

JOURNAL OF

# SCIENCE AND TECHNOLOGY

MAHASARAKHAM UNIVERSITY

Volume 45 Number 2 March - April 2026



ISSN (Print) : 2985-2617  
ISSN (Online) : 2985-2625

JOURNAL OF SCIENCE AND TECHNOLOGY  
MAHASARAKHAM UNIVERSITY

INDEXED IN



# วารสารวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยี มหาวิทยาลัยมหาสารคาม

## วัตถุประสงค์

วารสารวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยี มหาวิทยาลัยมหาสารคาม จัดทำขึ้นโดยมีวัตถุประสงค์เพื่อเป็นแหล่งเผยแพร่ผลงานทางวิชาการที่มีคุณภาพของนักวิชาการทั้งในและต่างประเทศ โดยเผยแพร่บทความวิจัย (research article) บทความปริทัศน์ (review article) ในสาขาวิชาต่างๆ ได้แก่ คณิตศาสตร์ วิทยาศาสตร์ เทคโนโลยี วิศวกรรมศาสตร์ เกษตรศาสตร์ แพทยศาสตร์ วิทยาศาสตร์สุขภาพ และสหวิทยาการด้านวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยี

## เจ้าของ

มหาวิทยาลัยมหาสารคาม  
สำนักงานกองบรรณาธิการ  
กองส่งเสริมการวิจัยและบริการวิชาการ มหาวิทยาลัยมหาสารคาม  
ตำบลขามเรียง อำเภอกันทรวิชัย จังหวัดมหาสารคาม 44150  
โทรศัพท์ภายใน 1754 โทรศัพท์ 0-4371-9827

## ที่ปรึกษา

อธิการบดีมหาวิทยาลัยมหาสารคาม  
ศาสตราจารย์ ดร.วิสุทธิ์ ไบไม่  
ศาสตราจารย์ ดร.วิชัย บุญแสง  
ศาสตราจารย์ ดร.พีระศักดิ์ ศรีนิเวศน์

## บรรณาธิการ

ศาสตราจารย์ ดร.ปรีชา ประเทพา

## ผู้ช่วยบรรณาธิการ

ศาสตราจารย์ ดร.ไพโรจน์ ประมวล  
มหาวิทยาลัยมหาสารคาม  
ศาสตราจารย์ ดร.ศิริธร ศิริอมรพรรณ  
มหาวิทยาลัยมหาสารคาม  
ศาสตราจารย์ ดร.อนงค์ฤทธิ์ แข็งแรง  
มหาวิทยาลัยมหาสารคาม  
รองศาสตราจารย์ นายสัตวแพทย์ ดร.วรพล เองวานิช  
มหาวิทยาลัยมหาสารคาม  
รองศาสตราจารย์ ดร.วัลยา สุทธิขำ  
มหาวิทยาลัยมหาสารคาม  
รองศาสตราจารย์ ดร.อริชัญญ์ กุมพล  
มหาวิทยาลัยมหาสารคาม  
ผู้ช่วยศาสตราจารย์ ดร.สมนึก พ่วงพรพิทักษ์  
มหาวิทยาลัยมหาสารคาม

## กองบรรณาธิการ

ศาสตราจารย์ ดร.ทวีศักดิ์ บุญเกิด  
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย  
ศาสตราจารย์ ดร.ละอศรี เสนาะเมือง  
มหาวิทยาลัยขอนแก่น  
ศาสตราจารย์ ดร.ปราณี อานเปื้อง  
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย  
ศาสตราจารย์ ดร.นิวัฒน์ เสนาะเมือง  
มหาวิทยาลัยขอนแก่น  
ศาสตราจารย์ ดร.วงศา เล้าศิริวงศ์  
มหาวิทยาลัยขอนแก่น  
ศาสตราจารย์ ดร.ขวัญใจ กนกเมธากุล  
มหาวิทยาลัยขอนแก่น

ศาสตราจารย์ นายแพทย์ศิริเกษม ศิริลักษณ์  
มหาวิทยาลัยนเรศวร  
รองศาสตราจารย์ ดร.สุนันท์ สายกระสุน  
มหาวิทยาลัยมหาสารคาม  
รองศาสตราจารย์ ดร.สุรธนา บุญยะลีพรรณ  
มหาวิทยาลัยขอนแก่น  
รองศาสตราจารย์ ดร.ฉันทนา อารมย์ดี  
มหาวิทยาลัยขอนแก่น  
รองศาสตราจารย์ ดร.บุญจง ขาวสิทธิวงษ์  
สถาบันบัณฑิตพัฒนบริหารศาสตร์  
รองศาสตราจารย์ ดร.พรเทพ ถิ่นแก้ว  
มหาวิทยาลัยขอนแก่น  
รองศาสตราจารย์ ดร.นฤมล แสงประดับ  
มหาวิทยาลัยขอนแก่น  
รองศาสตราจารย์ ดร.ชวลิต บุญปก  
มหาวิทยาลัยมหาสารคาม  
รองศาสตราจารย์เทอดศักดิ์ คำเหม็ง  
มหาวิทยาลัยนครพนม  
รองศาสตราจารย์ยืน ภู่วรรณ  
มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์  
รองศาสตราจารย์ นายสัตวแพทย์ ดร.ณัฐพล ภูมิพันธุ์  
มหาวิทยาลัยมหาสารคาม  
ผู้ช่วยศาสตราจารย์ ดร.นพรัตน์ พุทธกาล  
มหาวิทยาลัยเทคโนโลยีราชมงคลธัญบุรี  
ผู้ช่วยศาสตราจารย์ ดร.อนุชา เพียรชนะ  
มหาวิทยาลัยราชภัฏอุบลราชธานี  
ผู้ช่วยศาสตราจารย์ ดร.เสกสรร สุขะเสนา  
มหาวิทยาลัยนเรศวร  
ผู้ช่วยศาสตราจารย์ ดร.วลัยพร ทองเจริญบัวงาม  
มหาวิทยาลัยมหาสารคาม  
ผู้ช่วยศาสตราจารย์ ดร.อลงกรณ์ ละม่อม  
มหาวิทยาลัยมหาสารคาม  
อาจารย์ เกษัชกร ดร.รักษัจจินดา วัฒนาลัย  
มหาวิทยาลัยสยาม

## เลขานุการ

ผู้อำนวยการกองส่งเสริมการวิจัยและบริการวิชาการ

## ผู้ช่วยเลขานุการ

พักรัตริ์โล จันทร์ลอย  
จิรารัตน์ ภูสีฤทธิ์

## กำหนดเผยแพร่

ปีละ 6 ฉบับ

ฉบับที่ 1 มกราคม-กุมภาพันธ์  
ฉบับที่ 2 มีนาคม-เมษายน  
ฉบับที่ 3 พฤษภาคม-มิถุนายน  
ฉบับที่ 4 กรกฎาคม-สิงหาคม  
ฉบับที่ 5 กันยายน-ตุลาคม  
ฉบับที่ 6 พฤศจิกายน-ธันวาคม

บทความและความคิดเห็นในวารสารวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยี มหาวิทยาลัยมหาสารคาม เป็นความคิดเห็นของผู้เขียน กองบรรณาธิการไม่จำเป็นต้องเห็นด้วยเสมอไป และบทความในวารสารวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยี สงวนสิทธิ์ตามกฎหมายไทย การจะนำไปเผยแพร่ต้องได้รับอนุญาตเป็นลายลักษณ์อักษรจากกองบรรณาธิการเท่านั้น

### กบอ่องมลายู

กบอ่องมลายู *Sylviranamalayana* เป็นสัตว์สะเทินน้ำสะเทินบกในวงศ์ Ranidae ที่มีการกระจายพันธุ์ในพื้นที่ป่าชื้นทางภาคใต้ของประเทศไทยต่อเนื่องถึงประเทศมาเลเซีย โดยเฉพาะในพื้นที่ป่าฮาลา-บาลา จังหวัดยะลาและนราธิวาส ซึ่งเป็นระบบนิเวศป่าดิบชื้นที่มีความหลากหลายทางชีวภาพสูง ชนิดพันธุ์นี้ได้รับการจำแนกสถานะทางอนุกรมวิธานเมื่อไม่นานมานี้ ส่งผลให้ข้อมูลพื้นฐานด้านชีววิทยา นิเวศวิทยา และพันธุศาสตร์ยังมีจำกัด (Sheridan & Stuart, 2018) ความสำคัญของกบอ่องมลายูจึงไม่ได้จำกัดอยู่เพียงบทบาทเชิงนิเวศ แต่ยังครอบคลุมถึงคุณค่าทางวิชาการในฐานะชนิดพันธุ์ที่ยังขาดข้อมูลพื้นฐานเพื่อสนับสนุนการอนุรักษ์และการจำแนกเชิงระบบ งานวิจัยเด่นในวารสารฉบับนี้มีความน่าสนใจ เนื่องจากเป็นรายงานการศึกษาพันธุศาสตร์ระดับเซลล์ครั้งแรกของกบอ่องมลายู โดยแสดงข้อมูลจำนวนโครโมโซมดิพลอยด์ ( $2n = 26$ ) และลักษณะแคโรไทป์อย่างเป็นระบบ ผลการศึกษานี้เป็นพื้นฐานสำคัญสำหรับการศึกษาวิวัฒนาการ ความหลากหลายทางพันธุกรรม และการจัดการอนุรักษ์ชนิดพันธุ์ในระยะยาว ตลอดจนสะท้อนให้เห็นถึงบทบาทของการศึกษาทางเซลล์พันธุศาสตร์ ในการสนับสนุนองค์ความรู้ด้านความหลากหลายทางชีวภาพของประเทศไทย

### เอกสารอ้างอิง

Sheridan, J. A., & Stuart, B. L. (2018). Hidden species diversity in *Sylviranagrovittata* (Amphibia: Ranidae) highlights the importance of taxonomic revisions in biodiversity conservation. *PLoS ONE*, 13(3), e0192766. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0192766>

รองศาสตราจารย์ นายสัตวแพทย์ ดร.วรพล เองวานิช  
ผู้ช่วยบรรณาธิการ

## สารบัญ

### Agricultural Science

- การพัฒนาผลิตภัณฑ์ข้าวอบกรอบญี่ปุ่นผสมเศษร่วนแมคคาเดเมีย (*Macadamia integrifolia*) 150  
**Development of Japanese rice cracker mixed with macadamia (*Macadamia integrifolia*) nut crumb**  
 กฤษณกัณฑ์ ภาโพธิรัตน์, ชญานิน วังตาล, รักชนก อินจันทน์, ชุตติภัสร์ เรืองวุฒิ, วาสนา ทิววงศ์  
 และ สุรพงษ์ วงษ์ปาน  
 Kritsanakan Phaphothirat, Chayanin Wangtan, Rakchanok Inchan, Chutipat Ruangwut, Wassana Tiwong  
 and Surapong Wongpan

- สภาวะเหมาะสมในการผลิตผงจิ้งหรีดเอกซ์ทรูดด้วยวิธีพื้นผิวตอบสนองและการปรับปรุงคุณสมบัติด้วยกรดอินทรีย์ 164  
**Optimization of conditions for producing extruded cricket powder using response surface methodology and improving its properties with organic acids**  
 หทัยกาญจน์ กกแก้ว และ นิสากกร ศรีธัญรัตน์  
 Hathaigan Kokkaew and Nisakorn Srithanyarat

### Biological Science

- ประสิทธิภาพของ *Bacillus tequilensis* S3.1 ในการควบคุมเชื้อรา *Trichoderma atroviride* และ 176  
*Trichoderma longibrachiatum* สาเหตุของโรคราเขียวในเห็ดนางฟ้าภูฐาน (*Pleurotus pulmonarius*)  
**Efficacy of *Bacillus tequilensis* S3.1 to control fungal *Trichoderma atroviride* and *Trichoderma longibrachiatum* caused green mold disease in phoenix oyster mushroom (*Pleurotus pulmonarius*)**  
 เจนจิรา เดทรักษา และ ปาริษฐ์ชา แซงสุวรรณ  
 Janejira Detaksa and Parisatcha Sangsuwan

- ผลของ BA และ IAA ต่อการชักนำแคลลัสจากใบ และการเกิดเอ็มบริโอของแท้อยายม่อม 188  
*(Tacca leontopetaloides* (L.) Kuntze)  
**Effects of BA and IAA on callus induction from leaves and embryogenesis of *Tacca leontopetaloides* (L.) Kuntze In Vitro conditions**  
 เปรมจิต รongสวัสดิ์, จูติกร พรหมบรรจง, วรวิฑู มีสุข, สุขใจ พรหมมาศ และ คมสัน นันทสุนทร  
 Premjit Rongsawat, Thitikorn Prombanchong, Worawitoo Meesook, Sukjai Prommas  
 and Komsun Nuntasontorn

- รายงานพันธุศาสตร์ระดับเซลล์ครั้งแรกของกบอ่องมลายู (*Sylvirana malayana*) 196  
**First cytogenetic report of Malayan dark-side frog (*Sylvirana malayana*)**  
 ธนิศร ศรีวรรณไพศาล, สิทธิศักดิ์ จันทรัตน์, วีระ ทองเนตร, สมศักดิ์ บัวทิพย์ และ เทียนทิพย์ ไกรพรหม  
 Thanisorn Srivorrathapisan, Sitthisak Jantararat, Weera Thongnetr, Somsak Buatip  
 and Thaintip Kraiprom

### Chemistry

- การวิเคราะห์เชิงสีเพื่อหาร้อยละโดยปริมาตรของเอทานอลในสเปรย์แอลกอฮอล์ด้วยการเปรียบเทียบแถบสี 203  
**Colorimetric determination of ethanol percentage by volume in alcohol spray using the color comparison test**  
 ศักดิ์ชัยบดี ปิ่นศรีทอง, บุญยรัตน์ บุญวรรณโณ, รุสนี กุลวิจิตร และ สุภาพร ชินผา  
 Sakchaibordee Pinsrithong, Boonyarat Boonwanno, Roosanee Kulvijitra and Supaporn Chinpha

- ผลของสารสกัดจากกะทกรก (*Passiflora foetida* Linn.) ต่อฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระ ฤทธิ์ยับยั้งเอนไซม์ไทโรซิเนส 215  
 ฤทธิ์ยับยั้งเชื้อจุลินทรีย์ และฤทธิ์ต้านการอักเสบ  
**Effect of *Passiflora foetida* Linn. extract on antioxidant, tyrosinase inhibition, antimicrobial and anti-inflammatory activity**  
 ณพัฏฐอร บัวจูน และ วิริยาภรณ์ กล่อมสังข์เจริญ  
 Napattaorn Buachoon and Wiriyaabhorn Klomsungcharoen

## สารบัญ

### Computer and Information Technology

การวิเคราะห์และการคาดการณ์จำนวนนักศึกษาปริญญาตรีที่ออกจากระบบโดยใช้การเรียนรู้ของเครื่อง 231

#### Analysis and prediction of undergraduate student dropouts using machine learning

จักรพันธ์ สาทมูณี, เอกชัย เนาวนิช และ ธนพร ปฏิกรณ์

Jakkapan Satmune, Ekachai Naowanich and Thanaporn Patikorn

### Engineering

ผลกระทบของการเกิดตะกอนในระบบระบายความร้อนของหน่วยประมวลผลกลาง  
ที่ใช้ของไหลนาโนชนิดไทเทเนียมไดออกไซด์ที่กระจายตัวในน้ำ 243

#### Effects of fouling formation in the cooling system of a central processing unit

##### using Titanium Dioxide nanofluid

ชยุต พลอยจิรภาส, ดวงฤดี ชูตระกูล และ ขวัญชัย หนาแน่น

Chayut Ployjirapas, Duangrudee Chutrakul and Kwanchai Nanan

### Health Science

ผลของชาสมุนไพรต่อการยับยั้งการทำงานของเอนไซม์แอลฟา-กลูโคซิเดส 253

#### Effect of infused herbal teas on alpha-glucosidase inhibitory

ยลดา ศรีเศรษฐ์, วรินทร์ โอนอ่อน, ฉัตรชนก นุกุลกิจ, จรินยา ขุนทะวาด และ ทันทิกา แก้วสูงเนิน

Yollada Sriset, Warin Ohn-on, Chatchanok Nukulkit, Jarinya Khoontawad and Thanthika Kaewsoongnern

ไฟโลกรุปและรูปแบบความไวต่อยาต้านจุลชีพของ *Escherichia coli* ที่คัดแยกจากปัสสาวะของผู้ป่วยหญิง  
ที่ติดเชื้อมาก่อนในโรงพยาบาลตติยภูมิ เขตกรุงเทพมหานคร 263

#### Phylogroups and antimicrobial susceptibility profiles of *Escherichia coli* Isolated from urine

##### of female patients with urinary tract infections in a Tertiary Hospital in Bangkok

ศศิธร เจริญนนท์, ประจจิตร คชพงษ์, ยุคล อภัยยะกุล, พัชรี ชูเชื้อ, บุญตา สวัสดิ์จรุงรัตน์ และ เอนก ภูทอง

Sasitorn Jaroennon, Prajongjit Khochapong, Yukol Aphiyakul, Patcharee Choochur,

Boonta Sawatdijaroongrat and Anek Pootong

### Mathematics

ปัจจัยที่ส่งผลต่อการเดินทางด้วยรถจักรยานยนต์ของนักศึกษาด้วยสมการถดถอยแบบขั้นตอนระดับลดหลั่น  
โดยการประยุกต์ใช้ MRBQ ร่วมกับ T-LOC 274

#### Determinants influencing students motorcycle travel among universitys and colleges:

##### A hierarchical multiple regression analysis integrating MRBQ and T-LOC

สวลี อุตรา, ปิยณัฐ โตอ่อน, อาจารย์ แสงเสถียร, รัชฎา แท่งภูเขียว และ ณัฐนันท์ นิตสิริ

Savalee Uttra, Piyanat To-on, Arjaree Saengsathien, Ratchada Taengphukieo and Nattanan Nitisiri

# การพัฒนาผลิตภัณฑ์ข้าวอบกรอบญี่ปุ่นผสมเศษร่วนแมคคาเดเมีย (*Macadamia integrifolia*) Development of Japanese rice cracker mixed with macadamia (*Macadamia integrifolia*) nut crumb

กฤษณกัณฑ์ ภาโพธิรัตน์<sup>1</sup>, ชญานิน วังตาล<sup>1\*</sup>, รักชนก อินจันทน์<sup>1</sup>, ชุตติภัสร์ เรืองวุฒิ<sup>1</sup>, วาสนา ดิวงส์<sup>1</sup>  
และ สุรพงษ์ วงษ์ปาน<sup>2</sup>

Kritsanakan Phaphothirat<sup>1</sup>, Chayanin Wangtan<sup>1\*</sup>, Rakchanok Inchan<sup>1</sup>, Chutipat Ruangwut<sup>1</sup>,  
Wassana Tiwong<sup>1</sup> and Surapong Wongpan<sup>2</sup>

Received: 11 January 2025 ; Revised: 10 March 2025 ; Accepted: 18 April 2025

## บทคัดย่อ

งานวิจัยนี้พัฒนาผลิตภัณฑ์ข้าวอบกรอบญี่ปุ่นผสมเศษร่วนแมคคาเดเมีย โดยผลของอุณหภูมิอบแห้ง 50, 60 และ 70°C และปริมาณเศษร่วนแมคคาเดเมีย 20%, 30% และ 40% ของน้ำหนักแป้งข้าวเหนียว ที่มีต่อคุณสมบัติทางกายภาพ เคมี คุณภาพทางประสาทสัมผัส และคุณค่าทางโภชนาการของผลิตภัณฑ์ ผลการทดลองพบว่าอุณหภูมิอบแห้งอุณหภูมิ 50, 60 และ 70 °C ส่งผลให้ค่าความสว่าง (L\*) ลดลง ในขณะที่ค่าความเข้มของสีแดง (a\*) และสีเหลือง (b\*) เพิ่มขึ้น ( $p \leq 0.05$ ) ค่า Water Activity ( $a_w$ ) และค่าความชื้นลดลงเมื่ออุณหภูมิอบแห้งเพิ่มขึ้น ( $p \leq 0.05$ ) ด้านคุณสมบัติทางกายภาพ พบว่าอุณหภูมิอบแห้งและปริมาณเศษร่วนแมคคาเดเมียไม่มีผลต่อค่าความแข็ง (Hardness) และความสามารถแตกกระจาย (Fracturability) อย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ( $p > 0.05$ ) แต่มีแนวโน้มว่าเศษร่วนแมคคาเดเมียที่มากขึ้นทำให้เนื้อสัมผัสของผลิตภัณฑ์แน่นขึ้นเล็กน้อย ผลการทดสอบคุณภาพทางประสาทสัมผัสโดยใช้ 9-Point Hedonic Scale พบว่าปริมาณเศษร่วนแมคคาเดเมียมีผลต่อสี กลิ่น และรสชาติของผลิตภัณฑ์ ( $p \leq 0.05$ ) ในขณะที่อุณหภูมิอบแห้งมีผลต่อรสชาติและลักษณะปรากฏ ( $p \leq 0.05$ ) ข้าวอบกรอบญี่ปุ่นที่ใช้เศษร่วนแมคคาเดเมีย 40% อบแห้งอุณหภูมิ 70°C มีคะแนนสูงสุดด้านสี กลิ่น รสชาติ และความชอบโดยรวม แต่คะแนนไม่แตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญ ( $p > 0.05$ ) กับข้าวอบกรอบญี่ปุ่นที่ใช้เศษร่วนแมคคาเดเมีย 40% อบแห้งอุณหภูมิ 60°C ซึ่งได้รับการยอมรับในระดับปานกลางถึงดีเช่นเดียวกัน เนื่องจากได้คุณภาพผลิตภัณฑ์ในระดับที่ดีแต่ใช้พลังงานน้อยลง เหมาะแก่การผลิตในเชิงพาณิชย์ โดยคุณค่าทางโภชนาการของผลิตภัณฑ์ข้าวอบกรอบญี่ปุ่นผสมเศษร่วนแมคคาเดเมีย 100 กรัม ให้พลังงานทั้งหมด 475 กิโลแคลอรี

**คำสำคัญ:** แมคคาเดเมีย, ข้าวอบกรอบญี่ปุ่น, การพัฒนาผลิตภัณฑ์

## Abstract

This research develops a Japanese rice cracker (JRC) mixed with macadamia nut crumb (MNC). The results of drying temperatures at 50°C, 60°C, and 70°C, as well as proportions of MNC at 20%, 30%, and 40%, that affect the physical, chemical, sensory quality, and nutritional values of the product show that an increase in drying temperature decreases the lightness (L\*) and increases the redness (a\*) and yellowness (b\*) significantly ( $p \leq 0.05$ ). Additionally, water activity ( $a_w$ ) and moisture decrease as the drying temperature increases ( $p \leq 0.05$ ). Regarding physical properties, drying temperature does not significantly affect the hardness or fracturability of the products ( $p > 0.05$ ), but the increase in MNC proportion slightly tends to increase product hardness. The 9-point hedonic scale sensory test indicates that the amount of MNC significantly affects the color, odor, and taste of the product ( $p \leq 0.05$ ), while the drying temperature

<sup>1</sup> แผนกวิชาคหกรรมศาสตร์ คณะครุศาสตร์ มหาวิทยาลัยราชภัฏเชียงราย

<sup>2</sup> สาขาวิชาการจัดการการค้าสมัยใหม่ คณะวิทยาการจัดการ มหาวิทยาลัยราชภัฏเชียงราย

<sup>1</sup> Department of Home Economics, Faculty of Education, Chiang Rai Rajabhat University

<sup>2</sup> Modern Trade Management Program, Faculty of Management Science, Chiang Rai Rajabhat University

\* Corresponding author, e-mail: Chayanin.wan@crru.ac.th

significantly affects the taste and appearance of the product ( $p \leq 0.05$ ). The JRC with 40% MNC and a drying temperature of 70°C has the highest scores for color, odour, taste, and overall quality, but this is not significantly different from the version with 40% MNC and a drying temperature of 60°C ( $p > 0.05$ ), which also scores as good-to-normal and is more preferable for commercial production due to lower energy usage. The nutritional value of 100 grams of the product provides 475 kilocalories.

**Keywords:** Macadamia, Japanese rice cracker, product development

## บทนำ

แมคคาเดเมีย (*Macadamia integrifolia*) เป็นไม้ผลยืนต้นประเภทไม้ผลัดใบ เปลือกนอกสีเขียวเมื่อลอกเปลือกนอกออกจะเป็นเมล็ดสีน้ำตาลเข้ม ลักษณะแข็งมาก เรียกว่า “นัท” เป็นถั่วเปลือกแข็ง เนื้อในมีสีขาวปนเหลือง มีรสชาติที่ละเอียดอ่อนเหมือนเนย มีเนื้อครีม (Moreno-Perez *et al.*, 2011) มีการดะมิโนที่จำเป็นและกรดไขมันไม่อิ่มตัวเชิงซ้อนสูง (Bailey & Stein, 2020; Hu *et al.*, 2019) อีกทั้งมีการดโอเลอิก ซึ่งเป็นตัวยับยั้งการสังเคราะห์กรดไขมันและคอเลสเตอรอลที่มีศักยภาพซึ่งมีส่วนทำให้กรดไขมันมากกว่า 70% ทั้งหมด กรดไขมันไม่อิ่มตัวนี้สามารถช่วยลดระดับคอเลสเตอรอลและไตรกลีเซอไรด์ จึงลดความเสี่ยงของโรคหัวใจ (Garg *et al.*, 2003) ในประเทศไทยพื้นที่ปลูกแมคคาเดเมียส่วนใหญ่ตั้งอยู่ในภาคเหนือ เนื่องจากแมคคาเดเมียมีการดโอเลอิกในปริมาณสูง ซึ่งดีต่อสุขภาพราคาของแมคคาเดเมียจึงมีราคาสูงอยู่เสมอ ราคาของแมคคาเดเมียโดยทั่วไปจะเพิ่มขึ้นอย่างมากเมื่อเป็นส่วนประกอบในอาหารแปรรูปต่างๆ โดยเฉพาะผลิตภัณฑ์ขนม (ทัทยา อนุสร, 2555) จึงเป็นที่นิยมของผู้รักสุขภาพ ปัจจุบันแมคคาเดเมียจึงถูกนำมาแปรรูปหลากหลายชนิด

จังหวัดเชียงรายเป็นเมืองเกษตรกรรมเป็นเมืองพื้นที่ที่มีความอุดมสมบูรณ์จากทรัพยากรดินน้ำ และอากาศ ซึ่งส่งผลให้สามารถปลูกพืชได้หลายชนิด โดยแมคคาเดเมียเป็นพืชเศรษฐกิจในภาคของจังหวัดเชียงรายซึ่งมีมูลค่าส่งออกถึง 1,325,169 กิโลกรัม ซึ่งเป็นมูลค่ากว่า 188 ล้านบาท (สำนักงานเกษตรและสหกรณ์จังหวัดเชียงราย, 2565) เช่นเดียวกับพื้นที่บ้านดอยช้าง ตำบลาวี อำเภอแม่สรวย จังหวัดเชียงราย พื้นที่ดังกล่าวเหมาะสมในการปลูกแมคคาเดเมียเพราะมีความสูงจากระดับน้ำทะเลไม่น้อยกว่า 700 เมตร มีแหล่งน้ำที่สามารถให้น้ำได้ตลอดทั้งปี ดินเป็นดินโปร่งสามารถระบายน้ำได้ดี สภาพอากาศที่เหมาะสมในการปลูกแมคคาเดเมีย จึงมีการปลูกแมคคาเดเมียเป็นเป็นร่วมเงาให้ต้นกาแฟ (พิมพ์ใจ ทรงประโคน, 2562) โดยปัจจุบันในพื้นที่บ้านดอยช้างมีการรับซื้อแปรรูปและแปรรูปเป็นเมล็ดแมคคาเดเมียอบแห้งบรรจุถุง การแปรรูปแมคคาเดเมียมักมีปัญหาการเกิดเศษร่วนจากการกะเทาะเปลือก การคัดเลือกคุณภาพ ซึ่งก่อให้เกิดเศษร่วนแมคคาเดเมียจำนวนมาก เช่น เมล็ดแตกหัก

เป็นชิ้นเล็ก เมล็ดแตกหักเป็นชิ้นเกล็ด หรือเมล็ดแตกหักละเอียด ส่งผลให้ไม่สามารถนำไปจำหน่ายได้ และเศษร่วนดังกล่าวมักเป็นอาหารสัตว์

ผลิตภัณฑ์ขนมข้าวอบกรอบญี่ปุ่นเป็นขนมพื้นเมืองที่มีข้าวเป็นวัตถุดิบหลัก มีต้นกำเนิดจากญี่ปุ่นและประเทศในเอเชีย ได้รับความนิยมอย่างแพร่หลายในระดับโลก รวมถึงสหรัฐอเมริกา ยุโรป ออสเตรเลีย และจีน ลักษณะเด่นของขนมนี้อยู่ที่รสชาติ ปริมาณแคลอรีต่ำ และอายุการเก็บรักษาที่นาน ผลิตภัณฑ์ดังกล่าวสามารถเพิ่มส่วนผสมเพิ่มเติม เช่น งาดำ สำหรับถั่วลิสง กุ้ง เครื่องปรุงรส หรือเครื่องเทศอื่นๆ เพื่อเพิ่มรสชาติ (Nakamura *et al.*, 2012) มีลักษณะเป็นแครกเกอร์ มีหลากหลายรูปทรง ขนาด และรสชาติ โดยทั่วไปจะมีรสเค็ม (Savory) แต่บางครั้งก็มีรสหวานเช่นกัน มักรับประทานคู่กับชาเขียวในฐานะของว่างทั่วไป และนิยมเสิร์ฟเป็นของว่าง (Sinclair, 2009) อีกทั้งผลิตภัณฑ์ขนมข้าวอบกรอบญี่ปุ่นมีความเชื่อมโยงกับวัฒนธรรมประเพณีญี่ปุ่นมาอย่างยาวนาน เช่น เทศกาลปีใหม่ หรือพิธีกรรมทางศาสนา ซึ่งอุตสาหกรรมข้าวอบกรอบแบบมีมูลค่าสูงในตลาดญี่ปุ่นและตลาดโลก โดยมีการส่งออกไปยังหลายประเทศการผลิตแบบสนับสนุนการใช้ข้าว ซึ่งช่วยส่งเสริมการเกษตรในประเทศ และรักษาความมั่นคงทางอาหาร ผลิตภัณฑ์ขนมข้าวอบกรอบญี่ปุ่นมีความหลากหลายในรสชาติ เช่น รสโชยุ (ซอสถั่วเหลือง), รสสาหร่าย และรสหวาน ทำให้เป็นที่นิยมในกลุ่มผู้บริโภคหลากหลายในระดับสากล นอกจากนี้ ข้าวอบกรอบยังมีคุณค่าทางโภชนาการที่ดี เนื่องจากส่วนใหญ่ปรุงด้วยวิธีการอบแทนการทอด ทำให้มีไขมันต่ำและแคลอรีต่ำ เหมาะกับผู้บริโภคที่ใส่ใจสุขภาพ (JTB Group, 2024) ซึ่งการพัฒนาผลิตภัณฑ์ขนมข้าวอบกรอบญี่ปุ่นผสมเศษร่วนแมคคาเดเมียเป็นการสร้างมูลค่าเพิ่มให้กับผลิตภัณฑ์ คุณค่าทางโภชนาการและเพิ่มรสสัมผัสและเอกลักษณ์ให้กับผลิตภัณฑ์ นอกจากนี้การใช้เศษร่วนมะคาเดเมียยังเป็นการส่งเสริมแนวทางการพัฒนาอย่างยั่งยืน ด้วยการใช้ทรัพยากรอย่างคุ้มค่า

จากปัญหาข้างต้น ผู้วิจัยจึงต้องการที่จะแก้ไขปัญหาด้านเศษร่วนของแมคคาเดเมียให้เป็นผลิตภัณฑ์ข้าวอบกรอบญี่ปุ่น เพื่อให้ผลิตภัณฑ์จากแมคคาเดเมียเป็นผลิตภัณฑ์ใหม่ของจังหวัดเชียงราย อีกทั้งแมคคาเดเมียมีคุณค่าทางโภชนาการสูง

โดยมีกรดไขมันไม่อิ่มตัวที่ช่วยลดความเสี่ยงต่อโรคหัวใจ ซึ่งเป็นการแก้ไขปัญหของเสียจากกระบวนการผลิตและพัฒนาให้เป็นผลิตภัณฑ์ใหม่ หรือเป็นผลิตภัณฑ์ข้าวอบกรอบญี่ปุ่นที่มีคุณภาพ สามารถสร้างรายได้ให้กับธุรกิจ และกระจายรายได้สู่เกษตรกร และประชาชนในพื้นที่บ้านดอยช้างได้ อีกทั้งยังสามารถเป็นผลิตภัณฑ์ข้าวอบกรอบญี่ปุ่นที่ตอบโจทย์ผู้บริโภค และเป็นวิธีเพิ่มมูลค่าผลิตภัณฑ์

## วัตถุประสงค์ของการวิจัย

1. เพื่อศึกษาศึกษาองค์ประกอบทางเคมี และสมบัติทางกายภาพของเศษส่วนแมคคาเดเมียอบแห้ง
2. เพื่อศึกษาผลของอุณหภูมิอบแห้งและปริมาณเศษส่วนแมคคาเดเมียที่มีต่อคุณลักษณะของผลิตภัณฑ์ผลิตภัณฑ์ข้าวอบกรอบญี่ปุ่นผสมเศษส่วนแมคคาเดเมีย
3. เพื่อวิเคราะห์คุณค่าทางโภชนาการของผลิตภัณฑ์ข้าวอบกรอบญี่ปุ่นผสมเศษส่วนแมคคาเดเมีย

## วิธีการทดลอง

### 1. ศึกษาองค์ประกอบทางเคมี และสมบัติทางกายภาพของเศษส่วนแมคคาเดเมียอบแห้ง

นำเศษส่วนแมคคาเดเมียที่ได้จากกระบวนการกะเทาะเปลือก ใส่ถาดอะลูมิเนียม ถาดละ 500 กรัม ขนาดถาด 10x10x1.5 นิ้ว เกลี่ยให้มีความหนาไม่เกิน 2 เซนติเมตร นำเข้าอบด้วยเครื่องอบแห้งแบบถาด ใช้อุณหภูมิอบแห้ง 3 ระดับคือ 50, 60 และ 70 °C เป็นเวลา 8 ชั่วโมง จากนั้นบดให้ละเอียดด้วยเครื่องบดของแห้ง ร่อนผ่านตะแกรงขนาด 80 เมช บรรจุในถุงพลาสติกปิดสนิท ปริมาณถุงละ 500 กรัม เก็บไว้ที่อุณหภูมิ 5 °C ก่อนนำไปผลิตข้าวอบกรอบญี่ปุ่นผสมเศษส่วนแมคคาเดเมีย

ศึกษาคุณภาพทางด้านเคมีของเศษส่วนแมคคาเดเมียอบแห้งได้แก่ ค่าความชื้น ด้านกายภาพ ได้แก่ ค่าสี ( $L^*$ ,  $a^*$  และ  $b^*$ ) ความสามารถในการดูดซึมน้ำ และค่าวอเตอร์แอกติวิตี ( $a_w$ ) ดังรายละเอียดการวิเคราะห์ดังนี้

- ปริมาณความชื้น ด้วยเครื่อง Moisture analyzer (Sartorius รุ่น MA 45) ใส่ตัวอย่าง 10 กรัม ใส่ลงถาดอะลูมิเนียมที่ผ่านการอบแล้ว ปิดฝาเครื่อง อุณหภูมิเครื่องจะเพิ่มขึ้น จนถึง 105 °C รอจนเครื่องวัดค่าเสร็จ แล้วอ่านผลที่ได้ ทำการวิเคราะห์ตัวอย่างละ 3 ซ้ำค่าความชื้น (AOAC, 2000)

- ค่าสีระบบ CEI  $L^*$ ,  $a^*$  และ  $b^*$  ด้วยเครื่องวัดค่าสีรุ่น Color flex 45/0, Hunter lab, USA. โดยค่าความสว่าง ( $L^*$ ) (ค่า 0-100 โดย 0 หมายถึง วัดดูสีเข้ม, 100 หมายถึง วัดดูสีอ่อน) ค่าสี  $a^*$  คือวัดดูสีแดง (+) วัดดูสีเขียว (-) และค่าสี  $b^*$  คือวัดดูสีเหลือง (+) วัดดูน้ำเงิน (-) (CIE, 1986)

- ปริมาณน้ำอิสระ ( $a_w$ ) ด้วยเครื่อง Aqua lab Model series 4TE, USA ตักตัวอย่างใส่ในตลับตัวอย่างประมาณ 1/2 ของตลับ ทำการวัดที่อุณหภูมิวิเคราะห์ 25 °C รอจนเครื่องวัดค่าเสร็จ แล้วอ่านผลที่ได้ ทำการวิเคราะห์ตัวอย่างละ 3 ซ้ำ (AOAC, 2000)

### 2. ศึกษาผลของอุณหภูมิอบแห้งและปริมาณเศษส่วนแมคคาเดเมียที่มีต่อคุณลักษณะของผลิตภัณฑ์ผลิตภัณฑ์ข้าวอบกรอบญี่ปุ่นผสมเศษส่วนแมคคาเดเมีย

วัตถุดิบที่ใช้ในการผลิตผลิตภัณฑ์ข้าวอบกรอบญี่ปุ่นโดยดัดแปลงสูตรและวิธีการผลิตจาก Japan centre group Ltd. (2022) โดยนำเศษส่วนแมคคาเดเมียจากข้อ 1 ทำการศึกษาปัจจัยในการผลิตได้แก่ อุณหภูมิอบแห้ง 3 ระดับ คือ 50, 60 และ 70 °C และปริมาณเศษส่วนแมคคาเดเมีย 20%, 30% และ 40% ของน้ำหนักแป้งข้าวเหนียว ได้สิ่งทดลอง 9 สิ่งทดลอง โดยให้ส่วนผสมอื่นคงที่ดัง Table 1 โดยมีขั้นตอนการผลิตด้วยการนำมอลโทเดกซ์ทริน เกลือ น้ำมันรำข้าว และน้ำสะอาด คนผสมละลายให้เข้ากัน ผสมแป้งข้าวเหนียว ข้าวญี่ปุ่นนึ่งสุก ใส่ส่วนผสมน้ำสะอาดขนาดให้เข้ากันด้วยเครื่องผสมจนกระทั่งส่วนผสมเข้ากันเป็นเวลา 5 นาที ใส่เศษส่วนแมคคาเดเมียอบแห้งที่เตรียมไว้ นวดให้เข้ากันอีกครั้ง เป็นเวลา 5 นาที จากนั้นพักก้อนโด เป็นเวลา 15 นาที แบ่งเป็นก้อน ก้อนละ 4 กรัม กดให้เป็นแผ่นขนาดเส้นผ่านศูนย์กลาง 4 เซนติเมตร จัดเรียงในถาดเข้าอบที่อุณหภูมิ 170 °C เป็นเวลา 8 นาที จากนั้นพลิกกลับด้านอบต่ออีก 7 นาที จากนั้นพักไว้บนตะแกรงให้เย็น

**Table 1** Ingredients for the ratio of macadamia nut crumb to glutinous rice flour and the drying temperature of macadamia nut crumb as the main factors.

| Formula | Drying temperature (°C) | MNC (%/gram) | glutinous rice flour (gram) | Cooked Japanese rice (gram) | Rice barn oil (gram) | Water (gram) | Maltodextrin (gram) | Salt (gram) |
|---------|-------------------------|--------------|-----------------------------|-----------------------------|----------------------|--------------|---------------------|-------------|
| 1       | 50                      | 20 (90)      | 300                         | 150                         | 25                   | 300          | 50                  | 5           |
| 2       |                         | 30 (135)     | 300                         | 150                         | 25                   | 300          | 50                  | 5           |
| 3       |                         | 40 (180)     | 300                         | 150                         | 25                   | 300          | 50                  | 5           |
| 4       | 60                      | 20 (90)      | 300                         | 150                         | 25                   | 300          | 50                  | 5           |
| 5       |                         | 30 (135)     | 300                         | 150                         | 25                   | 300          | 50                  | 5           |
| 6       |                         | 40 (180)     | 300                         | 150                         | 25                   | 300          | 50                  | 5           |
| 7       | 70                      | 20 (90)      | 300                         | 150                         | 25                   | 300          | 50                  | 5           |
| 8       |                         | 30 (135)     | 300                         | 150                         | 25                   | 300          | 50                  | 5           |
| 9       |                         | 40 (180)     | 300                         | 150                         | 25                   | 300          | 50                  | 5           |

### 3. ศึกษาคุณสมบัติทางกายภาพ และเคมีของผลิตภัณฑ์ข้าวอบกรอบญี่ปุ่นผสมเศษร่วนแมคคาเดเมียอบแห้ง

ศึกษาคุณภาพทางด้านเคมีของผลิตภัณฑ์ข้าวอบกรอบญี่ปุ่นผสมเศษร่วนแมคคาเดเมียอบแห้งได้แก่ ค่าความชื้น ด้านกายภาพได้แก่ ค่าสี ( $L^*$ ,  $a^*$  และ  $b^*$ ) เนื้อสัมผัส และค่าวอเตอร์แอกติวิตี ( $a_w$ ) รายละเอียดการวิเคราะห์ดังนี้

- ปริมาณความชื้น ด้วยเครื่อง Moisture analyzer (Sartorius รุ่น MA 45) ใส่ตัวอย่าง 10 กรัม ใส่ลงภาชนะลุ่มนิ่มที่ผ่านการอบแล้ว ปิดฝาเครื่อง อุณหภูมิเครื่องจะเพิ่มขึ้น จนถึง 105 °C รอจนเครื่องวัดค่าเสร็จ แล้วอ่านผลที่ได้ ทำการวิเคราะห์ตัวอย่างละ 3 ซ้ำค่าความชื้น (AOAC, 2000)

- ค่าสีด้วย ระบบ CEI  $L^*$ ,  $a^*$  และ  $b^*$  ด้วยเครื่องวัดค่าสีรุ่น Color flex 45/0, Hunter lab, USA. โดยค่าความสว่าง ( $L^*$ ) (ค่า 0-100 โดย 0 หมายถึง วัตถุสีเข้ม, 100 หมายถึง วัตถุสีอ่อน) ค่าสี  $a^*$  คือวัตถุสีแดง (+) วัตถุสีเขียว (-) และค่าสี  $b^*$  คือวัตถุสีเหลือง (+) วัตถุน้ำเงิน (-) (CIE, 1986)

- เนื้อสัมผัสของขนมอบกรอบญี่ปุ่นด้วยเครื่องวัดลักษณะเนื้อสัมผัส (Texture analyzer) ด้านความแข็ง (Hardness) และความสามารถแตกกระจาย (Fracturability) วัดค่าตัวอย่างทั้งหมด 10 ซ้ำ โดยวัดทั้งชิ้นที่จุดกึ่งกลางของชิ้นขนม (Bourne, 2002)

- ปริมาณน้ำอิสระ ( $a_w$ ) ด้วยเครื่อง Aqua lab Model series 4TE, USA ตักตัวอย่างใส่ในตลับตัวอย่างประมาณ 1/2 ของตลับ ทำการวัดที่อุณหภูมิวิเคราะห์ 25 °C รอจนเครื่องวัดค่าเสร็จ แล้วอ่านผลที่ได้ ทำการวิเคราะห์ตัวอย่างละ 3 ซ้ำ (AOAC, 2000)

### 4. การทดสอบคุณภาพทางประสาทสัมผัสผลิตภัณฑ์ข้าวอบกรอบญี่ปุ่นผสมเศษร่วนแมคคาเดเมียอบแห้ง

นำผลิตภัณฑ์ข้าวอบกรอบญี่ปุ่นผสมเศษร่วนแมคคาเดเมียอบแห้งทดสอบคุณภาพทางประสาทสัมผัสด้านคุณลักษณะปรากฏ สี กลิ่น รสชาติ ความแข็ง และความชอบโดยรวม ด้วยวิธี 9-Point hedonic scale ใช้ผู้ทดสอบที่ไม่ผ่านการฝึกฝนจำนวน 100 คน ซึ่งเป็นนักศึกษาที่ไม่มีประวัติการแพ้ถั่วและกลูเตน ตัวอย่างผลิตภัณฑ์ปริมาณ 5 กรัม/ตัวอย่าง เสิร์ฟครั้งละ 3 ตัวอย่าง/รอบ รวมทั้งหมด 3 รอบจนครบ 9 ตัวอย่าง โดยใช้แผนการทดลองแบบสุ่มไม่บล็อกสมบูรณ์ Randomized Complete Block Design (RCBD)

### 5. การวิเคราะห์คุณค่าทางโภชนาการของผลิตภัณฑ์ข้าวอบกรอบญี่ปุ่นผสมเศษร่วนแมคคาเดเมียอบแห้ง

นำผลิตภัณฑ์ข้าวอบกรอบญี่ปุ่นผสมเศษร่วนแมคคาเดเมียอบแห้งวิเคราะห์คุณค่าทางโภชนาการจากศูนย์บริการห้องปฏิบัติการอุตสาหกรรม สถาบันอาหาร ตามวิธีการส่งวิเคราะห์ตามห้องปฏิบัติการกำหนด วิเคราะห์ทั้งหมด 9 รายการ ประกอบด้วย พลังงานทั้งหมด พลังงานจากไขมัน ไขมันอิ่มตัว คอลเลสเตอรอล โปรตีน คาร์โบไฮเดรต น้ำตาล โซเดียม โพแทสเซียม

### 6. การวิเคราะห์ข้อมูลทางสถิติ

การศึกษาค้นคว้าประกอบทางเคมี และสมบัติทางกายภาพของเศษร่วนแมคคาเดเมียอบแห้งวางแผนการทดลองแบบ Completely randomized design (CRD) เปรียบเทียบค่าเฉลี่ยด้วยวิธี Tukey's multiple comparison test ทำการทดลอง 3 ซ้ำ เปรียบเทียบค่าเฉลี่ยส่วนเบี่ยงเบนมาตรฐาน

ที่ระดับความเชื่อมั่น 95%

การศึกษาศักยภาพทางกายภาพของผลิตภัณฑ์ข้าวอบกรอบญี่ปุ่นผสมเศษส่วนแมคคาเดเมีย และการทดสอบคุณภาพทางประสาทสัมผัสของผลิตภัณฑ์ข้าวอบกรอบญี่ปุ่นผสมเศษส่วนแมคคาเดเมียอบแห้งวางแผนการทดลองแบบแฟคทอเรียล 3x3 โดยมี ปัจจัยอุณหภูมิ 50, 60, และ 70°C และปริมาณเศษส่วนแมคคาเดเมีย 20%, 30%, และ 40%

การศึกษาศักยภาพทางกายภาพของผลิตภัณฑ์ข้าวอบกรอบญี่ปุ่นผสมเศษส่วนแมคคาเดเมียวางแผนการทดลองแบบ Completely Randomized Design (CRD) ทำการทดลอง 3 ซ้ำวิเคราะห์ความแตกต่างของค่าเฉลี่ยโดยใช้ การวิเคราะห์ความแปรปรวนสองทาง (Two-way ANOVA) และเปรียบเทียบค่าเฉลี่ยด้วย Tukey's multiple comparison test ที่ระดับความเชื่อมั่น 95%

การทดสอบคุณภาพทางประสาทสัมผัสโดยวางแผนการทดลองแบบ Randomized complete block design (RCBD) วิเคราะห์ผลด้วย Two-way ANOVA เพื่อตรวจสอบ ผลกระทบหลัก (Main Effects) และผลกระทบร่วม (Interaction Effect) เปรียบเทียบค่าเฉลี่ยโดยใช้ Duncan's New Multiple Range Test (DMRT) ที่ระดับความเชื่อมั่น 95% โดยใช้โปรแกรมคอมพิวเตอร์ IBM SPSS statistics 29

## ผลการทดลองและอภิปรายผล

### 1. ผลศึกษาองค์ประกอบทางเคมี และสมบัติทางกายภาพของเศษส่วนแมคคาเดเมียอบแห้ง

ผลการศึกษาองค์ประกอบทางเคมี และสมบัติทางกายภาพของเศษส่วนแมคคาเดเมียอบแห้ง ผลการวิเคราะห์ดัง Table 2 จากผลการศึกษาพบว่าเศษส่วนแมคคาเดเมียอบแห้งอุณหภูมิ 50, 60 และ 70 °C มีค่าสี ด้านค่าความสว่าง ( $L^*$ ) ลดลงอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ( $p \leq 0.05$ ) โดยมีค่าเฉลี่ยที่ 56.66 ที่ 50°C, 53.26 ที่ 60°C และ 50.58 ที่ 70°C แสดงถึงความสามารถในค่าความสว่างที่ดีเมื่ออบแห้งที่อุณหภูมิต่ำกว่า เศษส่วนแมคคาเดเมียอบแห้งที่อุณหภูมิ 60 °C ค่า  $L^*$  ลดลง 53.26 ซึ่งแสดงให้เห็นถึงการเกิดปฏิกิริยา Maillard Reaction และการเปลี่ยนแปลงทางกายภาพในโครงสร้างของเศษส่วนแมคคาเดเมียที่อาจเริ่มมีความเข้มของสีเพิ่มขึ้น และกว่า เศษส่วนแมคคาเดเมียอบแห้งที่อุณหภูมิ 70 °C ค่า  $L^*$  ลดลงต่อ 50.58 ซึ่งแสดงให้เห็นว่าการใช้อุณหภูมิสูงในอบแห้งเศษส่วนแมคคาเดเมียทำให้เกิดปฏิกิริยาเคมีและการเสื่อมสภาพของโปรตีนหรือสารอินทรีย์อื่น ๆ ส่งผลให้ค่าความสว่างลดลงชัดเจน ค่าความเป็นสีแดง ( $a^*$ ) มีแนวโน้มลดลงอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ( $p \leq 0.05$ ) เมื่อใช้อุณหภูมิการอบ

เพิ่มขึ้น โดยเฉลี่ยอยู่ที่ -1.39 ที่ 50°C, -1.51 ที่ 60°C และ -1.81 ที่ 70°C แสดงถึงความเข้มของสีแดงที่ต่ำที่สุดเมื่อเปรียบเทียบกับอุณหภูมิอื่น ๆ เศษส่วนแมคคาเดเมียอบแห้งที่อุณหภูมิ 60 °C ค่า  $a^*$  ลดลงเล็กน้อยเป็น -1.51 แสดงถึงการเพิ่มขึ้นของความเข้มของสีแดงเล็กน้อย และเศษส่วนแมคคาเดเมียอบแห้งที่อุณหภูมิ 70 °C ค่า  $a^*$  ลดลงต่อไปเป็น -1.8 แสดงถึงการเพิ่มขึ้นของความเข้มของสีแดงอย่างชัดเจน และค่าความเป็นสีเหลือง ( $b^*$ ) เพิ่มขึ้นตามอุณหภูมิที่เพิ่มขึ้น อย่างมีนัยสำคัญ ( $p \leq 0.05$ ) โดยมีค่าเฉลี่ยที่ 7.77, 8.72 และ 9.42 สำหรับอุณหภูมิอบแห้ง 50, 60 และ 70 °C ตามลำดับ แสดงถึงความเข้มของสีเหลืองที่ต่ำที่สุดเมื่อเปรียบเทียบกับการอบเศษส่วนแมคคาเดเมียที่อุณหภูมิ 60 และ 70 °C ทั้งสองอุณหภูมิความเข้มของสีเหลืองจะเพิ่มขึ้นซึ่งเกิดจากการเปลี่ยนแปลงสีของอาหารเมื่อได้รับความร้อนสูงขึ้น ซึ่งอาจเกิดจากปฏิกิริยา Maillard และ Caramelization ที่ทำให้สีของผลิตภัณฑ์เพิ่มขึ้น ซึ่งอุณหภูมิในการอบเศษส่วนแมคคาเดเมียไม่เท่ากัน แต่ระยะเวลาในการอบเท่ากัน ส่งผลให้ค่าสีที่แตกต่างกัน เกิดจากปฏิกิริยาน้ำตาลในระหว่างการอบเนื่องจากที่อุณหภูมิที่สูงส่งผลให้เกิดการเร่งปฏิกิริยา Maillard สอดคล้องกับการศึกษาของ Pankaew *et al.*, (2016) ศึกษาการอบแห้งถั่วแมคคาเดเมียและพบว่าอุณหภูมิอบแห้งที่สูงขึ้นส่งผลให้ค่าความสว่างลดลง เนื่องจากการเกิดปฏิกิริยา Maillard และการเสื่อมสภาพของสารประกอบทางเคมี จากการเกิดปฏิกิริยาน้ำตาลที่เป็นกระบวนการไฮโดรไลซิสที่ทำให้ลดปริมาณน้ำตาลกลูโคสและฟรุกโตส ส่งผลให้น้ำตาลซูโครสเพิ่มขึ้น ดังนั้นสีของเศษส่วนแมคคาเดเมียอบแห้งที่อุณหภูมิ 70 °C มีสีเข้มกว่าเศษส่วนแมคคาเดเมียอบแห้งที่อุณหภูมิ 50 และ 60 °C สอดคล้องกับ Wall and Gentry (2007) ได้ศึกษาผลของปริมาณน้ำตาลที่มีอยู่ในแมคคาเดเมียมีผลต่อสีของผลิตภัณฑ์แมคคาเดเมียคั่วแห้งซึ่งพบว่า น้ำตาลกลูโคสและน้ำตาลฟรุกโตสที่มีอยู่ในเมล็ดแมคคาเดเมียสดเมื่อทำการคั่วที่อุณหภูมิ 125 °C เป็นเวลา 30 นาที แคนซี้ เครื่องเงิน และคณะ (2565) ในการศึกษาผลของพลังงานอินฟราเรดและเวลาที่ใช้ในการอบต่อคุณภาพด้านกายภาพเคมีและประสาทสัมผัสของแมคคาเดเมียอบ พบว่าในการทำแห้งและคั่วแมคคาเดเมียจะเกิดปฏิกิริยาน้ำตาลเกิดจากการลดของน้ำตาลกลูโคสและฟรุกโตสและจะทำให้มีน้ำตาลซูโครสเพิ่มขึ้นดังนั้นสีของผลิตภัณฑ์แมคคาเดเมียภายในเมล็ดแห้งจึงเข้มกว่าเมล็ดสดเล็กน้อย อีกทั้งแมคคาเดเมียเป็นถั่วที่มีปริมาณไขมันสูง โดยเฉพาะกรดไขมันไม่อิ่มตัวที่สามารถเกิดปฏิกิริยาปฏิกิริยา Oxidation ได้ง่ายในสภาวะที่มีอุณหภูมิสูง (Buthelezi *et al.*, 2021) เมื่อกระบวนการอบแห้งดำเนินไป ไขมันอาจเกิดออกซิเดชันทำให้เกิดสารประกอบ

คาร์บอนิล ซึ่งเป็นตัวการสำคัญที่ทำให้สีของผลิตภัณฑ์เข้มขึ้น และอาจมีผลต่อการลดค่า  $L^*$  และการสลายตัวของรงควัตถุธรรมชาติ (Pigment degradation) รงควัตถุที่พบในแมคคาเดเมีย สามารถเสื่อมสลายได้เมื่อได้รับความร้อนสูง ส่งผลให้ค่าสี  $a^*$  ลดลง และ  $b^*$  เพิ่มขึ้น กระบวนการนี้เป็นผลจากการเปลี่ยนแปลงของโครงสร้างโมเลกุลเมื่อสัมผัสกับอุณหภูมิสูง (Vu *et al.*, 2020) และผลกระทบจากค่า  $a_w$  ที่ลดลงแสดงให้เห็นว่าการอบแห้งที่อุณหภูมิสูงช่วยลดปริมาณน้ำ ทำให้เกิดปฏิกิริยาทางเคมีที่ส่งผลต่อค่าสี โดยเฉพาะปฏิกิริยา Maillard ที่มักเกิดขึ้นได้ดีในช่วงค่า  $a_w$  0.2-0.7 ซึ่งช่วยเร่งการเกิดสารประกอบที่ทำให้ผลิตภัณฑ์มีสีเข้มขึ้น (Zhou & Langrish, 2022)

ค่าวอเตอร์แอคทีวิตี ( $a_w$ ) พบว่าเศษส่วนแมคคาเดเมียอบแห้งที่อุณหภูมิ 50 °C ต่างอย่างมีนัยสำคัญที่อุณหภูมิ 60 และ 70 °C ( $p \leq 0.05$ ) โดยมีค่าอยู่ในช่วง 0.48–0.55 ซึ่ง  $a_w$  ของเศษส่วนแมคคาเดเมียทั้ง 3 อุณหภูมิมีค่าความชื้นต่ำกว่า 0.6 ซึ่งสามารถยับยั้งการเกิดปฏิกิริยาชีวเคมีและการเจริญเติบโตของจุลินทรีย์ โดยการเจริญเติบโตของเชื้อจุลินทรีย์ทุกชนิดจะหยุดการเจริญเมื่อมีค่า  $a_w$  หรือเท่า 0.6 หรือต่ำกว่า ซึ่งค่า  $a_w$  เป็นปัจจัยสำคัญที่สุดที่มีอิทธิพลอย่างมากต่อคุณภาพและการเสื่อมเสียของผลิตภัณฑ์อาหาร หากพิจารณา  $a_w$  ที่สูงที่สุดคือ 0.55 ซึ่งใกล้เคียงกับค่า 0.6 หากค่า  $a_w$  ของเศษส่วนแมคคาเดเมีย สูงขึ้นจนถึง 0.6 อาจเกิดผลกระทบต่อความเสื่อมเสียของผลิตภัณฑ์ การเสื่อมเสียของตัวอย่างจากการเกิดออกซิเดชันของไขมัน (Lipid oxidation) เนื่องจากแมคคาเดเมียเป็นถั่วที่มีไขมันสูง โดยเฉพาะกรดไขมันไม่อิ่มตัวซึ่งมีความไวต่อออกซิเดชัน หากค่า

$a_w$  สูงถึง 0.6 จะมีน้ำเพียงพอให้เกิดปฏิกิริยาทางเคมี เช่น การเกิดออกซิเดชันของไขมัน ซึ่งทำให้เกิดกลิ่นหืน (Rancidity) และรสชาติที่ไม่พึงประสงค์ (Vu, 2019) และส่งผลต่อการดูดซับความชื้น (Moisture absorption) และการเสียเนื้อสัมผัส ซึ่งหากผลิตภัณฑ์ดูดซับความชื้นจากอากาศ จะอาจส่งผลต่อเนื้อสัมผัสของผลิตภัณฑ์ เช่น ความกรอบลดลง ผลิตภัณฑ์ที่ผ่านการอบแห้งต้องการค่าความชื้นต่ำ (<0.5) เพื่อรักษาความกรอบ แต่ที่ค่า  $a_w$  0.6 อาจทำให้เกิดการคืนตัวของน้ำ ทำให้ผลิตภัณฑ์สูญเสียความกรอบและกลายเป็นเหนียวหรืออ่อนตัว การเปลี่ยนแปลงโครงสร้างอาหารบางชนิด เช่น ผงอาหาร อาจจับตัวเป็นก้อน (Caking) ซึ่งส่งผลต่ออายุการเก็บรักษาและความสามารถในการละลายน้ำของผลิตภัณฑ์ (Leistner & Rahman, 2022) นอกจากนี้ค่าความชื้น พบว่าการเพิ่มอุณหภูมิอบแห้งทำให้ค่าความชื้นในเศษส่วนแมคคาเดเมียลดลงอย่างมีนัยสำคัญ ( $p \leq 0.05$ ) โดยค่าเฉลี่ยของค่าความชื้นที่แตกต่างกันระหว่างอุณหภูมิ 50, 60 และ 70 °C แสดงถึงแนวโน้มว่าค่า  $a_w$  ลดลงตามการเพิ่มขึ้นของอุณหภูมิอบแห้ง ซึ่งสอดคล้องกับหลักการของการลดความชื้นในอาหารด้วยความร้อน อีกทั้งค่าความชื้นลดลงเมื่ออุณหภูมิการอบเพิ่มขึ้น แสดงถึงการสูญเสียน้ำที่มากขึ้น สอดคล้องกับงานวิจัยของ วศินวีโรตม์ เนติศักดิ์ (2565) ที่พบว่าการอบแห้งที่อุณหภูมิสูงทำให้ความชื้นลดลง ซึ่งแสดงให้เห็นว่าอุณหภูมิที่สูงขึ้นทำให้ค่า  $a_w$  และค่าความชื้นลดลง และ Lue and Giau (2014) ศึกษาการอบแห้งของถั่วชนิดต่างๆ ที่อุณหภูมิที่แตกต่างกันเพื่อวิเคราะห์ค่าความชื้น โดยผลการวิจัยแสดงให้เห็นว่าอุณหภูมิที่สูงขึ้นจะทำให้ความชื้นของตัวอย่างลดลงอย่างมีนัยสำคัญ

**Table 2** Physical and chemical properties of drying MNC at temperatures of 50, 60, and 70 °C

| Physical and chemical properties | Drying temperature (°C)  |                          |                          |
|----------------------------------|--------------------------|--------------------------|--------------------------|
|                                  | 50                       | 60                       | 70                       |
| <b>Colour</b>                    |                          |                          |                          |
| $L^*$                            | 56.66 <sup>a</sup> ±2.73 | 53.26 <sup>b</sup> ±4.60 | 50.58 <sup>a</sup> ±2.46 |
| $a^*$                            | -1.39 <sup>c</sup> ±0.21 | -1.51 <sup>b</sup> ±0.22 | -1.81 <sup>a</sup> ±0.19 |
| $b^*$                            | 7.77 <sup>a</sup> ±1.26  | 8.72 <sup>b</sup> ±1.41  | 9.42 <sup>c</sup> ±0.13  |
| Water activity ( $a_w$ )         | 0.55 <sup>b</sup> ±0.01  | 0.49 <sup>a</sup> ±0.03  | 0.48 <sup>a</sup> ±0.01  |
| Moisture (%wet basis)            | 3.41 <sup>b</sup> ±0.83  | 2.94 <sup>a</sup> ±0.40  | 2.51 <sup>b</sup> ±0.35  |

N.B.: Different letters within a row indicate differences determined by Duncan's new multiple range test (DMRT) at the 95 percent level of significance ( $p \leq 0.05$ )

<sup>ns</sup> = Non-significant ( $p > 0.05$ )

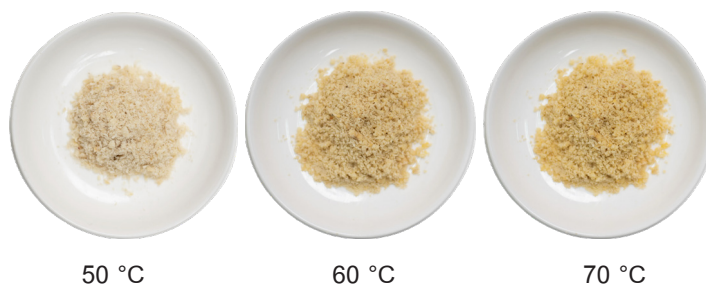


Figure 1 Macadamia nut crumb

## 2. ผลการศึกษาผลของอุณหภูมิอบแห้งและปริมาณเศษร่วนแมคคาเดเมียที่มีต่อคุณสมบัติทางกายภาพ และเคมีของของผลิตภัณฑ์ผลิตภัณฑ์ข้าวอบกรอบญี่ปุ่นผสมเศษร่วนแมคคาเดเมีย

จากการศึกษาผลของอุณหภูมิอบแห้งและปริมาณเศษร่วนแมคคาเดเมียที่มีต่อค่าสีของผลิตภัณฑ์ข้าวอบกรอบญี่ปุ่นผสมเศษร่วนแมคคาเดเมียอบแห้งที่อุณหภูมิ 50, 60 และ 70 °C ในปริมาณ 20%, 30% และ 40% ของน้ำหนักแป้งข้าวเหนียว พบว่าค่าความสว่าง ( $L^*$ ) มีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ( $p \leq 0.05$ ) โดยเมื่อใช้เศษร่วนแมคคาเดเมียอบแห้งอุณหภูมิ 70 °C ค่า  $L^*$  จะลดลง ตามอุณหภูมิในการอบแห้งสูงขึ้น แสดงให้เห็นแนวโน้มที่ลดลงเมื่อใช้เศษร่วนแมคคาเดเมียอบแห้งอุณหภูมิ 50, 60 และ 70 °C โดยพบว่าอุณหภูมิที่สูงที่สุดที่ 70 °C มีค่า  $L^*$  ต่ำที่สุด ซึ่งการอบแห้งที่อุณหภูมิสูงมีผลในการทำให้สีของผลิตภัณฑ์เข้มขึ้นเนื่องจากปฏิกิริยา Maillard และ Caramelization ที่เกิดขึ้นในสภาวะความร้อนสูง และพบว่าปริมาณเศษร่วนแมคคาเดเมีย 40% ค่า  $L^*$  มีแนวโน้มลดลงมากกว่าเมื่อเปรียบเทียบกับปริมาณเศษร่วนที่ 20% และ 30% ปริมาณเศษร่วนที่มากขึ้นอาจเพิ่มโอกาสเกิดปฏิกิริยา Maillard เมื่อได้รับความร้อนสูงส่งผลให้สีของผลิตภัณฑ์มีความเข้มมากขึ้นงานวิจัยของ Silva *et al.* (2006) ระบุว่า การเพิ่มปริมาณของสารตั้งต้นที่มีโปรตีนและน้ำตาลสูง เช่น ถั่ว ทำให้สีของผลิตภัณฑ์เข้มขึ้นเมื่อผ่านกระบวนการอบแห้งที่อุณหภูมิสูง และพบว่าการใช้อุณหภูมิอบแห้งเศษร่วนแมคคาเดเมีย 70 °C และปริมาณเศษร่วนแมคคาเดเมีย 40% สีของผลิตภัณฑ์จะเข้มขึ้น

ค่าความเป็นสีแดง ( $a^*$ ) และค่าความเป็นสีเหลือง ( $b^*$ ) มีความแตกต่างกันอย่างไม่มีนัยสำคัญทางสถิติ ( $p > 0.05$ ) โดยค่า  $a^*$  เมื่อใช้อุณหภูมิอบแห้งเศษร่วนแมคคาเดเมียสูงขึ้น ค่า  $a^*$  มีแนวโน้มเพิ่มขึ้นเล็กน้อย โดยเฉพาะที่อุณหภูมิอบแห้ง 70 °C มีค่า  $a^*$  สูงสุดในบางระดับของปริมาณเศษร่วนแมคคาเดเมียในผลิตภัณฑ์ ซึ่งบ่งชี้ว่าการใช้ความร้อนสูงทำให้เกิดปฏิกิริยา Maillard ซึ่งเป็นปฏิกิริยาระหว่างกรดอะมิโนและน้ำตาล ส่งผลให้เม็ดสีแดงน้ำตาลเกิดขึ้น ทำให้ค่าสีแดงเพิ่มขึ้น

การเพิ่มขึ้นของค่า  $a^*$  จึงเป็นผลจากกระบวนการเคมีที่เกิดขึ้นในสภาวะความร้อนสูง ด้านการเพิ่มปริมาณเศษร่วนแมคคาเดเมียของผลิตภัณฑ์มีผลให้ค่า  $a^*$  เพิ่มขึ้นเล็กน้อย สะท้อนถึงความเข้มของสีแดงที่เพิ่มขึ้น ซึ่งอาจเป็นเพราะเศษร่วนแมคคาเดเมียมีส่วนประกอบของโปรตีนและน้ำตาลที่สามารถทำให้เกิดปฏิกิริยา Maillard เมื่อได้รับความร้อน โดยปริมาณเศษร่วนแมคคาเดเมียที่มากขึ้นให้สีแดงมากกว่าในสูตรที่มีปริมาณเศษร่วนแมคคาเดเมียน้อยกว่า และค่าสีเหลือง ( $b^*$ ) มีแนวโน้มเพิ่มขึ้นตามอุณหภูมิอบแห้งที่สูงขึ้น โดยเฉพาะที่อุณหภูมิ 70 °C ค่า  $b^*$  สูงกว่า 50 และ 60 °C ซึ่งการเพิ่มขึ้นของค่า  $b^*$  อาจเกิดจากกระบวนการ Caramelization ของน้ำตาลภายในเศษร่วนแมคคาเดเมีย ซึ่งมักเกิดขึ้นเมื่อได้รับความร้อนสูง การที่ค่า  $b^*$  เพิ่มขึ้นนี้แสดงถึงการเพิ่มความเข้มของสีเหลืองที่เกี่ยวข้องกับปฏิกิริยาทางเคมีในสภาวะที่มีความร้อนสูง และปริมาณเศษร่วนแมคคาเดเมียที่เพิ่มขึ้นทำให้ค่า  $b^*$  สูงขึ้นเช่นกัน โดยสูตรที่มีเศษร่วนแมคคาเดเมีย 40% มีค่า  $b^*$  สูงกว่าสูตรที่มีปริมาณ 20% และ 30% เพราะมีน้ำตาลและกรดอะมิโนในปริมาณที่มากขึ้น ทำให้สามารถเกิดปฏิกิริยา Caramelization และปฏิกิริยา Maillard ได้อย่างเข้มข้นขึ้นในสภาวะอุณหภูมิสูง ผลิตภัณฑ์ที่ได้คือสีเหลืองที่เข้มขึ้นเล็กน้อย

ค่าความแข็ง (Hardness) ของผลิตภัณฑ์ข้าวอบกรอบญี่ปุ่นผสมด้วยเศษร่วนแมคคาเดเมียมีความแตกต่างกันอย่างไม่มีนัยสำคัญทางสถิติ ( $p > 0.05$ ) ระหว่างระดับอุณหภูมิการอบและสัดส่วนการผสมของเศษร่วนแมคคาเดเมีย โดยค่าความแข็งอยู่ในช่วง 20.10 ถึง 22.00 นิวตัน (N) ซึ่งปัจจัยอุณหภูมิอบแห้ง 50, 60 และ 70 °C และปริมาณเศษร่วนแมคคาเดเมีย 20%, 30% และ 40% ไม่ส่งผลให้ค่าความแข็งของ ผลิตภัณฑ์แตกต่างกันอย่างไม่มีนัยสำคัญ เนื่องจากข้าวอบกรอบญี่ปุ่นมีแป้งข้าวเหนียวเป็นองค์ประกอบหลัก ซึ่งแป้งข้าวเหนียวมีโครงสร้างของอะมิโลเพคติน ทำให้เกิดลักษณะเหนียวหนึบและคงตัวหลังการอบ สอดคล้องกับการศึกษาของ Takei *et al.* (2019) พบว่าค่าความแข็งของข้าวอบกรอบได้รับอิทธิพลจากคุณสมบัติทาง Rheological ของแป้งข้าวเหนียวเป็นหลัก และการเปลี่ยนแปลงของความชื้นในแป้ง

จะมีผลต่อโครงสร้างของข้าวอบกรอบมากกว่าการเติมสารเติมแต่งอื่น ๆ นอกจากนี้ การศึกษาของ Udomkun *et al.* (2020) ยังพบว่าการเปลี่ยนแปลงของค่าความแข็งของข้าวอบกรอบขึ้นอยู่กับกระบวนการผลิต เช่น เทคนิคการทอดหรืออบแห้งมากกว่าการปรับเปลี่ยนส่วนผสมเล็กน้อย ดังนั้นการเพิ่มปริมาณเศษร่วนแมคคาเดเมีย 20%-40% ไม่ส่งผลต่อค่าความแข็งของผลิตภัณฑ์

และความสามารถแตกกระจาย (Fracturability) ของผลิตภัณฑ์ข้าวอบกรอบญี่ปุ่นผสมเศษร่วนแมคคาเดเมียมีความแตกต่างอย่างไม่มีนัยสำคัญทางสถิติ ( $p>0.05$ ) ระหว่างอุณหภูมิอบแห้งและปริมาณเศษร่วนแมคคาเดเมียในผลิตภัณฑ์ โดยค่าความสามารถแตกกระจาย อยู่ในช่วงใกล้เคียงกันระหว่าง 20.10 ถึง 22.10 ซึ่งมีแนวโน้มลดลงเล็กน้อย

เมื่อปริมาณเศษร่วนแมคคาเดเมียเพิ่มขึ้น อาจเกิดไขมันและโปรตีนในถั่วช่วยให้โครงสร้างของผลิตภัณฑ์มีความเหนียวแน่นและลดความสามารถแตกกระจายลง สอดคล้องกับการศึกษา Matos *et al.*, (2024) พบว่าโปรตีนจากถั่ว เช่น อัลมอนต์แมคคาเดเมีย และเฮเซลนัท มีความสามารถในการสร้างโครงข่ายโปรตีนที่เหนียวแน่นขึ้น ทำให้ผลิตภัณฑ์มีโครงสร้างที่แข็งแรงขึ้นและลดโอกาสในการแตกหักได้ง่ายขึ้น และโปรตีนไขมันที่มีอยู่ในถั่วเป็นปัจจัยสำคัญที่ช่วยเสริมความเหนียวแน่นของผลิตภัณฑ์ และงานวิจัยของ Sharma *et al.* (2022) ระบุว่าไขมันจากถั่วทำหน้าที่เป็นสารเติมเต็มในโครงสร้างของผลิตภัณฑ์ ส่งผลให้น้ำมันผสมมีความสมดุลและลดการแตกร่วนของผลิตภัณฑ์ที่มีพื้นฐานจากแป้งและธัญพืชดัง Table 3

**Table 3** Physical properties of Japanese rice cracker mixed with macadamia nut crumb.

| Formula | Drying temperature<br>(°C) : MNC (%) | Values                   |                  |                  |                               |                                     |
|---------|--------------------------------------|--------------------------|------------------|------------------|-------------------------------|-------------------------------------|
|         |                                      | L*                       | a* <sup>ns</sup> | b* <sup>ns</sup> | Hardness <sup>ns</sup><br>(N) | Fracturability <sup>ns</sup><br>(G) |
| 1       | 50 (°C) : 20                         | 64.66 <sup>b</sup> ±2.10 | 13.59±3.34       | 32.28±3.83       | 22.00±2.54                    | 22.10±2.65                          |
| 2       | 50 (°C) : 30                         | 63.42 <sup>b</sup> ±1.30 | 14.25±2.89       | 34.32±3.34       | 20.90±2.33                    | 21.90±2.28                          |
| 3       | 50 (°C) : 40                         | 64.24 <sup>b</sup> ±2.17 | 14.16±2.77       | 33.80±2.90       | 21.90±2.08                    | 20.40±2.12                          |
| 4       | 60 (°C) : 20                         | 64.10 <sup>b</sup> ±2.11 | 13.93±5.36       | 33.00±3.77       | 21.50±2.76                    | 21.60±1.96                          |
| 5       | 60 (°C) : 30                         | 64.83 <sup>b</sup> ±2.13 | 13.76±2.45       | 32.38±3.70       | 20.10±1.29                    | 21.20±1.93                          |
| 6       | 60 (°C) : 40                         | 62.21 <sup>b</sup> ±1.46 | 14.80±6.58       | 32.53±3.09       | 21.70±2.10                    | 21.40±2.41                          |
| 7       | 70 (°C) : 20                         | 57.10 <sup>a</sup> ±1.86 | 13.30±3.86       | 35.1±2.38        | 21.80±2.36                    | 21.60±2.88                          |
| 8       | 70 (°C) : 30                         | 56.33 <sup>a</sup> ±1.96 | 14.36±3.19       | 32.99±2.55       | 21.00±2.38                    | 20.40±1.35                          |
| 9       | 70 (°C) : 40                         | 54.52 <sup>a</sup> ±1.44 | 14.32±5.10       | 33.56 ±2.21      | 21.90±2.26                    | 20.10±2.13                          |

N.B.: Different letters within a column indicate differences determined by Duncan's new multiple range test (DMRT) at the 95 percent level of significance ( $p\leq 0.05$ )

<sup>ns</sup> = Non-significant ( $p>0.05$ )

ด้านการวิเคราะห์ผลการแปรปรวนสมบัติทางกายภาพของผลิตภัณฑ์ข้าวอบกรอบญี่ปุ่นผสมเศษร่วนแมคคาเดเมียดัง Table 4 พบว่าอุณหภูมิอบแห้งไม่มีผลกระทบบที่มีนัยสำคัญต่อค่าสี โดยค่า p-value สูงกว่า 0.05 ในทุกตัวแปรด้านค่าสี แสดงว่าอุณหภูมิอบแห้งไม่ส่งผลให้เกิดการเปลี่ยนแปลงของสีที่สามารถตรวจวัดได้อย่างมีนัยสำคัญ ( $p>0.05$ ) แต่มีแนวโน้มอุณหภูมิอบแห้งส่งผลต่อความสามารถแตกกระจายของผลิตภัณฑ์ เนื่องจากค่า p-value ของ Fracturability มีค่าใกล้เคียงนัยสำคัญ ( $p=0.0661$ ) แสดงถึงการเปลี่ยนแปลงของโครงสร้างและเนื้อสัมผัสของผลิตภัณฑ์ ด้านผลกระทบบจากปริมาณเศษร่วนแมคคาเดเมีย พบว่าการเพิ่มปริมาณเศษร่วนแมคคาเดเมียมีผลอย่างมีนัยสำคัญ ( $p\leq 0.05$ ) ต่อค่าความ

สว่าง (L\*) โดยค่า  $p=0.044$  ซึ่งการเพิ่มปริมาณเศษร่วนแมคคาเดเมียอาจส่งผลต่อการกระจายแสงและการสะท้อนของแสงบนพื้นผิวของผลิตภัณฑ์ อาจมาจากปริมาณไขมันในแมคคาเดเมียที่อาจเปลี่ยนแปลงโครงสร้างของพื้นผิวผลิตภัณฑ์ด้านค่าสีแดง (a\*) และสีเหลือง (b\*) ไม่ส่งผลมีนัยสำคัญ ( $p>0.05$ ) เมื่อวิเคราะห์ผลของปฏิสัมพันธ์ระหว่างอุณหภูมิอบแห้งและปริมาณเศษร่วนแมคคาเดเมีย พบว่าไม่มีผลที่มีนัยสำคัญในทุกคุณภาพทางกายภาพ ( $p>0.05$ ) ซึ่งแสดงให้เห็นว่าอุณหภูมิอบแห้งและปริมาณเศษร่วนแมคคาเดเมียไม่ได้มีผลต่อการเปลี่ยนแปลงคุณสมบัติทางกายภาพของผลิตภัณฑ์ แต่ค่าความแข็ง (Hardness) พบว่ามีแนวโน้มที่ค่า p-value จะเข้าใกล้ระดับนัยสำคัญทางสถิติ ( $p = 0.062$ ) อาจวิเคราะห์

ได้ว่าปริมาณเศษร่วนแมคคาเดเมียและอุณหภูมิอบแห้งส่งผลต่อเนื้อสัมผัสของผลิตภัณฑ์ในระดับหนึ่ง ซึ่งสอดคล้องกับงานวิจัยของ Nakamura *et al.* (2020) ที่ระบุว่าปริมาณไขมันและความชื้นของวัตถุดิบมีผลต่อค่าความสว่างและพื้นผิวของ

ผลิตภัณฑ์ โดยเฉพาะอย่างยิ่งในกรณีของผลิตภัณฑ์ที่มีองค์ประกอบของถั่วหรือเมล็ดพืชที่มีไขมัน โดยการเปลี่ยนแปลงของค่าความแข็งและความสามารถแตกกระจายขึ้นอยู่กับกระบวนการผลิตและองค์ประกอบของผลิตภัณฑ์เป็นหลัก

**Table 4** F(p) value of Physical properties of Japanese rice cracker mixed with macadamia nut crumb.

| Source of variation      | L*            | a*           | b*           | Hardness     | Fracturability |
|--------------------------|---------------|--------------|--------------|--------------|----------------|
| Drying temperature       | 1.241(0.295)  | 1.158(0.319) | 0.877(0.420) | 0.569(0.568) | 2.902(0.061)   |
| MNC                      | 3.256*(0.044) | 1.068(0.348) | 0.105(0.901) | 2.872(0.062) | 0.026(0.975)   |
| Drying temperature x MNC | 1.801(0.137)  | 1.277(0.286) | 0.380(0.923) | 2.218(0.074) | 0.218(0.928)   |

\* = Differences were statistically significant ( $p \leq 0.05$ )

### 3. ผลการศึกษาผลของอุณหภูมิอบแห้งและปริมาณเศษร่วนแมคคาเดเมียที่มีต่อผลคุณภาพทางประสาทสัมผัสของผลิตภัณฑ์ผลิตภัณฑ์ข้าวอบกรอบญี่ปุ่นผสมเศษร่วนแมคคาเดเมีย

ผลการทดสอบคุณภาพทางประสาทสัมผัสของผลิตภัณฑ์ข้าวอบกรอบญี่ปุ่นผสมเศษร่วนแมคคาเดเมียด้านลักษณะปรากฏ สี กลิ่น รสชาติ ความแข็ง และความชอบโดยรวม ดัง Table 5 พบว่าปัจจัยที่มีผลต่อคุณภาพทางประสาทสัมผัสของข้าวอบกรอบญี่ปุ่นมากที่สุดคือปริมาณเศษร่วนแมคคาเดเมีย รองลงมาคืออุณหภูมิอบแห้ง ในขณะที่ความแข็งของผลิตภัณฑ์ไม่ได้รับผลกระทบอย่างมีนัยสำคัญจากทั้งสองปัจจัย ด้านลักษณะปรากฏคะแนนอยู่ในช่วง 6.90-7.18 ซึ่งมีความแตกต่างกันอย่างไม่มีนัยสำคัญทางสถิติ ( $p > 0.05$ ) ในด้านสีของผลิตภัณฑ์ พบว่าอุณหภูมิอบแห้งและปริมาณเศษร่วนแมคคาเดเมีย ส่งผลอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ( $p \leq 0.05$ ) โดยสูตรอบแห้งที่  $70^{\circ}\text{C}$  ที่มีปริมาณเศษร่วนแมคคาเดเมีย 50% มีคะแนนสูงสุดที่ 7.10 การใช้อุณหภูมิอบแห้งและปริมาณเศษร่วนช่วยให้สีของผลิตภัณฑ์ ด้านความแข็งของผลิตภัณฑ์ ไม่พบความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ( $p > 0.05$ ) การเปลี่ยนแปลงของอุณหภูมิอบแห้งและปริมาณเศษร่วนไม่ส่งผลต่อเนื้อสัมผัสของผลิตภัณฑ์ และด้านความ

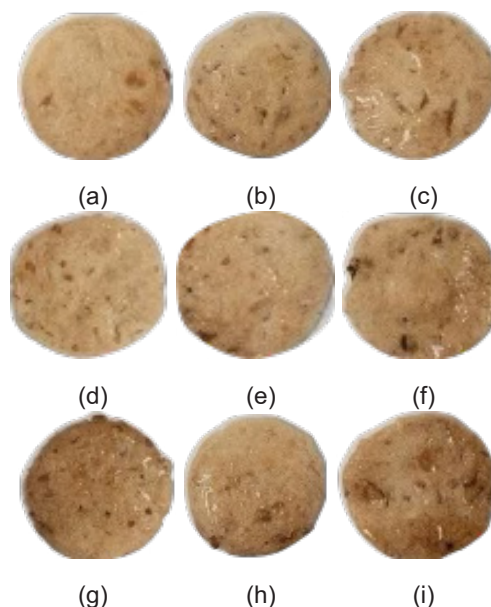
พึงพอใจโดยรวม พบว่าสูตรอบแห้งที่  $70^{\circ}\text{C}$  ที่มีปริมาณเศษร่วน 40% ได้รับคะแนนสูงสุดที่ 7.22 ซึ่งมีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ( $p \leq 0.05$ ) จากสูตรที่มี ปริมาณเศษร่วนในปริมาณ 20% และ 30% ซึ่งปริมาณเศษร่วนมีผลต่อคุณภาพทางประสาทสัมผัส และอุณหภูมิอบแห้งที่สูงขึ้นส่งผลให้ผลิตภัณฑ์มีรสชาติด้านรสชาติดีขึ้น ดังนั้นการใช้เศษร่วนแมคคาเดเมียอบอุณหภูมิ  $70^{\circ}\text{C}$  ช่วยเพิ่มความเข้มของสีเนื่องจากการเกิดปฏิกิริยา Maillard ซึ่งเป็นปฏิกิริยาระหว่างโปรตีนและน้ำตาลที่ทำให้เกิดเม็ดสีที่เข้มขึ้นในผลิตภัณฑ์ ซึ่งปฏิกิริยานี้จะมีอัตราเพิ่มขึ้นเมื่ออุณหภูมิเพิ่มขึ้น โดยเพิ่มเป็น 2-3 เท่าเมื่ออุณหภูมิเพิ่มขึ้น ทุก ๆ  $10^{\circ}\text{C}$  (นิธิยา รัตนพานนท์, 2557) และการเพิ่มปริมาณเศษร่วนแมคคาเดเมีย 40% ส่งผลให้กลิ่นและรสชาติของผลิตภัณฑ์มีความเข้มข้นขึ้น เนื่องจากแมคคาเดเมียมีไขมันและโปรตีนสูง ซึ่งเมื่อผ่านอบแห้งที่อุณหภูมิสูงจะทำให้เกิดกลิ่นหอมเฉพาะตัวและรสชาติที่เข้มข้น สอดคล้องกับ อธิป บุญศิริวิทย์ และนภัทร ศรีธรรมย์ (2561) พบว่าการใช้ถั่วลิสงทดแทนถั่วอัลมอนต์ในผลิตภัณฑ์มาการองทำให้มีกลิ่นรสจำเพาะจากถั่วลิสงในปริมาณมาก ซึ่งการเพิ่มเศษร่วนแมคคาเดเมียช่วยให้คุณภาพทางประสาทสัมผัสโดยรวมของผลิตภัณฑ์ข้าวอบกรอบญี่ปุ่นผสมเศษร่วนแมคคาเดเมียดีขึ้น

**Table 5** Sensory evaluation of Japanese rice cracker with macadamia nut crumb.

| Formula | Drying temperature<br>(°C) : MNC (%) | Liking scores            |                         |                          |                         |                        | Overall accept-<br>ability |
|---------|--------------------------------------|--------------------------|-------------------------|--------------------------|-------------------------|------------------------|----------------------------|
|         |                                      | Appearance <sup>ns</sup> | Colour                  | Odour                    | Taste                   | Hardness <sup>ns</sup> |                            |
| 1       | 50 (°C) : 20                         | 6.90±0.7                 | 6.68 <sup>a</sup> ±0.8  | 6.64 <sup>a</sup> ±0.8   | 6.72 <sup>a</sup> ±0.9  | 7.08±0.9               | 6.84 <sup>a</sup> ±0.8     |
| 2       | 50 (°C) : 30                         | 6.92±0.8                 | 6.88 <sup>ab</sup> ±0.9 | 6.88 <sup>ab</sup> ±0.9  | 7.00 <sup>ab</sup> ±0.8 | 6.98±0.8               | 6.86 <sup>ab</sup> ±0.9    |
| 3       | 50 (°C) : 40                         | 6.96±0.8                 | 6.86 <sup>ab</sup> ±0.8 | 7.10 <sup>bc</sup> ±0.8  | 7.04 <sup>ab</sup> ±0.9 | 6.90±0.9               | 7.08 <sup>ab</sup> ±0.8    |
| 4       | 60 (°C) : 20                         | 6.92±0.8                 | 6.70 <sup>a</sup> ±0.8  | 6.78 <sup>ab</sup> ±0.8  | 6.98 <sup>ab</sup> ±0.9 | 6.98±0.8               | 6.94 <sup>ab</sup> ±0.8    |
| 5       | 60 (°C) : 30                         | 7.00±0.8                 | 6.94 <sup>ab</sup> ±0.9 | 6.94 <sup>abc</sup> ±0.9 | 7.02 <sup>ab</sup> ±0.8 | 6.86±0.8               | 6.90 <sup>ab</sup> ±0.8    |
| 6       | 60 (°C) : 40                         | 7.08±0.8                 | 7.02 <sup>ab</sup> ±0.9 | 7.02 <sup>bc</sup> ±0.8  | 7.24 <sup>b</sup> ±0.8  | 7.18±0.7               | 7.10 <sup>ab</sup> ±0.9    |
| 7       | 70 (°C) : 20                         | 7.00±0.8                 | 6.78 <sup>a</sup> ±0.9  | 6.80 <sup>ab</sup> ±0.9  | 6.96 <sup>ab</sup> ±0.8 | 6.98±0.8               | 6.78 <sup>a</sup> ±0.8     |
| 8       | 70 (°C) : 30                         | 7.14±0.8                 | 7.08 <sup>ab</sup> ±0.8 | 7.00 <sup>abc</sup> ±0.8 | 7.14 <sup>b</sup> ±0.8  | 6.90±0.8               | 6.98 <sup>ab</sup> ±0.8    |
| 9       | 70 (°C) : 40                         | 7.18±0.8                 | 7.10 <sup>b</sup> ±0.8  | 7.22 <sup>c</sup> ±0.8   | 7.28 <sup>b</sup> ±0.8  | 7.16±0.8               | 7.22 <sup>b</sup> ±0.8     |

N.B.: Different letters within a column indicate differences determined by Duncan's new multiple range test (DMRT) at the 95 percent level of significance ( $p \leq 0.05$ )

<sup>ns</sup> = Non-significant ( $p > 0.05$ )

**Figure 2** Japanese rice cracker with macadamia nut crumb.

- (a) JRC-MNC 20% dried at 50 °C (b) JRC-MNC 30% dried at 50 °C (c) JRC-MNC 40% dried at 50 °C  
 (d) JRC- 20% dried at 60 °C (e) JRC-MNC 30% dried at 60 °C (f) JRC-MNC 40% dried at 60 °C  
 (g) JRC-MNC 20% dried at 70 °C (h) JRC-MNC 30% dried at 70 °C (i) JRC-MNC 40% dried at 70 °C

การวิเคราะห์ผลการแปรปรวนการทดสอบคุณภาพทางประสาทสัมผัสของผลิตภัณฑ์ข้าวอบกรอบญี่ปุ่นผสมเศษร่วนแมคคาเดเมียดัง Table 6 พบว่าอุณหภูมิอบแห้งส่งผลอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ( $p \leq 0.05$ ) ต่อคุณภาพทางประสาทสัมผัสลักษณะปรากฏ และรสชาติ แต่ไม่ส่งผลอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ( $p > 0.05$ ) คุณภาพทางประสาทสัมผัสด้านสี กลิ่น ความแข็ง และความชอบโดยรวม โดยปริมาณเศษร่วนแมคคาเดเมียส่งผลอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ( $p \leq 0.05$ )

คุณภาพทางประสาทสัมผัสด้านสี กลิ่น รสชาติ ความแข็ง และความชอบโดยรวม โดยเฉพาะความแตกต่างของสีและกลิ่นที่มีค่าระดับนัยสำคัญสูงสุด ( $p = 0.000$ ) ซึ่งการเพิ่มปริมาณเศษร่วนแมคคาเดเมียส่งผลต่อคุณภาพทางประสาทสัมผัสและกลิ่นของผลิตภัณฑ์ อาจเกิดจากปฏิกิริยาทางเคมีระหว่างน้ำมันในแมคคาเดเมียกับองค์ประกอบของข้าวอบกรอบญี่ปุ่นในระหว่างการอบเมื่อวิเคราะห์ผลของปฏิสัมพันธ์ระหว่างอุณหภูมิอบแห้งและปริมาณเศษร่วนแมคคาเดเมียส่งผล

คุณภาพทางประสาทด้านความแข็ง อย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ( $p=0.048$ ) อาจเกิดจากระดับความชื้นที่ลดลงและองค์ประกอบของไขมันในแมคคาเดเมียที่อาจมีผลต่อเนื้อสัมผัสของผลิตภัณฑ์ สอดคล้องกับงานวิจัยของ Chuyen and Nguyen (2024) ซึ่งพบว่าการเติมน้ำมันแมคคาเดเมียในผลิตภัณฑ์ เบเกอรี่ช่วยเพิ่มความชุ่มชื้นของกลี้นและรสชาติเนื่องจากการเกิดปฏิกิริยาระหว่างไขมันและองค์ประกอบของแป้งในกระบวนการอบ และ Starowicz and Zieliński (2019) ระบุว่าอุณหภูมิการ

อบมีส่งผลต่อการเกิดปฏิกิริยาเมลลาร์ด ซึ่งส่งผลต่อการเปลี่ยนแปลงของสีและรสชาติของผลิตภัณฑ์อาหารประเภทธัญพืช ซึ่งแสดงให้เห็นว่า ปริมาณเศษร่วนแมคคาเดเมียเป็นปัจจัยสำคัญที่มีอิทธิพลต่อคุณภาพทางประสาทสัมผัสของผลิตภัณฑ์ โดยเฉพาะด้านสี กลิ่น รสชาติ และความยอมรับโดยรวม ในขณะที่อุณหภูมิการอบมีผลต่อลักษณะปรากฏและรสชาติของผลิตภัณฑ์

**Table 6** F(p) value of Sensory evaluation of Japanese rice cracker mixed with macadamia nut crumb.

| Source of variation      | Appearance    | Colour         | Odour          | Taste         | Hardness      | Overall acceptability |
|--------------------------|---------------|----------------|----------------|---------------|---------------|-----------------------|
| Drying temperature (°C)  | 4.209*(0.015) | 1.650(0.193)   | 1.650(0.193)   | 4.633*(0.010) | 0.090(0.914)  | 0.571(0.565)          |
| MNC (%)                  | 1.925(0.147)  | 14.522*(0.000) | 14.522*(0.000) | 9.953*(0.000) | 3.291*(0.038) | 9.969*(0.000)         |
| Drying temperature x MNC | 0.169(0.954)  | 0.553(0.697)   | 0.553(0.697)   | 1.809(0.125)  | 2.408*(0.048) | 0.938(0.441)          |

\* = Differences were statistically significant ( $p \leq 0.05$ )

#### 4. ผลการวิเคราะห์คุณค่าทางโภชนาการของผลิตภัณฑ์ข้าวอบกรอบญี่ปุ่นผสมเศษร่วนแมคคาเดเมียอบแห้ง

ผลการวิเคราะห์คุณค่าทางโภชนาการของผลิตภัณฑ์ข้าวอบกรอบญี่ปุ่นผสมเศษร่วนแมคคาเดเมียอบแห้ง 100 กรัม พบว่ามีสารอาหารดังนี้ พลังงานทั้งหมด 475 กิโลแคลอรี ไขมันทั้งหมด 21.8 กรัม ไขมันอิ่มตัว 3.60 กรัม คาร์โบไฮเดรต 63.40 กรัม น้ำตาล 10.2 กรัม โปรตีน 6.2 กรัม โซเดียม 215 มิลลิกรัม โพแทสเซียม 146 มิลลิกรัม และใยอาหาร 3.06 กรัม ทั้งนี้ผลิตภัณฑ์ข้าวอบกรอบญี่ปุ่นผสมเศษร่วนแมคคาเดเมียอบแห้งมีไขมันในปริมาณที่มาก ซึ่งอยู่ในเกณฑ์ของสำนักงานคณะกรรมการอาหารและยา (อย.) ที่กำหนดกำหนดให้บริโภคไขมันอิ่มตัวไม่เกิน 10% ของพลังงานที่ได้รับต่อวัน หรือประมาณ 15-20 กรัมต่อวัน (สำนักโภชนาการ กรมอนามัย กระทรวงสาธารณสุข, 2565) และการเพิ่มปริมาณเพิ่มปริมาณเศษร่วนแมคคาเดเมียอบแห้งในผลิตภัณฑ์ส่งผลให้มีปริมาณไขมันสูง สอดคล้องกับงานวิจัยของ ธนชชา กุญแจทอง และคณะ (2565) ได้พัฒนาผลิตภัณฑ์ขนมแผ่นกรอบแมคคาเดเมียที่ผสมปริมาณแมคคาเดเมีย 20% มีปริมาณไขมันเพิ่มสูง เนื่องจากแมคคาเดเมียมีปริมาณไขมันเป็นองค์ประกอบสูง Hu, W. *et al.*, (2019) ดัง Table 7

**Table 7** Nutrition content of JRC-MNC per 100 g.

| Nutrient (100g)        | Content      |
|------------------------|--------------|
| Total energy (kcal)    | 475          |
| Total fat (g)          | 21.80        |
| Saturated fat (g)      | 3.60         |
| Cholesterol (g)        | Not Detected |
| Total Carbohydrate (g) | 63.40        |
| Total Sugar (g)        | 10.20        |
| Protein (g)            | 6.20         |
| Sodium (mg)            | 215          |
| Potassium (g)          | 146          |
| Moisture (g)           | 5.68         |
| Ash (g)                | 2.20         |
| Dietary fiber (g)      | 3.06         |

#### สรุปผลการทดลองและข้อเสนอแนะ

จากการศึกษาองค์ประกอบทางเคมี และทางกายภาพของเศษร่วนแมคคาเดเมียพบว่าอุณหภูมิที่ต่างกันส่งผลส่งผลให้ค่า  $L^*$  ลดลง ขณะที่ความชุ่มชื้นของ  $a^*$  และ  $b^*$  เพิ่มขึ้น ค่าความชื้นและค่า  $a_w$  ลดลงตามอุณหภูมิการอบที่สูงขึ้น ผลการศึกษาผลของอุณหภูมิอบแห้งและปริมาณเศษร่วนแมคคาเดเมียที่มีต่อคุณสมบัติของข้าวอบกรอบญี่ปุ่นพบว่า อุณหภูมิอบแห้งเศษร่วนแมคคาเดเมียอบแห้งอุณหภูมิ 50, 60 และ 70°C และปริมาณเศษร่วนแมคคาเดเมีย 20%, 30% และ 40% สูง

ขึ้นทำให้สีของผลิตภัณฑ์เข้มขึ้น ปริมาณเศษร่วนแมคคาเดเมียที่เพิ่มขึ้นส่งผลให้ค่าความแข็งเพิ่มขึ้น และความสามารถกระจายลดลง และการทดสอบคุณภาพทางประสาทสัมผัส พบว่าปริมาณเศษร่วนแมคคาเดเมียมีผลต่อสี กลิ่น และรสชาติของผลิตภัณฑ์มากที่สุด อุณหภูมิอบแห้งที่สูงขึ้นช่วยเพิ่มความเข้มของสีและความหอมของผลิตภัณฑ์ สูตรที่ได้รับคะแนนสูงสุดคือการใช้เศษร่วนแมคคาเดเมีย 40% อบที่ 70°C ซึ่งให้คะแนนด้านรสชาติและความชอบโดยรวมดีที่สุด อย่างไรก็ตาม ค่าคะแนนไม่ได้แตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติกับสูตรที่ใช้เศษร่วนแมคคาเดเมีย 40% อบที่ 60°C ซึ่งได้รับคะแนนการยอมรับในระดับปานกลางถึงดี ดังนั้นสูตรที่ใช้เศษร่วนแมคคาเดเมีย 40% อบที่ 60°C และสูตรที่ใช้เศษร่วนแมคคาเดเมียอาจเป็นทางเลือกที่เหมาะสมกว่า ในการผลิตเชิงพาณิชย์ เนื่องจากได้คุณภาพผลิตภัณฑ์ในระดับที่ดีแต่ใช้พลังงานน้อยลง และผลิตภัณฑ์ข้าวอบกรอบญี่ปุ่นผสมเศษร่วนแมคคาเดเมีย 100 กรัม ให้พลังงาน 475 กิโลแคลอรีต่อ และมีไขมัน 21.8 กรัม

จากการวิจัยในครั้งนี้มีข้อเสนอแนะเพิ่มเติมควรเพิ่มการศึกษาอุณหภูมิการอบเศษร่วนแมคคาเดเมียที่ต่ำกว่า 50°C และสูงกว่า 70°C เพื่อวิเคราะห์ผลกระทบที่ส่งผลต่อสี กลิ่น รสชาติ และเนื้อสัมผัสของผลิตภัณฑ์ และศึกษาลักษณะทางกายภาพของผลิตภัณฑ์ในระหว่างการเก็บรักษา พิจารณาคูสมบัติเช่น สี กลิ่น รสชาติ และเนื้อสัมผัส รวมถึงวิเคราะห์การเปลี่ยนแปลงของค่า  $a_w$  รวมถึงศึกษาการเปลี่ยนแปลงของสี กลิ่น รสชาติ และเนื้อสัมผัสในระยะเวลา 1, 3 และ 6 เดือน

## กิตติกรรมประกาศ

งานวิจัยนี้ได้รับทุนสนับสนุนจาก สำนักงานพัฒนาการวิจัยการเกษตร (องค์การมหาชน) แผนงานการบริหารจัดการเพื่อพัฒนา RAINS for Thailand Food Valley; Eastern Lanna Food Valley (เชียงราย พะเยา แพร่ น่าน) ประจำปี 2566 มหาวิทยาลัยราชภัฏเชียงราย ผู้วิจัยขอขอบคุณมหาวิทยาลัยราชภัฏเชียงราย และผู้เกี่ยวข้องทุกท่านที่มีส่วนในการช่วยเหลือการวิจัยในครั้งนี้ให้สำเร็จลุล่วงไปด้วยดี

## เอกสารอ้างอิง

แดนชัย เคื่องเงิน, อัสภา เพิ่มสุวรรณวิษณุ, บัวเทศ และศิริลดา ศรีกอก. (2565). ผลของพลังงานอินฟราเรดและเวลาที่ใช้ในการอบต่อคุณภาพด้านกายภาพเคมีและประสาทสัมผัสของถั่วแมคคาเดเมียอบ. *วารสารมหาวิทยาลัยราชภัฏกำแพงเพชรวิทยาศาสตร์ คณิตศาสตร์ และเทคโนโลยี*, 1(1), 45–61.

ทัทยา อนุสร. (2555). *ถั่วและธัญพืช เมล็ดพันธุ์แห่งสุขภาพ*. มติชน.

ธนชา ภูญแจทอง, วิรัตน์ สุมณ และทิพย์มนต์ ไยเกษ. (2565). การผลิตหุ้มนกรอบแมคคาเดเมียพร้อมบริโภค. ใน *รายงานการประชุมทางวิชาการของมหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์ ครั้งที่ 60* (น. 527–533). มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์.

นิธิยา รัตนพานนท์. (2557). *เคมีอาหาร* (พิมพ์ครั้งที่ 5). โอเดียนสโตร์.

พิมพ์ใจ ทรงประโคน. (2562, 12 พฤศจิกายน). *มะคาเดเมีย ลีขอบผลิตภัณฑ์โดยช้าง จ.เชียงราย สร้างงานอาชีพ ให้ชุมชน*. เทคโนโลยีชาวบ้าน. [https://www.technology-chaoban.com/bullet-news-today/article\\_94413](https://www.technology-chaoban.com/bullet-news-today/article_94413)

สำนักงานเกษตรและสหกรณ์จังหวัดเชียงราย. (2565). *แผนพัฒนาการเกษตรและสหกรณ์จังหวัดเชียงราย (2566-2570)*. <https://www.opsmoac.go.th/chiangrai-strategic-files-461591791809>

สำนักโภชนาการ กรมอนามัย กระทรวงสาธารณสุข. (2565). *ปริมาณสารอาหารอ้างอิงที่ควรได้รับประจำวันสำหรับคนไทย พ.ศ. 2563* (ฉบับที่ 1). เอ.วี. โปรเกรสซีฟ.

อธิป บุญศิริวิทย์ และนภัทร ศรีวระมย์. (2561). การผลิตขนมอบจากไข่ขาวประเภทมาการองโดยการใช้ถั่วลิสงผงและเม็ดมะม่วงหิมพานต์ผงทดแทนอัลมอนต์ผง. *วารสารวิทยาลัยดุสิตธานี*, 12(2), 182–192.

AOAC. (2000). *Official methods of analysis* (17th ed.). Association of Official Analytical Chemists International.

Bailey, H. M., & Stein, H. H. (2020). Raw and roasted pistachio nuts (*Pistacia vera* L.) are 'good' sources of protein based on their digestible indispensable amino acid score as determined in pigs. *Journal of the Science of Food and Agriculture*, 100(10), 3878–3885. <https://doi.org/10.1002/jsfa.10429>

Bourne, M. C. (2002). *Food texture and viscosity: Concept and measurement* (2nd ed.). Academic Press.

Buthelezi, N. M. D., Tesfay, S. Z., & Magwaza, L. S. (2021). Influence of roasting on antioxidants, fatty acids, sensory properties and oxidative stability of macadamia nuts. *Scientia Horticulturae*, 281, Article 110012. <https://doi.org/10.1016/j.scienta.2020.110012>

Chuyen, H. V., & Nguyen, T. N. (2024). Changes in nutritional and sensory qualities of cookies supplemented with macadamia oil cake. *Journal of*

- Technical Education Science*, 19(3), 40–48. <https://doi.org/10.54644/jte.2024.1595>
- CIE. (1986). *Colorimetry* (2nd ed.). Commission Internationale de l'Eclairage.
- Garg, M. L., Blake, R. J., & Wills, R. B. H. (2003). Macadamia nut consumption lowers plasma total and LDL cholesterol levels in hypercholesterolemic men. *The Journal of Nutrition*, 133(4), 1060–1063. <https://doi.org/10.1093/jn/133.4.1060>
- Hu, W., Fitzgerald, M., Topp, B., Alam, M., & O'Hare, T. J. (2019). A review of biological functions, health benefits, and possible de novo biosynthetic pathway of palmitoleic acid in macadamia nuts. *Journal of Functional Foods*, 62, Article 103519. <https://doi.org/10.1016/j.jff.2019.103519>
- Japan Centre Group Ltd. (2023, March 22). *Homemade senbei rice crackers*. <https://www.japancentre.com/en/recipe/1394-homemade-senbei-rice-crackers>
- JTB Group. (2024, January 13). *What is Senbei? The best Japanese rice cracker! Fun! Japan*. <https://www.fun-japan.jp/en/articles/12010>
- Leistner, L., & Rahman, M. S. (2020). Hurdle technology (combined methods) for food preservation: Theory and basic aspects. In M. S. Rahman (Ed.), *Handbook of food preservation* (2nd ed., pp. 477–506). CRC Press.
- Lue, C. J., & Giau, V. H. (2014). Effect of drying temperature on moisture content of various nuts. *Journal of Food Processing and Preservation*, 38(2), 102–109. <https://doi.org/10.1111/jfpp.12068>
- Matos, J., Costa, J., Castro, D., Azevedo, P., Nascimento, A., Stringheta, P., Martins, E., & Campelo, P. (2024). Nut proteins as plant-based ingredients: Emerging ingredients for the food industry. *Processes*, 12(8), Article 1742. <https://doi.org/10.3390/pr12081742>
- Moreno-Perez, A. J., Sanchez-Garcia, A., Salas, J. J., Garces, R., & Martinez-Force, E. (2011). Acyl-ACP thioesterases from macadamia (*Macadamia tetraphylla*) nuts: Cloning, characterization and their impact on oil composition. *Plant Physiology and Biochemistry*, 49(1), 82–87. <https://doi.org/10.1016/j.plaphy.2010.10.002>
- Nakamura, S., Ikeuchi, T., Araki, A., Kasuga, K., Watanabe, K., Hirayama, M., Ito, M., & Ohtsubo, K. (2020). Possibility for prevention of type 2 diabetes mellitus and dementia using three kinds of brown rice blends after high-pressure treatment. *Foods*, 11(6), Article 818. <https://doi.org/10.3390/foods11060818>
- Nakamura, S., Suzuki, D., Kitadume, R., & Ohtsubo, K. (2012). Quality evaluation of rice crackers based on physicochemical measurements. *Bioscience, Biotechnology, and Biochemistry*, 76(4), 794–804. <https://doi.org/10.1271/bbb.110931>
- Pankaew, P., Janjai, S., Nilnont, W., Phusampao, C., & Bala, B. K. (2016). Moisture desorption isotherm, diffusivity and finite element simulation of drying of macadamia nut (*Macadamia integrifolia*). *Food and Bioprocess Processing*, 100, 16–24. <https://doi.org/10.1016/j.fbp.2016.06.004>
- Sharma, S. K., Barthwal, R., Saini, D., & Rawat, N. (2022). Chemistry of food fats, oils, and other lipids. In O. P. Chauhan (Ed.), *Advances in food chemistry* (pp. 477–506). Springer. [https://doi.org/10.1007/978-981-19-4796-4\\_6](https://doi.org/10.1007/978-981-19-4796-4_6)
- Silva, F. A., Marsaiol, A. I., Maximo, G. J., Silva, M. A. A. P., & Gonçalves, L. A. G. (2006). Microwave-assisted drying of macadamia nuts. *Journal of Food Engineering*, 77(3), 550–558. <https://doi.org/10.1016/j.jfoodeng.2005.07.015>
- Sinclair, C. (2009). *Dictionary of food: International food and cooking terms from A to Z*. A&C Black.
- Starowicz, M., & Zieliński, H. (2019). How Maillard reaction influences sensorial properties (color, flavor, and texture) of food products? *Food Reviews International*, 35(8), 707–725. <https://doi.org/10.1080/87559129.2019.1600538>
- Takei, R., Maruyama, K., Washio, H., Watanabe, T., & Takahashi, T. (2019). Effects of rheological properties of rice dough during manufacture of rice cracker on the quality of the end product. *Journal of Texture Studies*, 50(2), 139–147. <https://doi.org/10.1111/jtxs.12380>
- Udomkun, P., Tangsanthatkun, J., & Innawong, B. (2020). Influence of process parameters on the physico-

- chemical and microstructural properties of rice crackers: A case study of novel spray-frying technique. *Innovative Food Science & Emerging Technologies*, 59, Article 102271. <https://doi.org/10.1016/j.ifset.2019.102271>
- Vu, T. P. (2019). *Strategies to increase lipid oxidative stability of a low moisture cracker system* [Doctoral dissertation, University of Massachusetts Amherst]. ScholarWorks at UMass Amherst. <https://doi.org/10.7275/13453394>
- Vu, T. P., He, L., McClements, D. J., & Decker, E. A. (2020). Effects of water activity, sugars, and proteins on lipid oxidative stability of low moisture model crackers. *Food Research International*, 130, Article 108844. <https://doi.org/10.1016/j.foodres.2019.108844>
- Wall, M. M., & Gentry, T. S. (2007). Carbohydrate composition and color development during drying and roasting of macadamia nuts (*Macadamia integrifolia*). *LWT - Food Science and Technology*, 40(4), 587–593. <https://doi.org/10.1016/j.lwt.2006.03.012>
- Zhou, Z., & Langrish, T. (2022). Color formation and Maillard reactions during the spray drying process of skim milk and model systems. *Journal of Food Process Engineering*, 45(1), Article e13936. <https://doi.org/10.1111/jfpe.13936>

# สภาวะเหมาะสมในการผลิตผงจิ้งหรีดเอกซ์ทรูดด้วยวิธีพื้นผิวตอบสนองและการปรับปรุงคุณสมบัติด้วยกรดอินทรีย์

## Optimization of conditions for producing extruded cricket powder using response surface methodology and improving its properties with organic acids

หทัยกาญจน์ กกกแก้ว<sup>1\*</sup> และ นิสากอร์ ศรีธัญรัตน์<sup>1</sup>

Hathaigan Kokkaew<sup>1\*</sup> and Nisakorn Srithanyarat<sup>1</sup>

Received: 15 October 2024 ; Revised: 8 January 2025 ; Accepted: 22 April 2025

### บทคัดย่อ

จิ้งหรีดแหล่งโปรตีนทางเลือกคุณภาพสูง การแปรรูปเป็นผงจิ้งหรีดที่มีโปรตีนสูงจะช่วยเพิ่มมูลค่าของวัตถุดิบได้ กระบวนการเอกซ์ทรูดชันเป็นการแปรรูปอาหารที่ทำได้ง่าย ให้ผลผลิตสูง ของเสียน้อย รวมทั้งสามารถปรับสูตร รูปร่าง เนื้อสัมผัส สี กลิ่น-รส และคุณค่าทางโภชนาการได้ตามที่ต้องการ นอกจากนี้ การเติมไฮโดรคอลลอยด์ มอลโทเดกซ์ทรีน และกรดอินทรีย์ร่วมกับกระบวนการเอกซ์ทรูดชันจะช่วยปรับปรุงคุณสมบัติของผงจิ้งหรีดเอกซ์ทรูดได้อีกด้วย การวิจัยครั้งนี้มีวัตถุประสงค์เพื่อหาสภาวะที่เหมาะสมในการผลิตผงจิ้งหรีดด้วยกระบวนการเอกซ์ทรูดชันเพื่อให้มีคุณสมบัติสูงสุดด้วยวิธีการพื้นผิวตอบสนอง (Response Surface Methodology; RSM) รวมถึงศึกษาผลของการปรับสภาพด้วยกรดอินทรีย์ต่อการปรับปรุงคุณสมบัติของผงจิ้งหรีดเอกซ์ทรูด (Extrude cricket powder; ECP) การหาสภาวะเหมาะสมในการผลิต ECP ศึกษา 3 ปัจจัยคือ อัตราส่วนของผงจิ้งหรีด (Cricket powder; CP) ต่อมอลโทเดกซ์ทรีน (Maltodextrin; MD) ( $x_1$ ) ปริมาณคาร์บอกซีเมทิลเซลลูโลส (Carboxymethyl cellulose; CMC) ( $x_2$ ) และปริมาณน้ำ ( $x_3$ ) เพื่อให้ค่าตอบสนองสูงสุดของปริมาณโปรตีน ความสามารถในการละลาย และดัชนีความขาว โดยวางแผนการทดลองแบบการออกแบบส่วนผสมกลาง (Central composite design; CCD) มีทั้งหมด 20 การทดลอง จากการวิเคราะห์การถดถอยด้วยวิธีการพื้นผิวการตอบสนองพบว่า สภาวะที่เหมาะสมในการผลิตผงจิ้งหรีดเอกซ์ทรูดคือ อัตราส่วนของ CP:MD, ปริมาณ CMC และปริมาณน้ำ เท่ากับ 83:17, 1.6% และ 41% โดยน้ำหนักผงจิ้งหรีด ตามลำดับ ณ สภาวะดังกล่าวให้ค่าตอบสนองสูงสุดของปริมาณโปรตีน (63.0%) ความสามารถในการละลาย (74.9%) และดัชนีความขาว (46.7) เมื่อทดสอบความน่าเชื่อถือของแบบจำลอง พบว่าค่าที่ได้จากการทดลองและค่าที่ได้จากการทำนายมีความคลาดเคลื่อนน้อยกว่า 5% แสดงให้เห็นว่าแบบจำลองที่ได้มีความน่าเชื่อถือในการทำนายค่าตอบสนอง นอกจากนี้ การปรับสภาพ ECP ด้วยกรดอินทรีย์ ได้แก่ กรดซิตริก กรดฟumaric และกรดแอสคอร์บิก ที่ระดับความเข้มข้น 0, 0.2, 0.4, 0.6, 0.8, และ 1.0% โดยน้ำหนักผงจิ้งหรีด พบว่า เมื่อระดับความเข้มข้นของกรดอินทรีย์ทั้งสามชนิดสูงขึ้นส่งผลให้ผงจิ้งหรีดเอกซ์ทรูดมีความสามารถในการละลาย ดัชนีความขาว และความสามารถในการต้านจุลินทรีย์มากขึ้นอย่างมีนัยสำคัญ และการเติมกรดฟumaric ที่ระดับความเข้มข้น 1% ทำให้ได้ผงจิ้งหรีดเอกซ์ทรูดที่มีคุณสมบัติสูงสุด ผลการวิจัยนี้ยืนยันได้ว่า RSM เป็นวิธีที่มีประสิทธิภาพในการหาสภาวะที่เหมาะสมในการผลิตผงจิ้งหรีดเอกซ์ทรูด รวมทั้งการเติมกรดอินทรีย์ช่วยปรับปรุงคุณสมบัติของผลิตภัณฑ์ได้ ซึ่งนับว่าเป็นการเพิ่มมูลค่าให้กับจิ้งหรีดในการใช้ประโยชน์เป็นวัตถุดิบในผลิตภัณฑ์อาหารโปรตีนสูงได้อย่างมีประสิทธิภาพ

**คำสำคัญ:** กระบวนการเอกซ์ทรูดชัน, จิ้งหรีด, ผงจิ้งหรีดเอกซ์ทรูด, วิธีการพื้นผิวตอบสนอง, กรดอินทรีย์

### Abstract

Crickets, a high-quality alternative protein source, can be value-added through processing into high-protein cricket powder. The extrusion process is a simple and efficient food processing method that offers high yields with minimal waste. It also enables customization of formulations, shapes, textures, colors, flavors, and nutritional values as desired. Moreover, the addition of hydrocolloids, maltodextrin, and organic acids with the extrusion process can enhance the

<sup>1</sup> สาขาวิชาเทคโนโลยีอาหาร คณะเกษตรและเทคโนโลยี มหาวิทยาลัยนครพนม

<sup>1</sup> Department of Food Technology, Faculty of Agriculture and Technology, Nakhon Phanom University

\* Corresponding author, e-mail : hathaikk@npu.ac.th

properties of extruded cricket powder. This research aimed to determine the optimal conditions for producing cricket powder with the extrusion process to achieve the highest property using the Response Surface Methodology (RSM). It also investigated the effects of organic acid pretreatments on improving the properties of extruded cricket powder. The optimization of ECP production focused on three factors: the ratio of cricket powder (CP) to maltodextrin (MD) ( $x_1$ ), the content of carboxymethyl cellulose (CMC) ( $x_2$ ), and the water content ( $x_3$ ). These factors were studied to maximize the response values, including protein content, solubility, and whiteness index. The experimental design followed a Central Composite Design (CCD) with a total of 20 experiments. The regression analysis using RSM showed that the optimal conditions for producing extruded cricket powder were a CP:MD ratio of 83:17, 1.6% CMC, and 41% water content by weight of cricket powder, respectively. These conditions resulted in the highest values for protein content (63.0%), solubility (74.9%), and whiteness index (46.7%). The verification of the model revealed that the experimental values and the predicted values had a deviation of less than 5%, indicating that the model was reliable for predicting response values. Additionally, the pretreatments of ECP with organic acids, including citric acid, fumaric acid, and ascorbic acid, were applied at concentrations of 0, 0.2, 0.4, 0.6, 0.8, and 1.0% by weight of cricket powder. This study found that as the concentrations of all three organic acids increased, the solubility, whiteness index, and antimicrobial activity of the extruded cricket powder were significantly improved. The addition of fumaric acid at a concentration of 1% in the extrusion process resulted in the highest property of ECP. The results of this study confirmed that RSM was an effective method for determining the optimal conditions for producing extruded cricket powder. The addition of organic acids in extruded products enhances the properties of the product. This is considered an effective way to add value to crickets by utilizing them as a raw material in high-protein food products.

**Keywords:** Extrusion technology, cricket, extrude cricket powder, response surface methodology, organic acids

## บทนำ

ประชากรโลกเพิ่มขึ้นอย่างต่อเนื่องส่งผลให้ความต้องการอาหารสูงขึ้น จึงได้มีความพยายามในการค้นหาแหล่งโปรตีนทางเลือกที่ยั่งยืนและมีคุณค่าทางโภชนาการสูง จิ้งหรีด (*Acheta domesticus*) เป็นแหล่งโปรตีนที่มีคุณภาพดี มีปริมาณโปรตีนสูงอยู่ระหว่าง 23-65% โดยน้ำหนักแห้ง (Hanboonsong *et al.*, 2013) และมีองค์ประกอบของกรดอะมิโนที่จำเป็นในสัดส่วนที่เหมาะสม นอกจากนี้ จิ้งหรีดยังเป็นแหล่งโปรตีนทางเลือกที่เป็นมิตรต่อสิ่งแวดล้อม เนื่องจากใช้พื้นที่และน้ำปริมาณน้อยกว่าการเลี้ยงสัตว์ชนิดอื่น (Mancini *et al.*, 2019; Halloran *et al.*, 2017) จิ้งหรีดจึงเป็นแหล่งอาหารที่พัฒนาได้อย่างยั่งยืน (Pervez & Manzoor, 2022) การแปรรูปเป็นผงจิ้งหรีดเพื่อเป็นแหล่งโปรตีนสูงจะช่วยเพิ่มมูลค่าของวัตถุดิบ โดยนิยมใช้กระบวนการทำแห้งด้วยลมร้อนเพื่อผลิตผงจิ้งหรีด แต่ผลิตภัณฑ์ที่ได้มีความสามารถในการละลายต่ำ และใช้เวลาในการทำแห้งสามารถส่งผลให้เกิดการเปลี่ยนแปลงทางเคมี เช่น การเกิดสีน้ำตาลจากปฏิกิริยาเมลลาร์ด การเสื่อมเสียจากไตรเมทิลเอมีน (Trimethylamine; TMA) และกลิ่นหืนจากปฏิกิริยาออกซิเดชัน รวมถึงการเสื่อมเสียจากจุลินทรีย์อีกด้วย ทำให้ผงจิ้งหรีดที่ได้จึงมีอายุการเก็บรักษาสั้นซึ่งเป็นอุปสรรคสำคัญในการนำไป

## ใช้ประโยชน์ในอุตสาหกรรมอาหาร

กระบวนการเอกซ์ทรูชัน (Extrusion process) ได้รับความนิยมอย่างมากในอุตสาหกรรมอาหารในช่วงทศวรรษที่ผ่านมา เนื่องจากเป็นกระบวนการที่มีประสิทธิภาพ สามารถผลิตอาหารได้หลากหลายชนิด เช่น ธัญพืช ขนมขบเคี้ยว อาหารสำหรับสัตว์เลี้ยง และผลิตภัณฑ์โปรตีนทางเลือก การเอกซ์ทรูชัน (Extrusion) หรือที่เรียกว่า การอัดผ่านเกลียว หรือการอัดพอง เป็นเทคนิคที่ใช้แปรรูปอาหารด้วยเครื่องมือที่เรียกว่า เอ็กซ์ทรูเดอร์ (Extruder) ซึ่งประกอบด้วยขั้นตอน การผสม (Mixing) การทำให้สุก (Cooking) การนวด (Kneading) การฉีก (Shearing) และการขึ้นรูป (Forming) (Ali *et al.*, 2024) ซึ่งกระบวนการเหล่านี้ทำให้เกิดการเปลี่ยนแปลงในโครงสร้างของอาหาร และสร้างผลิตภัณฑ์ที่มีรูปร่าง เนื้อสัมผัส สี กลิ่น รสชาติ และคุณค่าทางโภชนาการที่แตกต่างกัน (Pismag *et al.*, 2024) จึงนำมาใช้เพื่อปรับปรุงคุณสมบัติทางกายภาพและเคมีของโปรตีนจากแมลงและการพัฒนาเป็นผลิตภัณฑ์จากแมลง เช่น ขนมขบเคี้ยว เส้นพาสต้า และโปรตีนแท่ง เป็นต้น ทั้งนี้เพื่อตอบสนองความต้องการของผู้บริโภคในยุคปัจจุบัน (Leonard *et al.*, 2019) การปรับโครงสร้างโปรตีนแมลงทำให้ได้เนื้อสัมผัสที่ใกล้เคียงกับเนื้อสัตว์ (Mazumder *et al.*, 2023) งานวิจัยของ Islam *et al.* (2022) รายงานว่าการใช้กระบวนการ

การเอ็กซ์ทรูชันที่มีความชื้นสูง (High moisture extrusion) สามารถผลิตเนื้อเทียมจากโปรตีนจิ้งหรีดผสมโปรตีนถั่วเหลืองได้อย่างมีประสิทธิภาพ กระบวนการเอ็กซ์ทรูชันมีความยืดหยุ่น ผลิตผลิตภัณฑ์ให้มีคุณสมบัติตามต้องการและควบคุมได้ง่าย นอกจากนี้ยังทำงานได้ต่อเนื่อง มีผลผลิตมากและของเสียน้อย จึงนับว่าเป็นกระบวนการที่มีประสิทธิภาพในการเพิ่มมูลค่าของวัตถุดิบ และสร้างความหลากหลายให้กับผลิตภัณฑ์อาหารโปรตีนสูง อีกทั้งยังให้ความคุ้มค่าในการลงทุนและเหมาะสมกับการผลิตในอุตสาหกรรมขนาดใหญ่เพื่อรองรับตลาดอาหารแห่งอนาคต

กรดอินทรีย์ เช่น กรดซิตริก กรดแลคติก กรดอะซิติก และกรดฟิวมาริก เป็นต้น ได้นำมาใช้เพื่อปรับปรุงคุณสมบัติของผลิตภัณฑ์เอ็กซ์ทรูตจากแมลง กรดอินทรีย์ส่งผลโดยตรงต่อคุณสมบัติของโปรตีนและโครงสร้างทางกายภาพของผลิตภัณฑ์ (Sorathiya *et al.*, 2025) กรดอินทรีย์ทำให้ค่า pH ของระบบลดลงในช่วงเป็นกรด ( $\text{pH} < 5$ ) จึงชะลอการเกิดอนุมูลอิสระยับยั้งการเกิดออกซิเดชันและปฏิกิริยาสีน้ำตาล (Maillard reaction) (Ali *et al.*, 2024) การยับยั้งการเกิดออกซิเดชันทำให้โครงสร้างโปรตีนคงตัวมากขึ้น ส่งผลให้โปรตีนสามารถละลายในน้ำได้ดีขึ้น (Leonard *et al.*, 2019) กรดอินทรีย์มีประสิทธิภาพในการยับยั้งการเจริญเติบโตของจุลินทรีย์ได้อย่างมีนัยสำคัญ เนื่องจากผลิตภัณฑ์อาหารมีค่า pH จนเป็นกรดจึงไม่เหมาะสมต่อการเจริญเติบโตของจุลินทรีย์ (Natukunda *et al.*, 2015; Sorathiya *et al.*, 2025) ยิ่งไปกว่านั้นกรดอินทรีย์ยังช่วยส่งเสริมรสชาติของผลิตภัณฑ์ได้อีกด้วย (Shi *et al.*, 2022) ดังนั้น การวิจัยนี้จึงมุ่งเน้นการหาสภาวะเหมาะสมในการผลิตผงจิ้งหรีดด้วยกระบวนการเอ็กซ์ทรูชันเพื่อให้มีคุณสมบัติสูงสุดด้วยวิธีการพื้นผิวตอบสนอง และศึกษาผลของการปรับสภาพด้วยกรดอินทรีย์ต่อการปรับปรุงคุณสมบัติของผงจิ้งหรีดเอ็กซ์ทรูต

## การทดลอง

### 1. การเตรียมผงจิ้งหรีด

ผงจิ้งหรีดได้จากวิสาหกิจชุมชนกลุ่มส่งเสริมแมลงเศรษฐกิจ ตำบลโพหนอง อำเภอรณนคร จังหวัดนครพนม ผลิตจากจิ้งหรีด (*Acheta domesticus*) ระยะตัวเต็มวัยอายุประมาณ 40-45 วัน นำมาบรรจุแบบสุญญากาศและเก็บรักษาไว้ที่อุณหภูมิ 4 °C เพื่อชะลอการเปลี่ยนแปลงคุณสมบัติของจิ้งหรีดก่อนนำไปใช้ในการวิจัยขั้นต่อไป (Anankware *et al.*, 2021)

### 2. การเตรียมจิ้งหรีดเอ็กซ์ทรูต

เครื่องเอ็กซ์ทรูเดอร์แบบสกรูเดี่ยว (Polydrive with Rheomex R 252 HAAKE, Germany) ใช้เพื่อผลิตจิ้งหรีดเอ็กซ์ทรูต (ECP) สภาวะการผลิตตามวิธีของ Sobowale *et al.* (2016) ซึ่งประกอบด้วย อุณหภูมิบาร์เรลที่ 100 °C ความเร็วสกรูที่ 6.3 เมตรต่อวินาที และเส้นผ่านศูนย์กลางของได (die) 2 มิลลิเมตร ในขณะที่อัตราการป้อนอาหารคงที่ตลอดการทดลอง จิ้งหรีดเอ็กซ์ทรูตเตรียมโดยการผสมผงจิ้งหรีดและมอลโทเดกทรีนซ์ตามอัตราส่วนที่กำหนดในแผนการทดลอง ขั้นตอนแรกนำผงจิ้งหรีดและมอลโทเดกทรีนซ์มาผสมให้เข้ากันกับคาร์บอกซิลเมทิลเซลลูโลส (CMC) เติมน้ำกลั่นในส่วนผสมเพื่อปรับความชื้น จากนั้นนำไปนวดในเครื่องผสม (Kitchen Aid, รุ่น MK45SSWH, St. Joseph, Michigan, USA) นาน 10 นาที เพื่อให้ส่วนผสมเข้ากันได้ดี นำโดที่ได้นำไปทำให้เย็นที่อุณหภูมิ 4 °C นาน 12 ชั่วโมง เพื่อให้ส่วนผสมดูดซับน้ำได้อย่างมีประสิทธิภาพ (Sobowale *et al.*, 2016) ขั้นตอนต่อมา ป้อนส่วนผสมผ่านกรวยป้อน โดยให้ส่วนผสมเต็มสกรูอย่างต่อเนื่องเพื่อหลีกเลี่ยงการสะสมของส่วนผสมในกรวยกึ่งจิ้งหรีดเอ็กซ์ทรูตให้เย็นลงที่อุณหภูมิห้อง นาน 1 ชั่วโมง นำไปทำแห้งด้วยตู้อบลมร้อนที่อุณหภูมิ 60 °C นาน 1 ชั่วโมง จนมีความชื้นที่ 9-10% โดยน้ำหนักเปียก จากนั้นนำจิ้งหรีดเอ็กซ์ทรูตมาบดละเอียดและร่อนผ่านตะแกรงขนาด 80 เมช เพื่อให้ได้ผงจิ้งหรีดเอ็กซ์ทรูตที่มีขนาดอนุภาคสม่ำเสมอ นำมาบรรจุแบบสุญญากาศและเก็บรักษาไว้ที่อุณหภูมิ 4 °C เพื่อช่วยรักษาคุณสมบัติของผลิตภัณฑ์ (Janssen *et al.*, 2017)

### 3. การเติมกรดอินทรีย์

กรดซิตริก กรดฟิวมาริก และกรดแอสคอร์บิกเป็นกรดอินทรีย์ที่นิยมใช้กันอย่างแพร่หลายในอุตสาหกรรมอาหาร (Osorio & Hofmann, 2024) ได้นำมาศึกษาเพื่อใช้ปรับปรุงคุณสมบัติของ ECP ให้ดีขึ้น โดยปรับสภาพ ECP ให้เป็นกรดที่ระดับความเข้มข้น 0.2-1.0% (โดยน้ำหนักจิ้งหรีด) จากนั้นวิเคราะห์คุณสมบัติด้านความสามารถในการละลายดัชนีความขาว และปริมาณจุลินทรีย์ทั้งหมด

### 4. การหาปริมาณโปรตีนทั้งหมด

วิเคราะห์ปริมาณโปรตีนทั้งหมดของ ECP ตามวิธีของ AOAC (2000) โดยค่าคอนเวอร์ชัน แฟกเตอร์ (conversion factor) ที่ใช้ในการคำนวณโปรตีนคือ 6.25 (Haug & Lantzsch, 1983) เพื่อคำนวณหาปริมาณโปรตีนทั้งหมดของตัวอย่าง

## 5. ความสามารถในการละลาย

วิเคราะห์ความสามารถในการละลาย (Solubility; Sol) ดัดแปลงจากวิธีของ Adebawale *et al.* (2009) ใช้ตัวอย่างประมาณ 1 กรัม ใส่ในหลอดเหวี่ยงเติมน้ำ 10 มิลลิลิตร ผสมให้ละลายที่อุณหภูมิ 30 °C แล้วนำไปเหวี่ยงที่ความเร็ว 3000 รอบต่อนาที นาน 10 นาที เทของเหลวส่วนใส (Supernatant) ใส่ในกระป๋องอะลูมิเนียมแล้วเข้าอบที่อุณหภูมิ 105 °C นาน 24 ชั่วโมง คำนวณหา Sol (%) = (มวลแห้งของตัวอย่างที่ละลายได้ใน Supernatant (กรัม)/มวลแห้งของตัวอย่างทั้งหมด (กรัม)) x 100

## 6. ดัชนีความขาว

ประเมินดัชนีความขาว (Whiteness Index, WI) ซึ่งเป็นคุณสมบัติด้านสีที่คำนวณจากระบบ Hunter CIE color (CIE, 2004) โดยใช้ค่าสว่าง ( $L^*$ ) ค่าความเป็นสีแดง ( $a^*$ ) และค่าความเป็นสีเหลือง ( $b^*$ ) ที่วัดด้วยเครื่องโครมามิเตอร์ (Minolta CR-300 series, Japan) โดยคำนวณได้จากสมการคือ  $WI = 100 - ((100 - L^*)^2 + a^{*2} + b^{*2})^{1/2}$  วัดตัวอย่างละ 2 ซ้ำ ในแต่ละการวัดจะอ่านค่า 3 ค่า เพื่อหาเฉลี่ย

## 7. การวัดค่าความเป็นกรด-ด่าง

วัดค่า pH ตามวิธีของ AOAC (2000) โดยนำตัวอย่าง 10 กรัม มาละลายในน้ำกลั่น 100 มิลลิลิตร ทิ้งไว้ที่อุณหภูมิห้อง นาน 30 นาที จากนั้นวัดค่า pH โดยใช้เครื่องวัด pH (รุ่น pH211, Hanna Instrument Ltd., USA)

## 8. จำนวนจุลินทรีย์ทั้งหมด

หาปริมาณจำนวนจุลินทรีย์ทั้งหมด (Total microbial count; TMC) โดยวิธีเทเพลท (Pour plate method) (AOAC, 2000) ใช้อาหารเลี้ยงเชื้อ (Plate Count Agar, PCA) ปริมาณ TMC รายงานเป็นโคโลนีต่อกรัม (CFU/g)

## 9. การวางแผนการทดลอง

วางแผนการทดลองด้วยวิธี Central composite design (CCD) โดยศึกษาตัวแปรอิสระ 3 ตัวแปร ที่มีอิทธิพลต่อคุณสมบัติของ ECP ได้แก่ อัตราส่วนของ CP:MD ( $x_1$ : 80:20-95:5%) ปริมาณ CMC ( $x_2$ : 0.5-1.5%) และปริมาณน้ำ ( $x_3$ : 30.0-50.0%) (%) โดยน้ำหนักผงจิ้งหรีด) เพื่อให้ค่าตอบสนองสูงสุดของปริมาณโปรตีน ( $Y_1$ ), ความสามารถในการละลาย ( $Y_2$ ) และดัชนีความขาว ( $Y_3$ ) พื้นผิวตอบสนองได้จาก 3 ตัวแปร ที่ 5 ระดับ (-1.68, -1, 0, +1, +1.68) สัญลักษณ์และรหัสตัวแปรได้แก่  $x_1$ ,  $x_2$  และ  $x_3$  แสดงดัง Table 1 โดย CCD มีทั้งหมด 20 การทดลอง (Table 2) สมการพหุนามกำลังสอง (Quadratic equation) ใช้เพื่อแสดงความสัมพันธ์ ( $Y$ ) ดังนี้:  $Y = \beta_0 + \beta_1 x_1 + \beta_2 x_2 + \beta_3 x_3 + \beta_{11} x_1^2 + \beta_{22} x_2^2 + \beta_{33} x_3^2 + \beta_{12} x_1 x_2 + \beta_{13} x_1 x_3 + \beta_{23} x_2 x_3$  โดยที่  $Y$  คือ ตัวแปรตอบสนอง,  $x_1$ ,  $x_2$  และ  $x_3$  คือ รหัสตัวแปร (coded process variables) และ  $\beta_0$ ,  $\beta_1$ ,  $\beta_2$ ,  $\beta_3$ ,  $\beta_{11}$ ,  $\beta_{22}$ ,  $\beta_{33}$  และ  $\beta_{12}$ ,  $\beta_{13}$ ,  $\beta_{23}$  ค่าสัมประสิทธิ์การถดถอย (Regression coefficients) ใช้ในการวิเคราะห์อิทธิพลของตัวแปรอิสระต่อคุณสมบัติของผงจิ้งหรีดเอกซ์ทรูด

## 10. การวิเคราะห์ทางสถิติ

หาสภาวะเหมาะสมที่ให้ค่าตอบสนองสูงสุดโดยวางแผนการทดลองแบบ CCD และวิเคราะห์ข้อมูลด้วยโปรแกรม Design Expert version 7.0 (Stat-Ease, Inc., Minneapolis, MN, USA) วางแผนการทดลองแบบสุ่มสมบูรณ์ (Completely Randomized Design; CRD) และ วิเคราะห์ความแปรปรวนของข้อมูลทางสถิติโดย ANOVA เปรียบเทียบความแตกต่างของค่าเฉลี่ยด้วย Duncan's Multiple Range Test (DMRT) ที่ระดับความเชื่อมั่น 95 % ด้วยโปรแกรม SPSS statistic program (Version 17)

**Table 1** Independent variables and levels of CCD applied to instant extruded cricket powder ingredients.

| Independent variables |                                                      | Levels     |         |         |        |            |
|-----------------------|------------------------------------------------------|------------|---------|---------|--------|------------|
| Code                  | Real                                                 | - $\alpha$ | -1      | 0       | +1     | + $\alpha$ |
| $x_1$                 | Ratio of CP:MD (% total weight cricket powder basis) | 75 : 25    | 80 : 20 | 88 : 12 | 95 : 5 | 100:0      |
| $x_2$                 | CMC content (% total weight cricket powder basis)    | 0.3        | 1.0     | 2.0     | 3.0    | 3.7        |
| $x_3$                 | Water content (% total weight cricket powder basis)  | 23.2       | 30.0    | 40.0    | 50.0   | 56.8       |

**Table 2** Response values for  $Y_1$ ,  $Y_2$  and  $Y_3$  with different combinations of  $x_1$ ,  $x_2$ , and  $x_3$  in CCD.

| No. | Code level of variables <sup>1</sup> |              |              | Response values <sup>2</sup> |              |              |
|-----|--------------------------------------|--------------|--------------|------------------------------|--------------|--------------|
|     | $x_1$<br>(%)                         | $x_2$<br>(%) | $x_3$<br>(%) | $Y_1$<br>(%)                 | $Y_2$<br>(%) | $Y_3$<br>(%) |
| 1   | 80:20                                | 1.0          | 30           | 60.8                         | 72.5         | 48.9         |
| 2   | 88:12                                | 2.0          | 40           | 64.8                         | 75.8         | 45.1         |
| 3   | 88:12                                | 2.0          | 40           | 65.1                         | 73.9         | 44.5         |
| 4   | 95:5                                 | 1.0          | 50           | 68.7                         | 71.2         | 42.9         |
| 5   | 88:12                                | 2.0          | 40           | 64.4                         | 75.9         | 45.1         |
| 6   | 88:12                                | 3.7          | 40           | 64.6                         | 72.2         | 43.9         |
| 7   | 88:12                                | 2.0          | 57           | 64.2                         | 75.0         | 44.5         |
| 8   | 88:12                                | 0.3          | 40           | 65.2                         | 65.8         | 43.8         |
| 9   | 80:20                                | 3.0          | 50           | 56.8                         | 72.0         | 46.1         |
| 10  | 88:12                                | 2.0          | 23           | 64.0                         | 65.0         | 44.6         |
| 11  | 100:0                                | 2.0          | 40           | 69.6                         | 75.5         | 40.8         |
| 12  | 95:5                                 | 1.0          | 30           | 67.8                         | 60.5         | 40.9         |
| 13  | 95:5                                 | 3.0          | 50           | 68.7                         | 75.8         | 41.8         |
| 14  | 75:25                                | 2.0          | 40           | 56.0                         | 73.8         | 52.5         |
| 15  | 88:12                                | 2.0          | 40           | 64.8                         | 73.5         | 45.1         |
| 16  | 80:20                                | 3.0          | 30           | 58.0                         | 73.5         | 47.9         |
| 17  | 88:12                                | 2.0          | 40           | 67.0                         | 75.1         | 44.9         |
| 18  | 88:12                                | 2.0          | 40           | 65.4                         | 77.4         | 43.4         |
| 19  | 95:5                                 | 3.0          | 30           | 67.2                         | 74.8         | 42.5         |
| 20  | 80:20                                | 1.0          | 50           | 61.5                         | 71.8         | 47.4         |

<sup>1</sup> $x_1$ : Ratio of CP:MD (%),  $x_2$ : CMC content (%),  $x_3$ : Water content (%).

<sup>2</sup> $Y_1$ : Total protein content (%),  $Y_2$ : Solubility (%),  $Y_3$ : Whiteness index.

## ผลการทดลองและอภิปรายผล

### 1. การวิเคราะห์ทางสถิติและการสร้างแบบจำลอง

การวิเคราะห์การถดถอยพหุคูณ พบว่าสมการพหุนามกำลังสอง (Second-order polynomial equations) และค่าสัมประสิทธิ์ของการตัดสินใจ ( $R^2$ ) ของค่าตอบสนอง  $Y_1$ ,  $Y_2$  และ  $Y_3$  เท่ากับ 0.9713, 0.8823 และ 0.9711 ตามลำดับ และค่าความน่าเชื่อถือ (p-value) ของแบบจำลอง  $Y_1$ ,  $Y_2$  และ  $Y_3$  เท่ากับ <0.0001, 0.0013 และ <0.0001 ตามลำดับ ( $p < 0.05$ ) แสดงให้เห็นว่าแบบจำลองมีนัยสำคัญทางสถิติ ขณะเดียวกันเมื่อทดสอบความไม่เหมาะสม (lack of fit) ของแบบจำลอง  $Y_1$ ,  $Y_2$  และ  $Y_3$  ให้ค่าความน่าจะเป็น (p-value) เท่ากับ 0.5641, 0.1352 และ 0.3914 ตามลำดับ ซึ่งไม่มีนัยสำคัญทางสถิติ (Table 3) ผลที่ได้แสดงให้เห็นว่าแบบจำลองทั้งสามมีความเหมาะสมในการนำมาใช้เพื่อหาสภาวะเหมาะสมในการ

ผลิต ECP ผลการวิเคราะห์พหุนามกำลังสอง พบว่ามีความสัมพันธ์เป็นเส้นตรงและกำลังสองเชิงบวกของ  $x_1$  (อัตราส่วนของ CP: MD)  $x_2$  (CMC) และ  $x_3$  (ปริมาณน้ำ) ที่มีอิทธิพลอย่างมีนัยสำคัญต่อตัวแปรตอบสนอง  $Y_1$ ,  $Y_2$ , และ  $Y_3$

ปริมาณโปรตีนของ ECP ทั้ง 20 การทดลอง มีค่าตั้งแต่ 56.0-69.6 % โดยน้ำหนักแห้ง พบว่าอัตราส่วนของ CP: MD และปริมาณ CMC มีอิทธิพลอย่างมีนัยสำคัญต่อปริมาณโปรตีนของ ECP ( $p < 0.05$ ) ขณะที่ปริมาณน้ำไม่มีอิทธิพลอย่างมีนัยสำคัญ ( $p > 0.05$ ) ต่อปริมาณโปรตีนของ ECP จากการศึกษาแสดงให้เห็นว่า เมื่อเพิ่มอัตราส่วน CP: MD ปริมาณโปรตีนในผลิตภัณฑ์จะเพิ่มขึ้นอย่างมีนัยสำคัญ เนื่องจากการเพิ่มของโปรตีนจึงหรีดในผลิตภัณฑ์ อย่างไรก็ตาม การเติมมอลโทเดกทรีนยังเป็นอีกปัจจัยที่ช่วยรักษาคูณสมบัติของโปรตีนในกระบวนการเอกทรีนขึ้น เนื่องจากมอลโทเดกทรีนมีคุณสมบัติเป็นตัวช่วยเติมเต็ม (Filler) ที่มี

ประสิทธิภาพ ช่วยให้ผงโปรตีนคงตัวมากขึ้นจึงลดการสูญเสียโปรตีนระหว่างกระบวนการเอกซ์ทรูชัน ขณะที่การเติม CMC แสดงอิทธิพลเส้นตรงเชิงลบต่อปริมาณโปรตีนของ ECP โดยปริมาณ CMC ที่เพิ่มขึ้นจะส่งผลให้ปริมาณโปรตีนของผลิตภัณฑ์ลดลง เนื่องจาก CMC เป็นสารเพิ่มความหนืดจึงส่งผลต่อการจับกลุ่มกันของโปรตีนระหว่างกระบวนการเอกซ์ทรูชัน สอดคล้องกับงานวิจัยของ Chuaychan and Benjakul (2016) รายงานว่าการใช้ CMC ในปริมาณมากเกินไปอาจลดการจับตัวกันของโปรตีน ซึ่งส่งผลให้โปรตีนถูกทำลายมากขึ้นในระหว่างกระบวนการแปรรูป จึงทำให้ผลิตภัณฑ์สุดท้ายมีปริมาณโปรตีนลดลงด้วยเช่นกัน ดังนั้น การเติม CMC ในปริมาณเหมาะสมจึงเป็นปัจจัยสำคัญที่ควรคำนึงถึงในการควบคุมคุณสมบัติของผลิตภัณฑ์โปรตีนจากแมลง

ความสามารถในการละลายของ ECP มีค่าตั้งแต่ 60.5-75.9% พบว่าปริมาณ CMC และปริมาณน้ำ มีอิทธิพลอย่างมีนัยสำคัญต่อความสามารถในการละลายของ ECP ( $p < 0.05$ ) ขณะที่อัตราส่วนของ CP: MD ไม่มีอิทธิพลอย่างมีนัยสำคัญ ( $p > 0.05$ ) ต่อปริมาณโปรตีนของ ECP การเติม CMC ในการผลิต ECP ช่วยส่งเสริมให้โปรตีนสามารถดูดซับน้ำ และอนุภาคโปรตีนสามารถกระจายตัวในของเหลวได้ดีขึ้นเนื่องจากคุณสมบัติการพองตัวของ CMC จึงเป็นปัจจัยสำคัญที่ทำให้ ECP มีความสามารถในการละลายของเพิ่มขึ้น อย่างไรก็ตาม ปริมาณน้ำก็เป็นปัจจัยสำคัญที่มีผลโดยตรงต่อการปรับปรุงคุณสมบัติของ ECP (Islam *et al.*, 2022) โดยน้ำจะทำหน้าที่เป็นตัวกลางช่วยให้โปรตีนผ่านกระบวนการแปรรูปได้อย่างราบรื่น และลดการเสียดสีระหว่างอนุภาค จึงส่งเสริมให้โปรตีนในผงจึงหรีดละลายได้ง่ายขึ้นหลังกระบวนการเอกซ์ทรูชัน (Yu *et al.*, 2023) ถึงแม้ว่าการเพิ่มอัตราส่วนของ CP: MD สามารถช่วยรักษาเนื้อสัมผัสของผลิตภัณฑ์ในกระบวนการเอกซ์ทรูชัน แต่ความสามารถในการละลายของผลิตภัณฑ์เป็นอิทธิพลจากปริมาณ CMC และปริมาณน้ำ ซึ่งปริมาณ CMC ที่เพิ่มขึ้นส่งผล

ทำให้โปรตีนกระจายตัวได้ดีขึ้น รวมทั้งปริมาณน้ำที่เหมาะสมยังช่วยเพิ่มประสิทธิภาพการละลายของโปรตีนให้มากขึ้นอีกด้วย (Chaipoot *et al.*, 2024) สอดคล้องการวิจัยก่อนหน้านี้ที่ยืนยันว่าปริมาณ CMC และปริมาณน้ำเป็นปัจจัยสำคัญในการเพิ่มความสามารถในการละลายของโปรตีนของผลิตภัณฑ์ที่ผ่านกระบวนการเอกซ์ทรูชัน โดย CMC ทำหน้าที่เสริมการทำงานของน้ำในการทำให้อนุภาคโปรตีนแตกตัวและกระจายตัวได้ดีขึ้น ผลการศึกษานี้แสดงให้เห็นว่าการควบคุมปริมาณ CMC และปริมาณน้ำในกระบวนการเอกซ์ทรูชันจะทำให้ได้ผลิตภัณฑ์โปรตีนที่มีคุณสมบัติสูง (Yu *et al.*, 2023)

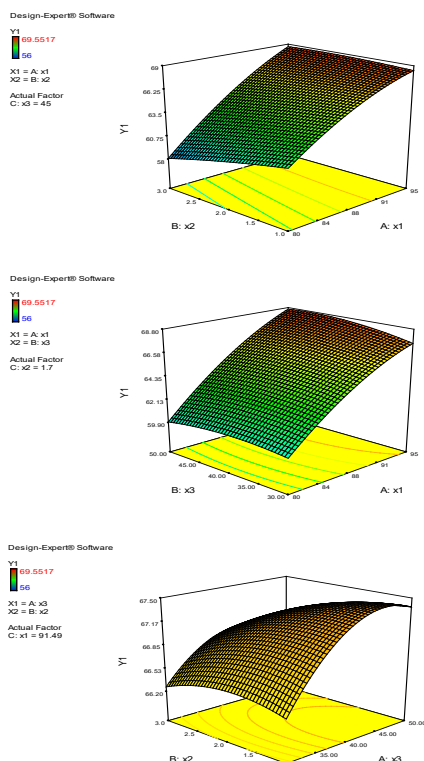
ดัชนีความขาวของ ECP มีค่าตั้งแต่ 40.8-52.5% พบว่าอัตราส่วนของ CP: MD มีอิทธิพลอย่างมีนัยสำคัญต่อค่าดัชนีความขาวของ ECP ( $p < 0.05$ ) ขณะที่ปริมาณ CMC และปริมาณน้ำ ไม่มีอิทธิพลอย่างมีนัยสำคัญ ( $p > 0.05$ ) ต่อความขาวของ ECP ซึ่งแสดงให้เห็นว่า การใช้อัตราส่วนของ CP:MD ที่แตกต่างกันส่งผลโดยตรงต่อค่าดัชนีความขาวของ ECP เนื่องจากมอลโทเดกซ์ทรีนมีลักษณะเป็นผงสีขาว เมื่อใช้ในส่วนที่สูงขึ้นจึงส่งผลให้ผงจึงหรีดมีความขาวเพิ่มขึ้น (Chaipoot *et al.*, 2024) ขณะที่ CMC และปริมาณน้ำไม่มีอิทธิพลต่อดัชนีความขาวเมื่อเทียบกับอัตราส่วนของ CP:MD แม้ว่า CMC จะช่วยปรับปรุงโครงสร้างของผลิตภัณฑ์ แต่ไม่ได้มีผลโดยตรงต่อดัชนีความขาวยิ่งไปกว่านั้น นอกจากนี้ MD ยังช่วยปรับปรุงความคงตัวของ ECP และทำให้โครงสร้างของผงละเอียดและน้ำหนักเบาขึ้น ซึ่งส่งผลทางอ้อมต่อการสะท้อนแสงและทำให้ดัชนีความขาวเพิ่มขึ้น สอดคล้องกับงานวิจัยของ Smith & Harris (2020) ได้รายงานว่ายนิยมใช้ MD ในกระบวนการผลิตอาหารแบบผงเพื่อปรับปรุงความขาวและเนื้อสัมผัส เป็นต้น ดังนั้น อัตราส่วนของ CP:MD เป็นปัจจัยหลักที่มีอิทธิพลต่อดัชนีความขาวของ ECP ปริมาณ MD ที่เพิ่มขึ้นจะทำให้ผลิตภัณฑ์มีความขาวมากขึ้น ขณะที่การใช้ CMC และปริมาณน้ำมีผลเพียงเล็กน้อยต่อความขาวของผลิตภัณฑ์

**Table 3** Second order polynomial equations, coefficients of determinations and lack of fits of response variables.

| Responses | Second order polynomial equations                                        | $R^2$  | Model (p-value) | Lack of fits (p-value) |
|-----------|--------------------------------------------------------------------------|--------|-----------------|------------------------|
| $Y_1$     | $= 65.3 + 4.3x_1 - 0.7x_2 + 0.9x_1^2 + 0.9x_1x_2$                        | 0.9713 | <0.0001         | 0.5641                 |
| $Y_2$     | $= 75.3 + 2.3x_2 + 1.9x_3 - 2.1x_2^2 - 1.8x_3^2 + 2.2x_1x_2 + 1.7x_1x_3$ | 0.8823 | 0.0013          | 0.1352                 |
| $Y_3$     | $= 44.7 - 3.1x_1 + 0.7x_1^2 + 0.6x_1x_3$                                 | 0.9711 | <0.0001         | 0.3914                 |

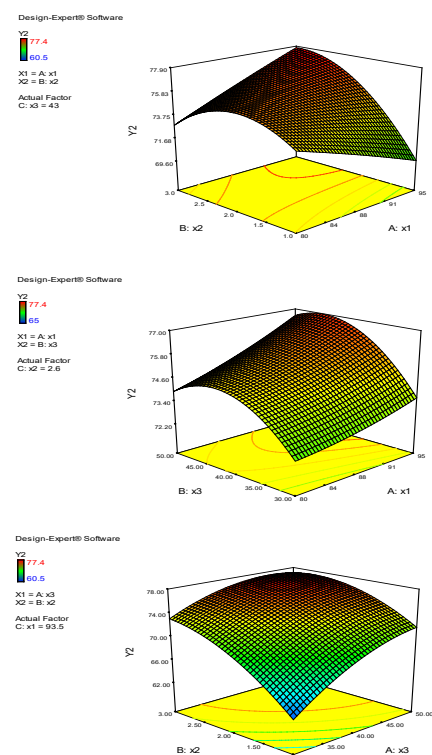
## 2. การวิเคราะห์พื้นผิวตอบสนอง

การวิเคราะห์พื้นผิวการตอบสนองสามมิติ (Three-dimensional response surface plots) แสดงให้เห็นการเปลี่ยนแปลงของตัวแปรอิสระโดยอัตราส่วนของ CP:MD ( $x_1$ ) ปริมาณ CMC ( $x_2$ ) และปริมาณน้ำ ( $x_3$ ) มีอิทธิพลอย่างมีนัยสำคัญต่อค่าตอบสนองปริมาณโปรตีน ( $Y_1$ ) ความสามารถในการละลาย ( $Y_2$ ) และดัชนีความขาว ( $Y_3$ ) การวิเคราะห์พื้นผิวการตอบสนอง Figure 1 แสดงให้เห็นว่าเมื่ออัตราส่วนของ CP:MD เพิ่มขึ้นส่งผลให้ปริมาณโปรตีนในผงจึงหรีดเอกซ์ทรูด ( $Y_1$ ) เพิ่มขึ้นอย่างมีนัยสำคัญ ซึ่งบ่งชี้ว่าอัตราส่วน CP:MD มีผลเชิงบวกต่อการเพิ่มปริมาณโปรตีนในผลิตภัณฑ์ ในทางตรงกันข้ามการเพิ่มปริมาณ CMC ส่งผลเชิงลบต่อปริมาณโปรตีนในผงจึงหรีดเอกซ์ทรูด เนื่องจากการเติม CMC ปริมาณมากเกินไปอาจลดการจับตัวกันของโปรตีน โปรตีนจึงถูกทำลายมากขึ้นระหว่างกระบวนการเอกซ์ทรูชัน จึงทำให้ผลิตภัณฑ์สุดท้ายมีปริมาณโปรตีนลดลง (Chuaychan & Benjakul, 2016) ขณะที่ปริมาณน้ำไม่มีอิทธิพลต่อปริมาณโปรตีนในผงจึงหรีดเอกซ์ทรูด



**Figure 1** Response surface plots for the effect of independent variables ( $x_1$ , ratio of cricket powder to maltodextrin;  $x_2$ , CMC content;  $x_3$ , water content) on protein content ( $Y_1$ )

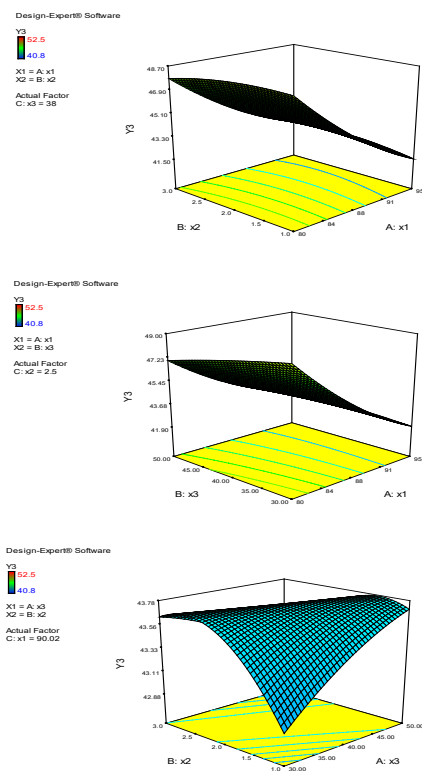
Figure 2 ได้แสดงให้เห็นว่าความสามารถในการละลาย ( $Y_2$ ) ของ ECP จะเพิ่มขึ้นอย่างรวดเร็วตามเมื่อมีการเพิ่มปริมาณ CMC โดยที่อัตราส่วนของ CP:MD และปริมาณมีค่าคงที่ อย่างไรก็ตาม เมื่อเพิ่มปริมาณ CMC ต่อไป กลับส่งผลให้ความสามารถในการละลายของ ECP ลดลงเล็กน้อย แสดงให้เห็นว่า เมื่อเพิ่มปริมาณ CMC มากเกินไปอาจทำให้ผลิตภัณฑ์มีความเหนียวมากขึ้น ส่งผลให้ความสามารถในการละลายลดลง นอกจากนี้ปริมาณน้ำที่เพิ่มขึ้นยังมีผลเชิงบวกต่อความสามารถในการละลายของ ECP เนื่องจากน้ำเป็นตัวกลางช่วยให้โปรตีนผ่านกระบวนการแปรรูปได้อย่างราบรื่น และลดการเสียดสีระหว่างอนุภาค จึงส่งเสริมให้โปรตีนในผงจึงหรีดละลายได้ง่ายขึ้นหลังกระบวนการเอกซ์ทรูชัน (Yu *et al.*, 2023)



**Figure 2** Response surface plots for the effect of independent variables ( $x_1$ , ratio of cricket powder to maltodextrin;  $x_2$ , CMC content;  $x_3$ , water content) on solubility capacity ( $Y_2$ )

การวิเคราะห์พื้นผิวการตอบสนองเพื่อประเมินดัชนีความขาว ( $Y_3$ ) ของผงจึงหรีดเอกซ์ทรูดแสดงโดย Figure 3 พบว่าดัชนีความขาว ( $Y_3$ ) มีค่าลดลงเมื่ออัตราส่วนของ CP:MD เพิ่มขึ้นอย่างมีนัยสำคัญ เมื่อให้ปริมาณ CMC และปริมาณน้ำคงที่ พบว่าที่สภาวะเริ่มต้นดัชนีความขาวจะเพิ่มขึ้น แต่เมื่อเพิ่มอัตราส่วนของ CP:MD ต่อไปกลับส่งผลให้ดัชนี

ความขาว ECP ลดลง แสดงให้เห็นถึงอิทธิพลที่มีความซับซ้อนระหว่างการเพิ่มอัตราส่วน CP:MD ต่อการเปลี่ยนแปลงของความขาวของ ECP การศึกษาครั้งนี้แสดงให้เห็นถึงอิทธิพลของอัตราส่วนของ CP:MD ปริมาณ CMC และปริมาณน้ำในกระบวนการผลิตผงจิ้งหรีดเอกซ์ทรูดที่ส่งผลต่อค่าตอบสนองปริมาณโปรตีน ความสามารถในการละลาย และดัชนีความขาวอย่างมีนัยสำคัญ ซึ่งถือเป็นตัวชี้วัดที่สำคัญในการประเมินคุณสมบัติของผลิตภัณฑ์อาหารเอกซ์ทรูดที่มีส่วนผสมของโปรตีนจากแมลงต่อไป



**Figure 3** Response surface plots for the effect of independent variables ( $x_1$ , ratio of cricket powder to maltodextrin;  $x_2$ , CMC content;  $x_3$ , water content) on whiteness index ( $Y_3$ )

### 3. สภาวะเหมาะสมและการทวนสอบความน่าเชื่อถือของแบบจำลอง

การวิเคราะห์พื้นผิวการตอบสนองเป็นวิธีการที่ช่วยปรับปรุงกระบวนการผลิต ECP ให้มีประสิทธิภาพและคุณสมบัติสูงสุด โดยอธิบายค่าตัวแปรอิสระที่เหมาะสมได้แก่ อัตราส่วนของ CP:MD, CMC และปริมาณน้ำที่มีผลต่อค่าตอบสนอง (ปริมาณโปรตีน ความสามารถในการละลาย และดัชนีความขาว) อย่างมีนัยสำคัญ จากการศึกษาพบว่าสภาวะที่เหมาะสมในการผลิต ECP คือ อัตราส่วนของ CP:MD, ปริมาณ

CMC และปริมาณน้ำเท่ากับ 83:17, 1.6% และ 41% โดยน้ำหนักผงจิ้งหรีด ซึ่งสภาวะดังกล่าวให้ค่าตอบสนองสูงสุดของปริมาณโปรตีน (63.0%), ความสามารถในการละลาย (74.9%) และดัชนีความขาว (46.7) การศึกษานี้ได้แสดงให้เห็นถึงอัตราส่วนของ CP:MD เป็นปัจจัยสำคัญในการเพิ่มปริมาณโปรตีนใน ECP ซึ่งมีผลดีต่อคุณค่าทางโภชนาการ (Montowska *et al.*, 2019) นอกจากนี้ CMC ยังเป็นอีกปัจจัยที่มีบทบาทสำคัญในการปรับปรุงความสามารถในการละลายและความขาวของผลิตภัณฑ์ ซึ่งเป็นคุณสมบัติสำคัญในการประเมินคุณสมบัติของอาหาร จากการทวนสอบความน่าเชื่อถือของแบบจำลอง พบว่าค่าที่ได้จากการทดลองและค่าที่ได้จากการทำนายมีความคลาดเคลื่อนน้อยกว่า 5% แสดงให้เห็นว่าแบบจำลองที่มีความน่าเชื่อถือในการทำนายค่าตอบสนอง (Cunha *et al.*, 2025) ผลการศึกษาข้างต้นสามารถนำไปประยุกต์ใช้ในการปรับปรุงกระบวนการผลิตผงจิ้งหรีดเอกซ์ทรูดในอุตสาหกรรมอาหารเพื่อให้ได้ผลิตภัณฑ์ที่มีคุณภาพสูงและสามารถในการแข่งขันในตลาดเชิงพาณิชย์ต่อไป

### 4. ผลของการเติมกรดอินทรีย์ต่อคุณสมบัติของผงจิ้งหรีดเอกซ์ทรูด

การศึกษาผลของการปรับสภาพความเป็นกรดของ ECP ด้วยกรดอินทรีย์ได้แก่ กรดซิตริก ฟูมาริก และแอสคอร์บิก พบว่า ECP ที่ปรับสภาพให้เป็นกรดมีความสามารถในการละลาย ดัชนีความขาว และความสามารถในการต้านจุลินทรีย์สูงกว่าผลิตภัณฑ์ ECP ที่ไม่ได้ปรับสภาพเป็นกรด (Figure 2a, 2b และ 3c) นอกจากนี้ การปรับสภาพให้เป็นกรดด้วยกรดฟูมาริกที่ระดับความเข้มข้น 1% มีความสามารถในการละลายสูงสุด (80.1%) รองลงมาคือ กรดซิตริก (77.9%) และกรดแอสคอร์บิกมีค่าต่ำสุด (76.8%) ( $p < 0.05$ ) และความสามารถในการละลายของผงจิ้งหรีดไม่ผ่านเอกซ์ทรูดเท่ากับ 44.5% ซึ่งมีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญ ( $p < 0.05$ ) จากการศึกษาการปรับสภาพ ECP ด้วยกรดอินทรีย์เพิ่มขึ้นส่งผลต่อความสามารถในการละลายเพิ่มขึ้นอย่างมีนัยสำคัญ ( $p < 0.05$ ) (Figure 3a) ECP ที่เติมกรดฟูมาริกที่ระดับความเข้มข้น 1% ความสามารถในการละลายสูงสุด ขณะที่กรดซิตริกและกรดแอสคอร์บิกก็มีประสิทธิภาพรองลงมาตามลำดับ ( $p < 0.05$ ) การปรับสภาพ ECP ด้วยกรดอินทรีย์มีผลต่อการเปลี่ยนแปลงความเป็นกรด-ด่าง (pH) ซึ่งทำให้การเปลี่ยนแปลงโครงสร้างโปรตีนให้เสถียรมากขึ้นและเพิ่มความสามารถในการละลายของ ECP อย่างไรก็ตาม ความสามารถในการละลายจะเพิ่มขึ้นเมื่อมีการปรับ pH ให้อยู่ในช่วงที่เหมาะสมอีกด้วย งานวิจัยที่ผ่านมาได้ชี้ให้เห็นว่าการใช้กรดอินทรีย์ในผงโปรตีนจิ้งหรีดที่ผ่านกระบวนการเอกซ์ทรูชันช่วยเพิ่ม

ความสามารถในการละลายของโปรตีนได้อย่างมีประสิทธิภาพ โดยกรดอินทรีย์สามารถจับกับไอออนโลหะที่กระตุ้นการออกซิเดชันของโปรตีน การยับยั้งการเกิดออกซิเดชันทำให้โครงสร้างโปรตีนคงตัวมากขึ้น ส่งผลให้โปรตีนสามารถละลายในน้ำได้ดีขึ้น (Sorathiya *et al.*, 2025) การเติมกรดอินทรีย์ช่วยปรับค่า pH ของระบบให้อยู่ในช่วงที่ห่างจากค่าจุดไอโซอิเล็กทริก (Isoelectric Point,  $pI$ ) ซึ่งเป็นจุดที่โปรตีนมีประจุสุทธิเป็นศูนย์ การเปลี่ยนแปลงนี้ทำให้โปรตีนมีประจุสุทธิเป็นลบหรือบวก ส่งผลให้เกิดแรงผลักระหว่างโมเลกุลโปรตีน ช่วยลดการจับตัวกันและเพิ่มความสามารถในการละลายในสารละลายได้ดีขึ้น นอกจากนี้ กรดอินทรีย์ยังมีบทบาทสำคัญในการลดแรงยึดเหนี่ยวระหว่างโมเลกุลโปรตีน โดยเฉพาะพันธะไฮโดรเจนและพันธะซัลไฟด์ ซึ่งเป็นสาเหตุสำคัญที่ทำให้โปรตีนจับตัวกันในรูปแบบที่ไม่ละลายน้ำ อีกทั้ง การเติมกรดอินทรีย์ยังช่วยยับยั้งการรวมตัวของโปรตีน ซึ่งเกิดจากปฏิกิริยาระหว่างกลุ่มไฮโดรโฟบิก (Hydrophobic interaction) ที่ส่งผลต่อการลดความสามารถในการละลายของโปรตีน (Sorathiya *et al.*, 2025)

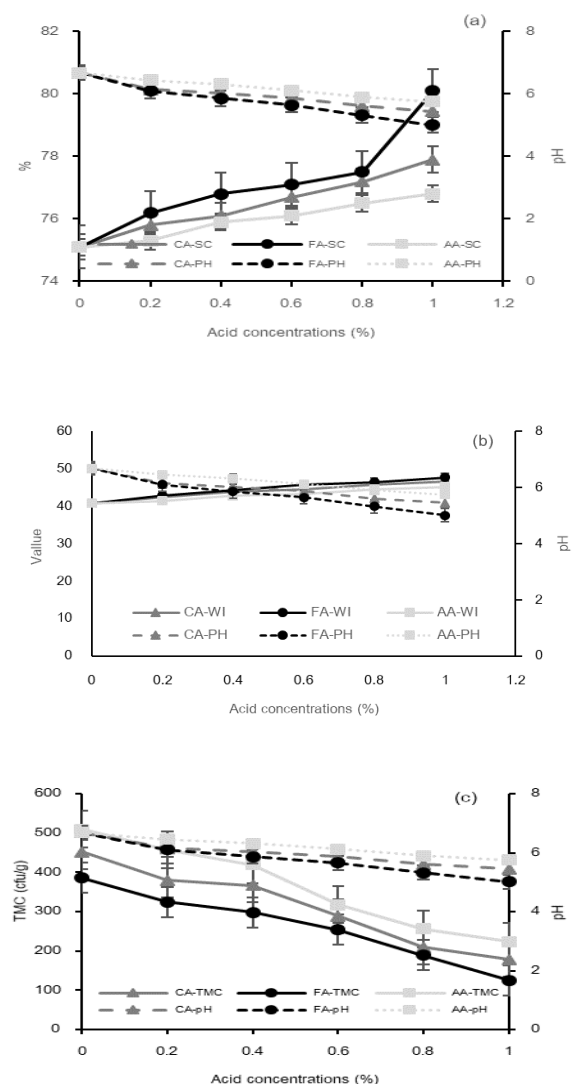
ดัชนีความขาวนับว่าเป็นตัวชี้วัดทางกายภาพที่สำคัญในการวิเคราะห์คุณสมบัติด้านสีของ ECP พบว่าการเติมกรดฟูมาริกที่ระดับความเข้มข้น 1% มีดัชนีความขาวสูงสุด (38.7) รองลงมาคือกรดซิตริก (38.5) และกรดแอสคอร์บิกมีค่าต่ำสุด (37.9) และดัชนีความขาวของผงจึงหรีดไม่ผ่านเอกซ์ทรูดเท่ากับ 30.4 ซึ่งมีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญ ( $p < 0.05$ ) จากผลการทดลองแสดงให้เห็นว่า การปรับสภาพ ECP ด้วยกรดอินทรีย์เพิ่มขึ้นส่งผลต่อดัชนีความขาวเพิ่มขึ้นอย่างมีนัยสำคัญ ( $p < 0.05$ ) (Figure 3b) การเติมกรดฟูมาริกใน ECP ที่ระดับความเข้มข้น 1% มีผลให้ค่าดัชนีความขาวมากกว่ากรดซิตริกและกรดแอสคอร์บิกอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ( $p < 0.05$ ) กรดฟูมาริกมีประสิทธิภาพในการปรับปรุงความขาวมากกว่ากรดซิตริกและกรดแอสคอร์บิก เนื่องจากลักษณะโครงสร้างทางเคมีที่เป็นกรดสูงที่สุดที่ความเข้มข้นเท่ากัน ซึ่งสัมพันธ์กับปริมาณไอออนไฮโดรเจน ( $H^+$ ) ในสารละลายที่สูงกว่ากรดซิตริกและกรดแอสคอร์บิก (Abdullahi *et al.*, 2022) กรดฟูมาริกมีความเป็นกรดสูงจึงสามารถยับยั้งปฏิกิริยาออกซิเดชันที่ทำให้โปรตีนเปลี่ยนสีส่งผลให้มีดัชนีความขาวของ ECP สูงขึ้น จากงานวิจัยที่ผ่านมาได้รายงานว่า การใช้กรดอินทรีย์ในการผลิตผงโปรตีนเอกซ์ทรูดมีประสิทธิภาพในการยับยั้งปฏิกิริยาสีน้ำตาลเนื่องจากปฏิกิริยาดังกล่าวเกิดได้ดีที่สุดในค่า pH เป็นกลางถึงด่างอ่อน ( $pH$  6–10) การเติมกรดอินทรีย์ลดค่า pH ของระบบทำให้เป็นกรด

( $pH < 5$ ) ซึ่งจะยับยั้งปฏิกิริยาเริ่มต้นได้อย่างมีประสิทธิภาพ (Leonard *et al.*, 2019) นอกจากนี้ กรดอินทรีย์ยังสามารถจับกับไอออนโลหะ เช่น เหล็กและทองแดง ซึ่งเป็นตัวเร่งปฏิกิริยาสีน้ำตาล และลดสารตั้งต้น เช่น น้ำตาลรีดิวซ์และกลุ่มอะมิโนอิสระส่งผลให้สีและกลิ่นไม่พึงประสงค์ลดลง รวมถึงกรดอินทรีย์ยังช่วยลดการเกิดอนุมูลอิสระ และยับยั้งปฏิกิริยาออกซิเดชันที่ส่งผลต่อคุณสมบัติโปรตีน (Sorathiya *et al.*, 2025; Natukunda *et al.*, 2015) ดังนั้น การใช้กรดอินทรีย์ในกระบวนการเอกซ์ทรูดเพิ่มความขาวของผลิตภัณฑ์โดยลดการเกิดปฏิกิริยาสีน้ำตาลและปฏิกิริยาออกซิเดชัน นอกจากนี้ ยังช่วยคงคุณค่าทางโภชนาการได้อย่างมีประสิทธิภาพ

ผลของการเติมกรดอินทรีย์ใน ECP เพื่อยับยั้งการเจริญเติบโตของจุลินทรีย์ พบว่าการเติมกรดฟูมาริกที่ระดับความเข้มข้น 1% มีปริมาณจุลินทรีย์ทั้งหมด (178 cfu/g) ต่ำสุด รองลงมาคือกรดซิตริก (125 cfu/g) และกรดแอสคอร์บิกมีค่าสูงสุด (224 cfu/g) ตามลำดับ และปริมาณจุลินทรีย์ทั้งหมดของผงจึงหรีดไม่ผ่านเอกซ์ทรูดเท่ากับ 656 cfu/g ซึ่งมีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญ ( $p < 0.05$ ) เมื่อเพิ่มความเข้มข้นของกรดอินทรีย์ทั้ง 3 ชนิด ส่งผลให้มีการลดลงของปริมาณจำนวนจุลินทรีย์ทั้งหมดเพิ่มขึ้นอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ( $pH < 5$ ) (Figure 3c) สอดคล้องกับงานวิจัยของ Kovanda *et al.* (2019) ได้รายงานว่ากรดอินทรีย์มีผลในการยับยั้งจุลินทรีย์อย่างมีนัยสำคัญ นอกจากนี้ สภาวะที่มีค่า pH ต่ำยังช่วยเพิ่มประสิทธิภาพในการต้านจุลินทรีย์อีกด้วยด้วยกรดอินทรีย์ เช่น กรดซิตริก กรดมาลิก และกรดแอสคอร์บิก ได้นำมาใช้ปรับค่า pH ของผลิตภัณฑ์อาหารให้ลดลงเพื่อสร้างสภาวะที่ไม่เหมาะสมต่อการเจริญเติบโตของจุลินทรีย์ (Natukunda *et al.*, 2015; Sorathiya *et al.*, 2025) สอดคล้องกับงานวิจัยของ Kovanda *et al.* (2019) ที่รายงานว่ากรดอินทรีย์มีประสิทธิภาพในการยับยั้งการเจริญเติบโตของจุลินทรีย์ได้อย่างมีนัยสำคัญ โดยสภาวะที่มีค่า pH ต่ำ จะช่วยเสริมประสิทธิภาพในการต้านจุลินทรีย์ มีการใช้กรดอินทรีย์ เช่น กรดซิตริก กรดมาลิก และกรดแอสคอร์บิก เพื่อลดค่า pH ของผลิตภัณฑ์อาหารให้ลดลงเพื่อให้มีสภาวะแวดล้อมที่ไม่เหมาะสมต่อการเจริญเติบโตของจุลินทรีย์ (Natukunda *et al.*, 2015; Sorathiya *et al.*, 2025) แม้ว่าการใช้กรดอินทรีย์จะช่วยปรับปรุงคุณสมบัติของผงโปรตีนจึงหรีดที่ผ่านกระบวนการเอกซ์ทรูด แต่การเลือกชนิดและปริมาณกรดที่เหมาะสมยังเป็นปัจจัยสำคัญที่ต้องพิจารณาอย่างรอบคอบเพื่อป้องกันไม่ให้เกิดผลกระทบต่อรสชาติและคุณสมบัติของผลิตภัณฑ์โดยรวม

### สรุปผลการทดลองและข้อเสนอแนะ

จากการศึกษาสภาวะที่เหมาะสมในการผลิต ECP ด้วยวิธีการตอบสนองพื้นผิวพบว่า สภาวะที่เหมาะสมในการผลิตผงจิ้งหรีดเอกซ์ทรูดคือ อัตราส่วนของ CP:MD, ปริมาณ CMC และปริมาณน้ำ เท่ากับ 83:17, 1.6% และ 41% โดยน้ำหนักผงจิ้งหรีด สภาวะดังกล่าวให้ค่าตอบสนองสูงสุดของ ปริมาณโปรตีน (63.0%) ความสามารถในการละลาย (74.9%) และดัชนีความขาว(46.7) เมื่อทดสอบความถูกต้องของแบบจำลองพบว่าแบบจำลองมีความเชื่อมั่นสูงในการทำนายค่าตอบสนองเหล่านี้ นอกจากนี้ การปรับสภาพ ECP ด้วยกรดอินทรีย์ได้แก่ กรดซิตริก กรดฟูมาริก และกรดแอสคอร์บิก ที่ระดับความเข้มข้นแตกต่างกัน (0%, 0.2%, 0.4%, 0.6%, 0.8% และ 1.0% โดยน้ำหนักผงจิ้งหรีด) ส่งเสริมให้ผลิตภัณฑ์มีความสามารถในการละลาย ดัชนีความขาวและการต้านจุลินทรีย์เพิ่มขึ้นตามความเข้มข้นของกรดที่สูงขึ้น โดยกรดฟูมาริกที่ความเข้มข้น 1% ช่วยส่งเสริมคุณสมบัติของผลิตภัณฑ์สูงสุด ดังนั้น การศึกษาครั้งนี้ ยืนยันได้ว่าวิธีการตอบสนองพื้นผิวเป็นเครื่องมือที่มีประสิทธิภาพในการหาสภาวะที่เหมาะสมในการผลิตผงจิ้งหรีดเอกซ์ทรูด และการเติมกรดอินทรีย์ยังช่วยปรับปรุงคุณสมบัติทางกายภาพของผลิตภัณฑ์ ซึ่งนับว่าเป็นทางเลือกที่ดีในการเพิ่มมูลค่าให้กับจิ้งหรีดในการเป็นวัตถุดิบในผลิตภัณฑ์อาหารโปรตีนสูงต่อไป



**Figure 2** Effect of various levels of citric acid, fumaric acid and ascorbic acid on Solubility (Sol;%) (a), Whiteness Index (b) and Total microbial counts (TMC) (c) and pH in extruded cricket powder

### กิตติกรรมประกาศ

การวิจัยครั้งนี้ได้รับงบประมาณสนับสนุนจากกองทุนวิทยาศาสตร์ วิจัย และนวัตกรรม เพื่อสนับสนุนงานมูลฐาน (Fundamental Fund; FF) ปีงบประมาณ 2566 มหาวิทยาลัยนครพนม

### เอกสารอ้างอิง

Abdullahi, N., Igwe, E. C., Dandago, M. A., Rilwan, A., Jibril, H., & Iliyasu, R. (2022). Utilization of edible insects as protein substitute in food and effects of processing on their nutrient contents and protein functionalities. *Food ScienTech Journal*, 4(2), 83–93. <https://doi.org/10.33512/fsj.v4i2.14527>

- Adebowale, A. A., Sanni, S. A., & Oladapo, F. O. (2009). Chemical, functional and sensory properties of instant yam–breadfruit flour. *Nigerian Food Journal*, 26(1), 1–10. <https://doi.org/10.4314/nifo.v26i1.47417>
- Ali, I. M., Forsido, S. F., Kuyu, C. G., Ahmed, E. H., Andersa, K. N., Chane, K. T., & Regasa, T. K. (2024). Effects of extrusion process conditions on nutritional, anti-nutritional, physical, functional, and sensory properties of extruded snack: A review. *Food Science & Nutrition*, 12(11), 8755–8761. <https://doi.org/10.1002/fsn3.4472>
- Anankware, J. P., Roberts, B. J., Cheseto, X., Osuga, I., Savolainen, V., & Collins, C. M. (2021). The nutritional profiles of five important edible insect species from West Africa—An analytical and literature synthesis. *Frontiers in Nutrition*, 8, Article 792941. <https://doi.org/10.3389/fnut.2021.792941>
- AOAC. (2000). *Official methods of analysis of AOAC Intl* (17th ed.). Association of Official Analytical Chemists.
- Chaipoot, S., Phongphisutthinant, R., Wiriyaeharee, P., Kanthakat, G., Wongwatcharayothin, W., Somjai, C., Danmek, K., & Chuttong, B. (2024). Application of carboxymethyl cellulose and glycerol monostearate as binder agents for protein powder production from honey bee brood using foam-mat drying technique. *Foods*, 13(14), Article 2265. <https://doi.org/10.3390/foods13142265>
- Chuaychan, S., & Benjakul, S. (2016). Effect of malto-dextrin on characteristics and antioxidative activity of spray-dried powder of gelatin and gelatin hydrolysate from scales of spotted golden goatfish. *Journal of Food Science and Technology*, 53(9), 3583–3592. <https://doi.org/10.1007/s13197-016-2340-7>
- Cunha, N., Andrade, V., Macedo, A., Ruivo, P., & Lima, G. (2025). Methods of protein extraction from house crickets (*Acheta domesticus*) for food purposes. *Foods*, 14(7), Article 1164. <https://doi.org/10.3390/foods14071164>
- Halloran, A., Roos, N., Flore, R., & Hanboonsong, Y. (Eds.). (2017). *Edible insects in sustainable food systems*. Springer. <https://doi.org/10.1007/978-3-319-74011-9>
- Hanboonsong, Y., Jamjanya, T., & Durst, P. B. (2013). *Six-legged livestock: Edible insect farming, collecting and marketing in Thailand*. Food and Agriculture Organization of the United Nations (FAO).
- Haug, W., & Lantzsch, H.-J. (1983). Sensitive method for the rapid determination of phytate in cereals and cereal products. *Journal of the Science of Food and Agriculture*, 34(12), 1423–1426. <https://doi.org/10.1002/jsfa.2740341217>
- Islam, M., Huang, Y., Islam, M. S., Lei, N., Shan, L., Fan, B., Tong, L., & Wang, F. (2022). Effect of high-moisture extrusion on soy meat analog: Study on its morphological and physicochemical properties. *Italian Journal of Food Science*, 34(2), 9–20. <https://doi.org/10.15586/ijfs.v34i2.2141>
- Janssen, R. H., Lakemond, C. M. M., Riedl, H., van der Fels-Klerx, H. J., & van Boekel, M. A. J. S. (2017). Nitrogen-to-protein conversion factors for three edible insects: *Tenebrio molitor*, *Alphitobius diaperinus*, and *Hermetia illucens*. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 65(10), 2275–2278. <https://doi.org/10.1021/acs.jafc.7b00471>
- Kovanda, L., Zhang, W., Wei, X., Luo, J., Wu, X., Atwill, E. R., Vaessen, S., Li, X., & Liu, Y. (2019). In vitro antimicrobial activities of organic acids and their derivatives on several species of Gram-negative and Gram-positive bacteria. *Molecules*, 24(20), Article 3770. <https://doi.org/10.3390/molecules24203770>
- Leonard, W., Zhang, P., Ying, D., & Fang, Z. (2019). Application of extrusion technology in plant food processing by-products: An overview. *Comprehensive Reviews in Food Science and Food Safety*, 18(1), 1–20. <https://doi.org/10.1111/1541-4337.12514>
- Mancini, S., Moruzzo, R., Riccioli, F., & Paci, G. (2019). European consumers' readiness to adopt insects as food: A review. *Food Research International*, 122, 661–678. <https://doi.org/10.1016/j.foodres.2019.01.041>
- Mazumder, M. A. R., Panpipat, W., Chaijan, M., Shetty, K., & Rawdkuen, S. (2023). Role of plant protein on the quality and structure of meat analogs: A new perspective for vegetarian foods. *Future Foods*, 8,

- Article 100280. <https://doi.org/10.1016/j.fufo.2023.100280>
- Montowska, M., Kowalczewski, P. Ł., Rybicka, I., & Fornal, E. (2019). Nutritional value, protein and peptide composition of edible cricket powders. *Food Chemistry*, 289, 130–138. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2019.03.062>
- Natukunda, S., Muyonga, J. H., & Mukisa, I. M. (2015). Effect of tamarind (*Tamarindus indica* L.) seed on antioxidant activity, phytochemicals, physicochemical characteristics, and sensory acceptability of enriched cookies and mango juice. *Food Science & Nutrition*, 4(4), 494–507. <https://doi.org/10.1002/fsn3.311>
- Osorio, C., & Hofmann, T. (2024). Role of analytical and organic chemistry supporting the challenges in food preservation and safety. *ACS Food Science & Technology*, 4(1), 1–2. <https://doi.org/10.1021/acs-food.scitech.3c00683>
- Pervez, M., & Manzoor, F. (2022). Role of edible insects as food source to combat food security challenges: Innovative and traditional approaches. In *Food security challenges and approaches*. IntechOpen. <https://doi.org/10.5772/intechopen.106809>
- Pismag, R. Y., Polo, M. P., Hoyos, J. L., Bravo, J. E., & Roa, D. F. (2024). Effect of extrusion cooking on the chemical and nutritional properties of instant flours: A review. *F1000Research*, 12, Article 1356. <https://doi.org/10.12688/f1000research.140748.2>
- Shi, Y., Pu, D., Zhou, X., & Zhang, Y. (2022). Recent progress in the study of taste characteristics and the nutrition and health properties of organic acids in foods. *Foods*, 11(21), Article 3408. <https://doi.org/10.3390/foods11213408>
- Sobowale, S. S., Obadina, A. O., Omemu, A. M., & Adegunwa, M. O. (2016). Process optimization of extrusion variables and its effect on properties of extruded cocoyam (*Xanthosoma sagittifolium*) noodles. *Journal of Food Processing and Preservation*, 40(3), 516–527. <https://doi.org/10.1111/jfpp.12630>
- Sorathiya, K. B., Melo, A., Hogg, M. C., & Pintado, M. (2025). Organic acids in food preservation: Exploring synergies, molecular insights, and sustainable applications. *Sustainability*, 17(8), Article 3434. <https://doi.org/10.3390/su17083434>
- Yu, X., Wang, H., Yuan, Y., Shi, J., Duan, Y., Wang, L., Wang, P., & Xiao, Z. (2023). Changes in physicochemical and structural properties of pea protein during the high moisture extrusion process: Effects of carboxymethylcellulose sodium and different extrusion zones. *International Journal of Biological Macromolecules*, 243, Article 126350. <https://doi.org/10.1016/j.ijbiomac.2023.126350>

ประสิทธิภาพของ *Bacillus tequilensis* S3.1 ในการควบคุมเชื้อรา *Trichoderma atroviride* และ *Trichoderma longibrachiatum* สาเหตุของโรคราเขียวในเห็ดนางฟ้าภูฐาน (*Pleurotus pulmonarius*)

Efficacy of *Bacillus tequilensis* S3.1 to control fungal *Trichoderma atroviride* and *Trichoderma longibrachiatum* caused green mold disease in phoenix oyster mushroom (*Pleurotus pulmonarius*)

เจนจิรา เดชรักษา<sup>1\*</sup> และ ปาริสีชชา แสงสุวรรณ<sup>1</sup>

Janejira Detraksa<sup>1\*</sup> and Parisatcha Sangsuwan<sup>1</sup>

Received: 15 October 2024 ; Revised: 8 January 2025 ; Accepted: 25 April 2025

บทคัดย่อ

*Trichoderma* spp. เป็นสาเหตุของโรคราเขียวในเห็ดนางฟ้าภูฐาน การควบคุมโรคด้วยแบคทีเรียปฏิปักษ์เป็นการควบคุมโดยชีววิธีที่ปลอดภัยต่อมนุษย์และเป็นมิตรต่อสิ่งแวดล้อม งานวิจัยนี้มีวัตถุประสงค์เพื่อคัดแยกแบคทีเรียปฏิปักษ์ที่ยับยั้งการเจริญของ *Trichoderma* spp. และทดสอบประสิทธิภาพของแบคทีเรียปฏิปักษ์ในการควบคุมโรคราเขียวระดับโรงเรือน โดยสามารถแยก *Trichoderma* spp. จากก้อนเชื้อเห็ดที่เป็นโรคได้ 3 ไอโซเลต เมื่อจำแนกชนิดโดยการวิเคราะห์ลำดับ นิวคลีโอไทด์บริเวณ ITS พบว่าคือ *Trichoderma atroviride* BM1.2, *Trichoderma longibrachiatum* GM3 และ *Trichoderma longibrachiatum* GM4 ทำการแยกแบคทีเรีย *Bacillus* spp. จากก้อนเชื้อเห็ดได้ 20 ไอโซเลต จากนั้นทดสอบการยับยั้งการเจริญของ *Trichoderma* spp. ด้วยวิธี dual culture พบว่า *Bacillus* sp. S3.1 ยับยั้งการเจริญของ *Trichoderma atroviride* BM1.2, *Trichoderma longibrachiatum* GM3 และ *Trichoderma longibrachiatum* GM4 ได้สูงที่สุดเท่ากับร้อยละ 63.01, 55.99 และ 53.96 ตามลำดับ *Bacillus* sp. S3.1 สามารถสร้างสารระเหยที่สามารถยับยั้งการเจริญและการสร้างสปอร์ของเชื้อราได้ เมื่อจำแนกชนิดโดยวิเคราะห์ลำดับนิวคลีโอไทด์ 16s rDNA พบว่าคือ *Bacillus tequilensis* จากนั้นทดสอบประสิทธิภาพการควบคุมเชื้อราบนก้อนเชื้อเห็ดในระยะบ่มเส้นใยและระยะเปิดดอกในโรงเรือน พบว่าชุดการทดลองที่มี *Bacillus tequilensis* S3.1 ร่วมกับ *Trichoderma* sp. มีค่าดัชนีการเกิดโรคต่ำกว่าในชุดการทดลองที่มีเชื้อราเพียงอย่างเดียวอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ และให้ผลผลิตไม่แตกต่างจากชุดควบคุมที่ไม่เป็นโรค จากผลการทดสอบทั้งหมดแสดงให้เห็นว่า *Bacillus tequilensis* S3.1 สามารถควบคุมโรคราเขียวและลดการสูญเสียผลผลิต สามารถพัฒนาเป็นชีวภัณฑ์สำหรับควบคุมโรคราเขียวในเห็ดนางฟ้าภูฐานต่อไป

คำสำคัญ: แบคทีเรียปฏิปักษ์, การควบคุมโดยชีววิธี, โรคราเขียว, เห็ดนางฟ้าภูฐาน

Abstract

*Trichoderma* spp. are important causative agents of green mold disease in the production of phoenix oyster mushroom. Disease control using antagonistic bacteria is one of the biological control methods that is safe for humans and environmentally friendly. This research aimed to screen antagonistic bacteria against *Trichoderma* spp. and investigate the efficiency of these bacteria in controlling *Trichoderma* spp. in the greenhouse. The three fungal isolates were isolated from infected cultivating bag samples. Based on morphological characteristics and sequence analysis of the ITS region, the results showed that they were identified as *Trichoderma atroviride* BM1.2, *Trichoderma longibrachiatum* GM3, and *Trichoderma longibrachiatum* GM4. Twenty isolates of *Bacillus* spp. were isolated and screened for their ability to control the pathogenic fungi. In dual culture testing, *Bacillus* sp. S3.1 exhibited the highest efficacy to inhibit the growth of *Trichoderma atroviride* BM1.2, *Trichoderma longibrachiatum* GM3, and *Trichoderma longibrachiatum*

<sup>1</sup> สาขาวิชาชีววิทยา คณะวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยี มหาวิทยาลัยราชภัฏเทพสตรี, ลพบุรี

<sup>1</sup> Biology Program, Faculty of Science and technology, Thepsatri Rajabhat University, Lopburi

\* Corresponding author, e-mail : janejira.d@lawasri.tru.ac.th

GM4 by 63.01%, 55.99%, and 53.96, respectively. The volatile organic compounds (VOCs) production analysis of *Bacillus* sp. S3.1 showed the inhibition of the growth and sporulation of the tested fungi. Based on 16S rDNA gene analysis, isolate S3.1 was identified as *Bacillus tequilensis*. *In vivo* experiments, the spawning and cropping stages, all antagonist treatments reduced the disease incidence compared to the single pathogen treatments. In addition, the mushroom yields of antagonist treatments were not significantly different from those of uninfected treatments. This antagonist isolate could reduce the incidence of green mold disease and decrease the loss of fresh mushroom production. This study suggests *Bacillus tequilensis* S3.1 is a promising biocontrol agent and could be developed as a biological fungicide for oyster mushroom production.

**Keywords:** Antagonistic bacteria, Biological control, Green mold disease, Phoenix oyster mushroom

## บทนำ

เห็ดนางฟ้าภูฐาน (phoenix oyster mushroom; *Pleurotus pulmonarius*) เป็นเห็ดเศรษฐกิจที่สามารถเพาะได้ง่าย มีอายุการพักเชื้อสั้นและให้ผลผลิตที่ดีในสภาพอากาศในประเทศไทยได้ตลอดทั้งปี การเพาะเห็ดนางฟ้าภูฐานนิยมเพาะในถุงพลาสติกและวางในโรงเรือน ปัญหาสำคัญของการเพาะเห็ดในถุงพลาสติกคือ เชื้อราที่ทำลายก้อนเชื้อเห็ด โดยเฉพาะโรคราเขียวที่มีสาเหตุจาก *Trichoderma* spp. ซึ่งเส้นใยของเชื้อราชนิดนี้สามารถเจริญแข่งขันกับเส้นใยของเห็ด ส่งผลให้ผลผลิตดอกเห็ดลดลงร้อยละ 30-50 (Kumar & Sarathi, 2017) สายพันธุ์ของ *Trichoderma* spp. ที่พบว่าปนเปื้อนในก้อนเชื้อเห็ด เช่น *Trichoderma atroviride*, *Trichoderma harzianum*, *Trichoderma pleurotum* และ *Trichoderma pleuroticola* เป็นต้น (Cao *et al.*, 2024; Qiu *et al.*, 2017) โดยในช่วงแรก *Trichoderma* spp. สร้างเส้นใยสีขาวอัดแน่นที่มีลักษณะเหมือนกับเส้นใยของเห็ด ทำให้แยกออกจากเส้นใยเห็ดได้ยาก จากนั้นจะสร้างปอร์สีย่อยจำนวนมากเกิดเป็นบริเวณสีเขียวย เชื้อราจะเข้าทำลายวัสดุเพาะเห็ดอย่างรวดเร็ว สร้างเอนไซม์ย่อยสลายเส้นใยเห็ด ทำให้เห็ดไม่สามารถออกดอกได้ และทำให้เกิดจุดสีน้ำตาลบนดอกเห็ดอีกด้วย (Shah *et al.*, 2013; Sasic Zoric *et al.*, 2023) การกำจัดก้อนเห็ดที่เป็นโรคและการทำความสะอาดโรงเรือนเป็นวิธีการป้องกันและกำจัดโรคเชื้อราเขียวที่ยังไม่มีประสิทธิภาพมากนัก สารเคมีที่ใช้ในการป้องกันและกำจัดโรค เช่น thiophanate-methyl, carbendazim, prochloraz, hexaconazole, metrafenone และ tebuconazole เป็นต้น (Zeng *et al.*, 2022) ซึ่งการใช้สารเคมีกำจัดเชื้อราเป็นวิธีที่มีประสิทธิภาพ แต่หากใช้ในความเข้มข้นสูง จะส่งผลต่อการเจริญของเส้นใยและการพัฒนาเป็นดอกเห็ด (Potocnik *et al.*, 2019)

ในปัจจุบันมีการศึกษาการควบคุมโรคในเห็ดเศรษฐกิจโดยชีววิธี (biological control) เช่น สารสกัดจากพืช จุลินทรีย์ปฏิปักษ์หรือสารเมแทบอลิซึมจากจุลินทรีย์ เป็นต้น การควบคุม

โดยชีววิธีถือเป็นวิธีที่ปลอดภัยต่อมนุษย์และสิ่งแวดล้อม เมื่อเปรียบเทียบกับการใช้สารเคมีควบคุมโรคในเห็ด โดยเฉพาะจุลินทรีย์ปฏิปักษ์มีกลไกการควบคุมเชื้อรา ได้แก่ การสร้างสารปฏิชีวนะ การแย่งแย่งอาหาร พื้นที่อาศัย และกระบวนการเป็นปรสิต โดยแบคทีเรียปฏิปักษ์ที่ผลิตในทางการค้าเป็นแบคทีเรียในสกุล *Bacillus* และ *Pseudomonas* (Stanojevic *et al.*, 2016) *Bacillus* spp. เป็นแบคทีเรียที่มีความสามารถแข่งขันกับจุลินทรีย์อื่นได้สูง สามารถผลิตสารเมแทบอลิซึมได้หลายชนิด เช่น สารปฏิชีวนะ แบคเทอริโอซิน สารประกอบอินทรีย์ระเหย (volatile organic compounds: VOCs) เอนไซม์ย่อยสลายผนังเซลล์ (chitinase, galactanase, isoamylase) ไซเดอร์โรฟอร์ (siderophores) และสารประเภท lipopeptide เป็นต้น (Calvo *et al.*, 2020) โดยเฉพาะสารประเภท lipopeptide เช่น iturin, fengycin และ surfactin เป็นต้น สามารถต่อต้านเชื้อราก่อโรคพืชหลายชนิด เช่น *Rhizoctonia solani*, *Pythium ultimum*, *Botrytis cinerea*, *Podosphaera fusca*, *Fusarium graminearum* (Li *et al.*, 2016) ทำให้ *Bacillus* spp. มีศักยภาพในการควบคุมโรคพืชจากเชื้อราได้ดี ปัจจุบัน *Bacillus* spp. เป็นจุลินทรีย์ที่ได้รับความนิยมในการผลิตเป็นชีวภัณฑ์ทางการค้า เนื่องจากสามารถสร้างเอนโดสปอร์ (endospore) ที่ช่วยให้มีชีวิตรอดในระบอบนิเวศและสภาพแวดล้อมที่ไม่เหมาะสมได้ จึงทำให้ชีวภัณฑ์จาก *Bacillus* spp. มีอายุการเก็บรักษาที่ยาวนาน นอกจากนี้ *Bacillus* spp. หลายสายพันธุ์ยังคงปลอดภัยต่อสิ่งแวดล้อม ไม่เป็นอันตรายต่อสุขภาพของมนุษย์ และโดยทั่วไปได้รับการยอมรับว่าปลอดภัย (GRAS) (Potocnik *et al.*, 2019) มีรายงานการศึกษา *Bacillus amyloliquefaciens*, *Bacillus licheniformis* และ *Bacillus subtilis* ในการควบคุมเชื้อรา *Trichoderma* spp. ในเห็ดตระกูลนางรมและเห็ดกระดุม (Mwangi *et al.*, 2017; Roberti *et al.*, 2019; Stanojevic *et al.*, 2016) การใช้เซลล์แขวนลอยของผงเชื้อแบคทีเรีย *Bacillus* sp. PB6 ป่นในก้อนวัสดุเพาะเห็ดนางฟ้าภูฐานสามารถลดการเกิดโรคราดำได้ร้อยละ

ละ 76.83 (Yenjit & Intana, 2016) ดังนั้นงานวิจัยนี้มีวัตถุประสงค์เพื่อแยกเชื้อรา *Trichoderma* spp. สาเหตุของโรคโรคราเขียวจากก้อนเชื้อเห็ดนางฟ้าภูฐาน คัดแยก *Bacillus* spp. ที่สามารถยับยั้งการเจริญของ *Trichoderma* spp. และศึกษาประสิทธิภาพของ *Bacillus* spp. สายพันธุ์ปฏิบัติการในการควบคุมโรคโรคราเขียวของเห็ดนางฟ้าภูฐานในระดับโรงเรือน

## การทดลอง

### การแยกเชื้อราเขียวจากก้อนเชื้อเห็ดนางฟ้าภูฐาน

เก็บตัวอย่างก้อนเชื้อเห็ดนางฟ้าภูฐานที่เป็นโรคราเขียวจากโรงเพาะเห็ดกลุ่มวิสาหกิจชุมชนเกษตรพร้อมใจบ้านโพธิ์พร้อมจิต ตำบลธารเกษม อำเภอพระพุทธรบาท จังหวัดสระบุรี ทำการแยกเชื้อราโดยวิธี dilution pour plate บนอาหารเลี้ยงเชื้อ Potato dextrose agar (PDA) (HiMedia, India) บ่มที่อุณหภูมิ 30 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 5-7 วัน คัดแยกเชื้อราโคโลนีสีเขียวมาทำเชื้อบริสุทธิ์บนอาหารเลี้ยงเชื้อ PDA ตรวจสอบลักษณะทางสัณฐานวิทยาของเส้นใยและสปอร์ภายใต้กล้องจุลทรรศน์ นำตัวอย่างเชื้อราที่แยกได้ส่งไปวิเคราะห์ลำดับนิวคลีโอไทด์ที่บริษัท MacroGen Inc. ประเทศเกาหลี โดยใช้ primer ITS4 และ ITS5 จากนั้นนำลำดับนิวคลีโอไทด์ที่ได้ไปเปรียบเทียบกับความเหมือนกับฐานข้อมูล GenBank บนเว็บไซต์ The National Center for Biotechnology Information (NCBI) ด้วยโปรแกรม BLAST และสร้าง Phylogenetic tree ด้วยโปรแกรม MEGA11 โดยวิธี Neighbor-joining และ Bootstrap จำนวน 1,000 ซ้ำ

### การแยก *Bacillus* spp. จากก้อนเชื้อเห็ด

แยก *Bacillus* spp. จากก้อนเชื้อเห็ดนางฟ้าภูฐานด้วยวิธี dilution pour plate โดยนำวัสดุเพาะในก้อนเชื้อเห็ด 10 กรัม เจือจางในสารละลาย NaCl เข้มข้นร้อยละ 0.85 ปริมาตร 90 มิลลิลิตร จากนั้นนำไปแช่ในอ่างน้ำควบคุมอุณหภูมิที่ 80 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 5 นาที ทำเจือจางแบบ serial dilution และเพาะเลี้ยงด้วยอาหารเลี้ยงเชื้อ Nutrient agar (NA) (HiMedia, India) บ่มที่อุณหภูมิ 37 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 48 ชั่วโมง เลือกลโคไลที่เรียบมาทำเชื้อบริสุทธิ์บนอาหารเลี้ยงเชื้อ NA ศึกษาลักษณะทางสัณฐานวิทยาใต้กล้องจุลทรรศน์ด้วยการย้อมแกรม ศึกษาการสร้างเอนโดสปอร์ โดยการย้อมด้วย malachite green ทดสอบการสร้างเอนไซม์คะตะเลส (catalase) ด้วยไฮโดรเจนเปอร์ออกไซด์ ( $H_2O_2$ ) ความเข้มข้นร้อยละ 3

ศึกษาการจัดจำแนกชนิดของ *Bacillus* spp. ที่แยกได้โดยส่งไปวิเคราะห์ลำดับนิวคลีโอไทด์ที่บริษัท MacroGen Inc. ประเทศเกาหลี โดยใช้ primer 27F และ 1492R จากนั้นนำลำดับนิวคลีโอไทด์ที่ได้ไปเปรียบเทียบกับความเหมือนกับฐานข้อมูล GenBank บนเว็บไซต์ NCBI ด้วยโปรแกรม BLAST และสร้าง Phylogenetic tree โดยใช้โปรแกรม MEGA11 โดยวิธี Neighbor-joining และ Bootstrap จำนวน 1,000 ซ้ำ

### การทดสอบประสิทธิภาพของ *Bacillus* spp. ในการยับยั้งเชื้อราเขียวในระดับห้องปฏิบัติการ

การทดสอบการยับยั้งเชื้อราด้วยวิธี dual culture โดยนำโคโลนีของ *Bacillus* spp. มาขีดเป็นเส้นตรงบนอาหารเลี้ยงเชื้อ PDA โดยมีระยะห่างจากขอบจานเพาะเชื้อ 2.5 เซนติเมตร บ่มที่อุณหภูมิ 37 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 24 ชั่วโมง หลังจากนั้นตัดปลายเส้นใยเชื้อราอายุ 7 วันด้วย cork-borer ขนาดเส้นผ่านศูนย์กลาง 5 มิลลิเมตร วางบนอาหารเลี้ยงเชื้อ PDA ในแนวตรงข้ามกับแบคทีเรีย โดยมีระยะห่างจากขอบจานเลี้ยงเชื้อ 2.5 เซนติเมตร บ่มที่อุณหภูมิ 30 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 7 วัน ในขณะที่ชุดควบคุมมีเชื้อราเพียงอย่างเดียว ทำการทดลองจำนวน 3 ซ้ำ วัดขนาดของรัศมีโคโลนีเชื้อราและคำนวณร้อยละการยับยั้งการเจริญ (percent inhibition of radial growth: PIRG) จากสูตร  $R1 - R2/R1 \times 100$  เมื่อ  $R1$  = รัศมีของเชื้อราในชุดควบคุม และ  $R2$  = รัศมีของเชื้อราที่เพาะเลี้ยงร่วมกับ *Bacillus* spp.

### การทดสอบการสร้างสารประกอบอินทรีย์ระเหย

เตรียมเซลล์แขวนลอยของ *Bacillus* spp. โดยเพาะเลี้ยงในอาหารเลี้ยงเชื้อ Nutrient Broth (HiMedia, India) บ่มที่อุณหภูมิห้องบนเครื่องเขย่าความเร็ว 180 รอบต่อนาที (rpm) เป็นเวลา 48 ชั่วโมง จากนั้นปั่นเหวี่ยงที่ความเร็ว 8,000 รอบต่อนาที เป็นเวลา 15 นาที แยกส่วนตะกอนเซลล์ไปละลายในสารละลาย NaCl เข้มข้นร้อยละ 0.85 และปรับให้มีความเข้มข้น  $1 \times 10^8$  เซลล์ต่อมิลลิลิตร

ทดสอบการสร้างสารประกอบอินทรีย์ระเหยโดยวิธี double petri-dish assay (Calvo *et al.*, 2020) โดยเปิดเซลล์แขวนลอยของ *Bacillus* spp. 20 ไมโครลิตร เกลี่ยบนอาหารเลี้ยงเชื้อ NA บ่มที่อุณหภูมิ 37 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 24 ชั่วโมง ตัดปลายเส้นใยเชื้อราอายุ 7 วันด้วย cork-borer ขนาดเส้นผ่านศูนย์กลาง 5 มิลลิเมตร วางบนอาหารเลี้ยงเชื้อ PDA อีกจานหนึ่ง จากนั้นนำจานเลี้ยงเชื้อ *Bacillus* spp. และเชื้อรามารวมกันแล้วพ่นด้วยพาราฟิล์มให้แน่น ทำการทดลองจำนวน 3 ซ้ำ บ่มที่อุณหภูมิ 30 องศาเซลเซียส เป็นเวลา

7 วัน จากนั้นวัดขนาดเส้นผ่านศูนย์กลางของโคโลนีเชื้อราในแต่ละชุดการทดสอบ เปรียบเทียบกับชุดควบคุม และคำนวณหาอัตราการยับยั้งการเจริญของเชื้อราจากสูตร จากสูตร  $R1 - R2/R1 \times 100$  เมื่อ  $R1$  = รัศมีของเชื้อราในชุดควบคุม และ  $R2$  = รัศมีของเชื้อราที่เพาะเลี้ยงร่วมกับ *Bacillus* spp.

#### การทดสอบปฏิสัมพันธ์ของ *Bacillus* sp. ต่อการเจริญของเส้นใยเห็ดในก้อนเชื้อเห็ด

นำก้อนเชื้อเห็ดนางฟ้าภูฐานที่ฆ่าเชื้อแล้วมาหยอดหัวเชื้อเห็ดในเมล็ดข้าวฟ่างและบ่มไว้เป็นเวลา 7 วัน จากนั้นเปิดกระดาดที่ปิดบริเวณปากถุงออก เติมเซลล์แขวนลอยของ *Bacillus* spp. ปริมาตร 5 มิลลิลิตรบริเวณปากถุงด้วยไซริง (syringe) ปราศจากเชื้อ บ่มก้อนเชื้อที่อุณหภูมิห้องเป็นเวลา 30 วัน สังเกตการเจริญของเส้นใยเห็ดในก้อนเชื้อ

#### การทดสอบประสิทธิภาพของ *Bacillus* spp. ในการควบคุมโรคราเขียวในระดับโรงเรือน

การเตรียมก้อนเชื้อเห็ดนางฟ้าภูฐานที่ใช้ในการทดสอบ โดยในงานวิจัยนี้นำก้อนเชื้อเห็ดที่ผลิตจากกลุ่มวิสาหกิจชุมชนเกษตรพร้อมใจบ้านโพธิ์พร้อมจิต ตำบลธารเกษม อำเภอพระพุทธรบาท จังหวัดสระบุรี โดยมีส่วนผสมได้แก่ ขี้เลื่อยไม้ยางพารา 100 กิโลกรัม รำข้าว 6 กิโลกรัม โดโลไมท์ 2 กิโลกรัม แปะข้าวเหนียว 1 กิโลกรัม และยิปซัม 2 กิโลกรัม นำส่วนผสมทั้งหมดคลุกเคล้าให้เข้ากันในเครื่องผสม เติมน้ำจนให้มีความชื้นประมาณร้อยละ 60 (สังเกตจากการใช้มือกำขี้เลื่อยขึ้นมาบีบจนแห้ง โดยที่ขี้เลื่อยรวมกันเป็นก้อนแล้วแตกออก) จากนั้นบรรจุในถุงพลาสติกน้ำหนัก 900 กรัมต่อถุง เมื่ออัดก้อนแน่นดีแล้ว ใส่คอขวดพลาสติก อุดด้วยสำลี ปิดด้วยกระดาษ และรัดยางให้แน่น ทำการฆ่าเชื้อก้อนวัสดุเพาะเห็ดในถังนิ่ง เป็นเวลา 3-4 ชั่วโมงหลังน้ำเดือดทิ้งให้ก้อนวัสดุเพาะเย็นลง จากนั้นเติมหัวเชื้อเห็ดนางฟ้าภูฐานในเมล็ดข้าวฟ่างลงในก้อนเชื้อ ปิดปากถุงด้วยสำลีและกระดาษ และทำการบ่มก้อนวัสดุเพาะเห็ดต่อไป

#### การทดสอบประสิทธิภาพของ *Bacillus* spp. ในการควบคุมโรคราเขียวในระยะบ่มเส้นใย

หลังจากหยอดหัวเชื้อเห็ดเมล็ดข้าวฟ่างลงในก้อนเชื้อเห็ดและบ่มไว้เป็นเวลา 7 วันแล้ว ใช้ไซริงขนาด 5 มิลลิลิตร เติมสปอร์แขวนลอยของเชื้อราเขียว ( $1 \times 10^5$  สปอร์ต่อมิลลิลิตร) ปริมาตร 3 มิลลิลิตรลงบริเวณปากถุงก้อนเชื้อเห็ด จากนั้นใช้ไซริงเติมน้ำเซลล์แขวนลอยของ *Bacillus* spp. 5 มิลลิลิตรลงในถุง วางแผนการทดลองแบบสุ่มสมบูรณ์ (Completely

randomized design; CRD) ชุดทดลอง (treatment) ละ 3 ซ้ำ ๆ ละ 10 ก้อน บ่มก้อนเห็ดที่อุณหภูมิห้องต่ออีก 21 วัน ประเมินพื้นที่การเกิดโรคโดยให้คะแนน 0 ถึง 5 (Rassami *et al.*, 2020) คะแนน 0 คือ ไม่เกิดโรค คะแนน 1 คือ พื้นที่เกิดโรคร้อยละ 1-20 คะแนน 2 คือ พื้นที่เกิดโรคร้อยละ 21-40 คะแนน 3 คือ พื้นที่เกิดโรคร้อยละ 41-60 คะแนน 4 คือ พื้นที่เกิดโรคร้อยละ 61-80 และคะแนน 5 คือ พื้นที่เกิดโรคร้อยละ 81-100 และคำนวณหาร้อยละดัชนีการเกิดโรค (Disease Severity Index; % DSI) ในแต่ละชุดการทดลองโดยใช้สูตรดังนี้ (Tummarattanapong *et al.*, 2021)

$$\% DSI = \sum \left( \frac{Ni \times Vi}{N \times V} \right) \times 100$$

เมื่อ  $Ni$  คือ จำนวนก้อนเชื้อเห็ดที่เกิดโรคในแต่ละระดับคะแนน

$Vi$  คือ ระดับคะแนนต่าง ๆ (0, 1, 2, 3, 4, 5)

$N$  คือ จำนวนก้อนเชื้อทั้งหมด

$V$  คือ ระดับคะแนนสูงสุด

#### การทดสอบประสิทธิภาพของ *Bacillus* sp. ในการควบคุมเชื้อราเขียวในระยะเปิดดอก

หลังการเติมหัวเชื้อเมล็ดข้าวฟ่างและบ่มก้อนเชื้อเห็ดเป็นเวลา 30 วัน เป็นระยะเปิดดอก ใช้ไซริงเติมน้ำเซลล์แขวนลอยของเชื้อราเขียว ( $1 \times 10^5$  สปอร์ต่อมิลลิลิตร) 3 มิลลิลิตรลงบริเวณปากถุง จากนั้นเติมน้ำเซลล์แขวนลอยของ *Bacillus* spp. 5 มิลลิลิตร วางแผนการทดลองแบบ CRD ชุดทดลองละ 3 ซ้ำ ๆ ละ 10 ก้อน นำก้อนเห็ดวางในโรงเรือน ฉีดพ่นละอองน้ำช่วงเวลาเช้าและเย็น บันทึกน้ำหนักสดของผลผลิตต่อก้อนเชื้อเห็ด และการเกิดโรคบนก้อนเชื้อเห็ดหลังการเปิดดอกวันที่ 30 และคำนวณหาร้อยละดัชนีการเกิดโรค

#### การวิเคราะห์ข้อมูลทางสถิติ

นำค่าเฉลี่ยแต่ละการทดลองมาวิเคราะห์ค่า ความแตกต่างทางสถิติด้วยวิธี Duncan's multiple range test (DMRT) ที่ระดับนัยสำคัญ  $P < 0.05$  โดยใช้ โปรแกรม Statistical Package for the Social Sciences (SPSS)

#### ผลการทดลอง

##### การแยกเชื้อราเขียวจากก้อนเชื้อเห็ดนางฟ้าภูฐาน

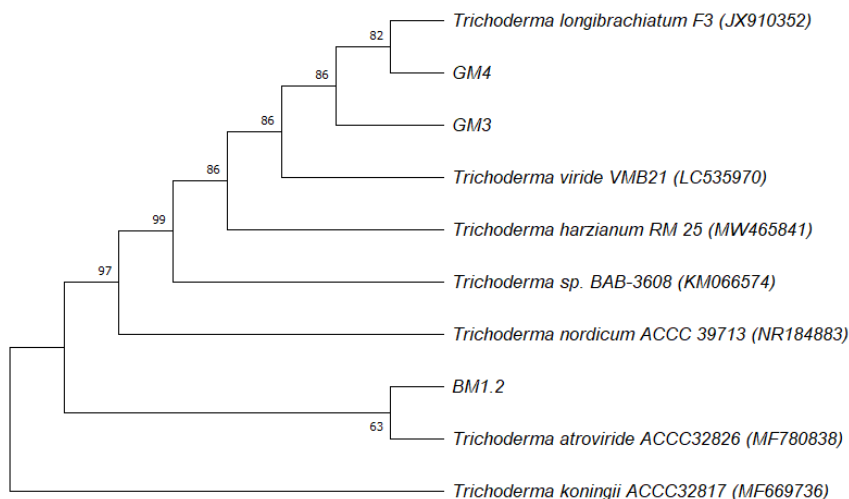
ผลการนำตัวอย่างก้อนเชื้อเห็ดที่เป็นโรคราเขียวมาแยกเชื้อราโดยวิธี dilution pour plate พบว่าสามารถแยกเชื้อราที่มีเส้นใยสีขาวและสร้างสปอร์สีเขียวได้ 3 ไอโซเลต ได้แก่

BM1.2, GM3 และ GM4 โดยโคโลนีของไอโซเลต BM2.1 มีสปอร์อัดแน่นเป็นเม็ดมีสีเขียวสลับกับสีขาวเป็นวงซ้อนกัน ส่วนโคโลนีของ GM3 และ GM4 กลุ่มของสปอร์อัดแน่นจากบริเวณกลางโคโลนีมีสีเขียวอ่อนถึงสีเขียวเข้ม ผลการจำแนกชนิดของเชื้อราด้วยวิธีการทางลักษณะสัณฐานวิทยา พบว่าเส้นใยระยะแรกมีสีขาว มีลักษณะเรียบและเปลี่ยนเป็นสีเขียวเมื่ออายุมากขึ้น เส้นใยมีผนังกัน โคโคนิดี (conidia) มีรูปร่างค่อนข้างกลม สีเขียวใส ฟูอะไลด์ (phialides) แตกกิ่งก้านคล้ายเขาสัตว์ ซึ่งเมื่อเปรียบเทียบกับโครงสร้างทางจุลภาคกับ Barnett and Hunter (1972) สามารถบ่งชี้ว่าเชื้อราดังกล่าวจัดอยู่ในสกุล *Trichoderma* เมื่อทำการจัดจำแนกชนิดของเชื้อราโดยการนำลำดับนิวคลีโอไทด์บริเวณ internal transcribed spacer (ITS) ของเชื้อรา 3 ไอโซเลตไปเปรียบเทียบกับฐานข้อมูล NCBI โดยโปรแกรม BLAST พบว่าไอโซเลต BM1.2 มีความคล้ายคลึงกับ *Trichoderma atroviride* โดยมีค่าร้อยละความเหมือน (% similarity) เท่ากับร้อยละ 100 ส่วน ไอโซเลต GM3 และ GM4 มีความคล้ายคลึงกับ *Trichoderma*

*longibrachiatum* โดยมีค่าร้อยละความเหมือนเท่ากับร้อยละ 100.00 และ 99.50 ตามลำดับ เมื่อแสดงแผนภาพ Phylogenetic tree ด้วยวิธี Neighbor-joining (Figure 1) พบว่าไอโซเลต BM1.2 สามารถระบุได้เป็น *Trichoderma atroviride* และไอโซเลต GM3 และ GM4 สามารถระบุได้เป็น *Trichoderma longibrachiatum*

#### การแยก *Bacillus* spp. จากก้อนเชื้อเห็ด

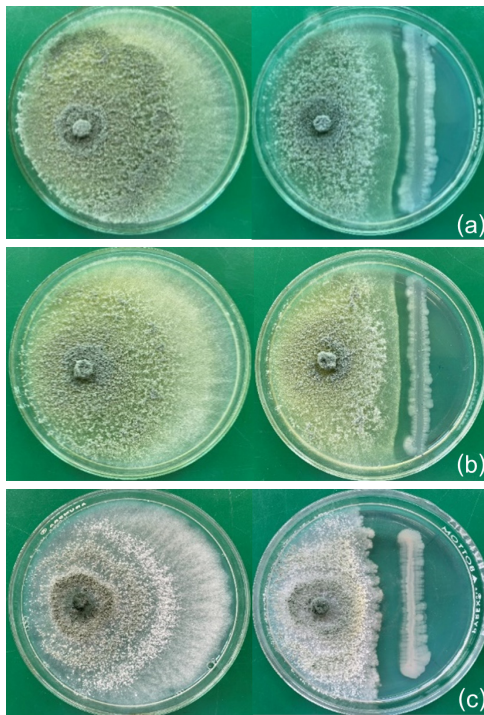
จากการแยกแบคทีเรียจากตัวอย่างก้อนเชื้อเห็ดนางฟ้าภูฐานโดยวิธี dilution pour plate สามารถคัดแยกแบคทีเรียแกรมบวก รูปร่างท่อน และสร้างเอนโด-สปอร์ในสภาวะที่มีอากาศได้ทั้งหมด 20 ไอโซเลต โดยเอนโดสปอร์มีรูปร่างกลมรี เมื่อทำการทดสอบการสร้างเอนไซม์อะไมเลส พบว่าทุกไอโซเลตสามารถสร้างเอนไซม์อะไมเลสได้ ซึ่งจากคุณสมบัติทั้งหมดดังกล่าวแบคทีเรียที่แยกได้ทั้งหมดจัดอยู่ในสกุล *Bacillus* (Al-Dhabaan, 2019; Holt *et al.*, 1994)



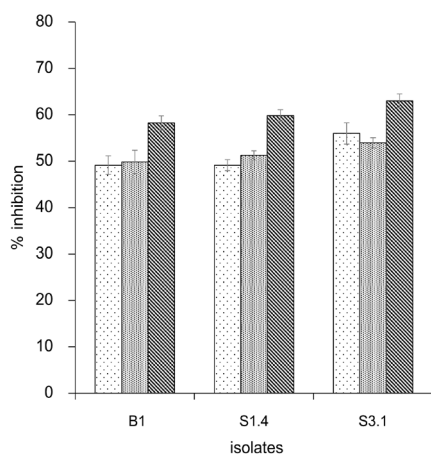
**Figure 1** Neighbor-joining phylogenetic tree of *Trichoderma* isolate BM1.2, GM3 and GM4 based on ITS region sequence analysis.

จากนั้นนำ *Bacillus* spp. ที่แยกได้ทั้งหมดไปทดสอบการยับยั้งเชื้อรา *Trichoderma atroviride* BM1.2, *Trichoderma longibrachiatum* GM3 และ *Trichoderma longibrachiatum* GM4 โดยวิธี dual culture บนอาหารเลี้ยงเชื้อ PDA ผลการทดสอบพบว่ามี *Bacillus* spp. เพียง 3 ไอโซเลต คือ B1, S1.4 และ S3.1 ที่พบบริเวณใสบยับยั้งการเจริญระหว่างเชื้อราและแบคทีเรีย ซึ่งแสดงถึงความสามารถในการยับยั้งการเจริญของ

เชื้อรา โดย *Bacillus* sp. S3.1 สามารถยับยั้งการเจริญของเชื้อราทั้ง 3 ชนิดได้สูงที่สุด โดยมีความสามารถในการยับยั้งการเจริญของ *Trichoderma atroviride* BM1.2 เท่ากับร้อยละ 63.01 และยับยั้ง *Trichoderma longibrachiatum* GM3 และ GM4 เท่ากับร้อยละ 55.99 และ 53.96 ตามลำดับ (Figure 2 และ Figure 3) ดังนั้นงานวิจัยนี้จึงเลือก *Bacillus* sp. S3.1 ไปทำการทดลองในขั้นตอนต่อไป



**Figure 2** Dual culture assay of *Bacillus* sp. S3.1 against: (a) *Trichoderma longibrachiatum* GM3; (b) *Trichoderma longibrachiatum* GM4; (c) *Trichoderma atroviride* BM1.2 (right) in comparison to controls (left).



□ *T. longibrachiatum* GM3    ▒ *T. longibrachiatum* GM4    ▨ *T. atroviride* BM1.2

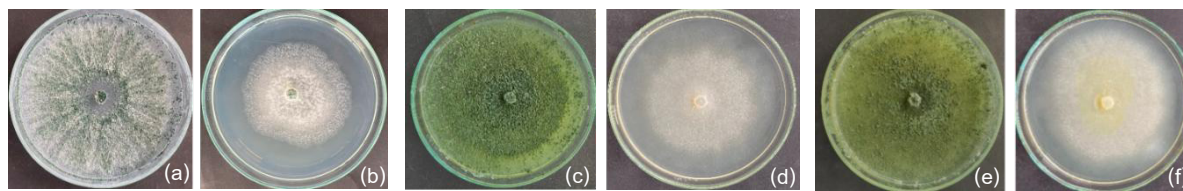
**Figure 3** Antagonistic activities against *Trichoderma longibrachiatum* GM3 and GM4, *Trichoderma atroviride* BM1.2 of the *Bacillus* sp. isolate B1, S1.4 and S3.1.

### การทดสอบการสร้างสารประกอบอินทรีย์ระเหย

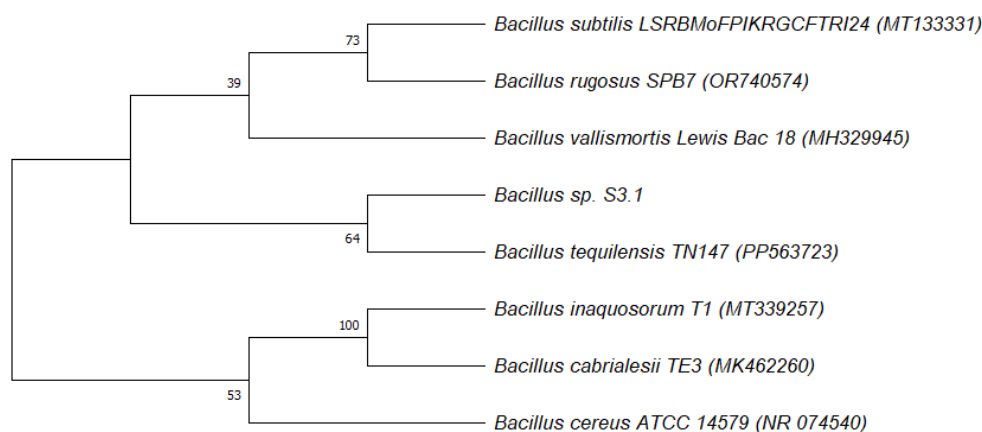
จากการทดสอบการสร้างสารประกอบอินทรีย์ระเหยของ *Bacillus* sp. S3.1 ต่อการยับยั้งการเจริญของ *Trichoderma atroviride* BM1.2, *T. longibrachiatum* GM3 และ *Trichoderma longibrachiatum* GM4 พบว่าโคโลนีของเชื้อราที่มีขนาดเล็กกว่าชุดควบคุม เส้นใยเจริญบางและไม่สร้างสปอร์สีเขียว (Figure 4) โดย *Bacillus* sp. S3.1 สามารถยับยั้งการเจริญของ *Trichoderma atroviride* BM1.2, *Trichoderma longibrachiatum* GM3 และ *Trichoderma longibrachiatum* GM4 เท่ากับร้อยละ  $33.62 \pm 1.79$ ,  $13.56 \pm 0.38$  และ  $11.62 \pm 1.66$  ตามลำดับ จากการทดสอบชี้ให้เห็นว่า *Bacillus* sp. S3.1 สามารถสร้างสารอินทรีย์ระเหยยับยั้งการเจริญและการสร้างสปอร์ของเชื้อราได้

### การจัดจำแนกชนิดของ *Bacillus* sp. S3.1

ผลการศึกษาลักษณะโคโลนีของ *Bacillus* sp. S3.1 พบว่าโคโลนีมีรูปร่างกลม ขอบเรียบ แบนราบกับอาหาร มีสีขาวยุ่นและผิวหน้าทึบแสง จากการนำลำดับนิวคลีโอไทด์บริเวณ 16S rDNA ของ *Bacillus* sp. S3.1 ไปเปรียบเทียบกับฐานข้อมูลออนไลน์ NCBI โดยโปรแกรม BLAST *Bacillus* sp. S3.1 มีค่าร้อยละความเหมือน (% similarity) มากกว่าร้อยละ 99 กับ *Bacillus* หลายสายพันธุ์ เช่น *B. subtilis* ELBS012, *Bacillus tequilensis* TN147 และ *Bacillus inaquosorum* T1 เป็นต้น โดยค่าความเหมือนเท่ากับร้อยละ 99.80, 99.73 และ 99.87 ตามลำดับ เมื่อพิจารณาจาก Phylogenetic tree มีความใกล้เคียงกับ *Bacillus tequilensis* TN147 (Figure 5)



**Figure 4** Effect of VOCs of *Bacillus* sp. S3.1 on the growth of *Trichoderma atroviride* BM1.2 (b), *Trichoderma longibrachiatum* GM3 (d), and *Trichoderma longibrachiatum* GM4 (f) in comparison to controls (a, c and e) after 7 days of incubation.



**Figure 5** Neighbor-joining phylogenetic tree of *Bacillus* sp. S3.1 based on 16S rDNA sequences analysis.

การทดสอบปฏิสัมพันธ์ของ *Bacillus tequilensis* S3.1  
ต่อการเจริญของเห็ดนางฟ้าภูฐานในก้อนเชื้อเห็ด

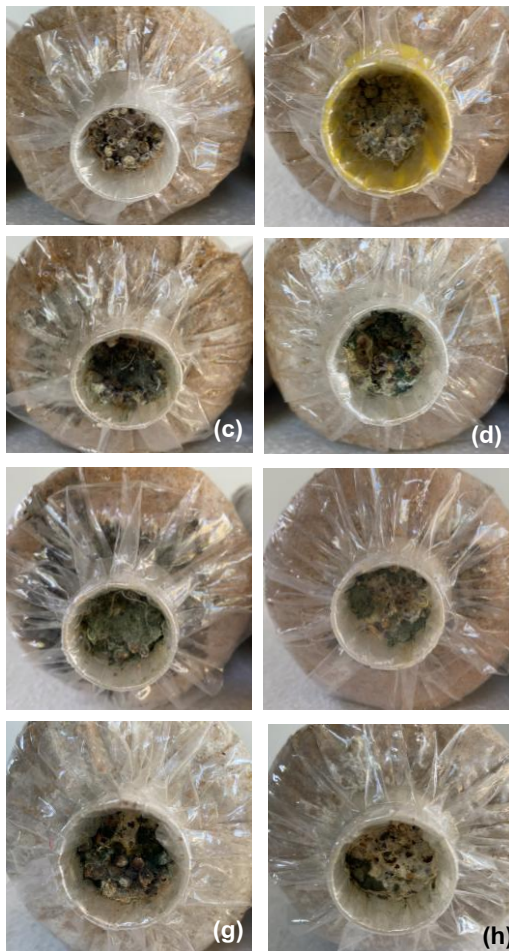
ทำการทดสอบการเจริญร่วมกันของ *Bacillus tequilensis* S3.1 กับเส้นใยของเห็ด โดยการเติมเซลล์แขวนลอย *Bacillus tequilensis* S3.1 ลงในก้อนเชื้อที่มีการหยอดหัวเชื้อเห็ดแล้วเป็นเวลา 7 วัน จากนั้นบ่มที่อุณหภูมิห้องต่อจนครบ 30 วัน พบว่าชุดการทดลองที่มีเติม *Bacillus tequilensis* S3.1 มีเส้นใยเห็ดมีสีขาวเจริญจนถึงด้านล่างของถุงก้อนเชื้อเห็ด และมีเม็ดเส้นใยสีขาวกระจายเต็มถุง ในขณะที่ในชุดควบคุมที่เติมน้ำกลั่นเส้นใยเห็ดมีการเจริญประมาณร้อยละ 80 ของพื้นที่ถุงก้อนเชื้อ แสดงให้เห็นว่า *Bacillus tequilensis* S3.1 ไม่ขัดขวางการเจริญของเส้นใยเห็ด

การทดสอบประสิทธิภาพของ *Bacillus tequilensis* S3.1  
ต่อการควบคุมโรคราเขียวของเห็ดในระยะบ่มเส้นใย

ผลการเติมเซลล์แขวนลอยของ *Trichoderma atroviride* BM1.2, *Trichoderma longibrachiatum* GM3 และ *Trichoderma longibrachiatum* GM4 บริเวณปากถุงก่อนเชื้อเห็ด และเติมเซลล์แขวนลอย *Bacillus tequilensis* S3.1 ปมก่อนเชื้อเป็นเวลา 30 วัน พบว่าในชุดควบคุมที่ไม่มีการเติมเชื้อราพบว่าบริเวณปากถุงก่อนเชื้อเห็ดที่มีหัวเชื้อเมล็ดข้าว

ฟางจะมีเส้นใยสีขาวเจริญกระจายสม่ำเสมอ เส้นใยเจริญลงไป  
ถึงก้นถุง ส่วนในชุดการทดลองที่เติมเชื้อราอย่างเดียวยพบว่ามี  
เส้นใยสีเขียวยเจริญที่ปากถุงของก้อนเชื้อบริเวณที่มีหัวเชื้อ  
เมล็ดข้าวฟ่าง บริเวณคอพลาสติกที่สวมปากถุง และบริเวณ  
ไหล่ของก้อนเชื้อ (Figure 6) ในขณะที่ชุดการทดลองที่มีการ  
เติม *Bacillus tequilensis* S3.1 ร่วมกับ *Trichoderma* sp. ทั้ง  
3 ชนิดพบว่าก้อนเชื้อเห็ดมีเส้นใยสีเขียวยเจริญบริเวณปากถุง  
ของก้อนเชื้อเท่านั้น โดยเฉพาะบริเวณหัวเชื้อเมล็ดข้าวฟ่าง

จากผลการทดสอบประสิทธิภาพการควบคุม *Trichoderma* sp. ของ *Bacillus tequilensis* S3.1 (Table 1) พบว่าชุดการทดลองที่เติมเชื้อ *Bacillus tequilensis* S3.1 ร่วมกับ *Trichoderma atroviride* BM1.2, *Trichoderma longibrachiatum* GM3 และ *Trichoderma longibrachiatum* GM4 มีค่าดัชนีการเกิดโรคในช่วงร้อยละ 30.00 - 41.67 ในขณะที่ชุดการทดลองที่มีเชื้อราอย่างเดียวมีค่าดัชนีการเกิดโรคในช่วงร้อยละ 58.33 - 63.33 ซึ่ง *Bacillus tequilensis* S3.1 ทำให้ค่าดัชนีการเกิดโรคต่ำกว่าชุดการทดลองที่มีเชื้อราเพียงอย่างเดียวอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ แสดงถึงความสามารถของ *Bacillus tequilensis* S3.1 ในการควบคุม *Trichoderma* sp. ทั้งสามชนิดในระยะบ่มเส้นใยได้



**Figure 6** Effect of *Bacillus tequilensis* S3.1 on controlling *Trichoderma* sp. in the spawning stage; control (a), *Bacillus tequilensis* S3.1 (b), *Trichoderma longibrachiatum* GM3 (c), *Trichoderma longibrachiatum* GM3 + *Bacillus tequilensis* S3.1 (d), *Trichoderma longibrachiatum* GM4 (e), *Trichoderma longibrachiatum* GM4 + *Bacillus tequilensis* S3.1 (f), *Trichoderma atroviride* BM1.2 (g), and *Trichoderma atroviride* BM1.2 + *Bacillus tequilensis* S3.1 (h).

**Table 1** The effects of *Bacillus tequilensis* S3.1 on controlling *Trichoderma* sp. of phoenix oyster mushrooms in the spawning stage.

| Treatments                                                                | Disease Severity Index (%) * |
|---------------------------------------------------------------------------|------------------------------|
| <i>Trichoderma longibrachiatum</i> GM3                                    | 60.00 ± 8.66 <sup>***</sup>  |
| <i>Trichoderma longibrachiatum</i> GM3 + <i>Bacillus tequilensis</i> S3.1 | 41.67 ± 5.77 <sup>b</sup>    |
| <i>Trichoderma longibrachiatum</i> GM4                                    | 63.33 ± 12.58 <sup>a</sup>   |
| <i>Trichoderma longibrachiatum</i> GM4 + <i>Bacillus tequilensis</i> S3.1 | 30.00 ± 5.00 <sup>b</sup>    |
| <i>Trichoderma atroviride</i> BM1.2                                       | 58.33 ± 7.64 <sup>a</sup>    |
| <i>Trichoderma atroviride</i> BM1.2 + <i>Bacillus tequilensis</i> S3.1    | 31.67 ± 2.88 <sup>b</sup>    |
| <i>Bacillus tequilensis</i> S3.1                                          | 0.00 <sup>c</sup>            |
| Untreated                                                                 | 0.00 <sup>c</sup>            |

\* Data are means ± standard deviations (SD) of five replicates

\*\* Values with different letters within the same column are significantly different at  $P \leq 0.05$  according to Duncan's multiple range test

### การทดสอบประสิทธิภาพของ *Bacillus tequilensis* S3.1 ต่อการควบคุมโรคราเขียวของเห็ดในระยะเปิดดอก

ผลการทดสอบพบว่าในชุดการทดลองที่มีการเติมเชื้อรา *Trichoderma* sp. ทั้ง 3 ชนิด พบว่าบริเวณปากถุงของก้อนเห็ดมีเส้นใยสีขาวนวลหรือเหลืองอ่อนกระจายทั่วถุง และมีบริเวณสีเขียวกระจายอยู่บริเวณปากถุงและไหล่ของก้อนเชื้อราสามารถสังเกตเห็นรอยโรคสีเขียวได้หลังจากวันที่ 20 ของการบ่มก้อน ทั้งนี้ในช่วงแรกของการเจริญเส้นใยเชื้อรา *Trichoderma* sp. จะมีสีขาวเหมือนกับเส้นใยของเห็ดทำให้ไม่สามารถสังเกตเห็นความแตกต่างได้ เมื่อรอยโรคสีเขียวปรากฏขึ้นทำให้ดอกเห็ดที่เกิดขึ้นมามีขนาดเล็ก มีอาการเน่า หรือบางถุงไม่มีดอกเห็ดเกิดขึ้นมา

ผลการศึกษาพบว่าชุดการทดลองที่เติม *Bacillus tequilensis* S3.1 ร่วมกับ *Trichoderma atroviride* BM1.2, *Trichoderma longibrachiatum* GM3 และ *Trichoderma longibrachiatum* GM4 มีค่าดัชนีการเกิดโรคต่ำกว่าชุดการทดลองที่มีเชื้อราเพียงอย่างเดียวอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ (Table 2) จากการทดสอบผลการใช้แบคทีเรียปฏิชีวนะควบคุมโรคราเขียวต่อปริมาณผลผลิตเห็ดสด พบว่าชุดการทดลองเติมเชื้อราพร้อมกับแบคทีเรียปฏิชีวนะ *Bacillus tequilensis* S3.1 ให้ผลผลิตเห็ดสดสูงกว่าชุดการทดลองที่ฉีดพ่นเชื้อราเพียงอย่างเดียว โดยที่ชุดการทดลอง *Trichoderma atroviride* BM1.2 ร่วมกับ *Bacillus tequilensis* S3.1 ให้ผลผลิตเห็ดเฉลี่ยสูงที่สุด 120.76 กรัมต่อก้อน และมีปริมาณไม่แตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติกับชุดควบคุมที่ไม่มีการเติมเชื้อและชุดการทดลองที่เติมแบคทีเรียปฏิชีวนะเพียงอย่างเดียว แสดงให้เห็นว่าการใช้ *Bacillus tequilensis* S3.1 สามารถควบคุมการเกิดโรคและไม่ส่งผลกระทบต่อการเจริญเป็นดอกเห็ด

**Table 2** The effects of *Bacillus tequilensis* S3.1 on controlling *Trichoderma* sp. of phoenix oyster mushrooms in the cropping stage.

| Treatments                                                                | Disease Severity Index (%) * | Yields (g per bag) *       |
|---------------------------------------------------------------------------|------------------------------|----------------------------|
| <i>Trichoderma longibrachiatum</i> GM3                                    | 43.33±5.77 <sup>a**</sup>    | 84.73±7.22 <sup>b</sup>    |
| <i>Trichoderma longibrachiatum</i> GM3 + <i>Bacillus tequilensis</i> S3.1 | 23.33±5.77 <sup>b</sup>      | 105.00±15.55 <sup>a</sup>  |
| <i>Trichoderma longibrachiatum</i> GM4                                    | 38.33±10.40 <sup>a</sup>     | 83.43±7.48 <sup>b</sup>    |
| <i>Trichoderma longibrachiatum</i> GM4 + <i>Bacillus tequilensis</i> S3.1 | 22.33±5.77 <sup>b</sup>      | 107.97±15.37 <sup>ab</sup> |
| <i>Trichoderma atroviride</i> BM1.2                                       | 35.00±5.00 <sup>a</sup>      | 85.60±13.25 <sup>b</sup>   |
| <i>Trichoderma atroviride</i> BM1.2 + <i>Bacillus tequilensis</i> S3.1    | 18.33±2.89 <sup>b</sup>      | 120.76±16.85 <sup>a</sup>  |
| <i>Bacillus tequilensis</i> S3.1                                          | 0.00 <sup>c</sup>            | 125.93±15.77 <sup>a</sup>  |
| Untreated                                                                 | 0.00 <sup>c</sup>            | 121.40±16.21 <sup>a</sup>  |

\* Data are means ± standard deviations (SD) of five replicates

\*\* Values with different letters within the same column are significantly different at  $P \leq 0.05$  according to Duncan's multiple range test

### วิจารณ์ผลการวิจัย

โรคราเขียวที่มีสาเหตุจาก *Trichoderma* spp. เป็นโรคที่มีความสำคัญกับเห็ดเศรษฐกิจหลายชนิด เช่น เห็ดกระดุม (*Agaricus* spp.) เห็ดฟาง (*Volvariella volvacea*) รวมทั้งเห็ดสกุลนางรม (*Pleurotus* spp.) (Fu et al., 2023) โดยสายพันธุ์ของ *Trichoderma* spp. ที่มีการพบอย่างกว้างขวางคือ *Trichoderma harzianum* ในการวิจัยนี้สามารถคัดแยกเชื้อรา *Trichoderma* spp. จากวัสดุเพาะเห็ดนางฟ้าภูฐานจากฟาร์มเพาะเห็ดในจังหวัดสระบุรีได้ 3 ไอโซเลต เมื่อจำแนกโดยอาศัยลักษณะสัณฐานวิทยาและการวิเคราะห์ลำดับนิวคลีโอไทด์บริเวณ ITS สามารถระบุได้คือ *Trichoderma atroviride* BM1.2, *Trichoderma longibrachiatum* GM3 และ *Trichoderma longibrachiatum* GM4 โดยมีรายงานการตรวจพบ *Trichoderma longibrachiatum* ก่อโรคราเขียวในวัสดุเพาะเห็ดสกุลนางรมและเห็ดกระดุม (Schuster & Schmoll, 2010) ในขณะที่ *Trichoderma atroviride* ก่อให้เกิดโรคราเขียวในเห็ดหอม (*Lentinula edodes*) (Cao et al., 2024) และเห็ด Morel (*Morchella* spp.) (Fu et al., 2023)

จากการคัดแยก *Bacillus* spp. จากก้อนเชื้อเห็ดและทดสอบประสิทธิภาพการเป็นแบคทีเรียปฏิชีวนะในการควบคุมโรคราเขียวโดยวิธี dual culture พบว่า *Bacillus* sp. ไอโซเลต B1, S1.4 และ S3.1 มีความสามารถในการเป็นปฏิชีวนะโดยการเกิดบริเวณใสระหว่าง *Bacillus* spp. และเชื้อรา แสดงถึงกลไกการสร้างสารยับยั้งออกมานอกเซลล์ มีรายงานว่าโดยทั่วไป *Bacillus* spp. หลายชนิดสามารถสร้างสารปฏิชีวนะประเภท lipopeptide หลายชนิด เช่น iturin, fengycin และ surfactin เป็นต้น รวมถึงเอนไซม์ที่สามารถยับยั้งเชื้อราได้ (Hussain et al., 2024; Li et al., 2016) จากการทดสอบพบว่า *Bacillus* sp. S3.1 มีศักยภาพในการยับยั้งเชื้อรา *Trichoderma*

*atroviride* BM1.2 เท่ากับร้อยละ 63.01 และยับยั้ง *Trichoderma longibrachiatum* GM3 และ GM4 เท่ากับร้อยละ 55.99 และ 53.96 ตามลำดับ ซึ่งใกล้เคียงกับการศึกษาของ Potocnik et al. (2019) พบว่า *Bacillus* spp. ที่แยกจากวัสดุเพาะเห็ดนางฟ้า 10 ไอโซเลต สามารถยับยั้งเชื้อรา *Trichoderma pleuroti* ในช่วงร้อยละ 54.44-62.22 และยับยั้ง *Trichoderma pleuroticola* ในช่วงร้อยละ 55.56-69.62

จากการทดสอบผลของสารประกอบอินทรีย์ระเหยของ *Bacillus* sp. S3.1 ต่อการยับยั้งการเจริญของเชื้อรา *Trichoderma* sp. ทั้ง 3 ชนิด พบว่าสามารถทำให้โคโลนีของเชื้อราที่มีขนาดเล็กลงและไม่สามารถสร้างเม็ดสปอร์สีเขียวได้ มีรายงานที่แสดงถึงความสามารถของ *Bacillus* spp. ในการผลิตสารประกอบอินทรีย์ระเหยหลายชนิดที่ยับยั้งการเจริญของเชื้อรา ได้แก่ alcohols, aldehydes, ketones, phenolic compounds และ sulfides (Song et al., 2024) โดยมีรายงานถึงผลของสารประกอบอินทรีย์ระเหยที่ผลิตจาก *Bacillus* spp. สามารถยับยั้งการเจริญของเชื้อราได้หลายชนิดเช่น *Colletotrichum gloeosporioides*, *Fusarium oxysporum*, *Botryosphaeria* spp., *Trichoderma* spp., และ *Penicillium* spp. (Calvo et al., 2020; He et al., 2020) จากการทดสอบความสามารถในการยับยั้งเชื้อราในระดับห้องปฏิบัติการ แสดงให้เห็นว่า *Bacillus* sp. S3.1 สามารถสร้างสารประกอบชนิดต่าง ๆ ที่หลั่งออกมานอกเซลล์ รวมทั้งสารประกอบอินทรีย์ระเหยในการยับยั้งการเจริญของเชื้อราได้

เมื่อทำการจัดจำแนกชนิดของ *Bacillus* sp. S3.1 โดยการวิเคราะห์ลำดับนิวคลีโอไทด์บริเวณยีน 16S rDNA และ Phylogenetic tree พบว่ามีความคล้ายกับ *Bacillus tequilensis* โดยมีรายงานการศึกษา *Bacillus tequilensis* สามารถยับยั้งเชื้อราก่อโรคพืชได้หลายชนิด เช่น

*Colletotrichum acutatum* ที่เป็นสาเหตุของโรคแอนแทรคโนส ในพริกแดง (red pepper) (Kwon et al., 2022), *Fusarium solani* สาเหตุรากเน่าในโกฐเชียง (Rehmannia glutinosa) (Wang et al., 2023), *Magnaporthe oryzae* สาเหตุของโรคไหม้ในข้าว (Zhou et al., 2021) รวมถึงสามารถยับยั้งเชื้อราสกุล *Fusarium* ที่ก่อโรคในพืชได้ ได้แก่ *Fusarium oxysporum*, *Fusarium proliferatum*, *Fusarium culmorum* และ *Fusarium verticillioides* (Baard et al., 2023)

การทดสอบประสิทธิภาพของ *Bacillus tequilensis* S3.1 ต่อการควบคุมเชื้อรา *Trichoderma atroviride* BM1.2 และ *Trichoderma longibrachiatum* GM3 และ *Trichoderma longibrachiatum* GM4 ในระยะบ่มเส้นใยพบว่า *Bacillus tequilensis* S3.1 ทำให้ค่าดัชนีการเกิดโรคต่ำกว่าชุดควบคุมที่ปลูกเชื้อราเพียงอย่างเดียว แสดงให้เห็นว่า *Bacillus tequilensis* S3.1 สามารถควบคุมโรคราเขียวในเห็ดนางฟ้าภูฐานในระยะบ่มเส้นใยได้ ในขณะที่ผลการทดสอบประสิทธิภาพในระยะเปิดดอกพบว่าชุดการทดลองที่มี *Bacillus tequilensis* S3.1 ร่วมกับเชื้อรา *Trichoderma longibrachiatum* GM3, *Trichoderma longibrachiatum* GM4 และ *Trichoderma atroviride* BM1.2 มีค่าดัชนีการเกิดโรคต่ำกว่าชุดการทดลองที่มีเชื้อราเพียงอย่างเดียวอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ และชุดการทดลองเติมเชื้อราพร้อมกับแบคทีเรียปฏิชีวนะให้ผลผลิตเห็ดสูงกว่าชุดการทดลองที่เติมเชื้อราเพียงอย่างเดียวและใกล้เคียงกับชุดควบคุม ดังนั้น *Bacillus tequilensis* S3.1 สามารถลดความรุนแรงของโรคราเขียวและช่วยให้ผลผลิตเห็ดไม่แตกต่างจากชุดควบคุม

## สรุปผลการวิจัย

การทดสอบประสิทธิภาพของแบคทีเรียปฏิชีวนะ *Bacillus tequilensis* S3.1 ต่อการควบคุมเชื้อรา *Trichoderma atroviride* BM1.2, *Trichoderma longibrachiatum* GM3 และ *Trichoderma longibrachiatum* GM4 ทั้งในระดับห้องปฏิบัติการและในระดับโรงเรือน พบว่า *Bacillus tequilensis* S3.1 สามารถควบคุมการเจริญของเชื้อรา ช่วยลดการเกิดโรคราเขียวในก้อนเชื้อเห็ดได้ และให้ผลผลิตเห็ดไม่แตกต่างกับการใช้ *Bacillus tequilensis* S3.1 อย่างเดียวและชุดควบคุม อย่างไรก็ตามควรมีการทดสอบอีกครั้งในสภาพโรงเรือนของเกษตรกร รวมถึงศึกษาการพัฒนาการผลิตชีวภัณฑ์จาก *Bacillus tequilensis* S3.1 เพื่อนำไปเป็นควบคุมโรคราเขียวโดยชีววิธีต่อไป

## กิตติกรรมประกาศ

งานวิจัยนี้ได้รับการสนับสนุนจากกองทุนส่งเสริมวิทยาศาสตร์ วิจัยและนวัตกรรม (ววน.) สำนักงานคณะกรรมการส่งเสริมวิทยาศาสตร์ วิจัยและนวัตกรรม (สกว.) ปีงบประมาณ พ.ศ. 2565 และขอขอบคุณกลุ่มวิสาหกิจชุมชนเกษตรพร้อมใจบ้านโพธิ์พร้อมจิต ตำบลธารเกษม อำเภอพระพุทธบาท จังหวัดสระบุรีเป็นอย่างสูงที่อนุเคราะห์สถานที่และวัตถุดิบสำหรับการเตรียมก้อนเชื้อเห็ดนางฟ้าภูฐานในการวิจัยครั้งนี้

## เอกสารอ้างอิง

- Al-Dhabaan, F. A. (2019). Morphological, biochemical and molecular identification of petroleum hydrocarbons biodegradation bacteria isolated from oil polluted soil in Dhahran, Saudi Arabia. *Saudi Journal of Biological Sciences*, 26(6), 1247–1252.
- Baard, V., Bakare, O. O., Daniel, A. I., Nkomo, M., Gokul, A., Keyster, M., & Klein, A. (2023). A biocontrol potential of *Bacillus subtilis* and *Bacillus tequilensis* against four *Fusarium* species. *Pathogens*, 12(2), 254. <https://doi.org/10.3390/pathogens12020254>
- Barnett, H. L., & Hunter, B. B. (1972). *Illustrated genera of imperfect fungi* (3rd ed.). Burgess Publishing Company.
- Calvo, H., Mendiara, I., Arias, E., Gracia, A. P., Blanco, D., & Venturini, M. E. (2020). Antifungal activity of the volatile organic compounds produced by *Bacillus velezensis* strains against postharvest fungal pathogens. *Postharvest Biology and Technology*, 166, Article 111208. <https://doi.org/10.1016/j.postharvbio.2020.111208>
- Cao, Z., Zhao, J., Liu, Y., Wang, S., Zheng, S., & Qin, W. (2024). Diversity of *Trichoderma* species associated with green mold contaminating substrates of *Lentinula edodes* and their interaction. *Frontiers in Microbiology*, 14, Article 1288585. <https://doi.org/10.3389/fmicb.2023.1288585>
- Fu, Y., Wu, H., Wang, S., Yu, Q., Tian, D., & Xu, X. (2023). First report of *Trichoderma atroviride* causing rot of *Morchella sextelata* in Anhui Province, China. *Crop Protection*, 168, Article 106206. <https://doi.org/10.1016/j.cropro.2023.106206>

- He, C., Ye, W., Zhu, Y., & Zhou, W. (2020). Antifungal activity of volatile organic compounds produced by *Bacillus methylotrophicus* and *Bacillus thuringiensis* against five common spoilage fungi on loquats. *Molecules*, 25(15), 3360. <https://doi.org/10.3390/molecules25153360>
- Holt, J. G., Krieg, N. R., Sneath, P. H. A., Staley, J. T., & Williams, S. T. (1994). *Bergey's manual of determinative bacteriology* (9th ed.). Lippincott Williams and Wilkins.
- Hussain, S., Tai, B., Ali, M., Jahan, I., Sakina, S., Wang, G., Zhang, X., Yin, Y., & Xing, F. (2024). Antifungal potential of lipopeptides produced by the *Bacillus siamensis* Sh420 strain against *Fusarium graminearum*. *Microbiology Spectrum*, 12(4), Article e04008-23. <https://doi.org/10.1128/spectrum.04008-23>
- Kumar, R. S., & Sarathi, V. (2017). Screening of competitor mould in oyster mushroom (*Pleurotus florida*) cultivation and their management. *International Journal of Current Microbiology and Applied Sciences*, 6(1), 264–270.
- Kwon, H. T., Lee, Y., Kim, J., Balaraju, K., Kim, H. T., & Jeon, Y. (2022). Identification and characterization of *Bacillus tequilensis* GYUN-300: An antagonistic bacterium against red pepper anthracnose caused by *Colletotrichum acutatum* in Korea. *Frontiers in Microbiology*, 13, Article 826827. <https://doi.org/10.3389/fmicb.2022.826827>
- Li, X., Zhang, Y., Wei, Z., Guan, Z., Cai, Y., & Liao, X. (2016). Antifungal activity of isolated *Bacillus amyloliquefaciens* SYBC H47 for the biocontrol of peach gummosis. *PLoS ONE*, 11(9), Article e0162125. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0162125>
- Mwangi, R. W., Kariuki, S. T., & Wagara, I. N. (2017). Biocontrol of green mould disease of oyster mushroom (*Pleurotus ostreatus*) using *Bacillus amyloliquefaciens*. *Journal of Biology, Agriculture and Healthcare*, 7(10), 25–30.
- Potocnik, I., Milijasevic-Marcic, S., Stanojevic, O., Beric, T., Stankovic, S., Kredics, L., & Hatvani, L. (2019). The activity of native *Bacillus subtilis* strains in control of green mould disease of oyster mushroom (*Pleurotus* spp.). *Pesticides & Phytomedicine (Belgrade)*, 34(2), 97–102.
- Qiu, Z., Wu, X., Zhang, J., & Huang, C. (2017). High temperature enhances the ability of *Trichoderma asperellum* to infect *Pleurotus ostreatus* mycelia. *PLoS ONE*, 12(10), Article e0187055. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0187055>
- Rassami, W., Yenjit, P., Pengphol, S., & Intana, W. (2020). Efficacy of essential oils to control black mold disease caused by *Aspergillus niger* in grey oyster mushrooms (*Pleurotus pulmonarius*). *King Mongkut's Agricultural Journal*, 38(2), 185–192.
- Roberti, R., Francesco, A. D., Innocenti, G., & Mari, M. (2019). Potential for biocontrol of *Pleurotus ostreatus* green mould disease by *Aureobasidium pullulans* De Bary (Arnaud). *Biological Control*, 135, 9–15.
- Sasic Zoric, L., Janjusevic, L., Djisalov, M., Knezic, T., Vunduk, J., Milenkovic, I., & Gadjanski, I. (2023). Molecular approaches for detection of *Trichoderma* green mold disease in edible mushroom production. *Biology*, 12(2), 299. <https://doi.org/10.3390/biology12020299>
- Schuster, A., & Schmoll, M. (2010). Biology and biotechnology of *Trichoderma*. *Applied Microbiology and Biotechnology*, 87, 787–799.
- Shah, S., Nasreen, S., & Kousar, S. (2013). Efficacy of fungicides against *Trichoderma* spp. causing green mold disease of oyster mushroom (*Pleurotus sajor-caju*). *Research Journal of Microbiology*, 8(1), 13–24.
- Stanojevic, O., Milijasevic-Marcic, S., Potocnik, I., Stepanovic, M., Dimkic, I., Stankovic, S., & Beric, T. (2016). Isolation and identification of *Bacillus* spp. from compost material, compost and mushroom casing soil active against *Trichoderma* spp. *Archives of Biological Sciences*, 68(4), 845–852.
- Song, C., Zhang, Y., Zhao, Q., Chen, M., Zhang, Y., Gao, C., Jia, Z., Song, S., Guan, J., & Shang, Z. (2024).

Volatile organic compounds produced by *Bacillus aryabhattai* AYG1023 against *Penicillium expansum* causing blue mold on the Huangguan pear. *Microbiological Research*, 278, Article 127531. <https://doi.org/10.1016/j.micres.2023.127531>

Tummarattanapong, T., Meurchang, P., Namvong, U., & Suwankadee, S. (2021). Study on efficient treatments for controlling pathogenic *Fusarium oxysporum* f. sp. *cubense* tropical race 4 (Foc TR4) causing Fusarium wilt of Cavendish banana. *Thai Agricultural Research Journal*, 38(2), 185–192.

Wang, R., Li, H., Qin, Z., Wang, Y., Yang, Q., Zhang, H., & Li, M. (2023). Antifungal activity and application of *Bacillus tequilensis* A13 in biocontrol of *Rehmannia glutinosa* root-rot disease. *Chemical and Biological Technologies in Agriculture*, 10, Article 20. <https://doi.org/10.1186/s40538-023-00390-y>

Yenjit, P., & Intana, W. (2016). Study on efficacy of *Bacillus* powder and its application to control black mold disease of grey oyster mushroom. *Agricultural Science Journal*, 47(3), 405–416.

Zeng, X. Y., Yuan, X. X., Peng, K. Q., Pan, Y. T., Tan, T. J., Wu, N., & Tian, F. H. (2022). Taxonomy and control of *Trichoderma hymenopellicola* sp. nov. responsible for the first green mold disease on *Hymenopellis raphanipes*. *Frontiers in Microbiology*, 13, Article 991987. <https://doi.org/10.3389/fmicb.2022.991987>

Zhou, H., Zhu, H., Ren, Z., Li, X., Zhong, J., & Liu, E. (2021). Efficacy of *Bacillus tequilensis* strain JN-369 to biocontrol of rice blast and enhance rice growth. *Biological Control*, 160, Article 104652. <https://doi.org/10.1016/j.biocontrol.2021.104652>

# ผลของ BA และ IAA ต่อการชักนำแคลลัสจากใบ และการเกิดเอ็มบริโอของเท้ายายม่อม (*Tacca leontopetaloides* (L.) Kuntze)

## Effects of BA and IAA on callus induction from leaves and embryogenesis of *Tacca leontopetaloides* (L.) Kuntze In Vitro conditions

เปรมจิต รongสวัสดิ์<sup>1</sup>, จิตติกร พรหมบรรจง<sup>1</sup>, วรวิฑู มีสุข<sup>1</sup>, สุขใจ พรหมมาศ<sup>1</sup> และ คมสัน นันทสุนทร<sup>1\*</sup>  
Premjit Rongsawat<sup>1</sup>, Thitikorn Prombanchong<sup>1</sup>, Worawitoo Meesook<sup>1</sup>, Sukjai Prommas<sup>1</sup>  
and Komsun Nuntasontorn<sup>1\*</sup>

Received: 7 January 2025 ; Revised: 27 February 2025 ; Accepted: 26 March 2025

### บทคัดย่อ

เท้ายายม่อม (*Tacca leontopetaloides* (L.) Kuntze) เป็นพืชหัวที่มีศักยภาพในด้านโภชนาการ การแพทย์ และอุตสาหกรรม มีความสำคัญทั้งในด้านอาหารและยา จึงได้ศึกษาวิธีการขยายพันธุ์ โดยเฉพาะการเพิ่มเนื้อเยื่อในสภาพปลอดเชื้อ เพื่อใช้สกัดสารสำหรับการผลิตผลิตภัณฑ์ต่าง ๆ ดังกล่าว ผลของสารควบคุมการเจริญเติบโต BA และ IAA ที่ระดับความเข้มข้นต่าง ๆ ต่อการชักนำให้เกิดแคลลัส และการพัฒนาของแคลลัสเป็น embryogenesis ในสภาพปลอดเชื้อ โดยเฉพาะเลี้ยงชิ้นส่วนของใบอ่อนในอาหารสูตร MS ที่เติม BA ระดับความเข้มข้น 0, 0.5, 1.0 และ 1.5 มิลลิกรัมต่อลิตร ร่วมกับ IAA ระดับความเข้มข้น 0, 0.5, 1.0 และ 1.5 มิลลิกรัมต่อลิตร วางแผนการทดลองแบบสุ่มสมบูรณ์ (CRD) และเปรียบเทียบความแตกต่างของค่าเฉลี่ยที่ระดับความเชื่อมั่น 95% โดยทำการทดลอง 3 ซ้ำ เมื่อเพาะเลี้ยงเป็นระยะเวลา 4 สัปดาห์ พบการเกิดของแคลลัสจากบริเวณปลายขอบของรอยตัดชิ้นส่วนใบ ลักษณะแคลลัสเป็นแบบเกาะกันแน่นมีสีเขียว โดยแคลลัสที่พัฒนามาเป็นอาหาร สูตร MS ที่เติม BA ระดับความเข้มข้น 1.0 มิลลิกรัมต่อลิตร ร่วมกับ IAA ระดับความเข้มข้น 1.0 มิลลิกรัมต่อลิตร ให้อัตราการเกิดแคลลัสเฉลี่ยสูงที่สุด (100%) แตกต่างอย่างมีนัยสำคัญกับอาหารสูตรอื่น สำหรับการชักนำแคลลัสให้พัฒนาเป็นยอดและรากบนอาหารสูตร MS ที่เติม BA ระดับความเข้มข้น 0.5, 1.0, 1.5 และ 2.0 มิลลิกรัมต่อลิตร และ IAA ระดับความเข้มข้น 0.5, 1.0, 1.5 และ 2.0 มิลลิกรัมต่อลิตร เป็นเวลา 4 สัปดาห์ พบว่าอาหาร MS ที่เติม BA ความเข้มข้น 1.0 มิลลิกรัมต่อลิตร ร่วมกับ IAA ความเข้มข้น 1.0 มิลลิกรัมต่อลิตร แคลลัสมีการพัฒนาเป็นยอดใหม่ได้มากที่สุด ( $5.67 \pm 0.72$  ยอด) และมีการสร้างรากเฉลี่ยมากที่สุด ( $3.07 \pm 0.80$  ราก)

**คำสำคัญ:** เท้ายายม่อม, แคลลัส, เบนซิลอะดีนีน, กรดอินโดล-3-แอซิดิก, เอ็มบริโอเจเนซิส

### Abstract

*Tacca leontopetaloides* (L.) Kuntze, a tuberous plant species, holds significant potential in nutrition, medicine, and industrial applications. Its importance in the food and pharmaceutical industries necessitates the development of effective propagation methods, particularly tissue culture under sterile conditions, for the extraction of bioactive compounds and production of various products. This study investigated the effects of different concentrations of benzyladenine (BA) and indole-3-acetic acid (IAA) on callus induction and embryogenesis development. Leaf segments were cultured on MS medium supplemented with BA at concentrations of 0, 0.5, 1.0, and 1.5 mg/L, combined with IAA at concentrations of 0, 0.5, 1.0, and 1.5 mg/L. The experiment followed a completely randomized design (CRD) with three replications, and the differences in means were analyzed at a 95% confidence level. After four weeks of culture, callus formation was observed in the leaf segments, with the callus exhibiting a compact green appearance. The highest callus induction rate (100%) was achieved on MS medium containing 1.0 mg/L BA and 1.0 mg/L IAA,

<sup>1</sup> สาขาวิทยาศาสตร์ คณะวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยี มหาวิทยาลัยเทคโนโลยีราชมงคลศรีวิชัย จังหวัดนครศรีธรรมราช

<sup>1</sup> Program of Science, Faculty of Science and Technology, Rajamangala University of Technology Srivijaya, Nakhon Si Thammarat

\* Corresponding author, e-mail: komsun.n@rmutsv.ac.th

which was significantly different from other treatments. For callus development into plantlets, MS medium supplemented with 1.0 mg/L BA and 1.0 mg/L IAA produced the highest number of shoots ( $5.67 \pm 0.72$  shoots) and the greatest average number of roots ( $3.07 \pm 0.80$  roots) after four weeks of culture. The results demonstrate that the combination of BA and IAA at optimal concentrations is effective in promoting callus induction and subsequent shoot and root development in *Tacca leontopetaloides* (L.) Kuntze.

**Keywords:** *Tacca leontopetaloides* (L.) Kuntze, callus, benzyladenine (BA), indole-3-acetic acid (IAA), embryogenesis

## บทนำ

เท้ายายม่อม (*Tacca leontopetaloides* (L.) Kuntze) อยู่ในวงศ์ Dioscoreaceae (The Plant list, 2024) มีชื่ออื่นๆ เช่น บุกรอ ไม้เท้าฤษี Fiji Arrowroot, Polynesian Arrowroot เป็นต้น เป็นพืชล้มลุก มีลำต้นใต้ดินสะสมอาหาร และเป็นพืชฤดูเดียว โดยเมื่อเจริญเติบโตสะสมอาหารในหัวใต้ดิน (tuberous rhizome) เป็นพืชที่มีความสำคัญทั้งในด้านอาหารและยา หัวใต้ดินของพืชชนิดนี้มีแบ่งเป็นส่วนประกอบหลัก ซึ่งสามารถนำมาสกัดและใช้ในการทำอาหารและการแพทย์แผนโบราณ เช่น นำมาทำเป็นแป้งเท้ายายม่อม นิยมใช้ประกอบอาหารเป็นอาหารสำหรับผู้ป่วยพักฟื้น เด็กอ่อน หรือผู้สูงอายุ และถูกจัดเป็นพืชสมุนไพรในตำรับทั้งของไทยและต่างประเทศ ผู้ป่วยที่เป็นโรคเกี่ยวกับทางเดินอาหาร (สุพินญา บุญมานพ, 2564) อาการท้องเสีย บิด โรคกระเพาะหรือลำไส้ โรคไวรัสตับอักเสบ (Aissatou *et al.*, 2017) หัวเท้ายายม่อมมีคาร์โบไฮเดรต 84.97-86.72% และแป้ง 91.82% (Susarti *et al.*, 2023) โปรตีน ไขมัน ไฟเบอร์ ฟอสฟอรัส โพแทสเซียม แคลเซียม แมกนีเซียม และโซเดียม (Uachisso *et al.*, 2023) สารพฤกษเคมีในหัวของเท้ายายม่อมประกอบด้วย แอลคาลอยด์ ซาโปนิน ฟลาโวนอยด์ ฟีนอล แทนนิน ซึ่งมีคุณสมบัติสำคัญ เช่น แก้ปวด ต้านมะเร็ง ต้านเชื้อแบคทีเรีย ต้านไวรัส และมีฤทธิ์ต้านจุลินทรีย์ (Syafi *et al.*, 2023; ญาณิกา วัชรเทวินทร์กุล และอานนท์ เรียงหมู่, 2563) ได้แก่ *Staphylococcus aureus*, *Pseudomonas aeruginosa*, *Escherichia coli* and *Enterococcus faecalis* (Vu *et al.*, 2017) จึงทำให้ต้นเท้ายายม่อมสามารถใช้เป็นวัสดุแนะนำในการเป็นส่วนผสมยาในทางการแพทย์ (Syafi *et al.*, 2023) แต่ปัญหาในการปลูกเท้ายายม่อม ซึ่งส่วนใหญ่นิยมใช้หัวในการขยายพันธุ์มากกว่าเมล็ด เนื่องจากให้ผลผลิตเร็วกว่า แต่ข้อจำกัดของการขยายพันธุ์โดยใช้หัว คือ ต้นเท้ายายม่อม 1 ต้น สามารถให้หัวได้จำนวนจำกัดเพียง 2-3 หัวต่อต้น ซึ่งมีจำนวนน้อยเมื่อเปรียบเทียบกับปริมาณเมล็ด แต่การขยายพันธุ์โดยใช้เมล็ดภายหลังการเก็บเกี่ยว เมล็ดเกิดการพักตัวทำให้เมล็ดมีเปอร์เซ็นต์ความงอกต่ำและงอกช้า (ลัดดาวัลย์ คำมะปะนา และคณะ, 2562) วงจรชีวิตของพืชเท้ายายม่อมใช้เวลา 3 ปี นับจากเมล็ดงอกจนถึงออกดอกและติด

เมล็ดอีกครั้ง ทั้งนี้เนื่องจากเท้ายายม่อมเป็นพืชล้มลุกฤดูเดียว จึงมีการเจริญเติบโตของลำต้น ใบใหม่ และสะสมอาหารเพิ่มภายในลำต้นใต้ดินในทุกๆ ปี จนปริมาณอาหารมากพอในปีที่ 3 จึงแทงช่อดอกเพื่อสร้างเมล็ด (สุพินญา บุญมานพ, 2564)

ปัจจุบันเท้ายายม่อมมีจำนวนลดน้อยลงมากจากการนำออกมาใช้จากพื้นที่ธรรมชาติ และมีโอกาสเสี่ยงต่อการสูญพันธุ์ ดังนั้นการขยายพันธุ์และอนุรักษ์พันธุกรรมเท้ายายม่อมภายใต้สภาวะปลอดเชื้อ ซึ่งเทคนิคการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อในหลอดทดลองช่วยให้เกิดการเพิ่มจำนวนของพืชอย่างรวดเร็ว และสามารถผลิตต้นกล้าจำนวนมากในระยะเวลาอันสั้น (Engelmann, 2011) ช่วยในการขยายพันธุ์พืชที่มีมูลค่าทางเศรษฐกิจหรือเสี่ยงต่อการสูญพันธุ์ได้ โดยในการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อเท้ายายม่อมสามารถใช้ชิ้นส่วนต่าง ๆ เช่น ใบและยอดอ่อน (Shilwant & Dhabe, 2021) คัพภะอ่อน (Borokini *et al.*, 2011) เมล็ด (Cepkova *et al.*, 2015) หัว (Hapsari *et al.*, 2019) เพื่อที่จะสามารถขยายพันธุ์ให้ได้ต้นจำนวนมากในระยะเวลาอันสั้น

นอกจากนี้ในการใช้ชิ้นส่วนใดๆ ของพืชสมุนไพรจากธรรมชาติมาเข้าสู่กระบวนการผลิตตำรับยา เครื่องสำอาง หรือผลิตภัณฑ์อื่น ๆ ในปัจจุบันยังมีข้อกังวลอยู่ในเรื่องของสิ่งเจือปนที่ยังไม่ได้มาตรฐาน เช่น ธาตุโลหะหนักที่มักปนเปื้อนมากับวัสดุปลูก สารเคมีกำจัดแมลงในการแปลงของเกษตรกร ทั้งนี้มีรายงานการปนเปื้อนโลหะหนักในผลิตภัณฑ์ดังกล่าวมาอย่างต่อเนื่อง (สำนักยาและวัตถุเสพติด กรมวิทยาศาสตร์การแพทย์, 2564; จิตรา ชัยวัฒน์ และคณะ, 2557) การเพาะเลี้ยงพืชในสภาพปลอดเชื้อเป็นอีกทางเลือกหนึ่งที่จะสามารถสร้างชิ้นส่วนเนื้อเยื่อพืชให้ปราศจากเชื้อและสารเคมีปนเปื้อนได้ เนื่องจากการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อพืชหรือพืชทั้งต้นในระบบปิดที่สามารถควบคุมปัจจัยต่างๆ ได้ ปัจจุบันมีการศึกษาวิจัยและพัฒนาวิธีการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อพืชเฉพาะส่วนพืชเพื่อใช้ในการผลิตสารที่มีฤทธิ์ทางยามากขึ้น ยาวพา จิระเกียรติกุล และคณะ (2564) ชักนำให้เกิดแคลลัสจากชิ้นส่วนใบรางจืด พบว่าแคลลัส และยอดที่พัฒนาในสภาพปลอดเชื้อนาน 4-6 สัปดาห์ มีปริมาณสารประกอบฟีนอลิก สารฟลาโวนอยด์ และฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระ DPPH สูงกว่าค่าของใบที่ได้จากพืชในสภาพธรรมชาติ

การศึกษาค้างนี้ จึงขยายพันธุ์ทำยายมอมภายใต้สภาวะปลอดเชื้อ โดยใช้ชิ้นส่วนใบ ศึกษาสูตรอาหารและสารควบคุมการเจริญเติบโตที่เหมาะสมต่อการชักนำแคลลัสและการชักนำให้เกิดต้นทำยายมอม เพื่อเป็นอีกวิธีการหนึ่งในการเพิ่มจำนวนต้นทำยายมอมซึ่งเป็นพืชหัวใต้ดินที่มีศักยภาพในด้านโภชนาการ การแพทย์ อุตสาหกรรม และการใช้ประโยชน์สู่ชุมชนต่อไป

## วิธีการศึกษา

การศึกษาค้างนี้ใช้ชิ้นส่วนใบอ่อนที่เริ่มคลี่กางใบของต้นทำยายมอม โดยวางแผนการทดลองแบบสุ่มสมบูรณ์ (Completely randomized design : CRD) โดยในการศึกษาการชักนำให้ชิ้นส่วนใบอ่อนทำยายมอมสร้างแคลลัส ทำการเปรียบเทียบสูตรอาหารทั้งหมด 10 สูตร แต่ละสูตรมี 3 ซ้ำๆ ละ 10 ตัวอย่าง และศึกษาผลของไซโทไคนินและออกซินต่อการเกิดยอดและสร้างรากโดยเปรียบเทียบความเข้มข้นของ BA ร่วมกับ IAA ทั้งหมด 5 สูตร แต่ละสูตรมี 3 ซ้ำๆ ละ 5 ตัวอย่าง เปรียบเทียบค่าเฉลี่ยโดยวิธี Duncan's multiple range test (DMRT) ทำการทดลองที่ห้องปฏิบัติการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อพืช สาขาวิทยาศาสตร์ คณะวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยี มหาวิทยาลัยเทคโนโลยีราชมงคลศรีวิชัย ได้แบ่งการทดลองออกเป็น 2 การทดลอง ได้แก่

### ศึกษาผลของสูตรอาหารต่อการชักนำให้เกิดแคลลัส

ตัดใบอ่อนต้นทำยายมอม ล้างด้วยน้ำสะอาด แล้วนำไปฟอกฆ่าเชื้อที่ผิวด้วย 70% ethanol นาน 30 วินาที ย้ายลงฟอกฆ่าเชื้อในสารละลายคลอริกซ์ ความเข้มข้น 20% นาน 15 นาที เติมหิวิน 20 (Tween 20) และจากนั้นย้ายลงสารละลายคลอริกซ์ความเข้มข้น 10% นาน 10 นาที เติมหิวิน 20 จากนั้นล้างด้วยน้ำกลั่นที่ผ่านการนิ่งฆ่าเชื้อแล้ว 3 ครั้งๆ ละ 5 นาที แล้วจึงนำไปทำยายมอมมาตัดชิ้นส่วนของใบขนาดกว้าง 1 เซนติเมตร ยาว 1 เซนติเมตร วางเพาะเลี้ยงบนอาหารสังเคราะห์สูตร MS (Murashige & Skoog, 1962) และ MS ที่เติมสาร Benzyladenine (BA) ความเข้มข้น 0, 0.5, 1.0 และ 1.5 มิลลิกรัมต่อลิตร ร่วมกับ Indole-3-acetic acid (IAA) ความเข้มข้น 0, 0.5, 1.0 และ 1.5 มิลลิกรัมต่อลิตร น้ำตาล 3% (w/v) และวุ้น 0.6% (w/v) วางเลี้ยงที่อุณหภูมิ 25 องศาเซลเซียส ในสภาพที่มีแสง 16 ชั่วโมงต่อวัน ความเข้มแสง 3,000 ลักซ์ หลังจากวางเลี้ยงเป็นระยะเวลา 4 สัปดาห์ บันทึกการชักนำให้เกิดแคลลัส โดยใช้สูตร (ร้อยละการชักนำให้เกิดแคลลัส = จำนวนชิ้นส่วนใบที่มีการสร้างแคลลัส/จำนวนชิ้นส่วนใบที่เริ่มต้นเพาะเลี้ยง x 100) และลักษณะของแคลลัส วิเคราะห์ความ

แปรปรวนและเปรียบเทียบความแตกต่างของค่าเฉลี่ยในแต่ละสูตรอาหาร

### ศึกษาผลของ BA และ IAA ต่อการเกิดยอดและสร้างราก

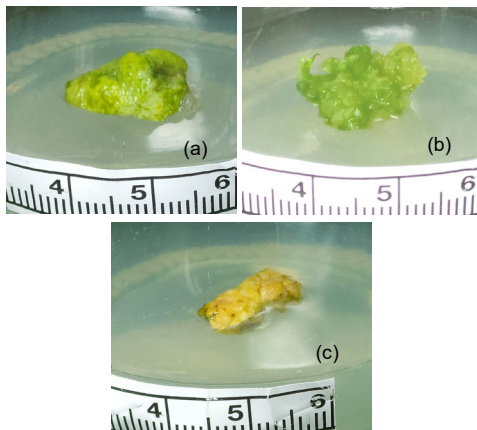
นำแคลลัสทำยายมอมที่ได้จากการทดลองที่ 1 โดยตัดแคลลัสเป็น 4 เหลี่ยมด้านเท่าขนาด 1 ลูกบาศก์เซนติเมตร มาชักนำการเกิดยอดและรากบนสูตรอาหาร MS ที่เติมสาร BA + IAA ระดับความเข้มข้น 0.0+0.0, 0.5+0.5, 1.0+1.0, 1.5+1.5 และ 2.0+2.0 มิลลิกรัมต่อลิตร และวางเลี้ยงที่อุณหภูมิ 25 องศาเซลเซียส ในสภาพที่มีแสง 16 ชั่วโมงต่อวัน ความเข้มแสง 3,000 ลักซ์ เป็นระยะเวลา 4 สัปดาห์ เพื่อศึกษาการพัฒนาเป็นยอดและการเกิดราก วิเคราะห์ความแปรปรวนและเปรียบเทียบความแตกต่างของค่าเฉลี่ยของแต่ละระดับความเข้มข้นด้วยวิธี DMRT

## ผลการทดลองและอภิปรายผล

### ผลของสูตรอาหารต่อการชักนำให้เกิดแคลลัส

จากการนำชิ้นส่วนใบอ่อนทำยายมอมเพาะเลี้ยงในอาหารสังเคราะห์สูตร MS ที่เติม BA ร่วมกับ IAA ที่ระดับความเข้มข้น 0, 0.5, 1.0 และ 1.5 มิลลิกรัมต่อลิตร พบว่าเมื่อเพาะเลี้ยงชิ้นส่วนใบของทำยายมอมเป็นเวลา 2 สัปดาห์ ชิ้นส่วนใบอ่อนที่เพาะเลี้ยงบนสูตรอาหาร MS ที่เติม BA ร่วมกับ IAA ความเข้มข้น 1.0 มิลลิกรัมต่อลิตร ชิ้นส่วนใบอ่อนเริ่มมีการเปลี่ยนแปลงและพัฒนาได้ดี แผ่นใบเต่งผิวใบเป็นเม็ดพุ่มมีสีเขียวอ่อน (Figure 1a) และมีลักษณะผิวใบเป็นเม็ดหยาบพุ่มทั่วทั้งแผ่นขยายขนาดมากขึ้นอย่างเห็นได้ชัด บางตำแหน่งมีปุ่มปลายแหลมคล้ายจุดกำเนิดของยอด มีสีเขียว เมื่อเพาะเลี้ยงเป็นระยะเวลา 4 สัปดาห์ (Figure 1b) ซึ่งคล้ายคลึงกับชิ้นส่วนใบอ่อนที่วางเลี้ยงบนสูตรอาหาร MS ที่เติม BA 0.5 ร่วมกับ IAA 0.5 มิลลิกรัมต่อลิตร BA 0.5 ร่วมกับ IAA 1.0 มิลลิกรัมต่อลิตร BA 1.0 ร่วมกับ IAA 0.5 มิลลิกรัมต่อลิตร และ BA 1.0 ร่วมกับ IAA 1.5 มิลลิกรัมต่อลิตร ในขณะที่ชิ้นส่วนใบอ่อนที่วางเลี้ยงบนอาหารสูตรอื่น ๆ ใบมีขนาดหนาขึ้นพองตัวหนาไม่ทั่วทั้งแผ่น บางตำแหน่งมีสีเหลืองไม่พุ่ม (Figure 1c) และพบว่าอัตราการเกิดแคลลัสเมื่อเพาะเลี้ยงเป็นระยะเวลา 4 สัปดาห์ อาหารสูตร MS ที่เติม BA ร่วมกับ IAA ทุกะดับความเข้มข้นสามารถชักนำให้เกิดแคลลัสได้เมื่อเปรียบเทียบกับสูตรอาหาร MS ที่ไม่มีการเติม BA ร่วมกับ IAA (ชุดควบคุม) ซึ่งชิ้นส่วนใบอ่อนทำยายมอมที่วางเลี้ยงบนอาหารสูตร MS ที่เติมสาร BA ความเข้มข้น 1.0 มิลลิกรัมต่อลิตร ร่วมกับ IAA ความเข้มข้น 1.0 มิลลิกรัมต่อลิตร สามารถชักนำให้เกิดแคลลัสได้ 100.00%

ซึ่งมีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติจากอาหารสูตร MS ที่เติมสาร BA ความเข้มข้น 0.5 มิลลิกรัมต่อลิตร ร่วมกับ IAA ความเข้มข้น 0.5 มิลลิกรัมต่อลิตร สามารถชักนำให้เกิดแคลลัสได้ 86.67% ส่วนอาหารสูตร MS ที่เติมสาร BA ความเข้มข้น 1.0 มิลลิกรัมต่อลิตร ร่วมกับ IAA ความเข้มข้น 1.5 มิลลิกรัมต่อลิตร สามารถชักนำให้เกิดแคลลัสได้ 76.67% ซึ่งไม่แตกต่างจากอาหารสูตร MS ที่เติมสาร BA ความเข้มข้น 1.0 มิลลิกรัมต่อลิตร ร่วมกับ IAA ความเข้มข้น 0.5 มิลลิกรัมต่อลิตร และอาหารสูตร MS ที่เติมสาร BA ความเข้มข้น 0.5 มิลลิกรัมต่อลิตร ร่วมกับ IAA ความเข้มข้น 1.0 มิลลิกรัมต่อลิตร สามารถชักนำให้เกิดแคลลัสได้ 73.33% และ 70.00% ตามลำดับ เช่นเดียวกับที่อาหารสูตร MS ที่เติมสาร BA ความเข้มข้น 1.5 มิลลิกรัมต่อลิตร ร่วมกับ IAA ความเข้มข้น 0.5 มิลลิกรัมต่อลิตร สามารถชักนำให้เกิดแคลลัสได้ 50.00% ซึ่งไม่แตกต่างจากอาหารสูตร MS ที่เติมสาร BA ความเข้มข้น 1.5 มิลลิกรัมต่อลิตร ร่วมกับ IAA ความเข้มข้น 1.0 มิลลิกรัมต่อลิตร และอาหารสูตร MS ที่เติมสาร BA ความเข้มข้น 0.5 มิลลิกรัมต่อลิตร ร่วมกับ IAA ความเข้มข้น 1.5 มิลลิกรัมต่อลิตร 46.67% และ 43.33% ตามลำดับ ในขณะที่อาหารสูตร MS ที่เติมสาร BA ความเข้มข้น 1.5 มิลลิกรัมต่อลิตร ร่วมกับ IAA ความเข้มข้น 1.5 มิลลิกรัมต่อลิตร สามารถชักนำแคลลัสได้น้อยที่สุดคือ 16.67% (Table 1)



**Figure 1** Characteristics of *Tacca leontopetaloides* (L.) Kuntze callus on MS medium supplemented with 1.0 mg/L BA + 1.0 mg/L IAA (a) after 2 weeks of culture and (b) after culturing for 4 weeks and (c) poorly developed callus.

**Table 1** Percent of callus induction on MS and medium supplemented with various concentrations of BA and IAA cultured for 4 weeks.

|       |    | Treatments   |               | Callus induction               |
|-------|----|--------------|---------------|--------------------------------|
| media |    | BA<br>(mg/L) | IAA<br>(mg/L) | (%) $\pm$ SD                   |
| T1    | MS | 0            | 0             | 00.00 $\pm$ 0.00 <sup>f</sup>  |
| T2    | MS | 0.5          | 0.5           | 86.67 $\pm$ 5.77 <sup>b</sup>  |
| T3    | MS | 0.5          | 1.0           | 70.00 $\pm$ 0.00 <sup>c</sup>  |
| T4    | MS | 0.5          | 1.5           | 43.33 $\pm$ 5.77 <sup>d</sup>  |
| T5    | MS | 1.0          | 0.5           | 73.33 $\pm$ 5.77 <sup>c</sup>  |
| T6    | MS | 1.0          | 1.0           | 100.00 $\pm$ 0.00 <sup>a</sup> |
| T7    | MS | 1.0          | 1.5           | 76.67 $\pm$ 5.77 <sup>c</sup>  |
| T8    | MS | 1.5          | 0.5           | 50.00 $\pm$ 0.00 <sup>d</sup>  |
| T9    | MS | 1.5          | 1.0           | 46.67 $\pm$ 5.77 <sup>d</sup>  |
| T10   | MS | 1.5          | 1.5           | 16.67 $\pm$ 5.77 <sup>e</sup>  |

**Note:** MS = Murashige and Skoog (1962); Mean values followed by different letters indicate significant differences according to Duncan's Multiple Range Test ( $P < 0.05$ )

จากการชักนำให้เกิดแคลลัส พบว่าแคลลัสเกิดได้ดีที่สุดบนอาหารสูตร MS ที่เติมสารควบคุมการเจริญเติบโต BA และ IAA โดยมีอัตราการเกิดแคลลัสได้สูงสุด 100% ซึ่งผลการทดลองนี้สอดคล้องกับการศึกษาในพืชชนิดอื่นๆ ที่ใช้สารควบคุมการเจริญเติบโตกลุ่มไซโทไคนินและออกซินในการชักนำให้เกิดแคลลัสโดยการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อ เช่น ศิราธิญากร บรรหาร และช่อทิพย์ เงินเต็ม (2564) พบว่าชิ้นส่วนใบของหยาดน้ำค้างนิวซีแลนด์ (*Drosera adelae* F.Muell.) ที่เพาะเลี้ยงบนสูตรอาหาร ½ MS ที่เติม kinetin 0.2 มิลลิกรัมต่อลิตร ร่วมกับ 2,4-D 1.0 มิลลิกรัมต่อลิตร สามารถชักนำให้เกิดแคลลัสได้ดีที่สุด 100% เช่นเดียวกับ ยาวพา จิระเกียรติกุล และคณะ (2564) พบว่าชิ้นส่วนใบรางจืดที่เพาะเลี้ยงบนอาหารสูตร MS ที่เติม 2,4-D หรือ NAA ความเข้มข้น 0.5 และ 1 มิลลิกรัมต่อลิตร เพียงอย่างเดียว หรือร่วมกับ BA ความเข้มข้น 0.5 มิลลิกรัมต่อลิตร สามารถพัฒนาเป็นแคลลัสได้ 100 % ส่วนชิ้นส่วนใบที่เพาะเลี้ยงบนอาหารสูตร MS ที่ไม่เติมสารควบคุมการเจริญเติบโต (กลุ่มควบคุม) ไม่มีการพัฒนาของแคลลัส ขวัญเดือน รัตนา และคณะ (2560) พบว่าอาหารสูตร MS ที่เติม BA ความเข้มข้น 1 มิลลิกรัมต่อลิตร ร่วมกับ NAA ความเข้มข้น 0.5 มิลลิกรัมต่อลิตร สามารถชักนำให้ชิ้นส่วนใบอ่อนของบอนสีมีการเจริญเป็นแคลลัสได้ดีที่สุด 50%

ผลการทดลองแสดงให้เห็นว่าสารควบคุม การเจริญเติบโตจำเป็นต่อการแบ่งเซลล์และพัฒนาไปเป็นแคลลัสของ

ชั้นส่วนใบห้ายายม่อม โดยชั้นส่วนใบพัฒนาเป็นแคลลัสได้ดีบนอาหารสูตร MS ที่เติม BA ร่วมกับ IAA ทั้งนี้เนื่องจาก BA เป็นสารควบคุมการเจริญเติบโตในกลุ่มไซโทไคนินที่มีสมบัติกระตุ้นการแบ่งเซลล์ ส่วน IAA เป็นสารควบคุมการเจริญเติบโตในกลุ่มออกซินที่มีสมบัติต่อการกระตุ้นให้เกิดแคลลัสและเจริญเติบโตได้ดี เมื่อนำมาใช้ร่วมกันจึงส่งผลต่อการแบ่งเซลล์ของพืชโดยเฉพาะเมื่อใช้ BA ความเข้มข้น 1.0 มิลลิกรัมต่อลิตร ร่วมกับ IAA ความเข้มข้น 1.0 มิลลิกรัมต่อลิตร อย่างไรก็ตามความเข้มข้นที่ใช้ก็จะแตกต่างกันในพืชแต่ละชนิด ซึ่งผลการทดลองนี้ก็ได้นำไปศึกษาต่อในการพัฒนาของแคลลัสเพื่อการสร้างยอดและรากบนอาหารสูตร MS ที่เติมสารควบคุมการเจริญเติบโต BA และ IAA ในระดับความเข้มข้นต่าง ๆ ต่อไป

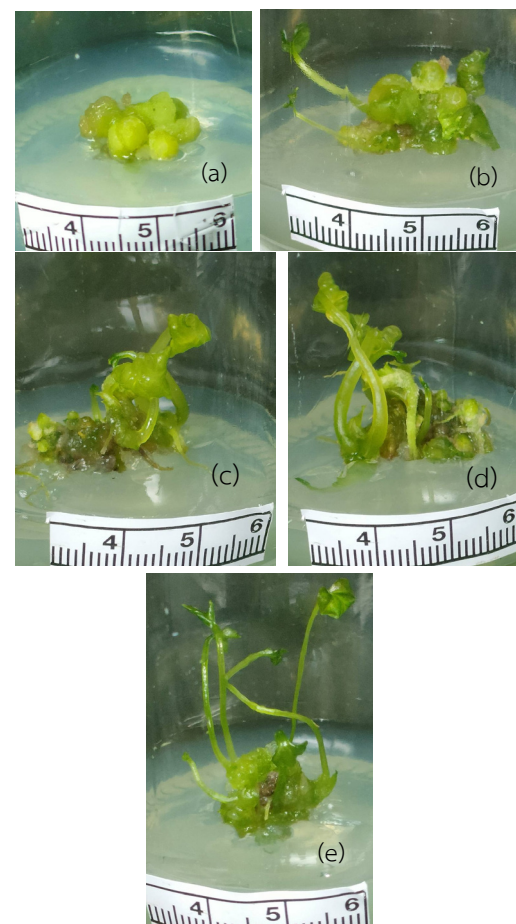
#### ผลของ BA และ IAA ต่อการเกิดยอดและสร้างราก

จากการศึกษาผลของ BA ร่วมกับ IAA ต่อการพัฒนาของแคลลัสให้เกิดการสร้างยอดและราก ด้วยการย้ายแคลลัสที่ได้จากการทดลองที่ 1 มาเพาะเลี้ยงบนอาหารสูตร MS ที่เติม BA ความเข้มข้น 0, 0.5, 1.0, 1.5 และ 2.0 มิลลิกรัมต่อลิตร ร่วมกับ IAA ความเข้มข้น 0, 0.5, 1.0, 1.5 และ 2.0 มิลลิกรัมต่อลิตร พบว่าทุกสูตรอาหารสามารถชักนำให้แคลลัสพัฒนาต่อไปเป็นยอดและสร้างรากได้ ยกเว้นสูตรอาหาร MS ที่ไม่ได้เติมสารควบคุมการเจริญเติบโตทั้ง 2 ชนิด (ชุดควบคุม) โดยพบว่าสูตรอาหาร MS ที่เติม BA ร่วมกับ IAA ที่ระดับความเข้มข้น 1.0 มิลลิกรัมต่อลิตร สามารถชักนำให้เกิดการสร้างยอดต่อแคลลัสเฉลี่ยสูงสุด 5.67 ยอด ซึ่งมีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติกับชุดทดลองอื่นและชุดควบคุม และสูตรอาหารดังกล่าวยังสามารถชักนำการสร้างรากได้เฉลี่ย 3.07 ราก ซึ่งมีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติกับชุดควบคุม (Table 2, Figure 2 and Figure 3)

**Table 2** Number of shoots cultured for 4 weeks and roots cultured for 8 weeks per callus cultured on MS medium supplemented with various concentrations of BA and IAA.

| media | Treatments<br>PGRs(mg/L) |     | No. of shoots/<br>callus | No. of roots/<br>callus |
|-------|--------------------------|-----|--------------------------|-------------------------|
|       | BA                       | IAA |                          |                         |
| T1 MS | 0                        | 0   | 0.00±0.00 <sup>c</sup>   | 0.00±0.00 <sup>c</sup>  |
| T2 MS | 0.5                      | 0.5 | 3.53±0.52 <sup>b</sup>   | 1.93±0.70 <sup>b</sup>  |
| T3 MS | 1.0                      | 1.0 | 5.67±0.72 <sup>a</sup>   | 3.07±0.80 <sup>a</sup>  |
| T4 MS | 1.5                      | 1.5 | 2.00±0.53 <sup>c</sup>   | 3.20±0.94 <sup>a</sup>  |
| T5 MS | 2.0                      | 2.0 | 0.53±0.52 <sup>d</sup>   | 2.00±2.00 <sup>b</sup>  |

**Note:** MS = Murashige and Skoog (1962); Mean values followed by different letters indicate significant differences according to Duncan's Multiple Range Test ( $P < 0.05$ )



**Figure 2** Shoot formation of *Tacca leontopetaloides* (L.)

Kuntze on MS medium (a) without plant growth regulators, (b) with 0.5 mg/L BA + 0.5 mg/L IAA, (c) with 1.0 mg/L BA + 1.0 mg/L IAA, (d) with 1.5 mg/L BA + 1.5 mg/L IAA and (e) with 2.0 mg/L BA + 2.0 mg/L IAA after culturing for 4 weeks.



**Figure 3** Root formation of callus 8 weeks.

ซึ่งสอดคล้องกับ Shilwant and Dhabe (2021) พบว่าการใช้ชิ้นส่วนใบและยอดอ่อนทำยายม่อมเป็นชิ้นส่วนเริ่มต้นเพาะเลี้ยงในอาหารสูตร MS ที่มีความเข้มข้นของ BAP และ IAA ที่เหมาะสมสามารถกระตุ้นการเกิดยอดและการเจริญเติบโตของต้นกล้าได้ เช่นเดียวกับการศึกษาของ Wiendi *et al.* (2022) ซึ่งศึกษาการออกของเมล็ดและการเพิ่มจำนวนยอดในหลอดทดลองของ *Tacca chantrieri* Andre พบว่าอาหารสูตร MS ที่เติม IAA ความเข้มข้น 0.5 มิลลิกรัมต่อลิตร และ BA ความเข้มข้น 1 หรือ 2 มิลลิกรัมต่อลิตร สามารถกระตุ้นการเพิ่มจำนวนยอดจากเมล็ดที่งอกในหลอดทดลอง โดยสามารถผลิตยอดได้ 7–10 ยอดหลังการเพาะเลี้ยงเป็นเวลา 12 สัปดาห์ เช่นเดียวกับ Borokini and Ayodele (2012) พบว่าการเพาะเลี้ยงคัพภะอ่อน *Tacca leontopetaloides* (L.) Kuntze ในอาหารสูตร MS ที่เติมออกซิน (NAA) ร่วมกับไซโตไคนิน (BAP) สามารถเพิ่มการเกิดยอดได้อย่างมีนัยสำคัญ โดยพบว่าสูตรอาหาร MS ที่เติมด้วย BAP ความเข้มข้น 0.1 มิลลิกรัมต่อลิตร และ NAA ความเข้มข้น 0.01 มิลลิกรัมต่อลิตร เพิ่มจำนวนยอดได้ดีที่สุด ในขณะที่อาหารสูตร MS ที่เติม IAA ความเข้มข้น 0.1 มิลลิกรัมต่อลิตร สามารถสร้างรากได้ดีที่สุด อย่างไรก็ตามการศึกษครั้งนี้พบว่าสารควบคุมการเจริญเติบโตกลุ่มไซโทไคนิน เช่น BA มีคุณสมบัติในการกระตุ้นการแบ่งตัวของเซลล์และช่วยในกระบวนการเปลี่ยนแปลงสภาพของเซลล์ให้เกิดยอด และสารกลุ่มออกซิน เช่น NAA, IAA และ 2,4-D จะกระตุ้นการยึดตัวของเซลล์ทำให้เกิดราก ซึ่งเมื่อพืชได้รับไซโทไคนินและ ออกซินในอัตราส่วนที่เหมาะสมก็จะมีผลต่อการเกิดยอดและรากได้ (เยาพา จิระเกียรติกุล และคณะ, 2564) ซึ่ง เบญจมาศ หนูแป้น และคณะ (2561) พบว่าอาหารสูตร MS ที่เติม BA ความเข้มข้น 2 มิลลิกรัมต่อลิตร ร่วมกับ Kin ความเข้มข้น 0.5 มิลลิกรัมต่อลิตร และ NAA ความเข้มข้น 0.5 มิลลิกรัมต่อลิตร สามารถชักนำการเกิดต้นได้ดีที่สุดเฉลี่ย 20% ทั้งนี้จากผลการศึกษานี้พบว่าสามารถชักนำแคลลัสได้สูงสุด 100% บนอาหารสูตร MS ที่เติม BA ความเข้มข้น 1.0 มิลลิกรัมต่อลิตร และ IAA ความเข้มข้น 1.0

มิลลิกรัมต่อลิตร และเมื่อเพิ่มระดับความเข้มข้นของสารควบคุมการเจริญเติบโตทั้ง 2 ชนิดสูงขึ้นกลับพบว่าเกิดการยับยั้งการชักนำแคลลัส และการพัฒนาไปเป็นต้นใหม่

### สรุปผลการทดลองและข้อเสนอแนะ

ชิ้นส่วนใบของทำยายม่อมสามารถพัฒนาเป็นแคลลัสได้ดีที่สุดบนอาหารสูตร MS ที่เติม BA ความเข้มข้น 1.0 มิลลิกรัมต่อลิตร ร่วมกับ IAA ความเข้มข้น 1.0 มิลลิกรัมต่อลิตร และสูตรอาหารที่เหมาะสมต่อการพัฒนาของแคลลัสทำยายม่อมไปเป็นต้นใหม่ได้ดีที่สุดคืออาหารสูตร MS ที่เติม BA ความเข้มข้น 1.0 มิลลิกรัมต่อลิตร ร่วมกับ IAA ความเข้มข้น 1.0 มิลลิกรัมต่อลิตร

การศึกษานี้สามารถนำไปใช้ประโยชน์ต่อการศึกษาในพืชชนิดอื่นๆ ต่อไปได้ โดยเฉพาะการผลิตพืชเพื่อใช้สกัดสารผลิตภัณฑ์ทางยาหรือผลิตภัณฑ์ที่เกี่ยวข้อง โดยแสดงให้เห็นถึงผลของการใช้สารควบคุมการเจริญเติบโตของพืช 2 กลุ่มร่วมกัน ซึ่งควรปรับระดับความเข้มข้นและสัดส่วนของไซโทไคนินและออกซินในการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อพืชแต่ละชนิดเพื่อให้ได้ผลลัพธ์ที่ดีที่สุดในการชักนำแคลลัส การพัฒนาของยอดรวมถึงการสร้างราก

### กิตติกรรมประกาศ

งานวิจัยครั้งนี้ได้รับทุนอุดหนุนการวิจัยจากงบประมาณรายได้ คณะวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยี มหาวิทยาลัยเทคโนโลยีราชมงคลศรีวิชัย

### เอกสารอ้างอิง

- ขวัญเดือน รัตนา, สุภาวีร์ แสงจันทร์จิระเดช และพัชพล มุ่งลือ. (2560). อิทธิพลของ BA และ NAA ต่อการเพาะเลี้ยงใบอ่อนของบอนสี. *Journal of Food Health and Bioenvironmental Science*, 10(3), 33–45.
- จิตรา ชัยวัฒน์, จิราณัฐ แจ่มทวีกุล, สันติพงศ์ วงศ์เพ็ญทักษ์ และปรีชญาพร อินทองแก้ว. (2557). ความปลอดภัยของยาจากสมุนไพรในบัญชียาหลักแห่งชาติ. *วารสารกรมวิทยาศาสตร์การแพทย์*, 56(3), 123–134.
- ญาณิกา วัชรเทวินทร์กุล และอานนท์ เรียงหมู. (2563). การตรวจหาสารพิษตกค้าง และฤทธิ์ด้านจุลินทรีย์ของสารสกัดทำยายม่อม (*Tacca leontopetaloides* (L.) Kuntze.). *Journal of Science and Technology*, 12(24), 23–35.
- เบญจมาศ หนูแป้น, ไซนียะ สะมาลา, กนกรัตน์ ใจสะอาด, กิตติมา คงทน, กนกอร ทองใหญ่ และศิริพร ทวีโรจนการ.

- (2561). ผลของสูตรอาหารและสารควบคุมการเจริญเติบโตต่อการชักนำให้เกิดแคลลัสในข้าวไร่พันธุ์ดอกพะยอม. *แก่นเกษตร*, 46(1), 73–80.
- เยาวพา จิระเกียรติกุล, ภาณุมาศ ฤทธิไชย, ขวัญข้าว เมืองเขียว และปิยะมาศ ไพโรจน์. (2564). การชักนำให้เกิดแคลลัส และปริมาณสารต้านอนุมูลอิสระของแคลลัสรางจืด. *วารสารวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยี (วท.)*, 29(1), 101–110.
- ลัดดาวัลย์ คำมะปะนา, ศิริพร มุลาสิน และสุภาวดี ตั้งธีระวัฒน์. (2562). การแก้การพักตัวของเมล็ดท้ายยม่อม. *วารสารเกษตรพระจอมเกล้า*, 37(3), 446–451.
- ศิริศานธิภากร บรรหาร และช่อทิพย์ เงินเต็ม. (2564). อิทธิพลของสารควบคุมการเจริญเติบโตและโคโคซานต่อการขยายพันธุ์หยาดนน้ำค้างนิวซีแลนด์ (*Drosera adelae* F.Muell.) ในสภาพปลอดทดลอง. *วารสารวิทยาศาสตร์บูรพา*, 26(2), 753–769.
- สุพินญา บุญมานพ. (2564). การอนุรักษ์และการใช้ประโยชน์ท้ายยม่อมในประเทศไทย (พิมพ์ครั้งที่ 1). กรมส่งเสริมการเกษตร. <https://shorturl.asia/nmNfd>
- สำนักยาและวัตถุเสพติด กรมวิทยาศาสตร์การแพทย์. (2564). ตำรามาตรฐานยาสมุนไพรไทย (*Thai Herbal Pharmacopoeia 2021*). <https://bdn.go.th/thp/home>
- Aïssatou, D. S., Metsagang, J. T. N., Sokeng, C. D., & Njintang, N. Y. (2017). Antihyperlipidemic and hypolipidemic properties of *Tacca leontopetaloides* (L.) Kuntze (Dioscoreales: Dioscoreaceae) tuber s aqueous extracts in the rats. *Brazilian Journal of Biological Sciences*, 4(7), 67–80. <https://doi.org/10.21472/bjbs.040708>
- Borokini, T. I., & Ayodele, A. E. (2012). Phytochemical screening of *Tacca leontopetaloides* (L.) Kuntze collected from four geographical locations in Nigeria. *International Journal of Modern Botany*, 2(4), 97–102. <https://doi.org/10.5923/j.ijmb.20120204.06>
- Borokini, T. I., Lawyer, E. F., & Ayodele, A. E. (2011). In vitro propagation of *Tacca leontopetaloides* (L.) Kuntze in Nigeria. *Egyptian Journal of Biology*, 13, 51–56. <https://doi.org/10.4314/ejb.v13i1.8>
- Cepkova, P. H., Vitamvas, J., Viehmannova, I., Kisilova, J., Cusimamani, E. F., & Milella, L. (2015). Simplified in vitro propagation protocol for *Tacca leontopetaloides* (L.) Kuntze and assessment of genetic uniformity of regenerated plantlets. *Emirates Journal of Food and Agriculture*, 27(10), 736–743. <https://doi.org/10.9755/ejfa.2015.06.350>
- Engelmann, F. (2011). Use of biotechnologies for the conservation of plant biodiversity. *In Vitro Cellular & Developmental Biology - Plant*, 47, 5–16. <https://doi.org/10.1007/s11627-010-9327-2>
- Hapsari, B. W., Martin, A. F., Maulana, E., & Ermayanti, T. M. (2019). Growth, phytochemical properties, and antioxidant activity of in vitro-gamma irradiated *Tacca leontopetaloides* (L.) Kuntze. In E. P. Sunarwidhi & N. R. M. Niwayan (Eds.), *AIP Conference Proceedings: Vol. 2199. International Conference on Bioscience, Biotechnology and Biometrics* (Article 050002). <https://doi.org/10.1063/1.5141300>
- Murashige, T., & Skoog, F. (1962). A revised medium for rapid growth and bioassays with tobacco tissue cultures. *Physiologia Plantarum*, 15(3), 473–497. <https://doi.org/10.1111/j.1399-3054.1962.tb08052.x>
- Susiarti, S., Oryzanti, P., Djarwaningsih, T., & Sulistiarini, D. (2023). The potential of Taka plants (*Tacca leontopetaloides* (L.) Kuntze) as food sources in Bangka Belitung Archipelago, Indonesia. *Journal of Namibian Studies: History Politics Culture*, 39, 102–122.
- Syafi, S., Pujiasmanto, B., Purwanto, E., & Suryanti, V. (2023). Phytochemical screening of *Tacca* plant (*Tacca leontopetaloides* L.) ethanol extract using spectrophotometry UV-VIS method. *International Journal on Advanced Science, Engineering & Information Technology*, 13(4), 1436–1442. <https://doi.org/10.18517/ijaseit.13.4.18844>
- Shilwant, B. S., & Dhabe, S. A. (2021). In vitro micropropagation of *Tacca leontopetaloides* (L.) Kuntze. *International Journal of Botany Studies*, 6(6), 1500–1502.
- The Plant List. (2024). A working list of all plant species: *Tacca leontopetaloides* (L.) Kuntze. <http://www.theplantlist.org/tpl1.1/record/kew-267851>
- Uachisso, A., Silva, M. N. D., Agostinho, D., Pinho, O., Vasconcelos, M. W., & Carvalho, S. M. (2023). Nutritional evaluation of flour obtained from *Tacca*

- leontopetaloides* used as an alternative food in Muanza-Mozambique. *African Journal of Food Science*, 17(6), 122–129. <https://doi.org/10.5897/AJFS2022.2186>
- Vu, Q. T. H., Le, P. T. K., Vo, H. P. H., Nguyen, T. T., & Nguyen, T. K. M. (2017). Characteristics of *Tacca leontopetaloides* L. Kuntze collected from An Giang in Vietnam. In *AIP Conference Proceedings: Vol. 1878. Proceedings of the 3rd International Conference on Chemical Engineering, Food and Biotechnology* (Article 020022). <https://doi.org/10.1063/1.5000190>
- Wiendi, N. M. A., Sushanty, R. Y. N., & Krisantini, C. A. S. (2022). In vitro seed germination and shoot proliferation of bat flower (*Tacca chantrieri* Andre). *Acta Scientiarum Polonorum Hortorum Cultus*, 21(2), 77–86. <https://doi.org/10.24326/asphc.2022.2.7>

# รายงานพันธุศาสตร์ระดับเซลล์ครั้งแรกของกบอ่องมลายู (*Sylvirana malayana*)

## First cytogenetic report of Malayan dark-side frog (*Sylvirana malayana*)

ธนีสร์ ศรีวรรเดชไพศาล<sup>1</sup>, สิทธิศักดิ์ จันทรัตน์<sup>1\*</sup>, วีระ ทองเนตร<sup>2</sup>, สมศักดิ์ บัวทิพย์<sup>1</sup> และ เทียนทิพย์ ไกรพรหม<sup>3</sup>  
Thanisorn Srivorradathpisan<sup>1</sup>, Sitthisak Jantarat<sup>1\*</sup>, Weera Thongnet<sup>2</sup>, Somsak Buatip<sup>1</sup> and Thaintip Kraiprom<sup>3</sup>

Received: 27 October 2024 ; Revised: 7 February 2025 ; Accepted: 5 June 2025

### บทคัดย่อ

รายงานการศึกษาแคโรไทป์และไอดีโอแกรมของกบอ่องมลายู (*Sylvirana malayana*) เก็บตัวอย่างจากป่าฮาลา-บาลา จังหวัดยะลา เตรียมโครโมโซมโดยตรงจากไขกระดูก ด้วยการฉีดสารละลายโคลชิซิน ย้อมสีโครโมโซมแบบธรรมดาด้วยสีจีมาซ่า 20% เพื่อศึกษาจำนวน ชนิด ขนาดของโครโมโซม ผลการศึกษาพบว่ากบอ่องมลายูมีจำนวนโครโมโซมดิพลอยด์ ( $2n$ ) เท่ากับ 26 แท่ง มีจำนวนโครโมโซมพื้นฐาน (NF) เท่ากับ 52 ประกอบด้วยโครโมโซมชนิดเมทาเซนทริกขนาดใหญ่ 2 แท่ง โครโมโซมซัพเมทาเซนทริกขนาดใหญ่ 6 แท่ง โครโมโซมเมทาเซนทริกขนาดกลาง 2 แท่ง โครโมโซมชนิดเมทาเซนทริกขนาดเล็ก 10 แท่ง โครโมโซมซัพเมทาเซนทริกขนาดเล็ก 4 แท่ง และโครโมโซมอะโครเซนทริกขนาดเล็ก 2 แท่ง ไม่สามารถระบุโครโมโซมเพศได้ สามารถเขียนสูตรแคโรไทป์ของกบอ่องมลายู ดังนี้  $2n (26) = L_2^m + L_6^{sm} + M_2^m + S_{10}^m + S_4^{sm} + S_2^a$

คำสำคัญ: พันธุศาสตร์ระดับเซลล์, แคโรไทป์, กบอ่องมลายู, ป่าฮาลา-บาลา

### Abstract

The first report of karyotype and idiogram of Malayan dark-side frog (*Sylvirana malayana*), samples collected from Hala-Bala forest, Yala Province. Chromosomes were prepared directly from bone marrow. Use the direct method with colchicine solution. Conventional chromosome staining with 20% Giemsa was dyed to study the number, type, and size of chromosomes. The results of the study revealed that the *Sylvirana malayana* has a diploid chromosome number ( $2n$ ) = 26, with a basic chromosome number (NF) = 52, consisting of 2 large metacentric chromosomes and a submetacentric chromosome. There were 6 large, 2 medium metacentric, 10 small metacentric, 4 small submetacentric and 2 small acrocentric chromosomes. No sex chromosomes could be identified. The karyotype formula for a *Sylvirana malayana* can be written as follows:  $2n (26) = L_2^m + L_6^{sm} + M_2^m + S_{10}^m + S_4^{sm} + S_2^a$ .

**Keywords:** Cytogenetic, karyotype, *Sylvirana malayana*, Hala-Bala forest

<sup>1</sup> สาขาวิชาวิทยาศาสตร์ คณะวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยี, มหาวิทยาลัยสงขลานครินทร์ วิทยาเขตปัตตานี

<sup>2</sup> สาขาวิชาชีววิทยา คณะวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยี, มหาวิทยาลัยเทคโนโลยีราชมงคลกรุงเทพ

<sup>3</sup> สาขาวิชาวิทยาการเกษตรและประมง คณะวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยี, มหาวิทยาลัยสงขลานครินทร์ วิทยาเขตปัตตานี

<sup>1</sup> Science Subjects, Faculty of Science and Technology, Prince of Songkla University Pattani Campus

<sup>2</sup> Biology Majors, Faculty of Science and Technology, Rajamangala University of Technology Krungthep

<sup>3</sup> Department of Agricultural and Fishery Science, Faculty of Science and Technology, Prince of Songkla University Pattani Campus

\* Corresponding author, e-mail: sitthisak.j@psu.ac.th

## บทนำ

ป่าฮาลา-บาลา ได้ถูกยกย่องว่าเป็นเมซอนแห่งเอเชีย สภาพโดยทั่วไปเป็นป่าดงดิบชื้นและยังเป็นแหล่งกำเนิดของแม่น้ำสายสำคัญทั้ง 3 สาย ลักษณะภูมิอากาศที่ไม่ค่อยแตกต่างกัน มี 2 ฤดู คือฤดูแล้ง 4 เดือน (เดือนมกราคม-เมษายน) และฤดูฝน 8 เดือน (เดือนพฤษภาคม-ธันวาคม) ส่งผลทำให้ความหลากหลายทางชีวภาพของสิ่งมีชีวิตต่าง ๆ สูงมาก อันเนื่องมาจากความอุดมสมบูรณ์ของป่าที่มีทั้งแหล่งอาหาร และน้ำเพียงพอแก่พรรณพืช และสัตว์ป่าทั้งหลาย รวมถึงสัตว์สะเทินน้ำสะเทินบกบางชนิดเป็นสัตว์ป่าหายาก และมีสถานภาพใกล้จะสูญพันธุ์ ระบบนิเวศของป่าแห่งนี้เป็นมรดกทางธรรมชาติที่สำคัญควรค่าแก่การอนุรักษ์สืบต่อไป (กรมอุทยานแห่งชาติสัตว์ป่าและพันธุ์พืช, 2553)

กบอ่องมลายู *Sylvirana malayana* (Sheridan and Stuart, 2018) เป็นสัตว์สะเทินน้ำสะเทินบกจัดอยู่ในอันดับกบ (Order Anura) วงศ์รานิดี (Family Ranidae) แพร่กระจายเฉพาะในพื้นที่ภาคใต้ของประเทศไทย ตั้งแต่จังหวัดประจวบคีรีขันธ์ลงไปถึงประเทศมาเลเซีย (ปิยวรรณ และคณะ, 2562) สถานภาพการอนุรักษ์ใน IUCN red list อยู่ในกลุ่มมีความเสี่ยงต่ำต่อการสูญพันธุ์ (LC) (ระบบคลังข้อมูลความหลากหลายทางชีวภาพของประเทศไทย, 2564) ถูกรายงานการค้นพบครั้งแรกในปี 2561 โดย Sheridan and Stuart (2018) จึงเป็นสิ่งมีชีวิตที่ยังมีข้อมูลค่อนข้างน้อย ในปัจจุบันสัตว์สะเทินน้ำสะเทินบกถูกคุกคามอย่างต่อเนื่อง โดยมีปัจจัยหลักมาจากการเปลี่ยนแปลงสิ่งแวดล้อม ระบบนิเวศ และธรรมชาติที่จำเป็นต่อการดำรงชีวิตของสัตว์จำพวกนี้ทั้งแหล่งที่อยู่อาศัย อาหาร ที่หลบภัย และพื้นที่สืบพันธุ์ เป็นต้น ส่งผลให้จำนวนชนิด ขนาดตัว และขนาดประชากรของสัตว์สะเทินน้ำสะเทินบกทั่วโลก รวมทั้งบริเวณป่าฮาลา-บาลาเปลี่ยนแปลงไปและลดลงอย่างต่อเนื่อง (ปิยวรรณ และคณะ, 2562)

การศึกษาพันธุศาสตร์ระดับเซลล์ในปัจจุบันมีความก้าวหน้าอย่างมาก มีข้อมูลพันธุศาสตร์ของสิ่งมีชีวิตต่าง ๆ เพิ่มขึ้นกว่าในอดีต โดยการศึกษาพันธุศาสตร์ระดับเซลล์ของสัตว์สะเทินน้ำสะเทินบกในประเทศไทยพบว่ามีรายงานการศึกษาอย่างแพร่หลายในหลายชนิด แต่ในวงศ์รานิดีมีรายงานการศึกษาค่อนข้างน้อยมาก ได้แก่ Sabah splash frog (*Staurois latopalmaris*) (Matsui and Seto, 1985) กบดอยแอนเดอร์สัน (*Rana andersonii*), spotted paa frog (*Rana maculosa*) Yunnan Asian frog (*Rana unculuana*) (Liu et al., 1993) กบบัว (*Rana erythraea*) กบอ่อง (*Rana nigrovittata*) กบหลังไพล (*Rana lateralis*) (ถาวร และ แก้ว, 2548) Marsh frog (*Pelophylax ridibundus*), Long-legged wood frog

(*Rana macrocnemis*) (Martirosyan and Stepanyan, 2009) กบอ่องเล็ก (*Sylvirana nigrovittata*) และ กบลายหินตะนาวศรี (*Amolops panhai*) (Pradit et al., 2018) เป็นต้น ส่วนใหญ่มีจำนวนโครโมโซมดิพลอยด์ ( $2n$ ) อยู่ระหว่าง 24-26 แท่ง ดังนั้นพันธุศาสตร์ระดับเซลล์ของกบอ่องมลายู (*Sylvirana malayana*) นอกบริเวณพื้นที่อนุรักษ์ป่าฮาลา-บาลา จังหวัดยะลา นั้นมีวัตถุประสงค์เพื่อศึกษาจำนวน ชนิด และขนาดของโครโมโซมของกบอ่องมลายู และเพื่อกำหนดรูปแบบแคโรไทป์และไอดิโอแกรมของกบอ่องมลายู โดยสามารถนำข้อมูลที่ได้จากการศึกษาค้นคว้าไปใช้ประโยชน์สำหรับการจัดจำแนกทางอนุกรมวิธานหรือจัดจำแนกชนิดให้มีความถูกต้องและแม่นยำมากยิ่งขึ้น รวมถึงใช้เป็นแนวทางในการอนุรักษ์แหล่งพันธุกรรมสัตว์และระบบนิเวศของพื้นที่ให้คงอยู่ต่อไป อีกทั้งยังสามารถนำความรู้ไปใช้ต่อยอดในการปรับปรุงพันธุ์ได้ในอนาคต

## ระเบียบวิธีวิจัย

งานวิจัยนี้ผ่านการรับรองจากคณะกรรมการการวิจัยในสัตว์เพื่องานทางวิทยาศาสตร์มหาวิทยาลัยสงขลานครินทร์ เลขที่ 59/2019



Figure 1 Malayan dark-side frog (*Sylvirana malayana*)

### 1. พื้นที่ศึกษา

เก็บตัวอย่างสัตว์ที่บ้านวังไทร หมู่ 2 ตำบลแม่หวาด อำเภอธารโต เป็นชุมชนที่อยู่ติดกับ พื้นที่ป่าอนุรักษ์บริเวณเขต อุทยานแห่งชาติบางลาง มีสภาพพื้นที่เป็นภูเขา สลับซับซ้อนกระจายอยู่ทั่วไป มีพื้นที่ราบเล็กน้อย พิกัด  $6^{\circ} 00'39''N$ ,  $101^{\circ}16'09''E$  มีความสูงเหนือระดับน้ำทะเลประมาณ 170 -300 เมตร ซึ่งเป็นชุมชนเกษตรกรใช้พื้นที่ปลูกพืชเศรษฐกิจ หลายชนิด เช่น ทุเรียน เงาะ มังคุด ลองกอง และยางพารา เป็นหลัก (สิทธิศักดิ์ และคณะ, 2567)

### 2. การเก็บตัวอย่าง

กบอ่องมลายู (*Sylvirana malayana*) ถูกแยกออกจากกบอ่องเล็ก *S. nigrovittata* โดย Sheridan and Stuart

(2018) มีขนาดกลาง ความยาวจากหัวถึงก้นของเพศผู้ 4-5 เซนติเมตร เพศเมีย 5-6 เซนติเมตร ปากยาวแหลม ปลายนิ้วเรียว มือไม่มีพังผืดตีนมีพังผืดประมาณครึ่งหนึ่งของนิ้วที่ยาวที่สุด หลังสีน้ำตาลแดงมีจุดขนาดเล็กกระจายห่าง ๆ ใหลมีขีดสีเข้ม พาด ลำตัวและขาด้านบน มีตุ่มขรุขระมีสันบาง ๆ จากปลาย จมูกผ่านเหนือตาไปถึงเหนือก้นด้านข้าง มีแถบสีดำจากจมูก พาดตาและแผ่นหูไปตามขอบล่างของสัน สีข้างมีต่อมนูน กระจายหยาบ ๆ ขาสีน้ำตาลแดงหรือสีน้ำตาลครีม ขาคู่หลังมี ลายบั้งเล็ก ๆ สีเทาเข้มขาหนีบมีแต้มสีเหลืองจาง ท้องเรียบสี เทาอ่อนหรือสีเทาอมเหลือง (Figure 1) (ปิยวรรณ และคณะ, 2562)

การเก็บตัวอย่างกบอ่องมลายู (*Sylvirana malayana*) ในการศึกษาครั้งนี้ใช้สัตว์ตัวอย่างทั้งหมด 10 ตัว โดยเก็บ ตัวอย่างเพศผู้ 5 ตัว เพศเมีย 5 ตัว โดยเดินสำรวจออกหา ตัวอย่างในตอนกลางคืนด้วยไฟฉายในพื้นที่เกษตรกรรม บริเวณที่มีความชุ่มชื้นสูง เช่น ริมสายน้ำ ลำธาร น้ำตก ธาร น้ำไหล และบริเวณน้ำขัง เป็นต้น

### 3. การเตรียมโครโมโซม

การศึกษาโครโมโซมใช้วิธีการศึกษาทางตรงจาก ไชกระดูก ด้วยการฉีดสารละลายโคลชิซิน 0.05% ในอัตราส่วน ปริมาตร 1 มิลลิลิตรต่อน้ำหนักตัว 100 กรัม เข้าช่องท้องของ สัตว์ตัวอย่างและปล่อยทิ้งไว้ 8 ชั่วโมง หลังจากนั้นทำการ การุณยฆาตตามวิธีของ AVMA, (2020) แล้วทำการผ่าตัดนำ เอาไชกระดูกบริเวณส่วนแขนและขา จากนั้นนำมาแช่และสับ ให้เป็นชิ้นเล็ก ๆ ในสารละลายโพแทสเซียมคลอไรด์ (KCl) 0.075 โมลาร์ แล้วบ่มไว้ในที่อุณหภูมิห้องประมาณ 30 นาที จึง นำตะกอนเซลล์ไปปั่นเหวี่ยงด้วยเครื่องปั่นเหวี่ยงที่ความเร็ว 1,500 รอบต่อนาทีเป็นเวลา 8 นาที เทส่วนใสด้านบนออกแล้ว เติมน้ำยาตรึงเซลล์ (Fixative) ปริมาตร 7 มิลลิลิตร นำไปปั่น เหวี่ยงเพื่อล้างตะกอนเซลล์ให้สะอาด 2-3 ครั้ง แล้วใช้หลอด ดูดสารหยดตะกอนเซลล์นำไปหยดบนสไลด์ที่แห้งสะอาด และ เย็นจัด 1-2 หยด ปล่อยให้สไลด์แห้งที่อุณหภูมิห้อง (Thongnet et al., 2021)

### 4. การย้อมสีโครโมโซมแบบธรรมดา (conventional staining technique)

ทำการย้อมสีโครโมโซมแบบธรรมดา โดยใช้สีย้อม ซ้ำที่ความเข้มข้น 20% โดยนำสไลด์ที่ผ่านขั้นตอนการเตรียม โครโมโซมเรียบร้อยแล้วย้อมในสีย้อมซ้ำเป็นเวลา 30 นาที จากนั้นนำสไลด์ไปล้างผ่านด้วยน้ำประปาให้สะอาด แล้วตั้งทิ้ง ไว้ให้แห้งที่อุณหภูมิห้อง (Phimphan et al., 2021) เมื่อเสร็จ ขั้นตอนจึงนำสไลด์ไปตรวจสอบด้วยกล้องกล้องจุลทรรศน์แบบ ใช้แสงด้วยกำลังขยาย 1000 เท่า เลือกเซลล์ระยะเมทาเฟสที่

โครโมโซมกระจายตัวดี โครโมโซมไม่ทับซ้อนกัน ถ่ายรูปด้วย กล้องถ่ายรูปดิจิทัล เลือกเซลล์ทั้งหมด 20 เซลล์

### 5. การจัดทำแคโรไทป์และไอดีโอแกรม

การจัดทำแคโรไทป์และไอดีโอแกรม เมื่อเลือก ภาพถ่ายเซลล์ระยะเมทาเฟส 20 เซลล์ที่โครโมโซมกระจาย ตัวดี มีจำนวนโครโมโซมครบตามที่ต้องการแล้วจึงจัดทำ แคโรไทป์และไอดีโอแกรม ตามวิธีของ Phimphan et al. (2021)

### ผลการวิจัยและอภิปรายผล

จากการศึกษาพันธุศาสตร์เซลล์ของกบอ่องมลายู (*Sylvirana malayana*) พบว่ากบอ่องมลายูมีจำนวน โครโมโซมดิพลอยด์ ( $2n$ ) เท่ากับ 26 แท่ง มีจำนวนโครโมโซม พื้นฐาน (NF; Fundamental number) เท่ากับ 52 ประกอบด้วยโครโมโซมชนิดเมทาเซนทริกขนาดใหญ่ (Large metacentric) 2 แท่ง ซับเมทาเซนทริกขนาดใหญ่ (Large submetacentric) 6 แท่ง เมทาเซนทริกขนาดกลาง (Medium metacentric) 2 แท่ง เมทาเซนทริกขนาดเล็ก (Small metacentric) 10 แท่ง ซับเมทาเซนทริกขนาดเล็ก (Small submetacentric) 4 แท่ง และอะโครเซนทริกขนาดเล็ก (Small acrocentric) 2 แท่ง (Figure 2)

เมื่อนำผลการศึกษาในครั้งนี้มาเปรียบเทียบกับผล การศึกษาสัตว์สะเทินน้ำสะเทินบกวงศ์รานี้ดัก่อนหน้านี้ จากพื้นที่ต่าง ๆ พบว่าสอดคล้องกับรายงานการศึกษาในกบ ลายหินตะนาวศรี (*Amolops panhai*) (Pradit et al., 2018) กบดอยแอนเดอร์สัน (*Rana andersonii*) และ spotted paa frog (*Rana maculosa*) (Liu et al., 1993) กบบัว (*Rana erythraea*) กบอ่อง (*Rana nigrovittata*) กบหลังไหล (*Rana lateralis*) (ถาวร และ แก้ว, 2548) Sabah splash frog (*Staurois latopalmaris*) (Matsul and Seto, 1985) Marsh frog (*Pelophylax ridibundus*) และ Long-legged wood frog (*Rana macrocnemis*) (Martirosian and Stepanyan, 2009) ในขณะที่ จำนวนโครโมโซมของกบอ่องมลายู (*Sylvirana malayana*) จากการศึกษานี้มีจำนวนโครโมโซมน้อยกว่ารายงานการ ศึกษาใน Yunnan Asian frog (*Rana unculuana*) ซึ่งมีจำนวน โครโมโซมดิพลอยด์ เท่ากับ 40 แท่ง (Liu et al., 1993) แต่ มีโครโมโซมมากกว่ากบอ่องเล็ก (*Sylvirana nigrovittata*) ที่มี จำนวนโครโมโซมดิพลอยด์ เท่ากับ 24 แท่ง (Pradit et al., 2018) (Table 2)

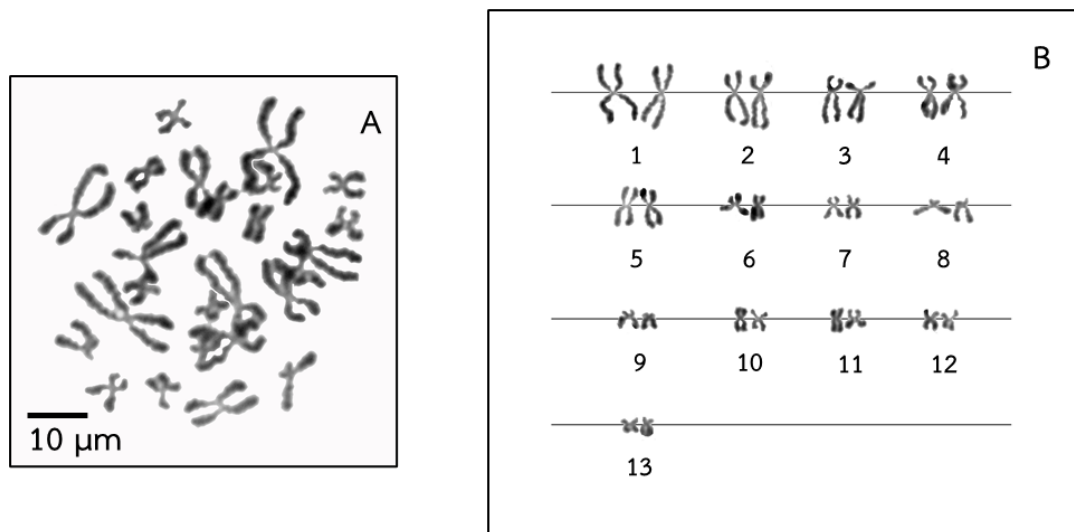
แคโรไทป์ของกบอ่องมลายู (*Sylvirana malayana*) ประกอบด้วยโครโมโซมชนิดเมทาเซนทริก 14 แท่ง ซับเมทา เซนทริก 10 แท่ง และอะโครเซนทริก 2 แท่ง ไม่พบโครโมโซม

ชนิดเทโลเซนทริก (Table 1) เมื่อเปรียบเทียบกับรายงานการศึกษาแคโรไทป์ในสัตว์สะเทินน้ำสะเทินบกในวงศ์รานิดีที่ผ่านมา พบว่ารูปแบบแคโรไทป์ไม่มีความสอดคล้องกับรายงานก่อนหน้า โดยแตกต่างจากการศึกษาของ Pradit *et al.* (2018) ในกบอ่องเล็ก (*Sylvirana nigrovittata*) ซึ่งประกอบด้วยโครโมโซมชนิดเมทาเซนทริก 24 แท่ง ไม่พบโครโมโซมชนิดซับเมทาเซนทริก ชนิดซับเทโลเซนทริก และชนิดเทโลเซนทริก ส่วนในกบลายหินตะนาวศรี (*Amolops panhai*) มีโครโมโซมชนิดเมทาเซนทริก 20 แท่ง ซับเมทาเซนทริก 4 แท่ง และซับเทโลเซนทริก 2 แท่ง ไม่พบโครโมโซมชนิดเทโลเซนทริก ส่วนการศึกษาของ ถาวร และ แก้ว (2548) ในกบบัว (*Rana erythraea*) มีโครโมโซมชนิดเมทาเซนทริก 14 แท่ง และซับเมทาเซนทริก 12 แท่ง ไม่พบโครโมโซมชนิดอะโครเซนทริก และชนิดเทโลเซนทริก ในกบอ่อง (*Rana nigrovittata*) มีโครโมโซมชนิดเมทาเซนทริก 10 แท่ง และซับเมทาเซนทริก 16 แท่ง ไม่พบโครโมโซมชนิดอะโครเซนทริก และชนิดเทโลเซนทริก ในกบหลังไพล (*Rana lateralis*) มีโครโมโซมชนิดเมทาเซนทริก 12 แท่ง และซับเมทาเซนทริก 14 แท่ง ไม่พบโครโมโซมชนิดอะโครเซนทริก และชนิดเทโลเซนทริกใน ส่วนการศึกษาของ Liu *et al.* (1993)

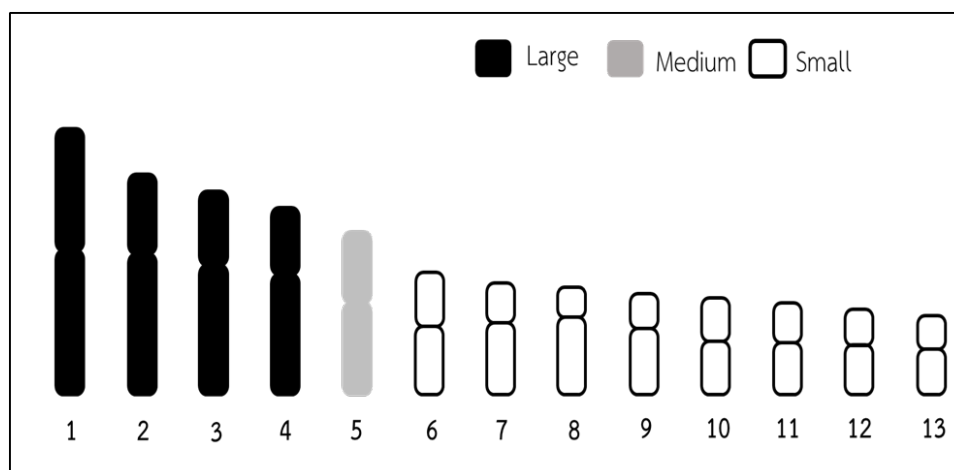
ในกบดอยแอนเดอร์สัน (*Rana andersonii*) มีโครโมโซมชนิดเมทาเซนทริก 16 แท่ง และซับเมทาเซนทริก 10 แท่ง ไม่พบโครโมโซมชนิดซับเทโลเซนทริก และชนิดเทโลเซนทริก ใน spotted paa frog (*Rana maculosa*) มีโครโมโซมชนิดเมทาเซนทริก 12 แท่ง ซับเมทาเซนทริก 12 แท่ง และซับเทโลเซนทริก 2 แท่ง ไม่พบโครโมโซมชนิดเทโลเซนทริก และใน Yunnan Asian frog (*Rana unculuana*) มีโครโมโซมชนิด เมทาเซนทริก 14 แท่ง ซับเมทาเซนทริก 16 แท่ง ซับเทโลเซนทริก 8 แท่ง และเทโลเซนทริก 2 แท่ง การศึกษาของ Matsui and Seto (1985) ใน Sabah splash frog (*Staurois latopalatus*) มีโครโมโซมชนิดเมทาเซนทริก

10 แท่ง ซับเมทาเซนทริก 14 แท่ง และซับเทโลเซนทริก 2 ไม่พบโครโมโซมชนิดเทโลเซนทริก และการศึกษาของ Martirosyan and Stepanyan (2009) ใน Marsh frog (*Pelophylax ridibundus*) มีโครโมโซมชนิดเมทาเซนทริก 12 แท่ง ซับเมทาเซนทริก 10 แท่ง และซับเทโลเซนทริก 4 แท่ง ไม่พบโครโมโซมชนิดเทโลเซนทริก และใน Long-legged wood frog (*Rana macrocnemis*) มีโครโมโซมชนิดเมทาเซนทริก 8 แท่ง ซับเมทาเซนทริก 12 แท่ง และซับเทโลเซนทริก 6 แท่ง ไม่พบโครโมโซมชนิดเทโลเซนทริก (Table 2)

จากข้อมูลการวิเคราะห์ทางด้านวิวัฒนาการโครโมโซมของสัตว์สะเทินน้ำสะเทินบกในวงศ์รานิดีโดย ประวีร์ณ สุพรรณอ่วม. (2561) ทำให้ทราบว่าแคโรไทป์ของโครโมโซมในกบวงศ์นี้ รวมทั้งกบอ่องมลายู (*Sylvirana malayana*) เป็นแคโรไทป์ของสัตว์สะเทินน้ำสะเทินบกที่พัฒนาแล้ว โดยจากการศึกษาแคโรไทป์ กบอ่องเล็ก (*Sylvirana nigrovittata*) เขียดจิกหรือกบบัว (*Hylarana erythraea*) เขียดหลังขีด (*Hylarana macrodactyla*) กบหลังไพล (*Pelophylax lateralis*) กบสังขละ (*Hydrophylax leptoglossa*) กบลายหินตะนาวศรี (*Amolops panhai*) และกบลายหินเหนือ (*Amolops marmotatus*) พบว่า มีจำนวนโครโมโซมดิพลอยด์เท่ากับ 26 แท่ง จำนวนโครโมโซมพื้นฐานเท่ากับ 52 โครโมโซม ประกอบด้วยชนิดเมทาเซนทริก และซับเมทาเซนทริก อาจพบชนิดอะโครเซนทริก แต่จะไม่พบเทโลเซนทริก จัดเป็นกลุ่มที่มีแคโรไทป์แบบสมมาตร และเป็นแบบยูนิโมดัล ซึ่งประกอบด้วยโครโมโซมชุดใหญ่นั้น ทั้งนี้กระบวนการเกิดวิวัฒนาการของกลุ่มโครโมโซมที่มีสองแขนของสัตว์สะเทินน้ำสะเทินบกในวงศ์นี้เกิดจากการเชื่อมกันของโครโมโซมชุดเล็กให้กลายเป็นโครโมโซมที่มีขนาดใหญ่ อาจเกิดจากกระบวนการเชื่อมต่อแบบเซนทริก (centric fusion) หรือเชื่อมต่อแบบแทนเด็ม (tandem fusion) (ประวีร์ณ สุพรรณอ่วม, 2561)



**Figure 2** Metaphase Chromosomes (A) and karyotype of the Malayan dark-side frog (*Sylvirana malayana*) (B) by conventional chromosome staining,  $2n = 26$ .



**Figure 3** The idiogram of the Malayan dark-side frog (*Sylvirana malayana*) by conventional chromosome staining,  $2n = 26$ .

**Table 1** Mean length of the short chromosome arm (Ls), length of the long chromosome arm (LI), total length of each pair of chromosomes (LT), relative length (RL), centromeric index (CI) and standard deviation (SD) of Malayan dark-side frog (*Sylvirana malayana*) from 20 metaphase cells ( $2n=26$ ) were measured using Adobe Photoshop and Microsoft Excel.

| Pair of chromosomes | Ls     | LI     | LT      | CI±SD       | RL±SD       | Chromosome Size | Chromosome Type |
|---------------------|--------|--------|---------|-------------|-------------|-----------------|-----------------|
| 1                   | 495.55 | 577.15 | 1072.70 | 0.538±0.041 | 0.145±0.008 | large           | metacentric     |
| 2                   | 323.16 | 565.85 | 889.01  | 0.636±0.039 | 0.120±0.007 | large           | submetacentric  |
| 3                   | 303.09 | 518.51 | 821.60  | 0.631±0.046 | 0.111±0.004 | large           | submetacentric  |
| 4                   | 274.62 | 480.22 | 754.84  | 0.636±0.043 | 0.102±0.006 | large           | submetacentric  |
| 5                   | 284.86 | 367.75 | 652.62  | 0.564±0.034 | 0.088±0.005 | medium          | metacentric     |
| 6                   | 220.31 | 272.53 | 492.85  | 0.553±0.038 | 0.066±0.003 | small           | metacentric     |
| 7                   | 167.80 | 285.42 | 453.23  | 0.630±0.045 | 0.061±0.002 | small           | submetacentric  |
| 8                   | 118.35 | 314.21 | 432.56  | 0.726±0.043 | 0.058±0.002 | small           | acrocentric     |
| 9                   | 148.00 | 264.16 | 412.17  | 0.641±0.042 | 0.056±0.003 | small           | submetacentric  |
| 10                  | 173.81 | 219.31 | 393.12  | 0.558±0.045 | 0.053±0.003 | small           | metacentric     |
| 11                  | 165.81 | 206.37 | 372.18  | 0.554±0.052 | 0.050±0.002 | small           | metacentric     |
| 12                  | 151.75 | 196.37 | 348.13  | 0.564±0.031 | 0.047±0.003 | small           | metacentric     |
| 13                  | 140.62 | 181.96 | 322.59  | 0.564±0.034 | 0.043±0.003 | small           | metacentric     |

**Table 2** Previous cytogenetic reports of Cytogenetic of amphibians in the family Ranidae.

| Species                       | 2n | NF | Type of chromosome |    |      |     | Study report                     |
|-------------------------------|----|----|--------------------|----|------|-----|----------------------------------|
|                               |    |    | m                  | sm | a/st | t/a |                                  |
| <i>Sylvirana malayana</i>     | 26 | 52 | 14                 | 10 | 2    | -   | This study (2024)                |
| <i>Staurois latopalmaris</i>  | 26 | 52 | 10                 | 14 | 2    | -   | Matsul and Seto (1985)           |
| <i>Rana andersonii</i>        | 26 | 52 | 16                 | 10 | -    | -   | Liu et al. (1993)                |
| <i>Rana maculosa</i>          | 26 | 52 | 12                 | 12 | 2    | -   |                                  |
| <i>Rana unculuana</i>         | 40 | 80 | 14                 | 16 | 8    | 2   |                                  |
| <i>Rana erythraea</i>         | 26 | 52 | 14                 | 12 | -    | -   | ถาวร และ แก้ว (2548)             |
| <i>Rana nigrovittata</i>      | 26 | 52 | 10                 | 16 | -    | -   |                                  |
| <i>Rana lateralis</i>         | 26 | 52 | 12                 | 14 | -    | -   |                                  |
| <i>Pelophylax ridibundus</i>  | 26 | 52 | 12                 | 10 | 4    | -   | Martirosyan and Stepanyan (2009) |
| <i>Rana macrocnemis</i>       | 26 | 52 | 8                  | 12 | 6    | -   |                                  |
| <i>Sylvirana nigrovittata</i> | 24 | 48 | 24                 | -  | -    | -   | Pradit et al. (2018)             |
| <i>Amolops panhai</i>         | 26 | 52 | 20                 | 4  | 4    | -   |                                  |

## สรุป

จากการศึกษาพันธุศาสตร์ระดับเซลล์ของกบอ่องมลายู (*Sylvirana malayana*) โดยเตรียมจากไขกระดูกจากการย้อมแถบสีโครโมโซมแบบธรรมดา พบว่ากบอ่องมลายูมีจำนวนโครโมโซมดิพลอยด์ ( $2n$ ) เท่ากับ 26 แห่ง จำนวนโครโมโซมพื้นฐาน (NF) เท่ากับ 52 ประกอบด้วยโครโมโซมชนิดเมทา

เซนทริกขนาดใหญ่ 2 แห่ง โครโมโซมชนิดซับเมทาเซนทริกขนาดใหญ่ 6 แห่ง โครโมโซมชนิดเมทาเซนทริกขนาดกลาง 2 แห่งโครโมโซมชนิดเมทาเซนทริกขนาดเล็ก 10 แห่ง โครโมโซมชนิดซับเมทาเซนทริกขนาดเล็ก 4 แห่ง และโครโมโซมชนิดอะโครเซนทริกขนาดเล็ก 2 แห่ง ไม่สามารถระบุโครโมโซมเพศได้ สามารถเขียนสูตรแคโรไทป์ของกบ

อ่อนมลายู ดังนี้  $2n(26) = L_2^m + L_6^{sm} + M_2^m + S_{10}^m + S_4^{sm} + S_2^a$  การศึกษาสามารถนำไปใช้ประโยชน์สำหรับการจัดจำแนกทางอนุกรมวิธาน เพื่ออนุรักษ์แหล่งพันธุกรรมสัตว์ สามารถนำความรู้ไปต่อยอดในการปรับปรุงพันธุ์ และการอธิบายในเชิงวิวัฒนาการได้

### ข้อเสนอแนะ

แคโรไทป์และไอดีโอแกรมจากการย้อมสีโครโมโซมแบบธรรมดาเป็นวิธีการศึกษาที่สามารถศึกษาจำนวน ชนิด และขนาดของโครโมโซม ได้อย่างเหมาะสม แต่ถ้าหากต้องการระบุโครโมโซมเพศ หรือระบุโครโมโซมเครื่องหมาย ควรเพิ่มเทคนิคการย้อมสีโครโมโซมด้วยเทคนิคอื่น ๆ เช่น เพิ่มเทคนิคการย้อมแถบสีโครโมโซมแบบเอ็นโออาร์ (NOR-banding) เทคนิคการย้อมแถบสีแบบซี (C-banding) หรือการย้อมแถบสีโครโมโซมด้วยเทคนิค FISH (Fluorescence In Situ Hybridization)

### กิตติกรรมประกาศ

งานวิจัยนี้ได้รับการสนับสนุนทุนวิจัยจากทุนสนับสนุนค่าธรรมเนียมการศึกษาประจำปีการศึกษา 2565 คณะวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยี มหาวิทยาลัยสงขลานครินทร์ วิทยาเขตปัตตานี ทุนอุดหนุนการวิจัยเพื่อวิทยานิพนธ์ บัณฑิตวิทยาลัย มหาวิทยาลัยสงขลานครินทร์ วิทยาเขตปัตตานี

### รายการอ้างอิง

- กรมอุทยานแห่งชาติสัตว์ป่าและพันธุ์พืช. (2553). *สภาพป่าฮาลา-บาลา*. [ออนไลน์]. เข้าถึงได้จาก [http://paro6.dnp.go.th/paro6\\_royal\\_project/Forest/UntitledFrameset-2.html](http://paro6.dnp.go.th/paro6_royal_project/Forest/UntitledFrameset-2.html). สืบค้นวันที่ 25 พฤศจิกายน 2565.
- ถาวร สุภาพรม และ แก้ว อุดมศิริชาคร (2548). การศึกษาเซลล์พันธุศาสตร์และความหลากหลายของสัตว์สะเทินน้ำสะเทินบกในเขตอุทยานแห่งชาติผาแต้ม จังหวัดอุบลราชธานี. *โครงการทำนุบำรุงศิลปวัฒนธรรม. ภาควิชาวิทยาศาสตร์ คณะวิทยาศาสตร์, มหาวิทยาลัยอุบลราชธานี*.
- ปิยวรรณ นิยมวัน, ไพรวลัย ศรีสม และ ปริญญา ภาวักะนันท์. (2562). *Amphibians of Thailand สัตว์สะเทินน้ำสะเทินบกของประเทศไทย*. ฉบับที่ 1, ภาพพิมพ์: กรุงเทพฯ.
- ประวีร์ณ สุพรรณอ่วม. (2561). วิวัฒนาการของโครโมโซมของสัตว์สะเทินน้ำสะเทินบกในประเทศไทย. *วารสารวิทยาศาสตร์ มข.* 46(4), 654-663.
- ระบบคลังข้อมูลความหลากหลายทางชีวภาพของประเทศไทย (TH-BIF). (2564). *Sylvirana malayana* [ออนไลน์]. เข้าถึงได้จาก <https://thbif.onep.go.th/taxons/detail/39239> สืบค้นวันที่ 19 กุมภาพันธ์ 2566.

- สิทธิศักดิ์ จันทรัตน์; อานิช โต๊ะพง; เรสพียา หล้าปุเต๊ะ; สมศักดิ์ บัวทิพย์; พัน ยี่สัน (2567). ความหลากหลายของสัตว์สะเทินน้ำสะเทินบกตามลำธารนอกเขตป่าอนุรักษ์ในอำเภอธารโต และอำเภอเบตง จังหวัดยะลา. *วารสารวิจัยมหาวิทยาลัยเทคโนโลยีราชมงคลศรีวิชัย* 16(3), 826-841.
- American Veterinary Medical Association (AVMA). (2020). *AVMA Guidelines for the Euthanasia of Animals: 2020 Edition*. [Online]. Available from: <https://www.avma.org/sites/default/files/2020-02/Guidelines-on-Euthanasia-2020.pdf> February 25, 2023.
- Liu, W., Yang, D., and Kuramoto, M. (1993). Karyological Studies on Six Anuran Species from Yunnan Province, China. *Japanese Journal of Herpetology*. 15(1), 22-28.
- Martirosyan, A., and Stepanyan, I. (2009). Features of the karyotypes of *Pelophylax ridibundus* Pallas, 1771 and *Rana macrocnemis* Boulenger, 1885 (Amphibia: Ranidae) from Armenia. *Comparative Cytogenetics*. 3(1), 11-24.
- Matsul, M., and Seto, T. (1985). Karyotype of an Asian Ranid Frog, *Staurois latopalmatus*. *Japanese Journal of Herpetology* 11(1), 1-4.
- Phimphan, S., Aiumsumang, S., Tanomtong, A. and Jantararat, S. (2021). Karyomorphological delineation and linear differentiation of microsatellite patterns, and meiosis in giant Asian river frog (*Limnonectes blythii*) from Thailand. *Nucleus*. 64, 249-254.
- Pradit, W., Suwannapoom, C., Bowonchait, K., Buddhachat, K., Tantithakura, O. and Chomdej, S. (2018). Preliminary Karyotype Analysis of *Amolops panhai* and *Sylvirana nigrovittata* (Anura, Ranidae) from Southern Thailand. *The Nucleus*. 61, 69-73.
- Sheridan, J.A. and B.L. Stuart. 2018. Hidden species diversity in *Sylvirana nigrovittata* (Amphibia: Ranidae) highlights the importance of taxonomic revisions in biodiversity
- Thongnetr, W., Aiumsumang, S., Kongkaew, R., Tanomtong, A., Suwannapoom, C. and Phimphan, S. (2021). Cytogenetic Characterisation and Chromosomal Mapping of Microsatellite and Telomeric Repeats in Two Gecko Species (Reptilia, Gekkonidae) from Thailand. *Comparative Cytogenetics*. 15 (1), 41-52.

# การวิเคราะห์เชิงสีเพื่อหาร้อยละโดยปริมาตรของเอทานอลในสเปรย์แอลกอฮอล์ด้วยการเปรียบเทียบแถบสี

## Colorimetric determination of ethanol percentage by volume in alcohol spray using the color comparison test

ศักดิ์ชัยบดี ปิ่นศรีทอง<sup>1</sup> บุญยรัตน์ บุญวรรณโณ<sup>1</sup> รุสนี กุลวิจิตร<sup>1</sup> และ สุภาพร ชินผา<sup>1\*</sup>

Sakchaibordee Pinsrithong<sup>1</sup> Boonyarat Boonwanno<sup>1</sup> Roosanee Kulvijitra<sup>1</sup> and Supaporn Chinpha<sup>1\*</sup>

Received: 26 September 2024 ; Revised 9 January 2025 ; Accepted: 14 March 2025

### บทคัดย่อ

การหาปริมาณเอทานอลในสเปรย์แอลกอฮอล์จำเป็นต่อการประเมินคุณภาพของผลิตภัณฑ์ฆ่าเชื้อโรค แต่วิธีการที่ใช้ต้องใช้เครื่องมือวิทยาศาสตร์ที่มีราคาแพงและต้องทดสอบในห้องปฏิบัติการ งานวิจัยนี้มีวัตถุประสงค์เพื่อพัฒนาวิธีวัดชนิดและปริมาณร้อยละโดยปริมาตรของเอทานอลในสเปรย์แอลกอฮอล์ที่ง่าย ใช้ได้ในภาคสนาม โดยเทียบกับแถบสีมาตรฐานโดยไม่ต้องใช้เครื่องมือทางวิทยาศาสตร์ วิธีการศึกษานี้อาศัยปฏิกิริยาออกซิเดชันของเอทานอลกับโพแทสเซียมไดโครเมตในกรดซัลฟิวริก โดยศึกษาอุณหภูมิและเวลาที่เหมาะสมในการเกิดปฏิกิริยา รวมถึงผลรบกวนจากเมทานอลและไอโซโพรพานอล และสร้างแถบสีมาตรฐานจากค่าสี  $L^*$ ,  $a^*$ ,  $b^*$  ของสารละลายเอทานอล และเปรียบเทียบผลการศึกษากับเทคนิคแก๊สโครมาโตกราฟีและวัดค่าสีแบบสเปกโตรโฟโตเมตรี ผลการทดลองพบว่าปฏิกิริยา ณ อุณหภูมิห้องและเวลา 20 นาที แอลกอฮอล์ตามเกณฑ์คุณภาพเอทานอลเกินร้อยละ 70 โดยปริมาตร จะเกิดสารละลายสีเหลือง-เขียวหรือเขียว แต่แอลกอฮอล์ด้อยคุณภาพเกิดสีส้มหรือสีส้ม-เหลือง วิธีการไม่มีผลรบกวนจากเมทานอลแต่มีผลรบกวนจากไอโซโพรพานอล สามารถแยกความเข้มข้นของเอทานอลด้วยตาเปล่าได้ 6 ระดับได้แก่ร้อยละ 50, 60, 70, 80, 90 และ 99.7 โดยปริมาตร ผลค่า  $b^*$  แตกต่างกันเกือบทุกความเข้มข้น ( $p < 0.05$ ) และผลการศึกษาที่ได้ให้ผลสอดคล้องกับวิธีมาตรฐาน สรุปผลการศึกษาแสดงวิธีการที่มีต้นทุนต่ำเพียง 3 บาทต่อตัวอย่าง สะดวก รวดเร็ว และเหมาะสำหรับการใช้งานภาคสนาม ทำให้เป็นทางเลือกในการประเมินคุณภาพของผลิตภัณฑ์ฆ่าเชื้อโรคได้ด้วยตนเอง

**คำสำคัญ:** เอทานอล, ปฏิกิริยาออกซิเดชัน, สเปรย์แอลกอฮอล์, แถบสีมาตรฐาน

### Abstract

Determining the ethanol content in alcohol sprays was essential for evaluating the quality of disinfectant products. However, current methods require expensive scientific instruments and must be conducted in a laboratory. The objective of this research was to develop a simple method for determining the type and percentage by volume of ethanol in alcohol sprays that can be used in the field. The method relies on comparing with a standard color strip without the need for scientific instruments. The study method has utilized the oxidation reaction of ethanol with potassium dichromate in sulfuric acid, examining the optimal temperature and reaction time. Interferences from methanol and isopropanol were also investigated. A standard color strip was created based on the  $L^*$ ,  $a^*$ , and  $b^*$  color values of ethanol solutions. The results were compared with gas chromatography and color spectrophotometry. The experimental results revealed that the reaction at room temperature and 20 minutes resulted in a yellow-green or green solution in alcohol that met the quality standards with ethanol concentrations exceeding 70% by volume. In contrast, low-quality alcohol produced an orange or orange-yellow solution. There was no interference from methanol,

<sup>1</sup> สำนักเครื่องมือวิทยาศาสตร์และการทดสอบ มหาวิทยาลัยสงขลานครินทร์ วิทยาเขตหาดใหญ่ จังหวัดสงขลา

<sup>1</sup> Office of Scientific Instrument and Testing, Prince of Songkla University, Hat Yai Campus, Songkhla Province

\* Corresponding author, e-mail: supaporn.chi@psu.ac.th

but interference occurred from isopropanol. Ethanol concentrations could be visually distinguished at six levels 50%, 60%, 70%, 80%, 90%, and 99.7% by volume.  $B^*$  values differed significantly at almost all concentrations ( $p < 0.05$ ). The findings were consistent with standard methods. The study results present a low-cost method, costing only 3 baht per sample. This approach is convenient, fast, and suitable for field applications, making it a viable alternative for self-assessment of disinfectant product quality.

**Keywords:** Ethanol, oxidation reaction, alcohol spray, color strip

## บทนำ

จากบทเรียนการสูญเสียชีวิตจากสถานการณ์การแพร่ระบาดของโรคติดเชื้อ เช่น โควิด-19 ในปี 2563 ทำให้ประชาชนมีความรู้เกี่ยวกับการดูแลสุขภาพอนามัยของตนเอง เพื่อหลีกเลี่ยงการติดเชื้อไวรัสมากขึ้น หนึ่งในนั้นคือการทำความสะอาดมือและสิ่งของสัมผัสในชีวิตประจำวันด้วยผลิตภัณฑ์ทำความสะอาดโดยไม่ใช้น้ำ ทำให้มีการผลิตผลิตภัณฑ์จำพวกสเปรย์แอลกอฮอล์สำหรับฉีดพ่นมือหรือพื้นผิววัสดุสัมผัสออกมาสู่ท้องตลาดเป็นจำนวนมาก ทั้งนี้สเปรย์แอลกอฮอล์ที่ดีมีประสิทธิภาพจะต้องมีปริมาณแอลกอฮอล์ที่เพียงพอต่อการฆ่าเชื้อโรค ต้องมีส่วนผสมของแอลกอฮอล์เพื่อสุขอนามัย โดยต้องมีเอทานอล ไอโซโพรพานอล เพียงสารเดียวหรือผสมรวมกันอยู่มากกว่าร้อยละ 70 โดยปริมาตร (%v/v) (Ministry of Public Health, 2020) แต่ในขณะที่ ณ ปัจจุบัน ปี 2567 ความสนใจในการทดสอบประสิทธิภาพที่ดีทั้งชนิดและปริมาณแอลกอฮอล์ลดลง อาจเนื่องมาจากค่าใช้จ่ายในการตรวจชนิดและปริมาณแอลกอฮอล์ในสเปรย์แอลกอฮอล์มีค่าใช้จ่ายสูง และการเสียชีวิตของผู้ป่วยจากโรคโควิดลดลง แต่อย่างไรก็ตาม ณ ปัจจุบัน ตามรายงานขององค์การอนามัยโลก จำนวนผู้ป่วยในประเทศไทยยังคงสูงขึ้น ซึ่งน่าจะเป็นผลมาจากการแพร่กระจายของเชื้อไวรัสและการปฏิบัติตามมาตรการป้องกันส่วนบุคคลลดลง (World Health Organization, 2024) และยังมีรายงานโรคติดเชื้ออื่น ๆ ที่ระบาดในเมืองไทย เช่น โรคติดเชื้อฝีดาษวานร (Department of Disease Control, Ministry of Public Health, 2024) ซึ่งหากมีการตรวจสอบอย่างง่ายเพื่อสร้างความมั่นใจของการใช้สเปรย์แอลกอฮอล์เพื่อให้ผู้สนใจสามารถทดสอบคุณภาพผลิตภัณฑ์อย่างง่ายได้ด้วยตนเอง จึงเป็นทางเลือกที่ดีในการกระตุ้นการกลับมาใช้ผลิตภัณฑ์แอลกอฮอล์ฆ่าเชื้อโรคต่าง ๆ เพื่อการป้องกันส่วนบุคคลและส่วนรวมที่ดีขึ้น

โดยผลิตภัณฑ์แอลกอฮอล์ฆ่าเชื้อชนิดฉีดพ่นหรือสเปรย์แอลกอฮอล์ เอทานอลเป็นแอลกอฮอล์ที่ได้รับความนิยมมากสุดในการนำมาใช้ฆ่าเชื้อโรค (Thongpakaisang et al., 2023) การทดสอบปริมาณเอทานอลในสเปรย์แอลกอฮอล์จึงมีความสำคัญในการยืนยันว่าผลิตภัณฑ์มีความเข้มข้นเพียงพอ

ที่จะทำให้เชื้อโรคถูกฆ่าทำลายอย่างมีประสิทธิภาพ โดยเอทานอลเป็นสารที่มีประสิทธิภาพในการฆ่าเชื้อโรคเมื่อมีความเข้มข้นที่เหมาะสม ดังนั้นการทราบปริมาณเอทานอลว่าอยู่ในเกณฑ์หรือไม่จึงเป็นเรื่องจำเป็น ซึ่งการตรวจสอบหาปริมาณเอทานอลในสเปรย์แอลกอฮอล์สามารถทดสอบได้ด้วยเครื่องแก๊สโครมาโตกราฟี ร่วมกับตัวตรวจวัดชนิดเฟลมไอออไนเซชัน, GC/FID (Vivon & Nakniyom, 2020) หรือเครื่องแก๊สโครมาโตกราฟี ร่วมกับตัวตรวจวัดชนิดแมสสเปกโตรมิเตอร์ GC/MS (Nisbar et al., 2023) ซึ่งเป็นวิธีการที่ใช้หาค่าได้อย่างแม่นยำ แต่มีต้นทุนค่าใช้จ่ายในการทดสอบที่ค่อนข้างสูง ใช้เวลาค่อนข้างนานและต้องใช้ผู้มีประสบการณ์ในการทดสอบจึงมีความสนใจศึกษาการวิเคราะห์หาปริมาณเอทานอลด้วยวิธีวัดสี (Colorimetric method) โดยอาศัยปฏิกิริยาออกซิเดชันของแอลกอฮอล์ ที่มีค่าใช้จ่ายน้อยและทดสอบได้รวดเร็ว (Caputi & Wright, 2020) เพื่อนำมาประยุกต์ใช้ในการทดสอบหาปริมาณเอทานอลในตัวอย่างผลิตภัณฑ์ที่มีส่วนประกอบของแอลกอฮอล์โดยรีเอเจนต์ที่ใช้คือโพแทสเซียมไดโครเมตในกรดซัลฟิวริก (Pilone, 2020) ซึ่งเป็นวิธีการที่รวดเร็ว และค่าใช้จ่ายต่ำ

โดยขอบเขตงานวิจัยนี้สนใจศึกษาวิธีการทดสอบปริมาณเอทานอลในสเปรย์แอลกอฮอล์ชนิดใส จากปฏิกิริยาออกซิเดชันของแอลกอฮอล์กับโพแทสเซียมไดโครเมตในกรดซัลฟิวริก โดยอาศัยการเกิดสีของปฏิกิริยา และอ่านค่าช่วงปริมาณเอทานอลด้วยตาเปล่า จากการเปรียบเทียบสีที่ปรากฏกับแถบสีมาตรฐานที่ได้จากผลของปฏิกิริยาออกซิเดชันเอทานอลที่ความเข้มข้นต่าง ๆ แล้วสร้างแถบสีด้วยเครื่องวัดสีแบบสเปกโตรโฟโตมิเตอร์ทำให้สามารถระบุปริมาณเอทานอลในผลิตภัณฑ์ได้อย่างง่าย ซึ่งเป็นวิธีที่ไม่ซับซ้อน และสามารถจำแนกช่วงปริมาณเอทานอล ทำให้สะดวก รวดเร็ว ลดต้นทุนและนำไปทดสอบในภาคสนามได้ ซึ่งผลที่ได้จากการทดสอบนี้เป็นส่วนสำคัญของการคุ้มครองสุขภาพของผู้บริโภค และกระตุ้นการใช้ผลิตภัณฑ์แอลกอฮอล์ฆ่าเชื้อโรคในการควบคุมการระบาดของโรคต่าง ๆ อย่างมีประสิทธิภาพในสังคม

## วัสดุ อุปกรณ์ และวิธีการศึกษา

### 1. สารมาตรฐาน สารเคมี

เอทานอล ( $C_2H_5OH$ , 99.7% v/v, AR Grade) เมทานอล ( $CH_3OH$ , 99.9% v/v, AR Grade) และไอโซโพรพานอล ( $C_3H_8O$ , 99.8% v/v, AR Grade) ซื้อจาก Lab-Scan, Thailand โพแทสเซียมไดโครเมต ( $K_2Cr_2O_7$ , AR Grade) และกรดซัลฟิวริก ( $H_2SO_4$ , AR Grade) ซื้อจาก Merck, Germany น้ำปราศจากไอออน (18.2 MΩ) ผลิตจากเครื่อง ZENEER รุ่น NAVI UP 900 (Human Corporation, South Korea) ใช้สำหรับการเตรียมสารละลายทุกชนิด การเตรียมสารละลายรีเอเจนต์ (R1) ทำได้โดยการโดยการชั่ง  $K_2Cr_2O_7$  ปริมาณ 2 g ละลายในสารละลายเจือจางกรดซัลฟิวริก 5 mol/L ปริมาตร 10 mL (Seo *et al.*, 2009) โดยสารละลายรีเอเจนต์ R1 จัดเก็บในขวดแก้วสีชาปิดสนิทที่อุณหภูมิห้องและมีอายุการจัดเก็บ 2 เดือน

### 2. เครื่องมือที่ใช้ในการศึกษา

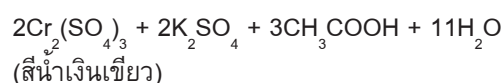
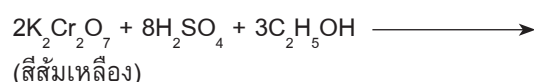
ศึกษาค่าสีเพื่อวัดค่าสีและสร้างแถบสีมาตรฐานด้วยเครื่องวัดสีแบบสเปกโตรโฟโตมิเตอร์ (Color Spectrophotometer) รุ่น UltraScan pro (HunterLab, USA) วัดค่าสีระบบสีแบบ International Commission on Illumination (CIE) เลือกใช้การวัดในโหมด TTRAN (Total transmission) โดย  $L^*$  คือค่าความสว่าง (Lightness) มีค่า 0-100  $L^* = 0$  สีที่ได้จะมืดเป็นสีดำ และ  $L = 100$  สีที่ได้จะสว่างเป็นสีขาว  $a^*$  ใช้กำหนดสีแดงหรือสีเขียว  $a^*$  บวก (+) วัดที่มีสีแดง และ  $a^*$  ลบ (-) วัดที่มีสีเขียว และ  $b^*$  ใช้กำหนดสีเหลืองหรือสีน้ำเงิน  $b^*$  บวก (+) วัดที่มีสีเหลือง และ  $b^*$  ลบ (-) วัดที่มีสีน้ำเงิน โดยข้อมูลค่าสีที่ได้นำไปวิเคราะห์ทางสถิติ โดยวิเคราะห์ความแปรปรวน และเปรียบเทียบความแตกต่างของค่าเฉลี่ยแต่ละตัวอย่างด้วยวิธี Duncan's Multiple Range Test (DMRT) โดยใช้โปรแกรม R เวอร์ชัน 4.3.1 (R Core Team, 2023) กำหนดระดับนัยสำคัญที่ 0.05

การทดสอบหาปริมาณเอทานอลเพื่อเปรียบเทียบวิธีการเทียบแถบสี ด้วยเทคนิคเฮดสเปซร่วมกับเครื่องแก๊สโครมาโตกราฟ ตัวตรวจวัดชนิดเฟลมไอออนเซชัน (HS-GC/FID) รุ่น 6850 (Hewlett Packard, USA) ซึ่งเป็นวิธีมาตรฐานที่ได้รับความนิยมในการหาปริมาณเอทานอลในผลิตภัณฑ์แอลกอฮอล์ฆ่าเชื้อโรค (Thongpakaisang *et al.*, 2023; Tiscione *et al.*, 2011) โดยสภาวะการทดสอบอ้างอิงตามงานวิจัยของ Kaewsuan *et al.* (2023) โดยสภาวะของ HS อุณหภูมิและเวลาสมดุลเท่ากับ 80 °C และ 15 นาที ตามลำดับ สภาวะของ GC/FID ใช้คอลัมน์ HP-Innowax (30 m., เส้นผ่านศูนย์กลาง 0.32 mm., ฟิล์มหนา 0.25 μm) อัตราไหล

แก๊สพาหีเลียม 1 mL/min. อุณหภูมิที่ 50 °C นาน 9 min. หัวฉีดและตัวตรวจวัดอุณหภูมิ 150 °C และ 160 °C ตามลำดับ

### 3. การศึกษาสภาวะที่เหมาะสมของปฏิกิริยาออกซิเดชัน

ปฏิกิริยาออกซิเดชันของเอทานอลกับสารละลายรีเอเจนต์แสดงการเกิดปฏิกิริยาดังสมการ



สารละลายรีเอเจนต์จะเปลี่ยนจากสีส้มเหลืองเป็นสีน้ำเงินเขียว เมื่อทำปฏิกิริยาออกซิเดชันกับเอทานอล โดยการศึกษาจะหาสภาวะที่เหมาะสมของ อุณหภูมิ เวลา และ สารรบกวน ของการเกิดปฏิกิริยาออกซิเดชัน โดยทุกการศึกษาจะคงที่ค่าปัจจัยที่ไม่ได้ศึกษาและเปลี่ยนแปลงปัจจัยที่ศึกษา เมื่อได้ปัจจัยที่ดีที่สุด จะคงที่ปัจจัยนั้นไว้และเปลี่ยนแปลงปัจจัยที่ศึกษาถัดไป

#### 3.1 ศึกษาผลของอุณหภูมิ

เตรียมสารละลายเอทานอล 2 ความเข้มข้นร้อยละ 70 และ 99.7 โดยปริมาตร ปริมาตร 20 mL เป็นตัวแทนศึกษา เนื่องจากเป็นช่วงความเข้มข้นของการใช้งานจริง ทำปฏิกิริยากับรีเอเจนต์ โดยเติม R1 ปริมาตร 0.4 mL ลงในสารละลายเอทานอลแล้วสังเกตการเปลี่ยนแปลงสี ทำการศึกษาที่อุณหภูมิห้อง (ไม่มีการให้ความร้อน) และ ให้ความร้อนที่อุณหภูมิ 50 °C ด้วยเทอร์โมรีแอคเตอร์เป็นเวลา 1 นาทีหลังเติมรีเอเจนต์ R1

#### 3.2 ศึกษาเวลาที่เหมาะสม

เตรียมสารละลายเอทานอลที่ความเข้มข้นร้อยละ 0, 20, 50, 70, 80 และ 99.7 โดยปริมาตร เป็นตัวแทนศึกษา ทำปฏิกิริยากับรีเอเจนต์ R1 ปริมาตร 0.4 mL อุณหภูมิห้อง แล้วสังเกตการเปลี่ยนแปลงสีหลังเกิดปฏิกิริยาที่เวลา 1, 5, 10, 15, 20 และ 30 นาที

#### 3.3 การศึกษาผลการรบกวนของเมทานอลและไอโซโพรพานอล

เตรียมสารละลายเมทานอลและไอโซโพรพานอล ที่ความเข้มข้นร้อยละ 0, 20, 50, 70, 80 และ 99.7 โดยปริมาตร ทำปฏิกิริยากับรีเอเจนต์ R1 จากนั้นสังเกตการณ์เปลี่ยนแปลงสีหลังเกิดปฏิกิริยาที่เวลา 1, 5, 10, 15, 20 และ 30 นาที เหมือนกับสารละลายเอทานอล

#### 4. การกำหนดแถบสีทดสอบ

เตรียมสารละลายเอทานอล 11 ความเข้มข้น ได้แก่ ความเข้มข้นร้อยละ 0, 10, 20, 30, 40, 50, 60, 70, 80, 90 และ 99.7 โดยปริมาตร ปริมาณ 20 mL เติมน้ำเจนนี R1 ปริมาตร 0.4 mL โดยสัดส่วนตัวอย่างต่อ R1 เท่ากับ 50 ต่อ 1 (Science Photo Library, 2024) ซึ่งเป็นสัดส่วนความเข้มข้นที่เพียงพอสำหรับการเกิดปฏิกิริยาเมื่อพิจารณาสมการสมดุล และปริมาตรรวมหลังเกิดปฏิกิริยาก็เพียงพอต่อการวัดค่าสีด้วยเครื่องวัดสี โดยศึกษาที่อุณหภูมิห้อง และรอเวลาเกิดปฏิกิริยาที่ 20 นาที จากนั้นนำมาวัดค่าสีทันทีด้วยเครื่องวัดสี จำนวน 3 ซ้ำต่อ 1 การทดลอง โดยจะทำการทดลองซ้ำด้วยกระบวนการเดียวกันทั้งหมด 10 การทดลอง เพื่อหาค่าเฉลี่ยของค่าสีแบบ  $L^*$ ,  $a^*$ ,  $b^*$  ที่ความเข้มข้นต่าง ๆ ไปวิเคราะห์หาความสัมพันธ์ทางสถิติ พร้อมกับนำค่าสีที่ได้จากการทดลองไปกำหนดเป็นแถบสีทดสอบด้วยวิธี Color Render บนโปรแกรม EasyMatchQC ver. 4.86 ของเครื่องวัดสี เพื่อใช้เทียบค่าปริมาณเอทานอลในตัวอย่างด้วยตาเปล่า

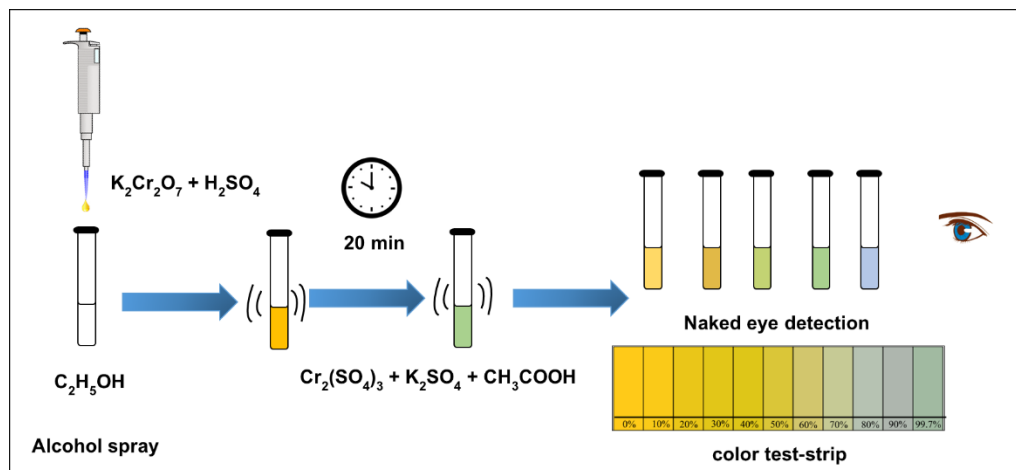
#### 5. การศึกษาเปรียบเทียบกับเทคนิคอื่น ๆ

ตัวอย่างที่ใช้เป็นตัวอย่างสเปรย์แอลกอฮอล์ที่มีการทดสอบ ณ สำนักเครื่องมือวิทยาศาสตร์และการทดสอบมหาวิทยาลัยสงขลานครินทร์ ที่ทดสอบหาปริมาณเอทานอลในตัวอย่างสเปรย์แอลกอฮอล์ด้วยเทคนิค HS-GC/FID นำมา

ศึกษาทดสอบควบคู่กับวิธีที่ศึกษา และเลือกตัวแทนตัวอย่างสเปรย์แอลกอฮอล์ จำนวน 3 ระดับความเข้มข้น (S1-S3) ได้แก่ ความเข้มข้นเอทานอล น้อยกว่าร้อยละ 70 มากกว่า 70 และ มากกว่า 80 โดยปริมาตร เป็นตัวแทนศึกษา โดยทดสอบเปรียบเทียบกับวิธีที่ศึกษา ความเข้มข้นละ 2 ซ้ำ จำนวนการทำซ้ำเท่ากับ 3 ครั้ง โดยแสดงขั้นตอนการใช้งานของวิธีที่ศึกษาดัง Figure 1 โดยนำตัวอย่างสเปรย์แอลกอฮอล์ 20 mL เติมน้ำเจนนี R1 ปริมาตร 0.4 mL ที่อุณหภูมิห้อง เขย่าด้วยมือ รอเวลาเกิดปฏิกิริยาที่ 20 นาที เขย่าด้วยมืออีกครั้งก่อนเทียบสีที่เกิดจากปฏิกิริยากับแถบสีมาตรฐาน ด้วยตาเปล่าโดยนักวิทยาศาสตร์จำนวน 2 คน พร้อมกับการวัดค่าสีด้วยเครื่องวัดสีโดยการเทตัวอย่างที่ผ่านการเทียบสีด้วยตาเปล่าลงในคิวเวทท์ทันที เพื่อเก็บข้อมูลค่าสี  $L^*$ ,  $a^*$ ,  $b^*$  เพื่อการเปรียบเทียบผลจากค่าสีจากเครื่องวัดสีร่วมด้วย

#### 6. การหาร้อยละโดยปริมาตรเอทานอลในตัวอย่าง

สำหรับการศึกษาหาร้อยละโดยปริมาตรเอทานอลในตัวอย่างได้สุ่มเลือกตัวอย่างสเปรย์แอลกอฮอล์มาเชื้อชนิดใส่ที่จำหน่ายในประเทศไทยผ่านช่องทางออนไลน์จำนวน 5 ตัวอย่าง (S4 – S8) ศึกษาหาร้อยละโดยปริมาตรเอทานอลด้วยวิธีที่ศึกษาควบคู่กับการวิเคราะห์ผลด้วยเทคนิค HS-GC/FID



**Figure 1** Proposed method for the oxidation reaction of potassium dichromate for the detection of ethanol in alcohol spray

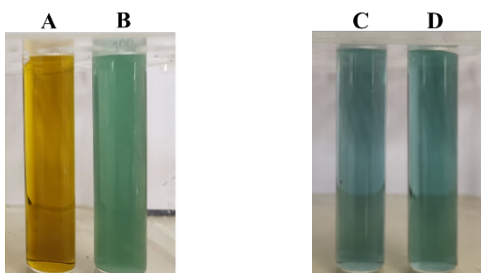
## ผลการทดลองและอภิปรายผล

### 1. ผลการศึกษาสภาวะที่เหมาะสมของปฏิกิริยาออกซิเดชัน

จากการศึกษาหาสภาวะที่เหมาะสมของอุณหภูมิ เวลา และสารรบกวน ของการเกิดปฏิกิริยาออกซิเดชัน แสดงผลที่ได้ดังต่อไปนี้

#### 1.1 ผลของอุณหภูมิ

จากการศึกษา ณ เวลาสังเกตเดียวกัน พบว่า การทำปฏิกิริยาออกซิเดชันโดยไม่ให้ความร้อน สีของเอทานอลที่ความเข้มข้นร้อยละ 70 โดยปริมาตร จะปรากฏเป็นสีส้มเหลือง และสีของเอทานอลความเข้มข้นร้อยละ 99.7 โดยปริมาตร จะปรากฏเป็นสีน้ำเงินเขียว ในขณะที่หลอดที่ให้ความร้อน พบว่าเอทานอลที่เตรียมทั้ง 2 ความเข้มข้น จะปรากฏสีเป็นสีน้ำเงินเหมือนกัน ดัง Figure 2



**Figure 2** Comparing the effect of temperature on ethanol oxidation reaction through color change (A) 70 %v/v (B) 99.7 %v/v @ room temperature and (C) 70 %v/v (D) 99.7 %v/v @ 50 °C

ผลจากการศึกษาที่ได้แสดงให้เห็นว่า การใช้อุณหภูมิร่วมในการเกิดปฏิกิริยา ทำให้การเปลี่ยนสีของโครเมต (VI) สีส้มเหลือง เป็นโครเมต (III) สีน้ำเงินเขียว กับเอทานอลที่ความเข้มข้นแตกต่างกัน เกิดปฏิกิริยาเร็วเกินไป ทำให้ไม่เห็นความแตกต่างของสีของเอทานอลร้อยละ 70 กับ 99.7 โดยปริมาตร ในขณะที่การไม่ให้ความร้อนแสดงสีที่แตกต่างกัน ชัดเจนสำหรับเอทานอลที่มีความเข้มข้นต่างกัน ดังนั้นการไม่ให้ความร้อนกับหลอดทดลองจึงถูกเลือก ในการศึกษาลำดับถัดไป และสอดคล้องกับการจะนำไปใช้งานจริงในภาคสนามที่สามารถวัดปริมาณเอทานอลได้ง่าย ไม่ต้องพึ่งพาอุปกรณ์ให้ความร้อนที่ต้องใช้กระแสไฟฟ้า เช่น เทอร์โมรีแอคเตอร์ เป็นต้น

#### 1.2 ผลของเวลาที่เหมาะสม

ผลการศึกษาเวลาที่เหมาะสมของการเกิดสีจากปฏิกิริยาออกซิเดชันของเอทานอลที่ความเข้มข้นต่าง ๆ จำแนกได้ดัง Table 1 ซึ่งจากข้อมูลที่แสดง กรณีไม่มี

เอทานอลหรือความเข้มข้นเท่ากับ 0 โดยปริมาตร (E1) และเอทานอลร้อยละ 99.7 โดยปริมาตร (E6) จะไม่มีการเปลี่ยนแปลงสีสารละลายตลอดระยะเวลาการศึกษา แต่เมื่อพิจารณาเอทานอลช่วงการสังเกตสีที่ความเข้มข้นร้อยละ 20, 50, 70 และ 80 โดยปริมาตร (E2-E5) จะมีการเปลี่ยนแปลงสีตามระยะเวลาที่เพิ่มขึ้น และเนื่องจากตามประกาศจากกระทรวงสาธารณสุขของประเทศไทย ปริมาณของแอลกอฮอล์มีผลต่อการยับยั้งเชื้อโรคได้ต้องมีเอทานอลมากกว่าร้อยละ 70 โดยปริมาตร (Ministry of Public Health, 2020) พบว่า การเกิดปฏิกิริยาออกซิเดชันของสารละลายเอทานอล ที่เวลา 20 นาที สามารถสังเกตความแตกต่างของสีจากการเกิดปฏิกิริยาที่ความเข้มข้นดังกล่าวด้วยตาเปล่าได้ชัดเจนที่สุด

### 1.3 ผลการศึกษารอบการรบกวนของเมทานอลและไอโซโพรพานอล

จากการศึกษาผลของการรบกวนจากเมทานอล เนื่องจากมีรายงานการพบเมทานอลปนเปื้อนปริมาณร้อยละ 1.2-4.5 โดยปริมาตร ในผลิตภัณฑ์แอลกอฮอล์ฆ่าเชื้อ (Chan & Chan, 2018; Nisbar *et al.*, 2023) และยังมีบางรายงานผลิตภัณฑ์แอลกอฮอล์ฆ่าเชื้อที่ไม่ได้มาตรฐานโดยการใช้เมทานอลเป็นสารเคมีหลักปริมาณมากถึงร้อยละ 58-71 โดยปริมาตร ในผลิตภัณฑ์แอลกอฮอล์ฆ่าเชื้อ (Thongpakaisang *et al.*, 2023) ซึ่งเมทานอลเป็นสารเคมีอันตรายไม่เหมาะกับการใช้กับร่างกาย (Guntner *et al.*, 2021) โดยผลการศึกษาการรบกวนแสดงผลดัง Table 1 เช่นกัน พบว่าปฏิกิริยาออกซิเดชันของสารละลายเมทานอล ไม่มีการเปลี่ยนสีเกือบทุกความเข้มข้น ยกเว้นเมทานอลบริสุทธิ์ร้อยละ 99.9 โดยปริมาตร ซึ่งจะเริ่มเปลี่ยนสีตั้งแต่ นาทีที่ 1 - 5 จากนั้นจะคงสีเดิมจนถึง 30 นาทีของระยะเวลาที่ศึกษา ทำให้สามารถตรวจสอบผลิตภัณฑ์ไม่ได้มาตรฐานที่ใช้เมทานอล เช่น กรณีใช้เมทานอลเจือจาง (M2-M5) จะไม่มีการเปลี่ยนสีหลังทำปฏิกิริยาหรือกรณีการใช้เมทานอล บริสุทธิ์ (M6) การเปลี่ยนสีจะเกิดที่เวลา 1 - 5 นาที หลังจากนั้นจะไม่มีการเปลี่ยนแปลงสี ซึ่งจะแตกต่างจากเอทานอลที่มีการเปลี่ยนแปลงสีอย่างชัดเจนในหลายความเข้มข้น (E2-E5) ตามช่วงเวลาที่ศึกษา (1 - 30 นาที) ทำให้วิธีการที่ศึกษานอกจากไม่มีผลรบกวนของเมทานอลแล้วยังสามารถใช้ในการตรวจสอบผลิตภัณฑ์ไม่ได้มาตรฐานที่ใช้เมทานอลแทนเอทานอลได้ด้วย

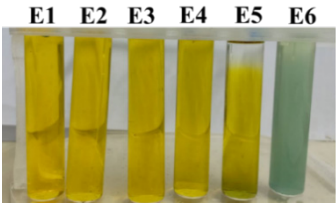
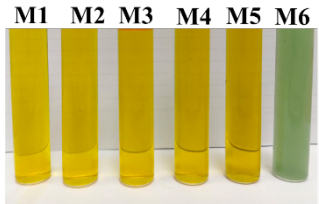
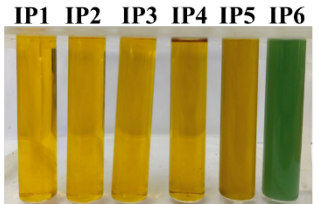
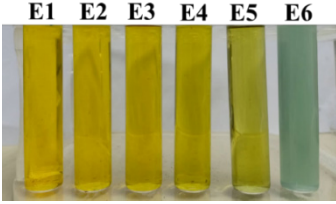
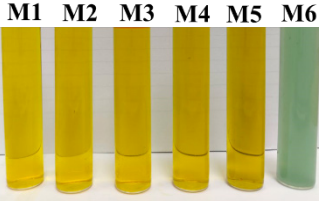
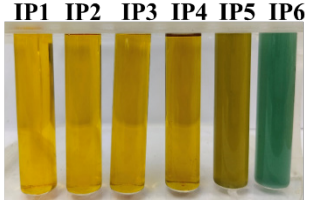
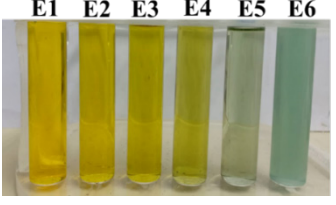
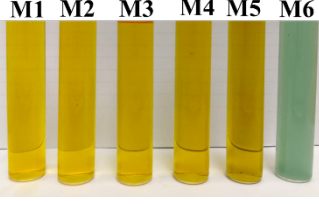
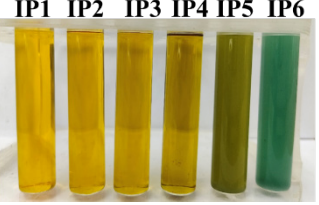
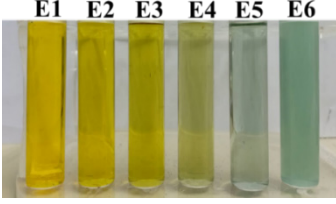
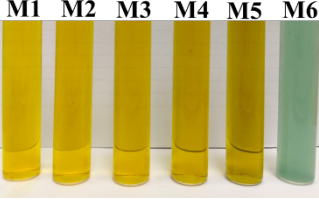
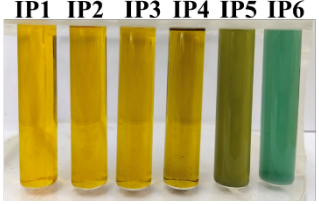
สำหรับไอโซโพรพานอลเป็นแอลกอฮอล์อีกชนิดที่อนุญาตให้มีในผลิตภัณฑ์ฆ่าเชื้อได้ ซึ่งจากการศึกษาพบว่าที่เวลาเดียวกันสีของการเกิดปฏิกิริยาจะให้เฉดสีที่ต่างกับสีของเอทานอลที่แสดงใน Table 1 (IP2-IP6) คือจะเป็นเฉดโทนสีน้ำตาลที่ความเข้มข้นมากกว่าร้อยละ 70 โดย

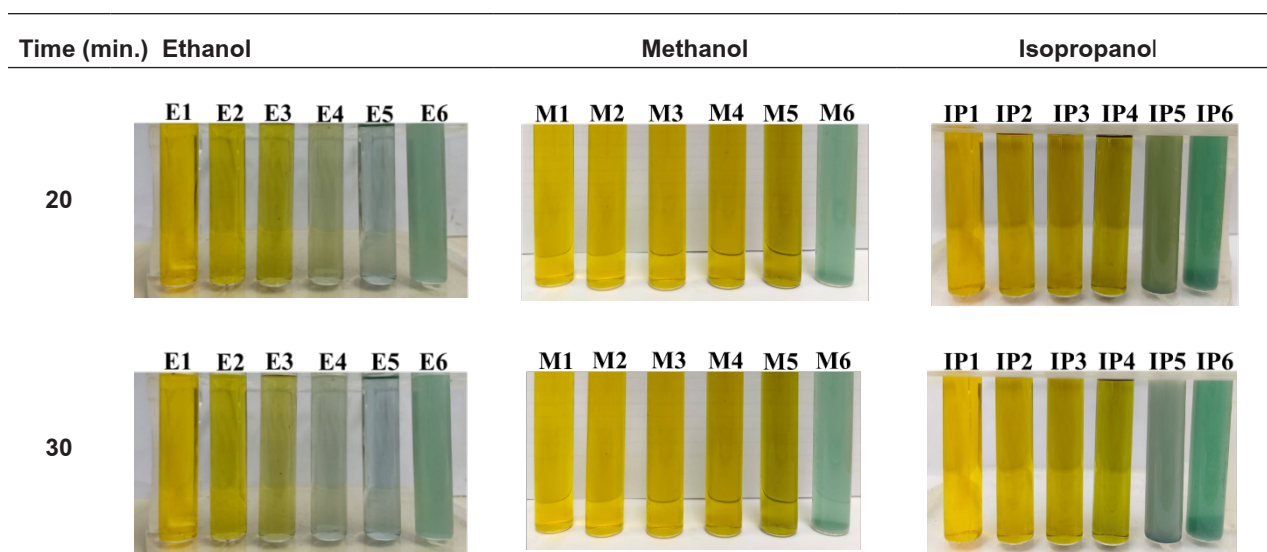
ปริมาณ ความแตกต่างของสีในปฏิกิริยาออกซิเดชันของไอโซโพรพานอล เอทานอล เมทานอลเกิดจากอัตราการเกิดปฏิกิริยาที่ไม่เท่ากัน โดยไอโซโพรพานอลเกิดปฏิกิริยาได้เร็วกว่าเอทานอล และเมทานอลตามลำดับ (Hassan *et al.*, 2011) นอกจากนี้ผลิตภัณฑ์หลังปฏิกิริยาของ ไอโซโพรพานอล (secondary alcohol) ให้หมู่คีโตนที่มีสีเข้มจากค่าการดูดกลืนแสงที่สูงกว่าเอทานอลและเมทานอล (primary alcohols) ที่ให้ผลิตภัณฑ์หลังปฏิกิริยาเป็นหมู่คาร์บอกซิลิกเป็นผลให้สีที่ปรากฏที่เวลาเดียวกันแตกต่างกัน (Chemistry Steps, 2025; Knauer Wissenschaftliche Geräte GmbH, 2024) ทำให้หากผสมร่วมกับเอทานอลที่ความเข้มข้นสูงจะบดบังเจดสีน้ำเงินเขียวของเอทานอล ทำให้วิธีการที่น่าเสนอจะเหมาะสมเฉพาะแอลกอฮอล์ชนิดเอทานอลเท่านั้น แต่อย่างไรก็ตามไอโซโพรพานอลพบการนำมาใช้ในผลิตภัณฑ์ฆ่าเชื้อค่อนข้างน้อย โดยรายงานวิจัยของ Thongpakaisang *et al.* (2023) จากจำนวนผลิตภัณฑ์แอลกอฮอล์เพื่อสุขอนามัยสุ่มตรวจทั่ว

ประเทศไทย 411 ตัวอย่าง รายงานการใช้แอลกอฮอล์ชนิดไอโซโพรพานอลในผลิตภัณฑ์ฆ่าเชื้อเพียง 17 ตัวอย่าง พบการใช้ในลักษณะผสมกับเอทานอล 37 ตัวอย่าง แต่พบการใช้แอลกอฮอล์ชนิดเอทานอลมากถึง 354 ตัวอย่าง หรือคิดเป็นร้อยละ 86.1 ของทั้งหมด ซึ่งอาจเนื่องมาจากไอโซโพรพานอลเป็นสารระคายเคืองทางประสาทสัมผัส (Smeets & Dalton, 2002) และมีกลิ่นที่ไม่พึงประสงค์เมื่อเทียบกับเอทานอล (American Chemical Society, 2024) จึงไม่ได้รับความนิยมในการนำมาใช้ในผลิตภัณฑ์แอลกอฮอล์ฆ่าเชื้อโรค

ดังนั้นผลการศึกษารวบรวมของวิธีการที่ศึกษา สามารถบอกความแตกต่างเชิงคุณภาพของชนิดแอลกอฮอล์สำหรับตัวอย่างไม่ทราบที่มา (Unknown) ในเบื้องต้นได้เช่นกัน โดยสังเกตที่เวลาเริ่มต้นถึง 20 นาที คือ หากตัวอย่างเป็นสีส้มอมดำประกอบหลักคือเมทานอล เป็นสีเหลืองเขียวองค์ประกอบหลักคือเอทานอล เป็นสีโทนส้ม-น้ำตาลองค์ประกอบหลักคือไอโซโพรพานอล

**Table 1** Comparing the effect of time on the oxidation reactions of ethanol, methanol, and isopropanol through color change.

| Time (min.) | Ethanol                                                                             | Methanol                                                                            | Isopropanol                                                                           |
|-------------|-------------------------------------------------------------------------------------|-------------------------------------------------------------------------------------|---------------------------------------------------------------------------------------|
| 1           |  |  |  |
| 5           |  |  |  |
| 10          |  |  |  |
| 15          |  |  |  |



**Note:** Ethanol (E1 – E6), Methanol (M1 – M6), and Isopropanol (IP1 – IP6) refer to alcohol solutions with concentrations of 0%, 20%, 50%, 70%, 80%, and 99.7% by volume, respectively.

## 2. ผลของการกำหนดแถบสี

ผลจากการวัดค่าสีหลังเกิดปฏิกิริยาออกซิเดชันที่เวลา 20 นาที ของสารละลายเอทานอลที่ความเข้มข้นร้อยละ 0-99.7 โดยปริมาตร ด้วยเครื่องวัดสีจากค่าเฉลี่ย 10 ชุด การทดลองของแต่ละความเข้มข้น ค่าสีที่ได้แสดงดัง Table 2 ผลจากค่าสี แสดงผลดังนี้ ค่าความสว่างเป็นสีขาว ( $L^*$ ) แปรผกผันกับความเข้มข้นของเอทานอลที่ความเข้มข้นสูงขึ้น คือ

มีค่าลดลงจาก 86.38 ถึง 69.55 ความต่างจากค่ามากที่สุดลดค่าน้อยสุดคือ 16.83 ซึ่งเมื่อวิเคราะห์ทางสถิติด้วยวิธี DMRT ค่า  $L^*$  ของเอทานอลความเข้มข้นร้อยละ 40, 50, 60 และ 70 โดยปริมาตรไม่ต่างทางสถิติ แต่เมื่อความเข้มข้นมากกว่าร้อยละ 80 โดยปริมาตร เป็นต้นไป ค่า  $L^*$  จะแตกต่างทางสถิติทุกความเข้มข้น

**Table 2** The average  $L$ ,  $a$ , and  $b^*$  color values obtained from the ethanol oxidation method.

| Alcohol (%)    | $L^*$                  | $a^*$               | $b^*$               |
|----------------|------------------------|---------------------|---------------------|
| 0              | $86.38 \pm 0.9^a$      | $9.19 \pm 1.81^a$   | $128.77 \pm 2.21^a$ |
| 10             | $83.24 \pm 1.04^b$     | $4.26 \pm 2.18^b$   | $117.33 \pm 3.52^b$ |
| 20             | $81.36 \pm 0.99^{bc}$  | $0.20 \pm 2.47^c$   | $107.26 \pm 5.50^c$ |
| 30             | $79.90 \pm 1.43^{cd}$  | $-2.42 \pm 2.75^d$  | $99.66 \pm 7.32^d$  |
| 40             | $79.15 \pm 1.39^{de}$  | $-4.90 \pm 2.69^e$  | $92.77 \pm 8.38^e$  |
| 50             | $78.18 \pm 1.55^{def}$ | $-7.87 \pm 2.09^f$  | $83.83 \pm 7.55^f$  |
| 60             | $77.20 \pm 1.97^{ef}$  | $-12.47 \pm 1.40^g$ | $67.25 \pm 7.89^g$  |
| 70             | $77.16 \pm 2.01^{ef}$  | $-17.06 \pm 0.62^h$ | $41.77 \pm 8.63^h$  |
| 80             | $76.45 \pm 3.79^f$     | $-16.43 \pm 1.29^h$ | $9.32 \pm 2.37^i$   |
| 90             | $74.02 \pm 3.31^g$     | $-14.09 \pm 1.06^g$ | $3.22 \pm 0.74^j$   |
| 99.7           | $69.55 \pm 3.31^h$     | $-24.59 \pm 1.53^i$ | $11.24 \pm 1.61^i$  |
| %CV (absolute) | 2.82                   | 24.58               | 8.41                |

**Note:** The mean value of the experiment conducted in 10 replicates  $\pm$  standard deviation.

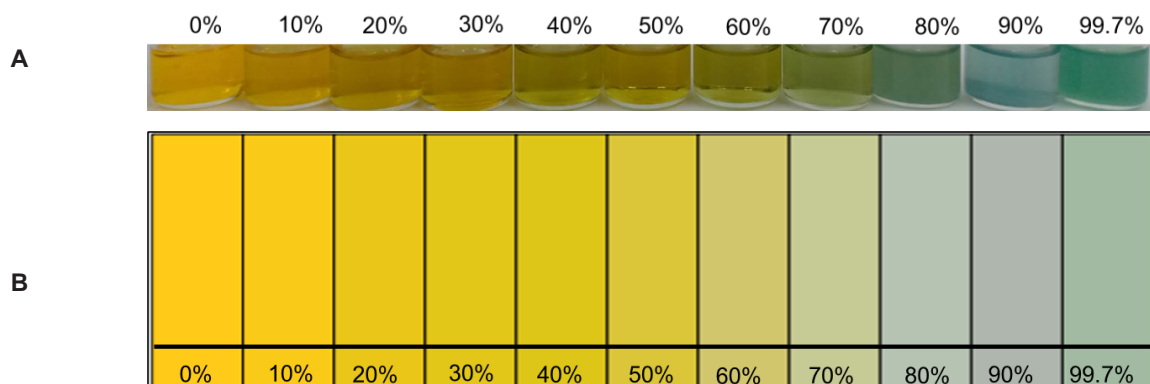
<sup>a-i</sup> Different letters in the same column indicate a significant difference among the samples ( $p < 0.05$ )

ค่าความเป็นสีแดงหรือสีเขียว ( $a^*$ ) ของความเข้มข้นของเอทานอลที่ความเข้มข้นสูง มีการเปลี่ยนโทนสีจากโทนสีแดง  $a^*$  เท่ากับ 9.19 ของเอทานอลร้อยละ 0 โดยปริมาตร เป็นโทนสีเขียว  $a^*$  เท่ากับ -24.59 สำหรับเอทานอลร้อยละ 99.7 โดยปริมาตร ความต่างเท่ากับ 33.78 ค่าที่ได้ทางสถิติแตกต่างทุกความเข้มข้น ยกเว้นความเข้มข้นร้อยละโดยปริมาตรของ 60 ไม่ต่างกับ 90 เนื่องจากเป็นจุดก่อนและหลังการเกิดสมดุลของการเปลี่ยนโทนสีเขียวตามลำดับ และร้อยละโดยปริมาตรของ 70 ไม่ต่างกับร้อยละโดยปริมาตรของ 80 โดยค่า  $a^*$  จะเปลี่ยนโทนสีแปรผันตรงกับความเข้มข้นเอทานอลจนถึงร้อยละ 70 โดยปริมาตร จากนั้นการเปลี่ยนโทนสีเขียวจะลดลงเล็กน้อยสำหรับเอทานอลร้อยละ 80 และ 90 โดยปริมาตร แล้วเพิ่มขึ้นอย่างเห็นได้ชัดเมื่อเป็นเอทานอลบริสุทธิ์ (99.7%) โดยค่า  $a^*$  ที่ลดลงหลังร้อยละ 70 โดยปริมาตร เนื่องจากเป็นจุดความเข้มข้นที่ค่า  $b^*$  ลดลงอย่างมากจาก 41.77 (เอทานอลร้อยละ 70 โดยปริมาตร) เป็น 9.32 (เอทานอลร้อยละ 80 โดยปริมาตร) สอดคล้องกับการศึกษาความสัมพันธ์ของค่าที่ศึกษาไว้ของ Sakiroff *et al.* (2022) ที่เมื่อตัวแปรสีได้มีการเปลี่ยนแปลง ก็จะมีผลกับตัวแปรอื่นเช่นกัน ดังนั้นกรณีสารละลายเอทานอลที่ความเข้มข้นร้อยละ 70 โดยปริมาตร กับ R1 เป็นจุดสมดุลที่ให้ค่าโทนสีเขียวสูงสุด (ยกเว้นเอทานอลบริสุทธิ์ร้อยละ 99.7) ผลค่าความเป็นสีเหลืองหรือสีน้ำเงิน ( $b^*$ ) แสดงค่าโทนสีเหลืองลดลงอย่างเด่นชัดแปรผกผันกับความเข้มข้นของสารละลายเอทานอลที่ความเข้มข้น

สูงขึ้น คือ มีค่าลดลงจาก 128.77 ถึง 3.22 ความต่างจากค่ามากที่สุดลดค่าน้อยสุดคือ 125.55 แสดงความต่างสูงสุดเมื่อเทียบกับ  $L^*$  และ  $a^*$  และผลทางสถิติแตกต่างกันทุกความเข้มข้น ยกเว้น สารละลายเอทานอลที่ความเข้มข้นร้อยละ 80 โดยปริมาตร ไม่ต่างกับเอทานอลบริสุทธิ์ (99.7%)

จากการเตรียมสารละลายเอทานอล 11 ความเข้มข้นและทำปฏิกิริยาดัง Figure 1 จะได้สีของสารละลายเอทานอลที่ความเข้มข้นต่าง ๆ ดังตัวอย่าง Figure 3A และจากความต่างของค่าสีจากเครื่องวัดสี เมื่อนำมากำหนดแถบสีโดยโปรแกรม แสดงแถบสีที่ได้ดัง Figure 3B จากภาพจะเห็นความแตกต่างกันของสีอย่างชัดเจนของความเข้มข้นร้อยละโดยปริมาตร 50 (ส้ม), 60 (ส้ม-เหลือง), 70 (เหลือง-เขียว), 80 (เขียว), 90 (เขียว-ฟ้า) และ 99.7 (สีน้ำเงินเขียว) อาจเนื่องมาจากค่า  $b^*$  (โทนสีเหลือง) มีค่าลดลงอย่างเด่นชัด ทำให้ภาพแถบสีสามารถนำมากำหนดเป็นแถบสีมาตรฐาน เพื่ออ่านค่าปริมาณเอทานอลจากการเทียบเฉดสีด้วยตาเปล่า

ผลจากการศึกษาค่าสี  $L^*$ ,  $a^*$  และ  $b^*$  ซึ่งเป็นระบบวัดสีที่ใช้ในการหาค่าสีที่มีความสัมพันธ์กับการมองเห็นของมนุษย์ เพื่อที่จะนำมากำหนดแถบสีมาตรฐานของเอทานอลความเข้มข้นต่าง ๆ ทำให้ได้ภาพสีสอดคล้องกับการรับรู้สีของมนุษย์ในมุมมองทั้งสายตา ทำให้วิธีการที่ศึกษาสามารถนำไปใช้งานได้จริงในระดับเบื้องต้นในภาคสนาม โดยไม่จำเป็นต้องพึ่งพาเครื่องมือราคาสูง เช่น เครื่อง GC



**Figure 3** The color of various concentrations of ethanol solutions used for visual examination:

(A) color appearance, and (B) color test-strip

### 3. ผลเปรียบเทียบกับเทคนิคอื่น ๆ

#### 3.1 เปรียบเทียบกับเทคนิค HS-GC/FID

ปริมาณเอทานอลที่อ่านได้ในตัวอย่างสเปรย์แอลกอฮอล์ทั้ง 3 ระดับความเข้มข้น จากการเทียบสีที่

ปรากฏหลังจากเกิดปฏิกิริยาออกซิเดชัน 20 นาที ด้วยตาเปล่ากับแถบสีมาตรฐาน เมื่อเปรียบเทียบกับผลการทดสอบปริมาณเอทานอลด้วยเทคนิค HS-GC/FID แสดงดัง Table 3 ตัวอย่าง S1 ให้สีน้ำเงินเขียวเข้ม เทียบแถบสีเอทานอลได้เป็น > ร้อย

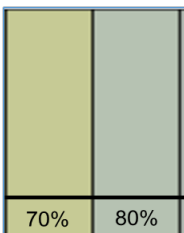
ละ 90 - 99.7 โดยปริมาตร ตัวอย่าง S2 ให้สีเหลือง-เขียว ณ เวลาสังเกต 20 นาที โดยเทียบสีตาเปล่าแถบสีระหว่างเอทานอลร้อยละ  $\geq 70$  ถึง  $\leq 80$  โดยปริมาตร ตัวอย่าง S3 แสดงสีส้ม-เหลืองเมื่อเทียบด้วยตาเปล่าเอทานอลร้อยละ  $< 70$  โดยปริมาตร ซึ่งผลที่ได้ พบว่า มีความสอดคล้องกันไปในทางบวกกับเทคนิค HS-GC/FID แสดงถึงการใช้แถบสีมาตรฐานสามารถใช้อ่านค่าช่วงปริมาณเอทานอลในตัวอย่างสเปรย์แอลกอฮอล์อย่างง่ายในระดับเบื้องต้นได้ โดยไม่ต้องใช้เครื่องมือขั้นสูงในห้องปฏิบัติการ

### 3.2 เปรียบเทียบกับสเปกโตรโฟโตมิเตอร์

เมื่อวิเคราะห์จากค่าสี  $L^*$ ,  $a^*$ ,  $b^*$  ที่ได้ของวิธีการที่นำเสนอเพื่อดูผลคู่ขนานกับการวิเคราะห์ผลด้วยตาเปล่า ของตัวอย่างใน Table 3 เทียบกับค่าสีสารละลายเอทานอล Table 2 พบว่าตัวอย่าง S1 ค่า  $L^*$  มีค่าใกล้เคียงกับเอทานอลร้อยละ 90 โดยปริมาตร ค่า  $a^*$  ใกล้เคียงกับเอทานอลร้อยละ

70 - 99.7 โดยปริมาตร และ ค่า  $b^*$  ใกล้เคียงกับเอทานอลร้อยละ 80 - 99.7 โดยปริมาตร ผ่านตามเกณฑ์ควบคุมคุณภาพเอทานอลร้อยละ 70 โดยปริมาตร ทุกค่าสี ตัวอย่าง S2 ค่า  $L^*$  ใกล้เคียงกับเอทานอลร้อยละ 40 - 70 โดยปริมาตร ค่า  $a^*$  ใกล้เคียงกับเอทานอลร้อยละ 60 หรือ 90 โดยปริมาตร แต่ค่า  $b^*$  จะเป็นเพกเตอร์ชี้วัดเด่นชัดคือใกล้เคียงกับเอทานอลร้อยละ 80 โดยปริมาตร ดังนั้นตัวอย่างผ่านตามเกณฑ์ควบคุมคุณภาพ ตัวอย่าง S3 ค่า  $L^*$  ใกล้เคียงกับเอทานอลร้อยละ 10 และ 20 โดยปริมาตร ค่า  $a^*$  สอดคล้องกับเอทานอลร้อยละ 60 หรือ 90 โดยปริมาตร และ  $b^*$  ค่าอยู่ระหว่างเอทานอลร้อยละ 60 - 70 โดยปริมาตร แต่เนื่องจาก  $b^*$  หรือโทนสีเหลืองจะลดลงอย่างเด่นชัดเมื่อเอทานอลเกินร้อยละ 70 โดยปริมาตร ( $b^* = 41.77$ ) ดังนั้นตัวอย่าง S3 ที่มีค่า  $b^* 52.6$  และ  $L^*$  อยู่ในช่วงเอทานอลต่ำ จึงตัดสินเป็นสเปรย์แอลกอฮอล์ไม่ผ่านตามเกณฑ์ควบคุมคุณภาพ

**Table 3** Comparison of the proposed method with HS-GC/FID and color values for the determination of ethanol concentrations in spray alcohol samples.

| Sample | Proposed method                                                                     |                                                                                     | HS-GC/FID<br>(%v/v)     | Color Consistency     |                     |
|--------|-------------------------------------------------------------------------------------|-------------------------------------------------------------------------------------|-------------------------|-----------------------|---------------------|
|        | Color appearance                                                                    | Color test-strip (%v/v)<br>Visual examination (%v/v)                                |                         | $L^*$ , $a^*$ , $b^*$ |                     |
| S1     |  |  | $\leq 99.7$             | 98.5                  | 74.4, -19.6, 9.1 +  |
| S2     |  |  | $\geq 70$ ถึง $\leq 80$ | 76.3                  | 78.1, -12.5, 7.3 +  |
| S3     |  |  | $\leq 70$               | 64.8                  | 83.4, -14.4, 52.6 + |

### 3.3 เปรียบเทียบด้านการประยุกต์ใช้งาน

ผลเปรียบเทียบการใช้งานด้าน เวลา ราคา และลักษณะการใช้งานดัง Table 4 จะเห็นว่าวิธีการที่นำเสนอ แม้ไม่ได้เป็นวิธีการทดสอบที่เร็วที่สุดเมื่อเทียบกับ Test-kit ที่มีจำหน่ายในท้องตลาด แต่วิธีการที่นำเสนอราคาต้นทุนการทดสอบที่ต่ำกว่า แสดงรายละเอียดชัดเจน ผู้ใช้งานทั่วไปที่มี

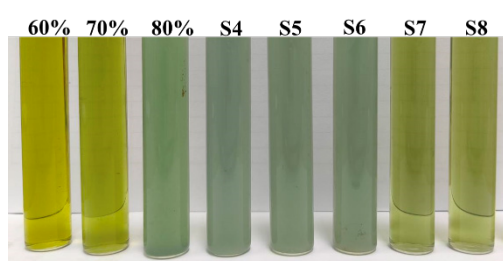
พื้นฐานทางวิทยาศาสตร์สามารถทำตามได้ง่าย มีขั้นตอนไม่ยุ่งยาก ไม่ใช้เครื่องมือทางวิทยาศาสตร์อย่างเครื่องยูวี-วิสิเบิลสเปกโตรโฟโตมิเตอร์หรือเครื่องแก๊สโครมาโตกราฟที่ต้องใช้ นักวิทยาศาสตร์ที่มีความชำนาญ และวิเคราะห์ในห้องปฏิบัติการที่มีต้นทุนหรืออัตราการวิเคราะห์ที่สูงกว่า

**Table 4** Comparison of the developed method with other reported methods for the determination of ethanol based on 3 replicates.

| Method           | Detection time | Price (Bath) | Potential used | Ref.                                                                                |
|------------------|----------------|--------------|----------------|-------------------------------------------------------------------------------------|
| HS-GC/FID        | 45             | 3,600        | Laboratory     | (Kaewsuwan <i>et al.</i> , 2023; Office of Scientific Instrument and Testing, 2024) |
| Direct -GC/MS    | 30             | -            | Laboratory     | (Nisbar <i>et al.</i> , 2023)                                                       |
| Direct-GC/FID    | 54             | -            | Laboratory     | (Thitisaksakul <i>et al.</i> , 2021)                                                |
| UV-VIS           | 30             | -            | Laboratory     | (Katewaree & Navakhun, 2017)                                                        |
| Test-kit         | 5              | 60           | onsite         | (Chamni, 2021)                                                                      |
| Color test-strip | 20             | 3            | onsite         | This work                                                                           |

### 4. ผลร้อยละโดยปริมาตรเอทานอลในตัวอย่าง

ตัวอย่างสเปรย์แอลกอฮอล์ 5 ตัวอย่าง (Figure 4) เมื่อเทียบกับแถบสีจาก Figure 3 ด้วยตาเปล่าร่วมกับตัวควบคุมของสารละลายเอทานอลที่ทราบค่าร้อยละ 60, 70 และ 80 โดยปริมาตร พบเจตสีเขียวในตัวอย่าง S4, S5 และ S6 พบเจตสีเหลือง-เขียวในตัวอย่าง S7, S8 ซึ่งแสดงถึงปริมาณเอทานอลมากกว่าร้อยละ 70 โดยปริมาตร ทุกตัวอย่างสอดคล้องตามฉลากข้างขวด นอกจากนั้นผลการทดสอบปริมาณเอทานอลด้วยตาเปล่าสอดคล้องกับการทดสอบเทียบกับเทคนิค HS-GC/FID ที่พบปริมาณเอทานอลในตัวอย่าง S4, S5 และ S6 เท่ากับร้อยละ 80.5, 80.2 และ 79.0 โดยปริมาตรตามลำดับ และตัวอย่าง S7 และ S8 ปริมาณเอทานอลร้อยละ 75.2 และ 72.7 โดยปริมาตร ตามลำดับ



**Figure 4** The color appearance of spray alcohol samples used for visual examination

แสดงให้เห็นว่าวิธีการที่ศึกษาสามารถบอกปริมาณเอทานอลที่ผ่านตามเกณฑ์คุณภาพร้อยละ 70 โดยปริมาตร ได้ชัดเจนจากสีเหลือง-เขียวที่ปรากฏ และเมื่อปริมาณเอทานอลมากกว่าร้อยละ 70 โดยปริมาตร วิธีการเทียบแถบสีด้วยตาเปล่าที่นำเสนอ ไม่สามารถบอกความต่างปริมาณร้อยละโดยปริมาตรเอทานอลในระดับหลักหน่วยได้ แต่สามารถบอกความต่างร้อยละเอทานอลในระดับหลักสิบได้ จึงเหมาะสำหรับการใช้วิธีการที่นำเสนอในการตรวจสอบปริมาณเอทานอลในระดับเบื้องต้นเพื่อการบ่งชี้คุณภาพสำหรับการฆ่าเชื้อโรค และหากต้องการทราบชนิดและปริมาณที่แน่นอน จึงส่งไปทดสอบยังห้องปฏิบัติการที่มีเครื่องมือทางวิทยาศาสตร์ขั้นสูงในการทดสอบต่อไป

### สรุปผลการทดลอง

การศึกษาวิจัยนี้เสนอวิธีการตรวจสอบชนิดและปริมาณเอทานอลในตัวอย่างสเปรย์แอลกอฮอล์อย่างง่าย โดยใช้ปฏิกิริยาออกซิเดชันที่มีรีเอเจนต์เป็นโพแทสเซียมไดโครเมตในกรดซัลฟิวริกกับเอทานอล เกิดสีที่แตกต่างกันหลังจากเกิดปฏิกิริยาที่เวลา 20 นาที ที่อุณหภูมิห้อง การศึกษาแสดงสถานะที่เหมาะสมในการเกิดปฏิกิริยาและกำหนดเป็นแถบสีมาตรฐาน จากการสร้างด้วยเครื่องวัดสี เพื่อให้ผู้ใช้สามารถอ่านค่าปริมาณเอทานอลได้ง่ายด้วยตาเปล่า สีส้ม-เหลืองหากเอทานอลน้อยกว่าร้อยละ 70 โดยปริมาตร เหลือง-เขียวเมื่อ

เอทานอลมากกว่าร้อยละ 70 โดยปริมาตร และเกิดสีเขียวเมื่อเอทานอลใกล้เคียงหรือมากกว่าร้อยละ 80 โดยปริมาตร

โดยข้อจำกัดของวิธีการที่นำเสนอคือผลรบกวนจากไอโซโพรพานอล และตัวอย่างควรเป็นชนิดใสไม่มีสี เนื่องจากเป็นวิธีการหาปริมาณเอทานอลอย่างง่ายโดยการเทียบสี ดังนั้นตัวอย่างสเปรย์แอลกอฮอล์ที่เหมาะสมสำหรับการทดสอบด้วยเทคนิคนี้ควรเป็นชนิดใส และในการใช้งานภาคสนามควรกำหนดสัดส่วนของตัวอย่างและ R1 ไว้ที่ 50 : 1 ทำปฏิกิริยาในภาชนะที่มองเห็นสีได้ง่ายเพื่อให้สามารถเทียบผลของสีที่เกิดขึ้นกับแถบสีมาตรฐานที่สร้างขึ้นได้ ซึ่งวิธีการที่นำเสนอ มีต้นทุนต่ำ สะดวก และรวดเร็วสำหรับการตรวจสอบชนิดและปริมาณเอทานอล นอกจากนี้ยังสามารถนำไปใช้งานได้ทั้งในห้องปฏิบัติการ สถานพยาบาล โรงเรียน หรือชุมชน เพื่อให้ทราบถึงปริมาณเอทานอลในตัวอย่างสเปรย์แอลกอฮอล์เหมาะสำหรับการใช้งานในภาคสนามเพื่อตรวจสอบคุณภาพของสเปรย์แอลกอฮอล์ เป็นทางเลือกในการตรวจสอบคุณภาพของผลิตภัณฑ์เพื่อความมั่นใจของผู้บริโภค

## กิตติกรรมประกาศ

วิจัยฉบับนี้สำเร็จลงได้ด้วยดี ผู้วิจัยต้องขอขอบคุณกิตติศักดิ์ ชูมาลี คณะแพทยศาสตร์ สำหรับการตรวจสอบข้อมูลสถิติ รองศาสตราจารย์ อาชีวัน แกสมาน และอาจารย์ นพ.วิรัช สมัย ผู้อำนวยการสำนักเครื่องมือวิทยาศาสตร์และการทดสอบ มหาวิทยาลัยสงขลานครินทร์ ที่สนับสนุนบุคลากรสำนักเครื่องมือวิทยาศาสตร์และการทดสอบได้มีการพัฒนาความรู้ต่อยอดงานประจำสู่งานวิจัย เพื่อตอบสนองความต้องการทางด้านวิชาการจากหน่วยงานทั้งภาครัฐและภาคเอกชน ผู้วิจัยขอขอบคุณมา ณ โอกาสนี้

## เอกสารอ้างอิง

- American Chemical Society. (2024, May 5). *Molecule of the week archive: Isopropyl alcohol*. <https://www.acs.org/molecule-of-the-week/archive/i/isopropyl-alcohol.html>
- Caputi, A., Jr., & Wright, D. (2020). Collaborative study of the determination of ethanol in wine by chemical oxidation. *Journal of AOAC INTERNATIONAL*, 52(1), 85–88. <https://doi.org/10.1093/jaoac/52.1.85>
- Chamni, S. (2021, October 14). *Q-E-S-T 3-in-1 alcohol test kit*. Chulalongkorn University. <https://www.chula.ac.th/highlight/51400>

- Chan, A. P. L., & Chan, T. Y. K. (2018). Methanol as an unlisted ingredient in supposedly alcohol-based hand rub can pose serious health risk. *International Journal of Environmental Research and Public Health*, 15(7), 1–6. <https://doi.org/10.3390/ijerph15071440>
- Chemistry Steps. (2025, January 3). Alcohol oxidation mechanisms and practice problems. <https://www.chemistrysteps.com/oxidation-of-alcohols/>
- Department of Disease Control, Ministry of Public Health. (2024, September 6). *Raingan sathanakan rok titchue fidak wanon (Mpox)* [Situation report of Monkeypox (Mpox) infection]. <https://ddc.moph.go.th/monkeypox/dashboard.php>
- Guntner, A. T., Magro, L., van den Broek, J., & Pratsinis, S. E. (2021). Detecting methanol in hand sanitizers. *iScience*, 24(2), 102050. <https://doi.org/10.1016/j.isci.2021.102050>
- Hassan, M., Al-Hakimi, A., & Alahmadi, M. (2011). Kinetics of oxidation of aliphatic alcohols by potassium dichromate in aqueous and micellar media. *South African Journal of Chemistry*, 64, 237–240.
- Kaewsuwan, W., Homutai, S., & Pinsrithong, S. (2023). Analysis of alcohol content in viscous alcohol gel expressed as percent by volume. *Rajamangala University of Technology Srivijaya Research Journal*, 15(3), 584–600. <https://li01.tci-thaijo.org/index.php/rmutsvrj/article/view/253603>
- Katewaree, Y., & Navakhun, A. (2017). *Determination of ethanol in alcoholic products by the simple colorimetric method* [Unpublished bachelor's thesis]. Burapha University.
- Knauer Wissenschaftliche Geräte GmbH. (2024, December 28). *What is the UV cutoff and why do I need to know it?* <https://www.knauer.net/en/what-is-the-uv-cutoff-and-why-do-i-need-to-know-it/f38660>
- Ministry of Public Health. (2020). *Defines the characteristics of alcohol-based cosmetics for hand hygiene that are prohibited to be produced, imported or sold*. [http://www.ratchakitcha.soc.go.th/DATA/PDF/2563/E/054/T\\_0006.PDF](http://www.ratchakitcha.soc.go.th/DATA/PDF/2563/E/054/T_0006.PDF)
- Nisbar, N. D., Jamal Khair, S. K., Bujang, N. B., & Mohd Yusop, A. Y. (2023). Determination of ethanol, iso-

- propyl alcohol and methanol in alcohol-based hand sanitiser to ensure product quality, safety and efficacy. *Scientific Reports*, 13(1), Article 9478. <https://doi.org/10.1038/s41598-023-36283-1>
- Office of Scientific Instrument and Testing. (2024, September 15). *Service rate, Office of Scientific Instrument and Testing, Prince of Songkla University*. <https://osit.psu.ac.th/th/pricerate/>
- Pilone, G. J. (2020). Determination of ethanol in wine by titrimetric and spectrophotometric dichromate methods: Collaborative study. *Journal of AOAC INTERNATIONAL*, 68(2), 188–190. <https://doi.org/10.1093/jaoac/68.2.188>
- R Core Team. (2023). R: A language and environment for statistical computing. R Foundation for Statistical Computing. <https://www.r-project.org/>
- Sakiroff, L. M., Chennell, P., Yessaad, M., Pereira, B., Bouattour, Y., & Sautou, V. (2022). Evaluation of color changes during stability studies using spectrophotometric chromaticity measurements versus visual examination. *Scientific Reports*, 12(1), Article 8959. <https://doi.org/10.1038/s41598-022-13025-3>
- Science Photo Library. (2024, December 27). *Isopropanol oxidation*. <https://www.sciencephoto.com/media/859758/view/isopropanol-oxidation>
- Seo, H. B., Kim, H. J., Lee, O. K., Ha, J. H., Lee, H. Y., & Jung, K. H. (2009). Measurement of ethanol concentration using solvent extraction and dichromate oxidation and its application to bioethanol production process. *Journal of Industrial Microbiology and Biotechnology*, 36(2), 285–292. <https://doi.org/10.1007/s10295-008-0497-4>
- Smeets, M., & Dalton, P. (2002). Perceived odor and irritation of isopropanol: A comparison between naive controls and occupationally exposed workers. *International Archives of Occupational and Environmental Health*, 75(8), 541–548. <https://doi.org/10.1007/s00420-002-0364-y>
- Thitisaksakul, N., Paengma, S., Parasindecha, I., Muenhong, P., Jarungsirawat, R., Daodee, S., & Tessiri, T. (2021). Analysis of alcohol content in alcohol-based hand sanitizer product from Khon Kaen Province. *Isan Journal of Pharmaceutical Sciences*, 17(3), 59–73. <https://he01.tci-thaijo.org/index.php/IJPS/article/view/248294>
- Thongpakaisang, S., Laohapiyakul, S., & Nopparat, A. (2023). Quality of alcohol-based hand sanitizer sold in Thailand 2021. *Thai Food and Drug Journal*, 30(1), 66–79. <https://he01.tci-thaijo.org/index.php/fdajournal/article/view/262465>
- Tiscione, N. B., Alford, I., Yeatman, D. T., & Shan, X. (2011). Ethanol analysis by headspace gas chromatography with simultaneous flame-ionization and mass spectrometry detection. *Journal of Analytical Toxicology*, 35(7), 501–511. <https://doi.org/10.1093/anatox/35.7.501>
- Vivon, M., & Nakniyom, W. (2020). Method validation of alcohol contents in alcohol-based hand sanitizer products using gas chromatography. *Bulletin of the Department of Medical Sciences*, 62(3), 268–280. <https://he02.tci-thaijo.org/index.php/dmsc/article/view/245951/167166>
- World Health Organization. (2024, May 2). *Sathanakan rok titchueไวรัสโคโรนา 2019 nai prathet Thai* [Situation of COVID-19 in Thailand]. <https://www.who.int/thailand/th/news/detail/02-05-2567-update-on-covid-19-in-thailand--02-may-2024>

ผลของสารสกัดจากกะทกรก (*Passiflora foetida* Linn.) ต่อฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระ ฤทธิ์ยับยั้งเอนไซม์ไทโรซิเนส ฤทธิ์ยับยั้งเชื้อจุลินทรีย์ และฤทธิ์ต้านการอักเสบ

**Effect of *Passiflora foetida* Linn. extract on antioxidant, tyrosinase inhibition, antimicrobial and anti-inflammatory activity**

ณพัชร บัวจุน<sup>1\*</sup> และ วิริยาภรณ์ กล่อมสังข์เจริญ<sup>1</sup>

Napattaorn Buachoon<sup>1\*</sup> and Wiriyaabhorn Klomsungcharoen<sup>1</sup>

Received: 21 January 2025 ; Revised: 10 March 2025 ; Accepted: 9 April 2025

### บทคัดย่อ

กะทกรกเป็นพืชสมุนไพรที่พบได้ทั่วไปทุกภาคของประเทศไทย เป็นพืชที่มีฤทธิ์ทางชีวภาพ ได้แก่ ฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระ ยับยั้งจุลินทรีย์ ต้านการอักเสบ และต้านแบคทีเรีย การศึกษานี้มีวัตถุประสงค์เพื่อตรวจสอบองค์ประกอบทางพฤกษเคมีและประเมินฤทธิ์ทางชีวภาพของสารสกัดจากส่วนต่างๆ ของกะทกรก ได้แก่ ใบ ดอก และเมล็ด โดยสกัดด้วยเทคนิคอัลตราโซนิกร่วมกับเอทานอล 70% จากนั้นนำสารสกัดมาวิเคราะห์หาสารพฤกษเคมีเบื้องต้น ปริมาณสารประกอบฟีนอลิกทั้งหมด ปริมาณสารประกอบฟลาโวนอยด์ทั้งหมด ฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระด้วยวิธี DPPH radical scavenging assay ฤทธิ์ยับยั้งเอนไซม์ไทโรซิเนสด้วยวิธี dopachrome ฤทธิ์ยับยั้งเชื้อจุลินทรีย์ก่อโรค 4 ชนิด คือ แบคทีเรียแกรมบวก ได้แก่ *Staphylococcus aureus* และ *Bacillus subtilis* แบคทีเรียแกรมลบ ได้แก่ *Escherichia coli* และ *Pseudomonas aeruginosa* ด้วยวิธี microdilution และฤทธิ์ต้านการอักเสบด้วยวิธียับยั้งการหลั่ง Nitric oxide ในเซลล์ RAW 264.7 ผลการทดลอง พบว่า สารสกัดหยาบส่วนใบ ดอก และเมล็ด พบสารพฤกษเคมี ได้แก่ ฟลาโวนอยด์ คูมาริน ซาโปนิน แทนนิน และเทอร์ปีนอยด์ และสารสกัดหยาบใบกะทกรกมีปริมาณฟีนอลิกทั้งหมด และ ปริมาณฟลาโวนอยด์ทั้งหมดสูงที่สุด (47.06 mg GAE/g extract และ 50.87 mg QE/g extract ตามลำดับ) นอกจากนี้ สารสกัดหยาบใบกะทกรกมีฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระ ฤทธิ์ยับยั้งเอนไซม์ไทโรซิเนส และฤทธิ์ต้านการอักเสบที่ดีที่สุด โดยมีค่า  $IC_{50}$  เท่ากับ 612.25  $\mu$ g/mL, 202.39  $\mu$ g/mL และ 15.26  $\mu$ g/mL ตามลำดับ การทดสอบฤทธิ์ยับยั้งเชื้อจุลินทรีย์ พบว่า สารสกัดหยาบใบกะทกรกมีประสิทธิภาพในการยับยั้งเชื้อจุลินทรีย์ทั้ง 4 ชนิด ได้ดีกว่าสารสกัดหยาบจากดอกและเมล็ดกะทกรกอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ( $p < 0.05$ ) ผลการศึกษาแสดงให้เห็นศักยภาพของสารสกัดจากใบกะทกรกมีในฤทธิ์ทางชีวภาพที่ดีที่สุด เมื่อเปรียบเทียบกับสารสกัดหยาบส่วนดอกและเมล็ด ซึ่งผลที่ได้สามารถนำมาใช้เป็นส่วนผสมสำหรับพัฒนาผลิตภัณฑ์ เช่น ผลิตภัณฑ์ต้านอนุมูลอิสระ ยับยั้งเอนไซม์ไทโรซิเนส ยับยั้งเชื้อจุลินทรีย์ และต้านการอักเสบ

**คำสำคัญ:** กะทกรก, ฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระ, ฤทธิ์ยับยั้งเอนไซม์ไทโรซิเนส, ฤทธิ์ยับยั้งเชื้อจุลินทรีย์, ฤทธิ์ต้านการอักเสบ

### Abstract

*Passiflora foetida* Linn. is a medicinal plant found throughout regions of Thailand that possesses various biological properties, including antioxidant, antimicrobial, anti-inflammatory, and antibacterial. This study investigated the phytochemical composition and biological activities of extracts from different plant parts (leaves, flowers, and seeds) using ultrasonic extraction with 70% ethanol. Preliminary phytochemical screening, total phenolic and flavonoid content determination, and biological activity assessments revealed the presence of flavonoids, coumarins, saponins, tannins, and terpenoids, with leaf extracts demonstrating the highest total phenolic content and total flavonoid content. (47.06 mg GAE/g extract and 50.87 mg QE/g extract, respectively). Furthermore, the leaf extract demonstrated the most potent antioxidant activities, tyrosinase inhibition, and anti-inflammatory activities. ( $IC_{50}$  612.25  $\mu$ g/mL, 202.39  $\mu$ g/mL, and

<sup>1</sup> คณะวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยี มหาวิทยาลัยราชภัฏวไลยอลงกรณ์ ในพระบรมราชูปถัมภ์ จังหวัดปทุมธานี

<sup>1</sup> Faculty of Science and Technology, Valaya Alongkorn Rajabhat University under the Royal Patronage, Pathum Thani Province

\* Corresponding author, e-mail: napattaorn@vru.ac.th

15.26 µg/mL, respectively.) The antimicrobial efficacy test conclusively showed that the crude leaf extract of *Passiflora foetida* Linn. significantly outperformed flower and seed extracts in inhibiting the growth of four microbial species ( $p < 0.05$ ). The findings indicate that *Passiflora foetida* Linn. leaf extract possesses the most potent bioactive properties compared to flower and seed extracts. These results suggest its potential use as an ingredient for developing antioxidant, tyrosinase inhibitory, antimicrobial, and anti-inflammatory products.

**Keywords:** *Passiflora foetida* Linn., antioxidant activity, tyrosinase inhibition, anti-microbial activity, anti-inflammatory activity

## บทนำ

พืชสกุล *Passiflora* ในวงศ์ Passifloraceae ได้รับความสนใจอย่างกว้างขวางในวงการวิจัยพืชสมุนไพรเนื่องจากมีศักยภาพทางเภสัชวิทยาที่หลากหลาย โดยเฉพาะคุณสมบัติในการบำบัดอาการวิตกกังวล (anxiety) และภาวะหงุดหงิด (Simão *et al.*, 2018) ทำให้พืชในสกุลนี้มีคุณค่าอย่างยิ่งต่อการพัฒนาผลิตภัณฑ์ทางเภสัชกรรมและเวชสำอาง (Casierra & Jarma, 2016) งานวิจัยก่อนหน้านี้ได้แสดงให้เห็นว่าพืชในสกุล *Passiflora* มีองค์ประกอบทางเคมีที่สำคัญหลายชนิด รวมถึงสารประกอบฟีนอลิก อัลคาลอยด์ ไกลโคไซด์ ฟลาโวนอยด์ และไซยาโนเจนิก ซึ่งเป็นสารประกอบที่มีฤทธิ์ทางชีวภาพที่สำคัญ (Dhawan *et al.*, 2004; Gadioli *et al.*, 2017)

กะทกรก หรือ *Passiflora foetida* Linn. เป็นพืชในวงศ์ PASSIFLORACEAE ที่พบได้ทั่วทุกภาคของประเทศไทย มักขึ้นในบริเวณป่าเบญจพรรณ ป่าดิบแล้ง หรือพื้นที่รกร้าง ลักษณะเป็นไม้เถาเนื้ออ่อนที่มีขน ปกคลุมทั่วลำต้น ใบคล้ายรูปหัวใจ ผลทรงกลมมีใบประดับเป็นเส้นฝอยหุ้ม เมื่อสุกมีสีเหลืองอมส้ม ภายในมีเนื้อสีขาวหุ้มเมล็ดคล้ายเมล็ดแมงลักแช่น้ำและมีรสหวาน ในทางการแพทย์พื้นบ้าน มีการนำส่วนต่างๆ ของกะทกรกมาใช้เพื่อวัตถุประสงค์ทางการแพทย์หลายประการ เช่น รากใช้ชงเป็นชาเพื่อแก้ไข้ ผลสุกช่วยบำรุงปอด ใบตำพอกศีรษะแก้หัวและคัดจมูก ดอกใช้แก้อาการไอ ช่าเชื่อในบาดแผล รักษาโรคผิวหนัง และลดอาการปวดบวม (Mohanasundari *et al.*, 2007)

งานวิจัยที่ผ่านมาได้รายงานฤทธิ์ทางชีวภาพที่หลากหลายของสารสกัดจาก *Passiflora foetida* Linn. ทั้งที่สกัดด้วยน้ำเอทานอล และเมทานอล เช่น ฤทธิ์แก้ท้องเสีย ป้องกันแผลในกระเพาะอาหาร บรรเทาอาการปวด ลดความซึมเศร้า ด้านอนุมูลอิสระ ยับยั้งจุลินทรีย์ ด้านการอักเสบ ลดความดันโลหิต ปกป้องตับ ต้านมะเร็ง และระบับความเจ็บปวด (Mohanasundari *et al.*, 2007; Sasikala *et al.*, 2011; Sutar & Bhosale, 2013; Anandan *et al.*, 2009; Rahman *et al.*, 2011; Santosh *et al.*, 2011; Asadujjaman *et al.*, 2014) การศึกษาองค์ประกอบ

ทางเคมีพบ สารกลุ่มฟลาโวนอยด์หลายชนิด เช่น ลูทีโอลิน (luteolin) และคริโซอีริอออล (chrysoeriol) ซึ่งมีฤทธิ์ต้านการอักเสบที่มีประสิทธิภาพสูง (Nguyen *et al.*, 2015)

แม้จะมีงานวิจัยจำนวนมากที่ศึกษาฤทธิ์ทางชีวภาพของกะทกรก แต่การศึกษาเปรียบเทียบฤทธิ์ทางชีวภาพระหว่างส่วนต่างๆ ของกะทกรก (ใบ ดอก และเมล็ด) ยังมีข้อมูลจำกัด โดยเฉพาะการใช้เทคนิคการสกัดด้วยอัลตราโซนิค ซึ่งเป็นวิธีการสกัดสมัยใหม่ที่มีประสิทธิภาพสูง เนื่องจากสามารถเพิ่มอัตราเร็วในการสกัดและลดเวลาที่ใช้ในกระบวนการลง (Vithku *et al.*, 2008) กลไกของการสกัดด้วยอัลตราโซนิคอาศัยคลื่นเสียงความถี่สูงที่ปล่อยออกมาในตัวทำละลาย ทำให้เกิดฟองก๊าซที่มีการหดตัวและขยายตัวเป็นวัฏจักร เมื่อฟองก๊าซขยายตัวจะดึงสารจากภายในเซลล์พืชออกมาสู่ตัวทำละลาย และเมื่อฟองแตกจะเกิดความดันและความร้อนสูงในบริเวณนั้น ทำให้เนื้อเยื่อพืชฉีกขาดและสารออกฤทธิ์ละลายในตัวทำละลายได้ดีขึ้น (ดวงกมล เรืองงาม, 2557) วิธีการนี้มีข้อดีคือมีประสิทธิภาพในการสกัดสูง ใช้ตัวทำละลายน้อย มีต้นทุนต่ำ และเป็นมิตรต่อสิ่งแวดล้อม (Tao *et al.*, 2014)

งานวิจัยนี้จึงมุ่งเน้นศึกษาเปรียบเทียบสารพฤษเคมีเบื้องต้น ปริมาณฟีนอลิกทั้งหมด ปริมาณฟลาโวนอยด์ทั้งหมด ฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระ ฤทธิ์ยับยั้งเอนไซม์ไทโรซิเนส ฤทธิ์ยับยั้งเชื้อจุลินทรีย์ และฤทธิ์ต้านการอักเสบของสารสกัดจากส่วนต่างๆ ของกะทกรก (ใบ ดอก และเมล็ด) ที่สกัดด้วยเทคนิคอัลตราโซนิคร่วมกับตัวทำละลายเอทานอล 70 % ซึ่งเป็นนวัตกรรมการสกัดที่แตกต่างจากงานวิจัยก่อนหน้านี้ที่มักใช้วิธีการสกัดแบบดั้งเดิม เช่น การแช่หมัก (maceration) หรือการสกัดด้วยตัวทำละลายร้อน (hot solvent extraction) ผลการศึกษานี้จะเป็นข้อมูลสำคัญในการเลือกส่วนของกะทกรกที่มีศักยภาพสูงสุดสำหรับการพัฒนาต่อยอดเป็นผลิตภัณฑ์เวชสำอาง ผลิตภัณฑ์เสริมอาหาร หรือผลิตภัณฑ์ยาสมุนไพรที่มีประสิทธิภาพ และยังเป็นการสนับสนุนการใช้ประโยชน์จากกะทกรกตามภูมิปัญญาพื้นบ้านด้วยข้อมูลทางวิทยาศาสตร์ที่ทันสมัย

## วิธีดำเนินการวิจัย

### 1. แผนการทดลอง

การทดลองครั้งนี้วางแผนการทดลองแบบ Completely Randomized Design (CRD) โดยกำหนด ทรีตเมนต์ จากส่วนต่าง ๆ ของพืชกะทกรก (*Passiflora foetida* Linn.) จำนวน 3 ทรีตเมนต์ ได้แก่ สารสกัดจาก ใบ ดอก และเมล็ด ซึ่งได้จากการสกัดด้วยตัวทำละลาย เอทานอลความเข้มข้น 70% ด้วยเทคนิคอัลตราโซนิค (Ultrasound-assisted extraction)

ในการทดลองแต่ละทรีตเมนต์ทำการทดลองซ้ำ จำนวน 3 ครั้ง (triplicate) เพื่อเพิ่มความน่าเชื่อถือของผลการทดลอง และรายงานผลเป็นค่าเฉลี่ย  $\pm$  ส่วนเบี่ยงเบนมาตรฐาน (mean  $\pm$  standard deviation) จากนั้นนำข้อมูลที่ได้ไปวิเคราะห์ทางสถิติเพื่อเปรียบเทียบความแตกต่างของผลการทดลองระหว่าง ทรีตเมนต์

### 2. วิธีการทดลอง

#### 2.1 การเตรียมตัวอย่างพืชและการสกัด

ตัวอย่างพืชที่ใช้คือ กะทกรก จากอำเภอรังน้ำเย็น จังหวัดสระแก้ว เก็บช่วงเดือน มกราคม 2566 โดยได้ทำพิธีขานต์เอกลักษณ์ของพืชสำนักงานหอพรรณไม้ สำนักวิจัยการอนุรักษ์ป่าไม้และพันธุ์พืช กรมอุทยานแห่งชาติ สัตว์ป่า และพันธุ์พืช กรุงเทพมหานคร โดยใช้ส่วนใบ ดอก และเมล็ด แต่ละส่วนล้างให้สะอาดด้วยน้ำ ผึ่งให้แห้ง หั่นเป็นชิ้นเล็ก แล้วนำไปอบในตู้อบลมร้อนที่อุณหภูมิ 45 °C จนน้ำหนักคงที่ บดให้ละเอียดด้วยเครื่องบด ซึ่งให้ทราบน้ำหนักที่แน่นอน

#### 2.2 การสกัดสารด้วยวิธีอัลตราโซนิค (Ultrasound-Assisted Extraction)

โดยนำผงส่วนใบ ดอก และเมล็ดกะทกรกที่บดละเอียด มาตัวอย่างละ 10 g ละลายในสารละลายเอทานอลความเข้มข้น 70%v/v ปริมาตร 100 mL และนำไปสกัดในเครื่องอัลตราโซนิค ที่ความถี่ 40 kHz ที่อุณหภูมิ 50 °C เป็นเวลา 30 นาที นำไปกรองผ่านผ้าขาวบาง จำนวน 1 ครั้ง นำไปกรองด้วยกระดาษกรองเบอร์ 1 ให้ได้สารสกัดที่ใสและไม่มีตะกอน ทำการสกัดซ้ำ 5 ครั้ง นำไประเหยตัวทำละลายออกด้วยเครื่อง Rotary evaporator ภายใต้ความดัน 175 mbar 121 รอบต่อนาที (rpm) ที่อุณหภูมิ 45 °C นำไปชั่งน้ำหนักเพื่อคำนวณหาร้อยละของน้ำหนักสารสกัด (% yield) ของสารสกัดจากใบ ดอก และเมล็ดกะทกรก เทียบกับน้ำหนักแห้งเริ่มต้นในการสกัด (Kementerian Kesehatan Republik Indonesia, 2017) และเก็บรักษาไว้ที่อุณหภูมิต่ำเพื่อใช้ในการวิเคราะห์ทางเคมีและการทดสอบฤทธิ์ทางชีวภาพในขั้นตอนต่อไป

### 3. วิธีทดสอบทางชีวภาพ

#### 3.1 การตรวจสอบสารพฤกษเคมีเบื้องต้น

ทำการตรวจสอบสารพฤกษเคมีในสารสกัดหยาดส่วนต่างๆ ของกะทกรก ได้แก่ ใบ ดอก และเมล็ดของกะทกรก เพื่อหาสารสำคัญ 9 กลุ่ม ได้แก่ ฟลาโวนอยด์ แอนทราควิโนน คูมาริน ซาโปนิน แทนนิน โพลีฟีนอล เทอร์ปีนอยด์ สเตียรอยด์ และคาร์ดิโกลิโคไซด์ โดยใช้ปฏิกิริยาการเกิดสีหรือตะกอน ซึ่งดัดแปลงจาก วิธีการของ Harborne (1973), Koleva *et al.* (2002) และ Ayoola *et al.* (2008) แต่ละการทดสอบทำการทดสอบซ้ำ 3 ครั้ง ดังนี้

##### 3.1.1 การตรวจสอบฟลาโวนอยด์ (Flavonoids)

ซึ่งสารสกัดจากใบ ดอก และเมล็ดของกะทกรก อย่างละ 0.1 g ละลายด้วย 50% เอทานอล เขย่ากรองและนำของเหลวที่ได้จากการกรอง ใส่หลอดแมกนีเซียมลงไป หยดกรดไฮโดรคลอริกเข้มข้น เขย่าอุ่นบนเครื่องอ่างน้ำ 3 นาที ถ้าปรากฏสารละลายเป็นสีเหลืองเข้ม แสดงว่า พบฟลาโวนอยด์

##### 3.1.2 การตรวจสอบแอนทราควิโนน

(Anthraquinones) ซึ่งสารสกัดจากใบ ดอก และเมล็ดของกะทกรก อย่างละ 0.1 g เติมสารละลาย 10% H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> เขย่า อุ่นบนเครื่องอ่างน้ำ 3 นาที กรองและนำของเหลวที่ได้เติมสารละลายแอมโมเนีย (10% NH<sub>3</sub>) เขย่า หากสารละลายเป็นสีชมพูแดง แสดงว่า พบแอนทราควิโนน

##### 3.1.3 การตรวจสอบคูมาริน (Coumarins)

ซึ่งสารสกัดจากใบ ดอก และเมล็ดของกะทกรก อย่างละ 0.1 g ละลายด้วย 50 % เอทานอล เขย่า กรอง เติมสารละลายโซเดียมไฮดรอกไซด์ (6M NaOH) เขย่า ถ้าสารละลายเป็นสีเหลืองเข้ม แสดงว่า พบคูมาริน

##### 3.1.4 การตรวจสอบซาโปนิน (Saponins)

ซึ่งสารสกัดจากใบ ดอก และเมล็ดของกะทกรก อย่างละ 0.1 g เติมน้ำกลั่น อุ่น 5 นาที เขย่า ถ้าปรากฏฟองถาวรเกิดขึ้นในหลอดทดลอง แสดงว่า พบซาโปนิน

##### 3.1.5 การตรวจสอบแทนนิน (Tannins)

ซึ่งสารสกัดจากใบ ดอก และเมล็ดของกะทกรก อย่างละ 0.1 g เติมน้ำกลั่นปริมาตร 1.0 mL อุ่นบนเครื่องอ่างน้ำ 5 นาที กรอง เติมสารละลายเฟอร์ริกคลอไรด์ (1% FeCl<sub>3</sub>) จำนวน 5 หยด เขย่า ถ้าปรากฏสารละลายสีเขียวดำหรือน้ำเงินดำ แสดงว่า พบแทนนิน

##### 3.1.6 การตรวจสอบโพลีฟีนอลแทนนิน

(Phlobatannins) ซึ่งสารสกัดจากใบ ดอก และเมล็ดของกะทกรก อย่างละ 0.1 g เติมน้ำกลั่น อุ่นบนเครื่องอ่างน้ำ 5 นาที กรอง เติมสารละลายกรดไฮโดรคลอริก (10% HCl) เขย่า แล้วนำไปอุ่น 5 นาที ถ้าปรากฏสารละลายเป็นสีเขียวดำหรือน้ำเงินดำ แสดงว่า พบโพลีฟีนอลแทนนิน

3.1.7 การตรวจสอบเทอร์ปีนอยด์ (Terpenoids) ซึ่งสารสกัดจากใบ ดอก และเมล็ดของกะทกรก อย่างละ 0.1 g ละลายด้วยคลอโรฟอร์ม เขย่า กรอง ค่อยๆ เติมกรดซัลฟิวริก เข้มข้นลงไป ถ้าปรากฏวงแหวนสีน้ำตาลตรงรอยต่อระหว่าง ชั้นของสารสกัดกับกรดซัลฟิวริก แสดงว่า พบเทอร์ปีนอยด์

3.1.8 การตรวจสอบสเตียรอยด์ (Steroids) ซึ่งสารสกัดจากใบ ดอก และเมล็ดของกะทกรก อย่างละ 0.1 g ละลายด้วยคลอโรฟอร์ม เขย่า กรอง เติมกรดกลูเซิลและซีตริก เขย่าแล้วเติมกรดซัลฟิวริกเข้มข้น ถ้าปรากฏสารละลายเป็น สีน้ำเงินหรือน้ำเงินเขียว แสดงว่า พบ สเตียรอยด์

### 3.2 การหาปริมาณฟีนอลิกทั้งหมด

เตรียมสารละลายสารสกัดจากใบ ดอก และ เมล็ดของกะทกรก โดยนำสารสกัดหยาบแต่ละชนิดมาอย่างละ 0.1525 g ละลายด้วย Absolute ethanol ปริมาตร 40 mL จะได้สารละลายตัวอย่างแต่ละชนิด นำสารละลายตัวอย่างแต่ละ ชนิดมา 0.1 mL ใส่ลงในหลอดทดลอง เติมน้ำกลั่นปริมาตร 3 mL เติมสารละลาย 10% Folin-ciocalteu reagent ปริมาตร 0.25 mL เขย่าให้เข้ากันตั้งทิ้งไว้ที่อุณหภูมิห้อง 3 นาที เติม สารละลาย 7.5% โซเดียมคาร์บอเนต ( $\text{Na}_2\text{CO}_3$ ) ปริมาตร 2 mL เขย่าให้เข้ากัน บ่มในที่มืดที่อุณหภูมิห้องเป็นเวลา 30 นาที นำไปวัดค่าการดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 765 nm ด้วยเครื่องสเปกโตรโฟโตมิเตอร์ (UV-Vis spectrophotometer) โดยเตรียมสารละลายมาตรฐานกรดแกลลิกที่มีความเข้มข้น เป็น 2, 4, 8, 10, 12 และ 14 mg/mL สำหรับการทดลองชุด ควบคุมใช้น้ำกลั่น ทำการวิเคราะห์หาปริมาณฟีนอลิกทั้งหมด ในสารสกัดหยาบตัวอย่างโดยเทียบจากกราฟมาตรฐานของ กรดแกลลิกในหน่วยมิลลิกรัมสมมูลของกรดแกลลิกต่อกรัม น้ำหนักสารสกัด (mg GAE/ g extract) แต่ละตัวอย่างทำการ ทดลอง 3 ซ้ำ (Singleton *et al.*, 1999)

### 3.3 การหาปริมาณฟลาโวนอยด์ทั้งหมด

เตรียมสารสกัดจากใบ ดอก และเมล็ดของ กะทกรกให้มีความเข้มข้น 1.0 mg/mL ปิเปตสารละลายแต่ละ ตัวอย่างมาอย่างละปริมาตร 1 mL เติมสารละลาย 10% อะลูมิเนียมคลอไรด์ ( $\text{AlCl}_3$ ) ปริมาตร 1 mL เขย่าให้เข้ากัน บ่ม ในที่มืดที่อุณหภูมิห้องเป็นเวลา 5 นาที เติมสารละลาย 10% กรดอะซิติก ( $\text{CH}_3\text{COOH}$ ) ปริมาตร 0.5 mL ปรับปริมาตรด้วย น้ำกลั่นจนครบ 5 mL เขย่าให้เข้ากันและนำไปวัดค่าการ ดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 420 nm ด้วยเครื่องสเปก โทโฟโตมิเตอร์และเตรียมสารละลายมาตรฐานเคอร์ซีติน (Quercetin) ความเข้มข้นเป็น 0.1, 0.2, 0.3, 0.4 และ 0.5 mg/mL นำไปวัดค่าการดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 420 นาโนเมตร ในหน่วยมิลลิกรัมสมมูลของเคอร์ซีตินต่อกรัม น้ำหนักสารสกัด

(mg QE/ g extract) แต่ละตัวอย่างทำการทดลอง 3 ซ้ำ (Gracelin *et al.*, 2013)

### 3.4 การทดสอบฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระโดยวิธี DPPH Radical scavenging activity

เตรียมสารละลาย DPPH (2,2-diphenyl-1-picrylhydrazyl) ที่ความเข้มข้น 100  $\mu\text{M}$  ในสารละลาย Absolute ethanol และทำการเตรียมสารสกัดจากใบ ดอก และ เมล็ดของกะทกรก ที่ความเข้มข้น 25, 50, 250, 500 และ 1,000  $\mu\text{g/mL}$  ปิเปตสารละลายมาตรฐานหรือสารสกัดแต่ละ ตัวอย่างที่มีความเข้มข้นต่างๆ หยดลงใน 96 well plate หลุมละ 100  $\mu\text{L}$  เติมสารละลาย DPPH 100  $\mu\text{L}$  เขย่าให้เข้า กัน บ่มในที่มืดที่อุณหภูมิห้อง นาน 30 นาที วัดค่าการดูดกลืน แสงที่ความยาวคลื่น 515 nm ด้วยเครื่อง UV-Vis microplate reader ใช้ Trolox เป็นสารมาตรฐาน แต่ละตัวอย่างทำการ ทดลอง 3 ซ้ำ คำนวณหา % Radical scavenging จากสูตร

$$\% \text{ Radical scavenging} = [(Ac - As)/Ac] \times 100$$

Ac คือ ค่าการดูดกลืนแสงที่วัดได้ของสารละลาย DPPH

As คือ ค่าการดูดกลืนแสงที่วัดได้ของสารตัวอย่าง ผสมกับ DPPH

นำค่าที่ได้มาคำนวณหาค่า 50% Inhibitory concentration ( $\text{IC}_{50}$ ) จากกราฟระหว่างความเข้มข้นของสารสกัด และ % Radical scavenging โดยใช้ Trolox เป็นสารละลาย มาตรฐานเพื่อเปรียบเทียบ (Alves *et al.*, 2008; Butsat & Siriamornpun, 2010)

### 3.5 การทดสอบฤทธิ์ยับยั้งเอนไซม์ไทโรซิเนส

ทำการทดสอบด้วยวิธี Dopachrome method เทียบกับสารมาตรฐานเชิงบวก คือ กรดโคจิก (Kojic acid) เตรียมสารสกัดจากใบ ดอก และเมล็ดของกะทกรกและนำมา ละลายด้วย 95 % เอทานอล และเตรียมที่ความเข้มข้น 5, 2.5, 1.25, 0.625 และ 0.3125 mg/mL นำสารละลายที่ได้ไปทดสอบ ฤทธิ์การยับยั้งการทำงานของเอนไซม์ไทโรซิเนส เทียบกับ สารละลายมาตรฐานกรดโคจิกความเข้มข้น 0.05 mg/mL โดย ปิเปตสารสกัดหรือสารมาตรฐานมาปริมาตร 50  $\mu\text{L}$  ลงใน 96- well plate เติม Phosphate buffer pH 6.5 เข้มข้น 0.1 M ปริมาตร 100  $\mu\text{L}$  เติมเอนไซม์ไทโรซิเนส ความเข้มข้น 100 unit/mL ปริมาตร 50  $\mu\text{L}$  ผสม เติม L-DOPA (L-3, 4-dihydroxyphenylalanine) เข้มข้น 2.5 mM ปริมาตร 50  $\mu\text{L}$  บ่มไว้ที่อุณหภูมิ 37  $^{\circ}\text{C}$  นาน 30 นาที นำไปวัดค่าการดูดกลืน แสงที่ 490 nm ด้วยเครื่อง UV-Vis microplate reader แต่ละ

ตัวอย่างทำการทดลอง 3 ซ้ำ นำค่าการดูดกลืนแสงที่ได้คำนวณ %Inhibition ดังสมการ

$$\%Inhibition = [(A_{490 \text{ control}} - A_{490 \text{ sample}}) / A_{490 \text{ control}}] \times 100$$

เปรียบเทียบกับกรดโคจิก (Kojic acid) ซึ่งเป็นสารมาตรฐาน จากนั้นคำนวณหาการยับยั้งเอนไซม์ไทโรซิเนสได้ 50 % ( $IC_{50}$ ) พล็อตกราฟระหว่างค่าร้อยละการยับยั้งเอนไซม์ไทโรซิเนส และความเข้มข้นของสารสกัด (Masuda *et al.*, 2005)

### 3.6 การทดสอบฤทธิ์ยับยั้งเชื้อจุลินทรีย์

โดยทำการทดสอบหาความเข้มข้นต่ำสุดของสารที่สามารถยับยั้งจุลินทรีย์ (Minimum Inhibitory Concentration; MIC) โดยวิธี Microdilution ทำการทดสอบเชื้อจุลินทรีย์ก่อโรค 4 ชนิด ได้แก่ แบคทีเรียแกรมบวก ได้แก่ *Staphylococcus aureus* ATCC 25923 และ *Bacillus subtilis* ATCC 6633 แบคทีเรียแกรมลบ ได้แก่ *Escherichia coli* ATCC 25922 และ *Pseudomonas aeruginosa* ATCC 27853 ทำการเพาะเลี้ยงเชื้อแบคทีเรียก่อโรคทั้ง 4 ชนิด โดยเลี้ยงลงในอาหารเลี้ยงเชื้อ Muller Hinton broth บ่มที่อุณหภูมิ 37 °C เป็นเวลา 18 ชั่วโมง และปรับความเข้มข้นของเชื้อให้ได้ประมาณ  $1 \times 10^8$  cfu/mL เพื่อให้ได้ความขุ่นของแบคทีเรียเทียบเท่า McFarland standards 0.5 มิลลิเมตร ทำการกระจายเชื้อแบคทีเรียบนผิวหน้าอาหาร Muller Hinton agar เจาะหลุมขนาดเส้นผ่านศูนย์กลาง 5 มิลลิเมตร เติมสารสกัดต่างๆ ที่ความเข้มข้น 22.5, 11.25, 5.625, 2.81, 1.40, 0.703, 0.35 และ 0.175 mg/mL หลุมละ 30  $\mu$ L นำไปเลี้ยงเชื้อบ่มที่อุณหภูมิ 37 °C เป็นเวลา 18-24 ชั่วโมง และทำการวัดเส้นผ่านศูนย์กลางของบริเวณใส (Zone of inhibition) ในหน่วยมิลลิเมตร เปรียบเทียบกับ 10% Dimethyl sulfoxide (DMSO) เป็นตัวควบคุมเชิงลบที่ไม่แสดงฤทธิ์ยับยั้งแบคทีเรีย และสารปฏิชีวนะมาตรฐานที่ใช้ทดสอบ คือ Ampicillin (Antibiotic) เป็นตัวควบคุมเชิงบวก เตรียมที่ความเข้มข้น 10  $\mu$ g/mL ทำการเจือจางครั้งละ 2 เท่าจะได้ความเข้มข้นของ Ampicillin เท่ากับ 10, 5, 2.5, 1.25, 0.625, 0.3125, 0.156 และ 0.0781  $\mu$ g/mL แต่ละตัวอย่างทำการทดลอง 3 ซ้ำ (Eiamthaworn *et al.*, 2022; Balouiri *et al.*, 2016; Bagul & Sivakumar, 2016)

**3.7 การศึกษาความเข้มข้นขั้นต่ำสุดในการยับยั้งเชื้อแบคทีเรีย (Minimum inhibition concentration; MIC) โดยวิธี Tube dilution method**

นำสารสกัดแต่ละตัวอย่างแต่ละความเข้มข้นที่เตรียมไว้มาเลี้ยงลงในอาหารเลี้ยงเชื้อ Muller Hinton broth

เติมเชื้อแบคทีเรีย ได้แก่ *Staphylococcus aureus* ATCC 25923 *Bacillus subtilis* ATCC 6633 *Escherichia coli* ATCC 25922 และ *Pseudomonas aeruginosa* ATCC 27863 ที่ความเข้มข้นร้อยละ 1 (v/v) บ่มที่อุณหภูมิ 37 °C เป็นเวลา 24 ชั่วโมง นำมาตรวจสอบผลในการยับยั้ง โดยใช้เข็มเขี่ยเชื้อจากหลอดอาหารที่ผ่านการบ่มเชื้อไปขีดเชื้อแบบง่ายลงบนผิวหน้าอาหารแข็งและบ่มที่อุณหภูมิ 37 °C เป็นเวลา 24 ชั่วโมง นำมาตรวจสอบการเจริญ โดยค่า MIC คือค่าความเข้มข้นต่ำสุดของสารสกัดที่ไม่ปรากฏการเจริญของเชื้อบนจานอาหาร แต่ละตัวอย่างทำการทดลอง 3 ซ้ำ (Eiamthaworn *et al.*, 2022; Balouiri *et al.*, 2016; Bagul & Sivakumar, 2016)

**3.8 การศึกษาค่าความเข้มข้นที่สามารถฆ่าเชื้อแบคทีเรียได้ (Minimal bactericidal concentration: MBC) ด้วยวิธี Plate dilution**

นำสารสกัดแต่ละตัวอย่างแต่ละความเข้มข้นที่เตรียมไว้ มาทำการเจือจางลงในอาหาร Mueller Hinton broth เพาะเชื้อแบคทีเรียโดยบ่มเชื้อที่อุณหภูมิ 37 °C เป็นเวลา 24 ชั่วโมง และนำมาตรวจการทำลายเชื้อทดสอบดูการกระจายเชื้อบนผิวอาหาร Mueller Hinton agar ในปริมาตร 100  $\mu$ L บ่มเชื้อที่อุณหภูมิ 37 °C เป็นเวลา 24 ชั่วโมง ตรวจสอบการเจริญของเชื้อเพื่อตรวจสอบฤทธิ์ทำลายเชื้อแบคทีเรีย อ่านค่า MBC โดยค่า MBC ที่อ่านได้คือค่าความเข้มข้นต่ำสุดของสารสกัดที่ทำให้ไม่ปรากฏการเจริญของเชื้อในจานอาหารที่ทดสอบ แต่ละตัวอย่างทำการทดลอง 3 ซ้ำ (Eiamthaworn *et al.*, 2022; Balouiri *et al.*, 2016; Bagul & Sivakumar, 2016)

**3.9 การทดสอบฤทธิ์ต้านการอักเสบ (Anti-inflammatory activity) ด้วยวิธียับยั้งการหลั่ง Nitric oxide**

เลี้ยงเซลล์ RAW 264.7 ใน 96-well microplates (เซลล์มีความเข้มข้น  $1 \times 10^5$  cells/well) ด้วยอาหาร RPMI-1640 ที่ประกอบด้วย 10% fetal bovine serum (FBS), penicillin-streptomycin (100 /mL) และ streptomycin (100  $\mu$ g/mL) เพาะเลี้ยงเซลล์ในตู้คาร์บอนไดออกไซด์ ( $CO_2$  incubator) ที่อุณหภูมิ 37 °C ในบรรยากาศที่มีคาร์บอนไดออกไซด์ 5% เป็นเวลา 1 ชั่วโมง หลังจากนั้นดูดสารละลายเก่าออกและทำการเติม Lipopolysaccharide (LPS) 5 ng/mL ที่อยู่ใน RPMI-1640 หลุมละ 100  $\mu$ L จากนั้นเติมสารละลายตัวอย่างที่ความเข้มข้น 1, 10, 50 และ 100  $\mu$ g/mL อย่างละ 100  $\mu$ L นำไปบ่มที่อุณหภูมิ 37 °C เป็นเวลา 48 ชั่วโมง หลังจาก 48 ชั่วโมง ดูด supernatant แต่ละหลุมมา 100  $\mu$ L ใส่ใน 96-well plates เติม Griess reagent หลุมละ 100  $\mu$ L ทำการวัดค่าดูดกลืนแสงที่ 570 nm ด้วยเครื่อง UV-Vis microplate reader แต่ละตัวอย่างทำการทดลอง 3 ซ้ำ การคำนวณร้อยละการยับยั้งการหลั่ง NO ดังนี้

$$\% \text{ Inhibition} = [(A-B) / (A-C)] \times 100$$

โดยที่ A-C: nitrite concentration; A : LPS (+), sample (-), B : LPS (+), sample (+), C : LPS (-), sample (-)

สร้างกราฟระหว่าง % Inhibition และความเข้มข้นของตัวอย่างเพื่อหาความเข้มข้นของตัวอย่างที่สามารถยับยั้ง NO ที่ 50% ( $IC_{50}$ ) (Tewtrakul & Subhadhirasakul, 2008)

### 3.10 การทดสอบความเป็นพิษของเซลล์ด้วยวิธี MTT assay

โดยนำเซลล์ที่ปนกับสารสกัดที่ความเข้มข้นต่าง ๆ 48 ชั่วโมง เติมสารละลาย 3-[4,5-dimethylthiazol-2-yl]-2,5-diphenyltetrazolium bromide (MTT) หลุมละ 10  $\mu$ L ปั่นที่อุณหภูมิ 37 °C เป็นเวลา 2 ชั่วโมง ดูด Supernatant ออกทุกหลุม เติม Isopropanol ใน 0.04 M กรดไฮโดรคลอริก ปริมาตร 100  $\mu$ L เขย่า วัดค่าการวัดค่าดูดกลืนแสงที่ 570 nm ด้วยเครื่อง UV-Vis microplate reader โดยแต่ละการทดลองทำการทดลองซ้ำ 3 ครั้ง คำนวณ % survival ตามสมการ

$$\text{The Percentage of survival} = (\text{Abs.Sample} / \text{Abs.Control}) \times 100$$

โดยสารสกัดที่จะนำไปคำนวณหา  $IC_{50}$  ต้องมีค่า % Survival มากกว่า 70 (Tewtrakul & Subhadhirasakul, 2008)

**Table 1** Physical characteristics of *Passiflora foetida* Linn. extracts.

| sample           | (% yield) | Characteristics of Extracts |
|------------------|-----------|-----------------------------|
| Leaves extracts  | 30        | Dark brown viscous liquid   |
| flowers extracts | 14        | Dark brown viscous liquid   |
| seeds extracts   | 21        | Dark brown viscous liquid   |

ค่าร้อยละของน้ำหนักรสสารสกัดหยาบจากใบกะทกรก แสดงให้เห็นว่าใบกะทกรกมีปริมาณสารที่ละลายในเอทานอลสูงกว่าส่วนอื่นๆ อาจเป็นเพราะในใบมีการสะสมของสารทุติยภูมิ (Secondary metabolites) เช่น สารประกอบฟีนอลิก ฟลาโวนอยด์ และสารประกอบเชิงซ้อนอื่น ๆ ที่สามารถละลายได้ดีในตัวทำละลายเอทานอล ส่งผลให้ได้ปริมาณสารสกัดสูงกว่าเมื่อเปรียบเทียบกับส่วนอื่นของพืช ซึ่งสอดคล้องกับงานวิจัยของ Dhawan *et al.* (2004) ที่พบว่า ใบของพืชในสกุล *Passiflora* มีการสะสมสารทุติยภูมิในปริมาณสูง ส่วนค่า

## 4. การวิเคราะห์ข้อมูลทางสถิติ

การทดลองวางแผนแบบ Completely Randomized Design (CRD) ประกอบด้วย 3 ทรีตเมนต์ ได้แก่ สารสกัดจากใบ ดอก และเมล็ดของกะทกรก โดยแต่ละทรีตเมนต์ทำการทดลองซ้ำ 3 ครั้ง และรายงานผลเป็นค่าเฉลี่ย  $\pm$  ส่วนเบี่ยงเบนมาตรฐาน (mean  $\pm$  SD) ข้อมูลที่ได้จากการทดลองนำมาวิเคราะห์ความแปรปรวนด้วยวิธี One-way Analysis of Variance (ANOVA) และเปรียบเทียบความแตกต่างของค่าเฉลี่ยระหว่างทรีตเมนต์ด้วยวิธี Duncan's Multiple Range Test (DMRT) ที่ระดับนัยสำคัญทางสถิติ  $p < 0.05$

## ผลการทดลองและอภิปรายผล

### 1. ผลการสกัดกะทกรก

จากผลการทดลอง พบว่า การสกัดส่วนต่างๆ ของกะทกรก ได้แก่ ส่วนใบ ดอก และเมล็ด ด้วยวิธีอัลตราโซนิก โดยใช้ตัวทำละลายเอทานอลเข้มข้น 70%v/v ให้ค่าร้อยละของน้ำหนักรสสารสกัด (%yield) ที่แตกต่างกันในแต่ละส่วนของพืช โดยส่วนใบจากกะทกรกให้ค่าร้อยละของน้ำหนักรสสารสกัดสูงที่สุด (30%) รองลงมาคือ เมล็ด (21%) และดอก (14%) ตามลำดับ ลักษณะของสารสกัดหยาบที่ได้เป็นของเหลวหนืดสีน้ำตาลเข้ม ผลดัง Table 1

ร้อยละของน้ำหนักรสสารสกัดหยาบจากเมล็ดกะทกรกสูงกว่าดอกกะทกรก อาจเกิดจากในเมล็ดมีการสะสมสารประเภทน้ำมันและไขมันที่ละลายได้บางส่วนในเอทานอล รวมถึงสารประกอบฟีนอลิก แทนนิน และ ซาโปนิน ซึ่งสอดคล้องกับการศึกษาของ Ingale and Hivrale (2010) ที่รายงานว่าเมล็ดพืชมักมีการสะสมสารประกอบที่เป็นแหล่งพลังงาน รวมถึงสารที่ช่วยป้องกันเมล็ดจากสภาพแวดล้อมและการเข้าทำลายของจุลินทรีย์ และการที่ดอกกะทกรกมีค่า % yield ต่ำที่สุด (14 %) อาจเนื่องมาจากส่วนดอกของพืชหลายชนิดมักมีการสะสม

สารทุติยภูมิในปริมาณที่น้อยกว่าส่วนใบ เนื่องจากดอกมีหน้าที่หลักในการสืบพันธุ์มากกว่าการป้องกันตัวเองจากสภาพแวดล้อมภายนอก (Jiang *et al.*, 2016)

นอกจากนี้ประสิทธิภาพของการสกัดด้วยวิธีอัลตราโซนิกในการศึกษานี้มีความสอดคล้องกับงานวิจัยของ Chemat *et al.* (2017) ที่รายงานว่า การสกัดด้วยอัลตราโซนิกช่วยเพิ่มการแพร่ของสารละลายเข้าสู่เซลล์พืชและช่วยให้การสกัดมีประสิทธิภาพมากขึ้น โดยเฉพาะสำหรับสารประกอบฟีนอลิก ฟลาโวนอยด์ และแอลคาลอยด์ และงานวิจัยของ

Annegowda *et al.* (2012) ที่พบว่าการสกัดพืชสมุนไพรด้วยอัลตราโซนิกใช้เวลาน้อยกว่าและได้ปริมาณสารออกฤทธิ์ทางชีวภาพมากกว่าวิธีการสกัดแบบดั้งเดิม

## 2. ผลการตรวจสอบสารพฤษเคมีเบื้องต้น

เมื่อนำสารสกัดหยาบส่วนต่าง ๆ ของกะทกรก ได้แก่ ส่วนใบ ดอก และเมล็ดมาทำการตรวจสอบสารพฤษเคมีเบื้องต้น โดยอาศัยปฏิกิริยาการเกิดสีหรือตะกอน พบว่า สารสกัดหยาบส่วนใบ ดอก และเมล็ด ตรวจพบ ฟลาโวนอยด์ คูมาริน ซาโปนิน แทนนิน และ เทอร์ปีนอยด์ ผลดัง Table 2

**Table 2** Preliminary phytochemical screening of *Passiflora foetida* Linn. extracts.

| sample           | Flavonoids | Anthaquinones | Coumarins | Saponins | Tannins | Phlobatannins | Terpenoids | Steroids |
|------------------|------------|---------------|-----------|----------|---------|---------------|------------|----------|
| Leaves extracts  | +          | -             | +         | +        | +       | -             | +          | -        |
| flowers extracts | +          | -             | +         | +        | +       | -             | +          | -        |
| seeds extracts   | +          | -             | +         | +        | +       | -             | +          | -        |

**Note:** - = no detected ; + = detected

ผลการวิเคราะห์ครั้งนี้สอดคล้องกับงานวิจัยของ Dhawan *et al.* (2004) ที่ได้รายงานว่าพืชสกุล *Passiflora* มีฟลาโวนอยด์เป็นองค์ประกอบหลัก ซึ่งมีฤทธิ์ทางชีวภาพที่หลากหลาย โดยเฉพาะฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระและต้านการอักเสบ ส่วนการตรวจพบคูมารินในสารสกัดทุกส่วนนั้นสอดคล้องกับการศึกษาของ Madikizela *et al.* (2012) ที่ระบุว่าสารประกอบนี้มีความสามารถในการยับยั้งเอนไซม์ DNA gyrase ของแบคทีเรีย ซึ่งอธิบายประสิทธิภาพการต้านเชื้อจุลินทรีย์ที่ปรากฏในสารสกัด สำหรับซาโปนินที่ตรวจพบนั้นสอดคล้องกับงานวิจัยของ Farha *et al.* (2020) ที่รายงานว่าซาโปนินในพืชสมุนไพรสามารถทำลายเยื่อหุ้มเซลล์ของเชื้อแบคทีเรียและยับยั้งเอนไซม์ cyclooxygenase-2 (COX-2) ซึ่งเกี่ยวข้องกับการอักเสบ การพบแทนนินในทุกส่วนของกะทกรกสอดคล้องกับงานวิจัยของ Agunu *et al.* (2005) ที่ชี้ให้เห็นว่าพืชที่มีแทนนินสูงมักมีฤทธิ์ต้านจุลชีพและต้านการอักเสบ โดยสามารถจับกับโปรตีนและเอนไซม์ของเชื้อจุลินทรีย์ ทำให้เสียสภาพและยับยั้งการเจริญเติบโต รวมถึงจับกับเอนไซม์ที่เกี่ยวข้องกับกระบวนการอักเสบ และเทอร์ปีนอยด์ที่ตรวจพบยังสอดคล้องกับงานวิจัยของ Trombetta *et al.* (2005) ที่พบว่าสารกลุ่มนี้มีฤทธิ์ต้านจุลชีพโดยการแทรกซึมเข้าไปในผนังเซลล์ของแบคทีเรียและทำให้เยื่อหุ้มเซลล์เสียสภาพ

## 3. ผลการหาปริมาณฟีนอลิกทั้งหมดและปริมาณฟลาโวนอยด์ทั้งหมด

จากการนำสารสกัดหยาบที่ได้จากการสกัดส่วนต่าง ๆ ของกะทกรก ได้แก่ ส่วนใบ ดอก และเมล็ดมาทำการหาปริมาณฟีนอลิกทั้งหมด โดยใช้วิธี Folin-ciocalteu และปริมาณฟลาโวนอยด์ทั้งหมดด้วยวิธี Aluminium chloride colorimetric พบว่า สารสกัดหยาบส่วนต่างๆ ของกะทกรกมีปริมาณฟีนอลิกทั้งหมดอยู่ในช่วง 13.11-47.06 mg GAE /g extract โดยสารสกัดหยาบใบกะทกรกมีปริมาณฟีนอลิกทั้งหมดสูงที่สุดเท่ากับ 47.06 mg GAE /g extract รองลงมาคือ สารสกัดหยาบเมล็ด และ ดอกกะทกรก เท่ากับ 33.36 และ 13.11 mg GAE /g extract ตามลำดับ ผลดังตารางที่ 3 และมีปริมาณฟลาโวนอยด์ทั้งหมดอยู่ในช่วง 18.25-50.87 mg QE/g extract โดยสารสกัดหยาบใบกะทกรกมีปริมาณฟลาโวนอยด์ทั้งหมดสูงที่สุดเท่ากับ 50.87 mg QE/g extract รองลงมาคือ สารสกัดหยาบเมล็ด และ ดอกกะทกรก เท่ากับ 31.12 และ 18.25 mg QE/g extract ผลดัง Table 2

เมื่อเปรียบเทียบผลการวิจัยครั้งนี้กับงานวิจัยก่อนหน้า พบว่ามีทั้งความคล้ายคลึงและความแตกต่างที่โดยจากการศึกษาของ Revathy and Sunilkumar (2019) พบว่า สารสกัดเมทานอลจากผลกะทกรกมีปริมาณฟีนอลิกทั้งหมดเท่ากับ 24.1 mg GAE/g extract ซึ่งสูงกว่าผลการวิจัยครั้งนี้

ที่พบในส่วนใบ (47.06 mg GAE/g extract) ค่อนข้างมาก ความแตกต่างนี้อาจเกิดจากปัจจัยทางสภาพแวดล้อมในการเพาะปลูก ช่วงเวลาในการเก็บเกี่ยว หรือความแตกต่างของส่วนของพืชที่นำมาศึกษา เนื่องจากส่วนผลอาจมีการสะสมสารประกอบฟีนอลิกในปริมาณที่แตกต่างจากส่วนใบ

ผลการศึกษานี้จะเห็นได้ว่าสารประกอบฟีนอลิกและสารประกอบฟลาโวนอยด์จะพบมากในส่วนของใบ เนื่องจากใบจะมีการสะสมสารประกอบโพลีฟีนอลมาก เพื่อที่ใช้ในการป้องกันและกำจัดอนุมูลอิสระที่เกิดมาจากความเข้มแสงที่พืชได้รับ (Chua, 2016) และจากการศึกษาของ Revathy and Sunilkumar (2019) พบว่า สารสกัดเมทานอลจากผลกระทกรมีปริมาณ ฟลาโวนอยด์ทั้งหมดเท่ากับ 9.066 mg RE/ g extract ซึ่งสูงกว่าค่าที่พบในงานวิจัยนี้ แม้จะใช้สารมาตรฐานที่แตกต่างกัน (RE กับ QE) ซึ่งอาจเป็นอีกหนึ่งปัจจัยที่ทำให้ผลการวิเคราะห์มีความแตกต่างกัน นอกจากนี้การวิเคราะห์สารฟลูเคมิของสารสกัดน้ำและเมทานอลจากต้นกระทกร แสดงค่าปริมาณสารประกอบฟีนอลิกทั้งหมดอยู่ในช่วง 22.28–36.91 mg GAE/ g extract และปริมาณสารประกอบฟลาโวนอยด์ทั้งหมด อยู่ในช่วง 3.22–50.11 mg RE /g (Chiavaroli *et al.*, 2020) ซึ่งค่าที่ได้สูงกว่าผลการวิจัยในครั้งนี้ ความแตกต่างนี้อาจเกิดจากวิธีการสกัด ชนิดของตัวทำละลายที่ใช้ในการสกัด ระยะเวลาและอุณหภูมิที่ใช้ในการสกัด ซึ่งล้วนเป็นปัจจัยสำคัญที่ส่งผลต่อปริมาณสารสำคัญที่สกัดได้

ผลการศึกษาของ Tandoro *et al.* (2020) พบว่า สารสกัดหยาบจากใบและดอกของกระทกรที่ทำการสกัดด้วยน้ำมีปริมาณฟีนอลิกทั้งหมด เท่ากับ 22.92±0.18 mg GAE/g extract และ 6.53±1.02 mg GAE/g extract ตามลำดับ ซึ่งสูงกว่าผลการวิจัยครั้งนี้ที่พบในส่วนใบ (47.06 mg GAE/g extract) และดอก (13.11 mg GAE/g extract) อย่างไรก็ตาม เมื่อพิจารณาสัดส่วนความแตกต่างระหว่างปริมาณสารในใบและดอก จะพบว่าแนวโน้มไปในทิศทางเดียวกัน คือ ใบจะมีปริมาณสารสำคัญสูงกว่าในดอกและสารสกัดหยาบจากใบและดอกของกระทกรมีปริมาณฟลาโวนอยด์ทั้งหมด เท่ากับ 7.01±0.10 mg CE/g สารสกัดแห้ง และ 1.56±0.27 mg CE/g extract ตามลำดับ เมื่อเทียบกับผลการวิจัยครั้งนี้ที่พบในส่วนใบ (50.87 mg QE/g extract) และดอก (18.25 mg QE/g extract) จะเห็นว่าค่าที่ใกล้เคียงกัน โดยเฉพาะในส่วนของดอก ทั้งนี้ ความแตกต่างเล็กน้อยอาจเกิดจากการใช้สารมาตรฐานที่แตกต่างกัน

ความแตกต่างของปริมาณสารสำคัญที่พบในงานวิจัยต่างๆ นั้น นอกจากจะมีสาเหตุจากวิธีการวิเคราะห์ ตัวทำละลาย และส่วนของพืชที่ใช้แล้ว ยังอาจเกิดจากปัจจัยทาง

สภาพแวดล้อมในการเพาะปลูก เช่น องค์ประกอบของดิน สภาพภูมิอากาศ ความสูงของพื้นที่ปลูก ช่วงเวลาในการเก็บเกี่ยว (พืชจะสะสมสารประกอบที่แตกต่างกันในแต่ละช่วงการเจริญเติบโต) อายุของพืช และสภาพการเก็บรักษาวัตถุดิบก่อนนำมาสกัด ซึ่งล้วนเป็นปัจจัยสำคัญที่ส่งผลต่อปริมาณสารสำคัญในพืช อย่างไรก็ตาม แม้จะมีความแตกต่างในเชิงปริมาณ แต่แนวโน้มที่พบว่าส่วนใบมีปริมาณสารประกอบฟีนอลิกและฟลาโวนอยด์สูงกว่าส่วนอื่นๆ ยังคงเป็นไปในทิศทางเดียวกันกับงานวิจัยอื่นๆ ซึ่งสอดคล้องกับข้อสังเกตของ Chua (2016) ที่ว่าใบมีการสะสมสารประกอบโพลีฟีนอลในปริมาณมากเพื่อป้องกันความเครียดออกซิเดชันที่เกิดจากการสัมผัสกับแสง

#### 4. ผลการทดสอบฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระโดยวิธี

##### DPPH Radical scavenging activity

การทดสอบฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระโดยใช้ออนุมูล DPPH• ด้วยวิธีทางสเปกโทรเมทรี เป็นหนึ่งในวิธีที่ได้รับความนิยมมากที่สุด ในการหาความสามารถในการต้านอนุมูลอิสระของอาหาร เครื่องดื่ม และสารสกัดจากพืชผัก โดยจะเลือกใช้ค่าการดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่นที่ 515 นาโนเมตร สารต้านอนุมูลอิสระที่ใช้เป็นสารมาตรฐาน คือ Trolox (Miller *et al.*, 1995) จากการนำส่วนใบ ดอก และเมล็ด มาทำการทดสอบฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระ พบว่า สกัดหยาบใบกระทกรมีฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระสูงที่สุดโดยมีค่า  $IC_{50}$  เท่ากับ 612.25 µg/L รองลงมาคือ สารสกัดหยาบเมล็ด และ ดอกกระทกร โดยมีค่า  $IC_{50}$  เท่ากับ 642.33 และ 671.68 µg/mL ตามลำดับ โดยมีประสิทธิภาพดีกว่าสารมาตรฐาน Trolox ที่มีค่า  $IC_{50}$  เท่ากับ 701.09 µg/mL ผลการทดลองนี้สอดคล้องกับงานวิจัยของ Ajane and Patil (2019) ที่พบว่าสารสกัดน้ำจากใบกระทกรมีฤทธิ์การต้านอนุมูลอิสระ โดยีค่า  $IC_{50}$  เท่ากับ 614.405 µg/L แตกต่างจากการศึกษาของ de Melo Filho *et al.* (2018) ที่พบว่าสารสกัดเฮกเซนจากใบกระทกรมีร้อยละการต้านอนุมูลอิสระเพียง 17.97% และค่า  $IC_{50}$  อยู่ระหว่าง 10-20 mg/L งานวิจัยของ สุรพล พหลภาคย์ และคณะ (2556) ยังพบว่าสารสกัดชั้นเอทานอล ชั้นน้ำที่อุณหภูมิห้อง และน้ำต้มเดือดมีฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระสูงสุดคิดเป็นร้อยละ 74.37, 48.08 และ 47.21 ตามลำดับ ผลดัง Table3 ทั้งนี้ฤทธิ์การต้านอนุมูลอิสระขึ้นอยู่กับปัจจัยหลายประการ อาทิ ชนิดของสารสกัด ตัวทำละลายที่ใช้ ความเข้มข้นของสารสกัด และปริมาณสารประกอบฟีนอลิกและฟลาโวนอยด์ตามที่ Alara *et al.* (2019) ได้รายงานไว้ โดยปริมาณสารประกอบฟีนอลิกมีความสัมพันธ์โดยตรงกับความสามารถในการต้านอนุมูลอิสระด้วยวิธี DPPH ตามที่ เนตรนภา เมยกลาง และเฉลิม เรืองวิริยะชัย (2557) ได้ศึกษา ดังนั้น ฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระจะเพิ่มขึ้น ตามปริมาณฟีนอลิกทั้งหมด และ

ปริมาณฟลาโวนอยด์ทั้งหมดที่เพิ่มขึ้น (อาร์รันทน์ ไสสอง และขวัญเรือน นาคสุวรรณกุล, 2566)

##### 5. ผลการทดสอบฤทธิ์ยับยั้งเอนไซม์ไทโรซิเนส

การทดสอบฤทธิ์ยับยั้งเอนไซม์ ไทโรซิเนสของสารสกัดหยาบที่ได้จากการสกัดส่วนต่างๆ ของกะทกรก ได้แก่ ส่วนใบ ดอก และเมล็ดที่สกัดด้วยตัวทำละลาย เอทานอล โดยวิธี Dopachrome method โดยใช้สารมาตรฐานเชิงบวก คือ กรดโคจิก ผลการทดสอบ พบว่า สกัดหยาบใบกะทกรกมีฤทธิ์ยับยั้งเอนไซม์ ไทโรซิเนสสูงที่สุดโดยมีค่า  $IC_{50}$  เท่ากับ 202.39  $\mu\text{g/mL}$  รองลงมาคือ สารสกัดหยาบเมล็ด และ ดอกกะทกรก โดยมีค่า  $IC_{50}$  เท่ากับ เท่ากับ 249.80 และ 301.38  $\mu\text{g/mL}$  ตามลำดับ ผลดังตารางที่ 2 และสามารถยับยั้งเอนไซม์ ไทโรซิเนสได้ดีกว่าสารมาตรฐานกรดโคจิก ที่มีค่า  $IC_{50}$  เท่ากับ 312.94  $\mu\text{g/mL}$  ผลการทดลองชี้ให้เห็นว่า สารสกัดเอทานอลจากใบ ดอก และเมล็ดของกะทกรกมีฤทธิ์ยับยั้งเอนไซม์ไทโรซิเนส

ฤทธิ์ในการยับยั้งเอนไซม์ไทโรซิเนสของสารสกัดจากส่วนต่างๆ ของกะทกรกอาจจะมาจากกลุ่มของไฮดรอกซิลของสารประกอบฟีนอลิกในสารสกัดเกิดพันธะไฮโดรเจนกับกรดอะมิโนในตำแหน่ง active site ของเอนไซม์ไทโรซิเนสได้ ทำให้ความสามารถของเอนไซม์ลดลง และฤทธิ์ในการยับยั้งเอนไซม์ไทโรซิเนส อาจเป็นผลมาจากสารประกอบฟีนอลที่พบในตัวอย่างพืช สารประกอบฟีนอลหลายชนิด เช่น kojic acid, kaempferol และ quercetin (Kim & Uyama, 2005; Solano *et al.*, 2006) นอกจากนี้ยัง พบว่า ฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระมีความเกี่ยวข้องกับฤทธิ์ยับยั้งเอนไซม์ไทโรซิเนส โดยกลไกที่สำคัญคือ สารต้านอนุมูลอิสระ โดยเฉพาะสารประกอบฟีนอลิก สามารถจับกับทองแดงที่เป็นส่วนประกอบสำคัญในบริเวณเร่งของเอนไซม์ไทโรซิเนส และสามารถยับยั้งการทำงานของเอนไซม์ไทโรซิเนสได้ นอกจากนี้สารต้านอนุมูลอิสระยังสามารถลดระดับการเกิดออกซิเดชันในกระบวนการสร้างเมลานินได้ด้วย (Chang, 2009; Masuda *et al.*, 2005) ซึ่งอาจเป็นเหตุผลที่ทำให้สารสกัดจากใบกะทกรกซึ่งมีปริมาณสารประกอบฟีนอลิกสูงสุด จึงมีประสิทธิภาพในการยับยั้งเอนไซม์ไทโรซิเนสได้ดีที่สุดด้วย

**Table 3** Total phenolic content (TPC), total flavonoid content (TFC), and antioxidant activity (DPPH radical scavenging) of *Passiflora foetida* Linn. extracts.

| Sample           | Total phenolic content<br>(mg GAE/g extract) | Total Flavonoid Content<br>(mg QE/g extract) | Antioxidant Activity<br>$IC_{50}$ ( $\mu\text{g/mL}$ ) | Tyrosinase Inhibition<br>Activity $IC_{50}$ ( $\mu\text{g/mL}$ ) |
|------------------|----------------------------------------------|----------------------------------------------|--------------------------------------------------------|------------------------------------------------------------------|
| Leaves extracts  | 47.06 $\pm$ 0.01 <sup>A</sup>                | 50.87 $\pm$ 0.88 <sup>A</sup>                | 612.25 $\pm$ 0.00 <sup>A</sup>                         | 202.39 $\pm$ 0.02 <sup>A</sup>                                   |
| flowers extracts | 13.11 $\pm$ 0.01 <sup>B</sup>                | 18.25 $\pm$ 0.02 <sup>B</sup>                | 671.68 $\pm$ 0.01 <sup>B</sup>                         | 301.38 $\pm$ 0.06 <sup>B</sup>                                   |
| seeds extracts   | 33.36 $\pm$ 0.01 <sup>C</sup>                | 31.12 $\pm$ 0.03 <sup>C</sup>                | 642.33 $\pm$ 0.02 <sup>C</sup>                         | 249.80 $\pm$ 0.06 <sup>C</sup>                                   |
| trolox           | -                                            | -                                            | 701.09 $\pm$ 0.02                                      | -                                                                |
| kojic acid       | -                                            | -                                            | -                                                      | 312.94 $\pm$ 0.01 <sup>D</sup>                                   |

**Note:** Values are expressed as mean  $\pm$  SD (n = 3). Different uppercase letters (A–D) within the same column denote significant differences among samples at  $p < 0.05$  Trolox and kojic acid were used as positive controls for antioxidant and tyrosinase inhibition assays, respectively.

จาก Table 3 จะพบว่า สารสกัดหยาบจากใบ ดอก และเมล็ดของกะทกรกมีปริมาณ Phenolic, Flavonoid, Antioxidant Activity, Tyrosinase Inhibition Activity และ Anti-inflammatory Activity แตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ( $p < 0.05$ )

##### 6. ผลการทดสอบฤทธิ์ยับยั้งเชื้อจุลินทรีย์

ผลการทดสอบฤทธิ์ยับยั้งเชื้อจุลินทรีย์ แบคทีเรียแกรมบวก ได้แก่ *Staphylococcus aureus* ATCC 25923 และ *Bacillus subtilis* ATCC 6633 แบคทีเรียแกรมลบ ได้แก่ *Escherichia Coli* ATCC 25922 และ *Pseudomonas*

*aeruginosa* ATCC 27853 ของสารสกัดหยาบส่วนต่าง ๆ ของกะทกรก พบว่า สารสกัดหยาบใบกะทกรกมีฤทธิ์ยับยั้งเชื้อจุลินทรีย์ทั้ง 4 ชนิด โดยจะสามารถยับยั้งเชื้อ *Staphylococcus aureus* ATCC 25923 ได้ดีที่สุด รองลงมาคือเชื้อ *Bacillus subtilis* ATCC 6633, *Escherichia coli* ATCC 25922 และ *Pseudomonas aeruginosa* ATCC 27853 และสามารถยับยั้งได้ดีกว่าสารสกัดหยาบจากดอก และเมล็ดของกะทกรก ตามลำดับ ผลดัง Table 4 เมื่อเทียบกับสารมาตรฐานยาปฏิชีวนะ ampicillin

เมื่อทำการหาความเข้มข้นต่ำสุดในการยับยั้งเชื้อแบคทีเรีย (MIC) และความเข้มข้นที่สามารถฆ่าเชื้อแบคทีเรียได้ (MBC) พบว่า มีค่า MIC ของสารสกัดหยาดต่อเชื้อแบคทีเรียทั้งหมด แสดงดัง Table 5 อยู่ที่ 1-2.5 mg/mL และสารสกัดหยาดใบกะทกรกมีการยับยั้งเชื้อแบคทีเรียได้ดีที่สุด โดยมีค่า MIC ของสารสกัดอยู่ที่ 1.40 mg/mL และเมื่อทำการทดสอบหาค่า MBC ที่สามารถยับยั้งการเจริญของเชื้อ *Staphylococcus aureus* ATCC 25923, *Bacillus subtilis* ATCC 6633, *Escherichia coli* ATCC 25922 และ *Pseudomonas aeruginosa* ATCC 27853 พบว่า สารสกัดหยาดใบ ดอก และเมล็ดจากกะทกรกที่ความเข้มข้น 22.5 mg/mL สามารถยับยั้งเชื้อ *Staphylococcus aureus* ATCC 25923 *Bacillus subtilis* ATCC 6633, *Escherichia coli* ATCC 25922 และ *Pseudomonas aeruginosa* ATCC 27853 ได้ และผลที่ได้จากการทดลองมีความสอดคล้องกับงานวิจัยของ Akila & Haroon (2022) ที่รายงานว่า สารสกัดจากใบกะทกรกด้วยเอทานอลมีฤทธิ์ต้านเชื้อ *Staphylococcus aureus*, *Escherichia coli* และ *Pseudomonas aeruginosa* ที่ความเข้มข้น 100–200 µg/mL และสอดคล้องกับงานวิจัยของ Mohanasundari *et al.* (2007) ที่พบว่า สารสกัดจากใบและผลกะทกรกด้วยเอทานอลและอะซิโตนสามารถยับยั้งเชื้อเชื้อจุลินทรีย์ ได้แก่ *Pseudomonas putida*, *Vibrio cholera*, *Shigella flexneri* และ *Staphylococcus pyogenes* ได้ดีกว่าสารสกัดจากผลกะทกรกโดยใช้วิธี well-in Agar สอดคล้องกับงานวิจัยของ Baby *et al.* (2010) พบว่า สารสกัดจากรากพวงห้อยกะทกรกใน เมทานอลมีฤทธิ์ยับยั้งจุลินทรีย์ ได้แก่ *Staphylococcus epidermidis*, *Bacillus subtilis*, *Klebsiella pneumoniae*, *Pseudomonas aeruginosa* และ *Escherichia coli* เมื่อเปรียบเทียบกับยาปฏิชีวนะมาตรฐาน และสอดคล้องกับงานวิจัยของ de Melo

Filho *et al.* (2018) พบว่า สารสกัดใบกะทกรกที่สกัดด้วยเฮกเซนสามารถยับยั้งได้ทั้งแบคทีเรียแกรมบวก และแกรมลบ โดยสามารถยับยั้งเชื้อแบคทีเรียแกรมบวก *Staphylococcus aureus* ได้สูงที่สุด โดยมีค่าการยับยั้ง 88.25% ที่ความเข้มข้น 250 µg/mL สำหรับเชื้อ *B. cereus* แสดงการยับยั้งที่ 77.93% ที่ความเข้มข้น 250 µg/mL สำหรับกลุ่มแบคทีเรียแกรมลบ *Salmonella typhimurium* แสดงการยับยั้งที่ 83.21% ที่ความเข้มข้น 62.5 µg/mL แบคทีเรีย *Citrobacter Freudii* แสดงการยับยั้งที่ 82.74% ที่ความเข้มข้น 62.5 µg/mL โดยใช้ยาปฏิชีวนะ ampicillin ซึ่งเป็นตัวควบคุมบวก ส่วน miconazole ซึ่งเป็นตัวควบคุมบวกในการยับยั้งเชื้อรา พบว่า สามารถแสดงการยับยั้งเชื้อ *Candida albicans* ที่ 93.7% ในขณะที่สารสกัดจากใบกะทกรกที่ความเข้มข้น 250 µg/mL สามารถยับยั้งเชื้อ *Candida albicans* ได้ 53.29% ซึ่งจากผลการทดลองสารสกัดหยาดจากใบกะทกรกมีฤทธิ์ต้านจุลินทรีย์สูงกว่าส่วนอื่นๆ ของพืช ซึ่งน่าจะมีความสัมพันธ์กับปริมาณสารสำคัญกลุ่มฟีนอลิกและฟลาโวนอยด์ที่พบในใบมากกว่า (Mohanasundari *et al.*, 2007; Sasikala *et al.*, 2011) และอาจเนื่องมาจากการที่แบคทีเรียแกรมบวกมีความไวต่อสารสกัดมากกว่าแบคทีเรียแกรมลบ ซึ่งอาจเกิดจากโครงสร้างของผนังเซลล์ที่แตกต่างกัน (Tegos *et al.*, 2002; Nikaido, 2003; Cowan, 2011) สำหรับประสิทธิภาพที่พบอาจเกี่ยวข้องกับสารพิษเคมีหลายชนิดที่พบในพืช เช่น ฟลาโวนอยด์ แทนนิน เทอร์ปีนอยด์ และซาโปนิน ซึ่งมีกลไกการออกฤทธิ์ในการทำลายเยื่อหุ้มเซลล์ของแบคทีเรีย ยับยั้งการสร้างผนังเซลล์ หรือรบกวนการสร้างโปรตีนของแบคทีเรีย (Cushnie & Lamb, 2005; Scalbert, 1991; Dhawan *et al.*, 2004; Trombetta *et al.*, 2005; Sparg *et al.*, 2004)

**Table 4** Antibacterial activities of crude extracts from different parts of *Passiflora foetida* Linn.

| Bacterial Strains               | Inhibition zone, mm ± SD |                          |                          |                           |
|---------------------------------|--------------------------|--------------------------|--------------------------|---------------------------|
|                                 | Leaves extracts          | flowers extracts         | seeds extracts           | ampicillin                |
| <i>S. aureus</i> ATCC 25923     | 8.60 ± 0.07 <sup>B</sup> | 5.12 ± 0.10 <sup>D</sup> | 6.80 ± 0.07 <sup>C</sup> | 12.39 ± 0.05 <sup>A</sup> |
| <i>B. subtilis</i> ATCC 6633    | 6.55 ± 0.30 <sup>B</sup> | 4.41 ± 0.12 <sup>D</sup> | 5.36 ± 0.07 <sup>C</sup> | 10.38 ± 0.30 <sup>A</sup> |
| <i>E. Coli</i> , ATCC 25922     | 5.43 ± 0.29 <sup>B</sup> | 3.29 ± 0.09 <sup>D</sup> | 4.11 ± 0.09 <sup>C</sup> | 8.43 ± 0.04 <sup>A</sup>  |
| <i>P. aeruginosa</i> ATCC 27853 | 4.75 ± 0.09 <sup>B</sup> | 1.73 ± 0.05 <sup>D</sup> | 3.47 ± 0.06 <sup>C</sup> | 5.91 ± 0.07 <sup>A</sup>  |

**Note:** Values are expressed as mean ± SD (n = 3). Different uppercase letters (A–D) within the same row indicate significant differences among treatments ( $p < 0.05$ ). Ampicillin was used as a positive control.

**Table 5** Minimum Inhibitory Concentration (MIC) and Minimum Bactericidal Concentration (MBC) of crude extracts from different parts of *Passiflora foetida* Linn.

| Bacterial Strains                        | Leaves Extracts |             | Flowers extracts |             | Seeds extracts |             |
|------------------------------------------|-----------------|-------------|------------------|-------------|----------------|-------------|
|                                          | MIC (mg/ml)     | MBC (mg/ml) | MIC (mg/ml)      | MBC (mg/ml) | MIC (mg/ml)    | MBC (mg/ml) |
| <i>Staphylococcus aureus</i> ATCC 25923  | 1.40            | 22.5        | 22.5             | 22.5        | 22.5           | 22.5        |
| <i>Bacillus subtilis</i> ATCC 6633       | 1.40            | 22.5        | 22.5             | 22.5        | 22.5           | 22.5        |
| <i>Escherichia coli</i> , ATCC 25922     | 2.81            | 22.5        | 22.5             | 22.5        | 22.5           | 22.5        |
| <i>Pseudomonas aeruginosa</i> ATCC 27853 | 5.625           | 22.5        | 22.5             | 22.5        | 22.5           | 22.5        |

### 7. ผลการทดสอบฤทธิ์ต้านการอักเสบ (Anti-inflammatory activity)

การทดสอบฤทธิ์ต้านการอักเสบด้วยวิธียับยั้งการหลั่ง Nitric oxide ของเซลล์ RAW 264.7 เป็นการทดสอบที่ใช้ในการประเมินความสามารถของสารหรือสารสกัดในการลดการอักเสบ โดยการวัดปริมาณการหลั่ง Nitric oxide ซึ่งเป็นสารที่มีบทบาทสำคัญในการตอบสนองต่อการอักเสบในร่างกาย ผลการทดสอบฤทธิ์ต้านการอักเสบของสารสกัดใบ ดอก และเมล็ดกะทกรก พบว่า สารสกัดใบกะทกรกมีฤทธิ์ต้านการอักเสบดีที่สุด โดยมีค่า  $IC_{50}$  เท่ากับ 15.26  $\mu\text{g/mL}$  รองลงมาคือ สารสกัดจากดอก และใบ มีค่า  $IC_{50}$  เท่ากับ 29.65 และ 33.79  $\mu\text{g/mL}$  ตามลำดับ เมื่อใช้สารมาตรฐาน penicillin-streptomycin และ streptomycin เปรียบเทียบกับการทดสอบฤทธิ์ยับยั้งการหลั่ง NO จากเซลล์ RAW 264.7 โดยมีค่า  $IC_{50}$  เท่ากับ 34.56 และ 35.92  $\mu\text{g/mL}$  ตามลำดับ ผลดัง Table 6 การที่ค่า  $IC_{50}$  ของสารสกัดหยาบใบกะทกรกมีค่าต่ำกว่าสารสกัดหยาบจากดอกและเมล็ดกะทกรก แสดงให้เห็นถึงประสิทธิภาพที่เหนือกว่าในการยับยั้งการหลั่ง NO จากเซลล์ RAW 264.7 ซึ่งสอดคล้องกับงานวิจัยของ Montanher *et al.* (2007) ที่พบว่า สารสกัดจากใบของพืชในสกุล *Passiflora* มีฤทธิ์ต้านการอักเสบที่โดดเด่น โดยยับยั้งการเกิด edema ในเท้าหนูที่ถูกกระตุ้นด้วย carrageenan

กลไกการต้านการอักเสบของสารสกัดจากกะทกรกที่พบในการศึกษานี้ มีความสอดคล้องกับงานวิจัยของ Shanmugam *et al.* (2015) ที่รายงานว่าสารกลุ่มฟลาโวนอยด์ และซาโปนินในพืชสกุล *Passiflora* สามารถยับยั้ง NF-KB pathway ซึ่งเป็นกลไกสำคัญในการกระตุ้นการสร้าง inducible nitric oxide synthase (iNOS) ที่เป็นเอนไซม์สำคัญในการสร้าง NO ในกระบวนการอักเสบ นอกจากนี้ Ginwala *et al.* (2019) ยังพบว่าสารพฤษเคมีหลายกลุ่ม ได้แก่ ฟลาโวนอยด์ เทอร์ปีนอยด์ และแทนนิน แสดงฤทธิ์ต้านการอักเสบผ่านการยับยั้งการแสดงออกของ iNOS และ COX-2 และการลดการผลิตไซโตไคน์อักเสบในเซลล์ แมคโครฟาจที่ถูกกระตุ้น ซึ่งสอดคล้องกับผลการวิเคราะห์สารพฤษเคมีเบื้องต้นที่พบในสารสกัดหยาบจากกะทกรกในการศึกษานี้

### 8. ผลการทดสอบความเป็นพิษของเซลล์

จากผลการทดสอบความเป็นพิษของเซลล์ RAW 264.7 ด้วยวิธี MTT พบว่า การที่สารสกัดจากใบ ดอก และเมล็ดกะทกรก ไม่มีความเป็นพิษต่อเซลล์ RAW 264.7 ที่ความเข้มข้น 100  $\mu\text{g/mL}$  โดยมี %survival เกิน 70% แสดงถึงความปลอดภัยในการใช้สารสกัดจากกะทกรก โดยมีความสอดคล้องกับงานวิจัยของ Sathish *et al.* (2011) ที่พบว่า สารสกัดเอทานอลจากกะทกรกมีความปลอดภัยสูงในการทดสอบความเป็นพิษเฉียบพลันในหนูทดลอง โดยไม่พบความผิดปกติที่ระดับความเข้มข้นสูงถึง 2000 mg/kg

**Table 6** Anti-inflammatory activities of crude extracts from different parts of *Passiflora foetida* Linn.

| Sample                  | Anti-inflammatory Activity $IC_{50}$ ( $\mu\text{g/mL}$ ) |
|-------------------------|-----------------------------------------------------------|
| Leaves extracts         | 15.26 $\pm$ 0.01 <sup>A</sup>                             |
| flowers extracts        | 29.65 $\pm$ 0.02 <sup>B</sup>                             |
| seeds extracts          | 33.79 $\pm$ 0.30 <sup>C</sup>                             |
| penicillin-streptomycin | 34.56 $\pm$ 34.56 <sup>D</sup>                            |
| streptomycin            | 35.92 $\pm$ 0.01 <sup>E</sup>                             |

**Note:** Values are expressed as mean  $\pm$  SD (n = 3). Different uppercase letters (A–E) within the same column indicate significant differences among samples ( $p < 0.05$ ). Penicillin–streptomycin and streptomycin were used as positive controls.

จากผลการทดลองพบว่า มีความสอดคล้องกับงานวิจัยของ Ingkaninan *et al.* (2013) ที่พบว่า สารสกัดที่มีฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระสูงมักมีความสามารถในการต้านการอักเสบที่ดียิ่งขึ้น เนื่องจากอนุมูลอิสระเป็นตัวกระตุ้นกระบวนการอักเสบโดยการกระตุ้น NF-KB และส่งผลให้เกิดการหลั่ง inflammatory mediators รวมถึง NO และจากการศึกษาของ Fawole *et al.* (2013) พบว่า ปริมาณสารประกอบฟีนอลิกและ ฟลาโวนอยด์มีความสัมพันธ์โดยตรงกับฤทธิ์ต้านการอักเสบผ่านกลไกการต้านอนุมูลอิสระและการยับยั้งเอนไซม์ที่เกี่ยวข้องกับกระบวนการอักเสบ ซึ่งสอดคล้องกับการที่สารสกัดใบกะทกรกในการศึกษานี้มีปริมาณสารประกอบฟีนอลิกและฟลาโวนอยด์สูงที่สุด และยังคงแสดงฤทธิ์ต้านการอักเสบที่ดีที่สุดด้วย

### สรุปผลการทดลองและข้อเสนอแนะ

จากการศึกษา สารพฤษเคมีเบื้องต้น ปริมาณฟีนอลิกทั้งหมด ปริมาณฟลาโวนอยด์ทั้งหมด ฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระ ฤทธิ์ยับยั้งเอนไซม์ไทโรซิเนส ฤทธิ์ยับยั้งเชื้อจุลินทรีย์ และฤทธิ์ต้านการอักเสบจากสารสกัดหยาบจากใบ ดอก และเมล็ดกะทกรก ผลการตรวจสอบสารพฤษเคมีเบื้องต้นพบ สารออกฤทธิ์ทางชีวภาพหลายชนิด ได้แก่ ฟลาโวนอยด์ คูมาริน ซาโปนิน แทนนิน และเทอร์ปีนอยด์ในสารสกัดทั้งหมด ซึ่งสารประกอบเหล่านี้มีความสำคัญอย่างยิ่งต่อกิจกรรมทางชีวภาพของพืช โดยเฉพาะคุณสมบัติการต้าน อนุมูลอิสระ ต้านจุลินทรีย์ และต้านการอักเสบ สารสกัดหยาบจากใบกะทกรกมีปริมาณฟีนอลิกทั้งหมด และปริมาณฟลาโวนอยด์ทั้งหมดสูงที่สุด ซึ่งสัมพันธ์กับฤทธิ์ทางชีวภาพที่เพิ่มขึ้น การประเมินฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระด้วยวิธี DPPH แสดงให้เห็นว่าสารสกัดหยาบจากใบกะทกรกมีความสามารถในการยับยั้งอนุมูลอิสระได้ดีที่สุด และยังมีฤทธิ์ยับยั้งเอนไซม์ไทโรซิเนสที่สูงที่สุด ซึ่งสามารถที่จะนำมาประยุกต์ใช้สำหรับการรักษาภาวะเม็ดสีผิดปกติ และในการทดสอบฤทธิ์ในการยับยั้งเชื้อจุลินทรีย์ พบว่า สารสกัดหยาบจากใบกะทกรกสามารถยับยั้งทั้งเชื้อแบคทีเรียแกรมบวก (*Staphylococcus aureus* ATCC 25923, *Bacillus subtilis* ATCC 6633) และแบคทีเรียแกรมลบ (*Escherichia coli* ATCC 25922, *Pseudomonas aeruginosa* ATCC 27853) ได้อย่างมีประสิทธิภาพ โดยมีโซนยับยั้งที่ใหญ่กว่าอย่างสม่ำเสมอเมื่อเทียบกับสารสกัดหยาบจากดอกและเมล็ดจากกะทกรก นอกจากนี้ การประเมินฤทธิ์ต้านการอักเสบโดยใช้การทดสอบการยับยั้งไนตริกออกไซด์ในเซลล์ RAW 264.7 แสดงให้เห็นว่า สารสกัดหยาบจากใบกะทกรกมีคุณสมบัติต้านการอักเสบได้ดี ซึ่งฤทธิ์ทางชีวภาพที่ได้จากผลการทดลองอาจเป็นผลมาจากการเสริม

ฤทธิ์ของสารพฤษเคมีหลากหลายชนิดที่มีอยู่ในสารสกัดหยาบกะทกรก โดยเฉพาะสารประกอบฟีนอลิกและฟลาโวนอยด์ที่สามารถต้านอนุมูลอิสระ ยับยั้งเอนไซม์ไทโรซิเนสยับยั้งเชื้อจุลินทรีย์ และต้านการอักเสบ ผลที่ได้จากการทดลองนี้แสดงให้เห็นถึงความเชื่อมโยงระหว่างสารพฤษเคมีที่พบในสารสกัดหยาบจากกะทกรก โดยเฉพาะสารกลุ่มฟีนอลิกและฟลาโวนอยด์ กับฤทธิ์ทางชีวภาพที่หลากหลาย และประสิทธิภาพของสารสกัดใบกะทกรกในการนำไปพัฒนาเป็นผลิตภัณฑ์เพื่อสุขภาพในอนาคต สามารถนำมาใช้เป็นส่วนผสมสำหรับพัฒนาผลิตภัณฑ์หลากหลายประเภท เช่น ผลิตภัณฑ์ต้านอนุมูลอิสระ ยับยั้ง ไทโรซิเนส ยับยั้งเชื้อจุลินทรีย์ และต้านการอักเสบ อย่างไรก็ตามจากการศึกษาของ Carvalho *et al.* (2011) พบว่า *Passiflora foetida* มีสารไซยาโนเจนิกซึ่งก่อให้เกิดพิษหากรับประทานใบสดจะทำให้เกิดอาการเช่น ชี้น หัวใจเต้นเร็ว หายใจเร็ว เติบเซ โดยความเป็นพิษจะแตกต่างกันตามฤดูกาลและความเข้มข้นของไซยาโนไซด์สัมพันธ์กับระดับความเป็นพิษ ดังนั้นควรมีการศึกษากลไกในระดับโมเลกุลเพิ่มเติม ทดสอบในสิ่งมีชีวิตและมนุษย์เพื่อยืนยันความปลอดภัย และพัฒนาวิธีสกัดและกระบวนการที่ได้มาตรฐาน เพื่อนำไปสู่การใช้ประโยชน์อย่างปลอดภัยและมีประสิทธิภาพ

### เอกสารอ้างอิง

- ดวงกมล เรือนงาม. (2557). การสกัดสารต้านอนุมูลอิสระ. *วารสารวิทยาศาสตร์ลาดกระบัง*, 23(2), 120-139.
- เนตรนภา เมยกลาง และเฉลิม เรืองวิริยะชัย. (2557). การหาปริมาณสารประกอบฟีนอลิกและฤทธิ์การต้านอนุมูลอิสระในเครื่องดื่มน้ำผลไม้. *วารสารวิจัยมหาวิทยาลัยขอนแก่น*, 14(4), 60-79.
- สุพล พหลภาคย์, จุฑาทิพย์ พหลภาคย์ และสัณฐิตา ดังคิวงกูร. (2556). *การอนุรักษ์และการใช้ประโยชน์จากพืชสมุนไพรกะทกรก*. ในการประชุมวิชาการประจำปี ภายใต้โครงการส่งเสริมการวิจัยในอุดมศึกษา (HERP) ครั้งที่ 1 (น. 196-203). มหาวิทยาลัยราชภัฏพิบูลสงคราม.
- อารีรัตน์ ไส่สอง และขวัญเรือน นาคสุวรรณกุล. (2566). ฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระ ปริมาณฟีนอลิกรวม และปริมาณฟลาโวนอยด์รวมของสารสกัดหยาบของไลเคน. *วารสารวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยี มหาวิทยาลัยอุบลราชธานี*, 25(2), 26-37.
- Agunu, A., Yusuf, S., Andrew, G. O., Zezi, A. U., & Abdurahman, E. M. (2005). Evaluation of five medicinal plants used in diarrhoea treatment in Nigeria. *Journal of Ethnopharmacology*, 101(1-3), 27-30. <https://doi.org/10.1016/j.jep.2005.03.025>.

- Ajane, G., & Patil, A. S. (2019). Evaluation of antioxidant potential of *Passiflora foetida* extract and quantitative evaluation of its phytochemical content: A possible natural antioxidant. *Pharmaceutical Chemistry Journal*, 6, 14–24.
- Akila, E., & Haroon, M. (2022). Preliminary phytochemical screening and antibacterial activity of leaves of *Passiflora foetida* Linn. *RGUHS Journal of Pharmaceutical Sciences*, 12(2), 37–43. [https://doi.org/10.26463/rjps.12\\_2\\_5](https://doi.org/10.26463/rjps.12_2_5)
- Alara, O. R., Abdurahman, N. H., Ukaegbu, C. I., & Kabbashi, N. A. (2019). Extraction and characterization of bioactive compounds in *Vernonia amygdalina* leaf ethanolic extract comparing Soxhlet and microwave-assisted extraction techniques. *Journal of Taibah University for Science*, 13(1), 414–422. <https://doi.org/10.1080/16583655.2019.1582460>.
- Alves, C. Q., Brandão, H. N., David, J. M., David, J. P., & Lima, L. S. (2007). Evaluation of the antioxidant activity of flavonoids. *Dialogues Sci*, 12, 1–8.
- Anandan, R., Jayakar, B., Jeganathan, S., Manavalan, R., & Kumar, S. R. (2009). Effect of ethanol extract of fruits of *Passiflora foetida* Linn. on CCl<sub>4</sub> induced hepatic injury in rats. *Journal of Pharmacy Research*, 2(3), 413–415.
- Annegowda, H. V., Bhat, R., Min-Tze, L., Karim, A. A., & Mansor, S. M. (2012). Influence of sonication treatments and extraction solvents on the phenolics and antioxidants in star fruits. *Journal of Food Science and Technology*, 49(4), 510–514. <https://doi.org/10.1007/s13197-011-0435-8>.
- Asadujjaman, M., Mishuk, A. U., Hossain, A. M., & Karmakar, U. K. (2014). Medicinal potential of *Passiflora foetida* L. plant extracts: biological and pharmacological activities. *Journal of Integrative Medicine*, 12(2), 121–126. [https://doi.org/10.1016/S2095-4964\(14\)60017-0](https://doi.org/10.1016/S2095-4964(14)60017-0).
- Ayoola, G. A., Coker, H. A. B., Adesegun, S. A., Adepoju-Bello, A. A., Obaweya, K., Ezennia, E. C., & Atangbayila, T. O. (2008). Phytochemical screening and antioxidant activities of some selected medicinal plants used for malaria therapy in southwestern Nigeria. *Tropical Journal of Pharmaceutical Research*, 7(3), 1019–1024.
- Baby, E., Balasubramaniam, A., Manivannan, R., Jose, J., & Senthilkumar, N. (2010). Antibacterial activity of methanolic root extract of *Passiflora foetida* Lin. *Journal of Pharmaceutical Science and Research*, 2(1), 38–40.
- Bagul, U. S., & Sivakumar, S. M. (2016). Antibiotic susceptibility testing: A review on current practices. *International Journal of Pharmaceutics*, 6(3), 11–17.
- Balouiri, M., Sadiki, M., & Ibnsouda, K. S. (2016). Methods for in vitro evaluating antimicrobial activity: A review. *Journal of Pharmaceutical Analysis*, 6(2), 71–79. <https://doi.org/10.1016/j.jpha.2015.11.005>.
- Butsat, S., & Siriamornpun, S. (2010). Phenolic acids and antioxidant activities in husk of different Thai rice varieties. *Food Science and Technology International*, 16(1), 329–336. <https://doi.org/10.1177/108201321036696>.
- Carvalho, F. K. L., Medeiros, R. M. T., Araujo, J. A. S., & Riet-Correa, F. (2011). Experimental poisoning by *Passiflora foetida* (Passifloraceae) in goats. *Pesquisa Veterinaria Brasileira*, 31(6), 477–481.
- Casierra-Posada, F., & Jarma-Orozco, A. (2016). Nutritional composition of *Passiflora* species. In *Nutritional Composition of Fruit Cultivars* (pp. 517–534). Elsevier BV. <https://doi.org/10.1016/B978-0-12-408117-8.00022-2>.
- Chang, T. S. (2009). An updated review of tyrosinase inhibitors. *International Journal of Molecular Sciences*, 10(6), 2440–2475. <https://doi.org/10.3390/ijms10062440>
- Chemat, F., Rombaut, N., Sicaire, A. G., Meullemiestre, A., Fabiano-Tixier, A. S., & Abert-Vian, M. (2017). Ultrasound assisted extraction of food and natural products: Mechanisms, techniques, combinations, protocols and applications. A review. *Ultrasonics Sonochemistry*, 34, 540–560. <https://doi.org/10.1016/j.ultsonch.2016.06.035>
- Chiavaroli, A., Simone, S. C. D., Sinan, K. I., Ciferri, M. C., Flores, G. A., Zengin, G., Etienne, O. K., Ak, G., Mahomoodally, M. F., Jugreet, S., Cziáky, Z., Jekő,

- J., Recinella, L., Brunetti, L., Leone, S., Angelini, P., Venanzoni, R., Menghini, L., Ferrante, C., & Orlando, G. (2020). Pharmacological properties and chemical profiles of *Passiflora foetida* L. extracts: Novel insights for pharmaceuticals and nutraceuticals. *Processes*, 8(1034), 1-23. <https://doi.org/10.3390/pr8091034>.
- Chua, L. S. (2016). Untargeted MS-based small metabolite identification from the plant leaves and stems of *Impatiens balsamina*. *Plant Physiology and Biochemistry*, 106, 16-22. <https://doi.org/10.1016/j.plaphy.2016.04.040>.
- Cowan, M. M. (1999). Plant products as antimicrobial agents. *Clinical Microbiology Reviews*, 12(4), 564-582.
- Cushnie, T. P. T., & Lamb, A. J. (2005). Antimicrobial activity of flavonoids. *International Journal of Antimicrobial Agents*, 26(5), 343-356. <https://doi.org/10.1016/j.ijantimicag.2005.09.002>.
- de Melo Filho, A. A., Kamezaki, Â. K., Ribeiro, P. R. E., de Melo, A. C. G. R., Fernández, I. M., Santos, R. C., Chagas, E. A., & Chagas, P. C. (2018). Chemical composition, antioxidant, and biological activity of leaves of *Passiflora foetida*. *Chemical Engineering Transactions*, 64, 241-246.
- Dhawan, K., Dhawan, S., & Sharma, A. (2004). *Passiflora*: A review update. *Journal of Ethnopharmacology*, 94(1), 1-23. <https://doi.org/10.1016/j.jep.2004.02.023>.
- Eiamthaworn, K., Kaewkod, T., Bovonsombut, S., & Tragoolpua, Y. (2022). Efficacy of *Cordyceps militaris* extracts against some skin pathogenic bacteria and antioxidant activity. *Journal of Fungi*, 8(4), 327. <https://doi.org/10.3390/jof8040327>.
- Farha, A. K., Yang, Q.-Q., Kim, G., Li, H.-B., Zhu, F., Liu, H.-Y., Gan, R.-Y., & Corke, H. (2020). Tannins as an alternative to antibiotics. *Food Bioscience*, 38, 100751. <https://doi.org/10.1016/j.fbio.2020.100751>.
- Fawole, O. A., Ndhlala, A. R., Amoo, S. O., Finnie, J. F., & Van Staden, J. (2013). Anti-inflammatory and phytochemical properties of twelve medicinal plants used for treating gastro-intestinal ailments in South Africa. *Journal of Ethnopharmacology*, 123(2), 237-243. <https://doi.org/10.1016/j.jep.2009.03.012>.
- Gadioli, I. L., Cunha, M. D. S. B. D., De Carvalho, M. V. O., Costa, A. M., & Pineli, L. D. L. D. O. (2017). A systematic review on phenolic compounds in *Passiflora* plants: Exploring biodiversity for food, nutrition, and popular medicine. *Critical Reviews in Food Science and Nutrition*, 58(5), 785-807. <https://doi.org/10.1080/10408398.2016.1224805>.
- Ginwala, R., Bhavsar, R., Chigbu, D. G. I., Jain, P., & Khan, Z. K. (2019). Potential role of flavonoids in treating chronic inflammatory diseases with a special focus on the anti-inflammatory activity of apigenin. *Antioxidants*, 8(2), 35. <https://doi.org/10.3390/antiox8020035>.
- Gracelin, D. H. S., Britto, A. J. D., & Kumar, B. J. R. (2013). Qualitative and quantitative analysis of phytochemicals in five *Pteris* species. *International Journal of Pharmaceutical Sciences*, 5(1), 105-107.
- Harborne, J. B. (1973). *Phytochemical methods*. Chapman and Hall.
- Ingale, A. G., & Hivrale, A. U. (2010). Pharmacological studies of *Passiflora* sp. and their bioactive compounds. *African Journal of Plant Science*, 4(10), 417-426.
- Ingkaninan, K., Temkitthawon, P., Chuenchom, K., Yuyaem, T., & Thongnoi, W. (2013). Screening for acetylcholinesterase inhibitory activity in plants used in Thai traditional rejuvenating and neurotonic remedies. *Journal of Ethnopharmacology*, 89(2-3), 261-264. <https://doi.org/10.1016/j.jep.2003.08.008>.
- Jiang, N., Doseff, A. I., & Grotewold, E. (2016). Flavones: From biosynthesis to health benefits. *Plants*, 5(2), 27. <https://doi.org/10.3390/plants5020027>.
- Kementerian Kesehatan Republik Indonesia. (2017). Farmakope herbal Indonesia (Edisi II). Kementerian Kesehatan Republik Indonesia.
- Kim, Y. J., & Uyama, H. (2005). Tyrosinase inhibitors from natural and synthetic sources: Structure, inhibition mechanism, and prospective for the future. *Cellular and Molecular Life Sciences*, 62(15), 1707-1723. <https://doi.org/10.1007/s00018-005-5054-y>.

- Koleva, I. I., Van Beek, T. A., Linssen, J. P., Groot, A. D., & Evstatieva, L. N. (2002). Screening of plant extracts for antioxidant activity: A comparative study on three testing methods. *Phytochemical Analysis : An International Journal of Plant Chemical and Biochemical Techniques*, 13(1), 8-17. <https://doi.org/10.1002/pca.611>.
- Madikizela, B., Ndhala, A. R., Finnie, J. F., & Van Staden, J. (2012). Ethnopharmacological study of plants from Pondoland used against diarrhoea. *Journal of Ethnopharmacology*, 141(1), 61-71. <https://doi.org/10.1016/j.jep.2012.01.053>.
- Masuda, T., Yamashita, D., Takeda, Y., & Yonemori, S. (2005). Screening for tyrosinase inhibitors among extracts of seashore plants and identification of potent inhibitors from *Garcinia subelliptica*. *Bioscience, Biotechnology, and Biochemistry*, 69(1), 197–201. <https://doi.org/10.1271/bbb.69.197>.
- Miller, N. J., Diplock, A. T., & Rice-Evans, C. A. (1995). Evaluation of the total antioxidant activity as a marker of the deterioration of apple juice oil storage. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 43(7), 1794–1801. <https://doi.org/10.1021/jf00055a009>.
- Mohanasundari, C., Natarajan, D., Srinivasan, K., Umamaheswari, S., & Ramachandran, A. (2007). Antibacterial properties of *Passiflora foetida* L., a common exotic medicinal plant. *African Journal of Biotechnology*, 6(23), 2650–2653.
- Montanher, A. B., Zucolotto, S. M., Schenkel, E. P., & Frode, T. S. (2007). Evidence of anti-inflammatory effects of *Passiflora edulis* in an inflammation model. *Journal of Ethnopharmacology*, 109(2), 281-288. <https://doi.org/10.1016/j.jep.2006.07.031>.
- Nguyen, T. Y., To, D. C., Tran, M. H., Lee, J. S., Lee, J. H., Kim, J. A., Woo, M. H., & Min, B. S. (2015). Anti-inflammatory flavonoids isolated from *Passiflora foetida*. *Natural Product Communications*, 10(6), 929–931. <https://doi.org/10.1177/1934578X1501000634>
- Nikaido, H. (2003). Molecular basis of bacterial outer membrane permeability revisited. *Microbiology and Molecular Biology Reviews*, 67(4), 593-656. <https://doi.org/10.1128/MMBR.67.4.593-656.2003>.
- Rahman, M. A., Hossain, M. A., Hasan, M. S., & Hossain, M. G. (2011). Antinociceptive, antidiarrhoeal and cytotoxic activities of *Passiflora foetida* Linn. *Pharmacologyonline*, 1, 228–236.
- Revathy, S., & Sunilkumar, T. (2019). Phytochemical and nutritional studies on the fruit pulp extract of *Passiflora foetida* Linn. *Journal of Pharmacognosy and Phytochemistry*, 8(4), 732-734.
- Santosh, P., Venugopl, R., Nilakash, S., Kunjbihari, S., & Mangala, L. (2011). Antidepressant activity of methanolic extract of *Passiflora foetida* leaves in mice. *International Journal of Pharmacy and Pharmaceutical Sciences*, 3(1), 112–115.
- Sasikala, V., Saravanan, S., & Parimelazhagan, T. (2011). Analgesic and anti-inflammatory activities of *Passiflora foetida* L. *Asian Pacific Journal of Tropical Medicine*, 4(8), 600–603. [https://doi.org/10.1016/S1995-7645\(11\)60155-7](https://doi.org/10.1016/S1995-7645(11)60155-7).
- Sathish, R., Sahu, A., & Natarajan, K. (2011). Antiulcer and antioxidant activity of ethanolic extract of *Passiflora foetida* L. *Indian Journal of Pharmacology*, 43(3), 336-339. <https://doi.org/10.4103/0253-7613.81501>.
- Scalbert, A. (1991). Antimicrobial properties of tannins. *Phytochemistry*, 30(12), 3875-3883. [https://doi.org/10.1016/0031-9422\(91\)83426-L](https://doi.org/10.1016/0031-9422(91)83426-L)
- Shanmugam, S., Thangaraj, P., dos Santos Lima, B., Chandran, R., de Souza Araújo, A. A., Narain, N., Serafini, M. R., & Quintans Júnior, L. J. (2016). Effects of luteolin and quercetin 3-β-D-glucoside identified from *Passiflora subpeltata* leaves against acetaminophen induced hepatotoxicity in rats. *Biomedicine & Pharmacotherapy*, 83, 1278-1285. <https://doi.org/10.1016/j.biopha.2016.08.044>.
- Simão, M. J., Barboza, T. J. S., Vianna, M. G., Garcia, R., Mansur, E., Ignacio, A. C. P. R., & Pacheco, G. (2018). A comparative study of phytoconstituents and antibacterial activity of in vitro derived materials of four *Passiflora* species. *Anais da Academia Brasileira de Ciências*, 90(3), 2805–2813. <https://doi.org/10.1590/0001-3765201820170809>.

- Singleton, V. L., Orthofer, R., & Lamuela-Raventós, R. M. (1999). Analysis of total phenols and other oxidation substrates and antioxidants by means of Folin-Ciocalteu reagent. *Methods in Enzymology*, 299, 152–178. [https://doi.org/10.1016/S0076-6879\(99\)99017-1](https://doi.org/10.1016/S0076-6879(99)99017-1).
- Solano, F., Briganti, S., Picardo, M., & Ghanem, G. (2006). Hypopigmenting agents: An updated review on biological, chemical, and clinical aspects. *Pigment Cell Research*, 19(6), 550–571. <https://doi.org/10.1111/j.1600-0749.2006.00334>.
- Sparg, S. G., Light, M. E., & van Staden, J. (2004). Biological activities and distribution of plant saponins. *Journal of Ethnopharmacology*, 94(2-3), 219-243. <https://doi.org/10.1016/j.jep.2004.05.016>
- Sutar, V., & Bhosale, U. P. (2013). Screening of *Passiflora foetida* extracts as anticancer agents on MCF-7 cell line. *Bioinfolet-A Quarterly Journal of Life Sciences*, 10(3a), 808–810.
- Tandoro, Y., Widyawati, P. S., Budianta, T. D. W., & Sumargo, G. (2020). Phytochemical identification and antioxidant activity of *Passiflora foetida* fruits and leaves extracts: A comparative study. *International Journal of Pharmacy and Pharmaceutical Sciences*, 12(6), 55–58. <https://doi.org/10.22159/ijpps.2020v12i6.31505>.
- Tao, Y., Wu, D., Zhang, Q.-A., & Sun, D.-W. (2014). Ultrasound-assisted extraction of phenolics from wine lees: Modeling optimization and stability of extracts during storage. *Ultrasonics Sonochemistry*, 21(2), 706–715. <https://doi.org/10.1016/j.ultsonch.2013.09.005>
- Tegos, G., Stermitz, F. R., Lomovskaya, O., & Lewis, K. (2002). Multidrug pump inhibitors uncover remarkable activity of plant antimicrobials. *Antimicrobial Agents and Chemotherapy*, 46(10), 3133-3141. <https://doi.org/10.1128/AAC.46.10.3133-3141.2002>.
- Tewtrakul, S., & Subhadhirasakul, S. (2008). Effects of compounds from *Kaempferia parviflora* on nitric oxide, prostaglandin E2, and tumor necrosis factor-alpha productions in RAW 264.7 macrophage cells. *Journal of Ethnopharmacology*, 120, 81–84. <https://doi.org/10.1016/j.jep.2008.07.033>.
- Trombetta, D., Castelli, F., Sarpietro, M. G., Venuti, V., Cristani, M., Daniele, C., Saija, A., Mazzanti, G., & Bisignano, G. (2005). Mechanisms of antibacterial action of three monoterpenes. *Antimicrobial Agents and Chemotherapy*, 49(6), 2474-2478. <https://doi.org/10.1128/AAC.49.6.2474-2478.2005>.
- Vitkhu, K., Mawson, R., Simons, L., & Bates, D. (2008). Applications and opportunities for ultrasound-assisted extraction in the food industry: A review. *Innovative Food Science and Emerging Technologies*, 9(2), 161–169. <https://doi.org/10.1016/j.ifset.2007.07.014>.

# การวิเคราะห์และการคาดการณ์จำนวนนักศึกษาปริญญาตรีที่ออกจากระบบโดยใช้การเรียนรู้ของเครื่อง

## Analysis and prediction of undergraduate student dropouts using machine learning

จักรพันธ์ สาตมณี<sup>1</sup>, เอกชัย เนาวนิช<sup>2</sup> และ ธนพร ปฏิกรณ์<sup>3</sup>

Jakkapan Satmune<sup>1</sup>, Ekachai Naowanich<sup>2</sup> and Thanaporn Patikorn<sup>3</sup>

Received: 22 December 2024 ; Revised: 7 February 2025 ; Accepted: 9 April 2025

### บทคัดย่อ

การศึกษานี้จะนำเสนอการวิเคราะห์และเปรียบเทียบประสิทธิภาพของโมเดลการเรียนรู้ของเครื่องแปดแบบ ได้แก่ Decision Tree, Random Forest, Logistic Regression, K-Nearest Neighbors, AdaBoost, Hist Gradient Boosting, XGBoost และ Light Gradient Boosting ในการระบุนักศึกษาปริญญาตรีที่มีความเสี่ยงในประเทศไทย การศึกษานี้มุ่งเน้นไปที่การวิเคราะห์ข้อมูลทางวิชาการจากนักศึกษาในมหาวิทยาลัยเพื่อทำความเข้าใจปัจจัยที่มีอิทธิพลต่อความสำเร็จหรือความล้มเหลวทางวิชาการ และการพัฒนาโมเดลการทำนายเพื่อช่วยให้อาจารย์และผู้บริหารระบุแนวโน้มการเรียนรู้และนำกลยุทธ์การสอนที่มีประสิทธิภาพไปใช้ ชุดข้อมูลประกอบด้วยบันทึกจากนักศึกษาปริญญาตรี 2,104 คนในสาขาวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยีตั้งแต่ปี 2020 ถึง 2024 ในประเทศไทย โดยมีคุณลักษณะข้อมูล 36 รายการ ในระหว่างการเตรียมข้อมูล ค่าที่ขาดหายไปจะถูกใส่โดยใช้เมธอด k-nearest neighbors (k=5) และความไม่สมดุลของคลาสได้รับการแก้ไขโดยใช้เทคนิคการสุ่มตัวอย่างชนกลุ่มน้อยแบบสังเคราะห์ (SMOTE) การกำจัดคุณลักษณะแบบเรียกซ้ำ (RFE) ถูกใช้เพื่อระบุคุณลักษณะที่สำคัญ ประสิทธิภาพของแบบจำลองได้รับการประเมินโดยใช้การตรวจสอบแบบไขว้โดยใช้ตัวชี้วัดหลักสี่ประการ ได้แก่ ความถูกต้อง ความแม่นยำ การเรียกคืน และคะแนน F1 ผลลัพธ์บ่งชี้ว่าแบบจำลอง Random Forest มีประสิทธิภาพดีที่สุด โดยบรรลุความถูกต้อง 84.32% ความแม่นยำ 0.85 การเรียกคืน 0.84 และคะแนน F1 0.85 ผลลัพธ์บ่งชี้ถึงศักยภาพที่สำคัญของแบบจำลองนี้ในระบบการศึกษา โดยเฉพาะอย่างยิ่งในการจัดเตรียมการแทรกแซงที่ตรงเป้าหมายสำหรับนักเรียนที่มีความเสี่ยงเพื่อลดอัตราการลาออกและเพิ่มความสำเร็จทางวิชาการ การวิจัยในอนาคตควรสำรวจปัจจัยที่มีอิทธิพลเพิ่มเติมและตรวจสอบแบบจำลองการเรียนรู้ของเครื่องจักรอื่น ๆ ที่อาจให้ประสิทธิภาพที่ดีขึ้น รวมทั้งเปรียบเทียบผลลัพธ์ในกลุ่มนักเรียนที่หลากหลายเพื่อให้มั่นใจถึงความน่าเชื่อถือและความสามารถในการนำไปใช้ที่กว้างขึ้น

**คำสำคัญ:** การวิเคราะห์และการคาดการณ์, การเรียนรู้ของเครื่องจักร

### Abstract

This study presents an analysis and comparison of the performance of eight machine learning models, namely Decision Tree, Random Forest, Logistic Regression, K-Nearest Neighbors, AdaBoost, Hist Gradient Boosting, XGBoost, and Light Gradient Boosting, in identifying at-risk undergraduate students in Thailand. This study focuses on analyzing academic data from university students to understand the factors influencing academic success or failure, and developing predictive models to help instructors and administrators identify learning trends and implement effective

<sup>1</sup> อาจารย์, สาขาวิชาเทคโนโลยีดิจิทัล, คณะวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยี มหาวิทยาลัยเทคโนโลยีราชมงคลสุวรรณภูมิ สุพรรณบุรี

<sup>2</sup> อาจารย์, สาขาวิชาเทคโนโลยีดิจิทัล, คณะวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยี มหาวิทยาลัยเทคโนโลยีราชมงคลสุวรรณภูมิ นนทบุรี

<sup>3</sup> อาจารย์, สาขาวิชาเทคโนโลยีดิจิทัล, คณะวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยี มหาวิทยาลัยเทคโนโลยีราชมงคลสุวรรณภูมิ นนทบุรี

<sup>1</sup> Department of Digital Technology, Faculty of Science and Technology, Rajamangala University of Technology Suvarnabhumi, Suphan Buri

<sup>2</sup> Department of Digital Technology, Faculty of Science and Technology, Rajamangala University of Technology Suvarnabhumi, Nonthaburi

<sup>3</sup> Department of Digital Technology, Faculty of Science and Technology, Rajamangala University of Technology Suvarnabhumi, Nonthaburi

\* Corresponding author, e-mail: jakkapan.s@rmutsb.ac.th

teaching strategies. The dataset consists of records from 2,104 undergraduate students in science and technology from 2020 to 2024 in Thailand, with 36 data features. During data preparation, missing values were imputed using the k-nearest neighbors (k=5) method, and class imbalance was corrected using the synthetic minority sampling technique (SMOTE). Recursive feature elimination (RFE) was used to identify important features. The model performance was evaluated using cross-validation using four main metrics: accuracy, precision, recall, and F1 score. The results indicate that the Random Forest model performs the best. It achieved an accuracy of 84.32%, a precision of 0.85, a recall of 0.84, and an F1 score of 0.85. The findings suggest the significant potential of this model in the educational system, particularly in providing targeted interventions for at-risk students to reduce dropout rates and increase academic success. Future research should explore additional influencing factors and investigate other machine learning models that may provide improved performance, as well as compare the results across diverse student populations to ensure reliability and broader applicability.

**Keywords:** Analysis and prediction, machine learning

## Introduction

In today's era, where information technology and artificial intelligence (AI) play pivotal roles in every aspect of human life, education is no exception (AI Thailand, 2022). The education system is rapidly adapting to technological advancements, particularly at the undergraduate level, where students are expected to develop specialized knowledge and skills within their chosen fields (Rastrollo-Guerrero *et al.*, 2020). Beyond the focus on teaching and learning, analyzing and predicting student performance has gained considerable attention, as it can be applied to improve teaching methods and provide preventative support for students who may struggle academically (Cahaya Hidayati *et al.*, 2024; Hashem *et al.*, 2024; Weist *et al.*, 2024). In the past, analyses of student performance largely relied on traditional statistical methods, primarily focused on retrospective data analysis. While informative, these methods fall short of accurately forecasting future trends or supporting proactive decision-making. Machine learning (ML), a technology capable of learning from data and predicting future outcomes (Baabdullah, 2024; Ibrahim Adedeji Adeniran *et al.*, 2024), presents new opportunities for more efficient analysis and prediction of student performance.

Machine learning can process complex and diverse data, including academic records, learning behaviors, participation in activities, and even personal information, to generate precise predictions. Applying this technology in educational systems enhances not only

performance forecasting but also improves teaching methods, tailors learning recommendations to individual students, and fully supports the development of each student's potential (Al-Sulami *et al.*, 2023; Nayak *et al.*, 2023; Venkatesan *et al.*, 2024). Additionally, performance analysis and prediction help educators and administrators gain insights into each cohort and major, as well as identify factors influencing student outcomes, such as social, economic, and university environmental factors (Hofmann *et al.*, 2024; Shoaib *et al.*, 2024). These forecasts enable strategic planning to improve educational effectiveness and facilitate timely interventions for at-risk students.

In the research context, machine learning holds the potential to drive significant change in the education sector. This study, focused on "Analysis and Prediction of Undergraduate Student Performance Using Machine Learning," (Altabrawee *et al.*, 2019) emphasizes applying ML techniques to analyze university student performance data. It explores factors affecting academic success or failure and develops prediction models to help instructors and administrators recognize learning trends and optimize teaching approaches (Alshamaila *et al.*, 2024; Hussain & Khan, 2023; Rabbi *et al.*, 2024). Furthermore, predicting student performance aids in designing personalized learning pathways, as students with different academic results may require unique learning strategies (Asselman *et al.*, 2023; Ibrahim *et al.*, 2023; Pamir *et al.*, 2022; Singh *et al.*, 2020). With machine learning, systems can customize learning experiences to meet each student's

needs and provide ongoing tracking and assessment of their progress.

This research aims to present a model for analyzing and predicting student performance that can be practically applied within the context of university education (Altabrawee *et al.*, 2019; Gašević *et al.*, 2016; Rastrollo-Guerrero *et al.*, 2020; Shoaib *et al.*, 2024). It is expected to benefit students, educators, and academic administrators by enhancing educational effectiveness and contributing to long-term improvements in student achievement and support strategies.

## Materials and methods

### 1. Related work

Research in Educational Data Mining (EDM) has garnered continuous interest and development over the years, covering a wide range of fields such as Data Mining, Machine Learning, Deep Learning, and Big Data management. The primary objective of these research approaches is to develop predictive models capable of forecasting academic outcomes, predicting grades, ranking institutions, and recommending suitable institutions for students, using efficient data analysis tools and techniques. Significant studies in this field provide deeper insights and demonstrate practical methods that can be effectively implemented in educational systems.

Research on predicting student academic performance using Machine Learning (ML) is a key area within Educational Data Mining (EDM). Evaluating student performance is inherently complex, influenced by various factors such as academic history and personal characteristics (Hussain & Khan, 2023). This study employs a supervised learning approach, utilizing a dataset provided by the Board of Intermediate and Secondary Education (BISE) of Khyber Pakhtunkhwa, which includes data from various regions. The research focuses on using regression models and Decision Tree (DT) classifiers to predict students' scores and grades, with the data preprocessed for cleaning and organization prior to model training. The results demonstrate that ML technology is effective in accurately predicting student performance, offering valuable insights for enhancing educational quality and management within academic institutions.

Predicting student performance is a critical topic within the context of learning environments, such as schools and universities (Rastrollo-Guerrero *et al.*, 2020). This prediction can contribute to the development of effective mechanisms for improving academic outcomes and reducing dropout rates. Researchers benefit from leveraging technologies capable of managing large datasets derived from students' routine activities, which are collected through technology-enhanced software tools. In-depth data analysis reveals insights into the relationships between students and their academic tasks. This information can be used to create algorithms that accurately predict academic performance. In this study, the researchers reviewed over 70 studies utilizing advanced techniques, including machine learning, collaborative filtering, recommendation systems, and neural networks all within the field of artificial intelligence to enhance the effectiveness of predicting student performance.

This study primarily aims to identify students who need additional support to enhance their academic performance by utilizing four machine learning techniques: Artificial Neural Networks (ANN), Naïve Bayes, Decision Trees, and Logistic Regression (Altabrawee *et al.*, 2019). These models are applied to create a classifier for predicting student performance in computer science courses at Al-Muthanna University (MU). The research highlights the impact of using the internet as a learning resource and the time students spend on social networks on their academic performance, based on data from surveys and student gradebooks. Experimental results show that the ANN model (Fully Connected Feed Forward Multilayer ANN) performs best in predicting academic outcomes, with an efficiency score of 0.807 and an accuracy of 77.04%. Additionally, the Decision Tree model identifies five key factors that significantly influence students' academic performance.

Performance Factors Analysis (PFA) is a key approach in Knowledge Tracing (KT) and has been utilized to create adaptive educational hypermedia systems. PFA demonstrates high predictive accuracy compared to other KT methods (Asselman *et al.*, 2023). However, most developments have focused on instructional

aspects and have not incorporated machine learning techniques that could effectively enhance prediction accuracy. This study introduces a new approach in PFA by integrating machine learning models, such as Random Forest, AdaBoost, and XGBoost, to improve prediction accuracy of student performance. Experimental evaluations on three datasets showed that XGBoost outperformed other models, significantly enhancing performance predictions compared to traditional PFA algorithms. In conclusion, the new PFA, developed with machine learning techniques, effectively improves predictions of student academic performance, especially through the use of the XGBoost model, which demonstrates higher accuracy in analyzing performance factors among students.

Predicting applicants likely to enroll is a crucial aspect of college and university admissions management (Singh *et al.*, 2020). This research aims to assist educational institutions in optimizing the admissions process and reducing related costs by leveraging machine learning technology to analyze key parameters, such as high school grades, tutor selection, extracurricular activities, and reasons for applying. In this study, comparative analysis techniques were employed using various algorithms, including logistic regression, neural networks, and Light Gradient Boosting Machine (LightGBM), to predict applicants with a high likelihood of enrollment. Experimental results demonstrated that these algorithms achieved an accuracy of up to 98.5%. Applying these technologies not only enhances admission efficiency but also enables institutions to focus on students with potential and to keep pace with the ever-changing educational market demands.

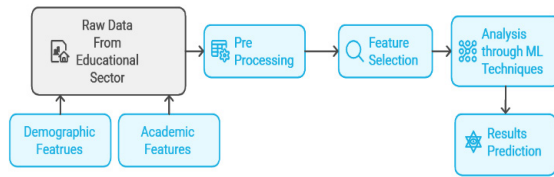
This study proposes an approach for detecting electricity theft in smart grids by utilizing data from smart meters and focusing on machine learning (ML) and deep learning strategies. (Pamir *et al.*, 2022) While these technologies hold promise for enhancing detection accuracy, existing frameworks face limitations in performance and the handling of imbalanced data. To address these issues, the article introduces a Multi-Layered Boosted Classifier Stacking Model (MLBCSM), which employs the Adaptive Synthetic Sampling (ADASYN)

technique for data preprocessing, balancing, and classification. Simulation results indicate that MLBCSM outperforms other models in electricity theft detection by effectively combining the strengths of techniques such as AdaBoost, XGBoost, and CatBoost.

User authentication is crucial for securing digital services and preventing unauthorized access (Ibrahim *et al.*, 2023). Many organizations have shifted from single-factor authentication (SFA) to multi-factor authentication (MFA), which uses two or more methods of identity verification to enhance security. One innovative method is keystroke dynamics, a behavioral biometric technique that analyzes users' typing patterns to confirm their identity. This approach is cost-effective, as it requires no special hardware and is easy to implement, demanding minimal additional effort from users. This research introduces a new approach using quantile transformation to achieve uniform data distribution, thereby reducing the impact of outliers and extreme values. The primary classification method employed is Histogram Gradient Boosting, tested using the Carnegie Mellon University (CMU) keystroke dataset. Results indicate that the proposed method achieves an impressive average accuracy of 97.96% and an equal error rate (EER) of 0.014, outperforming previous machine learning and deep learning techniques in terms of performance.

## 2. Data and methodology

Predicting student academic performance at a national level is a crucial task, especially on online platforms. Our goal is to develop a predictive model that considers demographic and academic characteristics of undergraduate students across Thailand, as illustrated in Figure 1. We hope that educational institutions in various countries will be able to use these predictive insights to implement appropriate interventions. Although a student's environment and past academic performance impact their likelihood of dropping out, we applied machine learning algorithms after collecting, preprocessing, selecting, and transforming the data set. Consequently, the statistical analysis conducted is supported by hypothesis testing on performance indicators that we developed and validated.



**Figure 1** Conceptual model

## 2.1 Data

The data used for processing is presented in Table 1, which contains information on undergraduate students studying science and technology in Thailand from 2020 to 2024. This dataset includes 2,104 students and consists of 36 columns with various types of information. The original dataset contains numerous NaN values, anomalies, and unscaled data, making it unsuitable for model training with missing values, outliers, and unscaled data (Pamir *et al.*, 2022). Therefore, pre-processing is necessary to handle missing data by using the k-nearest neighbors' method. The missing values will be calculated based on the average of the nearest neighbors, with  $k=5$ , using Python, where the selection in KNN was determined based on empirical testing and reference to previous studies indicating that a smaller value of fit of KNN often provides better generalization. Smaller values may lead to overfitting, while larger values may smooth out important patterns in the data. Previous research suggests that smaller values often effectively balance bias and variance in classification tasks involving educational datasets (Peterson, 2009). This calculation for missing values is based on the mean or weighted average of the nearest  $k$  neighbors, which can be summarized by the following fundamental equation

A simple calculation formula of KNN for filling in missing values (without weights).

$$\hat{x}_i = \frac{1}{k} \sum_{j \in N(i)} x_j$$

KNN weighted average calculation formula.

$$\hat{x}_i = \frac{\sum_{j \in N(i)} \omega_j x_j}{\sum_{j \in N(i)} \omega_j}$$

Where :  $\hat{x}_i$  It the value to be filled.

$x_j$  It is the value from the neighbors.

$\omega_j$  It is the weight value.

$N(i)$  is the set of  $k$  nearest neighbors of the data point  $i$ .

**Table 1** The data attributes

| No. | Attribute         | Description                      |
|-----|-------------------|----------------------------------|
| 1   | GENDER_ID         | Gender (int)                     |
| 2   | PROVINCE_ID       | Province (int)                   |
| 3   | LEV_ID            | value CLASS (int)                |
| 4   | CURR_ID           | Program (int)                    |
| 5   | FAC_ID            | Course Code (int)                |
| 6   | REF_PROGRAM_ID    | Program Code (float)             |
| 7   | CURR_TYPE_ID      | Status current (int)             |
| 8   | STUDY_TYPE_ID     | Program Type (int)               |
| 9   | STUDY_TIME_ID     | Program Format (int)             |
| 10  | CURR_INTER_ID     | value current (float)            |
| 11  | REGULAR_YEAR      | Regular Year Level (int)         |
| 12  | CURR_REG_ID       | Academic Status Code (int)       |
| 13  | CLASS             | Grade Level (float)              |
| 14  | GRAD_STATUS_ID    | Pre-Entry Level (float)          |
| 15  | REF_STD_STATUS_ID | Status Code (float)              |
| 16  | ACC_GPA           | GPA (float)                      |
| 17  | DEFORM_ID         | Physical disability status (int) |
| 18  | SON_NUM           | Float Child                      |
| 19  | SON_STDNUM        | Float Siblings                   |
| 20  | FAT_STATUS_ID     | Father's Life Status (float)     |
| 21  | FAT_REVENUE_ID    | Father's Income (float)          |
| 22  | FAT_OCCUP_ID      | Father's Marital Status (float)  |
| 23  | MOT_STATUS_ID     | Mother's Life Status (float)     |
| 24  | MOT_REVENUE_ID    | Mother's Income (float)          |
| 25  | MOT_OCCUP_ID      | Mother's Marital Status (float)  |
| 26  | PAR_STATUS_ID     | Parent's Life Status (float)     |
| 27  | PAR_REVENUE_ID    | Parent's Income (float)          |
| 28  | PAR_OCCUP_ID      | Parent's Marital Status (float)  |
| 29  | RELIGION_ID       | Religion (float)                 |
| 30  | Target            | Status (int)                     |
| 31  | BLOOD             | Blood Type (int)                 |
| 32  | HEIGHT            | Height (float)                   |
| 33  | WEIGH             | Weight (float)                   |
| 34  | RELIGION_NAME     | Religion (int)                   |
| 35  | ADMISSION         | Application Form (int)           |
| 36  | CAMPUS            | Area Center (int)                |

## 2.2 Data balancing

Initially, the dataset was analyzed to determine the class distribution between dropout and non-dropout students. The original dataset included 2,104 students, with 456 students (21.67%) classified as dropouts and 1,648 students (78.33%) classified as non-dropouts, clearly indicating class imbalance. To address this imbalance, the Synthetic Minority Oversampling Technique (SMOTE) was employed (Rahayu *et al.*, 2024). SMOTE generates synthetic data points for the minority class (dropouts) by interpolating between existing dropout instances and their nearest neighbors, effectively balancing the representation between dropout and non-dropout cases and mitigating

bias toward the majority class during predictive modeling. Following data balancing, Recursive Feature Elimination (RFE) was conducted to identify and retain only the most relevant attributes for predicting student dropout. RFE iteratively selects impactful variables based on their predictive significance and correlation with the target variable (Barzani *et al.*, 2024). The variables with the highest significance for predicting student dropout status identified through RFE were ACC\_GPA, REGULAR\_YEAR, RELIGION\_ID, GENDER\_ID, and FAT\_REVENUE\_ID, highlighting clear associations with demographic and academic characteristics affecting student dropout risk. Consequently, these selected attributes were utilized

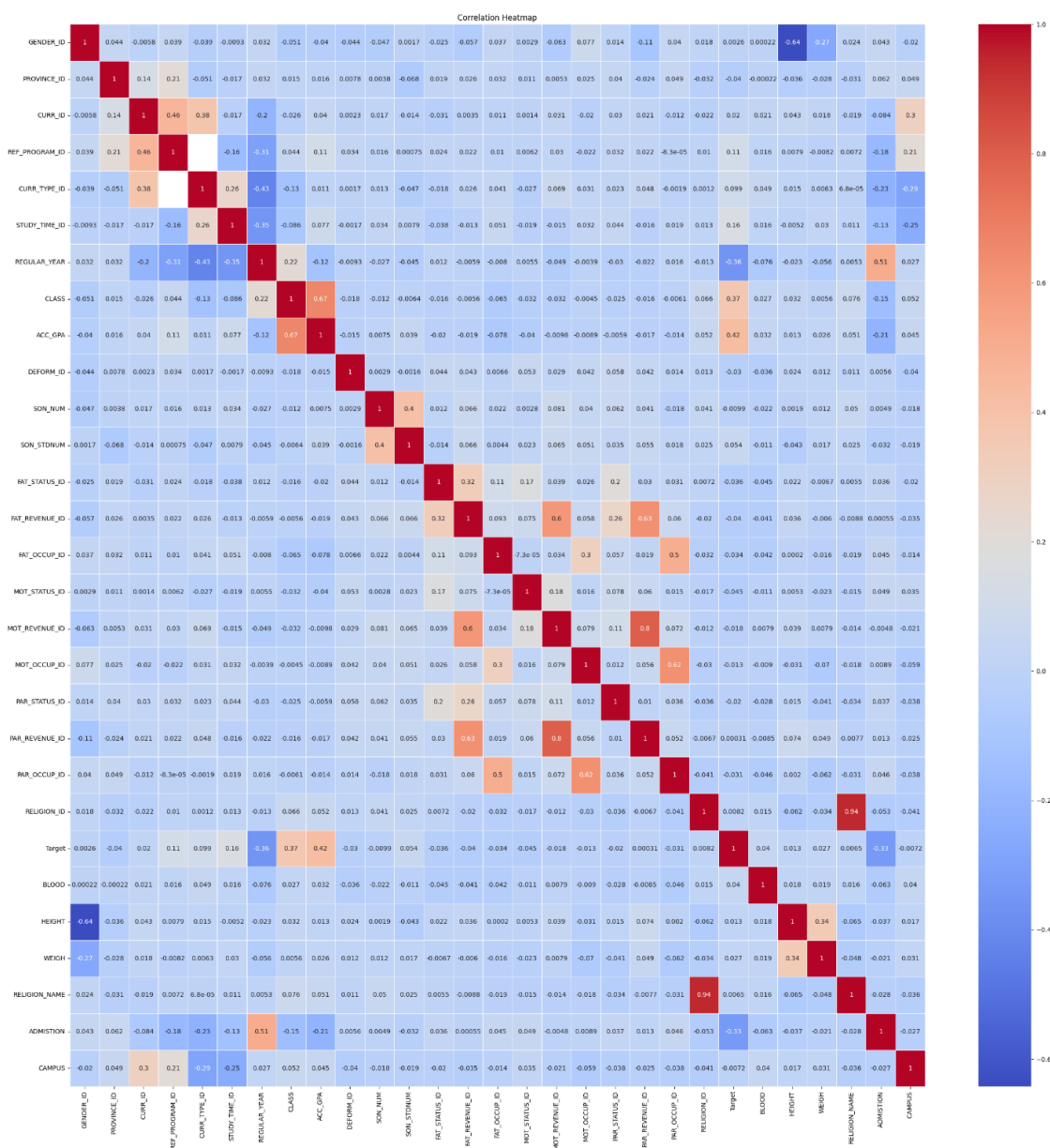


Figure 2 Heatmap of correlation matrix

to construct and refine the Machine Learning models used in this research.

The relationships between dataset attributes were further explored through correlation analysis, visualized in Figure 3 as a correlation matrix. This matrix presents correlation coefficients between pairs of attributes, utilizing color gradients to represent the strength and direction of relationships. Darker red indicates strong positive correlations, meaning variables increase together, while darker blue indicates strong negative correlations, suggesting an inverse relationship. Lighter shades of red and blue represent weaker or statistically insignificant relationships.

The correlation matrix in Figure 3 includes 29 attributes from the original set of 36. Several attributes were omitted from the correlation analysis due to considerations such as excessive missing data, minimal variability, or preliminary analyses indicating low relevance to dropout prediction. These omissions aimed to enhance clarity, interpretability, and overall effectiveness of the correlation visualization. Future research should explicitly document and justify attribute exclusions to maintain transparency and reproducibility.

Analysis of the correlation matrix identified four influential attributes closely associated with dropout status: RELIGION\_ID, RELIGION\_NAME, REGULAR\_YEAR, and GENDER\_ID. RELIGION\_ID showed the highest correlation, suggesting religiosity might influence student retention. REGULAR\_YEAR also demonstrated significant correlation, highlighting the importance of enrollment year in predicting dropout likelihood. Lastly, GENDER\_ID exhibited meaningful correlation, emphasizing potential gender-based differences in student attrition. These findings underline the significance of demographic and enrollment factors in developing effective predictive models for student dropout.

### 3. Algorithm

The selection of an appropriate model for predicting student dropout depends on various factors such as interpretability, efficiency, and processing complexity. This study employs several machine learning models proven effective for classification tasks. Decision

Tree offers interpretability but is prone to overfitting, while Random Forest mitigates this issue by combining multiple decision trees. Logistic Regression is well-suited for binary classification with linear relationships, whereas K-Nearest Neighbors (KNN) leverages distance-based calculations, making it effective for small datasets. Ada-Boost enhances weak classifiers through boosting, Hist Gradient Boosting optimizes structured data learning using histogram-based techniques, XGBoost provides a highly efficient gradient boosting implementation, and LightGBM delivers faster performance, particularly for large datasets.

#### 3.1 Decision tree

This model divides datasets into subsets based on various attributes to make decisions, making it easy to use and understand (Li *et al.*, 2024; Perez *et al.*, 2018). The tree structure shows a sequence of events that can be followed, providing insight into the primary factors that might lead students to drop out. However, it is prone to overfitting when data is highly complex. The Decision Tree model divides data into different nodes according to attributes, using decision criteria such as Gini Impurity or Entropy to select the best split path. The formula used to calculate node purity is as follows.

$$\text{Gini} = 1 - \sum_{i=1}^n p_i^2$$

$$\text{Entropy} = - \sum_{i=1}^n p_i \log(p_i)$$

Where :  $p_i$  is the proportion of data that is in class  $j$ .  
 $n$  is the total number of classes.

#### 3.2 Random Forest

It combines multiple decision trees to create a single model, reducing the risk of overfitting by randomly selecting features and training multiple trees. This approach is suitable for high-accuracy predictions and works well with complex data, such as predicting student dropouts, which may depend on various factors (Kumar *et al.*, 2024).

$$\hat{y} = \frac{1}{T} \sum_{t=1}^T f_t(x)$$

Where :  $\hat{y}$  It is the result of the model.

$f_t(x)$  This is the prediction result from each tree.

### 3.3 Logistic regression

The statistical model used to predict the probability of outcomes in binary groups finds the relationship between predictor variables and outcomes through logistic regression (Ayyalasomayajula *et al.*, 2024; Perez *et al.*, 2018). This model is suitable for forecasting student dropout when the relationship between predictor variables and outcomes is linear, and the data is not complex.

$$P(y=1|x) = \frac{1}{1+e^{-(\beta_0+\beta_1X_1+\beta_2X_2+\dots+\beta_nX_n)}}$$

Where :  $\beta$  is the coefficient of the variable  
 $X$  is a predictive variable.

### 3.4 K-Nearest Neighbors (KNN)

KNN is a model that uses the distance between data points to predict outcomes by examining the  $k$  most similar neighboring samples (Halder *et al.*, 2024). It is suitable for relatively simple datasets with a small number of samples. However, this model may not perform well when there are many variables or a large amount of data.

$$\hat{y} = \frac{1}{k} \sum_{i \in N(x)} y_i$$

Where :  $\hat{y}$  It is the predicted value.

$k$  It is the number of adjacent data used in the calculation.

$y_i$  It is the value of the target variable in the nearest neighbor data.

$N(x)$  is the set of nearest neighbors points that are closest to the data to be predicted

### 3.5 AdaBoost

It is an efficiency-enhancing model that improves accuracy by training multiple simple models and

combining their outputs to create a more robust model (Xing *et al.*, 2024). This model performs well on less complex data but can also handle imbalanced data, such as cases where the number of employees who resign is lower than those who do not.

$$F(x) = \sum_{t=1}^T \alpha_t h_t(x)$$

Where :  $\alpha_t$  is the weight of the base model at  $t$ .

$h_t(x)$  This is the basic model.

Hist gradient boosting

It is a Gradient Boosting technique that processes data quickly by using histograms for parameter calculation and optimization (Wijayanti *et al.*, 2024). This method is suitable for large and complex datasets. The use of Hist Gradient Boosting can achieve high accuracy while requiring less processing time compared to standard Gradient Boosting methods.

$$F_m(x) = F_{m-1}(x) + \gamma_m h_m(x)$$

Where :  $\gamma_m$  It is learning rate.

$h_m(x)$  It is a newly created tree in round  $m$ .

### 3.7 XGBoost

It is an enhanced version of Gradient Boosting that operates quickly and efficiently, reducing overfitting through regularization and allowing for detailed learning adjustments (Yu *et al.*, 2024). This model is particularly suitable for predicting student attrition when the data is complex and abundant. It has gained significant popularity due to its accuracy and effectiveness in handling large datasets.

$$F_m(x) = F_{m-1}(x) + \eta \cdot h_m(x)$$

Where :  $\eta$  It is learning rate.

### 3.8 LightGBM

Another technique is Gradient Boosting, which focuses on high efficiency and faster processing than XGBoost by utilizing leaf-wise data splitting and handling large datasets (Omotehinwa *et al.*, 2024). It is

particularly well-suited for large datasets and diverse features, such as student data related to dropout rates. LightGBM can enhance the prediction process to be both rapid and accurate.

$$F_m(x) = F_m - 1(x) + \gamma_m h_m(x)$$

Where :  $\gamma_m$  is the appropriate learning rate.

$h_m(x)$  It is a newly created tree.

## Results

In preparing data for building a machine learning model, we start by separating the features from the target. Here, X represents the data containing only the features, which is obtained by removing the 'Target' column, while y is the target data. Next, we split the data into a training set and a testing set using the train\_test\_split function, designating %80 of the data for training and %20 for testing.

For performance evaluation, metrics from the confusion matrix are used, including Accuracy, Precision, Recall, and F1 score, which are commonly used measures in classification problems. The confusion matrix summarizes the results of binary predictions by displaying four cases True Positive (TP), True Negative (TN), False Positive (FP), and False Negative (FN) (Arefin *et al.*, 2024; Omotehinwa *et al.*, 2024; Venkatesan *et al.*, 2024; Wijayanti *et al.*, 2024; Yu *et al.*, 2024). Accuracy is the proportion of total outcomes that the model predicts correctly. Precision measures the accuracy of the model in predicting the positive class. Recall reflects the model's ability to identify all instances of the positive class. Because Precision and Recall are often inversely related, the F1 Score serves as the harmonic mean of the two.

$$\text{Precision} = \frac{TP}{TP+FP}$$

$$\text{Recall} = \frac{TP}{TP+FN}$$

$$\text{F1 Score-measure} = 2 \times \frac{\text{Precision} \times \text{Recall}}{\text{Precision} + \text{Recall}}$$

**Table 2** Cross-validation results for identifying at-risk students using early detection models.

| Method                 | Acc   | Precision | Recall | F1   |
|------------------------|-------|-----------|--------|------|
| Decision Tree          | 79.81 | 0.80      | 0.79   | 0.80 |
| Random Forest          | 84.32 | 0.85      | 0.84   | 0.85 |
| Logistic Regression    | 66.03 | 0.60      | 0.66   | 0.63 |
| K-Nearest Neighbors    | 52.73 | 0.53      | 0.52   | 0.53 |
| AdaBoost               | 60.81 | 0.70      | 0.60   | 0.65 |
| Hist Gradient Boosting | 83.14 | 0.83      | 0.83   | 0.83 |
| XG boost               | 81.71 | 0.80      | 0.82   | 0.81 |
| Light Gradient         | 82.42 | 0.81      | 0.82   | 0.82 |

The results of the performance testing of machine learning models in identifying at-risk students were assessed using cross-validation techniques. This research compared the performance of eight models: Decision Tree, Random Forest, Logistic Regression, K-Nearest Neighbors, AdaBoost, Hist Gradient Boosting, XGBoost, and LightGBM. Model performance was evaluated using four main metrics: Accuracy, Precision, Recall, and F1 Score.

The Random Forest model demonstrated the best outcomes, achieving an accuracy of 84.32%, a precision of 0.85, a recall of 0.84, and an F1 score of 0.85. Further analysis using Recursive Feature Elimination (RFE) identified critical factors influencing student dropout, including ACC\_GPA, REGULAR\_YEAR, RELIGION\_ID, GENDER\_ID, and FAT\_REVENUE\_ID, with GPA identified as the most significant predictor. These results highlight the effectiveness of the Random Forest model in accurately identifying at-risk students. Therefore, the Random Forest model can be effectively employed by educational institutions to proactively identify students at risk and implement targeted interventions to reduce dropout rates.

## Discussion and conclusion

This research study examined and compared the performance of eight machine learning models, namely Decision Tree, Random Forest, Logistic Regression, K-Nearest Neighbors, AdaBoost, Hist Gradient Boosting, XGBoost, and LightGBM for identifying at-risk

undergraduate students using data from students in Thailand. Prior to model training, we addressed the imbalance between dropout and non-dropout students using the Synthetic Minority Oversampling Technique (SMOTE). SMOTE effectively balanced the dataset, reducing model bias toward the majority class and improving predictive accuracy.

Additionally, we employed Recursive Feature Elimination (RFE) as a feature selection method to identify the most critical attributes for predicting dropout status. RFE highlighted key attributes such as ACC\_GPA, REGULAR\_YEAR, RELIGION\_ID, GENDER\_ID, and FAT\_REVENUE\_ID, which significantly contributed to model performance. Incorporating these selected features enhanced the interpretability and accuracy of the predictive models.

The evaluation results, assessed using cross-validation techniques and four primary metrics (Accuracy, Precision, Recall, and F1 Score), indicated that the Random Forest model yielded the best outcomes, with an accuracy of 84.32%, precision of 0.85, recall of 0.84, and an F1 score of 0.85. These results underscore the Random Forest model's capability to accurately identify at-risk students.

These findings suggest that the Random Forest model has potential applications for developing educational systems, (Kumar *et al.*, 2024; Xu & Yin, 2021) particularly in providing appropriate support and interventions for at-risk students, which could help reduce dropout rates and promote greater academic success. However, future research should consider a more in-depth analysis of factors and variables related to student risk, as well as exploring other machine learning models that may perform better. In addition, comparative studies of the performance of models and advanced techniques such as hybrid models or adding other data using data from more diverse samples should be conducted to ensure their reliability and applicability in a wider context.

## Acknowledgment

The researchers would like to express their gratitude to Rajamangala University of Technology Suvarnabhumi for providing the dataset.

## References

- AI Thailand. (2022). *National AI action plan for Thailand's development (2022–2027)*. <https://ai.in.th/about-ai-thailand/>
- Al-Sulami, A., Al-Masre, M., & Al-Malki, N. (2023). Predicting at-risk students' performance based on LMS activity using deep learning. *International Journal of Advanced Computer Science and Applications*, 14(6), 567–574. <https://doi.org/10.14569/IJACSA.2023.0140661>
- Alshamaila, Y., Alsawalqah, H., Aljarah, I., Habib, M., Faris, H., Alshraideh, M., & Salih, B. A. (2024). An automatic prediction of students' performance to support the university education system: A deep learning approach. *Multimedia Tools and Applications*, 83(15), 46369–46396. <https://doi.org/10.1007/s11042-024-18262-4>
- Altabrawee, H., Ali, A. B. J., & Ajmi, Q. (2019). Predicting students' performance using machine learning techniques. *Journal of Physics: Conference Series*, 1234(1), 012010. <https://doi.org/10.1088/1742-6596/1234/1/012010>
- Arefin, S., Chowdhury, M., Parvez, R., Ahmed, T., Abrar, A. F. M. S., & Sumaiya, F. (2024). Understanding APT detection using machine learning algorithms: Is superior accuracy a thing? *2024 IEEE International Conference on Electro Information Technology (EIT)*, 532–537. <https://doi.org/10.1109/EIT60633.2024.10609886>
- Asselman, A., Khaldi, M., & Aammou, S. (2023). Enhancing the prediction of student performance based on the machine learning XGBoost algorithm. *Interactive Learning Environments*, 31(6), 3360–3379. <https://doi.org/10.1080/10494820.2021.1928235>
- Ayyalasomayajula, M. M. T., Agarwal, A., & Khan, S. (2024). Reddit social media text analysis for depression prediction: Using logistic regression with enhanced term frequency-inverse document frequency features. *International Journal of Electrical and Computer Engineering*, 14(5), 5998–6005. <https://doi.org/10.1591/ijece.v14i5.pp5998-6005>

- Baabdullah, A. M. (2024). The precursors of AI adoption in business: Towards an efficient decision-making and functional performance. *International Journal of Information Management*, 75, Article 102745. <https://doi.org/10.1016/j.ijinfomgt.2023.102745>
- Barzani, A. R., Pahlavani, P., Ghorbanzadeh, O., Gholamnia, K., & Ghamisi, P. (2024). Evaluating the impact of recursive feature elimination on machine learning models for predicting forest fire-prone zones. *Fire*, 7(12), Article 440. <https://doi.org/10.3390/fire7120440>
- Cahaya Hidayati, C., Phyu Thet, E. W., & Nouanthong, P. (2024). Evaluation: Media booklet about education on prevention of flour albus for teenage girl. *Journal Evaluation in Education (JEE)*, 5(2), 50–60. <https://doi.org/10.37251/jee.v5i2.928>
- Gašević, D., Dawson, S., Rogers, T., & Gasevic, D. (2016). Learning analytics should not promote one size fits all: The effects of instructional conditions in predicting academic success. *Internet and Higher Education*, 28, 68–84. <https://doi.org/10.1016/j.iheduc.2015.10.002>
- Halder, R. K., Uddin, M. N., Uddin, M. A., Aryal, S., & Khraisat, A. (2024). Enhancing K-nearest neighbor algorithm: A comprehensive review and performance analysis of modifications. *Journal of Big Data*, 11(1), 1–55. <https://doi.org/10.1186/s40537-024-00973-y>
- Hashem, R., Ali, N., Zein, F. E., Fidalgo, P., & Khurma, O. A. (2024). AI to the rescue: Exploring the potential of ChatGPT as a teacher ally for workload relief and burnout prevention. *Research and Practice in Technology Enhanced Learning*, 19, Article 19023. <https://doi.org/10.58459/rptel.2024.19023>
- Hofmann, P., Lämmermann, L., & Urbach, N. (2024). Managing artificial intelligence applications in healthcare: Promoting information processing among stakeholders. *International Journal of Information Management*, 75, Article 102728. <https://doi.org/10.1016/j.ijinfomgt.2023.102728>
- Hussain, S., & Khan, M. Q. (2023). Student-Performulator: Predicting students' academic performance at secondary and intermediate level using machine learning. *Annals of Data Science*, 10(3), 637–655. <https://doi.org/10.1007/s40745-021-00341-0>
- Ibrahim Adedeji Adeniran, I. A., Efunniyi, C. P., Osundare, O. S., & Abhulimen, A. O. (2024). Integrating business intelligence and predictive analytics in banking: A framework for optimizing financial decision-making. *Finance & Accounting Research Journal*, 6(8), 1517–1530. <https://doi.org/10.51594/farj.v6i8.1505>
- Ibrahim, M., Abdelraouf, H., Amin, K. M., & Semary, N. (2023). Keystroke dynamics based user authentication using histogram gradient boosting. *International Journal of Computers and Information (IJCI)*, 9(2). <https://ijci.journals.ekb.eg/>
- Kumar, P., Senthil Pandi, S., Kumaragurubaran, T., & Rahul Chiranjeevi, V. (2024). Human activity recognitions in handheld devices using random forest algorithm. *2024 International Conference on Automation and Computation (AUTOCOM)*, 159–163. <https://doi.org/10.1109/AUTOCOM60220.2024.10486087>
- Li, H., Song, J., Xue, M., Zhang, H., & Song, M. (2024). A survey of neural trees: Co-evolving neural networks and decision trees. *IEEE Transactions on Neural Networks and Learning Systems*. Advance online publication. <https://doi.org/10.1109/TNNLS.2024.3446891>
- Nayak, P., Vaheed, S., Gupta, S., & Mohan, N. (2023). Predicting students' academic performance by mining the educational data through machine learning-based classification model. *Education and Information Technologies*, 28(11), 14611–14637. <https://doi.org/10.1007/s10639-023-11706-8>
- Omotehinwa, T. O., Oyewola, D. O., & Mounq, E. G. (2024). Optimizing the light gradient-boosting machine algorithm for an efficient early detection of coronary heart disease. *Informatics and Health*, 1(2), 70–81. <https://doi.org/10.1016/j.infoh.2024.06.001>
- Pamir, Javaid, N., Akbar, M., Aldegheishem, A., Alrajeh, N., & Mohammed, E. A. (2022). Employing a machine learning boosting classifiers based stacking ensemble model for detecting non technical losses in smart grids. *IEEE Access*, 10, 121886–121899. <https://doi.org/10.1109/ACCESS.2022.3222883>

- Perez, B., Castellanos, C., & Correal, D. (2018). Applying data mining techniques to predict student dropout: A case study. *2018 IEEE 1st Colombian Conference on Applications in Computational Intelligence (ColCACI)*. <https://doi.org/10.1109/COLCACI.2018.8484847>
- Peterson, L. E. (2009). K-nearest neighbor. *Scholarpedia*, 4(2), Article 1883. <https://doi.org/10.4249/scholarpedia.1883>
- Rabbi, F., Ullah, N., Hossain, I., Ashour, O. M., & Ashour, O. (2024). *Predicting management skills of undergraduate students by leveraging different machine learning classifiers* [Preprint]. ResearchGate. <https://www.researchgate.net/publication/380880140>
- Rahayu, W., Jollyta, D., Hajjah, A., Nora Marlim, Y., & Desnelita, Y. (2024). Synthetic Minority Oversampling Technique (SMOTE) for boosting the accuracy of C4.5 algorithm model. *Journal of Artificial Intelligence and Engineering Applications*, 3(3). <https://ioinformatic.org/>
- Rastrollo-Guerrero, J. L., Gómez-Pulido, J. A., & Durán-Domínguez, A. (2020). Analyzing and predicting students' performance by means of machine learning: A review. *Applied Sciences*, 10(3), Article 1042. <https://doi.org/10.3390/app10031042>
- Shoaib, M., Sayed, N., Singh, J., Shafi, J., Khan, S., & Ali, F. (2024). AI student success predictor: Enhancing personalized learning in campus management systems. *Computers in Human Behavior*, 158, Article 108301. <https://doi.org/10.1016/j.chb.2024.108301>
- Singh, S. P., Singh, P., & Mishra, A. (2020). Predicting potential applicants for any private college using LightGBM. *2020 International Conference on Innovative Trends in Information Technology (ICITIIT)*. <https://doi.org/10.1109/ICITIIT49094.2020.9071525>
- Venkatesan, R. G., Karmegam, D., & Mappillairaju, B. (2024). Exploring statistical approaches for predicting student dropout in education: A systematic review and meta-analysis. *Journal of Computational Social Science*, 7(1), 171–196. <https://doi.org/10.1007/s42001-023-00231-w>
- Weist, M. D., Garbacz, A., Schultz, B., Bradshaw, C. P., & Lane, K. L. (2024). Revisiting the percentage of K-12 students in need of preventive interventions in schools in a “peri-COVID” era: Implications for the implementation of tiered programming. *Prevention Science*, 25(3), 481–487. <https://doi.org/10.1007/s11121-023-01618-x>
- Wijayanti, E. B., Rosal, D., Setiadi, I. M., & Setyoko, B. H. (2024). Dataset analysis and feature characteristics to predict rice production based on eXtreme Gradient Boosting. *Journal of Computing Theories and Applications*, 1(3), 299–310. <https://doi.org/10.62411/jcta.10057>
- Xing, H. J., Liu, W. T., & Wang, X. Z. (2024). Bounded exponential loss function based AdaBoost ensemble of OCSVMs. *Pattern Recognition*, 148, Article 110191. <https://doi.org/10.1016/j.patcog.2023.110191>
- Xu, Q., & Yin, J. (2021). Application of Random Forest algorithm in physical education. *Scientific Programming*, 2021, Article 1996904. <https://doi.org/10.1155/2021/1996904>
- Yu, C., Jin, Y., Xing, Q., Zhang, Y., Guo, S., & Meng, S. (2024). *Advanced user credit risk prediction model using LightGBM, XGBoost and Tabnet with SMOTEENN* [Preprint]. arXiv. <https://arxiv.org/abs/2408.03497v1>

# ผลกระทบของการเกิดตะกอนในระบบระบายความร้อนของหน่วยประมวลผลกลางที่ใช้ของไหลนาโนชนิดไทเทเนียมไดออกไซด์ที่กระจายตัวในน้ำ

## Effects of fouling formation in the cooling system of a central processing unit using Titanium Dioxide nanofluid

ชยุต พลอยจิรภาส<sup>1</sup>, ดวงฤดี ชูตระกูล<sup>1</sup> และขวัญชัย หนาแน่น<sup>1\*</sup>

Chayut Ployjirapas<sup>1</sup>, Duangrudee Chutrakul<sup>1</sup> and Kwanchai Nanan<sup>1\*</sup>

**Received:** 21 January 2025 ; **Revised:** 10 March 2025 ; **Accepted:** 21 April 2025

### บทคัดย่อ

งานวิจัยนี้ได้ศึกษาผลกระทบของการเกิดตะกอนในระบบระบายความร้อน CPU โดยได้แบ่งออกเป็นสองส่วนหลักเพื่อพัฒนาประสิทธิภาพระบบระบายความร้อนของหน่วยประมวลผลกลาง (CPU) ในส่วนแรก ได้ศึกษาความเข้มข้นที่เหมาะสมของของไหลนาโน  $\text{TiO}_2$ /น้ำ (0.02 Vol.%, 0.05 Vol.%, 0.1 Vol.%, และ 0.15 Vol.%) ในการลดอุณหภูมิของ CPU เมื่อเปรียบเทียบกับน้ำธรรมดาและระบบระบายความร้อนแบบดั้งเดิม (Heat Sink) ผลการทดลองแสดงให้เห็นว่าความเข้มข้นของอนุภาคนาโน  $\text{TiO}_2$  เท่ากับ 0.05 Vol.% ให้ประสิทธิภาพสูงสุด โดยลดอุณหภูมิ CPU ได้เฉลี่ย 0.9 °C เมื่อเทียบกับน้ำธรรมดา และมากถึง 15.9 °C เมื่อเทียบระบบระบายความร้อนแบบดั้งเดิม ในส่วนที่สอง ความเข้มข้นของอนุภาคนาโน  $\text{TiO}_2$  เท่ากับ 0.05 Vol.% ถูกนำไปทดสอบในการใช้งานระยะยาวเป็นเวลา 12 เดือน เพื่อประเมินผลกระทบจากการเกิดตะกอนในระบบ ผลการทดลองพบว่าระบบระบายความร้อนยังคงมีประสิทธิภาพดีในช่วง 5 เดือนแรก แต่เริ่มลดลงในระยะถัดมาและทำให้อุณหภูมิของ CPU เพิ่มขึ้นเฉลี่ย 1.1 °C เนื่องจากตะกอนทำหน้าที่เป็นฉนวนความร้อน การศึกษานี้ชี้ให้เห็นว่าการใช้ของไหลนาโน  $\text{TiO}_2$ /น้ำ ที่ความเข้มข้น 0.05 Vol.% สามารถเพิ่มประสิทธิภาพการระบายความร้อนได้ดี โดยควรเปลี่ยนของไหลทุก 5 เดือน

**คำสำคัญ:** ของไหลนาโน  $\text{TiO}_2$ /น้ำ, ตะกอน, หน่วยประมวลผลกลางคอมพิวเตอร์

### Abstract

This research investigates the effects of fouling formation in the Cooling System of a CPU, divided into two main parts to enhance the cooling efficiency of central processing units (CPU). The first part focuses on identifying the optimal concentration of  $\text{TiO}_2$ /water nanofluids (0.02 Vol.%, 0.05 Vol.%, 0.1 Vol.%, and 0.15 Vol.%) for reducing CPU temperatures compared to water-based cooling and heat sink systems. The results indicate that a 0.05 Vol.% concentration provides the best performance, reducing CPU temperatures by an average of 0.9 °C compared to water and 15.9 °C compared to heat sinks. In the second part, the optimal concentration (0.05 Vol.%) was tested over 12 months to evaluate the effect of fouling on the system. The findings reveal that the cooling system maintains high efficiency during the first five months but starts to degrade thereafter. CPU temperatures increased by an average of 1.1 °C due to fouling acting as a thermal insulator. This study highlights that  $\text{TiO}_2$ /water nanofluids at a 0.05 Vol.% concentration can significantly enhance cooling performance, with fluid replacement recommended every five months to sustain efficiency.

**Keywords:**  $\text{TiO}_2$ /water nanofluid, fouling, central processing units (CPU)

<sup>1</sup> คณะวิศวกรรมศาสตร์และเทคโนโลยีอุตสาหกรรม มหาวิทยาลัยราชภัฏเพชรบุรี จังหวัดเพชรบุรี

<sup>1</sup> Faculty of Engineering and Industrial Technology, Phetchaburi Rajabhat University, Phetchaburi Province

\* Corresponding author, e-mail: kwanchai.nanan@mail.pbru.ac.th

## บทนำ

เทคโนโลยีต่างๆ ของโลกมีการเปลี่ยนแปลงอย่างรวดเร็วและไม่หยุดยั้งเนื่องจากเทคโนโลยีมีบทบาทสำคัญต่อการดำรงชีวิตของมนุษย์โดยถูกนำมาประยุกต์ใช้และพัฒนาในด้านต่างๆ เช่นการพัฒนาอุตสาหกรรม การพัฒนาด้านการเกษตร และการพัฒนาด้านการสื่อสาร ยิ่งไปกว่านั้นการพัฒนาเทคโนโลยีของอุตสาหกรรมขั้นสูงเช่น กลุ่มปัญญาประดิษฐ์ เป็นไปอย่างก้าวกระโดดในระยะเวลา 1 ทศวรรษที่ผ่านมา ซึ่งการพัฒนาเทคโนโลยีต่างๆ เป็นปัจจัยที่สำคัญของการพัฒนาประเทศสู่การพัฒนาในอนาคต “หน่วยประมวลผลกลาง คอมพิวเตอร์หรือ Central Processing Unit, CPU” เป็นอุปกรณ์อิเล็กทรอนิกส์ที่มีความสำคัญมากในการประมวลผลเพื่อควบคุม ตัดสินใจ และสั่งการเครื่องจักรหรือเทคโนโลยีนั้นๆ ซึ่งอุปกรณ์ดังกล่าวมีแนวโน้มถูกพัฒนาให้มีขนาดเล็กลง แต่สมรรถนะหรือความสามารถในการทำงานสูงขึ้น จึงทำให้ฟลักซ์ความร้อน (ค่าความร้อนที่ปล่อยออกมาต่อหน่วยพื้นที่) มีค่าเพิ่มสูงขึ้นตามเช่นกัน ซึ่งในปัจจุบันการระบายความร้อนให้กับอุปกรณ์ CPU ด้วยอากาศไม่เพียงพอต่อการใช้งานในปัจจุบันได้มีการพัฒนาระบบระบายความร้อนให้กับอุปกรณ์อิเล็กทรอนิกส์ด้วยน้ำมาอย่างต่อเนื่อง ซึ่งแนวทางการพัฒนาที่อยู่ในความสนใจของนักวิจัยอย่างกว้างขวางคือ การเพิ่มค่าการถ่ายเทความร้อนให้กับระบบระบายความร้อนโดยเฉพาะในอุปกรณ์อิเล็กทรอนิกส์ ด้วยของไหลนาโน (Nanofluids) แทนที่ของไหลพื้นฐานทั่วไปเช่น น้ำ น้ำมัน และเอทิลีนไกลคอล อันเกิดจากข้อได้เด่นของอนุภาคนาโนที่มีค่าสภาพการนำความร้อน (Thermal conductivity) สูงกว่าน้ำหลาย 100 เท่า เมื่อนำอนุภาคนาโนที่เป็นของแข็งผสมในของไหลพื้นฐานจะเกิดเป็นของไหลชนิดใหม่ที่เรียกว่า “ของไหลนาโน” ซึ่งเป็นของไหลที่สามารถเพิ่มประสิทธิภาพการถ่ายเทความร้อนสูงขึ้นได้ ส่งผลให้สามารถลดขนาดของอุปกรณ์ระบายความร้อนลดขนาดของปั๊ม และประหยัดพลังงานลงได้โดยอนุภาคนาโน (nanoparticles) เป็นวัสดุนาโนกลุ่มหนึ่งที่มีขนาดเล็กในระดับนาโนเมตร (1-100 นาโนเมตร) ซึ่งสมบัติทางกายภาพและเคมีของอนุภาคนาโนเหล่านี้มีความแตกต่างจากวัสดุชนิดเดียวกันที่มีขนาดใหญ่อย่างสิ้นเชิง อนุภาคนาโนได้ถูกนำไปประยุกต์ใช้ในงานได้หลายประเภทตามคุณสมบัติของอนุภาคนั้นๆ เช่นอนุภาคนาโนของทอง มีประโยชน์ทางด้านการสังเคราะห์ชั้นเดียวแบบประกอบตัวเองซึ่งถูกนำไปใช้เป็นนาโนเซ็นเซอร์และเป็นตัวตรวจวัดในอุปกรณ์เซ็นเซอร์ได้แต่ราคาค่อนข้างสูง ในขณะที่อนุภาคนาโนของไทเทเนียมออกไซด์ ( $\text{TiO}_2$ ) ซึ่งมีราคาถูก โดยงานวิจัยนี้ถูกนำไปใช้เป็นของไหลนาโน  $\text{TiO}_2$ /น้ำ เพื่อใช้ศึกษา/วิจัยและพัฒนาเทคโนโลยีด้านการเพิ่มประสิทธิภาพ

การถ่ายเทความร้อนจากนักวิจัยทั้งในและต่างประเทศอย่างแพร่หลาย ของไหลนาโนเป็นสารแขวนลอยของอนุภาคนาโน ซึ่งมีแนวโน้มใช้เป็นของไหลเพิ่มประสิทธิภาพการถ่ายเทความร้อน มีการใช้งานมากขึ้น เนื่องจากมีการนำความร้อนและคุณสมบัติเชิงรีโอโลยี (rheological properties) ที่ดีกว่า (Ali & Salam, 2020) ได้สืบค้นการปรับปรุงการถ่ายเทความร้อนโดยใช้ของไหลนาโน การเพิ่มเสถียรภาพ ลักษณะทางฟิสิกส์ การถ่ายเทความร้อนของของไหลนาโน และปัจจัยต่างๆ เช่นขนาดอนุภาค รูปร่าง สารตั้งต้น อุณหภูมิ ฯลฯ เกี่ยวกับการนำความร้อน การศึกษาค้นคว้านี้เผยให้เห็นการใช้งานที่เป็นไปได้โดยการใช้ของไหลนาโน เช่น เครื่องแลกเปลี่ยนความร้อน การทำความเย็นในการขนส่ง การทำความเย็นในอุปกรณ์อิเล็กทรอนิกส์ การทำความเย็นทางอุตสาหกรรม ระบบนิวเคลียร์ การทำงานของเครื่องจักร พลังงานแสงอาทิตย์และการแยกเกลือออกจากน้ำทะเล เป็นต้น ซึ่งจากการสืบค้นยังมีอุปสรรคการใช้งานและความท้าทาย โอกาสในการวิจัยต่อไป ส่วนการนำของไหลนาโนในระบบระบายความร้อน CPU ด้วยของไหลน้ำ (Naphon & Wongwises, 2010) ได้ทำการศึกษาการถ่ายโอนความร้อนด้วยเจ้าของเหลวในครีระบายความร้อนสำหรับหน่วยประมวลผลกลางของคอมพิวเตอร์ส่วนบุคคล การทดลองมีการทดสอบค่าความร้อน ความกว้างของช่องทางที่แตกต่างกันภายใต้สภาพการใช้งานจริง CPU ทำงานเต็มที่ 100% ระบบระบายความร้อนด้วยของเหลวหรือน้ำผ่านครีบลิเลียมของบล็อก CPU พบว่าอุณหภูมิหน่วยประมวลผลกลางที่ได้รับจากระบบเจ้าของเหลวจะต่ำกว่าระบบระบายความร้อนจากของเหลว น้ำ ผลที่ได้จากการศึกษาค้นคว้านี้จะนำไปสู่แนวทางที่จะช่วยให้การออกแบบระบบทำความเย็นของการระบายความร้อนด้วยที่ดีขึ้น ผลการดำเนินงานเพื่อให้มั่นใจว่าอุปกรณ์เหล่านี้อยู่ในที่เฉพาะเจาะจงช่วงอุณหภูมิ

การใช้ของไหลนาโนร่วมกับเครื่องแลกเปลี่ยนความร้อน (Ma et al., 2006) ได้ทำการทดลองโดยประยุกต์ใช้ของไหลนาโนที่ใช้อนุภาคนาโนของเพชรที่ความเข้มข้น 1 Vol.% กับท่อความร้อนแบบสันโดยพบว่าความสามารถในการถ่ายเทความร้อนได้เพิ่มสูงขึ้นอย่างมากที่อัตราการป้อนความร้อน 80 W พบว่าสามารถลดอุณหภูมิแตกต่างระหว่างตัวคอนเดนเซอร์กับอีวาพอเรเตอร์ได้จาก 40.9 °C เป็น 24.3 °C ขณะที่ (Duangthongsuk & Wongwises, 2009). ได้ทำการศึกษาการถ่ายเทความร้อนโดยใช้ของไหลนาโน  $\text{TiO}_2$ /น้ำ ที่ความเข้มข้น 0.2% โดยปริมาตร เป็นสารทำงานพบว่าของไหลนาโนทำให้ระบบมีค่าสัมประสิทธิ์การถ่ายเทความร้อนสูงขึ้นจากสารทำงานเดิมที่เป็นน้ำ อีกทั้งพบว่าความดันตกคร่อมเพิ่มขึ้นน้อยมากเมื่อเปรียบเทียบกับของไหลน้ำ

(Abbasian Arani & Amani, 2013) ได้ศึกษาการถ่ายเทความร้อนของน้ำกลั่นผสมสารนาโน  $\text{TiO}_2$  ที่ความเข้มข้น 0.01 Vol % ถึง 0.02 Vol % และที่ขนาดเส้นผ่านศูนย์กลางสาร 10, 20, 30 และ 50 nm โดยการไหลแบบปั่นป่วนที่เลขเรย์โนลด์ 8,000 – 51,000 ผลการทดลองพบว่าค่าถ่ายเทความร้อนสูงกว่าของเหลวพื้นฐาน และค่าการถ่ายเทความร้อนไม่เพิ่มขึ้นเมื่อลดขนาดของสารนาโน  $\text{TiO}_2$  และอนุภาคนาโนที่มีเส้นผ่านศูนย์กลาง 20 nm มีสมรรถนะในการถ่ายเทความร้อนสูงสุด (Khedkar *et al.*, 2014) ศึกษาคุณลักษณะการถ่ายเทความร้อนที่ใช้ของไหลนาโน  $\text{TiO}_2$  สำหรับหล่อเย็นในเครื่องแลกเปลี่ยนความร้อนแบบท่อสองชั้น ท่อภายในทำจากท่อทองแดง ความยาว 1,000 mm ผลการทดลองพบว่าอัตราการถ่ายเทความร้อนเฉลี่ยที่ใช้ของไหลนาโนเป็นสารหล่อเย็นสูงกว่าที่ใช้น้ำและอัตราการถ่ายเทความร้อนก็เพิ่มขึ้นตามความเข้มข้นของไหลนาโนด้วย (สหัสวัต แศวรัมย์ย์, 2564) ต้องการพัฒนาโครงข่ายประสาทเทียมสำหรับทำนายค่าการนำความร้อน ความจุความร้อนจำเพาะ ความหนืด และความหนาแน่น โดยใช้โครงข่ายประสาทเทียมแบบส่งไปข้างหน้าและแบบส่งไปข้างหน้าและด้านหลัง ใช้รูปแบบการเรียนรู้แบบ Levenberg-Marquard จากการพัฒนาได้โครงข่ายประสาทเทียมสำหรับทำนายการนำความร้อน ความร้อนจำเพาะ ความหนาแน่น และความหนืดของไหลไฮบริดนาโนได้ค่า R มากกว่า 0.9 สำหรับการสอน การตรวจสอบ และการทดสอบ เมื่อนำค่าสมบัติการนำความร้อนไปประยุกต์ใช้ในกรณีศึกษาเครื่องแลกเปลี่ยนความร้อนของกระบวนการผลิตไอโซโพรพิลแอลกอฮอล์พบว่า ของไหลไฮบริดนาโน ( $\text{CuO}$  และ  $\text{MgO}$ ) มีประสิทธิภาพการนำความร้อนดีที่สุดในการนำไปประยุกต์ใช้กับเครื่องแลกเปลี่ยนความร้อน เมื่อกำหนดให้กระบวนการมีความเข้มข้นของไอโซโพรพิลแอลกอฮอล์สูงสุด ล่าสุด (คมกฤษณ์ ชัยโย, 2567) ได้ทำการการจำลองเชิงตัวเลขมาใช้ในการศึกษาลักษณะการถ่ายเทความร้อนและการไหลของไหลนาโนฟุ้งชนแบบราบเรียบบนแหล่งกำเนิดความร้อนที่มีครีประบายความร้อนด้วยแบบจำลองเดี่ยว ภายใต้ขอบเขตทางความร้อนที่ครีประบายความร้อนมีพื้นผิวร้อนแบบอุณหภูมิคงที่ ระเบียบวิธีไฟไนต์วอลุ่มถูกใช้เพื่อหาผลเฉลยของสมการควบคุมการถ่ายเทความร้อน และการไหลโดยใช้ของไหลนาโนอะลูมิเนียมออกไซด์ ( $\text{Al}_2\text{O}_3$ ) เป็นสารทำงานที่มีความเข้มข้นโดยปริมาตรอยู่ระหว่าง 0% ถึง 4% การคำนวณได้ทำการศึกษาถึงผลกระทบของการเปลี่ยนแปลงค่าความเข้มข้นโดยปริมาตรของอนุภาคนาโนและค่าเรย์โนลด์นัมเบอร์ ผลการคำนวณที่ได้พบว่าการถ่ายเทความร้อนเพิ่มขึ้นตามค่าความเข้มข้นโดยปริมาตรของอนุภาคนาโนและ ค่าเรย์โนลด์นัมเบอร์ เมื่อพิจารณาจากค่าประสิทธิภาพ

เบอร์ ณ ตำแหน่ง Stagnation ตำแหน่งใดๆ และค่าประสิทธิภาพเบอร์เฉลี่ย นอกจากนี้ได้เปรียบเทียบชนิดของของไหลนาโนระหว่างของไหลนาโนอะลูมิเนียมออกไซด์กับของไหลนาโนไทเทเนียมออกไซด์ ( $\text{TiO}_2$ ) พบว่าของไหลนาโนอะลูมิเนียมออกไซด์ให้การถ่ายเทความร้อนที่ต่ำกว่าของไหลนาโนไทเทเนียมออกไซด์ ล่าสุด (Liu *et al.*, 2025) ได้ใช้ของไหลนาโน  $\text{CuO}$ /น้ำ เป็นของไหลทำงานในระบบปั๊มความร้อนแบบต่อกับพื้นและประเมินประสิทธิภาพทั้งเชิงตัวเลขและเชิงทดลอง ในขั้นต้นได้มีการดำเนินการตรวจสอบเชิงตัวเลขของการไหลของของไหลนาโนและการถ่ายเทพลังงานภายในท่อเกลียวภายใต้เงื่อนไขขอบเขตอุณหภูมิผนังคงที่ โดยใช้แบบจำลองเฟสเดียวที่เป็นเนื้อเดียวกัน แบบจำลองการกระจายความร้อนและแบบจำลองเฟสแยกจากกัน ตามลำดับ จากนั้นจึงเปรียบเทียบและวิเคราะห์ความแม่นยำและความสามารถในการนำไปใช้ของแบบจำลอง ผลแบบจำลองการกระจายความร้อนแสดงให้เห็นถึงความเรียบง่ายและความแม่นยำสูง ทำให้เหมาะสำหรับการสร้างแบบจำลองการไหลของของไหลนาโนและการถ่ายเทความร้อนในระบบปั๊มความร้อนแบบต่อกับพื้นจากแบบจำลองเชิงตัวเลข 3 มิติของการปรับปรุงการถ่ายเทความร้อนได้พัฒนาและผ่านการตรวจเทียบกับข้อมูลการทดลอง โดยมีค่าผิดพลาดเฉลี่ยสูงสุดที่ 3.94%

ด้วยคุณสมบัติเด่นของอนุภาค  $\text{TiO}_2$  จึงเป็นที่มาของงานวิจัยนี้เพื่อประยุกต์ใช้ของไหลนาโน  $\text{TiO}_2$ /น้ำ ที่เหมาะสมต่อสมรรถนะทางความร้อนของระบบระบายความร้อน CPU สมรรถนะสูง และศึกษาผลกระทบของการเกิดตะกอนในระบบระบายความร้อนที่ใช้ของไหลนาโน  $\text{TiO}_2$ /น้ำ ภายใต้การใช้งานในระยะยาวต่อเนื่อง 12 เดือน ในสภาพการทำงานจริงของระบบระบายความร้อนของ CPU โดยใช้คอมพิวเตอร์ Dell Vostro 270 ซึ่งมีหน่วยประมวลผลกลาง Core i5 Processor No 3450 ที่ใช้ของไหลนาโน  $\text{TiO}_2$ /น้ำ ในความเข้มข้นที่แตกต่างกัน เพื่อให้ได้ข้อมูลในการออกแบบและพัฒนาระบบระบายความร้อนในอนาคต

## การทดลอง

### 1. อุปกรณ์การทดลอง

การเตรียมของไหลนาโน  $\text{TiO}_2$ /น้ำ มีขั้นตอนดังแสดงใน Figure 1 เมื่อเทน้ำที่ผสมกับอนุภาคนาโน ( $\text{TiO}_2$ ) ลงไปในปิกเกอร์แล้ว จากนั้นนำไปวางบนตะแกรงในเครื่องสั่น Ultrasonic โดยตั้งเวลาในการทำงานของเครื่อง Ultrasonic เป็นเวลา 1 ชั่วโมง ซึ่งจะได้ของไหลนาโน  $\text{TiO}_2$ /น้ำ ที่ความเข้มข้นตามของเขตการทดลองเพื่อนำเข้าสู่ขั้นตอนต่อไป



**Figure 1** Preparation of  $\text{TiO}_2$ /Water nanofluid.

สำหรับ Figure 2 แสดงแผนภาพอุปกรณ์ชุดทดลอง ประกอบด้วยถังบรรจุของไหล ระบบระบายความร้อน CPU ด้วยของไหล เซ็นเซอร์วัดอุณหภูมิแบบต้านทาน (RTD) เครื่องบันทึกข้อมูล และวัดมิติเตอร์แบบแคลมป์ของ Fluke รุ่น 325 แหล่งกำเนิดความร้อนคือหน่วยประมวลผลกลาง (CPU) Intel Core i5 รุ่น 3450 (77 W) ซึ่งเป็น CPU ที่นิยมใช้กันทั่วไป ใช้โปรแกรม FurMark เวอร์ชัน 1.19.0.0 จำลองการทำงานของ CPU พื้นผิวแลกเปลี่ยนความร้อนของระบบระบายความร้อนทำจากทองแดง มีขนาด 40 มม. × 40 มม. × 14 มม. ท่อทางเข้าระบบระบายความร้อนมีขนาดเส้นผ่านศูนย์กลาง 10 มิลลิเมตร ใช้ RTD (Resistance Temperature Detector) สำหรับวัดอุณหภูมิของ CPU และของไหลที่ทางเข้าและออก ระบบระบายความร้อน ของไหลที่ใช้ในการทดลองมีความเข้มข้นตามปริมาตรที่ 0.02%, 0.05%, 0.1% และ 0.15% ตามลำดับ ถูกสูบล้างด้วยปั๊มหมุนเวียนภายใต้กำลังขับปั๊มคงที่ให้อัตราการไหลเชิงมวลอยู่ในช่วง 0.013 – 0.0138 kg/s (ขึ้นอยู่กับความเข้มข้นตามปริมาตร) ที่ลักษณะการไหลตามเลขเรย์โนลด์ส์ 1565-2104 (พิจารณาที่ตำแหน่งทางเข้า) รายละเอียดของผลการวิเคราะห์ความไม่แน่นอนสำหรับการทดลองได้นำเสนอตั้ง Table 1

**Table1** Details of the experimental uncertainties.

| Variables                          | Uncertainty (%) |
|------------------------------------|-----------------|
| Temperature ( $^{\circ}\text{C}$ ) | 3.4             |
| Mass flow rate (kg/s)              | 5.1             |

ภายใต้สภาวะคงตัว อัตราการถ่ายเทความร้อนของไหลนาโนที่ไหลผ่าน CPU คำนวณได้จากสมการ

$$q_{nf} = \dot{m} C_{p,nf} (T_{nf,out} - T_{nf,in}) \quad (1)$$

โดยที่  $\dot{m}$  และ  $C_{p,nf}$  คือ อัตราการไหลของมวลและความจุความร้อนจำเพาะของของไหลนาโน ตามลำดับ ส่วน  $T_{nf,in}$  และ  $T_{nf,out}$  คืออุณหภูมิทางเข้าและทางออกของของไหลนาโน

ค่าความหนาแน่นคำนวณได้จากกฎการผสมพื้นฐาน (Basic Mixing Rule) สำหรับของผสม ดังนี้

$$\rho_{nf} = \phi \rho_w + (1 - \phi) \rho_{np} \quad (2)$$

โดยที่  $\rho_{nf}$  คือ ความหนาแน่นของของไหลนาโน ( $\text{kg/m}^3$ )  
 $\rho_{np}$  คือ ความหนาแน่นของอนุภาคนาโน ( $\text{kg/m}^3$ )  
 $\rho_w$  คือ ความหนาแน่นของน้ำ ( $\text{kg/m}^3$ )  
 $\phi$  คือ เปอร์เซ็นต์ความเข้มข้นเชิงปริมาตรของอนุภาคนาโน

ค่าความจุความร้อนจำเพาะ ( $C_{p,nf}$ ) หาได้จากสมการ

$$C_{p,nf} = \frac{\phi \rho_{np} C_{p,np} + (1 - \phi) \rho_w C_{p,w}}{\rho_{nf}} \quad (3)$$

ความหนืดของอนุภาคทรงกลมของสารนาโนที่ความเข้มข้นไม่เกิน 5.0 Vol.% คำนวณได้จากสมการทั่วไปของ Einstein (1911) โดยที่  $\eta$  คงที่เท่ากับ 2.5

$$\mu_i = \mu \phi + \eta \phi \quad (4)$$

ค่าสัมประสิทธิ์การนำความร้อนของของไหลนาโน ( $k_{nf}$ ) หาได้จากสมการของ Maxwell (1954)

$$\frac{k_{nf}}{k_w} = \frac{k_{np} + 2k_w}{k_{np} + 2k_w} \frac{2\phi(k_{np} - k_w)}{\phi(k_{np} - k_w)} \quad (5)$$

การคำนวณเปอร์เซ็นต์ความเข้มข้นเชิงปริมาตรของอนุภาคนาโนในของไหลนาโน ใช้สมการ

$$\phi = \frac{\frac{W_{np}}{\rho_{np}}}{\frac{W_{np}}{\rho_{np}} + \frac{W_w}{\rho_w}} \times 100\% \quad (6)$$

โดยที่

$W_{np}$  : มวลของอนุภาคนาโน (kg)

$W_w$  : มวลของของไหลพื้นฐาน (kg)

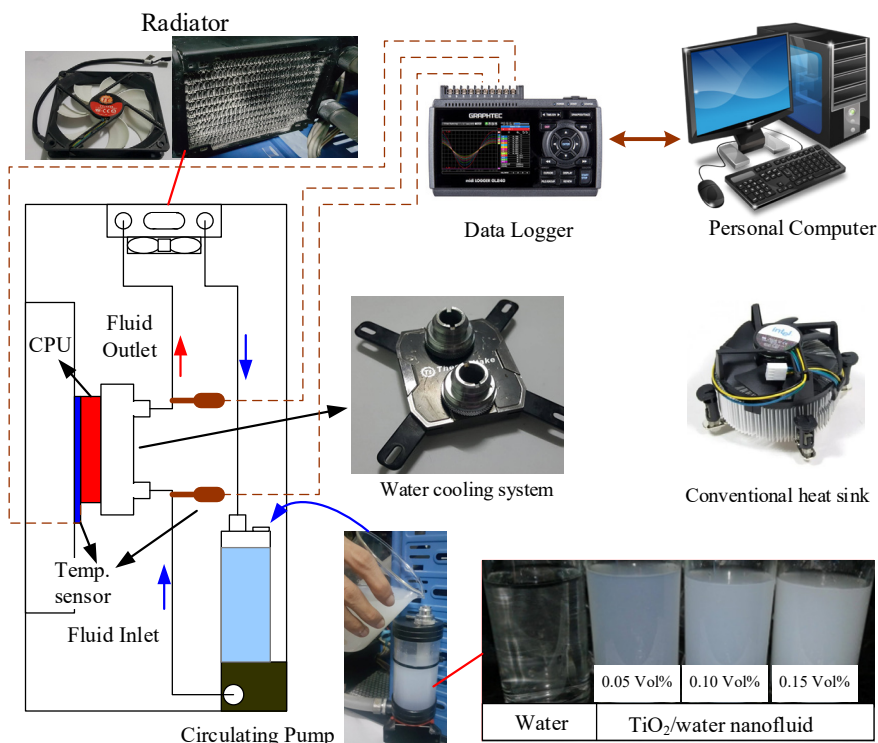


Figure 2 Schematic diagram of experimental apparatus.

## 2. วิธีการทดลอง

การทดลองนี้ได้แบ่งออกเป็น 7 กรณีศึกษา ซึ่งใช้โปรแกรม FurMark ในการจำลองการทำงานของ CPU เพื่อให้ได้ภาระโหลดสูงสุด เริ่มจากกรณีศึกษาที่ 1 คือ ระบบระบายความร้อน CPU ด้วยครีบบระบายความร้อนแบบดั้งเดิม (Heat Sink) เมื่อติดตั้งครีบบระบายความร้อนแบบดั้งเดิม รออุณหภูมิห้องที่ประมาณ 29 °C จึงเริ่มบันทึกค่าอุณหภูมิด้วยเครื่องบันทึกอุณหภูมิ (Data Logger) โดยจะบันทึกค่าอุณหภูมิทุกๆ 60 วินาที เมื่อเวลาผ่านไป 2 นาที จึงเปิดเครื่องคอมพิวเตอร์ให้ทำงานในสภาวะไม่มีโหลดความร้อน หลังจากนั้นเมื่อเวลาผ่านไปจนถึงนาทีที่ 18 จึงเริ่มเปิดโปรแกรม FurMark เพื่อจำลองการทำงานของ CPU ในสภาวะโหลดสูงสุดซึ่งระบบจะทำงานจนครบ 42 นาที ซึ่งเป็นการสิ้นสุดของการทดลองในกรณีแรก จากนั้นจึงทำการเปลี่ยนอุปกรณ์เป็นชุดระบายความร้อนด้วยของไหล ซึ่งแบ่งออกเป็นของไหลที่ใช้ทำงานประกอบด้วย น้ำ และของไหลนาโน  $\text{TiO}_2$  ความเข้มข้นเชิงปริมาตรที่ 0.02%, 0.05%, 0.1% และ 0.15% โดยทำการทดลองเช่นเดียวกับกรณีแรก ซึ่งจะได้ผลการศึกษาตามกรณีศึกษาที่ 2-6 ตามลำดับ ข้อมูลอุณหภูมิที่ได้ทั้ง อุณหภูมิของพื้นผิว CPU อุณหภูมิน้ำเข้า และอุณหภูมิน้ำออก CPU ภายใต้การทดลองที่อุณหภูมิห้องเดียวกันจะถูกนำไปประเมินหาความเข้มข้นเชิงปริมาตรของของไหลนาโน  $\text{TiO}_2$  น้ำ ที่เหมาะสมสำหรับระบบระบายความร้อน CPU ต่อไป

เมื่อได้ค่าความเข้มข้นเชิงปริมาตรของของไหลนาโน  $\text{TiO}_2$  น้ำ ที่ดีที่สุด ขั้นตอนการทดลองต่อไปเป็นการทดสอบถึงผลกระทบของการเกิดตะกอนในระบบระบายความร้อน CPU เป็นกรณีศึกษาที่ 7 ขั้นตอนการทดลองทำได้เช่นเดียวกับก่อนหน้านี้นี้โดยได้ทดสอบผลกระทบของการเกิดตะกอนต่อระบบระบายความร้อนเป็นระยะเวลา 12 เดือน ซึ่ง จะทำการทดลองหลังจากใช้งานต่อเนื่องทุกๆ เดือน ซึ่งแต่ละครั้งจะทดลองซ้ำจำนวน 3 ครั้ง เพื่อความน่าเชื่อถือของผลการทดลอง

## ผลการทดลองและอภิปรายผล

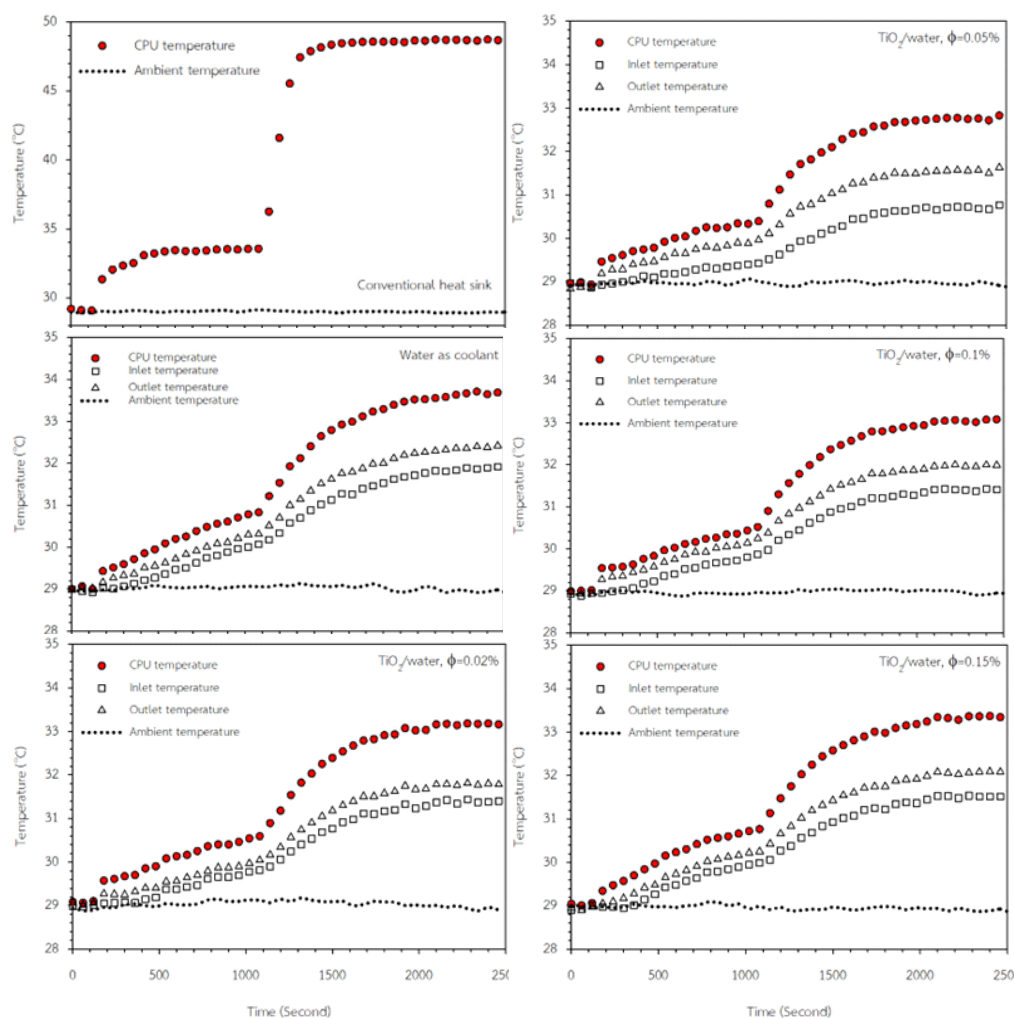
จาก Figure 3 แสดงผลอุณหภูมิของการระบายความร้อนหน่วยประมวลผลกลางคอมพิวเตอร์ด้วยครีบบระบายความร้อนแบบดั้งเดิม (Conventional heat sink) หล่อเย็นด้วยน้ำ (Water as coolant) และของไหลนาโน  $\text{TiO}_2$  น้ำ ที่ความเข้มข้น  $\phi = 0.02\%$ ,  $\phi = 0.05\%$ ,  $\phi = 0.1\%$  และ  $\phi = 0.15\%$  ตามลำดับ

กรณีแรกครีบบระบายความร้อนแบบดั้งเดิม (Conventional heat sink) ซึ่งแกนตั้ง คือ อุณหภูมิของพื้นผิวแลกเปลี่ยนความร้อน (°C) เปรียบเทียบกับแกนนอน คือ เวลา (sec) ในการทดลองแต่ละเงื่อนไขได้ทำการทดลองซ้ำจำนวน 3 ครั้งเพื่อยืนยันความน่าเชื่อถือ โดยได้ทดลองในห้องที่ควบคุมอุณหภูมิให้คงที่ประมาณ 29 °C :ในช่วงเริ่มต้นของการ

ทดลองที่เวลา 0 – 120 วินาที อุณหภูมิของ CPU มีค่าใกล้เคียงกับอุณหภูมิของบรรยากาศแวดล้อม (อุณหภูมิห้อง) เมื่อเปิดคอมพิวเตอร์ อุณหภูมิของ CPU เริ่มเพิ่มสูงขึ้นตั้งเวลา 120 – 1080 วินาที และมีอุณหภูมิคงที่ประมาณ  $33.4^{\circ}\text{C}$  ซึ่งเป็นอุณหภูมิของ CPU ในสภาวะปกติ เมื่อเริ่มเปิดโปรแกรม FurMark เพื่อจำลองการทำงานของ CPU ในสภาวะโหลดสูงสุดพบว่าอุณหภูมิของ CPU เพิ่มขึ้นและมีค่าคงที่อยู่ที่ประมาณ  $48.7^{\circ}\text{C}$  ซึ่งจะถูกนำไปใช้เปรียบเทียบกับผลของระบบระบายความร้อนด้วยของไหลนาโน  $\text{TiO}_2/\text{น้ำ}$  ที่ความเข้มข้นต่างๆ ต่อไป

ในแต่ละกรณีการทดลองได้ทดลองภายใต้เงื่อนไขเดียวกับการทดลองก่อนหน้านี้ โดยได้นำเสนอข้อมูลของอุณหภูมิ CPU อุณหภูมิของของไหลขาเข้า และอุณหภูมิของของไหลขาออกจากกระบวนการระบายความร้อนของ CPU ผลที่ได้จากการทดลองทั้งหมดพบว่ามีแนวโน้มเดียวกันคืออุณหภูมิจะมีค่าเพิ่มขึ้นเมื่อหน่วยประมวลผลเริ่มทำงานโดยมีอุณหภูมิของ CPU อยู่ที่ประมาณ  $30.5^{\circ}\text{C}$  ซึ่งไม่แตกต่างกันมากนักใน

สภาวะการทำงานปกติ ในขณะที่อุณหภูมิของของไหลขาออกจากกระบวนการระบายความร้อน CPU จะมีค่าสูงกว่าอุณหภูมิของของไหลขาเข้าระบบระบายความร้อน CPU ซึ่งได้รับพลังงานความร้อนจากพื้นผิว CPU และถ่ายเทความร้อนให้กับสิ่งแวดล้อมผ่านชุดหม้อน้ำระบายความร้อน โดยอุณหภูมิของพื้นผิว CPU ที่ได้จากระบบระบายความร้อนหน่วยประมวลผลกลางคอมพิวเตอร์ด้วยน้ำและด้วยของไหลนาโน  $\text{TiO}_2/\text{น้ำ}$  มีค่าอยู่ในช่วง  $33 - 34^{\circ}\text{C}$  ซึ่งแสดงให้เห็นถึงความสามารถในการระบายความร้อนพื้นผิว CPU ที่ใช้ของไหลได้ดีกว่าระบบระบายความร้อนแบบดั้งเดิมอย่างชัดเจน เมื่อพิจารณาค่าเฉลี่ยของอุณหภูมิพื้นผิว CPU ที่สภาวะการทำงานโหลดสูงสุดในช่วงเวลา 1200 – 2500 วินาที พบว่ามีค่าอยู่ที่ประมาณ  $32.7, 32.4, 32.6, 32.9, 33.1$  และ  $48.0^{\circ}\text{C}$  สำหรับ น้ำของไหลนาโน  $\text{TiO}_2/\text{น้ำ}$  ที่ความเข้มข้น  $\phi = 0.02\%$ ,  $\phi = 0.05\%$ ,  $\phi = 0.1\%$ ,  $\phi = 0.15\%$  และวิธีระบายความร้อนแบบดั้งเดิม ตามลำดับ



**Figure 3** Comparison of CPU, inlet, and outlet temperatures under different cooling conditions.

### อิทธิพลของความเข้มข้นอนุภาค $\text{TiO}_2/\text{น้ำ}$

จาก Figure 4 แสดงอิทธิพลของความเข้มข้นของอนุภาค  $\text{TiO}_2$  ในระบบระบายความร้อน CPU ประกอบด้วยลักษณะโปรไฟล์อุณหภูมิของ CPU เปรียบเทียบกับระยะเวลาในการทำงาน พบว่าอุณหภูมิของ CPU ที่ได้จากการใช้ไหลของนาโน  $\text{TiO}_2/\text{น้ำ}$  มีค่าแตกต่างกันไม่มากนักแต่เมื่อเปรียบเทียบกับกรณีระบบระบายความร้อนแบบดั้งเดิมพบว่ามีอุณหภูมิ CPU ต่ำกว่าถึง 31.9% และเมื่อเริ่มใช้งานโปรแกรม FurMark เพื่อจำลองสภาวะการทำงานภายใต้โหลดสูงสุดสังเกตได้ว่าตั้งแต่เวลาที่ 1,080 วินาที อุณหภูมิของ CPU มีการเพิ่มขึ้นอย่างรวดเร็ว สำหรับระบบระบายความร้อนด้วยของไหลยังคงต่ำกว่าระบบระบายความร้อนแบบดั้งเดิมอย่างมีนัยสำคัญ เนื่องจากระบบระบายความร้อนด้วยของไหลมีความสามารถในการถ่ายเทความร้อนสูงกว่า โดยเฉพาะอย่างยิ่งของไหลนาโน  $\text{TiO}_2/\text{water}$  มีความสามารถในการระบายความร้อนสูงกว่ากรณีของไหลน้ำพื้นฐาน อันเป็นผลมาจากการนำความร้อนของของไหลนาโนที่สูงกว่าเกิดการปะทะกันระหว่างอนุภาคนาโน  $\text{TiO}_2$  โดยก่อให้เกิดการถ่ายเทพลังงานระหว่างอนุภาค  $\text{TiO}_2$  กับของเหลวได้ดีค่าการถ่ายเทความร้อนของระบบระบายความร้อนจึงดีขึ้น ซึ่งอิทธิพลของความเข้มข้น  $\phi = 0.02\%$  ช่วยให้อุณหภูมิของ CPU ลดลง 1.27% เมื่อเทียบกับกรณีของไหลน้ำ ในขณะที่เพิ่มความเข้มข้นเป็น  $\phi = 0.02\%$  ส่งผลให้อุณหภูมิของ CPU ลดลงเมื่อเทียบกับกรณี  $\phi = 0.02\%$  ประมาณ 1% ในทางกลับกันเมื่อได้เพิ่มความเข้มข้นของอนุภาค  $\text{TiO}_2$  เป็น  $\phi = 0.1\%$  และ  $\phi = 0.12\%$  พบว่าความสามารถในการถ่ายเทความร้อนของระบบระบายความร้อน CPU มีค่าลดลง อุณหภูมิที่เกิดขึ้นสูงสุดบนพื้นผิว CPU สำหรับกรณีใช้น้ำเป็นของไหลพื้นฐาน ของไหลนาโน  $\text{TiO}_2/\text{น้ำ}$  ที่ความเข้มข้น  $\phi = 0.02\%$ ,  $\phi = 0.05\%$ ,  $\phi = 0.01\%$ ,  $\phi = 0.15\%$  และ กรณีเครื่องระบายความร้อนแบบดั้งเดิม มีค่าเท่ากับ 33.7, 33.2, 32.8, 33.1, 33.4 และ  $48.7^\circ\text{C}$  ตามลำดับ โดยกรณีความเข้มข้น  $\phi = 0.05\%$  มีความสามารถในการถ่ายเทความร้อนสูงสุดซึ่งช่วยให้อุณหภูมิของ CPU ลดลงสูงสุดเมื่อเทียบกับกรณีของไหลน้ำและเครื่องแบบดั้งเดิมถึง 2.6 และ 32.6% ตามลำดับ เนื่องจากความเข้มข้น 0.1% และ 0.15% ได้รับอิทธิพลจากค่าความหนืดที่เพิ่มขึ้น ทำให้การไหลและการถ่ายเทความร้อนลดลง ดังแสดงใน Figure 4 (ล่าง) พบว่าค่าอัตราการถ่ายเทความร้อนของระบบระบายความร้อน CPU ที่ใช้ของไหลนาโน  $\text{TiO}_2/\text{น้ำ}$  ที่ความเข้มข้น  $\phi = 0.05\%$  มีอัตราการถ่ายเทความร้อนสูงกว่า  $\phi = 0.02\%$ ,  $\phi = 0.1\%$ ,  $\phi = 0.15\%$  และ น้ำ ถึง 78.8, 27.4, 77.6 และ 82.3% ตามลำดับ

### การเกิดตะกอนของอนุภาค $\text{TiO}_2$ ในระบบระบายความร้อน CPU

Figure 5 แสดงตะกอนของอนุภาค  $\text{TiO}_2$  ที่เกิดขึ้นภายในระบบระบายความร้อนหน่วยประมวลผลกลางคอมพิวเตอร์หลังจากผ่านการใช้งานต่อเนื่องเป็นเวลา 12 เดือน a) คือตะกอนที่เกิดขึ้นบนพื้นผิวของเครื่องระบายความร้อนในชุดแลกเปลี่ยนความร้อน CPU และ b) คือตะกอนที่เกิดขึ้นภายในระบบท่อ ผลที่ได้จากการใช้ของไหลนาโน  $\text{TiO}_2/\text{น้ำ}$  ที่ความเข้มข้น  $\phi = 0.05\%$  เป็นเวลา 12 เดือน พบว่าอนุภาคนาโน  $\text{TiO}_2$  เกิดการอุดตันบริเวณเครื่องระบายความร้อนที่อยู่ในชุดแลกเปลี่ยนความร้อน CPU ส่วนใหญ่ตะกอนที่เกิดขึ้นพบที่บริเวณทางเข้า (ตำแหน่งด้านล่างใน Figure 5a) ระบบระบายความร้อน CPU ในขณะที่การเกิดตะกอนบริเวณทางออกของพื้นผิวแลกเปลี่ยนความร้อนเกิดขึ้นเพียงเล็กน้อย นอกจากนั้นการเกิดตะกอนในระบบท่อของของไหลนาโน  $\text{TiO}_2/\text{น้ำ}$  ดัง Figure 5b) พบว่าตะกอนส่วนใหญ่จะเกิดขึ้นที่บริเวณทางเข้าปั๊มน้ำและภายในท่อส่งของไหลจากการเกาะของอนุภาค  $\text{TiO}_2$  แต่บริเวณใบพัดของปั๊มของไหลไม่พบการเกิดตะกอน

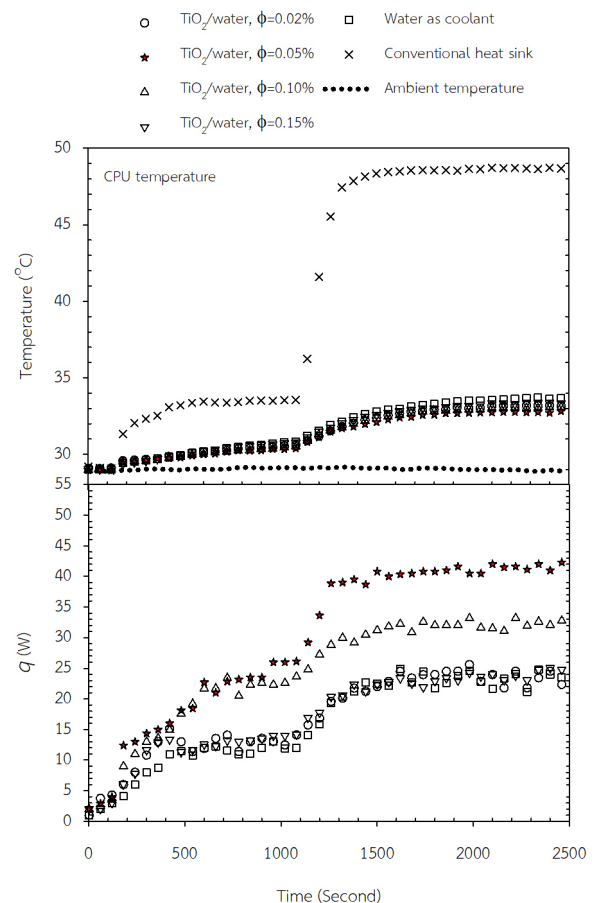
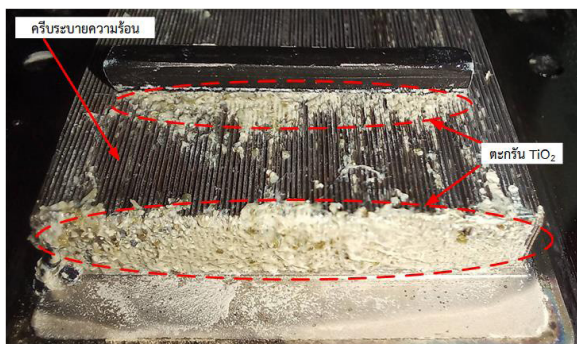
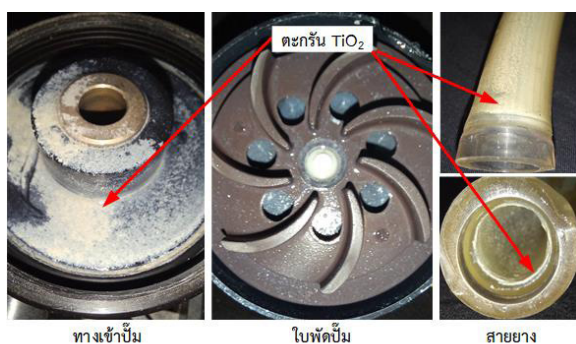


Figure 4 Comparison of CPU temperature and Heat transfer rate under different cooling conditions.

ผลกระทบของการเกิดตะกอนทั้งในพื้นผิวแลกเปลี่ยนความร้อนและภายในระบบท่อต่างๆ เป็นสาเหตุให้ประสิทธิภาพของระบบระบายความร้อนลดลงเนื่องจากตะกอนที่เกิดขึ้นบริเวณพื้นผิวแลกเปลี่ยนความร้อนเป็นเหมือนฉนวนความร้อนที่กั้นระหว่างความร้อนกับของไหลที่ไม่สามารถพาความร้อนไปทิ้งสู่สิ่งแวดล้อมนอกระบบระบายความร้อน CPU ได้ ซึ่งเหตุผลดังกล่าวสอดคล้องกับผลที่ได้จากการทดลองในด้านอุณหภูมิของพื้นผิวแลกเปลี่ยนความร้อนจะมีค่าเพิ่มขึ้นตามการเพิ่มขึ้นของจำนวนเดือนที่ผ่านการใช้งาน ในขณะที่การเกิดตะกอนในระบบท่อต่างๆทำให้ความสามารถเด่นด้านการนำความร้อนของอนุภาคนาโน  $\text{TiO}_2$  ในน้ำลดลงเสมือนใช้ของไหลน้ำพื้นฐานเป็นสารทำงาน แต่ผลกระทบด้านความเสียหายที่เกิดขึ้นภายในระบบท่อส่งผลให้อัตราการไหลของของไหลในระบบลดลง ความสามารถในการถ่ายเทความร้อนจึงลดลงด้วยเช่นกัน



a) Photograph of CPU



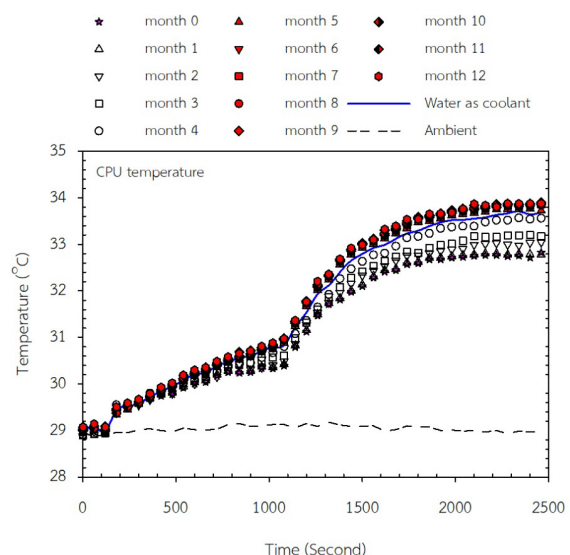
b) Photograph of piping

Figure 5 Fouling formation in the CPU cooling system.

ผลกระทบของตะกอนของอนุภาค  $\text{TiO}_2$  ต่อระบบระบายความร้อน CPU

Figure 6 แสดงโปรไฟล์อุณหภูมิของ CPU ที่ได้ทดสอบการใช้งานแบบต่อเนื่องซึ่งได้บันทึกผลของอุณหภูมิ CPU ในแต่ละเดือนรวมทั้งหมด 12 เดือน เพื่อศึกษาถึงผล

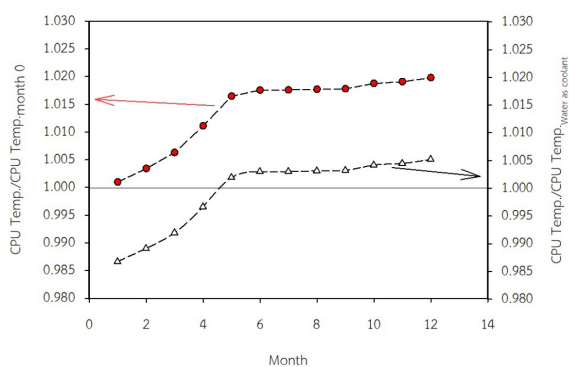
กระทบของตะกอนที่เกิดจากอนุภาค  $\text{TiO}_2$  โดยผลที่ได้จากการทดลองนี้ได้ใช้ของไหล  $\text{TiO}_2$ /น้ำ ที่ความเข้มข้น  $\phi = 0.05\%$  เป็นของไหลทดสอบ ผลที่ได้จากการทดลองพบว่าอุณหภูมิของ CPU มีแนวโน้มเพิ่มขึ้นตามการเพิ่มขึ้นของระยะเวลาการใช้งานในแต่ละเดือน โดยในช่วงเดือนที่ 1 หลังจากการใช้งานต่อเนื่องยังคงมีโปรไฟล์ของอุณหภูมิของ CPU ใกล้เคียงกับกรณีที่ระบบเริ่มต้นใช้งานของไหล  $\text{TiO}_2$ /น้ำ (Month 0) ซึ่งแสดงให้เห็นว่ามีความสามารถในการระบายความร้อนที่ยังเท่าเดิม ในขณะที่การใช้งานของไหลนาโน  $\text{TiO}_2$ /น้ำ ในช่วงเดือนที่ 2 และ 3 พบว่ามีอุณหภูมิเพิ่มขึ้นเมื่อเทียบกับกรณีที่เริ่มต้นใช้งานของไหล  $\text{TiO}_2$ /น้ำ ในเดือนที่ 0 แต่เมื่อระยะเวลาผ่านไปเป็นเดือนที่ 4 หลังจากการใช้งานพบว่า โปรไฟล์อุณหภูมิของ CPU มีค่าเพิ่มขึ้นและเข้าใกล้โปรไฟล์อุณหภูมิของ CPU ที่ได้จากการใช้ของไหลน้ำ ซึ่งแสดงให้เห็นว่าความสามารถในการถ่ายเทความร้อนของของไหลนาโน  $\text{TiO}_2$ /น้ำ ลดลงตามการลดลงของอนุภาค  $\text{TiO}_2$  ในของไหลน้ำอันเนื่องมาจากการเกิดตะกอนตามพื้นผิวต่างๆ ในระบบระบายความร้อนที่ พฤติกรรมการไหลที่ส่งผลต่อการถ่ายเทความร้อนจึงคล้ายและใกล้เคียงกัน อุณหภูมิ CPU ที่ผ่านการใช้งานเป็นระยะเวลา 1, 2, 3 และ 4 เดือน มีค่าเพิ่มขึ้นจากกรณีที่เริ่มต้นใช้งานในเดือนที่ 0 ประมาณ 0.08, 0.77, 1.28 และ 2.38% ตามลำดับ โดยอุณหภูมิ CPU ที่ผ่านการใช้งานเป็นระยะเวลา 4 เดือน ยังต่ำกว่ากรณีที่ของไหลน้ำอยู่ประมาณ 0.37%

Figure 6 Variation in CPU temperature over 12 months of  $\text{TiO}_2$ /water nanofluid coolant usage.

เมื่อพิจารณาถึงผลของการเกิดตะกอนของอนุภาค  $\text{TiO}_2$  ที่ผ่านการใช้งานเป็นระยะเวลา 5 เดือน เป็นต้นไปพบว่า

อุณหภูมิของ CPU มีค่าสูงขึ้นอย่างชัดเจนและสูงกว่ากรณีของไหลน้ำพื้นฐานประมาณ 0.5% ซึ่งเป็นผลมาจากตะกอนที่เกิดขึ้นภายในระบบระบายความร้อนเป็นตัวต้านทานการไหลของความร้อนระหว่างพื้นผิวแลกเปลี่ยนความร้อนกับของไหล ส่งผลให้ค่าการถ่ายเทความร้อนมีค่าลดลง

Figure 7 แสดงอัตราส่วนอุณหภูมิของ CPU สำหรับของไหล  $\text{TiO}_2/\text{น้ำ}$  ( $\phi = 0.05\%$ ) ตามระยะเวลาผ่านการใช้งานในแต่ละเดือน โดยแกนตั้งด้านซ้ายเป็นการเปรียบเทียบกับกรณีเริ่มต้นใช้งานของไหล  $\text{TiO}_2/\text{น้ำ}$  (Month 0) ในขณะที่แกนตั้งด้านขวาเป็นการเปรียบเทียบกับอุณหภูมิของ CPU ที่ได้จากการใช้น้ำเป็นของไหลพื้นฐาน ผลที่ได้พบว่าการเกิดตะกอนในระบบระบายความร้อนของ CPU มีแนวโน้มเพิ่มขึ้นตามการเพิ่มขึ้นของระยะเวลาการใช้งานซึ่งอัตราการเกิดตะกอนมีค่าสูงในช่วง 1 – 5 เดือน หลังจากผ่านการใช้งานโดยสังเกตได้จากอัตราการเพิ่มขึ้นของอุณหภูมิ CPU หลังจากผ่านการใช้งานตั้งแต่เดือนที่ 6 เป็นต้นไปพบว่าอัตราการเกิดตะกอนในระบบระบายความร้อนลดลงซึ่งสังเกตได้จากการเปลี่ยนแปลงการเพิ่มขึ้นของอุณหภูมิ CPU ลดลง นอกจากนี้เมื่อพิจารณาผลของการเกิดตะกอนเปรียบเทียบกับกรณีของไหลน้ำพบว่า ความสามารถในการระบายความร้อนของระบบระบายความร้อนที่ใช้ของไหล  $\text{TiO}_2/\text{น้ำ}$  ที่ผ่านการใช้งานมาแล้ว 5 เดือน จะมีค่าต่ำกว่ากรณีของไหลน้ำอันเกิดจากตะกอนที่สะสมภายในระบบระบายความร้อน ส่งผลให้ความสามารถในการถ่ายเทความร้อนลดลง อุณหภูมิของ CPU ที่ได้จึงมีค่าเพิ่มสูงขึ้น ซึ่งสามารถสรุปได้ว่าระบบระบายความร้อน CPU ที่ใช้ของไหล  $\text{TiO}_2/\text{น้ำ}$  ความเข้มข้น  $\phi = 0.05\%$  เป็นของไหลทำงานควรมีระยะเวลาในการใช้งานไม่เกิน 5 เดือน



**Figure 7** Ratio of CPU temperature over 12 months of  $\text{TiO}_2/\text{water}$  nanofluid coolant usage.

## สรุปผลการทดลองและข้อเสนอแนะ

ผลกระทบของการเกิดตะกอนในระบบระบายความร้อน CPU สามารถสรุปได้ดังนี้ 1) การใช้ของไหลนาโน  $\text{TiO}_2/\text{น้ำ}$  เป็นสารทำงานสามารถช่วยลดอุณหภูมิของ CPU ลงจากกรณีครีบบระบายความร้อนแบบดั้งเดิมถึง  $15^\circ\text{C}$  คิดเป็น 31.25% 2) กรณีของไหลนาโน  $\text{TiO}_2/\text{น้ำ}$  ที่  $\phi = 0.05\%$  ให้ค่าอุณหภูมิของ CPU ต่ำกว่ากรณี  $\phi = 0.02\%$ ,  $\phi = 0.1\%$ ,  $\phi = 0.15\%$  และน้ำ ประมาณ 1%, 0.1%, 0.15% และ 2.6% อีกทั้งเมื่อเทียบกับกรณีครีบบแบบดั้งเดิมสามารถช่วยลดอุณหภูมิได้สูงถึง 32.6% ซึ่งที่  $\phi = 0.05\%$  มีอัตราการถ่ายเทความร้อนสูงสุดโดยสูงกว่า  $\phi = 0.02\%$ ,  $\phi = 0.1\%$ ,  $\phi = 0.15\%$  และ น้ำ ถึง 78.8, 27.4, 77.6 และ 82.3% ตามลำดับ และ 3) การเกิดตะกอนของอนุภาค  $\text{TiO}_2$  ต่อระบบระบายความร้อน CPU ผ่านการใช้งานต่อเนื่องพบว่ามีแนวโน้มเพิ่มขึ้นตามการเพิ่มขึ้นของระยะเวลาการใช้งาน ซึ่งระบบระบายความร้อน CPU ที่ใช้ของไหล  $\text{TiO}_2/\text{น้ำ}$  ความเข้มข้น  $\phi = 0.05\%$  ควรมีระยะเวลาการใช้งานไม่เกิน 5 เดือน

## กิตติกรรมประกาศ

ขอขอบคุณมหาวิทยาลัยราชภัฏเพชรบุรีและสำนักงานคณะกรรมการส่งเสริมวิทยาศาสตร์ วิจัยและนวัตกรรม (สกสว.) ที่ให้ทุนสนับสนุนการวิจัยปีงบประมาณ 2567 โครงการเลขที่ 4694070

## เอกสารอ้างอิง

- คมกฤษณ์ ชัยโย. (2567). การจำลองเชิงตัวเลขของการถ่ายเทความร้อนและการไหลด้วยการพุ่งชนของของไหลนาโนบนแหล่งกำเนิดความร้อนที่มีครีบบระบายความร้อน. *วารสารวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยี มหาวิทยาลัยมหาสารคาม*, 43(2), 141–151.
- สหสวัต แซวรัมย์. (2564). การทำนายสมบัติของของไหลไฮบริดนาโนโดยใช้โครงข่ายประสาทเทียมและการประยุกต์ในการถ่ายโอนความร้อน [วิทยานิพนธ์ปริญญาโทบริหารธุรกิจ]. Chulalongkorn University Theses and Dissertations (Chula ETD). <https://digital.car.chula.ac.th/chulaetd/5293>
- Abbasian Arani, A. A., & Amani, J. (2013). Experimental investigation of diameter effect on heat transfer and pressure drop of  $\text{TiO}_2/\text{water}$  nanofluid. *Experimental Thermal and Fluid Science*, 44, 520–533. <https://doi.org/10.1016/j.expthermflusci.2012.08.012>

- Ali, A. R. I., & Salam, B. (2020). A review on nanofluid: Preparation, stability, thermophysical properties, heat transfer characteristics and application. *SN Applied Sciences*, 2, Article 1636. <https://doi.org/10.1007/s42452-020-03427-1>
- Duangthongsuk, W., & Wongwises, S. (2009). Heat transfer enhancement and pressure drop characteristics of TiO<sub>2</sub>–water nanofluid in a double tube counter flow heat exchanger. *International Journal of Heat and Mass Transfer*, 52(7-8), 2059–2067. <https://doi.org/10.1016/j.ijheatmasstransfer.2008.10.023>
- Einstein, A. (1911). Berichtigung zu meiner Arbeit: “Eine neue Bestimmung der Moleküldimensionen”. *Annalen der Physik*, 339(3), 591–592. <https://doi.org/10.1002/andp.19113390313>
- Khedkar, R. S., Sonawane, S. S., & Wasewar, K. L. (2014). Heat transfer study on concentric tube heat exchanger using TiO<sub>2</sub>–water based nanofluid. *International Communications in Heat and Mass Transfer*, 57, 163–169. <https://doi.org/10.1016/j.icheatmasstransfer.2014.08.002>
- Liu, Q., Lv, C., Wen, M., & Wang, Y. (2025). Numerical investigation on the nanofluid heat transfer enhancement in ground heat exchanger. *Renewable Energy*, 244, Article 123164. <https://doi.org/10.1016/j.renene.2024.123164>
- Ma, H. B., Wilson, C., Borgmeyer, B., Park, K., Yu, Q., Choi, S. U. S., & Tirumala, M. (2006). Effect of nanofluid on the heat transport capability in an oscillating heat pipe. *Applied Physics Letters*, 88(14), Article 143116. <https://doi.org/10.1063/1.2192971>
- Maxwell, J. C. (1954). *A treatise on electricity and magnetism*. Dover. (Original work published 1873)
- Naphon, P., & Wongwises, S. (2010). Investigation on the jet liquid impingement heat transfer for the central processing unit of personal computers. *International Communications in Heat and Mass Transfer*, 37(7), 822–826. <https://doi.org/10.1016/j.icheatmasstransfer.2010.05.004>

# ผลของชาชงสมุนไพรต่อการยับยั้งการทำงานของเอนไซม์แอลฟา-กลูโคซิเดส

## Effect of infused herbal teas on alpha-glucosidase inhibitory

ยลดา ศรีเศรษฐ<sup>1</sup>, วรินทร์ โอนอ่อน<sup>1</sup>, ฉัตรชนก นุกุลกิจ<sup>1</sup>, จรินยา ขุนทะवाद<sup>1</sup> และ ทันทิภา แก้วสูงเนิน<sup>1\*</sup>

Yollada Sriset<sup>1</sup>, Warin Ohn-on<sup>1</sup>, Chatchanok Nukulkit<sup>1</sup>, Jarinya Khoontawad<sup>1</sup> and Thanthika Kaewsoongnern<sup>1\*</sup>

Received: 7 February 2025 ; Revised: 16 April 2025 ; Accepted: 4 August 2025

### บทคัดย่อ

งานวิจัยนี้มีวัตถุประสงค์เพื่อศึกษาผลของชาชงสมุนไพรต่อฤทธิ์ยับยั้งการทำงานของเอนไซม์แอลฟา-กลูโคซิเดส ชาชงสมุนไพรที่ใช้ในงานวิจัยนี้เป็นชาชงที่ขายในท้องตลาดจำนวน 10 ชนิด ได้แก่ ชาใบป่าช้าเหงา ชามะระขี้นก ชาใบมะรุม ชาใบกระท่อม ชาใบขลู่ ชาใบมะเขือพวง ชาเปลือกดาวอินคา และชาสูตรรวม ได้แก่ ชาเจียวกุหลาบ ชาเตยหอม และชากระเจี๊ยบแดง ผลการวิจัยพบว่าน้ำชาจากชาชงสมุนไพรที่เลือกมามีหลายชนิดที่มีฤทธิ์ยับยั้งเอนไซม์แอลฟา-กลูโคซิเดสดีกว่าสารมาตรฐานอะคาร์โบส ที่ความเข้มข้น 5 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร เช่น ชาใบป่าช้าเหงา ชามะระขี้นก และชาใบมะรุม เป็นต้น และเมื่อเพิ่มระยะเวลาการชงชาขึ้นส่งผลเพิ่มฤทธิ์การยับยั้งเอนไซม์แอลฟา-กลูโคซิเดสอย่างมีนัยสำคัญ ( $p < 0.05$ ) ดังนั้นข้อมูลจากงานวิจัยนี้จึงแสดงถึงประโยชน์ของชาชงสมุนไพรเพื่อใช้ในการส่งเสริมสุขภาพและป้องกันโรคเบาหวาน และได้หลักฐานทางวิทยาศาสตร์ของระยะเวลาการชงชาสมุนไพรที่เหมาะสมเพื่อให้ได้ประโยชน์จากการดื่มชาชงสมุนไพรมากที่สุด

**คำสำคัญ:** ชาชงสมุนไพร, แอลฟา-กลูโคซิเดส, โรคเบาหวาน

### Abstract

This research aims to investigate the inhibitory effects of herbal teas on alpha-glucosidase enzyme activity. Ten types of commercially available herbal teas were evaluated, including *Gymnanthemum extensum*, *Momordica charantia*, *Moringa oleifera*, *Mitragyna speciosa*, *Pluchea indica*, *Solanum torvum*, *Plukenetia volubilis*, and a mixed herbal formula consisting of *Gynostemma pentaphyllum*, *Pandanus amaryllifolius*, and *Hibiscus sabdariffa*. The results revealed that several selected herbal teas exhibited significantly higher alpha-glucosidase inhibitory activity than the standard drug, acarbose, at a concentration of 5 mg/mL; notably *G. extensum*, *M. charantia*, and *M. oleifera*. Furthermore, increasing the steeping time significantly enhanced the inhibitory activity ( $p < 0.05$ ). These findings demonstrate the potential benefits of herbal teas for health promotion and diabetes prevention. Additionally, this study provides scientific evidence regarding the optimal steeping duration to maximize the therapeutic benefits of herbal tea consumption.

**Keywords:** Herbal teas, alpha-glucosidase, diabetes

<sup>1</sup> สาขาวิชาแพทย์แผนไทย คณะทรัพยากรธรรมชาติ มหาวิทยาลัยเทคโนโลยีราชมงคลอีสาน วิทยาเขตสกลนคร อำเภอพังโคน จังหวัดสกลนคร

<sup>1</sup> Thai Traditional Medicine Program, Faculty of Natural Resources, Rajamangala University of Technology Isan Sakon Nakhon Campus, Phang Khon District, Sakon Nakhon Province

\* Corresponding author, e-mail: Thanthika.ksn@gmail.com

## บทนำ

โรคเบาหวานเป็นโรคเรื้อรังที่เป็นปัญหาด้านระบบสาธารณสุขของประเทศไทยมาอย่างยาวนาน เนื่องจากเป็นโรคเรื้อรังเป็นโรคที่จำเป็นต้องใช้ยารักษาต่อเนื่องเป็นระยะเวลานานหรืออาจจะจำเป็นต้องใช้ยาตลอดชีวิต ข้อมูลในปี 2565 พบว่ามีจำนวนผู้ป่วยสะสม จำนวน 3.3 ล้านคน และในปี 2566 จำนวนผู้ป่วยเพิ่มขึ้นอีกประมาณ 3.3 แสนคน ข้อมูลความชุกของผู้ป่วยที่เป็นโรคเบาหวานมีแนวโน้มที่เพิ่มมากขึ้นในทุกๆ ปี โดยโรคเบาหวานจัดเป็นโรคไม่ติดต่อเรื้อรังที่มีจำนวนผู้ป่วยเสียชีวิตเป็นลำดับที่ 3 รองจากโรคหลอดเลือดสมองและโรคหัวใจขาดเลือด (กรมควบคุมโรค กระทรวงสาธารณสุข, 2563) นอกจากนี้ในกรณีนี้ผู้ป่วยโรคเบาหวานไม่สามารถควบคุมระดับน้ำตาลในเลือดได้จะก่อให้เกิดภาวะแทรกซ้อนต่อระบบต่างๆ อวัยวะต่างๆ ในร่างกาย เช่น ตา มัว ไตวาย ปลายประสาทเสื่อม เป็นต้น (Deshpande, 2008) ในปัจจุบันการแสวงหาการบริการสุขภาพทางเลือกหรือการแพทย์ทางเลือกมีมากขึ้นซึ่งอาจเนื่องมาจากปัจจัยการเปลี่ยนแปลงของสภาพเศรษฐกิจและสังคมทำให้ภาวะสุขภาพและแบบแผนการเจ็บป่วยของประชาชนมีความซับซ้อนมากขึ้น ส่งผลให้เกิดความตื่นตัวด้านสุขภาพและการเลือกบริโภคผลิตภัณฑ์สุขภาพที่มาจากธรรมชาติมากขึ้น สำหรับแนวคิดที่เป็นจุดเด่นของศาสตร์การแพทย์ทางเลือกส่วนใหญ่คือการดูแลแบบองค์รวมทั้งด้านร่างกาย จิตใจ สังคม และจิตวิญญาณ มีการพิจารณาที่คนเชื่อว่าความเจ็บป่วยเกิดจากหลายปัจจัยที่อาจเชื่อมโยงระหว่างส่วนต่างๆ ภายในร่างกาย ด้านจิตใจ จิตวิญญาณ สังคม และสิ่งแวดล้อม โดยให้ความสำคัญกับการดำรงชีวิตที่เกื้อกูล ต่อสุขภาพ เน้นการส่งเสริมสุขภาพและป้องกันโรค การแพทย์ทางเลือก หมายถึงการแพทย์ที่ไม่ใช่การแพทย์แผนปัจจุบัน ได้แก่ การแพทย์แผนไทยและการแพทย์พื้นบ้านไทย และการแพทย์อื่นๆ ที่เหลือถือเป็นการแพทย์ทางเลือกทั้งหมด การจำแนกการแพทย์ทางเลือกนั้นจำแนกได้หลายแบบ โดยหากจำแนกตามการนำไปใช้สามารถแบ่งได้ 2 แบบ 1) Complementary Medicine คือ การแพทย์ทางเลือกที่นำไปใช้เสริมหรือใช้ร่วมกับ การแพทย์แผนปัจจุบัน 2) Alternative Medicine คือ การแพทย์ทางเลือกที่สามารถนำไปใช้ทดแทนการแพทย์แผนปัจจุบัน ได้โดยไม่ต้องอาศัยการแพทย์แผนปัจจุบัน (อรุณรัตน์ สู้หนองบัว และลำไผ่ สุวรรณสาร, 2565) แนวทางการรักษาโรคเบาหวานมีเป้าหมายที่สำคัญคือ การควบคุมระดับน้ำตาลในเลือดให้ได้ตามเป้าหมายและป้องกันภาวะแทรกซ้อนอื่นๆ ที่อาจเกิดขึ้น ปัจจุบันแบ่งโรคเบาหวานได้ถึง 6 ชนิดตามการรักษาทางคลินิกและกลไกการเกิดโรค โดยในประเทศไทยมีจำนวนผู้ป่วยโรคเบาหวานที่จัดอยู่ในกลุ่มของโรคเบาหวาน

ชนิดที่ 2 จำนวนถึงร้อยละ 95 ซึ่งเป็นโรคเบาหวานชนิดที่ร่างกายมีภาวะดื้ออินซูลิน (สมาคมโรคเบาหวานแห่งประเทศไทย ในพระราชูปถัมภ์สมเด็จพระเทพรัตนราชสุดาฯ สยามบรมราชกุมารี, 2560)

การรักษาโรคเบาหวานในทางการแพทย์แผนปัจจุบัน คือการใช้ยาเพื่อลดระดับน้ำตาลในเลือด กลไกของยาออกฤทธิ์โดยการกระตุ้นการหลั่งฮอร์โมนอินซูลิน ลดการสร้างน้ำตาลที่ตับ (hepatic gluconeogenesis) ช่วยเพิ่มความไวต่ออินซูลินในการดูดซึมกลูโคส เข้าสู่เซลล์ โดยเฉพาะกล้ามเนื้อ ไขมัน และตับ และลดการดูดซึมของน้ำตาลกลูโคสที่ลำไส้ ยาแผนปัจจุบันที่ใช้รักษาโรคเบาหวาน มีทั้งที่อยู่ในรูปแบบยาเม็ดสำหรับรับประทาน เช่น Metformin, Glipizide และ Acarbose เป็นต้น และยาฉีดอินซูลินเช่น Lispro, Aspart และ Glargine เป็นต้น แต่การใช้ยาแผนปัจจุบันจะพบอาการข้างเคียง เช่น ท้องอืดท้องเฟ้อจากยา Acarbose ซึ่งเป็นยาแผนปัจจุบันที่ใช้ในการรักษาโรคเบาหวานสามารถออกฤทธิ์ผ่านกลไกการลดการดูดซึมน้ำตาลในทางเดินอาหารเข้าสู่กระแสเลือด โดยการยับยั้งการทำงานของเอนไซม์แอลฟา-กลูโคซิเดส ( $\alpha$ -glucosidase) ซึ่งเป็นเอนไซม์ที่พบมากบริเวณผนังเซลล์ของลำไส้เล็ก และมีบทบาทสำคัญในการย่อยแป้งและคาร์โบไฮเดรตให้กลายเป็นน้ำตาลโมเลกุลเดี่ยวผ่านกระบวนการไฮโดรไลซิส การยับยั้งการทำงานของเอนไซม์ดังกล่าวจะทำให้น้ำตาลโมเลกุลคู่ เช่น ซูโครส และมอลโทส ไม่สามารถถูกย่อยเป็นน้ำตาลโมเลกุลเดี่ยวได้ ส่งผลให้มีการดูดซึมน้ำตาลเข้าสู่กระแสเลือดลดลง ซึ่งช่วยในการควบคุมระดับน้ำตาลในเลือดของผู้ป่วยเบาหวานได้อย่างมีประสิทธิภาพ (Rosak & Mertes, 2019) นอกจากนี้ อาจช่วยลดความเสี่ยงต่อการเกิดโรคเบาหวานในผู้ที่มีภาวะเสี่ยงได้อีกด้วย

การแพทย์แผนไทยจัดเป็นหนึ่งทางเลือกที่ผู้ป่วยนิยมใช้ในการป้องกันและรักษาโรคเบาหวานซึ่งตามหลักการแล้วการใช้สมุนไพรมักจะเป็นการใช้ในเชิงป้องกันโรคเนื่องจากหากใช้สมุนไพรควบคู่กับการรักษาแผนปัจจุบันจะมีความเสี่ยงที่จะเกิดภาวะน้ำตาลต่ำ และการใช้สมุนไพรเดี่ยวอาจจะมีประสิทธิภาพไม่เพียงพอที่จะทำให้ผู้ป่วยสามารถควบคุมระดับน้ำตาลในเลือดได้ การศึกษาก่อนหน้าได้เปรียบเทียบระหว่างการใช้สมุนไพรร่วมกับยาแผนปัจจุบันกับการใช้ยาแผนปัจจุบันอย่างเดียว ในอาสาสมัคร 100 คน ระยะเวลา 3 เดือน พบว่าการใช้ยาสมุนไพรที่ประกอบด้วย 10 ชนิดร่วมกับเมทฟอร์มินและไกลคลาไซด์ทำให้อาสาสมัครที่ใช้สมุนไพรร่วมด้วยมีค่าระดับน้ำตาลเฉลี่ย Fasting Blood Sugar (FBS) และระดับน้ำตาลเฉลี่ยสะสมในเลือด (HbA1C) ต่ำกว่ากลุ่มที่ได้รับยาแผนปัจจุบันอย่างเดียว (Vijitha, P. et al.,

2024) นอกจากนี้ยังมีงานวิจัยทางคลินิกพบว่าการใช้สารสกัดมะระขี้นก่วมกับการลดขนาดยาครั้งหนึ่งคือ เมทฟอร์มิน (500 mg/day) และ ไกลเบนคลาไมด์ (5 mg/day) ที่สามารถช่วยลดระดับน้ำตาลเจ็ล fastig blood sugar ได้มากกว่ากลุ่มอาสาสมัครที่ใช้ยารักษาโรคเบาหวานในขนาดปกติที่ใช้ยา เมทฟอร์มิน (1000 mg/วัน) และ ไกลเบนคลาไมด์ (10 mg/day) (Tongia A., *et al.*, 2004)

ปัจจัยเสี่ยงสำคัญที่ทำให้ระดับน้ำตาลในเลือดสูงและอาจก่อให้เกิดโรคเบาหวาน คือพฤติกรรมกรรมการบริโภคอาหาร กลุ่มคาร์โบไฮเดรตที่สามารถดูดซึมเข้าสู่ร่างกายในรูปของน้ำตาลโมเลกุลเดี่ยว ดังนั้นเพื่อป้องกันปัจจัยเสี่ยงที่อาจก่อให้เกิดโรคดังกล่าวจะต้องปรับพฤติกรรมกรรมการบริโภคโดยการลดปริมาณอาหารที่มีส่วนประกอบของแป้งและน้ำตาลจึงจะสามารถลดความเสี่ยงนอกจากนี้พบว่ามีการใช้แพทย์ทางเลือกในการรักษาหรือป้องกันโดยใช้สมุนไพรรักษาหรือป้องกันโรคได้โดยมีกลไกชะลอ และลดการดูดซึมน้ำตาลส่งผลให้ลดระดับน้ำตาลในเลือดได้ จากคุณสมบัติดังกล่าวทำให้สมุนไพรได้รับความนิยมมากขึ้นโดยมีการบริโภคในรูปแบบที่ต่างกันเช่น ชาชง ยาเม็ดและแคปซูล เป็นต้นปัจจุบันมีรายงานเกี่ยวกับสารจากธรรมชาติที่มีฤทธิ์ยับยั้งเอนไซม์แอลฟา-กลูโคซิเดส เช่น สารกลุ่มเทอปีนอยด์ แทนนิน ฟีนอลิก และฟลาโวนอยด์ (Dirir *et al.*, 2022; Proença *et al.*, 2017; Jing *et al.*, 2009; He *et al.*, 2019) จากการศึกษาท่อนหน้ามีรายงานวิจัยพบการใช้พืชสมุนไพรที่มีคุณสมบัติในการต้านเบาหวาน และลดระดับน้ำตาลในเลือด เช่น กานพลู กระเจี๊ยบ กระเทียม กานพลู ขุนน ขิง ขมิ้นชัน แคแสด ชุมเห็ดเทศ ข้าวโพด เดียว พริกไทย พื้ทะเลลายโจร มะตูม มะระ ผักเชียงดา ตำลึง แมงลัก ยี่ห่วย หอมแดง หอมใหญ่ และอ้อย เป็นต้น (ธนกรณ์ คำสุด และคณะ, 2564) เมื่อพิจารณาแล้วพบว่าพืชสมุนไพรเหล่านี้ล้วนเป็นพืชและผักท้องถิ่นที่พบได้ง่ายในประเทศไทย และมีผลการวิจัยพบว่าสมุนไพรหลายชนิดมีกลไกการลดระดับน้ำตาลในเลือดโดยการลดการดูดซึมน้ำตาลผ่านกระบวนการยับยั้งเอนไซม์แอลฟา-กลูโคซิเดส เช่น ผักกระโดน ผักเม็ก ผักสลัดน้ำ มะระขี้นก และใบกระพ้อม เป็นต้น อย่างไรก็ตามผลการวิจัยนั้นส่วนใหญ่จะเป็นการศึกษาโดยใช้วิธีการสกัดด้วยตัวทำละลาย เช่น น้ำ เอทานอลและเมทานอล (ทัศนิกา แก้วสูงเนิน และคณะ, 2564; ธนกรณ์ คำสุด และชุตติมา แก้วพิบูลย์, 2559; Hussain *et al.*, 2022; ธนินยา หนีเจริญ และคณะ, 2567; Bunyakitcharoen *et al.*, 2022)

จากสถานการณ์ที่พบผู้ป่วยโรคเบาหวานเพิ่มมากขึ้น สอดคล้องกับที่ประชาชนเริ่มมีความสนใจ ในเรื่องสุขภาพมากขึ้นส่งผลให้เกิดการเปลี่ยนแปลงพฤติกรรมของผู้บริโภค โดย

หันมาออกกำลังกายเลือกรับประทานอาหารที่มีคุณค่าทางโภชนาการสูงแต่มีไขมันและคอเลสเตอรอลต่ำ และหันมาบริโภคผลิตภัณฑ์อาหารจากสมุนไพรรวมถึงการดื่มชาสมุนไพรที่มีงานวิจัยรองรับเกี่ยวกับการป้องกัน โรค และบำรุงรักษาสุขภาพ ร่างกายให้แข็งแรงมากกว่าการรักษาโรคจึงทำให้ชาสมุนไพรได้รับการยอมรับจากกลุ่มผู้บริโภค ยุคใหม่ที่ใส่ใจสุขภาพมากขึ้น ข้อมูลด้านการตลาดพบว่าชาชงเป็นเครื่องดื่มที่ได้รับความนิยมมากที่สุดในโลก โดยในประเทศไทยในปี 2562 มีผลผลิตรวมมากขึ้นกว่าเดิมถึงร้อยละ 10.6 และในปี 2563 มีมูลค่าการตลาดของชาชงมีมูลค่าสูงถึง 2,999.20 ล้านบาท (สถาบันอาหาร อุตสาหกรรมพัฒนามูลนิธิ, 2563) โดยชาชงหมายถึงผลิตภัณฑ์ที่ได้จากส่วนต่างๆ ของพืช นำมาทำให้แห้ง จากนั้นลดขนาดให้เล็กลง โดยการตัด สับหรือบด ซึ่งยังอยู่ในสภาพที่สามารถตรวจสอบได้ว่ามาจากพืชสมุนไพรชนิดใดโดยทำจากสมุนไพร ชนิดเดียวหรือผสมกับสมุนไพรหลายตัวจากการตั้งตำรับโดยมีจุดมุ่งหมายเพื่อนำไปบริโภคโดยการดื่มหรือชงกับน้ำ ซึ่งในปัจจุบันที่ผลิตภัณฑ์ชาชงสมุนไพรมากมายที่ขายในตลาดออนไลน์ ทั้งที่เป็นชาสูตรเดี่ยวที่ประกอบด้วยสมุนไพร 1 ชนิด และชาสูตรรวมที่มีสมุนไพรอย่างน้อย 2 ชนิด ตามประกาศกระทรวงสาธารณสุข ฉบับที่ 426 (กองอาหาร สำนักงานคณะกรรมการอาหารและยา, 2564)

จากการศึกษางานวิจัยเกี่ยวกับชาชงสมุนไพรพบว่ามีการศึกษาที่ศึกษาปัจจัยที่แตกต่างกันของวิธีการชงชา ได้แก่ อุณหภูมิของน้ำที่ใช้ ขนาดของผงชาชง และระยะเวลาของการชงชา ซึ่งผลลัพธ์ที่ได้พบว่าวิธีการชงชาที่แตกต่างกันส่งผลต่อปริมาณสารสำคัญและฤทธิ์ทางชีวภาพของชาชงด้วย รวมถึงชาชงแต่ละชนิดมีระยะเวลาของการชงชาที่เหมาะสมแตกต่างกันด้วย ซึ่งหากใช้ไม่เหมาะสมเวลาน้อยเกินไปหรืออุณหภูมิต่ำเกินไปอาจส่งผลให้ได้สารสำคัญที่มีฤทธิ์ทางชีวภาพน้อยลงทำให้ได้รับประโยชน์จากการดื่มชาชงน้อยกว่าเท่าที่ควร หรือหากใช้เวลาชงชามากเกินไปอาจส่งผลให้ฤทธิ์ทางชีวภาพของชาชงลดลงได้เช่นกัน (Koch *et al.*, 2017; Winiarska-Mieczan & Baranowska-Wójcik, 2014)

นอกจากนี้ยังมีงานวิจัยที่ศึกษาปัจจัยที่แตกต่างกันของวิธีการชงชาของชาดำ (Black teas) และระยะเวลาของการชงชา ซึ่งผลลัพธ์ที่ได้พบว่าระยะเวลาของการชงชาที่นานขึ้นส่งผลต่อปริมาณคาเทชิน (Catechin) และฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระที่มากขึ้น (Koch *et al.*, 2017) นอกจากนี้การใช้อุณหภูมิที่ต่างกันก็มีผลต่อสารสำคัญด้วย เช่น ชา (*Camelia sinensis*) จะมีเวลาที่เหมาะสมในการชงชาเพื่อให้ได้สารกลุ่มโพลีฟีนอล และฟลาโวนอยด์มากที่สุด คือ ใช้ความร้อน 100 องศาเซลเซียส เวลา 10 นาที หากใช้ความร้อนและเวลาน้อยกว่าอาจ

ส่งผลให้ได้สารสำคัญน้อยลง (Kowalska J, 2021) ดังนั้นหากใช้วิธีการชงชาไม่เหมาะสมอาจทำให้ร่างกายได้รับประโยชน์จากการดื่มชาน้อยกว่าเท่าที่ควร หรือหากใช้เวลาชงชามากเกินไปอาจส่งผลให้ฤทธิ์ทางชีวภาพของชาลดลงได้เช่นกัน งานวิจัยนี้จึงมีวัตถุประสงค์เพื่อศึกษาผลของระยะเวลาการชงชาต่อความสามารถในการยับยั้งเอนไซม์แอลฟา-กลูโคซิเดสของชาชงสมุนไพร และเพื่อหาช่วงระยะเวลาการชงที่เหมาะสม ซึ่งจะส่งผลให้ผู้บริโภคสามารถได้รับประโยชน์สูงสุดจากสรรพคุณของชาสมุนไพรในการช่วยควบคุมระดับน้ำตาลในเลือด และการศึกษาวิจัยยังมุ่งเน้นการประเมินฤทธิ์ของผลิตภัณฑ์ชาชงสมุนไพรที่มีวางจำหน่ายในท้องตลาด เพื่อยืนยันว่าสรรพคุณการลดระดับน้ำตาลในเลือดหรือบรรเทาอาการของโรคเบาหวานที่มีการกล่าวอ้างในเชิงโฆษณานั้นมีความสอดคล้องกับผลการทดสอบทางวิทยาศาสตร์

## วิธีการทดลอง

### 1. สารเคมี

Alpha-glucosidase from *Saccharomyces cerevisiae* (yeast) และ Acarbose จากบริษัท Sigma-Aldrich (St. Louis, Missouri, USA) *p*-nitrophenyl- $\alpha$ -D-glucopyranoside จากบริษัท Merck (Darmstadt, Germany) Disodium hydrogen phosphate anhydrous ( $\text{Na}_2\text{HPO}_4$ ) ยี่ห้อ KemAus (Australia) Sodium carbonate ( $\text{Na}_2\text{CO}_3$ ) Sodium chloride (NaCl) และ Sodium dihydrogen phosphate anhydrous ( $\text{Na}_2\text{H}_2\text{PO}_4$ ) ยี่ห้อ Ajax Finechem (Australia) และสารเคมีอื่นๆ ที่ใช้เป็นกรดสำหรับการวิเคราะห์

### 2. การเก็บตัวอย่าง

เก็บตัวอย่างชาชงสมุนไพรรักษาเบาหวาน ตั้งแต่เดือนมิถุนายน พ.ศ.2564 ถึงเดือนธันวาคม พ.ศ.2564 โดยการซื้อผลิตภัณฑ์ชาชงจากร้านค้าออนไลน์ จำนวน 10 ตัวอย่าง ได้แก่ สมุนไพรเดี่ยว 6 ตัวอย่าง และสมุนไพรตำรับ 4 ตัวอย่าง คือ ชาสูตรเดี่ยว ได้แก่ ชาใบป่าช้าเหงา ชามะระขี้นก ชาใบมะรุ้ม ชาใบกระท่อม ชาใบขลู่ ชาเปลือกดาวอินคา ชาสูตรรวม ได้แก่ ชากระเจียวแดง ชาเจียวกู่หลาน ชาใบเชียงดาและใบเตย ชาใบมะเขือพวง โดยสัดส่วนของชาสูตรรวมได้มาจากที่ระบุไว้ในฉลากจากสูตรของทางร้านค้าที่กำหนด (Table1)

### 3. การเตรียมตัวอย่างชาชงสมุนไพร

การเตรียมตัวอย่างดัดแปลงวิธีจากการศึกษาผลของระยะเวลาในการชงชากับคุณภาพทางกายภาพเคมี กิจกรรมต้านอนุมูลอิสระและคุณภาพทางประสาทสัมผัสของชาชงสมุนไพร

- 1) ชั่งตัวอย่างชาชงสมุนไพรจำนวน 2 กรัม
- 2) เติมน้ำเดือดที่อุณหภูมิ 100 องศาเซลเซียส ปริมาตร 100 มิลลิลิตร
- 3) กำหนดเวลาในการแช่สมุนไพรชงชาที่เวลา 1 3 5 7 และ 9 นาที โดยใช้ Magnetic Stirrer เบอร์ 1 กวนสารเป็นเวลา 30 วินาที
- 4) นำมากรองด้วยกระดาษกรอง whatman เบอร์.1 (Srimoon & Niyomwan, 2022)

## 4. การทดสอบฤทธิ์ยับยั้งเอนไซม์แอลฟา-กลูโคซิเดส

### 4.1 การทดสอบฤทธิ์ยับยั้งเอนไซม์แอลฟา-กลูโคซิเดสของตัวอย่างชาชงสมุนไพร

การทดสอบฤทธิ์ยับยั้งเอนไซม์แอลฟา-กลูโคซิเดสจากตัวอย่างน้ำชาชงสมุนไพร (n=3) นำตัวอย่างน้ำชาชงสมุนไพรปริมาตร 50 ไมโครลิตร และสารละลาย เอนไซม์ แอลฟา-กลูโคซิเดส ความเข้มข้น 1.0 หน่วยต่อมิลลิลิตรใน sodium phosphate buffer (pH 6.8) ปริมาตร 25 ไมโครลิตร เติมสารละลายทั้งหมดลงใน 96 well plate บ่มที่อุณหภูมิ 37 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 10 นาที หลังจากนั้นเติมสารละลาย *p*-nitrophenyl- $\alpha$ -D-glucopyranoside ความเข้มข้น 2 มิลลิโมลาร์ ปริมาตร 25 ไมโครลิตร ลงในแต่ละหลุม เขย่าให้เข้ากัน แล้วบ่มที่อุณหภูมิ 37 องศาเซลเซียสเป็นเวลา 30 นาที สุดท้ายเติมสารละลายโซเดียมคาร์บอเนต ( $\text{Na}_2\text{CO}_3$ ) ความเข้มข้น 1 โมลาร์ ปริมาตร 100 ไมโครลิตร วัดค่าการดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 405 นาโนเมตร ด้วยเครื่อง microplate reader และคำนวณหาค่าร้อยละของการยับยั้งเอนไซม์แอลฟา-กลูโคซิเดส ดังสมการที่ 1 และใช้สารละลายมาตรฐาน Acarbose ความเข้มข้น 5-25 มิลลิกรัมต่อลิตร เป็นกลุ่มควบคุมเชิงบวก (Kumar et al., 2013; Winiarska-Mieczan & Baranowska-Wójcik, 2014)

$$\% \text{inhibition} = ((A_0 - A_1) / A_0) \times 100 \quad (1)$$

$A_0$  = ค่าการดูดกลืนแสงของกลุ่มควบคุม

$A_1$  = ค่าการดูดกลืนแสงของตัวอย่าง

### 4.2 การทดสอบฤทธิ์ยับยั้งเอนไซม์แอลฟา-กลูโคซิเดส ของตัวอย่างชาชงสมุนไพรที่ระยะเวลาต่างกัน

ตัวอย่างชาสมุนไพรถูกเตรียมโดยวิธีการชงที่ระยะเวลา 1 3 5 7 และ 9 นาที ใช้สำหรับนำมาทดสอบฤทธิ์ยับยั้งเอนไซม์แอลฟา-กลูโคซิเดสของตัวอย่างชาชงสมุนไพรที่ระยะเวลาต่างกันซึ่งมีวิธีการทดสอบดังแสดงในข้อ 4.1 และรายงานผลเป็นค่าเปอร์เซ็นต์การยับยั้งเอนไซม์แอลฟา-กลูโคซิเดส โดยมีวิธีการคำนวณดังสมการที่ 1

### 5. การวิเคราะห์ข้อมูลทางสถิติ

ในการทดลองทำซ้ำ 3 ซ้ำ ( $n=3$ ) รายงาน ในรูปแบบค่าเฉลี่ย (Mean)  $\pm$  ค่าส่วนเบี่ยงเบนมาตรฐาน (Standard deviation, SD) นำมาวิเคราะห์ความแตกต่างทางสถิติระหว่างกลุ่มโดยการวิเคราะห์ความแปรปรวนทางเดียว (One-Way ANOVA) ร่วมกับการทดสอบแบบ Tukey's *post-hoc* test โดยกำหนดระดับความเชื่อมั่นทางสถิติที่  $p<0.05$  ด้วยโปรแกรม Statistical Package for the Social Science (IBM SPSS) เวอร์ชัน 26.0

### ผลการทดลอง

#### 1. ลักษณะทางกายภาพของตัวอย่างชาสมุนไพร

ตัวอย่างชาที่ 1 ชาเปลือกดาวอินคา สีแดงน้ำตาลใส ตัวอย่างที่ 2 ชาใบขลุ สีเหลืองเข้มใส ตัวอย่างที่ 3 ชาใบกระท่อม สีเหลืองอ่อนใส ตัวอย่างที่ 4 ชา ใบป่าช้าเหงา สีส้มใส ตัวอย่างที่ 5 ชาใบมะระขี้นก สีเหลืองเข้มใส ตัวอย่างที่ 6 ชาใบมะรุม สีเหลืองเข้มขุ่นเล็กน้อย ตัวอย่างที่ 7 ชาเตยหอม ผักเชียงดา สีเขียวปนเหลือง ขุ่นเล็กน้อย ตัวอย่างที่ 8 ชากระเจี๊ยบแดง (สูตรรวม) ตัวอย่างที่ 9 ชาใบมะเขือพวง (สูตรรวม) สีน้ำตาลเข้ม และตัวอย่างที่ 10 ชาเจียวกุหลาบ (สูตรรวม) สีเหลืองใส ตามลำดับ (Table 1)

**Table 1** Physical characteristics of herbal teas.

| No. | Herbal Tea Type      | Scientific Name                          | %w/w | Physical Form                                                                         | Brewed Tea Appearance                                                                 |
|-----|----------------------|------------------------------------------|------|---------------------------------------------------------------------------------------|---------------------------------------------------------------------------------------|
| 1   | Sacha Inchi Hull Tea | <i>Plukenetia volubilis</i> L            | 100  |   |   |
| 2   | Khlu Leaf Tea        | <i>Pluchea indica</i> L.                 | 100  |  |  |
| 3   | Kratom Leaf Tea      | <i>Mitragyna speciosa</i> (Roxb.) Korth. | 100  |  |  |
| 4   | Bitter Leaf Tea      | <i>Vernonia amygdalina</i>               | 100  |  |  |
| 5   | Bitter Melon Tea     | <i>Momordica charantia</i> L.            | 100  |  |  |
| 6   | Moringa Leaf Tea     | <i>Moringa oleifera</i> Lam              | 100  |  |  |

**Table 1** Physical characteristics of herbal teas. (continue)

| No. | Herbal Tea Type            | Scientific Name                                 | %w/w       | Physical Form                                                                         | Brewed Tea Appearance                                                                |
|-----|----------------------------|-------------------------------------------------|------------|---------------------------------------------------------------------------------------|--------------------------------------------------------------------------------------|
| 7   | Mixed Pandan & Gymnema Tea | <i>Pandanus amaryllifolius</i> Roxb             | 50         |    |   |
|     |                            | <i>Gymnema inodorum</i> (Lour.) Decne.          | 50         |                                                                                       |                                                                                      |
|     |                            | <b>total</b>                                    | <b>100</b> |                                                                                       |                                                                                      |
|     |                            |                                                 |            |                                                                                       |                                                                                      |
| 8   | Mixed Roselle Formula      | <i>Hibiscus sabdariffa</i> L.                   | 50         |    |   |
|     |                            | <i>Gynostemma pentaphyllum</i> Makino           | 25         |                                                                                       |                                                                                      |
|     |                            | <i>Moringa oleifera</i> Lam.                    | 25         |                                                                                       |                                                                                      |
|     |                            | <b>total</b>                                    | <b>100</b> |                                                                                       |                                                                                      |
| 9   | Mixed Turkey Berry Formula | <i>Solanum torvum</i> Sw.                       | 50         |    |   |
|     |                            | <i>Aegle marmelos</i> (L.) Correa ex Roxb.      | 49.98      |                                                                                       |                                                                                      |
|     |                            | Others                                          | 0.02       |                                                                                       |                                                                                      |
|     |                            | <b>total</b>                                    | <b>100</b> |                                                                                       |                                                                                      |
| 10  | Mixed Jiaogulan Formula    | <i>Gynostemma pentaphyllum</i> (Thunb.) Makino. | 50         |  |  |
|     |                            | <i>Pandanus amaryllifolius</i> Roxb             |            |                                                                                       |                                                                                      |
|     |                            | <i>Morus alba</i> L.                            | 30         |                                                                                       |                                                                                      |
|     |                            | <i>Ganoderma lucidum</i> (Fr.) Kart.            | 20         |                                                                                       |                                                                                      |
|     |                            | <b>total</b>                                    | <b>100</b> |                                                                                       |                                                                                      |

**Note:** Weight and proportions for mixed formulas (No. 7–10) were obtained from product labels.

## 2. ผลของชาขงสมุนไพรต่อฤทธิ์ยับยั้งเอนไซม์แอลฟา-กลูโคซิเดส

ผลของชาขงสมุนไพร 10 ชนิดต่อฤทธิ์ยับยั้งเอนไซม์แอลฟา-กลูโคซิเดส ดังแสดงใน Table 2 พบว่า ชาเปลือกดาวอินคามิเปอร์เซ็นต์การยับยั้ง (17.34-25.53%) ที่ไม่แตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ( $p < 0.05$ ) ที่เวลา 1, 3, 5 และ 7 นาที แต่มีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ( $p < 0.05$ ) ที่เวลา 9 นาที (32.85%) ชาใบขลุ่ยมีเปอร์เซ็นต์การยับยั้ง (32.85-35.80%) ที่ไม่แตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ( $p < 0.05$ ) ที่เวลา 1, 3 และ 5 นาที แต่มีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ( $p < 0.05$ ) ที่เวลา 7 และ 9 นาที (57.66-63.40%) ชาใบกระถอมมีเปอร์เซ็นต์การยับยั้ง (3.70-90.62%) ในแต่ละเวลาที่แตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ( $p < 0.05$ ) ที่เวลา 1 และ 3 นาที ชาป่าช้าเหงา มีเปอร์เซ็นต์การยับยั้ง (56.22-57.73%) ที่ไม่แตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ( $p < 0.05$ ) และที่เวลา 5 (63.81±3.56%), 7 (74.20±3.62%) และ 9 (97.38±1.72%) นาที ชาป่าช้าเหงา มีเปอร์เซ็นต์การยับยั้ง ที่แตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ( $p < 0.05$ ) ชามะระขึ้นกมีเปอร์เซ็นต์การยับยั้ง (78.91±1.22%) ที่เวลา 1 นาที แตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ( $p < 0.05$ )

เมื่อเทียบกับเปอร์เซ็นต์การยับยั้งของแต่ละเวลา ขณะที่เปอร์เซ็นต์การยับยั้งของชามะระขึ้นกที่เวลา 3 (94.81±5.65), 5 (97.87±2.7), 7 (98.85±0.29) และ 9 (99.63±0.95) นาที ไม่แตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ( $p < 0.05$ ) ชามะรุมีเปอร์เซ็นต์การยับยั้งของแต่ละเวลาที่ไม่แตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ( $p < 0.05$ ) โดยมีค่าอยู่ในช่วงเท่ากับ (95.33±4.87%-97.20±1.09%) ชาเตยหอมมีเปอร์เซ็นต์การยับยั้ง (79.43±0.51%) ที่เวลา 1 นาที แตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ( $p < 0.05$ ) เมื่อเทียบกับเปอร์เซ็นต์การยับยั้งที่เวลา 3 (91.01±1.00%), 5 (92.8±1.59%), 7 (94.3±0.61%) และ 9 (94.32±2.08%) นาที ชากระเจี๊ยบแดงมีเปอร์เซ็นต์การยับยั้งของแต่ละเวลาที่ไม่แตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ( $p < 0.05$ ) โดยมีค่าอยู่ในช่วงเท่ากับ 94.83±3.90%-99.35±1.47% ชามะเขือพวงมีเปอร์เซ็นต์การยับยั้งที่เวลา 1 (24.40±2.92) และ 3 (25.83±2.25) นาที ที่ไม่แตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ( $p < 0.05$ ) เมื่อเทียบกับเปอร์เซ็นต์การยับยั้งที่เวลา 5 (34.98±1.74%), 7 (39.57±2.66%) และ 9 (54.44±4.08%) นาที และที่เวลา 9 นาที ชาเจียวกู่หลานมีเปอร์เซ็นต์การยับยั้งสูงสุดเท่ากับ 68.85 ±9.97% ที่มีค่าแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ( $p < 0.05$ ) เมื่อเทียบกับ

เปอร์เซ็นต์การยับยั้งที่เวลา 1 ( $32.98 \pm 1.00\%$ ), 3 ( $48.42 \pm 3.12\%$ ), 5 ( $52.61 \pm 2.94\%$ ) และ 7 ( $57.65 \pm 1.56\%$ ) นาที ดังแสดงใน Table 2

จากผลการทดลองพบว่า ระยะเวลาการชงชาที่มีอิทธิพลต่อประสิทธิภาพในการยับยั้งเอนไซม์แอลฟา-กลูโคซิเดส โดยเมื่อระยะเวลาการชงชาเพิ่มขึ้นฤทธิ์ในการยับยั้งเอนไซม์มีแนวโน้มเพิ่มขึ้นตามไปด้วย (time-dependent manner) โดยเฉพาะที่ระยะเวลา 9 นาที พบว่าชาสมุนไพรหลายชนิดมีฤทธิ์ในการยับยั้งเอนไซม์สูงที่สุด ชาตัวอย่างที่มีประสิทธิภาพสูงในการยับยั้งเอนไซม์ได้แก่ ชาใบกระเทียม และชาป่าช้าเหงา จะค่อยๆ เพิ่ม %inhibition มากขึ้นตามระยะเวลาที่เพิ่มขึ้น ขณะที่ชามะระขี้นก ชาใบมะขาม ชาเตยหอม และชากระเจี๊ยบแดง มีค่า %inhibition มากกว่า 70% ตั้งแต่เวลาที่ 1 ซึ่งมีฤทธิ์เทียบเท่ากับสารมาตรฐาน Acarbose ที่ความเข้มข้น 5 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร ( $77.23 \pm 1.14\%$ ) (Table 3) ในส่วนของชาสมุนไพรอีกสามชนิดที่มีค่า % inhibition น้อยกว่าร้อยละ 70 ในทุกระยะเวลาการชงชาคือ ชาเปลือกดาวอินคา ชาใบขมิ้น ชาใบมะเขือพวงและชาเจียวกู่หลาน ซึ่งอาจเกี่ยวข้องกับองค์ประกอบทางเคมีที่แตกต่างกันในแต่ละสมุนไพร (Table 2)

### 3. ผลของระยะเวลาการชงชาสมุนไพรต่อฤทธิ์ยับยั้ง เอนไซม์แอลฟา-กลูโคซิเดส

การทดสอบผลของระยะเวลาการชงชาต่อการยับยั้งเอนไซม์แอลฟา-กลูโคซิเดส โดยแช่ชาสมุนไพรในน้ำเดือดอุณหภูมิ 100 องศาเซลเซียส ที่เวลา 1, 3, 5, 7 และ 9 นาที ดังแสดงใน Table 2 จากผลการทดลองพบว่าระยะเวลาการชงชาที่นานขึ้นส่งผลให้ฤทธิ์ยับยั้งเอนไซม์แอลฟา-กลูโคซิเดสสูงขึ้น ชาสมุนไพรที่มีฤทธิ์การยับยั้งเอนไซม์ที่สูง (70%) สามารถแยกกลุ่มตามช่วงระยะเวลาการชงชา คือ กลุ่ม 1 นาทีแรกคือชามะระขี้นก ชามะขาม ชาเตยหอม และชากระเจี๊ยบแดง กลุ่ม 5 นาทีขึ้นไป คือ ชาใบกระเทียม กลุ่ม 7 นาทีขึ้นไป คือ ชาใบป่าช้าเหงา และที่ต้องใช้เวลาชงนาน 9 นาทีคือชาเจียวกู่หลาน และชาใบป่าช้าเหงา จากผลการทดลองเมื่อดูประสิทธิภาพการยับยั้งเอนไซม์แอลฟา-กลูโคซิเดสที่มากกว่า 70% ในทุกช่วงเวลาชงชาพบว่าชาที่มีฤทธิ์ยับยั้งเอนไซม์ตั้งแต่เวลาที่แรกได้แก่ ชามะระขี้นก ชามะขาม ชาเตยหอม และชากระเจี๊ยบแดง นอกจากนี้ยังไม่พบชาสมุนไพรที่มีฤทธิ์ยับยั้งเอนไซม์ลดลงเมื่อใช้เวลารชงชาตั้งแต่ 1 นาทีขึ้นไป

### อภิปรายผลการทดลอง

จากผลการศึกษาระยะเวลาการชงชาสมุนไพรทั้ง 10 ชนิด พบว่าเวลาการชงชาที่มากขึ้น ส่งผลเพิ่มฤทธิ์การยับยั้ง

เอนไซม์แอลฟา-กลูโคซิเดส สอดคล้องกับการศึกษาก่อนหน้าพบว่าสารประกอบฟีนอลิกและฟลาโวนอยด์ที่เพิ่มมากขึ้นในชาชงเมื่อใช้ระยะเวลาชงชานานขึ้น (Kilic *et al.*, 2022; Hansawasdi & Kawabata, 2006) รวมถึงฤทธิ์ยับยั้งแอลฟา-กลูโคซิเดสที่เพิ่มขึ้นด้วย (Liu *et al.*, 2023) อีกทั้งองค์ประกอบทางเคมีของชาชงที่พบว่ามีปริมาณสารกลุ่มฟลาโวนอยด์สูงมีความสัมพันธ์กับฤทธิ์ยับยั้งเอนไซม์แอลฟา-กลูโคซิเดสที่สูงขึ้นด้วย (Rohaeti *et al.*, 2017) ดังนั้นการบริโภคชาชงจึงเป็นที่นิยมนำมาผลิตเป็นเครื่องดื่มเพื่อสุขภาพ และสารประกอบฟีนอลิกและ ฟลาโวนอยด์นี้มีรายงานว่ามีความสัมพันธ์กับฤทธิ์ทางชีวภาพ เช่น ฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระ และฤทธิ์ยับยั้งเอนไซม์แอลฟา-กลูโคซิเดส เมื่อหาความสัมพันธ์ระหว่างฤทธิ์ยับยั้งเอนไซม์แอลฟา-กลูโคซิเดสกับปริมาณสารกลุ่มฟลาโวนอยด์ในชาชงพบว่าสารสกัดด้วยน้ำร้อนที่มีลักษณะคล้ายการชงชาแต่ใช้ระยะเวลาประมาณ 15-30 นาที พบปริมาณสารฟีนอลิกและฟลาโวนอยด์ที่สูงกว่าชาสมุนไพรอื่นๆ เช่น ใบมะขาม มีปริมาณฟลาโวนอยด์รวมเท่ากับ  $9.1 \pm 1$  mg of quercetin equivalents/g ของน้ำหั่นสารสกัดด้วยวิธีการต้ม และปริมาณฟลาโวนอยด์รวมในชาใบกระเทียมที่เตรียมจากการต้มน้ำร้อนนาน 5 นาที มีปริมาณเท่ากับ  $48.93$  mg of quercetin equivalents/g (Liu *et al.*, 2023; Vongsak *et al.*, 2013) ส่งผลให้มีฤทธิ์ยับยั้งเอนไซม์แอลฟา-กลูโคซิเดส ได้ดี ขณะที่ชาสมุนไพรที่มีปริมาณฟลาโวนอยด์รวมต่ำจะมีฤทธิ์ยับยั้งเอนไซม์แอลฟา-กลูโคซิเดสที่น้อย เช่น ใบมะเขือพวงที่มีปริมาณฟลาโวนอยด์รวมเท่ากับใบป่าช้าเหงามีปริมาณสาร  $1.05 \pm 0.90$  mg of catechin equivalents/g ของน้ำหั่นสารสกัดด้วยวิธีการต้ม (Djouedam *et al.*, 2019) มีรายงานวิจัยพบว่าสารกลุ่มฟลาโวนอยด์มีความสามารถในการยับยั้งที่แตกต่างกัน โดยฟลาโวนอยด์ที่ไม่มีมีองค์ประกอบของน้ำตาล (flavonoid aglycones) จะมีประสิทธิภาพการยับยั้งที่ดีกว่ามีโมเลกุลของน้ำตาล ซึ่งผลการทำการจำลองการจับกันของโมเลกุล (molecular docking) พบว่าฟลาโวนอยด์ยับยั้งการทำงานของเอนไซม์แอลฟา-กลูโคซิเดสผ่านการจับบริเวณ active site เช่น Myricetin สามารถสร้างพันธะไฮโดรเจนและแรงแวนเดอร์วาลส์ (He *et al.*, 2019) แม้ว่าสารกลุ่มฟีนอลิกและฟลาโวนอยด์นั้นจะละลายน้ำได้น้อย เมื่อเทียบกับการละลายในตัวทำละลายอินทรีย์ เช่น เอทานอล แต่การใช้วิธีสกัดโดยวิธีการชงชาในน้ำเดือด 100 องศาเซลเซียส เป็นวิธีที่สะดวกและรวดเร็ว จากข้อมูลของการศึกษานี้สามารถใช้ประกอบเป็นทางเลือกการใช้ชาสมุนไพรเพื่อส่งเสริมสุขภาพ และใช้เวลาการชงชาที่เหมาะสมเพื่อให้ได้ประโยชน์จากการบริโภคชาชงมากที่สุด

### สรุปผลการทดลอง

จากข้อมูลของงานวิจัยชาสมุนไพรที่เลือกตัวอย่างชาสมุนไพรมาจำนวน 10 ตัวอย่าง พบว่าสามารถยับยั้งเอนไซม์แอลฟา-กลูโคซิเดสได้ทุกตัวอย่าง โดยมีชาชงหลายตัวอย่างที่มีผลการยับยั้งเอนไซม์ แอลฟา-กลูโคซิเดสที่ดีกว่าสารมาตรฐาน Acarbose ที่ความเข้มข้น 5 มิลลิกรัม/มิลลิลิตร ได้แก่ตัวอย่างชาชงที่มีค่า %inhibition ต่ำกว่า 70% คือชาเปลือกดาวอินคา (ตัวอย่างที่ 1) ชาใบขี้เหล็ก (ตัวอย่างที่ 2) ชามะเขือพวง (ตัวอย่างที่ 9) และชาเขียวกุหลาบ (ตัวอย่างที่ 10) จากผลของระยะเวลาการชงชาแต่ละชนิดพบว่าชาหลายชนิดที่มีผลการยับยั้งเอนไซม์แอลฟา-กลูโคซิเดสแปรผันตามระยะเวลาชงชาที่เพิ่มมากขึ้น ยกเว้นตัวอย่าง ชามะระขี้นก (ตัวอย่างที่ 5) ชามะรุ้ม (ตัวอย่างที่ 6) ชาเตยหอม (ตัวอย่างที่ 7) และชากระเจี๊ยบแดง (ตัวอย่างที่ 8) ที่มีผลการยับยั้งที่สูงตั้งแต่ระยะเวลา 1 นาทีแรก นอกจากนี้ยังมีชาที่น่าสนใจคือชาป่าช้า

เหงา (ตัวอย่างที่ 4) ที่มีแนวโน้มในการยับยั้งเอนไซม์แอลฟา-กลูโคซิเดสเพิ่มขึ้นเมื่อใช้ระยะเวลาการชงชาที่เพิ่มขึ้น จึงสรุปได้ว่าหากต้องการสรรพคุณในการยับยั้งเอนไซม์แอลฟา-กลูโคซิเดส เพื่อลดการย่อยน้ำตาลไม่ให้เป็นโมเลกุลเดี่ยว และลดการดูดซึมน้ำตาลเข้าสู่กระแสเลือด ผู้บริโภคควรเลือกระยะเวลาการชงชาที่เหมาะสมหรืออาจใช้ระยะเวลาในการชงชา 9 นาทีเป็นต้นไป จึงจะสามารถยับยั้งเอนไซม์แอลฟา-กลูโคซิเดสได้จากข้อมูลของงานวิจัยพบว่าผลิตภัณฑ์ชาสมุนไพรที่มีวางจำหน่ายในท้องตลาดที่แสดงสรรพคุณลดระดับน้ำตาลนั้นพบว่าการสอดคล้องกับผลการทดลองที่แสดงให้เห็นประสิทธิภาพในตำรับยาว่าสามารถยับยั้งเอนไซม์แอลฟา-กลูโคซิเดสได้ทุกตำรับแต่มีประสิทธิภาพไม่เท่ากัน ดังนั้นผู้บริโภคควรศึกษาข้อมูลเกี่ยวกับส่วนประกอบและวิธีการชงที่เหมาะสมเพื่อให้ได้รับประสิทธิภาพสูงสุดในการบริโภค

**Table 2** Effects of brewing time on the alpha-glucosidase inhibitory activity (%)

| No. | Local name         | % Inhibition at different brewing times (min) |                         |                         |                         |                          |
|-----|--------------------|-----------------------------------------------|-------------------------|-------------------------|-------------------------|--------------------------|
|     |                    | 1 min                                         | 3 min                   | 5 min                   | 7 min                   | 9 min                    |
| 1   | Sacha Inchi Hull   | 17.34±2.63 <sup>a</sup>                       | 21.99±3.48 <sup>a</sup> | 25.46±1.81 <sup>a</sup> | 25.53±2.24 <sup>a</sup> | 32.85±2.57 <sup>b</sup>  |
| 2   | Khlu Leaf          | 32.85±2.57 <sup>a</sup>                       | 37.16±2.76 <sup>a</sup> | 35.80±1.92 <sup>a</sup> | 57.66±2.51 <sup>b</sup> | 63.40±3.14 <sup>b</sup>  |
| 3   | Kratom Leaf        | 3.70±1.57 <sup>a</sup>                        | 26.23±3.32 <sup>b</sup> | 80.70±3.79 <sup>c</sup> | 82.25±8.08 <sup>c</sup> | 90.62±6.04 <sup>d</sup>  |
| 4   | Bitter Leaf        | 56.22±2.35 <sup>a</sup>                       | 57.73±3.55 <sup>a</sup> | 63.81±3.56 <sup>b</sup> | 74.20±3.62 <sup>c</sup> | 97.38±1.72 <sup>d</sup>  |
| 5   | Bitter Melon       | 78.91±1.22 <sup>a</sup>                       | 94.81±5.65 <sup>b</sup> | 97.87±2.7 <sup>b</sup>  | 98.85±0.29 <sup>b</sup> | 99.63±0.95 <sup>b</sup>  |
| 6   | Moringa Leaf       | 95.33±4.87 <sup>a</sup>                       | 95.35±6.92 <sup>a</sup> | 95.94±4.75 <sup>a</sup> | 96.94±1.28 <sup>a</sup> | 97.20±1.09 <sup>a</sup>  |
| 7   | Pandan & Gymnema   | 79.43±0.51 <sup>a</sup>                       | 91.01±1.00 <sup>b</sup> | 92.8±1.59 <sup>b</sup>  | 94.3±0.61 <sup>b</sup>  | 94.32±2.08 <sup>b</sup>  |
| 8   | Mixed Roselle      | 94.83±3.90 <sup>a</sup>                       | 95.83±1.31 <sup>a</sup> | 95.85±3.30 <sup>a</sup> | 97.34±1.86 <sup>a</sup> | 99.35±1.47 <sup>a</sup>  |
| 9   | Mixed Turkey Berry | 24.40±2.92 <sup>a</sup>                       | 25.83±2.25 <sup>a</sup> | 34.98±1.74 <sup>b</sup> | 39.57±2.66 <sup>b</sup> | 54.44±4.08 <sup>c</sup>  |
| 10  | Mixed Jiaogulan    | 32.98±1.00 <sup>a</sup>                       | 48.42±3.12 <sup>b</sup> | 52.61±2.94 <sup>c</sup> | 57.65±1.56 <sup>c</sup> | 68.85 ±9.97 <sup>d</sup> |

Mean values with different superscript letters (a, b, c, or d) in a row are significantly different ( $p < 0.05$ ).

**Table 3** Inhibitory effects of standard Acarbose on alpha-glucosidase activity.

| Concentration of Standard Acarbose (mg/mL) | %inhibition |
|--------------------------------------------|-------------|
| 5                                          | 77.23±1.14  |
| 10                                         | 85.32±0.99  |
| 15                                         | 87.25±1.20  |
| 20                                         | 88.02±0.57  |
| 25                                         | 88.29±0.29  |

## กิตติกรรมประกาศ

คณะผู้วิจัยขอขอบคุณนายวรพงศ์แสนจันทร์นักศึกษาปริญญาตรีสาขาวิชาการแพทย์แผนไทย และคณะทรัพยากรธรรมชาติ มหาวิทยาลัยเทคโนโลยีราชมงคลธัญบุรี วิทยาเขตสกลนคร สำหรับความเอื้อเฟื้อสถานที่ และเครื่องมือวิเคราะห์ในงานวิจัยนี้

## เอกสารอ้างอิง

- กรมควบคุมโรค กระทรวงสาธารณสุข. (2563). รายงานสถานการณ์โรค NCDs: เบาหวาน ความดัน และปัจจัยที่เกี่ยวข้อง พ.ศ. 2562 (อรรถเกียรติ กาญจนพิบูลวงศ์, ภาณุวัฒน์ คำวังสง่า และ สุจิตา แก้วทา, บรรณาธิการ). กองโรคไม่ติดต่อ กรมควบคุมโรค.
- กองอาหาร สำนักงานคณะกรรมการอาหารและยา. (2564). ประกาศกระทรวงสาธารณสุข (ฉบับที่ 426) พ.ศ. 2564 เรื่อง ขาจากพืช. [https://fic.nfi.or.th/upload/market\\_overview/ตลาดเครื่องดื่มชาชง ธ.ค.63.pdf](https://fic.nfi.or.th/upload/market_overview/ตลาดเครื่องดื่มชาชง ธ.ค.63.pdf)
- ทัศนิกา แก้วสูงเนิน, จัตรชนก นกุลกิจ, เพ็ญศิริ จันทร์แภา นีชา พงศ์นราทร, นฤตพร ภัคดี, พิเชษฐ เวชวิฐาน, ศรัณย์ จวีร์กำษ์, อนรรฆอร จิตต์เจริญธรรม, ปภาวีนี ผะแดนนอก และฉัตรลดา หงษ์วิสัย. (2564). การยับยั้งการทำงานของเอนไซม์แอลฟา-กลูโคซิเดสของสารสกัดสมุนไพรรักษาโรคเบาหวานในจังหวัดสกลนคร. *วารสารหมอยาไทยวิจัย*, 7(1), 15–28.
- ธนากรณ ดำสุด และชุดิมา แก้วพิบูลย์. (2559).ฤทธิ์ในการยับยั้งแอลฟา-กลูโคซิเดสของส่วนสกัดจากผักสลัดน้ำ. *วารสารวิจัยมหาวิทยาลัยราชภัฏพระนคร สาขาวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยี*, 11(2), 65–74.
- ธนากรณ ดำสุด, สุภาพร ทองวิจิตร และ วารุณี จิตรคำนิง. (2564).ฤทธิ์ยับยั้งเอนไซม์แอลฟา-อะไมเลส แอลฟา-กลูโคซิเดสของสมุนไพรรักษาโรคเบาหวานในงานสาธารณสุขมูลฐานที่รักษายับยั้งอาการท้องอืด และการออกฤทธิ์ร่วมกับอะคาร์โบส. *วารสารวิทยาศาสตร์บูรพา*, 26(2), 1016–1028.
- ธนันยา หินเจริญ, รัชรัฐ บุญสุขขัง, ภราดร แก้วสุวรรณ และ พนิดา กังขุ่น. (2567).ฤทธิ์ยับยั้งเอนไซม์แอลฟา-กลูโคซิเดสของสารสกัดหยาบใบกระท่อม. *วารสารบัณฑิตวิจัย พัฒนาและนวัตกรรม*, 1(1), 1–7.
- สถาบันอาหาร อุตสาหกรรมพัฒนามูลนิธิ. (2563). ตลาดเครื่องดื่มชาชงในประเทศไทย. <https://ddc.moph.go.th/uploads/publish/1035820201005073556.pdf>
- สมาคมโรคเบาหวานแห่งประเทศไทย ในพระราชูปถัมภ์สมเด็จพระเทพรัตนราชสุดาฯ สยามบรมราชกุมารี. (2560). *แนวทางเวชปฏิบัติสำหรับโรคเบาหวาน 2560*. บริษัท รมเย็น มีเดีย จำกัด.
- อรุณรัตน์ สู้หนองบัว และลำไผ สุวรรณสาร. (2565). การดูแลผู้ป่วยโรคเบาหวาน: บทบาทพยาบาลโรงพยาบาลตติยภูมิ. *วารสารพยาบาลและสาธารณสุข มหาวิทยาลัยราชภัฏชัยภูมิ*, 1(1), 8–14.
- Bunyakitcharoen, A., Taychaworaditsakul, W., Sireeratawong, S., & Chansakaow, S. (2024). Anti-hyperglycemic effects of Thai herbal medicines. *Plants*, 13(20), 1–19. <https://doi.org/10.3390/plants13202863>
- Deshpande, A. D., Harris-Hayes, M., & Schootman, M. (2008). Epidemiology of diabetes and diabetes-related complications. *Physical Therapy*, 88(11), 1254–1264. <https://doi.org/10.2522/ptj.20080020>
- Dirir, A. M., Daou, M., Yousef, A. F., & Yousef, L. F. (2022). A review of alpha-glucosidase inhibitors from plants as potential candidates for the treatment of type-2 diabetes. *Phytochemistry Reviews*, 21(4), 1049–1079. <https://doi.org/10.1007/s11101-021-09773-1>
- Djoueudam, F., Fowa, A., Fodouop, S. P., Kodjio, N., & Gatsing, D. (2019). *Solanum torvum* Sw. (Solanaceae): Phytochemical screening, anti-salmonellal and antioxidant properties of leaves extracts. *Journal of Medicinal Plants Studies*, 7(1), 5–12.
- Hansawasdi, C., & Kawabata, J. (2006).  $\alpha$ -Glucosidase inhibitory effect of mulberry (*Morus alba*) leaves on Caco-2. *Fitoterapia*, 77(7-8), 568–573. <https://doi.org/10.1016/j.fitote.2006.06.005>
- He, C., Liu, X., Jiang, Z., Geng, S., Ma, H., & Liu, B. (2019). Interaction mechanism of flavonoids and  $\alpha$ -glucosidase: Experimental and molecular modelling studies. *Foods*, 8(9), Article 355. <https://doi.org/10.3390/foods8090355>
- Hussain, F., Hafeez, J., Khalifa, A. S., Naeem, M., Ali, T., & Eed, E. M. (2022). In vitro and in vivo study of inhibitory potentials of  $\alpha$ -glucosidase and acetylcholinesterase and biochemical profiling of *M. charantia* in alloxan-induced diabetic rat models. *American Journal of Translational Research*, 14(6), 3824–3839.
- Jing, Y., Han, G., Hu, Y., Bi, Y., Li, L., & Zhu, D. (2009). Tea consumption and risk of type 2 diabetes: A meta-analysis of cohort studies. *Journal of General Internal Medicine*, 24(5), 557–562. <https://doi.org/10.1007/s11606-009-0929-5>

- Kilic, C., Can, Z., Gorgen, A., Yildiz, S., & Turna, H. (2017). Antioxidant properties of some herbal teas (Green tea, Senna, corn silk, rosemary) brewed at different temperatures. *International Journal of Secondary Metabolite*, 4(3), 148–154. <https://doi.org/10.21448/ijsm.303978>
- Koch, W., Kukula-Koch, W., & Głowniak, K. (2017). Catechin composition and antioxidant activity of black teas in relation to brewing time. *Journal of AOAC International*, 100(6), 1694–1699. <https://doi.org/10.5740/jaoacint.17-0205>
- Kumar, D., Gupta, N., Ghosh, R., Raghuvir, H. G., & Bikas, C. P. (2013).  $\alpha$ -Glucosidase and  $\alpha$ -amylase inhibitory constituent of *Carex baccans*: Bio-assay guided isolation and quantification by validated RP-HPLC-DAD. *Journal of Functional Foods*, 5(1), 211–218. <https://doi.org/10.1016/j.jff.2012.10.005>
- Liu, Y., Guo, C., Zang, E., Shi, R., Liu, Q., Zhang, M., Zhang, K., & Li, M. (2023). Review on herbal tea as a functional food: Classification, active compounds, biological activity, and industrial status. *Journal of Future Foods*, 3(3), 206–219. <https://doi.org/10.1016/j.jfutfo.2023.02.003>
- Proença, C., Freitas, M., Ribeiro, D., Oliveira, E. F., Sousa, J. L., Tomé, S. M., Ramos, M. J., Silva, A. M. S., Fernandes, P. A., & Fernandes, E. (2017).  $\alpha$ -Glucosidase inhibition by flavonoids: An in vitro and in silico structure-activity relationship study. *Journal of Enzyme Inhibition and Medicinal Chemistry*, 32(1), 1216–1228. <https://doi.org/10.1080/14756366.2017.1368503>
- Rohaeti, E., Fauzi, M. R., & Batubara, I. (2017). Inhibition of  $\alpha$ -glucosidase, total phenolic content and flavonoid content on skin fruit and flesh extracts of some varieties of snake fruits. *IOP Conference Series: Earth and Environmental Science*, 58, Article 012003. <https://doi.org/10.1088/1755-1315/58/1/012003>
- Rosak, C., & Mertes, G. (2012). Critical evaluation of the role of acarbose in the treatment of diabetes: Patient considerations. *Diabetes, Metabolic Syndrome and Obesity*, 5, 357–367. <https://doi.org/10.2147/DMSO.S21431>
- Srimoon, R., & Niyomwan, S. (2022). Effect of temperature, time and brewing method on phenolic compounds, tannins, flavonoids and antioxidant activity of infusion tea produced from *Ventilago denticulata* Willd. *Journal of Science and Technology Mahasarakham University*, 42(3), 97–108.
- Vongsak, B., Sithisarn, P., Mangmool, S., Thongpraditchote, S., Wongkrajang, Y., & Gritsanapan, W. (2013). Maximizing total phenolics, total flavonoids contents and antioxidant activity of *Moringa oleifera* leaf extract by the appropriate extraction method. *Industrial Crops and Products*, 44, 566–571. <https://doi.org/10.1016/j.indcrop.2012.09.021>
- Winiarska-Mieczan, A., & Baranowska-Wójcik, E. (2014). The effect of brewing time on the antioxidant activity of tea infusions. *Applied Sciences*, 14(5), 1–11.

# ไฟโลกรุปและรูปแบบความไวต่อยาต้านจุลชีพของ *Escherichia coli* ที่คัดแยกจากปัสสาวะของผู้ป่วยหญิงที่ติดเชื้อทางเดินปัสสาวะในโรงพยาบาลระดับตติยภูมิ เขตกรุงเทพมหานคร

## Phylogroups and antimicrobial susceptibility profiles of *Escherichia coli* Isolated from urine of female patients with urinary tract infections in a tertiary hospital in Bangkok

ศศิธร เจริญนนท์<sup>1</sup>, ประจงจิตร คชพงษ์<sup>2</sup>, ยุคล อภัยยะกุล<sup>3</sup>, พัชร ชูเชื้อ<sup>3</sup>, บุญตา สวัสดิ์จรุงรัตน์<sup>3</sup> และ เอนก ภูทอง<sup>4\*</sup>  
Sasitorn Jaroennon<sup>1</sup>, Prajongjit Khochapong<sup>2</sup>, Yukol Aphiyakul<sup>3</sup>, Patcharee Choochur<sup>3</sup>,  
Boonta Sawatdijaroongrat<sup>3</sup> and Anek Pootong<sup>4\*</sup>

Received: 7 February 2025 ; Revised: 16 April 2025 ; Accepted: 8 May 2025

### บทคัดย่อ

การติดเชื้อระบบทางเดินปัสสาวะจากเชื้อแบคทีเรีย *Escherichia coli* เป็นปัญหาสุขภาพที่พบได้ทั่วโลก โดยเฉพาะในเพศหญิง งานวิจัยนี้จึงมีวัตถุประสงค์เพื่อศึกษาและวิเคราะห์ความสัมพันธ์ระหว่างไฟโลกรุป (phylogroup) และความไวต่อยาต้านจุลชีพของ *E. coli* ที่แยกได้จากผู้ป่วยหญิงติดเชื้อระบบทางเดินปัสสาวะ ผู้วิจัยทำการศึกษา *E. coli* จำนวน 174 ไอโซเลตที่แยกจากตัวอย่างปัสสาวะของผู้ป่วยหญิงที่ติดเชื้อทางเดินปัสสาวะไม่ซ้ำรายที่เข้ารับการรักษาในโรงพยาบาลระดับตติยภูมิในกรุงเทพมหานคร ระหว่างเดือนพฤศจิกายน 2566 - มกราคม 2567 โดยทดสอบความไวต่อยาต้านจุลชีพด้วยวิธี disk diffusion และจำแนก phylogroup ด้วย quadruplex PCR ผลการทดสอบความไวต่อยาต้านจุลชีพ พบว่า *E. coli* มีอัตราการดื้อต่อ ampicillin ciprofloxacin และ trimethoprim-sulfamethoxazole อยู่ที่ 88.5 63.8 และ 51.1 % ตามลำดับ นอกจากนี้ 36.8 % เป็นเชื้อที่สามารถสร้างเอนไซม์ extended spectrum beta-lactamase (ESBLs) และ 61.3 % เป็นเชื้อดื้อยาต้านจุลชีพหลายขนาน สำหรับ phylogroup ที่พบมากที่สุดคือ B2 (61.5%) รองลงมาคือ D (9.2%) C (7.5%) B1 (7.5%) A (5.2%) F (4.0%) E (3.4%) และ unknown (1.7%) โดย phylogroup C มีอัตราการดื้อต่อยาต้านจุลชีพ เช่น ceftazidime, ciprofloxacin และ gentamicin สูงอย่างมีนัยสำคัญ ( $p < 0.05$ ) และเป็นกลุ่มเดียวที่พบการดื้อต่อ carbapenem ในขณะที่ phylogroup E มีอัตราการดื้อต่อยาหลายขนาน สูงอย่างมีนัยสำคัญ การศึกษานี้แสดงให้เห็นว่า *E. coli* จากผู้ป่วยหญิงที่ติดเชื้อทางเดินปัสสาวะมีอัตราการดื้อต่อยาสูง สะท้อนถึงความจำเป็นในการเฝ้าระวังและควบคุมการแพร่กระจายของเชื้อดื้อยาดังกล่าว

**คำสำคัญ:** การติดเชื้อในระบบทางเดินปัสสาวะ, *Escherichia coli*, ไฟโลกรุป, การดื้อยาต้านจุลชีพ, ผู้ป่วยหญิง

### Abstract

Urinary tract infections (UTIs) caused by *Escherichia coli* are a global health concern, particularly among females. This cross-sectional study aimed to investigate and analyze the relationship between phylogroups and antimicrobial susceptibility profiles of *E. coli* isolates from female UTI patients. We analyzed 174 non-duplicate *E. coli* isolates obtained from urine samples of female UTI patients admitted to a tertiary hospital in Bangkok, Thailand, between

<sup>1</sup> โครงการบัณฑิตศึกษาด้านเทคโนโลยีการแพทย์ คณะสหเวชศาสตร์ มหาวิทยาลัยธรรมศาสตร์ ปทุมธานี

<sup>2</sup> หน่วยควบคุมการติดเชื้อ โรงพยาบาลตากสิน กรุงเทพมหานคร

<sup>3</sup> งานจุลชีววิทยา กลุ่มงานเทคนิคการแพทย์ โรงพยาบาลตากสินกรุงเทพมหานคร

<sup>4</sup> ภาควิชาเทคนิคการแพทย์ คณะสหเวชศาสตร์ มหาวิทยาลัยธรรมศาสตร์ปทุมธานี

<sup>1</sup> Graduate Program in Medical Technology, Faculty of Allied Health Sciences, Thammasat University, Pathum Thani

<sup>2</sup> Infection Control Unit, King Taksin Memorial Hospital, Bangkok

<sup>3</sup> Microbiology Unit, Department of Medical Technology, King Taksin Memorial Hospital, Bangkok

<sup>4</sup> Department of Medical Technology, Faculty of Allied Health Sciences, Thammasat University, Pathum Thani

\* Corresponding author, e-mail: anek.p@allied.tu.ac.th

November 2023 and January 2024. Antimicrobial susceptibilities of *E. coli* were performed using the disk diffusion method, and their phylogroups were determined using quadruplex PCR. Antimicrobial susceptibility test revealed that the resistance rate of *E. coli* to ampicillin, ciprofloxacin, and trimethoprim-sulfamethoxazole was 88.5, 63.8, and 51.1%, respectively. Additionally, 36.8% of isolates were extended-spectrum beta-lactamase (ESBL) producers, and 61.3% were multidrug-resistant bacteria (MDR). The most prevalent phylogroup was B2 (61.5%), followed by D (9.2%), C (7.5%), B1 (7.5%), A (5.2%), F (4.0%), E (3.4%), and unknown (1.7%). Notably, phylogroup C exhibited significantly higher resistance rates to ceftazidime, ciprofloxacin, and gentamicin ( $p < 0.05$ ) and was the only phylogroup exhibiting carbapenem resistance. In contrast, phylogroup E showed a significantly higher prevalence of MDR. This study demonstrated that *E. coli* isolates from female UTI patients exhibited high antimicrobial resistance rates, reflecting the need for surveillance and control measures to prevent the spread of these drug-resistant strains.

**Keywords:** Urinary tract infection, *Escherichia coli*, phylogroup, antimicrobial resistance, female patients

## บทนำ

การติดเชื้อระบบทางเดินปัสสาวะ (Urinary Tract Infection; UTI) เป็นปัญหาสุขภาพที่พบได้บ่อยในประชากรทั่วโลก โดยเฉพาะในเพศหญิง ซึ่งมีความเสี่ยงต่อการติดเชื้อสูงกว่าเพศชาย องค์การอนามัยโลก (World Health Organization, WHO) และการศึกษาหลายฉบับระบุว่า ผู้หญิงประมาณ 50-60% มีโอกาสเกิดการติดเชื้อระบบทางเดินปัสสาวะอย่างน้อย 1 ครั้งในช่วงชีวิต และในจำนวนนี้ ประมาณ 20-30% อาจเกิดการติดเชื้อซ้ำ (Flores-Mireles *et al.*, 2015; Medina & Castillo-Pino, 2019) *E. coli* เป็นเชื้อที่ก่อให้เกิดการติดเชื้อระบบทางเดินปัสสาวะได้มากกว่า 80% ของการติดเชื้อในชุมชน และประมาณ 50% ของการติดเชื้อในโรงพยาบาล (Flores-Mireles *et al.*, 2015) โดย *E. coli* เหล่านี้มักมีความสามารถในการก่อโรคนอกลำไส้ (Extraintestinal pathogenic *E. coli*; ExPEC) สามารถบุกรุกและก่อให้เกิดโรคในส่วนต่างๆ ของร่างกายนอกเหนือจากลำไส้ได้ (Sora *et al.*, 2021) ในประเทศไทย การติดเชื้อในระบบทางเดินปัสสาวะที่เกิดจากเชื้อ *E. coli* เป็นปัญหาสุขภาพที่สำคัญ โดยเฉพาะอย่างยิ่งการดื้อยาต้านจุลชีพของเชื้อ *E. coli* ที่เพิ่มขึ้นอย่างต่อเนื่อง จากข้อมูลของศูนย์เฝ้าระวังเชื้อดื้อยาต้านจุลชีพแห่งชาติ (National Antimicrobial Resistant Surveillance, Thailand: NARST) ในปี ค.ศ. 2020 พบอัตราการดื้อต่อ cotrimoxazole ciprofloxacin และ ceftriaxone ของ *E. coli* ที่แยกได้จากผู้ป่วยที่มีการติดเชื้อทางเดินปัสสาวะจากโรงพยาบาล 83 แห่งทั่วประเทศ อยู่ที่ 56.7, 66.6, และ 39.8% ตามลำดับ (National Antimicrobial Resistance Surveillance, Thailand, 2020) การดื้อยาต้านจุลชีพที่ใช้ในการรักษาทั่วไปไม่เพียงแต่ทำให้การรักษาโรคซับซ้อนขึ้น และเพิ่มความเสี่ยงต่อการเสียชีวิตของผู้ป่วยติดเชื้อแล้ว ยังส่งผลให้เกิดภาระค่าใช้จ่ายทางการแพทย์ที่สูงขึ้นอีกด้วย

ในปัจจุบัน การศึกษาทางระบาดวิทยาในเชื้อ *E. coli* นิยมใช้ quadruplex PCR เพื่อตรวจหาการมีอยู่ของ DNA เป้าหมายทั้งสิ้น 4 ตำแหน่ง ประกอบด้วย ที่ประกอบด้วย *arpA*, *chuA*, *yjaA*, และ *TspE4.C2* ซึ่งสามารถจำแนก *E. coli* ออกเป็น 8 phylogroups ได้แก่ A B1 B2 C D E และ F ซึ่งเป็น *E. coli sensu stricto* กับ phylogroup กลุ่มสุดท้ายเป็น *E. coli* cryptic clade I (Clermont *et al.*, 2013) จากการศึกษาความสัมพันธ์เชิงวิวัฒนาการ (phylogenetic tree) ของจีโนมของ *E. coli* โดยเปรียบเทียบกับ *Escherichia fergusonii* พบว่า phylogroups B2, F และ D มีความสัมพันธ์เชิงวิวัฒนาการที่ใกล้ชิดกันมาก ตามมาด้วย phylogroup E และกลุ่มสุดท้ายที่แยกออกมา ได้แก่ phylogroups C, B1 และ A สำหรับ clade I นั้นแยกออกจากกลุ่มอื่นๆ อย่างชัดเจน (Beghain *et al.*, 2018) โดย phylogroup B2 และ D มักพบได้บ่อยในกลุ่มเชื้อ *Escherichia coli* ก่อโรคในระบบต่างๆ ที่ร่างกายที่อยู่ภายนอกลำไส้ (ExPEC) รวมถึงการติดเชื้อในระบบทางเดินปัสสาวะ ในขณะที่เชื้อใน phylogroup อื่นมักพบได้ในเชื้อ *E. coli* ก่อโรคในระบบทางเดินอาหาร (diarrheagenic *E. coli*) และเชื้อ *E. coli* ที่อาศัยอยู่ในร่างกายโดยไม่ก่อให้เกิดโรค (commensal *E. coli*) (Ahumada-Santos *et al.*, 2020) จากการศึกษา phylogroup ของเชื้อ *E. coli* ที่แยกได้จากผู้ป่วยติดเชื้อในระบบทางเดินปัสสาวะในประเทศไทยด้วย quadruplex PCR แสดงให้เห็นว่า phylogroup B2 และ C เป็น phylogroup ที่พบได้บ่อย โดยพบได้ตั้งแต่ 41.8–58.7 % และ 12.5–25.5 % ตามลำดับ (Tewawong *et al.*, 2020; Ketkhao *et al.*, 2024) นอกจากนี้ยังพบว่า phylogroup C มีอัตราการดื้อยาต้านจุลชีพสูงที่สุดในขณะที่ phylogroup B2 พบความสัมพันธ์กับการดื้อยาต้านจุลชีพหลายขนาน (multidrug resistance; MDR) (Tewawong *et al.*, 2020) อย่างไรก็ตาม การศึกษา

phylogroup และความสัมพันธ์กับการดื้อยาด้านจุลชีพในประเทศไทย ยังคงค่อนข้างจำกัด ประกอบกับการศึกษาก่อนหน้าเป็นการศึกษาในเชื้อที่แยกได้จากผู้ป่วยทั้งเพศชายและหญิงรวมกัน ผลการศึกษาข้างต้นอาจยังไม่สะท้อนถึงระดับความรุนแรงของเชื้อในประเทศไทยได้มากนัก และขาดความจำเพาะกับผู้หญิงที่เป็นกลุ่มเสี่ยงและกลุ่มผู้ป่วยติดเชื้อทางเดินปัสสาวะส่วนใหญ่

## วัตถุประสงค์

1. ศึกษาความหลากหลายของ phylogroup และรูปแบบความไวต่อยาด้านจุลชีพของ *E. coli* ที่แยกได้จากผู้ป่วยหญิงที่มีการติดเชื้อในระบบทางเดินปัสสาวะที่เข้ารับการรักษาในโรงพยาบาลระดับตติยภูมิในเขตกรุงเทพมหานคร

2. ศึกษาความสัมพันธ์ระหว่าง phylogroup และการดื้อยาด้านจุลชีพของ *E. coli* ดังกล่าว

## วิธีดำเนินการวิจัย

การศึกษานี้เป็นการศึกษาภาคตัดขวาง (Cross sectional study) โดยทำการศึกษาในเชื้อ *E. coli* จำนวน 174 ไอโซเลทจากตัวอย่างปัสสาวะของผู้ป่วยหญิงที่ติดเชื้อในระบบทางเดินปัสสาวะ ซึ่งเข้ารับการรักษา ณ โรงพยาบาลตากสิน กรุงเทพมหานคร ระหว่างเดือนพฤศจิกายน พ.ศ. 2566 - มกราคม พ.ศ. 2567 โดยมีเกณฑ์การคัดเลือกตัวอย่างเชื้อ *E. coli* ที่ใช้ในการศึกษาคือ ต้องเพาะแยกได้จากปัสสาวะของผู้ป่วยไม่ซ้ำราย ต้องเป็นเชื้อเพียงชนิดเดียวของตัวอย่าง (pure isolation) และมีปริมาณของเชื้อในตัวอย่างปัสสาวะตั้งแต่  $10^5$  Colony forming unit ต่อ มิลลิเมตร (CFU/mL) ขึ้นไป ทั้งนี้ ตัวอย่างเชื้อ *E. coli* ต้องได้มาจากตัวอย่างปัสสาวะที่ตรวจพบเซลล์เม็ดเลือดขาว (WBC) ไม่น้อยกว่า 5 cells/high power field (HPF) และ/หรือ มี leukocyte esterase เป็นบวก การศึกษานี้ได้ผ่านการพิจารณาการวิจัยในมนุษย์ จากคณะกรรมการวิจัยในมนุษย์ มหาวิทยาลัยธรรมศาสตร์ ชุดที่ 3 รหัสโครงการ 67AH090 และคณะกรรมการวิจัยในคน กรุงเทพมหานครรหัสโครงการ U030hc/67\_EXP

### 1. การเพาะแยกและการจำแนกเชื้อ *Escherichia coli* จากตัวอย่างปัสสาวะ

ในการศึกษานี้ การเพาะเชื้อจากตัวอย่างปัสสาวะทำโดยเพาะตัวอย่างปัสสาวะบน MacConkey agar และ Blood agar ให้ได้โคโลนีเดียวด้วยการใช้ calibrated loop ที่มีความจุ 0.001 มิลลิเมตร แต่หากเป็นตัวอย่างปัสสาวะที่เก็บจากการสวนสาย (intermittent catheterization) หรือการเจาะจาก

กระเพาะปัสสาวะ (suprapubic aspiration) ผู้วิจัยใช้ calibrated loop ที่มีความจุ 0.01 มิลลิเมตร ในการเพาะเชื้อ จากนั้น ป้อนอาหารเพาะเชื้อที่อุณหภูมิ 35 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 24 ชั่วโมง ทำการนับจำนวนโคโลนีและประมาณจำนวน CFU/mL และตรวจสอบลักษณะโคโลนีบนอาหารเลี้ยงเชื้อ ลักษณะการติดสี-รูปร่างของเชื้อจากการย้อมสี Gram's stain การทดสอบชีวเคมี และการทดสอบ Matrix-Assisted Laser Desorption/Ionization Time-of-Flight Mass Spectrometer (MALDI-TOF MS) (Bruker, Germany) เพื่อระบุชนิด จากนั้นเพาะเชื้อ *E. coli* ที่ตรงตามเกณฑ์การคัดเลือกลงบน Mueller Hinton Agar (MHA) เพื่อใช้ในการวิเคราะห์ต่อไป

### 2. การจำแนกรูปแบบการติดเชื้อในโรงพยาบาล และการติดเชื้อในชุมชน

เกณฑ์ที่ใช้ในการจำแนกรูปแบบการติดเชื้อในชุมชนประกอบด้วย ผู้ป่วยได้รับการตรวจพบว่ามีอาการอาการแสดง และหรือผลการตรวจทางห้องปฏิบัติการ เข้าได้กับเกณฑ์การวินิจฉัยการติดเชื้อ ปรากฏขึ้นก่อนวันเข้ารับการรักษาในโรงพยาบาล หรือได้รับการรักษาแล้ว น้อยกว่า 48 ชั่วโมง หรือเป็นผู้ป่วยที่ไม่ได้นอนรักษาตัวในโรงพยาบาล สำหรับเกณฑ์พิจารณาการติดเชื้อในโรงพยาบาลต้องเป็นผู้ป่วยที่ได้รับการตรวจพบว่ามีอาการแสดง และหรือผลการตรวจทางห้องปฏิบัติการ เข้าได้กับเกณฑ์การวินิจฉัยการติดเชื้อปรากฏขึ้นหลังจากได้เข้ารับการรักษาในแผนกผู้ป่วยในของโรงพยาบาลเป็นเวลามากกว่า 48 ชั่วโมง หรือมีการส่งต่อจากโรงพยาบาลอื่นที่นอนรักษามากกว่า 48 ชั่วโมง (Sirijatuphat *et al.*, 2020)

### 3. การทดสอบความไวของเชื้อต่อยาด้านจุลชีพ

ทำการทดสอบความไวของเชื้อต่อยาด้านจุลชีพด้วยวิธี disk diffusion method ตามแนวทางของ Clinical and Laboratory Standards Institution (Clinical and Laboratory Standards Institute, 2020) แผ่นยาด้านจุลชีพ (Oxoid Ltd., Hampshire, UK) ที่ใช้ในการศึกษานี้ ประกอบด้วย amikacin (AK; 30µg) gentamicin (CN; 10 µg) netilmicin (NET; 30 µg) ampicillin (AMP; 30 µg) amoxicillin-clavulanic acid (AMC; 20/10 µg) cefoperazone-sulbactam (SCF; 75/30 µg) piperacillin-tazobactam (TZP; 30/6 µg) cefuroxime (CXM; 30 µg) cefotaxime (CTX; 30 µg) ceftazidime (CAZ; 30 µg) cefepime (FEP; 30 µg) imipenem (IMP; 30 µg) meropenem (MEM; 30 µg) ertapenem (ETP; 30 µg) ciprofloxacin (CIP; 5 µg) และ trimethoprim-sulphamethoxazole (SXT; 1.25/23.75 µg) และทดสอบเพื่อคัดกรองการสร้างเอนไซม์ extended-spectrum beta-lactamase (ESBL) ด้วย

วิธี double disk สำหรับเชื้อ *E. coli* ที่ดื้อต่อ imipenem meropenem หรือ ertapenem ถูกจัดเป็น carbapenem-resistant *E. coli* และเชื้อที่ดื้อต่อยาต้านจุลชีพอย่างน้อย 1 ชนิดในอย่างน้อย 3 กลุ่ม ถูกจัดเป็นเชื้อที่ MDR (Magiorakos et al., 2012)

#### 4. การสกัด DNA จากเชื้อ *E. coli*

ผู้วิจัยทำการสกัด DNA จากเชื้อ *E. coli* โดยวิธีการต้ม (boiling method) ทำได้โดยละลายโคโลนีของเชื้อ *E. coli* ที่เพาะบน MHA ปริมาณ 1 ลูปมาตรฐาน ขนาด 1 ไมโครลิตร ใน Tris-EDTA buffer (pH 7.4) หลังจากนั้นนำไปต้มที่ 95 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 10 นาทีแล้ว นำหลอดตัวอย่างแช่ในน้ำแข็ง เป็นเวลา 10 นาที จากนั้นปั่นเหวี่ยงที่ความเร็ว 12,000 รอบต่อนาที เป็นเวลา 5 นาที เพื่อตกตะกอนเศษเซลล์ และเก็บรักษาส่วนน้ำใสที่มี crude DNA ที่อุณหภูมิ 4 องศาเซลเซียส เพื่อนำไปใช้ในการศึกษา phylogroup ด้วยวิธี quadruplex PCR ต่อไป

#### 5. การจำแนก phylogroup ของ *E. coli* ด้วยวิธี quadruplex PCR

ในการศึกษาครั้งนี้ ผู้วิจัยทำการทดสอบ phylogroup ของเชื้อ *E. coli* ด้วยเทคนิค quadruplex PCR โดยมี DNA เป้าหมายประกอบด้วย *arpA* *chuA* *yjaA* และ TspE4.C2 โดยมีลำดับนิวคลีโอไทด์ของไพรเมอร์ที่ใช้และขนาดของ DNA เป้าหมายดังแสดงใน Table 1 ปฏิบัติการ quadruplex PCR มีปริมาตรรวมเท่ากับ 20 ไมโครลิตร ประกอบด้วย 2×DreamTaq Green PCR master mix

(Thermo Scientific, USA) 5 ไมโครลิตร primer ของแต่ละยีน ทั้ง forward และ reverse อย่างละ 0.2  $\mu$ M ยกเว้น *arpA* ที่ใช้อย่างละ 0.4  $\mu$ M และ crude DNA ปริมาณ 3 ไมโครลิตร จากนั้นทำการเพิ่มจำนวน DNA ด้วยเครื่อง Thermal Cycler T100™ (BIO-RAD, Hercules, CA) ภายใต้สภาวะดังนี้ 1) denaturation 94 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 4 นาที 2) denaturation 94 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 5 วินาที 3) annealing 59 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 20 วินาที (ขั้นตอนที่ 2-3 ทำ 30 รอบ) และ 4) final extension 72 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 5 นาที จากนั้น นำ PCR product ไปตรวจสอบด้วย 2% agarose gel electrophoresis ย้อมด้วย SafeView™ Classic (ambio, Canada) และจำแนก phylogroup ตามการตรวจพบ DNA เป้าหมายตามแนวทางใน Table 2 ทั้งนี้ หากพบเป็น phylogroup A หรือ C ทำการวิเคราะห์ต่อด้วยปฏิกิริยา PCR ที่จำเพาะกับ Group C หรือใช้ปฏิกิริยา PCR ที่จำเพาะกับ Group E สำหรับเชื้อที่พบเป็น D/E หรือ E/clade I ต่อไป

#### 6. การวิเคราะห์ข้อมูลทางสถิติ

วิเคราะห์ข้อมูลเชิงคุณภาพด้วยสถิติเชิงพรรณนาในรูปแบบความถี่ ร้อยละและค่าเฉลี่ย สำหรับการวิเคราะห์ความสัมพันธ์ระหว่างความไวต่อยาต้านจุลชีพและ phylogroup ใช้ Pearson's Chi-square test และกำหนด  $p \leq 0.05$  ถือว่ามีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ

**Table 1** Nucleotide sequences of primers and target DNA fragment sizes used for phylogroup determination of *E. coli*.

| PCR reaction | Gene     | Direction | Primer Sequence (5'–3')  | DNA size (bp) | Reference                    |
|--------------|----------|-----------|--------------------------|---------------|------------------------------|
| Quadruplex   | arpA     | Forward   | AACGCTATTCGCCAGCTTGC     | 288           | Clemont <i>et al.</i> , 2013 |
|              |          | Reverse   | TCTCCCCATACCGTACGCTA     |               |                              |
|              | chuA     | Forward   | ATGGTACCGGACGAACCAAC     | 211           |                              |
|              |          | Reverse   | TGCCGCCAGTACCAAAGACA     |               |                              |
|              | yjaA     | Forward   | CAAACGTGAAGTGTCAGGAG     | 152           |                              |
|              |          | Reverse   | AATGCGTTCCTCAACCTGTG     |               |                              |
|              | TspE4.C2 | Forward   | CACTATTCGTAAGGTCATCC     | 400           |                              |
|              |          | Reverse   | AGTTTATCGCTGCGGGTCGC     |               |                              |
| Group E      | arpA     | Forward   | GATTCCATCTTGTCAAAATATGCC | 301           | Lescat <i>et al.</i> , 2012  |
|              |          | Reverse   | GAAAAGAAAAAGAATCCCCAAGAG |               |                              |
| Group C      | trpA     | Forward   | AGTTTTATGCCAGTGCGAG      | 219           | Lescat <i>et al.</i> , 2012  |
|              |          | Reverse   | TCTGCGCCGGTCACGCC        |               |                              |

**Table 2** Interpretation of *E. coli* phylogroup (Clermont *et al.*, 2013).

| <i>araA</i> | <i>chuA</i> | <i>yjaA</i> | TspE4.C2 | Phylogroup | Additional step                                       |
|-------------|-------------|-------------|----------|------------|-------------------------------------------------------|
| +           | -           | -           | -        | A          |                                                       |
| +           | -           | -           | +        | B1         |                                                       |
| -           | +           | -           | -        | F          |                                                       |
| -           | +           | +           | -        | B2         |                                                       |
| -           | +           | +           | +        | B2         |                                                       |
| -           | +           | -           | +        | B2         |                                                       |
| +           | -           | +           | -        | A/C        | Screen using C specific primers. If C+ then C, else A |
| +           | +           | -           | -        | D/E        | Screen using E specific primers. If E+ then E, else D |
| +           | +           | -           | +        | D/E        | Screen using E specific primers. If E+ then E, else D |
| +           | +           | +           | -        | E/clade I  | Screen using E specific primers. If E- then clade I   |
| -           | -           | +           | -        | Clade I/II |                                                       |
| -           | -           | -           | +        | Unknown    |                                                       |
| -           | -           | +           | +        | Unknown    |                                                       |
| +           | -           | +           | +        | Unknown    |                                                       |
| +           | +           | +           | +        | Unknown    |                                                       |
| -           | -           | -           | -        | Unknown    |                                                       |

**ผลการศึกษา**

จากการศึกษา พบว่าตัวอย่าง *E. coli* ส่วนใหญ่มาจากผู้ป่วยหญิงที่มีอายุเฉลี่ยอยู่ที่  $68.7 \pm 17.3$  ปี ส่วนใหญ่

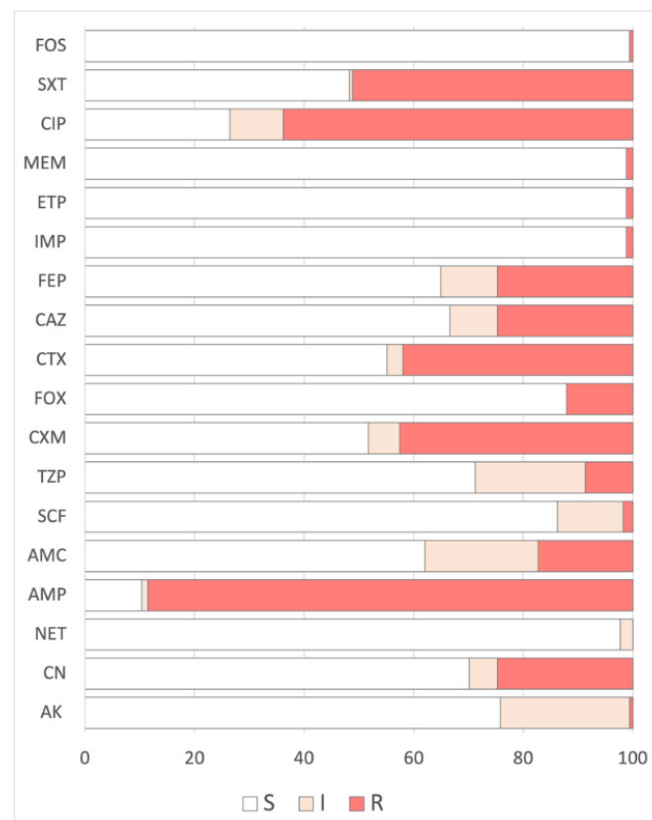
อยู่ในกลุ่มอายุตั้งแต่  $\geq 65$  ปี (65.5%) รองลงมาคือกลุ่มอายุ 55-64 ปี (17.8%) ส่วนใหญ่เป็นการติดเชื้อที่เกิดขึ้นในชุมชน (93.7%) (Table 3)

**Table 3** Demographic data, phylogroups, and antimicrobial resistance of *E. coli* isolates from patients with urinary tract infections (n=174)

| Variable                        | N (%)                    |
|---------------------------------|--------------------------|
| <b>Age (year)</b>               |                          |
| 15-24                           | 6 (3.4)                  |
| 25-54                           | 23 (13.2)                |
| 55-64                           | 31 (17.8)                |
| $\geq 65$                       | 114 (65.5)               |
| Mean $\pm$ SD (range)           | 68.7 $\pm$ 17.34 (16-95) |
| <b>Infection</b>                |                          |
| Community-acquired infection    | 163 (93.7)               |
| Hospital-acquired infection     | 11 (6.3)                 |
| <b>Phylogroup</b>               |                          |
| A                               | 9 (5.2)                  |
| B1                              | 13 (7.5)                 |
| B2                              | 107 (61.5)               |
| C                               | 13 (7.5)                 |
| D                               | 16 (9.2)                 |
| E                               | 6 (3.4)                  |
| F                               | 7 (4.0)                  |
| Unknown                         | 3 (1.7)                  |
| <b>Antimicrobial resistance</b> |                          |
| ESBL                            | 64 (36.2)                |
| Carbapenem resistance           | 2 (1.1)                  |
| MDR                             | 106 (60.9)               |

Figure 1 แสดงรูปแบบความไวต่อยาต้านจุลชีพของเชื้อ *E. coli* โดยพบว่า เชื้อเกือบทั้งหมดนั้นไวต่อ fosfomycin (99.4%) แต่เชื้อมีอัตราการดื้อต่อ ampicillin สูงที่สุดที่ 88.5% รองลงมาเป็น ciprofloxacin และ trimethoprim-sulfamethoxazole คิดเป็น 63.8 และ 51.1% ตามลำดับ นอกจากนี้ พบว่าเชื้อที่สามารถสร้างเอนไซม์ ESBL ได้ คิดเป็น 36.8% และเป็นเชื้อที่ดื้อต่อยาต้านจุลชีพกลุ่ม carbapenem อยู่ที่ 1.1% นอกจากนี้ ส่วนใหญ่เชื้อตัวอย่างแสดงลักษณะการดื้อต่อยาต้านจุลชีพหลายขนาน (MDR) (61.3%)

จากการทดสอบ phylogroup ด้วยเทคนิค quadruplex PCR พบว่า เชื้อ *E. coli* ที่แยกได้ส่วนใหญ่อยู่ในกลุ่ม phylogroup B2 (61.5%) รองลงมาคือ phylogroup D (9.2%) และ C กับ B1 (7.5%) ขณะที่ group A E และ F พบในสัดส่วนที่น้อยกว่า (5.2 3.4 และ 4.0% ตามลำดับ) นอกจากนี้ ยังพบเชื้อในกลุ่มที่ไม่สามารถจัดกลุ่มได้ (unknown) ประมาณ 1.7%



S, Susceptible ; I, Intermediate ; R, Resistant

**Figure 1** Antimicrobial susceptibility profile of *E. coli* isolated from urine samples of 174 female patients with urinary tract infections

จากการศึกษาความสัมพันธ์ระหว่าง phylogroup ของ *E. coli* กับความไวต่อยาต้านจุลชีพ พบว่า การกระจายตัวของ *E. coli* ที่ดื้อต่อยาต้านจุลชีพมีความสัมพันธ์อย่างมีนัยสำคัญกับ phylogroups ยกเว้น amikacin ampicillin cefuroxime cefotaxime cefepime และ fosfomycin (Table 4) เชื้อใน phylogroup C มีอัตราดื้อต่อ gentamicin piperacillin-

tazobactam ceftazidime cefepime และ ciprofloxacin สูงมากกว่าเชื้อใน group อื่น และ ยังเป็นเชื้อเพียงกลุ่มเดียวที่พบการดื้อต่อยาในกลุ่ม carbapenem ในขณะที่ เชื้อใน phylogroup E มีอัตราการดื้อต่อยา amoxicillin-clavulanic acid cefoxitin และ trimethoprim-sulfamethoxazole และมีอัตราพบเชื้อ MDR สูงกว่าเชื้อใน phylogroup อื่น

**Table 4** Distribution of antimicrobial resistance of *E. coli* isolated from urine samples of female patients with urinary tract infections in different phylogroups

| Antimicrobial agent | Total (n=174) | A (n=9)   | B1 (n=13) | B2 (n=107) | C (n=13)         | D (n=16)  | E (n=6)         | F (n=7)  | Unknown (n=3) | p-value      |
|---------------------|---------------|-----------|-----------|------------|------------------|-----------|-----------------|----------|---------------|--------------|
| AK                  | 1 (0.6)       | 0 (0)     | 0 (0)     | 1 (0.9)    | 0 (0)            | 0 (0)     | 0 (0)           | 0 (0)    | 0 (0)         | 0.999        |
| CN                  | 43 (24.7)     | 2 (22.2)  | 1 (7.7)   | 30 (28.0)  | <b>7 (53.8)</b>  | 1 (6.3)   | 2 (33.3)        | 0 (0)    | 0 (0)         | <b>0.035</b> |
| AMP                 | 154 (88.5)    | 9 (100.0) | 12 (92.3) | 93 (86.9)  | 12 (92.3)        | 15 (93.8) | 6 (100.0)       | 4 (57.2) | 3 (100.0)     | 0.179        |
| AMC                 | 30 (17.2)     | 1 (11.1)  | 2 (15.4)  | 9 (8.4)    | 7 (53.8)         | 6 (37.5)  | <b>4 (66.7)</b> | 0 (0)    | 1 (33.3)      | <b>0.000</b> |
| TZP                 | 15 (8.6)      | 1 (11.1)  | 1 (7.7)   | 5 (4.7)    | <b>6 (46.2)</b>  | 1 (6.3)   | 1 (16.7)        | 0 (0)    | 0 (0)         | <b>0.000</b> |
| SCF                 | 3 (1.7)       | 0 (0)     | 0 (0)     | 1 (0.9)    | <b>2 (15.4)</b>  | 0 (0)     | 0 (0)           | 0 (0)    | 0 (0)         | <b>0.028</b> |
| CXM                 | 74 (42.5)     | 6 (66.7)  | 6 (46.2)  | 46 (43.0)  | 7 (53.8)         | 3 (18.8)  | 4 (66.7)        | 2 (28.6) | 0 (0)         | 0.147        |
| FOX                 | 21 (12.1)     | 0 (0)     | 2 (15.4)  | 3 (2.8)    | 6 (46.2)         | 5 (31.3)  | <b>3 (50.0)</b> | 1 (14.3) | 1 (33.3)      | <b>0.000</b> |
| CTX                 | 73 (42.0)     | 6 (66.7)  | 6 (46.2)  | 46 (43.0)  | 7 (53.8)         | 3 (18.8)  | 3 (50.0)        | 2 (28.6) | 0 (0)         | 0.217        |
| CAZ                 | 43 (24.7)     | 4 (44.4)  | 3 (23.1)  | 26 (24.3)  | <b>7 (53.8)</b>  | 0 (0)     | 2 (33.3)        | 1 (14.3) | 0 (0)         | <b>0.040</b> |
| FEP                 | 43 (24.7)     | 4 (44.4)  | 1 (7.7)   | 27 (25.2)  | <b>7 (53.8)</b>  | 0 (0)     | 3 (50.0)        | 1 (14.3) | 0 (0)         | 0.095        |
| IMP                 | 2 (1.1)       | 0 (0)     | 0 (0)     | 0 (0)      | <b>2 (15.4)</b>  | 0 (0)     | 0 (0)           | 0 (0)    | 0 (0)         | <b>0.001</b> |
| ETP                 | 2 (1.1)       | 0 (0)     | 0 (0)     | 0 (0)      | <b>2 (15.4)</b>  | 0 (0)     | 0 (0)           | 0 (0)    | 0 (0)         | <b>0.001</b> |
| MEM                 | 2 (1.1)       | 0 (0)     | 0 (0)     | 0 (0)      | <b>2 (15.4)</b>  | 0 (0)     | 0 (0)           | 0 (0)    | 0 (0)         | <b>0.001</b> |
| CIP                 | 111 (63.8)    | 6 (66.7)  | 9 (69.2)  | 79 (73.8)  | <b>10 (76.9)</b> | 1 (6.3)   | 4 (66.7)        | 2 (28.6) | 0 (0)         | <b>0.000</b> |
| SXT                 | 89 (51.1)     | 6 (66.7)  | 4 (30.8)  | 50 (46.7)  | 6 (46.2)         | 12 (75.0) | <b>6 (100)</b>  | 3 (42.9) | 2 (66.7)      | <b>0.054</b> |
| FOS                 | 1 (0.6)       | 0 (0)     | 0 (0)     | 1 (0.9)    | 0 (0)            | 0 (0)     | 0 (0)           | 0 (0)    | 0 (0)         | 0.999        |
| ESBL                | 64 (36.8)     | 6 (66.7)  | 5 (38.5)  | 42 (39.3)  | 3 (23.1)         | 3 (18.8)  | 3 (50.0)        | 2 (28.6) | 0 (0)         | 0.223        |
| CRE                 | 2 (1.1)       | 0 (0)     | 0 (0)     | 0 (0)      | <b>2 (15.4)</b>  | 0 (0)     | 0 (0)           | 0 (0)    | 0 (0)         | 0.001        |
| MDR                 | 106 (61.3)    | 7 (77.8)  | 5 (38.5)  | 68 (63.6)  | 9 (69.2)         | 8 (50.0)  | <b>6 (100)</b>  | 2 (28.6) | 1 (33.3)      | <b>0.033</b> |

**Note:** p-value, Chi-square test; AK, Amikacin; CN, Gentamicin; AMP, Ampicillin; AMC, Amoxicillin-Clavulanic acid; TZP, Piperacillin-Tazobactam; SCF, Cefoperazone-Sulbactam; CXM, Cefuroxime; FOX, Cefoxitin; CTX, Cefotaxime; CAZ, Ceftazidime; FEP, Cefepime; IMP, Imipenem; ETP, Ertapenem; MEM, Meropenem; CIP, Ciprofloxacin; SXT, Trimethoprim-Sulfamethoxazole; FOS, Fosfomycin.

## วิจารณ์และสรุปผล

การติดเชื้อในระบบทางเดินปัสสาวะเป็นการติดเชื้อที่พบได้บ่อยและมีอุบัติการณ์สูงเป็นอันดับต้นๆ ของการติดเชื้อที่พบได้ในปัจจุบัน ส่วนใหญ่เกิดจากการติดเชื้อ *E. coli* การทำความเข้าใจถึง phylogroup และการดื้อยาต้านจุลชีพของ *E. coli* จากผู้ป่วยหญิงน่าจะช่วยในการพัฒนามาตรการป้องกันและควบคุมการติดเชื้อที่เป็นสาเหตุของโรค การใช้ยาต้านจุลชีพอย่างเหมาะสม และอาจช่วยป้องกันการเกิดภาวะดื้อยาต้านจุลชีพในกลุ่มเสี่ยงได้ในอนาคต

จากการศึกษาครั้งนี้ ผู้วิจัยพบว่า ผู้ป่วยติดเชื้อหญิงมีอายุเฉลี่ยอยู่ที่  $69.0 \pm 16.8$  ปี และส่วนใหญ่อยู่ในกลุ่มอายุตั้งแต่  $\geq 65$  ปีขึ้นไป รองลงมาคือกลุ่มอายุ 55-64 ปี ซึ่งถือเป็นกลุ่มสูงอายุที่มักเผชิญกับภาวะเรื้อรัง เช่น เบาหวาน โรคไต รวมถึงการเปลี่ยนแปลงทางสรีรวิทยา โดยการติดเชื้อในระบบทางเดินปัสสาวะมักมีแนวโน้มที่พบได้มากขึ้นในผู้หญิงที่มีอายุสูงขึ้น โดยเฉพาะในกลุ่มที่มีภาวะหมดประจำเดือน (Foxman

*et al.*, 2000; Eriksson *et al.*, 2010) ซึ่งระดับของฮอร์โมนเอสโตรเจนที่ลดลง นอกจากจะส่งผลต่อโครงสร้างของอวัยวะบริเวณทางเดินปัสสาวะและระบบสืบพันธุ์แล้ว ยังมีผลให้ lactobacilli มีปริมาณลดลงไปด้วย ดังนั้น ในหญิงวัยหมดประจำเดือน เชื้อจุลชีพในช่องคลอดจึงถูกแทนที่ด้วยแบคทีเรียชนิดอื่น โดยเฉพาะ *E. coli* ที่แพร่กระจายและก่อให้เกิดการติดเชื้อในระบบทางเดินปัสสาวะได้ (Czajkowski *et al.*, 2021) ผู้วิจัยพบว่า การติดเชื้อ *E. coli* ในระบบทางเดินปัสสาวะของผู้ป่วยหญิงส่วนใหญ่เป็นการเกิดขึ้นจากในชุมชน (93.7%) และเชื้อมีอัตราการดื้อยาต้านจุลชีพอยู่ในระดับที่ค่อนข้างสูง โดยเฉพาะกับยาต้านจุลชีพที่ใช้ในการรักษาการติดเชื้อในระบบปัสสาวะเบื้องต้น (empirical therapy) เช่น ampicillin trimethoprim-sulfamethoxazole และ ciprofloxacin นอกจากนี้ 36.2% ของเชื้อสามารถผลิตเอนไซม์ ESBL และส่วนใหญ่ พบเป็นเชื้อ MDR ซึ่งผลการศึกษานี้สอดคล้องกับงานวิจัยก่อนหน้านี้ (Themphachanal *et al.*,

2015; Tabasi et al., 2015) ซึ่งพบว่าการดื้อยาต้านจุลชีพในชุมชนมักเป็นผลจากการใช้ยาอย่างไม่เหมาะสม รวมถึงการแพร่กระจายของเชื้อดื้อยาในพื้นที่นั้นๆ (Kardas et al., 2005)

จากการศึกษาในประเทศไทยล่าสุดพบว่า phylogroup B2 และ C เป็นกลุ่มหลักที่พบในเชื้อ *E. coli* ที่แยกได้จากผู้ป่วยติดเชื้อทางเดินปัสสาวะ อีกทั้ง phylogroup C มีอัตราการดื้อยาสูงสุด ในขณะที่ B2 พบอุบัติการณ์ MDR สูงถึง 62% (Tewawong et al., 2020) ซึ่งแตกต่างจากการศึกษาที่พบว่า phylogroup B2 เป็นกลุ่มเชื้อ *E. coli* ที่พบได้มากที่สุดและรองลงมาเป็น phylogroup D นั้น อาจเกิดจากหลายปัจจัย เช่น ขนาดของตัวอย่างและแหล่งที่มาของเชื้อที่ และโดยเฉพาะเพศของกลุ่มตัวอย่างที่ใช้ในการศึกษาที่แตกต่างกัน โดยการศึกษาก่อนหน้านี้ใช้ตัวอย่างเชื้อที่แยกได้จากผู้ป่วยชายและหญิง ในขณะที่ การศึกษาที่ใช้เชื้อจากผู้ป่วยหญิงเท่านั้น ทั้งนี้ การที่พบเชื้อ *E. coli* phylogroup B2 และ D ได้บ่อยเป็นอันดับต้นๆนั้น แสดงให้เห็นว่า phylogroup B2 และ D เป็นเชื้อก่อโรคนอกลำไส้ที่สำคัญเนื่องจากเชื้อ *E. coli* ทั้งสองกลุ่มนี้มีความสามารถในการก่อโรคที่สูง สังเกตได้จากการมีปัจจัยความรุนแรงในการก่อโรค (virulence factors) จำนวนมาก เช่น adhesins toxins และ siderophores ช่วยให้เชื้อสามารถก่อโรคและปรับตัวเพื่อดำรงชีพในสิ่งแวดล้อมของโฮสต์ได้ดีกว่ากลุ่มอื่น (Johnson & Stell, 2000; Le Gall et al., 2007) นอกจากนี้ ยังพบว่า *E. coli* sequence type 131 (*E. coli* ST131) เป็นสายพันธุ์ย่อยใน phylogroup B2 ที่มีความสามารถในการก่อโรคสูง โดยพบเป็นเชื้อก่อโรคนอกลำไส้ที่พบได้บ่อยที่สุด และมีการแพร่กระจายในหลายภูมิภาคทั่วโลก (da Cruz Campos et al., 2019) ดังนั้น phylogroup B2 ที่พบในการศึกษานี้ จึงควรได้รับการศึกษาในเชิงลึกทั้งในแง่สายพันธุ์ย่อยและปัจจัยความรุนแรงในการก่อโรคเพิ่มเติมเพื่อเป็นการทำความเข้าใจถึงลักษณะทางระบาดวิทยา ความสามารถในการก่อโรค และความสัมพันธ์กับการดื้อยาด้านจุลชีพของเชื้อในประเทศไทยได้ดียิ่งขึ้น

ในการศึกษานี้ ผู้วิจัยพบว่า 1.7% ของเชื้อ *E. coli* ไม่สามารถจำแนก phylogroup ได้ โดยเป็นเชื้อที่มีผลการทดสอบ *arpA* - *chuA*- *yjaA*- และ TspE4.C2 + จำนวน 2 ไอโซเลท และเป็น *arpA*+ *chuA*+ *yjaA*+ และ TspE4.C2 + จำนวน 1 ไอโซเลท ซึ่งอาจเกิดจาก large-scale recombination ระหว่างเชื้อจาก phylogroup ที่แตกต่างกัน หรือเป็นสายพันธุ์ที่เกิดการเปลี่ยนแปลงของจีโนมอยู่ตลอดเวลา (genome plasticity) โดยเชื้อสูญเสียบหรือได้รับยีนใหม่เข้ามา (Clermont et al., 2013) ทำให้ไม่สามารถตรวจจำแนก

phylogroup ด้วย quadruplex PCR ได้ นอกจากนี้ ผู้วิจัยยังตรวจพบเชื้อใน phylogroup B1 C A F และ E (ประมาณ 3.4-7.5%) จากการศึกษาแหล่งที่มาของเชื้อในแต่ละ phylogroup พบว่า phylogroup A และ B1 มักพบเป็นเชื้อในกลุ่ม commensal bacteria ที่พบได้บ่อยในมนุษย์ (Singh et al., 2017) โดยเฉพาะ phylogroup A ที่มักพบในตัวอย่างอุจจาระของมนุษย์ (Bailey et al., 2010) ในขณะที่ phylogroup B1 ยังพบได้บ่อยในสัตว์ และมีความเชื่อมโยงกับแหล่งอาหาร (Aguirre-Sánchez et al., 2022) สำหรับ phylogroup F มีต้นกำเนิดมาจากไก่และมีความสัมพันธ์ทางวิวัฒนาการใกล้ชิดกับเชื้อใน phylogroup B2 (Wang et al., 2021) และสำหรับ phylogroup C และ E สามารถพบได้ตามแหล่งต่างๆ แต่ยังไม่ทราบแหล่งที่มาจำเพาะอย่างชัดเจน ทั้งนี้ ผู้วิจัยคาดว่า การติดเชื้อในระบบทางเดินปัสสาวะในผู้ป่วยหญิงด้วย phylogroup อื่นที่นอกเหนือจาก B2 และ D นั้น อาจเกิดจากการติดเชื้อ commensal *E. coli* จากส่วนอื่นของร่างกาย หรือได้รับเชื้อจากการปนเปื้อนในอาหารหรือสิ่งแวดล้อม และก่อให้เกิดโรคติดเชื้อในระบบทางเดินปัสสาวะได้ อย่างไรก็ตาม การติดเชื้อในกลุ่มอื่นนี้ยังคงมีความชุกต่ำ เนื่องจากเป็นเชื้อที่มีความรุนแรงในการก่อโรคในมนุษย์ต่ำ เมื่อเทียบกับ phylogroup B2 และ D (Tewawong et al., 2020; Ketkhaio et al., 2024)

การติดเชื้อระบบทางเดินปัสสาวะเป็นปัญหาสำคัญระดับโลก เนื่องจากการเพิ่มขึ้นของการติดเชื้อที่เกิดจาก *E. coli* ที่พัฒนาการดื้อยาด้านจุลชีพที่ใช้ในการรักษา การศึกษาที่ผ่านมาแสดงให้เห็นว่าการดื้อยาด้านจุลชีพของ *E. coli* มีความสัมพันธ์กับ phylogroup อย่างมาก (Halaji et al., 2022; Pootong et al., 2018; Tewawong et al., 2020) ในการศึกษานี้ ผู้วิจัยพบว่า เชื้อใน phylogroup C มีอัตราการดื้อยาด้านจุลชีพหลายชนิด เช่น gentamicin piperacillin-tazobactam ceftazidime cefepime และ ciprofloxacin สูงกว่าเชื้อใน phylogroup อื่นอย่างมีนัยสำคัญ ( $p < 0.05$ ) และเป็นเชื้อเพียงกลุ่มเดียวที่พบการดื้อยาด้านจุลชีพในกลุ่ม carbapenem ในขณะที่ เชื้อใน phylogroup E มีอัตราการดื้อต่อ amoxicillin-clavulanic acid cefoxitin และ trimethoprim-sulfamethoxazole สูง และพบอัตราการดื้อยาหลายขนาน (MDR) สูงที่สุด (6/6, 100%) ซึ่งผลการศึกษาแตกต่างจากการศึกษาก่อนหน้านี้ที่ศึกษาในกลุ่มผู้ป่วยชายและหญิง เช่น การศึกษาของ Tewawong et al. (2020) ซึ่งเป็นการศึกษาเดียวของประเทศไทยในปัจจุบันที่ทำการศึกษาระยะยาวของเชื้อดื้อยาด้านจุลชีพใน phylogroup ที่จำแนกด้วยการใช้ quadruplex PCR ที่แม้

จะพบว่าเชื้อใน phylogroup C มีอัตราการดื้อยาต้านจุลชีพสูงที่สุดเช่นเดียวกัน แต่ในการศึกษาดังกล่าว พบ phylogroup B2 สัมพันธ์กับ MDR และการศึกษาในประเทศอิหร่านของ Iranpour และคณะ พบว่า เชื้อใน phylogroup B2 มีความชุกของเชื้อที่ดื้อยาต้านจุลชีพสูงกว่ากลุ่มอื่นและเชื้อ MDR ส่วนใหญ่อยู่ในกลุ่มนี้ (Iranpour *et al.*, 2015) ผลการศึกษาที่แตกต่างกันนี้อาจเป็นผลมาจากกลุ่มตัวอย่าง พื้นที่ในการศึกษาและกระบวนการในการคัดเลือกตัวอย่างที่แตกต่างกัน ทั้งนี้ ผู้วิจัยตั้งข้อสังเกตว่า ส่วนหนึ่งของเชื้อ *E. coli* ในการศึกษาก่อนหน้านี้แยกได้จากตัวอย่างปัสสาวะจากผู้ป่วยชาย ซึ่งเชื่อดังกล่าวอาจมีความสามารถในการก่อโรค (pathogenicity) รวมถึง การดื้อยาต้านจุลชีพที่สูงกว่าเชื้อที่พบได้ในเพศหญิง เนื่องจาก ความซับซ้อนทางกายวิภาคของระบบทางเดินปัสสาวะในผู้ชาย จึงอาจเป็นเหตุให้ ผลการศึกษาก่อนหน้าพบความสัมพันธ์ของ phylogroup B2 สัมพันธ์กับการดื้อยาต้านจุลชีพดังกล่าวได้ ดังนั้นจึงควรมีการศึกษาโดยทำการเปรียบเทียบปัจจัยด้านเพศอย่างเป็นระบบเพิ่มเติมต่อไปในอนาคต อนึ่ง แม้ว่าการศึกษานี้พบอัตราการติดเชื้อใน phylogroups C และ E ที่ต่ำ แต่เชื้อทั้งสอง phylogroup นี้มีอัตราการดื้อยาต้านจุลชีพที่ค่อนข้างสูง และมักพบได้ตามแหล่งต่างๆ ดังนั้น จึงควรมีการเฝ้าระวังการแพร่กระจายของ phylogroups C และ E ที่อาจกลายเป็นแหล่งกักเก็บและแพร่กระจายของยีนดื้อยาต้านจุลชีพต่อไป

ข้อจำกัดในการศึกษานี้ ประกอบด้วย 1. ผู้วิจัยไม่ได้จำแนกประเภทของการติดเชื้อในระบบทางเดินปัสสาวะ เช่น การติดเชื้อในกระเพาะปัสสาวะ (cystitis) หรือที่ไต (pyelonephritis) เนื่องจากข้อจำกัดของข้อมูลที่ใช้ในการศึกษา 2. การศึกษานี้เป็นการดำเนินการในโรงพยาบาลเพียงแห่งเดียว จึงอาจไม่สามารถนำข้อมูลไปใช้ในวงกว้างได้ทันที และ 3. การศึกษานี้ไม่ได้วิเคราะห์ปัจจัยความรุนแรงในการก่อโรค (virulence factors) ของ *E. coli* จึงอาจทำให้ขาดข้อมูลของศักยภาพในการก่อโรคของเชื้อในแต่ละ phylogroup ที่ก่อโรคในผู้ป่วยหญิง ซึ่งการมีข้อมูลดังกล่าวอาจช่วยให้สามารถพัฒนาวีธีป้องกันหรือรักษาที่มีประสิทธิภาพมากขึ้นได้ อย่างไรก็ตาม การศึกษานี้ยังคงแสดงข้อมูลที่สำคัญที่สะท้อนถึงความสัมพันธ์ระหว่าง phylogroup กับรูปแบบการดื้อยาต้านจุลชีพของ *E. coli* ที่เป็นสาเหตุของการติดเชื้อในระบบทางเดินปัสสาวะในผู้หญิงที่แตกต่างจากการศึกษาก่อนหน้า และแสดงให้เห็นว่า *E. coli* จากผู้ป่วยหญิงที่ติดเชื้อทางเดินปัสสาวะโดยเฉพาะ phylogroup C และ E มีอัตราการดื้อยาต้านจุลชีพสูง จึงควรมีแนวทางเฝ้าระวังเพื่อป้องกันการแพร่กระจายของเชื้อดื้อยาต้านจุลชีพดังกล่าวต่อไป

## เอกสารอ้างอิง

- Aguirre-Sánchez, J. R., Valdez-Torres, J. B., Del Campo, N. C., Martínez-Urtaza, J., DelCampo, N. C., Lee, B. G., Quiñones, B., & Chaidez-Quiroz, C. (2022). Phylogenetic group and virulence profile classification in *Escherichia coli* from distinct isolation sources in Mexico. *Infection, Genetics and Evolution*, 106, Article 105380.
- Ahumada-Santos, Y. P., Báez-Flores, M. E., Díaz-Camacho, S. P., Uribe-Beltrán, M. J., Eslava-Campos, C. A., Parra-Unda, J. R., & Delgado-Vargas, F. (2020). Association of phylogenetic distribution and presence of integrons with multidrug resistance in *Escherichia coli* clinical isolates from children with diarrhoea. *Journal of Infection and Public Health*, 13(5), 767–772.
- Bailey, J. K., Pinyon, J. L., Anantham, S., & Hall, R. M. (2010). Distribution of human commensal *Escherichia coli* phylogenetic groups. *Journal of Clinical Microbiology*, 48(9), 3455–3456.
- Beghain, J., Bridier-Nahmias, A., Le Nagard, H., Denamur, E., & Clermont, O. (2018). ClermontTyping: An easy-to-use and accurate in silico method for *Escherichia* genus strain phylotyping. *Microbial Genomics*, 4(7), e000192.
- Clermont, O., Christenson, J. K., Denamur, E., & Gordon, D. M. (2013). The Clermont *Escherichia coli* phylo-typing method revisited: Improvement of specificity and detection of new phylo-groups. *Environmental Microbiology Reports*, 5(1), 58–65.
- Clinical and Laboratory Standards Institute. (2020). *Performance standards for antimicrobial susceptibility testing* (30th ed.). CLSI supplement M100.
- Czajkowski, K., Broś-Konopielko, M., & Teliga-Czajkowska, J. (2021). Urinary tract infection in women. *Przegląd Menopauzalny*, 20(1), 40–47.
- da Cruz Campos, A. C., Cavallo, F. M., Andrade, N. L., van Dijk, J. M., Couto, N., Zimec, J., Lo Ten Foe, J. R., Rosa, A. C. P., Damasco, P. V., Friedrich, A. W., Chlebowicz-Flissikowska, M. A., & Rossen, J. W. A. (2019). Determining the virulence properties of *Escherichia coli* ST131 containing bacteriocin-encoding plasmids using short- and long-read sequencing

- and comparing them with those of other *E. coli* lineages. *Microorganisms*, 7(11), 534.
- Eriksson, I., Gustafson, Y., Fagerström, L., & Olofsson, B. (2010). Prevalence and factors associated with urinary tract infections (UTIs) in very old women. *Archives of Gerontology and Geriatrics*, 50(2), 132–135.
- Flores-Mireles, A. L., Walker, J. N., Caparon, M., & Hultgren, S. J. (2015). Urinary tract infections: Epidemiology, mechanisms of infection and treatment options. *Nature Reviews Microbiology*, 13(5), 269–284.
- Foxman, B., Barlow, R., D'Arcy, H., Gillespie, B., & Sobel, J. D. (2000). Urinary tract infection: Self-reported incidence and associated costs. *Annals of Epidemiology*, 10(8), 509–515.
- Halaji, M., Fayyazi, A., Rajabnia, M., Zare, D., Pournajaf, A., & Ranjbar, R. (2022). Phylogenetic group distribution of uropathogenic *Escherichia coli* and related antimicrobial resistance pattern: A meta-analysis and systematic review. *Frontiers in Cellular and Infection Microbiology*, 12, Article 790184.
- Iranpour, D., Hassanpour, M., Ansari, H., Tajbakhsh, S., Khamisipour, G., & Najafi, A. (2015). Phylogenetic groups of *Escherichia coli* strains from patients with urinary tract infection in Iran based on the new Clermont phylotyping method. *BioMed Research International*, 2015, Article 846219.
- Johnson, J. R., & Stell, A. L. (2000). Extended virulence genotypes of *Escherichia coli* strains from patients with urosepsis in relation to phylogeny and host compromise. *The Journal of Infectious Diseases*, 181(1), 261–272.
- Kardas, P., Devine, S., Golembesky, A., & Roberts, C. (2005). A systematic review and meta-analysis of misuse of antibiotic therapies in the community. *International Journal of Antimicrobial Agents*, 26(2), 106–113.
- Ketkhao, P., Utrarachkij, F., Parikumsil, N., Poonchareon, K., Kerdsin, A., Ekchariyawat, P., Narongpun, P., Nakajima, C., Suzuki, Y., & Suthienkul, O. (2024). Phylogenetic diversity and virulence gene characteristics of *Escherichia coli* from pork and patients with urinary tract infections in Thailand. *PLoS ONE*, 19(7), e0307544.
- Le Gall, T., Clermont, O., Gouriou, S., Picard, B., Nassif, X., Denamur, E., & Tenaillon, O. (2007). Extraintestinal virulence is a coincidental by-product of commensalism in B2 phylogenetic group *Escherichia coli* strains. *Molecular Biology and Evolution*, 24(11), 2373–2384.
- Lescat, M., Clermont, O., Woerther, P. L., Glodt, J., Dion, S., Skurnik, D., Djossou, F., Dupont, C., Perroz, G., Picard, B., Catzeffis, F., Andremon, A., & Denamur, E. (2012). Commensal *Escherichia coli* strains in Guiana reveal a high genetic diversity with host-dependent population structure. *Environmental Microbiology Reports*, 5(1), 49–57.
- Magiorakos, A. P., Srinivasan, A., Carey, R. B., Carmeli, Y., Falagas, M. E., Giske, C. G., Harbarth, S., Hindler, J. F., Kahlmeter, G., Olsson-Liljequist, B., Paterson, D. L., Rice, L. B., Stelling, J., Struelens, M. J., Vatopoulos, A., Weber, J. T., & Monnet, D. L. (2012). Multidrug-resistant, extensively drug-resistant and pan drug-resistant bacteria: An international expert proposal for interim standard definitions for acquired resistance. *Clinical Microbiology and Infection*, 18(3), 268–281.
- Medina, M., & Castillo-Pino, E. (2019). An introduction to the epidemiology and burden of urinary tract infections. *Therapeutic Advances in Urology*, 11, 1756287219832172.
- National Antimicrobial Resistance Surveillance, Thailand. (2020). *Antimicrobial resistance 2000–2020*. <http://narst.dmsc.moph.go.th/data/AMR%202000-2020-12M.pdf>
- Pootong, A., Mungkornkeaw, N., Norrapong, B., & Cowawintaweewat, S. (2018). Phylogenetic background, drug susceptibility and virulence factors of uropathogenic *E. coli* isolate in a tertiary university hospital in central Thailand. *Tropical Biomedicine*, 35(1), 195–204.
- Singh, T., Das, S., Ramachandran, V. G., Wani, S., Shah, D., Maroof, K. A., & Sharma, A. (2017). Distribution of integrons and phylogenetic groups among enter-

- opathogenic *Escherichia coli* isolates from children <5 years of age in Delhi, India. *Frontiers in Microbiology*, 8, Article 561.
- Sirijatuphat, R., Pongsuttiyakorn, S., Supapuang, O., Kiratisin, P., & Thamlikitkul, V. (2020). Implementation of global antimicrobial resistance surveillance system (GLASS) in patients with bacteriuria. *Journal of Global Antimicrobial Resistance*, 20, 60–67.
- Sora, V. M., Meroni, G., Martino, P. A., Soggiu, A., Bonizzi, L., & Zeconi, A. (2021). Extraintestinal pathogenic *Escherichia coli*: Virulence factors and antibiotic resistance. *Pathogens*, 10(11), 1355.
- Tabasi, M., Asadi Karam, M. R., Habibi, M., Yekaninejad, M. S., & Bouzari, S. (2015). Phenotypic assays to determine virulence factors of uropathogenic *Escherichia coli* (UPEC) isolates and their correlation with antibiotic resistance pattern. *Osong Public Health and Research Perspectives*, 6(4), 261–268.
- Tewawong, N., Kowaboot, S., Pimainog, Y., Watanagul, N., Thongmee, T., & Poovorawan, Y. (2020). Distribution of phylogenetic groups, adhesin genes, biofilm formation, and antimicrobial resistance of uropathogenic *Escherichia coli* isolated from hospitalized patients in Thailand. *PeerJ*, 8, Article e10453.
- Themphachanal, M., Kongpheng, S., Rattanachua, P., Khiangnam, S., Singkhamanan, K., & Sukhumungoon, P. (2015). Molecular characterization of virulence and antimicrobial susceptibility profiles of uropathogenic *Escherichia coli* from patients in a tertiary hospital, southern Thailand. *The Southeast Asian Journal of Tropical Medicine and Public Health*, 46(6), 1021–1030.
- Wang, M., Jiang, M., Wang, Z., Chen, R., Zhuge, X., & Dai, J. (2021). Characterization of antimicrobial resistance in chicken-source phylogroup F *Escherichia coli*: Similar populations and resistance spectrums between *E. coli* recovered from chicken colibacillosis tissues and retail raw meats in Eastern China. *Poultry Science*, 100(9), 101370.

# ปัจจัยที่ส่งผลต่อการเดินทางด้วยรถจักรยานยนต์ของนักศึกษาด้วยสมการถดถอยแบบขั้นตอนระดับลดหลั่น โดยการประยุกต์ใช้ MRBQ ร่วมกับ T-LOC

## Determinants influencing students motorcycle travel among universities and colleges : A hierarchical multiple regression analysis integrating MRBQ and T-LOC

สวลี อุตรา<sup>1\*</sup>, ปิยนัฐ โตอ่อน<sup>1</sup>, อาจารย์ แสงเสถียร<sup>1</sup>, รัชฎา แท่งภูเขียว<sup>1</sup> และ ณัฐนันท์ นิตสิริ<sup>1</sup>

Savalee Uttra<sup>1\*</sup>, Piyanat To-on<sup>1</sup>, Arjaree Saengsathien<sup>1</sup>, Ratchada Taengphukieo<sup>1</sup> and Nattanan Nitisiri<sup>1</sup>

Received: 27 October 2024 ; Revised: 7 February 2025 : Accepted: 5 June 2025

### บทคัดย่อ

การเกิดอุบัติเหตุทางถนนมีปัจจัยเข้ามาเกี่ยวข้อง คือ คน ยานพาหนะ และสิ่งแวดล้อม โดยเฉพาะปัจจัยด้านคนมีส่วนสูงถึงร้อยละ 95 และเกิดขึ้นกับรถจักรยานยนต์มากที่สุด การศึกษาวิจัยนี้มีวัตถุประสงค์เพื่อวิเคราะห์ปัจจัยที่ส่งผลต่อการเดินทางด้วยรถจักรยานยนต์ของนักศึกษา กลุ่มตัวอย่างคือ อาสาสมัครที่สามารถขับขี่รถจักรยานยนต์ได้และศึกษาในมหาวิทยาลัย/วิทยาลัยในจังหวัดกาฬสินธุ์ จำนวน 650 คน เครื่องมือวิจัยที่ใช้คือแบบสอบถามโดยประยุกต์ใช้ Motorcycle Rider Behavior Questionnaire (MRBQ), Traffic Locus of Control Scale (T-LOC) และปัจจัยอื่นๆ อาทิ การใช้โทรศัพท์มือถือ การดื่มเครื่องดื่มแอลกอฮอล์ ยาทำให้ง่วงซึม การครอบครองใบอนุญาตขับขี่รถจักรยานยนต์ ประสบการณ์การละเมิดกฎจราจรและการเกิดอุบัติเหตุในอดีต วิเคราะห์ด้วยสมการถดถอยแบบขั้นตอนระดับลดหลั่น ข้อมูลทั่วไปพบว่า นักศึกษาไม่มีใบอนุญาตขับขี่รถจักรยานยนต์มากถึงร้อยละ 75.7 และเคยละเมิดกฎจราจรร้อยละ 100 ผลการวิเคราะห์ปัจจัยที่ส่งผลต่อการเดินทางด้วยรถจักรยานยนต์ พบว่า การใช้โทรศัพท์มือถือในการพิมพ์ข้อความ การดื่มเครื่องดื่มแอลกอฮอล์ และ T-LOC ปัจจัยภายในคือ “ตัวเอง” ส่งผลต่อ MRBQ คือ ความผิดพลาดในการขับขี่ การละเมิดความเร็ว ความผิดพลาดในการควบคุม การขับขี่ผิดโหม่มากขึ้น ในขณะที่การใช้อุปกรณ์ช่วยเพิ่มความปลอดภัยลดลง ผลของการศึกษาสามารถนำไปใช้ประโยชน์เชิงนโยบายและมาตรการ เช่น มาตรการในการตรวจสอบการมีใบอนุญาตขับขี่รถจักรยานยนต์ การห้ามใช้โทรศัพท์มือถือขณะขับขี่ การณรงค์ให้ผู้ดื่มแอลกอฮอล์แล้วไม่ขับขี่ การส่งเสริมความรู้ความเข้าใจในกฎจราจรโดยผู้เชี่ยวชาญ เป็นต้น สถาบันเป้าหมายสามารถนำไปกำหนดในแผนปฏิบัติการเพื่อยกระดับความปลอดภัยในการขับขี่รถจักรยานยนต์ให้กับนักศึกษาได้

**คำสำคัญ:** รถจักรยานยนต์, นักศึกษา, สมการถดถอยแบบขั้นตอนระดับลดหลั่น, Traffic Locus of Control scale (T-LOC), Motorcycle Rider Behavior Questionnaire (MRBQ)

### Abstract

Road accidents are influenced by multiple factors, including human behavior, vehicles, and environmental conditions. Notably, human factors contribute to approximately 95% of all cases, with motorcycles being the most frequently involved vehicle type. This study aimed to determine the factors influencing motorcycle travel behavior among students. The sample consisted of 650 student volunteers from universities and colleges in Kalasin Province, all of whom were capable of riding a motorcycle. Data were collected through a structured questionnaire incorporating the Motorcycle Rider Behavior Questionnaire (MRBQ), the Traffic Locus of Control Scale (T-LOC), and additional variables such as Mobile Phone use, Alcohol Consumption, use of Drowsiness-Inducing Medications, Motorcycle License Ownership, History of Traffic Violations, and Past Accident Involvement. Hierarchical Multiple Regression analysis was used to examine the relationships between these factors and Riding Behaviors. The results revealed that 75.7% of the students

<sup>1</sup> สาขาวิชาวิศวกรรมโลจิสติกส์และเทคโนโลยีขนส่ง คณะวิศวกรรมศาสตร์และเทคโนโลยีอุตสาหกรรม มหาวิทยาลัยกาฬสินธุ์

<sup>1</sup> Department of Logistics Engineering and Transportation Technology, Faculty of Engineering and Industrial Technology, Kalasin University

\* Corresponding author, e-mail: savalee.ut@ksu.ac.th

did not possess a motorcycle license, and all participants reported having violated traffic laws at least once. Further analysis showed that Mobile Phone use for Texting, Alcohol Consumption, and the Internal T-LOC factor ("Self") significantly influenced the MRBQ. These included increases in "Traffic Errors", "Speed Violations", "Control Errors", and "Stunts", as well as a decrease in the use of "Safety Equipment". These findings have significant implications for road safety policy and practice. Recommendations include stricter enforcement of motorcycle licensing requirements, banning mobile phone use while riding, promoting "don't drink and ride" initiatives, and implementing expert-led road safety education programs. Educational institutions can integrate these findings into their strategic safety plans to improve motorcycle safety among students.

**Keywords:** Motorcycle, university and college students, hierarchical multiple regression, Traffic Locus of Control Scale (T-LOC), Motorcycle Rider Behavior Questionnaire (MRBQ)

## บทนำ

ประเทศไทยมีจำนวนของผู้เสียชีวิตสูงสุดจากอุบัติเหตุทางถนนเป็นอันดับที่ 1 ของเอเชีย โดยเฉลี่ยจำนวน 62 รายต่อวัน เป็นอันดับที่ 9 ของโลกด้วยอัตราผู้เสียชีวิตจากอุบัติเหตุทางถนน 32.7 คนต่อประชากรหนึ่งแสนคน (WHO, 2018) ปี พ.ศ.2566 มีรายงานจำนวนผู้เสียชีวิตจากอุบัติเหตุทางถนนทั่วประเทศทั้งสิ้นจำนวน 17,299 คน (เฉลี่ยเดือนละ 1,442 คน หรือเฉลี่ยวันละ 47 คน) (กลุ่มสถิติการชนสง, 2568) ในขณะที่ระบบบูรณาการข้อมูลการตายจากอุบัติเหตุทางถนน (3 ฐาน) ย้อนหลัง 10 ปี (พ.ศ.2558 - พ.ศ.2567) (Figure 1) พบว่าเกิดกับรถจักรยานยนต์มากที่สุดคิดเป็นร้อยละ 48.5 จากประเภทรถทั้งหมด (กรมควบคุมโรค, 2568)

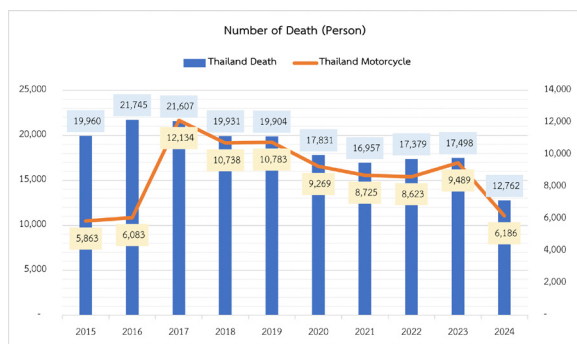


Figure 1 Thailand's road accident fatalities

การเกิดอุบัติเหตุทางถนนมีหลายปัจจัยเข้ามาเกี่ยวข้อง คือ คน ยานพาหนะ และสิ่งแวดล้อม (Evans, 2012; Shinar, 2007) โดยเฉพาะอย่างยิ่งปัจจัยที่เกี่ยวข้องคนถึงร้อยละ 95 ของสาเหตุทั้งหมด (Shinar, 2007) สาเหตุจากพฤติกรรมของคน เช่น การดื่มแล้วขับ การใช้ความเร็วเกินกำหนด (Agusdinata *et al.*, 2009) สาเหตุจากยานพาหนะที่ไม่พร้อมใช้งาน (Aceves-González *et al.*, 2015) สาเหตุจากลักษณะกายภาพของถนนและสภาพอากาศที่ไม่เอื้ออำนวยต่อ

ทัศนวิสัย (Michalaki *et al.*, 2016) เป็นต้น ปัจจุบันประเทศไทยยังคงประสบปัญหาเหล่านี้มาอย่างต่อเนื่อง ความรุนแรงที่เกิดขึ้นในแต่ละครั้งได้ส่งผลเสียหายอย่างมหาศาล ไม่ว่าจะเป็นปัญหาในเรื่องของสุขภาพ ชีวิต และทรัพย์สิน (Tainio, 2015) หน่วยงานภาครัฐได้มีการกำหนดนโยบายพร้อมทั้งกฎหมายเพื่อควบคุมและลดจำนวนการเกิดอุบัติเหตุลงแต่ก็ยังคงไม่สามารถแก้ไขปัญหาดังกล่าวได้

จังหวัดกาฬสินธุ์เป็นจังหวัดหนึ่งที่มีข้อมูลผู้เสียชีวิตจากอุบัติเหตุทางถนนต่อปีสูงเช่นเดียวกัน จากปี พ.ศ.2554 เพิ่มขึ้นตามลำดับโดยเฉพาะในปีพ.ศ.2558 สูงถึง 284 รายต่อปี เป็นรถจักรยานยนต์สูงถึง 147 รายต่อปี คิดเป็นร้อยละ 51.7 จากนั้นลดลงเนื่องจากสถานการณ์การระบาดของโรคโควิด 19 แต่แนวโน้มก็ยังคงสูงและยังเกิดขึ้นสูงสุดกับรถจักรยานยนต์ (กรมควบคุมโรค กระทรวงสาธารณสุข, 2568)

ดัง Figure 2

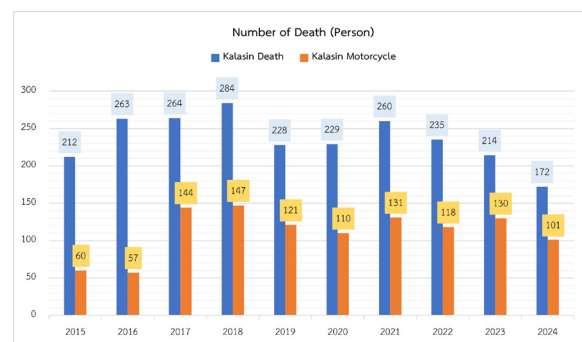


Figure 2 Road accident fatality data in Kalasin Province (2015 – 2024)

รถจักรยานยนต์เป็นยานพาหนะที่ได้รับความนิยมเป็นอย่างมากในประเทศไทย ในเดือนมกราคมปี พ.ศ. 2568 พบว่า มีจำนวนรถจักรยานยนต์ที่จดทะเบียนสะสมทั่วประเทศจำนวน 22,855,546 คัน คิดเป็นร้อยละ 50.82 และในจังหวัด

ภาพสินธุ์พบว่ามียานพาหนะมากถึง 179,177 คัน คิดเป็นร้อยละ 52.86 ของจำนวนยานพาหนะทุกประเภทที่จดทะเบียนในจังหวัดกาฬสินธุ์ (Transport Statistics Sub-Division, 2025) ความนิยมในการใช้รถจักรยานยนต์มีปัจจัยหลายประการ อาทิ ความสะดวก รวดเร็วและความคล่องตัว สามารถควบคุมให้เปลี่ยนทิศทางได้อย่างว่องไว และผู้ขับขี่สามารถชะลอและหยุดรถได้อย่างรวดเร็ว ความสามารถในการเข้าถึงจุดหมายของการเดินทาง ปริมาณเชื้อเพลิงที่ใช้และค่าใช้จ่ายในการบำรุงรักษา ตลอดจนจุดเด่นทางด้านราคาที่ทำให้รถจักรยานยนต์มักถูกพิจารณาว่าเป็นยานพาหนะส่วนบุคคลที่สามารถหาใช้งานได้สำหรับผู้ที่มีรายได้น้อยถึงปานกลางหรือผู้ขับขี่ที่เป็นวัยรุ่น นักเรียน และนักศึกษา

เมื่อกล่าวถึงวัยรุ่น ส่วนมากมีสถานะเป็นนักเรียน/นักศึกษาด้วย เป็นวัยที่มีความคิดคะนองเป็นทุนเดิม หากวัยรุ่นได้ทำการขับขี่รถจักรยานยนต์อาจเป็นสาเหตุให้เกิดความไม่ปลอดภัยต่อชีวิตและทรัพย์สินได้มากกว่าวัยอื่น เช่น วัยรุ่นในอินเดีย (Sumit et al., 2022) มีการใช้รถจักรยานยนต์สูงถึงร้อยละ 70 และเสียชีวิตด้วยอุบัติเหตุจากการใช้รถจักรยานยนต์มากที่สุด นอกจากนี้ยังมีเวียดนาม (Luu et al., 2021) ซึ่งมีปัญหาเรื่องการเกิดอุบัติเหตุจากการขับขี่มากที่สุดในกลุ่มวัยรุ่นถึงร้อยละ 47.6 และยังพบว่าวัยรุ่นเพศชายมีพฤติกรรมไม่สวมหมวกนิรภัยและมีปริมาณแอลกอฮอล์ในเลือดสูง ซึ่งเป็นปัจจัยที่มีอิทธิพลต่อผู้ขับขี่และเสี่ยงต่อการเกิดอุบัติเหตุ (Moskal et al., 2012) ในขณะที่วัยรุ่นไทยเพศชายกลุ่มอายุระหว่าง 15-19 ปี เป็นผู้ใช้รถจักรยานยนต์และมีพฤติกรรมเสี่ยงมากที่สุดใน การขับขี่หลังจากที่ได้ดื่มแอลกอฮอล์ 3 แก้วขึ้นไป (Stephan et al., 2011) นอกจากนี้พบว่านักศึกษาสถาบันอาชีวศึกษา จังหวัดหนองคาย เพศชายมีโอกาสเกิดอุบัติเหตุมากกว่าเพศหญิงถึง 3.96 เท่า นอกจากนี้ยังพบว่าการใช้โทรศัพท์มือถือขณะขับขี่มีความสัมพันธ์กับอุบัติเหตุจากรถจักรยานยนต์ (อนัญญา หาบุญมี และคณะ, 2024) ดังนั้นวัยรุ่นจึงเป็นกลุ่มที่ควรตระหนักและน่าสนใจในการศึกษาวิจัย โดยเฉพาะอย่างยิ่งกลุ่มวัยรุ่นที่เป็นนักเรียน/นักศึกษา เนื่องจากการเข้าถึงกลุ่มตัวอย่างวิจัยสะดวกกว่าวัยรุ่นทั่วไป

การศึกษาวิจัยเกี่ยวกับความเสี่ยงในการเดินทางด้วยรถจักรยานยนต์ ได้มีเครื่องมือในการศึกษาและเก็บรวบรวมข้อมูลที่ถูกนำมาใช้อย่างกว้างขวาง คือ Motorcycle Rider Behavior Questionnaire (MRBQ) ถูกพัฒนาขึ้นโดย Elliott et al. (2007) ได้ทำการพัฒนาจาก Driver Behavior Questionnaire (DBQ) (Reason et al., 1990) ซึ่งออกแบบเป็นมาตราส่วนประเมินค่า 6 ระดับ (6-Likert Scale) โดยที่ 1 คือไม่เคย 2 แทบจะไม่ค่อย 3 เป็นบางครั้ง 4 ค่อนข้างบ่อย 5

บ่อยๆ และ 6 คือ เป็นประจำ MRBQ ที่ถูกพัฒนาขึ้นมีข้อคำถามเกี่ยวกับการขับขี่รถจักรยานยนต์จำนวน 43 ข้อคำถาม (Indicators) วิเคราะห์องค์ประกอบปัจจัยด้วย Principle Components Analysis (PCA) สามารถจำแนกได้ 5 ปัจจัย ได้แก่ ความผิดพลาดในการขับขี่ (Traffic Errors), การละเมิดความเร็ว (Speed Violations), การขับขี่ผาดโผน (Stunts), อุปกรณ์เพิ่มความปลอดภัย (Safety Equipment) และ ความผิดพลาดในการควบคุม (Control Errors) MRBQ ได้ถูกนำมาประยุกต์ใช้อย่างกว้างขวางทั้งในระดับสากล ตัวอย่างเช่น ตุรกี (Özkan et al., 2012) ออสเตรเลีย (Sakashita et al., 2014) เวียดนาม (Trung Bui et al., 2020) อินเดีย (Sumit et al., 2021) จีน (Yu et al., 2023) และมีการศึกษาในประเทศไทย (Sunmud et al., 2024; Uttra et al., 2020a) อย่างไรก็ตาม การนำ MRBQ มาประยุกต์ใช้ยังคงต้องพิจารณาความเหมาะสมกับกลุ่มตัวอย่างและบริบทในพื้นที่วิจัยด้วย

นอกจากเครื่องมือ MRBQ ที่ใช้ในการศึกษารถจักรยานยนต์แล้ว ยังมีทฤษฎีที่ศึกษาทัศนคติและอิทธิพลของทัศนคติที่มีผลต่อการเปลี่ยนแปลงพฤติกรรม เช่น ทฤษฎีความเชื่อในปัจจัยควบคุม (Locus of Control: LC) (Rotter, 1966) ซึ่งเป็นแนวคิดทางจิตวิทยาสังคมที่อธิบายว่าแต่ละบุคคลมีความเชื่อเกี่ยวกับการกระทำและผลลัพธ์ที่ตามมาอย่างไร LC ถูกพิจารณาออกเป็น 2 ปัจจัยหลัก คือ “ปัจจัยภายนอก (Driving Externality: DE)” และ “ปัจจัยภายใน (Driving Internality: DI)” (Montag & Comrey, 1987) LC ยังถูกพัฒนาต่อเพื่อวิเคราะห์ความสัมพันธ์ระหว่างความเชื่อในปัจจัยควบคุมผู้ขับขี่ การขับรถเสี่ยง และผลลัพธ์จากพฤติกรรมเสี่ยง จึงได้มีการพัฒนา Multidimensional Traffic Locus of Control Scale (T-LOC) (Özkan & Lajunen, 2005) ซึ่งในการศึกษาสามารถจัดกลุ่มได้ 4 ปัจจัย ประกอบด้วย “ผู้ขับขี่อื่น (Other Drivers)” ซึ่งเกี่ยวกับสาเหตุของการเกิดอุบัติเหตุจากผู้ขับขี่อื่น “ตัวเอง (Self)” ซึ่งจะเกี่ยวกับสาเหตุของการเกิดอุบัติเหตุจากตัวเอง “พรหมลิขิต (Fate)” ซึ่งจะเกี่ยวกับสาเหตุของการเกิดอุบัติเหตุจากพรหมลิขิตและความโชคร้าย และ “ยานพาหนะและสิ่งแวดล้อม (Vehicle and Environment)” ซึ่งจะเกี่ยวกับสาเหตุของการเกิดอุบัติเหตุจากยานพาหนะ ถนน และสิ่งแวดล้อมอื่นๆ มีการนำ T-LOC มาใช้ในการศึกษาเพื่อคาดการณ์พฤติกรรม การขับเร็วของชาวสวีเดน (Warner et al., 2010) โดยที่ผลการศึกษาพบว่า “ตัวเอง (Self)” หรือ “Own behaviour” มีผลทำให้ขับเร็วขึ้น ในขณะที่ “Vehicle and Environment” ทำให้ขับช้าลง นอกจากนี้ยังมีการนำ T-LOC มาศึกษากับ MRBQ ด้วยสมการถดถอยแบบขั้นตอนระดับลดหลั่น (Hierarchical Multiple Regression) (Özkan

et al., 2012) โดยที่ "Other Driver", "Fate" และ "Vehicle and Environment" ถูกจัดให้เป็นปัจจัยภายนอก (Externality) ในขณะที่ "Self" ถูกจัดให้เป็นปัจจัยภายใน (Internality) ผลการศึกษาพบว่า "Fate" มีผลต่อ "Speed Violations" และ "Stunts" ในขณะที่ "Vehicle and Environment" มีผลต่อ "Safety Equipment" ของ MRBQ

นอกจากนี้ยังมีทฤษฎีพฤติกรรมตามแผน (Theory of Planned Behavior: TPB) (Ajzen, 1991) โดยอธิบายว่าการแสดงพฤติกรรมจะเกิดจากการขึ้นจากความเชื่อ 3 ประการ ได้แก่ Behavioral Beliefs, Normative Beliefs และ Control Beliefs ซึ่งเป็นทฤษฎีที่นิยมนำมาศึกษาในงานวิจัยด้านความปลอดภัยทางถนนในเชิงทัศนคติความสนใจในการกระทำพฤติกรรมนั้นๆ ยกตัวอย่างเช่น ความสนใจการขับขี่จักรยานยนต์ย้อนศร (Satiennam et al., 2023) ความสนใจในการขับขี่เสี่ยงด้วย MRBQ (Uttra et al., 2020b)

การหาความสัมพันธ์เชิงสาเหตุระหว่างตัวแปร 2 กลุ่ม คือ ตัวแปรต้น (Independent Variable) และตัวแปรตาม (Dependent Variable) ใช้สถิติวิเคราะห์การถดถอย (Regression Analysis) หากตัวแปรต้นหนึ่งตัวและตัวแปรตามหนึ่งตัวเรียกว่า การวิเคราะห์ถดถอยอย่างง่าย (Simple Regression Analysis) แต่ถ้าหากใช้ตัวแปรต้นหลายตัวแปรอธิบายตัวแปรตามหนึ่งตัวแปรเรียกว่า การวิเคราะห์ถดถอยพหุคูณ (Multiple Regression Analysis) แต่ปัญหาที่พบในการนำมาใช้คือ โมเดลที่วิจัยกับโมเดลการวิเคราะห์ไม่ได้เป็นแบบเดียวกัน จึงได้มีการขยายแนวคิดของการวิเคราะห์ถดถอยเพิ่มขึ้นโดยการคัดเลือกตัวแปรเข้ามาในสมการตามลำดับก่อน-หลัง ซึ่งส่งผลให้การวิเคราะห์ข้อมูลได้สมการถดถอยถูกต้องตามทฤษฎีและมีโมเดลวิจัยกับโมเดลวิเคราะห์เป็นแบบเดียวกัน เมื่อเทียบกับการวิเคราะห์การถดถอยปกติ การวิเคราะห์ดังกล่าวเรียกว่า "การถดถอยแบบขั้นตอนระดับลดหลั่น (Hierarchical Stepwise Regression or Sequential Regression)" (วิญญูทรัพย์ อยู่ในศิล, 2556) นอกจากนี้การถดถอยแบบขั้นตอนระดับลดหลั่นมีความโดดเด่นในเรื่องการส่งอิทธิพลผ่าน (Mediation Analysis) ตัวแปรต้นที่มีต่อตัวแปรตาม ซึ่งมีความเหมาะสมกับการวิเคราะห์ข้อมูลที่ได้จากเครื่องมือและทฤษฎีที่ศึกษาทัศนคติและอิทธิพลของทัศนคติที่มีผลต่อการเปลี่ยนแปลงพฤติกรรม

จากสถิติการเกิดอุบัติเหตุโดยเฉพาะอย่างยิ่งอุบัติเหตุจากรถจักรยานยนต์ ความคึกคะนองของวัยรุ่น การทบทวนเครื่องมือในการศึกษาและเก็บข้อมูลเรื่องการเดินทางด้วยรถจักรยานยนต์ที่ถูกนำมาใช้อย่างกว้างขวางอย่างเช่น MRBQ ซึ่งมีความน่าสนใจในการนำมาศึกษาในงานวิจัยนี้ และการทบทวนทฤษฎีที่นำมาใช้ในการศึกษาที่ผ่านมาพบว่า T-LOC

ซึ่งพัฒนาต่อเนื่องจาก LC ซึ่งศึกษาการขับเคลื่อนกับความเชื่อในปัจจัยควบคุม (Driver Locus of Control) พฤติกรรมขับขี่เสี่ยง (Risk Riding) จาก MRBQ และผลลัพธ์จากพฤติกรรมเสี่ยงนั้น ทำให้ทีมวิจัยได้เล็งเห็นเครื่องมือดังกล่าวมีความเหมาะสม และสามารถนำมาประยุกต์ใช้ในการศึกษาวิจัยกับการเดินทางด้วยรถจักรยานยนต์ในครั้งนี้

## วัตถุประสงค์ของงานวิจัย

เพื่อวิเคราะห์ปัจจัยที่ส่งผลต่อการเดินทางด้วยรถจักรยานยนต์ของนักศึกษา

## วิธีดำเนินการวิจัย

### 1. การออกแบบเครื่องมือวิจัย

งานวิจัยได้สร้างเครื่องมือในการรวบรวมข้อมูลในรูปแบบแบบสอบถามชนิดตอบด้วยตนเอง (Self-Assessment Report) 3 ตอน ดังนี้

ตอนที่ 1 ข้อมูลทั่วไป ประกอบด้วย เพศ อายุ ระดับการศึกษาสูงสุด ประสบการณ์ในการเดินทางด้วยรถจักรยานยนต์ การใช้โทรศัพท์มือถือ (Social media การนำทาง) การใส่หูฟังเปิดเพลงขณะขับขี่ การดื่มเครื่องดื่มแอลกอฮอล์ การทานยาทำให้ง่วงซึม การครอบครองใบอนุญาตขับขี่รถจักรยานยนต์ ประสบการณ์การละเมิดกฎจราจรและการเกิดอุบัติเหตุในระยะเวลา 3 ปีที่ผ่านมา

ตอนที่ 2 ประยุกต์ใช้เครื่องมือ Motorcycle Rider Behavior Questionnaire (MRBQ) (Elliott et al., 2007) จำนวน 43 ข้อคำถาม เป็นมาตราส่วนประเมินค่า 6 ระดับ โดยที่ 1 คือไม่เคย 2 แทบจะไม่ค่อย 3 เป็นบางครั้ง 4 ค่อนข้างบ่อย 5 บ่อยๆ และ 6 คือเป็นประจำ

ตอนที่ 3 คือประยุกต์ใช้เครื่องมือ Traffic Locus of Control scale (T-LOC) (Özkan & Lajunen, 2005) จำนวน 16 ข้อคำถาม เป็นมาตราส่วนประเมินค่า 5 ระดับ โดยที่ 1 คือไม่เลย 2 คือ เป็นไปได้น้อย 3 คือ ปานกลาง 4 คือ เป็นไปได้ และ 5 คือ เป็นไปได้สูง

ข้อคำถามในตอนที่ 2 และตอนที่ 3 ได้ถูกนำมาแปลให้เป็นภาษาไทยเพื่อให้สามารถนำไปเก็บข้อมูลได้ และถูกตรวจสอบคุณภาพก่อนนำไปเก็บข้อมูลจริงด้วยค่าความเที่ยงตรงของแบบสอบถาม หรือค่าสอดคล้องระหว่างข้อคำถามกับวัตถุประสงค์ (IOC: Item-Objective Congruence Index) ด้วยผู้เชี่ยวชาญที่มีความรู้ความสามารถในการคัดกรองเครื่องมือในการวิจัย จำนวน 3 คน ผลการตรวจสอบเครื่องมือวิจัย พบว่ามีบางปัจจัยที่ไม่ผ่านการประเมินจากผู้เชี่ยวชาญ ผู้วิจัยได้นำมาปรับเปลี่ยนแบบสอบถามเพื่อยื่นขอ

จริยธรรมการวิจัยในมนุษย์ จากมหาวิทยาลัยกาฬสินธุ์ โดยได้รับหมายเลขอ้างอิงคือ HS-KSU 021/2565

## 2. การเก็บรวบรวมข้อมูล

กลุ่มตัวอย่างในการวิจัย คือ อาสาสมัครที่ศึกษาในมหาวิทยาลัย/วิทยาลัยในจังหวัดกาฬสินธุ์ เก็บข้อมูลด้วยแบบสอบถามชนิดตอบด้วยตนเอง (Self-Assessment Report) จำนวน 650 ชุด จาก 8 สถาบัน ซึ่งเพียงพอต่อการวิเคราะห์ทางสถิติ (Kline, 2011; Loehlin, 1998)

## 3. การตั้งสมมติฐานงานวิจัย

การครอบครองใบอนุญาตขับขี่รถจักรยานยนต์ ประสบการณ์การละเมิดกฎจราจร การเกิดอุบัติเหตุในระยะเวลา 3 ปีที่ผ่านมา การใช้โทรศัพท์มือถือ (Social media การนำทาง) การใส่หูฟังเปิดเพลงขณะขับขี่ การดื่มเครื่องดื่มแอลกอฮอล์ การทานยาทำให้ง่วงซึม และปัจจัยของ T-LOC มีผลต่อ MRBQ

## ผลการศึกษา

### 1. ข้อมูลทั่วไป

อาสาสมัครที่ตอบแบบสอบถามพบว่าเป็นเพศชายจำนวน 349 คนคิดเป็นร้อยละ 53.7 เพศหญิงจำนวน 276 คนคิดเป็นร้อยละ 42.5 และเป็น LGBTQ+ จำนวน 25 คนคิดเป็นร้อยละ 3.8 โดยมีอายุเฉลี่ย 18.6 ปี (SD = 1.4 ปี) มีอายุน้อยที่สุด 15 ปีและมากที่สุด 24 ปี ระดับการศึกษาปัจจุบันมากที่สุดคือ ประกาศนียบัตรวิชาชีพชั้นสูง (ปวส.) จำนวน 381 คนคิดเป็นร้อยละ 58.6 รองมาคือระดับปริญญาตรี จำนวน 164 คนคิดเป็นร้อยละ 25.2 และระดับประกาศนียบัตรวิชาชีพ (ปวช.) จำนวน 105 คนคิดเป็นร้อยละ 16.2 ตามลำดับ ในส่วนของประสบการณ์ในการเดินทางด้วยรถจักรยานยนต์ พบว่าอาสาสมัครสามารถขับขี่รถจักรยานยนต์ได้ แต่ไม่มีใบอนุญาตขับขี่มากถึงร้อยละ 75.7 มีประสบการณ์ในการละเมิดกฎจราจรร้อยละ 100 โดยกฎจราจรที่ละเมิดมากที่สุดคือ ขับขี่โดยไม่ใส่ใบอนุญาตขับขี่ ไม่สวมหมวกนิรภัย และขับรถยนต์บนสะพานเกิดจากความเร่งรีบ ขับในระยะใกล้ และความเคยชินเป็นต้น

### 2. การวิเคราะห์ MRBQ

การวิเคราะห์องค์ประกอบเพื่อจัดกลุ่มและลดจำนวนตัวแปรของ MRBQ ด้วย Principal Component Analysis (PCA) สามารถจัดได้ 5 กลุ่ม ประกอบด้วย ความผิดพลาดในการขับขี่ (Traffic Errors: TE) การละเมิดความเร็ว (Speed Violations: SV) ความผิดพลาดในการควบคุม (Control Errors: CE) การขับขี่ผาดโผน (Stunts: ST) และอุปกรณ์เพิ่มความปลอดภัย (Safety Equipment: SE) เหลือ

จำนวน 13 ข้อคำถาม (Indicators) โดยที่ค่า loading factor  $\geq 0.5$  (Maskey et al., 2018) จะถูกนำมาพิจารณาต่อค่า Kaiser-Meyer-Olkin Measure of Sampling Adequacy = 0.661 ซึ่งมีความเหมาะสม (Cerny & Kaiser, 1977) โดยมีค่าความสอดคล้องภายใน (Cronbach's Alpha) ระหว่าง 0.557 – 0.820 ปัจจัยและข้อคำถามแสดงได้ดัง Table 1

**Table 1** Factors of the MRBQ among students riding.

| Factors                                                | Indicators (Factor scores)                                                                                           |
|--------------------------------------------------------|----------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|
| <b>Traffic Errors (TE), Cronbach's Alpha = 0.680</b>   |                                                                                                                      |
|                                                        | 1. Turning into a side street without being aware of any pedestrians. (0.736)                                        |
|                                                        | 2. Failing to notice a car from behind a parked vehicle until it is nearly. (0.758)                                  |
|                                                        | 3. Failing to stop the motorcycle at the intersection allowed pedestrians to cross the roadway. (0.677)              |
|                                                        | 4. Turning left into the main road without reducing speed and not noticing other vehicles. (0.598)                   |
| <b>Speed Violations (SV), Cronbach's Alpha = 0.768</b> |                                                                                                                      |
|                                                        | 5. If there are no cars on the road, you continue to go straight while ignoring red traffic lights. (0.879)          |
|                                                        | 6. Violating red traffic lights. (0.864)                                                                             |
| <b>Control Errors (CE), Cronbach's Alpha = 0.557</b>   |                                                                                                                      |
|                                                        | 7. When the vehicle ahead shows down or stops, you realize that you should stop your motorcycle immediately. (0.776) |
|                                                        | 8. Riding too close to the car in front. If there is an emergency, it will be difficult to stop. (0.741)             |
|                                                        | 9. Braking too quacking on a slippery road. (0.611)                                                                  |
| <b>Stunts (ST), Cronbach's Alpha = 0.820</b>           |                                                                                                                      |
|                                                        | 10. Pulling away too quickly and your front wheel lifts off the road. (0.898)                                        |
|                                                        | 11. Purposely doing a wheel spin. (0.895)                                                                            |
| <b>Safety Equipment (SE), Cronbach's Alpha = 0.717</b> |                                                                                                                      |
|                                                        | 12. Wearing a protective riding suit for body, elbow, and shoulder protection. (0.881)                               |
|                                                        | 13. Wearing motorcycle gloves. (0.881)                                                                               |

Extraction Method: Principal Component Analysis.

Rotation Method: Varimax with Kaiser Normalization.

### 3. การวิเคราะห์ T-LOC

T-LOC สามารถจัดกลุ่มตัวแปรด้วย Principal Component Analysis (PCA) ได้ 4 กลุ่ม ประกอบด้วย คนขับอื่น (Other Drivers: OD) ยานพาหนะและสิ่งแวดล้อม (Vehicle and Environment: VE) พรหมลิขิต (Fate: FT) และตัวเอง (Self: SF) เหลือจำนวน 14 ข้อคำถาม (Indicators) โดยที่ค่า Kaiser-Meyer-Olkin Measure of Sampling

Adequacy = 0.871 ซึ่งมีความเหมาะสม (Cerny & Kaiser, 1977) โดยมีค่าความสอดคล้องภายใน (Cronbach's Alpha) ระหว่าง 0.746 – 0.892 ปัจจัยและข้อคำถามแสดงได้ดัง Table 2

**Table 2** Factors of the T-LOC among students riding.

| Factors                                                       | Indicators (Factor scores) |
|---------------------------------------------------------------|----------------------------|
| <b>Other Drivers (OD), Cronbach's Alpha = 0.892</b>           |                            |
| 1. Other drivers' risk-taking. (0.775)                        |                            |
| 2. Shortcomings in other drivers' driving skills. (0.754)     |                            |
| 3. Other drivers drive often with too high speed. (0.831)     |                            |
| 4. Other drivers' dangerous overtaking. (0.820)               |                            |
| 5. Other drivers drive too close to my car. (0.765)           |                            |
| 6. Other drivers driving under influence of alcohol. (0.742)  |                            |
| <b>Vehicle and Environment (VE), Cronbach's Alpha = 0.746</b> |                            |
| 7. Bad weather or lighting conditions. (0.833)                |                            |
| 8. Dangerous roads. (0.765)                                   |                            |
| <b>Fate (FT), Cronbach's Alpha = 0.828</b>                    |                            |
| 9. Bad luck. (0.863)                                          |                            |
| 10. Fate. (0.877)                                             |                            |
| <b>Self (SF), Cronbach's Alpha = 0.820</b>                    |                            |
| 11. My own dangerous overtaking. (0.773)                      |                            |
| 12. I drive often with too high speed. (0.765)                |                            |
| 13. I drive too close to the car in front. (0.816)            |                            |
| 14. My own risk-taking. (0.777)                               |                            |

Extraction Method: Principal Component Analysis.

Rotation Method: Varimax with Kaiser Normalization.

#### 4. ผลการวิเคราะห์ปัจจัยที่ส่งผลต่อการเดินทางด้วยรถจักรยานยนต์ของนักศึกษา

การวิเคราะห์การถดถอยแบบขั้นตอนระดับลดหลั่น (Hierarchical Multiple Regression) ได้ถูกนำมาวิเคราะห์เพื่อหาความสัมพันธ์ระหว่างตัวแปรและพิจารณาแบบจำลองปัจจัยที่ส่งผลต่อการเดินทางด้วยรถจักรยานยนต์ของนักศึกษา

การกำหนดตัวแปรตาม (Dependent Variable) ซึ่งเป็นปัจจัยจาก MRBQ ประกอบด้วย ความผิดพลาดในการขับขี่ (Traffic Errors: TE) การละเมิดความเร็ว (Speed Violations: SV) ความผิดพลาดในการควบคุม (Control Errors: CE) การขับขี่ผาดโผน (Stunts: ST) และอุปกรณ์เพิ่มความปลอดภัย (Safety Equipment: SE) โดยการนำค่าเฉลี่ยจากข้อคำถามที่ได้จาก Table 1 ไปใช้ในวิเคราะห์

การกำหนดตัวแปรต้น (Independent Variable) ประกอบด้วย ปัจจัยด้านบุคคล (Personal Demographics) คือ การครอบครองใบอนุญาตขับขี่รถจักรยานยนต์ (Riding License: RL) ประสบการณ์ในการละเมิดกฎจราจรในระยะเวลา 3 ปีที่ผ่านมา (Traffic Past Violations: TPV) และประสบการณ์ในการเกิดอุบัติเหตุในระยะเวลา 3 ปี ที่ผ่านมา (Past Accident: PA) โดยกำหนดให้เป็นตัวแปรหุ่น (Dummy Variables) มีคือ 1 ไม่มีคือ 0 ซึ่งสามตัวแปรด้านบุคคลนี้ จะถูกจัดเป็นตัวแปรควบคุม จากนั้นมีการนำตัวแปรต้นอื่นเข้ามาพิจารณา ประกอบด้วย การใช้โทรศัพท์มือถือถือพิมพ์ Social Media (Text: TEXT) การใช้โทรศัพท์มือถือในการดูแผนที่นำทาง (Map: MAP) การใส่หูฟังเปิดเพลงขณะขับขี่ (Music: MUS) การใช้เครื่องดื่มแอลกอฮอล์ (Alcohol Consumption: ALC) และการทานยาทำให้ง่วงซึม (Medicine: MED) ร่วมกับ T-LOC ประกอบด้วยปัจจัย ผู้ขับขี่อื่น (Other Drivers: OD) ยานพาหนะและสิ่งแวดล้อม (Vehicle and Environment: VE) พรหมลิขิต (Fate: FT) และตัวเอง (Self: ST) ปัจจัย และคำอธิบายแสดงได้ดัง Table 3

**Table 3** Personal Demographics and Another Factors detail.

| Factor                                                        | Code | Detail                                                                                                    |
|---------------------------------------------------------------|------|-----------------------------------------------------------------------------------------------------------|
| <b>Personal Demographics</b>                                  |      |                                                                                                           |
| Riding License                                                | RL   | Motorcycle license ownership.<br>(1 = Yes, 0 = No)                                                        |
| Traffic Past Violations                                       | TPV  | Traffic violation in the past 3 years.<br>(1 = Yes, 0 = No)                                               |
| Past Accident                                                 | PA   | Motorcycle accident experience in the past 3 years<br>(active and passive accident).<br>(1 = Yes, 0 = No) |
| <b>Other Factors (6-Likert Scale) (1 = never, 6 = always)</b> |      |                                                                                                           |
| Text                                                          | TEXT | Texting or social media use while riding.                                                                 |
| Map                                                           | MAP  | Navigation app use while riding.                                                                          |
| Music                                                         | MUS  | Use the earphones/headphones while riding.                                                                |
| Alcohol Consumption                                           | ALC  | Alcohol Consumption before riding.                                                                        |
| Medicine                                                      | MED  | Medication uses before riding.                                                                            |

ตัวแปรและปัจจัยทั้งหมดได้ถูกทดสอบความสัมพันธ์เชิงเส้นตรงระหว่างตัวแปรเชิงปริมาณ 2 ตัวแปรด้วยค่าสหสัมพันธ์ (Pearson Correlation) วิเคราะห์ด้วย Jamovi Software พบว่ามีค่าระหว่าง -0.561 ถึง 0.506 ที่ระดับนัยสำคัญทางสถิติ 0.05 และ 0.01 ซึ่ง แสดงให้เห็นว่าตัวแปร

มีความสัมพันธ์ที่มีระดับนัยสำคัญมีความสัมพันธ์เชิงเส้นตรงซึ่งไม่เกิน 0.70 เพื่อป้องกันการเกิดปัญหาความสัมพันธ์ระหว่างตัวแปรสูงเกินไป (Multicollinearity) และค่า Tolerance ต้องมีค่ามากกว่า 0.01 และค่า Variance Inflation Factor (VIF) ต้องมีค่าน้อยกว่า 10 (Mardia et al., 2024) ซึ่งพบว่าผ่านเกณฑ์การพิจารณา แสดงได้ดัง Table 4

ผลการวิเคราะห์ปัจจัยที่ส่งผลต่อการเดินทางด้วยรถจักรยานยนต์ของนักศึกษา จากสมมติฐานงานวิจัยและผลวิจัยที่ได้จากสมการถดถอยแบบขั้นตอนระดับลดหลั่นใน Table 5 พบว่า ปัจจัยอื่นๆ (Other Factors) ได้แก่ การใช้โทรศัพท์มือถือถือพิมพ์ Social Media (Text: TEXT) มีความสัมพันธ์และส่ง

ผลต่อ MRBQ ในปัจจัยความผิดพลาดในการขับขี่ (Traffic Errors: TE) การละเมิดความเร็ว (Speed Violations: SV) และอุปกรณ์ช่วยเพิ่มความปลอดภัย (Safety Equipment: SE) อย่างมีนัยสำคัญ ( $\beta=0.108$ ,  $p<0.05$ ,  $\beta=0.183$ ,  $p<0.01$ ,  $\beta=-0.168$ ,  $p<0.05$ ) แต่ไม่ส่งผลต่อปัจจัยความผิดพลาดในการควบคุม (Control errors: CE) และการขับขี่ผาดโผน (Stunts: ST) ในขณะที่การใช้โทรศัพท์มือถือในการดูแผนที่นำทาง (Map: MAP) การใส่หูฟังเปิดเพลงขณะขับขี่ (Music: MUS) มีความสัมพันธ์และส่งผลต่ออุปกรณ์ช่วยเพิ่มความปลอดภัย (Safety Equipment: SE) อย่างมีนัยสำคัญ ( $\beta=0.232$ ,  $p<0.01$ ,  $\beta=-0.176$ ,  $p<0.01$ )

**Table 4** Correlation between MQBQ factors, other factors, and T-LOC.

| Factor                  | TE | SV      | CE      | ST      | SE     | RL      | TPV      | PA       | TEXT    | MAP     | MUS     | ALC     | MED     | OD      | SF      | VE      | FT      | Tolerance | VIF   |
|-------------------------|----|---------|---------|---------|--------|---------|----------|----------|---------|---------|---------|---------|---------|---------|---------|---------|---------|-----------|-------|
| Traffic Errors          | 1  | 0.296** | 0.321** | 0.219** | 0.088* | -0.064  | 0.059    | 0.096*   | 0.243** | 0.171** | 0.131** | 0.211** | 0.234** | 0.099*  | 0.317** | 0.183** | 0.138** |           |       |
| Speed Violations        |    | 1       | 0.261** | 0.183** | 0.015  | -0.036  | 0.091*   | 0.074    | 0.315** | 0.220** | 0.131** | 0.279** | 0.204** | 0.146** | 0.303** | 0.181** | 0.112** |           |       |
| Control Errors          |    |         | 1       | 0.108** | 0.031  | -0.033  | 0.028    | 0.051    | 0.201** | 0.194** | 0.137** | 0.243** | 0.203** | 0.214** | 0.328** | 0.225** | 0.193** |           |       |
| Stunts                  |    |         |         | 1       | 0.074  | -0.076  | 0.072    | 0.117**  | 0.137** | 0.043   | 0.125** | 0.225** | 0.127** | -0.024  | 0.291** | 0.087*  | 0.057   |           |       |
| Safety Equipment        |    |         |         |         | 1      | 0.161** | -0.123** | -0.024   | 0.019   | 0.229** | 0.228** | -0.010  | 0.114** | 0.094*  | 0.116** | 0.057   | 0.060   |           |       |
| Riding License          |    |         |         |         |        | 1       | -0.561** | -0.125** | -0.046  | 0.096*  | 0.076   | -0.057  | -0.039  | 0.045   | -0.060  | -0.023  | -0.065  | 0.659     | 1.518 |
| Traffic Past Violations |    |         |         |         |        |         | 1        | 0.050    | 0.099*  | 0.015   | -0.020  | 0.120** | 0.078*  | -0.019  | 0.093*  | 0.033   | 0.063   | 0.673     | 1.487 |
| Past Accident           |    |         |         |         |        |         |          | 1        | 0.079*  | -0.016  | 0.070   | 0.081*  | 0.052   | -0.057  | 0.135** | -0.030  | 0.045   | 0.943     | 1.060 |
| Text                    |    |         |         |         |        |         |          |          | 1       | 0.506** | 0.380** | 0.412** | 0.228** | 0.164** | 0.325** | 0.255** | 0.235** | 0.604     | 1.656 |
| Map                     |    |         |         |         |        |         |          |          |         | 1       | 0.366** | 0.326** | 0.289** | 0.202** | 0.210** | 0.211** | 0.094*  | 0.646     | 1.547 |
| Music                   |    |         |         |         |        |         |          |          |         |         | 1       | 0.158** | 0.216** | 0.084*  | 0.239** | 0.172** | 0.142** | 0.779     | 1.284 |
| Alcohol Consumption     |    |         |         |         |        |         |          |          |         |         |         | 1       | 0.378** | 0.200** | 0.312** | 0.220** | 0.219** | 0.704     | 1.420 |
| Medicine                |    |         |         |         |        |         |          |          |         |         |         |         | 1       | 0.137** | 0.259** | 0.164** | 0.104** | 0.798     | 1.253 |
| Other Drivers           |    |         |         |         |        |         |          |          |         |         |         |         |         | 1       | 0.312** | 0.484** | 0.380** | 0.706     | 1.417 |
| Self                    |    |         |         |         |        |         |          |          |         |         |         |         |         |         | 1       | 0.425** | 0.334** | 0.695     | 1.439 |
| Vehicle and Environment |    |         |         |         |        |         |          |          |         |         |         |         |         |         |         | 1       | 0.479** | 0.605     | 1.652 |
| Fate                    |    |         |         |         |        |         |          |          |         |         |         |         |         |         |         |         | 1       | 0.704     | 1.421 |

\*\*. Correlation is significant at the 0.01 level (2-tailed).

\*. Correlation is significant at the 0.05 level (2-tailed).

Table 5 Regression results between MRBQ factors, personal demographics, other factors, and T-LOC.

| Analyses                        | Traffic Errors<br>(TE) |                    | Speed Violations<br>(SV) |                | Control Errors<br>(CE) |                    | Stunts<br>(ST) |                | Safety Equipment<br>(SE) |                    |
|---------------------------------|------------------------|--------------------|--------------------------|----------------|------------------------|--------------------|----------------|----------------|--------------------------|--------------------|
|                                 | $\beta$                | R <sup>2</sup>     | $\beta$                  | R <sup>2</sup> | $\beta$                | R <sup>2</sup>     | $\beta$        | R <sup>2</sup> | $\beta$                  | R <sup>2</sup>     |
| <b>1. Personal demographics</b> |                        |                    |                          |                |                        |                    |                |                |                          |                    |
| Riding License (RL)             | -0.040                 | 0.013*             | 0.018                    | 0.014*         | -0.037                 | 0.003              | -0.034         | 0.019**        | 0.084                    | 0.027**            |
| Traffic Past Violations (TPV)   | -0.014                 |                    | 0.049                    |                | -0.033                 |                    | 0.006          |                | -0.062                   |                    |
| Past Accident (PA)              | 0.045                  |                    | 0.031                    |                | 0.011                  |                    | 0.051          |                | -0.016                   |                    |
| <b>2. Other factors</b>         |                        |                    |                          |                |                        |                    |                |                |                          |                    |
| Text (TEXT)                     | 0.108*                 |                    | 0.183**                  |                | 0.011                  |                    | 0.008          |                | -0.168**                 |                    |
| Map (MAP)                       | 0.029                  | 0.091**            | 0.038                    | 0.125**        | 0.069                  | 0.088**            | -0.071         | 0.058**        | 0.232**                  | 0.095**            |
| Music (MUS)                     | -0.012                 |                    | -0.029                   |                | 0.011                  |                    | 0.067          |                | -0.176**                 |                    |
| Alcohol Consumption (ALC)       | 0.034                  |                    | 0.107*                   |                | 0.092*                 |                    | 0.170**        |                | -0.093*                  |                    |
| Medicine (MED)                  | 0.129**                |                    | 0.062                    |                | 0.070                  |                    | 0.012          |                | 0.064                    |                    |
| <b>3. T-LOC</b>                 |                        |                    |                          |                |                        |                    |                |                |                          |                    |
| Other Drivers (OD)              | -0.037                 |                    | 0.031                    |                | 0.076                  |                    | -0.122**       |                | 0.038                    |                    |
| Vehicle and Environment (VE)    | 0.046                  | 0.043**            | 0.030                    | 0.031**        | 0.029                  | 0.063**            | 0.015          | 0.058**        | -0.051                   | 0.013              |
| Fate (FT)                       | 0.006                  |                    | -0.050                   |                | 0.042                  |                    | -0.041         |                | 0.054                    |                    |
| Self (SF)                       | 0.217**                |                    | 0.180**                  |                | 0.209**                |                    | 0.267**        |                | 0.096*                   |                    |
|                                 |                        | $\sum R^2 = 0.147$ |                          |                | $\sum R^2 = 0.170$     | $\sum R^2 = 0.154$ |                |                | $\sum R^2 = 0.135$       | $\sum R^2 = 0.135$ |

$\beta$  = Standardized coefficients beta, \* p<0.05, \*\* p<0.01

ส่วนการใช้เครื่องดื่มแอลกอฮอล์ (Alcohol Consumption: ALC) พบว่า มีความสัมพันธ์และส่งผลต่อการละเมิดความเร็ว (Speed Violations: SV) ความผิดพลาดในการควบคุม (Control Errors: CE) การขับขี่ผาดโผน (Stunts: ST) และ อุปกรณ์ช่วยเพิ่มความปลอดภัย (Safety Equipment: SE) อย่างมีนัยสำคัญ ( $\beta=0.107$ ,  $p<0.05$ ,  $\beta=0.092$ ,  $p<0.05$ ,  $\beta=0.170$ ,  $p<0.01$ ,  $\beta= - 0.093$ ,  $p<0.05$ ) นอกจากนี้การทานยาทำให้ง่วงซึม (Medicine: MED) พบว่า มีความสัมพันธ์และส่งผลต่อปัจจัยความผิดพลาดในการขับขี่ (Traffic Errors: TE) อย่างมีนัยสำคัญ ( $\beta=0.129$ ,  $p<0.01$ ) ส่วนปัจจัยอื่นๆ ของ MRBQ พบว่าไม่มีผล

ผลการศึกษา T-LOC พบว่า ปัจจัยภายใน (Internality) ปัจจัย “ตัวเอง (Self: SF)” มีสัมพันธ์และส่งผลต่อ MRBQ ทุกปัจจัย คือ ความผิดพลาดในการขับขี่ (Traffic Errors: TE) การละเมิดความเร็ว (Speed Violations: SV) ความผิดพลาดในการควบคุม (Control Errors: CE) การขับขี่ผาดโผน (Stunts: ST) และการใช้อุปกรณ์เพิ่มความปลอดภัย (Safety Equipment: SE) อย่างมีนัยสำคัญ ( $\beta=0.217$ ,  $p<0.01$ ,  $\beta=0.180$ ,  $p<0.01$ ,  $\beta=0.209$ ,  $p<0.01$ ,  $\beta= 0.267$ ,  $p<0.01$  และ  $\beta=0.096$ ,  $p<0.05$ )

T-LOC พบว่า ปัจจัยภายนอก (Externality) คือ “ผู้ขับขี่อื่น (Other Drivers: OD)” มีความสัมพันธ์และมีผลต่อการขับขี่ผาดโผน (Stunts: ST) อย่างมีนัยสำคัญ ( $\beta= - 0.122$ ,  $p<0.01$ ) แต่ปัจจัย “ยานพาหนะและสิ่งแวดล้อม (Vehicle and Environment: VE)” และปัจจัย “พรหมลิขิต (Fate: FT)” พบว่าไม่มีผลต่อ MRBQ

เมื่อพิจารณาตัวแปรควบคุมปัจจัยส่วนบุคคล (Personal Demographics) ผลการวิเคราะห์พบว่า การครอบครองใบอนุญาตขับขี่รถจักรยานยนต์ (Riding License: RL) ประสบการณ์ในการละเมิดกฎจราจรในระยะเวลา 3 ปีที่ผ่านมา (Traffic Past Violations: TPV) และ ประสบการณ์ในการเกิดอุบัติเหตุในระยะเวลา 3 ปี ที่ผ่านมา (Past Accident: PA) ไม่ได้มีผลต่อ MRBQ ซึ่งไม่เป็นไปตามการตั้งสมมติฐานในงานวิจัย

### สรุปและอภิปรายผลการวิจัย

งานวิจัยนี้มีวัตถุประสงค์เพื่อวิเคราะห์ปัจจัยที่ส่งผลต่อการเดินทางด้วยรถจักรยานยนต์ของนักศึกษา เก็บรวบรวมข้อมูลด้วยการประยุกต์ใช้ Motorcycle Rider Behavior Questioner (MRBQ) (Elliott *et al.*, 2007) และ Traffic Locus of Control Scale (T-LOC) (Özkan & Lajunen, 2005) ร่วมกับข้อมูลส่วนบุคคลทั่วไป โดยกลุ่มเป้าหมายในการวิจัย คือ

อาสาสมัครที่ศึกษาในมหาวิทยาลัย/วิทยาลัยในจังหวัดกาฬสินธุ์ที่สามารถขับขี่รถจักรยานยนต์ได้ จำนวน 650 คน ผลการศึกษาค้นคว้าที่เป็นไปตามสมมติฐานงานวิจัยสามารถสรุปและอภิปรายได้ดังนี้

การใช้โทรศัพท์มือถือพิมพ์ Social Media (Text: TEXT) ของนักศึกษาจังหวัดกาฬสินธุ์ส่งผลต่อ MRBQ คือ ทำให้ผู้ขับขี่มีความผิดพลาดในการขับขี่ (Traffic Errors: TE) และการละเมิดความเร็ว (Speed Violations: SV) มากขึ้น และส่งผลต่อการใช้อุปกรณ์เพิ่มความปลอดภัย (Safety Equipment: SE) น้อยลง ซึ่งสอดคล้องกับงานวิจัยของ Dimitriou *et al.* (2018) กล่าวว่า การใช้โทรศัพท์มือถือส่งข้อความ Texting ของวัยรุ่นในไซปรัสส่งผลทำให้เกิดการละเมิดความเร็ว และการใช้โทรศัพท์มือถือขณะขับขี่ที่มีความสัมพันธ์ในการเกิดอุบัติเหตุจากรถจักรยานยนต์ในนักศึกษาอาชีวศึกษาจังหวัดหนองคาย (อนัญญา หาบุญมี และคณะ, 2024) ซึ่งพฤติกรรมการใช้โทรศัพท์มือถือขณะขับขี่ของวัยรุ่นที่เป็นนักศึกษาที่จังหวัดกาฬสินธุ์มีพฤติกรรมคล้ายกับวัยรุ่นนักศึกษาจังหวัดหนองคาย

การใช้เครื่องดื่มแอลกอฮอล์ (Alcohol Consumption: ALC) ส่งผลต่อ MRBQ คือ ทำให้เกิดการละเมิดความเร็ว (Speed Violations: SV) ความผิดพลาดในการควบคุม (Control Errors: CE) และการขับขี่ผาดโผน (Stunts: ST) มากขึ้น ซึ่งเป็นความเสี่ยงที่อาจจะก่อให้เกิดอุบัติเหตุได้ เช่นเดียวกับงานของ Moskal *et al.* (2012) ที่กล่าวถึงการมีปริมาณแอลกอฮอล์ในเลือด ซึ่งเป็นปัจจัยที่มีอิทธิพลต่อผู้ขับขี่และเสี่ยงต่อการเกิดอุบัติเหตุ และส่งผลต่อการใช้อุปกรณ์เพิ่มความปลอดภัย (Safety Equipment: SE) น้อยลง

การทานยาทำให้ง่วงซึม (Medicine) ส่งผลต่อ MRBQ คือ ก่อให้เกิดความผิดพลาดจราจร (Traffic Errors) มากขึ้น ซึ่งสอดคล้องกับงานวิจัยของ Rudisill *et al.* (2016) ที่ได้ทำการทบทวนวรรณกรรมเรื่องการทานยาส่งผลให้มีความเสี่ยงต่อการควบคุมการขับขี่และอาจเกิดอุบัติเหตุได้

ในส่วนของ T-LOC พบว่าปัจจัยภายใน (Internality) คือ “ตัวเอง (Self)” เป็นเพียงปัจจัยเดียวที่ส่งผลต่อ MRBQ ทุกปัจจัย ซึ่งสอดคล้องกับงานวิจัยของ Warner *et al.* (2010) ที่พบว่า “พฤติกรรมตัวเอง (Own Behaviour) สัมพันธ์กับการขับรถเร็วขึ้นและมีความแตกต่างจากงานของ Özkan *et al.* (2012) เนื่องจากกลุ่มเป้าหมายในการวิจัยไม่ใช่กลุ่มวัยรุ่น แต่เป็นประชาชนทั่วไปและมีการเก็บข้อมูลผ่านระบบออนไลน์ ในส่วนของปัจจัยภายนอก (Externality) ปัจจัย “ผู้ขับขี่อื่น (Other Drivers)” มีผลต่อการขับขี่ผาดโผน (Stunts) โดยต่างจาก Özkan *et al.* (2012) ที่ผลการศึกษาค้นคว้าปัจจัย “พรหมลิขิต

(Fate)” และปัจจัย สิ่งแวดล้อม (Vehicle and Environment: VE)” ส่งผลต่อ MRBQ

### ข้อเสนอแนะและข้อจำกัดในงานวิจัย

ผลของการศึกษาสามารถนำไปใช้ประโยชน์เชิงนโยบายและมาตรการให้กับสถาบันเป้าหมายได้ เช่น ผลการศึกษาข้อมูลทั่วไป ถึงแม้ว่าข้อมูลทั่วไปจะพบว่าไม่ส่งผลต่อ MRBQ แต่ในสถานการณ์ของนักศึกษาจังหวัดกาฬสินธุ์พบว่า นักศึกษามีใบอนุญาตขับขี่รถจักรยานยนต์น้อยมากในขณะที่ต้องขับขี่มาเรียนทุกวันซึ่งถือว่าเป็นการฝ่าฝืนกฎหมายตามพระราชบัญญัติรถยนต์ พ.ศ.2522 และพระราชบัญญัติการขนส่งทางบก พ.ศ.2522 สถาบันการศึกษาควรมีมาตรการในการตรวจสอบหรือกวดขันการมี/การพกใบอนุญาตขับขี่รถจักรยานยนต์ หากพบว่าไม่มีให้ทำการส่งเสริมในการขอทำใบอนุญาตขับขี่ให้กับนักศึกษา นอกจากนี้ควรมีมาตรการห้ามใช้โทรศัพท์มือถือขณะขับขี่ การรณรงค์ให้ผู้ดื่มแอลกอฮอล์แล้วไม่ขับขี่ การจัดกิจกรรมส่งเสริมความรู้ความเข้าใจในกฎจราจร โดยเชิญผู้ที่มีความรู้หรือหน่วยงานที่เกี่ยวข้องมาส่งเสริมและให้ความรู้เกี่ยวกับการขับขี่ที่ปลอดภัย เป็นต้น และสถาบันเป้าหมายสามารถนำเข้าไปกำหนดในแผนปฏิบัติการได้ นอกจากนี้ยังสามารถขยายผลไปยังสถาบันการศึกษาอื่นๆ หรือหน่วยงานที่เกี่ยวข้องนำไปประยุกต์ใช้ได้

ข้อจำกัดในเรื่องความสามารถในการเข้าถึงวัยรุ่นที่อายุต่ำกว่า 15 ปีที่สามารถขับขี่รถจักรยานยนต์ได้และวัยรุ่นที่ไม่ได้ศึกษาต่อ ทำให้การเก็บข้อมูลและรับสมัครอาสาสมัครไม่ครอบคลุมวัยรุ่นกลุ่มดังกล่าว งานวิจัยจึงเลือกเป้าหมายเป็นกลุ่มนักศึกษาที่ใช้รถจักรยานยนต์เป็นหลัก คือ กลุ่มวิทยาลัย/มหาวิทยาลัย และอุปสรรคในการรับรู้และเข้าใจในเรื่องมือที่เก็บรวบรวมข้อมูลแก่กลุ่มนักศึกษาที่อายุ 15 ปี เพราะจากการเก็บรวบรวมข้อมูลอาจจะต้องอธิบายข้อคำถามให้ละเอียดมากยิ่งขึ้น และยังขาดการมีสมาธิและมุ่งมั่นในการตอบแบบสอบถาม อาจจะต้องมีเทคนิคในการช่วยให้สามารถเข้าใจและตอบได้ดีขึ้น

### กิตติกรรมประกาศ

งานวิจัยนี้ได้รับการสนับสนุนทุนจากกองทุนส่งเสริมวิทยาศาสตร์ วิจัยและนวัตกรรม ปีงบประมาณ พ.ศ. 2567/192607

### เอกสารอ้างอิง

- กรมควบคุมโรค กระทรวงสาธารณสุข. (2568). ข้อมูลผู้เสียชีวิตจากอุบัติเหตุทางถนนจากระบบบูรณาการข้อมูลการตายจากอุบัติเหตุทางถนน (3 ฐาน). <https://data.go.th/th/dataset/rtdi>
- กลุ่มสถิติการขนส่ง. (2568). รายงานการวิเคราะห์ผู้เสียชีวิตจากอุบัติเหตุทางถนนและอัตราผู้เสียชีวิต ปีงบประมาณ 2566. กรมการขนส่งทางบก. <https://web.dlt.go.th/statistics/>
- วิทยุพิมพ์ อยู่ในศิลปะ. (2556). การถดถอยแบบขั้นตอนระดับลดหลั่น. *วารสารวิจัยและพัฒนาหลักสูตร*, 3(1), 28–38. <https://so03.tci-thaijo.org/index.php/jrcd/article/view/93142>
- อนัญญา หาบุญมี, ชนัญญา จิระพรกุล และ เนาวรัตน์ มณีนิล. (2024). ความชุกและปัจจัยที่มีความสัมพันธ์กับการเกิดอุบัติเหตุทางถนนจากรถจักรยานยนต์ ของนักศึกษาสถาบันอาชีวศึกษา จังหวัดหนองคาย. *วารสารวิชาการสาธารณสุขชุมชน*, 10(1). <https://he02.tci-thaijo.org/index.php/ajcph/article/view/264640>
- Aceves-González, C., Cook, S., & May, A. (2015). Bus use in a developing world city: Implications for the health and well-being of older passengers. *Journal of Transport & Health*, 2(2), 308–316. <https://doi.org/10.1016/j.jth.2015.04.001>
- Agusdinata, D. B., van der Pas, J. W. G. M., Walker, W. E., & Marchau, V. A. W. J. (2009). Multi-criteria analysis for evaluating the impacts of intelligent speed adaptation. *Journal of Advanced Transportation*, 43(4), 413–454. <https://doi.org/10.1002/atr.5670430402>
- Ajzen, I. (1991). The theory of planned behavior. *Organizational Behavior and Human Decision Processes*, 50(2), 179–211. [https://doi.org/10.1016/0749-5978\(91\)90020-T](https://doi.org/10.1016/0749-5978(91)90020-T)
- Cerny, B. A., & Kaiser, H. F. (1977). A study of a measure of sampling adequacy for factor-analytic correlation matrices. *Multivariate Behavioral Research*, 12(1), 43–47. [https://doi.org/10.1207/s15327906mbr1201\\_3](https://doi.org/10.1207/s15327906mbr1201_3)
- Dimitriou, L., Stylianou, K., & Yannis, G. (2018). Capturing the effects of texting on young drivers behaviour based on copula and Gaussian Mixture Models.

- Transportation Research Part F: Traffic Psychology and Behaviour*, 58, 930–943. <https://doi.org/10.1016/j.trf.2018.07.022>
- Elliott, M. A., Baughan, C. J., & Sexton, B. F. (2007). Errors and violations in relation to motorcyclists' crash risk. *Accident Analysis & Prevention*, 39(3), 491–499. <https://doi.org/10.1016/j.aap.2006.08.012>
- Evans, L. (2012). *Human behavior and traffic safety*. Springer US.
- Kline, R. B. (2011). *Principles and practice of structural equation modeling*. Guilford Press.
- Loehlin, J. C. (1998). *Latent variable models: An introduction to factor, path, and structural analysis* (3rd ed.). Lawrence Erlbaum Associates Publishers.
- Luu, L. V., Minh, C. C., & Long, N. X. (2021). The development of safe riding guidelines for young riders – A case study of Phu Yen, Vietnam. *IATSS Research*, 45(2), 226–233. <https://doi.org/10.1016/j.iatssr.2020.11.001>
- Mardia, K. V., Kent, J. T., & Taylor, C. C. (2024). *Multivariate analysis*. John Wiley & Sons.
- Maskey, R., Fei, J., & Nguyen, H.-O. (2018). Use of exploratory factor analysis in maritime research. *The Asian Journal of Shipping and Logistics*, 34(2), 91–111. <https://doi.org/10.1016/j.ajsl.2018.06.006>
- Michalaki, P., Quddus, M., Pitfield, D., & Huetson, A. (2016). A time-series analysis of motorway collisions in England considering road infrastructure, socio-demographics, traffic and weather characteristics. *Journal of Transport & Health*, 3(1), 9–20. <https://doi.org/10.1016/j.jth.2015.10.005>
- Montag, I., & Comrey, A. L. (1987). Internality and externality as correlates of involvement in fatal driving accidents. *Journal of Applied Psychology*, 72(3), 339–343. <https://doi.org/10.1037/0021-9010.72.3.339>
- Moskal, A., Martin, J.-L., & Laumon, B. (2012). Risk factors for injury accidents among moped and motorcycle riders. *Accident Analysis & Prevention*, 49, 5–11. <https://doi.org/10.1016/j.aap.2010.08.021>
- Özkan, T., & Lajunen, T. (2005). Multidimensional Traffic Locus of Control Scale (T-LOC): Factor structure and relationship to risky driving. *Personality and Individual Differences*, 38(3), 533–545. <https://doi.org/10.1016/j.paid.2004.05.007>
- Özkan, T., Lajunen, T., Doğruyol, B., Yıldırım, Z., & Çoymak, A. (2012). Motorcycle accidents, rider behaviour, and psychological models. *Accident Analysis & Prevention*, 49, 124–132. <https://doi.org/10.1016/j.aap.2011.03.009>
- Reason, J., Manstead, A., Stradling, S., Baxter, J., & Campbell, K. (1990). Errors and violations on the roads: A real distinction? *Ergonomics*, 33(10-11), 1315–1332. <https://doi.org/10.1080/00140139008925335>
- Rotter, J. B. (1966). Generalized expectancies for internal versus external control of reinforcement. *Psychological Monographs: General and Applied*, 80(1), 1–28. <https://doi.org/10.1037/h0092976>
- Rudisill, T. M., Zhu, M., Kelley, G. A., Pilkerton, C., & Rudisill, B. R. (2016). Medication use and the risk of motor vehicle collisions among licensed drivers: A systematic review. *Accident Analysis & Prevention*, 96, 255–270. <https://doi.org/10.1016/j.aap.2016.08.001>
- Sakashita, C., Senserrick, T., Lo, S., Boufous, S., Rome, L. d., & Ivers, R. (2014). The Motorcycle Rider Behavior Questionnaire: Psychometric properties and application amongst novice riders in Australia. *Transportation Research Part F: Traffic Psychology and Behaviour*, 22, 126–139. <https://doi.org/10.1016/j.trf.2013.10.005>
- Satiennam, T., Akapin, N., Satiennam, W., Kumphong, J., Kronprasert, N., & Ratanavaraha, V. (2023). Wrong way driving intention and behavior of young motorcycle riders. *Transportation Research Interdisciplinary Perspectives*, 19, Article 100827. <https://doi.org/10.1016/j.trip.2023.100827>
- Shinar, D. (2007). *Traffic safety and human behavior*. Emerald Group Publishing Limited.
- Stephan, K., Kelly, M., McClure, R., Seubsman, S.-a., Yiengprugsawan, V., Bain, C., & Sleigh, A. (2011). Distribution of transport injury and related risk behaviours in a large national cohort of Thai adults.

- Accident Analysis & Prevention*, 43(3), 1062–1067. <https://doi.org/10.1016/j.aap.2010.12.011>
- Sumit, K., Brijs, K., Ross, V., Wets, G., & Ruiter, R. A. C. (2022). A focus group study to explore risky ridership among young motorcyclists in Manipal, India. *Safety*, 8(2), Article 40. <https://doi.org/10.3390/safety8020040>
- Sumit, K., Ross, V., Brijs, K., Wets, G., & Ruiter, R. A. C. (2021). Risky motorcycle riding behaviour among young riders in Manipal, India. *BMC Public Health*, 21(1), Article 1954. <https://doi.org/10.1186/s12889-021-11899-y>
- Sunmud, S., Arreeras, T., Phonsitthangkun, S., Prommakhot, S., & Sititvangkul, K. (2024). Examining risky riding behaviors: Insights from a questionnaire survey with middle-aged and older motorcyclists in Thailand. *Safety*, 10(2), Article 48. <https://doi.org/10.3390/safety10020048>
- Tainio, M. (2015). Burden of disease caused by local transport in Warsaw, Poland. *Journal of Transport & Health*, 2(3), 423–433. <https://doi.org/10.1016/j.jth.2015.06.005>
- Transport Statistics Sub-Division. (2025). *Number of vehicle registered in Thailand as of 31 January 2025*. Department of Land Transport. <https://web.dlt.go.th/statistics/>
- Trung Bui, H., Saadi, I., & Cools, M. (2020). Investigating on-road crash risk and traffic offences in Vietnam using the motorcycle rider behaviour questionnaire (MRBQ). *Safety Science*, 130, Article 104868. <https://doi.org/10.1016/j.ssci.2020.104868>
- Uttra, S., Jomnonkwao, S., Watthanaklang, D., & Ratanavaraha, V. (2020a). Development of self-assessment indicators for motorcycle riders in Thailand: Application of the Motorcycle Rider Behavior Questionnaire (MRBQ). *Sustainability*, 12(7), Article 2785. <https://doi.org/10.3390/su12072785>
- Uttra, S., Laddawan, N., Ratanavaraha, V., & Jomnonkwao, S. (2020b). Explaining sex differences in motorcyclist riding behavior: An application of multi-group structural equation modeling. *International Journal of Environmental Research and Public Health*, 17(23), Article 8797. <https://doi.org/10.3390/ijerph17238797>
- Warner, H. W., Özkan, T., & Lajunen, T. (2010). Can the traffic locus of control (T-LOC) scale be successfully used to predict Swedish drivers' speeding behaviour? *Accident Analysis & Prevention*, 42(4), 1113–1117. <https://doi.org/10.1016/j.aap.2009.12.025>
- WHO. (2018). *Global status report on road safety 2018*. World Health Organization.
- Yu, Z., Weina, Q., & Ge, Y. (2023). Utilizing MRBQ to investigate risky rider behavior in Chinese young riders: Combining the effect of Big Five personality and sensation seeking. *Journal of Risk Research*, 26(11), 1263–1282. <https://doi.org/10.1080/13669877.2023.2270669>

## คำแนะนำสำหรับผู้พิมพ์

วารสารวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยี มหาวิทยาลัยมหาสารคาม กำหนดพิมพ์ปีละ 6 ฉบับ ฉบับที่ 1 (มกราคม-กุมภาพันธ์) ฉบับที่ 2 (มีนาคม-เมษายน) ฉบับที่ 3 (พฤษภาคม-มิถุนายน) ฉบับที่ 4 (กรกฎาคม-สิงหาคม) ฉบับที่ 5 (กันยายน-ตุลาคม) ฉบับที่ 6 (พฤศจิกายน-ธันวาคม) ผู้พิมพ์ทุกท่านสามารถส่งบทความวิจัยเพื่อรับการพิจารณาลงตีพิมพ์ได้ โดยไม่ต้องเป็นสมาชิกและไม่จำเป็นต้องสังกัดมหาวิทยาลัยมหาสารคาม ผลงานที่ได้รับการพิจารณาในวารสารจะต้องมีสาระที่น่าสนใจ เป็นงานที่ทบทวนความรู้เดิมหรือองค์ความรู้ใหม่ ที่ทันสมัย รวมทั้งข้อคิดเห็นทางวิชาการที่เป็นประโยชน์ต่อผู้อ่าน และจะต้องเป็นงานที่ไม่เคยตีพิมพ์เผยแพร่ในวารสารอื่นมาก่อน รวมถึงไม่อยู่ระหว่างพิจารณาลงพิมพ์ในวารสารใด บทความอาจถูกตัดแปลง แก้ไข เนื้อหา รูปแบบ และสำนวน ตามที่กองบรรณาธิการเห็นสมควร ทั้งนี้ เพื่อให้วารสารมีคุณภาพในระดับมาตรฐานสากลและนำไปอ้างอิงได้

### การเตรียมต้นฉบับ

1. ต้นฉบับพิมพ์เป็นภาษาไทยหรือภาษาอังกฤษ แต่ละเรื่องจะต้องมีบทคัดย่อทั้งภาษาไทยและภาษาอังกฤษ การใช้ภาษาไทยให้ยึดหลักการใช้คำศัพท์การเขียนทับศัพท์ภาษาอังกฤษตามหลักของราชบัณฑิตยสถาน ให้หลีกเลี่ยงการเขียนภาษาอังกฤษรวมกับภาษาไทยในข้อความ ยกเว้นกรณีจำเป็น เช่น ศัพท์ทางวิชาการที่ไม่มีทางแปล หรือคำที่ใช้แล้วทำให้เข้าใจง่ายขึ้น คำศัพท์ภาษาอังกฤษที่เขียนเป็นภาษาไทยให้ใช้ตัวเล็กทั้งหมด ยกเว้นชื่อเฉพาะ สำหรับต้นฉบับภาษาอังกฤษ ควรได้รับการตรวจสอบความถูกต้องของภาษาจากผู้เชี่ยวชาญด้านภาษาอังกฤษก่อน

2. ขนาดของต้นฉบับ ใช้กระดาษขนาด A4 (8.5x11 นิ้ว) และพิมพ์โดยเว้นระยะห่างจากขอบกระดาษด้านละ 1 นิ้ว จัดเป็น 2 คอลัมน์

3. ชนิดของขนาดตัวอักษร ทั้งภาษาไทยและภาษาอังกฤษให้ใช้ตัวอักษร **Browallia New**

3.1 ชื่อเรื่องให้ใช้อักษรขนาด **18 pt.** ตัวหนา

3.2 ชื่อผู้พิมพ์ให้ใช้อักษรขนาด **16 pt.** ตัวปกติ

3.3 หัวข้อหลักให้ใช้อักษรขนาด **16 pt.** ตัวหนา

3.4 หัวข้อรองให้ใช้อักษรขนาด **14 pt.** ตัวหนา

3.5 บทคัดย่อและเนื้อหาใช้ตัวอักษรขนาด **14 pt.** ตัวบาง ซึ่งบทคัดย่อควรประกอบด้วย เนื้อหา 5 ส่วน คือ 1) ที่มาของปัญหาการวิจัย 2) วัตถุประสงค์ของการวิจัย 3) วิธีการศึกษาโดยย่อแต่ครอบคลุมรายละเอียด 4) ผลการวิจัย 5) สรุปและแนวทางการนำไปใช้ประโยชน์ จำนวนคำไม่เกิน 350 คำ

3.6 เชิงอรรถอยู่หน้าแรกที่เป็นรายละเอียดชื่อตำแหน่งทางวิชาการ และที่อยู่ของผู้พิมพ์ให้ใช้อักษรขนาด 12 pt. ตัวบาง และใส่ Corresponding author

4. ผู้พิมพ์จะต้องจัดเตรียมต้นฉบับในรูปแบบของไฟล์ “.doc” (MS Word) และ “.pdf” (Portable Document Format)

5. จำนวนหน้า ความยาวของบทความไม่ควรเกิน 12 หน้า รวมตาราง รูป ภาพ และเอกสารอ้างอิง

6. รูปแบบการเขียนต้นฉบับ แบ่งเป็น 2 ประเภท ได้แก่ ประเภทบทความรายงานผลวิจัยหรือบทความวิจัย (research article) และบทความจากการทบทวนเอกสารวิจัยที่ผู้อื่นทำเอาไว้ หรือบทความทางวิชาการ หรือบทความทั่วไป หรือบทความปริทัศน์ (review article)

7. การส่งบทความ ส่ง online ผ่านระบบ ThaiJo โดยสามารถเข้าไปดูรายละเอียดที่ [www.scjmsu.msu.ac.th](http://www.scjmsu.msu.ac.th)

8. หากจัดรูปแบบไม่ถูกต้องทางวารสารจะจัดส่งคืนผู้พิมพ์เพื่อปรับแก้ไข ก่อนเสนอผู้ทรงคุณวุฒิพิจารณา ซึ่งอาจทำให้กระบวนการตีพิมพ์ล่าช้า

## บทความวิจัย/บทความวิชาการ ให้เรียงลำดับหัวข้อดังนี้

**ชื่อเรื่อง (Title)** ชื่อเรื่องให้มีทั้งภาษาไทยและภาษาอังกฤษ ควรสั้น กระชับ และสื่อเป้าหมายหลักของงานวิจัย ไม่ใช่คำย่อ ความยาวไม่เกิน 100 ตัวอักษร

**ชื่อผู้พิมพ์ [Author (s)]** และที่อยู่ ให้มีทั้งภาษาไทยและภาษาอังกฤษ และระบุตำแหน่งทางวิชาการ หน่วยงาน หรือสถาบันที่สังกัด และ E-mail address ของผู้พิมพ์ไว้เป็นเชิงอรรถของหน้าแรก เพื่อกองบรรณาธิการสามารถติดต่อได้

**บทคัดย่อ (Abstract)** เป็นการย่อเนื้อความงานวิจัยทั้งเรื่องให้สั้น และมีเนื้อหา ประกอบด้วย วัตถุประสงค์ ผลการค้นพบที่สำคัญ และสรุป มีทั้งภาษาไทยและภาษาอังกฤษ โดยบทคัดย่อภาษาอังกฤษมีความยาวไม่เกิน 350 คำ สำหรับบทคัดย่อภาษาไทยให้สอดคล้องกับบทคัดย่อภาษาอังกฤษ

**คำสำคัญ (Keywords)** ทั้งภาษาไทยและภาษาอังกฤษ ไม่เกิน 5 คำ ให้ระบุไว้ท้ายบทคัดย่อของแต่ละภาษา

**บทนำ (Introduction)** เป็นส่วนเริ่มต้นของเนื้อหา ที่บอกความเป็นมา เหตุผล และวัตถุประสงค์ ที่นำไปสู่งานวิจัยนี้ ให้ข้อมูลทางวิชาการที่เกี่ยวข้องจากการตรวจสอบเอกสารงานวิจัยที่เกี่ยวข้องที่มีรายงานการศึกษาก่อนหน้า

**วัสดุอุปกรณ์และวิธีการศึกษา (Materials and Methods)** ให้ระบุรายละเอียด วัสดุอุปกรณ์ สิ่งื่อนำมาศึกษา จำนวน ลักษณะเฉพาะของตัวอย่างที่ศึกษา อธิบายวิธีการศึกษา แผนการทดลองทางสถิติ วิธีการเก็บข้อมูลการวิเคราะห์และการแปลผล

**ผลการศึกษา (Results)** รายงานผลที่ค้นพบ ตามลำดับขั้นตอนของการวิจัย อย่างชัดเจนได้ใจความ ถ้าผลไม่ซับซ้อน และมีตัวเลขไม่มากควรใช้คำบรรยาย แต่ถ้ามีตัวเลข หรือ ตัวแปรมาก ควรใช้ตารางหรือแผนภูมิประกอบการรายงานผลการศึกษา

**วิจารณ์และสรุปผล (Discussion and Conclusion)** การอภิปรายผลการศึกษว่าตรงกับวัตถุประสงค์และเปรียบเทียบกับสมมติฐานของการวิจัยที่ตั้งไว้ หรือแตกต่างไปจากผลงานที่มีผู้รายงานไว้ก่อนหรือไม่ อย่างไร เหตุผลใดจึงเป็นเช่นนั้น และมีพื้นฐานอ้างอิงที่เชื่อถือได้ ผู้พิมพ์อาจมีข้อเสนอแนะที่นำผลงานวิจัยไปใช้ประโยชน์ หรือทิ้งประเด็นคำถามการวิจัย ซึ่งเป็นแนวทางสำหรับการวิจัยต่อไป

**ตาราง รูป ภาพ แผนภูมิ (Table, Figures, and Diagrams)** ควรคัดเลือกเฉพาะที่จำเป็น แทรกไว้ในเนื้อเรื่อง โดยเรียงลำดับให้สอดคล้องกับคำอธิบายในเนื้อเรื่อง และมีคำอธิบายเป็นภาษาอังกฤษ ที่สื่อความหมายได้สาระครบถ้วน กรณีที่เป็นตาราง คำอธิบายอยู่ด้านบน ถ้าเป็นรูป ภาพ แผนภูมิ คำอธิบายอยู่ด้านล่าง

**กิตติกรรมประกาศ (Acknowledgements)** ระบุงานวิจัยได้รับการสนับสนุนงบประมาณ หรือสนับสนุนด้านอื่นๆ รวมถึงความช่วยเหลือจากองค์กรใดหรือผู้ใดบ้าง

**เอกสารอ้างอิง (References)** ระบุงานการเอกสารที่นำมาใช้อ้างอิงให้ครบถ้วนไว้ท้ายเรื่อง โดยใช้ APA Style ดังตัวอย่าง สามารถดูรายละเอียดและตัวอย่างเพิ่มเติมได้ที่ [www.scjmsu.msu.ac.th](http://www.scjmsu.msu.ac.th)

## เอกสารอ้างอิงให้เขียนตามรูปแบบ “Publication Manual of the American Psychological Association” (7<sup>th</sup> Edition)

### 1. หนังสือ (ในรูปแบบรูปเล่ม)

ชื่อ-สกุล. (ปีพิมพ์). ชื่อเรื่อง (พิมพ์ครั้งที่). สำนักพิมพ์.

ตัวอย่าง:

วิธาน ฐานะวุฒ. (2547). หัวใจใหม่-ชีวิตใหม่. ปิตีศึกษา.

## 2. บทความในวารสารอิเล็กทรอนิกส์

ชื่อ-สกุล. (ปีพิมพ์). ชื่อบทความ. ชื่อวารสาร, เลขของปีที่ (เลขของฉบับที่), เลขหน้า. /<https://doi.org/เลขdoi>

ตัวอย่าง:

มานะ สินฐานานนท์. (2549). ปัจจัยส่งเสริมการจัดการศึกษาที่ส่งผลต่อคุณภาพนักเรียนในภาคตะวันออกเฉียงเหนือ. วารสาร  
ครุศาสตร์, 18 (2), 115-116.

## 3. รายงานการประชุมเชิงวิชาการ (Proceeding)

ชื่อ-สกุล. (ปี). ชื่อบทความ. ในชื่อบรรณานุกรม (บ.ก.), ชื่อหัวข้อการประชุม. ชื่อการประชุม (น. เลขหน้า). ฐานข้อมูล.

ตัวอย่าง:

พัชรภา ตันติสุขเวช. (2553). การศึกษาทั่วไปกับคุณลักษณะบัณฑิตที่พึงประสงค์ในประเทศมาเลเซีย และสิงคโปร์ ศึกษา  
โดยเปรียบเทียบกับประเทศไทย. ใน ศิริชัย กาญจนวาสี (บ.ก.), การขับเคลื่อนคุณภาพการศึกษาไทย. การประชุมวิชาการ  
และเผยแพร่ ผลงานวิจัยระดับชาติ (น. 97-102). คณะครุศาสตร์ จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย.

## 4. หนังสือพิมพ์และหนังสือพิมพ์ออนไลน์

ชื่อสกุล. (ปี, /วัน/เดือน). ชื่อคอลัมน์. ชื่อหนังสือพิมพ์, เลขหน้า.

ตัวอย่าง:

พงษ์พรรณ บุญเลิศ. (2561, 15 สิงหาคม). เติลนิวส์ว่าไรต์: 'สื่อพิพิธภัณฑ' เชื่อม ยุคสมัย เข้าถึงด้วย 'มิติใหม่' อินเทอร์เน็ต.  
เติลนิวส์, 4.

## 5. หนังสือ (ในรูปแบบอิเล็กทรอนิกส์)

ชื่อ สกุล. (ปีพิมพ์). ชื่อเรื่อง (พิมพ์ครั้งที่). URL

ตัวอย่าง:

กระทรวงศึกษาธิการ. (2560). หลักสูตรการศึกษาปฐมวัย พุทธศักราช 2560 สำหรับเด็กอายุ ต่ำกว่า 3-5 ปี. [http://drive.google.com/file/d/1HiTWiRh1Er73hVYIMh1cYWzQiaNI\\_Vc/view](http://drive.google.com/file/d/1HiTWiRh1Er73hVYIMh1cYWzQiaNI_Vc/view)

## Instruction for Authors

Research manuscripts relevant to subject matters outlined in the objectives are **Accepted** from all institutions and private parties provided they have not been preprinted elsewhere. The context of the papers may be **Revised** as appropriate to the standard. The manuscript must be interesting topic, review knowledge, modern knowledge, and academic comments that are beneficial to readers. The journal publishes 6 issues a year. Vol.1 (January-February) Vol.2 (March-April) Vol.3 (May-June) Vol.4 (July-August) Vol.5 (September-October) Vol.6 (November-December).

### Preparation of manuscripts:

1. Manuscripts can be written in either Thai or English with the abstract in both Thai and English. The use of Thai language adheres to the principles of vocabulary, transliteration in English according to the principles of the Royal Society of Thailand. Manuscript should be specific, clear, concise, accurate, and consistent. Mixing Thai and English should be avoided except for the case of necessity, such as academic vocabulary with no translation or mixing words for easier understanding. English vocabulary written in Thai must use all lowercase except for unique names. English language manuscripts should be checked by an English language editor prior to submission.

2. Manuscript should be on A4 standard size paper. Each side must have 1" margins with 2 columns.

3. Browallia New font is required with font size as follows:

3.1 Title of the article: **18 pt. Bold**

3.2 Name (s) of the authors: **16 pt. Unbold**

3.3 Main Heading: **16 pt. Bold**

3.4 Sub-heading: **14 pt. Bold**

3.5 Body of the text: **14 pt. Unbold**, The abstract should consist of 5 parts: 1) the origin of the research problem, 2) the objectives of the research, 3) a brief but detailed study method, 4) the research results, 5) a conclusion and guidelines for use.

3.6 Footnotes for authors and their affiliations: **12 pt. Unbold**, must be cited at the bottom of the first page. Academic position and corresponding author must be added at footnotes.

4. Manuscripts should be typed in MS word ".doc" and ".pdf" (Portable Document Format)

5. The number of pages are limited to 12 pages, including references, Tables, graphs, or pictures.

6. Types of manuscripts: research articles and review articles.

7. Manuscript submission: online submission via [www.scjmsu.msu.ac.th](http://www.scjmsu.msu.ac.th).

**8. Manuscript with uncorrected format will be sent back to the author before review process which can delay the publication process.**

### Research article / review article must be in sequence as follows:

**Title:** denoted in both Thai and English, must be concise and specific to the point, normally less than 100 characters.

**Name (s) of the author (s):** denoted with affiliation must be in Thai and English, academic position must be specified, and email address for contact the author.

**Abstract:** This section of the paper should follow an informative style, concisely covering all the important of findings. The abstract must include objectives, findings, and conclusion. Thai and English abstract is required. The English abstract is restricted to **350 words**. Thai abstract should be relevant to English version.

**Keywords:** Give 4-5 concise words to specify your article

**Introduction:** This section is the initial part of the article, contain information about background, reasons, purposes, and review section.

**Materials and Methods:** A discussion of the materials used, and a description clearly detailing how the experiment was undertaken, e.g., experimental design, data collection and analysis, and interpretation

**Results:** Present the output. Li the information in complicated, add Tables, graphs, diagrams etc., as necessary.

**Discussion and Conclusion:** Discuss how the results are relevant/oppose to the objective and hypothesis. How the result is different/relevant when comparing to the former findings. Give us your reason why result is like that base on reliable researches. This part should end with suggestions for research utilization or providing questions for future studies.

**Tables, figures, diagrams:** Selected only necessary objects to insert in the body of manuscript in accordance with the description in the text. The short description is required in English with completely meaningful. For figures and diagrams, the description is below the picture. But, for Table, the description is on top of the Table.

**Acknowledgement:** the name of the persons, organization, or funding agencies who helped support the research are acknowledged in this section.

**References:** listed and referred in APA.

## Reference are written in “Publication Manual of the American Psychological Association” (7<sup>th</sup> Edition)

### 1. Book

Mertens, D.M. (2014). *Research and evaluation in education and psychology: Integrating diversity with quantitative, qualitative, and mixed methods* (4<sup>th</sup> ed.). SAGE.

### 2. Academic Journal

Herbst-Damm, K.L., & Kulik, J.A. (2005). Volunteer support, marital status, and the survival times of terminally ill patients. *Health Psychology*, 24, 225-229. <https://doi.org/10.1037/0278-6133.24.2.225>

### 3. Conference Proceeding

Katz, I., Gabayan, K., & Aghajan, H. (2007). A multi-touch surface using multiple cameras. In J. Blanc-Talon, W. Philips, D. Popescu, & P. Scheunders (Eds.), *Lecture notes in computer science: Vol. 4678. Advanced concepts for intelligent vision systems* (pp. 97-108). Springer-Verlag. [https://doi.org/10.1007/978-3-540-74607-2\\_9](https://doi.org/10.1007/978-3-540-74607-2_9)

### 4. Newspaper / Online Newspaper

Brody, J.E. (2007, December 11). Mental reserves keep brain agile. *The New York Times*. <http://www.nytimes.com>

### 5. E-book

Dahlberg, G., & Moss, P. (2005). *Ethics and politics in early childhood education*. <https://epdf.tips/ethics-and-politics-in-early-childhoodeducation-contesting-early-childhood.html>



## **Aim and Scope:**

The Journal of Science and Technology aims to disseminate of scientific knowledge in the discipline of Mathematics, Science, Technology, Engineering, Agriculture, Medicine, Health Science, Interdisciplinary in science and technology. The journal publishes both research article and review article.

## **Ownership**

Maharakham University  
Editorial Office  
Division of Research Facilitation and Dissemination,  
Khamriang Sub-distict, Kantharawichai District,  
Maha Sarakham Province 44150  
Tel & Fax: 0 4371 9827 ext. 1754

## **Advisors**

President of Maharakham University  
Professor Dr.Visut Baimai  
Professor Dr.Vichai Boonsaeng  
Professor Dr.Peerarak Srinives

## **Editor-in-Chief**

Professor Dr.Preecha Prathepha

## **Assistant Editors**

Professor Dr.Pairot Pramual  
Maharakham University  
Professor Dr.Sirithon Siriamornpun  
Maharakham University  
Professor Dr.Anongrit Kangrang  
Maharakham University  
Associate Professor Dr.Worapol Aengwanich  
Maharakham University  
Associate Professor Dr.Vallaya Sutthikhum  
Maharakham University  
Associate Professor Dr.Orawich Goompol  
Maharakham University  
Assistant Professor Dr.Somnuk Puangpronpitag  
Maharakham University

## **Editorial Board**

Professor Dr.Thaweesakdi Boonkerd  
Chulalongkorn University  
Professor Dr.La-orsri Sanoamuang  
Khon Kaen University  
Professor Dr.Pranee Anprung  
Chulalongkorn University  
Professor Dr.Niwat Sonoamuang  
Khon Kaen University  
Professor Dr.Wongsa Laohasiriwong  
Khon Kaen University  
Professor Dr.Kwanjai Kanokmedhakul  
Khon Kaen University

Professor Dr.Sirikasem Sirilak  
Naresuan University  
Associate Professor Dr.Sunan Saikrasun  
Maharakham University  
Associate Professor Dr.Suwanna Boonyaleepun  
Khon Kaen University  
Associate Professor Dr.Chantana Aromdee  
Khon Kaen University  
Associate Professor Dr.Boonchong Chawsithiwong  
National Institute of Development Administration  
Associate Professor Dr.Porntep Tanonkeo  
Khon Kaen University  
Associate Professor Dr.Narumon Sangpradub  
Khon Kaen University  
Associate Professor Dr.Chawalit Boonpok  
Maharakham University  
Associate Professor Terdsak Khammeng  
Nakhon Phanom University  
Associate Professor Yuen Poovarawan  
Kasetsart University  
Associate Professor Dr.Natapol Pumipuntu  
Maharakham University  
Assistant Professor Dr.Napparat Buddhakala  
Rajamangala University of Technology Thanyaburi  
Assistant Professor Dr.Anucha Pranchana  
Ubon Ratchathani Rajabhat University  
Assistant Professor Dr.Seckson Sukhasena  
Naresuan University  
Assistant Professor Dr.Walaiporn Tongjaroenbuengam  
Maharakham University  
Assistant Professor Dr.Alongkorn Lamom  
Maharakham University  
Dr.Rakjinda Wattanalai  
Siam University

## **Secretary**

Director of the Division of Research Facilitation  
and Dissemination

## **Assistant secretary**

Phakwilai Janloy  
Jirarat Puseerit

## **Six issues per year**

Number 1 January-February  
Number 2 March-April  
Number 3 May-June  
Number 4 July-August  
Number 5 September-October  
Number 6 November-December

วารสาร

# วิทยาศาสตร์ และ เทคโนโลยี

มหาวิทยาลัยมหาสารคาม

ปีที่ 45 ฉบับที่ 2 มีนาคม - เมษายน 2569



ISSN (Print) : 2985-2617  
ISSN (Online) : 2985-2625

JOURNAL OF SCIENCE AND TECHNOLOGY  
MAHASARAKHAM UNIVERSITY  
INDEXED IN

