่อมเป็นส่วนผสม แต่ในขณะที่สูตรควบคุมเป็นชาที่ไม่มีน้ำเชื่อมผสมอยู่เลย สาเหตุที่น้ำชาสูตรควบคุมมีสีและกลิ่นต่างกับสูตรที่ใช้น้ำเชื่อม เนื่องจากสูตรที่มีน้ำเชื่อมเกิดปฏิกิริยาคาราเมลไลเซชัน (Caramelization) โดยน้ำเชื่อมจะมีองค์ประกอบเป็นน้ำตาลทราย ซึ่งน้ำตาลทราย

เมื่อโดนความร้อนทำให้เกิดกลี้นรคาราเมล มีสีน้ำตาลหรือหรือสีคาราเมล ซึ่งส่งผลต่อสี กลิ่น และรสชาติของน้ำชา ซึ่งน้ำเชื่อมจะส่งผลต่อคะแนนความชอบด้านสี กลิ่น รสชาติ และความชอบโดยรวม โดยน้ำชาสูตรที่มีน้ำเชื่อมมากขึ้น จะมีสีที่เข้มกว่าสูตรควบคุมอย่างเห็นได้ชัดเจน (Figure 1) นอกจากนี้ สูตรที่เติมน้ำเชื่อม ยังมีกลิ่นหอมของน้ำเชื่อมและมีความหวานมากกว่าสูตรควบคุม ซึ่งจากคะแนนการยอมรับทางประสาทสัมผัสของ Table 1 พบว่าสูตรที่มีความหวาน 5 °Brix และ 7 °Brix ไม่มีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p>0.05$) แต่เมื่อพิจารณาภาพรวม พบว่า ผู้ทดสอบชิมให้คะแนนความชอบของสูตรที่มีน้ำเชื่อม 5 °Brix มากที่สุด จึงคัดเลือกสูตรที่มีน้ำเชื่อม 5 °Brix ไปทดลองเพื่อศึกษาความเข้มข้นของโซเดียมแอลจินेटที่เหมาะสมต่อการขึ้นรูปทรงกลมของผลิตภัณฑ์ชาผักชಾಯาผสมข้าวเหนียวดำคั่ว



Figure 1. Chaya tea with different sweetness levels

2. ผลการศึกษาความเข้มข้นของโซเดียมแอลจีเนตที่เหมาะสมต่อการขึ้นรูปทรงกลมของผลิตภัณฑ์เม็ดเจลชาผักชಾಯาผสมข้าวเหนียวดำคั่ว

Table 2 แสดงผลการทดสอบการยอมรับทางประสาทสัมผัสของเม็ดเจลชาผักชಾಯาผสมข้าวเหนียวดำคั่วที่มีความเข้มข้นของโซเดียมแอลจีเนตที่แตกต่างกัน 4 ระดับ คือ ร้อยละ 0.75, ร้อยละ 1, ร้อยละ 1.25 และร้อยละ 1.5 ตามลำดับ

จาก Table 2 พบว่า คะแนนความชอบด้านสี กลิ่น และรสชาติของเม็ดเจลชาผักชಾಯาที่มีความเข้มข้นโซเดียมแอลจีเนตที่แตกต่างกันที่ 4 ระดับ (ร้อยละ 0.75, ร้อยละ 1, ร้อยละ 1.25 และร้อยละ 1.5) ไม่มีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p>0.05$) เนื่องจากเม็ดเจลชาผักชಾಯามีส่วนผสมของชาผักชಾಯาและข้าวเหนียวดำคั่วในปริมาณที่เท่ากัน จึงไม่ส่งผลต่อคะแนนความชอบด้านสีและกลิ่น

Table 2. Sensory acceptance score of chaya tea gel bead with different sodium alginate concentrations

Sensory attributes	Sodium Alginate (%w/w)			
	0.75%	1.00%	1.25%	1.5%
Appearance	6.58±0.82 ^b	6.78±1.05 ^b	6.91±0.82 ^b	7.38±0.90 ^a
Color ^{ns}	6.96±0.90	7.08±0.99	7.23±0.92	7.11±0.82
Odor ^{ns}	6.96±1.26	7.00±1.24	6.86±1.18	6.96±1.27
Taste ^{ns}	6.68±0.82	6.88±1.05	6.76±1.01	6.68±0.95
Texture	7.56±1.06 ^a	7.16±1.04 ^b	7.15±1.09 ^b	6.98±1.20 ^b
Overall acceptance	7.06±1.19 ^b	7.14±1.17 ^a	7.03±1.12 ^{bc}	6.73±1.19 ^c

Note: ^{a,b,c} Mean values with different letters in each column are significantly different ($p\leq 0.05$)

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

นอกจากนี้เม็ดเจลยังมีปริมาณน้ำเชื่อมที่เท่ากัน จึงไม่ส่งผลต่อคะแนนความชอบด้านรสชาติ และความเข้มข้นของโซเดียมแอลจีเนตที่แตกต่างกันไม่ส่งผลต่อรสชาติของเม็ดเจลเช่นกัน โดยความเข้มข้นของโซเดียมแอลจีเนตจะส่งผลต่อคะแนนความชอบด้านเนื้อสัมผัส ในขณะที่คะแนนความชอบด้านลักษณะปรากฏมีแนวโน้มมากขึ้นตามปริมาณโซเดียมแอลจีเนต โดยเม็ดเจลที่ได้มีลักษณะเป็นทรงกลมมากขึ้น แต่คะแนนความชอบด้านเนื้อสัมผัสมีแนวโน้มลดลงเมื่อมีปริมาณ

โซเดียมแอลจีเนตเพิ่มมากขึ้น เมื่อพิจารณาค่า Hardness ใน Table 3 พบว่า ค่า Hardness ของเม็ดเจลน้ำชาที่มีโซเดียมแอลจีเนตแตกต่างกัน 4 ระดับ ไม่มีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p>0.05$) แต่ภาพรวมของค่า Hardness จากการทดสอบด้วยเครื่องวัดเนื้อสัมผัส พบว่าเม็ดเจลน้ำชาที่มีแนวโน้มค่า Hardness สูงขึ้นตามปริมาณโซเดียมแอลจีเนต ซึ่งกล่าวได้ว่า ปริมาณโซเดียมแอลจีเนตที่แตกต่างกันส่งผลต่อความแข็งของเม็ดเจลน้ำชา จึงส่งผลต่อคะแนนความชอบ

ด้านเนื้อสัมผัสตามมาด้วย จากภาพรวมผลการทดลอง Table 2 กล่าวได้ว่า ปริมาณโซเดียมอัลจิเนตส่งผลต่อคุณภาพเม็ดเจลในคะแนนความชอบด้านลักษณะปรากฏและเนื้อสัมผัสอย่างเห็นได้ชัด ซึ่งผู้ทดสอบชิมให้คะแนนความชอบโดยรวมต่อคุณลักษณะของเม็ดเจLN้ำชาที่มีความเข้มข้นของโซเดียมอัลจิเนตที่ร้อยละ 1 สูงสุด จึงอาจกล่าวได้ว่าความเข้มข้นของโซเดียมอัลจิเนตที่เหมาะสมให้กับเม็ดเจLN้ำชา อยู่ที่ความเข้มข้นร้อยละ 1

มีงานวิจัยเรื่องการพัฒนาเม็ดปิดสอสมะม่วงโดยใช้เทคนิคการขึ้นรูปทรงกลม พบว่าเนื้อสัมผัสด้านความแน่นเนื้อของเม็ดปิดสอสมะม่วงมีแนวโน้มเพิ่มขึ้นเมื่อความเข้มข้นของโซเดียมอัลจิเนตเพิ่มมากขึ้น¹⁰ นอกจากนี้มีงานวิจัยการพัฒนาผลิตภัณฑ์เม็ดเจLN้ำส้มช้ำทรงกลม ที่พบว่าค่าเนื้อสัมผัสด้านความแข็งของเม็ดเจLN้ำส้มช้ำมีค่าความแข็งมากขึ้นเมื่อความเข้มข้นของสารละลายแคลเซียมแลคเตสเพิ่มมากขึ้น¹¹



0.75%

1%

1.25%

1.5%

Figure 2. Chaya tea gel with different sodium alginate concentrations

Table 3. Physical characteristics of chaya tea gel bead with different sodium alginate concentrations

Physical characteristics	Sodium Alginate (%w/w)			
	0.75%	1%	1.25%	1.5%
Hardness ^{ns} (g)	301.33±96.50	313.33±16.16	324.00±6.00	367.33±50.89
L ^{*ns}	22.09±0.74	22.42±0.95	22.69±1.01	23.16±0.30
a ^{*ns}	0.68±0.18	0.66±0.27	0.76±0.26	1.08±0.34
b ^{*ns}	1.95±0.55	1.87±0.89	2.25±0.84	3.00±0.64

Note: ^{ns} Mean are not significantly different (p>0.05)

ขั้นตอนการเกิดเจลจะเกิดจากโซเดียมอัลจิเนตและแคลเซียมแลคเตสจับตัวประสานกันเป็นโครงร่างตาข่ายคล้ายกล่องไข่ (Egg box) จึงส่งผลให้เม็ดเจLN้ำชาที่มีลักษณะเป็นเม็ดทรงกลม

ถ้าความเข้มข้นของโซเดียมอัลจิเนตและความเข้มข้นของแคลเซียมแลคเตสมีความเข้มข้นมากขึ้นกระบวนการเกิดเป็นเม็ดเจLN้ำชาจึงมีเพิ่มขึ้นตามไปด้วย เม็ดเจLN้ำชาจึงมีค่าความแข็งเพิ่มขึ้น

ตามไปด้วย แต่ถ้าไซโตเดียมอัลจินเตและแคลเซียมแลคเตสเกิดการทำงานกับจับตัวกันได้อย่างสมบูรณ์และเพียงพอแล้ว การเพิ่มความเข้มข้นขึ้นไปอีกจะไม่ส่งผลต่อค่าเนื้อสัมผัสของเม็ดเจล¹² นอกจากนี้มีงานวิจัยที่กล่าวไว้ว่า ธรรมชาติของเม็ดเจลจะมีรสชาติอ่อนลง ถ้าเม็ดเจลมีความแข็งมากขึ้น¹³ เมื่อพิจารณาค่าสีใน Table 3 พบว่า ค่าสี (L^* , a^* และ b^*) พบว่าความเข้มข้นของไซโตเดียมอัลจินเตไม่มีผลต่อค่าสีของเม็ดเจลง่ายๆ โดยเม็ดเจลจะมีลักษณะใสเป็นสีของน้ำชา ซึ่งแสดงได้ Figure 2

สรุปผลการวิจัย

ผู้ทดสอบชิมให้คะแนนการยอมรับทางประสาทสัมผัสน้ำชาผักขวยผสมข้าวเหนียวดำคั่วที่มีปริมาณหวานอยู่ที่ 5 °Brix และ 7 °Brix สูงสุด และเมื่อศึกษาความเข้มข้นไซโตเดียมแอลจินเตที่เหมาะสมต่อการขึ้นรูปทรงกลมของผลิตภัณฑ์ผักขวยผสมข้าวเหนียวดำคั่ว พบว่า เมื่อความเข้มข้นไซโตเดียมแอลจินเตมากขึ้น ผู้ทดสอบชิมมีแนวโน้มให้คะแนนความชอบด้านเนื้อสัมผัสลดน้อยลง แต่คะแนนความชอบด้านลักษณะปรากฏมากขึ้น เมื่อศึกษาลักษณะเนื้อสัมผัสและค่าสีของเม็ดเจล พบว่า เม็ดเจลง่ายๆที่มีความเข้มข้นไซโตเดียมอัลจินเตแตกต่างกัน 4 ระดับ ไม่มีผลต่อค่าสีอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p>0.05$) แต่มีแนวโน้มที่เม็ดเจลจะมีค่าความแข็งเพิ่มขึ้นตามปริมาณไซโตเดียมอัลจินเต เนื่องจากความเข้มข้นของไซโตเดียมอัลจินเตที่มากขึ้น ส่งผลให้กระบวนการเกิดเป็นเม็ดเจลง่ายๆเพิ่มมากขึ้น เม็ดเจลมีความแข็งและมีความเป็นทรงกลมมากขึ้น ซึ่งความเข้มข้นของไซโตเดียมอัลจินเตที่เหมาะสมใช้กับเม็ดเจลง่ายๆผักขวยผสมข้าวเหนียวดำคั่วอยู่ที่ร้อยละ 1 ซึ่งเป็น

ความชอบโดยรวมที่ผู้ทดสอบชิมให้คะแนนการยอมรับทางประสาทสัมผัสสูงสุด ซึ่งประโยชน์ของการทำเม็ดเจลง่ายๆ เป็นการพัฒนาผลิตภัณฑ์ใหม่ที่สามารถนำไปประยุกต์ทานคู่กับเครื่องดื่มได้ และควรศึกษาอายุการเก็บรักษาของเม็ดเจลง่ายๆหรือลักษณะของเม็ดเจลง่ายๆที่เปลี่ยนไปในระหว่างการเก็บรักษา

เอกสารอ้างอิง

1. สีนินาถ สุขทนารักษ์, ณัฐพล กาจุลศรี, สกล สุวรรณทัตพะ, บุศรา ไวยโกควา. การผลิตเจลง่ายๆเปลือกแก้วมังกรเสริมรสสับปะรดด้วยเทคนิคการขึ้นรูปทรงกลมแบบย้อนกลับ. วารสารวิจัย มหาวิทยาลัยเทคโนโลยีราชมงคลตะวันออก 2564;14:25-31.
2. สีนินาถ สุขทนารักษ์, สุธิดา รักษาอินทร์, วาสนา พูลฤทธิ์, ณัฐพล ครามเขียว. การพัฒนาผลิตภัณฑ์น้ำชาดาวอินคาด้วยเทคนิคการขึ้นรูปทรงกลม. การประชุมวิชาการระดับชาติ วิทยาศาสตร์และเทคโนโลยีระหว่างสถาบัน ครั้งที่ 6; 6 มิถุนายน 2561; มหาวิทยาลัยหัวเฉียวเฉลิมพระเกียรติ. สมุทรปราการ: 2561.
3. พัทธรี คำประเวช, สุธีรา วัฒนกุล. การผลิตเม็ดปิดส่น้ำเสาวรสดด้วยเทคนิครีเวิร์สเฟิรริฟิเคชัน. วารสารวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยี 2561;26:1381-93.
4. Gaikhead SA, Kulthe AA, Suthar TR. Characterization of flavoured sweet water balls prepared by basic spherification technique. Int J Chem Stud 2019;7:1714-8.

5. Kuti JO, Kuti HO. Proximate composition and mineral content of two edible species of *Cnidoscolus* (tree spinach). *Plant food hum nutr* 1999;53:275-83.
6. พัชรลักษณ์ วัฒนไชย, สีนีนาก สุขทนารักษ์. การพัฒนาผลิตภัณฑ์ผงโรยข้าว (ฟูริคาเกะ) รสกระเพราเสริมใบชายา. *วารสารวิจัยและพัฒนา วไลยอลงกรณ์ ในพระบรมราชูปถัมภ์ สาขาวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยี* 2565;17:131-40.
7. สว่างวาลย์ ชมภูจา. การพัฒนาผลิตภัณฑ์หมั่นโถวเชิงสุขภาพด้วยการเสริมน้ำผักชายา. *วารสารวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยีเฉลิมพระเกียรติ* 2563;6:21-31.
8. จิราภรณ์ แก่นท้าว, ธิดารัตน์ สีสด, ชุตติมา ทองแก้ว. สหรัยเทียมจากใบชายา. การประชุมวิชาการระดับชาติ มอบ. ครั้งที่ 16; 11-12 กรกฎาคม 2565; มหาวิทยาลัยอุบลราชธานี. *อุบลราชธานี: 2565*.
9. ธิดิยา ผจงพฤทธิ, จุริมาศ ดีอำมาตย์, สีนีนาก สุขทนารักษ์, เบญจางค์ อัจฉริยะโพธา, พัชรลักษณ์ วัฒนไชย, กนกวรรณ ปุณณะตระกูล, วีระศักดิ์ ศรีลารัตน์, มณัญญา คำวชิระพิทักษ์. การพัฒนาผลิตภัณฑ์สินค้าชุมชนของชุมชนบ้านคลองอาราง: ชาสมุนไพรชายากลิ่นข้าวเหนียวดำคั่ว. *วารสารวิจัยและพัฒนา วไลยอลงกรณ์ ในพระบรมราชูปถัมภ์ สาขาวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยี* 2562;14:95-103.
10. อัศพงษ์ อุประวรรณ, ชนันภรณ์ ทองโรจน์, จรรยา ทัศนานบุตร. การผลิตเม็ดบีดส์ซอสมะม่วงโดยใช้เทคนิคการขึ้นรูปทรงกลม. *วารสารวิจัยและพัฒนา วไลยอลงกรณ์ ในพระบรมราชูปถัมภ์ สาขาวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยี* 2564;16:41-56.
11. สีนีนาก สุขทนารักษ์, เบญจางค์ อัจฉริยะโพธา, วัฒนา อัจฉริยะโพธา. การพัฒนาผลิตภัณฑ์เม็ดเจลน้ำส้มซ่าทรงกลม. *วารสารวิจัยมหาวิทยาลัยเทคโนโลยีราชมงคลตะวันออก* 2566;16:66-74.
12. Mohamed SE, Elbadawy AK, Mamdouh AS, Smaher ME. L-Arginine grafted alginate hydrogel beads: A novel pH-sensitive system for specific protein delivery. *Arab J Chem* 2015;8:355-65.
13. Lupo B, Maestro A, Gutierrez JM, Gonzalez C. Characterization of alginate beads with encapsulated cocoa extract to prepare function food: Comparison of two gelation mechanisms. *Food Hydrocolloids* 2015;49:25-34.

ฤทธิ์ต้านอักเสบในหลอดทดลองของสารสกัดเอทานอลจากสมุนไพรไทยที่ใช้ในตำรับยาไทยแก้ปวดและแก้ไข้

In vitro Anti-inflammatory Activity of Ethanolic Extracts from the Medicinal Plants Used in Thai Analgesic and Antipyretic Formula

อัชฉร่า แก้วน้อย^{1*}, ศุภรัตน์ ดวนใหญ่¹, รัตนะ รุ่งสุข¹, จันทนา ยะหัวฝ้าย², อ้อมบุญ วลิลิสต์¹, พิชชาพัชร จูธิรณอภิพงษ์³

Atchara Kaewnoi^{1*}, Supharat Duanyai¹, Rattana Rungsuk¹, Jantana Yahuafai², Omboon Vallisuta¹, Pichapat Thititanaapipong³

¹ภาควิชาการแพทย์แผนไทย คณะวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยี มหาวิทยาลัยราชภัฏบ้านสมเด็จเจ้าพระยา

²งานวิจัยคลินิกและนวัตกรรม กลุ่มงานวิจัยและประเมินเทคโนโลยี สถาบันมะเร็งแห่งชาติ

³คณะทรัพยากรธรรมชาติ มหาวิทยาลัยเทคโนโลยีราชมงคลธัญบุรี วิทยาเขตสกลนคร

¹Department of Thai Traditional Medicine, Bansomdejchaopraya Rajabhat University

²Clinical Research and Innovation Section, Division of Research and Technology Assessment, National Cancer Institute

³Faculty of Natural Resources, Rajamangala University of Technology Isan Sakon Nakhon Campus

*Corresponding author; E-mail: Atchara.ka@bsru.ac.th

Received: 04 June 2024 /Revised: 13 September 2024 /Accepted: 13 September 2024

บทคัดย่อ

ใบคนทา ผลคนทา ใบมะคำไก่ และ เหง้าว่านนางคำ มีการใช้ประโยชน์เป็นตัวยาสมุนไพรแก้อาการปวดและลดไข้ ในงานวิจัยนี้จึงมีวัตถุประสงค์เพื่อทดสอบความสามารถในการต้านการอักเสบในหลอดทดลองของใบคนทา ผลคนทา ใบมะคำไก่ และ เหง้าว่านนางคำ ที่นำมาสกัดด้วยเอทานอล ทดสอบฤทธิ์ต้านการอักเสบของสารสกัดด้วยวิธีการยับยั้งการสร้างไนตริกออกไซด์ในเซลล์ RAW 267.4 ที่ถูกเหนี่ยวนำโดยสารก่อการอักเสบ Lipopolysaccharide (LPS) ด้วย Griess reagent ผลการทดลองพบว่าสารสกัดด้วยเอทานอลจากเหง้าว่านนางคำ ใบมะคำไก่ ใบคนทา และผลคนทา มีฤทธิ์ต้านการอักเสบโดยสามารถยับยั้งการสร้างไนตริกออกไซด์อย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ โดยมีค่า IC_{50} 20.99 ± 9.16 , 28.11 ± 8.02 , 42.06 ± 3.26 , 52.38 ± 7.92 $\mu\text{g/ml}$ ตามลำดับ โดยไม่พบความเป็นพิษต่อเซลล์แมคโครฟาจ RAW 264.7 ผลงานวิจัยนี้สนับสนุนการใช้แบบพื้นบ้านและการแพทย์แผนไทย และเป็นข้อมูลเบื้องต้นทางวิทยาศาสตร์ที่ช่วยสนับสนุนในการพัฒนาเป็นยาสมุนไพรแก้ปวดและลดไข้ต่อไป แต่อย่างไรก็ตามควรทำการศึกษาฤทธิ์ในการต้านการอักเสบด้วยกลไกอื่น ๆ ในระดับโมเลกุลที่เกี่ยวข้องเพิ่มเติม

คำสำคัญ: ใบคนทา ผลคนทา ใบมะคำไก่ เหง้าว่านนางคำ

Abstract

The leaves of *Harrisonia perforata* (Blanco) Merr., the fruits of *H. perforata* (Blanco) Merr., the leaves of *Putranjiva roxburghii* Wall., and the rhizome of *Curcuma aromatica* Salisb. have been used as herbal ingredients for pain reduction and against fevers. The objective of this study is to investigate the ability of *in vitro* anti-inflammation of *H. perforata* leaves, *H. perforata* fruits, *P. roxburghii* leaves, and *C. aromatica* rhizome obtained by extraction with ethanol. The anti-inflammatory activity of the extract was evaluated by inhibition of nitric oxide production in RAW 264.7 induced by inflammatory agent Lipopolysaccharide (LPS) by Griess reagent method. The results showed that the ethanolic extract of *C. aromatica* rhizome, *P. roxburghii* leaves, *H. perforata* leaves, and *H. perforata* fruits exerted anti-inflammatory activity by significantly inhibiting nitric oxide production having the IC_{50} value of 20.99 ± 9.16 , 28.11 ± 8.02 , 42.06 ± 3.26 , 52.38 ± 7.92 $\mu\text{g/ml}$ respectively without any toxicity to RAW 267.4 cells. The results of this study support their uses in folklore medicine and traditional medicine. It is the preliminary scientific information that encourages further development into herbal analgesic and antipyretic products. However, further studies on anti-inflammatory activity using other mechanisms at the molecular level are needed to be investigated.

Keywords: *Harrisonia perforata* leaves, *H. perforata* fruits, *Putranjiva roxburghii* leaves, *Curcuma aromatica* rhizome

บทนำ

การสำรวจสุขภาพประชาชนไทยครั้งที่ 6 ปี 2562-2563^{1,3} พบว่าประชากรไทยอายุ 15 ปีขึ้นไป 1.9% กินยาแก้ปวดทุกวัน โดยผู้หญิงมีความชุกในการกินยาแก้ปวดสูงกว่าผู้ชาย^{2,3} และการใช้ยาแก้ปวดเพิ่มขึ้นตามอายุ โดยประชากรในภาคกลางและกรุงเทพมหานครมีการใช้ยาแก้ปวดมากที่สุด การทำงานที่ขาดการเคลื่อนไหวร่างกายเป็นเวลานานเป็นสาเหตุหนึ่งที่ทำให้มีอาการปวดจากออฟฟิศซินโดรม นอกจากนี้ประเทศไทยได้เข้าสู่สังคมผู้สูงอายุอย่างสมบูรณ์⁴ ทำให้คนไทยมีแนวโน้มพึ่งพายาแก้ปวดมากขึ้น อาการปวดเมื่อยในผู้สูงวัยอาจเกิดจากการเสื่อมลงของร่างกายทุกระบบ

การเปลี่ยนแปลงในระบบกล้ามเนื้อและกระดูก โรคข้อเสื่อม เนื้อกระดูกบางลง ร่างกายลดความสามารถในการซ่อมแซมส่วนที่สึกหรอ อีกทั้งร่างกายมีความเสี่ยงที่จะถูกทำลายเพิ่มขึ้นจากสิ่งแวดล้อมและสารเคมี³ การรักษาโดยใช้ยาแก้ปวด เช่น ยาพาราเซตามอล ยาต้านการอักเสบที่ไม่ใช่สเตียรอยด์ (Non-steroidal anti-inflammatory drugs หรือ NSAIDs) แต่ประชาชนยังขาดความรู้ในการใช้ยากลุ่มนี้อย่างเหมาะสม⁵ ซึ่งอาจนำไปสู่การใช้ยาเกินความจำเป็นและเกิดอันตรายด้วยอาการไม่พึงประสงค์ จากปัญหาดังกล่าวการเพิ่มทางเลือกการรักษาเพื่อทดแทนการใช้ยา กลุ่มนี้จึงมีความสำคัญในการดูแลสุขภาพของ

ประชากรไทย ปัจจุบันมียาสมุนไพรที่ถูกบรรจุอยู่ในบัญชียาหลักแห่งชาติแบ่งได้เป็นหลายกลุ่มการรักษา โดยมียาในกลุ่มอาการทางกล้ามเนื้อและกระดูกมากที่สุดจำนวน 24 ชนิด ยาแก้ไข้ 9 ชนิด⁶ ทั้งนี้จากการรวบรวมข้อมูลของผู้ที่เข้ามารับการรักษาที่ห้องคลินิค มรภ.บ้านสมเด็จเจ้าพระยาพบว่า มีผู้ที่มีอาการปวดเป็นจำนวน 80% ของผู้เข้ารับบริการทั้งหมด⁷ แสดงถึงปัญหาทางสาธารณสุขและความต้องการใช้ยาสมุนไพรในการบำบัดอาการปวด อีกทั้งสมุนไพร ใบคนทา ผลคนทา ใบมะค่าไก่ และ เหง้าว่านนางคำ ล้วนมีบันทึกการใช้ในการแพทย์พื้นบ้าน หรือ การแพทย์แผนไทยในการใช้เป็นยาแก้ปวดแก้ไข้

คนทา (*Harrisonia perforata* (Blanco) Merr.) อยู่ในวงศ์ส้ม (Rutaceae) มีเขตการกระจายพันธุ์ในเขตร้อน และมีบันทึกในตำรายาไทยส่วนที่ใช้และสรรพคุณ ทั้งต้นรสขมเผื่อน แก้ไข้ได้ทุกชนิด รากและต้นมีรสขมเผื่อน ใช้แก้ไข้ แก้ปวด กระทุ้งพิษไข้ รากเป็นส่วนประกอบหลักในตำรับยาแก้ไข้เบญจโลกวิเชียร หรือยาห้าราก ใบคนทา รสขม แก้ปวด ดอก แก้พิษแตนต่อย⁸ ผล รสขมฝาด แก้ปวดฟัน^{9,10} ฤทธิ์ต้านอักเสบ มีรายงานวิจัย พบว่าสารกลุ่มลิโมนอยด์ในผลและรากคนทาแสดงฤทธิ์ยับยั้งการผลิตไนตริกออกไซด์ในหลอดทดลอง¹¹ ใบคนทาจากประเทศจีน พบสารลิโมนอยด์เช่นกัน¹²

มะค่าไก่ (*Putranjiva roxburghii* Wall.) อยู่ในวงศ์ Putranjinaceae¹³ มีเขตการกระจายพันธุ์ในเขตร้อนประเทศอินเดีย บังคลาเทศ เนปาล ไทย พม่า และศรีลังกา¹⁴ มีส่วนที่ใช้และสรรพคุณดังนี้ ใบ ใช้แก้ไข้ แก้ไข้หวัด ถ่ายพิษไข้ ตำให้ละเอียดพอกแก้พิษฝี¹⁰ แก้ปวดเมื่อยตามร่างกายผล ใช้แก้

ปวดข้อ ปวดกล้ามเนื้อ^{15,16} การใช้ในอินเดียทางอายุรเวทมีการใช้ประโยชน์จากใบมะค่าไก่ในการแก้ไข้ แก้หวัด แก้อาการปวดข้อเช่นกัน¹⁷ การศึกษาวิจัยสารสกัด 70% เอทานอลจากใบ มีฤทธิ์ต้านออกซิเดชันเทียบเท่า ascorbic acid มีฤทธิ์ต้านอักเสบและแก้ปวดเมื่อให้ทางปากในหนูทดลอง และสามารถลดการบวมของฝ่าเท้าและหนูหนูที่ถูกเหนี่ยวนำให้เกิดการอักเสบได้ สารสกัดเอทานอลที่ละลายได้ในอีเทอร์ มีฤทธิ์ลดไข้ในหนูแรทและลดการบวมของฝ่าเท้าและหนูหนูได้ใกล้เคียงกับแอสไพรินและ indomethacin^{14,17}

ว่าน นางคำ (*Curcuma aromatica* Salisb.) วงศ์ Zingiberaceae มีเขตการกระจายพันธุ์ในประเทศอินเดีย จีน และคาบสมุทรมลายูอินโดจีน¹⁸ สรรพคุณการแพทย์แผนไทย อายุรเวท และแผนจีน พบว่ามีรายงานการใช้เพื่อดำเนินเบื้องอก ภาวะเลือดคั่ง คอเจ็บจากการติดเชื้อ สารสกัดจากเหง้า มีฤทธิ์ทางชีวภาพ เช่น ต้านอนุมูลอิสระ ต้านอักเสบ ยับยั้งการแพร่ของเซลล์^{10,19,20} ในประเทศอินเดียมีการใช้เป็นยาด้านจุลชีพและเครื่องประทุษนิม²⁰

อนึ่ง การอักเสบเป็นการตอบสนองทางชีวภาพที่ซับซ้อนของเซลล์หรือเนื้อเยื่อเมื่อร่างกายเกิดภาวะติดเชื้อ ได้รับบาดเจ็บ หรือได้รับสารระคายเคืองต่าง ๆ เข้าสู่ร่างกาย^{21,22} โดยการอักเสบเป็นระยะเวลาสั้นหรือมากเกินไปที่เกิดขึ้นในร่างกายมีความสัมพันธ์กับการเกิดโรคต่าง ๆ เช่น โรคหัวใจและหลอดเลือด โรคเบาหวาน โรคอักเสบรูมาตอยด์ และโรคที่เกิดจากการอักเสบอื่น ๆ เช่น การปวดกล้ามเนื้อ การบาดเจ็บกล้ามเนื้อ หรือการติดเชื้อแบคทีเรีย เชื้อไวรัส ร่างกายตอบสนองทำให้เกิดอาการไข้²³ เมื่อเกิดการอักเสบเซลล์เม็ดเลือด



ชาวชนิต นิวโทรฟิลด์ และแมคโครฟาจ จะเคลือบผิวบริเวณอักเสบ เกิดการทำลายสิ่งแปลกปลอมมีการสร้าง inflammatory mediator หลายชนิด^{24,25} ได้แก่ Tumor necrosis factor- α (TNF- α), Interleukin-6 (IL-6), Prostaglandin E2 (PGE₂) และ Nitric oxide (NO) สารเหล่านี้ทำให้เกิดอาการ ปวด บวม แดง ร้อน

การศึกษาวิจัยในครั้งนี้มุ่งเน้นศึกษาฤทธิ์ต้านอักเสบของของใบคนทา ผลคนทา ใบมะค่าไก่ และ เหง้าว่านนางคำ ซึ่งตามบันทึกการแพทย์แผนไทยมีฤทธิ์แก้ไข้และแก้ปวดตึงกล้ามเนื้อ โดยเน้นการศึกษาฤทธิ์ยับยั้งการผลิต NO ในเซลล์แมคโครฟาจ อันเป็นการยับยั้งการผลิต NO ในเซลล์แมคโครฟาจเป็นวิธีที่ยอมรับในการคัดกรองเบื้องต้นของฤทธิ์ต้านการอักเสบ โดยในงานวิจัยนี้ได้เตรียมสารสกัดเอทานอลเพื่อทดสอบฤทธิ์การยับยั้งการผลิต NO ในเซลล์แมคโครฟาจที่ถูกเหนี่ยวนำให้เกิดการอักเสบเพื่อให้ได้ข้อมูลทางวิทยาศาสตร์ที่มีประโยชน์ต่อการพัฒนาศักยภาพของสมุนไพรทั้งสี่ชนิดนี้

วิธีการวิจัย

การเตรียมตัวอย่างสมุนไพร

ตัวอย่างพืชคนทา เก็บจากจังหวัดอยุธยา โดยส่งระบุลักษณะทางพฤกษ-อนุกรมวิธาน เพื่อใช้ในการจัดทำตัวอย่างพรรณไม้แห้งสำหรับอ้างอิงในงานวิจัย ณ สถาบันอุทยานธรรมชาติวิทยาสิรีรุกขชาติ มหาวิทยาลัยมหิดล ศูนย์อ้างอิงทางพฤกษศาสตร์ของพืชสมุนไพรและเครื่องยา ได้รับหมายเลข voucher specimen คือ PBM 006172 - 006173 ขณะที่มะค่าไก่เก็บจากจังหวัดลำปาง และ

ว่านนางคำ เก็บในพื้นที่จังหวัดสกลนคร โดยส่งระบุลักษณะทางพฤกษ-อนุกรมวิธาน เพื่อใช้ในการจัดทำตัวอย่างพรรณไม้แห้งสำหรับอ้างอิงในงานวิจัย ณ พิพิธภัณฑ์สมุนไพร กรมการแพทย์แผนไทยและการแพทย์ทางเลือก จ.ลำปาง โดยมะค่าไก่ ได้รับหมายเลข voucher specimen คือ TTM No.0005457 และ ว่านนางคำ ได้รับหมายเลข voucher specimen คือ TTM No.0005464

วิธีเตรียมตัวอย่างสารสกัด

นำตัวอย่างพืชคนทา ผลคนทา มะค่าไก่ ว่านนางคำ ที่เก็บมาได้ ล้างทำความสะอาดและตัดแต่งให้มีขนาดที่เหมาะสม จากนั้นผึ่งให้แห้งในที่ร่ม และทำให้แห้งด้วยตู้อบลมร้อน (hot air oven) อุณหภูมิ 50 °C บดให้ละเอียดด้วยเครื่องบดตัวอย่าง (sample mill) และผ่านร่อน (sieve) เบอร์ 60 ใช้ผงสมุนไพร 20 g สกัดโดยวิธีหมัก (Maceration) ด้วย 95% เอทานอล 200 mL ตั้งไว้ที่อุณหภูมิห้องเป็นเวลา 7 วัน ทำการเขย่าเป็นครั้งคราว จากนั้นกรองและนำสารละลายของสารสกัดที่ได้มาระเหยตัวทำละลายออกด้วยเครื่องระเหยแห้งระบบสุญญากาศ แล้วนำไปทำให้แห้งโดยใช้วิธี freeze dry จะได้สารสกัดหยาบ ใบคนทา (HPL) ผลคนทา (HPF) มะค่าไก่ (PRL) ว่านนางคำ (CAR) เก็บรักษาในตู้เย็น

การเพาะเลี้ยงเซลล์ (Cell culture)

เพาะเลี้ยงเซลล์แมคโครฟาจ RAW 264.7 จาก American Type Culture Collection (ATCC, USA) เลขที่ TIB-71 ในอาหารเลี้ยงเซลล์ชนิด Dulbecco's modified Eagle's medium (DMEM)

ที่มีส่วนประกอบของ 10% fetal bovine serum (FBS), penicillin (100 units/mL) และ streptomycin (100 µg/mL) จากนั้น นำไปเก็บไว้ใน CO₂ incubator ที่มีปริมาณ CO₂ อยู่ 5% อุณหภูมิ 37 °C และทำการ sub-culture ทุก ๆ 3 วัน

การหาความเข้มข้นที่เหมาะสมของสารสกัดสมุนไพรเพื่อทดสอบฤทธิ์ในการยับยั้งการผลิต NO ในเซลล์แมคโครฟาจ RAW 264.7 ด้วยวิธี MTT assay

เลี้ยงเซลล์แมคโครฟาจ RAW 264.7 ใน 96 well-plate (5×10^4 cells/well) โดยบ่มเซลล์ในตู้บ่มเพาะเชื้อ ที่อุณหภูมิ 37 °C เป็นเวลา 24 ชั่วโมง ²⁶นำมาทดสอบกับสารสกัดที่ความเข้มข้นต่าง ๆ ดังนี้ HPL (12.50, 25, 50, 100, 200, 400 µg/mL), HPF (6.25, 12.50, 25, 50, 100, 200 µg/mL), PRL (25, 50, 100, 200, 400 µg/mL) และ CAR (3.125, 6.25, 12.50, 25, 50, µg/mL) เป็นระยะเวลา 24 ชั่วโมง จากนั้นเติมสารละลาย MTT (ความเข้มข้น 5 µg/mL) ในแต่ละหลุม นำไปเก็บไว้ใน CO₂ incubator ที่มีปริมาณ CO₂ อยู่ 5% อุณหภูมิ 37 °C เป็นเวลา 3 ชั่วโมง เมื่อครบเวลาดูดสารละลายทิ้งไปแล้ว เติม DMSO 100 µL เพื่อละลายสาร formazan ที่เกิดขึ้น แล้วนำไปวัดค่าการดูดกลืนแสงด้วยเครื่อง microplate reader ที่ความยาวคลื่น 550 nm โดยสารที่ทดสอบจะนับว่ามีความเป็นพิษต่อเซลล์เมื่อเปอร์เซ็นต์การรอดชีวิตของเซลล์น้อยกว่า 80 % เมื่อเทียบกับกลุ่มควบคุม

ศึกษาผลของสารสกัดสมุนไพรต่อการยับยั้งการสร้าง nitric oxide

เลี้ยงเซลล์แมคโครฟาจ RAW 264.7 ใน 96 well-plate (5×10^4 cells/well) โดยบ่มเซลล์ในตู้บ่มเพาะเชื้อ ที่อุณหภูมิ 37 °C เป็นเวลา 24 ชั่วโมง ²⁶นำมาทดสอบกับสารสกัดที่ความเข้มข้นต่าง ๆ ดังนี้ HPL (12.50, 25, 50, 100, 200 µg/mL), HPF (6.25, 12.50, 25, 50, 100 µg/mL), PRL (12.5, 25, 50, 100, 200 µg/mL) และ CAR (1.562, 3.125, 6.25, 12.50, 25 µg/mL) และเติมสาร lipopolysaccharide (LPS; Escherichia coli serotype 0111: B4) ให้ได้ความเข้มข้นสุดท้าย 100 ng/mL เป็นเวลา 24 ชั่วโมง เพื่อกระตุ้นการสร้าง NO ในการทดลองนี้จะใช้สาร Dexamethasone ความเข้มข้น 40 µM เป็น positive control และทำการตรวจวัดปริมาณ NO ที่ถูกกระตุ้นด้วยสาร LPS โดยวัดปริมาณของไนตริกออกไซด์ที่เกิดขึ้นในอาหารเลี้ยงเซลล์ในรูปของ nitrite โดยนำอาหารเลี้ยงเซลล์มาทำปฏิกิริยากับ Griess reagent (โดยเติม sulfanilamide และ N-1-naphthylethylenediamine dihydrochloride (NED) อย่างละ 25 µL) จากนั้นนำไปวัดค่าการดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 550 nm โดยใช้เครื่อง Microplate reader โดยค่าที่ได้จะทำการเทียบกับ standard nitrite (NO₂) (Promega Ltd. USA)

วิเคราะห์ทางสถิติ

เปรียบเทียบความแตกต่างของค่าเฉลี่ยระหว่างกลุ่มทดสอบด้วย LPS อย่างเดียวกับกลุ่มทดลองที่ได้รับสารสกัดสมุนไพรที่ความเข้มข้นต่าง ๆ โดยใช้สถิติการวิเคราะห์ ความแปรปรวนทางเดียว (One way ANOVA) และทดสอบความแตกต่างระหว่างคู่โดยวิธี Duncan's New Multiple Rang Test (DMRT) ที่ระดับความเชื่อมั่น 95% ($p < 0.05$)²⁷

ผลการศึกษา

ผลการทดสอบความเป็นพิษของสารสกัดสมุนไพรต่อเซลล์แมคโครฟาจ RAW 264.7

จากการศึกษาผลของสารสกัด HPL, HPF, PRL และ CAR ที่ความเข้มข้นต่าง ๆ มาทดสอบความเป็นพิษต่อเซลล์เพาะเลี้ยงแมคโครฟาจ RAW 264.7 ด้วยวิธี MTT assay พบว่า สารสกัด HPL ความเข้มข้น 400 $\mu\text{g/mL}$ (Figure 1A) สารสกัด HPF ความเข้มข้น 200 $\mu\text{g/mL}$ (Figure 1B) สารสกัด PRL ความเข้มข้น 400 $\mu\text{g/mL}$ (Figure 1C) และ CAR ความเข้มข้น 50 $\mu\text{g/mL}$ (Figure 1D) มีความเป็นพิษต่อเซลล์แมคโครฟาจ RAW 264.7

โดยอัตราความมีชีวิตของเซลล์ (cell viability) ลดลงอย่างมีนัยสำคัญ ($P < 0.001$) เมื่อเปรียบเทียบกับกลุ่มควบคุมที่ไม่ได้รับสารสกัด ดังนั้นในการทดลองต่อไปจึงเลือกใช้ความเข้มข้นของสมุนไพรที่มีผลทำให้ความมีชีวิตของเซลล์มากกว่า 80 % ดังนี้ สารสกัด HPL ความเข้มข้น 12.5, 25, 50, 100, 200 $\mu\text{g/mL}$ สารสกัด HPF ความเข้มข้น 6.25, 12.5, 25, 50, 100 $\mu\text{g/mL}$ สารสกัด PRL ความเข้มข้น 12.5, 25, 50, 100, 200 $\mu\text{g/mL}$ และ สารสกัด CAR ความเข้มข้น 1.562, 3.125, 6.25, 12.5, 25 $\mu\text{g/mL}$ ในการทดสอบกับเซลล์แมคโครฟาจ RAW 264.7

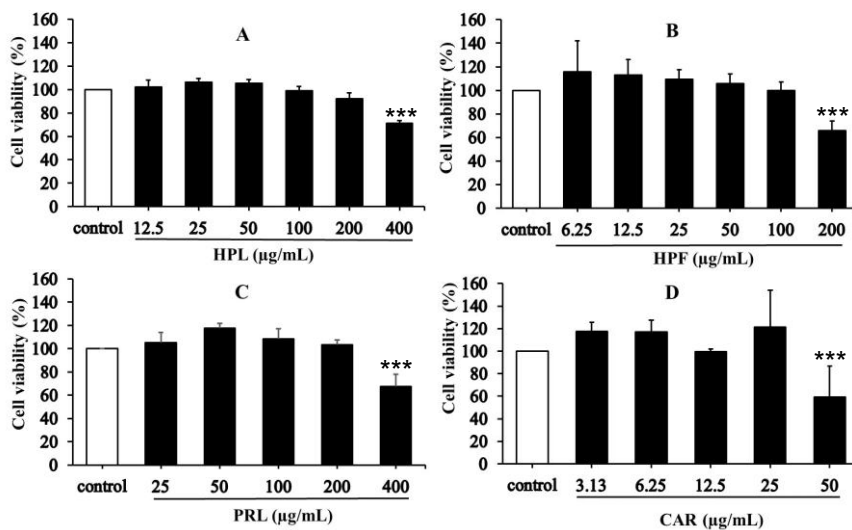


Figure 1. The effects of extracts on the viability of RAW 264.7 cells were assessed. Cells were treated with various concentrations of extracts for 24 hours, and cell viability was evaluated using an MTT assay. (A) HPL, (B) HPF, (C) PRL and (D) CAR. Viability is expressed as a percentage relative to untreated cells. Data are expressed as the means $\pm$ S.D. *** $p < 0.001$, compared with the control group, $n = 3$.

ผลการทดสอบฤทธิ์ยับยั้งการสร้าง nitric oxide

หลังจากทดสอบฤทธิ์ยับยั้งการสร้าง NO ของสารสกัด HPL, HPF, PRL และ CAR เป็นเวลา 24 ชั่วโมง เซลล์แมคโครฟาจ RAW 264.7 ถูกกระตุ้นการสร้าง NO ด้วย LPS (Figure 2) พบว่า HPL ที่ความเข้มข้น 12.5, 25, 50, 100, 200 µg/mL สามารถลดการสร้าง NO (23.98 ± 4.71 µM) ได้ดีอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($P<0.001$) เมื่อเทียบกับกลุ่มที่ทดสอบด้วย LPS (30.41 ± 0.98 µM) อย่างเดียว (Figure 2A) สารสกัด HPF ที่ความเข้มข้น 6.25, 12.5, 25, 50, 100 µg/mL สามารถลดการสร้าง NO (27.12 ± 8.09 µM) ได้ดีอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($P<0.05$ - $P<0.001$) เมื่อเทียบกับกลุ่มที่ทดสอบด้วย LPS (30.41 ± 0.98 µM) อย่างเดียว (Figure 2B) สารสกัด PRL ความเข้มข้น 12.5, 25, 50, 100, 200 µg/mL สามารถลดการสร้าง NO (10.52 ± 1.64 µM)

ได้อย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($P<0.05$ - $P<0.001$) เมื่อเทียบกับกลุ่มที่ทดสอบด้วย LPS (18.41 ± 2.37 µM) อย่างเดียว (Figure 2C) และสารสกัด CAR ที่ความเข้มข้น 12.50 µg/mL และ 25 µg/mL สามารถลดการสร้าง NO เหลือ 10.8 µM และ 8.40 µM ตามลำดับ ได้ดีอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($P<0.05$) เมื่อเทียบกับกลุ่มที่ทดสอบด้วย LPS (18.41 ± 2.37 µM) อย่างเดียว (Figure 2D) ในขณะที่สารมาตรฐาน Dexamethasone ความเข้มข้น 40 µM ลดการสร้าง NO ลงเหลือ 14.09 ± 2.12 µM จากการศึกษาพบว่าสารสกัด HPL, HPF, PRL และ CAR มีฤทธิ์ต้านการอักเสบโดยยับยั้งการสร้าง NO ได้ดี มีค่า IC_{50} เท่ากับ 52.38 ± 7.92 , 42.06 ± 3.26 , 28.11 ± 8.02 และ 20.99 ± 9.16 µg/mL ตามลำดับ (Table 1)

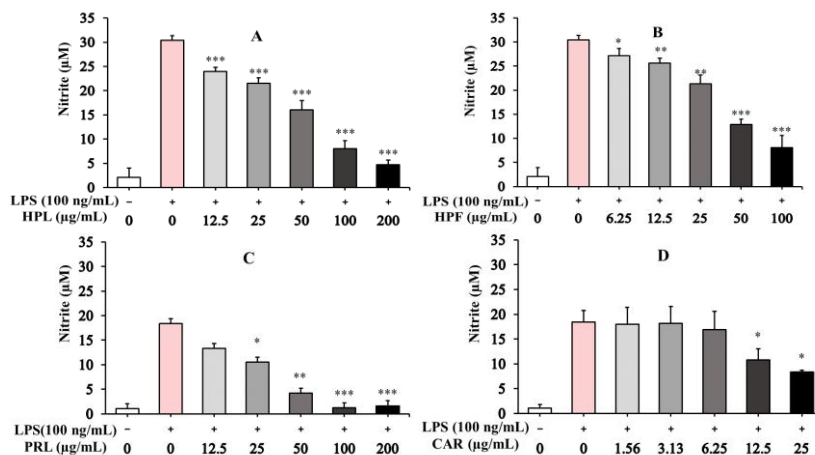


Figure 2. Effects of extracts on the nitric oxide production in LPS-induced RAW 264.7 cells. Cells were treated with various concentrations of extracts and LPS (100 ng/mL) stimulation for 24 h. The amount of nitric oxide in the medium was measured using the Griess reagent. (A) HPL, (B) HPF, (C) PRL and (D) CAR. Data are expressed as the means±S.D. * $p<0.05$, ** $p<0.01$, *** $p<0.001$, compared with the LPS group, $n=3$.

Table 1 Half-maximal inhibitory concentration (IC₅₀) for the inhibition of NO production.

Samples	IC ₅₀ (µg/mL)
<i>Harrisonia perforata</i> leaves (HPL)	52.38±7.92
<i>H. perforata</i> fruits (HPF)	42.06±3.26
<i>Putranjiva roxburghii</i> leaves (PRL)	28.11±8.02
<i>Curcuma aromatica</i> rhizome (CAR)	20.99±9.16

Data are expressed as the means±S.D.

อภิปรายผล

NO มีความสำคัญในกระบวนการอักเสบ ดังนั้นฤทธิ์ยับยั้งการหลั่ง NO ถูกใช้เป็นตัวชี้วัดที่แสดงถึงความสามารถในการลดการอักเสบของสารสกัดจากใบคนทา (HPL) ผลคนทา (HPF) ใบมะคำไก่ (PRL) และ เหง้าว่านนางคำ (CAR) จากการศึกษาพบว่า สมุนไพรทั้ง 4 ชนิด สามารถยับยั้งการหลั่ง NO ได้ดี เนื่องจากในกระบวนการอักเสบพบว่า NO จะถูกสร้างขึ้นในปริมาณสูงมากในเซลล์เพชเลียงแมคโครฟาจ RAW 264.7 ที่ถูกกระตุ้นให้เกิดการอักเสบจาก LPS NO จัดเป็น inflammatory mediator ที่ถูกสร้างมาจากเซลล์เม็ดเลือดขาว เช่น neutrophil และ macrophage โดยเอนไซม์ inducible nitric oxide synthase (iNOS) ทำให้ NO ถูกชักนำให้สร้างขึ้นเป็นจำนวนมาก มีผลทำให้เกิดภาวะหลอดเลือดขยายตัว ทำให้เซลล์เม็ดเลือดขาวสามารถเคลื่อนเข้าสู่เนื้อเยื่อและกำจัดสิ่งแปลกปลอม และยังเพิ่มความสามารถในการซึมผ่านของผนังหลอดเลือด ทำให้เกิดอาการบวม แดง ร้อน ในบริเวณที่มีการอักเสบ ดังนั้นการยับยั้งการหลั่งของ NO จึงเป็นแนวทางหลักสำคัญทางหนึ่งในการควบคุมกระบวนการอักเสบ²⁸

จากผลการศึกษาที่แสดงให้เห็นว่าใบคนทา ผลคนทา ใบมะคำไก่ และเหง้าว่านนางคำ เป็นพืชสมุนไพรไทยที่มีศักยภาพในการยับยั้งการอักเสบ โดยมีฤทธิ์ยับยั้งการสร้าง NO ในเซลล์แมคโครฟาจ RAW 264.7 มีรายงานวิจัยที่แสดงว่าสารออกฤทธิ์ในผลและรากคนทาคือ harperfolide ซึ่งเป็นสารประกอบกลุ่ม limonoid มีฤทธิ์ยับยั้งการผลิต NO ในเซลล์แมคโครฟาจ J774.A1 โดยมีค่า IC₅₀ เท่ากับ 6.51 µM¹¹ ซึ่งมีความเป็นไปได้ที่ใบคนทาจะมีสารนี้เช่นกัน จึงทำให้มีฤทธิ์ยับยั้งการผลิต NO ในการทดลองนี้ จากประสบการณ์ศึกษาชีวสังเคราะห์ของ tropane alkaloid hyoscyamine ในลูกผสม *Duboisia* วงศ์ Solanaceae โดยใส่สารตั้งต้นในชีวสังเคราะห์ของ hyoscyamine คือกรดอะมิโน ornithine ที่ติดสารกัมมันตรังสี C14 เข้าไปในลำดับพบว่าสามารถแยก hyoscyamine ที่มีกัมมันตรังสี C14 ได้จากรากและใบลูกผสม *Duboisia* ซึ่งแสดงว่า hyoscyamine ถูกสังเคราะห์ขึ้นที่ราก และถูกส่งไปที่ใบโดยขบวนการเคลื่อนย้าย (translocation) และการคายน้ำ (transpiration)²⁹ อย่างไรก็ตามจำเป็นต้องแยกสาร harperfolide จากใบคนทาเพื่อยืนยันสมมุติฐานนี้ มีรายงานว่า

ใบคนทาจากประเทศจีนก็พบสารลิโมนอยด์ 12 β -Acetyloxyperforatin¹² ซึ่งในการทดลองนี้สารสกัดจากใบคนทามีฤทธิ์ยับยั้งการสร้างสาร NO ในเซลล์แมคโครฟาจ RAW 264.7 ด้วยค่า IC₅₀ เท่ากับ 52.38 $\pm$ 7.92 μ g/mL ใกล้เคียงกับสารสกัดจากผลคนทาซึ่งมี ค่า IC₅₀ เท่ากับ 42.06 $\pm$ 3.26 μ g/mL งานวิจัยนี้จึงเป็นการสนับสนุนฤทธิ์ด้านอักเสบที่ทดสอบในเซลล์แมคโครฟาจ RAW 264.7 ซึ่งสนับสนุนการบันทึกในการแพทย์แผนไทยว่าทั้งต้นแก้ไข้ได้ทุกชนิด ใบและผลใช้แก้ปวดได้^{8,9} ผลการวิจัยนี้จึงแสดงถึงศักยภาพของผลและใบคนทาที่อาจนำไปพัฒนาเป็นยาแก้ไข้แก้ปวดที่เกิดจากการอักเสบต่อไป

ในการศึกษาพบว่าสารสกัดด้วยเอทานอลจากเหง้าว่านนางคำสามารถยับยั้ง NO ในเซลล์แมคโครฟาจ RAW 264.7 ซึ่งสอดคล้องกับรายงานวิจัยการทดสอบฤทธิ์ด้านอักเสบของสารสกัดแอลกอฮอล์ในหนูทดลองโดยการให้ทางปากขนาด 100 mg/kg ซึ่งให้ผลการต้านอักเสบเทียบเท่ายา prednisolone น้ำมันหอมระเหยจากว่านนางคำก็มีฤทธิ์ด้านอักเสบเช่นกัน²⁰ สารออกฤทธิ์เป็นสารกลุ่ม cucurminoid ที่มีอยู่ 1.5% และสารระเหยได้ที่มีอยู่ 4-8% (25) สารที่มีฤทธิ์ด้านอักเสบคือเคอร์คิวมิน germacrene, curdione, zederone ด้วยการยับยั้ง Nuclear factor kappa-light-chain-enhancer of activated B cells (NF- κ B)¹⁹ เป็นผลให้สามารถลดการหลั่งสารก่อการอักเสบ เช่น TNF- α โดยเคอร์คิวมินมีฤทธิ์แรงสุด¹⁹ สาร demethoxycurcumin มีฤทธิ์ยับยั้งการออกของเส้นเลือดใหม่³¹ นอกจากนี้สารกลุ่ม cucurminoid สามารถยับยั้งแบคทีเรียแกรม

บวกที่เป็นสาเหตุของแผล ฝี หนอง สิว รวมทั้ง *Staphylococcus aureus* ที่ดื้อต่อยา methicillin และยาในกลุ่มเบตาแลคแตม (MRSA) เนื่องจากเข้าไปขัดขวางกระบวนการผลิตเอนไซม์ β -lactamase และยังมีสาร tumerone ซึ่งยับยั้งการเจริญของแบคทีเรียแกรมบวกได้หลายชนิดเนื่องจากมีผลต่อการสังเคราะห์โปรตีนและ DNA ของแบคทีเรีย³⁰ ผลงานวิจัยนี้สนับสนุนฤทธิ์ด้านอักเสบของเหง้าว่านนางคำและการใช้ในการแพทย์พื้นบ้านและการแพทย์แผนไทย

สารสกัดใบมะค่าไค้มีงานวิจัยที่ทำการทดสอบในสัตว์ทดลองในด้านลดการอักเสบของฝ่าเท้าหนูโดยการกินและลดการบวมของหนูหนูโดยการทา^{17,32} ในประเทศไทยมีตำรับยาทาพระเส้นซึ่งมีใบมะค่าไค้เป็นส่วนประกอบหลัก³³ มีงานวิจัยพบสารสำคัญเป็นไตรเทอร์พีนอยด์ชนิด 5 วงชื่อ friedelin³⁴ ซึ่งมีฤทธิ์ต้านฮีสตามีน ที่ตัวรับ H1 นอกจากนี้ยังมีฤทธิ์ต้านจุลชีพ ด้านไวรัส HIV และต้านมะเร็งอีกด้วย³⁵ นอกจากนี้ยังมีการทดสอบใช้ friedelin ขนาด 2 และ 4 มิลลิกรัม ทาบนหนูทดลอง พบว่าสามารถลดการบวมที่เกิดจากการให้อักเสบด้วยน้ำมันสลัดได้³⁶ ผลของงานวิจัยนี้จึงเป็นหลักฐานทางวิทยาศาสตร์อีกชิ้นหนึ่งสนับสนุนการใช้ใบมะค่าไค้เป็นส่วนประกอบหลักยาทาพระเส้น อย่างไรก็ตามการศึกษานี้เป็นการศึกษาคัดกรองเบื้องต้นฤทธิ์ด้านอักเสบเท่านั้น ดังนั้นควรทำการศึกษาสารตัวอื่น ได้แก่ TNF- α , IL-6, PGE₂ ที่เกี่ยวข้องกับกระบวนการอักเสบเพื่อยืนยันฤทธิ์ด้านการอักเสบของสมุนไพรชนิดนี้ต่อไป

สรุปผลการวิจัย

การศึกษาฤทธิ์ด้านการอักเสบของใบคนทา ผลคนทา ใบมะคำไก่ และเหง้าว่านนางคำ ของสารสกัดด้วย 95% เอทานอล แสดงฤทธิ์ด้านการอักเสบในหลอดทดลองได้ดี และไม่มีความเป็นพิษต่อเซลล์ในความเข้มข้นที่ทดสอบ สารออกฤทธิ์ด้านอักเสบในคนทาเป็นสารในกลุ่ม limonoid คือ harperfolide ในเหง้าว่านนางคำคือสารกลุ่ม cucurminoid และยังมีฤทธิ์ด้านจุลชีพอีกด้วย สนับสนุนการใช้แก้ไข้ในแผนไทย ใบมะคำไ้สารออกฤทธิ์ด้านการอักเสบเป็นไตรเทอร์พีนอยด์คือ friedelin ซึ่งมีฤทธิ์ด้านจุลชีพอีกด้วย สนับสนุนการใช้แก้ไข้ในแผนไทย หากเปรียบเทียบประสิทธิภาพในการต้านอักเสบของสมุนไพรที่ทำการศึกษ โดยพิจารณาจากความเข้มข้นที่ไม่เป็นพิษต่อเซลล์และความสามารถในการยับยั้งการหลั่ง NO จะเรียงลำดับจากมากไปน้อยดังนี้ ใบมะคำไ้ ผลคนทา ใบคนทา เหง้าว่านนางคำ ผลการศึกษานี้เป็นเพียงข้อมูลเบื้องต้นทางวิทยาศาสตร์เท่านั้น เนื่องจากไนตริกออกไซด์เป็นหนึ่งในสารที่ก่อให้เกิดการอักเสบจึงควรศึกษากลไกยับยั้งการอักเสบอื่น ๆ ในระดับโมเลกุลที่เกี่ยวข้อง และการศึกษาเพื่อยืนยันฤทธิ์ด้านอักเสบในสัตว์ทดลองและการศึกษาทางคลินิก เพื่อให้ประชาชนเกิดความมั่นใจและยังเป็นการส่งเสริมการนำพืชสมุนไพรมาใช้ในงานสาธารณสุขมูลฐานเพื่อพัฒนาเป็นยาแก้ไข้ แก้ปวด และต้านอักเสบที่มีผลข้างเคียงน้อยต่อไป

กิตติกรรมประกาศ

โครงการวิจัยนี้ได้รับการสนับสนุนทุนอุดหนุนจากสถาบันวิจัยและพัฒนา มหาวิทยาลัยราชภัฏบ้านสมเด็จเจ้าพระยา

เอกสารอ้างอิง

1. วิชัย เอกพลกร, หทัยชนก พรหมเจริญ, วราภรณ์ เสถียรนพเก้า. การสำรวจสุขภาพประชาชนไทย โดยการตรวจร่างกาย ครั้งที่ 6. กรุงเทพมหานคร: 2564.
2. Aging Society VS. Aged Society in Global and Thai Context. [Internet]. 2024 [cited 2024 May 23]. Available from: https://resource.tcdc.or.th/ebook/AgingSociety_Report_official.pdf
3. ปรีชา รักษพลเมือง. ปวดเมื่อยเมื่อสูงอายุ. [อินเทอร์เน็ต]. 2553 [เข้าถึงเมื่อ 20 พ.ค 2567]. เข้าถึงได้จาก <https://si.mahidol.ac.th/th/healthdetail.asp?aid=160>
4. ไทยพับลิก้า. เมื่อไทยเข้าสู่สังคมสูงวัยอย่างสมบูรณ์ Aged Society ผู้สูงอายุไทยได้รับสวัสดิการอะไรบ้าง. [อินเทอร์เน็ต]. 2567 [เข้าถึงเมื่อ 20 พ.ค.2567]. เข้าถึงได้จาก <https://thaipublica.org/2024/02/thailand-becomes-aged-society/>
5. จิตภา สุขสุสินธุ์, นิชาพร แซ่ลี้, วรณคล เชื้อมงคล. ความรู้และพฤติกรรมการใช้ยาพาราเซตามอลของประชาชน แขวงนวมินทร์ เขตปทุม กรุงเทพมหานคร. ศรีนครินทร์เวชสาร 2564;36:451-9.
6. กองผลิตภัณฑ์สมุนไพร สำนักงานคณะกรรมการอาหารและยา. บัญชียาหลักแห่งชาติด้านสมุนไพร พ.ศ. 2566. พิมพ์ครั้งที่1.ปทุมธานี: มินนี่ กรุ๊ป; 2566.
7. หน่วยเวชระเบียน. งานเวชระเบียนและสถิติ. ข้อชงโคคลินิกการแพทย์แผนไทยมหาวิทยาลัย

- ราชภัฏบ้านสมเด็จเจ้าพระยา. กรุงเทพฯ: 2566.
8. นันทวัน บุญยะประภัศร, อรุณช ไชคชัยเจริญพร. สมุนไพรไม้พุ่มบ้าน (1). พิมพ์ครั้งที่ 1. กรุงเทพมหานคร: ประชาชน จำกัด; 2539.
- 9.ฐานข้อมูลสมุนไพร คณะเภสัชศาสตร์ ม. อุบลราชธานี [อินเทอร์เน็ต]. 2566 [เข้าถึงเมื่อ 10 ม.ค. 2566]. เข้าถึงได้จาก <https://apps.phar.ubu.ac.th/phargarden/main.php?action=viewpage&pid=312>
10. ยงศักดิ์ ตันติปฏิภน. ตำราเภสัชกรรมไทย เล่ม 1. พิมพ์ครั้งที่ 1. สมุทรสาคร: บริษัท พิมพ์ดี จำกัด; 2561.
11. Choodej S, Sommit D, Pudhom K. Rearranged limonoids and chromones from *Harrisonia perforata* and their anti-inflammatory activity. *Bioorg Med Chem Lett* 2013;23:3896-900.
12. Gui PY, Yan XH, Yuan WJ, Ma YL, Ding X, Liu S, et al. 12 β -Acetyloxyperforatin, a New Limonoid from *Harrisonia perforata*. *Nat Prod Res* 2019;33:2830-6.
13. Joy A, Ap pavoo RM, Wilsy IJ. Antibacterial activity of *Putranjiva roxburghii* Wall: A medicinal plant. *Int J Health Sci* 2022;6:3032-7.
14. Rajahamsa AKL, KS D, Rao TKVK, Kumar AVR P. Reddy GRS, MS P. Multi-model confirmatory evaluation of anti-inflammatory, analgesic and antioxidant activities of *Putranjiva roxburghii* Wall. *Int J Biomed Adv Res* 2013;12:921-32.
15. Sudha BR, Sarath P. Screening and Evaluation of Bioactivity of Methanolic Extract of Leaf of *Putranjiva roxburghii* Wall. (*Putranjivaceae*). *Int J Pharm Biol Sci* 2019;9:1148-56.
16. นันทวัน บุญยะประภัศร, อรุณช ไชคชัยเจริญ. สมุนไพรไม้พุ่มบ้าน (3). กรุงเทพมหานคร: ประชาชน จำกัด; 2539.
17. Raghavendra HL, Kekuda TRP, Valleesha NC, Sudharshan SJ, Chinmaya A. Screening for Cytotoxic activity of Methanol Extract of *Putranjiva roxburghii* Wall (*Euphorbiaceae*)Seeds. *Phcog J* 2010;10:335-7.
18. *Curcuma aromatica* Salisb. [Internet]. 2024 [cited 2024 May 23]. Available from: <https://powo.science.kew.org/taxon/urn:lsid:ipni.org:names:796426-1>.
19. Pintatum A, Maneerat W, Logie E, Tuentner E, Sakavitsi ME, Pieters L, et al. In Vitro Anti-inflammatory, Anti-Oxidant, and Cytotoxic Activities of Four *Curcuma* Species and the Isolation of Compounds from *Curcuma aromatica* Rhizome. *Biomolecules* 2020;10:799.
20. Ahmad S, Ali M, Ansari SH, Ahmed F. Phytoconstituents from the rhizomes of



- Curcuma aromatica Salisb. J Saudi Chem Soc 2011;15:287-90.
21. Dunster JL. The macrophage and its role in inflammation and tissue repair: mathematical and systems biology approaches. Wiley Interdiscip Rev Syst Biol Med 2016;8:87-99.
22. Kang SG, Lee GB, Vinayagam R, Do GS, Oh SY, Yang SJ, Kwon JB, Singh M. Anti-Inflammatory, Antioxidative, and Nitric Oxide-Scavenging Activities of a Quercetin Nanosuspension with Polyethylene Glycol in LPS-Induced RAW 264.7 Macrophages. Molecules 2022;27:7432.
23. Ogoia D. Fever, fever patterns and diseases called 'fever'--a review. J Infect Public Health 2011;4:108-24.
24. Jiang Z, Zhu L. Update on the role of alternatively activated macrophages in asthma. J Asthma Allergy 2016;9:101-7.
25. Sadeghi-Aliabadi H, Aliasgharluo M, Fattahi A, Mirian M, Ghannadian M. In vitro cytotoxic evaluation of some synthesized COX-2 inhibitor derivatives against a panel of human cancer cell lines. Res Pharm Sci 2013;8:298.
26. Joo T, Sowndhararajan K, Hong S, Lee J, Park SY, Kim S, et al. Inhibition of nitric oxide production in LPS-stimulated RAW 264.7 cells by stem bark of *Ulmus pumila* L. Saudi J Biol Sci 2014;21:427-35.
27. Duncan DB. Multiple range and multiple F test. Biometrics, 1955;11:1-42.
28. Watkins LR, Maier SF, Goehler LE. Immune activation: the role of pro-inflammatory cytokines in inflammation, illness responses and pathological pain states. Pain 1995;63:289-302.
29. Luanratana O, Griffin WJ. Alkaloid Biosynthesis in Duboisia Hybrid, Lloydia. 1982;45:551-6.
30. พรพรรณ สิริมนต์, รัตติยา แวนนุกูล. องค์ประกอบทางเคมี และฤทธิ์ต้านเชื้อแบคทีเรียของสารสกัดเหง้าว่านนางคำ. วารสารวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยี 2021;6:118-25.
31. Ahmed S, Ansari SH, Ali M, Bhatt D, Ansari F. Phytochemical and Biological Investigations on Curcuma aromatica: A review. Phcog Rev 2008;2:151-6.
32. Reanmongkol W, Noppapan T, Subhadhirasakul S. Antinociceptive, antipyretic, and anti-inflammatory activities of Putranjiva roxburghii Wall. leaf extract in experimental animals. J Nat Med 2009;63:290-6.
33. กรมการแพทย์แผนไทยและการแพทย์ทางเลือก. ข้อมูลรายการอ้างอิงผลิตภัณฑ์



- สมุนไพร ประเภท ตำรับยาแผนไทย ฉบับ พ.ศ.
2566 สำหรับผลิตภัณฑ์สมุนไพรที่ขอจดแจ้ง.
2566; 368.
34. Abhimanyu KK, Ravindra CS, Avanapu
RS. A validated HPTLC method for the
quantification of friedelin in *Putranjiva*
roxburghii Wall extracts and in polyherbal
formulations. *Bull Fac Pharm Cairo Univ*
2017;55:79-84.
35. Merck. Friedelin. [Internet]. 2024 [cited
2024 May 23]. Available from:
[https://www.sigmaaldrich.com/TH/en/prod
uct/aldrich/855022](https://www.sigmaaldrich.com/TH/en/product/aldrich/855022)
36. Toledo CR, Pereira VV, Duarte LP, Sousa
GF, Silva-Cunha A. Anti-angiogenic
activity and safety of intraocular application
of triterpenes. *Doc Ophthalmol*
2021;143:259-70.

อัลกอริทึมของ Dijkstra สำหรับปัญหาเส้นทางสั้นที่สุดภายใต้สภาพแวดล้อมฟัซซี่แบบ สัญชาตญาณ

Dijkstra's Algorithm for the Shortest Path Problem under Intuitionistic Fuzzy Environment

ดรุณี หันวิสัย*

Darunee Hunwisai*

สาขาวิชาคณิตศาสตร์ประยุกต์ คณะวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยี มหาวิทยาลัยราชภัฏวไลยอลงกรณ์ ในพระบรมราชูปถัมภ์

Department of Applied Mathematics, Faculty of Science and Technology, Valaya Alongkorn Rajabhat University under the Royal Patronage

*Corresponding author; E-mail: darunee.hun@vru.ac.th

Received: 05 June 2024 /Revised: 01 October 2024 /Accepted: 01 October 2024

บทคัดย่อ

งานวิจัยนี้มุ่งเน้นการพัฒนาระบบการแก้ปัญหาหาเส้นทางที่สั้นที่สุดเมื่อข้อมูลเป็นแบบฟัซซี่ ซึ่งมีความไม่แน่นอนหรือคลุมเครือ ผู้วิจัยได้เสนอแนวทางการแก้ปัญหาเส้นทางที่สั้นที่สุดภายใต้ตัวเลขฟัซซี่สามเหลี่ยม (Triangular intuitionistic fuzzy number) โดยใช้วิธีเซนทรอยด์ของตัวเลขฟัซซี่ (Centroid of fuzzy number) ในการแปลงตัวเลขฟัซซี่ให้เป็นค่าที่สามารถนำไปประมวลผลได้ จากนั้นจึงประยุกต์ใช้อัลกอริทึม Dijkstra ในการค้นหาระยะทางที่สั้นที่สุด ผลการศึกษาแสดงให้เห็นว่าวิธีการที่พัฒนาขึ้นนี้สามารถแก้ปัญหาในสถานการณ์ที่มีความคลุมเครือได้อย่างมีประสิทธิภาพ สามารถหาคำตอบที่ถูกต้องและเหมาะสมได้

คำสำคัญ: อัลกอริทึมของไดคอสตรา ปัญหาหาเส้นทางที่สั้นที่สุด ตัวเลขฟัซซี่ เซนทรอยด์

Abstract

This research aims to develop a process for solving the shortest path problem when the data is fuzzy, uncertain, or ambiguous. The researcher proposed a shortest path solution approach under triangular intuitionistic fuzzy numbers by using the centroid of fuzzy numbers method to convert the fuzzy numbers into processable values. Subsequently, Dijkstra's algorithm was applied to find the shortest path. The results of the study showed that the developed method can effectively solve the problem in an ambiguous environment and can find the correct and appropriate answer.

Keywords: Dijkstra's algorithm, Shortest path problems, Fuzzy numbers, Centroid

บทนำ

ปัญหาเส้นทางที่สั้นที่สุด (Shortest path problem) เป็นหนึ่งในปัญหาพื้นฐานและสำคัญในทฤษฎีกราฟ และได้มีการนำไปประยุกต์ใช้ในหลากหลายด้าน เช่น การวางแผนการเดินทาง การจัดการเครือข่ายคอมพิวเตอร์ หรือ การออกแบบระบบโลจิสติกส์ เป็นต้น การหาวิธีการที่มีประสิทธิภาพในการแก้ปัญหาดังกล่าวจึงมีความสำคัญอย่างยิ่ง หนึ่งในวิธีการที่ได้รับการยอมรับอย่างกว้างขวางในการแก้ปัญหาเส้นทางที่สั้นที่สุดคืออัลกอริทึมของ Dijkstra ซึ่งถูกพัฒนาขึ้นโดย Dijkstra EW¹ ในปี ค.ศ. 1956 และตีพิมพ์ในปี ค.ศ. 1959 อัลกอริทึมนี้ใช้ในการค้นหาเส้นทางที่สั้นที่สุดจากโหนดต้นทางไปยังโหนดปลายทางภายใต้ข้อกำหนดค่าน้ำหนักของทุกโหนดจะต้องเป็นบวกและข้อมูลต้องมีตัวเลขที่ชัดเจน เพื่อการหาผลลัพธ์ที่มีความถูกต้อง ในปัจจุบันพบว่าการแก้ปัญหาระยะทางที่สั้นที่สุดได้ถูกนำไปใช้ในหลายสถานการณ์ เช่น การคำนวณค่าใช้จ่ายในการเดินทางให้น้อยที่สุด หรือการคำนวณเส้นทางเดินทางที่รวดเร็วและสั้นที่สุด ซึ่งข้อมูลที่จะนำมาใช้กับอัลกอริทึมของ Dijkstra จะต้องเป็นข้อมูลที่มีความแน่นอน จึงจะส่งผลให้การตัดสินใจเป็นไปได้ อย่างมีประสิทธิภาพ อย่างไรก็ตามหากข้อมูลที่ได้มาไม่มีความแน่นอน เช่น ความไม่แน่นอนของค่าใช้จ่ายในการเดินทาง ความไม่แน่นอนของระยะเวลาที่ใช้ในการขนส่ง อาจทำให้อัลกอริทึมแบบเดิมไม่สามารถนำมาใช้ในการแก้ปัญหาได้จึงจำเป็นต้องมีการตั้งแก้ปัญหาความไม่แน่นอนหรือมีความคลุมเครือนี้ก่อน ด้วยเหตุนี้การหาเส้นทางที่

สั้นที่สุดภายใต้ความไม่แน่นอนหรือความคลุมเครือจึงกลายเป็นเรื่องที่ได้ได้รับความสนใจจากนักวิจัยเป็นอย่างมาก นักวิจัยได้ศึกษาวิธีการแก้ปัญหาในสถานการณ์ที่กล่าวมาข้างต้นนี้ โดยใช้แนวคิดการตัดสินใจในสภาพแวดล้อมที่คลุมเครือหรือที่เรียกว่าฟัซซี่ ซึ่งเป็นแนวคิดของ Bellman RE และ Zadeh LA² ความสนใจในการแก้ปัญหาระยะทางที่สั้นที่สุดกับข้อมูลที่เป็นแบบฟัซซี่นี้ ได้ถูกพัฒนามาอย่างต่อเนื่องโดย Dubois D และ Prade H³ เป็นคนแรกที่ศึกษาอัลกอริทึมสำหรับปัญหาเส้นทางที่สั้นที่สุดแบบฟัซซี่ โดยดัดแปลงอัลกอริทึมแบบคลาสสิกของ Ford Moore Bellman นอกจากนี้ Nayeem SMA และ Pal M⁴ ได้นำเสนออัลกอริทึมเพื่อแก้ปัญหาเส้นทางที่สั้นที่สุด โดยใช้ตัวเลขฟัซซี่สามเหลี่ยมและตัวเลขค่าแบบช่วงในการคำนวณ Hernandez F และคณะ⁵ ได้พัฒนาวิธีการในการแก้ปัญหาเส้นทางที่สั้นที่สุดแบบฟัซซี่ เมื่อข้อมูลเป็นตัวเลขฟัซซี่สามเหลี่ยม Takahashi MT และ Yamakami A⁶ ได้นำเสนอวิธีการแก้ปัญหาเส้นทางที่สั้นที่สุดโดยใช้ความยาวเส้นทางที่เป็นฟัซซี่ และได้ทำการขยายวิธีการของ Okada S⁷ Lin L, Wu C และ Ma L⁸ ศึกษาวิธีการแก้ปัญหาเส้นทางที่สั้นที่สุดในเครือข่ายฟัซซี่โดยใช้อัลกอริทึมทางพันธุกรรมในการค้นหาเส้นทางที่เหมาะสม และ Deng Y และคณะ⁹ ได้นำเสนอวิธีการแก้ปัญหาระยะทางที่สั้นที่สุดแบบฟัซซี่ โดยการรวมค่าเฉลี่ยของตัวเลขฟัซซี่ และประยุกต์ใช้อัลกอริทึมของ Dijkstra กับข้อมูลที่เป็นตัวเลขฟัซซี่ในรูปแบบสี่เหลี่ยมคางหมู

ในบทความวิจัยนี้ ผู้วิจัยได้ศึกษาวิธีแก้ปัญหาระยะทางที่สั้นที่สุด โดยกำหนดให้ข้อมูลค่าใช้จ่าย

ในการเดินทาง แสดงด้วยตัวเลขพีชชีสหัญญานสามเหลี่ยม จากนั้นทำการวิเคราะห์ค่าใช้จ่ายที่น้อยที่สุด โดยใช้เซทรอยด์ของตัวเลขพีชชีในการแปลงตัวเลขพีชชีให้เป็นค่าที่สามารถนำไปประมวลผลได้ หลังจากนั้นจึงใช้อัลกอริทึม Dijkstra เพื่อหาค่าใช้จ่ายในการเดินทางที่น้อยที่สุด

วัตถุประสงค์ของการวิจัย

เพื่อหาวิธีการแก้ปัญหาระยะทางที่สั้นที่สุดแบบตัวเลขพีชชีสหัญญานสามเหลี่ยม

วิธีดำเนินการวิจัย

- ผู้วิจัยได้ดำเนินการวิจัยตามขั้นตอนต่อไปนี้
- 1) ศึกษาเอกสาร ทฤษฎีและงานวิจัยที่เกี่ยวข้องกับการแก้ปัญหาระยะทางที่สั้นที่สุดแบบพีชชี
 - 2) ศึกษาอัลกอริทึมของ Dijkstra เพื่อใช้ในการหาค่าระยะทางที่สั้นที่สุด
 - 3) ศึกษาวิธีการหาค่าที่เป็นตัวแทนของตัวเลขพีชชีสหัญญานสามเหลี่ยม โดยใช้เซทรอยด์ของตัวเลขพีชชี
 - 4) นำเสนอขั้นตอนการดำเนินงานและแสดงวิธีการหาลดลัพท์สำหรับปัญหาเส้นทางที่สั้นที่สุดแบบพีชชี

ทฤษฎีที่เกี่ยวข้อง

1. ทฤษฎีกราฟ (Graph Theory)

ทฤษฎีกราฟ เป็นคณิตศาสตร์แขนงหนึ่งที่ทำการศึกษาเกี่ยวกับกราฟซึ่งเป็นโครงสร้างที่ประกอบด้วยกลุ่มของจุดยอด (vertex) และเส้นเชื่อม (edge) ระหว่างจุดยอดเหล่านั้น ทฤษฎีนี้ถูกนำไปประยุกต์ใช้ในหลายสาขา เช่น วิทยาการคอมพิวเตอร์ เครือข่ายคอมพิวเตอร์ การจราจร การวางแผนการเดินทาง เป็นต้น

นิยาม 1 กราฟ $G = (V, E)$ ประกอบด้วย

เซต $V=V(G)$ ซึ่งเป็นเซตจำกัดที่ไม่เป็นเซตว่างของจุดยอด และเซต $E = E(G)$ เป็นเซตจำกัดของเส้นเชื่อม ที่แต่ละเส้นเชื่อมมีจุดยอดหนึ่งจุดหรือสองจุดที่เกี่ยวข้องกัน¹⁰

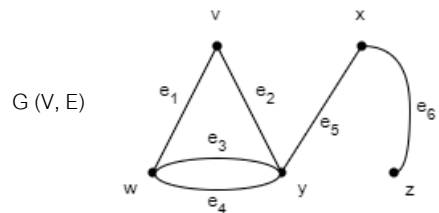


Figure 1. A graph

จาก Figure 1 จะได้ว่ากราฟ $G = (V, E)$ ประกอบด้วยเซตของจุดยอดและเส้นเชื่อมดังนี้

$$V(G) = \{v, w, x, y, z\}$$

$$E(G) = \{e_1, e_2, e_3, e_4, e_5, e_6\}$$

กราฟ G จะสามารถเขียนลำดับของเส้นเชื่อมในกราฟ ที่มีจุดยอดแตกต่างกัน ซึ่งเรียกว่าเป็นเส้นทางหรือวิถี (path) รูปแบบหนึ่งของเส้นทางหรือวิถี $w - x$ คือ $w - e_3 - y - e_5 - x$

นิยาม 2 ค่าน้ำหนัก (weight) ของเส้นเชื่อม e ในกราฟ คือ จำนวนที่ไม่เป็นลบที่กำหนดไว้บนเส้นเชื่อม e

กราฟถ่วงน้ำหนัก (weighted graph) คือ กราฟที่เส้นเชื่อมทุกเส้นมีค่าน้ำหนัก¹⁰

นิยาม 3 วิถีที่สั้นที่สุด จากจุด A ถึงจุดยอด Z ในกราฟถ่วงน้ำหนัก คือวิถี $A - Z$ ที่ผลรวมของค่าน้ำหนักทุกเส้นเชื่อมในวิถี $A-Z$ ได้ค่าน้อยที่สุด¹⁰

2. ฟัซซีเซต (Fuzzy set)

ฟัซซีเซตเป็นเซตที่มีขอบเขตคลุมเครือและมีความไม่แน่นอน ถูกคิดค้นขึ้นในปีค.ศ. 1965 โดย Zadeh LA¹¹ โดยฟัซซีเซตยอมให้มีการกำหนดค่าระดับความเป็นสมาชิก (Degree of membership) อยู่ในช่วง $[0,1]$ การกำหนดค่าระดับความเป็นสมาชิกนี้ต้องอาศัยฟังก์ชันความเป็นสมาชิก (Membership function) ของฟัซซีเซต โดยมีนิยามดังต่อไปนี้

นิยาม 4 กำหนดให้ X เป็นเซต และ $X \neq \phi$ ฟัซซีเซต $\tilde{Y}$ ใน X คือคู่อันดับ $(x, \mu_{\tilde{Y}})$ และ $\mu_{\tilde{Y}} : X \rightarrow [0,1]$ เรียก $\mu_{\tilde{Y}}(x)$ ว่าระดับความเป็นสมาชิกของ x ในฟัซซีเซต $\tilde{Y}$ ดังนั้นค่า $[0,1]$ คือระดับความเป็นสมาชิกของ x ในฟัซซีเซต $\tilde{Y}$ ¹¹

นิยาม 5 ฟัซซีเซต $\tilde{Y}$ จะเรียกว่าเป็นตัวเลขวฟัซซี ถ้ามีสมบัติสอดคล้องดังต่อไปนี้

- 1) เป็นสับเซตของจำนวนจริง
- 2) เป็นเซตปกติ (Normal set) ที่มีจำนวนจริง x ซึ่งทำให้ $\mu_{\tilde{Y}}(x) = 1$
- 3) เป็นเซตนูน (Convex set) กล่าวคือสำหรับทุกจำนวนจริง x และ y และ $\gamma \in [0,1]$

$$\mu_{\tilde{Y}}(\gamma x + (1-\gamma)y) \geq \min(\mu_{\tilde{Y}}(x), \mu_{\tilde{Y}}(y))$$
- 4) $\mu_{\tilde{Y}} : R \rightarrow [0,1]$ เป็นฟังก์ชันต่อเนื่อง โดยที่

$$\mu_{\tilde{Y}}(x) = \begin{cases} l'(x); & x \in (-\infty, c) \\ 1; & x = c \\ r'(x); & (c, \infty) \end{cases}$$

เมื่อ l' เป็นฟังก์ชันต่อเนื่องและเพิ่มขึ้นอย่างสม่ำเสมอบนช่วง $(-\infty, c)$ และ r' เป็นฟังก์ชันต่อเนื่องและลดลงอย่างสม่ำเสมอบนช่วง (c, ∞) ¹²

นิยาม 6 กำหนดให้ X เป็นเซต และ $X \neq \phi$ เซตฟัซซีสหัชฐาน (Intuitionistic fuzzy set) Y ในเซต X

เขียนแทนด้วย $\tilde{Y}^* = \{ \langle x, \mu_{\tilde{Y}^*}(x), \nu_{\tilde{Y}^*}(x) \rangle \mid x \in X \}$ โดยที่ $\mu_{\tilde{Y}^*} : X \rightarrow [0,1]$ และ $\nu_{\tilde{Y}^*} : X \rightarrow [0,1]$ เรียก $\mu_{\tilde{Y}^*}(x)$ และ $\nu_{\tilde{Y}^*}(x)$ ว่าระดับความเป็นสมาชิก (Membership degree) และระดับความไม่เป็นสมาชิก (Non-membership degree) ของ x ที่ $\tilde{Y}^* \subseteq X$ ตามลำดับ และสำหรับทุกจำนวน $x \in X$ จะได้ว่า $0 \leq \mu_{\tilde{Y}^*}(x) + \nu_{\tilde{Y}^*}(x) \leq 1$ ¹³

นิยาม 7 ตัวเลขวฟัซซี $\tilde{Y}^* = \langle (y_l, y_{c^*}, y_r); (y'_l, y_{c^*}, y'_r) \rangle$ จะเรียกว่าเป็นตัวเลขวฟัซซีสหัชฐานสามเหลี่ยม ถ้ามีฟังก์ชันความน่าจะเป็นดังนี้

$$\mu_{\tilde{Y}^*}(x) = \begin{cases} \frac{x - y_l}{y_{c^*} - y_l}; & y_l \leq x \leq y_{c^*} \\ 1; & x = y_{c^*} \\ \frac{y_r - x}{y_r - y_{c^*}}; & y_{c^*} \leq x \leq y_r \\ 0; & x > y_r \text{ และ } x < y_l \end{cases}$$

และ

$$\nu_{\tilde{Y}^*}(x) = \begin{cases} \frac{y_{c^*} - x}{y_{c^*} - y'_l}; & y'_l \leq x \leq y_{c^*} \\ 0; & x = y_{c^*} \\ \frac{x - y_{c^*}}{y'_r - y_{c^*}}; & y_{c^*} \leq x \leq y'_r \\ 1; & x > y'_r \text{ และ } x < y'_l \end{cases}$$

เมื่อ $y'_l \leq y_l \leq y_{c^*} \leq y_r \leq y'_r$ ¹⁴

จากนิยาม 7 ตัวเลขวฟัซซีสหัชฐานสามเหลี่ยม $\tilde{Y}^* = \langle (y_l, y_{c^*}, y_r); (y'_l, y_{c^*}, y'_r) \rangle$ ถ้า $y_l = y'_l$ และ $y_r = y'_r$ แล้วจะได้ว่า $\tilde{Y}^* = (y_l, y_{c^*}, y_r)$ เรียกว่าเป็นตัวเลขวฟัซซีสามเหลี่ยม (Triangular fuzzy number)

นิยาม 8 ตัวเลขวฟัซซี $\tilde{Y}^* = \langle (y_l, y_{c^*}, y_r); (y'_l, y_{c^*}, y'_r) \rangle$ และ $\tilde{Z}^* = \langle (z_l, z_{c^*}, z_r); (z'_l, z_{c^*}, z'_r) \rangle$ เป็นตัวเลขวฟัซซีสหัชฐานสามเหลี่ยมและ $\xi \neq 0$ การดำเนินการระหว่างตัวเลขวฟัซซีและการคูณเชิงสเกลาร์บนตัวเลขวฟัซซี เป็นดังนี้¹⁴

1. $\tilde{Y}^* \oplus \tilde{Z}^* = \langle (y_l + z_l, y_{c^*} + z_{c^*}, y_r + z_r); (y'_l + z'_l, y'_{c^*} + z'_{c^*}, y'_r + z'_r) \rangle$
2. $\tilde{Y}^* \ominus \tilde{Z}^* = \langle (y_l - z_l, y_{c^*} - z_{c^*}, y_r - z_r); (y'_l - z'_l, y'_{c^*} - z'_{c^*}, y'_r - z'_r) \rangle$
3. $\xi \tilde{Y}^* = \begin{cases} \langle (\xi y_l, \xi y_{c^*}, \xi y_r); (\xi y'_l, \xi y'_{c^*}, \xi y'_r) \rangle, & \xi > 0 \\ \langle (\xi y_r, \xi y_{c^*}, \xi y_l); (\xi y'_r, \xi y'_{c^*}, \xi y'_l) \rangle, & \xi < 0 \end{cases}$

นิยาม 9 กำหนดให้ (β, γ) - เซตตัด (Cut set) ของตัวเลขฟัซซี่สหัชญาณสามเหลี่ยม $\tilde{Y}^* = \langle (y_l, y_{c^*}, y_r); (y'_l, y'_{c^*}, y'_r) \rangle$ เป็นเซตย่อยชัดแจ้ง (Crisp subset) บนจำนวนจริง ซึ่งนิยามโดย $\tilde{Y}^*_\beta = \{x \in X \mid \mu_{\tilde{Y}^*}(x) \geq \beta, v_{\tilde{Y}^*}(x) \leq \gamma\}$ และ $\beta, \gamma \in [0, 1]$ ¹⁴

3. เซนทรอยด์ของตัวเลขฟัซซี่

ในหัวข้อนี้จะนำเสนอเซนทรอยด์ของตัวเลขฟัซซี่ คิดค้นโดย Wang YM, Yang J, Xu DL และ Chin KS¹⁵

นิยาม 10 ให้ $\tilde{Y}^*$ เป็นตัวเลขฟัซซี่สหัชญาณเซนทรอยด์ของ $\tilde{Y}^*$ คือ $\frac{D}{N}$ โดยที่

$$D = \int_{y'_l}^{y_l} \frac{-f(x)+1}{2} dx + \int_{y_l}^{y_{c^*}} \frac{g(x)-f(x)+1}{2} dx + \int_{y_{c^*}}^{y_r} \frac{h(x)-k(x)+1}{2} dx + \int_{y'_r}^{y'_l} \frac{-k(x)+1}{2} dx$$

และ

$$N = \int_{y'_l}^{y_l} \frac{-f(x)+1}{2} dx + \int_{y_l}^{y_{c^*}} \frac{g(x)-f(x)+1}{2} dx + \int_{y_{c^*}}^{y_r} \frac{h(x)-k(x)+1}{2} dx + \int_{y'_r}^{y'_l} \frac{-k(x)+1}{2} dx$$

กำหนดให้ $f: R \rightarrow [0, 1]$, $g: R \rightarrow [0, 1]$,

$h: R \rightarrow [0, 1]$ และ $k: R \rightarrow [0, 1]$ โดยที่ f

และ g เป็นฟังก์ชันเพิ่มขึ้นอย่างสม่ำเสมอ และ h

และ k เป็นฟังก์ชันลดอย่างสม่ำเสมอ¹⁵

จากนิยาม 7 โดยการแทนค่าตัวเลขฟัซซี่

สหัชญาณสามเหลี่ยม $\tilde{Y}^* = \langle (y_l, y_{c^*}, y_r); (y'_l, y'_{c^*}, y'_r) \rangle$ ในนิยาม 10 จะได้เซนทรอยด์ของตัวเลขฟัซซี่ จัดรูปใหม่ได้ ดังนี้

$$\frac{1}{3} \left[\frac{(y'_l - y'_l) y_{c^*} - 2y'_l - 2y'_l + (y_r - y_l)(y_l + y_{c^*} + y_r) + 3(y_r^2 - y_l^2)}{y'_r - y'_l + y_r - y_l} \right] \quad (2)$$

ข้อสังเกต ตัวเลขฟัซซี่สหัชญาณสามเหลี่ยม

$\tilde{Y}^* = \langle (y_l, y_{c^*}, y_r); (y'_l, y'_{c^*}, y'_r) \rangle$ ถ้า $y_l = y'_l$

และ $y_r = y'_r$ แล้วจะได้ว่า $\tilde{Y}^* = (y_l, y_{c^*}, y_r)$

ดังนั้นเซนทรอยด์ของตัวเลขฟัซซี่สามเหลี่ยม $\tilde{Y}^*$ จะได้เป็น $\frac{y_l + y_{c^*} + y_r}{3}$

ในงานวิจัยนี้จะใช้สัญลักษณ์ $D(\tilde{Y}^*_{i,j})$

แทนดัชนีค่าเดินทางฟัซซี่จากโหนดต้นทางที่ i ไปยังโหนดปลายทางที่ j

4. อัลกอริทึมของ Dijkstra สำหรับการแก้ปัญหาเส้นทางที่สั้นที่สุดแบบฟัซซี่

วิธีการแก้ปัญหาเส้นทางที่สั้นที่สุดแบบฟัซซี่

(Fuzzy shortest path problem) มีขั้นตอนดังนี้

ขั้นตอนที่ 1 : พิจารณากราฟหรือเส้นทางที่

กำหนดแสดงด้วยตัวเลขฟัซซี่ จากนั้นนำตัวเลขที่ได้จากวิธีเซนทรอยด์ของตัวเลขฟัซซี่ มาแทนที่ค่าน้ำหนักในแต่ละเส้นทางให้ครบทุกเส้นทาง

ขั้นตอนที่ 2 : เริ่มต้นกำหนดโหนดต้นทาง

(Source node) และกำหนดโหนดปลายทาง

(Destination node) ที่ต้องการหาน้ำหนักที่น้อยที่สุดหรือระยะทางที่สั้นที่สุด (ในที่นี้แทนด้วยค่าใช้จ่ายที่น้อยที่สุด)

ขั้นตอนที่ 3 : กำหนดค่าระยะทางให้กับทุกโหนด สำหรับโหนดต้นทางตั้งค่าเป็นศูนย์ และโหนดอื่นตั้งค่าเป็นอนันต์

ขั้นตอนที่ 4 : ตั้งค่าโหนดเริ่มต้นเป็นปัจจุบันและทำเครื่องหมายโหนดทั้งหมดว่าไม่ได้สำรวจ (Unexplored)

ขั้นตอนที่ 5 : โหนดที่เลือกมาแล้วถือว่าเป็นโหนดที่ได้รับการสำรวจแล้ว (Explored) จากนั้นพิจารณาโหนดที่อยู่ติดกับโหนดที่เลือกทุกโหนด โดยเลือกโหนดที่มีน้ำหนักหรือระยะทางที่สั้นที่สุดให้เป็นโหนดที่ได้รับการสำรวจแล้ว และคำนวณค่าน้ำหนักรวมของเส้นทางที่มีสถานะสำรวจแล้ว โดยโหนดที่เลือกจะมีค่าระยะทางรวมน้อยกว่าโหนดที่ไม่ได้รับการเลือก

ขั้นตอนที่ 6 : ดำเนินการสำรวจโหนดที่เหลือต่อไปเรื่อย ๆ จนทุกโหนดได้รับการสำรวจเสร็จสิ้น ทำเครื่องหมายว่ามีสถานะสำรวจแล้ว โดยที่โหนดที่เคยสำรวจแล้วจะไม่ถูกตรวจสอบอีก

ขั้นตอนที่ 7 : คำนวณค่าน้ำหนักจากตัวเลขที่ได้อ่านทุกเส้นทาง

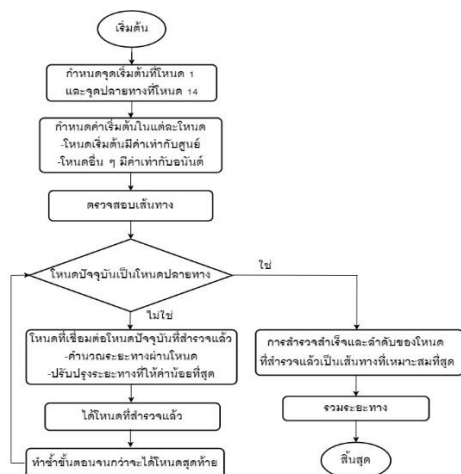


Figure 2. A Flowchart of Dijkstra's algorithm

ผลการวิจัย

หัวข้อนี้จะนำเสนอวิธีการแก้ปัญหาระยะทางที่สั้นที่สุดแบบฟัซซี่ ในงานวิจัยนี้ได้กำหนดน้ำหนักในแต่ละเส้นทางเป็นตัวเลขค่าใช้จ่ายในการเดินทางไปยังสถานที่ต่าง ๆ ให้เป็นแบบฟัซซี่สหัชญาณสามเหลี่ยม โดยในสถานการณ์จริงข้อมูลที่น่ามาคำนวณจะได้มาจากการเก็บข้อมูลค่าใช้จ่ายในการเดินทางซึ่งเป็นการนำข้อมูลย้อนหลังมาพิจารณาว่าตัวเลขที่เกิดขึ้นอยู่ในช่วงใด แล้วจึงนำข้อมูลที่ได้อามาวิเคราะห์ในตัวอย่างนี้กำหนดปัญหาให้อยู่ภายใต้สมมติฐานที่ว่า ค่าใช้จ่ายในการเดินทางเป็นแบบฟัซซี่สหัชญาณสามเหลี่ยม

ตัวอย่าง 1 กำหนดเส้นทางการเดินทางแสดงใน Figure 3 และกำหนดค่าใช้จ่ายในการเดินทางจากจุดเริ่มต้นโหนด 1 ไปยังจุดหมายปลายทางโหนด 14 แสดงเป็นตัวเลขฟัซซี่สหัชญาณสามเหลี่ยม ดัง Table 1

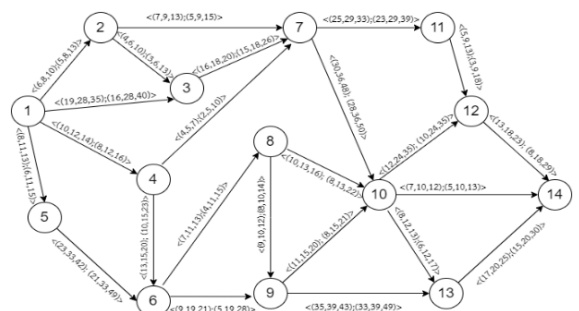


Figure 3. A graph shows the fuzzy travel cost between node 1 to node 14

Table 1. Triangular intuitionistic fuzzy number edge weight

Edges	Triangular intuitionistic fuzzy number	Edges	Triangular intuitionistic fuzzy number	Edges	Triangular intuitionistic fuzzy number
(1,2)	$\langle(6,8,10);(5,8,13)\rangle$	(4,7)	$\langle(4,5,7);(2,5,10)\rangle$	(9,10)	$\langle(11,15,20);(8,15,21)\rangle$
(1,3)	$\langle(19,28,35);(16,28,40)\rangle$	(5,6)	$\langle(23,33,42);(21,33,49)\rangle$	(9,13)	$\langle(35,39,43);(33,39,49)\rangle$
(1,4)	$\langle(10,12,14);(8,12,16)\rangle$	(6,8)	$\langle(7,11,13);(4,11,15)\rangle$	(10,12)	$\langle(12,24,35);(10,24,35)\rangle$
(1,5)	$\langle(8,11,13);(6,11,15)\rangle$	(6,9)	$\langle(9,19,21);(5,19,28)\rangle$	(10,13)	$\langle(8,12,13);(6,12,17)\rangle$
(2,3)	$\langle(4,6,10);(3,6,13)\rangle$	(7,10)	$\langle(30,36,48);(28,36,50)\rangle$	(10,14)	$\langle(7,10,12);(5,10,13)\rangle$
(2,7)	$\langle(7,9,13);(5,9,15)\rangle$	(7,11)	$\langle(25,29,33);(23,29,39)\rangle$	(11,12)	$\langle(5,9,13);(3,9,18)\rangle$
(3,7)	$\langle(16,18,20);(15,18,26)\rangle$	(8,9)	$\langle(9,10,12);(8,10,14)\rangle$	(12,14)	$\langle(13,18,23);(8,18,29)\rangle$
(4,6)	$\langle(13,15,20);(10,15,23)\rangle$	(8,10)	$\langle(10,13,16);(8,13,22)\rangle$	(13,14)	$\langle(17,20,25);(15,20,30)\rangle$

จาก Table 1 จะเห็นว่าค่าเดินทางแสดงเป็นตัวเลขฟัซซี่สามเหลี่ยม ดังนั้นใช้วิธีเซนทรอยด์ของตัวเลขฟัซซี่ในสมการ (2) เพื่อหาค่าที่เป็นตัวแทนของค่าเดินทาง ได้ดังนี้

เส้นขอบ (1,2) แสดงค่าเดินทางจากโหนด 1 ไปยังโหนด 2 คือ $\langle(6,8,10);(5,8,13)\rangle$ ดังนั้นค่าเดินทางจากโหนด 1 ไปยังโหนด 2 แทนด้วย $D(\tilde{y}_{1,2}^*)$ โดยใช้เซนทรอยด์จะได้ว่า

$$D(\tilde{y}_{1,2}^*) = \frac{1}{3} \left[\frac{(13-5)(8-2(13)-2(5)) + (10-6)(6+8+10) + 3(13^2-5^2)}{13-5+10-6} \right] = 8.44$$

ดังนั้นค่าเดินทางใหม่ โดยใช้เซนทรอยด์จากโหนด 1 ไปยังโหนด 2 เท่ากับ 8.44 ในทำนองเดียวกัน เส้นขอบอื่นๆ จะได้ค่าเดินทางใหม่ดังนี้

$$\begin{aligned} D(\tilde{y}_{1,3}^*) &= 27.73, & D(\tilde{y}_{1,4}^*) &= 12, \\ D(\tilde{y}_{1,5}^*) &= 10.67, & D(\tilde{y}_{2,3}^*) &= 7.08, \\ D(\tilde{y}_{2,7}^*) &= 9.67, & D(\tilde{y}_{3,7}^*) &= 19.22, \\ D(\tilde{y}_{4,6}^*) &= 16, & D(\tilde{y}_{4,7}^*) &= 5.58, \\ D(\tilde{y}_{5,6}^*) &= 33.66, & D(\tilde{y}_{6,8}^*) &= 10.12, \\ D(\tilde{y}_{6,9}^*) &= 16.99, & D(\tilde{y}_{7,10}^*) &= 38, \end{aligned}$$

$$\begin{aligned} D(\tilde{y}_{7,11}^*) &= 29.89, & D(\tilde{y}_{8,9}^*) &= 10.56, \\ D(\tilde{y}_{8,10}^*) &= 13.93, & D(\tilde{y}_{9,10}^*) &= 14.94, \\ D(\tilde{y}_{9,13}^*) &= 39.89, & D(\tilde{y}_{10,12}^*) &= 23.32, \\ D(\tilde{y}_{10,13}^*) &= 11.46, & D(\tilde{y}_{10,14}^*) &= 9.46, \\ D(\tilde{y}_{11,12}^*) &= 9.65, & D(\tilde{y}_{12,14}^*) &= 18.23 \text{ และ } \\ D(\tilde{y}_{13,14}^*) &= 21.32 \end{aligned}$$

ค่าเดินทางใหม่ที่คำนวณได้แสดงดัง Table 2 และภาพแสดงค่าเดินทางที่ถูกปรับค่าใหม่แสดงดัง Figure 4

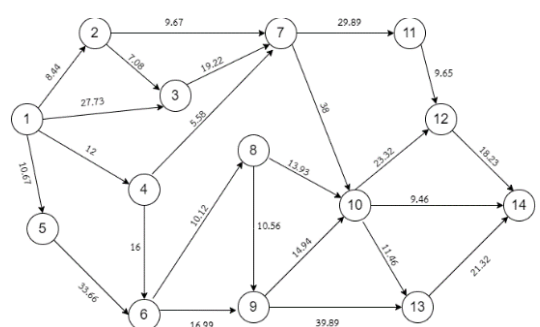


Figure 4. A graph of triangular intuitionistic fuzzy number after calculate centroid

Table 2. Triangular intuitionistic fuzzy number after calculate centroid

Edges	travel costs	Edges	travel costs	Edges	travel costs
(1,2)	8.44	(4,7)	5.58	(9,10)	14.94
(1,3)	27.73	(5,6)	33.66	(9,13)	39.89
(1,4)	12	(6,8)	10.12	(10,12)	23.32
(1,5)	10.67	(6,9)	16.99	(10,13)	11.46
(2,3)	7.08	(7,10)	38	(10,14)	9.46
(2,7)	9.67	(7,11)	29.89	(11,12)	9.65
(3,7)	19.22	(8,9)	10.56	(12,14)	18.23
(4,6)	16	(8,10)	13.93	(13,14)	21.32

ต่อไปจะแสดงการหาระยะทางที่สั้นที่สุดโดยใช้อัลกอริทึมของ Dijkstra สำหรับการแก้ปัญหาเส้นทางที่สั้นที่สุดแบบฟัซซี่ ดำเนินการตามขั้นตอนดังนี้

ขั้นตอนที่ 1 : พิจารณาค่าเดินทางที่กำหนดที่เป็นฟัซซี่ใน Table 1 จากนั้นใช้วิธีเซททรอยด์ของตัวเลขฟัซซี่ เพื่อหาค่าที่เป็นตัวแทนของตัวเลขฟัซซี่แสดงได้ดัง Table 2 และแทนค่าน้ำหนักในแต่ละเส้นทาง ให้ครบทุกเส้นทางดัง Figure 4

ขั้นตอนที่ 2 : กำหนดโหนด 1 เป็นโหนดต้นทาง และกำหนดโหนด 14 เป็นโหนดปลายทาง

ขั้นตอนที่ 3 : ให้โหนด 1 มีค่าเริ่มต้นเป็นศูนย์ และโหนด 2 ถึง 14 มีค่าเป็นอนันต์

ขั้นตอนที่ 4 : พิจารณาโหนดที่อยู่ติดกับโหนด 1 ซึ่งมีโหนด 2, 3, 4 และ 5 เลือกโหนดที่มีค่าเดินทางน้อยที่สุด นั่นคือจากโหนด 1 ไปยังโหนด 2, 3, 4 และ 5 พบว่ามีค่าเดินทางเป็น 8.44 , 27.73, 12

และ 10.67 ตามลำดับ ดังนั้นเลือกโหนด 2 ซึ่งให้ค่าน้อยสุดคือ 8.44 จากนั้นให้โหนด 2 เป็นโหนดที่มีการสำรวจแล้ว และคำนวณค่าน้ำหนักรวมของเส้นทางที่มีสถานะสำรวจแล้ว ซึ่งโหนด 2 ที่ถูกเลือกจะมีค่าระยะทางรวมน้อยกว่าโหนดที่ไม่ถูกเลือกอื่น ๆ

ขั้นตอนที่ 5 : ทำการสำรวจโหนดอื่นเช่นนี้ต่อไปเรื่อย ๆ จนได้โหนดที่ต้องการครบทุกโหนด

ขั้นตอนที่ 6 : คำนวณค่าน้ำหนักจากตัวเลขที่ได้รวมทุกเส้นทาง

จาก Table 3 แสดงลำดับขั้นตอนในการหาระยะทางที่สั้นที่สุดแบบฟัซซี่จนได้คำตอบที่น้อยสุด นั่นคือจากโหนด 1 จนถึงโหนด 14 ค่าใช้จ่ายที่น้อยที่สุดมีค่าเท่ากับ 61.51 บาท โดยจะเริ่มต้นเดินทางจากโหนด 1 ไปยังโหนด 4 ต่อไปยังโหนด 6 ไปยังโหนด 8 ไปยังโหนด 10 และสุดท้ายไปยังโหนด 14 แสดงเส้นทางดัง Figure 5



Table 3. Steps of the Dijkstra algorithm for a graph in Figure 4

step	Explored	Unexplored
1		$1^0, 2^\infty, 3^\infty, 4^\infty, 5^\infty, 6^\infty, 7^\infty, 8^\infty, 9^\infty, 10^\infty, 11^\infty, 12^\infty, 13^\infty, 14^\infty$
2	1^0	$2^{8.44(1)}, 3^{27.73(1)}, 4^{12(1)}, 5^{10.67(1)}, 6^\infty, 7^\infty, 8^\infty, 9^\infty, 10^\infty, 11^\infty, 12^\infty, 13^\infty, 14^\infty$
3	$1^0, 2^{8.44(1)}$	$3^{15.52(2)}, 4^{12(1)}, 5^{10.67(1)}, 6^\infty, 7^{18.11(2)}, 8^\infty, 9^\infty, 10^\infty, 11^\infty, 12^\infty, 13^\infty, 14^\infty$
4	$1^0, 2^{8.44(1)}, 5^{10.67(1)}$	$3^{15.52(2)}, 4^{12(1)}, 6^{44.33(5)}, 7^{18.11(2)}, 8^\infty, 9^\infty, 10^\infty, 11^\infty, 12^\infty, 13^\infty, 14^\infty$
5	$1^0, 2^{8.44(1)}, 5^{10.67(1)}, 4^{12(1)}$	$3^{15.52(2)}, 6^{28(4)}, 7^{17.58(4)}, 8^\infty, 9^\infty, 10^\infty, 11^\infty, 12^\infty, 13^\infty, 14^\infty$
6	$1^0, 2^{8.44(1)}, 5^{10.67(1)}, 4^{12(1)}, 3^{15.52(2)}$	$6^{28(4)}, 7^{17.58(4)}, 8^\infty, 9^\infty, 10^\infty, 11^\infty, 12^\infty, 13^\infty, 14^\infty$
7	$1^0, 2^{8.44(1)}, 5^{10.67(1)}, 4^{12(1)}, 3^{15.52(2)}, 7^{17.58(4)}$	$6^{28(4)}, 8^\infty, 9^\infty, 10^{55.58(7)}, 11^{47.47(7)}, 12^\infty, 13^\infty, 14^\infty$
8	$1^0, 2^{8.44(1)}, 5^{10.67(1)}, 4^{12(1)}, 3^{15.52(2)}, 7^{17.58(4)}, 6^{28(4)}$	$8^{38.12(6)}, 9^{44.99(6)}, 10^{55.58(7)}, 11^{47.47(7)}, 12^\infty, 13^\infty, 14^\infty$
9	$1^0, 2^{8.44(1)}, 5^{10.67(1)}, 4^{12(1)}, 3^{15.52(2)}, 7^{17.58(4)}, 6^{28(4)}, 8^{38.12(6)}$	$9^{44.99(6)}, 10^{52.05(8)}, 11^{47.47(7)}, 12^\infty, 13^\infty, 14^\infty$
10	$1^0, 2^{8.44(1)}, 5^{10.67(1)}, 4^{12(1)}, 3^{15.52(2)}, 7^{17.58(4)}, 6^{28(4)}, 8^{38.12(6)}, 9^{44.99(6)}$	$10^{52.05(8)}, 11^{47.47(7)}, 12^\infty, 13^{84.88(9)}, 14^\infty$
11	$1^0, 2^{8.44(1)}, 5^{10.67(1)}, 4^{12(1)}, 3^{15.52(2)}, 7^{17.58(4)}, 6^{28(4)}, 8^{38.12(6)}, 9^{44.99(6)}, 11^{47.47(7)}$	$10^{52.05(8)}, 12^{57.12(11)}, 13^{84.88(9)}, 14^\infty$
12	$1^0, 2^{8.44(1)}, 5^{10.67(1)}, 4^{12(1)}, 3^{15.52(2)}, 7^{17.58(4)}, 6^{28(4)}, 8^{38.12(6)}, 9^{44.99(6)}, 11^{47.47(7)}, 10^{52.05(8)}$	$12^{57.12(11)}, 13^{63.51(10)}, 14^{61.51(10)}$
13	$1^0, 2^{8.44(1)}, 5^{10.67(1)}, 4^{12(1)}, 3^{15.52(2)}, 7^{17.58(4)}, 6^{28(4)}, 8^{38.12(6)}, 9^{44.99(6)}, 11^{47.47(7)}, 10^{52.05(8)}, 12^{57.12(11)}$	$13^{63.51(10)}, 14^{61.51(10)}$
14	$1^0, 2^{8.44(1)}, 5^{10.67(1)}, 4^{12(1)}, 3^{15.52(2)}, 7^{17.58(4)}, 6^{28(4)}, 8^{38.12(6)}, 9^{44.99(6)}, 11^{47.47(7)}, 10^{52.05(8)}, 12^{57.12(11)}, 14^{61.51(10)}$	$13^{63.51(10)}$
15	$1^0, 2^{8.44(1)}, 5^{10.67(1)}, 4^{12(1)}, 3^{15.52(2)}, 7^{17.58(4)}, 6^{28(4)}, 8^{38.12(6)}, 9^{44.99(6)}, 11^{47.47(7)}, 10^{52.05(8)}, 12^{57.12(11)}, 14^{61.51(10)}, 13^{63.51(10)}$	

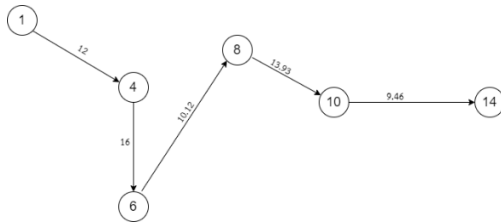


Figure 5. Shortest path for Dijkstra's algorithm จาก Table 3 สามารถเขียนระยะทางจากโหนด 1 ไปยังโหนดอื่น ๆ แสดงได้ดัง Table 4

Table 4. Distance and distances value from node 1 to other nodes

Source node	Destination node	distance value
1	2	1→2 =8.44
1	3	1→3 = 27.73
1	4	1→4 = 12
1	5	1→5 = 10.67
1	6	1→4→6 = 28
1	7	1→4→7 = 17.58
1	8	1→4→6→8 = 38.12
1	9	1→4→6→9 = 44.99
1	10	1→4→6→8→10 = 52.05
1	11	1→4→7→11 = 47.47
1	12	1→4→7→11→12 = 57.12
1	13	1→4→6→8→10→13 = 63.51
1	14	1→4→6→8→10→14 = 61.51

สรุปผลการวิจัย

การแก้ปัญหาเส้นทางที่สั้นที่สุดแบบพีชซึ่งเป็นปัญหาการเพิ่มประสิทธิภาพเครือข่ายที่ได้รับ ความสนใจอย่างมากในด้านทฤษฎีกราฟแบบพีช ซึ่งจากการศึกษางานวิจัยก่อนหน้านี้ นักวิจัยหลายคน ได้ใช้วิธีการและเครื่องมือต่าง ๆ ในการหาระยะทางที่สั้นที่สุดภายใต้ข้อมูลที่ไม่มีความแน่นอนหรือมีความคลุมเครือ ดังนั้น งานวิจัยนี้จึงมุ่งเน้นการพัฒนาวิธีการแก้ปัญหาดังกล่าว โดยกำหนดค่าใช้จ่ายในการเดินทางเป็นตัวเลขพีชที่สหัชญาณสามเหลี่ยม จากนั้นทำการแปลงค่าตัวเลขพีชที่ใช้วิธีเซนต์รอซของตัวเลขพีชเพื่อแปลงค่าตัวเลขพีชให้สามารถนำไปวิเคราะห์ได้ แล้วประยุกต์ใช้อัลกอริทึม Dijkstra ในการค้นหา ระยะทางที่สั้นที่สุด ผลการศึกษาแสดงให้เห็นว่าวิธีการที่พัฒนาขึ้นนี้สามารถแก้ปัญหาในสถานการณ์ที่มีความคลุมเครือได้อย่างมีประสิทธิภาพและสามารถหาคำตอบที่ถูกต้องและเหมาะสมได้ วิธีการที่ได้นำเสนอนี้สามารถนำไปประยุกต์ใช้ในการวางแผนการเดินทาง เช่น การคำนวณเส้นทางที่สั้นที่สุดในการเดินทาง ไม่ว่าจะเป็นการขับรถ การเดินเท้า หรือการใช้ขนส่งสาธารณะ การจัดการด้านการขนส่ง เช่น การจัดส่งสินค้าโดยคำนวณเส้นทางที่สั้น และเร็วที่สุดสำหรับการจัดส่งสินค้า เพื่อลดต้นทุนและเวลาในการขนส่ง รวมไปถึงการวางแผนการเดินทางท่องเที่ยวที่มีประสิทธิภาพ จะช่วยให้การเดินทางสะดวกและประหยัดเวลา เป็นต้น



ข้อเสนอแนะ

การทำวิจัยครั้งต่อไป ผู้วิจัยควรศึกษาวิธีการแก้ปัญหาเส้นทางสั้นที่สุดให้หลากหลาย พร้อมทั้งทำการวิเคราะห์เปรียบเทียบเพื่อค้นหาวิธีการที่ให้ผลลัพธ์ที่เหมาะสมและมีประสิทธิภาพสูงสุด

เอกสารอ้างอิง

1. Dijkstra EW. A note on two problems in connexion with graphs. *Numer Math* (Heidelb) 1959;1:269–71.
2. Bellman RE, Zadeh LA. Decision making in a fuzzy environment. *Manage Sci* 1970;17:141-64.
3. Dubois D, Prade H. *Theory and Applications: Fuzzy Sets and Systems*, New York: Academic Press; 1980.
4. Nayeem SMA, Pal M. Shortest path problem on a network with imprecise edge weight. *Fuzzy Optim Decis Mak* 2005;4:293–312.
5. Hernandez F, Lamata MT, Verdegay JL, Yamakami A. The shortest path problem on networks with fuzzy parameters. *Fuzzy Sets Syst* 2007;158:1561–70.
6. Takahashi MT, Yamakami A. On fuzzy shortest path problems with fuzzy parameters: an algorithmic approach. *Fuzzy Logic Control for an Autonomous Robot*. 2005 Annual meeting of the North American fuzzy information processing

society; 26-28 June 2005; Detroit, MI, USA.

IEEE; 2005.

7. Okada S. Fuzzy shortest path problems incorporating interactivity among paths. *Fuzzy Sets Syst* 2004;142:335–57.
8. Lin L, Wu C, Ma L. A genetic algorithm for the fuzzy shortest path problem in a fuzzy network. *Complex Intell Systems* 2021;7:225–34.
9. Deng Y, Chen Y, Zhang Y, Mahadevan S. Fuzzy Dijkstra algorithm for shortest path problem under uncertain environment. *Appl Soft Comput* 2012;12:1231–7.
10. Rosen KH. *Discrete mathematics and its applications*. 6th ed. New York: McGraw-Hill. Publishing; 2012.
11. Zadeh LA. Fuzzy sets. *Inf Control* 1965;8:338-56.
12. Dubois D, Prade H. Operation on fuzzy numbers. *Int J Syst Sci* 1978;9:613-26.
13. Atanassov KT. Intuitionistic fuzzy sets. *Fuzzy Set Syst* 1986;20:87–96.
14. Mondal SP, Roy TK. First order non homogeneous ordinary differential equation with initial value as triangular intuitionistic fuzzy number. *J Uncertain Syst* 2015;9:274-85.
15. Wang YM, Yang J, Xu DL, Chin KS. On the centroids of fuzzy numbers. *Fuzzy Sets Syst* 2006;157:919-26.

The Fire Alarm System Architecture via the Intelligent Things Technology for Higher Education

Rukthin Laoha^{*1}, Chaiyan Sakulthai¹, Narawich Sripauraya¹, Vutipol Chutjaraskul² and Potsirin Limpinan³

¹ *Department of Information and Communication Technology for Education, Faculty of Science and Technology Rajabhat Maha sarakham University*

² *Communication Arts Program, Faculty of Management Science, Rajabhat Maha Sarakham University*

³ *Department of Information Technology, Faculty of Information Technology Rajabhat Maha sarakham University*

***Corresponding author; E-mail: Rukthin094@gmail.com**

Received: 07 July 2024 /Revised: 30 October 2024 /Accepted: 30 October 2024

Abstract

The purposes of the research were (1) to design the fire alarm system architecture via the intelligent things technology for higher education and (2) to evaluate the fire alarm system architecture via the intelligent things technology for higher education. The research procedure was divided into two phases. The first phase is the fire alarm system architecture via the intelligent things technology for higher education design, and the second phase is the architecture evaluation by experts. The samples were 5 experts in the Internet of Things, computer science and the information chosen by purposive sampling. Data collection tools were the system and the assessment of the appropriate model with a 5-level rating scale. The statistics used in data analysis were means and standard deviation. The results showed that (1) the system architecture of a fire alarm system using the Internet of Things for higher education included 3 tiers: 1.1) the Application Tier, 1.2) the Network Tier, 1.3) the Context-Aware and Sensing Tier, and (2) expert opinions on the system developed were at a reasonable level ($\bar{X}=4.52$, S.D.= 0.54).

Keywords: System architecture, Fire alarm system, Intelligent Things, Higher education

Introduction

Implementing smart fire alarm systems that utilize IoT technology in higher education settings offers several potential benefits, including enhanced safety and security through real-time monitoring and response capabilities. These systems can improve the accuracy and speed of fire detection by leveraging a variety of sensors, such as smoke, heat, humidity, and flame sensors, to identify actual fires more reliably^{1,2}. IoT-based systems can also facilitate effective evacuation and rescue efforts by incorporating Building Information Modeling (BIM) to optimize evacuation routes and provide three-dimensional visualizations of the site, enabling a more efficient response to fire incidents³. Additionally, the integration of machine learning algorithms can predict and prevent potential fire incidents, further enhancing the safety of educational facilities³. However, there are challenges associated with the implementation of these systems. One significant challenge is the risk of false alarms, which can be triggered by erroneous signals not related to actual fire signs⁴. This issue underscores the need for high-end, sophisticated fire alarm systems that can discern between false alarms and genuine fire incidents. Another challenge is the complexity of deploying these systems in the diverse and complicated interior environments of public

buildings, which requires careful consideration to ensure the safety of individuals in the event of a fire. The cost of implementing such advanced systems may also pose a challenge, especially for institutions with limited budgets. Moreover, while IoT technology offers the potential to significantly improve fire safety in higher education settings, it also introduces concerns related to data privacy and security⁵. Ensuring the protection of sensitive information collected and transmitted by IoT devices is crucial to maintaining the trust and confidence of the individuals these systems are designed to protect. In conclusion, while smart fire alarm systems utilizing IoT technology present promising benefits for enhancing fire safety in higher education settings, addressing the challenges of false alarms, system complexity, cost, and data security is essential for their successful implementation^{5,6}.

The integration of the Internet of Things (IoT) in fire alarm systems within the context of higher education presents a transformative approach to enhancing safety and operational efficiency. The IoT's capability to interconnect various sensors and devices across educational institutions allows for real-time monitoring, early detection, and efficient response to fire incidents, thereby significantly improving emergency preparedness and

minimizing potential hazards⁷. A notable advancement in this area is the development of an IoT-based automated emergency response system, which leverages wireless and Bluetooth sensor networks to gather real-time data. This system utilizes machine learning algorithms for predicting potential fire incidents and incorporates Building Information Modeling (BIM) to optimize evacuation and rescue routes, ensuring early detection, accurate alarms, and effective evacuation guidance⁸. However, the adoption of IoT in higher education, especially in developing countries, faces challenges such as financial constraints, technical support, and individual proficiencies, which can hinder the integration of sophisticated systems like IoT-based fire alarm systems⁹. Despite these challenges, the potential for IoT to enhance fire safety in smart buildings through the use of advanced fire alarm systems equipped with smoke and high-temperature sensors has been demonstrated¹⁰. Research emphasizes the importance of evolving IoT architecture to meet the complex needs of higher education's operational processes, suggesting that a more sophisticated model is necessary for the effective implementation of IoT, including fire alarm systems¹¹. The integration of IoT in educational settings, particularly in engineering domains, has shown significant

benefits in improving academic performance, which indirectly supports the case for adopting advanced technologies like IoT for safety and operational efficiency¹². Smart Education, powered by IoT, not only focuses on enhancing learning outcomes but also plays a crucial role in creating safer educational environments through improved monitoring and response strategies¹³. User adoption and perception of IoT services, including safety systems, are influenced by factors, such as social influence, expected effort, privacy, and performance expectations, highlighting the need for educational institutions to foster awareness and trust in these technologies¹⁴. Moreover, the application of IoT in higher education extends to various domains, including the optimization of higher English education systems through IoT technology, demonstrating the versatility and potential of IoT to improve educational outcomes and operational efficiency¹⁵. Lastly, the development of logic circuits for fire detection using IoT and Arduino showcases the technological advancements and practical applications of IoT in enhancing fire safety measures within higher education institutions¹⁶. This involves devising new concepts for making the system architecture of a fire alarm system using the Internet of Things for higher education aware of their learner's security.

Objectives

1. To design the fire alarm system architecture via the intelligent things technology for higher education
2. To evaluate the system architecture

Following 3 parts.

1. Population, samples groups and variable:

Population:

- Population is the experts in the field of IOT, information and computer science.

Samples Groups:

- Samples are 10 experts in the field of IOT, information and computer science.

Chosen by purposive sampling. They are highly-experienced experts in these fields for at least 5 years.

Variable:

- Independent variable is the system architecture of fire alarm system using Internet of Things for Higher Education.
- Dependent variable is the appropriateness of the system architecture of fire alarm system using Internet of Things for higher education.

2. Research tools

The research instruments were an evaluation of System Architecture of Fire Alarm System using Internet of Things for Higher Education.

3. Data analysis

The data obtained from the experts were collected and analyzed by using the statistics as follows:

- Arithmetic mean
- Standard deviation

Methods

Phase 1. System architecture design

- Design the fire alarm system architecture via the intelligent things technology for higher education.

- Create an instrument for assessing the appropriateness of the fire alarm system architecture via the intelligent things technology for higher education.

Phase 2. Evaluation of the appropriateness of the fire alarm system architecture via the intelligent things technology for higher education

Results

Stage 1. The fire alarm system architecture via the intelligent things technology for higher education is composed of 3 main tiers which are:

The researcher designed conceptual framework to explain and make clear understanding of the fire alarm system architecture via the intelligent things technology for higher education system working processes. The system consisted of 3 processes.

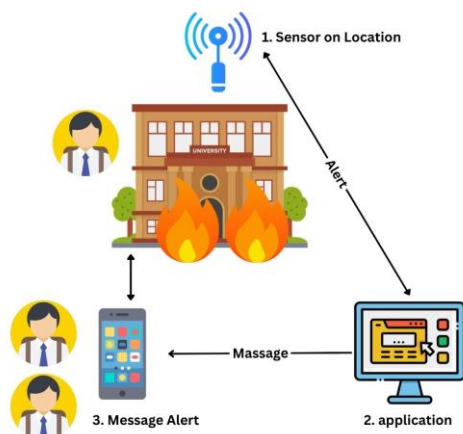


Figure 1. Conceptual framework of the fire alarm system architecture via the intelligent things technology for higher education

Figure 1 revealed conceptual framework of the fire alarm system architecture via the intelligent things technology for higher education. It consisted of 3 processes as follows:

1. Set up sensor on location

This process is the beginning of the fire alarm system architecture via the intelligent things technology for higher education. The staff set up the default of the activity and alarm including the recorded details through the application. Then the transmitter sensor was installed at the activity location. The staff was able to monitor each past performance.

2. Coordinate signal

This process accrued after staff or admin completely set up the alarm. At the beginning of the alarm location, students

joined going into the restricted location or student inside the building. The system sent the connection signal to students' card or smartphone to identify students who were inside the dangerous location.

3. Transfer to application

This process followed the Coordinate Signal process. It was signal connector between transmitter sensor and students' card or smartphone, the receiver. This meant the data in students' card or smartphone which was connected was sent to application. The data recorded in cloud database including alarm activity data set up in process 1.

4. Reporting

Reporting is the final process. It was the process that students checked the activity participation status through the application. Students checked the number of activity they already participated. They could print the report and send it to the unit that needed the data.

After the explaining the framework to show the detail of the system working processes, the researcher presented the system architecture of fire alarm system using Internet of Things for higher education as shown in figure 2.

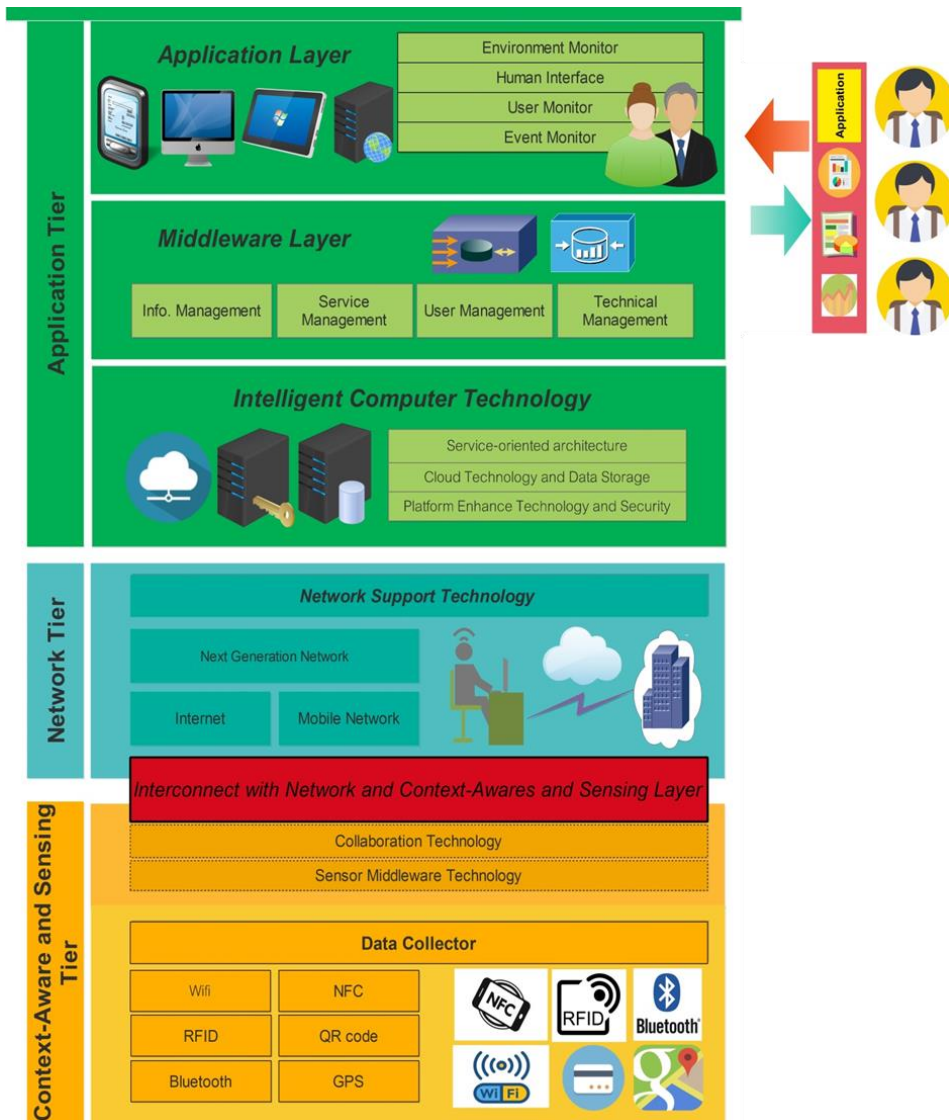


Figure 2. The fire alarm system architecture via the intelligent things technology for higher education

The generally accepted architecture of IOT consists of three layers: perception (sensing), network, and application^{16,17}. Therefore, the fire alarm system architecture via the intelligent things technology for higher education included 3 tiers as follows:

1. **Application tier:** it was the interface that connected with user while the fire alarm system architecture via the intelligent things technology for higher education. It is consisted of 3 components as follows:

Application layer: it was the interface working as connector with user in setting up alarm program, monitoring accuracy of activity and overall system. Monitoring and control systems collect data on tools performance¹⁸, energy usage, and environmental conditions, and allow managers and automated controllers to constantly track performance on context-aware principle¹⁶.

Middleware layer: it was system data management part for information management, service management and technical management. Middleware is described as a software layer inserted between software applications to make it easier for software developers to operate communication and input/output¹⁹. Its feature of hiding the details of various technologies is fundamental to make IOT developers free from software services being not exactly relevant to the specific IOT applications¹⁷.

Intelligent computer technology: it was the needed hardware and technology system such as, database server, cloud servers service oriented, platform technology, and security technology. A number of IOT applications need massive data storage, high processing speed to enhance real-time decision making, and high-speed broadband networks to flow data, audio, or video. Cloud computing assigns a perfect back-end

solution for handling huge data streams and processing them for the unexceptional number of IOT devices and human¹⁹.

Cloud Technology is a model for access to share resources, such as servers, storage, applications, services and software that can be provisioned as Infrastructure as a Service (IaaS) or Software as a Service (SaaS)^{16,19}

Service-oriented architecture (SOA) means an approach which is applied to create architecture based on the application of system services. The SOS approach is today being implemented in IOT domain, applying the principle of middle ware (a software layer superimposed between application and technology layer that hides the inessential details from the developed). It helps to reduce the time of product development and simplify the design workflow, lessening the process of advertising the business outcomes in a short time duration²⁰.

2. Network tier: it was the network for connecting with such parts as mobile network, Wifi and internet. In addition, it worked as the connector with the next part; context-aware and sensing tier. Wireless sensor networks (WSN) is composed of dispersed autonomous sensor-equipped devices to monitor physical or surrounding conditions and be able to cooperate with RFID systems to improve the

status of things, for example, their site, temperature and movement¹⁹. WSN provides various network topologies and multihop communication. Today technological progress in low-power integrated routs and wireless communications have brought possible efficient, low-cost, low-power miniature devices for utilization in WSN applications²¹.

3. Context-Aware and sensing tier: It was sensing hardware that worked as both signal transmitter and receiver. It was installed in

activity location. The type of signal can be chosen based on suitability organization, such as RFID, Wifi, Internet and GPS. Sensing hardware has to have ability to collect data following context-aware principle.

Stage 2. The results of appropriateness evaluation of the fire alarm system architecture via the intelligent things technology for higher education

Table 1 The appropriateness evaluation of the fire alarm system architecture via the intelligent things technology for higher education

The fire alarm system architecture via the intelligent things technology for higher education consisted of 3 main tier	$\bar{x}$	S.D.	Appropriateness
1. Application Tier consisted of ● Application Layer ● Middleware Layer Intelligent Technology Computer	4.6	0.54	Most appropriate
2. Network Tier consisted of ● Network Support Technology	4.6	0.54	Most appropriate
3. Context-aware and Sensing Tier consisted of ● Collaboration Technology ● Sensor Middleware Technology ● Data Collector	4.6	0.54	Most appropriate
4. Workflow sequence of System Architecture of the fire alarm system architecture via the intelligent things technology for higher education	4.4	0.54	Most appropriate
5. Suitability to use the fire alarm system architecture via the intelligent things technology for higher education	4.4	0.54	Most appropriate
Total	4.52	0.54	Most appropriate

As shown in Table 1, the results showed the most appropriate assessment, with an average performance score ($\bar{x}$ = 4.52 and a standard deviation (S.D.) of 0.54), conducted by experienced experts.

Conclusions

Higher education-intensive competition makes the organization to realize academic development. Therefore, higher education uses ICT such as E-learning, Mobile Learning, Cloud Technology, Augmented Reality, Virtual Reality and Intelligent things in teaching and learning process. One of the most important aspects is using ICT to create student satisfaction. Activity or instrument development for learning creates satisfaction the researcher designed the fire alarm system architecture via the intelligent things technology for higher education. The objective of the design is to set an automatic fire alarm system. The result of in building the design was 3 tiers architecture: Application Tier, Network Tier and Context-Aware and sensing Tier. The design accorded with Jaehyeon et al.¹⁶ and Ray¹⁷. Then the developed architecture was examined for its appropriation by 10 experts. The result revealed that the architecture appropriation was at the most appropriation level. The next

step of research is the implementation system.

Recommendation

This research process is the architectural design of the system. The next step is to implement and develop the system further. In the development process developers must choose the technology. That is appropriate to its own context

Adding automation in further development will add value and expand the interest of the fire alarm system architecture via the intelligent things technology for higher education system, such as calculating the intensity of a fire and notifying the responsible agency or giving orders to the robot to extinguish the fire.

References

1. Chopra D, Arora P. Challenges in IoT in higher education. Information and communication technology for competitive strategies (ICTCS 2022). Intelligent Strategies for ICT; 2023 May 16; Singapore: Springer Nature Singapore; 2023. Available from: <https://www.springerprofessional.de/en/information-and-communication-technology->



- for-competitive-
strateg/25363922?tocPage=1
2. Al-Hady SM, Islam MR, Rashid MM.
Development of IoT-based automated
dynamic emergency response system
against fire Incidents in academic
building. IJEMM 2023;8:75-87.
 3. Kumar DD, Bharathraj B, Vishak VN, Jasith
S, Raja L. IoT based fire protection
system. In 2023 4th International
conference on signal processing and
communication (ICSPC); 2023 Mar 23;
Coimbatore. Tamilnadu India: 2023.
 4. Tripathi N, Obulesu D, Murugan AS, Mittal
V, Babu BR, Sharma S. IOT based
surveillance system for fire and smoke
detection. In 2022 5th International on
contemporary computing and informatics
(IC3I); 2022 Dec 14. Uttar Pradesh India:
2022.
 5. Sushmitha EC, Alageswaran R, Ezhilarasie
R. IoT based fire detection and warning
system for surveillance applications using
deep learning model. In 2023 2nd
International conference on vision towards
emerging trends in communication and
networking technologies (ViTECoN); 2023
May 5; Vellore institution technology. India:
2023.
 6. Kamel S, Jamal A, Omri K, Khayyat M. An
IoT-based fire safety management system
for educational buildings: A case study.
IJACSA 2022;13:756-71.
 7. Bhaskaran SS. Transformation of higher
education and research using internet of
things. IJITEE 2023;12:8–13.
<https://doi.org/10.35940/ijitee.g9601.0612723>.
 8. Al-Hady SM, Islam MR, Rashid MM.
Development of IoT-based automated
dynamic emergency response system
against fire incidents in academic
building. IJEMM 2023;8:75-87.
 9. Ali J, Madni SH, Jahangeer MS, Danish
MA. IoT adoption model for e-learning in
higher education institutes: a case study in
Saudi Arabia. Sustainability 2023;15:9748.
 10. Al Hasani IMM, Kazmi SIA, Ali Shah R,
Hasan R, Hussain S. IoT based fire alerting
smart system. SSURJET 2022;12:46-50.
 11. Soegoto ES, Soegoto H, Soegoto DS,
Soegoto SW, Rafdhi AA, Saputra H, et al.
A systematic literature review of internet of

- things for higher education: Architecture and implementation. IJoST 2022;7:511-28.
12. Asad MM, Naz A, Shaikh A, Alrizq M, Akram M, Alghamdi A. Investigating the impact of IoT-based smart laboratories on students' academic performance in higher education. Universal Access Inf 2022;7:1-5.
13. Ibrahim IS, Kenwright B. Smart education: Higher education instruction and the internet of things (iot). arXiv 2022;3:1-5.
14. Azeez ND. Proposed Model of Internet of things adoption for higher education institution. Tikrit J Admin Econ Sci 2022;18:256-71.
15. Shi J, Hou Z, Mojtahe K. Internet of things application of intelligent and innovative learning strategies in the higher english education system. Secur Commun Netw 2022; 21:1-11.
16. Jaehyeon J, Mi-Seon K, Jae-Hyeon Ahn. Prototyping business models for IoT service. Information technology and quantitative management (ITQM 2016), 2016 August 16-18; Korea: 2016.
17. Ray PP. A survey on internet of things architectures. JKSUCI 2018;30:291-319.
18. Lee I, Lee K. The internet of things (IoT): Applications, investments, and challenges for enterprises. Business Horizons 2015;58:431-40.
19. Laoha R, Wannapiroon P, Nilsook P. The system architecture of digital activity portfolio via internet of things for digital university. IJASS 2019;6:81-6.
20. Deugd S, Carroll R, Kelly K, Millett B, Ricker J. SODA: Service oriented device architecture. IEEE 2006;5:94-6.
21. Gubbi J, Buyya R, Marusic S, Palaniswami M. Internet of things (IoT): A vision, architectural elements, and future directions. Future Gener Comput Syst 2013;29:1645-60.

Short-term Storage of White Shrimp (*Litopenaeus vannamei*) Spermatophores

Sumate Chomphutawach*, Theerawat Onlamool, Manita Kuntapa and Anuwat Lakyat

Collage of food and hospitality innovation, Phetchaburi Rajabhat University

*Corresponding author; E-mail: sumate.cho@mail.pbru.ac.th

Received: 11 September 2024 /Revised: 30 September 2024 /Accepted: 30 September 2024

Abstract

The objective of this study was to estimate the suitability of extender solutions for maintaining sperm viability in spermatophore of white shrimp (*Litopenaeus vannamei*). *L.vannamei* sperm were exposed to different types of extenders to evaluate their efficiency over various storage periods. The type of suitable extender solution for shrimp spermatophores was observed in spermatophore stored in mineral oil and Ca-F saline. At 720 hr. extended period, the highest percentage of sperm viability was observed in mineral oil (64.33 ± 17.29). Sperm exposed in Ca-F saline, although percent viability was lower than that in mineral oil after 1 month of storage, there was no significant difference at beginning periods. The highest percentage of sperm mortality was observed in phosphate buffer at 24 hr. storage. However, although in this study the best result of short-term storage of *L. vannamei* sperm was observed with sperm preserved in mineral oil extender solution, next study for long-term storage (cryopreservation) the Ca-F saline should be considered as a good alternative for long-term storage due to its sperm cell osmoregulation properties.

Keywords: Spermatophore, Preservation, White shrimp, Aquaculture, Sperm viability

Introduction

Recently, an important methodology for enhancing of fry production capacity in aquatic species has been mainly focused on the use of artificial fertilization technique¹. Sperm are determined to have an important role in large-scale fry production in crustacean². In the last decade, white shrimp

(*L. vannamei*) is one of the most important species that dramatically increase the national value in Thailand. Nowadays, this species has been clearly dropped due to viral infection (White spot syndrome virus; WSSV³, Taura syndrome virus; TSV⁴, Early mortality syndrome; EMS⁵, Enterocytozoon hepatopenaei; EHP⁶) in several areas,

especially in the southern part of Thailand⁷. However, there is a bottleneck problem of domesticated brood stock in earthen pond with appearance of non-synchronization during spawning season of male or female. This gives rise to delay of fry production and reduction of spermatophore quality when the broodstock culture period extended with an appearance of spermatophore melanization (black color)^{8,9}. This blackening directly affects sperm quality, resulting in lower fertilization and hatching rates.

Therefore, the use of short-term storage techniques is a valuable application for generating a reliable sperm quality source for artificial insemination process. Extender solution for spermatophore storage has been widely used composing of Mineral Oil, Ringer's solution, Phosphate buffer, 0.85% NaCl, and Ca-F saline. Extended solution is associated with substance osmoregulation between inner and outer membrane. Previous research is reported in preservation of *Penaeus monodon* spermatophores at 2-4°C, result showed that the highest percentage of viable sperm was at 58.3% with 42 days storage period using mineral oil¹⁰ extender. According to Ishida¹³ has preserved the lobster sperm (*Homarus*), the result indicated that use of paraffin oil was the most suitable

extender solution for maintaining lived sperm cells. Whereas use of Ca-Free saline (Ca-F saline) is also reported for the success of striped bass (*Morone saxatilis*) sperm yielding to >65% sperm motility when sperm were kept in long-term period reported by Guthrie¹¹. Ca-F saline has directly affected on acrosomal reaction events under inseminated operation of crustacean spermatophores¹². However, several researches about white shrimp emphasized infected diagnosis or nutrition, but there are a few researches in preservation of crustacean spermatophores. Hence, this research is a preliminary study to approach the basic information of extender capacity for preserving good quality sperm.

The objective of this study was to estimate the suitability of extender solution to sperm viability, composing of Mineral Oil, Ringer's solution, Phosphate buffer, 0.85% NaCl, and Ca-F saline at different periods of 6, 12, 24 (1 day), 48 (2 days), 96 (4 days), 168 (1 week), 336 (2 weeks), 720 (1 month) hr. This research would be useful for basically important information to enhance the capacity of fry production of *L. vannamei*, and to develop the further cryopreservation protocol.

Material and method

1. Spermatophore collection

In order to get the fresh spermatophore, shrimp broodstock were randomly collected from entrepreneur farm (N= 40), Samut Sakhon province, using from the age of 12-15 months²⁹. Collected shrimp were maintained in Styrofoam box supplied with cultured water prior to transportation to laboratory of Burapha University within 1 hour after capture. Sample collection was made by manual stripping around the coxae of the fifth walking leg to take out a pair of spermatophore by forceps (Figure 1). All extruded spermatophores were placed in sterile Petri dish on crush ice (2°C) . Appearance of spermatophore with melanization performance was not considered for experiment.



Figure 1. Fresh spermatophore collected from coxae position of the fifth walking leg of *L. vannamei*.

2. Extender solution

In order to determine the appropriate type of extenders for chilled storage of spermatophore, five extender solutions consisted of mineral oil¹⁴ (pH 7.4, 364

mOsm/kg) Krishco Medical Products Pvt Ltd., Qatar, Ringer' s solution¹⁵ (pH 7.8, 728 mOsm/kg) OxoidTM, USA, phosphate buffer¹⁶ (pH 7.3, 669 mOsm/kg) Welgene Fresh MediaTM, South Korea, 0.85% NaCl¹⁷ (pH 7.7, 491 mOsm/kg) Quality Biological, USA and calcium-free saline (Ca-F saline) ¹⁸ (pH 7.4, 403 mOsm/kg) Capricorn Scientific GmbH, Germany were chosen as commonly used extender for preserving in crustacean sperm. Freshly collected spermatophores from mature males were directly plunged into 1.5 ml cryogenic vial that was loaded with 1 ml extender solution containing 0.1% penicillin-streptomycin as antibiotics at the room temperature (25°C) . After spermatophore loading into different solutions, (in each cryotube will be loaded only 1 ml solution: 2 spermatophores) the vials were chilled at 0-4°C in the refrigerator and assessment of viable sperm was evaluated at 6, 12, 24 (1 day), 48 (2 days), 96 (4 days), 168 (1 week), 336 (2 weeks), 720 (1 month) hr. In each experiment of sperm viability assessment was done with triple replications.

3. Sperm viability assessment

Spermatophore collection was done under room temperature (25°C) by manual stripping and gently ground in glass homogenizer using the proportion of 1 ml of Ca-F saline: 2 spermatophores. Supernatant was transferred into 1 ml Eppendorf tube at room temperature. For staining the samples,

5% eosin was prepared by weighing 0.25 g of eosin and dissolving it in 50 ml of deionized water. Nigrosin (10%) was prepared by weighing 0.5 g of nigrosin and dissolving it in 50 ml of deionized water. Staining solutions were filtered with grade filter papers (9-13 μm) for residual removal. To determine live-dead cell of sperm, about 70 μl of supernatant was immediately removed placing on a slide, and mixed with 100 μl of eosin and nigrosin before fixing the sample with heat (~ 2 s). Unstained cells with the blue background of nigrosin were considered as live cells, whereas dead cells show red. Assessment of percentage of live (unstained) sperm was calculated from triple counting of 300 cells in each slide.

4. Sperm count

To assess sperm concentration inside spermatophore, freshly stripped spermatophores were slightly ground with homogenizer. Manually homogenized spermatophores were transferred into 1.5 ml Eppendorf tube containing 1 ml of seawater (10 ppt), and then loaded into the chamber of centrifuge. The tubes were firstly centrifuged at 800 rpm for 10 min, followed by a second centrifugation at 1200 rpm for 15 min (MIKRO 220, Hettich Zentrifugen, Germany). After sample centrifugation, sperm suspension was mixed with deionized water at the dilution ratio of 1: 1000 (sperm suspension: deionized water). To evaluate sperm density, a small

volume (~ 50 μl) of diluted sperm were placed on hemacytometer before covering with glass slip and counting of sperm was estimated immediately.

5. Statistical analysis

Significant differences among treatments were compared using two-way analysis of variance (ANOVA). Whereas appearance the output of ANOVA analysis with significant differences, Duncan' s New Multiple Range Test (DMRT) was used to compare of differences within group. The percentage of sperm viability was considered at a 95% confidence level ($P < 0.05$) using the Statistical Package for the Social Sciences (SPSS) program (IBM SPSS Statistic Premium Grad Pack 26). All data of treatment were reported with an average of standard error of the mean (SE).

6. Animal ethics

Procedures on animal care were conducted according to the guideline of the Ethics committee of the Hatchery, Department of Aquatic Science, Burapha University.

Results

1. Effect of short-term storage with five extender solutions on sperm viability

Spermatophores preserved in all extenders had sperm viability percentage above 90 % ($P < 0.05$) during the first six hours (Figure 2. and Table 1.). The average sperm viability in mineral oil and Ca-F saline was not

significantly different in sperm viability when sperm were exposed at 120 hr. and 210 hr. as shown in Figure 2. Storage period of spermatophore in mineral oil for 48 hr. showed the highest sperm viability percentage (95. 26±12. 74%) whereas phosphate buffer showed no sperm viability (0%) for 24 hr. At the last period (1 month) of sperm storage, mineral oil showed the highest sperm viability percentage when compared to all other extenders (Table 1). There was no significant difference ($P>0.05$) between sperm stored in mineral oil and Ca-F saline beginning from 6 to 48 hr. ($P>0.05$), as seen in Figure 2. Although at 24 hr. storage observing the percentage of sperm viability stored in 0. 85% NaCl was higher and significantly different than that in Ringer's

solution ($P<0.05$), the viability percentage in 0.85% NaCl gradually decreased ($P>0.05$) by 48 hours of storage. However, the result of extender solution showed that prolonging the longest viable period of sperm was observed in mineral oil and Ca-F saline (at 1 month). High percentages of sperm viability preserved in both mineral oil and Ca-F saline solutions were compared with different storage periods. Significant difference of sperm kept in Ca-F saline seem to be dramatically reduced ($P<0. 05$) when the exposure duration extended from 2 weeks (64%) to 1 month (18%). Importantly, there was no significant difference in percentage of viable sperm in mineral oil and Ca-F saline at 6, 12, 24 (1 day) 48 (2 days), 96 (4 days), or 168 (1 week) of storage.

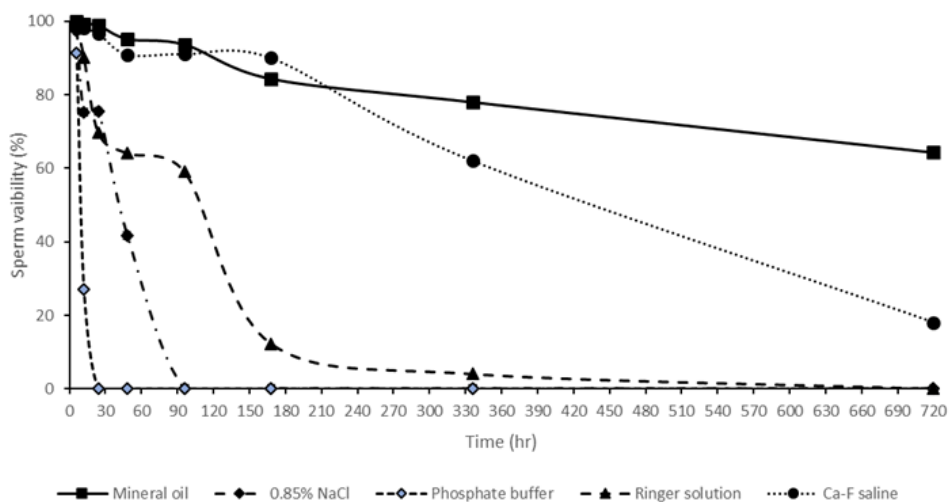


Figure 2. Viable sperm of stripped spermatophores from *L. vannamei* during short-term preservation with different extenders, and exposure periods

Table 1. Percentage of viable sperm (mean±SE) in stripped spermatophores from *L. vannamei* during short-term preservation with five different extenders.

Time (hr.)	Extenders				
	Mineral Oil	0.85% NaCl	Phosphate Buffer	Ringer Solution	Ca-F saline
6	99.89±0.45 ^{a,1}	97.48±4.91 ^{a,1}	91.47±4.65 ^{a,1}	99.22±0.66 ^{a,1}	99.66±0.17 ^{a,1}
12	99.31±0.10 ^{a,1}	75.15±32.42 ^{b,2}	26.96±20.58 ^{b,3}	90.17±10.42 ^{a,1}	98.11±5.55 ^{a,1}
24 (1 day)	98.96±9.52 ^{a,1}	75.47±38.29 ^{c,3}	-	69.74±29.79 ^{b,2}	96.69±64.55 ^{a,1}
48 (2 days)	95.26±12.74 ^{ab,1}	41.8±26.12 ^{d,3}	-	64.14±27.60 ^{c,2}	91.02±8.75 ^{a,1}
96 (4 days)	93.71±37.41 ^{ab,1}	0.07±14.65 ^{de,3}	-	59.02±18.99 ^{c,2}	91.11±6.83 ^{ab,1}
168 (1 week)	84.38±9.82 ^{ab,1}	-	-	12.29±56.75 ^{d,2}	90.04±24.6 ^{ab,1}
336 (2 weeks)	78.04±18.18 ^{ab,1}	-	-	4.07±8.21 ^{e,3}	62.01±2.14 ^{c,2}
720 (1 month)	64.33±17.29 ^{c,1}	-	-	-	18.04±7.35 ^{d,2}

Differences in superscript letters in the column indicate significant difference (p<0.05).

Differences in superscript numbers in the row indicate significant difference (p<0.05).

However, the results of extender solutions showed prolonging the longest viable period of sperm observed in mineral oil and Ca-F saline (at 1 month). High percentages of sperm viability preserved in both of mineral oil and Ca-F saline solutions were compared with different storage periods. Significant difference of sperm kept in Ca-F saline seem to be dramatically reduced (P<0. 05) when the exposure duration extended from 2 weeks (62% viable sperm) to 1 month (18%). Importantly, there was no significant difference in the percentage of viable sperm between mineral oil and Ca-F saline at storage durations of 6, 12, 24 (1 day) 48 (2 days), 96 (4 days), or 168 (1 week).

Discussions

In this experiment, different extender solutions were used for short-term preservation of *L. vannamei* spermatophore. We knew that extender solutions and exposure times are related with living sperm in spermatophore. Although extender solutions prolong cell viability during short-term preservation process, the effect of osmotic pressure to sperm cell damage must be carefully determined. Our results, mineral oil showed less lethal effects to *L. vannamei* sperm. This may be due to moisture properties affecting on balanced cell osmoregulation, which helps maintain live cells during preservation using hydrophobic

property for protecting fluid hydrolysis process¹⁰, as shown in Figure 3A. In contrast, dead cells are shown in Figure 3B. A report about the direct effect of cryoprotectant to osmotic pressure in black tiger shrimp (*P. monodon*) sperm during cryostorage led to a lot of sperm cell death by Vuthiphandchai¹⁹. Similarly, Nimrat¹⁰ indicated that use of mineral oil maintained the most suitable extender solution for prolonging sperm viability of *P. monodon* spermatophore reaching to 42 days storage period. This information suggested that the preservation of spermatophore at low temperature (4°C) in suitable extender solution could prolong the viability of sperm cells inside spermatophore during preservation¹¹. There was a decline of sperm viability percentage and spermatophore damage with an expanding spermatophore wall layer preserved in 0.85% NaCl, phosphate buffer and ringer solution after 4 days of storage. According to Braga⁸ and Daimond²⁰ discussed about the damage of spermatophore at outer layer wall related with mineral composition of extender solutions enriching nitrogen (N) and phosphorous (P) compounds, which can penetrate into

spermatophore layer to combine with seminal fluids. Hence, combination of these elements can cause bacterial proliferation within the layer of spermatophore, and reduce the percentage of sperm count as well as viable and normal sperm^{21,22,23}. Regardless of inferior capacity of Ca-F saline media compared to mineral oil, Ca-F saline was better than 0.85% NaCl, ringer solution and phosphate buffer for preserving spermatophore. Most studies on determination of preservation of crustacean spermatophore have been focused on Ca-F saline. Generally, this buffer was used to maintain osmotic stress between intracellular and extracellular of sperm cells for long-term preservation because the absence of Ca^{2+} element in Ca-F saline would not induce an acrosome reaction. Appearance of Ca^{2+} molecule in extender solution is directly associated with the signal transduction for production of cyclic adenosine monophosphate (cAMP) by adenylyl cyclase activity as well as phosphorylation of tyrosine protein to express response at the region of plasma membrane of sperm cell by opening Ca^{2+} channels for acrosomal reaction process²⁴.

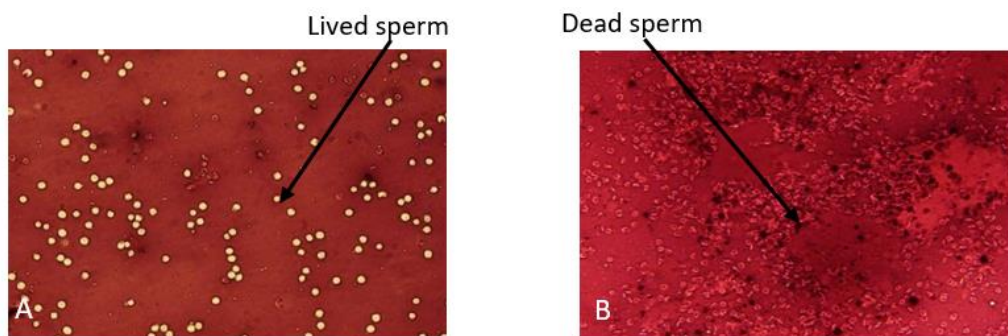


Figure 3. The photograph shows the sperm staining with eosin and nigrosine for *L. Vannamei*. sperm unstaining with red background shows live sperm (B) whereas dead cell (A) show red, under the light microscope with 10X magnification.

Preservation of *L. vannamei* spermatophore under low temperature (0-4°C) with mineral oil is the most suitable extender solution for prolonging sperm cell viability. Mineral oil has been popularly used for reducing sperm cell damage during short-term preservation of several species of marine shrimp spermatophore^{25,26,27,28}. However, an achievement with use of mineral oil solution for short-term storage in *L. vannamei* would be an importantly basic information for developing long-term storage protocol, such as cryopreservation.

Acknowledgement

The authors thank to T. Nichapha, B. Rishy their assistance with sample collection. Also, we wish to thank entrepreneur of shrimp farming for sample donation. Finally, we are very grateful to all staffs for guideline statistical analysis and supporting materials in this research.

References

1. Okomoda VT, Koh ICC, Shahreza SM. A simple technique for accurate estimation of fertilization rate with specific application to *Clarias gariepinus* (Burchell, 1822). *Aquac Res* 2017;49:1116–21.
2. Ferreira GS, Silva VF, Martins MA, Silva ACCP da, Machado C, Seiffert WQ, et al. Strategies for ammonium and nitrite control in *Litopenaeus vannamei* nursery systems with bioflocs. *Aquac Eng* 2020;88:102040.
3. Lotz JM, Soto MA. Model of white spot syndrome virus (WSSV) epidemics in *Litopenaeus vannamei*. *Dis Aquat Organ* 2002;50:199-209.
4. Zeng D, Chen X, Xie D, Zhao Y, Yang C, Li Y, et al. Transcriptome analysis of Pacific white shrimp (*Litopenaeus vannamei*) hepatopancreas in response to Taura syndrome Virus (TSV) experimental infection. *PloS One* 2013;8:e57515.

5. Zorriehzahra MJ, Banaederakhshan R. Early Mortality Syndrome (EMS) as new emerging threat in shrimp industry. *Adv Anim Vet Sci* 2015;3:64-72.
6. Rajendran KV, Shivam S, Praveena PE, Rajan JJS, Kumar TS, Avunje S, et al. Emergence of Enterocytozoon hepatopenaei (EHP) in farmed *Penaeus* (*Litopenaeus vannamei*) in India. *Aquaculture* 2016;454:272-80.
7. Kiatpathomchai W, Jaroenram W, Arunrut N, Gangnonngiw W, Boonyawiwat V, Sithigorngul P. Experimental infections reveal that common Thai crustaceans are potential carriers for spread of exotic Taura syndrome virus. *Dis Aquat Organ* 2008;79:183-90.
8. Braga A, Lopes D, Magalhães V, Klosterhoff MC, Romano LA, Poersch LH, et al. Hemocytic melanization in shrimp spermatophores. *Aquaculture* 2018;486:64-7.
9. Corral-Rosales DC, Ricque-Marie D, Cruz-Suárez LE, Arjona-López O, Rodríguez-Jaramillo C, Navarro C, et al. Reduction of spermatophore melanization in *Litopenaeus vannamei* shrimp fed *Ulva clathrata* during a commercial hatchery production. *Anim Reprod Sci* 2020;217:106468.
10. Nimrat S, Sangnawakij T, Vuthiphandchai V. Preservation of black tiger shrimp (*Penaeus monodon*) spermatophores by chilled storage. *J World Aquaculture Soc* 2005;26:76-86.
11. Guthrie HD, Welch GR, Theisen DD, Woods III LC. Effects of hypothermic storage on intracellular calcium, reactive oxygen species formation, mitochondrial function, motility, and plasma membrane integrity in striped bass (*Morone saxatilis*) sperm. *Theriogenology* 2011;75:951-61.
12. Kang X, Li G, Mu S, Guo M, Ge S. Acrosome reaction of Chinese mitten-handed crab *Eriocheir sinensis* (Crustacea: Decapoda) spermatozoa: Promoted by long-term cryopreservation. *Aquaculture* 2009;295:195-9.
13. Ishida T, Talbot P, Kooda-Cisco M. Technique for the long-term storage of lobster (*Homarus*) spermatophores. *Gamete Res* 1986;14:183-95.
14. Bugnot AB, Greco LSL. Structural alterations in the male reproductive system of the freshwater crayfish, *Cherax quadricarinatus* (Decapoda, Parastacidae). *J Invertebr Pathol* 2009; 102:160-6.
15. Chow S. Artificial insemination using preserved spermatophores in the palaemonid shrimp *Macrobrachium rosenbergii*. *Bull Japan Soc Sci Fish* 1982;48:1693-5.
16. Chow S, Taki Y, Ogasawara Y. Cryopreservation of spermatophore of the freshwater shrimp, *Macrobrachium rosenbergii*. *Biol Bull* 1985;168:471-5.
17. Nimrat S, Noppakun S, Sripuak K, Traimat B, Vuthiphandchai VV. Cryopreservation of banana shrimp (*Fenneropenaeus merguensis*) spermatophores with



- supplementation of medicinal plant extracts: Development of a programmable controlled-rate method and a practical method. *Aquaculture* 2020;515:734537.
18. Bart AN, Choosuk S, Thakur DP. Spermatophore cryopreservation and artificial insemination of black tiger shrimp, *Penaeus monodon* (Fabricius). *Aquac Res* 2006;37:523–8.
 19. Vuthiphandchai V, Nimrat S, Kotcharat S, Bart A. Development of a cryopreservation protocol for long-term storage of black tiger shrimp (*Penaeus monodon*) spermatophore. *Theriogenology* 2007;68:1192-9.
 20. Diamond S, Powell A, Shields RJ, Rowley AF. Is spermatophore melanisation in captive shrimp (*Litopenaeus vannamei*) a result of an autoimmune response? *Aquaculture* 2008;285:14-8.
 21. Brown A, McVey J, Middleditch BS, Lawrence AL. Maturation of shrimp (*Penaeus setiferous*) in captivity. *J World Maricult Soc* 1979;10:435-44.
 22. Rattanachuay P, Kantachote D, Tantirungkij M, Nitoda T, & Kanzaki H. Inhibition of shrimp pathogenic vibrios by extracellular compounds from a proteolytic bacterium *Pseudomonas* sp. W3. *Electron J Biotechnol* 2010;13(1).
 23. Alfaro-Montoya J. The reproductive conditions of male shrimps, genus *Penaeus*, sub-genus *Litopenaeus* (open thelyca penaeoid shrimps): A review. *Aquaculture* 2010;300:1-9.
 24. Pongtippatee P, Vanichviriyakit R, Chavadej J, Plodpai P, Pratoomchart B, Sobhon P, et al. Acrosome reaction in the sperm of the black tiger shrimp *Penaeus monodon* (Decapoda, Penaeidae). *Aquac Res* 2007;38:1635-44.
 25. Alfaro J, Komen J, Huisman EA. Cooling, cryoprotectant and hypersaline sensitivity of penaeid shrimp embryos and nauplius larvae. *Aquaculture* 2001;195:353-66.
 26. Nimrat S, Siriboonlamom S, Zhang S, Xu Y, Vuthiphandchai V. Chilled storage of white shrimp (*Litopenaeus vannamei*) spermatophores. *Aquaculture* 2006;261:944-51.
 27. Huang C, Dong Q, Walter RB, Tiersch TR. Sperm cryopreservation of green swordtail *Xiphophorus helleri*, a fish with internal fertilization. *Cryobiology* 2004;48:295-308.
 28. Vuthiphandchai V, Chomphuthawach S, Nimrat S. Cryopreservation of red snapper (*Lutjanus argentimaculatus*) sperm: Effect of cryoprotectants and cooling rates on sperm motility, sperm viability, and fertilization capacity. *Theriogenology* 2009;72:129-38.
 29. Chomphutawach S, Samosorn T, Juntaban J, Nuangsaeng B, Preechaphol R, Yuvanatemiy V, Nimrat S, Vuthiphandchai V. Evaluation of morphological and ultrastructural changes of black tiger shrimp (*Penaeus monodon*) spermatophore. *IOSR-JESTFT* 2015;9:34-40.

การพัฒนาผลิตภัณฑ์ครีมบำรุงผิวจากสารสกัดสมุนไพรใบมะรุมออกฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระ Development of Skin Care Product from Leaves of *Moringa oleifera* Herbal Extracts with Antioxidant Activities

เขมิกา เคียงณฟ้า มานอก^{*1}, ชารินทร์ แจงกลาง², ปาริชาติ จิวรักษ์³ และศศิธร ไก่แก้ว⁴

Khemika Kieng Na Fah Manok^{*1}, Charinan Jangklang², Parichat Chiworarak³ and Sasithorn Kaikaeo⁴

¹สาขาวิชาเภสัชกรรมไทย คณะวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยี มหาวิทยาลัยราชภัฏบ้านสมเด็จเจ้าพระยา

²สาขาวิชาการแพทย์แผนไทย คณะวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยี มหาวิทยาลัยราชภัฏบ้านสมเด็จเจ้าพระยา

³คลินิกการแพทย์แผนไทยหม่อมราชวงศ์ สะอาด ทินกร

⁴บริษัท มาตัง คอสเมติก จำกัด

¹ Thai Traditional Pharmacy Program, Faculty of Science and Technology, Bansomdejchaopraya Rajabhat University

² Thai Traditional Medicine Program, Faculty of Science and Technology, Bansomdejchaopraya Rajabhat University

³ M.R. Saard Traditional Medicine Clinic

⁴ Matang Cosmetic Co, Ltd.

*Corresponding author; E-mail: suchada.ma@bsru.ac.th

Received: 16 June 2024 /Revised: 05 October 2024 /Accepted: 05 October 2024

บทคัดย่อ

สารสกัดสมุนไพรถูกนำมาใช้อย่างกว้างขวางในการแก้ปัญหาสุขภาพผิวที่เสื่อมลงจากมลภาวะและแสงแดดที่ก่อให้เกิดอนุมูลอิสระทำลายชั้นผิว จากการศึกษาพบว่าสมุนไพรหลายชนิดมีความสามารถในการต้านอนุมูลอิสระ จึงมีการนำสารสกัดจากธรรมชาติมาเป็นส่วนผสมในผลิตภัณฑ์เวชสำอางมากขึ้น งานวิจัยนี้มีวัตถุประสงค์เพื่อ 1) ศึกษาการออกฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระของสารสกัดเอทานอลจากสมุนไพร 5 ชนิด ได้แก่ ใบมะรุม, ใบหม่อน, ใบบัวบก, ดอกอัญชัน และแครอท 2) พัฒนาผลิตภัณฑ์ครีมจากสารสกัดสมุนไพรที่ออกฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระ และ 3) ศึกษาความคงตัวทางกายภาพและทางเคมีของผลิตภัณฑ์ วิธีการดำเนินการวิจัยแบ่งออกเป็น 3 ขั้นตอนคือ ขั้นที่ 1 การเตรียมสารสกัดสมุนไพรโดยวิธีการแช่หมัก ขั้นที่ 2 ศึกษาฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระของสารสกัดสมุนไพรด้วยวิธี DPPH, ABTS และ FRAP ขั้นที่ 3 พัฒนารับครีมและทดสอบความคงตัวทางกายภาพและทางเคมีในสภาวะเร่งด้วยอุณหภูมิ ผลการศึกษาพบว่าสารสกัดใบมะรุมมีฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระสูงสุดในวิธี DPPH ($304.254 \pm 26.665 \mu\text{g/ml}$) และวิธี FRAP ($2.031 \pm 0.255 \text{ mM Fe}^{2+}/\text{mg}$) ในขณะที่สารสกัดแครอทสามารถต้านอนุมูลอิสระในวิธี ABTS ได้สูงที่สุด มีค่า VEAC เท่ากับ $0.172 \pm 0.040 \text{ mM/mg}$ ดังนั้นนำสารสกัดใบมะรุมมาพัฒนารับครีมสำหรับผิวเทียบกับครีมควบคุมที่ผ่านสภาวะเร่งด้วยอุณหภูมิ และจากผลการศึกษาความคงตัวพบว่าตำรับครีมจากสารสกัดใบมะรุมมีค่าการต้านอนุมูล DPPH ที่คงตัว (78.619 - 95.853%)

ลักษณะเนื้อครีมไม่แยกชั้น สีและกลิ่นเปลี่ยนแปลงเล็กน้อย ในขณะที่ค่าความเป็นกรดต่าง (pH เท่ากับ 6.12 ถึง 6.30) ค่าความหนืด (10,900.00 ถึง 14,626.66 cP) เป็นไปตามมาตรฐานผลิตภัณฑ์บำรุงผิวผสมสมุนไพร

คำสำคัญ: สารต้านอนุมูลอิสระ ผลิตภัณฑ์ดูแลผิว ใบมะรุม

Abstract

Herbal extracts are widely used to cure unhealthy and damaged skin by pollution and free radicals caused by sunlight exposure. Studies have revealed many herbs that possess antioxidant properties. Therefore, natural extracts are increasingly being used as active ingredients in cosmeceutical products. The research aimed to 1) investigate the antioxidant activities of ethanol extracts from 5 herbal plants which consist of leaves of *Moringa oleifera*, *Morus alba*, *Centella asiatica*, flower of *Clitoria ternate*, and root of *Daucus carota* 2) develop a cream product from herbal extracts that have an antioxidant effect and 3) study physical and chemical stability of product. The research approach is broken down into the following 3 steps: The first step is preparation of herbal extracts by maceration method. In the second step, antioxidant activities were studied using 2,2-diphenyl-1-picrylhydrazyl radical (DPPH), 2,2'-azino-bis(3-ethylbenzthiazoline-6-sulphonic acid) (ABTS) and Ferric reducing ability power (FRAP) assay. The third step involves developing a cream product and testing for physical and chemical stability under accelerated temperature conditions. The results showed that leaves of *Moringa oleifera* extract possessed the highest antioxidant activity in DPPH ($304.254 \pm 26.665 \mu\text{g/ml}$) and FRAP ($2.031 \pm 0.255 \text{ mM Fe}^{2+} / \text{mg}$) methods. While ABTS method showed the highest antioxidant effect of root of *Daucus carota* extract with a VEAC value of $0.172 \pm 0.040 \text{ mM/mg}$. Therefore, leaves of *Moringa oleifera* extract were chosen to be developed as a cream for skin care compared with control cream under accelerated temperature conditions. From the results of the stability study, we have found that the cream formula from leaves of *Moringa oleifera* extract had a stable DPPH antioxidant value (78.619 - 95.853%). The texture of the cream was not separated into layers, but its color and scent were changed slightly. While the pH (6.12 to 6.30) and viscosity values (10,900.00 to 14,626.66 cP) were found to comply with the standards for herbal skin care products.

Keywords: Antioxidant activity, Skin care product, leaves of *Moringa oleifera*



บทนำ

ปัจจุบันปัญหาเรื่องผิวที่มีสาเหตุจากอนุมูลอิสระอันเนื่องมาจากการเผชิญมลภาวะทางอากาศและรังสียูวี (Ultraviolet-ray) การได้รับรังสีอัลตราไวโอเลตบี (UV-B) ซ้ำ ๆ ทำให้เกิดความเสียหายต่อ DNA และการทำงานของโครงสร้างผิวหนึ่งส่งผลให้เกิดกระบวนการชราของผิวที่เรียกว่า Photoaging ในขณะเดียวกันรังสีอัลตราไวโอเลตเอ (UV-A) ที่มีความยาวคลื่นยาวกว่าสามารถแทรกซึมเข้าสู่ชั้นหนังแท้ของผิวหนังได้ลึกกว่า แต่ไม่ทำลายโครงสร้างของ DNA สำหรับกระบวนการเกิด Photoaging จะมีลักษณะเป็นริ้วรอยเนื่องจากความเสียหายของชั้นคอลลาเจนที่เกิดจากการก่อตัวและโดนทำลายของอนุมูลอิสระ ROS ซึ่งการได้รับแสงยูวีเป็นเวลานานจะทำให้ Matrix Metalloprotein 1 (MMP-1) ที่เป็นเอนไซม์หลักในการเพิ่มการย่อยสลายคอลลาเจนสูงขึ้นได้¹⁻² อีกทั้งอนุมูลอิสระยังเป็นตัวการไปกระตุ้นให้คอลลาเจนใต้ผิวหนังสลายเร็วขึ้น ทำให้การรักษาความชุ่มชื้นและความยืดหยุ่นภายใต้ชั้นผิวหนังลดลง จึงเกิดการเหี่ยวย่นและริ้วรอย ผิวแห้งแตกลาย หมองคล้ำตามมา สารต้านอนุมูลอิสระจึงถูกนำมาใช้กันอย่างแพร่หลายในการลดและปกป้องผิวจากอันตรายของรังสีอัลตราไวโอเลต ซึ่งสารต้านอนุมูลอิสระจากธรรมชาติที่ได้จากพืชสมุนไพรและผลไม้มีผลข้างเคียงน้อยกว่าสารสังเคราะห์ที่ผลิตขึ้น³⁻⁴ อีกทั้งพืชสมุนไพรหรือผลไม้ยังอุดมไปด้วยกลุ่มของสารทุติยภูมิ (Secondary metabolites) ที่สามารถทำหน้าที่เป็นสารต้านอนุมูลอิสระทางชีวภาพได้⁵ เช่น สารกลุ่มฟ

ลาโวนอยด์เป็นสารต้านอนุมูลอิสระที่สามารถให้อะตอมไฮโดรเจนเพื่อป้องกันการเกิดอนุมูลตัวใหม่ที่ส่งผลต่อความเสียหายของเซลล์ได้⁶ ในขณะที่สารประกอบฟีนอลสามารถทำลายการเกิดปฏิกิริยาลูกโซ่ (Chain reaction) และทำให้ปฏิกิริยาการเกิดอนุมูลอิสระสิ้นสุดลง⁷ ทั้งนี้ทางคณะผู้วิจัยได้ศึกษาสมุนไพร 5 ชนิด คือ ใบมะรุม (*Morinda oleifera* Lam.), ดอกอัญชัน (*Clitoria ternatea* L.), ใบหม่อน (*Morus alba* Linn.), ใบบัวบก (*Centella asiatica* L.Urb.) และแครอท (*Daucus carota* Linn.) เนื่องจากเป็นพืชผักสมุนไพรที่หาได้ง่ายตามท้องตลาดและในบางชุมชนยังมีปลูกใช้ตามครัวเรือนอยู่แล้ว โดยนำมาสกัดและทดสอบฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระเพื่อคัดเลือกสารสกัดที่เหมาะสมมาพัฒนาผลิตภัณฑ์เวชสำอางจากสมุนไพรสำหรับการบำรุงผิวด้านอนุมูลอิสระที่มีประสิทธิภาพ เพื่อสร้างความเชื่อมั่นในผลิตภัณฑ์ที่พัฒนาจากกระบวนการวิจัยทางวิทยาศาสตร์ในห้องปฏิบัติการ และก่อให้เกิดการต่อยอดมูลค่าทางเศรษฐกิจในเชิงพาณิชย์ต่อไปในอนาคต ซึ่งจากการศึกษาตัวอย่างงานวิจัยยังพบว่า มีการนำสารสกัดใบมะรุมมาทำเป็นผลิตภัณฑ์เจลบำรุงผิวด้านอนุมูลอิสระ⁸ ในรายงานของ Kehinde และ Abass⁹ ยังพบว่าส่วนของใบมีปริมาณฟีนอลิก วิตามินซี และความสามารถในการรีดิวซ์ได้สูง ในขณะที่ส่วนของรากจะมีปริมาณฟลาโวนอยด์สูงกว่าเปลือกต้น เมล็ด และใบ ตามลำดับ การศึกษาของสารสกัดใบหม่อนสามารถใช้เป็นสารต้านอนุมูลอิสระ¹⁰⁻¹¹ ลดความอ้วน¹²⁻¹³ ลดน้ำตาลในเลือดได้¹⁴ อีกทั้งสารสกัดใบบัวบกมี

ระดับสารต้านอนุมูลที่เทียบเคียงกับสารสกัดโรสแมรี่ (Rosemary) และเสจ (Sage) ได้¹⁵ รวมถึงมีการใช้สารสกัดดอกอัญชันในครีม 5% ยับยั้ง MMP-1 และลดปริมาณการสลายคอลลาเจนในชั้นหนังแท้ของหนูวิสตาที่ได้รับรังสียูวี¹ ในขณะที่สารสกัดแคโรทีนช่วยปกป้องชั้นผิวหนัง (Fibroblasts) และป้องกันการตายของเซลล์ได้¹⁶ ซึ่งในงานวิจัยนี้ทำการทดสอบคุณสมบัติในการเป็นสารต้านอนุมูลอิสระของสมุนไพรทั้ง 5 ชนิด จากกลไกการทำงานที่แตกต่างกันด้วยวิธี DPPH ซึ่งอาศัยหลักการขจัดอนุมูลอิสระด้วยการให้อะตอมไฮโดรเจน ในขณะที่วิธี ABTS เกิดจากการที่สารต้านอนุมูลอิสระให้อิเล็กตรอนแก่อนุมูลเปอร์ออกซี ส่วนวิธี FRAP จะอาศัยหลักการของปฏิกิริยารีดักชันในการรับอิเล็กตรอนของ Ferric tripyridyltriazine (Fe^{3+} - TPTZ) จากสารต้านอนุมูลอิสระทั้ง 3 วิธีเหมาะสำหรับการทดสอบในระบบสารละลายที่ค่อนข้างมีชีวปฏิกิริยาถึงสูง

วิธีดำเนินการวิจัย

1. การเตรียมสารสกัด

ตัวอย่างสมุนไพรสด 5 ชนิด ได้แก่ ใบมะรุม และใบหม่อน ได้รับจากอำเภอบ้านไร่ จังหวัดอุทัยธานี ดอกอัญชัน, ใบบัวบก และแคโรทีน จากเขตธนบุรี จังหวัดกรุงเทพมหานคร นำมาล้างทำความสะอาด ผึ่งให้แห้ง อบที่อุณหภูมิ 50°C และบดเป็นผง ซึ่งตัวอย่างผงสมุนไพรแต่ละชนิดจำนวน 100 g นำไปแช่ (Maceration) ใน 95% เอทานอล เก็บในที่มืด ณ อุณหภูมิห้องเป็นเวลา 3 วัน นำมากรองแยกกากและระเหยตัวทำละลายออกโดยใช้เครื่องระเหยแห้งระบบสุญญากาศแบบหมุน

(Rotary evaporator) เก็บสารสกัดที่ได้ในตู้เย็นเพื่อใช้ในการวิเคราะห์ลำดับต่อไป

2. การทดสอบฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระโดยวิธี

DPPH assay¹⁷

เตรียมสารละลาย 2,2-diphenyl-1-picrylhydrazyl radical (DPPH radical) ในเมทานอล ความเข้มข้น 0.2 มิลลิโมลาร์ และสารตัวอย่าง (Stock solution) ที่ความเข้มข้น 50,000 ไมโครกรัม/มิลลิลิตร โดยชั่งสารสกัดสมุนไพร 0.25 กรัม ละลายในเอทานอล 5 มิลลิลิตร จากนั้นเจือจางสารละลายให้มีความเข้มข้นในช่วง 2,000 – 10,000 ไมโครกรัม/มิลลิลิตร นำไปศึกษาความสามารถในการต้านอนุมูลอิสระ DPPH โดยแบ่งชุดการทดสอบเป็น 4 ชุด คือ A, B และ C ดังนี้ ชุด A (Sample) เติมตัวอย่าง 100 ไมโครลิตร และ DPPH 100 ไมโครลิตร ชุด B (Blank of sample) เติมตัวอย่าง 100 ไมโครลิตร และเมทานอล 100 ไมโครลิตร ชุด C (Control) เติมเมทานอล 100 ไมโครลิตร และ DPPH 100 ไมโครลิตร ชุด D (Blank of control) เติมเมทานอล 200 ไมโครลิตร เขย่าให้เข้ากันและตั้งทิ้งไว้ในที่มืด 30 นาที นำไปวัดค่าการดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 517 นาโนเมตร ด้วยเครื่องอ่านไมโครเพลต (Microplate reader) ทำการทดลองซ้ำ 3 ครั้ง แล้วหาค่าเฉลี่ย เปรียบเทียบกับสารมาตรฐานกรดแอสคอร์บิก (Ascorbic acid) โดยคำนวณ % radical scavenging จากสมการและหาค่า IC_{50} (ค่าความเข้มข้นของสารสกัดที่ยับยั้งอนุมูล 2,2-diphenyl-1-picrylhydrazyl radical (DPPH) ที่ร้อยละ 50 ในหน่วยความ

เข้มข้นไมโครกรัม/มิลลิลิตร ($\mu\text{g/ml}$) จากผลการทดลองที่ได้

$$\% \text{ radical scavenging} = \frac{[(A_{\text{control}} - A_{\text{blank control}}) - (A_{\text{sample}} - A_{\text{blank sample}})]}{(A_{\text{control}} - A_{\text{blank control}})} \times 100$$

3. การทดสอบฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระโดยวิธี ABTS assay¹⁸⁻¹⁹

เตรียมสารละลาย 2,2'-azino-bis (3-ethylbenzthiazoline-6-sulphonic acid) (ABTS) ความเข้มข้น 7 มิลลิโมลาร์ และสารละลายโพแทสเซียมเปอร์ซัลเฟต (Potassium persulfate) ความเข้มข้น 2.45 มิลลิโมลาร์ นำสารละลายทั้งสองมาผสมกันในอัตราส่วน 1 : 0.5 ตามลำดับ ตั้งทิ้งไว้ในที่มืด 12 - 16 ชั่วโมง ก่อนนำไปใช้งาน เจือจางสารละลาย ABTS⁺⁺ ด้วยเอทานอลให้มีค่าการดูดกลืนแสงอยู่ในช่วง 0.70 ± 0.02 ที่ความยาวคลื่น 734 นาโนเมตร จากนั้นนำสารตัวอย่าง (Stock solution) ที่ความเข้มข้นเริ่มต้น 50,000 ไมโครกรัม/มิลลิลิตร มาเจือจางสารละลายให้มีความเข้มข้นในช่วง 1,000 – 3,000 ไมโครกรัม/มิลลิลิตร นำไปศึกษาความสามารถในการต้านอนุมูลอิสระ ABTS⁺⁺ โดยแบ่งชุดการทดสอบเป็น 4 ชุด คือ A, B, C และ D ดังนี้ ชุด A (Sample) เติมตัวอย่าง 100 ไมโครลิตร และ ABTS⁺⁺ 100 ไมโครลิตร ชุด B (Blank of sample) เติมตัวอย่าง 100 ไมโครลิตร และเอทานอล 100 ไมโครลิตร ชุด C (Control) เติมเอทานอล 100 ไมโครลิตร และ ABTS⁺⁺ 100 ไมโครลิตร ชุด D (blank of control) เติมเอทานอล 200 ไมโครลิตร เขย่าให้เข้ากันและตั้งทิ้งไว้ 6 นาที นำไปวัดค่าการดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 734 นาโนเมตร ด้วยเครื่องอ่านไมโครเพลต (Microplate reader)

$$(A_{\text{control}} - A_{\text{blank control}})$$

ทำการทดลองซ้ำ 3 ครั้ง แล้วหาค่าเฉลี่ย โดยเปรียบเทียบกับกราฟของสารมาตรฐานกรดแอสคอร์บิก (Ascorbic acid) รายงานค่า Ascorbic acid equivalent antioxidant capacity (VEAC) ในหน่วยมิลลิโมลาร์/มิลลิกรัมของสารสกัด (ความสามารถในการต้านอนุมูลอิสระ 2,2'-azino-bis(3 -ethylbenzthiazoline-6-sulphonic acid) (ABTS) เมื่อเทียบเท่ากับสารกรดแอสคอร์บิกในหน่วยมิลลิโมลาร์/มิลลิกรัมของสารสกัด (mM/mg))

4. การทดสอบฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระโดยวิธี FRAP assay²⁰⁻²¹

เตรียมสารละลาย FRAP reagent จากสารละลายอะซีเตตบัฟเฟอร์ความเข้มข้น 300 มิลลิโมลาร์ pH 3.6, สารละลาย 10 มิลลิโมลาร์ TPTZ ในกรดไฮโดรคลอริก (HCl) ความเข้มข้น 40 มิลลิโมลาร์ และสารละลายเฟอร์ริกคลอไรด์เฮกซะไฮเดรต ($\text{FeCl}_3 \cdot 6\text{H}_2\text{O}$) ความเข้มข้น 20 มิลลิโมลาร์ โดยนำสารละลายทั้ง 3 มาผสมกันในอัตราส่วน 10 : 1 : 1 ตามลำดับ จากนั้นนำสารตัวอย่าง (Stock solution) ที่ความเข้มข้นเริ่มต้น 50,000 ไมโครกรัม/มิลลิลิตร มาเจือจางสารละลายให้มีความเข้มข้นในช่วง 1,000 – 3,000 ไมโครกรัม/มิลลิลิตร นำไปศึกษาความสามารถในการต้านอนุมูลอิสระในการรีดิวซ์ปฏิกิริยาของ FRAP โดยแบ่งชุดการทดสอบเป็น 3 ชุด คือ A, B และ C ดังนี้ ชุด A (Sample) เติมตัวอย่าง 10 ไมโครลิตร และ FRAP 200 ไมโครลิตร ชุด B (Blank of sample)



เติมตัวอย่าง 10 ไมโครลิตร และสารละลาย
อะซิเตตบัฟเฟอร์ pH 3.6 200 ไมโครลิตร ชุด C
(Control) เติมเอทานอล 100 ไมโครลิตร และ
FRAP 200 ไมโครลิตร เขย่าให้เข้ากันและตั้งทิ้งไว้
4 นาที นำไปวัดค่าการดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น
593 นาโนเมตร ด้วยเครื่องอ่านไมโครเพลต
(Microplate reader) ทำการทดลองซ้ำ 3 ครั้ง แล้ว
หาค่าเฉลี่ย จากนั้นหาค่าการดูดกลืนแสงจาก
สมการ

$$\text{Absorbance} = A - B - C$$

นำค่า Absorbance ที่ได้ไปเปรียบเทียบกับ
กราฟของสารมาตรฐานเฟอรัสซัลเฟต

(Ferrous sulfate, FeSO_4) แล้วคำนวณค่า Ferric
reducing ability power (FRAP value): ความสามารถในการ
รีดิวซ์สารประกอบเชิงซ้อน Fe^{3+} -TPTZ ไปเป็น
 Fe^{2+} -TPTZ เมื่อเทียบกับสารเฟอรัสซัลเฟตใน
หน่วยมิลลิโมลาร์ของเฟอรัส (II) ไอออน/มิลลิกรัม
ของสารสกัด ($\text{mM Fe}^{2+} / \text{mg dried extract}$)

5. การพัฒนาตำรับครีมจากสารสกัดสมุนไพร

คัดเลือกสารสกัดสมุนไพรที่มีปริมาณสาร
ต้านอนุมูลอิสระสูงที่สุดจำนวน 1 ชนิด นำมา
พัฒนาเป็นผลิตภัณฑ์ครีม ในรูปแบบน้ำมันในน้ำ
(oil in water, O/W) จากสูตรดัง Table 1

Table 1. Ingredients of cream formula

No.	Component	Herbal formula (% w/w)	Control formula (% w/w)
Oil phase			
1	Cetomacrogol 1000 (Cremophore A25)	2.5	2.5
2	Cetomacrogol 4000 (Cremophore A6)	2.5	2.5
3	Light liquid paraffin (White oil)	2	2
4	Stearyl alcohol	2	2
5	Cetyl alcohol	5	5
6	Dimethicone	1.5	1.5
7	Glycerine	1.5	1.5
8	Hard Paraffin Wax	1	1
9	DC 200/100 (TSF451/100)	0.5	0.5
10	Glycerylmonostearate	2	2
11	Coconut oil	0.5	0.5
Water phase			
12	Propylene glycol (Mono propylene)	2	2
13	Butylene Glycol	1	1
14	Sodium PCA	1	1
15	Tween 20	0.4	0.4



Table 1. Ingredients of cream formula (continue.)

No.	Component	Herbal formula (% w/w)	Control formula (% w/w)
Water phase			
16	Disodium EDTA	0.02	0.02
17	DI Water	74.08	74.18
Others			
18	Phenoxyethanol	0.4	0.4
19	<i>Moringa oleifera</i> extract	0.1	-
20	Perfume (Fantasia)	qs	qs

Remark: The amount of herbal extract added to the formula was equal to 5 times the IC50 value. Antioxidant values were obtained by using the DPPH method. The amount does not exceed Thai Industrial Standards Institute (TISI), 15-2562.

วิธีเตรียม

ซึ่งสารทุกตัวตามสูตร นำสารที่เป็นวัฏภาคน้ำมัน (ลำดับที่ 1-11) มาหลอมรวมกันในปีกเกอร์ที่อุณหภูมิ 75 องศาเซลเซียส คนด้วยแท่งแก้วให้เข้ากัน นำสารในส่วนวัฏภาคน้ำ (ลำดับที่ 12-17) หลอมรวมกันในปีกเกอร์ที่อุณหภูมิ 70 องศาเซลเซียส จนหลอมเหลวหมด จากนั้นเทวัฏภาคน้ำมันลงในวัฏภาคน้ำผสมให้เข้ากัน เมื่ออุณหภูมิลดลงที่ 45 องศาเซลเซียส จึงใส่สารสกัดสมุนไพร สารกันเสีย และสารแต่งกลิ่น (ลำดับที่ 18-20) ผสมให้เข้ากันจนเป็นเนื้อครีม

6. การทดสอบความคงตัวของผลิตภัณฑ์

สำหรับการศึกษาความคงตัวของทางกายภาพ และทางเคมีของผลิตภัณฑ์นั้นจะทำการทดสอบในสภาวะการเร่งด้วยอุณหภูมิ เพื่อเป็นแนวทางในการกำหนดอายุของผลิตภัณฑ์ ดังนี้คือ

1. การเร่งด้วยอุณหภูมิ (Heating cooling cycle) โดยการเก็บผลิตภัณฑ์ที่เตรียมเสร็จ แบ่งใส่ขวดแก้วหรือหลอดที่ปิดฝาเก็บไว้ที่อุณหภูมิ 4 องศาเซลเซียส นาน 48 ชั่วโมง จากนั้นนำมาเก็บไว้ที่อุณหภูมิ 45 องศาเซลเซียส นาน 48 ชั่วโมง นับเป็น

1 รอบ ทดสอบ 6 - 8 รอบ แล้วบันทึกผลความคงตัวของทางกายภาพและทางเคมี ดังนี้

1.1 ความคงตัวของทางกายภาพ: ทำการวัดค่า pH ของตำรับที่สุ่มมาด้วยเครื่องวัดค่าความเป็นกรด-ด่าง (pH meter) และวัดความหนืดด้วยเครื่องวัดความหนืด (Viscometer) รวมถึงตรวจสอบลักษณะทางกายภาพอื่น ๆ ที่สังเกตเห็นได้ด้วยตาเปล่า (organoleptic) เช่น สี, กลิ่น, เนื้อสัมผัส ฯ เป็นต้น

1.2 ความคงตัวของทางเคมี : ศึกษาฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระในเชิงปริมาณของผลิตภัณฑ์ นำมาทดสอบด้วยวิธี DPPH assay โดยชั่งครีมมา 10 กรัม ละลายด้วยเมทานอล 10 มิลลิลิตร แบ่งชุดการทดสอบเป็น 3 ชุด คือ A, B, C และ D ดังนี้ ชุด A (Sample) สารละลายครีม 2 มิลลิลิตร เติม DPPH 4 มิลลิลิตร ชุด B (Blank of sample) สารละลายครีม 2 มิลลิลิตร เติม MeOH 4 มิลลิลิตร ชุด C (Control) เมทานอล 2 มิลลิลิตร เติม DPPH 4 มิลลิลิตร ชุด D (Blank of control) เมทานอล 6 มิลลิลิตร ชุดการทดสอบทั้งหมด ตั้งทิ้งไว้ในที่มืด 30 นาที นำไปปั่นเหวี่ยง 3 นาที ที่ 5,000 รอบต่อนาที ปิเปตส่วนใส 200 ไมโครลิตร



ลงใน 96-well plate นำไปวัดค่าการดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 517 นาโนเมตร ด้วยเครื่องอ่านไมโคร

เพลต (Microplate reader) ทำการทดลองซ้ำ 3 ครั้ง หาค่าเฉลี่ย คำนวณ % radical scavenging ดังสมการ

$$\% \text{ radical scavenging} = \frac{[(A_{\text{control}} - A_{\text{blank control}}) - (A_{\text{sample}} - A_{\text{blank sample}})]}{(A_{\text{control}} - A_{\text{blank control}})} \times 100$$

7. การวิเคราะห์ข้อมูล

วิเคราะห์ข้อมูลและนำเสนอด้วยสถิติพื้นฐาน ได้แก่ ค่าเฉลี่ย และส่วนเบี่ยงเบนเฉลี่ย ในการทดสอบฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระ DPPH, ABTS และ FRAP ใช้สถิติ One-way ANOVA เปรียบเทียบความแตกต่างของค่าเฉลี่ยข้อมูลด้วยวิธี Duncan และใช้สถิติ Repeated measures ANOVA ในการวิเคราะห์ความแปรปรวนของการศึกษาความคงตัวของเคมี (ฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระ) ของตำรับ โดยเปรียบเทียบความแตกต่างของค่าเฉลี่ยเป็นรายคู่ด้วยวิธี Duncan กำหนดระดับนัยสำคัญทางสถิติที่ 0.05

ผลการวิจัย

1. ผลการศึกษาการสกัดและการทดสอบฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระ

จากการเตรียมสารสกัดสมุนไพรทั้ง 5 ชนิด ได้แก่ ใบมะรุม, ใบบัวบก, ดอกอัญชัน, ใบหม่อน, และแครอท โดยวิธีแช่หมักด้วยตัวทำละลาย 95% เอทานอล พบว่าสารสกัดดอกอัญชันให้ร้อยละผลผลิตสูงที่สุดเท่ากับ 12.36 รองลงมาคือสารสกัดใบมะรุม ใบบัวบก แครอท ให้ร้อยละผลผลิตเท่ากับ 9.48, 9.39 และ 8.00 ตามลำดับ ในขณะที่สารสกัดใบหม่อนให้ร้อยละผลผลิตน้อยที่สุดเท่ากับ 7.70 เมื่อเปรียบเทียบกับสารสกัดสมุนไพรทั้ง 5 ชนิด เมื่อทำการทดสอบฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระโดยวิธี DPPH พบว่า สารสกัดใบมะรุมสามารถ

ต้านอนุมูลอิสระได้สูงที่สุดโดยมีค่า IC_{50} เท่ากับ 304.254 ± 26.665 ไมโครกรัม/มิลลิลิตร ในขณะที่สารสกัดแครอทสามารถต้านอนุมูลอิสระได้น้อยที่สุด ($IC_{50} = 1,253.593 \pm 53.701$ ไมโครกรัม/มิลลิลิตร) จากผลค่าการวิเคราะห์ทางสถิติ พบว่า สารสกัดใบมะรุมและใบบัวบกสามารถต้านอนุมูลอิสระได้ไม่แตกต่างกันในวิธี DPPH และเมื่อเปรียบเทียบกับสารมาตรฐาน พบว่า สารสกัดทั้งหมดสามารถต้านอนุมูลอิสระได้น้อยกว่ากรดแอสคอร์บิก ($IC_{50} = 30.557 \pm 2.188$ ไมโครกรัม/มิลลิลิตร) ส่วนการทดสอบฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระด้วยวิธี ABTS พบว่า สารสกัดแครอทสามารถต้านอนุมูลอิสระได้สูงที่สุดมีค่า VEAC เท่ากับ 0.172 ± 0.040 มิลลิโมลาร์/มิลลิกรัม และดอกอัญชันสามารถต้านอนุมูลอิสระได้ต่ำที่สุด มีค่า VEAC เท่ากับ 0.004 ± 0.000 มิลลิโมลาร์/มิลลิกรัม โดยที่สารสกัด 4 ชนิด คือ ใบมะรุม, ใบบัวบก, ดอกอัญชัน และใบหม่อนสามารถต้านอนุมูลอิสระได้ไม่แตกต่างกันในวิธี ABTS ในขณะที่การทดสอบด้วยวิธี FRAP พบว่าสารสกัดใบมะรุมสามารถต้านอนุมูลอิสระสูงที่สุดมีค่า FRAP เท่ากับ 2.031 ± 0.255 มิลลิโมลาร์ของเฟอร์รัส (II) ไอออน/มิลลิกรัม และสารสกัดแครอทสามารถต้านอนุมูลอิสระได้ต่ำที่สุดมีค่า FRAP เท่ากับ 0.507 ± 0.031 มิลลิโมลาร์ของเฟอร์รัส (II) ไอออน/มิลลิกรัม แสดงดัง Table 2

**Table 2.** Comparison of antioxidant activities of 5 herbal extracts in DPPH, ABTS and FRAP assay

Sample	% yield	Result of antioxidant activities		
		DPPH assay	ABTS assay	FRAP assay
		IC ₅₀ ± SEM (µg/ml)	VEAC ± SEM (mM/mg)	FRAP ± SEM (mM Fe ²⁺ /mg)
ใบมะรุม	9.48	304.254 ± 26.665 ^b	0.011 ± 0.003 ^b	2.031 ± 0.255 ^a
ใบบัวบก	9.39	343.482 ± 1.812 ^b	0.006 ± 0.002 ^b	1.200 ± 0.069 ^{b,c}
ดอกขี้เหล็ก	12.36	639.705 ± 27.698 ^c	0.004 ± 0.000 ^b	0.837 ± 0.056 ^{c,d}
ใบหม่อน	7.70	645.272 ± 30.729 ^c	0.005 ± 0.001 ^b	1.305 ± 0.075 ^b
แคระอท	8.00	1,253.593 ± 53.701 ^d	0.172 ± 0.040 ^a	0.507 ± 0.031 ^d
กรดแอสคอร์บิก	-	30.557 ± 2.188 ^a	-	-

Remark: Different letters in the same column are significantly different ($p < 0.05$). Standard error of mean; SEM (n=3)

2. ผลการทดสอบความคงตัวของผลิตภัณฑ์ครีมสำหรับผิว

จากการวิเคราะห์ปริมาณสารต้านอนุมูลอิสระของสารสกัดสมุนไพรทั้ง 5 ชนิด ได้คัดเลือกตัวอย่างสารสกัด 1 ชนิดจากสารสกัดทั้งหมดเพื่อนำมาพัฒนาเป็นส่วนผสมในตำรับครีมอิมัลชันวุ้นภาคน้ำมันในน้ำ โดยการเปรียบเทียบปริมาณสารต้านอนุมูลอิสระพบว่า ใบมะรุมมีฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระสูงสุดในวิธี DPPH และ FRAP จึงนำสารสกัดใบมะรุมมาพัฒนาเป็นส่วนผสมในตำรับเปรียบเทียบกับตำรับควบคุมที่ไม่ผสมสารสกัดนำไปทดสอบความคงตัวทางเคมีและกายภาพที่สภาวะสลับร้อนสลับเย็น (Heating cooling cycle ; HT)

เป็นจำนวน 6 รอบ พบว่าตำรับครีมจากสารสกัดใบมะรุมสามารถต้านอนุมูลอิสระได้สูงกว่าตำรับควบคุม โดยมีค่า % radical scavenging อยู่ในช่วง 78.619 ± 0.464 ถึง $95.853 \pm 2.093\%$ แสดงดัง Table 3 โดยมีค่า pH และความหนืดอยู่ในช่วง 6.12 ± 0.14 ถึง 6.30 ± 0.08 และ $10,900.00 \pm 274.95$ ถึง $14,626.66 \pm 846.71$ cP ตามลำดับ แสดงดัง Figure 1 และ 2 ในขณะที่ครีมตำรับควบคุมมีค่า % radical scavenging, ค่า pH และความหนืดอยู่ในช่วง 26.782 ± 5.570 ถึง $44.758 \pm 2.677\%$, 6.07 ± 0.10 ถึง 6.44 ± 0.18 และ $10,486.66 \pm 1,505.36$ ถึง $14,606.66 \pm 1,582.06$ cP ตามลำดับ



Table 3. Chemical stability test of antioxidant activities in *Moringa oleifera* extract cream compared with control cream at the heating-cooling cycle condition

Chemical stability at the heating-cooling cycle condition		
Cycle	% radical scavenging of cream products by using DPPH assay	
	<i>Moringa oleifera</i> extract cream (%)	<i>Moringa oleifera</i> extract cream (%)
0	$84.310 \pm 6.864^{b,c}$	33.999 ± 3.203^{ab}
1	78.679 ± 4.227^c	40.036 ± 5.321^a
2	78.619 ± 0.464^c	26.782 ± 5.570^b
3	93.681 ± 0.764^a	28.776 ± 3.891^b
4	86.538 ± 2.081^b	44.758 ± 2.677^a
5	95.853 ± 2.093^a	42.609 ± 12.348^a
6	94.922 ± 2.754^a	43.720 ± 1.787^a

Remark: Different letters in the same column are significantly different ($p < 0.05$) when comparing percentage (%) radical inhibition. 2,2-diphenyl-1-picrylhydrazyl radical (DPPH) of extracted and control samples in each cycle.

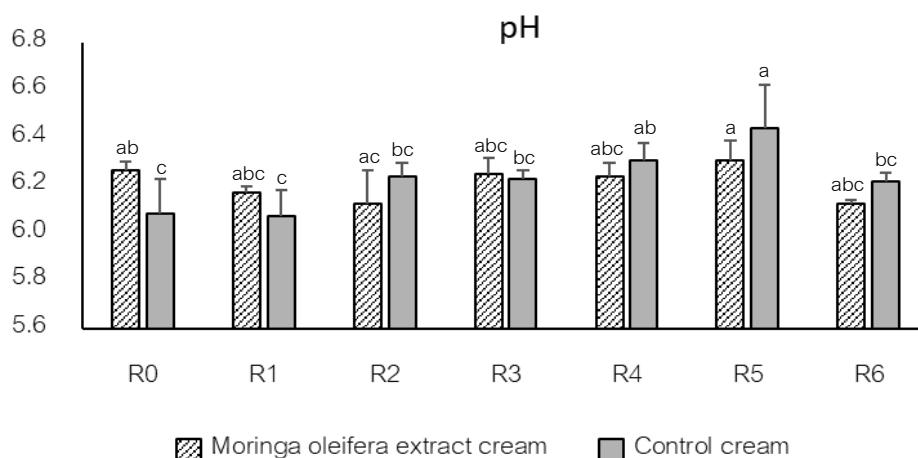


Figure 1. The pH value of control and *Moringa oleifera* extract cream in each round at heating-cooling condition. The different symbols in the same formulation mean significantly different ($p < 0.05$).

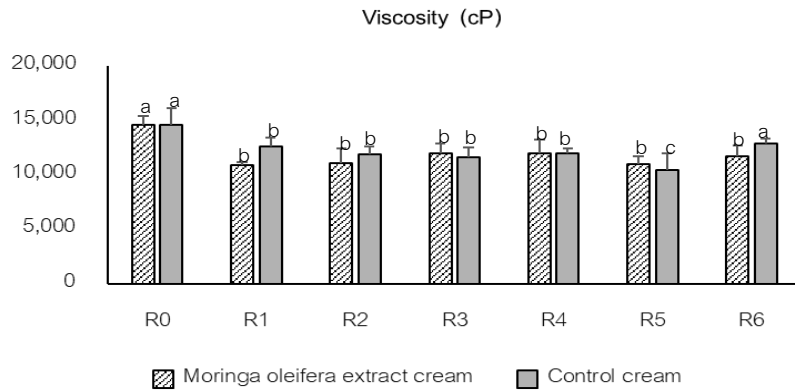


Figure 2. The viscosity value of control and *Moringa oleifera* extract cream. Values in the round with different letters are significantly different ($p < 0.05$).



Figure 3 . Comparison of cream texture, color and odor in heating-cooling cycle condition, when (A) before storing in heating-cooling cycle condition and (B) after storing in heating-cooling 6 cycle condition

จากการทดสอบความคงตัวทางกายภาพ ด้านประสาทสัมผัส โดยการสังเกตลักษณะ สี กลิ่น ของตำรับครีมที่มีส่วนผสมของสารสกัดใบมะรุม และตำรับควบคุม เมื่อผ่านสภาวะเร่งด้วยอุณหภูมิ ดังแสดงใน Figure 3 พบว่าลักษณะทางกายภาพ ของเนื้อครีมยังคงมีสภาพไม่แยกชั้น แต่สีเริ่มจางลง เล็กน้อย และกลิ่นมีการเปลี่ยนแปลงเล็กน้อยทั้ง 2 ตำรับ

อภิปรายผล

จากผลการทดสอบฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระทั้ง 3 วิธี คือ DPPH, ABTS และ FRAP พบว่า สารสกัด ใบมะรุมมีความสามารถในการกำจัดอนุมูลอิสระ โดยให้ไฮโดรเจนอะตอมและอิเล็กตรอนจากอนุมูลอิสระได้สูงที่สุดในวิธี DPPH (IC_{50} เท่ากับ $304.254 \pm 26.665 \mu\text{g/ml}$) และ FRAP ($2.031 \pm 0.255 \text{ mM Fe}^{2+}/\text{mg}$) สอดคล้องกับงานวิจัยของบัลกีสมามะ และคณะ⁸ ที่ศึกษาฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระด้วยวิธี DPPH, ABTS และ FRAP ของสารสกัดใบเตย, ใบมะรุม, ใบยอ และดอกอัญชัน พบว่าสารสกัดใบมะรุม สามารถต้านอนุมูลอิสระได้สูงที่สุดทั้ง 3 วิธี โดยมีค่า IC_{50} , VEAC และ FRAP value เท่ากับ $99.28 \pm 3.47 \mu\text{g/ml}$, $2.40 \pm 0.01 \text{ mM Ascorbic acid/g}$ และ $14.80 \pm 0.59 \text{ mM Fe}^{2+}/\text{g}$ ตามลำดับ อีกทั้งยังสอดคล้องกับงานวิจัยของ Kehinde และ Abass⁹ ที่ศึกษาคุณสมบัติการต้านอนุมูลอิสระของมะรุมในส่วนของใบ, เปลือกต้น, ราก และเมล็ด โดยพบว่าใบไม้มีปริมาณฟีนอลิกทั้งหมด, สมบัติในการรีดิวซ์, ปริมาณวิตามินซี และความสามารถในการต้านอนุมูลอิสระ DPPH สูงกว่าในส่วนอื่นๆ ในขณะที่

สารสกัดแครอทสามารถยับยั้งอนุมูลอิสระชนิด เปอร์ออกซีได้สูงที่สุดในวิธี ABTS ($0.172 \pm 0.040 \text{ mM/mg}$) สอดคล้องกับงานวิจัยของ Chatatikun และ Chiabchalard²² ซึ่งพบว่าสารสกัด 95% เอทานอลของแครอทสามารถต้านอนุมูล ABTS ได้สูงกว่าอนุมูล DPPH โดยมีค่าเท่ากับ $34.5 \pm 2.80 \text{ mg VCEAC/g}$ ดังนั้นสารสกัดเอทานอลจากใบมะรุมมีประสิทธิภาพ ในการกำจัดอนุมูล DPPH ได้สูงกว่าอนุมูล ABTS ทั้งนี้เกี่ยวข้องกับความแตกต่างของกลไกการทำปฏิกิริยา ในวิธี DPPH จะขึ้นอยู่กับความสามารถ ในการให้ไฮโดรเจนอะตอม ในขณะที่การกำจัดอนุมูล โปรตอนของ ABTS เกิดจากการให้อิเล็กตรอน²³ ในขณะเดียวกันจะเห็นได้ว่าสารสกัดเอทานอลจากใบมะรุมยังมีประสิทธิภาพในการให้อิเล็กตรอนอิสระ (Reducing agent) ได้สูง ในวิธี FRAP ซึ่งอาศัยคุณสมบัติในการเป็นตัวรีดิวซ์ในปฏิกิริยา Reduction ของ Ferric tripyridyltriazine (Fe^{3+} - TPTZ) ทำให้เกิดเป็น Fe^{2+} - TPTZ ดังนั้นคณะผู้วิจัยจึงเลือกสารสกัดใบมะรุมมาพัฒนาเป็นผลิตภัณฑ์ครีมสำหรับผิว และทดสอบความคงตัวของผลิตภัณฑ์ในสภาวะเร่ง (Heating cooling cycle) พบว่า ครีมบำรุงผิวที่ผสมสารสกัดใบมะรุมสามารถต้านอนุมูลอิสระ DPPH ได้สูงกว่าตำรับควบคุม ซึ่งมีร้อยละการต้านอนุมูล DPPH ได้อยู่ในช่วง 78.619 ± 0.464 ถึง $95.853 \pm 2.093 \%$ ในขณะที่ตำรับควบคุมให้ร้อยละการต้านอนุมูล DPPH ได้เท่ากับ 26.782 ± 5.570 ถึง $44.758 \pm 2.677 \%$ ซึ่งสารสกัดมีความคงตัวในด้านของปริมาณสารต้านอนุมูลอิสระเมื่อผ่านสภาวะเร่งจนครบ 6 รอบ โดยค่าการต้านอนุมูลอิสระของตำรับที่ผสมสารสกัดใบมะรุมเมื่อเปรียบเทียบกับ

รอบที่ 0 กับรอบที่ 6 ค่าการต้านอนุมูลอิสระสูงขึ้น จากเดิมเล็กน้อยจาก 84.310% เพิ่มขึ้นเป็น 94.922% อาจเป็นเพราะการผ่านอนุมูลอิสระกลับร้อนกลับเย็น หลาย ๆ รอบ ส่งผลให้น้ำที่อยู่ในตัวรับเกิดการระเหย ทำให้ความเข้มข้นของสารสกัดเพิ่มขึ้นจึงส่งผลให้การออกฤทธิ์ต้านอนุมูล DPPH สูงขึ้นตามมา ในขณะที่ค่าความเป็นกรด-ด่างของตัวรับอยู่ในช่วง 6.12 ถึง 6.30 เป็นไปตามมาตรฐานอุตสาหกรรมเอส 15-2562 (มอก. เอส 15-2562)²⁴ เรื่องผลิตภัณฑ์บำรุงผิวผสมสมุนไพร ซึ่งกำหนดให้มีค่าความเป็นกรด-ด่างอยู่ระหว่าง 3.5 - 7.5 ในขณะเดียวกันตัวรับครีมบำรุงผิวที่ผสมสารสกัดใบมะรุมให้ค่าความหนืดค่อนข้างสูงอยู่ในช่วง 10,900.00 ถึง 14,626.66 cP โดยเมื่อผ่านสภาวะแรงครบ 6 รอบ มีค่าความหนืดลดลงเล็กน้อย แตกต่างจากก่อนเก็บในสภาวะแรงอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติที่ระดับ 95 ($p < 0.05$) ในขณะที่การทดสอบทางกายภาพอื่น ๆ ที่สังเกตได้ด้วยตาเปล่า พบว่ากลิ่น, สี และเนื้อสัมผัสมีการเปลี่ยนแปลงเล็กน้อย โดยสีจางลงลงเป็นสีเขียวอ่อน และเนื้อสัมผัสมีความเหลวลงแต่ยังคงไม่แยกชั้น สอดคล้องกับงานวิจัยของ Ali และคณะ²⁵ ที่พบว่าครีมผสมสารสกัดใบมะรุม 3% มีผลลดค่าความมันบนใบหน้าของอาสาสมัครได้ใน สัปดาห์ที่ 4-8 อย่างมีนัยสำคัญ เมื่อเปรียบเทียบกับครีมทาครีมเบส และไม่พบรายงานอาการข้างเคียงที่ไม่พึงประสงค์ อีกทั้งครีมบำรุงผิวหน้าที่มีส่วนผสมของสารสกัดจากใบมะรุม 3% มีประสิทธิภาพช่วยทำให้ผิวหนังชุ่มชื้นขึ้น²⁶⁻²⁷ แสดงให้เห็นว่านอกจากใบมะรุมจะสามารถต้านอนุมูลอิสระได้ดีแล้ว ยังสามารถนำมาใช้ในผลิตภัณฑ์เครื่องสำอางได้อีกด้วย ดังนั้นครีมบำรุงผิวที่ผสมสาร

สกัดใบมะรุมนี้จึงค่อนข้างมีความคงตัวในด้านของปริมาณสารต้านอนุมูลอิสระที่สูง

จากผลการทดลองทั้งหมดจะเห็นได้ว่าการนำสารสกัดใบมะรุมมาพัฒนาเป็นผลิตภัณฑ์บำรุงผิวในรูปแบบผลิตภัณฑ์ครีมจะมีความคงตัวในลักษณะของทางกายภาพที่ค่อนข้างดีกว่าผลิตภัณฑ์เจลบำรุงผิวจากสารสกัดใบมะรุมในงานวิจัยของบัลกีส์ มามะ และคณะ⁹ ซึ่งผลิตภัณฑ์เจลเป็นผลิตภัณฑ์ที่มีลักษณะโปร่งแสงทำให้สีของสารสกัดจางลงได้ง่ายกว่าผลิตภัณฑ์แบบทึบแสง เช่น ครีมที่อยู่ในรูปแบบของวุ้น ภาคน้ำมันในน้ำ เมื่อเก็บเป็นระยะเวลานานสภาพสีของสมุนไพรจะจางลงเรื่อย ๆ ซึ่งอาจส่งผลต่อลักษณะทางกายภาพหรือสารสำคัญทางเคมีอื่น ๆ ในตัวรับตามมา นอกจากนี้ผลิตภัณฑ์ครีมยังมีความหนืดที่ต่ำกว่าผลิตภัณฑ์แบบเจลซึ่งมีค่าความหนืดที่สูงกว่า 160,033 cP ในขณะที่ผลิตภัณฑ์ครีมค่าความหนืดอยู่ที่ 10,900.00 ถึง 14,626.66 cP ขณะเดียวกันการต้านอนุมูลอิสระของผลิตภัณฑ์ทั้ง 2 แบบไม่แตกต่างกันมากนัก ทั้งนี้อาจเป็นเพราะสมุนไพรที่นำมาสกัดมาจากคนละแหล่งที่มาจึงทำให้ค่าการออกฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระแตกต่างกัน

สรุปผลการวิจัย

สารสกัดเอทานอลจากใบมะรุมสามารถยับยั้งอนุมูล DPPH และมีความสามารถในการรีดิวซ์ ferric tripyridyltriazine (Fe^{3+} - TPTZ) ได้สูงที่สุด โดยมีค่า IC_{50} และ FRAP เท่ากับ 304.254 $\mu\text{g/ml}$ และ 2.031 mM Fe^{2+}/mg ตามลำดับ การพัฒนาตัวรับครีมบำรุงผิวผสมสารสกัดใบมะรุมมีความคงตัวของปริมาณสารต้านอนุมูลอิสระที่สูงให้ค่าร้อยละการต้านอนุมูล DPPH เท่ากับ 78.619



- 95.853% ค่าความเป็นกรด-ด่างอยู่ในช่วงตามมาตรฐาน และค่าความหนืดเท่ากับ 10,900.00 ถึง 14,626.66 cP การทดสอบในสภาวะเร่งด้วยอุณหภูมิตำให้สี กลิ่น และเนื้อสัมผัสเปลี่ยนแปลงไปเล็กน้อย ทั้งนี้การพัฒนาทางด้านกายภาพให้มีความคงตัวในระยะยาวอาจจะต้องเพิ่มสารเสริมที่มีความคงตัวในด้านสี และกลิ่น ลงในตำรับ

กิตติกรรมประกาศ

คณะผู้วิจัยขอขอบคุณศูนย์วิทยาศาสตร์มหาวิทยาลัยราชภัฏบ้านสมเด็จเจ้าพระยา ที่ให้ทุนสนับสนุนการวิจัยในครั้งนี้ และขอขอบคุณภาควิชาการแพทย์แผนไทยที่ให้การสนับสนุนในด้านการใช้อุปกรณ์และเครื่องมือวิทยาศาสตร์ ทำให้การทำงานวิจัยครั้งนี้สำเร็จลุล่วงไปได้ด้วยดี

เอกสารอ้างอิง

1. Saritani ATB, Wlraguna AAGP, Maker LP. *Clitoria ternatea* L. extract cream 5% inhibits the increase of MMP-1 levels and decrease of collagen amount in Wistar rats (*Rattus norvegicus*) dermic skin exposed to ultraviolet B. NSMC 2021;4:109-13.
2. Kammeyer A, Luiten RM. Oxidation events and skin aging. *Ageing Res Rev* 2015;21:16-29.
3. Addor FAS. Antioxidants in dermatology. *An Bras Dermatol* 2017;92:356-62.
4. Bjørklund G, Chirumbolo S. Role of oxidative stress and antioxidants in daily nutrition and human health. *Nutrition* 2017;33:311-21.
5. Daré RG, Nakamura CV, Ximenes VF, Lautenschlager SOS. Tannic acid, a promising anti-photoaging agent: Evidences of its antioxidant and anti-wrinkle potentials, and its ability to prevent photodamage and MMP-1 expression in L929 fibroblasts exposed to UVB. *Free Radic Biol Med* 2020;160:342-55.
6. Karak P. Biological activities of flavonoids: An overview. *Int J Pharm Sci Res* 2019;10:1567-74.
7. Kaurinovic B, Vastag D. Flavonoids and phenolic acids as potential natural antioxidants [Internet]. 2019 [cited 2024 May 25]. Available from:file:///C:/Users/Windows10/Downloads/Flavonoids_and_Phenolic_Acids_as_Potential_Natural.pdf
8. บัลกิส มามะ, นูรีซัน นิสัน, ศุภรัตน์ ดวนใหญ่, สุชาดา มานอก. การพัฒนาผลิตภัณฑ์เครื่องสำอางจากใบมะรุมที่พบในชุมชนศรีภูมิในพื้นที่ฝั่งธนบุรี. *ว. เกษตรศาสตร์อีสาน* 2560;13:80-9.
9. Kehinde I, Abass OO. Compositional investigation of phytochemical and antioxidant properties of various parts of *Moringa oleifera* plant. *EJBAS* 2015;2:2059-3058.
10. Kim I, Lee J. Comparison of different extraction solvents and sonication times for characterization of antioxidant activity

- and polyphenol composition in mulberry (*Morus alba* L.). *Appl Biol Chem* 2017;60:509-17.
11. Bae SH, Suh HJ. Antioxidant activities of five different mulberry cultivars in Korea. *LWT- Food Sci Technol* 2007;40:955-62.
 12. Kim HB. Comparison with various mulberry leaves' and fruit's extract in lipid accumulation inhibitory effect at adipocyte model. *Int J Ind Entomol* 2017;35:1-6.
 13. Chang YC, Yang MY, Chen SC, Wang CJ. Mulberry leaf polyphenol extract improves obesity by inducing adipocyte apoptosis and inhibiting preadipocyte differentiation and hepatic lipogenesis. *J Funct Foods* 2016;21:249-62.
 14. Sheng Y, Zheng S, Zhang C, Zhao C, He X, Xu W, et al. Mulberry leaf tea alleviates diabetic nephropathy by inhibiting PKC signaling and modulating intestinal flora. *J Funct Foods* 2018;46:118-27.
 15. Jaswir I, Hassan TH, Said MZM. Antioxidative behaviour of Malaysian plant extracts in model and food oil systems. *Asia Pac J Clin Nutr* 2004;13:72.
 16. Satriyasa BK, Widiarti IGA, Manuaba IBGF. The potential of carrot extract as a sunscreen to prevent apoptosis in white mice (*Mus musculus*) fibroblast cell cultures exposed to UVB light. *Bali Med J* 2022;11:527-30.
 17. Kim CH, Hwang BS, Hwang Y, Oh YT, Jeong JW. Evaluation of antioxidant and antiinflammatory activity of ethanolic extracts of *Polygonum senticosum* in lipopolysaccharide-induced RAW 264.7 macrophages. *J Lab Med* 2022;46:51-9.
 18. Re R, Pellegrini N, Proteggente A, Pannala A, Yang M, Rice-Evans C. Antioxidant activity applying an improved ABTS radical cation decolorization assay. *Free Radic Biol Med* 1999;26:1231-37.
 19. Lee KJ, Oh YC, Cho WK, Ma JY. Antioxidant and Anti-Inflammatory Activity determination of one hundred kinds of pure chemical compounds using offline and online screening HPLC assay. *Evid-Based Compl Alt* 2015:1-13.
 20. Benzie IFF, Strain JJ. The ferric reducing ability of plasma (FRAP) as a measure of "Antioxidant Power" the FRAP assay. *Anal Biochem* 1996;239:70-6.
 21. Nemes A, Szóllósi E, Stündl L, Biró A, Homoki JR, Szarvas MM, et al. Determination of flavonoid and proanthocyanidin profile of hungarian sour cherry. *Molecules* 2018;23:1-20.

22. Chatatikun M, Chiabchalard A. Phytochemical screening and free radical scavenging activities of orange baby carrot and carrot (*Daucus carota* Linn.) root crude extracts. J Chem Pharm Res 2013;5:97-102.
23. Karadag A, Ozcelik B, Saner S. Review of methods to determine antioxidant capacities. Food Anal Method 2009;2:41-60.
24. สำนักงานมาตรฐานผลิตภัณฑ์อุตสาหกรรม กระทรวงอุตสาหกรรม. มาตรฐานอุตสาหกรรมเอส 15-2562 (มอก. เอส 15-2562) เรื่อง ผลิตภัณฑ์บำรุงผิวผสมสมุนไพร [อินเทอร์เน็ต]. 2562 [เข้าถึงเมื่อ 25 พ.ค. 2567]. เข้าถึงได้จาก: <https://www.tisi.go.th/assets/website/pdf/tiss/15-2562.pdf>
25. Ali A, Akhtar N, Khan MS, Khan MT, Ullah A, Shah MI. Effect of *Moringa oleifera* on undesirable skin sebum secretions of sebaceous glands observed during winter season in human. Biomed Res-India 2013;24:127-30.
26. Ali A, Akhtar N, Chowdhary F. Enhancement of human skin facial revitalization by moringa leaf extract cream. Postep Derm Alergol 2014;31:71-6.
27. Ali A, Akhtar N, Khan MS, Rasool F, Iqbal FM, Khan MT, et al. Moisturizing effect of cream containing *Moringa oleifera* (Sohajana) leaf extract by biophysical techniques: In vivo evaluation. JMPR 2013;7:386-91.

การพัฒนาสื่อแอนิเมชันเพื่อส่งเสริมการท่องเที่ยวเชิงวัฒนธรรมการร่อนทอง ตำบลร่อนทอง อำเภอบางสะพาน จังหวัดประจวบคีรีขันธ์

The Development of Animation Media to Promote Gold Panning Cultural Tourism,
Ron Thong Subdistrict, Bang Saphan District, Prachuap Khiri Khan Province

สุกัญชลิภา บุญมาธรรม¹ ศิริพร อ่วมศิริ^{1*} พีรศุภย์ บุญมาธรรม² ปราโมทย์ ตงชิน³ ดนัย เจษฎาฐิติกุล⁴ กรกรต เจริญผล¹
และ ญาณิศา อັตถาวระ¹

Sukanchalika Boonmatham¹ Siriporn Uamsiri^{1*} Pheerasut Boonmatham² Pramote Tongchin³ Danai Jedsadathitikul⁴

Korakrot Charoenphon¹ and Yanisa Atthawara¹

¹สาขาวิชาคอมพิวเตอร์ประยุกต์ คณะเทคโนโลยีสารสนเทศ มหาวิทยาลัยราชภัฏเพชรบุรี

²สาขาวิชาวิทยาการคอมพิวเตอร์ คณะเทคโนโลยีสารสนเทศ มหาวิทยาลัยราชภัฏเพชรบุรี

³สาขาวิชาคอมพิวเตอร์ คณะเทคโนโลยีสารสนเทศ มหาวิทยาลัยราชภัฏเพชรบุรี

⁴สาขาวิชานวัตกรรมดิจิทัล คณะเทคโนโลยีสารสนเทศ มหาวิทยาลัยราชภัฏเพชรบุรี

¹Applied Computer Program, Faculty of Information Technology, Phetchaburi Rajabhat University

²Computer Science Program, Faculty of Information Technology, Phetchaburi Rajabhat University

³Computer Program, Faculty of Information Technology, Phetchaburi Rajabhat University

⁴Digital Innovation Program, Faculty of Information Technology, Phetchaburi Rajabhat University

*Corresponding Author; E-Mail: siriporn.uam@mail.pbru.ac.th

Received: 04 July 2024 /Revised: 17 December 2024 /Accepted: 17 December 2024

บทคัดย่อ

การร่อนทองบางสะพาน ตำบลร่อนทอง อำเภอบางสะพาน จังหวัดประจวบคีรีขันธ์ เป็นการสะท้อนวิถีชีวิตของคนในพื้นที่ ซึ่งมีวิธีการและขั้นตอนการร่อนที่น่าสนใจและควรถูกอนุรักษ์ไว้ไม่ให้สูญหาย เพื่อเผยแพร่เป็นความรู้ทางวัฒนธรรมให้ผู้สนใจหรือคนรุ่นหลังได้เรียนรู้ ทำให้ตำบลร่อนทองถูกจัดเป็นแหล่งท่องเที่ยวเชิงวัฒนธรรมเพื่อให้นักท่องเที่ยวได้มาเยี่ยมชมแหล่งร่อนทองและลองร่อนทองกัน โดยการวิจัยนี้มีวัตถุประสงค์ 1) เพื่อพัฒนาสื่อแอนิเมชันเพื่อส่งเสริมการท่องเที่ยวเชิงวัฒนธรรมการร่อนทอง 2) เพื่อประเมินคุณภาพของสื่อแอนิเมชันเพื่อส่งเสริมการท่องเที่ยวเชิงวัฒนธรรมการร่อนทอง 3) เพื่อประเมินความพึงพอใจของสื่อแอนิเมชันเพื่อส่งเสริมการท่องเที่ยวเชิงวัฒนธรรม เครื่องมือที่ใช้ประกอบด้วย 1) สื่อแอนิเมชันเพื่อส่งเสริมการท่องเที่ยวเชิงวัฒนธรรมการร่อนทอง ตำบลร่อนทอง อำเภอบางสะพาน จังหวัดประจวบคีรีขันธ์ 2) แบบประเมินคุณภาพของสื่อแอนิเมชันเพื่อส่งเสริมการท่องเที่ยวเชิงวัฒนธรรม 3) แบบประเมินความพึงพอใจของสื่อแอนิเมชันเพื่อส่งเสริมการท่องเที่ยวเชิงวัฒนธรรม สถิติที่ใช้ในการวิเคราะห์ข้อมูล ได้แก่ ค่าเฉลี่ย และค่าส่วนเบี่ยงเบนมาตรฐานผลการวิจัยพบว่า 1) สื่อแอนิเมชันประกอบด้วย ส่วนนำ ส่วนเนื้อหา ส่วนสรุป 2) ผลการประเมิน

คุณภาพของสื่อแอนิเมชันจากผู้เชี่ยวชาญจำนวน 3 คน โดยรวมอยู่ในระดับมากที่สุด ($\bar{X} = 4.56$, S.D. = 0.44) และ 3) ผลการศึกษาประเมินความพึงพอใจของสื่อแอนิเมชัน โดยภาพรวมอยู่ในระดับมาก ($\bar{X} = 4.46$, S.D. = 0.57) ดังนั้น สื่อแอนิเมชันดังกล่าวสามารถแสดงเรื่องราวประวัติศาสตร์และกระบวนการร่อนทองผ่านภาพเคลื่อนไหว ช่วยสร้างความตระหนักรู้ เข้าใจในคุณค่าและอนุรักษ์วัฒนธรรมให้คงอยู่ต่อไป และยังสามารถกระตุ้นให้นักท่องเที่ยวต้องการมาสัมผัสกับวัฒนธรรมได้อีกด้วย

คำสำคัญ: แอนิเมชัน การท่องเที่ยวเชิงวัฒนธรรม การร่อนทองบางสะพาน การส่งเสริมการท่องเที่ยว

Abstract

The Gold Panning Tradition in Ron Thong Subdistrict, Bang Saphan District, Prachuap Khiri Khan Province, Reflects the Local Way of Life, Characterized by Intriguing Methods and Processes That Merit Preservation. This Tradition Should be Conserved and Disseminated as Cultural Knowledge for Interested Individuals and Future Generations. Consequently, Ron Thong Subdistrict has been Designated a Cultural Tourism Destination, Allowing Visitors to Observe and Participate in Gold Panning Activities. This Research Aimed to 1) Develop an Animation to Promote Cultural Tourism Focused on Gold Panning, 2) Evaluate the Quality of The Developed Animation, and 3) Evaluate User Satisfaction with The Animation. The Research Tools included: 1) An Animation Designed to Promote Cultural Tourism Featuring the Gold Panning Tradition in Ron Thong Subdistrict, 2) A Quality Evaluation Form for The Animation, and 3) A Satisfaction Evaluation Form for The Animation. Data Were Analyzed using Descriptive Statistics, Including Mean and Standard Deviation.

The Research Findings Revealed The Following: 1) The Animation was Structured into Three Main Components: Introduction, Content, and Summary, 2) The Quality of The Animation, as evaluated by Three Experts, was Rated at The Highest Level Overall ($\bar{X} = 4.56$, S.D. = 0.44), and 3) The User Satisfaction with The Animation was Rated at A High Level Overall ($\bar{X} = 4.46$, S.D. = 0.57). The Results demonstrate that Developed Animation Effectively Portrays the History and Processes of Gold Panning Through Visual Storytelling. It Raises Awareness of Cultural Values, Fosters Understanding, and Promotes the Conservation of This Cultural Heritage. Additionally, it has the Potential to Stimulate Tourists' Interest in Experiencing the Gold Panning Tradition Firsthand, Thereby Enhancing Cultural Tourism.

Keywords: Animation, Cultural Tourism, Gold Panning in Bang Saphan, Tourism Promotion

บทนำ

วัฒนธรรมการร่อนทองบางสะพาน หรือทองนพคุณเป็นแร่ทองคำที่ถูพบในตำบลร่อนทอง อำเภอบางสะพาน จังหวัดประจวบคีรีขันธ์ เป็นแหล่งแร่ทองคำที่อุดมสมบูรณ์มาแต่อดีตหลักฐานจากพระราชพงศาวดารกรุงศรีอยุธยาบันทึกไว้ว่าการร่อนทองที่บางสะพานเกิดขึ้นตั้งแต่ปีพุทธศักราช 2290¹ การร่อนทองบางสะพานเป็นการสะท้อนวิถีชีวิตของคนในพื้นที่ ซึ่งมีวิถีการและขั้นตอนการร่อนที่น่าสนใจและควรถูกอนุรักษ์ไว้ไม่ให้สูญหายเพื่อเผยแพร่เป็นความรู้ทางวัฒนธรรมให้ผู้สนใจหรือคนรุ่นหลังได้เรียนรู้ ทำให้ตำบลร่อนทองถูกจัดเป็นแหล่งท่องเที่ยวเชิงวัฒนธรรมในอำเภอบางสะพานเพื่อให้นักท่องเที่ยวได้มาเยี่ยมชมแหล่งร่อนทองและลองร่อนทองกัน² ซึ่งมีคนจำนวนมากไปร่อนทองเพื่อนำไปขายในปัจจุบันยังมีการพบทองคำอยู่บ้างแต่จำนวนลดน้อยลงเนื่องด้วยจำนวนทองที่ลดลงในปัจจุบันจึงมีคนไปร่อนทองไม่มากนัก การพบทองที่อำเภอบางสะพานมีจำนวนมากและเป็นทองเนื้อสูงที่สุด คือ สุกปลั่งเหลืองอร่าม เรียกว่า นพคุณแก่น้ำ หรือ ทองเนื้อเก่า³ เป็นทองเนื้อดีที่สุดของประเทศไทย

การส่งเสริมการท่องเที่ยวเชิงวัฒนธรรมเป็นเรื่องที่น่าสนใจ โดยเฉพาะอย่างยิ่งในท้องถิ่นที่มีประวัติศาสตร์และวัฒนธรรมที่น่าสนใจเพื่อประโยชน์ในด้านต่าง ๆ เช่น ด้านการท่องเที่ยวเชิงวัฒนธรรม⁴ เพื่อส่งเสริมให้นักท่องเที่ยวเข้าใจเกี่ยวกับประวัติศาสตร์และวัฒนธรรมของทองนพคุณ การนำเสนอเรื่องราวเกี่ยวกับการร่อนทองคำแท้และความหมายทางศาสตร์ของแร่นี้อาจช่วยเสริมสร้างความสนใจในการเยี่ยมชมสถานที่ที่มี

ทองนพคุณอยู่ ด้านการศึกษาและการวิจัย¹ ซึ่งการส่งเสริมการท่องเที่ยวเชิงวัฒนธรรมส่งผลให้มีการศึกษาและวิจัยเพิ่มเติมเกี่ยวกับทองนพคุณ การศึกษาความสำคัญของแร่ในประวัติศาสตร์และวัฒนธรรมของท้องถิ่น อาจมีประโยชน์ในการส่งเสริมการท่องเที่ยวในระยะยาว และด้านการสร้างรายได้ให้กับชุมชน⁵ ซึ่งการส่งเสริมการท่องเที่ยวเชิงวัฒนธรรมอาจส่งผลให้มีรายได้เพิ่มขึ้นสำหรับชุมชนในพื้นที่ที่มีทองนพคุณ การจัดกิจกรรมท่องเที่ยว การขายของที่ทำจากทองนพคุณ หรือการให้บริการท่องเที่ยวที่เกี่ยวข้องอาจช่วยส่งเสริมเศรษฐกิจในพื้นที่⁶

จากความสำคัญที่ได้กล่าวมาข้างต้น รวมถึงความสำคัญของชุมชนที่ควรค่าแก่การส่งเสริมการท่องเที่ยว ผู้วิจัยจึงเห็นความสำคัญและมีแนวคิดในการพัฒนาสื่อแอนิเมชันเพื่อดึงดูดผู้สนใจหรือนักท่องเที่ยวผ่านการนำเสนอเรื่องราวและเพิ่มการประชาสัมพันธ์แหล่งท่องเที่ยวเชิงวัฒนธรรมบ้านปาร์อน ตำบลร่อนทอง อำเภอบางสะพาน จังหวัดประจวบคีรีขันธ์ ผ่านช่องทางสื่ออิเล็กทรอนิกส์สมัยใหม่ให้รู้จักและเกิดความสนใจอยากมาเที่ยวสถานที่แห่งนี้ ทั้งนี้หากมีนักท่องเที่ยวเพิ่มมากขึ้นก็ย่อมก่อให้เกิดการกระตุ้นเศรษฐกิจโดยรวมของชุมชนจากนักท่องเที่ยวเกิดการพัฒนาลินค้าหรือบริการต่าง ๆ เพิ่มขึ้น รวมไปถึงการพัฒนาชุมชน ของชุมชน จังหวัดและประเทศต่อไป

วัตถุประสงค์การวิจัย

1. เพื่อพัฒนาสื่อแอนิเมชันเพื่อส่งเสริมการท่องเที่ยวเชิงวัฒนธรรมการร่อนทอง ตำบลร่อนทอง อำเภอบางสะพาน จังหวัดประจวบคีรีขันธ์

2. เพื่อประเมินคุณภาพของสื่อแอนิเมชัน เพื่อส่งเสริมการท่องเที่ยวเชิงวัฒนธรรมการท่องเที่ยว ตำบลร่อนทอง อำเภอบางสะพาน จังหวัดประจวบคีรีขันธ์

3. เพื่อประเมินความพึงพอใจของสื่อแอนิเมชัน เพื่อส่งเสริมการท่องเที่ยวเชิงวัฒนธรรมการท่องเที่ยว ตำบลร่อนทอง อำเภอบางสะพาน จังหวัดประจวบคีรีขันธ์

เอกสารและงานวิจัยที่เกี่ยวข้อง

1. วิธีการร่อนทองอำเภอบางสะพาน

หลักฐานจากพระราชพงศาวดารกรุงศรีอยุธยา บันทึกไว้ว่าการขุดและร่อนทองในอำเภอบางสะพานเกิดขึ้นในสมัยพระเจ้าอยู่หัวบรมโกศ เมื่อประมาณปีพุทธศักราช 2289 ผู้รั้งเมืองกุยได้ส่งทองร่อนหนัก 3 ตำลึง ซึ่งขุดได้จากบางสะพาน ทูลเกล้าฯ ถวายสมเด็จพระเจ้าอยู่หัวบรมโกศ ต่อมาได้โปรดให้ไพร่พลจำนวน 2,000 คนไปร่อนทองที่บางสะพาน จนถึงปีพุทธศักราช 2291 ได้ทองหนัก 90 ชั่ง เป็นน้ำหนัก 54 กิโลกรัม หรือ 3,600 บาท และโปรดให้นำทองทั้งหมดไปแผ้วเป็นทองแผ่นใหญ่ หุ้มยอดมณฑป พระพุทธบาทสระบุรี

คุณสมบัติของทองบางสะพานหรือทองบางตะพานเป็นทองเนื้อดีที่สุดของเมืองไทย หรือเรียกว่า ทองนพคุณ หรือชนพคุณเนื้อเก่า เป็นทองที่พบในธรรมชาติ ทองร้อยเปอร์เซ็นต์ โดยไม่ต้องถลุง มีลักษณะสุกปลั่งเหลืองอร่าม ตามหนังสือประชุมประกาศสมัยรัชกาลที่ 4 บันทึกไว้ว่า ทองคำที่ซื้อขายกันนั้น เรียกตามเนื้อและตามราคา เช่น ทองหนักบาทหนึ่งเป็นเงิน 4 บาท เรียกว่า เนื้อสี่ ทองหนักบาทหนึ่งเป็นเงิน 5 บาท เรียกว่า ทองเนื้อห้า

ทองหนักบาทหนึ่งเป็นเงิน 8 บาท 2 สลึง เรียกว่า ทองเนื้อแปดสองขา ทองหนักบาทหนึ่งเป็นเงิน 9 บาท เรียกว่า นพคุณเก่า น้ำ ดังนั้นทองนพคุณเนื้อเก่า จึงหมายถึง ทองที่มีราคาเก่าบาทต่อน้ำหนัก 1 บาท ซึ่งเป็นราคาที่สูงกว่าทุกแหล่งในประเทศไทย และเชื่อว่าเป็น แหล่งทองคำเนื้อดีที่สุดของไทย

แหล่งแร่ทองคำของตำบลร่อนทอง อำเภอบางสะพาน โดยเฉพาะบ้านป่าร่อนหมู่ที่ 6 อยู่ห่างจากถนนเพชรเกษมประมาณ 4 กิโลเมตร เป็นแหล่งแร่ทองคำที่อุดมสมบูรณ์มาแต่อดีต มีการขุดทองกันมากที่สุดบริเวณห้วยจิ้งห้นซึ่งอยู่ห่างจากหมู่บ้านประมาณ 500 - 1,000 เมตร บริเวณที่มีการขุดทองนั้นมักจะมีชื่อว่า เนิน นำหน้า เพื่อเป็นที่สังเกตของผู้ขุดทอง เช่น เนินม้า เป็นเนินที่นักเดินทางไปขุดทองมักจะพักผูกม้าไว้บริเวณนี้ เนินไก่เขี่ย เนินนี้จะมีแร่ทองอยู่ต้นบริเวณใต้ผิวดินขนาดไก่เขี่ยก็พบก้อนทอง เนินยายบี มีแร่ทองปนอยู่ในดินที่เหนียวมาก จนต้องนำดินที่ขุดได้ไปแช่น้ำให้อ่อนตัว แล้วอาศัยผู้เฒ่าที่อยู่เฝ้าบ้านปัดดินให้แห้งเพื่อหาเนื้อทอง เป็นต้น แสดงดัง Figure 1. สำหรับอุปกรณ์ที่ใช้ในการร่อนทอง ได้แก่ เลียง จอบหรือพลั่ว ถึง แสดงดัง Figure 2.



Figure 1. Gold Veins in Bang Sa Pan Subdistrict



Figure 2. Equipment Used for Gold Panning

วิธีการร่อนทอง ในปัจจุบันที่นิยมมี 2 วิธี ดังนี้

1. วิธีแบบเดิมที่มีมาแต่โบราณ โดยนำเลียงมาใส่ดินแล้วนำไปขยี้กับน้ำให้เป็นโคลนแล้วเอียงเลียงให้น้ำในคลองพัดโคลนให้หมุนวนออกจากเลียงไป คงเหลือแต่แร่ทองลงอยู่ก้นเลียง ดังแสดงใน Figure 3.

2. วิธีแบบสมัยใหม่ที่เริ่มใช้กันในปัจจุบัน โดยการฉีดทอง ซึ่งเป็นการใช้เครื่องสูบน้ำดันน้ำผ่านสายยางนำมาฉีดที่กองดินเพื่อหาแร่ทอง โดยผู้ที่ไปร่อนทองส่วนมากจะแบ่งออกเป็น 2 กลุ่ม ได้แก่ กลุ่มแรก จะเป็นชาวบ้านในพื้นที่ที่ประกอบอาชีพทำสวนยางพารา สวนปาล์ม และชาวบ้านที่อาศัยอยู่ใกล้เคียงในแหล่งร่อนทอง กลุ่มที่สอง จะเป็นคนที่ร่อนทองเป็นอาชีพ โดยการหาเงินจากการมาร่อนทองและนำทองไปขายที่ร้านทองหรือขายให้กับนักทองเที่ยว และในช่วงเวลาที่มักมีคนไปร่อนทองกันเป็นจำนวนมาก คือช่วงฝนตกน้ำใกล้ท่วม เพราะจะมีน้ำไหลผ่านทางน้ำเป็นจำนวนมาก ทำให้ดินที่ทับถมแร่ทองไว้ถูกพัดออกและแร่ที่อยู่ใต้ดินก็จะพัดขึ้นมา เมื่อน้ำลดมักจะมีคนไปร่อนทองกัน



Figure 3. Demonstration of Panning for Gold Using a Lieng

2. แอนิเมชัน

แอนิเมชัน (Animation) หมายถึง การทำภาพเคลื่อนไหว โดยการแสดงภาพนิ่งที่มีความต่อเนื่องกันหลาย ๆ ภาพ ด้วยความเร็วที่ทำให้เกิดภาพลวงตาเสมือนว่าภาพเคลื่อนไหวไว้ได้ ขั้นตอนการสร้างแอนิเมชัน แบ่งออกได้เป็น 3 ขั้นตอน⁷ ดังนี้

1. ขั้น ตอน เติ รีย ม ก าร ก่ อ น ก าร ทำ (Pre-Production) โดยสามารถแบ่งเป็นขั้นตอนย่อย ๆ ดังนี้

เขียนเรื่องหรือบท (Story) เป็นสิ่งแรกที่สำคัญที่สุดในการผลิตชิ้นงานแอนิเมชัน

ออกแบบภาพ (Visual Design) ในการวาดลักษณะของตัวละคร ลักษณะของฉากและสี

ทำบทภาพ (Storyboard) เป็นการนำบทที่เขียนขึ้นนำมาร่างภาพลายเส้น พร้อมคำบรรยายอย่างคร่าว

ร่างช่วงภาพ (Animatic) การนำบทภาพทั้งหมดมาตัดต่อเพื่อให้ทราบเวลาและการเคลื่อนไหวในแต่ละช็อตภาพ (Shot) อย่างแม่นยำ พร้อมทั้งใส่เสียงพากย์ของตัวละคร

2. ขั้นตอนการทำ (Production) เป็นขั้นตอนที่ทำให้ภาพตัวละครต่าง ๆ มีความสวยงาม สมบูรณ์แบบมากยิ่งขึ้น ขั้นตอนนี้เป็นขั้นตอนสำคัญที่จะ

กำหนดว่า ภาพยนตร์แอนิเมชันเรื่องนั้น จะสวยงามมากหรือน้อยเพียงใด ประกอบด้วย

วางผัง (Layout) เป็นการกำหนดมุมภาพ ฉาก และตำแหน่งของตัวละครอย่างละเอียด การวางแผนของการเคลื่อนไหวตัวละครในแต่ละฉาก การแสดงสีหน้าอารมณ์ตัวละคร

ทำให้เคลื่อนไหว (Animate) เป็นการเลือกเสียงดนตรีประกอบให้เข้ากับเนื้อเรื่อง เสียงประกอบและฉากต่าง ๆ ให้กับตัวละคร

3. ขั้นตอนหลังการทำ (Post-Production)

การประกอบภาพรวม (Compositing) เป็นขั้นตอนในการนำตัวละครและฉากหลังรวมเป็นภาพเดียวกัน

ดนตรีและเสียงประกอบ (Music And Sound Effects) เป็นการเลือกเสียงดนตรีประกอบให้เข้ากับการดำเนินเรื่อง และฉากต่าง ๆ รวมทั้งเสียงประกอบสังเคราะห์ด้วย

3. งานวิจัยที่เกี่ยวข้อง

วิโรจน์ ศรีหิรัญ^๘ การใช้สื่อประชาสัมพันธ์ดิจิทัลในยุคการหลอมรวมสื่อเพื่อส่งเสริมการท่องเที่ยวจังหวัดสมุทรสงคราม พบว่านักท่องเที่ยวรุ่นใหม่ชอบการสื่อสารที่ทันสมัย มีความหลากหลาย ลักษณะในการใช้สื่อควรมีลักษณะ Pr5+1 เน้นการใช้สื่อรูปธรรมจับต้องได้ 5 ประเภท ได้แก่ แอปพลิเคชันบนมือถือ แผ่นพับ แนะนำเส้นทางการท่องเที่ยวพร้อม Qr Code สื่อวิดีโอแนะนำแหล่งท่องเที่ยว สื่อดิจิทัลประเภทวีล็อก และสื่ออินโฟกราฟิก โดยอยู่บนพื้นฐานของการใช้ความคิดสร้างสรรค์เชิงประชาสัมพันธ์

อดนพลีษฐ์ ไชยเชษฐ์ รัชดา ภักดิ์ยิ่ง และจริยา ปันทวัฏฐ^๙ ได้ทำการพัฒนาสื่อ

ประชาสัมพันธ์อิเล็กทรอนิกส์เพื่อการท่องเที่ยวเชิงพุทธในจังหวัดขอนแก่น โดยรวบรวมข้อมูลจากผู้เชี่ยวชาญด้านการผลิตสื่อและนักท่องเที่ยวเพื่อใช้เป็นแนวทางการออกแบบเนื้อหาผลิตสื่อประชาสัมพันธ์อิเล็กทรอนิกส์แหล่งท่องเที่ยว 8 แห่ง เพื่อส่งเสริมการท่องเที่ยวเชิงพุทธสื่อสารให้นักท่องเที่ยวทราบถึงความเป็นเอกลักษณ์ของวิถีชุมชน ได้เข้าถึงภูมิปัญญาและวัฒนธรรมท้องถิ่นแล้วทำการประเมินประสิทธิภาพจากผู้เชี่ยวชาญและนักท่องเที่ยว พบว่า ความพึงพอใจในภาพรวมอยู่ในระดับมากค่าเฉลี่ย 4.22

สุทธิพงษ์ คล่องดี และ นลินี ชนะมูล¹⁰ ได้ทำการพัฒนาสื่อโมชันกราฟิก แนะนำสถานที่ท่องเที่ยวเชิงอนุรักษ์ชุมชนขนมแปดกริมคลองหนองบัว จังหวัดจันทบุรี โดยรวบรวมข้อมูลชุมชนบ้านหนองบัว ได้แก่ ขนมหวาน ขนมแปดกริม และอาหารพื้นเมืองไปรณช นำมาสร้างสื่อโมชันกราฟิก ทั้งหมด 6 หัวข้อ 1) สถานที่ตั้งของชุมชนขนมแปดกริมคลองหนองบัว 2) ประวัติความเป็นมา 3) อัตลักษณ์ของชุมชน 4) แหล่งชุมชนโบราณที่มีคุณค่าทางประวัติศาสตร์ 5) ขนมพื้นบ้านของแปดกริม 6) จุดห้ามพลาด และ 7) อาหารและของฝาก เผยแพร่ผ่านช่องทางออนไลน์บน Youtube พบว่านักท่องเที่ยวมีความพึงพอใจโดยรวมอยู่ในระดับมากที่สุด ค่าเฉลี่ย 4.33 และประชาชนในชุมชนหนองบัวยอมรับสื่อโดยรวมอยู่ในระดับมาก 4.22 โดยมีข้อเสนอแนะว่า ควรมีภาพ

ขนมจริง เรื่องราวหรือวิธีการทำขนม ประกอบกับ ภาพกราฟิก และควรมีเสียงบรรยายเพื่อเพิ่มความ เข้าใจ

วิธีดำเนินการวิจัย

เครื่องมือการวิจัย

1. สื่อแอนิเมชันเพื่อส่งเสริมการท่องเที่ยวเชิงวัฒนธรรมการท่องเที่ยว ตำบลร้อนทอง อำเภอ บางสะพาน จังหวัดประจวบคีรีขันธ์โดยใช้

1) โปรแกรม Medibang Paint Pro ในการวาดภาพ ออกแบบตัวละครและฉาก 2) โปรแกรม Blender ทำภาพเคลื่อนไหว 2 มิติ 3) โปรแกรม Audacity ในการบันทึกและตัดต่อเสียง 4) โปรแกรม Vsdc Free Video Editor ในการตัดต่อวิดีโอ

2. แบบประเมินคุณภาพประเมินคุณภาพ ของสื่อแอนิเมชันเพื่อส่งเสริมการท่องเที่ยวเชิงวัฒนธรรมการท่องเที่ยว ตำบลร้อนทอง อำเภอ บางสะพาน จังหวัดประจวบคีรีขันธ์

3. แบบสอบถามความพึงพอใจของสื่อ แอนิเมชันเพื่อส่งเสริมการท่องเที่ยวเชิงวัฒนธรรม การท่องเที่ยว ตำบลร้อนทอง อำเภอ บางสะพาน จังหวัดประจวบคีรีขันธ์

กลุ่มเป้าหมาย

1. ผู้เชี่ยวชาญจำนวน 3 คน ที่มีความ เชี่ยวชาญด้านเนื้อหา เทคนิควิธีการ เพื่อประเมิน คุณภาพของสื่อแอนิเมชันเพื่อส่งเสริมการท่องเที่ยว เชิงวัฒนธรรมการท่องเที่ยว ตำบลร้อนทอง อำเภอ บางสะพาน จังหวัดประจวบคีรีขันธ์

2. ผู้ใช้งานทั่วไป จำนวน 30 คน เลือกกลุ่ม ตัวอย่างโดยวิธีการสุ่มอย่างง่าย เพื่อศึกษาความพึง พอใจที่มีต่อสื่อแอนิเมชันเพื่อส่งเสริมการท่องเที่ยว เชิงวัฒนธรรมการท่องเที่ยว ตำบลร้อนทอง อำเภอ บางสะพาน จังหวัดประจวบคีรีขันธ์

ขั้นตอนการดำเนินการวิจัย

ทีมวิจัยนำกระบวนการแบบ Agile Model มาใช้ในการทำงาน เนื่องจากการสร้างผลงานอนิเมชันต้องมีความยืดหยุ่นปรับเปลี่ยนได้ตามความต้องการของผู้ชม ผู้วิจัยจึงสร้างผลงานแล้วส่งมอบ ผลงานเป็นระยะ ๆ ทำให้ได้รับข้อคิดเห็นย้อนกลับ และปรับปรุงงานผลงานได้อย่างต่อเนื่อง ช่วยให้ได้ ผลงานที่มีคุณภาพตรงตามความต้องการของผู้ชม และสามารถส่งมอบผลงานได้อย่างรวดเร็ว มี รายละเอียดการดำเนินงาน ดังแสดงใน Figure 4.

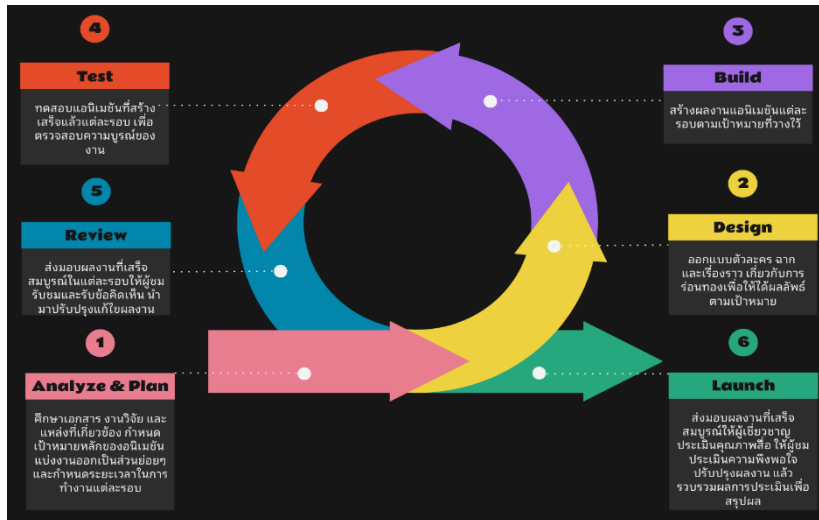


Figure 4. Agile Model Diagram of this Research

กระบวนการทำงานรูปแบบ Agile Model ที่นำมาประยุกต์ใช้มีรายละเอียด ดังนี้

1. Analyze & Plan ศึกษาค้นคว้าเอกสารงานวิจัยที่เกี่ยวข้อง เทคนิคโปรแกรมที่ใช้เก็บรวบรวมข้อมูลที่เกี่ยวข้อง ในการพัฒนาสื่อแอนิเมชันเพื่อส่งเสริมการท่องเที่ยวเชิงวัฒนธรรม การร่อนทอง ตำบลร่อนทอง อำเภอบางสะพาน จังหวัดประจวบคีรีขันธ์ วิเคราะห์ข้อมูลที่ได้จากการศึกษา ตั้งเป้าหมายในการพัฒนาสื่อแอนิเมชันในแต่ละรอบเพื่อนำไปส่งเสริมการท่องเที่ยวเชิงวัฒนธรรมการร่อนทอง ตำบลร่อนทอง อำเภอบางสะพาน จังหวัดประจวบคีรีขันธ์

2. Design ออกแบบองค์ประกอบเพื่อส่งเสริมการท่องเที่ยวเชิงวัฒนธรรมการร่อนทอง ตำบลร่อนทอง อำเภอบางสะพาน จังหวัดประจวบคีรีขันธ์ ตามหลักการผลิตสื่อ 3P ในขั้นตอนก่อนการผลิต (Pre-Production) เป็นการวางแผนและเตรียมการสำหรับการสร้างแอนิเมชัน

ได้แก่ การเขียนบท ออกแบบร่างตัวละคร ออกแบบฉาก ออกแบบ บทภาพ (Story Board) ตัวละครฉาก การเลือกเสียงดนตรี เสียงประกอบ สื่อองค์ประกอบของภาพ คำบรรยาย สื่อแอนิเมชันมีทั้งหมด 4 ฉาก โดยเนื้อหาจะนำเสนอเรื่องราวประวัติของบางสะพาน ตั้งแต่สมัยโบราณ การขุดพบ การร่อนทอง และการเชิญชวนเพื่อการท่องเที่ยว

3. Build การสร้างสื่อแอนิเมชันตามแผนที่กำหนดไว้ในแต่ละรอบ ตามหลักการผลิตสื่อ 3P ในขั้นตอนการผลิต (Production) เป็นการผลิตสื่อแอนิเมชันตามแผนที่วางไว้ ได้แก่ 1) การวาดภาพออกแบบตัวละครและฉากด้วยโปรแกรม Medibang Paint Pro โดยมีตัวละครที่ออกแบบ 2 ตัวละคร คือ เฟลินและป้าวาด ที่ได้สนทนากันตามสถานการณ์ต่าง ๆ 2) การบันทึกและตัดต่อเสียงบรรยายด้วยโปรแกรม Audacity และ 3) การทำภาพเคลื่อนไหว 2 มิติด้วย Blender

ซึ่งตัวอย่างการออกแบบตัวละครและบทภาพ
ดังแสดงใน Figure 5. และ Figure 6. และขั้นตอน
หลังการผลิต (Post-Production) เป็นการปรับแต่ง
และจัดการองค์ประกอบต่าง ๆ ของแอนิเมชัน
หลังจากที่ผลิตเสร็จแล้ว ได้แก่ การลำดับ
ภาพเคลื่อนไหว เสียง ใส่คำบรรยาย และตัดต่อ
วิดีโอด้วย VsdC Free Video Editor



Figure 5. Character Design Named Ploen and
Auntie Wad

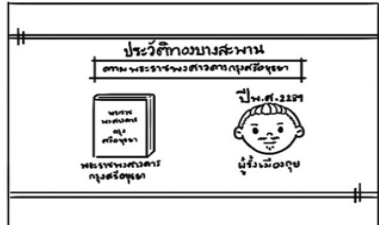
ลำดับ	ภาพ	บท
1		เพลิน : สวัสดีค่ะทุกคน วันนี้ เพลินจะพาทุกคนไปร่อนทอง กันค่ะ แต่ก่อนอื่นเรามารู้ ประวัติคร่าวๆตามพระราช พงศาวดารเกี่ยวกับทองบาง สะพานกันค่ะ
2		หลักฐานจากพระราช พงศาวดารกรุงศรีอยุธยา กล่าวว่าเมื่อปีพ.ศ. 2289 ผู้รัง เมืองกุย

Figure 6. Example of Storyboard

การนำหลักการผลิตสื่อ 3P มาประยุกต์ใช้ร่วมกับ Agile Model มีรายละเอียด ดังแสดงใน Figure 7.

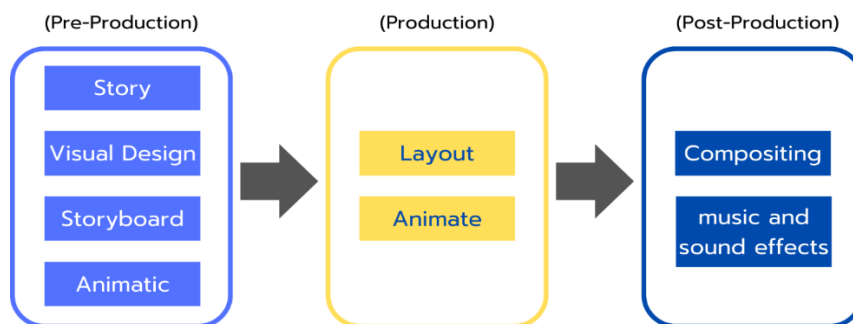


Figure 7. The Process of Creating Animation

4. Test การทดสอบสื่อแอนิเมชัน ในด้าน ความสมบูรณ์ของชิ้น ความสั้นไหลดของผลงาน และความครบถ้วนของเนื้อหาในแต่ละรอบตาม เป้าหมายที่กำหนดไว้

5. Review ส่งมอบผลงานที่เสร็จสมบูรณ์ ในแต่ละรอบให้กับผู้ชมเพื่อรับฟังข้อเสนอแนะ แล้วนำมาปรับปรุง

6. Launch ส่งมอบผลงานที่เสร็จสมบูรณ์ ให้ผู้เชี่ยวชาญประเมินคุณภาพสื่อ แล้วปรับปรุง แก้ไขตามข้อเสนอแนะ แล้วนำไปให้ผู้ใช้งานทั่วไป จำนวน 30 คน ประเมินความพึงพอใจของสื่อ ด้วยวิธีการแบบสุ่มอย่างง่าย โดยเก็บรวบรวม ข้อมูลจากการประเมิน แล้วนำไปวิเคราะห์และ สรุปผล

สถิติที่ใช้ในการวิจัย

ค่าเฉลี่ย ค่าร้อยละ ส่วนเบี่ยงเบนมาตรฐาน โดยนำผลที่ได้เทียบกับเกณฑ์การประเมิน¹¹ ดังนี้

ค่าเฉลี่ยเท่ากับ 4.50 – 5.00 หมายความว่า ระดับมากที่สุด

ค่าเฉลี่ยเท่ากับ 3.50 – 4.49 หมายความว่า ระดับมาก

ค่าเฉลี่ยเท่ากับ 2.50 – 3.49 หมายความว่า ระดับปานกลาง

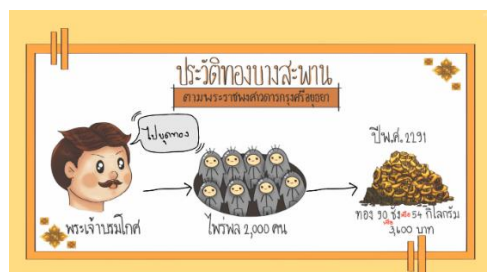
ค่าเฉลี่ยเท่ากับ 1.50 – 2.49 หมายความว่า ระดับน้อย

ค่าเฉลี่ยเท่ากับ 1.00 – 1.49 หมายความว่า ระดับน้อยที่สุด

ผลการวิจัย

1. ผลการพัฒนาสื่อแอนิเมชันเพื่อส่งเสริมการท่องเที่ยวเชิงวัฒนธรรมการร่อนทอง ตำบลร่อนทอง อำเภอบางสะพาน จังหวัดประจวบคีรีขันธ์

ผู้วิจัยได้ดำเนินการพัฒนาสื่อแอนิเมชัน เพื่อส่งเสริมการท่องเที่ยวเชิงวัฒนธรรมการร่อนทอง ตำบลร่อนทอง อำเภอบางสะพาน จังหวัดประจวบคีรีขันธ์ ตามขั้นตอนการพัฒนาสื่อแอนิเมชัน ที่มีความยาว 3.49 นาที โดยมีเนื้อหาเกี่ยวกับการนำเสนอการร่อนทองเพื่อส่งเสริมการท่องเที่ยวเชิงวัฒนธรรม ของตำบลร่อนทอง อำเภอบางสะพาน จังหวัดประจวบคีรีขันธ์ ได้แก่ ประวัติของทองบางสะพาน อุปกรณ์และวิธีการร่อนทอง ของชาวบางสะพาน วิถีชีวิตของคนพื้นที่ผู้ร่อนทอง การเดินทางมายังแหล่งท่องเที่ยวร่อนทองบางสะพาน และการเชิญชวนนักท่องเที่ยว ตัวอย่างแสดงดัง Figure 8.



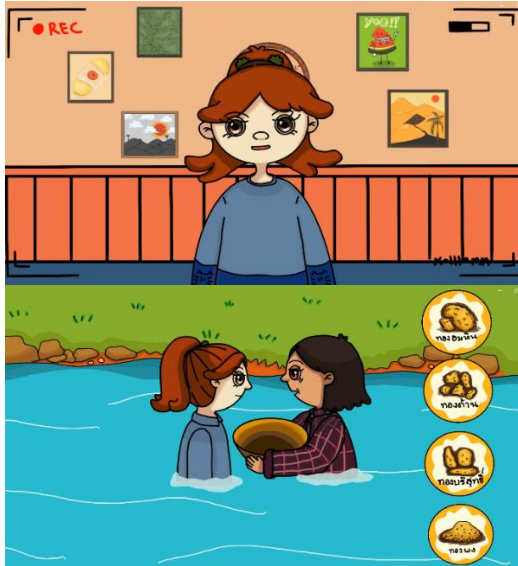


Figure 8. The Results of Developing Animation

2. ผลการประเมินคุณภาพสื่อแอนิเมชันเพื่อส่งเสริมการท่องเที่ยวเชิงวัฒนธรรมการร่อนทอง ตำบลร่อนทอง อำเภอบางสะพาน จังหวัดประจวบคีรีขันธ์

ผู้วิจัยดำเนินการประเมินคุณภาพสื่อแอนิเมชันเพื่อส่งเสริมการท่องเที่ยวเชิงวัฒนธรรม

การร่อนทอง ตำบลร่อนทอง อำเภอบางสะพาน จังหวัดประจวบคีรีขันธ์ ที่พัฒนาขึ้นโดยผู้เชี่ยวชาญด้านการผลิตสื่อ จำนวน 3 คน จากนั้นนำผลการประเมินวิเคราะห์ด้วยค่าสถิติพื้นฐานเทียบกับเกณฑ์และสรุปผล แสดงดัง Table 1.

Table 1. The Results of Quality Evaluation by Experts

Items	$\bar{X}$	S.D.	Acceptance Level
1. Quality of Content and Information	4.53	0.46	Highest Level
2. Quality of Picture and Animations	4.57	0.49	Highest Level
3. Quality of Sound and Audio Description	4.73	0.35	Highest Level
4. Quality of Method and Interactive	4.40	0.46	High Level
Total	4.56	0.44	Highest Level

จาก Table 1. ผลการประเมินคุณภาพโดยผู้เชี่ยวชาญ พบว่า ผู้เชี่ยวชาญมีความคิดเห็นต่อคุณภาพของสื่อแอนิเมชันเพื่อส่งเสริมการท่องเที่ยวเชิงวัฒนธรรมการร่อนทอง ตำบลร่อนทอง อำเภอบางสะพาน จังหวัดประจวบคีรีขันธ์

ที่พัฒนาขึ้น โดยรวมอยู่ในระดับมากที่สุด ($\bar{X} = 4.56$, S.D. = 0.44) เมื่อพิจารณาเป็นรายด้านพบว่าด้านที่มีค่าเฉลี่ยมากที่สุดคือ ด้านเนื้อหาและการนำเสนอข้อมูล ด้านภาพและภาพเคลื่อนไหว

ด้านเสียงและการใช้ภาษา ส่วนด้านที่มีความเหมาะสมอยู่ในระดับมาก คือ ด้านปฏิสัมพันธ์

3. ผลการประเมินความพึงพอใจสื่อแอนิเมชัน เพื่อส่งเสริมการท่องเที่ยวเชิงวัฒนธรรมการท่องเที่ยว ตำบลร่อนทอง อำเภอบางสะพาน จังหวัดประจวบคีรีขันธ์

หลังจากดำเนินการทดลองนำเสนอสื่อแอนิเมชันเพื่อส่งเสริมการท่องเที่ยวเชิงวัฒนธรรมการท่องเที่ยว ตำบลร่อนทอง อำเภอบางสะพาน จังหวัดประจวบคีรีขันธ์ ที่พัฒนาขึ้นแล้ว ผู้วิจัยได้ทำการประเมินความพึงพอใจจากผู้ใช้งานทั่วไปจำนวน 30 คน ด้วยแบบสอบถามความพึงพอใจ ผลการประเมินความพึงพอใจ ดังแสดงใน Table 2.

Table 2. The results of acceptance evaluation by user

Items	$\bar{X}$	S.D.	Acceptance Level
1. Suitability of Content	4.50	0.51	Highest Level
2. The Sequence of The Story is Easy to Understand	4.53	0.57	Highest Level
3. Suitability of Scene Placement	4.67	0.48	Highest Level
4. The Beauty of 2d Animated Characters	4.47	0.57	High Level
5. Suitability of Colors in 2D Animation	4.40	0.56	High Level
6. Clarity of The Narration	4.50	0.51	Highest Level
7. Suitability of The Caption	4.63	0.49	Highest Level
8. Suitability of 2D Animation Soundtracks	4.10	0.71	High Level
9. Suitability of Presentation Time	4.43	0.50	High Level
10. Knowledge Gained and can be used for Further Development	4.37	0.76	High Level
Total	4.46	0.57	High Level

จาก Table 2. ผลการประเมินความพึงพอใจโดยผู้ใช้งานทั่วไป พบว่า มีพึงพอใจต่อสื่อแอนิเมชันเพื่อส่งเสริมการท่องเที่ยวเชิงวัฒนธรรมการท่องเที่ยว ตำบลร่อนทอง อำเภอบางสะพาน จังหวัดประจวบคีรีขันธ์ ที่พัฒนาขึ้น โดยรวมอยู่ในระดับมาก ($\bar{X} = 4.46$, S.D. = 0.57) เมื่อพิจารณาเป็นรายด้าน พบว่าด้านที่มีค่าเฉลี่ยมากที่สุดคือด้านเนื้อหาที่มีความเหมาะสม ลำดับในการดำเนิน

เรื่องเข้าใจง่าย ความเหมาะสมในการจัดวางฉากความชัดเจนของเสียงบรรยาย ส่วนด้านที่มีความเหมาะสมอยู่ในระดับมาก คือ ความสวยงามของตัวละครแอนิเมชันสองมิติ ความเหมาะสมของสีสันทันแอนิเมชันสองมิติ ความเหมาะสมของเพลงประกอบแอนิเมชันสองมิติ ความเหมาะสมของระยะเวลาในการนำเสนอ และได้รับความรู้และนำไปต่อยอดได้



อภิปรายผลการวิจัย

1. การพัฒนาสื่อแอนิเมชันเพื่อส่งเสริมการท่องเที่ยวเชิงวัฒนธรรมการท่องเที่ยว ตำบลร้อนทอง อำเภอบางสะพาน จังหวัดประจวบคีรีขันธ์ ประกอบด้วยองค์ประกอบ ส่วนนำ:ประวัติความเป็นมาของทองบางสะพาน ส่วนเนื้อหา:ขั้นตอนการร่อนทองผ่านตัวละครชื่อเพลินและป้าวาด ส่วนสรุป: กล่าวขอบคุณและเชิญชวนให้มาท่องเที่ยวในชุมชน โดยในการพัฒนาสื่อจะเกี่ยวข้องกับตัวละคร ข้อความ ภาพพื้นหลัง ฉาก สี และองค์ประกอบของภาพ เสียงประกอบ และการเลือกเสียงดนตรี ส่งผลให้สื่อมีคุณภาพและ ผู้ได้รับชมได้เข้าใจเนื้อหาได้ที่เหมาะสม โดยผู้ชมสื่อแอนิเมชันได้แก่บุคคลทั่วไปที่สนใจเกี่ยวกับวัฒนธรรมการท่องเที่ยวให้ได้รับความรู้ความเข้าใจในเนื้อเรื่องและได้รับความสนุกสนานจากสื่อแอนิเมชันที่พัฒนาขึ้น นอกจากนี้จะเป็นการส่งเสริมและเผยแพร่ความรู้เกี่ยวกับวัฒนธรรมการท่องเที่ยวที่เป็นวิถีชีวิตชุมชน เพื่อส่งเสริมการท่องเที่ยวเชิงวัฒนธรรมแก่บุคคลที่สนใจ ซึ่งสื่อแอนิเมชันสามารถเล่าเรื่องราวประวัติศาสตร์และกระบวนการร่อนทองผ่านภาพเคลื่อนไหว ช่วยสร้างความตระหนักรู้ เข้าใจในคุณค่าและอนุรักษ์วัฒนธรรมให้คงอยู่ต่อไป สามารถกระตุ้นให้นักท่องเที่ยวต้องการมาสัมผัสกับวัฒนธรรมด้วยตนเอง ซึ่งอาจส่งผลให้ชุมชนมีรายได้เพิ่มมากขึ้น สอดคล้องกับ สุทธิพงษ์ คล่องดี และ นลินี ชนะมูล¹⁰ ได้ทำการวิจัยเรื่อง การพัฒนาสื่อโมชันกราฟิกแนะนำสถานที่ท่องเที่ยวเชิงอนุรักษ์ ชุมชนขนมแปดกริมคลองหนองบัว จังหวัดจันทบุรี พบว่าสามารถนำเสนอเนื้อหา สถานที่ตั้ง ประวัติ

ความเป็นมาของชุมชนทำให้ผู้รับชมได้รับรู้เกี่ยวกับอัตลักษณ์ของชุมชน และสามารถเผยแพร่ในช่องทางโซเชียลมีเดียได้

2. ผลการประเมินคุณภาพการพัฒนาสื่อแอนิเมชันเพื่อส่งเสริมการท่องเที่ยวเชิงวัฒนธรรมการท่องเที่ยว ตำบลร้อนทอง อำเภอบางสะพาน จังหวัดประจวบคีรีขันธ์ พบว่า ได้ใช้กระบวนการออกแบบและพัฒนาสื่อแอนิเมชันสองมิติ ที่ทำให้สื่อแอนิเมชันมีคุณภาพ โดยมีผู้เชี่ยวชาญ 3 คน ให้การประเมินคุณภาพสื่อโดยรวมอยู่ในระดับมากที่สุด ในประเด็นด้านเนื้อหาและการนำเสนอข้อมูลที่มีการใช้บท (Script) และ Storyboard ที่มีลำดับที่ชัดเจน ทำให้ง่ายต่อการติดตามและสร้างความสนใจ ด้านภาพและภาพเคลื่อนไหว ที่มีการใช้สีและลวดลายที่แสดงเอกลักษณ์ของพื้นที่ ด้านเสียงและการใช้ภาษา ที่เข้าใจง่าย ชัดเจน โดยผลการประเมินนี้สอดคล้องกับงานวิจัยของ ชญานิน อุประ, ประภาพร ต๊ะดง, และ ศิริกรณ ก้นขันธ์¹² ที่พัฒนาสื่อการสอนแอนิเมชันสองมิติ เรื่อง แม่ฮ่องสอนเมืองสามหมอก ที่ได้รับการประเมินประสิทธิภาพของสื่ออยู่ในระดับมากที่สุด ในด้านเนื้อหาของสื่อ ด้านภาษาที่ใช้ ด้านวัตถุประสงค์ และด้านลักษณะของสื่อ

3. ผลการประเมินความพึงพอใจที่มีต่อการพัฒนาสื่อแอนิเมชันเพื่อส่งเสริมการท่องเที่ยวเชิงวัฒนธรรมการท่องเที่ยว ตำบลร้อนทอง อำเภอบางสะพาน จังหวัดประจวบคีรีขันธ์ จากผู้ใช้งานทั่วไป จำนวน 30 คน พบว่ามีผลการประเมินโดยรวมอยู่ในระดับมาก เนื่องจากเนื้อหา มีความเหมาะสม การดำเนินเรื่องที่เข้าใจง่าย มีการจัดวางองค์ประกอบของฉากที่ดี เสียงและข้อความ

บรรยายที่ชัดเจน อาจเนื่องจากการใช้สื่อแอนิเมชันที่มีความสวยงาม มีสีสันเหมาะสมในการดึงดูดความสนใจของผู้ชม เสียงบรรยายมีคุณภาพฟังเข้าใจง่าย สอดคล้องกับงานวิจัยของ จักรพันธ์ เรืองนุกาภพ¹³ ได้พัฒนาสื่อแอนิเมชันสองมิติเพื่อส่งเสริมการออกกำลังกาย ที่ได้รับการประเมินความพึงพอใจโดยรวมอยู่ในระดับมาก ในด้านความเหมาะสมของเสียงประกอบ ความเหมาะสมของเนื้อหา เรื่องราว ตัวละคร ฉาก และสามารถนำไปประยุกต์ใช้ในชีวิตประจำวันได้

ข้อเสนอแนะ

1. นำสื่อแอนิเมชันที่พัฒนาเรียบร้อยแล้วไปเผยแพร่ผ่านทางช่องทางสื่อโซเชียลต่าง ๆ เพื่อเป็นการส่งเสริมและเผยแพร่ความรู้เกี่ยวกับวัฒนธรรมวิถีชีวิตชุมชนด้วย
2. พัฒนาต่อยอดงานวิจัยในรูปแบบของสื่อแอนิเมชันสามมิติ
3. นำทฤษฎี Gamification เข้ามาช่วยในการจัดทำสื่อให้เหมาะกับกลุ่มบุคคลที่สนใจ

กิตติกรรมประกาศ

ทีมผู้วิจัยขอขอบคุณศูนย์เรียนรู้การร่อนทองบางสะพาน บ้านลุงเล็ก ผู้ให้ข้อมูลการร่อนทองจนทำให้งานวิจัยสำเร็จลุล่วงไปด้วยดี

เอกสารอ้างอิง

1. นิภา เพชรสม. การพัฒนาหลักสูตรท้องถิ่นเรื่องทองบางสะพานที่บ้านป่าร่อน ของโรงเรียนบางสะพานวิทยา จังหวัดประจวบคีรีขันธ์ โดยใช้การวิจัยเชิงปฏิบัติการแบบมีส่วนร่วม .

วารสารวิชาการ มนุษยศาสตร์และสังคมศาสตร์ มหาวิทยาลัยราชภัฏนครศรีธรรมราช 2021;7:34–48.

2. กาญจนา บุญส่ง, นิภา เพชรสม. ชุดฝึกอบรมการพัฒนาหลักสูตรท้องถิ่นและหลักสูตรสถานศึกษาที่เน้นอาเซียน . เพชรบุรี: มหาวิทยาลัยราชภัฏเพชรบุรี; 2556.
3. สำนักศิลปากรที่ 1 ราชบุรี. บ้านป่าร่อน ตำบลร่อนทอง อำเภอบางสะพาน จังหวัดประจวบคีรีขันธ์ [อินเทอร์เน็ต]. 2563 [เข้าถึงเมื่อ 26 มิถุนายน 2567]. เข้าถึงได้จาก : <https://www.finearts.go.th/fad1/view/13066-บ้านป่าร่อน-ตำบลร่อนทอง-อำเภอบางสะพาน-จังหวัดประจวบคีรีขันธ์>
4. ชณัฐ พงศ์ธราธิก, สุมนรตรี นิ่มเนติพันธ์, อนันต์ มาลารัตน์. การพัฒนากิจกรรมการท่องเที่ยวเชิงวัฒนธรรม ในจังหวัดประจวบคีรีขันธ์. วารสาร มจร พุทธปัญญาปริทรรศน์ 2564;6:77–91.
5. วีรศักดิ์ ฟองเงิน, สุรพงษ์ เพ็ชรหาญ, เนตรดาว ไทรัตน์. การพัฒนาชุมชนโอทอปนวัตวิถีและส่งเสริมการท่องเที่ยว ด้วยระบบภูมิสารสนเทศศาสตร์ จังหวัดลำปาง. วารสารวิชาการ การประยุกต์ใช้เทคโนโลยีสารสนเทศ 2019;5:65–74.
6. สมหมาย ปานทอง, ญาณกร ให้อายุ, โกมล ปราชญ์กัตัญญ, เสรี วงษ์มณฑา. แนวทางการจัดการการมีส่วนร่วมของชุมชนเพื่อความยั่งยืนของการท่องเที่ยว อำเภอบางสะพาน จังหวัดประจวบคีรีขันธ์. วารสารปรัชญาปริทรรศน์ 2021;26:1–11.



7. ขั้นตอนในการทำแอนิเมชัน - สารานุกรมไทยสำหรับเยาวชนฯ [อินเทอร์เน็ต]. 2554 [เข้าถึงเมื่อ 22 กุมภาพันธ์ 2023]. เข้าถึงได้จาก: [//kanchanapisek.or.th/sub/book/book.php?book=36&chap=7&page=chap7.htm](http://kanchanapisek.or.th/sub/book/book.php?book=36&chap=7&page=chap7.htm)
8. วิโรจน์ ศรีหิรัญ. การใช้สื่อประชาสัมพันธ์ดิจิทัลในยุคการหลอมรวมสื่อเพื่อส่งเสริมการท่องเที่ยวจังหวัดสมุทรสงคราม. วารสารสถาบันวิจัยและพัฒนา มหาวิทยาลัยราชภัฏบ้านสมเด็จเจ้าพระยา 2565;7:121–31.
9. อณพพิชฐ์ ไชยเชษฐ, รัชดา ภักดียิ่ง, จริยา ปันทวัฏกุล. การพัฒนาสื่อประชาสัมพันธ์อิเล็กทรอนิกส์เพื่อการท่องเที่ยวเชิงพุทธ ใน จังหวัด ชอน แก่น . J Buddh Educ Res 2021;7:120–9.
10. สุทธิพงษ์ คล่องดี, นลินี ชนะมูล. การพัฒนาสื่อโมชันกราฟิก แนะนำสถานที่ท่องเที่ยวเชิงอนุรักษ์ ชุมชนชนมแปลงริมคลองหนองบัว จังหวัดจันทบุรี. วารสารวิชาการ การประยุกต์ใช้เทคโนโลยีสารสนเทศ 2021;7:75–83.
11. บุญชม ศรีสะอาด, บุญส่ง นิลแก้ว. การอ้างอิงประชากรเมื่อใช้เครื่องมือแบบมาตราส่วนประมาณค่ากับกลุ่มตัวอย่าง. Journal of Educational Measurement Mahasarakham University 2561;3:22-5
12. ชญานิน อูประะ, ประภาพร ต๊ะดง, ศิริกรณ กัณฑ์. การพัฒนาสื่อการสอน แอนิเมชัน 2 มิติ เรื่อง แม่ฮ่องสอนเมืองสามหมอก. วารสารวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยีสู่ชุมชน 2023;1:48–59.
13. จักรพันธ์ เรืองนุภาพขจร. การพัฒนาสื่อแอนิเมชันสองมิติเพื่อส่งเสริมการออกกำลังกาย. วารสารวิชาการนวัตกรรมสื่อสารสังคม 2024;12:36–48.

สารพฤกษเคมีฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระ และฤทธิ์ต้านเชื้อแบคทีเรียของเห็ดนางรมสีทอง และเห็ดนางรมสีชมพู

Phytochemical Contents, Antioxidant and Antibacterial Activities of Golden and Pink Oyster Mushrooms

เวธกา เข้าเจริญ*, ศรีนรินทร์ ศุภเศรษฐ์ธนา, บุษราคัม สิงห์ชัย, ศุภสุตา ลิ้มลิขิตอักษร, ชลลดา มณีราษฎร์, อัครพล สู้สนาม, บุษกร อู่ยวงษ์

Wethaka Chaocharoen*, Sarinrut Supasathana, Butsarakam Singchai, Suphasuta Limlikhitaksorn, Chonlada Maneerat, Akarapon Susanam and Budsakorn Auiyawong

สาขาเคมี คณะวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยี มหาวิทยาลัยราชภัฏเพชรบุรี

Division of chemistry, Faculty of Science and technology, Phetchaburi Rajabhat University

*Corresponding author; E-mail: wethaka.cha@mail.pbru.ac.th

Received: 02 December 2024 /Revised: 24 December 2024 /Accepted: 24 December 2024

บทคัดย่อ

เห็ดมีคุณค่าทางอาหารและมีฤทธิ์ทางชีวภาพหลายประการ ในการศึกษานี้ได้วิเคราะห์ปริมาณฟีนอลิก รวม ปริมาณฟลาโวนอยด์รวม ฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระและฤทธิ์ต้านเชื้อแบคทีเรียของเห็ดนางรมสีทองและเห็ดนางรมสีชมพู พบว่า ปริมาณฟีนอลิกรวมและฟลาโวนอยด์รวมของสารสกัดจากเห็ดนางรมสีทองเท่ากับ 4.263 ± 0.17 และ 0.187 ± 0.013 mg/mL และเห็ดนางรมสีชมพูเท่ากับ 3.290 ± 0.184 และ 0.296 ± 0.017 mg/mL ตามลำดับ ฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระของเห็ดนางรมสีทองและเห็ดนางรมสีชมพูด้วยวิธี ABTS decolorization assay มีค่า IC_{50} เท่ากับ 1.601 ± 0.049 mg/mL และ 2.053 ± 0.170 mg/mL ความสามารถในการรีดิวซ์ด้วยวิธี Ferricyanide/Prussian blue assay เท่ากับ 40.11 ± 1.02 μ molTE /g DW และ 24.28 ± 2.38 μ molTE /g DW ตามลำดับ โดยเห็ดนางรมสีทองมีฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระที่ดีกว่าเห็ดนางรมสีชมพูอย่างมีนัยสำคัญ ($p < 0.05$) การศึกษานี้ทดสอบฤทธิ์ในการต้านเชื้อแบคทีเรียด้วยวิธี disc diffusion assay และ agar well diffusion พบว่า สารสกัดเมทานอลจากเห็ดนางรมสีทองมีฤทธิ์ต้านเฉพาะการเจริญของแบคทีเรีย *S. aureus* ด้วยวิธี agar well diffusion โดยมีค่า MIC เท่ากับ 80 mg/mL ในขณะที่เห็ดนางรมสีชมพูไม่พบฤทธิ์ต้านการเจริญของเชื้อแบคทีเรีย จากการศึกษาแสดงให้เห็นว่า สารสกัดเมทานอลของเห็ดนางรมสีทองมีฤทธิ์ทางชีวภาพที่ดีทั้งฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระและฤทธิ์ต้านเชื้อแบคทีเรีย

คำสำคัญ: สารพฤกษเคมี ฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระ ฤทธิ์ต้านเชื้อแบคทีเรีย เห็ดนางรมสีทอง เห็ดนางรมสีชมพู

Abstract

Mushrooms have many nutritional properties and bioactivities. This study analyzed the total phenolic content, total flavonoid content, antioxidant activity, and antibacterial activity of methanol extract of golden and pink oyster mushrooms. The results showed that the total phenolic content and total flavonoid contents of the golden oyster mushrooms extract were 4.263 ± 0.17 and 0.187 ± 0.013 mg/mL, respectively, whereas, those of two phytochemical contents in the pink oyster mushrooms were 3.290 ± 0.184 and 0.296 ± 0.017 mg/mL, respectively. The antioxidant activity of golden and pink oyster mushrooms obtained by ABTS decolorization assay showed IC_{50} values of 1.601 ± 0.049 mg/mL and 2.053 ± 0.170 mg/mL, respectively. The reducing abilities of two extracts by Ferricyanide/Prussian blue assay were $40.11 \pm 1.02 \mu\text{molTE/g DW}$ and $24.28 \pm 2.38 \mu\text{molTE/g DW}$, respectively. Golden oyster mushrooms exhibited significantly better antioxidant activity than pink oyster mushrooms ($p \leq 0.05$). Antibacterial activity in this study was analyzed by disc diffusion assay and agar well diffusion method. It was found that the methanol extract of golden oyster mushroom exhibited specific inhibitory activity against *S. aureus* by agar well diffusion method with MIC value of 80 mg/mL, while pink oyster mushroom did not exhibit any antibacterial activity. The study showed that the methanol extract of golden oyster mushroom exhibited good bioactivity both in antioxidant and antibacterial activities.

Keywords: Phytochemical, Antioxidant activity, Antibacterial activity, Golden oyster mushroom, Pink oyster mushroom

บทนำ

เห็ด (Mushroom) ได้รับความนิยมเป็นอย่างมาก เนื่องจากเห็ดอุดมไปด้วยสารอาหาร และสารออกฤทธิ์ทางชีวภาพที่เป็นประโยชน์ต่อสุขภาพมากมาย ในปี 2567 การบริโภคเห็ดทั่วโลกมีปริมาณสูงถึง 12.47 ล้านตัน และคาดว่าจะเพิ่มเป็น 20.84 ล้านตัน ในปี 2569¹ โดยเห็ดสกุลนางรม (*Pleurotus*) เป็นหนึ่งในเห็ดที่มีการนิยมนำมาบริโภคอย่างกว้างขวาง โดยมีการบริโภคของเห็ดสกุลนี้คิดเป็นร้อยละ 25

ของการบริโภคเห็ดทั่วโลก โดยเฉพาะเห็ดนางรม (*P. ostreatus*) เห็ดนางฟ้า (*P. sajor-caju*) เห็ดเป๋าฮื้อ (*P. cystidiosus*) และเห็ดนางรมหลวง (*P. flabellula*)^{2,3} ซึ่งเห็ดทั้ง 4 สายพันธุ์เป็นที่นิยมในการบริโภค เนื่องจากเพาะเลี้ยงได้ง่าย มีกลิ่นรสชาติและเนื้อสัมผัสดี และมีคุณค่าทางโภชนาการสูง โดยเฉพาะมีปริมาณโปรตีนสูง และมีกรดอะมิโนจำเป็น เช่น อะลานีน (Alanine) ทริปโตเฟน (Tryptophan) และไกลซีน (Glycine)



ทำให้สามารถนำมาใช้ทดแทนโปรตีนจากเนื้อสัตว์ได้⁴ นอกจากนี้ยังมีไฟเบอร์สูงแต่มีปริมาณไขมันต่ำ และอุดมไปด้วยวิตามินบีรวม วิตามินซี วิตามินดี รวมถึงแร่ธาตุที่จำเป็นต่อร่างกาย เช่น ซีลีเนียม (Se) ที่ช่วยการทำงานของระบบภูมิคุ้มกัน กรดโฟลิก (Folic acid) ช่วยป้องกันโรคโลหิตจาง โพแทสเซียม (K) ช่วยรักษาการเต้นของหัวใจ สมดุลของเหลว และความดันโลหิต^{5,6,7} นอกจากนี้คุณค่าสารอาหารสูงแล้ว เห็ดสกุลนี้ยังอุดมไปด้วยสารออกฤทธิ์ทางชีวภาพ (Bioactive compound) ที่สำคัญ ได้แก่ สารประกอบฟีนอลิก (Phenolic compound) ฟลาโวนอยด์ (Flavonoid) เทอร์ปีนอยด์ (Terpenoid) และโพลีแซคคาไรด์ (Polysaccharide)^{8,9} นอกจากนี้ สารประกอบเหล่านี้ยังมีฤทธิ์ทางชีวภาพที่สำคัญ เช่น ด้านแบคทีเรีย ด้านอนุมูลอิสระ ด้านอักเสบ ด้านมะเร็ง ด้านเบาหวาน ลดน้ำตาลในเลือด และช่วยกระตุ้นระบบภูมิคุ้มกันของร่างกาย^{10,11}

อนุมูลอิสระ (Free radical) เป็นสารที่มีโครงสร้างไม่เสถียรและมีความว่องไวต่อการเกิดปฏิกิริยา เป็นสาเหตุในการเกิดโรคไม่ติดต่อ เช่น โรคความดันโลหิตสูง โรคหัวใจ โรคมะเร็ง โรคสมองและระบบประสาท เป็นต้น ในการป้องกันการเกิดโรสดังกล่าวการยับยั้งการอนุมูลอิสระเป็นทางเลือกในการป้องกันโรคที่เกิดจากอนุมูลอิสระได้ สารต้านอนุมูลอิสระที่พบมากในธรรมชาติ เช่น สารประกอบฟีนอลิก และฟลาโวนอยด์¹² โดยตามธรรมชาติสารประกอบทั้งสองชนิดจะอยู่ร่วมกัน และพบมากในเห็ดสกุลนางรม¹³ สารประกอบฟีนอลิกในเห็ดมีหลากหลายชนิด ทั้งกลุ่มที่มีโครงสร้างอย่างง่าย เช่น กรดฟีนอลิก (Phenolic acids)

กรดไฮดรอกซีเบนโซอิก (Hydroxybenzoic acid) กรดไฮดรอกซีซินนามิก (Hydroxycinnamic acid) ไปจนถึงกลุ่มที่มีโครงสร้างซับซ้อน เช่น ฟลาโวนอยด์แทนนิน (Tannin) และลิกนิน (Lignin) และยังอยู่ในรูปของสารประกอบไกลโคไซด์ (Glycoside) อีกด้วย สารประกอบฟีนอลิกและฟลาโวนอยด์มีกลไกการต้านออกซิเดชันได้หลายวิธี ได้แก่ ให้อิเล็กทรอนิกส์หรือไฮโดรเจนแก่อนุมูลอิสระ (Free radical scavenging) ยับยั้งการทำงานของอนุมูลอิสระ (Quenching) สร้างสารเชิงซ้อนกับไอออนของโลหะ เช่น Fe^{2+} , Fe^{3+} และ Cu^{2+} ซึ่งจะช่วยชะลอการเกิดอนุมูลอิสระได้ ยับยั้งการทำงานของเอนไซม์ที่สร้างอนุมูลอิสระ เช่น Lipoxygenases และกระตุ้นการทำงานของสารต้านอนุมูลอิสระจากเอนไซม์ เช่น Superoxide dismutase และ Catalase^{14,15}

เห็ดสกุลนางรมนอกจากเป็นแหล่งอาหารที่มีประโยชน์และเป็นแหล่งของสารต้านอนุมูลอิสระแล้ว เห็ดสกุลนางรมยังมีฤทธิ์ด้านเชื้อแบคทีเรีย (Antibacterial activity) ทั้งแบคทีเรียแกรมบวกและแกรมลบอีกด้วย โดยฤทธิ์การต้านเชื้อแบคทีเรียขึ้นอยู่กับชนิดของตัวทำละลายที่ใช้ในการสกัด โดยสารสกัดเมทานอลของเห็ดจะแสดงฤทธิ์การต้านเชื้อแบคทีเรียดีกว่าสารสกัดน้ำ และสารสกัดเอทิลอะซิเตต ตามลำดับ จากรายงานการศึกษาพบว่าสารสกัดของเห็ดสกุลนางรมสามารถยับยั้งเชื้อก่อโรค *Escherichia coli*, *Bacillus subtilis*, *Streptococcus faecalis*, *Pseudomonas aeruginosa* และ *Salmonella typhi* ซึ่งทดสอบด้วยวิธี Disc diffusion นอกจากชนิดตัวทำละลายที่ใช้สกัดสารจากเห็ด วัสดุที่ใช้เพาะเห็ดก็ส่งผลต่อ



ฤทธิ์ต้านเชื้อแบคทีเรียด้วยเช่นกัน โดยเห็ดนางรมที่เพาะเลี้ยงด้วยกากเมล็ดข้าวฟ่างมีฤทธิ์ต้าน *E. coli* และ *P. aeruginosa* ได้ดีกว่าการใช้วัสดุชนิดอื่น ๆ ในขณะที่สารสกัดของเห็ดนางรม (*P. florida*) ที่เพาะเลี้ยงด้วยกากเมล็ดข้าวสาลีมีฤทธิ์ต้าน *E. coli* และ *S. faecalis* ดีที่สุด¹⁶ สารสกัดเห็ดนางรมยังมีรายงานว่าสามารถยับยั้งเชื้อ *Micrococcus luteus*, *Pseudomonas aeruginosa*, *Proteus vulgaris* และ *Proteus mirabilis* ได้อีกด้วย เมื่อทดสอบด้วยวิธี Well diffusion โดยฤทธิ์ต้านเชื้อแบคทีเรียเพิ่มขึ้นตามความเข้มข้น (25-100 µg/mL) ของสารสกัด^{17,18} โดยในงานวิจัยครั้งนี้ทำทดสอบฤทธิ์ต้านเชื้อแบคทีเรียก่อโรค จำนวน 5 สายพันธุ์ ได้แก่ เชื้อ *P. aeruginosa*, *E. coli*, *S. aureus*, *B. subtilis* และ *B. cereus* ซึ่งเป็นเชื้อก่อโรคในระบบทางอาหาร

จากที่กล่าวมา เห็ดสกุลนางรมมีสารอาหารและสารชีวภาพที่มีประโยชน์มากมาย การศึกษาวิจัยเห็ดในสกุลนางรมเพื่อนำมาใช้ประโยชน์จึงมีความน่าสนใจอย่างยิ่ง เห็ดนางรมสีทอง (*P. citrinopileatus*) และเห็ดนางรมสีชมพู (*P. djamon*) กำลังได้รับความนิยมในปัจจุบัน แต่รายงานการวิจัยเกี่ยวกับเห็ดทั้งสองชนิดนี้ในประเทศไทยยังมีน้อย ประกอบกับมีรายงานการวิจัยที่พบว่าปริมาณสารอาหารและองค์ประกอบทางเคมีของเห็ด ขึ้นอยู่กับวัสดุและสภาพแวดล้อมที่ใช้ในการเพาะเลี้ยงเห็ด¹⁹ ดังนั้นผู้วิจัยจึงต้องการศึกษาฤทธิ์ต้านออกซิเดชันและฤทธิ์ต้านเชื้อแบคทีเรียของเห็ดนางรมสีทองและเห็ดนางรมสีชมพูจากบ้านหนองน้ำดำ ตำบลห้วยแม่เพรียง อำเภอแก่งกระจาน จังหวัดเพชรบุรี เพื่อเป็นข้อมูลสำหรับพัฒนาเห็ดทั้งสองชนิดในเชิงพาณิชย์ต่อไป

วิธีการวิจัย

1. ตัวอย่างและการสกัด

ตัวอย่างเห็ดนางรมสีทองและเห็ดนางรมสีชมพู ได้จากเกษตรกรที่เพาะเห็ดของตำบลห้วยแม่เพรียง อำเภอแก่งกระจาน จังหวัดเพชรบุรี ในเดือนมีนาคม 2566 โดยใช้ฟางข้าวหมักเป็นวัสดุปลูกและอุณหภูมิในการเพาะปลูกที่ 30 องศาเซลเซียส และนำส่วนที่เป็นดอกเห็ด (Fruiting body) มาทำความสะอาด หั่นเป็นชิ้นเล็ก ๆ อบให้แห้งที่อุณหภูมิ 50 องศาเซลเซียส ในตู้อบลมร้อนเป็นเวลา 36 ชั่วโมง ให้นำแห้งสนิทแล้วนำมาบดด้วยเครื่องบดจนละเอียด ใส่ถุงสุญญากาศเก็บไว้ที่อุณหภูมิ 4 องศาเซลเซียส

สกัดตัวอย่างด้วยวิธีการแช่หมัก (Maceration method) โดยชั่งตัวอย่างเห็ดนางรมทั้งสองชนิดประมาณ 37 กรัม แช่ในสารละลายเมทานอลประมาณ 200 mL จนท่วมตัวอย่าง ทิ้งไว้เป็นเวลา 24 ชั่วโมง นำสารสกัดที่ได้มากรอง และนำส่วนของตัวอย่างมาสกัดซ้ำอีก 2 ครั้ง รวมสารสกัดที่ได้ทั้งหมดนำไประเหยตัวทำละลายด้วยเครื่อง Rotary evaporator ที่ความดัน 337 mbar อุณหภูมิ 40 องศาเซลเซียส และเก็บสารสกัดหยาบที่ได้ไว้ที่อุณหภูมิ 4 องศาเซลเซียส เพื่อการวิเคราะห์ต่อไป

2. การวิเคราะห์ปริมาณฟีนอลิกรวม

ปริมาณฟีนอลิกรวมในสารสกัดเมทานอลของเห็ดทั้งสองชนิดวิเคราะห์โดยวิธี Folin-Ciocalteu assay ซึ่งดัดแปลงเล็กน้อยจาก Singleton และคณะ²⁰ โดยนำสารสกัดปริมาตร 0.3 mL มาเติมสารละลาย 2N Folin-Ciocalteu (ที่เจือจางแล้วด้วยน้ำในอัตราส่วน 1/10 v/v) ปริมาตร 1.5 mL ผสมให้เข้ากันตั้งทิ้งไว้ประมาณ 6 นาที เติมสารละลาย 7.5% (w/v) โซเดียมคาร์บอเนต (Na_2CO_3) ปริมาตร 1.3 mL

ผสมให้เข้ากันและนำไปวางไว้ในที่มืดที่อุณหภูมิห้องเป็นเวลา 30 นาที นำมาวัดค่าการดูดกลืนแสงด้วยเครื่องวัดการดูดกลืนแสง (UV-Vis Spectrophotometer) ที่ความยาวคลื่น 760 nm โดยการเตรียมแบลนด์ใช้วิธีเดียวกับสารสกัดแต่ใช้เมทานอล และเทียบกับการฟามาตรฐานของกรดแกลลิก ความเข้มข้น 10-200 mg/L ($R^2=0.9970$) รายงานปริมาณฟีนอลิกรวมในรูปของมิลลิกรัมสมมูลของกรดแกลลิกต่อกรัมน้ำหนักแห้ง (mg gallic acid equivalent /g dried weight, mgGAE/g DW)

3.การวิเคราะห์ปริมาณฟลาโวนอยด์รวม

ปริมาณฟลาโวนอยด์รวมในสารสกัดเมทานอลของเห็ดทั้งสองชนิดวิเคราะห์โดยวิธี Aluminum chloride colorimetric method²¹ โดยใช้สารสกัดปริมาตร 2 mL เติมอะลูมิเนียมคลอไรด์ความเข้มข้นร้อยละ 10 ปริมาตร 0.1 mL ผสมให้เข้ากันและเติม Potassium acetate ความเข้มข้น 1 M ปริมาตร 0.1 mL และเติมน้ำกลั่น 1 mL ผสมให้เข้ากันและนำไปวางไว้ที่อุณหภูมิห้องเป็นเวลา 30 นาที นำมาวัดค่าการดูดกลืนแสงด้วยเครื่องวัดการดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 415 nm โดยใช้เมทานอลเป็นตัวแปรควบคุม และเทียบกับกราฟมาตรฐานของเคอร์ซีทิน (Quercetin) ความเข้มข้น 4-40 mg/mL ($R^2=0.9978$) รายงานปริมาณฟลาโวนอยด์รวมในรูปของมิลลิกรัมสมมูลของเคอร์ซีทินต่อกรัมน้ำหนักแห้ง (mg quercetin equivalent /g dried weight, mgQE/g DW)

4.การวิเคราะห์ฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระด้วยวิธี ABTS

เตรียมสารละลาย ABTS (2,2'-azino-bis (3-ethylbenzthiazoline-6-sulphonic acid)) โดยนำ สารละลาย 7 mM ABTS ปริมาตร 10 mL และ

เติมสารละลาย 2.45 mM potassium persulfate ($K_2S_2O_8$) ปริมาตร 10 mL ลงไปผสมให้เข้ากัน เก็บไว้ในที่มืดที่อุณหภูมิห้อง เป็นเวลา 12-16 ชั่วโมง จะได้สารละลายสีน้ำเงินเข้ม นำมาเจือจางด้วย เมทานอลจนได้ค่าการดูดกลืนแสงด้วยเครื่องวัด การดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 734 nm ในช่วง $0.7-1.0^{22}$

นำสารสกัดเมทานอลของตัวอย่างที่ความเข้มข้นต่าง ๆ ปริมาตร 0.1 mL นำมาเติมสารละลาย ABTS ที่เตรียมตามขั้นตอนด้านบนปริมาตร 2.9 mL ผสมให้เข้ากัน เก็บในที่มืดที่อุณหภูมิห้องเป็นเวลา 30 นาที แล้วนำไปวัดค่าการดูดกลืนแสงด้วยเครื่องวัดการดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 734 nm คำนวณค่าร้อยละการต้านอนุมูลอิสระ (Radical scavenging) และรายงานค่าความเข้มข้นที่สามารถต้านการเกิดอนุมูลอิสระได้ร้อยละ 50 (IC_{50}) โดยเทียบกับสารมาตรฐานของทรอลลอกซ์

$$\text{radical scavenging (\%)} = [(A_0 - A_s)/A_0] \times 100$$

โดย A_0 = ค่าการดูดกลืนแสงหลอดควบคุม
และ A_s = ค่าการดูดกลืนแสงของสารตัวอย่าง

5. การวิเคราะห์ฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระด้วยวิธี PFRAP

วิเคราะห์ฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระด้วยวิธี Ferricyanide/Prussian blue method ²³ โดยนำสารสกัดปริมาตร 0.1 mL เติม 96% เอทานอล ปริมาตร 0.9 mL เติมน้ำ 1.3 mL ผสมให้เข้ากันแล้วเติม 1M HCl ปริมาตร 0.2 mL และเติมสารละลาย 1% Potassium ferricyanide ปริมาตร 1.5 mL เติม 1% Sodium dodecyl sulfate ปริมาตร 0.5 mL และเติมสารละลาย 0.2% $\text{FeCl}_3 \cdot 6\text{H}_2\text{O}$ ปริมาตร 0.5 mL เป็นอันดับสุดท้าย เก็บไว้ที่อุณหภูมิห้องเป็นเวลา 30 นาที แล้วนำไปวัดค่าการดูดกลืนแสงด้วย

เครื่องวัดการดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 750 nm คำนวณฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระกับกราฟมาตรฐานของทรอลลอกซ์ และรายงานในรูปของไมโครโมลสมมูลของทรอลลอกซ์ต่อกรัมสารสกัด ($\mu\text{mol TE/g extract}$)

6. การทดสอบฤทธิ์การต้านเชื้อแบคทีเรีย

ในการทดสอบครั้งนี้ใช้แบคทีเรียก่อโรคจำนวน 5 สายพันธุ์ ซึ่งเป็นชนิดและสายพันธุ์มาตรฐาน (American type culture collection, ATCC) แบ่งเป็นแบคทีเรียแกรมลบ จำนวน 2 สายพันธุ์ ดังนี้ (1) *Pseudomonas aeruginosa* PAO1 (2) *Escherichia coli* 25922 และแบคทีเรียแกรมบวก จำนวน 3 สายพันธุ์ ดังนี้ (1) *Staphylococcus aureus* 29213 (2) *Bacillus subtilis* และ (3) *Bacillus cereus*

โดยนำเชื้อแบคทีเรียที่ต้องการทดสอบมาเลี้ยงในอาหารเหลว Mueller-Hinton broth (MHB) ที่อุณหภูมิ 37 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 18 ชั่วโมง หลังจากนั้นนำมาปั่นตกตะกอนด้วยการปั่นเหวี่ยงที่ความเร็ว 6,000 rpm ล้างแบคทีเรียด้วย Normal saline (0.85% sodium chloride) จำนวน 2 รอบ และนำเชื้อแบคทีเรียสายพันธุ์ที่ต้องการทดสอบมาปรับความขุ่นด้วย Normal saline ให้เท่ากับ 0.5 McFarland (1.5×10^8 CFU/mL) และนำมาใช้ในการทดสอบฤทธิ์การต้านเชื้อแบคทีเรีย Disc diffusion assay, Agar well diffusion และ Broth microdilution method ต่อไป

6.1 การทดสอบฤทธิ์การต้านเชื้อแบคทีเรีย ด้วยวิธี Disc diffusion assay

การทดสอบ Disc diffusion test ได้ดำเนินการทดสอบด้วยวิธีมาตรฐานตามวิธีของ Clinical laboratory standard institute (CLSI) ทำได้โดยนำเชื้อแบคทีเรียทั้ง 5 สายพันธุ์ที่เตรียมในข้างต้น

มาสอบ (Swab) ให้ทั่วบนอาหาร Mueller-Hinton agar (MHA) ด้วยไม้พันสำลีปราศจากเชื้อ (Cotton swab) จากนั้นวางแผ่นดิส (disc) ขนาดเส้นผ่านศูนย์กลาง 6 มิลลิเมตรที่มีสารสกัดเห็ดนางรมสีชมพูและสารสกัดเห็ดนางรมสีทอง ปริมาณ 1, 2 และ 4 mg ต่อแผ่นดิส หรือแผ่นดิสยาปฏิชีวนะ Cloxacillin (30 $\mu\text{g/disc}$) สำหรับแบคทีเรียแกรมบวก หรือ Ceftazidime (30 $\mu\text{g/disc}$) สำหรับแบคทีเรียแกรมลบ สำหรับแผ่นดิสที่ได้เติมสาร DMSO ปริมาณ 20 μL ให้เป็นดิสควบคุมตัวทำลายให้น้ำแผ่นดิสที่แห้งแล้ววางบน MHA ที่ได้เพาะเชื้อในระยะห่างเหมาะสม จากนั้นนำไปบ่มเลี้ยงเชื้อที่อุณหภูมิ 37 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 24 ชั่วโมง แล้วนำมาวัดขนาดเส้นผ่านศูนย์กลางของบริเวณยับยั้ง (Inhibition zone)

6.2 การทดสอบฤทธิ์การต้านเชื้อแบคทีเรีย ด้วยวิธี Agar well diffusion

การทดสอบ Agar well diffusion ได้โดยนำเชื้อแบคทีเรียทั้ง 5 สายพันธุ์ที่เตรียมในข้างต้นมาสอบ (Swab) ให้ทั่วบนอาหาร Mueller-Hinton agar (MHA) ด้วยไม้พันสำลีปราศจากเชื้อ (Cotton swab) จากนั้นเจาะหลุมด้วย Cork borer โดยมีเส้นผ่านศูนย์กลาง 6 มิลลิเมตรจากนั้นหยดสารสกัดความเข้มข้น 100, 200 และ 400 mg/mL ลงในหลุมๆ ละ 50 μL รวมทั้ง DMSO และยาปฏิชีวนะ Cloxacillin สำหรับแบคทีเรียแกรมบวก หรือ Ceftazidime สำหรับแบคทีเรียแกรมลบ นำจานเพาะเชื้อนี้ไปบ่มเลี้ยงเชื้อที่อุณหภูมิ 37 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 24 ชั่วโมง แล้วนำมาวัดขนาดเส้นผ่านศูนย์กลางของบริเวณยับยั้ง (Inhibition zone)



6.3 การหาค่าความเข้มข้นต่ำสุดของสารสกัดที่ยับยั้งเชื้อแบคทีเรียได้ (Minimum Inhibitory Concentration; MIC)

การหาค่าความเข้มข้นต่ำสุดของสารสกัดที่ยับยั้งเชื้อแบคทีเรียได้ (MIC) ได้ดำเนินการทดสอบด้วยวิธีมาตรฐานของ Clinical laboratory standard institute (CLSI) ด้วยวิธี Broth microdilution method นำเชื้อแบคทีเรียทั้ง 5 สายพันธุ์ที่เตรียมในข้างต้นมา 20 μ L ผสมกับ Mueller-Hinton broth 180 μ L ใน 96-well plate และผสมกับสารสกัดที่มีลำดับความเข้มข้นต่าง ๆ (Serial dilution) ดังนี้ 0.625, 1.25, 2.5, 5, 10, 20, 40 และ 80 mg/mL และยาปฏิชีวนะ cloxacillin สำหรับแบคทีเรียแกรมบวก หรือ Ceftazidime สำหรับแบคทีเรียแกรมลบที่มีลำดับความเข้มข้นต่าง ๆ ดังนี้ 0.5, 1, 2, 4, 8, 16, 32, 64, 128, 256 และ 512 μ g/mL โดยมีหลอดควบคุมเป็นหลอดที่ไม่มีเชื้อและไม่มียาหรือสารสกัด นำเพลทไปบ่มที่อุณหภูมิ 37 องศาเซลเซียสเป็นเวลา 24 ชั่วโมง ค่า MIC คือความเข้มข้นต่ำสุดที่สามารถยับยั้งการเจริญเติบโตของเชื้อแบคทีเรีย

7. สถิติในการวิจัย

ทุกการทดสอบทำการทดลองซ้ำ 3 ครั้ง โดยรายงานผลเป็นค่าเฉลี่ยและส่วนเบี่ยงเบนมาตรฐาน และเปรียบเทียบค่าเฉลี่ยปริมาณสารฟีนอลิกทางรวมและฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระของเห็ดทั้งสองชนิดด้วย independent t-test และทดสอบความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญที่ $p < 0.05$ โดยใช้โปรแกรม Microsoft excel

ผลการวิจัย

ปริมาณสารสกัด

ในการศึกษาเห็ดนางรมสีทองและเห็ดนางรมสีชมพูที่ได้จากกลุ่มเกษตรกรที่เพาะเลี้ยงเห็ดตำบลห้วยแม่เพรียง อำเภอแก่งกระจาน จังหวัดเพชรบุรี โดยใช้ฟางข้าวหมักเป็นวัสดุปลูก และอุณหภูมิในการเพาะปลูกที่ 30 องศาเซลเซียส โดยนำตัวอย่างมาทำให้แห้ง บดให้ละเอียดและสกัดด้วยวิธีการแช่หมักในเมทานอล พบว่าสารสกัดหยาบของเห็ดนางรมทั้งสองชนิดมีลักษณะเป็นของเหลวข้นหนืด สีเหลืองน้ำตาล สารสกัดหยาบของเห็ดนางรมสีทองมีค่าร้อยละผลผลิตเท่ากับ 19.06 และสารสกัดหยาบของเห็ดนางรมสีชมพูมีค่าร้อยละผลผลิตเท่ากับ 12.65 ตามลำดับ สารสกัดหยาบในเมทานอลดังกล่าวนำไปทำการวิเคราะห์ปริมาณฟีนอลิกรวม ปริมาณฟลาโวนอยด์รวม ฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระ และฤทธิ์ต้านเชื้อแบคทีเรียต่อไป

ปริมาณฟีนอลิกรวมและปริมาณฟลาโวนอยด์รวม

ในการศึกษาปริมาณฟีนอลิกรวมของเห็ดนางรมทั้งสองชนิดด้วยวิธี Folin-Ciocalteu colorimetric assay พบว่า เห็ดนางรมสีทองและเห็ดนางรมสีชมพูมีปริมาณฟีนอลิกรวมแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญ ($p < 0.05$) เท่ากับ 4.263 ± 0.17 และ 3.290 ± 0.184 mgGAE/g DW ตามลำดับ และทดสอบปริมาณฟลาโวนอยด์รวมด้วยวิธี Aluminum chloride colorimetric assay พบว่า ปริมาณฟลาโวนอยด์รวมของสารสกัดจากเห็ดนางรมสีทอง และสีชมพูมีค่าไม่แตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญ ($p > 0.05$)

เท่ากับ 0.187 ± 0.013 และ 0.296 ± 0.017 mgQE/g DW ตามลำดับ ดังแสดงใน Table 1

ฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระ

การศึกษานี้ได้ทำการทดสอบฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระของสารสกัดเห็ดนางรมและเห็ดนางรมสีทองด้วยวิธี ABTS decolorization assay ซึ่งเป็น การกำจัดอนุมูลแคทไอออนของ ABTS (ABTS^{•+})²⁴ โดยเปรียบเทียบกับทรอลลอกซ์ พบว่า สารสกัดเห็ดนางรมสีทองและสารสกัดเห็ดนางรมสีชมพู มีค่าความเข้มข้นของสารที่สามารถยับยั้งอนุมูลอิสระที่ร้อยละ 50 (IC₅₀) เท่ากับ 1.601 ± 0.049

mg/mL และ 2.053 ± 0.170 mg/mL ตามลำดับ โดยสารมาตรฐานทรอลลอกซ์ มีค่า IC₅₀ เท่ากับ 0.110 ± 0.002 mg/mL และการทดสอบฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระด้วยวิธี Ferricyanide/Prussian blue method โดยเทียบกับทรอลลอกซ์เช่นกัน พบว่า ค่าการรีดิวซ์ของสารสกัดเห็ดนางรมสีทอง และสารสกัดเห็ดนางรมสีชมพู เท่ากับ 40.11 ± 1.02 $\mu\text{molTE/g DW}$ และ 24.28 ± 2.38 $\mu\text{molTE/g DW}$ ตามลำดับ ดังแสดงใน Table 1 โดยฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระของเห็ดนางรมสีทองและเห็ดนางรมสีชมพูแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญ ($p \leq 0.05$)

Table 1. Total phenolic, total flavonoid and antioxidant activity of golden and pink oyster mushrooms

Samples	Total phenolic	Total flavonoid	ABTS method	Ferricyanide/Prussian blue method
	(mgGAE/g DW)	(mgQE/g DW)	IC ₅₀ (mg/mL)	($\mu\text{molTE/g DW}$)
Golden oyster mushroom	4.263 ± 0.17^a	0.187 ± 0.013^a	1.601 ± 0.049^a	40.11 ± 1.02^a
Pink oyster mushroom	3.290 ± 0.184^b	0.296 ± 0.017^a	2.053 ± 0.170^b	24.28 ± 2.38^b

The letter (a,b) in the same column indicates significant difference at $p \leq 0.05$

ฤทธิ์ต้านเชื้อแบคทีเรีย

ในการศึกษานี้ได้ทำการทดสอบฤทธิ์ในการต้านเชื้อแบคทีเรียด้วยวิธี Disc diffusion assay และ Agar well diffusion รวมถึงหาค่า MIC ของสารสกัดเห็ดนางรมและเห็ดนางรมสีชมพู โดยใช้แบคทีเรียก่อโรคในระบบทางเดินอาหารจำนวน 5 สายพันธุ์ คือ *P. aeruginosa* PAO1, *E. coli* 25922, *S. aureus* 29213, *B. subtilis* และ *B. cereus*

จากการทดสอบฤทธิ์ในการต้านเชื้อแบคทีเรียด้วยวิธี Disc diffusion assay แสดงผลใน Table 2

พบว่า สารสกัดจากเห็ดนางรมสีทองและสารสกัดจากเห็ดนางรมสีชมพูไม่มีฤทธิ์ในการต้านแบคทีเรียก่อโรคทั้ง 3 ชนิด ได้แก่ *P. aeruginosa*, *E. coli* และ *S. aureus* ในขณะที่ Cloxacillin (30 $\mu\text{g/disc}$) มีฤทธิ์ต้านเชื้อ *S. aureus* และ Ceftazidime (30 $\mu\text{g/disc}$) โดยมีบริเวณยับยั้ง 3.00 ± 0.00 mm มีฤทธิ์ต้านเชื้อ *P. aeruginosa* และ *E. coli* โดยมีบริเวณยับยั้งเท่ากับ 2.23 ± 0.06 และ 2.50 ± 0.00 mm ตามลำดับ



ผลการหาค่าความเข้มข้นต่ำสุดของสารสกัดที่ยับยั้งเชื้อแบคทีเรียได้ (MIC) พบว่า สารสกัดเห็ดนางรมสีชมพูมีค่า MIC ในการยับยั้งแบคทีเรียก่อโรคในระบบทางเดินอาหารทั้ง 5 ชนิดมากกว่า 80 mg/mL และสกัดเห็ดนางรมสีทองมีค่า MIC ในการยับยั้งเชื้อแบคทีเรียก่อโรคในระบบทางเดิน

ในการยับยั้งเชื้อ *S. aureus* มีค่า 80 mg/mL สำหรับ Cloxacillin มีค่า MIC ในการยับยั้งเชื้อ *S. aureus*, *B. subtilis* และ *B. cereus* เท่ากับ 0.5, ≤ 0.5 และ 256 $\mu\text{g/mL}$ ตามลำดับ และ Ceftazidime มีค่า MIC เท่ากับ 4 และ $\leq 0.5 \mu\text{g/mL}$ ตามลำดับ แสดงดังใน Table 4

อาหารทั้ง 4 ชนิด มากกว่า 80 mg/mL และมีค่า MIC

Table 4 Minimum Inhibitory Concentration (MIC) of golden and pink oyster mushroom crude extracts

Types of bacteria	Pink oyster mushroom (mg/mL)	Golden oyster mushroom (mg/mL)	Cloxacillin ($\mu\text{g/mL}$)	Ceftazidime ($\mu\text{g/mL}$)
<i>P. aeruginosa</i>	> 80	> 80	-	4
<i>E. coli</i>	> 80	> 80	-	≤ 0.5
<i>S. aureus</i>	> 80	80	0.5	-
<i>B. subtilis</i>	> 80	> 80	≤ 0.5	-
<i>B. cereus</i>	> 80	> 80	256	-

อภิปรายผลการวิจัย

เห็ดสกุลนางรม (*Pleurotus* spp.) เป็นเห็ดที่นิยมบริโภคของคนทั่วโลก และเพิ่มมากขึ้นในกลุ่มอาหารสุขภาพ เนื่องจากคุณค่าทางอาหารและฤทธิ์ทางชีวภาพหลายอย่าง แต่อย่างไรก็ตามเห็ดนางรมสีทอง (*P. citrinopileatus*) และเห็ดนางรมสีชมพู (*P. djamon*) ซึ่งทั้งสองสายพันธุ์เป็นเห็ดที่อยู่ใกล้สกุลนางรม ในประเทศไทยยังมีรายงานน้อยจากการศึกษาท่อน้ำของบุษกร และคณะ²⁵ รายงานคุณค่าทางโภชนาการของเห็ดทั้งสองชนิด ปริมาณฟีนอลิกรวม และฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระพบว่า นอกจากเห็ดทั้งสองชนิดจะเป็นแหล่งของโปรตีนที่ดีแล้ว สารพฤกษเคมีของเห็ดนางรมทั้งสองชนิดในสารสกัดเมทานอล พบทั้งแอลคาลอยด์ สเตอริยรอยด์ แทนนิน คูมาริน และฟลาโวนอยด์

และมีฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระที่ดี โดยการสกัดด้วยเมทานอลจะมีฤทธิ์ที่ดีกว่าในการสกัดด้วยน้ำ²⁵ ดังนั้นในการศึกษานี้จึงสนใจศึกษาฤทธิ์ในสารสกัดเมทานอลเป็นหลัก และพบว่าปริมาณฟีนอลิกในเห็ดนางรมสีทองมีปริมาณมากกว่าเห็ดนางรมสีชมพูอย่างมีนัยสำคัญเช่นเดียวกัน อย่างไรก็ตามมีการรายงานค่าปริมาณฟีนอลิกรวมและฟลาโวนอยด์รวมของเห็ดนางรมสีชมพูในแต่ละช่วงการเจริญที่แตกต่างกัน โดยพบว่าในช่วงที่โตเต็มที่พร้อมเก็บเกี่ยวจะมีปริมาณฟีนอลิกรวมและฟลาโวนอยด์รวมเท่ากับ 6.75 mgGAE/g DW และ 1.20 mgQE/g DW ตามลำดับ²⁶ และมีรายงานส่วนของสารสกัดเอทานอลของเห็ดนางรมสีทองมีปริมาณฟีนอลิกรวมและฟลาโวนอยด์เท่ากับ 0.304 mgGAE/g DW



และ 0.137 mgQE/g DW ตามลำดับ²⁷ ซึ่งไม่ต่างมากนักกับการศึกษาอื่น

เป็นที่ทราบกันดีว่าสารสกัดจากเห็ดหลายชนิดมีฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระ⁵ ดังนั้นในการศึกษานี้ได้ทำการทดสอบฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระของสารสกัดเมทานอลจากเห็ดทั้งสองชนิดด้วยวิธีการกำจัดอนุมูลแคทไอออนของ ABTS (ABTS^{•+}) รวมถึงทดสอบการส่งผ่านอิเล็กตรอนเดี่ยวไปรีดิวซ์อนุมูลด้วยวิธี Ferricyanide/Prussian blue method พบว่า สารสกัดของเห็ดนางรมสีทองมีฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระที่ดีกว่าสารสกัดของเห็ดนางรมสีชมพู โดยมีค่า IC₅₀ น้อยกว่า รวมถึงความสามารถในการรีดิวซ์มากกว่าและแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญ รวมถึงสารประกอบฟีนอลิกและสารประกอบฟลาโวนอยด์เป็นสารกลุ่มที่มีความสัมพันธ์กับฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระ ซึ่งในการศึกษานี้ปริมาณฟลาโวนอยด์ในสารสกัดเห็ดทั้งสองชนิดไม่แตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญ แต่ปริมาณฟีนอลิกรวมของสารสกัดเห็ดนางรมสีทองสูงกว่าสารสกัดจากเห็ดนางรมสีชมพู ส่งผลให้สารสกัดเห็ดนางรมสีทองมีฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระสูงกว่าสารสกัดจากเห็ดนางรมสีชมพู ซึ่งสอดคล้องกับงานวิจัยของบุษกร²⁵ ที่พบว่าสารสกัดเห็ดนางรมที่มีปริมาณฟีนอลิกรวมสูงจะมีฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระสูง

มีการศึกษาฤทธิ์ต้านเชื้อแบคทีเรียของสารสกัดจากเห็ดชนิดต่าง ๆ และพบว่าเห็ดหลายสายพันธุ์รวมถึงกลุ่มเห็ดนางรมมีฤทธิ์ในการยับยั้งแบคทีเรียได้^{16,17,18} ดังนั้นในการศึกษานี้ได้ทำการทดสอบฤทธิ์ในการต้านแบคทีเรียด้วยวิธี Disc diffusion assay และ Agar well diffusion พบว่า

สารสกัดเมทานอลจากเห็ดนางรมสีทองมีฤทธิ์ต้านเชื้อแบคทีเรีย *S. aureus* ด้วยวิธี Agar well diffusion โดยมีค่า MIC เท่ากับ 80 mg/mL ในขณะที่เห็ดนางรมสีชมพูในการศึกษานี้ไม่พบฤทธิ์ต้านเชื้อแบคทีเรียทั้งวิธี disc diffusion assay และ agar well diffusion ทั้งนี้ฤทธิ์ในการต้านเชื้อแบคทีเรียอาจขึ้นกับวัสดุและสภาพแวดล้อมในการเพาะปลูกที่ต่างกัน¹⁹ แต่อย่างไรก็ตามมีการรายงานฤทธิ์ต้านเชื้อแบคทีเรียหลายสายพันธุ์ของสารสกัดไคคลอโรไมเทนของส่วน Mycelial ของเห็ดนางรมสีชมพูต่อ *S. aureus*, *S. mutans*, *E. coli*, *P. aeruginosa* เป็นต้น²⁸ และจากการศึกษาของ Merng และคณะ²⁹ พบว่าในสารสกัดเฮกเซนและเอทิลอะซิเตตของเห็ดนางรมสีทอง มีฤทธิ์ในการยับยั้งการเจริญของ *S. aureus* และ *E. coli* ที่ความเข้มข้น 0.5 และ 0.3 mg/mL ตามลำดับ แต่ในสารสกัดเมทานอลกลับไม่มีฤทธิ์ต้านการเจริญของเชื้อทั้งสองชนิดนี้เช่นเดียวกับการศึกษาของ Chomchoeon และคณะ³⁰ ที่รายงานว่าสารสกัด Ethyl acetate ของเห็ดนางรมสีทองที่เลี้ยงในอาหาร Potato dextrose broth มีฤทธิ์ต้านเชื้อแบคทีเรีย *S. aureus* และ *E. coli* ได้ แต่ถ้าเลี้ยงด้วย Yeast extract sucrose broth จะไม่พบฤทธิ์ต้านเชื้อแบคทีเรียทั้งสองชนิด

สรุปผลการวิจัย

ผลการศึกษาสารสกัดเมทานอลของเห็ดนางรมสีทองและเห็ดนางรมสีชมพู พบว่าเห็ดทั้งสองชนิดมีฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระโดยเห็ดนางรมสีทองมีฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระที่ดีกว่าเห็ดนางรม



สีชมพู รวมถึงมีฤทธิ์ในการยับยั้งการเจริญของแบคทีเรีย *S. aureus* ด้วย

กิตติกรรมประกาศ

งานวิจัยเรื่องนี้ได้งบประมาณสนับสนุนภายใต้งบประมาณด้านวิทยาศาสตร์วิจัยและนวัตกรรม จากกองทุนส่งเสริมวิทยาศาสตร์วิจัยและนวัตกรรม ประจำปีงบประมาณ พ.ศ. 2567 (สัญญาเลขที่ วรณ-013-2567) และสถานที่ดำเนินงานวิจัยจากสาขาวิชาเคมี คณะวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยี มหาวิทยาลัยราชภัฏเพชรบุรี

เอกสารอ้างอิง

1. Shirur M, Barh A, Annepu SK. Sustainable Production of Edible and Medicinal Mushrooms: Implications on Mushroom Consumption. In: Hebsale Mallappa VK, Shirur M, editors. Climate Change and Resilient Food Systems: Singapore: Springer Singapore 2021;315–46.
2. Patel Y, Naraian R, Singh VK. Medicinal Properties of Pleurotus Species (Oyster Mushroom): A Review. Plant Biol 2012;3:1-12.
3. Niego AG, Rapior S, Thongklang N, Raspé O, Jaidee W, Lumyong S, et al. Macrofungi as a Nutraceutical Source: Promising Bioactive Compounds and Market Value. Journal of Fungi 2021;7:397.
4. González A, Cruz M, Losoya C, Nobre C, Loredó A, Rodríguez R, et al. Edible mushrooms as a novel protein source for functional foods. Food Funct 2020;11:7400–14.
5. Kozarski M, Klaus A, Jakovljevic D, Todorovic N, Vunduk J, Petrović P, et al. Antioxidants of Edible Mushrooms. Molecules 2015;20:19489–525.
6. Acharya K, Khatua S, Ray S. Quality assessment and antioxidant study of *Pleurotus djamor* (Rumph. ex Fr.) Boedijn. J App Pharm Sci 2017;7:105-10.
7. Irshad A, Tahir A, Sharif S, Khalid A, Ali S, Naz A, et al. Determination of Nutritional and Biochemical Composition of Selected *Pleurotus* spp. Fulzele DP, editor. BioMed Research International 2023;8150909.
8. Venturella G, Ferraro V, Cirlincione F, Gargano ML. Medicinal Mushrooms: Bioactive Compounds, Use, and Clinical Trials. Int J Mol Sci 2021;22:634.
9. Effiong ME, Umeokwochi CP, Afolabi IS, Chinedu SN. Assessing the nutritional quality of *Pleurotus ostreatus* (oyster mushroom). Front Nutr 2023;10:1279208.
10. Golak-Siwulska I, Kałużewicz A, Spiżewski T, Siwulski M, Sobieralski K. Bioactive compounds and medicinal properties of Oyster mushrooms (*Pleurotus* sp.). Folia Horticulturae 2018;30:191–201.
11. Devi PV, Islam J, Narzary P, Sharma D, Sultana F. Bioactive compounds, nutraceutical values and its application in food product development of oyster mushroom. J Future Foods 2024;4:335–42.

**Table 2.** Inhibition zone diameters (mm) of golden and pink oyster mushroom crude extracts by disc diffusion assay

Types of bacteria	Inhibition zone (mm)			
	Pink oyster mushroom	Golden oyster mushroom	Cloxacillin	Ceftazidime
<i>P. aeruginosa</i>	N.d.	N.d.	-	2.23 ± 0.06
<i>E. coli</i>	N.d.	N.d.	-	2.50 ± 0.00
<i>S. aureus</i>	N.d.	N.d.	3.00 ± 0.00	-

“-” not tested and “N.d.” not detected

จากการทดสอบฤทธิ์ในการต้านเชื้อแบคทีเรียของสารสกัดเห็ดนางรมสีชมพู และสารสกัดเห็ดนางรมสีทองด้วยวิธี Agar well diffusion แสดงผลดัง Table 3 พบว่า สารสกัดจากเห็ดนางรมสีชมพู ไม่มีฤทธิ์ในการต้านเชื้อแบคทีเรียก่อโรคทั้ง 5 ชนิด ได้แก่ *P. aeruginosa*, *E. coli*, *S. aureus*, *B. subtilis* และ *B. cereus* ในขณะที่สารสกัดจากเห็ดนางรมสีทองไม่มีฤทธิ์ในการต้านเชื้อแบคทีเรียก่อโรคในระบบทางเดินอาหารทั้ง 4 ชนิด ได้แก่ *P. aeruginosa*, *E. coli*, *B. subtilis* และ *B. cereus*

แต่มีฤทธิ์ในการยับยั้งเชื้อ *S. aureus* ที่ความเข้มข้น 100 mg/mL โดยมีบริเวณยับยั้ง เท่ากับ 0.70 ± 0.00 mm และที่ความเข้มข้น 200 mg/mL โดยมีบริเวณยับยั้ง เท่ากับ 0.73 ± 0.06 mm และที่ความเข้มข้น 400 mg/mL โดยมีบริเวณยับยั้ง เท่ากับ 0.87 ± 0.12 mm ในขณะที่ cloxacillin มีฤทธิ์ต้าน *S. aureus* โดยมีบริเวณยับยั้ง 2.80 ± 0.00 mm และ Ceftazidime มีฤทธิ์ต้าน *P. aeruginosa* และ *E. coli* โดยมีบริเวณยับยั้ง เท่ากับ 20.97 ± 0.06 และ 2.00 ± 0.00 mm ตามลำดับ

Table 3. Inhibition zone diameters (mm) indicating antibacterial activity of golden and pink oyster mushroom crude extracts by agar well diffusion

Types of bacteria	Inhibition zone (mm)							
	Pink oyster mushroom			Golden oyster mushroom			Cloxacillin	Ceftazidime
	(mg/mL)			(mg/mL)				
	100	200	400	100	200	400		
<i>P. aeruginosa</i>	N.d.	N.d.	N.d.	N.d.	N.d.	N.d.	-	0.97± 0.06
<i>E. coli</i>	N.d.	N.d.	N.d.	N.d.	N.d.	N.d.	-	2.00 ± 0.00
<i>S. aureus</i>	N.d.	N.d.	N.d.	0.70 ±0.00	0.73±0.06	0.87±0.12	2.80±0.00	-
<i>B. subtilis</i>	N.d.	N.d.	N.d.	N.d.	N.d.	N.d.	N.d.	-
<i>B. cereus</i>	N.d.	N.d.	N.d.	N.d.	N.d.	N.d.	N.d.	-

“-” not tested and “N.d.” not detected



12. Puttaraju NG, Venkateshaiah SU, Dharmesh SM, Urs SMN, Somasundaram R. Antioxidant activity of indigenous edible mushrooms. *J Agric Food Chem* 2006;54:9764–72.
13. Izham I, Avin F, Raseetha S. Systematic Review: Heat Treatments on Phenolic Content, Antioxidant Activity, and Sensory Quality of Malaysian Mushroom: Oyster (*Pleurotus* spp.) and Black Jelly (*Auricularia* spp.). *Front Sustain Food Syst* 2022;6:882939.
14. Finley JW, Kong AN, Hintze KJ, Jeffery EH, Ji LL, Lei XG. Antioxidants in Foods: State of the Science Important to the Food Industry. *J Agric Food Chem* 2011;59:6837–46.
15. Nimse SB, Pal D. Free radicals, natural antioxidants, and their reaction mechanisms. *RSC Adv* 2015;5:27986–8006.
16. Gashaw G, Fassil A, Redi F. Evaluation of the Antibacterial Activity of *Pleurotus* spp. Cultivated on Different Agricultural Wastes in Chiro, Ethiopia. *Int J Microbiol* 2020;9312489.
17. Ahmed HA, Youssef MS, Magraby TA. Antimicrobial and Antioxidant Activities of *Pleurotus Ostreatus* as Edible Oyster Mushroom in Egypt. *J Environ Sci Stud* 2022; 28:24–34.
18. Mishra V, Tomar S, Yadav P, Vishwakarma S, Singh MP. Elemental Analysis, Phytochemical Screening and Evaluation of Antioxidant, Antibacterial and Anticancer Activity of *Pleurotus ostreatus* through In Vitro and In Silico Approaches. *Metabolites* 2022;12:821.
19. Bellettini MB, Fiorda FA, Maieyes HA, Teixeira GL, Ávila S, Hornung PS, et al. Factors affecting mushroom *Pleurotus* spp. *Saudi J Biol Sci* 2019;26:633–46.
20. Singleton VL, Orthofer R, Lamuela-Raventós RM. Analysis of total phenols and other oxidation substrates and antioxidants by means of folin-ciocalteu reagent. *Methods in Enzymology* 1999;299:152–78.
21. Chang CC, Yang MH, Wen HM, Chern JC. Estimation of Total Flavonoid Content in Propolis by Two Complementary Colorimetric Methods. *J Food Drug Anal* 2002;10:178-182.
22. Xiao F, Xu T, Lu B, Liu R. Guidelines for antioxidant assays for food components. *Food front* 2020;1:60–9.
23. Işıl Berker K, Güçlü K, Tor İ, Demirata B, Apak R. Total Antioxidant Capacity Assay Using Optimized Ferricyanide/Prussian Blue Method. *Food Anal Methods* 2010;3:154–68.
24. Ilyasov IR, Beloborodov VL, Selivanova IA, Terekhov RP. ABTS/PP Decolorization

- Assay of Antioxidant Capacity Reaction Pathways. IJMS 2020;21:1131.
- 25.บุษกร อู่ยวงษ์, ศิริพร จอมแก้ว, ศรินทิพย์ สังคร. โภชนาการ สารพิษเคมีเบื้องต้น และฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระของเห็ดนางรมสีทองและเห็ดนางรมสีชมพู. วารสารวิจัยและพัฒนา วไลยอลงกรณ์ในพระบรมราชูปถัมภ์ สาขาวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยี 2024;19:121–34.
- 26.Jegadeesh R, Hariprasath L, Kumaresan K, Raaman N. In vitro Antioxidant and Antibacterial Activities of Fractionized Extracts of Edible Mushroom *Pleurotus djamora* var. *roseus*. JAIR 2014;3:202-8.
- 27.Yin C, Fan X, Liu C, Fan Z, Shi D, Yao F, et al. The Antioxidant Properties, Tyrosinase and α -Glucosidase Inhibitory Activities of Phenolic Compounds in Different Extracts from the Golden Oyster Mushroom, *Pleurotus citrinopileatus* (Agaricomycetes). Int J Med Mushrooms 2019;21:865–74.
- 28.Illuri R, M E, M K, R SB, P P, Nguyen VH, et al. Bio-prospective potential of *Pleurotus djamora* and *Pleurotus florida* mycelial extracts towards Gram positive and Gram negative microbial pathogens causing infectious disease. J Infect Public Health 2022;15:297–306.
- 29.Meng TX, Furuta S, Fukamizu S, Yamamoto R, Ishikawa H, Arung ET, et al. Evaluation of biological activities of extracts from the fruiting body of *Pleurotus citrinopileatus* for skin cosmetics. J Wood Sci 2011;57:452–8.
- 30.Chomcheon P, Kheawkum B, Sriwiset P, Dulsamphan S, Dulsamphan C. Antibacterial activity of crude extracts from edible mushrooms *Pleurotus citrinopileatus* and *Tricholoma crassum* Berk. Thai J Pharm Sci 2013;37:107-11.



PBRU



Faculty of Science and Technology
Phetchaburi Rajabhat University

Tel. 0 3270 8633 Fax. 0 3270 8661

Website: <http://sciencejournal.pbru.ac.th>

E-mail: sciencejournal@mail.pbru.ac.th

