



วารสาร วิชชา

มหาวิทยาลัยราชภัฏนครศรีธรรมราช

ปีที่ 44 ฉบับที่ 1 มกราคม - มิถุนายน 2568

Vol. 44 No. 1 January - June 2025

วารสารวิชาการสาขาวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยี

ISSN 3027-737X (Online)



WICHCHA
NAKHON SI THAMMARAT RAJABHAT UNIVERSITY
JOURNAL



วารสาร วิชชา WICHCHA JOURNAL มหาวิทยาลัยราชภัฏนครศรีธรรมราช NAKHON SI THAMMARAT RAJABHAT UNIVERSITY

ปีที่ 44 ฉบับที่ 1 มกราคม – มิถุนายน 2568 Vol. 44 No. 1 January – June 2025

เจ้าของ มหาวิทยาลัยราชภัฏนครศรีธรรมราช
ที่ปรึกษา ดร.สมปอง รักษาธรรม รักษาการแทนอธิการบดี มหาวิทยาลัยราชภัฏนครศรีธรรมราช
ผู้ช่วยศาสตราจารย์ ดร.สมรักษ์ รอดเจริญ รองอธิการบดีฝ่ายวิจัยและเทคโนโลยีสารสนเทศ
มหาวิทยาลัยราชภัฏนครศรีธรรมราช
บรรณาธิการ รองศาสตราจารย์ ดร.ประวิทย์ เนื่องมัจฉา
ผู้ช่วยบรรณาธิการ ดร.เบญจวรรณ นิลวงศ์

นโยบาย

1. วารสารวิชชา มหาวิทยาลัยราชภัฏนครศรีธรรมราช เป็นวารสารวิชาการทางด้านวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยี ตีพิมพ์ตั้งแต่ปี พ.ศ. 2524
2. วารสารวิชชา มหาวิทยาลัยราชภัฏนครศรีธรรมราช เป็นเอกสารวิชาการแบบอิเล็กทรอนิกส์ที่มีการเผยแพร่ให้ผู้ใช้สามารถเข้าถึงแบบออนไลน์ได้แบบเสรีโดยผ่านกระบวนการประเมินจากผู้ประเมินอิสระ (peer review) ที่มีความเชี่ยวชาญในสาขาที่เกี่ยวข้อง ในรูปแบบผู้ประเมินอิสระและผู้แต่งไม่ทราบชื่อซึ่งกันและกัน (double-blind review)

ขอบเขตงาน

ขอบเขตของบทความวิจัย (research article) และบทความวิชาการ (academic article) ที่ลงตีพิมพ์ในวารสารวิชชา มหาวิทยาลัยราชภัฏนครศรีธรรมราช เป็นบทความในสาขาวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยี ประกอบด้วยด้านวิทยาศาสตร์กายภาพ วิทยาศาสตร์ชีวภาพ วิทยาศาสตร์ประยุกต์ เทคโนโลยีอุตสาหกรรม และวิศวกรรมศาสตร์

วัตถุประสงค์

1. เพื่อเผยแพร่ผลงานทางวิชาการและงานวิจัยทางด้านวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยี
2. เพื่อเป็นสื่อส่งเสริมการสร้างความรู้และองค์ความรู้ในสาขาวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยี
3. เพื่อเป็นเวทีนำเสนอผลงานทางวิชาการของบุคลากรในมหาวิทยาลัยและบุคคลทั่วไป

ประเภทบทความ

วารสารวิชชา มหาวิทยาลัยราชภัฏนครศรีธรรมราช ตีพิมพ์บทความฉบับเต็มในรูปแบบบทความวิจัย (research article) และบทความวิชาการ (academic article) ตามขอบเขตงาน

กระบวนการพิจารณาบทความ

บทความทุกบทความที่ได้รับการพิจารณาตีพิมพ์ในวารสารวิชา มหาวิทยาลัยราชภัฏนครศรีธรรมราช ได้รับการพิจารณาจากผู้ประเมินอิสระ (peer review) ที่มีความเชี่ยวชาญในสาขาที่เกี่ยวข้องจากหลากหลายหน่วยงาน อย่างน้อย 3 ท่าน ในรูปแบบผู้ประเมินอิสระและผู้แต่งไม่ทราบชื่อซึ่งกันและกัน (double-blind review) และบทความหรือข้อคิดเห็นใด ๆ ที่ปรากฏในวารสารที่เป็นวรรณกรรมของผู้เขียน บรรณาธิการหรือมหาวิทยาลัยราชภัฏนครศรีธรรมราช ไม่จำเป็นต้องเห็นด้วย

ค่าธรรมเนียมการตีพิมพ์

วารสารวิชา มหาวิทยาลัยราชภัฏนครศรีธรรมราช ไม่เก็บค่าธรรมเนียมในการตีพิมพ์

เกี่ยวกับวารสาร

ชื่อวารสาร : วารสารวิชา มหาวิทยาลัยราชภัฏนครศรีธรรมราช
ISSN ฉบับอิเล็กทรอนิกส์ : 3027-737X
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

กองบรรณาธิการภายนอกมหาวิทยาลัย ประกอบด้วย

ศาสตราจารย์ ดร.การุณ ทองประจักษ์
ศาสตราจารย์ ดร.สมปอง เตชะโต
ศาสตราจารย์ ดร.ศักดิ์สิทธิ์ จันทรไทย
ศาสตราจารย์ ดร.สรรพสิทธิ์ กล่อมเกล้า
รองศาสตราจารย์ ดร.ศรัย อินทะไชย
รองศาสตราจารย์ ดร.ชิตนันท บวรณชัย
รองศาสตราจารย์ ดร.วิจิตรา เตือนฉาย
รองศาสตราจารย์ ดร.พงษ์พิชิต จันทรนุ้ย
รองศาสตราจารย์ ดร.ยลพัชร อารีรับ

รองศาสตราจารย์ ดร.วุฒิชัย รสชาติ

รองศาสตราจารย์ ดร.คงศักดิ์ ปัตตาฤทธิ
รองศาสตราจารย์ ดร.พงษ์ธิพันธ์ ผึ้งผาย

คณะวิทยาศาสตร์ มหาวิทยาลัยสงขลานครินทร์
คณะทรัพยากรธรรมชาติ มหาวิทยาลัยสงขลานครินทร์
คณะวิทยาศาสตร์ มหาวิทยาลัยขอนแก่น
คณะอุตสาหกรรมเกษตรและชีวภาพ มหาวิทยาลัยทักษิณ
คณะวิทยาศาสตร์และนวัตกรรมดิจิทัล มหาวิทยาลัยทักษิณ
คณะวิทยาศาสตร์ มหาวิทยาลัยสงขลานครินทร์
คณะวิทยาศาสตร์ มหาวิทยาลัยพระจอมเกล้าธนบุรี
สำนักวิชาวิทยาศาสตร์ มหาวิทยาลัยวลัยลักษณ์
คณะวิศวกรรมศาสตร์
สถาบันเทคโนโลยีพระจอมเกล้าลาดกระบัง
คณะวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยี
มหาวิทยาลัยราชภัฏสกลนคร
คณะวิทยาศาสตร์ มหาวิทยาลัยราชภัฏบุรีรัมย์
คณะวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยี
มหาวิทยาลัยราชภัฏสุรินทร์

กองบรรณาธิการภายในมหาวิทยาลัย ประกอบด้วย

รองศาสตราจารย์ ดร.สุภาวดี ถาวโร

คณะวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยี
มหาวิทยาลัยราชภัฏนครศรีธรรมราช

ผู้ช่วยศาสตราจารย์ ดร.รุ่งนภา พิมเสน

ผู้ช่วยศาสตราจารย์ ดร.จุรีพร ยืนนาน

คณะวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยี

มหาวิทยาลัยราชภัฏนครศรีธรรมราช

คณะวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยี

มหาวิทยาลัยราชภัฏนครศรีธรรมราช

ผู้ประเมินอิสระหรือพิชญพิจารณา (Peer review) ตรวจสอบทางวิชาการประจำฉบับ

ศาสตราจารย์ ดร.ชัชวาล จันทราสุริยรัตน์

ศาสตราจารย์ ดร.วัฒนวงศ์ รัตนวราห

ศาสตราจารย์ ดร.สุชนันต์ หอพิบูลสุข

รองศาสตราจารย์ ดร.ชนิษฐา คำวิสัยศักดิ์

รองศาสตราจารย์ ดร.ธนกร ชมภูรัตน์

รองศาสตราจารย์ ดร.นงนุช เลหาะวิสุทธิ

รองศาสตราจารย์ ดร.บวรศักดิ์ ถิ่นนานนท์

รองศาสตราจารย์ ดร.พรนภา เกษมศิริ

รองศาสตราจารย์ ดร.ภาณุ พร้อมพุดธางกูร

รองศาสตราจารย์ ดร.วริศชนม์ นิลนนท์

รองศาสตราจารย์ ดร.วีระเกียรติ ทรัพย์มี

รองศาสตราจารย์ ดร.สรารุช จิตงาม

รองศาสตราจารย์จรูญ เจริญเนตร

ผู้ช่วยศาสตราจารย์ ดร.ธนภูมิ ศิริงาม

ผู้ช่วยศาสตราจารย์ ดร.ธัญญ์นิช ธัญสิริวรรณ

ผู้ช่วยศาสตราจารย์ ดร.ปิวิมา ภูมิสุทธาผล

ผู้ช่วยศาสตราจารย์ ดร.พรชัย หาระโคตร

ผู้ช่วยศาสตราจารย์ ดร.ไพเราะ ไพโรหิณกิจ

ผู้ช่วยศาสตราจารย์ ดร.ศุภักษร มาแสง

ผู้ช่วยศาสตราจารย์ ดร.สงวนศักดิ์ ธนาพรพูนพงษ์

ผู้ช่วยศาสตราจารย์ ดร.อภิสิทธิ์ ชิตวนิช

ผู้ช่วยศาสตราจารย์ ดร.อารักษ์ อีร์อำพน

ผู้ช่วยศาสตราจารย์กุลพร พุทธิมี

พันตรี ดร.ฐิติพงษ์ กาวิชัย

ดร.ณิชา วงศ์ส่องจำ

คณะวิทยาศาสตร์ มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์

สำนักวิชาวิศวกรรมศาสตร์ มหาวิทยาลัยเทคโนโลยีสุรนารี

สำนักวิชาวิทยาศาสตร์ มหาวิทยาลัยเทคโนโลยีสุรนารี

คณะวิศวกรรมศาสตร์ มหาวิทยาลัยขอนแก่น

คณะวิศวกรรมศาสตร์ มหาวิทยาลัยพะเยา

คณะเทคโนโลยีการเกษตร

สถาบันเทคโนโลยีพระจอมเกล้าเจ้าคุณทหารลาดกระบัง

คณะเทคโนโลยี มหาวิทยาลัยขอนแก่น

คณะวิศวกรรมศาสตร์ มหาวิทยาลัยขอนแก่น

คณะวิศวกรรมศาสตร์

มหาวิทยาลัยเทคโนโลยีราชมงคลศรีวิชัย

คณะเทคโนโลยีการเกษตร มหาวิทยาลัยราชภัฏรำไพพรรณี

คณะวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยี มหาวิทยาลัยเทคโนโลยี

ราชมงคลศรีวิชัย วิทยาเขตนครศรีธรรมราช

คณะวิศวกรรมโยธา มหาวิทยาลัยสงขลานครินทร์

คณะวิศวกรรมศาสตร์

มหาวิทยาลัยเทคโนโลยีราชมงคลศรีวิชัย

คณะวิทยาศาสตร์ มหาวิทยาลัยราชภัฏพระนคร

คณะทรัพยากรธรรมชาติและอุตสาหกรรมเกษตร

มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์

คณะวิทยาศาสตร์ มหาวิทยาลัยแม่โจ้

คณะวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยี

มหาวิทยาลัยธรรมศาสตร์

คณะสหเวชศาสตร์ มหาวิทยาลัยธรรมศาสตร์

คณะเทคโนโลยีคหกรรมศาสตร์

มหาวิทยาลัยเทคโนโลยีราชมงคลพระนคร

คณะเกษตรศาสตร์ มหาวิทยาลัยเชียงใหม่

คณะเกษตรศาสตร์และทรัพยากรธรรมชาติ

มหาวิทยาลัยเทคโนโลยีราชมงคลตะวันออก

สำนักวิชาเทคโนโลยีการเกษตร

มหาวิทยาลัยเทคโนโลยีสุรนารี

คณะเทคโนโลยีการเกษตร มหาวิทยาลัยราชภัฏรำไพพรรณี

ส่วนการศึกษา โรงเรียนนายร้อยพระจุลจอมเกล้า

คณะวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยี

มหาวิทยาลัยราชภัฏสวนสุนันทา

ดร.ปัทมาวดี คุณวัลลี
ดร.พิชญธิดา มีอุดร
ดร.วันอภินันต์ นาแวง

ดร.ศรัณย์ จินะเจริญ

ดร.ศิริรัตน์ ชูสกุลเกรียง

คณะทรัพยากรธรรมชาติ มหาวิทยาลัยสงขลานครินทร์
สำนักงานพัฒนาวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยีแห่งชาติ
ศูนย์โอมิคส์แห่งชาติ
สำนักงานพัฒนาวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยีแห่งชาติ
คณะวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยี
มหาวิทยาลัยราชภัฏเชียงใหม่
คณะวิทยาศาสตร์ มหาวิทยาลัยศิลปากร

ผู้ตรวจทานภาษาต่างประเทศประจำฉบับ

Ms.Christine Soriano

ศูนย์ภาษาและวัฒนธรรมนานาชาติ
สำนักวิทยบริการและเทคโนโลยีสารสนเทศ
มหาวิทยาลัยราชภัฏนครศรีธรรมราช

ฝ่ายอำนวยการ ประกอบด้วย

ผู้ช่วยศาสตราจารย์ ดร.จุรีภรณ์ นวนมุสิก

รองศาสตราจารย์ ดร.จุฑามาศ ศุภพันธ์

ว่าที่ร้อยตรี ดร.จาดรนต์ ชูติธพงษ์

ดร.เบญจวรรณ นิลวงค์

ผู้อำนวยการสถาบันวิจัยและพัฒนา
มหาวิทยาลัยราชภัฏนครศรีธรรมราช
รองผู้อำนวยการสถาบันวิจัยและพัฒนา
มหาวิทยาลัยราชภัฏนครศรีธรรมราช
รองผู้อำนวยการสถาบันวิจัยและพัฒนา
มหาวิทยาลัยราชภัฏนครศรีธรรมราช
รองผู้อำนวยการสถาบันวิจัยและพัฒนา
มหาวิทยาลัยราชภัฏนครศรีธรรมราช

ผู้จัดการวารสาร

นางสาวกนกต์ฤทัย จรจรัส

สถาบันวิจัยและพัฒนา
มหาวิทยาลัยราชภัฏนครศรีธรรมราช

ปก

มูฟ แอดเวอร์ไทต์ (Moof Advertise)

เลขที่ 1/13 หมู่ที่ 6 ตำบลท่าจั่ว อำเภอเมือง จังหวัดนครศรีธรรมราช 80280

โทร. 095-7218863 / 093-6623225 e-mail: moofadvertise@gmail.com

	หน้า
บทความวิจัย	
ผลของกลูโคแมนแนตังเดิมต่อกิจกรรมการเจริญและการผลิตกรดของแบคทีเรียผลิตกรดแลคติก อัญชญา นะคะจัด อิศราวุธ ประเสริฐสังข์ และปรียาภรณ์ อิศรานูวัฒน์*	1
ผลของความเข้มข้นของเกลือโซเดียมคลอไรด์ต่อคุณภาพของเห็ดแครงในน้ำเกลือบรรจุขวด จินตนา เจริญเนตรกุล และรุ่งทิพย์ รัตนพล*	13
ผลของระยะเวลาการให้อาหารต่อการเพิ่มปริมาณต้นมาจากเรตที่เพาะเลี้ยงในระบบไบโอรีแอคเตอร์แบบ จมชั่วคราว ณัฐพงศ์ จันจุฬา* กนกอร อัมพรายน พูนพัฒน์ พูนน้อย วาสนา แผลติตะ อติพัฒน์ วีเปลี่ยน ชาตรี กอนี นิพิง พินิจผล และนุชรัฐ บาลลา	27
การทำนายศักยภาพของสารออกฤทธิ์ทางชีวภาพในเขยตายต่อโปรตีนเป้าหมายที่สัมพันธ์กับการเกิด โรคอัลไซเมอร์บนคอมพิวเตอร์ ณัฐพล ปาลวัฒน์ ชนิดโชติ ปิยพิทยานันต์ วรณธร เชื้อบุญมี และภูภิภัทร ใจแก้ว*	38
อิทธิพลของปุ๋ยเคมีต่อการเจริญเติบโตของกัญชาพันธุ์ทางเสือและทางกระรอกภูพาน พัชรี เดชเลย์ อนันต์ พริยะภัทรกิจ* และพรกมล รูปเลิศ	52
ผลของการพอกเมล็ดด้วย Captan และ Metalaxyl ต่อคุณภาพเมล็ดพันธุ์และการยับยั้งเชื้อรา <i>Pythium</i> spp. สาเหตุการเกิดโรคเน่าคอดินในระยะต้นกล้าดาวเรือง อริญญา สิงโสภา ฉัตรสุตา เผือกใจแผ้ว สุธีระ เข็มฮัก และจักรพงษ์ กางโสภา*	64
การศึกษาความสัมพันธ์ระหว่างปัจจัยของระยะเวลากับการคงอยู่และคุณภาพของรอยลายนิ้วมือแฝง บนพื้นผิวไม่มีรูพรุนในสภาพแวดล้อมที่แตกต่างกัน พินท์ลภัส ทิพย์โพธิ์ และปริญญา สีลานันท์*	79
การออกแบบไพรเมอร์เพื่อใช้เพิ่มปริมาณดีเอ็นเอบริเวณ Internal Transcribed Spacer (ITS) ที่มี ความจำเพาะต่อเห็ดตับเต่า (<i>Phlebopus portentosus</i> (Berk. and Broome) Boedijn) ธนภักษ์ อินยอด* ขนิษฐา ขวณะนรเศรษฐ์ ธนภัทร เติมอารมย์ ธนากร ลัทธิธีระสุวรรณ อลิษา อินจันทร์ ณัฐพัชร ศรีหะนัลต จุฬามณี พลสุข และชาตรี กอนี	91
การใช้ระบบทดสอบเพลทแบบพลศาสตร์ที่พัฒนาขึ้นเองสำหรับทำนายค่าซีพีอาร์ของดินลูกรัง เอกพล สุวรรณรัตน์ และภาณุ พร้อมพุทธานกูร*	109
การใช้ดินซีเมนต์แทนหินคลุกในการก่อสร้างถนน พิษณุ ช่วยเวช สรวุฑ จริตงาม* ปฐมศ ภาณิตพจมาน และโอภาส สมใจนิก	122
คำแนะนำในการเตรียมต้นฉบับ	135

ผลของกลูโคแมนแนนดั้งเดิมต่อกิจกรรมการเจริญและการผลิตกรด ของแบคทีเรียผลิตกรดแลคติก

The Effect of Native Glucomannan on Growth Activity and Acid Production of Lactic Acid Bacteria

อัญชญา นะคะจัต^{1,2} อิศราวุธ ประเสริฐสังข์^{1,2} และปริญภรณ์ อิศรานูวัฒน์^{1,2*}
Aunchaya Nakajad^{1,2}, Isarawut Prasertsung^{1,2} and Pariyaporn Itsaranuwat^{1,2*}

บทคัดย่อ

งานวิจัยนี้มีจุดมุ่งหมายเพื่อศึกษาผลของกลูโคแมนแนนดั้งเดิมต่อกิจกรรมการเจริญและการผลิตกรดของแบคทีเรีย *Lactococcus lactis* A7 เปรียบเทียบกับแบคทีเรียทางการค้า 2 ชนิด ได้แก่ *L. pentosus* และ *L. acidophilus* จากผลการศึกษาพบว่ากลูโคแมนแนนดั้งเดิมสามารถจำแนกตามน้ำหนักโมเลกุลเป็น 2 กลุ่ม คือ กลูโคแมนแนนที่มีน้ำหนักโมเลกุลสูง (1.9×10^6 ดาลตัน) และกลูโคแมนแนนน้ำหนักโมเลกุลต่ำ 1.4×10^3 ดาลตัน ร้อยละ 58.08 และ 41.92 ตามลำดับ และมีค่าดัชนีการกระจายตัวของน้ำหนักโมเลกุล (polydispersity index: PDI) เท่ากับ 1.6 และ 1.2 ตามลำดับ จากการศึกษาสมบัติการเป็นพรีไบโอติกของกลูโคแมนแนนที่ส่งเสริมการเจริญของเชื้อโพรไบโอติกพบว่า การเจริญมีแนวโน้มใกล้เคียงกันและมีค่าการดูดกลืนแสง (optical density: OD) สูงสุด เท่ากับ 0.83 ± 0.03 0.70 ± 0.01 0.66 ± 0.01 และ 0.60 ± 0.03 สำหรับ *L. lactis* A7 *L. pentosus* *L. acidophilus* และอินูลิน ตามลำดับ ดังนั้นเชื้อ *L. lactis* A7 ที่เลี้ยงร่วมกับกลูโคแมนแนน จึงเป็นสารสกัดกลูโคแมนแนนที่สามารถทำให้เชื้อ *L. lactis* A7 เจริญได้ดีกว่าสูตรควบคุม (อินูลิน) โดยมีค่าความเป็นกรด-ด่างต่ำสุดที่ชั่วโมงที่ 24 เท่ากับ 5.75 ± 0.02 นอกจากนี้ยังพบว่ามีค่าดัชนีการเป็นพรีไบโอติก (prebiotic index: PI) สูงสุด เท่ากับ 1.23 0.74 และ 0.63 สำหรับ *L. lactis* A7 *L. pentosus* และ *L. acidophilus* ตามลำดับ

คำสำคัญ: กลูโคแมนแนน พรีไบโอติก โพรไบโอติก

¹ หน่วยวิจัยทางอุตสาหกรรมชีวภาพ คณะเทคโนโลยี มหาวิทยาลัยมหาสารคาม

² ภาควิชาเทคโนโลยีชีวภาพ คณะเทคโนโลยี มหาวิทยาลัยมหาสารคาม

* Corresponding author e-mail: pariyaporn.i@msu.ac.th

Received: 27 February 2024, Revised: 22 March 2024, Accepted: 9 April 2024

Abstract

This work aimed to study the effects of native glucomannan on the growth and acid production of the bacterium *Lactococcus lactis* A7 in comparison with two commercial probiotic strains, *L. pentosus* and *L. Acidophilus*. From the results, it was found that the native glucomannan was found to be composed of two molecular weight fractions: high molecular weight glucomannan (1.9×10^6 Da) and low molecular weight glucomannan (1.4×10^3 Da), accounting for 58.08% and 41.92%, respectively, with polydispersity index (PDI) values of 1.6 and 1.2. Evaluation of its prebiotic properties in promoting probiotic growth revealed comparable growth trends, with the highest optical density (OD) values observed at 0.83 ± 0.03 , 0.70 ± 0.01 , 0.66 ± 0.01 , and 0.60 ± 0.03 for *L. lactis* A7, *L. pentosus*, *L. acidophilus*, and inulin (control), respectively. Notably, *L. lactis* A7 cultured with native glucomannan exhibited enhanced growth compared to the inulin control, with the lowest pH recorded at 24 hours (5.75 ± 0.02). Additionally, the highest prebiotic index (PI) values were observed at 1.23, 0.74, and 0.63 for *L. lactis* A7, *L. pentosus*, and *L. acidophilus*, respectively.

Keywords: Glucomannan, Prebiotic, Probiotic

บทนำ

ในปัจจุบัน ผู้คนมีความสนใจที่จะดูแลสุขภาพมากขึ้น โดยเฉพาะในเรื่องการควบคุมอาหาร การรับประทานอาหาร น้ำตาลในเลือด เนื่องจากในปัจจุบันมีโรคต่าง ๆ เพิ่มมากขึ้น อาทิ เช่น โรคเบาหวาน คอเลสเตอรอลสูง จึงได้หันมาใช้พรีไบโอติกซึ่งเป็นอาหารของโพรไบโอติก มีผลในการช่วยกระตุ้นการเจริญของจุลินทรีย์ในกลุ่มโพรไบโอติกและช่วยส่งเสริมสุขภาพของเจ้าบ้าน (host) พรีไบโอติกมีสมบัติ คือ สามารถดูดซับน้ำและพองตัวได้ดี เหมาะสำหรับในกลุ่มที่ควบคุมอาหาร นอกจากนี้สามารถนำไปใช้ประโยชน์ด้านการแพทย์ อาทิ ด้านอุตสาหกรรมยา โดยใช้เพื่อควบคุมระดับน้ำตาลและระดับคอเลสเตอรอลในเลือด ลดอาการท้องผูก ท้องเสีย ทั้งนี้ยังสามารถใช้เป็นส่วนผสมของยาเม็ด รวมไปถึงช่วยในการปรับสมดุลของช่องท้อง ซึ่งสามารถช่วยแก้ปัญหาข้อกังวลด้านสุขภาพตามที่ได้กล่าวไปข้างต้น พรีไบโอติกสามารถพบได้ในพืชหลายชนิด ได้แก่ หัวหอม หน่อไม้ฝรั่ง กระเทียม ถั่วเหลือง ถั่วลิสง รวมไปถึงบุก เป็นต้น ตามที่เราเห็นในท้องตลาด มีการใช้บุกเป็นส่วนผสมในอาหารสุขภาพอย่างกว้างขวาง ทั้งผลิตภัณฑ์เสริมอาหารและเครื่องดื่ม

บุก (Konjac) คือ มันชนิดหนึ่ง เป็นพืชล้มลุกที่พบมากในทุกภาคของประเทศไทย ถูกนำมาใช้ประโยชน์ทางด้านอาหารอย่างกว้างขวาง โดยเฉพาะส่วนหัวที่นิยมนำมาแปรรูปเป็นแป้ง และแปรรูปเป็นผลิตภัณฑ์อาหารเสริมหลายชนิด เนื่องจากมีเส้นใยสูงและมีสรรพคุณทางยาหลายด้าน นอกจากนี้ในบุกประกอบด้วยกลูโคแมนแนน (glucomannan) เป็นเส้นใยธรรมชาติที่มีน้ำหนักโมเลกุลสูง (high molecular-weight) เป็นสารประเภทคาร์โบไฮเดรต ประกอบด้วย กลูโคสและแมนโนส ซึ่งกลูโคแมนแนน

สามารถช่วยลดระดับน้ำตาลในเลือดได้ เนื่องจากมีความเหนียวจะช่วยยับยั้งการดูดซึมของกลูโคสจากทางเดินอาหาร

กลูโคแมนแนนเป็นพอลิแซ็กคาไรด์ (polysaccharide) (Chyba and Sagan, 1997) มีโครงสร้างประกอบด้วยน้ำตาลโมเลกุลเดี่ยว 2 ชนิด คือ น้ำตาลกลูโคสและน้ำตาลแมนโนส เชื่อมต่อกันเป็นเส้นตรงด้วยแรงยึดเหนี่ยวระหว่างขั้วที่ตำแหน่ง β -1,4'-glycosidic ของแต่ละโมเลกุล โดยทั่วไปแล้วกลูโคแมนแนนมีน้ำหนักโมเลกุลตั้งแต่ 200 ถึง 2,000 กิโลดาลตัน (Khanna, 2003) ซึ่งกลูโคแมนแนนมีสมบัติเป็นเส้นใยอาหาร (dietary fiber) สามารถดูดซับน้ำได้ดีมาก มีความหนืดมากที่สุดในกลุ่มเส้นใยอาหาร เป็นสารที่ทำให้เกิดเจล (gelling agent) สามารถทำให้เกิดเจลที่คงตัวต่อความร้อนได้ (thermoirreversible gel) โดยมีการประยุกต์ใช้กลูโคแมนแนนหลายด้าน ได้แก่ สกัดและถูกนำมาใช้ในกลุ่มอุตสาหกรรมอาหาร เพื่อใช้เป็นอิมัลซิไฟเออร์ (emulsifiers) สารเพิ่มความหนืด (thickener) ทั้งนี้เป็นสารตั้งต้นที่ใช้ในการเป็นพรีไบโอติก ซึ่งสารประกอบพวกพอลิแซ็กคาไรด์เป็นคาร์โบไฮเดรตที่ไม่สามารถย่อยและไม่ถูกดูดซึมในระบบทางเดินอาหารส่วนต้นและสามารถเคลื่อนที่ผ่านไปสู่บริเวณลำไส้ใหญ่ได้ในสภาพสมบูรณ์ โดยมีผลช่วยกระตุ้นการเจริญของกลุ่มจุลินทรีย์โปรไบโอติกในลำไส้ใหญ่ และส่งเสริมสุขภาพของเจ้าบ้าน (Gibson and Roberfroid, 1995) สารที่ใช้เป็นพรีไบโอติกต้องมีสมบัติทนต่อการย่อยของกรดในกระเพาะอาหาร ไม่ถูกดูดซึมในกระเพาะอาหารและลำไส้เล็ก และสามารถเคลื่อนที่ไปจนถึงลำไส้ใหญ่ได้โดยไม่มีการเปลี่ยนแปลง (Harman *et al.*, 2004; Kolida *et al.*, 2002; Ellegård *et al.*, 1997) สามารถที่จะเกิดการหมักในลำไส้ใหญ่โดยแบคทีเรียที่มีประโยชน์ เช่น บิฟิโดแบคทีเรีย (bifidobacteria) และ *Lactobacillus* sp. และอาหารลดน้ำหนักในรูปของใยอาหาร ซึ่งมีสมบัติสำคัญ คือ สามารถดูดซับน้ำและพองตัวได้ดี ไม่สามารถทำปฏิกิริยากับกรดและด่างหรือน้ำย่อยในร่างกายจึงไม่ถูกดูดซึมในร่างกาย

ด้วยเหตุนี้ในงานวิจัยนี้จึงมีความสนใจที่จะศึกษาผลของกลูโคแมนแนนดั้งเดิมต่อกิจกรรมการเจริญและการผลิตกรดของแบคทีเรียผลิตกรดแลคติก โดยนำกลูโคแมนแนนเชิงการค้าไปตรวจวัดน้ำหนักโมเลกุลด้วยเทคนิค gel permeation chromatography (GPC) วิเคราะห์โครงสร้างทางเคมีของกลูโคแมนแนน ศึกษาสมบัติการเป็นพรีไบโอติก ซึ่งประกอบด้วย ศึกษาการส่งเสริมการเจริญของโปรไบโอติกและการลดลงของค่าความเป็นกรด-ด่าง (growth curve and pH reduction) และศึกษาดัชนีการเป็นพรีไบโอติก (prebiotic index: PI)

วิธีดำเนินการวิจัย

1. วิเคราะห์สมบัติของกลูโคแมนแนน

1.1 วัดน้ำหนักโมเลกุลด้วยเทคนิคเจลเพอร์มิเอชันโครมาโทกราฟี

การวิเคราะห์น้ำหนักโมเลกุลของสารละลายกลูโคแมนแนนโดยใช้เครื่อง gel permeation chromatography (GPC) ยี่ห้อ Waters รุ่น Waters 600E เตรียมสารตัวอย่างก่อนการวิเคราะห์ทำโดยนำสารละลายตัวอย่างที่ผ่านการทำให้แห้งแบบแช่เยือกแข็ง จากนั้นนำสารตัวอย่างไปวิเคราะห์น้ำหนักโมเลกุลโดยใช้คอลัมน์ ultra hydrogel linear I และตัวตรวจวัดดัชนีหักเหแสง (refractive index: RI) ที่อุณหภูมิ 30 องศาเซลเซียส ฉีดเข้าสู่คอลัมน์ ultra hydrogel linear I โดยมีสารละลายโซเดียมคลอไรด์ความเข้มข้น 0.1 โมลาร์ เป็นตัวพาสารตัวอย่างเคลื่อนที่ผ่านคอลัมน์

ผลการวิเคราะห์จะถูกนำไปเทียบกับสารละลายมาตรฐานพูลูลแลน (pullulans) ที่มีน้ำหนักโมเลกุลอยู่ในช่วง 5,900 ถึง 708,000 คาลตัน

1.2 วัดโครงสร้างทางเคมีด้วยเทคนิคฟูเรียร์ทรานส์ฟอร์มอินฟราเรดสเปกโทรสโกปี

การวิเคราะห์โครงสร้างทางเคมีของสารละลายกลูโคแมนแนนโดยใช้เครื่อง Fourier transform infrared spectroscopy (FTIR) ยี่ห้อ PerkinElmer Model SPOTLIGHT 200i (วิเคราะห์ที่ศูนย์เครื่องมือกลาง มหาวิทยาลัยมหาสารคาม จังหวัดมหาสารคาม) โดยใช้การวัดแบบ ATR (attenuated total reflectance) ด้วยเครื่อง PIKE Gladi ATR ก่อนการวิเคราะห์สารตัวอย่างจะถูกนำไปทำแห้งแบบแช่เยือกแข็ง และนำไปวิเคราะห์ในช่วงสเปกตรัม 4,000-400 ความละเอียดของเลขคลื่น 1 ต่อเซนติเมตร

2. การทดสอบประสิทธิภาพของกลูโคแมนแนนจากบูกต่อการเป็นพรีไบโอติก

2.1 การเตรียมเชื้อทดลอง

เชื้อแบคทีเรียโพรไบโอติก ได้แก่ *Lactococcus lactis* A7 L. *pentosus* และ *L. acidophilus* เพาะเลี้ยงโพรไบโอติกแบคทีเรียในอาหารเลี้ยงเชื้อ de Man, Rogosa and Sharpe (MRS) broth บ่มที่อุณหภูมิ 37 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 18 ชั่วโมง

สำหรับเชื้อก่อโรคทดสอบที่ใช้ ได้แก่ *Escherichia coli* เพาะเลี้ยงในอาหารเหลว nutrient broth บ่มที่อุณหภูมิ 37 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 24 ชั่วโมง

2.2 การศึกษาการส่งเสริมการเจริญของโพรไบโอติกและการลดลงของค่าความเป็นกรด-ด่าง

การศึกษาการส่งเสริมการเจริญของเชื้อโพรไบโอติก ดัดแปลงวิธีจาก Synytsya *et al.* (2009) โดยเตรียมอาหารเลี้ยงเชื้อ MRS broth สูตรดัดแปลงโดยเติมกลูโคแมนแนนร้อยละ 0.25 แทนน้ำตาลกลูโคส ในสูตรพื้นฐานใช้อาหารเลี้ยงเชื้อ MRS broth สูตรดัดแปลงโดยเติมอินูลินเป็นชุดควบคุม เติมน้ำตาลโพรไบโอติกทั้ง 3 สายพันธุ์ ปริมาณเชื้อร้อยละ 2.00 (ปริมาตรต่อปริมาตร) บ่มที่อุณหภูมิ 37 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 24 ชั่วโมง เก็บตัวอย่างชั่วโมงที่ 0 3 6 9 12 18 และ 24 ตามลำดับ ตรวจวัดการเจริญของแบคทีเรีย โดยการวัดค่าการดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 600 นาโนเมตร และวัดการลดลงของค่าความเป็นกรด-ด่าง ทำการทดลอง 3 ซ้ำ

2.3 คำนวณดัชนีการเป็นพรีไบโอติก

การทดสอบดัชนีการเป็นพรีไบโอติกเป็นการศึกษาความสามารถของกลูโคแมนแนนต่อการส่งเสริมการเจริญของเชื้อโพรไบโอติกแบคทีเรียและยับยั้งเชื้อก่อโรค ซึ่งดัดแปลงตามวิธีการของ Huebner *et al.* (2008)

การศึกษาการเจริญของเชื้อโพรไบโอติกทั้ง 3 สายพันธุ์ ทำตามข้อ 2.2) สำหรับเชื้อก่อโรคที่ใช้ คือ *E. coli* ทำการทดลองเช่นเดียวกันกับการส่งเสริมการเจริญของเชื้อโพรไบโอติกโดยเลี้ยงในอาหารเหลว nutrient broth ที่เติมสูตรดัดแปลง ได้แก่ ใช้อาหารเหลว nutrient broth สูตรพื้นฐานผสมกลูโคแมนแนนร้อยละ 0.25) และใช้อาหารเหลว nutrient broth สูตรพื้นฐานผสมอินูลินร้อยละ 0.25 เป็นชุดควบคุม วัดค่าดูดกลืนแสงชั่วโมงที่ 0 และ 24 นำผลที่ได้มาคำนวณค่าดัชนีการเป็นพรีไบโอติกตามสมการ (1)

$$\text{ดัชนีการเป็นพรีไบโอติก} = \frac{A}{B} - \frac{C}{D} \quad (1)$$

เมื่อ A = ค่า log การดูดกลืนแสงของโพรไบโอติกที่เลี้ยงในอาหารเลี้ยงเชื้อที่เติมพรีไบโอติกที่ 24 ชั่วโมง - ค่า log การดูดกลืนแสงของโพรไบโอติกที่เลี้ยงในอาหารเลี้ยงเชื้อที่เติมพรีไบโอติกที่ 0 ชั่วโมง

B = ค่า log การดูดกลืนแสงของโพรไบโอติกที่เลี้ยงในอาหารเลี้ยงเชื้อที่เติมกลูโคสที่ 24 ชั่วโมง - ค่า log การดูดกลืนแสงของโพรไบโอติกที่เลี้ยงในอาหารเลี้ยงเชื้อที่เติมกลูโคสที่ 0 ชั่วโมง

C = ค่า log การดูดกลืนแสงของแบคทีเรียประจำถิ่นในลำไส้ของคนที่ยังไม่ได้รับอาหารเลี้ยงเชื้อที่เติมพรีไบโอติกที่ 24 ชั่วโมง - ค่า log การดูดกลืนแสงของแบคทีเรียประจำถิ่นในลำไส้ของคนที่ยังไม่ได้รับอาหารเลี้ยงเชื้อที่เติมพรีไบโอติกที่ 0 ชั่วโมง

D = ค่า log การดูดกลืนแสงของแบคทีเรียประจำถิ่นในลำไส้ของคนที่ยังไม่ได้รับอาหารเลี้ยงเชื้อที่เติมกลูโคสที่ 24 ชั่วโมง - ค่า log การดูดกลืนแสงของแบคทีเรียประจำถิ่นในลำไส้ของคนที่ยังไม่ได้รับอาหารเลี้ยงเชื้อที่เติมกลูโคสที่ 0 ชั่วโมง

4. การวิเคราะห์ผลการทดลองโดยใช้หลักสถิติ

การวิเคราะห์ผลการทดลองโดยใช้หลักสถิติ แผนการทดลองแบบสุ่มสมบูรณ์ (completely randomized design: CRD) วิเคราะห์ความแปรปรวนทางเดียว (one way analysis of variance) และเปรียบเทียบความแตกต่างของค่าเฉลี่ยด้วยวิธี Duncan's multiple range test (DMRT) ที่ระดับความเชื่อมั่นร้อยละ 95 โดยใช้โปรแกรมสำเร็จรูป SPSS เวอร์ชัน 22.0

ผลการวิจัย

1. ผลการวิเคราะห์น้ำหนักโมเลกุลกลูโคแมนแนน

จากการตรวจวัดน้ำหนักโมเลกุลเฉลี่ยโดยน้ำหนัก (weight-averaged molecular weight) ของสารละลายกลูโคแมนแนนด้วยเทคนิค GPC พบว่ากลูโคแมนแนนมีน้ำหนักโมเลกุล 2 ช่วง ได้แก่ กลูโคแมนแนนน้ำหนักโมเลกุลสูง (high molecular weight glucomannan) มีน้ำหนักโมเลกุลอยู่ในช่วง 1.0×10^4 - 1.0×10^6 ดาลตัน และกลูโคแมนแนนน้ำหนักโมเลกุลต่ำ (low molecular weight) มีน้ำหนักโมเลกุลต่ำกว่า 1.0×10^4 ดาลตัน นอกจากนั้นตรวจพบกลูโคแมนแนนน้ำหนักโมเลกุลเริ่มต้น 1.9×10^6 ดาลตัน และตรวจพบกลูโคแมนแนนน้ำหนักโมเลกุลต่ำ 1.4×10^3 ดาลตัน โดยมีค่าดัชนีการกระจายตัวของน้ำหนักโมเลกุล (polydispersity index: PDI) เท่ากับ 1.6 และ 1.2 ตามลำดับ

ค่าดัชนีการกระจายตัวของน้ำหนักโมเลกุลเป็นพารามิเตอร์ที่สำคัญที่สามารถอธิบายความกว้างหรือการกระจายตัวของขนาดอนุภาค ซึ่งอาจแปรผันตั้งแต่ 0 ถึง 1 ถ้าค่าดัชนีการกระจายตัวของน้ำหนักโมเลกุลน้อยกว่า 0.1 แสดงว่าโพลิเมอร์มีการกระจายตัวของน้ำหนักโมเลกุลน้อยหรือมีน้ำหนักโมเลกุลใกล้เคียงกัน ในทางตรงกันข้ามถ้าค่าดัชนีการกระจายตัวของน้ำหนักโมเลกุลมีค่ามากกว่า 0.1 แสดงว่ามีการกระจายตัวของอนุภาคที่มีน้ำหนักโมเลกุลแตกต่างกันมาก เมื่อพิจารณาผลของความเข้มข้นของสารละลายกลูโคแมนแนนต่อร้อยละผลได้ของกลูโคแมนแนน สารละลายกลูโคแมนแนนที่ตรวจพบน้ำหนักโมเลกุล 1.9×10^6 ดาลตัน ตรวจพบร้อยละผลได้เท่ากับ 58.08 และกลูโคแมนแนนน้ำหนักโมเลกุลต่ำ 1.4×10^3 ดาลตัน ตรวจพบร้อยละผลได้เท่ากับ 41.92 ดังตารางที่ 1

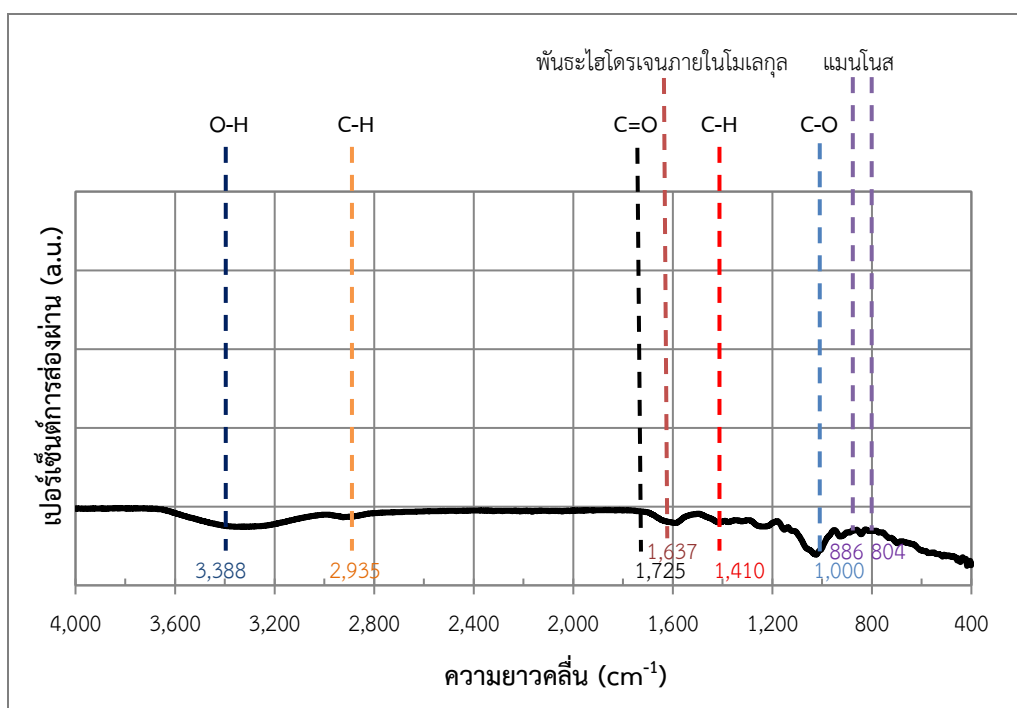
ตารางที่ 1 ผลของน้ำหนักโมเลกุลของกลูโคแมนแนน

ตัวอย่าง	น้ำหนักโมเลกุล	ค่าดัชนีการกระจายตัว ของน้ำหนักโมเลกุล	ร้อยละผลได้
กลูโคแมนแนน	1.9×10^6	1.6	58.08
	1.4×10^3	1.2	41.92

หมายเหตุ: - น้ำหนักโมเลกุลที่เทียบเคียงกับสารมาตรฐานพุลลูแลน

2. ผลการวิเคราะห์โครงสร้างทางเคมีของกลูโคแมนแนน

จากการวิเคราะห์โครงสร้างทางเคมีของกลูโคแมนแนนด้วยเทคนิค FTIR เพื่อตรวจสอบหมู่ฟังก์ชันและแสดงลักษณะโครงสร้างทางเคมีที่สำคัญ พบว่าพิกที่ตำแหน่ง 3,388 ต่อเซนติเมตร เนื่องจากการสั่นแบบยืด (stretching) ของหมู่ไฮดรอกซิล (O-H) (Li *et al.*, 2021) และพิกที่ตำแหน่ง 2,935 และ 1,410 ต่อเซนติเมตร ซึ่งสอดคล้องกับการสั่นแบบยืดในหมู่แอลเคน (C-H) (Li *et al.*, 2021) พิกที่ตำแหน่ง 1,725 ต่อเซนติเมตร เนื่องจากการสั่นแบบยืดที่เชื่อมระหว่างคาร์บอนและออกซิเจน (C=O) นอกจากนั้นพิกที่ตำแหน่ง 1,637 ต่อเซนติเมตร ซึ่งสอดคล้องกับพันธะไฮโดรเจนที่เกิดขึ้นภายในโมเลกุล (intramolecular hydrogen bonding) (Zheng *et al.*, 2019) ขณะที่พิกที่ตำแหน่ง 1,000 ต่อเซนติเมตร มีการสั่นแบบยืดโดยเชื่อมโยงระหว่างคาร์บอนและออกซิเจน (C-O) สอดคล้องกับพิกที่ตำแหน่ง 886 และ 804 ต่อเซนติเมตร แสดงถึงโครงสร้างของน้ำตาลแมนโนส (Zheng *et al.*, 2019) ดังภาพที่ 1



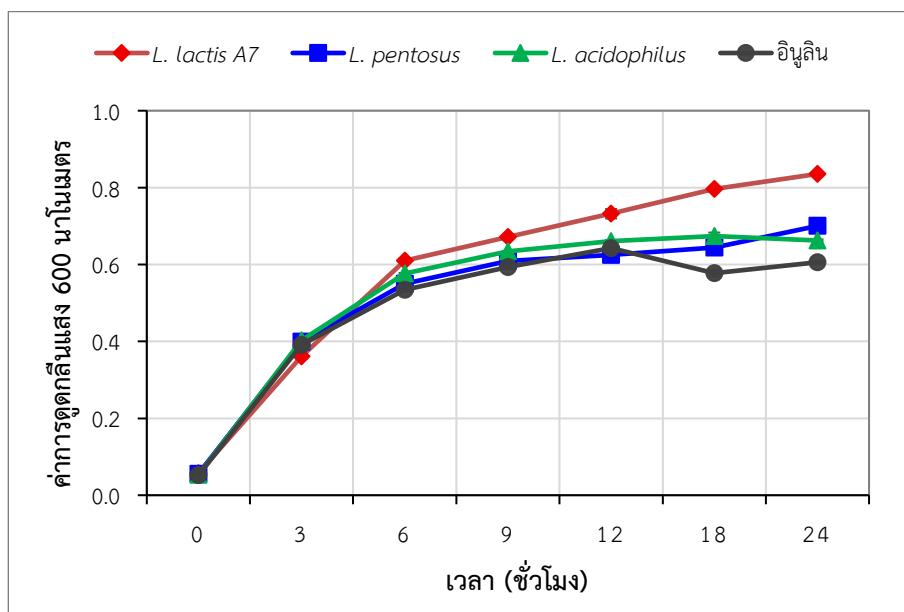
ภาพที่ 1 ลักษณะโครงสร้างทางเคมีของสารละลายกลูโคแมนแนน

3. ผลการส่งเสริมการเจริญของโพรไบโอติกและการลดลงของค่าความเป็นกรด-ด่าง

จากการศึกษาการเจริญของเชื้อแบคทีเรียโพรไบโอติก *L. lactis* A7 และเชื้อทางการค้า ได้แก่ *L. pentosus* และ *L. acidophilus* นำมาเลี้ยงกับกลูโคแมนแนนโดยเปรียบเทียบกับอินูลิน พบว่าผลของกลูโคแมนแนนต่อการเจริญของเชื้อ *L. lactis* A7 และเชื้อทางการค้าเติมกลูโคแมนแนนลงในอาหารเลี้ยงเชื้อ MRS broth เพื่อเป็นแหล่งคาร์บอนเปรียบเทียบกับอินูลินเป็นชุดควบคุม โดยทดสอบความสามารถของสารสกัดในการส่งเสริมการเจริญของเชื้อโพรไบโอติก และเก็บตัวอย่างที่เวลา 0 3 6 9 12 18 และ 24 ชั่วโมง เพื่อนำมาวัดการเจริญของโพรไบโอติก

3.1 ผลการส่งเสริมการเจริญของโพรไบโอติก

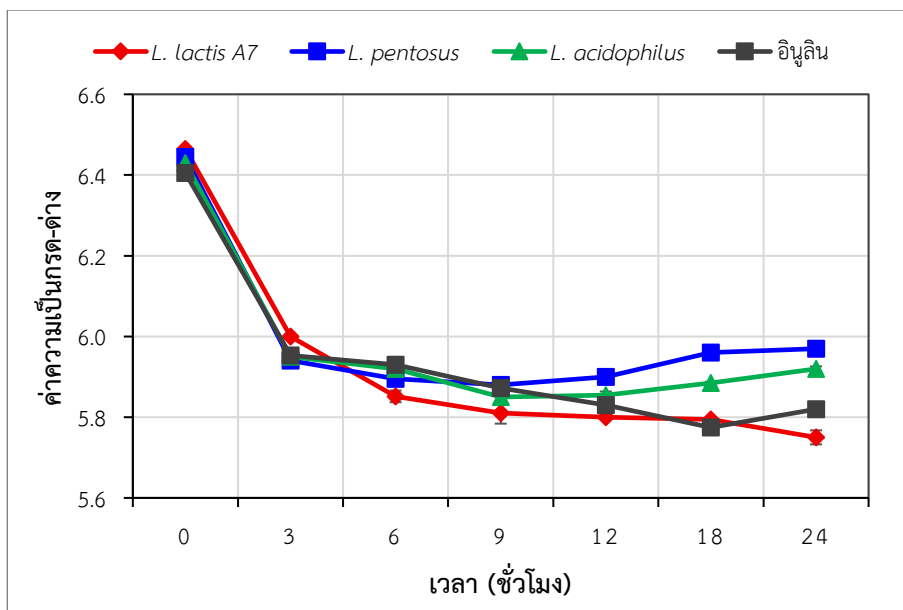
จากการศึกษาการเจริญของเชื้อ *L. lactis* A7 ในอาหารเลี้ยงเชื้อ MRS broth ที่มีการเติมกลูโคแมนแนนและทำการเก็บตัวอย่างที่เวลา 0 3 6 9 12 18 และ 24 ชั่วโมง พบว่าเชื้อ *L. lactis* A7 มีค่าการดูดกลืนแสง (optical density: OD) สูงสุดชั่วโมงที่ 24 โดยอยู่ระหว่าง 0.60-0.83 ซึ่งกลูโคแมนแนนมีค่าการดูดกลืนแสงสูงสุด เท่ากับ 0.83 ตามด้วยเชื้อ *L. pentosus* เท่ากับ 0.70 เชื้อ *L. acidophilus* เท่ากับ 0.66 และอินูลิน เท่ากับ 0.60 ดังนั้นกลูโคแมนแนนที่เลี้ยงร่วมกับ *L. lactis* A7 เป็นสารสกัดกลูโคแมนแนนที่สามารถทำให้เชื้อ *L. lactis* A7 เจริญได้ดีกว่าสูตรควบคุม คือ อินูลิน เท่ากับ 0.60 ดังภาพที่ 2



ภาพที่ 2 ความสัมพันธ์ระหว่างค่าการดูดกลืนแสงที่ 600 นาโนเมตรกับเวลาของเชื้อ *L. lactis* A7 *L. pentosus* และ *L. acidophilus* โดยเปรียบเทียบกับอินูลิน

3.2 ผลการลดลงของค่าความเป็นกรด-ด่าง

จากการศึกษาการลดลงของค่าความเป็นกรด-ด่างของเชื้อโพรไบโอติก ได้แก่ *L. lactis* A7 *L. pentosus* และ *L. acidophilus* นำมาเลี้ยงกับกลูโคแมนแนนโดยเปรียบเทียบกับอินูลิน ผลการศึกษาพบว่าเชื้อ *L. lactis* A7 ในทุกสารสกัดมีแนวโน้มในการลดลงของค่าความเป็นกรด-ด่างใกล้เคียงกัน ซึ่งเป็นผลของค่าความเป็นกรด-ด่างที่ตรวจพบระหว่างการทดสอบ แสดงว่าเชื้อ *L. lactis* A7 สามารถเจริญได้ในอาหารเลี้ยงเชื้อ MRS broth ที่เติมสารสกัดกลูโคแมนแนน โดยมีค่าความเป็นกรด-ด่างต่ำสุดชั่วโมงที่ 24 โดยอยู่ระหว่าง 5.75-5.97 ซึ่ง *L. lactis* A7 เท่ากับ 5.75 ตามด้วยอินูลิน เท่ากับ 5.82 เชื้อ *L. acidophilus* เท่ากับ 5.92 และเชื้อ *L. pentosus* เท่ากับ 5.97 ดังภาพที่ 3



ภาพที่ 3 ความสัมพันธ์ระหว่างค่าความเป็นกรด-ด่างกับเวลาของเชื้อ *L. lactis* A7 *L. pentosus* และ *L. acidophilus* โดยเปรียบเทียบกับอินูลิน

4. ผลการทดสอบความสามารถของการเป็นพรีไบโอติก

การวิเคราะห์ความสามารถของการเป็นพรีไบโอติกของสารสกัดกลูโคแมนแนน โดยเปรียบเทียบกับอินูลินที่สามารถกระตุ้นการเจริญของเชื้อโพรไบโอติก ด้วยวิธี prebiotic activity assay ซึ่งดัดแปลงตามวิธีการของ Huebner *et al.* (2008)

ดัชนีการเป็นพรีไบโอติกแสดงถึงความสัมพันธ์เชิงเปรียบเทียบระหว่างการเจริญของแบคทีเรียที่มีประโยชน์ เช่น บิฟิโดแบคทีเรีย และ *Lactobacillus* sp. และแบคทีเรียที่ก่อให้เกิดโรค เช่น *E. coli* (Plongbunjong *et al.*, 2017) โดยการเปลี่ยนแปลงของประชากรแบคทีเรียที่แสดงถึงดัชนีพรีไบโอติกเชิงบวก จากการทดสอบผลการเปรียบเทียบความสามารถของการเป็นพรีไบโอติกของกลูโคแมนแนนนำมาผสมในอาหารเลี้ยงเชื้อ สารพรีไบโอติกดังกล่าวมีความสามารถในการส่งเสริมการเจริญของเชื้อโพรไบโอติกของกลูโคแมนแนน พบว่าในการเลี้ยงร่วมกับสารสกัดกลูโคแมนแนน

ส่งผลต่อการเจริญของเชื้อ *L. lactis* A7 เห็นได้ชัดเจน จึงถือว่าสารสกัดที่ได้นั้นมีความสามารถในการเป็นพรีไบโอติกที่ดี แต่สำหรับอินูลินถือว่าสารสกัดที่ได้นั้นมีความสามารถในการเป็นพรีไบโอติกต่ำกว่า เมื่อเปรียบเทียบค่าความสามารถของการเป็นพรีไบโอติกต่อการเจริญของเชื้อ *L. lactis* A7 และเชื้อทางการค้า พบว่าอินูลินมีค่าความสามารถต่อการเป็นพรีไบโอติกต่อเชื้อ *L. acidophilus* สูงสุดเท่ากับ 0.65 รองลงมาเชื้อ *L. pentosus* เท่ากับ 0.52 และ *L. lactis* A7 เท่ากับ 0.50 ตามลำดับ ต่อมาเมื่อทดสอบกับกลูโคแมนแนน มีค่าความสามารถต่อการเป็นพรีไบโอติกต่อเชื้อ *L. lactis* A7 สูงสุด เท่ากับ 1.23 รองลงมาเชื้อ *L. pentosus* เท่ากับ 0.74 และเชื้อ *L. acidophilus* เท่ากับ 0.63 ตามลำดับ ดังตารางที่ 2

ตารางที่ 2 ค่าดัชนีการเป็นพรีไบโอติกของเชื้อ *L. lactis* A7 *L. pentosus* และ *L. acidophilus*

อาหารเลี้ยงเชื้อ	เชื้อจุลินทรีย์	ค่าดัชนีการเป็นพรีไบโอติก
อินูลิน	<i>L. pentosus</i>	0.52
	<i>L. acidophilus</i>	0.65
	<i>L. lactis</i> A7	0.50
กลูโคแมนแนน	<i>L. pentosus</i>	0.74
	<i>L. acidophilus</i>	0.63
	<i>L. lactis</i> A7	1.23

การอภิปรายผลการวิจัย

กลูโคแมนแนนมีสมบัติเป็นเส้นใยอาหาร สามารถดูดซับน้ำได้ดีมาก มีความหนืดมากที่สุดในกลุ่มเส้นใยอาหาร เป็นสารที่ทำให้เกิดเจล สามารถทำให้เกิดเจลที่คงตัวต่อความร้อนได้ โดยถูกนำมาใช้ในกลุ่มอุตสาหกรรมอาหาร ทั้งนี้เป็นสารตั้งต้นที่ใช้ในการเป็นพรีไบโอติก ดังนั้นหากกลูโคแมนแนนดั้งเดิมสามารถเลี้ยงร่วมกับ *L. lactis* A7 เพื่อส่งเสริมการเจริญและลดลงของค่าความเป็นกรด-ด่าง รวมถึงดัชนีการเป็นพรีไบโอติกได้ก็แสดงว่ากลูโคแมนแนนนั้นมีความสามารถในการเป็นพรีไบโอติก ซึ่งสอดคล้องกับงานวิจัยของ Daeschel (1989) เนื่องจากพรีไบโอติกนั้นมีความสามารถในการสร้างกรดส่งผลให้ค่าความเป็นกรด-ด่างลดลง ซึ่งมีผลต่อการยับยั้งการเจริญของเชื้อจุลินทรีย์ชนิดอื่น โดยผลิตได้จากแบคทีเรียกรดผลิตแลคติกถูกนำมาใช้ในการหมักเพื่อรักษาคุณภาพทางโภชนาการของอาหารต่าง ๆ มีฤทธิ์ด้านจุลชีพหลักที่กระทำโดยแบคทีเรียผลิตกรดแลคติก คือ การผลิตกรดแลคติก และการลดลงของค่าความเป็นกรด-ด่าง พรีไบโอติกแบคทีเรียมีผลดีต่อสุขภาพในลำไส้ กระตุ้นให้แบคทีเรียเหล่านี้เจริญได้ โดยเฉพาะทำให้การติดเชื้อในลำไส้ลดลงด้วยกลไกหลายอย่างรวมถึงการลดค่าความเป็นกรด-ด่างในลำไส้ (โดยการผลิตกรด) และการขับยาปฏิชีวนะตามธรรมชาติ (Gibson, 2005) นอกจากนี้ยังสามารถผลิตไฮโดรเจนเปอร์ออกไซด์ (H_2O_2) ผลิตขึ้นโดยแลคติกแบคทีเรีย มีฤทธิ์ด้านจุลชีพ โดยไฮโดรเจนเปอร์ออกไซด์ อาจเป็นผลจากปฏิกิริยาออกซิเดชันของหมู่ซัลไฮดริลที่ทำให้เกิดการเสียสภาพของเอนไซม์จำนวนหนึ่ง และจากปฏิกิริยาเปอร์ออกซิเดชันของไขมันในเยื่อหุ้มเซลล์ ซึ่งจะทำให้การซึมผ่านของเยื่อหุ้มเซลล์เพิ่มขึ้น (Kong and Davison, 1980) ไฮโดรเจนเปอร์ออกไซด์ ยังอาจเป็นสารตั้งต้นสำหรับการผลิตอนุมูลอิสระที่ฆ่าเชื้อแบคทีเรีย เช่น ซูเปอร์ออกไซด์ (O_2^-) และ

อนุมูลไฮดรอกซิล ($\cdot\text{OH}$) จะทำให้เกิดรูรั่วที่ผนังเซลล์ของเซลล์แบคทีเรียเป้าหมาย ซึ่งสามารถทำลายดีเอ็นเอได้ (Byczkowski and Gessner, 1988) และการศึกษาของ Boonkla *et al.* (2024) รายงานว่าแบคทีเรียผลิตกรดแลคติกสามารถผลิตสารต้านอนุมูลอิสระที่ส่งผลดีต่อสุขภาพได้

อย่างไรก็ตามในการใช้ประโยชน์จากพรีไบโอติกของแบคทีเรียผลิตกรดแลคติกนั้น จะสัมพันธ์กับเชื้อกลุ่มโพรไบโอติกที่มีความเจาะจงในการย่อย โดยค่าความสามารถในการเป็นพรีไบโอติกนั้นแสดงให้เห็นถึงความสามารถในการเผาผลาญ (metabolic capacity) ของจุลินทรีย์แต่ละสายพันธุ์ ซึ่งจากการทดลองที่กล่าวมาข้างต้นแสดงให้เห็นว่ากลูโคแมนแนนมีความสามารถในการเป็นพรีไบโอติกสูงกว่าอินูลิน สอดคล้องกับการศึกษาก่อนหน้านี้ของ Ariestanti *et al.* (2019) ได้ทำการศึกษาเกี่ยวกับกิจกรรมพรีไบโอติกของบุกกลูโคแมนแนน (porang glucomannan: PGM) เพื่อเพิ่มประสิทธิภาพในการผลิตบุกโอลิโกกลูโคแมนแนน และผลกระทบต่อจุลินทรีย์ในลำไส้ พบว่าคอนยัคโอลิโกกลูโคแมนแนน (Konjac oligo-glucomannan: KOG) จะแสดงศักยภาพของพรีไบโอติกมากกว่าอินูลินที่มีขายทั่วไป ซึ่งผลการศึกษานี้แสดงให้เห็นความสามารถของผลิตภัณฑ์ที่ผ่านกระบวนการย่อยบุกโอลิโกกลูโคแมนแนน (Porang oligo-glucomannan: POG) และคอนยัคโอลิโกกลูโคแมนแนน ในการส่งเสริมการเจริญของบิฟิโดแบคทีเรีย และสอดคล้องกับ Anggela *et al.* (2022) ได้ทำการศึกษาการเป็นพรีไบโอติกของแป้งโอลิโกกลูโคแมนแนนโดยใช้การหมักอุจจาระเป็นชุดเมื่อนำไปศึกษาผลของการเป็นพรีไบโอติกพบว่าบุกโอลิโกกลูโคแมนแนน คอนยัคโอลิโกกลูโคแมนแนน และบุกกลูโคแมนแนนมีค่าดัชนีการเป็นพรีไบโอติก เท่ากับ 10.29 8.53 และ 4.25 ตามลำดับ นอกจากนี้บุกโอลิโกกลูโคแมนแนนยังแสดงให้เห็นว่าเป็นพรีไบโอติกที่มีประสิทธิภาพมากกว่าสารตั้งต้นอื่น ๆ โดยกระตุ้นการเจริญของแบคทีเรียที่มีประโยชน์ โดยเฉพาะอย่างยิ่งในเชื้อบิฟิโดแบคทีเรียและในขณะเดียวกันสามารถยับยั้งการเจริญของแบคทีเรียที่ทำให้เกิดโรคได้

สรุปผลการวิจัย

จากการตรวจวัดน้ำหนักโมเลกุลเฉลี่ยของกลูโคแมนแนน พบช่วงของน้ำหนักโมเลกุล 2 ช่วง ได้แก่ กลูโคแมนแนนน้ำหนักโมเลกุลสูง มีน้ำหนักโมเลกุลอยู่ในช่วง 1.0×10^4 - 1.0×10^6 ดาลตัน และกลูโคแมนแนนน้ำหนักโมเลกุลต่ำ มีน้ำหนักโมเลกุลต่ำกว่า 1.0×10^4 ดาลตัน กลูโคแมนแนนตรวจพบน้ำหนักโมเลกุลเริ่มต้น 1.9×10^6 ดาลตัน และตรวจพบกลูโคแมนแนนน้ำหนักโมเลกุลต่ำ 1.4×10^3 ดาลตัน โดยมีค่าดัชนีการกระจายตัวของน้ำหนักโมเลกุลเท่ากับ 1.6 และ 1.2 ตามลำดับ ตรวจพบร้อยละ 58.08 และ 41.92 ตามลำดับ จากการศึกษาสมบัติการเป็นพรีไบโอติกที่สภาวะต่าง ๆ เพื่อส่งเสริมการเจริญของโพรไบโอติก *L. lactis* A7 โดยเติมกลูโคแมนแนนในอาหารเลี้ยงเชื้อ MRS broth ส่วนในตัวอย่างควบคุมเติมอินูลิน พบว่าอัตราการเจริญมีแนวโน้มใกล้เคียงกัน แต่กลูโคแมนแนนมีค่าการดูดกลืนของแสงสูงสุด สามารถส่งเสริมการเจริญของ *L. lactis* A7 เท่ากับ 0.83 ± 0.03 ตามด้วยเชื้อ *L. pentosus* เท่ากับ 0.70 ± 0.01 เชื้อ *L. acidophilus* เท่ากับ 0.66 ± 0.01 และอินูลิน เท่ากับ 0.60 ± 0.03 ดังนั้น กลูโคแมนแนนที่เลี้ยงร่วมกับ *L. lactis* A7 เป็นสารสกัดกลูโคแมนแนนที่สามารถทำให้เชื้อ *L. lactis* A7 เจริญได้ดีกว่าสูตรควบคุม คือ อินูลิน 0.60 ± 0.02 นอกจากนี้ยังพบว่าเชื้อโพรไบโอติก *L. lactis* A7 ที่เลี้ยงร่วมกับกลูโคแมนแนนมีค่าความเป็นกรด-ด่างต่ำสุดที่ชั่วโมงที่ 24 โดยมีค่าความเป็นกรด-ด่างเท่ากับ 5.75 ± 0.02 แต่สูงกว่าตัวอย่างควบคุมอินูลินเท่ากับ 5.82 ± 0.05 และ

เชื้อ *L. acidophilus* มีค่าความเป็นกรด-ด่างเท่ากับ 5.92 ± 0.02 และเชื้อ *L. pentosus* เท่ากับ 5.97 ± 0.01 และเมื่อวิเคราะห์ความสามารถของการเป็นพรีไบโอติก พบว่าค่าดัชนีการเป็นพรีไบโอติกสูงสุด คือ กลูโคแมนแนนมีค่าความสามารถต่อการเป็นพรีไบโอติกต่อเชื้อ *L. lactis* A7 สูงสุด เท่ากับ 1.23 ตามด้วยเชื้อ *L. pentosus* เท่ากับ 0.74 และเชื้อ *L. acidophilus* เท่ากับ 0.63

กิตติกรรมประกาศ

ขอขอบคุณคณะเทคโนโลยี มหาวิทยาลัยมหาสารคาม ที่ให้การสนับสนุนตรวจวิเคราะห์คุณภาพงานวิจัยให้เกิดความสมบูรณ์และแม่นยำ

เอกสารอ้างอิง

- Anggela, A., Harmayani, E., Setyaningsih, W. and Wichienchot, S. (2022). Prebiotic effect of porang oligo-glucomannan using fecal batch culture fermentation. *Food Science and Technology*, 42, doi: <https://doi.org/10.1590/fst.06321>.
- Ariestanti, C.A., Seechamnaturakit, V., Harmayani, E. and Wichienchot, S. (2019). Optimization on production of konjac oligo-glucomannan and their effect on the gut microbiota. *Food Science & Nutrition*, 7(2), 788-796, doi: <https://doi.org/10.1002/fsn3.927>.
- Boonkla, W., Kerdsin, A. and Itsaranuwat, P. (2024) Antioxidant activities of *Boesenbergia rotunda* (L.) Mansf. fermented with lactic acid bacteria. *Wichcha Journal Nakhon Si Thammarat Rajabhat University*, 43(2), 66-75.
- Byczkowski, J.Z. and Gessner, T. (1988). Biological role of superoxide ion-radical. *International Journal of Biochemistry*, 20(6), 569-580, doi: [https://doi.org/10.1016/0020-711X\(88\)90095-X](https://doi.org/10.1016/0020-711X(88)90095-X).
- Chyba, C.F. and Sagan, C. (1997). Comets as a source of prebiotic organic molecules for the early earth. In Thomas, P.J., Chyba, C.F. and McKay, C.P. (Eds.). *Comets and the origin and evolution of life*, pp. 147-173. New York: Springer.
- Daeschel, M.A. (1989). Antimicrobial substances from lactic acid bacteria for use as food preservatives. *Food Technology*, 43(1), 164-167.
- Ellegård, L., Andersson, H. and Bosaeus, I. (1997). Inulin and oligofructose do not influence the absorption of cholesterol, or the excretion of cholesterol, Ca, Mg, Zn, Fe, or bile acids but increases energy excretion in ileostomy subjects. *European Journal of Clinical Nutrition*, 51(1), 1-5, doi: <https://doi.org/10.1038/sj.ejcn.1600320>.
- Gibson, G.R. and Roberfroid, M.B. (1995). Dietary modulation of the human colonic microbiota: Introducing the concept of prebiotics. *The Journal of Nutrition*, 125(6), 1401-1412, doi: <https://doi.org/10.1093/jn/125.6.1401>.

- Gibson, R.S. (2005). *Principles of nutritional assessment*. (2nd ed). New York: Oxford University Press.
- Harman, G.E., Lorito, M. and Lynch, J.M. (2004). Uses of *Trichoderma* spp. to alleviate or remediate soil and water pollution. *Advances in Applied Microbiology*, 56, 313-330, doi: [https://doi.org/10.1016/S0065-2164\(04\)56010-0](https://doi.org/10.1016/S0065-2164(04)56010-0).
- Huebner, J., Wehling, R.L., Parkhurst, A. and Hutkins, R.W. (2008). Effect of processing conditions on the prebiotic activity of commercial prebiotics. *International Dairy Journal*, 18(3), 287-293, doi: <https://doi.org/10.1016/j.idairyj.2007.08.013>.
- Khanna, S. (2003). *The chemical, physical and nutritional properties of the plant polysaccharide konjac glucomannan*. Ph.D. thesis in Doctoral Dissertation, Glasgow Caledonian University, Glasgow.
- Kolida, S., Tuohy, K. and Gibson, G.R. (2002). Prebiotic effects of inulin and oligofructose. *British Journal of Nutrition*, 87(suppl 2), S193-S197, doi: <https://doi.org/10.1079/BJN/2002537>.
- Kong, S. and Davison, A.J. (1980). The role of interactions between O₂, H₂O₂, ·OH, e⁻ and O₂⁻ in free radical damage to biological systems. *Archives of Biochemistry and Biophysics*, 204(1), 18-29, doi: [https://doi.org/10.1016/0003-9861\(80\)90003-X](https://doi.org/10.1016/0003-9861(80)90003-X).
- Li, F., Sun, X., Yu, W., Shi, C., Zhang, X., Yu, H. and Ma, F. (2021). Enhanced konjac glucomannan hydrolysis by lytic polysaccharide monooxygenases and generating prebiotic oligosaccharides. *Carbohydrate Polymers*, 253, doi: <https://doi.org/10.1016/j.carbpol.2020.117241>.
- Plongbunjong, V., Graidist, P., Knudsen, K.E.B. and Wichienchot, S. (2017). Isomaltooligosaccharide synthesised from rice starch and its prebiotic properties in vitro. *International Journal of Food Science & Technology*, 52(12), 2589-2595, doi: <https://doi.org/10.1111/ijfs.13545>.
- Zheng, Q., Li, W., Liang, S., Zhang, H., Yang, H., Li, M. and Zhang, Y. (2019). Effects of ultrasonic treatment on the molecular weight and anti-inflammatory activity of oxidized konjac glucomannan. *CyTA-Journal of Food*, 17(1), 1-10, doi: <https://doi.org/10.1080/19476337.2018.1541195>.

ผลของความเข้มข้นของเกลือโซเดียมคลอไรด์ต่อคุณภาพของเห็ดแครง ในน้ำเกลือบรรจุขวด

The Effect of Sodium Chloride Concentration on the Quality of Bottled Brine of Split-gill Mushroom (*Schizophyllum commune*)

จินตนา เจริญเนตรกุล¹ และรุ่งทิพย์ รัตนพล^{1*}

Jintana Chareonnatkul¹ and Rungtip Rattanapon^{1*}

บทคัดย่อ

งานวิจัยนี้มีวัตถุประสงค์เพื่อศึกษาผลของความเข้มข้นของเกลือโซเดียมคลอไรด์ต่อคุณภาพของเห็ดแครง (*Schizophyllum commune*) ในน้ำเกลือบรรจุขวด และเพื่อพัฒนาเป็นผลิตภัณฑ์ต้นแบบสำหรับกลุ่มวิสาหกิจชุมชนกลุ่มผู้เพาะเลี้ยงเห็ดแครงตำบลท่าข้าม อำเภอบางใหญ่ จังหวัดสงขลา โดยศึกษาความเข้มข้นของเกลือโซเดียมคลอไรด์ (NaCl) 3 ระดับ ได้แก่ ร้อยละ 1.0 1.5 และ 2.0 โดยน้ำหนักต่อปริมาตร และตรวจสอบคุณภาพของเห็ดแครงในน้ำเกลือบรรจุขวด (bottled brine split-gill: BSG) ประกอบด้วยค่าสี (L^* a^* และ b^*) ความเป็นกรด-ด่าง (pH) ความเข้มข้นเกลือโซเดียมคลอไรด์ ปริมาณสารประกอบฟีนอลิกทั้งหมด และสมบัติการต้านอนุมูลอิสระด้วยวิธี DPPH radical scavenging activity (DPPH) พบว่าระดับความเข้มข้นของเกลือโซเดียมคลอไรด์มีผลต่อค่าสีของเห็ดแครงในน้ำเกลือ โดยค่าความสว่าง (L^*) ของเห็ดแครงในน้ำเกลือความเข้มข้นร้อยละ 1.0 มีค่าสูงสุด (L^* เท่ากับ 22.14) และมีค่าลดลงเมื่อความเข้มข้นของเกลือโซเดียมคลอไรด์สูงกว่าร้อยละ 1.0 ($p \leq 0.05$) ในขณะที่ค่าความเป็นสีแดง (a^*) และค่าความเป็นสีเหลือง (b^*) ของเห็ดแครงในน้ำเกลือร้อยละ 2.0 มีค่าสูงสุด ($p \leq 0.05$) โดยมีค่า a^* และ b^* เท่ากับ 3.01 และ 6.83 ตามลำดับ ค่าความแตกต่างของสี (ΔE) ของเห็ดแครงในน้ำเกลือความเข้มข้นร้อยละ 1.0 มีค่าต่ำที่สุด เท่ากับ 41.01 ค่าความเป็นกรด-ด่างของเห็ดแครงในน้ำเกลือทุกชุดการทดลองมีค่าต่ำกว่า 4.60 (4.05-4.20) และค่าความเป็นกรด-ด่างลดลงเมื่อระดับความเข้มข้นของเกลือโซเดียมคลอไรด์เพิ่มขึ้น ปริมาณเกลือในเห็ดแครงดองน้ำเกลือ และน้ำเกลือสำหรับดองเห็ดแครงเพิ่มขึ้นตามระดับความเข้มข้นของเกลือที่เพิ่มขึ้น สำหรับปริมาณสารประกอบฟีนอลิกทั้งหมดของเห็ดแครงในน้ำเกลือร้อยละ 2.0 เท่ากับ 1.74 มิลลิกรัมสมมูลของกรดแกลลิกต่อกรัมของสารสกัด (mg GAE/g extract) ซึ่งมีปริมาณสูงสุด เมื่อเปรียบเทียบกับเห็ดแครงในน้ำเกลือร้อยละ 1.0 1.5 และเห็ดแครงสด ($p \leq 0.05$) อีกทั้งตรวจไม่พบคุณสมบัติการต้านอนุมูลอิสระในเห็ดแครงในน้ำเกลือทุกชุดการทดลอง

¹ สาขาเกษตรศาสตร์ คณะศิลปศาสตร์ มหาวิทยาลัยเทคโนโลยีราชมงคลศรีวิชัย

* Corresponding author e-mail: rungtip.r@rmutsv.ac.th

Received: 28 March 2023, Revised: 24 April 2024, Accepted: 6 June 2024

คำสำคัญ: เห็ดแครง เห็ดแครงในน้ำเกลือ โซเดียมคลอไรด์

Abstract

The objectives of this research are to study the effect of sodium chloride concentration on the quality of bottled brine split-gill mushroom (*Schizophyllum commune*), and to develop a prototype product for the community enterprise group that cultivates these mushrooms in Tha Kham sub-district, Hat Yai district, Songkhla province. The study investigates three levels of sodium chloride concentration (NaCl) including 1.0%, 1.5%, and 2.0% weight per volume (w/v). The study has carried out to determine the qualities of bottled brine split-gill mushroom (BSG) including color (L^* , a^* and b^*), pH, sodium chloride concentration, total phenolic content and antioxidation activity as using DPPH radical scavenging activity (DPPH) method. The result found that sodium chloride concentration affected the color of the BSG. The lightness value (L^*) of the BSG with 1.0% NaCl was highest ($L^* = 22.14$) and decreased when the concentration of NaCl was higher than 1.0%. The redness (b^*) and yellowness (a^*) of the BSG with 2.0%NaCl were the highest ($p \leq 0.05$). The a^* and b^* value was 3.01 and 6.83, respectively. The ΔE of the BSG with 1.0%NaCl was lowest ($p \leq 0.05$), there was 41.01. The pH of the BSG was lower than 4.60 (4.05-4.20) in all treatments. And the pH decreased with increasing NaCl concentration. The salt content in the BSG and brine was increased with the concentration of NaCl increased. The total phenolic content of the BSG with 2.0 % was higher than 1.0%, 1.5% and fresh split gill mushroom ($p \leq 0.05$). However, the antioxidant activity was not detected in all treatments of BSG.

Keywords: Split gill mushroom, Bottled brine-split gill mushroom, Sodium chloride

บทนำ

เห็ดแครง (split gill mushroom) มีชื่อวิทยาศาสตร์ คือ *Schizophyllum commune* สามารถเจริญเติบโตและให้ผลผลิตได้ตลอดทั้งปีโดยเฉพาะฤดูฝน อุดมไปด้วยสารอาหารที่เป็นประโยชน์ต่อร่างกาย และสารออกฤทธิ์ทางชีวภาพที่สำคัญที่พบในเห็ดแครง ได้แก่ schizophyllan phenyl benzoate และฟีนอล (phenol) นอกจากนี้พบสาร N-acetyl-D-galactosmine-specific lectins ในเห็ดแครงที่เพาะในประเทศไทย (Menakongka *et al.*, 2019) ทั้งนี้สารสำคัญดังกล่าวมีคุณสมบัติที่เป็นประโยชน์ด้านการรักษาทางการแพทย์ได้หลากหลาย เช่น ต้านอนุมูลอิสระ ต้านมะเร็ง และต้านจุลชีพ เป็นต้น พอลิแซ็กคาไรด์ (polysaccharides) ที่สกัดได้จากเห็ดแครงมีคุณสมบัติในการยับยั้งเซลล์มะเร็งในหนู รวมถึงสาร schizophyllan ช่วยเพิ่มอัตราการรอดชีวิตในผู้ป่วยมะเร็งลำคอ (Menakongka *et al.*, 2019)

การใช้ประโยชน์จากเห็ดแครงในรูปแบบของผลิตภัณฑ์อาหารมีแนวโน้มเพิ่มขึ้น โดยมีการพัฒนาผลิตภัณฑ์หลากหลายรูปแบบ เช่น น้ำพริกเห็ดแครงแห้ง (ปัทมา และคณะ, 2565) คั่วกลิ้งเห็ดแครงแห้ง (วิภาวดี และคณะ, 2558) และไส้กรอกปราศจากเนื้อสัตว์ (รัชฎาภรณ์ และรัตติพร, 2563) เป็นต้น นอกจากนี้การถนอมอาหารด้วยเกลือหรือการดองในน้ำเกลือจัดเป็นวิธีการหนึ่งที่ยิมนำมาใช้ในการยืดอายุการเก็บรักษาอาหารประเภทผักและผลไม้ โดยการใช้เกลือในระดับความเข้มข้นที่เหมาะสม ร่วมกับการนึ่งฆ่าเชื้อ จากรายงานการวิจัยต่าง ๆ พบว่ามีการแปรรูปเห็ดชนิดต่าง ๆ ในน้ำเกลือบรรจุขวดแก้ว เช่น เห็ดตับเต่าในน้ำเกลือความเข้มข้นร้อยละ 1.0 มีปริมาณสารประกอบฟีนอลิกทั้งหมดและกิจกรรมการต้านอนุมูลอิสระสูงที่สุด (วิจิตรา และวชิรญา, 2560) และเห็ดเสม็ดในน้ำเกลือความเข้มข้นร้อยละ 10.0 ได้รับการยอมรับคุณภาพทางประสาทสัมผัสและมีความปลอดภัยต่อการบริโภค (ดลฤดี และคณะ, 2560)

กลุ่มวิสาหกิจชุมชนกลุ่มผู้เพาะเลี้ยงเห็ดแครง ตำบลท่าข้าม อำเภอบางใหญ่ จังหวัดสงขลา ได้ดำเนินกิจกรรมกลุ่มในการเพาะเห็ดแครงและจัดจำหน่ายในรูปแบบของเห็ดแครงสด ซึ่งประสบปัญหา คือ ผลผลิตที่มีคุณภาพไม่ผ่านเกณฑ์กำหนด ไม่สามารถจำหน่ายในรูปแบบของเห็ดแครงสดได้ หรือจำหน่ายในราคาถูก ส่งผลให้เกิดของเสียและสูญเสียรายได้ของกลุ่ม จากเหตุผลดังกล่าวข้างต้นสมาชิกของกลุ่มผู้เพาะเลี้ยงเห็ดแครงจึงมีความต้องการผลิตภัณฑ์เห็ดแครงแปรรูปที่มีอายุการเก็บนานยิ่งขึ้น ดังนั้นงานวิจัยนี้จึงสนใจนำเห็ดแครงมาแปรรูปในรูปแบบเห็ดแครงในน้ำเกลือบรรจุขวด โดยศึกษาผลของความเข้มข้นของเกลือโซเดียมคลอไรด์ต่อคุณภาพของเห็ดแครงในน้ำเกลือบรรจุขวดและคุณสมบัติการต้านอนุมูลอิสระ เพื่อพัฒนาเป็นผลิตภัณฑ์ต้นแบบเห็ดแครงในน้ำเกลือบรรจุขวดสำหรับกลุ่มวิสาหกิจชุมชนกลุ่มผู้เพาะเลี้ยงเห็ดแครงตำบลท่าข้าม อำเภอบางใหญ่ จังหวัดสงขลา

วิธีดำเนินการวิจัย

1. การเตรียมเห็ดแครงในน้ำเกลือบรรจุขวด

นำเห็ดแครงสดจากกลุ่มวิสาหกิจชุมชนกลุ่มผู้เพาะเลี้ยงเห็ดแครง ตำบลท่าข้าม อำเภอบางใหญ่ จังหวัดสงขลา ที่เก็บผลผลิตในเดือนกันยายน พ.ศ. 2565 ล้างด้วยน้ำสะอาด ตั้งให้สะเด็ดน้ำ จากนั้นลวกในน้ำเดือด เป็นเวลา 7 นาที แช่น้ำเย็นแล้วผึ่งให้สะเด็ดน้ำ บรรจุเห็ดแครงที่ลวกแล้วลงในขวดแก้ว ขนาด 470 มิลลิลิตร ที่ทำความสะอาดและลวกด้วยน้ำร้อนแล้ว โดยกำหนดปริมาณเห็ดแครง 214 กรัม ต่อขวด เตรียมสารละลายผสมระหว่างเกลือโซเดียมคลอไรด์ (NaCl) ความเข้มข้นแตกต่างกัน 3 ระดับ ได้แก่ ร้อยละ 1.0 1.5 และ 2.0 โดยมวลต่อปริมาตร และกรดซิตริกร้อยละ 0.1 นำมาให้ความร้อนจนเดือด ซึ่งจะได้สารละลายผสมที่มีค่าความเป็นกรด-ด่าง (pH) ประมาณ 3.6-3.7 จากนั้นบรรจุน้ำเกลือขณะร้อนในปริมาณ 214 กรัม ฆ่าเชื้อด้วยไอน้ำโดยการนึ่งเป็นเวลา 30 นาที ปิดฝาให้แน่น และแช่น้ำเย็นทันที (ดัดแปลงจากวิธีการของวิจิตรา และวชิรญา, 2560) นำเห็ดแครงในน้ำเกลือบรรจุขวดเก็บรักษาที่อุณหภูมิ 25-30 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 7 วัน จากนั้นนำไปวิเคราะห์คุณลักษณะทางกายภาพและเคมี ปริมาณสารฟีนอลิกทั้งหมด (total phenolic content) และกิจกรรมการต้านอนุมูลอิสระ

2. การวิเคราะห์คุณสมบัติทางกายภาพและเคมี

วิเคราะห์คุณลักษณะของเห็ดแครงในน้ำเกลือและน้ำเกลือ ได้แก่ ค่าสี โดยเครื่องวัดค่าสี (Color Flex EZ รุ่น Hunter Lab, สหรัฐอเมริกา) รายงานเป็นค่าความสว่าง (L^*) ค่าความเป็นสีแดง-เขียว (a^*) และค่าความเป็นสีเหลือง-น้ำเงิน (b^*) รวมทั้งคำนวณค่าความแตกต่างของสี (ΔE) ของเห็ดแครงในน้ำเกลือ ซึ่งเป็นความแตกต่างของสีเมื่อเปรียบเทียบกับเห็ดแครงสด ทั้งนี้เตรียมตัวอย่างเห็ดแครงในน้ำเกลือสำหรับการวัดค่าสี โดยแยกส่วนเนื้อของเห็ดแครงในน้ำเกลือออกจากน้ำเกลือด้วยกระชอน จากนั้นนำส่วนเนื้อเห็ดแครงมาบดให้ละเอียด

การวัดค่าความเป็นกรด-ด่าง โดยสุ่มตัวอย่างเห็ดแครงและน้ำเกลือในอัตราส่วน 1:1 มาตีปั่นให้เป็นเนื้อเดียวกัน จากนั้นวัดค่าความเป็นกรด-ด่างด้วยเครื่องวัดค่าความเป็นกรด-ด่าง (pH meter, Schott รุ่น L850, เยอรมนี)

การวิเคราะห์ความเข้มข้นเกลือ โดยแยกส่วนเนื้อของเห็ดแครงในน้ำเกลือออกจากน้ำเกลือด้วยกระชอน จากนั้นนำส่วนเนื้อเห็ดแครงมาตีปั่นให้เป็นเนื้อเดียวกัน และคั้นส่วนของเหลวออกจากเห็ดแครง นำส่วนน้ำเกลือและของเหลวจากเห็ดแครงมาวัดความเข้มข้นเกลือด้วยเครื่องวัดความเค็ม (salinity meter, Hanna Instruments รุ่น 96821, สหรัฐอเมริกา)

3. การเตรียมตัวอย่างสารสกัดเห็ดแครง

นำเห็ดแครงสดล้างด้วยน้ำสะอาด ตั้งให้สะเด็ดน้ำ และตีปั่นให้ละเอียด ส่วนตัวอย่างเห็ดแครงในน้ำเกลือ เตรียมโดยแยกส่วนเนื้อของเห็ดแครงในน้ำเกลือออกจากน้ำเกลือด้วยกระชอน จากนั้นนำส่วนเนื้อเห็ดแครงมาตีปั่นให้เป็นเนื้อเดียวกัน นำตัวอย่างเห็ดแครง 10 กรัม สกัดด้วยเอทานอลความเข้มข้นร้อยละ 95 ปริมาตร 100 มิลลิลิตร เขย่าด้วยเครื่องเขย่าความเร็ว 20 x กรัม ที่อุณหภูมิ 25 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 3 ชั่วโมง และกรองด้วยกระดาษกรอง Whatman No. 1 จากนั้นระเหยเอทานอลด้วยเครื่องระเหยสุญญากาศที่อุณหภูมิ 40 องศาเซลเซียส เตรียมสารสกัดเห็ดแครง ความเข้มข้น 20 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร และเก็บรักษาในขวดสีชาที่อุณหภูมิ 4 องศาเซลเซียส (ดัดแปลงจาก Arbaayah and Kalsom, 2013) เพื่อใช้สำหรับการวิเคราะห์ในขั้นตอนต่อไป

4. การวิเคราะห์ปริมาณสารประกอบฟีนอลิกทั้งหมด

วิเคราะห์ปริมาณสารประกอบฟีนอลิกทั้งหมดในตัวอย่างสารสกัดเห็ดแครงสดและเห็ดแครงในน้ำเกลือ ด้วยเทคนิค Folin-Ciocalteu method ตามวิธีของ Zhang *et al.* (2013) โดยปิเปตตัวอย่างสารสกัดปริมาตร 0.25 มิลลิลิตร ใส่ในหลอดทดลองที่มีน้ำกลั่น 1 มิลลิลิตร ผสมให้เข้ากัน เติมน้ำกลั่นปริมาตร 0.25 มิลลิลิตร ผสมให้เข้ากัน ตั้งทิ้งไว้ที่อุณหภูมิห้อง 6 นาที เติมน้ำกลั่นปริมาตร 2 มิลลิลิตร ผสมให้เข้ากัน ตั้งทิ้งไว้ที่อุณหภูมิห้อง 90 นาที วัดค่าการดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 760 นาโนเมตร สำหรับแบลนด์ (blank) ใช้เอทานอลความเข้มข้นร้อยละ 70 แทนตัวอย่างสารสกัด เปรียบเทียบกับกราฟมาตรฐานกรดแกลลิก (gallic acid) ($y = 0.0534x - 0.0145$, $R^2 = 0.9973$) แสดงผลการวิเคราะห์เป็นมิลลิโมลสมมูลของกรดแกลลิกต่อตัวอย่าง 1 กรัม (mg GAE/g)

5. การวิเคราะห์กิจกรรมต้านอนุมูลอิสระด้วยวิธี DPPH

นำสารสกัดเห็ดเห็ดแดงสดและเห็ดแดงในน้ำเกลือไปวิเคราะห์ความสามารถในการต้านอนุมูลอิสระด้วยวิธี DPPH radical scavenging activity (DPPH) (ดัดแปลงจาก Wu *et al.*, 2006; กามิยะ, 2566; วันวิสาข์ และคณะ, 2567) เตรียมสารละลาย DPPH ความเข้มข้น 0.6 มิลลิโมลาร์ ในสารละลายเอทานอลร้อยละ 80 จากนั้นปิเปตสารสกัดจากตัวอย่าง 1 มิลลิลิตร เติมสารละลาย DPPH ปริมาตร 4 มิลลิลิตร และผสมให้เข้ากัน จากนั้นเก็บไว้ในที่มืดเป็นเวลา 30 นาที วัดค่าการดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 515 นาโนเมตร เปรียบเทียบกับกราฟมาตรฐานกรดแอสคอร์บิก (ascorbic acid) ($y = -0.0013x + 0.1359$, $R^2 = 0.9993$) แสดงผลการวิเคราะห์เป็นมิลลิโมลสมมูลของกรดแอสคอร์บิกต่อตัวอย่าง 100 กรัม (mmol AAE/100g)

6. การวิเคราะห์ผลทางสถิติ

วางแผนการทดลองแบบสุ่มสมบูรณ์ (completely randomized design: CRD) จำนวน 3 ซ้ำ สำหรับการประเมินลักษณะทางกายภาพและเคมีของเห็ดแดงในน้ำเกลือบรรจุขวด วิเคราะห์ความแปรปรวน (analysis of variance: ANOVA) และเปรียบเทียบความแตกต่างของค่าเฉลี่ยด้วยวิธี Duncan's new multiple range test (DMRT) ที่ระดับความเชื่อมั่นร้อยละ 95 โดยใช้โปรแกรมสำเร็จรูป SPSS (SPSS Inc., U.S.A.)

ผลการวิจัย

1. คำสี

ผลของความเข้มข้นของเกลือโซเดียมคลอไรด์ต่อคุณภาพทางกายภาพด้านสีของเห็ดแดงในน้ำเกลือบรรจุขวด พบว่าคำสี ได้แก่ ความสว่าง (L^*) ความเป็นสีแดง-เขียว (a^*) และความเป็นสีเหลือง-น้ำเงิน (b^*) ของเห็ดแดงสดมีค่าสูงกว่าเห็ดแดงในน้ำเกลือ ($p \leq 0.05$) นอกจากนี้ระดับความเข้มข้นของเกลือโซเดียมคลอไรด์มีผลต่อคำสีของเห็ดแดงในน้ำเกลือ โดยค่าความสว่าง (L^*) ของเห็ดแดงในน้ำเกลือที่ระดับความเข้มข้นของเกลือโซเดียมคลอไรด์ร้อยละ 1.0 มีค่าสูงรองจากเห็ดแดงสด และที่ความเข้มข้นเกลือโซเดียมคลอไรด์ร้อยละ 1.5 มีค่า L^* ต่ำที่สุด ($p \leq 0.05$) ในขณะที่ค่าความเป็นสีแดง (a^*) มีค่าเพิ่มขึ้น เมื่อระดับความเข้มข้นของเกลือโซเดียมคลอไรด์เพิ่มขึ้น ค่าความเป็นสีเหลือง (b^*) ของเห็ดแดงในน้ำเกลือเข้มข้นร้อยละ 2.0 มีค่าสูงกว่าร้อยละ 1.5 และ 1.0 ($p \leq 0.05$) ทั้งนี้คำสีของเห็ดที่วัดได้มีความสอดคล้องกับลักษณะสีของเห็ดที่ปรากฏดังภาพที่ 1 พบว่าเห็ดแดงในน้ำเกลือที่ระดับความเข้มข้นร้อยละ 2.0 มีสีครีมปนน้ำตาล มีสีเข้ม และมีลักษณะหดตัวมากกว่าเห็ดแดงในน้ำเกลือเข้มข้นร้อยละ 1.0 และ 1.5 ในขณะที่เห็ดแดงในน้ำเกลือเข้มข้นร้อยละ 1.0 มีสีครีมปนน้ำตาลเล็กน้อย และมีความเข้มของสีน้อยกว่าชุดการทดลองอื่น ทั้งนี้การหดตัวเกิดจากกระบวนการดึงน้ำออกด้วยวิธีออสโมซิส (osmotic dehydration) ซึ่งเกิดจากความแตกต่างของแรงดันออสโมติกระหว่างภายในเซลล์ของอาหารและสารละลายเกลือ ซึ่งจัดเป็นสารละลายออสโมติก (วิชมณี, 2556) นอกจากนี้พบว่าลักษณะสีของเห็ดแดงที่ผ่านกระบวนการแปรรูปและบรรจุในน้ำเกลือมีลักษณะสีเปลี่ยนแปลงจากเห็ดแดงสด โดยมีสีครีมปนน้ำตาล ส่วนเห็ดแดงสดมีสีเหลืองอ่อน นอกจากนี้ค่าความแตกต่างของสี (ΔE) ของเห็ดแดงในน้ำเกลือ ซึ่งเป็นความแตกต่างของสีเมื่อเปรียบเทียบกับเห็ดแดงสด พบว่าเห็ดแดงในน้ำเกลือเข้มข้นร้อยละ 1.0 มีค่า ΔE ต่ำที่สุด เท่ากับ

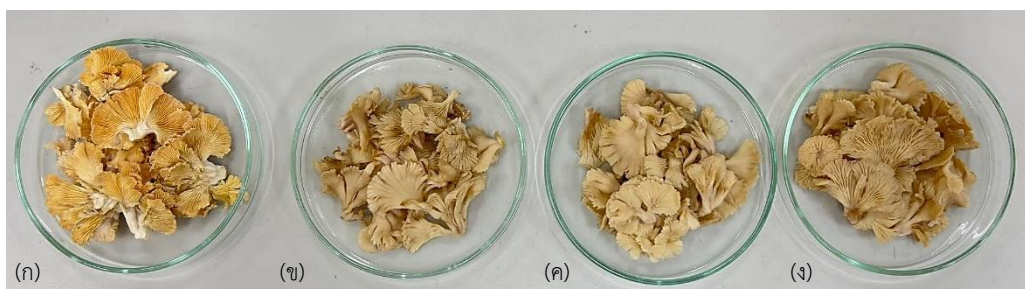
41.01 รองลงมา คือ เห็ดแครงในน้ำเกลือเข้มข้นร้อยละ 2.0 (ΔE เท่ากับ 41.14) และ 1.5 (ΔE เท่ากับ 41.73) ตามลำดับ แสดงให้เห็นว่าการใช้สารละลายเกลือที่ระดับความเข้มข้นสูงกว่าร้อยละ 1.0 มีผลกระทบต่อเปลี่ยนแปลงของสีเห็ดแครงในน้ำเกลือเพิ่มขึ้นเมื่อเปรียบเทียบกับเห็ดแครงสด ดังตารางที่ 1

ตารางที่ 1 ค่าสีและค่าความแตกต่างของสีของเห็ดแครงในน้ำเกลือที่ระดับความเข้มข้นของเกลือ โซเดียมคลอไรด์แตกต่างกันเปรียบเทียบกับเห็ดแครงสด

ความเข้มข้นของ เกลือโซเดียมคลอไรด์ (ร้อยละ)	ค่าสีของเห็ดแครง			
	ค่าความสว่าง (L*)	ค่าความเป็น สีแดง (a*)	ค่าความเป็น สีเหลือง (b*)	ค่าความแตกต่าง ของสี (ΔE)
เห็ดแครงสด	60.01 $\pm$ 0.42 ^a	7.33 $\pm$ 0.08 ^a	21.38 $\pm$ 0.16 ^a	-
1.0	22.14 $\pm$ 0.03 ^b	2.56 $\pm$ 0.07 ^d	6.41 $\pm$ 0.11 ^c	41.01 $\pm$ 0.05 ^c
1.5	21.32 $\pm$ 0.03 ^d	2.90 $\pm$ 0.01 ^c	6.41 $\pm$ 0.06 ^c	41.73 $\pm$ 0.03 ^a
2.0	21.77 $\pm$ 0.02 ^c	3.01 $\pm$ 0.05 ^b	6.83 $\pm$ 0.02 ^b	41.14 $\pm$ 0.02 ^b

หมายเหตุ: - รายงานในรูปแบบค่าเฉลี่ย $\pm$ ส่วนเบี่ยงเบนมาตรฐาน (mean $\pm$ SD)

- ค่าเฉลี่ยที่กำกับด้วยตัวอักษรต่างกันในสมมุติเดียวกันมีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p \leq 0.05$)



ภาพที่ 1 ลักษณะสีของเห็ดแครงสด (ก) และเห็ดแครงในน้ำเกลือโซเดียมคลอไรด์ที่ความเข้มข้นร้อยละ 1.0 (ข) 1.5 (ค) และ 2.0 (ง)

ค่าสีของน้ำเกลือที่ระดับความเข้มข้นของเกลือโซเดียมคลอไรด์ร้อยละ 1.0 1.5 และ 2.0 พบว่าค่าความสว่าง (L*) และค่าความเป็นสีเหลือง (b*) ของน้ำเกลือเข้มข้นร้อยละ 1.0 มีค่าสูงที่สุด และมีแนวโน้มลดลงเมื่อระดับความเข้มข้นของเกลือเพิ่มขึ้น ในขณะที่ค่าความเป็นสีแดง (a*) ของน้ำเกลือเข้มข้นร้อยละ 1.5 และ 2.0 มีค่าไม่แตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p > 0.05$) และมีค่าสูงกว่าน้ำเกลือเข้มข้นร้อยละ 1.0 นอกจากนี้พบว่าค่าความสว่าง (L*) และค่าความเป็นสีแดง (a*) ของน้ำเกลือสำหรับดองเห็ดแครงมีแนวโน้มสอดคล้องกับค่าสีของเนื้อเห็ดแครง และสีของน้ำเกลือสำหรับดองเห็ดแครงมีค่าต่ำกว่าสีของเนื้อเห็ดแครง ดังตารางที่ 2

ตารางที่ 2 ค่าสีของน้ำเกลือที่ระดับความเข้มข้นของเกลือโซเดียมคลอไรด์แตกต่างกัน

ความเข้มข้นของเกลือ โซเดียมคลอไรด์ (ร้อยละ)	ค่าสีของน้ำเกลือ		
	ค่าความสว่าง (L*)	ค่าความเป็นสีแดง (a*)	ค่าความเป็นสีเหลือง (b*)
1.0	8.98±0.09 ^a	-0.29±0.02 ^b	-1.03±0.01 ^a
1.5	8.76±0.01 ^b	0.28±0.03 ^a	-1.11±0.04 ^b
2.0	8.63±0.03 ^c	0.24±0.05 ^a	-1.15±0.01 ^b

หมายเหตุ: - รายงานในรูปแบบค่าเฉลี่ย $\pm$ ส่วนเบี่ยงเบนมาตรฐาน (mean $\pm$ SD)

- ค่าเฉลี่ยที่กำกับด้วยตัวอักษรต่างกันในสมมุติเดียวกันมีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p \leq 0.05$)

2. ความเป็นกรด-ด่าง

ค่าความเป็นกรด-ด่าง (pH) ของเห็ดแครงในน้ำเกลือที่ระดับความเข้มข้นของเกลือโซเดียมคลอไรด์ร้อยละ 1.0 1.5 และ 2.0 แสดงดังตารางที่ 3 พบว่าค่าความเป็นกรด-ด่างของเห็ดแครงในน้ำเกลือทุกชุดการทดลองมีค่าต่ำกว่า 4.60 และมีค่าลดลงเมื่อระดับความเข้มข้นของเกลือโซเดียมคลอไรด์เพิ่มขึ้น โดยเห็ดแครงในน้ำเกลือเข้มข้นร้อยละ 1.0 มีค่าความเป็นกรด-ด่างสูงที่สุด ($p \leq 0.05$) เท่ากับ 4.20 รองลงมา คือ เห็ดแครงในน้ำเกลือเข้มข้นร้อยละ 1.5 มีค่าความเป็นกรด-ด่างเท่ากับ 4.13 และเห็ดแครงในน้ำเกลือเข้มข้นร้อยละ 2.0 มีค่าความเป็นกรด-ด่างต่ำที่สุด เท่ากับ 4.05 ในขณะที่เห็ดแครงสดมีค่าความเป็นกรด-ด่าง เท่ากับ 6.24 ดังตารางที่ 3

ตารางที่ 3 ค่าความเป็นกรด-ด่างของเห็ดแครงสดและเห็ดแครงในน้ำเกลือที่ระดับความเข้มข้นของเกลือโซเดียมคลอไรด์แตกต่างกัน

ความเข้มข้นของเกลือโซเดียมคลอไรด์ (ร้อยละ)	ค่าความเป็นกรด-ด่าง
เห็ดแครงสด	6.24±0.03 ^a
1.0	4.20±0.00 ^b
1.5	4.13±0.01 ^c
2.0	4.05±0.01 ^d

หมายเหตุ: - รายงานในรูปแบบค่าเฉลี่ย $\pm$ ส่วนเบี่ยงเบนมาตรฐาน (mean $\pm$ SD)

- ค่าเฉลี่ยที่กำกับด้วยตัวอักษรต่างกันในสมมุติเดียวกันมีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p \leq 0.05$)

3. ความเข้มข้นเกลือ

ความเข้มข้นเกลือของเห็ดแครงในน้ำเกลือและน้ำเกลือสำหรับดองที่ระดับความเข้มข้นของเกลือโซเดียมคลอไรด์ร้อยละ 1.0 1.5 และ 2.0 พบว่าความเข้มข้นเกลือในเห็ดแครงที่ผ่านกระบวนการแปรรูปและบรรจุในน้ำเกลือมีค่าเพิ่มขึ้น เมื่อระดับความเข้มข้นของเกลือโซเดียมคลอไรด์

เพิ่มขึ้น สอดคล้องกับความเข้มข้นเกลือในน้ำเกลือสำหรับดองเห็ดแครงที่เพิ่มขึ้น เมื่อระดับความเข้มข้นของเกลือโซเดียมคลอไรด์เพิ่มขึ้นเช่นกัน และมีความเข้มข้นไม่สูงกว่าระดับความเข้มข้นของเกลือโซเดียมคลอไรด์ที่เตรียมก่อนการบรรจุเห็ดในน้ำเกลือ ดังตารางที่ 4

ตารางที่ 4 ความเข้มข้นเกลือของเห็ดแครงในน้ำเกลือและน้ำเกลือสำหรับดองที่ระดับความเข้มข้นของเกลือโซเดียมคลอไรด์แตกต่างกัน

ความเข้มข้นของเกลือ โซเดียมคลอไรด์ (ร้อยละ)	ความเข้มข้นเกลือ (ร้อยละ)	
	เนื้อเห็ดแครง	น้ำเกลือสำหรับดอง
1.0	0.66±0.01 ^c	0.65±0.01 ^c
1.5	0.93±0.01 ^b	0.93±0.01 ^b
2.0	1.27±0.01 ^a	1.26±0.01 ^a

หมายเหตุ: - รายงานในรูปแบบค่าเฉลี่ย $\pm$ ส่วนเบี่ยงเบนมาตรฐาน (mean $\pm$ SD)

- ค่าเฉลี่ยที่กำกับด้วยตัวอักษรต่างกันในสมมุติเดียวกันมีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p \leq 0.05$)

4. สารประกอบฟีนอลิกทั้งหมด

ปริมาณสารประกอบฟีนอลิกทั้งหมดในเห็ดแครงสดและเห็ดแครงในน้ำเกลือเข้มข้นร้อยละ 1.0 1.5 และ 2.0 พบว่าเห็ดแครงสดมีปริมาณสารประกอบฟีนอลิกทั้งหมด เท่ากับ 1.51 มิลลิกรัมสมมูลของกรดแกลลิกต่อกรัมของสารสกัด ซึ่งมีปริมาณสูงกว่าเห็ดแครงในน้ำเกลือที่ระดับความเข้มข้นเกลือโซเดียมคลอไรด์ร้อยละ 1.0 (0.66 มิลลิกรัมสมมูลของกรดแกลลิกต่อกรัมของสารสกัด) และ 1.5 (1.43 มิลลิกรัมสมมูลของกรดแกลลิกต่อกรัมของสารสกัด) อย่างไรก็ตามพบว่าเห็ดแครงในน้ำเกลือเข้มข้นร้อยละ 2.0 มีปริมาณสารประกอบฟีนอลิกทั้งหมดสูงกว่าเห็ดแครงสด (1.74 มิลลิกรัมสมมูลของกรดแกลลิกต่อกรัมของสารสกัด) และระดับความเข้มข้นของเกลือโซเดียมคลอไรด์มีผลต่อปริมาณสารประกอบฟีนอลิกทั้งหมด โดยสารประกอบฟีนอลิกทั้งหมดมีแนวโน้มเพิ่มขึ้น เมื่อระดับความเข้มข้นของเกลือโซเดียมคลอไรด์เพิ่มขึ้น ดังตารางที่ 5

ตารางที่ 5 ปริมาณสารประกอบฟีนอลิกทั้งหมดในเห็ดแครงสดและเห็ดแครงในน้ำเกลือที่ระดับความเข้มข้นแตกต่างกัน

ความเข้มข้นของเกลือ โซเดียมคลอไรด์ (ร้อยละ)	ปริมาณสารประกอบฟีนอลิกทั้งหมด (มิลลิกรัมสมมูลของกรดแกลลิกต่อกรัมของสารสกัด)
เห็ดแครงสด	1.51±0.05 ^b
1.0	0.66±0.02 ^c
1.5	1.43±0.10 ^b
2.0	1.74±0.02 ^a

หมายเหตุ: - รายงานในรูปแบบค่าเฉลี่ย $\pm$ ส่วนเบี่ยงเบนมาตรฐาน (mean $\pm$ SD)

- ค่าเฉลี่ยที่กำกับด้วยตัวอักษรต่างกันในสมมติเดียวกันมีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p \leq 0.05$)

5. สมบัติการต้านอนุมูลอิสระด้วยวิธี DPPH

สมบัติการต้านอนุมูลอิสระด้วยวิธี DPPH ของเห็ดแครงในน้ำเกลือที่ระดับความเข้มข้นของเกลือโซเดียมคลอไรด์ร้อยละ 1.0 1.5 และ 2.0 พบว่าเห็ดแครงในน้ำเกลือทุกระดับความเข้มข้นไม่มีคุณสมบัติในการต้านอนุมูลอิสระด้วยวิธี DPPH อย่างไรก็ตามพบว่าเห็ดแครงสดมีคุณสมบัติในการต้านอนุมูลอิสระ เท่ากับ 21.90 มิลลิโมลสมมูลของกรดแอสคอร์บิกต่อตัวอย่าง 100 กรัม ดังตารางที่ 6

ตารางที่ 6 สมบัติการต้านอนุมูลอิสระด้วยวิธี DPPH ของเห็ดแครงสดและเห็ดแครงในน้ำเกลือที่ระดับความเข้มข้นของเกลือโซเดียมคลอไรด์แตกต่างกัน

ความเข้มข้นเกลือ โซเดียมคลอไรด์ (ร้อยละ)	สมบัติการต้านอนุมูลอิสระด้วยวิธี DPPH (มิลลิโมลสมมูลของกรดแอสคอร์บิกต่อตัวอย่าง 100 กรัม)
เห็ดแครงสด	21.90±0.00
1.0	ND
1.5	ND
2.0	ND

หมายเหตุ: - รายงานในรูปแบบค่าเฉลี่ย $\pm$ ส่วนเบี่ยงเบนมาตรฐาน (mean $\pm$ SD)

- ค่าเฉลี่ยที่กำกับด้วยตัวอักษรต่างกันในสมมติเดียวกันมีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p \leq 0.05$)
- ND (not detected) คือ ตรวจไม่พบ

การอภิปรายผลการวิจัย

เห็ดแครง คือ ผลิตภัณฑ์ที่ได้จากการนำเห็ดชนิดต่าง ๆ ที่บริโภคได้ ผ่านการตัดแต่งเป็นรูปร่างตามต้องการ อาจจะนำไปต้มหรือลวก แล้วบรรจุในน้ำดองหรือน้ำปรุงรสที่มีการปรับให้เป็นกรดด้วยสารเพิ่มความเป็นกรด เช่น กรดซิตริก กรดแอสติก บรรจุขณะร้อนปิดฝาและนั่งฆ่าเชื้อในระยะเวลาที่เหมาะสม (สำนักงานมาตรฐานผลิตภัณฑ์อุตสาหกรรม, 2547) ประกาศกระทรวงสาธารณสุข (ฉบับที่ 349) พ.ศ. 2556 เรื่อง วิธีการผลิต เครื่องมือเครื่องใช้ในการผลิต และการเก็บรักษาอาหารในภาชนะบรรจุที่ปิดสนิทที่มีความเป็นกรดต่ำ และชนิดที่ปรับกรด (2556) และประกาศกระทรวงสาธารณสุข (ฉบับที่ 355) พ.ศ. 2556 เรื่อง อาหารในภาชนะบรรจุที่ปิดสนิท (2556) ปี พ.ศ. 2556 กำหนดให้สามารถมีกระบวนการปรับค่าความเป็นกรด-ด่าง ให้ไม่เกิน 4.60 จัดเป็นอาหารปรับกรด (acidified food) ซึ่งต้องผ่านกรรมวิธีที่ใช้ทำลายหรือยับยั้งการขยายพันธุ์ของจุลินทรีย์ด้วยความร้อน ภายหลังหรือก่อนบรรจุหรือผึ่ง และสามารถเก็บรักษาไว้ในอุณหภูมิปกติ จึงเป็นหลักการและแนวทางที่จะนำมาใช้ในงานวิจัยนี้ และการเตรียมสารละลายเกลือโซเดียมคลอไรด์ให้มีความเข้มข้นที่เหมาะสมก็มีส่วนช่วยในการยืดอายุการเก็บได้ด้วยเนื่องจากเกลือโซเดียมคลอไรด์มีสมบัติช่วยยับยั้งการเจริญเติบโตของจุลินทรีย์ได้ โดยเกลือจะรวมกับน้ำในอาหารและดึงน้ำออกจากเซลล์ของจุลินทรีย์ได้

ค่าสี ได้แก่ ค่าความสว่าง (L^*) ของเห็ดแครงในน้ำเกลือมีค่าน้อยกว่าเห็ดแครงสด เนื่องจากกระบวนการแปรรูปด้วยความร้อนส่งผลต่อการเกิดปฏิกิริยาการเกิดสีน้ำตาล (browning reaction) ได้แก่ ปฏิกิริยาการเกิดสีน้ำตาลที่เกี่ยวข้องของเอนไซม์ (enzymatic browning reaction) ซึ่งเป็นปฏิกิริยาออกซิเดชันที่เกิดจากสารประกอบโพลีฟีนอล (polyphenol) ทำปฏิกิริยากับออกซิเจน โดยมีเอนไซม์โพลีฟีนอลออกซิเดส (polyphenol oxidase) เป็นตัวเร่ง (Mayer, 2006) รวมถึงอาจเกิดปฏิกิริยาโดยเกิดปฏิกิริยาการเกิดสีน้ำตาลที่ไม่เกี่ยวข้องของเอนไซม์ (non-enzymatic browning reaction) ระหว่างกรดอะมิโนและน้ำตาลที่เป็นองค์ประกอบในเห็ดแครง (Corzo-Martinez *et al.*, 2012) นอกจากนี้อาจเกิดจากการเกิดปฏิกิริยาออกซิเดชันเนื่องจากเอนไซม์ (enzymatic oxidation) ของสารประกอบโพลีฟีนอลในเห็ดแครง ส่งผลให้เห็ดแครงในน้ำเกลือมีความสว่างลดลง (Zamora and Hidalgo, 2005) เมื่อพิจารณาผลของความเข้มข้นเกลือโซเดียมคลอไรด์ต่อค่าสี แสดงให้เห็นว่าค่าความสว่าง (L^*) มีแนวโน้มลดลง เมื่อความเข้มข้นของสารละลายเกลือโซเดียมคลอไรด์สูงกว่าร้อยละ 1.0 ส่วนค่าความเป็นสีแดง (a^*) และค่าความเป็นสีเหลือง (b^*) มีค่าเพิ่มขึ้น เมื่อระดับความเข้มข้นของเกลือโซเดียมคลอไรด์เพิ่มขึ้น เนื่องจากเกลือโซเดียมคลอไรด์อาจทำปฏิกิริยากับสารสีในเห็ดแครง ส่งผลให้เกิดสารประกอบที่มีสีเข้มมากยิ่งขึ้น นอกจากนี้ค่าสีของน้ำสำหรับดองเห็ดแครงมีแนวโน้มที่เป็นไปในทิศทางเดียวกับค่าสีของเนื้อเห็ดแครง โดยในระหว่างกระบวนการแปรรูปด้วยความร้อนทำให้เยื่อหุ้มเซลล์ของเห็ดแครงอ่อนตัวลง และสารสีในเห็ดแครงเกิดปฏิกิริยากับโซเดียมไอออน (Na^+) และเกิดการละลายในน้ำเกลือมากขึ้น ทั้งนี้สารสีในเห็ดแครง คือ สาร purpurin (Saetang *et al.*, 2023) ซึ่ง Ahmadi *et al.* (2014) รายงานว่า สาร purpurin เป็นสารสีที่เปลี่ยนแปลงสีตามความเป็นกรด-ด่าง โดยมีลักษณะสีเหลืองเมื่ออยู่ในสารละลายที่มีสภาวะเป็นกรด และมีลักษณะสีแดงเข้มเมื่ออยู่ในสารละลายที่มีสภาวะเป็นด่าง ซึ่งความเข้มของสีขึ้นอยู่กับความเข้มข้นของกรดหรือด่าง

ค่าความเป็นกรด-ด่างของเห็ดแครงสดมีค่าสูงกว่าเห็ดแครงในน้ำเกลือ เนื่องจากกระบวนการแปรรูปเห็ดแครงในน้ำเกลือมีการปรับกรดด้วยกรดซิตริกที่ความเข้มข้นร้อยละ 0.1 ในขณะที่ค่าความเป็นกรด-ด่างของเห็ดแครงในน้ำเกลือมีค่าลดลง เมื่อระดับความเข้มข้นของเกลือโซเดียมคลอไรด์เพิ่มขึ้น เนื่องจากการให้ความร้อนในระหว่างการฆ่าเชื้อส่งผลต่อเยื่อหุ้มเซลล์พืชมีความอ่อนตัวลง ทำให้น้ำเกลือเกิดการออสโมซิสเข้าไปในเซลล์เห็ดมากยิ่งขึ้น ส่งผลให้ค่าความเป็นกรด-ด่างลดลง (นรินทร์ และน้ำทิพย์, 2561) สอดคล้องกับปริมาณเกลือในเห็ดแครงที่เพิ่มขึ้นเมื่อระดับความเข้มข้นของเกลือโซเดียมคลอไรด์ในน้ำเกลือเพิ่มขึ้น นอกจากนี้อุณหภูมิเป็นปัจจัยที่มีผลต่ออัตราการดองน้ำออกจากผักผลไม้ โดยอัตราการดองน้ำออกเพิ่มขึ้นเมื่อมีการเพิ่มอุณหภูมิในการออสโมซิส (Flink, 1984) และการใช้อุณหภูมิสูงส่งผลต่อการออสโมซิสของน้ำและตัวถูกละลายเป็นไปได้ง่ายกว่าการใช้อุณหภูมิต่ำ (วิชฌณี, 2556) นอกจากนี้ เกลือมีผลทำให้ค่าความเป็นกรด-ด่างของผักผลไม้กระป๋องลดลง เนื่องจากผลกระทบจากกระบวนการ Debye-Hückel (Sapers *et al.*, 1978)

สารประกอบฟีนอลิกเป็นสารออกฤทธิ์ทางชีวภาพที่มีคุณสมบัติต้านอนุมูลอิสระ มีโครงสร้างหลักประกอบด้วยวงอะโรมาติก (aromatic ring) แทนที่ด้วยหมู่ไฮดรอกซิล (hydroxyl group) ที่สามารถใช้ดักจับอนุมูลอิสระได้ (สุนันทา และลักษมี, 2562) จากผลการวิจัย พบว่าปริมาณสารประกอบฟีนอลิกเพิ่มขึ้น เมื่อความเข้มข้นของเกลือโซเดียมคลอไรด์เพิ่มขึ้น ทั้งนี้เนื่องจากเกิดการออสโมซิสของเกลือโซเดียมคลอไรด์เข้าไปถึงเห็ดแครง ส่งผลให้สารที่เป็นองค์ประกอบในเห็ดแครง

เกิดการเคลื่อนที่ออกสู่ภายนอกเซลล์ด้วยแรงดันออสโมติก (osmotic pressure) นอกจากนี้การเกิดปฏิกิริยาเคมีเนื่องจากเอนไซม์ (enzymatic reaction) เป็นปัจจัยสำคัญที่ส่งผลให้ปริมาณสารประกอบฟีนอลิกในพืชลดลง โดยกลีโกลิซิเดียมคลอไรด์อาจมีผลกระทบต่อการยับยั้งการทำงานของเอนไซม์ เช่น เอนไซม์โพลีฟีนอลออกซิเดส โดยทำให้โปรตีนเสียสภาพธรรมชาติ ซึ่ง Arbaayah and Kalsom (2013) รายงานว่าสารสกัดจากเห็ดक्रमมีปริมาณสารประกอบฟีนอลิกทั้งหมด 40.51-45.69 มิลลิกรัมเทียบเท่าของกรดแทนนิกต่อกรัมน้ำหนักแห้งของสารสกัด และมีสมบัติการต้านอนุมูลอิสระด้วยวิธี DPPH (IC₅₀) เท่ากับ 2.75-3.70 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร

สมบัติการต้านอนุมูลอิสระด้วยวิธี DPPH ในเห็ดक्रमสดมีค่า 21.90 มิลลิโมลสมมูลของกรดแอสคอร์บิกต่อตัวอย่าง 100 กรัม และไม่พบกิจกรรมการต้านอนุมูลอิสระในเห็ดक्रमในน้ำเกลือทุกระดับความเข้มข้นของกลีโกลิซิเดียมคลอไรด์ เนื่องจากกระบวนการแปรรูปด้วยความร้อนสูงอาจไปทำลายสารออกฤทธิ์ทางชีวภาพที่มีคุณสมบัติในการต้านอนุมูลอิสระ และความไม่คงตัวของสารดังกล่าวต่อความร้อนในระหว่างการฆ่าเชื้อ สอดคล้องกับผลการศึกษาของดลฤดี และคณะ (2560) รายงานว่าความสามารถในการต้านอนุมูลอิสระของเห็ดक्रमในน้ำเกลือมีแนวโน้มลดลงเมื่อความเข้มข้นของเกลือเพิ่มขึ้น และผลจากการที่สารต้านอนุมูลอิสระถูกทำลายด้วยความร้อนในระหว่างการฆ่าเชื้อ นอกจากนี้สารประกอบฟีนอลิกสามารถสลายได้เมื่อมีการแปรรูปด้วยอุณหภูมิสูง เนื่องจากความร้อนทำให้เกิดการสลายของพันธะที่สารประกอบฟีนอลิกจับกับองค์ประกอบอื่น เช่น โปรตีน หรือเกิดการเปลี่ยนแปลงโครงสร้างของสารประกอบฟีนอลิก ส่งผลให้สูญเสียคุณสมบัติในการต้านอนุมูลอิสระ (สุกัญญา และคณะ, 2563) รวมถึงการให้ความร้อนแบบร้อนชื้นในสถานะที่มีออกซิเจนสามารถเร่งการสลายของสารประกอบฟีนอลิกจากปฏิกิริยาออกซิเดชัน (Min *et al.*, 2014) อย่างไรก็ตามการใช้ความร้อนด้วยอุณหภูมิที่ลดลงและระยะเวลาเพิ่มขึ้น สามารถยับยั้งการสลายตัวของสารต้านอนุมูลอิสระ โดยเฉพาะกลุ่มสารประกอบฟีนอลิกอิสระ (free polyphenol compounds) ผลิตภัณฑ์เห็ดक्रमบรจุระบอง (Pursito *et al.*, 2022)

สรุปผลการวิจัย

ความเข้มข้นของกลีโกลิซิเดียมคลอไรด์ร้อยละ 2.0 เป็นระดับความเข้มข้นที่เหมาะสมสำหรับการแปรรูปเห็ดक्रमในน้ำเกลือบรรจุขวด เนื่องจากมีปริมาณสารประกอบฟีนอลิกทั้งหมดสูงที่สุด เมื่อเปรียบเทียบกับความเข้มข้นของกลีโกลิซิเดียมคลอไรด์ร้อยละ 1.0 และ 1.5 ในขณะที่คุณลักษณะคุณภาพด้านสี ได้แก่ ค่าความสว่าง (L*) ต่ำที่สุด ค่าความเป็นสีแดง (a*) และค่าความเป็นสีเหลือง (b*) สูงที่สุด ซึ่งสามารถเป็นแนวทางในการใช้ประโยชน์จากเห็ดक्रमของกลุ่มวิสาหกิจชุมชนกลุ่มผู้เพาะเลี้ยงเห็ดक्रम ตำบลท่าข้าม อำเภอหาดใหญ่ จังหวัดสงขลา อย่างไรก็ตามกระบวนการแปรรูปด้วยความร้อนส่งผลให้ปริมาณสารประกอบฟีนอลิกทั้งหมดในเห็ดक्रमลดลง รวมถึงมีปริมาณต่ำกว่าเห็ดक्रमสด และไม่พบกิจกรรมการต้านอนุมูลอิสระด้วยวิธี DPPH ในเห็ดक्रमในน้ำเกลือทุกระดับความเข้มข้น ทั้งนี้ควรมีการใช้วิธีการแปรรูปด้วยความร้อนในระดับต่ำ และใช้เวลาในการให้ความร้อนนานยิ่งขึ้น เพื่อลดการสูญเสียของสารประกอบฟีนอลิกและสมบัติการต้านอนุมูลอิสระของเห็ดक्रमในน้ำเกลือ

กิตติกรรมประกาศ

ขอขอบพระคุณกองทุนส่งเสริมวิทยาศาสตร์ วิจัยและนวัตกรรม (ววน.) ประจำปี พ.ศ. 2565 ภายใต้งานยุทธศาสตร์ การวิจัยและพัฒนานวัตกรรม มหาวิทยาลัยเทคโนโลยีราชมงคลศรีวิชัย ที่จัดสรรงบประมาณในการวิจัยในครั้งนี้

เอกสารอ้างอิง

- กามีละห์ ยะโกะ. (2566). ประสิทธิภาพในการต้านอนุมูลอิสระของผักพื้นบ้านในจังหวัดสุราษฎร์ธานี. *วารสารวิชา มหาวิทยาลัยราชภัฏนครศรีธรรมราช*, 42(1), 93-103.
- ดลฤดี พิษย์รัตน์ นพรัตน์ มะเห อมรรัตน์ อังอัจฉริยะ และละอองวรรณ ศรีจันทร์. (2560). การศึกษาคุณค่าโภชนาการและกระบวนการผลิตเห็ดเสม็ดในน้ำเกลือบรรจุกระป๋อง. *รายงานวิจัย. มหาวิทยาลัยเทคโนโลยีราชมงคลศรีวิชัย*.
- นรินทร์ เจริญพันธ์ และน้ำทิพย์ มีมุข. (2561). ผลของวิธีการลวกที่แตกต่างกันต่อคุณภาพมันเทศเนื้อสีส้ม. *วารสารวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยี*, 26(6), 981-992.
- ประกาศกระทรวงสาธารณสุข (ฉบับที่ 349) พ.ศ. 2556 เรื่อง วิธีการผลิต เครื่องมือเครื่องใช้ในการผลิต และการเก็บรักษาอาหารในภาชนะบรรจุที่ปิดสนิทชนิดที่มีความเป็นกรดต่ำ และชนิดที่ปรับกรด. (2556, 20 กุมภาพันธ์). *ราชกิจจานุเบกษา*. เล่ม 130 ตอนพิเศษ 24 ง. หน้า 11-15.
- ประกาศกระทรวงสาธารณสุข (ฉบับที่ 355) พ.ศ. 2556 เรื่อง อาหารในภาชนะบรรจุที่ปิดสนิท. (2556, 24 กรกฎาคม). *ราชกิจจานุเบกษา*. เล่ม 130 ตอนพิเศษ 87 ง. หน้า 88-92.
- ปัทมา กาญจนรักษ์ ปาริชาติ ทองเนื้อสาม และพัชราวรรณ สมบุญ. (2565). การพัฒนาผลิตภัณฑ์น้ำพริกเห็ดแครงแห้ง. *วารสารวัฒนธรรมอาหารไทย*, 2(1), 34-41.
- รัชฎาภรณ์ โตประภัสสร และรัตติพร บุญสุข. (2563). ลักษณะของไส้กรอกปราศจากเนื้อสัตว์ที่ประกอบด้วยเห็ดแครง. *รายงานวิจัย. มหาวิทยาลัยศรีนครินทรวิโรฒ*.
- วันวิสาข์ บุญกล้า อนุศักดิ์ เกิดสิน และปรียาภรณ์ อิศรานุวัฒน์. (2567). กิจกรรมการต้านอนุมูลอิสระของกระชายขาวที่หมักด้วยแบคทีเรียกรดแลคติก. *วารสารวิชา มหาวิทยาลัยราชภัฏนครศรีธรรมราช*, 43(2), 66-75.
- วิจิตรา เหลียวตระกูล และวชิรญา เหลียวตระกูล. (2560). การพัฒนาผลิตภัณฑ์เห็ดตับเต่าในน้ำเกลือบรรจุขวดแก้วของตำบลสามเรือน อำเภอบางปะอิน จังหวัดพระนครศรีอยุธยา. *วารสารการพัฒนาชุมชนและคุณภาพชีวิต*, 5(1), 174-185.
- วิชมณี ยืนยงพุทธกาล. (2556). ปัจจัยที่มีผลต่อการดื่มน้ำออกด้วยวิธีออสโมซิสของผักและผลไม้. *วารสารวิทยาศาสตร์บูรพา*, 18(1), 226-233.
- วิภาวดี สำแดง ชิตัมพร ไม้เรียง เบญจมาภรณ์ พิมพา และสมหวัง เล็กจริง. (2558). การศึกษาอายุการเก็บรักษาของผลิตภัณฑ์คั่วกลิ้งและน้ำพริกเห็ดแครง. *วารสารวิทยาศาสตร์บูรพา*, 20(2), 33-47.
- สำนักงานมาตรฐานผลิตภัณฑ์อุตสาหกรรม. (2547). *มาตรฐานผลิตภัณฑ์ชุมชนเห็ดคดอง*, มผช. 286/2547. กรุงเทพฯ.

- สุกัญญา จันทร์สุนะ ลลิตา เจริญทรัพย์ เยาวพา จิระเกียรติกุล และพรชัย ทาระโคตร. (2563). ผลของอุณหภูมิและระยะเวลาการอบแห้งต่อปริมาณสารต้านอนุมูลอิสระและความสามารถในการยับยั้งอนุมูลอิสระของใบบัวบก (*Centella asiatica* (L.) Urb.). *วารสารวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยี*, 28(12), 2261-2272.
- สุนันทา ช้องสาย และลักษมี วิทยา. (2562). สารประกอบฟีนอลิก สารประกอบฟลาโวนอยด์ และฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระของสารสกัดจากเสม็ดขาวและเสม็ดแดง. *รายงานวิจัย*. มหาวิทยาลัยเทคโนโลยีราชมงคลศรีวิชัย.
- Ahmadi, S., Absalan, G., Craig, D. and Goltz, D. (2014). Photochemical properties of purpurin and its implications for capillary electrophoresis with laser induced fluorescence detection. *Dyes and Pigments*, 105, 57-62, doi: <https://doi.org/10.1016/j.dyepig.2013.12.011>.
- Arbaayah, H.H. and Kalsom, U.Y. (2013). Antioxidant properties in the oyster mushrooms (*Pleurotus* spp.) and split gill mushroom (*Schizophyllum commune*) ethanolic extracts. *Mycosphere*, 4(4), 661-673, doi: <http://dx.doi.org/10.5943/mycosphere/4/4/2>.
- Corzo-Martinez, M., Corzo, N., Villamiel, M. and Castillo, M.D. (2012). Browning reactions. In Simpson, B.K. (Ed.). *Food biochemistry and food processing* (2nd ed.), pp. 56-83. Oxford: Wiley-Blackwell.
- Flink, J.M. (1984). Osmotic concentration of potato. *Journal of Food Science*, 49(5), 1372-1376.
- Mayer, A.M. (2006). Polyphenol oxidases in plants and fungi: Going places? a review. *Phytochemistry*, 67(21), 2318-2331, doi: <https://doi.org/10.1016/j.phytochem.2006.07.006>.
- Menakongka, A., Ruaengsritanyakij, S., Sripayak, S. and Suthiphongchai, S. (2019). Anti-proliferation and anti-migration effect of a medicinal mushroom, *Schizophyllum commune*, on human cholangiocarcinoma cell line. *Vajira Medical Journal: Journal of Urban Medicine*, 63(5), 325-336, doi: <https://doi.org/10.14456/vmj.2019.38>.
- Min, B., McClung, A. and Chen, M.H. (2014). Effects of hydrothermal processes on antioxidants in brown, purple and red bran whole grain rice (*Oryza sativa* L.). *Food Chemistry*, 159, 106-115, doi: <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2014.02.164>.
- Pursito, D.J., Purnomo, E.H., Fardiaz, D. and Hariyadi, P. (2022). Effect of sterility values and retort temperatures on the antioxidant activities, soluble protein, and pH of canned mushroom. *Current Research in Nutrition and Food Science*, 10(2), 553-565, doi: <https://doi.org/10.12944/CRNFSJ.10.2.12>.

- Saetang, N., Ramaraj, R., Praphrue, R. and Unpaprom, Y. (2023). Unlocking the benefits of split gill mushroom: Chemical analysis and prebiotic properties of schizophyllan extract. *International Journal of Biological Macromolecules*, 252, 126544, doi: <https://doi.org/10.1016/j.ijbiomac.2023.126544>.
- Sapers, G.M., Panasiuk, O. and Carré, J. (1978). Effects of thermal processing and salt on the pH and acidity of home-canned tomatoes. *Journal of Food Science*, 43(3), 951-953, doi: <https://doi.org/10.1111/j.1365-2621.1978.tb02461.x>.
- Wu, L.C., Hsu, H.W., Chen, Y.C., Chiu, C.C., Lin, Y.I. and Ho, J.A. (2006). Antioxidant and antiproliferative activities of red pitaya. *Food Chemistry*, 95(2), 319-327, doi: <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2005.01.002>.
- Zamora, R. and Hidalgo, F.J. (2005). Coordinate contribution of lipid oxidation and maillard reaction to the non-enzymatic food browning. *Critical Reviews in Food Science and Nutrition*, 45(1), 49-59, doi: <https://doi.org/10.1080/10408690590900117>.
- Zhang, R., Zeng, Q., Deng, Y., Zhang, M., Wei, Z., Zhang, Y. and Tang, X. (2013). Phenolic profiles and antioxidant activity of litchi pulp of different cultivars cultivated in Southern China. *Food Chemistry*, 136(3-4), 1169-1176, doi: <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2012.09.085>.

ผลของระยะเวลาการให้อาหารต่อการเพิ่มปริมาณต้นมากาเร็ตที่เพาะเลี้ยง ในระบบไบโอรีแอคเตอร์แบบจุ่มชั่วคราว

The Effect of Feeding Periods on Shoot Multiplication of *Argyranthemum frutescens* Cultured in Temporary Immersion Bioreactor System

ณัฐพงศ์ จันจุฬา^{1*} กนกอร อัมพรายน¹ พูนพัฒน์ พูนน้อย² วาสนา แผลติตะ³
ธิติพัฒน์ วีเปลียน⁴ ชาตรี กอนี⁵ นิพิช พินิจผล⁶ และนุชรัฐ บาลลา⁷
Nattapong Chanchula^{1*}, Khanok-on Amprayn¹, Poonpat Poonnoy²,
Wasana Phlaetita³, Thitipat Weeplian⁴, Chatree Konee⁵,
Niphit Phinitphon⁶ and Nutcharat Balla⁷

บทคัดย่อ

ต้นมากาเร็ต (*Argyranthemum frutescens*) เป็นไม้ล้มลุกอายุยืนหลายปี ปัจจุบันได้รับความนิยมในการปลูกเป็นไม้ดอกไม้ประดับ และปลูกเป็นทุ่งเพื่อเป็นแหล่งท่องเที่ยว จึงมีความต้องการในปริมาณสูง การเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อด้วยระบบไบโอรีแอคเตอร์แบบจุ่มชั่วคราว (temporary immersion bioreactor: TIB) เป็นวิธีการที่สามารถขยายพันธุ์ต้นมากาเร็ตให้ได้จำนวนมาก งานวิจัยนี้มีวัตถุประสงค์เพื่อศึกษาหาสูตรการพอกฆ่าเชื้อที่เหมาะสม และระยะเวลาการให้อาหารที่เหมาะสมต่อการชักนำให้เกิดยอดของต้นมากาเร็ตภายใต้ระบบไบโอรีแอคเตอร์แบบจุ่มชั่วคราว จากการพอกฆ่าเชื้อพบว่าการใช้สารละลายคลอริกซ์ 15 เปอร์เซ็นต์ ตามด้วยสารละลายเมอคิวริกคลอไรด์ 0.1 เปอร์เซ็นต์ มีเปอร์เซ็นต์การรอดชีวิตมากที่สุด 88 เปอร์เซ็นต์ จากนั้นศึกษาระยะเวลาการให้อาหารที่เหมาะสมตามระยะเวลาการให้อาหารที่ 2 4 6 และ 8 นาที่ต่อครั้ง วางแผนการทดลองแบบสุ่มสมบูรณ์ (completely randomized design: CRD) จำนวน 4 กรรมวิธี ซ้ำละ 10 ซีนส่วน จำนวน 3 ซ้ำ จากการทดลองพบว่าการให้อาหารเหลวสูตรมาตรฐานเอ็มเอส (MS) ที่เติม 6-เบนซิลามิโนพิเทวรีน (BA) ความเข้มข้น 2 มิลลิกรัมต่อลิตร ที่ระยะเวลานาน 4 นาที่ วันละ 2 ครั้ง พบว่าเป็นช่วงเวลา

¹ ศูนย์เชี่ยวชาญนวัตกรรมเกษตรสร้างสรรค์ สถาบันวิจัยวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยีแห่งประเทศไทย

² สาขาวิชาวิศวกรรมอาหาร คณะอุตสาหกรรมเกษตร มหาวิทยาลัยเชียงใหม่

³ สาขาวิชาพืชศาสตร์ คณะทรัพยากรธรรมชาติ มหาวิทยาลัยเทคโนโลยีราชมงคลธัญบุรี วิทยาเขตสกลนคร

⁴ สำนักวิชาทรัพยากรการเกษตร จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

⁵ สถาบันวิจัยและพัฒนาอาชีพแก่เกษตรกร คณะเกษตร มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์

⁶ กองขยายพันธุ์พืช กรมส่งเสริมการเกษตร

⁷ สาขาวิชาเกษตรศาสตร์ คณะเทคโนโลยีการเกษตร มหาวิทยาลัยราชภัฏวไลยอลงกรณ์ ในพระบรมราชูปถัมภ์

* Corresponding author e-mail: lorichula@gmail.com

Received: 12 June 2023, Revised: 22 April 2024, Accepted: 7 June 2024

เหมาะสมที่สุด สามารถชักนำให้จำนวนต้นต่อกอ (9.17 ± 2.17 ต้น) ขนาดใบ (45.28 ± 4.94 มิลลิเมตร) น้ำหนักสด (1.74 ± 0.44 กรัมต่อกอ) และน้ำหนักแห้ง (0.15 ± 0.03 กรัมต่อกอ)

คำสำคัญ: มากาเร็ต การเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อพืช ระบบไบโอรีแอคเตอร์แบบจุ่มชั่วคราว ระยะเวลาการให้อาหาร

Abstract

Marguerite (*Argyranthemum frutescens*) is a perennial herb that is a popular ornamental plant. It is often planted in fields to attract tourists, so there is high demand for large quantities. The tissue culture method with a temporary immersion bioreactor (TIB) system is an appropriate procedure for the mass propagation of marguerite plant. This research was conducted to develop an efficient protocol for the surface sterilization of *A. frutescens* explants and to determine the optimum duration for providing nutrients to promote shoot induction in a temporary immersion bioreactor. The first part of the experiment demonstrated that sterilization with 15% clorox followed by immersing in 0.1% mercuric chloride resulted in a survival rate of 88%. For the nutrient immersion duration experiment, there were 4 treatments (2, 4, 6, and 8 minutes) in a completely randomized design (CRD). Each replication contained 10 explants and all experiments were repeated at least three times. The results showed that the highest shoot number (9.17 ± 2.17 shoots), leaf size (45.28 ± 4.94 millimeter (mm)), fresh weight (1.74 ± 0.44 gram per batch) and dry weight (0.15 ± 0.03 gram per batch) were obtained when Marguerite plantlets were cultured using MS medium containing 2 milligram per liter (mg/L) 6-Benzylaminopurine (BA) provided for a duration of 4 minutes, twice a day in TIB.

Keywords: Marguerite, Plant tissue culture, Temporary immersion bioreactor, Feeding periods

บทนำ

ต้นมากาเร็ต มีชื่อวิทยาศาสตร์ว่า *Argyranthemum frutescens* เป็นไม้ดอกสายพันธุ์หนึ่งของแอสเตอร์ อยู่ในวงศ์เดียวกับเบญจมาศและทานตะวัน เป็นไม้ล้มลุกอายุยืนหลายปี โดยมีต้นสูงประมาณ 1-2 ฟุต ต้นมีลักษณะเป็นพุ่มเลื้อยตามพื้นดิน มีข้อปล้องสั้นและสามารถงอกต้นใหม่ได้ตามข้อ ใบเป็นใบเดี่ยว มีขนละเอียด รูปใบหอก ปลายใบแหลม ขอบใบเป็นหยักซี่ฟัน ใบออกแบบเรียงสลับกัน ออกดอกได้ตลอดทั้งปี ดอกเป็นดอกเดี่ยว ออกดอกชั้นเดียวหรือสองชั้น ช่อดอกมีสีม่วงขาวน้ำเงิน และชมพู ตรงกลางไส้ดอกเป็นสีเหลือง มักจะปลูกเป็นไม้ประดับสวน นิยมปลูกจากเมล็ด และสามารถขยายพันธุ์ได้จากหน่อ บางชนิดปลูกเป็นไม้ตัดดอก มักขยายพันธุ์โดยการตัดชำ แยกกอ

และหน่อ เป็นพืชที่เจริญเติบโตได้ดีในสภาพดินร่วนมีการระบายน้ำดี ชอบอากาศหนาว การปลูกถ้าปลูกลงดินจะดีกว่าเพราะเป็นไม้ที่มีลำต้นเลื้อยตามพื้นดิน ถ้ากระถางเล็กอาจทำให้ต้นมากาเร็ตไม่สามารถเลื้อยได้ดี ทำให้การเจริญเติบโตอาจไม่เต็มที่ (สำนักงานส่งเสริมและพัฒนาการเกษตรที่ 6 จังหวัดเชียงใหม่, 2563)

ในปี พ.ศ. 2563 พบการระบาดของโรคในต้นกล้าอย่างรุนแรง และในช่วงปลายปี พ.ศ. 2564 เกิดอุทกภัย ส่งผลให้ต้นกล้าที่อ่อนแอต่อโรคนั้นเกิดเน่าและเสียหายเป็นจำนวนมาก ส่งผลให้ขาดแคลนต้นพันธุ์ในพื้นที่เพาะปลูก ทำให้ผลผลิตไม่เพียงพอต่อความต้องการของตลาด ในปัจจุบันได้มีการนำวิธีขยายพันธุ์โดยการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อเข้ามาช่วยเพิ่มประสิทธิภาพในการขยายพันธุ์พืชเนื่องจากสามารถขยายพันธุ์เพื่อเพิ่มปริมาณได้อย่างรวดเร็ว ได้ต้นที่ปลอดโรค และยังช่วยลดระยะเวลาในการขยายพันธุ์อีกด้วย มีรายงานการศึกษาที่ประสบความสำเร็จโดยการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อในต้นมากาเร็ต เดซี (Marguerite Daisy) จากการชักนำส่วนของลำต้นบนอาหารสูตรมาตรฐานเอ็มเอส (MS) (Murashige and Skoog, 1962) ที่เติมสารควบคุมการเจริญเติบโตกรด 1-แนฟทาไลน์แอซิดิก (1-Naphthaleneacetic acid: NAA) ความเข้มข้น 0.5 มิลลิกรัมต่อลิตร ร่วมกับ 6-เบนซิลามีนโอฟิวรีน (6-Benzylaminopurine: BA) ความเข้มข้น 1-5 มิลลิกรัมต่อลิตร (Cunneen, 1995)

นอกจากนี้ในปัจจุบันยังมีเทคโนโลยีการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อด้วยระบบไบโอรีแอคเตอร์แบบจมชั่วคราว (temporary immersion bioreactor: TIB) เป็นระบบเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อพืชในอาหารเหลวที่มีการทำงานแบบอัตโนมัติตามระยะเวลา (Georgiev *et al.*, 2014) ถือเป็นทางเลือกใหม่ที่ได้รับ ความสนใจอย่างมาก ซึ่งระบบนี้มีข้อได้เปรียบมากกว่าระบบดั้งเดิมที่เลี้ยงในอาหารแข็ง คือ ได้ต้นปริมาณมาก ใช้ระยะเวลาที่น้อยกว่าระบบเลี้ยงเดิม ลดพื้นที่ในห้องเพาะเลี้ยง ทำให้ลดต้นทุนการผลิต (Escalona *et al.*, 2003; Etienne and Berthouly, 2002) ลดการฉ่ำน้ำของพืช ลดอาการผิดปกติของต้นพืชที่เกิดจากการขาดออกซิเจน ลดการสะสมของก๊าซคาร์บอนไดออกไซด์และก๊าซเอทิลีน ป้องกันการปนเปื้อนของเชื้อจุลินทรีย์ (นพมณี และคณะ, 2549) ปัจจุบันพบว่าการใช้ระบบไบโอรีแอคเตอร์แบบจมชั่วคราว ประสบความสำเร็จในพืชหลายชนิด แต่ปัจจุบันยังไม่พบรายงานการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อต้นมากาเร็ตด้วยระบบนี้ ดังนั้นงานวิจัยนี้จึงทำการศึกษาสูตรการฟอกฆ่าเชื้อที่เหมาะสมและระยะเวลาการให้อาหารที่เหมาะสมภายใต้ระบบไบโอรีแอคเตอร์แบบจมชั่วคราวต่อการเพิ่มจำนวนต้นมากาเร็ตเพื่อเป็นข้อมูลพื้นฐานในการพัฒนาและแก้ปัญหาด้านปริมาณการผลิตต้นพันธุ์ตลอดจนงานปรับปรุงพันธุ์ต่อไปในอนาคต

วิธีดำเนินการวิจัย

1. การฟอกฆ่าเชื้อที่เหมาะสมสำหรับการเพาะเลี้ยงต้นมากาเร็ต

ตัดชิ้นส่วนบริเวณข้อจากต้นมากาเร็ตให้มีความยาว 2-3 เซนติเมตร โดยให้ติดบริเวณส่วนของตาท่อนละ 1 ตา นำมาฟอกฆ่าเชื้อ โดยเริ่มจากเปิดน้ำไหลผ่านประมาณ 30 นาที แล้วแช่น้ำกลั่น 100 มิลลิลิตร ที่ประกอบด้วย เบนเลท (benomyl) 0.20 กรัม สเตรปโตมัยซิน (streptomycin) และเซฟแทกซิม (cefotaxime) (Claraxim®) อย่างละ 0.02 กรัม นำไปเขย่าข้ามคืน จากนั้นล้างด้วยแอลกอฮอล์ 70 เปอร์เซ็นต์ เป็นเวลา 1 นาที แล้วจึงทำการฟอกฆ่าเชื้อจุลินทรีย์ด้วยสารละลาย

คลอโรกซ์ (NaOCl) ร่วมกับสารละลายเมอคิวริกคลอไรด์ (HgCl₂) โดยแบ่งการทดลองออกเป็น 4 กรรมวิธี จำนวน 5 ซ้ำ ซ้ำละ 5 ชิ้นส่วนพืช รวมทั้งหมด 25 ชิ้นส่วน ดังนี้

กรรมวิธี 1 สารละลายคลอโรกซ์ความเข้มข้น 20 เปอร์เซ็นต์

กรรมวิธี 2 สารละลายคลอโรกซ์ความเข้มข้น 15 เปอร์เซ็นต์ ตามด้วยสารละลายเมอคิวริกคลอไรด์ความเข้มข้น 0.1 เปอร์เซ็นต์

กรรมวิธี 3 สารละลายคลอโรกซ์ความเข้มข้น 10 เปอร์เซ็นต์ ตามด้วยสารละลายเมอคิวริกคลอไรด์ความเข้มข้น 0.1 เปอร์เซ็นต์

กรรมวิธี 4 สารละลายคลอโรกซ์ความเข้มข้น 5 เปอร์เซ็นต์ ตามด้วยสารละลายเมอคิวริกคลอไรด์ความเข้มข้น 0.1 เปอร์เซ็นต์

จากนั้นเติมสาร Tween®20 ลงไปในสารละลาย 3 หยดต่อสารฟอก 100 มิลลิลิตร นำไปแช่เป็นเวลา 10 นาที และล้างด้วยน้ำกลั่นที่ผ่านการนึ่งฆ่าเชื้อแล้ว 3 ครั้ง นานครั้งละ 5 นาที เพาะเลี้ยงบนอาหารสูตร MS (Murashige and Skoog, 1962) ที่ไม่เติมสารควบคุมการเจริญเติบโต เป็นเวลา 30 วัน วางแผนการทดลองแบบสุ่มสมบูรณ์ (completely randomized design: CRD) บันทึกจำนวนต้นที่รอดชีวิต และเปอร์เซ็นต์ปนเปื้อนเชื้อจุลินทรีย์ แล้ววิเคราะห์ด้วยโปรแกรม SPSS เวอร์ชัน 16.0 และเปรียบเทียบความแตกต่างของค่าเฉลี่ยโดยวิธี Duncan's multiple range test (DMRT)

2. การศึกษาระยะเวลาการให้อาหารที่เหมาะสมต่อการชักนำให้เกิดยอดของต้นมากาเร็ตในระบบไบโอรีแอคเตอร์แบบจมชั่วคราว

นำต้นมากาเร็ตจากการเพาะเลี้ยงบนอาหารสูตร MS ที่ไม่เติมสารควบคุมการเจริญเติบโต อายุ 30 วัน ตัดให้ได้ขนาดต้น 2 ข้อ เพาะเลี้ยงในอาหารเหลวสูตร MS ที่เติมสารควบคุมการเจริญเติบโต BA ความเข้มข้น 2.0 มิลลิกรัมต่อลิตร น้ำตาล 30 กรัม และปรับระดับค่าความเป็นกรด-ด่าง (pH) เป็น 5.7 แบ่งใส่ขวดละ 250 มิลลิลิตร (twin-flasks, ขนาด 500 มิลลิลิตร) นึ่งฆ่าเชื้อที่อุณหภูมิ 121 องศาเซลเซียส แรงดัน 15 ปอนด์ต่อตารางนิ้ว เป็นเวลา 15 นาที โดยแบ่งเป็น 4 กรรมวิธี ตามระยะเวลาการให้อาหารที่ 2 4 6 และ 8 นาทีต่อครั้ง จำนวน 3 ซ้ำ ซ้ำละ 10 ชิ้นส่วนพืช เพื่อหาระยะเวลาการให้อาหารต้นมากาเร็ตที่เหมาะสม โดยแต่ละวันจะให้อาหาร 2 ครั้งในช่วงเวลา 10.00 น. และ 13.00 น. เลี้ยงภายใต้ความความเข้มแสง 60 ± 5 ไมโครโมลต่อตารางเมตรต่อวินาที ด้วยหลอดฟลูออเรสเซนต์ (TLD 36W/84 3350 lm Philips, Thailand) เป็นเวลา 16 ชั่วโมงต่อวัน ที่อุณหภูมิ 25 ± 2 องศาเซลเซียส ทำการเพาะเลี้ยงเป็นระยะเวลา 30 วัน วางแผนการทดลองแบบสุ่มแบบสมบูรณ์ (CRD) และเก็บข้อมูลความสูง จำนวนต้นต่อกอ พื้นที่ใบ ความยาวราก น้ำหนักสด และน้ำหนักแห้ง แล้ววิเคราะห์ด้วยโปรแกรม SPSS 16.0 และเปรียบเทียบค่าเฉลี่ยโดยวิธี DMRT

ผลการวิจัย

1. ผลการศึกษาวิธีการฟอกฆ่าเชื้อที่เหมาะสมสำหรับการเพาะเลี้ยงต้นมากาเร็ต

หลังจากนำส่วนข้อของต้นมากาเร็ตมาฟอกฆ่าเชื้อด้วยวิธีการฟอก 4 กรรมวิธี เมื่อนำมาวิเคราะห์ผล พบว่ามีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ โดยกรรมวิธีที่ 2 ประกอบด้วยสารละลายคลอโรกซ์ความเข้มข้น 15 เปอร์เซ็นต์ ตามด้วยสารละลายเมอคิวริกคลอไรด์ความเข้มข้น

0.1 เปอร์เซ็นต์ สามารถพอกฆ่าเชื้อขึ้นส่วนต้นมากาเร็ต มีเปอร์เซ็นต์การปนเปื้อนน้อยที่สุด 12 เปอร์เซ็นต์ และจำนวนต้นที่รอดชีวิต 22 ต้น คิดเป็นเปอร์เซ็นต์การรอดชีวิต 88 เปอร์เซ็นต์ รองลงมา คือ กรรมวิธีที่ 3 สารละลายคลอรีนความเข้มข้น 10 เปอร์เซ็นต์ ตามด้วยสารละลายเมอคิวริกคลอไรด์ ความเข้มข้น 0.1 เปอร์เซ็นต์ มีเปอร์เซ็นต์การปนเปื้อน 28 เปอร์เซ็นต์ และจำนวนต้นที่รอดชีวิต 18 ต้น และกรรมวิธีที่ 1 สารละลายคลอรีนความเข้มข้น 20 เปอร์เซ็นต์ มีเปอร์เซ็นต์การปนเปื้อน มากที่สุด คือ 80 เปอร์เซ็นต์ และจำนวนต้นที่รอดชีวิตเพียง 5 ต้น คิดเป็นเปอร์เซ็นต์การรอดชีวิต น้อยที่สุด 20 เปอร์เซ็นต์ (ตารางที่ 1) จากการทดลองพอกฆ่าเชื้อต้นมากาเร็ต พบว่าเชื้อที่ปนเปื้อน ส่วนใหญ่เป็นเชื้อแบคทีเรีย รองลงมาเป็นเชื้อรา จากงานวิจัยครั้งนี้แสดงให้เห็นว่าความเข้มข้นของสาร คลอรีนและสารละลายเมอคิวริกคลอไรด์ จำนวนครั้งในการพอกฆ่าเชื้อมีผลในการปนเปื้อนและ เปอร์เซ็นต์การรอดชีวิตของต้นมากาเร็ต

ตารางที่ 1 เปอร์เซ็นต์การรอดชีวิตของต้นมากาเร็ตบนอาหารเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อสูตร MS ภายหลังการ พอกฆ่าเชื้อด้วยสารพอกสูตรต่าง ๆ เป็นเวลา 30 วัน

กรรมวิธีที่	จำนวนต้นที่รอดชีวิต (ต้น)	เปอร์เซ็นต์การปนเปื้อน (เปอร์เซ็นต์)	เปอร์เซ็นต์การรอดชีวิต (เปอร์เซ็นต์)
1	5 ^d	80	20
2	22 ^a	12	88
3	18 ^b	28	72
4	9 ^c	64	36
F-test	*	-	-
CV (%)	21.77	-	-

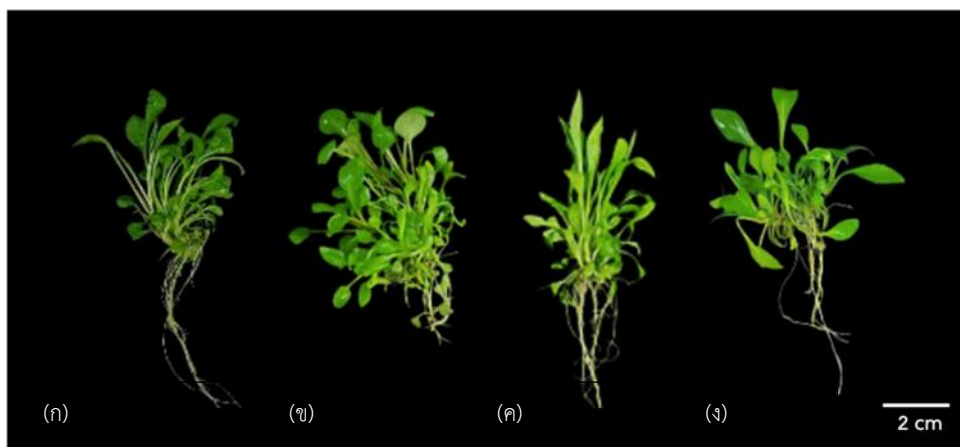
หมายเหตุ: - ค่าเฉลี่ยที่กำกับด้วยตัวอักษรต่างกันในสดมภ์เดียวกันมีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p \leq 0.05$)

- * มีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ

2. ผลการศึกษาระยะเวลาการให้อาหารที่เหมาะสมต่อการชักนำให้เกิดยอดของต้นมากาเร็ตในระบบไบโอรีแอคเตอร์แบบจมชั่วคราว

ผลการศึกษาระยะเวลาการให้อาหารที่เหมาะสมต่อการชักนำให้เกิดยอดของต้นมากาเร็ตในระบบไบโอรีแอคเตอร์แบบจมชั่วคราว โดยให้ขึ้นส่วนพืชจมอยู่ในอาหารนาน 2 4 6 และ 8 นาที่ ความถี่ในการให้ 2 ครั้งต่อวัน เป็นระยะเวลา 30 วัน พบว่าต้นมากาเร็ตมีการเจริญเติบโตแตกต่างกัน โดยต้นมากาเร็ตที่ได้รับอาหารเป็นเวลา 2 นาที่ มีความสูงต้นดีที่สุด มีค่าเท่ากับ 51.14 ± 16.52 มิลลิเมตร รองลงมา คือ การให้อาหารที่ระยะเวลา 4 และ 8 นาที่ มีค่าเท่ากับ 39.50 ± 4.96 และ 39.86 ± 7.05 มิลลิเมตร ตามลำดับ ซึ่งสอดคล้องกับผลด้านความยาวราก พบว่าการให้อาหารที่ระยะเวลา 2 นาที่ ให้ความยาวรากดีที่สุด เท่ากับ 83.32 ± 29.06 มิลลิเมตร รองลงมา คือ การให้อาหารที่ระยะเวลา 8 นาที่ มีค่าเท่ากับ 72.84 ± 32.66 มิลลิเมตร ส่วนการให้อาหารที่ระยะเวลา 4 และ 6 นาที่ พบว่าความยาว

ไม่มีความแตกต่างกันทางสถิติ มีค่าเท่ากับ 30.93 ± 7.68 และ 27.12 ± 5.23 มิลลิเมตร ตามลำดับ ในทางกลับกันเมื่อระยะเวลาการให้อาหารเพิ่มขึ้น ส่งผลให้ความสามารถในการชักนำจำนวนต้นตอกอ พื้นที่ใบ น้ำหนักสดตอก และน้ำหนักแห้งตอกเพิ่มขึ้นอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ โดยเฉพาะผลของจำนวนต้นตอก พบว่าจำนวนต้นตอกในการให้อาหารที่ระยะเวลา 4 นาที่ ให้จำนวนต้นตอกมากที่สุด มีค่าเท่ากับ 9.17 ± 2.17 ต้น รองลงมา คือ การให้อาหารที่ระยะเวลา 8 นาที่ มีค่าเท่ากับ 4.17 ± 1.33 ต้น ตามด้วยการให้อาหารที่ระยะเวลา 2 นาที่ มีค่าเท่ากับ 3.67 ± 1.03 ต้น ซึ่งไม่แตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติกับการให้อาหารที่ระยะเวลา 6 นาที่ มีค่าเท่ากับ 2.67 ± 0.66 ต้น ส่วนด้านพื้นที่ใบ พบว่าการให้อาหารที่ระยะเวลา 4 นาที่ ให้พื้นที่ใบดีที่สุด คือ 45.28 ± 4.94 มิลลิเมตร รองลงมา คือ การให้อาหารที่ระยะเวลา 2 นาที่ มีค่าเท่ากับ 36.98 ± 3.40 มิลลิเมตร ในขณะที่เวลาให้อาหาร 6 และ 8 นาที่ พื้นที่ใบไม่แตกต่างกันทางสถิติ สอดคล้องกับน้ำหนักสดและน้ำหนักแห้ง พบว่าการให้อาหารที่ระยะเวลา 4 นาที่ ให้ผลด้านน้ำหนักดีที่สุด มีค่าเท่ากับ 1.74 ± 0.66 และ 0.15 ± 0.03 กรัมตอก ตามลำดับ น้ำหนักสดรองลงมา คือ การให้อาหารที่ระยะเวลา 2 นาที่ มีค่าเท่ากับ 1.70 ± 0.66 กรัมตอก และน้ำหนักแห้งรองลงมา คือ การให้อาหารที่ระยะเวลา 2 และ 8 นาที่ มีค่าเท่ากับ 0.12 ± 0.04 และ 0.12 ± 0.01 กรัมตอก ตามลำดับ ซึ่งมีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติกับการให้อาหารที่ระยะเวลา 6 นาที่ มีค่าเฉลี่ยเพียง 0.09 ± 0.05 กรัมตอก จากการศึกษาระยะเวลาการให้อาหารที่เหมาะสม พบว่าการให้อาหารระยะเวลา 4 นาที่ เป็นจำนวน 2 ครั้งต่อวัน ให้ผลจำนวนต้นตอก ขนาดใบ น้ำหนักสด และน้ำหนักแห้งดีที่สุด ดังภาพที่ 1 และตารางที่ 2



ภาพที่ 1 การเจริญเติบโตของต้นมาคาเรตที่เพาะเลี้ยงในอาหารสูตร MS เติม BA ความเข้มข้น 2 มิลลิกรัมต่อลิตร ภายใต้ระบบไบโอรีแอคเตอร์แบบจมชั่วคราวที่อายุ 30 วัน ระยะเวลาการให้อาหารเหลว 2 นาที่ (ก) 4 นาที่ (ข) 6 นาที่ (ค) และ 8 นาที่ (ง)

ตารางที่ 2 ผลการเจริญเติบโตของต้นมาคาเร็ตอายุ 30 วัน ในอาหารสูตร MS ที่เติม BA ความเข้มข้น 2 มิลลิกรัมต่อลิตร ภายใต้ระบบไบโอรีแอคเตอร์แบบ จมชั่วคราวที่ระยะเวลาการให้อาหารที่ต่างกัน

ระยะเวลา (นาท)	จำนวนต้นตอก (ต้น)	ความสูง (มิลลิเมตร)	พื้นที่ใบ (ตารางมิลลิเมตร)	ความยาวราก (มิลลิเมตร)	น้ำหนักสด (กรัมตอก)	น้ำหนักแห้ง (กรัมตอก)
2	3.67±1.03 ^b	51.14±16.52 ^a	36.98±3.40 ^b	83.32±29.06 ^a	1.70±0.66 ^a	0.12±0.04 ^{ab}
4	9.17±2.17 ^a	39.50±4.96 ^a	45.28±4.94 ^a	30.93±7.68 ^b	1.74±0.44 ^a	0.15±0.03 ^a
6	2.67±0.66 ^b	18.96±7.62 ^b	22.76±7.94 ^c	27.12±5.23 ^b	0.88±0.64 ^b	0.09±0.05 ^b
8	4.17±1.33 ^b	39.86±7.05 ^a	28.59±4.78 ^c	72.84±32.66 ^a	1.44±0.28 ^{ab}	0.12±0.01 ^{ab}
F-test	*	*	*	*	*	*
CV (%)	49.47	26.93	16.52	33.40	36.66	31.15

หมายเหตุ: - รายงานในรูปแบบค่าเฉลี่ย ± ส่วนเบี่ยงเบนมาตรฐาน (mean±SD)

- ค่าเฉลี่ยที่กำกับด้วยตัวอักษรต่างกันในสดมภ์เดียวกันมีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p \leq 0.05$)

- * มีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ

การอภิปรายผลการวิจัย

จากผลการทดลองพบว่ากรรมวิธีที่ไม่มีสารละลายเมอคิวริกคลอไรด์ ส่งผลให้มีเปอร์เซ็นต์การปนเปื้อนสูงกว่ากรรมวิธีอื่น เนื่องจากต้นมาการเร่ที่นำมาฟอกฆ่าเชื้อเป็นส่วนหนึ่งของข้อ มีความสกปรกสูง จึงจำเป็นต้องใช้สารละลายเมอคิวริกคลอไรด์ในฟอกการฆ่าเชื้อ สอดคล้องกับงานวิจัยของ Yesmin *et al.* (2014) และ Pant *et al.* (2015) กล่าวว่าสูตรการฟอกที่เหมาะสมในการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อส่วนข้อและใบของเบญจมาศโดยใช้สารละลายเมอคิวริกคลอไรด์ความเข้มข้น 0.1 เปอร์เซ็นต์ในการฟอกฆ่าเชื้อจุลินทรีย์ได้อย่างมีประสิทธิภาพ และงานวิจัยของ Jahan *et al.* (2021) ใช้สารละลายคลอโรกซ์ร่วมกับสารละลายเมอคิวริกคลอไรด์ พบว่าเป็นวิธีที่เหมาะสมในการฟอกฆ่าเชื้อชิ้นส่วนข้อ ปลายยอด และใบของเบญจมาศ ส่วนความเข้มข้นของสารละลายคลอโรกซ์ที่ 15 เปอร์เซ็นต์ ซึ่งให้ผลในการกำจัดเชื้อจุลินทรีย์ดีกว่าสารละลายคลอโรกซ์ความเข้มข้น 10 และ 5 เปอร์เซ็นต์ เนื่องจากประสิทธิภาพของสารฟอกฆ่าเชื้อจะตอบสนองต่อระยะเวลาและปริมาณความเข้มข้นของสารที่ใช้ ซึ่งปกติและประสิทธิภาพจะมากขึ้นถ้าใช้ระยะเวลาและความเข้มข้นของสารมากขึ้น แต่ถ้าใช้มากเกินไปจะเกิดอันตรายต่อเนื้อเยื่อพืชได้ (รังสฤษดิ์, 2540)

จากการศึกษาพบว่าระยะเวลาการให้อาหารวันละ 2 ครั้ง ครั้งละ 2 นาที ส่งผลให้ต้นมาการเร่มีความสูงและความยาวรากมากที่สุด ซึ่งสอดคล้องกับงานวิจัยของแววดาว และนพมณี (2555) ที่ทำการขยายพันธุ์เอมซอน (*Echinodorus* sp.) ด้วยระบบไบโอรีแอคเตอร์แบบจมชั่วคราว พบว่าระยะเวลาในการให้อาหาร 2 ครั้งต่อวัน มีการเจริญเติบโตดีที่สุด เนื่องจากการเพาะเลี้ยงพืชในระบบไบโอรีแอคเตอร์แบบจมชั่วคราว มีก๊าซคาร์บอนไดออกไซด์และเอทิลีนสะสมในขวดเพาะเลี้ยงน้อยกว่าอาหารแข็ง ส่งผลให้พืชเจริญเติบโตได้ดีกว่า เมื่อมีการไล่อากาศต้นอาหารไปเลี้ยงต้นพืชซึ่งแก๊สเหล่านี้จะถูกดันออกจากขวดทิ้งไป (Roles *et al.*, 2006) ในขณะที่พบว่าการให้อาหารระยะเวลา 4 นาที ให้จำนวนต้นต่อกอดีที่สุดและส่งผลให้ขนาดใบ น้ำหนักสด และน้ำหนักแห้ง มีค่าเฉลี่ยมากที่สุดด้วย เนื่องจากระยะเวลาการให้อาหาร 4 นาที เป็นระยะเวลาที่เหมาะสม ไม่เร็ว และไม่นานจนเกินไป โดยต้นพืชที่แช่อยู่ในอาหารมีระยะเวลาเพียงพอสามารถดูดซับธาตุอาหารได้ และเป็นระยะเวลาที่ไม่นานจนเกิดอาการซ้ำจากอากาศต้นอาหารไปเลี้ยง ส่งผลให้ต้นมาการเร่มีการเจริญเติบโตดีกว่าการให้อาหารที่ระยะเวลา 2 6 และ 8 นาที สอดคล้องกับณัฐพงศ์ และพิมพ์พร (2563) ที่ศึกษาระยะเวลาการให้อาหารที่เหมาะสมในการชักนำยอดขนาดเล็กของต้นแก้วหน้าม้าในระบบไบโอรีแอคเตอร์แบบจมชั่วคราวที่ระยะเวลาต่างกัน คือ 2 4 6 และ 8 นาที โดยให้วันละ 2 ครั้ง ด้วยระบบการเพาะเลี้ยงแบบกึ่งอัตโนมัติ พบว่าการให้อาหารระยะเวลานาน 4 นาที ทำให้ได้ปริมาณต้นเฉลี่ยสูงที่สุด ในขณะที่งานวิจัยของณิชาธิ์ และคณะ (2562) ได้ศึกษาความถี่ในการให้อาหาร (3 6 และ 12 ครั้งต่อวัน) ของพืชสกุลอนุเบียส เปรียบเทียบกับระบบการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อในอาหารกึ่งแข็งเป็นระยะเวลา 6 สัปดาห์ พบว่าการเพาะเลี้ยงอนุเบียสในระบบไบโอรีแอคเตอร์แบบจมชั่วคราวที่ให้อาหาร 6 ครั้งต่อวัน เป็นเวลา 5 นาที มีการเจริญเติบโตดีที่สุด อย่างไรก็ตามระบบการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อแบบจมชั่วคราวสามารถเพิ่มปริมาณชิ้นส่วนพืชได้เป็นจำนวนมากในเวลาที่รวดเร็ว เนื่องจากใช้อาหารเหลวเพื่อการขยายพันธุ์พืชได้โดยปราศจากผลข้างเคียง เพราะพืชจะไม่จมอยู่ในอาหารตลอดเวลาโดยมีการให้อาหารแบบอัตโนมัติเป็นครั้งคราวตามที่ได้ติดตั้งไว้ การเปลี่ยนอาหารทำได้สะดวกและรวดเร็ว ลดขั้นตอนของการตัดเพิ่มปริมาณเนื้อเยื่อพืช (subculture) ลดโอกาสที่จะเกิดการปนเปื้อนให้น้อยลง

(เขมณัฏฐ์ และคณะ, 2561) อีกทั้งเทคโนโลยีการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อในปัจจุบันนิยมใช้ในการผลิตต้นพันธุ์ที่ปลอดโรค และการปรับปรุงพันธุ์ เนื่องจากสามารถควบคุมการผลิตตามจำนวนได้ และได้ต้นพันธุ์ที่ตรงตามพันธุ์ที่ต้องการ เช่น เมล็ดเบญจมาศ (ชญาณี และคณะ, 2562) ข้าวพื้นเมือง (กมลทิพย์ และคณะ, 2560) และมะรุ้ม (ฤทัยชนก และคณะ, 2561)

สรุปผลการวิจัย

การศึกษาสูตรการพอกฆ่าเชื้อและระยะเวลาการให้อาหารเพาะเลี้ยงต้นมาการเร็ตภายใต้ระบบไบโอรีแอคเตอร์แบบจมหัวคราว โดยสามารถพอกฆ่าเชื้อขึ้นส่วนต้นมาการเร็ตให้มีเปอร์เซ็นต์การปนเปื้อนน้อยที่สุด คือ การใช้สารละลายคลอรีนความเข้มข้น 15 เปอร์เซ็นต์ ตามด้วยสารละลายเมทิลริกคลอไรด์ความเข้มข้น 0.1 เปอร์เซ็นต์ ส่วนการให้อาหารเหลวสูตร MS ที่เติม BA ความเข้มข้น 2 มิลลิกรัมต่อลิตร ที่ระยะเวลานาน 4 นาที วันละ 2 ครั้ง พบว่าเป็นช่วงเวลาเหมาะสมที่สุดที่สามารถชักนำจำนวนต้นตอก ขนาดใบ น้ำหนักสด น้ำหนักแห้ง และสามารถพัฒนาเป็นต้นที่สมบูรณ์ ทำให้สามารถขยายพันธุ์มาการเร็ตได้อย่างรวดเร็วและใช้เวลาสั้นลง เกิดการเพิ่มขีดความสามารถในการผลิตต้นมาการเร็ตเชิงพาณิชย์ได้ในอนาคต

กิตติกรรมประกาศ

ขอขอบคุณทุนสนับสนุนจากสำนักงานการวิจัยแห่งชาติ (วช.) ภายใต้โครงการ การยกระดับการปลูกเลี้ยงพืชกลุ่มแอสเตอร์ด้วยนวัตกรรมการขยายพันธุ์พืชปลอดโรคเชิงพาณิชย์ ปีงบประมาณ พ.ศ. 2565

เอกสารอ้างอิง

- กมลทิพย์ ลำลีแก้ว อรพิมล แท่นทอง ผการัตน์ โรจน์ดวง และสุภาวดี รามสูตร. (2560). การขยายพันธุ์ข้าวพื้นเมืองพันธุ์กาดำด้วยเทคนิคการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อ. *วารสารวิชา มหาวิทยาลัยราชภัฏนครศรีธรรมราช*, 36(2), 25-35.
- เขมณัฏฐ์ ธนกรณไพศาล ดวงพร เปรมจิต ศิริพงษ์ เปรมจิต และอนุพันธ์ กงบังเกิด. (2561). การขยายพันธุ์กล้วยน้ำว้ามะลิอ่อนโดยระบบไบโอรีแอคเตอร์แบบจมหัวคราว (TIB). *รายงานวิจัย. มหาวิทยาลัยนเรศวร*.
- ชญาณี สังวาลย์ ผการัตน์ โรจน์ดวง สุภาวดี รามสูตร ศุภมาส แซ่เตียว และเสาวลักษณ์ ชูด้วง. (2558). ผลของสูตรอาหารต่อการเจริญเติบโตของเมล็ดเบญจมาศในสภาพปลอดเชื้อ. *วารสารวิชา มหาวิทยาลัยราชภัฏนครศรีธรรมราช*, 34(2), 45-51.
- ณัฐพงศ์ จันจุฬา และพิมพ์พรณ พิมลรัตน์. (2563). อิทธิพลของ BA และระยะเวลาการให้อาหารในระบบไบโอรีแอคเตอร์แบบจมหัวคราวต่อการเพิ่มจำนวนของต้นแก้วหน้าม้า. *Thai Journal of Science and Technology*, 9(5), 642-649.
- ณิชารีย์ เขียรชติสกุล นงนุช เลหาหะวิสุทธิ และสมเกียรติ ศรีสนอง. (2562). การใช้ระบบไบโอรีแอคเตอร์แบบจมหัวคราวในการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่ออนุเบียสบาร์เทอร์บริบอดลีฟ *Anubias barteri* 'Broad leaf'. *วารสารเกษตรพระจอมเกล้า*, 37(1), 23-31.

- นพมณี โทปบุญยานนท์ รังสิมา อัมพวัน และพรศักดิ์ บุญมณี. (2549). *วช: สนับสนุนผลงานวิจัยไม้ดอกเพื่อการส่งออก*. กรุงเทพฯ: สำนักงานคณะกรรมการการวิจัยแห่งชาติ.
- ฤทัยชนก ชิตเดชะ พิมพ์โพยม บุญมา ผลารัตน์ โรจน์ดวง และสุภาวดี รามสูตร. (2561). การขยายพันธุ์มะรุ่ยโดยวิธีการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อ (*Moringa oleifera* Lam.). *วารสารวิชา มหาวิทยาลัยราชภัฏนครศรีธรรมราช*, 37(2), 86-95.
- รังสฤษฎ์ กาวีตะ. (2540). *การเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อพืช: หลักการและเทคนิค*. กรุงเทพฯ: มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์.
- แววดาว หมื่นสำราญ และนพมณี โทปบุญยานนท์. (2555). การขยายพันธุ์เมซอน (*Echinodorus* sp.) ด้วยระบบไบโอรีแอคเตอร์แบบจมชั่วคราว. *วารสารวิทยาศาสตร์เกษตร*, 43(1), 69-78.
- สำนักงานส่งเสริมและพัฒนาการเกษตรที่ 6 จังหวัดเชียงใหม่. (2563). *การปลูกดอกมากาเร็ตและพีค็อก*. สืบค้นเมื่อ 4 มิถุนายน 2566, จาก: <http://www.ndoe.doe.go.th/article.php?a=49>.
- Cunneen, T.M. (1995). Breeding for improvement of the marguerite daisy (*Argyranthemum* spp.). *Acta Horticulturae*, 420, 101-103, doi: <https://doi.org/10.17660/ActaHortic.1995.420.27>.
- Escalona, M., Samson, G., Borroto, C. and Desjardins, Y. (2003). Physiology of effects of temporary immersion bioreactors on micropropagated pineapple plantlets. *In Vitro Cellular and Developmental Biology-Plant*, 39, 651-656, doi: <https://doi.org/10.1079/IVP2003473>.
- Etienne, H. and Berthouly, M. (2002). Temporary immersion systems in plant micropropagation. *Plant Cell, Tissue and Organ Culture*, 69, 215-231, doi: <https://doi.org/10.1023/A:1015668610465>.
- Georgiev, V., Schumann, A., Pavlov, A. and Bley, T. (2014). Temporary immersion systems in plant biotechnology. *Engineering in Life Sciences*, 14(6), 607-621, doi: <https://doi.org/10.1002/elsc.201300166>.
- Jahan, M.T., Islam, M.R., Islam, S.S., Das, P., Islam, M.M., Kabir, M.H. and Mamun, A.N.K. (2021). Clonal propagation of *Chrysanthemum morifolium* ramat using various explants obtained from field grown plants. *GSC Biological and Pharmaceutical Sciences*, 16(2), 87-93, doi: <https://doi.org/10.30574/gscbps.2021.16.2.0231>.
- Murashige, T. and Skoog, F. (1962). A revised medium for rapid growth and bioassays with tobacco tissue cultures. *Plant Physiology*, 15(7), 473-497, doi: <https://doi.org/10.1111/j.1399-3054.1962.tb08052.x>.
- Pant, M., Lal, A. and Jain, R. (2015). A simple cost effective method for mass propagation of *Chrysanthemum morifolium* and antibacterial activity assessment of *in vitro* raised plantlets. *Journal of Applied Pharmaceutical Science*, 5(7), 103-111, doi: <https://doi.org/10.7324/JAPS.2015.50716>.

- Roles, S., Noceda, C., Escalona, M., Sandoval, J., Canal, M.J., Rodriguez, R. and Debergh, P. (2006). The effect of headspace renewal in a temporary immersion bioreactor on plantain (*Musa AAB*) shoot proliferation and quality. *Plant Cell, Tissue and Organ Culture*, 84, 155-163, doi: <https://doi.org/10.1007/s11240-005-9013-y>.
- Yesmin, S., Hashem, A., Das, K.C., Hasan, M.M. and Islam, M.S. (2014). Efficient in vitro regeneration of chrysanthemum (*Chrysanthemum morifolium* Ramat.) through nodal explant culture. *Nuclear Science and Applications*, 23(1&2), 47-50.

การศึกษานายศักยภาพของสารออกฤทธิ์ทางชีวภาพในเขยตายต่อโปรตีนเป้าหมาย ที่สัมพันธ์กับการเกิดโรคอัลไซเมอร์บนคอมพิวเตอร์

In silico Prediction of the Potential of Bioactive Compounds from *Glycosmis pentaphylla* (Retz.) Against Protein Targets in Alzheimer's Disease

ณัฐพล ปาลวัฒน์¹ ชนิตโชติ ปิยพิทยานันต์¹ วรณธร เชื้อบุญมี¹ และภุภิกัทร ใจแก้ว^{1*}
Nattapol Palawat¹, Chanitchote Piyapittayanun¹, Varundhorn Chuaboonmee¹
and Phuphiphat Jaikaew^{1*}

บทคัดย่อ

เขยตายเป็นพืชสมุนไพรในตำรายาไทยหลายตำรับ มีฤทธิ์ด้านการอักเสบ ลดระดับคอเลสเตอรอลในเลือด ต้านอนุมูลอิสระ นอกจากนี้ยังมีคุณสมบัติยับยั้งโคลีนเอสเตอเรส (cholinesterase) ซึ่งเกี่ยวข้องกับการเกิดโรคอัลไซเมอร์ ในปัจจุบันยารักษาโรคอัลไซเมอร์มีผลข้างเคียงค่อนข้างมาก งานวิจัยนี้มีวัตถุประสงค์เพื่อศึกษาการเข้าจับระดับโมเลกุลและอันตรกิริยาของสารออกฤทธิ์ทางชีวภาพในเขยตาย 40 ชนิดกับโปรตีนเป้าหมายที่สัมพันธ์กับการเกิดโรคอัลไซเมอร์ 46 ชนิด โดยมียาควบคุมเชิงบวกที่เกี่ยวข้องกับการรักษาโรคอัลไซเมอร์ 23 ชนิด ศึกษารูปแบบการเข้าจับกับระดับโมเลกุลและวิเคราะห์อันตรกิริยาผ่านโปรแกรมปฏิสัมพันธ์ระหว่างโปรตีนและลิแกนด์ (PLIP) ผลการวิจัยพบว่าค่าพลังงานการยึดเกาะระหว่างแอลฟา-ฟีนิลลันโดล (α -phenylindole) กับโปรตีนเบต้า2-อะดรีเนอร์จิก (β 2-adrenergic) เท่ากับ -9.4 กิโลแคลอรีต่อโมล และจากการวิเคราะห์อันตรกิริยาพบว่าการเกิดพันธะไฮโดรเจน 1 ตำแหน่ง และเกิดแรงไฮโดรโฟบิก 7 ตำแหน่ง เทียบกับยาควบคุมเชิงบวกไรวาสติกมิน ซึ่งมีค่าพลังงานการยึดเกาะเท่ากับ -7.8 กิโลแคลอรีต่อโมล จึงบ่งชี้ได้ว่าแอลฟา-ฟีนิลลันโดลในเขยตายมีศักยภาพในการเข้าจับกับโปรตีนเบต้า2-อะดรีเนอร์จิกได้ดีกว่ายาไรวาสติกมิน (rivastigmine) นอกจากนั้นยังพบว่าแอลฟา-ฟีนิลลันโดลมีการเกิดแรงไฮโดรโฟบิก (hydrophobic) ที่ซ้อนทับกับยาไรวาสติกมินอยู่ 4 ตำแหน่ง ได้แก่ VAL1114A PHE1193A PHE1289A และ TYR1308A การศึกษานี้สามารถนำไปสู่ทางเลือกการรักษาหรือบรรเทาอาการโรคอัลไซเมอร์ในอนาคต

คำสำคัญ: โรคอัลไซเมอร์ เขยตาย สารออกฤทธิ์ทางชีวภาพ การจำลองการเข้าจับกันของโมเลกุลอันตรกิริยาระหว่างโมเลกุล

¹ สาขาวิชาเทคโนโลยีชีวภาพ คณะวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยี มหาวิทยาลัยธรรมศาสตร์

* Corresponding author e-mail: pupipat@tu.ac.th

Received: 4 May 2024, Revised: 22 June 2024, Accepted: 3 July 2024

Abstract

Glycosmis pentaphylla (Retz.) is a traditional Thai herb used in many Thai medicine recipes. It was reported to have anti-inflammatory effects, reduce cholesterol levels, and possess antioxidant properties. In addition, it also has cholinesterase inhibitory properties which are related to Alzheimer's disease (AD). Bioactive compounds might be considered as an alternative to current Alzheimer's medications, which exhibited many side effects. This study aims to investigate binding patterns between bioactive compounds from a medicinal plant *G. pentaphylla* (Retz.) against target proteins of AD using molecular docking techniques and molecular interactions that were identified through the PLIP program. The 40 bioactive compounds in *G. pentaphylla* (Retz.) and the 23 Food and Drug Administration (FDA)-approved drugs of AD were examined for the best binding energy among the 46 target proteins of AD. The result shows that the binding energy between α -phenylindole and β 2-adrenergic was -9.4 kilocalorie per mole (kcal/mol). The molecular interaction analysis found one hydrogen bond and seven hydrophobic forces. While the binding energy between Rivastigmine and β 2-adrenergic drug was -7.8 kcal/mol indicating that α -phenylindole had a better binding affinity to β 2-adrenergic. In addition, there were four overlapping binding sites of hydrophobic forces: VAL1114A, PHE1193A, PHE1289A, and TYR1308A on α -phenylindole and Rivastigmine. These results propose a potential alternative for treating or alleviating AD symptoms in the future.

Keywords: Alzheimer's disease, *Glycosmis pentaphylla* (Retz.), Bioactive compounds, Molecular docking, Molecular interaction

บทนำ

องค์ความรู้ที่ได้จากการค้นพบและการใช้สืบทอดกันมายาวนานของบรรพบุรุษ ส่งผลให้ปัจจุบันสมุนไพรไทยได้รับความสนใจและมีการวิจัยด้านการสกัดและการประเมินประสิทธิภาพของสารออกฤทธิ์ทางชีวภาพต่าง ๆ มากขึ้น ทั้งนี้เพื่อเป็นข้อมูลในการนำสมุนไพรมาใช้ประโยชน์อย่างเหมาะสมและปลอดภัย รวมถึงนำไปสู่การพัฒนาเป็นผลิตภัณฑ์ยา เป็นส่วนผสมในเครื่องสำอาง และในอาหารเสริม เป็นต้น เนื่องจากยารักษาโรคในปัจจุบันมีราคาสูงและมีผลข้างเคียงมาก

เขยตาย มีชื่อทางวิทยาศาสตร์ว่า *Glycosmis pentaphylla* จัดอยู่ในวงศ์ Rutaceae เป็นพืชสมุนไพรในตำรับยาไทยหลายตำรับ (Sintupachee and Ruang-On, 2022) มีลักษณะเป็นไม้พุ่มกึ่งไม้ยืนต้นขนาดเล็ก มีชื่อท้องถิ่นอื่น ๆ ว่า ส้มขึ้น ประยงค์ใหญ่ กระรอกน้ำ เขยตายแม่ยายชักปรก หล้ายาง และชมขึ้น เป็นต้น มีการนำสารสกัดจากส่วนต่าง ๆ ของเขยตายมาใช้ประโยชน์หลากหลายส่วนมากเป็นสารในกลุ่มอัลคาลอยด์และเอไมด์ มีฤทธิ์ในการต้านการอักเสบ ลดระดับคอเลสเตอรอลในเลือด ต้านการอักเสบ (Chen *et al.*, 2022) ต้านเนื้องอก ต้านอนุมูลอิสระ ต้านไวรัส ต้านเชื้อรา

และแบคทีเรีย เป็นต้น (Sreejith *et al.*, 2012) นอกจากนี้ยังมีคุณสมบัติยับยั้งโคลีนเอสเตอเรส (cholinesterase) (Rahman *et al.*, 2017) ซึ่งเป็นสาเหตุทำให้เกิดโรคอัลไซเมอร์ อย่างไรก็ตาม การศึกษามะเร็งทางเภสัชวิทยาของเขยตายยังมีจำนวนน้อยมาก

อัลไซเมอร์ หรือโรคความจำเสื่อม เป็นโรคทางสมองเกี่ยวข้องกับความเสี่ยงของเซลล์ประสาทในสมองที่ค่อย ๆ ทำลายความจำและทักษะการคิด สูญเสียการทำงานของการทำงานของเซลล์ ประสาท และความสามารถทางพฤติกรรมจนถึงระดับที่รบกวนชีวิตประจำวันและกิจกรรมต่าง ๆ สาเหตุของโรคอัลไซเมอร์ยังไม่แน่ชัด แต่มีรายงานสมมติฐานหลัก ๆ ประการแรก คือ เมื่อเบตา-อะมิลอยด์ (β -amyloid) สลายจะให้อนุโมลอิสระออกมาทำให้เกิดสภาวะที่เอื้อต่อความเครียดจากปฏิกิริยาออกซิเดชัน และกระตุ้นให้เซลล์ประสาทเกิดการอักเสบ รวมทั้งภาวะสมดุลของแคลเซียม หากขาดภาวะสมดุลแคลเซียมส่งผลเสียต่อระบบประสาทและสมอง ประการที่สอง คือ อัตราการสังเคราะห์สารสื่อประสาทชนิดอะเซทิลโคลีน (acetylcholine) ในสมองลดลงส่งผลต่อการทำงานของเซลล์ประสาท ทำให้การทำงานของสมองสูญเสียอย่างต่อเนื่อง (Agarwal *et al.*, 2020) ในปัจจุบันมียารักษาโรคอัลไซเมอร์ที่ได้รับการขึ้นทะเบียนจากองค์การอาหารและยาแห่งสหรัฐอเมริกาจำนวนน้อย ราคาแพง และมีผลข้างเคียงค่อนข้างมาก เช่น อาการข้างเคียงที่เกิดจากยาไรวาสติกมิน (rivastigmine) ได้แก่ อาเจียน เบื่ออาหาร เวียนศีรษะ ปวดท้อง ท้องร่วง อ่อนเพลียเพื่อยแรง เหงื่อออก น้ำหนักลด ง่วงซึม และเป็นลมหมดสติ (Mimica and Presecki, 2009) อย่างไรก็ตามเคยมีรายงานว่าเขยตายมีฤทธิ์ในการยับยั้งอะเซทิลโคลีนเอสเตอเรส (acetylcholinesterase) ซึ่งเป็นเอนไซม์ยับยั้งอะเซทิลโคลีนและมีฤทธิ์ต้านการเกิดออกซิเดชัน (Rahman *et al.*, 2017) จึงเป็นที่มาของงานวิจัยนี้ โดยมีวัตถุประสงค์เพื่อศึกษาการจำลองการจับของโมเลกุล (molecular docking) ของสารออกฤทธิ์ทางชีวภาพในเขยตายกับโปรตีนเป้าหมายที่สัมพันธ์กับการเกิดโรคอัลไซเมอร์ เพื่อพิจารณาว่าสารสกัดจากเขยตายมีประสิทธิภาพในการยับยั้งโปรตีนเป้าหมายที่สัมพันธ์กับการเกิดโรคอัลไซเมอร์ได้หรือไม่ และเพื่อประเมินศักยภาพของสารออกฤทธิ์ทางชีวภาพในเขยตายต่อโรคอัลไซเมอร์ ซึ่งคาดว่าจะทำให้ได้ข้อมูลที่สำคัญสำหรับทางเลือกในการรักษาหรือป้องกันโรคอัลไซเมอร์ ทั้งยังมีส่วนสนับสนุนข้อมูลของตำรายาไทยให้มีความน่าเชื่อถือมากขึ้น ซึ่งเป็นการส่งเสริมภูมิปัญญาไทยในอีกทางหนึ่งด้วย

วิธีดำเนินการวิจัย

1. การคัดเลือกโครงสร้างสามมิติของสารประกอบ โปรตีน และยา

1.1 การคัดเลือกโครงสร้างสามมิติของสารออกฤทธิ์ทางชีวภาพในเขยตายจากส่วนของลำต้น ราก และใบ ที่ผ่านการจำแนกด้วยเทคนิคแก๊สโครมาโทกราฟีแมสสเปกโตรเมทรี (gas chromatography mass spectrometry: GC-MS) ซึ่งได้รับความอนุเคราะห์จากงานวิจัยของ นภกษมณณ์ และคณะ (2563) ทำการค้นหาโครงสร้างสามมิติ 40 ชนิด จาก 44 ชนิด โดย 2 ชนิด 'ไม่พบโครงสร้างข้อมูล' ได้แก่ 1-Allyl-3,6-dimethylindole-4,7-dione และ 6-methoxy-7-3-methylbut-2-enyl-,1,3dioxole(4,5-h)quinoline-8-one อีก 2 ชนิดโครงสร้างไม่สมบูรณ์ ได้แก่ beta-Pinene และ beta-Acoradiene จากฐานข้อมูล Pubchem (<https://pubchem.ncbi.nlm.nih.gov/>) ทำการดาวน์โหลดโครงสร้างสามมิติในรูปแบบไฟล์นามสกุล *.sdf (ตารางที่ 1-3)

ตารางที่ 1 การวิเคราะห์สารสกัดหยาบจากส่วนลำต้นของเขยตายโดยวิธี GC-MS

ชื่อของสารประกอบ	รีเทนชันไทม์ (นาทีก)	ค่าสัญญาณ
1. acetic acid	4.2	1,270,940
2. 2,3-Dihydro-3,5-dihydroxy-6-methyl-4H-pyran-4-one	12.08	158,039
3. tetradecane	14.73	144,461
4. 2,3,6-Trimethylphenol	16.19	115,768
5. cytidine	17.82	485,156
6. dodecane	19.37	258,136
7. hexadecanoic acid, methyl ester	20.70	342,806
8. n-Hexadecanoic acid	21.44	683,953
9. heptadecane	22.28	129,298
10. methyl stearte	22.58	115,669
11. A, 17-Octadecadienal	23.05	799,429
12. octadecanoic acid	23.22	298,526
13. 1-Methoxy-3-methyl-9H-carbazole	24.09	686,676
14. 6-Methoxy-7-3-methylbot-2-enyl-1,3-dioxolo [4,5] quinoline-8-one	25.67	5,084,207
15. vitamin E	27.48	178,729

ที่มา: นภกษมนฑน์ และคณะ (2563)

ตารางที่ 2 การวิเคราะห์สารสกัดหยาบจากส่วนใบของเขยตายโดยวิธี GC-MS

ชื่อของสารประกอบ	รีเทนชันไทม์ (นาทีก)	ค่าสัญญาณ
1. 1-Vinyl-aziridine	3.90	2,133,754
2. acetic acid	4.58	1,493,681
3. N-(2-Methylbutylidene) isobutylami	7.04	819,579
4. 2-Propenamide	8.65	545,232
5. 1-(2-Methyl-propenyl)-aziridine	18.17	2,763,887
6. hexadecanoic acid	21.54	4,206,767
7. phytol	22.53	3,861,226
8. 9,12,15-Octadecatrien	23.14	3,383,507
9. octadecanoic acid	23.28	2,143,245
10. thioanthranilic acid	24.64	1,564,362
11. 3-Indazolone	25.28	9,847,250

ที่มา: นภกษมนฑน์ และคณะ (2563)

ตารางที่ 3 การวิเคราะห์สารสกัดหยาบจากส่วนรากของเขยตายโดยวิธี GC-MS

ชื่อของสารประกอบ	รีเทนชันไทม์ (นาที)	ค่าสัญญาณ
1. acetic acid	5.32	4,327,974
2. furfural	6.23	321,653
3. 2,3-Dihydro-3,5-dihydroxy-6-methyl-4H-pyran-4-one	12.05	1,357,509
4. 2-Furancarboxaldehyde,5-(hydroxymethyl)	13.78	469,840
5. (-)-beta-Pinene	14.75	778,826
6. zingiberene	14.94	1,329,183
7. gamma-Mourolene	15.04	816,677
8. (-)-beta-Acoradiene	15.64	1,687,154
9. gamma-Pyronene	16.04	4,020,751
10. 1,3,6-Octatriene,3,7-dimethyl	16.23	9,334,633
11. methyl palmitate	20.70	685,387
12. alpha-prenylindole	18.85	1,001,895
13. hexadecanoic acid	21.50	3,689,426
14. 1-Allyl-3,6-dimethylindole-4,7-dione	22.69	392,728
15. linoleic acid	23.18	5,647,256
16. 1-methoxy-3-methyl-9H-carbazole	24.18	8,190,660
17. 6-methoxy-7-(3-methylbut-2-enyl)-1,3 dioxole (4,5-h)quinoline-8-one	25.97	10,585,483
18. 3-Methoxy-1,2-dimethyl-9H-carbazol-4-one	26.72	8,110,113
19. squalene	28.77	526,126

ที่มา: นภกษมนธน และคณะ (2563)

1.2 การคัดเลือกโครงสร้างสามมิติของโปรตีนเป้าหมาย 46 ชนิดที่แตกต่างกัน และทั้งหมดเป็นโปรตีนที่พบในมนุษย์ จากฐานข้อมูลโปรตีน โดยได้รับความอนุเคราะห์ข้อมูลชนิดของโปรตีนเป้าหมายจากงานวิจัยของธนพร (2565) ลำดับถัดมานำรหัส Uniprot ID ของโปรตีนเป้าหมายมาใช้ในการค้นหาโครงสร้างสามมิติ ในฐานข้อมูล RCSB PDB (<https://www.rcsb.org/>) และทำการดาวน์โหลดไฟล์นามสกุล *.pdb

1.3 การคัดเลือกข้อมูลยาควบคุมเชิงบวกที่เกี่ยวข้องกับการรักษาโรคอัลไซเมอร์ ซึ่งได้รับความอนุเคราะห์ข้อมูลจากงานวิจัยของธนพร (2565) ได้แก่ ยาที่ใช้ในการรักษาโรคอัลไซเมอร์ 23 ชนิด จากนั้นเข้าสู่เว็บไซต์ของ DrugBank (<https://go.drugbank.com/>) ดาวน์โหลดโครงสร้างสามมิติของยาในรูปแบบไฟล์นามสกุล *.pdb

2. การเตรียมไฟล์ข้อมูล

2.1 การเตรียมไฟล์ข้อมูลสำหรับสารออกฤทธิ์ทางชีวภาพในเขยตายและยาควบคุมเชิงบวกที่เกี่ยวข้องกับโรคอัลไซเมอร์ ใช้ไฟล์โครงสร้างสามมิติที่ได้ทำการดาวน์โหลดมาจากในขั้นตอนก่อนหน้านี้ เริ่มจากการปรับโครงสร้างของไฟล์ให้เหมาะสมโดยใช้โปรแกรม Avogadro และบันทึกไฟล์นามสกุล *.pdb จากนั้นใช้โปรแกรม Discovery studio ในการเพิ่มไฮโดรเจน และทำการคำนวณประจุทั้งก่อนและหลังการเพิ่มไฮโดรเจน สุดท้ายทำการบันทึกไฟล์นามสกุล *.pdb

2.2 การเตรียมข้อมูลสำหรับโปรตีนเป้าหมายที่เกี่ยวข้องกับโรคอัลไซเมอร์ โดยใช้ไฟล์โครงสร้างสามมิติของโปรตีนเป้าหมายที่ได้ทำการดาวน์โหลดมาจากขั้นตอนก่อนหน้านี้ เริ่มจากการตรวจสอบโครงสร้าง และเตรียมโครงสร้างไฟล์ให้ถูกต้องเหมาะสม โดยใช้เครื่องมือการเตรียมโปรตีน (protein preparation workflow) จากแถบเมนูของโปรแกรม Maestro บันทึกโครงสร้างโปรตีนนามสกุล *.pdb จากนั้นใช้โปรแกรม Discovery studio ในการเพิ่มไฮโดรเจน และทำการคำนวณประจุทั้งก่อนและหลังการเพิ่มไฮโดรเจน สุดท้ายทำการบันทึกไฟล์นามสกุล *.pdb

3. การทำนายบริเวณเข้าจับของสารออกฤทธิ์ทางชีวภาพในเขยตายและยาควบคุมเชิงบวกในโปรตีนเป้าหมายและตำแหน่งเร่งปฏิกิริยาบนโครงสร้างสามมิติของโปรตีน

นำโปรตีนที่ได้เตรียมไฟล์ไว้เหมาะสมแล้วจากขั้นตอนก่อนหน้านี้ในรูปแบบของไฟล์นามสกุล *.pdb มาทำนายตำแหน่งการเข้าจับกับสารตั้งต้นผ่าน PrankWeb (<https://prankweb.cz>) จากนั้นดาวน์โหลดไฟล์ ซึ่งประกอบด้วยไฟล์หลัก 2 ไฟล์ ได้แก่ ไฟล์ structure.pdb_prediction.csv แสดงผลของจำนวนตำแหน่งที่เข้าจับกับสารตั้งต้นของโปรตีนและพิกัด (center x y และ z) ของตำแหน่งที่สารตั้งต้นเข้าจับกับโปรตีน และไฟล์ structure.pdb_residues.csv แสดงผลของตำแหน่งและชนิดของกรดอะมิโนที่ปรากฏในแต่ละตำแหน่งของบริเวณที่เข้าจับกับโปรตีน

4. การเตรียมไฟล์ของข้อมูลของยาควบคุมเชิงบวกที่เกี่ยวข้องกับโรคอัลไซเมอร์ และโปรตีนเป้าหมายสำหรับการจำลองการเข้าจับกันของโมเลกุล

4.1 การเตรียมไฟล์ข้อมูลสำหรับการทดสอบการเข้าจับกับโปรตีนเป้าหมายของยาควบคุมเชิงบวกที่เกี่ยวข้องกับโรคอัลไซเมอร์ และสารออกฤทธิ์ทางชีวภาพในเขยตาย โดยใช้โปรแกรม Autodock tools เพื่อส่งข้อมูลออกมาเป็นไฟล์นามสกุล *.pdbqt

4.2 การเตรียมไฟล์ข้อมูลสำหรับโปรตีนเป้าหมายที่เกี่ยวข้องกับโรคอัลไซเมอร์ โดยใช้โปรแกรม Autodock tools เพื่อตรวจสอบความสมบูรณ์ของไฟล์จากขั้นตอนก่อนหน้า จะดำเนินการลบโมเลกุลของน้ำที่ยังคงหลงเหลืออยู่ออก ทำการเติมไฮโดรเจน และคำนวณประจุโดยรวมอีกครั้งเพื่อให้มั่นใจว่าโครงสร้างอะตอมทั้งหมดสมบูรณ์ ก่อนทำการส่งข้อมูลออกมาเป็นไฟล์นามสกุล *.pdbqt จากนั้นทำการกำหนดค่าตำแหน่งศูนย์กลาง x y z ตามผลการทำนายของโปรแกรม Prankweb และกำหนดขนาดของกล่องพลังงาน x y z เป็น 40 40 40 อังสตรอม ตามลำดับ เพื่อให้ครอบคลุมบริเวณเข้าจับ (binding site) ของโปรตีนเป้าหมายที่กำหนดจากผลการทำนายของโปรแกรม Prankweb

5. ทดสอบการเข้าจับกันระหว่างโมเลกุล

โดยทำการทดสอบหาค่าพลังงานการเข้าจับระหว่างโมเลกุล (multiple molecular docking) ด้วย Autodock vina ซึ่งจะทำงานผ่านโปรแกรม Git bash ในขั้นตอนนี้ประกอบด้วย ไฟล์โครงสร้างสามมิติโปรตีนเป้าหมาย (*.pdbqt) ไฟล์โครงสร้างสามมิติของยา (*.pdbqt) ไฟล์โครงสร้างสามมิติของสารออกฤทธิ์ทางชีวภาพในเขยตาย (*.pdbqt) ไฟล์พารามิเตอร์สำหรับกำหนดค่าข้อมูลที่เป็นของโปรแกรม (*.txt) ดังภาพที่ 1 ไฟล์ vina.exe ไฟล์ vina_license.rtf และ ไฟล์ vina_split.exe

```
center_x = ****      # ตำแหน่งศูนย์กลางของบริเวณเข้าจับ
center_y = ****      # ตำแหน่งศูนย์กลางของบริเวณเข้าจับ
center_z = ****      # ตำแหน่งศูนย์กลางของบริเวณเข้าจับ
size_x  = 40          # ขนาดของมิติที่ใช้กำหนดพื้นที่ในการให้ลิแกนด์เข้าจับกับโปรตีน
size_y  = 40          # ขนาดของมิติที่ใช้กำหนดพื้นที่ในการให้ลิแกนด์เข้าจับกับโปรตีน
size_z  = 40          # ขนาดของมิติที่ใช้กำหนดพื้นที่ในการให้ลิแกนด์เข้าจับกับโปรตีน
```

ภาพที่ 1 ตัวอย่างการกำหนดค่าในไฟล์พารามิเตอร์ config.txt

ดำเนินการประมวลผลการทำงานของโปรแกรมโดยใช้การสั่งงานภายใต้ command line ของ Autodock vina โดยใช้ไฟล์ข้อมูลทั้งหมดที่เตรียมไว้ก่อนหน้านี้ เมื่อสิ้นสุดการประมวลผล จะได้ผลลัพธ์ 2 ไฟล์ คือ ไฟล์นามสกุล *.log เป็นไฟล์ที่เก็บตารางข้อมูลค่าพลังงานของการเข้าจับกันของโปรตีนและลิแกนด์ และไฟล์นามสกุล *.pdbqt เป็นไฟล์โครงสร้างของลิแกนด์ที่มีการเข้าจับกับตำแหน่งของโปรตีนเป้าหมาย ก่อนทำการทดสอบการเข้าจับกันของสารออกฤทธิ์ทางชีวภาพในเขยตายกับโปรตีนเป้าหมายของโรคอัลไซเมอร์ โปรตีนเป้าหมายจะถูกทดสอบความถูกต้องในการเข้าจับกับสารหรือยาเดิมก่อนด้วยเทคนิครี-ด็อกกิ้ง (re-docking) ตัวอย่างผลการทดสอบ เพื่อดูการเข้าจับระหว่างตัวรับโปรตีนเบต้า2-อะดรีเนอร์จิก ($\beta 2$ adrenergic receptor) กับยาอาริพิราโซล (aripiprazole) พบว่ามีการเข้าจับในตำแหน่งการจับ (pocket binding site) เดียวกันและให้ค่าพลังงานการยึดเกาะคงที่เท่ากับ -10 กิโลแคลอรีต่อโมล ทั้ง 3 ซ้ำ และในขณะเดียวกันได้ทำการทดสอบนำยาที่เกี่ยวข้องกับการรักษาอัลไซเมอร์ทั้งหมดไปทำการเข้าจับกับโปรตีนเป้าหมายอื่น ๆ ด้วยเทคนิคครอส-ด็อกกิ้ง (cross-docking)

ในการทดสอบการเข้าจับกันระหว่างสารออกฤทธิ์ทางชีวภาพในเขยตายและยาควบคุมเชิงบวกที่เกี่ยวข้องกับการรักษาโรคอัลไซเมอร์กับโปรตีนเป้าหมายของการเกิดโรคอัลไซเมอร์จะถูกทำซ้ำคู่ละ 3 ซ้ำ ในแต่ละซ้ำจะกำหนดตำแหน่งเข้าจับสำหรับการหาตำแหน่งในการเข้าจับกันที่เป็นไปได้ทั้งหมด 10 ตำแหน่ง โดยจะเลือกบริเวณเข้าจับในโปรตีนเป้าหมายที่ดีที่สุดของทุกโปรตีนแล้วทำการเลือกค่าพลังงานการยึดเกาะที่ดีที่สุดสำหรับใช้ในการรายงานผล และนำไปวิเคราะห์อันตรกิริยาในขั้นตอนต่อไป

6. การแสดงผลของการทดสอบการเข้าจับระหว่างสารออกฤทธิ์ทางชีวภาพในเขยตาย กับโปรตีนเป้าหมายของการเกิดโรคอัลไซเมอร์และยาควบคุมเชิงบวก และการวิเคราะห์อันตรกิริยา

นำไฟล์โครงสร้างลิแกนด์ที่เข้าจับกับโปรตีนเป้าหมายที่ให้ค่าพลังงานการเข้าจับดีที่สุด จากการทดสอบการเข้าจับกันระหว่างโมเลกุลมาเปิดในโปรแกรม Autodock tools จากนั้นบันทึกไฟล์ของลิแกนด์ที่ให้ค่าคะแนนการเข้าจับที่ดีที่สุดเป็นนามสกุล *.pdb ต่อมานำไฟล์ลิแกนด์ในการเข้าจับที่ดีที่สุดและไฟล์ของโปรตีนเป้าหมายที่ใช้ มาเปิดในโปรแกรม PyMol เพื่อแสดงผลเป็นภาพของลิแกนด์ที่เข้าจับกับโปรตีนในตำแหน่งที่มีค่าคะแนนการเข้าจับที่ดีที่สุด แล้วบันทึกไฟล์นามสกุล *.pdb และ *.png ขึ้นตอนต่อมาทำการจัดเรียงอะตอมและพันธะใหม่ให้ถูกต้องด้วยการแปลงไฟล์นามสกุล *.pdb ผ่านโปรแกรม Open Babel GUI สุดท้ายนำไฟล์นามสกุล *.pdb ที่ได้ ไปวิเคราะห์อันตรกิริยาผ่านโปรแกรมปฏิสัมพันธ์ระหว่างโปรตีนและลิแกนด์ (PLIP) (<https://plip-tool.biotec.tu-dresden.de/plip-web/plip/index>) และทำการดาวน์โหลดไฟล์ผลการวิเคราะห์อันตรกิริยาที่อยู่ในรูปนามสกุล *.png *.pse และ *.RST

ผลการวิจัย

1. ผลการคัดเลือกโครงสร้างสามมิติของสารประกอบ โปรตีน และยา

ผลการคัดเลือกโครงสร้างสามมิติของสารออกฤทธิ์ทางชีวภาพในเขยตาย 40 ชนิด โปรตีนเป้าหมายที่เกี่ยวข้องกับโรคอัลไซเมอร์ 46 ชนิด และยาควบคุมเชิงบวกที่ใช้ในการรักษาและเกี่ยวข้องกับอาการของโรคอัลไซเมอร์ 23 ชนิด ดังตารางที่ 4 จากผลการคัดเลือกโปรตีนเป้าหมายที่ใช้เป็นแม่แบบในการทำการจำลองการเข้าจับกันของโมเลกุลนั้น ได้ทำการศึกษาเปรียบเทียบความเหมือนกันของลำดับโปรตีนเป้าหมายที่รวบรวมมาจาก UniProt กับลำดับของโปรตีนแม่แบบจากฐานข้อมูล PDB โดยใช้โปรแกรม SIM ในฐานข้อมูล ExPasy (<https://web.expasy.org/sim/>) ผลการทดลองแสดงตัวอย่างของโปรตีนเบต้า2-อะดรีเนอร์จิก (β 2-adrenergic) รหัส UniProt ID (P07550) และ PDB ID (6N48) มีค่าเปอร์เซ็นต์ความเหมือนกัน (identity) ที่ 90 เปอร์เซ็นต์

ตารางที่ 4 การคัดเลือกโครงสร้างสามมิติ

ข้อมูลโครงสร้างสามมิติ	ฐานข้อมูล	จำนวนข้อมูล
สารออกฤทธิ์ทางชีวภาพของเขยตาย	PubChem	40
โปรตีนเป้าหมายที่เกี่ยวข้องกับโรคอัลไซเมอร์	Protein Data Bank	46
ยาที่ใช้ในการรักษาโรคอัลไซเมอร์	DrugBank	23

2. ผลการทำนายบริเวณเข้าจับของสารออกฤทธิ์ทางชีวภาพในเขยตายและยาควบคุมเชิงบวกในโปรตีนเป้าหมาย

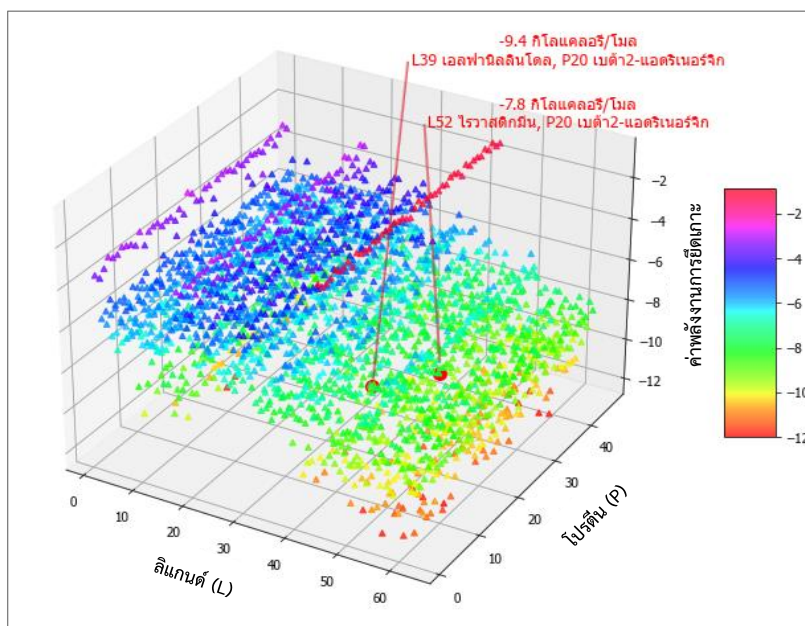
การทำนายบริเวณเข้าจับของสารตั้งต้นในโปรตีนเป้าหมายที่เกี่ยวข้องกับโรคอัลไซเมอร์ และตำแหน่งเร่งปฏิกิริยาบนโครงสร้างสามมิติของโปรตีน ดำเนินการผ่านโปรแกรม PrankWeb ผลการทำนายบริเวณเข้าจับของโครงสร้างโปรตีนเบต้า2-อะดรีเนอร์จิก ดังตารางที่ 5 แสดงจำนวนบริเวณเข้าจับที่ทำนายได้สูงสุด 5 ลำดับแรกจากทั้งหมด 15 บริเวณ โดยบริเวณเข้าจับที่บริเวณที่ 1 มีความน่าจะเป็นสูงสุดเท่ากับ 0.802 หรือ 80.2 เปอร์เซ็นต์ ที่สารตั้งต้นสามารถเข้าจับได้ดีที่สุด

ตารางที่ 5 บริเวณเข้าจับของโครงสร้างโปรตีนเบต้า2-อะดรีเนอร์จิก 5 ตำแหน่งแรกที่มีความน่าจะเป็นดีที่สุด

บริเวณเข้าจับ	คะแนน	ความน่าจะเป็น	แกน X	แกน Y	แกน Z
บริเวณที่ 1	17.54	0.802	-4.1435	-11.7452	-50.6396
บริเวณที่ 2	6.82	0.381	1.8138	-14.9628	-58.4809
บริเวณที่ 3	4.35	0.194	-4.0970	-0.3344	-34.2454
บริเวณที่ 4	3.50	0.132	0.8100	-13.0921	-7.9508
บริเวณที่ 5	2.56	0.074	-14.3616	-20.0693	-49.4921

3. ผลการทดสอบการเข้าจับกันระหว่างโมเลกุล

ผลการทดสอบการเข้าจับกันระหว่างโมเลกุลด้วยโปรแกรม Autodock vina โดย ลิแกนด คือ สารออกฤทธิ์ทางชีวภาพในเขยตาย 40 ชนิด และยาควบคุมเชิงบวกที่ใช้ในการรักษา โรคอัลไซเมอร์ 23 ชนิดกับโปรตีนเป้าหมายที่เกี่ยวข้องกับการเกิดโรคอัลไซเมอร์ 46 ชนิด แสดงผลการจำลองการเข้าจับกันเชิงโมเลกุล จากการทดสอบทั้งหมด 3 ซ้ำ แต่ละซ้ำดำเนินการหาความน่าจะเป็นในการเข้าจับทั้งหมด 10 ตำแหน่ง และทำการรายงานผลเฉพาะตำแหน่งที่ให้ค่าพลังงานการยึดจับกันที่ดีที่สุดเพียงตำแหน่งเดียวจากทั้งหมดทุกซ้ำ โดยกำหนดให้ค่าพลังงานการยึดเกาะที่ดีที่สุดมีค่าเข้าใกล้สีแดง (-12.00 กิโลแคลอรีต่อโมล) ในขณะที่กำหนดให้ค่าพลังงานการยึดเกาะที่แย่ที่สุดมีค่าเข้าใกล้สีชมพูเข้ม (-2.00 กิโลแคลอรีต่อโมล) ดังภาพที่ 2



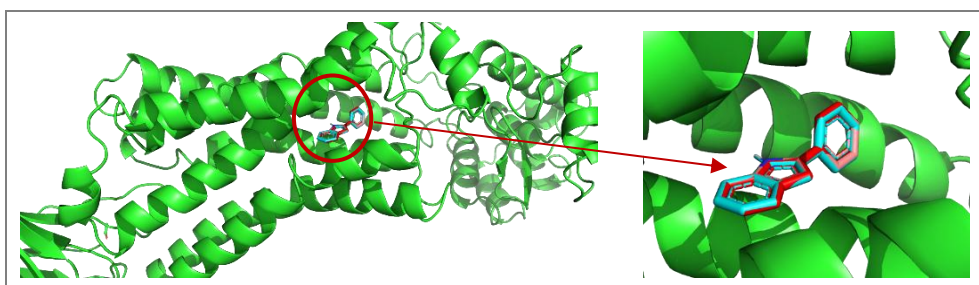
ภาพที่ 2 แผนภูมิการกระจายแบบจุดของพลังงานการยึดเกาะระหว่างลิแกนดและโปรตีนเป้าหมาย โดยแกน X Y และ Z คือ ลิแกนด โปรตีน และค่าพลังงานการยึดเกาะระหว่างลิแกนดและโปรตีนเป้าหมาย ตามลำดับ

จากโปรตีนเป้าหมายทั้งหมด 46 ชนิด และสารออกฤทธิ์ในเขยตายทั้งหมด 40 ชนิด ผลการทดลองพบว่าการเข้าจับระหว่างโปรตีนเบต้า2-อะดรีเนอร์จิกกับแอลฟา-ฟีนิลลินโดลในเขยตายมีความน่าสนใจ เนื่องจากมีค่าพลังงานการยึดเกาะเท่ากับ -9.4 กิโลแคลอรีต่อโมล ซึ่งมีค่าดีกว่าเมื่อพิจารณาเปรียบเทียบกับยาควบคุมเชิงบวกระหว่างโรวาสติกมินกับโปรตีนเบต้า2-อะดรีเนอร์จิก ซึ่งมีค่าพลังงานการยึดเกาะเท่ากับ -7.8 กิโลแคลอรีต่อโมล แสดงให้เห็นว่าแอลฟา-ฟีนิลลินโดล (α -phenylindole) จากเขยตายมีศักยภาพในการเข้าจับกับโปรตีนเบต้า2-อะดรีเนอร์จิกได้ดีกว่ายาโรวาสติกมิน ดังตารางที่ 6 แสดงผลการเข้าจับกันของแอลฟา-ฟีนิลลินโดลและโรวาสติกมินต่อโปรตีนเบต้า2-อะดรีเนอร์จิก ดังภาพที่ 3 และ 4 ตามลำดับ

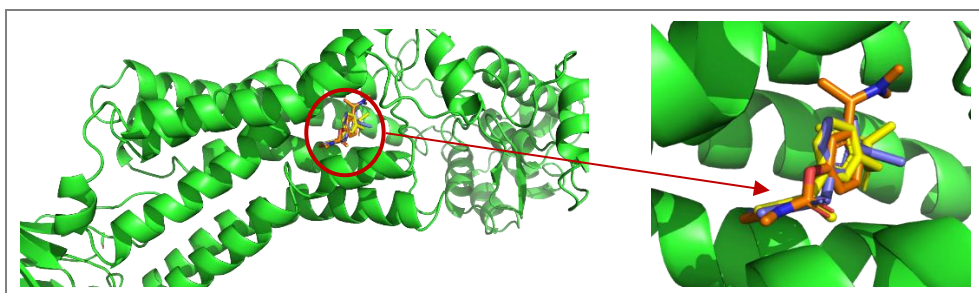
มีการรายงานว่าความผิดปกติของเบต้า2-อะดรีเนอร์จิกส่งผลต่อการเพิ่มการสะสมเบตา-อะมิลอยด์ โดยลดการทำงานของแอลฟา-ซีเครเตส และลดจำนวนแขนงของเดนไดรต์ ส่งผลต่อประสิทธิภาพการเรียนรู้และความจำ เป็นสาเหตุในการเกิดโรคอัลไซเมอร์ได้ (Wu *et al.*, 2017)

ตารางที่ 6 ค่าพลังงานการยึดเกาะระหว่างลิแกนด์แอลฟา-ฟีนิลลินโดลและยาโรวาสติกมินกับโปรตีนเป้าหมายเบต้า2-อะดรีเนอร์จิก

โปรตีนเป้าหมาย	ลิแกนด์	ค่าพลังงานการยึดเกาะ (กิโลแคลอรีต่อโมล)
เบต้า2-อะดรีเนอร์จิก	แอลฟา-ฟีนิลลินโดล	-9.4
เบต้า2-อะดรีเนอร์จิก	โรวาสติกมิน	-7.8



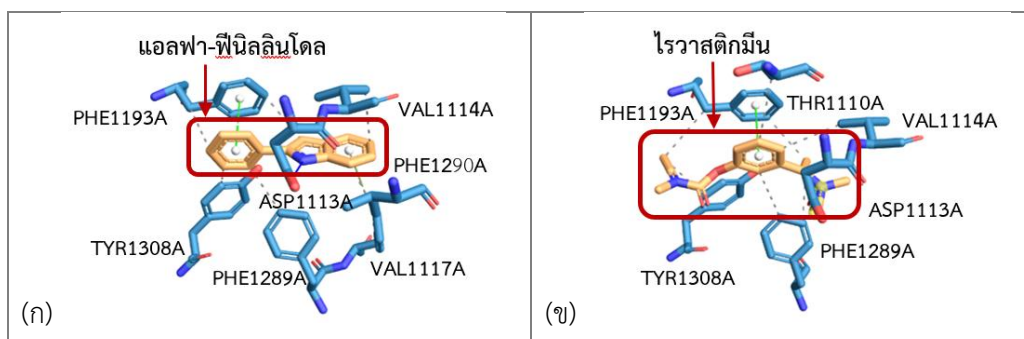
ภาพที่ 3 โครงสร้างโมเลกุลการเข้าจับกันระหว่างแอลฟา-ฟีนิลลินโดล (เข้าครั้งที่ 1: สีชมพู เข้าครั้งที่ 2: สีฟ้า และเข้าครั้งที่ 3 สีแดง) กับเบต้า2-อะดรีเนอร์จิก PDB ID: 6N48 (สีเขียว)



ภาพที่ 4 โครงสร้างโมเลกุลการเข้าจับกันระหว่างโรวาสติกมิน (เข้าครั้งที่ 1: สีน้ำเงิน เข้าครั้งที่ 2: สีส้ม และเข้าครั้งที่ 3 สีเหลือง) กับเบต้า2-อะดรีเนอร์จิก PDB ID: 6N48 (สีเขียว)

4. การวิเคราะห์อันตรกิริยา

จากการวิเคราะห์อันตรกิริยาของโครงสร้างแอลฟา-ฟีนิลลินโดลเปรียบเทียบกับไรวาสติกมินในการเข้าจับกับโปรตีนเบต้า2-อะดรีเนอร์จิก ผ่านโปรแกรม PLIP พบว่าในการยึดเกาะของแอลฟา-ฟีนิลลินโดลกับเบต้า2-อะดรีเนอร์จิก เกิดพันธะไฮโดรเจน 1 ตำแหน่งที่บริเวณโซ่ข้าง (side chain) คือ ASP1113A เกิดแรงไฮโดรโฟบิก (hydrophobic) 7 ตำแหน่ง อีกทั้งเกิดการเรียงซ้อนพาย (π -Stacking) ที่ตำแหน่ง PHE1193A และ PHE1290A ส่วนการยึดเกาะของไรวาสติกมินกับเบต้า2-อะดรีเนอร์จิก ไม่มีการเกิดพันธะไฮโดรเจน เกิดแรงไฮโดรโฟบิก 7 ตำแหน่ง อีกทั้งเกิดการเรียงซ้อนพายที่ตำแหน่ง PHE1193A และเกิดสะพานเกลือ (salt bridges) ที่ตำแหน่ง ASP1113A นอกจากนี้พบว่าแอลฟา-ฟีนิลลินโดลและไรวาสติกมิน มีการเกิดแรงไฮโดรโฟบิกที่ตำแหน่งเดียวกัน 4 ตำแหน่ง ได้แก่ VAL1114A PHE1193A PHE1289A และ TYR1308A ซึ่งอาจพิจารณาได้ว่าแอลฟา-ฟีนิลลินโดลและไรวาสติกมินเข้ายับยั้งการทำงานของโปรตีนเบต้า2-อะดรีเนอร์จิกแบบแข่งขันในการยึดเกาะบริเวณเดียวกัน ดังภาพที่ 5



ภาพที่ 5 การเกิดแรงไฮโดรโฟบิก (เส้นประสีเทา) การเรียงซ้อนพาย (เส้นประสีเขียว) และสะพานเกลือ (เส้นประสีเหลือง) ของแอลฟา-ฟีนิลลินโดล (ก) และไรวาสติกมิน (โครงสร้างสีส้ม) (ข) กับโปรตีนเบต้า2-อะดรีเนอร์จิก (โครงสร้างสีฟ้า)

การอภิปรายผลการวิจัย

ในผู้ป่วยโรคอัลไซเมอร์ มีการรายงานว่ามีโปรตีนเบตา-อะมีลอยด์สามารถเข้าจับกับเซลล์ไมโครเกลีย เกิดการส่งสัญญาณของเซลล์ไปกระตุ้นกระบวนการที่ทำให้เกิดการอักเสบ และมีความสัมพันธ์กับโรคอัลไซเมอร์ (Liu *et al.*, 2019) นอกจากนี้มีรายงานว่าปฏิกิริยาออกซิเดชันเป็นปัจจัยสำคัญในการเกิดโรคอัลไซเมอร์ มีการประเมินคุณสมบัติต่าง ๆ ของสารสกัดจากใบเขยตาย ผลการทดลองปรากฏว่ามีศักยภาพในการกำจัดอนุมูลอิสระและฤทธิ์ยับยั้งการเกิดลิพิดเปอร์ออกซิเดชัน (lipid peroxidation) (Rahman *et al.*, 2017) ด้านอักเสบ (Soma *et al.*, 2019) รวมทั้งมีการศึกษาพบว่าความผิดปกติของเบต้า2-อะดรีเนอร์จิกส่งผลกระทบต่อการเพิ่มการสะสมเบต้า-อะไมลอยด์ (Wu *et al.*, 2017) จากผลการทดลองสนับสนุนที่กล่าวมาข้างต้นมีความสอดคล้องกับผลการทดลองในงานวิจัยนี้แสดงให้เห็นว่าเขยตายอาจมีศักยภาพในการยับยั้งหรือป้องกันการเกิดโรคอัลไซเมอร์ อันมีสาเหตุมาจากการอักเสบของระบบประสาท การเกิดออกซิเดชัน และการสะสมเบตา-อะมีลอยด์ การศึกษานี้

ได้เพิ่มความรู้ความเข้าใจเกี่ยวกับการยึดเกาะระดับโมเลกุลและอันตรกิริยาของโครงสร้างสารออกฤทธิ์ทางชีวภาพในเขยตายกับโครงสร้างโปรตีนเป้าหมายที่สัมพันธ์กับการเกิดโรคอัลไซเมอร์ งานวิจัยนี้เป็นการศึกษาการยึดเกาะระดับโมเลกุลของสารออกฤทธิ์ทางชีวภาพในเขยตายต่อโปรตีนที่สัมพันธ์กับการเกิดโรคอัลไซเมอร์ด้วยเทคนิคทางชีวสารสนเทศเป็นครั้งแรก ผลจากงานวิจัยสามารถเป็นแนวทางต่อยอดองค์ความรู้เพื่อศึกษาทดลองในห้องปฏิบัติการ สัตว์ทดลอง และการวิจัยในคน เพื่อยืนยันความน่าเชื่อถือของงานวิจัยนำไปสู่การประยุกต์ใช้ได้จริง หรือการใช้เทคนิคทางชีวสารสนเทศเพื่อการศึกษาต่อเนื่องในด้านการจำลองพลวัตทางโมเลกุล การทำนายหาคุณสมบัติทางเภสัชวิทยา หรือการศึกษาเกี่ยวกับสาเหตุอื่น ๆ ที่เกี่ยวข้องกับการเกิดโรคอัลไซเมอร์ นอกจากนี้ยังเป็นการเพิ่มข้อมูลเชิงลึกเกี่ยวกับสมุนไพรมะนาวเพื่อเป็นแนวทางต่อยอดองค์ความรู้ พัฒนาสมุนไพรมะนาวให้เกิดประโยชน์อย่างมีประสิทธิภาพ เสริมสร้างคุณภาพชีวิต และเศรษฐกิจต่อไป

สรุปผลการวิจัย

ผลการทดลองในส่วนการคัดเลือกโครงสร้างสามมิติ ได้โครงสร้างของสารออกฤทธิ์ทางชีวภาพในเขยตายจากฐานข้อมูล PubChem จำนวน 40 ชนิด โครงสร้างของโปรตีนเป้าหมายที่สัมพันธ์กับการเกิดโรคอัลไซเมอร์จากฐานข้อมูลฐานข้อมูล PDB จำนวน 46 ชนิด และโครงสร้างของยาควบคุมเชิงบวกที่เกี่ยวข้องกับการรักษาโรคอัลไซเมอร์จาก DrugBank จำนวน 23 ชนิด ผลการทดลองส่วนของการทำนายบริเวณเข้าจับผ่าน PrankWeb พบว่าโปรตีนเบต้า2-อะดรีเนอร์จิกมีบริเวณเข้าจับ 15 ตำแหน่ง โดยบริเวณเข้าจับที่มีความน่าจะเป็นสูงที่สุดมีค่าเท่ากับ 80.2 เปอร์เซ็นต์ ซึ่งเป็นบริเวณที่สารตั้งต้นสามารถเข้าจับได้ดีที่สุด โดยคาดคะเนจากบริเวณที่มีการเข้าจับบ่อยครั้ง ในการทดสอบการเข้าจับกันระหว่างโมเลกุลด้วยโปรแกรม Autodock vina โดยลิแกนด คือ สารออกฤทธิ์ทางชีวภาพในเขยตาย 40 ชนิด และยาควบคุมเชิงบวกที่เกี่ยวข้องกับการรักษาโรคอัลไซเมอร์ 23 ชนิด ต่อโปรตีนเป้าหมายที่เกี่ยวข้องกับการเกิดโรคอัลไซเมอร์ 46 ชนิด พบว่าพลังงานการยึดเกาะระหว่างแอลฟา-ฟีนิลลีนโดลกับโปรตีนเบต้า2-อะดรีเนอร์จิกมีค่าเท่ากับ -9.4 กิโลแคลอรีต่อโมล ในขณะที่พลังงานการยึดเกาะของโรวาสติกมินกับโปรตีนเบต้า2-อะดรีเนอร์จิกมีค่าเท่ากับ -7.8 กิโลแคลอรีต่อโมล จึงบ่งชี้ได้ว่าแอลฟา-ฟีนิลลีนโดลในเขยตายมีศักยภาพในการเข้าจับกับโปรตีนเบต้า2-อะดรีเนอร์จิกได้ดีกว่ายาโรวาสติกมิน สุดท้ายผลการวิเคราะห์อันตรกิริยาผ่านโปรแกรม PLIP พบว่าการยึดเกาะของแอลฟา-ฟีนิลลีนโดลกับโปรตีนเบต้า2-อะดรีเนอร์จิกมีการเกิดพันธะไฮโดรเจน 1 ตำแหน่งที่บริเวณช่องข้าง คือ ASP1113A เกิดแรงไฮโดรโฟบิก 7 ตำแหน่ง อีกทั้งเกิดการเรียงซ้อนพายที่ตำแหน่ง PHE1193A และ PHE1290A โดยมีการเกิดแรงไฮโดรโฟบิกที่ตำแหน่งเดียวกันกับโรวาสติกมิน 4 ตำแหน่ง ได้แก่ VAL1114A PHE1193A PHE1289A และ TYR1308A มีความเป็นไปได้ว่าแอลฟา-ฟีนิลลีนโดลและโรวาสติกมินเข้ายับยั้งการทำงานของโปรตีนเบต้า2-อะดรีเนอร์จิกแบบแข่งขันกัน

กิตติกรรมประกาศ

งานวิจัยนี้ได้รับการสนับสนุนอุปกรณ์และสารเคมีจากสาขาวิชาเทคโนโลยีชีวภาพ คณะวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยี มหาวิทยาลัยธรรมศาสตร์ ศูนย์รังสิต

เอกสารอ้างอิง

- ธนพร เทชประภาสรัตน์. (2565). การทำนายศักยภาพของยาเก่าที่นำกลับมาใช้ใหม่ต่อโปรตีนเป้าหมายของโรคอัลไซเมอร์บนคอมพิวเตอร์. *โครงการปัญหาพิเศษปริญญาบัณฑิต*. มหาวิทยาลัยธรรมศาสตร์.
- นภกษมนนท์ ทหารไทย อภิขญา ขำปลอด และณัฐนิช เชื้อพลพิชัย. (2563). การสกัดและการวิเคราะห์สารออกฤทธิ์ทางชีวภาพจากสมุนไพรเขยตาย (*Glycosmis pentaphylla*). *โครงการสนับสนุนการจัดตั้งห้องเรียนวิทยาศาสตร์ในโรงเรียน (วมว.)*. มหาวิทยาลัยธรรมศาสตร์-โรงเรียนสวนกุหลาบวิทยาลัย รังสิต.
- Agarwal, M., Alam, M.R., Haider, M.K., Malik, M.Z. and Kim, D.K. (2020). Alzheimer's disease: An overview of major hypotheses and therapeutic options in nanotechnology. *Nanomaterials (Basel, Switzerland)*, 11(1), doi: <https://doi.org/10.3390/nano11010059>.
- Chen, H., Lin, J., Zhu, S., Zeng, K., Tu, P. and Jiang, Y. (2022). Anti-inflammatory constituents from the stems and leaves of *Glycosmis ovoidea* Pierre. *Phytochemistry*, 203, doi: <https://doi.org/10.1016/j.phytochem.2022.113369>.
- Liu, P.P., Xie, Y., Meng, X.Y. and Kang, J.S. (2019). History and progress of hypotheses and clinical trials for Alzheimer's disease. *Signal Transduction and Targeted Therapy*, 4, doi: <https://doi.org/10.1038/s41392-019-0063-8>.
- Mimica, N. and Presecki, P. (2009). Side effects of approved antidementives. *Psychiatria Danubina*, 21(1), 108-113.
- Rahman, R.I., Tania, F., Hossain, A., Sharmin, H. and Anwarul H. (2017). Evaluation of antioxidant, cholinesterase inhibitory properties, and antibacterial potentials of *Glycomis pentaphylla* leaf extract relevant to the treatment of Alzheimer's disease. *Journal of Applied Pharmacy*, 9, 17-30, doi: <https://doi.org/10.14233/ajchem.2019.21913>.
- Sintupachee, S. and Ruang-On, S. (2022). A database system for the diversity of medicinal herbs used as traditional medicinal formulas of the Cha-Uat Thai traditional medicine club, Cha-Uat district, Nakhon Si Thammarat province. *Wichcha Journal Nakhon Si Thammarat Rajabhat University*, 41(1), 49-64.
- Soma, M.A., Khan, M.F., Tahia, F., Al-Mansur, M.A., Rahman, M.S. and Rashid, M.A. (2019). Cyclooxygenase-2 inhibitory compounds from the leaves of *Glycosmis pentaphylla* (Retz.) A. DC.: Chemical and *in silico* studies. *Asian Journal of Chemistry*, 31(6), 1260-1264, doi: <https://doi.org/10.14233/ajchem.2019.21913>.
- Sreejith, P.S., Praseeja, R.J. and Asha, V.V. (2012). A review on the pharmacology and phytochemistry of traditional medicinal plant, *Glycosmis pentaphylla* (Retz.) Correa. *Journal of Pharmacy Research*, 5, 2723-2728.

Wu, Q., Sun, J.X., Song, X.H., Wang, J., Xiong, C.Q., Teng, F.X. and Gao, C.X. (2017). Blocking beta 2-adrenergic receptor inhibits dendrite ramification in a mouse model of Alzheimer's disease. *Neural Regeneration Research*, 12(9), 1499-1506, doi: <https://doi.org/10.4103/1673-5374.215261>.

อิทธิพลของปุ๋ยเคมีต่อการเจริญเติบโตของกัญชาพันธุ์หางเสือ และทางกระรอกภูพาน

The Effect of Chemical Fertilizer on Growth of *Cannabis sativa* L.
Hang Suea and Hang Kra Rog Phu Phan

พัชรี เดชเลย์¹ อนันต์ ปิริยะภักติกิจ^{1*} และพรกมล รูปเลิศ¹
Patcharee Dechlay¹, Anan Piriaphattarakit^{1*} and Ponkamon Ruplort¹

บทคัดย่อ

งานวิจัยนี้ศึกษาอิทธิพลของปุ๋ยเคมีต่อการเจริญเติบโตของกัญชาพันธุ์หางเสือและทางกระรอกภูพาน โดยวางแผนการทดลองแบบสุ่มบล็อกสมบูรณ์ (randomized complete block design: RCBD) ทรีตเมนต์ที่ทำการศึกษา ได้แก่ ไม่ใส่ปุ๋ย (ชุดควบคุม) ปุ๋ยออสโมโค้ท และปุ๋ยยูเรีย จำนวน 3 ซ้ำ ณ สถาบันวิจัยวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยีแห่งประเทศไทย ตำบลคลองห้า อำเภอลองหลวง จังหวัดปทุมธานี ผลการทดลอง พบว่าการใส่ปุ๋ยออสโมโค้ทส่งผลให้จำนวนใบ จำนวนกิ่ง ความสูงต้น ขนาดทรงพุ่ม ความเขียวใบ รวมถึงผลผลิตน้ำหนักสดช่อดอก กิ่ง และใบ ของกัญชาพันธุ์ทางกระรอกภูพานมากที่สุด ในขณะที่กัญชาพันธุ์หางเสือที่ได้รับปุ๋ยออสโมโค้ทมีจำนวนใบ จำนวนกิ่ง ความสูงต้น ขนาดทรงพุ่ม ความเขียวใบและผลผลิตน้ำหนักใบสดมากที่สุด อย่างไรก็ตามการใส่ปุ๋ยยูเรียทำให้กัญชามีน้ำหนักสดของช่อดอกและกิ่งมากที่สุด ดังนั้น การใช้ปุ๋ยออสโมโค้ทเหมาะสมต่อการเจริญเติบโตและปริมาณผลผลิตน้ำหนักสดของกัญชาพันธุ์หางเสือและทางกระรอกภูพาน

คำสำคัญ: กัญชาพันธุ์หางเสือ กัญชาพันธุ์ทางกระรอกภูพาน การเจริญเติบโต ปุ๋ยเคมี

¹ ศูนย์เชี่ยวชาญนวัตกรรมเกษตรสร้างสรรค์ สถาบันวิจัยวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยีแห่งประเทศไทย

* Corresponding author e-mail: anan_p@tistr.or.th

Received: 7 November 2022, Revised: 7 June 2024, Accepted: 3 July 2024

Abstract

This study investigates the effect of chemical fertilizers on growth of *Cannabis sativa* L. Hang Suea and Hang Kra Rog Phu Phan. A randomized complete block design (RCBD) with three replications was used. Treatments included a non-fertilization control, Osmocote fertilizer, and urea fertilizer. The experiment was conducted at the Thailand Institute of Scientific and Technological Research (TISTR) in Tambon Khlong Ha, Khlong Luang District, Pathum Thani province. Results show that Osmocote fertilization application improves the number of leaves, number of branches, plant height, canopy size, and leaf greenness. Including the highest yield of fresh weight inflorescences, branches and leaves of the *C. sativa* L. Hang Kra rog Phu Phan. While the *C. sativa* L. Hang Suea which received Osmocote fertilizer had the highest number of leaves, number of branches, plant height, canopy size, leaf greenness, and fresh leaf weight yield. However, urea fertilization increased the fresh weight of inflorescences and the number of branches in cannabis plants. Therefore, Osmocote fertilizer is recommended for optimizing the growth and fresh weight yield of both *C. sativa* L. Hang Suea and Hang Kra Rog Phu Phan.

Keywords: *Cannabis sativa* L. (Hang Suea Sakonnakhon), *Cannabis sativa* L. (Hang Kra Rog Phu Phan), Growth, Chemical fertilizer

บทนำ

กัญชาเป็นพืชล้มลุกปีเดียวจัดเป็นหนึ่งในสมุนไพรที่เก่าแก่ที่สุดในโลก มีหลักฐานการใช้กัญชาทางการแพทย์ที่พบในหลายประเทศ ทั้งประเทศจีน อินเดีย เปอร์เซีย และแถบยุโรป ประเทศไทยได้รับอิทธิพลการใช้กัญชามาจากประเทศอินเดียในเรื่องการนำมาประกอบเป็นเครื่องเทศปรุงอาหารและการใช้เป็นยารักษาโรค (Russo, 2007) ปัจจุบันกัญชาเริ่มเป็นที่น่าสนใจอย่างแพร่หลายในประเทศไทย ซึ่งเป็นพืชที่มีคุณค่ามากชนิดหนึ่งเพราะว่าเป็นพืชที่ให้เส้นใย น้ำมัน และสารชีวภัณฑ์ในทางสุขภาพและยา (phytochemicals) เป็นที่รู้จักและมีการใช้ประโยชน์จากสิ่งเหล่านั้นมาเป็นเวลายาวนาน (หนึ่ง, 2564) กัญชามีสาร tetrahydrocannabinol (THC) เกิน 1 เปอร์เซ็นต์ ใบมี 3-9 แฉก แต่ละแฉกมีลักษณะแคบและยาว ลำต้นสูงใหญ่โดยเฉพาะต้นที่เป็นเพศผู้ออกดอกเร็วและเห็นดอกได้ชัดเจนมีสารออกฤทธิ์น้อยมาก ส่วนต้นที่เป็นเพศเมียออกดอกเป็นกลุ่มมีสารออกฤทธิ์ปริมาณมากมียางเหนียว ซึ่งเป็นองค์ประกอบที่เป็นตัวยา ในเมล็ดมีกรดอะมิโนอาร์จินีน (arginine) สูงซึ่งช่วยผลิตไนตริกออกไซด์ (NO) ในร่างกายทำให้เส้นเลือดอ่อนตัว (dilate and relax) ลดความดันในเลือด จึงมีผลต่อการลดความเสี่ยงของโรคหัวใจ ซึ่งเมล็ดกัญชาสามารถบริโภคสดได้ (Aluko, 2017) นอกจากนี้กัญชาสามารถลดไขมันหน้าท้องได้ดี ทั้งใบและเมล็ดสดสามารถนำมาทำเป็นเนยกัญชา (canna-butter) เช่นเดียวกับเนยถั่ว (peanut-butter) สรรพคุณทางด้านยารักษาโรคมามากมาย (Louis, 2018)

กัญชาพันธุ์หางเสือ มีชื่อวิทยาศาสตร์ว่า *Cannabis sativa* L. (Hang Suea Sakonnakhon) และพันธุ์หางกระรอกภูพาน มีชื่อวิทยาศาสตร์ว่า *C. sativa* L. (Hang Kra Rog Phu Phan) เป็นกัญชาพันธุ์ไทยชนิดหนึ่งที่มีมาแต่โบราณ กัญชาพันธุ์หางเสือพบการกระจายตัวทั่วไปในประเทศไทย โดยเฉพาะในเขตภาคเหนือและภาคตะวันออกเฉียงเหนือ มีลักษณะช่อดอกและกลิ่นที่เฉพาะตัว คือ มีช่อดอกที่ยาวเป็นพวงคล้ายหางเสือ และกลิ่นที่หอมคล้ายเปลือกส้ม มีกลิ่นฉุนเล็กน้อย กัญชาพันธุ์หางกระรอกภูพานพบการกระจายตัวบริเวณแถบเทือกเขาภูพาน ตั้งอยู่ในจังหวัดสกลนคร เมล็ดมีลักษณะคล้ายกับเมล็ดพันธุ์หางกระรอก พบว่ามีช่อดอกและกลิ่นที่เฉพาะตัว คือ มีช่อดอกใหญ่เป็นพวงคล้ายหางกระรอก และมีกลิ่นหอมคล้ายมะม่วงสุก ไม่มีกลิ่นฉุน (กรมวิทยาศาสตร์การแพทย์, 2564) ในการปลูกพืชทั่วไปมักมีการเพิ่มปริมาณของธาตุอาหารให้กับต้นพืช ธาตุอาหารที่จำเป็นในการปลูกเลี้ยงกัญชาให้ต้นสมบูรณ์แข็งแรงควรเริ่มตั้งแต่ดินหรือวัสดุปลูกให้มีความเหมาะสม ค่าความเป็นกรด-ด่างที่เหมาะสมต่อการปลูกกัญชาควรอยู่ที่ 5.8-6.2 เพื่อการเจริญเติบโตและปริมาณผลผลิตที่เพิ่มขึ้น เกษตรกรส่วนใหญ่นิยมใช้ปุ๋ยเคมีเนื่องจากพืชสามารถดูดและเจริญเติบโตได้รวดเร็ว ซึ่งพืชแต่ละชนิดต้องการความเข้มข้นของธาตุอาหารในปริมาณที่ไม่เท่ากัน รวมทั้งรูปแบบความต้องการของธาตุอาหารที่แตกต่างกัน ดังนั้นเมื่อตรวจพบว่าปริมาณธาตุอาหารที่จำเป็นต่อการเจริญเติบโตและให้ผลผลิตของพืชในดินมีอยู่น้อย เกษตรกรควรต้องเพิ่มธาตุอาหารให้แก่ดินในรูปของปุ๋ย (นันทรัตน์, 2558) การใส่ปุ๋ยเคมีสูตร 46-0-0 และสูตร 16-16-16 ส่งผลให้ปริมาณมวลชีวภาพสูงสุด เนื่องจากธาตุไนโตรเจนนั้นเป็นส่วนประกอบสำคัญของโปรตีน กรดอะมิโน และฮอร์โมนต่าง ๆ ที่พืชมีความต้องการเมื่อพืชได้รับปริมาณธาตุไนโตรเจนสูงจึงส่งผลให้ได้รับปริมาณมวลชีวภาพสูงตามไปด้วย (ยงยุทธ, 2543) ดังนั้นงานวิจัยนี้จึงศึกษาผลของปุ๋ยเคมีต่อการเจริญเติบโต และผลผลิตของกัญชาพันธุ์หางเสือ และหางกระรอกภูพาน เพื่อนำไปใช้ประโยชน์ต่อไปในอนาคต

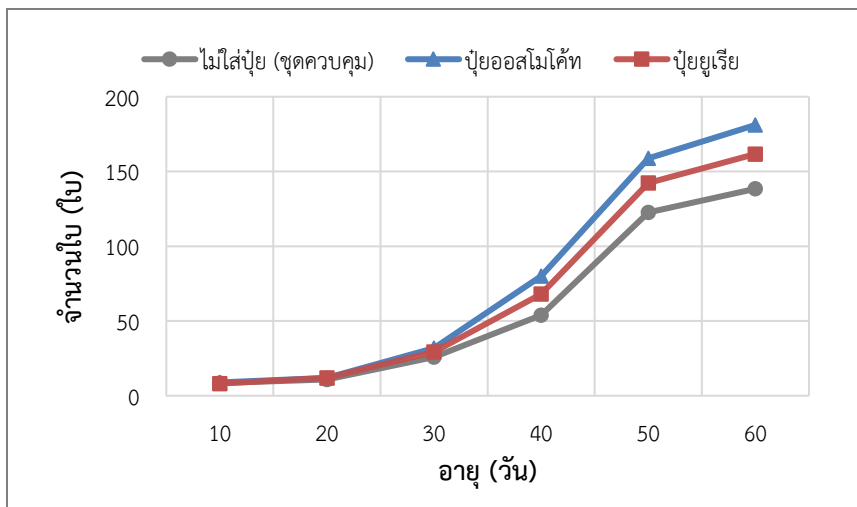
วิธีดำเนินการวิจัย

ศึกษาการเจริญเติบโตของกัญชาและผลผลิตน้ำหนักสด โดยนำเมล็ดกัญชา 2 พันธุ์ คือ กัญชาสายพันธุ์หางเสือและหางกระรอกภูพาน จากศูนย์เชี่ยวชาญนวัตกรรมเกษตรสร้างสรรค์ สถาบันวิจัยวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยีแห่งประเทศไทย (วว.) มาเพาะลงในถาดหลุมเป็นเวลา 14 วัน หลังเพาะปลูก วางแผนการทดลองแบบสุ่มบล็อกสมบูรณ์ (randomized complete block design: RCBD) โดยทำการทดลอง 3 ซ้ำ ซ้ำละ 5 ต้น ทรีทเมนต์ที่ทำการศึกษา ได้แก่ ไม่ใส่ปุ๋ย (ชุดควบคุม) ปุ๋ยออสโมค็อกท์ (สูตร 16-16-16) และปุ๋ยยูเรีย (สูตร 46-0-0) โดยคำนวณปุ๋ยที่ใช้ตามกรมพัฒนาที่ดิน (2564) จากนั้นเตรียมดินโดยใช้วัสดุปลูก คือ ดินผสมใบก้ามปู ใส่กระถางปลูกขนาด 20 นิ้ว จากนั้นย้ายต้นกล้าลงกระถางปลูกเลี้ยง โดยใส่ปุ๋ยออสโมค็อกท์และปุ๋ยยูเรียในอัตรา 10 กรัมต่อต้น โรยบนดินปลูก ทุก 10 วัน เป็นระยะเวลา 2 เดือน บันทึกการเจริญเติบโต ได้แก่ จำนวนใบ (ใบ) โดยนับจำนวนใบทั้งหมดของต้น จำนวนกิ่ง (กิ่ง) โดยนับจำนวนกิ่งทั้งหมดของต้น ความสูงต้น (เซนติเมตร) โดยวัดจากโคนต้นถึงปลายยอดด้วยไม้บรรทัด ขนาดทรงพุ่ม (เซนติเมตร) โดยวัดส่วนของต้นแม่ที่มีขนาดกว้างที่สุดด้วยไม้บรรทัด ความเขียวใบ (SPAD unit) ด้วยเครื่อง Chlorophyll Meter SPAD-502 Plus ทุก 10 วัน และผลผลิตน้ำหนักสด (กรัม) หลังปลูกอายุที่ 105-120 วัน โดยชั่งน้ำหนักช่อดอก กิ่ง และใบ (กรัม) นำค่าที่ได้มาวิเคราะห์ผลทางสถิติ ด้วยโปรแกรม SPSS เวอร์ชัน 26.0 (SPSS, Inc, 2006) และเปรียบเทียบค่าเฉลี่ยโดยวิธี Duncan's multiple range test (DMRT)

ผลการวิจัย

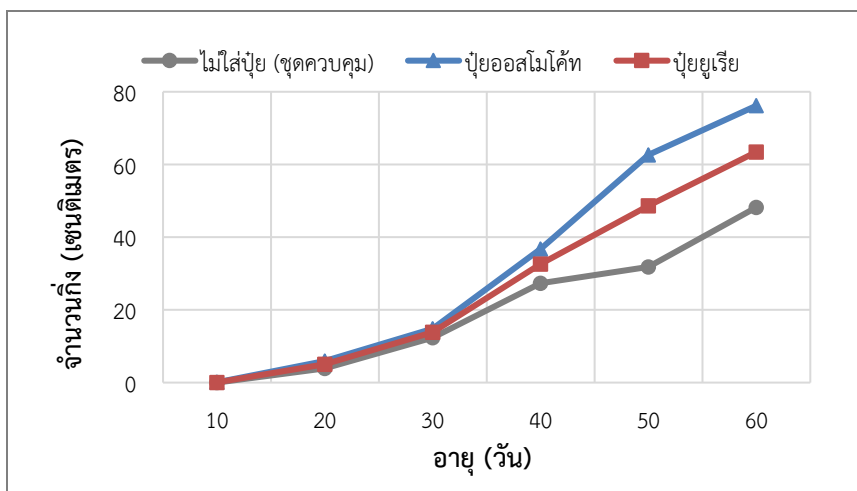
1. การเจริญเติบโตด้านต่าง ๆ ของกัญชาพันธุ์หางเสือ

จำนวนใบของกัญชาพันธุ์หางเสือหลังปลูกที่อายุ 10 วัน พบว่าการใส่ปุ๋ยออสโมโค้ท ปุ๋ยยูเรีย และไม่ใส่ปุ๋ย (ชุดควบคุม) ไม่มีความแตกต่างกันทางสถิติ แต่จำนวนใบของกัญชาพันธุ์หางเสือหลังปลูกที่อายุ 20-60 วัน พบว่าการใส่ปุ๋ยออสโมโค้ทมีจำนวนใบมากที่สุด มีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ รองลงมา คือ การใส่ปุ๋ยยูเรีย และในทางตรงกันข้าม ต้นที่ไม่ใส่ปุ๋ย (ชุดควบคุม) มีจำนวนใบน้อยที่สุด ดังภาพที่ 1



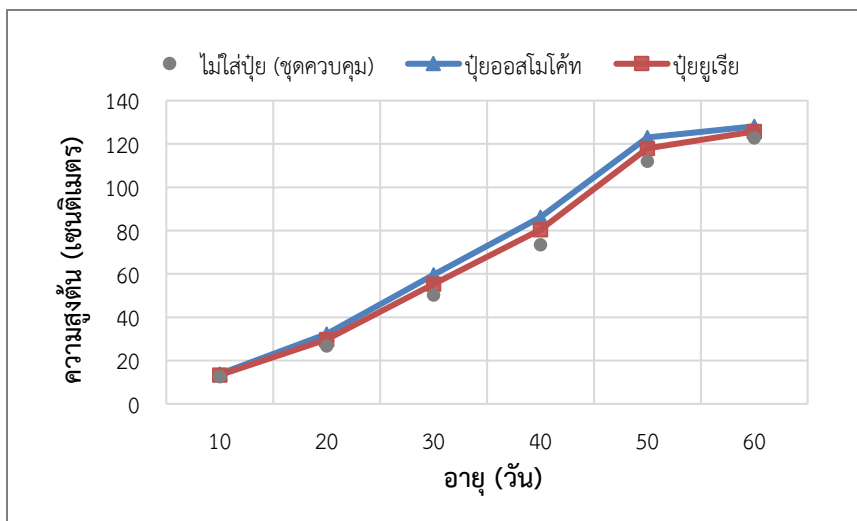
ภาพที่ 1 การเจริญเติบโตด้านจำนวนใบของกัญชาสายพันธุ์หางเสือที่อายุ 10-60 วัน

จำนวนกิ่งของกัญชาพันธุ์หางเสือหลังปลูกที่อายุ 10-60 วัน พบว่าการใส่ปุ๋ยออสโมโค้ท มีจำนวนกิ่งมากที่สุด มีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ รองลงมา คือ การใส่ปุ๋ยยูเรีย และในทางตรงกันข้าม ต้นที่ไม่ใส่ปุ๋ย (ชุดควบคุม) มีจำนวนกิ่งน้อยที่สุด ดังภาพที่ 2



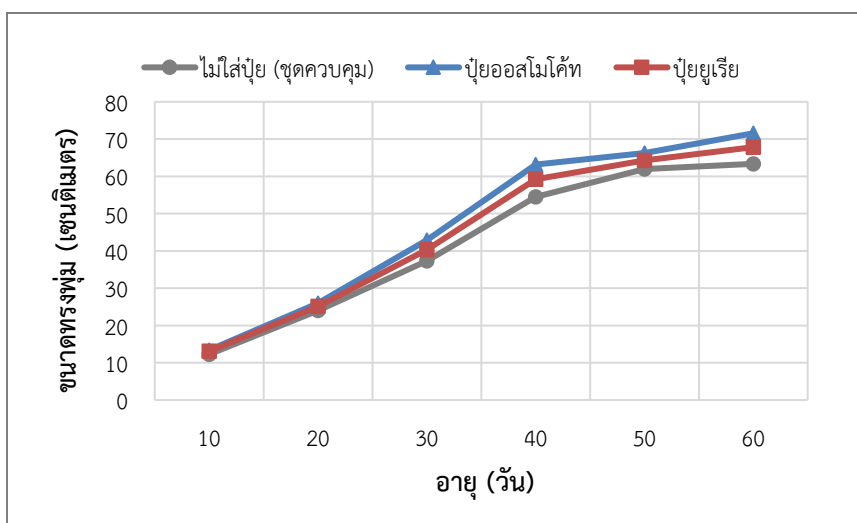
ภาพที่ 2 การเจริญเติบโตด้านจำนวนกิ่งของกัญชาพันธุ์หางเสือที่อายุ 10-60 วัน

ความสูงต้นของกัญชาพันธุ์หางเสือหลังปลูกที่อายุ 10-60 วัน พบว่าการใส่ปุ๋ยออสโมโค้ท มีความสูงต้นสูงที่สุด มีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ รองลงมา คือ การใส่ปุ๋ยยูเรีย และในทางตรงกันข้าม ต้นที่ไม่ใส่ปุ๋ย (ชุดควบคุม) มีความสูงต้นน้อยที่สุด ดังภาพที่ 3



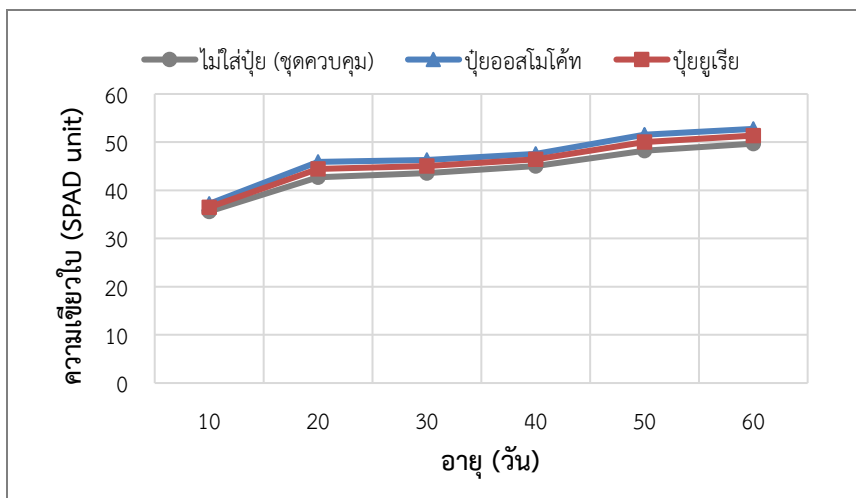
ภาพที่ 3 การเจริญเติบโตด้านความสูงต้นของกัญชาพันธุ์หางเสือที่อายุ 10-60 วัน

ขนาดทรงพุ่มของกัญชาพันธุ์หางเสือหลังปลูกที่อายุ 10-60 วัน พบว่าการใส่ปุ๋ยออสโมโค้ท มีขนาดทรงพุ่มกว้างที่สุด มีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ รองลงมา คือ การใส่ปุ๋ยยูเรีย และในทางตรงกันข้าม ต้นที่ไม่ใส่ปุ๋ย (ชุดควบคุม) มีขนาดทรงพุ่มน้อยที่สุด ดังภาพที่ 4



ภาพที่ 4 การเจริญเติบโตด้านขนาดทรงพุ่มของกัญชาพันธุ์หางเสือที่อายุ 10-60 วัน

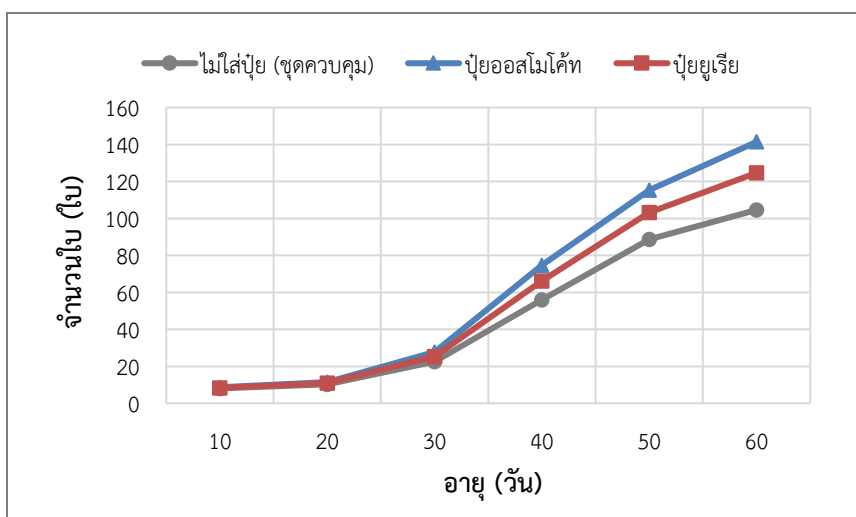
ความเขียวใบของกัญชาพันธุ์หางเสือหลังปลูกที่อายุ 10-60 วัน พบว่าการใส่ปุ๋ยออสโมค็อกท์ มีค่าความเขียวใบมากที่สุด มีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ รองลงมา คือ การใส่ปุ๋ยยูเรีย มีค่าความเขียวใบ และในทางตรงกันข้าม ต้นที่ไม่ใส่ปุ๋ย (ชุดควบคุม) มีค่าความเขียวใบน้อยที่สุด ดังภาพที่ 5



ภาพที่ 5 การเจริญเติบโตด้านความเขียวใบของกัญชาพันธุ์หางเสือที่อายุ 10-60 วัน

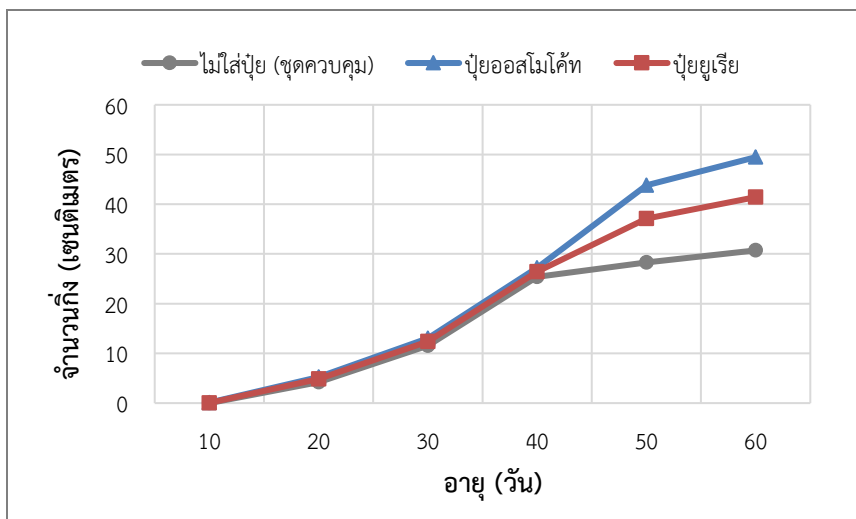
2. การเจริญเติบโตด้านต่าง ๆ ของกัญชาพันธุ์หางกระรอกภูพาน

การเจริญเติบโตทั้งด้านจำนวนใบ จำนวนกิ่ง ความสูงต้น ขนาดทรงพุ่ม และความเขียวใบของกัญชาพันธุ์หางกระรอกภูพานหลังปลูกในช่วงอายุ 10-20 วัน พบว่าการใส่ปุ๋ยออสโมค็อกท์ ปุ๋ยยูเรีย และไม่ใส่ปุ๋ย (ชุดควบคุม) ไม่มีความแตกต่างกันทางสถิติ แต่ที่อายุ 30-60 วัน พบว่าการใส่ปุ๋ยออสโมค็อกท์ มีจำนวนใบมากที่สุด มีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ รองลงมา คือ การใส่ปุ๋ยยูเรีย และในทางตรงกันข้าม ต้นที่ไม่ใส่ปุ๋ย (ชุดควบคุม) มีจำนวนใบน้อยที่สุด ดังภาพที่ 6



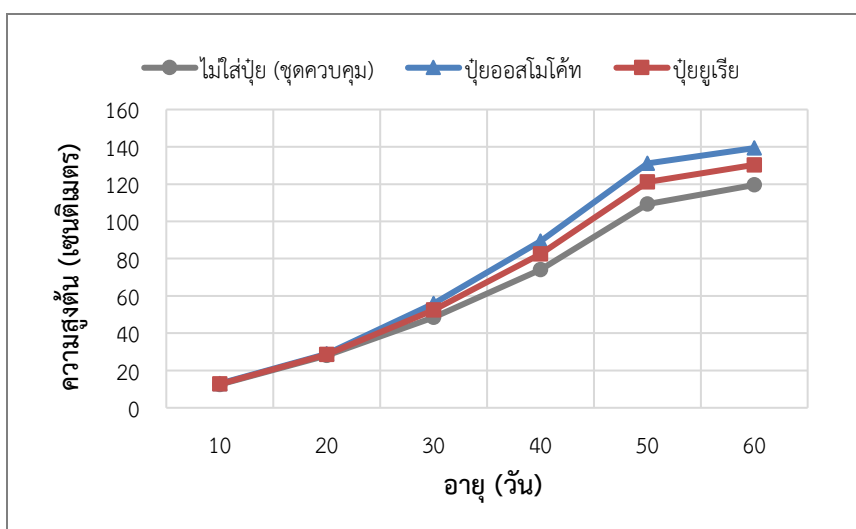
ภาพที่ 6 การเจริญเติบโตด้านจำนวนใบของกัญชาพันธุ์หางกระรอกภูพานที่อายุ 10-60 วัน

จำนวนกิ่งของกัญชาพันธุ์หางกระรอกภูพานหลังปลูกที่อายุ 10-60 วัน พบว่าการใส่ปุ๋ย ออสโมโค้ท มีจำนวนกิ่งมากที่สุด มีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ รองลงมา คือ การใส่ปุ๋ยยูเรีย และในทางตรงกันข้าม ต้นที่ไม่ใส่ปุ๋ย (ชุดควบคุม) มีจำนวนกิ่งน้อยที่สุด ดังภาพที่ 7



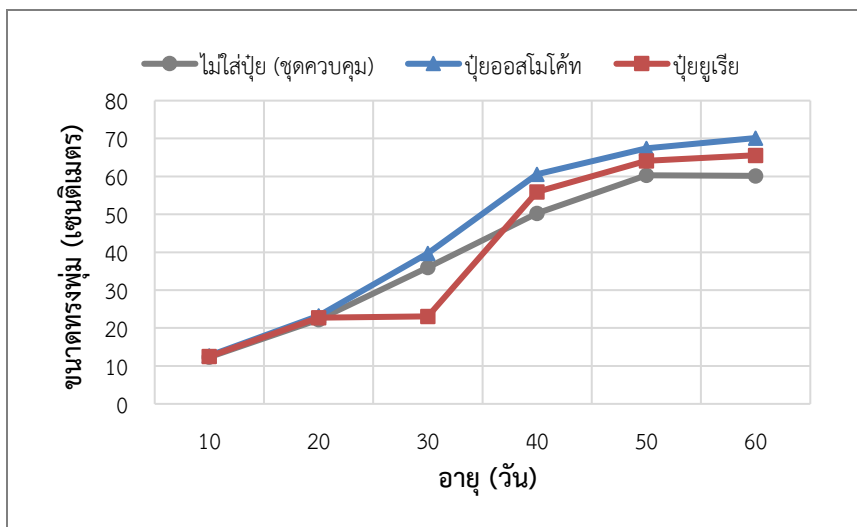
ภาพที่ 7 การเจริญเติบโตด้านจำนวนกิ่งของกัญชาพันธุ์หางกระรอกภูพานที่อายุ 10-60 วัน

ความสูงต้นของกัญชาพันธุ์หางกระรอกภูพานหลังปลูกที่อายุ 30-60 วัน พบว่าการใส่ปุ๋ย ออสโมโค้ท มีความสูงต้นสูงที่สุด มีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ รองลงมา คือ การใส่ปุ๋ยยูเรีย และในทางตรงกันข้าม ต้นที่ไม่ใส่ปุ๋ย (ชุดควบคุม) มีความสูงต้นน้อยที่สุด ดังภาพที่ 8



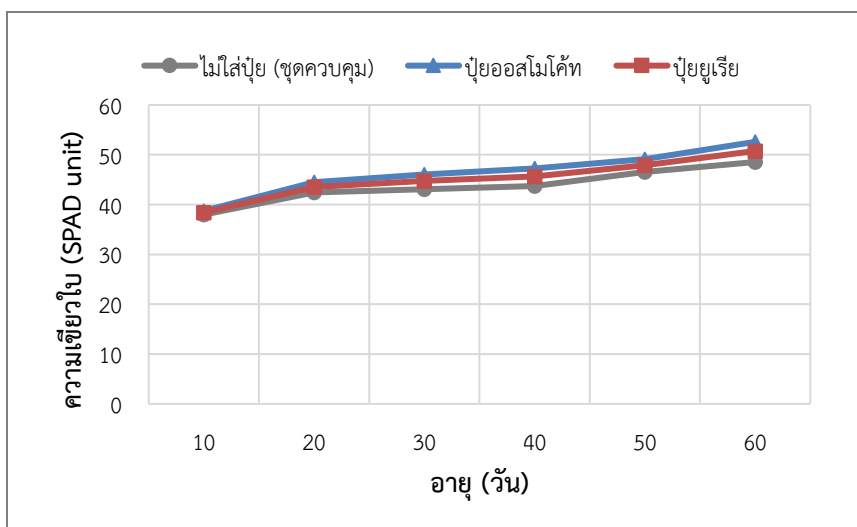
ภาพที่ 8 การเจริญเติบโตด้านความสูงต้นของกัญชาพันธุ์หางกระรอกภูพานที่อายุ 10-60 วัน

ขนาดทรงพุ่มของกัญชาพันธุ์หางกระรอกภูพานหลังปลูกที่ช่วงอายุ 30-60 วัน พบว่าการใส่ปุ๋ยออสโมโค้ท มีขนาดทรงพุ่มกว้างที่สุด มีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ รองลงมา คือ การใส่ปุ๋ยยูเรีย และในทางตรงกันข้าม ต้นที่ไม่ใส่ปุ๋ย (ชุดควบคุม) มีขนาดทรงพุ่มน้อยที่สุด ดังภาพที่ 9



ภาพที่ 9 การเจริญเติบโตด้านขนาดทรงพุ่มของกัญชาพันธุ์หางกระรอกภูพานที่อายุ 10-60 วัน

ความเขียวใบของกัญชาพันธุ์หางกระรอกภูพานหลังปลูกที่อายุ 20-60 วัน พบว่าการใส่ปุ๋ยออสโมโค้ท มีค่าความเขียวใบมากที่สุด มีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ รองลงมา คือ การใส่ปุ๋ยยูเรีย และในทางตรงกันข้าม ต้นที่ไม่ใส่ปุ๋ย (ชุดควบคุม) มีค่าความเขียวใบน้อยที่สุด ดังภาพที่ 10



ภาพที่ 10 การเจริญเติบโตด้านความเขียวใบของกัญชาพันธุ์หางกระรอกภูพานที่อายุ 10-60 วัน

3. อิทธิพลของปุ๋ยเคมีต่อการเจริญเติบโตด้านต่าง ๆ ของกัญชาพันธุ์หางเสือและหางกระรอกภูพาน

จากการศึกษาการเจริญเติบโตของกัญชา 2 สายพันธุ์ พบว่าช่วงระยะเวลา 10-20 วัน ยังไม่มีการเปลี่ยนแปลงลักษณะการเจริญเติบโตในทุก ๆ ด้าน ไม่แตกต่างกันทางสถิติ ส่วนช่วงระยะเวลาที่ 30-60 วัน เริ่มมีการเปลี่ยนแปลงอย่างเห็นได้ชัดและมีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ

จากการบันทึกปริมาณผลผลิตน้ำหนักสด พบว่ากัญชาพันธุ์หางเสือที่ใส่ปุ๋ยยูเรียส่งผลให้ช่อดอกและกิ่ง มีน้ำหนักสดมากที่สุด มีความแตกต่างกันทางสถิติกับการใส่ปุ๋ยออสโมโค้ทและไม่ใส่ปุ๋ย (ชุดควบคุม) ส่วนน้ำหนักใบสดที่ใส่ปุ๋ยออสโมโค้ทให้ค่ามากที่สุด มีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติกับการใส่ปุ๋ยยูเรียและไม่ใส่ปุ๋ย (ชุดควบคุม) ให้ค่าเฉลี่ยน้อยที่สุด ส่วนกัญชาพันธุ์หางกระรอกภูพานที่ใส่ปุ๋ยออสโมโค้ทส่งผลให้ช่อดอก กิ่ง และใบ มีน้ำหนักสดมากที่สุด มีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติกับการใส่ปุ๋ยยูเรียและไม่ใส่ปุ๋ย (ชุดควบคุม) ที่ให้ค่าเฉลี่ยน้อยที่สุด ดังตารางที่ 1

ตารางที่ 1 ปริมาณผลผลิตน้ำหนักสดของกัญชา 2 สายพันธุ์

การให้ปุ๋ย	ปริมาณผลผลิตน้ำหนักสด (กรัม)					
	กัญชาพันธุ์หางเสือ			กัญชาพันธุ์หางกระรอกภูพาน		
	ช่อดอก	กิ่ง	ใบ	ช่อดอก	กิ่ง	ใบ
ไม่ใส่ปุ๋ย (ชุดควบคุม)	71.17 ^c	322.78 ^c	95.00 ^c	71.17 ^c	322.78 ^c	95.00 ^c
ปุ๋ยออสโมโค้ท	96.68 ^b	430.45 ^b	237.95 ^a	100.09 ^a	506.32 ^a	152.73 ^a
ปุ๋ยยูเรีย	123.05 ^a	442.79 ^a	220.37 ^b	95.17 ^b	434.11 ^b	148.17 ^b
F-test	*	*	*	*	*	*
CV (%)	0.81	0.14	0.31	2.11	0.14	0.76

หมายเหตุ: - * และค่าเฉลี่ยที่กำกับด้วยตัวอักษรต่างกันในสดมภ์เดียวกันมีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p \leq 0.05$)

ลักษณะของกัญชาพันธุ์หางเสือ มีช่อดอกเล็กเรียวยาว ทรงตรงต้นสูง เป็นพวงยาว ส่วนกัญชาพันธุ์หางกระรอกภูพาน มีช่อดอกใหญ่ เรียงกันแน่นเป็นพวง ทรงสามเหลี่ยม ใบเดี่ยวรูปฝ่ามือ เรียงแบบสลับ ขอบใบจักฟันเลื่อย ดังภาพที่ 11



ภาพที่ 11 ลักษณะช่อดอกและใบของกัญชา 2 สายพันธุ์ ได้แก่ ช่อดอกกัญชาพันธุ์หางเสือ (ก) ช่อดอกกัญชาพันธุ์กระรอกภูพาน (ข) ใบกัญชาพันธุ์หางเสือ (ง) และใบกัญชาพันธุ์กระรอกภูพาน (ค)

การอภิปรายผลการวิจัย

การผลิตกัญชาให้ได้ผลผลิตสูงจำเป็นต้องทราบปริมาณธาตุอาหารที่กัญชาต้องการ การใส่ปุ๋ย การให้น้ำที่เพียงพอ และต้องให้สอดคล้องกับความต้องการของพืชกัญชา การศึกษาของหนึ่ง (2564) รายงานว่าพืชกัญชาต้องการไนโตรเจน มากถึง 6.34 เปอร์เซ็นต์ โพแทสเซียม 3.91 เปอร์เซ็นต์ และฟอสฟอรัส 0.87 เปอร์เซ็นต์ ส่วนการเจริญเติบโตของกัญชา 2 สายพันธุ์ที่ใส่ปุ๋ยออสโมค็อกซ์และปุ๋ยยูเรีย ส่งผลให้จำนวนใบ จำนวนกิ่ง ความสูงต้น ขนาดทรงพุ่ม ความเขียวใบ ของกัญชาพันธุ์หางเสือที่ใส่ปุ๋ยออสโมค็อกซ์มีค่าเฉลี่ยมากที่สุด 181.08 ใบ 76.17 กิ่ง 128.13 เซนติเมตร 71.54 เซนติเมตร และ 52.75 ตามลำดับ และกัญชาพันธุ์หางกระรอกภูพานที่ใส่ปุ๋ยออสโมค็อกซ์มีค่าเฉลี่ยมากที่สุด 141.42 ใบ 49.46 กิ่ง 139.29 เซนติเมตร 70.13 เซนติเมตร และ 52.60 ตามลำดับ การใช้ปุ๋ยเคมีมีผลกับคุณภาพของกัญชา เนื่องจากกัญชาเป็นพืชล้มลุกที่มีอายุสั้นแต่มีอัตราการเจริญเติบโตที่รวดเร็ว ส่งผลให้กัญชามีความต้องการไนโตรเจนในปริมาณสูงเพื่อการเจริญเติบโตที่รวดเร็ว สอดคล้องกับการศึกษาของกษิณีเดช และคณะ (2565) พบว่าปริมาณปุ๋ยอินทรีย์มีผลต่อการเจริญเติบโตทางลำต้นที่ได้รับปุ๋ยอินทรีย์ 32 และ 24 กรัมไนโตรเจนต่อต้น และต้นควบคุมที่มีการให้ปุ๋ยเคมี 8 กรัมไนโตรเจนต่อต้น มีการเจริญเติบโตด้านความสูงต้น ความกว้างทรงพุ่ม และเส้นผ่านศูนย์กลางลำต้นมากที่สุดไม่แตกต่างกัน ตามลำดับ แต่เมื่อเทียบต้นกัญชาที่ได้รับปุ๋ยเคมี 8 กรัม

ไนโตรเจนต่อต้น กับปุ๋ยอินทรีย์ 8 กรัมไนโตรเจนต่อต้น ซึ่งมีปริมาณไนโตรเจนที่เท่ากันนั้น พบว่าต้นกล้วยาที่ได้รับปุ๋ยเคมีมีการเจริญเติบโตที่ดีกว่าอย่างเห็นได้ชัด ซึ่งการปลูกเลี้ยงกล้วยาพันธุ์หางเสือและทางกระรอกภูพานที่ใส่ปุ๋ยออสโมค็อกท์ที่มีปริมาณผลผลิตน้ำหนัสดั้งช่อดอก กิ่ง และใบมากที่สุด สอดคล้องกับการทดลองของ Bernstein *et al.* (2019) พบว่าการเสริมธาตุอาหารไนโตรเจน โพแทสเซียม และฟอสฟอรัส มีผลต่ออัตราการเจริญเติบโตและลักษณะทางสัณฐานวิทยาของกล้วยาจากการเสริมฟอสฟอรัสเพียงอย่างเดียว ทำให้ความสูงของพืชลดลงอย่างมีนัยสำคัญ 23.5 เปอร์เซ็นต์ รวมถึงความยาวของปล้องและช่อดอกลดลง 0.3 และ 1.3 เซนติเมตร ตามลำดับ ส่วนการเสริมธาตุอาหารที่มีไนโตรเจน โพแทสเซียม และฟอสฟอรัส มีผลทำให้การเจริญเติบโตในทุกด้านทั้งจำนวนช่อดอก กิ่ง และปล้องมากที่สุด มีความแตกต่างกันทางสถิติ ซึ่งการใช้ปุ๋ยเคมีส่งผลต่อการสะสมอาหารของพืชที่ทำให้ต้นกล้วยาเจริญเติบโตขึ้น แต่เมื่อเปรียบเทียบชนิดของปุ๋ยเคมีกับปุ๋ยอินทรีย์ที่มีสัดส่วนของไนโตรเจนที่เท่ากัน พบว่าต้นกล้วยาที่ได้รับปุ๋ยเคมีนั้นแสดงปริมาณคลอโรฟิลล์ที่มากกว่า เป็นผลจากประสิทธิภาพของการดูดใช้ธาตุอาหารของพืช (Choi *et al.*, 2003; อำนาง, 2548) เนื่องจากปุ๋ยเคมีสามารถปลดปล่อยธาตุอาหารได้เร็วกว่าปุ๋ยอินทรีย์ที่ปล่อยธาตุอาหารอย่างช้า ๆ อย่างไรก็ตามยังไม่มีการศึกษาชนิดและอัตราปุ๋ยเคมีที่มีผลต่อการเจริญเติบโตของกล้วยาโดยการใส่ปุ๋ยเคมีที่มีสูตรและอัตราที่แตกต่างกัน ผลจากการศึกษาจะทำให้ทราบว่า การใส่ปุ๋ยเคมีที่ถูกต้องเหมาะสมจะช่วยส่งเสริมการเจริญเติบโตของกล้วยาและในปัจจุบันปุ๋ยเคมีมีราคาแพง หากทราบถึงชนิดและอัตราปุ๋ยเคมีที่เหมาะสมกับการเจริญเติบโตของกล้วยาจะเป็นการลดการใช้ปุ๋ยเคมีอย่างฟุ่มเฟือยและประหยัดค่าใช้จ่ายของเกษตรกรในปัจจุบัน

สรุปผลการวิจัย

จากการศึกษาการเจริญเติบโตของกล้วยาพันธุ์หางเสือและทางกระรอกภูพานที่ไม่ใส่ปุ๋ย (ชุดควบคุม) ใส่ปุ๋ยออสโมค็อกท์และปุ๋ยยูเรีย พบว่าการใส่ปุ๋ยออสโมค็อกท์เพียงอัตราเดียวเพียงพอต่อความต้องการของกล้วยาทั้ง 2 สายพันธุ์ ส่งผลให้มีการพัฒนาการเจริญเติบโตอย่างเห็นได้ชัด เนื่องจากปุ๋ยออสโมค็อกท์เป็นปุ๋ยเคมีที่ควบคุมการปลดปล่อยธาตุอาหารอย่างสม่ำเสมอเนื่องเป็นเวลายาวนานและมีธาตุไนโตรเจน โพแทสเซียม และฟอสฟอรัส เป็นองค์ประกอบ จึงส่งผลให้กล้วยามีการดูดใช้ธาตุอาหารในปริมาณที่ต้องการ สามารถให้ผลผลิตได้ดีที่สุด ส่วนปุ๋ยยูเรียเป็นปุ๋ยไนโตรเจนที่ไม่มีไอออนเป็นองค์ประกอบเป็นปุ๋ยที่ละลายน้ำง่าย พืชสามารถดูดใช้ได้เร็ว จึงทำให้ต้นกล้วยาเจริญเติบโตได้ดีในช่วงแรกและโตช้าลงในช่วงเวลาต่อมา อาจเป็นเพราะธาตุอาหารในปุ๋ยยูเรียไม่เพียงพอต่อความต้องการ จึงทำให้ต้นกล้วยาโตช้ากว่าการใช้ปุ๋ยออสโมค็อกท์ ส่วนต้นที่ไม่ใส่ปุ๋ย (ชุดควบคุม) ทำให้ต้นกล้วยาเจริญเติบโตน้อยที่สุด

เอกสารอ้างอิง

- กรมพัฒนาที่ดิน. (2564). *ตรวจสอบดินเพื่อการเกษตร*. สืบค้นเมื่อ 7 พฤศจิกายน 2566, จาก: https://osd101.1dd.go.th/osdlab/search_fertilizer.php.
- กรมวิทยาศาสตร์การแพทย์. (2564). *หนังสือรับรองพันธุ์พืชขึ้นทะเบียน ตามพระราชบัญญัติพันธุ์พ.ศ. 2518*. มหาวิทยาลัยเทคโนโลยีราชมงคลอีสาน.

- กษิธีเดช อ่อนศรี กัญตนา หลอดทองกลาง เกศินี ศรีปฐมกุล และอรพรรณ หัสรังค์. (2565). ศึกษาปริมาณปุ๋ยอินทรีย์ต่อการเจริญเติบโตทางลำต้น ปริมาณคลอโรฟิลล์และฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระของใบกัญชา (*Cannabis sativa* L.). *วารสารวิทยาศาสตร์ วิศวกรรมศาสตร์ และเทคโนโลยี*, 1(2), 93-103.
- นันทรัตน์ ศุภกานี. (2558). *การจัดการดินและปุ๋ยสำหรับพืชสวน*. กรุงเทพฯ: สถาบันวิจัยพืชสวน กรมวิชาการเกษตร.
- ยงยุทธ โอสดสภา. (2543). *ธาตุอาหารพืช*. กรุงเทพฯ: มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์.
- หนึ่ง เตียอำรุง. (2564). การผลิตและการใช้ประโยชน์จากกัญชา (Marijuana). *รายงานวิจัย*. มหาวิทยาลัยเทคโนโลยีสุรนารี.
- อำนาจ สุวรรณฤทธิ์. (2548). *ปุ๋ยกับการเกษตรและสิ่งแวดล้อม*. กรุงเทพฯ: มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์.
- Aluko, R.E. (2017). *Sustainable protein sources*. Retrieved 29 August 2023, from: <https://www.sciencedirect.com/science/article/abs/pii/B978012802778300007X>.
- Bernstein, N., Gorelick, J., Zerahia, R. and Koch, S. (2019). Impact of N, P, K, and humic acid supplementation on the chemical profile of medical cannabis (*Cannabis sativa* L). *Frontiers in Plant Science*, 10, doi: <https://doi.org/10.3389/fpls.2019.00736>.
- Choi, W.J., Ro, H.M. and Hobbie, E.A. (2003). Patterns of natural ^{15}N in soils and plants from chemically and organically fertilized uplands. *Soil Biology and Biochemistry*, 35(11), 1493-1500, doi: [https://doi.org/10.1016/S0038-0717\(03\)00246-3](https://doi.org/10.1016/S0038-0717(03)00246-3).
- Louis, B.W. (2018). *Cannabis nutrition, Cannabis: A clinician's guide*. Florida: CRC Press.
- Russo, E.B. (2007). History of cannabis and its preparations in saga, science, and sobriquet. *Chemistry and Biodiversity*, 4(8), 1614-1648, doi: <https://doi.org/10.1002/cbdv.200790144>.

ผลของการพอกเมล็ดด้วย Captan และ Metalaxyl ต่อคุณภาพเมล็ดพันธุ์
และการยับยั้งเชื้อรา *Pythium* spp. สาเหตุการเกิดโรคเน่าคอดิน
ในระยะต้นกล้าดาวเรือง

The Effects of Seed Pelleting with Captan and Metalaxyl on
Seed Quality and Inhibition of *Pythium* spp.
the Cause of Damping-off in Marigold Seedling Stage

อรัญญา สิงโสภา¹ ฉัตรสุตา เผือกใจแผ้ว² สุธีระ เหมฮัก¹ และจักรพงษ์ กางโสภา^{1*}
Aranya Singsopa¹, Chatsuda Phuakjaiphaeo², Sutheera Hermhuk¹
and Jakkrapong Kangsopa^{1*}

บทคัดย่อ

เมล็ดพันธุ์ดาวเรืองมีรูปร่างแบน บาง เรียวยาวและมีอาหารสะสมในเมล็ดน้อย ทำให้เกิดปัญหาการเพาะเมล็ดได้ยาก นอกจากนี้มักประสบปัญหาโรคเน่าคอดิน ซึ่งเกิดจากเชื้อรา *Pythium* spp. เข้าทำลายเมล็ดทั้งก่อนและหลังการงอก การพอกเมล็ดพันธุ์เป็นการยกระดับคุณภาพเมล็ดพันธุ์ที่ทำให้สามารถเพาะเมล็ดได้สะดวกมากขึ้น และสามารถพอกเมล็ดร่วมกับสารเคมีป้องกันเชื้อราที่สามารถลดความรุนแรงและป้องกันกำจัดโรคพืชได้ในระยะต้นกล้า ดังนั้นงานวิจัยนี้จึงมีวัตถุประสงค์เพื่อศึกษาความเข้มข้นของ captan และ metalaxyl ที่เหมาะสมสำหรับพอกเมล็ดและความสามารถในการยับยั้งการเข้าทำลายของเชื้อรา *Pythium* spp. ในระยะต้นกล้าดาวเรืองได้ โดยวางแผนการทดลองแบบสุ่มสมบูรณ์ (completely randomized design: CRD) จำนวน 4 ซ้ำ พบว่า captan ในอัตรา 1.5 และ 2.0 กรัมของสารออกฤทธิ์ (g.ai.) สามารถยับยั้งการเจริญของเชื้อรา *Pythium* spp. ได้ 100 เปอร์เซ็นต์ จากนั้นเมื่อนำ captan และ metalaxyl มาพอกร่วมกับเมล็ดพันธุ์ดาวเรือง พบว่าเมล็ดที่พอกด้วย captan ในอัตรา 1.0 กรัมของสารออกฤทธิ์ metalaxyl ในอัตรา 1.0 กรัมของสารออกฤทธิ์ มีความงอกและความเร็วในการงอกมากกว่ากรรมวิธีอื่นเมื่อตรวจสอบในสภาพห้องปฏิบัติการ ส่วนการตรวจสอบในสภาพเรือนทดลอง พบว่าเมล็ดที่พอกด้วย captan และ metalaxyl ทุกอัตรา มีความงอกและความเร็วในการงอกมากกว่าและแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติเมื่อเปรียบเทียบกับเมล็ดที่ไม่ผ่านการพอก และจากการตรวจสอบการยับยั้งเชื้อราและความมีชีวิตรอดของเมล็ดพันธุ์ดาวเรืองหลังผ่านการพอกร่วมกับ captan และ metalaxyl พบว่าการพอกเมล็ดด้วย captan ในอัตรา 2.0 กรัมของสารออกฤทธิ์ และ metalaxyl ทุกอัตราสามารถยับยั้งเชื้อรา *Pythium* spp.

¹ สาขาวิชาพืชไร่ คณะผลิตกรรมการเกษตร มหาวิทยาลัยแม่โจ้

² สาขาวิชาอารักขาพืช คณะผลิตกรรมการเกษตร มหาวิทยาลัยแม่โจ้

* Corresponding author e-mail: jakkrapong_ks@mju.ac.th

Received: 2 January 2024, Revised: 4 August 2024, Accepted: 13 August 2024

มากกว่าเมล็ดที่ไม่ผ่านการพอก ดังนั้นสรุปได้ว่าการพอกเมล็ดร่วมกับ metalaxyl ในอัตรา 1.0 กรัมของสารออกฤทธิ์ มีประสิทธิภาพในการยับยั้งเชื้อราได้ดีกว่า captan จึงเป็นอัตราแนะนำสำหรับนำไปใช้พอกร่วมกับเมล็ดพันธุ์ดาวเรือง

คำสำคัญ: การพอกเมล็ดพันธุ์ captan metalaxyl โรคเน่าคอดิน เมล็ดพันธุ์ดาวเรือง

Abstract

Marigold seed are flat, thin, elongated with little stored food, which makes difficult to cultivate. In addition, there is often a problem with damping-off disease, which is caused by *Pythium spp.*, which destroys the seeds both before and after germination. Seed pelleting is a seed quality enhancement method, making it more convenient to plant. Additionally, seed pelleting can be combined with fungicides to help reduce the severity of, prevent, and eliminate plant diseases in the seeding stage. Therefore, this research aimed to study the suitable concentration of captan and metalaxyl for seed pelleting and their ability to inhibit *Pythium spp.* Destruction in the seedling stage. Completely randomized design (CRD) was conducted with 4 replications. The results shows that captan at 1.5 g.ai. and 2.0 g.ai. could inhibited the growth of *Pythium spp.* fungus by 100%. The seed pelleted with captan 1.0 g.ai. and metalaxyl 1.0 g.ai. had higher seed germination and germination speed than other treatments laboratory uniton. Similar results were observed in greenhouse conditions, showing seed pelleting with captan at 2.0 g ai. and all concentrations of metalaxyl effectively inhibited *Pythium spp.*, leading to higher seed viability after pelleting compared to untreated seeds. Therefore, it can be concluded that seed pelleting with metalaxyl at a rate of 1.0 g ai. is the recommended dosage for achieving the best results when used in conjunction with marigold seeds.

Keywords: Seed pelleting, Captan, Metalaxyl, Damping-off, Marigold seeds

บทนำ

ดาวเรือง มีชื่อทางวิทยาศาสตร์ว่า *Togetes spp.* เป็นไม้ดอกชนิดหนึ่งที่นิยมปลูกโดยทั่วไป เพื่อจำหน่ายเป็นพืชตัดดอกหรือประดับตกแต่งสถานที่ต่าง ๆ ได้ กลีบดอกสามารถสกัดสารสำคัญซึ่งมีประสิทธิภาพทางยา มีประสิทธิภาพในการเป็นสารต้านอนุมูลอิสระ ใช้บำบัดโรคต่าง ๆ ที่เกิดขึ้นจากการต้านอนุมูลอิสระ อีกทั้งยังใช้กลีบดอกผลิตเป็นส่วนผสมในอาหารสัตว์ และยังมีการส่งออกกลีบดาวเรืองอบแห้งไปต่างประเทศประมาณ 300-400 ตันต่อปี (ขวัญหทัย และคณะ, 2561; ญาณินุช และคณะ, 2562) แต่เมล็ดพันธุ์ดาวเรืองที่มีลักษณะเป็นเมล็ดแห้ง ขนาดเล็ก รูปร่างแบน บาง มีหาง

และอาหารสะสมในเมล็ดน้อย จึงทำให้ยากต่อการเพาะปลูก ซึ่งต้นกล้าที่ได้จะมีความงอกและความแข็งแรงต่ำ ส่งผลต่อเกษตรกรต้องเพิ่มจำนวนเมล็ดอีก 1-2 เท่าสำหรับการเพาะต้นกล้า ทำให้เกษตรกรมีต้นทุนการผลิตเพิ่มสูงขึ้น (กรมส่งเสริมการเกษตร, 2556) นอกจากนี้ต้นกล้าที่ได้จากกระบวนการเพาะกล้ายังเสี่ยงต่อการเข้าทำลายของโรคเน่าคอดิน (damping-off) ที่มีสาเหตุมาจากเชื้อรา *Pythium* spp. ซึ่งเป็นเชื้อราที่สามารถเข้าทำลายได้ทั้งระยะเมล็ดและระยะต้นกล้า (Gurjar *et al.*, 2019) ซึ่งต้นกล้าที่ถูกเข้าทำลายจะมีลักษณะแผลซ้ำบริเวณโคนต้น เหี่ยวเฉา โคนต้นกล้าเป็นสีน้ำตาลดำและเน่า จึงเป็นสาเหตุทำให้ต้นกล้าหักพับลงได้ (อมรรัตน์ และพิระวรรณ, 2552) ซึ่งเชื้อรา *Pythium* spp. สามารถแพร่กระจายไปกับละอองน้ำในอากาศได้ เส้นใยของเชื้อมีการเจริญเติบโตอย่างรวดเร็วเมื่อได้รับปัจจัยที่เหมาะสมและเกิดการแพร่ระบาดของโรคได้อย่างรวดเร็ว (Lu *et al.*, 2010)

การพอกเมล็ดเป็นการห่อหุ้มเมล็ดพันธุ์ด้วยวัสดุเหนียวที่ทำให้เมล็ดมีขนาดและรูปร่างของเมล็ดพันธุ์เปลี่ยนแปลงไปจากเดิม (Taylor *et al.*, 1998; Sharma *et al.*, 2015) อีกทั้งยังสามารถเพิ่มสารออกฤทธิ์ต่าง ๆ ให้ติดไปกับเมล็ดพันธุ์ได้ การพอกเมล็ดร่วมกับสารเคมีป้องกันเชื้อราโดยตรงเป็นแนวทางหนึ่งที่สามารถช่วยลดความรุนแรงและป้องกันกำจัดโรคพืชได้ในระยะต้นกล้า เช่น สาร captan ซึ่งเป็นสารเคมีป้องกันกำจัดเชื้อราชนิดสัมผัสผิวยึด (protectant) มีฤทธิ์ป้องกัน ยับยั้งการเจริญเติบโตของเชื้อราบริเวณที่สัมผัสกับเชื้อราโดยตรง และ metalaxyl เป็นสารเคมีป้องกันกำจัดโรคพืชประเภทดูดซึมซึ่งสามารถรบกวนการสร้างสาร ergosterol ของเยื่อผนังเชื้อรา และการสังเคราะห์การทำงานของผนังเซลล์ของเชื้อราได้ดี (Adaskaveg *et al.*, 2022) ซึ่งสอดคล้องกับการรายงานของจักรพงษ์ และคณะ (2558) โดยพอกเมล็ดพันธุ์ยาสูบด้วย captan metalaxyl ในอัตรา 4.0 และ 6.0 กรัมของสารออกฤทธิ์ (g.ai.) และคอปเปอร์ไฮดรอกไซด์ (copper hydroxide) ในอัตรา 6.0 กรัมของสารออกฤทธิ์ พบว่าตลอดระยะเวลาการตรวจสอบ 16 และ 30 วัน สามารถยับยั้งเชื้อรา *Pythium* spp. ได้ 100 เปอร์เซ็นต์ และเห็นได้ชัดเจนว่าเมล็ดพันธุ์ยาสูบไม่พอกจะมีแนวโน้มการเกิดโรคเพิ่มสูงขึ้นมากกว่า 50 เปอร์เซ็นต์ โดยการใช้สารเคมีเพื่อป้องกันกำจัดโรคของดาวเรืองจะต้องมีความเหมาะสมทั้งชนิดและอัตราของสารเคมีที่ใช้ร่วมกับวิธีการพอกเมล็ด ดังนั้นในการศึกษาครั้งนี้จึงได้พัฒนาการพอกเมล็ดพันธุ์ดาวเรืองร่วมกับสารเคมีป้องกันโรคเน่าคอดินในระยะต้นกล้า เพื่อแก้ปัญหาที่เกิดขึ้นในการผลิตดอกดาวเรืองให้ได้คุณภาพสูง

ดังนั้นการทดลองนี้จึงมีวัตถุประสงค์เพื่อศึกษาผลของการพอกเมล็ดด้วย captan และ metalaxyl ต่อประสิทธิภาพในการยับยั้งเชื้อรา *Pythium* spp. และติดตามการเปลี่ยนแปลงของคุณภาพเมล็ดพันธุ์ดาวเรืองหลังผ่านการพอกเมล็ดพันธุ์

วิธีดำเนินการวิจัย

งานวิจัยนี้วางแผนการทดลองแบบสุ่มสมบูรณ์ (completely randomized design: CRD) จำนวน 4 ซ้ำ ซึ่งมีขั้นตอนการดำเนินการทดลองดังต่อไปนี้

1. การเตรียมเชื้อรา *Pythium* spp. ในระดับห้องปฏิบัติการ

เตรียมเชื้อรา *Pythium* spp. โดยเก็บตัวอย่างจากดินรอบรากต้นดาวเรืองจากแปลงเพาะปลูกของเกษตรกรในพื้นที่อำเภอสนทราย จังหวัดเชียงใหม่ จากนั้นนำมาแยกเชื้อโดยใส่ดิน

รอบรากที่เก็บได้ลงในกล่องพลาสติกปลอดเชื้อและเติมน้ำกลั่นให้มีความชื้น จากนั้นใส่แสงกว่าห้านแวนนาประมาณ 5 เซนติเมตร วางไว้สภาพอุณหภูมิห้อง (25 ± 2 องศาเซลเซียส) เป็นเวลา 24 ชั่วโมง จากนั้นนำเส้นใยของเชื้อรา *Pythium* spp. ที่ได้มาเลี้ยงบนอาหารผงวุ้นมันฝรั่งเด็กชโรส (potato dextrose agar: PDA) ให้เป็นเชื้อบริสุทธิ์ที่สภาพอุณหภูมิห้อง (25 ± 2 องศาเซลเซียส) เป็นเวลา 48 ชั่วโมง (วนิดา และคณะ, 2562)

2. การทดสอบประสิทธิภาพของ captan และ metalaxyl ต่อการยับยั้งการเจริญเติบโตของเชื้อรา *Pythium* spp.

การตรวจสอบประสิทธิภาพของ captan (ERAWAN®) และ metalaxyl (หัวเสียลูกโลก®) ต่อการยับยั้งการเจริญเติบโตของเชื้อรา *Pythium* spp. ตามอัตราแนะนำข้างฉลากของแต่ละผลิตภัณฑ์ ด้วยเทคนิคอาหารพิษ (poisoned food technique) โดยการเติมสารเคมีแต่ละชนิดลงในอาหาร PDA และไม่เติมสารใด ๆ ลงในอาหาร PDA (ชุดควบคุม) ตรวจสอบผลการยับยั้งการเจริญของเส้นใยของเชื้อที่อายุ 7 วัน โดยนำที่เจาะจุกคอร์ก (cork borer) ขนาดเส้นผ่านศูนย์กลาง 0.5 เซนติเมตร เจาะที่ปลายเส้นใยของเชื้อราแล้ววางชิ้นวุ้นที่มีส่วนของเส้นใยของเชื้อลงบนอาหาร บ่มจานอาหารเลี้ยงเชื้อที่อุณหภูมิห้อง (25 ± 2 องศาเซลเซียส) ตรวจสอบผลโดยวัดขนาดเส้นผ่านศูนย์กลางของโคโลนีทุกวัน จนเชื้อราในชุดควบคุมเจริญเต็มจานเลี้ยงเชื้อ บันทึกผลการทดลอง และนำมาคำนวณหาเปอร์เซ็นต์การยับยั้งการเจริญของเส้นใยเชื้อราโดยใช้สูตรดังสมการ (1) (Grover and Moore, 1962)

$$\text{การยับยั้งการเจริญของเส้นใย (เปอร์เซ็นต์)} = \frac{[(A - B)]}{A} \times 100 \quad (1)$$

โดย A คือ ค่าเฉลี่ยของเส้นผ่านศูนย์กลางโคโลนีเชื้อราในชุดควบคุม

B คือ ค่าเฉลี่ยของเส้นผ่านศูนย์กลางโคโลนีเชื้อราในอาหารที่ผสมสารเคมีที่ใช้ในการทดสอบ

3. การพอกเมล็ดพันธุ์ดาวเรืองร่วมกับสารเคมีป้องกันเชื้อรา

เตรียมเมล็ดพันธุ์ดาวเรือง (Sri Siam Deep Gold; ความงอกเริ่มต้น 35 เปอร์เซ็นต์) โดยล้างเมล็ดด้วยโซเดียมไฮโปคลอไรต์ (NaOCl) 1 เปอร์เซ็นต์ เป็นเวลา 1 นาที จากนั้นล้างด้วยน้ำกลั่นที่นิ่งฆ่าเชื้อแล้ว 3 รอบ ลดความชื้นด้วยเครื่องลดความชื้นเมล็ดพันธุ์ระบบลมแห้ง รุ่น KKU40-2 ที่อุณหภูมิ 33 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 24 ชั่วโมง จนความชื้นเมล็ดใกล้เคียงหรือเท่ากับความชื้นเริ่มต้นคือ 7 เปอร์เซ็นต์ ± 1 พอกเมล็ดโดยใช้ carboxymethyl cellulose (CMC) 0.3 เปอร์เซ็นต์โดยน้ำหนักต่อปริมาตร เป็นวัสดุประสาน ใช้เวอร์มิคูไลท์ (vermiculite) ในอัตรา 100 กรัม เป็นวัสดุพอกต่อเมล็ดพันธุ์ดาวเรือง 12 กรัม โดยมีกรรมวิธีทดลองทั้งหมด 8 กรรมวิธี ประกอบด้วย

กรรมวิธี T1 คือ เมล็ดที่ไม่ผ่านการพอก (ชุดควบคุม)

กรรมวิธี T2 คือ เมล็ดที่พอกด้วยเวอร์มิคูไลท์

กรรมวิธี T3 คือ เมล็ดที่พอกด้วย captan ในอัตรา 1.0 กรัมของสารออกฤทธิ์

กรรมวิธี T4 คือ เมล็ดที่พอกด้วย captan ในอัตรา 1.5 กรัมของสารออกฤทธิ์

กรรมวิธี T5 คือ เมล็ดที่พอกด้วย captan ในอัตรา 2.0 กรัมของสารออกฤทธิ์

กรรมวิธี T6 คือ เมล็ดที่พอกด้วย metalaxyl ในอัตรา 1.0 กรัมของสารออกฤทธิ์

กรรมวิธี T7 คือ เมล็ดที่พอกด้วย metalaxyl ในอัตรา 1.5 กรัมของสารออกฤทธิ์

กรรมวิธี T8 คือ เมล็ดที่พอกด้วย metalaxyl ในอัตรา 2.0 กรัมของสารออกฤทธิ์

พอกเมล็ดพันธุ์ด้วยเครื่องพอกแบบถังหมุน (rotary drum) รุ่น JK-02 จากนั้นลดความชื้นให้มีความชื้นเท่ากับ ความชื้นของเมล็ดพันธุ์ก่อนการพอก (7 เปอร์เซ็นต์ ± 1) ก่อนนำมาตรวจสอบคุณภาพเมล็ดพันธุ์ในลักษณะต่าง ๆ และการยับยั้งการเข้าทำลายของเชื้อรา *Pythium* spp.

4. การตรวจสอบคุณภาพเมล็ดพันธุ์ดาวเรืองหลังผ่านการพอกร่วมกับสารเคมีป้องกันเชื้อรา

4.1 การตรวจสอบคุณภาพของเมล็ดพันธุ์ในสภาพห้องปฏิบัติการ

สุ่มเมล็ดพันธุ์ดาวเรืองที่ผ่านกระบวนการพอกและไม่ผ่านการพอกเมล็ดจำนวน 4 ซ้ำ ซ้ำละ 50 เมล็ด เพาะทดสอบความงอกโดยวิธีการทดสอบความงอกแบบบนกระดาษ (top of paper: TP) และนำไปไว้ในตู้เพาะความงอกที่อุณหภูมิ 25 องศาเซลเซียส ความชื้นสัมพัทธ์ 80 เปอร์เซ็นต์ ความเข้มแสง 750 ลักซ์ (lux) ให้แสงตลอด 24 ชั่วโมง ประเมินคุณภาพเมล็ดพันธุ์ ดังนี้

1) การงอกรากแรก: ประเมินการงอกของรากแรกเกิดที่โผล่พ้นเมล็ดที่ความยาวราก 2 มิลลิเมตร โดยนับวันที่ 4 หลังเพาะ

2) ความเร็วในการงอกรากแรก: ประเมินการงอกของรากแรกเกิดที่โผล่พ้นเมล็ดที่ความยาวราก 2 มิลลิเมตร โดยนับทุกวันตั้งแต่วันที่ 1 หลังเพาะ จนถึงก่อนวันนับความงอกครั้งแรก (วันที่ 4 หลังเพาะ)

3) ความงอก: ประเมินความงอกครั้งแรก (first count) หลังจากเพาะ 5 วัน และนับครั้งสุดท้าย (final count) หลังเพาะ 14 วัน (International Seed Testing Association (ISTA), 2022) จากนั้นรายงานผลเป็นเปอร์เซ็นต์ความงอก ตามหลักสากล

4) ความเร็วในการงอก: โดยตรวจนับจำนวนเมล็ดที่งอกเป็นต้นกล้าปกติในทุกวัน ตั้งแต่ครั้งแรกหลังจากเพาะ 5 วัน จนถึงวันที่ 14 หลังเพาะ จากนั้นนำมาคำนวณหาความเร็วในการงอกของเมล็ด

5) ความยาวต้นและความยาวราก: สุ่มต้นกล้าปกติที่อายุ 14 วัน จำนวน 4 ซ้ำ ๆ ละ 10 ต้น ซึ่งการวัดความยาวของลำต้นจะวัดตั้งแต่ส่วนรอยต่อของต้นกับรากไปจนถึงปลายสุดใบจริง ส่วนความยาวรากวัดจากปลายรากจนถึงบริเวณข้อต่อระหว่างส่วนรากและลำต้นของต้นกล้า โดยใช้หน่วยเป็นเซนติเมตร

4.2 การทดสอบคุณภาพเมล็ดพันธุ์ในสภาพเรือนทดลอง

สุ่มเมล็ดพันธุ์ดาวเรืองที่ผ่านกระบวนการพอกและไม่พอกเมล็ด จำนวน 4 ซ้ำ ซ้ำละ 50 เมล็ด มาทดสอบความงอกในสภาพหลุม โดยใช้พีทมอสเป็นวัสดุเพาะต้นกล้า และประเมินคุณภาพเมล็ดพันธุ์ ดังนี้

1) การโผล่พ้นดิน: ประเมินการงอกของใบเลี้ยง (cotyledon) ที่โผล่พ้นดิน โดยนับวันที่ 4 หลังเพาะ

2) ความเร็วในการโผล่พ้นดิน: ประเมินการงอกของใบเลี้ยง โผล่พ้นดิน โดยนับทุกวัน ตั้งแต่วันที่ 1 หลังเพาะ จนถึงวันก่อนนับความงอกครั้งแรก

3) ความงอก: โดยนับความงอกครั้งแรกหลังจากเพาะ 5 วัน และนับครั้งสุดท้าย หลังเพาะ 14 วัน (International Seed Testing Association (ISTA), 2022) จากนั้นรายงานผลเป็น เปอร์เซ็นต์ความงอก

4) ความเร็วในการงอก: โดยตรวจนับจำนวนเมล็ดที่งอกเป็นต้นกล้าปกติ ในทุก ๆ วัน ตั้งแต่ครั้งแรกหลังจากเพาะ 5 วัน จนถึงวันที่ 14 หลังเพาะ จากนั้นนำมาคำนวณหาความเร็วในการงอก ของเมล็ด

5) ความยาวต้น: สุ่มต้นกล้าปกติที่อายุ 14 วัน จำนวน 4 ซ้ำ ๆ ละ 10 ต้น ซึ่งการวัด ความยาวของลำต้นจะวัดตั้งแต่ส่วนรอยต่อของต้นกับรากไปจนถึงปลายสุดใบจริง โดยใช้หน่วยเป็น เซนติเมตร

5. การตรวจสอบการยับยั้งเชื้อรา *Pythium* spp. หลังการพอกเมล็ดพันธุ์ดาวเรือง ร่วมกับสารเคมีป้องกันเชื้อรา

5.1 การตรวจสอบป้องกันโรคเน่าคอดินหลังการพอกเมล็ดพันธุ์ดาวเรืองร่วมกับสารเคมี ป้องกันเชื้อราในสภาพห้องปฏิบัติการ

นำชิ้นวัชพืชที่มีเชื้อรา *Pythium* spp. จากข้อที่ 1 ด้วยที่เจาะจุกคออร์ก ขนาดเส้นผ่าน ศูนย์กลาง 5 มิลลิเมตร นำมาเลี้ยงแยกในอาหาร PDA อีกครั้ง สำหรับใช้ทดสอบประสิทธิภาพใน การป้องกันเชื้อรา *Pythium* spp. ที่ดัดแปลงมาจากเทคนิคการเพาะเลี้ยงสองชนิด (dual culture method) (วนิดา และคณะ, 2562) เป็นเวลา 48 ชั่วโมง ในสภาพอุณหภูมิห้อง (25 ± 2 องศาเซลเซียส) จากนั้นเมื่อครบกำหนดเวลา นำไปวางบนอาหาร PDA ที่เตรียมไว้สำหรับการทดลอง และวาง เมล็ดแต่ละกรรมวิธีทดลองห่างจากขอบ 2 เซนติเมตร และห่างจากเชื้อรา *Pythium* spp. 2 เซนติเมตร

5.2 การตรวจสอบป้องกันโรคเน่าคอดินหลังการพอกเมล็ดพันธุ์ดาวเรืองร่วมกับสารเคมี ป้องกันเชื้อราในสภาพเรือนทดลอง

นำเชื้อรา *Pythium* spp. จากข้อที่ 1 นำไปเพาะเลี้ยงในวัสดุปลูกพีทมอสที่มีการนึ่งฆ่าเชื้อ โดยนำพีทมอสไปนึ่งด้วยหม้อนึ่งความดันไอน้ำ (autoclave) อุณหภูมิ 121 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 15 นาที จากนั้นนำเชื้อรา *Pythium* spp. ผสมกับพีทมอสที่เตรียมไว้ 1 กิโลกรัม โดยใส่ใน ถังพลาสติกขนาด 12x18 นิ้ว ปิดถุงให้แน่นและนำไปบ่มที่อุณหภูมิห้องเป็นเวลา 7 วัน จากนั้นตรวจนับ ปริมาณเชื้อรา *Pythium* spp. ในวัสดุปลูก คือ 3×10^6 หน่วยก่อรูปเป็นโคโลนี/กรัม (CFU/g.) (จักรพงษ์ และคณะ, 2558) หลังจากนั้นสุ่มเมล็ดพันธุ์ที่ผ่านการพอก จำนวน 20 ก้อน จากแต่ละกรรมวิธี จำนวน 4 ซ้ำ โดยใช้เมล็ดพันธุ์ดาวเรืองที่ไม่ผ่านการพอก (ชุดควบคุม) เป็นวิธีการเปรียบเทียบ นำมาเพาะ ทดสอบในถาดหลุม โดยใช้พีทมอสที่ผสมเชื้อรา *Pythium* spp. เป็นวัสดุเพาะต้นกล้า จากนั้นคำนวณ เปอร์เซ็นต์การมีชีวิตรอดของต้นกล้าดาวเรือง (ปัทมาวดี และคณะ, 2566) จากสมการ (2)

$$\text{การรอดของต้นกล้าดาวเรือง (เปอร์เซ็นต์)} = \frac{\text{จำนวนต้นกล้าที่รอดชีวิต}}{\text{จำนวนต้นกล้าทั้งหมด}} \times 100 \quad (2)$$

6. การวิเคราะห์ข้อมูล

วิเคราะห์ข้อมูลการเปลี่ยนแปลงคุณภาพเมล็ดพันธุ์ดาวเรืองตามลักษณะต่าง ๆ วางแผนการทดลองแบบสุ่มสมบูรณ์ แปลงข้อมูลเปอร์เซ็นต์ความงอกของเมล็ดเพื่อวิเคราะห์ทางสถิติโดยใช้วิธีการแปลงอาร์คไซน์ (arcsine transformation) เปรียบเทียบค่าเฉลี่ยโดยวิธี Duncan's multiple range test (DMRT) และวิเคราะห์ข้อมูลทางสถิติด้วยโปรแกรมสำเร็จรูป

ผลการวิจัย

1. ประสิทธิภาพของ captan และ metalaxyl ต่อการยับยั้งการเจริญเติบโตของเชื้อรา *Pythium* spp.

จากการศึกษาผลของสารเคมีป้องกันเชื้อราทั้ง 2 ชนิด ในการยับยั้งการเจริญของเส้นใยเชื้อรา *Pythium* spp. สาเหตุโรคเน่าคอดิน พบว่าการยับยั้งการเจริญของเส้นใยเชื้อรามีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p \leq 0.01$) โดยกรรมวิธี T4 เมล็ดที่พอกด้วย captan ในอัตรา 1.5 กรัมของสารออกฤทธิ์ และกรรมวิธี T5 เมล็ดที่พอกด้วย captan ในอัตรา 2.0 กรัมของสารออกฤทธิ์ สามารถยับยั้งการเจริญของเส้นใยเชื้อรา *Pythium* spp. ได้ดีที่สุด (100 เปอร์เซ็นต์) แต่ไม่แตกต่างกันทางสถิติกับกรรมวิธี T8 เมล็ดที่พอกด้วย metalaxyl ในอัตรา 2.0 กรัมของสารออกฤทธิ์ ดังตารางที่ 1

ตารางที่ 1 การยับยั้งการเจริญของเส้นใยเชื้อรา *Pythium* spp. ของสารเคมีป้องกันเชื้อราชนิดต่าง ๆ

กรรมวิธี	การยับยั้งการเจริญเติบโตของเส้นใยเชื้อรา <i>Pythium</i> spp. (เปอร์เซ็นต์)
T3	85 ^b
T4	100 ^a
T5	100 ^a
T6	65 ^c
T7	87 ^b
T8	92 ^{ab}
F-test	**
CV (%)	7.14

หมายเหตุ: - ** และค่าเฉลี่ยที่กำกับด้วยตัวอักษรต่างกันในสดมภ์เดียวกันมีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p \leq 0.01$)

2. การตรวจสอบคุณภาพเมล็ดพันธุ์ดาวเรืองหลังผ่านการพอกเมล็ดร่วมกับสารเคมีป้องกันเชื้อราที่ชนิดและอัตราแตกต่างกัน

การตรวจสอบคุณภาพเมล็ดพันธุ์หลังผ่านการพอกเมล็ดพันธุ์ดาวเรืองด้วย captan และ metalaxyl ในสภาพห้องปฏิบัติการ พบว่ากรรมวิธี T6 เมล็ดที่พอกด้วย metalaxyl ในอัตรา 1.0 กรัมของสารออกฤทธิ์ มีการงอกรากและความเร็วในการงอกรากสูงกว่ากรรมวิธีอื่น (61 เปอร์เซ็นต์ และ 9.86 ต้นต่อวัน ตามลำดับ) แต่ไม่มีความแตกต่างกันทางสถิติกับกรรมวิธี T1 เมล็ดที่ไม่ผ่าน

การพอก (ชุดควบคุม) และกรรมวิธี T5 เมล็ดที่พอกด้วย captan ในอัตรา 2.0 กรัมของสารออกฤทธิ์ ส่วนกรรมวิธี T6 เมล็ดที่พอกด้วย metalaxyl ในอัตรา 1.0 กรัมของสารออกฤทธิ์ และกรรมวิธี T7 เมล็ดที่พอกด้วย metalaxyl ในอัตรา 1.5 กรัมของสารออกฤทธิ์ เปอร์เซ็นต์ความงอกของเมล็ดมีความแตกต่างกันทางสถิติ โดยกรรมวิธี T6 เมล็ดที่พอกด้วย metalaxyl ในอัตรา 1.0 กรัมของสารออกฤทธิ์ กรรมวิธี T7 เมล็ดที่พอกด้วย metalaxyl ในอัตรา 1.5 กรัมของสารออกฤทธิ์ และกรรมวิธี T3 เมล็ดที่พอกด้วย captan ในอัตรา 1.0 กรัมของสารออกฤทธิ์ มีความงอกสูงที่สุด (61 58 49 เปอร์เซ็นต์ ตามลำดับ) แต่ไม่มีความแตกต่างกันทางสถิติกับกรรมวิธี T1 เมล็ดที่ไม่ผ่านการพอก (ชุดควบคุม) กรรมวิธี T4 เมล็ดที่พอกด้วย captan ในอัตรา 1.5 กรัมของสารออกฤทธิ์ และกรรมวิธี T8 เมล็ดที่พอกด้วย metalaxyl ในอัตรา 2.0 กรัมของสารออกฤทธิ์ (35 38 57 เปอร์เซ็นต์ ตามลำดับ) ในขณะที่ความเร็วในการงอกไม่มีความแตกต่างกันทางสถิติ ดังตารางที่ 2

การตรวจสอบคุณภาพเมล็ดพันธุ์หลังผ่านการพอกเมล็ดพันธุ์ดาวเรืองด้วย captan และ metalaxyl ในสภาพเรือนทดลอง โดยตรวจสอบเปอร์เซ็นต์การโผล่พื้นดินของต้นกล้า พบว่ามีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ โดยกรรมวิธี T6 เมล็ดที่พอกด้วย metalaxyl ในอัตรา 1.0 กรัมของสารออกฤทธิ์ มีเปอร์เซ็นต์การโผล่พื้นดินสูงสุด และการพอกเมล็ดด้วยสารเคมี ยกเว้นกรรมวิธี T3 เมล็ดที่พอกด้วย captan ในอัตรา 1.0 กรัมของสารออกฤทธิ์ มีเปอร์เซ็นต์การโผล่พื้นดินสูงกว่ากรรมวิธี T1 เมล็ดที่ไม่ผ่านการพอก (ชุดควบคุม) และกรรมวิธี T2 เมล็ดที่พอกด้วยเวอร์มิคูไลท์ ความเร็วในการโผล่พื้นดิน พบว่ามีความแตกต่างกันทางสถิติ โดยกรรมวิธี T6 เมล็ดที่พอกด้วย metalaxyl ในอัตรา 1.0 กรัมของสารออกฤทธิ์ และกรรมวิธี T8 เมล็ดที่พอกด้วย metalaxyl ในอัตรา 2.0 กรัมของสารออกฤทธิ์ มีการโผล่พื้นดินมากกว่า (15 ต้นต่อวัน) และแตกต่างกันทางสถิติกับกรรมวิธี T1 เมล็ดที่ไม่ผ่านการพอก (ชุดควบคุม) แต่ไม่แตกต่างกันทางสถิติกับกรรมวิธี T4 เมล็ดที่พอกด้วย captan ในอัตรา 1.5 กรัมของสารออกฤทธิ์ กรรมวิธี T5 เมล็ดที่พอกด้วย captan ในอัตรา 2.0 กรัมของสารออกฤทธิ์ และกรรมวิธี T7 เมล็ดที่พอกด้วย metalaxyl ในอัตรา 1.5 กรัมของสารออกฤทธิ์ จากการตรวจสอบความงอกและความเร็วในการงอกมีผลสอดคล้องกัน คือ กรรมวิธี T3-T8 มีเปอร์เซ็นต์ความงอกสูง (23 25 25 28 25 และ 26 เปอร์เซ็นต์ ตามลำดับ) และงอกได้มากกว่า (2.75 2.51 2.47 2.77 2.41 และ 2.51 ต้นต่อวัน ตามลำดับ) กรรมวิธี T1 เมล็ดที่ไม่ผ่านการพอก (ชุดควบคุม) และกรรมวิธี T2 เมล็ดที่พอกด้วยเวอร์มิคูไลท์อย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ดังตารางที่ 2

ตารางที่ 2 ข้อมูลการงอกรากแรก ความเร็วในการงอกราก ความงอก ความเร็วในการงอก การไหล่พื้นดิน และความเร็วในการไหล่พื้นดินของเมล็ดพันธุ์ดาวเรือง หลังผ่านการพอกเมล็ดร่วมกับสารเคมีป้องกันเชื้อราในอัตราที่แตกต่างกัน เมื่อตรวจสอบในสภาพห้องปฏิบัติการและสภาพเรือนทดลอง

กรรมวิธี	สภาพห้องปฏิบัติการ				สภาพเรือนทดลอง			
	การงอกรากแรก (เปอร์เซ็นต์)	ความเร็วในการงอกราก (รากต่อวัน)	ความงอก (เปอร์เซ็นต์)	ความเร็วในการงอก (ต้นต่อวัน)	การไหล่พื้นดิน (เปอร์เซ็นต์)	ความเร็วในการไหล่พื้นดิน (ต้นต่อวัน)	ความงอก (เปอร์เซ็นต์)	ความเร็วในการงอก (ต้นต่อวัน)
T1	54 ^{a-d}	7.72 ^{bc}	35 ^{ab}	3.36	3 ^{cd}	0.56 ^{bc}	9 ^b	0.91 ^b
T2	47 ^{cd}	7.39 ^c	31 ^b	2.98	2 ^d	0.33 ^c	5 ^b	0.52 ^b
T3	49 ^{cd}	8.17 ^{a-c}	43 ^a	4.24	6 ^{b-d}	1.00 ^{bc}	23 ^a	2.27 ^a
T4	44 ^d	7.28 ^c	38 ^{ab}	3.66	11 ^{a-c}	1.78 ^{ab}	25 ^a	2.51 ^a
T5	57 ^{a-c}	9.17 ^{ab}	37 ^{ab}	3.64	9 ^{a-c}	1.56 ^{a-c}	25 ^a	2.47 ^a
T6	61 ^a	9.86 ^a	45 ^a	4.37	15 ^a	2.56 ^a	28 ^a	2.77 ^a
T7	58 ^{ab}	9.39 ^{ab}	45 ^a	4.39	11 ^{a-c}	1.78 ^{ab}	25 ^a	2.41 ^a
T8	57 ^{a-c}	9.00 ^{a-c}	39 ^{ab}	3.88	15 ^a	2.44 ^a	26 ^a	2.51 ^a
F-test	*	*	*	ns	**	*	**	**
CV (%)	7.13	10.93	10.30	16.46	29.29	9.76	15.13	10.79

หมายเหตุ: - * และค่าเฉลี่ยที่กำกับด้วยตัวอักษรต่างกันในสดมภ์เดียวกันมีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p \leq 0.05$)

- ** มีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญยิ่งทางสถิติ ($p \leq 0.01$)

- ns ไม่มีความแตกต่างกันทางสถิติ

3. การเปลี่ยนแปลงด้านการเจริญเติบโตของต้นกล้าดาวเรืองหลังผ่านการพอกเมล็ดร่วมกับสารเคมีป้องกันเชื้อราที่ชนิดและอัตราแตกต่างกัน

จากการตรวจสอบการเปลี่ยนแปลงด้านการเจริญเติบโตของต้นกล้าดาวเรืองหลังผ่านการพอกเมล็ดร่วมกับสารเคมีป้องกันเชื้อราที่ชนิดและอัตราแตกต่างกัน ในสภาพห้องปฏิบัติการและสภาพเรือนทดลอง จากการวัดความยาวต้นและน้ำหนักสดต้น พบว่าเมล็ดพันธุ์ดาวเรืองที่ผ่านการพอกร่วมกับสารเคมีป้องกันเชื้อรา captan และ metalaxyl ไม่มีความแตกต่างกันทางสถิติเมื่อเปรียบเทียบกับเมล็ดที่ผ่านการพอก ดังตารางที่ 3

ตารางที่ 3 ข้อมูลความยาวต้นและน้ำหนักสดต้นของต้นกล้าดาวเรือง หลังผ่านการพอกเมล็ดร่วมกับสารเคมีป้องกันเชื้อราในอัตราที่แตกต่างกัน เมื่อตรวจสอบในสภาพห้องปฏิบัติการและสภาพเรือนทดลอง

กรรมวิธี	สภาพห้องปฏิบัติการ		สภาพเรือนทดลอง	
	ความยาวต้น (เซนติเมตร)	น้ำหนักสดต้น (กรัม)	ความยาวต้น (เซนติเมตร)	น้ำหนักสดต้น (กรัม)
T1	3.39	0.17	5.39	0.37
T2	3.78	0.23	5.78	0.47
T3	3.61	0.27	5.61	0.43
T4	3.62	0.27	5.62	0.43
T5	3.58	0.33	5.58	0.43
T6	3.52	0.20	5.52	0.40
T7	3.35	0.13	5.35	0.33
T8	3.65	0.20	5.65	0.40
F-test	ns	ns	ns	ns
CV (%)	9.53	17.31	6.12	17.32

หมายเหตุ: - ns ไม่มีความแตกต่างกันทางสถิติ

4. การตรวจสอบการยับยั้งเชื้อราและควมมีชีวิตรอดของต้นกล้าดาวเรือง หลังผ่านการพอกเมล็ดร่วมกับสารเคมีป้องกันเชื้อราที่ชนิดและอัตราแตกต่างกัน

จากการตรวจสอบการยับยั้งเชื้อรา *Pythium* spp. ในระดับห้องปฏิบัติการ พบว่ากรรมวิธี T5 เมล็ดที่พอกด้วย captan ในอัตรา 2.0 กรัมของสารออกฤทธิ์ และกรรมวิธี T6 เมล็ดที่พอกด้วย metalaxyl ในอัตรา 1.0 กรัมของสารออกฤทธิ์ สามารถยับยั้งเชื้อรา *Pythium* spp. ได้มากกว่าและแตกต่างกันทางสถิติเมื่อเปรียบเทียบกับกรรมวิธี T1 เมล็ดที่ไม่ผ่านการพอก (ชุดควบคุม) และกรรมวิธี T2 เมล็ดที่พอกด้วยเวอร์มิคูไลท์ แต่ไม่มีความแตกต่างกันทางสถิติกับกรรมวิธี T7 เมล็ดที่พอกด้วย metalaxyl ในอัตรา 1.5 กรัมของสารออกฤทธิ์ และกรรมวิธี T8 เมล็ดที่พอกด้วย metalaxyl ในอัตรา 2.0 กรัมของสารออกฤทธิ์ และเมื่อตรวจสอบในสภาพเรือนทดลอง พบว่ากรรมวิธี T6 เมล็ดที่

พอกด้วย metalaxyl ในอัตรา 1.0 กรัมของสารออกฤทธิ์ มีต้นกล้าที่มีชีวิตรอดมากกว่ากรรมวิธีอื่น แต่ไม่แตกต่างกันทางสถิติกับกรรมวิธี T5 เมล็ดที่พอกด้วย captan ในอัตรา 2.0 กรัมของสารออกฤทธิ์ กรรมวิธี T7 เมล็ดที่พอกด้วย metalaxyl ในอัตรา 1.5 กรัมของสารออกฤทธิ์ และกรรมวิธี T8 เมล็ดที่พอกด้วย metalaxyl ในอัตรา 2.0 กรัมของสารออกฤทธิ์ ดังตารางที่ 4

ตารางที่ 4 ข้อมูลการตรวจสอบการยับยั้งการเจริญเติบโตของเส้นใยเชื้อรา *Pythium* spp. และการรอดชีวิตของต้นกล้าดาวเรือง หลังผ่านการพอกเมล็ดร่วมกับสารเคมีป้องกันเชื้อราในอัตราที่แตกต่างกัน เมื่อตรวจสอบในสภาพห้องปฏิบัติการและสภาพเรือนทดลอง

กรรมวิธี	สภาพห้องปฏิบัติการ	สภาพเรือนทดลอง
	การตรวจสอบการยับยั้งการเจริญเติบโตของเส้นใยเชื้อรา <i>Pythium</i> spp. (เปอร์เซ็นต์)	การรอดชีวิตของต้นกล้าดาวเรือง (เปอร์เซ็นต์)
T1	7 ^e	30 ^d
T2	14 ^d	43 ^c
T3	34 ^c	43 ^c
T4	44 ^{ab}	47 ^{bc}
T5	46 ^a	57 ^{ab}
T6	47 ^a	60 ^a
T7	42 ^{ab}	57 ^{ab}
T8	44 ^{ab}	57 ^{ab}
F-test	**	**
CV (%)	6.97	8.21

หมายเหตุ: - ค่าเฉลี่ยที่กำกับด้วยตัวอักษรต่างกันในสดมภ์เดียวกันมีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p \leq 0.05$)

- ** มีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p \leq 0.01$)

การอภิปรายผลการวิจัย

จากการศึกษาผลของการพอกเมล็ดพันธุ์ด้วย captan และ metalaxyl พบว่ามีผลของการยับยั้งเชื้อรา *Pythium* spp. ที่แตกต่างกัน เนื่องจากสารเคมี captan และ metalaxyl มีความสามารถในการยับยั้งการเจริญของเชื้อราที่ต่างกัน (อรพรรณ, 2552) โดย captan เป็นสารเคมีชนิดสัมผัส (contact fungicide) ไม่ดูดซึมเข้าสู่พืช แต่สามารถยับยั้งการเจริญเติบโตของเชื้อราบริเวณที่สัมผัสโดยตรง สามารถใช้ป้องกันก่อนที่พืชจะติดเชื้อ สารเคมีกลุ่มนี้มีประสิทธิภาพในการป้องกันกำจัดโรคได้อย่างกว้างขวางออกฤทธิ์ได้หลายจุด สามารถใช้ป้องกันก่อนที่พืชจะติดเชื้อ ส่งผลให้สารเคมี captan ในอัตรา 1.5 และ 2.0 กรัมของสารออกฤทธิ์ ที่ใช้ในการทดลองมีผลในการยับยั้งเชื้อรา *Pythium* spp. 100 เปอร์เซ็นต์ เนื่องจาก captan อยู่ในกลุ่มสารเคมี Phthalimide มีสารสำคัญ คือ N-(trichloromethylthio) cyclohex-4-ene-1,2-dicarboximide 50 เปอร์เซ็นต์โดยน้ำหนักต่อ

ปริมาณ ซึ่งจะมีปฏิกิริยากับสารประกอบไทออลสารประกอบที่มีกำมะถัน ไนโตรเจน และออกซิเจน ในเชื้อรา อีกทั้งยังส่งผลต่อการตกตะกอนของโปรตีนและเอนไซม์ ทำให้เชื้อราหยุดการเจริญเติบโต ในทันที โดยเฉพาะเชื้อในกลุ่มของเชื้อรา *Phytophthora* spp. *Pythium* spp. *Fusarium* spp. *Rhizoctonia* spp. และ *Sclerotium* spp. ส่วน metalaxyl เป็นสารเคมีชนิดดูดซึม (systemic fungicide) มีสารสำคัญ คือ (R)-2-[(2,6-dimethylphenyl)-methoxyacetyl amino] propionic acid methyl ester จึงทำให้ง่ายต่อการดูดซึมเข้าไปภายในเนื้อเยื่อพืช และสามารถเคลื่อนย้ายไปยังส่วนต่าง ๆ ของต้นพืชได้ แต่จะออกฤทธิ์ยับยั้งเชื้อราเพียงจุดใดจุดหนึ่ง ซึ่งสามารถรบกวนการสร้างสารเออร์โกสเตอรอล (ergosterol) ของเยื่อผนังเชื้อ รบกวนการสังเคราะห์และการทำงานของผนังเซลล์และเยื่อหุ้มเซลล์ของเชื้อราในบางจุด จึงเหมาะสำหรับพืชที่เพิ่งเริ่มเป็นโรค หรือเมื่ออาการของโรคยังไม่รุนแรง (ธรรมศักดิ์, 2528) จึงทำให้สารเคมี metalaxyl ที่ใช้ในการทดลองมีผลในการยับยั้งเชื้อราอยู่ระหว่าง 65-92 เปอร์เซ็นต์ (ตารางที่ 1)

เมื่อพิจารณาจากการพอกเมล็ดพันธุ์ดาวเรืองด้วย captan และ metalaxyl พบว่าสารเคมี ทั้ง 2 ชนิดไม่ส่งผลต่อคุณภาพเมล็ดพันธุ์เมื่อเปรียบเทียบกับเมล็ดที่ไม่ผ่านการพอก โดย captan เป็นสารเคมีชนิดสัมผัส มีประสิทธิภาพในการป้องกันกำจัดเชื้อราได้อย่างกว้างขวาง โดยการสัมผัสกับเชื้อโดยตรง ส่วนสารเคมี metalaxyl เป็นสารเคมีชนิดดูดซึม สามารถเคลื่อนย้ายไปส่วนต่าง ๆ ของต้นกล้าได้ เมื่อนำมาพอกร่วมกับเมล็ดทำให้การดูดซึมเข้าสู่ต้นกล้าและอาจเกิดความเสียหายให้กับต้นกล้าพืชได้ (แสงโสม, 2556; อภาพร และศุภลักษณ์, 2566) อีกทั้งการออกฤทธิ์ยังเป็นไปอย่างช้า ๆ และออกฤทธิ์เพียงจุดใดจุดหนึ่งจึงไม่ส่งผลต่อความงอก (พิสุทธิ, 2550) ความแข็งแรงของเมล็ดพันธุ์ เช่นเดียวกับการทดลองของจักรพงษ์ และเพชรรัตน์ (2563) จากการไพรม์เมล็ดร่วมกับการเคลือบเมล็ดพันธุ์ข้าวโพดหวานด้วย captan และ metalaxyl พบว่าการเคลือบเมล็ดด้วย metalaxyl ในอัตรา 0.5 และ 1.0 กรัมของสารออกฤทธิ์ ทำให้มีความเร็วในการงอก ความเร็วในการงอก และการเจริญเติบโตของต้นกล้าที่มากกว่าเมล็ดที่ไม่ผ่านการเคลือบ ส่วนการเคลือบด้วย captan ในอัตรา 0.5 กรัมของสารออกฤทธิ์ ทำให้การงอกของต้นกล้าดีที่สุด และจากการพอกเมล็ดพันธุ์ผักกาดหอมร่วมกับ captan และ metalaxyl มีความงอกและความเร็วในการงอกไม่แตกต่างทางสถิติกับเมล็ดที่ไม่ผ่านการพอก (พรทิพย์พา และคณะ, 2559)

จากการตรวจสอบการยับยั้งเชื้อราและความมีชีวิตรอดของเมล็ดพันธุ์ดาวเรืองหลังผ่านการพอกร่วมกับ captan และ metalaxyl พบว่า captan ในอัตรา 2.0 กรัมของสารออกฤทธิ์ สามารถยับยั้งเชื้อรา *Pythium* spp. ในระดับห้องปฏิบัติการ และความมีชีวิตรอดของเมล็ดพันธุ์ดาวเรืองในสภาพเรือนทดลองได้มากกว่าเมล็ดที่ไม่ผ่านการพอก เนื่องจากสารเคมี captan เป็นสารเคมีป้องกันราชนิด phthalimide ซึ่งเป็นสารป้องกันกำจัดราชนิด dicarboximide โดยจะปลดปล่อยสารออกฤทธิ์ออกมาในรูป tetrahydrophthalimide tetrahydrophthalic acid และ 3 โมเลกุลของคลอไรด์ (Cl⁻) มีผลออกฤทธิ์ในทางป้องกันก่อนที่เมล็ดจะติดเชื้อโรคชนิดต่าง ๆ สามารถยับยั้งการเจริญของเชื้อราในบริเวณที่ captan สัมผัสโดยตรง (Lersel and Bugbee, 1996) และจากรายงานของจักรพงษ์ และคณะ (2558) พบว่าการพอกเมล็ดพันธุ์ยาสูบด้วย captan ในอัตรา 6.0 และ 2.0 กรัมของสารออกฤทธิ์ สามารถยับยั้งเชื้อรา *Pythium* spp. ได้ดีที่สุดในการตรวจสอบในห้องปฏิบัติการและในเรือนทดลอง โดยยับยั้งได้ดีที่สุดเมื่อต้นกล้าอายุ 16 และ 30 วัน ส่วนการพอกเมล็ดพันธุ์ดาวเรืองร่วมกับ

metalaxyl ทุกอัตราสามารถยับยั้งเชื้อรา *Pythium* spp. ในระดับห้องปฏิบัติการและควมมีชีวิตรอดของเมล็ดพันธุ์ดาวเรืองในสภาพเรือนทดลองได้มากกว่าเมล็ดที่ไม่ผ่านการพอก เนื่องจาก metalaxyl เป็นสารเคมีป้องกันเชื้อราประเภทดูดซึม สามารถดูดซึมเข้าสู่ต้นกล้าได้ขณะที่กำลังงอก เหมาะสำหรับใช้ป้องกันโรคพืชในระยะที่อาการของโรคยังไม่รุนแรง (พิสุทธิ, 2550) ซึ่ง metalaxyl มีสารสำคัญ คือ Phenylamide (R)-2-[(2,6-dimethylphenyl)-methoxyacetyl amino] propionic acid methyl ester ซึ่งเป็นส่วนประกอบที่เป็นพิษต่อเชื้อราก่อโรคที่เป็นเชื้อราชั้นต่ำที่อาศัยอยู่ในน้ำ มีเส้นใยเป็นแบบไม่มีผนังกันตามขวาง (oomycetous phytopathogens) เช่น *Pythium* และ *Phytophthora* เป็นต้น (Filonow and Jackson, 1989) สอดคล้องกับรายงานผลการวิจัยของวรรณวิไล และคณะ (2544) รายงานว่าการคลุกเมล็ดด้วย metalaxyl ในอัตรา 0.1 เปอร์เซ็นต์ โดยน้ำหนัก สามารถควบคุมโรคเนาระดับดินสาเหตุจากเชื้อรา *P. aphanidermatum* และไม่ส่งผลกระทบต่อคุณภาพการงอกของเมล็ดพันธุ์คะน้า

สรุปผลการวิจัย

จากผลการทดสอบการยับยั้งการเจริญของเส้นใยเชื้อรา *Pythium* spp. พบว่า captan ในอัตรา 1.5 และ 2.0 กรัมของสารออกฤทธิ์ มีการยับยั้งเส้นใยมากที่สุด 100 เปอร์เซ็นต์ ส่วนการตรวจสอบความงอกและความแข็งแรงในสภาพห้องปฏิบัติการ พบว่าเมล็ดที่พอกร่วมกับ captan ในอัตรา 1.0 กรัมของสารออกฤทธิ์ metalaxyl ในอัตรา 1.0 และ 1.5 กรัมของสารออกฤทธิ์ มีความงอกและความแข็งแรงมากกว่ากรรมวิธีอื่น ส่วนการตรวจสอบความงอกในสภาพเรือนทดลอง พบว่าเมล็ดที่พอกร่วมกับ captan และ metalaxyl ทุกอัตรามีความงอกมากกว่าเมล็ดที่ไม่ผ่านการพอก ส่วนการตรวจสอบการยับยั้งเชื้อราและควมมีชีวิตรอดของต้นกล้าดาวเรือง หลังผ่านการพอกเมล็ดร่วมกับ captan และ metalaxyl อัตราแตกต่างกัน พบว่าการพอกเมล็ดร่วมกับ captan ในอัตรา 2.0 กรัมของสารออกฤทธิ์ และ metalaxyl ในอัตรา 1.0 กรัมของสารออกฤทธิ์ สามารถยับยั้งเชื้อรา *Pythium* spp. ได้มากกว่ากรรมวิธีอื่น และเมล็ดที่พอกร่วมกับ metalaxyl ในอัตรา 1.0 กรัมของสารออกฤทธิ์ มีต้นกล้าที่มีชีวิตรอดมากกว่ากรรมวิธีอื่น

ดังนั้นจึงสรุปได้ว่าการพอกเมล็ดพันธุ์ดาวเรืองร่วมกับ metalaxyl ในอัตรา 1.0 กรัมของสารออกฤทธิ์ ทำให้เมล็ดมีความงอกและ metalaxyl ในอัตรา 1.0 กรัมของสารออกฤทธิ์ มีปริมาณเพียงพอในการยับยั้งเชื้อราในระดับห้องปฏิบัติการและสภาพเรือนทดลองได้ดีสูงกว่าวิธีการอื่น ๆ จึงเป็นอัตราแนะนำสำหรับนำไปใช้เพื่อยกระดับคุณภาพเมล็ดพันธุ์ดาวเรืองสำหรับเตรียมการเพาะปลูกต่อไป

เอกสารอ้างอิง

- กรมส่งเสริมการเกษตร. (2556). การปลูกดาวเรือง. สืบค้นเมื่อ 28 พฤศจิกายน 2566, จาก: https://agkb.lib.ku.ac.th/doae/search_detail/result/282222.
- ขวัญหทัย มวลสุข สุติดา จินกลาง และอนันตกร สุนทรพิทักษ์. (2561). การศึกษาการเจริญเติบโตของดาวเรือง “พาวเวอร์โกลด์” โดยใช้วัสดุปลูกที่มีส่วนผสมของก้อนเชื้อเห็ดเก่า. วารสารวิจัยวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยี มหาวิทยาลัยราชภัฏนครราชสีมา, 3(2), 1-6.

- จักรพงษ์ กางโสภา และเพชรรัตน์ จีเพชร. (2563). ผลของการไพรมเมล็ดพันธุ์ร่วมกับการเคลือบเมล็ดด้วย captan และ metalaxyl ต่อความงอกและการเจริญเติบโตของต้นกล้าข้าวโพดหวาน ลูกผสม. *แก่นเกษตร*, 48(ฉบับพิเศษ 1), 305-310.
- จักรพงษ์ กางโสภา อนันต์ วงเจริญ และบุญมี ศิริ. (2558). การพอกเมล็ดพันธุ์ร่วมกับสารป้องกันเชื้อราเพื่อยับยั้งเชื้อรา *Pythium* spp. ในระยะต้นกล้าของยาสูบ. *แก่นเกษตร*, 43(4), 717-728.
- ญาณิษฐ์ กล่ำบุรี พิมพ์ชนก จันทรน้อย ภาณุพันธ์ แดงนิล รุ่งฟ้า จินแส นงลักษณ์ คงศิริ เฉลิมพล ภูมิไชย์ และราตรี บุญเรืองรอด. (2562). การถ่ายทอดลักษณะสีกลีบดอกในดาวเรืองฝรั่งเศส. *วารสารพืชศาสตร์สงขลานครินทร์*, 6(2), 1-6.
- ธรรมศักดิ์ สมมาตรย์. (2528). *สารเคมีป้องกันกำจัดโรคพืช*. (พิมพ์ครั้งที่ 2). กรุงเทพฯ: สำนักหอสมุดมหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์.
- ปัทมาวดี คุณวัลลี เทวี มณีรัตน์ และกนกวัน พลอดจินดา. (2566). ผลของการเตรียมความพร้อมเมล็ดพันธุ์มะเขือเทศด้วย *Bacillus subtilis* ต่อความงอกของเมล็ดและการรอดชีวิตของต้นกล้าในโรงเรือนที่เคยมีการระบาดของโรคเหี่ยวเหี่ยว. *วารสารเกษตรและอาหาร มรวอ.*, 2(1), 22-28.
- พรทิพย์พา หาระโคตร จักรพงษ์ กางโสภา และบุญมี ศิริ. (2559). ผลของการพอกเมล็ดร่วมกับ metalaxyl และ captan ต่อคุณภาพเมล็ดพันธุ์ผักกาดหอม. ใน *รายงานการประชุมทางวิชาการเมล็ดพันธุ์แห่งชาติ ครั้งที่ 13* (หน้า 54-66). สุรินทร์: มหาวิทยาลัยเทคโนโลยีราชมงคลอีสาน.
- พิสุทธิ์ เอกอำนวย. (2550). *โรคและแมลงของพืชเศรษฐกิจที่สำคัญ*. เชียงใหม่: สวนสัตว์แมลงสยาม.
- วนิดา ชื่นชื่น สุกันยา รักษาสรณ์น้อย สมศักดิ์ อยู่บริบูรณ์ และวรรณกร กิจจะ. (2562). การยับยั้งเชื้อรา *Phytophthora parasitica* ด้วยเชื้อราปฏิปักษ์ที่แยกได้จากดินในเขตพื้นที่ตำบลกุ่มบุรี จังหวัดประจวบคีรีขันธ์. *วารสารวิทยาศาสตร์ลาดกระบัง*, 28(1), 53-64.
- วรรณวิไล อินหนู จิระเดช แจ่มสว่าง ภาณี ทองพำนัก และวุฒิชัย ทองดอนแอ. (2544). การทดสอบประสิทธิภาพของเชื้อรา *Gliocladium virens* ที่เคลือบเมล็ดผักคะน้าในการป้องกันโรคเน่าระดับดินของต้นกล้า. *รายงานการประชุมวิชาการ ครั้งที่ 39* (หน้า 243-252). กรุงเทพฯ: มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์.
- แสงโถม ศิริพานิช. (2556). สถานการณ์และผลต่อสุขภาพจากสารเคมีป้องกันกำจัดศัตรูพืช ปีพ.ศ. 2556. *สำนักกระบวนวิชา กรมควบคุมโรคกระทรวงสาธารณสุข*, 44(44), 689-692.
- อภาพร โพธิ์ยอด และศุภลักษณ์ สัตยสมิตสถิต. (2566). ประสิทธิภาพของสารกำจัดเชื้อราในการยับยั้งการเจริญของเชื้อรา *Phomopsis* sp. สาเหตุโรคเมล็ดเน่าโพมอปซิสในถั่วเหลือง. *Khon Kaen Agriculture Journal*, (suppl 1), 643-667.
- อมรรัตน์ ภูไพบูลย์ และพีระวรรณ วัฒนวิภาส. (2552). สำรวจ รวบรวม และจำแนกราย *Pythium* สาเหตุโรคพืช. *รายงานผลงานวิจัยและพัฒนา*. กรมวิชาการเกษตร.
- อรพรรณ วิเศษสังข์. (2552). *คู่มือการเลือกใช้สารป้องกันกำจัดโรคพืช*. กรุงเทพฯ: กรมวิชาการเกษตร.
- Adaskaveg, J.E., Michailides, T. and Eskalen, A. (2022). *Fungicides, bactericides, biocontrols, and natural products for deciduous tree fruit and nut, citrus, strawberry, and vine crops in California*. California: University of California.

- Filonow, A.B. and Jackson, K.E. (1989). Effect of metalaxyl plus PCNB or metalaxyl plus tolclofos-methyl on peanut pod rot and soil populations of *Pythium spp.* and *Rhizoctonia solani*. *Peanut Science*, 16(1), 25-32, doi: <https://doi.org/10.3146/i0095-3679-16-1-6>.
- Grover, R.K. and Moore, J.D. (1962). Toxicometric studies of fungicides against brown rot organisms *Sclerotinia fructicola* and *S. laxa*. *Phytopathology*, 52(9), 876-880.
- Gurjar, P., Meena, L. and Verma, A.K. (2019). Diseases of marigold (*Tagetes erecta*) and their management: A review. *International Journal of Advanced Scientific Research and Management*, 4(4), 137-144.
- International Seed Testing Association (ISTA). (2022). *International rules for seed testing*. Zürich: Bassersdorf.
- Lersel, M.W. and Bugbee, B. (1996). Phytotoxic effects of fungicides on bedding plants. *Journal of the American Society for Horticultural Science*, 121(6), 1095-1102, doi: <https://doi.org/10.21273/JASHS.121.6.1095>.
- Lu, P., Aimonino, D.R., Gilardi, G., Gullino, M.L. and Garibaldi, A. (2010). Efficacy of different steam distribution systems against five soilborne pathogens under controlled laboratory conditions. *Phytoparasitica*, 38(2), 175-189, doi: <https://doi.org/10.1007/s12600-010-0086-8>.
- Sharma, K.K., Singh, U.S., Sharma, P., Kumar, A. and Sharma, L. (2015). Seed treatments for sustainable agriculture-A review. *Journal of Applied and Natural Science*, 7(1), 521-539, doi: <https://doi.org/10.31018/jans.v7i1.641>.
- Taylor, A.G., Allen, P.S., Bennett, M.A., Bradford, K.J. and Misra, M.K. (1998). Seed enhancements. *Seed Science Research*, 8, 245-256, doi: <https://doi.org/10.1017/S0960258500004141>.

พินทลภัส ทิพย์โพธิ์¹ และปริญญา สีสานันท์^{1*}
Pinlapas Thippo¹ and Parinya Seelanan^{1*}

การวิจัยนี้มีจุดประสงค์เพื่อศึกษาความสัมพันธ์ระหว่างปัจจัยของระยะเวลากับการคงอยู่ และคุณภาพของรอยลายนิ้วมือแฝงบนพื้นผิวไม่มีรูพรุนในสภาพแวดล้อมที่แตกต่างกัน โดยทำการคงอยู่ของรอยลายนิ้วมือแฝงบนพื้นผิววัตถุ 7 ชนิด ประกอบด้วย แก้วน้ำ กระຈกเงา กระป๋องน้ำอัดลม ขวดน้ำพลาสติก คอมแพคตดีสค์ ลูกบิดประตู และมีด รวมถึงเพื่อเปรียบเทียบคุณภาพรอยลายนิ้วมือแฝงที่เก็บไว้ในสภาพแวดล้อมภายในอาคารและภายนอกอาคาร ซึ่งระยะเวลาที่ใช้ทดลองการเก็บรอยลายนิ้วมือแฝง คือ 1 วัน 1 2 3 และ 4 สัปดาห์ โดยใช้วิธีการปิดผงฝุ่นดำในการเก็บรอยลายนิ้วมือแฝง และให้คะแนนจากการนับจุดลักษณะสำคัญพิเศษโดยผู้ชำนาญการ ผลการวิจัยพบว่ารอยลายนิ้วมือแฝงที่ถูกประทับลงบนวัตถุตัวอย่างเมื่อระยะเวลาผ่านไปจะมีการคงอยู่ของรอยลายนิ้วมือแฝงลดลง โดยรอยลายนิ้วมือแฝงที่ถูกจัดเก็บไว้ในสภาพแวดล้อมภายในอาคารมีอัตราการลดลงของการคงอยู่ของรอยลายนิ้วมือแฝงน้อยกว่ารอยลายนิ้วมือแฝงที่ถูกจัดเก็บไว้ในสภาพแวดล้อมภายนอกอาคาร ซึ่งการตรวจเก็บรอยลายนิ้วมือแฝงจากสภาพแวดล้อมภายในอาคารจะให้คุณภาพของรอยลายนิ้วมือแฝงอยู่ในคุณภาพดีกว่าการตรวจเก็บรอยลายนิ้วมือแฝงจากสภาพแวดล้อมภายนอกอาคาร ซึ่งกระຈกเงาสามารถตรวจรอยลายนิ้วมือแฝงได้คุณภาพดีที่สุดทั้งสภาพแวดล้อมภายในอาคารและภายนอกอาคาร โดยระดับคุณภาพของรอยลายนิ้วมือแฝงไม่แตกต่างกันหลังจากทิ้งรอยประทับไว้เป็นระยะเวลาถึง 4 สัปดาห์ ส่วนกระป๋องน้ำอัดลมได้รอยลายนิ้วมือแฝงที่มีคุณภาพต่ำทั้งสองสภาพแวดล้อม ผลการวิจัยเบื้องต้นแสดงให้เห็นว่าสภาพแวดล้อมและชนิดของวัตถุส่งผลต่อระยะเวลาการคงอยู่ของรอยลายนิ้วมือแฝง แต่ช่วงเวลายังไม่พบความแตกต่างที่เห็นได้อย่างชัดเจน

¹ สาขาวิชานิติวิทยาศาสตร์ คณะนิติวิทยาศาสตร์ โรงเรียนนายร้อยตำรวจ

* Corresponding author e-mail: parinya.se@rpca.ac.th

Received: 9 January 2024, Revised: 26 August 2024, Accepted: 2 September 2024

Abstract

This research aimed to study the relationship between a period time with the persistence factors and quality of latent fingerprints on non-porous surfaces in different environments which was an experimental study. The study was conducted to determine the persistence of latent fingerprints on the surfaces of 7 types of substrates: glass, mirror, soft drinks cans, plastic bottles, compact discs, doorknobs, and knives, as well as to compare the quality of latent fingerprints collected in indoor and outdoor environments. The experimental periods for collecting latent fingerprints were 1 day, 1, 2, 3, and 4 weeks. Using the black powder method to collect latent fingerprints and scoring them by counting special characteristics by experts. The results of the research found that the latent fingerprint imprinted on the sample object will have a decrease in the persistence of the latent fingerprint over time. The latent fingerprint stored in an indoor environment has a lower decrease in the persistence rate than the latent fingerprint stored in an outdoor environment. The collection of latent fingerprints from indoor environments will provide better quality of latent fingerprints than the collection of latent fingerprints from outdoor environments. The mirror can detect the best quality of latent fingerprints in both indoor and outdoor environments. The quality of the latent fingerprints is not different after leaving the imprint for 4 weeks. While the soft drink cans have low quality latent fingerprints in both environments. The preliminary results show that the environment and the type of object affect the duration of the latent fingerprints, but the duration is not clearly different.

Keywords: Latent fingerprint, Non-porous surface, Persistence, Different conditions, Fingerprint black powder

บทนำ

ในปัจจุบัน พยานหลักฐานทางนิติวิทยาศาสตร์มีบทบาทสำคัญต่อกระบวนการยุติธรรมมากยิ่งขึ้น เนื่องจากส่งผลต่อการสืบสวน สอบสวน รวมถึงสามารถนำมาประกอบการพิจารณาตีความในชั้นศาลได้ “ลายนิ้วมือ” เป็นพยานหลักฐานทางนิติวิทยาศาสตร์ที่ถือว่ามีความสำคัญไม่น้อยไปกว่าพยานหลักฐานด้านอื่น ๆ วัตถุพยานประเภทลายนิ้วมือ ฝ่ามือ รวมถึงฝ่าเท้า มีประวัติความเป็นมาโดยมีการศึกษาค้นคว้าทางวิทยาศาสตร์และสังเกตมาอย่างยาวนาน ลายนิ้วมือเป็นลักษณะทางกายชนิดหนึ่งที่ใช้ระบุเอกลักษณ์เฉพาะบุคคลที่ค่อนข้างแน่นอน (Kücken and Newell, 2005) ด้วยลักษณะลายเส้นที่ปรากฏบนลายนิ้วมือของแต่ละบุคคลไม่เหมือนกัน (uniqueness) มีลักษณะเฉพาะพิเศษในแต่ละบุคคล อีกประการคือลายนิ้วมือจะไม่เปลี่ยนแปลงตั้งแต่เกิดจนกระทั่งตาย (permanence) สำหรับสถิติโอกาสที่บุคคลจะมีลายนิ้วมือเหมือนกันมีประมาณ 1 ใน 6 หมื่นล้าน

(ณัฐริรา, 2555) ในขณะที่ข้อมูลทางพันธุกรรมมีโอกาสเปลี่ยนแปลงได้ หรือลักษณะของฝาแฝดแท้ที่อาจจะมียีนสารพันธุกรรม (DNA) ตรงกัน

ลายนิ้วมือมีส่วนที่เป็นร่อง (furrow) และสันหรือส่วนนูน (ridge) ส่วนนูนมีแนวรูเหงื่อ ซึ่งเป็นปากของต่อมเหงื่อที่มีความห่างต่อกันเป็นระยะเท่า ๆ กัน โดยเส้นนูนเรียงเต็มพื้นที่ใช้ประโยชน์ในการหยิบจับวัตถุ ช่วยเพิ่มความหนืดไม่ให้วัตถุลื่นหลุดออกจากมือ และรูเหงื่อบนนิ้วมือที่ช่วยให้เหงื่อไหลออกมาจากร่างกาย ดังนั้นเมื่อมือสัมผัสหรือจับไปยังวัตถุลายเส้นนูนที่ขึ้นด้วยเหงื่อจะถูกระคายลงบนวัตถุ ทำให้เกิดร่องรอยและทิ้งลายเส้นบนลายนิ้วมือไปยังพื้นผิวของวัตถุนั้น โดยหากทำการเก็บร่องรอยลายนิ้วมือบนวัตถุนั้น ๆ ออกมา จะเรียกร่องรอยลายนิ้วมือที่เก็บได้ว่า ร่องรอยลายนิ้วมือแฝง หรือ latent fingerprint (Bleay *et al.*, 2018) ในลายนิ้วมือแฝงของแต่ละบุคคลนั้น จะปรากฏจุดลักษณะสำคัญพิเศษ (minutiae) ที่แตกต่างกัน ซึ่งเป็นส่วนสำคัญที่สามารถนำไปใช้เพื่อตรวจพิสูจน์ยืนยันตัวบุคคลในกระบวนการทางพิสูจน์หลักฐานได้ การตรวจเก็บร่องรอยลายนิ้วมือแฝงจะขึ้นอยู่กับลักษณะพื้นผิวของวัตถุ วิธีการเก็บลายนิ้วมือมีด้วยกันหลายวิธี เช่น การใช้ผงฝุ่น การใช้วิธีการทางเคมี การใช้วิธีการทางฟิสิกส์ วิธีการถ่ายภาพ ฯลฯ หรืออาจใช้หลายวิธีร่วมกัน หากไม่มีเทคนิคหรือวิธีการเหมาะสมในการเก็บร่องรอยลายนิ้วมือแฝง อาจจะทำให้ร่องรอยลายนิ้วมือเสียหายจนสูญเสียพยานหลักฐานที่มีคุณค่าไป

ปัจจัยที่ส่งผลกระทบต่อคงอยู่ของร่องรอยลายนิ้วมือแฝง (ศิริรัตน์, 2556) ได้แก่

1. องค์ประกอบของร่องรอย (composition of the deposit)
2. ปริมาณของร่องรอยดังกล่าว ซึ่งประกอบด้วย การหลังของเหงื่อและแรงกด (amount of matter deposited)
3. พื้นผิวที่สัมผัส แบ่งเป็น 3 ประเภท คือ พื้นผิวมีรูพรุน พื้นผิวไม่มีรูพรุน และพื้นผิวกึ่งรูพรุน (receiving surface)
4. ตำแหน่งที่มีการสะสมร่องรอย (position deposited)
5. สภาพแวดล้อม (environmental conditions)
6. เวลา (time)

โดยส่วนใหญ่ร่องรอยนิ้วมือที่พบจากสถานที่เกิดเหตุมักเป็นร่องรอยลายนิ้วมือแฝงมากกว่าร่องรอยลายนิ้วมือที่เห็นด้วยตาเปล่า และมักมีคุณภาพของร่องรอยลายนิ้วมือแฝงที่แตกต่างกัน เนื่องจากตรวจเก็บจากสภาพแวดล้อมที่ต่างกัน คุณภาพของร่องรอยลายนิ้วมือแฝงขึ้นอยู่กับหลายปัจจัย อาทิ พื้นผิวที่สัมผัส สภาพแวดล้อม หรือระยะเวลา เป็นต้น จากความสำคัญข้างต้น การศึกษาความสัมพันธ์ระหว่างปัจจัยของระยะเวลากับการคงอยู่และคุณภาพของร่องรอยลายนิ้วมือแฝงบนพื้นผิวไม่มีรูพรุน จึงเป็นอีกปัจจัยสำคัญและสามารถใช้เป็นแนวทางในการตรวจเก็บพยานหลักฐานได้ ร่องรอยลายนิ้วมือแฝงที่มักพบได้บ่อยส่วนใหญ่เป็นรอยที่ถูกประทับบนวัตถุพยานชนิดไม่มีรูพรุน อาทิ แก้วน้ำ กระดาษ หรือ ไม้ ฯลฯ ดังนั้นเพื่อให้ได้การตรวจเก็บร่องรอยลายนิ้วมือแฝงที่มีประสิทธิภาพและสามารถใช้ในการตรวจเปรียบเทียบยืนยันตัวบุคคลได้ เป็นประโยชน์สำหรับการตรวจเก็บวัตถุพยานที่เป็นร่องรอยลายนิ้วมือแฝงในสถานที่เกิดเหตุสภาพแวดล้อมต่างกัน รวมถึงเพื่อนำผลที่ได้ไปเป็นแนวทางในการรักษาวัตถุพยานหรือเก็บวัตถุพยานอย่างทันทั่วถึง งานวิจัยนี้จึงศึกษาปัจจัยที่สำคัญซึ่งส่งผลกระทบต่อคงอยู่และคุณภาพของร่องรอยลายนิ้วมือแฝง 2 ปัจจัย คือ ระยะเวลาที่แตกต่างกัน (1 วัน 1 2 3 และ 4 สัปดาห์) และสภาพแวดล้อมที่แตกต่างกัน (สภาพแวดล้อมภายในอาคารและภายนอกอาคาร)

วิธีดำเนินการวิจัย

งานวิจัยนี้เป็นการศึกษาความสัมพันธ์ระหว่างปัจจัยของระยะเวลากับการคงอยู่และคุณภาพของรอยลายนิ้วมือแฝงบนพื้นผิวไม่มีรูพรุนในสภาพแวดล้อมที่แตกต่างกัน ขั้นตอนการเตรียมตัวอย่างทำโดยให้อาสาสมัครประทับนิ้วมือโดยควบคุมแรงกดลงบนวัตถุตัวอย่างที่ไม่มีรูพรุน จากนั้นนำไปเก็บรักษาในสภาพแวดล้อมภายในอาคารและภายนอกอาคาร ตรวจสอบรอยลายนิ้วมือแฝงโดยผงฝุ่นดำที่ระยะเวลา 1 วัน 1 2 3 และ 4 สัปดาห์ มีรายละเอียด ดังนี้

1. การเตรียมตัวอย่าง

- 1.1 อาสาสมัคร เพศหญิง อายุ 25 ปี เป็นผู้ประทับรอยลายนิ้วมือ
- 1.2 เตรียมวัตถุพื้นผิวชนิดไม่มีรูพรุนตัวอย่างที่ใช้ในการทดลอง จำนวน 7 ชนิด คือ แก้วน้ำ กระชกเงา กระป๋องน้ำอัดลม ขวดน้ำพลาสติก คอมแพคต์ดิสก์ ลูกบิดประตู และมีด ตัวอย่างละ 10 ชิ้น เพื่อแบ่งออกเป็น 2 กลุ่ม โดย 5 ชิ้นแรกจัดเก็บไว้ที่สภาพแวดล้อมภายในอาคาร (กลุ่ม 1) และอีก 5 ชิ้นหลังจัดเก็บไว้ที่สภาพแวดล้อมภายนอกอาคาร (กลุ่ม 2)
- 1.3 สารเคมีสำหรับตรวจสอบรอยลายนิ้วมือแฝง คือ ผงฝุ่นดำ (ยี่ห้อ police science ขนาด 70 กรัม) อุปกรณ์และเครื่องมือสำหรับการวิจัย ได้แก่ แปรงชนกระต่าย กระดาษเก็บรอยลายนิ้วมือแฝงสีขาว เทปใส (3M, scotch tape) กล่องส่องขยายสำหรับการตรวจสอบรอยลายนิ้วมือแฝง
- 1.4 ให้อาสาสมัครที่ไม่ผ่านการล้างมือและเช็ดมือเป็นระยะเวลาอย่างน้อย 1 ชั่วโมง ประทับนิ้วหัวแม่มือขวาสัมผัสใบหน้าบริเวณที่โชนที่มีไขมันติดอยู่ทุกครั้งก่อนประทับรอยลายนิ้วมือ จากนั้นนำนิ้วหัวแม่มือดังกล่าวประทับรอยลายนิ้วมือลงบนวัตถุตัวอย่างที่เตรียมไว้ทั้ง 7 ชนิด กดแรงลงประมาณ 10-15 กรัม บนวัตถุฐานประมาณ 30 วินาที ต่อแต่ละชนิดตัวอย่าง และเว้นระยะเวลาการประทับแต่ละตัวอย่างห่างกัน 5 นาที ต่อ 1 ตัวอย่าง จากนั้นจัดเก็บกลุ่มตัวอย่าง 5 ชิ้น ไว้ภายในอาคารที่อุณหภูมิ 25 องศาเซลเซียส และตัวอย่าง 5 ชิ้น ไว้ภายนอกอาคารที่อุณหภูมิระหว่าง 35-40 องศาเซลเซียส โดยทำการทดลองซ้ำ 3 ครั้ง

2. การตรวจสอบลายนิ้วมือแฝง

- 2.1 ทำการตรวจสอบลายนิ้วมือแฝงโดยการใช้แปรงปิดลายนิ้วมือแฝง จุ่มลงบนผงฝุ่นสีดำเล็กน้อย จากนั้นนำแปรงปิดผงฝุ่นไปปิดรอยลายนิ้วมือบนพื้นผิวจนลายเส้นปรากฏ และใช้เทปใสลอกรอยลายนิ้วมือที่ปรากฏออกมา นำมาติดลงบนกระดาษสีขาว จากกลุ่มตัวอย่างทั้ง 5 กลุ่มที่เก็บภายในอาคาร กำหนดระยะเวลาเก็บรักษาตัวอย่าง 1 วัน 1 2 3 และ 4 สัปดาห์ ตามลำดับ
- 2.2 ทำการทดลองตรวจสอบลายนิ้วมือแฝงโดยการปิดผงฝุ่นสีดำ และใช้เทปใสลอกลายนิ้วมือแฝงติดลงบนกระดาษสีขาว จากกลุ่มตัวอย่างทั้ง 5 กลุ่ม ที่เก็บภายนอกอาคาร กำหนดระยะเวลาเก็บรักษาตัวอย่าง 1 วัน 1 2 3 และ 4 สัปดาห์ ตามลำดับ
- 2.3 บันทึกข้อมูลโดยการถ่ายภาพด้วยกล้องถ่ายรูปดิจิทัล ยี่ห้อ Fujifilm รุ่น X-A1
- 2.4 ส่งรอยลายนิ้วมือแฝงที่ตรวจสอบได้ให้ผู้ชำนาญด้านการตรวจสอบลายนิ้วมือแฝงระดับชำนาญการทำการตรวจพิสูจน์โดยทำการนับจุดลักษณะสำคัญพิเศษ ณ สำนักงานพิสูจน์หลักฐานตำรวจ
- 2.5 ทำการวิเคราะห์ข้อมูลโดยผู้เชี่ยวชาญทางด้านการตรวจสอบลายนิ้วมือแฝงเป็นผู้ทำการวิเคราะห์เชิงคุณภาพ โดยเกณฑ์การแปลค่าคะแนนเฉลี่ยของจำนวนจุดลักษณะสำคัญพิเศษบนรอยลายนิ้วมือแฝงที่ได้ออกเป็นช่วงระดับ จำนวน 5 ระดับ ดังนี้

ระดับคะแนน 0 ไม่ปรากฏลายเส้นของลายนิ้วมือแฝงบนวัตถุตัวอย่าง

ระดับคะแนน 1 รอยลายนิ้วมือแฝงบนวัตถุตัวอย่างมีลายเส้นเลอะเลือน ไม่สามารถบอกรูปแบบของลายนิ้วมือแฝงได้ ปรากฏลายเส้นของลายนิ้วมือแฝงน้อยมาก

ระดับคะแนน 2 ปรากฏรอยลายนิ้วมือแฝงเห็นลายเส้นชัดเจนเป็นบางส่วน มีจุดลักษณะสำคัญพิเศษน้อยกว่า 5 จุด ไม่เพียงพอต่อการตรวจพิสูจน์เพื่อยืนยันตัวบุคคล

ระดับคะแนน 3 ปรากฏรอยลายนิ้วมือแฝงที่เห็นลายเส้นชัดเจน เห็นรูปแบบของรอยลายนิ้วมือแฝง มีจุดลักษณะสำคัญพิเศษระหว่าง 6-10 จุด สามารถใช้ตรวจเปรียบเทียบเพื่อยืนยันบุคคลได้

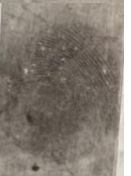
ระดับคะแนน 4 ปรากฏรอยลายนิ้วมือแฝงที่เห็นลายเส้นชัดเจน เห็นรูปแบบของรอยลายนิ้วมือแฝง มีจุดลักษณะสำคัญพิเศษมากกว่า 12 จุดขึ้นไป สามารถใช้ตรวจเปรียบเทียบเพื่อยืนยันบุคคลได้

ผลการวิจัย

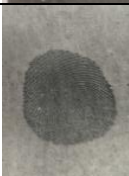
1. การปรากฏขึ้นของรอยลายนิ้วมือแฝงบนวัตถุพื้นผิวไม่มีรูพรุนที่ระยะเวลาและสภาพแวดล้อมที่ต่างกัน

การปรากฏขึ้นของรอยลายนิ้วมือแฝงจากวัตถุทั้ง 7 ชนิด ได้แก่ แก้วน้ำ กระจกเงา กระจกน้ำอัดลม ขวดน้ำพลาสติก คอมแพคตดีสก์ ลูกบิดประตู และมีด เก็บรอยลายนิ้วมือแฝงตามระยะเวลาที่กำหนด คือ 1 วัน 1 2 3 และ 4 สัปดาห์ โดยเก็บจากสภาพแวดล้อมภายในอาคารและภายนอกอาคาร ดังตารางที่ 1 ซึ่งแสดงให้เห็นว่าแม้จะมีการลดลงของการคงอยู่ของรอยลายนิ้วมือแฝงทั้งสองสภาพแวดล้อม แต่รอยลายนิ้วมือแฝงที่เก็บจากภายนอกอาคารมีอัตราการลดลงของรอยลายนิ้วมือแฝงมากกว่ารอยลายนิ้วมือแฝงที่เก็บไว้ในอาคาร โดยวัตถุที่การคงอยู่ของรอยลายนิ้วมือแฝงและคุณภาพรอยลายนิ้วมือที่ลดลงอย่างเห็นได้ชัด คือ กระจกน้ำอัดลม ในส่วนของรอยลายนิ้วมือแฝงที่ประทับบนกระจกเงานั้น แม้ว่าการคงอยู่จะลดลงตามช่วงระยะเวลา แต่คุณภาพของรอยลายนิ้วมือแฝงจากทั้งสองสภาพแวดล้อมยังอยู่ในเกณฑ์ดี ตรวจพบจุดลักษณะสำคัญพิเศษเพียงพอ สามารถใช้เพื่อตรวจชี้เฉพาะบุคคลได้

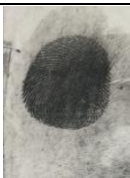
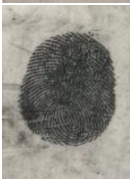
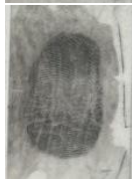
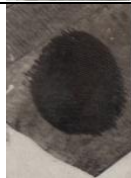
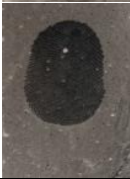
ตารางที่ 1 การปรากฏขึ้นของรอยลายนิ้วมือแฝงที่ระยะเวลาและสภาพแวดล้อมแตกต่างกัน

วัตถุ	สภาพแวดล้อม	การปรากฏขึ้นของรอยลายนิ้วมือแฝง				
		1 วัน	1 สัปดาห์	2 สัปดาห์	3 สัปดาห์	4 สัปดาห์
แก้วน้ำ	ภายในอาคาร					
	ภายนอกอาคาร					

ตารางที่ 1 (ต่อ)

วัตถุ	สภาพแวดล้อม	การปรากฏขึ้นของรอยลายนิ้วมือแฝง				
		1 วัน	1 สัปดาห์	2 สัปดาห์	3 สัปดาห์	4 สัปดาห์
กระจก	ภายในอาคาร					
	ภายนอกอาคาร					
กระป๋องน้ำอัดลม	ภายในอาคาร					
	ภายนอกอาคาร					
ขวดน้ำพลาสติก	ภายในอาคาร					
	ภายนอกอาคาร					
คอมแพคต์ดิสก์	ภายในอาคาร					
	ภายนอกอาคาร					

ตารางที่ 1 (ต่อ)

วัตถุ	สภาพแวดล้อม	การปรากฏขึ้นของรอยลายนิ้วมือแฝง				
		1 วัน	1 สัปดาห์	2 สัปดาห์	3 สัปดาห์	4 สัปดาห์
ลูกบิดประตู	ภายในอาคาร					
	ภายนอกอาคาร					
มิด	ภายในอาคาร					
	ภายนอกอาคาร					

2. ผลการเปรียบเทียบคุณภาพของรอยลายนิ้วมือแฝงที่ระยะเวลาและสภาพแวดล้อมต่างกัน

2.1 การเปรียบเทียบคุณภาพของรอยลายนิ้วมือแฝงในสภาพแวดล้อมในอาคารที่ระยะเวลาหลังการประทับรอยที่แตกต่างกัน

การเปรียบเทียบระดับคุณภาพของรอยลายนิ้วมือแฝงบนวัตถุตัวอย่างทั้ง 7 ชนิด ได้แก่ แก้วน้ำ กระຈกเงา กระป๋องน้ำอัดลม ขวดน้ำพลาสติก คอมแพคตดีสก์ ลูกบิดประตู และมิด ตามระยะเวลาที่กำหนด คือ 1 วัน 1 2 3 และ 4 สัปดาห์ ในสภาพแวดล้อมภายในอาคาร ทำการทดลองซ้ำ 3 ครั้ง แสดงระดับคะแนนเฉลี่ยของรอยลายนิ้วมือแฝงที่ตรวจเก็บจากวัตถุตัวอย่างที่ใช้ในการทดลอง โดยนำผลปรากฏขึ้นของรอยลายนิ้วมือแฝงให้ผู้ชำนาญการให้ระดับคะแนน ดังตารางที่ 2 พบว่า ค่าเฉลี่ยลายนิ้วมือแฝงที่ได้จากตัวอย่างที่เก็บไว้ในสภาพแวดล้อมภายในอาคารมีค่าการคงอยู่ลดลงจากการทดลองดังกล่าวพบว่า ปัจจัยภายนอกส่งผลต่อการคงอยู่ของรอยลายนิ้วมือแฝงเช่นกัน แม้ว่ารอยประทับลายนิ้วมือจะเก็บไว้ในอาคาร แต่อัตราการลดลงนั้นยังอยู่ในระดับคุณภาพดี มีลายเส้นปรากฏชัดเจน และเห็นรูปแบบของลายนิ้วมืค่อนข้างชัด ตรวจพบจุดลักษณะสำคัญพิเศษจำนวน 12 จุดขึ้นไป สามารถชี้เฉพาะบุคคลได้ ยกเว้นในตัวอย่างกระป๋องน้ำอัดลม โดยพบว่าในสัปดาห์ที่ 3-4 ที่คุณภาพลดลงต่ำ และพบการลดลงมากกว่าในวัตถุตัวอย่างชนิดอื่น

ตารางที่ 2 การเปรียบเทียบระดับคุณภาพของรอยลายนิ้วมือแฝงตามระยะเวลาที่กำหนดในสภาพแวดล้อมภายในอาคาร

วัตถุตัวอย่าง	ระดับคะแนน				
	1 วัน	1 สัปดาห์	2 สัปดาห์	3 สัปดาห์	4 สัปดาห์
แก้วน้ำ	4.00±0.00	4.00±0.00	3.67±0.58	3.00±0.00	3.00±0.00
กระจกเงา	4.00±0.00	4.00±0.00	4.00±0.00	4.00±0.00	3.33±0.58
กระป๋องน้ำอัดลม	4.00±0.00	3.33±0.58	3.00±0.00	2.67±0.58	2.00±0.00
ขวดน้ำพลาสติก	4.00±0.00	4.00±0.00	3.67±0.58	3.00±0.00	3.00±0.00
คอมแพคต์ดิสก์	4.00±0.00	4.00±0.00	3.33±0.58	3.00±0.00	3.00±0.00
ลูกบิดประตู	4.00±0.00	3.67±0.58	3.33±0.58	3.00±0.00	3.00±0.00
มิด	4.00±0.00	3.67±0.58	3.33±0.58	3.00±0.00	3.00±0.00

หมายเหตุ: - ค่าที่รายงานในรูปแบบค่าเฉลี่ย $\pm$ ส่วนเบี่ยงเบนมาตรฐาน (mean $\pm$ SD)

2.2 การเปรียบเทียบคุณภาพของรอยลายนิ้วมือแฝงในสภาพแวดล้อมนอกอาคารที่ระยะเวลาหลังการประทับรอยที่แตกต่างกัน

การเปรียบเทียบระดับคุณภาพของรอยลายนิ้วมือแฝงบนวัตถุตัวอย่างทั้ง 7 ชนิด ได้แก่ แก้วน้ำ กระจกเงา กระป๋องน้ำอัดลม ขวดน้ำพลาสติก คอมแพคต์ดิสก์ ลูกบิดประตู และมิด ตามระยะเวลาที่กำหนด คือ 1 วัน 1 2 3 และ 4 สัปดาห์ ในสภาพแวดล้อมภายในอาคาร ทำการทดลองซ้ำ 3 ครั้ง จะแสดงระดับคะแนนเฉลี่ยของรอยลายนิ้วมือแฝงที่ตรวจเก็บจากวัตถุตัวอย่างที่ใช้ในการทดลอง โดยนำผลปรากฏขึ้นของรอยลายนิ้วมือแฝงให้ผู้ชำนาญการให้ระดับคะแนน ดังตารางที่ 3 พบว่าลายนิ้วมือแฝงเมื่อเก็บไว้ในสภาพแวดล้อมภายนอกอาคาร มีการลดลงของการคงอยู่ของรอยลายนิ้วมือแฝงอย่างเห็นได้ชัด กล่าวได้ว่าปัจจัยภายนอกส่งผลอย่างมากต่อการคงอยู่ของรอยลายนิ้วมือแฝงเมื่อเปรียบเทียบกับวัตถุที่เก็บไว้ในภายในอาคาร โดยมีอัตราการลดลงตั้งแต่สัปดาห์ที่ 2 ขึ้นไป และเมื่อครบระยะเวลา 4 สัปดาห์ ให้ผลคุณภาพของรอยลายนิ้วมือแฝงที่คุณภาพต่ำ เห็นรอยลายเส้นเพียงเล็กน้อย มีความไม่ชัดเจน ไม่เพียงพอแก่การตรวจพิสูจน์เพื่อยืนยันตัว (มีจุดลักษณะสำคัญพิเศษน้อยกว่า 10 จุด) มีเพียงวัตถุตัวอย่างชนิดกระจกเงาที่คุณภาพการคงอยู่ของรอยลายนิ้วมือแฝงสามารถมองเห็นรายละเอียดของลายเส้น และสามารถชี้เพื่อชี้เฉพาะบุคคลได้

ตารางที่ 3 การเปรียบเทียบระดับคุณภาพของรอยลายนิ้วมือแฝงตามระยะเวลาที่กำหนดในสภาพแวดล้อมภายนอกอาคาร

วัตถุตัวอย่าง	ระดับคะแนน				
	1 วัน	1 สัปดาห์	2 สัปดาห์	3 สัปดาห์	4 สัปดาห์
แก้วน้ำ	4.00±0.00	4.00±0.00	3.00±0.00	3.00±0.00	2.00±0.00
กระจกเงา	4.00±0.00	4.00±0.00	4.00±0.00	3.00±0.00	3.00±0.00
กระป๋องน้ำอัดลม	3.67±0.58	2.33±0.58	2.00±0.00	1.33±0.00	1.00±0.00
ขวดน้ำพลาสติก	3.67±0.58	3.00±0.00	3.00±0.00	2.00±0.00	1.00±0.00
คอมแพคต์ดิสก์	4.00±0.00	3.67±0.58	3.33±0.58	3.00±0.00	2.00±0.00

ตารางที่ 3 (ต่อ)

วัตถุตัวอย่าง	ระดับคะแนน				
	1 วัน	1 สัปดาห์	2 สัปดาห์	3 สัปดาห์	4 สัปดาห์
ลูกบิดประตู	3.67±0.58	3.00±0.00	2.33±0.58	1.67±0.58	1.33±0.58
มิด	4.00±0.00	3.67±0.58	3.33±0.58	2.00±0.00	1.67±0.58

หมายเหตุ: - ค่าที่รายงานในรูปแบบค่าเฉลี่ย $\pm$ ส่วนเบี่ยงเบนมาตรฐาน (mean $\pm$ SD)

3. การทดสอบสมมติฐานตามตัวแปรระยะเวลาและสภาพแวดล้อม

จากคะแนนของค่าระดับคุณภาพรอยลายนิ้วมือแฝง สามารถนำมาวิเคราะห์ความแปรปรวนสองทาง (Two-way ANOVA) โดยใช้การเปรียบเทียบระยะเวลาการจับและสภาพแวดล้อมที่ต่างกันบนวัตถุตัวอย่างทั้ง 7 ชนิด โดยเงื่อนไขว่าแต่ละประชากรมีการแจกแจงแบบปกติ และค่าแปรปรวนเท่ากัน จากนั้นจึงทดสอบอิทธิพลของแต่ละตัวแปร และอิทธิพลร่วมของตัวแปรทั้งสองด้วยสถิติ F-test ของ Two-way ANOVA ดังตารางที่ 4 ผลการวิเคราะห์ปรากฏว่าสภาพแวดล้อมที่แตกต่างกันส่งผลต่อการคงอยู่ของรอยลายนิ้วมือแฝงแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ แสดงว่าสภาพแวดล้อมที่ต่างกันมีผลต่อการคงอยู่ของรอยลายนิ้วมือแฝง ยกเว้น แก้วน้ำ และกระจก ที่พบว่าสภาพแวดล้อมที่ต่างกัน ไม่มีผลต่อการคงอยู่ของรอยลายนิ้วมือแฝง นอกจากนี้เมื่อพิจารณาตามระยะเวลาพบว่า ระยะเวลาสำหรับการทิ้งรอยลายนิ้วมือที่ต่างกัน ให้ค่าการคงอยู่ของรอยลายนิ้วมือแฝงที่ต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ แสดงว่าระยะเวลาต่างก็มีผลต่อการคงอยู่ของรอยลายนิ้วมือแฝง

ตารางที่ 4 การวิเคราะห์ข้อมูลโดยใช้เครื่องมือทางสถิติ

วัตถุตัวอย่าง	แหล่งความแปรปรวน	df	Sum of Squares	Mean Square	F	Sig.
แก้วน้ำ	สภาพแวดล้อม	1	0.033	0.033	1.000	0.329
	ระยะเวลา	4	6.533	1.633	49.000	0.000*
กระจกเงา	สภาพแวดล้อม	1	0.000	0.000	0.000	1.000
	ระยะเวลา	4	2.133	0.533	8.000	0.001*
กระป๋องน้ำอัดลม	สภาพแวดล้อม	1	6.533	6.533	39.200	0.000*
	ระยะเวลา	4	18.800	4.700	28.200	0.000*
ขวดน้ำพลาสติก	สภาพแวดล้อม	1	6.533	6.533	65.333	0.000*
	ระยะเวลา	4	12.867	3.217	32.167	0.000*
คอมแพคต์ดีส์	สภาพแวดล้อม	1	0.533	0.533	5.333	0.032*
	ระยะเวลา	4	9.000	2.250	22.500	0.000*
ลูกบิดประตู	สภาพแวดล้อม	1	7.500	7.500	37.500	0.000*
	ระยะเวลา	4	11.533	2.883	14.417	0.000*
มิด	สภาพแวดล้อม	1	1.633	1.633	9.800	0.004*
	ระยะเวลา	4	12.667	3.167	19.000	0.000*

หมายเหตุ: - * มีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p \leq 0.05$)

การอภิปรายผลการวิจัย

จากผลการวิจัยการคงอยู่ของรอยลายนิ้วมือแฝง โดยการใช้เทคนิคแปรงขัดผงฝุ่นดำในการปิดเก็บรอยลายนิ้วมือแฝงจากวัตถุพื้นผิวแบบไม่มีรูพรุนซึ่งเก็บไว้ที่สภาพแวดล้อมและระยะเวลาที่เก็บรักษาแตกต่างกัน คือ 1 วัน 1 2 3 และ 4 สัปดาห์ พบว่าการตรวจเก็บรอยลายนิ้วมือแฝงบนวัตถุพื้นผิวแบบไม่มีรูพรุนจากตัวอย่างทั้ง 7 ชนิดที่เก็บภายในอาคารให้ผลคุณภาพของลายนิ้วมือแฝงที่ดี มีคุณภาพของรอยลายเส้นปรากฏชัดเจน ไม่แตกต่างกัน แต่เมื่อระยะเวลาผ่านไป 3 สัปดาห์ รอยลายนิ้วมือแฝงซึ่งเก็บจากกระป๋องน้ำอัดลมให้ระดับคุณภาพที่ต่ำ ทั้งนี้เนื่องจากกระป๋องน้ำอัดลมมีพื้นผิวด้านนอกที่ถูกเคลือบด้วยสารเคมีเคลือบผิวเพื่อให้เกิดความมันวาวและลักษณะพื้นผิวที่เหมาะสมสำหรับการแสดงเครื่องหมายการอ้างถึงส่งผลให้ลักษณะพื้นผิวบางส่วนมีความเป็นพื้นผิวคล้ายชนิดกึ่งรูพรุน โดยเฉพาะบริเวณภายนอกที่ถูกพ่นด้วยสารเคมีเคลือบผิว ดังนั้นเมื่อมีสารเคลือบผิวอยู่บนวัตถุที่ใช้ในการทดลองชนิดนี้ ส่งผลต่อการจับยึดของลายนิ้วมือบนผิวหน้าวัตถุ ทำให้การคงอยู่ของรอยลายนิ้วมือแฝงลดลงชัดเจนกว่าวัตถุพื้นผิวแบบไม่มีรูพรุนชนิดอื่น

การตรวจเก็บรอยลายนิ้วมือแฝงบนวัตถุพื้นผิวแบบไม่มีรูพรุนจากตัวอย่างทั้ง 7 ชนิด ที่เก็บรักษานอกอาคารเป็นระยะเวลา 1 วัน ให้ผลคุณภาพของลายนิ้วมือแฝงที่ดีและคุณภาพของรอยลายเส้นปรากฏชัดเจนไม่แตกต่างกัน แต่เมื่อระยะเวลาผ่านไป 1 สัปดาห์ รอยลายนิ้วมือแฝงที่ตรวจเก็บจากกระป๋องน้ำอัดลมมีการคงอยู่ของรอยลายนิ้วมือแฝงลดลงอย่างเห็นได้ชัดเมื่อเทียบกับวัตถุชนิดอื่น ๆ สอดคล้องกับคุณภาพที่ลดลงของรอยลายนิ้วมือแฝงซึ่งตรวจเก็บจากกระป๋องน้ำอัดลมที่เก็บที่สภาพแวดล้อมภายในอาคาร เมื่อตรวจเก็บรอยลายนิ้วมือบนวัตถุชนิดอื่น ๆ ในสัปดาห์ที่ 2 ถึงสัปดาห์ที่ 4 การคงอยู่ของรอยลายนิ้วมือแฝงลดลงเช่นกัน แต่พบว่ารอยลายนิ้วมือแฝงที่เก็บบนกระเจงเงายังคงให้คุณภาพที่ดี ลายเส้นปรากฏชัดเจน จากการศึกษาเพิ่มเติมพบว่า กระเจงเงา เป็นพื้นผิวที่เกิดจากกระบวนการผลิตผ่านอุณหภูมิในการหลอม อากาศจึงผ่านเข้าไปในเนื้อวัตถุน้อย ส่งผลให้กระเจงเงามีพื้นผิวที่ดูดซับลายนิ้วมือแฝงได้น้อย รอยลายนิ้วมือแฝงจึงคงอยู่ในคุณภาพที่ดีกว่าวัตถุชนิดอื่น ๆ

จากการศึกษาทดลองและทำการเปรียบเทียบคุณภาพของรอยลายนิ้วมือแฝงข้างต้น กล่าวได้ว่า สภาพแวดล้อมเป็นปัจจัยที่มีบทบาทสำหรับคุณภาพของรอยลายนิ้วมือแฝง ทั้งนี้สภาพแวดล้อมจะมีผลโดยตรงต่ออุณหภูมิและความชื้น สภาพแวดล้อมภายนอกอาคารทำให้เกิดรอยนิ้วมือแฝงที่มีคุณภาพต่ำเมื่อเก็บไว้ที่ระยะเวลาเพิ่มมากขึ้น แสดงให้เห็นว่าสภาพแวดล้อมภายนอกส่งผลต่อการคงอยู่ของรอยลายนิ้วมือแฝง นอกจากนี้ประเภทของพื้นผิวก็ส่งผลต่อคุณภาพรอยลายนิ้วมือแฝงเช่นกัน สอดคล้องกับงานวิจัยของ De Alcaraz-Fossoul *et al.* (2013) ที่พบว่าสารคัดหลั่งประเภท sebaceous ที่อยู่บนพื้นผิวประเภทแก้ว ยังคงอยู่ในสภาพดีแม้ระยะเวลาหลังประทับรอยบนผิววัตถุผ่านไปนานถึง 6 เดือน ในทางกลับกัน ถ้าวรอยลายนิ้วมืออยู่บนพื้นผิวแบบพลาสติก ก็จะมีอัตราเสื่อมสภาพเร็วกว่าและยากที่จะตรวจเก็บ ส่วนเรื่องของระยะเวลาอาจไม่ใช่ปัจจัยหลักที่มีบทบาทต่อคุณภาพของรอยลายนิ้วมือแฝง ซึ่งสอดคล้องกับงานวิจัยของ Gray (2012) ที่พบว่าเวลาไม่มีผลต่อคุณภาพของลายนิ้วมือ ซึ่งพบว่าลายนิ้วมือที่ถูกลอกเก็บในระยะเวลาสามเดือนจากแต่ละสภาพอากาศมีผลลัพธ์ที่ต่างกัน อุณหภูมิภายนอกทำให้เกิดรอยนิ้วมือแฝงที่มีคุณภาพต่ำ แต่ที่อุณหภูมิ 40 องศาฟาเรนไฮต์ พบรอยลายนิ้วมือแฝงที่มีคุณภาพสูง แสดงให้เห็นว่าอุณหภูมิมีบทบาทสำคัญ

ต่อคุณภาพรอยลายนิ้วมือแฝง อีกทั้งยังสอดคล้องกับงานวิจัยของ Johnston and Rogers (2017) ที่พบว่าเมื่ออุณหภูมิสูงขึ้น ทำให้ปริมาณสารประกอบ sebaceous ลดลง ส่งผลให้รอยลายนิ้วมือแฝงมีคุณภาพต่ำ แต่ในสภาวะที่อุณหภูมิต่ำจะให้ผลการปรากฏขึ้นของรอยลายนิ้วมือแฝงที่พบการเปลี่ยนแปลงเพียงเล็กน้อย

สรุปผลการวิจัย

จากการศึกษาการคงอยู่ของรอยลายนิ้วมือแฝงบนวัตถุตัวอย่างพื้นผิวชนิดไม่มีรูพรุน จากระยะเวลาการประทับรอยและสภาพแวดล้อมต่างกัน พบว่ารอยลายนิ้วมือแฝงบนวัตถุตัวอย่างมีการคงอยู่ลดลง โดยรอยลายนิ้วมือแฝงที่ถูกเก็บไว้ภายในอาคารหลังจากการประทับรอย มีอัตราการคงอยู่ของรอยลายนิ้วมือแฝงมากกว่ารอยลายนิ้วมือแฝงที่จัดเก็บไว้ภายนอกอาคาร ทั้งนี้เนื่องจากปัจจัยของความชื้นและอุณหภูมิ อีกทั้งลักษณะของพื้นผิวที่เรียบและไม่มีรูพรุนสูงตามการกระบวน การผลิตวัตถุนั้น ๆ เช่น กระจกเงา จะให้รอยลายนิ้วมือแฝงที่มีคุณภาพดีที่สุดในแต่ละสภาพแวดล้อม สำหรับพื้นผิวที่ผ่านการเคลือบด้วยสารเคมี เช่น กระจกป้องกันอัตรลม จะปรากฏรอยลายนิ้วมือแฝงที่มีคุณภาพต่ำในทุกสภาพแวดล้อมและคุณภาพลดลงตามระยะเวลาที่ทำการทดลอง แสดงให้เห็นว่าสภาพแวดล้อมและชนิดของพื้นผิววัตถุที่แตกต่างกัน ทำให้การคงอยู่ของรอยลายนิ้วมือแฝงแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ จากการศึกษาความสัมพันธ์ระหว่างปัจจัยของระยะเวลากับการคงอยู่และคุณภาพของรอยลายนิ้วมือแฝงบนพื้นผิวไม่มีรูพรุนในสภาพแวดล้อมแตกต่างกันพบว่ารอยลายนิ้วมือแฝงที่เก็บไว้ภายในอาคารให้คุณภาพได้ดีกว่า และสามารถใช้ประโยชน์เพื่อชี้เฉพาะตัวบุคคลได้

ข้อเสนอแนะ

1. ควรศึกษาเปรียบเทียบรอยลายนิ้วมือแฝงที่พบในสถานที่เกิดเหตุบนพื้นผิวไม่มีรูพรุนชนิดอื่นเพิ่มเติมร่วมกับการตรวจเก็บรอยลายนิ้วมือแฝงโดยใช้ผงฝุ่นหลากหลายชนิดมากขึ้น
2. ควรศึกษาองค์คุณสมบัติหรือองค์ประกอบของวัตถุพื้นผิวไม่มีรูพรุนเพิ่มเติม โดยเฉพาะวัตถุที่ได้รับผลจากการบวนการผลิตหรือขึ้นรูปที่แตกต่างกันที่อาจส่งผลกระทบต่อคุณภาพของรอยลายนิ้วมือ
3. ควรศึกษาการคงอยู่ของรอยลายนิ้วมือแฝงหลังจากประทับที่ระยะเวลาแตกต่างเพิ่มมากขึ้น เพื่อใช้เปรียบเทียบคุณภาพของรอยลายนิ้วมือแฝงและใช้เป็นฐานข้อมูลในการตรวจพิสูจน์ต่อไป

กิตติกรรมประกาศ

ขอขอบคุณหลักสูตรวิทยาศาสตรมหาบัณฑิต สาขาวิชานิติวิทยาศาสตร์ คณะนิติวิทยาศาสตร์ โรงเรียนนายร้อยตำรวจ ที่ให้ความรู้ คำแนะนำ ตลอดจนสนับสนุนสถานที่ดำเนินงานวิจัย และขอขอบคุณ สำนักงานพิสูจน์หลักฐานตำรวจ สำหรับความอนุเคราะห์ในการตรวจลายนิ้วมือแฝง

เอกสารอ้างอิง

ณัฐริธา สงฆ์โนนเหล็ก. (2555). การทำให้ปรากฏขึ้นของรอยลายนิ้วมือแฝงบนพื้นผิวไม่มีรูพรุนโดยใช้ผงขมิ้น. วิทยานิพนธ์วิทยาศาสตรมหาบัณฑิต (นิติวิทยาศาสตร์). มหาวิทยาลัยศิลปากร, นครปฐม.

- ศิริรัตน์ เทียงเถียรธรรม. (2556). การปรากฏขึ้นของลายนิ้วมือแฝงบนวัตถุที่จมอยู่ในน้ำธรรมชาติโดยใช้ *small particle reagent* และผงฝุ่นดำ. วิทยานิพนธ์วิทยาศาสตรมหาบัณฑิต (นิติวิทยาศาสตร์). มหาวิทยาลัยศิลปากร, นครปฐม.
- Bleay, S.M., Croxton, R.S. and De Puit, M. (2018). *Fingerprint development techniques: Theory and application*. West Sussex: Wiley.
- De Alcaraz-Fossoul, J., Mestres Patris, C., Balaciart Muntaner, A., Barrot Feixat, C. and Gené Badia, M. (2013). Determination of latent fingerprint degradation patterns-A real fieldwork study. *International Journal of Legal Medicine*, 127, 857-870, doi: <https://doi.org/10.1007/s00414-012-0797-0>.
- Gray, T. (2012). Impact of time, weathering and surface type on fingerprinting. *Proceedings of The National Conference on Undergraduate Research* (pp. 1588-1596). Utah: Weber State University.
- Johnston, A. and Rogers, K. (2017). The effect of moderate temperatures on latent fingerprint chemistry. *Applied Spectroscopy*, 71(9), 2102-2110, doi: <https://doi.org/10.1177/0003702817694902>.
- Kücken, M. and Newell, A.C. (2005). Fingerprint formation. *Journal of Theoretical Biology*, 235(1), 71-83, doi: <https://doi.org/10.1016/j.jtbi.2004.12.020>.

การออกแบบไพรเมอร์เพื่อใช้เพิ่มปริมาณดีเอ็นเอบริเวณ
Internal Transcribed Spacer (ITS) ที่มีความจำเพาะต่อเห็ดตับเต่า
(*Phlebopus portentosus* (Berk. and Broome) Boedijn)
Primer DNA Designation for Increasing the Internal Transcribed
Spacer (ITS) to Specific on Mushroom
(*Phlebopus portentosus* (Berk. and Broome) Boedijn)

ธนภักษ์ อินยอด^{1*} ขนิษฐา ชวนะนรเศรษฐ์¹ ธนภัทร เต็มอารมย์¹ ธนากร ลัทธธีระสุวรรณ²
อลิษา อินจันทร³ ณัฐพัชร ศรีหะนันต์⁴ จุฬามณี พลสุข⁵ และชาตรี กอนี⁶
Tanapak Inyod^{1*}, Khanittha Chawanoraset¹, Thanapat Termarom¹,
Thanakorn Lattirasuvan², Alisa Injan³, Natthapach Srihanant⁴,
Chulamane Phalasuk⁵ and Chatree Konee⁶

บทคัดย่อ

การศึกษาเครื่องหมายดีเอ็นเอที่มีความจำเพาะต่อเห็ดตับเต่า (*Phlebopus portentosus* (Berk. and Broome) Boedijn) มีวัตถุประสงค์เพื่อออกแบบไพรเมอร์ที่จำเพาะต่อเห็ดตับเต่า และเพื่อยืนยันสายพันธุ์ของเห็ดตับเต่าให้มีความถูกต้องและแม่นยำด้วยเทคนิคทางชีวโมเลกุล โดยทำการศึกษาคู่มือเครื่องหมายดีเอ็นเอที่มีความจำเพาะต่อเห็ดตับเต่า สกัดดีเอ็นเอจากส่วนดอกเห็ดสด แล้วเพิ่มปริมาณดีเอ็นเอบริเวณ internal transcribed spacer (ITS) ด้วยไพรเมอร์ ITS1 และ ITS4 พบว่าสามารถเพิ่มปริมาณดีเอ็นเอได้ และนำดีเอ็นเอเป้าหมายที่เพิ่มปริมาณได้ส่งวิเคราะห์ลำดับนิวคลีโอไทด์ เปรียบเทียบกับลำดับนิวคลีโอไทด์อ้างอิงในฐานข้อมูล GenBank พบว่าลำดับนิวคลีโอไทด์ของเห็ดมีความเหมือนทางพันธุกรรมของเห็ดตับเต่า 100 เปอร์เซ็นต์ นำลำดับนิวคลีโอไทด์ออกแบบไพรเมอร์ในโปรแกรม Primer-BLAST ได้จำนวน 10 คู่ไพรเมอร์ แล้วทดสอบความจำเพาะต่อเห็ดตับเต่า จากนั้นเพิ่มปริมาณดีเอ็นเอด้วยไพรเมอร์ที่ออกแบบ 10 คู่ไพรเมอร์ พบว่าให้แถบดีเอ็นเอเฉพาะเห็ดตับเต่า จำนวน 3 คู่ไพรเมอร์ ได้แก่ Primer_pair_6 Primer_pair_9 และ Ppo_03 และเมื่อนำคู่ไพรเมอร์ 3 ไพรเมอร์ที่มีความจำเพาะนี้ไปตรวจสอบและยืนยันเชื้อเห็ดตับเต่าในรากพืชอิงอาศัย

¹ ศูนย์เชี่ยวชาญนวัตกรรมเกษตรสร้างสรรค์ สถาบันวิจัยวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยีแห่งประเทศไทย

² สาขาวิชาการจัดการป่าไม้ โครงการจัดตั้งวิทยาลัยการป่าไม้ มหาวิทยาลัยแม่โจ้-แพร่ เฉลิมพระเกียรติ

³ สาขาวิชาศึกษาทั่วไป มหาวิทยาลัยแม่โจ้-แพร่ เฉลิมพระเกียรติ

⁴ สาขาวิชาวนวัฒนกรรมเกษตรและการจัดการ คณะทรัพยากรธรรมชาติ มหาวิทยาลัยสงขลานครินทร์

⁵ สาขาวิชาพืชสวน คณะเทคโนโลยีการเกษตร สถาบันเทคโนโลยีพระจอมเกล้าเจ้าคุณทหารลาดกระบัง

⁶ สถาบันวิจัยและพัฒนาอาชีพแก่เกษตรกร คณะเกษตร มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์

* Corresponding author e-mail: tanapak@tistr.or.th

Received: 5 February 2024, Revised: 28 August 2024, Accepted: 2 September 2024

(epiphyte) ได้แก่ ต้นหางนกยูงไทย ต้นแคบ้าน และต้นหว่า ที่มีการปลูกถ่ายเชื้อเห็ดตับเต่า พบว่า ให้แถบดีเอ็นเอในตัวอย่างรากพืชอิงอาศัยทุกตัวอย่าง จากผลการตรวจสอบไพรเมอร์ที่จำเพาะในราก แสดงให้เห็นว่าในรากพืชอิงอาศัยที่มีการปลูกถ่ายเชื้อเห็ดตับเต่ามีเชื้อเห็ดตับเต่าอาศัยอยู่บนเซลล์ รากจริง ในการทดลองนี้สามารถนำเครื่องหมายดีเอ็นเอที่ได้ออกแบบใหม่และมีความจำเพาะนี้ไปใช้ในการตรวจสอบ และยืนยันเห็ดตับเต่าในตัวอย่างจากธรรมชาติหรือรากพืชที่มีเชื้อเห็ดตับเต่าอาศัยอยู่ได้

คำสำคัญ: เห็ดไมคอร์ไรซา เห็ดตับเต่า ไพรเมอร์

Abstract

The study on specific DNA markers in *Phlebopus portentosus* (Berk. and Broome) Boedijn aimed to design specific primers for mycorrhizal fungi and to confirm their accuracy and precision using biomolecular techniques. This study also evaluates the specific DNA markers of the *P. portentosus* species. DNA was extracted from fresh mushrooms, and the Internal Transcribed Spacer (ITS) region was amplified by primers ITS1 and ITS4 to enhance DNA band amplitude. The target DNA was amplified to sufficient quantity to enable nucleotide sequence analysis and compared with the fungal nucleotide sequences in the GenBank database. The results reveal 100% genetic similarity between the nucleotide sequences of the mushrooms and *P. portentosus*. Ten primer pairs were designed in Primer-BLAST for nucleotide sequencing, which were then tested for specificity to *P. portentosus* in DNA amplification. The findings disclose that specific DNA bands were obtained for three pairs of primers, namely Primer_pair_6, Primer_pair_9, and Ppo_03. These three specific primer pairs were examined to confirm the colonization of *P. portentosus* on host plant roots, including *Caesalpinia pulcherrima* (L.) Sw., *Sesbania grandiflora* (L.) Desv. and *Syzygium cumini* (L.) Skeels after inoculation. The results demonstrate the presence of DNA specific to *P. portentosus* in host plant roots, indicating the colonization of *P. portentosus* on the root cells of inoculated host plants. This experiment led to the discovery of newly designed, specific DNA markers for investigating and verifying *P. portentosus* in natural specimens or colonized plant roots.

Keywords: Mycorrhiza, *Phlebopus portentosus*, Primer

บทนำ

เห็ดตับเต่า (*Phlebopus portentosus* (Berk. and Broome) Boedijn) เป็นหนึ่งในเห็ดป่าไมคอร์ไรซา โดยเห็ดตับเต่าเป็นเชื้อราเอกโตไมคอร์ไรซา (Ectomycorrhiza) ชนิดหนึ่งที่อาศัยอยู่บนเซลล์ผิวของรากของต้นไม้ (กิตติมา, 2548; Harley and Smith, 1983) ซึ่งมีเส้นใยที่ห่อหุ้มรากสามารถดูดซับความชุ่มชื้น ทำให้พืชทนต่อสภาพแล้งได้ดี อีกทั้งยังทำหน้าที่เหมือนเชื้อราเจ้าถิ่นทำให้

เชื้อราโรคพืชต่าง ๆ เข้าทำลายพืชได้มากขึ้น ส่งผลให้ต้นไม้ที่มีเชื้อเห็ดตับเต่าอาศัยอยู่มีความแข็งแรงต้านทานต่อเชื้อราโรคพืชได้มากขึ้น (อานนท์, 2553) นอกจากนี้ น้ำย่อยของเห็ดตับเต่ายังช่วยให้แร่ธาตุในดินแปรสภาพมาอยู่ในรูปที่เป็นประโยชน์ต่อพืชและเจริญเติบโตได้ดี (Conjeaud *et al.*, 1996) โดยส่วนใหญ่สามารถพบได้มากในฤดูฝนจึงไม่สามารถเก็บดอกได้ตลอดทั้งปี (อนิวรรณ และธีรวัฒน์, 2524) ส่งผลให้เห็ดกลุ่มนี้มีความต้องการในตลาดและสร้างมูลค่าทางเศรษฐกิจสูง เช่น เห็ดระโงก เห็ดตะไคเล เห็ดถ่าน เห็ดน้ำหมาก เห็ดเผาะ และเห็ดตับเต่า ราคาอยู่ในช่วงกิโลกรัมละ 40-410 บาท (อุทัยวรรณ, 2547)

การระบุชนิดของเชื้อราหรือเห็ดป่าไมโครไรซาในระดับสกุล (genus) ระดับสปีชีส์ (species) และสายพันธุ์ (strain) ทำได้ด้วยการจัดจำแนก 2 วิธีการ คือ การศึกษาลักษณะสัณฐานวิทยา (morphology) และวิธีทางโมเลกุล (molecular method) ปัจจุบันมีวิธีทางโมเลกุลหลายวิธีที่สามารถระบุชนิดของเห็ดรา โดยใช้ลำดับนิวคลีโอไทด์ (nucleotide) ของยีนดีเอ็นเอบางตำแหน่งที่มีในฐานข้อมูลสากล (ปิยวรรณ และคณะ, 2557) หรือบริเวณลำดับนิวคลีโอไทด์ที่ไม่มีการแปลรหัสเป็นโปรตีน (noncoding sequence) แบ่งออกเป็น 2 ส่วน คือ ITS1 และ ITS2 ซึ่งอยู่ระหว่างอาร์เอ็นเอของหน่วยย่อยไรโบโซมขนาดเล็ก (small ribosomal subunit: SSU) และอาร์เอ็นเอของหน่วยย่อยไรโบโซมขนาดใหญ่ (large subunit ribosomal: LSU) (Lafontaine and Tollervey, 2001) ดีเอ็นเอบริเวณ internal transcribed spacer (ITS) นี้ถูกใช้ในการพิสูจน์เอกลักษณ์เชื้อรามากที่สุด เนื่องจากเป็นบริเวณอนุรักษ์นิยม (conservative region) ซึ่งเป็นตำแหน่งที่ไพรเมอร์สามารถเข้าคู่ เพื่อใช้ในการเพิ่มปริมาณดีเอ็นเอในสิ่งมีชีวิตชนิดต่าง ๆ ได้ และมีความยาวเหมาะสมในการหาลำดับนิวคลีโอไทด์ (วิกานดา, 2560) ปัจจุบันมีรายงานว่าบริเวณดังกล่าวเป็นบริเวณที่มีศักยภาพและเป็นที่ยอมรับในการพัฒนาเป็นดีเอ็นเอบาร์โค้ด (DNA barcode) ของเชื้อราและสิ่งมีชีวิตกลุ่มยูคาริโอต โดยทั้งนี้การทำดีเอ็นเอบาร์โค้ดเพื่อเพิ่มความรวดเร็วและความถูกต้องในการจำแนกชนิดและยังช่วยเพิ่มประสิทธิภาพการค้นคว้าวิจัยด้านวิวัฒนาการและความหลากหลายทางชีวภาพ (Blackwell, 2011; Mora *et al.*, 2011; Schoch *et al.*, 2012) สอดคล้องกับงานวิจัยของวรวิฑู และคณะ (2566) ได้ใช้เครื่องหมายดีเอ็นเอศึกษาความหลากหลายทางพันธุกรรมของต้นประโสนป่าดั้งเดิมและป่าปลูกในอุทยานแห่งชาติเขานัน จังหวัดนครศรีธรรมราช โดยวิเคราะห์จากลำดับนิวคลีโอไทด์จากยีน *maturaseK* ในคลอโรพลาสต์ดีเอ็นเอขนาด 772 คู่เบส ผลการศึกษาพบว่าต้นประโสนป่าดั้งเดิมมีความหลากหลายทางพันธุกรรมสูงกว่าต้นประโสนป่าปลูก

ส่วนการจำแนกโดยใช้ลักษณะสัณฐานวิทยา เช่น รูปทรง หมวก สี ลักษณะครีบใต้หมวกเห็ด (gill) รูปทรง ขนาด สีของสปอร์ ในการจัดจำแนกต้องอาศัยผู้เชี่ยวชาญเฉพาะด้านที่มีประสบการณ์และความชำนาญเป็นพิเศษ (อิตติยา และคณะ, 2555) ไม่สามารถแยกเห็ดได้อย่างชัดเจนโดยเฉพาะระยะที่เป็นดอกตูม (พรรณพร และคณะ, 2554 ; Sanmee *et al.*, 2008) ดังนั้นการใช้เกณฑ์ทางสัณฐานวิทยานั้นค่อนข้างมีข้อจำกัด คือ ต้องใช้ตัวอย่างที่มีความสมบูรณ์ ไม่มีส่วนที่ถูกทำลายจากสภาพเดิม (Rosendahl and Sen, 1992) หรือการตรวจสอบลักษณะ เส้นใยและสปอร์ด้วยกล้องจุลทรรศน์สเตอริโอ มาเป็นเกณฑ์ในการจัดจำแนกตัวอย่างที่มีลักษณะทางสัณฐานที่ใกล้เคียงกัน แต่บางครั้งการใช้ลักษณะสัณฐานวิทยาในการจำแนกไม่สามารถชี้ชัดได้ว่าเป็นเห็ดชนิดใด โดยเฉพาะในกรณีที่ตัวอย่างมีลักษณะที่ไม่แตกต่างกันมาก เพราะสภาพแวดล้อมในการเจริญเติบโต เช่น ความสมบูรณ์ของดิน แร่ธาตุอาหาร อุณหภูมิ แสง ความชื้น มีผลต่อลักษณะสัณฐาน

เนื่องด้วยการตรวจสอบสายพันธุ์เห็ดตับเต่า ด้วยเทคนิคทางชีวโมเลกุลยังไม่มีการศึกษามากนัก เมื่อนำมาแยกเชื้อ เลี้ยงขยายเชื้อ และนำไปใส่ในต้นพืชอิงอาศัย (epiphyte) ซึ่งโดยปกติเชื้อของเห็ดจะเกาะอยู่ที่บริเวณรากพืช ดังนั้นจึงจำเป็นต้องได้รับการตรวจสอบสายพันธุ์ให้ถูกต้องเพื่อเป็นการยืนยันข้อมูลให้แน่ชัดในทางวิชาการ เพื่อการนำไปใช้โดยการเลี้ยงขยายในอาหารหรือการเตรียมเชื้อสำหรับปลูกถ่ายลงในกล้าไม้อาศัยและเผยแพร่ได้อย่างถูกต้อง งานวิจัยนี้จึงเป็นการศึกษาเครื่องหมายดีเอ็นเอที่มีความจำเพาะต่อเห็ดตับเต่า โดยการวิเคราะห์ลำดับนิวคลีโอไทด์บริเวณ ITS เปรียบเทียบกับลำดับนิวคลีโอไทด์ของเชื้อราที่มีอยู่ในฐานข้อมูล GenBank และออกแบบไพรเมอร์ให้มีจำเพาะต่อยีนของเห็ดตับเต่า ซึ่งเป็นการนำเอาเทคนิคการวิเคราะห์ทางจีโนไทป์ (genotype) หรือการวิเคราะห์สารพันธุกรรม โดยอาศัยหลักการที่ว่าสิ่งมีชีวิตแต่ละชนิดมีสารพันธุกรรมที่เป็นเอกลักษณ์ไม่ซ้ำแบบกันกับสิ่งมีชีวิตชนิดอื่น ๆ แต่จะมีความเหมือนหรือใกล้เคียงกับสิ่งมีชีวิตที่วิวัฒนาการมาจากฐานพันธุกรรมเดียวกัน (เรือนแก้ว และวดิน, 2557)

วิธีดำเนินการวิจัย

1. แหล่งที่มาของเชื้อเห็ดที่ใช้ในการทดลอง

เชื้อเห็ดป่าไมคอร์ไรซาและเห็ดเศรษฐกิจที่รวบรวมได้จากสถาบันวิจัยวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยีแห่งประเทศไทย (วว.) จำนวน 10 ตัวอย่าง ได้แก่ เชื้อเห็ดตับเต่า จากสถานีวิจัยสิ่งแวดล้อมสะแกราช จังหวัดนครราชสีมา เชื้อเห็ดตับเต่า จากตำบลคลองห้า อำเภอลองหลวง จังหวัดปทุมธานี เชื้อเห็ดตับเต่า จากอำเภอพนพิสัย จังหวัดหนองคาย เชื้อเห็ดระโงกขาว (*Amanita princeps*) เชื้อเห็ดระโงกเหลือง (*A. hemibapha* subsp. *Javanica*) และเชื้อเห็ดระโงกแดง (*A. hemibapha* subsp. *hemibapha*) จากอำเภอร่องขวาง จังหวัดแพร่ เชื้อเห็ดเผาะหนัง (*Astraeus odoratus*) จากอำเภอกุสุมาลย์ จังหวัดศรีสะเกษ เชื้อเห็ดเผาะฝ้าย (*A. hygrometricus*) จากอำเภอเวียงสา จังหวัดน่าน เชื้อเห็ดนางฟ้าภูฐานดำ (*Pleurotus pulmonarius*) และเชื้อเห็ดนางรมเทา (*P. ostreatus*) จากฟาร์มเอกชน จังหวัดราชบุรี นำมาเลี้ยงบนอาหาร potato dextrose agar (PDA) เป็นเวลา 7 วัน

2. ชนิดของกล้าไม้พืชอิงอาศัย

รากของกล้าไม้ภายหลังการใส่เชื้อเห็ดตับเต่าปริมาณ 25 มิลลิลิตรต่อต้น ลงในกล้าไม้พืชอิงอาศัย 3 ชนิด คือ ต้นหางนกยูงไทย (*Caesalpinia pulcherrima* (L.) Sw.) ต้นแคบ้าน (*Sesbania grandiflora* (L.) Desv.) และต้นหว้า (*Syzygium cumini* (L.) Skeels) โดยบ่มเชื้อเป็นเวลา 3 เดือน และนำต้นกล้าออกปลูกในสภาพธรรมชาติเป็นเวลา 1 ปี และรากต้นที่ไม่ได้รับการใส่เชื้อเห็ดตับเต่า

3. การสกัดดีเอ็นเอและการเพิ่มปริมาณดีเอ็นเอบริเวณ ITS

การสกัดดีเอ็นเอจากเส้นใยเห็ด ดอกเห็ด และรากของกล้าไม้ภายหลังการใส่เชื้อเห็ดตับเต่าลงในกล้าไม้พืชอิงอาศัย ตามวิธี CTAB/ Chloroform-Isoamyl Alcohol DNA Extraction Protocol ของ Doyle and Dickson (1987) โดยใช้ 2X CTAB buffer โดยใช้เส้นใยเห็ดปริมาณ 40-50 มิลลิกรัม บดเส้นใยในโกรงด้วยไนโตรเจนเหลว นำผงบดละเอียดของเส้นใยใส่หลอด Eppendorf tube ขนาด 1.5 มิลลิลิตร เติมน้ำละลาย CTAB extraction buffer ปริมาตร 750 ไมโครลิตร และเติม 2-mercaptoethanol ปริมาตร 3 ไมโครลิตร บ่มที่อุณหภูมิ 65 องศาเซลเซียส นาน 30 นาที กลับหลอดทุก ๆ 10 นาที จากนั้นเติม Chloroform : isoamyl alcohol (24:1) ปริมาตร 750 ไมโครลิตร

ผสมสารละลายให้เข้ากันโดยกลับหลอดไปมาประมาณ 10-15 นาที นำไปปั่นเหวี่ยง 13,000 รอบต่อ นาที เป็นเวลา 15 นาที ดูดสารละลายส่วนใสด้านบนปริมาณ 500 ไมโครลิตร ใส่หลอด 1.5 มิลลิตร หลอดใหม่ เติมสารละลาย CTAB 10 เปอร์เซ็นต์ ปริมาตร 50 ไมโครลิตร และ Chloroform : isoamy alcohol (24:1) ปริมาตร 500 ไมโครลิตร ผสมให้เข้ากัน แล้วนำไปปั่นเหวี่ยง 13,000 รอบต่อ นาที เป็นเวลา 15 นาที เทส่วนใสทิ้ง ตกตะกอนด้วยเอทานอล 95 เปอร์เซ็นต์ ที่อุณหภูมิ 4 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 2 ชั่วโมง จากนั้นล้างตะกอนด้วยเอทานอล 70 เปอร์เซ็นต์ เทเอทานอลทิ้ง ปล่อยให้ตะกอน ดีเอ็นเอแห้ง เติม TE buffer ปริมาตร 20 ไมโครลิตร วัดปริมาณ และคุณภาพดีเอ็นเอด้วยเครื่อง Nano Drop OneC Spectrophotometer เก็บดีเอ็นเอไว้ที่อุณหภูมิ -20 องศาเซลเซียส

การเพิ่มปริมาณดีเอ็นเอของยีนที่มีความจำเพาะต่อเส้นใยเห็ด ปฏิบัติการปียูอาร์ทั้งหมด 12 ไมโครลิตร ประกอบด้วย deionized dH₂O 6.6 ไมโครลิตร 10X buffer Taq (Vivantis, USA) ปริมาตร 1.2 ไมโครลิตร 5 พิโคโมลต่อไมโครลิตร ITS 1F (5' TCCGTAGGTGAACCTGCGG 3') และ ITS 4R (5' TCCTCCGCTTATTGATATGC 3') (White *et al.*, 1990) อย่างละ 0.5 ไมโครลิตร 2 มิลลิโมลาร์ dNTP (Vivantis, USA) ปริมาตร 1.2 ไมโครลิตร 25 มิลลิโมลาร์ แมกนีเซียมคลอไรด์ (MgCl₂) ปริมาตร 0.5 ไมโครลิตร Taq DNA (Vivantis, USA) ปริมาตร 0.5 ไมโครลิตร และ 10 นาโนกรัม ดีเอ็นเอ ปริมาตร 1 ไมโครลิตร ทำปฏิกิริยาในเครื่องปียูอาร์ (Bio-Rad, T100 thermal cycle 1) ที่อุณหภูมิ 94 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 5 นาที จำนวน 1 รอบ 2) ที่อุณหภูมิ 94 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 30 วินาที ที่อุณหภูมิ 54 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 30 วินาที และที่อุณหภูมิ 72 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 45 วินาที จำนวน 35 รอบ และ 3) ที่อุณหภูมิ 72 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 4 นาที จำนวน 1 รอบ ตรวจสอบผลผลิตปียูอาร์ด้วยวิธีการเจลอิเล็กโทรโฟรีซิส (gel electrophoresis) ความเข้มข้น 1 เปอร์เซ็นต์ เปรียบเทียบกับแถบดีเอ็นเอมาตรฐาน 1 กิโลเบส (Kb) DNA ladder (Fermentas, USA)

4. การวิเคราะห์ลำดับนิวคลีโอไทด์บริเวณ ITS

ตรวจสอบลำดับนิวคลีโอไทด์บริเวณ ITS ของเห็ดตับเต่า โดยนำผลผลิตจากเทคนิค ปียูอาร์ส่งไปวิเคราะห์ที่บริษัท Solgent (ประเทศเกาหลีใต้) โดยใช้ไพรเมอร์ ITS 1-Forward primer และ ITS 4-Reverse primer เมื่อได้รับผลลำดับนิวคลีโอไทด์ของแต่ละตัวอย่างแล้ว ตรวจสอบความถูกต้องของลำดับนิวคลีโอไทด์บริเวณ ITS เปรียบเทียบกับลำดับนิวคลีโอไทด์ของเชื้อราที่มีอยู่ใน ฐานข้อมูล GenBank ประเทศสหรัฐอเมริกา

5. การออกแบบไพรเมอร์เพื่อให้มีความจำเพาะต่อเห็ดตับเต่า

ใช้ข้อมูลลำดับนิวคลีโอไทด์ของเห็ดตับเต่ามาใช้ออกแบบไพรเมอร์ให้มีความจำเพาะต่อ เห็ดตับเต่าที่ศึกษาโดยใช้โปรแกรม Primer-BLAST และกำหนดเงื่อนไขในการออกแบบ คือ ความยาว ของไพรเมอร์ระหว่าง 18-22 คู่เบส (base pairs: bp) มี GC content อยู่ในช่วง 40-60 เปอร์เซ็นต์ และมีอุณหภูมิที่ไพรเมอร์เข้าไปจับกับดีเอ็นเอบริเวณที่มีเบสคู่สมกัน (annealing temperature) อยู่ในช่วง 50-60 องศาเซลเซียส และขนาดของดีเอ็นเอเป้าหมายอยู่ในช่วง 150-300 คู่เบส หลังจาก ออกแบบไพรเมอร์ได้ตามเงื่อนไขแล้ว นำไปสังเคราะห์ไพรเมอร์ตามที่ต้องการ

6. การทดสอบความจำเพาะของไพรเมอร์ด้วยเทคนิคปียูอาร์

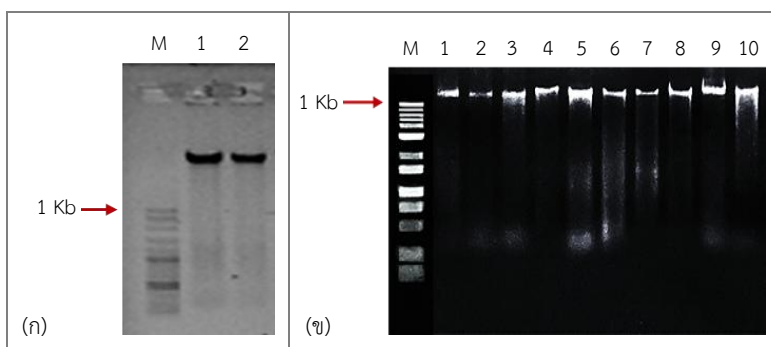
นำสารละลายดีเอ็นเอของเห็ดแต่ละตัวอย่างมาทำปฏิกิริยาเพิ่มปริมาณดีเอ็นเอด้วย เทคนิคปฏิกิริยาลูกโซ่พอลิเมอเรส (polymerase chain reaction: PCR) โดยใช้ไพรเมอร์ที่จำเพาะ จากการออกแบบองค์ประกอบของปฏิกิริยาปียูอาร์ทั้งหมด 12 ไมโครลิตร ประกอบด้วย deionized

dH₂O 6.6 ไมโครลิตร 10X buffer Taq (Vivantis, USA) ปริมาตร 1.2 ไมโครลิตร 5 พิโคมอลต่อไมโครลิตร ของไพรเมอร์ที่ออกแบบ อย่างละ 0.5 ไมโครลิตร 2 มิลลิโมลาร์ dNTP (Vivantis, USA) ปริมาตร 1.2 ไมโครลิตร 25 มิลลิโมลาร์ แมกนีเซียมคลอไรด์ ปริมาตร 0.5 ไมโครลิตร Taq DNA (Vivantis, USA) ปริมาตร 0.5 ไมโครลิตร และ 10 นาโนกรัม ดีเอ็นเอ ปริมาตร 1 ไมโครลิตร ทำปฏิกิริยาในเครื่อง พีซีอาร์ (Bio-Rad, T100 thermal cycler) 1) ที่อุณหภูมิ 94 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 5 นาที จำนวน 1 รอบ 2) ที่อุณหภูมิ 94 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 30 วินาที ใช้อุณหภูมิที่ไพรเมอร์เข้าไปจับกับดีเอ็นเอ บริเวณที่มีเบสคู่สมกันต่ำกว่าอุณหภูมิการหลอมเหลว (melting temperature: T_m) ของไพรเมอร์ 5 องศาเซลเซียส (Sriprapun, 2014) เป็นเวลา 30 วินาที และที่อุณหภูมิ 72 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 45 วินาที จำนวน 35 รอบ และ 3) ที่อุณหภูมิ 72 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 4 นาที จำนวน 1 รอบ ตรวจสอบผลผลิตพีซีอาร์ด้วยวิธีการเจลอิเล็กโทรโฟรีซิส ความเข้มข้น 1 เปอร์เซ็นต์ เปรียบเทียบกับ แถบดีเอ็นเอมาตรฐาน 1 กิโลเบส DNA ladder (Fermentas, USA)

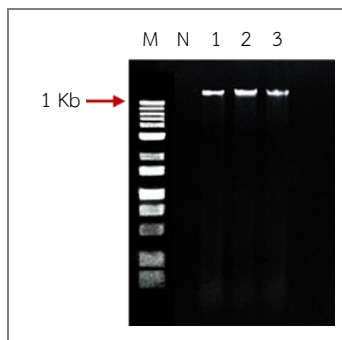
ผลการวิจัย

1. การสกัดดีเอ็นเอและตรวจสอบด้วยวิธีเจลอิเล็กโทรโฟรีซิส

การสกัดดีเอ็นเอทดสอบเห็นได้ชัด (ภาพที่ 1ก) เส้นใยเห็ดป่าไมคอร์ไรซาและเห็ด เศรษฐกิจ (ภาพที่ 1ข) และรากพืชอิงอาศัยสำหรับเห็ดตับเต่า (ภาพที่ 2) ตามวิธีของ CTAB/ Chloroform-Isoamyl Alcohol DNA Extraction Protocol พบว่าดีเอ็นเอที่สกัดได้มีแถบจีโนมิกส์ ดีเอ็นเอ (genomic DNA) ขนาดใหญ่ที่ชัดเจน และมีขนาดแถบจีโนมิกส์ดีเอ็นเอมากกว่า 1 กิโลเบส เมื่อเปรียบเทียบกับดีเอ็นเอมาตรฐาน โดยตรวจสอบด้วยวิธีเจลอิเล็กโทรโฟรีซิส ผลการตรวจสอบ ความเข้มข้นของดีเอ็นเอพบว่ามีค่าความเข้มข้นอยู่ในช่วง 1,747.8-569.1 นาโนกรัมต่อไมโครลิตร (ตารางที่ 1) ซึ่งดีเอ็นเอจากการสกัดนำไปใช้ในการเพิ่มปริมาณดีเอ็นเอ ITS ต่อไปด้วยเทคนิคพีซีอาร์



ภาพที่ 1 ผลการสกัดดีเอ็นเอของเห็ดตับเต่า (ก) โดยช่องที่ M คือ ดีเอ็นเอมาตรฐาน 100 คู่เบส DNA ladder ช่องที่ 1-2 คือ เห็ดตับเต่า และผลการสกัดดีเอ็นเอของเห็ดป่าไมคอร์ไรซาและเห็ด เศรษฐกิจ (ข) โดยช่องที่ M คือ ดีเอ็นเอมาตรฐาน 100 คู่เบส DNA ladder ช่องที่ 1-3 คือ เห็ดตับเต่า จากจังหวัดนครราชสีมา ปทุมธานี และหนองคาย ตามลำดับ ช่องที่ 4-10 คือ เห็ดระโงกขาว เห็ดระโงกแดง เห็ดระโงกเหลือง เห็ดเผาะหนัง เห็ดเผาะฝ้าย เห็ดนางฟ้า ภูฐานดำ และเห็ดนางรมเทา ตามลำดับ



ภาพที่ 2 ผลการสกัดดีเอ็นเอของรากพืชชิงอาสัยสำหรับเห็ดตับเต่า โดยช่องที่ M คือ ดีเอ็นเอมาตรฐาน 100 คู่เบส DNA ladder ช่องที่ N คือ ชุดควบคุมไม่ใส่ดีเอ็นเอ ช่องที่ 1-3 คือ รากต้นหางนกยูงไทย รากต้นแคบ้าน และรากต้นหว่า ตามลำดับ

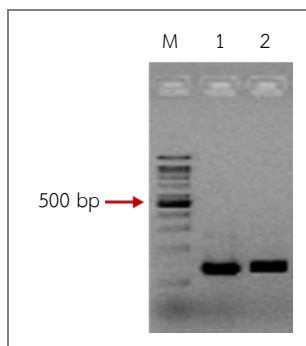
ตารางที่ 1 ปริมาณและคุณภาพจีโนมิกส์ดีเอ็นเอที่สกัดได้จากดอกเห็ด

ลำดับ	สายพันธุ์	ความเข้มข้นของดีเอ็นเอ (นาโนกรัมต่อไมโครลิตร)	
		(A ₂₆₀)	A ₂₆₀ /A ₂₈₀
1	ดอกสดเห็ดตับเต่า	1,649.50	2.18
2	เห็ดตับเต่า จากจังหวัดนครราชสีมา	733.50	2.14
3	เห็ดตับเต่า จากจังหวัดปทุมธานี	623.50	2.30
4	เห็ดตับเต่า จากจังหวัดหนองคาย	1,695.20	2.34
5	เห็ดระโงกขาว	1,533.70	2.43
6	เห็ดระโงกเหลือง	1,747.80	2.13
7	เห็ดระโงกแดง	569.10	2.25
8	เห็ดเผาะหนัง	921.40	2.23
9	เห็ดเผาะฝ้าย	624.60	1.96
10	เห็ดนางฟ้าภูฐานดำ	1,103.60	2.04
11	เห็ดนางรมเทา	1,595.90	1.74
12	รากต้นหางนกยูงไทย	745.60	1.54
13	รากต้นแคบ้าน	681.50	1.80
14	รากต้นหว่า	850.50	1.64

2. การเพิ่มปริมาณดีเอ็นเอบริเวณ ITS ด้วยเทคนิคพีซีอาร์

ผลจากการศึกษาการเพิ่มปริมาณดีเอ็นเอด้วยเทคนิคพีซีอาร์ โดยใช้ไพรเมอร์ที่มีความจำเพาะบนตำแหน่ง ITS ของ ribosomal RNA gene (rRNA) ของดอกเห็ดตับเต่าด้วยคู่ไพรเมอร์ ITS1-Forward primer และ ITS4-Reverse primer พบว่าสามารถเพิ่มปริมาณได้แถบดีเอ็นเอเพียงแถบเดียว ซึ่งมีขนาดประมาณ 250-300 คู่เบส ดังภาพที่ 3 แล้ววิเคราะห์ลำดับนิวคลีโอไทด์ที่ได้เปรียบเทียบกับลำดับนิวคลีโอไทด์ในฐานข้อมูล GenBank ด้วยโปรแกรม Primer-BLAST พบว่าสามารถจัดจำแนกชนิดของเห็ดตับเต่าได้ และสามารถระบุความเหมือนทางพันธุกรรมของเห็ดตับเต่า

โดยระบุได้ 100 เปอร์เซ็นต์ (KJ439037.1) ดังตารางที่ 2 แสดงว่าเครื่องหมายทางพันธุกรรมในส่วน
ของยีน ITS มีประสิทธิภาพสำหรับนำลำดับนิวคลีโอไทด์ไปออกแบบไพรเมอร์ต่อไป



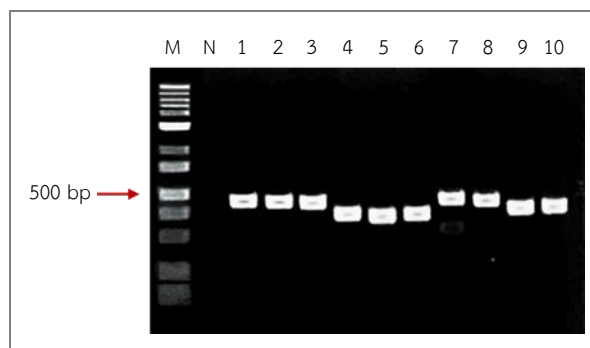
ภาพที่ 3 ผลการเพิ่มปริมาณดีเอ็นเอบริเวณ ITS ด้วยเทคนิคพีซีอาร์ และตรวจสอบโดยวิธีเจลอิเล็กโทร
โฟรีซิส โดยช่องที่ M คือ ดีเอ็นเอมาตรฐาน 100 คู่เบส DNA ladder และช่องที่ 1-2 คือ
เห็ดตับเต่า

ตารางที่ 2 การเปรียบเทียบค่าความเหมือนทางพันธุกรรมของลำดับนิวคลีโอไทด์เห็ดตับเต่ากับ
ฐานข้อมูลใน GenBank

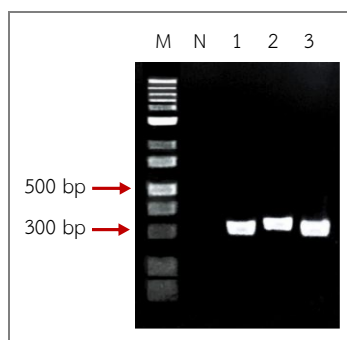
รหัส (strain in code)	ตัวระบุเฉพาะ (NCBI accession numbers)	สายพันธุ์เห็ด (reference taxon (strain))	ค่าความเหมือนทาง พันธุกรรม (เปอร์เซ็นต์) (%Identity)
PP01	KJ439037.1	เห็ดตับเต่า	100

จากการศึกษาการเพิ่มปริมาณดีเอ็นเอด้วยเทคนิคพีซีอาร์ โดยใช้ไพรเมอร์ที่มีความจำเพาะบนตำแหน่ง ITS ของ rRNA ของเส้นใยเห็ดป่าไมคอร์ไรซาและเห็ดเศรษฐกิจด้วยคู่ไพรเมอร์ ITS1 และ ITS4 พบว่าสามารถเพิ่มปริมาณดีเอ็นเอได้และได้แถบดีเอ็นเอเพียงแถบเดียว ซึ่งมีขนาดประมาณ 400-550 คู่เบส ดังภาพที่ 4

ผลการศึกษาการเพิ่มปริมาณดีเอ็นเอด้วยเทคนิคพีซีอาร์ โดยใช้ไพรเมอร์ที่มีความจำเพาะบนตำแหน่ง ITS ของ rRNA ของรากพืชอิงอาศัยหลังการใส่เชื้อเห็ดตับเต่า ได้แก่ ต้นหนังกยุงไทย ต้นแคบ้าน และต้นหว้า ด้วยคู่ไพรเมอร์ ITS1 และ ITS4 พบว่าสามารถเพิ่มปริมาณดีเอ็นเอเพียงแถบเดียว ซึ่งมีขนาดประมาณ 300-350 คู่เบส ดังภาพที่ 5



ภาพที่ 4 ผลการเพิ่มปริมาณดีเอ็นเอบริเวณ ITS ด้วยเทคนิคพีซีอาร์ และตรวจสอบโดยวิธีเจลอิเล็กโทรโฟรีซิส โดยช่องที่ M คือ ดีเอ็นเอมาตรฐาน 100 คู่เบส DNA ladder ช่องที่ N คือ ชุดควบคุมไม่ใส่ดีเอ็นเอ ช่องที่ 1-3 คือ เห็ดตับเต่า จากจังหวัดนครราชสีมา ปทุมธานี และหนองคาย ตามลำดับ ช่องที่ 4-10 คือ เห็ดระโงกขาว เห็ดระโงกแดง เห็ดระโงกเหลือง เห็ดเผาะหนัง เห็ดเผาะฝ้าย เห็ดนางฟ้าภูฐานดำ และเห็ดนางรมเทา ตามลำดับ



ภาพที่ 5 ผลการเพิ่มปริมาณดีเอ็นเอบริเวณ ITS ด้วยเทคนิคพีซีอาร์ โดยช่องที่ M คือ ดีเอ็นเอมาตรฐาน 100 คู่เบส DNA ladder ช่องที่ N คือ ชุดควบคุมไม่ใส่ดีเอ็นเอ ช่องที่ 1-3 คือ รากต้นหางนกยูงไทย รากต้นแคบ้าน และรากต้นหว้า ตามลำดับ

3. การออกแบบไพรเมอร์ให้มีความจำเพาะต่อเห็ดตับเต่า

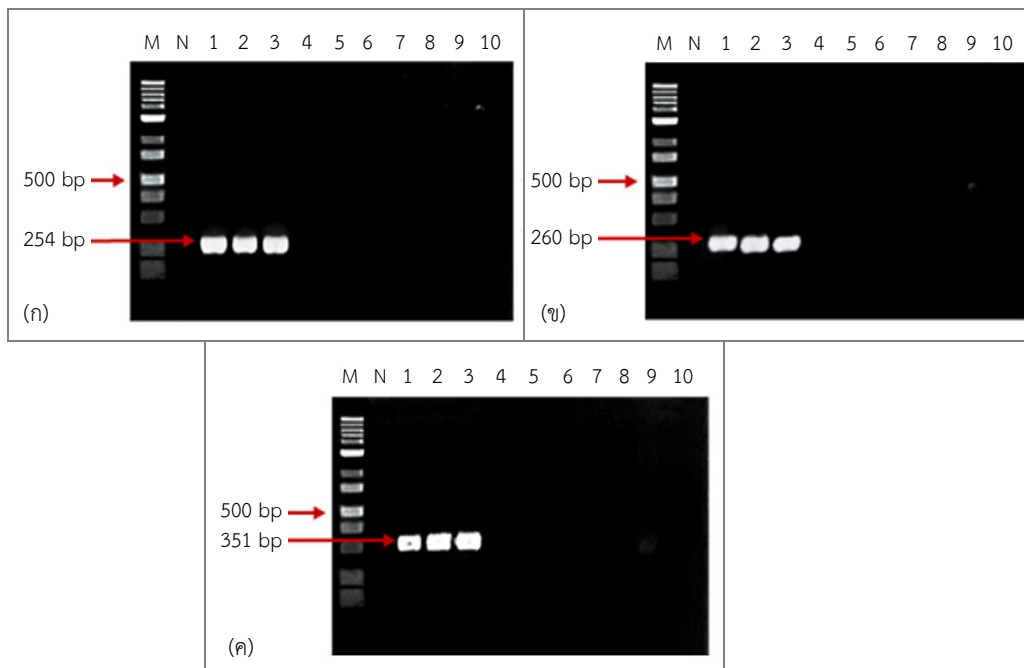
การศึกษานี้ใช้ลำดับนิวคลีโอไทด์ของ rRNA บริเวณ ITS ของเห็ดตับเต่า (KJ439037.1) มาออกแบบไพรเมอร์ให้มีความจำเพาะ ซึ่งพบว่าตำแหน่ง ITS เป็นบริเวณที่มีความผันแปรทางพันธุกรรมค่อนข้างต่ำ จึงนำมาใช้ออกแบบไพรเมอร์เพื่อใช้ในการระบุชนิดและสายพันธุ์ โดยใช้โปรแกรม Primer-BLAST (Ye *et al.*, 2012) ในการออกแบบไพรเมอร์ที่มีความจำเพาะต่อเห็ดตับเต่า แล้วเลือกตำแหน่งที่เบสต่างกันมากที่สุดจึงจะสามารถแยกชนิดได้ ซึ่งสามารถออกแบบไพรเมอร์ที่จำเพาะต่อเห็ดตับเต่า จำนวน 10 คู่ไพรเมอร์ ผลที่ได้ดังแสดงในตารางที่ 3

ตารางที่ 3 ลำดับนิวคลีโอไทด์ที่จำเพาะต่อหีตดัดเต้าจากการออกแบบไพรเมอร์ด้วยโปรแกรม Primer-BLAST

ลำดับคู่	ไพรเมอร์	ลำดับนิวคลีโอไทด์ (5'→3')	ขนาดดีเอ็นเอ (คู่เบส)	อุณหภูมิ การหลอมเหลว (องศาเซลเซียส)
1	Primer_pair_1	F- 5'-GATGCTAGGTGGGACGACTG-3' R- 5'-TCTTCATCGATGCGAGAGCC-3'	278	59.90 59.97
2	Primer_pair_2	F- 5'-ATGCATGTGCACGTGCGAAAC-3' R- 5'-CGATGCGAGAGCCAAGAGAT-3'	234	60.11 59.97
3	Ppo-01	F- 5'-ACGAGCAGTAGGAGGACGAT-3' R- 5'-GACGAACACGTCCCTTTTGC-3'	402	60.11 60.04
4	Primer_pair_4	F- 5'-GTGATGCTAGGTGGGACGAC-3' R- 5'-ATCGATGCGAGAGCCAAGAG-3'	275	60.18 59.97
5	Primer_pair_5	F- 5'-AGCAACGGATCTCTTGGCTC-3' R- 5'-TCACACTTTTCCCTCCAGCC-3'	345	60.11 59.89
6	Primer_pair_6	F- 5'-CCCTACGAGCAGTAGGAGGA-3' R- 5'-GCATGCTCCTCGGAATACCA-3'	254	59.58 59.89
7	Primer_pair_7	F- 5'-TGATGCTAGGTGGGACGACT-3' R- 5'-GCAATTCGCTGCGTTCTTCA-3'	293	60.32 60.11
8	Ppo-02	F- 5'-GAACGCAGCGAATTGCGATA-3' R- 5'-CTCCAGCCACGACGATCATT-3'	300	59.70 60.18
9	Primer_pair_9	F- 5'-CGCAGCGAATTGCGATAAGT-3' R- 5'-CAGTTCATGCGACGAACACG-3'	260	59.70 60.18
10	Ppo-03	F- 5'-ACGCAGCGAATTGCGATAAG-3' R- 5'-GCCCCTCGCCTTTGATTAGA-3'	351	59.70 59.82

4. ผลการเพิ่มปริมาณดีเอ็นเอด้วยเทคนิคพีซีอาร์โดยใช้ไพรเมอร์ที่จำเพาะต่อหีตดัดเต้า

ผลจากการใช้ไพรเมอร์จำเพาะ จำนวน 10 ไพรเมอร์ที่ออกแบบในการเพิ่มปริมาณดีเอ็นเอแม่แบบของเส้นใยเห็ดป่าไมคอร์ไรซา จำนวน 8 ตัวอย่าง และเห็ดเศรษฐกิจ จำนวน 2 ตัวอย่าง รวมทั้งหมด 10 ตัวอย่าง พบว่ามี 6 คู่ไพรเมอร์ให้แถบดีเอ็นเอที่แตกต่างกัน (polymorphism) ซึ่งมีขนาดขึ้นดีเอ็นเอตั้งแต่ 200-600 คู่เบส โดยมีไพรเมอร์ 3 คู่ไพรเมอร์สามารถเพิ่มปริมาณแถบดีเอ็นเอที่พบเฉพาะในตัวอย่างเส้นใยเห็ดดัดเต้า 3 ตัวอย่างเท่านั้น ได้แก่ Primer_pair_6 Primer_pair_9 และ Ppo_3 ให้แถบดีเอ็นเอขนาดประมาณ 254-351 คู่เบส ในตัวอย่างจากเส้นใยเห็ดดัดเต้าทั้ง 3 แหล่ง (จังหวัดนครราชสีมา ปทุมธานี และหนองคาย) เท่านั้น ดังภาพที่ 6



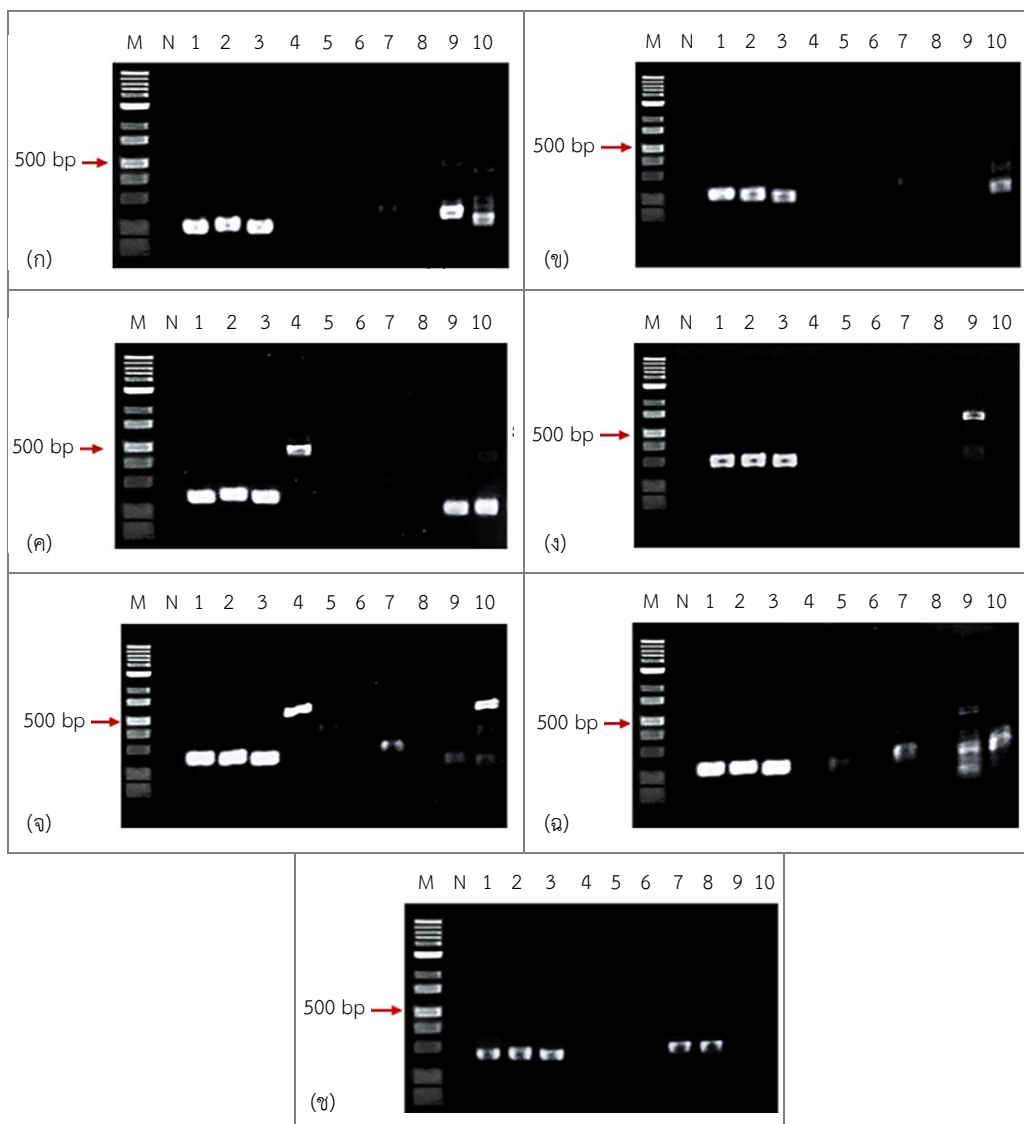
ภาพที่ 6 ผลแถบดีเอ็นเอที่ได้จากการเพิ่มปริมาณดีเอ็นเอด้วยไพรเมอร์ 3 คู่ไพรเมอร์ ได้แก่ Primer_pair_6 (ก) Primer_pair_9 (ข) และ Ppo_03 (ค) โดยช่องที่ M คือ ดีเอ็นเอมาตรฐาน 100 คู่เบส DNA ladder ช่องที่ N คือ ชุดควบคุมไม่ใส่ดีเอ็นเอ ช่องที่ 1-3 คือ เห็ดตับเต่า จากจังหวัดนครราชสีมา ปทุมธานี และหนองคาย ตามลำดับ ช่องที่ 4-10 คือ เห็ดระโงกขาว เห็ดระโงกแดง เห็ดระโงกเหลือง เห็ดเผาะหนัง เห็ดเผาะฝ้าย เห็ดนางฟ้า ภูฐานดำ และเห็ดนางรมเทา ตามลำดับ

ส่วนอีก 7 คู่ไพรเมอร์ พบว่าไม่จำเพาะต่อดีเอ็นเอของเห็ดตับเต่าเพียงอย่างเดียว ดังนี้ Primer_pair_1 สามารถเพิ่มปริมาณแถบดีเอ็นเอที่พบในตัวอย่างเส้นใยเห็ดป่าไมคอร์ไรซา 3 ตัวอย่าง และเห็ดเศรษฐกิจ 2 ตัวอย่าง คือ ตัวอย่างจากเส้นใยเห็ดตับเต่า (จากจังหวัดนครราชสีมา ปทุมธานี และหนองคาย) เห็ดนางฟ้าภูฐานดำ และเห็ดนางรมเทา ให้แถบดีเอ็นเอขนาดประมาณ 200-278 คู่เบส (ภาพที่ 7ก) ไพรเมอร์ Primer_pair_2 สามารถเพิ่มปริมาณแถบดีเอ็นเอที่พบในตัวอย่างเส้นใยเห็ดป่าไมคอร์ไรซา 3 ตัวอย่าง และเห็ดเศรษฐกิจ 1 ตัวอย่าง ให้แถบดีเอ็นเอขนาดประมาณ 234-250 คู่เบส ในตัวอย่างจากเส้นใยเห็ดตับเต่า (จากจังหวัดนครราชสีมา ปทุมธานี และหนองคาย) และเห็ดนางรมเทา (ภาพที่ 7ข) ไพรเมอร์ Ppo_01 สามารถเพิ่มปริมาณแถบดีเอ็นเอที่พบในตัวอย่างเส้นใยเห็ดป่าไมคอร์ไรซา 4 ตัวอย่าง และเห็ดเศรษฐกิจ 2 ตัวอย่างให้แถบดีเอ็นเอขนาดประมาณ 200-500 คู่เบส ในตัวอย่างจากเส้นใยเห็ดตับเต่า (จากจังหวัดนครราชสีมา ปทุมธานี และหนองคาย) เห็ดระโงกขาว เห็ดนางฟ้าภูฐานดำ และเห็ดนางรมเทา (ภาพที่ 7ค) ไพรเมอร์ Primer_pair_4 สามารถเพิ่มปริมาณแถบดีเอ็นเอที่พบในตัวอย่างเส้นใยเห็ดป่าไมคอร์ไรซา 3 ตัวอย่าง และเห็ดเศรษฐกิจ 1 ตัวอย่าง ให้แถบดีเอ็นเอขนาดประมาณ 275-600 คู่เบส ในตัวอย่างจากเส้นใยเห็ดตับเต่า (จากจังหวัดนครราชสีมา ปทุมธานี และหนองคาย) และเห็ดนางฟ้าภูฐานดำ (ภาพที่ 7ง) ไพรเมอร์ Primer_pair_5 สามารถเพิ่มปริมาณ

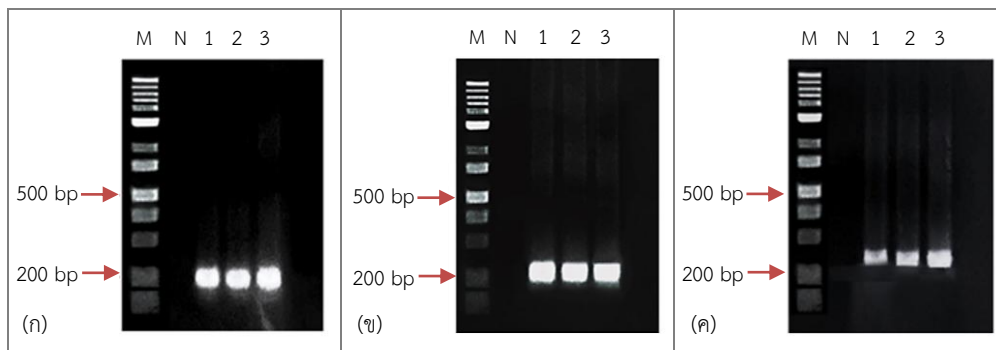
แถบดีเอ็นเอที่พบในตัวอย่างเส้นใยเห็ดป่าไมคอร์ไรซา 4 ตัวอย่าง และเห็ดเศรษฐกิจ 1 ตัวอย่าง ให้แถบดีเอ็นเอขนาดประมาณ 200-550 คู่เบส ในตัวอย่างจากเส้นใยเห็ดตับเต่า (จากจังหวัดนครราชสีมา ปทุมธานี และหนองคาย) เห็ดระโงกขาว และเห็ดนางรมเทา (ภาพที่ 7จ) ไพร์เมอร์ Primer_pair_7 สามารถเพิ่มปริมาณแถบดีเอ็นเอที่พบในตัวอย่างเส้นใยเห็ดป่าไมคอร์ไรซา 4 ตัวอย่าง และเห็ดเศรษฐกิจ 2 ตัวอย่าง ให้แถบดีเอ็นเอขนาดประมาณ 293-400 คู่เบส ในตัวอย่างจากเส้นใยเห็ดตับเต่า (จากจังหวัดนครราชสีมา ปทุมธานี และหนองคาย) เห็ดเผาะหนึ่ง เห็ดนางฟ้าภูฐานดำ และเห็ดนางรมเทา (ภาพที่ 7ข) ไพร์เมอร์ Ppo_2 สามารถเพิ่มปริมาณแถบดีเอ็นเอที่พบในตัวอย่างเส้นใยเห็ดป่าไมคอร์ไรซา 6 ตัวอย่าง ให้แถบดีเอ็นเอขนาดประมาณ 250-300 คู่เบส ในตัวอย่างจากเส้นใยเห็ดตับเต่า (จากจังหวัดนครราชสีมา ปทุมธานี และหนองคาย) เห็ดเผาะหนึ่ง และเห็ดเผาะฝ้าย (ภาพที่ 7ข) ส่วนเชื้อเห็ดระโงกแดงและเห็ดระโงกเหลือง จากการทดสอบด้วยการเพิ่มปริมาณดีเอ็นเอโดยใช้ไพร์เมอร์จำนวน 10 ไพร์เมอร์ พบว่าไม่สามารถเพิ่มปริมาณแถบดีเอ็นเอได้

5. ผลการตรวจสอบไพร์เมอร์ที่มีความจำเพาะต่อเห็ดตับเต่าในรากพืชอิงอาศัย

จากการศึกษาการนำดีเอ็นเอรากพืชอิงอาศัยที่มีการใส่เชื้อเห็ดตับเต่า 3 ชนิด ได้แก่ ต้นหางนกยูงไทย ต้นแคบ้าน และต้นหว่า ผลการสกัดดีเอ็นเอพบว่าดีเอ็นเอที่สกัดได้มีแถบจีโนมิกส์ดีเอ็นเอขนาดใหญ่ที่ชัดเจน สามารถนำไปใช้ในการเพิ่มปริมาณดีเอ็นเอบริเวณ ITS ด้วยเทคนิคพีซีอาร์ และผลจากการเพิ่มปริมาณดีเอ็นเอบริเวณ ITS พบว่าไพร์เมอร์ ITS1 และ ITS4 สามารถเพิ่มปริมาณแถบดีเอ็นเอได้ จากนั้นทำการตรวจสอบด้วยการใช้ไพร์เมอร์ที่มีความจำเพาะต่อเห็ดตับเต่า โดยใช้คู่ไพร์เมอร์ Primer_Pair_6 Primer_Pair_9 และ Ppo_03 พบว่าสามารถเพิ่มปริมาณได้แถบดีเอ็นเอเพียงแถบเดียว ขนาดประมาณ 200-250 คู่เบส แสดงว่าในรากพืชอิงอาศัยมีดีเอ็นเอของเห็ดตับเต่าอยู่ ดังนั้นจึงยืนยันได้ว่าบนเซลล์รากพืชอิงอาศัยที่ปลูกถ่ายเชื้อเห็ดตับเต่ามีเส้นใยของเห็ดตับเต่าเกาะอยู่บนเซลล์ราก เนื่องจากไพร์เมอร์ที่นำมาทดสอบเป็นไพร์เมอร์ที่มีความจำเพาะต่อเห็ดตับเต่า จึงแสดงแถบดีเอ็นเอให้เห็นได้ (ภาพที่ 8)



ภาพที่ 7 ผลแถบดีเอ็นเอที่ได้จากการเพิ่มปริมาณดีเอ็นเอด้วยไพรเมอร์ 7 คู่ไพรเมอร์ ได้แก่ Primer_pair_1 (ก) Primer_pair_2 (ข) Primer_pair_4 (ค) Ppo_01 (ง) Primer_pair_5 (จ) Primer_pair_7 (ฉ) Ppo_02 (ช) โดยช่องที่ M คือ ดีเอ็นเอมาตรฐาน 100 คู่เบส DNA ladder ช่องที่ N คือ ชุดควบคุมไม่ใส่ดีเอ็นเอ ช่องที่ 1-3 คือ เหยื่อตัวเต่า จากจังหวัดนครราชสีมา ปทุมธานี และหนองคาย ตามลำดับ ช่องที่ 4-10 คือ เหยื่อระงอกขาว เหยื่อระงอกแดง เหยื่อระงอกเหลือง เหยื่อผะนัง เหยื่อผะฝ้าย เหยื่อนางฟ้าภูพานดำ และเหยื่อนางรมเทา ตามลำดับ



ภาพที่ 8 ผลการตรวจสอบการมีอยู่ของดีเอ็นเอมีความจำเพาะต่อเห็ดตับเต่าในรากพืชอิงอาศัย ด้วยชุดไพรเมอร์ Primer_Pair_6 (ก) Primer_Pair_9 (ข) และ Ppo_03 (ค) โดยวิธีเจลอิเล็กโทรโฟรีซิส โดยช่องที่ M คือ ดีเอ็นเอมาตรฐาน 100 คู่เบส DNA ladder ช่องที่ N คือ ชุดควบคุมไม่ใส่ดีเอ็นเอ ช่องที่ 1-3 คือ รากต้นหางนกยูงไทย รากต้นแคบ้าน และรากต้นหว้า ตามลำดับ

การอภิปรายผลการวิจัย

จากการวัดปริมาณความเข้มข้นของดีเอ็นเอ พบว่าความเข้มข้นของดีเอ็นเอที่วัดได้มีค่าอยู่ในช่วงที่สามารถใช้เพิ่มปริมาณดีเอ็นเอเป้าหมายได้ เช่นเดียวกับ การศึกษาปริมาณดีเอ็นเอในใบมะขามแห้งที่อุณหภูมิและระยะเวลาต่างกัน พบว่าพันธุ์ปลูกประกายทองให้ปริมาณดีเอ็นเอสูงที่สุด รองลงมา คือ สีทองขันตี และศรีชมภู มีความเข้มข้นเท่ากับ 1,351.6 1,173.3 943.3 และ 910.0 นาโนกรัมต่อไมโครลิตร ตามลำดับ (มะหามะขวยยืน และคณะ, 2561) ซึ่งพบว่าความเข้มข้นของดีเอ็นเอเห็ดอยู่ในช่วง 1,747.8-569.1 นาโนกรัมต่อไมโครลิตร (ตารางที่ 1) สามารถเพิ่มปริมาณดีเอ็นเอเป้าหมายได้ เช่นเดียวกับมันสำปะหลังและพืชสกุลมะเขือ (จิราพร และคณะ, 2564; วิกานดา, 2560) การเพิ่มปริมาณดีเอ็นเอบริเวณ ITS ของ rRNA ด้วยเทคนิคพีซีอาร์ พบว่าสามารถระบุความเหมือนทางพันธุกรรมของเห็ดตับเต่าจากตัวอย่างดอกสดสามารถระบุได้ 100 เปอร์เซ็นต์ เพื่อนำลำดับนิวคลีโอไทด์ที่ได้ไปใช้ในการออกแบบไพรเมอร์ที่จำเพาะต่อเห็ดตับเต่า สอดคล้องกับงานวิจัยของปิยวรรณ และคณะ (2557) ศึกษาการจำแนกรากด้วยวิธีพีซีอาร์บริเวณตำแหน่ง ITS พบว่าการใช้ไพรเมอร์ ITS1 และ ITS4 สามารถจำแนกชนิดของรา มีค่าความเหมือนทางพันธุกรรมที่สูง เมื่อเปรียบเทียบกับลำดับนิวคลีโอไทด์ของราในฐานข้อมูล GenBank จึงทำนายได้ว่าเป็นราชนิดนั้น และสอดคล้องกับการศึกษาของ Das *et al.* (2013) ได้จำแนกเห็ดป่าด้วยไพรเมอร์ที่จำเพาะ คือ ITS1 และ ITS2 ในการเพิ่มปริมาณดีเอ็นเอของเห็ดป่าที่สามารถบริโภคได้ สามารถจำแนกเห็ดป่าได้ 8 ชนิด ซึ่งแสดงว่าเครื่องหมายทางพันธุกรรมในส่วนของยีน ITS มีประสิทธิภาพสำหรับการศึกษาความแตกต่างของสายพันธุ์เห็ดได้

การออกแบบไพรเมอร์มีความจำเพาะบนตำแหน่ง ITS ของ rRNA เพื่อใช้เป็นเครื่องหมายดีเอ็นเอที่จำเพาะต่อการตรวจสอบสายพันธุ์เห็ดตับเต่าได้ จำนวน 10 คู่ไพรเมอร์ พบว่ามีจำนวน 3 คู่ไพรเมอร์ ที่มีความจำเพาะต่อตัวอย่างสายพันธุ์เห็ดตับเต่า ได้แก่ Primer_pair_6 Primer_pair_9 และ Ppo_03 เมื่อเปรียบเทียบกับเห็ดตัวอย่างสายพันธุ์อื่น ๆ เนื่องจากไพรเมอร์ทั้ง 3 คู่ไพรเมอร์ให้แถบดีเอ็นเอเฉพาะตัวอย่างจากเส้นใยเห็ดตับเต่าเท่านั้น จึงทำให้มีความจำเพาะ ในขณะที่ไพรเมอร์จำนวน 7 คู่ที่เหลือมีการปรากฏแถบดีเอ็นเอในตัวอย่างเส้นใยเห็ดสายพันธุ์อื่น ๆ ไพรเมอร์ดังกล่าว

จึงไม่มีความจำเพาะต่อเห็ดตับเต่า สอดคล้องกับงานวิจัยของ Gausterer *et al.* (2014) ได้คิดค้นการใช้เทคนิคทางชีวโมเลกุลมาตรวจสอบรหัสทางพันธุกรรมของเห็ดที่เป็นพิษ คือ *A. phalloides* เป็นต้นแบบในการออกแบบไพรเมอร์ ผลที่ได้จากการออกแบบไพรเมอร์ที่จำเพาะ ทำให้เพิ่มปริมาณดีเอ็นเอของ *A. phalloides* ได้เพียงชนิดเดียว ไม่สามารถเพิ่มจำนวนของลำดับดีเอ็นเอของเห็ดกินได้ที่ใช้เป็นตัวควบคุม สอดคล้องกับงานวิจัยของ Suwannasai *et al.* (2020) ที่ศึกษาการสร้างรากเอกโตไมคอร์ไรซาของเห็ดเผาะสิรินธร (*A. sirindhorniae*) ในต้นยางนา (*D. alatus*) โดยการสกัดดีเอ็นเอจากรากต้นยางนา ตรวจสอบด้วยชุดไพรเมอร์ GAPK126F และ GAPK379R ซึ่งมีความจำเพาะกับเห็ดเผาะ พบแถบดีเอ็นเอมีขนาด 250 คู่เบส คิดเป็น 89.4 เปอร์เซ็นต์ จากจำนวนรากต้นยางนา 143 ตัวอย่าง ทำให้สามารถยืนยันได้ว่าชุดไพรเมอร์ดังกล่าวมีประสิทธิภาพในการตรวจสอบการเกิดรากเอกโตไมคอร์ไรซาในรากพืชอิงอาศัยที่ได้รับการใส่เชื้อเห็ดเผาะ และยังสอดคล้องกับงานวิจัยของ Adams *et al.* (2005) ศึกษาการใช้เทคนิคทางชีวโมเลกุลเป็นเครื่องมือในการจำแนกเห็ดสกุล *Amanita* โดยใช้จีโนมของ *A. bisporigera* มาออกแบบไพรเมอร์ที่จำเพาะกับลำดับเบสเป้าหมายของดีเอ็นเอต้นแบบเพื่อใช้ในการจำแนกระดับชนิดของเห็ดได้ ในขณะที่ Li *et al.* (2014) ได้วิจัยยีนที่มีความสัมพันธ์กับการเกิดพิษในกลุ่มเห็ดสกุล *Amanita* ซึ่งสามารถเพิ่มจำนวนสายพันธุกรรมพร้อมทั้งใช้เทคนิคการโคลนยีนพิษโดยการออกแบบไพรเมอร์สำหรับการตรวจสอบพิษ amatoxins และ phallotoxins ของเห็ดสกุล *Amanita* จากงานวิจัยนี้ได้ออกแบบไพรเมอร์ในการตรวจสอบดีเอ็นเอของเห็ดตับเต่าภายหลังการปลูกถ่ายเชื้อลงกล้าไม้พืชอิงอาศัย โดยเป็นการศึกษาเบื้องต้น สามารถพัฒนาต่อยอดในการทำ multiplex PCR ได้ เพื่อเป็นข้อยืนยันว่าการใช้เทคนิคทางชีวโมเลกุลมีความถูกต้องแม่นยำในการจำแนกสายพันธุ์เห็ดตับเต่า และสามารถใช้เป็นข้อมูลสำหรับการออกแบบไพรเมอร์เพื่อตรวจสอบเห็ดสายพันธุ์อื่น ๆ ในอนาคต

สรุปผลการวิจัย

จากการศึกษาเครื่องหมายดีเอ็นเอที่มีความจำเพาะต่อเห็ดตับเต่า โดยการออกแบบไพรเมอร์ที่จำเพาะจากลำดับนิวคลีโอไทด์บริเวณ ITS ของเห็ดตับเต่า และการเพิ่มปริมาณสารพันธุกรรมด้วยเทคนิคพีซีอาร์พบว่าไพรเมอร์ที่ออกแบบมีความจำเพาะต่อเห็ดตับเต่า จำนวน 3 คู่ไพรเมอร์ ได้แก่ Primer_Pair_6 Primer_Pair_9 และ Ppo_03 และเมื่อนำดีเอ็นเอที่สกัดจากรากพืชอิงอาศัยที่มีการปลูกเชื้อเห็ดตับเต่ามาตรวจสอบ และยืนยันด้วยไพรเมอร์ที่จำเพาะจากการออกแบบ พบว่าสามารถยืนยันได้ว่าในรากพืชอิงอาศัยมีเชื้อเห็ดตับเต่าเกาะอยู่ที่รากพืชจริง การทดลองนี้เป็นการศึกษาเบื้องต้นโดยสามารถแสดงให้เห็นว่าการใช้วิธีการทางชีวโมเลกุลสามารถยืนยันสายพันธุ์ของเห็ดตับเต่าได้อย่างแม่นยำ และเหมาะสมสำหรับระบุชนิดของตัวอย่างที่ไม่สามารถจำแนกด้วยการใช้ลักษณะทางสัณฐานวิทยาหรือกล้องจุลทรรศน์แบบสเตอริโอได้

กิตติกรรมประกาศ

คณะผู้วิจัยขอขอบคุณสำนักงานคณะกรรมการส่งเสริมวิทยาศาสตร์ วิจัยและนวัตกรรม (สกสว.) และสำนักงานพัฒนาการวิจัยการเกษตร (องค์การมหาชน) (สวก.) ในการสนับสนุนทุนวิจัย เรื่องการพัฒนาเทคโนโลยีการผลิตพืชป่าไมคอร์ไรซาในสภาพพื้นที่ไร่ป่าแบบธรรมชาติ (ปีที่ 2) ประจำปีงบประมาณ 2565

เอกสารอ้างอิง

- กิตติมา ดวงแค วินันต์ดา หิมะมาน และจันจิรา อายะวงศ์. (2548). *เอกโตไมคอร์ไรซากับการควบคุมโรคเน่าก้ำในยูคาลิปตัส*. กรุงเทพฯ: สำนักวิจัยการอนุรักษ์ป่าไม้และพันธุ์พืช กรมอุทยานแห่งชาติ สัตว์ป่า และพันธุ์พืช.
- จิราพร แก่นทรัพย์ ธนาดี คำชู วิภาวี ชันโรจน์ สุภาวดี จ้อเหรียญ สุวลักษณ์ อะมะวัลย์ และประพิศ วงเทียม. (2564). วิถีสกัดดีเอ็นเอจากมันสำปะหลังที่รวดเร็ว ประหยัด และปราศจากตัวทำลายอินทรีย์อันตราย. *วารสารวิชาการเกษตร*, 39(2), 189-201.
- ธิดิยา บุญประเทือง รัตเชตร เขยกลิน พชรภรณ์ พรหมเคี่ยมอ่อน และพรรณทิพย์ ตียพันธ์. (2555). *การจำแนกเห็ดพิษในประเทศไทย ช่วงปี 2551-2555*. กรุงเทพฯ: สมาคมนักวิจัยและเพาะเห็ดแห่งประเทศไทย.
- ปิยวรรณ กลมเกลี้ยง อีระชัย ธนาคันต์ และนิรมล ศากยวงศ์. (2557). การจำแนกราดด้วยวิธีไอทีเอสพีซีอาร์และความสามารถในการบำบัดสรีรแอคทีฟ RR141. *วารสารวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยี*, 22(5), 684-694.
- พรรณพร กุลมา มนุศิลป์ ศิริมาตย์ และสายสมร ล้ายอง. (2554). การเปรียบเทียบลักษณะสัณฐานวิทยาของเห็ดระโงกเพื่อการจำแนกแยกชนิดที่รับประทานไม่ได้. *การประชุมทางวิชาการของมหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์ ครั้งที่ 49*. กรุงเทพฯ.
- มะหามะซูปัยน์ แดเป้าะ สุระเชษฐ เอี่ยมสำอาจ เบญจพร ศรีสุวรรณมาศ และกาญจน์ คุ่มทรัพย์. (2561). การเปรียบเทียบปริมาณดีเอ็นเอในใบมะขามแห้งที่อุณหภูมิและระยะเวลาต่างกันโดยใช้กระดาษเซลลูโลสเมทริกซ์. *วารสารวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยี มหาวิทยาลัยราชภัฏเพชรบูรณ์*, 3(1), 42-55.
- เรือนแก้ว ประพฤติ และวดิน เจริญตันธนกุล. (2557). การระบุพืชของเห็ดพิษแบบรวดเร็วด้วยเทคนิค real-time PCR. *รายงานวิจัย*. สถาบันบริการตรวจสอบคุณภาพและมาตรฐานผลิตภัณฑ์ มหาวิทยาลัยแม่โจ้.
- วรวิฑู มีสุข วีระเกียรติ ทรัพย์มี พัฒนพร รินทจักร และจุฑามาศ ศุภพันธ์. (2566). ความหลากหลายทางพันธุกรรมของต้นประ (Elateriospermum tapos) ในป่าดั้งเดิมและป่าปลูกในอุทยานแห่งชาติเขานัน จังหวัดนครศรีธรรมราชโดยวิเคราะห์จากลำดับนิวคลีโอไทด์จากยีน *MaturaseK* ในคลอโรพลาสต์ดีเอ็นเอ. *วารสารวิชา มหาวิทยาลัยราชภัฏนครศรีธรรมราช*, 42(1), 1-13.
- วิภาดา พรหมณี. (2560). *การศึกษาดีเอ็นเอบาร์โค้ดของพืชสกุลมะเขือในประเทศไทย*. วิทยานิพนธ์ วิทยาศาสตร์มหาบัณฑิต (วิทยาการทางเภสัชศาสตร์). มหาวิทยาลัยศิลปากร, นครปฐม.
- อนิวรรณ เณิมพงษ์ และธีรวัฒน์ บุญทวีคุณ. (2524). การสำรวจเชื้อราไมคอร์ไรซาที่สัมพันธ์กับรากต้นไม้ในระบบนิเวศวิทยาป่าเต็งรังท้องที่ป่าสะแกราช. *รายงานวิจัย*. สำนักงานคณะกรรมการวิจัยแห่งชาติ.
- อานนท์ เอื้อตระกูล. (2553). *เห็ดดับเต่า*. สืบค้นเมื่อ 20 ธันวาคม 2566, จาก: <http://anonbiotec.gratis-foros.com/t185>.

- อุทัยวรรณ แสงวณิช. (2547). ศักยภาพของเห็ดป่าในการเพิ่มรายได้ของเกษตรกรในระบบวนเกษตร. *การประชุมวิชาการวนเกษตร ครั้งที่ 1 “มิติของระบบวนเกษตร สำหรับชุมชนอนาคต”*. พิษณุโลก.
- Adams, R.I., Hallen, H.E. and Pringle, A. (2005). Using the incomplete genome of the ectomycorrhizal fungus *Amanita bisporigera* to identify molecular polymorphisms in the related *Amanita phalloides*. *Molecular Ecology Notes*, 6(1), 218-220, doi: <https://doi.org/10.1111/j.1471-8286.2005.01198.x>.
- Blackwell, M. (2011). The fungi: 1, 2, 3 ... 5.1 million species?. *American Journal of Botany*, 98(3), 426-438, doi: <https://doi.org/10.3732/ajb.1000298>.
- Conjeaud, C., Scheromm, P. and Mousain, D. (1996). Effects of phosphorus and ectomycorrhiza on maritime pine seedlings (*Pinus pinaster*). *New Phytologist*, 133(2), 345-351, doi: <https://doi.org/10.1111/j.1469-8137.1996.tb01901.x>.
- Das, S.K., Mandal, A., Datta, A.K., Gupta, S., Paul, R., Saha, A., Sengupta, S. and Dubey, P.K. (2013). Nucleotide sequencing and identification of some wild mushrooms. *The Scientific World Journal*, 2013(1), doi: <https://doi.org/10.1155/2013/403191>.
- Doyle, J.J. and Dickson, E.E. (1987). Preservation of plant samples for DNA restriction endonuclease analysis. *Taxon*, 36(4), 715-722, doi: <https://doi.org/10.2307/1221122>.
- Gausterer, C., Penker, M., Krisai-Greihuber, I., Stein, C. and Stimpfl, T. (2014). Rapid genetic detection of ingested *Amanita phalloides*. *Forensic Science International: Genetics*, 9, 66-71, doi: <https://doi.org/10.1016/j.fsigen.2013.11.002>.
- Harley, J.L. and Smith, S.E. (1983). *Mycorrhizal symbiosis*. London: Academic Press.
- Lafontaine, D.L.J. and Tollervey, D. (2001). The function and synthesis of ribosomes. *Nature Reviews Molecular Cell Biology*, 2(7), 514-520, doi: <https://doi.org/10.1038/35080045>.
- Li, P., Deng, W. and Li, T. (2014). The molecular diversity of toxin gene families in lethal *Amanita* mushrooms. *Toxicon*, 83, 59-68, doi: <https://doi.org/10.1016/j.toxicon.2014.02.020>.
- Mora, C., Tittensor, D.P., Adl, S., Simpson, A.G.B. and Worm, B. (2011). How many species are there on earth and in the ocean?. *PLOS Biology*, 9(8), 1-8, doi: <https://doi.org/10.1371/journal.pbio.1001127>.
- Rosendahl, S. and Sen, R. (1992). 9 Isozyme analysis of mycorrhizal fungi and their mycorrhiza. *Methods in Microbiology*, 24, 169-192, doi: [https://doi.org/10.1016/S0580-9517\(08\)70092-8](https://doi.org/10.1016/S0580-9517(08)70092-8).
- Sanmee, R., Tulloss, R.E., Lumyong, P., Dell, B. and Lumyong, S. (2008). Studies on *Amanita* (Basidiomycetes: Amanitaceae) in Northern Thailand. *Fungal Diversity*, 32, 97-123.

- Schoch, C.L., Seifert, K.A., Huhndorf, S., Robert, V., Spouge, J.L., Levesque, C.A. and Chen, W. (2012). Nuclear ribosomal internal transcribed spacer (ITS) region as a universal DNA barcode marker for fungi. *Proceedings of the National Academy of Sciences*, 109(16), 6241-6246, doi: <https://doi.org/10.1073/pnas.1117018109>.
- Sriprapun, M. (2014). *How to design primer and how to use some programs for primer design*. Retrieved 10 June 2024, from: <https://www.slideshare.net/slideshow/pcr-primer-design-methee/39998396>.
- Suwannasai, N., Dokmai, P., Yamada, A., Watling, R. and Phosri, C. (2020). First ectomycorrhizal syntheses between *Astraeus sirindhorniae* and *Dipterocarpus alatus* (Dipterocarpaceae), pure culture characteristics, and molecular detection. *Biodiversitas*, 21(1), 231-238, doi: <https://doi.org/10.13057/biodiv/d210130>.
- White, T.J., Bruns, T., Lee, S. and Taylor, J. (1990). 38-Amplification and direct sequencing of fungal ribosomal RNA genes for phylogenetics. In Innis, M.A., Gelfand, D.H., Sninsky, J.S. and White, T.J. (Eds.). *PCR protocols: A guide to methods and applications*, pp. 315-322. London: Academic Press.
- Ye, J., Coulouris, G., Zaretskaya, I., Cutcutache, I., Rozen, S. and Madden, T.L. (2012). Primer-BLAST: A tool to design target-specific primers for polymerase chain reaction. *BMC Bioinformatics*, 13, doi: <https://doi.org/10.1186/1471-2105-13-134>.

การใช้ระบบทดสอบเพลทแบบพลศาสตร์ที่พัฒนาขึ้นเอง สำหรับทำนายค่าซีบีอาร์ของดินลูกรัง

Utilisation of In-house Built Dynamic Plate Load Test System for Predicting CBR of Lateritic Soil

เอกพล สุวรรณรัตน์¹ และปานุ พร้อมพุทธารุง^{1*}
Ekkaphon Suwannarut¹ and Panu Promputthangkoon^{1*}

บทคัดย่อ

สำหรับงานวิศวกรรมโยธา ดินเป็นทั้งวัสดุโครงสร้างและฐานราก ก่อนจะนำดินไปใช้งาน ต้องมีการเก็บตัวอย่างดิน ทดสอบ และแบ่งประเภทเพื่อทราบคุณสมบัติต่าง ๆ จากนั้นจึงวิเคราะห์คุณสมบัติเพิ่มเติมเพื่อตรวจสอบว่าจะนำไปใช้ทำอะไร นอกจากนั้นต้องการวิธีสำหรับติดตามและควบคุมคุณภาพของดินบดอัดในสนาม สำหรับประเทศไทย วิธีแทนที่ด้วยทรายคือวิธีที่นิยมมากที่สุด แต่วิธีนี้ใช้เวลาและมีค่าใช้จ่ายสูง บางประเทศจึงหันไปใช้วิธีนิวเคลียร์ ซึ่งต้องใช้เทคนิคขั้นสูงสำหรับการทดสอบ วิธีการทดสอบแผ่นเพลทจะถูกนำมาใช้ถ้าต้องการทราบค่ากำลังรับน้ำหนักบรรทุก (ซีบีอาร์) และโมดูลัส รูปแบบของวิธีทดสอบโดยแผ่นเพลทคล้ายกันกับวิธีแทนที่ด้วยทรายในแง่ของระยะเวลาและค่าใช้จ่ายสูง ดังนั้นงานวิจัยนี้จึงต้องการแก้ปัญหาดังกล่าวโดยการใช้ระบบทดสอบแผ่นเพลทแบบพลศาสตร์ที่พัฒนาขึ้นมาเอง ขั้นตอนแรกของการวิจัย คือ จัดเก็บตัวอย่างดินลูกรัง จำนวน 3 ตัวอย่าง นำตัวอย่างไปทดสอบในห้องปฏิบัติการเพื่อหาคุณสมบัติทั่วไป ความหนาแน่น และค่าซีบีอาร์ จากนั้นจึงเตรียมตัวอย่างให้มีคุณสมบัติใกล้เคียงกับตัวอย่างที่ทดสอบในห้องปฏิบัติการ แล้วจึงทดสอบซีบีอาร์โดยใช้ระบบทดสอบแผ่นเพลทแบบพลศาสตร์เพื่อให้ทราบค่าแรงกระทำและการทรุดตัว ผลการทดสอบแสดงให้เห็นว่า เมื่อค่าซีบีอาร์สูงขึ้น ค่าแรงกระทำก็จะสูงขึ้นตามกันไปด้วย เช่น แรงกระทำที่เกิดขึ้นกับตัวอย่างที่มีค่าซีบีอาร์ร้อยละ 1.30 3.48 และ 7.61 คือ 20.72 25.41 และ 29.86 กิโลนิวตัน ตามลำดับ ผลดังกล่าวนี้แสดงให้เห็นว่าการทดสอบแผ่นเพลทแบบพลศาสตร์ที่พัฒนาโดยงานวิจัยนี้สามารถนำไปใช้เพื่อทำนายค่าซีบีอาร์ในสนาม ซึ่งส่งผลให้ค่าทดสอบถูกลง

คำสำคัญ: ความหนาแน่น ซีบีอาร์ การทดสอบเพลทแบบพลศาสตร์ ดินลูกรัง

¹ สาขาวิชาวิศวกรรมโยธา คณะวิศวกรรมศาสตร์ มหาวิทยาลัยเทคโนโลยีราชมงคลศรีวิชัย

* Corresponding author e-mail: panupptk@gmail.com

Received: 27 May 2024, Revised: 30 August 2024, Accepted: 2 September 2024

Abstract

In some of civil engineering projects, soil is mainly employed as both structure and foundation; these include roads, dams, and runways. Before being utilised, a soil must be collected, tested, and classified in order to obtain properties. Then, the results are further analysed so that we know what we could do with the soil. In the field, we need a method to monitor and control the quality of compacted soil. In Thailand, the sand cone method is most common. Because of its time-consuming nature and high cost, many countries now opt for the nuclear method; however, it requires rigorous techniques for operation. The plate bearing test will be employed if bearing capacity and modulus values are required. Similar to the density test situation, the method takes long time and quite expensive. Thus, this research attempted to overcome those procedures by implementing own dynamic plate bearing test system. First, a total of three lateritic soils were collected; basic property, density, and CBR (California Bearing Ratio) tests were then carried out in a laboratory. Next, samples were prepared having similar properties obtained from the laboratory results; and, the dynamic plate bearing test was then carried out, obtaining both applied forces and their corresponding settlements. The results reveal that the higher the CBR the greater the applied force, i.e., the applied forces for the CBRs of 1.30, 3.48, and 7.61% were 20.72, 25.41, and 29.86 kN, respectively. This may suggest that the dynamic plate bearing test system developed by the authors could be employed for predicting the CBR in the field resulting in cheaper operation.

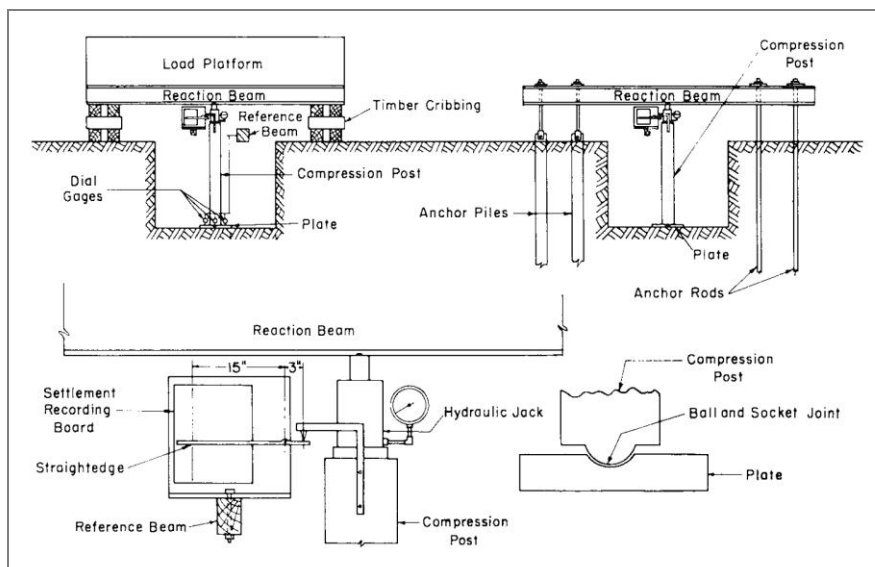
Keywords: Density, CBR, Dynamic plate bearing test, Lateritic soil

บทนำ

การบดอัดดินเป็นการลดปริมาณอากาศในดินให้น้อยลงส่งผลให้ความหนาแน่นเพิ่มมากขึ้น ซึ่งการบดอัดดินมีวัตถุประสงค์เพื่อให้ดินมีความหนาแน่นเพียงพอที่สามารถรับน้ำหนักจากสิ่งก่อสร้างต่าง ๆ ได้ เช่น น้ำหนักอาคาร และน้ำหนักรถบรรทุก เป็นต้น โดยที่ชั้นดินไม่เกิดการทรุดตัวมากเกินไป และเกิดความเสียหายที่จะส่งผลต่อโครงสร้างของอาคารและสิ่งก่อสร้างต่าง ๆ เมื่อมีการบดอัดดินในสนาม จำเป็นต้องมีกระบวนการตรวจสอบความหนาแน่นของชั้นดินที่ผ่านการบดอัด เพื่อให้แน่ใจว่าชั้นดินที่ทำการบดอัดหรือดินที่รับน้ำหนักของโครงสร้างจะมีความหนาแน่นเพียงพอที่สามารถรับน้ำหนักของสิ่งก่อสร้างต่าง ๆ ได้โดยไม่ก่อให้เกิดความเสียหาย วิธีการมาตรฐานการทดสอบความหนาแน่นดินบดอัดในประเทศไทย คือ ASTM D1556 (2024) โดยใช้การชูดหลุมขนาดเล็กแล้วแทนที่ด้วยทรายมาตรฐาน เมื่อทราบมวลดินที่ชูดขึ้นมา ปริมาตรของดินดังกล่าว และคุณสมบัติของทรายที่แทนที่ในหลุม ก็จะสามารถคำนวณความหนาแน่นดังกล่าวได้ กระบวนการนี้ใช้เวลา เนื่องจากต้องนำ

ตัวอย่างดินไปหาปริมาณความชื้น ดังนั้นในหลายประเทศจึงนิยมใช้วิธีนิวเคลียร์ตามมาตรฐาน ASTM D6938 (2023) ซึ่งอาศัยการปล่อยรังสีแกมมาผ่านชั้นดิน ในขณะที่เดียวกันก็วัดระยะเวลาที่รังสีดังกล่าวเดินทางถึงตัวรับสัญญาณ ทำให้ทราบผลการทดสอบในทันที วิธีนี้ดีกว่า ASTM D1556 (2024) เกือบทุกประการ ยกเว้นต้องมีความระมัดระวังเป็นอย่างสูงเกี่ยวกับการใช้งานและการจัดเก็บเพื่อไม่ให้เกิดการรั่วไหลของรังสี

นอกจากการพิจารณาผลการทดสอบความหนาแน่นในสนาม บางกรณีอาจต้องทำการทดสอบซีบีอาร์ของชั้นดินโดยตรง เช่น การออกแบบฐานรากตื้น ปัจจุบันประเทศไทยนิยมตรวจสอบค่าซีบีอาร์ของชั้นดินโดยใช้วิธีแผ่นเพลทรับน้ำหนักบรรทุก ดังภาพที่ 1 ซึ่งเป็นการทดสอบโดยการกดแผ่นเหล็กลงบนดินที่ต้องการทดสอบ เช่น ที่ระดับฐานรากที่จะทำการก่อสร้าง โดยการทดสอบแบบเพลทรับน้ำหนักบรรทุก เป็นการหาความสัมพันธ์ระหว่างน้ำหนักกดทับกับการทรุดตัว การทดสอบต้องใช้เวลาในการทดสอบและมีค่าใช้จ่ายสูง เช่น การติดตั้งเครื่องมือในการทดสอบ การตรวจวัดผลการทดสอบ การให้น้ำหนักต่อแผ่นเหล็กเพื่อถ่ายต่อไปยังชั้นดิน รวมทั้งการวิเคราะห์และรายงานผล



ภาพที่ 1 รูปแบบทั่วไปสำหรับการติดตั้งอุปกรณ์ทดสอบแผ่นรับน้ำหนักบรรทุก
ที่มา: ASTM E1194-94 (1994)

โดยปกติผลการทดสอบเพลทอาจนำไปคำนวณค่าซีบีอาร์ของดินฐานราก ซึ่งทำได้โดยการเอาแรงกระทำที่ทำให้ชั้นดินทรุดตัวถึงระดับที่ต้องการ หาค่าด้วยพื้นที่หน้าตัดของแผ่นเพลท แต่โครงสร้างถนนและสนามบินมักใช้ตัวแปรอีกประเภทที่สำคัญสำหรับการออกแบบ คือ โมดูลัสแรงต้านทานของดิน (modulus of subgrade reaction: k) กรณีอ้างอิงมาตรฐาน AASHTO T222-81 (2021) ค่าดังกล่าวอาจคำนวณได้จากสมการ (1) และต้องปรับแก้จากข้อมูลที่ได้จากการทดสอบในสนาม (ชนิดา และคณะ, 2564)

$$k = k'_u \left[\frac{d}{d_s} + \frac{b}{1905} \left(1 - \frac{d}{d_s} \right) \right] \quad (1)$$

เมื่อ k'_u = โมดูลัสแรงต้านทานของดิน (ในสนาม) (อาจคำนวณได้จากสมการที่เสนอโดย Tamrakar *et al.* (2022)

d = ค่าทรุดตัวจากการทดสอบอัดตัวคาน้ำเมื่อรับความเค้น 69 กิโลปาสกาล (มิลลิเมตร) (เมื่อความชื้นเท่ากับค่าความชื้นในสนาม)

d_s = ค่าทรุดตัวจากการทดสอบอัดตัวคาน้ำเมื่อรับความเค้น 69 กิโลปาสกาล (มิลลิเมตร) (เมื่อดินอิ่มตัว)

b = ความหนาชั้นดินที่ทดสอบ (มิลลิเมตร)

กรณีอ้างอิงถึงมาตรฐานของ DIN 18134 (2012) อาจคำนวณค่าโมดูลัสแรงต้านทานของดินจากสมการ (2) ซึ่งมีความซับซ้อนน้อยกว่ามาตรฐาน AASHTO T222-81 (2021) (ซึ่งต้องมีการปรับแก้) ในขณะที่มาตรฐาน ASTM D1196 (2021) ไม่ได้กำหนดค่าการทรุดตัวที่ 1.25 มิลลิเมตร สำหรับการคำนวณเหมือนกับมาตรฐานของ DIN 18134 (2012) แต่กำหนดค่าการทรุดตัวสูงสุดเป็นตัวหารดังสมการ (3)

$$k = \frac{P}{\Delta} \quad (2)$$

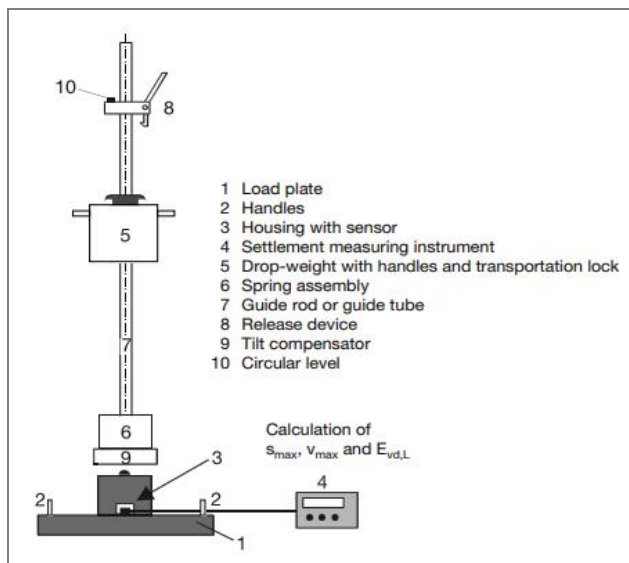
เมื่อ P = ความเค้นที่ทำให้เกิดการทรุดตัว 1.25 มิลลิเมตร

Δ = 1.25 มิลลิเมตร

$$k = \frac{P}{\Delta_{\max}} \quad (3)$$

เมื่อ $\Delta_{\max}$ = ค่าการทรุดตัวสูงสุด (มิลลิเมตร)

การทดสอบเพลทรับน้ำหนักบรรทุก ต้องมีการติดตั้งอุปกรณ์และชุดให้น้ำหนักกระทำจัดเตรียมพื้นที่ และต้องการเวลาพอสมควร ต่อมาได้มีการพัฒนาอุปกรณ์สำหรับการทดสอบเพลทแบบพลศาสตร์ (dynamic plate load test) โดยอ้างอิงกับมาตรฐานที่เป็นที่ยอมรับ เช่น ASTM E2835-21 (2021) ASTM D1195-93 (1993) และ ASTM E1194-94 (1994) ส่งผลให้การทดสอบทำได้รวดเร็วกว่าเดิม ค่าใช้จ่ายต่ำกว่า และสามารถทราบผลการทดสอบได้ทันที (เปรียบเทียบกับ การทดสอบความหนาแน่นโดยใช้โคนและการใช้รังสีแกมมา) แต่เนื่องจากชุดทดสอบดังกล่าวมีราคาสูง และต้องสั่งซื้อจากต่างประเทศ ภาณุ และคณะ (2561) จึงมีแนวคิดในการพัฒนาชุดทดสอบเพลทแบบพลศาสตร์ขึ้นมาใช้เองโดยอ้างอิงข้อมูลจากภาพที่ 2 และการพัฒนาอยู่บนพื้นฐานที่ว่าชุดทดสอบสามารถใช้งานได้จริงและมีราคาถูกกว่าของต่างประเทศ นอกจากนั้นกระบวนการออกแบบและพัฒนา ยังสามารถต่อยอดเพื่อไปพัฒนาชุดทดสอบอย่างอื่นได้อีกด้วย



ภาพที่ 2 องค์ประกอบของชุดทดสอบเพลทแบบพลศาสตร์

ที่มา: Road and Transportation Research Association (RTSA) (2012)

จากที่กล่าวมา วัตถุประสงค์หลักของการทดสอบเพลททั้งแบบสถิตและแบบพลศาสตร์ คือ ซีบีอาร์และโมดูลัสแรงต้านทานดิน ซึ่งจะถูกนำไปใช้เพื่อออกแบบโครงสร้างถนนหรือโครงสร้างที่ใช้ดินเป็นส่วนที่รับน้ำหนักโดยตรง การศึกษานี้นำเสนอการประยุกต์ใช้อุปกรณ์ทดสอบเพลทแบบพลศาสตร์เพื่อทำนายค่าซีบีอาร์ ซึ่งจะส่งผลให้การควบคุมคุณภาพการบดอัดดินในสนาม มีความรวดเร็วมากขึ้น ค่าใช้จ่ายน้อยลง และให้เป็นแนวคิดสำหรับการนำชุดอุปกรณ์ไปทดสอบประเภทอื่นต่อไป

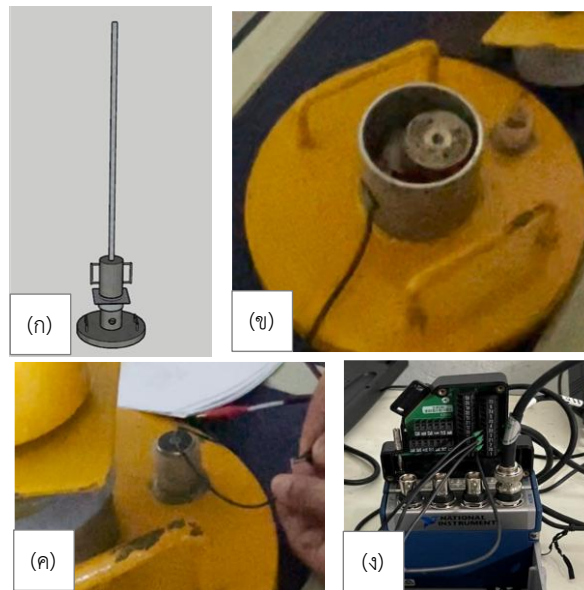
วิธีดำเนินการวิจัย

การทำวิจัยการศึกษานี้ประกอบด้วย 3 กระบวนการ คือ 1) การออกแบบระบบทดสอบเพลทแบบพลศาสตร์ให้เป็นไปตามมาตรฐาน ASTM E2385-21 (2021) 2) การจัดหาวัสดุดินเพื่อทดสอบคุณสมบัติพื้นฐานรวมทั้งความหนาแน่นและค่าซีบีอาร์ และ 3) การเตรียมตัวอย่างดินในโมลด์ให้สอดคล้องกับกระบวนการ 2) เพื่อทดสอบเพลทแบบพลศาสตร์

โดยภาพรวมของระบบที่พัฒนาขึ้นมา ดังภาพที่ 3 (ก) ชุดเพลทและตุ้มให้น้ำหนักกระทำ โดยตัวตุ้มมีมวล 10.15 กิโลกรัม แผ่นเพลทมีมวล 19.05 กิโลกรัม และมวลรวมทั้งหมดคือ 32.75 กิโลกรัม การวัดแรงกระทำและการหลุดตัว ใช้เซ็นเซอร์วัดแรงกระทำและเซ็นเซอร์วัดความเร็ว ดังภาพที่ 3 (ข) และ (ค) ตามลำดับ ซึ่งต่อสัญญาณเข้ากับระบบเก็บรวบรวมข้อมูล ดังภาพที่ 3 (ง) น้ำหนักของลูกตุ้มและแผ่นเพลทถูกออกแบบให้เป็นไปตามมาตรฐานของ ASTM E1194-94 (1994)

การเตรียมตัวอย่างดินเพื่อทดสอบคุณสมบัติพื้นฐาน (ภาพที่ 4) เช่น การกระจายตัวของมวลดิน ความถ่วงจำเพาะ และปริมาณดินเหนียว จำนวนตัวอย่างที่ใช้ทั้งหมด คือ 3 ตัวอย่าง ซึ่งตัวอย่าง 1 และ 2 ได้จากตำบลแคว และตำบลนาหว้า อำเภอจะนะ จังหวัดสงขลา ส่วนตัวอย่าง 3 คือ การผสมกันระหว่างตัวอย่าง 1 และ 2 (ร้อยละ 50 + ร้อยละ 50) โดยมีวัตถุประสงค์เพื่อให้เห็น

ความแตกต่างของคุณสมบัติต่าง ๆ ในขณะที่การทดสอบความหนาแน่นของดินซึ่งถือเป็นคุณสมบัติสำคัญสำหรับการควบคุมการบดอัดดินในสนาม (ภาพที่ 5) ผลที่ได้จากการทดสอบ คือ ปริมาณน้ำที่เหมาะสมที่ทำให้ดินมีความหนาแน่นสูงสุด ภาพที่ 6 แสดงกระบวนการทดสอบค่าซีบีอาร์ซึ่งแสดงกำลังรับน้ำหนักแรงกดทะลุของตัวอย่างดิน (ซีบีอาร์) โดยใช้ปริมาณน้ำที่เหมาะสมที่ได้จากการทดสอบความหนาแน่น ค่าซีบีอาร์เป็นคุณสมบัติสำคัญสำหรับโครงสร้างที่ใช้ดินเป็นวัสดุหลักและฐานราก เช่น ถนนและพื้นทางสำหรับการขึ้นลงของเครื่องบิน โดยทั่วไปโครงสร้างดังกล่าวต้องสัมผัสกับน้ำไม่ทางใดก็ทางหนึ่ง (เช่น น้ำฝน และคลองข้างทาง) ดังนั้นการทดสอบจึงต้องมีการทำให้ตัวอย่างดินจมน้ำเพื่อจำลองสภาพความเป็นจริง



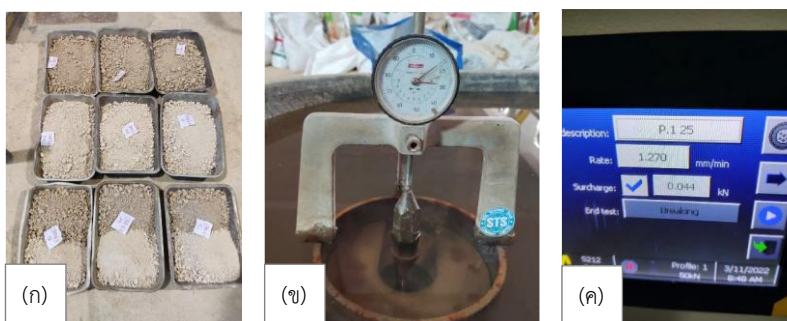
ภาพที่ 3 ชุดอุปกรณ์ทดสอบเพลทแบบพลศาสตร์ ประกอบด้วย แผ่นเพลทและตุ้มน้ำหนัก (ก) การติดตั้งเซ็นเซอร์วัดแรงกระทำ (ข) การติดตั้งเซ็นเซอร์วัดความเร็ว (การทรุดตัว) (ค) และระบบเก็บรวบรวมข้อมูล (ง)



ภาพที่ 4 การเตรียมตัวอย่างดินที่ 1 2 และ 3 (ก) การวิเคราะห์การกระจายขนาดมวลดิน (ข) และการหาสัดส่วนของขนาดมวลดิน (ค)



ภาพที่ 5 การทดสอบความหนาแน่นของดิน โดยผสมน้ำกับดินเพื่อช่วยการบดอัด (ก) อุปกรณ์การบดอัดดินในโมลต์ (ข) และตัวอย่างดินที่ผ่านการบดอัด (ค)



ภาพที่ 6 การทดสอบซีปียอร์ โดยการเตรียมส่วนผสมตัวอย่างดิน (ก) การแช่ตัวอย่างดินในน้ำ (ข) และการอ่านค่าซีปียอร์ (ค)

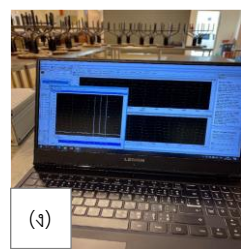
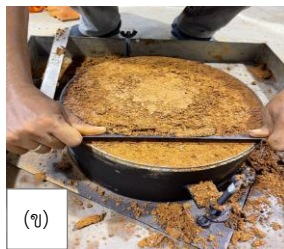
ส่วนสำคัญสำหรับการเตรียมตัวอย่างดินเพื่อทดสอบเพลาแบบพลศาสตร์ คือ ตัวอย่างต้องมีคุณสมบัติเช่นเดียวกับกับผลการทดสอบความหนาแน่น (มีปริมาณความชื้นที่เหมาะสมกับค่าพลังงานบดอัดเทียบเท่ากัน) ซึ่งงานวิจัยนี้ใช้แผ่นเหล็กกลมรับน้ำหนักขนาดเส้นผ่านศูนย์กลาง 300 มิลลิเมตร ดังนั้นงานวิจัยนี้จึงออกแบบอุปกรณ์ทดสอบการบดอัดของดินใหม่ เพื่อบดอัดและทดสอบความสามารถในการรับน้ำหนักของดิน โดยอ้างอิงมาตรฐานการบดอัดดิน ASTM D6938 (2023) แต่ปรับเปลี่ยนมาใช้โมลต์ที่มีความสูง 125 มิลลิเมตร เส้นผ่านศูนย์กลาง 315 มิลลิเมตร เพื่อให้ผิวดินที่บดอัดแล้วมีความกว้างมากพอที่จะสามารถบดอัดและทดสอบด้วยแผ่นเหล็กกลมรับน้ำหนักดินตัวอย่างได้ จากนั้นจึงคำนวณปรับเพิ่มจำนวนครั้งในการบดอัดด้วยค้อนบดอัดดินตามปริมาตรของโมลต์ที่เพิ่มขึ้น เพื่อให้ดินตัวอย่างได้รับพลังงานเทียบเคียงกับมาตรฐานเดียวกัน

ตามมาตรฐาน ASTM D698-12 (2021) จำนวนครั้งการบดอัดแต่ละชั้น คือ 25 ใช้ค้อนบดอัดดินมีมวล 5.5 ปอนด์ (lb) ยกสูง 1 ฟุต (ft) เป็นจำนวน 3 ชั้น (layers) ในโมลต์ซึ่งมีขนาดเส้นผ่านศูนย์กลาง 4 นิ้ว (in) สูง 4.6 นิ้ว ดังนั้นปริมาตรของโมลต์ คือ 0.03333 ลูกบาศก์ฟุต (ft^3) และจะได้พลังงานที่ใช้ในการบดอัดรวม = $(1 \text{ ฟุต} \times 5.5 \text{ ปอนด์} \times 25 \text{ ครั้ง (blows)} \times 3 \text{ ชั้น}) / 0.03333$ ลูกบาศก์ฟุต = $12,376$ ฟุต.ปอนด์ต่อลูกบาศก์ฟุต (ft-lb/ft^3) หรือ ฟุต.ปอนด์ต่อลูกบาศก์ฟุตต่อชั้น

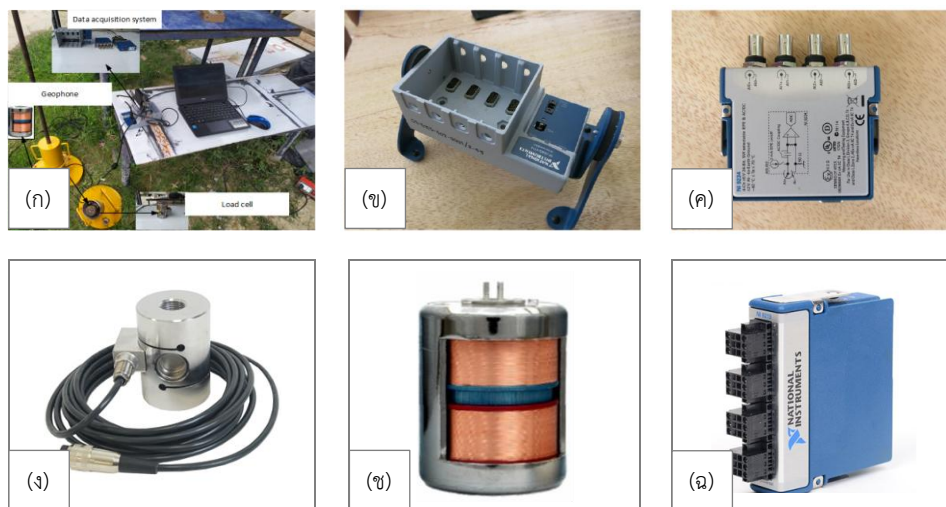
โมลต์ที่ออกแบบใหม่เพื่อใช้ทดสอบนี้ จะต้องบดอัดในแต่ละชั้นด้วยค้อนบดอัดดินมีขนาดมวล 5.5 ปอนด์ ยกสูง 1 ฟุต เป็นจำนวน 3 ชั้น และโมลต์มีขนาดเส้นผ่านศูนย์กลาง 315 มิลลิเมตร สูง 125 มิลลิเมตร ดังนั้น ปริมาตรของโมลต์ คือ 0.34375 ลูกบาศก์ฟุต และจะได้พลังงานที่ใช้ในการบดในแต่ละครั้ง = (1 ฟุต x 5.5 ปอนด์)/0.34375 ลูกบาศก์ฟุต = 16 ฟุต.ปอนด์ต่อลูกบาศก์ฟุตต่อการบดอัด 1 ครั้ง ดังนั้นพลังงานที่จำเป็นต้องใช้ในการบดอัดดินตัวอย่างทั้งหมดเท่ากับ $4,125.33/16 = 257.83$ ครั้ง หากเลือกใช้การบดอัดทั้งหมดที่ 258 ครั้ง จะได้การบดอัดชั้นละ 86 ครั้ง (258/3) จะได้พลังงานการบดอัดดินตัวอย่างทั้งหมดเท่ากับ (1 ฟุต x 5.5 ปอนด์ x 258 ครั้ง x 3 ชั้น)/0.34375 ลูกบาศก์ฟุต = 12,384 ฟุต.ปอนด์ต่อลูกบาศก์ฟุต ซึ่งหากเทียบกับการทดสอบตามมาตรฐานแล้วจะให้ค่าพลังงานการบดอัดมากกว่าเพียงร้อยละ 0.06 เท่านั้น (ถือว่ายอมรับได้) ดังตารางที่ 1 แสดงการเตรียมตัวอย่างดินในโมลต์เพื่อการทดสอบเพลทแบบพลศาสตร์ การตรวจสอบและการบันทึกผลการทดสอบทำได้โดยใช้เซ็นเซอร์วัดแรงกระทำและความเร็ว (การทรุดตัว) ซึ่งต่อเข้ากับระบบเก็บรวบรวมข้อมูลและเชื่อมต่อกับคอมพิวเตอร์เพื่อสังเกตและบันทึกสัญญาณสำหรับวิเคราะห์ผลในขั้นต่อไป ดังภาพที่ 7 ในขณะทำการติดตั้งชุดอุปกรณ์ครบชุด สำหรับการทดสอบที่ใช้ในงานวิจัยนี้แสดงดังภาพที่ 8

ตารางที่ 1 รายละเอียดการเตรียมโมลต์และพลังงานบดอัดสำหรับการทดสอบเทียบกับ ASTM D698-12 (2021)

	ปริมาตรโมลต์ (ลูกบาศก์ฟุต)	น้ำหนักตม (ปอนด์)	ระยะยก (ฟุต)	จำนวน ชั้น	ครั้ง ต่อชั้น	พลังงานรวม (ฟุต. ปอนด์ต่อ ลูกบาศก์ฟุต)	พลังงานต่อชั้น (ฟุต. ปอนด์ต่อ ลูกบาศก์ฟุต)
ASTM D 698	0.03333	5.5	1	3	25	12,376	4,125.33
การศึกษานี้	0.34375	5.5	1	3	258	12,384	4,128.00



ภาพที่ 7 การทดสอบเพลทแบบพลศาสตร์ โดยการเตรียมตัวอย่างดิน (ก) การแต่งตัวอย่างดิน (ข) การทดสอบให้น้ำหนักกระทำต่อตัวอย่างดิน (ค) และการอ่านและบันทึกค่าผลการทดสอบเพื่อการวิเคราะห์เพิ่มเติม (ง)



ภาพที่ 8 อุปกรณ์และการจัดเตรียมเพื่อทดสอบเพลทแบบพลศาสตร์ ประกอบด้วย การติดตั้งชุดอุปกรณ์เพื่อทดสอบและการต่อเซ็นเซอร์เข้ากับคอมพิวเตอร์ (ก) ระบบเก็บรวบรวมข้อมูล (ข) โมดูลวัดค่าความเร็ว (ค) โมดูลวัดแรงกระทำ (ง) เซ็นเซอร์วัดแรงกระทำ (จ) และ SM-24 geophone สำหรับวัดความเร็ว (ฉ)

ผลการวิจัย

การทำวิจัยเกี่ยวกับดินที่เกี่ยวข้องกับงานวิศวกรรมโยธาจำเป็นต้องทราบคุณสมบัติพื้นฐานก่อน เช่น ต้องสามารถบอกได้ว่าตัวอย่างดินถูกแบ่งให้อยู่ในประเภทใด สำหรับงานวิศวกรรมโยธาทั่วไป วิธี unified soil classification system (USCS) คือ มาตรฐานสำหรับแบ่งประเภทดิน จากการวิเคราะห์ขนาดและการกระจายตัวของมวลดิน พบว่าตัวอย่างที่ 1 2 และ 3 คือ ดินประเภททรายปนดินเหนียว และกรวดเล็กน้อย ทรายปนดินเหนียวกับตะกอนและกรวด และกรวดปนดินเหนียวและทราย ตามลำดับ ดังตารางที่ 2 ซึ่งยังได้แสดงค่าความถ่วงจำเพาะสำหรับทั้ง 3 ตัวอย่างดิน ซึ่งอยู่ในช่วงของค่าทั่วไปสำหรับดินประเภทนี้

ตารางที่ 2 ค่าความถ่วงจำเพาะและผลการแบ่งประเภทดินโดยวิธี USCS

มวลดิน	ความถ่วงจำเพาะ	ประเภทดินโดยวิธี USCS
ตัวอย่างที่ 1	2.65	ทรายปนดินเหนียวและกรวดเล็กน้อย
ตัวอย่างที่ 2	2.58	ทรายปนดินเหนียวกับตะกอนและกรวด
ตัวอย่างที่ 3	2.58	กรวดปนดินเหนียวและทราย

การทดสอบความหนาแน่นของดินพบว่าปริมาณน้ำที่เหมาะสมที่สุดที่ทำให้ความหนาแน่นสูงสุดสำหรับตัวอย่างดินที่ 1 2 และ 3 คือ ร้อยละ 11.20 11.00 และ 11.70 ตามลำดับ ซึ่งปริมาณน้ำดังกล่าวถูกนำไปเตรียมตัวอย่างดินทั้งสำหรับการทดสอบซีบีอาร์และเพลทแบบพลศาสตร์ โดยผลการทดสอบทั้งสองแสดงดังตารางที่ 3 และผลการทดสอบเพลทแบบพลศาสตร์แสดงดังตารางที่ 4

ตารางที่ 3 ผลการทดสอบความหนาแน่นและซีบีอาร์

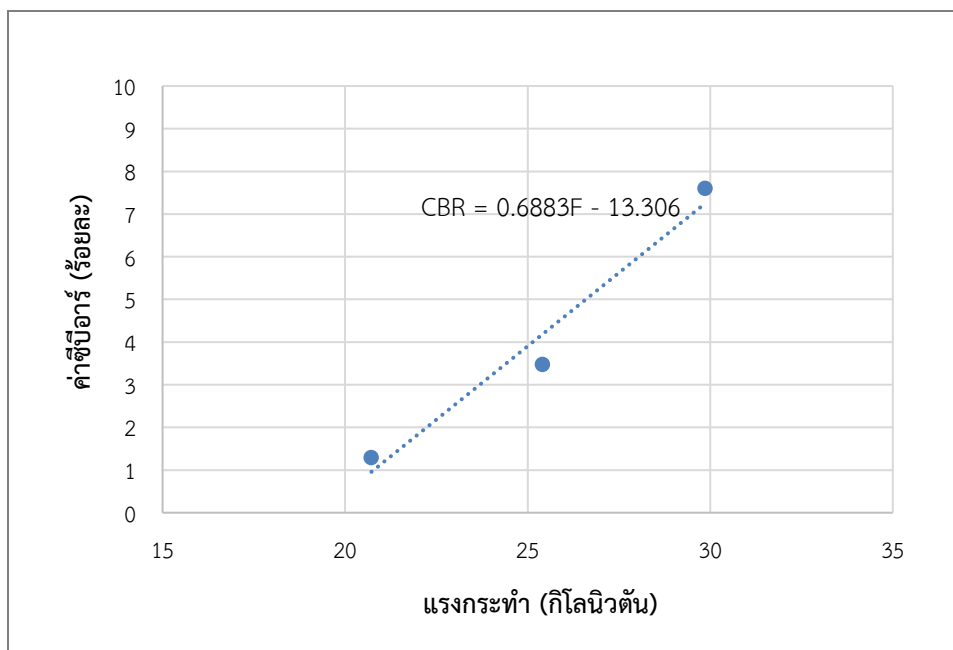
มวลดิน	ความหนาแน่นแห้งสูงสุด (กรัมต่อลูกบาศก์เซนติเมตร)	ซีบีอาร์ (ร้อยละ)
ตัวอย่างที่ 1	1.53	1.30
ตัวอย่างที่ 2	1.51	3.48
ตัวอย่างที่ 3	1.54	7.61

ตารางที่ 4 ผลการทดสอบเพลาแบบพลศาสตร์

มวลดิน	ซีบีอาร์ (ร้อยละ)	การทรุดตัว (มิลลิเมตร)	แรงกระทำ (กิโลนิวตัน)
ตัวอย่างที่ 1	1.30	1.24	20.72
ตัวอย่างที่ 2	3.48	1.27	25.41
ตัวอย่างที่ 3	7.61	1.02	29.86

เมื่อพิจารณาตารางที่ 4 โดยการนำค่าแรงกระทำและค่าซีบีอาร์ไปสร้างความสัมพันธ์โดยใช้กราฟ จะได้ความสัมพันธ์ดังแสดงในภาพที่ 9 และสามารถสร้างสมการแสดงความสัมพันธ์ดังกล่าวได้ดังสมการ (4)

$$\text{ซีบีอาร์ (ร้อยละ)} = 0.6883F - 13.306 \quad (4)$$



ภาพที่ 9 ความสัมพันธ์ระหว่างค่าซีบีอาร์กับแรงกระทำ

การอภิปรายผลการวิจัย

คุณสมบัติพื้นฐานของตัวอย่างดินทั้ง 3 ตัวอย่างในงานวิจัยนี้ เช่น ความถ่วงจำเพาะมีค่าใกล้เคียงกัน ดังนั้นจึงอาจนำมาหาค่าเฉลี่ยได้ ซึ่งพบว่าความถ่วงจำเพาะเฉลี่ย คือ 2.60 เมื่อนำไปเปรียบเทียบกับค่ามาตรฐานพบว่ามีความใกล้เคียงกัน กล่าวคือ ความถ่วงจำเพาะของดินเหนียวและดินทราย (เมื่อพิจารณาถึงแร่ที่เป็นองค์ประกอบของดินทั้งสอง) โดยปกติ คือ 2.70 และ 2.65 ตามลำดับ ถึงแม้ว่าค่าที่ได้จากการทดสอบจะต่ำกว่า แต่ก็ยังอยู่ในช่วงที่ใกล้เคียงกัน อย่างไรก็ตามงานวิจัยนี้เน้นเรื่องพฤติกรรมกรรมการรับน้ำหนักบรรทุก ซึ่งสนใจเฉพาะพฤติกรรมองค์รวมของมวลดิน แต่สำหรับกรณีงานวิจัยที่ต้องศึกษาถึงชั้นพฤติกรรมของแรงองค์ประกอบมวลดิน การทดสอบเพื่อหาค่าความถ่วงจำเพาะจะต้องมีความละเอียดมากกว่านี้

เนื่องจากตัวอย่างดินทั้ง 3 ตัวอย่าง มีคุณสมบัติพื้นฐานใกล้เคียงกัน เมื่อนำไปทดสอบความหนาแน่นพบว่าต้องการปริมาณน้ำเหมาะสมที่ทำให้ดินหนาแน่นสูงสุดมีค่าใกล้เคียงกันมาก เช่น ปริมาณน้ำเหมาะสมที่สุดสำหรับตัวอย่างที่ 1 2 และ 3 คือ ร้อยละ 11.20 11.00 และ 11.70 ตามลำดับ เนื่องจากคุณสมบัติพื้นฐานของตัวอย่างทั้งสามมีความใกล้เคียงกันนั่นเอง ส่งผลให้การทดสอบความหนาแน่นให้ผลการทดสอบที่ใกล้เคียงกันด้วย

อย่างไรก็ตาม ผลการทดสอบซีบีอาร์แสดงให้เห็นถึงความแตกต่างกันอย่างชัดเจนสำหรับตัวอย่างดินทั้ง 3 ตัวอย่าง กล่าวคือ ค่าซีบีอาร์สำหรับตัวอย่างที่ 1 2 และ 3 คือ ร้อยละ 1.30 3.48 และ 7.61 ตามลำดับ เหตุผลของความแตกต่างกันของค่าซีบีอาร์ (ทั้งที่ตัวอย่างดินมีคุณสมบัติพื้นฐานใกล้เคียงกัน) มีอยู่ด้วยกันหลายประการ เช่น แร่ธาตุในตัวอย่างดินอาจเกิดการเปลี่ยนแปลงเมื่อต้องจมน้ำ การกระจายตัวของน้ำหนักกระทำเนื่องจากก้อนไม่เท่ากันทั้งหน้าตัดโมลต์ และการตกแต่งผิวหน้าตัวอย่างดินก่อนให้แรงกระทำ สำหรับกรณีทั่วไป การทดสอบซีบีอาร์ควรดำเนินการอย่างน้อย 2 ครั้ง ถ้าผลการทดสอบทั้ง 2 มีค่าใกล้เคียงกัน ค่าซีบีอาร์อาจหาได้โดยการเฉลี่ยจากค่าทั้งสอง แต่ถ้าผลทดสอบทั้ง 2 ครั้ง แตกต่างกันมาก (เช่น ร้อยละ 4 และ 20) ควรทำการทดสอบเพิ่มเติมเพื่อยืนยันกระบวนการทดสอบ

ถึงแม้ว่าค่าซีบีอาร์จาก 3 ตัวอย่างดินจะแตกต่างกันพอสมควร แต่เมื่อพิจารณารายที่ 3 พบว่าค่าซีบีอาร์จะแปรเปลี่ยนไปตามแรงกระทำที่วัดได้จากการทดสอบเพลทแบบพลศาสตร์ ดังแสดงในภาพที่ 9 และแสดงแนวโน้มดังกล่าวได้เป็นสมการเส้นตรงดังสมการ (4) ผลจากการทดสอบนี้แสดงให้เห็นว่าชุดอุปกรณ์ทดสอบเพลทแบบพลศาสตร์มีศักยภาพสำหรับการประยุกต์นำไปทดสอบคุณสมบัติทางด้านวิศวกรรมของดินในสนามได้ ซึ่งจะทำให้ค่าใช้จ่ายสำหรับโครงการทดลอง ลดระยะเวลาก่อสร้าง และเป็นต้นแบบสำหรับงานวิจัยอื่น ๆ ในทำนองเดียวกัน

สรุปผลการวิจัย

งานวิจัยนี้ได้ออกแบบและพัฒนาระบบทดสอบเพลทแบบพลศาสตร์ให้มีประสิทธิภาพในการทำงานเทียบเท่ากับอุปกรณ์ตามมาตรฐานที่วางขายอยู่ต่างประเทศแต่มีราคาถูกกว่า รวมทั้งอาจนำไปต่อยอดพัฒนาต่อยอดเพื่อทดสอบประเภทอื่นได้อีกด้วย เพื่อตรวจสอบประสิทธิภาพและความถูกต้องของชุดอุปกรณ์ที่พัฒนาขึ้นมา จึงได้นำตัวอย่างดินจำนวน 3 ตัวอย่าง มาทดสอบคุณสมบัติพื้นฐานและความหนาแน่น จากนั้นจึงนำผลที่ได้ไปเตรียมตัวอย่างดินเพื่อทดสอบค่าซีบีอาร์และการ

รับน้ำหนักแบบพลศาสตร์ (การทดสอบเพลทแบบพลศาสตร์) จากผลการศึกษาและทดสอบ สามารถสรุปผลได้ดังต่อไปนี้

1. คุณสมบัติพื้นฐานของตัวอย่างดินทั้งสามมีค่าใกล้เคียงกัน ซึ่งส่งผลให้ความหนาแน่น มีความใกล้เคียงกันด้วย อย่างไรก็ตามผลการทดสอบเป็นสิ่งที่คาดการณ์ได้

2. ผลการทดสอบค่าซีบีอาร์ แสดงให้เห็นถึงความแตกต่างกันพอสมควร ซึ่งพิจารณาจาก ขั้นตอนและวิธีการทดสอบ พบว่าความแตกต่างดังกล่าวเกิดขึ้นได้เป็นปกติ

3. ความแตกต่างจากข้อ (2) ได้รับการยืนยันจากการทดสอบเพลทแบบพลศาสตร์ที่งานวิจัยนี้ได้พัฒนาขึ้นมา กล่าวคือ ค่าแรงกระทำที่มากขึ้นเกิดขึ้นกับตัวอย่างดินที่มีค่าซีบีอาร์มากกว่า

ผลการศึกษาดังกล่าวแสดงให้เห็นถึงความสอดคล้องกันในเชิงกลศาสตร์ กล่าวคือ ค่าซีบีอาร์ ที่มากขึ้นจะทำให้ได้แรงกระทำที่มากขึ้นด้วย ซึ่งตัวเลขเหล่านี้เป็นตัวชี้วัดความถูกต้องของระบบ ทดสอบเพลทแบบพลศาสตร์ที่พัฒนาขึ้นมา และเป็นข้อมูลสำคัญสำหรับการพัฒนาระบบต่อไป หรือ การประยุกต์นาระบบดังกล่าวไปศึกษาในหัวข้ออื่นที่ใกล้เคียงกันได้ต่อไป

ข้อเสนอแนะ

จากงานวิจัยนี้พบว่ยังมีส่วนที่ควรปรับปรุงเพื่อให้ได้ผลการวิจัยที่ถูกต้องมากขึ้น ดังนี้

1. ในการบดอัดดินเพื่อเตรียมทดสอบเพลทแบบพลศาสตร์ หากต้องการให้ผลลัพธ์ในการทดสอบมีความแม่นยำโดยการทดสอบหลายครั้ง ควรเลือกใช้วิธีแบ่งตัวอย่างดินตัวอย่างก่อนทดสอบ เป็นหลายชุดเพื่อให้ตัวอย่างทดสอบมีความหลากหลาย ไม่ควรนำดินเดิมมาทดสอบซ้ำ

2. โมลด์ที่ใช้ในการบดอัดดินควรออกแบบให้มีขนาดใหญ่ขึ้น เนื่องจากงานวิจัยนี้ได้สังเกตว่า หากมีดินเหนียวเป็นส่วนประกอบมากขึ้น การออกแบบโมลด์ให้มีขนาดใกล้เคียงกับแผ่นเพลท อาจได้ผลที่ถูกต้องมากขึ้น

กิตติกรรมประกาศ

ขอขอบคุณสาขาวิชาวิศวกรรมโยธา คณะวิศวกรรมศาสตร์ มหาวิทยาลัยเทคโนโลยีราชมงคลศรีวิชัย ที่ให้การสนับสนุนสำหรับการทำวิจัยนี้จนงานสำเร็จลุล่วงด้วยดี และส่งเสริม สนับสนุน สำหรับการเรียนและทำวิจัยที่มหาวิทยาลัย

เอกสารอ้างอิง

- ชนิดา ไสสุขสอาด ศิวาเวช ออบมา อัครพัฒน์ สว่างสุรีย์ และอรรถสิทธิ์ สวัสดิ์พานิช. (2564). การประเมินเสถียรภาพของฐานรากคันทางโดยวิธี plate bearing test และ dynamic penetration test. ใน *การประชุมวิชาการวิศวกรรมโยธาแห่งชาติ ครั้งที่ 25* (หน้า GTE37-1-GTE37-6). ชลบุรี: วิศวกรรมสถานแห่งประเทศไทย ในพระบรมราชูปถัมภ์.
- ภาณุ พร้อมพุทธางกูร ถาวร เกื้อสกุล และดุสิต ชูพันธ์ (2561). การพัฒนาระบบทดสอบกำลังรับน้ำหนักของดินโดยวิธีพลศาสตร์. *รายงานวิจัย*. มหาวิทยาลัยเทคโนโลยีราชมงคลศรีวิชัย.

- AASHTO T222-81. (2021). *Standard method of test for nonrepetitive static plate load test of soils and flexible pavement components for use in evaluation and design of airport and highway pavements*. PA: American Association of State Highway and Transportation Officials.
- ASTM D1195-93. (1993). *Standard test method for repetitive static plat load tests of soils and flexible pavement components, for use in evaluation and design of airport and highway pavements*. PA: American Association of State Highway and Transportation Officials.
- ASTM D1196. (2021). *Standard test method for nonrepetitive static plate tests of soils and flexible pavement components for use in evaluation and design of airport and highway pavements*. PA: American Association of State Highway and Transportation Officials.
- ASTM D1556. (2024). *Standard test method for density and unit weight of soil in place by sand-cone method*. PA: American Association of State Highway and Transportation Officials.
- ASTM D6938. (2023). *Standard test method for in-place density and water content of soil and soil-aggregate by nuclear methods*. PA: American Association of State Highway and Transportation Officials.
- ASTM D698-12. (2021). *Standard test methods for laboratory compaction characteristics of soil using standard effort (12,400 ft-lbf/ft³ (600 kN-m/m³))*. PA: American Association of State Highway and Transportation Officials.
- ASTM E1194-94. (1994). *Standard test method for bearing capacity of soil for static load and spread footings*. PA: American Association of State Highway and Transportation Officials.
- ASTM E2835-21. (2021). *Standard test method for measuring deflections using a portable impulse plate load test device*. PA: American Association of State Highway and Transportation Officials.
- DIN 18134. (2012). *Baugrund - versuche and versuchsgeräte - plattendruckversuch, DIN 18134:2012-04*. Berlin: Deutsches Institute fur Normung.
- Road and Transportation Research Association (RTSA). (2012). *Technical testing regulations for soil and rock in road construction, part B 8.3, dynamic plate load testing with the light drop-weight tester TP BF-StB*. KÖln: Working Group Earthworks and Foundations.
- Tamrakar, P., Wayne, M.H., Fountain, G., White, D.J. and Vennapusa, P. (2022). Measurement of modulus of subgrade reaction for geogrid stabilized roadways, In Hoff, I., Mork, H. and Saba, R. (Eds.). *Eleventh International Conference on the Bearing Capacity of Roads, Railways and Airfields*, pp. 162-171. Trondheim: CRC Press.

การใช้ดินซีเมนต์แทนหินคลุกในการก่อสร้างถนน

Using Soil-cement Instead of Crushed Rock in Road Construction

พิษณุ ช่วยเวช¹ สราวุธ จริตงาม^{2*} ปฐเมศ ผาณิตพจมาน² และโอภาส สมใจนึก³
 Pisanu Chuaiwate¹, Saravut Jaritngam^{2*}, Pattamad Panedpojaman²
 and Opas Somchainuek³

บทคัดย่อ

เนื่องจากปัจจุบันมีการขาดแคลนปริมาณหินคลุกในพื้นที่ ซึ่งเป็นปัญหาสำคัญและเร่งด่วนสำหรับการหาแหล่งวัสดุในการก่อสร้างถนน จึงมีความจำเป็นที่จะต้องนำดินลูกรังผสมซีเมนต์มาใช้เป็นวัสดุพื้นทางทดแทนการใช้หินคลุก การใช้ดินซีเมนต์แทนหินคลุกจะทำให้ได้วัสดุทำถนนที่มีราคาถูก เนื่องจากใช้วัสดุจากพื้นที่ก่อสร้าง งานวิจัยนี้ทำการศึกษาคุณสมบัติทางวิศวกรรมของดินซีเมนต์สำหรับใช้เป็นวัสดุพื้นทางแทนชั้นหินคลุก เพื่อช่วยลดโอกาสการเกิดอุบัติเหตุจากการขนส่งวัสดุจากแหล่งหินคลุกที่อยู่ห่างไกลมายังพื้นที่ก่อสร้าง และจากผลการทดสอบดินซีเมนต์พบว่าค่ากำลังอัดของดินลูกรังผสมซีเมนต์มีค่ามากกว่า 17.50 กิโลกรัมต่อตารางเซนติเมตร (ksc) ที่ระยะเวลาบ่ม 7 วัน อยู่ในเกณฑ์ที่กำหนดตามมาตรฐานของกรมทางหลวง คุณสมบัติทางวิศวกรรมของดินซีเมนต์มีความแข็งแรงและทนทานเมื่ออัดแน่นแล้ว จากผลการศึกษาโดยใช้โปรแกรมคอมพิวเตอร์สำหรับการวิเคราะห์การเคลื่อนตัวของดินซีเมนต์พบว่าค่าการทรุดตัวของถนนน้อยกว่า 3 เซนติเมตร ช่วยลดปัญหาการทรุดตัวของถนน

คำสำคัญ: ดินซีเมนต์ หินคลุก การก่อสร้างถนน

¹ สำนักพัฒนาแหล่งน้ำขนาดใหญ่ กรมชลประทาน

² สาขาวิชาวิศวกรรมโยธาและสิ่งแวดล้อม คณะวิศวกรรมศาสตร์ มหาวิทยาลัยสงขลานครินทร์

³ สำนักงานทางหลวงที่ 18 กรมทางหลวง

* Corresponding author e-mail: jaritngam@gmail.com

Received: 15 July 2024, Revised: 3 September 2024, Accepted: 5 September 2024

Abstract

Due to shortage of crushed rock in the area, which is a significant and urgent problem for finding materials for road construction. It is necessary to use cement-stabilized soil as a substitute material for the base course instead of using crushed rock. Using soil-cement instead of crushed rock will provide a low-cost road construction material, as it utilizes materials from the construction site area. This article studies the engineering properties of soil-cement to be used as a base course material instead of the crushed rock layer. It would help reduce the possibility of accidents from transporting materials from distant crushed rock sources to the construction site. From the soil-cement testing results, it was found that the compressive strength of cement-stabilized soil exceeds 17.50 ksc after 7 days of curing, meeting the specifications set by the Department of Highways. The engineering properties of soil-cement are strong and durable when compacted. From the study using a computer program to analyze the movement of soil-cement, it was found that the road settlement value is less than 3 cm, helping to reduce road settlement problems.

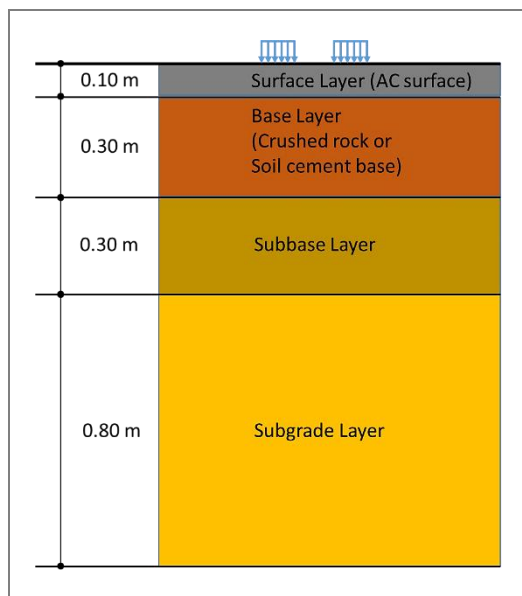
Keywords: Soil-cement, Crushed rock, Road construction

บทนำ

จากความเจริญก้าวหน้าด้านวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยีในปัจจุบัน ส่งผลให้งานด้านวิศวกรรมโยธามีการพัฒนาตามไปด้วย อย่างไรก็ตามการพัฒนาในแต่ละด้านจำเป็นต้องใช้ทรัพยากรธรรมชาติเป็นจำนวนมาก อาจส่งผลให้เกิดการขาดแคลนทรัพยากรธรรมชาติ เช่น วัสดุพื้นทางสำหรับงานด้านวิศวกรรมการทางในปัจจุบันที่มีจำกัด เช่น หินคลุกและกรวด เป็นต้น ตัวอย่างลักษณะการออกแบบพื้นทางที่นิยมใช้ในปัจจุบันดังภาพที่ 1 นิยมใช้หินคลุกเป็นวัสดุรองพื้นทาง

ปัจจุบันหน่วยงานของราชการที่รับผิดชอบในงานด้านการจราจรและการขนส่งของประเทศไทย เช่น กรมทางหลวง กรมทางหลวงชนบท และองค์การบริหารส่วนท้องถิ่น เป็นต้น ได้เร่งรัดให้มีการพัฒนาและขยายงานก่อสร้างระบบขนส่งทางถนนเป็นจำนวนมาก ส่งผลให้เกิดภาวะขาดแคลนวัสดุสำหรับการก่อสร้างถนน เช่น วัสดุรองพื้นทางชนิดต่าง ๆ เช่น หินคลุก และในบางพื้นที่การจัดหาวัสดุพื้นทางชนิดหินคลุกมีความยากลำบาก เนื่องจากในพื้นที่ไม่มีแหล่งหินคลุกซึ่งต้องลำเลียงจากพื้นที่อื่น อันเป็นการเพิ่มต้นทุนในงานก่อสร้างด้วย นอกจากนี้เหมืองหินคลุกเป็นกิจการที่ทำลายสิ่งแวดล้อม ทำลายทรัพยากรธรรมชาติ และทำลายสุขภาพจากการหายใจสูดฝุ่นละอองบริเวณเหมือง จากปัญหาการขาดแคลนและต้นทุนที่สูงขึ้นของหินคลุก การหาวัสดุทดแทนจึงเป็นสิ่งจำเป็น โดยวัสดุที่เหมาะสมที่นำมาทดแทนต้องเป็นวัสดุที่หาง่าย มีราคาถูก และคุณสมบัติทางวิศวกรรมที่ใกล้เคียงกัน ทั้งนี้ ดินลูกรังเป็นหนึ่งในวัสดุธรรมชาติที่มีอยู่เป็นจำนวนมาก ราคาถูก และเป็นวัสดุที่นิยมนำมาเป็นวัสดุ

พื้นทางและนำมาเป็นวัสดุทดแทนหินคลุกได้ แต่ดินลูกรังยังมีข้อด้อยด้านการรับน้ำหนักบรรทุก และปัญหาการอ่อนตัวเมื่อสัมผัสกับความชื้น เช่น ในสภาวะน้ำท่วมขัง การพัดพาจากการไหลของน้ำ เป็นต้น



ภาพที่ 1 โครงสร้างชั้นทางที่ใช้ในการวิเคราะห์

หินคลุกที่นิยมนำมาใช้เป็นชั้นพื้นทางมีขนาดเม็ดใหญ่และไม่แยกตัวออกจากกันเมื่อเติมน้ำ ดังนั้นจึงไม่ทำให้สูญเสียความแข็งแรงเมื่อโดนน้ำ ส่วนดินลูกรังเป็นดินเม็ดละเอียดที่มีก้อนกรวดและดินจับตัวแน่นปะปนอยู่ โดยระดับความยึดเหนี่ยวภายในอาจแตกต่างกันตั้งแต่เป็นวัสดุร่วนหลวม ๆ ไปจนถึงเม็ดละเอียดแน่นหนา มีโทนสี เช่น สีแดง สีน้ำตาล และสีเหลือง เนื่องมาจากการมีออกไซด์หรือไฮดรอกไซด์ของธาตุเหล็กและอะลูมิเนียมปะปนอยู่ในเนื้อดิน เมื่อผสมซีเมนต์สามารถปรับปรุงคุณสมบัติทางวิศวกรรม เช่น กำลังอัดแกนเดียว (unconfined compressive strength: UCS) ให้สูงขึ้นได้ โดยดินซีเมนต์ที่แข็งตัวช่วยลดค่าดัชนีความเป็นพลาสติกของดิน (plasticity index: PI) เพิ่มขีดจำกัดการหดตัว (shrinkage limit) เพิ่มกำลังอัดแกนเดียวและโมดูลัสยืดหยุ่น (Little and Nair, 2009) กระบวนการปรับปรุงดินด้วยซีเมนต์จะช่วยเพิ่มความทนทานและความแข็งแรงของดิน (Winterkorn and Fang, 1991) ดินที่มีการปรับปรุงคุณภาพด้วยซีเมนต์จะมีคุณสมบัติแบบกึ่งแข็งตัวเพิ่มความสามารถในการรับน้ำหนักและทำให้ชั้นโครงสร้างดินมีความแข็งแรงขึ้น เนื่องจากปูนซีเมนต์เป็นสารช่วยเพิ่มแรงเสียดทานระหว่างอนุภาคภายในมวลดิน ในขณะเดียวกันก็ลดค่าความชื้นในชั้นดิน (ASTM, 2017) การวิจัยก่อนหน้านี้แสดงให้เห็นว่าการปรับปรุงดินเป็นแนวทางที่ประหยัดในการเสริมกำลังดินในการก่อสร้างและลดปริมาณการขนส่งดิน (McCarthy, 1994; Kukko, 2000)

ปัจจัยต่าง ๆ ที่มีผลต่อกำลังของดินซีเมนต์ คือ ปริมาณซีเมนต์ ชนิดของดิน ขนาดผลของเม็ดดิน ขั้นตอนการก่อสร้างหรือการผสมดินซีเมนต์และวิธีการบ่ม (Mitchell *et al.*, 1972) นอกจากนี้ปัจจัยหลายประการ ได้แก่ คุณสมบัติทางกายภาพและเคมีของดิน ความพรุน และปริมาณ

ความชื้นในเวลาที่ยับอัดดินส่งผลต่อพฤติกรรมของดินซีเมนต์ (Clough *et al.*, 1981; Consoli *et al.*, 2011) ในช่วงหลายปีที่ผ่านมา วิธีการปรับปรุงคุณภาพดินโดยใช้ซีเมนต์เพื่อให้ดินมีเสถียรภาพพบว่าความดันผวนของคุณสมบัติด้านกำลังขึ้นอยู่กับปริมาณความชื้นและคุณสมบัติทางวิศวกรรมเนื่องจากความแตกต่างในองค์ประกอบของดิน ตลอดจนความแตกต่างในทางกายภาพและปฏิกิริยาเคมีระหว่างดินกับปริมาณซีเมนต์ที่เหมาะสม (Little and Nair, 2009)

เมื่อใช้วัสดุดินซีเมนต์เป็นชั้นยับอัดแน่นเหนือดินเดิมที่มีความสามารถในการรับน้ำหนักบรรทุกต่ำ พบว่าการพิบัติของดินจะเกิดขึ้นเนื่องจากหน่วยแรงตั้งใต้ฐานของชั้นที่ได้รับการปรับปรุง (Consoli *et al.*, 2003) ดังนั้นจึงสามารถใช้ค่าหน่วยแรงตั้งเป็นการวัดถึงความแข็งแรงของวัสดุดินซีเมนต์ อย่างไรก็ตามจากการวิจัยแสดงให้เห็นว่าความต้านทานแรงตั้งของดินซีเมนต์โดยทั่วไปจะอยู่ระหว่างร้อยละ 9 ถึง 14 ของกำลังอัดแกนเดียว (Clough *et al.*, 1981; Consoli *et al.*, 2011; Consoli *et al.*, 2003; Ingles and Metcalf, 1972; Dass *et al.*, 1994; Consoli *et al.*, 2001) ด้วยเหตุผลดังกล่าวการทดสอบค่ากำลังอัดแกนเดียวจึงนิยมนำมาใช้ในการทดสอบ เพราะเป็นวิธีที่สะดวกที่สุดสำหรับการกำหนดความแข็งแรงของดินซีเมนต์ (Consoli *et al.*, 2007) กำลังอัดแกนเดียวของดินหาได้จากน้ำหนักกดต่อหน่วยพื้นที่หน้าตัดของตัวอย่างดินทรงกระบอกเพราะจะพิบัติในการทดสอบแรงอัดอย่างง่าย ความแข็งแรงของวัสดุดินซีเมนต์มักได้รับการประเมินผ่านการทดสอบกำลังอัดแกนเดียว โดยการเตรียมและการบ่มตัวอย่างที่ใช้สำหรับการทดสอบกำลังอัดแกนเดียวตามมาตรฐาน ASTM D 1632 (Advance Standards Transforming Markets (ASTM), 2007) ซึ่งแนะนำให้บ่มแบบชื้นสำหรับตัวอย่างวัสดุที่มีการปรับปรุงคุณภาพด้วยปูนซีเมนต์ในดิน แล้วทำการแช่ตัวอย่างในน้ำเป็นเวลาสองชั่วโมงก่อนทำการทดสอบ (Advance Standards Transforming Markets (ASTM), 2007; Consoli *et al.*, 2003) การนำไปใช้ต้องพิจารณาค่ากำลังอัดแกนเดียวแบบเปียกสำหรับดินชนิดต่าง ๆ ที่แนะนำโดยสถาบันมาตรฐานคอนกรีตของสหรัฐอเมริกา (American concrete institute: ACI) (Jaritngam *et al.*, 2013) โดยใช้ระบบจำแนกดินวิธี AASHTO soil classification system (AASHTO) ดังตารางที่ 1

ตารางที่ 1 ค่ากำลังอัดแกนเดียวสำหรับดินชนิดต่าง ๆ ที่แนะนำโดยสถาบันมาตรฐานคอนกรีตของสหรัฐอเมริกา

ลักษณะชั้นดิน	ระบบจำแนกดิน วิธี AASHTO	กำลังอัดแกนเดียว (กิโลปาสคาล)	
		7 วัน	28 วัน
กรวดและทราย	A-1 A-2 A-3	30,000-60,000	40,000-10,000
ทราย	A-4 A-5	25,000-50,000	30,000-90,000
ดินเหนียว	A-6 A-7	20,000-40,000	25,000-60,000

ที่มา: Jaritngam *et al.* (2013)

จากการศึกษาค่ากำลังอัดแกนเดียวของดินลูกรังและหินคลุกที่ผสมซีเมนต์ในพื้นที่จังหวัดสงขลา พบว่าหินคลุกใช้ปริมาณซีเมนต์ที่น้อยกว่าดินลูกรัง ตามมาตรฐานควรได้ค่าประมาณ 1,716 กิโลปาสกาล (17.5 กิโลกรัมต่อตารางเซนติเมตร (ksc)) ที่เวลาบ่ม 7 วัน นั่นคืออัตราส่วนซีเมนต์ที่เหมาะสมสำหรับดินลูกรังประมาณร้อยละ 3 (Jaritngam *et al.*, 2014) ดังตารางที่ 2

ตารางที่ 2 ค่ากำลังอัดแกนเดียวสำหรับดินชนิดต่าง ๆ

การทดสอบ	อัตราส่วนซีเมนต์	เวลา (วัน)	กำลังอัดแกนเดียว (กิโลปาสกาล)	
			ดินลูกรัง (A-2-7)	หินคลุก (A-2-4)
C0T0	0	0	-	-
C3T7	3	7	2,220	2,444
C5T7	5	7	3,841	5,408
C7T7	7	7	5,357	7,032
C9T7	9	7	6,542	7,750
C3T28	3	28	3,388	3,444
C5T28	5	28	5,359	7,069
C7T28	7	28	6,769	12,084
C9T28	9	28	8,164	14,212

ที่มา: Jaritngam *et al.* (2014)

ดังนั้นในงานวิจัยนี้จึงทำการศึกษาความสามารถในการรับน้ำหนักบรรทุกของดินลูกรังปรับปรุงคุณสมบัติทางวิศวกรรมด้วยปูนซีเมนต์ (เรียกว่า ดินซีเมนต์) เพื่อให้สามารถเป็นวัสดุทดแทนหินคลุกได้ และการทดสอบของถนนที่ใช้ดินลูกรังปรับปรุงด้วยปูนซีเมนต์ด้วยโปรแกรมคอมพิวเตอร์สำหรับการวิเคราะห์ไม่เชิงเส้นของพื้นผิวถนนยืดหยุ่น โดยอาศัยทฤษฎีชั้นวัสดุของเบอร์มิสเตอร์ (Burmister) เนื่องจากการเปลี่ยนแปลงคุณสมบัติของวัสดุชั้นพื้นทางส่งผลต่อกำลังรับน้ำหนักบรรทุกและความมั่นคงของถนน จึงจำเป็นต้องจำลองพฤติกรรมการรับน้ำหนักบรรทุกของถนนเพื่อตรวจสอบความมั่นคงแข็งแรงก่อนนำไปใช้งาน

วิธีดำเนินการวิจัย

การสำรวจเพื่อหาสถานที่ที่เป็นการทดสอบในภาคสนาม ความเหมาะสมของการทำวิจัยแหล่งข้อมูลสำหรับวิจัย และสภาพแวดล้อมที่เหมาะสมกับการวิจัย การลงพื้นที่ได้ดำเนินการแล้ว 1 จุด คือ โครงการบรรเทาอุทกภัยอำเภอหาดใหญ่ (ระยะที่ 2) จังหวัดสงขลา โดยโครงการใช้ระยะเวลาดำเนินการ 7 ปี (พ.ศ. 2558-2564) วงเงินงบประมาณ 6,500 ล้านบาท โดยมีวัตถุประสงค์เพื่อเพิ่มประสิทธิภาพการป้องกันและบรรเทาปัญหาอุทกภัยในตัวเมืองหาดใหญ่ และเก็บกักน้ำไว้สำหรับการเพาะปลูกด้านการเกษตร ผลิตน้ำประปาเพื่ออุปโภค อุตสาหกรรม สนองความต้องการใช้น้ำในด้านต่าง ๆ ในจังหวัดสงขลาที่กำลังขยายตัวขึ้น

โครงการดังกล่าวมีปัญหาการวิบัติของถนนริมคันคลอง ดังภาพที่ 2 และแก้ปัญหาการวิบัติโดยใช้ดินซีเมนต์แทนหินคลุกในการก่อสร้างถนน เนื่องจากการวิเคราะห์ความคุ้มค่าทางเศรษฐกิจของการนำดินลูกรังปรับปรุงด้วยปูนซีเมนต์ไปใช้งานก่อสร้างถนน พบว่าการปรับปรุงดินด้วยซีเมนต์เนื่องจากต้นทุนของหินคลุกมีราคาสูงมากและมีการขาดแคลนในพื้นที่ ต้องมีการขนส่งวัสดุทำให้เกิดความสิ้นเปลืองเนื่องจากราคาน้ำมันมีราคาสูง และโอกาสที่เกิอุบัติเหตุเนื่องจากขนส่งวัสดุได้



ภาพที่ 2 สภาพการทรุดตัวของดินบริเวณโครงการบรรเทาอุทกภัยอำเภอหาดใหญ่ (ระยะที่ 2) จังหวัดสงขลา

ในงานวิจัยนี้ใช้โปรแกรมคอมพิวเตอร์สำเร็จรูปเพื่อตรวจสอบประสิทธิภาพในการวิเคราะห์ความมั่นคงและแข็งแรงของถนนที่ใช้ดินลูกรังปรับปรุงด้วยปูนซีเมนต์ โดยเลือกใช้โปรแกรม KENPAVE ซึ่งเป็นหนึ่งในแอปพลิเคชันที่มีประสิทธิภาพมากที่สุดในการวิเคราะห์วิศวกรรมถนนแบบยืดหยุ่น ซึ่งได้รับการพัฒนาโดย Huang (2004) ดังภาพที่ 3 โปรแกรมที่ใช้งานเป็นเวอร์ชัน Microsoft-Windows ที่รวมโปรแกรม KENLAYER สำหรับการออกแบบถนนแบบยืดหยุ่น และโปรแกรม KENSLABS สำหรับการออกแบบแบบคอนกรีต ในงานวิจัยนี้โปรแกรม KENLAYER จะถูกใช้เพื่อหาค่าการโก่งตัวของถนนที่ตำแหน่งผิวถนน โดยการเปลี่ยนแปลงค่าโมดูลัสยืดหยุ่น ของชั้นพื้นทางเพื่อเปรียบเทียบค่าการโก่งตัวของถนน โปรแกรมใช้คุณสมบัติวัสดุแบบยืดหยุ่นเชิงเส้น (linear elastic) ไม่เชิงเส้น (nonlinear) และความหนืด (viscoelastic) สำหรับวัสดุที่แตกต่างกัน โปรแกรมสามารถทำการวิเคราะห์ได้ถึง 19 ชั้น (layer) โดยแต่ละชั้นสามารถกำหนดให้วัสดุมีคุณสมบัติแตกต่างกันได้ และทำการวิเคราะห์รูปแบบความเสียหายได้ (performs damage analysis) สามารถใช้กับการวิเคราะห์แรงภายใต้แรงจากเพลาดียว-ล้อเดี่ยว (single axle-single tire) เพลาดียว-ล้อคู่ (single axle-dual tire) เพลาคู่-ล้อคู่ (tandem axles-dual tires) หรือสามเพลาล้อคู่ (tridem axles-dual tires) สำหรับกรณีกลุ่มแรงเดี่ยวและหลายกลุ่มแรงสามารถหาการทรุดตัวในชั้นวัสดุต่าง ๆ ความเครียดในแนวตั้งบนพื้นผิวถนนและความเครียดแรงดึงในแนวรัศมี (tangential) ที่ด้านล่างของชั้นยางมะตอยสามารถใช้สำหรับการวิเคราะห์ความเสียหายของถนนได้ (Huang, 2004)

พารามิเตอร์ป้อนเข้าสำหรับการวิเคราะห์ความยืดหยุ่นเชิงเส้น (linear elastic analysis) คือ ปริมาณการจราจร (traffic load) คุณสมบัติของวัสดุ ความหนาของแต่ละชั้น จำนวนกลุ่มของแรง เป็นต้น



ภาพที่ 3 การใช้งานโปรแกรม KENPAVE

ที่มา: Huang (2004)

กำลังอัดแกนเดียวที่เวลาบ่ม 7 วันของตัวอย่างดินสามารถใช้ตารางที่ 1 และ 2 ในการเป็นแนวทางในการวางแผนและออกแบบส่วนผสมซึ่งค่าที่ได้จะมากหรือน้อยขึ้นอยู่กับชนิดของดิน การวิเคราะห์โดยโปรแกรม KENLAYER เพื่อศึกษาโดยการสร้างแบบจำลอง 2 มิติของถนนจะต้องใช้ค่าโมดูลัสยืดหยุ่น (elastic modulus: E) เป็นตัวแปรหลักสำคัญต่อการวิเคราะห์เชิงตัวเลขของค่าการแอ่นตัวหรือค่าการทรุดตัวของผิวถนน การพิจารณาค่าโมดูลัสยืดหยุ่นสามารถพิจารณาจากตารางที่ 3 หรือใช้วิธีแปลงค่ากำลังอัดแกนเดียวเป็นค่าโมดูลัสยืดหยุ่น

ตารางที่ 3 ค่าโมดูลัสยืดหยุ่นของดินทั่วไป (young's modulus)

ลักษณะของดิน	โมดูลัสยืดหยุ่น (กิโลปาสคาล)
1. ดินทราย	5,000-81,000
1.1 ตะกอนทราย	5,000-20,000
1.2 หลวม	10,000-25,000
1.3 แน่นปานกลาง	30,000-50,000
1.4 แน่น	50,000-81,000

ตารางที่ 3 (ต่อ)

ลักษณะของดิน	โมดูลัสยืดหยุ่น (กิโลปาสกาล)
2. กรวดและทราย	30,000-320,000
2.1 หลวม	30,000-80,000
2.2 แน่นปานกลาง	80,000-160,000
2.3 แน่น	160,000-320,000
3. ตะกอนทราย	7,000-21,000
4. ดินเหนียว	2,000-250,000
4.1 อ่อนมาก	2,000-15,000
4.2 อ่อน	5,000-25,000
4.3 ปานกลาง	15,000-40,000
4.4 แข็ง	40,000-100,000
4.5 ทราย	25,000-250,000

ที่มา: Kulhawy and Mayne (1990)

การวิจัยที่ศึกษาเกี่ยวกับโมดูลัสยืดหยุ่นของส่วนผสมดินและซีเมนต์มีมากมาย เช่น โมดูลัสยืดหยุ่นของส่วนผสมดินซีเมนต์เพิ่มขึ้นตามปริมาณซีเมนต์และแปรผันจาก 689,000 กิโลปาสกาล ถึง 13,790,000 กิโลปาสกาล สำหรับส่วนผสมดินซีเมนต์สำหรับดินเม็ดหยาบ และจาก 1,790,000 กิโลปาสกาล ถึง 5,240,000 กิโลปาสกาล สำหรับส่วนผสมดินเม็ดละเอียด (Balmer, 1958) งานวิจัยล่าสุดเกี่ยวกับคุณสมบัติด้านกำลังอัดแกนเดียวมีความสัมพันธ์กับค่าโมดูลัสยืดหยุ่น (Uddin *et al.*, 1997; Lee *et al.*, 2005; Lorenzo and Bergado, 2006)

ผลการทดสอบในห้องปฏิบัติการแสดงให้เห็นว่าโมดูลัสยืดหยุ่นของส่วนผสมดินซีเมนต์มีความสัมพันธ์เชิงเส้นตรงกับกำลังอัดแกนเดียว (Lee *et al.*, 2005) ดังสมการ (1)

$$E = 145q_u \quad (1)$$

ส่วนผสมดินซีเมนต์สามารถเทียบได้กับคอนกรีตคุณภาพต่ำที่มีค่ากำลังอัดไม่มาก โดยอ้างอิงจากการทดสอบการผสมดินและทดสอบติดตั้งอุปกรณ์วัดค่าที่มหาวิทยาลัยเท็กซัสเอแอนด์เอ็ม โดย Briaud *et al.* (2000) แนะนำว่าค่าโมดูลัสยืดหยุ่น ของส่วนผสมดินซีเมนต์สามารถประมาณได้จากสมการ (2)

$$E = 12,900q_u^{0.41} \quad (2)$$

เมื่อ E คือ โมดูลัสยืดหยุ่น ของส่วนผสมดินซีเมนต์ (กิโลปาสกาล)

q_u คือ ค่ากำลังอัดแกนเดียวที่ได้จากทดสอบมีหน่วย (กิโลปาสกาล)

ค่าโมดูลัสยืดหยุ่นที่ได้จากสมการ (2) ถือเป็นค่าที่ค่อนข้างต่ำ (Rutherford *et al.*, 2005) โมดูลัสยืดหยุ่น ของส่วนผสมดินซีเมนต์สามารถคำนวณได้คล้ายกับคอนกรีต (Wang *et al.*, 2014) และสามารถคำนวณโดยใช้สมการ (3)

$$E = 30,000 \sqrt{q_u} \quad (3)$$

จากความสัมพันธ์ระหว่างโมดูลัสยืดหยุ่นและกำลังอัดแกนเดียว พบว่าโมดูลัสยืดหยุ่น ที่คำนวณจากสมการ (2) และ (3) มีแนวโน้มต่ำกว่าค่าที่คำนวณจากวิธีอื่น ๆ แต่ค่าที่คำนวณจากสมการ (3) จะสูงกว่าช่วงเฉลี่ยของค่าเหล่านั้นเล็กน้อย ในทางปฏิบัติวิศวกรรม จึงอาจใช้ค่าโมดูลัสยืดหยุ่น ของส่วนผสมดินซีเมนต์อยู่ในช่วงของค่าที่คำนวณจากสมการ (1) (2) และ (3) (Wang *et al.*, 2014)

จากการศึกษาผลการเจาะสำรวจดินในโครงการบรรเทาอุทกภัย อำเภอหาดใหญ่ จังหวัดสงขลา ระยะที่ 2 งานปรับปรุงคลองระบายน้ำ รัชกาลที่ 1 จังหวัดสงขลา เพื่อวางแผนการปรับปรุงคุณภาพถนนในโครงการโดยใช้ดินซีเมนต์ จากการรวบรวมผลการทดสอบค่ากำลังของดินฐานรากที่ได้ทดสอบในบริเวณที่ทำการก่อสร้างสรุปได้ดังตารางที่ 4 โดยทดลองปรับเปลี่ยนค่าโมดูลัสยืดหยุ่นของชั้นพื้นทาง ซึ่งกำหนดให้มีค่าระหว่าง 115,000-1,200,000 กิโลปาสคาล

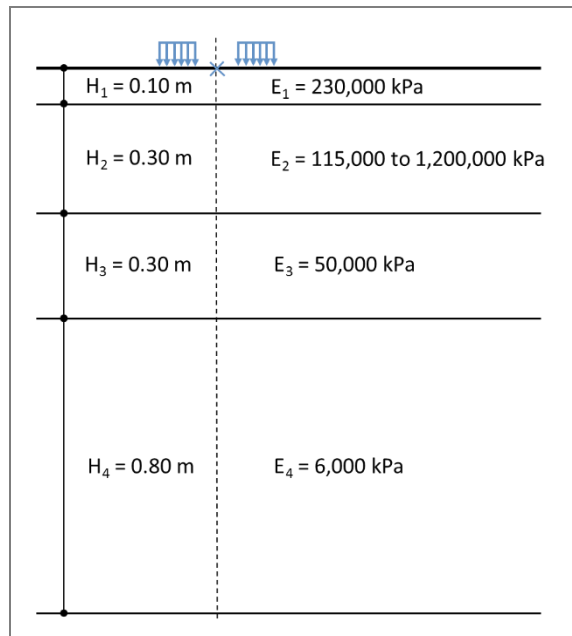
ตารางที่ 4 ข้อมูลที่ใช้ในการออกแบบ

วัสดุชั้น	โมดูลัสยืดหยุ่น (กิโลปาสคาล)	อัตราส่วนปัวซอง (Poisson's ratio)	น้ำหนักหน่วย (กิโลกรัมต่อลูกบาศก์เมตร)
ชั้นผิวทาง	230,000	0.35	2,400
ชั้นพื้นทาง	115,000-1,200,000	0.30	2,300
ชั้นรองพื้นทาง	50,000	0.30	2,250
ชั้นดินคันทาง	6,000	0.40	1,800

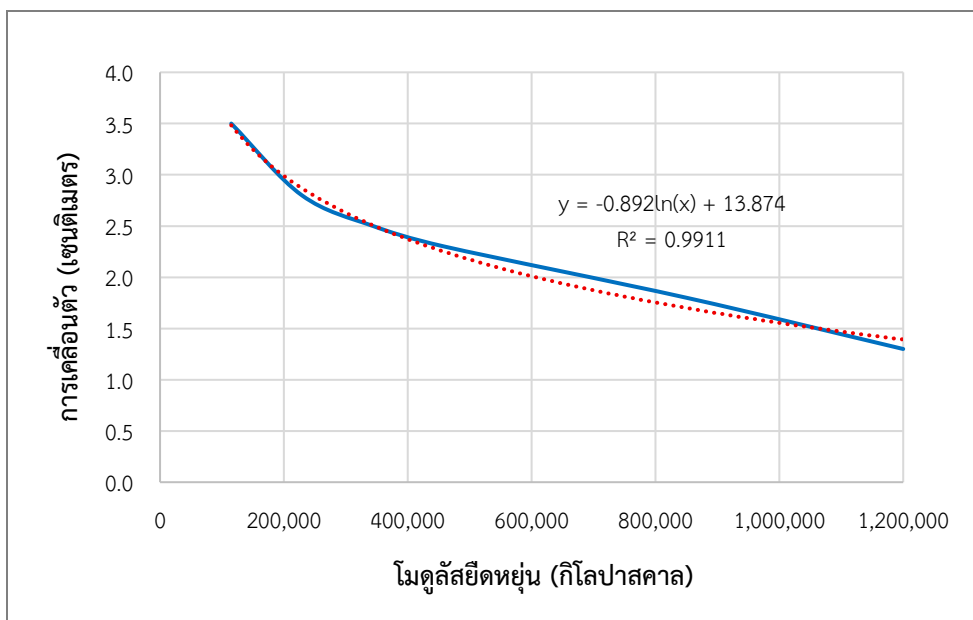
ผลการวิจัย

จากการศึกษาการทรุดตัวของถนนเนื่องจากน้ำหนักบรรทุกทุกจราจรโดยใช้โปรแกรม KENLAYER เพื่อศึกษาการสร้างแบบจำลอง 2 มิติของถนน ดังภาพที่ 4 และใช้ค่าคุณสมบัติทางวิศวกรรมของดินดังตารางที่ 4 โดยทดลองปรับเปลี่ยนค่าโมดูลัสยืดหยุ่นของชั้นพื้นทาง พบว่าการทรุดตัวของดินในโครงการ มีค่าลดลงเมื่อเพิ่มค่าโมดูลัสยืดหยุ่นของดินซีเมนต์ ดังภาพที่ 5

ค่าโมดูลัสยืดหยุ่นของชั้นพื้นทางที่ 350,000 กิโลปาสคาล จากสมการ (1) ค่าอัตราส่วนโมดูลัสยืดหยุ่นต่อกำลังอัดแกนเดียวประมาณ 145 สามารถให้ค่ากำลังอัดแกนเดียวเท่ากับ 2,413 กิโลปาสคาล จะให้ค่าการทรุดตัวของถนนประมาณ 2.5 เซนติเมตร เทียบเท่ากับดินลูกรังผสมซีเมนต์ที่ร้อยละ 3 (จากตารางที่ 2) สูงกว่าค่ามาตรฐาน 1,716 กิโลปาสคาล (17.5 กิโลกรัมต่อตารางเซนติเมตร) ที่แนะนำโดยกรมทางหลวง ซึ่งอัตราส่วนโมดูลัสยืดหยุ่นต่อกำลังอัดแกนเดียวประมาณ 204



ภาพที่ 4 แบบจำลอง 2 มิติของถนนสำหรับการวิเคราะห์



ภาพที่ 5 ผลการวิเคราะห์การเคลื่อนตัวของดินในโครงการ

การอภิปรายผลการวิจัย

การศึกษานี้ได้แสดงให้เห็นถึงความเป็นไปได้ในการใช้ส่วนผสมของดินลูกรังซีเมนต์เพื่อทดแทนหินคลุก เนื่องจากผลการทดสอบในห้องปฏิบัติการพบว่าส่วนผสมของดินและปูนซีเมนต์สามารถผ่านข้อกำหนดด้านกำลังอัดแกนเดียวสูงขึ้น โดยการเติมปูนซีเมนต์ปอร์ตแลนด์ประเภทที่ 1 จะทำให้ค่ากำลังอัดแกนเดียวของดินเพิ่มขึ้นตามปริมาณปูนซีเมนต์และระยะเวลาการบ่ม แสดงให้เห็นว่าระยะเวลาในการบ่มเกิดปฏิกิริยาปอซโซลานระหว่างดินและปูนซีเมนต์ ทำให้มีค่ากำลังอัดของดินซีเมนต์มากกว่าค่าที่ใช้ในการออกแบบ การทำการปรับปรุงคุณภาพดินเพื่อให้โครงการมีความแข็งแรงลดการทรุดตัว และการเคลื่อนตัวของโครงสร้างกันดินจะต้องมีการออกแบบ ตรวจสอบการทำงานและการควบคุมคุณภาพงานอย่างเป็นระบบ จากการศึกษาแสดงให้เห็นว่าสามารถนำซีเมนต์มาปรับปรุงดินในโครงการได้โดยไม่ต้องขนย้ายวัสดุด้วยคุณภาพออกนอกพื้นที่โครงการฯ ซึ่งทำให้เกิดประโยชน์สูงสุด เป็นการลดมลพิษทางอากาศที่เกิดจากกระบวนการขนส่งดิน และสามารถประหยัดค่าใช้จ่ายได้ เนื่องจากราคาของหินคลุกถูกผลักดันให้สูงขึ้นจากราคาพลังงานที่สูงและค่าใช้จ่ายด้านสิ่งแวดล้อมจะต้องมีการวิจัยเพิ่มเติมที่ค้นหาวิธีการใหม่ ๆ ในการเพิ่มประสิทธิภาพของวัสดุที่มีอยู่ในท้องถิ่นในด้านความแข็งแรง ต้นทุน การใช้พลังงาน สถานที่ผลิต การขนส่ง และการพิจารณาสิ่งแวดล้อม

สรุปผลการวิจัย

การคำนวณโดยการวิเคราะห์ไม่เชิงเส้นของพื้นผิวถนนยึดหยุ่น โดยอาศัยทฤษฎีชั้นวัสดุของเบอร์มิสเตอร์แสดงให้เห็นความสัมพันธ์ของค่ากำลังอัดแกนเดียวกับค่าการทรุดตัว เมื่อเพิ่มกำลังอัดแกนเดียวของวัสดุหรือเพิ่มค่าโมดูลัสยึดหยุ่นจะทำให้ค่าการทรุดตัวของถนนในโครงการฯ ลดลง

การเติมปูนซีเมนต์ลงในดินลูกรังเพื่อปรับปรุงคุณสมบัติของดินสามารถทำได้วัสดุที่ให้ความแข็งแรงและการกระจายน้ำหนักที่ดีขึ้น จากการศึกษาพบว่าคุณสมบัติทางวิศวกรรมเช่น กำลังอัดแกนเดียวของดินลูกรังที่ผสมซีเมนต์เพียงร้อยละ 3 ก็เพียงพอสำหรับการทำตัวอย่างดินซีเมนต์มีค่ากำลังรับแรงอัดมากกว่า 17.5 กิโลกรัมต่อตารางเซนติเมตร ซึ่งชี้ให้เห็นถึงข้อได้เปรียบด้านเศรษฐศาสตร์ของวิธีนี้ทั้งในเรื่องของต้นทุนที่ลดลงและประโยชน์ด้านสิ่งแวดล้อม

ข้อเสนอแนะ

การใช้ส่วนผสมของดินลูกรังซีเมนต์เพื่อทดแทนหินคลุกควรใช้ปริมาณซีเมนต์ที่เหมาะสมจะลดการแตกร้าวเนื่องจากการหดตัว เนื่องจากวัสดุที่ใช้ในการปรับปรุงคุณภาพดินลูกรัง คือ ซีเมนต์ ดังนั้นควรทำการตรวจสอบคุณภาพงานระหว่างการก่อสร้างและหลังการก่อสร้างถนนดินซีเมนต์เพื่อควบคุมคุณภาพงานด้วย

กิตติกรรมประกาศ

ขอขอบคุณสำนักงานก่อสร้างชลประทานขนาดกลางที่ 16 กรมชลประทาน ที่ให้ความช่วยเหลือและสนับสนุนการวิจัย

เอกสารอ้างอิง

- Advance Standards Transforming Markets (ASTM). (2007). *ASTM D1632-07: Standard practice for making and curing soil-cement compression and flexure test specimens in the laboratory*. Pennsylvania: ASTM International.
- Advance Standards Transforming Markets (ASTM). (2017). *ASTM D1633-17: Standard test methods for compressive strength of molded soil-cement cylinders*. Pennsylvania: ASTM International.
- Balmer, G.G. (1958). Shear strength and elastic properties of soil-cement mixtures under triaxial loading. In *Proceedings of American Society for Testing Materials* (pp. 1187-1204). Illinois: Portland Cement Association Research and Development Laboratories.
- Briaud, J.L., Smith, B.E. and Meyer, B.R. (2000). Behavior of pile foundations under cyclic loading. *Journal of Geotechnical and Geoenvironmental Engineering*, 126(4), 333-344.
- Clough, G.W., Sitar, N., Bachus, R.C. and Rad, N.S. (1981). Cemented sands under static loading. *Journal of the Geotechnical Engineering Division*, 107(6), 799-817, doi: <https://doi.org/10.1061/AJGEB6.0001152>.
- Consoli, N.C., Foppa, D., Festugato, L. and Heineck, K.S. (2007). Key parameters for strength control of artificially cemented soils. *Journal of Geotechnical and Geoenvironmental Engineering*, 133(2), 197-205, doi: [https://doi.org/10.1061/\(ASCE\)1090-0241\(2007\)133:2\(197\)](https://doi.org/10.1061/(ASCE)1090-0241(2007)133:2(197)).
- Consoli, N.C., Rosa, A.D., Corte, M.B., Lopes, L.D.S. and Consoli, B.S. (2011). Porosity-cement ratio controlling strength of artificially cemented clays. *Journal of Materials in Civil Engineering*, 23(8), 1249-1254, doi: [https://doi.org/10.1061/\(ASCE\)MT.1943-5533.0000283](https://doi.org/10.1061/(ASCE)MT.1943-5533.0000283).
- Consoli, N.C., Vendruscolo, M.A. and Prietto, P.D.M. (2003). Behavior of plate load tests on soil layers improved with cement and fiber. *Journal of Geotechnical and Geoenvironmental Engineering*, 129(1), 96-101, doi: [https://doi.org/10.1061/\(ASCE\)1090-0241\(2003\)129:1\(96\)](https://doi.org/10.1061/(ASCE)1090-0241(2003)129:1(96)).
- Dass, R.N., Yen, S.C., Puri, V.K., Das, B.M. and Wright, M.A. (1994). Tensile stress-strain characteristics of lightly cemented sand. *Geotechnical Testing Journal*, 17(3), 305-314, doi: <https://doi.org/10.1520/GTJ10105J>.
- Huang, Y.H. (2004). *Pavement analysis and design*. New Jersey: Pearson, Prentice Hall.
- Ingles, O.G. and Metcalf, J.B. (1972). *Soil stabilization principles and practice*. Sydney: Butterworths.

- Jaritngam, S., Somchainuek, O. and Taneerananon, P. (2014). Feasibility of laterite-cement mixture as pavement base course aggregate. *Iranian Journal of Science and Technology - Transactions of Civil Engineering*, 38(C1), 275-284.
- Jaritngam, S., Yandell, W.O. and Taneerananon, P. (2013). Development of strength model of lateritic soil-cement. *Engineering Journal*, 17(1), 69-78.
- Kukko, H. (2000). Stabilization of clay with inorganic by-products. *Journal of Materials in Civil Engineering*, 12(4), 307-309, doi: [https://doi.org/10.1061/\(ASCE\)0899-1561\(2000\)12:4\(307\)](https://doi.org/10.1061/(ASCE)0899-1561(2000)12:4(307)).
- Kulhawy, F.H. and Mayne, P.W. (1990). *Manual on estimating soil properties for foundation design*. California: Electric Power Research Institute.
- Lee, F.H., Lee, Y., Chew, S.H. and Yong, K.Y. (2005). Strength and modulus of marine clay-cement mixes. *Journal of Geotechnical and Geoenvironmental Engineering*, 131(2), 178-186, doi: [https://doi.org/10.1061/\(ASCE\)1090-0241\(2005\)131:2\(178\)](https://doi.org/10.1061/(ASCE)1090-0241(2005)131:2(178)).
- Little, D.N. and Nair, S. (2009). *Recommended practice for stabilization of subgrade soils and base materials (NCHRP Report 20-07)*. Texas: Texas Transportation Institute.
- Lorenzo, G. and Bergado, D.T. (2006). Fundamental characteristics of cement-admixed clay in deep mixing. *Journal of Materials in Civil Engineering*, 18(2), 161-174, doi: [https://doi.org/10.1061/\(ASCE\)0899-1561\(2006\)18:2\(161\)](https://doi.org/10.1061/(ASCE)0899-1561(2006)18:2(161)).
- McCarthy, J.E. (1994). *Soil stabilization for pavements*. Washington, DC: Department of the Army and Air Force of the United States.
- Mitchell, J.K., Ueng, T.S. and Monismith, C.L. (1972). *Behavior of stabilized soils under repeated loading: Report 5, performance evaluation of cement-stabilized soil layers and its relationship to pavement design*. California: University of California.
- Rutherford, C., Biscontin, G. and Briaud, J.L. (2005). *Design manual for excavation support using deep mixing technology*. Texas: Texas A&M University.
- Uddin, K., Balasubramaniam, A.S. and Bergardo, D.T. (1997). Engineering behaviors of cement treated Bangkok soft clay. *Journal of Geotechnical and Geoenvironmental Engineering*, 28(1), 89-119.
- Wang, D., Olowokere, D. and Zhang, L. (2014). Interpretation of soil-cement properties and application in numerical studies of ground settlement due to tunneling under existing metro line. *Geotechnical and Geological Engineering*, 32(5), 1275-1289, doi: <https://doi.org/10.1007/s10706-014-9803-2>.
- Winterkorn, H.F. and Fang, H.Y. (1991). Soil technology and engineering properties of soils. In Fang, H.Y. (Ed.). *Foundation engineering handbook*, pp. 88-143. New York: Springer.

**คำแนะนำในการเตรียมต้นฉบับสำหรับผู้พิมพ์
เพื่อตีพิมพ์ในวารสารวิชา มหาวิทยาลัยราชภัฏนครศรีธรรมราช**

วารสารวิชา มหาวิทยาลัยราชภัฏนครศรีธรรมราช จัดทำขึ้นเพื่อเป็นสื่อกลางในการเผยแพร่บทความวิจัย (research article) และบทความวิชาการ (academic article) ของคณาจารย์ บุคลากร นักศึกษา ภายในและภายนอกมหาวิทยาลัยฯ โดยมีวัตถุประสงค์ที่จะรับตีพิมพ์บทความในสาขาวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยี ประกอบด้วย ด้านวิทยาศาสตร์กายภาพ วิทยาศาสตร์ชีวภาพ วิทยาศาสตร์ประยุกต์ เทคโนโลยีอุตสาหกรรม และวิศวกรรมศาสตร์ ซึ่งมีกลุ่มเป้าหมายคือคณาจารย์ นักศึกษา และนักวิจัยทั้งในและนอกสถาบัน ทั้งนี้วารสารมีกำหนดตีพิมพ์เผยแพร่ปีละ 2 ฉบับ คือ ฉบับที่ 1 ในเดือนมกราคม-มิถุนายน และฉบับที่ 2 ในเดือนกรกฎาคม-ธันวาคม

บทความทุกบทความที่ได้รับการพิจารณาตีพิมพ์ในวารสารวิชา มหาวิทยาลัยราชภัฏนครศรีธรรมราช “ต้องไม่เคยได้รับการตีพิมพ์หรือเผยแพร่ที่ไหนมาก่อน และไม่อยู่ในระหว่างการเสนอเพื่อพิจารณาเผยแพร่ในวารสารฉบับอื่น” พร้อมทั้งได้รับการพิจารณาจากผู้ประเมินอิสระ (peer review) ที่มีความเชี่ยวชาญในสาขาที่เกี่ยวข้อง อย่างน้อย 3 ท่าน แบบผู้ประเมินอิสระและผู้แต่งไม่ทราบชื่อกันและกัน (double-blind review) และได้รับความเห็นชอบจากกองบรรณาธิการ ทั้งนี้ บทความอาจถูกตัดแปลง 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 18 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

3. ส่วนประกอบในบทความ

3.1 บทความวิจัย (research article) เป็นบทความที่เป็นผลงานต่อเนื่อง สกัดมา จากงานวิจัยที่เสร็จสมบูรณ์แล้วซึ่งผู้เขียนได้ดำเนินการด้วยตนเอง ประมวลสรุปกระบวนการวิจัยให้มีความกระชับและสั้น

3.1.1 ส่วนประกอบตอนต้น

➤ ชื่อเรื่อง (title) ควรสั้น กระชับรัด 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) ให้ใช้คำที่ปรากฏอยู่ในเนื้อเรื่องซึ่งเป็นตัวแทน บอกวิธีการวิจัย 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 สิ่งที้นำมาศึกษา จำนวน ลักษณะเฉพาะของตัวอย่างที่ศึกษา ตลอดจนเครื่องมือและอุปกรณ์ต่าง ๆ ที่ใช้ในการศึกษา อธิบายแบบแผนการวิจัย การสุ่มตัวอย่าง วิธีการเก็บข้อมูล การวิเคราะห์ข้อมูล และสถิติที่ใช้ทดสอบสมมติฐาน

➤ ผลการวิจัย (results) รายงานผลการวิจัยให้ได้ใจความชัดเจนและตรงประเด็นโดยยึดแนวทางตามวัตถุประสงค์เป็นหลัก ควรอธิบายผลการวิจัยด้วยคำบรรยายเป็นหลัก แต่ถ้ามีตัวเลขหรือตัวแปรมากควรนำเสนอเป็นภาพและตาราง แทรกในเนื้อหา พร้อมอธิบายผลการวิจัยให้ได้สาระครบถ้วน

➤ การอภิปรายผลการวิจัย (discussion) เป็นการชี้แจงผลการวิจัยว่าตรงกับวัตถุประสงค์หรือสมมติฐานของการวิจัย สอดคล้องหรือขัดแย้งกับผลการวิจัยของผู้อื่นที่มีอยู่ก่อนหรือไม่ อย่างไร เหตุผลใดจึงเป็นเช่นนั้น และให้จบด้วยข้อเสนอแนะที่จะนำผลงานวิจัยไปใช้ประโยชน์ หรือทิ้งประเด็นคำถามการวิจัย ซึ่งเป็นแนวทางสำหรับการวิจัยต่อไป

➤ สรุปผลการวิจัย (conclusion) สรุปผลการวิจัยให้ได้ใจความชัดเจนและตรงประเด็น

➤ ข้อเสนอแนะ (suggestion) (ถ้ามี)

➤ กิตติกรรมประกาศ (acknowledgements) ให้ระบุว่าจะงานวิจัยนี้ได้รับทุนสนับสนุนหรือความช่วยเหลือจากองค์กรใด และบุคคลใดบ้าง

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

3.2 บทความทางวิชาการ (academic article) เป็นบทความที่ผู้เขียนได้เรียบเรียงโดยศึกษาค้นคว้าจากเอกสาร งานแปล และผลงานจากประสบการณ์ของผู้เขียนหรือได้รับการถ่ายทอดจากผู้อื่น มีวัตถุประสงค์เพื่อเผยแพร่ความรู้ องค์กรความรู้ การเสนอความคิดเห็นที่มีคุณค่า และเป็นประโยชน์ทางวิชาการของสาขาต่าง 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)

➤ สาระสังเขป (summary) เป็นการย่อเนื้อความของบทความทั้งเรื่องให้สั้นได้เนื้อหาสาระครบถ้วน

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

3.2.2 เนื้อหา (main text) ในบทความทางวิชาการมีองค์ประกอบดังนี้

- บทนำ (introduction) กล่าวถึงความน่าสนใจของเรื่องที่น่าสนใจก่อนเข้าสู่เนื้อหา
- เนื้อความ (content) ควรนำเสนอพัฒนาการของเรื่องได้อย่างน่าสนใจ และเนื้อเรื่องมีเนื้อหาใหม่เหมาะสมกับสภาพปัจจุบัน
- สรุป (conclusion) เป็นการย่อเฉพาะข้อมูลจากเนื้อความให้สั้นได้เนื้อหาสาระของเนื้อความครบถ้วน
- เอกสารอ้างอิง (references) ให้ระบุเฉพาะเอกสารที่ผู้เขียนบทความได้นำมาอ้างอิงในบทความวิชาการอย่างครบถ้วนรูปแบบของการเขียนเอกสารอ้างอิงให้จัดทำตามที่ระบุไว้ในข้อ 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 และความเร็วรอบของจานโซ่

จานโซ่	จำนวนฟัน	เส้นผ่านศูนย์กลาง (มิลลิเมตร)	ความเร็วรอบ (รอบต่อนาที)
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

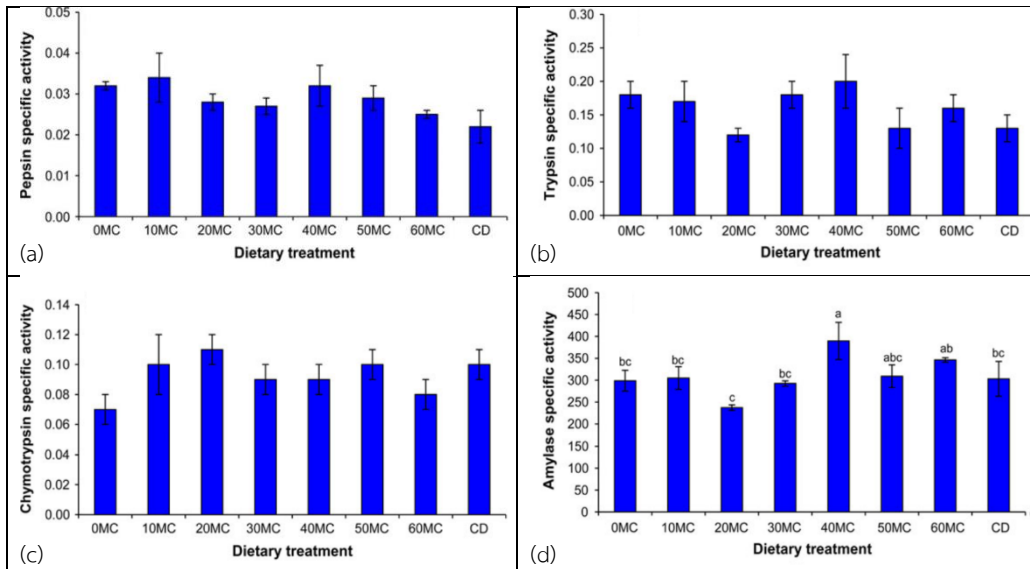


Figure 1 The specific activities (U/mg protein) of pepsin (a), trypsin (b), chymotrypsin (c) and amylase (d) in giant freshwater prawns subjected to various dietary replacements of protein from fish meal with mackerel condensate (MC). The data are expressed as mean $\pm$ SEM ($n = 3$). Different superscripts 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	15 pt.	1. ชิดซ้าย (1.5 ซม.)
	ปกติ	15 pt.	1.1 ชิดซ้าย (2 ซม.)
	ปกติ	15 pt.	1.1.1 ชิดซ้าย (2.75 ซม.)
เนื้อหา	ปกติ	15 pt.	
ตาราง	ปกติ	15 pt.*	
หมายเหตุ	ปกติ	(*ขึ้นอยู่กับ	
ที่มา	ปกติ	ข้อมูล)	

4. การอ้างอิง (References)

วารสารวิชา 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)

หนังสือที่ตีพิมพ์เป็นรูปเล่ม (print version)
ชื่อ/ชื่อสกุล/(ปีที่พิมพ์)/ชื่อหนังสือ/(ครั้งที่พิมพ์)/สถานที่พิมพ์/สำนักพิมพ์.
ตัวอย่าง กรณีตีพิมพ์ครั้งแรก (ไม่ต้องใส่ครั้งที่พิมพ์) สรเมธี วชิรปราการ. (2551). <i>เปิดชีวิตเทวดานางฟ้าไขปริศนาแดนสวรรค์</i> . นนทบุรี: สมาร์ทบุ๊ก. Almond, G.A. and Powell, B.G. (1976). <i>Comparative political today</i> . Boston: Little Brown and Company. กรณีตีพิมพ์ครั้งที่ 2 เป็นต้นไป เจือจันทร์ จงสถิต และรุ่งเรือง สุชาติพิพย์. (2550). <i>การสังเคราะห์งานวิจัยคุณลักษณะและกระบวนการปลูกฝังจริยธรรมของประเทศต่าง ๆ</i> . (พิมพ์ครั้งที่ 2). กรุงเทพฯ: ชุมชนสหกรณ์การเกษตรแห่งประเทศไทย. Carpenter, J.W., Mashima, T.Y. and Rupiper, D.J. (2001). <i>Exotic animal formulary</i> . (2 nd ed). Philadelphia: W.B. Saunders Company.
หนังสือที่ออนไลน์ (electronic book)
ชื่อ/ชื่อสกุล/(ปีที่ออนไลน์)/ชื่อหนังสือ/สืบค้นเมื่อ/วัน/เดือน/ปี/จาก:/http:..... .
The World Society for the Protection of Animals. (2013). <i>The Cayman turtle farm: A continued case for change</i> . Retrieved 10 July 2017, from: https://d31j74p4lpxrfcloudfront.net/sites/default/files/us_files/turtle_a_continued_case_for_change_report.pdf .

วารสาร (journal)
ชื่อ/ชื่อสกุล/(ปีที่พิมพ์)/ชื่อบทความ/ชื่อวารสาร/ปีที่หรือเล่มที่ (ฉบับที่)/หน้าแรก-หน้าสุดท้าย, doi:/http://doi.org/..... .
ตัวอย่าง สมรักษ์ รอดเจริญ และการุณ ทองประจุแก้ว. (2559). สภาวะการเลี้ยงและองค์ประกอบทางเคมีของสาหร่ายสีเขียวแกมน้ำเงิน (<i>Nostoc commune</i> TISTR 8870) ที่ผ่านการดัดแปรด้วยคลื่นไมโครเวฟ. <i>วารสารวิจัยมหาวิทยาลัยเทคโนโลยีราชมงคลศรีวิชัย</i>, 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. <i>Journal of Environmental Quality</i>, 32(3), 834-840. Whan-air, W., Thongprajukaew, K., Salaeharae, T. and Yoonram, K. (2018). Identification of wild and farmed broadhead catfish (<i>Clarias macrocephalus</i> Günther, 1864) based on morphometry, digestive indexes and flesh quality. <i>Journal of Oceanology and Limnology</i>, doi: https://doi.org/10.1007/s00343-018-7205-7.
นิตยสารหรือหนังสือพิมพ์
ชื่อ/ชื่อสกุล/(วัน/เดือน/ปี)/ชื่อบทความ/ชื่อนิตยสารหรือหนังสือพิมพ์/ปีที่/หน้า.
ตัวอย่าง มาลินี ป้องกัน. (3 กรกฎาคม 2560). ลงทะเบียนคนจน. <i>มติชน</i>, 50, หน้า 12.
บทหนึ่งในหนังสือ (book chapter)
ชื่อ/ชื่อสกุลผู้เขียนบท/(ปีที่พิมพ์)/ชื่อบทหรือตอน/ใน/ชื่อ/ชื่อสกุลบรรณาธิการ/ชื่อหนังสือ/หน้าแรก-หน้าสุดท้ายของบท/สถานที่พิมพ์/สำนักพิมพ์.
ตัวอย่าง มาลินนท์ วุฒิจักร. (2560). สาหร่ายพวงองุ่น. ใน บัณฑิต คิตติ. <i>เกษตรหน้าใหม่</i>, 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.). <i>Feeding and digestive function of fish</i>, pp. 277-344. Enfield: Science Publishers, Inc.

วิทยานิพนธ์
ชื่อ/ชื่อสกุล/(ปีที่พิมพ์)/ชื่อวิทยานิพนธ์/ระดับวิทยานิพนธ์/ชื่อมหาวิทยาลัย/เมืองที่ตั้งมหาวิทยาลัย.
ตัวอย่าง จงลักษณ์ จีมนับใจ. (2550). สมรรถนะแห่งตนต่อการเฝ้าระวังโรคความดันโลหิตสูงของอาสาสมัครสาธารณสุขอำเภอนาหมื่น จังหวัดน่าน. วิทยานิพนธ์พยาบาลศาสตรมหาบัณฑิต. มหาวิทยาลัยเชียงใหม่, เชียงใหม่. Mirera, D.O. (2013). Capture-based mud crab (<i>Scylla serrata</i>) aquaculture and artisanal fishery in East Africa-Practical and ecological perspectives. Ph.D. thesis in Environmental Science. Linnaeus University, Kalmar.
เว็บไซต์ (website)
ชื่อผู้จัดทำ/(ปีที่ออนไลน์)/ชื่อเรื่อง/สืบค้นเมื่อ/วัน/เดือน/ปี/จาก:/http:..... .
ตัวอย่าง อรรถศิษฐ์ วงศ์มณีโรจน์. (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.
รายงานการประชุม
ชื่อ/ชื่อสกุล/(ปีที่พิมพ์)/ชื่อเรื่อง/ชื่อการประชุมหรือการสัมมนา/เมืองที่พิมพ์.
ตัวอย่าง สุรยุทธ แฉ่งเกิด. (2559). ความมั่นคงทางอาหารของชุมชนบ้านบางปรึก. การประชุมวิชาการความมั่นคงทางอาหารแห่งชาติ. กรุงเทพฯ.
รายงานการวิจัย
ชื่อ/ชื่อสกุล/(ปีที่พิมพ์)/ชื่อเรื่อง/รายงานวิจัย/ชื่อมหาวิทยาลัย.
ตัวอย่าง จันทิมา ชังสิริพร พรศิริ แก้วประดิษฐ์ และพญกระยา พงศ์ยี่หล้า. (2559). การผลิตถ่านกัมมันต์จากถ่านไม้ยางพาราที่ได้จากโรงไฟฟ้าชีวมวลสำหรับงานเครื่องกรองน้ำ. รายงานวิจัย. มหาวิทยาลัยสงขลานครินทร์.

บทหนึ่งในหนังสือการประชุม (proceeding) และเอกสารการสัมมนา
ชื่อ/ชื่อสกุล./ (ปีที่พิมพ์)./ชื่อบทความหรือบท./ใน/ชื่อการประชุมหรือการสัมมนา/(หน้าแรก-หน้าสุดท้าย)./เมืองที่พิมพ์:/หน่วยงานที่จัดทำ.
ตัวอย่าง กรวรรณ มากสุข. (2555). วากรรมความงามของเด็กมัธยมศึกษาแห่งหนึ่งในจังหวัดนครศรีธรรมราช. ใน การประชุมวิชาการระดับชาติราชภัฏวิจัย ครั้งที่ 3 (หน้า 22-35). นครศรีธรรมราช: มหาวิทยาลัยราชภัฏนครศรีธรรมราช.
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 (<i>Gryllus bimaculatus</i>, <i>Acheta domestica</i> and <i>Modicogryllus confirmata</i>) for broiler diets by <i>in vitro</i> digestibility techniques. In <i>Abstract of the 6th Mediterranean Poultry Summit</i> (pp. 62). Torino: The Mediterranean Poultry Network of the World's Poultry Science Association.



วารสาร วิชชา

มหาวิทยาลัยราชภัฏนครศรีธรรมราช

WICHCHA
NAKHON SI THAMMARAT RAJABHAT UNIVERSITY
JOURNAL

