PBRU Science Journal

ปีที่ 22 ฉบับที่ 2 เดือนกรกฎาคม – ธันวาคม 2568
Volume 22 Number 2 July - December 2025
ISSN 2773-9716 (online)

Faculty of Science and Technology
Phetchaburi Rajabhat University

PBRU Science Journal

ปีที่ 22 ฉบับที่ 2 เดือนกรกฎาคม – ธันวาคม 2568

Volume 22 Number 2 July - December 2025

ISSN 2773-9716 (online)

1.ปริมาณแอลคาลอยด์รวม ปริมาณฟีนอลิกรวมและฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระของสมุนไพรที่มีรสขมบางชนิด 1-12

วัชราภรณ์ ประภาสะโนบล

2. Optimization of Culture Conditions for Carotenoid Production by Rhodotorula mucilaginosa Isolated from Mangrove Sediments 13-29

Salinee Phonmat*[1], Pranee Chalita[2], Jakkaphun Nanuam[1], Apirak Wiseschart[3], Traimat Boonthai[4]

3. The Investigation of Organophosphate and Carbamate Pesticide Residues Found in the Period 2022-2024 on Popular Vegetables in Bangkan County, Bangkok, Thailand 30-41

Siriporn Pranee, Kanidrawee Techauay, Suphochana Charensin, Thippayarat Chahomchuen, Wimonrat Insuan, Sirinit Tharntada and Patamaporn Umnahanant*

4 การวิเคราะห์ความคิดเห็นของผู้เข้าพักโรงแรมด้วยเทคนิคการวิเคราะห์หัวข้อแฝง: กรณีศึกษาจังหวัดสุรินทร์ 42-60

สรวิศ ต.ศิริวัฒนา, เอกชัย แซ่จึง*, สุภาวดี พบพิมาย และ ธนินทร์ ระเบียบโพธิ์

5. การยับยั้ง *Salmonella* Typhimurium ในหลอดทดลองและบนใบสะระแหน่ด้วยน้ำมันหอมระเหยไธม์ 61-78

อุมาพร ทาไธสง*, รุ่งนภา มั่นคง และ นภัสสร เทียนมณี

PBRU Science Journal

ปีที่ 22 ฉบับที่ 2 เดือนกรกฎาคม – ธันวาคม 2568

Volume 22 Number 2 July - December 2025

ISSN 2773-9716 (online)

ที่ปรึกษา

รองศาสตราจารย์ ดร. พัชรศักดิ์ อาลัย	อธิการบดีมหาวิทยาลัยราชภัฏเพชรบุรี
ผู้ช่วยศาสตราจารย์ณรงค์ ไกรเนตร์	คณบดีคณะวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยี
อาจารย์ ดร.ไกรฤกษ์ ทวีเชื้อ	มหาวิทยาลัยราชภัฏเพชรบุรี

บรรณาธิการ

ผู้ช่วยศาสตราจารย์ ดร.บุษกร อุ๋ยวงษ์	มหาวิทยาลัยราชภัฏเพชรบุรี

รองบรรณาธิการ

ผู้ช่วยศาสตราจารย์ ดร.กนกรัตน์ จิรสัจจานุกูล	มหาวิทยาลัยราชภัฏเพชรบุรี
ผู้ช่วยศาสตราจารย์ ดร.สุคนธา สุคนธ์ธารา	มหาวิทยาลัยราชภัฏเพชรบุรี
ผู้ช่วยศาสตราจารย์เมษิยา แย้มเจริญกิจ	มหาวิทยาลัยราชภัฏเพชรบุรี
อาจารย์ ดร.สุมิตานันท์ จันทะบุรี	มหาวิทยาลัยราชภัฏเพชรบุรี

ผู้ช่วยบรรณาธิการ

นางสาวอรุณี แก้วบริสุทธิ์	มหาวิทยาลัยราชภัฏเพชรบุรี

กองบรรณาธิการ

ศาสตราจารย์ ดร.จรูญ จักร์มุณี	มหาวิทยาลัยเชียงใหม่
ศาสตราจารย์ ดร.ปรัชญนันท์ นิลสุข	มหาวิทยาลัยพระจอมเกล้าพระนครเหนือ
ศาสตราจารย์ ดร.ปรินทร์ ชัยวิสุทธางกูล	มหาวิทยาลัยศรีนครินทรวิโรฒ ประสานมิตร
ศาสตราจารย์ ดร.ปรีชา ภูวไพรศิริศาล	จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย
รองศาสตราจารย์ ดร.จินตนา วิบูลย์ศิริกุล	มหาวิทยาลัยราชภัฏเพชรบุรี
รองศาสตราจารย์ ดร.ณัฐธนนท์ หงส์วริทธิ์ธร	มหาวิทยาลัยธรรมศาสตร์
รองศาสตราจารย์ ดร.วราห์ เทพาหุดี	มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์
รองศาสตราจารย์ ดร.อนุพันธ์ กงบังเกิด	มหาวิทยาลัยนเรศวร
รองศาสตราจารย์ ดร.อโนมา ดงแสนสุข	มหาวิทยาลัยขอนแก่น
รองศาสตราจารย์ ดร.อภินันท์ ลิ้มมงคล	มหาวิทยาลัยนเรศวร
ผู้ช่วยศาสตราจารย์ ดร.กุลวดี แก้วก่า	มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์
ผู้ช่วยศาสตราจารย์ ดร.จุฬาลักษ์ ปราบเสียง	มหาวิทยาลัยราชภัฏเพชรบุรี
ผู้ช่วยศาสตราจารย์ ดร.ฉลองชัย กล้าณรงค์	มหาวิทยาลัยมหาสารคาม
ผู้ช่วยศาสตราจารย์ ดร.ปราณี นางงาม	มหาวิทยาลัยนเรศวร
ผู้ช่วยศาสตราจารย์ ดร.ภัทราวดี ศรีมีเทียน	มหาวิทยาลัยราชนครินทร์
ผู้ช่วยศาสตราจารย์ ดร.วรสิทธิ์ โทจำปา	มหาวิทยาลัยนเรศวร
อาจารย์ ดร.พิรวิทย์ เชื้อวงษ์บุญ	มหาวิทยาลัยศิลปากร

PBRU Science Journal

ปีที่ 22 ฉบับที่ 2 เดือนกรกฎาคม – ธันวาคม 2568

Volume 22 Number 2 July - December 2025

ISSN 2773-9716 (online)

สำนักงานกองบรรณาธิการ

คณะวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยี มหาวิทยาลัยราชภัฏเพชรบุรี อำเภอเมือง จังหวัดเพชรบุรี 76000

โทรศัพท์ 0 3270 8633 โทรสาร 0 3270 8661

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

อีเมล์ 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 และเพื่อนำไปสู่การพัฒนาองค์ความรู้ใหม่และนวัตกรรมที่ทันสมัย ซึ่งผลงานที่สามารถเผยแพร่ในวารสารมีทั้งบทความวิจัย (research article) ทางด้ายวิทยาศาสตร์ เช่นฟิสิกส์ เคมี ชีววิทยา จุลชีววิทยา วิทยาศาสตร์สิ่งแวดล้อม คณิตศาสตร์ สถิติ คอมพิวเตอร์ และเทคโนโลยีสารสนเทศ โดยบทความที่จะขอรับการตีพิมพ์ ต้องเป็นผลงานที่ไม่ได้ทำการคัดลอกจากผลงานของผู้อื่น ต้องไม่เคยเผยแพร่ในวารสารใดมาก่อน และไม่อยู่ระหว่างการพิจารณาตีพิมพ์ในวารสารอื่น โดยทุกบทความต้องผ่านกระบวนการตรวจสอบความถูกต้องทางวิชาการจากคณะผู้เชี่ยวชาญในแต่ละสาขาที่เกี่ยวข้อง

กำหนดการตีพิมพ์

ปีละ 2 ฉบับ

ฉบับที่ 1 มกราคม – มิถุนายน

ฉบับที่ 2 กรกฎาคม – ธันวาคม

-บทความทุกเรื่องในวารสารฉบับนี้ ได้รับพิจารณาประเมินคุณภาพทางวิชาการก่อนการตีพิมพ์ โดยผู้ทรงคุณวุฒิ (Peer Review) ตามสาขาวิชาที่เกี่ยวข้องจากภายใน หรือภายนอกมหาวิทยาลัย จำนวน 3 ท่านต่อ 1 บทความ

-บทความและแนวคิดใด ๆ ที่พิมพ์ใน PBRU Science Journal เป็นความรับผิดชอบของผู้แต่ง

-กองบรรณาธิการวารสารไม่สงวนสิทธิ์ ในการคัดลอกเพื่อการพัฒนาเชิงวิชาการ แต่ต้องได้รับการอ้างอิงอย่างถูกต้อง

-ไม่มีการเรียกเก็บค่าใช้จ่ายในการตีพิมพ์ในวารสาร PBRU Science Journal

PBRU SCIENCE JOURNAL
2025.22(2) : 1-12

ปริมาณแอลคาลอยด์รวม ปริมาณฟีนอลิกรวมและฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระของสมุนไพรที่มีรสขมบางชนิด

Total alkaloids content, Total phenolic content and Antioxidant Activity of Some Bitter Herbs

วัชราภรณ์ ประภาสะโนบล
Vatcharaporn Prapasanobol
คณะวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยี มหาวิทยาลัยราชภัฏเพชรบุรี
Faculty of Science and Technology, Phetchaburi Rajabhat University
Corresponding author, E-mail: vatcharaporn.pra@mail.pbru.ac.th
Received: 12 March 2025 /Revised: 18 April 2025 /Accepted: 31 May 2025

บทคัดย่อ

งานวิจัยนี้มีวัตถุประสงค์เพื่อ 1) วิเคราะห์ปริมาณแอลคาลอยด์รวม ปริมาณฟีนอลิกรวม และฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระของสมุนไพรที่มีรสขมบางชนิด และ 2) ศึกษาความสัมพันธ์ระหว่างปริมาณแอลคาลอยด์รวม และปริมาณฟีนอลิกรวมกับฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระของพืชสมุนไพรที่มีรสขมบางชนิด ตัวอย่างพืชสมุนไพรที่มีรสขม ได้แก่ ขี้เหล็ก ฟ้าทะลายโจร ยอ และสะเดา เก็บจากตำบลท่าเสน อำเภอบ้านลาด จังหวัดเพชรบุรี นำส่วนใบของพืชมาสกัดด้วยวิธีแช่หมักด้วยเอทานอลและนำสารสกัดมาหาปริมาณแอลคาลอยด์รวมด้วยวิธี Bromocresol Green หาปริมาณฟีนอลิกรวมโดยวิธี Folin-Ciocalteu และหาฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระด้วยวิธี DPPH สถิติที่ใช้ ได้แก่ ค่าเฉลี่ย ส่วนเบี่ยงเบนมาตรฐาน การเปรียบเทียบทางสถิติวิเคราะห์ด้วย one-way analysis of variance (ANOVA) ที่ระดับความเชื่อมั่น $p \leq 0.05$ และค่าสัมประสิทธิ์สหสัมพันธ์ (R)

ผลการวิจัย พบว่า สารสกัดของพืชที่มีรสขมมีปริมาณแอลคาลอยด์รวมในช่วง 1.333 – 6.494 mg AE/g crude extract และสารสกัดฟ้าทะลายโจรมีปริมาณแอลคาลอยด์รวมมากที่สุด 6.494 ± 0.187 mg AE/g crude extract ส่วนปริมาณฟีนอลิกรวมพบว่าอยู่ในช่วง 242.61 - 794.89 µg GAE/g crude extract และสารสกัดใบขี้เหล็กมีปริมาณฟีนอลิกรวมมากที่สุด (794.89 ± 15.03 µg GAE/g crude extract) และสารสกัดของพืชที่มีรสขมความเข้มข้น 1 mg/ml มีฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระระหว่าง 24.05-58.17% และพบว่าสารสกัดใบฟ้าทะลายโจรมีฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระได้ดีที่สุด 58.17% และพบว่าปริมาณแอลคาลอยด์รวมมีความสัมพันธ์สูง (0.6394) และไปในทิศทางเดียวกันกับฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระ แต่ปริมาณฟีนอลิกรวมมีความสัมพันธ์อ่อนมาก (-0.1456) ในทิศทางตรงกันข้ามกับฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระ จากผลการวิจัยแสดงให้เห็นว่าปริมาณแอลคาลอยด์รวมอาจเป็นปัจจัยที่ส่งผลต่อฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระของพืชสมุนไพรที่มีรสขม แต่มีปัจจัยอื่น ๆ เช่น ประเภท

ของแอลคาลอยด์ โครงสร้างสารฟีนอลิก และสารพฤกษเคมีอื่น ๆ มีบทบาทร่วมด้วย ทั้งนี้ฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระของพืชสมุนไพรขึ้นอยู่กับองค์ประกอบทางเคมีที่หลากหลาย ดังนั้นจึงควรมีการศึกษาเพื่อแยกสารออกฤทธิ์และระบุกลไกที่ชัดเจนขึ้นต่อไป

คำสำคัญ: แอลคาลอยด์ ฟีนอลิก ฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระ พืชสมุนไพรที่มีรสขม

Abstract

This research aimed to 1) analyze the total alkaloid content, total phenolic content, and antioxidant activity of selected bitter medicinal plants, and (2) examine the relationship between total alkaloid content, total phenolic content, and antioxidant activity in these plants. The selected bitter medicinal plants included *Cassia siamea*, *Andrographis paniculata*, *Morinda citrifolia*, and *Azadirachta indica*, collected from Tha Saen Subdistrict, Ban Lat District, Phetchaburi Province. The leaves of the plants were extracted using ethanol maceration. The total alkaloid content was determined by the Bromocresol Green method, the total phenolic content by the Folin-Ciocalteu method, and the antioxidant activity by the DPPH assay. Statistical analysis included mean, standard deviation, and one-way analysis of variance (ANOVA) at a significance level of $p \leq 0.05$, as well as correlation coefficient (R).

The results showed that the extracts from bitter plants contained total alkaloids in the range of 1.333–6.494 mg AE/g crude extract, with *Andrographis paniculata* extract having the highest alkaloid content (6.494 ± 0.187 mg AE/g crude extract). The total phenolic content ranged from 242.61–794.89 µg GAE/g crude extract, with *Cassia siamea* leaf extract showing the highest phenolic content (794.89 ± 15.03 µg GAE/g crude extract). At a concentration of 1 mg/mL, the antioxidant activity of the bitter plant extracts ranged from 24.05% to 58.17%, with *Andrographis paniculata* extract exhibiting the highest antioxidant activity (58.17%). The total alkaloid content showed a moderate positive correlation (R = 0.6394) with antioxidant activity, while the total phenolic content showed a very weak negative correlation (R = -0.1456). These findings suggest that total alkaloid content may contribute to the antioxidant activity of bitter medicinal plants. However, other factors such as the type of alkaloids, phenolic compound structures, and other phytochemicals may also play a role. Since the antioxidant activity of medicinal plants depends on a complex mixture of chemical constituents, further studies are needed to isolate active compounds and clarify their mechanisms of action.

Keywords: Alkaloid, Phenolic, Antioxidant activity, Bitter Herbs

บทนำ

สมุนไพรที่มีรสขมเป็นพืชที่มีการนำมาใช้ในทางการแพทย์แผนไทยและแผนโบราณกันอย่างแพร่หลาย เนื่องจากมีสารออกฤทธิ์ที่มีคุณสมบัติต้านอนุมูลอิสระและมีฤทธิ์ทางเภสัชวิทยาที่หลากหลาย[1] โดยเฉพาะสารพฤกษเคมี เช่น สารแอลคาลอยด์ (alkaloids) และสารฟีนอลิก (phenolic compounds) ซึ่งเป็นสารสำคัญที่เกี่ยวข้องกับรสขมของพืชและมีบทบาทสำคัญต่อฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระ[2] แอลคาลอยด์เป็นสารพฤกษเคมีที่มีไนโตรเจนเป็นองค์ประกอบหลักพบได้ในพืชหลายชนิดและมีฤทธิ์ทางเภสัชวิทยาหลายด้าน เช่น ฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระ ต้านการอักเสบ ต้านจุลชีพ และกระตุ้นระบบประสาท[3] สาเหตุที่สารแอลคาลอยด์มีฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระเนื่องจากสามารถช่วยลดความเสียหายของเซลล์จากปฏิกิริยาออกซิเดชัน ซึ่งช่วยป้องกันโรคเรื้อรัง เช่น มะเร็ง เบาหวาน และโรคหัวใจ[4] และช่วยป้องกันพืชจากแมลง เชื้อโรค และสัตว์กินพืช โดยมีฤทธิ์เป็นสารขับไล่แมลงหรือยับยั้งการเจริญเติบโตของจุลินทรีย์[5] ส่วนสารประกอบฟีนอลิกเป็นกลุ่มของสารพฤกษเคมีที่พบได้ทั่วไปในพืช และมีบทบาทสำคัญในการออกฤทธิ์ทางชีวภาพ เช่น ฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระ ฤทธิ์ต้านการอักเสบ และฤทธิ์ป้องกันโรคเรื้อรังหลายชนิด[6] การที่สารฟีนอลิกมีฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระเพราะสามารถจับและกำจัดอนุมูลอิสระ ลดความเสียหายของเซลล์จากปฏิกิริยาออกซิเดชัน ซึ่งเป็นสาเหตุสำคัญของการเกิดโรคเรื้อรัง เช่น โรคหัวใจและมะเร็ง[7] มีฤทธิ์ต้านการอักเสบ ป้องกันเบาหวาน และต้านจุลชีพ ซึ่งมีงานวิจัยที่สนับสนุนว่าฟีนอลิกจากพืชสามารถช่วยปรับสมดุลระบบภูมิคุ้มกันและลดการอักเสบได้[8] อีกทั้งยังมีบทบาทสำคัญในการป้องกันศัตรูพืชและแมลง รวมถึงการตอบสนองต่อความเครียดจากสิ่งแวดล้อม เช่น รังสี UV และเชื้อโรค[9] ปัจจุบันภาวะความเครียดออกซิเดชัน (oxidative stress) เป็นหนึ่งในปัจจัยหลักที่เกี่ยวข้องกับการเกิดโรคเรื้อรังหลายชนิด เช่น โรคหัวใจและหลอดเลือด มะเร็ง เบาหวาน และโรคเกี่ยวกับระบบประสาท[10] อนุมูลอิสระ (free radicals) ที่เกิดขึ้นในร่างกายสามารถทำลายเซลล์และสารชีวโมเลกุลที่สำคัญ เช่น ดีเอ็นเอ โปรตีน และลิพิดในเยื่อหุ้มเซลล์ ซึ่งนำไปสู่ความเสื่อมของเซลล์และเป็นสาเหตุของโรคเรื้อรัง เช่น โรคหัวใจ มะเร็ง และโรคทางระบบประสาท[11] ดังนั้นการศึกษาสารที่มีฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระ (antioxidant activity) จึงเป็นแนวทางสำคัญในการป้องกันและลดผลกระทบจากอนุมูลอิสระ ซึ่งพืชสมุนไพรนับว่าเป็นแหล่งของสารออกฤทธิ์ที่มีศักยภาพในการต้านอนุมูลอิสระ โดยเฉพาะสารฟีนอลิก ฟลาโวนอยด์ (flavonoids) แทนนิน (tannins) และแคโรทีนอยด์ (carotenoids) ซึ่งสามารถให้อิเล็กตรอนหรือลดปฏิกิริยาออกซิเดชันในร่างกายได้[12] การศึกษาฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระของพืชสมุนไพรจึงมีความสำคัญในการคัดเลือกพืชที่มีศักยภาพสูง เพื่อนำไปพัฒนาเป็นผลิตภัณฑ์เพื่อสุขภาพและเวชภัณฑ์ทางการแพทย์

พืชสมุนไพรที่มีรสขม มักมีแอลคาลอยด์และสารฟีนอลิกในปริมาณที่สูง ซึ่งอาจเป็นปัจจัยสำคัญที่ส่งผลต่อรสชาติและคุณสมบัติทางชีวภาพของพืชเหล่านี้[13 14] ข้อมูลของพืชสมุนไพรที่มีรสขมบางชนิด ดังนี้ ขี้เหล็ก (*Cassia siamea* หรือ *Senna siamea*) เป็นพืชสมุนไพรที่มีการใช้ประโยชน์ในทาง

การแพทย์แผนไทยมาอย่างยาวนาน พบว่าใบขี้เหล็กมีแอลคาลอยด์ และสารฟีนอลิก ซึ่งมีบทบาทสำคัญในการออกฤทธิ์ทางชีวภาพ โดยเฉพาะฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระ[15] สารแอลคาลอยด์ที่พบในขี้เหล็ก เช่น Cassiarin A มีฤทธิ์ต้านมาลาเรีย (antimalarial) ที่ดีมากในหลอดทดลอง[16] และฟีนอลิก ได้แก่ Kaempferol มีฤทธิ์ต้านมะเร็ง ต้านอนุมูลอิสระ และต้านการอักเสบ[17] ฟ้าทลายโจร (*Andrographis paniculata*) เป็นพืชสมุนไพรที่ใช้กันในทางการแพทย์แผนโบราณเพื่อรักษาอาการหวัด ไข้ หลอดลมอักเสบ และโรคติดเชื้อต่าง ๆ หลายชนิด เช่น มาลาเรียบิด และอุจจาระร่วงในประเทศจีน อินเดีย และประเทศในเอเชียตะวันออกเฉียงใต้หลายประเทศ และยังมีรายงานว่ามีฤทธิ์ในการเสริมสร้างภูมิคุ้มกัน ต้านแบคทีเรีย ต้านการอักเสบ ต้านการเกิดลิ่มเลือด และปกป้องตับในประเทศมาเลเซีย นอกจากนี้ยังเป็นยาพื้นบ้านเพื่อรักษาโรคเบาหวานและความดันโลหิตสูง[18] นอกจากนี้ยังพบว่ามีฤทธิ์ลดความดันโลหิตและมีฤทธิ์ต้านเบาหวานได้[19] ยอ (*Morinda citrifolia*) เป็นพืชสมุนไพรที่มีการใช้เป็นยาพื้นบ้านในหลายภูมิภาค มีสารสำคัญหลายชนิด เช่น แอนทราควิโนน (anthraquinones) ฟลาโวนอยด์ และสารฟีนอลิก ซึ่งเป็นสารที่มีฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระสูง และยังพบว่าสารสกัดจากใบยอมีฤทธิ์ต้านการอักเสบ ต้านจุลชีพ และเสริมสร้างระบบภูมิคุ้มกัน[20] สารแอลคาลอยด์ที่พบในยอได้แก่ Morindine มีฤทธิ์ต้านจุลชีพ (Antimicrobial) ต้านการอักเสบ[21] และพบสารฟีนอลิก ได้แก่ Chlorogenic acid ที่มีฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระ ป้องกันโรคหลอดเลือดหัวใจและควบคุมระดับกลูโคสในเลือด[22] และสะเดา (*Azadirachta indica*) เป็นพืชสมุนไพรที่ได้รับความสนใจอย่างมากในด้านเภสัชวิทยา เนื่องจากมีองค์ประกอบทางเคมีที่หลากหลาย โดยเฉพาะสารกลุ่มแอลคาลอยด์ และสารฟีนอลิก ซึ่งเป็นสารออกฤทธิ์ทางชีวภาพที่สำคัญ ตัวอย่างสารแอลคาลอยด์ เช่น Nimbine มีฤทธิ์ต้านเชื้อแบคทีเรียและไวรัส เสริมฤทธิ์ต้านการอักเสบ และช่วยกระตุ้นระบบภูมิคุ้มกัน[23] และสารฟีนอลิกเช่น Quercetin ที่มีฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระสูง ต้านอักเสบ ต้านมะเร็ง และปกป้องระบบหัวใจและหลอดเลือด[24]

สมุนไพรที่มีรสขมอย่าง ขี้เหล็ก ฟ้าทลายโจร ยอ และสะเดา พบได้ทั่วไปในประเทศไทยและนิยมใช้ในตำรับยาพื้นบ้านมาอย่างยาวนาน โดยเชื่อว่ารสขมในสมุนไพรเหล่านี้สัมพันธ์กับองค์ประกอบทางเคมีที่มีคุณสมบัติเป็นสารออกฤทธิ์ทางชีวภาพ โดยเฉพาะกลุ่มแอลคาลอยด์ และสารฟีนอลิกที่มีบทบาทสำคัญในการต้านอนุมูลอิสระ ต้านการอักเสบ ต้านเชื้อจุลชีพ และเสริมสร้างระบบภูมิคุ้มกันของร่างกาย แม้ว่าจะมีงานวิจัยเกี่ยวกับสารพฤกษเคมีในใบสมุนไพรที่มีรสขมอยู่บ้าง แต่ยังขาดข้อมูลเชิงลึกเกี่ยวกับความสัมพันธ์ระหว่างปริมาณฟีนอลิกรวมและปริมาณแอลคาลอยด์รวมกับฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระในสมุนไพรเหล่านี้ ดังนั้นการศึกษาปริมาณแอลคาลอยด์รวม ปริมาณฟีนอลิกรวม และความสัมพันธ์กับฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระในใบสมุนไพรที่มีรสขมอย่างขี้เหล็ก ฟ้าทลายโจร ยอ และสะเดา จะช่วยทำความเข้าใจบทบาทของสารเหล่านี้ในการออกฤทธิ์ทางชีวภาพ และอาจนำไปสู่การพัฒนาผลิตภัณฑ์สุขภาพและเวชสำอางจากสมุนไพรเพื่อใช้เป็นสารต้านอนุมูลอิสระจากธรรมชาติได้

วิธีการวิจัย

1. **เครื่องมือและสารเคมี** เครื่องมือที่สำคัญ ได้แก่ rotary evaporator (Buchi B-500, สวิตเซอร์แลนด์) เครื่อง UV-Visible spectrophotometer (Shimadza UV-1601, ญี่ปุ่น) สารเคมีที่สำคัญ ได้แก่ BCG (Bromocresol Green) DPPH (2,2-diphenyl-1-picrylhydrazyl) Folin & Ciocalteu's phenol reagent กรดแกลลิก (gallic acid) และอะโทรพีน (atropine) ซื้อจากบริษัท Sigma-Aldrich(USA) โซเดียมคาร์บอเนต (Na_2CO_3) โซเดียมไนไทรท์ ($NaNO_2$) ซื้อจากบริษัท Univar (Australia) และตัวทำละลายทุกชนิดที่ใช้ในงานวิจัยนี้เป็นเกรดสำหรับการวิเคราะห์ (AR grade)

2. **การเตรียมสารสกัดจากพืชสมุนไพร** เก็บตัวอย่างใบพืช ได้แก่ ขี้เหล็ก ฟ้าทลายโจร ยอ และสะเดา จากพื้นที่ตำบลท่าเสน อำเภอบ้านแหลม จังหวัดเพชรบุรี เมื่อเดือนกันยายน พ.ศ.2565 และนำพืชตัวอย่างบดให้เป็นชิ้นเล็ก ๆ แล้วนำไปอบที่อุณหภูมิ 60°C จนแห้งได้น้ำหนัก 50 g และนำมาแช่เอทานอล 95% เป็นเวลา 24 ชั่วโมงที่อุณหภูมิห้อง กรองสารสกัดด้วยกระดาษกรองเบอร์ 1 นำไประเหยตัวทำละลายออกให้แห้งด้วยเครื่อง rotary evaporator และนำสารสกัดที่ได้มาทดสอบในขั้นตอนต่อไป

3. **การหาปริมาณแอลคาลอยด์รวมของสารสกัด** ด้วยวิธีทำปฏิกิริยากับ Bromocresol Green[25] โดยนำสารสกัด 1 mg มาละลายในกรดไฮโดรคลอริก (HCl) 2 N ปริมาตร 1 ml นำสารละลายที่ได้สกัดด้วยคลอโรฟอร์ม ($CHCl_3$) 10 ml จำนวน 3 ครั้งเพื่อแยกสารชนิดอื่นออกจากสารสกัด และนำสารสกัดส่วนที่เหลือมาปรับ pH ของสารละลายให้เป็นกลางด้วยสารละลายโซเดียมไฮดรอกไซด์ (NaOH) 0.1 N และเติมสารละลายโบรโมครีซอลกรีน (BCG) และสารละลายฟอสเฟตบัพเฟอร์ (pH 4.7) อย่างละ 5 ml เขย่าสารผสมจนเกิดสารเชิงซ้อนสีเหลืองและนำมาสกัดด้วยคลอโรฟอร์มปริมาตร 1 2 3 และ 4 ml จากนั้นรวมสารสกัดที่ได้ในชั้นคลอโรฟอร์มใส่ในขวดวัดปริมาตรขนาด 10 ml และปรับปริมาตรด้วยคลอโรฟอร์ม และนำไปวัดค่าการดูดกลืนแสงที่ 417 nm ด้วยเครื่อง UV-Visible spectrophotometer โดยใช้อะโทรพีน (atropine) เป็นสารมาตรฐานที่ช่วงความเข้มข้นในช่วง 2.00-10.00 mg/ml และการวิเคราะห์สารตัวอย่างทำซ้ำ 3 ครั้ง ปริมาณแอลคาลอยด์รวมคำนวณจากกราฟมาตรฐานของอะโทรพีนและแสดงผลเป็นมิลลิกรัมสมมูลของอะโทรพีนต่อกรัมของสารสกัด (mg AE/g crude extract)

4. **การหาปริมาณฟีนอลิกรวมของสารสกัด** ด้วยวิธี Folin-Ciocalteu[26] โดยใช้สารละลายมาตรฐานกรดแกลลิกความเข้มข้นในช่วง 200-800 µg/ml เป็นสารมาตรฐานโดยผสมสารสกัดหรือสารมาตรฐานปริมาตร 0.05 ml กับ Folin-Ciocalteu reagent ปริมาตร 0.25 ml และสารละลาย 20%w/v โซเดียมคาร์บอเนต ปริมาตร 0.25 ml เติมน้ำกลั่นจนปริมาตรครบ 5 ml ผสมให้เข้ากัน จากนั้นตั้งทิ้งไว้ที่อุณหภูมิห้องในที่มืดเป็นเวลา 30 นาที นำไปวัดค่าการดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 765 nm ด้วยเครื่อง UV-Visible spectrophotometer วิเคราะห์สารสกัดซ้ำ 3 ครั้ง ปริมาณฟีนอลิกรวมคำนวณจากกราฟมาตรฐานของกรดแกลลิกและแสดงผลเป็นไมโครกรัมสมมูลของกรดแกลลิกต่อกรัมของสารสกัด (µgGAE/g crude extract)

5. **การทดสอบฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระของสารสกัดด้วยวิธี** DPPH radical scavenging capacity assay[27] ด้วยการทดสอบกับสารละลาย DPPH ที่มีความเข้มข้น 0.1 mM โดยใช้สารสกัดของพืชที่ความเข้มข้น 1 mg/ml ปริมาตร 3 ml ผสมกับอนุมูล DPPH 3 ml ในสารละลาย เอทานอล และนำสารผสมบ่มในที่มืด อุณหภูมิห้อง เป็นเวลา 30 นาที และวัดค่าการดูดกลืนแสงที่ 517 nm โดยใช้เครื่อง UV-Visible spectrophotometer โดยใช้กรดแกลลิกเป็นตัวควบคุมเชิงบวก (positive control) ฤทธิ์การต้านอนุมูลอิสระ DPPH คำนวณจากสูตร ดังนี้

ฤทธิ์การต้านอนุมูลอิสระ DPPH (%) = [(A-B)/A] × 100

เมื่อ A คือการดูดกลืนแสงของตัวควบคุมเชิงลบ (DPPH ผสมกับเอทานอล) และ B คือการดูดกลืนแสงของDPPH ผสมกับสารตัวอย่าง

6. **การวิเคราะห์ทางสถิติ** ผลการวิเคราะห์เชิงปริมาณได้จากการทำซ้ำ 3 ครั้งและนำเสนอเป็นค่าเฉลี่ย ± ส่วนเบี่ยงเบนมาตรฐาน การเปรียบเทียบทางสถิติวิเคราะห์ด้วย one-way analysis of variance (ANOVA) ที่ระดับความเชื่อมั่น $p \leq 0.05$ และค่าสัมประสิทธิ์สหสัมพันธ์ (R) เพื่อหาความสัมพันธ์ระหว่างฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระกับปริมาณแอลคาลอยด์ และฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระกับปริมาณฟีนอลิกรวมของสารสกัด

ผลการวิจัย

ผลการวิเคราะห์ปริมาณแอลคาลอยด์รวมโดยใช้วิธีทำปฏิกิริยากับ Bromocresol Green โดยใช้อะโทรพีนเป็นสารมาตรฐานที่ช่วงความเข้มข้นในช่วง 2.00-10.00 mg/ml จากนั้นนำไปวัดค่าการดูดกลืนแสงที่ 417 nm โดยเครื่องสเปกโทรโฟโตมิเตอร์ จากค่าการดูดกลืนแสงนำไปสร้างกราฟมาตรฐานระหว่างค่าการดูดกลืนแสงกับความเข้มข้นของสารละลายมาตรฐานอะโทรพีนได้สมการเส้นตรงดังนี้ $y = 0.0135x + 0.0005$ ($R^2 = 0.9953$) และคำนวณปริมาณแอลคาลอยด์รวมแสดงผลเป็นมิลลิกรัมสมมูลของอะโทรพีนต่อกรัมของสารสกัด (mg AE/g crude extract) ผลการวิเคราะห์ปริมาณฟีนอลิกรวม โดยวิธีของ Folin-Ciocalteu ใช้สารละลายมาตรฐานกรดแกลลิกความเข้มข้นในช่วง 200-800 µg/ml เป็นสารมาตรฐาน จากนั้นนำไปวัดค่าการดูดกลืนแสงที่ 765 nm โดยเครื่องสเปกโทรโฟโตมิเตอร์ จากค่าการดูดกลืนแสงนำไปสร้างกราฟมาตรฐานระหว่างค่าการดูดกลืนแสงกับความเข้มข้นของสารละลายมาตรฐานแกลลิกได้สมการเส้นตรงดังนี้

$y = 0.0012x-0.0132$ ($R^2 = 0.9992$)

คำนวณหาปริมาณฟีนอลิกรวมแสดงผลเป็นไมโครกรัมสมมูลของกรดแกลลิกต่อกรัมของสารสกัด (µgGAE/g crude extract) และผลการทดสอบฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระของสารสกัดพืชสมุนไพรที่มีรสขมแสดงผลเป็นร้อยละ ดัง Table 1

Table 1. Total Alkaloids Content, Total Phenolic Content, and Antioxidant Activity of Bitter Herb Extracts

Plant extracts	Total Alkaloid Content (mg AE/g crude extract)	Total Phenolic Content (µg GAE/g crude extract)	Antioxidant Activity (%) of the extract at a concentration of 1 mg/ml
Cassia siamea	1.333± 0.148[a]	794.89± 15.03[a]	25.83± 0.03[a]
Andrographis paniculata	6.494± 0.187[b]	242.61± 11.57[b]	58.17± 0.02[b]
Morinda citrifolia	1.481± 0.075[a]	312.11± 5.42[c]	24.05± 0.02[c]
Azadirachta indica	1.778 ± 0.074[c]	705.17± 4.16[d]	57.71± 0.04[d]

อักษร a, b c และ d ที่แตกต่างกันภายในคอลัมน์เดียวกันแสดงการเปรียบเทียบค่าระหว่างสารสกัดของพืชที่แตกต่างกันโดย ANOVA ที่ระดับความเชื่อมั่น $p \leq 0.05$

จาก Table 1 พบว่า สารสกัดฟ้าทะลายโจรมีปริมาณแอลคาลอยด์รวมมากที่สุด 6.494± 0.187 mg AE/g crude extract รองลงมาเป็นสะเดา มีปริมาณแอลคาลอยด์รวมที่ 1.778 ± 0.074 mg AE/g crude extract และสารสกัดใบขี้เหล็กและใบยอมีปริมาณแอลคาลอยด์รวมไม่แตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติที่ .05 ปริมาณฟีนอลิกรวมของสารสกัดจากพืชทั้ง 4 ชนิดมีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติที่ .05 และพบว่าสารสกัดใบขี้เหล็กมีปริมาณฟีนอลิกรวมมากที่สุด (794.89± 15.03 µg GAE/g crude extract) ส่วนสารสกัดของใบฟ้าทะลายโจรมีปริมาณฟีนอลิกรวมน้อยที่สุด (242.61± 11.57 µg GAE/g crude extract) และพบว่าสารสกัดของพืชแต่ละชนิดมีฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติที่ .05 ซึ่งสารสกัดใบฟ้าทะลายโจรที่ความเข้มข้น 1 mg/ml มีฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระได้ดีที่สุด 58.17% และสารสกัดใบยอมีฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระต่ำที่สุด 24.05% แต่มีฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระต่ำกว่ากรดแกลลิกที่ความเข้มข้นเดียวกันที่พบว่ามีฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระสูงกว่าร้อยละ 95 และมีค่า IC_{50} เป็น 0.0021 mg/ml (y=22.928x+ 1.626 , R^2=0.994)

เมื่อศึกษาความสัมพันธ์ระหว่างปริมาณแอลคาลอยด์รวมและปริมาณฟีนอลิกรวมกับฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระของพืชสมุนไพรที่มีรสขมบางชนิด ได้แก่ ขี้เหล็ก ฟ้าทะลายโจร ยอ และสะเดา พบว่าค่าสหสัมพันธ์ (correlation) ระหว่างปริมาณแอลคาลอยด์รวมกับฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระมีค่า 0.6394 แสดงว่าปริมาณแอลคาลอยด์รวมและฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระมีความสัมพันธ์ไปในทิศทางเดียวกัน กล่าวคือ เมื่อปริมาณแอลคาลอยด์รวมเพิ่มขึ้น ฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระก็มีแนวโน้มเพิ่มขึ้นด้วย และค่าความสัมพันธ์อยู่ในช่วง 0.5 - 0.7 ซึ่งถือว่าเป็นความสัมพันธ์ระดับปานกลางถึงสูง (moderate to strong correlation) แต่ทั้งนี้ไม่ได้หมายความว่า

แอลคาลอยด์เป็นสารหลักที่ทำให้มีฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระ อาจมีปัจจัยอื่นที่เกี่ยวข้อง เช่น สารต้านอนุมูลอิสระชนิดอื่น หรือโครงสร้างทางเคมีของแอลคาลอยด์ที่แตกต่างกันได้ ในขณะที่เมื่อพิจารณาค่าสหสัมพันธ์ระหว่างปริมาณฟีนอลิกรวมกับฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระพบว่า มีค่า -0.1456 แสดงว่ามีความสัมพันธ์ในทิศทางตรงกันข้าม เมื่อปริมาณฟีนอลิกรวมเพิ่มขึ้น ฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระมีแนวโน้มลดลงเล็กน้อย อย่างไรก็ตามค่าความสัมพันธ์ที่ใกล้ 0 แสดงว่า ความสัมพันธ์ระหว่างตัวแปรทั้งสองอ่อนมาก (very weak correlation) หรืออาจเรียกได้ว่าแทบไม่มีความสัมพันธ์กันเลย ทั้งนี้อาจเนื่องมาจากหลายปัจจัย ปริมาณฟีนอลิกรวมอาจไม่ได้เป็นปัจจัยหลักของการแสดงฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระ อาจมีสารประกอบอื่น เช่น แอลคาลอยด์ ฟลาโวนอยด์ หรือแทนนิน ที่มีบทบาทมากกว่า ซึ่งโครงสร้างฟีนอลิกแต่ละชนิดอาจมีฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระแตกต่างกันได้

อภิปรายผล

จากผลการวิจัยพบว่า สารสกัดของฟ้าทะลายโจรมีปริมาณแอลคาลอยด์รวมมากที่สุด (6.494 ± 0.187 mg AE/g crude extract) ซึ่งไม่สอดคล้องกับงานวิจัยที่ระบุว่าฟ้าทะลายโจรมีสารสำคัญหลักได้แก่ ไดเทอร์พีนอยด์ ฟลาโวนอยด์ และโพลีฟีนอล โดยเฉพาะสารแอนโดรกราโฟไลด์ (andrographolide) ซึ่งเป็นสารไดเทอร์พีนอยด์ที่พบในปริมาณมากที่สุดและมีฤทธิ์ทางชีวภาพที่หลากหลาย[28] ส่วนแอลคาลอยด์มีปริมาณน้อยแต่มีบทบาทสนับสนุนการออกฤทธิ์ทางชีวภาพของสารสกัดรวม ได้แก่ ฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระ ฤทธิ์ต้านการอักเสบ ฤทธิ์ต้านเชื้อแบคทีเรียและไวรัส ฤทธิ์กระตุ้นภูมิคุ้มกัน ซึ่งฤทธิ์เหล่านี้มีแนวโน้มเกิดจากการทำงานร่วมกันของสารหลายกลุ่ม เช่น ไดเทอร์พีนอยด์ ฟลาโวนอยด์ และแอลคาลอยด์[19] ทั้งนี้อาจเกิดจากข้อจำกัดของวิธีการวิเคราะห์ที่จะหาปริมาณของแอลคาลอยด์ที่มีฤทธิ์เป็นเบสเท่านั้น มีความจำเพาะต่ำ (Low specificity) ไม่สามารถแยกชนิดของแอลคาลอยด์ที่แตกต่างกันได้ ทำให้ไม่สามารถระบุได้ว่าปริมาณที่วัดได้มาจากสารใดเป็นหลัก มีโอกาสเกิดการรบกวนจากสารอื่น เช่น ฟลาโวนอยด์ แทนนินหรือกรดอินทรีย์บางชนิดที่อาจทำปฏิกิริยาหรือรบกวนการวัดค่าการดูดกลืนแสงของสารเชิงซ้อน ทำให้ผลคลาดเคลื่อนได้ อีกทั้งวิธีการนี้มีความไวต่อค่า pH และสภาวะตัวทำละลาย หากควบคุมค่า pH ไม่แม่นยำ อาจทำให้ค่าที่ได้มีความคลาดเคลื่อนสูง[25] แต่ในทางกลับกันสารสกัดขี้เหล็ก ยอ และสะเดามีปริมาณแอลคาลอยด์รวมน้อยกว่า อาจเป็นเพราะโครงสร้างที่แตกต่างกันของแอลคาลอยด์ในพืชเหล่านี้ หรืออาจขึ้นอยู่กับสภาวะแวดล้อม เช่น แหล่งที่ปลูก ฤดูกาล และวิธีการสกัด ซึ่งส่งผลต่อปริมาณสารออกฤทธิ์ที่สกัดได้[29] และจากผลการวิเคราะห์ปริมาณฟีนอลิกรวมในพืชสมุนไพรที่มีรสขม พบว่าสารสกัดจากใบขี้เหล็กมีปริมาณฟีนอลิกสูงสุด (794.89 ± 15.03 µg GAE/g crude extract) ซึ่งสอดคล้องกับงานวิจัยของ Chaisrisook (2016)30 ที่รายงานว่าใบขี้เหล็กมีสารประกอบฟีนอลิกหลายชนิด เช่น ฟลาโวนอยด์ และแทนนินที่มีบทบาทสำคัญในฤทธิ์ทางเภสัชวิทยา โดยเฉพาะอย่างยิ่งฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระ ทั้งนี้ยังพบว่าการใช้เอทานอลเป็นตัวทำละลายที่เหมาะสมในการสกัด

พืชสมุนไพรที่มีรสขมในงานวิจัยครั้งนี้สอดคล้องกับงานวิจัยที่รายงานว่าเอทานอลเป็นตัวทำละลายที่ดีในการสกัดสารสำคัญจากพืชสมุนไพรเพื่อใช้ในการวิเคราะห์ปริมาณฟีนอลิกรวมและการทดสอบฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระ[31] ขณะที่ฟ้าทะลายโจรมีปริมาณฟีนอลิกรวมต่ำกว่า ซึ่งอาจเป็นเพราะสารสำคัญหลักของฟ้าทะลายโจรเป็นแอลคาลอยด์และไตรเทอร์พีนอยด์มากกว่าฟีนอลิก[32] สำหรับฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระของสารสกัดจากพืชสมุนไพรที่มีรสขม พบว่า ฟ้าทะลายโจรแสดงฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระดีที่สุด (58.17%) ซึ่งอาจเนื่องมาจากปริมาณแอลคาลอยด์รวมที่สูงและสารออกฤทธิ์อย่างแอนโดรกราโฟไลด์ที่สามารถกำจัดอนุมูลอิสระได้โดยตรง หรือกระตุ้นระบบป้องกันสารต้านอนุมูลอิสระในร่างกาย[33] อย่างไรก็ตามขี้เหล็กซึ่งมีฟีนอลิกสูงสุดกลับมีฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระต่ำกว่า ซึ่งอาจเป็นเพราะชนิดของสารฟีนอลิกในขี้เหล็กไม่ได้มีความสามารถในการกำจัดอนุมูลอิสระได้ดีเท่ากับสารในฟ้าทะลายโจร หรืออาจมีผลของปัจจัยเสริม เช่น โครงสร้างเคมีและสภาพแวดล้อมในการสกัด[34]

นอกจากนี้ผลการวิจัยเกี่ยวกับความสัมพันธ์ระหว่างปริมาณแอลคาลอยด์รวมและปริมาณฟีนอลิกรวมกับฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระ พบว่า ปริมาณแอลคาลอยด์รวมมีความสัมพันธ์สูง (r = 0.6394) และไปในทิศทางเดียวกันกับฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระ ซึ่งหมายความว่าแอลคาลอยด์อาจมีบทบาทสำคัญในการกำจัดอนุมูลอิสระ[35] เนื่องจากสารสกัดจากฟ้าทะลายโจร มีปริมาณแอลคาลอยด์รวมสูงที่สุด (6.494 ± 0.187 mg AE/g crude extract) และแสดงฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระสูงที่สุด (58.17%) ขณะที่ใบยอมีปริมาณแอลคาลอยด์รวมต่ำและแสดงฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระต่ำที่สุด (24.05%) ซึ่งแสดงให้เห็นว่าแอลคาลอยด์อาจมีบทบาทสำคัญต่อการต้านอนุมูลอิสระ[36] อย่างไรก็ตามอาจมีปัจจัยอื่น เช่น โครงสร้างทางเคมีของแอลคาลอยด์แต่ละชนิด หรือสารพฤกษเคมีอื่น ๆ ที่มีอิทธิพลร่วมด้วย[37] แต่ปริมาณฟีนอลิกรวมมีความสัมพันธ์อ่อนมาก (r = -0.1456) และไปในทิศทางตรงกันข้ามกับฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระ ซึ่งอาจเป็นเพราะสารฟีนอลิกบางชนิดในพืชเหล่านี้ไม่ได้มีฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระหรืออาจมีสารประกอบอื่นที่มีอิทธิพลมากกว่า เช่น แอลคาลอยด์และไตรเทอร์พีนอยด์[38]

สรุปผลการวิจัย

ผลการวิจัย พบว่า ฟ้าทะลายโจรมีปริมาณแอลคาลอยด์รวมสูงที่สุดและมีฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระดีที่สุด ซึ่งอาจเป็นผลมาจากปริมาณแอลคาลอยด์รวมมีความสัมพันธ์สูงกับฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระ ในขณะที่ ขี้เหล็กมีปริมาณฟีนอลิกรวมสูงที่สุดและพบว่าปริมาณฟีนอลิกรวมมีความสัมพันธ์อ่อนมาก หรืออาจไม่มีผลต่อฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระในพืชเหล่านี้ ผลการวิจัยแสดงให้เห็นว่าปริมาณแอลคาลอยด์รวมอาจเป็นปัจจัยที่ส่งผลต่อฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระของพืชสมุนไพรที่มีรสขม แต่ปัจจัยอื่นๆ เช่น ประเภทของแอลคาลอยด์ โครงสร้างฟีนอลิก และสารพฤกษเคมีอื่น ๆ อาจมีบทบาทร่วมด้วย ทั้งนี้ฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระของพืชสมุนไพรขึ้นอยู่กับองค์ประกอบทางเคมีที่หลากหลาย ดังนั้นจึงควรมีการศึกษาเพื่อแยกสารออกฤทธิ์และระบุกลไกที่ชัดเจนขึ้นต่อไป

เอกสารอ้างอิง

1. Mishra A, Sharma A, Patil R. Bitter plant extracts as a source of bioactive compounds: A review. J Med Plants Res 2020;14:45–59.
2. Nguyen TT, Tran QH, Le HP. Phenolic compounds and alkaloids as major contributors to the bitterness and antioxidant activity of medicinal plants. Phytochemistry 2022;198:113123.
3. Zhang L, Wu F, Yang Y. Plant alkaloids: Biosynthesis, bioactivities, and future perspectives. Front Plant Sci 2021;12:680226.
4. Wink M. Modes of action of herbal medicines and plant secondary metabolites. Med Res Rev 2020;40:1291–351.
5. Facchini PJ. Alkaloid biosynthesis in plants: Biochemistry, cell biology, molecular regulation, and metabolic engineering applications. Annu Rev Plant Physiol Plant Mol Biol 2001;52:29–66.
6. Dai J, Mumper RJ. Plant phenolics: Extraction, analysis and their antioxidant and anticancer properties. Molecules 2010;15:7313–52.
7. Rice-Evans CA, Miller NJ, Paganga G. Antioxidant properties of phenolic compounds. Trends Plant Sci 1997;2:152–9.
8. Panche AN, Diwan AD, Chandra SR. Flavonoids: An overview. J Nutr Sci 2016;5:e47.
9. Cheynier V, Comte G, Davies KM, Lattanzio V, Martens S. Plant phenolics: Recent advances on their biosynthesis, genetics, and ecophysiology. Plant Physiol Biochem 2013;72:1–20.
10. Pham-Huy LA, He H, Pham-Huy C. Free radicals, antioxidants in disease and health. Int J Biomed Sci 2008;4:89–96.
11. Lobo V, Patil A, Phatak A, Chandra N. Free radicals, antioxidants and functional foods: Impact on human health. Pharmacogn Rev 2010;4:118–26.
12. Shahidi F, Ambigaipalan P. Phenolics and polyphenolics in foods, beverages and spices: Antioxidant activity and health effects–A review. J Funct Foods 2015;18:820–97.
13. Kumar A, Sharma S, Pandey S. Bitter plant alkaloids and their pharmacological significance: A review. J Herb Med 2020;30:100473.
14. Singh R, Verma P, Pandey S. Evaluation of antioxidant properties in selected bitter herbs. J Herb Med 2021;27:100420.
15. Doughari JH. Phytochemicals: Extraction methods, basic structures, and mode of action as potential chemotherapeutic

agents. In: Phytochemicals - A Global Perspective of Their Role in Nutrition and Health 2012;1:1–32.

16. Syah YM, Aimi N, Kitajima M, Achmad SA, Takayama H. Cassiarin A and B, novel antimalarial alkaloids from Cassia siamea. Tetrahedron Lett 2001;42:6941–3.
17. Okokon JE, Nwafor PA, Ekpo AJ. Anti-inflammatory and analgesic activities of leaf extract of Senna siamea. Pak J Pharm Sci 2010;23:290–5.
18. Mishra SK, Sangwan NS, Sangwan, RS. Andrographis paniculata (Kalmegh): A Review. Phcog Rev.
19. Akbar S. Andrographis paniculata: A review of pharmacological activities and clinical effects. Altern Med Rev 2011;16:66–77.
20. Palu AK, Kim AH, West BJ, Deng S, Jensen J, White L. The effects of Morinda citrifolia L. (noni) on the immune system: Its molecular mechanisms of action. J Ethnopharmacol 2009;123:423–8.
21. Wang MY, Su C, Peng L. Morindine: A new alkaloid from Morinda citrifolia. J Nat Prod 2001;64:1130–1.
22. Deng S, West BJ, Jensen CJ. A quantitative comparison of phytochemical components in global noni fruits and their commercial products. Food Chem 2010;122:267–70.
23. Subapriya R, Nagini S. Medicinal properties of neem leaves: A review. Curr Med Chem Anticancer Agents 2005;5:149–56.
24. Kumar V, Basu N, Bhattacharyya D. Neem (Azadirachta indica): Nature's Drugstore. Asian Pac J Trop Biomed 2013;3:505–14.
25. Fazel S, Hamidreza M, Rouhollah G, Mohammadreza V. Spectrophotometric determination of total alkaloids in some Iranian medicinal plants. J Appl Hortic 2010;12:69–70.
26. Singleton VL, Orthofer R, Lamuela-Raventós RM. Analysis of total phenols and other oxidation substrates and antioxidants by means of Folin-Ciocalteu reagent. Methods Enzymol 1999;299:152–78.
27. Karagozler AA, Erdag B, Emek YC, Uygun DA. Antioxidant activity and proline content of leaf extracts from Dorystoechas hastata. Food Chem 2008;111:400–7.
28. Chao W, Lin B. Isolation and identification of bioactive compounds in Andrographis paniculata (Chuanxinlian). Chinese Medicine 2010;5:17 [Internet]. [cited

2025 Mar 4]. Available from: http://www.cmjournal.org/content/5/1/17

29. Li H, Deng Z, Liu R, Young JC, Zhu H, Loewen S, et al. Characterization of phytochemicals and antioxidant activities of a yellow onion-derived polyphenolic-rich extract. Food Chem 2019;276:295–303.
30. Chaisrisook C, Pithayanukul P, Bavovada R, Leanpolchareanchai J, Saparpakorn P. Antioxidant and hepatoprotective activities of Senna siamea leaves extract. J Ethnopharmacol 2016;194:618–25.
31. รัตนา วงศ์ชูพันธ์, พิณพิศา เทพราช, กมลชนก สุริยมาตร, เพ็ญนภา ชูยงค์, แน่งน้อย แสงเสน่ห์. ผลของตัวทำละลายต่างชนิดที่ใช้ในการสกัดลำต้นโคลงเคลงต่อฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระและสารพฤกษเคมี. PBRU Science J 2567;21:30-44.
32. Gupta R, Sharma M, Kumar A. Phenolic compounds and their role in antioxidant activity: A review. J Med Plants Res 2020;14:45–60.
33. Kumar P, Patel M, Rao S. Alkaloids as natural antioxidants and their potential applications. Food Chem 2021;342:128–36.
34. Zhang Y, Xu H, Wang Y, Dong J, Zhao X. Phenolic composition and antioxidant activity of different tissues of Senna siamea. J Food Biochem 2022;46:e13987.
35. Patel D, Singh N, Agarwal S. Mechanisms of alkaloid-induced antioxidant activity: Implications for health benefits. Phytother Res. 2018;32:789–805.
36. Wang J, Zhao B. Role of alkaloids in plant antioxidant defense. J Nat Prod 2020;83:1234–45.
37. Smith T, Brown P. Alkaloid chemistry and radical scavenging activity: A review. Phytochem Rev 2019;18:567–80.
38. Singh B, Singh JP, Kaur A, Singh N. Phenolic compounds as beneficial phytochemicals in pomegranate (Punica granatum L.) peel: A review. Food Chem 2020;308:125–99.

PBRU SCIENCE JOURNAL
2025.22(2) : 13-29

Optimization of Culture Conditions for Carotenoid Production by Rhodotorula mucilaginosa Isolated from Mangrove Sediments

Salinee Phonmat*[1], Pranee Chalita[2], Jakkaphun Nanuam[1], Apirak Wiseschart[3], Traimat Boonthai[4]

[1]*Office of Educational Affairs, Faculty of Science, Burapha University*

[2]*Animal Quarantine Station, Sa Kaeo*

[3]*Departmentof Microbiology, Faculty of Science, Burapha University*

[4]*Department of Aquatic Science, Faculty of Science, Burapha University*

***Corresponding author; E-mail:** salinee@buu.ac.th

Received: 26 May 2025 /Revised: 25 August 2025 /Accepted: 25 August 2025

Abstract

Rhodotorula mucilaginosa is a carotenoid-producing yeast with high potential for biotechnological and industrial applications, particularly in the fields of pharmaceuticals, cosmetics, food additives, and animal feed, due to the antioxidant, immunomodulatory, and pigment properties of carotenoids. This yeast species is commonly found in diverse ecosystems, including both aquatic and terrestrial habitats. It is recognized for its ability to assimilate a wide range of carbon sources, making it an attractive candidate for cost-effective bioprocesses. Cultivation conditions are known to significantly influence carotenoid biosynthesis and overall productivity. This study aimed to optimize the cultivation parameters for carotenoid production by *R. mucilaginosa* SMY40, a strain isolated from mangrove sediments in Chonburi province, Thailand. Several factors were systematically varied, including glucose concentration, nitrogen source, initial pH, and incubation time. The optimal conditions identified were 15 g/L glucose as the carbon source, ammonium sulfate as the nitrogen source, an initial pH of 5.0, and incubation under shaking conditions at 150 rpm at room temperature for 120 hours. Under these optimized conditions, the highest biomass (dry cell weight) and carotenoid production were 4.26 ± 0.03 g/L and 41.98 ± 0.93 µg/g wet weight, respectively. Additionally, glucose consumption reached 13.36 ± 0.11 g/L. These results suggest that *R. mucilaginosa* SMY40 exhibits strong potential for industrial-scale carotenoid production under economically viable conditions. The high efficiency of conversion and stability of pigment synthesis under moderate culture conditions highlight its applicability for future development in microbial pigment biotechnology.

Keywords: *Rhodotorula mucilaginosa*, Carotenoid, Optimization, Mangrove sediment

Introduction

Carotenoids are pigments found in animals, plants, and microorganisms, exhibiting a color range from yellow to red. They are classified into two major groups: the carotene group, which includes β-carotene, α-carotene, and lycopene, and the xanthophyll group, which comprises astaxanthin, β-cryptoxanthin, canthaxanthin, capsanthin, fucoxanthin, lutein, and zeaxanthin[1]. Carotenoids possess antioxidant, anticancer, and therapeutic properties. Additionally, they serve as precursors for vitamin A (provitamin A)[2]. Due to these properties, carotenoids are widely utilized as food colorants and food additives in various industries, including food production, medicine, pharmaceuticals, cosmetics, and animal feed. Consequently, the industrial demand for carotenoids has significantly increased.

Microorganisms have emerged as an important alternative source for carotenoid production, offering advantages such as lower space requirements for cultivation, scalable production capacity, rapid biosynthesis within a limited time frame, and ease of optimizing culture conditions to maximize yield compared to plant-derived carotenoids[3]. Carotenoid-producing microorganisms include filamentous fungi, yeasts, certain bacterial species, algae, and lichens. Some microbial species have already been commercialized for carotenoid production, such as the alga *Dunaliella* sp. and the yeasts *Phaffia rhodozyma* and *Rhodotorula glutinis*[2].

Yeasts are promising microorganisms for carotenoid production. Carotenogenic yeasts, capable of synthesizing carotenoids, belong to various genera, including *Rhodotorula*, *Sporobolomyces*, *Rhodosporium*, and *Cryptococcus*. Among them, *Rhodotorula* sp. has been reported to produce β-carotene at levels reaching up to 70% of the total carotenoid content[4]. Gupta et al.[5] highlighted that carotenoids such as β-carotene, lycopene, and astaxanthin derived from yeasts have been commercialized as dietary supplements.

Rhodotorula mucilaginosa is classified as a highly carotenoid-producing yeast species, commonly found in both aquatic and terrestrial environments. The major carotenoids produced by *R. mucilaginosa* include β-carotene, torulene, and torularhodin[6]. The composition and yield of carotenoids synthesized by *R. mucilaginosa* are influenced by environmental and cultivation conditions[7]. Rodrigues et al.[8] reported that *R. mucilaginosa* can utilize diverse carbon sources, including agricultural and industrial waste such as rice-steaming wastewater, crude glycerol, sugarcane molasses, and corn molasses. Understanding the factors influencing carotenoid biosynthesis

in *R. mucilaginosa* is essential for optimizing large-scale production. Culture conditions such as carbon source, nitrogen source, pH, temperature, and oxygen availability significantly affect both the yield and composition of carotenoids[7]. Among these factors, the choice of carbon source plays a critical role, as it provides not only energy but also carbon skeletons for carotenoid synthesis[9]. Similarly, the nitrogen source influences primary metabolism and can act as a regulatory factor for secondary metabolite production. Inorganic nitrogen sources such as ammonium sulfate have been reported to support higher carotenoid yields compared to organic sources, likely due to their influence on intracellular C:N balance and the regulation of biosynthetic gene expression[10]. The initial pH of the culture medium also modulates enzyme activity and membrane transport systems. *R. mucilaginosa* typically exhibits optimal carotenoid production under mildly acidic conditions, particularly at pH 5.0, which supports favorable redox balance and precursor availability[11]. Furthermore, temperature and oxygen availability are essential for maintaining cellular respiration and redox balance. Carotenoid biosynthesis is an oxygen-dependent process that involves several oxidative enzymes; thus, aerobic conditions are critical. Agitation and sufficient aeration enhance oxygen transfer and improve carotenoid yields[12]. Several studies have reported optimal conditions for carotenoid production by *Rhodotorula mucilaginosa*. For instance, Sharma and Ghoshal[13] demonstrated that *R. mucilaginosa* (MTCC-1403) possesses high carotenoid-producing potential when cultivated on agro-industrial waste substrates such as onion peels, potato peels, green gram husks, and pea pods. The optimal cultivation conditions for growth and carotenoid synthesis were determined to be at pH 6.1, a temperature of 25.8 °C, and an agitation speed of 119.6 rpm. Similarly, Rodríguez et al.[14] identified that the highest carotenoid production by *R. mucilaginosa* was achieved when cultured on artichoke agro-industrial waste at pH 5.0, 30 °C, 120 rpm, and an incubation time of 72 hours. In another study, Elasanhoty et al.[15] reported that *R. mucilaginosa* exhibited efficient growth and carotenoid production when cultivated in a synthetic medium containing glucose as the carbon source and peptone as the nitrogen source, under conditions of pH 6.0 and a temperature of 28 °C. Therefore, the findings from this study can be applied to the design of industrial-scale carotenoid production processes and may contribute to the development of environmentally

friendly bioprocesses using low-cost alternative raw materials, such as agricultural waste. This approach could help reduce production costs and enhance the competitiveness of bio-based carotenoids in the global market. Given the potential of *R. mucilaginosa* as a carotenoid producer, this study aimed to determine the optimal cultivation conditions for *R. mucilaginosa* isolated from mangrove sediment in Chonburi province, Thailand. This particular isolate was selected for investigation because it was previously obtained from sediment samples and preserved in the laboratory culture collection. Preliminary studies indicated that this strain exhibits notable potential for lipid accumulation, suggesting its applicability for carotenoid and bio-based compound production under optimized cultivation conditions. The results obtained from this research will serve as a fundamental basis for the development of alternative yeast-derived carotenoid production and the industrial-scale application of *R. mucilaginosa* in carotenoid biosynthesis.

Methods

1. Yeast and starter preparation

The yeast *Rhodotorula mucilaginosa* SMY40 was isolated from mangrove sediment collected in Bang Sai subdistrict, Mueang Chonburi district, Chonburi province, Thailand. The isolate was maintained on slant YPD (Yeast extract–Peptone–Dextrose) agar at 4 °C. A single loopful of the yeast colony was inoculated into 50 mL of liquid YPD medium contained in a 250-mL Erlenmeyer flask and incubated at room temperature (approximately 28–30 °C) for 48 hours in a rotary shaker at 150 rpm[16].

2. Optimization of growth and carotenoid production

A 5-mL aliquot of the seed culture (10% v/v) was inoculated into 45 mL of production medium in a 250-mL Erlenmeyer flask. The medium contained the following components (per liter): glucose, 15 g; yeast extract, 2 g; malt extract, 1 g; ammonium sulfate [$(NH_4)_2SO_4$], 1 g; potassium phosphate (KH_2PO_4), 1 g; and magnesium sulfate heptahydrate ($MgSO_4 \cdot 7H_2O$), 0.25 g[2]. Subsequently, the carbon source was varied by replacing glucose with sucrose and xylose, and the concentration of each carbon source was adjusted to five levels: 10, 15, 20, 25, and 30 g/L. The nitrogen source was also modified by replacing ammonium sulfate with alternative nitrogen sources including ammonium chloride (NH_4Cl), urea (CH_4N_2O), and potassium nitrate (KNO_3). The initial pH of the medium was adjusted to 3.0, 5.0, 7.0, and 9.0. Additionally, the cultivation time was varied

at 96, 120, 144, and 168 hours. Cultivation was conducted under agitation at 150 rpm at room temperature. Yeast growth was monitored every 24 hours by measuring the optical density at 600 nm (OD_{600}). The residual sugar concentration was analyzed, and the cells were harvested to determine dry biomass and carotenoid content produced by the yeast. The conversion factors determined as the amount of biomass produced per unit weight of substrate consumed ($Y_{X/S}$), the amount of carotenoids produced per unit of dry weight of cells ($Y_{P/X}$), and the amount of carotenoids produced per unit weight of substrate consumed ($Y_{P/S}$), were calculated using the following equations:

$$Y_{X/S} = \frac{X}{S}; \qquad Y_{P/X} = \frac{P}{X}; \qquad Y_{P/S} = \frac{P}{S}$$

where: Y = conversion factor; X = biomass (g/L); S = substrate (glucose)(g/L); P = product (carotenoid)(μg/g).

3. Analysis

The supernatant obtained after yeast cell separation was analyzed for residual sugar content using the 3,5-dinitrosalicylic acid (DNS) method[17]. The absorbance was measured at a wavelength of 540 nm (OD_{540}) (U-2900, Hitachi) and the residual reducing sugar concentration was calculated by comparing the absorbance values to a standard glucose calibration curve[10]. A 10-mL aliquot of yeast cell suspension was centrifuged (Centrifuge 5804 R, Eppendorf) at 6,000 rpm for 20 minutes at 4 °C. The resulting cell pellet was washed three times with sterile distilled water. The washed cell pellet was resuspended in sterile distilled water and transferred to a pre-weighed evaporation dish. The dish was dried (UNE – Memmert) at 80 °C until a constant weight was achieved. The dry weight of the yeast biomass was recorded and used to calculate the dry biomass yield[18]. A 30-mL sample of yeast cell suspension was centrifuged at 6,000 rpm for 20 minutes at 4 °C. The supernatant was discarded, and the cell pellet was washed three times with sterile distilled water. The wet weight of the yeast cell pellet was recorded prior to carotenoid extraction. Carotenoids were extracted using a slightly modified method of Passorn et al.[19] The extraction was carried out by mixing

(Vortex Mixer Gienie, Scientific Industries) the cell pellet with a solution consisting of petroleum ether, 1 M sodium chloride, and acetone in a 1:1:1 (v/v/v) ratio in an amber bottle. Cell disruption was performed using a sonicator bath (Elmasnic S60/H, Elma) operating at 50/60 Hz for 30 minutes. The mixture was subsequently centrifuged at 4,000 rpm for 5 minutes. The upper orange-colored layer (petroleum ether phase) was collected, and its absorbance was measured at 474 nm. Carotenoid content was quantified using an extinction coefficient (E_1%/1 cm) of 2,100, corresponding to astaxanthin in petroleum ether at a concentration of 1% (w/v). The results were recorded and used to calculate the total carotenoid content as equation;

$$\text{Carotenoid (ug/g)} = \frac{\text{(Volume of Petroleum ether)(A474)(10,000)}}{\text{(2100)(dry biomass)}}$$

All experiments were performed in three replicates, and all data were analyzed statistically using the mean, standard deviation (SD), one-way ANOVA, and Tukey HSD tests by Minitab for Windows, version 18.

Results and Discussion

1. Optimal carbon sources for growth and carotenoid production of *R. mucilaginosa* SMY40

R. mucilaginosa SMY40 exhibited the highest biomass production and carotenoid accumulation when cultivated with glucose as the sole carbon source (Table 1). The biomass yield and carotenoid content obtained were 4.21 ± 0.12 g/L and 40.24 ± 0.81 µg/g wet weight, respectively. These values were significantly higher ($P < 0.05$) than those obtained with maltose (2.87 ± 0.15 g/L; 28.13 ± 0.78 µg/g wet weight) and xylose (1.39 ± 0.13 g/L; 11.48 ± 0.96 µg/g wet weight). Glucose consumption was also the highest at 13.33 ± 0.26 g/L, followed by maltose (9.52 ± 0.56 g/L) and xylose (5.12 ± 0.69 g/L). Regarding conversion efficiencies, the maximum biomass yield per gram of sugar consumed ($Y_{X/S}$) was observed in the glucose-treated group (0.32 g/g sugar), while maltose and xylose yielded 0.30 and 0.27 g/g sugar, respectively. Similarly, glucose supported the highest carotenoid yield per biomass ($Y_{P/X}$) and per sugar consumed ($Y_{P/S}$), with values of 9.56 µg/g biomass and 3.02 µg/g sugar, respectively.

Table 1. Biomass yield, carotenoid production, sugar consumption and effect of medium composition on the conversion factors ($Y_{X/S}$, $Y_{P/X}$, and $Y_{P/S}$), biomass and carotenoids productivities of *R. mucilagonosa* SM40 cultivated with different carbon sources.

Carbon source	Biomass (g/L)	Carotenoid (g/g wet weight)	Sugar consumed (g/L)	$Y_{X/S}$ (g/g sugar)	$Y_{P/X}$ (ug/g biomass)	$Y_{P/S}$ (ug/g sugar)
Glucose	4.21 ± 0.12^{a}	40.24 ± 0.81^{a}	13.33 ± 0.26^{a}	0.32	9.56	3.02
Maltose	2.87 ± 0.15^{b}	28.13 ± 0.78^{b}	9.52 ± 0.56^{b}	0.30	9.80	2.96
Xylose	1.39 ± 0.13^{c}	11.48 ± 0.96^{c}	5.12 ± 0.69^{c}	0.27	8.29	2.26

Data presented as mean value ± standard deviation (n = 3).

Values followed by the different letters in the same column indicated significant differences ($P < 0.05$, Turkey's HSD).

The results clearly demonstrate that *R. mucilaginosa* SMY40 responds differentially to various carbon sources in terms of both growth performance and carotenoid biosynthesis. Glucose was the most efficient carbon source, promoting the highest biomass and carotenoid production. These findings are in agreement with previous studies indicating that glucose is readily assimilated by yeasts through facilitated diffusion and is directly channeled into glycolysis, enabling rapid energy generation and precursor supply for biomass formation and secondary metabolite synthesis[9]. In contrast, maltose must first be hydrolyzed by maltase, and xylose requires metabolic conversion via the pentose phosphate pathway, both of which are relatively less efficient and energy-intensive processes[16]. This may account for the comparatively lower biomass and pigment production observed with these carbon sources. The highest conversion efficiencies ($Y_{X/S}$, $Y_{P/X}$, and $Y_{P/S}$) recorded in the glucose condition reflect superior metabolic efficiency in converting available substrate into cellular biomass and carotenoids. A high $Y_{P/S}$ value specifically suggests that glucose was effectively utilized for carotenoid biosynthesis, which proceeds via the mevalonate pathway requiring acetyl-CoA and NADPH as key intermediates generated through glycolysis and the pentose phosphate pathway[16]. These results align with Maldonade et al.[10] reported enhanced carotenoid production in *Rhodotorula* species grown on simple sugar as glucose. The findings highlight the potential of *R. mucilaginosa* SMY40 for efficient carotenoid production using glucose-based media, offering promising implications for biotechnological and industrial applications.

2. Optimal carbon source concentrations for growth and carotenoid production of *R. mucilaginosa* SMY40

The influence of varying carbon source concentrations on biomass production, carotenoid production, and conversion efficiencies by *R. mucilaginosa* SMY40 is summarized in Table 2. The results indicate that increasing carbon concentrations from 10 to 25 g/L led to a corresponding increase in biomass yield, peaking at 25 g/L with a value of 4.41 ± 0.14 g/L. However, no statistically significant difference (P > 0.05) was observed between biomass levels at 15, 20, 25, and 30 g/L concentrations. The highest carotenoid content was obtained at 15, 20 and 25 g/L, with values of 42.51 + 0.46 42.50 ± 1.11 and 42.91 ± 1.03 µg/g wet weight, respectively, which were not significantly different (P > 0.05). Sugar consumption increased with higher initial carbon concentrations, reaching a maximum of 14.46 ± 0.46 g/L at 20 g/L substrate. However, the biomass yield per sugar consumed ($Y_{X/S}$) decreased from 0.39 g/g at 10 g/L to 0.30 g/g at 30 g/L, indicating reduced conversion efficiency at higher substrate concentrations. Similarly, the carotenoid yield per sugar consumed ($Y_{P/S}$) decreased from 3.88 to 3.01 µg/g sugar, although the carotenoid yield per biomass ($Y_{P/X}$) remained relatively stable, with a slightly increased at 15 g/L glucose as 10.03.

Table 2. Biomass yield, carotenoid production, sugar consumption and effect of medium composition on the conversion factors ($Y_{X/S}$, $Y_{P/X}$ and $Y_{P/S}$), biomass and carotenoids productivities of *R. mucilagonosa* SM40 cultivated with different carbon source concentrations.

Carbon source concentration	Biomass (g/L)	Carotenoid (g/g wet weight)	Sugar consumed (g/L)	$Y_{X/S}$ (g/g sugar)	$Y_{P/X}$ (ug/g biomass)	$Y_{P/S}$ (ug/g sugar)
10	3.65 ± 0.11[c]	36.24 ± 0.82[c]	9.35 ± 0.26[b]	0.39	9.93	3.88
15	4.24 ± 0.10[a]	42.51 ± 0.46[a]	13.51 ± 0.16[a]	0.31	10.03	3.15
20	4.29 ± 0.14[a]	42.50 ± 1.11[a]	13.90 ± 0.15[a]	0.31	9.91	3.06
25	4.30 ± 0.14[a]	42.30 ± 1.03[a]	13.48 ± 0.25[a]	0.32	9.83	3.14
30	4.10 ± 0.06[b]	40.80 ± 0.98[b]	13.55 ± 0.38[a]	0.30	9.95	3.02

Data presented as mean value ± standard deviation (n = 3).

Values followed by the different letters in the same column indicated significant differences (P < 0.05, Turkey's HSD).

The data suggest that moderate carbon concentrations enhance both biomass production and carotenoid biosynthesis in *R. mucilaginosa* SMY40, with optimal values observed at 15–25 g/L. At lower concentrations (10 g/L), limited substrate availability may have constrained growth and metabolite synthesis, while excessive sugar levels (30 g/L) appeared to inhibit growth and reduce conversion efficiency. While Machado et al. (2019)[20] reported the optimum glucose concentration for carotenoid production by *R. mucilaginosa* URM 7409 was 30 g/L. This phenomenon is commonly attributed to substrate inhibition, osmotic stress, or repression of metabolic pathways at high sugar concentrations[9]. The decline in $Y_{X/S}$ and $Y_{P/S}$ values at elevated carbon concentrations indicates that not all available sugar was effectively converted into biomass or pigments. These findings are consistent with previous studies that reported reduced metabolic efficiency in yeast cultures under high substrate conditions[21,22]. It is also plausible that carbon overflow metabolism or the accumulation of inhibitory by-products may have played a role, as observed in other oleaginous and pigment-producing yeasts[23]. Interestingly, the carotenoid content per unit biomass ($Y_{P/X}$) remained stable across most concentrations, suggesting that once a threshold level of biomass is achieved, carotenoid biosynthesis proceeds at a relatively consistent rate, possibly due to constitutive or carbon-responsive regulation of carotenogenic genes[22]. This supports the suitability of glucose concentrations as 15 g/L for maximizing both pigment yield and process efficiency.

3. Optimal nitrogen sources on the growth and carotenoid production of *R. mucilaginosa* SMY40

The effect of different nitrogen sources on biomass yield, carotenoid production, sugar consumption, and conversion efficiencies of *R. mucilaginosa* SMY40 is presented in Table 3. Among the nitrogen sources tested, $(NH_4)_2SO_4$ resulted in the highest biomass concentration (4.28 ± 0.13 g/L), followed by KNO_3, urea, and NH_4Cl. However, statistical analysis revealed no significant difference ($P > 0.05$) between the biomass yields from $(NH_4)_2SO_4$, KNO_3, and urea. Carotenoid production was also highest with $(NH_4)_2SO_4$ (42.36 ± 0.89 µg/g wet weight), whereas urea yielded the lowest value (39.75 ± 0.90 µg/g wet weight). The highest carotenoid yield per biomass ($Y_{P/X}$) was observed in the $(NH_4)_2SO_4$ treatment (9.90 µg/g), while $Y_{P/S}$ was highest for NH_4Cl as well (3.34 µg/g sugar consumed), despite its lower sugar consumption (11.68 ± 0.63 g/L) compared to $(NH_4)_2SO_4$. Interestingly, the sugar-to-biomass conversion efficiency ($Y_{X/S}$) was comparable among all nitrogen sources, ranging from 0.32 to 0.34 g/g sugar, with NH_4Cl yielding the highest efficiency.

Table 3. Biomass yield, carotenoid production, sugar consumption and effect of medium composition on the conversion factors ($Y_{X/S}$, $Y_{P/X}$ and $Y_{P/S}$), biomass and carotenoids productivities of *R. mucilagonosa* SM40 cultivated with different nitrogen sources.

Nitrogen source	Biomass (g/L)	Carotenoid (g/g wet weight)	Sugar consumed (g/L)	$Y_{X/S}$ (g/g sugar)	$Y_{P/X}$ (ug/g biomass)	$Y_{P/S}$ (ug/g sugar)
$(NH_4)_2SO_4$	4.28 ± 0.13^{a}	42.36 ± 0.89^{a}	13.35 ± 0.32^{a}	0.32	9.90	3.18
NH_4Cl	3.96 ± 0.10^{b}	38.95 ± 0.76^{ab}	11.68 ± 0.63^{b}	0.34	9.84	3.34
KNO_3	4.15 ± 0.08^{ab}	41.04 ± 0.64^{ab}	13.08 ± 0.29^{a}	0.32	9.89	3.14
Urea	4.04 ± 0.05^{ab}	39.75 ± 0.90^{b}	12.25 ± 0.30^{ab}	0.33	9.83	3.25

Data presented as mean value ± standard deviation (n = 3).

Values followed by the different letters in the same column indicated significant differences ($P < 0.05$, Turkey's HSD).

The findings indicate that nitrogen source type significantly influences both biomass production and carotenoid production in *R. mucilaginosa* SMY40. $(NH_4)_2SO_4$ promoted the highest biomass and carotenoid content, consistent with previous studies reporting enhanced growth of oleaginous yeasts when utilizing inorganic ammonium salts[22]. This is likely due to the rapid assimilation of ammonium ions via the glutamine synthetase–glutamate synthase pathway, supporting both primary metabolism and secondary metabolite synthesis. Although NH_4Cl produced lower biomass compared to $(NH_4)_2SO_4$, it exhibited the highest carotenoid yield per biomass and per sugar consumed, suggesting an elevated flux towards carotenoid biosynthesis under this nitrogen condition. Similar nitrogen-dependent metabolic shifts have been observed in *Rhodotorula* species, where nitrogen limitation or specific nitrogen types can trigger oxidative stress or alter carbon flux distribution, thereby enhancing pigment production[9]. The use of KNO_3 and urea also supported moderate biomass and carotenoid production. Nitrate assimilation requires energy and reductants, which may reduce the resources available for pigment synthesis. Meanwhile, urea, despite being a cost-effective nitrogen source, resulted in the lowest carotenoid content, possibly due to delayed urease activity or suboptimal nitrogen release kinetics[24]. Overall, the results suggest that ammonium-based nitrogen sources, particularly $(NH_4)_2SO_4$ and NH_4Cl, are more favorable for both biomass growth and carotenoid production. However, the choice

between them should consider the intended application, $(NH_4)_2SO_4$ for maximizing biomass or NH_4Cl for maximizing pigment yield efficiency. Based on the findings of this study, $(NH_4)_2SO_4$ was identified as the optimal nitrogen source and was therefore employed in subsequent experimental phases to further enhance carotenoid biosynthesis by *R. mucilaginosa* SMY40.

4. Optimal initial pH of the culture medium on the growth and carotenoid production of *R. mucilaginosa* SMY40

The effect of initial pH on the growth, carotenoid production, sugar utilization, and conversion efficiencies of *R. mucilaginosa* SMY40 is presented in Table 4. Among the tested pH values, an initial pH of 5.0 supported the highest biomass concentration (4.28 ± 0.85 g/L) and carotenoid content (42.20 ± 0.19 µg/g wet weight), which were significantly higher than those obtained at more acidic (pH 3.0) or more alkaline (pH 7.0 and 9.0) conditions ($P < 0.05$). The yeast cultivated at pH 5.0 also exhibited the highest sugar consumption (13.40 ± 0.42 g/L), while the lowest sugar consumption and biomass were observed at pH 9.0 (7.93 ± 0.64 g/L and 2.23 ± 0.24 g/L, respectively). Although the carotenoid content (µg/g wet weight) was highest at pH 5.0, the highest carotenoid yield per biomass ($Y_{P/X}$=9.86 µg/g) was recorded at pH 5.0, followed closely by pH 3.0 (9.86 µg/g). The carotenoid yield per sugar consumed (YP/S) was highest at both pH 3.0 and 7.0 (3.38 µg/g sugar), despite their lower absolute carotenoid content.

Table 4. Biomass yield, carotenoid production, sugar consumption and effect of medium composition on the conversion factors ($Y_{X/S}$, $Y_{P/X}$ and $Y_{P/S}$), biomass and carotenoids productivities of *R. mucilagonosa* SM40 cultivated with different initial pH of the culture medium.

Initial pH	Biomass (g/L)	Carotenoid (g/g wet weight)	Sugar consumed (g/L)	$Y_{X/S}$ (g/g sugar)	$Y_{P/X}$ (ug/g biomass)	$Y_{P/S}$ (ug/g sugar)
pH 3.0	3.92 + 0.05^{ab}	38.36 + 1.01^{b}	11.33 + 0.65^{b}	0.37	9.80	3.38
pH 5.0	4.28 + 0.85^{a}	42.20 + 0.19^{a}	13.40 + 0.42^{a}	0.32	9.86	3.15
pH 7.0	3.52 + 0.10^{b}	35.37 + 1.35^{b}	10.50 + 0.41^{b}	0.35	9.76	3.38
pH 9.0	2.23 + 0.24^{c}	20.37 + 1.18^{c}	7.93 + 0.64^{c}	0.28	9.21	2.81

Data presented as mean value ± standard deviation (n = 3).

Values followed by the different letters in the same column indicated significant differences ($P < 0.05$, Turkey's HSD).

The initial pH of the culture medium exhibited a significant influence on both biomass yield and carotenoid production by *R. mucilaginosa* SMY40. Among the tested pH values (3.0, 5.0, 7.0, and 9.0), pH 5.0 was found to be optimal for cell growth and pigment biosynthesis, yielding the highest biomass (4.28 ± 0.85 g/L) and carotenoid content (42.20 ± 0.19 µg/g wet weight). This observation is in agreement with previous studies that demonstrated the favorable impact of slightly acidic conditions on carotenoid biosynthesis in *Rhodotorula* species[22]. The efficient sugar utilization at pH 5.0 (13.40 ± 0.42 g/L) also suggests that this condition supports enhanced metabolic activity and carbon flux toward biomass and carotenoid biosynthesis pathways. At lower and neutral pH values (3.0 and 7.0), although moderate biomass (3.92 ± 0.05 and 3.52 ± 0.10 g/L, respectively) and carotenoid levels (38.36 ± 1.01 and 35.37 ± 1.35 µg/g, respectively) were observed, these were significantly lower than those achieved at pH 5.0. Interestingly, pH 3.0 and 7.0 both resulted in a similar carotenoid yield per gram of sugar consumed ($Y_{P/S}$ = 3.38 µg/g sugar), indicating relatively stable pigment productivity despite varying growth levels. These results may reflect cellular mechanisms aimed at maintaining carotenoid levels under moderate stress conditions induced by suboptimal pH. At alkaline pH (9.0), a marked decrease in both biomass (2.23 ± 0.24 g/L) and carotenoid production (22.07 ± 1.67 µg/g) was evident, indicating that such basic conditions likely imposed stress on the cells, impairing metabolic activity and pigment biosynthesis. This finding is consistent with previous reports showing that extreme pH levels negatively affect membrane integrity and enzyme function in yeasts, thereby reducing growth and metabolite production[25]. Overall, the findings from this study reinforce the importance of pH optimization in enhancing microbial pigment production. The results confirm that an initial pH of 5.0 provides the most favorable environment for *R. mucilaginosa* SMY40, supporting both efficient biomass accumulation and carotenoid biosynthesis. This finding is consistent with the study by Rodríguez et al.[14], who reported that pH 5.0 was optimal for carotenoid production by *R. mucilaginosa* when cultivated on artichoke agro-industrial waste, serving as a cost-effective carbon source.

5. Optimal cultivation time on the growth and carotenoid production of *R. mucilaginosa* SMY40

The influence of cultivation time on biomass yield, carotenoid production, sugar consumption, and associated conversion efficiencies of *R. mucilaginosa* SMY40 is summarized in Table 5. The biomass concentration reached its peak at 120 hours of cultivation (4.29 ± 0.02 g/L), which was statistically higher than that observed at 96 hours (3.90 ± 0.14 g/L) and comparable to values obtained at 144 hours (4.22 ± 0.12 g/L) and 168 hours (4.10 ± 0.06 g/L). Carotenoid content also increased with time, reaching a maximum at 144 hours (42.62 ± 0.41 µg/g wet weight), although this value was not significantly different from those obtained at 120 hours (42.58 ± 0.74 µg/g) and 168 hours (42.42 ± 0.95 µg/g). The shortest cultivation period (96 hours) resulted in significantly lower carotenoid content (40.02 ± 0.51 µg/g; $P < 0.05$). Sugar consumption showed a gradual increase with cultivation time, from 11.98 ± 0.80 g/L at 96 hours to 13.57 ± 0.19 g/L at 168 hours. Conversion efficiency values revealed that the biomass yield per gram of sugar consumed ($Y_{X/S}$) was highest and identical at 96 and 120 hours (0.33 g/g), then slightly decreased at 144 hours (0.32 g/g) and drastically dropped at 168 hours (0.20 g/g). Although the carotenoid yield per biomass ($Y_{P/X}$) remained relatively stable across all time points, peaking slightly at 96 hours (10.38 µg/g), the carotenoid yield per sugar consumed ($Y_{P/S}$) was also highest at 96 hours (3.39 µg/g), with a gradual decrease observed in later time points.

Table 5. Biomass yield, carotenoid production, sugar consumption and effect of medium composition on the conversion factors ($Y_{X/S}$, $Y_{P/X}$ and $Y_{P/S}$), biomass and carotenoids productivities of *R. mucilagonosa* SM40 cultivated with different times.

Time	Biomass (g/L)	Carotenoid (g/g wet weight)	Sugar consumed (g/L)	$Y_{X/S}$ (g/g sugar)	$Y_{P/X}$ (ug/g biomass)	$Y_{P/S}$ (ug/g sugar)
96	3.90 + 0.14[b]	40.02 + 0.51[b]	11.98 + 0.80[b]	0.33	10.38	3.39
120	4.29 + 0.02[a]	42.58 + 0.74[a]	13.20 + 0.22[a]	0.33	9.93	3.23
144	4.22 + 0.12[a]	42.62 + 0.41[a]	13.34 + 0.71[a]	0.32	10.11	3.20
168	4.10 + 0.06[ab]	42.42 + 0.95[a]	13.57 + 0.19[a]	0.20	10.35	3.13

Data presented as mean value ± standard deviation (n = 3).

Values followed by the different letters in the same column indicated significant differences ($P < 0.05$, Turkey's HSD).

The duration of fermentation plays a crucial role in determining the balance between microbial growth, substrate consumption, and secondary metabolite accumulation, including carotenoids. The present findings indicate that *R. mucilaginosa* SMY40 achieved maximum biomass and carotenoid content at approximately 120–144 hours of cultivation, which is consistent with the typical stationary phase onset reported in other studies of carotenoid-producing yeasts[22]. The significant increase in carotenoid content from 96 to 120 hours suggests active pigment biosynthesis during the late exponential phase, which then plateaued through 144 and 168 hours. This stabilization phase is commonly observed in yeast fermentation systems where secondary metabolite production continues even after biomass accumulation slows[9]. Interestingly, the highest carotenoid yield per sugar consumed ($Y_{P/S}$ = 3.39 µg/g) and per biomass ($Y_{P/X}$ = 10.38 µg/g) were obtained at 96 hours. This suggests that shorter fermentation periods may favor efficient conversion of carbon sources into carotenoids, possibly due to metabolic prioritization toward secondary metabolism under limited biomass expansion. However, the total carotenoid productivity was lower at 96 hours due to reduced biomass formation, making longer cultivation durations more favorable for maximizing volumetric yield. The drastic decline in $Y_{X/S}$ to 0.20 g/g at 168 hours indicates a decoupling between sugar consumption and biomass formation, potentially due to increased maintenance energy requirements, nutrient depletion, or cellular aging, as noted in prolonged yeast cultivations. Therefore, although extended fermentation may sustain carotenoid levels, it is not economically favorable due to reduced conversion efficiencies[24]. A cultivation period between 120 and 144 hours appears optimal for achieving a balance between biomass yield, carotenoid concentration, and conversion efficiency of *R. mucilaginosa*[13,14]. Beyond this period, the benefits in pigment accumulation diminish, and process efficiency declines.

Conclusions

This study identified the optimal cultivation conditions for maximizing the biomass and total carotenoid yield of *R. mucilaginosa* SMY40, a promising carotenoid-producing yeast. Among the tested conditions, the highest productivity was observed when the yeast was cultured in a synthetic medium containing 15 g/L glucose as the carbon source and ammonium sulfate as the nitrogen source, at an initial pH of 5.0. The cultivation was conducted at room temperature under shaking conditions

(150 rpm) for 120 hours. Under these optimized parameters, the maximum dry cell weight reached 4.26 ± 0.03 g/L, with a total carotenoid content of 41.98 ± 0.93 μg/g wet weight and glucose consumption of 13.36 ± 0.11 g/L. These findings suggest that a slightly acidic pH environment facilitates optimal metabolic activity and carotenoid biosynthesis in *R. mucilaginosa* SMY40, likely by enhancing the enzymatic efficiency within the mevalonate pathway. The high yield achieved under relatively simple and cost-effective culture conditions highlights the potential of this strain for biotechnological applications, particularly in the production of natural pigments for use in the food, cosmetic, and pharmaceutical industries.

References

1. Martins N, Ferreira ICFR. Wastes and by-products: Upcoming sources of carotenoids for biotechnological purposes and health-related applications. Trends Food Sci Technol 2017;62:33-48.
2. Aksu Z, Eren AT. Production of carotenoids by the isolated yeast of Rhodotorula glutinis. Biochem Eng J 2007;35:107-13.
3. Maldonade IR, Rodriguez-Amaya DB, Scamparini ARP. Carotenoids of yeasts isolated from the Brazilian ecosystem. Food Chem 2008;107:145–50.
4. Marova I, Certik M, Breierova E. Production of enriched biomass by carotenogenic yeasts- Application of whole cell yeast biomass to production of pigments and other lipid compound. In D. Matovic. (Ed.), Biomass - Detection, Production and Usage. Shanghai: In Tech China; 2011.
5. Gupta I, Adin SN, Panda BP, Mujeeb M. β-Carotene-production methods, biosynthesis from Phaffia rhodozyma, factors affecting its production during fermentation, pharmacological properties: a review. Biotechnol Appl Biochem 2022;69:2517–29.
6. de Mattos MVC, Michelon M, de Burkert Medeiros JF. Production and stability of food-grade of food-grade liposomes containing microbial carotenoids from Rhodotorula mucilaginosa. Food Structure 2022;33:100282.
7. Moliné M, Flores MR, Libkind D, del Carmen Diéguez M, Farias ME, van Broock M. Photoprotection by carotenoid pigments in the yeast Rhodotorula mucilaginosa: the role of torularhodin. Photochem Photobiol Sci 2010;9:1145-51.
8. Rodrigues TVD, Amore TD, Teixeira EC, de Medeiros Burkert JF. Carotenoid production by Rhodotorula mucilaginosa in batch and fed-batch fermentation using agroindustrial byproducts. Food Technology and Biotechnology 2019;57:388-98.

9. Buzzini P, Martini A. Extracellular enzymatic activity profiles in yeast and yeast-like strains like strains isolated from tropical environments. J Appl Microbiol 2002;93:1020-5.
10. Maldonade IR, Rodriguez-Amaya DB, Scamparini ARP. Statistical optimization of cell growth and carotenoid production by Rhodotorula mucilaginosa. Braz J Microbiol 2012;109-15.
11. Gedela R, Sharma S, Prabhu AA, Pakshirajan K, Veeranki VD. Elevated production of lipids and carotenoids from Rhodotorula mucilaginosa using raw dairy wastewater as crude renewable substrate: a waste to wealth transformation approach. Chemical Papers 2025;79:4403-18.
12. El-Banna AA, El-Razek AMA, El-Mahdy AR. Some factors affecting the production of carotenoids by Rhodotorula glutinis. Food and Nutrition Sciences 2012;3:64–71.
13. Sharma R, Ghoshal G. Optimization of carotenoids production by Rhodotorula mucilaginosa (MTCC-1403) using agro-industrial waste in bioreactor: A statistical approach. Biotechnol Rep (Amst) 2019;25:e00407.
14. Rodríguez NAT, Quiñones-Cerna CE, Castillo HMR, Cruz Monzon JF, Butrón FJH, Soto JCR. Optimization of Total Carotenoid Production by Rhodotorula mucilaginosa from Artichoke Agroindustrial Waste Using Response Surface Methodology. Environ Res Eng and Manag 2023;79:111-21.
15. Elsanhoty RM, Al-Turki AI, Abdel-Razik MM. Production of carotenoids from Rhodotorula mucilaginosa and their applications as colorant agent in sweet candy. J Food Agric Environ 2017;15:21-6.
16. Sriwongchai S, Aksornsamai C, Kitleartpompairoat R. Screening of xylose-utilizing oleaginous yeasts from fermented bio-extracts for microbial oil production. BUU Sci J 2019;24:311-25.
17. Miller GL. Use of dinitrosalicylic acid reagent for determination of reducing sugar. Anal Chem 1959;31: 426-8.
18. Sriwongchai S, Pokethitiyook P, Kruatrachue M, Bajwa PK, Lee H. Screening of selected oleaginous yeasts for lipid production from glycerol and some factors which affect lipid production by Yarrowia lipolytica strains. JMBFS 2013;2:2344-8.
19. Passorn S, Sookwanna N, Auputinan P. Screening of Carotenogenic Yeasts from Natural Soil at the University of Phayao. BUU Sci J 2016;21:15-22.
20. Machado WRC, da Silva LG, Vanzela ESL, Bianchi VLD. Evaluation of the process conditions for the production of microbial carotenoids by the recently isolated *Rhodotorula mucilaginosa* URM 7409. Braz J Food Technol 2019;22:e2018267.

21. Buzzini P, Innocenti M, Turchetti B, Libkind D, van Broock M, Mulinacci N. Carotenoid profiles of yeasts belonging to the genera *Rhodotorula*, *Rhodosporidium*, *Sporobolomyces*, and *Cryptococcus*. Can J Microbiol 2007;53:1024–31.

22. Saenge C, Cheirsilp B, Suksaroge TT, Bourtoom T. Potential use of oleaginous red yeast *Rhodotorula glutinis* for the bioconversion of crude glycerol from biodiesel plant to lipids and carotenoids. Process Biochem 2011;46:210–18.

23. Du J, Shao Z, Zhao H. Engineering microbial cell factories for biosynthesis of value-added products. J Ind Microbiol Biotechnol 2011;38:873–90.

24. Ye Z, Sun T, Hao H, He Y, Liu X, Guo M, et al. Optimising nutrients in the culture medium of *Rhodosporidium toruloides* enhances lipids production. AMB Express 2021;14:149.

25. Kot AM, Błażejak S, Kurcz A, Bryś J, Gientka I. *Rhodotorula glutinis*–potential source of lipids, carotenoids, and enzymes for use in industries. Appl Microbiol Biotechnol 2019;103:739–51.

PBRU SCIENCE JOURNAL
2025.22(2) : 30-41

The Investigation of Organophosphate and Carbamate Pesticide Residues Found in the Period 2022-2024 on Popular Vegetables in Bangkan County, Bangkok, Thailand

Siriporn Pranee, Kanidrawee Techauay, Suphochana Charensin, Thippayarat Chahomchuen, Wimonrat Insuan, Sirinit Tharntada and Patamaporn Umnahanant*

Department of Veterinary Technology, Faculty of Veterinary Technology, Kasetsart University

***Corresponding author; E-mail:** cvtpmp@ku.ac.th

Received: 13 May 2025 /Revised: 25 August 2025 /Accepted: 25 August 2025

Abstract

The experiment on organophosphate and carbamate has been conducted since 2022, therefore the yearly experiment has been done to observe the situation of pesticide residue in vegetables. Vegetables around Thailand have been used the organophosphate and carbamate as pesticides. Organophosphate and carbamate are inhibitors of acetylcholinesterase, an enzyme critical to the control of nerve impulse transmission from one cell to another. The LD_{50} of organophosphate and carbamate is 5 – 500 mg/kg. This investigation was performed on 10 kinds of vegetables found mostly in markets such as parsley, Chinese kale, cabbage, Chinese cabbage, water morning glory, carrot, lettuce, cowpea, tomato, and cucumber which were purchased in 2022, 2023 and 2024. They all were tested using the GT-Test Kit. The study found the combination of organophosphate and carbamate in morning glory was still over the maximum residue limits (MRLs) issued by the Thai Food and Drug Administration, issue number 288 (year 2005).

Keywords: Vegetables, Pesticide, Organophosphate, Carbamate, testkit

Introduction

The number of poisonings from pesticides in Thailand is increasing[1]. A recent study has revealed that organophosphate and carbamate insecticides are the primary culprits behind poisoning cases in Thailand[2]. Pesticide use in agriculture plays a crucial role in boosting crop yields. However, the overuse of these chemicals can cause significant harm to the environment and human health. One major concern is the impact on the enzyme acetylcholinesterase (AChE), which is vital for breaking down the neurotransmitter acetylcholine in our nervous

system. The inhibition of AChE can lead to serious health issues, underscoring the need for careful management of pesticide applications [3]. Organophosphate and carbamate pesticides enter the body through ingestion, inhalation, and through the skin. Toxic will be in the same direction which is the toxicity depends on the rate of transformation of toxins in the body by liver hydrolysis. Both groups of pesticides were highly acutely toxic by inhibiting the activity of acetylcholinesterase. The enzyme AChE is responsible for the breakdown of the neurotransmitter acetylcholine. The function of controlling nerve impulses is choline and acetic acid, causing the accumulation of acetyl. Colin on nerve endings resulting in acute poisoning. This can cause severe nerve endings and death [4]. The initial symptoms found were Nausea, vomiting, golden streaks, lacrimation, sweating, iris constriction, urinary incontinence, urinary incontinence, bronchospasm muscle spasms and have a lot of phlegm [4].

Organophosphate pesticides are classified as esters of phosphoric acid. Examples of substances in this group include monocrotophos, mevinphos, chlorpyrifos, dimethoate, dicrotophos, parathion-methyl and parathion [5]. Carbamates are a synthetic group of organic compounds represented by the -O-CO-NH- functional group and the variations of carbamates are classified by the differences in substituent groups on the O terminal and N terminal. The variation of carbamates can significantly influence their biological activity and toxicity. Some common examples of carbamates include carbaryl, methomyl, and propoxur, each exhibiting different effects on target organisms and varying degrees of environmental persistence. Its application is used as an ingredient in various products for both domestic and industrial use and insecticides such as methomyl, carbofuran, carbaryl and methiocarb. for the decomposition of both pesticides, they have different period. Organophosphate pesticides decompose rapidly within a few weeks. Carbamate decomposes up to 50 weeks in the soil[4]. However, if pesticides are used more than needs and use in conditions where the soil nature is not balanced will result in a more stable group of pesticides and a higher half-life than used. These result in the excess formation of residues. Eliminate pests that exceed the acceptable Maximum Residue Limits (MRLs).

The determination of organophosphates and carbamate can be done using GT test

kits for quick, easy, and fast results. There are reports that the test kits had been used and the results showed that the test kits gave different results depending on the organophosphate and carbamate. However, no significant difference was found. But the sensitivity and accuracy of each test set were significantly different [7]. In Thailand, the detection of organophosphates and carbamates had been conducted using the GT test kit [8,9]. The principle of this test is that inhibition of the enzyme cholinesterase (cholinesterase inhibition technique) by organophosphate and carbamates groups will inhibit the activity of the enzyme choline esterase. These prevents the enzyme from hydrolyzing acetylcholine. The remaining acetylcholine is indicated by the intensity of the resulting color. In the assay, when the sample contains large amounts of organophosphate and carbamate residues, the test will result in inhibition of the enzyme choline esterase as well, therefore, the residual amount of acetylcholine and the resulting color are dark accordingly [10].

In a previous study [8,9], samples of 10 vegetables sold at large wet markets and department stores in 2014 and 2021 found that the contamination of organophosphate and carbamate pesticides in coriander, kale, and cucumber. The amount of contamination is at a safe level. In addition, it was found that in the dry season, the amount of pesticide contaminants was higher than in other seasons[9]. In 2019, it was reported that roughly 41.3% of fresh fruits and vegetables available in supermarkets and markets contained pesticide residues exceeding permissible levels [10]. According to the information of the pesticide warning network, it was found that the results of the fruit and vegetable inspection for the year 2020 were from samples. Samples of 509 in total across the country found 58. 7% contain pesticide residues beyond the standard and the types of vegetables found to have excess residues are small tomatoes, chili, celery, and kale [11]. Based on the pesticide's contamination problem, the researchers realize the importance of monitoring the contamination of the disposal agent.

Leading to the experiments in this study that surveyed the residues of this group of pesticides from market Y in September of the years 2021-2024. The objective of this research was to update the determination of organophosphate and carbamate pesticides in vegetables commonly consumed from local store and to compared with previous studies using the test kits.

Materials and Methods

To monitor and compare contamination data of organophosphate and carbamate pesticides in popular vegetables, therefore, the same vegetables were randomly sampled as the previous experiment [8]. Based on the research in 2014 [9], the results found that the contamination of organo-carbamate and organo-phosphate was mostly found in September of the year, so the samples were collected in September 2021 [8], September 2022 (this report), September 2023 (this report) and September 2024 (this report). They were from the same source at each market which is Market Y in Bangkan Province of Bangkok, Thailand. The 10 vegetables that were randomly sampled from market Y were cilantro, lettuce, morning glory, Chinese cabbage, kale, cucumber, tomato, carrot, cabbage, and long beans.

The samples were purchased randomly from market Y and divided into three samples of each vegetable. Each sample had been done in triplicate. Then, samples are extracted immediately in the laboratory by grinding. A random sample that has been crushed and weighs 5 g in each test gives the total of each vegetable at 9 tests (total of n=90 tests/year). Then, vegetable samples were extracted with dichloromethane and 5% ethanol then the dichloromethane were evaporated using a nitrogen evaporator until approximately 1 mL of sample extract remained. The extracts were subsequently tested with the GT test kit. Perform the experiments as described in the test kit document with positive and negative control (Table 1, Figure 1). The temperature of the water bath has been monitored using a Fluke Thermocouple thermometer at 36 ± 2 °C. After adding all the test chemicals, read the results by comparing the color of the sample with the color of the control tubes. Colors more intense than or equal to the positive tube will interpret that residues were found at unsafe levels using the symbol (++). If the color intensity is less than the positive control, but less than the negative control interpreted as the residue was found to be at a safe level using the symbol (+). If the color intensity is less than or equal to the negative control means no organophosphate and carbamate residues were detected using the symbol (-).

Table 1. Direction in adding each solution for the GT test kit.

	Negative control	Positive control	sample	Post adding reagent
5% ethanol	0.25 ml	0.25 ml	-	-
Sample extract	-	-	0.25 ml	-
GT-1	0.5 ml	0.5 ml	0.5 ml	In a water bath 5-10 mins
GT-2	-	0.25 ml	0.25 ml	In a water bath 30 mins
GT-3	1 ml	1 ml	1 ml	Perform in a water bath
GT-4	0.5 ml	0.5 ml	0.5 ml	Perform in a water bath
GT-5	0.5 ml	0.5 ml	0.5 ml	Read the result

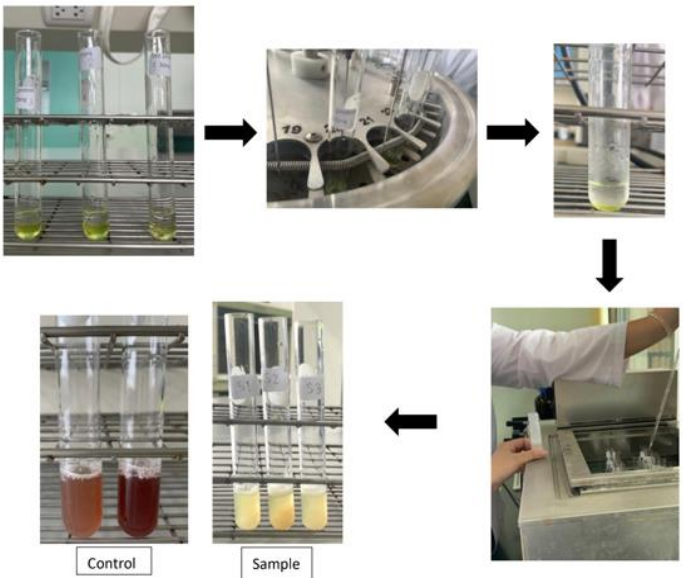


Figure 1. Method in determination using test kit from left to right, top to bottom, the sample were extracted using the solvent, the evaporation of solvent using nitrogen purge, the solution after evaporation, adding reagents as directed in Table 1 in each test, and the results after adding every reagent (GT1-GT5) both the indicators (positive and negative control), and sample tests.

Results and Discussion

The results from the test kit were shown as the example for the positive tests (Figure 2(b)) and the example that found the residue under the limit (Figure 2(a)). For the negative results, the color of the sample turned to the same color as the negative control or even faded.

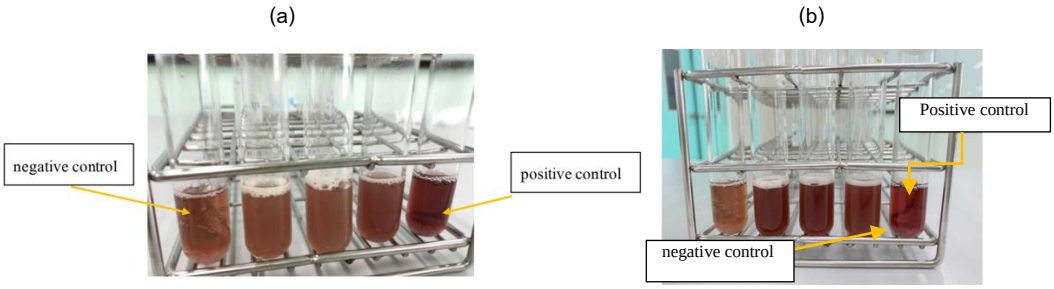


Figure 2. (a) results from the determining of morning glory as found in the safety level (+) (b) results from the determining of Chinese kale as found the unsafe level (++).

From the results of 10 vegetables that were randomly sampled from commercial sources that were tested using the insecticide "GT" test kit organophosphate and carbamate yielded the results shown in Table 2,3,4 and 5. From the experimental results, it was revealed that parsley from yearly sources where pesticide residues have been detected at unsafe levels. However, other vegetables mostly were found to have some residues but at safe levels. In some types of the vegetable, the carbamate and organophosphate residues were not found, for example, kale from the four markets had residues found at a safe level, and no residue was found in the samples from the department store. The reason could be the regulation in the department store to promote the sale.

The results show parsley, Chinese kale, carrots, and cowpeas contaminated with carbamate and organophosphate over the limit by Thai regulations as shown the symbol (++). The samples of Chinese cabbage, morning glory and tomato were found in the safety amount as shown in the symbol (+). However, cabbage and cucumber were not shown to be contaminated as shown in negative results (-). These were summarized in Table 2, Table 3, Table 4, and Table 5 for years 2021[8], 2022, 2023 and 2024, respectively.

In 2022, the pesticide contamination in vegetables was compared to 2021. On the other hand, the pesticide residues are not detected in cucumber; this might because of pesticide is leached into the soil by water from the rainy season. Residues are detected on tomatoes and lettuce which means that the pesticide is used in higher concentrations.

Table 2. Test of pesticide residues in samples of each vegetable from market Y in 2021[8] (n=90)

Vegetable	Number not detected (-)(%)	Number of detected	
		Number detected in safe amount(+) (%)	Number detected in unsafe amount (++)(%)
Parsley	3(33.33)	0(0.00)	6(66.67)
Chinese kale	3(33.33)	6(66.67)	0(0.00)
Cabbage	9(100.00)	6(66.67)	0(0.00)
Chinese cabbage	3(33.33)	6(66.67)	0(0.00)
Morning glory	6(66.67)	3(33.33)	0(0.00)
Carrot	6(66.67)	3(33.33)	0(0.00)
Lettuce	9(100.00)	0(0.00)	0(0.00)
Cowpea	3(33.33)	6(66.67)	0(0.00)
Tomato	9(100.00)	0(0.00)	0(0.00)
Cucumber	6(66.67)	3(33.33)	0(0.00)

Table 3. Test of pesticide residues in samples of each vegetable from market Y in 2022 (n=90)

Vegetable	Number not detected (-)(%)	Number of detected	
		Number detected in safe amount (+)(%)	Number detected in unsafe amount (++)(%)
Parsley	0(0.00)	0(0.00)	9(100.00)
Chinese kale	0(0.00)	9(100.00)	0(0.00)
Cabbage	9(100.00)	0(0.00)	0(0.00)
Chinese cabbage	0(0.00)	9(100.00)	0(0.00)
Morning glory	3(33.33)	6(66.67)	0(0.00)
Carrot	3(33.33)	6(66.67)	0(0.00)
Lettuce	9(100.00)	0(0.00)	0(0.00)
Cowpea	0(0.00)	9(100.00)	0(0.00)
Tomato	9(100.00)	0(0.00)	0(0.00)
Cucumber	3(33.33)	6(66.67)	0(0.00)

The comparison percentages of pesticide residues found in tests of each vegetable from Market Y between the years 2014[9], 2021[8], 2022, 2023, and 2024 are shown in Figure 3 and Figure 4. It was found that carbamate and organophosphate were not found in cabbage since 2021. The lettuce and cowpea are the vegetables in which the contaminate in some tests, but still in an amount that is not over the limit by Thai regulations.

Table 4. Test of pesticide residues in samples of each vegetable from market Y in 2023 (n=90)

Vegetable	Number not detected (-)(%)	Number of detected	
		Number detected in safe amount (+)(%)	Number detected in unsafe amount (++)(%)
Parsley	0(0.00)	0(0.00)	9(100.00)
Chinese kale	0(0.00)	0(0.00)	9(100.00)
Cabbage	9(100.00)	0(0.00)	0(0.00)
Chinese cabbage	0(0.00)	9(100.00)	0(0.00)
Morning glory	0(0.00)	9(100.00)	0(0.00)
Carrot	0(0.00)	0(0.00)	9(100.00)
Lettuce	0(0.00)	9(100.00)	0(0.00)
Cowpea	0(0.00)	9(100.00)	0(0.00)
Tomato	0(0.00)	9(100.00)	0(0.00)
Cucumber	9(100.00)	0(0.00)	0(0.00)

Table 5. Test of pesticide residues in samples of each vegetable from market Y in 2024 (n=90)

Vegetable	Number not detected (-)(%)	Number of detected	
		Number detected in safe amount (+)(%)	Number detected in unsafe amount (++)(%)
Parsley	0(0.00)	0(0.00)	9(100.00)
Chinese kale	0(0.00)	9(100.00)	0(0.00)
Cabbage	9(100.00)	0(0.00)	0(0.00)
Chinese cabbage	0(0.00)	9(100.00)	0(0.00)
Morning glory	0(0.00)	9(100.00)	0(0.00)
Carrot	0(0.00)	9(100.00)	0(0.00)
Lettuce	3(33.33)	6(66.67)	0(0.00)
Cowpea	6(66.67)	3(33.33)	0(0.00)
Tomato	3(33.33)	6(66.67)	0(0.00)
Cucumber	9(100.00)	0(0.00)	0(0.00)

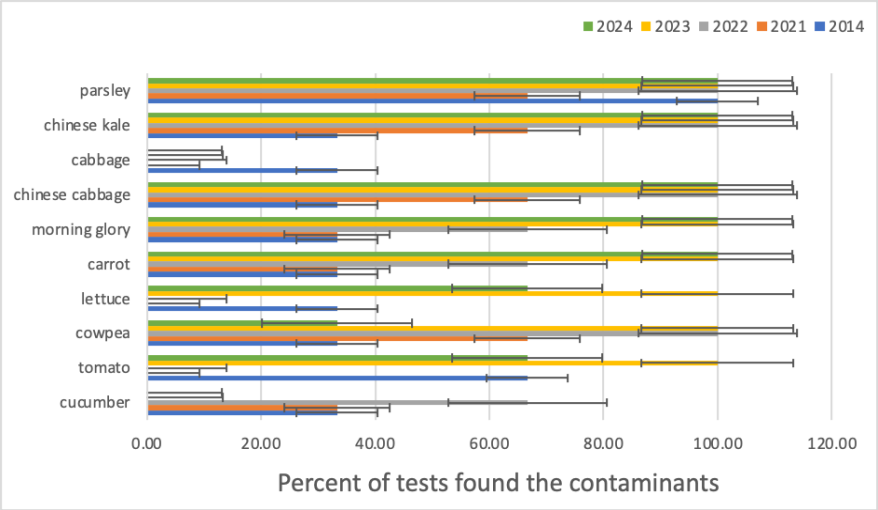


Figure 3. The comparison test of pesticide residues in samples found the contamination of organophosphate and carbamate on each vegetable from Market Y between 2014[9], 2021[8], 2022, 2023 and 2024

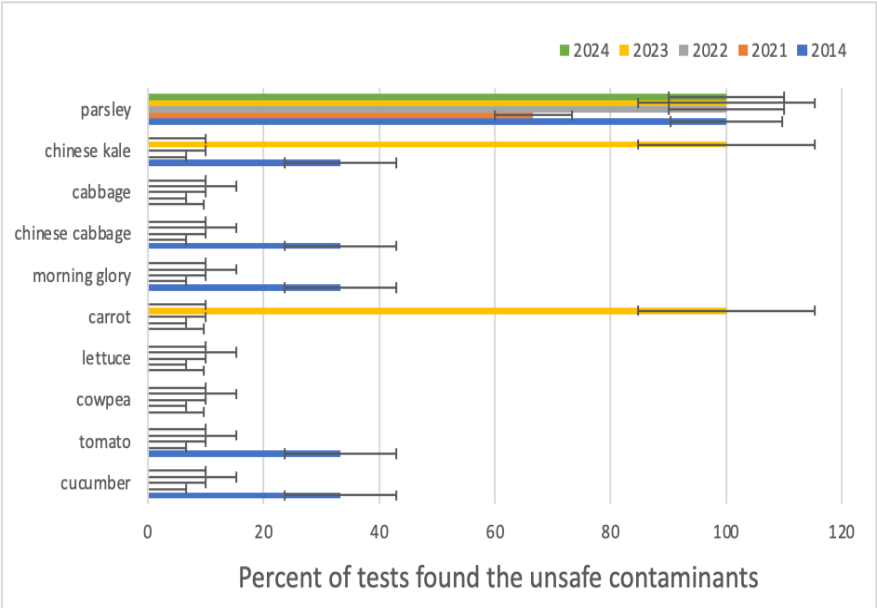


Figure 4. The comparison test of pesticide residues in samples found unsafe amount of the contaminated of organophosphate and carbamate on each vegetable from Market Y between 2014[9], 2021[8], 2022, 2023 and 2024

Conclusion

The problem of residues that are harmful to human health and safety. It has been studied about the health problems from poisoning of carbamate and organophosphate such as cardiac complication [12,13]. Therefore, the consumer should be concerned about these contaminants or choose to buy organic vegetables that have agricultural product quality certification marks.

There are reports about the analytical process of carbamate and organophosphate in humans and the environment [14]. Those experiment need expertise and time consumed. However, the simplest way to test before consumption is such a test kit, which is important for screening those compounds contaminated in food [15]. The GT test kit has reported to be precise compared with standard methods[16]. The standard method found the contaminants 27.5% from 528 samples and GT test kit found the contaminants 33.7% from the same samples[16]. The test kit company has reported the sensitivity, the specificity, and accuracy as 92.3%, 85.1%, and 87.1%, respectively[16].

The experiments showed the contamination of organophosphate and carbamate on various vegetables collected in the Market Y, Bangkan County, Bangkok, Thailand. From Figure 3, it was found that the contaminated from organophosphate and carbamates was slightly lower in recent years. It should be noticed that the contaminated always found in parsley. From Figure 4, it was found that the contamination is reduced from a harmful amount to a non-harmful amount. However, the contamination in parsley is still found in harmful amounts in every experiment year. However, the research should be conducted in other areas of Thailand to be more precise and could lead to the main response by the government. As a results, consumers should consider how to protect themselves by rinsing with detergent such as baking soda or hydrogen peroxide [8]. The season has some factor on the amount of residue found since the not-safe number of residues was found in the late summer compared to yearly[8].

Sugguestion

This study examined vegetable samples collected from one area in Bangkok and studied only some types of vegetables. The results of this study may not be able to be used to conclude about organic contaminations in vegetables at the national level.

Acknowledgements

The authors would like to thank the faculty of Veterinary Technology, Kasetsart University for the funding.

References

1. Panuwet P, Siriwong W, Prapamontol T, Barry RP, Fiedler N, Robson MG, et al. Agricultural pesticide management in Thailand: situation and population health risk. Environ Sci Policy 2012;17:72-81.
2. Wananukul W, Sriapha C, Tongpoo A, Sadabthammarak U, Wongvisawakorn S, Kaojarern S. Human poisoning in Thailand: The Ramathibodi Poison Center's experience (2001-2004). Clin Toxicol. 2007;45:582-8.
3. Soreq H, Seidman S. Acetylcholinesterase -New roles for an old actor. Nat Rev Neurosc 2001;2:294-302.
4. Thai Pesticide Alert Network. The result of testing on chemical pesticide residues in fruits and vegetables for 2019 [Internet]. 2019 [Cited 2023 Apr 23]. Available from: https://www. thaipan.org/wp-content/uploads/2019/pesticide_doc58.pdf
5. Gupta RC. Organophosphates and carbamates. Veterinary Toxicology Basic and Principle, 2nded. San Diego, CA: Elsevier; 2012.
6. Wananukul W. Patient with organophosphorus or carbamate poisoning [Internet]. 2022 [Cited 2023 April 23]. Available from: http://med.mahidol.ac.th/2022.
7. Xu T, Wang J, Wang X, Slawecki R, Rubio F, Li J; Comparison of four commercial enzymatic assay kits for the analysis of organophosphate and carbamate insecticides in vegetables. Food control. 2012;27:94-9.
8. Jo P, Hanwong P, Jiemjit B, Tharntada S, Umnahanant P. Then and now organophosphate and carbamate presticide residues on popular vegetables in Bangkok, Thailand. In: Chunthanom P. editor. Proceeding of the 1st, NACON-NARHS; 2021 Feb 21; Sakonnakorn: Thailand; 2021. P. 599-605.
9. U-Pan N, Wiwatchotiporn J, Srivihok C, Ruagsrisupapong N, Sidthisod N, Umnahanant P. Determination of organophosphate and carbamate on commercial vegetable, Proceeding of National academic conference on agricultural, Nonsi Isaan; 2014 Nov 29; Sakonnakorn: Thailand; 2014. P. 331-8.
10. Thuphom K, Chanaphan P. Pesticide residue/pesticide kit [Internet]. 2022 [cited

2023 Apr 23]. Available from: http://www.gttestkit.com/

11. Pesticide Alert Network. [Internet]. 2022 [cited 2023 Apr 23]. Available from: https://www.thaipan.org/
12. Saadeh AM, Farsakh NA, Al-Ali MK. Cardiac manifestations of acute carbamate and organophosphate poisoning. Heart 1997;77:461-4.
13. Mdeni NL, Adeniji AO, Okoh AI, Okoh OO. Analytical evaluation of carbamate and organophosphate pesticides in human and environmental matrices: A Review. Molecules 2022;27:618.
14. Tsagkaris AS, Uttl L, Pulkrabova J, Hajslova J. Screening of carbamate and organophosphate pesticides in food matrices using an affordable and simple spectrophotometric acetylcholinesterase assay. Appl Sci 2020;10:565.
15. Soonbthornsuk L. Reducing residues in fruits and vegetables [Internet]. 2020 [cited 2023 Apr 23]. Available from: https://pharmacy.mahidol.ac.th/knowledge/files/0452.pdf
16. GT trading. GT test kit [Internet]. 2004 [cited 2025 June 29]. Available from: http://www.gttestkit.com/intro_quality.htm

PBRU SCIENCE JOURNAL
2025.22(2) : 42-60

การวิเคราะห์ความคิดเห็นของผู้เข้าพักโรงแรมด้วยเทคนิคการวิเคราะห์หัวข้อแฝง: กรณีศึกษาจังหวัดสุรินทร์

Analysis of Hotel Guest Reviews Using Latent Topic Analysis: A Case Study of Surin Province

สรวิศ ต.ศิริวัฒนา เอกชัย แซ่จึง* สุภาวดี พบพิมาย และ ธนินทร์ ระเบียบโพธิ์

Soravit T.Siriwattana, Ekkachai Jueng* , Supawadee Phobphimai and Thanin Rabiabpho

สาขาเทคโนโลยีสารสนเทศและการสื่อสาร คณะวิทยาศาสตร์และศิลปศาสตร์ มหาวิทยาลัยเทคโนโลยีราชมงคลอีสาน

Department of Information and Communication Technology, Faculty of Science and Liberal Arts, Rajamangala University of Technology ISAN

***Corresponding author; E-mail:** ekkachai@sci.rmuti.ac.th

Received: 14 May 2025 /Revised: 10 September 2025 /Accepted: 12 September 2025

บทคัดย่อ

งานวิจัยนี้ได้นำเสนอการวิเคราะห์ความคิดเห็นของผู้เข้าพักโรงแรมในจังหวัดสุรินทร์ด้วยเทคนิคการวิเคราะห์หัวข้อแฝงมีวัตถุประสงค์เพื่อ 1) วิเคราะห์หัวข้อแฝงของความคิดเห็นของผู้เข้าพักโรงแรม และ 2) ศึกษาความสัมพันธ์ระหว่างประเด็นที่พบกับระดับความคิดเห็นของผู้เข้าพักผ่านมุมมองของผู้ใช้บริการ มีขั้นตอนดำเนินการวิจัยตามกระบวนการวิทยาศาสตร์ข้อมูลแบ่งเป็น 5 ขั้นตอน ได้แก่ (1) การรวบรวมข้อมูล (2) การเตรียมข้อมูลก่อนประมวลผล (3) การสร้างชุดข้อมูลกลุ่มระดับความคิดเห็น (4) การสร้างแบบจำลองหัวข้อแฝง และ (5) การศึกษาหาความสัมพันธ์ระหว่างหัวข้อแฝงกับระดับความคิดเห็น

การวิจัยครั้งนี้ใช้ข้อมูลความคิดเห็นจากผู้ใช้บริการโรงแรมจังหวัดสุรินทร์จำนวน 15 แห่งโดยการรวบรวมจาก Google Map จำนวน 2,042 ความคิดเห็น ผลการวิจัย พบว่า 1) ความคิดเห็นทั้งหมดสามารถจำแนกหัวข้อแฝงเป็น 7 หัวข้อ มีความเหมาะสมที่สุด โดยมีค่าคะแนนความสอดคล้องเท่ากับ 0.449 หัวข้อความคิดเห็น ได้แก่ (1) การพักผ่อนและสิ่งแวดล้อม (1) คุณภาพบริการและความสะอาด (3) ประสบการณ์หรูหรา (4) เสน่ห์ของการตกแต่งโรงแรม 5) ความเงียบสงบและเหมาะสมของโรงแรม (6) ลักษณะของโรงแรมและสถานที่จัดงาน และ (7) ความคุ้มค่าและใช้งานได้จริง 2) ผลการวิเคราะห์ความสัมพันธ์ระหว่างหัวข้อแฝงกับระดับความคิดเห็นพบว่า ผู้เข้าพักส่วนใหญ่มีความรู้สึกเชิงบวกถึงร้อยละ 23.60 โดยเฉพาะในด้านคุณภาพบริการและความสะอาด และส่วนใหญ่มีความรู้สึกเชิงลบร้อยละ 30.89 ในด้านเสน่ห์ของการตกแต่งโรงแรม

คำสำคัญ: การเรียนรู้ของเครื่อง การวิเคราะห์หัวข้อแฝง ระดับความคิดเห็น รีวิวผู้เข้าพักโรงแรม

Abstract

This research presents a latent topic analysis of hotel guest reviews in Surin Province using data science techniques. The study aims to: (1) analyze latent topics in hotel guest reviews and (2) examine the relationship between identified topics and guest sentiment levels from a user perspective. The research followed a five-step data science methodology: (1) data collection, (2) data pre-processing, (3) sentiment level dataset creation, (4) latent topic modeling, and (5) analyzing relationships between latent topics and sentiment levels.

The research utilized guest reviews from 15 hotels in Surin Province, collected from Google Map, comprising 2,042 reviews. Key findings reveal: 1) Reviews were categorized into 7 optimal latent topics with a coherence score of 0.449, including: (a) Leisure & Environment, (b) Service Quality and Cleanliness, (c) Luxurious Experience, (d) Hotel Renovation Charm, (e) Peaceful and Suitable, (f) Hotel Character and Venue, and (g) Affordable and Practical. 2) Sentiment analysis showed that guests expressed 23.60% positive sentiments, particularly regarding service quality and cleanliness, while 30.89% of reviews contained negative sentiments, primarily concerning hotel renovation charm.

Keywords: Machine Learning, Latent Topics Analysis, Review Score, Hotel Reviews

บทนำ

ในปัจจุบัน อุตสาหกรรมการท่องเที่ยวมีบทบาทสำคัญต่อเศรษฐกิจของประเทศไทย โดยเฉพาะจังหวัดที่มีการท่องเที่ยวเชิงวัฒนธรรมและประเพณี จังหวัดสุรินทร์เป็นหนึ่งในแหล่งท่องเที่ยวสำคัญของภาคตะวันออกเฉียงเหนือที่มีวัฒนธรรมและประเพณีอันเป็นเอกลักษณ์โดดเด่น เช่น งานช้างสุรินทร์ ผ้าไหมพื้นเมือง และวิถีชีวิตชาวชนบทที่ดึงดูดนักท่องเที่ยวทั้งชาวไทยและต่างชาติ ในปี 2565 ถึง 2566 มีนักท่องเที่ยวชาวไทยจำนวน 865,250 คน และ 1,097,197 คน นักท่องเที่ยวชาวต่างประเทศจำนวน 10,733 คน และ 27,592 คน ตามลำดับ และในปี 2566 มีอัตราการพักค้างแรมในจังหวัดสุรินทร์จำนวน 812,653 คน[1] การท่องเที่ยวที่เติบโตอย่างต่อเนื่องในจังหวัดสุรินทร์ส่งผลให้ธุรกิจโรงแรมในพื้นที่มีความสำคัญมากยิ่งขึ้น โดยมีบทบาทสำคัญในการสร้างความประทับใจและประสบการณ์ที่ดีให้แก่นักท่องเที่ยว

การรวบรวมความคิดเห็นของผู้เข้าพักโรงแรมผ่านรีวิวออนไลน์เป็นแหล่งข้อมูลสำคัญสำหรับการทำความเข้าใจมุมมองและประสบการณ์ของลูกค้า[2] การวิเคราะห์ความคิดเห็นช่วยให้ผู้ประกอบการสามารถรับรู้ถึงข้อดีข้อเสียและพัฒนากลยุทธ์การตลาดได้อย่างมีประสิทธิภาพ

อย่างไรก็ตาม ความหลากหลายและความซับซ้อนของข้อมูลทำให้การวิเคราะห์ด้วยวิธีดั้งเดิมเป็นเรื่องที่ท้าทาย นอกจากนี้ การศึกษาส่วนใหญ่ในอดีตมักใช้ข้อมูลจากแพลตฟอร์มเดียว ซึ่งอาจไม่สะท้อนภาพรวมของความคิดเห็นผู้เข้าพักได้อย่างครบถ้วน การใช้ข้อมูลจาก Google Map ที่รวบรวมความคิดเห็นจากหลายแพลตฟอร์ม เช่น TripAdvisor, Booking.com, Agoda.com จึงเป็นแนวทางที่มีศักยภาพในการให้ข้อมูลที่หลากหลายและครอบคลุมมากกว่า

เทคนิคการวิเคราะห์หัวข้อแฝง (Latent Topic Analysis) ได้รับการยอมรับว่าเป็นเครื่องมือสำคัญในการจัดการกับข้อมูลข้อความจำนวนมาก[3] เทคนิคนี้ช่วยในการค้นหาและจัดกลุ่มประเด็นหรือหัวข้อที่ซ่อนอยู่ในข้อความ รีวิวออนไลน์ของผู้เข้าพักโรงแรมมักมีประเด็นที่หลากหลาย ตั้งแต่การชื่นชมสิ่งอำนวยความสะดวกจนถึงการร้องเรียนปัญหาต่าง ๆ การใช้เทคนิคการจัดสรรแบบดิริชเลต์แฝง (Latent Dirichlet Allocation หรือ LDA) ซึ่งเป็นหนึ่งในเทคนิคของการวิเคราะห์หัวข้อแฝง ช่วยให้สามารถระบุหัวข้อที่สำคัญและเชื่อมโยงข้อความแต่ละข้อความกับหัวข้อเหล่านั้นได้โดยอัตโนมัติ นอกจากการระบุหัวข้อแล้ว การศึกษาความสัมพันธ์ระหว่างหัวข้อกับระดับความคิดเห็น เช่น ความคิดเห็นเชิงบวก เชิงลบ หรือเป็นกลาง มีความสำคัญต่อการทำความเข้าใจประเด็นที่มีผลกระทบต่อความพึงพอใจของผู้เข้าพัก ตัวอย่างเช่น การวิเคราะห์อาจพบว่าความคิดเห็นเชิงบวกเกี่ยวข้องกับหัวข้อด้านบริการที่เป็นมิตรหรือสิ่งอำนวยความสะดวกที่ทันสมัย ในขณะที่ความคิดเห็นเชิงลบอาจเกี่ยวข้องกับหัวข้อที่เกี่ยวกับความสะอาดหรือการจัดการปัญหา การทำความเข้าใจลักษณะนี้จะช่วยให้ผู้ประกอบการโรงแรมสามารถระบุจุดแข็งและจุดที่ต้องปรับปรุงได้อย่างชัดเจน

ในบริบทของจังหวัดสุรินทร์ การศึกษาโรงแรมที่เป็นมิตรกับสุขภาพและสิ่งแวดล้อม (Green Health Hotel) ยังเป็นอีกหนึ่งประเด็นที่มีการศึกษาอย่างจำกัด แม้ว่าแนวโน้มการท่องเที่ยวเชิงยั่งยืนจะเป็นที่สนใจมากขึ้น การใช้ข้อมูลจากโรงแรมประเภทนี้จะช่วยให้เข้าใจมุมมองของผู้เข้าพักที่มีต่อการบริการที่คำนึงถึงสุขภาพและสิ่งแวดล้อม ซึ่งอาจมีความต้องการและความคาดหวังที่แตกต่างจากโรงแรมทั่วไป

การวิจัยนี้มุ่งเน้นการวิเคราะห์ความคิดเห็นจากรีวิวผู้เข้าพักโรงแรมในจังหวัดสุรินทร์ โดยมีวัตถุประสงค์เพื่อ (1) วิเคราะห์หัวข้อแฝงของความคิดเห็นของผู้เข้าพักโรงแรม และ (2) ศึกษาความสัมพันธ์ระหว่างประเด็นที่พบกับระดับความคิดเห็นของผู้เข้าพัก การวิเคราะห์นี้จะใช้เทคนิคการจัดสรรแบบดิริชเลต์แฝงในการจัดกลุ่มความคิดเห็นและระบุหัวข้อหลัก โดยใช้ข้อมูลจาก Google Map ที่รวบรวมความคิดเห็นจากหลายแพลตฟอร์ม และมุ่งเน้นไปที่โรงแรมที่เป็นมิตรกับสุขภาพและสิ่งแวดล้อม การค้นพบจากการวิจัยนี้ไม่เพียงช่วยให้เข้าใจในมุมมองของผู้เข้าพักโรงแรมในเชิงลึก แต่ยังสามารถนำผลลัพธ์ไปประยุกต์ใช้ในการพัฒนาคุณภาพการบริการ วางแผนการตลาด และเสริมสร้างประสบการณ์ของนักท่องเที่ยวในจังหวัดสุรินทร์ต่อไป

ทฤษฎีและงานวิจัยที่เกี่ยวข้อง

1. คุณภาพการบริการ (Service Quality หรือ ServQual)

คุณภาพการบริการถือเป็นหัวใจสำคัญที่ช่วยให้ธุรกิจสามารถสร้างความพึงพอใจแก่ลูกค้าและความแตกต่างจากคู่แข่งได้ แนวคิด ServQual ที่พัฒนาโดย Parasuraman และคณะ[4] ได้รับการยอมรับอย่างกว้างขวางในด้านการวัดและวิเคราะห์คุณภาพการบริการ โดยเน้นไปที่ความคาดหวังและการรับรู้ของลูกค้าเกี่ยวกับการบริการ ระบุว่าคุณภาพการบริการเป็นการรับรู้ของลูกค้าที่เกิดจากการเปรียบเทียบระหว่าง ความคาดหวัง (Expectations) และ การบริการที่ได้รับจริง (Perceived Service) การบริการที่มีคุณภาพเกิดขึ้นเมื่อการให้บริการสามารถตอบสนองหรือเกินกว่าความคาดหวังของลูกค้าอย่างสม่ำเสมอ แนวคิดนี้ชี้ให้เห็นว่าความพึงพอใจของลูกค้าไม่ได้เกิดจากการบริการเพียงครั้งเดียว แต่เป็นผลจากการสร้างมาตรฐานการให้บริการอย่างต่อเนื่อง ServQual แบ่งองค์ประกอบของคุณภาพการบริการออกเป็น 5 ด้านหลัก ดังนี้ 1) ความน่าเชื่อถือในการบริการ(Reliability) 2) การสร้างความมั่นใจให้ผู้รับบริการ (Assurance) 3) การตอบสนองต่อผู้รับบริการ (Responsiveness) 4) ความเอาใจใส่ผู้รับบริการ (Empathy) 5) การบริการที่เป็นรูปธรรม (Tangibles)

แนวคิด ServQual เป็นมุมมองธุรกิจที่จะสร้างการนำเสนอบริการให้แก่ลูกค้า มุ่งเน้นให้ธุรกิจบริการตระหนักถึง ช่องว่างระหว่างความคาดหวังและการรับรู้ ซึ่งเป็นหัวใจสำคัญในการพัฒนาคุณภาพการบริการ การยกระดับคุณภาพบริการที่สามารถตอบสนองหรือเกินกว่าความคาดหวังของลูกค้าจะช่วยสร้างความพึงพอใจ เสริมสร้างความเชื่อมั่นและนำไปสู่ความสำเร็จที่ยั่งยืนในธุรกิจบริการ[5]

2. การวิเคราะห์หัวข้อแฝง

การวิเคราะห์หัวข้อแฝง (Latent Topic Analysis) เป็นเทคนิคที่ใช้เพื่อสกัดหัวข้อหรือประเด็นสำคัญจากข้อความจำนวนมาก วิธีนี้ได้รับความนิยมในงานวิจัยและการประยุกต์ใช้งานด้านการวิเคราะห์ข้อความ เช่น การจัดหมวดหมู่เอกสาร การทำเหมืองข้อความ และการทำความเข้าใจความคิดเห็นของผู้ใช้จากข้อมูลออนไลน์ หนึ่งในวิธีการที่ได้รับความนิยมสูงสุดสำหรับการวิเคราะห์หัวข้อแฝง คือ Latent Dirichlet Allocation (LDA) ซึ่งเป็นแบบจำลองทางสถิติแบบ Bayesian ที่พัฒนาขึ้นเพื่อค้นหาโครงสร้างหัวข้อแฝงในชุดข้อมูลข้อความขนาดใหญ่ LDA ทำงานบนพื้นฐานของสมมติฐานที่ว่าเอกสารแต่ละฉบับประกอบด้วยการผสมผสานของหัวข้อต่าง ๆ และแต่ละหัวข้อประกอบด้วยการกระจายตัวของคำศัพท์ต่าง ๆ โดยแบบจำลอง LDA สามารถระบุความสัมพันธ์ระหว่างเอกสาร คำศัพท์ และหัวข้อแฝงได้โดยอัตโนมัติ โดยใช้คลังข้อความ (Corpus) และพจนานุกรม (Dictionary) เป็นพื้นฐาน ทำให้เหมาะสำหรับการวิเคราะห์ข้อมูลข้อความที่มีความซับซ้อนและหลากหลาย[6] ดังงานวิจัยของ Sultana และคณะ[2] ได้ประยุกต์ใช้เทคนิค LDA ในการวิเคราะห์ความคิดเห็นจากรีวิวออนไลน์ของโรงแรมเครือข่ายระดับโลกในภูมิภาคเอเชียใต้ โดยรวบรวมรีวิวจำนวนมาก เพื่อสกัดหัวข้อสำคัญที่ลูกค้าให้ความสนใจ เช่น ความสะอาด อาหาร พนักงาน และการบริการ ผลการวิเคราะห์ช่วยให้โรงแรมสามารถเข้าใจความต้องการและปัญหาของลูกค้าได้อย่างชัดเจนและนำไปปรับปรุงบริการได้ตรงจุด

คลังข้อความคือข้อมูลที่ใช้เป็นพื้นฐานสำหรับการฝึกโมเดล LDA โดยอยู่ในรูปแบบของ Bag of Words (BoW) ซึ่งแสดงถึงการนับจำนวนครั้งที่คำแต่ละคำปรากฏในเอกสาร ตัวอย่างข้อมูลในรูปแบบ corpus เช่น [[(0, 1), (1, 2)], [(0, 3), (1, 5)]] ในที่นี้ ตัวเลขในวงเล็บคู่แรก เช่น (0, 1) หมายถึง 0 คือ ID ของคำในเอกสาร และ 1 คือจำนวนครั้งที่คำนี้ปรากฏในเอกสาร การแปลงข้อความเป็น corpus ช่วยให้โมเดล LDA สามารถทำงานได้อย่างมีประสิทธิภาพ เนื่องจากข้อมูลข้อความดิบจะถูกประมวลผลให้อยู่ในรูปแบบเชิงตัวเลขที่เหมาะสมกับการวิเคราะห์ทางคณิตศาสตร์

สำหรับพจนานุกรม เป็นองค์ประกอบสำคัญในกระบวนการเตรียมข้อมูล สำหรับ LDA โดยทำหน้าที่เก็บข้อมูลความสัมพันธ์ระหว่างคำในข้อความและ ID ของคำ ตัวอย่างเช่น {'apple': 0, 'banana': 1, 'cherry': 2} ในตัวอย่างนี้ คำว่า “apple” ถูกแทนด้วย ID ที่ 0 และคำว่า “banana” ถูกแทนด้วย ID ที่ 1 การสร้างพจนานุกรมช่วยให้เราสามารถแปลงข้อความให้อยู่ในรูปแบบที่เครื่องสามารถเข้าใจได้และนำไปสร้าง corpus สำหรับการฝึกโมเดล LDA พจนานุกรมยังช่วยลดขนาดของข้อมูลด้วยการกำจัดคำซ้ำหรือคำที่ไม่เกี่ยวข้อง[7] เช่น คำที่มีความถี่ต่ำหรือคำที่ไม่มีความสำคัญในเนื้อหา

กระบวนการวิเคราะห์หัวข้อแฝงด้วย LDA ประกอบด้วย 4 ขั้นตอน[8] ดังนี้

1) เตรียมข้อมูลข้อความ เป็นขั้นตอนการรวบรวมข้อมูลข้อความดิบ และทำความสะอาดข้อมูล เช่น การลบคำหยุด (Stop words) และการแปลงข้อความให้อยู่ในรูปแบบคำ (Word Tokenization)

2) สร้างพจนานุกรมและคลังข้อความ เป็นขั้นตอนการสร้างพจนานุกรมที่ระบุคำและ ID และแปลงข้อความเป็น corpus ในรูปแบบ BoW

3) ฝึกโมเดล LDA เป็นขั้นตอนการใช้ corpus และพจนานุกรมเพื่อฝึกโมเดล LDA และระบุจำนวนหัวข้อแฝงที่ต้องการค้นหา

4) วิเคราะห์ผลลัพธ์ เป็นขั้นตอนการตรวจสอบคำสำคัญที่เกี่ยวข้องกับแต่ละหัวข้อ และนำหัวข้อไปตีความและปรับใช้ตามความเหมาะสม

3. หัวข้อการแสดงความคิดเห็นจากแพลตฟอร์มผู้ให้บริการจองโรงแรม

การแสดงความคิดเห็นของลูกค้าบนแพลตฟอร์มจองโรงแรมเป็นแหล่งข้อมูลที่มีคุณค่าในการวิเคราะห์ประสบการณ์และความพึงพอใจของผู้ใช้บริการ เนื้อหาในความคิดเห็นเหล่านี้สะท้อนถึงความคาดหวังและการรับรู้เกี่ยวกับการบริการของโรงแรมในมิติต่าง ๆ ซึ่งแพลตฟอร์มจองโรงแรมแต่ละแห่งมีการออกแบบหัวข้อสำหรับการแสดงความคิดเห็นที่แตกต่างกัน เพื่อช่วยให้นักท่องเที่ยวและผู้ประกอบการโรงแรมสามารถนำข้อมูลเหล่านี้ไปใช้พัฒนาและปรับปรุงบริการได้อย่างตรงจุด

หัวข้อการแสดงความคิดเห็นของแพลตฟอร์มจองโรงแรมมีความหลากหลายและเน้นประเด็นที่สำคัญต่อประสบการณ์ของผู้เข้าพัก การเปรียบเทียบหัวข้อระหว่างแพลตฟอร์มช่วยให้เราเข้าใจมุมมองของลูกค้าและแนวทางในการปรับปรุงบริการเพื่อให้สอดคล้องกับความต้องการของตลาด ทั้งนี้การใช้ข้อมูลเหล่านี้อย่างเหมาะสมสามารถเพิ่มความพึงพอใจและความภักดีของลูกค้าได้ในระยะยาว

ผู้วิจัยได้สำรวจและรวบรวมหัวข้อการแสดงความคิดเห็นจากแพลตฟอร์มจองโรงแรมยอดนิยม แพลตฟอร์มมีการกำหนดกรอบหัวข้อให้ลูกค้าได้แสดงความคิดเห็นแสดงดัง Table 1. โดยงานวิจัยนี้จะรวบรวมข้อมูลจากบริการ Google เป็นหลัก ซึ่งข้อมูลจาก Google นั้นมาจากรวบรวมความคิดเห็นจากหลายแพลตฟอร์ม

Table 1. Topics of comments from hotel booking service platforms

Agoda.com	Booking.com	TripAdvisor.com	Trip.com	Google.com
ทำเลที่ตั้ง	ทำเลที่ตั้ง	ทำเลที่ตั้ง	ทำเลที่ตั้ง	ทำเลที่ตั้ง
ความสะอาด	ความสะอาด	ความสะอาด	ความสะอาด	-
สิ่งอำนวยความสะดวก	สิ่งอำนวยความสะดวก	สิ่งอำนวยความสะดวก	สิ่งอำนวยความสะดวก	-
การให้บริการของพนักงาน	พนักงาน	บรรยากาศ	การให้บริการของพนักงาน	การให้บริการ
ความสะดวกสบายและคุณภาพของห้องพัก	ความสบาย	คุณภาพของห้องพัก	-	คุณภาพของห้องพัก
คุ้มค่ากับเงินที่จ่าย	คุ้มค่าเงิน	ราคา	-	-

วิธีการดำเนินการวิจัย

การวิจัยนี้เป็นการศึกษาแบบการวิเคราะห์ข้อมูลทุติยภูมิ (Secondary Data Analysis) โดยใช้ข้อมูลรีวิวออนไลน์ของผู้เข้าพักโรงแรมที่มีอยู่แล้วใน Google Map ซึ่งเป็นข้อมูลที่ผู้เข้าพักได้แสดงความคิดเห็นเพื่อแบ่งปันประสบการณ์การใช้บริการ ได้กำหนดกรอบแนวคิดงานวิจัยที่สอดคล้องกับวัตถุประสงค์การวิจัยดำเนินการตามกระบวนการวิทยาศาสตร์ข้อมูลดังนี้ ข้อมูลที่ได้รับการรวบรวมมาจากอินเทอร์เน็ตจะได้รับการปรับปรุงให้มีความพร้อมก่อนการนำไปประมวลผล (Data Preprocessing) ข้อมูลชุดนี้จะถูกประมวลผลเป็นข้อมูล 2 ชุด ได้แก่ แบบจำลองหัวข้อแฝงและข้อมูลการแบ่งกลุ่มระดับความคิดเห็นของผู้เข้าพักโรงแรม นำมาวิเคราะห์หาความสัมพันธ์ระหว่างกันเพื่อวิเคราะห์หาปัจจัยที่มีผลต่อคุณภาพของโรงแรมในมุมมองของผู้เข้าพักโรงแรม

ขอบเขตของการวิจัย

งานวิจัยเก็บรวบรวมข้อมูลความคิดเห็นผู้เข้าพักโรงแรมในจังหวัดสุรินทร์เฉพาะโรงแรมที่ขึ้นทะเบียนในฐานข้อมูลโรงแรมที่เป็นมิตรกับสุขภาพและสิ่งแวดล้อม (GREEN Health Hotel) เนื่องจากเป็นแหล่งข้อมูลที่มีการรับรองและมีมาตรฐานชัดเจนจากหน่วยงานราชการ จำนวน 15 แห่ง[9] ได้แก่ โรงแรมมณีสังขะ ศรีประทีปรีสอร์ท โรงแรมมาลินี สุรินทรารีสอร์ท บ้านนาพฤกษารีสอร์ท สวนป่ารีสอร์ท โรงแรมทองเพกา วันฟูโฮเทล

โรงแรมมาติน่า โรงแรมสวนปาล์มรีสอร์ท โรงแรมอารีน่า โรงแรมมณีโรจน์ โรงแรมสุรินทร์มาเจสติก โรงแรมโซรินบูทีค และโรงแรมทองธารินทร์ อย่างไรก็ตาม การจำกัดขอบเขตนี้อาจทำให้ผลการวิจัยไม่สามารถขยายผลไปยังโรงแรมประเภทอื่นได้อย่างครบถ้วน

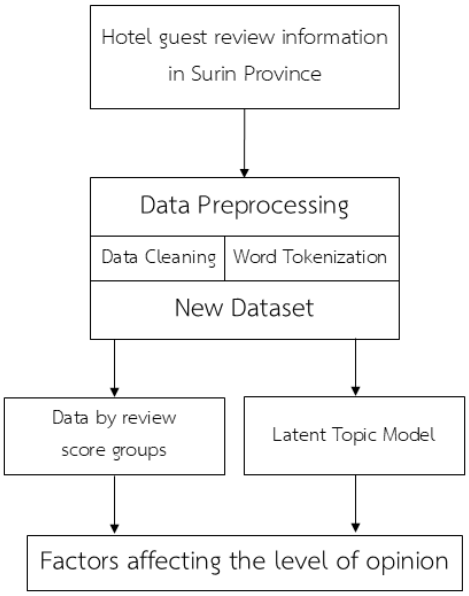


Figure 1. Research conceptual framework

เครื่องมือที่ใช้ในการวิจัย

1. Google Maps Platform Web service เป็นบริการของ Google สำหรับเรียกใช้ข้อมูลของ Google ได้เช่น ข้อมูลรายละเอียดของสถานที่จาก Google Map เป็นต้น

2. โปรแกรม Postman สำหรับเรียกใช้เว็บเซอร์วิส (Web Service) รวบรวมข้อมูลจากบริการของ Google

3. โปรแกรม Google Colab ใช้สำหรับการพัฒนาแบบจำลองด้วยภาษาไพธอน (Python)

4. ชุดคำสั่งภาษาไพธอนที่สำคัญ ได้แก่ ชุดคำสั่ง NLTK สำหรับการจัดเตรียมข้อมูลก่อนการประมวลผล ชุดคำสั่ง sklearn สำหรับเรียกประมวลผล และ ชุดคำสั่ง gensim สำหรับการสร้างและประเมินแบบจำลอง

การรวบรวมข้อมูล

การรวบรวมข้อมูลความคิดเห็นผู้เข้าพักโรงแรมในจังหวัดสุรินทร์จำนวน 15 แห่ง ที่ปรากฏอยู่บน Google Map ซึ่ง Google Map นั้นได้รวบรวมมาจากความคิดเห็นของผู้เข้าพักที่ใช้บริการจองผ่านแพลตฟอร์มต่าง ๆ เช่น Google.com TripAdvisor Booking.com Agoda.com เป็นต้น ผู้วิจัยทำการรวบรวมระหว่างเดือนมกราคม พ.ศ. 2556 ถึง เดือนสิงหาคม พ.ศ.2567 โดยการใช้บริการจาก Google Maps Platform[10] ทำงานร่วมกับโปรแกรม Postman จึงสามารถดึงความคิดเห็นผู้เข้าพักโรงแรมตามที่เงื่อนไขที่กำหนดได้ ดัง Figure 2 แสดงตัวอย่างรีวิวผู้เข้าพักโรงแรมบน Google Map ได้ให้ข้อมูลความคิดเห็นและคะแนนต่อโรงแรม และใช้เครื่องมือ Google Translator ในการแปลความคิดเห็นจากภาษาไทยให้เป็นภาษาอังกฤษ ดังนั้นข้อมูลที่รวบรวมจึงประกอบด้วย ข้อมูลความคิดเห็นภาษาต้นฉบับ ความคิดเห็นแบบแปลภาษาอังกฤษ คะแนนความคิดเห็น และชื่อโรงแรม รวบรวมข้อมูลได้จำนวน 4,980 รายการ

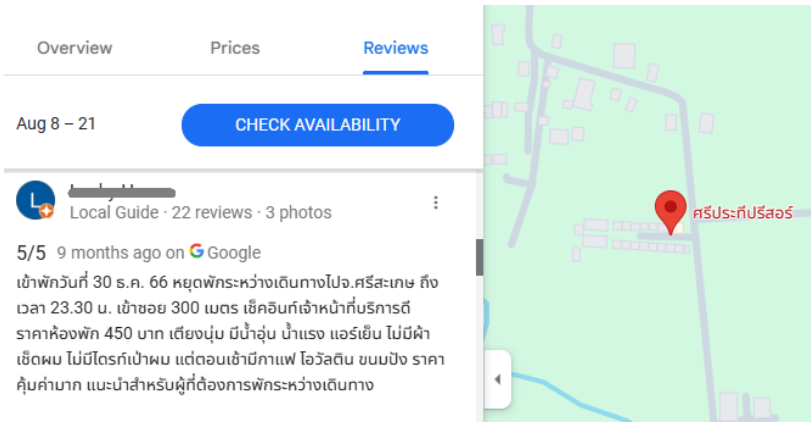


Figure 2. Examples of hotel guest reviews on Google Map

การเตรียมข้อมูลก่อนประมวลผล

ข้อมูลที่รวบรวมได้จำนวน 4,980 รายการ ข้อความทั้งหมดจะได้รับการตรวจสอบและปรับแต่งให้เหมาะสมก่อนนำไปประมวลผลด้วยโปรแกรม Google Colab โดยมีดำเนินการที่สำคัญดังนี้ (1) เลือกเฉพาะรายการที่มีข้อความแสดงความคิดเห็น (2) ตัดเครื่องหมายวรรคตอน (Punctuation) และคำเชื่อม (Stop words) ด้วยชุดคำสั่ง NLTK (3) ตัดอักขระพิเศษออก (4) ตัดตัวเลขออก (5) แปลงข้อความให้อยู่ในรูปแบบข้อความเป็นกลุ่มของโทเค็น (Tokens) ที่คั่นด้วยเครื่องหมายคอมม่า ภายหลังการจัดเตรียมข้อมูลเรียบร้อยแล้วจะมีข้อมูลพร้อมใช้จำนวน 2,042 รายการ คิดเป็นร้อยละ 41 ของจำนวนข้อมูลทั้งหมด

Table 2. Examples of comment data preparation

ความคิดเห็น	ความคิดเห็นภาษาอังกฤษ	กลุ่มโทเค็น
สะอาด สงบ เดินทางสะดวก มีที่จอดรถ แต่แอร์เสียงดังเกินไป นอนไม่หลับ	Clean, quiet, convenient to travel, has parking, but the air conditioner is too loud and can't sleep well.	clean,quiet,convenient,travel, parking,air,conditioner,loud, sleep,well
สถานที่สงบ ห้องพักระดับปานกลาง จอดรถหน้าห้อง พื้นห้องยังถูไม่ค่อยสะอาดเท่าที่ควร	Calm location, average rooms Parking in front of the room The floor of the room was not mopped as clean as it should have been.	calm,location,average,rooms, parking,front,room,floor,room, mopped,clean
สะดวกสบายสะอาด	Fresh comfortable clean	fresh,comfortable,clean,
บรรยากาศดีเงียบสงบเขตเมือง ใกล้ห้างสรรพสินค้า	Good atmosphere, quiet in the city area, near shopping malls.	good,atmosphere,quiet,city, area,near,shopping,malls

การสร้างชุดข้อมูลกลุ่มระดับความคิดเห็น

การให้คะแนนของผู้เข้าพักโรงแรมมีค่าอยู่ระหว่าง 1 ถึง 5 จะถูกนำมาสร้างเป็น 3 กลุ่ม (Classes) ได้แก่ ความคิดเห็นเชิงบวก ความคิดเห็นเชิงลบ และความคิดเห็นปกติ ข้อมูลความคิดเห็นทุกรายการจะได้รับการจัดกลุ่มใหม่มีเงื่อนไขดังนี้

Table 3. Conditions for review score grouping

Review score	Review score group	Description
1 to 2	Negative group	Low satisfaction
3	Neutral group	Moderate satisfaction
4 to 5	Positive group	High satisfaction

การสร้างแบบจำลองหัวข้อแฝง

ข้อมูลความคิดเห็นจำนวน 2,042 รายการจะถูกแปลงให้เป็นข้อมูลแบบพจนานุกรม หรือ Dictionary และแต่ละรายการความคิดเห็นถูกแปลงให้เป็นคลังข้อความ หรือ Corpus ด้วยชุดคำสั่ง corpora ของ genism ข้อมูลชุดพจนานุกรม และคลังข้อความนี้จะได้รับการนำมาค้นหาหัวข้อแฝงด้วยชุดคำสั่ง LdaModel ของ genism ตามลำดับขั้นตอนดังนี้

1) การทดลองแบ่งหัวข้อจากข้อมูลความคิดเห็นเป็นจำนวน 3 ถึง 15 หัวข้อ โดยกำหนดค่าพารามิเตอร์ที่ใช้สร้างแบบจำลองใช้ค่าแบบปริยาย (Default Value) ได้แก่ ค่า random_state เท่ากับ 42

2) การคัดเลือกหาจำนวนหัวข้อที่เหมาะสมกับการแปลความหมายและมีค่าคะแนนความสอดคล้อง (Coherence score) อยู่ในระดับสูง

3) การตั้งชื่อหัวข้อจากการแปลความหมายของคำที่มีอิทธิพล (Weight) ต่อหัวข้อแฝงจำนวน 10 คำ

4) การหาความน่าจะเป็นของรายการความคิดเห็นเทียบกับหัวข้อ

5) การแปลผลสรุปรายการความคิดเห็นที่มีค่าความน่าจะเป็นตามหัวข้อแฝงอันดับสูงที่สุด

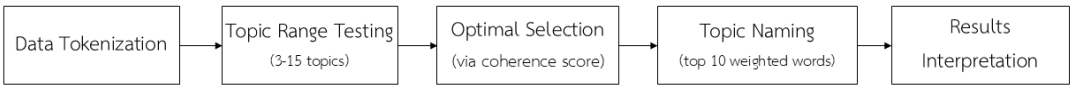


Figure 3. Steps in creating latent topic models

Table 4. Examples of comment interpretation according to the model

Review no	Topic 1	Topic 2	…	Topic n	**แปลผล**
1	0.11	0.22	…	0.33	Topic n
2	0.66	0.55	…	0.44	Topic 1
3	0.77	0.88	…	0.99	Topic n
…	…	…	…	…	…
2042	0.22	0.66	…	0.33	Topic 2

การหาความสัมพันธ์ระหว่างหัวข้อแฝงกับระดับความคิดเห็น

ในขั้นตอนนี้จะมีข้อมูล 2 ชุดที่มีจำนวน 2,042 รายการที่นำมาประมวลผล ได้แก่ ชุดข้อมูลรีวิวที่แบ่งตามกลุ่มระดับความคิดเห็น และชุดข้อมูลที่แบ่งตามหัวข้อแฝง การหาความสัมพันธ์ระหว่างชุดข้อมูลจะนำเสนอเชิงสถิติและแบบทัศนภาพ (Visualization) เพื่อการศึกษาถึงปัจจัยที่ส่งอิทธิพลต่อกัน

ผลการวิจัยและวิจารณ์ผล

1. ผลวิเคราะห์หัวข้อแฝงของความคิดเห็นของผู้เข้าพักโรงแรม

การเลือกจำนวนหัวข้อที่เหมาะสมผู้วิจัยได้ทดสอบจำนวนหัวข้อระหว่าง 3 ถึง 15 หัวข้อ เพื่อพิจารณาการเปรียบเทียบค่าคะแนนความสอดคล้องกับจำนวนหัวข้อจาก Figure 4 พบว่า 3 อันดับแรกที่มีค่าคะแนนความสอดคล้องสูงที่สุด ได้แก่ 1) กรณีแบ่ง 7 หัวข้อ มีคะแนน 0.449 2) กรณีแบ่ง 12 หัวข้อ มีคะแนน 0.473 3) กรณีแบ่ง 15 หัวข้อ มีคะแนน 0.467 ถึงแม้การแบ่งจำนวนหัวข้อ 12 และ 15 หัวข้อ จะให้คะแนนความสอดคล้องสูง แต่การแบ่งจำนวนหัวข้อที่มากเกินไปจะเกิดจำนวนคำซ้ำในแต่ละหัวข้อในปริมาณมีมากและเกิดความยากในการตั้งชื่อแต่ละหัวข้อ[11] ดังนั้นการแบ่งจำนวน 7 หัวข้อจึงเป็นจำนวนหัวข้อที่เหมาะสมมากที่สุด

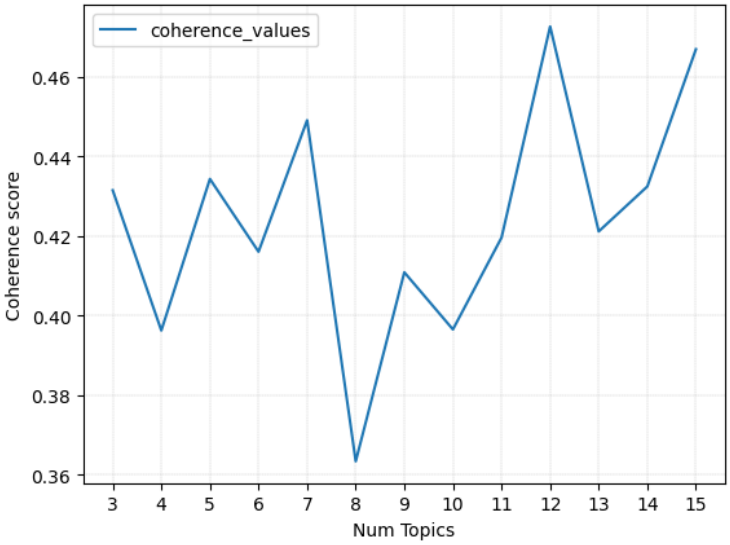


Figure 4. Comparison of coherence scores

ผลลัพธ์การจัดหัวข้อและคำ 10 อันดับแรกที่มีค่าถ่วงน้ำหนักมากที่สุดและพิจารณาความหมายโดยรวมของแต่ละหัวข้อกำหนดเป็นชื่อหัวข้อใหม่ในแต่ละกลุ่ม แสดงดัง Table 5 และ 6 ตามลำดับ

Table 5. Words used in each topic

ลำดับหัวข้อ	กลุ่มคำ
1	pool, good, simply, silent, program, voice, service, luckily, without, relaxing
2	good, service, rooms, clean, meeting, atmosphere, tourists, food, training, accommodation
3	water, luxurious, probably, considering, best, jasmine, city, near, deliciousness, mini
4	hotel, room, renovated, service, rooms, good, clean, charm, like, city
5	clean, good, service, best, quiet, atmosphere, rooms, suitable, hotels, relaxation
6	hotel, old, good, room, needs, entertainment, large, rooms, venues, bathroom
7	room, price, service, good, use, easy, girls, storage, usable, little

Table 6. Assigning new topic names

ลำดับหัวข้อ	ชื่อหัวข้อภาษาอังกฤษ	ชื่อหัวข้อภาษาไทย
1	Leisure & Environment	การพักผ่อนและสภาพแวดล้อม
2	Service Quality & Cleanliness	คุณภาพบริการและความสะอาด
3	Luxurious Experience	ประสบการณ์ความหรูหรา
4	Hotel Renovation Charm	เสน่ห์ของการตกแต่งโรงแรม
5	Peaceful and Suitable	ความเงียบสงบและความลงตัว
6	Hotel Character & Venues	เอกลักษณ์และสิ่งอำนวยความสะดวกภายในโรงแรม
7	Affordable and Practical	ความคุ้มค่าและตอบโจทย์การใช้งาน

ภายหลังจากการได้ชื่อหัวข้อแล้วสามารถนำมาแสดงความน่าจะเป็นของแต่ละความคิดเห็น แล้วคัดเลือกความน่าจะเป็นที่สูงที่สุดเพื่อกำหนดหัวข้อในแต่ละความคิดเห็นได้ เช่น ความคิดเห็นลำดับที่ 4 “สะดวกสบายห้องสะอาด” จัดอยู่ในกลุ่มหัวข้อคุณภาพบริการและความสะอาด หรือความคิดเห็นลำดับที่ 2041 “โรงแรมระดับ 3-4 ดาวในสุรินทร์มีห้องประชุมเยอะ” จัดอยู่ในกลุ่มหัวข้อเอกลักษณ์และสิ่งอำนวยความสะดวกภายในโรงแรม เป็นต้น และในกระบวนการวิเคราะห์หัวข้อแฝงด้วย LDA อาจพบค่า NaN (Not a Number) ในบางหัวข้อของบางความคิดเห็น ซึ่งเกิดจากความคิดเห็นนั้นไม่มีคำศัพท์ที่เกี่ยวข้องกับหัวข้อดังกล่าวภายหลังการประมวลผลข้อความ ในการวิเคราะห์นี้ ค่า NaN จะถูกจัดการโดยไม่นำมาคำนวณในสถิติเฉลี่ย และไม่ส่งผลกระทบต่อการระบุหัวข้อหลักของแต่ละรีวิว ดังแสดงใน Table 7

Table 7. Probability of each comment

ลำดับรีวิว	Topic 1 Leisure & Environment	Topic 2 Service Quality & Cleanliness	Topic 3 Luxurious Experience	Topic 4 Hotel Renovation Charm	Topic 5 Peaceful and Suitable	Topic 6 Hotel Character & Venues	Topic 7 Affordable and Practical	Dominant Topic
1	0.011935	0.011944	0.011927	0.666237	0.274046	0.011951	0.011960	Topic 4
2	NaN	0.284114	NaN	0.023153	NaN	NaN	0.685962	Topic 7
3	0.047688	0.047699	0.047803	0.047696	0.047741	0.047768	0.713604	Topic 7
4	0.028739	0.528680	0.028655	0.028820	0.028756	0.028635	0.327715	Topic 2
…	…	…	…	…	…	…	…	…
2041	0.020413	0. 020466	0.020416	0.020544	0.020466	0. 877295	0.020420	Topic 6
2042	0.282393	NaN	NaN	0.649419	NaN	NaN	0.032422	Topic 4

ในการจัดกลุ่มตามหัวข้อพบว่าผู้เข้าพักโรงแรมมีการให้ความคิดเห็นมากเป็นอันดับ 1 ต่อคุณภาพบริการและความสะอาด จำนวน 434 รายการ คิดเป็นร้อยละ 21.50 อันดับ 2 ความคิดเห็นต่อเสน่ห์ของการตกแต่งโรงแรม จำนวน 424 รายการ คิดเป็นร้อยละ 20.76 อันดับ 3 ความคิดเห็นต่อความคุ้มค่าและตอบโจทย์การใช้งาน จำนวน 398 รายการ คิดเป็นร้อยละ 19.49 และอันดับสุดท้าย ความคิดเห็นต่อประสบการณ์ความหรูหรา จำนวน 74 รายการ คิดเป็นร้อยละ 3.62 แสดงดัง Figure 5 และเมื่อพิจารณาค่าเฉลี่ยกลุ่มค่าความน่าจะเป็นในแต่ละความคิดเห็นที่ถูกป้ายกำกับโดยหัวข้อ (Dominant Topic) เช่น ค่าเฉลี่ยกลุ่มค่าความน่าจะเป็นใน Topic 7 มาจากความคิดเห็นที่ 2 เท่ากับ 0.685962 และความคิดเห็นที่ 3 เท่ากับ 0.713604 และความคิดเห็นลำดับอื่นที่ถูกป้ายกำกับเป็น Topic 7 พบว่าความน่าจะเป็นของความคิดเห็นในแต่ละหัวข้อเป็นไปในทางเดียวกันกับจำนวนการให้ความคิดเห็นในแต่ละหัวข้อ โดยหัวข้อที่มีจำนวนความคิดเห็นมาก จะมีค่าเฉลี่ยความน่าจะเป็นสูงด้วย ซึ่งแสดงให้เห็นว่าแบบจำลองการวิเคราะห์หัวข้อแฝงทำงานได้อย่างสอดคล้องและมีประสิทธิภาพ แสดงดัง Figure 6

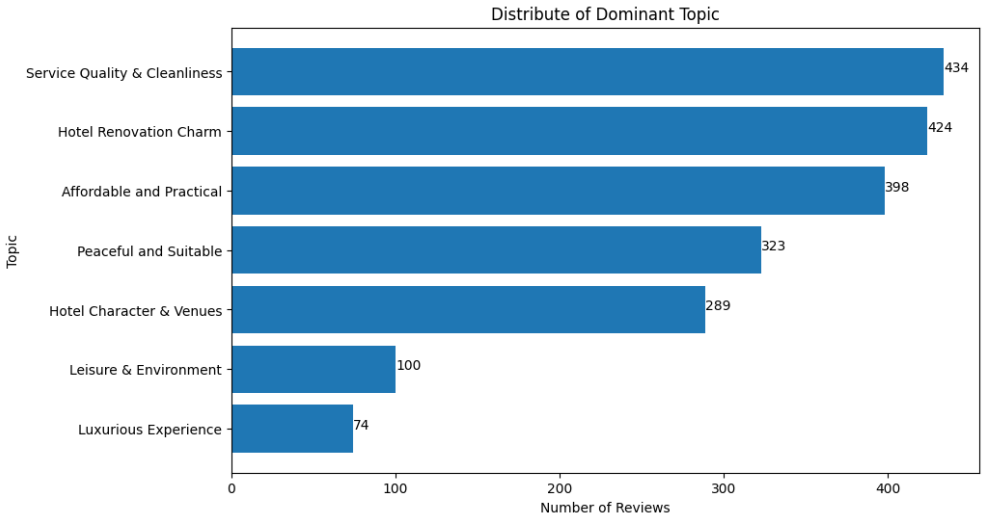


Figure 5. Comparison of comment counts for each topic

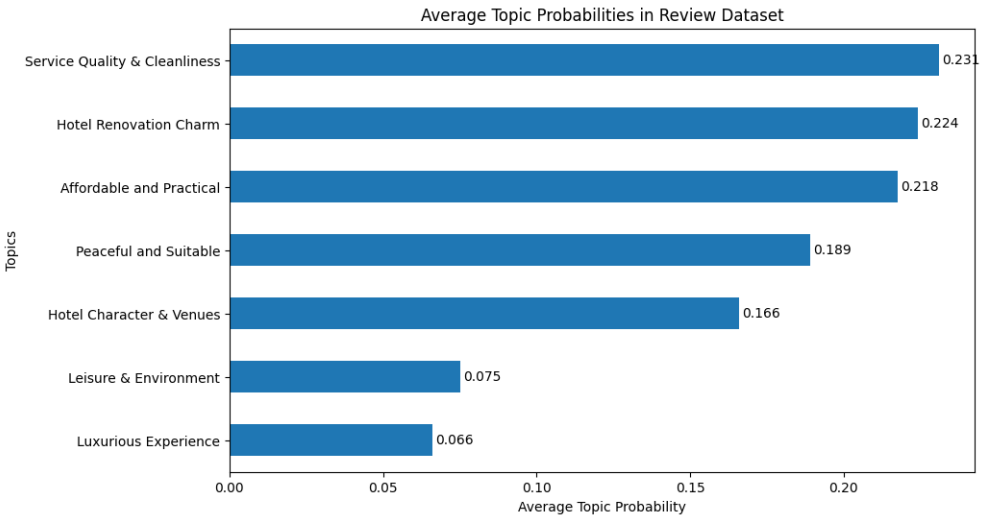


Figure 6 Comparison of average probability for each topic

การจัดกลุ่มจากการให้คะแนนของผู้เข้าพักโรงแรมมีค่าอยู่ระหว่าง 1 ถึง 5 จำแนกตามระดับคะแนนออกเป็น 3 กลุ่มได้แก่ เชิงบวก เชิงลบ และปกติ แสดงข้อมูลเชิงสถิติดัง Table 8

Table 8. Percentage values of review score groups

Review Score Group	Number of reviews	Percentage
Negative	123	6.01
Neutral	360	17.63
Positive	1559	76.36

2. ผลการวิเคราะห์ความสัมพันธ์ระหว่างหัวข้อแฝงกับกลุ่มระดับความคิดเห็น

ชุดข้อมูลจากการวิเคราะห์หัวข้อแฝงและชุดข้อมูลจากการจัดกลุ่มระดับความคิดเห็น แสดงความสัมพันธ์ระหว่างหัวข้อความคิดเห็นจำแนกตามกลุ่มระดับความคิดเห็น ตาม Table 9 พบว่า 1) ผู้เข้าพักโรงแรมมีระดับความคิดเห็นเชิงบวกมากเป็นอันดับ 1 ได้แก่ ด้านคุณภาพบริการและความสะอาด ร้อยละ 23.60 อันดับ 2 ด้านความคุ้มค่าและตอบโจทย์การใช้งาน ร้อยละ 20.33 อันดับ 3 ด้านเสน่ห์ของการตกแต่งโรงแรม ร้อยละ 19.76 อันดับสุดท้ายได้แก่ ด้านประสบการณ์ความหรูหรา ร้อยละ 2.82 2) ผู้เข้าพักโรงแรมมีระดับความคิดเห็นปกติมากที่สุด ได้แก่ ด้านเอกลักษณ์และสิ่งอำนวยความสะดวกภายในโรงแรมและด้านเสน่ห์ของการตกแต่งโรงแรม ร้อยละ 21.67 มีอันดับเท่ากัน อันดับ 3 ด้านความคุ้มค่าและตอบโจทย์การใช้งาน ร้อยละ 16.39 อันดับสุดท้ายได้แก่ ด้านประสบการณ์ความหรูหรา ร้อยละ 6.67 3) ผู้เข้าพักโรงแรมมีระดับความคิดเห็นเชิงลบมากเป็นอันดับ 1 ได้แก่ ด้านเสน่ห์ของการตกแต่งโรงแรม ร้อยละ 30.89 อันดับ 2 ด้านเอกลักษณ์และสิ่งอำนวยความสะดวกภายในโรงแรม ร้อยละ 22.76 อันดับ 3 ด้านความคุ้มค่าและตอบโจทย์การใช้งาน ร้อยละ 17.89 อันดับสุดท้ายได้แก่ ด้านประสบการณ์ความหรูหรา ร้อยละ 4.88

Table 9. Statistics of comment topics by category, classified by review score groups

ลำดับ	หัวข้อความคิดเห็น	กลุ่มระดับความคิดเห็น (ร้อยละ)			ค่าเฉลี่ยระดับความคิดเห็น (คะแนนเต็ม 5)
		เชิงบวก	ปกติ	เชิงลบ	
1	การพักผ่อนและสภาพแวดล้อม	4.23%	6.94%	7.32%	3.91
2	คุณภาพบริการและความสะอาด	23.60%	15.28%	8.94%	4.36
3	ประสบการณ์ความหรูหรา	2.82%	6.67%	4.88%	3.86
4	เสน่ห์ของการตกแต่งโรงแรม	19.76%	21.67%	30.89%	4.03
5	ความเงียบสงบและความลงตัว	17.51%	11.39%	7.32%	4.35
6	เอกลักษณ์และสิ่งอำนวยความสะดวกภายในโรงแรม	11.74%	21.67%	22.76%	3.90
7	ความคุ้มค่าและตอบโจทย์การใช้งาน	20.33%	16.39%	17.89%	4.22
	ภาพรวม	100%	100%	100%	4.16

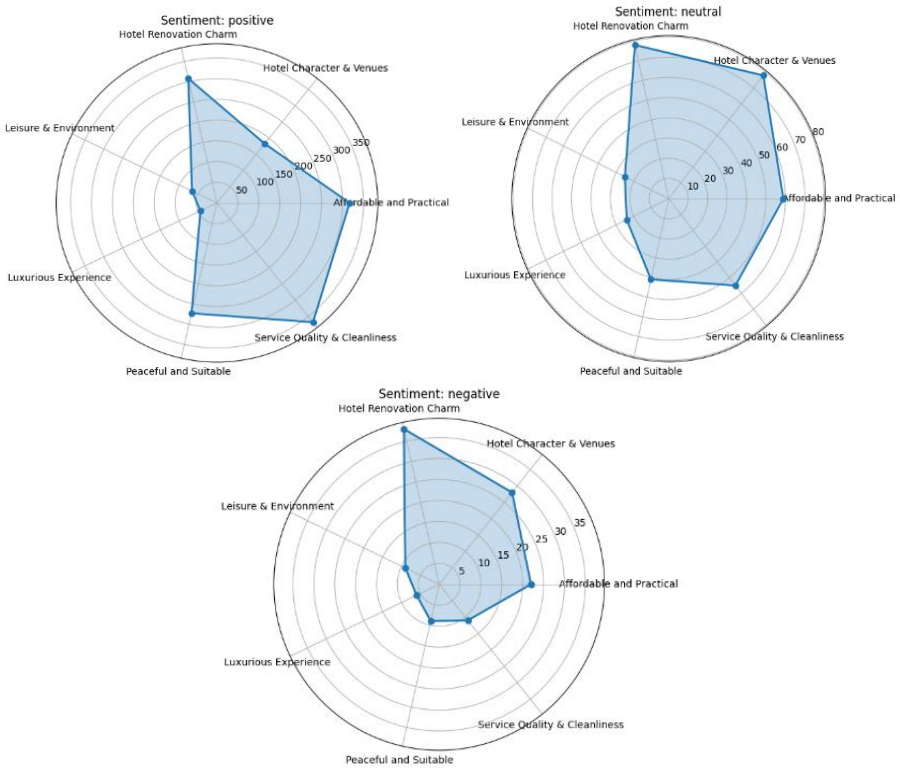


Figure 7. Number of comments for each aspect classified by review score groups

สรุปผลการวิเคราะห์ความคิดเห็นของผู้เข้าพักโรงแรม งานวิจัยนี้นำเสนอแนวทางที่ผู้ประกอบการธุรกิจที่พักและโรงแรมควรพิจารณาพัฒนาให้มีคุณภาพดียิ่งขึ้น ใน 3 หัวข้อแรก ได้แก่ ด้านคุณภาพบริการและความสะอาด ด้านความคุ้มค่าและตอบโจทย์การใช้งาน และด้านเสน่ห์ของการตกแต่งโรงแรม และควรพิจารณาปรับปรุงคุณภาพตามความคิดเห็นเชิงลบ ใน 3 หัวข้อแรก ได้แก่ ด้านเสน่ห์ของการตกแต่งโรงแรม ด้านเอกลักษณ์และสิ่งอำนวยความสะดวกภายในโรงแรม และด้านความคุ้มค่าและตอบโจทย์การใช้งาน แสดงดัง Table 10 แสดงลำดับความสำคัญในการส่งเสริมคุณภาพอย่างต่อเนื่อง จัดเรียงตามหัวข้อที่ได้รับความคิดเห็นเชิงบวกสูงสุด (จาก Table 9) โดยหลักการคือ หัวข้อที่ผู้เข้าพักให้ความคิดเห็นเชิงบวกมาก แสดงว่าเป็นจุดแข็งที่ควรส่งเสริมและรักษาไว้ให้คงความเป็นเลิศอย่างต่อเนื่อง และ Table 11 แสดงลำดับความสำคัญในการปรับปรุงเร่งด่วน จัดเรียงตามหัวข้อที่ได้รับความคิดเห็นเชิงลบสูงสุด (จาก Table 9) โดยหลักการคือ หัวข้อที่ผู้เข้าพักให้ความคิดเห็นเชิงลบมาก แสดงว่าเป็นจุดอ่อนที่ต้องได้รับการปรับปรุงอย่างเร่งด่วนเพื่อเพิ่มความพึงพอใจของผู้เข้าพัก

Table 10. Priority order for continuous quality improvement promotion

ลำดับ	หัวข้อ
1	คุณภาพบริการและความสะอาด
2	ความคุ้มค่าและตอบโจทย์การใช้งาน
3	เสน่ห์ของการตกแต่งโรงแรม
4	ความเงียบสงบและความลงตัว
5	เอกลักษณ์และสิ่งอำนวยความสะดวกภายในโรงแรม
6	การพักผ่อนและสภาพแวดล้อม
7	ประสบการณ์ความหรูหรา

Table 11. Priority order for quality improvement

ลำดับ	หัวข้อ
1	เสน่ห์ของการตกแต่งโรงแรม
2	เอกลักษณ์และสิ่งอำนวยความสะดวกภายในโรงแรม
3	ความคุ้มค่าและตอบโจทย์การใช้งาน
4	คุณภาพบริการและความสะอาด
5	ความเงียบสงบและความลงตัว
6	การพักผ่อนและสภาพแวดล้อม
7	ประสบการณ์ความหรูหรา

3. การเปรียบเทียบหัวข้อแฝงกับมิติ SERQUAL

การศึกษาผลความสัมพันธ์ระหว่างประเด็นที่พบกับระดับความคิดเห็นของผู้เข้าพักสะท้อนให้เห็นถึงความสำคัญของคุณภาพการบริการในอุตสาหกรรมการท่องเที่ยวและโรงแรม ผลการวิจัยนี้มีความสอดคล้องและแตกต่างจากงานวิจัยก่อนหน้าในหลายประการที่น่าสนใจ เมื่อพิจารณาเปรียบเทียบกับกรอบแนวคิด SERVQUAL ของ Parasuraman และคณะ[4] ที่ประกอบด้วย 5 มิติหลัก ได้แก่ 1) ความน่าเชื่อถือในการบริการ 2) การสร้างความมั่นใจให้ผู้รับบริการ 3) การตอบสนองต่อผู้รับบริการ 4) ความเอาใจใส่ผู้รับบริการ และ 5) การบริการที่เป็นรูปธรรม โดยหัวข้อ “คุณภาพบริการและความสะอาด” ที่ได้รับความรู้สึกเชิงบวกสูงสุด (ร้อยละ 23.60) สอดรับกับมิติการบริการที่เป็นรูปธรรมและมิติความน่าเชื่อถือในการบริการของ SERVQUAL ซึ่งสะท้อนถึงความสำคัญของสิ่งที่มองเห็นได้และความเชื่อถือได้ในการให้บริการ สอดคล้องกับแนวคิดของ Zeithaml และคณะ[12] ที่เน้นความสำคัญของคุณภาพการบริการต่อความพึงพอใจของลูกค้า

อย่างไรก็ตาม การศึกษานี้พบประเด็นใหม่ที่แตกต่างจากกรอบ SERVQUAL เดิม โดยเฉพาะหัวข้อ “เสน่ห์ของการตกแต่งโรงแรม” ที่มีความรู้สึกเชิงลบสูงสุด (ร้อยละ 30.89) ซึ่งเป็นมิติใหม่ที่อธิบายถึงเสน่ห์และปรับปรุงตกแต่งสถานที่ไม่ปรากฏในกรอบ SERVQUAL เดิมที่มุ่งเน้นเพียงสภาพปัจจุบัน การค้นพบนี้สอดคล้องกับการศึกษาของ ลิขิตา เฉลิมพลโยธิน[5] และ Nunkoo และคณะ[13] ที่ชี้ให้เห็นว่าสภาพทางกายภาพ ความทันสมัย และความพร้อมใช้งานของสิ่งอำนวยความสะดวกมีอิทธิพลอย่างมากต่อประสบการณ์ของผู้เข้าพัก

นอกจากนี้ การศึกษายังพบหัวข้อเฉพาะบริบทที่สะท้อนถึงความต้องการใหม่ในการท่องเที่ยวสมัยใหม่ เช่น หัวข้อ “ความเงียบสงบและเหมาะสมของโรงแรม” ที่เชื่อมโยงกับมิติการสร้างความมั่นใจให้ผู้รับบริการเกิดความรู้สึกปลอดภัย และ “การพักผ่อนและสิ่งแวดล้อม” ที่สะท้อนมิติความเอาใจใส่ผู้รับบริการ ขณะที่หัวข้อ “ประสบการณ์หรูหรา” ที่มีสัดส่วนความรู้สึกเชิงบวกต่ำสุด (ร้อยละ 2.82) ชี้ให้เห็นถึงโอกาสในการพัฒนาประสบการณ์พิเศษและเพิ่มมูลค่าการบริการ ซึ่งเป็นหัวข้อที่เพิ่มเติมจากกรอบ SERVQUAL

ดังนั้นในมุมของผู้ประกอบการโรงแรมควรพิจารณาการลงทุนเพิ่มเติมในด้านการตกแต่งสถานที่ เพื่อสร้างความพึงพอใจแก่ผู้เข้าพักในหัวข้อที่ได้รับความเห็นเชิงลบ การเน้นการพัฒนาหรือแก้ไขในหัวข้อที่พบปัญหาอาจช่วยเพิ่มความพึงพอใจของผู้เข้าพักได้ ข้อเสนอแนะเชิงปฏิบัติสำหรับผู้ประกอบการโรงแรมจึงประกอบด้วย 1) พัฒนาคุณภาพการบริการอย่างต่อเนื่อง โดยเน้นความสะอาดและการดูแลเอาใจใส่ 2) ให้ความสำคัญกับการบำรุงรักษาและการตกแต่งอาคารสถานที่ 3) สร้างบรรยากาศที่เงียบสงบและเหมาะสมสำหรับการพักผ่อน 4) พัฒนาประสบการณ์พิเศษเพื่อสร้างความประทับใจให้กับผู้เข้าพัก

สรุปผลการวิจัย

การศึกษาครั้งนี้มีวัตถุประสงค์เพื่อวิเคราะห์ความคิดเห็นของผู้เข้าพักโรงแรมในจังหวัดสุรินทร์ โดยใช้เทคนิคการวิเคราะห์หัวข้อแฝงและศึกษาความสัมพันธ์ระหว่างประเด็นที่พบกับระดับความคิดเห็นของผู้เข้าพัก จากข้อมูลที่มีการแสดงความคิดเห็นของผู้ใช้บริการโรงแรมในจังหวัดสุรินทร์โดยเก็บรวบรวมเฉพาะที่ปรากฏในฐานข้อมูลโรงแรม GREEN Health Hotel จำนวน 15 แห่ง ระหว่างปี พ.ศ. 2556-2567 รวบรวมความคิดเห็นจาก Google Map จำนวน 2,042 รายการ มีการวิเคราะห์ใช้เครื่องมือทางวิทยาศาสตร์ข้อมูล ประกอบด้วย Google Colab และชุดคำสั่งภาษาไพธอน อาทิ NLTK, scikit-learn และ gensim เพื่อประมวลผลและสกัดข้อมูล

ผลการวิจัยพบว่า ความคิดเห็นทั้งหมดสามารถจำแนกหัวข้อแฝงเป็น 7 หัวข้อ มีความเหมาะสมที่สุด โดยมีค่าคะแนนความสอดคล้องเท่ากับ 0.449 ประกอบด้วยหัวข้อหลัก ได้แก่ 1) การพักผ่อนและสิ่งแวดล้อม 2) คุณภาพบริการและความสะอาด 3) ประสบการณ์หรูหรา 4) เสน่ห์ของการตกแต่งโรงแรม 5) ความเงียบสงบและเหมาะสมของโรงแรม 6) ลักษณะของโรงแรมและสถานที่จัดงาน และ 7) ความคุ้มค่าและใช้งานได้จริง

การวิเคราะห์ความสัมพันธ์ระหว่างหัวข้อแฝงกับระดับความคิดเห็นพบว่า ผู้เข้าพักส่วนใหญ่มีความรู้สึกเชิงบวกถึงร้อยละ 23.60 โดยเฉพาะในด้านคุณภาพบริการและความสะอาด และส่วนใหญ่มีความรู้สึกเชิงลบร้อยละ 30.89 ในด้านเสน่ห์ของการตกแต่งโรงแรม

เทคนิคการวิเคราะห์หัวข้อแฝงจะเป็นแนวทางหนึ่งที่ช่วยให้ผู้ประกอบการธุรกิจโรงแรมได้เห็นเสียงสะท้อนในมุมมองของลูกค้าซึ่งจะช่วยให้สามารถค้นพบข้อมูลเชิงลึกที่เป็นประโยชน์ในเชิงกลยุทธ์และการบริหารจัดการธุรกิจโรงแรมต่อไป

ข้อเสนอแนะ

งานวิจัยนี้มีข้อจำกัดที่ควรพิจารณา ได้แก่ 1) การเก็บข้อมูลเฉพาะโรงแรมที่ขึ้นทะเบียนในฐานข้อมูลโรงแรมที่เป็นมิตรกับสุขภาพและสิ่งแวดล้อม ดังนั้น งานวิจัยในอนาคตควรขยายขอบเขตการศึกษาไปยังโรงแรมประเภทอื่นเพิ่มเติมเพื่อให้ได้ภาพรวมที่ครอบคลุมมากขึ้นของอุตสาหกรรมโรงแรมในจังหวัดสุรินทร์ และ 2) งานวิจัยอาจมีข้อจำกัดในการตัดคำภาษาไทยที่มีความซับซ้อน และการแปลจากภาษาไทยเป็นภาษาอังกฤษในการประมวลผลอาจทำให้เกิดการสูญเสียความหมายเฉพาะ ดังนั้นการพัฒนาแบบจำลองร่วมกับเทคนิคอื่น เช่น การตัดคำลักษณะกลุ่มคำเพื่อให้สามารถรักษาความหมายของกลุ่มคำนั้น อาจจะทำให้ผลการวิเคราะห์ให้มีความละเอียดและแม่นยำมากยิ่งขึ้น

กิตติกรรมประกาศ

ขอขอบคุณสาขาเทคโนโลยีสารสนเทศและการสื่อสาร คณะวิทยาศาสตร์และศิลปศาสตร์ มหาวิทยาลัยเทคโนโลยีราชมงคลอีสาน สำหรับการสนับสนุนสถานที่ เครื่องมืออุปกรณ์และทรัพยากรต่าง ๆ ในการดำเนินการวิจัยครั้งนี้

เอกสารอ้างอิง

1. กระทรวงการท่องเที่ยวและกีฬา. สถานการณ์การท่องเที่ยวในประเทศ รายจังหวัด ปี 2566 [อินเทอร์เน็ต]. 2566 [เข้าถึงเมื่อ 12 ก.ค. 2567], เข้าถึงได้จาก: https://www.mots.go.th/news/category/705
2. Sultana S, Rahman MM, Rahman MA, Islam MM, Sultana S, Rahman MM, et al. A Latent Dirichlet Allocation Technique for Opinion Mining of Online Reviews of Global Chain Hotels. 2022 International Conference on Innovation and Intelligence for Informatics, Computing, and Technologies (3ICT). 2022.
3. Valdez D, Pickett AC, Goodson P. Topic modeling: latent semantic analysis for the social sciences. Soc Sci Q. 2018;99:1665-79
4. Parasuraman A, Zeithaml V, Berry L. SERVQUAL: a multiple-item scale for measuring consumer perceptions of service quality. J Retailing 1988;64:12-40.
5. ลิขิตา เฉลิมพลโยธิน. ปัจจัยที่มีอิทธิพลต่อคุณภาพบริการของโรงแรมในอำเภอหัวหิน.

วารสารวิทยาลัยโลจิสติกส์และซัพพลายเชน. 2566;9:106-21.

6. Chauhan U, Shah A. Topic modeling using latent dirichlet allocation: a survey. ACM Comput Surv 2021;54:1-35.
7. Alghamdi R, Alfalqi K. A survey of topic modeling in text mining. Int J Adv Comput Sci Appl 2015;6:147-53.
8. Pedregosa F, Varoquaux G, Gramfort A, Michel V, Thirion B, Grisel O, et al. Scikit-learn: machine learning in Python. J Mach Learn Res 2011. [cited 2024 Jul 20]. Available from: https://scikit-learn.org/0.16/about.html#citing-scikit-learn
9. สำนักอนามัยสิ่งแวดล้อม กรมอนามัย กระทรวงสาธารณสุข. รายชื่อโรงแรมที่เป็นมิตรกับสุขภาพและสิ่งแวดล้อม [อินเทอร์เน็ต]. 2567 [เข้าถึงเมื่อ 12 ก.ค. 2567]. เข้าถึงได้จาก: https://ghh.anamai.moph.go.th/
10. Google Maps Platform. Google place API [Internet]. 2024 [cited 2024 Jul 20]. Available from: https://developers.google.com/maps-/documentation/places/web-service/details#PlaceReview
11. Kumar K. Evaluation of topic modeling: topic coherence [Internet]. 2018 [cited 2024 Jul 25]. Available from: https://datascienceplus.com-/evaluation-of-topic-modeling-topic-coherence
12. Zeithaml VA, Bitner MJ, Gremler DD. Services marketing: integrating customer focus across the firm. 5th ed. Singapore: McGraw-Hill and Irwin; 2009.
13. Nunkoo R, Teeroovengadum V, Ringle CM, Sunnassee V. Service quality and customer satisfaction: the moderating effects of hotel star rating. Int J Hosp Manag 2020;91:102414.

PBRU SCIENCE JOURNAL
2025.22(2) : 61-78

การยับยั้ง *Salmonella* Typhimurium ในหลอดทดลองและบนใบสะระแหน่ด้วยน้ำมันหอมระเหยไธม์

Inhibition of *Salmonella* Typhimurium *in Vitro* and on Kitchen Mint Leaves by Thyme (*Thymus vulgaris*) Essential Oil

อุมาพร ทาไธสง*, รุ่งนภา มั่นคง และ นภัสสร เทียนมณี

Umaporn Thathaisong*, Rungnapha Mankhong and Napatsorn Tianmanee

ภาควิชาจุลชีววิทยา คณะวิทยาศาสตร์ มหาวิทยาลัยบูรพา

Department of Microbiology, Faculty of Science, Burapha University

***Corresponding author; E-mail:** umaporn@buu.ac.th

Received: 15 October 2025 /Revised: 17 November 2025 /Accepted: 22 December 2025

บทคัดย่อ

การศึกษานี้มีวัตถุประสงค์เพื่อทดสอบการยับยั้ง *Salmonella* Typhimurium ของน้ำมันหอมระเหยไธม์ (*Thymus vulgaris*) ในหลอดทดลองและบนใบสะระแหน่ โดยทำการคัดกรองฤทธิ์ต้านแบคทีเรียเบื้องต้นด้วยวิธี disc diffusion พบว่าน้ำมันหอมระเหยไธม์บริสุทธิ์ (20 µl/disc) สามารถยับยั้ง *S.* Typhimurium มีขนาดของโซนยับยั้งเท่ากับ 22.17 มิลลิเมตร และหาความเข้มข้นขั้นต่ำที่สุดที่สามารถยับยั้งเชื้อ (MIC) และความเข้มข้นขั้นต่ำที่สุดที่สามารถทำลายเชื้อ (MBC) ด้วยวิธี broth macrodilution พบว่าค่า MIC และ MBC มีค่าเท่ากัน คือ 0.2% เมื่อนำไปทดสอบหาระยะเวลาในการทำลายเชื้อ (Time kill assay) พบว่าน้ำมันหอมระเหยไธม์ ความเข้มข้น 0.2% (1xMIC) สามารถทำลายเชื้อเริ่มต้น (5.36 log CFU/ml) ลงได้ > 3 log ภายในระยะเวลา 5 นาที นอกจากนี้ยังได้ทดสอบประสิทธิภาพในการลดจำนวน *S.* Typhimurium ที่ใส่ลงบนใบสะระแหน่ ด้วยสารละลายน้ำมันหอมระเหยไธม์ความเข้มข้น 1xMIC (0.2%), 2xMIC (0.4%) โดยมีน้ำกลั่นปราศจากเชื้อเป็นชุดควบคุม พบว่า น้ำมันหอมระเหยไธม์ที่ความเข้มข้น 0.4% (2xMIC) มีประสิทธิภาพในการลดจำนวนเชื้อ *S.* Typhimurium ที่ใส่ลงบนใบสะระแหน่ได้แตกต่างจากน้ำกลั่นปราศจากเชื้อ (ชุดควบคุม) อย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p<0.05$) ผลการศึกษาในครั้งนี้แสดงให้เห็นว่าน้ำมันหอมระเหยไธม์มีประสิทธิภาพในการยับยั้งเชื้อ *S.* Typhimurium ทั้งในหลอดทดลองและบนใบสะระแหน่ ซึ่งอาจสามารถนำมาใช้เป็นอีกทางเลือกหนึ่งในการใช้เป็นสารล้างทำความสะอาดผักสดได้

คำสำคัญ: น้ำมันหอมระเหยไธม์ ใบสะระแหน่ *S.* Typhimurium การยับยั้ง

Abstract

This study aimed to examine the inhibition of *Salmonella* Typhimurium by thyme (*Thymus vulgaris*) essential oil *in vitro* and on kitchen mint leaves. The screening antibacterial activity was performed using disc diffusion method. The result showed that the pure essential oil (20 µl/disc) was able to inhibit the growth of *S*. Typhimurium with the inhibition zone of 22.17 mm. By the broth macrodilution method, the Minimal inhibitory concentration (MIC) and Minimal bactericidal concentration (MBC) values were both 0.2% . A time kill assay was performed to evaluate the bactericidal activity and found that the essential oil at concentration of 0.2% (1xMIC) effectively decreased >3 log of the initial bacterial population (5.36 log CFU/ml) within 5 min. In addition, kitchen mint leaves were artificially inoculated with *S*. Typhimurium, the inoculated kitchen mint leaves were then washed in the essential oil solution at 1xMIC (0.2%) and 2xMIC (0.4%) concentrations for 5 min. Sterile distilled water was used as the control. The essential oil at 2xMIC concentration significantly reduced ($p<0.05$) the population of *S*. Typhimurium on kitchen mint leaves when compared with that of washing with sterile distilled water. These data indicated that *T. vulgaris* essential oil has the efficiency to inhibit *S*. Typhimurium both *in vitro* and on kitchen mint leaves which can be applied as an alternative sanitizer for fresh vegetable.

Keywords: Thyme Essential Oil, Kitchen Mint Leaves, *S*. Typhimurium, Inhibition

บทนำ

ในช่วงไม่กี่ปีผ่านมา ผักสดได้รับความนิยมมากขึ้นจากผู้คนที่ให้ความใส่ใจดูแลสุขภาพ เนื่องจากผักสดมีคุณค่าทางโภชนาการสูง สำหรับในประเทศไทยผักสดเป็นหนึ่งในเครื่องเคียงยอดนิยมของเมนูอาหารไทย เพราะหาซื้อได้ง่าย จัด เตรียมสะดวกและช่วยเสริมกลิ่นรสของอาหาร โดยผักสดที่นิยมนำมารับประทานเป็นเครื่องเคียงมักเป็นผักท้องถิ่น เช่น โหระพา สะระแหน่ กะหล่ำปลี มะเขือ ถั่วฝักยาว เป็นต้น อย่างไรก็ตามผักสดอาจมีการปนเปื้อนเชื้อจุลินทรีย์ต่าง ๆ ได้ ตั้งแต่กระบวนการเพาะปลูก การเก็บเกี่ยว การขนส่ง และกระบวนการเตรียมอาหาร เช่น การล้าง การตัด และการหั่น[1] ด้วยเหตุนี้การบริโภคผักสดอาจก่อให้เกิดความเสี่ยงต่อสุขภาพของมนุษย์ได้ ซึ่งเมื่อไม่นานมานี้มีรายงานการระบาดของโรคที่เกิดจากอาหารหลายครั้งมีความเกี่ยวข้องกับการบริโภคผักสด โดยแบคทีเรียก่อโรคที่เป็นสาเหตุหลักของโรคระบาด ได้แก่ *Listeria monocytogenes*,

Escherichia coli, *Staphylococcus aureus* และ *Salmonella* spp.[2-5] นอกจากนี้ยังมีรายงานวิจัยเกี่ยวกับการตรวจหาการปนเปื้อนของเชื้อจุลินทรีย์ในผักสดในประเทศไทยพบว่าผักสดร้อยละ 7.1 (29/405 ตัวอย่าง) มี *Salmonella* spp. ปนเปื้อน[6] อย่างไรก็ตามปัจจุบันยังไม่มีรายงานความชุกของ *Salmonella* spp. บนใบสะระแหน่ แต่มีการตรวจวิเคราะห์ในผักจากประเทศอินเดีย สาธารณรัฐเซเนกัล และปากีสถานพบว่าใบสะระแหน่มีการปนเปื้อน *Salmonella* spp. ร้อยละ 2.3[7], 34.2[8] และ 70[9] ตามลำดับ

Salmonella enterica serovar Typhimurium (*S.* Typhimurium) เป็นแบคทีเรียก่อโรคในระบบทางเดินอาหาร หรือโรคอาหารเป็นพิษ ที่เรียกว่า Salmonellosis ซึ่งเกิดจากการรับประทานอาหารที่มีการปนเปื้อนเข้าไป ผู้ติดเชื้อจะมีอาการปวดท้อง คลื่นไส้ อาเจียน และอุจจาระร่วง ซึ่งมักจะหายเองได้ แต่ในกลุ่มผู้ที่มีภูมิคุ้มกันต่ำ เด็กเล็ก และผู้สูงอายุ อาจทำให้เสียชีวิตได้ ซึ่งมีรายงานว่ามีคนติดเชื้อ *S.* Typhimurium ในแต่ละปีประมาณ 150 ล้านคน และเสียชีวิตประมาณ 60,000 คนจากทั่วโลก[10] อีกทั้งเมื่อเร็ว ๆ นี้พบการระบาดของการติดเชื้อ *Salmonella* spp. ในสหรัฐอเมริกา ซึ่งเกี่ยวข้องกับการบริโภคผักสด ทำให้มีคนเป็นโรคอาหารเป็นพิษจำนวน 511 คน[11] ด้วยเหตุนี้จึงมีการศึกษาและพัฒนาวิธีการล้างเพื่อลดการปนเปื้อนของแบคทีเรียก่อโรคในผักสด

การล้างผักเป็นวิธีทั่วไปที่นิยมใช้เพื่อลดสิ่งตกค้างบนผัก เช่น สารเคมีตกค้างจากปุ๋ยหรือยาฆ่าแมลง, ไข่พยาธิ, รวมไปถึงจุลินทรีย์ต่าง ๆ โดยการล้างผักในระดับอุตสาหกรรมอาหารมักใช้น้ำยาล้างผักที่มีส่วนประกอบของ Sodium lauryl หรือ Sodium bicarbonate และ Chlorine compound ส่วนในระดับครัวเรือนมักใช้สิ่งที่หาได้ทั่วไปในการล้าง เช่น ผงฟู, น้ำเกลือ, น้ำส้มสายชูและด่างทับทิม เป็นต้น[12] อย่างไรก็ตามการล้างผักด้วยสารเคมีอาจมีสารตกค้างซึ่งเป็นสารก่อโรคมะเร็ง ทำให้เป็นอันตรายต่อสุขภาพของผู้บริโภค[13] จึงมีนักวิจัยบางกลุ่มได้ทำการค้นหาทางเลือกใหม่ ๆ ในการล้างผักโดยเฉพาะน้ำมันหอมระเหยซึ่งเป็นสารสกัดจากธรรมชาติ นำมาใช้เป็นสารสำหรับล้างทำความสะอาดเพื่อลดจำนวนเชื้อแบคทีเรียที่ปนเปื้อนในผักสด โดยมีการศึกษาก่อนหน้านี้พบว่าน้ำมันหอมระเหยอบเชยสามารถลดจำนวน *E. coli* O157:H7 และ *S.* Typhimurium บนใบผักโขมได้อย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p<0.05$) เมื่อเทียบกับน้ำกลั่นปราศจากเชื้อ[14] ส่วนการล้างด้วยสารผสมของสารสกัดจากลูกยอและน้ำมันหอมระเหยออริกาโน่ พบว่า มีประสิทธิภาพมากกว่าการล้างด้วยโซเดียมไฮโปรคลอไรต์ (Sodium hypochlorite) โดยสามารถลดจำนวน *Listeria monocytogenes* บนผักกาดโรแมนได้ 1.44 log CFU/กรัม[15]

ไธม์ (Thyme หรือ *Thymus vulgaris*) เป็นพืชที่มีถิ่นกำเนิดในยุโรปตอนใต้ ตั้งแต่สเปนไปจนถึงอิตาลี โดยสารพฤกษเคมี (Phytochemicals) ที่เป็นองค์ประกอบหลักของไธม์จะแตกต่างกันไปตามสภาพอากาศและพื้นที่ทางภูมิศาสตร์ มีรายงานว่าน้ำมันหอมระเหยไธม์มีฤทธิ์ยับยั้งแบคทีเรียหลายชนิด เช่น *S. aureus*, *Klebsiella pneumoniae*, *S.* Typhimurium, *Pseudomonas aeruginosa*, *E. coli* และ *Enterococcus faecalis*[16] แต่ยังไม่มีรายงานการนำน้ำมันหอมระเหยไธม์

ไปประยุกต์ใช้เป็นสารล้างทำความสะอาดในการลดจำนวน *S.* Typhimurium บนใบสะระแหน่ งานวิจัยนี้สนใจศึกษาใบสะระแหน่ เนื่องจากใบสดนิยมนำมาใช้เป็นส่วนประกอบของอาหารประเภทยำและลาบ เพื่อเพิ่มรสชาติอาหาร ซึ่งอาหารประเภทนี้คนไทยนิยมรับประทานมาก อีกทั้งสะระแหน่เป็นพืชล้มลุกทำให้ใบและลำต้นมีโอกาสปนเปื้อนจุลินทรีย์จากดินที่ใช้เพาะปลูกสูง ดังนั้นงานวิจัยนี้จึงมีวัตถุประสงค์เพื่อทดสอบประสิทธิภาพของน้ำมันหอมระเหยไธม์ในการยับยั้ง *S.* Typhimurium ในหลอดทดลอง (*in vitro*) และลดจำนวน *S.* Typhimurium บนใบสะระแหน่ เพื่อเป็นแนวทางในการนำมาประยุกต์ใช้เป็นสารล้างทำความสะอาดผักสดในอนาคต

วิธีการวิจัย

1. ทดสอบฤทธิ์ต้านจุลินทรีย์เบื้องต้นของน้ำมันหอมระเหยไธม์ต่อ *S.* Typhimurium ด้วยวิธี Disc diffusion[17]

ถ่ายเชื้อ *S.* Typhimurium ATCC 13311 ลงในอาหาร Muller-Hinton broth (MHB) ปริมาตร 5 มิลลิลิตร บ่มที่อุณหภูมิ 37 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 4-6 ชั่วโมง แล้วปรับปริมาณเชื้อด้วย 0.85% NaCl ให้มีความขุ่นเท่ากับ McFarland standard No.0.5 ซึ่งมีจำนวนเชื้อ ~$1.5x10^8$ CFU/มิลลิลิตร จากนั้นนำไม้พันสำลีปราศจากเชื้อจุ่มเซลล์แขวนลอยและป้ายลงบนผิวหน้าอาหาร Muller-Hinton agar (MHA) ให้ทั่ว

น้ำมันหอมระเหยไธม์บริสุทธิ์ (*Thymus vulgaris*) ที่ใช้ในการศึกษานี้ เป็นผลิตภัณฑ์ทางการค้า ซื้อมาจากร้านน้ำมันหอมระเหย BOTANICESSENCE กรุงเทพมหานคร บรรจุอยู่ในขวดสีชา สกัดด้วยวิธีการกลั่นด้วยไอน้ำ (steam distillation) มีลักษณะเป็นของเหลวใส และมีกลิ่นหอม ทำการหยดน้ำมันหอมระเหยไธม์บริสุทธิ์ปริมาตร 20 ไมโครลิตร ลงบนดิสก์ปราศจากเชื้อ (ขนาดเส้นผ่านศูนย์กลาง 6 มิลลิเมตร) จากนั้นทิ้งไว้ที่อุณหภูมิห้องประมาณ 5 นาที ใช้ปากคีบปราศจากเชื้อหยิบแผ่นดิสก์ที่บรรจุน้ำมันหอมระเหยไธม์ และดิสก์ยาเจนตามัยซิน (Gentamicin) ความเข้มข้น 10 ไมโครกรัม/ดิสก์ (Positive control) วางลงบนผิวหน้าอาหาร MHA นำจานอาหารไปบ่มที่อุณหภูมิ 37 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 18-24 ชั่วโมง ทำการอ่านผลโดยวัดขนาดเส้นผ่านศูนย์กลางของโซนยับยั้ง (Inhibition zone) และบันทึกผลในหน่วยมิลลิเมตร (ทำการทดลอง 3 ครั้ง)

2. หาค่าความเข้มข้นต่ำสุดที่สามารถยับยั้ง (MIC) และความเข้มข้นต่ำสุดที่สามารถทำลาย (MBC) ของน้ำมันหอมระเหยไธม์ต่อ *S.* Typhimurium ด้วยวิธี Broth macrodilution[18]

ถ่ายเชื้อ *S.* Typhimurium ATCC 13311 ลงในอาหาร MHB ปริมาตร 5 มิลลิลิตร นำไปบ่มที่อุณหภูมิ 37 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 4-6 ชั่วโมง ทำการปรับปริมาณเชื้อด้วย 0.85% NaCl ให้มีความขุ่นเท่ากับ McFarland standard No.0.5 ($1.5x10^8$ CFU/มิลลิลิตร) จากนั้นถ่ายเซลล์แขวนลอยปริมาตร 33.3 ไมโครลิตร ใส่ลงในอาหาร MHB ปริมาตร 9.97 มิลลิลิตร จะได้ปริมาณเชื้อ ~$5x10^5$ CFU/มิลลิลิตร (ใช้ภายใน 15 นาที)

เจือจางน้ำมันหอมระเหยไธม์บริสุทธิ์ (100%) ในอาหาร MHB ให้ได้ความเข้มข้นต่าง ๆ ดังนี้ 80%, 60%, 40%, 20%, 10% และ 5% จากนั้นเติมน้ำมันหอมระเหยไธม์บริสุทธิ์ และน้ำมัน

หอมระเหยที่เจือจางไว้ ปริมาตร 5 ไมโครลิตร ใส่ลงในหลอดที่ 1-7 ตามลำดับ (2 ซ้ำ) แล้วเติมเซลล์แขวนลอย ปริมาตร 995 ไมโครลิตร ลงในหลอดทดลองทุกหลอด จะได้ความเข้มข้นสุดท้ายของสารทดสอบเท่ากับ 0.5%, 0.4%, 0.3%, 0.2%, 0.1%, 0.05% และ 0.025% ตามลำดับ [ชุดควบคุมประกอบด้วยชุดควบคุมผลบวก (Positive control) คืออาหาร MHB และเซลล์แขวนลอยของ *S.* Typhimurium และชุดควบคุมผลลบ (Negative control) คืออาหาร MHB เพียงอย่างเดียว] และนำหลอดทดลองไปบ่มที่อุณหภูมิ 37 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 18-24 ชั่วโมง จากนั้นเติมสี Resazurin[19] (20 มิลลิกรัม/มิลลิลิตร) ปริมาตร 2 ไมโครลิตร ลงในทุกหลอด (ความเข้มข้นสุดท้ายของ Resazurin เท่ากับ 0.04 มิลลิกรัม/มิลลิลิตร) นำหลอดไปบ่มที่อุณหภูมิ 37 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 2 ชั่วโมง อ่านค่า MIC โดยสังเกตการเปลี่ยนสีของ resazurin ในอาหารเลี้ยงเชื้อด้วยตาเปล่า ถ้าสีเปลี่ยนจากสีน้ำเงินเป็นสีชมพูแสดงว่ามีการเจริญของเชื้อ ซึ่งค่า MIC คือ ความเข้มข้นต่ำที่สุดของสารที่สามารถยับยั้งการเจริญของเชื้อทดสอบได้ (อาหารเลี้ยงเชื้อสีน้ำเงิน) (ทำการทดลอง 3 ครั้ง)

ถ่ายสารละลายจากหลอดทดสอบที่อาหารเลี้ยงเชื้อมีสีน้ำเงิน จากการหาค่า MIC ปริมาตร 10 ไมโครลิตร หยดลงบนอาหาร Plate count agar (PCA) หลอดละ 3 หยด นำจานไปบ่มที่ 37 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 18-24 ชั่วโมง อ่านค่า MBC โดยสังเกตจากการเจริญบนอาหาร ซึ่งค่า MBC คือ ความเข้มข้นต่ำที่สุดของสารที่ไม่พบการเจริญของเชื้อทดสอบ (ทำการทดลอง 3 ครั้ง)

3. หาเวลาในการทำลายเชื้อ (Time kill assay) ของน้ำมันหอมระเหยไธม์[20]

เตรียมเซลล์แขวนลอยของ *S.* Typhimurium โดยถ่ายโคโลนีลงใน 0.1% peptone water และทำการปรับปริมาณเชื้อให้มีค่าความขุ่นเท่ากับ McFarland standard No.0.5 (1.5×10^8 CFU/มิลลิลิตร) แล้วถ่ายเซลล์แขวนลอย ปริมาตร 0.1 มิลลิลิตร ใส่ลงใน 0.1% peptone water ปริมาตร 9.9 มิลลิลิตร จะได้เซลล์แขวนลอยความเข้มข้น ~1.5×10^6 CFU/มิลลิลิตร จากนั้นเติมน้ำมันหอมระเหยไธม์บริสุทธิ์ลงไปให้ได้ความเข้มข้นเท่ากับค่า 1xMIC ส่วนชุดควบคุม ทำการเติมน้ำกลั่นปราศจากเชื้อ นำหลอดทดลองไปบ่มที่ 37 องศาเซลเซียส และเก็บตัวอย่างที่เวลา 0, 5, 10, 15, และ 20 นาที ของการบ่ม โดยถ่ายสารละลายตัวอย่างของแต่ละช่วงเวลามา 0.1 มิลลิลิตร ทำการเจือจางแบบสิบเท่า (10-fold dilution) ใน 0.1% peptone water ให้ได้ความเจือจาง 10^{-1} ถึง 10^{-3} แล้วทำการ spread plate บนอาหาร Trypticase soy agar (TSA) (2 ซ้ำ) บ่มที่ 37 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 18-24 ชั่วโมง นับจำนวนโคโลนี และคำนวณหาปริมาณเชื้อที่รอดชีวิต โดยรายงานผลในหน่วย log CFU/มิลลิลิตร (ทำการทดลอง 2 ครั้ง)

4. เตรียมใบสะระแหน่และการใส่เชื้อลงบนใบสะระแหน่[20]

นำใบสะระแหน่สด ซึ่งซื้อมาจากตลาดหนองมน จังหวัดชลบุรี ประมาณ 40 กรัม มาล้างด้วยน้ำกลั่นปราศจากเชื้อปริมาตร 1,000 มิลลิลิตร แช่ทิ้งไว้เป็นเวลา 5 นาที แล้วนำใบสะระแหน่วางในถาดปราศจากเชื้อที่รองด้วยผ้าขาวบางปราศจากเชื้อ

เพื่อทำการสะเด็ดน้ำ นำไปฉายรังสียูวี (ความยาวคลื่นประมาณ 254 นาโนเมตร) ทั้งด้านหน้าและด้านหลังใบ เป็นเวลา 30 นาที เพื่อเป็นการลดจำนวนจุลินทรีย์ประจำถิ่นของใบสะระแหน่

เตรียมเซลล์แขวนลอยของ *S.* Typhimurium โดยถ่ายโคโลนีลงใน 0.1% peptone water แล้วทำการปรับปริมาณเชื้อให้มีค่าความขุ่นเท่ากับ McFarland standard No.0.5 (1.5x108 CFU/มิลลิลิตร) จากนั้นถ่ายเซลล์แขวนลอยที่เตรียมไว้ ปริมาตร 2 มิลลิลิตร เติมลงใน 0.1% peptone water ปริมาตร 198 มิลลิลิตร เพื่อให้ได้จำนวนเชื้อ ~$1.5x10^6$ CFU/มิลลิลิตร จากนั้นแช่ใบสะระแหน่ในเซลล์แขวนลอยของ *S.* Typhimurium ปริมาตร 200 มิลลิลิตร เป็นเวลา 10 นาที แล้วนำใบสะระแหน่ขึ้นมาวางบนถาดปราศจากเชื้อ และรอให้แห้งภายในตู้ชีวนิรภัย เป็นเวลา 1 ชั่วโมง เพื่อให้เชื้อเกาะบนใบสะระแหน่ จากนั้นใส่ใบสะระแหน่ จำนวน 5 กรัม ลงในถุงปราศจากเชื้อ (2 ซ้ำ) เพื่อนำไปนับจำนวนเชื้อ *S.* Typhimurium ที่เกาะบนใบสะระแหน่ก่อนการล้าง ส่วนใบสะระแหน่ที่เหลือนำไปล้างด้วยสารละลายทดสอบ

5. ล้างใบสะระแหน่ด้วยสารทดสอบ[21]

เตรียมสารละลายทดสอบ ได้แก่ น้ำมันหอมระเหยไธม์ความเข้มข้นเท่ากับ 1xMIC (0.2% v/v) และความเข้มข้นเท่ากับ 2xMIC (0.4% v/v) ในน้ำกลั่นปราศจากเชื้อ ปริมาตร 200 มิลลิลิตร ผสมให้เข้ากันด้วยเครื่อง Hot plate stirrer ส่วนชุดควบคุม (Control) คือ น้ำกลั่นปราศจากเชื้อ 200 มิลลิลิตร

นำใบสะระแหน่ที่ใส่หัวเชื้อแล้วปริมาณ 10 กรัม มาล้างด้วยการแช่ลงในสารละลายสำหรับล้างผัก (ใช้อัตราส่วนของผักต่อสารละลายที่ใช้ล้าง 1:20 w/v) เป็นเวลา 5 นาที (จากการหาค่า Time kill assay) แล้วเทสารทดสอบทิ้ง จากนั้นนำใบสะระแหน่ จำนวน 5 กรัม จากแต่ละชุดการทดลองใส่ลงในถุงปราศจากเชื้อ (2 ซ้ำ) เพื่อไปนับจำนวนเชื้อ *S.* Typhimurium ที่รอดชีวิตบนใบสะระแหน่หลังการล้าง

6. ตรวจนับจำนวนเชื้อ *S.* Typhimurium ที่รอดชีวิตบนใบสะระแหน่[20]

เติม 0.1% peptone water ปริมาตร 45 มิลลิลิตร ลงในถุงปราศจากเชื้อที่มีผักอยู่ 5 กรัม จากนั้นผสมให้เป็นเนื้อเดียวกันด้วยเครื่อง Stomacher จะได้ความเจือจาง 10^{-1} และทำการเจือจางโดยใช้วิธี 10-fold dilution ด้วย 0.1% peptone water ให้ได้ระดับความเจือจางที่เหมาะสม แล้วถ่ายสารละลายแต่ละความเจือจาง ปริมาตร 0.1 มิลลิลิตร มา spread plate ลงบนอาหาร Brilliant Green Agar (BGA) (2 ซ้ำ) นำไปบ่มที่อุณหภูมิ 37 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 18-24 ชั่วโมง นับจำนวนโคโลนีเฉพาะของเชื้อ *Salmonella* spp. ซึ่งโคโลนีสีชมพู และสีของอาหารรอบโคโลนีเป็นสีแดงหรือสีชมพู และคำนวณหาปริมาณเชื้อที่รอดชีวิต โดยรายงานผลในหน่วย log CFU/กรัม และมีการสุ่มโคโลนีเฉพาะบนอาหาร BGA ไปทำสอบยืนยันว่าเป็น *Salmonella* spp. ด้วยการทดสอบชีวเคมี ดังนี้ TSI agar, LIA, Urease test และ Motility (*Salmonella* spp. ให้ผลการทดสอบดังนี้ TSI agar ให้ผล K/A, H_2S+, Gas+, Lysine decarboxylase ให้ผลบวก, Lysine deaminase ให้ผลลบ, Urease test ให้ผลลบ, Motility test ให้ผลบวก)

7. วิเคราะห์ทางสถิติ

การทดสอบประสิทธิภาพของน้ำมันหอมระเหยไธม์ในการลดจำนวน *S.* Typhimurium ที่ใส่ลงบนใบสะระแหน่ ได้ทำการทดลอง 2 ครั้ง ครั้งละ 2 ซ้ำ ทำการวิเคราะห์ข้อมูลทางสถิติด้วยโปรแกรม Minitab 17 Statistical Software ซึ่งใช้แผนการทดลองแบบสุ่มสมบูรณ์ (Completely randomized design, CRD) และทดสอบความแตกต่างของค่าเฉลี่ยแบบ Tukey's studentized range test ที่ระดับนัยสำคัญ 0.05

ผลการวิจัย

1. ประสิทธิภาพยับยั้ง *S.* Typhimurium ในหลอดทดลอง (*in vitro*)

น้ำมันหอมระเหยไธม์บริสุทธิ์ (100%) ปริมาตร 20 ไมโครลิตร/ดิสก์ มีประสิทธิภาพในการยับยั้งการเจริญของ *S.* Typhimurium โดยมีขนาดโซนยับยั้ง เท่ากับ 22.17 ± 0.76 มิลลิเมตร ส่วนดิสก์ยาเจนตามัยซิน (10 ไมโครกรัม/ดิสก์) ซึ่งเป็นชุดควบคุมผลบวก (Positive control) มีขนาดโซนยับยั้งเท่ากับ 19.17 ± 0.29 มิลลิเมตร นอกจากนี้ยังพบว่าค่า MIC และค่า MBC ของน้ำมันหอมระเหยไธม์ต่อ *S.* Typhimurium มีค่าเท่ากัน คือ 0.2% ดังแสดงใน Table 1. และ Figure 1.-3.

เมื่อทำการหาเวลาที่สั้นที่สุดของน้ำมันหอมระเหยไธม์ที่ความเข้มข้น 1xMIC ในการทำลายเชื้อ (Time kill assay) *S.* Typhimurium พบว่าจำนวนเชื้อเริ่มต้นที่เวลา 0 นาที ในสภาวะที่มีน้ำมันหอมระเหยไธม์ ความเข้มข้น 0.2% (1xMIC) และในชุดควบคุม (น้ำกลั่นปราศจากเชื้อ) เท่ากับ 5.36 ± 0.19 และ 5.37 ± 0.37 log CFU/มิลลิลิตร ตามลำดับ ส่วนที่เวลา 5 นาทีเป็นต้นไป ในสภาวะที่มีน้ำมันหอมระเหยไธม์ พบว่าจำนวนเชื้อ *S.* Typhimurium ลดลงต่ำกว่าระดับที่สามารถตรวจนับได้ของวิธีการ spread plate หรือ limit detection of spread plate method (< 2.00 log CFU/มิลลิลิตร) ดังนั้นจะเห็นได้ว่าเวลา 5 นาที เป็นเวลาที่สั้นที่สุดของน้ำมันหอมระเหยไธม์ที่ความเข้มข้น 0.2% ที่สามารถทำลายเชื้อเริ่มต้นให้ลดลงได้ >3 log reduction (>99.99%) ส่วนจำนวนเชื้อในน้ำกลั่นปราศจากเชื้อซึ่งเป็นชุดควบคุมที่เวลา 0, 5, 10, 15 และ 20 นาที พบว่ามีจำนวนใกล้เคียงกันทุกช่วงเวลา ซึ่งไม่มีความแตกต่างทางสถิติ (p>0.05) โดยมีจำนวนของเชื้ออยู่ในช่วง 5.21 - 5.37 log CFU/มิลลิลิตร ดังแสดงใน Table 2. และ Figure 4.

Table 1 Diameter of Inhibition zone, MIC and MBC values of Thyme essential oil against *S.* Typhimurium

Test bacterium	Inhibition zone		MIC value	MBC value
	Thyme EO (20 µl/disc)	Gentamicin (10 ug/disc)		
S. Typhimurium ATCC 13311	22.17 ± 0.76 mm	19.17 ± 0.29	0.2%	0.2%

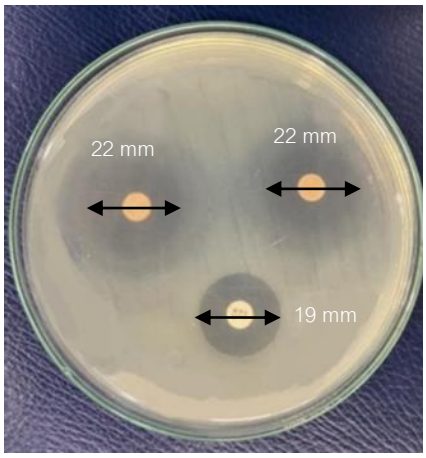
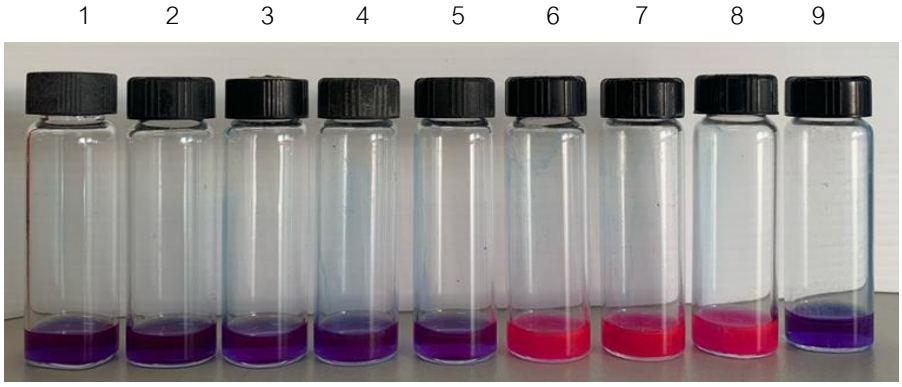


Figure 1 Inhibition zone obtained by disc diffusion method for Thyme essential oil and gentamicin against S. Typhimurium



Concentration of essential oil	1.6%	1.2%	0.8%	0.4%	0.2%	0.1%	0.04%	(Positive control)	Negative control)
Growth of *S.* Typhimurium	-	-	-	-	-	+	+	+	-

Figure 2 Broth macrodilution for determination of MIC value from Thyme essential oil (MIC = 0.2%)

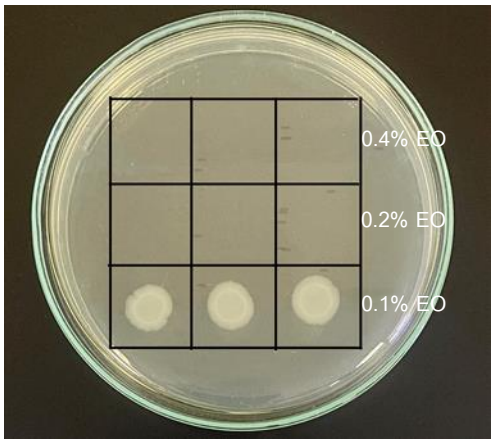


Figure 3 Growth of *S.* Typhimurium on MHA plate for MBC test of Thyme essential oil (MBC = 0.2%)

Table 2 Average of *S.* Typhimurium survival population (log CFU/ml ± SD) after treatment with Thyme essential oil at different time

Incubation Time (min)	A number of survival population (log CFU/ml ± SD)	
	Thyme essential oil (0.2%)	Distilled water (Control)
0	5.36 ± 0.19^{A}	5.37 ± 0.37^{A}
5	< 2.00 ± 0.00*^{B}	5.21 ± 0.33^{A}
10	< 2.00 ± 0.00*^{B}	5.27 ± 0.37^{A}
15	< 2.00 ± 0.00*^{B}	5.37 ± 0.22^{A}
20	< 2.00 ± 0.00*^{B}	5.34 ± 0.32^{A}

* < 2.00 ± 0.00 CFU/ml is limit detection of spread plate method

$^{A-B}$ Any means in the column followed by the same letters are not significantly different (p>0.05)

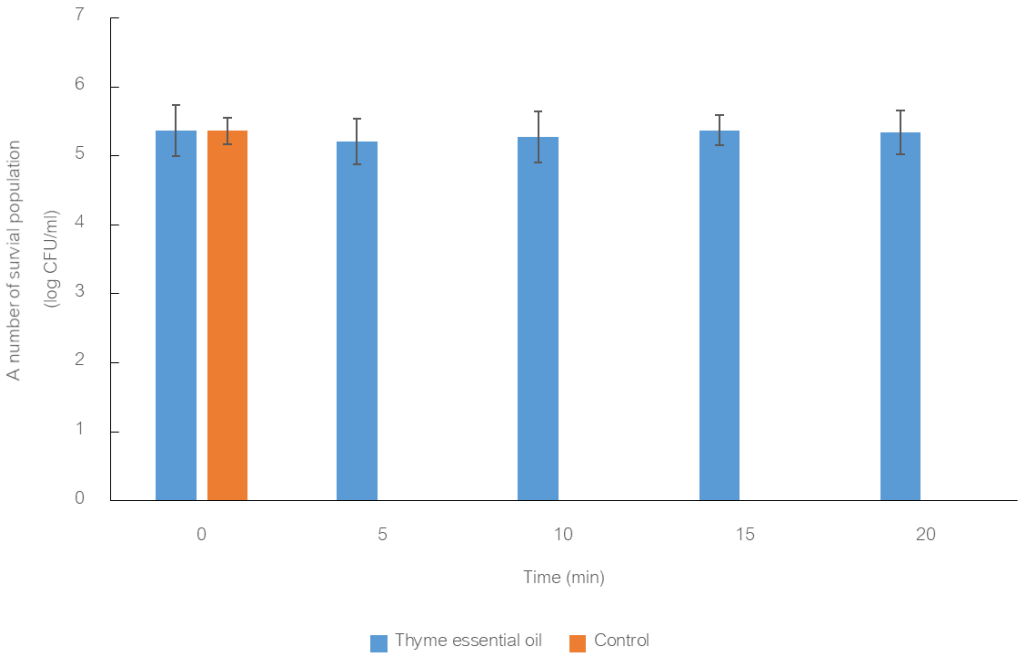


Figure 4. Time-kill curve analysis for evaluation of antibacterial activities of Thyme essential oil against *S.* Typhimurium

2. ประสิทธิภาพในการลดจำนวนเชื้อ *S.* Typhimurium ที่ใส่ลงบนใบสะระแหน่

ก่อนการทดสอบได้นำใบสะระแหน่มากำจัดเชื้อจุลินทรีย์ประจำถิ่นด้วยการฉายรังสียูวี จากนั้นนำใบสะระแหน่ไปแช่ในเซลล์แขวนลอยของเชื้อ *S.* Typhimurium เพื่อให้เชื้อปนเปื้อนบนใบสะระแหน่ แล้วนำไปตรวจนับจำนวนเชื้อที่เกาะบนใบสะระแหน่ พบว่ามีจำนวนเชื้อเริ่มต้นเท่ากับ 4.17 ± 0.98 log CFU/กรัม (Table 3.) จากนั้นนำใบสะระแหน่ที่ใส่หัวเชื้อไปล้างด้วยการแช่ในสารละลายทดสอบเป็นเวลาจากการหาค่า Time kill assay ได้แก่ น้ำมันหอมระเหยไธม์ที่ความเข้มข้น 1xMIC (0.2%), 2xMIC (0.4%) และน้ำกลั่นปราศจากเชื้อ (ชุดควบคุม) โดยแช่เป็นเวลา 5 นาที พบว่าจำนวนเชื้อที่รอดชีวิตบนใบสะระแหน่ เท่ากับ 3.48 ± 0.10, 2.69 ± 0.13 และ 4.79 ± 0.10 log CFU/กรัม ตามลำดับ ซึ่งลักษณะโคโลนีเฉพาะของ *S.* Typhimurium ที่ตรวจพบบนอาหาร BGA แสดงดัง Figure 4.

เมื่อวิเคราะห์อัตราการลดลงของเชื้อ *S.* Typhimurium บนใบสะระแหน่ก่อนล้างและหลังล้างด้วยสารทดสอบ พบว่าการล้างด้วยน้ำมันหอมระเหยไธม์ความเข้มข้น 1xMIC (0.2%) และ 2xMIC (0.4%) สามารถลดจำนวนเชื้อบนใบสะระแหน่ได้ 16.5% และ 35.5% ตามลำดับเมื่อเทียบกับจำนวนเชื้อบนใบสะระแหน่ก่อนการล้าง จะเห็นได้ว่าการล้างด้วยน้ำมันหอมระเหยไธม์ความเข้มข้น 2xMIC (0.4%) มีประสิทธิภาพในการลดจำนวนเชื้อ *S.* Typhimurium บนใบสะระแหน่สูงกว่า 1xMIC (0.2%)

ข้อมูลใน Table 3. ยังพบว่าจำนวนเชื้อที่รอดชีวิตบนใบสะระแหน่หลังล้างด้วยน้ำมันหอมระเหยไธม์ความเข้มข้น 2xMIC (0.4%) มีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p<0.05$) กับการล้างด้วยน้ำกลั่นปราศจากเชื้อ (ชุดควบคุม) ในขณะที่จำนวนเชื้อที่รอดชีวิตบนใบสะระแหน่หลังล้างด้วยน้ำมันหอมระเหยไธม์ความเข้มข้น 1xMIC (0.2%) ไม่มีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p>0.05$) กับการล้างด้วยน้ำกลั่นปราศจากเชื้อ (ชุดควบคุม)

Table 3 Average of *S*. Typhimurium survival population on kitchen mint leaves (log CFU/g ± SD)

Treatments	Average of survival population (log CFU/g ± SD)
Before washing	4.17 ± 0.98^{AB}
Washing with distilled water for 5 min	4.79 ± 0.10^{A}
Washing with Thyme essential oil at 1xMIC (0.2%) for 5 min	3.48 ± 0.10^{AB}
Washing with Thyme essential oil at 2xMIC (0.4%) for 5 min	2.69 ± 0.13^{B}

$^{A-B}$ Any means in the column followed by the same letters are not significantly different ($p>0.05$)

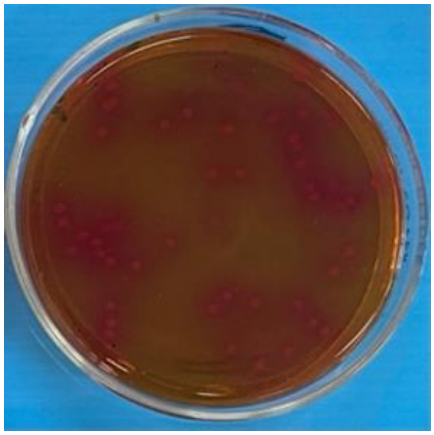


Figure 4 Colony morphology of surviving *S*. Typhimurium on kitchen mint leaves after washing with treatment solution on BGA. (pink, or opaque-white colonies, often surrounded by a pink or red zone)

อภิปรายผล

ผลการศึกษานี้สอดคล้องกับรายงานก่อนหน้านี้ที่พบว่า น้ำมันหอมระเหยไธม์สามารถยับยั้ง *S.* Typhimurium จากการทดสอบในหลอดทดลอง (*in vitro*) ได้[16] นอกจากนี้ยังมีรายงานว่าน้ำมันหอมระเหยไธม์สามารถยับยั้งการเจริญของแบคทีเรียอีกหลายชนิด รวมทั้งยีสต์และราได้ เช่น *S. aureus*, *K. pneumoniae*, *P. aeruginosa*, *E. coli*, *Candida albicans* และ *Aspergillus flavus*[16,22] จากข้อมูลนี้แสดงให้เห็นว่าน้ำมันหอมระเหยไธม์มีฤทธิ์ยับยั้งจุลินทรีย์ได้หลายชนิด

ผลการศึกษานี้พบว่าค่า MIC และค่า MBC ของน้ำมันหอมระเหยไธม์ต่อ *S.* Typhimurium มีค่าเท่ากันคือ 0.2% แสดงให้เห็นว่าน้ำมันหอมระเหยไธม์มีกลไกการออกฤทธิ์ต้านเชื้อ *S.* Typhimurium แบบทำลาย (bactericidal activity) เนื่องจากมีอัตราส่วนของค่า MBC/MIC (0.2% / 0.2%) เท่ากับ 1 ซึ่งมีรายงานก่อนหน้านี้ได้อธิบายไว้ว่าหากสารทดสอบมีอัตราส่วนของค่า MBC/MIC ต่อเชื้อทดสอบ ≤ 4 แสดงว่าสารทดสอบออกฤทธิ์แบบทำลายเชื้อ (bactericidal activity) และหาก > 4 แสดงว่าสารทดสอบออกฤทธิ์แบบยับยั้ง (bacteriostatic activity)[23]

เมื่อพิจารณาเปรียบเทียบค่า MIC ของน้ำมันหอมระเหยไธม์ต่อ *S.* Typhimurium ของการศึกษานี้กับงานวิจัยที่ผ่านมาพบว่าค่า MIC ของน้ำมันหอมระเหยไธม์ของการศึกษานี้ (ค่า MIC เท่ากับ 0.2%) ต่ำกว่าค่า MIC ของน้ำมันหอมระเหยไธม์ในรายงานของ Penalver et al.[24] (ค่า MIC เท่ากับ 2%) และ Ed-Dra et al.25 (ค่า MIC เท่ากับ 0.5%) แสดงให้เห็นว่าน้ำมันหอมระเหยไธม์ของการศึกษานี้มีประสิทธิภาพยับยั้ง *S.* Typhimurium สูงกว่า ที่เป็นเช่นนี้อาจเนื่องมาจากแหล่งที่มาของพืชที่ใช้เตรียมน้ำมันหอมระเหยต่างกัน ซึ่งส่งผลต่อชนิดและปริมาณของสารที่เป็นองค์ประกอบทางเคมี ทำให้ประสิทธิภาพของน้ำมันหอมระเหยไธม์แตกต่างกันออกไป[26]

จากการพิจารณาเปรียบเทียบค่า MIC ของน้ำมันหอมระเหยไธม์ในการยับยั้ง *S.* Typhimurium ของการศึกษานี้กับค่า MIC ของน้ำมันหอมระเหยจากพืชชนิดอื่น ๆ พบว่าน้ำมันหอมระเหยไธม์ในการศึกษานี้ (ค่า MIC เท่ากับ 0.2%) มีประสิทธิภาพในการยับยั้ง *S.* Typhimurium สูงกว่าน้ำมันหอมระเหยตะไคร้ (*Cymbopogon citratus*) (ค่า MIC เท่ากับ 10%) แต่อย่างไรก็ตามน้ำมันหอมระเหยไธม์มีประสิทธิภาพในการยับยั้ง *S.* Typhimuriurn ต่ำกว่าน้ำมันหอมระเหยกานพลู (ค่า MIC เท่ากับ 0.15%)[27] แสดงให้เห็นว่าน้ำมันหอมระเหยจากพืชต่างชนิดกันมีประสิทธิภาพในการยับยั้งจุลินทรีย์ต่างกัน เนื่องมาจากพืชแต่ละชนิดมีชนิดและปริมาณของสารที่เป็นองค์ประกอบทางเคมีแตกต่างกัน

สาเหตุที่น้ำมันหอมระเหยไธม์สามารถยับยั้ง *S.* Typhimurium ได้ เนื่องมาจากน้ำมันหอมระเหยไธม์มีสารพฤกษเคมีที่ออกฤทธิ์ยับยั้งแบคทีเรียดังกล่าว ซึ่งในการศึกษานี้ไม่ได้ทำการตรวจวิเคราะห์องค์ประกอบทางเคมีของน้ำมันหอมระเหยไธม์ แต่อย่างไรก็ตาม มีการศึกษาก่อนหน้านี้ได้รายงานว่าน้ำมันหอมระเหยไธม์มีองค์ประกอบทางพฤกษเคมีที่สำคัญได้แก่ thymol, carvacrol, p-cymene, β-pinene, γ-terpinene, linalool, terpinen-4 -ol และ γ-terpinene[16,28] โดย thymol, carvacrol และ γ-terpinene เป็นสารที่พบปริมาณมากในน้ำมัน

หอมระเหยไธม์ ซึ่งมีกลไกการออกฤทธิ์คือ จะทำให้เกิดความเสียหายต่อเยื่อหุ้มเซลล์ จึงส่งผลให้เกิดการซึมผ่านของเยื่อหุ้มเซลล์ของแบคทีเรียมากเกินไป ทำให้เยื่อหุ้มเซลล์สูญเสียศักยภาพของ proton pumps และการสร้าง ATP ลดลง จึงทำให้เซลล์ถูกทำลายในที่สุด[29-32] นอกจากนี้ยังมีรายงานว่าสาร Terpinen-4-ol ซึ่งพบในน้ำมันหอมระเหยจากพืชหลายชนิด มีกลไกการออกฤทธิ์ในการทำลายแบคทีเรียโดยจะไปทำลายโครงสร้างของเยื่อหุ้มเซลล์ ทำให้ความสมบูรณ์ของเยื่อหุ้มเซลล์เสียหาย ส่งผลให้สารภายในเซลล์รั่วไหลและนำไปสู่การตายของเซลล์แบคทีเรีย[33]

จากการพิจารณาประสิทธิภาพในการทำลายเชื้อ *S.* Typhimurium ในขั้นตอนการทดสอบหาระยะเวลาในการทำลายเชื้อ (Time kill assay) ในหลอดทดลองที่มี 0.1% peptone เป็นบัฟเฟอร์ พบว่าน้ำมันหอมระเหยไธม์ที่ความเข้มข้น 0.2% สามารถทำลายเชื้อ *S.* Typhimurium เริ่มต้น (5.35 ± 0.19 log CFU/มิลลิลิตร) ได้ >3 log ภายในระยะเวลา 5 นาที ซึ่งมีประสิทธิภาพดีกว่าการทดสอบบนใบสะระแหน่ในขั้นตอนการล้าง ซึ่งสามารถลดจำนวนเชื้อ *S.* Typhimurium เริ่มต้น 4.17 ± 0.98 log CFU/กรัม ลงได้เพียง 0.73 ± 0.14 log CFU/กรัม เมื่อใช้ระดับความเข้มข้นของสารละลายทดสอบ และเวลาเท่ากัน ที่เป็นเช่นนี้อาจมีสาเหตุมาจากพื้นผิวของใบสะระแหน่ซึ่งมีความขรุขระ ไม่เรียบ มีผลทำให้น้ำมันหอมระเหยไธม์ไม่สามารถเข้าถึงพื้นผิวผักที่มีเชื้อเกาะอยู่ได้ ซึ่งให้ผลสอดคล้องกับรายงานก่อนหน้านี้ซึ่งพบว่ากรดมาลิกสามารถลดจำนวน *E. coli* O157:H7, *S.* Typhimurium และ *L. monocytogenes* ที่ใส่ลงบนเห็ดนางรมหลวงและผลเมลอนซึ่งมีผิวสัมผัสหยาบและขรุขระ ได้ต่ำกว่าปาปริก้าหรือแครอทที่มีพื้นผิวเรียบ[34] แสดงให้เห็นว่าพื้นผิวของผัก มีผลต่อประสิทธิภาพของสารทดสอบในการลดจำนวนเชื้อที่ใส่ลงบนผัก ผลการศึกษาครั้งนี้ยังได้สังเกตสีของใบสะระแหน่ด้วยตาเปล่า (ไม่ได้แสดงข้อมูล) พบว่าการล้างใบสะระแหน่ด้วยน้ำมันหอมระเหยไธม์ไม่มีผลต่อสีและลักษณะภายนอกของใบสะระแหน่ ซึ่งสอด คล้องกับการศึกษาของ Gutierrez et al.[35] ซึ่งพบว่าผักกาดหอมและแครอทที่ผ่านการล้างด้วยน้ำมันหอมระเหยไธม์ และน้ำมันหอมระเหยชนิดอื่นได้แก่ โหระพา, สะระแหน่, มาร์จอรัม และออริกาโนไม่ส่งผลต่อสี ลักษณะภายนอกและคุณภาพของผัก

การศึกษานี้ ในขั้นตอนการทดสอบประสิทธิภาพในการลดจำนวนเชื้อ *S.* Typhimurium ที่ใส่ลงบนใบสะระแหน่ด้วยน้ำมันหอมระเหยไธม์ ผู้วิจัยได้นำสารละลายที่ใช้ล้างจากการล้างใบสะระแหน่ที่ใส่เชื้อแล้วมาทำการตรวจหาเชื้อที่มีชีวิตเพื่อตรวจสอบฤทธิ์ของน้ำมันหอมระเหยไธม์ (ไม่ได้แสดงข้อมูล) พบว่าสารละลายทดสอบที่มีน้ำมันหอมระเหยไธม์ความเข้มข้น 1xMIC (0.2%) และ 2xMIC (0.4%) ตรวจไม่พบเชื้อ *S.* Typhimurium ที่รอดชีวิตในสารละลาย ส่วนสารละลายที่เป็นชุดควบคุม (น้ำกลั่นปราศจากเชื้อ) ตรวจพบเชื้อ *S.* Typhimurium รอดชีวิต แสดงให้เห็นว่าน้ำมันหอมระเหยไธม์มีฤทธิ์ในการทำลาย *S.* Typhimurium ซึ่งสอดคล้องกับผลการวิเคราะห์ค่า MIC และ MBC ส่วนการล้างด้วยน้ำกลั่นปราศจากเชื้อจะทำให้เชื้อบางส่วนหลุดออกจากใบผักมาอยู่ในสารละลายโดยที่เชื้อยังมีชีวิตอยู่

แม้ว่าการศึกษานี้จะไม่ได้ทำการประเมินคุณภาพทางประสาทสัมผัส (sensory evaluation) ของใบสะระแหน่ที่ผ่านการล้างด้วยสารละลายน้ำมันหอมระเหยไธม์ แต่เป็นที่น่าสังเกตว่าสารทดสอบนี้มีกลิ่นแรง ซึ่งเป็นกลิ่นที่ทำให้รู้สึกสดชื่น จึงควรล้างใบสะระแหน่ด้วยน้ำสะอาดก่อนนำไปบริโภค เพื่อไม่ให้มีผลต่อรสชาติและกลิ่นของใบสะระแหน่ นอกจากนี้หากพิจารณาความคุ้มค่าของผลิตภัณฑ์ในแง่ของความคุ้มทุน จะพบว่าน้ำมันหอมระเหยมีต้นทุนสูงกว่าสารเคมีที่ใช้ล้างผักในครัวเรือน ผลิตภัณฑ์นี้อาจจะเหมาะสมกับกลุ่มผู้บริโภคที่ใส่ใจกับสุขภาพและสามารถจ่ายเงินสูงขึ้นเพื่อผลิตภัณฑ์ที่ดีต่อสุขภาพ อีกทั้งในการเลือกซื้อต้องพิจารณาคุณภาพของน้ำมันหอมระเหยซึ่งมีผลต่อประสิทธิภาพต้านจุลินทรีย์ โดยควรซื้อจากแหล่งจำหน่ายที่มีความน่าเชื่อถือ

ผลการศึกษาครั้งนี้แสดงให้เห็นว่าน้ำมันหอมระเหยไธม์มีประสิทธิภาพในการต้าน *S.* Typhimurium จากการทดสอบในหลอดทดลอง (*in vitro*) และบนใบสะระแหน่ นอกจากนี้ควรมีศึกษาเพิ่มเติมในอนาคตเกี่ยวกับการใช้น้ำมันหอมระเหยไธม์ในการยับยั้งแบคทีเรียก่อโรคชนิดอื่น ๆ เช่น *E. coli* และ *Listeria monocytogenes* ที่มักปนเปื้อนในผักและผลไม้สด ศึกษาระยะเวลาในการยืดอายุการเก็บรักษาและคุณภาพทางโภชนาการของผักหลังการล้างด้วยน้ำมันหอมระเหย รวมทั้งประเมินคุณภาพทางประสาทสัมผัส (sensory evaluation) เพื่อนำข้อมูลที่ได้ไปพัฒนาเป็นผลิตภัณฑ์ล้างผักต่อไป

สรุปผลการวิจัย

น้ำมันหอมระเหยไธม์บริสุทธิ์มีประสิทธิภาพในการยับยั้ง *S.* Typhimurium ในหลอดทดลอง (*in vitro*) โดยมีขนาดโซนยับยั้ง เท่ากับ 22.17 ± 0.76 มิลลิเมตร มีค่า MIC และค่า MBC เท่ากันคือ 0.2% และเวลาที่สั้นที่สุดของน้ำมันหอมระเหยไธม์ (0.2%) ที่สามารถทำลายเชื้อเริ่มต้นให้ลดจำนวนลงได้ >3 log (>99.99%) คือ 5 นาที การล้างใบสะระแหน่ที่ใส่เชื้อ *S.* Typhimurium (4.17 ± 0.98 log CFU/กรัม) ด้วยการแช่ในน้ำมันหอมระเหยไธม์ที่ความเข้มข้น 0.2% และ 0.4% และน้ำกลั่นปราศจากเชื้อ (ชุดควบคุม) เป็นเวลา 5 นาที สามารถลดจำนวน *S.* Typhimurium บนใบสะระแหน่ลงเหลือ เท่ากับ 3.48 ± 0.10, 2.69 ± 0.13 และ 4.79 ± 0.10 log CFU/กรัม ตามลำดับ ซึ่งน้ำมันหอมระเหยไธม์ที่ความเข้มข้น 0.4% มีประสิทธิภาพในการลดจำนวนเชื้อ *S.* Typhimurium ที่ใส่ลงบนใบสะระแหน่ได้แตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p<0.05$) เมื่อเทียบกับน้ำกลั่นปราศจากเชื้อ (ชุดควบคุม) จะเห็นได้ว่าน้ำมันหอมระเหยไธม์มีประสิทธิภาพในการต้าน *S.* Typhimurium ทั้งในหลอดทดลอง (*in vitro*) และบนใบสะระแหน่ ซึ่งอาจสามารถนำมาใช้เป็นแนวทางในการประยุกต์ใช้เป็นสารต้านจุลินทรีย์จากธรรมชาติ เพื่อยับยั้งเชื้อก่อโรคที่ปนเปื้อนในผักและผลไม้สด

กิตติกรรมประกาศ

ขอบคุณ ภาควิชาจุลชีววิทยา คณะวิทยาศาสตร์ มหาวิทยาลัยบูรพา ที่ให้ทุนสนับสนุน

เอกสารอ้างอิง

1. Yemmireddy V, Adhikari A, Moreira J. Effect of ultraviolet light treatment on microbiological safety and quality of fresh produce: an overview. Front Nutr 2022;9:871243.
2. Bai Y, Li J, Huang M, Yan S, Li S, Xu J, et al. Prevalence and characterization of foodborne pathogens isolated from fresh-cut fruits and vegetables in Beijing, China. Int J Food Microbiol 2024;421:110804.
3. Kowalska B. Fresh vegetables and fruit as a source of Salmonella bacteria. Ann Agr Env Med 2023;30:9-14.
4. Zhang G, Chen Y, Hu L, Melka D, Wang H, Laasri A, et al. Survey of foodborne pathogens, aerobic plate counts, total coliform counts, and *Escherichia coli* counts in leafy greens, sprouts, and melons marketed in the United States. J Food Prot 2018;81:400-11.
5. Zhang H, Yamamoto E, Murphy J, Locas A. Microbiological safety of ready-to eat fresh-cut fruits and vegetables sold on the Canadian retail market. Int J Food Microbiol. 2020;335:108855.
6. Srisamran J. Detection of indicator and pathogenic bacteria in raw vegetables and fruits sold in fresh markets and supermarkets, Bangkok, Thailand [Theses and Dissertations]. Bangkok: Chulalongkorn University; 2020.
7. Singh BR, Singh P, Agrawal S, Teotia U, Verma A, Sharma S, et al. Prevalence of multidrug resistant *Salmonella* in coriander, mint, carrot, and radish in Bareilly and Kanpur, Northern India. Foodborne Pathog Dis 2007;4:233-40.
8. Sarré FB, Dièye Y, Seck AM, Fall C, Dieng M. High level of *Salmonella* contamination of leafy vegetables sold around the niayes zone of Senegal. Horticulturae 2023;9:97.
9. Saleem M, Huda N, Urooj S, Sidiqui M, Khan FZ, Raza Y, Mirani ZA. Transmission of multi-drug-resistant *Salmonella* from fresh vegetables: Implications for shop-to-kitchen contamination. Microbiol Immunol Commun 2024;3:1-20.
10. Plumb I, Fields P, Bruce B. Salmonellosis, Nontyphoidal. CDC Yellow Book [Internet]. Health Information for International Travel: Oxford University Press; 2024 [cited 2023 October 10]. Available from: https://wwwnc.cdc.gov/travel/yellowbook/2024/infections-diseases/salmonellosis-nontyphoidal
11. Centers for Disease Control and Prevention (CDC). *Salmonella* outbreak

linked to cucumbers - June 2024 [Internet]. [cited 2025 August 2]. Available from: https://www.cdc. gov /salmonella/outbreaks/africana-06-24/index.html.

12. รัชดา อุยยืนยงค์, สุนิดา เมืองโคตร. การยับยั้งแบคทีเรียก่อให้เกิดโรคที่ปนเปื้อนในผักกาดหอมด้วยสารสกัดจากพืชสมุนไพรไทย. วารสารการเกษตรราชภัฏ. 2563;2:67-76.
13. El-Tawil AM. Colorectal cancers and chlorinated water. World J Gastrointest Oncol 2016;8:402-9.
14. Kang JH, Park JB, Song KB. Inhibitory activities of quaternary ammonium surfactants against *Escherichia coli* O157:H7, *Salmonella* Typhimurium, and *Listeria monocytogenes* inoculated on spinach leaves. LWT-Food Sci Technol 2019;102:284-90.
15. Kang JH, Song KB. Combined washing effect of noni extract and oregano essential oil on the decontamination of *Listeria monocytogenes* on romaine lettuce. Int J Food Sci 2020;55:3515-23.
16. Hammoudi Halat D, Krayem M, Khaled S, Younes S. A focused insight into thyme: Biological, chemical, and therapeutic properties of an indigenous mediterranean herb. Nutrients 2022;14:2104.
17. Clinical and Laboratory Standards Institute (CLSI). Performance standards for antimicrobial susceptibility testing. Vol 43. 33th ed. CLSI supplement M100: Wayne, PA; USA. 2023. Available from: https://clsi.org/ shop/standards/m100/
18. Clinical and Laboratory Standards Institute. Methods for dilution antimicrobial susceptibility tests for bacteria that grow aerobically. Vol 32. 9th ed. CLSI document M07-A9: Wayne, PA; USA. 2012. Available from: https://clsi.org/qse
19. Yuan W, Teo CHM, Yuk HG. Combined antibacterial activities of essential oil compounds against *Escherichia coli* O157:H7 and their application potential on fresh-cut lettuce. Food Control 2019; 96:112-8.
20. Kang JH, Song KB. Inhibitory effect of plant essential oil nanoemulsions against *Listeria monocytogenes*, *Escherichia coli* O157:H7, and *Salmonella* Typhimurium on red mustard leaves. Innov Food Sci Emerg Technol 2018;45:447-54.
21. Paudel SK, Bhargava K, Kotturi H. Antimicrobial activity of cinnamon oil nanoemulsion against *Listeria monocytogenes* and *Salmonella* spp. on melons. LWT-Food Sci Technol 2019;111:682-7.
22. Schubert M, Spiegel H, Schillberg S, Nölke G. *Aspergillus*-specific antibodies-targets

and applications. Biotechnol Adv 2018;36:1167-84.

23. Ishak A, Mazonakis N, Spernovasilis N, Akinosoglou K, Akinosoglou C. Bactericidal versus bacteriostatic antibacterials: clinical significance, differences and synergistic potential in clinical practice. J Antimicrob Chemother 2024;80:1-17.
24. Penalver P, Huerta B, Borge C, Astorga R, RomeroR, Perea A. Antimicrobial activity of five essential oils against origin strains of the Enterobacteriaceae family. Apmis 2005;113:1-6.
25. Ed-Dra A, Nalbone L, Filali FR, Trabelsi N, El Majdoub YO, Bouchrif B, et al. Comprehensive evaluation on the use of *Thymus vulgaris* essential oil as natural additive against different serotypes of *Salmonella enterica*. Sustain 2021;13:4594.
26. Rocha JBT, de Andrade JP, dos Santos L. Optimization of extraction parameters for phenolic compounds from *Commiphora gileadensis* leaves using ethanol-water mixtures. Process 2023;12:1567.
27. Ebani VV, Nardoni S, Bertelloni F, Tosi G, Massi P, Pistelli L, et al. *In vitro* antimicrobial activity of essential oils against *Salmonella enterica* serotypes Enteritidis and Typhimurium strains isolated from poultry. Molecules 2019;24:900.
28. Thosar N, Basak S, Bahadure RN, Rajurkar M. Antimicrobial efficacy of five essential oils against oral pathogens: An *in vitro* study. Eur J Dent 2013;7:S071-7.
29. Sateriale D, Forgione G, De Cristofaro GA, Pagliuca C, Colicchio R, Salvatore P, et al. Antibacterial and antibiofilm efficacy of thyme (*Thymus vulgaris* L.) essential oil against foodborne illness pathogens, *Salmonella enterica* subsp. *enterica* serovar Typhimurium and *Bacillus cereus*. Antibiotics 2023;12:485.
30. Khwaza V, & Aderibigbe BA. Antibacterial activity of selected essential oil components and their derivatives: A Review. Antibiotics (Basel, Switzerland) 2025;14:68.
31. Liu T, Kang J, Liu L. Thymol as a critical component of *Thymus vulgaris* L. essential oil combats *Pseudomonas aeruginosa* by intercalating DNA and inactivating biofilm. LWT-Food Sci Technol 2021;136:110354.
32. Kachur K, Suntres Z. The Antibacterial properties of phenolic isomers, carvacrol and thymol. Crit Rev Food Sci Nutr 2020;60:3042-53.
33. Cuaron JA, Dulal S, Song Y, Singh AK, Montelongo CE, Yu W, et al. Tea tree oil-induced transcriptional alterations in

Staphylococcus aureus. Phytother Res 2013;27:390-6.

34. Kang JW, Kang DH. Antimicrobial efficacy of vacuum impregnation washing with malic acid applied to whole paprika, carrots, king oyster mushrooms and muskmelons. Food Control 2017;82:126-35.

35. Gutierrez J, Rodriguez G, Barry-Ryan C, Bourke P. Efficacy of plant essential oils against foodborne pathogens and spoilage bacteria associated with ready-to-eat vegetables: antimicrobial and sensory screening. J Food Prot 2008;71:1846-54.

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