



วารสาร วิชชา

มหาวิทยาลัยราชภัฏนครศรีธรรมราช

ปีที่ 39 ฉบับที่ 1 มกราคม – มิถุนายน 2563

Vol. 39 No. 1 January – June 2020

วารสารวิชาการสาขาวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยี

ISSN (Print) : 0125-2380

ISSN (Online) : 2672-958X

Wichcha Journal

Nakhon Si Thammarat Rajabhat University

www.nstru.ac.th



วารสาร วิชชา WICHA JOURNAL มหาวิทยาลัยราชภัฏนครศรีธรรมราช NAKHON SI THAMMARAT RAJABHAT UNIVERSITY

ปีที่ 39 ฉบับที่ 1 มกราคม – มิถุนายน 2563 Vol. 39 No. 1 January – June 2020

เจ้าของ มหาวิทยาลัยราชภัฏนครศรีธรรมราช
ที่ปรึกษา ผู้ช่วยศาสตราจารย์ ดร.ฉันท ชาติทอง อธิการบดีมหาวิทยาลัยราชภัฏนครศรีธรรมราช
บรรณาธิการ ผู้ช่วยศาสตราจารย์ ดร.สมรักษ์ รอดเจริญ
ผู้ช่วยบรรณาธิการ ดร.ธัชชา สามพิมพ์

นโยบาย

1. วารสารวิชชา มหาวิทยาลัยราชภัฏนครศรีธรรมราช เป็นวารสารวิชาการทางด้านวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยี ตีพิมพ์ตั้งแต่ปี พ.ศ. 2524
2. วารสารวิชชาเป็นเอกสารวิชาการแบบอิเล็กทรอนิกส์ที่มีการเผยแพร่ให้ผู้ใช้สามารถเข้าถึงแบบออนไลน์ได้แบบเสรีโดยผ่านกระบวนการประเมินจากผู้ทรงคุณวุฒิที่มีความเชี่ยวชาญโดยที่ผู้พิจารณาไม่ทราบชื่อผู้แต่งและผู้แต่งไม่ทราบชื่อผู้พิจารณา (double-blind)

ขอบเขตงาน

ขอบเขตของบทความวิจัย/บทความวิชาการที่ลงตีพิมพ์ในวารสารวิชชา (สาขาวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยี) มหาวิทยาลัยราชภัฏนครศรีธรรมราช ประกอบด้วย ด้านวิทยาศาสตร์กายภาพ วิทยาศาสตร์ชีวภาพ วิทยาศาสตร์ประยุกต์ เทคโนโลยีอุตสาหกรรม และวิศวกรรมศาสตร์

วัตถุประสงค์

1. เพื่อเผยแพร่ผลงานทางวิชาการและงานวิจัยทางด้านวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยี
2. เพื่อเป็นสื่อส่งเสริมการสร้างความรู้และองค์ความรู้ในสาขาวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยี
3. เพื่อเป็นเวทีนำเสนอผลงานทางวิชาการของบุคลากรในมหาวิทยาลัยและบุคคลทั่วไป

ประเภทบทความ

วารสารวิชชา ตีพิมพ์บทความฉบับเต็มในรูปแบบบทความวิชาการและบทความวิจัยตามขอบเขตงาน

กระบวนการพิจารณาบทความ

วารสารที่มีผู้ทรงคุณวุฒิตรวจสอบเนื้อหาบทความเพื่อลงตีพิมพ์จำนวน 2 ท่านตอบบทความ โดยที่ผู้ทรงคุณวุฒิและผู้เขียนจะไม่ทราบชื่อ (double-blind) และบทความหรือข้อคิดเห็นใด ๆ ที่ปรากฏในวารสารที่เป็นวรรณกรรมของผู้เขียน บรรณาธิการหรือมหาวิทยาลัยราชภัฏนครศรีธรรมราช ไม่จำเป็นต้องเห็นด้วย

ค่าธรรมเนียมการตีพิมพ์

วารสารวิชาไม่เก็บค่าธรรมเนียมในการตีพิมพ์

เกี่ยวกับวารสาร

ชื่อวารสาร : วารสารวิชา มหาวิทยาลัยราชภัฏนครศรีธรรมราช
ISSN ฉบับตีพิมพ์ : 0125-2380
ISSN ฉบับอิเล็กทรอนิกส์: 2672-958X
เว็บไซต์วารสาร : <https://www.tci-thaijo.org/index.php/wichcha/index>

กำหนดเผยแพร่ : เผยแพร่ปีละ 2 ฉบับ (ฉบับที่ 1 มกราคม – มิถุนายน และฉบับที่ 2 กรกฎาคม – ธันวาคม)

จัดพิมพ์โดย : สถาบันวิจัยและพัฒนา มหาวิทยาลัยราชภัฏนครศรีธรรมราช

เลขที่ 1 หมู่ที่ 4 ตำบลท่าจั่ว อำเภอเมืองนครศรีธรรมราช จังหวัดนครศรีธรรมราช 80280

บรรณาธิการที่ปรึกษา ประกอบด้วย

ศาสตราจารย์ ดร.วิสุทธิ์ ไบไม่	ราชบัณฑิต สาขาชีววิทยา
ศาสตราจารย์ ดร.สมชาย วงศ์วิเศษ	คณะวิศวกรรมศาสตร์ มหาวิทยาลัยเทคโนโลยีพระจอมเกล้าธนบุรี
ศาสตราจารย์ ดร.สมบัติ กาญจนกิจ	คณะวิทยาศาสตร์การกีฬา จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย
ศาสตราจารย์ ดร.สมปอง เตชะโต	คณะทรัพยากรธรรมชาติ มหาวิทยาลัยสงขลานครินทร์
ศาสตราจารย์ ดร.สังวรณ์ กิจทวี	คณะวิทยาศาสตร์ มหาวิทยาลัยมหิดล
รองศาสตราจารย์ ดร.นภาพร ทัศนัยนา	นักวิชาการอิสระ อดีตรองศาสตราจารย์
	คณะวิทยาศาสตร์การกีฬา มหาวิทยาลัยบูรพา
ผู้ช่วยศาสตราจารย์ ดร.ประเสริฐ จรรย์านุกูล	นักวิชาการอิสระ อดีตผู้ช่วยศาสตราจารย์ คณะครุศาสตร์
	มหาวิทยาลัยราชภัฏนครศรีธรรมราช

กองบรรณาธิการ ประกอบด้วย

ศาสตราจารย์ ดร.เสาวภา อังสุภาณิช	คณะทรัพยากรธรรมชาติ มหาวิทยาลัยสงขลานครินทร์
ศาสตราจารย์ ดร.ทวนทอง จุฑาเกตุ	คณะเกษตรศาสตร์ มหาวิทยาลัยอุบลราชธานี
ศาสตราจารย์ ดร.สุวิจน์ ธีญรส	คณะวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยีการประมง
	มหาวิทยาลัยเทคโนโลยีราชมงคลศรีวิชัย วิทยาเขตตรัง
รองศาสตราจารย์ ดร.ชิตณรงค์ ศิริสถิตย์กุล	สำนักวิชาวิทยาศาสตร์ มหาวิทยาลัยวลัยลักษณ์
รองศาสตราจารย์ ดร.จอมภพ แวศักดิ์	คณะวิทยาศาสตร์ มหาวิทยาลัยทักษิณ วิทยาเขตพัทลุง
รองศาสตราจารย์ ดร.วัฒนพงศ์ เกิดทองมี	สำนักวิชาวิศวกรรมศาสตร์และทรัพยากร มหาวิทยาลัยวลัยลักษณ์
รองศาสตราจารย์ ดร.ศิโรตม์ เกตุแก้ว	คณะวิศวกรรมศาสตร์ มหาวิทยาลัยรามคำแหง
รองศาสตราจารย์ ดร.การุณ ทองประจักษ์	คณะวิทยาศาสตร์ มหาวิทยาลัยสงขลานครินทร์
รองศาสตราจารย์ ดร.สุปัญญา จิตตพันธ์	คณะวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยี
	มหาวิทยาลัยธรรมศาสตร์ ศูนย์รังสิต
รองศาสตราจารย์ ดร.นคร กนกแก้ว	คณะวิศวกรรมศาสตร์ จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย
ผู้ช่วยศาสตราจารย์ ดร.สมพงศ์ โอทอง	คณะวิทยาศาสตร์ มหาวิทยาลัยทักษิณ
ผู้ช่วยศาสตราจารย์ ดร.อมรศักดิ์ สวัสดิ์	สำนักวิชาวิศวกรรมศาสตร์และทรัพยากร มหาวิทยาลัยวลัยลักษณ์

ผู้ช่วยศาสตราจารย์ ดร.อภิรักษ์ สงรักษ์	คณะวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยีการประมง
ดร.ปิยรัชฎ์ ปริญญางษ์ เจริญทรัพย์	มหาวิทยาลัยเทคโนโลยีราชมงคลศรีวิชัย วิทยาเขตตรัง สำนักงานโครงการอนุรักษ์พันธุกรรมพืชอันเนื่องมาจาก พระราชดำริสมเด็จพระเทพรัตนราชสุดาฯ สยามบรมราชกุมารี (อพ.สธ.)
ผู้ช่วยศาสตราจารย์ ดร.วีระยุทธ สุดสมบูรณ์	คณะเทคโนโลยีอุตสาหกรรม มหาวิทยาลัยราชภัฏนครศรีธรรมราช
ผู้ช่วยศาสตราจารย์ ดร.จุฑามาศ ศุภพันธ์	คณะครุศาสตร์ มหาวิทยาลัยราชภัฏนครศรีธรรมราช
ดร.รุ่งนภา พิมเสน	คณะวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยี มหาวิทยาลัยราชภัฏนครศรีธรรมราช
ดร.ศณิษา ธีระขุนท์	คณะวิทยาการจัดการ มหาวิทยาลัยราชภัฏนครศรีธรรมราช

ผู้ประเมินอิสระหรือพิชญพิจารณา (Peer review) ตรวจสอบทางวิชาการประจำฉบับ

รองศาสตราจารย์ ดร.สุปัญญา จิตตพันธ์	คณะวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยี มหาวิทยาลัยธรรมศาสตร์
รองศาสตราจารย์ ดร.สุปินันต์ ไหมแพ	คณะวิทยาศาสตร์ มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์
รองศาสตราจารย์ ดร.การุณ ทองประจักษ์	คณะวิทยาศาสตร์ มหาวิทยาลัยสงขลานครินทร์
รองศาสตราจารย์ ดร.สรรพสิทธิ์ กล่อมเกล้า	คณะเทคโนโลยีและการพัฒนาชุมชน มหาวิทยาลัยทักษิณ
ผู้ช่วยศาสตราจารย์ ดร.สุภาว ศิริรัฐนิคม	คณะวิทยาศาสตร์ มหาวิทยาลัยทักษิณ
ผู้ช่วยศาสตราจารย์ ดร.สมรักษ์ รอดเจริญ	คณะวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยี มหาวิทยาลัยราชภัฏนครศรีธรรมราช
ผู้ช่วยศาสตราจารย์ ดร.อภิรักษ์ สงรักษ์	คณะวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยีการประมง มหาวิทยาลัยเทคโนโลยีราชมงคลศรีวิชัย วิทยาเขตตรัง
ผู้ช่วยศาสตราจารย์ ดร.อมรศักดิ์ สวัสดิ์	สำนักวิชาวิศวกรรมศาสตร์และทรัพยากร มหาวิทยาลัยวลัยลักษณ์
ผู้ช่วยศาสตราจารย์ ดร.ประวิทย์ เนื่องมัจฉา	คณะวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยี มหาวิทยาลัยราชภัฏนครศรีธรรมราช
ผู้ช่วยศาสตราจารย์ ดร.อุษา อันทอง	คณะวิทยาศาสตร์ มหาวิทยาลัยทักษิณ
ผู้ช่วยศาสตราจารย์ ดร.ศุภทัต ชูมนุมวัฒน์	คณะเภสัชศาสตร์ มหาวิทยาลัยมหิดล
ผู้ช่วยศาสตราจารย์ ดร.วีระเกียรติ ทรัพย์มี	คณะวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยี มหาวิทยาลัยเทคโนโลยีราชมงคลศรีวิชัย วิทยาเขตนครศรีธรรมราช ใต้ใหญ่
ผู้ช่วยศาสตราจารย์ ดร.ทวีศักดิ์ เตชะเกรียงไกร	คณะเกษตร มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์ วิทยาเขตบางเขน
ผู้ช่วยศาสตราจารย์ ดร.จินตนา สุวิวัฒน์	คณะพยาบาลศาสตร์ มหาวิทยาลัยขอนแก่น
ผู้ช่วยศาสตราจารย์ ดร.เอกวิญ ภาลกรณ์สุรปราณี	คณะวิทยาศาสตร์ มหาวิทยาลัยสงขลานครินทร์
ผู้ช่วยศาสตราจารย์ ดร.บัญญัติ เจริญดี	คณะวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยีอุตสาหกรรม มหาวิทยาลัยสงขลานครินทร์
ผู้ช่วยศาสตราจารย์ ดร.นเรศ ชวนยุก	คณะทรัพยากรธรรมชาติ มหาวิทยาลัยสงขลานครินทร์
ผู้ช่วยศาสตราจารย์ ดร.นรภัทร หวันเหล็ม	คณะเกษตรศาสตร์ ทรัพยากรธรรมชาติและสิ่งแวดล้อม มหาวิทยาลัยนเรศวร
ผู้ช่วยศาสตราจารย์ ดร.ชาติรี หอมเขียว	คณะวิศวกรรมศาสตร์ มหาวิทยาลัยเทคโนโลยีราชมงคลศรีวิชัย
ดร.นพพร ธรรมมงคลรัตน์	สำนักวิชาวิทยาศาสตร์ มหาวิทยาลัยวลัยลักษณ์

ผู้ตรวจทานภาษาต่างประเทศประจำฉบับ

ดร.ศณัฏฐา อีระขุนทด คณะวิทยาการจัดการ มหาวิทยาลัยราชภัฏนครศรีธรรมราช

ฝ่ายจัดการ

ดร.สมปอง รักษาธรรม

ผู้ช่วยศาสตราจารย์สุรศักดิ์ แก้วอ่อน

ผู้ช่วยศาสตราจารย์ ดร.สมรักษ์ รอดเจริญ

ดร.ธัชชา สามพิมพ์

นางณภัคจิรา ทิพย์สุลักษณ์

นางสาวกนกต์ฤทัย จรจรัส

ปก หจก.ปรินส์โตร

พิมพ์ที่ หจก.ปรินส์โตร

129/607 หมู่บ้านเมืองทอง หมู่ 2 ถนนวันดีโมฆิตกุลพร ต.ในเมือง อ.เมือง จ.นครศรีธรรมราช 80000

โทร. 092-4464940, 094-1928242, 081-9171839

บทความวิจัย

ความหลากหลายของสาหร่ายน้ำจืดขนาดเล็กผลิตน้ำมันในอำเภอสตึก จังหวัดบุรีรัมย์ วิไลวัลย์ มาน้ำเที่ยง วชิร กัลยาลัง และบังอร แถวโนนจัว	1
ผลของกรด 5-อะมิโนสัลฟอนิกต่อการเจริญเติบโตและการตอบสนองของภูมิคุ้มกันในปลาสวาย ปรับปรุงสายพันธุ์ (<i>Pangasianodon gigas</i> × <i>Pangasianodon hypophthalmus</i>) วิรุฬห์ศักดิ์ ทองสุภา นเรศ ชวนยุก อังคณา ไสเกื้อ และศุภณัฐ ธาณิรัตน์	16
ความหลากหลายและการกระจายของลูกปลาในพรุควนชีเสียน จังหวัดพัทลุง สุวิมล สี่หิรัญวงศ์ พิสิฐ ภูมิคง อธิภัทร ตงวัฒนาการ สิริวรรณ สุขศรี และทวนทอง จุฑาเกตุ	31
สภาวะที่เหมาะสมในการเตรียมและความสามารถในการดูดซับของถ่านกัมมันต์ที่ผลิตจากวัสดุ เหลือใช้ในการผลิตไบจากมวนยาสูบ สุนันทา ช้องสาย	46
การพัฒนาเครื่องหมาย allele-specific PCR เพื่อระบุจีโนไทป์ของยีน <i>CYP2C9</i> นุรฟา การวัล อรุณรัตน์ วนิชชานนท์ และอารีย์รัตน์ หนูนวล	58
ภาวะโภชนาการและความรู้ด้านโภชนาการในผู้สูงอายุพื้นที่เทศบาล ตำบลชะมาย จังหวัดนครศรีธรรมราช จุฑาภรณ์ ลิ้มสุวรรณมณี พวงรัตน์ จินพล และมานิตา เจือบุญ	70
สภาวะที่เหมาะสมสำหรับการผลิตไม้เทียมโดยกระบวนการอัดขึ้นรูป จุฑาทิพย์ อาจชมภู สุวัฒน์ รัตนพันธ์ ฉัตรชัย แก้วดี และวีระยุทธ สุดสมบูรณ์	84
ผลของการเสริมโคเอยตอม (<i>Amphora coffeaeformis</i>) ในอาหารต่อการเจริญเติบโตและการ แสดงออกของยีนที่เกี่ยวข้องกับการเจริญเติบโตในกุ้งขาว (<i>Litopenaeus vannamei</i>) ระยะ หลังวัยอ่อน ชัยรัตน์ ขวัญเจริญ สถาพร ติเรกบุษราคม และสุวิทย์ วุฒิสุทธิเมธาวี	99
การศึกษาองค์ประกอบทางเคมีและจุลชีววิทยาของกึ่งสัปปากพนัก จังหวัดนครศรีธรรมราช ที่ใช้ <i>Lactobacillus pentosus</i> L35 เป็นก้ำเชื้อในการหมัก มณฑกานต์ ทองสม	114
การประเมินผลตอบแทนทางการเงินของโรงไฟฟ้าพลังงานแสงอาทิตย์ภายใต้นโยบายสนับสนุน ส่วนเพิ่มอัตราค่าไฟฟ้าโดยภาครัฐ ธัชชา สามพิมพ์	126
คำแนะนำในการเตรียมต้นฉบับ	140

ความหลากหลายของสาหร่ายน้ำจืดขนาดเล็กผลิตน้ำมันในอำเภอสตึก จังหวัดบุรีรัมย์

Diversity of Bio-oil Freshwater Microalgae in Satuek District, Buri Ram Province

วิไลวัลย์ มานำเที่ยง¹ วชรี กัลยาลัง² และบังอร แถวโนนงิ้ว^{3*}

Wilaiwan Manamthiang¹, Watcharee Kunyalung² and Bungorn Thaewnon-ngiw^{3*}

บทคัดย่อ

ปัจจุบันปริมาณการใช้ไขมันเชื้อเพลิงสูงขึ้นโดยเฉพาะพลังงานจากน้ำมัน ทำให้ประสบปัญหาขาดแคลนน้ำมัน จึงมีการหาแหล่งพลังงานทดแทนซึ่งสาหร่ายน้ำจืดขนาดเล็กมีศักยภาพในการผลิตน้ำมันได้คุ้มทุนกว่าพืชน้ำมันหลายชนิด งานวิจัยนี้มีวัตถุประสงค์เพื่อศึกษาความหลากหลายของสาหร่ายน้ำจืดขนาดเล็ก ตรวจสอบสาหร่ายขนาดเล็กที่ผลิตน้ำมันโดยวิธีไนล์เรดและเทียบเคียงกับงานวิจัยก่อนนี้ เก็บตัวอย่างสาหร่ายน้ำจืดขนาดเล็กด้วยถุงพลาสติกขนาดตา 10 ไมโครเมตรจากแหล่งน้ำต่าง ๆ ในอำเภอสตึก จังหวัดบุรีรัมย์ พบสาหร่ายน้ำจืดขนาดเล็กทั้งหมด 5 ดิวิชัน 22 วงศ์ 47 สกุล 71 ชนิด โดยพบสาหร่ายขนาดเล็กที่ผลิตน้ำมันได้ทั้งหมด 15 ชนิด ดิวิชัน Chlorophyta พบมากที่สุด ผลการตรวจสอบน้ำมันในสาหร่ายขนาดเล็ก 3 ชนิด คือ *Botryococcus braunii* *Scenedesmus acuminatus* และ *Chlorella* sp. พบว่า *B. braunii* ผลิตน้ำมันได้มากที่สุดเพราะมีการเรียงสปีชีส์เลื้อยเกือบเต็มเซลล์ ซึ่งพบในจุดที่ 3 7 8 และ 12 คือ บ้านหนองน้ำขุ่น ตำบลร้อนทอง บ้านสระกอไทรและบ้านตลาด ตำบลนิคม และบ้านสะแก ตำบลสะแก ตามลำดับ ความหลากหลายของชนิดสาหร่ายขนาดเล็กผลิตน้ำมันพบมากที่สุดในจุดที่ 12 ข้อมูลสาหร่ายขนาดเล็กผลิตน้ำมันจากวิจัยนี้เป็นข้อมูลใหม่เพื่อใช้เป็นแหล่งพลังงานทางเลือกต่อไป

คำสำคัญ: สาหร่ายน้ำจืดขนาดเล็กผลิตน้ำมัน ความหลากหลาย การย้อมสีไนล์เรด

¹ สาขาวิชาชีววิทยาศึกษา คณะวิทยาศาสตร์ มหาวิทยาลัยมหาสารคาม

² ศูนย์ความหลากหลายทางชีวภาพ สถาบันวิจัยวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยีแห่งประเทศไทย (วว.)

³ สาขาวิชาชีววิทยา คณะวิทยาศาสตร์ มหาวิทยาลัยมหาสารคาม

* Corresponding author e-mail: ttbungorn@hotmail.com

Received: 12 September 2019, Revised: 31 October 2019, Accepted: 7 February 2020

Abstract

Nowadays, there are increasing energy consumption, especially energy from oil. According to the search of renewable energy sources, there are found that freshwater microalgae have the potential to produce oil more cost-effective than many oil plants do. The aims of this research were to study the diversity of freshwater microalgae, examine freshwater microalgae for bio-oil production by Nile Red Staining technique and compare them with the results of previous research. The collection of microalgae used a 10 micrometer plankton net from water sources in Satuek district, Buri Ram province. The results found that diversity of microalgae could be classified into 5 divisions, 22 families, 47 genus, 71 species. There were 15 species of microalgae that can produce bio-oil, most of them were Chlorophyta division. The tests of bio-oil production among the 3 microalgae; namely, *Botryococcus braunii*, *Scenedesmus acuminatus* and *Chlorella* sp. found that *B. braunii* produced the highest amount of oil because almost full of its cells had yellow glow. This microalgae were found at the stations of number 3, 7, 8 and 12; which were Ban Nong Nam Khun, Ron Thong Subdistrict, Ban Sakor Sai and Ban Talat, Nikom Subdistrict, and Ban Sakae, Sakae Subdistrict, respectively. The most diverse species of microalgae for bio-oil production were found at the station of number 12. The data of microalgae for bio-oil production from this research are new data to be used as an alternative energy source.

Keywords: freshwater microalgae for bio-oil production, diversity, Nile red staining

บทนำ

สาหร่ายเป็นสิ่งมีชีวิตที่สามารถพบได้ทั่วไปในธรรมชาติ และเจริญได้ดีในน้ำซึ่งมีคุณสมบัติทางเคมีหรือทางกายภาพที่เหมาะสม (ยุวดี, 2546) บทบาทสำคัญของสาหร่ายในระบบนิเวศคือเป็นผู้ผลิต นอกจากนี้สาหร่ายยังสามารถสร้างสารบางชนิดทั้งที่มีประโยชน์และโทษต่อสิ่งมีชีวิตอื่น ๆ มนุษย์จึงนำสาหร่ายมาใช้ประโยชน์ในด้านต่าง ๆ เช่น ใช้เป็นวัตถุดิบในอุตสาหกรรมการผลิตอาหาร อาหารเสริม เครื่องสำอางและยา ใช้เป็นปุ๋ยชีวภาพในพื้นที่เกษตรกรรม ใช้ในการติดตามและตรวจสอบคุณภาพน้ำ และใช้ในการบำบัดน้ำเสียในแหล่งน้ำต่าง ๆ รวมทั้งใช้เป็นแหล่งในการผลิตน้ำมันเชื้อเพลิงต่าง ๆ เป็นต้น

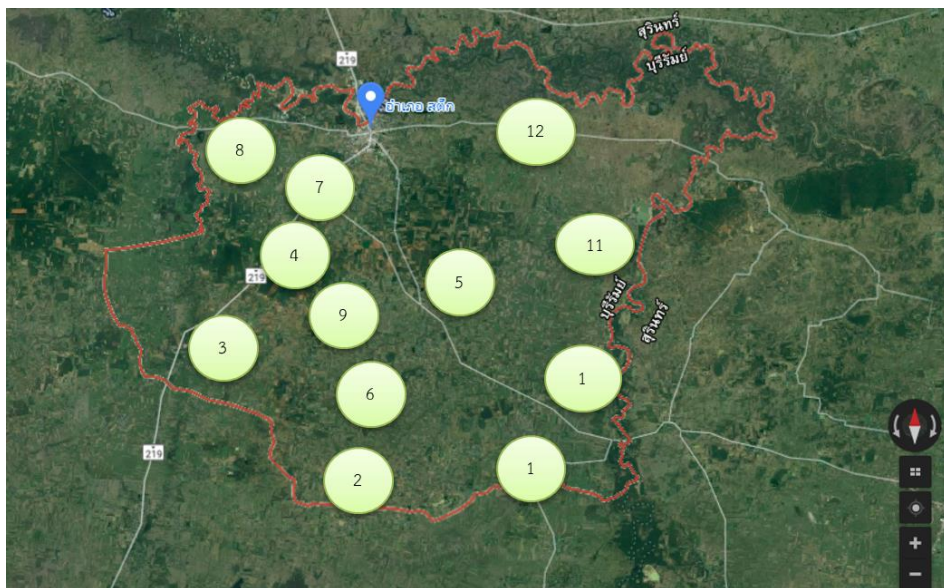
ในสถานการณ์โลกปัจจุบันมีปริมาณการใช้พลังงานเชื้อเพลิงสูงขึ้น โดยเฉพาะพลังงานจากน้ำมัน ส่งผลให้ราคาน้ำมันเชื้อเพลิงสูงขึ้นกระทบต่อการพัฒนาเศรษฐกิจของประเทศต่าง ๆ รวมทั้งประเทศไทยที่ต้องพึ่งพาพลังงานนำเข้าอย่างมากในแต่ละปี ส่วนผลกระทบอีกด้านที่สำคัญคือ ภาวะโลกร้อนที่เกิดจากการใช้พลังงานเชื้อเพลิงประเภทฟอสซิล ทำให้ประเทศต่าง ๆ เร่งประหยัดพลังงานทุกภาคส่วนและใช้พลังงานทางเลือกทดแทนซึ่งได้รับความสนใจมากที่สุดขณะนี้คือไบโอดีเซล โดยผลิตจากชีวมวลนั่นคือการนำน้ำมันจากสัตว์หรือจากพืช ซึ่งเป็นสารประกอบอินทรีย์ประเภทไตรกลีเซอไรด์มาผ่านกระบวนการทรานส์เอสเทอริฟิเคชัน ซึ่งเป็นกระบวนการทางเคมี แต่จากการนำน้ำมันจากสัตว์หรือจากพืชมาเป็นวัตถุดิบในการผลิตอาจส่งผลกระทบต่อราคาต้นทุนการผลิตเนื่องจากพืชดังกล่าวจำเป็นต้องใช้ระยะเวลาและพื้นที่เพาะปลูกจำนวนมาก ดังนั้นจึงมีการแสวงหาแหล่งวัตถุดิบอื่นในการผลิตพลังงานทดแทน พบว่าวัตถุดิบดังกล่าวคือชีวมวลจากสาหร่ายขนาดเล็ก แต่คุณสมบัติเด่นที่แตกต่างจากพืชน้ำมันชนิดอื่น ๆ คือสาหร่ายขนาดเล็กใช้พื้นที่เพาะปลูกน้อย เจริญเติบโตเร็ว ให้ผลผลิตต่อพื้นที่มาก ในการตรวจสอบน้ำมันในสาหร่ายขนาดเล็กสามารถทำได้หลายวิธี ซึ่งวิธีที่สะดวกและรวดเร็วโดยใช้สีย้อมไนล์เรดจะแสดงความมีขี้และไม่มีขี้ของไขมันซึ่งจะปล่อยคลื่นจากสีแดงเป็นสีเหลือง (Diaz *et al.*, 2008) ดังนั้นฟอสโฟลิปิดส่วนใหญ่ที่อยู่ในเยื่อหุ้มเซลล์ทั่วไปจะปล่อยแสงสีแดง ในขณะที่ไขมันประกอบด้วยนิวทรัลลิพิดคล้ายกับคลอเรสเตอรอลเอสเทอร์ และไตรกลีเซอไรด์จะเรืองแสงสีเหลืองซึ่งคุณสมบัติเหล่านี้เป็นข้อดีของสีย้อมไนล์เรด นอกจากนี้กระบวนการประเมินผลแสดงให้เห็นว่าวิธีการนี้มีประสิทธิภาพในการตรวจสอบน้ำมันในสาหร่ายสดสำหรับการใช้ในการผลิตเชื้อเพลิงชีวภาพ (Xu *et al.*, 2011)

งานวิจัยนี้จึงสนใจศึกษาความหลากหลายของสาหร่ายขนาดเล็กที่สามารถผลิตน้ำมันได้ และตรวจสอบการผลิตน้ำมันในสาหร่ายโดยใช้เทคนิคการย้อมสีไนล์เรด (Nile red staining) โดยเก็บตัวอย่างจากแหล่งน้ำในอำเภอสตึก จังหวัดบุรีรัมย์ ซึ่งยังไม่มีรายงานการสำรวจมาก่อน ข้อมูลที่ได้จะเป็นประโยชน์สำหรับการศึกษาด้านความหลากหลายของสาหร่ายขนาดเล็กผลิตน้ำมันและเป็นแหล่งพลังงานทางเลือกต่อไป

วิธีดำเนินการวิจัย

1. การเก็บตัวอย่างและการตรวจสอบชนิดของสาหร่ายขนาดเล็ก

1.1 เก็บตัวอย่างสาหร่ายขนาดเล็กจากแหล่งน้ำในอำเภอสตึก จังหวัดบุรีรัมย์ แบบสุ่มครอบคลุมพื้นที่ทั้งหมด 12 จุด ดังภาพที่ 1 โดยใช้ถุงพลาสติกขนาดตา 10 ไมโครเมตร ลากในแนวเฉียงจากระดับความลึกจากผิวน้ำ 50 เซนติเมตร จากนั้นเทตัวอย่างลงในขวดพลาสติกเพื่อนำไปตรวจสอบชนิดของสาหร่ายขนาดเล็ก โดยในแต่ละจุดเก็บตัวอย่าง 3 ข้ว เวลาในการเก็บตัวอย่าง ตั้งแต่ 08.00-12.00 น. ในช่วงระหว่างเดือนพฤศจิกายน-ธันวาคม พ.ศ. 2560



ภาพที่ 1 พื้นที่เก็บตัวอย่างสาหร่ายขนาดเล็กจากแหล่งน้ำในอำเภอสตึก จังหวัดบุรีรัมย์

จุดที่ 1) บ้านตามา ตำบลชุมแสง พิกัด 15.119604 103.347739

จุดที่ 2) บ้านสวายตาวัน ตำบลหนองใหญ่ พิกัด 15.126172 103.314470

จุดที่ 3) บ้านหนองน้ำขุ่น ตำบลร่อนทอง พิกัด 15.179044 103.263102

จุดที่ 4) โรงงานน้ำแข็ง ตำบลนิคม พิกัด 15.266754 103.265975

จุดที่ 5) บ้านหนองเกาะ ตำบลสตึก พิกัด 15.275929 103.309685

จุดที่ 6) โรงเรียนเมืองแกพิทยาคม ตำบลเมืองแก พิกัด 15.172970 103.319973

จุดที่ 7) บ้านสระกอไทร ตำบลนิคม พิกัด 15.280384 103.257326

จุดที่ 8) บ้านตลาด ตำบลนิคม พิกัด 15.294069 103.204086

จุดที่ 9) บ้านคูขาด ตำบลสตึก พิกัด 15.264155 103.283863

จุดที่ 10) บ้านกระสัง ตำบลกระสัง พิกัด 15.214932 103.413609

จุดที่ 11) บ้านทุ่งวัง ตำบลทุ่งวัง พิกัด 15.263857 103.388409

จุดที่ 12) บ้านสะแก ตำบลสะแก พิกัด 15.302936 103.352996

1.2 การตรวจสอบชนิดของสาหร่ายขนาดเล็ก ตรวจสอบชนิดโดยใช้ลักษณะสัณฐานวิทยาของสาหร่ายขนาดเล็ก โดยเตรียมสไลด์สดศึกษาภายใต้กล้องจุลทรรศน์แบบใช้แสงยี่ห้อ Olympus รุ่น BX53F และบันทึกภาพ เพื่อจัดจำแนกชนิดตามวิธีของ ยูวตี (2556); ลัดดา (2542); Graham *et al.* (2009) และ Bold and Wynne (1985)

2. การตรวจสอบน้ำมันในสาหร่ายขนาดเล็ก

ตรวจสอบการผลิตน้ำมันโดยการเปรียบเทียบกับรายงานวิจัยของอรพรรณ และรัฐภูมิ (2556); Chisti, (2007); Abdo *et al.* (2013); Nascimento *et al.* (2014); Prasertsin and Peerapornpisal (2018) และอื่น ๆ ที่มีการรายงานก่อนหน้านี้ จากนั้นคัดเลือกสาหร่ายขนาดเล็กผลิตน้ำมัน จำนวน 3 ชนิด ได้แก่ *B. braunii* *S. acuminatus* และ *Chlorella* sp. มาตรวจสอบการผลิตน้ำมันด้วยเทคนิคการย้อมสีไนล์เรดและมีขั้นตอนการตรวจสอบดังนี้

2.1 คัดแยกสาหร่ายขนาดเล็กให้ได้เซลล์เดี่ยวโดยเทคนิคการล้างเซลล์ด้วยไมโครปิเปต (micropipette washing) ตามวิธีของลัดดา (2540)

2.2 นำไปเลี้ยงในอาหารเหลวสูตร BG-11 เป็นเวลา 45 วัน แล้วนำไปตรวจสอบการผลิตน้ำมัน

2.3 ตรวจสอบน้ำมันในเซลล์ด้วยเทคนิคการย้อมสีไนล์เรด (ดัดแปลงจาก Chen *et al.*, 2009) โดยซึ่งสารไนล์เรดปริมาณ 1 มิลลิกรัม ผสมลงในตัวทำละลายอะซีโตน (acetone) ปริมาตร 100 มิลลิลิตร นำ dimethyl sulfoxide (DMSO) ปริมาตร 25 มิลลิลิตร ผสมกับน้ำกลั่นปริมาตร 75 มิลลิลิตร แล้วทำการเตรียมสาหร่ายในการย้อมสีไนล์เรด ตามอัตราส่วนดังนี้ สาหร่าย 5 ไมโครลิตร : DMSO ความเข้มข้นร้อยละ 25 100 ไมโครลิตร : สีไนล์เรด 10 ไมโครลิตร ผสมให้เข้ากัน นำเซลล์สาหร่ายไปตรวจสอบปริมาณน้ำมันด้วยกล้องจุลทรรศน์ฟลูออเรสเซนซ์ ถ้ามีไขมันจะเห็นการเรืองแสงสีเหลือง บันทึกภาพ

ผลการวิจัย

1. การเก็บตัวอย่างและการตรวจสอบชนิดของสาหร่ายขนาดเล็ก

ผลจากการสำรวจความหลากหลายของสาหร่ายขนาดเล็กในพื้นที่ทั้งหมด 12 จุด ซึ่งสามารถจัดจำแนกได้ 5 ดิวิชัน (division) 22 วงศ์ (family) 47 สกุล (genus) 71 ชนิด (species) ดังแสดงในตารางที่ 1 จากข้อมูลพบสาหร่ายขนาดเล็กในดิวิชัน Chlorophyta มีความหลากหลายมากที่สุด จำนวน 35 ชนิด รองลงมาคือ ดิวิชัน Euglenophyta จำนวน 12 ชนิด Cyanophyta จำนวน 12 ชนิด Bacillariophyta จำนวน 11 ชนิด และดิวิชัน Chrysophyta จำนวน 1 ชนิด ตามลำดับ

ตารางที่ 1 การจำแนกสาหร่ายขนาดเล็กที่พบจากแหล่งน้ำในอำเภอสตึก จังหวัดบุรีรัมย์

ดิวิชัน	แฟมิลี	จีนัส	สปีชีส์
Cyanophyta	6	9	12
Bacillariophyta	5	9	11

ตารางที่ 1 (ต่อ)

ดิวิชัน	แฟมิลี	จีนัส	สปีชีส์
Euglenophyta	1	4	12
Chlorophyta	9	24	35
Chrysophyta	1	1	1

2. การตรวจสอบน้ำมันในสาหร่ายขนาดเล็ก

การศึกษาน้ำมันในเซลล์สาหร่ายขนาดเล็กด้วยเทคนิคการย้อมสีไนล์เรด จากตัวอย่างทั้งหมด 12 จุด ดังตารางที่ 2 จากข้อมูลพบสาหร่ายขนาดเล็กผลิตน้ำมันมากที่สุดในจุดที่ 12 บ้านสะแก ตำบลสะแก ส่วนจุดที่ไม่พบสาหร่ายขนาดเล็กผลิตน้ำมัน คือจุดที่ 9 บ้านคูขาด ตำบลสตึก

ตารางที่ 2 ชนิดของสาหร่ายขนาดเล็กที่พบและจำนวนชนิดที่สามารถผลิตน้ำมันได้จากแหล่งน้ำในอำเภอสตึก จังหวัดบุรีรัมย์ ทั้งหมด 12 จุด

จุดเก็บตัวอย่าง	ชนิดที่พบ	ชนิดที่สามารถผลิตน้ำมัน
จุดที่ 1	4	1
จุดที่ 2	7	3
จุดที่ 3	7	3
จุดที่ 4	3	1
จุดที่ 5	8	5
จุดที่ 6	6	2
จุดที่ 7	1	1
จุดที่ 8	18	2
จุดที่ 9	8	0
จุดที่ 10	12	1
จุดที่ 11	5	2
จุดที่ 12	10	6

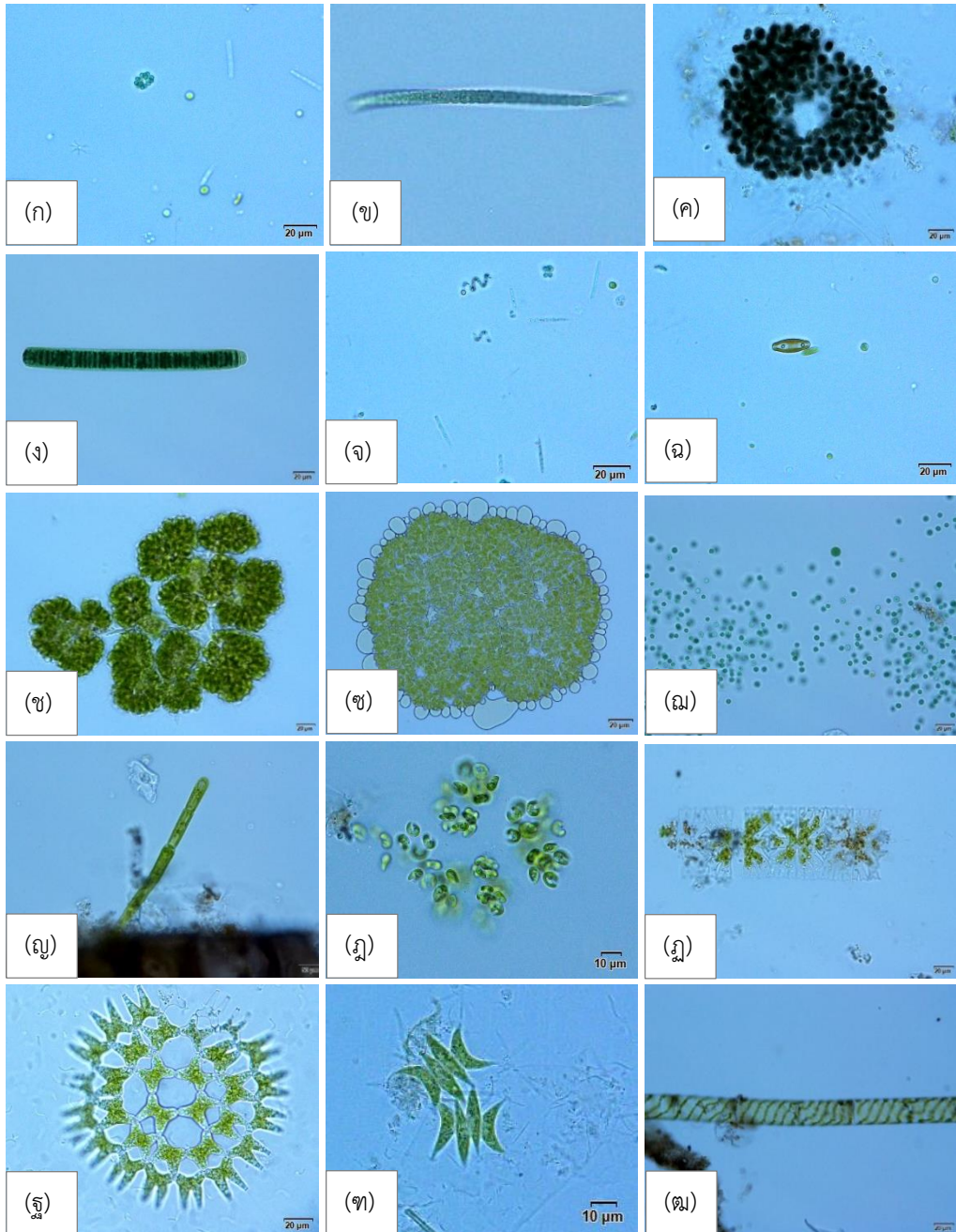
จากตัวอย่างสาหร่ายขนาดเล็กทั้งหมด 71 ชนิด พบสาหร่ายขนาดเล็กผลิตน้ำมันทั้งหมด 15 ชนิด ประกอบด้วย ดิวิชัน Cyanophyta สามารถผลิตน้ำมันได้ 5 ชนิด จาก 12 ชนิด Bacillariophyta สามารถผลิตน้ำมันได้ 1 ชนิด จาก 11 ชนิด และ Chlorophyta สามารถผลิตน้ำมันได้ 9 ชนิด จาก

35 ชนิด ดังภาพที่ 2 และตารางที่ 3 ส่วนสาหร่ายขนาดเล็กในดิวิชัน Euglenophyta จำนวน 12 ชนิด และดิวิชัน Chrysophyta จำนวน 1 ชนิด ไม่พบการผลิตน้ำมัน

ตารางที่ 3 สาหร่ายขนาดเล็กผลิตน้ำมันที่พบจากแหล่งน้ำในอำเภอสตึก จังหวัดบุรีรัมย์

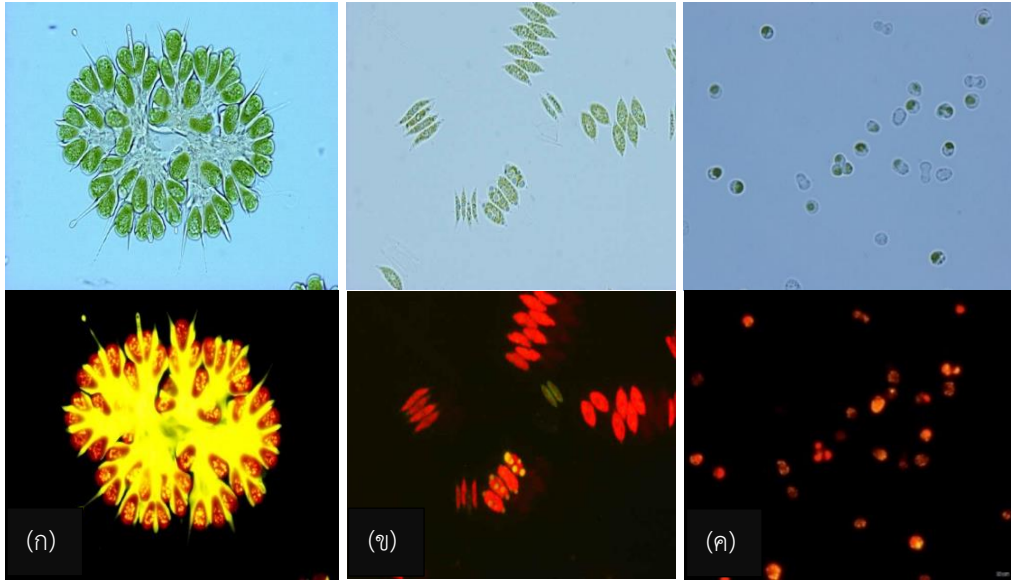
ดิวิชัน	ชนิด	จุดที่พบตัวอย่าง
Cyanophyta	<i>Coelomorion pusillum</i>	2
	<i>Cylindrospermopsis raciborskii</i>	12
	<i>Microcystis aeruginosa</i>	5 6 11 12
	<i>Oscillatoria</i> sp.	5 6 12
	<i>Spirulina</i> sp.	2
Bacillariophyta	<i>Navicula</i> sp.	2 4
Chlorophyta	<i>Botryococcus</i> sp.1	3
	<i>B. braunii</i>	3 7 8 12
	<i>Chlorella</i> sp.	10
	<i>Cladophora</i> sp.	12
	<i>Kirchneriella lunaris</i>	1 5
	<i>Micrasterias foliacea</i>	8
	<i>Pediastrum duplex</i>	5 11
	<i>Scenedesmus acuminatus</i>	5
	<i>Spirogyra</i> sp.	3 12

ผลการตรวจสอบการผลิตน้ำมันในสาหร่ายขนาดเล็ก 3 ชนิด ได้แก่ *B. braunii* *S. acuminatus* และ *Chlorella* sp. ด้วยเทคนิคการย้อมสีไนล์เรด ดังแสดงในภาพที่ 3 ก่อนย้อมสีไนล์เรดสามารถมองเห็นคลอโรพิลล์ในเซลล์ได้อย่างชัดเจน หลังการย้อมสีไนล์เรดจะปรากฏการเรืองแสงสีเหลือง ซึ่งเป็นบริเวณที่มีการสร้างน้ำมัน ส่วนบริเวณสีแดงประกอบด้วยคลอโรพิลล์และสารอื่น ๆ ที่เซลล์สร้างขึ้นโดยการตรวจสอบภายใต้กล้องจุลทรรศน์ฟลูออเรสเซนซ์ จากการทดลองสาหร่ายขนาดเล็กที่เห็นการเรืองแสงสีเหลืองเกือบเต็มเซลล์และชัดเจนที่สุดคือ *B. braunii*



ภาพที่ 2 สาหร่ายขนาดเล็กผลิตน้ำมันที่พบจากแหล่งน้ำในอำเภอสตึก จังหวัดบุรีรัมย์

(ก) *C. pusillum* (ข) *C. raciborskii* (ค) *M. aeruginosa* (ง) *Oscillatoria* sp.
 (จ) *Spirulina* sp. (ฉ) *Navicula* sp. (ช) *Botryococcus* sp.1 (ซ) *B. braunii*
 (ณ) *Chlorella* sp. (ญ) *Cladophora* sp. (ฎ) *K. lunaris* (ฏ) *M. foliacea*
 (ฐ) *P. duplex* (ฑ) *S. acuminatus* และ (ฒ) *Spirogyra* sp.



ภาพที่ 3 การตรวจสอบน้ำมันในสาหร่ายขนาดเล็กโดยเทคนิคการย้อมสีไนล์เรด (ภาพบนก่อนย้อมสีไนล์เรด-ภาพล่างหลังย้อมสีไนล์เรด)

(ก) *B. braunii* (ข) *S. acuminatus* และ (ค) *Chlorella* sp.

การอภิปรายผลการวิจัย

จากการสำรวจสาหร่ายน้ำจืดขนาดเล็กในเขตพื้นที่อำเภอสตึก จังหวัดบุรีรัมย์ ทั้งหมด 12 จุด โดยเก็บตัวอย่างด้วยถุงพลาสติกขนาดตา 10 ไมโครเมตร แล้วเทลงในขวดพลาสติกโดยไม่ใช้สารเคมีในการเก็บรักษาเนื่องจากต้องทำการคัดแยกเซลล์เพื่อนำไปเลี้ยงสำหรับขั้นตอนการตรวจสอบน้ำมันต่อไป สามารถจัดจำแนกได้ทั้งหมด 5 ดิวิชัน (division) 22 วงศ์ (family) 47 สกุล (genus) 71 ชนิด (species) จากการวิเคราะห์ข้อมูลพบสาหร่ายขนาดเล็กในดิวิชัน Chlorophyta มีความหลากหลายมากที่สุด จำนวน 35 ชนิด รองลงมาคือ ดิวิชัน Euglenophyta จำนวน 12 ชนิด ดิวิชัน Cyanophyta จำนวน 12 ชนิด ดิวิชัน Bacillariophyta จำนวน 11 ชนิด และดิวิชัน Chrysophyta จำนวน 1 ชนิด คิดเป็นร้อยละ 49.30 16.90 16.90 15.49 และ 1.41 ของสาหร่ายขนาดเล็กที่พบทั้งหมดตามลำดับ ซึ่งสาหร่ายขนาดเล็กทั้ง 5 ดิวิชันนี้เป็นสาหร่ายที่พบทั่วไปในน้ำจืด สอดคล้องกับงานวิจัยของไพริน และคณะ (2553) ได้ศึกษาความหลากหลายของสาหร่ายในบึงบอระเพ็ด จังหวัดนครสวรรค์ พบความหลากหลายของดิวิชัน Chlorophyta มากที่สุด ส่วนดิวิชันที่พบน้อยที่สุดคือ Chrysophyta

ในงานวิจัยนี้ได้ศึกษาการผลิตน้ำมันในสาหร่ายขนาดเล็กบางชนิดเท่านั้น โดยเลือกสาหร่ายมาจำนวน 3 ชนิด ได้แก่ *B. braunii* *S. acuminatus* และ *Chlorella* sp. เนื่องจากต้องใช้ความชำนาญอย่างสูงในขั้นตอนการคัดแยกสาหร่ายขนาดเล็กให้ได้เซลล์เดี่ยว ด้วยเทคนิคการล้างเซลล์ด้วยไมโครปิเปต แล้วนำไปเลี้ยงในอาหารเหลวสูตร BG-11 เป็นเวลา 45 วัน เพื่อตรวจสอบการผลิตน้ำมันโดยใช้เทคนิคการย้อมสีไนล์เรด ในเซลล์สาหร่ายที่สามารถผลิตน้ำมันจะเรืองแสงสีเหลืองเมื่อส่องดูภายใต้กล้องจุลทรรศน์ฟลูออเรสเซนซ์ (Rattanapoltee and Kaewkannetra, 2013; Gusbeth *et al.*, 2016) และผลจากการทดลองนี้สาหร่ายที่เห็นการเรืองแสงสีเหลืองเกือบเต็มเซลล์ชัดเจนที่สุดคือ *B. braunii* ซึ่งพบสาหร่ายดังกล่าวนี้ในจุดที่ 3 7 8 และ 12 คือ บ้านหนองน้ำขุน ตำบลร่อนทอง บ้านสระกอไทรและบ้านตลาด ตำบลนิคม และบ้านสะแก ตำบลสะแก ตามลำดับ สอดคล้องกับงานวิจัยของสุนิรัตน์ และคณะ (2555) ได้ทำการคัดเลือกสาหร่ายเพื่อผลิตน้ำมันไบโอดีเซลพบว่า *B. braunii* มีไขมันมากที่สุด ร้อยละ 13.2 ± 0.2 และกรดไขมันที่มีปริมาณมากที่สุดคือกรดปาล์มติก Prasertsin and Peerapornpisal (2018) ทำการคัดแยกและตรวจสอบความสามารถในการผลิตน้ำมันในสาหร่ายขนาดเล็กจากแหล่งน้ำจืดในภาคเหนือของประเทศไทย พบว่า *B. braunii* มีปริมาณน้ำมันมากที่สุด ร้อยละ 39.25 ± 0.32 โดยน้ำหนักแห้ง และมีรายงานวิจัยการพัฒนาและศึกษาวิธีการนำน้ำมันจากสาหร่ายขนาดเล็กมาใช้ในการผลิตพลังงานชีวภาพ Boni *et al.* (2018) ศึกษาไขมันจาก *B. braunii* เพื่อศึกษาภาพในการผลิตไบโอดีเซล ด้วยวิธีการสกัดแบบซอกซ์เล็ท Dilia and Leila (2018) พบว่า *B. braunii* มีปริมาณของกรดโอเลอิกอยู่ระหว่างร้อยละ 15.65-35.85 กรดไลโนเลอิก ร้อยละ 3.05-23.15 กรดปาล์มติก ร้อยละ 4.03-22.13 และกรดสเตียริก ร้อยละ 0.48-15.41 ซึ่งเป็นตัวแปรในการเลือกน้ำมันจากสาหร่ายชนิดนี้ในการผลิตไบโอดีเซล เนื่องจากอัตราส่วนของกรดไขมันอิ่มตัวและไม่อิ่มตัวไม่แตกต่างกันมาก

ส่วนสาหร่ายขนาดเล็กอีก 13 ชนิดที่ไม่ได้ตรวจสอบการผลิตน้ำมันโดยใช้เทคนิคการย้อมสีไนล์เรด สามารถสรุปว่าผลิตน้ำมันได้ โดยอ้างอิงจากเอกสารงานวิจัยที่เกี่ยวข้องซึ่งสอดคล้องกับงานวิจัยของอรพรรณและรัฐภูมิ (2556) วิเคราะห์ปริมาณน้ำมันชีวภาพที่สกัดด้วยเฮกเซนที่อุณหภูมิ 70 องศาเซลเซียส พบว่า *Spirogyra* sp. มีปริมาณน้ำมันชีวภาพอย่างหนาแน่นมากที่สุด ร้อยละ 14.05 ± 3.00 (น้ำหนักน้ำมันต่อน้ำหนักสาหร่ายแห้ง) รองลงมาคือ *Microcystis* sp. ร้อยละ 13.35 ± 3.00 และน้อยที่สุดใน *Cladophora* sp. ร้อยละ 5.84 ± 0.10 และผลการวิเคราะห์ดังกล่าวนี้สามารถนำมาพัฒนาการผลิตพลังงานทดแทนในรูปแบบของน้ำมันไบโอดีเซลได้ ภาณีนิ และคณะ (2559) ศึกษาเปรียบเทียบการเจริญและการผลิตน้ำมันในเซลล์สดของสาหร่ายขนาดเล็กพบว่า *Chlorella* sp. ให้ค่าสูงสุดเท่ากับร้อยละ 32.814 โดยน้ำหนัก และเมื่อวิเคราะห์ชนิดและปริมาณไขมันพบว่า มีความเหมาะสมในการผลิตน้ำมันไบโอดีเซล Abdo *et al.* (2013) ตรวจสอบองค์ประกอบของกรดไขมันและปริมาณน้ำมันทั้งหมดของสาหร่ายขนาดเล็กจำนวน 19 สายพันธุ์ ซึ่งทำการเก็บตัวอย่างจากแม่น้ำไนล์ของ

อียิปต์ จากนั้นนำมาเพาะเลี้ยงบนอาหารสูตร BG-11 ก่อนทำการเก็บเกี่ยวผลผลิตและตรวจสอบปริมาณน้ำมันพบว่า *M. aeruginosa* มีปริมาณน้ำมันสูงที่สุดคือร้อยละ 30 Nascimento *et al.* (2014) วิเคราะห์ไบโอดีเซลจากน้ำมันในสาหร่ายขนาดเล็กเปรียบเทียบกับน้ำมันจากพืช พบว่าน้ำมันจากสาหร่าย 6 สายพันธุ์มีผลผลิตของน้ำมันที่สูงกว่า 40 มิลลิลิตร $1^{-1}day^{-1}$ และ *B. braunii* มีปริมาณน้ำมันร้อยละ 45.0 ± 3.6 ต่อน้ำหนักแห้ง Abdo *et al.* (2014) ทำการแยกสาหร่ายผลิตน้ำมันเพื่อเป็นกุญแจสำคัญในการผลิตน้ำมันไบโอดีเซล โดยตรวจสอบการผลิตน้ำมันด้วยเทคนิคการย้อมสีไนล์เรด และศึกษาภายใต้กล้องจุลทรรศน์ฟลูออเรสเซนซ์ที่ค่า excitation 450-490 นาโนเมตร และค่า emission 515 นาโนเมตร โดยนิวทริลลิฟิเคชันหรือไตรกลีเซอไรด์จะปรากฏจุดสีเหลือง และพบว่า *M. aeruginosa* ปรากฏสีเหลืองชัดเจนและมีปริมาณไขมันสูงถึงร้อยละ 30 ± 0.3 Chtourou *et al.* (2015) ทำการสกัดน้ำมันจาก *Navicula* sp. พบว่าน้ำมันที่ได้มีความเหมาะสมในการนำไปผลิตไบโอดีเซล Melanie and Fithriani (2015) ศึกษาวิธีการสกัดน้ำมันสำหรับใช้ทดแทนเชื้อเพลิงฟอสซิลจาก *Spirulina* sp. และ *Chlorella* sp. พบว่าวิธี sonicator เป็นวิธีที่ดีที่สุด Gani *et al.* (2016) ชี้ให้เห็นว่า *Botryococcus* sp. มีประสิทธิภาพในการกำจัดมลพิษและสำหรับพัฒนาแหล่งพลังงานหมุนเวียนในการผลิตไบโอดีเซล Patel *et al.* (2017) ศึกษาผลจากการสังเคราะห์ด้วยแสงของไซยาโนแบคทีเรียทั้งหมด 7 สายพันธุ์ เพื่อใช้สำหรับเป็นแหล่งผลิตเชื้อเพลิงชีวภาพ โดยวัดการเจริญเติบโต ชีวมวล คาร์โบไฮเดรตและไขมัน พบว่า *Oscillatoria* sp. มีปริมาณไขมันร้อยละ 8.9 Prasertsin and Peerapornpisal (2018) ทำการคัดแยกและตรวจสอบความสามารถในการผลิตน้ำมันในสาหร่ายขนาดเล็กจากแหล่งน้ำจืดในภาคเหนือของประเทศไทย พบว่า *B. braunii* มีปริมาณน้ำมันมากที่สุดร้อยละ 39.25 ± 0.32 โดยน้ำหนักแห้ง และสาหร่ายขนาดเล็กอื่น ๆ ที่พบน้ำมันได้แก่ *K. lunaris* *P. duplex* *C. pusillum* *M. foliacea* และ *C. raciborskii* มีปริมาณน้ำมันร้อยละ 24.30 ± 0.34 14.50 ± 0.20 10.73 ± 0.25 10.45 ± 0.07 และ 8.24 ± 0.09 ตามลำดับ นอกจากนี้ยังมีงานวิจัยเกี่ยวกับการพัฒนาสาหร่ายในการสร้างน้ำมันซึ่งเป็นวัตถุดิบสำหรับการผลิตไบโอดีเซล Unpaprom *et al.* (2015) ได้ทำการเพาะเลี้ยง *S. acuminatus* ในน้ำทิ้งจากโรงเลี้ยงสุกร เพื่อการบำบัดของเสียคู่กับการผลิตไบโอดีเซล พบว่ามีความเป็นไปได้ที่จะผลิตไบโอดีเซลจากชีวมวลของสาหร่ายสดโดยไม่ต้องผ่านขั้นตอนการอบแห้ง Dehaghani and Pirouzfar (2018) ศึกษาสาหร่ายขนาดเล็กระหว่าง *Chlorella* sp. และ *S. platensis* พบว่า *Chlorella* sp. มีความเหมาะสมในการผลิตไบโอดีเซลมากกว่าเนื่องจากเจริญเติบโตเร็ว ผลผลิตชีวมวลสูง มีปริมาณและชนิดของกรดไขมันที่เหมาะสม (C14:0 C16:0 และ C18:0) ซึ่งเป็นสารประกอบของกรดไขมันทั่วไปในไบโอดีเซล

สรุปผลการวิจัย

ผลการจำแนกสาหร่ายขนาดเล็กจากตัวอย่างทั้งหมดประกอบด้วย 5 ดิวิชัน จำแนกได้ 71 ชนิด พบว่าสาหร่ายขนาดเล็กที่สามารถผลิตน้ำมันได้ 15 ชนิด โดยดิวิชันที่พบมากที่สุดคือ Chlorophyta สามารถผลิตน้ำมันได้ 9 ชนิด รองลงมาคือ Cyanophyta สามารถผลิตน้ำมันได้ 5 ชนิด พบน้อยที่สุดคือ Bacillariophyta สามารถผลิตน้ำมันได้ 1 ชนิด ส่วนที่ไม่พบการผลิตน้ำมัน คือ Euglenophyta และ Chrysophyta เมื่อตรวจสอบการผลิตน้ำมันโดยใช้เทคนิคการย้อมสีไนล์เรดจากสาหร่ายขนาดเล็กที่เลือกมา 3 ชนิด สาหร่ายที่เห็นการเรืองแสงสีเหลืองชัดเจนที่สุดคือ *B. braunii* ซึ่งพบสาหร่ายดังกล่าวนี้ในจุดที่ 3 7 8 และ 12 คือบ้านหนองน้ำขุ่น ตำบลร่อนทอง บ้านสระกอไทรและบ้านตลาด ตำบลนิคม และบ้านสะแก ตำบลสะแก ตามลำดับ ในด้านการแพร่กระจายของสาหร่ายขนาดเล็กผลิตน้ำมันมากที่สุดในจุดที่ 12 บ้านสะแก ตำบลสะแก 6 ชนิด ส่วนจุดที่ไม่พบสาหร่ายขนาดเล็กผลิตน้ำมัน คือจุดที่ 9 บ้านคูขาด ตำบลสตึก จากข้อมูลงานวิจัยนี้ถือเป็นรายงานครั้งแรกในการศึกษาสาหร่ายน้ำจืดขนาดเล็กผลิตน้ำมันในพื้นที่อำเภอสตึก จังหวัดบุรีรัมย์ เพื่อใช้เป็นแหล่งเก็บตัวอย่างสาหร่ายขนาดเล็กเพื่อการเพาะเลี้ยงสำหรับการผลิตน้ำมันไบโอดีเซลต่อไป

กิตติกรรมประกาศ

ผู้วิจัยขอขอบคุณผู้ช่วยศาสตราจารย์ ดร.กิริวิชญ์ เพชรจุล ผู้ช่วยศาสตราจารย์ ดร. อีรพร กทิสาสตร์ และดร.เอกพจน์ ศรีฟ้า ที่ให้คำแนะนำที่เป็นประโยชน์ และเจ้าหน้าที่ทุกท่านจากสถาบันวิจัยวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยีแห่งประเทศไทย ที่เสียสละเวลาให้คำปรึกษาและยืนยันการจัดจำแนกสาหร่ายขนาดเล็กที่เป็นประโยชน์ต่อการศึกษา ขอขอบคุณภาควิชาชีววิทยา คณะวิทยาศาสตร์ มหาวิทยาลัยมหาสารคามที่เอื้อเฟื้อสถานที่และอำนวยความสะดวกในการวิจัยนี้บรรลุผลสำเร็จ

เอกสารอ้างอิง

- ไพริน สุดทั้ง สรัญญา วัชรไทย์ ศรีสม สุวรรณวงศ์ และณัฐา เสนีवास. (2553). ความหลากหลายของสาหร่ายแวนดิงในบึงบอระเพ็ดจังหวัดนครสวรรค์. *พฤกษศาสตร์ไทย*, 2 (พิเศษ), 21-31.
- ภาณินี จรุงกิตติวิมล จารุวรรณ ชลสงคราม วีระสิทธิ์ สรรพมงคลไชย สมุลลิกา โมลากุล และประมุข ภาระกุลสุขสถิต. (2559). การเปรียบเทียบการเจริญและการผลิตลิพิดระหว่าง *Ankistrodesmus* sp. IFRPD No. 1061 และ *Chlorella* sp. IFRPD No. 1092 ในบ่อเปิดแบบรางคู่. ใน *การประชุมทางวิชาการของมหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์ ครั้งที่ 54* (หน้า 1004-1011). กรุงเทพฯ: มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์.
- ยุวดี พิรพรพิศาล. (2546). *สาหร่ายวิทยา (Phycology)*. เชียงใหม่: ภาควิชาชีววิทยา คณะวิทยาศาสตร์ มหาวิทยาลัยเชียงใหม่.

- ยุวดี พิรพรพิศาล. (2556). *สาหร่ายน้ำจืดในประเทศไทย*. (พิมพ์ครั้งที่ 2). เชียงใหม่: โซटनाพรีนซ์จำกัด.
- ลัดดา วงศ์รัตน์. (2540). *คู่มือการเลี้ยงแพลงก์ตอน*. กรุงเทพฯ: มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์.
- ลัดดา วงศ์รัตน์. (2542). *แพลงก์ตอนพืช (Phytoplankton)*. กรุงเทพฯ: มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์.
- สุนีรัตน์ เรืองสมบูรณ์ ศักดิ์ชัย ชูโชติ ปวีณา ทวีกิจการ และมณฑล แก่นมณี. (2555). การคัดเลือกสายพันธุ์และการเพาะเลี้ยงสาหร่ายที่มีไขมันสูงแบบหมวมวลเพื่อความเป็นไปได้ในการผลิตเชื้อเพลิงชีวภาพ. ได้รับทุนสนับสนุนงานวิจัยจากเงินงบประมาณแผ่นดิน ประจำปีงบประมาณ 2555. สถาบันเทคโนโลยีพระจอมเกล้าเจ้าคุณทหารลาดกระบัง.
- อรพรรณ พรหมธนพันธ์ และรัฐภูมิ พรหมณะ. (2556). น้ำมันชีวภาพที่สกัดจากไซยาโนแบคทีเรียและสาหร่ายสีเขียวบางชนิดที่พบในจังหวัดพะเยาและจังหวัดน่าน. *นเรศวรพะเยา*, 6(2), 96-99.
- Abdo, S.M., Ahmed, E., El-Enin, S.A., El Din, R.S., Diwani, G.E. and Ali, G. (2013). Growth rate and fatty acids profile of 19 microalgal strains isolated from river Nile for biodiesel production. *Journal of Algal Biomass Utilization*, 4(4), 51-59.
- Abdo, S.M., Ahmed, E., El-Enin, S.A., El-Din, R.S., Diwani, G.E. and Ali, G. (2014). Qualitative and quantitative determination of lipid content in microalgae for biofuel production. *Journal of Algal Biomass Utilization*, 5(3), 223-228.
- Bold, H.C. and Wynne, M.J. (1985). *Introduction to the algae*. (2nd ed). New Jersey: Prentice-Hall.
- Boni, J., Aida, S. and Leila, K. (2018). Lipid extraction method from microalgae *Botryococcus braunii* as raw material to make biodiesel with soxhlet extraction. *Journal of Physics*, 1095(1), 012004.
- Chen, W., Zhang, C., Song, L., Sommerfeld, M. and Hu, Q. (2009). A high throughput Nile red method for quantitative measurement of neutral lipids in microalgae. *Journal of Microbiological Methods*, 2009(77), 41-47.
- Chisti, Y. (2007). Biodiesel from microalgae. *Biotechnology Advances*, 25(3), 294-306.
- Chtourou, H., Dahmen, I., Karray, F., Sayadi, S. and Dhoub, A. (2015). Biodiesel production of *Amphora* sp. and *Navicula* sp. by different cell disruption and lipid extraction methods. *Journal of Biobased Materials and Bioenergy*, 9(6), 588-595.
- Dehaghani, A.H.S. and Pirouzfar, V. (2018). Investigation on the effect of microalgae *Chlorella* sp. and *Spirulina* on biodiesel production. *Petroleum Chemistry*, 58(8), 702-708.

- Diaz, G., Melis, M., Batetta, B., Angius, F. and Falchi, A.M. (2008). Hydrophobic characterization of intracellular lipids in situ by Nile red red/yellow emission ratio. *Micron*, 39(7), 819-824.
- Dilia, P. and Leila, K. (2018). Fatty acids from microalgae *Botryococcus braunii* for raw material of biodiesel. *Journal of Physics*, 1095(1), 012010.
- Gani, P., Sunar, N.M., Matias-Peralta, H.M., Latiff, A.A.A., Parjo, U.K., Embong, Z., Khalid, A. and Tajudin, S.A.A. (2016). The potential of biodiesel production from *Botryococcus* sp. biomass after phycoremediation of domestic and industrial wastewater. *Materials Science and Engineering*, 160(1), 1-9.
- Graham, L.E., Graham, J.M. and Wilcox, L.W. (2009). *Algae* (2nd ed). California: Benjamin Cummings.
- Gusbeth, C.A., Eing, C., Göttel, M., Straßner, R. and Frey, W. (2016). Fluorescence diagnostics for lipid status monitoring of microalgae during cultivation. *Journal of Renewable Energy & Biofuels*, 2016(1), 1-12.
- Melanie, S. and Fithriani, D. (2015). Determination of oil extraction rate from *Spirulina* sp. and *Chlorella* sp. by using cell disruption technique. *Journal of Widyariset*, 1(1), 61-70.
- Nascimento, A.I., Marques, S.S.I., Cabanelas, I.T.D., Carvalho, G.C., Nascimento, M.A., Souza, C.O., Druzian, J.I., Hussain, J. and Liao, W. (2014). Microalgae versus land crops as feedstock for biodiesel: productivity, quality, and standard compliance. *BioEnergy Research*, 7(3), 1002-1003.
- Patel, V.K., Sundaram, S., Patel, A.K. and Kalra, A. (2017). Characterization of seven species of cyanobacteria for high-quality biomass production. *Arabian Journal for Science and Engineering*, 43(1), 109-121.
- Prasertsin, T. and Peerapornpisal, Y. (2018). Distribution and isolation of microalgae for lipid production in selected freshwater reservoirs of northern Thailand. *Biodiversitas*, 19(1), 343-350.
- Rattanapoltee, P. and Kaewkannetra, P. (2013). Nile red, an alternative fluorescence method for quantification of neutral lipids in microalgae. *Journal of Biotechnology and Bioengineering*, 7(9), 889-893.

- Unpaprom, Y., Tipnee, S. and Rameshprabu, R. (2015). Biodiesel from green alga *Scenedesmus acuminatus*. *International Journal of Sustainable and Green Energy*, 4(1-1), 1-6.
- Xu, L., Brilman, D.W.F.W., Withag, J.A.M., Brem, G. and Kersten, S.R.A. (2011). Assessment of a dry and a wet route for the production of biofuels from microalgae: Energy balance analysis. *Bioresource Technology*, 102(8), 5113-5122.

ผลของกรด 5-อะมิโนลิวูลินิกต่อการเจริญเติบโตและการตอบสนองของ
ภูมิคุ้มกันในปลาสร้อยปรับปรุงสายพันธุ์

(*Pangasianodon gigas* × *Pangasianodon hypophthalmus*)

Effect of 5-aminolevulinic Acid on Growth Performance and
Immune Responses in Hybrid Striped Catfish

(*Pangasianodon gigas* × *Pangasianodon hypophthalmus*)

วิรุฬห์ศักดิ์ ทองสุภา¹ นเรศ ช้วนยุค^{1,2*} อังคณา ไสเกื้อ³ และศุภณัฐ ธาณิรัตน์¹

Wiroonsak Thongsupa¹, Naraid Suanyuk^{1,2*}, Angkana Saikue³

and Suppanat Thaneerat¹

บทคัดย่อ

การศึกษาผลของกรด 5-อะมิโนลิวูลินิก (5-aminolevulinic acid; ALA) ที่ผลิตจากแบคทีเรีย *Rhodopseudomonas palustris* JP225 ต่อการเจริญเติบโตและการตอบสนองของภูมิคุ้มกันในปลาสร้อยปรับปรุงสายพันธุ์ (*Pangasianodon gigas* × *P. hypophthalmus*) โดยเลี้ยงปลาที่มีน้ำหนักตั้งต้นเฉลี่ย 7.71-7.78 กรัม ด้วยอาหารทดลองเสริมด้วย ALA ที่ระดับความเข้มข้น 0 (ชุดควบคุม) 2.5 5.0 7.5 และ 10.0 มิลลิกรัมต่อกิโลกรัม พบว่าในระยะเวลา 4 สัปดาห์ ปลาที่เลี้ยงด้วยอาหารเสริม ALA ที่ระดับความเข้มข้น 2.5 มิลลิกรัมต่อกิโลกรัม มีน้ำหนักสุดท้าย น้ำหนักที่เพิ่มขึ้น อัตราการเจริญเติบโตจำเพาะสูงที่สุด และมีอัตราการเปลี่ยนอาหารเป็นเนื้อดีที่สุดอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p < 0.05$) เมื่อเปรียบเทียบกับปลาที่เลี้ยงด้วยอาหารสูตรอื่น ๆ นอกจากนี้ยังพบว่าการเสริม ALA ที่ระดับความเข้มข้น 2.5 มิลลิกรัมต่อกิโลกรัม สามารถเพิ่มปริมาณเม็ดเลือดแดง เม็ดเลือดขาว ฮีโมโกลบินรวม ฮีมาโตคริต กิจกรรมการจับกินสิ่งแปลกปลอม ดัชนีการจับกินสิ่งแปลกปลอม และค่าเฉลี่ยเม็ดบีดที่ถูกเม็ดเลือดขาวจับกินให้มีความสูงที่สุด และมีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p < 0.05$) เมื่อเปรียบเทียบกับปลาที่เลี้ยงด้วยอาหารควบคุม เมื่อเลี้ยงปลาเป็นระยะเวลา 8 สัปดาห์ พบว่าการเจริญเติบโตของปลาที่ได้รับอาหารผสม ALA ทุกระดับความเข้มข้นไม่มีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p > 0.05$) นอกจากนี้ยังพบว่าปลาที่ได้รับอาหารผสม ALA ที่ระดับความเข้มข้น

¹ ศูนย์วิจัยสุขภาพสัตว์น้ำกึ่งการ ศุภมาตย์ สาขาวิชาวิทยาศาสตร์และนวัตกรรมการจัดการ คณะทรัพยากรธรรมชาติ มหาวิทยาลัยสงขลานครินทร์

² สาขาความเป็นเลิศการเพาะเลี้ยงสัตว์น้ำอย่างยั่งยืน คณะทรัพยากรธรรมชาติ มหาวิทยาลัยสงขลานครินทร์

³ สาขาวิทยาศาสตร์ คณะวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยี มหาวิทยาลัยเทคโนโลยีราชมงคลศรีวิชัย

* Corresponding author: naraid.s@psu.ac.th

Received: 25 February 2020, Revised: 17 March 2020, Accepted: 20 March 2020

10 มิลลิกรัมต่อกิโลกรัม มีการตอบสนองของภูมิคุ้มกัน ได้แก่ ฮีโมโกลบินรวม ฮีมาโตคริต และโปรตีนในซีรัมลดลง แต่มีค่าเฉลี่ยกิจกรรม respiratory burst และดัชนีการจับกินสิ่งแปลกปลอมสูงที่สุด และมีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p < 0.05$) เมื่อเปรียบเทียบกับปลาที่เลี้ยงด้วยอาหารควบคุม งานวิจัยนี้แสดงให้เห็นว่าการเสริม ALA ที่ผลิตจากแบคทีเรีย *R. palustris* JP225 ที่ระดับความเข้มข้น 2.5 มิลลิกรัมต่อกิโลกรัม ในอาหารปลาเป็นระยะเวลา 4 สัปดาห์ สามารถส่งเสริมการเจริญเติบโตและภูมิคุ้มกันในปลาสวายปรับปรุงสายพันธุ์ได้

คำสำคัญ: ปลาสวายปรับปรุงสายพันธุ์ กรด 5-อะมิโนลิวูลินิก การเจริญเติบโต ระบบภูมิคุ้มกัน

Abstract

This study reports the effects of 5-aminolevulinic acid (ALA) from *Rhodopseudomonas palustris* JP225 on growth performance and immune responses in hybrid striped catfish (*Pangasianodon gigas* × *P. hypophthalmus*). Hybrid striped catfish with an initial weight of 7.71-7.78 g were fed with commercial diet supplemented with ALA at concentrations of 0 (control), 2.5, 5.0, 7.5 and 10.0 mg/kg. After 4 weeks of feeding, the fish received diet containing 2.5 mg/kg ALA concentrations demonstrated the highest final weight, weight gain and specific growth rate with the best feed conversion ratio in comparison with fish fed with other diet formulas with statistical significance ($p < 0.05$). Furthermore, fish fed with 2.5 mg/kg ALA concentrations increased their red and white blood cells, total haemoglobin, haematocrit, phagocytosis, phagocytic index, and average number of the bead ingested per cell to the highest level comparing to fish fed the control diet and showed statistically significant differences ($p < 0.05$). After 8 weeks of feeding, no statistically significant difference in growth performance of fish was observed among diet supplemented with ALA at every concentration levels ($p > 0.05$). Moreover, it was found that fish fed with 10 mg/kg ALA concentrations showed that the immune responses which were total haemoglobin, haematocrit, and serum protein were decreased. Yet, there were significantly increased in the average respiratory burst activity and phagocytic index to the highest level comparing to fish fed the control diet and showed statistically significant differences ($p < 0.05$). These findings indicated that supplementation of ALA concentrations from *R. palustris* JP225 at the concentration of 2.5 mg/kg diet for 4 weeks enhanced growth performance and immunity of hybrid striped catfish.

Keywords: hybrid striped catfish, 5-aminolevulinic acid, growth performance, immunity system

บทนำ

ปัจจุบันปลาหนังเนื้อขาวเป็นที่นิยมของผู้บริโภคเนื่องจากเป็นอาหารสุขภาพ มีคุณค่าทางโภชนาการที่มีความสำคัญต่อการเจริญเติบโตและการพัฒนาของสมอง พบว่าปลาหนังให้ปริมาณไขมันที่ดี โดยเฉพาะอย่างยิ่งไขมันในกลุ่มโอเมก้า 3 ในตลาดต่างประเทศจึงมีความต้องการบริโภคปลาหนังเนื้อขาว เช่น ปลาสวาย (*Pangasianodon hypophthalmus*) และปลาลูกผสมระหว่างพ่อปลาบิกกับแม่ปลาสวาย (เกรียงศักดิ์ และคณะ, 2554) ดังนั้นจึงควรมีการส่งเสริมการเพาะเลี้ยงปลาหนังลูกผสมให้กับเกษตรกร เนื่องจากเป็นปลาที่มีคุณภาพเนื้อเป็นที่ต้องการของตลาด เลี้ยงง่าย โตเร็ว ทนโรค ได้ผลผลิตดี และยังส่งผลทางอ้อมในการช่วยลดการนำเข้าปลาหนังจากต่างประเทศอีกด้วย (เกรียงศักดิ์ และคณะ, 2555) อย่างไรก็ตามการเลี้ยงสัตว์น้ำแบบหนาแน่นมีโอกาสทำให้ปลาป่วยเป็นโรคได้ง่าย อีกทั้งยังสร้างความเสียหายต่อผลผลิตและเพิ่มต้นทุนการเลี้ยง แม้ว่าจะมีการใช้ยาปฏิชีวนะและสารเคมีเพื่อป้องกันและรักษาโรคที่เกิดขึ้นก็ตาม แต่การเลือกใช้ยาและสารเคมีที่ไม่เหมาะสมมีโอกาสทำให้เกิดปัญหาการดื้อยาทั้งในปลาและผู้บริโภค รวมถึงปัญหาสารตกค้างในผลิตภัณฑ์สัตว์น้ำและสิ่งแวดล้อมอันเป็นปัญหาสำคัญที่มีผลกระทบต่อเศรษฐกิจของชาติ ดังนั้นการใช้สารกระตุ้นภูมิคุ้มกัน (immunostimulant) ที่ผลิตจากสารชีวภาพ จึงเป็นทางเลือกหนึ่งในการจัดการสุขภาพสัตว์น้ำ เนื่องจากช่วยเพิ่มความต้านทานโรค ไม่เป็นอันตรายต่อมนุษย์ และไม่ตกค้างในสิ่งแวดล้อม

กรด 5-อะมิโนลิวูลินิก (5-aminolevulinic acid; ALA) เป็นสารชีวภาพที่ไม่เป็นอันตรายต่อมนุษย์และสัตว์ สารชีวภาพชนิดนี้พบได้ในแบคทีเรียสังเคราะห์แสง เช่น *Rhodospseudomonas palustris* (Saikour et al., 2009) และ *Rhodobacter sphaeroides* (Liu et al., 2016) สาหร่าย เช่น *Scenedesmus obliquus* (Klein et al., 1980) และ *Chlorella* sp. (Sasaki et al., 1995) และแบคทีเรีย เช่น *Propionibacterium acidipropionici* (Kiatpapan et al., 2011) และ *Escherichia coli* (Zhang et al., 2015) เป็นต้น สารชนิดนี้สามารถกระตุ้นการเจริญเติบโตของพืชหลายชนิด (Tanaka et al., 1992) รวมทั้งสัตว์ เช่น สุนัข โดยพบว่า ALA สามารถเพิ่มปริมาณฮีโมโกลบิน ธาตุเหล็ก เม็ดเลือดแดง เม็ดเลือดขาว และฮีมาโตคริตของสุนัขให้สูงขึ้น (Chen et al., 2008; Wang et al., 2011) อย่างไรก็ตามยังไม่มีการศึกษาผลของ ALA ต่อการเจริญเติบโตและระบบภูมิคุ้มกันในปลา แต่มีการศึกษาในกุ้งกุลาดำ (*Penaeus monodon*) โดยอมรรัตน์ (2549) พบว่า ALA สามารถกระตุ้นระบบภูมิคุ้มกันของกุ้งกุลาดำ ได้แก่ การเพิ่มจำนวนของเม็ดเลือดรวม กิจกรรมของเอนไซม์ฟีนอลออกซิเดส และอัตราการรอดตายจากการติดเชื้อไวรัสตัวแดงดวงขาวได้ ดังนั้นการวิจัยครั้งนี้จึงมีวัตถุประสงค์เพื่อศึกษาผลของ ALA ต่อการเจริญเติบโตและการกระตุ้นภูมิคุ้มกันในปลาสวาย ปรับปรุงสายพันธุ์ ข้อมูลที่ได้จากการศึกษานี้จะเป็นประโยชน์ต่อการเพิ่มผลผลิตเชิงพาณิชย์และเพิ่มศักยภาพในการแข่งขันในระดับนานาชาติต่อไป

วิธีดำเนินการวิจัย

1. การเลี้ยงแบคทีเรียสังเคราะห์แสงและการผลิต ALA

แบคทีเรียสังเคราะห์แสง *R. palustris* JP225 ที่แยกได้จากดินเปรี้ยวในอำเภอยะหา จังหวัดนครศรีธรรมราช (Saikur et al., 2009) นำมาเลี้ยงในอาหารเหลว GM บ่มในสภาวะแบบ มีอากาศน้อย มีแสง ที่อุณหภูมิ 35 องศาเซลเซียส เก็บเกี่ยวเชื้อในช่วงเวลาที่ผลิต ALA ได้สูงสุด และ แยก ALA ตามวิธีการของ Mauzerall and Granick (1956) โดยนำสารละลายแบคทีเรียที่เลี้ยงใน อาหารเหลว GM มาหมุนเหวี่ยงที่ความเร็ว 10,000 รอบต่อนาที นาน 10 นาที แล้วนำส่วนใสไปทำ แห้งด้วยเครื่องระเหิดแบบสุญญากาศ เก็บผง ALA ที่ได้ที่อุณหภูมิ 4 องศาเซลเซียส จนกว่าจะใช้งาน ต่อไป

2. การเตรียมปลาทดลอง

ปลาสาวยปรับปรุงสายพันธุ์อายุประมาณ 1 เดือน น้ำหนักประมาณ 2-3 กรัม ที่ผ่านการ ฝึกให้กินอาหารเม็ดสำเร็จรูปมาแล้ว มีสุขภาพแข็งแรง ปลอดโรค จำนวน 500 ตัว นำมาอนุบาลใน ถังไฟเบอร์ขนาดความจุ 3,000 ลิตร ให้กินอาหารเม็ดสำเร็จรูปวันละ 2 ครั้ง คือ ช่วงเช้าเวลา 9.00 น. และช่วงเย็นเวลา 16.00 น. เป็นระยะเวลา 2 สัปดาห์ จากนั้นคัดปลาที่มีน้ำหนักใกล้เคียงกันใส่ ตู้กระจกทดลองขนาด 45×90×45 เซนติเมตร ที่บรรจุน้ำ 120 ลิตร ปิดด้านข้าง 3 ด้าน ด้วยพลาสติก สีดำเพื่อป้องกันการรบกวนจากภายนอก จำนวน 30 ตู้ ๆ ละ 20 ตัว ทำการเลี้ยงปลาเป็นระยะเวลา 2 สัปดาห์ เพื่อปรับสภาพปลาให้ชินกับตู้ทดลอง ก่อนเริ่มทดลองทำการชั่งน้ำหนักปลาอีกครั้ง โดย คัดเลือกปลาที่มีน้ำหนักใกล้เคียงกันจำนวน 15 ตัวต่อตู้ การศึกษาครั้งนี้ได้ผ่านการพิจารณาและ เห็นชอบจากคณะกรรมการกำกับดูแลการเลี้ยงและใช้สัตว์ทดลองของสถาบันมหาวิทยาลัยสงขลานครินทร์ เลขที่ใบอนุญาตที่ Ref. 56/2018

3. การเตรียมอาหารทดลอง

เตรียมสารสกัด ALA โดยใช้น้ำกลั่นปลอดเชื้อเป็นตัวทำละลาย จากนั้นทำการสเปรย์ด้วย สารละลาย ALA ลงบนอาหารทดลองพื้นฐาน คือ อาหารลอยน้ำ 9920 D ซีพี มีคุณค่าทางอาหาร ได้แก่ โปรตีนไม่ต่ำกว่า 25 เปอร์เซ็นต์ ไขมันไม่ต่ำกว่า 3 เปอร์เซ็นต์ ความชื้นไม่เกิน 12 เปอร์เซ็นต์ และกากไม่เกิน 8 เปอร์เซ็นต์ ให้ได้ความเข้มข้นของ ALA เท่ากับ 0 2.5 5.0 7.5 และ 10.0 มิลลิกรัม ต่อกรัม จากนั้นเคลือบด้วยน้ำมันปลาแล้วนำมาผึ่งลมเป็นเวลา 4 ชั่วโมง บรรจุลงในถุงพลาสติก เก็บรักษาไว้ที่อุณหภูมิ -20 องศาเซลเซียส จนกว่าจะใช้งาน

4. การวางแผนการทดลอง

วางแผนการทดลองแบบสุ่มตลอด (completely randomized design) โดยแบ่งการ ทดลองออกเป็น 2 การทดลอง ได้แก่ การทดลองที่ 1 เลี้ยงปลาเป็นระยะเวลา 4 สัปดาห์ และการ ทดลองที่ 2 เลี้ยงปลาเป็นระยะเวลา 8 สัปดาห์ แต่ละการทดลองประกอบด้วย 5 ชุดการทดลอง ๆ ละ 3 ซ้ำ (replication) ซ้ำละ 15 ตัว ให้อาหารทดลองวันละ 2 ครั้ง คือ เช้าเวลา 9.00 น. และเย็นเวลา 16.00 น. ให้ปลากินจนอิ่ม จัดบันทึกอาหารที่ให้ทุกวัน เปลี่ยนถ่ายน้ำ 90 เปอร์เซ็นต์ ทุก ๆ 2 วัน

5. การศึกษาการเจริญเติบโต

เมื่อครบระยะเวลา 4 และ 8 สัปดาห์ ทำการชั่งน้ำหนักปลาทุกชุดการทดลอง (งดให้อาหาร 1 วันก่อนการชั่งน้ำหนัก) พร้อมจดบันทึกจำนวนปลา น้ำหนักปลา และน้ำหนักอาหารทดลอง จนสิ้นสุดการทดลอง นำข้อมูลที่ได้มาคำนวณอัตราการรอด (survival rate) น้ำหนักที่เพิ่มขึ้น (% weight gain) อัตราการเจริญเติบโตจำเพาะ (specific growth rate, SGR) และอัตราการเปลี่ยนอาหารเป็นเนื้อ (feed conversion ratio, FCR) ตามวิธีการของ Younis *et al.* (2018)

6. การศึกษาองค์ประกอบเลือดและระบบภูมิคุ้มกันของปลาสายปรับปรุงสายพันธุ์

หลังการทดลองเป็นระยะเวลา 4 และ 8 สัปดาห์ สุ่มเก็บตัวอย่างเลือดปลาจากทุกชุดการทดลอง ๆ ละ 9 ตัว (ซ้ำละ 3 ตัว) สลบด้วยน้ำมันกานพลู แล้วเจาะเลือดบริเวณโคนหางโดยใช้เข็มฉีดยาขนาด 1 มิลลิลิตร หัวเข็มขนาด 25G (NIPRO (THAILAND) CORP. LTD) แล้วนำไปวิเคราะห์องค์ประกอบเลือด ได้แก่ จำนวนเม็ดเลือดแดงและเม็ดเลือดขาว ฮีมาโตคริต ปริมาณฮีโมโกลบินรวม โปรตีนในซีรัม กิจกรรม respiratory burst และกิจกรรมของเอนไซม์ไลโซไซม์ ตามวิธีการของ Suwannasang *et al.* (2014)

วิเคราะห์กิจกรรมการจับกินสิ่งแปลกปลอม โดยสลับปลาด้วยน้ำมันกานพลูแล้วแยกไตส่วนหน้าตามวิธีการของ Chung and Secombes (1988) และนำไปศึกษากิจกรรมการจับกินสิ่งแปลกปลอมตามวิธีการของ Thuvander *et al.* (1987) จากนั้นนับจำนวนเซลล์ที่จับกินสิ่งแปลกปลอมและจำนวนเม็ดปิตที่ถูกจับกินภายใต้กล้องจุลทรรศน์ นำค่าที่ได้มาคำนวณกิจกรรมการจับกินสิ่งแปลกปลอม ดัชนีการจับกินสิ่งแปลกปลอม และค่าเฉลี่ยเม็ดปิตที่ถูกจับกินตามสูตรของ Rengpipat *et al.* (2000)

7. การวิเคราะห์ข้อมูล

วางแผนการทดลองแบบสุ่มตลอด วิเคราะห์ข้อมูลทางสถิติโดยใช้การวิเคราะห์ความแปรปรวนแบบจำแนกทางเดียว (One way analysis of variances) และเปรียบเทียบความแตกต่างของค่าเฉลี่ยโดยวิธี Duncan's multiple range test ที่ระดับความเชื่อมั่น 95 เปอร์เซ็นต์ด้วยโปรแกรมสำเร็จรูป SPSS (version 19.0)

ผลการวิจัย

1. การเจริญเติบโต

การศึกษาผลของ ALA ต่อการเจริญเติบโตของปลาสายปรับปรุงสายพันธุ์ที่เลี้ยงด้วยอาหารทดลองทั้ง 5 สูตร เป็นระยะเวลา 4 และ 8 สัปดาห์ พบว่าปลาที่ได้รับอาหารทั้ง 5 สูตรมีน้ำหนักเพิ่มขึ้นตามระยะเวลาการเลี้ยง โดยในช่วง 4 สัปดาห์แรก ปลาที่เลี้ยงด้วยอาหารทดลองสูตรที่ 2 คือ เสริมด้วย ALA ที่ระดับความเข้มข้น 2.5 มิลลิกรัมต่อลิตร มีน้ำหนักสุดท้าย น้ำหนักที่เพิ่มขึ้น และอัตราการเจริญเติบโตจำเพาะสูงสุดเท่ากับ 13.38 ± 0.26 กรัม 72.96 ± 3.34 เปอร์เซ็นต์ และ 1.83 ± 0.06 เปอร์เซ็นต์ต่อวัน ตามลำดับ และมีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p < 0.05$) กับปลาที่เลี้ยงด้วยอาหารทดลองสูตรที่ 1 3 4 และ 5 ส่วนอัตราการเปลี่ยนอาหารเป็นเนื้อมีค่าต่ำสุด

ในปลาที่เลี้ยงด้วยอาหารทดลองสูตรที่ 2 ซึ่งมีค่าเท่ากับ 1.00 ± 0.08 และมีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p < 0.05$) กับปลาที่เลี้ยงด้วยอาหารทดลองสูตรอื่น ๆ (ตารางที่ 1) เมื่อเลี้ยงปลาด้วยอาหารทดลองเป็นระยะเวลา 8 สัปดาห์ พบว่าปลาสายพันธุ์ที่เลี้ยงด้วยอาหารทดลองทั้ง 5 สูตร มีน้ำหนักสุดท้าย น้ำหนักที่เพิ่มขึ้น อัตราการเจริญเติบโตจำเพาะ และอัตราการเปลี่ยนอาหารเป็นเนื้อไม่มีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p > 0.05$) (ตารางที่ 1)

หลังการเลี้ยงปลาด้วยอาหารทดลองเป็นระยะเวลา 4 และ 8 สัปดาห์ พบว่าปลาสายพันธุ์ที่เลี้ยงด้วยอาหารทดลองมีอัตราการรอดตายไม่มีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p > 0.05$) (ตารางที่ 1)

2. ผลของ ALA ต่อองค์ประกอบเลือดและระบบภูมิคุ้มกันของปลาสายพันธุ์ที่เลี้ยงเป็นระยะเวลา 4 สัปดาห์

การศึกษาก่อนการประกอบเลือดและระบบภูมิคุ้มกันของปลาสายพันธุ์ที่ได้รับอาหารทดลองผสม ALA เป็นระยะเวลา 4 สัปดาห์ พบว่าปลาที่เลี้ยงด้วยอาหารทดลองสูตรที่ 2 คือเสริมด้วย ALA ที่ระดับความเข้มข้น 2.5 มิลลิกรัมต่อกิโลกรัม มีปริมาณเม็ดเลือดแดงและเม็ดเลือดขาวสูงสุดเท่ากับ $2.90 \pm 0.07 \times 10^9$ และ $4.95 \pm 0.39 \times 10^7$ เซลล์ต่อมิลลิลิตร ตามลำดับ รองลงมา คือปลาที่เลี้ยงด้วยอาหารทดลองสูตรที่ 3 4 5 และ 1 (ชุดควบคุม) ตามลำดับ โดยปลาที่เลี้ยงด้วยอาหารทดลองสูตรที่ 2 มีปริมาณเม็ดเลือดแดงต่างจากปลาที่เลี้ยงด้วยอาหารชุดควบคุมอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p < 0.05$) สอดคล้องกับปริมาณฮีโมโกลบินรวม และฮีมาโตคริตที่มีค่าสูงสุดในปลาที่เลี้ยงด้วยอาหารทดลองสูตรที่ 2 (ALA 2.5 มิลลิกรัมต่อกิโลกรัม) มีค่าเท่ากับ 15.85 ± 1.43 กรัมต่อเดซิลิตร และ 42.61 ± 1.79 เปอร์เซ็นต์ และมีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p < 0.05$) กับปลาชุดควบคุม (ตารางที่ 2)

กระบวนการจับกินสิ่งแปลกปลอมมีค่าสูงสุดในปลาที่เลี้ยงด้วยอาหารทดลองสูตรที่ 2 (ALA 2.5 มิลลิกรัมต่อกิโลกรัม) เท่ากับ 39.00 ± 4.92 เปอร์เซ็นต์ พบว่าไม่มีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติกับปลาที่เลี้ยงด้วยอาหารทดลองสูตรที่ 3 ($p > 0.05$) แต่มีความแตกต่างกับปลาที่เลี้ยงด้วยอาหารทดลองสูตรที่ 1 4 และ 5 อย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p < 0.05$) ดังนั้นการจับกินสิ่งแปลกปลอมของปลาที่เลี้ยงด้วยอาหารทดลองสูตรที่ 2 (ALA 2.5 มิลลิกรัมต่อกิโลกรัม) มีค่าเท่ากับ 25.77 ± 7.72 ซึ่งสูงกว่าอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p < 0.05$) กับปลาที่เลี้ยงด้วยอาหารทดลองสูตรที่ 3 4 1 และ 5 ตามลำดับ ค่าเฉลี่ยเม็ดบิที่ถูกเม็ดเลือดขาวจับกินของปลาสายพันธุ์ที่เลี้ยงด้วยอาหารทดลองสูตรที่ 2 (ALA 2.5 มิลลิกรัมต่อกิโลกรัม) มีค่าสูงสุดเท่ากับ 1.67 ± 0.07 เม็ดต่อเซลล์ ซึ่งไม่มีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติกับปลาที่เลี้ยงด้วยอาหารทดลองสูตรที่ 3 ($p > 0.05$) แต่มีค่าสูงกว่าปลาที่เลี้ยงด้วยอาหารทดลองสูตรที่ 1 4 และ 5 อย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p < 0.05$) (ตารางที่ 2)

การศึกษารังสีไม่พบความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p > 0.05$) ของปริมาณโปรตีนในซีรัม กิจกรรมของเอนไซม์ไลโซไซม์ และกิจกรรม respiratory burst ของปลาสายพันธุ์ที่เลี้ยงด้วยอาหารทดลองผสม ALA ที่ระดับต่าง ๆ เป็นระยะเวลา 4 สัปดาห์ (ตารางที่ 2)

3. ผลของ ALA ต่อองค์ประกอบเลือดและระบบภูมิคุ้มกันของปลาสร้อยปรับปรุงสายพันธุ์ที่เลี้ยงเป็นระยะเวลา 8 สัปดาห์

ปลาสร้อยปรับปรุงสายพันธุ์ที่เลี้ยงด้วยอาหารทดลองสูตรที่ 1 (ชุดควบคุม) เป็นระยะเวลา 8 สัปดาห์ มีปริมาณฮีโมโกลบินรวม ฮีมาโตคริต และโปรตีนในซีรัมสูงสุดที่ระดับ 14.18 ± 0.77 กรัมต่อเดซิลิตร 39.58 ± 1.38 เปอร์เซ็นต์ และ 47.56 ± 4.25 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร ตามลำดับ ซึ่งมีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p < 0.05$) กับปลาที่เลี้ยงด้วยอาหารผสม ALA ที่ระดับความเข้มข้น 10 มิลลิกรัมต่อกิโลกรัม (ชุดการทดลองที่ 5) ที่มีปริมาณฮีโมโกลบินรวม ฮีมาโตคริต และโปรตีนในซีรัม เท่ากับ 12.73 ± 0.84 กรัมต่อเดซิลิตร 34.35 ± 3.98 เปอร์เซ็นต์ และ 39.62 ± 3.57 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร ตามลำดับ

ปลาที่เลี้ยงด้วยอาหารสูตรที่ 5 (ALA 10 มิลลิกรัมต่อกิโลกรัม) มีค่าเฉลี่ยกิจกรรม respiratory burst สูงสุดเท่ากับ 0.211 ± 0.057 ซึ่งไม่มีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p > 0.05$) กับปลาที่เลี้ยงด้วยอาหารทดลองสูตรที่ 4 แต่มีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p < 0.05$) กับปลาที่เลี้ยงด้วยอาหารทดลองสูตรที่ 1 (ชุดควบคุม) 2 และ 3 (ตารางที่ 3) ดัชนีการจับกิน สิ่งแปลกปลอมของปลาสร้อยปรับปรุงสายพันธุ์มีค่าสูงสุดในปลาที่เลี้ยงด้วยอาหารทดลองสูตรที่ 5 (ALA 10 มิลลิกรัมต่อกิโลกรัม) และมีความแตกต่างจากปลาที่ได้รับอาหารชุดควบคุมอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p < 0.05$) การศึกษาในครั้งนี้ไม่พบความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p > 0.05$) ของ ปริมาณเม็ดเลือดแดง ปริมาณเม็ดเลือดขาว กิจกรรมเอนไซม์ไลโซไซม์ กิจกรรมการจับกินสิ่งแปลกปลอม และค่าเฉลี่ยเม็ดบีดที่ถูกลูกเม็ดเลือดขาวจับกินในระยะเวลา 8 สัปดาห์ ในปลาทุกชุดการทดลอง

อภิปรายผลการวิจัย

ALA เป็นสารชีวภาพที่ไม่เป็นอันตรายต่อมนุษย์และสัตว์ สามารถกระตุ้นการเจริญเติบโตของพืชและสัตว์หลายชนิด (Tanaka *et al.*, 1992; Chen *et al.*, 2008; Wang *et al.*, 2011) การศึกษาผลของการเสริม ALA ในอาหารที่ระดับความเข้มข้นต่าง ๆ ต่อการเจริญเติบโตของปลาสร้อยปรับปรุงสายพันธุ์ พบว่าปลาสร้อยปรับปรุงสายพันธุ์ที่ใช้ในการศึกษาครั้งนี้มีการเจริญเติบโตปกติ โดยมีอัตราการเจริญเติบโตจำเพาะ ($2.24-2.61$ เปอร์เซ็นต์ต่อวัน) และอัตราการเปลี่ยนอาหารเป็นเนื้อ ($1.02-1.19$) ใกล้เคียงกับรายงานของวิสุต และคณะ (2562) ที่ศึกษาการแทนที่ปลาปนด้วยแหล่งโปรตีนจากพืชในอาหารปลาสร้อยลูกผสมเป็นระยะเวลา 8 สัปดาห์ พบว่าปลาทดลองมีอัตราการเจริญเติบโตจำเพาะ ($1.77-2.63$ เปอร์เซ็นต์ต่อวัน) และอัตราการเปลี่ยนอาหารเป็นเนื้อ ($1.12-1.50$) การศึกษาครั้งนี้พบว่าในระยะเวลา 4 สัปดาห์แรก ปลาที่เลี้ยงด้วยอาหารผสม ALA 2.5 มิลลิกรัมต่อกิโลกรัม มีการเจริญเติบโตดีที่สุดอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p < 0.05$) เมื่อเปรียบเทียบกับปลาในชุดการทดลองอื่น ๆ ทั้งนี้เนื่องจาก ALA มีคุณสมบัติเป็นสารตั้งต้นในการสังเคราะห์ฮีม (heme) โดยเอนไซม์ ALA synthase ทำหน้าที่สังเคราะห์ ALA จากกรดอะมิโนไกลซีนและซัคซินิลโคเอน จากนั้น ALA จะถูกสังเคราะห์โดยกระบวนการทางชีวเคมีอีกหลายขั้นตอนจนเปลี่ยนเป็นโปรโตพอร์ไฟริน (protoporphyrin IX) ซึ่งจะถูเอนไซม์เฟอร์โรคีเลตาส (ferrochelatase) เปลี่ยนเป็นฮีม ภายใต

สถานะที่มีเหล็กในปฏิกิริยา (Zhang *et al.*, 2011) ในสารประกอบฮีมมีโมเลกุลของธาตุเหล็กเป็นองค์ประกอบ เมื่อฮีมรวมตัวกับโปรตีนโกลบิน (globin) กลายเป็นสารประกอบฮีมโกลบินในเม็ดเลือดแดง ซึ่งทำหน้าที่ในการลำเลียงออกซิเจนไปยังเซลล์ต่าง ๆ เพื่อใช้ในกระบวนการเมแทบอลิซึมเพื่อสร้างพลังงานสำหรับการเจริญเติบโต และซ่อมแซมส่วนที่สึกหรอ ดังนั้นการเสริมอาหารด้วย ALA ในความเข้มข้นที่เหมาะสมจึงทำให้ปลามีการเจริญเติบโตที่ดี ผลการศึกษาค้นคว้าของ Yan and Kim (2011) ที่รายงานผลของการเสริม ALA ร่วมกับโคโคอีลิกแซคาไรด์ต่ออัตราการเจริญเติบโต ประสิทธิภาพการย่อยอาหาร และองค์ประกอบเลือดในลูกสุกรพันธุ์ลูกผสม พบว่าลูกสุกรที่เลี้ยงด้วยอาหารเสริม ALA ที่ระดับความเข้มข้น 3 มิลลิกรัมต่อกิโลกรัม เป็นระยะเวลา 2-5 สัปดาห์ มีอัตราการเจริญเติบโตเฉลี่ยสูงสุดอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p < 0.05$) เมื่อเปรียบเทียบกับลูกสุกรที่เลี้ยงด้วยอาหารทดลองสูตรอื่น

การศึกษามูลของการเสริม ALA ที่ระดับความเข้มข้นต่าง ๆ ในอาหารปลาสาวยปรับปรุงสายพันธุ์เป็นระยะเวลา 8 สัปดาห์ พบว่าการเจริญเติบโตของปลาที่เลี้ยงด้วยอาหารทดลองเสริมด้วย ALA ทั้ง 5 สูตรไม่มีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p > 0.05$) ซึ่งให้เห็นว่าการใช้ ALA เป็นระยะเวลานานเกินไป ไม่ส่งเสริมการเจริญเติบโตของปลา ทั้งนี้อาจเนื่องจากระบบต่าง ๆ ภายในร่างกายของสิ่งมีชีวิต โดยเฉพาะอย่างยิ่งในสัตว์ จำเป็นต้องใช้สารอาหารและพลังงาน ดังนั้นเมื่อใช้สารกระตุ้นภูมิคุ้มกันต่อเนื่องเป็นระยะเวลานาน พลังงานและสารอาหารถูกนำมาใช้ในระบภูมิคุ้มกัน จึงทำให้ระบบอื่น ๆ ภายในร่างกายได้รับสารอาหารและพลังงานไม่เพียงพอ ส่งผลให้อัตราการเจริญเติบโตช้าลง (Spurlock, 1997) ผลการศึกษาค้นคว้านี้ใกล้เคียงกับรายงานของ Wang *et al.* (2011) ที่ศึกษาผลของ ALA ต่อการเจริญเติบโต ค่าองค์ประกอบเลือด และการตอบสนองของระบบภูมิคุ้มกันในลูกสุกรหย่านม พบว่า ALA ที่เสริมลงในอาหารไม่มีผลต่ออัตราการเจริญเติบโตในลูกสุกรหย่านมที่เลี้ยงเป็นระยะเวลา 6 สัปดาห์

การศึกษากการเปลี่ยนแปลงองค์ประกอบเลือดและภูมิคุ้มกันของปลาสาวยปรับปรุงสายพันธุ์ที่ได้รับอาหารผสม ALA ที่ระดับความเข้มข้นต่าง ๆ พบว่าผลการทดลองมีความสอดคล้องกับการเจริญเติบโต โดยปลาที่เลี้ยงด้วยอาหารผสม ALA 2.5 มิลลิกรัมต่อกิโลกรัม เป็นระยะเวลา 4 สัปดาห์ มีปริมาณเม็ดเลือดแดง ฮีมโกลบินรวม และฮีมาโตคริตสูงสุด แตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p < 0.05$) กับปลาชุดควบคุม ทั้งนี้เนื่องจาก ALA เป็นสารตั้งต้นในกระบวนการสังเคราะห์ฮีม (heme) (Zhang *et al.*, 2011) ดังนั้นการผสม ALA ที่ระดับความเข้มข้น 2.5 มิลลิกรัมต่อกิโลกรัม จึงเป็นระดับความเข้มข้นที่เหมาะสม ส่งผลให้ปลามีปริมาณเม็ดเลือดแดง ฮีมโกลบิน และฮีมาโตคริตสูงสุด ใกล้เคียงกับรายงานของ Yan and Kim (2011) พบว่าปริมาณเม็ดเลือดแดงมีค่าสูงที่สุดในลูกสุกรที่เลี้ยงด้วยอาหารเสริม ALA ระดับความเข้มข้น 3 มิลลิกรัมต่อกิโลกรัม เป็นระยะเวลา 5 สัปดาห์ แต่ต่ำกว่าการศึกษาของ Chen *et al.* (2008) ที่รายงานว่าปริมาณเม็ดเลือดแดง ฮีมโกลบินและธาตุเหล็ก มีค่าสูงที่สุดในสุกรที่เลี้ยงด้วยอาหารเสริม ALA ที่ระดับความเข้มข้น 10 มิลลิกรัมต่อกิโลกรัม ทั้งในสัปดาห์ที่ 3 และสัปดาห์ที่ 5 ของการทดลอง

ตารางที่ 1 น้ำหนักเริ่มต้น น้ำหนักสุดท้าย น้ำหนักที่เพิ่มขึ้น (WG) อัตราการเจริญเติบโตจำเพาะ (SGR) และอัตราการเปลี่ยนอาหารเป็นเนื้อ (FCR) ของปลา
 สวายปรับปรุงสายพันธุ์ที่เลี้ยงด้วยอาหารทดลองผสม ALA ที่ระดับความเข้มข้นต่าง ๆ เป็นระยะเวลา 4 และ 8 สัปดาห์

ชุดการทดลอง	4 สัปดาห์					8 สัปดาห์			
	น้ำหนัก เริ่มต้น	น้ำหนัก สุดท้าย	น้ำหนักที่ เพิ่มขึ้น	อัตราการ เจริญเติบโต จำเพาะ	อัตราการ เปลี่ยนอาหาร เป็นเนื้อ	น้ำหนัก สุดท้าย	น้ำหนักที่ เพิ่มขึ้น	อัตราการ เจริญเติบโต จำเพาะ	อัตราการ เปลี่ยนอาหาร เป็นเนื้อ
	(กรัม)	(กรัม)	(เปอร์เซ็นต์)	(เปอร์เซ็นต์ต่อวัน)		(กรัม)	(เปอร์เซ็นต์)	(เปอร์เซ็นต์ต่อวัน)	
1) 0 มิลลิกรัมต่อกิโลกรัม	7.74±0.02 ^{ns}	11.58±0.13 ^b	49.37±1.48 ^b	1.35±0.03 ^b	1.44±0.17 ^b	16.92±1.19 ^{ns}	53.93±5.24 ^{ns}	2.60±0.39 ^{ns}	1.13±0.11 ^{ns}
2) 2.5 มิลลิกรัมต่อกิโลกรัม	7.73±0.00 ^{ns}	13.38±0.26 ^c	72.96±3.34 ^c	1.83±0.06 ^c	1.00±0.08 ^a	15.18±1.15 ^{ns}	46.83±3.74 ^{ns}	2.24±0.26 ^{ns}	1.19±0.09 ^{ns}
3) 5.0 มิลลิกรัมต่อกิโลกรัม	7.74±0.00 ^{ns}	10.80±0.42 ^a	39.61±5.45 ^a	1.11±0.13 ^a	1.73±0.23 ^c	15.53±3.78 ^{ns}	48.04±3.37 ^{ns}	2.25±0.24 ^{ns}	1.18±0.22 ^{ns}
4) 7.5 มิลลิกรัมต่อกิโลกรัม	7.73±0.00 ^{ns}	11.03±0.20 ^a	42.58±2.63 ^a	1.18±0.06 ^a	1.55±0.23 ^{bc}	15.82±0.31 ^{ns}	49.27±3.36 ^{ns}	2.40±0.07 ^{ns}	1.08±0.09 ^{ns}
5) 10.0 มิลลิกรัมต่อ กิโลกรัม	7.74±0.00 ^{ns}	11.15±0.63 ^{ab}	44.12±8.15 ^{ab}	1.21±0.19 ^a	1.72±0.21 ^c	16.89±0.62 ^{ns}	54.14±1.67 ^{ns}	2.61±0.12 ^{ns}	1.02±0.10 ^{ns}

หมายเหตุ: ค่าเฉลี่ย ± ส่วนเบี่ยงเบนมาตรฐาน ค่าเฉลี่ยที่กำกับด้วยตัวอักษรต่างกันในสัปดาห์เดียวกัน แสดงว่ามีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ที่ระดับความเชื่อมั่น 95 เปอร์เซ็นต์ ($p < 0.05$)

ns ไม่มีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p > 0.05$)

ตารางที่ 2 ปริมาณเม็ดเลือดแดงและเม็ดเลือดขาว ฮีโมโกลบิน ฮีมาโตคริต โปรตีนในซีรัม กิจกรรมของเอนไซม์ไลโซไซม์ กิจกรรม respiratory burst และ กิจกรรมการจับกินสิ่งแปลกปลอม ของปลาสวายปรับปรุงสายพันธุ์ที่เลี้ยงด้วยอาหารทดลองผสม ALA ที่ระดับความเข้มข้นต่าง ๆ เป็นระยะเวลา 4 สัปดาห์

พารามิเตอร์	ชุดการทดลอง				
	0 มิลลิกรัมต่อกิโลกรัม	2.5 มิลลิกรัมต่อกิโลกรัม	5.0 มิลลิกรัมต่อกิโลกรัม	7.5 มิลลิกรัมต่อกิโลกรัม	10.0 มิลลิกรัมต่อกิโลกรัม
องค์ประกอบเลือด					
เม็ดเลือดแดง ($\times 10^9$ เซลล์ต่อมิลลิลิตร)	2.65 $\pm$ 0.11 ^a	2.90 $\pm$ 0.07 ^b	2.82 $\pm$ 0.12 ^{ab}	2.70 $\pm$ 0.12 ^a	2.66 $\pm$ 0.22 ^a
เม็ดเลือดขาว ($\times 10^7$ เซลล์ต่อมิลลิลิตร)	3.79 $\pm$ 0.70 ^a	4.95 $\pm$ 0.39 ^c	4.77 $\pm$ 0.11 ^{bc}	4.24 $\pm$ 0.10 ^{abc}	3.95 $\pm$ 0.51 ^{ab}
ฮีโมโกลบินรวม (กรัมต่อเดซิลิตร)	11.44 $\pm$ 0.55 ^a	15.85 $\pm$ 1.43 ^c	12.66 $\pm$ 0.60 ^b	12.64 $\pm$ 0.68 ^b	11.55 $\pm$ 0.59 ^a
ฮีมาโตคริต (เปอร์เซ็นต์)	32.78 $\pm$ 1.59 ^a	42.61 $\pm$ 1.79 ^c	38.23 $\pm$ 1.51 ^b	38.12 $\pm$ 2.02 ^b	36.16 $\pm$ 2.39 ^b
โปรตีนในซีรัม (มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร)	49.60 $\pm$ 4.11 ^{ns}	55.82 $\pm$ 5.74 ^{ns}	52.53 $\pm$ 6.90 ^{ns}	45.19 $\pm$ 5.20 ^{ns}	44.81 $\pm$ 7.78 ^{ns}
เอนไซม์ไลโซไซม์ (ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร)	11.08 $\pm$ 2.82 ^{ns}	12.85 $\pm$ 2.80 ^{ns}	10.90 $\pm$ 3.58 ^{ns}	11.09 $\pm$ 2.19 ^{ns}	10.85 $\pm$ 2.04 ^{ns}
กิจกรรม respiratory burst	0.126 $\pm$ 0.02 ^{ns}	0.136 $\pm$ 0.027 ^{ns}	0.138 $\pm$ 0.011 ^{ns}	0.124 $\pm$ 0.013 ^{ns}	0.113 $\pm$ 0.008 ^{ns}
กิจกรรมการจับกินสิ่งแปลกปลอม					
กิจกรรมการจับกินสิ่งแปลกปลอม (เปอร์เซ็นต์)	32.50 $\pm$ 1.32 ^a	39.00 $\pm$ 4.92 ^b	34.67 $\pm$ 2.75 ^{ab}	32.67 $\pm$ 1.76 ^a	31.83 $\pm$ 1.61 ^a
ดัชนีการจับกินสิ่งแปลกปลอม	15.20 $\pm$ 1.99 ^a	25.77 $\pm$ 7.72 ^b	18.47 $\pm$ 3.69 ^a	15.47 $\pm$ 1.19 ^a	14.49 $\pm$ 1.32 ^a
ค่าเฉลี่ยของเม็ดบีดที่ถูกจับกิน (เม็ดต่อเซลล์)	1.43 $\pm$ 0.08 ^a	1.67 $\pm$ 0.07 ^b	1.60 $\pm$ 0.06 ^b	1.45 $\pm$ 0.05 ^a	1.42 $\pm$ 0.11 ^a

หมายเหตุ: ค่าเฉลี่ย $\pm$ ส่วนเบี่ยงเบนมาตรฐาน ค่าเฉลี่ยที่กำกับด้วยตัวอักษรต่างกันแถวเดียวกัน แสดงว่ามีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ที่ระดับความเชื่อมั่น 95 เปอร์เซ็นต์ ($p < 0.05$)
 ns ไม่มีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p > 0.05$)

ตารางที่ 3 ปริมาณเม็ดเลือดแดงและเม็ดเลือดขาว ฮีโมโกลบิน ฮีมาโตคริต โปรตีนในซีรัม กิจกรรมของเอนไซม์ไลโซไซม์ กิจกรรม respiratory burst และ กิจกรรมการจับกินสิ่งแปลกปลอม ของปลาสวายปรับปรุงสายพันธุ์ที่เลี้ยงด้วยอาหารทดลองผสม ALA ที่ระดับความเข้มข้นต่าง ๆ เป็นระยะเวลา 8 สัปดาห์

พารามิเตอร์	ชุดการทดลอง				
	0 มิลลิกรัมต่อกิโลกรัม	2.5 มิลลิกรัมต่อกิโลกรัม	5.0 มิลลิกรัมต่อกิโลกรัม	7.5 มิลลิกรัมต่อกิโลกรัม	10.0 มิลลิกรัมต่อกิโลกรัม
องค์ประกอบเลือด					
เม็ดเลือดแดง ($\times 10^9$ เซลล์ต่อมิลลิลิตร)	3.23 $\pm$ 0.38 ^{ns}	3.19 $\pm$ 0.34 ^{ns}	3.07 $\pm$ 0.11 ^{ns}	2.99 $\pm$ 0.20 ^{ns}	2.91 $\pm$ 0.21 ^{ns}
เม็ดเลือดขาว ($\times 10^7$ เซลล์ต่อมิลลิลิตร)	4.33 $\pm$ 0.55 ^{ns}	4.69 $\pm$ 0.63 ^{ns}	4.43 $\pm$ 0.63 ^{ns}	4.51 $\pm$ 0.40 ^{ns}	4.54 $\pm$ 0.80 ^{ns}
ฮีโมโกลบินรวม (กรัมต่อเดซิลิตร)	14.18 $\pm$ 0.77 ^b	14.12 $\pm$ 0.92 ^b	14.11 $\pm$ 1.12 ^b	13.39 $\pm$ 1.07 ^{ab}	12.73 $\pm$ 0.84 ^a
ฮีมาโตคริต (เปอร์เซ็นต์)	39.58 $\pm$ 1.38 ^b	39.36 $\pm$ 3.40 ^b	38.38 $\pm$ 3.31 ^b	36.97 $\pm$ 2.27 ^{ab}	34.35 $\pm$ 3.98 ^a
โปรตีนในซีรัม (มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร)	47.56 $\pm$ 4.25 ^b	47.51 $\pm$ 3.49 ^b	47.38 $\pm$ 4.99 ^b	44.10 $\pm$ 4.52 ^b	39.62 $\pm$ 3.57 ^a
เอนไซม์ไลโซไซม์ (ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร)	11.84 $\pm$ 2.78 ^{ns}	11.56 $\pm$ 1.41 ^{ns}	11.85 $\pm$ 1.78 ^{ns}	12.53 $\pm$ 2.49 ^{ns}	12.61 $\pm$ 2.02 ^{ns}
กิจกรรม respiratory burst	0.148 $\pm$ 0.05 ^a	0.163 $\pm$ 0.027 ^{ab}	0.167 $\pm$ 0.018 ^{ab}	0.197 $\pm$ 0.046 ^{bc}	0.211 $\pm$ 0.057 ^c
กิจกรรมการจับกินสิ่งแปลกปลอม					
กิจกรรมการจับกินสิ่งแปลกปลอม (เปอร์เซ็นต์)	29.50 $\pm$ 3.08 ^{ns}	31.83 $\pm$ 0.76 ^{ns}	32.33 $\pm$ 1.26 ^{ns}	32.50 $\pm$ 1.00 ^{ns}	35.50 $\pm$ 1.05 ^{ns}
ดัชนีการจับกินสิ่งแปลกปลอม	16.81 $\pm$ 3.60 ^a	20.37 $\pm$ 1.79 ^{ab}	21.09 $\pm$ 1.48 ^{ab}	21.69 $\pm$ 1.60 ^{ab}	25.81 $\pm$ 2.45 ^b
ค่าเฉลี่ยของเม็ดบีดที่ถูกจับกิน (เม็ดต่อเซลล์)	1.91 $\pm$ 0.12 ^{ns}	2.01 $\pm$ 0.07 ^{ns}	2.02 $\pm$ 0.11 ^{ns}	2.05 $\pm$ 0.04 ^{ns}	2.05 $\pm$ 0.15 ^{ns}

หมายเหตุ: ค่าเฉลี่ย $\pm$ ส่วนเบี่ยงเบนมาตรฐาน ค่าเฉลี่ยที่กำกับด้วยตัวอักษรต่างกันแถวเดียวกัน แสดงว่ามีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ที่ระดับความเชื่อมั่น 95 เปอร์เซ็นต์ ($p < 0.05$)
 ns ไม่มีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p > 0.05$)

การศึกษาครั้งนี้พบว่าปลาสาวยปรับปรุงสายพันธุ์ที่เลี้ยงด้วยอาหารทดลองเสริมด้วย ALA ที่ระดับความเข้มข้น 2.5 มิลลิกรัมต่อกิโลกรัม เป็นระยะเวลา 4 สัปดาห์ มีปริมาณเม็ดเลือดขาว การจับกิน สิ่งแปลกปลอม ดัชนีการจับกินสิ่งแปลกปลอม และค่าเฉลี่ยเม็ดบีทที่ถูกเม็ดเลือดขาวจับกินสูงสุดอย่าง มีนัยสำคัญทางสถิติ ($p < 0.05$) เมื่อเปรียบเทียบกับปลาที่เลี้ยงด้วยอาหารชุดควบคุม สอดคล้องกับ รายงานของ Chen *et al.* (2008) ที่รายงานว่า ALA ที่เสริมในอาหารระดับความเข้มข้นต่ำสุดที่ใช้ในการทดลองคือ 5 มิลลิกรัมต่อกิโลกรัม สามารถเพิ่มปริมาณเม็ดเลือดขาวในสุกรได้สูงสุดในสัปดาห์ที่ 5 และรายงานของ Sato *et al.* (2012) ที่ศึกษาผลของการเสริม ALA ในอาหารต่อการเจริญเติบโตและการตอบสนองของระบบภูมิคุ้มกันในลูกไก่ พบว่าลูกไก่ที่เลี้ยงด้วยอาหารทดลองเสริมด้วย ALA ที่ระดับความเข้มข้นต่ำสุดที่ใช้ในการทดลอง (0.001 เปอร์เซ็นต์) มีกิจกรรมการจับกินสิ่งแปลกปลอม สูงสุด และมีความแตกต่างกับลูกไก่ที่เลี้ยงด้วยอาหารชุดควบคุมอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p < 0.05$) อย่างไรก็ตามการศึกษานี้แตกต่างกับรายงานของ Mateo *et al.* (2006) ที่ศึกษาผลของการเสริม ALA ต่อการเจริญเติบโต ค่าองค์ประกอบเลือดและการตอบสนองของระบบภูมิคุ้มกันในลูกสุกร พบว่าการเสริม ALA ลงในอาหารสามารถเพิ่มปริมาณเม็ดเลือดแดง แต่ไม่มีผลต่อการเพิ่มจำนวนเม็ดเลือดขาวในลูกสุกร

การศึกษาการเปลี่ยนแปลงองค์ประกอบเลือดและภูมิคุ้มกันของปลาสาวยปรับปรุงสายพันธุ์ ที่ได้รับอาหารผสม ALA ที่ระดับความเข้มข้นต่าง ๆ เป็นระยะเวลา 8 สัปดาห์ พบว่าปลาที่ได้รับอาหารผสม ALA ที่ระดับความเข้มข้น 10 มิลลิกรัมต่อกิโลกรัม มีปริมาณฮีโมโกลบินรวม ฮีมาโตคริต และโปรตีนในซีรัมลดลงตามปริมาณ ALA ที่เสริมในอาหารอย่างมีนัยสำคัญ ($p < 0.05$) ทั้งนี้อาจเนื่องจากการเสริม ALA ในอาหารทดลองเป็นเวลานาน มีผลกระทบต่องานการส่งออกของ เอนไซม์ฮีม ออกซีจีเนส-1 (heme oxygenase-1) โดย Ito *et al.* (2018) พบว่าการใช้ ALA ร่วมกับ โซเดียมเฟอรัสไซเตรท สามารถชักนำให้เกิดการส่งออกของเอนไซม์ฮีม ออกซีจีเนส-1 ในเซลล์เม็ดเลือดของมนุษย์ได้ โดยเอนไซม์ดังกล่าวสามารถย่อยสลายฮีมให้กลายเป็นบิลิเวอร์ดิน (biliverdin) คาร์บอนมอนอกไซด์ (carbon monoxide) และเหล็ก (iron) (Ryter *et al.*, 2006) เมื่อฮีมถูกย่อยสลาย จึงส่งผลให้ปลาที่มีปริมาณฮีโมโกลบินรวม ฮีมาโตคริต และโปรตีนในซีรัมลดลง อย่างไรก็ตามสาร บิลิเวอร์ดิน ที่ได้จะถูกเอนไซม์บิลิเวอร์ดิน รีดักเตส (biliverdin reductase) รีดิวซ์และเปลี่ยนเป็น บิลิรูบิน (bilirubin) โดยทั้งบิลิเวอร์ดิน/บิลิรูบิน และคาร์บอนมอนอกไซด์มีคุณสมบัติเป็นสารต้านอนุมูลอิสระ (Ryter *et al.*, 2006)

การศึกษาโดย Immenschuh *et al.* (2003) พบว่า ALA สามารถกระตุ้นการส่งออกของเอนไซม์ฮีม ออกซีจีเนส-1 ในเซลล์มาโครฟาจซึ่งทำหน้าที่จับกินสิ่งแปลกปลอม สอดคล้องกับการศึกษาครั้งนี้ที่พบว่าปลาที่เลี้ยงด้วยอาหารทดลองสูตรที่ 5 (ALA 10 มิลลิกรัมต่อกิโลกรัม) มีดัชนีการจับกินสิ่งแปลกปลอมสูงสุดต่างอย่างมีนัยสำคัญ ($p < 0.05$) เมื่อเปรียบเทียบกับปลาชุดควบคุม ซึ่งให้เห็นว่าการเลี้ยงปลาด้วยอาหารเสริม ALA สามารถกระตุ้นระบบภูมิคุ้มกันชนิดเซลล์แบบไม่จำเพาะเจาะจงได้

สรุปผลการวิจัย

การศึกษาผลของ ALA ที่ผลิตจากแบคทีเรียสังเคราะห์แสง *R. palustris* JP225 ต่อการเจริญเติบโตและการตอบสนองของภูมิคุ้มกันในปลาสวายปรับปรุงสายพันธุ์พบว่า การเสริม ALA ระดับความเข้มข้น 2.5 มิลลิกรัมต่อกิโลกรัม เป็นระยะเวลา 4 สัปดาห์ สามารถส่งเสริมการเจริญเติบโต และการตอบสนองของระบบภูมิคุ้มกันในปลาสวายปรับปรุงสายพันธุ์ได้ นอกจากนี้ การเสริม ALA ในอาหารปลาสวายปรับปรุงสายพันธุ์เป็นระยะเวลา 8 สัปดาห์ ไม่มีผลต่อการเจริญเติบโตของปลา แต่ส่งผลต่อการเปลี่ยนแปลงภูมิคุ้มกันในปลาสวายปรับปรุงสายพันธุ์

กิตติกรรมประกาศ

คณะผู้วิจัยขอขอบคุณ ดร.นันทน์ นันทพงศ์ คุณอัครวิทย์ อิสสระโร และคุณมัทสิน แดงเวงงาม ที่ให้ความช่วยเหลือในการเตรียมอาหารทดลอง และการวิเคราะห์องค์ประกอบเลือดปลา

เอกสารอ้างอิง

- เกรียงศักดิ์ เม่งอำพัน ดวงพร อมรเลิศพิศาล สุตาพร ตงศิริ และอุดมลักษณ์ สมพงศ์. (2554). ระบบการเลี้ยงปลาบึกและปลาหนังลูกผสมที่มีประสิทธิภาพ. *รายงานผลงานวิจัย*. สำนักวิจัยและส่งเสริมวิชาการการเกษตร และสำนักงานคณะกรรมการวิจัยแห่งชาติ.
- เกรียงศักดิ์ เม่งอำพัน จิตรลดา สอนตะโก และดวงพร อมรเลิศพิศาล. (2555). ผลของสาหร่ายสไปรูลินาต่อการเจริญเติบโตและการเจริญพันธุ์ของพ่อแม่พันธุ์ของปลาหนังกลุ่ม *Pangasius* และการอนุบาลปลาหนัง 4 สายพันธุ์ในกระชัง. *วารสารเทคโนโลยีการประมง*, 5(2), 12-26.
- วิศรุต ช่อเส้ง นันทน์ นันทพงศ์ และวุฒิพร พรหมขุนทอง. (2562). การแทนที่ปลาป่นด้วยแหล่งโปรตีนจากพืชในอาหารปลาสวายลูกผสม. *แก่นเกษตร*, 47(2), 281-292.
- อมรรัตน์ ตั้งประสิทธิภาพ. (2549). *การผลิตกรด 5-อะมิโนลิวูลินิกภายในเซลล์จาก Rhodobacter sphaeroides SH5 และผลต่อการเจริญเติบโตและกลไกการป้องกันตนเองของกุ้งกุลาดำ (Penaeus monodon)*. วิทยานิพนธ์ปรัชญาดุษฎีบัณฑิต. มหาวิทยาลัยสงขลานครินทร์, สงขลา.
- Chen, Y.J., Kim, I.H., Cho, J.H., Min, B.J., Yoo, J.S. and Wang, Q. (2008). Effect of δ -aminolevulinic acid on growth performance, nutrient digestibility, blood parameters and the immune response of weanling pigs challenged with *Escherichia coli* lipopolysaccharide. *Livestock Science*, 114(1), 108-116.
- Chung, S. and Secombes, C.J. (1988). Analysis of events occurring within teleost macrophages during the respiratory burst. *Comparative Biochemistry and Physiology Part B: Comparative Biochemistry*, 89(3), 539-544.

- Immenschuh, S., Baumgart-Vogt, E., Tan, M., Iwahara, S., Ramadori, G. and Fahimi, H.D. (2003). Differential cellular and subcellular localization of heme-binding protein 23/peroxiredoxin I and heme oxygenase-1 in rat liver. *Journal of Histochemistry and Cytochemistry*, 51(12), 1621-1631.
- Ito, H., Nishio, Y., Hara, T., Sugihara, H., Tanaka, T. and Li, X.K. (2018). Oral administration of 5-aminolevulinic acid induces heme oxygenase-1 expression in peripheral blood mononuclear cells of healthy human subjects in combination with ferrous ion. *European Journal of Pharmacology*, 833, 25-33.
- Kiatpapan, P., Phonghatsabun, M., Yamashita, M., Murooka, Y. and Panbangred, W. (2011). Production of 5-aminolevulinic acid by *Propionibacterium acidipropionici* TISTR 442. *Journal of Bioscience and Bioengineering*, 111(4), 425-428.
- Klein, O., Dornemann, D. and Senger, H. (1980). Two biosynthetic pathways to 5-aminolevulinic acid in algae. *International Journal of Biochemistry*, 12(5-6), 725-728.
- Liu, S., Zhang, G., Li, J., Li, X. and Zhang, J. (2016). Optimization of biomass and 5-aminolevulinic acid production by *Rhodobacter sphaeroides* ATCC17023 via response surface methodology. *Applied Biochemistry and Biotechnology*, 179(3), 444-458.
- Mateo, R.D., Morrow, J.L., Dailey, J.W., Ji, F. and Kim, S.W. (2006). Use of δ -aminolevulinic acid in swine diet: Effect on growth performance, behavioral characteristics and hematological/immune status in nursery pigs. *Asian-Australasian Journal of Animal Sciences*, 19(1), 97-101.
- Mauzerall, D. and Granick, S. (1956). The occurrence and determination of δ -aminolevulinic acid and porphobilinogen in urine. *Journal of Biological Chemistry*, 219(1), 435-446.
- Rengpipat, S., Rukpratanporn, S., Piyatiratitivorakul, S. and Menasaveta, P. (2000). Immunity enhancement in black tiger shrimp (*Penaeus monodon*) by a probiont bacterium (*Bacillus* S11). *Aquaculture*, 191(4), 271-288.
- Ryter, S.W., Alam, J. and Choi, M.K. (2006). Heme oxygenase-1/carbon monoxide: from basic science to therapeutic applications. *Physiological Review*, 86(2), 583-650.
- Saikeur, A., Choorit, W., Prasertsan, P., Kantachote, D. and Sasaki, K. (2009). Influence of precursors and inhibitor on the production of extracellular 5-aminolevulinic acid: and biomass by *Rhodopseudomonas palustris* KG31. *Bioscience Biotechnology and Biochemistry*, 73(5), 987-992.

- Sasaki, K., Watanbe, K., Tanaka, T., Hotta, Y. and Nagai, S. (1995). 5-aminolevulinic acid production by *Chlorella* sp. during heterotrophic cultivation in the dark. *World Journal of Microbiology and Biotechnology*, 11(3), 361-362.
- Sato, K., Matsushita, K., Aoki, M., Fuziwara, J., Miyanari, S. and Kamada, T. (2012). Dietary supplementation with 5-aminolevulinic acid modulates growth performance and inflammatory response in broiler chickens. *Poultry Science*, 91(7), 1582-1589.
- Spurlock, M.E. (1997). Regulation of metabolism and growth during immune challenge: an overview of cytokine function. *Journal of Animal Science*, 75(7), 1773-1783.
- Suwannasang, A., Dangwetngam, M., Issaro, A., Phromkunthong and Suanyuk, N. (2014). Pathological manifestations and immune responses of serotypes Ia and III *Streptococcus agalactiae* and infections in Nile tilapia (*Oreochromis niloticus*). *Songklanakarin Journal of Science and Technology*, 36(5), 499-506.
- Tanaka, T., Takahashi, K., Hotta, T., Takeuchi, Y. and Konnai, M. (1992). Promotive effect 5-aminolevulinic on yield of several crops. In *Proceedings of the 19th annual meeting of plant growth regulator Society of America, San Francisco* (pp. 237-241). Plant Growth Regulator Society of America. Washington DC.
- Thuvander, A., Norrgren, L. and Fossum, C. (1987). Phagocytic cells in blood from rainbow trout (*Salmo gairdneri* Richardson) characterized by flow cytometry and electronmicroscopy. *Journal of Fish Biology*, 31(2), 197-208.
- Wang, J.P., Jung, J.H. and Kim, I.H. (2011). Effects of dietary supplementation with delta-aminolevulinic acid on growth performance, hematological status, and immune responses of weanling pigs. *Journal Livestock Science*, 140(1), 131-135.
- Yan, L. and Kim, I.H. (2011). Evaluation of dietary supplementation of delta-aminolevulinic acid and chitooligosaccharide on growth performance, nutrient digestibility, blood characteristic and fecal microbial shedding in weaned pigs. *Animal Feed Science and Technology*, 169(3-4), 275-280.
- Younis, E.M., Al-Quffail, A.S., Al-Asgah, N.A., Abdel-Warith, A.A. and Al-Hafedh, Y.S. (2018). Effect of dietary fish meal replacement by red algae, *Gracilaria arcuata*, on growth performance and body composition of Nile tilapia *Oreochromis niloticus*. *Saudi Journal of Biological Sciences*, 25(2), 198-203.
- Zhang, J., Kang, Z., Chen, J. and Du, G. (2015). Optimization of the heme biosynthesis pathway for the production of 5-aminolevulinic acid in *Escherichia coli*. *Scientific Reports*, 5, 8584.
- Zhang, L.W., Fang, Y.P. and Fang, J.Y. (2011). Enhancement techniques for improving 5-aminolevulinic acid delivery through the skin. *Dermatologica Sinica*, 29(1), 1-7.

ความหลากหลายและการกระจายของลูกปลาในพรุควนขี้เสียน จังหวัดพัทลุง

Diversity and Distribution of Juvenile Fishes

in the Khuan Khee Sean Peat Swamp, Phatthalung Province

สุวิมล สี่หิรัญวงศ์^{1*} พิลิฐ ภูมิคง¹ อีรภัทร์ ตงวัฒนากอร์¹ สิริวรรณ สุขศรี¹ และทวนทอง จูทาเกต²
 Suwimon Seehirunwong^{1*} Pisit Phomikong¹ Teerapat Tongwattanakorn¹
 Siriwan Suk Sri¹ and Tuantong Jutagate²

บทคัดย่อ

ศึกษาความหลากหลายและการกระจายของลูกปลาในพื้นที่พรุควนขี้เสียน จังหวัดพัทลุง โดยเก็บตัวอย่างด้วยเครื่องมืออวนรุน ขนาด 1x1x1 เมตร³ ขนาดช่องตา 1 มิลลิเมตร ทุกสองเดือน ระหว่างเดือนสิงหาคม พ.ศ. 2558 ถึงเดือนมิถุนายน พ.ศ. 2559 ใน 6 สถานีสำรวจรอบพื้นที่พรุ โดยมีวัตถุประสงค์เพื่อศึกษาลักษณะทางกายภาพของพรุควนขี้เสียน ประเมินความหลากหลาย ความชุกชุม และการแพร่กระจายของลูกปลา ศึกษาโครงสร้างประชาคมของลูกปลา และประเมินความสัมพันธ์ระหว่างคุณภาพน้ำกับชนิดและปริมาณลูกปลา ผลการศึกษาพบว่า ชนิดลูกปลาที่พบรวมทั้งสิ้น 30 ชนิด จำนวน 14 วงศ์ โดยลูกปลากลุ่มวงศ์ปลาตะเพียนมีความหลากหลายของชนิดพันธุ์มากที่สุดรวม 12 ชนิด และมีปลากริมเพียงชนิดเดียวที่พบในทุกสถานีสำรวจและถูกรอบสำรวจ ค่าผลผลิตทางการประมงพบว่ามีค่าเฉลี่ย 587 ตัวต่อพื้นที่ 100 ตารางเมตร โดยพบปลาหัวตะกั่ว *Aplocheilichthys panchax* ปลาชีวัน *Boraras urophthalmoides* และปลากริม *Trichopsis vittata* เป็นองค์ประกอบของโครงสร้างหลัก ซึ่งพบมากที่สุด 3 ลำดับแรก ดัชนีความหลากหลายมีค่าสูงสุดบริเวณตอนบนของพรุ และในเดือนธันวาคม พ.ศ. 2558 เส้นโค้งลำดับความชุกชุมชี้ให้เห็นว่าความชุกชุมของลูกปลาชนิดหลัก 2-3 ชนิดจะมีสัดส่วนมากกว่าร้อยละ 50 ของความชุกชุมในพื้นที่นั้น ๆ ในส่วนรูปแบบของการรวมกลุ่มของลูกปลาในพื้นที่พรุควนขี้เสียนสามารถแบ่งได้เป็น 4 กลุ่ม ซึ่งสัมพันธ์กับแต่ละช่วงเวลาในรอบปี แต่ไม่พบแนวโน้มที่ชัดเจนต่อความสัมพันธ์กับค่าคุณภาพน้ำ

คำสำคัญ: ความชุกชุม คุณภาพน้ำ รูปแบบการรวมกลุ่ม

¹ กองวิจัยและพัฒนาประมงน้ำจืด กรมประมง

Inland Fisheries Research and Development Division, Department of Fisheries

² คณะเกษตรศาสตร์ มหาวิทยาลัยอุบลราชธานี

Faculty of Agriculture, Ubon Ratchatani University

* Corresponding author: su_4134@yahoo.com

Received: 24 March 2020, Revised: 27 April 2020, Accepted: 5 May 2020

Abstrarct

Diversity and distribution of juvenile fishes in the Khuan Khee Sean peat swamp, Phatthalung province were studied. The samplings were conducted bi-monthly between August 2015 and June 2016 in 6 sampling stations around the peat swamp area by using the push net (1x1x1 m³) with the mesh size of 1 mm. The objectives were to study the characteristics of Khuan Khee Sean peat swamp, to assess the diversity, abundance and distribution of juvenile fish, to study the juvenile fish community structures, and to assess the relationship between water quality parameters, species, and juvenile fish abundances. Thirty juvenile fish species in 14 families were collected with the highest diversity of species from Family Cyprinidae (12 species). Only *Trichopsis vittata* was found in every station and every survey round. The average fishery products were 587 fishes/100 m², in which *Aplocheilichthys panchax*, *Boraras urophthalmoides* and *Trichopsis vittata* were the main elements of the structure as the three most abundance species. Peaks of diversity index were observed in the station at the upper part of the swamp and in the December 2015. The ranked species abundance curves indicated the domination of few species contributed over 50% of cumulative dominance in the area. The assemblage patterns of juvenile fishes in the Khuan Khee Sean peat swamp can be categorized into 4 groups related to the temporal approach. However, there was no clear relationships with the water quality parameters.

Keywords: abundance, water quality, assemblage patterns

Introduction

Tropical peat swamp is a unique ecosystem, which more than 60% is found in Indo-Malayan region and largely in Indonesia and Malaysia (Page *et al.*, 2006; Yule, 2010). In Thailand, the total covered area of the peat swamps (“Phru” in Thai language) is estimated about 64,500 ha, where more than 95% ubiquitously distributed in the southern region and the small portion is in the eastern region (Nagano *et al.*, 2013). Similar to peat swamps elsewhere in the Southeast Asia, this habitat type in Thailand is under threatened, which mostly due to land reclamation and agricultures (Yule, 2010). Water in the peat swamp is always waterlogged and characterized by the acidic and nutrient poor condition. The fishes live in this ecosystem, therefore, must well adapt to this harsh condition, in which some species are monotypic and live exclusively in peat swamps, such as Nieuhof’s walking catfish *Clarias nieuhofii*, Angler catfish

Chaca bankanensis, striped glass catfish *Kryptopterus macrocephalus*, needlefishes *Hemiramphodon pogonognathus* and fighting fish *Betta pi* (Vidthayanon, 2002).

The peat swamp (Phru) is also an important fishing ground in Thailand. A number of peat swamps, e.g. Phru Khuan Khee Sean in Phatthalung Province, Phru Toh Dang in Narathiwat Province, Phru Kaun Kreng in Nakhon Si Thammarat Province and Phru Samed in Trang Province. These peat swamps are underwent the intensive fishing pressures. The fish caught from the Phru Kaun Kreng, for example, are around 3,500 metric tons annually and cost more than 170 million Thai Baht per year (Nakhon Si Thammarat Inland Fisheries Research and Development Center, 2018). This is, therefore, raised the concern in a proper fisheries management program for the sustainable exploitation in such habitat, which understanding in diversity, abundance, distribution and community structure of the fishes, are among important issues. These understandings could be started in the early life-stage fishes since they reflect the spawning success and assure the recruitment to the exploited populations (Quist *et al.*, 2004). Moreover, spatio-temporal variations of diversity and abundance of the juvenile fishes are generally high due to the behavioral and environmental features (Hsieh and Lo, 2019).

Diversity and distribution in the early life stage of fishes have been conducted in various type of habitats in Thailand, for example, river-floodplains (Suksri and Boonsong, 2018), reservoirs (Jutagate *et al.*, 2016), coastal areas (Sichum *et al.*, 2013) and continental shelves (Munk *et al.*, 2004) but never in peat swamps. Regarding the overlook to the fishes during the early life stage in the peat swamps, though providing goods and services to the system, this study aims to outline (i) the diversity indices of the juvenile fishes in the studied peat swamp and (ii) the distribution or their assemblage patterns in the spatio-temporal approach.

Materials and Methods

1. Study area

The Khuan Khee Sean peat swamp, or Phru Khuan Khee Sean, is a wetland within Thalaenoi Non-Hunting Area, the first Thailand Ramsar site in Phatthalung Province (Figure. 1). This peat swamp covers the area about 17 km² out of 460 km² of the Thalaenoi with water depth ranges of the swamp *per se* is between 0.1 and 2.0 m. Data sampling was conducted in 6 sampling stations every two months between August 2015 and June 2016 (Table 1), including the inlet-, outlet- and open water-zones of the swamp.

Table 1 Location and detail of sampling stations for juvenile fish study in Phru Khuan Khee Sean, Thailand, between August 2015 and June 2016

Station	Co-ordinates	Detail
1	7°51'41.21"N 100°6'38.41"E	Upper part of the swamp, which is the inlet from Phru Kuan Kreg (i.e. the large peat swamp that connects to Phru Khuan Khee Sean)
2	7°50'7.42"N 100°7'31.10"E	Upper part of the swamp, which is the inlet from Klong Koowa Canal (i.e. transition to freshwater)
3	7°49'23.95"N 100°6'47.24"E	Middle part of the swamp, which is the outlet to Klong Takreng Canal (i.e. transition to freshwater)
4	7°49'34.00"N 100°7'50.96"E	Middle part of the swamp
5	7°49'13.62"N 100°7'14.21"E	Middle part of the swamp, which is the outlet to Klong Kreg Canal (i.e. transition to freshwater)
6	7°47'30.26"N 100°7'11.78"E	Lower part of the swamp, which is the outlet Thalaenoi (i.e. transition to freshwater)

**Figure 1** Location and map of Phru Khuan Khee Sean, where sampling stations (black dots) are indicated

2. Sampling protocols

The juvenile fishes were collected by push net ($1 \times 1 \times 1 \text{ m}^3$) with the mesh size of 1 mm. Each replication consisted of 10 times of 1 meter-pushing-distance and there were 3 replications for a sampling. The collected juvenile fishes were preserved in 4% formalin solution and then taxonomically identified in the laboratory (Termvichakarn 2003; 2005). Water quality parameters were also collected in each sampling site by using the standard methods (APHA, 1989), in which the parameters included depth, water temperature, transparency, conductivity, turbidity, chlorophyll-a, dissolved oxygen,

pH, alkalinity, hardness, free carbondioxide, orthophosphate, total phosphorus, ammonia (NH₃-N), nitrite (NO₂-N) and nitrate (NO₃-N).

3. Data analysis

Abundance of juvenile fishes were presented as individuals per 100 m². Shannon-Weiner diversity index (H') and evenness index (E) were estimated according to Equations 1 and 2, respectively. (Clarke and Warwick, 1994).

$$H' = - \sum_{i=1}^S (P_i \log_2 P_i) \text{ ----- (1)} \quad E = \frac{H'}{\ln(S)} \text{ ----- (2)}$$

where, P_i is the proportion of ith species in the dataset and S is the number of species. The ranked species abundance curve was applied to display relative abundance of the juvenile fishes using the cumulative abundance by rank (Clarke and Warwick, 1994). Meanwhile, the assemblage patterns of the juvenile fishes in Phru Khuan Khee Sean were examined by hierarchical clustering, by using square root transformed (Clarke and Warwick, 1994). Data analysis was conducted by using Package “vegan” (Oksanen *et al.*, 2019) in R-programs (R Development Core Team, 2019).

Results

There were 21,128 juvenile fishes from 30 species and 14 Families found in this study. These juvenile fishes were from Family Cyprinidae (12 species) followed by Osphronemidae (4 species), Gobiidae (2 species) and Channidae (2 species), in which the remaining 10 Families contained 1 species each (Table 2). *Trichopsis vittata* was found in every sampling events followed by *Aplocheilichthys panchax*, *Boraras urophthalmoides*, *Lepidocephalichthys hasselti* and *Dermogenys pusilla*, which the frequency of occurrence were 91.7%, 80.6%, 63.9% and 61.1%, respectively. Station 1 obtained most species richness (23 species) and there were 10 to 15 species in the remaining stations (Table 3). Meanwhile, species richness peaked in August 2015 (16 species) and ranged from 9 to 14 species for the remaining sampling months.

In terms of abundance (individuals per 100 m²), *A. panchax* (171) was the most abundance, followed by *B. urophthalmoides* (140) and *T. vittata* (136), meanwhile the abundances of 21 out of 30 species were less than 10 individuals per 100 m² (Table 4). Abundance by sampling events ranged from 49 to 1,850 individuals per 100 m² from station 5 in August 2015 and station 2 in April 2016, respectively (Table 5). Trends of diversity indices conformed to the trends of species diversity and abundance. Shannon-diversity index was over 1.0 and peaked in station 1, meanwhile it was December 2015, when the highest Shannon-diversity index was observed (Table 6). Neither stations nor months showed their evenness index closed to 1. Station 3 and December 2015 showed the highest values.

Table 2 Collected juvenile fishes from Phru Khuan Khee Sean, Phatthalung Province, Thailand, between August 2015 and June 2016

Family/Specie	Station						%F
	1	2	3	4	5	6	
1) Grey Featherback, <i>Notopterus notopterus</i> (Pallas, 1769)	----+	----+	-----	----+	----+	-----	11.11
2) Tai kardsilm, <i>Amblypharyngodon chulabhornae</i> Vidthayanon & Kottelat, 1990	---+-	-----	-----	-----	-----	-----	2.78
3) Least rasbora, <i>Boraras urophthalmoides</i> (Kottelat, 1991)	++++++	++++++	++++++	++++++	++++++	++++--	80.56
4) Blackline rasbora, <i>Rasbora borapetensis</i> Smith, 1934	-----	-----	-----	-----	-----	--+-	2.78
5) Meyrsi rasbora, <i>Rasbora myersi</i> Brittan, 1954	---+-	-----	-----	-----	-----	-----	2.78
6) Sumatra rasbora, <i>Rasbora sumatrana</i> (Bleeker, 1852)	-----	-----	-----	-----	---+-	-----	2.78
7) Scissor-tailed rasbora, <i>Rasbora trilineata</i> Steindachner, 1870	--++-	--++-	+++++	--++-	+++++	--++-	47.22
8) Siamese glass fish, <i>Parachela siamensis</i> (Günther, 1868)	--++-	---+-	---+-	-----	---+-	-----	13.89
9) Beardless Barb, <i>Cyclocheilichthys apogon</i> (Valenciennes, 1842)	--++-	-----	-----	-----	-----	-----	8.33
10) Repassan, <i>Cyclocheilichthys repasson</i> (Bleeker, 1853)	-----	-----	-----	-----	-----	-----+	2.78
11) Barb, <i>Labiobarbus siamensis</i> (Sauvage, 1881)	-----	-----	-----	-----	-----	--++-	5.56
12) Green tiger barb, <i>Puntigrus tetrazona</i> (Bleeker, 1855)	---+-	-----	-----	-----	---+-	-----	5.56
13) Swamp barb, <i>Puntius brevis</i> (Bleeker, 1849)	---+-	-----	-----	-----	-----	-----	2.78
14) Seren, <i>Lepidocephalichthys hasselti</i> (Valenciennes, 1846)	--++-	--++-	+++++	--++-	--++-	++++-	63.89
15) Butter catfish, <i>Ompok bimaculatus</i> (Bloch, 1794)	-----+	-----	-----	-----	-----	-----	2.78
16) Walking catfish, <i>Clarias macrocephalus</i> Günther, 1864	+-----	+-----	-----	-----	-----	-----	5.56
17) Bumblebee goby, <i>Brachygobius xanthomelas</i> Herre, 1937	+-----	-----	-----	-----	-----	-----	2.78
18) Glass Goby, <i>Gobiopterus brachypterus</i> (Bleeker, 1855)	--++-	-----	-----	-----	-----	-----	2.78
19) Mozambique tilapia, <i>Oreochromis mossambicus</i> (Peters, 1852)	--++-	-----	-----	-----	-----	-----	5.56
20) Ricefish, <i>Oryzias minutilus</i> Smith, 1945	-----	-----	-----	-----	-----	+-----	2.78

Table 2 (continue)

Family/Specie	Station						%F
	1	2	3	4	5	6	
21) Malayan halfbeak, <i>Dermogenys pusilla</i> Kuhl, van & Hasselt, 1823	----+	-----	++++++	++++++	++++++	++++++	61.11
22) Blue panchax, <i>Aplocheilichthys panchax</i> (Hamilton, 1822)	++++++	++++++	++++++	++++++	++++++	++++++	91.67
23) Swamp eel, <i>Monopterus albus</i> (Zieuw, 1793)	-----	-----	++----	-----	+-----	--+	11.11
24) Climbing perch, <i>Anabas testudineus</i> (Bloch, 1792)	++----	-----	-----	-----	-----	-----	5.56
25) Peaceful betta, <i>Betta imbellis</i> Ladiges, 1975	++++--	++++--	-----	++++--	-----	+-----	33.33
26) Moonlight gourami, <i>Trichopodus microlepis</i> (Günther, 1861)	----+-	----++	-----	----+-	----+-	----+-	16.67
27) Three spot gourami, <i>Trichopodus trichopterus</i> (Pallas, 1770)	++--	---++	+++++	++--	++--	+++++	41.67
28) Croaking gourami, <i>Trichopsis vittata</i> (Cuvier, 1831)	++++++	++++++	++++++	++++++	++++++	++++++	100.00
29) Giant snakehead, <i>Channa micropeltes</i> (Cuvier, 1831)	+-----	+-----	-----	+-----	-----	-----	8.33
30) Striped snakehead, <i>Channa striata</i> (Bloch, 1793)	-----	---++	+-----	-----	-----	++----	13.89

Table 3 Number of juvenile fish species found from Phru Khuan Khee Sean during the study

Month	Station 1	Station 2	Station 3	Station 4	Station 5	Station 6	Total
Aug. 2015	9	6	8	6	6	8	16
Oct. 2015	5	4	8	7	8	7	11
Dec. 2015	10	4	5	5	2	8	14
Feb. 2016	12	7	7	6	6	4	15
Apr. 2016	6	6	6	7	7	4	9
Jun. 2016	7	8	8	6	7	7	14
Total	23	13	10	11	14	15	30

Table 4 Abundance, percentage and cumulative percentage of the dominant juvenile fishes found from Phru Khuan Khee Sean during the study

Species	Abundance (individuals per 100 m ²)	%	%cumulative
<i>A. panchax</i>	171	29.20	29.20
<i>B. urophthalmoides</i>	140	23.85	53.05
<i>T. vittata</i>	136	23.21	76.26
<i>D. pusilla</i>	42	7.13	83.39
<i>L. hasselti</i>	29	4.88	88.27
<i>C. striata</i>	20	3.41	91.68
<i>R. trilineata</i>	15	2.54	94.22
<i>B. imbellis</i>	10	1.72	95.95
<i>T. trichopterus</i>	10	1.67	97.61
Others (21 species)	14	2.39	100.00

Table 5 Abundance of juvenile fishes collected in each sampling events from Phru Khuan Khee Sean during the study

Month	Abundance by sampling station (individuals per 100 m ²)						Avg.±SD
	Station	Station	Station	Station	Station	Station	
	1	2	3	4	5	6	
Aug. 2015	136	119	1,307	863	49	1,017	582±546
Oct. 2015	1,053	1,057	627	1,456	547	197	823±451
Dec. 2015	780	120	110	120	93	160	231±270
Feb. 2016	1,293	650	657	383	433	213	605±377
Apr. 2016	680	1,850	907	740	737	733	941±452
Jun. 2016	107	547	260	360	170	597	340±199
Avg±SD	675±480	724±655	644±434	654±478	338±277	486±352	587±448

Table 6 Diversity indices of the juvenile fishes study in Phru Khuan Khee Sean between August 2015 and June 2016

Station	Species richness	Diversity index	Evenness index
1	23	1.88	0.60
2	13	1.31	0.51
3	10	1.75	0.76
4	11	1.44	0.60
5	14	1.83	0.69
6	15	1.69	0.63

Table 6 (continue)

Station	Species richness	Diversity index	Evenness index
Aug. 2015	16	1.66	0.60
Oct. 2015	11	1.55	0.64
Dec. 2015	14	1.98	0.75
Feb. 2016	15	1.72	0.63
Apr. 2016	9	1.49	0.68
Jun. 2016	14	1.74	0.66

The ranked species abundance curves showed the similar trends for both spatial and temporal approaches as the relative steep slopes, which indicated the domination of few species that contributed over 50% of cumulative dominance (Figure 2). Four groups of assemblage patterns were divided according to the hierarchical clustering (Figure 3; Table 7), which likely to be influenced by months and followed by stations. Group 1 is highlighted by the assemblages of all stations in December 2015 and almost every sampling in station 5. This pattern was dominated by 3 species; namely, *D. pusilla*, *T. vittata* and *L. hasselti* (22.52, 14.56 and 13.31%). Group 2 contained the samplings for stations 1 to 4 during August and October 2015. The assemblage patterns of this group showed the high proportions of 3 species; namely, *B. urophthalmoides*, *A. panchax* and *T. vittata* (36.59, 35.51 and 22.12%). Group 4 was the assemblage that was a prevalence of 3 species; namely, *B. urophthalmoides*, *T. vittata* and *A. panchax* (28.30, 18.83 and 18.01%), which were from the samplings in April and June 2016 for stations 1 to 4 as well as in August 2015 for station 6 and October 2015 for station 5. Lastly, Group 3 was the pattern that dominated by 2 species of *A. panchax* and *T. vittata* (49.13 and 39.53%) but was not clear in spatio-temporal approach. For the relationships of water quality parameters to assemblage patterns, unfortunately that the clear relationship was not found (Figure 4), though the 2 PCA axes could explain 46.37% of variation.

Table 7 Dominant juvenile fishes in Phru Khuan Khee Sean between August 2015 and June 2016

Species	%	%cumulative
group 1		
<i>D. pusilla</i>	22.52	22.52
<i>T. vittata</i>	14.56	37.07
<i>L. hasselti</i>	13.31	50.38
<i>R. trilineata</i>	10.55	60.93
<i>A. panchax</i>	10.49	71.42
<i>B. urophthalmoides</i>	10.16	81.58
<i>B. imbellis</i>	9.70	91.28
others (17 species)	8.72	100.00
group 2		
<i>B. urophthalmoides</i>	36.59	36.59
<i>A. panchax</i>	35.51	72.10
<i>T. vittata</i>	22.12	94.22
others (14 species)	5.78	100.00
group 3		
<i>A. panchax</i>	49.13	49.13
<i>T. vittata</i>	39.53	88.67
<i>D. pusilla</i>	4.33	92.99
others (11 species)	7.01	100.00
group 4		
<i>B. urophthalmoides</i>	28.30	28.30
<i>T. vittata</i>	18.83	47.13
<i>A. panchax</i>	18.01	65.13
<i>C. striata</i>	11.49	76.63
<i>D. pusilla</i>	8.65	85.28
<i>L. hasselti</i>	6.84	92.12
others (7 species)	7.88	100.00

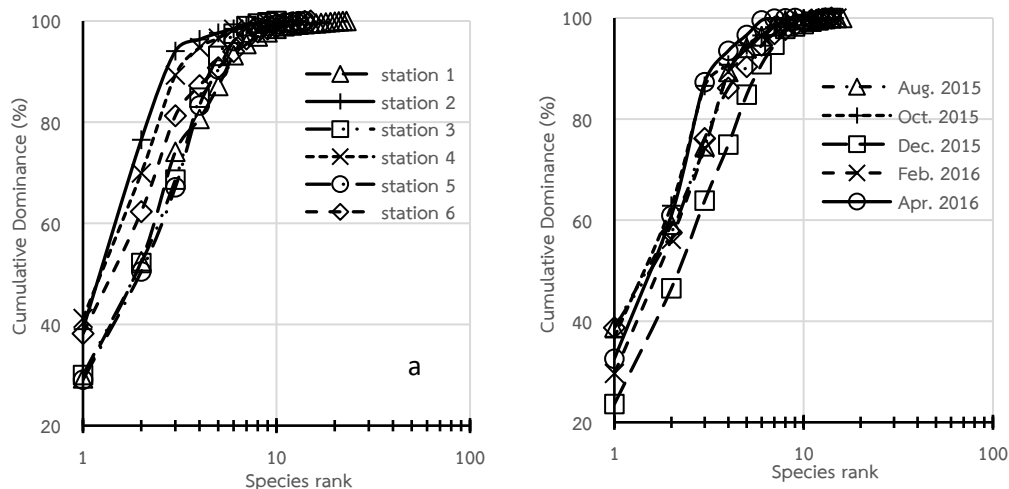


Figure 2 Rank abundance curve of juvenile fishes (a) by station and (b) by month in Phru Khuan Khee Sean between August 2015 and June 2016

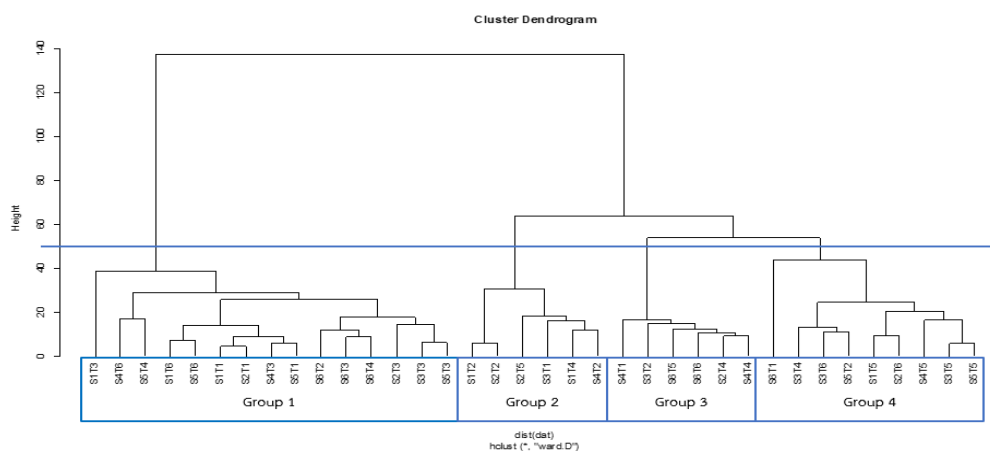


Figure. 3 Clustering of the assemblage pattern (by month and station) juvenile fishes in Phru Khuan Khee Sean between August 2015 and June 2016

Note: S1-S6 = Station 1- Station 6; T1-T6 = Aug. 2015, Oct. 2015, Dec. 2015, Feb. 2016, Apr. 2016 and Jun. 2016, respectively

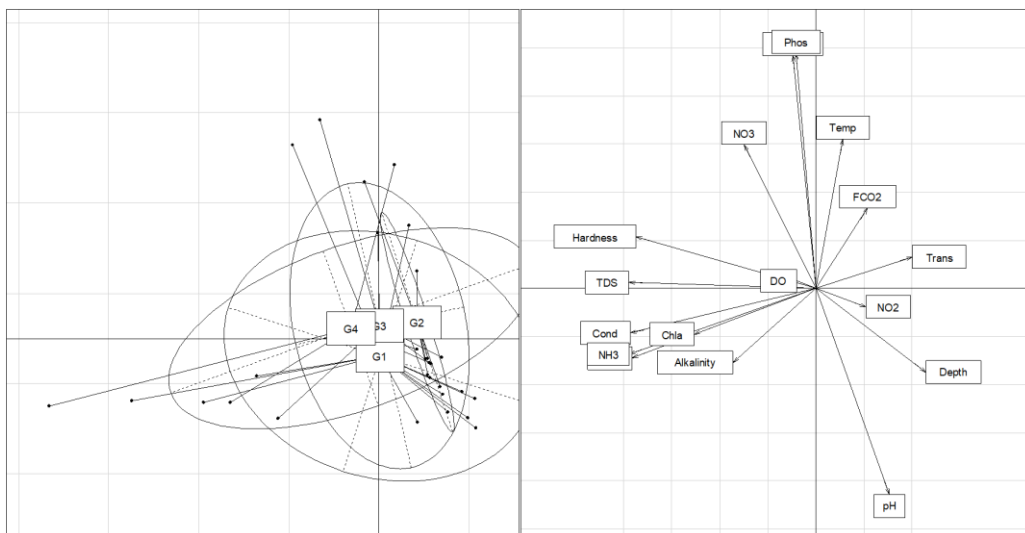


Figure. 4 Principal Component Analysis (PCA) of sampling events in each assemblage group to water quality parameters Phru Khuan Khee Sean, Phatthalung Province, Thailand

Discussion

The goods and services from peat swamps are overlooked, comparable to other aquatic ecosystems. Fish, as important goods from the system, are required clear understanding in various aspects for better exploitation and conservation. Except for the North Selangor peat swamp forest in Malaysia that harbours over 100 juvenile fish species, the number of collected juvenile fish at 30 species found in this study was in the general range from 10 to 40 species found in the peat swamps elsewhere in Malaysia, depending on the swamp size and connectivity to other water bodies, e.g. rivers or brackishwaters (Sule *et al.*, 2016). These numbers reflect the fish species those can complete their reproductive cycle within the peat system. The numbers of adult fish species are, on the other hand, expected to be higher as they are always included the adult visitor from the connected aquatic ecosystem. Vidthayanon (2003) reported that, in Thailand, there are 33 stenotypic fishes for the peat swamp and more 67 fish species those can adapt to survive in this ecosystem.

The first five dominant species were the common species found in the any tropical peat swamps (Vidthayanon, 2003; Sule *et al.*, 2016). *T. vittata* is well known as an air-breather and its ecophysiological tolerances as well as all year round spawning (Schofield and Schulte, 2016), which makes the juvenile of this fish could be found in every samplings. The following two common species viz., *A. panchax* and

B. urophthalmoides are known as a stenotypic fish in peat swamps, meanwhile *L. hasselti* and *D. pusilla* are generic species that can be found in various inland habitats including peat swamps (Vidthayanon, 2002). The range of Shannon diversity index found in this study were similar (1.5-2.0) to other peat swamps in Indo-Malayan region (Sule *et al.*, 2016) Ahmad and Samat (2015) showed that the peat areas that are much more shady and dense with mates of submerged aquatic plants generally show higher diversity, as observed in stations 1 and 5 in this study. Rank abundance of the fish larvae in the peat swamp, as in this study, showed the similar trend as found in the adults, i.e. dominated by few species, which comprised over 50% of total abundance (Ahmad and Samat, 2015). All assemblage patterns dominated with the major abundance species albeit in different order, which implying all year round spawner of these fishes similar to many freshwater fish species in the tropics (Ng and Tan, 1997). No clear relationship between the assemblage patterns and the water quality parameters implies the relative homogeneity of water quality in the peat swamp, similar characteristics of sampling stations as well as limited number of the fish species inhabit in the system. On the other hand, in other inland ecosystems such as river-floodplain and reservoir, the environmental factors contribute significantly in harnessing the assemblage patterns of fish larvae (e.g. Jutagate *et al.*, 2016; Suksri and Boonsoong, 2018)

Conclusion

Results of this study confirm the importance of peat swamp in particular to the stenotypic fish species, in which their juveniles dominated in abundance all year round. Variations in abundance and diversity were found in terms of temporal approach, which likely related to peaks of spawning of their adults. Insight study on the reproductive biology of the fishes in peat swamp is, therefore, the priority to sustain the diversity and fisheries this swamp.

References

- Ahmad, M.F. and Samat, A. (2015). Species composition and abundance of peat swamp fishes in selected areas of Selangor, Malaysia. *Applied Biology*, 44(1), 139-145.
- APHA. (1989). Standard methods for the examination of water and wastewater. (17th ed). Washington D.C.: American Public Health Association.
- Cortizas, A and Chesworth, W. (2006). Peatlands: evolution and records of environmental and climate changes. *Elsevier*, 9(1), 145-172.

- Hsieh, H. and Lo, W. (2019). Mesoscale distribution and assemblage structure of fish larvae in the Kuroshio waters off eastern Taiwan. *Marine Biodiversity*, 49, 1971-1986.
- Jutagate, T., Rattanachai, A., Udduang, S., Lek-Ang, S. and Lek, S. (2016). Fish larvae in a reservoir of the lower Mekong basin: their abundances, relationships to environmental variables and assemblage patterns. *Indian Journal of Fisheries*, 63(3), 11-23.
- Munk, P., Bjørnsen, P.K., Boonruang, P., Fryd, M., Hansen, P.J., Janekarn, V., Limtrakulvong, V., Nielsen, T.G., Hansen, O.S., Satapoomin, S., Sawangarreruks, S., Thomsen, H.A., and Østergaard, J.B. (2004). Assemblages of fish larvae and mesozooplankton across the continental shelf and shelf slope of the Andaman Sea (NE Indian Ocean). *Marine Ecology Progress Series*, 274, 87-97.
- Nagano, T., Osawa, K., Ishida, T., Sakai, K., Vijarnsorn, P., Jongskul, A., Phetsuk, S., Waijaroen, S., Yamanoshita, T., Norisada, M. and Kojima, K. (2013). Subsidence and soil CO₂ efflux in tropical peatland in southern Thailand under various water table and management conditions. *Mires and Peat*, 11(06), 1-20.
- Nakhon Si Thammarat Inland Fisheries Research and Development Center. (2018). *Biological diversity and fishery resources of the Phru Kuan Kreng Wetland*. Retrieved 14 January 2020, From: [https://www.fisheries.go.th/sf-nakhonsri/images/research/p_r .pdf](https://www.fisheries.go.th/sf-nakhonsri/images/research/p_r.pdf).
- Ng, P.K.L. and Tan, H.H. (1997). Freshwater fishes of southeast Asia: potential for the aquarium fish trade and conservation issues. *Aquarium Science and Conservation*, 1(2), 79-90.
- Oksanen, J., Blanchet, F.G., Friendly, M., Kindt, R., Legendre, P., McGlinn, D., Minchin, P.R., O'Hara, R. B., Simpson, G.L., Solymos, P., Stevens, M.H.H., Szoecs, E. and Wagner, H. (2019). *Vegan: community ecology package. r package version 2.5-5*. Retrieved 4 January 2020, From: <https://CRAN.R-project.org/package=vegan>.
- Page, S.E., Rieley, J.O. and Wüst, R. (2006). Lowland tropical peatlands of southeast Asia. In Martini, I.P., Martínez Cortizas, A., and Chesworth, W., (Eds.). *Peatlands: evolution and records of environmental and climate changes. Developments in Earth Surface Processes*, pp. 145-172. Netherlands: Elsevier Science.
- Quist, M.C., Pember, K.R., Guy, C.S. and Stephen, J.L. (2004). Variation in larval fish communities: implications for management and sampling designs in reservoir systems. *Fisheries Management and Ecology*, 11, 107-116.

- R Core Team. (2019). *R: a language and environment for statistical computing. R foundation for statistical computing*. Retrieved 4 January 2020, From: <https://www.R-project.org/>.
- Schofield, P.J and Schulte, J.M. (2016). Small but tough: what can ecophysiology of croaking gourami, *Trichopsis vittata* (Cuvier, 1831) tell us about invasiveness of non-native fishes in Florida?. *NeoBiota*, 28, 51-65.
- Sichum, S., Tantichodok, P. and Jutagate, T. (2013). Diversity and assemblage patterns of juvenile and small sized fishes in the nearshore habitats of the gulf of Thailand. *The Raffles Bulletin of Zoology*, 61(2), 795-809.
- Suksri, S. and Boonsoong, B. (2018). The post-larval and juvenile fish assemblage in the Sukhothai floodplain, Thailand. *Journal of Oceanology and Limnology*, 36(3), 1013-1024.
- Sule, H.A., Ismail, A. and Amal, M.N.A. (2016). A review of the ichthyofauna of Malaysian peat swamp forest. *Pertanika Journal of Tropical Agricultural Science*, 39(4), 421-458.
- Vidthayanon, C., (2002). *Peat swamp fishes of Thailand*. Bangkok: Office of Environmental Policy and Planning.
- Yule, C.M. (2010). Loss of biodiversity and ecosystem functioning in Indo-Malayan peat swamp forests. *Biodiversity Conservation*, 19, 393-409.

สภาวะที่เหมาะสมในการเตรียมและความสามารถในการดูดซับของถ่านกัมมันต์ ที่ผลิตจากวัสดุเหลือใช้ในการผลิตใบจากมวนยาสูบ

The Appropriate Conditions for Preparation and Adsorption Capacity of Activated Carbon from Nypa Palm Cigarette Manufacturing Residues

สุนันทา ข้องสาย^{1*}
Sunanta Khongsai^{1*}

บทคัดย่อ

การใช้ประโยชน์ของต้นจากเพื่อผลิตใบจากมวนยาสูบหรือกิจกรรมอื่น ๆ ทำให้มีเศษวัสดุเหลือทิ้งและก่อให้เกิดปัญหาการจัดการซากต้นจากหรือวัสดุเหลือทิ้ง งานวิจัยนี้มีวัตถุประสงค์เพื่อผลิตถ่านกัมมันต์จากเศษก้านจากและเศษทางจากและศึกษาความสามารถในการดูดซับ โดยทำการคาร์บอนไนซ์ที่อุณหภูมิ 300-500 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 30-150 นาที แล้วทำการกระตุ้นด้วยซิงค์ (II) คลอไรด์ในอัตราส่วน 1:1 ที่อุณหภูมิ 500-700 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 60-120 นาที พบว่าผงถ่านจากเศษก้านจากที่ทำการคาร์บอนไนซ์ที่อุณหภูมิ 400 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 150 นาที และกระตุ้นด้วยซิงค์ (II) คลอไรด์ในอัตราส่วน 1:1 ที่อุณหภูมิ 500 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 90 นาที มีค่าการดูดซับไอโอดีนได้ดีที่สุดเท่ากับ 771.58 ± 2.78 มิลลิกรัมต่อกรัม มีปริมาณความชื้นและปริมาณเถ้าร้อยละ 0.27 ± 0.01 และ 0.74 ± 0.04 ตามลำดับ มีประสิทธิภาพการกำจัดเมทิลีนบลูคิดเป็นร้อยละ 59.30 ± 0.91 ดังนั้นการกระตุ้นผงถ่านจากเศษก้านจากที่อุณหภูมิ 500 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 90 นาที เป็นสภาวะที่สามารถเลือกนำมาผลิตถ่านกัมมันต์ที่มีคุณสมบัติการดูดซับได้ เนื่องจากถ่านกัมมันต์ที่ได้มีค่าการดูดซับไอโอดีนมากที่สุดซึ่งแสดงถึงสมบัติความพรุนของถ่านกัมมันต์ และมีค่าการดูดซับไอโอดีนมากกว่า 600 มิลลิกรัมต่อกรัม มีปริมาณความชื้นน้อยกว่าร้อยละ 8 และมีปริมาณเถ้าน้อยกว่าร้อยละ 6 ตามมาตรฐานของ มอก.900-2547

คำสำคัญ: ใบจากมวนยาสูบ ถ่านกัมมันต์ การดูดซับ

¹ สาขาศึกษาทั่วไป คณะวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยีการประมง มหาวิทยาลัยเทคโนโลยีราชมงคลศรีวิชัย วิทยาเขตตรัง

* Corresponding author e-mail: Ta047@hotmail.com

Received: 17 April 2020, Revised: 5 May 2020, Accepted: 6 May 2020

Abstract

The use of Nipa Palm for producing Nipa Palm leaves for rolled tobacco or other activities resulted in a large amount of residues and caused problems in the management of the remains from Nipa Palm or residues. The objectives of this research were to produce the activated carbon from Nipa Palm's stalk and stick residues and to study the adsorption abilities of the activated carbon. The carbonization process was determined by heat at temperature of 300-500°C for 30-150 minutes and activated by using the ratio of sample to Zinc (II) Chloride 1:1 at 500-700°C for 60-120 minutes. The results showed that the stalk residues charcoal powder which carbonized at 400°C for 150 minutes and activated by using the ratio of sample to Zinc (II) Chloride 1:1 at 500°C for 90 minutes was given the highest iodine adsorption capacity of 771.58 ± 2.78 mg/g. Percentages of moisture content and ash content were 0.27 ± 0.01 and 0.74 ± 0.04 respectively. A percentage of Methylene blue adsorption capacity was 59.30 ± 0.91 . Therefore, the activated carbon obtained from stalk residues at 500°C for 90 minutes showed a good condition for producing activated carbon with adsorption capacity because of the highest iodine adsorption capacity which indicated the highest porous properties of activated carbon. The activated carbon showed the iodine adsorption capacity higher than 600 mg/g with percentage of moisture content and ash content were less than 8 and 6 respectively, according to the Thai Industrial Standards Institute, TISI.900-2004.

Keywords: Nipa palm leaves for tobacco, activated carbon, adsorption

บทนำ

ถ่านกัมมันต์ (activated charcoal หรือ activated carbon) คือ รูปแบบหนึ่งของธาตุคาร์บอนที่นำมาผ่านการสังเคราะห์ทางเคมี ในกระบวนการผลิตโดยการกระตุ้นให้มีฤทธิ์เพิ่มขึ้น ถ่านกัมมันต์เป็นตัวดูดซับที่มีพื้นที่ผิวสูง สามารถเตรียมได้ด้วยกระบวนการ 2 ขั้นตอน คือ กระบวนการคาร์บอนไนซ์โดยการให้ความร้อนที่อุณหภูมิสูง และกระบวนการกระตุ้นซึ่งทำได้ทั้งทางเคมีและทางกายภาพ ความสามารถในการดูดซับของถ่านกัมมันต์ขึ้นอยู่กับพื้นที่ผิวและโครงสร้างรูพรุน ขนาด เคมีที่ผิวหน้า ธรรมชาติของโมเลกุลที่เป็นสารถูกดูดซับ และความสัมพันธ์ระหว่างขนาดโมเลกุลที่ถูกดูดซับกับขนาดของรูพรุนของถ่านกัมมันต์ ปัจจุบันมีการพัฒนากระบวนการผลิตถ่านกัมมันต์ ทำให้ความสนใจในการผลิตถ่านกัมมันต์จากวัสดุเหลือทิ้งทางการเกษตรเพื่อใช้เป็นวัสดุดูดซับนำไปใช้ประโยชน์ในการกำจัดสารมลพิษในน้ำ กำจัดไอออนในสารละลาย กำจัดสีย้อมในน้ำทิ้งเพิ่มขึ้น

คุณสมบัติในการดูดซับของถ่านกัมมันต์หาได้จากไอโซเทอมของการดูดซับของของเหลวบน ถ่านกัมมันต์ ซึ่งมีการดูดซับ 2 แบบ ได้แก่ 1) การดูดซับไอโอดีน เป็นการหาพื้นที่ผิวของถ่านกัมมันต์ โดยหาจำนวนมิลลิกรัมของสารละลายไอโอดีนที่ถูกดูดซับ ซึ่งโมเลกุลของไอโอดีนมีขนาดเท่ากับ 0.54 นาโนเมตร เหมาะกับตัวดูดซับที่มีขนาดไมโครพอร์ ซึ่งมีขนาดรูพรุนน้อยกว่า 1.5 นาโนเมตร 2) การดูดซับเมทิลีนบลู เป็นการบอกค่าการดูดซับของถ่านกัมมันต์สำหรับโมเลกุลที่ถูกดูดซับ มีขนาดใกล้เคียงกับโมเลกุลของเมทิลีนบลู ซึ่งโมเลกุลของเมทิลีนบลูมีขนาดเท่ากับ 1.6 นาโนเมตร เหมาะกับตัวดูดซับที่มีขนาดเมโซพอร์ ซึ่งมีขนาดรูพรุนมากกว่า 1.5 นาโนเมตร (จันทิมา และคณะ, 2559)

วัสดุเศษเหลือทิ้งทางการเกษตรถูกนำมาพัฒนาเป็นถ่านกัมมันต์ที่มีคุณสมบัติการดูดซับดี เช่น ถ่านกัมมันต์ที่เตรียมจากกะลามะพร้าวสามารถดูดซับสีย้อมสีไครโซลีนได้ 158.73 มิลลิกรัมต่อกรัม (กิติโรจน์ และคณะ, 2550) ถ่านกัมมันต์ที่เตรียมได้จากเปลือกเมล็ดยางพาราและกระตุ้นด้วยซิงค์ (II) คลอไรด์ สามารถดูดซับไอโอดีนได้ 730.04 มิลลิกรัมต่อกรัม (ไชยยันต์ และคณะ, 2552) ถ่านกัมมันต์ที่เตรียมจากเปลือกไข่ผสมเปลือกหอยแครงในอัตราส่วน 1:3 สามารถดูดซับไอโอดีนได้สูงสุด 510.44 มิลลิกรัมต่อกรัม และมีประสิทธิภาพในการกำจัดสีย้อมเมทิลเรดได้ร้อยละ 64.47 (วิรัชรอง, 2558) ถ่านกัมมันต์ที่เตรียมจากเปลือกปูโดยการคาร์บอนซ์ที่อุณหภูมิสูงและกระตุ้นด้วยซิงค์ (II) คลอไรด์ มีคุณสมบัติในการดูดซับสีเมทิลีนบลู สามารถนำไปประยุกต์ใช้ในการกำจัดสีย้อมในน้ำทิ้งจากโรงงาน ฟอกย้อมได้ ทำให้สีย้อมในน้ำทิ้งตัวอย่างมีความเข้มข้นลดลงร้อยละ 63.5-75.6 (อรดี และศศิธร, 2557) ซึ่งเมทิลีนบลูเป็นสีเบสิก (basic dyes) ที่ละลายน้ำได้ มีโครงสร้างที่ทำให้เกิดสี เมื่อมีการปนเปื้อน ในน้ำจะก่อให้เกิดผลกระทบต่อแหล่งน้ำจึงต้องมีการบำบัดสีก่อนลงสู่แม่น้ำ (พชรวรรณ และเฉลิม, 2559) ถ่านกัมมันต์ที่เตรียมจากกากตันสาคุที่เป็นวัสดุเหลือทิ้งทางการเกษตร มีประสิทธิภาพในการดูดซับไอออนของตะกั่วได้สูงสุดร้อยละ 98.6 (จารุวรรณ และคณะ, 2561)

กิจกรรมหนึ่งที่น่าสนใจให้มีความสนใจคือ การผลิตไบจากมวนยาสูบ ซึ่งเป็นการนำผลผลิตจาก ยอดจากมาแปรรูปเป็นไบจากใช้สำหรับมวนยาสูบ เป็นกระบวนการผลิตหนึ่งที่มีเศษวัสดุเหลือใช้ ก่อให้เกิดมลภาวะให้แก่สิ่งแวดล้อมเนื่องจากเมื่อนำไบจากแห้งไปตัดแต่งเพื่อเตรียมใช้มวนยาสูบก็จะมีเศษของไบจากเหลือทิ้งจำนวนมาก ก่อให้เกิดปัญหาการจัดการซากต้นจากหรือวัสดุเหลือทิ้ง เกิดการนำวัสดุดังกล่าวเททิ้งใกล้บ้านเรือนเกิดการหมักหมมก่อให้เกิดโรคติดต่อและน้ำเสียอีกทาง หนึ่งด้วย ดังนั้นการพัฒนาวัสดุเหลือใช้จากการผลิตไบจากเพื่อใช้ประโยชน์ในรูปแบบของถ่านกัมมันต์ ที่เตรียมด้วยวิธีทางเคมีและสามารถนำไปดูดซับสารพิษจำพวกสีย้อมที่เกิดจากกิจกรรมชุมชน เช่น กลุ่มผลิตภัณฑ์ผ้าบาติก กลุ่มผลิตภัณฑ์กระจูด เป็นการนำทรัพยากรมาใช้ให้เกิดความคุ้มค่าและลด ปัญหาการจัดการซากเศษวัสดุที่เกิดจากกระบวนการผลิตไบจากมวนยาสูบได้

วิธีดำเนินการวิจัย

1. การเตรียมถ่านกัมมันต์

1.1 การเตรียมตัวอย่าง (ตามวิธีการของ อร์ดี และศศิธร, 2557)

นำเศษก้านจากและเศษทางจากมาผึ่งลมให้แห้ง อบที่อุณหภูมิ 110 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 24 ชั่วโมง แล้วนำไปบดให้ละเอียดก่อนนำไปผ่านกระบวนการกระตุ้นทางเคมีต่อไป

1.2 การเตรียมถ่านกัมมันต์โดยวิธีการทางเคมี

1.2.1 การคาร์บอนไนซ์ (ดัดแปลงตามวิธีการของ อร์ดี และศศิธร, 2557 และธีรดิษฐ์, 2560)

นำถ่านเศษก้านจากและเศษทางจากที่บดละเอียดปริมาณ 100 กรัม ใส่ครุชีเบล พร้อมฝาปิด เผาที่อุณหภูมิ 300 400 และ 500 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 30 60 90 120 และ 150 นาที ทิ้งไว้ให้เย็น เก็บใส่ภาชนะให้มิดชิดป้องกันความชื้นเพื่อนำไปวิเคราะห์ค่าการดูดซับไอโอดีน ตามวิธีการในข้อ 3.1 เพื่อหาสภาวะการคาร์บอนไนซ์ที่ดีที่สุด โดยเลือกถ่านที่สามารถดูดซับไอโอดีนได้ดีที่สุดมาใช้ในการกระตุ้นต่อไป

1.2.2 การกระตุ้น (ดัดแปลงตามวิธีการของ สุวิทย์ และคณะ, 2559)

นำถ่านเศษก้านจากและเศษทางจากที่มีสภาวะการคาร์บอนไนซ์ดีที่สุด ในข้อ 1.2.1 ผสมกับซิงค์ (II) คลอไรด์ ในครุชีเบลพร้อมฝาปิด อัตราส่วน 1:1 แล้วไปกระตุ้นที่อุณหภูมิ 500 600 และ 700 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 60 90 และ 120 นาที ล้างด้วยน้ำกลั่น 3-4 ครั้ง จนค่า pH เท่ากับ 7 แล้วนำไปอบที่อุณหภูมิ 110 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 3 ชั่วโมง ทิ้งไว้ให้เย็น เก็บใส่ภาชนะให้มิดชิดป้องกันความชื้น เพื่อนำไปวิเคราะห์ค่าการดูดซับไอโอดีน ตามวิธีการในข้อ 3.1 เพื่อหาสภาวะการกระตุ้นที่ดีที่สุด โดยเลือกถ่านที่สามารถดูดซับไอโอดีนได้ดีที่สุดมาใช้ในการวิเคราะห์ต่อไป

2. การวิเคราะห์สมบัติทางกายภาพ

2.1 การวิเคราะห์ปริมาณความชื้น (ตามมาตรฐาน ASTM D3173-11)

2.1.1 อุ่นเตาเผาให้มีอุณหภูมิ 150 องศาเซลเซียส

2.1.2 นำครุชีเบลพร้อมฝาปิดที่สะอาดไปอบ 30 นาที ที่อุณหภูมิ 105 องศาเซลเซียส แล้วนำไปทำให้เย็นโดยใส่ในโถดูดความชื้น เป็นเวลา 15 นาที นำไปชั่งน้ำหนัก (W_1)

2.1.3 ใส่ตัวอย่างประมาณ 1 กรัม จากนั้นนำไปชั่งน้ำหนัก (W)

2.1.4 นำไปอบที่อุณหภูมิ 105 องศาเซลเซียส ประมาณ 2-3 ชั่วโมง แล้วนำไปทำให้เย็นในโถดูดความชื้น เป็นเวลา 20 นาที นำไปชั่งน้ำหนัก (W_2)

$$M = (W_1 - W_2) / W * 100$$

เมื่อ M = ร้อยละของปริมาณความชื้น

W_1 = น้ำหนักถ้วยพร้อมฝาและตัวอย่างก่อนอบ (กรัม)

W_2 = น้ำหนักถ้วยพร้อมฝาและตัวอย่างหลังอบ (กรัม)

W = น้ำหนักตัวอย่าง (กรัม)

2.2 การวิเคราะห์ปริมาณเถ้า (ตามมาตรฐาน ASTM D3174-11)

2.2.1 อุ่นเตาเผาให้มีอุณหภูมิ 150 องศาเซลเซียส

2.2.2 นำครุชีเบลพร้อมฝาปิดที่สะอาดไปอบ 30 นาที ที่อุณหภูมิ 105 องศาเซลเซียส แล้วนำไปทำให้เย็นโดยใส่ในโถดูดความชื้น เป็นเวลา 15 นาที นำไปชั่งน้ำหนัก (W_3)

2.2.3 ใส่ตัวอย่างประมาณ 1 กรัม จากนั้นนำไปชั่งน้ำหนัก (W)

2.2.4 นำไปเผาที่อุณหภูมิ 650 องศาเซลเซียส ประมาณ 6 ชั่วโมง แล้วนำไปทำให้เย็นในโถดูดความชื้น เป็นเวลา 20 นาที นำไปชั่งน้ำหนัก (W_4)

$$M = (W_3 - W_4) / W * 100$$

เมื่อ M = ร้อยละของปริมาณเถ้า

W_3 = น้ำหนักถ้วยพร้อมฝาและเถ้าของตัวอย่างหลังเผา (กรัม)

W_4 = น้ำหนักถ้วยพร้อมฝา (กรัม)

W = น้ำหนักตัวอย่าง (กรัม)

3. การวิเคราะห์สมบัติทางเคมี

3.1 การวิเคราะห์ความสามารถในการดูดซับไอโอดีน (ตามวิธีการของ รุจิรา, 2556)

ทดสอบโดยวิธีการไตเตรทแบบไอโอดิเมทรี (Iodometry) เพื่อหาปริมาณของไอโอดีนที่ถ่านกัมมันต์ดูดซับไว้โดยใช้สารละลายมาตรฐานโซเดียมไฮโอซัลเฟต ($Na_2S_2O_3$) เป็นไตเตรนต์ โดยนำผงถ่านตัวอย่าง 0.5000 กรัม ทำปฏิกิริยากับสารละลาย HCl เข้มข้น 5 เปอร์เซ็นต์ให้ความร้อนเพื่อกำจัดเถ้าและซัลเฟอร์ออกจากผิวถ่านตัวอย่าง แล้วทำปฏิกิริยากับสารละลายไอโอดีนที่ทราบความเข้มข้นที่แน่นอน กรองสารละลาย นำเฉพาะสารละลายส่วนใสไปไทเทรตกับสารละลายโซเดียมไฮโอซัลเฟตที่ทราบความเข้มข้นที่แน่นอนแล้ว โดยใช้น้ำแบ่งเป็นอินดิเคเตอร์

3.2 การวิเคราะห์ความสามารถในการดูดซับเมทิลีนบลู (ตามวิธีการของ รุจิรา, 2556)

เติมผงถ่านตัวอย่างที่อบแล้ว 0.5000 กรัม ทำปฏิกิริยากับสารละลายเมทิลีนบลูที่มีความเข้มข้น 25 มิลลิกรัมต่อลิตร pH = 7 ปิดจุก เขย่าแรง ๆ ประมาณ 10 วินาที กรองสารละลาย นำสิ่งกรองไปหาความเข้มข้นที่เหลือจากการดูดซับด้วยเครื่อง UV-Vis Spectrophotometer ที่ความยาวคลื่น 620 นาโนเมตร โดยใช้สารละลายบัฟเฟอร์เป็นสารเปรียบเทียบ

4. การวิเคราะห์ข้อมูลทางสถิติ

ในการวิเคราะห์สมบัติทางกายภาพและสมบัติทางเคมี ทำการวิเคราะห์ตัวอย่างละ 3 ซ้ำ ($n = 3$) และนำมาผลที่ได้มาหาส่วนเบี่ยงเบนมาตรฐาน (S.D.) เปรียบเทียบหาความแตกต่างของค่าเฉลี่ยโดยการเปรียบเทียบพหุคูณด้วยวิธี Duncan's multiple range test ที่ระดับความเชื่อมั่นร้อยละ 95

ผลการวิจัย

1. การเตรียมถ่านกัมมันต์ด้วยวิธีการทางเคมี

นำเศษก้านจากและเศษทางจากมาผึ่งลมให้แห้ง อบที่อุณหภูมิ 110 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 24 ชั่วโมง แล้วทำการคาร์บอนเซชันที่อุณหภูมิ 300 400 และ 500 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 30 60 90 120 และ 150 นาที แล้วนำไปวิเคราะห์ผลผลิตร้อยละและปริมาณไอโอดีนที่ถูกดูดซับ ค่าการดูดซับไอโอดีนเป็นค่าที่ใช้ในการประเมินค่าความพรุนของถ่านกัมมันต์ (อรดี และศศิธร, 2557) พบว่าผงถ่านตัวอย่างที่สามารถดูดซับไอโอดีนได้ดีที่สุด ได้แก่ ผงถ่านจากเศษก้านจากที่ทำการคาร์บอนเซชันที่อุณหภูมิ 400 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 150 นาที (มีผลผลิตร้อยละ 65.96) และผงถ่านจากเศษทางจากที่ทำการคาร์บอนเซชันที่อุณหภูมิ 500 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 90 นาที (มีผลผลิตร้อยละ 69.90) ให้ผลดังแสดงในตารางที่ 1

ตารางที่ 1 แสดงค่าผลผลิตร้อยละและปริมาณไอโอดีนที่ถูกดูดซับของผงถ่านตัวอย่างจากกระบวนการคาร์บอน

อุณหภูมิ	เวลา (นาที)	ปริมาณไอโอดีนที่ถูกดูดซับ (มิลลิกรัมต่อกรัม)		ผลผลิตร้อยละ	
		เศษก้านจาก	เศษทางจาก	เศษก้านจาก	เศษทางจาก
300	30	355.43±1.61 ^f	368.39±2.78 ^g	34.50	12.36
	60	374.88±1.61 ^d	356.34±4.25 ^h	60.31	57.36
	90	334.10±1.61 ^g	333.17±1.61 ⁱ	60.46	59.39
	120	340.59±4.82 ^g	381.37±1.61 ^{e,f}	60.42	59.38
	150	362.83±2.78 ^e	386.00±4.25 ^e	59.59	62.51
400	30	362.83±2.78 ^e	372.10±6.99 ^g	58.20	60.84
	60	397.12±1.61 ^c	336.88±4.25 ⁱ	65.04	64.49
	90	397.12±4.25 ^c	373.95±5.56 ^{f,g}	65.24	64.78
	120	451.81±0.00 ^b	352.64±1.61 ^h	65.23	65.88
	150	489.81±1.61 ^a	375.81±8.49 ^{f,g}	65.96	66.24
500	30	375.81±11.24 ^d	385.08±4.81 ^e	66.75	66.26
	60	286.83±3.21 ⁱ	404.54±4.81 ^c	69.52	67.80
	90	294.24±3.21 ^h	484.25±1.61 ^a	69.43	69.90
	120	291.46±3.21 ^{h,i}	395.27±3.21 ^d	69.83	67.95
	150	252.53±1.61 ^j	445.32±5.79 ^b	70.25	69.16

หมายเหตุ: ตัวเลขที่มีอักษรกำกับที่ต่างกันในแนวตั้งแสดงถึงความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p \leq 0.05$)

จากการประเมินปริมาณไอโอดีนที่ถูกดูดซับ สามารถเลือกสภาวะที่ดีที่สุดเพื่อทำการคาร์บอนไนซ์ผงถ่าน โดยนำผงถ่านจากเศษก้านจากที่ทำการคาร์บอนไนซ์ชั้นที่อุณหภูมิ 400 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 150 นาที และผงถ่านจากเศษทางจากที่ทำการคาร์บอนไนซ์ชั้นที่อุณหภูมิ 500 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 90 นาที ทำการกระตุ้นโดยผสมกับซิงค์ (II) คลอไรด์ ในครุชเบิลพร้อมฝาปิด อัตราส่วน 1:1 แล้วไปกระตุ้นที่อุณหภูมิ 500 600 และ 700 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 60 90 และ 120 นาที นำไปวิเคราะห์สมบัติทางกายภาพและสมบัติทางเคมี ให้ผลการทดสอบดังนี้

2. การวิเคราะห์สมบัติทางกายภาพ

นำถ่านกัมมันต์ที่เตรียมได้มาวิเคราะห์ปริมาณความชื้นและเถ้า พบว่าถ่านกัมมันต์ที่มีปริมาณความชื้นน้อยที่สุด ได้แก่ ถ่านกัมมันต์จากเศษก้านจากที่กระตุ้นที่อุณหภูมิ 700 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 120 นาที และถ่านกัมมันต์จากเศษทางจากที่กระตุ้นที่อุณหภูมิ 600 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 120 นาที ถ่านกัมมันต์ที่มีปริมาณเถ้าต่ำที่สุด ได้แก่ ถ่านกัมมันต์จากเศษก้านจากที่กระตุ้นที่อุณหภูมิ 500 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 120 นาที และถ่านกัมมันต์จากเศษทางจากที่กระตุ้นที่อุณหภูมิ 700 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 120 นาที ให้ผลดังแสดงในตารางที่ 2

ตารางที่ 2 แสดงร้อยละปริมาณความชื้นและปริมาณเถ้าของถ่านกัมมันต์

อุณหภูมิ	เวลา (นาที)	ปริมาณความชื้น (ร้อยละ)		ปริมาณเถ้า (ร้อยละ)	
		เศษก้านจาก	เศษทางจาก	เศษก้านจาก	เศษทางจาก
500	60	0.35±0.04 ^{a,b}	0.25±0.09 ^a	0.97±0.07 ^b	0.86±0.07 ^{b,c}
	90	0.27±0.01 ^{a,b}	0.27±0.01 ^a	0.74±0.04 ^{a,b}	0.78±0.06 ^{a,b,c}
	120	0.28±0.03 ^{a,b}	0.25±0.02 ^a	0.67±0.05 ^a	1.01±0.04 ^c
600	60	0.53±0.04 ^c	0.27±0.03 ^a	0.87±0.17 ^{a,b}	0.78±0.09 ^{a,b,c}
	90	0.49±0.09 ^c	0.24±0.01 ^a	0.92±0.15 ^{a,b}	0.63±0.03 ^{a,b}
	120	0.37±0.05 ^b	0.21±0.01 ^a	0.89±0.20 ^{a,b}	0.74±0.33 ^{a,b}
700	60	0.36±0.06 ^b	0.27±0.01 ^a	1.53±0.06 ^c	0.60±0.04 ^{a,b}
	90	0.30±0.10 ^{a,b}	0.30±0.05 ^a	1.41±0.16 ^c	0.69±0.08 ^{a,b}
	120	0.23±0.08 ^a	0.31±0.09 ^a	0.93±0.22 ^{a,b}	0.58±0.12 ^a

หมายเหตุ: ตัวเลขที่มีอักษรกำกับที่แตกต่างกันในแนวตั้งแสดงถึงความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p \leq 0.05$)

3. การวิเคราะห์สมบัติทางเคมี

นำถ่านกัมมันต์ตัวอย่างที่ได้มาวิเคราะห์ความสามารถในการดูดซับไอโอดีน พบว่าถ่านกัมมันต์ที่สามารถดูดซับไอโอดีนได้ดีที่สุด ได้แก่ ถ่านกัมมันต์จากเศษก้านจากที่กระตุ้นที่อุณหภูมิ 500 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 90 นาที และถ่านกัมมันต์จากเศษทางจากที่กระตุ้นที่อุณหภูมิ 500 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 120 นาที วิเคราะห์ความสามารถในการดูดซับเมทิลีนบลูโดยเทียบกับกราฟมาตรฐานเมทิลีนบลู ($Y = 0.1166X - 0.0365$; $R^2 = 0.9972$) พบว่าถ่านกัมมันต์จากเศษก้านจากที่กระตุ้นที่อุณหภูมิ 700 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 120 นาที และถ่านกัมมันต์จากเศษทางจาก

ที่กระตุ้นที่อุณหภูมิ 700 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 90 นาที สามารถดูดซับเมทิลีนบลูได้ดีที่สุด โดยมีประสิทธิภาพการกำจัดเมทิลีนบลูร้อยละ 83.10 ± 0.88 และ 59.76 ± 0.81 ตามลำดับ ให้ผลดังแสดงในตารางที่ 3

ตารางที่ 3 แสดงค่าปริมาณไอโอดีนที่ถูกดูดซับและร้อยละประสิทธิภาพการกำจัดเมทิลีนบลูของถ่านกัมมันต์

อุณหภูมิ	เวลา (นาที)	ปริมาณไอโอดีนที่ถูกดูดซับ (มิลลิกรัมต่อกรัม)		ประสิทธิภาพการกำจัดเมทิลีนบลู (ร้อยละ)	
		เศษก้านจาก	เศษหางจาก	เศษก้านจาก	เศษหางจาก
500	60	528.74 ± 1.61^c	404.54 ± 2.78^f	18.21 ± 0.97^h	8.50 ± 0.30^h
	90	771.58 ± 2.78^a	450.88 ± 1.61^c	59.30 ± 0.91^c	11.04 ± 0.93^g
	120	533.25 ± 4.25^c	474.05 ± 2.78^a	18.83 ± 0.59^h	18.21 ± 0.93^d
600	60	686.31 ± 7.00^b	462.00 ± 4.25^b	28.83 ± 0.34^g	14.34 ± 0.45^f
	90	440.69 ± 8.34^e	397.12 ± 4.25^g	54.79 ± 0.15^e	15.80 ± 0.36^e
	120	410.10 ± 11.12^f	441.61 ± 1.61^d	35.72 ± 0.82^f	22.53 ± 0.50^c
700	60	487.96 ± 9.63^d	430.49 ± 4.25^e	58.06 ± 0.18^d	19.17 ± 0.57^d
	90	320.20 ± 7.00^g	398.98 ± 5.56^{fg}	64.92 ± 0.83^b	59.76 ± 0.81^a
	120	151.51 ± 14.45^h	195.07 ± 4.25^h	83.10 ± 0.88^a	56.38 ± 0.18^b

หมายเหตุ: ตัวเลขที่มีอักษรกำกับที่แตกต่างกันในแนวตั้งแสดงถึงความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p \leq 0.05$)

จะเห็นว่าถ่านกัมมันต์ที่ผลิตจากเศษก้านจากมีความสามารถในการดูดซับไอโอดีนได้ดีกว่าถ่านกัมมันต์ที่ผลิตจากเศษหางจาก มีความสามารถในการดูดซับไอโอดีนได้ดีที่สุดเมื่อทำการกระตุ้นที่อุณหภูมิ 500 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 90 นาที แต่มีประสิทธิภาพการกำจัดเมทิลีนบลูได้ดีที่สุดเมื่อทำการกระตุ้นที่อุณหภูมิ 700 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 120 นาที

เมื่อเปรียบเทียบสมบัติทางกายภาพและสมบัติทางเคมีของถ่านกัมมันต์ที่ผลิตจากเศษก้านจากที่ทำการกระตุ้นที่อุณหภูมิ 500 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 90 นาที และเศษหางจากที่ทำการกระตุ้นที่อุณหภูมิ 500 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 120 นาที ซึ่งมีความสามารถในการดูดซับไอโอดีนได้ดีที่สุดกับวัสดุเหลือทิ้งชนิดอื่น ดังแสดงในตารางที่ 4 พบว่าเศษก้านที่ทำการกระตุ้นที่อุณหภูมิ 500 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 90 นาที สามารถนำมาผลิตถ่านกัมมันต์แทนวัสดุชนิดอื่นได้และมีคุณสมบัติอยู่ในเกณฑ์มาตรฐานเทียบกับถ่านกัมมันต์ทางการค้า

ตารางที่ 4 แสดงคุณสมบัติทางกายภาพและทางเคมีของถ่านกัมมันต์ที่ผลิตจากวัสดุเหลือทิ้ง

วัสดุ	คุณสมบัติทางกายภาพและทางเคมี			
	ปริมาณ ความชื้น (ร้อยละ)	ปริมาณ เถ้า (ร้อยละ)	ปริมาณไอโอดีน ที่ถูกดูดซับ (มิลลิกรัมต่อกรัม)	ประสิทธิภาพ การจัดสีย้อม (ร้อยละ)
เศษก้านจาก (กระตู่ที่ 500 องศาเซลเซียส 90 นาที)	0.27±0.01	0.74±0.04	771.58±2.78	59.30±0.91
เศษทางจาก (กระตู่ที่ 500 องศาเซลเซียส 120 นาที)	0.25±0.02	1.01±0.04	474.05±2.78	18.21±0.13
กะลามะพร้าว (กิติโรจน์ และคณะ, 2550)	-	-	-	158.73 (สโตนี)
เปลือกเมล็ดยางพารา (ไชยยันต์, 2550)	-	-	730.04	-
กากกาแฟ (เกตศิริ, 2552)	-	-	926.00	-
เปลือกปู (อรดี และศศิธร, 2557)	1.3	2.8	743.99	63.5–75.6 (เมทิลีนบลู)
เปลือกไข่ผสมเปลือกหอยแครง (วิรัชรอง, 2558)	-	-	510.44	64.47 (เมทิลเรด)
ผักตบชวา (จักรกฤษณ์, 2560)	-	-	-	442.20 (รีแอคทีฟแบล็ค5)
ถ่านกัมมันต์มาตรฐาน (สำนักงานมาตรฐาน ผลิตภัณฑ์อุตสาหกรรม, 2547)	น้อยกว่า 8	น้อยกว่า 6	ไม่น้อยกว่า 600	-

ดังนั้นสภาวะที่เหมาะสมสำหรับการเตรียมถ่านกัมมันต์ที่ผลิตจากเศษเหลือทิ้งในการผลิตไบจากให้มีคุณสมบัติเป็นไปตามมาตรฐานผลิตภัณฑ์อุตสาหกรรม มอก. 900-2547 ทำได้โดยนำเศษก้านจากมาผ่านกระบวนการคาร์บอนที่อุณหภูมิ 400 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 150 นาที มีผลผลิตร้อยละ 65.96 แล้วนำมาระดับด้วยซิงค์ (II) คลอไรด์ ที่อุณหภูมิ 500 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 90 นาที จะได้ถ่านกัมมันต์ที่มีปริมาณไอโอดีนที่ถูกดูดซับ 771.58±2.78 มิลลิกรัมต่อกรัม และมีประสิทธิภาพการจัดเมทิลีนบลูได้ร้อยละ 59.30±0.91

อภิปรายผลการวิจัย

การผลิตถ่านกัมมันต์โดยผ่านกระบวนการคาร์บอนซ์และกระตุ้นด้วยสารเคมีมีข้อดีคือ ใช้อุณหภูมิต่ำ และใช้ระยะเวลาในการกระตุ้นน้อย สามารถลดขนาดรูพรุน เพิ่มพื้นที่ผิวจำเพาะ และเพิ่มปริมาตรรูพรุนได้ดีมาก ทำให้ถ่านกัมมันต์ที่ผลิตได้มีประสิทธิภาพการดูดซับสูงขึ้น (รวินิภา, 2559) ปัจจัยที่มีผลต่อการดูดซับขึ้นอยู่กับกระบวนการเตรียมถ่านกัมมันต์ สภาพการกระตุ้น รวมถึงชนิดของสารกระตุ้น เช่น การผลิตถ่านกัมมันต์จากเปลือกเมล็ดยางพาราโดยใช้โพแทสเซียมไฮดรอกไซด์ และซิงค์ (II) คลอไรด์ เป็นสารกระตุ้น ถ่านกัมมันต์ที่กระตุ้นด้วยโพแทสเซียมไฮดรอกไซด์สามารถดูดซับไอโอดีนได้ถึง 911.97 มิลลิกรัมต่อกรัม ในขณะที่ถ่านกัมมันต์ที่กระตุ้นด้วยซิงค์ (II) คลอไรด์สามารถดูดซับไอโอดีนได้ 730.04 มิลลิกรัมต่อกรัม เนื่องจากผิวของเปลือกเมล็ดยางพารามีสภาพความเป็นกรดอ่อน ๆ ส่งผลให้เกิดปฏิกิริยาที่รุนแรงต่อโพแทสเซียมไฮดรอกไซด์ซึ่งเป็นเบสแก่มากกว่าปฏิกิริยาที่เกิดขึ้นกับซิงค์ (II) คลอไรด์ที่มีสภาพเป็นกรด (ไชยยันต์ และคณะ, 2552) และมีปัจจัยอื่น ๆ ที่ยังส่งผลต่อประสิทธิภาพการดูดซับ เช่น อัตราส่วนระหว่างสารกระตุ้นต่อวัตถุดิบ อุณหภูมิ และเวลาที่ใช้ในการกระตุ้น เป็นต้น ซึ่งจากผลการวิจัยนี้พบว่าการผลิตถ่านกัมมันต์โดยการกระตุ้นด้วยซิงค์ (II) คลอไรด์ ที่อุณหภูมิช่วง 500-700 องศาเซลเซียส จะเห็นว่าการเพิ่มอุณหภูมิการกระตุ้นส่งผลต่อปริมาณไอโอดีนที่ถูกดูดซับและประสิทธิภาพการกำจัดเมทิลีนบลู เนื่องจากการเพิ่มอุณหภูมิทำให้เกิดรูพรุนได้มากขึ้น เกิดการเปลี่ยนแปลงโครงสร้างได้ดีขึ้น แต่หากอุณหภูมิสูงเกินไปจะทำให้รูพรุนขยายตัวกว้างขึ้น ส่งผลได้จากค่าประสิทธิภาพการกำจัดเมทิลีนบลูที่มากขึ้นด้วย เพราะเมทิลีนบลูมีขนาดโมเลกุลใหญ่กว่าไอโอดีน ซึ่งสอดคล้องกับประสิทธิภาพของถ่านกัมมันต์ที่ผลิตจากถ่านไม้ยางพารา ซึ่งมีปริมาณไอโอดีนที่ถูกดูดซับมากที่สุดเมื่อทำการกระตุ้นที่อุณหภูมิสูงขึ้นจนถึง 500 องศาเซลเซียส และลดลงตามลำดับ เมื่อทำการกระตุ้นที่อุณหภูมิ 600 และ 700 องศาเซลเซียส ในขณะที่ประสิทธิภาพการกำจัดเมทิลีนบลูจะสูงขึ้นเรื่อย ๆ เมื่อทำการกระตุ้นที่อุณหภูมิ 500 600 และ 700 องศาเซลเซียส ตามลำดับ (จันทิมา และคณะ, 2559) ดังนั้นการเตรียมถ่านกัมมันต์เพื่อใช้ประโยชน์ด้านการดูดซับจึงควรคำนึงถึงขนาดของสารที่ถูกดูดซับเพื่อจะได้เตรียมในสถานะที่ทำให้ได้ตัวดูดซับที่มีประสิทธิภาพเหมาะสม

สรุปผลการวิจัย

การใช้ประโยชน์ของต้นจากเพื่อผลิตไบจากมวนยาสูบหรือกิจกรรมอื่น ๆ ทำให้มีเศษวัสดุเหลือทิ้งที่สามารถนำมาพัฒนาเป็นผลิตภัณฑ์ทางเลือกที่มีคุณสมบัติทางกายภาพ และคุณสมบัติทางเคมีเหมาะสม สามารถนำไปใช้ประโยชน์ในรูปแบบของถ่านกัมมันต์ที่เตรียมด้วยวิธีทางเคมีมีประสิทธิภาพในการดูดซับสารพิษ ลดปัญหาการจัดการซากเศษวัสดุที่เกิดกระบวนการผลิตไบจากมวนยาสูบ และลดการสร้างมลภาวะให้กับชุมชนได้ ถ่านกัมมันต์ที่ผลิตจากเศษก้านจากโดยกระตุ้นด้วยซิงค์ (II) คลอไรด์ที่อุณหภูมิ 500 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 90 นาที มีคุณสมบัติเพียงพอที่จะนำมาผลิตเป็นถ่านกัมมันต์ได้ เนื่องจากมีค่าปริมาณไอโอดีนที่ถูกดูดซับมากกว่า 600 มิลลิกรัมต่อกรัม มีปริมาณความชื้นน้อยกว่าร้อยละ 8 มีปริมาณถ่านน้อยกว่าร้อยละ 6 ตามมาตรฐานของ มอก.900-2547 สามารถนำไปใช้เป็นตัวดูดซับในกระบวนการดูดซับเพื่อกำจัดสารมลพิษในน้ำเช่นเดียวกับถ่านกัมมันต์ที่ผลิตจากวัสดุเหลือทิ้งทางการเกษตรชนิดอื่น ไม่ว่าจะเป็นสารมลพิษในกลุ่มโลหะหนัก

สีย้อม สารฆ่าแมลงและศัตรูพืช ที่มักพบในกิจกรรมที่เกี่ยวข้องหลายอุตสาหกรรมและมีการปนเปื้อนออกสู่แหล่งน้ำธรรมชาติ อีกทั้งสามารถพัฒนาผลิตภัณฑ์เป็นอาชีพเสริมให้กับชุมชนผลิตใบจากมวนยาสูบ ลดปัญหาการจัดการซากต้นจากหรือวัสดุเหลือทิ้ง อย่างไรก็ตามตัวดูดซับที่เตรียมในสถานะที่ต่างกันจะมีพฤติกรรมการดูดซับที่แตกต่างกันออกไป เนื่องจากมีปัจจัยหลายประการที่เกี่ยวข้อง ได้แก่ สมบัติของตัวดูดซับ สมบัติของสารที่ถูกดูดซับ ความเป็นกรดด่าง ความเข้มข้นของสารละลาย ระยะเวลาที่ใช้ในการดูดซับ ปริมาณของตัวดูดซับ และอุณหภูมิ

กิตติกรรมประกาศ

งานวิจัยนี้ได้รับทุนสนับสนุนจากมหาวิทยาลัยเทคโนโลยีราชมงคลศรีวิชัย

เอกสารอ้างอิง

- กิติโรจน์ หวันตาเหลา ขยาภาส ทับทอง และสินสุภา จุ้ยจุลเจิม. (2550). การดูดซับสีย้อมผ้าด้วยถ่านกัมมันต์ที่ผลิตจากถ่านหินและกะลามะพร้าว. *วารสารวิจัย มหาวิทยาลัยเทคโนโลยีราชมงคลธัญบุรี*, 10(2), 104-112.
- เกตศิริ เหล่าวชิรสุกุล. (2552). การเตรียมและศึกษาคุณสมบัติของถ่านกัมมันต์จากกากกาแฟโดยวิธีการกระตุ้นทางเคมี. *วารสารวิชาการ มหาวิทยาลัยหอการค้าไทย*, 29(2), 116-131.
- จักรกฤษณ์ อัมพูช ฐิตาพร คาญ นันทกานต์ ทองเฟื่อง สุจิตรา แก้วศิริ อิทธิศักดิ์ เภาโพธิ์ ไท แสงเทียน และพุทธร แสงเทียน. (2560). การดูดซับสีย้อมรีแอ็คทีฟแบบลิก 5 บนถ่านกัมมันต์ที่เตรียมจากผักตบชวา. *วารสารวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยี มหาวิทยาลัยอุบลราชธานี*, 19(1), 163-177.
- จันทิมา ชั่งสิริพร พรศิริ แก้วประดิษฐ์ และพฤกระยา พงศ์ยี่หล้า. (2559). การผลิตถ่านกัมมันต์จากถ่านไม้ยางพาราที่ได้จากโรงไฟฟ้าชีวมวลสำหรับงานเครื่องกรองน้ำ. *รายงานวิจัย. มหาวิทยาลัยสงขลานครินทร์*.
- จารุวรรณ คำแก้ว ประสิทธิ์ รุ่งเรือง และนรารัตน์ ทองศรีนุ่น. (2561). การเตรียมถ่านกัมมันต์จากวัสดุเหลือทิ้งต้นสาคุเป็นตัวดูดซับสำหรับกำจัดไอออนตะกั่วจากสารละลาย. *รายงานวิจัย. มหาวิทยาลัยราชภัฏสงขลา*.
- ไชยยันต์ ไชยยะ ปทุมทิพย์ ตันทับทิมทอง และวราภรณ์ ธนะคุณรังสรรค์. (2552). อิทธิพลของสารกระตุ้นที่มีต่อหมู่ทำหน้าที่และประสิทธิภาพในการดูดซับของถ่านกัมมันต์ที่ผลิตจากเปลือกเมล็ดยางพารา. *รายงานวิจัย. มหาวิทยาลัยเทคโนโลยีราชมงคลกรุงเทพ*.
- ธีรดิษฐ์ โพธิ์ตันติมงคล. (2560). ถ่านกัมมันต์จากวัสดุเหลือใช้ทางการเกษตรโดยการกระตุ้นทางเคมีเพื่อการประยุกต์ใช้กำจัดสารมลพิษในน้ำ. *วารสารหน่วยวิจัยวิทยาศาสตร์ เทคโนโลยี และสิ่งแวดล้อมเพื่อการเรียนรู้*, 8(1), 196-214.
- พชรวรรณ อังศิริสวัสดิ์ และเฉลิม เรืองวิริยะชัย. (2559). การดูดซับสีย้อมเมทิลีนบลูโดยใช้เปลือกหน่อไม้แห้ง. ใน *The national and international graduate research conference 2016* (หน้า 343-350). ขอนแก่น: บัณฑิตวิทยาลัย มหาวิทยาลัยขอนแก่น.

- รวินิภา ศรีมูล. (2559). การบำบัดสีย้อมในน้ำเสียด้วยกระบวนการดูดซับ. *วารสารวิทยาศาสตร์ มหาวิทยาลัยขอนแก่น*, 44(3), 419-434.
- รุจิรา ปิ่นแก้ว. (2556). การผลิตและการเตรียมถ่านกัมมันต์จากขี้ข้าวโพดเพื่อใช้ในการดูดซับมีเทน. *รายงานวิจัย*. มหาวิทยาลัยราชภัฏเพชรบูรณ์.
- วิรัชรอง แสงอรุณเลิศ. (2558). การดูดซับสีย้อมผ้าด้วยถ่านกัมมันต์ที่ผลิตจากเปลือกไข่และเปลือกหอยแครงโดยวิธีกระตุ้นทางเคมี. *วารสารวิชาการวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยี มหาวิทยาลัยราชภัฏนครสวรรค์*, 7(7), 97-110.
- สุวิทย์ ทองทรัพย์ สุดปรารถนา ธีราติ มินตรา บุญลัญชัยกุล ปวีณา พลัดพราก และจุไรวัลย์ รัตนะพิสิฐ. (2559). การดูดซับเมทิลีนบลูของถ่านกัมมันต์จากขี้เลื่อยไม้มะพร้าว. *วารสารวิชาการเทคโนโลยีอุตสาหกรรม: มหาวิทยาลัยราชภัฏสวนสุนันทา*, 4(2), 51-61.
- สำนักงานมาตรฐานผลิตภัณฑ์อุตสาหกรรม. (2547). *มาตรฐานผลิตภัณฑ์อุตสาหกรรม มอก. 900-2547 ถ่านกัมมันต์*. กระทรวงอุตสาหกรรม, กรุงเทพฯ.
- อรดี ฤทธิชัย และศศิธร มั่นเจริญ. (2557). การกำจัดสีย้อมในน้ำทิ้งจากอุตสาหกรรมสิ่งทอด้วยถ่านกัมมันต์จากเปลือกปู. *วารสารวิทยาศาสตร์บูรพา*, 19(1), 131-140.
- ASTM. Annual book of american society for testing and materials standard. (2011). Standard Test Method for Moisture in the Analysis Sample of Coal and Coke ASTM D3173-11.
- ASTM. Annual book of american society for testing and materials standard. (2011). Standard test method for ash in the analysis sample of coal and coke ASTM D3174-11.

การพัฒนาเครื่องหมาย allele-specific PCR เพื่อระบุจีโนไทป์ของยีน *CYP2C9* Allele-Specific PCR Development for *CYP2C9* Genotyping

นุรฟา การาวาล¹ อรุณรัตน์ วณิชชานนท์^{2*} และอารีรัตน์ หนูนวล³
Nurfa Karawan¹ Arunrut Vanichanon^{2*} and Areerat Hnoonual³

บทคัดย่อ

CYP2C9 เป็นเอนไซม์ที่มีผลต่อเภสัชจลนศาสตร์ของยาแอสไพริน ซึ่งยาแอสไพรินเป็นยาต้านการแข็งตัวของเลือดที่มีช่วงการรักษาแคบ เนื่องจากภาวะพหุสัณฐานทางพันธุกรรมของยีน *CYP2C9* มีผลต่อการตอบสนองต่อยาสูง และความหลากหลายทางพันธุกรรมของยีน *CYP2C9* ที่มีผลต่อระดับยาแอสไพรินในเลือด ได้แก่ *CYP2C9**2 (rs1799853) และ *CYP2C9**3 (rs1057910) ปัจจุบันเทคนิคที่นิยมใช้ระบุความหลากหลายทางพันธุกรรม คือเทคนิค PCR-RFLP และ real-time PCR ซึ่งทั้งสองเทคนิคเป็นวิธีการที่มีราคาแพง มีหลายขั้นตอนและใช้ระยะเวลานาน คณะผู้วิจัยจึงพัฒนาเทคนิค allele-specific polymerase chain reaction (AS-PCR) สำหรับระบุจีโนไทป์ของยีน *CYP2C9* โดยผลผลิตพีซีอาร์ที่คาดหวังของ *CYP2C9**2 คือ แอมพลีคอน 154 230 และ 346 คู่เบสตามลำดับ ส่วนผลผลิตพีซีอาร์ที่คาดหวังของ *CYP2C9**3 คือ แอมพลีคอน 128 200 และ 289 คู่เบสตามลำดับ การหาสภาวะที่เหมาะสมของปฏิกิริยาพีซีอาร์ใช้อุณหภูมิ annealing และความเข้มข้นของ $MgCl_2$ แตกต่างกันพบว่า อุณหภูมิ annealing ที่ 65 องศาเซลเซียส และความเข้มข้นของ $MgCl_2$ 1.25 มิลลิโมลาร์เป็นสภาวะที่เหมาะสม และยืนยันลำดับนิวคลีโอไทด์ด้วย Sanger DNA sequencing สรุปได้ว่าเทคนิค AS-PCR ที่พัฒนาขึ้นเป็นวิธีที่ทำได้รวดเร็ว ทำได้ง่ายและมีต้นทุนต่ำ ซึ่งสามารถระบุความหลากหลายทางพันธุกรรมของยีน *CYP2C9* เพื่อใช้ในการพิจารณาปรับขนาดยาแอสไพรินที่เหมาะสมสำหรับการรักษาได้

คำสำคัญ: ยาแอสไพริน ยีน *CYP2C9* AS-PCR

¹ สาขาวิชาชีววิทยา คณะศึกษาศาสตร์ มหาวิทยาลัยทักษิณ

² สาขาวิชาวิทยาศาสตร์และคณิตศาสตร์พื้นฐาน คณะวิทยาศาสตร์ มหาวิทยาลัยทักษิณ

³ ภาควิชาพยาธิวิทยา คณะแพทยศาสตร์ มหาวิทยาลัยสงขลานครินทร์

* Corresponding author e-mail: varunrut@hotmail.com

Received: 17 April 2020, Revised: 5 May 2020, Accepted: 6 May 2020

Abstract

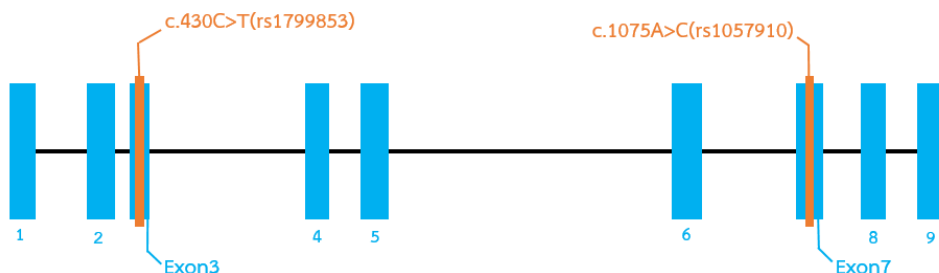
CYP2C9 is an enzyme that has effects on pharmacokinetics of warfarin, an anticoagulant drug. This drug is a narrow therapeutic index drug because genetic polymorphisms of *CYP2C9* have high effect on warfarin response. Genetic diversity of *CYP2C9* with effects on therapeutic drug of warfarin were *CYP2C9*2* (rs1799853) and *CYP2C9*3* (rs1057910). There are several methods available for genotyping such as PCR-RFLP and real-time PCR. However, both methods are expensive, manifold steps and time consuming. Hence, the researchers aimed to develop an allele-specific polymerase chain reaction (AS-PCR) method for *CYP2C9* genotyping. The expected PCR products of *CYP2C9*2* were 154 bp (wild type allele), 230 bp (mutant allele) and 346 bp (control) whereas the expected PCR products of *CYP2C9*3* were 128 bp (wild type allele), 200 bp (mutant allele) and 289 bp (control). The PCR reaction was optimized by adjusting annealing temperatures and $MgCl_2$ concentration. The results revealed that annealing temperature at 65 °C and $MgCl_2$ 1.25 mM were the suitable PCR condition for both *CYP2C9*2* and *CYP2C9*3* genotyping. Sanger DNA sequencing method were used for result validation. In conclusion, AS-PCR developed in this study is a fast, simple and cost-effective technique to identify *CYP2C9* genotype for warfarin dosage adjustment which is appropriate for the treatment.

Keywords: warfarin, *CYP2C9* gene, AS-PCR

บทนำ

ยาต้านการแข็งตัวของเลือด (anticoagulant) ในกลุ่ม vitamin K antagonist โดยมีกลไกการออกฤทธิ์ยับยั้ง clotting factor II VII IX และ X โดยยาจะรบกวนการทำงานของเอนไซม์ vitamin K epoxide reductase (VKORC) และยับยั้งปฏิกิริยา carboxylation ของ protein C และ protein S (Goldhaber *et al.*, 2013) เนื่องจากยาต้านการแข็งตัวของเลือดเป็นยาที่มีช่วงการรักษาแคบ (narrow therapeutic range) จึงต้องมีการติดตามการประเมินประสิทธิภาพและผลข้างเคียงของยาอย่างสม่ำเสมอ โดยควบคุมค่า international normalized ratio (INR) ให้อยู่ในระดับ 2.5 ± 0.5 ยกเว้นกรณี mechanical prosthetic valves ที่มีความเสี่ยงสูงกว่าโดย therapeutic INR จะเท่ากับ 3.0 ± 0.5 (สมาคมแพทย์โรคหัวใจแห่งประเทศไทย ในพระบรมราชูปถัมภ์, 2553) เพื่อลดผลข้างเคียงจากการใช้ปริมาณยาที่ไม่เหมาะสม โดยปริมาณยาที่มากเกินไปจะทำให้เกิดภาวะเลือดออก และปริมาณยาน้อยเกินไปจะมีผลให้เลือดแข็งตัวเกิดการอุดตันเส้นเลือดในอวัยวะสำคัญ ส่งผลให้เกิดอันตรายต่อผู้ป่วย ซึ่งปัจจัยที่มีผลต่อยาต้านการแข็งตัวของเลือดมีทั้งปัจจัยด้านสิ่งแวดล้อม เช่น อาหารที่มีปริมาณวิตามินเคสูง เพศ อายุ (สุทธิดา และคณะ, 2559) และปัจจัยด้านพันธุกรรม ซึ่งเป็นปัจจัยสำคัญ จากการศึกษาพบว่าความหลากหลายทางพันธุกรรมของยีนมีผลต่อการตอบสนองของยา

วาร์ฟารินแตกต่างกันถึงร้อยละ 30-90 โดยยีนที่มีผลต่อการตอบสนองต่อยาวาร์ฟารินคือ ยีน *cytochrome P450 2C9 (CYP2C9)* และยีน *VKORC1* เป็นหลัก โดยยีน *VKORC1* เกี่ยวข้องกับการยับยั้งการเปลี่ยนรูปของวิตามินเคในกระบวนการออกซิเดชันรีดักชัน และยีน *CYP2C9* เกี่ยวข้องกับกระบวนการสลายยาวาร์ฟารินในตับ นอกจากนี้ *CYP2C9* ยังมีบทบาทในการย่อยสลายยาที่ใช้ทางคลินิกอีกหลายชนิด เช่น ยากันชัก (antiepileptic drugs เช่น phenytoin) ยาต้านการอักเสบแบบไม่ใช่สเตียรอยด์ (NSAIDs) เช่น celecoxib diclofenac ibuprofen mefenamic acid meloxicam naproxen และ piroxicam เป็นต้น (ชลภัทร, 2554) โดยภาวะพหุสัณฐานทางพันธุกรรมของยีน *CYP2C9* ที่พบได้ทั่วไป คือ *CYP2C9*2* (c.430 C>T rs1799853) และ *CYP2C9*3* (c.1075A>C rs1057910) (ภาพที่ 1) ซึ่งพบในประชากรไทยในภาคใต้ 0 และ 8.1 เปอร์เซ็นต์ ตามลำดับ (Maneechay *et al.*, 2017) และพบในชาวเอเชีย 0 และ 1.7-6.8 เปอร์เซ็นต์ ตามลำดับ (นิตยสุภา และสุทธิดา, 2560) บุคคลที่มีอัลลีล *CYP2C9*2* หรือ *CYP2C9*3* มีความต้องการขนาดยาวาร์ฟารินลดลงกว่าปกติ (Wattanachai *et al.*, 2017) การตรวจสอบความหลากหลายทางพันธุกรรมของยีนนิยมใช้เทคนิค PCR-RFLP และ real-time PCR โดยเทคนิค PCR-RFLP นั้นจำเป็นต้องใช้เอนไซม์ตัดจำเพาะ (restriction enzyme) ซึ่งมีราคาสูงและในขั้นตอนการย่อยผลผลิตพีซีอาร์ด้วยเอนไซม์ตัดจำเพาะต้องใช้เวลานาน ส่วนวิธี real-time PCR เป็นวิธีที่มีต้นทุนสูง และจำเป็นต้องใช้เครื่อง real-time PCR ด้วยข้อจำกัดของทั้งสองวิธีซึ่งมีความซับซ้อน ใช้เวลานาน รวมทั้งมีต้นทุนสูง แต่เนื่องจากสถานพยาบาลมีผู้รับบริการจำนวนมาก และบุคลากรที่ปฏิบัติงานในห้องปฏิบัติการที่ตรวจสอบ ความหลากหลายทางพันธุกรรมน้อย ผู้วิจัยจึงหาแนวทางตรวจสอบจีโนมไทป์ที่สามารถนำมาใช้ในห้องปฏิบัติการที่ใช้เวลารวดเร็ว ลดขั้นตอนและสะดวกต่อทั้งผู้ให้บริการ ส่วนผู้รับบริการจะทราบผลการทดสอบเร็วขึ้น คือ การตรวจสอบจีโนมไทป์ของยีนด้วยเทคนิค allele-specific PCR ที่มีความจำเพาะกับลำดับนิวคลีโอไทด์ ซึ่งสามารถใช้จำแนกความหลากหลายทางพันธุกรรมของยีน การวิจัยนี้จึงมีวัตถุประสงค์พัฒนาเครื่องหมาย allele-specific PCR เพื่อระบุความหลากหลายของยีน *CYP2C9*



ภาพที่ 1 โครงสร้างของยีน *CYP2C9* และตำแหน่งสปีส์ *CYP2C9*2* (c.430C>T rs1799853) และ *CYP2C9*3* (c.1075A>C rs1057910)

วิธีดำเนินการวิจัย

การศึกษานี้ใช้ตัวอย่างดีเอ็นเอที่ทราบจีโนไทป์แล้วจำนวน 3 ตัวอย่าง ซึ่งได้รับการยืนยันผลจีโนไทป์ด้วยวิธีมาตรฐาน Sanger DNA sequencing สกัดดีเอ็นเอจาก EDTA blood ด้วย QIAamp® DNA blood mini kit (Qiagen, CA, USA) หาปริมาณความเข้มข้นของดีเอ็นเอด้วยเครื่องวัดสารพันธุกรรม eppendorf BioPhotometer plus วัดค่าการดูดกลืนแสงที่ 260 และ 280 นาโนเมตร และออกแบบไพรเมอร์ที่มีความจำเพาะต่อยีน *CYP2C9* ที่สนิปส์ตำแหน่ง *CYP2C9*2* และ *CYP2C9*3* (ตารางที่ 1) ตรวจสอบคุณสมบัติของไพรเมอร์ด้วยโปรแกรม Vector NTI และ NCBI primer blast อีกทั้งคำนวณอุณหภูมิขั้น annealing แล้วหาสภาวะที่เหมาะสมของปฏิกิริยาพีซีอาร์ สำหรับการเพิ่มปริมาณดีเอ็นเอที่ทราบจีโนไทป์แล้ว ด้วยเทคนิค allele-specific PCR โดยกำหนดองค์ประกอบปฏิกิริยาพีซีอาร์ (ตารางที่ 2) และกำหนดสภาวะสำหรับปฏิกิริยาพีซีอาร์ (ตารางที่ 3) สนิปส์ตำแหน่ง *CYP2C9*2* กำหนดอุณหภูมิขั้น annealing ที่ 59 61 63, 65 และ 67 องศาเซลเซียส ส่วนสนิปส์ตำแหน่ง *CYP2C9*3* กำหนดอุณหภูมิขั้น annealing ที่ 59 61 63 และ 65 องศาเซลเซียส โดยใช้ตัวอย่างดีเอ็นเอที่ทราบจีโนไทป์จำนวน 3 ตัวอย่าง (ตารางที่ 4) ที่สนิปส์ทั้ง 2 ตำแหน่งคือ *CYP2C9*2* และ *CYP2C9*3* ทดสอบโดยแยกคู่ไพรเมอร์สนิปส์ละ 3 คู่ คือ ไพรเมอร์คู่ควบคุม (wild type forward และ mutant reverse) ไพรเมอร์คู่ไวลด์ไทป์ (wild type forward และ wild type reverse) และไพรเมอร์คู่กลายพันธุ์ (mutant forward และ mutant reverse) โดยตัวอย่างดีเอ็นเอที่ 1 และ 2 ใช้ตรวจสอบสนิปส์ตำแหน่ง *CYP2C9*2* ส่วนสนิปส์ตำแหน่ง *CYP2C9*3* ใช้ตัวอย่างดีเอ็นเอหมายเลข 1 2 และ 3 ในการทดสอบ จากนั้นตรวจสอบผลผลิตพีซีอาร์โดยทำอิเล็กโทรโฟรีซิสแบบอะกาโรสความเข้มข้นร้อยละ 2.5 ด้วย 1XTAE ที่สภาวะ 100 โวลต์ เป็นเวลา 50 นาที แล้วนำไปย้อมด้วยสารละลาย ethidium bromide และถ่ายภาพภายใต้ UV transilluminator จีโนไทป์ของแต่ละรายจะอ่านตามขนาดของผลผลิตพีซีอาร์ โดยเปรียบเทียบขนาดกับ DNA ladder และในทุกตัวอย่างจะมีแถบของ internal control เพื่อตรวจสอบปฏิกิริยาพีซีอาร์โดยผลผลิตพีซีอาร์ที่คาดหวังของสนิปส์ตำแหน่ง *CYP2C9*2* คือ แถบดีเอ็นเอขนาด 346 230 และ 154 คู่เบส โดยหากปรากฏแถบดีเอ็นเอขนาด 346 และ 154 คู่เบส หมายความว่าตัวอย่างดีเอ็นเอนั้นมีจีโนไทป์แบบ homozygous wild type (C/C) หากปรากฏแถบดีเอ็นเอขนาด 346 และ 230 คู่เบส หมายความว่าตัวอย่างดีเอ็นเอนั้นมีจีโนไทป์แบบ homozygous mutant (T/T) และหากปรากฏแถบดีเอ็นเอทั้ง 3 ขนาด คือ 346 230 และ 154 คู่เบส หมายความว่าตัวอย่างดีเอ็นเอนั้นมีจีโนไทป์แบบ heterozygous mutation (C/T) (ภาพที่ 2 ก) ส่วนผลผลิตพีซีอาร์ที่คาดหวังของสนิปส์ตำแหน่ง *CYP2C9*3* คือ แถบดีเอ็นเอขนาด 289 200 และ 128 คู่เบส โดยหากปรากฏแถบดีเอ็นเอขนาด 289 และ 128 คู่เบส หมายความว่าตัวอย่างดีเอ็นเอนั้นมีจีโนไทป์แบบ homozygous wild type (A/A) หากปรากฏแถบดีเอ็นเอขนาด 289 และ 200 คู่เบส หมายความว่าตัวอย่างดีเอ็นเอนั้นมีจีโนไทป์แบบ homozygous mutant (C/C) และหากปรากฏแถบดีเอ็นเอทั้ง 3 ขนาด คือ 289 200 และ 128 คู่เบส หมายความว่าตัวอย่างดีเอ็นเอนั้นมีจีโนไทป์แบบ heterozygous mutation (A/C) (ภาพที่ 2 ข) จากนั้นนำผลผลิตพีซีอาร์ที่ได้จากเทคนิค allele-specific PCR มายืนยันผลโดยการหาลำดับนิวคลีโอไทด์ด้วยเทคนิค Sanger DNA sequencing

ตารางที่ 1 ไพรเมอร์ที่ใช้ในการทำพีซีอาร์เพื่อตรวจสอบความหลากหลายของยีน *CYP2C9*

สนิปส์	ชื่อไพรเมอร์	ไพรเมอร์ (5'-3')	ขนาดผลผลิตพีซีอาร์ (bp)
<i>CYP2C9*2</i>	CYP2C9*2_WF	GGGATCTCCCTCCTAGTTTCGT	154
(NM_000771.3: c.430C>T)	CYP2C9*2_WR	GGGCTTCCTCTTGAACCCG	
rs1799853	CYP2C9*2_MF	GAAGAGGAGCATTGAGGCCT	230
	CYP2C9*2_MR	GCAAATTCCTTGGCTCTCAG	
<i>CYP2C9*3</i>	CYP2C9*3_WF	GTCCAGGAAGAGATTGAACGTGT	128
(NM_000771.3: c.1075A>C)	CYP2C9*3_WR	CTGGTGGGGAGAAGGTCCAT	
rs1057910	CYP2C9*3_MF	GCACGAGGTCCAGAGATCCC	200
	CYP2C9*3_MR	GAGTTATGCACTTCTCTACCCG	

หมายเหตุ: internal control ของ *CYP2C9*2* ได้แก่ ไพรเมอร์ *CYP2C9*2_WF* กับ *CYP2C9*2_MR* ผลผลิตพีซีอาร์ขนาด 346 bp และ *CYP2C9*3* ได้แก่ ไพรเมอร์ *CYP2C9*3_WF* กับ *CYP2C9*3_MR* ผลผลิตพีซีอาร์ขนาด 289 bp

ตารางที่ 2 องค์ประกอบสำหรับปฏิกิริยาพีซีอาร์

fraction	stock	final conc.	1X(10 µl)
distilled water	-	-	2.85 µl
PCR buffer	10X	1X	1 µl
betaine	5X	1X	2 µl
MgCl ₂	50 mM	1.25 mM	0.25 µl
dNTPs	2.5 mM	0.2 mM	0.8 µl
forward primer	10 µl	1 µl	1 µl
reverse primer	10 µl	1 µl	1 µl
taq polymerase	5 U/µl	0.5 U	0.1 µl
total mastermix			9 µl
DNA	50 ng/µl	50 g	1 µl

ตารางที่ 3 สภาวะสำหรับปฏิกิริยาพีซีอาร์

steps	temp (°C)	time	cycle
initial denaturation	95	5 min	1 Cycle
denature	95	30 sec	repeat
annealing	*	30 sec	34
extension	72	30 sec	cycles
final extension	72	10 min	1
hold	15	forever	

หมายเหตุ: * กำหนดอุณหภูมิสำหรับ annealing ต่างกันคือ สนิปส์ตำแหน่ง *CYP2C9*2* : 59 61 63 65 และ 67 องศาเซลเซียส และสนิปส์ตำแหน่ง *CYP2C9*3* : 59 61 63 และ 65 องศาเซลเซียส

ตารางที่ 4 ตัวอย่างดีเอ็นเอที่ใช้ทดสอบคู่ไพรเมอร์ของสปีส์ *CYP2C9*2* และ *CYP2C9*3*

SNPs	คู่ไพรเมอร์	ขนาดแถบดีเอ็นเอ	ตัวอย่างดีเอ็นเอ		
		(bp)	1	2	3
<i>CYP2C9*2</i> (c.430C>T)	control	346	+	+	ไม่มี
	wild type	154	+	+	ตัวอย่างดี
	mutant	230	+	-	เอ็นเอ
<i>CYP2C9*3</i> (c.1075A>C)	control	289	+	+	+
	wild type	128	+	+	+
	mutant	200	-	-	+

หมายเหตุ: + หมายถึง พบแถบดีเอ็นเอ

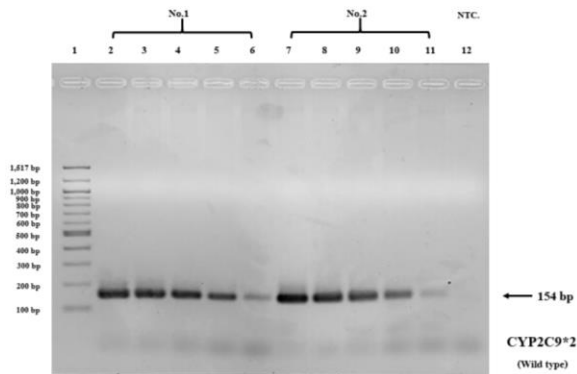
- หมายถึง ไม่พบแถบดีเอ็นเอ

ผลการวิจัยและอภิปรายผลการวิจัย

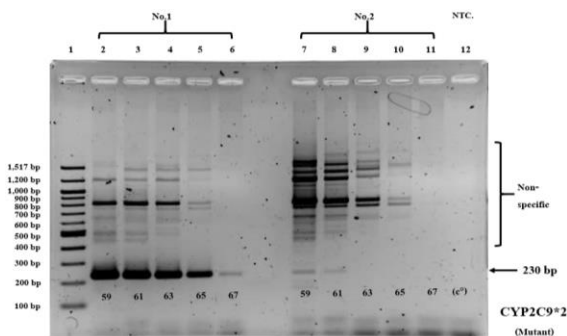
จากการหาสภาวะที่เหมาะสมสำหรับปฏิกิริยาพีซีอาร์เพื่อตรวจสอบความหลากหลายทางพันธุกรรมของยีน *CYP2C9* ด้วยเครื่องหมาย allele-specific PCR โดยใช้ตัวอย่างดีเอ็นเอที่ทราบจีโนไทป์จำนวน 3 ตัวอย่าง คือ ตัวอย่างที่ 1 2 และ 3 (ตารางที่ 4) ที่สปีส์ตำแหน่ง *CYP2C9*2* ทดสอบด้วยตัวอย่างดีเอ็นเอหมายเลข 1 (จีโนไทป์แบบ C/T) และ 2 (จีโนไทป์แบบ C/C) ทดสอบอุณหภูมิขั้น annealing ที่ 59 61 63 65 และ 67 องศาเซลเซียส พบว่าไพรเมอร์คู่ไวลด์ไทป์ ให้แถบดีเอ็นเอขนาด 154 คู่เบส ทุกอุณหภูมิของทั้งสองตัวอย่าง แต่ที่อุณหภูมิ 67 องศาเซลเซียส ปรากฏเป็นแถบจาง (ภาพที่ 2 ก) สรุปว่าอุณหภูมิ 65 องศาเซลเซียส เป็นอุณหภูมิที่เหมาะสมที่สุดสำหรับปฏิกิริยาพีซีอาร์ขั้น annealing ส่วนไพรเมอร์คู่กลายพันธุ์ ให้แถบดีเอ็นเอขนาด 230 คู่เบส ทุกอุณหภูมิของตัวอย่างที่ 1 แต่ปรากฏเป็นแถบจาง ที่อุณหภูมิ 67 องศาเซลเซียส แต่ตัวอย่างที่ 2 ไม่พบแถบดีเอ็นเอขนาด 230 คู่เบส ทุกอุณหภูมิ และยังพบแถบดีเอ็นเอที่ไม่จำเพาะ ที่อุณหภูมิ 59 61 63 และ 65 องศาเซลเซียส ทั้งสองตัวอย่าง (ภาพที่ 2 ข) จึงสรุปว่าอุณหภูมิ 65 องศาเซลเซียส เป็นอุณหภูมิขั้น annealing ที่เหมาะสมสำหรับปฏิกิริยาพีซีอาร์ เนื่องจากเห็นแถบดีเอ็นเอขนาด 230 คู่เบส ชัดเจนและพบแถบดีเอ็นเอไม่จำเพาะจำนวนน้อยและจาง และไพรเมอร์คู่สุดท้าย คือ ไพรเมอร์คู่ควบคุม ให้แถบดีเอ็นเอขนาด 346 คู่เบส และไม่ปรากฏแถบดีเอ็นเอไม่จำเพาะทุกอุณหภูมิ ทั้งสองตัวอย่าง (ภาพที่ 2 ค) สามารถสรุปได้ว่าอุณหภูมิขั้น annealing ทุกอุณหภูมิที่ทดสอบเหมาะสมสำหรับปฏิกิริยาพีซีอาร์นี้ ส่วนที่สปีส์ตำแหน่ง *CYP2C9*3* จากการหาสภาวะที่เหมาะสมสำหรับปฏิกิริยาพีซีอาร์ของไพรเมอร์คู่ไวลด์ไทป์ และควบคุม ทดสอบด้วยตัวอย่างดีเอ็นเอหมายเลข 1 (จีโนไทป์แบบ A/A) และ 2 (จีโนไทป์แบบ A/A) กำหนดความแตกต่างของอุณหภูมิขั้น annealing ดังนี้ 59 61 63 และ 65 องศาเซลเซียส ไพรเมอร์คู่ไวลด์ไทป์ให้แถบดีเอ็นเอขนาด 128 คู่เบส ทุกอุณหภูมิทั้งสองตัวอย่าง (ภาพที่ 3 ก) สรุปว่าอุณหภูมิที่ดีที่สุดสำหรับปฏิกิริยาพีซีอาร์ขั้น annealing คือ 65 องศาเซลเซียส เนื่องจากมีขนาดของแถบดีเอ็นเอขนาด 128 คู่เบสที่จำเพาะ และไม่พบแถบดีเอ็นเอไม่จำเพาะ ส่วนไพรเมอร์คู่ควบคุมให้แถบดีเอ็นเอขนาด 289 คู่เบส และไม่พบแถบดีเอ็นเอไม่จำเพาะทุกอุณหภูมิทั้งสองตัวอย่าง (ภาพที่ 3 ข) ดังนั้นอุณหภูมิขั้น annealing ทุกอุณหภูมิที่

ทดสอบเหมาะสำหรับปฏิกิริยาพีซีอาร์นี้ และไพรเมอร์คู่สุดท้ายคือไพรเมอร์คู่กลายพันธุ์ ให้ผลผลิตพีซีอาร์ที่คาดหวังขนาด 200 คู่เบส ทดสอบด้วยตัวอย่างดีเอ็นเอหมายเลข 1 (จีโนไทป์แบบ A/A) และ 2 (จีโนไทป์แบบ A/A) ไม่พบแถบดีเอ็นเอทุกอุณหภูมิทั้งสองตัวอย่างรวมทั้งตัวอย่างควบคุมแบบลบ (no template DNA, NTC) (ภาพที่ 3 ค) จึงทดสอบเพิ่มด้วยตัวอย่างดีเอ็นเอหมายเลข 1 (จีโนไทป์แบบ A/A) และ 3 (จีโนไทป์แบบ A/C) ใช้อุณหภูมิขั้น annealing ที่ 65 องศาเซลเซียส (อ้างอิงอุณหภูมิที่ดีที่สุดจากไพรเมอร์คู่ไวลด์ไทป์) โดยเปรียบเทียบกับไพรเมอร์คู่ควบคุมและไวลด์ไทป์จากการทดสอบปรากฏแถบดีเอ็นเอขนาด 128 (wild type) และ 289 (control) คู่เบส ทั้งสองตัวอย่าง แต่ตัวอย่างหมายเลข 3 ปรากฏแถบดีเอ็นเอขนาด 200 (mutant) คู่เบส ในขณะที่ตัวอย่างหมายเลข 1 ไม่ปรากฏแถบดีเอ็นเอ (ภาพที่ 3 ง) สรุปว่าอุณหภูมิ 65 องศาเซลเซียส เป็นอุณหภูมิขั้น annealing ที่เหมาะสมสำหรับปฏิกิริยาพีซีอาร์นี้

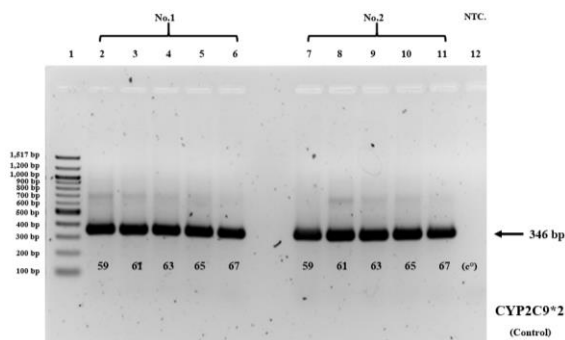
การตรวจสอบความหลากหลายทางพันธุกรรมของยีน มีหลายเทคนิค เช่น real-time PCR PCR-RFLP และการหาลำดับนิวคลีโอไทด์ของยีน ซึ่งเป็นเทคนิคที่มีความซับซ้อน ใช้เวลานานและราคาค่าตรวจสูง (Tyagi *et al.*, 2018) เทคนิค allele-specific PCR เป็นเทคนิคที่สามารถระบุจีโนไทป์ที่มีตำแหน่งสปีส์ ซึ่งเป็นเทคนิคที่มีความสะดวก ใช้เวลาประมาณ 3-4 ชั่วโมง ง่ายต่อการแปลผล และราคาค่าตรวจถูกกว่าวิธีข้างต้น (Wangkumhang *et al.*, 2007; Tyagi *et al.*, 2018) จากการหาสถานะที่เหมาะสมสำหรับปฏิกิริยาพีซีอาร์ของยีน *CYP2C9* ที่สปีส์ตำแหน่ง *CYP2C9*2* ไพรเมอร์คู่ไวลด์ไทป์และควบคุม ไม่ปรากฏแถบดีเอ็นเอไม่จำเพาะ แต่ไพรเมอร์คู่กลายพันธุ์มีแถบดีเอ็นเอไม่จำเพาะเกิดขึ้น อาจเนื่องจากมีความเข้มข้นของสารละลาย $MgCl_2$ มากเกินไป เป็นผลให้ไพรเมอร์สามารถจับกับสายดีเอ็นเอเป็นแถบดีเอ็นเอไม่จำเพาะได้ (Park and Kohel, 1994) ส่วนสปีส์ตำแหน่ง *CYP2C9*3* พบเพียงแถบดีเอ็นเอจำเพาะ แต่การทดสอบไพรเมอร์คู่กลายพันธุ์ ไม่ได้กำหนดความแตกต่างของอุณหภูมิขั้น annealing ซึ่งแตกต่างจากการทดสอบไพรเมอร์คู่อื่นเนื่องจากประชากรที่มีลักษณะการกลายพันธุ์ของสปีส์ตำแหน่ง *CYP2C9*3* ดังตัวอย่างหมายเลข 3 มีดีเอ็นเอปริมาณน้อยมาก ทำให้ตัวอย่างไม่เพียงพอต่อการทดสอบที่สถานะอุณหภูมิอื่น ดังนั้นอุณหภูมิสำหรับปฏิกิริยาขั้น annealing ที่เหมาะสมที่สุด คือ 65 องศาเซลเซียส ของทุกคู่ไพรเมอร์เนื่องจากไม่พบแถบดีเอ็นเอไม่จำเพาะหรือพบได้น้อยมาก



(ก)

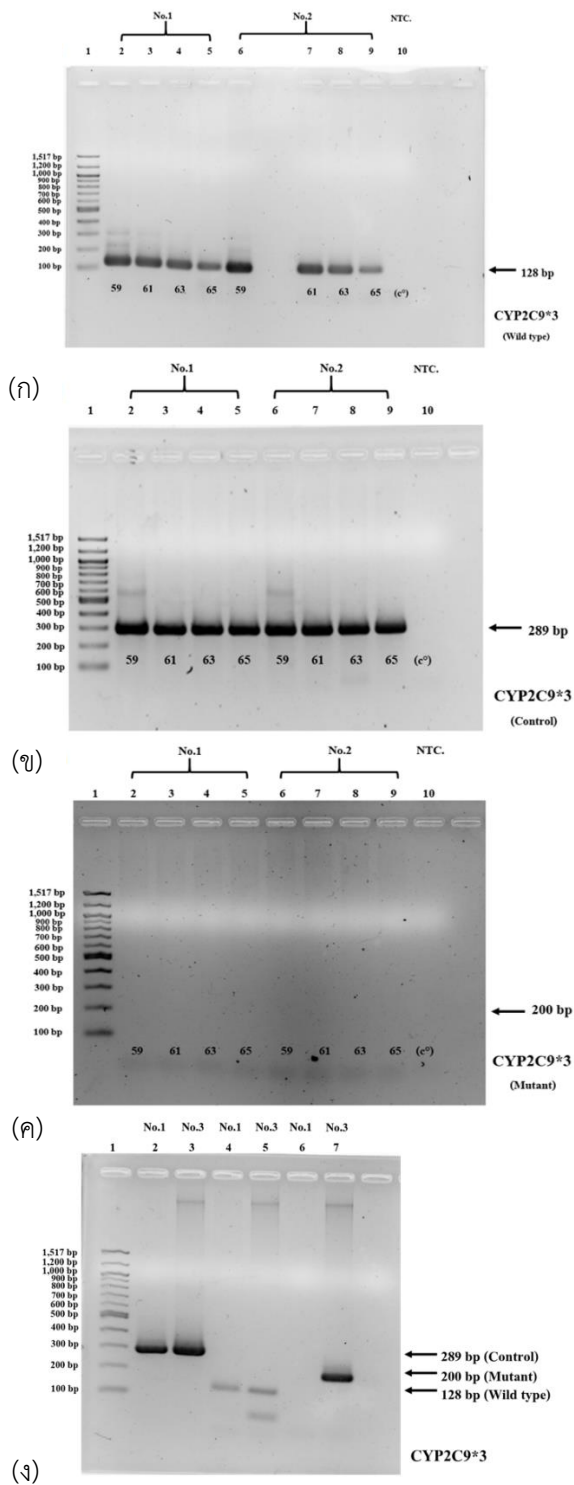


(ข)



(ค)

ภาพที่ 2 แถบดีเอ็นเอของผลิตภัณฑ์พีซีอาร์ของยีน *CYP2C9* ที่สลับตำแหน่ง *CYP2C9*2* (c.430 C>T) (ก) ใช้ไพรเมอร์คู่ไวลด์ไทป์ ขนาด 154 คู่เบส (ข) ใช้ไพรเมอร์คู่กลายพันธุ์ ขนาด 230 คู่เบส (ค) ใช้ไพรเมอร์คู่ควบคุม ขนาด 346 คู่เบส ซึ่งแถวที่ 1 แทน DNA ladder 100 คู่เบส แถวที่ 2-6 ดีเอ็นเอตัวอย่างที่ 1 (จีโนไทป์แบบ C/T) โดยอุณหภูมิขั้นตอน annealing ได้แก่ 59 61 63 65 และ 67 องศาเซลเซียส ตามลำดับ แถวที่ 7-11 ดีเอ็นเอตัวอย่างที่ 2 (จีโนไทป์แบบ C/C) โดยอุณหภูมิขั้นตอน annealing ได้แก่ 59 61 63 65 และ 67 องศาเซลเซียส ตามลำดับ และแถวสุดท้ายคือ แถวที่ 12 กลุ่มควบคุมแบบลบ (no template DNA, NTC)



ภาพที่ 3 แถบดีเอ็นเอของผลิตภัณฑ์พีซีอาร์ของยีน *CYP2C9* ที่สลับตำแหน่ง *CYP2C9*3* (c.1075A>C) (ก) ใช้ไพรเมอร์คู่ไวลด์ไทป์ ขนาด 128 คู่เบส (ข) ใช้ไพรเมอร์คู่ควบคุม

ขนาด 289 คู่เบส (ค) ใช้ไพรเมอร์คู่กลายพันธุ์ขนาด 200 คู่เบส ซึ่งแถวที่ 1 DNA ladder 100 คู่เบส แถวที่ 2-5 ดีเอ็นเอตัวอย่างที่ 1 (จีโนไทป์แบบ A/A) โดยอุณหภูมิขั้นตอน annealing ได้แก่ 59 61 63 และ 65 องศาเซลเซียส ตามลำดับ แถวที่ 6-9 ดีเอ็นเอตัวอย่างที่ 2 (จีโนไทป์แบบ A/A) โดยอุณหภูมิขั้นตอน annealing ได้แก่ 59 61 63 และ 65 องศาเซลเซียส ตามลำดับ และแถวที่ 12 กลุ่มควบคุมแบบลบ (no template DNA) (ง) ใช้ไพรเมอร์คู่กลายพันธุ์ ขนาด 200 คู่เบส เปรียบเทียบกับไพรเมอร์คู่ไวลด์ไทป์ และควบคุม ที่อุณหภูมิขั้นตอน annealing 65 องศาเซลเซียส โดยแถวที่ 1 DNA ladder 100 คู่เบส แถวที่ 2 4 และ 6 คือดีเอ็นเอตัวอย่างที่ 1 ไพรเมอร์คู่ควบคุม ไวลด์ไทป์ และกลายพันธุ์ ตามลำดับ แถวที่ 3 5 และ 7 ดีเอ็นเอตัวอย่างที่ 3 (จีโนไทป์แบบ A/C) ไพรเมอร์คู่ควบคุม ไวลด์ไทป์ และกลายพันธุ์ ตามลำดับ

สรุปผลการวิจัย

จากการออกแบบไพรเมอร์ที่มีความจำเพาะต่อยีน *CYP2C9* ที่สปีส์ตำแหน่ง *CYP2C9*2* และ *CYP2C9*3* พบว่าสภาวะที่เหมาะสมสำหรับปฏิกิริยาพีซีอาร์ทุกคู่ไพรเมอร์ของสปีส์ทั้งสองตำแหน่ง คืออุณหภูมิสำหรับปฏิกิริยาพีซีอาร์ขั้นตอน annealing ที่ 65 องศาเซลเซียส ตรวจสอบผลผลิตพีซีอาร์ด้วยอิเล็กโทรโฟรีซิสแบบอะกาโรส ที่สภาวะ 100 โวลต์ ใช้เวลา 50 นาที และผลผลิตพีซีอาร์ของตัวอย่างดีเอ็นเอที่ใช้ทดสอบสปีส์ทั้งสองตำแหน่งที่ยืนยันผลด้วยวิธี Sanger DNA sequencing โดยการทำ nucleotide blast กับ NCBI reference sequence: NG_008385.2 พบว่ามีความสอดคล้องกับลำดับนิวคลีโอไทด์ของยีน *CYP2C9* ในฐานข้อมูล NCBI 100 เปอร์เซ็นต์

ข้อเสนอแนะ

การศึกษานี้ยังมีข้อจำกัดในการตรวจสอบประสิทธิภาพของวิธีที่พัฒนาขึ้น เนื่องจากข้อจำกัดของจำนวนตัวอย่างที่ดีเอ็นเอทราบจีโนไทป์แล้ว ซึ่งยังไม่ครอบคลุมจีโนไทป์ที่เป็นไปได้ทั้งหมดของสปีส์ทั้งสองตำแหน่ง โดยเฉพาะตัวอย่าง homozygous mutation ของสปีส์ *CYP2C9*2* และ *CYP2C9*3* ซึ่งเป็นจีโนไทป์ที่พบได้น้อยมากในประชากรไทย โดยขณะนี้ทางคณะผู้วิจัยกำลังดำเนินการขอความอนุเคราะห์ตัวอย่างจากห้องปฏิบัติการอื่น ๆ

การศึกษานี้เป็นเพียงการศึกษานำร่องเพื่อพัฒนาวิธี AS-PCR สำหรับใช้สำหรับตรวจหาจีโนไทป์ของยีน *CYP2C9* ดังนั้นผลสรุปสภาวะพีซีอาร์ที่ได้ในครั้งนี้ พบว่ายังมีผลผลิตพีซีอาร์ที่ไม่จำเพาะปรากฏอยู่ คณะผู้วิจัยจึงมีแผนการพัฒนางานต่อไป โดยจะมีการปรับจากการทำ singleplex AS-PCR ซึ่งต้องแยกหลอดสำหรับไพรเมอร์แต่ละคู่ เปลี่ยนเป็น multiplex AS-PCR ของสปีส์ทั้งสองตำแหน่ง ซึ่งจะช่วยให้สามารถทำได้สะดวก รวดเร็วขึ้น และมีต้นทุนลดลง เหมาะสมสำหรับนำมาใช้ในห้องปฏิบัติการโรงพยาบาล โดยในการพัฒนาเป็น multiplex AS-PCR นั้นอาจจะมีการปรับอุณหภูมิสำหรับพีซีอาร์ขั้นตอน annealing ความเข้มข้นของ $MgCl_2$ รวมทั้งสัดส่วนความเข้มข้นของไพรเมอร์อีกครั้ง เพื่อปรับลดผลผลิตพีซีอาร์ที่ไม่จำเพาะและให้ได้สภาวะพีซีอาร์ที่เหมาะสมมากที่สุด

กิตติกรรมประกาศ

ขอขอบคุณ รองศาสตราจารย์ ดร.นพ.สุรศักดิ์ สังขทัต ณ อยุธยา อนุเคราะห์ตัวอย่างดีเอ็นเอ และหน่วยมนุษยพันธุศาสตร์ คณะแพทยศาสตร์ มหาวิทยาลัยสงขลานครินทร์ อนุเคราะห์วัสดุ อุปกรณ์และสถานที่

เอกสารอ้างอิง

- ชลภัทร สุขเกษม. (2554). การประยุกต์ใช้ตัวบ่งชี้ทางเภสัชพันธุศาสตร์เพื่อการปรับขนาดยาในเวชปฏิบัติ. *จุฬาลงกรณ์เวชสาร*, 55(1), 39-53.
- นิത്യสุภา วัฒนชัย และสุทธิดา แก้วมุงคุณ. (2560). เภสัชวิทยาและปัจจัยที่มีผลต่อการตอบสนองของยารวาร์ฟาริน. *ศรีนครินทร์เวชสาร*, 32(2), 189-199.
- สมาคมแพทย์โรคหัวใจแห่งประเทศไทย ในพระบรมราชูปถัมภ์. (2553). *แนวทางการรักษาผู้ป่วยด้วยยาต้านการแข็งตัวของเลือดชนิดรับประทาน*. สืบค้นเมื่อ 1 มกราคม 2563. จาก: http://www.thaiheart.org/images/column_1292154183/warfarin_Guideline%281%29.pdf.
- สุทธิดา แก้วมุงคุณ นิത്യสุภา วัฒนชัย และวิจิตรา ทศนิยมกุล. (2559). ปัจจัยทางคลินิกและปัจจัยทางสิ่งแวดล้อมที่มีผลต่อการรักษาด้วยยารวาร์ฟารินในขนาดคงที่. ใน *การประชุมวิชาการเสนอผลงานวิจัยบัณฑิตศึกษา ระดับชาติและนานาชาติ*. ขอนแก่น.
- Goldhaber, S.Z., Weitz, J.I. and Piazza, G. (2013). Pulmonary embolism. in creager, M.A., Beckman, J.A., Loscalzo J. (Eds.), *Vascular Medicine: A Companion to Braunwald's Heart Disease*, pp. 627-638. Boston: Saunders Elsevier.
- Maneechay, W., Chittithavorn, V., Lertlam, L., Sirisathienrooch, T., Duangpakdee, P. and Sangkhathat, S. (2017). Genotype distributions of *CYP2C9* and *VKORC1* in southern Thais and their association with warfarin maintenance dose in patients with cardiac surgery. *Asian Biomedicine*, 11(1), 81-87.
- Wangkumhang, P., Chaichoompu, K., Ngamphiw, C., Ruangrit, U., Chanprasert, J., Assawamakin, A. and Tongsim, S. (2007). WASP: a web-based allele-specific PCR assay designing tool for detecting SNPs and mutations. *BMC Genomics*, 8(275), doi:10.1186/1471-2164/8/275.
- Wattanachai, N., Kaewmoongkun, S., Pussadhamma, B. Makarawate, P., Wongvipaporn, C., Kiatchoosakun, S., Vannaprasaht, S. and Tassaneeyakul, W. (2017). The impact of non-genetic and genetic factors on a stable warfarin dose in Thai patients. *The European Journal of Clinical Pharmacology*, 73, 973-980
- Park, Y.H. and Kohel, R.J. (1994). Effect of concentration of $MgCl_2$ on random-amplified DNA polymorphism. *Biotechniques*, 16(4), 652-656.

- Tyagi, A.K., Khoshbeen, M.B., Curtis, P.H., Uppugunduri, C.R.S. and Ansar, M. (2018). Development and validation of an allele-specific PCR assay for genotyping a promoter and exonic single nucleotide polymorphisms of *MGMT* gene. *Journal of Biological Methods*, 5(2), doi: 10.14440/jbm.2018.224.

ภาวะโภชนาการและความรู้ด้านโภชนาการในผู้สูงอายุพื้นที่เทศบาล
ตำบลชะมาย จังหวัดนครศรีธรรมราช
Nutrition Status and Nutrition Knowledge of the Elderly
in Chamai Municipality, Nakhon Si Thammarat

จุฑาภรณ์ ลิ้มสุวรรณมณี^{1*} พวงรัตน์ จินพล² และมานิตา เจือบุญ²
Jutaporn Limsuwanmanee^{1*} Puangrat Jinpon² and Manita Jueboon²

บทคัดย่อ

การวิจัยครั้งนี้เป็นการวิจัยเชิงสำรวจ มีวัตถุประสงค์เพื่อประเมินภาวะโภชนาการและความรู้ด้านโภชนาการของผู้สูงอายุในพื้นที่เทศบาลตำบลชะมาย อำเภอทุ่งสง จังหวัดนครศรีธรรมราช จำนวน 323 คน ใช้วิธีสุ่มตัวอย่างแบบบังเอิญ เก็บข้อมูลระหว่างเดือนกุมภาพันธ์ถึงเดือนพฤษภาคม พ.ศ. 2561 เครื่องมือที่ใช้ในการวิจัย ได้แก่ แบบสอบถาม จากผลการวิจัยพบว่า ผู้สูงอายุส่วนใหญ่เป็นเพศหญิง มีอายุอยู่ในช่วง 60-69 ปี มีภาวะโภชนาการปกติ (ร้อยละ 51.1) มีภาวะน้ำตาลปกติ (ร้อยละ 39.9) ความดันโลหิตอยู่ในระดับสูง (ร้อยละ 55.8) ระดับความรู้ด้านโภชนาการอยู่ในระดับต่ำ (ร้อยละ 77.1) เมื่อพิจารณาปัจจัยส่วนบุคคลพบว่า ผู้สูงอายุเพศชายและเพศหญิงมีภาวะโภชนาการและระดับน้ำตาลในเลือดที่แตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญ ในขณะที่ระดับความดันโลหิตและความรู้ด้านโภชนาการไม่แตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญ นอกจากนี้ผู้สูงอายุที่มีช่วงอายุต่างกันมีภาวะโภชนาการและความรู้ด้านโภชนาการที่แตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญ ในขณะที่ระดับน้ำตาลในเลือดและระดับความดันโลหิตไม่แตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญ โดยพบว่าช่วงอายุมีความสัมพันธ์เชิงบวกกับภาวะโภชนาการแต่มีความสัมพันธ์เชิงลบกับระดับน้ำตาลในเลือด ความดันโลหิตและความรู้ด้านโภชนาการ ส่วนผลการศึกษาความรู้ด้านโภชนาการพบว่า ผู้สูงอายุส่วนใหญ่มีความรู้ในระดับต่ำ ซึ่งเมื่อพิจารณาด้านความสัมพันธ์ระหว่างความรู้ด้านโภชนาการกับปัจจัยด้านสุขภาพ พบว่า ความรู้ด้านโภชนาการมีความสัมพันธ์ในเชิงลบระดับต่ำกับภาวะโภชนาการ ($R^2 = -0.002$) ระดับน้ำตาลในเลือด ($R^2 = -0.036$) และความดันโลหิต ($R^2 = -0.024$) อย่างมีนัยสำคัญ ดังนั้นหน่วยงานด้านสาธารณสุขในพื้นที่ควรมีการเผยแพร่ความรู้เกี่ยวกับการบริโภคอาหารผ่านทางช่องทางที่ผู้สูงอายุสามารถเข้าถึงได้ง่ายเพื่อการมีภาวะโภชนาการที่ดีของผู้สูงอายุต่อไป

คำสำคัญ: ผู้สูงอายุ ภาวะโภชนาการ ความรู้ด้านโภชนาการ เทศบาลตำบลชะมาย

¹ สาขาวิชาวิทยาศาสตร์การอาหารและโภชนาการ คณะวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยี มหาวิทยาลัยราชภัฏนครศรีธรรมราช

² สาขาวิชาเทคโนโลยีสารสนเทศ คณะวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยี วิทยาลัยเทคโนโลยีภาคใต้

* Corresponding author e-mail: jutaporn_lim@nstru.ac.th

Received: 6 April 2020, Revised: 20 May 2020, Accepted: 28 May 2020

Abstract

This is a survey research. The objective was to assess the nutritional status and nutrition knowledge of the elderly in Chamai municipality, Thung Song district, Nakhon Si Thammarat province. An accidental sample of 323 elderly data were collected between February and May, 2018. The instrument used in this research was a questionnaire. The research found that the majority of the elderly were female, age between 60-69 years, with normal nutrition (51.1%), euglycemia (39.9%), hypertension (55.8%), with low nutrition knowledge (77.1%). When considering personal factors, it was found that male and female elderly had significantly different nutritional status and blood glucose levels, whereas blood pressure levels and nutrition knowledge were not significantly different. In addition, the elderly with different age groups had significantly different nutritional status and nutrition knowledge, whereas blood glucose levels and blood pressure levels were not significantly different. It was found that age ranges positively correlated with nutritional status but negatively correlated with blood glucose levels, blood pressure, and nutrition knowledge. The results about nutrition knowledge found that most of the elderly had a low level of knowledge. When considering the relationship between nutrition knowledge and health factors, it was found that nutrition knowledge had a significantly low negative relationship with nutritional status ($R^2 = -0.002$), blood glucose ($R^2 = -0.036$), and blood pressure ($R^2 = -0.024$) levels. Therefore, public health organizations in the area should disseminate knowledge about food consumption through various channels that the elderly can easily access for good nutritional status of the elderly.

Keywords: elderly, nutrition status, nutrition knowledge, Chamai municipality

บทนำ

ปัจจุบันประเทศไทยกำลังอยู่ในช่วงการเปลี่ยนผ่านเข้าสู่สังคมผู้สูงอายุโดยสมบูรณ์ (aged society) จากการรายงานของสำนักงานสถิติแห่งชาติ พบว่าประชากรผู้สูงอายุเพิ่มขึ้นอย่างต่อเนื่อง จากปี พ.ศ. 2550 มีจำนวนผู้สูงอายุคิดเป็นร้อยละ 10.7 ของประชากรทั้งประเทศ (สำนักงานสถิติแห่งชาติ, 2560) และเพิ่มขึ้นเป็นร้อยละ 17.1 ในปี พ.ศ. 2560 (สถาบันวิจัยประชากรและสังคม มหาวิทยาลัยมหิดล, 2560) จากข้อมูลประชากรของประเทศไทยปี 2559 ประชากรไทยมีจำนวน 64.6 ล้านคน เป็นผู้สูงอายุมากถึง 9.6 ล้านคน และคาดว่าในปี 2573 จะมีจำนวนผู้สูงอายุ 17.6 ล้านคน (ร้อยละ 26.3) และปี 2583 จะมีจำนวนถึง 20.5 ล้านคน (ร้อยละ 32.1) (บรรลุ, 2550) และจากข้อมูลของสำนักงานสถิติแห่งชาติ ในปี 2559 พบว่าจังหวัดนครศรีธรรมราชมีจำนวนประชากรผู้สูงอายุมากถึง

240,522 ราย คิดเป็นร้อยละ 15.47 ของประชากรทั้งหมด ถือเป็นอันดับ 5 ของประเทศไทย (สำนักงานสถิติแห่งชาติ, 2560)

ปัญหาด้านโภชนาการเป็นปัญหาที่พบได้ในผู้สูงอายุทั่วโลก สำหรับในประเทศไทย มีการศึกษาในชุมชนหรือผู้ป่วยในโรงพยาบาลด้วยภาวะต่าง ๆ เช่น กิตติกร และคณะ (2556) ศึกษาภาวะโภชนาการของผู้สูงอายุที่อาศัยอยู่ในพื้นที่สามจังหวัดชายแดนภาคใต้จำนวน 580 คน โดยใช้ mini nutritional assessment (MNA) พบว่าผู้สูงอายุ ร้อยละ 37.8 อยู่ในเกณฑ์เสี่ยงต่อการขาดอาหาร เมื่อประเมินภาวะโภชนาการของกลุ่มเสี่ยงเพิ่มเติมจำนวน 219 คน พบว่า ร้อยละ 62.1 มีความเสี่ยงต่อภาวะทุพโภชนาการ และร้อยละ 6.8 มีภาวะขาดสารอาหาร สมจิตร์ และผ่องพรรณ (2557) ศึกษาภาวะโภชนาการและปัจจัยที่เกี่ยวข้องในผู้สูงอายุเจ็บป่วยเรื้อรังที่มารับบริการคลินิกโรคไม่ติดต่อแผนกผู้ป่วยนอก โรงพยาบาลทุติยภูมิแห่งหนึ่ง จำนวน 182 คน โดยใช้ดัชนีมวลกายในการประเมิน พบว่าผู้สูงอายุมีภาวะทุพโภชนาการร้อยละ 60.4 แบ่งเป็นภาวะโภชนาการต่ำกว่าปกติหรือภาวะขาดสารอาหาร (undernutrition) ร้อยละ 13.7 ภาวะโภชนาการเกินร้อยละ 46.77 กุ้ยเกียรติ และคณะ (2558) ศึกษาภาวะโภชนาการของผู้สูงอายุในอำเภอนางรอง จังหวัดบุรีรัมย์ จำนวน 380 คน พบว่าผู้สูงอายุร้อยละ 38.4 มีความเสี่ยงต่อการขาดสารอาหารและร้อยละ 5.8 มีภาวะขาดสารอาหาร พุทธิพร และภิรมย์ (2562) ศึกษาภาวะโภชนาการและปัจจัยที่เกี่ยวข้องกับภาวะโภชนาการของผู้สูงอายุที่อาศัยอยู่ในชุมชน พบว่าผู้สูงอายุในชุมชนมีความเสี่ยงต่อภาวะขาดสารอาหารร้อยละ 35.9 และมีภาวะขาดสารอาหารร้อยละ 1.9 จะเห็นได้ว่าอุบัติการณ์ด้านภาวะโภชนาการของผู้สูงอายุมีความแตกต่างกันในแต่ละพื้นที่ ผู้วิจัยจึงมีความสนใจที่จะศึกษาภาวะโภชนาการและความรู้ด้านโภชนาการของผู้สูงอายุในพื้นที่รับผิดชอบของเทศบาลตำบลชะมาย อำเภอทุ่งสง จังหวัดนครศรีธรรมราช ซึ่งเป็นบริบทชุมชนกึ่งเมืองในความรับผิดชอบของโรงพยาบาลส่งเสริมสุขภาพตำบลหนองหัว ในปี 2560 ที่ผ่านมามีการรายงานถึงจำนวนผู้ป่วยด้วยอาการของโรคไม่ติดต่อชนิดเรื้อรัง (non-communicable diseases: NCDs) โดยเฉพาะในผู้สูงอายุมีจำนวนเพิ่มมากขึ้นเมื่อเทียบกับปี 2559 โดยพบว่าผู้สูงอายุที่มารับบริการในคลินิกโรคไม่ติดต่อชนิดเรื้อรังในปีงบประมาณ 2559 มีจำนวนทั้งสิ้น 383 ราย แบ่งเป็นผู้ป่วยรายใหม่ 32 รายและรายเก่า 351 ราย ส่วนในปีงบประมาณ 2560 มีจำนวน 391 ราย แบ่งเป็นผู้ป่วยรายใหม่ 43 รายและรายเก่า 348 ราย และในช่วงไตรมาสแรกของปีงบประมาณ 2561 (ตุลาคม 2560 ถึงมกราคม 2561) มีผู้สูงอายุมารับบริการในคลินิกดังกล่าวจำนวน 160 รายแบ่งเป็นผู้ป่วยรายใหม่ 27 รายและรายเก่า 133 ราย แสดงให้เห็นว่าผู้สูงอายุในพื้นที่มีแนวโน้มจะเกิดอาการโรคไม่ติดต่อชนิดเรื้อรังเพิ่มมากขึ้น ซึ่งอาการเจ็บป่วยดังกล่าวนี้มีสาเหตุมาจากหลายปัจจัยซึ่งปัจจัยที่สำคัญ คือ การบริโภคอาหารซึ่งสามารถประเมินได้จากภาวะโภชนาการ แต่ที่ผ่านมายังไม่พบรายงานเกี่ยวกับภาวะโภชนาการของผู้สูงอายุในพื้นที่ดังกล่าว อันจะเป็นประเมินภาวะโภชนาการเพื่อค้นหาผู้สูงอายุที่มีความเสี่ยงต่อภาวะโภชนาการขาดหรือเกินเพื่อใช้เป็นแนวทางวางแผนฟื้นฟูและส่งเสริมภาวะโภชนาการของผู้สูงอายุอย่างเหมาะสมต่อไป

วิธีดำเนินการวิจัย

1. ขอบเขตการวิจัย

การวิจัยครั้งนี้เป็นการวิจัยเชิงสำรวจ (survey research) กลุ่มตัวอย่างที่ศึกษา ได้แก่ ผู้สูงอายุที่อาศัยอยู่ในพื้นที่เทศบาลตำบลชะมาย อำเภอทุ่งสง จังหวัดนครศรีธรรมราช ซึ่งจากการสำรวจของกองสาธารณสุขและสิ่งแวดล้อม เทศบาลตำบลชะมาย จำนวนประชากรผู้สูงอายุในพื้นที่มีทั้งสิ้น 1,613 คน (ข้อมูล ณ วันที่ 1 กันยายน 2560) ขนาดของกลุ่มตัวอย่างใช้สูตรการคำนวณของ Yamane (1970) ที่ระดับความเชื่อมั่นร้อยละ 95 ยอมให้เกิดความคลาดเคลื่อนร้อยละ 0.5 เท่ากับ 323 คน ซึ่งเป็นผู้สูงอายุจาก 8 หมู่บ้าน โดยคำนวณหาสัดส่วนกับประชากรในแต่ละหมู่บ้าน จากนั้นจึงทำการสุ่มตัวอย่างโดยวิธีการสุ่มแบบบังเอิญ การเลือกกลุ่มตัวอย่างที่มีคุณสมบัติตามที่กำหนด คือเป็นผู้ที่มีอายุ 60 ปีขึ้นไปทั้งเพศชายและหญิงที่มีชื่ออาศัยในพื้นที่เทศบาลตำบลชะมาย อำเภอทุ่งสง จังหวัดนครศรีธรรมราช ไม่มีปัญหาในการติดต่อสื่อสาร สามารถพูดคุยให้ข้อมูลหรือพร้อมที่จะให้ทางผู้สัมภาษณ์ทำการตรวจประเมินสภาวะร่างกายบางประการได้ เช่น วัดความดันโลหิต วัดระดับน้ำตาลในเลือด เป็นต้น และยินดีเข้าร่วมการวิจัย และไม่เป็นผู้สูงอายุติดเตียง โดยใช้ข้อมูลเดิมจากการประเมินความสามารถในการประกอบกิจวัตรประจำวัน (barthel activities of daily living: ADL) ของโรงพยาบาลส่งเสริมสุขภาพตำบลหนองหว้ามาใช้ เนื่องจากผู้เก็บข้อมูลอาจจะไม่สามารถประเมินข้อมูลด้านสุขภาพบางประการของผู้สูงอายุติดเตียงได้ เช่น น้ำหนัก ส่วนสูง เป็นต้น เกณฑ์การคัดออก คือ ผู้สูงอายุที่ไม่สามารถสื่อสารเพื่อให้ข้อมูลได้หรือเกิดข้อผิดพลาดในระหว่างการเก็บข้อมูล เก็บรวบรวมข้อมูลระหว่างเดือนกุมภาพันธ์ถึงเดือนพฤษภาคม พ.ศ. 2561

ผู้วิจัยได้เตรียมความพร้อมของคณะผู้สัมภาษณ์ คือ ตัวแทนอาสาสมัครสาธารณสุขประจำหมู่บ้าน (อสม.) จากทั้ง 8 หมู่บ้าน จำนวน 16 คน โดยอบรมเกี่ยวกับการสัมภาษณ์การวิจัยครั้งนี้เพื่อให้เป็นแนวทางเดียวกันสำหรับการสัมภาษณ์ผู้ให้ข้อมูล นอกจากนี้ก่อนเก็บข้อมูลผู้วิจัยจะชี้แจงวัตถุประสงค์ในการทำการวิจัยและอธิบายรายละเอียดของแบบสัมภาษณ์ โดยผู้ให้ข้อมูลต้องลงนามหรือกล่าวยินยอมด้วยวาจา ผู้ให้ข้อมูลสามารถถอนตัวจากโครงการวิจัยเมื่อใดก็ได้ ข้อมูลที่ได้ถูกเก็บรักษาไว้เป็นความลับและนำเสนอในภาพรวมของการวิจัยเท่านั้น โดยการเก็บข้อมูลในส่วนที่เป็นข้อมูลส่วนบุคคล ข้อมูลด้านสุขภาพบางประการ เช่น น้ำหนัก ส่วนสูง การมีโรคประจำตัว เป็นต้น และข้อมูลความรู้ด้านโภชนาการ ผู้สัมภาษณ์ใช้วิธีการสอบถามข้อมูลจากกลุ่มตัวอย่าง ส่วนข้อมูลระดับความดันโลหิตและระดับน้ำตาลในเลือดของกลุ่มตัวอย่าง ผู้สัมภาษณ์ เป็นผู้ทำการตรวจวัดความดันโลหิตของกลุ่มตัวอย่างโดยใช้เครื่องวัดความดันโลหิตอัตโนมัติ (home blood pressure monitoring: HBPM) และวัดระดับน้ำตาลในเลือดของกลุ่มตัวอย่างเองโดยเครื่องตรวจวัดระดับน้ำตาลในเลือดด้วยตนเองชนิดพกพา (self monitoring of blood glucose meter) ผ่านการเจาะปลายนิ้ว โดยกลุ่มตัวอย่างไม่ต้องงดอาหาร

2. เครื่องมือและการตรวจสอบคุณภาพเครื่องมือ

เครื่องมือที่ใช้ในการวิจัยครั้งนี้เป็นแบบสอบถามแบ่งออกเป็น 2 ส่วน คือ ข้อมูลทั่วไป และข้อมูลความรู้เกี่ยวกับการบริโภค

ส่วนที่ 1 คำถามเกี่ยวกับข้อมูลทั่วไป ประกอบด้วยชื่อ-สกุล อายุ เพศ ที่อยู่ น้ำหนัก ส่วนสูง (ผู้สัมภาษณ์สอบถามจากตัวอย่าง) น้ำตาลในเลือด ความดันโลหิต (ผู้สัมภาษณ์ประเมินจากการวัดด้วยตนเอง) ใช้เกณฑ์การแบ่งกลุ่มผู้สูงอายุ (กรมกิจการผู้สูงอายุ, 2559) และการประเมินสุขภาพเบื้องต้น ประกอบไปด้วยค่าดัชนีมวลกาย (BMI) ใช้เกณฑ์การแบ่งกลุ่มผู้สูงอายุตามค่าดัชนีมวลกายสำหรับผู้สูงอายุ (สำนักงานส่งเสริมสุขภาพ กรมอนามัย กระทรวงสาธารณสุข, 2560) ระดับน้ำตาลในเลือด (มิลลิกรัม/เดซิลิตร) ใช้เกณฑ์การแบ่งกลุ่มผู้สูงอายุตามระดับน้ำตาลในเลือดในกรณีที่ไม่งดอาหาร (สมาคมโรคเบาหวานแห่งประเทศไทย, 2554) ระดับความดันโลหิต (มิลลิเมตรปรอท) ใช้เกณฑ์การแบ่งกลุ่มผู้สูงอายุตามระดับความดันโลหิต (สมาคมความดันโลหิตสูงแห่งประเทศไทย, 2558)

ส่วนที่ 2 คำถามความรู้ทั่วไปเกี่ยวกับการบริโภคอาหาร

แบบสอบถามความรู้ทั่วไปเกี่ยวกับการบริโภคอาหารจำนวน 10 ข้อ เป็นคำถามปรนัย ชนิด 4 ตัวเลือก โดยมีเกณฑ์การให้คะแนน คือ ตอบถูกได้คะแนน 1 คะแนน ถ้าตอบผิดได้ 0 คะแนน กลุ่มตัวอย่างจะเป็นผู้ทำแบบสอบถามด้วยตนเองหากกลุ่มตัวอย่างสามารถอ่านออก เขียนได้แต่ในกรณีที่กลุ่มตัวอย่างไม่สามารถอ่านออก เขียนได้ผู้สัมภาษณ์เป็นผู้สอบถามด้วยตนเอง การแปลความหมายแบบวัดความรู้ด้านโภชนาการ จะมี 3 ระดับ ตามเกณฑ์การประเมินโดยอ้างอิงจากการประเมินแบบอิงเกณฑ์ของ Bloom *et al.* (1971)

หาคุณภาพของเครื่องมือโดยการหาความตรงของเนื้อหา (content validity) โดยการนำไปให้ผู้ทรงคุณวุฒิจำนวน 3 ท่านตรวจสอบด้านเนื้อหาและความสอดคล้องกับวัตถุประสงค์ได้ค่าความตรงเชิงเนื้อหา (CVI) มากกว่า 0.80 ทั้งสองส่วน

3. การวิเคราะห์ข้อมูล

1. ข้อมูลส่วนบุคคลและข้อมูลด้านสุขภาพ วิเคราะห์ข้อมูลเชิงปริมาณ ใช้สถิติเชิงพรรณนา (descriptive Statistics) ได้แก่ ความถี่ ร้อยละ ค่าเฉลี่ย และส่วนเบี่ยงเบนมาตรฐาน วิเคราะห์ความแตกต่างของข้อมูลระหว่างหมู่โดยใช้สถิติ chi-square (ธานินทร์, 2551)

2. วิเคราะห์หาความสัมพันธ์ระหว่างข้อมูลด้านสุขภาพและความสัมพันธ์ระหว่างข้อมูลด้านสุขภาพกับความรู้ด้านโภชนาการของกลุ่มตัวอย่างโดยใช้การวิเคราะห์สถิติ chi-square และค่าสหสัมพันธ์ (correlation) (ธานินทร์, 2551)

ผลการวิจัย

จากผลการวิจัยที่ได้พบว่า ผู้สูงอายุในพื้นที่เทศบาลตำบลชะมาย อำเภอทุ่งสง จังหวัดนครศรีธรรมราชส่วนใหญ่เป็นเพศหญิง (ร้อยละ 66.6) โดยสัดส่วนระหว่างเพศชายและเพศหญิงในแต่ละหมู่ไม่มีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญ ($p > 0.05$) ส่วนใหญ่มีอายุอยู่ในช่วง 60-69 ปี รองลงมาคือช่วง 70-79 ปี และ 80-89 ปี และต่ำสุดคือ อายุ 90 ปีขึ้นไป (ร้อยละ 53.3 32.5 13.3 และ 0.9 ตามลำดับ) โดยสัดส่วนระหว่างช่วงอายุของผู้สูงอายุในแต่ละหมู่มีความแตกต่างกันอย่าง

มีนัยสำคัญ ($p \leq 0.05$) โดยจะพบว่าบางหมู่มีผู้สูงอายุส่วนใหญ่อยู่ในช่วงวัยอื่น เช่น หมู่ 2 และ 3 มีผู้สูงอายุในช่วง 70-79 ปี มากกว่าช่วงอายุอื่น ๆ (ตารางที่ 1) ข้อมูลด้านสุขภาพ พบว่าส่วนใหญ่ผู้สูงอายุมีภาวะโภชนาการปกติ (พิจารณาจากค่าดัชนีมวลกาย) รองมาคือ ภาวะอ้วนระดับ 1 ภาวะอ้วนระดับ 2 ผอมและภาวะอ้วนระดับ 3 ตามลำดับ (ร้อยละ 51.1 35.3 6.5 4.3 และ 2.8 ตามลำดับ) โดยสัดส่วนของภาวะโภชนาการของผู้สูงอายุในแต่ละหมู่ไม่มีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญ ($p > 0.05$) (ตารางที่ 2) ผู้สูงอายุส่วนใหญ่มีระดับน้ำตาลในเลือดปกติ รองลงมา คือ มีภาวะเบาหวาน และเสี่ยงเบาหวาน ตามลำดับ (ร้อยละ 39.9 39.4 และ 20.7 ตามลำดับ) โดยเมื่อพิจารณารวมไปถึงผู้ที่มีความเสี่ยงเบาหวานด้วยแล้วนั้นจะเห็นได้ว่ามีเพียงผู้สูงอายุในหมู่ 6 เท่านั้นที่มีระดับน้ำตาลในเลือดเป็นปกติมากกว่าร้อยละ 50 ส่วนหมู่อื่นพบว่าผู้สูงอายุที่มีระดับน้ำตาลในเลือดเป็นปกตินั้นมีจำนวนเพียงไม่ถึงร้อยละ 50 เท่านั้น และพบว่าผู้สูงอายุส่วนใหญ่มีความดันโลหิตสูง รองมาคือ ความดันโลหิตสูงและความดันโลหิตปกติ ตามลำดับ (ร้อยละ 55.8 30.3 และ 13.9 ตามลำดับ) โดยสัดส่วนของระดับความดันโลหิตของผู้สูงอายุในแต่ละหมู่ไม่มีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญ ($p > 0.05$) (ตารางที่ 2)

ส่วนผลการศึกษาความรู้ด้านโภชนาการของผู้สูงอายุในพื้นที่เทศบาลตำบลชะมาย อำเภอยะรัง จังหวัดนครศรีธรรมราช พบว่า ผู้สูงอายุในพื้นที่เทศบาลตำบลชะมายส่วนใหญ่มีความรู้ในระดับต่ำ (ร้อยละ 77.1) เมื่อพิจารณาแยกตามรายหมู่บ้านพบว่า ผู้สูงอายุในหมู่ 5 และ 6 ทุกคนที่ตอบแบบสอบถามมีความรู้ด้านโภชนาการอยู่ในระดับต่ำ (ร้อยละ 100.0) โดยพบว่าผู้สูงอายุแต่ละหมู่มีระดับความรู้ด้านโภชนาการแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญ ($p \leq 0.05$) (ตารางที่ 3)

ตารางที่ 1 จำนวน (คน) และร้อยละของตัวอย่างผู้สูงอายุในพื้นที่เทศบาลตำบลชะมายแยกตามเพศและช่วงอายุ

ข้อมูล	จำนวน (คน) (ร้อยละ)								รวม	
	หมู่ 1	หมู่ 2	หมู่ 3	หมู่ 4	หมู่ 5	หมู่ 6	หมู่ 7	หมู่ 8		
เพศ										
ชาย	20 (34.5)	10 (29.4)	4 (21.1)	8 (22.2)	10 (38.5)	8 (36.4)	22 (33.8)	26 (41.3)	108 (33.4)	$\chi^2 = 5.74$ $P = 0.570^*$
หญิง	38 (65.5)	24 (70.6)	15 (78.9)	28 (77.8)	16 (61.5)	14 (63.6)	43 (66.2)	37 (58.7)	215 (66.6)	
อายุ										
60-69 ปี	36 (62.1)	12 (35.5)	8 (42.1)	21 (58.3)	10 (38.5)	12 (54.5)	27 (41.5)	46 (73.0)	172 (53.3)	$\chi^2 = 40.52$ $P = 0.006^*$
70-79 ปี	18 (31.0)	13 (38.2)	9 (47.4)	10 (27.8)	9 (34.6)	5 (22.7)	27 (41.5)	14 (22.2)	105 (32.5)	
80-89 ปี	4 (6.9)	7 (20.6)	2 (10.5)	5 (13.9)	7 (26.9)	5 (22.7)	10 (15.4)	3 (4.8)	43 (13.3)	
90 ปี ขึ้นไป	0 (0.0)	2 (5.7)	0 (0.0)	0 (0.0)	0 (0.0)	0 (0.0)	1 (1.6)	0 (0.0)	3 (0.9)	

หมายเหตุ: * มีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p < 0.05$)

ตารางที่ 2 จำนวน (คน) และร้อยละของตัวอย่างผู้สูงอายุในพื้นที่เทศบาลตำบลชะมายแยกตามค่าดัชนีมวลกาย (กิโลกรัม/ตารางเมตร) (ภาวะโภชนาการ) ระดับน้ำตาลในเลือด (มิลลิกรัม/เดซิลิตร) และความดันโลหิต (มิลลิเมตรปรอท)

ข้อมูล	จำนวน (คน) (ร้อยละ)								รวม	
	หมู่ 1	หมู่ 2	หมู่ 3	หมู่ 4	หมู่ 5	หมู่ 6	หมู่ 7	หมู่ 8		
ดัชนีมวลกาย										
BMI < 18.5 (ผอม)	1 (1.7)	3 (8.8)	1 (5.3)	1 (2.8)	1 (3.8)	2 (9.2)	3 (4.6)	2 (3.2)	14 (4.3)	$\chi^2 = 26.19$ $P = 0.562^*$
BMI 18.5 - 24.9 (โภชนาการปกติ)	34 (58.6)	17 (50.0)	8 (42.1)	17 (47.2)	13 (50.0)	14 (63.6)	38 (58.5)	24 (38.1)	165 (51.1)	
BMI 25.0 – 29.9 (อ้วนระดับ 1)	19 (32.8)	11 (32.4)	9 (47.4)	16 (44.4)	9 (34.6)	3 (13.6)	15 (23.1)	32 (50.8)	114 (35.3)	
BMI 30.0 – 39.9 (อ้วนระดับ 2)	3 (5.2)	2 (5.9)	1 (5.3)	2 (5.6)	2 (7.7)	2 (9.1)	5 (7.7)	4 (6.3)	21 (6.5)	
BMI ≥ 40.0 (อ้วนระดับ 3)	1 (1.7)	1 (2.9)	0 (0.0)	0 (0.0)	1 (3.8)	1 (4.5)	4 (6.2)	1 (1.6)	9 (2.8)	
น้ำตาลในเลือด (ไม่งดอาหาร)										
ต่ำกว่า 140 มิลลิกรัม/เดซิลิตร (ปกติ)	22 (37.9)	10 (29.4)	6 (31.6)	13 (36.1)	12 (46.1)	13 (59.1)	27 (41.5)	26 (41.3)	129 (39.9)	$\chi^2 = 27.60$ $P = 0.016^*$
141 – 199 มิลลิกรัม/เดซิลิตร (เสี่ยงเบาหวาน)	10 (17.2)	7 (20.6)	2 (10.5)	6 (16.7)	9 (34.6)	6 (27.3)	20 (30.8)	7 (11.1)	67 (20.7)	
200 มิลลิกรัม/เดซิลิตร ขึ้นไป (ภาวะเบาหวาน)	26 (44.9)	17 (50.0)	11 (57.9)	17 (47.2)	5 (19.3)	3 (13.6)	18 (27.7)	30 (47.6)	127 (39.4)	

ตารางที่ 2 (ต่อ)

ข้อมูล	จำนวน (คน) (ร้อยละ)								รวม	
	หมู่ 1	หมู่ 2	หมู่ 3	หมู่ 4	หมู่ 5	หมู่ 6	หมู่ 7	หมู่ 8		
ความดันโลหิต										
91/61-120/80 มิลลิเมตรปรอท	1	9	2	6	4	6	9	8	45	$\chi^2 = 23.61$ $P = 0.051$
(ปกติ)	(1.7)	(26.5)	(10.5)	(16.7)	(15.4)	(27.3)	(13.8)	(12.7)	(13.9)	
121/81-140/90 มิลลิเมตรปรอท	17	10	4	6	7	7	19	24	98	
(ค่อนข้างสูง)	(29.3)	(29.4)	(21.1)	(16.7)	(26.9)	(31.8)	(29.2)	(38.1)	(30.3)	
141/91 มิลลิเมตรปรอท ขึ้นไป	40	15	13	24	15	9	37	31	180	
(สูง)	(69.0)	(44.1)	(68.4)	(66.7)	(57.7)	(40.9)	(56.9)	(49.2)	(55.8)	

หมายเหตุ: * มีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p < 0.05$)

ตารางที่ 3 จำนวน (คน) และร้อยละของตัวอย่างผู้สูงอายุในพื้นที่เทศบาลตำบลชะมายแยกตามระดับความรู้ด้านโภชนาการ

หมู่	จำนวนผู้สูงอายุ (คน) (ร้อยละ)				
	ความรู้ระดับต่ำ	ความรู้ระดับปานกลาง	ความรู้ระดับดี	รวม	
1	35 (60.3)	21 (36.2)	2 (3.4)	58 (100.0)	$\chi^2 = 34.88$ $P = 0.002^*$
2	23 (67.6)	11 (32.4)	0 (0.0)	34 (100.0)	
3	18 (94.7)	1 (5.3)	0 (0.0)	19 (100.0)	
4	28 (77.8)	7 (19.4)	1 (2.8)	36 (100.0)	
5	26 (100.0)	0 (0.0)	0 (0.0)	26 (100.0)	
6	22 (100.0)	0 (0.0)	0 (0.0)	22 (100.0)	
7	45 (69.2)	19 (29.2)	1 (1.5)	65 (100.0)	
8	52 (82.5)	11 (17.5)	0 (0.0)	63 (100.0)	
รวม	49 (77.1)	70 (21.7)	4 (1.2)	323 (100.0)	

หมายเหตุ: * มีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p < 0.05$)

ความสัมพันธ์ระหว่างความรู้ด้านโภชนาการกับปัจจัยด้านสุขภาพ

เมื่อพิจารณาความสัมพันธ์ระหว่างความรู้ด้านโภชนาการกับปัจจัยด้านสุขภาพ ได้แก่ ภาวะโภชนาการ ระดับน้ำตาลในเลือดและความดันโลหิต พบว่า ผู้สูงอายุที่มีภาวะโภชนาการต่างกันจะมีระดับน้ำตาลในเลือดและความดันโลหิตที่ต่างกันอย่างมีนัยสำคัญ ($p < 0.05$) และภาวะโภชนาการของผู้สูงอายุมีความสัมพันธ์เชิงบวกกับระดับน้ำตาลในเลือดและความดันโลหิต ($R^2 = 0.185$ และ 0.052 ตามลำดับ) อย่างมีนัยสำคัญ ($p = 0.00$) (ตารางที่ 4) ความรู้ด้านโภชนาการของผู้สูงอายุที่ต่างกันไม่ส่งผลต่อภาวะโภชนาการ ระดับน้ำตาลในเลือดและความดันโลหิตที่ต่างกันอย่างมีนัยสำคัญ ($p \geq 0.05$) ในขณะที่ความรู้ด้านโภชนาการมีความสัมพันธ์เชิงลบกับภาวะโภชนาการ ระดับน้ำตาลในเลือดและความดันโลหิต ($R^2 = -0.002$ -0.036 และ -0.024 ตามลำดับ) อย่างมีนัยสำคัญ ($p = 0.00$) (ตารางที่ 5)

ตารางที่ 4 ความสัมพันธ์ระหว่างภาวะโภชนาการกับระดับน้ำตาลในเลือดและความดันโลหิตของผู้สูงอายุในพื้นที่เทศบาลตำบลชะมาย

ภาวะโภชนาการ	ระดับน้ำตาลในเลือด				
	ปกติ	เสี่ยงเบาหวาน	เบาหวาน		
ผอม	7	5	2	$\chi^2 = 93.29$ $P = 0.000^*$	$R^2 = 0.185$ $P = 0.000^{**}$
ปกติ	99	38	28		
อ้วนระดับ 1	18	18	78		
อ้วนระดับ 2	4	4	13		
อ้วนระดับ 3	1	2	6		
ภาวะโภชนาการ	ระดับความดันโลหิต				
	ปกติ	เสี่ยงสูง	สูง		
ผอม	6	4	4	$\chi^2 = 28.91$ $P = 0.000^*$	$R^2 = 0.052$ $P = 0.000^{**}$
ปกติ	30	58	77		
อ้วนระดับ 1	7	27	80		
อ้วนระดับ 2	1	27	13		
อ้วนระดับ 3	1	2	6		

หมายเหตุ: * มีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p < 0.05$)

** มีสหสัมพันธ์อย่างมีนัยสำคัญทางสถิติที่ระดับ 0.05 (แบบ 2 ทาง)

ตารางที่ 5 ความสัมพันธ์ระหว่างความรู้ด้านโภชนาการ กับภาวะโภชนาการ ระดับน้ำตาลในเลือด และความดันโลหิตของผู้สูงอายุในพื้นที่เทศบาลตำบลชะเมา

ความรู้ด้าน โภชนาการ	ภาวะโภชนาการ						
	ผอม	ปกติ	อ้วน ระดับ 1	อ้วน ระดับ 2	อ้วน ระดับ 3		
ระดับต่ำ	12	123	90	17	7	$X^2 = 2.31$ $P = 0.970^*$	$R^2 = -0.002$ $P = 0.000^{**}$
ระดับปานกลาง	2	39	23	4	2		
ระดับดี	0	3	1	0	0		
ความรู้ด้าน โภชนาการ	ระดับน้ำตาลในเลือด						
	ปกติ	เสี่ยงเบาหวาน	เบาหวาน				
ระดับต่ำ	97	54	98	$X^2 = 1.53$ $P = 0.821^*$	$R^2 = -0.036$ $P = 0.000^{**}$		
ระดับปานกลาง	30	13	27				
ระดับสูง	2	0	2				
ความรู้ด้าน โภชนาการ	ระดับความดันโลหิต						
	ปกติ	เสี่ยงสูง	สูง				
ระดับต่ำ	37	74	138	$X^2 = 1.64$ $P = 0.800^*$	$R^2 = -0.024$ $P = 0.000^{**}$		
ระดับปานกลาง	8	22	40				
ระดับสูง	0	2	2				

หมายเหตุ: * มีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p < 0.05$)

** มีสหสัมพันธ์อย่างมีนัยสำคัญทางสถิติที่ระดับ 0.05 (แบบ 2 ทาง)

การอภิปรายผลการวิจัย

การที่ผู้สูงอายุในพื้นที่โดยส่วนมากมีภาวะโภชนาการปกติ (ร้อยละ 51.1) แต่มีปัจจัยด้านสุขภาพอื่น ๆ ที่ค่อนข้างสูงกว่าเกณฑ์มาตรฐานทั้งระดับน้ำตาลในเลือดและความดันโลหิต อาจเป็นเพราะผู้สูงอายุในพื้นที่ส่วนใหญ่เป็นผู้สูงอายุตอนต้นซึ่งยังคงสามารถดำเนินกิจวัตรประจำวันได้ และช่วยเหลือตนเองได้ซึ่งจากข้อมูลเบื้องต้นที่ได้จากกลุ่มอสม.พบว่าผู้สูงอายุที่เข้าร่วมการวิจัยจัดเป็นผู้สูงอายุติดสังคม (ร้อยละ 90) และผู้สูงอายุติดบ้าน (ร้อยละ 8) อีกทั้งพื้นที่วิจัยนี้นับได้ว่าเป็นพื้นที่กึ่งเมือง ผู้สูงอายุในพื้นที่จึงมีความสะดวกในการจัดหาอาหารได้อย่างสมบูรณ์ ซึ่งสอดคล้องกับการศึกษาของพุทธิพร และภิรมย์ (2562) ที่พบว่าผู้สูงอายุที่อาศัยอยู่ในชุมชนแห่งหนึ่ง จังหวัดศรีสะเกษมากกว่าร้อยละ 50 มีอายุอยู่ในช่วง 60-69 ปีและมีภาวะโภชนาการเกินเกณฑ์ (ใช้แบบคัดกรองโภชนาการแบบ MNA ซึ่งมีการใช้ค่าดัชนีมวลกายร่วมพิจารณาด้วย) ความคล้ายคลึงนี้อาจเนื่องจากพื้นที่วิจัยมีสภาพเป็นชุมชนกึ่งเมืองเช่นเดียวกันและอาจเนื่องจากกลุ่มตัวอย่างส่วนใหญ่เป็นผู้สูงอายุวัยต้น ซึ่งยังเป็นวัยที่มีการเปลี่ยนแปลงตามกระบวนการสูงอายุมิได้เด่นชัด การทำงานของร่างกายในระดับกำลังสำรองในวัยนี้ยังสามารถชดเชยการเปลี่ยนแปลงได้ ในขณะที่การเปลี่ยนแปลงตามกระบวนการชราทั้งทางด้านร่างกายและจิตใจจะพบชัดเจนมากขึ้นในผู้สูงอายุวัยกลางและวัยปลาย (สุทธิชัย, 2544) นอกจากนี้ยังมีงานวิจัยที่เกี่ยวข้องกับการประเมินภาวะโภชนาการผู้สูงอายุโดยใช้การประเมินน้ำหนัก ส่วนสูงและดัชนีมวลกายในผู้สูงอายุในประเทศได้วัน โดยพบว่าผู้สูงอายุเพศ

ชายและหญิงในมีดัชนีมวลกายโดยเฉลี่ยอยู่ที่ 23.6 และ 24.4 ตามลำดับ ซึ่งในงานวิจัยนี้ได้ใช้เกณฑ์ดัชนีมวลกายขององค์การอนามัยโลก (world health organization: WHO) คือ ดัชนีมวลกายสูงกว่า 30.0 ถือว่ามีภาวะอ้วน (obesity) จากผลการวิจัยพบว่าผู้สูงอายุได้ห้วนมีภาวะอ้วนประมาณร้อยละ 3.2-6.4 ซึ่งถือว่าต่ำกว่าที่มีรายงานในประเทศคูเวต (ร้อยละ 32.3-40.6) แต่ยังสูงกว่าที่มีรายงานในประเทศญี่ปุ่น (ร้อยละ 0.99-3.8) (Chiu *et al.*, 2000) เมื่อเปรียบเทียบกับงานวิจัยในครั้งนี้นี้แสดงให้เห็นว่าผู้สูงอายุในพื้นที่เทศบาลตำบลชะเมา มีภาวะอ้วน (อ้วนระดับ 1 2 และ 3) ร้อยละ 44.6 ซึ่งนับว่าสูงกว่าบางประเทศในแถบทวีปเอเชีย อาจเนื่องมาจากความแตกต่างในเรื่องของลักษณะอาหาร ลักษณะภูมิอากาศและปัจจัยในการดำเนินชีวิตของแต่ละประเทศ

นอกจากนี้ยังพบว่าผู้สูงอายุเพศชายและเพศหญิงมีภาวะโภชนาการและระดับน้ำตาลในเลือดที่แตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญ ($p < 0.05$) แต่มีระดับความดันโลหิตและความรู้ด้านโภชนาการที่ไม่แตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญ ($p \geq 0.05$) สอดคล้องกับการวิจัยของ Chiu *et al.* (2000) ซึ่งพบว่าผู้สูงอายุเพศหญิงมีดัชนีมวลกายสูงกว่าเพศชาย นอกจากนี้ผู้สูงอายุที่มีช่วงอายุต่างกันก็มีภาวะโภชนาการและความรู้ด้านโภชนาการที่แตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญ ($p < 0.05$) แต่มีระดับน้ำตาลในเลือดและระดับความดันโลหิตไม่แตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญ ($p \geq 0.05$) และจากค่าสหสัมพันธ์แสดงให้เห็นว่าอายุมีความสัมพันธ์กับภาวะโภชนาการของผู้สูงอายุ เช่นเดียวกับการศึกษาผู้สูงอายุในชุมชนที่ผ่านมาที่พบว่าอายุมีความสัมพันธ์กับภาวะโภชนาการ โดยอายุที่เพิ่มมากขึ้นจะเสี่ยงต่อการเกิดปัญหาโภชนาการมากขึ้นตามลำดับ (สรญา และณัฏฐวุฒิ, 2555; พุทธิพร และภิรมย์, 2562) จากงานวิจัยที่ผ่านมาพบว่า ในช่วงวัยกลางคน (อายุ 35-50 ปี) ค่าดัชนีมวลกายมักมีแนวโน้มลดลง ในขณะที่เมื่อเข้าสู่วัยสูงอายุ (60 ปีขึ้นไป) ค่าดัชนีมวลกายจะมีแนวโน้มเพิ่มขึ้น (Huang *et al.*, 1992) ซึ่งอธิบายได้ว่าวัยสูงอายุจะมีการเปลี่ยนแปลงหลายอย่างที่มีผลต่อภาวะโภชนาการ ซึ่งการเปลี่ยนแปลงจะมีทั้งทางด้านร่างกาย จิตใจ อารมณ์ และสังคม รวมทั้งเริ่มมีปัญหาระบบการดูดซึม การกลืน การย่อย การดูดซึม ทำให้รู้สึกเบื่ออาหาร มีความอยาก อาหารลดลงรับประทานได้น้อยลง หรือไม่ยอมรับประทานอาหาร เมื่อปัญหาดังกล่าวเกิดขึ้นเป็นเวลานาน ก็จะเป็นสาเหตุของการเกิดปัญหาทางด้านโภชนาการในผู้สูงอายุได้ (โซลบล และวีร์ศักดิ์, 2557)

ส่วนผลการศึกษาความรู้ด้านโภชนาการของผู้สูงอายุในพื้นที่เทศบาลตำบลชะเมา อำเภอทุ่งสง จังหวัดนครศรีธรรมราช แสดงให้เห็นว่าผู้สูงอายุจำนวนมากที่ยังมีความรู้ด้านโภชนาการที่ไม่ถูกต้องและอาจเป็นอีกปัจจัยหนึ่งที่ทำให้ผู้สูงอายุเหล่านี้ไม่เพียงมีภาวะอ้วนแต่ยังส่งผลให้มีภาวะเบาหวานและความดันโลหิตสูงได้ ซึ่งจากการพิจารณาความสัมพันธ์ระหว่างความรู้ด้านโภชนาการกับภาวะสุขภาพของผู้สูงอายุพบว่า หากผู้สูงอายุมีความรู้ด้านโภชนาการอยู่ในระดับดีก็จะมีแนวโน้มของภาวะโภชนาการ ระดับน้ำตาลในเลือดและความดันโลหิตเป็นปกติมากกว่าผู้สูงอายุที่มีความรู้ด้านโภชนาการอยู่ในระดับต่ำ คล้ายคลึงกับการศึกษาของ Riyami *et al.* (2010) ซึ่งพบว่าผู้สูงอายุที่อาศัยในเมืองนิซวา เขตอัครดะคิลียะห์ ประเทศโอมาน ส่วนใหญ่แล้วยังขาดความรู้ด้านโภชนาการที่เกี่ยวข้องกับอาหารที่มีคุณค่าทางโภชนาการและโดยส่วนใหญ่แล้วผู้สูงอายุยังเชื่อว่าต่อให้อายุเพิ่มมากขึ้นก็ยังไม่มีความจำเป็นที่จะต้องเปลี่ยนแปลงสารอาหารที่ได้รับไม่ว่าจะเป็นทั้งแง่ของคุณภาพและปริมาณตราบเท่าที่ยังคงมีสุขภาพที่ดีอยู่ แต่จากผลการวิจัยทำให้ทราบว่าผู้สูงอายุเหล่านี้มีภาวะโภชนาการปกติ (จากการประเมินค่าดัชนีมวลกาย) เพียงร้อยละ 45-50 เท่านั้น แตกต่างจากการศึกษา

ของเนตรดาว (2558) ที่พบว่าผู้สูงอายุในชุมชนบ้านต้นผึ้ง ตำบลสันทราย อำเภอสารภ จังหวัดเชียงใหม่ มีความรู้ทางโภชนาการในระดับมากถึงร้อยละ 80.0 ซึ่งอาจเกี่ยวข้องกับการที่กลุ่มตัวอย่างนั้นค่อนข้างจะมีความรู้ อ่านออก เขียนได้และมีการเข้าร่วมกิจกรรมที่ทางหน่วยงานในพื้นที่จัดให้อยู่บ่อยครั้ง ทำให้สามารถหาความรู้ด้านอาหารและโภชนาการได้มากขึ้น ซึ่งสอดคล้องกับการศึกษาของสุดารัตน์ (2553) ที่ศึกษาเรื่องความสัมพันธ์ระหว่างดัชนีมวลกายกับความรู้เรื่องหลักการบริโภคอาหารของผู้สูงอายุที่พบว่า ความรู้ด้านอาหารและโภชนาการมีความสัมพันธ์กับพฤติกรรมการบริโภคอาหารซึ่งส่งผลต่อภาวะโภชนาการของบุคคล

สรุปผลการวิจัย

จากการเก็บข้อมูลในเชิงสุขภาพพบว่าผู้สูงอายุส่วนใหญ่มีภาวะเสี่ยงที่จะเกิดโรคต่าง ๆ ที่เกี่ยวข้องกับกระบวนการเมแทบอลิก (Metabolic syndrome) เช่น โรคอ้วน เบาหวาน ความดันโลหิตสูง เป็นต้น เนื่องจากผู้สูงอายุจำนวนมาก (เกือบร้อยละ 50) มีภาวะอ้วนระดับ 1 2 และ 3 และผอม ซึ่งส่วนใหญ่มีระดับความดันโลหิตสูงและมีระดับน้ำตาลในเลือดสูงกว่าเกณฑ์ และยังแสดงให้เห็นว่าระดับน้ำตาลในเลือดและความดันโลหิตมีความสัมพันธ์กับภาวะโภชนาการ อีกทั้งภาวะโภชนาการระดับน้ำตาลในเลือดและระดับความดันโลหิตก็ล้วนมีความสัมพันธ์กับความรู้ด้านโภชนาการในผู้สูงอายุ แสดงให้เห็นว่าหากต้องการที่จะทำให้ผู้สูงอายุมีภาวะโภชนาการและสุขภาพที่ดีขึ้น ลดความเสี่ยงในการเกิดโรคไม่ติดต่อชนิดเรื้อรัง เช่น เบาหวาน ความดันโลหิตสูง เป็นต้น ควรเริ่มต้นจากการให้ความรู้ด้านโภชนาการที่ถูกต้องแก่ผู้สูงอายุเป็นอันดับแรก หน่วยงานในพื้นที่ควรมีการเผยแพร่ความรู้เกี่ยวกับการบริโภคอาหารผ่านทางช่องทางต่าง ๆ ที่ผู้สูงอายุสามารถเข้าถึงได้ง่าย เพื่อการมีภาวะโภชนาการที่ดีของผู้สูงอายุต่อไป

กิตติกรรมประกาศ

การวิจัยครั้งนี้เป็นการศึกษาภายใต้การสนับสนุนทุนวิจัยโครงการวิจัยและนวัตกรรมเพื่อถ่ายทอดเทคโนโลยีสู่ชุมชนฐานราก สำนักงานคณะกรรมการการอุดมศึกษา ประจำปีงบประมาณ 2561 และการสนับสนุนด้านอื่น ๆ จากหน่วยงานในพื้นที่รับผิดชอบของเทศบาลตำบลชะมาย ตำบลชะมาย อำเภอกุ่งสุง จังหวัดนครศรีธรรมราช คือ โรงพยาบาลส่งเสริมสุขภาพตำบลหนองหว้าและกองสาธารณสุขและสิ่งแวดล้อม สำนักงานเทศบาลตำบลชะมาย อำเภอกุ่งสุง จังหวัดนครศรีธรรมราช นอกจากนี้ผู้วิจัยยังได้รับความอนุเคราะห์จากกลุ่มอสม. ในการเก็บรวบรวมข้อมูลโดยใช้วิธีการสัมภาษณ์

เอกสารอ้างอิง

- กิตติกร นิลมานัต ขนิษฐา นาคะ วิภาวี คงอินทร์ เอมอร แซ่จิ้ว พชรียา ไชยลังกา และปิยะภรณ์ บุญพัฒน์. (2556). ภาวะโภชนาการของผู้สูงอายุที่อาศัยอยู่ในพื้นที่สามจังหวัดชายแดนภาคใต้. *วารสารสภาการพยาบาล*, 28(1), 75-84.
- กัญเกียรติ เวียงฤทธิ์ มารีษา ภูภิณญกุล และสุรัชย์ จิวเจริญสกุล. (2558). ภาวะโภชนาการของผู้สูงอายุในอำเภอนางรอง จังหวัดบุรีรัมย์. *วารสารคหเศรษฐศาสตร์*, 58(1), 4-14.

- กรมกิจการผู้สูงอายุ. (2559). *นโยบายกรมกิจการผู้สูงอายุ*. สืบค้นเมื่อ 28 พฤศจิกายน 2562, จาก: http://www.dop.go.th/download/knowledge/knowledge_th_20170707092742_1.
- ชโลบล เฉลิมศรี และวีรศักดิ์ เมืองไพศาล. (2557). *การจัดการภาวะโภชนาการในผู้สูงอายุ*. กรุงเทพฯ: ภาพพิมพ์.
- ธานินทร์ ศิลป์จารุ. (2551). *การวิจัยและวิเคราะห์ข้อมูลทางสถิติด้วย SPSS*. นนทบุรี: เอส อาร์ พรินติ้งแมส โปรดักส์.
- เนตรดาว ตันตรานนท์. (2558). *ความรู้ทางโภชนาการ ภาวะโภชนาการและภาวะสุขภาพของผู้สูงอายุในชุมชนบ้านต้นผึ้ง ตำบลสนทราย อำเภอสารภ จังหวัดเชียงใหม่*. วิทยานิพนธ์วิทยาศาสตรมหาบัณฑิต. มหาวิทยาลัยเชียงใหม่, เชียงใหม่
- บรรลุ ศิริพานิช. (2550). *รายงานสถานการณ์ผู้สูงอายุไทย พ.ศ. 2550*. สืบค้นเมื่อ 29 พฤศจิกายน 2562, จาก: http://www.dop.go.th/download/knowledge/knowledge_th_20160106142611_1.
- พุทธิพร พิชานธนากุล และภิรมย์ รชตะนันท์. (2562). ภาวะโภชนาการและปัจจัยที่เกี่ยวข้องกับภาวะโภชนาการของผู้สูงอายุที่อาศัยอยู่ในชุมชน. *วารสารโรงพยาบาลสกลนคร*, 22(1). 1-13
- สถาบันวิจัยประชากรและสังคม มหาลัษณ์มิตล. (2560). *ประชากรของประเทศไทย พ.ศ. 2560. สารประชากร มหาวิทยาลัยมหิดล*, 25(1), 1-2.
- สมาคมความดันโลหิตสูงแห่งประเทศไทย. (2558). *แนวทางการรักษาโรคความดันโลหิตสูงในเวชปฏิบัติทั่วไป (ฉบับปรับปรุง พ.ศ. 2558)*. สืบค้นเมื่อ 29 พฤศจิกายน 2562, จาก: <http://www.thaihypertension.org/>.
- สมาคมโรคเบาหวานแห่งประเทศไทย. (2554). *แนวทางเวชปฏิบัติสำหรับโรคเบาหวาน*. สืบค้นเมื่อ 9 มิถุนายน 2561, จาก: <http://www.dms.moph.go.th/dmsweb/cpgcorner/54-22.pdf>.
- สุดารัตน์ อิศราวิศกุล. (2553). *ความสัมพันธ์ระหว่างดัชนีมวลกายกับความรู้เรื่องหลักการบริโภคอาหารของผู้สูงอายุ*. วิทยานิพนธ์วิทยาศาสตรบัณฑิต (กิจกรรมบำบัด). มหาวิทยาลัยเชียงใหม่, เชียงใหม่.
- สุทธิชัย จิตะพันธ์. (2544). *หลักสำคัญของเวชศาสตร์ผู้สูงอายุ*. กรุงเทพฯ: โรงพิมพ์แห่งจุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย.
- สมจิตร มาตยารักษ์ และผ่องพรรณ อรุณแสง. (2557). ภาวะโภชนาการและปัจจัยที่เกี่ยวข้องกับภาวะโภชนาการในผู้สูงอายุเจ็บป่วยเรื้อรังที่มารับบริการคลินิกโรคไม่ติดต่อแผนกผู้ป่วยนอกโรงพยาบาลทุติยภูมิแห่งหนึ่ง. *วารสารการพยาบาลและการดูแลสุขภาพ*, 32(4), 152-161.
- สรญา แก้วพิบูลย์ และณัฐฐาณิ แก้วพิบูลย์. (2555). *ภาวะโภชนาการของผู้สูงอายุในจังหวัดสุรินทร์ รายงานการวิจัย*. มหาวิทยาลัยเทคโนโลยีสุรนารี.
- สำนักงานสถิติแห่งชาติ. (2560). *รายงานการสำรวจประชากรสูงอายุในประเทศไทย พ.ศ. 2559. (พิมพ์ครั้งที่ 2)*. กรุงเทพฯ: เท็กซ์ แอนด์ เจอร์นัล พับลิเคชั่น.
- สำนักงานส่งเสริมสุขภาพ กรมอนามัย กระทรวงสาธารณสุข. (2560). *เกณฑ์กำหนดผู้สูงอายุวัยพึ่งประสงค์*. สืบค้นเมื่อ 29 พฤศจิกายน 2562, จาก: <http://hp.anamai.moph.go.th/soongwai/statics/about/soongwai/topic003>.

- Bloom, B.S., Madaus, G.F. and Hastings, J.T. (1971). *Hand book on formative and summative evaluation of student learning*. New York: Mc Graw-Hill Book Company.
- Chiu, H.C., Chang, H.Y., Mau, L.W., Lee, T.K. and Liu, H.W. (2000). Height, weight and body mass index of elderly persons in Taiwan. *Journal of Gerontology: medical sciences*, 55(11), 684-690.
- Huang, P.C, Yu, S.L., Lin, Y.M. and Chu, C.L. (1992). Body weight of Chinese adults by sex, age and body height and criterion of obesity based on body mass index. *Journal of the Chinese Nutrition Society*, 17(1), 157-172.
- Riyami, A.A., Hadabi, S.A., Abd El Aty, M.A., Kharusi, H.A., Morsi, M. and Jaju, S. (2010). Nutrition knowledge, beliefs and dietary habits among elderly people in Nizwa, Oman: implications for policy. *Eastern Mediterranean Health Journal*, 16(8), 859-867.
- Yamane, T. (1970). *Statistics-an introductory analysis*. (2nd ed). Tokyo: John Weather Hill, Inc.

สภาวะที่เหมาะสมสำหรับการผลิตไม้เทียมโดยกระบวนการอัดขึ้นรูป The Optimum Condition for Artificial Wood Production from Compression Moulding Process

จุฑาทิพย์ อาจขมภู^{1*} สุวัฒน์ รัตนพันธ์¹ ฉัตรชัย แก้วดี² และวีระยุทธ สดสมบุญ²
Jutatip Artchomphoo^{1*} Suwat Rattanapan¹ Chatchai Kaewdee²
and Weerayute Sudsomboon²

บทคัดย่อ

การผลิตไม้เทียมจากยางพาราผสมผงซีล้อยไม้ โดยศึกษาการขึ้นรูปไม้เทียมที่อุณหภูมิ 125 135 145 และ 155 องศาเซลเซียส จากการใช้สารเร่งการคงรูปไม้เทียม 5 ชนิด คือ ซิงค์ เอ็น ไดเอซิล ไดไฮโอคาร์บาเมต (ZDEC) เตตระเมธิล ไธยูเรม ไดซัลไฟด์ (TMTD) 2-เมอร์แคปโตเบนโซโธอะโซล ไดซัลไฟด์ (MBTS) เอ็น-ไฮโดรอกซีเฮกซิล-2-เบนโซโทอาโซลซัลฟิโนไมด์ (CBS) และเอ็น เอ็น-ไดฟีนิลกัว นิดีน (DPG) ศึกษาสมบัติเชิงกลของไม้เทียมที่ปริมาณผงซีล้อยไม้ 20 40 60 80 และ 100 ส่วน เทียบกับยางหนึ่งร้อยส่วน พบว่าเวลาการคงรูปไม้เทียมลดลงตามอุณหภูมิที่เพิ่มขึ้น ที่อุณหภูมิ 125 องศาเซลเซียส และ 135 องศาเซลเซียส สารเร่งการคงรูปทุกชนิดสามารถขึ้นรูปไม้เทียมได้อย่าง สมบูรณ์ ยกเว้นการใช้ ZDEC ไม่สามารถขึ้นรูปได้ที่อุณหภูมิสูงกว่า 125 องศาเซลเซียส อย่างไรก็ตาม ทั้งสองอุณหภูมินี้ไม่เหมาะสำหรับการผลิตเนื่องจากใช้เวลาในการคงรูปมากกว่า 60 และ 30 นาที ตามลำดับ ในขณะที่อุณหภูมิ 145 องศาเซลเซียส สารเร่งการคงรูป MBTS MBTS ร่วมกับ DPG และ CBS สามารถขึ้นรูปไม้เทียมที่มีความหนา 15 มิลลิเมตร ได้อย่างสมบูรณ์ แต่สำหรับไม้เทียมที่มีความหนา 25.4 มิลลิเมตร สารเร่งการคงรูป MBTS และ MBTS ร่วมกับ DPG เท่านั้นที่สามารถให้การขึ้นรูปที่ สมบูรณ์ และการใช้ MBTS ร่วมกับ DPG ให้ดัชนีการคงรูปสูงที่สุด มีวงรอบการผลิต (cycle time) 16.45 ± 0.03 นาที และ 18.45 ± 0.04 นาที สำหรับไม้เทียมที่มีความหนา 15 และ 25.4 มิลลิเมตร ตามลำดับ ปริมาณของผงซีล้อยไม้ในวัสดุคอมโพสิตมีผลต่อสมบัติเชิงกลของไม้เทียม การเพิ่มปริมาณผง ซีล้อยไม้ทำให้ไม้เทียมมีความแข็งตึง (stiffness) เพิ่มขึ้น มีความแข็งแรงตึงสูงสุดและความสามารถในการ ยึดจนขาดลดลง ในขณะที่มอดูลัสที่ระยะยืด 100 เปอร์เซ็นต์ และความแข็งของไม้เทียม เพิ่มขึ้น พบว่าการใช้ผงซีล้อยไม้ที่ปริมาณ 100 ส่วนเทียบกับยางหนึ่งร้อยส่วน (phr) สามารถเพิ่ม ความแข็งให้ไม้เทียมได้มากกว่า 80 shore A โดยการใช้ผลซีล้อยไม้ที่มีขนาด 500 ถึง 1,000 ไมโครเมตร สามารถเพิ่มความแข็งให้ไม้เทียมได้สูงที่สุด ที่ 88 ± 0.53 shore A นอกจากนี้การใช้ยาง ธรรมชาติกราฟต์มาลิกแอนไฮโดรด์ที่มีปริมาณมาลิกแอนไฮโดรด์ 8 และ 10 ส่วนเทียบกับยาง หนึ่งร้อยส่วน (NRgMAH₈ และ NRgMAH₁₀) เป็นสารเชื่อมติดทำให้เกิดแรงยึดระหว่างเฟสของผงซีล้อยไม้และเนื้อยางทำให้ไม้เทียมที่ได้มีความแข็งแรงมากขึ้น

คำสำคัญ: ไม้เทียม คอมโพสิต ผงซีล้อยไม้

¹ สาขาวิชาเทคโนโลยียางและพอลิเมอร์ คณะวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยี มหาวิทยาลัยเทคโนโลยีราชมงคลศรีวิชัย

² สาขาวิชาเทคโนโลยีอุตสาหกรรม คณะเทคโนโลยีอุตสาหกรรม มหาวิทยาลัยราชภัฏนครศรีธรรมราช

*Corresponding author e-mail: jutatip.a@rmuts.ac.th

Received: 17 March 2020, Revised: 21 May 2020, Accepted: 2 June 2020

Abstract

Artificial woods were mixed from rubber and sawdust powder. The research studied the artificial wood moulding temperature (125, 135, 145, and 155°C), composite accelerator (zinc- N-diethyl dithiocarbamate (ZDEC), tetramethyl thiuram disulphide (TMTD), 2-mercapto benzothiazol disulfide (MBTS), N-cyclohexyl-2-benzothiazole sulfenamide (CBS), and N,N-diphenyl guanidine (DPG)) and the mechanical properties of artificial wood with the mixture of sawdust powder (20, 40, 60, 80, 100 phr). It was found that the curing time of artificial wood decreased according to the increasing temperature. All types of accelerators used in this case could be completely moulded to artificial wood at 125°C and 135°C, except for the ZDEC that the moulded temperature could not be higher than 125°C. However, both temperatures were not appropriate for production as it took more than 60 and 30 minutes to complete the product, respectively. For artificial wood with a thickness of 15 mm, the use of MBTS, the mixture of MBTS and DPG, and CBS could be completely molded at 145°C, but for artificial wood with a thickness of 25.4 mm, only MBTS and the mixture of MBTS and DPG can provide the most complete moulding. The mixture of MBTS and DPG provided the highest cure rate index. There were cycle times of 16.45 ± 0.03 minutes and 18.45 ± 0.04 minutes for artificial woods with the thickness of 15 and 25.4 mm., respectively. The amount of sawdust powder in composite materials also affected the mechanical properties of artificial wood. The increase of the wood sawdust increased the stiffness of the wood, with the highest tensile strength and the decreased elongation at break. However, the modulus at 100% elongation and hardness of artificial wood increased. It was found that the use of sawdust at 100 phr could increase the hardness of artificial wood by more than 80 shore A. By using wood sawdust sizes of 500-1000 micrometer, the hardness of artificial wood could increase to the highest level at 88 ± 0.53 shore A. In addition, the use of grafted natural rubber with 8 and 10 phr of malic anhydride (NRgMAH₈ and NRgMAH₁₀) as a binding agent created a bond between the phase of the sawdust powder and the rubber matrix, making the artificial wood stronger.

Keywords: artificial wood, composite, sawdust powder

บทนำ

ความต้องการใช้ไม้เพื่อเป็นวัตถุดิบในอุตสาหกรรมต่าง ๆ มีปริมาณสูงขึ้นเรื่อย ๆ เช่น อุตสาหกรรมเยื่อและกระดาษ ไม้ท่อนและไม้แปรรูป และไม้เพื่อการก่อสร้าง เนื่องจากไม้เป็นวัสดุหลักในงานทางด้านวิศวกรรมโยธา ทั้งในส่วนของโครงสร้างหลักโครงสร้างรอง และงานออกแบบตกแต่งภายใน ความต้องการไม้สวนทางกับปริมาณไม้ซึ่งมีปริมาณลดลงเรื่อย ๆ เนื่องจากพื้นที่ป่าน้อยลง รวมทั้งกฎหมายควบคุมการตัดไม้ทำให้การปลูกไม้เพื่อการค้าทำได้ยาก ต้องนำเข้าไม้บางส่วนจากต่างประเทศและอาจนำไปสู่การขาดแคลนในอนาคต ไม้สังเคราะห์ คือวัสดุทดแทนไม้ (หรือ “ไม้เทียม”) เป็นวัสดุประกอบ (composite materials) ที่มีไม้จริงในรูปแบบต่าง ๆ เช่น เกล็ดไม้ ชี้้นไม้ขนาดเล็ก ผงไม้ เส้นใย เป็นส่วนผสมร่วมกับวัสดุประเภทอื่น ๆ ซึ่งใช้ผลิตเป็นไม้สังเคราะห์ประเภทต่าง ๆ ได้ เช่น

เส้นใยเซลลูโลสผสมกับปูนซีเมนต์ปอร์ตแลนด์ เรียกว่าไฟเบอร์ซีเมนต์ (fiber cement) ขึ้นไม้ขนาดเล็กผสมกับปูนซีเมนต์ปอร์ตแลนด์ เรียกว่าไม้อัดซีเมนต์ (wood cement board) หรือแผ่นขึ้นไม้อัดซีเมนต์ความหนาแน่นสูง ผงไม้และเส้นใยผสมกับกาวสังเคราะห์ เรียกว่าแผ่นใยไม้อัดความหนาแน่นปานกลาง (medium density fiber board, MDF) และวัสดุเชิงประกอบของพอลิเมอร์และไม้ (wood polymer composites: WPCs) WPCs มีสมบัติเหนือกว่าไม้ธรรมชาติหลายด้าน เช่น ความทนทานและต้านทานเชื้อราสูง ต้นทุนในการบำรุงรักษาต่ำ ดูดซับน้ำน้อย มีความเสถียรทางด้านรูปร่างสูง และเป็นมิตรต่อสิ่งแวดล้อม (ชาตรี, 2557) WPCs สามารถเตรียมได้จากพอลิเมอร์หลายชนิด การเติมผงไม้ยางพารามากกว่า 25 เปอร์เซ็นต์ วัสดุเชิงประกอบพอลิโพรพิลีนสามารถเพิ่มความแข็งแรงและค่ามอดูลัสอย่างเป็นเส้นตรงตามปริมาณผงไม้ยางพาราที่เป็นส่วนผสม (Homkhiew *et al.*, 2014) การผลิตไม้เทียมจากพีวีซีผสมผงซีลี้อยไม้ พบว่าสามารถผสมผงซีลี้อยได้ปริมาณสูงถึง 100 ส่วน ไม้เทียมที่ได้มีความเหนียว ความยืดหยุ่น ทนทานต่อปลวก ติดตั้งได้รวดเร็วและมีน้ำหนักเบา (Sombatsompop and Phromchirasuk, 2004; Sombatsompop and Chaochanchaikul, 2005)

ยางพาราเป็นวัสดุที่มีความแข็งแรงและความยืดหยุ่น เป็นพืชที่มีความสำคัญต่อเศรษฐกิจของประเทศ และชีวิตความเป็นอยู่ของเกษตรกรชาวสวนยางเป็นอย่างมาก จากรายงานของสำนักงานเศรษฐกิจการเกษตร เมื่อปี 2562 ประเทศไทยมีพื้นที่เก็บเกี่ยวผลผลิตยางพารามากถึง 20.46 ล้านไร่ โดยมีผลผลิตรวม 5.02 ล้านกิโลกรัม และกระจายไปทุกภาคของประเทศ แต่ปัจจุบันราคาคงต่ำเหลือประมาณ 40 บาทต่อกิโลกรัม ซึ่งเป็นราคาที่ต่ำกว่าต้นทุนการผลิตที่ระดับ 64.90 บาทต่อกิโลกรัม รัฐบาลจึงได้มีนโยบายเพื่อผลักดันให้นายางพารามาใช้ทำเป็นผลิตภัณฑ์ให้มากขึ้น การพัฒนาไม้เทียมจากวัสดุคอมโพสิตของยางพาราผสมผงซีลี้อยไม้ มีความสำคัญทั้งการส่งเสริมให้มีการใช้นายางพารามากขึ้นและช่วยแก้ปัญหาในการกำจัดผงซีลี้อยไม้และฝุ่นไม้จากโรงงานแปรรูปไม้ในชุมชน ช่วยเพิ่มคุณค่าให้กับวัสดุเหลือทิ้งในท้องถิ่น และสามารถใช้ทดแทนไม้ได้เนื่องจากยางพาราสามารถผสมเข้ากับเส้นใยไม้ได้ง่าย โดยเส้นใยจะเกิดการเสริมแรงในด้านของความแข็งแรงและความแข็งตึง (stiffness) หรือเพื่อลดต้นทุนให้ต่ำกว่าวัสดุเสริมแรงพวกผ้าใบ ซึ่งเส้นใยขนาดเล็กจะมีผลในการเสริมแรงได้ดีกว่าเส้นใยขนาดใหญ่ (Ismail *et al.*, 1996) ขนาดของเส้นใยไม้ที่ใช้เตรียมคอมโพสิตที่ศึกษาในประเทศมาเลเซียอยู่ในช่วง 0.5-1.0 มิลลิเมตร ซึ่งหลังจากผ่านการบดผสมเป็นวัสดุคอมโพสิตจะมีขนาดประมาณ 450 ไมโครเมตร (Sameni *et al.*, 2002) สำหรับในประเทศไทยขนาดที่ใช้ประมาณ 200-300 ไมโครเมตร และการจัดเรียงตัวของเส้นใยในลักษณะตามทิศทางการแปรรูป เส้นใยจะไม่ถูกตัดหรือฉีกโมเลกุลมากจึงทำให้ยางมีสมบัติเชิงกลที่ดีขึ้น โดยเฉพาะอย่างยิ่งสมบัติด้านไดนามิกส์ สมบัติด้านมอดูลัส ความต้านทานต่อการฉีกขาด และความต้านทานต่อแรงดึง (Mohanty *et al.*, 2005) นอกจากนี้การใช้ซิลิกา ร่วมกับผงใยไม้ในปริมาณรวมกัน 50 ส่วนเทียบกับยางหนึ่งร้อยส่วน พบว่าการเพิ่มสัดส่วนซิลิกามีผลทำให้ความต้านทานต่อแรงดึง มอดูลัส ความแข็ง และความต้านทานต่อการฉีกขาดเพิ่มขึ้น (Ismail *et al.*, 2002) เนื่องจากการเสริมแรงของเส้นใยไม้ในยางจำเป็นต้องคำนึงถึงทั้งสมบัติของเส้นใย สมบัติของยาง และวิธีการผลิต ในงานวิจัยนี้จึงสนใจศึกษาผลของชนิดสารเร่งการคงรูป อุณหภูมิในการขึ้นรูปที่เหมาะสมต่อสมบัติการคงรูป การขึ้นรูป และสมบัติเชิงกลของคอมโพสิตไม้เทียมจากยางพาราผสมผงซีลี้อยไม้ เพื่อให้ได้ไม้เทียมที่มีสมบัติเหมาะสมสำหรับการนำไปใช้งานในรูปแบบไม้ระแนงภายในอาคาร เป็นการช่วยเพิ่มมูลค่าให้กับยางพารา และช่วยลดปัญหาสิ่งแวดล้อมจากเศษวัสดุเหลือทิ้งในชุมชน ได้ไม้เทียมจากวัสดุธรรมชาติที่สามารถใช้งานทดแทนไม้ได้

วิธีดำเนินการวิจัย

1. วัสดุและสารเคมี

ยางพาราใช้ยางแท่ง STR 20 จากองค์การสวนยาง (นาบอน) กระทรวงเกษตรและสหกรณ์ ผงซีลี้อยไม่ยางพารา เป็นวัสดุเหลือทิ้งจากโรงเลื่อยไม้ของบริษัทซัคส์แอนด์พรณีสติเตอร์ จำกัด อำเภอกงสูง จังหวัดนครศรีธรรมราช สารเร่งการคงรูปในวัสดุคอมโพสิต ประกอบด้วย ซิงค์ เอ็น ไดเอซิล ไดไธโอคาร์บาเมต (zinc- N-diethyl dithiocarbamate: ZDEC) เตตระเมธิล ไธยูเรม ไดซัลไฟด์ (tetramethyl thiuram disulphide: TMTD) 2-เมอร์แคปโตเบนโซไทโซล ไดซัลไฟด์ (2-mercapto benzothiazol disulfide: MBTS) เอ็น-ไซโคลเฮกซิล-2-เบนโซไทอาโซลซัลฟิनाไมด์ (N-cyclohexyl-2-benzothiazole sulfonamide: CBS) เอ็น เอ็น-ไดฟีนิลกวานิดีน (N,N-diphenyl guanidine: DPG) ผลิตภัณฑ์บริษัท Asia Pacific Specialty จำกัด สารเคมีอื่น ๆ สำหรับการออกสูตรประกอบด้วย ซิงออกไซด์ (zinc oxide: ZnO) ผลิตภัณฑ์บริษัทยูนิไทย จำกัด กรดสเตียริก (stearic acid) และ วิงค์ สเตย์ เอล (wing stay L) ผลิตภัณฑ์บริษัทอิมพีเรียล อินดัสเทรียล เคมีคัลส์ (ประเทศไทย) จำกัด กำมะถัน (sulphur: S) ผลิตภัณฑ์บริษัทเพชโรไทยเคมีภัณฑ์ จำกัด น้ำมันอะโรมาติก (aromatic oil) ผลิตภัณฑ์บริษัทโคซัน (ประเทศไทย) จำกัด เอ็น-ไซโคลเฮกซิล ไธโอ-พทาไลไมด์ (N-(cyclohexyl thio)-phthalimide: PVI) ผลิตภัณฑ์บริษัท Asia Pacific Specialty จำกัด ประเทศออสเตรเลีย สารเชื่อมติดประกอบด้วย ยางธรรมชาติกราฟต์มาลิกแอนไฮไดรด์ที่มีปริมาณมาลิกแอนไฮไดรด์ 8 และ 10 ส่วนเทียบกับยางหนึ่งร้อยส่วน (NR_gMAH₈ และ NR_gMAH₁₀) เตรียมในห้องปฏิบัติการ ตามวิธีของ Nakasan *et al.* (2004) และวิเคราะห์หาปริมาณการเกาะติดของมาลิกแอนไฮไดรด์บนโมเลกุลยางธรรมชาติ โดยใช้อัตราส่วนของฟิคสเปคตรัมอินฟราเรดที่ตำแหน่งเลขคลื่น 1854 ซม.⁻¹ 1792 ซม.⁻¹ 1776 ถึง 1784 ซม.⁻¹ และ 1716 ซม.⁻¹ ต่อฟิคสเปคตรัมอินฟราเรดที่ตำแหน่งเลขคลื่น 835 ซม.⁻¹ ตามวิธีของไฟโรจน์ และอรกรณ์ (2547)

2. การเตรียมวัสดุคอมโพสิตและการขึ้นรูปไม่เทียม

ผงซีลี้อยไม่ร้อนคัดแยกขนาดด้วยเครื่องร่อนคัดแยกขนาดที่มีตะแกรงแยกขนาด 4 ชั้น ขนาดของรูตะแกรง 250 500 750 และ 1,000 ไมโครเมตร ตามลำดับ ผงซีลี้อยไม้ที่ผ่านรูตะแกรงของเครื่องคัดแยกขนาด จะผ่านการคัดแยกโดยอัตโนมัติได้เป็น 4 ขนาด คือ ต่ำกว่า 250 250-500 500-750 และ 750-1,000 ไมโครเมตร อบผงซีลี้อยไม้ที่อุณหภูมิ 50 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 12 ชั่วโมง เก็บไว้ในถุงกันความชื้นก่อนนำไปทดลอง ผสมวัสดุคอมโพสิตที่แปรชนิดสารเร่งการคงรูปตามสูตรส่วนผสมในตารางที่ 1 ด้วยเครื่องบดผสมสองลูกกลิ้ง (two roll mill) โดยใช้เวลาในการผสมทุกสูตรเท่ากับ 30 นาที ตามลำดับขั้นตอนดังนี้ บดยาง STR 20 จนนิ่มและพันลูกกลิ้งเติมส่วนผสมโดยเริ่มจากซิงออกไซด์ บดผสมจนเข้ากันกับยางแล้วจึงเติม วิงค์ สเตย์ เอล และกรดสเตียริก ตามลำดับ หลังจากนั้นเติมผงซีลี้อยไม้สลับกับน้ำมันอะโรมาติกเพื่อให้เข้ากันได้ดี ตามด้วยสารเชื่อมติด (ถ้ามี) เติมสารเร่งการคงรูปและสุดท้ายเติมสารคงรูปกำมะถัน หลังจากการผสมส่วนประกอบทั้งหมดในสูตรวัสดุคอมโพสิต รีดเป็นแผ่นบางเพื่อช่วยระบายความร้อน พักไว้ 24 ชั่วโมง ก่อนนำไปทดสอบสมบัติการคงรูปที่อุณหภูมิ 125 135 145 และ 155 องศาเซลเซียส ด้วยเครื่องรีโอมิเตอร์ (oscillating disk rheometer, ODR) ยี่ห้อ TECH PRO รุ่น rheo TECH OD+ ตามมาตรฐาน ASTM D5289 ทดสอบสมบัติการขึ้นรูปไม่เทียมด้วยเครื่องอัดขึ้นรูป (compression moulding) ด้วยแบบพิมพ์ไม่เทียมขนาด 300x30x15 มิลลิเมตร และ 450x50x25.4 มิลลิเมตร ทดสอบสมบัติเชิงกลด้วยเครื่องทดสอบแรงดึง ยี่ห้อ Testometric รุ่น AX M350-10 kN ตามมาตรฐาน ASTM D412 ทดสอบความแข็งด้วยเครื่องทดสอบระบบ Durometer แบบ Shore A ยี่ห้อ Rex Gauge ตามมาตรฐาน ASTM D2240 และทดสอบลักษณะสัณฐานวิทยาด้วยเครื่อง scanning electron microscope (SEM)

ตารางที่ 1 การศึกษาสารเร่งการคงรูปในวัสดุคอมโพสิทสูตรไม้เทียม

Ingredients	Quantity of Ingredients (phr)						
	No. 1	No. 2	No. 3	No. 4	No. 5	No. 6	No. 7
STR 20	100	100	100	100	100	100	100
ZnO	5	5	5	5	5	5	5
stearic acid	1	1	1	1	1	1	1
sulphur	2.5	2.5	2.5	2.5	2.5	2.5	2.5
wing stay L	1	1	1	1	1	1	1
aromatic oil	5	5	5	5	5	5	5
ZDEC	1	-	-	-	-	-	-
TMTD	-	1	-	-	-	-	-
MBTS	-	-	1	0.5	1	0.5	-
CBS	-	-	-	-	-	-	1
DPG	-	-	-	0.5	-	0.5	-
PVI	-	-	-	-	0.5	0.5	-
Sawdust powder	100	100	100	100	100	100	100

ผลการวิจัยและอภิปรายผลการวิจัย

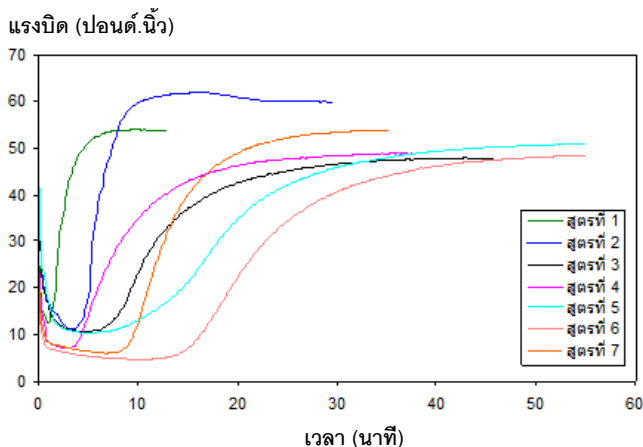
1. สมบัติการแปรรูป

การศึกษาสมบัติการแปรรูป พบว่า เมื่อขนาดของผงซีลี้อยไม่มีขนาดใหญ่ขึ้นหรือเมื่อใช้ผงซีลี้อยไม่ปริมาณมากขึ้นจะทำให้ผสมยากขึ้น เนื่องจากการกระจายตัวในยางเกิดได้ยากขึ้น การขึ้นรูปไม้เทียมโดยอัดขึ้นรูปที่อุณหภูมิ 145 องศาเซลเซียส พบว่ายางที่ผสมผงซีลี้อยไม่ขนาดต่ำกว่า 250 ไมโครเมตร ยางสามารถไหลได้ดีขึ้นรูปง่าย ชิ้นงานที่ได้มีผิวเรียบ มองเห็นเป็นเนื้อเดียวกับยาง ผงซีลี้อยไม่ขนาด 250-500 และ 500-750 ไมโครเมตร ยางไหลได้ดีขึ้นรูปง่าย ชิ้นงานมีผิวเรียบ มองเห็นเส้นใยจากผงซีลี้อยไม่ชัดเจน ส่วนผงซีลี้อยไม่ขนาด 750-1,000 ไมโครเมตร ยางยังมีการไหลและขึ้นรูปได้ง่าย ชิ้นงานที่ได้มีลักษณะทางกายภาพที่เหมาะสมและสามารถใช้งานโดยการตัดด้วยเลื่อย การยึดด้วยตะปูเกลียวได้ดี แต่บางชิ้นงานจะมีผิวหยาบ เนื่องจากผงซีลี้อยมีขนาดใหญ่จึงกระจายได้ไม่ดีเท่าที่ควร สอดคล้องกับสมบัติเชิงกลของวัสดุคอมโพสิททั้งค่ามอดูลัสที่ระยะยืด 100 เปอร์เซ็นต์ และความแข็งแรงดึงสูงสุดของชิ้นงาน ซึ่งพบว่ายางขนาดของผงซีลี้อยไม่ใหญ่ขึ้นมอดูลัสที่ระยะยืด 100 เปอร์เซ็นต์ และความแข็งแรงดึงสูงสุดก็จะยิ่งลดลง และให้ผลสอดคล้องกับงานวิจัยของ Ismail *et al.* (1997) ที่สรุปว่าเส้นใยขนาดเล็กจะมีผลในการเสริมแรงได้ดีกว่าเส้นใยขนาดใหญ่

2. สมบัติการคงรูป

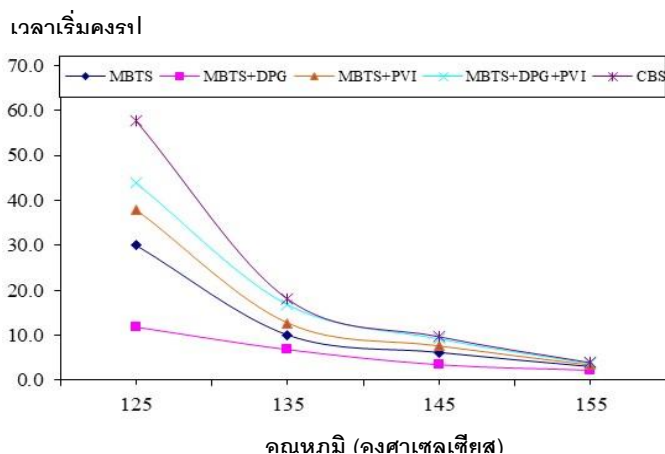
กราฟลักษณะการคงรูปของวัสดุคอมโพสิทสูตรไม้เทียมที่อุณหภูมิ 135 องศาเซลเซียส ดังภาพที่ 1 พบว่าวัสดุคอมโพสิทสูตรที่ 2 ซึ่งใช้สารเร่งการคงรูป TMTD ให้ค่าแรงบิดสูงสุดที่ค่าสูงที่สุด รองลงมาเป็นสูตรที่ 7 ซึ่งใช้สารเร่งการคงรูป CBS ตามลำดับ ส่วนสูตรอื่น ๆ ให้ค่าใกล้เคียงกัน แสดงให้เห็นว่าสำหรับวัสดุคอมโพสิทสูตรไม้เทียมที่อุณหภูมิ 135 องศาเซลเซียส สารเร่งการคงรูป TMTD สามารถเกิดพันธะการเชื่อมโยงของคอมโพสิตได้อย่างมีประสิทธิภาพ เหมาะสำหรับการขึ้นรูปผลิตภัณฑ์ที่มีความหนาไม่เกิน 5 มิลลิเมตร อย่างไรก็ตามสูตรที่ใช้สารเร่งการคงรูป ZDEC และ TMTD ส่วนผสมในคอมพาวด์คอมโพสิทมีลักษณะการคงรูปไม่เหมาะสมสำหรับการอัดขึ้นรูปไม้เทียม ทำให้ผลิตภัณฑ์ที่ได้มีการบวมพองมาก โดยเฉพาะอย่างยิ่งไม้เทียมที่มีความหนา 25.4 มิลลิเมตร จะเกิด

การบวมพองมากกว่าไม้เทียมที่มีความหนา 15 มิลลิเมตร ทั้งนี้เนื่องจากสารเร่งการคงรูปทั้งสองชนิดนี้ มีการเร่งให้วัสดุคอมโพสิตมีการเริ่มคงรูปเร็วเกินไป ส่งผลให้ผิวด้านนอกของผลิตภัณฑ์ซึ่งได้รับความร้อนโดยตรงจากไฟฟ้าพิมพ์เกิดการคงตัว อากาศที่ขังอยู่ภายในไม่สามารถออกมาได้ในขณะการคงรูป จนกระทั่งการคงรูปสมบูรณ์ทำให้เกิดมีอากาศขังในชิ้นงาน



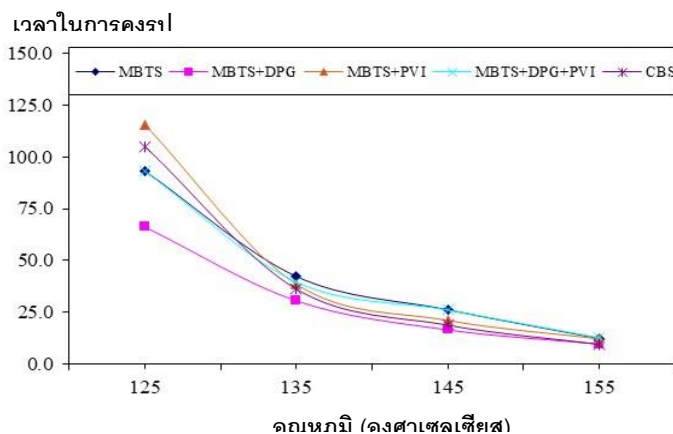
ภาพที่ 1 ลักษณะการคงรูปของวัสดุคอมโพสิตสูตรไม้เทียมที่อุณหภูมิ 135 องศาเซลเซียส

การศึกษาสมบัติการคงรูปไม้เทียมที่อุณหภูมิ 125 135 145 และ 155 องศาเซลเซียส โดยเลือกชนิดของสารเร่งการคงรูปที่สามารถคงรูปผลิตภัณฑ์ไม้เทียมได้ทั้งแบบหนา 15 มิลลิเมตร และ 25.4 มิลลิเมตร คือ MBTS MBTS+DPG MBTS+PVI MBTS+DPG+PVI และ CBS พบว่าเวลาเริ่มคงรูปและเวลาในการคงรูปสมบูรณ์ของไม้เทียมจากวัสดุคอมโพสิตทุกสูตรมีค่าลดลงเมื่ออุณหภูมิในการคงรูปเพิ่มขึ้น เวลาเริ่มคงรูปเฉลี่ยของการคงรูปที่อุณหภูมิ 125 135 145 และ 155 องศาเซลเซียส เท่ากับ 36.24 ± 0.03 12.89 ± 0.02 7.23 ± 0.03 และ 3.25 ± 0.03 นาที ตามลำดับ ดังภาพที่ 2 แสดงให้เห็นว่าอุณหภูมิที่เหมาะสมสำหรับการขึ้นรูปไม้เทียม คือ 145 องศาเซลเซียส เนื่องจากมีเวลาเริ่มคงรูปที่เหมาะสมไม่เร็วจนก่อให้เกิดปัญหาในกระบวนการผลิต และไม่ช้าเกินไปจนกระทบต่อเป้าหมายจำนวนชิ้นงานต่อชั่วโมง โดยเวลาเริ่มคงรูปของสารเร่งในสูตรวัสดุคอมโพสิต เรียงลำดับจากเร็วไปช้าตามลำดับ ดังนี้ MBTS+DPG MBTS MBTS+PVI MBTS+DPG+PVI และ CBS

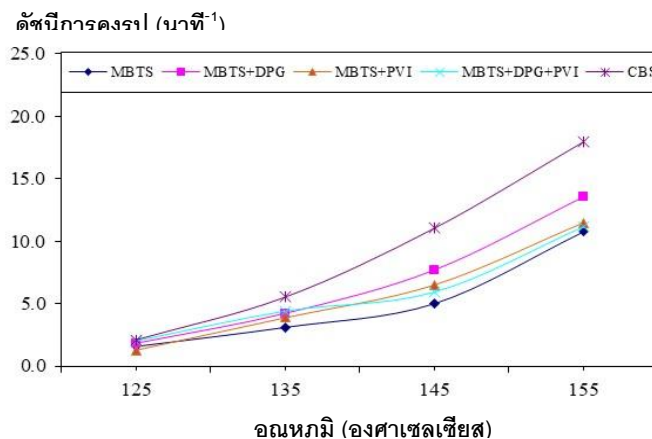


ภาพที่ 2 เวลาเริ่มคงรูปของวัสดุคอมโพสิตสูตรไม้เทียมที่อุณหภูมิต่างกัน

เวลาในการคงรูปสมบูรณ์ของวัสดุคอมโพสิตสูตรไม้เทียมที่แปรชนิดสารเร่งการคงรูป เรียงลำดับจากเร็วไปช้า ดังนี้ MBTS+DPG CBS MBTS+PVI MBTS ใกล้เคียงกับ MBTS+DPG+PVI ตามลำดับ ดังภาพที่ 3 โดยการใช้สารเร่งการคงรูป CBS จะให้ดัชนีการคงรูปสูงที่สุด รองลงมาเป็น MBTS+DPG ในขณะที่ MBTS+PVI และ MBTS+DPG+PVI ให้ดัชนีการคงรูปที่ใกล้เคียงกัน ส่วน MBTS ให้ดัชนีการคงรูปต่ำที่สุด ดังภาพที่ 4 เนื่องจากการใช้ DPG จะช่วยกระตุ้นการทำงานของ MBTS ทำให้คงรูปสมบูรณ์ได้เร็วขึ้น ในขณะที่ PVI จะหน่วงให้เวลาเริ่มคงรูปของคอมโพสิตช้าลง แต่ไม่มีผลต่อเวลาในการคงรูปสมบูรณ์ จึงทำให้ดัชนีในการคงรูปสูงกว่าการใช้ MBTS แบบเดียว ๆ อย่างไรก็ตามเมื่อพิจารณาเวลาการคงรูปสมบูรณ์ที่อุณหภูมิต่างกันของวัสดุคอมโพสิตที่ใช้สารเร่งการคงรูป MBTS+DPG ซึ่งเป็นสูตรที่ให้เวลาในการคงรูปสมบูรณ์สั้นที่สุด พบว่าที่อุณหภูมิ 125 135 145 และ 155 องศาเซลเซียส มีเวลาการคงรูปสมบูรณ์เท่ากับ 66.11 ± 0.05 30.46 ± 0.03 16.45 ± 0.03 และ 9.62 ± 0.03 นาทีตามลำดับ แสดงให้เห็นว่ามีเพียงที่อุณหภูมิ 145 และ 155 องศาเซลเซียส เท่านั้นที่มีระยะเวลาวงจรการผลิต (cycle time) เหมาะสมสำหรับการขึ้นรูปไม้เทียม และเนื่องจากที่อุณหภูมิ 155 องศาเซลเซียส สามารถขึ้นรูปได้แค่บางชิ้นงานและลักษณะไม้เทียมที่ได้จะมีสีเข้มขึ้น อาจเกิดจากอุณหภูมิสูงทำให้เส้นใยเกิดการเปลี่ยนสี ดังนั้นอุณหภูมิการขึ้นรูปไม้เทียมที่เหมาะสม คือ 145 องศาเซลเซียส ซึ่งสอดคล้องกับผลการศึกษาเวลาเริ่มคงรูปที่เหมาะสมสำหรับไม้เทียมทั้งสองระดับความหนา และสอดคล้องกับการศึกษาของ Ismail *et al.* (1997) ซึ่งศึกษาการใช้ผงซีลี้อยู่ไม่เป็นสารตัวเติมในยางอิพอกไซด์และแนะนำให้ใช้อุณหภูมิในการขึ้นรูปไม่เกิน 145 องศาเซลเซียส ในการคงรูปวัสดุคอมโพสิต



ภาพที่ 3 เวลาคงรูปสมบูรณ์ของวัสดุคอมโพสิตสูตรไม้เทียมที่อุณหภูมิต่างกัน



ภาพที่ 4 ดัชนีการคงรูปของวัสดุคอมโพสิตสูตรไม่เทียมที่อุณหภูมิต่างกัน

3. สมบัติการขึ้นรูป

การศึกษาสมบัติการขึ้นรูปไม่เทียมที่มีความหนา 15 และ 25.4 มิลลิเมตร โดยการอัดเข้าขึ้นรูปที่อุณหภูมิ 125 135 145 และ 155 องศาเซลเซียส พบว่าการใช้สารเร่งการคงรูป MBTS และ MBTS+DPG ให้ผลดีที่สุด คือ สามารถขึ้นรูปไม่เทียมที่มีความหนา 25.4 มิลลิเมตร ได้ที่อุณหภูมิ 125 135 และ 145 องศาเซลเซียส ส่วนไม่เทียมที่มีความหนา 15 มิลลิเมตร สามารถขึ้นรูปได้ทุกอุณหภูมิที่ศึกษา รองลงมา คือ สูตรที่ใช้ MBTS+DPG+PVI และ CBS สามารถขึ้นรูปไม่เทียมที่มีความหนา 25.4 มิลลิเมตร ได้ที่อุณหภูมิ 125 และ 135 องศาเซลเซียส ส่วนไม่เทียมที่มีความหนา 15 มิลลิเมตร สามารถขึ้นรูปได้ที่อุณหภูมิ 125 135 และ 145 องศาเซลเซียส และสูตรที่ใช้ MBTS+PVI สามารถขึ้นรูปได้สมบูรณ์เฉพาะที่อุณหภูมิ 125 และ 135 องศาเซลเซียส ทั้งในไม่เทียมที่มีความหนา 15 และ 25.4 มิลลิเมตร ผลการประเมินความสมบูรณ์ผลิตภัณฑ์สรุปดังตารางที่ 2 ทั้งนี้เนื่องจากในผลิตภัณฑ์ไม่เทียมขนาด 450x50x25.4 มิลลิเมตร ที่มีความหนาและขนาดใหญ่กว่าไม่เทียมขนาด 300x30x15 มิลลิเมตร การถ่ายเทความร้อนจากแบบพิมพ์สู่ส่วนกลางผลิตภัณฑ์เกิดขึ้นได้ช้ากว่า อุณหภูมิที่สามารถใช้ขึ้นรูปได้จึงมีขีดจำกัดมากกว่า ลักษณะของไม่เทียมที่คงรูปไม่สมบูรณ์จะมีลักษณะบวมพอง มีอากาศขังอยู่ภายในเนื่องจากผิวผลิตภัณฑ์ด้านนอกเกิดการคงรูปก่อนเนื้อด้านใน อากาศภายในจึงไม่สามารถระบายออกได้ทำให้เกิดลักษณะการบวมพอง

ตารางที่ 2 การประเมินความสมบูรณ์ของผลิตภัณฑ์ที่ขึ้นรูปที่อุณหภูมิต่างกัน

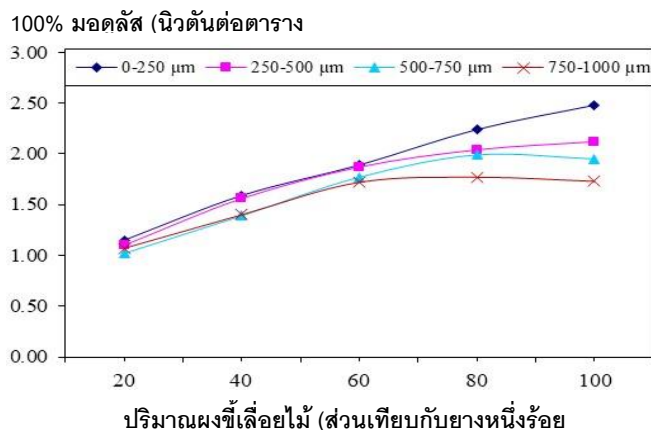
สารเร่งการคงรูป	ไม่ระแนง หนา 15 มิลลิเมตร				ไม่ระแนง หนา 25.4 มิลลิเมตร			
	125°C	135°C	145°C	155°C	125°C	135°C	145°C	155°C
ZDEC	/	X	X	X	/	X	X	X
TMTD	/	/	X	X	/	X	X	X
MBTS	/	/	/	/	/	/	/	X
MBTS+DPG	/	/	/	/	/	/	/	X
MBTS+PVI	/	/	X	X	/	/	X	X
MBTS+DPG+PVI	/	/	/	X	/	/	X	X
CBS	/	/	/	X	/	/	X	X

หมายเหตุ: / คือ ผลิตภัณฑ์มีความสมบูรณ์

X คือ ผลิตภัณฑ์ที่ไม่สามารถคงรูปได้สมบูรณ์ มีการบวมพองหรือผิวสีคล้ำไหม้

4. สมบัติเชิงกล

การศึกษาขนาดและปริมาณผงซีลี้อยไม้ เพื่อหาสัดส่วนขนาดและปริมาณผงซีลี้อยไม้ที่เหมาะสมสำหรับไม้เทียมทั้งสองระดับความหนา โดยศึกษาสมบัติเชิงกลของไม้เทียมที่ได้จากวัสดุคอมโพสิตที่ใช้สารเร่งการคงรูป MBTS+DPG และขึ้นรูปที่อุณหภูมิ 145 องศาเซลเซียส ซึ่งให้ผลิตภัณฑ์ที่มีความสมบูรณ์และมีวงรอบการผลิตเหมาะสมที่สุด ศึกษาโดยแปรขนาดผงซีลี้อยไม้ 4 ขนาด คือ 0-250 250-500 500-750 และ 750-1,000 ไมโครเมตร ที่ปริมาณ 20 40 60 80 และ 100 ส่วนเทียบกับยางหนึ่งร้อยละ ผลการศึกษาพบว่าค่ามอดูลัสที่ระยะยืด 100 เปอร์เซ็นต์ ของไม้เทียมมีค่าเพิ่มขึ้นตามปริมาณผงซีลี้อยไม้ที่เพิ่มขึ้นเหมือนกันในทุกขนาดของผงซีลี้อยไม้ที่ศึกษา เนื่องจากปริมาณผงซีลี้อยไม้ที่เพิ่มขึ้นไปขัดขวางการเคลื่อนไหวสายโซ่โมเลกุลของยาง ทำให้สายโซ่โมเลกุลของยางขยับได้ยากขึ้น ค่ามอดูลัสที่ระยะยืด 100 เปอร์เซ็นต์ จึงเพิ่มขึ้น และการใช้ผงซีลี้อยไม้ขนาดต่ำกว่า 250 ไมโครเมตร จะให้ไม้เทียมมีค่ามอดูลัสที่ระยะยืด 100 เปอร์เซ็นต์ สูงที่สุด รองลงมาเป็นผงซีลี้อยไม้ขนาด 250-500 500-750 และ 750-1,000 ไมโครเมตร โดยให้ค่าสูงสุดที่ปริมาณการใช้ผงซีลี้อยไม้ 100 ส่วนเทียบกับยางหนึ่งร้อยละ เท่ากับ 2.48 ± 0.04 2.12 ± 0.02 1.95 ± 0.03 และ 1.73 ± 0.04 นิวตันต่อตารางมิลลิเมตร ตามลำดับ ทั้งนี้เนื่องจากเมื่อขนาดผงซีลี้อยไม้ใหญ่ขึ้นอาจมีผลต่อการกระจายตัวของผงซีลี้อยไม้ในวัสดุคอมโพสิต ส่งผลให้เกิดการเสริมแรงในเนื้อไม้ลดลง

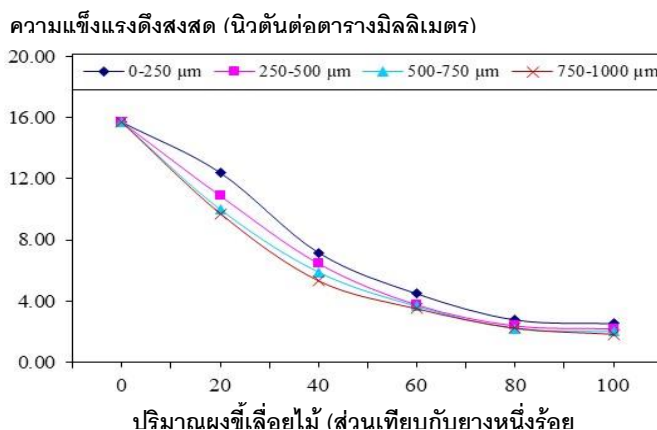


ภาพที่ 5 มอดูลัสที่ระยะยืด 100 เปอร์เซ็นต์ ของไม้เทียมที่ใช้ผงซีลี้อยไม้ที่มีขนาดและปริมาณต่างกัน

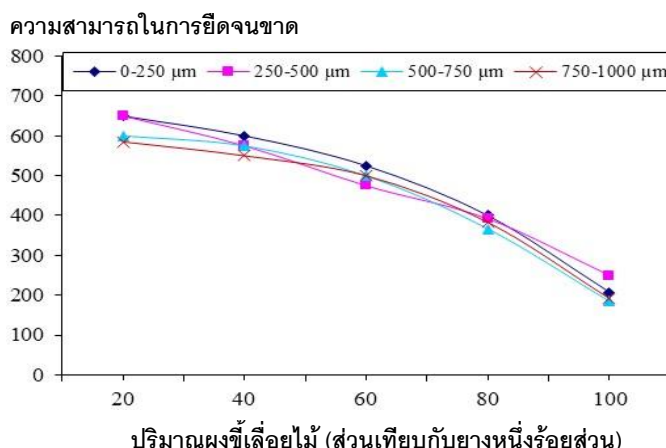
สมบัติความแข็งแรงดึงสูงสุดของชิ้นงานจากคอมโพสิตยางพารากับผงซีลี้อยไม้ให้ผลดังภาพที่ 6 พบว่าวัสดุคอมโพสิตมีความแข็งแรงดึงสูงสุดน้อยกว่ายาง และเมื่อเพิ่มปริมาณของผงซีลี้อยไม้มากขึ้นจะทำให้ความแข็งแรงดึงสูงสุดของชิ้นงานลดลง นอกจากนี้ยิ่งขนาดของผงซีลี้อยไม้ใหญ่ขึ้น ความแข็งแรงดึงสูงสุดก็จะยิ่งลดลง โดยความแข็งแรงดึงสูงสุดของชิ้นงานจะลดลงอย่างรวดเร็วในช่วงปริมาณการใช้ผงซีลี้อยไม้ 20-60 ส่วนเทียบกับยางหนึ่งร้อยละ ทั้งนี้เนื่องจากผงซีลี้อยไม้ที่ศึกษาในทุกขนาดใหญ่กว่าสารตัวเติมเสริมแรงที่ใช้งานในยาง ซึ่งปกติสารตัวเติมที่มีประสิทธิภาพในการเสริมแรงจะมีขนาดอนุภาคไม่เกิน 100 นาโนเมตร (Hepburn, 1991) ถ้าอนุภาคใหญ่กว่านี้จะไม่มีการเสริมแรงแต่ใช้งานเพื่อการลดต้นทุนหรือวัตถุประสงค์อื่น ดังนั้นจึงทำให้เกิดจุดอ่อนแอ (weak point) ขึ้นในเนื้อยาง นอกจากนี้การใช้นี้ปริมาณที่มากขึ้นส่งผลให้ปริมาณยางไม่เพียงพอจะหุ้มอนุภาคของผงซีลี้อยไม้ทำให้ความแข็งแรงดึงสูงสุดลดลงตามปริมาณผงซีลี้อยไม้ที่เพิ่มขึ้น (Ismail *et al.*, 2002) และการใช้ผงซีลี้อยไม้ขนาดใหญ่อาจมีผลต่อการกระจายตัวของผงซีลี้อยไม้ในวัสดุคอมโพสิต ส่งผลให้เกิดการเสริมแรงในเนื้อไม้ลดลงดังได้กล่าวมาแล้ว โดยชิ้นงานที่ใช้ผงซีลี้อยไม้ขนาดต่ำกว่า 250 ไมโครเมตร

จะให้ชิ้นงานมีความแข็งแรงถึงสูงสุดมีค่าสูงที่สุด รองลงมาเป็นผงซีลี้อยไม้ขนาด 250-500 500-750 และ 750-1,000 ไมโครเมตร โดยให้ค่าสูงสุดที่ปริมาณการใช้ผงซีลี้อยไม้ 20 ส่วนเทียบกับยางหนึ่งร้อยละ เท่ากับ 12.40 ± 0.22 10.89 ± 0.18 9.99 ± 0.23 และ 9.73 ± 0.19 นิวตันต่อตารางมิลลิเมตร ตามลำดับ และชิ้นงานที่ใช้ผงซีลี้อยไม้ขนาด 750-1,000 ไมโครเมตร ปริมาณ 100 ส่วนเทียบกับยางหนึ่งร้อยละ ให้ความแข็งแรงถึงสูงสุดมีค่าต่ำที่สุด เท่ากับ 1.82 ± 0.33 นิวตันต่อตารางมิลลิเมตร

สมบัติความสามารถในการยึดจนขาด ของคอมโพสิตยางพารากับผงซีลี้อยไม้ให้ผลดังภาพที่ 7 พบว่าความสามารถในการยึดจนขาดของชิ้นงานลดลง เมื่อผงซีลี้อยไม้เพิ่มขึ้นและขนาดของผงซีลี้อยไม้ใหญ่ขึ้น ทั้งนี้เนื่องจากการใช้ผงซีลี้อยไม้ในปริมาณมากทำให้เกิดการขัดขวางการเคลื่อนไหวสายโซ่โมเลกุลของยาง ทำให้สายโซ่โมเลกุลของยางขยับได้ยากขึ้น วัสดุมีความยืดหยุ่นน้อยลง ความสามารถในการยึดจนขาดจึงลดลง และผงซีลี้อยไม้ขนาดใหญ่ทำให้เกิดจุดอ่อนแอในเนื้อยาง ส่งผลให้เนื้อยางไม่แข็งแรงและเป็นจุดเริ่มต้นการขาดได้ง่าย โดยชิ้นงานที่ใช้ผงซีลี้อยไม้ปริมาณ 20 ส่วนเทียบกับยางหนึ่งร้อยละ ให้ความสามารถในการยึดจนขาดมีค่าสูงที่สุดอยู่ในช่วง 585 ± 13.75 เปอร์เซ็นต์ ถึง 650 ± 11.14 เปอร์เซ็นต์ และชิ้นงานที่ใช้ผงซีลี้อยไม้ปริมาณ 100 ส่วนเทียบกับยางหนึ่งร้อยละ ให้ความสามารถในการยึดจนขาดมีค่าต่ำที่สุดอยู่ในช่วง 192 ± 15.87 เปอร์เซ็นต์ ถึง 208 ± 17.32 เปอร์เซ็นต์

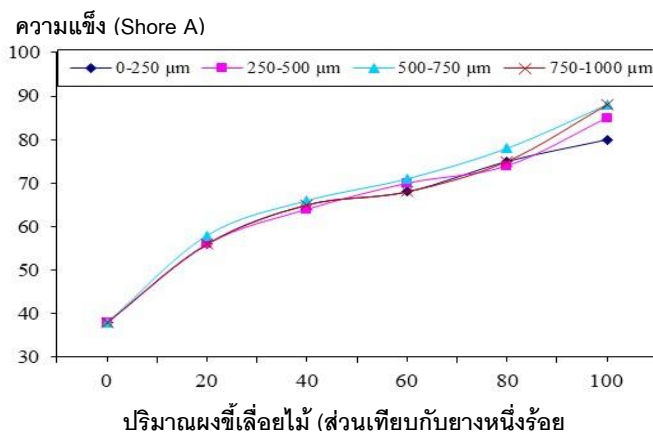


ภาพที่ 6 ความแข็งแรงถึงสูงสุดของไม้เทียมที่ใช้ผงซีลี้อยไม้ที่มีขนาดและปริมาณต่างกัน



ภาพที่ 7 ความสามารถในการยึดจนขาดของไม้เทียมที่ใช้ผงซีลี้อยไม้ที่มีขนาดและปริมาณต่างกัน

สมบัติความแข็ง การศึกษาสมบัติด้านความแข็งของชิ้นงานจากคอมโพสิตของยางพารา กับผงซีลี้อยู่ไม่ให้เกิดภาพที่ 8 พบว่าความแข็งของชิ้นงานมีแนวโน้มเพิ่มขึ้นอย่างชัดเจนตาม ปริมาณของผงซีลี้อยู่ไม่ที่เพิ่มขึ้นในทุกขนาดของผงซีลี้อยู่ไม่ที่ศึกษา โดยผงซีลี้อยู่ไม่สามารถให้ ความแข็งของยางสูงกว่าการใช้สารตัวเติมลดต้นทุนโดยทั่วไปที่ให้ความแข็งของยางได้ประมาณไม่เกิน 75 shore A (Fred, 1993) แสดงให้เห็นว่าการใช้ผงซีลี้อยู่ไม่ในปริมาณสูง สามารถเพิ่มสมบัติความ แข็งตึง (stiffness) ให้กับยางได้ เหมาะสำหรับการใช้ทำผลิตภัณฑ์ไม้เทียมที่ศึกษา โดยชิ้นงานที่ใช้ ผงซีลี้อยู่ไม่ปริมาณ 100 ส่วนเทียบกับยางหนึ่งร้อยส่วน ให้ความแข็งของชิ้นงานมีค่าสูงที่สุด ที่ค่าเท่ากับ 80 ± 1.15 85 ± 1.06 88 ± 0.72 และ 88 ± 1.01 shore A สำหรับการใชผงซีลี้อยู่ไม่ขนาดต่ำกว่า 250 250-500 500-750 และ 750-1,000 ไมโครเมตร ตามลำดับ

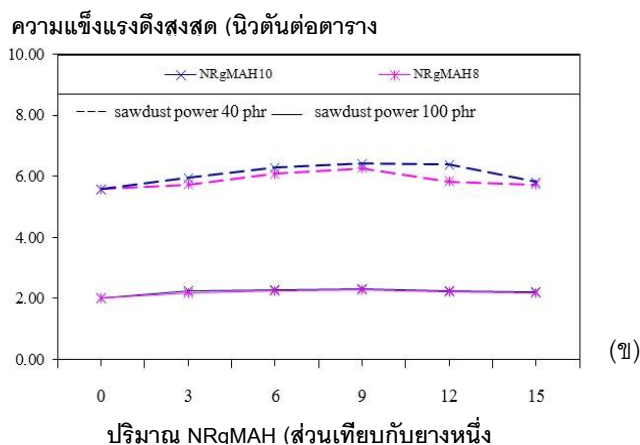
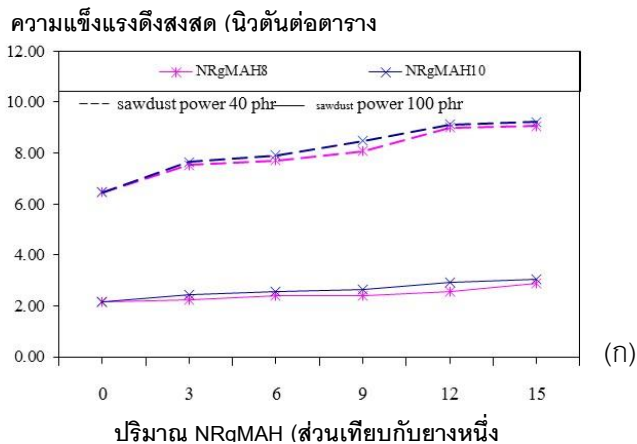


ภาพที่ 8 ความแข็งของไม้เทียมที่ใช้ผงซีลี้อยู่ไม่ที่มีขนาดและปริมาณต่างกัน

5. การปรับปรุงสมบัติด้วยยางดัดแปร

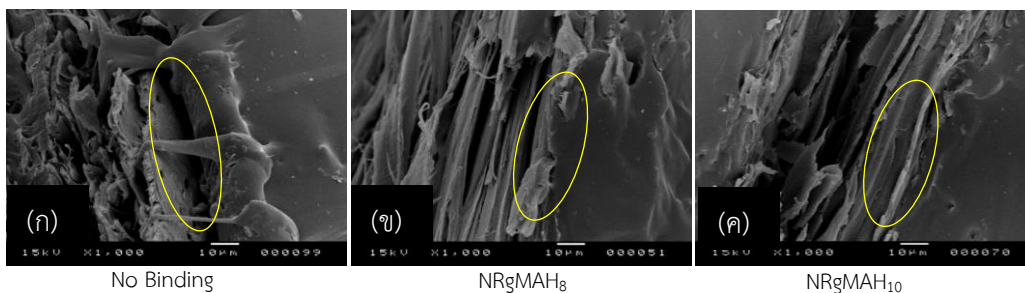
การใชยางธรรมชาติกราฟต์ด้วยมาลิกแอนไฮไดรด์ (NRgMAH) ที่เตรียมโดยใช้มาลิกแอนไฮไดรด์ 8 และ 10 ส่วนเทียบกับยางหนึ่งร้อยส่วน ซึ่งมีปริมาณการเกาะติดของมาลิกแอนไฮไดรด์บนโมเลกุลยางธรรมชาติเท่ากับ 4.62 และ 4.89 เปอร์เซ็นต์ ตามลำดับ เป็นสารเชื่อมติดในไม้เทียมที่ใช้ผงซีลี้อยู่ไม่ขนาด 250-500 และ 500-750 ไมโครเมตร ในปริมาณ 40 และ 100 ส่วนเทียบกับยางหนึ่งร้อยส่วน แปรปริมาณของ NRgMAH ที่ 3 6 9 12 และ 15 ส่วนเทียบกับยางหนึ่งร้อยส่วน เพื่อให้ได้ไม้เทียมที่มีสมบัติที่ดีที่สุด เหมาะสมสำหรับจะใช้ทดแทนไม้ได้ ผลการศึกษาสารเชื่อมติดพบว่า ความแข็งแรงดึงสูงสุดของไม้เทียมมีค่าเพิ่มขึ้นตามปริมาณการใช้ NRgMAH₈ และ NRgMAH₁₀ ที่เพิ่มขึ้นเหมือนกันทั้งกรณีไม้เทียมจากผงซีลี้อยู่ไม่ 40 และ 100 ส่วนเทียบกับยางหนึ่งร้อยส่วน อย่างไรก็ตามเนื่องจากไม้เทียมที่เตรียมโดยใช้ผงซีลี้อยู่ไม่ 100 ส่วนเทียบกับยางหนึ่งร้อยส่วน มีสมบัติความแข็งตึงและความแข็งแรงสูงมากทำให้ความยืดหยุ่นลดลง ในการปรับปรุงสมบัติของไม้เทียมโดยใช้ยางดัดแปรจึงเห็นผลการปรับปรุงสมบัติความแข็งแรงของไม้เทียมที่เตรียมโดยใช้ผงซีลี้อยู่ไม่ 40 ส่วนเทียบกับยางหนึ่งร้อยส่วน เด่นชัดกว่าไม้เทียมที่เตรียมโดยใช้ผงซีลี้อยู่ไม่ 100 ส่วนเทียบกับยางหนึ่งร้อยส่วน โดยความแข็งแรงดึงสูงสุดของไม้เทียมที่ปริมาณผงซีลี้อยู่ไม่ 40 และ 100 ส่วนเทียบกับยางหนึ่งร้อยส่วน ของผงซีลี้อยู่ไม่ขนาด 250-500 ไมโครเมตร ให้ความแข็งแรงดึงสูงสุดมีค่าเท่ากับ 9.23 ± 0.15 และ 3.04 ± 0.13 นิวตันต่อตารางมิลลิเมตร ดังภาพที่ 9 (ก) ซึ่งมีค่าเพิ่มขึ้นเฉลี่ย 41.86 เปอร์เซ็นต์ และ 36.81 เปอร์เซ็นต์ ตามลำดับ และความแข็งแรงดึงสูงสุดของไม้เทียมจากผงซีลี้อยู่ไม่ขนาด 500-750 ไมโครเมตร ให้ความแข็งแรงดึงสูงสุดมีค่าเท่ากับ 6.42 ± 0.11 และ

2.32 ± 0.07 นิวตันต่อตารางมิลลิเมตร ดังภาพที่ 9 (ข) มีค่าเพิ่มขึ้นเฉลี่ย 13.62 เปอร์เซ็นต์ และ 9.50 เปอร์เซ็นต์ ตามลำดับ

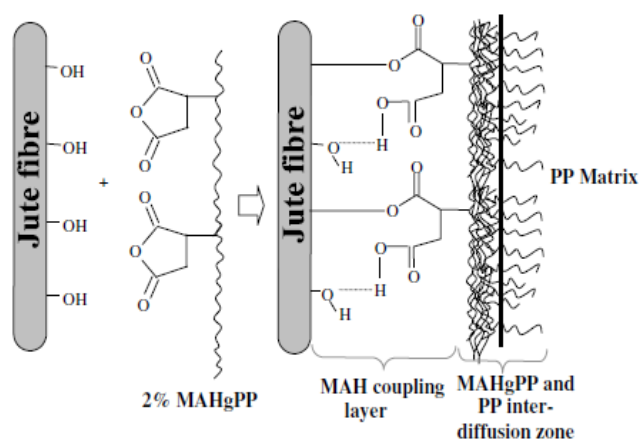


ภาพที่ 9 ความแข็งแรงดึงสูงสุดของไม้เทียมที่ปรับปรุงสมบัติด้วย NRgMAH : ไม้เทียมที่ใช้ผงซีลี้อยู่ในขนาด 250-500 ไมโครเมตร (ก) และไม้เทียมที่ใช้ผงซีลี้อยู่ในขนาด 500-750 ไมโครเมตร (ข)

การศึกษาลักษณะสัณฐานวิทยาของวัสดุคอมโพสิตระหว่างยางพารากับผงซีลี้อยู่ในไม้เทียม พบว่าคอมโพสิตที่ไม่ใช้สารเชื่อมติดในภาพที่ 10 (ก) มีการยึดติดระหว่างเฟสต่อเนื่องที่เป็นเนื้อยางและเฟสกระจายที่เป็นผงซีลี้อยู่ไม่แน่น เกิดช่องว่างระหว่างเฟสขนาดใหญ่ที่ชัดเจนไม้เทียมที่ได้จึงไม่ค่อยแข็งแรง ส่วนการใช้สารเชื่อมติดทั้ง NRgMAH₈ และ NRgMAH₁₀ ในภาพที่ 10 (ข) และ (ค) ลักษณะสัณฐานวิทยาแสดงให้เห็นถึงการยึดติดระหว่างเฟสทำให้ไม่เห็นช่องว่างระหว่างเนื้อยางและผงซีลี้อยู่ เนื่องจากผงซีลี้อยู่ไม่สามารถเกิดอันตรกิริยากับเนื้อยางในระดับโมเลกุลระหว่างมาลิกแอนไฮไดรต์ในยางดัดแปรกับหมู่ไฮดรอกซิลของผงซีลี้อยู่ด้วยพันธะไฮโดรเจน และ/หรือ พันธะเอสเทอร์ ตามลักษณะโมเดลโครงสร้างที่เสนอโดย Doan *et al.* (2006) ในภาพที่ 11 ทำให้เนื้อยางและผงซีลี้อยู่ไม่มีการยึดติดที่ดียิ่งขึ้น ส่งผลให้เกิดการเสริมแรงทำให้สมบัติเชิงกลของไม้เทียมสูงขึ้น สอดคล้องกับงานวิจัยของ Sameni *et al.* (2002) และ Blendzki and Faruk (2003) ซึ่งพบว่าการใช้ยางธรรมชาติดัดแปรสามารถเพิ่มสมบัติเชิงกลของคอมโพสิตระหว่างยางและเส้นใยธรรมชาติได้



ภาพที่ 10 สัณฐานวิทยากำลังขยาย 1000 เท่า ของวัสดุคอมโพสิตจากไม้เทียม : ไม่ใช้สารเชื่อมติด (ก) ใช้ NRgMAH₈ ปริมาณ 12 ส่วนเทียบกับยางหนึ่งร้อยส่วน (ข) และใช้ NRgMAH₈ ปริมาณ 12 ส่วนเทียบกับยางหนึ่งร้อยส่วน (ค)



ภาพที่ 11 โมเดลโครงสร้างอันตรกิริยาระหว่างหมู่มาลิกแอนไฮไดรด์กับหมู่ไฮดรอกซิลของเส้นใย

สรุปผลการวิจัย

สภาวะที่เหมาะสมสำหรับการขึ้นรูปไม้เทียม คือการอัดขึ้นรูปที่อุณหภูมิ 145 องศาเซลเซียส โดยการใช้สารเร่งการคงรูป MBTS 0.5 ส่วนเทียบกับยางหนึ่งร้อยส่วน ร่วมกับ DPG 0.5 ส่วนเทียบกับยางหนึ่งร้อยส่วน ซึ่งจะมีเวลาเริ่มคงรูป 3.46 ± 0.02 นาที และเวลาคงรูปสมบูรณ์ 16.45 นาที ให้วงรอบการผลิตที่เหมาะสมเท่ากับ 16.45 ± 0.03 และ 18.45 ± 0.04 นาที สำหรับไม้เทียมที่มีความหนา 15 และ 25.4 มิลลิเมตร ตามลำดับ การใช้ผงซีลี้อยไม้ทำให้วัสดุคอมโพสิตมีความแข็งตึงเพิ่มขึ้น ส่งผลให้มอดูลัสที่ระยะยืด 100 เปอร์เซ็นต์ และความแข็งเพิ่มขึ้นตามปริมาณผงซีลี้อยที่เพิ่มขึ้น โดยขึ้นงานจากวัสดุคอมโพสิตของผงซีลี้อยไม้ขนาดต่ำกว่า 250 ไมโครเมตร จะให้สมบัติมอดูลัสสูงที่สุดที่ 2.48 ± 0.04 นิวตันต่อตารางมิลลิเมตร ในขณะที่ขึ้นงานจากวัสดุคอมโพสิตของผงซีลี้อยไม้ขนาด 500-750 ให้สมบัติความแข็งสูงที่สุดที่ 88 ± 0.72 shore A ความแข็งแรงตึงสูงสุดและความสามารถในการยืดจนขาดของวัสดุคอมโพสิตมีค่าน้อยกว่ายาง และมีค่าลดลงตามปริมาณผงซีลี้อยไม้ที่เพิ่มขึ้นและขนาดของผงซีลี้อยไม้ที่ใหญ่ขึ้น โดยขึ้นงานที่ใช้ผงซีลี้อยไม้ขนาดต่ำกว่า 250 ไมโครเมตร มีความแข็งแรงตึงสูงสุดและความสามารถในการยืดจนขาดมีค่าสูงที่สุด เมื่อใช้ปริมาณการใช้ผงซีลี้อยไม้ 20 ส่วนเทียบกับยางหนึ่งร้อยส่วน เท่ากับ 12.40 ± 0.22 นิวตันต่อตารางมิลลิเมตร และ 650 ± 11.14 เปอร์เซ็นต์ ตามลำดับ และขึ้นงานที่ใช้ผงซีลี้อยไม้ขนาด 750-1,000 ไมโครเมตร มีความแข็งแรงตึงสูงสุดและความสามารถในการยืดจนขาดมีค่าต่ำที่สุด เมื่อใช้ปริมาณการใช้ผงซีลี้อยไม้ 100 ส่วน

เทียบกับยางหนึ่งร้อยละ เท่ากับ 1.82 ± 0.33 นิวตันต่อตารางมิลลิเมตร และ 192 ± 15.87 เปอร์เซ็นต์ ตามลำดับ ปริมาณที่เหมาะสมของผงซีลี้อยไม้สำหรับทำวัสดุคอมโพสิตสูตรไม้เทียม คือ ปริมาณผงซีลี้อยไม้ 100 ส่วนเทียบกับยางหนึ่งร้อยละ ซึ่งให้สมบัติความแข็งตึงคล้ายไม้และมีความแข็งแรงสูงสุด 88 ± 0.72 shore A การใช้ NRgMAH₈ และ NRgMAH₁₀ ในวัสดุคอมโพสิตของยางพารา กับผงซีลี้อยไม้ ทำให้เกิดการยึดติดระหว่างเฟสต่อเนื่องที่เป็นเนื้อยางและผงซีลี้อยไม้ในระดับโมเลกุล สามารถปรับปรุงสมบัติความแข็งแรงของชิ้นงานได้ โดยให้ค่าความแข็งแรงตึงสูงสุดเพิ่มขึ้นสูงสุด 41.86 เปอร์เซ็นต์ และ 36.81 เปอร์เซ็นต์ สำหรับไม้เทียมที่ใช้ผงซีลี้อยไม้ขนาด 250-500 ไมโครเมตร ที่ปริมาณผงซีลี้อยไม้ 40 และ 100 ส่วนเทียบกับยางหนึ่งร้อยละ ตามลำดับ

กิตติกรรมประกาศ

คณะผู้วิจัยขอขอบคุณสำนักงานคณะกรรมการวิจัยแห่งชาติ ที่ให้การสนับสนุนงบประมาณ ในการดำเนินการวิจัย ขอขอบคุณบริษัทชูศักดิ์แอนด์พรณิสิทธิ์ จำกัด ที่ให้การสนับสนุนผงซีลี้อยไม้ในการวิจัย

เอกสารอ้างอิง

- ชาติรี หอมเขียว. (2557). การพัฒนาและการประยุกต์ใช้วัสดุเชิงประกอบเทอร์โมพลาสติกและเส้นใยธรรมชาติเชิงอุตสาหกรรม. *วารสารวิชาการเทคโนโลยีอุตสาหกรรม*. 10(2), 97-110.
- ไพโรจน์ กลิ่นพิทักษ์ และอรภรณ์ บัวหลวง. (2547). การเตรียมกาวติดไม้จากยางธรรมชาติมาเลเอต. *โครงการวิจัยแห่งชาติ : ยางพารา ฝ่ายอุตสาหกรรม สำนักงานกองทุนสนับสนุนการวิจัย*. กรุงเทพฯ.
- Blendzki, A.K. and Faruk, O. (2003). Wood fiber reinforced polypropylene composites : Effect of fiber geometry and coupling agent on physico-mechanical properties. *Applied Composite Materials*, 10(1), 365-379.
- Doan, T.T.L., Gao, S.L. and Mader, E. (2006). Jute/polypropylene composites I. Effect of matrix modification. *Composites science and technology*. 66(7), 952-963.
- Fred, W.B. (1993). *Rubber Compounding : Principles, materials and techniques*. New York: Marcel Dekker, Inc.
- Hepburn, C. (1991). *Rubber compounding ingredients-need, theory and innovation Part 1: Vulcanising systems, antidegradants and particulate fillers for general purpose rubbers*. United Kingdom: Rapra Technology Limited.
- Homkhiew, C., Ratanawilai, T. and Thongruang, W. (2014). Composites from recycled polypropylene and rubberwood flour: Effects of composition on mechanical properties. *Journal of Thermoplastic Composite Materials*. 28(2), 179-194.
- Ismail, H., Edyham, M.R. and Wirjosentono, B. (2002). Bamboo fibre filled natural rubber composites: the effects of filler loading and bonding agent. *Polymer Testing*, 21(2), 139-144.
- Ismail, H., Rozman, H.D., Jaffri, R.M., and Ishak, M.Z.A. (1997). Oil palm wood flour reinforced epoxidized natural rubber composites : The effect of filler content and size. *Composites: Part A*, 33(10), 14-23.

- Mohanty, A.K., Misra, M. and Drzal, T.L. (2005). *Natural fibers, biopolymers, and biocomposites*. America: Taylor and Francis Group.
- Nakason, C., Keasaman, A. and Supasathitikul, P. (2004). The grafting of maleic anhydride onto natural rubber. *Polymer Testing*, 23(1), 35-41.
- Sameni, J.K., Ahmad, S.H. and Zakaria, S. (2002). Effects of processing parameters and graft-copolymer (propylene/maleic anhydride) on mechanical properties of thermoplastic natural rubber composites reinforced with wood fiber. *Plastic, Rubber and Composite*, 33(4), 162-166.
- Sombatsompop, N. and Chaochanchaikul, K. (2005). Average mixing torque, tensile and impact properties and thermal stability of PVC/sawdust composites with different silane coupling agents. *Journal of Applied Polymer Science*, 96(1), 213-221.
- Sombatsompop, N. and Phromchirasuk, C. (2004). Effects of acrylic based processing aids on processability, rheology, thermal and structural stability, and mechanical properties of PVC/wood sawdust composites. *Journal of Applied Polymer Science*, 92(2), 782-790.

ผลของการเสริมไดอะตอม (*Amphora coffeaeformis*) ในอาหารต่อ
การเจริญเติบโตและการแสดงออกของยีนที่เกี่ยวข้องกับการเจริญเติบโต
ในกุ้งขาว (*Litopenaeus vannamei*) ระยะหลังวัยอ่อน
Effects of Diatom (*Amphora coffeaeformis*) Supplementation
in Diet on Growth and Growth-Related Genes Expression
in Pacific White Shrimp (*Litopenaeus vannamei*) Postlarvae

ชัยรัตน์ ขวัญเจริญ¹ สถาพร ดิเรกบุษราคัม^{1*} และสุวิทย์ วุฒิสุทธิเมธาวี¹
Chairat Khwancharoen¹, Sataporn Direkbusarakom^{1*}
and Suwit Wuthisuthimethavee¹

บทคัดย่อ

การทดลองนี้มีวัตถุประสงค์เพื่อเปรียบเทียบการเจริญเติบโต อัตรารอดและการแสดงออกของยีนที่เกี่ยวข้องกับการเจริญเติบโตของลูกกุ้งขาว (*Litopenaeus vannamei*) ที่ให้อาหารเสริม *Amphora coffeaeformis* ในระดับที่ต่างกัน โดยแบ่งออกเป็น 6 ชุดการทดลอง ได้แก่ 0 4.31 8.26 11.89 15.25 เปอร์เซ็นต์ และ *A. coffeaeformis* สด ตามลำดับ โดยเตรียมไดอะตอมชนิดนี้ด้วยสภาวะปลอดเชื้อในห้องปฏิบัติการ จากนั้นทำการเก็บเกี่ยวและสะสมเซลล์ไว้ เพื่อนำเซลล์ไปทำให้แห้งด้วยเครื่องทำแห้งแบบเยือกแข็ง และนำมาผสมอาหารลูกกุ้งขาวตามชุดการทดลองที่ได้ออกแบบไว้ งานทดลองนี้ใช้ลูกกุ้งขาวระยะโพสต์ลาร์วา 15 (PL 15) ความยาวเริ่มต้น 1.06 ± 0.10 เซนติเมตร เลี้ยงในน้ำความเค็ม 20 พีเอสยู อุณหภูมิ 30 องศาเซลเซียส เปลี่ยนถ่ายน้ำ 20 เปอร์เซ็นต์ ทุกวัน ให้อาหาร 7 มื้อต่อวัน และวัดคุณภาพน้ำทุก 3 วัน ผลการทดลองจากการเลี้ยงลูกกุ้งเป็นระยะเวลา 14 วัน ได้ชี้ให้เห็นว่าชุดการทดลองที่มีการเสริม *A. coffeaeformis* สด และ 4.31 เปอร์เซ็นต์ มีความยาวสุดท้ายสูงสุด 2.12 และ 1.98 เซนติเมตร เมื่อเทียบกับชุดควบคุมมีความยาวสุดท้ายแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญ ($p < 0.05$) ผลการวิเคราะห์การแสดงออกของยีนของลูกกุ้ง ในการศึกษาชี้ให้เห็นความสนใจยีนที่เกี่ยวข้องกับการเจริญเติบโต 3 ยีน ได้แก่ Chitinase (CHIT) AMP-activated protein kinase (PRKAG) และ Cathepsin พบว่าลูกกุ้งที่ได้รับอาหารเสริม *A. coffeaeformis* สด มีการแสดงออกของยีนมากที่สุด และมีความแตกต่างกับชุดควบคุมอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p < 0.05$) การศึกษาครั้งนี้บ่งชี้ว่าการเสริม *A. coffeaeformis* สด ส่งผลให้กุ้งมีการเจริญเติบโตและการแสดงออกของยีนมากที่สุด และหากเสริม *A. coffeaeformis* ในรูปแบบแห้งควรเสริมที่ไม่เกิน 4.31 เปอร์เซ็นต์

¹ ศูนย์วิจัยความเป็นเลิศด้านกุ้ง สำนักเทคโนโลยีการเกษตร มหาวิทยาลัยวลัยลักษณ์

¹ Center of Excellence for Shrimp, School of Agricultural Technology, Walailak University

* Corresponding author e-mail: dsatapor@wu.ac.th

Received: 2 March 2020, Revised: 25 May 2020, Accepted: 2 June 2020

คำสำคัญ: ลูกกุ้งขาว แพลงก์ตอนพืช ไดอะตอม

Abstract

This experiment aimed to compare study the effects of *Amphora coffeaeformis* supplementation on the growth performance, survival rate and growth-related genes expression of Pacific white shrimp postlarvae (*Litopenaeus vannamei*) at different levels. The experiment was designed in 6 treatments using 4 concentrations of *A. coffeaeformis* supplemented into diet as follows: 0%, 4.31%, 8.26%, 11.89%, 15.25% and live *A. coffeaeformis*. This diatom was prepared under laboratory conditions and harvested by nylon mesh filter to amass an amount of *A. coffeaeformis* for drying. The diatom powder was mixed according to the designed treatments. In this study, stage 15 postlarvae (PL15) with the lengths starting from 1.06 ± 0.10 cm. were cultured under specific conditions as follows: salinity 20 psu, temperature 30°C, daily water change (20%), feeding shrimps for 7 times/day and water quality analyzed every 3 days. After culturing postlarvae for 14 days, the results showed that the final lengths of white shrimp postlarvae fed by live and 4.31% supplementation of *A. coffeaeformis* were the longest sizes of 2.12 and 1.98 cm. comparing to the controlled groups with significantly different final lengths ($p < 0.05$). Also, the results of growth-related gene expression (Chitinase (CHIT), AMP-activated protein kinase (PRKAG) and protease (Cathepsin) were focused in this study) revealed that white shrimp postlarvae fed with live *A. coffeaeformis* supplemented diet were the highest growth-related gene expression group compared to the controlled groups with statistically significant difference ($p < 0.05$). This study indicated that live *A. coffeaeformis* supplementation affected the highest growth and gene expression of white shrimp postlarvae. It should be noted that no more than 4.31% of dry powder *A. coffeaeformis* supplementation should be added.

Keywords: postlarvae white shrimp, phytoplankton, diatom

Introduction

Microalgae are an essential food source for nurturing in the larval stages of marine animals such as bivalve mollusks, fish, penaeid shrimp, and zooplankton. Microalgae are also a rich source of vitamins, minerals, amino acids, essential fatty acids and pigments for aquaculture (Takeuchi *et al.*, 2002). Because of this, they can enhance the health, strength, and disease-resistance of aquatic animals as well as boost the rate of survival (Pimolrat, 2009). The microalgae species most often used for shrimp feed are

Chaetoceros sp., *Thalassiosira* sp., *Tetraselmis* sp., *Isochrysis* sp. and *Nannochloropsis* sp., which can be directly fed to aquatic animals, sometimes for zooplankton and then for food to aquatic animals (Eirik *et al.*, 1998). *Amphora coffeaeformis* is a type of diatomic microalgae that has high nutritional value. It is also easy to harvest. Gordon *et al.* (2006) reported that *Amphora luciae* had 32.65% protein, 6.43% lipid and 21.6 fatty acids (% in lipid). Therefore, *Amphora* sp. is an alternative source of nutrients for shrimp culture.

The application of *Amphora* sp. for aquaculture has been used as food for many species of aquatic animals. The *Amphora* sp. has been used to feed abalone and spotted babylons in 1.9×10^4 cells/cm² to help increase their growth and survival rate (Gordon *et al.*, 2006; Anthasoot, 2007). Phookung (2007) supplemented *Amphora* sp. (3.0×10^6 cell/ml) in the diet for sandworms. The results showed that the pigment (chlorophyll a and carotenoid) and fatty acid composition increased in comparison with control. Besides, *Amphora* sp. can be used for absorption of nitrogen, phosphorus and also improve the water quality (Kumar *et al.*, 2016; Sassi *et al.*, 2018). Khatoon *et al.* (2009) reported that black tiger shrimp postlarvae (*Penaeus monodon*) were fed with 3 species (*Amphora* sp., *Navicula* sp. and *Cymbella* sp.) diatom supplementation for 19 days and showed a high survival rate as well as growth without the need to exchange water.

Many reports have mentioned the application of *Amphora* sp. for aquacultures, both for nutritional sources and water quality treatment. Therefore, *Amphora* sp. supplementation in shrimp feed could be a feasible option for boosting shrimp quality. As such, this research will be applying *A. coffeaeformis* as supplementation in the diet to compare with different levels of growth and growth related-genes in *Litopenaeus vannamei* postlarvae.

Materials and Methods

1. Cultivation of *A. coffeaeformis*

A. coffeaeformis from the Research Center of Excellence in Shrimp Walailak University was cultivated in batch culture with sterile seawater at salinity of 20 psu, aerated and illuminated continuously with 5,000 lux of fluorescent light. The temperature in the laboratory room was kept at $25 \pm 2^\circ\text{C}$. The culture medium was WU medium consisting of $\text{CO}(\text{NH}_2)_2$, $\text{Na}_2\text{HPO}_4 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$, $\text{Na}_2\text{SiO}_3 \cdot 5\text{H}_2\text{O}$, NaHCO_3 and trace metals (Walailak University's phytoplankton medium). The cultures were transferred to the next batch at the exponential phase and harvested using a nylon mesh filter (30 μm) at the early stationary phase of growth. The wet-cell pellets were freeze-dried and stored at -80°C until analysis and diet formulation.

2. Experimental diet formulation and proximate composition analysis

Commercial flakes (Winner®) were used in the experiment. The diets were supplemented with different levels of *A. coffeaeformis* freeze dried at 0%, 4.31%, 8.26%, 11.89% and 15.25%. The level of supplementation was referred from Ju *et al.* (2009) The experimental diets were prepared using 400 ml of sterile water, blended with a mixer and dried using a hot plate at 100°C, mash and filter the diets with a 600-micron size for feeding white shrimp larvae 15-30 stages (Xie *et al.*, 2018). The experimental diets were dried at 105°C for moisture analysis and at 550°C for total ash following AOAC (2005). Crude protein was determined by using CN Analyser (LECO®, TruSpecCN, MI, USA) Total lipid content was analyzed according to Bligh and Dyer (1959).

3. Shrimp and feeding experiment

Postlarvae white shrimp (PL10 stage) from a commercial hatchery (in the southern region of Thailand) were transferred into a 200-liter plastic tank with 100 liters of aerated seawater at a salinity of 20 psu. Test white shrimp postlarvae were fed using the control diet for 5 days and then transferred into an 8-liter working volume at PL 15 stage (Initial length at 1.06 ± 0.10 cm). Each experiment tank was stocked with 100 white shrimp postlarvae cultivated to tank 10 liters (8 liters working volume) of aerated seawater at a salinity of 20 psu, 30 controlled temperature and water exchange every 3 days. The ammonia and nitrite were measured using a phenol hypochlorite method and NED method respectively (Jiwyam, 2001) calcium, hardness were measured using EDTA titrimetric method, magnesium by calculations based on the EDTA titrimetric method, alkalinity was measured using indicator method (Tuntoollavest, 2000) and pH with pH pen Smart Sensor (PH818, China). For control, a control diet with live *A. coffeaeformis* and 4 experimental diet treatments were randomly transferred into 5 replicate tanks. The postlarvae were fed 7 times daily at 07.00, 10.00, 13.00, 16.00, 19.00, 21.00 and 01.00 h to satiation (Xie *et al.*, 2018) and water was changed daily with 20% sediment removal (Lage *et al.*, 2017). After 14 days, white shrimp postlarvae were collected to assess final length, survival rate, SGR based on the length of shrimp (Karim, 2007), and tissue of shrimp (20-50 mg) in 500 microliters TriPure Isolation Reagent (Roche, USA) for gene expression analysis and then bring 20 shrimp (for 3 replicates, n = 60 shrimp/treatment) to the stress test with 100 ppm formalin for 1 hour (Samocha *et al.*, 1998; Wangsoontorn *et al.*, 2013).

$$\text{Specific growth rate (SGR, \%)} = (\ln L_f - \ln L_0) / t \times 100$$

where “ L_0 ” is the initial body length of shrimp, “ L_f ” is the final body length of shrimp and “ t ” is the day of experiment.

$$\text{Survival rate (\%)} = (N_f / N_0) \times 100$$

where “ N_0 ” is the initial number of shrimp and “ N_f ” is the final number of shrimp.

$$\text{Survival rate stress test (\%)} = (N_f / N_0) \times 100$$

where “ N_0 ” is the initial number of shrimp before the stress test and “ N_f ” is the final number of shrimp after the stress test.

4. Gene expression

Gene expression was studied using a real-time PCR technique with the Applied Biosystems 7300 real-time PCR system (Thermo Fisher Scientific, CA, USA). In 10 microliter reaction with white shrimp tissue cDNA as a prototype DNA line and using the forward and reverse primer designed to increase PCR production at 95°C for 15 minutes, 95°C for 30 seconds, 60°C for 30 seconds and 72°C for 30 seconds, 40 cycles and select dissociation curve to observe the melting curve and beta-actin genes as reference genes, prepared with standard DNA concentrations 1, 10^{-1} , 10^{-2} , 10^{-3} , and 10^{-4} times for comparison of gene expression. This study was interested in the growth-related gene for white shrimp postlarvae. CHIT gene is a gene that is involved in the production of chitin digestion enzymes (Spindler-Barth *et al.*, 1990), PRKAG AMP-activated protein kinase (AMPK) is a crucial cellular energy sensor (Hardie *et al.*, 2012), Cathepsin gene is enzymes that digestive proteins (McGrath, 1999).

5. Statistical analysis

Statistical significance was considered at $p < 0.05$ by one-way ANOVA following Duncan's Multiple Range Test.

Results

1. The nutritional composition of culture and the experimental diets

The dry weight of *A. coffeaeformis* contained 8.69% moisture, 17.71% crude protein, 23.11% crude lipid and 49.62% ash on average. The nutritional values of diets supplemented with *A. coffeaeformis* at different levels are shown in Table 1. Protein content decreased with the levels of *A. coffeaeformis* supplementation and vice versa for lipid and ash ($p < 0.05$)

Table 1 Protein, lipid and ash (dry weight basis) of diets in the experiment.

Treatment	Protein (%)	Lipid (%)	Ash (%)
Control	49.87±0.11 ^e	11.25±0.21 ^a	17.85±0.46 ^a
<i>A. coffeaeformis</i> 4.31%	48.10±0.10 ^d	11.75±0.26 ^b	19.02±0.44 ^b
<i>A. coffeaeformis</i> 8.26%	47.07±0.40 ^c	13.09±0.29 ^c	20.03±0.06 ^b
<i>A. coffeaeformis</i> 11.89%	46.23±0.22 ^b	14.06±0.27 ^d	21.60±0.55 ^c
<i>A. coffeaeformis</i> 15.25%	44.46±0.25 ^a	15.21±0.15 ^e	21.94±0.09 ^c

Note: Values are expressed as means ± SD (n=3) with different superscript (a-e) differ significantly ($p < 0.05$) between treatments

2. Growth performance and survival rate

Based on the final length and SGR length, white shrimp postlarvae fed with live algae exhibited superior performance, followed by 4.31% supplementation and control treatments, respectively ($p < 0.05$). High survival rate was found for white shrimp postlarvae fed with live algae and the treatments containing 4.31% and 8.26% ($p > 0.05$) relative to the remaining treatments. Formalin stress test values did not differ among all treatments (Table 2).

Table 2 Final length, specific growth rate, survival rate, and formalin stress test of white shrimp postlarvae larvae fed with *A. coffeaeformis* at different levels for 14 days

Treatment	Final length (cm)	SGR _{Length} (%/day)	Survival rate (%)	Formalin Stress test (%)
Control	1.92±0.02 ^c	1.83±0.02 ^c	90±1.00 ^b	100
<i>A. coffeaeformis</i> 4.31%	1.98±0.02 ^d	1.92±0.02 ^d	97±2.65 ^c	100
<i>A. coffeaeformis</i> 8.26%	1.82±0.03 ^b	1.67±0.05 ^b	99±1.73 ^c	100
<i>A. coffeaeformis</i> 11.89%	1.75±0.01 ^a	1.54±0.02 ^a	85±1.00 ^b	100
<i>A. coffeaeformis</i> 15.25%	1.74±0.02 ^a	1.52±0.03 ^a	79±3.21 ^a	100
Live <i>A. coffeaeformis</i>	2.12±0.02 ^e	2.14±0.02 ^e	97±0.00 ^c	100

Note: Values are expressed as means ± SD (n=3) with different superscript (a-d) differ significantly ($p < 0.05$) between treatments

3. Gene Expression

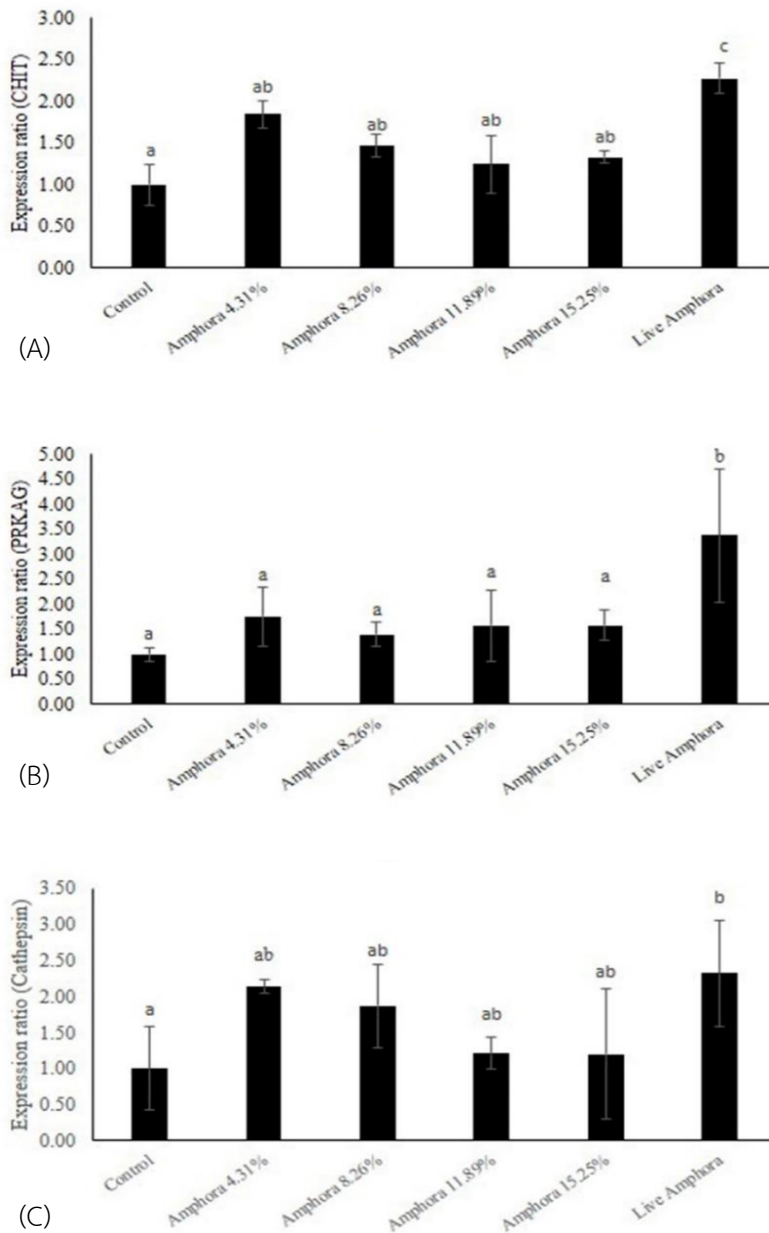


Figure 1 CHIT (A), PRKAG (B) and Cathepsin (C) gene expression from white shrimp postlarvae tissue fed with *A. coffeaeformis* at different levels for 14 days. The values are expressed as means $\pm$ SD (n=3) with different superscript (a-c) differ significantly ($p < 0.05$) between treatments.

Significant improvement in CHIT (Fig. 1A), PRKAG (Fig. 1B) and cathepsin (Fig. 1C) expressions were observed in the shrimp fed with live *A. coffeaeformis* supplemented diet. No differences in these three genes were found between the four levels of dried algal supplementation relative to the control treatment.

4. Water quality

The water parameters were assessed during 14 days of white shrimp postlarvae cultivation (every 3 days). The pH value was found to be insignificant for alkaline (7.76-8.11). The values for alkalinity, hardness, calcium, and magnesium were found to vary between 180-220 mg/L, 4134-4800 mg/L, 220-256 mg/L and 970-1134 mg/L, respectively. Ammonia and nitrite measures found that the experiment with live *A. coffeaeformis* had lower ammonia and nitrite values than all other treatments, though there was no statistically significant difference ($p < 0.05$).

Discussion

Cultivation of *A. coffeaeformis* with WU medium in the laboratory, providing 24-hour light and controlled at 24°C for 5 days was used for supplementary diet in the nursery of white shrimp postlarvae. When analyzing nutritional values, *A. coffeaeformis* had high lipid content at 23.11%, though protein content was 17.71%. This is different from a report by Gordon *et al.* (2006), which used cultured *A. luciae* with Guillard F/2 medium. There was high protein at 32.65%, while lipid content was at 6.43% because the nitrogen source in the culture is different. Although nitrite, nitrate, and urea are suitable sources of nitrogen for the growth of algae (Fabregas *et al.*, 1989; Yanqun *et al.*, 2008), using different nitrogen sources results in the growth and nutritional values of microalgae (Fidalgo *et al.*, 1995). This is consistent with the study of Pimolrat (2009), in which *Cheatoceros* sp. was cultured in a laboratory with different nitrogen sources. It was found that the culture content showed high lipid level with urea treatment. There are other factors that can cause the nutritional value of algae to be different. It was reported from Viçose *et al.* (2012), who compared the growth stages of 4 diatoms, that diatom in the exponential phase has higher protein and lipid values in the stationary phase and more carbohydrates accumulate. However, although the nitrogen source of the results in the nutritional value of algae may differ, there are other factors that can affect the nutritional value of algae, such as the type of algae, salinity, and culture time as well as cell harvest.

The results of white shrimp postlarvae supplemented with different *A. coffeaeformis* levels found that a higher level of *A. coffeaeformis* supplementation caused reduced protein values and increased lipid content. The growth of white shrimp postlarvae in

this study showed that white shrimp postlarvae fed with live *A. coffeaeformis* had the longest length. *A. coffeaeformis* at 4.31% showed higher growth than the control because *A. coffeaeformis* supplementation has a high protein value of 48.10 percent. According to Biedenbach *et al.* (1989), optimum protein for growth and survival of white shrimp should be greater than 44 percent. Also, Abdurahman *et al.* (2017) supplemented *Tetraselmis chuii* in diets for white shrimp postlarvae, which showed that *T. chuii* supplementation at 50% had the best survival and growth rate, with protein nutrition at 57.30 percent. However, this study demonstrated that white shrimp postlarvae need high protein content for use in fast growth.

The lipid in this study showed that *A. coffeaeformis* 4.31% had 11.75 percent lipid, which was inconsistent with the report by Perez and Lawrence (2004), who suggested that the lipid for shrimp postlarvae should not exceed 10 percent. However, there are reports that shrimp postlarvae can grow to 30 percent (Banerjee *et al.*, 2010). *A. coffeaeformis* supplementation increased lipid and high ash value as well. New (1990) reported that the ash content in diets is suitable for shrimp in the range of 12-18 percent. However, it was found in this study that supplementation with *A. coffeaeformis* is greater than the ash range suitable for white shrimp postlarvae growth. *A. coffeaeformis* at 4.31% enables high growth, but the ash value is slightly higher than the suitable range. In this study, *A. coffeaeformis* supplementation can be performed in diets for white shrimp postlarvae, both live and powder (should not exceed 4.31%). Supplements of this microalgae in live form can be stored by filtering methods. Sedimentation cells can be stored at 4°C for up to 2 weeks. The cells are still alive and can be cultured further (Pankaew *et al.*, 2011).

The formalin stress test was carried out by immersing in water containing a concentration of formalin, 100 ppm for 1 hour (Samocha *et al.*, 1998; Wangsoontorn *et al.*, 2013). It was found that all 6 treatments had 100% survival rate and there was no significant difference ($p < 0.05$). The acute stress test for white shrimp postlarvae was able to differentiate between healthy shrimp and weak shrimp larvae (Nietes, 1990). Such a test is an assessment of the quality of shrimp postlarvae that are commonly used on farms (Samocha *et al.*, 1993). It is also an easy, convenient and fast method for farmers to check the quality of shrimp postlarvae (Castille *et al.*, 1993). Samocha *et al.* (1998) conducted a comparative study between shrimp postlarvae PL2 and PL7 against a formalin stress test. It was found that the older shrimp postlarvae had better survival rates. However, the reports of Anh *et al.* (2018) and Immanuel *et al.* (2007) revealed that stress tests for tiger shrimp postlarvae were used to study tiger shrimp PL40 and showed that even though the shrimp postlarvae

will get older, the stress test using formalin still gave the shrimp mortality rate. The results of formalin stress testing showed no shrimp deaths. Shrimp death is dependent on the environmental conditions as well as the strength of the shrimp.

Gene expression is consistent with the growth for the final length of white shrimp postlarvae. The highest gene expression was found in white shrimp postlarvae that consumed live *A. coffeaeformis*. Although all treatments showed gene expression greater than control, supplementation with dry *A. coffeaeformis* at than 4.31% caused a decrease in the expression of growth related-gene. All of the Chitinase genes (CHIT), PRKAG AMP-activated protein kinase (AMPK) and Cathepsin gene related to the growth of white shrimp postlarvae. Spindler-Barth *et al.* (1990) and Kono *et al.* (1995) reported that CHIT genes were involved in the production of chitin digesting enzymes in crustaceans, whereas AMPK was an important controller in the metabolism of energy that has been stored in the cell and involved the salinity fluctuations (Dan *et al.*, 2016). Besides, the Cathepsin gene was also important for shrimp growth. Stephens *et al.* (2012) studied the expression of the Cathepsin B gene from white shrimp with different tissues. The results showed that the amount of food directly affected gene expression and growth. The nutritional value in the treatment showed high nutrition and less shrimp consumption than other treatments, affecting low growth as well as gene expression.

Water quality showed that all treatments had ammonia and nitrite levels in the non-toxic range for water, the salinity of 20 psu. Supplementation of live *A. coffeaeformis* for white shrimp postlarvae can help the shrimp to survive and grow. It also has a better effect on water quality than treatment without adding live *A. coffeaeformis*. While the ammonia and nitrite values for all treatments were not statistically different, the addition of live *A. coffeaeformis* resulted in lower ammonia and nitrite values than other treatments. This is consistent with the reports of Banerjee *et al.* (2010) and Ge *et al.* (2016), who showed that shrimp culture along with supplementing live microalgae without changing water effectively helped to maintain water quality. A report from Ichsan *et al.* (2014) found that microalgae could be used to treat wastewater from agricultural wastewater sources efficiently as well as provide bio-energy. Limheng *et al.* (2005) reported that nitrite content derived from amounts of organic substances accumulated in shrimp ponds, likely due to the large amounts of food leftovers and waste generated in the pond. In this study, the water was exchanged every day, and sucking the sediment helped the nitrite to prevent reaching a level that was toxic to the shrimp postlarvae. In addition, a report from Khatoon *et al.* (2009) studied the feeding of black tiger shrimp postlarvae using 3 diatom species (*Amphora*, *Navicula* and *Cymbella*) without changing

the water for 19 days. They found that, aside from helping to maintain water quality, this diatom group has a high amount of eicosapentaenoic acid (EPA), docosahexaenoic acid (DHA), and amino acids that can increase growth and survival rate.

Conclusion

This study indicated that *A. coffeaeformis* powder supplementation with commercial flake caused reduced protein and increased lipid content. White shrimp postlarvae showed the highest growth rate and growth-related genes expression with live *A. coffeaeformis*. If supplemented with *A. coffeaeformis*, dry powder should be added at no more 4.31%. The water in live *A. coffeaeformis* treatment had lower ammonia and nitrite levels than other treatments

Acknowledgements

This work was supported by Walailak University Fund and partially supported by Research Center of Excellence for Shrimp, School of Agricultural Technology, Walailak University

References

- Abdurahman, N., Khatoon, H., Yusuf, N., Banerjee, S., Haris, N.A., Lananan, F. and Tomoyo, K. (2017). *Tetraselmis chuii* biomass as a potential feed additive to improve survival and oxidative stress status of Pacific white-leg shrimp *Litopenaeus vannamei* postlarvae. *International Aquatic Research*, 9(3), 235-247.
- Anh, N.T., Hai, T.N. and Hien, T.T. (2018). Effects of partial replacement of fishmeal protein with green seaweed (*Cladophora* spp.) protein in practical diets for the black tiger shrimp (*Penaeus monodon*) postlarvae. *Journal of Applied Phycology*, 30(4), 2649-2658.
- Anthasoot, Y.D. (2007). *Babylonia snail (Babylonia areolata) larviculture using closed recirculating system with semi-continuous algal production* (Master Thesis). Chulalongkorn University, Bangkok, Thailand.
- Association of Official Analytical Chemists (AOAC). (2005). Official method of analysis of analysis of Association of Official Analytical Chemists. MD: Gaithersburg.
- Banerjee, S., Khatoon, H., Sharif, M. and Yusuf, F.M. (2010). Enhancement of *Penaeus monodon* shrimp postlarvae growth and survival without water exchange using marine *Bacillus pumilus* and periphytic microalgae. *Fisheries Science*, 76(3), 481-487.

- Biedenbach, J.M., Smith, L.L., Thomsen, T.K. and Lawrence, A.L. (1989). Use of the nematode *Panagrellus redivivus* as an artemia replacement in a larval penaeid diet. *Journal of World Aquaculture Society*, 20(2), 61-71.
- Bligh, E.G. and Dyer, W.J. (1959). A rapid method of total lipid extraction and purification. *Canadian Journal of Biochemistry and Physiology*, 37(8), 911-917.
- Castille, F.L., Samocha, T.M., Lawrence, A.L., He, H., Frelie, P. and Jaenike, F. (1993). Variability in growth and survival of early postlarval shrimp (*Penaeus vannamei* Boone 1931). *Aquaculture*, 113(1-2), 65-81.
- Dan, C., Xiantao, G., Fang, W. and Shuanglin, D. (2016). Effects of periodical salinity fluctuation on the growth, molting, energy homeostasis and molting-related gene expression of *Litopenaeus vannamei*. *Oceanic and Coastal Sea Research*, 15(5), 911-917.
- Eirik, D., Augustin, M. and Vernon, S. (1998). Cultured microalgae as aquaculture feeds. *Journal of Marine Biotech*, 6(2), 65-70.
- Fabregas, J., Abalde, J., Cabezas, B. and Herrero, C. (1989). Changes in protein, carbohydrates and gross energy in the marine microalga *Dunaliella tertiolecta* (Butcher) by nitrogen concentrations as nitrate, nitrite and urea. *Aquacultural Engineering*, 8(4), 223-239.
- Fidalgo, J.P., Cid, A., Abalde, J. and Herrero, C. (1995). Culture of the marine diatom *Phaeodactylum tricornutum* with different nitrogen sources: growth, nutrient conversion and biochemical composition. *Cahiers de Biologie Marine*, 36(3), 165-173.
- Ge, H., Li, J., Chang, Z., Chen, P., Shen, M. and Zhao, F. (2016). Effect of microalgae with semicontinuous harvesting on water quality and zootechnical performance of white shrimp reared in the zero water exchange system. *Aquacultural Engineering*, 72(1), 70-76.
- Gordon, N., Neori, A., Shpigel, M., Lee, J. and Harpaz, S. (2006). Effect of diatom diets on growth and survival of the abalone *Haliotis discus hannai* postlarvae. *Aquaculture*, 252(2), 225-233.
- Hardie, D.G., Ross, F.A. and Hawley, S.A. (2012). AMPK: a nutrient and energy sensor that maintains energy homeostasis. *Nature Reviews Molecular Cell Biology*, 13(4), 251-262.
- Ichsan, I., Hadiyanto, H. and Hendroko, R. (2014). Integrated biogas-microalgae from waste waters as the potential biorefinery sources in Indonesia. *Energy Procedia*, 47(1), 143-148.

- Immanuel, G., Citarasu, T., Sivaram, V., Babu, M.M. and Palavesam, A., (2007). Delivery of HUFA, probionts and biomedicine through bioencapsulated *Artemia* as a means to enhance the growth and survival and reduce the pathogenesis in shrimp *Penaeus monodon* postlarvae. *Aquaculture International*, 15(2), 137-152
- Jiwyam, W. (2001). *Introduction to water quality and water quality analysis in aquaculture ponds*. Bangkok: Chulalongkorn University Press.
- Ju, Z.Y., Forster, I.P. and Dominy, W.G. (2009). Effects of supplementing two species of marine algae or their fractions to a formulated diet on growth, survival and composition of shrimp (*Litopenaeus vannamei*). *Aquaculture*, 292(3-4), 237-243.
- Karim, M.Y. (2007). The effect of osmotic various medium salinity of vitality of female mud crab (*Scylla olivacea*). *Journal Protein*, 14(1). 65-72.
- Khatoon, H., Banerjee, S., Yusoff, F.M. and Shariff, M. (2009). Evaluation of indigenous marine periphytic *Amphora*, *Navicula* and *Cymbella* grown on substrate as feed supplement in *Penaeus monodon* postlarval hatchery system. *Aquaculture Nutrition*, 15(2), 186-193.
- Kono, M., Wilder, M.N., Matsui, T., Furukawa, k., Koga, D. and Aida, K. (1995). Chitinolytic enzyme activities in the hepatopancreas, tail fan and hemolymph of kuruma prawn *Penaeus japonicus* during the molt cycle. *Fisheries Science*, 61(4), 727-728.
- Kumar, S.D., Santhanam, P., Nandakumar, R., Ananth, S., Nithya, P., Dhanalakshmi, B. and Mi-Kyung K. (2016). Bioremediation of shrimp (*Litopenaeus vannamei*) cultured effluent using copepod (*Oithona rigida*) and microalgae (*Picochlorum maculatam* and *Amphora* sp.) An integrated approach. *Desalination and Water Treatment*, 57(54), 26257-26266.
- Lage, L.P., Juan, E.P., Putrino, S.M., Baron, F., Weissman, D., Guyonvarch, A. and Panserat, S. (2017). Ontogenesis of metabolic gene expression in whiteleg shrimp (*Litopenaeus vannamei*): New molecular tools for programming in the future. *Aquaculture*, 479(1), 142-149.
- Limhang, K.T., Limsuwan, C.L. and Chuchird, N.T. (2005). Comparison of growth rate and production between rearing black tiger shrimp (*Penaeus monodon*) and Pacific white shrimp (*Litopenaeus vannamei*) in low salinity water. In *Kasetsart University Annual Conference. Vol. 43: Fisheries, Natural Resources and Environmental Economics* (pp. 420-427) Bangkok, Thailand: Kasetsart University Press.
- McGrath, M.E. (1999). The lysosomal cysteine proteases. *Annual Review of Biophysics and Biomolecular Structure*, 28(1), 181-204.
- New, M.B. (1990). Compound feedstuffs for shrimp culture. In *Aquatech Shrimp Farming Conference. Volume 90*, (pp. 79-119) Kuala Lumpur Malaysia: CFRI Press

- Nietes, A.D. (1990). *The effect of feed types/forms on the growth and quality of Penaeus monodon postlarvae* (Master thesis). Asian Institute of Technology, Bangkok, Thailand.
- Pankaew, A.C., Powtongsook, S.W., Klaypradit, W.M. and Salaenoi, J.N. (2011). Study on storage duration of *Thalassiosira* sp. for shrimp larviculture. *Journal of Khon Kaen Agriculture (Thailand)*, 39(4), 369-378.
- Perez, V.M. and Lawrence, A.L. (2004). Advances in triglyceride, fatty acid nutrition in penaeid shrimp. *Global Aquaculture Advocate*, 76-77.
- Phookung, E.R. (2007). *Heterotrophic production of the diatom Amphora delicatissima as food supplement for Polychaete Perinereis nuntia* (Master Thesis). Chulalongkorn University, Bangkok, Thailand.
- Pimolrat, P.M. (2009). *Production of high cell density Chaetoceros gracilis in laboratory for nursing marine shrimp larvae* (Master Thesis). Walailak University, Nakhon Si Thammarat, Thailand.
- Samocha, T.M., Lawrence, A.L. and Bray, W.A., (1993). Design and operation of an intensive nursery raceway system for penaeid shrimp. In McVey, J.P. (Ed, *Crustacean Aquaculture*. pp 173-195. Boca Raton, Florida: CRC Press.
- Samocha, T.M., Guajardo, H., Lawrence, A.L., Castille, F.L., Speed, M., McKee, D.A. and Pagee, K.I. (1998). A simple stress test for *Penaeus vannamei* postlarvae. *Aquaculture*, 165(3-4), 233-242.
- Sassi, G.P., Calixto, C.D., Tibúrcio, V.P., Nonato, N.S., Abrahão, R., Hégaret, H. and Sassi, R. (2018). Effectiveness of nutrient removal and cell physiology of *Amphora* sp. cultured in shrimp farm effluents. *Environmental Science and Pollution Research*, 25(18), 17920-17926.
- Spindler-Barth, M., Van Wormhoudt, A. and Spindler, D. (1990). Chitinolytic enzymes in the integument and midgut-gland of the shrimp *Palaemon serratus* during the moulting cycle. *Marine Biology*, 106(1), 49-52.
- Stephens, A., Rojo, L., Araujo-Bernal, S., Garcia-Carreno, F. and Muhlia-Almazan, A. (2012). Cathepsin B from the white shrimp *Litopenaeus vannamei*: cDNA sequence analysis, tissues-specific expression and biological activity. *Comparative Biochemistry and Physiology Part B: Biochemistry and Molecular Biology*, 16(1), 32-34.
- Takeuchi, T., Lu, J., Yoshizaki, G. and Satoh, S. (2002). Effect on the growth and body composition of juvenile tilapia *Oreochromis niloticus* fed raw *Spirulina*. *Fisheries Science*, 68(1), 34-40.

- Tuntoollavest, M.S. (2000). Hanbook of water quality. Bangkok: Third Printing.
- Viçose, G.C., Porta, A., Viera, M.P., Palacios, H.F. and Izquiedo, M.S., (2012). Effects of density on growth rates of four benthic diatoms and variations in biochemical composition associated with growth phase. *Journal of Applied Phycology*, 24(1), 1427-1437.
- Wangsoontorn, S.R., Limsuwanand, C.L. and Chuchird, N.T. (2013). Effect of density and transportation times on survival rate of *Litopenaeus vannamei* postlarvae. In *Kasetsart University Annual Conference. Vol. 51: Veterinary Medicine, Fisheries* (pp. 198-206). Bangkok, Thailand: Kasetsart University Press.
- Xie, S., Fang, W., Wei, D., Liu, Y., Yin, P., Niu, J. and Tian, L. (2018) Dietary supplementation of *Haematococcus pluvialis* improved the immune capacity and low salinity tolerance ability of post-larval white shrimp, *Litopenaeus vannamei*. *Fish and Shellfish Immunology*, 80(1), 452-457.
- Yanqun, L., Bei, I.H., Wu, W. and Lan, C.Q. (2008). Effects of nitrogen sources on cell growth and lipid accumulation of green alga *Neochloris oleoabundans*. *Applied Microbiology and Biotechnology*, 81(4), 629-636.

การศึกษาองค์ประกอบทางเคมีและจุลชีววิทยาของกึ่งส้มปากพนัง
จังหวัดนครศรีธรรมราช ที่ใช้ *Lactobacillus pentosus* L35
เป็นกล้าเชื้อในการหมัก

Study of Chemical and Microbiological Composition of Kung-Som
from Pak Phanang, Nakhon Si Thammarat Using *Lactobacillus*
pentosus L35 as a Fermentation Starter

มณฑกานต์ ทองสม^{1,2*}

Montakarn Thongsom^{1,2*}

บทคัดย่อ

กึ่งส้มจากปากพนังเป็นอาหารพื้นเมืองที่ได้รับความนิยมในการบริโภคและยังมีประโยชน์ต่อสุขภาพ งานวิจัยนี้มีวัตถุประสงค์เพื่อศึกษาองค์ประกอบทางเคมีและจุลชีววิทยาของกึ่งส้มสูตรดั้งเดิมและสูตรที่มีการใช้ *Lactobacillus pentosus* L35 เป็นในกล้าเชื้อในการหมัก จากศึกษาพบว่า *L. pentosus* L35 เป็นแบคทีเรียแลคติกที่มีการเจริญเติบโตคงที่ประมาณชั่วโมงที่ 24 ผลการศึกษาองค์ประกอบทางเคมีของกึ่งส้มสูตรดั้งเดิมและสูตรที่มีการใช้ *L. pentosus* L35 เป็นกล้าเชื้อมีปริมาณโปรตีน เถ้า ไขมัน เกลือ กรด-ต่าง และกรดทั้งหมดแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญ ($p > 0.05$) ขณะที่ปริมาณความชื้นไม่แตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญ ($p < 0.05$) การติดตามจำนวนจุลินทรีย์ในระหว่างหมักพบว่าจำนวนจุลินทรีย์ทั้งหมดเพิ่มสูงขึ้นในวันที่ 5 ของการหมัก และลดลงในวันสุดท้ายของการหมัก (10 วัน) จำนวนยีสต์และราทั้งหมดมีการเพิ่มขึ้นเล็กน้อย ในขณะที่จำนวนแบคทีเรียแลคติกเพิ่มขึ้นอย่างต่อเนื่องจนถึงวันที่ 10 ผลการศึกษาคูณภาพทางจุลชีววิทยาของกึ่งส้มพบว่าจำนวนแบคทีเรียก่อโรค (*Salmonella* sp. *Staphylococcus aureus* *Bacillus cereus* *Clostridium perfringens* และ *Escherichia coli*) ไม่เกินเกณฑ์มาตรฐานผลิตภัณฑ์ชุมชนกึ่งส้ม

คำสำคัญ: กึ่งส้ม แบคทีเรียแลคติก การหมัก

¹ สาขาวิชาชีววิทยา คณะวิทยาศาสตร์เทคโนโลยี มหาวิทยาลัยราชภัฏนครศรีธรรมราช

² หน่วยวิจัยและบริหารงานนวัตกรรมอาหารเพื่อชุมชน

* Corresponding author e-mail: montakarn2008@hotmail.com

Received: 31 January 2020, Revised: 1 June 2020, Accepted: 2 June 2020

Abstract

Kung-Som from Pak Phanang is a local food that is popular for consumption and for its health benefits. The objective of this research was to study the chemical and microbiological compositions of the formula of traditional Kung-som and the formula of Kung-som produced by using *Lactobacillus pentosus* L35 as a fermentation starter. The results showed that *L. pentosus* L35, or lactic acid bacteria, had a stable growth for about 24 hours. The chemical compositions of traditional Kung-Som and Kung-Som produced by *L. pentosus* L35 as a starter were found significant differences ($p > 0.05$) in protein, ash, fat, salt, pH and total acid whereas the moisture was not. Microbial counts during fermentation were found that the total viable count increased at day 5 and decreased at the end of fermentation time (10 days). Total yeast and fungi slightly increased while lactic acid bacteria continually increased until day 10. The microbiological quality of results of Kung-Som showed that the numbers of pathogenic bacteria (*Salmonella* sp., *Staphylococcus aureus*, *Bacillus cereus*, *Clostridium perfringens* and *Escherichia coli*) did not exceed the Thai community product standard criteria for Kung-Som.

Keywords: Kung-Som, lactic acid bacteria, fermentation

บทนำ

กุ่มส้ม หมายถึง ผลิตภัณฑ์ที่ได้จากการนำกุ่มน้ำจืด หรือกุ่มน้ำเค็ม ขนาดเล็กถึงขนาดปานกลาง มาล้างให้ สะอาดโดยอาจใช้ทั้งตัวหรือตัดหัวออก หมักกับเกลือ อาจเติมส่วนผสมอื่น เช่น ข้าวเจ้าสุก ข้าวเหนียวหนึ่ง กระเทียมบด น้ำตาล น้ำแบ่งสุก จนมีรสเปรี้ยว (สำนักงานมาตรฐานผลิตภัณฑ์อุตสาหกรรม, 2548)

กุ่มส้มเป็นอาหารหมักพื้นเมืองของภาคใต้นิยมบริโภคในแถบที่มีพื้นที่ติดกับทะเล ได้แก่ จังหวัดนครศรีธรรมราช พัทลุง ตรัง สงขลา และสตูล กุ่มส้มเป็นการแปรรูปและยืดอายุการเก็บรักษา กุ่มทะเลขนาดเล็กโดยการหมักตามธรรมชาติ อาศัยเชื้อจุลินทรีย์ประจำถิ่นจากวัตถุดิบ เครื่องมือ และอุปกรณ์ที่เคยใช้ในการหมัก การผลิตกุ่มส้มในแต่ละพื้นที่จะมีส่วนผสมที่แตกต่างกัน เช่น ใช้น้ำตาลโตนดหรือน้ำตาลจากแทน้ำตาลทราย หรือใช้กะปิแทนเกลือ ใช้น้ำข้าวข้าว น้ำแบ่งสุก หรือใส่ข้าวคั่วร่วมด้วย เป็นต้น โดยจะหมักในสภาวะที่ปิดสนิท และใช้ระยะเวลาในการหมักแตกต่างกัน ตั้งแต่หนึ่งสัปดาห์ถึงหนึ่งเดือน ขึ้นอยู่กับขนาดหรือสายพันธุ์ของกุ่มและอัตราส่วนของเครื่องปรุงรส โดยเฉพาะน้ำตาล หากกุ่มมีขนาดใหญ่จะใช้ระยะเวลาในการหมักนานขึ้น กุ่มส้มที่หมักสมบูรณ์จนสามารถรับประทานแบบดิบ ๆ ได้ตัวกุ่มจะมีสีส้มสวยงาม น้ำจะสีส้มค่อนข้างใส ไม่มีตะกอน มีกลิ่นหอม ของกรดและมีรสชาติเปรี้ยว มีค่า pH น้อยกว่า 4.6 (นันธิดา, 2560) สำหรับในจังหวัดนครศรีธรรมราช กุ่มส้มเป็นอาหารหมักที่ได้รับความนิยมมักพบมีการจำหน่ายในตลาดต่าง ๆ ซึ่งการผลิตกุ่มส้มมักพบใน

พื้นที่ติดทะเล เช่น อำเภอบางแพ จังหวัดราชบุรี และหัวไทร ซึ่งงานวิจัยในครั้งนี้ทำการศึกษาในพื้นที่ปากแพจะใช้กุ้งแช่แข็งซึ่งเป็นกุ้งน้ำจืด น้ำผึ้งจาก เกลือ หมักเป็นระยะเวลา 7-10 วัน หลังจากนั้นจึงเติมน้ำแบ่งข้าวเจ้า เป็นการสิ้นสุดการกระบวนการผลิตกุ้งส้ม

อาหารหมักต้องเป็นการถนอมอาหารที่อาศัยกิจกรรมของจุลินทรีย์ ซึ่งจุลินทรีย์ที่มีบทบาทสำคัญคือแบคทีเรียแลคติก (lactic acid bacteria) เป็นจุลินทรีย์ที่มีความสำคัญและได้รับการยอมรับว่าเป็นแบคทีเรียที่มีความปลอดภัย (generally recognized as safe bacteria; GRAS status) นิยมใช้ในการหมักและถนอมอาหาร ทำให้อาหารมีความเป็นกรด-ด่างลดต่ำลงในระหว่างการหมัก นอกจากนี้ยังสามารถสร้างสารแคเทอรีโอซินซึ่งมีคุณสมบัติในการยับยั้งแบคทีเรียก่อโรค และป้องกันการเน่าเสียของอาหารได้อีกด้วย การหมักสามารถเกิดขึ้นได้โดยแบคทีเรียแลคติกที่มีอยู่ในวัตถุดิบ หรืออาจเติมแบคทีเรียแลคติกในรูปเชื้อตั้งต้น (starter culture) ลงในอาหารภายใต้สภาวะควบคุม นอกจากนี้แบคทีเรียแลคติกยังมีคุณสมบัติเป็นโพรไบโอติก (Mishra and Prasad, 2005) ซึ่งเป็นจุลินทรีย์ที่ให้ประโยชน์ต่อร่างกายของมนุษย์หรือสัตว์ที่มีจุลินทรีย์กลุ่มนี้อาศัยอยู่ โดยจะไปช่วยปรับสมดุลของจุลินทรีย์ในลำไส้ ปรับสมดุลการตอบสนองต่อภูมิคุ้มกัน ป้องกันหรือลดระดับการเกิดสารก่อมะเร็ง ลดภาวะภูมิแพ้และการอักเสบรุนแรง ลดคอเลสเตอรอลในเลือด เป็นต้น โดยคุณลักษณะที่สำคัญของโพรไบโอติกคือ สามารถนำมาเสริมในผลิตภัณฑ์อาหารได้อย่างปลอดภัย และเกิดประโยชน์ต่อสุขภาพ ซึ่งปัจจุบันผลิตภัณฑ์อาหารเพื่อสุขภาพที่มีส่วนผสมของโพรไบโอติกได้รับความนิยมอย่างกว้างขวาง

จากประโยชน์ของแบคทีเรียแลคติกทำให้ผู้วิจัยมีความสนใจในการนำ *L. pentosus* L35 ที่คัดแยกได้จากกุ้งส้ม และได้ทดสอบคุณสมบัติการเป็นโพรไบโอติก ความสามารถในการลดระดับคอเลสเตอรอล (*in vitro*) (มณฑกานต์, 2560) มาใช้เป็นกล่าเชื้อในการผลิตกุ้งส้ม เป็นการช่วยเพิ่มมูลค่าให้กับสินค้าในท้องถิ่น เพิ่มขีดความสามารถในการแข่งขัน และสามารถนำกล่าเชื้อไปประยุกต์ใช้ได้ในกลุ่มอาหารหมักชนิดอื่น ๆ ได้อีกด้วย ดังนั้นการศึกษานี้จึงมีวัตถุประสงค์เพื่อศึกษาองค์ประกอบทางเคมี และจุลชีววิทยาของกุ้งส้มที่ใช้ *L. pentosus* L35 เป็นกล่าเชื้อในการผลิต

วิธีดำเนินการวิจัย

1. การศึกษาการเจริญเติบโตของ *L. pentosus* L35

L. pentosus L35 ที่ใช้ในการศึกษานี้คัดแยกได้จากกุ้งส้ม ผ่านตรวจสอบชนิดของแบคทีเรียแลคติกโดยวิธีการซีวโมเลกุล โดยวิธี 16s rDNA การศึกษาการเจริญของ *L. pentosus* L35 (มณฑกานต์, 2560) โดยการเตรียมเชื้อเริ่มต้น *L. pentosus* L35 ในอาหารเหลว de man, rogosa and sharpe (MRS) ที่เติมโซเดียมคลอไรด์ 1.5 เปอร์เซ็นต์ บ่มที่อุณหภูมิ 35 องศาเซลเซียส 24 ชั่วโมง หลังจากนั้นนำมาวัดความขุ่นด้วยเครื่อง spectrophotometer ที่ความยาวคลื่นแสง 660 นาโนเมตร ทำให้เจือจางให้ค่า optical density (O.D.) เท่ากับ 0.5 เพื่อใช้เป็น inoculums แล้วจึงถ่ายเชื้อร้อยละ 1 ลงในอาหารเหลว MRS ปริมาตร 100 มิลลิลิตร ที่เติมโซเดียมคลอไรด์ 1.5 เปอร์เซ็นต์ บ่มที่อุณหภูมิ 35 องศาเซลเซียส สุ่มเก็บตัวอย่างทุก 3 ชั่วโมงเป็นเวลา 48 ชั่วโมง เพื่อบันทึกจำนวนแบคทีเรียแลคติก $\log_{10}$ CFU/มิลลิลิตร โดยวิธีการ pour plate บนอาหาร MRS

2. การผลิตกึ่งส้ม

2.1 การผลิตกึ่งส้มแบบดั้งเดิม

นำกุ้งและที่มีขนาดเล็กถึงปานกลางจากตลาดน้ำร้อยปี อำเภอปากพนัง จังหวัด นครศรีธรรมราช โดยใช้อัตราส่วนของกุ้ง 1 กิโลกรัม เปลือก 75 กรัม และน้ำตาลจาก 300 กรัม ผสม ให้เข้ากันนำไปหมักในไห (ให้มีขนาดเส้นรอบวง 65 เซนติเมตร) ปิดด้วยผ้าขาวบาง ทำการพลิกกุ้งให้ เข้ากับส่วนผสมทุกวันเป็นเวลา 7 วัน จากนั้นเติมน้ำข้าวต้มสุก (ข้าวสาร 50 กรัม ต่อน้ำ 5 ลิตร) ลงไปในไห 750 มิลลิลิตร ผสมให้เข้ากันจนจมตัวกุ้ง หมักต่อจนครบ 10 วัน

2.2 การผลิตกึ่งส้มที่มีการเติมหัวเชื้อ *L. pentosus* L35

การเตรียม *L. pentosus* L35 เป็นหัวเชื้อในการผลิตกึ่งส้ม (ดัดแปลงจาก ชูตินุช และไวภูณัฐ, 2556) โดยการเพาะเลี้ยงเชื้อในอาหารเหลว MRS ปริมาตร 100 มิลลิลิตร ที่เติมโซเดียม-คลอไรด์ 1.5 เปอร์เซ็นต์ บ่มที่อุณหภูมิ 35 องศาเซลเซียส 24 ชั่วโมง จากนั้นนำไปปั่นเหวี่ยงที่ความเร็ว 10,000 รอบต่อนาที ที่อุณหภูมิ 4 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 10 นาที ล้างเซลล์ด้วยสารละลายโซเดียม-คลอไรด์ 0.85 เปอร์เซ็นต์ จำนวน 2 ครั้ง นำเซลล์ที่ปั่นเหวี่ยงได้มาทำการเจือจางด้วยสารละลาย โซเดียมคลอไรด์ 0.85 เปอร์เซ็นต์ ให้มีจำนวนเซลล์เริ่มต้นประมาณ 10^8 CFU/มิลลิลิตร นำเซลล์ *L. pentosus* L35 ไปผสมกับกุ้งที่เตรียมโดยใช้กระบวนการเดียวกับข้อ 2.1 ในอัตราส่วนร้อยละ 10 เก็บตัวอย่างกึ่งส้มเพื่อตรวจวิเคราะห์ตามเวลาที่กำหนด

3. การศึกษาองค์ประกอบทางเคมีของกึ่งส้ม

เก็บตัวอย่างกึ่งส้ม ในวันที่เริ่มต้นและวันที่ 10 เพื่อตรวจวิเคราะห์คุณภาพทางเคมี ได้แก่ การหาปริมาณความชื้น เถ้า โปรตีน ไขมัน ปริมาณเกลือ ความเป็นกรด-ด่าง และปริมาณกรด ทั้งหมด โดยวิธีการของ AOAC (2016)

4. การตรวจสอบคุณภาพทางจุลชีววิทยาของกึ่งส้ม

เก็บตัวอย่างกึ่งส้ม ในวันที่เริ่มต้นและวันที่ 10 เพื่อติดตามการเปลี่ยนแปลงจำนวน จุลินทรีย์ และวิเคราะห์คุณภาพทางด้านจุลชีววิทยา ได้แก่ ตรวจนับจำนวนจุลินทรีย์ทั้งหมด ยีสต์รา ทั้งหมด แบคทีเรียแลกติก โดยวิธีการ spread plate บนอาหาร PCA PDA และ MRS ตามลำดับ และตรวจนับจำนวนแบคทีเรียก่อโรค *Salmonella* sp. *S. aureus* *B. cereus* *C. perfringens* และ *E. coli* ตามมาตรฐานผลิตภัณฑ์ชุมชนหมายเลข 1032/2548 โดยใช้วิธีมาตรฐานสำหรับวิเคราะห์ อาหาร กรมวิทยาศาสตร์การแพทย์ (2558)

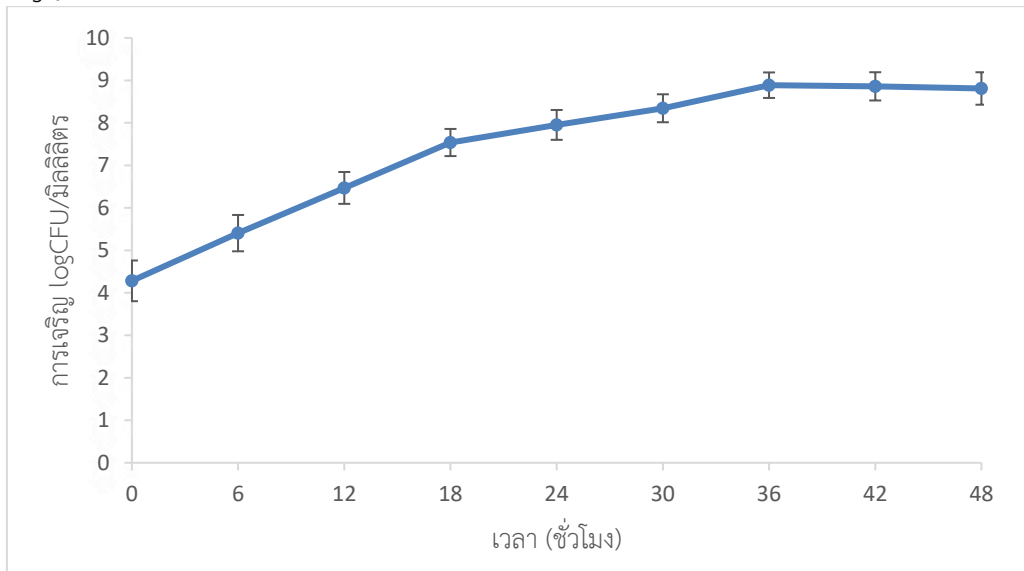
5. การวิเคราะห์ผลทางสถิติ

ในการทดลองจะทำการหาค่าต่าง ๆ จำนวน 3 ซ้ำ นำผลที่ได้มาหาค่าเฉลี่ย วิเคราะห์ ส่วนเบี่ยงเบนมาตรฐาน (Mean $\pm$ S.D.) และนำข้อมูลที่ได้อมาวิเคราะห์ความแปรปรวน (analysis of variance, ANOVA) เปรียบเทียบความแตกต่างของค่าเฉลี่ยด้วยวิธี Duncan's new multiple range test (DMRT) ที่ระดับความเชื่อมั่น 95 เปอร์เซ็นต์ โดยใช้โปรแกรม SPSS version 16

ผลการทดลอง

1. การเจริญเติบโตของ *L. pentosus* L35

จากผลการทดลองพบว่า *L. pentosus* L35 ที่เวลาเริ่มต้นมีค่า $\log_{10}\text{CFU/มิลลิลิตร}$ เท่ากับ 4.28 และมีการเจริญเติบโตเพิ่มขึ้น พบมีการเจริญเติบโตสูงสุดที่เวลา 36 ชั่วโมง มีค่า $\log_{10}\text{CFU/มิลลิลิตร}$ เท่ากับ 8.88 (ภาพที่ 1)



ภาพที่ 1 การเจริญเติบโตของ *L. pentosus* L35 ในระยะเวลา 48 ชั่วโมง

2. การวิเคราะห์คุณภาพทางเคมีของกุ้งส้ม

การศึกษากาองค์ประกอบทางเคมีของกุ้งส้มสูตรดั้งเดิมและสูตรที่มีการใช้ *L. pentosus* L35 เป็นหัวเชื้อ พบว่าในวันเริ่มต้นของการหมักกุ้งส้มที่หมักโดยใช้สูตรดั้งเดิม และสูตรที่มีการเติมหัวเชื้อ มีปริมาณความชื้น (65.5 ± 0.25 และ 65.23 ± 0.15) โปรตีน (15.02 ± 0.04 และ 15.7 ± 0.06) ไขมัน (8.41 ± 0.03 และ 8.39 ± 0.04) ไชมัน (0.50 ± 0.02 และ 0.54 ± 0.03) เกลือ (5.60 ± 0.03 และ 5.63 ± 0.01) กรด-ด่าง (7.70 ± 0.05 และ 7.73 ± 0.01) และกรดทั้งหมด (0.80 ± 0.01 และ 0.80 ± 0.02) ไม่แตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p < 0.05$) เมื่อสิ้นสุดกระบวนการหมักในวันที่ 10 พบว่ากุ้งส้มที่หมักโดยใช้สูตรดั้งเดิม และสูตรที่มีการเติมหัวเชื้อ มีปริมาณโปรตีน (11.61 ± 0.08 และ 10.01 ± 0.05) ไขมัน (3.09 ± 0.03 และ 3.51 ± 0.04) ไชมัน (0.20 ± 0.01 และ 0.10 ± 0.01) เกลือ (2.80 ± 0.02 และ 3.09 ± 0.17) กรด-ด่าง (5.32 ± 0.06 และ 4.53 ± 0.02) และกรดทั้งหมด (1.30 ± 0.02 และ 1.80 ± 0.02) แตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p > 0.05$) แต่ปริมาณความชื้นของกุ้งส้มที่หมักโดยใช้สูตรดั้งเดิมและสูตรที่มีการเติมหัวเชื้อ (82.00 ± 0.50 และ 81.07 ± 0.31) ไม่มีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญ ($p < 0.05$) (ตารางที่ 1)

ตารางที่ 1 คุณภาพทางเคมีของกุ้งส้มที่หมักโดยใช้สูตรดั้งเดิม และสูตรที่มีการเติมหัวเชื้อ

องค์ประกอบทางเคมี	กุ้งส้มสูตรดั้งเดิม		กุ้งส้มที่มีการเติมหัวเชื้อ	
	วันที่ 0	วันที่ 10	วันที่ 0	วันที่ 10
ความชื้น (% wet basis)	65.5±0.25 ^b	82.00±0.50 ^a	65.23±0.15 ^b	81.07±0.31 ^a
โปรตีน (% wet basis)	15.02±0.04 ^a	11.61±0.08 ^b	15.7±0.06 ^a	10.01±0.05 ^c
เถ้า (% wet basis)	8.41±0.03 ^a	3.09±0.03 ^c	8.39±0.04 ^a	3.51±0.04 ^b
ไขมัน (% wet basis)	0.50±0.02 ^a	0.20±0.01 ^b	0.54±0.03 ^a	0.10±0.01 ^c
ปริมาณเกลือ (% NaCl)	5.60±0.03 ^a	2.80±0.02 ^c	5.63±0.01 ^a	3.09±0.17 ^b
กรด-ด่าง (pH)	7.70±0.05 ^a	5.32±0.06 ^b	7.73±0.01 ^a	4.53±0.02 ^c
ปริมาณกรดทั้งหมด (% as lactic acid)	0.80±0.01 ^c	1.30±0.02 ^b	0.80±0.02 ^c	1.80±0.02 ^a

หมายเหตุ: อักษรที่แตกต่างกันในแถวเดียวกันแสดงความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p > 0.05$)

3. การวิเคราะห์คุณภาพทางจุลชีววิทยาของกุ้งส้ม

จากการวิเคราะห์คุณภาพทางจุลชีววิทยาของกุ้งส้มที่ทำการหมักด้วยสูตรดั้งเดิม และสูตรที่มีการเติมหัวเชื้อ *L. pentosus* L35 พบว่าจำนวนจุลินทรีย์ทั้งหมดในกุ้งส้มที่หมักด้วยสูตรดั้งเดิม และสูตรที่มีการเติมหัวเชื้อในวันเริ่มต้นของการหมักมีจำนวนจุลินทรีย์ทั้งหมด 3.20 ± 0.03 และ $4.33 \pm 0.04 \log_{10}\text{CFU/กรัม}$ ตามลำดับ จำนวนของจุลินทรีย์ทั้งหมดมีการเพิ่มจำนวนมากขึ้นในวันที่ 5 ของการหมัก (8.40 ± 0.02 และ $7.40 \pm 0.06 \log_{10}\text{CFU/กรัม}$) และในวันที่ 10 ของการหมักพบว่าจำนวนของจุลินทรีย์ทั้งหมดลดลง (5.22 ± 0.01 และ $7.01 \pm 0.05 \log_{10}\text{CFU/กรัม}$) สำหรับการติดตามจำนวนแบคทีเรียแลคติกตลอดการหมักพบว่าในวันเริ่มต้นของการหมักกุ้งส้มด้วยสูตรดั้งเดิม และสูตรที่มีการเติมหัวเชื้อมีจำนวนแบคทีเรียแลคติก 4.10 ± 0.03 และ $5.45 \pm 0.06 \log_{10}\text{CFU/กรัม}$ ตามลำดับ และในช่วงวันที่ 5 และ 10 ของการหมักจำนวนของแบคทีเรียแลคติกมีการเพิ่มจำนวนอย่างต่อเนื่อง โดยในวันที่ 10 ของการหมักจำนวนของแบคทีเรียแลคติกเพิ่มขึ้นเป็น 8.28 ± 0.03 และ $9.96 \pm 0.05 \log_{10}\text{CFU/กรัม}$ ตามลำดับ จำนวนยีสต์ ราทั้งหมดในกุ้งส้มสูตรดั้งเดิม และสูตรที่มีการเติมหัวเชื้อพบว่ามีจำนวนยีสต์ รา 1.15 ± 0.03 และ $1.08 \pm 0.04 \log_{10}\text{CFU/กรัม}$ ตามลำดับ และเมื่อหมักต่อไปพบว่ามีจำนวนยีสต์ ราเพิ่มขึ้นโดยในวันที่ 10 ของการหมักมีจำนวนยีสต์ รา 4.70 ± 0.01 และ $2.40 \pm 0.03 \log_{10}\text{CFU/กรัม}$ ตามลำดับ (ตารางที่ 2)

ตารางที่ 2 จำนวนจุลินทรีย์ เชื้อรา และแบคทีเรียแลกติกทั้งหมดในกุ้งส้มที่หมักโดยสูตรดั้งเดิม และสูตรที่มีการเติมหัวเชื้อ

กุ้งส้ม	วัน	จำนวนจุลินทรีย์ทั้งหมด (log ₁₀ CFU/กรัม)	จำนวนยีสต์ รา ทั้งหมด (log ₁₀ CFU/กรัม)	จำนวนแบคทีเรียแลกติกทั้งหมด (log ₁₀ CFU/กรัม)
สูตรดั้งเดิม	0	3.20±0.03	1.15±0.03	4.10±0.03
	5	8.40±0.02	2.65±0.02	6.33±0.01
	10	5.22±0.01	4.70±0.01	2.28±0.03
สูตรที่มีการเติมหัวเชื้อ	0	4.33±0.04	1.08±0.04	5.45±0.06
	5	7.40±0.06	1.52±0.02	7.40±0.09
	10	7.01±0.05	2.40±0.03	9.96±0.05

จากการตรวจนับจำนวนแบคทีเรียก่อโรค 5 ชนิด ได้แก่ *Salmonella* sp. *S. aureus* *B. cereus* *C. perfringens* และ *E. coli* ตามมาตรฐานผลิตภัณฑ์ชุมชน กุ้งส้ม 1032/2548 ในกุ้งส้มที่หมักด้วยสูตรดั้งเดิม และสูตรที่เติมกล้ำเชื้อไม่พบ *Salmonella* sp. *S. aureus* และ *C. perfringens* ตลอดกระบวนการหมักกุ้งส้ม มีการตรวจพบ *B. cereus* และ *E. coli* แต่ไม่เกินเกณฑ์มาตรฐานผลิตภัณฑ์ชุมชนกุ้งส้ม (ตารางที่ 3)

ตารางที่ 3 จำนวนแบคทีเรียก่อโรคในกุ้งส้มที่หมักโดยใช้สูตรดั้งเดิม และสูตรที่มีการเติมหัวเชื้อ

กุ้งส้ม	วันในการหมัก	ชนิดแบคทีเรีย				
		<i>Salmonella</i> sp.	<i>S. aureus</i>	<i>B. cereus</i>	<i>C. perfringens</i>	<i>E. coli</i>
กุ้งส้ม	0					
สูตรดั้งเดิม	5	ไม่พบ	ไม่พบ	< 3 โคโลนี/กรัม	ไม่พบ	< 3 โคโลนี/กรัม
	10					
กุ้งส้ม	0					
ที่เติมหัวเชื้อ	5	ไม่พบ	ไม่พบ	< 3 โคโลนี/กรัม	ไม่พบ	< 3 โคโลนี/กรัม
	10					

อภิปรายผลการวิจัย

การทดลองในครั้งนี้ได้ใช้ *L. pentosus* L35 ที่คัดแยกได้จากกุ้งส้มที่เก็บตัวอย่างในจังหวัดนครศรีธรรมราช *L. pentosus* L35 เป็นแบคทีเรียแลกติก มี pH ที่เหมาะสมในการเจริญเติบโต 5.5-6.2 ต้องการออกซิเจนในการเจริญเติบโตน้อย (microaerophilic) จัดอยู่ในกลุ่ม facultative heterofermentative lactobacilli มักพบในผลิตภัณฑ์นม ผลิตภัณฑ์ธัญพืช ผลิตภัณฑ์เนื้อ ปลา ไวน์ น้ำผลไม้ ผักดอง และบริเวณเนื้อเยื่อในท่อทางเดินอาหาร และช่องคลอดของสัตว์เลี้ยงลูกด้วยนม (วิลาวัลย์, 2536) จากการศึกษาพบว่า *L. pentosus* L35 มีการเจริญเติบโตได้ดีที่สุดในระยะเวลา 36 ชั่วโมง จากการศึกษาของ Saraniya and Jeevaratnam (2014) พบว่า *L. pentosus*

SJ65 ที่คัดแยกได้จากแพนเค้กอินเดียมีการเจริญเติบโตสูงสุดที่ระยะเวลา 48 ชั่วโมง และสามารถผลิต แบคทีเรียโอซินได้ปริมาณสูงสุดที่เวลา 36 ชั่วโมง นอกจากนี้ธนากร (2554) ได้ศึกษาการเจริญของ *L. plantarum* และ *L. pentosus* ที่คัดแยกได้จากหน่อไม้ต้องพบว่ามีการเจริญระยะคงที่ที่เวลา 18 ชั่วโมง

จากการศึกษาของ Dangkhaw (2013) ทำการเก็บตัวอย่างกุ้งส้มที่จำหน่ายในท้องตลาดจำนวน 55 ตัวอย่าง เพื่อคัดแยกแบคทีเรียแลคติกและสามารถระบุสายพันธุ์ของแบคทีเรียแลคติกได้เป็น *Enterococcus hirae* K34 *L. pentosus* K39 และ *L. pentosus* K50 จากศึกษาของ Phithakpol et al. (1995) พบว่า *L. plantarum* *Pediococcus halophilus* *Bacillus* sp. *Micrococcus* sp. *Streptococcus epidermidis* *S. feacalis* *Saccharomyces* sp. *Candida* sp. และ *Pichia* sp. ซึ่งคัดแยกได้จากกุ้งส้ม ปลาสด เป็นเชื้อจุลินทรีย์ที่มีบทบาทสำคัญในกระบวนการผลิตกุ้งส้มและปลาสด

กระบวนการผลิตกุ้งส้มต้องอาศัยวัตถุดิบที่สำคัญคือ กุ้ง เกลือ น้ำตาลจาก และน้ำแบ่ง โดยแบคทีเรียแลคติกมีบทบาทในกระบวนการหมักเปลี่ยนน้ำตาลให้เป็นกรดแลคติก ในสภาพที่มีอากาศเล็กน้อย แบคทีเรียเกือบทุกชนิดต้องการอาหารที่มีเกลือเจือปนเล็กน้อย เกลือมีคุณสมบัติในการคัดแยกชนิดของจุลินทรีย์ แบคทีเรียแลคติกสามารถปรับสภาพให้ทนต่อสภาวะความเข้มข้นของเกลือได้ และช่วยยับยั้งการเจริญเติบโตของแบคทีเรียก่อโรค น้ำตาลจากและน้ำแบ่งเป็นแหล่งคาร์บอนและแหล่งพลังงานให้แก่แบคทีเรียแลคติก การศึกษาองค์ประกอบทางเคมีของกุ้งส้มที่ผ่านกระบวนการหมักด้วยสูตรดั้งเดิม และกุ้งส้มที่มีการเติมหัวเชื้อ *L. pentosus* L35 เมื่อสิ้นสุดการทดลองในวันที่ 10 พบว่ากุ้งส้มทั้งสองสูตรมีความชื้นไม่แตกต่างกัน โดยกุ้งส้มที่มีการเติมหัวเชื้อมีปริมาณของเถ้า เกลือ และความเป็นกรดรวมสูงกว่ากุ้งส้มที่หมักด้วยสูตรดั้งเดิม กุ้งส้มที่หมักโดยการเติมหัวเชื้อมีปริมาณโปรตีน ไขมัน กรด-ต่าง ต่ำกว่ากุ้งส้มที่หมักด้วยสูตรดั้งเดิม กุ้งส้มที่มีการเติมหัวเชื้อ *L. pentosus* L35 มีปริมาณเถ้า (ร้อยละ 3.51±0.04) สูงกว่ากุ้งส้มสูตรดั้งเดิม (ร้อยละ 3.09±0.03) สอดคล้องกับการศึกษาของชุตินุช และไวกุณฐ์, (2556) พบว่ากุ้งส้มที่ผลิตโดยใช้เชื้อบริสุทธิ์ *L. plantarum* (ปริมาณเถ้าร้อยละ 6.08) *Pediococcus* sp. (ปริมาณเถ้าร้อยละ 5.42) มีปริมาณเถ้ามากกว่ากุ้งส้มที่ผลิตโดยวิธีดั้งเดิม (ปริมาณเถ้าร้อยละ 2.94) ปริมาณเถ้าแสดงถึงองค์ประกอบของสารอนินทรีย์ที่หลงเหลืออยู่จากการเผาไหม้ หรือปริมาณแร่ธาตุในอาหาร พบปริมาณเกลือในกุ้งส้มสูตรดั้งเดิม และสูตรที่มีการเติมหัวเชื้อ *L. pentosus* L35 ร้อยละ 2.80±0.02 และ 3.09±0.17 ตามลำดับ ซึ่งใกล้เคียงกับผลการสำรวจของวารุณี และคณะ (2527) พบว่ากุ้งส้มที่จำหน่ายในจังหวัดสงขลา ปัตตานี และตรัง มีปริมาณเกลือร้อยละ 3.06 3.46 และ 3.14 ตามลำดับ เกลือเป็นสิ่งสำคัญในการถนอมอาหารทำให้ค่า Water activity ของอาหารลดลง นอกจากนี้เกลือนยังเป็นสารที่มีค่าแรงดันออสโมติกสูง เมื่อใส่ลงในอาหารจะทำให้ น้ำในอาหาร และน้ำในเซลล์จุลินทรีย์ถูกดึงออกมาทำให้จุลินทรีย์ไม่สามารถเจริญเติบโตได้เนื่องจากเซลล์จุลินทรีย์เหี่ยว (plasmolysis) และที่สำคัญเกลือนยังมีสมบัติในการคัดเลือกจุลินทรีย์โดยเฉพาะแบคทีเรียแลคติกสามารถเจริญเติบโตได้ในสภาวะที่มีความเข้มข้นของเกลือสูงแต่แบคทีเรียบางชนิดไม่สามารถทนได้ก็จะตายไป ในกระบวนการหมักกุ้งส้มโดยแบคทีเรียแลคติกมีการย่อยสลายโปรตีนในเนื้อกุ้ง น้ำในตัวกุ้งถูกดึงออกมาภายนอกจากอิทธิพลของเกลือ อีกทั้งยังมีการเติมน้ำแบ่งในวันที่ 7 ของการหมักจึงมีผลให้ปริมาณเกลือในกุ้งส้มลดต่ำลงในวันที่ 10 ของการหมัก จากการศึกษาปริมาณโปรตีนพบว่าในกุ้งส้มสูตรดั้งเดิมมีปริมาณโปรตีน (ร้อยละ

11.61±0.08) ต่ำกว่าสูตรที่มีการเติมหัวเชื้อ *L. pentosus* L35 (ร้อยละ 10.01±0.05) ใกล้เคียงกับการศึกษาของวารุณี และคณะ (2557) พบว่ากุ้งส้มที่จำหน่ายในจังหวัดสงขลา ปัตตานี และตรัง มีปริมาณโปรตีนร้อยละ 8.34 11.25 และ 11.35 ตามลำดับ ในสัตว์น้ำกุ้ง-ปู จะมีปริมาณโปรตีน ร้อยละ 17-18 เมื่อเกิดการหมักโดยจุลินทรีย์เกิดการสลายตัวของโปรตีน และองค์ประกอบไนโตรเจนอื่น ๆ เนื่องจากกิจกรรมของแบคทีเรีย และเอนไซม์ในตัวกุ้งทำให้ปริมาณโปรตีนลดต่ำลง

จากการศึกษาพบว่ากุ้งส้มที่มีการเติมหัวเชื้อ *L. pentosus* L35 มีค่าความเป็นกรด-ด่าง (4.53±0.02) ต่ำกว่ากุ้งส้มสูตรดั้งเดิม (5.32±0.06) ความเป็นกรด-ด่างในกระบวนการหมักเกิดจากกิจกรรมของแบคทีเรียแลกติกที่อาจปะปนมากับวัตถุดิบ และจากหัวเชื้อที่เติมลงไปทำให้ค่ากรด-ด่างลดลง เช่นเดียวกับในผลิตภัณฑ์นมหมัก ผักและผลไม้ดอง ผลิตภัณฑ์เนื้อและอาหารทะเลหมัก เกิดการผลิตกรดอินทรีย์โดยเฉพาะกรดแลกติก (ปีนณิ, 2546) เกณฑ์มาตรฐานผลิตภัณฑ์ชุมชนได้กำหนดให้กุ้งส้มมีค่าความเป็นกรด-ด่างไม่เกิน 4.6 ซึ่งค่ากรด-ด่างเป็นตัวบ่งชี้ความปลอดภัยสำหรับการบริโภค อาหารหมักที่มีค่ากรด-ด่างน้อยกว่า 4.6 จะสามารถยับยั้งการเจริญของจุลินทรีย์ที่เป็นสาเหตุของการเน่าเสียในอาหารและจุลินทรีย์ก่อโรคได้ จากรายงานของสิรินดา และคณะ (2548) พบว่าค่า pH ที่ลดลงและปริมาณกรดทั้งหมดที่เพิ่มขึ้นในอาหารหมักขึ้นอยู่กับ การเจริญของแบคทีเรียที่สร้างกรดในผลิตภัณฑ์ นอกจากนี้ยังพบว่ากุ้งส้มที่มีการเติมหัวเชื้อ *L. pentosus* L35 มีค่าความเป็นกรดทั้งหมด (1.80±0.02) สูงกว่าความเป็นกรดทั้งหมดในกุ้งส้มสูตรดั้งเดิม (1.30±0.02) ซึ่งจะเห็นได้ว่าค่ากรด-ด่าง มีความสัมพันธ์กับปริมาณกรดทั้งหมด สอดคล้องกับการศึกษาของผกาวิติ (2559) ศึกษาผลของเกลือต่อการหมักกุ้งจ่อมที่เติมเกลือร้อยละ 5 7 และ 10 โดยหมักที่อุณหภูมิ 30 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 10 วัน พบว่ามีปริมาณกรดทั้งหมดเพิ่มขึ้นอย่างต่อเนื่องขณะที่ค่า pH ลดลงหลังจากการหมัก 5 วัน โดยกุ้งจ่อมที่เติมเกลือร้อยละ 5 มีปริมาณกรดทั้งหมดสูงสุด และมีค่า pH ลดลงมากที่สุด ในการวิเคราะห์ส่วนประกอบโดยประมาณ (proximate analysis) ของตัวอย่างอาหารต้องมีการวิเคราะห์ปริมาณความชื้น ไขมัน โปรตีน และเถ้า สำหรับคาร์โบไฮเดรตทั้งหมดคือ ส่วนที่เหลือโดยผลต่าง (by difference) (นิธิยา, 2554) ซึ่งจากการศึกษาองค์ประกอบทางเคมีโดยการศึกษาส่วนประกอบโดยรวมของกุ้งส้มพบว่าส่วนที่เหลือโดยผลต่างคือคาร์โบไฮเดรตเนื่องจากมีน้ำตาลจาก น้ำข้าวต้มสุกเป็นส่วนผสมในการผลิตกุ้งส้ม อีกทั้งเปลือกกุ้งเป็นคาร์โบไฮเดรตโมเลกุลใหญ่ (chitin) จากการศึกษารายละเอียดขององค์ประกอบทางเคมีของกุ้งส้มโดย Chaisri *et al.* (2557) พบว่ากุ้งส้มมีปริมาณคาร์โบไฮเดรตอยู่ในช่วง 9.60±0.21-13.16±0.17 ซึ่งองค์ประกอบทางเคมีของกุ้งส้มในแต่ละท้องถิ่นจะมีความแตกต่างกันในเรื่องของกระบวนการผลิต วัตถุดิบและชนิดของจุลินทรีย์ในธรรมชาติ ที่มีบทบาทสำคัญในกระบวนการหมัก

การติดตามจำนวนจุลินทรีย์ทั้งหมดในกุ้งส้มสูตรดั้งเดิม และสูตรที่มีการเติมหัวเชื้อพบว่าจำนวนจุลินทรีย์ทั้งหมดในกุ้งส้มสูตรดั้งเดิมมีจำนวนแบคทีเรีย (5.22±0.01 log₁₀CFU/กรัม) มากกว่ากุ้งส้มที่มีการเติมหัวเชื้อ (3.37±0.02 log₁₀CFU/กรัม) สำหรับจำนวนแบคทีเรียแลกติกมีจำนวนเพิ่มขึ้นอย่างต่อเนื่องทั้งในกุ้งส้มสูตรดั้งเดิม (8.28±0.03 log₁₀CFU/กรัม) และกุ้งส้มที่มีการเติมหัวเชื้อ (9.96±0.05 log₁₀CFU/กรัม) และเมื่อศึกษาจำนวนยีสต์ ราทั้งหมดในกุ้งส้มสูตรดั้งเดิมมีปริมาณยีสต์ ราทั้งหมด (4.70±0.01 log₁₀CFU/กรัม) สูงกว่ากุ้งส้มที่มีการเติมหัวเชื้อ (2.40±0.03 log₁₀CFU/กรัม) จะเห็นได้ว่าจำนวนของจุลินทรีย์ทั้งหมดมีความสัมพันธ์กับจำนวนแบคทีเรียแลกติกโดยในระยะต้น

ของกระบวนการหมักกึ่งสัมผัสจำนวนจุลินทรีย์ทั้งหมด และแบคทีเรียแลคติกมีการเพิ่มจำนวนขึ้นอย่างต่อเนื่องจนถึงระยะกลางของกระบวนการหมัก (วันที่ 5 ของการหมัก) หลังจากนั้นจำนวนของแบคทีเรียทั้งหมดมีการลดจำนวนลงอย่างชัดเจน ในทางกลับกันจำนวนของแบคทีเรียแลคติกยังคงมีการเจริญเติบโตเพิ่มขึ้น และยังสัมพันธ์กับปริมาณกรดทั้งหมด และความเป็นกรด-ต่างอีกด้วย เนื่องจากในกระบวนการหมักเมื่อแบคทีเรียแลคติกเจริญเติบโตมีการผลิตกรดอินทรีย์ออกมาทำให้มีสภาวะเป็นกรดส่งผลให้สภาวะไม่เหมาะสมในการเจริญเติบโตของจุลินทรีย์ชนิดอื่น ๆ ทำให้มีจำนวนจุลินทรีย์ลดลงสอดคล้องกับการศึกษาของจากการศึกษาของณัฐกฤตา และวนิดา (2559) พบว่าจำนวนแบคทีเรียแลคติกในระหว่างการหมักปลาสดจะมีจำนวนเพิ่มขึ้น แต่จำนวนจุลินทรีย์ที่ทำให้อาหารเน่าเสีย (เช่น ยีสต์ และรา) และจุลินทรีย์ก่อโรคลกลุ่มต่าง ๆ (*Salmonella* sp. *S. aureus* และ *E. coli*) กลับมีแนวโน้มที่ลดลงโดยเฉพาะอย่างยิ่งปลาสดที่มีการเติมเกลือแบคทีเรียแลคติกลงไป

แบคทีเรียก่อโรคทางเดินอาหารที่มีบทบาทสำคัญตามเกณฑ์มาตรฐานผลิตภัณฑ์ชุมชนกึ่งสัมผัส ได้แก่ *Salmonella* sp. *S. aureus* *B. cereus* *C. perfringens* และ *E. coli* จากการศึกษาพบว่าในการหมักกึ่งสัมผัสสูตรดั้งเดิม และสูตรที่มีการเติมหัวเชื้อ *L. pentosus* L35 ไม่พบ *Salmonella* sp. *S. aureus* และ *C. perfringens* มีการตรวจพบ *B. cereus* และ *E. coli* อยู่ในระดับที่มีความปลอดภัยตามเกณฑ์มาตรฐานผลิตภัณฑ์ชุมชนกึ่งสัมผัส ซึ่งสอดคล้องกับการรายงานของจันทิมา และฐาปนี (2560) พบการปนเปื้อนของ *B. cereus* และ *E. coli* ในตัวอย่างกึ่งสัมผัสที่จำหน่ายในจังหวัดนครศรีธรรมราช โดยยังอยู่ในระดับที่มีความปลอดภัยตามเกณฑ์มาตรฐานผลิตภัณฑ์ชุมชนกึ่งสัมผัส และจากการศึกษาของพิทยา และรัชณี (2560) พบว่าปริมาณของเชื้อโปรไบโอติกที่เติมลงไปในส่วนผสมของปลาสดมีผลต่อการลดลงของ *B. subtilis* โดยจะเห็นได้ว่าปลาสดที่หมักโดยใช้เชื้อตามธรรมชาติมีจำนวนของ *B. subtilis* มากกว่า $3 \log_{10}$ CFU/กรัม ในขณะที่ปลาสดที่หมักร่วมกับโปรไบโอติกทุกชุดการทดลองมีจำนวนของ *B. subtilis* น้อยกว่า $3 \log_{10}$ CFU/กรัม ซึ่งอัตราการลดลงของ *B. subtilis* มีแนวโน้มเพิ่มขึ้นอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p \leq 0.05$) ตามปริมาณเชื้อโปรไบโอติกที่เติมลงไป และการศึกษาของผกาดี (2559) พบการปนเปื้อนของ *B. cereus* 2.0 CFU/กรัม และ *E. coli* น้อยกว่า 3.0 CFU/g ซึ่งการยับยั้งการเจริญเติบโตของแบคทีเรียก่อโรคมาจากการเพิ่มมากขึ้นและมีผลทำให้ค่าความเป็นกรด-ต่างลดต่ำลง กรดอินทรีย์สามารถแพร่ผ่านไปในเซลล์เมมเบรนของแบคทีเรียจะเกิดการแตกตัวทำให้ค่าความเป็นกรด-ต่างในไซโตพลาสซึมลดลงมีผลไปรบกวนกระบวนการเมแทบอลิซึมของแบคทีเรีย นอกจากนี้ในระหว่างการหมักแบคทีเรียแลคติกยังสามารถสร้างแบคเทอริโอซินได้ซึ่งมีผลยับยั้งการเจริญของจุลินทรีย์ก่อโรค *E. coli* *S. aureus* *B. cereus* *Vibrio parahaemolyticus* และ *Salmonella* spp. ได้ (Hwanhlem et al., 2010)

สรุปผลการวิจัย

จากการศึกษาองค์ประกอบทางเคมีและคุณภาพทางจุลชีววิทยาของกึ่งสัมผัสสูตรดั้งเดิม และสูตรที่ใช้ *L. pentosus* L35 เป็นหัวเชื้อพบว่ามีความคุณภาพทางเคมีผ่านเกณฑ์มาตรฐานผลิตภัณฑ์ชุมชนกึ่งสัมผัส การติดตามการเจริญของจุลินทรีย์ ยีสต์รา และแบคทีเรียแลคติก เมื่อสิ้นสุดกระบวนการหมักพบว่ากึ่งสัมผัสที่เติมหัวเชื้อมีจำนวนแบคทีเรียแลคติกเพิ่มขึ้นมากกว่าสูตรดั้งเดิม ส่งผลให้แบคทีเรียทั้งหมด และยีสต์ราทั้งหมดลดจำนวนลง นอกจากนี้ยังพบว่ากึ่งสัมผัสที่หมักด้วยสูตรดั้งเดิม และสูตรที่มี

การเติมหัวเชื้อ *L. pentosus* L35 มีความปลอดภัยจากแบคทีเรียก่อโรคตามเกณฑ์มาตรฐานผลิตภัณฑ์ชุมชนกึ่งส้ม

กิตติกรรมประกาศ

งานวิจัยนี้ได้รับงบประมาณสนับสนุนจากเงินอุดหนุนการวิจัยงบประมาณปี พ.ศ. 2560 มหาวิทยาลัยราชภัฏนครศรีธรรมราช

เอกสารอ้างอิง

- กรมวิทยาศาสตร์การแพทย์. (2558). *วิธีมาตรฐานสำหรับวิเคราะห์อาหาร.กรมวิทยาศาสตร์การแพทย์ กระทรวงสาธารณสุข*. สืบค้นเมื่อ 19 มกราคม 2562 จาก:<http://bqsf.dmsc.moph.go.th/bqsfWeb/wp-content/uploads/2017/Publish/e-book/StandardMethodVolumel.pdf>.
- จันทิมา คงพอม และธำปณี จโนภาส. (2560). การตรวจวิเคราะห์คุณภาพทางจุลชีววิทยาเบื้องต้นของกึ่งส้มในพื้นที่จังหวัดนครศรีธรรมราช. *รายงานการวิจัย*. มหาวิทยาลัยราชภัฏนครศรีธรรมราช.
- ชุตินุช สุจริต และไวกุณฐ์ ฤทธิธูม. (2556). การผลิตกึ่งส้มบรรจุในภาชนะปิดที่ผ่านการแปรรูปด้วยความร้อน. *รายงานการวิจัย*. มหาวิทยาลัยเทคโนโลยีราชมงคลศรีวิชัย.
- ณัฐกฤตา ภูทับทิม และวนิดา แซ่จิ่ง. (2559). การคัดเลือกแบคทีเรียแลคติกและใช้เป็นตัวเชื้อเริ่มต้นเชื้อในการหมักปลาหมึก. *วารสารวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยี*, 24(6)(ฉบับพิเศษ), 952-967.
- ธนากร บำรุงภักดี. (2554). การแยกและจำแนกแบคทีเรียแลคติกจากหน่อไม้แดงเพื่อใช้เป็นเชื้อเริ่มต้นผลหมักในการ หมัก. *วิทยานิพนธ์ปริญญาโทบริหารบัณฑิต*. มหาวิทยาลัยขอนแก่น, ขอนแก่น.
- นันธิดา แดงขาว. (2560). กึ่งส้มแบคทีเรียมีชีวิตพิชิตโรค. *วารสารวิทยาลัยดุสิตธานี*, 11(ฉบับพิเศษ), 356-373.
- นิธิยา รัตนานนท์. (2554). *หลักการวิเคราะห์อาหาร*. กรุงเทพมหานคร: สำนักพิมพ์โอเดียนสโตร์.
- ปิ่นมณี ขวัญเมือง. (2546). แบคทีเรียกรดแลคติกในผลิตภัณฑ์อาหารหมักดอง. *วารสารครุศาสตร์อุตสาหกรรม*, 3(1), 62-69.
- ผกาดี เอี่ยมกำแพง. (2559). ผลของเกลือต่อการหมักและยอมรับผลิตภัณฑ์กึ่งจ่อม. *วารสารวิชาการพระจอมเกล้าพระนครเหนือ*, 26(1), 105-112.
- พิทยา ใจคำ และรัชณี แก้วจินดา. (2560). การเปลี่ยนแปลงคุณภาพของปลาหมึกในระหว่างการหมักร่วมกับโพรไบโอติก *Lactobacillus casei* 01 ที่ระดับแตกต่างกัน. *วารสารวิจัยและพัฒนาวิทยาลัยการรณ์ ในพระบรมราชูปถัมภ์*, 12(3), 37-53.
- มณฑกานต์ ทองสม. (2560). ประสิทธิภาพการลดคอเลสเตอรอลของแลคติกแอซิดแบคทีเรียที่คัดแยกได้จากอาหารหมักและการประยุกต์ใช้. *รายงานผลการวิจัย*. มหาวิทยาลัยราชภัฏนครศรีธรรมราช.
- วารุณี วารัณยานนท์ บุญถม ธรรมจารีย์ บุหลัน พัทธ์พัชร์ และสุภารัตน์ เรืองมณีไพฑูรย์ (2527). องค์ประกอบทางเคมีของอาหารหมักดองในประเทศไทย. ใน *รายงานการประชุมทางวิชาการมหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์ ครั้งที่ 2* (หน้า 53-76). กรุงเทพฯ: มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์.

- วิลาวัลย์ เจริญจิระตระกูล. (2536). *ผลิตภัณฑ์อาหารหมักจากจุลินทรีย์*. สงขลา: คณะวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยี มหาวิทยาลัยสงขลานครินทร์.
- รินดา ยุ่นฉลาด งามนิจ นนทโส พิกุลทอง ขอเพิ่มทรัพย์ และสุกานดา วิจิตพันธ์. (2548). การเปลี่ยนแปลงประชากรจุลินทรีย์และทางเคมีระหว่างกระบวนการหมักปลาสามที่เป็นผลิตภัณฑ์ปลาหมักของไทย. *วารสารงานวิจัย มหาวิทยาลัยขอนแก่น*, 10(3), 188-198.
- สำนักงานมาตรฐานผลิตภัณฑ์อุตสาหกรรม. (2548). *มาตรฐานผลิตภัณฑ์ชุมชน กุ้งส้ม*. สืบค้นเมื่อ 18 มีนาคม 2562 จาก: http://app.tisi.go.th/otop/pdf_file/tcps1032_48.pdf.
- AOAC. (2016). *Official Methods of Analysis*. (20thed). USA: Association of Official Analytical Chemists.
- Chaisri, S., Riebroy, S., Utaipattanacheep, A., Chulakarunka, S., Maungteuk, T. and Maneerat, S. (2557). Comparative Studies on Chemical Composition, Proteolysis and Chitin Characteristics of Commercial Kung-som and Kung-jom. In *the 52nd Kasetsart University Annual Conference* (pp. 472-479). Bangkok: Kasetsart University.
- Dangkhaw, N. (2013). *Effect of Selected Autochthonous Starter Cultures on Microbial, Chemical and Sensory Characteristics of Kung-Som*. Master of science thesis. Prince of Songkla University, Songkla.
- Hwanhlem, N., Watthanasakphuban, N., Riebroy, S., Benjakul, S., H-Kittikun, A., Maneerat, S. (2010). Probiotic lactic acid bacteria from *Kung-Som*: isolation, screening, inhibition of pathogenic bacteria. *International Journal of Food & Science Technology*, 45(3), 594-601.
- Mishra, V. and Prasad, D.N. (2005). Application of *in vitro* method for selection of *Lactobacillus casei* strains as potential probiotics. *International Journal of Food Microbiology*, 103(1), 109-115.
- Phithakpol, B., Varanyanond, W., Reungmaneepeatoon, S. and Wood, H. (1995). Plaa-som, Koong-som. In *Traditional fermented foods of Thailand*. (pp. 22-23). Bangkok: Kasetsart University.
- Saraniya, A. and Jeevaratnam, K. (2014). Optimization of nutritional and non-nutritional factors involved for production of antimicrobial compounds from *Lactobacillus pentosus* SJ65 using response surface methodology. *Brazilian Journal of Microbiology*, 45(1), 81-88.

การประเมินผลตอบแทนทางการเงินของโรงไฟฟ้าพลังงานแสงอาทิตย์ ภายใต้นโยบายสนับสนุนส่วนเพิ่มอัตรารับซื้อไฟฟ้าโดยภาครัฐ

Financial Return Assessment of Solar Power Plant under Subsidy Policy by Thai Government

รัชชา สามพิมพ์^{1*}

Tatcha Sampim^{1*}

บทคัดย่อ

ประเทศไทยมีความต้องการเพิ่มกำลังการผลิตกระแสไฟฟ้าจากพลังงานแสงอาทิตย์ภายใน 20 ปีข้างหน้า จากกำลังการผลิตที่ 2,663 เมกะวัตต์ ในปี พ.ศ. 2561 เป็น 15,574 เมกะวัตต์ ในปี พ.ศ. 2580 ดังนั้นรัฐบาลไทยจึงได้พยายามเพิ่มกำลังการผลิตโดยการออกนโยบายสนับสนุนทางการเงินในการรับซื้อไฟฟ้าจากพลังงานแสงอาทิตย์ ประกอบด้วย มาตรการสนับสนุนรูปแบบ Adder ซึ่งยกเลิกไปแล้ว และมาตรการสนับสนุนรูปแบบ feed in tariff (FiT) ที่ใช้ในปัจจุบัน วัตถุประสงค์ของงานวิจัยนี้เพื่อทดสอบประสิทธิภาพของมาตรการสนับสนุนของประเทศไทยโดยเปรียบเทียบผลตอบแทนทางการเงินของโครงการ ได้แก่ มูลค่าปัจจุบันสุทธิ อัตราผลตอบแทนภายใน และระยะเวลาคืนทุน ผลการวิเคราะห์พบว่ามาตรการสนับสนุนรูปแบบ FiT เป็นกลไกที่มีประสิทธิภาพสูงสุด เนื่องจากสามารถช่วยให้ผลตอบแทนของโครงการมีกำไร ในขณะที่มาตรการสนับสนุนรูปแบบ FiT ใช้เงินสนับสนุนจากรัฐบาลน้อยกว่ามาตรการสนับสนุนรูปแบบ Adder ผลการวิเคราะห์มูลค่าปัจจุบันสุทธิ อัตราผลตอบแทนภายใน และระยะเวลาคืนทุน ของโรงไฟฟ้าพลังงานแสงอาทิตย์ขนาด 1 เมกะวัตต์ ภายใต้มาตรการสนับสนุนรูปแบบ FiT มีค่าเท่ากับ 10,767,026 บาท 9 เปอร์เซ็นต์ และ 10 ปี 1 เดือน ตามลำดับ โดยใช้เงินสนับสนุนจากรัฐบาล เท่ากับ 73,495,017 บาท

คำสำคัญ: นโยบายสนับสนุนโดยภาครัฐ โรงไฟฟ้าพลังงานแสงอาทิตย์ ผลตอบแทนทางการเงิน

¹ สาขาวิชานวัตกรรมชีวภาพ คณะวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยี มหาวิทยาลัยราชภัฏนครศรีธรรมราช

* Corresponding author e-mail: tatcha.sampim@gmail.com

Received: 24 May 2020, Revised: 10 June 2020, Accepted: 15 June 2020

Abstract

Over the next 20 years, Thailand wants to increase the amount of electricity generation capacity from the solar energy from 2,663 MW in 2018 to 15,574 MW in 2037. Therefore, the Thai government has attempted to increase its capacity from solar energy by promoting subsidy programs including Adder program (old policy) and Feed in Tariff (FiT) program (current policy). The objective of this research was to examine the efficiency of subsidy programs used in Thailand by comparing the project financial return including net present value (NPV), internal rate of return (IRR), and payback period (PB). The results showed that the most cost-effective mechanism is the FiT program because it provided the profitable financial return while spending less money from the government subsidy than that of Adder program. Under FiT program, the NPV, IRR and PB of 1 MW solar power plant were 10,767,026 baht, 9 percent and 10 years 1 month, respectively, with governmental subsidy about 73,495,017 baht.

Keywords: governmental subsidy policy, solar power plant, financial return

บทนำ

ประเทศไทยมีการใช้งานจากระบบผลิตไฟฟ้าจากพลังงานแสงอาทิตย์มาตั้งแต่ปี พ.ศ. 2530 โดยช่วงเริ่มต้นพลังงานแสงอาทิตย์ถูกใช้เพื่อวัตถุประสงค์ในการเป็นแหล่งพลังงานให้กับพื้นที่ห่างไกลระบบสายส่งไฟฟ้าเข้าไม่ถึง ต่อมาด้วยสภาพสังคมที่เปลี่ยนแปลงไปประกอบกับเทคโนโลยีต่าง ๆ พัฒนาไปอย่างรวดเร็ว การผลิตพลังงานไฟฟ้าจากพลังงานแสงอาทิตย์ได้กลายมาเป็นพลังงานทางเลือกของทุกพื้นที่อย่างแพร่หลาย เพื่อลดค่าใช้จ่ายจากการใช้เชื้อเพลิงฟอสซิลที่ต้องนำเข้าจากต่างประเทศ รวมถึงสร้างความมั่นคงทางพลังงานเนื่องจากเป็นแหล่งพลังงานที่ไม่มีวันหมดสิ้น และเหตุผลด้านพลังงานสะอาดที่ไม่ก่อผลกระทบต่อสิ่งแวดล้อม (กรมพัฒนาพลังงานทดแทนและอนุรักษ์พลังงาน, 2561)

การพัฒนาพลังงานแสงอาทิตย์ในประเทศไทยเพิ่มขึ้นอย่างต่อเนื่อง เป็นผลมาจากนโยบายส่งเสริมการผลิตการใช้พลังงานทดแทน โดยเฉพาะการใช้งานจะอยู่ในรูปของพลังงานไฟฟ้า (Chaichana *et al.*, 2017) ประเทศไทยมีการใช้พลังงานแสงอาทิตย์ในรูปของพลังงานไฟฟ้า เพิ่มขึ้นจาก 376.72 เมกะวัตต์ ในปี พ.ศ. 2555 เป็น 1,298.51 เมกะวัตต์ ในปี พ.ศ. 2557 หรือเพิ่มขึ้นคิดเป็น 300 เปอร์เซ็นต์ (กรมพัฒนาพลังงานทดแทนและอนุรักษ์พลังงาน, 2558) ต่อมาในปี พ.ศ. 2560 มีรายงานว่าประเทศไทยผลิตพลังงานไฟฟ้าที่ผลิตพลังงานแสงอาทิตย์เพิ่มขึ้นอยู่ที่ 2,663.12 เมกะวัตต์ สะท้อนให้เห็นการเติบโตของการผลิตพลังงานแสงอาทิตย์เป็นไปอย่างรวดเร็ว (กรมพัฒนาพลังงานทดแทนและอนุรักษ์พลังงาน, 2561)

จากร่างแผนพัฒนาพลังงานทดแทนและพลังงานทางเลือก พ.ศ. 2561-2580 (AEDP 2018) ได้กำหนดเป้าหมายพลังงานไฟฟ้าที่ผลิตพลังงานแสงอาทิตย์ไว้ถึง 15,574 เมกะวัตต์ จะเห็นได้ว่า

ประเทศไทยจำเป็นต้องเร่งการผลิตไฟฟ้าจากพลังงานแสงอาทิตย์เกือบ 13,000 เมกะวัตต์ ภายในเวลา 20 ปี (สำนักงานนโยบายและแผนพลังงาน, 2562)

อย่างไรก็ตามการผลิตไฟฟ้าจากพลังงานแสงอาทิตย์ยังมีปัญหาอุปสรรคหลายประการ (Chires and Wongwises, 2016) โดยเฉพาะที่เกี่ยวข้องกับนโยบายภาครัฐและการนำนโยบายสู่การปฏิบัติ ยังไม่ครอบคลุมและไม่มีความชัดเจน รวมทั้งข้อกฎหมาย กฎระเบียบ และการบริหารจัดการระบบสายส่งไฟฟ้าที่ยังไม่เอื้อต่อการพัฒนาพลังงานทดแทน รวมถึงองค์กรของรัฐยังขาดความเป็นเอกภาพ จนส่งผลทำให้กระบวนการทำงานเกิดความล่าช้า และมีการแทรกแซงจากกลุ่มผลประโยชน์ (ชาวนิก, 2559) นอกจากนี้การผลิตไฟฟ้าจากพลังงานแสงอาทิตย์มีต้นทุนสูงที่สุดเท่ากับ 322.30 บาทต่อหน่วย เมื่อเทียบกับพลังงานทดแทนรูปแบบอื่น ๆ (กระทรวงพลังงาน, 2558)

ในช่วงเวลาที่ผ่านมานหน่วยงานภาครัฐ อาทิเช่น กรมพัฒนาพลังงานทดแทนและอนุรักษ์พลังงาน สำนักงานนโยบายและแผนพลังงาน การไฟฟ้าส่วนภูมิภาค การไฟฟ้านครหลวง การไฟฟ้าฝ่ายผลิตแห่งประเทศไทย และสำนักงานส่งเสริมการลงทุนได้ร่วมกันออกมาตรการต่าง ๆ เพื่อสนับสนุน ส่งเสริมการผลิตไฟฟ้าจากพลังงานทดแทนให้เพิ่มขึ้นเป็นไปตามแผนที่วางไว้ ทั้งในรูปแบบของการยกเว้นภาษี การสนับสนุนงบประมาณแบบให้เปล่า การสนับสนุนข้อมูล การจัดหาแหล่งเงินทุนดอกเบี้ยต่ำ โดยเฉพาะอย่างยิ่งการเพิ่มอัตราการรับซื้อไฟฟ้าที่ผลิตจากแหล่งพลังงานทดแทน (ปฐมทัศน์, 2553; Cory *et al.*, 2009; Boomsma *et al.*, 2012) มาตรการเหล่านี้ถือเป็นปัจจัยสำคัญในการช่วยลดความเสี่ยงจากต้นทุนที่สูง และความไม่แน่นอนด้านต่าง ๆ ต่อผลตอบแทนในการลงทุนในโครงการพลังงานแสงอาทิตย์ (Mitchell and Connor, 2012) ดังนั้นงานวิจัยนี้จึงมีวัตถุประสงค์เพื่อศึกษาเปรียบเทียบมาตรการสนับสนุนโดยภาครัฐทั้งที่ผ่านมาและที่ใช้ในปัจจุบันที่มีผลต่อผลตอบแทนโครงการพลังงานไฟฟ้าจากพลังงานแสงอาทิตย์ เพื่อเป็นแนวทางในการปรับปรุงมาตรการสนับสนุนโดยภาครัฐให้มีความเหมาะสม เป็นธรรมทั้งต่อผู้ลงทุนในโครงการโรงไฟฟ้าพลังงานแสงอาทิตย์และรัฐบาล

วิธีดำเนินการวิจัย

1. สมมติฐานโรงไฟฟ้าพลังงานแสงอาทิตย์

โรงไฟฟ้าพลังงานแสงอาทิตย์ที่ใช้ในการวิจัยเป็นโรงไฟฟ้าขนาดเล็กมาก (very small power producer, VSPP) ขนาด 1 เมกะวัตต์ ซึ่งอ้างอิงรายละเอียดต่าง ๆ จากงานวิจัยของอรธพล, 2558 ดังตารางที่ 1 โดยพื้นที่ตั้งโรงไฟฟ้าไม่ได้อยู่ในจังหวัดยะลา ปัตตานี นราธิวาส และ 4 อำเภอในจังหวัดสงขลา ได้แก่ อ.จะนะ อ.เทพา อ.สะบ้าย้อย และ อ.นาทวี

ตารางที่ 1 สมมติฐานโรงไฟฟ้าพลังงานแสงอาทิตย์

รายละเอียดสมมติฐานโรงไฟฟ้าพลังงานแสงอาทิตย์ที่ใช้ในการศึกษา	
1. กำลังการผลิต	1 เมกะวัตต์
2. ค่าความเข้มรังสีของดวงอาทิตย์เฉลี่ยทั้งปี	18.455 เมกะจูลต่อตารางเมตร*
3. พลังงานไฟฟ้าที่ผลิตได้	1,845,360 กิโลวัตต์-ชั่วโมง (หน่วย) ต่อปี
4. ระยะเวลาในการสนับสนุนโครงการ	25 ปี
5. อัตราเสื่อมสภาพของเซลล์	0.64 เปอร์เซนต์ต่อปี
6. ต้นทุนก่อสร้าง	76,286,135 บาท
7. ค่าดูแลรักษาอุปกรณ์	444,000 บาทต่อปี
8. ค่าใช้จ่ายดำเนินการ	840,000 บาทต่อปี
9. สัดส่วนหนี้ต่อทุน	75:25
10. อัตราดอกเบี้ยเงินกู้ (MLR-1)	4.5 บาทต่อปี
11. ระยะเวลาชำระเงินกู้	10 ปี
12. อัตราการเพิ่มขึ้นของค่าดูแลรักษาอุปกรณ์ และค่าใช้จ่ายดำเนินการ	3 เปอร์เซนต์ต่อปี
13. รับการสนับสนุนด้านภาษีจาก BOI	ปีที่ 1 - 8 อัตราภาษี 0 เปอร์เซนต์ ปีที่ 9 - 25 อัตราภาษี 30 เปอร์เซนต์
14. อัตราคิดลดเนื่องจากเงินเฟ้อ	3 เปอร์เซนต์

หมายเหตุ: อ้างอิงจากงานวิจัยของอรรถพล (2558) และ Peerapong and Limmeechokchai (2014)

2. ความสัมพันธ์ทางคณิตศาสตร์ของรูปแบบการสนับสนุนพลังงานแสงอาทิตย์

ประเทศไทยได้ออกมาตรการส่งเสริมการรับซื้อไฟฟ้าจากพลังงานหมุนเวียนมาแล้วด้วยกัน 2 รูปแบบ ได้แก่ 1) รูปแบบ Adder และ 2) รูปแบบ FIT (Pita *et al.*, 2015) เพื่อประเมินผลของมาตรการสนับสนุนโดยภาครัฐต่อการผลิตพลังงานไฟฟ้าจากพลังงานแสงอาทิตย์ ดังนั้นต้องทำการสร้างสัมพันธ์ทางคณิตศาสตร์ของรูปแบบการสนับสนุนพลังงานแสงอาทิตย์ทั้ง 2 รูปแบบ ดังนี้

2.1 ความสัมพันธ์ทางคณิตศาสตร์ของรูปแบบ Adder มาตรการส่งเสริมการรับซื้อไฟฟ้าจากพลังงานหมุนเวียนรูปแบบ Adder ได้กำหนดอัตรารับซื้อไฟฟ้าจากพลังงานแสงอาทิตย์สำหรับผู้ผลิตไฟฟ้าพลังงานหมุนเวียนขนาดเล็กมาก (VSPP) ดังตารางที่ 2

ตารางที่ 2 อัตราซื้อไฟฟ้าจากพลังงานแสงอาทิตย์ในรูปแบบ Adder ประกาศใช้ในปี พ.ศ. 2550

กำลังการผลิต (เมกะวัตต์)	อัตราซื้อไฟฟ้า (บาทต่อหน่วย)	ระยะเวลาสนับสนุน (ปี)	อัตราซื้อไฟฟ้าพิเศษ* (บาทต่อหน่วย)
ไม่เกิน 1 เมกะวัตต์	8	10	1.50

หมายเหตุ: * สนับสนุนตลอดอายุโครงการในพื้นที่จังหวัดยะลา ปัตตานี นราธิวาส และ 4 อำเภอในจังหวัดสงขลา ได้แก่ อ.จะนะ อ.เทพา อ.สะบ้าย้อย และ อ.นาทวี

จากมาตรการการสนับสนุนรูปแบบ Adder ปริมาณเงินสนับสนุนแปรผันตรงกับอัตราซื้อไฟฟ้า พลังงานไฟฟ้าที่ผลิตได้ และระยะเวลาสนับสนุน โดยสามารถแสดงความสัมพันธ์ทางคณิตศาสตร์ของปริมาณเงินที่สนับสนุน (Sampim and Kokkaew, 2013) ได้ดังสมการที่ 1

$$S_{Ad} = R_{Ad} \times (Q \times t) \quad (1)$$

โดยที่ S_{Ad} = เงินสนับสนุนโดยรูปแบบ Adder (บาท)
 R_{Ad} = อัตราซื้อไฟฟ้าโดยรูปแบบ Adder (บาทต่อกิโลวัตต์-ชั่วโมง)
 Q = พลังงานไฟฟ้าที่ผลิต (กิโลวัตต์-ชั่วโมง)
 t = ระยะเวลาสนับสนุน (ปี)

2.2 ความสัมพันธ์ทางคณิตศาสตร์ของรูปแบบ FiT ปัจจุบันได้มีการประกาศยกเลิกมาตรการการสนับสนุนรูปแบบ Adder ไปแล้ว เมื่อปี พ.ศ. 2558 โดยเปลี่ยนมาใช้มาตรการการสนับสนุนรูปแบบ FiT ซึ่งมีอัตราซื้อไฟฟ้าจากพลังงานแสงอาทิตย์สำหรับผู้ผลิตไฟฟ้าพลังงานหมุนเวียนขนาดเล็กมาก (very small power producer, VSPP) ดังตารางที่ 3

ตารางที่ 3 อัตราซื้อไฟฟ้าจากพลังงานแสงอาทิตย์ในรูปแบบ FiT ประกาศใช้ในปี พ.ศ. 2558

กำลังการผลิต (เมกะวัตต์)	อัตราซื้อไฟฟ้า (บาทต่อหน่วย)	ระยะเวลา สนับสนุน (ปี)	อัตราซื้อไฟฟ้าพิเศษ* (บาทต่อหน่วย)
ติดตั้งบนพื้นดิน ทุกขนาด	5.66	25	0.50

หมายเหตุ: * สนับสนุนตลอดอายุโครงการในพื้นที่จังหวัดยะลา ปัตตานี นราธิวาส และ 4 อำเภอในจังหวัดสงขลา ได้แก่ อ.จะนะ อ.เทพา อ.สะบ้าย้อย และ อ.นาทวี

จากมาตรการการสนับสนุนรูปแบบ FiT ดังตารางที่ 3 ปริมาณเงินสนับสนุนที่ได้รับแปรผันตรงกับอัตราการสนับสนุน พลังงานไฟฟ้าที่ผลิตได้ และระยะเวลาสนับสนุน โดยสามารถแสดงความสัมพันธ์ทางคณิตศาสตร์ของปริมาณเงินที่สนับสนุน (Sampim and Kokkaew, 2017) ได้ดังสมการที่ 2

$$S_{FIT} = R_{FIT} \times (Q \times t) \quad (2)$$

โดยที่ S_{FIT} = เงินสนับสนุนโดยรูปแบบ FiT (บาท)
 R_{FIT} = อัตราซื้อไฟฟ้าโดยรูปแบบ FiT (บาทต่อกิโลวัตต์-ชั่วโมง)

Q = พลังงานไฟฟ้าที่ผลิต (กิโลวัตต์-ชั่วโมง)

t = ระยะเวลาสนับสนุน (ปี)

3. การวิเคราะห์ผลตอบแทนทางการเงินโครงการโรงไฟฟ้าพลังงานแสงอาทิตย์

ผลตอบแทนทางการเงินของโครงการโรงไฟฟ้าพลังงานแสงอาทิตย์จะเป็นไปตามลักษณะของกระแสเงินสดของโครงการ ซึ่งแบ่งออกเป็นกระแสเงินสดรับ (cash flow in) กับกระแสเงินสดจ่าย (cash flow out) (Tongsopit *et al.*, 2019) ในการศึกษาทำการวิเคราะห์ผลตอบแทนทางการเงินของโครงการด้วยเครื่องมือทางการเงิน ได้แก่ มูลค่าปัจจุบันสุทธิ อัตราผลตอบแทนของโครงการ และระยะเวลาคืนทุน (บดินทร์ และคณะ, 2562)

3.1 มูลค่าปัจจุบันสุทธิ (net present value, NPV) คือ มูลค่าปัจจุบันของกระแสเงินสดของโครงการ สามารถวิเคราะห์มูลค่าปัจจุบันสุทธิได้ดังสมการที่ 3 โดยหากค่ามูลค่าปัจจุบันสุทธิมากกว่าศูนย์ แสดงว่าเป็นโครงการที่สมควรจะดำเนินการเนื่องจากมีผลตอบแทนเมื่อเปรียบเทียบกับปัจจุบันมากกว่าค่าใช้จ่าย แต่ในทางตรงกันข้ามหากมูลค่าปัจจุบันสุทธิมีค่าน้อยกว่าศูนย์ แสดงว่าเป็นโครงการที่ไม่น่าลงทุน เนื่องจากมีผลตอบแทนเมื่อเปรียบเทียบกับ ปัจจุบันน้อยกว่าค่าใช้จ่าย

$$NPV = -C_0 + \sum_{(i=1)}^T \frac{(B_i - C_i)}{(1+r)^i} \quad (3)$$

โดยที่ C_0 = เงินลงทุนเริ่มแรก (บาท)

B = ผลตอบแทนที่เกิดขึ้นในแต่ละปี (บาท)

C = ต้นทุนที่เกิดขึ้นในแต่ละปี (บาท)

r = อัตราคิดลด (ร้อยละ)

T = ระยะเวลาสนับสนุน (ปี)

3.2 อัตราผลตอบแทนของโครงการ (internal rate of return, IRR) คือ อัตราดอกเบี้ยเงินกู้ที่ทำให้มูลค่าปัจจุบันสุทธิ มีค่าเท่ากับศูนย์ สามารถคำนวณได้ดังสมการที่ 4 ดังนั้นอัตราผลตอบแทนของโครงการ จึงได้แก่อัตราดอกเบี้ยที่ทำให้มูลค่าปัจจุบันเท่ากับศูนย์ ซึ่งหากว่าอัตราดอกเบี้ยเงินกู้ ณ สถานการณ์ปัจจุบันสูงกว่าค่าอัตราผลตอบแทนของโครงการที่คำนวณได้ ก็ไม่สมควรที่จะลงทุนโครงการดังกล่าว ในทางตรงกันข้ามหากอัตราดอกเบี้ยเงินกู้ ณ สถานการณ์ปัจจุบันยังต่ำกว่าค่าอัตราผลตอบแทนของโครงการที่คำนวณได้มากเท่าไร แสดงว่าเป็นโครงการที่ให้ผลตอบแทนมากขึ้นตามลำดับ

$$\frac{B}{C} \text{ ratio} = \frac{\sum_{(i=1)}^T \frac{(B_i)}{(1+r)^i}}{\sum_{(i=1)}^T \frac{(C_i)}{(1+r)^i}} \quad (4)$$

โดยที่ B = ผลตอบแทนที่เกิดขึ้นในแต่ละปี (บาท)

C = ต้นทุนที่เกิดขึ้นในแต่ละปี (บาท)

r = อัตราคิดลด (ร้อยละ)

T = ระยะเวลาสนับสนุน (ปี)

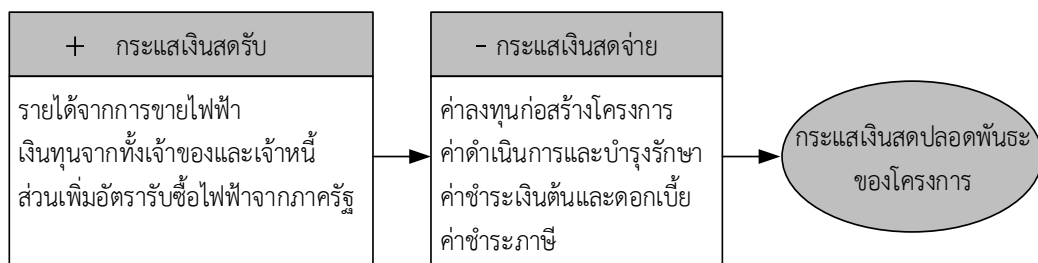
3.3 ระยะเวลาการคืนทุน (pay back period, PB) คือ ระยะเวลาที่รายได้หลังจากหักค่าใช้จ่ายในการดำเนินการ สามารถนำไปชำระเงินที่ใช้ลงทุนในการพัฒนาโครงการได้ครบถ้วน สามารถวิเคราะห์ดังสมการที่ 5 โดยส่วนใหญ่ใช้นับเป็นจำนวนปี โครงการที่มีระยะเวลาคืนทุนสั้นจะเป็นโครงการที่ดีกว่าโครงการที่มีระยะคืนทุนยาว โดยทฤษฎีระยะเวลาคืนทุนจะต้องไม่นานกว่าอายุการใช้งานของโครงการ แต่ในภาคปฏิบัติแล้ว ระยะเวลาคืนทุนของโครงการขนาดใหญ่จะยอมรับกันที่ 7-10 ปี

$$\text{ระยะเวลาคืนทุน} = \frac{\text{เงินลงทุนเริ่มแรก}}{\text{เงินสดเข้าสุทธิต่อปี}} \quad (5)$$

ผลการวิจัย

1. การวิเคราะห์ผลตอบแทนโครงการโรงไฟฟ้าพลังงานแสงอาทิตย์

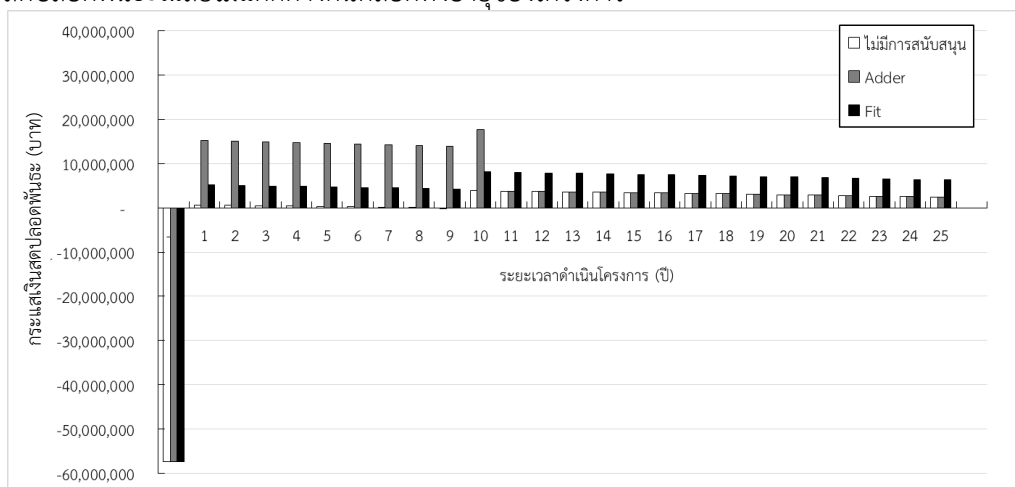
กระแสเงินสดของโครงการโรงไฟฟ้าพลังงานแสงอาทิตย์ประกอบด้วย ส่วนที่ 1 กระแสเงินสดรับ ได้แก่ รายได้จากการขายไฟฟ้า เงินลงทุนส่วนเจ้าของ เงินลงทุนส่วนหนี้สิน ส่วนเพิ่มอัตราซื้อไฟฟ้าจากภาครัฐ และส่วนที่ 2 กระแสเงินสดจ่าย ได้แก่ ค่าลงทุนก่อสร้างโครงการ ค่าดำเนินการและบำรุงรักษา ค่าชำระเงินต้นและดอกเบี้ย และค่าชำระภาษี โดยเมื่อหักลบกระแสเงินสดรับกับกระแสเงินสดจ่ายจะมีค่าเท่ากับกระแสเงินสดอิสระของโครงการ (free cash flow to equity) ดังภาพที่ 1



ภาพที่ 1 กระแสเงินสดของโครงการโรงไฟฟ้าพลังงานแสงอาทิตย์

การวิเคราะห์กระแสเงินสดปลอดพันธะของโครงการโรงไฟฟ้าพลังงานแสงอาทิตย์ที่ไม่ได้รับการสนับสนุนจากภาครัฐ พบว่าโครงการมีกระแสเงินสดอิสระเข้าโครงการต่ำมีความเสี่ยงสูงต่อการดำเนินโครงการขาดทุน เมื่อเปรียบเทียบกับมาตรการสนับสนุนโดยภาครัฐทั้งรูปแบบ Adder และ FiT พบว่าในช่วงปีที่ 1 ถึงปีที่ 10 กระแสเงินสดปลอดพันธะของโครงการภายใต้มาตรการสนับสนุนรูปแบบ Adder มีค่าสูงกว่ามาตรการสนับสนุนรูปแบบ FiT แต่เมื่อสิ้นสุดระยะเวลาสนับสนุนในรูปแบบ Adder ในปีที่ 11 กระแสเงินสดปลอดพันธะของโครงการภายใต้มาตรการสนับสนุนรูปแบบ FiT จะกลับมามีค่าสูงกว่ามาตรการสนับสนุนรูปแบบ Adder จนสิ้นสุดโครงการ

ดังภาพที่ 2 ดังนั้นจะเห็นได้ว่ามาตรการสนับสนุนรูปแบบ Adder จะส่งผลให้โครงการมีกระแสเงินสดตลอดพันธะสูงใน 10 ปีแรก แต่มาตรการสนับสนุนรูปแบบ FiT จะส่งผลให้โครงการมีกระแสเงินสดตลอดพันธะเฉลี่ยไม่แตกต่างกันตลอดทั้งอายุของโครงการ



ภาพที่ 2 กระแสเงินสดตลอดพันธะของโครงการโรงไฟฟ้าพลังงานแสงอาทิตย์ ในกรณีไม่รับการสนับสนุนและกรณีรับการสนับสนุนจากมาตรการ Adder และ FiT

จากการนำรายได้สุทธิมาวิเคราะห์ผลตอบแทนโครงการโรงไฟฟ้าพลังงานแสงอาทิตย์ ด้วยเครื่องมือทางการเงิน ได้แก่ มูลค่าปัจจุบันสุทธิ อัตราผลตอบแทนภายใน และระยะเวลาคืนทุน ดังตารางที่ 3 พบว่าโครงการโรงไฟฟ้าพลังงานแสงอาทิตย์ไม่สามารถดำเนินการโดยไม่รับการสนับสนุนจากภาครัฐได้เนื่องจากมูลค่าปัจจุบันสุทธิของโครงการมีค่าเป็นลบ (ธนาพล, 2558) เมื่อโครงการได้รับการสนับสนุนจากภาครัฐส่งผลให้มูลค่าปัจจุบันสุทธิเป็นบวก โดยโครงการภายใต้มาตรการสนับสนุนรูปแบบ Adder มีมูลค่าปัจจุบัน อัตราผลตอบแทนภายใน และระยะเวลาคืนทุน เท่ากับ 62,201,021 บาท 24 เปอร์เซ็นต์ และ 3 ปี 1 เดือน ตามลำดับ ซึ่งผลตอบแทนสูงกว่ามาตรการสนับสนุนรูปแบบ FiT ที่มีมูลค่าปัจจุบัน อัตราผลตอบแทนภายใน และระยะเวลาคืนทุน เท่ากับ 10,767,026 บาท 9 เปอร์เซ็นต์ และ 10 ปี 1 เดือน

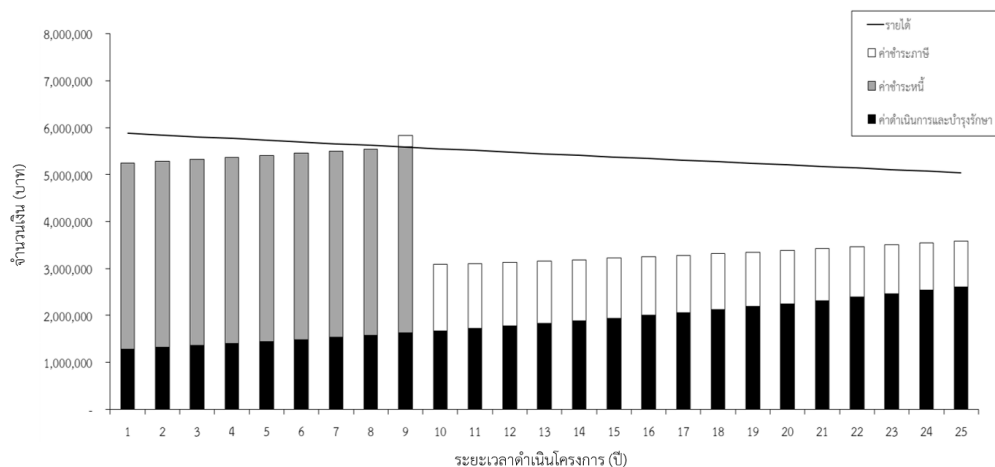
ตารางที่ 3 การวิเคราะห์ผลตอบแทนโครงการโรงไฟฟ้าพลังงานแสงอาทิตย์

รูปแบบมาตรการ	มูลค่าปัจจุบันสุทธิ* (NPV) (บาท)	อัตราผลตอบแทนภายใน (IRR) (เปอร์เซ็นต์)	ระยะเวลาคืนทุน (PB) (ปี)
ไม่มีการสนับสนุน	-35,741,392	-	-
รูปแบบ Adder	62,201,021	24	3 ปี 1 เดือน
รูปแบบ FiT	10,767,026	9	10 ปี 1 เดือน

หมายเหตุ: * อัตราคิดลดในการคำนวณมูลค่าปัจจุบันสุทธิ เท่ากับ 7 เปอร์เซ็นต์ (พวงทอง, 2561)

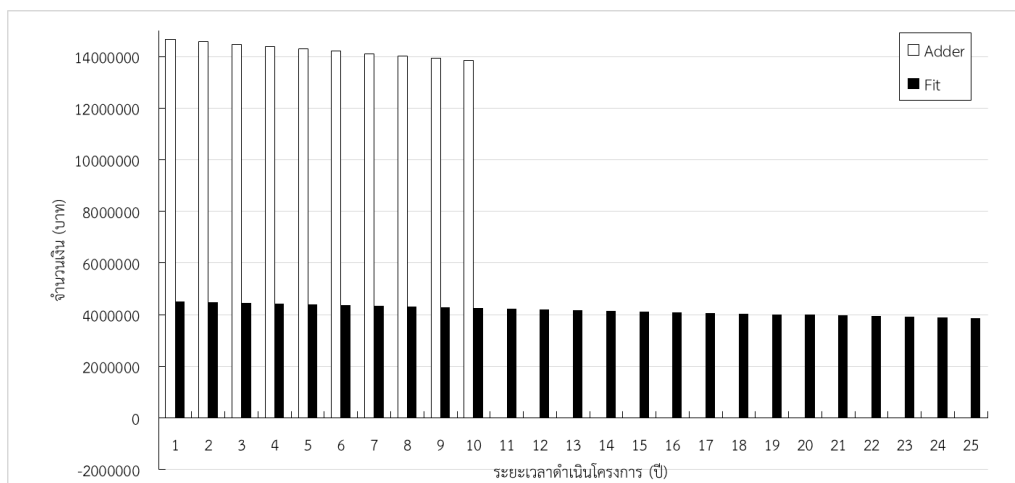
2. การวิเคราะห์รูปแบบมาตรการการสนับสนุนโดยภาครัฐต่อการจัดการความเสี่ยงของโครงการ

ทำการวิเคราะห์ความเสี่ยงที่ส่งผลให้โครงการโรงไฟฟ้าพลังงานแสงอาทิตย์มีมูลค่าปัจจุบันสุทธิเป็นลบ โดยพิจารณากระแสเงินสดไหลออกของโครงการซึ่งประกอบด้วย ค่าชำระภาษี ค่าชำระหนี้ และค่าดำเนินการและบำรุงรักษา พบว่าในช่วงปีที่ 1-9 ของโครงการจะมีความเสี่ยงสูงเนื่องจากค่าชำระหนี้มีค่าสูง อย่างไรก็ตามรัฐบาลได้ออกมาตรการทางภาษีเพื่อพยายามลดความเสี่ยงดังกล่าว โดยการงดเว้นภาษีในช่วง 8 ปีแรก แต่พบว่ายังไม่เพียงพอที่จะทำให้ผลตอบแทนโครงการโรงไฟฟ้าพลังงานแสงอาทิตย์เป็นบวก โดยเฉพาะเมื่อพิจารณาในปีที่ 9 พบว่าผลดำเนินการของโครงการมีรายจ่ายมากกว่ารายได้ ส่งผลให้โครงการประสบปัญหาการขาดทุน ดังภาพที่ 3 ดังนั้นจึงสรุปได้ว่าการดำเนินการของโครงการโรงไฟฟ้าพลังงานแสงอาทิตย์ในช่วงแรกจะมีความเสี่ยงสูงกว่าช่วงหลังเนื่องจากภาระการชำระหนี้สินของเงินลงทุนโครงการ



ภาพที่ 3 กระแสเงินสดรับและจ่ายโครงการโรงไฟฟ้าพลังงานแสงอาทิตย์

การวิเคราะห์รูปแบบมาตรการการสนับสนุนโดยภาครัฐ พบว่ามาตรการสนับสนุนรูปแบบ Adder จะสนับสนุนเงินปริมาณสูงมากเฉลี่ยประมาณ 14 ล้านบาทต่อปี โดยจะสนับสนุนเป็นเวลา 10 ปี ซึ่งต่างจากมาตรการสนับสนุนรูปแบบ FiT ที่สนับสนุนเงินเฉลี่ยประมาณ 4 ล้านบาทต่อปี โดยสนับสนุนตลอดระยะเวลา 25 ปี ที่โครงการดำเนินการ ดังภาพที่ 4 จะเห็นได้ว่ามาตรการสนับสนุนรูปแบบ Adder มีรูปแบบการสนับสนุนเงินได้สอดคล้องกับความเสี่ยงโครงการมากกว่ามาตรการสนับสนุนรูปแบบ FiT โดยเน้นการสนับสนุนในช่วงแรกของโครงการซึ่งมีความเสี่ยงสูงกว่าช่วงหลังดังที่กล่าวไปแล้วนั้น ซึ่งสัมพันธ์กับผลตอบแทนโครงการที่พบว่ามาตรการสนับสนุนรูปแบบ Adder ให้ผลตอบแทนต่อโครงการสูงกว่ามาตรการสนับสนุนรูปแบบ FiT



ภาพที่ 4 จำนวนเงินที่ใช้สนับสนุนโครงการภายใต้รูปแบบมาตรการการสนับสนุน Adder และ Fit

3. การวิเคราะห์ต้นทุนและความคุ้มค่าของมาตรการการสนับสนุนโดยภาครัฐ

จากการวิเคราะห์ผลตอบแทนโครงการ และรูปแบบการจ่ายเงินสนับสนุนโครงการ โรงไฟฟ้าพลังงานแสงอาทิตย์สามารถสรุปได้ว่ามาตรการสนับสนุนรูปแบบ Adder ส่งผลต่อผลตอบแทนของโครงการสูงกว่ามาตรการสนับสนุนรูปแบบ Fit อย่างไรก็ตามผลการวิเคราะห์ที่ได้เป็นเพียงแค่การคิดผลได้ โดยยังไม่ได้คำนึงถึงต้นทุนของรัฐบาลที่สูญเสียไปกับการสนับสนุนโครงการ ดังนั้นจึงต้องทำการวิเคราะห์ต้นทุนเพื่อเปรียบเทียบความคุ้มค่าของมาตรการการสนับสนุนโดยภาครัฐด้วย

การวิเคราะห์ต้นทุนและความคุ้มค่าของมาตรการการสนับสนุนโดยภาครัฐ พบว่ามาตรการสนับสนุนรูปแบบ Adder ใช้เงินสนับสนุนคิดเป็นมูลค่าปัจจุบันสุทธิในการสนับสนุนโดยภาครัฐต่อโรงไฟฟ้าพลังงานแสงอาทิตย์ 1 เมกะวัตต์ เท่ากับ 121,748,013.48 บาท ในขณะที่มาตรการสนับสนุนรูปแบบ Fit ใช้เงินสนับสนุนคิดเป็นมูลค่าปัจจุบันสุทธิในการสนับสนุนโดยภาครัฐต่อโรงไฟฟ้าพลังงานแสงอาทิตย์ 1 เมกะวัตต์ เท่ากับ 73,495,017.79 บาท ดังตาราง 4 ดังนั้นหากมองในมุมของรัฐบาลพบว่ามาตรการสนับสนุนรูปแบบ Fit กลับมีความคุ้มค่ามากกว่ามาตรการสนับสนุนรูปแบบ Adder เนื่องจากไม่เพียงแต่ใช้เงินสนับสนุนน้อยกว่าเท่านั้น แต่ยังสามารถสร้างผลตอบแทนที่คุ้มค่าแก่การลงทุนในโครงการโรงไฟฟ้าพลังงานแสงอาทิตย์

ตารางที่ 4 มูลค่าปัจจุบันสุทธิในการสนับสนุนโดยภาครัฐต่อโรงไฟฟ้าพลังงานแสงอาทิตย์ ขนาด 1 เมกะวัตต์

รูปแบบมาตรการ	มูลค่าปัจจุบันสุทธิในการสนับสนุนโดยภาครัฐต่อโรงไฟฟ้าพลังงานแสงอาทิตย์ ขนาด 1 เมกะวัตต์ (บาท)
ไม่มีการสนับสนุน	-
รูปแบบ Adder	121,748,013
รูปแบบ FIT	73,495,017

อภิปรายผลการวิจัย

จากผลการวิจัย หากไม่มีมาตรการสนับสนุนส่วนเพิ่มอัตราซื้อไฟฟ้าจากภาครัฐ โครงการโรงไฟฟ้าพลังงานแสงอาทิตย์จะมีมูลค่าปัจจุบันสุทธิเป็นลบ ซึ่งสอดคล้องกับงานวิจัยของ ธนาพล (2558) คือโครงการจะประสบปัญหาการขาดทุน ส่งผลให้ไม่สามารถดึงดูดนักลงทุนให้มาลงทุนในโครงการโรงไฟฟ้าพลังงานแสงอาทิตย์ ดังนั้นเพื่อให้ปริมาณไฟฟ้าที่ผลิตจากพลังงานแสงอาทิตย์เป็นไปตามเป้าหมายที่กำหนดไว้ รัฐบาลจึงจำเป็นต้องออกมาตรการสนับสนุนในช่วงเริ่มต้นเนื่องจากเทคโนโลยีที่ใช้อยังมีราคาสูง

รัฐบาลเริ่มต้นออกนโยบายเพื่อกระตุ้นการลงทุนในโครงการโรงไฟฟ้าพลังงานแสงอาทิตย์ โดยออกมาตรการสนับสนุนรูปแบบ Adder แม้ว่ามาตรการสนับสนุนรูปแบบ Adder จะช่วยเพิ่มผลตอบแทนเป็นอย่างมากให้แก่โครงการก็ตาม แต่ก็เป็นการเพิ่มภาระการจ่ายเงินในการสนับสนุนในปริมาณที่สูงมากเช่นกัน จนถือได้ว่ารัฐบาลกำลังสนับสนุนโครงการมากเกินไปจนเกินความจำเป็น

จากสาเหตุดังกล่าวรัฐบาลจึงได้ปรับนโยบายโดยเปลี่ยนมาใช้มาตรการสนับสนุนรูปแบบ FIT ซึ่งสามารถลดภาระในการสนับสนุนโดยที่โครงการยังคงดำเนินการได้อย่างมีผลกำไร จะเห็นได้ว่ามาตรการสนับสนุนรูปแบบ FIT มีความเป็นธรรมต่อทั้งโครงการและรัฐบาลกว่ามาตรการสนับสนุนรูปแบบ Adder นอกจากนี้แล้วมาตรการสนับสนุนรูปแบบ FIT ยังเปิดให้มีการยื่นอัตราราคาซื้อไฟฟ้าจากโครงการ โดยรัฐบาลจะรับซื้อไฟฟ้าจากโครงการที่ยื่นอัตรารับซื้อไฟฟ้าที่ต่ำกว่าก่อน ซึ่งกลไกดังกล่าวเป็นส่งเสริมให้เกิดการแข่งขันในตลาด ซึ่งจะส่งผลให้ต้นทุนในการผลิตไฟฟ้าจากพลังงานแสงอาทิตย์ในอนาคตลดลง จนรัฐบาลอาจไม่ต้องแบกรับภาระสนับสนุนต่อไปในอนาคต

อย่างไรก็ตามมาตรการสนับสนุนรูปแบบ FIT ยังมีข้อจำกัดที่สำคัญ เนื่องจากหลักการสนับสนุนเงินแก่โครงการควรมีรูปแบบการจ่ายเงินที่สัมพันธ์กับความเสี่ยงที่เกิดขึ้นจริง กล่าวคือถ้าช่วงใดโครงการมีความเสี่ยงสูงรัฐบาลควรสนับสนุนเงินในปริมาณมาก ในทางตรงข้ามถ้าหากช่วงใดโครงการไม่มีความเสี่ยงรัฐบาลควรลดการสนับสนุนเงินในช่วงเวลานั้น แต่มาตรการสนับสนุนรูปแบบ FIT จะสนับสนุนเงินตามปริมาณไฟฟ้าที่ผลิตซึ่งมีค่าคงที่ตามสัญญาซื้อขายไฟฟ้ากับการไฟฟ้าฝ่ายผลิตแห่งประเทศไทย ดังนั้นแนวทางในการออกแบบนโยบายในอนาคต รัฐบาลควรคำนึงถึงความเสี่ยงที่เกิดขึ้นจริงของโครงการ ซึ่งความเสี่ยงของพลังงานทดแทน อาทิเช่น พลังงานชีวมวล พลังงานลม พลังงานแสงอาทิตย์ จะมีรูปแบบที่ต่างกัน หากรัฐบาลสามารถสนับสนุนเงินแก่โครงการโดยสัมพันธ์กับความเสี่ยงที่เกิดขึ้นจริงของพลังงานทดแทนแต่ละประเภทได้ จะเป็นการพัฒนารูปแบบการ

สนับสนุนโครงการโรงไฟฟ้าจากพลังงานทดแทนได้สมบูรณ์ยิ่งขึ้น (Sampim and Kokkaew, 2017; Tongsopit, 2015)

สรุปผลการวิจัย

ผลตอบแทนของโครงการโรงไฟฟ้าพลังงานแสงอาทิตย์ ในกรณีไม่รับการสนับสนุนจากภาครัฐ มีมูลค่าปัจจุบันสุทธิ เท่ากับ -35,741,392 บาท โดยเฉพาะในปีที่ 9 พบว่าผลดำเนินการของโครงการประสบปัญหาขาดทุน ในกรณีที่รัฐใช้มาตรการสนับสนุนรูปแบบ Adder ที่ยกเลิกไปแล้ว ผลตอบแทนของโครงการโรงไฟฟ้าพลังงานแสงอาทิตย์ มีมูลค่าปัจจุบันสุทธิ เท่ากับ 62,201,021 บาท มีอัตราผลตอบแทนภายใน เท่ากับ 24 เปอร์เซ็นต์ และมีระยะเวลาคืนทุน เท่ากับ 3 ปี 1 เดือน โดยใช้เงินสนับสนุนจากรัฐบาลตลอดโครงการเป็นจำนวน 121,748,013 บาท ในกรณีที่รัฐใช้มาตรการสนับสนุนรูปแบบ FiT ในปัจจุบัน ผลตอบแทนของโครงการโรงไฟฟ้าพลังงานแสงอาทิตย์ มีมูลค่าปัจจุบันสุทธิ เท่ากับ 10,767,026 บาท มีอัตราผลตอบแทนภายใน เท่ากับ 9 เปอร์เซ็นต์ และมีระยะเวลาคืนทุน เท่ากับ 10 ปี 1 เดือน โดยใช้เงินสนับสนุนจากรัฐบาลตลอดโครงการเป็นจำนวน 73,495,017 บาท การเปลี่ยนมาตรการสนับสนุนจากรูปแบบ Adder เป็นรูปแบบ FiT สามารถลดภาระการใช้จ่ายภาษีของส่วนรวมในการสนับสนุนโครงการพลังงานทดแทนของรัฐบาลลดลงประมาณ 50 เปอร์เซ็นต์ และแม้ว่าจะทำให้ผลตอบแทนของโครงการลดลงไปด้วยแต่ก็ไม่ส่งผลให้โครงการมีมูลค่าปัจจุบันสุทธิเป็นลบหรือขาดทุนแต่อย่างใด ถือได้ว่ามาตรการสนับสนุนรูปแบบ FiT ช่วยสร้างความเป็นธรรมในการการรับซื้อไฟฟ้าจากแหล่งพลังงานทดแทนได้ดีขึ้น

ข้อเสนอแนะ

การศึกษานี้ใช้แบบจำลองทางการเงินของโครงการโรงไฟฟ้าพลังงานแสงอาทิตย์ที่เป็นข้อมูลหุติยภูมิ หากมีการศึกษาครั้งต่อไปควรรวบรวมข้อมูลที่เป็นปฐมภูมิเพื่อทราบถึงสถานการณ์จริงในการดำเนินงานโครงการโรงไฟฟ้าพลังงานแสงอาทิตย์ในประเทศไทย

กิตติกรรมประกาศ

ขอขอบคุณมหาวิทยาลัยราชภัฏนครศรีธรรมราชในการสนับสนุนทรัพยากรต่าง ๆ ในการทำงานวิจัยจนสำเร็จไปได้ด้วยดี

เอกสารอ้างอิง

- กรมพัฒนาพลังงานทดแทนและอนุรักษ์พลังงาน. (2558). แผนพัฒนาพลังงานทดแทนและพลังงานทางเลือก พ.ศ. 2558-2579 (AEDP2015). สืบค้นเมื่อ 5 เมษายน 2563, จาก: <http://www.eppo.go.th/index.php/th/plan-policy/tieb/aedp>.
- กรมพัฒนาพลังงานทดแทนและอนุรักษ์พลังงาน. (2561). รายงานสถานการณ์การผลิตไฟฟ้าจากพลังงานแสงอาทิตย์ของประเทศไทย พ.ศ. 2559-2560. สืบค้นเมื่อ 16 เมษายน 2563, จาก: <http://webkc.dede.go.th/testmax/sites/default/files/Book%20TPSR%20THAI.pdf>.

- กระทรวงพลังงาน. (2558). แผนปฏิบัติการพัฒนาพลังงานทดแทนและพลังงานทางเลือก พ.ศ. 2558-2579. สืบค้นเมื่อ 5 เมษายน 2563, จาก: https://www.dede.go.th/download/files/AEDP%20Action%20Plan_Final.pdf.
- ชาณิกา ปัญพทุธานนท์ และรัตพงษ์ สอนสุภาพ. (2559). ปัญหาและอุปสรรคของการพัฒนาพลังงานไฟฟ้าจากแสงอาทิตย์ในประเทศไทย. *วารสารวิจัยและพัฒนา วไลยอลงกรณ์ ในพระบรมราชูปถัมภ์*, 11(3), 11-20.
- ธนาพล ตันติสตัยกุล. (2558). การประเมินมาตรการสนับสนุนทางการเงินสำหรับระบบผลิตไฟฟ้าพลังงานแสงอาทิตย์บนหลังคาที่พักอาศัยในประเทศไทย. *วารสารวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยี*, 23(4), 605-621.
- บดินทร์ เสนานนท์ ภัฏญานัฐ ทองเทพ กมล จิรเสรีอมรกุล วันจักรี เล่นวารี เสริมสุข บัวเจริญ และ ยิ่งรักษ์ อรรถเวชกุล. (2562). การวิเคราะห์เศรษฐศาสตร์โรงไฟฟ้าพลังงานแสงอาทิตย์ 8 เมกะวัตต์ ระหว่างการติดตั้งแบบระบบคงที่กับแบบระบบติดตามดวงอาทิตย์ในประเทศไทย. *วารสารวิชาการมหาวิทยาลัยราชภัฏอุตรดิตถ์*, 14(2), 1-19.
- ปฐมทัศน์ จิระเดชะ. (2553). การพัฒนาพลังงานหมุนเวียนเพื่อการผลิตไฟฟ้าในประเทศไทย. *วารสารมหาวิทยาลัยศรีนครินทรวิโรฒ (สาขาวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยี)*, 4(2), 10-24.
- พวงทอง วัชรราชกูร์ วราภรณ์ สิงห์แก้วสืบ และสายนที ทรัพย์มี. (2562). การวิเคราะห์ต้นทุนและผลตอบแทนโครงการลงทุนผลิตกระแสไฟฟ้าจากเซลล์แสงอาทิตย์. *วารสารมหาวิทยาลัยราชภัฏลำปาง* 7(2), 89-100.
- สำนักงานนโยบายและแผนพลังงาน. (2562). แผนพัฒนากำลังผลิตไฟฟ้าของประเทศไทย พ.ศ. 2561-2580 (PDP2018). สืบค้นเมื่อ 5 เมษายน 2563, จาก: http://www.eppo.go.th/images/Information_service/public_relations/PDP2018/PDP2018.pdf.
- อรรถพล เทวพัฒนรัตน์. (2558). การศึกษาความเป็นไปได้ในการลงทุนโรงไฟฟ้าพลังงานแสงอาทิตย์ ขนาด 1 เมกะวัตต์. วิทยานิพนธ์เศรษฐศาสตรมหาบัณฑิต. มหาวิทยาลัยธุรกิจบัณฑิต, กรุงเทพมหานคร.
- Boomsma, T.K., Meade, N. and Fleten, S.E. (2012). Renewable energy investments under different support schemes: A real options approach. *European Journal of Operational Research*, 220(1), 225-237.
- Cory, K., Couture, T. and Kreyci, C. (2009). Feed-In Tariff policy: design, implementation, and RPS policy interactions. *National Renewable Energy Laboratory's Technical Report*. Colorado.
- Chaichana, P., Womgsapai, W., Damrongsak, D., Keiichi, K. and Luangchosiri, N. (2017). Promoting community renewable energy as a tool for sustainable development in rural areas of Thailand. *Energy Procedia*, 141, 114-118.
- Chimres, N. and Wongwises, S. (2016). Critical review of the current status of solar energy in Thailand. *Renewable and Sustainable Energy Reviews*, 58, 198-207.

- Mitchell, C. and Connor, P. (2012). Renewable energy policy in the UK 1990-2003. *Energy Policy*, 32, 1935-1947.
- Peerapong, P. and Limmeechokchai, B. (2014). Investment incentive of grid connected solar photovoltaic power plant under proposed feed-in tariffs framework in Thailand. *Energy Procedia*, 52, 179-189.
- Pita, P., Tia, W., Suksuntornsiri, P., Limpitipanick, P. and Limmeechokchai, B. (2015). Assessment of feed-in policy in Thailand: Impacts on national electricity prices. *Energy Procedia*, 79, 584-589.
- Sampim, T. and Kokkaew, N. (2013). Modelling of government support in biopower plant projects: The case of Thailand. *Energy Procedia*, 52, 525-535.
- Sampim, T. and Kokkaew, N. (2017). Risk management in biomass power plants using fuel switching flexibility. *Energy Procedia*, 138, 1099-1104.
- Tongsopit, S. (2015). Thailand's feed-in tariff for residential rooftop solar PV systems: Progress so far. *Energy for Sustainable Development*, 29, 127-134.
- Tongsopit, S., Junlakarn, S., Wibulpolprasert, W., Chaianong, A., Kokchang, P. and Nghia, V.H. (2019). The economics of solar PV self-consumption in Thailand. *Renewable Energy*, 138, 395-408.

คำแนะนำในการเตรียมต้นฉบับสำหรับผู้เขียน เพื่อตีพิมพ์ในวารสารวิชา มหาวิทยาลัยราชภัฏนครศรีธรรมราช

วารสารวิชา เป็นวารสารวิชาการของมหาวิทยาลัยราชภัฏนครศรีธรรมราช ซึ่งขอบเขตของบทความวิจัย/บทความวิชาการที่ลงตีพิมพ์ในวารสารวิชา (สาขาวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยี) ประกอบด้วย ด้านวิทยาศาสตร์กายภาพ วิทยาศาสตร์ชีวภาพ วิทยาศาสตร์ประยุกต์ เทคโนโลยีอุตสาหกรรม และวิศวกรรมศาสตร์ ซึ่งมีกำหนดตีพิมพ์ปีละ 2 ฉบับ คือ ฉบับที่ 1 ในเดือนมกราคม-มิถุนายน และฉบับที่ 2 ในเดือนกรกฎาคม-ธันวาคม วารสารวิชามีวัตถุประสงค์เพื่อตีพิมพ์เผยแพร่ 1) บทความวิจัย (research article) 2) บทความวิชาการหรือบทความปริทัศน์ (review article) และ 3) บทความวิจารณ์หนังสือ (book review) ของคณาจารย์และนักศึกษาทั้งภายในมหาวิทยาลัยราชภัฏนครศรีธรรมราช และผู้เขียนภายนอก นักวิชาการทั่วไป และปราชญ์ชาวบ้าน

ผลงานที่ได้รับการพิจารณาลงตีพิมพ์ในวารสารวิชา “ต้องไม่เคยตีพิมพ์เผยแพร่ที่ไหนมาก่อน” พร้อมทั้งได้รับการพิจารณาจากผู้ประเมินอิสระ (peer review) ในสาขาที่เกี่ยวข้องและได้รับความเห็นชอบจากกองบรรณาธิการ ทั้งนี้ บทความอาจถูกดัดแปลง แก้ไขคำ สำนวน รูปแบบการอ้างอิง รูปแบบการนำเสนอ และอื่น ๆ (ซึ่งไม่เกี่ยวกับเนื้อหาหรือสาระสำคัญ) ตามที่กองบรรณาธิการเห็นสมควร และผู้เขียนต้องรับผิดชอบในเนื้อหาของบทความ โดยกองบรรณาธิการวารสารวิชา และมหาวิทยาลัยราชภัฏนครศรีธรรมราช ไม่จำเป็นต้องรับผิดชอบใด ๆ

การเตรียมต้นฉบับ

1. ต้นฉบับ

- พิมพ์เป็นภาษาไทยหรือภาษาอังกฤษก็ได้
- การใช้ภาษาไทยให้ยึดหลักการใช้คำศัพท์และการเขียนทับศัพท์ภาษาอังกฤษตามหลักของราชบัณฑิตยสถาน ควรหลีกเลี่ยงการเขียนภาษาอังกฤษปนกับภาษาไทยในข้อความ ยกเว้นกรณีจำเป็น เช่น ศัพท์ทางวิชาการที่ไม่มีคำแปลหรือคำที่ใช้แล้วทำให้เข้าใจง่ายขึ้น คำศัพท์ภาษาอังกฤษที่เขียนปนภาษาไทยให้ใช้ตัวเล็กทั้งหมด ยกเว้นชื่อเฉพาะ
- สำหรับต้นฉบับภาษาอังกฤษควรได้รับการตรวจสอบความถูกต้องด้านการใช้ภาษาจากผู้เชี่ยวชาญด้านภาษาเป็นเบื้องต้นก่อน
- ความยาวของบทความไม่ควรเกิน 15 หน้า รวมตาราง ภาพและเอกสารอ้างอิง ควรระบุเลขหน้าให้ชัดเจนและจัดให้อยู่ในรูปแบบเดียวกันทั้งฉบับ

2. รายละเอียดตัวอักษรและรูปแบบการพิมพ์

- จัดพิมพ์ด้วยโปรแกรม Microsoft Word ขนาดของต้นฉบับใช้กระดาษขนาด Executive (18.41 × 26.67 เซนติเมตร)
- ตั้งค่าน้ำกระดาษสำหรับการพิมพ์

ด้านบน 2.5 เซนติเมตร	ด้านล่าง 2.5 เซนติเมตร
ด้านซ้าย 2.3 เซนติเมตร	ด้านขวา 2.5 เซนติเมตร
- พิมพ์คอลัมน์เดียวกระจายเต็มบรรทัด
- ตัวอักษร TH Sarabun PSK ขนาดตัวอักษร 15
- ควรตั้งค่ากำหนดเลขบรรทัดไว้ด้านซ้าย

3. ส่วนประกอบในบทความ

3.1 บทความวิจัย เป็นการนำเสนอผลงานวิจัยที่เสร็จสมบูรณ์แล้วซึ่งผู้เขียนได้ดำเนินการด้วยตนเอง

3.1.1 ส่วนประกอบตอนต้น

- ชื่อเรื่อง (title) ควรสั้น กระชับ ไม่ยาวจนเกินไป ให้เขียนชื่อเรื่องเป็นภาษาไทยก่อนแล้วตามด้วยภาษาอังกฤษในบรรทัดถัดไป
- ชื่อผู้เขียนบทความ (authors and co-authors) ให้ระบุชื่อเต็ม-นามสกุลเต็มทั้งภาษาไทยและภาษาอังกฤษ สำหรับภาษาอังกฤษใช้อักษรตัวพิมพ์ใหญ่เฉพาะอักษรตัวแรกของชื่อตัวและนามสกุล ถ้ามีผู้วิจัยหลายคนให้ใส่ลำดับเลข พร้อมระบุที่อยู่ที่สามารถติดต่อได้ และชื่อหน่วยงานของผู้วิจัยที่ส่วนล่างของหน้าแรก และให้ใส่เครื่องหมายดอกจัน (*) ที่ตำแหน่งผู้ประสานงานหลัก (corresponding author) พร้อมทั้งระบุอีเมลสำหรับติดต่อ (e-mail: address)
- บทคัดย่อ (abstract) ให้มีทั้งภาษาไทยและภาษาอังกฤษ ความยาวไม่เกินอย่างละ 300 คำ บทคัดย่อที่เขียนควรสั้น ตรงประเด็น และให้สาระสำคัญเท่านั้น โดยเรียงลำดับบทคัดย่อภาษาไทยก่อนตามด้วยบทคัดย่อภาษาอังกฤษ
- คำสำคัญ (keywords) ให้ใช้คำที่ปรากฏอยู่ในเนื้อเรื่องซึ่งเป็นตัวแทนบอกวิธีการวิจัย ประเด็นที่วิจัย ผลการวิจัย การใช้ประโยชน์หรือสถานที่ที่ทำวิจัย คำสำคัญนี้ให้เขียนทั้งในภาษาไทยและภาษาอังกฤษ ในตอนท้ายบทคัดย่อของแต่ละภาษาอย่างละไม่เกิน 5 คำ

3.1.2 เนื้อหาในบทความวิจัย ให้มีองค์ประกอบดังนี้

- บทนำ (introduction) อธิบายถึงที่มา ความสำคัญของปัญหา และเหตุผลที่นำไปสู่การศึกษาวิจัย ให้ข้อมูลทางวิชาการที่มีการตรวจสอบเอกสาร (literature review) โดยระบุถึงแหล่งที่มาของข้อมูล (อ้างอิง) และจุดมุ่งหมายที่เกี่ยวข้อง รวมทั้งวัตถุประสงค์ของการวิจัย
- วิธีดำเนินการวิจัย (research methods) อธิบายกระบวนการดำเนินการวิจัย โดยบอกรายละเอียดวัสดุ วิธีการศึกษา สิ่งที่มาศึกษา จำนวน ลักษณะเฉพาะของตัวอย่างที่ศึกษา ตลอดจนเครื่องมือและอุปกรณ์ต่าง ๆ ที่ใช้ในการศึกษา อธิบายแบบแผนการวิจัย การสุ่มตัวอย่าง วิธีการเก็บข้อมูล การวิเคราะห์ข้อมูล และสถิติที่ใช้ทดสอบสมมติฐาน

- ผลการวิจัย (results) และหรือการอภิปรายผลการวิจัย (discussion)

ผลการวิจัย รายงานผลการวิจัยให้ได้ใจความชัดเจนและตรงประเด็น โดยยึดแนวทางตามวัตถุประสงค์เป็นหลัก ควรอธิบายผลการวิจัยด้วยคำบรรยายเป็นหลัก แต่ถ้ามีตัวเลขหรือตัวแปรมากควรนำเสนอเป็นภาพและตาราง แทรกในเนื้อหา พร้อมอธิบายผลการวิจัยให้ได้สาระครบถ้วน

- การอภิปรายผลการวิจัย (discussion) เป็นการชี้แจงผลการวิจัยว่าตรงกับวัตถุประสงค์/สมมติฐานของการวิจัย สอดคล้องหรือขัดแย้งกับผลการวิจัยของผู้อื่นที่มีอยู่ก่อนหรือไม่ อย่างไร เหตุผลใดจึงเป็นเช่นนั้น และให้จบด้วยข้อเสนอแนะที่จะนำผลงานวิจัยไปใช้ประโยชน์ หรือทิ้งประเด็นคำถามการวิจัย ซึ่งเป็นแนวทางสำหรับการวิจัยต่อไป

- สรุปผลการวิจัย (conclusion) สรุปผลการวิจัยให้ได้ใจความชัดเจนและตรงประเด็น

- ข้อเสนอแนะ (suggestion) (ถ้ามี)

- กิตติกรรมประกาศ (acknowledgements) ให้ระบุว่าการวิจัยนี้ได้รับทุนสนับสนุนหรือความช่วยเหลือจากองค์กรใด และบุคคลใดบ้าง

- เอกสารอ้างอิง (references) ให้ระบุเฉพาะเอกสารที่ผู้เขียนบทความได้นำมาอ้างอิงในบทความวิจัยอย่างครบถ้วน โดยระบุรายละเอียดและใช้รูปแบบการเขียนที่ถูกต้องครบถ้วน (ตามข้อ 4) จัดเรียงลำดับตามตัวอักษร โดยเรียงเอกสารภาษาไทยก่อนและตามด้วยเอกสารภาษาอังกฤษ

3.2 บทความทางวิชาการ เป็นบทความที่ผู้เขียนได้เรียบเรียงโดยศึกษาค้นคว้าจากเอกสาร งานแปล และผลงานจากประสบการณ์ของผู้เขียนหรือได้รับการถ่ายทอดจากผู้อื่น มีวัตถุประสงค์เพื่อเผยแพร่ความรู้ องค์ความรู้ การเสนอความคิดเห็นที่มีคุณค่าและเป็นประโยชน์ทางวิชาการของสาขาต่าง ๆ

3.2.1 ส่วนประกอบตอนต้น

- ชื่อเรื่อง (title) ควรสั้นกะทัดรัด ไม่ยาวจนเกินไป ให้เขียนชื่อเรื่องเป็นภาษาไทยก่อนแล้วตามด้วยภาษาอังกฤษในบรรทัดถัดไป

- ชื่อผู้เขียน (authors and co-authors) ให้ระบุชื่อเต็ม-นามสกุลเต็มทั้งภาษาไทยและภาษาอังกฤษ สำหรับภาษาอังกฤษใช้อักษรตัวพิมพ์ใหญ่เฉพาะอักษรตัวแรกของชื่อตัวและนามสกุล ถ้ามีผู้วิจัยหลายคนให้ใส่ลำดับเลข พร้อมระบุที่อยู่ที่สามารถติดต่อได้ และชื่อหน่วยงานของผู้วิจัยที่ส่วนล่างของหน้าแรก และให้ใส่เครื่องหมายดอกจัน (*) ที่ตำแหน่งผู้ประสานงานหลัก (corresponding author) พร้อมทั้งระบุอีเมลสำหรับติดต่อ (e-mail: address)

- สารสังเขป (summary)

เป็นการย่อเนื้อความของบทความทั้งเรื่องให้สั้นได้เนื้อหาสาระครบถ้วน

- คำสำคัญ (keywords) ให้ใช้คำที่ปรากฏอยู่ในเนื้อเรื่องซึ่งเป็นตัวแทนบอกวิธีการ สิ่งที่ศึกษา ผลการศึกษา สาขา การใช้ประโยชน์และสถานที่ คำสำคัญให้เขียนทั้งคำสำคัญภาษาไทย และภาษาอังกฤษแต่ละชุดไม่เกิน 5 คำ

3.2.2 เนื้อหา (main text) ในบทความทางวิชาการมีองค์ประกอบดังนี้

- บทนำ (introduction) กล่าวถึงความน่าสนใจของเรื่องที่นำเสนอ ก่อนเข้าสู่เนื้อหา

- เนื้อความ (content) ควรนำเสนอพัฒนาการของเรื่องได้อย่างน่าสนใจ และเนื้อเรื่องมีเนื้อหาใหม่เหมาะสมกับสภาพปัจจุบัน

- สรุป (conclusion) เป็นการย่อเฉพาะข้อมูลจากเนื้อความให้สั้นได้ เนื้อหาสาระของเนื้อหาครบถ้วน

- เอกสารอ้างอิง (references) ให้ระบุเฉพาะเอกสารที่ผู้เขียนบทความได้นำมาอ้างอิงในบทความวิชาการอย่างครบถ้วนรูปแบบของการเขียนเอกสารอ้างอิงให้จัดทำตามที่ได้รับไว้ในข้อ 4 (เอกสารอ้างอิง)

3.3 ตารางและภาพประกอบ ให้จัดแทรกไว้ในเนื้อเรื่องโดยคัดเลือกเฉพาะที่จำเป็นเท่านั้น โดยเนื้อหาและคำอธิบายในตารางและภาพสามารถใช้ภาษาไทยหรือภาษาอังกฤษในรูปแบบใดรูปแบบหนึ่งเท่านั้น

- ตาราง เมื่อวางรูปตารางข้อมูลเรียบร้อยแล้วต้อง “กำกับ” ไว้ที่ด้านบนของตารางด้วยข้อความที่เป็น “ตารางที่... (เว้น 1 บรรทัด และตามด้วยชื่อตารางหรือคำอธิบายสั้น ๆ)” ส่วน “ที่มา” ของตาราง (ถ้ามี) ให้อยู่ด้านล่างของตาราง “ที่มา: ... (เว้น 1 บรรทัดและตามด้วยอ้างอิง” (ชื่อ, ปี) ดังตัวอย่าง

ตารางที่ 1 จำนวนฟัน เส้นผ่านศูนย์กลาง และความเร็รรอบของจานโซ่

จานโซ่	จำนวนฟัน	เส้นผ่าน ศูนย์กลาง (mm)	ความเร็รรอบ (pm)
ตัวที่ 1 ติดกับมอเตอร์	20	59	600
ตัวที่ 2 รับกำลังจากมอเตอร์	14	70	700
ตัวที่ 3 ต่อจากมอเตอร์	30	85	800

ที่มา: จารุณี (2559)

- ภาพประกอบ จัดกึ่งกลางหน้ากระดาษ เป็นภาพที่ใช้ประกอบเนื้อหา เมื่อจัดภาพเสร็จแล้วต้อง “กำกับ” ไว้ที่ได้ภาพด้วยข้อความที่เป็น “ภาพที่.. (เว้น 1 บรรทัด และตามด้วยชื่อภาพหรือคำอธิบายภาพประกอบสั้น ๆ)” และบรรทัดที่ถัดลงมาคือ “ที่มา..” ใช้รูปแบบเดียวกับตารางทุกประการ ดังตัวอย่าง

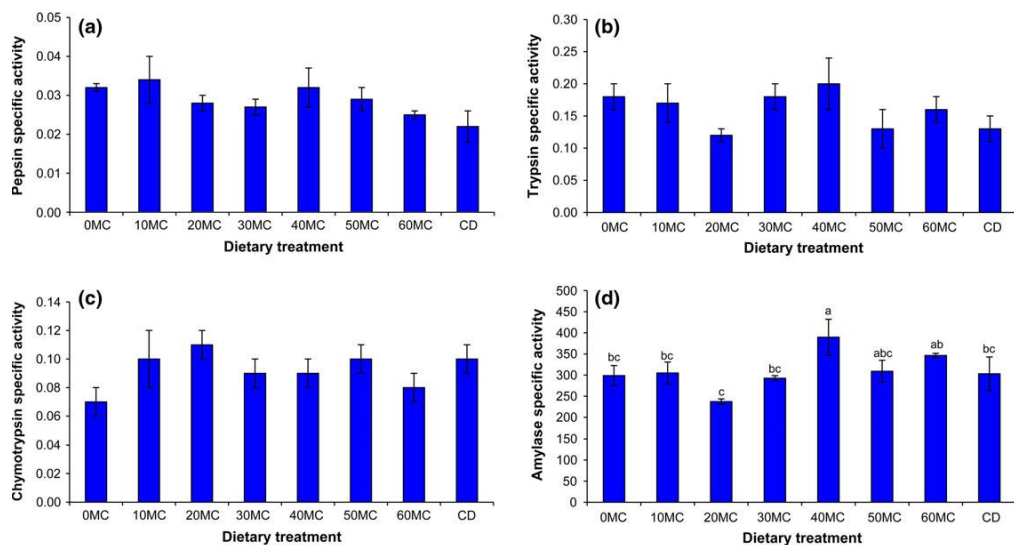


Figure 1 The specific activities (U/mg protein) of pepsin (a), trypsin (b), chymotrypsin (c) and amylase (d) in giant freshwater prawns subjected to various dietary replacements of protein from fish meal with mackerel condensate (MC). The data are expressed as mean $\pm$ SEM ($n = 3$). Different superscripts indicate significant differences between groups ($p < 0.05$). CD, commercial diet.

Source: Wattanakul *et al.* (2017)

ตารางสรุปรูปแบบการพิมพ์ส่วนประกอบของบทความ

ส่วนประกอบ ของบทความ	ลักษณะ ของตัวอักษร	ขนาด ของตัวอักษร	รูปแบบ การจัดหน้าบทความ
ชื่อเรื่อง			
1) ภาษาไทย	หนา	18 pt.	กึ่งกลาง
2) ภาษาอังกฤษ	หนา	18 pt.	กึ่งกลาง
ชื่อผู้เขียนบทความ	หนา	15 pt.	ชิดขวา
บทคัดย่อ			
1) ภาษาไทย	ปกติ	15 pt.	
2) ภาษาอังกฤษ	ปกติ	15 pt.	
คำสำคัญ	หัวข้อตัวหนา และคำสำคัญปกติ	15 pt.	ชิดซ้าย
เชิงอรรถ	ปกติ	13 pt.	ชิดซ้าย
- หัวข้อหลัก	หนา	15 pt.	ชิดซ้าย (ไม่มีตัวเลขกำกับ)
- หัวข้อย่อย	หนา		1. ชิดซ้าย (1.5 ซม.)
	ปกติ	15 pt.	1.1 ชิดซ้าย (2 ซม.)
	ปกติ		1.1.1 ชิดซ้าย (2.75 ซม.)

ส่วนประกอบ ของบทความ	ลักษณะ ของตัวอักษร	ขนาด ของตัวอักษร	รูปแบบ การจัดหน้าบทความ
- เนื้อหา	ปกติ	15 pt.	
ตาราง	ปกติ	15 pt.	

4. การอ้างอิง (citation)

การอ้างอิงของวารสารวิชา มหาวิทยาลัยราชภัฏนครศรีธรรมราชใช้รูปแบบการอ้างอิงที่ดัดแปลงมาจากสมาคมจิตวิทยาแห่งสหรัฐอเมริกา (American Psychological Association: APA) ดังนี้

4.1 การอิงในเนื้อหา (in-text citation) ใช้การอ้างอิงแบบ “นาม-ปี” ทั้งนี้ให้ใส่ชื่อผู้แต่ง และปีที่พิมพ์ เช่นเดียวกับการอ้างอิงท้ายบทความ

4.1.1 การเขียนอ้างอิงก่อนเนื้อหา

ต้นฉบับเป็นภาษาไทย: จิรวัดน์ (2554) ข้อความ.....

ต้นฉบับเป็นภาษาอังกฤษ: Tomson (2014) ข้อความ.....

4.1.2 การเขียนเนื้อหาก่อนการอ้างอิง

ต้นฉบับเป็นภาษาไทย: ข้อความ.....(จิรวัดน์, 2554)

ต้นฉบับเป็นภาษาอังกฤษ: ข้อความ.....(Tomson, 2014)

กรณีมีผู้แต่งคนเดียว

1) ต้นฉบับเป็นภาษาไทย: ชื่อ/(ปี พ.ศ.)

2) ต้นฉบับเป็นภาษาอังกฤษ: ชื่อสกุล/(ปี ค.ศ.)

กรณีมีผู้แต่ง 2 คน

1) ต้นฉบับเป็นภาษาไทย: ชื่อคนที่ 1/และชื่อคนที่ 2/(ปี พ.ศ.)

2) ต้นฉบับเป็นภาษาอังกฤษ: ชื่อสกุลคนที่ 1/ and ชื่อสกุลคนที่ 2/(ปี ค.ศ.)

กรณีมีผู้แต่งมีตั้งแต่ 3 คนขึ้นไป

1) ต้นฉบับเป็นภาษาไทย: ชื่อคนที่ 1/และคณะ/(ปี พ.ศ.)

2) ต้นฉบับเป็นภาษาอังกฤษ: ชื่อสกุลคนที่ 1/*et al.*/(ปี ค.ศ.)

4.2 การอ้างอิงท้ายบทความ (reference section)

4.2.1 หนังสือที่ตีพิมพ์เป็นรูปเล่ม (print version)

ชื่อ/ชื่อสกุล/(ปีที่พิมพ์)/ชื่อหนังสือ/(ครั้งที่พิมพ์)/สถานที่พิมพ์/สำนักพิมพ์.

ตัวอย่าง

กรณีที่ตีพิมพ์ครั้งแรก

สรเมธี วชิรปราการ. (2551). *เปิดชีวิตเทวดานางฟ้าไขปริศนาแดนสวรรค์*. นนทบุรี: สมาร์ทบุ๊ค.

Almond, G.A. and Powell, B.G. (1976). *Comparative political today*. Boston: Little Brown and Company.

กรณีตีพิมพ์ครั้งที่ 2 เป็นต้นไป

เจือจันทร์ จงสถิต และรุ่งเรือง สุชาติพิทย์. (2550). *การสังเคราะห์งานวิจัยคุณลักษณะและกระบวนการปลูกฝังจริยธรรมของประเทศต่าง ๆ*. (พิมพ์ครั้งที่ 2). กรุงเทพฯ: ชุมชนสหกรณ์การเกษตรแห่งประเทศไทย.

Carpenter, J.W., Mashima, T.Y. and Rupiper, D.J. (2001). *Exotic animal formulary*. (2nd ed). Philadelphia: W.B. Saunders Company.

4.2.2 หนังสือที่ออนไลน์ (electronic book)

ชื่อ/ชื่อสกุล/(ปีที่ออนไลน์)/ชื่อหนังสือ/สืบค้นเมื่อ/วัน/เดือน/ปี/จาก:/http://..... .

The World Society for the Protection of Animals. (2013). *The Cayman Turtle Farm: A continued case for change*. Retrieved 10 July 2017, from:
https://d31j74p4lpxrfp.cloudfront.net/sites/default/files/us_files/turtle_a_continued_case_for_change_report.pdf.

4.2.3 วารสาร

ชื่อ/ชื่อสกุล/(ปีที่พิมพ์)/ชื่อบทความ/ชื่อวารสาร/ปีที่หรือเล่มที่ (ฉบับที่)/หน้าแรก-หน้าสุดท้าย.

ตัวอย่าง**กรณีที่วารสารมีเลขหน้า**

สมรักษ์ รอดเจริญ และการุณ ทองประจุแก้ว. (2559). สภาวะการเลี้ยงและองค์ประกอบทางเคมีของสาหร่ายสีเขียวแกมน้ำเงิน (*Nostoc commune* TISTR 8870) ที่ผ่านการดัดแปรด้วยคลื่นไมโครเวฟ. *วารสารวิจัยมหาวิทยาลัยเทคโนโลยีราชมงคลศรีวิชัย*, 8(2), 219–229.

Palzzo, A.J., Cory, T.J. and Hardy, S.E. (2003). Root growth and metal uptake in four grasses grown on Zn-contaminated soil. *Journal of Environmental Quality*, 32(3), 834–840.

กรณีที่วารสารยังไม่มีเลขหน้า

Whan-air, W., Thongprajukaew, K., Salaeharae, T. and Yoonram, K. (2018). Identification of wild and farmed broadhead catfish (*Clarias macrocephalus* Günther, 1864) based on morphometry, digestive indexes and flesh quality. *Journal of Oceanology and Limnology*, doi:
<https://doi.org/10.1007/s00343-018-7205-7>.

4.2.4 นิตยสารหรือหนังสือพิมพ์

ชื่อ/ชื่อสกุล/(วัน/เดือน/ปี)/ชื่อบทความ/ชื่อนิตยสารหรือหนังสือพิมพ์/ปีที่/หน้า.

ตัวอย่าง

มาลินี ป้องกัน. (3 กรกฎาคม 2560). ลงทะเบียนคนจน. *มติชน*, 50, หน้า 12.

4.2.5 บทหนึ่งในหนังสือ (book chapter)

ชื่อ/ชื่อสกุลผู้เขียนบท./ (ปีที่พิมพ์)/ชื่อบทหรือตอน./ใน/ชื่อ/ชื่อสกุลบรรณาธิการ./ชื่อหนังสือ./หน้าแรก-หน้าสุดท้ายของบท./สถานที่พิมพ์/สำนักพิมพ์.

ตัวอย่าง

มาลินนท์ วุฒิจักร. (2560). สาทรรายพวงอุ่งน. ใน บัณฑิต คิตติ. *เกษตรหน้าใหม่*, หน้า 100–110. กรุงเทพฯ: อุดมศิลป์.

Zambonino-Infante, J., Gisbert, E., Sarasquete, C., Navarro, I., Gutiérrez, J. and Cahu, C.I. (2009). Ontogeny and physiology of the digestive system of the marine fish larvae. In Cyrino, J.E.O., Bureau, D. and Kapoor, B.G. (Eds.). *Feeding and digestive function of fish*, pp. 277–344. Enfield: Science Publishers, Inc.

4.2.6 วิทยานิพนธ์

ชื่อ/ชื่อสกุล./ (ปีที่พิมพ์)/ชื่อวิทยานิพนธ์./ระดับวิทยานิพนธ์./ชื่อมหาวิทยาลัย./เมืองที่ตั้งมหาวิทยาลัย.

ตัวอย่าง

จงลักษณ์ จิมนับใจ. (2550). *สมรรถนะแห่งตนต่อการเฝ้าระวังโรคความดันโลหิตสูงของอาสาสมัคร*

สาธารณสุขอำเภอนาหมื่น จังหวัดน่าน. วิทยานิพนธ์พยาบาลศาสตรมหาบัณฑิต. มหาวิทยาลัยเชียงใหม่, เชียงใหม่.

Mirera, D.O. (2013). Capture-based mud crab (*Scylla serrata*) aquaculture and artisanal fishery in East Africa – Practical and ecological perspectives. Ph.D. thesis in Environmental Science. Linnaeus University, Kalmar.

4.2.7 เว็บไซต์ (website)

ชื่อผู้จัดทำ./ (ปีที่ออนไลน์)/ชื่อเรื่อง./สืบค้นเมื่อ/วัน/เดือน/ปี./จาก:/http:..... .

ตัวอย่าง

อรรถศิษฐ์ วงศ์ณีโรจน์. (2542). *ความอุดมสมบูรณ์ของดิน*. สืบค้นเมื่อ 2 ตุลาคม 2542, จาก: <http://158.108.200.11/scil/009hom~1/009421/chap1.html>.

Adkins, J. (2016). *Marine scientist devotes career to reversing trend of by catch*. Retrieved 1 July 2018, from: <https://phys.org/news/2016-03-marine-scientist-devotes-career-reversing.html>.

4.2.8 รายงานการประชุม

ชื่อ/ชื่อสกุล./ (ปีที่พิมพ์)/ชื่อเรื่อง./ชื่อการประชุมหรือการสัมมนา./สถานที่พิมพ์.

ตัวอย่าง

สุรยุทธ แฉ่งเกิด. (2559). *ความมั่นคงทางอาหารของชุมชนบ้านบางปรก. การประชุมวิชาการความมั่นคงทางอาหารแห่งชาติ*. กรุงเทพฯ.

4.2.9 บทหนึ่งในหนังสือการประชุม (proceeding) และเอกสารการสัมมนา

ชื่อ/ชื่อสกุล./ (ปีที่พิมพ์)./ชื่อบทความหรือบท./ใน/ชื่อการประชุมหรือการสัมมนา (หน้าแรก-หน้าสุดท้าย)./เมืองที่พิมพ์:/หน่วยงานที่จัดทำ.

ตัวอย่าง

กรวรรณ มากสุข. (2555). วากรรมความงามของเด็กมัธยมศึกษาแห่งหนึ่งในจังหวัด นครศรีธรรมราช. ใน การประชุมวิชาการระดับชาติราชภัฏวิจัย ครั้งที่ 3 (หน้า 22-35). นครศรีธรรมราช: มหาวิทยาลัยราชภัฏนครศรีธรรมราช.

4.2.10 บทคัดย่อในการประชุมวิชาการ (abstract in conference)

ชื่อ/ชื่อสกุล./ (ปีที่พิมพ์)./ชื่อบทความ./ในบทคัดย่อ/ชื่อการประชุม (หน้า)./เมืองที่พิมพ์:/หน่วยงานที่จัดทำ.

Kovitvadhi, A., Chandang, P., Luapan, J., Sriyaphai, P., Buahom, R., Cham-iam, T., Leelehapongsathon, K., Tirawattanawanich, C. and Thongprajukaew, K. (2018). Screening three cricket species (*Gryllus bimaculatus*, *Acheta domestica* and *Modicogryllus confirmata*) for broiler diets by *in vitro* digestibility techniques. In *Abstract of the 6th Mediterranean Poultry Summit* (pp. 62). Torino: The Mediterranean Poultry Network of the World's Poultry Science Association.



วารสาร วิชชา

มหาวิทยาลัยราชภัฏนครศรีธรรมราช

ISSN (Print) : 0125-2380

ISSN (Online) : 2672-958X

Wichcha Journal

Nakhon Si Thammarat Rajabhat University