

สภาวะที่เหมาะสมต่อการทำงานของเอนไซม์ไลเปส

ที่สกัดได้จากทางเดินอาหารของปลาเวียน

Optimal condition for lipase activity extracted

from gastrointestinal of Thai mahseer (*Tor tambroides*)

ณัฐพงษ์ บำรุงใจ(Nuttapong Bumrungjai)¹ เจษฎา ม่วงทอง(Jetsada Maungthong)¹

รุ่งกานต์ กล้าหาญ(Rungkan Klahan)^{1*} สุริยัญ แสงหงส์(Suriyan Seanghong)²

สุนทรี ชาญกิจ(Suntaree Chankit)²

¹ สาขาวิชาการเพาะเลี้ยงสัตว์น้ำ คณะเทคโนโลยีการเกษตร มหาวิทยาลัยราชภัฏเพชรบุรี

² ศูนย์วิจัยและพัฒนาประมงน้ำจืดเพชรบุรี อำเภอบ้านลาด จังหวัดเพชรบุรี

*Corresponding author. E-mail: rukiirun@windowslive.com

บทคัดย่อ

การศึกษากิจกรรมเอนไซม์ lipase ในระบบย่อยอาหารจากทางเดินอาหารของปลาเวียนที่ได้จากการเพาะเลี้ยง มีวัตถุประสงค์เพื่อ ศึกษาอุณหภูมิ และ pH ที่เหมาะสมต่อการทำงานของเอนไซม์ lipase ในปลาเวียน อายุ 7 วัน และ 90 วัน ของปลาเวียน จากการทดลองทดลองพบว่า ค่า pH และ อุณหภูมิที่เหมาะสมต่อการทำงานของเอนไซม์ lipase ในปลาเวียนอายุ 7 วัน คือ pH 9 อุณหภูมิ 30 องศาเซลเซียส โดยกิจกรรมของเอนไซม์มีค่าเท่ากับ 1.89 ± 0.06 U/mg protein/min สำหรับปลา อายุ 90 วัน pH และอุณหภูมิที่เหมาะสมต่อการทำงานของเอนไซม์ lipase คือ pH 12 อุณหภูมิ 30 องศาเซลเซียส โดยมีค่าเท่ากับ 1.41 ± 0.11 U/mg protein/min แต่เมื่อเปรียบเทียบกิจกรรมของ เอนไซม์ของปลาทั้งสองอายุที่อุณหภูมิค่า 15 องศาเซลเซียส พบว่ากิจกรรมของเอนไซม์ lipase จะมี ค่าสูงในปลาอายุ 90 วัน สรุปได้ว่าอุณหภูมิที่เหมาะสมต่อการทำงานของเอนไซม์ lipase ของปลา เวียนอายุ 7 และ 90 วัน อยู่ที่ 30 องศาเซลเซียส สำหรับ pH ที่เหมาะสมต่อการทำงานอยู่ที่ pH 9 และ 12 ตามลำดับ

Abstract

This research was to study the lipase activity was extracted from gastrointestinal of Thai mahseer breeding and the objective was to study the optimal temperature and pH of lipase activity from gastrointestinal of 7 and 90 days of Thai mahseer. The result showed / that optimal pH and temperature for lipase activity of 7 days age Thai mahsser were pH 9 and 30 °C and lipase activity was 1.89 ± 0.06

U/mg protein/min. In addition, Thai mahseer aged 90 days has the highest activity at pH 12 and temperature at 30 °C was 1.41 ± 0.11 U/mg protein/min. Lipase activity comparison between 7 and 90 days at low temperature (15 °C) showed high activity in 90 days old fish. In conclusion, the optimal temperature for lipase activity of 7 and 90 days Thai mahseer were 30 °C and optimal pH were 9 and 12 respectively.

บทนำ

ปลาเวียน (Thai mahseer, Greater brook carp) เป็นปลาน้ำจืด มีชื่อวิทยาศาสตร์ว่า *Tor tambroides* อยู่ในวงศ์ปลาตะเพียน (Cyprinidae) เป็นปลาที่มี ขนาดใหญ่ รูปร่างลักษณะคล้าย ปลาพลวงหิน (*Neolissochilus stracheyi*) ซึ่งอยู่ในตระกูลเดียวกัน เว้นแต่ ริมฝีปากบนมีแผ่นหนัง ยื่นออกมาทำให้ดูคล้ายจะงอย ปากจุ่มลง และมีรูปร่างลำตัวที่เรียกว่า ขนาดเฉลี่ย โดยทั่วไปยาว ประมาณ 60 เซนติเมตรขนาดใหญ่สุดที่ พบมีความยาวถึง 1 เมตร อาศัยตามแหล่งน้ำสะอาดตามต้น น้ำ ลำธาร ส่วนใหญ่จะพบปลาเวียนได้ตามบริเวณต้นแม่น้ำเพชรบุรี อ่างเก็บน้ำเขื่อนแก่งกระจาน แม่น้ำไทรโยคน้อย จังหวัดกาญจนบุรี แม่น้ำปาย จังหวัดแม่ฮ่องสอน อ่างเก็บน้ำเขื่อนรัชชประภา จังหวัด สุราษฎร์ธานี ปลาเวียนเคยเป็นปลาที่ขึ้นชื่อของจังหวัดเพชรบุรีและถือเป็นปลาประจำจังหวัด เพราะเนื้อนุ่ม ละเอียดย มีไขมันสะสมในเนื้อปริมาณสูง ซึ่งปัจจุบันพบได้น้อยจนแทบกล่าวได้ว่าหมดไป แล้ว เนื่องจากสภาพ แวดล้อมที่ถูกทำลาย ปัจจุบันกรมประมงสามารถที่จะเพาะขยายพันธุ์ได้แล้ว โดยศูนย์วิจัยและพัฒนาประมง น้ำจืดเพชรบุรี (ขวลิต วิทยานนท์, 2544) แต่ปัญหาที่พบในการเลี้ยง ของศูนย์วิจัยและพัฒนาประมงน้ำจืด เพชรบุรี คือ การเจริญเติบโตของปลาเติบโตได้ช้าและในการ เพาะเลี้ยงนั้นยังไม่ได้คุณภาพเนื้อที่ดีด้วย จึงทำให้เกิดความตั้งใจในการศึกษาเรื่องขบวนการต่างๆใน ร่างกาย โดยเร่งไปถึงเอนไซม์ lipase เพื่อที่จะรักษาคุณภาพของเนื้อปลาและการเจริญเติบโตให้ได้ดี การเจริญเติบโตของปลาเวียนนั้นขึ้นอยู่กับสภาพแวดล้อม คุณภาพน้ำ อาหาร ซึ่งเป็นส่วนจำเป็นต่อ การเจริญเติบโตของปลา เมื่อสัตว์น้ำกินอาหารเข้าไปผ่านกระบวนการทางเดินอาหาร อาหารจะถูก ย่อยโดยเอนไซม์ต่างๆ โดยจากการศึกษาเรื่อง เอนไซม์ lipase เอนไซม์ lipase เป็นเอนไซม์ตัวหนึ่งใน ระบบการย่อยอาหารโดยจะใช้ในการย่อยไขมัน เป็นกรดไขมันขนาดเล็กเข้าสู่ร่างกายของปลา โดยจะ ทำได้ดีใน อุณหภูมิ และ pH ที่เหมาะสม จากการศึกษาค้นคว้าได้ทำการศึกษากิจกรรมของเอนไซม์ lipase ในทางเดินอาหารของปลาเวียนเพื่อหาอุณหภูมิและ pH ที่เหมาะสมเพื่อให้ช่วยให้กิจกรรมของ เอนไซม์นั้นทำงานได้ดีเพื่อให้คุณภาพของเนื้อปลาเวียนนั้น มีคุณภาพที่ดี เจริญเติบโตได้ดี เพื่อจะ แก้ไขในการเพาะเลี้ยงและปรับใช้ในการเลี้ยงให้ปลานั้นเจริญเติบโตได้ดีพร้อมกับมีคุณภาพของเนื้อที่ ดีและสามารถเลี้ยงขยายในเชิงพานิชต่อไป

วัตถุประสงค์ของการวิจัย

ศึกษาอุณหภูมิ และ pH ที่เหมาะสมต่อการทำงานของเอนไซม์ lipase ในปลาเวียน อายุ 7 วัน และ อายุ 90 วัน

วิธีดำเนินการวิจัย

สัตว์ทดลอง

ใช้ปลาเวียนอายุ 7 วัน ขนาดเฉลี่ย 0.0176 กรัม/ตัว ที่อนุบาลด้วยอาหาร โปร-เกรด เอ 101 โปรตีนไม่ต่ำกว่า 40% และปลาเวียนอายุ 90 วัน ขนาดเฉลี่ย 0.081กรัม/ตัว ที่อนุบาลด้วยอาหาร ไฮเกรด 9961 โปรตีนไม่ต่ำกว่า 40% โดยมาเอามาเก็บตัวอย่างทางเดินอาหารเพื่อใช้ในการศึกษากิจกรรมเอนไซม์

วิธีสกัดเอนไซม์ lipase จากทางเดินอาหารของปลาเวียน

ซังน้ำหนัทางเดินอาหารของปลา แบ่งเป็น 2 ช่วงอายุ นำตัวอย่างมาบดละเอียดโดยใช้ homogenizer โดยบดตัวอย่างใน Tris-Hcl buffer ความเข้มข้น 50mM pH 7.5 จากนั้นนำตัวอย่างที่ได้เข้าเครื่อง centrifuge ที่ความเร็วรอบ 15,000 g อุณหภูมิ 4 องศาเซลเซียส นาน 5 นาที เก็บส่วนที่เป็นของเหลวด้านบน (supernatant) ไว้ที่ -20 องศาเซลเซียส (Gimenez et al ., 1999) เพื่อใช้ในการวิเคราะห์กิจกรรมของเอนไซม์ซึ่งได้ดังนี้

วิเคราะห์กิจกรรมของเอนไซม์ lipase ตามวิธีของ Markweg et al. (1995) โดยนำตัวอย่างเอนไซม์ที่สกัดได้ปริมาตร 50 ไมโครลิตร ผสมกับสับสเตรท p - nitrophenylpalmitate (pNPP) ที่ความเข้มข้น 0.1 M ปริมาตร 100 ไมโครลิตร และบัฟเฟอร์ที่มี pH ตั้งแต่ 4 ถึง 12 ปริมาตร 800 ไมโครลิตร จากนั้นนำตัวอย่างที่ได้เข้าเครื่อง incubator ที่อุณหภูมิ 37 องศาเซลเซียส นาน 60 นาที หลังจากนั้นนำตัวอย่างเดิม 0.1 M Na₂ CO₃ ปริมาตร 250 ไมโครลิตร เพื่อหยุดปฏิกิริยา นำตัวอย่างที่ได้เข้าเครื่อง centrifuge ที่ความเร็วรอบ 10,000 g อุณหภูมิ 4 องศาเซลเซียส นาน 15 นาที และวัดค่าการดูดกลืนแสงด้วยเครื่อง spectrophotometer ที่ความยาวคลื่นแสง 410 nm วัดระดับโปรตีนในเลือดของปลาโดยใช้ bovine serum albumin เป็นสารโปรตีนมาตรฐาน

ผลการวิจัย

จากการศึกษากิจกรรมเอนไซม์ lipase ในระบบทางเดินอาหารของปลาเวียนที่ได้จากการเลี้ยงอายุ 7 วันขนาดเฉลี่ย 0.0176 กรัม/ตัว และ อายุ 90 วันขนาดเฉลี่ย 0.081กรัม/ตัว ได้ผลการทดลองดังต่อไปนี้

ผลการศึกษากิจกรรมของเอนไซม์ไลเปสที่สกัดได้จากทางเดินอาหารของปลาเวียนที่ได้จากการเพาะเลี้ยงที่อายุ 7 วัน และที่อุณหภูมิ 15, 20, 25 และ 30 องศาเซลเซียส พบว่า ปลาเวียนที่อายุ 7 วัน ทดสอบกิจกรรมที่อุณหภูมิ 15 องศาเซลเซียสมีค่ากิจกรรมสูงสุด ($P < 0.05$) ที่ pH 9 โดยมีค่าเท่ากับ 0.21 ± 0.02 U/mg protein/min สำหรับกิจกรรมของเอนไซม์ไลเปส ที่อุณหภูมิ 20 องศาเซลเซียส พบว่า ค่ากิจกรรมสูงสุด ที่ pH 4 และ pH 5 ($P < 0.05$) โดยมีค่าเท่ากับ 0.24 ± 0.03 และ 0.23 ± 0.03 U/mg protein/min และ ที่อุณหภูมิ 25 องศาเซลเซียสมีค่ากิจกรรมสูงสุด ที่ pH 12 ($P < 0.05$) โดยมีค่าเท่ากับ 0.13 ± 0.00 U/mg protein/min ส่วน การทดสอบกิจกรรมที่อุณหภูมิ 30 องศาเซลเซียสมีค่ากิจกรรมสูงสุด ที่ pH 9 ($P < 0.05$) โดยมีค่าเท่ากับ 1.89 ± 0.06 U/mg protein/min

ตารางที่ 1 กิจกรรมของเอนไซม์ไลเปส ที่สกัดได้จากทางเดินอาหารของปลาเวียนอายุ 7 วัน ที่ pH 4 – 12 และ อุณหภูมิต่างกัน

pH	อุณหภูมิ			
	15 c°	20 c°	25 c°	30 c°
4	0.04 ± 0.00^e	0.24 ± 0.03^a	-0.03 ± 0.00^i	0.16 ± 0.03^{ef}
5	-0.01 ± 0.01^f	0.23 ± 0.03^a	0.00 ± 0.00^f	0.08 ± 0.00^f
6	0.04 ± 0.01^e	0.17 ± 0.00^b	-0.00 ± 0.00^g	0.14 ± 0.06^f
7	0.08 ± 0.00^d	0.01 ± 0.00^d	0.01 ± 0.00^e	0.07 ± 0.01^b
8	0.17 ± 0.00^b	0.03 ± 0.00^{dc}	-0.02 ± 0.00^h	0.45 ± 0.05^c
9	0.21 ± 0.02^a	0.04 ± 0.00^{dc}	0.07 ± 0.00^c	1.89 ± 0.06^a
10	0.08 ± 0.00^d	0.07 ± 0.01^c	0.09 ± 0.00^b	0.25 ± 0.01^{ed}
11	0.12 ± 0.00^c	0.07 ± 0.01^c	0.04 ± 0.00^d	0.29 ± 0.03^d
12	0.15 ± 0.00^{cb}	0.00 ± 0.00^d	0.13 ± 0.00^a	0.63 ± 0.05^b
P - value	0.0001	0.0001	0.0001	0.0001

หมายเหตุ : ตัวอักษรภาษาอังกฤษที่ต่างกันตามแนวตั้งแสดงว่ามีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p < 0.05$)

ผลการศึกษากิจกรรมของเอนไซม์ ไลเปส ที่สกัดได้จากทางเดินอาหารของปลาเวียนที่ได้จากการเพาะเลี้ยงที่อายุ 90 วัน และที่อุณหภูมิ 15, 20, 25 และ 30 องศาเซลเซียส แสดงในตารางที่ 2

ตารางที่ 2 กิจกรรมของเอนไซม์ไลเปส ที่สกัดได้จากทางเดินอาหารของปลาเวียนอายุ 90 วัน ที่ pH 4 – 12 และ อุณหภูมิต่างกัน

pH	อุณหภูมิ			
	15 c°	20 c°	25 c°	30 c°
4	0.02 ± 0.00 ^g	0.06 ± 0.021 ^b	-0.02 ± 0.00 ^e	0.19 ± 0.06 ^d
5	0.16 ± 0.01 ^{ef}	0.00 ± 0.00 ^e	0.07 ± 0.00 ^d	0.06 ± 0.01 ^{ef}
6	0.23 ± 0.02 ^{ed}	0.02 ± 0.00 ^{dc}	0.03 ± 0.00 ^d	0.32 ± 0.02 ^c
7	0.35 ± 0.01 ^b	0.00 ± 0.00 ^{de}	0.31 ± 0.02 ^b	-0.04 ± 0.01 ^f
8	0.22 ± 0.03 ^{ed}	0.10 ± 0.00 ^a	0.19 ± 0.00 ^c	0.08 ± 0.01 ^{ed}
9	0.30 ± 0.00 ^{cb}	0.06 ± 0.00 ^b	0.17 ± 0.00 ^c	0.87 ± 0.05 ^b
10	1.30 ± 0.09 ^a	0.02 ± 0.00 ^c	0.96 ± 0.05 ^a	0.20 ± 0.01 ^d
11	0.27 ± 0.02 ^{cd}	0.01 ± 0.00 ^{dce}	0.97 ± 0.02 ^a	0.15 ± 0.00 ^{ed}
12	0.13 ± 0.01 ^f	0.02 ± 0.00 ^c	-0.02 ± 0.00 ^e	1.41 ± 0.11 ^a
P - value	0.0001	0.0001	0.0001	0.0001

หมายเหตุ : ตัวอักษรภาษาอังกฤษที่ต่างกันตามแนวดังแสดงว่ามีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ (p<0.05)

จากการศึกษาพบว่า ปลาเวียนที่อายุ 90 วัน ทดสอบกิจกรรมที่อุณหภูมิ 15 องศาเซลเซียสมีค่ากิจกรรมสูงที่สุด (P<0.05) ที่ pH 10 โดยมีค่าเท่ากับ 1.30±0.09 U/mg protein/min สำหรับกิจกรรมของเอนไซม์ ไลเปส ที่อุณหภูมิ 20 องศาเซลเซียสมีค่ากิจกรรมสูงที่สุด (P<0.05) ที่ pH 8 โดยมีค่าเท่ากับ 0.10±0.00 U/mg protein/min และกิจกรรมเอนไซม์ ไลเปส ที่อุณหภูมิ 25 องศาเซลเซียสมีค่ากิจกรรมสูงที่สุด (P<0.05) ที่ pH 11และ10 โดยมีค่าเท่ากับ 0.97±0.02 และ 0.96±0.05 U/mg protein/min ส่วนกิจกรรมเอนไซม์ ไลเปส ที่อุณหภูมิ 30 องศาเซลเซียสมีค่ากิจกรรมสูงที่สุด (P<0.05) ที่ pH 12 โดยมีค่าเท่ากับ 1.41±0.11 U/mg protein/min จากการศึกษากิจกรรมเอนไซม์ lipase ที่ค่า pH 4-12 และอุณหภูมิที่ 15, 20, 25และ 30 องศาเซลเซียส ซึ่งสกัดเอนไซม์ได้จากทางเดินอาหารของปลาเวียนอายุ 7วันและ 90 วัน มีค่าสูงสุด โดยปลาเวียนอายุ 7 วัน ที่pH 10 อุณหภูมิ15 องศาเซลเซียส มีค่าเท่ากับ 1.30±0.09 และปลาอายุ 7 วัน ที่ pH 8 อุณหภูมิ 20 องศาเซลเซียส มีค่าเท่ากับ 0.10±0.00 ปลาอายุ 7 วัน ที่ pH 12 อุณหภูมิ 25 องศาเซลเซียส มีค่าเท่ากับ 0.13±0.00 และปลาอายุ 7 วัน ที่ pH 9 อุณหภูมิ 30 องศาเซลเซียส มีค่าเท่ากับ 1.89±0.06

ผลการศึกษากิจกรรมของเอนไซม์ ไลเปส ที่สกัดได้จากทางเดินอาหารของปลาเวียนที่ pH 4 -12 ช่วงอายุ 7 และ 90 วัน ในอุณหภูมิ 15, 20, 25 และ 30 องศาเซลเซียส แสดงในตารางที่ 3

ตารางที่ 3 เปรียบเทียบกิจกรรมของเอนไซม์ไลเปสของปลาเวียนที่อายุ 7 และ 90 วัน ที่ pH 4 – 12 ที่อุณหภูมิ 15, 20, 25, และ 30 องศาเซลเซียส

pH	ปลาอายุ 7 วัน				ปลาอายุ 90 วัน				p-value
	15 °C	20 °C	25 °C	30 °C	15 °C	20 °C	25 °C	30 °C	
4	0.04 ± 0.00 ^c	0.24 ± 0.03 ^a	-0.03 ± 0.00 ^d	0.16 ± 0.03 ^b	0.02 ± 0.00 ^{dc}	0.06 ± 0.02 ^c	-0.02 ± 0.00 ^d	0.19 ± 0.06 ^{ba}	0.0001
5	-0.01 ± 0.01 ^d	0.23 ± 0.03 ^a	0.00 ± 0.00 ^d	0.08 ± 0.00 ^c	0.16 ± 0.01 ^b	0.00 ± 0.00 ^d	0.07 ± 0.00 ^c	0.06 ± 0.01 ^c	0.0001
6	0.04 ± 0.01 ^d	0.17 ± 0.00 ^c	-0.00 ± 0.00 ^d	0.14 ± 0.06 ^c	0.23 ± 0.02 ^b	0.02 ± 0.00 ^d	0.03 ± 0.00 ^d	0.32 ± 0.02 ^a	0.0001
7	0.08 ± 0.00 ^c	0.01 ± 0.00 ^d	0.01 ± 0.00 ^d	0.07 ± 0.01 ^c	0.35 ± 0.01 ^a	0.00 ± 0.00 ^d	0.31 ± 0.02 ^b	-0.04 ± 0.01 ^e	0.0001
8	0.17 ± 0.00 ^b	0.03 ± 0.00 ^d	-0.02 ± 0.00 ^e	0.45 ± 0.05 ^a	0.22 ± 0.03 ^b	0.10 ± 0.00 ^c	0.19 ± 0.00 ^b	0.08 ± 0.01 ^{dc}	0.0001
9	0.21 ± 0.02 ^d	0.04 ± 0.00 ^e	0.07 ± 0.00 ^e	1.89 ± 0.06 ^a	0.30 ± 0.00 ^c	0.06 ± 0.00 ^e	0.17 ± 0.00 ^d	0.87 ± 0.05 ^b	0.0001
10	0.08 ± 0.00 ^d	0.07 ± 0.01 ^d	0.09 ± 0.00 ^d	0.09 ± 0.00 ^d	1.30 ± 0.09 ^a	0.02 ± 0.00 ^d	0.96 ± 0.05 ^b	0.20 ± 0.01 ^c	0.0001
11	0.12 ± 0.00 ^c	0.07 ± 0.01 ^d	0.04 ± 0.00 ^{ed}	0.29 ± 0.03 ^b	0.27 ± 0.02 ^b	0.01 ± 0.00 ^e	0.97 ± 0.02 ^a	0.15 ± 0.00 ^c	0.0001
12	0.15 ± 0.00 ^c	0.00 ± 0.00 ^d	0.13 ± 0.00 ^c	0.63 ± 0.05 ^b	0.02 ± 0.00 ^{dc}	0.02 ± 0.00 ^{dc}	-0.02 ± 0.00 ^d	1.41 ± 0.11 ^a	0.0001

หมายเหตุ : ตัวอักษรภาษาอังกฤษที่ต่างกันตามแนวนอนแสดงว่ามีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ (p<0.05)

ค่ากิจกรรมเอนไซม์ ไลเปส ที่ pH 4 และ 5 มีค่าสูงที่สุด (P<0.05) ในปลาอายุ 7 วัน ในอุณหภูมิ 20 องศาเซลเซียส โดยมีค่าเท่ากับ 0.24 ± 0.03 และ 0.23 ± 0.03 U/mg protein/min สำหรับ pH 6 และ 7 พบว่าปลาเวียนมีกิจกรรมของเอนไซม์ ไลเปส สูงสุดในปลาอายุ 90 วัน ที่อุณหภูมิ 30 และ 15 องศาเซลเซียส ตามลำดับ ที่ pH 8 และ 9 กิจกรรมของเอนไซม์ ไลเปส มี

ค่าสูงสุดในปลาเวียนปลาอายุ 7 วัน ที่อุณหภูมิ 30 องศาเซลเซียส โดยมีค่าเท่ากับ ตามลำดับ 0.45 ± 0.05 และ 1.89 ± 0.06 U/mg protein/min สำหรับ pH 10 – 12 พบค่ากิจกรรมของเอนไซม์ ไลเปสมีค่าสูงสุดในปลาเวียนปลาอายุ 30 วัน ที่อุณหภูมิ 30, 25 และ 30 องศาเซลเซียส โดยมีค่าเท่ากับ 1.30 ± 0.09 , 0.97 ± 0.02 และ 1.41 ± 0.11 U/mg protein/min ตามลำดับ

สรุปและอภิปรายผล

จากการศึกษากิจกรรมของเอนไซม์ ไลเปส โดยใช้ เอนไซม์ไลเปส ที่สกัดได้จากทางเดินอาหารของปลาเวียนจาก 2 ช่วงอายุคือ 7 วันและ 90 วัน ปลาเวียนอายุ 7 วัน ขนาดเฉลี่ย 0.0176 กรัม/ตัว และปลาเวียนอายุ 90 วัน ขนาดเฉลี่ย 0.081 กรัม/ตัว โดยให้อาหารที่ระดับโปรตีนเท่ากัน ในช่วงอายุ และ pH ที่ดีที่สุดคือช่วงอายุ 7 วัน ที่อุณหภูมิ 30 องศาเซลเซียสมีค่ากิจกรรมสูงที่สุดที่ pH 9 โดยมีค่าเท่ากับ 1.89 ± 0.06 U/mg protein/min และที่ช่วงอายุ 90 วัน ที่อุณหภูมิ 30 องศาเซลเซียส มีค่ากิจกรรมสูงที่สุดที่ pH 12 โดยมีค่าเท่ากับ 1.41 ± 0.11 U/mg protein/min ในภาพรวมการทำกิจกรรมของ ไลเปสนั้นทำงานได้ดีเมื่ออยู่ในสภาวะเป็นด่าง คือช่วงค่า pH ที่ 8-12 ซึ่งปลาที่มีขนาดเล็กจะมีค่ากิจกรรมสูงกว่าเนื่องจากเมื่อปลาฝึกตัวออกจากไข่และเจริญเติบโตอาหารตามธรรมชาติที่ปลาได้รับเป็นแหล่งคาร์บอนฟิซและแหล่งคาร์บอนสตรว์ มีส่วนประกอบของโปรตีนและไขมันสูง (Halver and Herdy, 2002; Moyle and Cech, 2000) เนื่องจากปลาเวียนมีอัตราในการสร้างไขมันในเนื้อสูง มีการสังเคราะห์โปรตีน และมีความต้องการโปรตีนและไขมันสูง ดังนั้นกิจกรรมเอนไซม์ ไลเปส จึงมีมากเพื่อตอบสนองต่อการใช้ประโยชน์จากโปรตีนและไขมันที่ได้รับจากอาหาร (วีรพงศ์ 2536; Webster/ Lim 2002) จากการทดลองของ (เจษฎา ชีรศรัณยานนท์, อรพินท์ จินตสถาพร และ ศรีน้อย ชุ่มคำ, 2557) ในเรื่อง การศึกษากิจกรรมเอนไซม์โปรติเอส อะไมเลส เซลลูเลส และไลเปสในระบบทางเดินอาหารของ ปลากระพงขาว จะเห็นได้ว่า เอนไซม์ไลเปส จะย่อยลิพิด ที่มีน้ำหนักโมเลกุลสูงได้ดีที่ pH ประมาณ 7.5 และทำการย่อยไตรกลีเซอไรด์ให้แตกตัวเป็นกลีเซอรอลและกรดไขมันอิสระซึ่งมีขนาดโมเลกุลเล็กพอที่ร่างกายจะดูดซึมไปใช้ได้ (เวียง, 2543) จึงเห็นได้ว่าการย่อยไขมันของเอนไซม์ไลเปสทำได้ดีในค่า pH ที่ค่อนข้างเป็นด่าง ในอุณหภูมิที่กิจกรรมเอนไซม์ไลเปสทำได้ดีในภาพรวมของตารางคือ 30 องศาเซลเซียส แต่ในสภาวะที่ปลาเวียนอาศัยอยู่นั้นอุณหภูมิค่อนข้างต่ำ จำเป็นสาเหตุให้ปลาเวียนนั้นเติบโตได้ช้าแต่ในสภาวะที่อุณหภูมิต่ำแต่ค่า pH ที่เป็นอย่างกลับมีค่ากิจกรรมเอนไซม์ที่ค่อนข้างสูงคือในปลา 90 วัน ที่อุณหภูมิ 15 องศาเซลเซียส มีค่ากิจกรรมที่ 1.30 ± 0.09 U/mg protein/min จากที่แสดงในตาราง

กิตติกรรมประกาศ

คณะผู้วิจัยขอขอบคุณ ศูนย์วิจัยและพัฒนาประมงน้ำจืดเพชรบุรี จังหวัดเพชรบุรี ที่ได้สนับสนุนลูกพันธุ์ปลาเวียง เพื่อทำวิจัยครั้งนี้

เอกสารอ้างอิง

- ขวลิต วิทยานนท์. (2544). *ปลาน้ำจืดไทย*. กรุงเทพฯ : นานมีบุ๊คส์, 43-115.
- วีรพงษ์ วุฒิพันธุ์ชัย. (2536). *อาหารปลา*. สำนักพิมพ์โอเดียนสโตร์, กรุงเทพฯ.
- เวียง เชื้อโพธิ์หัก. (2543). *โภชนศาสตร์น้ำ และการให้อาหารสัตว์น้ำ*. มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์, กรุงเทพฯ.
- เจษฎา ธีรศรีณยานนท์. อรพินท์ จินตสถาพร. และ ศรีน้อย ชุ่มคำ. (2557). *การศึกษากิจกรรม เอนไซม์โปรติเอส อะไมเลส เซลลูเลส และไลเปสในระบบทางเดินอาหารของปลากะพงขาว* คณะประมง มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์ 50 ถ.พหลโยธิน เขตจตุจักร กรุงเทพฯ.
- Gimenez, A. V. F., I. Fernandez, R.M. Preciado, M. Oliva, D. Tova and H. Nolasco. (1999). *The activity of digestive enzyme during the molting stage of the arched swimming*
- Markweg, H., M.S. Lang and F. Wagner. 1995. *Dodecanoic acid inhibition of lipase from Acinetobacter sp.* OPA 55. *Enz. Microb. Tech.* 17: 512 – 516.
- Halver J.E. and R.W. Hardy (2002). *Fish Nutrition*. Academic Press, United States of America.
- Moyle, P.B. and J.J. Cech, Jr.(2000). *Fish : An Introduction to Ichthyology*. Prentice Hall Inc., United States of America.
- Webster, C.D. and C.E. Lim. (2002). *Nutrient Requirements and Feeding of Finfish for Aquaculture*. CABI Publishing, UK.

การศึกษาสภาวะที่เหมาะสมในการสกัดไคโตซานจากเปลือกและหัวของ กุ้งขาวและกุ้งก้ามกราม

Optimum conditions for chitosan Extraction from abdominal shell and head of white shrimp and giant freshwater prawn

ปาริฉัตร คชพันธ์(Parichad kodchapun) อิศริญา แท่งโช(Aidsariya Tangcho)

รุ่งกานต์ กล้าหาญ(Rungkan Klahan)*

สาขาวิชาการเพาะเลี้ยงสัตว์น้ำ คณะเทคโนโลยีการเกษตร มหาวิทยาลัยราชภัฏเพชรบุรี

*Corresponding author E-mail: rukiirun@windowslive.com

บทคัดย่อ

การศึกษาสภาวะที่เหมาะสมในการสกัดไคโตซานจากเปลือกและหัวกุ้งขาวและกุ้งก้ามกราม มีวัตถุประสงค์เพื่อคัดเลือกความเข้มข้นของสารที่ใช้ในการสกัดที่เหมาะสมที่สุดในการผลิต เพื่อได้ปริมาณไคโตซานสูงสุด และใช้ต้นทุนการผลิตต่ำที่สุด โดยใช้วัตถุดิบคือ เปลือก และหัวกุ้งขาว และกุ้งก้ามกรามแบ่งการทดลองตามขั้นตอนในการผลิตได้แก่ ขั้นตอนการกำจัดแร่ธาตุแบ่งการทดลองโดยใช้ความเข้มข้นของไฮโดรคลอริก ที่ต่างกัน 4 ระดับ ได้แก่ความเข้มข้น 2, 4, 6, และ 8 เปอร์เซ็นต์ ขั้นตอนการกำจัดโปรตีน แบ่งการทดลองโดยใช้ความเข้มข้นของโซเดียมไฮดรอกไซด์ ที่ต่างกัน 4 ระดับ ได้แก่ความเข้มข้น 2, 4, 6, และ 8 เปอร์เซ็นต์ โดยใช้อุณหภูมิในการสกัดได้แก่ 65, 85 และ 105 องศาเซลเซียส เช่นเดียวกัน การสกัดไคโตซานจากเปลือกและหัวกุ้งขาวควรใช้สารละลายไฮโดรคลอริกและโซเดียมไฮดรอกไซด์ที่ระดับความเข้มข้น 8% ทั้งสองสารสกัด ในการผลิตไคโตซานจากเปลือกและหัวกุ้งก้ามกรามควรใช้สารละลายไฮโดรคลอริกและโซเดียมไฮดรอกไซด์ที่ระดับความเข้มข้น 2% และ 8% ตามลำดับ

คำสำคัญ: เปลือกและหัว กุ้งขาว กุ้งก้ามกราม ไคโตซาน

Abstract

This study was investigate the optimum conditions for chitosan extracted from abdominal shell and head of white shrimp and giant freshwater prawn. The objective was to select the optimal concentration of substance for chitosan extraction. The study was divided into 2 majors step were the first, mineral removal by the experiments using hydrochloric acid at 4 different levels to a concentration of 2, 4, 6, and 8 percentage. The second, this step was divided by the concentration of

sodium hydroxide at 4 different levels to a concentration of 2, 4, 6, and 8 percentage. The temperature for the extraction include 65, 85 and 105 degrees Celsius, respectively. The research was found that the extraction of chitosan from abdominal shells and heads of giant fresh water prawn should find a solution, hydrochloric acid and sodium oxide at a concentration of 8% both extraction substance. In the production of chitosan from the white leg shrimp should be a solution of hydrochloric acid and sodium hydroxide at a concentration of 2% and 8% respectively.

Key words: abdominal shell and head, white shrimp, freshwater prawn, chitosan.

บทนำ

ไคตินและไคโตซานเป็นสารพอลิเมอร์ชีวภาพที่ถูกนำมาใช้ประโยชน์อย่างกว้างขวางในปัจจุบัน ไม่ว่าจะเป็นทางด้านอุตสาหกรรม ทางด้านการแพทย์ การเกษตร เครื่องสำอาง ด้านอาหาร รวมถึงด้านอื่นๆอีกมากมาย ไคตินพบได้ในสิ่งมีชีวิตทั่วไป โดยพบมากในสิ่งมีชีวิตที่มีเปลือกหรือผนังแข็งหุ้มลำตัว เช่น กุ้ง ปู หอย (siamchemi.com, 2018) และเพื่อเป็นการใช้ประโยชน์จากเศษเหลือจากเปลือกและหัวของกุ้งขาวและกุ้งก้ามกราม เพื่อเป็นการลดต้นทุน ลดเวลาในการผลิต และได้คุณภาพที่ดีของผลิตภัณฑ์ ทางผู้วิจัยจึงได้คิดค้น หาคุณภาพของสาร เวลาและอุณหภูมิที่ใช้ในการทดลองที่เหมาะสม ในการผลิตไคโตซานเพื่อนำไปใช้ประโยชน์ในด้านของการเกษตรกรรม จากแนวโน้มการขยายตัวของอุตสาหกรรมการแปรรูปกุ้งในประเทศไทยที่เพิ่มขึ้น ส่งผลให้ปริมาณวัสดุจำพวกเปลือกและหัวกุ้งจำนวนมากมาย ก่อให้เกิดมลภาวะเป็นพิษจึงได้มีการศึกษาหาแนวทางการเปลี่ยนจากวัสดุเหลือใช้ให้เป็นผลิตภัณฑ์ที่มีมูลค่าเพิ่มมากขึ้นซึ่งนอกจากช่วยแก้ปัญหามลภาวะเป็นพิษแล้วยังอาจเพิ่มรายได้ให้กับผู้ประกอบการอุตสาหกรรม ด้วยแนวทางการใช้ประโยชน์จากเปลือกและหัวกุ้งที่ได้รับความสนใจจากผู้ประกอบการและมีความเป็นไปได้สูงคือการสกัดไคตินและไคโตซานเพื่อประโยชน์ต่ออุตสาหกรรมหลายชนิด เนื่องจากในประเทศไทยยังไม่มีผลผลิตในระดับอุตสาหกรรม รวมทั้งมีความแตกต่างของกระบวนการผลิตและชนิดของวัตถุดิบส่งผลให้คุณภาพของผลิตภัณฑ์มีความแตกต่างกัน (ไพรัตน์ โสภโณตร, 2534)

วัตถุประสงค์ของการวิจัย

เพื่อศึกษาความเข้มข้นของสาร และอุณหภูมิที่เหมาะสมในการสกัดไคโตซาน

วิธีดำเนินการวิจัย

การสกัดโคโคซานจากเปลือกและหัวกุ้งก้ามกรามและกุ้งขาวได้จากตลาดสดจังหวัดเพชรบุรี ขนาดประมาณ 60 ตัวต่อหนึ่งกิโลกรัม

การทดลองนี้วางแผนการทดลองแบบ 4×4 Factorial in CRD โดยปัจจัยในการสกัดได้แก่ ความเข้มข้นของสารที่ใช้ในการสกัดโคโคซาน ประกอบด้วย กรดไฮโดรคลอริกและโซเดียมไฮดรอกไซด์ที่ระดับ 2,4,6 และ 8 เปอร์เซ็นต์

และอุณหภูมิในการสกัดได้แก่ 65, 85, และ 105 องศาเซลเซียส โดยในแต่ละขั้นตอนวางแผนการทดลอง ดังนี้

1. การกำจัดเกลือแร่ เป็นขั้นตอนการสกัดเปลือกและหัวกุ้งขาวและกุ้งก้ามกราม โดยการนำวัตถุดิบที่ทำปฏิกิริยากับกรดไฮโดรคลอริกเนื่องจากที่ความเข้มข้น 2, 4, 6, และ 8 เปอร์เซ็นต์ เป็นเวลา 1 ชั่วโมง ที่อุณหภูมิห้อง

2. การกำจัดโปรตีน โดยนำตัวอย่างที่ได้จากขั้นตอนการกำจัดเกลือแร่มาแยกโปรตีนออกโดยใช้สารละลายโซเดียมไฮดรอกไซด์ที่มีความเข้มข้น 2, 4, 6 และ 8 เปอร์เซ็นต์ ที่อุณหภูมิ 65, 85, และ 105 องศาเซลเซียส

3. การฟอกสี นำเปลือกและหัวกุ้งที่กำจัดเกลือแร่และโปรตีนออกแล้วมากำจัดสีด้วย การแช่ในไฮโดรเจนเปอร์ออกไซด์ที่ความเข้มข้น 30 เปอร์เซ็นต์ ที่อุณหภูมิ 50 องศาเซลเซียส เป็นระยะเวลา 12 ชั่วโมง จากนั้นชั่งน้ำหนักสารแห้งที่ได้

4. การสกัดโคโคซาน แช่เคตินในสารละลาย โซเดียมไฮดรอกไซด์เข้มข้น 50 เปอร์เซ็นต์ ที่อุณหภูมิ 100 องศาเซลเซียสเป็นเวลา 6 ชั่วโมง

ผลการทดลอง

การศึกษาสภาวะที่เหมาะสมในการสกัดโคโคซานจากเปลือก และหัวของกุ้งขาว และกุ้งก้ามกราม โดยมีระดับความเข้มข้นของกรดไฮโดรคลอริก และ โซเดียมไฮดรอกไซด์ เป็นปัจจัยในการศึกษา โดยใช้กรดไฮโดรคลอริก และ โซเดียมไฮดรอกไซด์ ที่ความเข้มข้น 2, 4, 6 และ 8% และศึกษาที่อุณหภูมิ 65, 85 และ 105 องศาเซลเซียส ได้ผลดังต่อไปนี้

การสกัดโคโคซานจากเปลือก และหัวกุ้งก้ามกรามที่อุณหภูมิ 65 องศาเซลเซียส (ตารางที่ 1) พบมีค่าแตกต่างกันในแต่ละความเข้มข้นของกรดไฮโดรคลอริก และ โซเดียมไฮดรอกไซด์ ($p < 0.05$) โดยความเข้มข้นของสารสกัดที่ให้ปริมาณโคโคซานสูงที่สุดคือ กรดไฮโดรคลอริก ที่ความเข้มข้น 2 และ 4 % และ โซเดียมไฮดรอกไซด์ ที่ความเข้มข้น 6 และ 8 %

ตารางที่ 1 ปริมาณโคโคซาน (เปอร์เซ็นต์) ที่สกัดได้จากเปลือก และหัวกุ้งก้ามกรามที่
อุณหภูมิ 65 องศาเซลเซียส

ความเข้มข้นของกรด ไฮโดรคลอริก	ความเข้มข้นของโซเดียมไฮดรอกไซด์				ค่าเฉลี่ย
	2%	4%	6%	8%	
2%	6.380±2.050	7.915±1.124	13.675±2.425	13.105±2.609	10.26 ^a
4%	8.575±2.170	7.830±0	11.215±1.435	13.370±0.494	10.24 ^a
6%	5.940±1.555	6.730±1.060	10.245±0.558	11.215±0.431	8.53 ^b
8%	4.135±1.986	6.375±0.063	6.245±0.997	5.365±1.124	5.53 ^c
ค่าเฉลี่ย	6.25 ^b	7.21 ^b	10.34 ^a	10.76 ^a	

หมายเหตุ : ตัวอักษรภาษาอังกฤษที่ต่างกันตามแนวตั้ง และแนวนอนในช่องค่าเฉลี่ยแสดงความแตกต่างกัน
อย่างมี นัยสำคัญทางสถิติ ($p<0.05$)

การสกัดโคโคซานจากเปลือก และหัวกุ้งก้ามกรามที่อุณหภูมิ 85 องศาเซลเซียส (ตารางที่ 2)
พบมีค่าแตกต่างกันในแต่ละความเข้มข้นของกรดไฮโดรคลอริก และ โซเดียมไฮดรอกไซด์ ($p<0.05$)
โดยความเข้มข้นของสารสกัดที่ให้ปริมาณโคโคซานสูงที่สุดคือ กรดไฮโดรคลอริก ที่ความเข้มข้น 2 และ
โซเดียมไฮดรอกไซด์ ที่ความเข้มข้น 6 และ 8 %

ตารางที่ 2 ปริมาณโคโคซาน (เปอร์เซ็นต์) ที่สกัดได้จากเปลือก และหัวกุ้งก้ามกรามที่อุณหภูมิ
85 องศาเซลเซียส

ความเข้มข้นของ กรดไฮโดรคลอริก	ความเข้มข้นของโซเดียมไฮดรอกไซด์				ค่าเฉลี่ย
	2%	4%	6%	8%	
2%	8.090±0.127	9.895±0.558	16.975±2.114	17.680±3.478	13.16 ^a
4%	10.510±0.056	8.750±3.917	11.610±0.989	10.465±2.241	10.33 ^b
6%	4.925±2.609	6.420±1.612	7.960±0.311	8.660±0.311	6.99 ^c
8%	4.135±1.986	5.630±1.994	4.880±0.183	6.155±0.247	5.20 ^c
ค่าเฉลี่ย	6.91 ^b	7.67 ^b	10.35 ^a	10.74 ^a	

หมายเหตุ : ตัวอักษรภาษาอังกฤษที่ต่างกันตามแนวตั้ง และแนวนอนในช่องค่าเฉลี่ยแสดงความแตกต่างกันอย่าง
มีนัยสำคัญทางสถิติ ($p<0.05$)

การสกัดโคโคซาน.จากเปลือก และหัวกุ้งก้ามกรามที่อุณหภูมิ 105 องศาเซลเซียส (ตารางที่ 3) พบมีค่าแตกต่างกัน ในแต่ละความเข้มข้นของกรดไฮโดรคลอริก และ โซเดียมไฮดรอกไซด์ ($p<0.05$) โดยความเข้มข้นของสารสกัดที่ให้ปริมาณโคโคซานสูงที่สุดคือ กรดไฮโดรคลอริก ที่ความเข้มข้น 2 และ 4 โซเดียมไฮดรอกไซด์ ที่ความเข้มข้น 8 %

ตารางที่ 3 ปริมาณโคโคซาน (เปอร์เซ็นต์) ที่สกัดได้จากเปลือก และหัวกุ้งก้ามกรามที่อุณหภูมิ 105 องศาเซลเซียส

ความเข้มข้นของ กรดไฮโดรคลอริก	ความเข้มข้นของโซเดียมไฮดรอกไซด์				ค่าเฉลี่ย
	2%	4%	6%	8%	
2%	7.915±0.374	12.490±1.612	10.905±3.358	16.400±0.933	11.92 ^a
4%	9.765±1.491	10.820±0.622	13.630±2.489	8.885±0.374	10.77 ^a
6%	4.790±0.806	5.670±0.430	6.600±2.983	10.815±0.869	6.96 ^b
8%	3.915±0.558	6.115±0.558	4.930±0	5.675±0.558	5.15 ^c
ค่าเฉลี่ย	6.59 ^c	8.77 ^b	9.01 ^{ab}	10.44 ^a	

หมายเหตุ : ตัวอักษรภาษาอังกฤษที่ต่างกันตามแนวตั้ง และแนวนอนในช่องค่าเฉลี่ยแสดงความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p<0.05$)

การสกัดโคโคซานจากเปลือก และหัวกุ้งขาวที่อุณหภูมิ 65 องศาเซลเซียส (ตารางที่ 4) พบมีค่าแตกต่างกันในแต่ละความเข้มข้นของกรดไฮโดรคลอริก และ โซเดียมไฮดรอกไซด์ ($P<0.05$) โดยความเข้มข้นของสารสกัดที่ให้ปริมาณโคโคซานสูงที่สุดคือ กรดไฮโดรคลอริก ที่ความเข้มข้น 8 % โซเดียมไฮดรอกไซด์ ที่ความเข้มข้น 2 %

ตารางที่ 4 ปริมาณโคโคซาน (เปอร์เซ็นต์) ที่สกัดได้จากเปลือก และหัวกุ้งขาวที่อุณหภูมิ 65 องศาเซลเซียส

ความเข้มข้นของ กรดไฮโดรคลอริก	ความเข้มข้นของโซเดียมไฮดรอกไซด์				ค่าเฉลี่ย
	2%	4%	6%	8%	
2%	3.280±1.315	8.795±3.330	7.680±0.876	5.510±1.138	4.97 ^c
4%	7.560±1.400	7.805±0.530	5.325±1.576	7.000±1.484	8.76 ^b
6%	6.880±0.084	6.570±0.523	5.700±0.707	4.895±0.261	5.03 ^c
8%	4.705±0.176	5.450±0.353	8.055±1.407	4.710±0.876	15.55 ^a
ค่าเฉลี่ย	9.37 ^a	7.76 ^b	8.33 ^{ab}	8.86 ^{ab}	

หมายเหตุ : ตัวอักษรภาษาอังกฤษที่ต่างกันตามแนวตั้ง และแนวนอนในช่องค่าเฉลี่ยแสดงความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p<0.05$)

การสกัดโคโตซานจากเปลือก และหัวกุ้งขาวที่อุณหภูมิ 85 องศาเซลเซียส (ตารางที่ 5) พบมีค่าแตกต่างกันในแต่ละความเข้มข้นของกรดไฮโดรคลอริก และ โซเดียมไฮดรอกไซด์ ($p < 0.05$) โดยความเข้มข้นของสารสกัดที่ให้ปริมาณโคโตซานสูงที่สุดคือ กรดไฮโดรคลอริก ที่ความเข้มข้น 2, 4, และ 8 % โซเดียมไฮดรอกไซด์ ที่ความเข้มข้น 2, 4, 6 และ 8 %

ตารางที่ 5 ปริมาณโคโตซาน (เปอร์เซ็นต์) ที่สกัดได้จากเปลือก และหัวกุ้งขาวที่อุณหภูมิ 85 องศาเซลเซียส

ความเข้มข้นของ กรดไฮโดรคลอริก	ความเข้มข้นของโซเดียมไฮดรอกไซด์				ค่าเฉลี่ย
	2%	4%	6%	8%	
2%	6.075±1.053	8.735±1.845	6.630±0.268	5.390±0.791	6.70 ^a
4%	8.055±2.623	5.515±0.091	6.570±0	7.620±0.268	6.94 ^a
6%	5.765±0.615	2.975±0.700	4.150±0.084	3.845±0.176	4.18 ^b
8%	5.825±1.223	5.950±0.523	7.990±0.791	6.505±0.615	6.56 ^a
ค่าเฉลี่ย	6.43 ^a	5.79 ^a	6.33 ^a	5.84 ^a	

หมายเหตุ : ตัวอักษรภาษาอังกฤษที่ต่างกันตามแนวตั้ง และแนวนอนในช่องค่าเฉลี่ยแสดงความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p < 0.05$)

การสกัดโคโตซานจากเปลือก และหัวกุ้งขาวที่อุณหภูมิ 105 องศาเซลเซียส (ตารางที่ 6) พบมีค่าแตกต่างกันในแต่ละความเข้มข้นของกรดไฮโดรคลอริก และ โซเดียมไฮดรอกไซด์ ($P < 0.05$) โดยความเข้มข้นของสารสกัดที่ให้ปริมาณโคโตซานที่สุดคือ กรดไฮโดรคลอริก ที่ความเข้มข้น 4 % โซเดียมไฮดรอกไซด์ ที่ความเข้มข้น 2, 4, 6 และ 8 %

ตารางที่ 6 ปริมาณโคโตซาน (เปอร์เซ็นต์) ที่สกัดได้จากเปลือก และหัวกุ้งขาวที่อุณหภูมิ 105 องศาเซลเซียส

ความเข้มข้นของ กรดไฮโดรคลอริก	ความเข้มข้นของโซเดียมไฮดรอกไซด์				ค่าเฉลี่ย
	2%	4%	6%	8%	
2%	5.825±1.053	7.995±0.261	6.320±2.630	6.510±0.438	6.66 ^b
4%	9.360±1.315	6.510±0.438	9.045±0.176	7.435±0.869	8.08 ^a
6%	4.155±0.261	3.410±0.084	4.335±0.176	4.710±0.523	4.15 ^c
8%	5.325±1.053	5.145±0.261	6.565±0.176	6.320±0.169	5.83 ^b
ค่าเฉลี่ย	6.43 ^a	5.79 ^a	6.33 ^a	5.84 ^a	

หมายเหตุ : ตัวอักษรภาษาอังกฤษที่ต่างกันตามแนวตั้ง และแนวนอนในช่องค่าเฉลี่ยแสดงความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p < 0.05$)

สรุปและอภิปรายผล

ในการผลิตไคติน ไคโตซาน จากเปลือกและหัวของกุ้งขาวและกุ้งก้ามกราม ที่อุณหภูมิ 65, 85 และ 105 องศาเซลเซียส ควรใช้สารละลายไฮโดรคลอริก และ สารละลายโซเดียมไฮดรอกไซด์ ที่ความเข้มข้น 8 % ทั้งสองสารสกัด ในการผลิตไคตินจากหัวและเปลือกกุ้งขาว สำหรับการผลิตไคโตซานจากเปลือกและหัวกุ้งก้ามกราม ควรใช้สารละลายไฮโดรคลอริก และ สารละลายโซเดียมไฮดรอกไซด์ ที่ความเข้มข้น 2 และ 8 % ตามลำดับ ทั้งนี้จะเห็นได้ว่าการสกัดไคโตซานจากเปลือกและหัวกุ้งขาวต้องใช้กรดที่มีความเข้มข้นสูงกว่ากุ้งก้ามกราม ทั้งนี้เนื่องจากกุ้งขาวเป็นกุ้งทะเลที่เปลือกมีองค์ประกอบของแร่ธาตุสูงกว่าในกุ้งก้ามกราม ดังนั้นในขั้นตอนการกำจัดแร่ธาตุโดยใช้กรดไฮโดรคลอริกจึงต้องใช้ความเข้มข้นสูงกว่ากุ้งก้ามกรามซึ่งเป็นกุ้งน้ำจืด แต่ในขั้นตอนการสกัดโปรตีน ใช้ความเข้มข้นของโซเดียมไฮดรอกไซด์ที่ความเข้มข้นเท่ากัน เนื่องจากระดับโปรตีนในเปลือกกุ้งทั้งสองชนิดมีค่าไม่ต่างกันมากนัก จึงใช้ความเข้มข้นของสารเท่ากัน

เอกสารอ้างอิง

- siamchemi.com. (2018). ไคโตซาน/ไคติน วิธีผลิต และประโยชน์ไคโตซาน/ไคติน. ค้นเมื่อ 18 มีนาคม 2561, จาก
<http://www.siamchemi.com/%E0%B9%84%E0%B8%84%E0%B9%82%E0%B8%95%E0%B8%8B%E0%B8%B2%E0%B8%99/>
- ไพรัตน์ โสภโณตร. (2534). แนวทางการสกัดและใช้ประโยชน์ไคโตซานจากเปลือกและหัวกุ้ง. ค้นเมื่อ 27 มกราคม 2561, จาก
<http://natres.psu.ac.th/Abstract/AgroInd/AgroInd02.htm>

เปรียบเทียบวิธีการย่อยเพื่อหาปริมาณ Cd, Fe, Pb และ Zn ในตัวอย่างชาสมุนไพร ด้วยเทคนิคอะตอมมิกแอ็บซอร์พชันสเปกโทรโฟโตเมทรี

Comparison of Digestion Methods for Cd, Fe, Pb and Zn Determination in Herbal Tea Samples by Atomic Absorption Spectrophotometry

สุพัตรา พุดมอก(Supattra Pudmoke) อนงค์ ศรีโสภา(Anong Srisopa)*

สาขาวิชาเคมี คณะวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยี มหาวิทยาลัยราชภัฏสุราษฎร์ธานี

*Corresponding author. E-mail: anongsisopa@psru.ac.th

บทคัดย่อ

ได้ทำการหาปริมาณโลหะในตัวอย่างชาสมุนไพรด้วยเทคนิคอะตอมมิกแอ็บซอร์พชันสเปกโทรโฟโตเมทรีโดยเปรียบเทียบวิธีการย่อยด้วยกรด 3 วิธีได้แก่ การใช้อัลตราโซนิก ไมโครเวฟ และการย่อยด้วยแท่นให้ความร้อนไฟฟ้า ผลการทดลองพบว่าการย่อยด้วยอัลตราโซนิกให้ร้อยละการกลับคืนในช่วง 36 – 82 % ซึ่งมีค่าน้อยที่สุด การย่อยด้วยแท่นให้ความร้อนไฟฟ้ามีค่าร้อยละการกลับคืนอยู่ในช่วง 78 – 115 % และการย่อยด้วยไมโครเวฟให้ค่าร้อยละการกลับคืนอยู่ในช่วง 76 – 114 % ปริมาณโลหะ Cd และ Pb ในตัวอย่างชาสมุนไพร ได้แก่ เก๊กฮวย มะรุมและใบหม่อน มีค่าน้อยกว่าค่ามาตรฐานตามประกาศกระทรวงสาธารณสุข

คำสำคัญ: การย่อยด้วยกรด การย่อยด้วยไมโครเวฟ การย่อยด้วยอัลตราโซนิก อะตอมมิกแอ็บซอร์พชันสเปกโทรโฟโตเมทรี ชาสมุนไพร

Abstract

The analytical comparison of three acid digestion methods *i.e.* ultrasonic, microwave and hot plate digestion, used for metal determination in herbal tea by Atomic Absorption Spectrophotometry (AAS) was studied. It was found that the percent recovery obtained from ultrasonic digestion was the least (36 – 82 %). Percent recoveries from hot plate digestion and microwave digestion were in the range of 78 – 115 % and 76 – 114 %, respectively. The average Cd and Pb levels found in the herbal tea samples *i.e.* Chrysanthemum flowers, Moringa and Mulberry leaves analysed by AAS were lower than the Ministry of Public Health's acceptable limits for metals in herbal tea products.

Keywords: Acid digestion, Microwave digestion, Ultrasonic digestion, Atomic absorption spectrophotometry, Herbal tea

บทนำ

ตามประกาศกระทรวงสาธารณสุข พ.ศ. 2547 กำหนดให้ ชาสมุนไพรมหาความว่า ผลิตภัณฑ์ที่ได้จากส่วนต่าง ๆ ของพืช ซึ่งมีได้แปรสภาพ โดยมีจุดมุ่งหมายเพื่อนำไปบริโภคโดยการต้มหรือชงกับน้ำ โดยชาสมุนไพรมหาต้องมีคุณภาพหรือมาตรฐานตามประกาศได้แก่ มีความชื้นได้ไม่เกินร้อยละ 10 ของน้ำหนัก ไม่มีจุลินทรีย์ที่ทำให้เกิดโรคและมีสารหนูไม่เกิน 0.2 mg/kg แคดเมียมไม่เกิน 0.3 mg/kg ตะกั่วไม่เกิน 0.5 mg/kg สังกะสีและทองแดงไม่เกิน 5 mg/kg เหล็กไม่เกิน 15 mg/kg ดีบุกไม่เกิน 250 mg/kg และ ซัลเฟอร์ไดออกไซด์ไม่เกิน 10 mg/kg

การตรวจสอบปริมาณโลหะ โดยทั่วไปจะใช้เทคนิคอะตอมมิกแอบซอร์พชันสเปกโทรโฟโตเมทรี โดยทำการย่อยตัวอย่างด้วยกรดแก่ ร่วมกับการให้ความร้อนบนเตาไฟฟ้า ซึ่งมีข้อเสียหลายประการเช่น ใช้สารปริมาณมาก เกิดการสูญเสียระหว่างการย่อยสาร เนื่องจากเป็นระบบเปิด และอาจเกิดอันตรายต่อผู้ทดลองได้ ในปัจจุบันจึงได้มีการนำเทคนิคอัลตราโซนิก และการให้ความร้อนด้วยไมโครเวฟมาใช้ในการย่อยตัวอย่าง

การใช้ไมโครเวฟในการย่อยสลายตัวอย่างทั้งที่เป็นสารอินทรีย์และอนินทรีย์ เริ่มใช้ตั้งแต่ปี ค.ศ. 1970 เป็นต้นมา มีทั้งทำในภาชนะเปิดและปิด แต่ปัจจุบันนิยมใช้ภาชนะปิดมากกว่า เพราะจะได้ความดันสูง ซึ่งมีผลให้อุณหภูมิสูงไปด้วย นอกจากนั้นยังใช้รีเอเจนต์ปริมาณน้อยกว่า เนื่องจากไม่มีการระเหยของรีเอเจนต์ ทำให้ลดการปนเปื้อนของสารที่ติดมากับรีเอเจนต์ และยังช่วยลดการระเหยของสิ่งที่ต้องการจะวิเคราะห์อีกด้วย การย่อยด้วยวิธีนี้ยังสามารถทำเป็นแบบอัตโนมัติได้ ซึ่งเป็นการลดขั้นตอนและเวลาในการเตรียมตัวอย่าง นอกจากนี้ยังสามารถย่อยในเวลาเดียวกันทีละหลาย ๆ ตัวอย่างอีกด้วย

การใช้อัลตราโซนิกหรือคลื่นเหนือเสียง ทำให้เกิดการเคลื่อนที่ของคลื่นไปในตัวกลางของเหลว จะเกิดการสั่นสะเทือนเกิดเป็นส่วนอัด (compression) และส่วนขยาย (expansion) สลับไปมาแพร่กระจายในตัวกลาง การอัดตัวของคลื่นเสียงมีผลทำให้โมเลกุลถูกบีบอัดเข้าหากัน ส่วนการขยายตัวของคลื่นเสียงจะทำให้โมเลกุลแยกตัวออกจากกัน ทำให้เกิดเป็นฟองอากาศในตัวกลางของเหลว โดยฟองอากาศดังกล่าวจะขยายตัวขึ้นและหดตัวในที่สุด การหดตัวของฟองอากาศที่ผิวของตัวอย่างของแข็งจะทำให้เกิดช่องว่างซึ่งทำให้เกิดการไหลอย่างรวดเร็วของตัวกลางของเหลว การไหลดังกล่าวจะกระทบผิวของตัวอย่างของแข็งอย่างรุนแรง ปรากฏการณ์ดังกล่าวเรียกว่า คาวิเทชัน ซึ่งเป็นการเพิ่มประสิทธิภาพของการสกัดด้วยระบบของเหลว-ของแข็งได้

การย่อยโดยใช้กรดปกตินิยมให้ความร้อนบนแท่นความร้อนไฟฟ้า แต่มีรายงานวิจัยหลายฉบับกล่าวถึงการให้ความร้อนด้วยไมโครเวฟเช่น Wen-Si (2016) ศึกษาหาปริมาณ Pb, Cd, Cr, Cu และ Ni ในชาที่ผลิตและจำหน่ายในจีนโดยใช้ HRCS-GFAAS โดยการนำตัวอย่างมาบดเป็นผงประมาณ 0.25 g เติม กรดไนตริกเข้มข้น 7 mL และ H₂O₂ 1 mL นำไปย่อยโดย

ขั้นตอนแรกใช้อุณหภูมิ 190 °C เป็นเวลา 10 นาที กำลังไฟ 1000 W ขั้นตอนที่สองใช้อุณหภูมิ 190 °C เป็นเวลา 30 นาที หลังจากย่อยและปล่อยให้เย็นแต่ละตัวอย่างจะถูกระเหยให้เหลือ 2 mL ปรับปริมาตรด้วยน้ำกลั่น 50 mL นำไปวิเคราะห์ด้วย GFAAS นอกจากนี้ Subbiah (2008) วิเคราะห์หาปริมาณโลหะหนักในชาดำในประเทศอินเดีย โดยชั่งสารตัวอย่างมา 0.5 g ให้ความร้อนโดยใส่ไว้ในซิลิกาบ้าหลอม และให้อุณหภูมิเท่ากับ 450 °C เป็นเวลา 3 ชั่วโมง และเติม 5 mL 6 M HCl และ 0.1 M HNO₃ และหาปริมาณ Cu, Cr, Ni ด้วยเทคนิคเฟลมอะตอมมิคส์แอบซอร์พชันสเปกโทรโฟโตเมตรี หาปริมาณ Cd และ Pb ในชาโดยใช้แกรไฟต์ พบว่าค่าเฉลี่ยของระดับ Cu อยู่ที่ 24.07 ± 2.25 mg/kg, Cr อยู่ที่ 4.76 ± 1.27 mg/kg, Ni อยู่ที่ 2.53 ± 1.01 mg/kg, Cd อยู่ที่ 0.16 ± 0.16 mg/kg และ Pb อยู่ที่ 0.81 ± 0.32 mg/kg

เนื่องจากการย่อยตัวอย่างด้วยอัลตราโซนิก และไม่โครเวฟมีข้อดีหลายประการ งานวิจัยนี้จึงศึกษาการหาปริมาณโลหะหนักในตัวอย่างชาสมุนไพรที่นิยมบริโภคในชุมชน และทำการย่อยตัวอย่างด้วยอัลตราโซนิก ไมโครเวฟและการใช้แท่นความร้อนไฟฟ้า และหาปริมาณโลหะด้วยเทคนิคอะตอมมิคส์แอบซอร์พชันสเปกโทรโฟโตเมตรี ตรวจสอบความใช้ได้ของวิธีได้แก่ขีดจำกัดต่ำสุดในการตรวจวัด ค่าความเที่ยงและความแม่นยำของวิธีทดสอบ

วัตถุประสงค์ของการวิจัย

1. เพื่อเปรียบเทียบเทคนิคการย่อยตัวอย่างด้วยอัลตราโซนิก ไมโครเวฟและการใช้แท่นความร้อนไฟฟ้า
2. วิเคราะห์หาปริมาณ Cd, Fe, Pb และ Zn จากชาสมุนไพรด้วยเทคนิคอะตอมมิคส์แอบซอร์พชันสเปกโทรโฟโตเมตรี (AAS)

วิธีดำเนินการวิจัย

1. สารเคมีที่ใช้ในการทดลอง

สารละลายมาตรฐาน Cd, Fe, Pb และ Zn เข้มข้น 1000 mg/L บริษัท Merck (Germany)

2. เครื่องมือที่ใช้ในการทดลอง

เครื่องเฟลมอะตอมมิคส์แอบซอร์พชันสเปกโทรโฟโตมิเตอร์ (Flame Atomic Absorption Spectrometer) PinAAcle 900F, บริษัท PerkinElmer (U.S.A.) เครื่องไมโครเวฟ (Microwave) ETHOS UP บริษัท Milestone (Italy) เครื่องอัลตราโซนิก (Ultrasonic bath) T 760 DH บริษัท Elma (Germany)

3. การเตรียมตัวอย่างชาสมุนไพร

เก็บตัวอย่างสมุนไพรจากพื้นที่เพาะปลูกในจังหวัดพิษณุโลก ได้แก่ ใบมะรุม
เจียวกุหลาบ หนุ่ย ดอกเก็กฮวย และใบหม่อน นำไปอบที่อุณหภูมิ 60 องศาเซลเซียส
เป็นเวลา 2 ชั่วโมง จากนั้นนำมาบดให้ละเอียด

4. การย่อยตัวอย่างด้วยอัลตราโซนิก

ย่อยสมุนไพรที่บดละเอียด 0.5 g ด้วย HNO_3 4 M, HCl 4 M และ H_2O_2 0.5 M
อย่างละ 5 mL จากนั้นนำไปอัลตราโซนิก 30 นาที และนำไปปั่นเหวี่ยง 10 นาที ที่
3000 rpm เก็บส่วนที่เป็นของเหลวส่วนบนมาใส่ในขวดวัดปริมาตร 25 mL ส่วนที่เป็น
ตะกอนล้างน้ำกลั่น 2 mL เขย่าและนำไปปั่นเหวี่ยงต่อ เป็นเวลา 10 นาที ที่ 3000
rpm ทำซ้ำ 2 ครั้ง เทสารละลายใส่ขวดวัดปริมาตรและปรับปริมาตรด้วยน้ำกลั่น และ
กรองด้วยกระดาษกรองเบอร์ 42 ใส่ขวดพลาสติกเพื่อรอการวิเคราะห์ด้วย AAS

5. การย่อยตัวอย่างด้วยแท่นความร้อนไฟฟ้า

ย่อยสมุนไพรที่บดละเอียด 0.5 g ด้วย HNO_3 เข้มข้น และ H_2O_2 เข้มข้น อย่าง
ละ 3 mL และให้ความร้อนด้วยเตาไฟฟ้า ย่อยจนปริมาตรเหลือประมาณ 2-3 mL
ปริมาตร 25 mL ด้วย 1% HNO_3 และกรองด้วยกระดาษเบอร์ 42 ใส่ขวดพลาสติกเพื่อ
รอการวิเคราะห์ด้วย AAS

6. การย่อยตัวอย่างด้วยไมโครเวฟ

ย่อยสมุนไพรที่บดละเอียด 0.5 g ด้วย HNO_3 เข้มข้น 8 mL และ H_2O_2 เข้มข้น
2 mL ให้ความร้อนด้วยไมโครเวฟ เป็นเวลา 30 นาที ($0-200^\circ\text{C}$ 15 นาที และ 200°C
15 นาที) ด้วยกำลังไฟฟ้า 1800 วัตต์ปรับปริมาตรเป็น 25 mL ด้วย 1% HNO_3 และ
กรองด้วยกระดาษเบอร์ 42 ใส่ขวดพลาสติกเพื่อรอการวิเคราะห์ด้วย AAS

7. การหาปริมาณโลหะด้วยเทคนิคอะตอมมิคแอบซอร์พชันสเปกโทรโฟโตเมตรี

หาปริมาณโลหะ Pb, Fe, Cd และ Zn ด้วยความยาวคลื่นเท่ากับ 283.306,
232.003, 228.802 และ 357.869 nm ตามลำดับ

8. การหาร้อยละการกลับคืน

เติมสารละลายมาตรฐาน Fe และ Zn ลงในตัวอย่าง 0.5 g ให้มีความเข้มข้น 1
mg/L และเติมสารละลายมาตรฐาน Cd และ Pb ลงในตัวอย่าง 0.5 g ให้มีความเข้มข้น
0.2 mg/L จากนั้นย่อยตัวอย่างด้วยไมโครเวฟ อัลตราโซนิกและแท่นความร้อนไฟฟ้า
ตามวิธีการย่อยข้างต้น

9. การหาค่าเบี่ยงเบนมาตรฐานสัมพัทธ์

ทำการตรวจสอบความเที่ยง (precision) ของเครื่อง AAS โดยวัดปริมาณ Pb, Fe, Cd และ Zn ที่ความเข้มข้น 0.2, 1.0, 0.2 และ 1.0 mg/L ตามลำดับ ในตัวอย่างชาสมุนไพร ซ้ำ 7 ครั้ง ประเมินค่าความเที่ยงจาก % RSD

10. การหาขีดจำกัดต่ำสุด และปริมาณต่ำสุดของการวิเคราะห์

ทำการวัดสัญญาณแบลนด์ (1% HNO_3) ซ้ำ 7 ครั้ง แล้วนำมาหาค่าเฉลี่ย ค่าการเบี่ยงเบนมาตรฐาน ค่าขีดจำกัดต่ำสุด และปริมาณต่ำสุดของการวิเคราะห์ของเครื่อง AAS

ผลการวิจัย

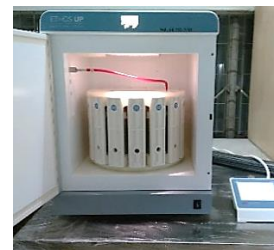
ได้ทำการเปรียบเทียบการย่อยตัวอย่าง 3 วิธีได้แก่ การใช้อัลตราโซนิก การใช้แท่นความร้อนไฟฟ้าและการใช้ไมโครเวฟ (ภาพ 1 ก-ค) ในการย่อยชาสมุนไพร 3 ชนิด คือ ดอกเก็กฮวย ใบมะรุม และใบหม่อนจากนั้นเปรียบเทียบประสิทธิภาพการย่อยทั้ง 3 วิธีจากการย่อยและการกลับคืน



ก)



ข)

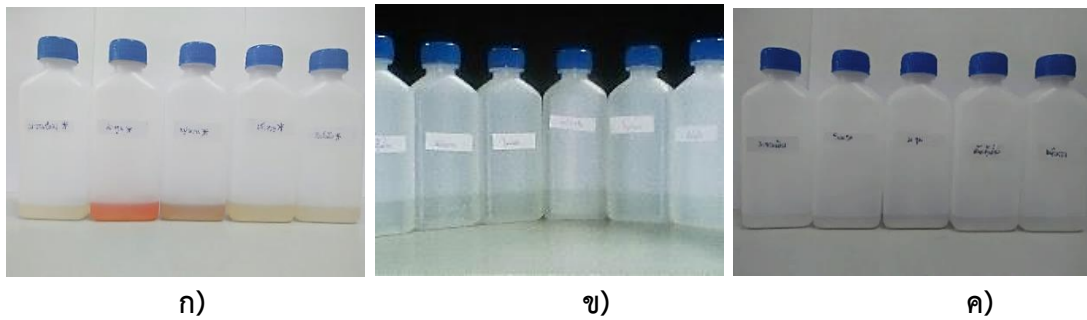


ค)

ภาพ 1 การย่อยชาสมุนไพร

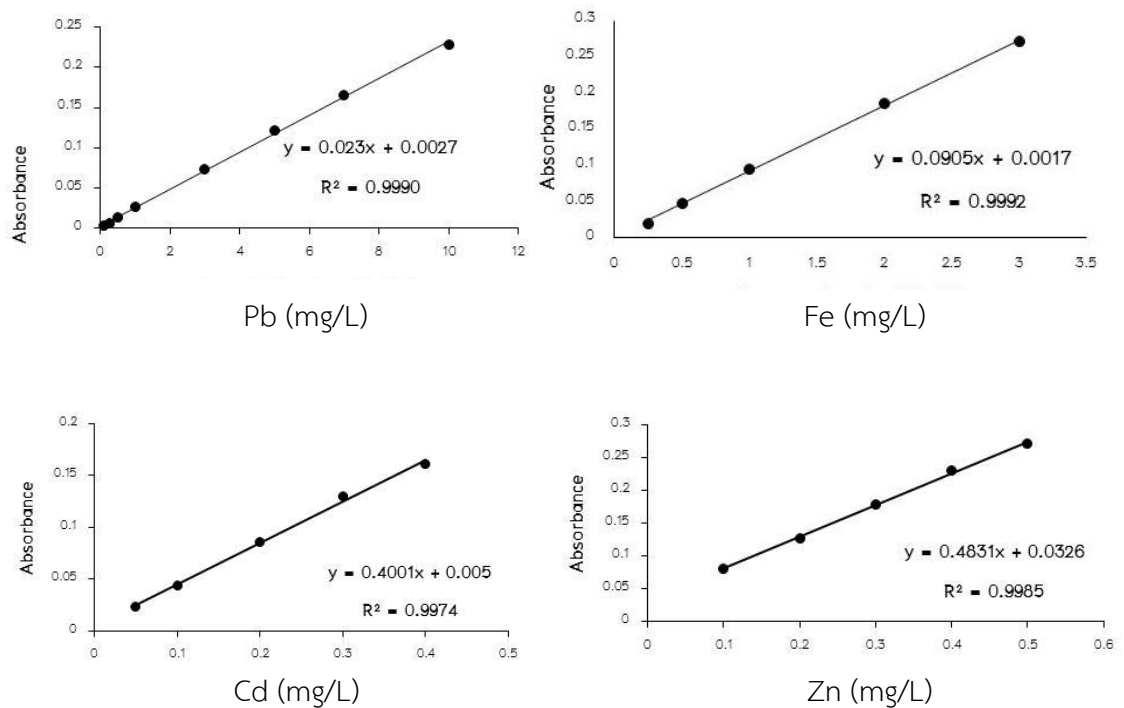
ก) อัลตราโซนิก ข) แท่นความร้อนไฟฟ้า และ ค) ไมโครเวฟ

ผลการทดลองพบว่าเมื่อย่อยตัวอย่างชาสมุนไพรด้วยอัลตราโซนิกสารละลายที่ได้ใสแต่มีสีตามสีของตัวอย่างสมุนไพร ส่วนการย่อยตัวอย่างด้วยแท่นความร้อนและไมโครเวฟสารละลายที่ได้จะใสไม่มีสีดังภาพ 2 (ก-ค)



ภาพ 2 สีของสารละลายหลังจากการย่อย
ก) อัลตราโซนิก ข) แท่นความร้อนไฟฟ้า และ ค) ไมโครเวฟ

นำสารละลายที่ผ่านการย่อยด้วยวิธีการย่อยที่แตกต่างกันไปวัดปริมาณ Pb, Fe, Cd, Zn ด้วยเทคนิคอะตอมมิกแอ็บซอร์ปชันสเปกโทรโฟโตเมตรี คำนวณหาความเข้มข้นของปริมาณโลหะ เทียบกับกราฟมาตรฐานดังภาพที่ 3



ภาพ 3 กราฟมาตรฐานของสารละลาย Pb, Fe, Cd และ Zn

ทำการตรวจสอบความเที่ยงของเครื่องอะตอมมิกแอ็บซอร์ปชันสเปกโทรโฟโตมิเตอร์ ในรูปของ % RSD และหาปริมาณต่ำสุดในการวิเคราะห์ได้ผลดังตาราง 1

ตาราง 1 ค่าสัมประสิทธิ์สหสัมพันธ์และปริมาณต่ำสุดในการวิเคราะห์

โลหะ	% RSD	LOQ (mg/L)
Pb	0.330	0.090
Fe	0.270	0.080
Cd	0.200	0.002
Zn	0.002	0.004

ประเมินความแม่นยำของวิธีการย่อยตัวอย่างทั้ง 3 ชนิดโดยการคำนวณร้อยละการกลับคืนได้ผลดังตาราง 2 พบว่าการย่อยด้วยอัลตราโซนิกมีร้อยละการกลับคืนอยู่ในช่วง 36 – 82 % ซึ่งมีค่าน้อยที่สุด อาจเนื่องมาจากการใช้กรดเจือจางในการย่อย ทำให้การย่อยสารเกิดไม่สมบูรณ์ การย่อยด้วยแท่นความร้อนไฟฟ้ามีค่าร้อยละการกลับคืนอยู่ในช่วง 78 – 115 % และการย่อยด้วยไมโครเวฟให้ค่าร้อยละการกลับคืนอยู่ในช่วง 76 – 114 % ซึ่งพบว่าค่าที่ได้จากการย่อยด้วยแท่นความร้อนไฟฟ้าและการใช้ไมโครเวฟมีความแม่นยำไม่ต่างกัน แต่การย่อยด้วยไมโครเวฟมีข้อดีหลายประการ เช่น เป็นระบบปิดจึงปลอดภัยต่อผู้ทดลอง การย่อยสมบูรณ์ในเวลารวดเร็วจึงประหยัดเวลาในการย่อยสาร ดังนั้นจึงเลือกใช้เทคนิคการย่อยด้วยไมโครเวฟในการย่อยชาสมุนไพร 3 ชนิดได้แก่ ใบมะรุ้ม ดอกเก็กฮวย และใบหม่อน และหาปริมาณโลหะได้ผลดังตาราง 3

ตาราง 2 ร้อยละการกลับคืนจากการย่อยด้วยอัลตราโซนิก แท่นความร้อนไฟฟ้าและไมโครเวฟ

ชาสมุนไพร	การย่อยด้วยอัลตราโซนิก				การย่อยด้วยแท่นความร้อนไฟฟ้า				การย่อยด้วยไมโครเวฟ			
	Pb	Fe	Cd	Zn	Pb	Fe	Cd	Zn	Pb	Fe	Cd	Zn
มะรุ้ม	72	36	61	82	96	90	79	94	94	111	78	98
เก็กฮวย	42	42	68	70	86	115	78	90	87	114	87	112
ใบหม่อน	82	62	74	61	91	89	78	102	112	112	76	103

ตาราง 3 ปริมาณ Pb, Fe, Cd และ Zn ในชาสมุนไพร

ชาสมุนไพร	Pb (mg/kg)	Fe (mg/kg)	Cd (mg/kg)	Zn (mg/kg)
มะรุ้ม	ไม่พบ	60.09±0.70	ไม่พบ	14.88±0.13
เก็กฮวย	ไม่พบ	68.86±1.88	ไม่พบ	20.43±1.76
ใบหม่อน	ไม่พบ	73.37±1.83	ไม่พบ	6.87±0.06

สรุปและอภิปรายผล

จากผลการวิเคราะห์ Pb, Fe, Cd และ Zn จากชาสมุนไพรทั้ง 3 ชนิด โดยเปรียบเทียบการย่อยตัวอย่างด้วยอัลตราโซนิก การใช้แท่นความร้อนและการใช้ไมโครเวฟ พบว่าการใช้อัลตราโซนิกให้ประสิทธิภาพในการย่อยต่ำที่สุดเนื่องจากการย่อยไม่สมบูรณ์ซึ่งเกิดจากการใช้กรดเจือจางสารละลายที่ได้จากการย่อยด้วยอัลตราโซนิกพบว่ามีสีเข้มตามสีของตัวอย่าง อีกทั้งขั้นตอนค่อนข้างยุ่งยาก จึงอาจเกิดการสูญหายของสารที่ต้องการวิเคราะห์ระหว่างทาง เช่นในกระบวนการปั่นเหวี่ยง เพื่อแยกกากตะกอนเป็นต้น ส่วนการใช้แท่นความร้อนไฟฟ้าและการใช้ไมโครเวฟให้ค่าร้อยละการคืนกลับที่ยอมรับได้ แต่การย่อยด้วยไมโครเวฟมีข้อได้เปรียบกว่าการใช้แท่นความร้อนไฟฟ้าหลายประการเช่น ความปลอดภัยต่อผู้ปฏิบัติงาน การประหยัดสารที่ใช้ และความรวดเร็วในการทดลอง และจากการหาปริมาณโลหะในตัวอย่างเป็นมะรุม ชาดอกเก๊กฮวย และ ชาใบหม่อน ด้วยการย่อยโดยใช้ไมโครเวฟและหาปริมาณโลหะจากเทคนิค AAA ไม่พบตะกั่วและแคดเมียม ส่วนใบหม่อนพบปริมาณ Fe มากที่สุด (73.37 mg/kg) ส่วน ดอกเก๊กฮวยพบปริมาณ Zn มากที่สุด (20.43 mg/kg)

กิตติกรรมประกาศ

งานวิจัยนี้ได้รับการสนับสนุนจากงบประมาณกองทุน 2561 ประเภทนักศึกษา จากมหาวิทยาลัยราชภัฏพิบูลสงคราม

เอกสารอ้างอิง

- Wen-Si, Z., Ting R., & Li-Jiao, Z. (2016). Determination of Pb (Lead), Cd (Cadmium), Cr (Chromium), Cu (Copper), and Ni (Nickel) in Chinese tea with high-resolution continuum source graphite furnace atomic absorption spectrometry, *Journal of Food and Drug Analysis*, 24(1), 46-55.
- Suyare, A. R., Nisha, N., Gabriela, B. O. & Priscila, A. O., Priscila, A. O., Tais, O. M. S., Aline, G. P. S., & Narendra, N. (2013). Effect of infusion time on phenolic compounds and caffeine content in black tea, *Food Research International*, 51(1), 155-161.
- Subbiah, S., Natarajan, M., Narayana, N. M. & Rajagopal S. (2008). Heavy metal content of black teas from south India. *Food Control*, 19 (8), 746-749.
- Khakhathi, L. M., Nikolay P. & Svetlana P. (2011). Determination of chromium (VI) in black, green and herbal teas. *Food Chemistry*. 129(4), 1839-1843.

Lihu, Y., Yueming, J., Nivedita, D., Riantong, S., Xu, L., Jun, D., Katherine, R., Alan, L. & Ying, X. (2004). HPLC analyses of flavanols and phenolic acids in the fresh young shoots of tea (*Camellia sinensis*) grown in Australia. *Food Chemistry*. 84 (2). 253-263.

การติดตามปรากฏการณ์ยูโทรฟิเคชันโดยใช้ข้อมูลหลายช่วงคลื่นจากภาพถ่ายดาวเทียม
บริเวณอ่าวไทยตอนบนของประเทศไทย : ผลการศึกษาเบื้องต้น

The Monitoring of Eutrophication Using Multi-Satellite Data in
the Upper Gulf of Thailand : Preliminary Results

ศราวุธ เตียงกุล(Sarawut Tiangkun)^{1*} กฤษณันันท์ เจริญจิตร(Kitsanai Charoenjit)²
ภูมิพัฒน์ ภาชนะ(Bhumiphat Pachana)^{1,3}

¹ สาขาวิทยาศาสตร์สิ่งแวดล้อม คณะวิทยาศาสตร์ ³ ศูนย์ความเป็นเลิศด้านอนามัยสิ่งแวดล้อมและพิษวิทยา

² ศูนย์ภูมิภาคเทคโนโลยีอวกาศและภูมิสารสนเทศภาคตะวันออก

คณะภูมิสารสนเทศศาสตร์ มหาวิทยาลัยบูรพา

*Corresponding author. E-mail: sarawut.tiangkun@gmail.com

บทคัดย่อ

อ่าวไทยตอนบนเป็นแหล่งรองรับธาตุอาหารจากแม่น้ำสายหลัก มีลักษณะเป็นอ่าวกึ่งปิด ทำให้การหมุนเวียนและการถ่ายเทของมวลน้ำเกิดขึ้นได้น้อยส่งผลให้การกระจายตัวของสารอาหารสูง อยู่รวมกันได้นาน โดยเฉพาะช่วงที่มีปริมาณน้ำฝนสูง เป็นเหตุให้เกิดภาวะยูโทรฟิเคชัน (Eutrophication) ส่งผลกระทบต่อคุณภาพน้ำที่เป็นอันตรายต่อสัตว์ที่อาศัยอยู่ในน้ำ การศึกษานี้มีจุดประสงค์เพื่อวิเคราะห์การเปลี่ยนแปลงเชิงเวลาของปริมาณคลอโรฟิลล์-เอบริเวณพื้นผิวน้ำอ่าวไทยตอนบน และหาความสัมพันธ์ระหว่างปริมาณคลอโรฟิลล์-เอกับปริมาณน้ำฝน โดยใช้ข้อมูลภาพจากดาวเทียม Aqua MODIS และข้อมูลปริมาณน้ำฝนเชิงพื้นที่ ในช่วงปี พ.ศ. 2555-2559 ผลการศึกษาพบว่าปริมาณคลอโรฟิลล์-เอที่ผิวน้ำอ่าวไทยตอนบนในรอบปี มีความหนาแน่นสูงในช่วงเดือนตุลาคมถึงพฤศจิกายน และมีค่าต่ำในช่วงเดือนกุมภาพันธ์ และปริมาณน้ำฝนก่อนหน้าหนึ่งเดือนมีความสัมพันธ์เชิงบวกกับปริมาณคลอโรฟิลล์-เอ อย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p < 0.05$) แสดงให้เห็นว่าการเพิ่มขึ้นและลดลงของปริมาณคลอโรฟิลล์-เอ อาจมีความสอดคล้องกับกระบวนการน้ำเบียด-น้ำกัน อันเกิดจากน้ำจืดปริมาณมากไหลมาปะทะกับน้ำทะเลแบบเฉียบพลัน และดาวเทียม Aqua MODIS มีประสิทธิภาพในการตรวจวัดข้อมูลคลอโรฟิลล์-เอที่ผิวน้ำ

คำสำคัญ: ยูโทรฟิเคชัน คลอโรฟิลล์-เอ อ่าวไทยตอนบน ปริมาณน้ำฝน ภาพถ่ายจากดาวเทียม Aqua MODIS

Abstract

The Upper Gulf of Thailand is known to supporting of the nutrient transportation from the main rivers. The semi-closed estuaries and current circular are shaped of this Upper Gulf. Thus the nutrient is more stocked in this area. Moreover, the Eutrophication is extremely potential occurred and may negative effected to the bio-aquatic in this area. The objective of this study, first is to investigation to the relationship of between the temporal variations of sea surface chlorophyll-a and rainfall using spatial rainfall data and Aqua MODIS data recorded from 2012 to 2016. The result showed that variations in averaged sea surface chlorophyll-a that high values in October and November and low values in February. The results from correlation analysis indicated that there are positive relationships between chlorophyll-a concentrations and Rainfall the previous month at significance ($p < 0.05$), suggest that rise and fall of sea surface chlorophyll-a be controlled by Mixing of salt water and fresh water, surface runoff high levels into the estuary instantly, Aqua MODIS effective measurement sea surface Chlorophyll-a

Key Word (s): Eutrophication, Chlorophyll-a, Upper Gulf of Thailand, Rainfall, Aqua MODIS

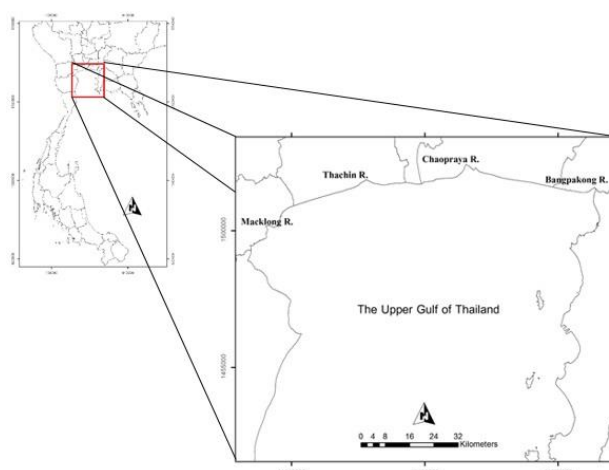
บทนำ

ปรากฏการณ์ยูโทรฟิเคชัน (Eutrophication) เป็นการเจริญเติบโตของสาหร่ายเซลล์เดียว และพืชน้ำที่แพร่พันธุ์อย่างรวดเร็ว เรียกว่าปรากฏการณ์น้ำทะเลเปลี่ยนสี (Red Tide) หรือปรากฏการณ์ซีปลาฟ ซึ่งเป็นปัญหามลภาวะทางน้ำที่ทั่วโลกให้ความสำคัญ เนื่องจากส่งผลกระทบต่อคุณภาพน้ำทำให้ปริมาณออกซิเจนละลายในน้ำน้อยลงจนถึงระดับที่สัตว์น้ำไม่สามารถดำรงชีวิตอยู่ได้ (สุวัจน์, 2549)

อ่าวไทยตอนบนมีลักษณะเป็นรูปสี่เหลี่ยมคล้ายตัว ก และเป็นเอสทูรีขนาดใหญ่ที่รองรับธาตุอาหารและสารอินทรีย์จากแม่น้ำสายหลักได้แก่ แม่น้ำแม่กลอง แม่น้ำท่าจีน แม่น้ำเจ้าพระยา และแม่น้ำบางปะกง โดยการตั้งถิ่นฐานอยู่อาศัยของประชากรอย่างหนาแน่นตามแนวชายฝั่งเนื่องจากมีความสำคัญหลายด้านทั้งด้านการเกษตรกรรม ด้านการอุตสาหกรรม ด้านการคมนาคมขนส่ง และด้านการเพาะเลี้ยงสัตว์น้ำ ซึ่งกิจกรรมต่าง ๆ ของมนุษย์ที่ทำให้เกิดการปนเปื้อนไหลลงสู่แหล่งน้ำ จากการระบายน้ำทิ้งและการถูกฝนชะล้างลงสู่แหล่งน้ำ จึงทำให้เกิดการสะสมของธาตุอาหารในสภาพภูมิอากาศที่เหมาะสมไปกระตุ้นให้ผู้ผลิตเบื้องต้นเติบโตอย่างรวดเร็ว (Plankton

bloom) จนก่อให้เกิดปัญหามลภาวะทางน้ำ โดยเฉพาะการเกิดปรากฏการณ์ยูโทรฟิเคชั่น ส่งผลให้ระบบนิเวศในแหล่งน้ำเสื่อมโทรม ไม่เหมาะสมต่อการดำรงชีวิตของสิ่งมีชีวิต (Paeal, 2006) และแหล่งน้ำสูญเสียทัศนียภาพ

ที่ผ่านมาได้มีการพัฒนาวิธีตรวจวัดและประเมินยูโทรฟิเคชั่นในเชิงปริมาณหลายเทคนิค แต่บางเทคนิคที่นำมาใช้ยังมีข้อจำกัดด้านพื้นที่ งบประมาณ และมีความซับซ้อน ดังนั้นการศึกษาค้นคว้านี้จึงได้มีการประยุกต์เทคโนโลยีการสำรวจระยะไกลและระบบสารสนเทศภูมิศาสตร์ เพื่อการเปลี่ยนแปลงเชิงเวลาของปริมาณคลอโรฟิลล์-เอ บริเวณอ่าวไทยตอนบน ในช่วงปี พ.ศ. 2555-2559 โดยการใช้ข้อมูลหลายช่วงคลื่นจากภาพถ่ายดาวเทียม ด้วยอุปกรณ์ตรวจวัด MODIS บนดาวเทียม AQUA โดยใช้ผลิตภัณฑ์ Level 3/ OCI สำหรับตรวจหาปริมาณคลอโรฟิลล์-เอรายเดือน บริเวณอ่าวไทยตอนบน เนื่องจากความเข้มข้นของคลอโรฟิลล์-เอที่มีปริมาณสูงมักพบในบริเวณที่เกิดภาวะยูโทรฟิเคชั่น (Frederic, 2002) เพื่อเป็นข้อมูลพื้นฐานไปสู่การวางแผนจัดการ และแก้ไขปัญหาคุณภาพน้ำได้อย่างมีประสิทธิภาพ



ภาพที่ 1 พื้นที่ศึกษาบริเวณอ่าวไทยตอนบน (ที่มา: กรมพัฒนาที่ดิน)

วัตถุประสงค์ของการวิจัย

1. เพื่อศึกษาการเปลี่ยนแปลงเชิงเวลาของปริมาณคลอโรฟิลล์-เอ บริเวณอ่าวไทยตอนบน ในช่วงปี พ.ศ. 2555-2559
2. เพื่อวิเคราะห์ข้อมูลความสัมพันธ์ระหว่างปริมาณคลอโรฟิลล์-เอกับปริมาณน้ำฝน บริเวณอ่าวไทยตอนบน ในช่วงปี พ.ศ. 2555-2559

วิธีดำเนินการวิจัย

1. รวบรวมข้อมูลทุติยภูมิของภาพดาวเทียม Aqua ด้วยอุปกรณ์ตรวจวัด MODIS ผลิตภัณฑ์ Level 3/ OCI

สำหรับตรวจหาปริมาณคลอโรฟิลล์-เอรายเดือน บริเวณอ่าวไทยตอนบนในช่วงปี พ.ศ. 2555-2559 โดยดาวเทียมที่ได้ที่เว็บไซต์ Ocean Color (<http://oceancolor.gsfc.nasa.gov>) เป็นข้อมูลที่มีรายละเอียดเชิงเรขาคณิต (Geometric correction) มีความละเอียด 4,000 x 4,000 เมตร และตัดขอบเขตของภาพพื้นที่ศึกษาบริเวณอ่าวไทยตอนบนทุกภาพ ด้วยโปรแกรม SeaDAS (SeaWiFS Data Analysis System)

2. รวบรวมข้อมูลทุติยภูมิปริมาณน้ำฝน 14 สถานีในพื้นที่จังหวัดที่อยู่โดยรอบบริเวณอ่าวไทยตอนบน จากกรมอุตุนิยมวิทยาตั้งแต่ปี พ.ศ. 2555-2559 จากนั้นทำการประมาณค่าข้อมูลปริมาณน้ำฝน เลือกใช้ Inverse Distance Weighted (IDW) และตัดขอบเขตของภาพพื้นที่ศึกษาบริเวณอ่าวไทยตอนบน ด้วยโปรแกรม ArcGIS

3. กำหนดสถานีตัวอย่าง โดยเลือกทั้งหมด 5 สถานี คือ ในรัศมี 16 ตารางกิโลเมตรจากปากแม่น้ำแม่กลอง ปากแม่น้ำท่าจีน ปากแม่น้ำเจ้าพระยา ปากแม่น้ำบางปะกง และกลางอ่าวไทยตอนบน เพื่อดูการกระจายปริมาณคลอโรฟิลล์-เอและปริมาณน้ำฝน เนื่องจากอิทธิพลการพัฒนาตะกอนห่างจากปากแม่น้ำที่ไหลลงอ่าวไทยตอนบนประมาณ 10-15 กิโลเมตร (ส่วนธรณีวิทยาทางทะเล สำนักเทคโนโลยีธรณี, 2555)

4. ตัดภาพข้อมูลเชิงพื้นที่ของปริมาณน้ำฝนและปริมาณคลอโรฟิลล์-เอ ตามขอบเขตพื้นที่สถานีตัวอย่างทั้ง 5 สถานี แบบรายเดือนตั้งแต่ปี พ.ศ. 2555-2559 ด้วยโปรแกรม ArcGIS

4. วิเคราะห์หาการเปลี่ยนแปลงปริมาณคลอโรฟิลล์-เอ ตามฤดูกาล โดยการนำภาพแต่ละรายเดือนในปีเดียวกัน และภาพรายเดือนที่ตรงกันตั้งแต่ปี พ.ศ. 2555-2559 มาหาค่าเฉลี่ยปริมาณคลอโรฟิลล์บริเวณอ่าวไทยตอนบน โดยเทคนิคการซ้อนภาพ (Overlay) เลือกใช้ field calculator ด้วยโปรแกรม ArcGIS

5. วิเคราะห์ข้อมูลความสัมพันธ์ระหว่างปริมาณคลอโรฟิลล์-เอกับปริมาณน้ำฝนบริเวณอ่าวไทยตอนบน ในช่วงปี พ.ศ. 2555-2559 เลือกใช้สัมประสิทธิ์สหสัมพันธ์เพียร์สัน ด้วยโปรแกรม Minitab

ผลการศึกษา

ภาพถ่ายจากดาวเทียมตรวจวัดปริมาณคลอโรฟิลล์-เอ ที่ผิวน้ำบริเวณอ่าวไทยตอนบน เฉลี่ยรายเดือน ซึ่งได้จากการซ้อนภาพ (Overlay) ในเดือนเดียวกัน ช่วงปี พ.ศ. 2555-2559 ผลการศึกษาตามภาพที่ 2 และภาพที่ 3 (a) แสดงให้เห็นว่าปริมาณคลอโรฟิลล์-เอ ที่ผิวน้ำในรอบปี ณ

สถานที่ 1 บริเวณปากแม่น้ำแม่กลอง พบความหนาแน่นปริมาณคลอโรฟิลล์-เอ ในเดือนพฤศจิกายน สูงสุดมีค่าเฉลี่ย 13.14 mg/m^3 และความหนาแน่นปริมาณคลอโรฟิลล์-เอต่ำสุดช่วงเดือนสิงหาคมมีค่าเฉลี่ย 1.57 mg/m^3 และเมื่อพิจารณากราฟอนุกรมเวลาความเข้มข้นของคลอโรฟิลล์-เอที่ผิวทะเลเฉลี่ยรายเดือนบริเวณอ่าวไทยตอนบน ณ สถานที่ 1 (ภาพที่ 3 (a)) พบว่าปริมาณคลอโรฟิลล์-เอ มีแนวโน้มสูงขึ้นตั้งแต่เดือนกันยายนถึงเดือนพฤศจิกายน แล้วค่อยๆลดลงถึงเดือนมิถุนายน จากนั้นเพิ่มขึ้นในเดือนกรกฎาคมแล้วลดลงต่ำสุดในเดือนสิงหาคม

ปริมาณคลอโรฟิลล์-เอที่ผิวทะเลในรอบปี ณ สถานที่ 2 บริเวณปากแม่น้ำท่าจีน (ภาพที่ 2 และภาพที่ 3 (b)) พบความหนาแน่นปริมาณคลอโรฟิลล์-เอ ในเดือนพฤศจิกายนสูงสุดมีค่าเฉลี่ย 19.35 mg/m^3 และความหนาแน่นปริมาณคลอโรฟิลล์-เอต่ำสุดช่วงเดือนกุมภาพันธ์มีค่าเฉลี่ย 5.07 mg/m^3 และเมื่อพิจารณากราฟอนุกรมเวลาความเข้มข้นของคลอโรฟิลล์-เอที่ผิวทะเลเฉลี่ยรายเดือนบริเวณอ่าวไทยตอนบน ณ สถานที่ 2 (ภาพที่ 3 (b)) พบว่าปริมาณคลอโรฟิลล์-เอ มีแนวโน้มสูงขึ้นตั้งแต่เดือนมิถุนายนถึงเดือนพฤศจิกายน แล้วค่อยๆลดลงต่ำสุดถึงเดือนกุมภาพันธ์ จากนั้นเพิ่มขึ้นในเดือนมีนาคมแล้วลดลงในเดือนพฤษภาคม

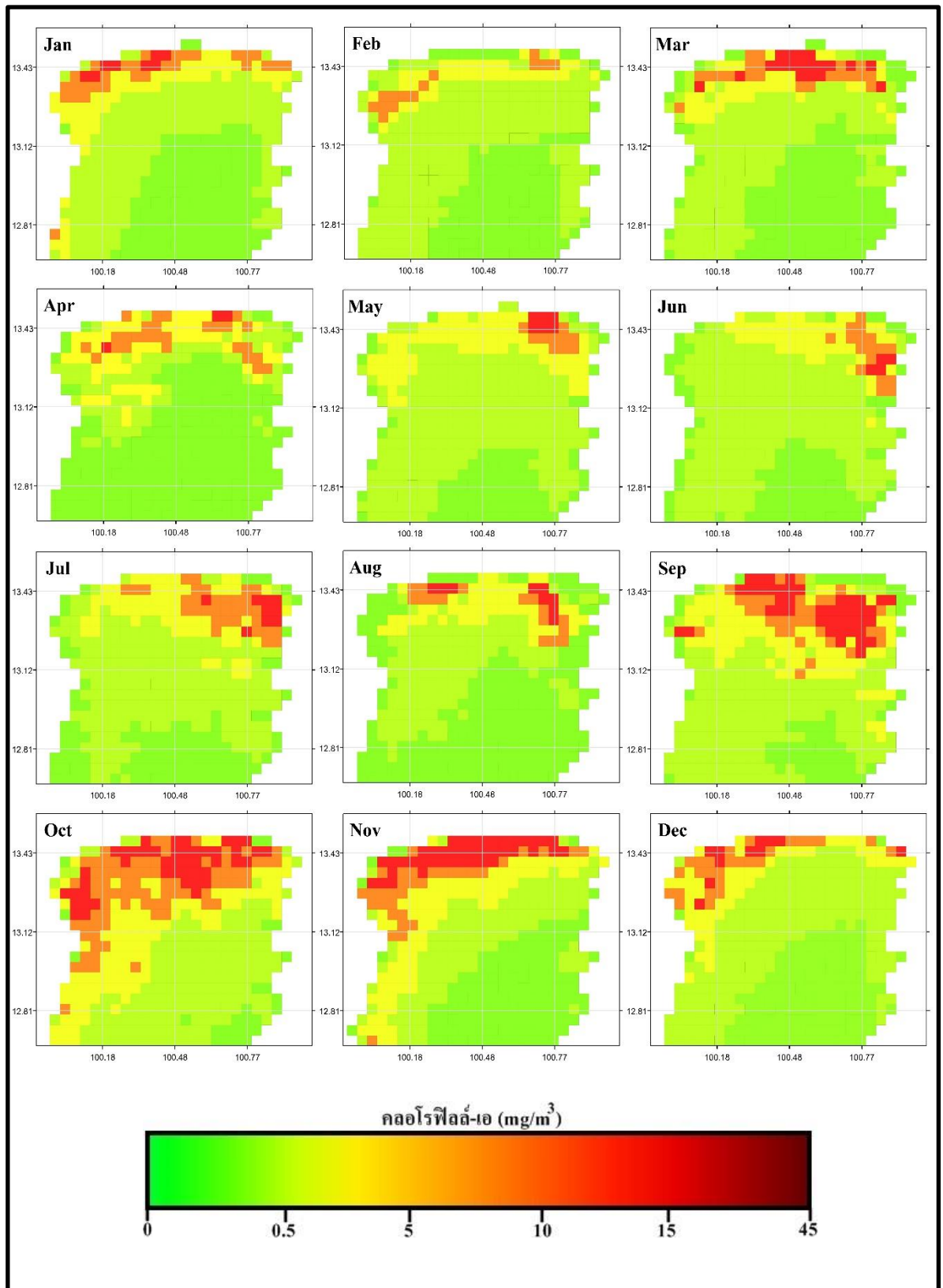
ปริมาณคลอโรฟิลล์-เอที่ผิวทะเลในรอบปี ณ สถานที่ 3 บริเวณปากแม่น้ำเจ้าพระยา (ภาพที่ 2 และภาพที่ 3 (c)) พบความหนาแน่นปริมาณคลอโรฟิลล์-เอ ในเดือนพฤศจิกายนสูงสุดมีค่าเฉลี่ย 18.21 mg/m^3 และความหนาแน่นปริมาณคลอโรฟิลล์-เอต่ำสุดช่วงเดือนกุมภาพันธ์มีค่าเฉลี่ย 4.54 mg/m^3 และเมื่อพิจารณากราฟอนุกรมเวลาความเข้มข้นของคลอโรฟิลล์-เอที่ผิวทะเลเฉลี่ยรายเดือนบริเวณอ่าวไทยตอนบน ณ สถานที่ 3 (ภาพที่ 3 (c)) พบว่าปริมาณคลอโรฟิลล์-เอ มีแนวโน้มสูงขึ้นตั้งแต่เดือนกันยายนถึงเดือนพฤศจิกายน แล้วค่อยๆลดลงต่ำสุดในเดือนกุมภาพันธ์ จากนั้นเพิ่มขึ้นถึงเดือนพฤษภาคมแล้วลดลงในเดือนมิถุนายนและเพิ่มสูงในเดือนกรกฎาคมแล้วลดลงในเดือนสิงหาคม

ปริมาณคลอโรฟิลล์-เอที่ผิวทะเลในรอบปี ณ สถานที่ 4 บริเวณบางประกง (ภาพที่ 2 และภาพที่ 3 (d)) พบความหนาแน่นปริมาณคลอโรฟิลล์-เอ ในเดือนตุลาคมสูงสุดมีค่าเฉลี่ย 10.95 mg/m^3 และความหนาแน่นปริมาณคลอโรฟิลล์-เอต่ำสุดช่วงเดือนสิงหาคมมีค่าเฉลี่ย 1.45 mg/m^3 และเมื่อพิจารณากราฟอนุกรมเวลาความเข้มข้นของคลอโรฟิลล์-เอที่ผิวทะเลเฉลี่ยรายเดือนบริเวณอ่าวไทยตอนบน ณ สถานที่ 4 (ภาพที่ 3 (d)) พบว่าปริมาณคลอโรฟิลล์-เอ เดือนกันยายนเพิ่มสูงถึงเดือนตุลาคม แล้วค่อยๆลดลงถึงเดือนเมษายน จากนั้นเพิ่มขึ้นในเดือนกรกฎาคมแล้วลดลงต่ำลงในเดือนสิงหาคม

ปริมาณคลอโรฟิลล์-เอที่ผิวทะเลในรอบปี ณ สถานที่ 5 บริเวณกลางอ่าวไทยตอนบน (ภาพที่ 2 และภาพที่ 3 (e)) พบความหนาแน่นปริมาณคลอโรฟิลล์-เอ ในเดือนตุลาคมสูงสุดมีค่าเฉลี่ย 4.95 mg/m^3 และความหนาแน่นปริมาณคลอโรฟิลล์-เอต่ำสุดช่วงเดือนกุมภาพันธ์มีค่าเฉลี่ย 0.39 mg/m^3 และเมื่อพิจารณากราฟอนุกรมเวลาความเข้มข้นของคลอโรฟิลล์-เอที่ผิวทะเลเฉลี่ยรายเดือนบริเวณ

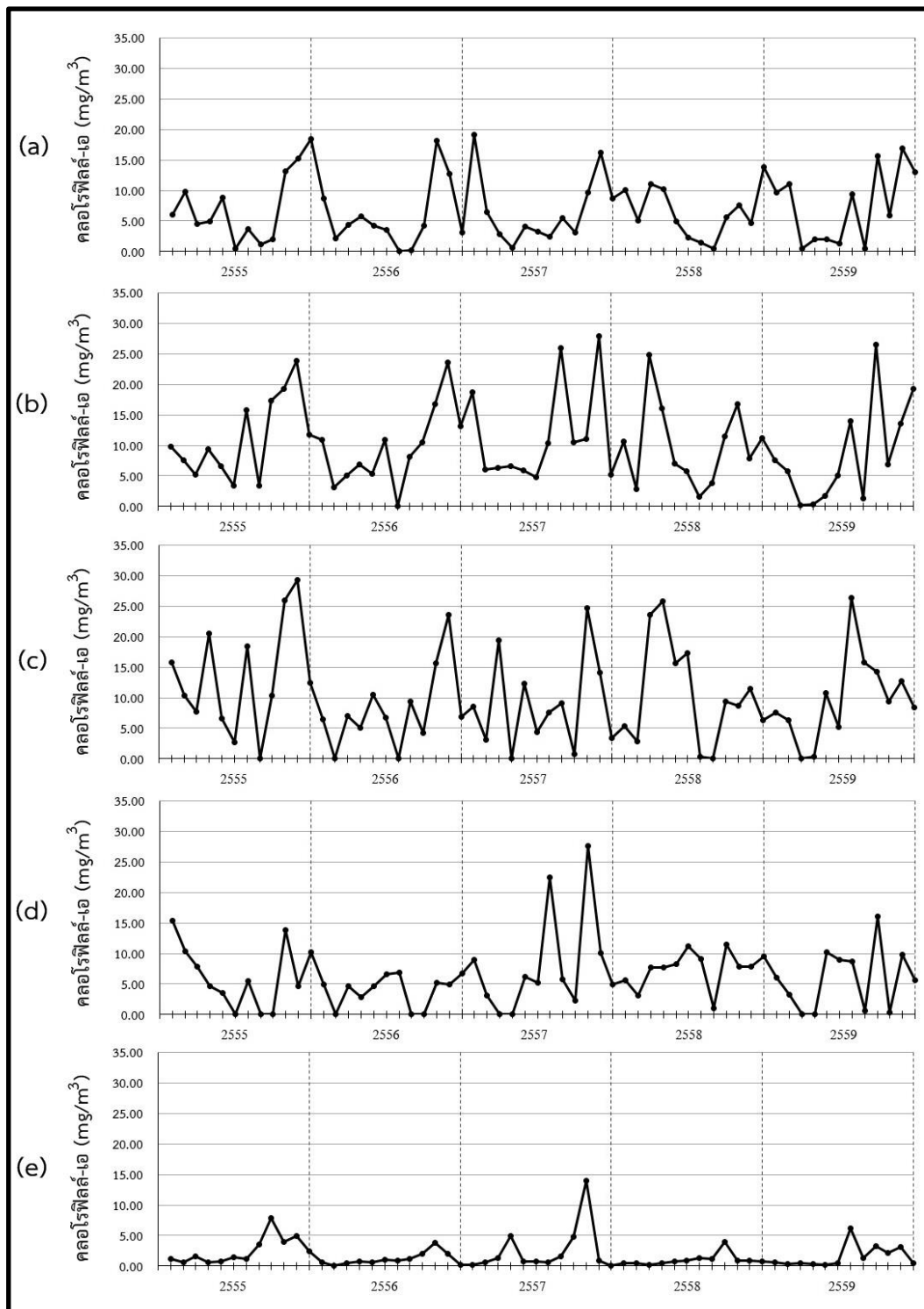
อ่าวไทยตอนบน ณ สถานีที่ 5 (ภาพที่ 3 (e)) พบว่าปริมาณคลอโรฟิลล์-เอ ก้นยานเพิ่มสูงถึงเดือนตุลาคม แล้วมีแนวโน้มค่อยๆลดลงต่ำสุดในเดือนกุมภาพันธ์จากนั้นเพิ่มขึ้นถึงเดือนเมษายนแล้วลดลงในเดือนพฤษภาคมแล้วสูงขึ้นถึงเดือนกรกฎาคมและลดลงเล็กน้อยในเดือนสิงหาคม โดยภาพรวมจะพบว่าสถานีที่ 5 บริเวณกลางอ่าวไทยตอนบน มีการเปลี่ยนแปลง และมีความหนาแน่นปริมาณคลอโรฟิลล์-เอ น้อยกว่าสถานีอื่นๆ ซึ่งเป็นพื้นที่ที่ห่างจากบริเวณปากแม่น้ำที่ไหลลงสู่อ่าวไทยตอนบน

เมื่อศึกษาค่าเฉลี่ยปริมาณน้ำฝนในแต่ละสถานี จากการทดสอบทางสถิติ (One -Way ANOVA) พบว่า ปริมาณน้ำฝนเฉลี่ยบริเวณอ่าวไทยตอนบนของแต่ละสถานีไม่แตกต่างกันในแต่ละสถานีอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p < 0.05$) จากภาพปริมาณน้ำฝนเฉลี่ย (มิลลิเมตร) บริเวณอ่าวไทยตอนบนในรอบปี ในช่วงปี พ.ศ. 2550-2559 (ภาพที่ 4 และภาพที่ 5 (a-e)) พบว่าปริมาณน้ำฝนสูงสุดในเดือนตุลาคมที่สถานี 1 มีค่าเฉลี่ย 252.84 มิลลิเมตร และมีปริมาณน้ำฝนสูงสุดในเดือนกันยายน ที่สถานีที่ 2, 3, 4 และ 5 โดยมีค่าเฉลี่ย 304.79, 319.96, 309.57 และ 259.37 มิลลิเมตร ตามลำดับ ส่วนปริมาณน้ำฝนต่ำสุดในเดือนกุมภาพันธ์ ทั้ง 5 สถานี โดยมีค่าเฉลี่ย 4.06, 8.16, 9.77, 9.64 และ 9.16 ตามลำดับ และเมื่อพิจารณารายเดือนความเข้มข้นของปริมาณน้ำฝนที่ผิวทะเลเฉลี่ยรายเดือนบริเวณอ่าวไทยตอนบน ทั้ง 5 สถานี (ภาพที่ 5 (a-e)) พบว่าตั้งแต่เดือนมีนาคมมีแนวโน้มสูงขึ้นจนถึงเดือนมิถุนายนแล้วลดต่ำลงในเดือนกรกฎาคมจากนั้นก็เพิ่มสูงจนถึงกันยายนแล้วลดต่ำลงต่ำสุดในเดือนกุมภาพันธ์

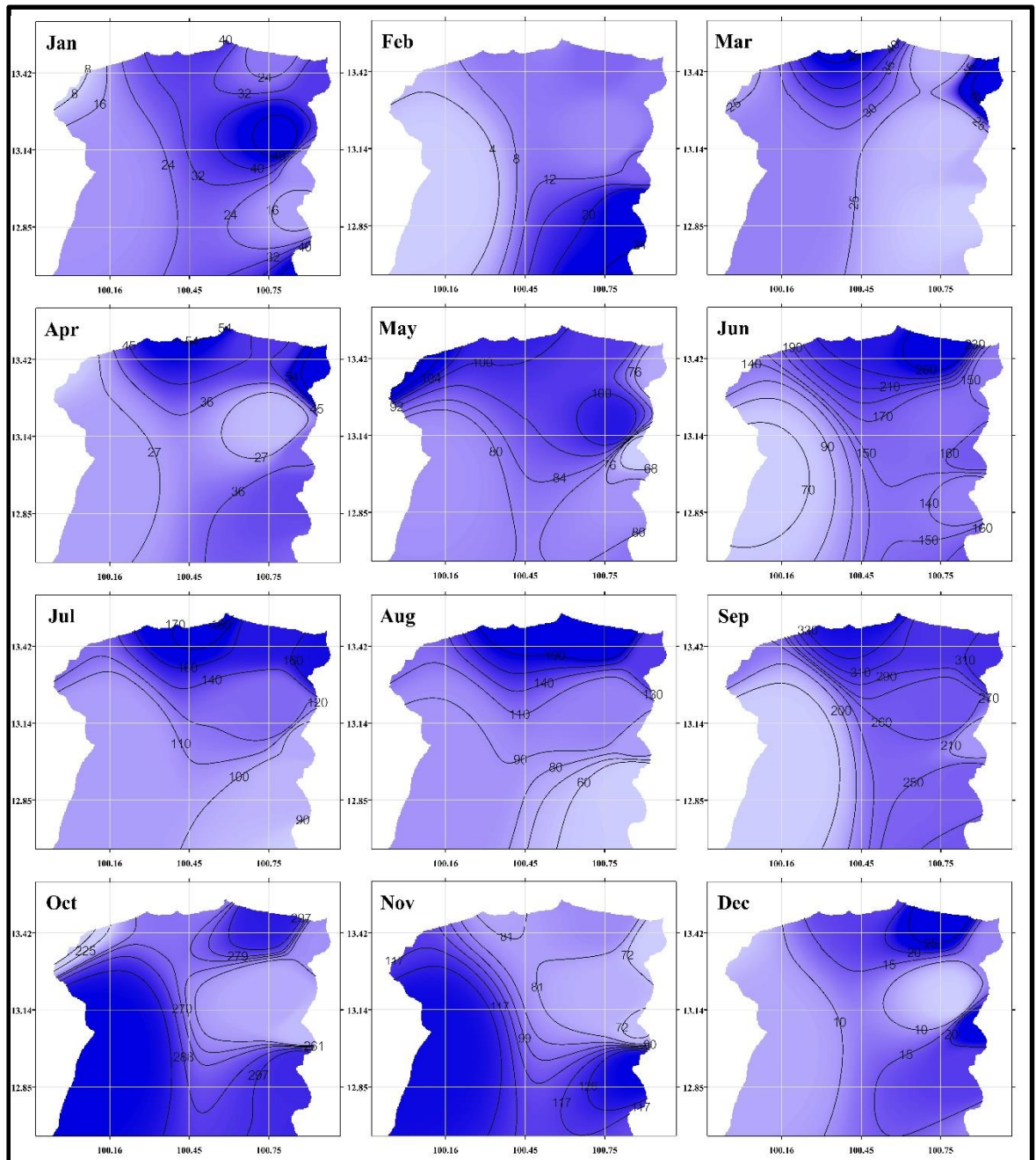


ภาพที่ 2 ปริมาณคลอโรฟิลล์-เอ เฉลี่ยที่ผิวทะเลบริเวณอ่าวไทยตอนบนในรอบปี ในช่วงปี

พ.ศ. 2555-2559



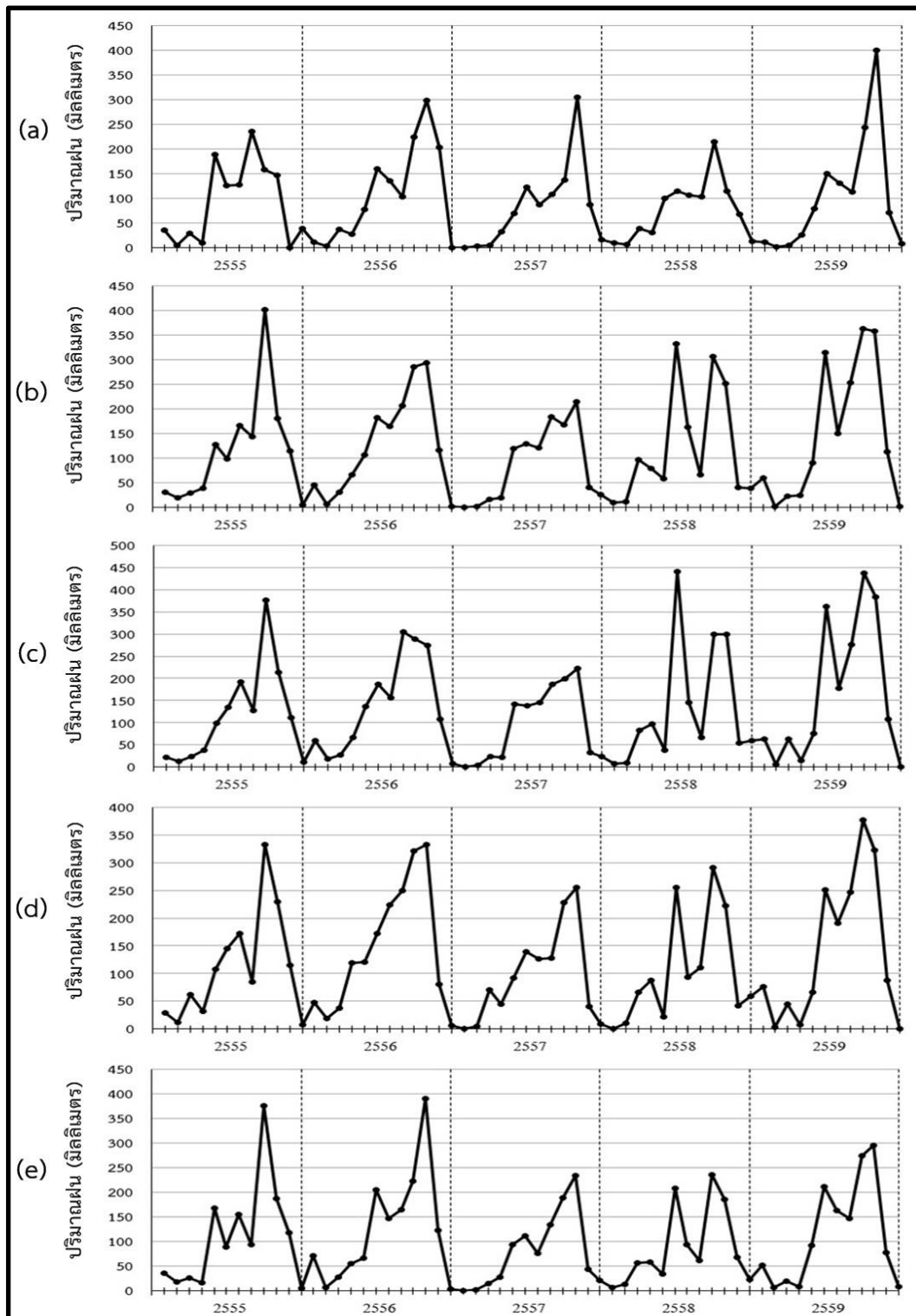
ภาพที่ 3 การเปลี่ยนแปลงปริมาณคลอโรฟิลล์-เอ ที่ผิวทะเลบริเวณอ่าวไทยตอนบนในรอบปีจากค่าเฉลี่ยในแต่ละเดือน ในช่วงปี พ.ศ. 2555-2559 ทั้ง 5 สถานี (a) ปากแม่น้ำแม่กลอง (b) ปากแม่น้ำท่าจีน (c) ปากแม่น้ำเจ้าพระยา (d) ปากแม่น้ำบางปะกง และ (e) กลางอ่าวไทยตอนบน



ภาพที่ 4 ปริมาณน้ำฝนเฉลี่ย (มิลลิเมตร) บริเวณอำเภอไทยตอนบนในรอบปี ในช่วงปี พ.ศ. 2555-2559

เมื่อศึกษาความสัมพันธ์ระหว่างปริมาณคลอโรฟิลล์-เอกับปริมาณน้ำฝนบริเวณอำเภอไทยตอนบนทั้ง 5 สถานี ในช่วงปี 2555-2559 (ภาพที่ 2 ถึง ภาพที่ 5) พบว่าเมื่อมีปริมาณน้ำฝนสูงในช่วงเวลาหนึ่งจะส่งผลทำให้มีปริมาณคลอโรฟิลล์-เอ ที่ผิวทะเลหนาแน่นขึ้นในเวลาต่อมา จะเห็นได้ว่าเดือนมิถุนายนมีปริมาณน้ำฝนเพิ่มสูงแล้วลดลง และเพิ่มปริมาณสูงที่สุดในกันยายนจากนั้นค่อยๆ ลดลงจนต่ำสุดในเดือนกุมภาพันธ์ ซึ่งสอดคล้องกับปริมาณคลอโรฟิลล์-เอที่มีความหนาแน่นในช่วง

เดือนกรกฎาคมแล้วลดลง และมีความหนาแน่นสูงในช่วงเดือนตุลาคม-เดือนพฤศจิกายน จากการวิเคราะห์ข้อมูลความสัมพันธ์ระหว่างปริมาณคลอโรฟิลล์-เอกับปริมาณน้ำฝนก่อนหน้าหนึ่งเดือน บริเวณอำเภอไทยตอนบน ในช่วงปี พ.ศ. 2555-2559 พบว่าปริมาณน้ำฝนมีความสัมพันธ์เชิงบวกกับปริมาณคลอโรฟิลล์-เอ อย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p < 0.05$) ค่าสัมประสิทธิ์สหสัมพันธ์ 0.25 มีความสัมพันธ์กันในระดับต่ำ



ภาพที่ 5 การเปลี่ยนแปลงปริมาณน้ำฝนเฉลี่ยบริเวณอ่าวไทยตอนบนในรอบปีจากค่าเฉลี่ยในแต่ละเดือน ในช่วงปี พ.ศ. 2555-2559 ทั้ง 5 สถานี (a) ปากแม่น้ำแม่กลอง (b) ปากแม่น้ำท่าจีน (c) ปากแม่น้ำเจ้าพระยา (d) ปากแม่น้ำบางปะกง และ (e) กลางอ่าวไทยตอนบน

สรุปและอภิปรายผล

การกระจายความหนาแน่นของคลอโรฟิลล์-เอบริเวณปากแม่น้ำแม่กลอง ปากแม่น้ำท่าจีน ปากแม่น้ำเจ้าพระยา และปากแม่น้ำบางปะกง สูงกว่าบริเวณกลางอ่าวไทยตอนบน เนื่องจากเป็นอ่าวกึ่งปิดทำให้การหมุนเวียนและถ่ายเทของมวลน้ำเกิดขึ้นได้น้อยส่งผลให้การกระจายตัวของสารอาหารสูงอยู่ร่วมกันได้นาน อีกทั้งยังมีแม่น้ำสายหลัก 4 สายเป็นแหล่งธาตุอาหารที่ไหลลงสู่อ่าวไทยตอนบนที่สำคัญอย่างหนึ่งต่อระบบนิเวศ (มินตรา มารบุญ และคณะ, 2559) ซึ่งเป็นแหล่งอาหารสำคัญของแพลงก์ตอนพืชทำให้เกิดการเจริญเติบโตอย่างรวดเร็ว ทำให้เกิดปรากฏการณ์ยูโทรฟิเคชันหรือน้ำทะเลเปลี่ยนสี สอดคล้องกับการศึกษาของ จริยา อรรคบุตร และคณะ.(2558) ในการศึกษาการเปลี่ยนแปลงแพลงก์ตอนพืชบริเวณอ่าวไทยตอนในด้วยการรับรู้จากระยะไกล ด้วยอุปกรณ์ดาวเทียม MODIS บนดาวเทียม TERRA และ AQUA โดยแสดงให้เห็นว่าช่วงเดือนมิถุนายน-กันยายนการกระจายตัวแพลงก์ตอนพืชหนาแน่นสูงบริเวณชายฝั่งตะวันออก และช่วงเดือนตุลาคม-มกราคมการกระจายตัวแพลงก์ตอนพืชหนาแน่นสูงบริเวณชายฝั่งตะวันตก และสอดคล้องกับการศึกษาของอนุกุล บุรณประทีปรัตน์ และอัญญาดา มีสุข.(2556) ในการศึกษาการเปลี่ยนแปลงเชิงเวลาของปริมาณคลอโรฟิลล์-เอ บริเวณพื้นผิวน้ำทะเลอันดามันจากการประมวลผลภาพถ่ายดาวเทียม AQUA MODIS โดยแสดงถึงประสิทธิภาพและความน่าเชื่อถือของข้อมูลปริมาณคลอโรฟิลล์-เอที่ผิวทะเลจากอุปกรณ์ดาวเทียมที่ได้จากการศึกษาในครั้งนี้

การวิเคราะห์ข้อมูลปริมาณคลอโรฟิลล์-เอกับปริมาณน้ำฝนบริเวณอ่าวไทยตอนบน ในช่วงปี 2555-2559 พบว่าปริมาณน้ำฝนก่อนหน้าหนึ่งเดือนมีความสัมพันธ์เชิงบวกกับปริมาณคลอโรฟิลล์-เอบริเวณที่ผิวทะเล เมื่อมีปริมาณน้ำฝนสูงในช่วงเวลาหนึ่งจะส่งผลทำให้ปริมาณคลอโรฟิลล์-เอ ที่ผิวทะเลมีความหนาแน่นขึ้นในเวลาต่อมา สอดคล้องกับ อีราพร วิริวุฒิกุล.(2539) ในการศึกษาการแปรผันระยะยาวของสารอาหารในอ่าวไทยตอนบน พบว่าความเข้มข้นของสารอาหารในอ่าวไทยตอนบนมีค่าสูงบริเวณใกล้ฝั่ง และอิทธิพลของน้ำจืดที่ไหลลงอ่าวเป็นปริมาณมากส่งผลต่อความเข้มข้นของสารอาหารให้เพิ่มมากขึ้น และยังสอดคล้องกับประยูร สุรตระกูล.(2536) สรุปว่าน้ำฝนจะชะล้างแร่ธาตุจากแผ่นดินลงสู่ทะเลไปกระตุ้นการเจริญเติบโตของเหล่าแพลงก์ตอนพืช ซึ่งเป็นปัจจัยสำคัญประการหนึ่งที่ทำให้เกิดปรากฏการณ์ยูโทรฟิเคชัน

ปริมาณคลอโรฟิลล์-เอมีความหนาแน่นสูงในช่วงเดือนกรกฎาคม และช่วงเดือนกันยายนถึงพฤศจิกายน

สอดคล้องกับปรากฏการณ์น้ำเบียด-น้ำกันที่เกิดจากน้ำจืดปริมาณมากมาปะทะกับน้ำทะเลแบบเฉียบพลันทำให้น้ำกร่อยถูกผลักดันให้แพร่กระจายออกไปในทะเลได้ไกล ซึ่งอ่าวไทยตอนบนมักเกิดในช่วงเดือนกันยายน-พฤศจิกายน (สำนักนโยบายและแผนสิ่งแวดล้อม, 2540) โดยเฉพาะบริเวณใกล้ชายฝั่งและปากแม่น้ำ สามารถพบการเกิดน้ำทะเลเปลี่ยนสีได้บ่อยครั้ง และเกิดขึ้นซ้ำๆ ต่อเนื่อง

ยาวนานในช่วงฤดูฝนจนถึงต้นฤดูหนาว (กรมทรัพยากรทางทะเลและชายฝั่ง, 2559) เป็นปัญหามลภาวะทางน้ำทำให้คุณภาพน้ำเสื่อมโทรม ปริมาณออกซิเจนที่ละลายในน้ำลดต่ำลงเป็นอันตรายต่อสัตว์น้ำและแหล่งน้ำสูญเสียทัศนียภาพ

ข้อเสนอแนะ

การศึกษาการเกิดภาวะยูโทรฟิเคชันครั้งนี้ เป็นเพียงการศึกษาความเข้มข้นของคลอโรฟิลล์-เอ และอิทธิพลจากปริมาณน้ำฝน ดังนั้นควรศึกษาปัจจัยการไหลเวียนกระแสน้ำในอ่าวไทยตอนบนเพื่อวิเคราะห์ทิศทางการแพร่กระจายปริมาณคลอโรฟิลล์-เอ และวิเคราะห์สาเหตุหรือคาดการณ์ สำหรับเพื่อวางแผนจัดการคุณภาพน้ำบริเวณอ่าวไทยตอนบนในอนาคตต่อไป

กิตติกรรมประกาศ

งานวิจัยนี้สำเร็จได้ด้วยความกรุณาจากอาจารย์ที่ปรึกษาผศ.ดร. ภูมิพัฒน์ ภาชนะ และดร. กฤษณัยน์ เจริญจิตร ผู้ให้คำปรึกษา ตรวจสอบแก้ไข และให้คำแนะนำตลอดมา

ผู้ทำการศึกษาขอขอบคุณอธิบดีกรมพัฒนาที่ดินที่ให้ความอนุเคราะห์ข้อมูลการใช้ประโยชน์ที่ดิน ขอขอบคุณผู้อำนวยการสำนักจัดการคุณภาพน้ำที่ให้ความอนุเคราะห์ข้อมูลคุณภาพน้ำบริเวณปากแม่น้ำ และขอขอบคุณผู้อำนวยการบริการข้อมูลดิจิทัลอุตุนิยมวิทยาที่ให้ความความอนุเคราะห์ข้อมูลอุตุนิยมวิทยา

สุดท้ายนี้ขอขอบคุณอาจารย์ทุกท่านในคณะวิทยาศาสตร์ มหาวิทยาลัยบูรพา ที่ให้การช่วยเหลือในการทำวิจัยครั้งนี้จนสำเร็จลุล่วงด้วยดี

เอกสารอ้างอิง

- กรมทรัพยากรธรณี (2555), รายงานวิชาการ ธรณีวิทยากายภาพพื้นที่ทะเลอ่าวไทยตอนบน, ส่วนธรณีวิทยาทางทะเล สำนักเทคโนโลยีธรณี, กรุงเทพฯ: กรมทรัพยากรธรณี
- จรียา อรรถบุตร และคณะ. (2558). การติดตามการเปลี่ยนแปลงแพลงก์ตอนพืชบริเวณอ่าวไทยตอนในด้วยการรับรู้จากระยะไกล. การประชุมวิชาการนิสิตนักศึกษาภูมิศาสตร์และภูมิสารสนเทศศาสตร์แห่งประเทศไทย ครั้งที่ 8. กรุงเทพฯ: จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย
- ธวัชชัย นาอุมตและคณะ. (2556). การเปลี่ยนแปลงเชิงเวลาและพื้นที่ของคุณภาพน้ำทะเลบริเวณอ่าวไทยตอนบนในสองฤดูกาลช่วงปี พ.ศ. 2552. วารสารวิทยาศาสตร์บูรพา (วิทยาศาสตร์), 18(2), 32-42.
- ธีราพร วิริวุฒิก. (2539) การแปรผันระยะยาวของสารอาหารในอ่าวไทยตอนบน. (วิทยานิพนธ์มหาบัณฑิต). จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย, กรุงเทพฯ.

มินตรา มารบุญ และคณะ. (2559). การแพร่กระจายของธาตุอาหารในอ่าวไทย. การประชุมทาง
วิชาการของมหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์ ครั้งที่ 55. กรุงเทพมหานคร:
มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์

อนุกุล บุรณประทีปรัตน์ และอัญญาดา มีสุข. (2556). การเปลี่ยนแปลงเชิงเวลาของปริมาณ
คลอโรฟิลล์-เอ บริเวณพื้นผิว ทะเลอันดามันจากการประมวลผล ภาพดาวเทียมอะควา โมดิส
(Aqua MODIS). วารสารวิทยาศาสตร์บูรพา (วิทยาศาสตร์), 18(1), 194-201.

อัศดร คำเมือง. (2553). แนวทางพัฒนาชุดตรวจสอบยูโทรฟิเคชันในแหล่งน้ำจืดอย่างง่าย: กรณีศึกษา
จังหวัดปทุมธานี และจังหวัดนครนายก. (วิทยานิพนธ์ปริญญาโทบริหารบัณฑิต). สถาบัน
บัณฑิตพัฒนบริหารศาสตร์, กรุงเทพฯ.

การศึกษาสเตียรอยด์ที่ปลอมปนในยาแผนโบราณด้วยเทคนิคโครมาโตกราฟีแผ่นบาง

Study on Steroids Adulterated in Traditional Medicines

by Thin Layer Chromatography Technique

สุภัทรา สายกระสุน(Supattra Saikrasun) วณิดา ชูหมื่นไวย Vanida Choomuenwai *

สาขาวิชาเคมี คณะวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยี มหาวิทยาลัยราชภัฏนครราชสีมา

*Corresponding author. Email : vanida.c@nrru.ac.th

บทคัดย่อ

งานวิจัยนี้ศึกษาสเตียรอยด์ที่ปลอมปนในยาแผนโบราณที่ขายในเขตตำบลในเมือง อำเภอเมือง จังหวัดนครราชสีมา ด้วยเทคนิคโครมาโตกราฟีแผ่นบางโดยศึกษาการปลอมปนของสเตียรอยด์ 2 ชนิด คือ เดกซาเมทาโซน และเพรดนิโซลอน พบว่ามีการปลอมปนสเตียรอยด์ในตัวอย่างยาแผนโบราณจำนวน 4 ตัวอย่าง จากตัวอย่างยาแผนโบราณ 97 ชนิด โดยพบเดกซาเมทาโซนเพียงชนิดเดียวในตัวอย่างชนิดผง คิดเป็นร้อยละ 3.70 และชนิดลูกกลอน คิดเป็น ร้อยละ 7.69 พบเพรดนิโซลอนเพียงชนิดเดียวในตัวอย่างชนิดน้ำ คิดเป็นร้อยละ 3.13 และพบสเตียรอยด์ทั้งสองชนิดในตัวอย่างชนิดเม็ด คิดเป็นร้อยละ 11.11 และพบว่ายาแผนโบราณที่มีการปลอมปนสเตียรอยด์เป็นยาที่ไม่ได้ขึ้นทะเบียนตำรับยาทั้งหมด

คำสำคัญ: ยาแผนโบราณ สเตียรอยด์เพรดนิโซลอนเดกซาเมทาโซน

Abstract

This study investigated steroids adulterated in traditional medicines in Tambon Nai - Muang, Muang of NakhonRatchasima province by Thin Layer Chromatography technique (TLC). Two types of steroids include; dexamethasone and prednisolone were investigated. The result showed that, there were 4 steroids adulterated traditional medicines. Only dexamethasone steroid was found in powder medicine (3.70%) and bolus medicine (7.69%), while prednisolone found in liquid medicine (3.13%). In addition, both types of steroids were found in tablets medicine (11.11%). It is noteworthy that all of steroids adulterated traditional medicines are not registered traditional medicines.

Keywords: Traditional Medicines, Steroids, Prednisolone, Dexamethasone

บทนำ

ในปัจจุบันการใช้ยาแผนโบราณของประชาชนส่วนใหญ่มีแนวโน้มสูงขึ้น อาจเนื่องจากมีราคาถูก หาซื้อได้ง่าย รักษาแล้วได้ผลดี หรือแม้กระทั่งการรักษาด้วยแพทย์แผนปัจจุบัน ไม่ประสบผลสำเร็จ และจากความเชื่อที่ว่า การใช้ยาแผนโบราณนั้นปลอดภัยจากสารเคมีมากกว่ายาแผนปัจจุบัน (ดวงทิพย์ อรัญดร และคณะ, 2553) ยาแผนโบราณนั้นผลิตจากสมุนไพรในธรรมชาติ ผ่านกรรมวิธีการผลิตที่มาจากภูมิปัญญาชาวบ้านตลอดจนมีการปรับเปลี่ยนรูปแบบ การผลิตให้มีความหลากหลาย เพื่อให้เกิดความน่าเชื่อถือมากยิ่งขึ้น เช่น เป็นยาสมุนไพรบรรจุแคปซูล เป็นยาน้ำสมุนไพรบรรจุขวด เป็นยาผง เป็นยาลูกกลอน เป็นยากวน เป็นยาอัดเม็ด จากข้อดีดังกล่าวทำให้ยาแผนโบราณ เป็นที่นิยมของประชาชนมากขึ้น แต่ในปัจจุบันพบว่าผู้ผลิตยาแผนโบราณบางรายมีการปลอมปนตัวยาแผนปัจจุบัน คือ สเตียรอยด์ เพื่อให้ผลการรักษาที่มีประสิทธิภาพมากยิ่งขึ้น โดยยาแผนโบราณที่มีสเตียรอยด์ปลอมปนจะมีฤทธิ์ ในการลดการอักเสบ แก้อาการปวดข้อ การปวดกระดูก ทำผู้บริโภคที่ใช้ยาที่มีความเสี่ยงต่อภาวะสุขภาพร่างกาย ก่อให้เกิดอันตรายจากโรคต่าง ๆ เช่น โรคกระดูกพรุน โรคกระดูกเปราะ โรคกระดูกเป็นแผล เลือดออกในกระดูกพรุน โรคตับแข็ง ภูมิคุ้มกันของร่างกายต่ำ ติดเชื้อง่าย ผิวหนังบาง เส้นเลือดเปราะ และแตกง่าย (อำไพ ทองยงค์, 2547) นอกจากนี้ยังทำให้เกิดภาวะเสพติด ทำให้ต้องเพิ่มปริมาณยาขึ้นเรื่อย ๆ เมื่อหยุดรับประทาน สเตียรอยด์ทันที จะทำให้เกิด การขาดสเตียรอยด์ ส่งผลให้เกิดการอ่อนเพลีย เบื่ออาหาร ปวดกล้ามเนื้อ และกระดูก ผู้บริโภคบางรายอาจมีอาการง่วงซึมและสับสน หากได้รับการรักษาไม่ทันที่อาจทำให้เสียชีวิตได้ (นันทนา กลิ่นสุนทร และคณะ, 2555) ซึ่งส่วนใหญ่พบว่าสเตียรอยด์ชนิดที่นิยมใช้ในยา ชนิดรับประทานปลอมปนในยาแผนโบราณมี 2 ชนิด คือ เพรดนิโซโลน (Prednisolone) และเดกซาเมทาโซน (Dexamethasone)

ดังนั้นการวิเคราะห์หาปริมาณสเตียรอยด์ในยาแผนโบราณจึงมีความจำเป็นมาก เพื่อใช้เป็นข้อมูลเบื้องต้นให้ประชาชนระวังการใช้ยาแผนโบราณซึ่งอาจมีการปลอมปนของสเตียรอยด์ โดยการศึกษาครั้งนี้มีวัตถุประสงค์เพื่อหาสเตียรอยด์ชนิดเดกซาเมทาโซน และเพรดนิโซโลนที่ปลอมปนในยาแผนโบราณชนิดเม็ดลูกกลอน เม็ด ยาแคปซูล ยาผง และยาน้ำ ในยาแผนโบราณที่ได้จากแหล่งจำหน่ายต่าง ๆ ในเขตพื้นที่ตำบลในเมือง อำเภอเมือง จังหวัดนครราชสีมาด้วยเทคนิคโครมาโตกราฟีแผ่นบาง ซึ่งเป็นวิธีที่ง่าย และสะดวก สามารถตรวจสอบได้หลายๆ ตัวอย่างในเวลาเดียวกัน

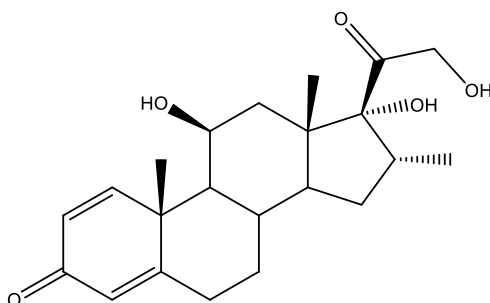
วัตถุประสงค์ของการวิจัย

เพื่อหาสเตียรอยด์ชนิดเดกซาเมทาโซน และเพรดนิโซโลนในยาแผนโบราณชนิดเม็ดลูกกลอน เม็ด ยาแคปซูล ยาผง และยาน้ำ

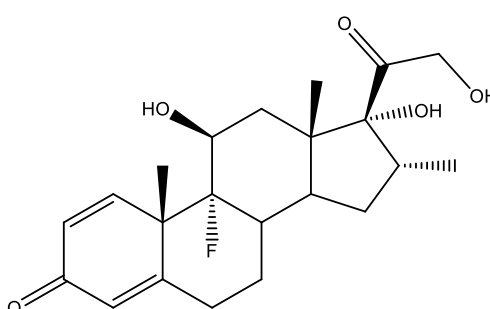
วิธีดำเนินการวิจัย

ขอบเขตของการวิจัย

1. ตัวอย่างยาแผนโบราณทำการเก็บตัวอย่างแบบสุ่มอย่างง่าย (Simple Random Sampling) ที่จัดจำหน่ายในร้านขายยาทั่วไป ร้านขายของชำ และตลาดนัด ที่ขายในเขตตำบลในเมือง อำเภอเมืองนครราชสีมา จังหวัดนครราชสีมา จำนวน 97 ตัวอย่าง ซึ่งเป็นทั้งยาแผนโบราณที่มีเลขทะเบียน 72 ตัวอย่าง และไม่มีเลขทะเบียนตำรับยา 25 ตัวอย่าง
2. กลุ่มตัวอย่าง คือ ยาแผนโบราณชนิดเม็ดลูกกลอน เม็ด ยาแคปซูล ยาวง และยาน้ำ
3. วิเคราะห์หาสเตียรอยด์ชนิดเดกซาเมทาโซน และเพรดนิโซโลนเท่านั้น ดังแสดงโครงสร้างของเดกซาเมทาโซน และเพรดนิโซโลน ในภาพที่ 1 และภาพที่ 2



ภาพที่ 1 แสดงโครงสร้างของเพรดนิโซโลน



ภาพที่ 2 แสดงโครงสร้างของเดกซาเมทาโซน

เครื่องมือที่ใช้ในการทดลอง

1. เครื่องทำแห้งเยือกแข็งสุญญากาศ (Freeze Dryer) รุ่น Labconco freezone 4.5 บริษัท LABCONCO; ประเทศสหรัฐอเมริกา
2. เครื่องปั่นเหวี่ยง (Centrifuge) ยี่ห้อ Hettich รุ่น Universal 32; ประเทศเยอรมนี

3. เครื่องเขย่า (Vortex Mixer) ยี่ห้อ : Scientific Industries รุ่น : G560E Vortex Mixer Genie 2; ประเทศสหรัฐอเมริกา
4. เครื่องชั่งละเอียด (Analytical balance) ทศนิยม 4 ตำแหน่ง ยี่ห้อ Mettler Toledo รุ่น AG245; ประเทศสวิตเซอร์แลนด์
5. แผ่น TLC ยี่ห้อ Merck รุ่น 1.05554.0001

สารเคมี

1. สารมาตรฐานเดกซาเมทาโซน ชนิด HPLC Grade บริษัท Sigma Aldrich (Thailand) Co., Ltd.
2. สารมาตรฐานเพรดนิโซโลน ชนิด HPLC Grade บริษัท Acros organics Co., Ltd.
3. เมทานอล (Methanol; CH_3OH) ชนิด AR Grade บริษัท RCI Labscan Ltd.
4. อะซิโตนไนไตรล์ (Acetonitrile; CH_3CN) ชนิด HPLC Grade บริษัท RCI Labscan Ltd.
5. ไดคลอโรมีเทน (Dichloromethane; CH_2Cl_2) ชนิด AR Grade บริษัท RCI Labscan Ltd.
6. เฮกเซน (Hexanes; C_6H_{14}) ชนิด AR Grade บริษัท RCI Labscan Ltd.
7. อะซิโตน (Acetone; CH_3COCH_3) ชนิด AR Grade บริษัท RCI Labscan Ltd.

วิธีการเก็บข้อมูล

1. การสุ่มตัวอย่าง

เลือกการสุ่มอย่างง่าย โดยสุ่มตัวอย่างยาแผนโบราณชนิดเม็ดลูกกลอน เม็ด ยา แคปซูล ยาผง และยาน้ำที่จำหน่ายในร้านขายยาทั่วไป ร้านขายของชำ และตลาดนัด ในเขตพื้นที่ ตำบลในเมือง อำเภอเมือง จังหวัดนครราชสีมา

2. การวิเคราะห์สารตัวอย่าง

การวิเคราะห์หาสเตียรอยด์ โดยคัดเลือกกลุ่มตัวอย่างยาแผนโบราณที่พบสเตียรอยด์จากการวิเคราะห์ด้วยเทคนิคโครมาโตกราฟีแผ่นบาง (Thin Layer Chromatography, TLC) มาวิเคราะห์ โดยมีขั้นตอน ดังนี้

2.1 การวิเคราะห์หาสเตียรอยด์ด้วยเทคนิคโครมาโตกราฟีแผ่นบาง

2.1.1 การเตรียมตัวอย่างยาแผนโบราณ

2.1.1.1 นำตัวอย่างยาแผนโบราณมาบดให้ละเอียด (กรณีเป็นชนิดเม็ด) ชั่งตัวอย่างด้วยเครื่องชั่งละเอียด 4 ตำแหน่ง มา 0.50xx กรัม ใส่ในหลอดปั่นเหวี่ยงเติมเม

ทานอล ปริมาตร 4 มิลลิลิตร แล้วนำไปเขย่าในเครื่องเขย่า 5 นาที จากนั้นนำไปปั่นเหวี่ยงด้วยเครื่องปั่นเหวี่ยง 10 นาที กรองเอาเฉพาะสารละลายที่ใสใส่ขวดเก็บตัวอย่าง (ทำซ้ำอีก 2 ครั้ง โดยเปลี่ยนจากเติมเมทานอลเป็นไดคลอโรมีเทนกับเมทานอลในอัตราส่วน 1 : 1 ปริมาตร 4 มิลลิลิตร และไดคลอโรมีเทน 4 มิลลิลิตร) นำไปประเหยให้แห้ง บันทึกน้ำหนักของสารสกัดหยาบของตัวอย่างยาแผนโบราณ จากนั้นละลายตัวอย่างด้วยเมทานอล 1 – 2 มิลลิลิตร นำไปทำการวิเคราะห์หาสเตียรอยด์ด้วยเทคนิคโครมาโตกราฟีแผ่นบาง

2.1.1.2 กรณีตัวอย่างยาแผนโบราณชนิดน้ำตวงตัวอย่าง ด้วยกระบอกตวงปริมาตร 5 มิลลิลิตร ทำให้ตัวอย่างแห้งด้วยเครื่องทำแห้งเยือกแข็งสุญญากาศ ละลายตัวอย่างด้วยเมทานอล 1 - 2 มิลลิลิตร จากนั้นกรอง แล้วนำไปทำการวิเคราะห์หาสเตียรอยด์ด้วยเทคนิคโครมาโตกราฟีแผ่นบาง

2.1.2 การพิสูจน์เอกลักษณ์ของสเตียรอยด์

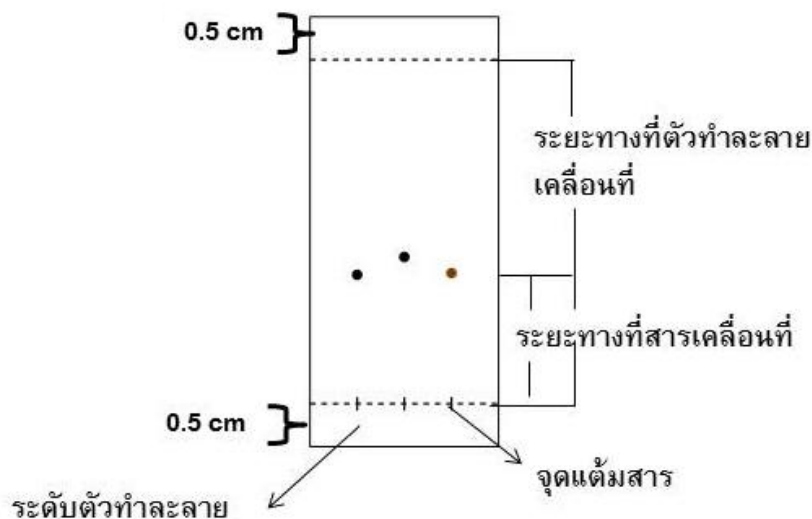
2.1.2.1 ทหาระบบตัวทำละลายที่สามารถแยกสารมาตรฐานแล้วมีค่า R_f ใกล้เคียงกับ 0.5 มากที่สุด โดยใช้สารละลายผสมระหว่างอะซิโตนกับเฮกเซนในอัตราส่วนต่างกัน พบว่าอัตราส่วน 1 : 1 ค่า R_f ใกล้เคียงกับ 0.5 มากที่สุด

2.1.2.2 การเตรียมภาชนะสำหรับทำโครมาโทแกรม (TLC Chamber) โดยเตรียมสารละลายผสมระหว่างอะซิโตนกับเฮกเซน อัตราส่วน 1 : 1 ปริมาตร 4 มิลลิลิตร

2.1.2.3 การเตรียมแผ่น TLC โดยใช้ดินสอ 2B จุดบนแผ่น silica gel TLC สำเร็จขนาด 6 x 5 เซนติเมตร 7 จุด ใช้ไม้บรรทัดวัดให้แต่ละจุดห่างกัน 0.5 เซนติเมตร และให้ห่างจากขอบด้านล่างของแผ่น TLC 0.5 เซนติเมตร แล้วเขียนรหัสของสารมาตรฐานเพรดนิโซโลน และเดกซาเมทาโซน ล่างจุดที่ 1 และ 2 ส่วนจุดที่ 3 - 7 เขียนรหัสของสารตัวอย่างตามลำดับกำกับไว้ล่างจุดของแผ่น TLC

2.1.2.4 ใช้หลอดแคปิลลารี (Capillary Tube) ดูดสารมาตรฐานเพรดนิโซโลน และเดกซาเมทาโซนแตะลงบนจุดที่ 1 และ 2 ดูดสารละลายตัวอย่างแตะลงบนจุดที่ 3 - 7 ตามลำดับ บนแผ่น TLC ที่เตรียมไว้ในข้อที่ 2.1.2.3 โดยแต่ละจุดให้แตะห่างกัน 0.5 เซนติเมตร

2.1.2.5 ใช้ปากคีบคีบปลายบนสุดของแผ่น TLC วางลงใน TLC Chamber ที่เตรียมไว้ในข้อที่ 2.1.2.1 โดยให้จุดที่แตะสารอยู่เหนือระดับตัวทำละลายเพื่อไม่ให้สารสกัดละลายลงไป ปิดฝาให้สนิท รอตัวทำละลายเคลื่อนที่ไปเกือบสุดแผ่น TLC แล้วยกขึ้นจาก TLC Chamber ชีตระยะที่ตัวทำละลายเคลื่อนที่ได้ เพื่อไว้คำนวณค่า (Retardation Factor value) R_f ดังแสดงในภาพที่ 3



ภาพที่ 3 แสดงการขีดระยะที่ตัวทำละลายเคลื่อนที่ได้

2.1.2.6 นำแผ่น TLC ไปตรวจสอบสเปกตรัม โดยดูการเรืองแสง ภายใต้รังสียูวี ที่ความยาวคลื่น 254 นาโนเมตร ซึ่งสเปกตรัมชนิดเพอร์นิกโซโลน และเดกซาเมทาโซนจะเรืองแสงที่ตำแหน่งต่างกัน

2.1.2.7 หาค่า R_f ของสารตัวอย่างเปรียบเทียบกับสารมาตรฐานเพอร์นิกโซโลนและเดกซาเมทาโซน จากสูตร

$$R_f = \frac{\text{ระยะทางที่สารเคลื่อนที่}}{\text{ระยะทางที่ตัวทำละลายเคลื่อนที่}}$$

ผลการวิจัย

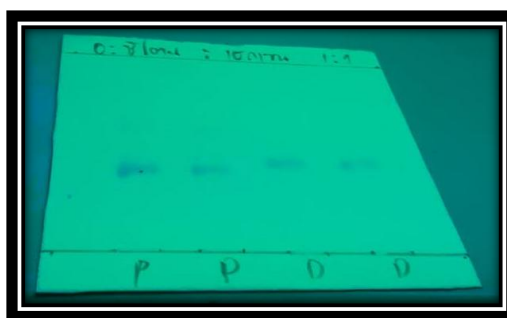
จากการวิเคราะห์หาสเปกตรัมที่ปลอมปนในยาแผนโบราณที่ขายในเขตพื้นที่ตำบลในเมือง อำเภอเมือง จังหวัดนครราชสีมา โดยใช้เทคนิคโครมาโตกราฟีแผ่นบาง ได้ผลการทดลอง ดังนี้

ผลการตรวจพิสูจน์เอกลักษณ์ของสารมาตรฐานสเปกตรัม 2 ชนิด คือ เดกซาเมทาโซน และเพอร์นิกโซโลน ด้วยเทคนิคโครมาโตกราฟีแผ่นบางเพื่อหาค่า R_f ของสารมาตรฐาน ได้ผลการทดลองแสดงดังตารางที่ 1

ตารางที่ 1 ผลการตรวจพิสูจน์เอกลักษณ์ของสารมาตรฐานสเตียรอยด์ 2 ชนิด คือ เดกซาเมทาโซน และเพรดนิโซโลน ด้วยเทคนิคโครมาโตกราฟีแผ่นบาง

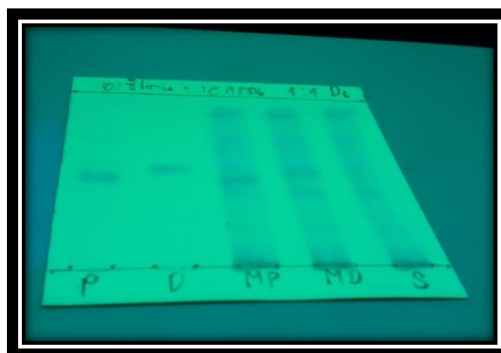
สารมาตรฐาน	ค่า R_f ของสารมาตรฐาน
เดกซาเมทาโซน	0.38
เพรดนิโซโลน	0.43

จากตารางที่ 1 ผลการตรวจพิสูจน์เอกลักษณ์ของสเตียรอยด์ 2 ชนิด คือ เดกซาเมทาโซน และเพรดนิโซโลน ด้วยเทคนิคโครมาโตกราฟีแผ่นบาง โดยหาระบบตัวทำละลายที่สามารถแยกสารมาตรฐานแล้วมีค่า R_f ใกล้เคียงกับ 0.5 มากที่สุด โดยใช้สารละลายผสมระหว่างอะซิโตนกับเฮกเซนในอัตราส่วนต่างกัน พบว่าอัตราส่วน 1 : 1 ค่า R_f ใกล้เคียงกับ 0.5 มากที่สุด คือ มีค่า R_f เท่ากับ 0.38 และ 0.43 ตามลำดับ ดังแสดงในภาพที่ 4

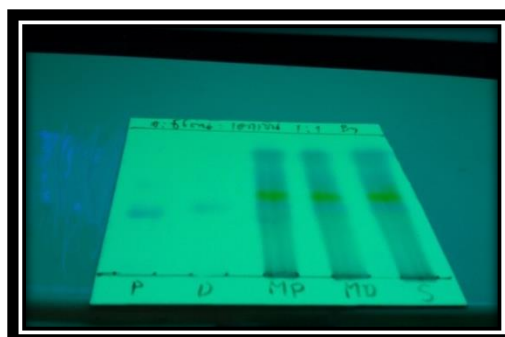


ภาพที่ 4 แสดงผลการระบบตัวทำละลายที่สามารถแยกสารมาตรฐานแล้วมีค่า R_f ใกล้เคียงกับ 0.5 มากที่สุด

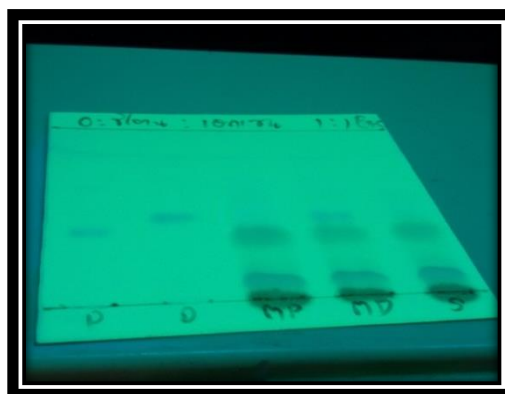
หลังจากนั้นนำตัวอย่างยาแผนโบราณชนิดเม็ดลูกกลอน เม็ด ยาแคปซูล ยาผง และยาน้ำ จำนวน 97 ตัวอย่าง มาตรวจพิสูจน์หาสเตียรอยด์ที่ปลอมปนในยาแผนโบราณที่ขายในเขตพื้นที่ตำบลในเมือง อำเภอเมือง จังหวัดนครราชสีมา โดยใช้เทคนิคโครมาโตกราฟีแผ่นบาง และเมื่อนำมาส่องดูการเรืองแสงภายใต้รังสียูวี ที่ความยาวคลื่น 254 นาโนเมตร ซึ่งพบการปลอมปนของสเตียรอยด์จำนวน 4 ตัวอย่าง โดยพบเดกซาเมทาโซน เพียงชนิดเดียว ในตัวอย่างชนิดผง 1 ตัวอย่าง และชนิดลูกกลอน 1 ตัวอย่าง พบเพรดนิโซโลนเพียงอย่างเดียว ในตัวอย่างชนิดน้ำ 1 ตัวอย่าง และพบสเตียรอยด์ทั้งสองชนิดในตัวอย่างชนิดเม็ด 1 ตัวอย่าง ดังแสดงตัวอย่างในภาพที่ 5 6 7 และ 8 ตามลำดับ



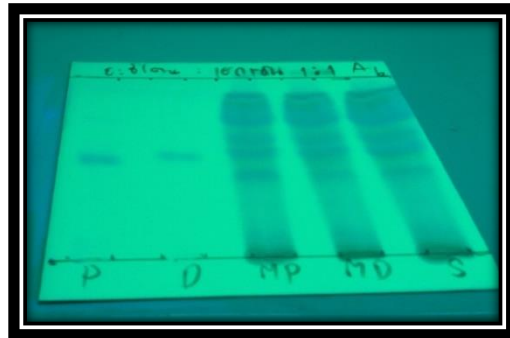
ภาพที่ 5 แสดงการพบสเต็มเซลล์ชนิดเดกซาเมทาโซนในตัวอย่างชนิดผง



ภาพที่ 6 แสดงการพบสเต็มเซลล์ชนิดเดกซาเมทาโซนในตัวอย่างชนิดลูกกลอน



ภาพที่ 7 แสดงการพบสเต็มเซลล์ชนิดเพรดนิโซโลนในตัวอย่างชนิดน้ำ



ภาพที่ 8 แสดงการพบสเตียรอยด์ชนิดเดกซาเมทาโซนและเพรดนิโซโลนในตัวอย่างชนิดเม็ด

จากผลการทดลองข้างต้นสามารถนำมาจำแนกตามรายละเอียดต่างๆ ได้ ดังแสดงในตารางที่ 2 3 4 5 และ 6 ตามลำดับ

ตารางที่ 2 ผลการตรวจสอบสเตียรอยด์ในยาแผนโบราณ โดยจำแนกตามแหล่งที่จำหน่าย

แหล่งที่จำหน่าย ตัวอย่างยาแผนโบราณ	จำนวนแหล่งที่ขายยาแผน โบราณ	จำนวนแหล่งที่ขายยาแผน โบราณที่ตรวจพบสเตียรอยด์	ร้อยละ
ร้านขายยาแผนปัจจุบัน	6	0	0.00
ร้านขายยาแผนโบราณ	5	0	0.00
งานจัดแสดงสินค้า	3	0	0.00
ร้านสะดวกซื้อ	4	0	0.00
ร้านขายของชำ	5	2	40.00
ตลาดนัด	3	1	33.33
แหล่งจำหน่ายอื่นๆ	3	1	33.33
รวม	29	4	13.79

จากตารางที่ 2 เมื่อนำตัวอย่างยาแผนโบราณมาจำแนกตามประเภทของแหล่งที่จำหน่ายพบว่า ร้านที่สุ่มตรวจทั้งหมดมี 29 ร้าน ซึ่งตรวจพบการปลอมปนสเตียรอยด์ จำนวน 3 ร้าน คิดเป็นร้อยละ 13.79 และจากการตรวจสอบพบว่าร้านขายของชำ พบยาที่มีการปลอมปนสเตียรอยด์มากที่สุด คือ ร้อยละ 40 ตลาดนัดและร้านอื่น ๆ พบร้อยละ 33.33 ส่วนร้านขายยาแผนปัจจุบัน ร้านขายยาแผนโบราณ งานจัดแสดงสินค้า และร้านสะดวกซื้อ ตรวจไม่พบการปลอมปนของสเตียรอยด์

ตารางที่ 3 ผลการตรวจสอบสเตียรอยด์ในยาแผนโบราณ โดยจำแนกตามการขึ้นทะเบียนตำรับยา

ตัวอย่างยา	จำนวนยาที่สุ่มตรวจ	จำนวนตัวอย่างยาที่ตรวจพบสเตียรอยด์	ร้อยละ
ขึ้นทะเบียนตำรับยา	72	0	0.00
ไม่ขึ้นทะเบียนตำรับยา	25	4	16.00
รวม	97	4	4.12

จากตารางที่ 3 เมื่อนำตัวอย่างยาแผนโบราณมาจำแนกตามการขึ้นทะเบียนตำรับยาแผนโบราณ พบว่าตัวอย่างยาทั้งหมด 97 ตัวอย่าง เป็นยาที่ขึ้นทะเบียนตำรับยาแผนโบราณจำนวน 72 ตัวอย่าง ตรวจไม่พบการปลอมปนสเตียรอยด์ และยาแผนโบราณที่ไม่ได้ขึ้นทะเบียนตำรับยาจำนวน 25 ตัวอย่าง ตรวจพบมีการปลอมปนสเตียรอยด์ จำนวน 4 ตัวอย่าง ซึ่งคิดเป็นร้อยละ 16 ของยาแผนโบราณที่ไม่ได้ขึ้นทะเบียนตำรับยา

ตารางที่ 4 ผลการตรวจสอบสเตียรอยด์ในยาแผนโบราณ โดยจำแนกตามชนิดของสเตียรอยด์

ชนิดของยา ที่สุ่มตรวจ	จำนวนยา ที่สุ่มตรวจ	จำนวนตัวอย่างยาที่ตรวจพบ สเตียรอยด์	ร้อยละ
เม็ด	9	1	11.11
ลูกกลอน	13	1	7.69
ผง	27	1	3.70
แคปซูล	16	0	0.00
น้ำ	32	1	3.13
รวม	97	4	4.12

จากตารางที่ 4 เมื่อนำตัวอย่างยาแผนโบราณมาจำแนกตามชนิดของยา ซึ่งพบการปลอมปนของสเตียรอยด์ จำนวน 4 ตัวอย่าง คือ ชนิดผง คิดเป็นร้อยละ 3.70 จากตัวอย่างยาชนิดผงทั้งหมด 27 ตัวอย่าง ชนิดลูกกลอน คิดเป็นร้อยละ 7.69 จากตัวอย่างยาชนิดลูกกลอนทั้งหมด 13 ตัวอย่าง ชนิดน้ำ คิดเป็นร้อยละ 3.13 จากตัวอย่างยาชนิดน้ำทั้งหมด 32 ตัวอย่าง และชนิดเม็ด เป็นร้อยละ 11.11 จากตัวอย่างยาชนิดเม็ดทั้งหมด 9 ตัวอย่าง

ตารางที่ 5 แสดงตัวอย่างที่ตรวจพบสเตียรอยด์โดยจำแนกตามชนิดของสเตียรอยด์

ตัวอย่างที่ตรวจพบสเตียรอยด์	เพรตนิโซโลน	เดกซาเมทาโซน
ยาชนิดเม็ด	พบ	พบ
ยาชนิดลูกกลอน	พบ	ไม่พบ
ยาชนิดผง	ไม่พบ	พบ
ยาชนิดน้ำ	พบ	ไม่พบ
ร้อยละ (จากตัวอย่างทั้งหมด)	3.09	2.06

หมายเหตุ พบ หมายถึง พบสเตียรอยด์ในตัวอย่างยาแผนโบราณ

ไม่พบ หมายถึง ไม่พบสเตียรอยด์ในตัวอย่างยาแผนโบราณ

จากตารางที่ 5 เมื่อนำตัวอย่างยาแผนโบราณมาจำแนกตามชนิดของยาสเตียรอยด์ ซึ่งพบการปลอมปนของสเตียรอยด์ จำนวน 4 ตัวอย่าง โดยพบเดกซาเมทาโซนเพียงชนิดเดียวในตัวอย่างชนิดผง คิดเป็นร้อยละ 3.70 และชนิดลูกกลอน คิดเป็นร้อยละ 7.69 พบเพรตนิโซโลนเพียงชนิดเดียวในตัวอย่างชนิดน้ำ คิดเป็นร้อยละ 3.13 และพบสเตียรอยด์ทั้งสองชนิดในตัวอย่างชนิดเม็ด เป็นร้อยละ 11.11 และพบว่า ยาแผนโบราณที่มีการปลอมปน สเตียรอยด์เป็นยาที่ไม่ได้ขึ้นทะเบียนตำรับยาทั้งหมด

ตารางที่ 6 แสดงตัวอย่างที่ตรวจพบสเตียรอยด์โดยจำแนกตามสรรพคุณของยาแผนโบราณ

ชนิดของโรค	จำนวนตัวอย่างยาที่สุ่มตรวจ	ร้อยละจากทั้งหมด	จำนวนตัวอย่างยาที่ตรวจพบสเตียรอยด์	ร้อยละจากชนิดของโรค
ระบบทางเดินอาหาร				
- ยาแก้ริดสีดวงทวาร	2	2.06	-	0.00
- ยาระบาย	3	3.09	-	0.00
- ยาแก้ท้องเสีย	2	2.06	-	0.00
- ยาแก้ปวดท้อง ท้องอืด ท้องเฟ้อ	3	3.09	1	33.33
ระบบขับถ่ายปัสสาวะ				
- ยารักษาโรคไต	1	1.03	-	0.00
ระบบทางเดินหายใจ				
- ยาแก้ภูมิแพ้	3	3.09	-	0.00
- ยาแก้หอบ	2	2.06	-	0.00

ชนิดของโรค	จำนวนตัวอย่าง ยาที่สุ่มตรวจ	ร้อยละจาก ทั้งหมด	จำนวนตัวอย่างยา ที่ตรวจพบสเตียรอยด์	ร้อยละจาก ชนิดของโรค
- ยาแก้ไอ	10	10.31	-	0.00
- ยาแก้ไข้หวัด	2	2.06	-	0.00
ระบบไหลเวียนโลหิต				
- ยารักษาโรคความดัน	4	4.12	-	0.00
- ยารักษาโรคหัวใจ	3	3.09	-	0.00
ระบบสืบพันธุ์				
- ยาคุมกำเนิด	8	8.25	-	0.00
- ยารักษาโรคติดต่อ	3	3.09	-	0.00
- ยาแก้ปวดข้อและข้ออักเสบ	3	3.09	-	0.00
- ยาแก้ปวดข้อและข้ออักเสบ	2	2.06	-	0.00
ระบบโครงสร้างและกล้ามเนื้อ				
- ยาแก้ปวดเมื่อย	12	12.37	-	0.00
ระบบต่อมไร้ท่อ				
- ยารักษาโรคเบาหวาน	4	4.12	1	25.00
ยารักษาโรคอื่นๆ				
- ยารักษาโรคผิวหนัง	6	6.19	-	0.00
- ยาแก้ลม	3	3.09	-	0.00
- ยาแก้ไอ	3	3.09	1	33.33
- โรคผิวหนัง	6	6.19	-	0.00
- แก้วร้อนใน อีสุกอีใส	5	5.15	-	0.00
- ผิดสำแดง	1	1.03	1	100.00
- น้ำเหลืองเสีย	2	2.06	-	0.00
- บำรุงน้ำนมให้นมบุตร	1	1.03	-	0.00
รวม	97	100.00	4	11.54

จากตารางที่ 6 เมื่อนำตัวอย่างที่ตรวจพบสเตียรอยด์โดยจำแนกตามสรรพคุณของยาแผนโบราณ พบว่า ตัวอย่างยาที่มีสรรพคุณแก้ปวดท้อง ท้องอืด ท้องเฟ้อ คิดเป็นร้อยละ 33.33 จากจำนวนยาแก้ปวดท้อง ท้องอืด ท้องเฟ้อ ทั้งหมด 3 ตัวอย่าง ยารักษาเบาหวาน คิดเป็นร้อยละ 25.00 จากจำนวนยารักษาเบาหวานทั้งหมด 4 ตัวอย่าง ยาแก้ไอคิดเป็นร้อยละ 33.33 จากจำนวนยาแก้ไอทั้งหมด 3 ตัวอย่าง และยาแก้ผดผื่นคัน คิดเป็นร้อยละ 100.00 จากจำนวนยาผดผื่นคันทั้งหมด 1 ตัวอย่าง และเมื่อนำตัวอย่างที่ตรวจพบสเตียรอยด์โดยจำแนกตามกลุ่มของโรค พบว่ากลุ่ม

ของโรคระบบทางเดินอาหาร พบ 1 ตัวอย่าง จากทั้งหมด 10 ตัวอย่าง คิดเป็นร้อยละ 10.00 กลุ่มยา
ระบบไร้ท่อ พบ 1 ตัวอย่าง จากทั้งหมด 4 ตัวอย่าง คิดเป็นร้อยละ 25.00 และกลุ่มยารักษาโรคอื่น ๆ
พบ 2 ตัวอย่าง คิดเป็นร้อยละ 7.40 จากทั้งหมด 27 ตัวอย่าง

สรุปและอภิปรายผล

จากการศึกษาการปลอมปนของสเตียรอยด์ทั้ง 2 ชนิดในยาแผนโบราณ ทำให้ทราบว่ามียา
แผนโบราณที่ขายในเขตในอำเภอเมือง จังหวัดนครราชสีมา เป็นจำนวนมาก ที่ไม่ได้ขึ้นทะเบียนตำรับ
ยาตามกฎหมาย ซึ่งส่วนใหญ่จะอยู่ในรูปของยาผง ร้อยละ 3.70 ของยาผงทั้งหมด 27 ตัวอย่าง ยาเม็ด
ร้อยละ 11.11 ของยาเม็ดทั้งหมด 9 ตัวอย่าง ยาลูกกลอน ร้อยละ 7.69 จากยาลูกกลอนทั้งหมด 13
ตัวอย่าง และยาน้ำ ร้อยละ 3.13 จากทั้งหมด 32 ตัวอย่าง จากผลการศึกษาพบว่า ความเสี่ยงในการ
ใช้ยาแผนโบราณ ที่มีการปนปลอมสารเพรดนิโซโลน และเดกซาเมทาโซน ในอำเภอเมือง จังหวัด
นครราชสีมา ยังคงมีอยู่ ซึ่งกลุ่มยาที่มีความเสี่ยง ได้แก่ ยาแก้ท้องอืด ท้องเฟ้อ ยารักษาโรคเบาหวาน
ยาแก้ไอเสบ ทั้งนี้เป็นยาที่ไม่ได้ขึ้นทะเบียนตำรับยาทั้งหมด และพบว่าการซื้อยาแผนโบราณ จาก
แหล่งจำหน่ายตลาดนัด คิดเป็นร้อยละ 40.00 ร้านขายของชำ คิดเป็นร้อยละ 33.33 และแหล่ง
จำหน่ายอื่นๆ คิดเป็น ร้อยละ 33.33 มีความเสี่ยงสูงในการตรวจพบสารดังกล่าว ข้อมูลการวิจัยใน
ครั้งนี้ สามารถใช้เป็นข้อมูลให้แก่ประชาชน ในการเฝ้าระวังการใช้ยาแผนโบราณให้มากยิ่งขึ้น

ข้อเสนอแนะ

1. ควรศึกษาในเขตพื้นที่อำเภออื่น ๆ ในจังหวัดนครราชสีมา
2. ควรแนะนำให้ประชาชนเลือกซื้อยาแผนโบราณที่มีการขึ้นทะเบียนตำรับยา

กิตติกรรมประกาศ

การวิจัยครั้งนี้ได้รับการสนับสนุนการวิจัยจากโครงการส่งเสริมครูผู้มีความสามารถพิเศษทาง
วิทยาศาสตร์และคณิตศาสตร์ (สควค.) และเป็นส่วนหนึ่งของวิทยานิพนธ์ปริญญาโทมหาบัณฑิต
คณะผู้วิจัยขอขอบคุณสาขาวิชาเคมี คณะวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยี มหาวิทยาลัยราชภัฏ
นครราชสีมา สำหรับอุปกรณ์ สารเคมีและสถานที่สำหรับการวิจัย

เอกสารอ้างอิง

- ดวงทิพย์ อรัญตร และคณะ. (2553). “การศึกษาการปนปลอมของสารสเตียรอยด์ เพรดนิโซโลน
และ เดกซาเมทาโซนในยาแผนโบราณในอำเภอหาดใหญ่ จังหวัดสงขลา.” วารสาร
มหาวิทยาลัยทักษิณ. 1: 20 - 30.
- นันทนา กลิ่นสุนทร, ดวงพร เข้มทอง และชมพูนุช นุตสถาปนา. (2555). “การศึกษาปริมาณสา
รสเตียรอยด์ที่ปลอมปนในยาสมุนไพร เขตพื้นที่สาธารณสุข 4, 5.” วารสารอาหารและยา.

[ออนไลน์]. 31 - 37. แหล่งที่มา :

<http://journal.fda.moph.go.th/journal/022555/06.pdf> [10 สิงหาคม 2558].

อำไพ ทองยี่นดี. (2547). การวิเคราะห์ปริมาณสารสเตียรอยด์ในยาชุดที่มีจำหน่ายใน อ.เมือง
จ.นครปฐม ด้วยเทคนิค TLC และ HPLC. ปริญญานิพนธ์วิทยาศาสตรบัณฑิต โปรแกรมวิชาเคมี
คณะวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยี มหาวิทยาลัยราชภัฏนครปฐม.

การศึกษาผลของตัวทำละลายต่อฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระและปริมาณฟีนอลิกรวม ของสารสกัดจากลำต้นยอบ้าน

An Investigation of the Effects of Extracting Solvents on Antioxidant Activity and Total Phenolic Contents of the Crude Extracts from *Morinda citrifolia* Stems

จิรายุช นาเสริฐ¹ จีราพัสฐ์ สีแจ่ม² จันทกานต์ นุชสุข³ กุลวดี ปิ่นวัฒน์¹ และ ภรภัทร สำอางค์^{1*}

Jirayus Nasert¹, Jirapast Sichaem² Chanthakan Nuchasuk and Pornpat Sam-ang^{1*}

¹สาขาวิชาเคมี คณะวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยี มหาวิทยาลัยราชภัฏพิบูลสงคราม

²ภาควิชาเคมี คณะวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยี มหาวิทยาลัยธรรมศาสตร์

³สาขาวิชาเคมี คณะวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยี มหาวิทยาลัยราชภัฏอุตรดิตถ์

*Corresponding author. E-mail: pornpat335@gmail.com

บทคัดย่อ

ในงานวิจัยนี้เป็นการศึกษาฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระและวิเคราะห์หาปริมาณฟีนอลิกรวมของลำต้นยอบ้านที่สกัดด้วยตัวทำละลายที่แตกต่างกัน ได้แก่ เอทานอล เอทานอลต่อน้ำในอัตราส่วน 40:60 และสารสกัดน้ำ จากผลการทดสอบฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระโดยวิธี 2,2-diphenyl-1-picrylhydrazyl radical scavenging capacity (DPPH assay) พบว่าสารสกัดหยาบเอทานอลมีฤทธิ์ยับยั้งอนุมูลอิสระสูงที่สุด โดยมีค่า IC_{50} เท่ากับ 5.75 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร รองลงมา คือสารสกัด 40% เอทานอลต่อน้ำ และสารสกัดน้ำ ซึ่งมีค่า IC_{50} เท่ากับ 8.22 และ 15.22 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร ตามลำดับ โดยใช้ BHT และวิตามินซีเป็นสารมาตรฐาน ซึ่งมีค่า IC_{50} 0.064 และ 0.033 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร ตามลำดับ เมื่อวิเคราะห์ปริมาณฟีนอลิกรวม พบว่าสารสกัดเอทานอลมีปริมาณฟีนอลิกรวมมากที่สุด เท่ากับ 12.87 ± 0.08 มิลลิกรัมสมมูล กรดแกลลิกต่อน้ำหนักสารสกัด จากผลการทดลองสามารถคัดเลือกสารสกัดของลำต้นยอบ้านที่มีประสิทธิภาพโดยมีปริมาณสารสำคัญในกลุ่มฟีนอลิกรวมสูงที่สุด และมีฤทธิ์ในการต้านอนุมูลอิสระ DPPH ซึ่งสามารถใช้เป็นแนวทางในการพัฒนาเป็นผลิตภัณฑ์เป็นเครื่องสำอางบำรุงผิวหรืออาหารเสริมอย่างมีประสิทธิภาพต่อไปในอนาคตได้ ทั้งนี้ สำหรับการระบุงค์ประกอบทางเคมีที่มีฤทธิ์ของสารสกัดอาจต้องทำการแยกสารบริสุทธิ์และพิสูจน์ทราบโครงสร้างทางเคมีต่อไป

คำสำคัญ: ยอบ้าน ตัวทำละลาย ต้านอนุมูลอิสระ ปริมาณฟีนอลิกรวม

Abstract

Air-dried stems of *Morinda citrifolia* were extracted by maceration using different solvents including ethanol, 40% ethanol/water and water. All crude extracts were further studied for antioxidant activity and analyzed total phenolic contents (TPC). The results showed that the crude ethanol extract displayed highly antioxidant activity with IC_{50} value of 5.75 mg/mL which were more than crude 40% ethanol/water and water extracts with IC_{50} values of 8.22 and 15.22 mg/mL, respectively in comparison to BHT (IC_{50} 0.064 mg/mL) and vitamin C (IC_{50} 0.033 mg/mL) as standard compounds. For total phenolic contents (TPC) of the crude ethanol extract, it showed the most TPC with a value of 12.87 ± 0.08 mgGAE/g crude extract. The finding of this study indicated that the crude ethanol extract of *Morinda citrifolia* showed the highest activity and great potential for cosmetic and food supplement applications. However, the identification of active compounds of the crude extract could be further confirmed by purification and elucidation.

Keywords: *Morinda citrifolia*, solvents, antioxidant, total phenolic contents

บทนำ

อนุมูลอิสระ (free radicals) เป็นโมเลกุลที่ไม่เสถียร เนื่องจากมีอิเล็กตรอนเดี่ยว 1 ตัว อยู่แถบเวเลนซ์ (valence shell) โดยปกติสารชีวโมเลกุลต่างๆ เช่น ไขมัน โปรตีน คาร์โบไฮเดรต DNA และ RNA เป็นต้น จะเป็นองค์ประกอบของเซลล์ในร่างกายของมนุษย์ ซึ่งสารชีวโมเลกุลเหล่านั้นจะมีอิเล็กตรอนอยู่เป็นคู่ทำให้โมเลกุลเสถียร แต่ถ้ามีอนุมูลอิสระมาดิงอิเล็กตรอนไป 1 ตัว ส่งผลให้โมเลกุลเหล่านั้นขาดอิเล็กตรอนและเกิดความไม่เสถียร จึงต้องไปดิงอิเล็กตรอนจากโมเลกุลอื่นมาอย่างต่อเนื่องจนเกิดเป็นปฏิกิริยาลูกโซ่ (chain reaction) ทำให้ร่างกายสูญเสียสมดุล อย่างไรก็ตามธรรมชาติของ ร่างกายจะมีระบบต้านออกซิเดชัน (antioxidant) ซึ่งร่างกายสามารถสร้างขึ้นได้เองทำหน้าที่ ควบคุมและช่วยยับยั้งอนุมูลอิสระไม่ให้ทำลายเซลล์ภายในร่างกาย แต่ถ้าร่างกายมีปริมาณอนุมูลอิสระมากเกินไประบบต้านออกซิเดชันจะจัดการได้จนทำให้เกิดภาวะเครียดออกซิเดชัน (oxidative stress) จะก่อให้เกิดผลเสียต่อเซลล์ทำให้เซลล์เสื่อมสภาพอันนำไปสู่ภาวะการเกิดพยาธิสภาพของโรคบางโรคขึ้น เช่น โรคหัวใจ โรคมะเร็ง โรคความดันโลหิตสูง โรคความอัลไซเมอร์ (Alzheimer) และโรคพาร์กินสัน (Parkinson) เป็นต้น

สารต้านอนุมูลอิสระ จึงมีบทบาทสำคัญต่อร่างกายที่จะดักจับอนุมูลอิสระ ช่วยลดอัตราเสี่ยงต่อการเกิดโรคต่างๆได้ ซึ่งแหล่งสารต้านอนุมูลอิสระจากธรรมชาติพบในพืช ผัก และผลไม้หลายชนิด โดยจะมีกลุ่มสารสำคัญ ได้แก่ สารฟีนอลิก (phenolic compounds) เบต้า-แคโรทีน (beta-carotenes) แคโรทีนอยด์ (carotenoids) วิตามินซี (vitamin C) และแอนโทไซยานิน (anthocyanins) รวมทั้งพบว่ายังเป็นส่วนผสมในผลิตภัณฑ์อาหารเสริม เช่น สารสกัดจากแปะก๊วย เมล็ดองุ่น และชา เป็นต้น (ไมตรี สุทธจิตต์, 2545)

ยอบ้าน (*Morinda citrifolia* L.) เป็นสมุนไพรพื้นบ้านชนิดหนึ่งในที่คนไทยทุกภูมิภาครู้จักกันดี มีคุณค่าทางอาหารและสรรพคุณ ดังนี้ ใบยอ ใช้แก้ท้องร่วง ลดไข้ ผลยอ แก้กลิ้นไส้อาเจียน และขับลม ในปัจจุบันมีผลิตภัณฑ์น้ำลูกยอช่วยลดความดันได้อีกด้วย สำหรับยอบ้านมีรายงานวิจัยพบว่าสารสกัดหยาบเมทานอลส่วนของผลและน้ำลูกยอมีฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระ (Yang et al., 2010; Su et al., 2005) โดยทำการทดสอบด้วยวิธี DPPH (1,1-diphenyl-2-picrylhydrazyl radicals) และ ONOO- (Peroxynitrites) อีกทั้งยังแสดงฤทธิ์ยับยั้งแบคทีเรีย (antimicrobial) และต้านการอักเสบ (anti-inflammatory) (Sang et al., 2003; Takashima et al., 2007) นอกจากนี้สารสกัดหยาบเอทานอลจากรากยอบ้านยังสามารถยับยั้งการทำงานของเอนไซม์อะซิติลโคลีนเอสเทอเรสได้ (ตามรัศมน และคณะ, 2561) โดยกลุ่มสารสำคัญที่ออกฤทธิ์ทางชีวภาพ ได้แก่ สารกลุ่มแอนทราควิโนน (anthraquinones) ฟลาโวนอยด์ (flavonoids) อนุพันธ์ของคูมาริน (coumarins) และ อิริดอยด์ (iridoids) เป็นต้น สำหรับงานวิจัยในครั้งนี้มีจุดประสงค์เพื่อศึกษาผลของตัวทำละลายที่มีขั้วต่างกันต่อปริมาณฟีนอลิกทั้งหมดและความสามารถในการยับยั้งอนุมูลอิสระของสารสกัดจากลำต้นยอบ้าน ทั้งนี้คาดว่าจะองค์ความรู้ที่ได้รับสามารถเป็นประโยชน์ในการสนับสนุนให้ช่วยกันอนุรักษ์และส่งเสริมการปลูกยอบ้านและพัฒนาต่อยอดนำไปสู่ด้านการแพทย์ รวมทั้งผลการทดลองที่ได้อาจจะเป็นข้อมูลพื้นฐานในการแยกสารบริสุทธิ์ที่ออกฤทธิ์ต่อไป

วัตถุประสงค์ของการวิจัย

เพื่อศึกษาฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระโดยวิธี 2,2-diphenyl-1-picrylhydrazyl radical scavenging assay (DPPH assay) และหาปริมาณสารฟีนอลิกรวมทั้งหมดของสารสกัดจากลำต้นยอบ้านที่สกัดด้วยตัวทำละลายต่างกัน

วิธีดำเนินการวิจัย

การตรวจสอบเอกลักษณ์ของสมุนไพรบ้าน

เก็บตัวอย่างพืชแห้ง ตามวิธีของกองกานดาและวรตลต์ (2559) ปี 2560 ณ ตำบลหนองแม่แตง อำเภอไท่รงาม จังหวัดกำแพงเพชร ดำเนินการตรวจสอบเอกลักษณ์และระบุชนิดพืชอัดแห้ง โดย ผศ.ดร.กาญจนา ธนนพคุณ มีเลข voucher specimen QBG. No. 105894 และเก็บรักษาตัวอย่างพืชอัดแห้งไว้ ณ ห้องเก็บรวบรวมพรรณไม้ คณะวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยี มหาวิทยาลัยราชภัฏพิบูลสงคราม และหอพรรณไม้ สวนพฤกษศาสตร์สมเด็จพระนางเจ้าสิริกิติ์ อ.แม่ริม จังหวัดเชียงใหม่

การเตรียมตัวอย่างยอบ้านก่อนการสกัด

นำตัวอย่างลำต้นยอบ้านจากตำบลหนองแม่แตง อำเภอไท่รงาม จังหวัดกำแพงเพชร ปี พ.ศ. 2560 มาตากแห้งที่อุณหภูมิห้องในบริเวณที่อากาศถ่ายเทสะดวกเพื่อป้องกันสารสำคัญสลายตัว จากนั้นบดด้วยเครื่องบดอย่างหยาบ

การเตรียมสารสกัดจากยอบ้านด้วยวิธีการสกัดเย็น

ซึ่งส่วนลำต้นยอบ้านแห้งบดอย่างหยาบ นำมาสกัดเย็นโดยใช้ตัวทำละลายที่แตกต่างกัน ได้แก่ เอทานอล เอทานอลและน้ำในอัตราส่วน 40:60 และน้ำ แช่วีซตัวอย่างด้วยตัวทำละลายแต่ละชนิดไว้ที่อุณหภูมิห้องพร้อมทั้งกวนเป็นครั้งคราว เป็นเวลา 1 สัปดาห์ จากนั้นกรองด้วยผ้าขาวบาง แล้วนำมาสกัดซ้ำด้วยตัวทำละลายเดิมจนกระทั่งสารสกัดใสไม่มีสี นำแต่ละสารสกัดที่กรองได้ทั้งหมดไประเหยตัวทำละลายออกด้วยเครื่องระเหยแห้งลดความดันแบบหมุน (rotary reduced pressure evaporator) จนได้สารสกัดหยาบเอทานอล สารสกัดหยาบ 40% เอทานอลและน้ำ และสารสกัดหยาบน้ำ มีร้อยละของสารสกัดหยาบ (% of yield) เท่ากับ 3.91, 3.25 และ 3.78% ตามลำดับ เก็บสารสกัดหยาบทั้งหมดในขวดสีชาที่อุณหภูมิ 4 องศาเซลเซียส เพื่อทดสอบฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระและหาปริมาณฟีนอลิกรวมต่อไป

การทดสอบฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระเชิงปริมาณวิเคราะห์โดยวิธี DPPH radical scavenging assay

ทดสอบตามวิธีของ Yen และ Hsieh (1997) เตรียมสารสกัดที่ความเข้มข้น 20.0 mg/mL จากนั้นเจือจางลงให้มีความเข้มข้น 10.0, 5.00, 2.50, 1.25 และ 0.625 mg/mL ในเมทานอล เติมสารละลายตัวอย่างแต่ละความเข้มข้น ปริมาตร 50 μ L ลงในช่องของไมโครเวลเพลท (microwell plate) จากนั้นเติมสารละลาย 0.3 mM DPPH ปริมาตร 200 μ L ลงไปแล้ว เขย่าให้เข้ากัน ทิ้งไว้ที่มีอุณหภูมิห้อง 30 นาที แล้ววัดค่าการดูดกลืนแสงสูงสุดความยาวคลื่น 517 นาโนเมตร โดยมีเมทา

นอลเป็นสารละลายแบงค์ (blank solution) ทำการทดลองซ้ำ โดยเปลี่ยนจากสารสกัดเป็นสารมาตรฐาน BHT และ วิตามินซี (ascorbic acid) เข้มข้น 1-0.1 mg/mL คำนวณร้อยละการต้านอนุมูลอิสระ (% radical scavenging) จากสมการคำนวณ ดังนี้

$$\% \text{ radical scavenging} = (1 - (A_{\text{sample}}/A_{\text{control}})) \times 100$$

เมื่อ A_{sample} = ค่าการดูดกลืนแสงที่วัดได้ของสารทดสอบที่ผสมกับ DPPH

A_{control} = ค่าการดูดกลืนแสงที่วัดได้ของตัวทำละลายที่ผสมกับ DPPH

หมายเหตุ แต่ละความเข้มข้นทำการทดสอบ 3 ซ้ำ

การหาปริมาณฟีนอลิกรวมด้วยวิธี Folin-Ciocalteu colorimetric assay

ทำการทดสอบตามวิธีของ Folin และ Ciocalteu (1927) เติมสารสกัดหยาบแต่ละตัวทำละลายที่ความเข้มข้น 10 mg/mL ปริมาตร 500 μL ผสมกับ Folin- Ciocalteu reagent (10% v/v) ปริมาตร 2.5 mL ตั้งทิ้งไว้ 6 นาที จากนั้นเติมสารละลายโซเดียมคาร์บอเนต (7.5% w/v) 2 mL เขย่าตั้งทิ้งไว้ในที่มีอุณหภูมิห้อง 90 นาที จากนั้นวัดค่าการดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 765 นาโนเมตร ทำการทดลองตัวอย่างละ 3 ซ้ำ นำค่าการดูดกลืนแสงเฉลี่ยเทียบกับกราฟมาตรฐานสารละลายกรดแกลลิกเข้มข้น 400, 300, 200, 100, 50 และ 25 $\mu\text{g/mL}$ มีสมการเส้นตรง คือ $y = 0.0189x + 0.3271$ และมีค่า $R^2 = 0.9965$ และคำนวณปริมาณฟีนอลิกทั้งหมดในหน่วยมิลลิกรัมสมมูลของกรดแกลลิกต่อน้ำหนักพืชแห้ง 1 g (mgGAE/g dried weight)

ผลการวิจัย

ผลการสกัดลำต้นยอบ้านโดยวิธีการสกัดเย็นด้วยตัวทำละลายที่ต่างกัน พบว่าสารสกัดหยาบที่ได้มีลักษณะเหนียวหนืดสีน้ำตาลเหลือง และมีร้อยละของสารสกัดต่อน้ำหนักลำต้นแห้งใกล้เคียงกัน (ตาราง 1)

ตาราง 1 ร้อยละของน้ำหนักลำต้นแห้งที่สกัดด้วยตัวทำละลายต่างกัน

ตัวทำละลาย	น้ำหนักพืชแห้ง (กรัม)	น้ำหนักของสารสกัด (กรัม)	ร้อยละโดยน้ำหนัก
เอทานอล	46.22	1.81	3.91
เอทานอลต่อน้ำ (40:60)	30.73	1.00	3.25
น้ำ	30.94	1.17	3.78

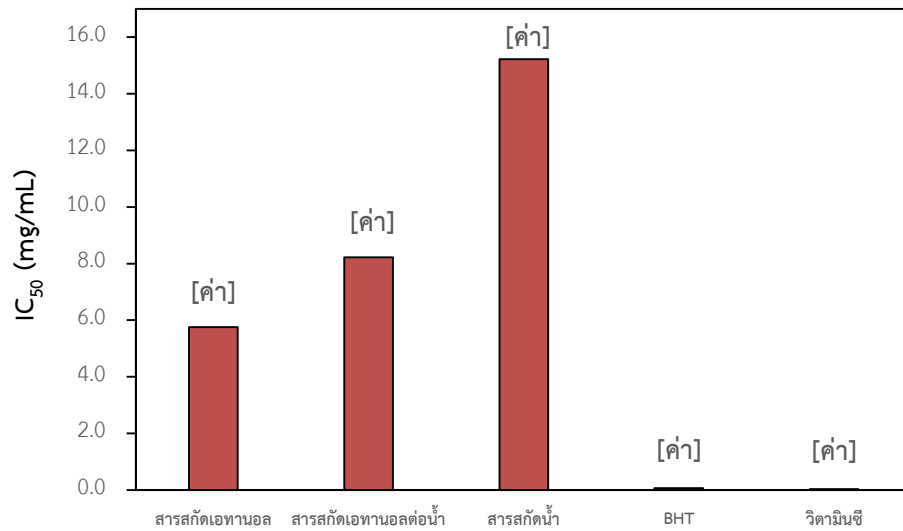
เมื่อนำสารสกัดเอทานอล 40% เอทานอลต่อน้ำ และน้ำ ทดสอบฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระโดยวิธีวัดปริมาณการต้านอนุมูลอิสระ DPPH เนื่องจากเป็นวิธีที่ไม่ซับซ้อน ใช้สารปริมาณน้อย ง่าย และสะดวกต่อการวิเคราะห์ (Mishra et al., 2012) พบว่าสารสกัดเอทานอลแสดงฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระได้ดีที่สุด เมื่อเทียบกับสารสกัด 40% เอทานอลต่อน้ำ และสารสกัดน้ำ โดยมีค่า IC_{50} เท่ากับ 5.75, 8.22 และ 15.22 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร ตามลำดับ เมื่อเทียบกับสารมาตรฐาน ได้แก่ BHT และวิตามินซี โดยมีค่า IC_{50} เท่ากับ 0.064 และ 0.033 mg/mL ตามลำดับ (ตารางที่ 2-3 ภาพที่ 1) จากนั้นวิเคราะห์ปริมาณฟีนอลิกรวมของสารสกัดลำต้นยอบ้านด้วยเอทานอล 40%เอทานอลต่อน้ำ และน้ำ เทียบกับกราฟมาตรฐานของกรดแกลลิก (ภาพที่ 2) พบว่าสารสกัดเอทานอล มีปริมาณฟีนอลิกรวมสูงสุด มีค่าเท่ากับ 12.87 มิลลิกรัมสมมูลกรดแกลลิกต่อน้ำหนักสารสกัด ส่วนสารสกัด 40%เอทานอลต่อน้ำ และสารสกัดน้ำ มีค่าเท่ากับ 10.90 และ 6.30 มิลลิกรัมสมมูลกรดแกลลิกต่อน้ำหนักสารสกัด ตามลำดับ (ตารางที่ 3)

ตารางที่ 2 ร้อยละการต้านอนุมูลอิสระ DPPH ของสารสกัดจากลำต้นยอบ้านด้วยตัวทำละลายต่างๆ

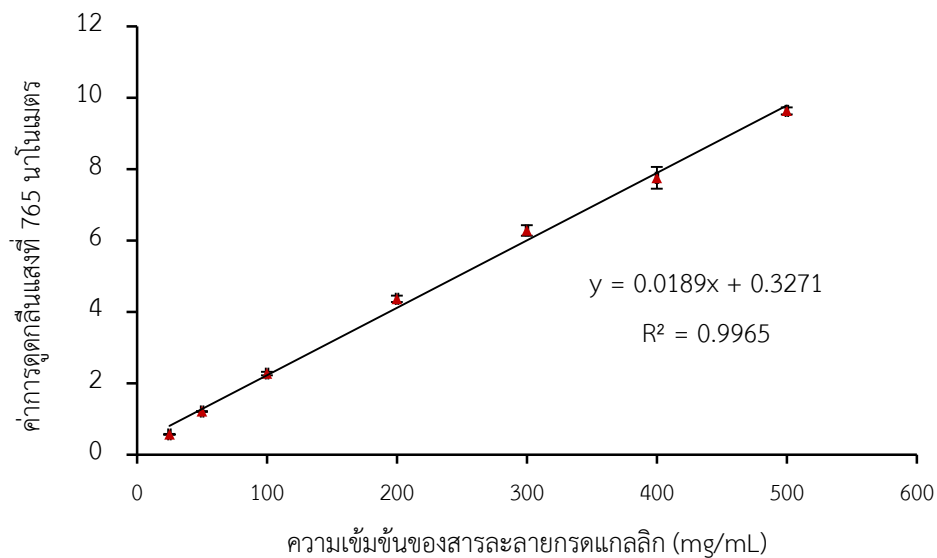
ตัวทำละลาย	ร้อยละของการต้านอนุมูลอิสระ (% radical scavenging)				
	20 mg/mL	10 mg/mL	5 mg/mL	2.5mg/mL	1.25 mg/mL
เอทานอล	63.89±0.71	56.74±0.23	48.98±1.02	40.55±1.06	31.91±0.85
เอทานอลต่อน้ำ (40:60)	73.89±0.39	55.42±0.25	35.09±0.67	19.05±0.02	1.52±0.41
น้ำ	55.00±0.57	41.05±1.48	28.13±0.72	9.46±0.72	2.61±0.34

ตาราง 3 ปริมาณฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระและปริมาณฟีนอลิกรวมในสารสกัดหยาบลำต้นยอบ้านที่สกัดด้วยตัวทำละลายต่างกัน

ตัวอย่าง	ปริมาณสารฟีนอลิกรวม (mg GAE/g crude extract)	ปริมาณฤทธิ์ต้านอนุมูล อิสระ; IC_{50} (mg/mL)
สารสกัดเอทานอล	12.87±0.08	5.75
สารสกัดเอทานอลต่อน้ำ (40:60)	10.90±0.11	8.22
สารสกัดน้ำ	6.30±0.01	15.22
BHT	-	0.064
Vitamin C	-	0.033



ภาพ 1 ปริมาณสารต้านอนุมูลอิสระของสารสกัดจากลำต้นยอบ้านด้วยตัวทำละลายที่ต่างกันเทียบกับสารมาตรฐาน



ภาพ 2 กราฟความสัมพันธ์ระหว่างค่าการดูดกลืนแสงกับความเข้มข้นของกรดแกลลิก (mg/mL)

สรุปและอภิปรายผล

การทดสอบฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระและปริมาณฟีนอลิกรวมของสารสกัดจากลำต้นยอบ้านที่สกัดด้วยตัวทำละลายที่ต่างกัน ได้แก่ เอทานอล 40% เอทานอลต่อน้ำ และน้ำ พบว่าสารสกัดเอทานอลสามารถต้านอนุมูลอิสระได้ดีที่สุดเมื่อเทียบกับตัวทำละลายอื่น ซึ่งสอดคล้องกับงานวิจัยของ ภาพ

เกล้าและชญาธิศา (2558) ที่รายงานว่าสารสกัดจากสมุนไพรอทานอลมีฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระที่ดีกว่าสารสกัด 40%เอทานอลต่อน้ำ และน้ำ ทั้งนี้เนื่องมาจากชนิดสารสำคัญของยอบ้านที่มีรายงานไว้ส่วนใหญ่เป็นสารในกลุ่มแอนทราควิโนน (anthraquinones) ฟลาโวนอยด์ (flavonoids) อนุพันธ์ของคูมาริน (coumarins) และ อิริดอยด์ (iridoids) เป็นต้น (Kamiya et al., 2005; Wang et al., 2016) โดยสารประกอบกลุ่มดังกล่าวนี้ สามารถออกฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระได้ดีมากและยังสามารถละลายเอทานอลได้ดี ตามกฎการละลาย (like dissolves like) จึงส่งผลให้สารสกัดเอทานอลของยอบ้านออกฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระได้ดีกว่าสารสกัดในตัวทำละลายอื่นๆ ในส่วนสารสกัดจากตัวทำละลายน้ำหรือสารสกัดจากตัวทำละลายที่มีขั้วสูงมาก บางส่วนอาจจะเป็นเกลือหรือสารประกอบมีขั้วที่มีโครงสร้างเล็กออกมาผสมกันอยู่ และโดยส่วนมากเกลือหรือสารประกอบมีขั้วสูงที่มีโครงสร้างเล็กมักจะไม้ออกฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระ นั่นหมายความว่า สารสกัดจากตัวทำละลายที่มีขั้วสูงมากเช่นสารสกัดน้ำ หรือ 40% เอทานอล ย่อมน่าจะมีเกลือหรือสารประกอบมีขั้วสูงที่มีโครงสร้างเล็กผสมอยู่ ส่งผลให้ฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระโดยรวมของสารสกัดลดลงเมื่อใช้ตัวทำละลายที่มีขั้วสูงขึ้น จากการศึกษาตัวทำละลายต่อปริมาณฟีนอลิกรวมของสารสกัดจากลำต้นยอบ้าน พบว่าสารสกัดเอทานอลมีปริมาณสารประกอบฟีนอลิกทั้งหมดสูงที่สุดเมื่อเทียบกับตัวทำละลายอื่นๆ เป็นที่ทราบกันดีอยู่แล้วว่าสารประกอบฟีนอลิกเป็นสารสำคัญที่มีสมบัติต้านอนุมูลอิสระที่สามารถพบได้ทั่วไปในพืชหลายชนิด โดยทำหน้าที่ในการต้านปฏิกิริยาออกซิเดชัน ทำให้อนุมูลอิสระมีความเสถียรขึ้น (Andarwulan et al., 2010, Sowndhararajan & Kang, 2013) จากผลการทดลองสรุปได้ว่า สารสกัดเอทานอลมีปริมาณสารประกอบฟีนอลิกทั้งหมดสูงที่สุดแสดงว่าตัวทำละลายเอทานอลเป็นตัวทำละลายอินทรีย์ที่สามารถละลายสารประกอบฟีนอลิกออกมาได้ดีที่สุด ซึ่งสอดคล้องกับผลที่ดีที่สุดในการออกฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระ

ข้อเสนอแนะ

งานวิจัยนี้ได้สร้างองค์ความรู้ใหม่เกี่ยวกับระบบตัวทำละลายเหมาะสมและมีประสิทธิภาพในการต้านอนุมูลอิสระและได้ปริมาณสารฟีนอลิกรวมของสารสกัดจากลำต้นยอบ้านที่ดีที่สุด แต่อย่างไรก็ตามควรศึกษาความสามารถในต้านอนุมูลอิสระวิธีอื่นๆ เช่น วิธี Ferric reducing antioxidant power assay (FRAP) และ ABTS radical cation decolorization assay เป็นต้น เพื่อเป็นข้อมูลในการแยกสารบริสุทธิ์และพิสูจน์ทราบโครงสร้างต่อไป

กิตติกรรมประกาศ

ผู้วิจัยขอขอบคุณกองทุนพัฒนาการวิจัยและบริหารจัดการงานวิจัยประจำปีงบประมาณ พ.ศ.2561 ที่ให้ทุนสนับสนุนทำวิจัย ศูนย์วิทยาศาสตร์ที่ให้ความอนุเคราะห์ในการใช้เครื่องมือ และสาขาวิชาเคมี คณะวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยี มหาวิทยาลัยราชภัฏพิบูลสงคราม ที่อำนวยความสะดวกด้านสถานที่และอุปกรณ์ต่างๆ ให้งานวิจัยฉบับนี้สำเร็จลุล่วงไปด้วยดี

เอกสารอ้างอิง

- ก่องกานดา ชยามฤต และวรลลิต์ แจ่มจำริญ. (2559). *คู่มือจำแนกพรรณไม้*. กรุงเทพฯ: สวนพฤกษศาสตร์ป่าไม้ สำนักวิจัย การอนุรักษ์ป่าไม้และพันธุ์พืช.
- ตามรัศมน สุรางกูร กมลวรรณ ศรีสวัสดิ์ ประภรณ์ เลิศสุวรรณไพศาล อรุณลักษณ์ โชตินาครินทร์ และภรภัทร สำอางค์. (2560). การศึกษาสารสกัดยอบ้านต่อฤทธิ์ยับยั้งการทำงานของเอนไซม์อะซิติลโคลีนเอสเทอเรส. ใน *การประชุมวิชาการระดับชาติพิบูลสงครามวิจัย ครั้งที่ 3 “Thailand 4.0 นวัตกรรมและการวิจัยเพื่อการพัฒนาอย่างยั่งยืน”*. พิษณุโลก: มหาวิทยาลัยราชภัฏพิบูลสงคราม.
- ภาเกล้า ภูมิใหญ่ และชญานิสรา สุพา. (2558). ตัวทำละลายที่มีผลต่อฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระและสารประกอบฟีนอลิกทั้งหมดจากพืชสมุนไพร. ใน *การประชุมวิชาการระดับชาติ ครั้งที่ 2*. สถาบันวิจัยและพัฒนา มหาวิทยาลัยราชภัฏกำแพงเพชร.
- ไมตรี สุทธิจิตต์. (2545). แอนติออกซิแดนท์: สารป้องกันโรคและเสริมสุขภาพ. *วารสารมหาวิทยาลัยมหาสารคาม*, 21(1), 57-62.
- Andarwulan, N., Batari, R., Sandrasari, D.A., Bolling, B. & Wijaya, N. (2010). Flavonoid content and antioxidant activity of vegetables from Indonesia. *Food chemistry*, 121(4), 1231-1235.
- Kamiya, K., Tanaka, Y., Endang, H., Umar, M. & Satake, T. (2005). New anthraquinone and iridoid from the fruits of *Morinda citrifolia*. *Chemical & Pharmaceutical Bulletin*, 53(12), 343-345.
- Folin, O. & Ciocalteu, V. (1927). On tyrosine and tryptophane determinations in proteins. *Journal of Biological Chemistry*, 73, 627-650.
- Sang, S., Liu, G., He, K., Zhu, N., Dong, Z., Zheng, Q., Rosena, R. T. & Hoa, C. (2003). ew unusual iridoids from the leaves of Noni (*Morinda citrifolia* L.) show inhibitory effect on ultraviolet B-Induced transcriptional activator protein-1 (AP-1) activity. *Bioorganic & Medicinal Chemistry*, 11(12), 2499-2502.

- Sowndhararajan, K. & Kang, S. C. (2013). Free radical scavenging activity from different extracts of leaves of *Bauhinia vahlii* Wight & Arn. *Saudi Journal of Biological Sciences*, 20(4), 319-325.
- Su, B., Pawlus, A. D., Jung, H., Keller, W. J., McLaughlin, J. L. & Kinghorn, A. D. (2005). Chemical constituents of the fruits of *Morinda citrifolia* (Noni) and their antioxidant activity. *Journal of Natural Products*, 68(4), 592-595.
- Takashima, J., Ikeda, Y., Komiyama, K., Hayashi, M., Kishida, A. & Ohsaki, A. (2007). New constituents from the leaves of *Morinda citrifolia*. [*Chemical & Pharmaceutical Bulletin*](#), 55(2), 343-345.
- Wang, J., Qin, X., Chen, Z., Ju, Z., He, W., Tan, Y., Zhou, X., Tu, Z., Lu, F. & Liu, Y. (2016). Two new anthraquinones with antiviral activities from the barks of *Morinda citrifolia* (Noni). *Phytochemistry Letters*, 15, 13-15.
- Yang, J., Gadi, R., Paulino, R. & Thomson, T. (2010). Total phenolics, ascorbic acid, and antioxidant capacity of noni (*Morinda citrifolia* L.) juice and powder as affected by illumination during storage. *Food Chemistry*, 122, 627-632.
- Yen, G.C. & Hsieh, G.L. (1997). Antioxidant effects on dopamine and related compounds. *Biosci biotech biochem journal*, 61(10), 1646-1649.

**ความชุกและปัจจัยที่มีความสัมพันธ์กับภาวะไขมันในเลือดสูงของ
ผู้ติดเชื้อเอชไอวีหรือผู้ป่วยโรคเอดส์ที่มารักษาโรงพยาบาลสมเด็จพระญาณสังวร
จังหวัดเชียงราย**

**Prevalence and Associated Factors with Dyslipidemia among HIV/AIDS
Patients in Somdej Phrayansangworn Hospital, Chiang Rai Province**

จิราภรณ์ แสงสุวรรณ(Jiraporn Sangsuwan)¹ ปาริษา แลวะฤทธิ์(Parisa Leawarit)¹
มาลัย ใจสุตา(Malai Jaisuda)² จิตาภา กระหมุดความ(Jidapa Kramudkwarm)²
อนงค์นาถ มือนินา(Anongnad Mee-inta)³ วิภพ สุทธนะ(Wipob Suttana)¹
ธูปกรณ์ เรือนใจ(Thapakorn Ruanjai)^{1*}

1 สาขาวิชาสาธารณสุขศาสตร์ สำนักวิชาวิทยาศาสตร์สุขภาพ มหาวิทยาลัยแม่ฟ้าหลวง

2 กลุ่มงานบริการด้านปฐมภูมิและองค์รวม โรงพยาบาลสมเด็จพระญาณสังวร จังหวัดเชียงราย

3 สาขาวิชากายภาพบำบัด สำนักวิชาวิทยาศาสตร์สุขภาพ มหาวิทยาลัยแม่ฟ้าหลวง

*Corresponding author. E-mail:Thapakorn.rua@mfu.ac.th

บทคัดย่อ

ภาวะไขมันในเลือดสูงเป็นปัญหาสาธารณสุขที่สำคัญ เป็นปัจจัยเสี่ยงที่สำคัญของการเกิดโรคหัวใจและหลอดเลือด ซึ่งเป็นสาเหตุการเสียชีวิตของคนทั่วโลกและประเทศไทย วัตถุประสงค์สำหรับการศึกษาในครั้งนี้คือ เพื่อค้นหาความชุกและปัจจัยที่มีความสัมพันธ์กับภาวะไขมันในเลือดสูงในผู้ติดเชื้อเอชไอวีหรือผู้ป่วยโรคเอดส์ ในโรงพยาบาลสมเด็จพระญาณสังวร จังหวัดเชียงราย ทำการศึกษาแบบภาคตัดขวาง ดำเนินการเก็บข้อมูลจากกลุ่มตัวอย่างที่เข้ามารักษาที่แผนก จำนวน 578 คน ระหว่างเดือน มกราคม ถึง มีนาคม พ.ศ.2561 โดยการเก็บรวบรวมข้อมูลด้านลักษณะทางประชากร และข้อมูลด้านผลคลินิกทางห้องปฏิบัติการ ภาวะไขมันในเลือดมาจากการวินิจฉัยของแพทย์โดยอ้างอิงตามเกณฑ์ของ National Cholesterol Education Program (NCEP) และทำการวิเคราะห์ข้อมูลโดยใช้สถิติเชิงพรรณนา ได้แก่ ความถี่ ร้อยละ ค่าเฉลี่ย และส่วนเบี่ยงเบนมาตรฐาน และวิเคราะห์ความสัมพันธ์โดยใช้การทดสอบสถิติพหุโลจิสติก ผลการศึกษาพบความชุกของภาวะไขมันในเลือดสูง ร้อยละ 20.1 และพบปัจจัยที่มีความสัมพันธ์กับภาวะไขมันในเลือดสูง ได้แก่ อายุ (Adjusted OR=2.64; 95% CI=0.78-8.95) ความดันโลหิตสูง (Adjusted OR=3.75; 95% CI=2.08-6.75) ผลการวิจัยชี้ให้เห็นว่า ความชุกของภาวะไขมันในเลือดสูงในการศึกษานี้ค่อนข้างสูง ดังนั้น หน่วยงานที่เกี่ยวข้องควรจัดโครงการส่งเสริมสุขภาพเพื่อลดภาวะไขมันในเลือดสูงของ

ผู้ป่วยติดเชื้อเอชไอวีหรือผู้ป่วยโรคเอดส์ในโรงพยาบาลอย่างเป็นรูปธรรมและคัดกรองผู้ที่เสี่ยงต่อการเกิดภาวะไขมันในเลือดสูงให้ได้รับการช่วยเหลือและดูแลอย่างเหมาะสม

คำสำคัญ: ความชุก ภาวะไขมันในเลือดสูง ผู้ติดเชื้อเอชไอวีหรือผู้ป่วยโรคเอดส์

Abstract

In Thailand, dyslipidemia is one of the most important public health problems. Dyslipidemia is a major risk factor for development of cardiovascular disease that causes deaths around the world including Thailand. The objectives of this study aimed to investigate the prevalence and associated factors of dyslipidemia among HIV/AIDS patients in Somdej Phrayansangworn hospital. A Cross-sectional survey study was conducted in participants from ART Clinic, Somdej Phrayansangworn Hospital. Data were collected from January to March 2018. This study recruited a total of 578 patients. The research instruments consisted of socio-demographic factors and laboratory data. Dyslipidemia was diagnosed by physicians under NID criteria. After data collection, it was analyzed by descriptive analysis such as frequency, percentage, mean, standard deviation, and multiple logistic regression analysis. The results revealed that prevalence of dyslipidemia was about 20.1 %. Multiple logistic regression analysis revealed significant association between age (Adjusted OR=2.64; 95% CI=0.78-8.95) and hypertension (Adjusted OR=3.75; 95% CI=2.08-6.75). Our findings indicated a high prevalence of dyslipidemia among HIV/AIDS patients. Thus, this study supports a necessity to promote and prevent dyslipidemia in HIV/AIDS patients and also risk group should be screening for dyslipidemia for proper management in routine ART clinical care in Chiang Rai Province.

Key words: Prevalence, Dyslipidemia, HIV/AIDS Patients

บทนำ

ภาวะไขมันในเส้นเลือดสูง (Dyslipidaemia) เป็นภาวะที่มีระดับไขมันในกระแสเลือดสูงกว่าปกติ ซึ่งภาวะดังกล่าวเป็นปัจจัยเสี่ยงที่สามารถแก้ไขได้ ในการประมาณความเสี่ยงของโรคหัวใจและหลอดเลือด มีผู้เสียชีวิต 4 ล้านคนต่อปีทั่วโลก (นุศรา หมดบวช, 2557) การติดเชื้อโรคเอชไอวีหรือผู้ป่วยโรคเอดส์ยังคงเป็นปัญหาทางด้านสาธารณสุขไทยที่สำคัญในปัจจุบัน ซึ่งเป็นสาเหตุหลักที่ก่อให้เกิดความสูญเสียอันเนื่องมาจากการตายก่อนวัยอันควรมากที่สุดทั้งในเพศชายและเพศหญิง และเป็นสาเหตุลำดับแรกของความสูญเสียสุขภาพ ได้มีการคาดการณ์ว่าในปี พ.ศ. 2558 มีผู้ติดเชื้อเอชไอวี จำนวนสะสม 1,526,028 ราย ผู้ติดเชื้อเอชไอวีรายใหม่ จำนวน 6,759 คน ในปี พ.ศ. 2559 (สำนักโรคบาติวิทยา กรมควบคุมโรคติดต่อ กระทรวงสาธารณสุข, 2554)

ความสำเร็จของการรักษาด้วยยาต้านไวรัสเอชไอวี ทำให้มีจำนวนผู้เสียชีวิตจากการติดเชื้อเอชไอวีลดลง(Grinsztejn et al., 2013) ผู้ติดเชื้อมีชีวิตที่ยืนยาวขึ้น (Bendavid et al., 2012) และสามารถลดการติดเชื้อฉวยโอกาส(Hoffmann et al., 2011) ข้อมูลจากการสำรวจของประเทศสหรัฐอเมริกาและยุโรปพบว่าผู้ป่วยเอชไอวี/เอดส์ที่รักษาด้วยยาต้านไวรัสมีโรคแทรกซ้อนคือโรคไม่ติดต่อเพิ่มขึ้น(Mocroft et al., 2002) ผู้ป่วยสามารถมีภาวะเมตาบอลิก เป็นโรคแทรกซ้อนได้ จากการศึกษาของ Nguyen ได้พบว่าความชุกของภาวะเมตาบอลิกในผู้ป่วยติดเชื้อเอชไอวีทั่วโลกมีจำนวนร้อยละ 36.6 โดยพบในเพศหญิงคิดเป็นร้อยละ 23.2 เพศชายคิดเป็นร้อยละ 13.4 และประมาณร้อยละ 20 ถึง 25 ของคนทั่วโลกมีภาวะเมตาบอลิกและมีจะความเสี่ยงเป็นสองเท่าที่จะเสียชีวิตจากโรคหัวใจวาย(Nguyen et al., 2016) จากการศึกษาของ Jantarapakd ได้รายงานความชุกของภาวะเมตาบอลิกในผู้ป่วยเอดส์ในประเทศไทย โดยพบความชุกร้อยละ 22.4 (Jantarapakde et al., 2014)

ภาวะไขมันในเลือดสูงเป็นโรคทางเมตาบอลิกที่เจอบ่อยที่สุดในผู้ป่วยเอชไอวี(Husain et al., 2015)จากการศึกษาของ Bekolo และคณะพบความชุกของภาวะไขมันในเลือดสูงร้อยละ 70 (Bekolo et al., 2014) สหพันธ์เบาหวานนานาชาติ (International Diabetes Federation) กล่าวว่า ระดับไขมันในเลือดสูงถือเป็นปัจจัยสำคัญอีกปัจจัยหนึ่งที่ก่อให้เกิดภาวะเมตาบอลิกได้ ในปัจจุบัน การศึกษาถึงความชุกและปัจจัยที่มีความสัมพันธ์กับภาวะระดับไขมันในเลือดสูงผิดปกติในผู้ป่วยเอชไอวีที่มารักษาในโรงพยาบาลสมเด็จพระญาณสังวรมีอย่างจำกัด การศึกษาในเรื่องนี้จึงน่าจะมีประโยชน์ในการนำไปเป็นข้อมูลพื้นฐาน เพื่อวางแผนแนวทางในการป้องกันการเกิดโรคแทรกซ้อนภาวะเมตาบอลิกในผู้ป่วยติดเชื้อเอชไอวีต่อไป

วัตถุประสงค์ของการวิจัย

เพื่อศึกษาความชุกและปัจจัยที่มีความสัมพันธ์กับภาวะไขมันในเส้นเลือดสูงในผู้ติดเชื้อเอชไอวีหรือผู้ป่วยโรคเอดส์ที่เข้ารับการรักษาที่โรงพยาบาลสมเด็จพระญาณสังวร จังหวัดเชียงราย

วิธีดำเนินการวิจัย

การศึกษาวิจัยครั้งนี้เป็นการศึกษาแบบภาคตัดขวาง (Analytical cross-sectional study design) ในกลุ่มผู้ติดเชื้อเอชไอวี/ผู้ป่วยเอดส์ที่มารักษาที่โรงพยาบาลสมเด็จพระญาณสังวร จังหวัดเชียงราย

ทำการเก็บข้อมูลทุติยภูมิจากทะเบียนของผู้ป่วยที่ขึ้นทะเบียนรักษาในปีงบประมาณ 2560 โดยกำหนดเกณฑ์การคัดเข้า (inclusion criteria) ได้แก่

1. ได้รับการวินิจฉัยจากแพทย์ว่าเป็นผู้ติดเชื้อเอชไอวี/ผู้ป่วยโรคเอดส์
2. มีอายุมากกว่า 18 ปี
3. เป็นผู้มีสัญชาติไทย อาศัยอยู่ในจังหวัดเชียงราย อย่างน้อย 1 ปี
4. เป็นผู้รับประทานยาต้านไวรัสมาแล้วอย่างน้อย 6 เดือน

เกณฑ์การคัดออก (exclusion criteria) ได้แก่

1. ผู้ป่วยเอชไอวีที่ได้รับการวินิจฉัยว่ามีภาวะไขมันในเลือดสูงก่อนการรับยาต้านไวรัส
2. ข้อมูลในส่วนของผลทางห้องปฏิบัติการไม่ครบถ้วน

เครื่องมือที่ใช้ในการศึกษาแบ่งออกเป็น 2 ส่วน ดังต่อไปนี้

ส่วนที่ 1 ข้อมูลด้านลักษณะทางประชากรของกลุ่มตัวอย่าง ประกอบด้วย เพศ อายุ ดัชนีมวลกาย ระดับการศึกษา อาชีพ การสูบบุหรี่ การดื่มแอลกอฮอล์ และการรับประทานยาต้านไวรัส

ส่วนที่ 2 ข้อมูลด้านผลคลินิกทางห้องปฏิบัติการ ประกอบด้วย ระดับน้ำตาลในเลือดหลังจากการอดอาหาร 8 ชั่วโมง (Fasting blood sugar) ระดับความดันโลหิตขณะหัวใจมีการบีบตัว (Systolic blood pressure หน่วย mmHg) และ ระดับความดันโลหิตขณะหัวใจมีการคลายตัว (Diastolic blood pressure หน่วย mmHg)

ส่วนตัวแปรตามในการศึกษานี้ ได้แก่ ภาวะไขมันในเส้นเลือดสูง (Dyslipidemia) โดยศึกษาผลการวินิจฉัยจากแพทย์ ซึ่งพิจารณาจากค่า FBS (mg/dl), Triglycerides (mg/dl), Male HDL Cholesterol (mg/dl), Female HDL cholesterol ตามเกณฑ์ของ National Cholesterol Education Program (NCEP)

สำหรับการวิเคราะห์ข้อมูล ผู้วิจัยได้วิเคราะห์ข้อมูลทั่วไปด้วยสถิติเชิงพรรณนา ได้แก่ จำนวน ร้อยละ ค่าเฉลี่ย ส่วนเบี่ยงเบนมาตรฐาน ค่าสูงสุดและต่ำสุด และสถิติเชิงอนุมานเพื่อศึกษาปัจจัยที่มี

ความสัมพันธ์กับภาวะไขมันในเส้นเลือดสูงด้วยการวิเคราะห์ถดถอยพหุโลจิสติกส์ (Multiple logistic regression) โดยกำหนดนัยสำคัญทางสถิติที่ค่า $p < 0.05$

การวิจัยครั้งนี้ได้ผ่านการรับรองจากคณะกรรมการวิจัยในมนุษย์จากมหาวิทยาลัยแม่ฟ้าหลวง และได้รับการอนุมัติให้เข้าถึงข้อมูลเวชระเบียนจากผู้อำนวยการ โรงพยาบาลสมเด็จพระญาณสังวร จังหวัดเชียงราย เป็นที่เรียบร้อยแล้ว

ผลการวิจัย

จากการสำรวจผู้ติดเชื้อเอชไอวีหรือผู้ป่วยโรคเอดส์ที่ ทั้งหมด 578 คน พบผู้ที่เกิดภาวะไขมันในเลือดสูง 116 คน พบว่า มีความชุกของภาวะไขมันในเลือดสูงร้อยละ 20.1 ดังแสดงในตารางที่ 1

จากการศึกษา พบกลุ่มตัวอย่างทั้งสิ้นจำนวน 578 คน ส่วนใหญ่เป็นเพศหญิง จำนวน 287 คน (ร้อยละ 49.7) มีอายุเฉลี่ยเท่ากับ 41-50 ปี (ร้อยละ 49.8) ประกอบอาชีพรับจ้างทั่วไป จำนวน 263 คน (ร้อยละ 45.5) ไม่มีโรคประจำตัว จำนวน 392 คน (ร้อยละ 67.8) ปัจจุบันไม่ได้สูบบุหรี่ จำนวน 503 คน (ร้อยละ 87) ไม่ดื่มแอลกอฮอล์ จำนวน 545 คน (ร้อยละ 94.3) ดัชนีมวลกายอยู่ในระดับปกติ จำนวน 328 คน (ร้อยละ 56.7) ส่วนใหญ่รับประทานยาสูตร GPO-VIR S (ร้อยละ 64) ระดับน้ำตาลในเลือดมีค่าปกติ จำนวน 559 คน (ร้อยละ 96.7) Systolic blood pressure อยู่ในระดับปกติ จำนวน 410 คน (ร้อยละ 70.9) Diastolic blood pressure อยู่ในระดับปกติ จำนวน 429 คน (ร้อยละ 74.2) ดังตารางที่ 2

เมื่อทำการวิเคราะห์ความสัมพันธ์แบบตัวแปรเดียว (Univariate analysis) ในปัจจัยที่มีความสัมพันธ์ 5 ปัจจัยได้แก่ อายุ โรคเรื้อรัง โรคความดันโลหิตสูงและระดับความดันโลหิต Systolic blood pressure และ Diastolic blood pressure พบว่า มีความสัมพันธ์กับภาวะไขมันในเลือดสูงอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติที่ $p < 0.05$ แสดงในตารางที่ 2

หลังจากนั้นจึงนำทั้ง 6 ปัจจัยเข้าทำการวิเคราะห์ถดถอยพหุคูณแบบลอจิสติก (Multiple logistic regression) พบว่า มี 2 ตัวแปร ได้แก่ ผู้ที่มีอายุมากกว่า 50 ปี มีความสัมพันธ์กับภาวะไขมันในเลือดสูง 2.64 เท่า (Adjusted OR= 2.64; 95% CI=0.78-8.95) ความดันโลหิตสูงมีความสัมพันธ์กับภาวะไขมันในเลือดสูง 3.75 เท่า (Adjusted OR= 3.75; 95% CI=2.08-6.75) อย่างมีนัยสำคัญทางสถิติที่ $p < 0.05$ ดังตารางที่ 3

ตาราง 1 ความชุกภาวะไขมันในเลือดสูงและค่าอื่นๆของผู้ติดเชื้อในผู้ติดเชื้อเอชไอวีหรือผู้ป่วยโรคเอดส์ (n=578)

ความชุก	จำนวน	ร้อยละ
ภาวะไขมันในเลือดสูง		
มี	116	20.1
ไม่มี	462	79.9
ค่าไขมันในเส้นเลือดอื่นๆ		
Triglyceride		
ปกติ (<150 ml/dl)	395	68.3
ผิดปกติ (≥ 150 ml/dl)	183	31.7
Total cholesterol		
ปกติ (<200 ml/dl)	411	71.1
ผิดปกติ (≥ 200 ml/dl)	167	28.9
low-density lipoprotein(LDL)		
ปกติ (<160 mg/dl)	558	96.5
ผิดปกติ (≥160 mg/dl)	20	3.5
High-density lipoprotein(HDL) ชาย n=291		
ปกติ (≥40 mg/dl)	229	78.7
ผิดปกติ (<40 mg/dl)	62	21.3
High-density lipoprotein(HDL) หญิง n=287		
ปกติ (≥50 mg/dl)	233	81.2
ผิดปกติ (<50 mg/dl)	54	18.8

ตาราง 2 ผลการวิเคราะห์หาความสัมพันธ์ของปัจจัยต่างๆกับภาวะไขมันในเลือดสูงโดยใช้สถิติตัวแปร
เชิงเดียว

ตัวแปร	ทั้งหมด	ไขมันในเลือดสูง		OR (95%CI)	ค่า p
		มี n(%)	ไม่มี n(%)		
เพศ					
ชาย	291(50.3)	62(21.3)	229(78.7)	1.17(0.78-1.76)	0.460
หญิง	287(49.7)	54(18.8)	233(81.2)	Reference	
อายุ (ปี)					
≤ 30	39(6.7)	3(7.7)	36(92.3)	Reference	
31 - 40	228(39.4)	34(14.9)	194(85.1)	1.74 (0.46-6.52)	0.415
41 - 50	288(49.8)	74(25.7)	214(74.3)	2.92(0.87-9.83)	0.084
> 51	23(4.0)	5(21.7)	18(78.3)	4.72(1.38-16.08)	0.013*
อาชีพ					
เกษตรกร	238(41.2)	56(23.5)	182(76.5)	0.76(0.49-1.17)	0.221
รับจ้าง	263(45.5)	50(19.0)	213(81.0)	0.63(0.23-1.70)	0.630
ค้าขาย	31(5.4)	5(16.1)	26(83.9)	0.39(0.15-1.05)	0.060
อื่นๆ	46(8.0)	5(10.9)	41(89.1)	Reference	
ระดับดัชนีมวลกาย(ก.ก./ม²)					
ผอม (<18.5)	71(12.3)	11(15.5)	60(84.5)	0.77(0.38)	1.550
ปกติ(18.5-22.9)	328(56.7)	63(19.2)	265(80.2)	Reference	
โรคอ้วนระดับ 1 ขึ้นไป (≥23.0)	179(31.0)	42(23.5)	137(76.)	1.29(0.83-2.00)	0.260
การสูบบุหรี่					
สูบ	75(13.0)	14(18.7)	61(81.3)	0.90(0.49-1.68)	0.750
ไม่สูบ/เคยสูบ	503(87.0)	100(21.4)	368(78.6)	Reference	
ดื่มแอลกอฮอล์					
ดื่ม	33(5.7)	7(21.2)	26(78.8)	1.08(0.46-2.55)	0.870
ไม่ดื่ม/เคยดื่ม	545(94.3)	109(20.0)	436(80.0)	Reference	
สูตรยา					
AZT+3TC+EFV/ ZILARVIR(AZT(300)+3TC(150))+EFV	63(11.0)	17(27.0)	46(73.0)	1.58(0.71-3.54)	0.263
GPO-VIR S ((d4T(30)+3TC(150)+NVP(200))	369(64.0)	71(19.2)	298(80.8)	1.02(0.54-1.93)	0.949
TDF+3TC+NVP	72(13.0)	14(19.4)	58(80.6)	1.03(0.45-2.36)	0.936
TDF+EFV+3TC/TDF-FTC-EFV	74(12.0)	14(18.9)	60(81.1)	Reference	

ตาราง 2 ผลการวิเคราะห์หาความสัมพันธ์ของปัจจัยต่างๆกับภาวะไขมันในเลือดสูงโดยใช้สถิติตัวแปรเชิงเดียว (ต่อ)

ตัวแปร	ทั้งหมด	ภาวะไขมันในเลือดสูง		OR (95%CI)	ค่า p
		มี n(%)	ไม่มี n(%)		
โรคเรื้อรัง					
ใช่	186(32.2)	54(2)	132(71)	2.18 (1.44-3.30)	<0.001*
ไม่ใช่	392(67.8)	62(15.8)	330(84.2)	Reference	
โรคเบาหวาน					
ใช่	13(2.2)	4(30.8)	9(69.2)	1.79 (0.544-5.94)	0.34
ไม่ใช่	565(97.8)	112(19.8)	453(80.2)	Reference	
โรคความดันโลหิตสูง					
ใช่	56(9.7)	27(48.2)	29(51.8)	4.53 (2.56-8.02)	<0.001*
ไม่ใช่	565(90.3)	89(17)	433(83)	Reference	
วัณโรค					
ใช่	24(4.2)	3(12.5)	21(87.5)	0.56 (0.16-1.90)	0.35
ไม่ใช่	554(95.8)	113(20.4)	441(79.6)	Reference	
โรคหลอดเลือดสมอง					
ใช่	3(0.5)	1(33.3)	2(66.7)	2.00 (0.18-22.45)	0.57
ไม่ใช่	575(99.5)	115(20)	460(80)	Reference	
ระดับน้ำตาลในเลือดหลังอดอาหาร					
ปกติ (<100-125) mg/dl	559(96.7)	111(19.9)	448(80.2)	Reference	
ผิดปกติ (100 - 125 mg/dl)	19(3.3)	5(26.3)	14(73.7)	1.44 (0.51-4.09)	0.49
ความดันช่วงหัวใจบีบตัว					
ปกติ (≤139 mmHg)	410(70.9)	69(16.8)	341(83.2)	Reference	
ผิดปกติ (>140 mmHg)	168(29.1)	47(28)	121(72)	1.92 (1.26-2.93)	0.003*
ความดันช่วงหัวใจคลายตัว					
ปกติ (≤89 mmHg)	429(74.2)	76(17.7)	353(82.3)	Reference	
ผิดปกติ (> 90 mmHg)	149(25.8)	40(26.8)	109(73.2)	1.70 (1.09-2.64)	0.017*

ตารางที่ 3 วิเคราะห์ตัวแปรพหุปัจจัยที่มีความสัมพันธ์กับภาวะไขมันในเลือดสูง

ตัวแปร	Adjusted OR	95% CI	ค่า p
อายุ (ปี)			
≤ 30	Reference		
31 - 40	1.69	0.70-1.86	0.588
41 - 50	2.64	0.78-8.95	0.120
≥ 51	3.68	1.06-12.76	0.040*
ความดันโลหิตสูง			
ใช่	3.75	2.08-6.75	<0.001*
ไม่ใช่	Reference		

*ระดับนัยสำคัญทางสถิติที่ p-value < 0.05

สรุปและอภิปรายผล

ความชุกของภาวะไขมันในเลือดสูงในผู้ป่วยเอชไอวีหรือเอดส์ของการศึกษาในครั้งนี้ พบร้อยละ 20.1 ซึ่งน้อยกว่าการศึกษาของ Bekolo และคณะ ที่ทำการศึกษาแบบภาคตัดขวาง (Analytic cross-sectional study) ในประเทศประเทศแคเมอรูน พบความชุกของภาวะไขมันในเลือดสูงในผู้ติดเชื้อเอชไอวีหรือเอดส์ร้อยละ 70.2 (Bekolo et al., 2014) ซึ่งสาเหตุอาจเนื่องมาจากภาวะไขมันในเลือดสูงในผู้ติดเชื้อเอชไอวีหรือเอดส์เป็นภาวะที่ความซับซ้อนโดยมีปัจจัยหลายประการ ได้แก่ ตัวของไวรัสเอชไอวี ลักษณะทางพันธุกรรมและการเปลี่ยนแปลงการเผาผลาญที่เกิดจากการรักษาด้วยยาต้านไวรัสเอชไอวีหรือเอดส์ อย่างไรก็ตาม จากการศึกษาของ Veterans in the VA HIV Clinical Case Registry in care ในปี 2007 พบว่า ผู้ป่วย HIV มีความชุกของการเกิดภาวะไขมันในกระแสเลือดสูง ประมาณร้อยละ 38 ซึ่งอาจเนื่องมาจากกลไกของการเกิดโรค HIV และการได้รับยาในกลุ่มของ Anti-retroviral therapy (ARV) ส่งผลต่อความผิดปกติของไขมันในร่างกายได้ (Lipid abnormalities) ทำให้เกิดการเปลี่ยนแปลงของค่า high-density lipoprotein (HDL) low-density lipoprotein (LDL) และ triglyceride ซึ่งพบว่า ค่า HDL มีระดับลดลง ในขณะที่ค่า LDL และ triglyceride มีระดับเพิ่มขึ้น จากการศึกษาที่ผ่านมาพบว่า ผู้ป่วยที่ได้รับยาในกลุ่ม High active antiretroviral therapy (HAART) ประมาณครึ่งหนึ่งจะเกิดปัญหาทางด้านการเผาผลาญในร่างกาย (Metabolic disturbances) ได้ ซึ่งรวมไปถึงการเกิดภาวะระดับไขมันในเลือดสูง ภาวะระดับอินซูลินในเลือดสูง และการสะสมเซลล์ไขมัน (Adipose tissue redistribution) ได้เช่นกัน ทำให้ผู้ติดเชื้อ HIV มักมีภาวะระดับไขมันในเลือดสูงตามไปด้วย (Carr A et al., 1998 & Henry K et al. 1998) โดยอาการทางคลินิกที่พบได้ในผู้ติดเชื้อ HIV ที่มีภาวะ lipodystrophy syndrome คือ มี

การฝ่อลีบของไขมัน (lopoatrophy) เช่น แก้มตอบ (sucken cheeks) ขมับเป็นหลุม (hollow temples) ตาลึก (sucken eyes) กระดูกโหนกแก้มเห็นเด่นชัด (prominent zygomatic arch) เห็นเส้นเลือดดำชัดเจน ผิวแห้งและกล้ามเนื้อฝ่อลีบ เป็นต้น และมีการสะสมของไขมัน (lipohypertrophy) เช่น มีการสะสมของไขมันที่หน้าท้อง มีไขมันสะสมบริเวณคอหรือเหนือต่อไพลาร้า (Dorsocervical or supraclavicular fat pad) เป็นต้น (Jisun Oh and Robert A Hegele, 2007)

ปัจจัยที่มีความสัมพันธ์กับภาวะไขมันในเส้นเลือดสูง ได้แก่ อายุจะมีโอกาสเสี่ยงที่จะมีภาวะไขมันในเลือดสูง 2.64 เท่า (Adjusted OR=2.64; 95% CI=0.78-8.95) สอดคล้องกับการศึกษาของ ักัญญา จันทรพลและคณะ สาเหตุอาจเนื่องมาจากผู้ที่มีอายุมากขึ้นจะออกกำลังกาย หรือทำกิจกรรมที่ใช้พลังงานน้อยลงตลอดจนอัตราการเผาผลาญลดลงส่งผลให้ไขมันในเลือดสูงขึ้น (ักัญญา จันทรพล และ มนัสนันท์ ธนวิกรานต์กุล, 2554) สอดคล้องกันกับรายงานของ Primary Care of Veterans with HIV Organ Systems and Metabolic ในปี 2009 พบว่า ปัจจัยเสี่ยงอื่นๆที่ส่งผลต่อ cardiovascular disease ที่พบได้ในกลุ่มประชากรผู้ติดเชื้อ HIV ได้แก่ ภาวะการเผาผลาญบกพร่อง (Metabolic abnormalities เช่น โรคเบาหวาน) โรคความดันโลหิตสูง (Hypertension) พฤติกรรมการสูบบุหรี่ (Smoking) และการมีกิจกรรมทางกายน้อย (Physical inactivity) นอกจากนี้ การที่มีภาวะระดับไขมันในเลือดสูงในผู้ติดเชื้อ HIV นี้ สัมพันธ์กับความเสี่ยงในการเกิดโรคทางระบบหัวใจและหลอดเลือดได้ โดยพบว่า มีความเสี่ยงสัมพัทธ์ ของการเกิดโรคหัวใจขาดเลือด 1.2 เท่า (Relative risk = 1.2) (Friis-Moller N, 2007)

ผู้ป่วยความดันโลหิตสูงโอกาสเสี่ยงที่จะมีภาวะไขมันในเลือดสูง 3.75 เท่า (Adjusted OR=3.75; 95% CI=2.08-6.75) สอดคล้องกับการศึกษาของ Casino และคณะ ในปี 1993 สาเหตุอาจเนื่องมาจากกลไกทางพยาธิสรีรวิทยาหลายอย่างที่เกี่ยวกับความสัมพันธ์ระหว่างภาวะไขมันในเลือดและความเสี่ยงต่อความดันโลหิตสูง โดยพบว่า มีการสะสมของ atherosclerotic plaque ที่ผนังหลอดเลือด ทำให้ผนังหลอดเลือดหนาตัวขึ้นและเส้นผ่านศูนย์กลางของหลอดเลือดมีขนาดลดลง ซึ่งทำให้เพิ่มความต้านทานต่อผนังหลอดเลือดและก่อให้เกิดความดันโลหิตสูงได้ในที่สุด (Casino et al., 2004)

จากการศึกษาพบว่าผู้ป่วยติดเชื้อเอชไอวี/เอดส์ที่ได้รับยาต้านไวรัสไม่มีความสัมพันธ์กับภาวะไขมันในเลือดสูง ซึ่งสอดคล้องกับการศึกษาของ Chaialird และคณะ สาเหตุอาจเนื่องมาจากลักษณะพื้นฐานของกลุ่มตัวอย่าง ได้แก่ เชื้อชาติ CD4 ระยะเวลาการได้รับยาต้านไวรัส (Chaialird et al., 2013) จากการศึกษานี้ของ Homkamและคณะ พบว่ามีการเปลี่ยนแปลงของระดับไขมันในเลือดหลังจากได้รับยาต้านไวรัสเป็นเวลา 24 ชั่วโมงแต่ไม่ได้แสดงความเกี่ยวข้องอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติต่อการเกิดภาวะไขมันในเลือดสูง (Homkam et al., 2011)

จากผลการวิจัยพบว่า ระดับภาวะไขมันในเลือดสูงมีความสัมพันธ์กับอายุและความดันโลหิตสูง ดังนั้น หน่วยงานที่เกี่ยวข้องควรให้โปรแกรมส่งเสริมสุขภาพเพื่อ คัดกรองกลุ่มเสี่ยงและป้องกันการเกิดไขมันในเลือดสูงในผู้ป่วยเอชไอวีหรือเอดส์ในอนาคต

ข้อจำกัดสำหรับการศึกษานี้ 1) เป็นข้อมูลทุติยภูมิจากโรงพยาบาล ซึ่งอาจมีข้อจำกัดในเรื่องของความครบถ้วนของข้อมูล ตลอดจนการเข้าถึงข้อมูลในบางส่วน เช่น ข้อมูลด้าน CD4 และ Viral load และข้อมูลระยะเวลาการได้รับยาต้านไวรัส เป็นต้น 2) การศึกษาแบบภาคตัดขวาง ดังนั้นการระบุปัจจัยที่มีความสัมพันธ์กับภาวะไขมันในเส้นเลือดสูงจึงไม่สามารถอธิบายในเชิงเหตุและผลได้อย่างแท้จริง (Causal relationship) แต่อย่างไรก็ตาม การนำข้อมูลทุติยภูมิในโรงพยาบาลมาวิเคราะห์ ถือได้ว่าเป็นการนำข้อมูลที่มีอยู่มาใช้ให้เกิดประโยชน์

ข้อเสนอแนะ

ข้อเสนอแนะสำหรับการศึกษานี้ ถึงแม้ความชุกของการศึกษานี้ต่ำกว่าการศึกษาอื่นๆ อย่างไรก็ตามบุคลากรในโรงพยาบาลควรวางแผนและส่งเสริมในการลดการเกิดภาวะไขมันในเลือดสูง โดยเฉพาะอย่างยิ่งในกลุ่มผู้ป่วยอายุ 50 ปีขึ้นไป และในกลุ่มผู้ป่วยความดันโลหิตสูง

ข้อเสนอแนะสำหรับการศึกษานี้ต่อไป ควรทำการศึกษาเชิงคุณภาพ (Qualitative study) โดยการสัมภาษณ์เชิงลึก ถึงวิถีชีวิต พฤติกรรมและประสบการณ์การดูแลตนเองทั้งในกลุ่มผู้ป่วยที่มีทั้งภาวะระดับไขมันในเลือดสูงและระดับไขมันปกติ

กิตติกรรมประกาศ (ถ้ามี)

ผู้วิจัยขอขอบคุณ นายแพทย์รัชชัย ใจคำวัง ผู้อำนวยการโรงพยาบาลสมเด็จพระญาณสังวร ที่อนุญาตให้เข้าถึงข้อมูลต่างๆของผู้ป่วยเอชไอวีหรือเอดส์ และคณาจารย์จากสำนักวิชาวิทยาศาสตร์สุขภาพที่ให้ความช่วยเหลือ และให้คำปรึกษา ตลอดจนปรับปรุงแก้ไขข้อบกพร่องต่าง ๆ ด้วยความเอาใจใส่อย่างยิ่ง ผู้วิจัยตระหนักถึงความตั้งใจจริงและความทุ่มเทของอาจารย์และขอกราบขอบพระคุณเป็นอย่างสูง

เอกสารอ้างอิง

- กัญญา จันทร์พล, มนัสนันท์ ธนวิกรานต์กุล.(2558).ความชุกและปัจจัยที่มีความสัมพันธ์ต่อภาวะไขมันในเลือดสูงในบุคลากรโรงพยาบาลราชวิถี. *วารสารกรมการแพทย์*, 40(5),112-9.
- นุศรา หมดบวช. (2557).อุบัติการณ์ของอาการไม่พึงประสงค์จากการใช้ยาต้านเอชไอวีในผู้ใหญ่. *วารสารเครือข่ายวิทยาลัยพยาบาลและการสาธารณสุขภาคใต้*, 1(2),1-16.

- สำนักกระบาดวิทยา กรมควบคุมโรคติดต่อ กระทรวงสาธารณสุข. (2554). สถานการณ์ผู้ป่วยเอดส์ ณ วันที่ 15 พฤศจิกายน พ.ศ. 2554 สืบค้นจาก http://www.boe.moph.go.th/files/report/20110407_15025471.pdf.
- Bekolo, C. E., Nguena, M. B., Ewane, L., Bekoule, P. S., & Kollo, B. (2014). The lipid profile of HIV-infected patients receiving antiretroviral therapy in a rural Cameroonian population. *BMC public health*, 14(1), 236.
- Bendavid, E., Holmes, C. B., Bhattacharya, J., & Miller, G. (2012). HIV development assistance and adult mortality in Africa. *Jama*, 307(19), 2060-2067.
- Carr A, Samaras K, Burton S, et al. (1998). A syndrome of peripheral lipodystrophy, hyperlipidaemia and insulin resistance in patients receiving HIV protease inhibitors. *AIDS*; 12: F51-F58.
- Casino, P. R., Kilcoyne, C. M., Quyyumi, A. A., Hoeg, J. M., & Panza, J. A. (1993). *The role of nitric oxide in endothelium-88* (6), 2541-2547.
- Chaiyalird K, Kitikannakorn N. (2013). Factors affecting lipodystrophy in patients with HIV infection receiving GPO-VirZ in Pranangkao hospital. *JOURNAL OF HEALTH SCIENCE RESEARCH*, 9(2), 39-44.
- Friis-Moller N, Reiss P, Sabin CA, et al, for the DAD Study Group. (2007). Class of antiretroviral drugs and the risk of myocardial infarction. *New England Journal of Medicine*, 356(17), 1723-1735
- Grinsztejn, B., Luz, P. M., Pacheco, A. G., Santos, D. V., Velasque, L., Moreira, R. I., ... & Campos, D. P. (2013). Changing mortality profile among HIV-infected patients in Rio de Janeiro, Brazil: shifting from AIDS to non-AIDS related conditions in the HAART era. *PloS one*, 8(4), e59768.
- Henry K, Melroe H, Huebesch J, Hermundson J, Simpson J (1998). Atorvastatin and gemfibrozil for protease-inhibitor-related lipid abnormalities. *Lancet*; 352:1031-32.
- Hoffmann, C. J., Fielding, K. L., Johnston, V., Charalambous, S., Innes, C., Moore, R. D., ... & Churchyard, G. J. (2011). Changing predictors of mortality over time from cART start: implications for care. *Journal of acquired immune deficiency syndromes (1999)*, 58(3), 269.

- Homkam N, Krinboyen V, Bowonwatanubon J. (2011). Changes in body fat within two years of patient follow-up in people infected with HIV after receiving antiretroviral therapy, Thailand. Proceeding: National AIDS Seminar, Thailand. Available from: aids.thai.org/uploads/files/Track%20A.pdf
- Husain, N. E. O., & Ahmed, M. H. (2015). Managing dyslipidemia in HIV/AIDS patients: challenges and solutions. *HIV/AIDS (Auckland, NZ)*, 7, 1.
- Jantarapakde, J., Phanuphak, N., Chaturawit, C., Pengnonyang, S., Mathajittiphan, P., Takamtha, P., ... & Phanuphak, P. (2014). Prevalence of metabolic syndrome among antiretroviral-naïve and antiretroviral-experienced HIV-1 infected Thai adults. *AIDS patient care and STDs*, 28(7), 331-340.
- Jisun Oh and Robert A Hegele (2007). HIV-associated dyslipidaemia: pathogenesis and treatment. *Lancet*, 7:787-796.
- Mocroft, A., Brettle, R., Kirk, O., Blaxhult, A., Parkin, J. M., Antunes, F., ... & EuroSIDA Study Group. (2002). Changes in the cause of death among HIV positive subjects across Europe: results from the EuroSIDA study. *Aids*, 16(12), 1663-1671.
- Nguyen, K. A., Peer, N., Mills, E. J., & Kengne, A. P. (2016). A meta-analysis of the metabolic syndrome prevalence in the global HIV-infected population. *PLoS one*, 11(3), e0150970.

THE EFFECTIVENESS OF SAFETY TRAINING PROGRAM IN PESTICIDES
USAGE OF AGRICULTURIST IN MOO 1 THA KHAM VILLAGE, THA KHAM
SUB-DISTRIC, WIANG KAEN DISTRICT, CHAING RAI PROVINCE.

Watsiri Tamdee¹, Jidapa Ketputpong¹, Kemmika Panthura², Supachai Northow²,
Woottichai Nachaiwieng¹

¹Department of Public Health, School of Health Science, Mae Fah Luang University

²Tha Kham Sub-district Health Promoting Hospital, Chiang Rai, Thailand

Abstract

Background: Occupational poisoning with pesticides is commonly found in developing countries because agriculturists are often under trained, illiterate and consider it impractical and expensive to use safety equipment, especially in appropriate area for agriculture. Greater benefit of safety training programs can be obtained if initiated in areas that having higher occurrence of poisoning. So, the present study the prevalence of cholinesterase level and evaluated the effectiveness of safety training program in pesticides usage of agriculturists.

Methods: This study is one-group quasi-experimental study design to compare knowledge, attitude and practice score between before and after safety training program. The sample was collected from 24 agriculturists in Moo1, Tha Kham village, Tha Kham sub-district, Wiang Kaen district, Chiang Rai. The content of the questionnaire consists of general characteristics, knowledge examination, attitude and practice questionnaire about the safety in pesticide usage and screening for cholinesterase level. Meanwhile, the safety training program consists of the good practice in pesticide usage, hazard and impact of pesticides, hazard identification and preventive methods of pesticides. Finally, the data were analyzed through frequency, mean, standard deviation and Wilcoxon signed rank test.

Results: The screening of pesticide residue in blood revealed that 41.7% of agriculturists were unsafe, 29.2% as risk, 25% as safe and 4.2% as normal level. The score of pesticide usage among agriculturists in the intervention group before intervention was at needs improvement level of knowledge (50.0%) and high level of

practice (58.3%). However, after intervention, they were at a moderate level of knowledge (62.5%) and still at high level of practice (58.3%). In this study, we found that the scores of intervention group at post-test were significantly higher than pre-test when compared the knowledge score ($p\text{-value} = <0.001$) and practice score ($p\text{-value} = 0.001$) of pre-test and post-test was difference with statistically significant level at 0.05. The scores of attitude at post-test (83.3%) were higher than pre-test (70.8%) but it was not different ($p\text{-value} = 0.112$) with statistically significant level at 0.05.

Conclusion: This can be concluded that the safety training program in pesticides usage was effective in positive changes of knowledge and practice for pesticide usage among agriculturists in Moo 1 Tha Kham village.

Keywords: Factors, pulmonary tuberculosis, and successful treatment outcome

Rational and Background

Agricultural area is a fragile area of ecosystems which agricultural area was used be harshly that could occur a risk of chemical contamination in the area to agriculturists increase. (EPA, Highlands Soil & Water's PESP Strategy, 2012) Another reason from development was increased continuously both of agricultural sector and industrial sector of Thailand that affect to more import the chemical productions and hazardous materials. Chemicals such as pesticide are sold widely and be more influence in agricultural sector to increase agricultural productivity, despite the use of chemicals in all agriculture had health impact of exposure to acute effect and long-term effect. According to World Health Organization, reported agriculturists used a pesticide especially insecticide and herbicide group that have been meeting with serious health problems of Organophosphate which had high toxicity and may be death. (WHO, 2013)

Organophosphate (OP) is a substance in pesticide, which are highly toxic, can cause death and illness is a disease with wrong, unsafe and a long time usage of pesticide.(He, 2011) A study by He in the People's Republic of China showed that as many as 18% of 6,281 deaths (deaths due to acute pesticide poisoning) were due to occupational pesticide poisoning and 78% of these cases of pesticide poisoning were

due to OP compounds in the year 2011. In addition, a study by Dasgupta et al, 2007 in Vietnam demonstrated that all 190 participant farmworkers had some ill health symptoms after mixing and spraying OP. These symptoms consisted of skin irritation (66%), headache (61%), dizziness (49%), eye irritation (56%), and shortness of breath (44%). A wide range of measures exist for reducing health risks from OP exposure. Suratman et al, 2015 demonstrated that farmworkers' knowledge and perceptions were two of the factors significantly related to the increase of OP exposure and OP poisoning both in developing and developed countries.

Thailand has developed steadily in the agricultural sector contribute to our productivity to increase to meet the needs of the market and importing chemical substances into the lot to be used in agriculture, especially the workers in the agricultural sector, which could affect the safety and health of such as pesticides, fertilizers growth and herbicides, etc. The import of chemical pesticides increased in the years 2014-2017 and there were 172,826 tones, 147,375 tones, 149,546 tones, 160,824 tones and 198,317 tones respectively, which are classified as using herbicides about 76% insecticide about 10% and others chemical about 14.2% from Official statistic registration system, 2016. The area of agricultural holdings with a total of 5.9 million households (25.9%) and an area holding a total of 114.6 million rai, an average of 19.4 hectares per person. When considered the number of holdings and area of holding agriculture found that northeastern region were the most of number of agricultural about 2.8 million household in the holding area of 53.5 million rai and average of 19.5 rai and north region with holdings of 1.3 million household in holding of 27.2 million rai and average of 20.9 rai. (system, 2013)

According to the report diseases and health hazards from occupation and environment, the Ministry of Public Health in 2016 found that patients with toxic effect of pesticides that were diagnosed by the hospital of 8,689 patients or 14.47:1,000 and decreased from 2015 found that patients with toxic herbicides, total 10,177 patients (incidence rate 17.12), the most common age group was 44-55 year olds of working age and mainly do farming about 38.79%. Northern is ranked second of household holding with 1.2 million household, representing 96.8% of the total number of holdings in the region because most of northern area are mainly highland

composed of mountain forest and river sources and climate are hot and high humidity that appropriate to cultivate for tropical and sub-tropical crops.

Chiang Rai is a province where agriculturists used herbicide, insecticide and got the impact from working and environment. In 2017, Chiang Rai were ranked in tenth of province that reported patients with toxic effect of pesticides, found 10.82:100,000 population from the report of Bureau of Occupational and Environmental Diseases, Department of Disease Control which is public health problem. From the survey in Moo1, Tha Kham village, Tha Kham sub-district, Wiang Kean district, Chiang Rai, found that population in this village are mainly with agriculturists and having chemical usage in farming, rice and others plant production. So, the researchers realized the importance of getting the training program on the safety pesticides usage in agriculturists by training and demonstrations to acquire knowledge, positive attitudes and practices regarding the safe use of chemical pesticides, including more aware of the dangers and hazards of chemical pesticides as well. And farmers can work with chemical pesticides are more safe.

Literature Review

The study of Wimonrat K. and Manop K., 2016 in knowledge, behavior, and health impacts of pesticide users in the responsible are of Suk Sam Ran health promoting hospital, Suwankuha district, Nhon Bua Lam Phu found that the level of education was a significant factor in relation to knowledge and farmers who are risky behavior in using pesticides include knowledge that is a factor in their relationship. Together with the study of Jongrungsakul, 2015 studied effect of participatory learning program on knowledge and behaviors of famers using pesticides in Nongtong subdistrict, Hangdong district, Chiang Mai province found that the knowledge and behavior of using pesticide of the experiment group after receiving the participatory program was higher than before receiving the program and higher than the control group.

Study in factors related to self-protection from pesticide use of farmers in Sila sub-district, Muang District, Khon Kaen found there was a significant relationship between pesticide self-protection and pesticide level. The village that have been

trained have more knowledge than other villages that are not trained about use non-carbamate, the use of chemicals combined with biological substances and they have higher education than junior high school in study of Wirat S., Pornnapa S. and Sunisa C., 2013.

The attitude of pesticide usage in farm crops on health effect. The results indicated that the relationship aspect of physical and mental health effect were high level, social and spiritual health effect were modulate level that presented in study of Samart J., 2017.

Moreover, the study of Jittipat S., Thassanee S. and Chitchapa K., 2018 presented that found that the relationship between behavior and protect themselves from chemical pesticides, including for age and found that behaving properly, but farmers do sometimes and not do more than 50.0% such as wash with soap and water immediately after a chemical spill or drip pesticide, read the label on the body for its impact on health. The most common symptoms are dizziness, fatigue, sore throat, cough, sore throat, rash and blisters, and the result of the enzyme blood cholinesterase level with risk(32.8%) and unsafe(4.9%).

Research Questions

How effective of safety training program in pesticides usage among agriculturists in Moo 1 Tha Kham village, Tha kham sub-district, Wiang Kaen District, Chaing Rai?

Objectives

1. To evaluate the effectiveness of safety training program in pesticides usage of agriculturist in Moo 1 Tha Kham village, Tha kham sub-district, Wiang Kaen District, Chaing Rai province.

Specific Objectives

1. To provide knowledge and information about pesticide used with agriculturists
2. To raise awareness about pesticide safety used with agriculturists
3. To measure the level of knowledge about pesticide safety used
4. To measure the level of attitude about pesticide safety used
5. To measure the level of practice about pesticide safety used

Research Hypothesis

The effectiveness of safety training program in pesticide usage can change knowledge, attitude and practice among agriculturists in Moo1 Tha Kham village, Tha kham sub-district, Wiang Kaen District, Chaing Rai province.

Research methodology

The research design was a Quasi-experimental One Group Pretest-posttest study design to compare knowledge, attitude and practice score between before and after safety training program by questionnaire.

Population and sample

Population was agriculturists in Moo1, Tha Kham village, Tha Kham sub-district, Wiang Kean district, Chiang Rai.

The sample was collected 24voluntary participants of agriculturists in Moo1, Tha Kham village, Tha Kham sub-district, Wiang Kean district, Chiang Rai by purposive sampling technique. Inclusion criteria were 1) Occupation with agriculturist and having history of pesticide usage; 2) living in Tha Kham village; 3) age $\geq$ 35 years old; 4) can read and write

Data Collection

We collected on 11 April 2018. The content of the 4 questionnaire consists of general characteristics, knowledge examination, attitude and practice questionnaire about the safety in pesticide usage and screening for cholinesterase level.

Part1: General characteristic of participants had 6 items including gender, age, married status, education, agriculture time and agriculture work and test the screening blood cholinesterase level with reactive paper (Sensitivity=77.04%, Specificity=90.01%, PPV=90.38%)

Part2: For knowledge examination, these are 10 close-end questions and 4 choices about read the label and effect of pesticide, pesticide usage, pesticide keeping, pesticide container, pesticide, control and protective of pesticide usage. There are 2 scores; correct answer as 1 score and incorrect answer as 0 score and divided the knowledge level by Bloom, 1956 which percentage of score was more than 80% as good level, 60% – 79% as moderate level and less than 60% as need improvement level of knowledge.

Part3: Attitude questionnaire about safety pesticide usage have 12 close-end questions in rating scale that there are 3 scales including agree, disagree and not sure. Negative attitude consists of 6 items as criteria for 1, 2 and 3 scores and 6 items of positive attitude as criteria for 3, 2 and 1 scores, respectively. Based on Best, 1981 for determine the attitude level including high attitude level as 29 – 30 scores, moderate level as 21 – 28 scores and low level as 12 – 20 score.

Part4: Practice questionnaire consists of behavior before pesticide usage, during pesticide usage and after pesticide usage with total 20 close-end questions. We divided into 3 level including always(4-6 times/week), sometime(1-3 times/week) and never. The practice level based on Best, 1981 which divided into 3 level; high level (48 – 60 scores), moderate level (34 – 47 scores) and low level (20 – 33 scores).

Meanwhile, the safety training program conducted about five hours with power point presentation and demonstration. The topics of 3 sessions consist of 1) pesticide problem and pesticide usage, 2) classification of pesticide hazard, impact of pesticide on health and the environment, 3) types of pesticide and guideline for the use of pesticides.

Statistical analysis

Descriptive statistics were used to describe frequency, mean, standard deviation, percentage for general characteristics, knowledge, attitude and practice

level. Continuous data were tested for normal distribution using Skewness and Kurtosis. Inferential statistic were used to compare the knowledge score, attitude score and practice score between before (pretest score) and after (posttest score) training program

Conceptual Framework

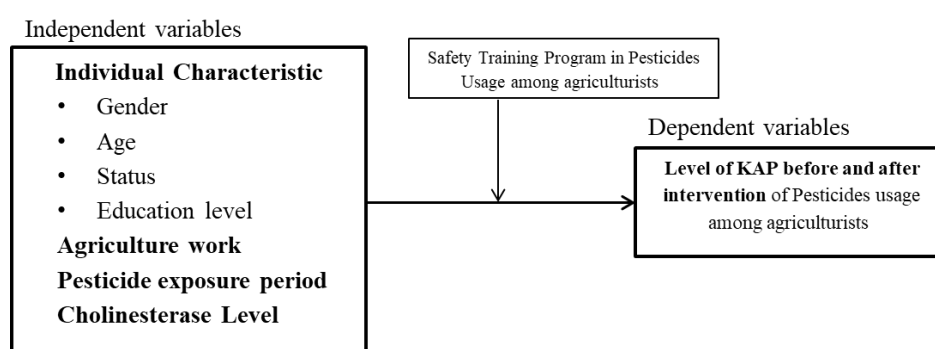


Figure 1 Conceptual Framework

Result

General characteristics

General characteristics of the participants are summarized in Table 1. Over half of the participants were female (66.7%). The participant's age was in the range of 35 to 65 years. The mean ($\pm$ SD) age was 50.3 ($\pm$ 7.7) years. The majority of participants had married (95.8%), graduates primary school (66.7%) and more than 10 years (83.3%) for agriculture time. The rank of agriculture work were firstly with rice (83.3%) and rubber (75.0%).

Screening blood cholinesterase level of participants

We found that the most were unsafe level, at risk, safe and normal level about 41.7%, 29.2%, 25.0% and 4.2% of participants,, respectively. [Table 2]

Knowledge about safety pesticide usage

The most of participants were at need improvement level as 50.0%, moderate level as 41.7% and good level as 8.3% of before training program and changed into need improvement level as 16.7%, moderate level as 62.5% and good

level 20.8% .[Table3] When compare between before and after training program, follow by Table4 found knowledge score of pre-test and post-test was difference(<0.001) with statistically significant level at 0.05.

Table1 Number and percentage of general characteristic of participants (n=24).

General characteristics	n	Percentage	General characteristics	n	Percentage
Gender			Education		
Male	8	33.33	Primary school	16	66.7
Female	16	66.7	Junior high school	3	12.5
Age Group			Senior high school	5	20.8
35 – 39 years	3	12.5	Agriculture time		
45 – 49 years	9	37.5	< 10 years	4	16.7
50 - 54 years	6	25.0	≥ 10 years	20	83.3
55 – 59 years	3	12.5	Agriculture work		
60 – 64 years	2	8.3	Rubber	18	75.0
65 - 69 years	1	4.2	Corn	15	62.5
Mean±S.D.(Max-Min)	50.33±7.77(35-65)		Pomelo	6	25.0
Status			Longan	12	50.0
Married	23	95.8	Rice	20	83.3
Divorce	1	4.2	String bean	7	29.2

Table2 The screening of blood cholinesterase level among agriculturist participants.

Cholinesterase level	n	Percentage
Normal	1	4.2
Safe	6	25.0
Risk	7	29.2
Unsafe	10	41.7

Attitude about safety pesticide usage

The most of participants were at moderate level as 70.8% and high level as 29.2% of before training program and still at moderate level as 83.3% and high level 16.7%. [Table3] When compare between before and after training program, follow by Table4 found attitude score of pre-test and post-test was not difference with statistically significant level at 0.05.

Practice about safety pesticide usage

The most of participants were at high level as 58.3%, moderate level as 4.2% and low level as 4.2% of before training program and still at high level as 58.3% but had change in moderate level from 4.2% of before training program to 37.5% after training program. Table3 When compare between before and after training program, follow by Table4 found practice score of pre-test and post-test was difference with statistically significant level at 0.05.

Table3 Number and percentage of knowledge level, attitude level and practice level between before and after training program.

Variables	Before n (%)	After n (%)
Knowledge		
Good	2 (8.3)	5 (20.8)
Moderate	10 (41.7)	15 (62.5)
Need improvement	12 (50.0)	4 (16.7)

Variables	Before n (%)	After n (%)
Attitude		
High	7 (29.2)	4 (16.7)
Moderate	17(70.8)	20 (83.3)
Practice		
High	14 (58.3)	14 (58.3)
Moderate	5 (4.2)	9 (37.5)
Low	5 (4.2)	1 (4.2)

Table4 The comparison of knowledge, attitude and practice score between before and after training program

Variables	n	Median	IQR	P-value
Knowledge				
Before	24	5.5	3.25, 6.75	<0.001*
After	24	7.0	6, 7	
Attitude				
Before	24	27.0	24, 30	0.112
After	24	25.0	56, 59.75	
Practice				
Before	24	56.0	50.5, 57.75	0.001*
After	24	57.0	56, 59.75	

Discussion

- Consistent with findings of effectiveness of education program on behavioral protection from the use of chemical pesticides for farmers in Phetchabun province (Laddasri Thaijongrak, 2015), which showed that the mean score after intervention was higher than before intervention about knowledge and practices concerning the prevention of the pesticides using for farmers.

- Consistent with the effective of participatory learning program on knowledge and the use of chemical pesticides for farmers in Nongtong Sub-district, Chiang Mai (Jongrungrorsakan, 2016), which found that intervention group had the mean score after intervention higher than before intervention of knowledge about pesticide usage. Obviously, farmers can remember and understood until effect to raise knowledge level and practice about hazard protection of pesticide used be better.
- Not consistent with study of Thavee Lunlach, 2014, page 68-70 studied found that the attitude before development process was moderate level and after development process was moderate level which the statistically significant level increased at 0.05.

Conclusion

This can be concluded that the effectiveness of safety training program in pesticides usage was positive changes of knowledge and practice for pesticide usage among agriculturists in Moo 1 Tha Kham village.

Limitation of the study

1. Participants were not randomized into intervention groups. This sampling can be biased.
2. No control group, the other village was chosen as a control group.
3. Secondly, the intervention period was short. Therefore, the impact and sustainability of the program could not be assessed. Thus, long-term assessment is essential for further study.

Recommendation

1. Should be a study of the effectiveness of the training program on the safe use of chemical pesticides, such as the satisfaction of the community leaders, representatives of the organization, stakeholders and related parties, etc.

2. Should be study factors related to knowledge, attitude and practices of farmers about the safe use of chemical pesticides in daily life
3. Should be study about the design of the training program on the safe use of chemical pesticides that appropriate with farmers or other occupational groups, long term intervention to evaluate the effective and follow up.

Acknowledgement

We would like to express my immense gratitude to Dr. Woottichai Nachaiwieng, Mr. Suphachai Northow, Miss Khemmika Panthura and all staffs in Tha Kham sub-district health promoting hospital for support and motivation in this study. And authors wish to thank all of participants. In particular, we would like to thank all professors in Public Health major, school of health science at Mae Fah Luang University for their advices.

References

- Dasgupta, S. (2007). Pesticide poisoning of farm workers–implications of blood test results from Vietnam. *International Journal of Hygiene and Environmental Health*, 121-132.
- EPA. (2012). Retrieved from Highlands Soil & Water’s PESP Strategy:
http://www.epa.gov/pesp//pesp/members/strategies/highlands_soil_and_water.pdf
- EPA. (n.d.). *Highlands Soil & Water’s PESP Strategy*. Retrieved from
http://www.epa.gov/pesp//members/strategies/highlands_soil_and_water.pdf
- He, F. (2011). Workshop on organophosphate (OP) poisoning: organophosphate poisoning in China. *Hum Exp Toxicol*, 72.
- Jongrungrsakan, W. (2016). Effects of participatory learning program on knowledge and behaviors of farmers using pesticides in Nongtong Subdistrict, Hangdong District, Chiang Mai Province.
- Lunlach, T. (2014). The potential development of family health leader on reducing risks of pesticides usage at Ra Roeng sub-district, Wang Nam Khiao district, Nakhon Ratchasima province.

- Thajongrak, L. (2017). The effectiveness of health education program on pesticide poisoning prevention among farmers in Petchabun province.
- Suratman, S. (2015). Organophosphate pesticides exposure among farmworkers: pathways and risk of adverse health effects. *Rev Environ Health*, 65-79.
- system, O. s. (2013). *Data base of agriculture*. Thailand.
- WHO. (2013). Management of poisoning. In *a handbook for health care workers* (pp. 20-133). England.

ผลของสารสกัดหยาบจากใบชาเมี่ยงต่อการลดแอมโมเนีย ในน้ำสำหรับการเลี้ยงปลาสวยงาม

Effect of Crude Extracts from Assam Tea

(*Camellia sinensis* var. *assamica*) Leaves on Ammonia Reduction in Ornamental Fish Culture

นพวรรณ ตันชูชีพ(Noppawan Tanchuchee)¹ นิวุฒิ หวังชัย(Niwooti Whangchai)²

ชาตรี วีระสิทธิ์(Chatree Virasit)² กานดา หวังชัย(Kanda Whangchai)^{1*}

¹ภาควิชาชีววิทยา คณะวิทยาศาสตร์ มหาวิทยาลัยเชียงใหม่

²คณะเทคโนโลยีการประมงและทรัพยากรทางน้ำ มหาวิทยาลัยแม่โจ้

*Corresponding author. E-mail: kanda.w@cmu.ac.th

บทคัดย่อ

ในระบบการผลิตปลาสวยงามนั้น การจัดการคุณภาพน้ำในบ่ออนุบาลลูกปลาเป็นสิ่งที่สำคัญมาก โดยเฉพาะการลดสารพิษแอมโมเนียในน้ำ เนื่องจากน้ำที่มีความเข้มข้นแอมโมเนียระดับสูง ส่งผลเสียให้ลูกปลาเครียด และตายได้ งานวิจัยครั้งนี้จึงมีวัตถุประสงค์เพื่อ 1. ศึกษาผลของสารสกัดหยาบจากใบชาเมี่ยงต่อการลดปริมาณแอมโมเนีย 2. ศึกษาอัตราการรอดของปลาสวยงามในระยะวัยอ่อนในน้ำที่เติมสารสกัดหยาบจากใบชาเมี่ยง จากการศึกษาผลการเติมสารสกัดหยาบจากใบชาเมี่ยงที่มีแทนนินความเข้มข้น 0, 3.5, 7, 21 และ 56 mg/l ลงในสารละลายแอมโมเนียความเข้มข้น 1 mg/l พบว่าสารสกัดหยาบจากใบชาเมี่ยงในทุกความเข้มข้นสามารถลดสารละลายแอมโมเนียได้ และสารสกัดหยาบจากใบชาเมี่ยงที่ระดับความเข้มข้นแทนนิน 56 mg/l สามารถลดแอมโมเนียได้ดีที่สุด โดยพบว่าปริมาณแอมโมเนียที่ลดลงทำปฏิกิริยากับแทนนิน อัตรา 0.0062 mg/l ต่อ 1 mg/l เมื่อศึกษาอัตราการรอดของปลาสวยงาม โดยเติมสารสกัดหยาบจากใบชาเมี่ยงที่มีแทนนินความเข้มข้น 3.5 mg/l เปรียบเทียบกับชุดไม่เติมสารสกัดหยาบจากใบชาเมี่ยง (ชุดควบคุม) พบว่าชุดที่เติมสารสกัดหยาบจากใบชาเมี่ยงมีปริมาณแอมโมเนียในน้ำเลี้ยงปลาลดลง และมีอัตราการรอดสูงกว่าชุดควบคุม ดังนั้นการใช้สารสกัดหยาบจากใบชาเมี่ยงสามารถช่วยลดอัตราการตายของปลาและนำไปประยุกต์ใช้ในการเลี้ยงปลาชนิดอื่นได้

คำสำคัญ: ใบชาเมี่ยง แทนนิน แอมโมเนีย การเลี้ยงปลา

Abstract

Water quality improvement is very crucial in ornamental fish nursing ponds. Ammonia from fish waste in pond water is danger to fish. This studies aimed to investigate the effects of crude extract from tea leaves on the reduction of the ammonia content. Crude extract was prepared by soaking tea leaves and survival rate of ornamental fish larvae infancy stage in water which was added by crude extracts from Assam Tea leaves. From the study of the effects of crude extract from tea leaves equivalent to tannin 0, 3.5, 7, 21, and 56 mg/l in ammonia solution 1 mg/l. The results showed that All treatment of crude extracts from Assam Tea leaves reduce ammonia solution 56 mg/l and the concentration of tanin was high efficiency to reduced ammonia concentration which reacted to tannin in the ratio of 0.0062 mg/l per 1 mg/l. When study the survival rate of ornamental fish in the water added by crude extracts from Assam Tea leaves that has tannin on the concentration of 3.5 mg/l comparied with the control (Assam Tea leaves did not added) , The effect of tea leaves extraction on ornamental fish culture was conducted in aquarium. The result revealed that extraction of tea leaves could reduce ammonia concentration and could increase fish survival rate.

Keywords: Assam Tea leaves, Tannin, Ammonia, Fish Culture.

บทนำ

การประกอบธุรกิจปลาสวยงามในประเทศไทยปัจจุบันมีการขยายตลาดปลาสวยงามทั้งในประเทศ และส่งออกต่างประเทศมากขึ้น มีทั้งผู้ผลิต ผู้เพาะเลี้ยง และผู้ส่งออกมูลค่าสูงติดอันดับต้นๆ ของโลก ประกอบกับประเทศไทย ตั้งอยู่ในเขตร้อน ซึ่งมีภูมิอากาศ และสภาพแวดล้อมเหมาะสมต่อการเจริญเติบโตของปลาสวยงาม เอื้อให้เกษตรกรนิยมเพาะเลี้ยงปลาสวยงามแพร่หลายมากขึ้น ในส่วนของการผลิตปลาสวยงามนั้น การจัดการคุณภาพน้ำในบ่ออนุบาลลูกปลาเป็นสิ่งที่สำคัญมาก โดยเฉพาะการผลิตปลาแบบหนาแน่น ซึ่งให้ผลผลิตสูงแต่เกิดการสะสมของเสียที่เป็นพิษได้ง่าย เช่น แอมโมเนีย ในขณะที่เลี้ยงปลาจะเกิดการสะสมแอมโมเนียในน้ำเพิ่มขึ้นอย่างรวดเร็ว ซึ่งมีสาเหตุมาจากการให้อาหารปลาที่มีโปรตีนสูง และให้อาหารปลาปริมาณมากเกินไป รวมกับการขับถ่ายของเสียจากตัวปลา โดยปริมาณแอมโมเนียที่ถูกขับถ่ายออกมา ส่วนใหญ่มาจากทางเหงือกและมีสัดส่วนประมาณ 2.5-3% ของปริมาณอาหารที่กินเข้าไปในแต่ละวัน (Lawson, 1195, pp. 355) แอมโมเนียในน้ำที่มากขึ้นจะส่งผลเสีย ทำให้สัตว์น้ำ กินอาหารลดลง ลดการเจริญเติบโต หรือลดความสามารถ

ด้านภูมิคุ้มกันของสัตว์น้ำ (Hargreaves, 1998, pp. 181-212) ทำให้ปลาเครียด และตายได้ โดยเฉพาะลูกปลาวัยเล็ก ๆ ดังนั้นในระบบจัดการน้ำควรมีค่าแอมโมเนียที่ปลอดภัยต่อสัตว์น้ำที่ 0.05 mg/l (MacIntyre et al., 2008, pp. 150-159) ซึ่งสามารถแก้ไขโดยการเปลี่ยนถ่ายน้ำใหม่บ่อย ๆ แต่ผู้เลี้ยงมักประสบปัญหาขาดแคลนน้ำร่วมด้วยโดยเฉพาะในช่วงปลายฤดูแล้งซึ่งเป็นช่วงเหมาะสำหรับการเพาะ และอนุบาลลูกปลา นอกจากการเปลี่ยนถ่ายน้ำใหม่แล้ว การลดแอมโมเนียทำได้โดยใช้โอโซน การใช้เครื่องแยกโปรตีน การเติมสารเคมี และการใช้จุลินทรีย์ ซึ่งระบบเหล่านี้สามารถนำน้ำกลับมาใช้ใหม่ได้ แต่ล้วนมีค่าใช้จ่ายที่ค่อนข้างสูง มีรายงานว่าสารสกัดแทนนินจากการหมักฟางข้าวปริมาณ 0.1 mg/l สามารถลดปริมาณแอมโมเนียในน้ำ (Suwanpakdee et al, 2016, pp. 11-13) สารสกัดแทนนินเป็นสารกลุ่มใหญ่ที่มี โครงสร้างซับซ้อนทางเคมี ประกอบไปด้วยส่วนของโพลีฟีนอล (ประกร รามกุล, 2553, น. 17-20) ปัจจุบันมีการนำสารสกัดจากพืชที่มีแทนนินมาใช้ประโยชน์ในด้านการเกษตรมากขึ้น เนื่องจากมีสมบัติเป็นสารตกตะกอนโปรตีนด้วยโครงสร้างโมเลกุลของแทนนินมีโซข้าง (Side chain) จำนวนมาก จึงสามารถไปจับกับโมเลกุลอื่น ๆ เกิดเป็นสารประกอบเชิงซ้อน และตกตะกอนออกมาได้ง่าย จึงนำไปใช้ในการตกตะกอนน้ำในบ่อกุ้ง บ่อปลา ทำให้น้ำสะอาด คล้ายคลึงกับน้ำจากแหล่งธรรมชาติ (สุชาติ สวรรค์พนา, 2558)

สารสกัดแทนนินสามารถสกัดจากพืชทั่ว ๆ ไปตามธรรมชาติ เช่น ใบชา, ใบมันสำปะหลัง, ใบยูคาลิปตัส และลูกพลับเป็นต้น ในภาคเหนือตอนบนเป็นแหล่งผลิตชาที่สำคัญได้ผลผลิตประมาณ 75-80 พันตันต่อปี ชาที่ปลูกส่วนใหญ่ คือ ชาพันธุ์อัสสัม ส่วนของใบชาอัสสัมใช้เป็นวัตถุดิบของผลิตภัณฑ์เมี่ยง ประกอบไปด้วยสารในกลุ่มของ ฟลาโวนอยด์ และ โพลีฟีนอลอื่น ๆ อยู่มาก (สายลม สัมพันธ์เวชโสภา และคณะ, 2551) ดังนั้นในการศึกษานี้มีวัตถุประสงค์เพื่อหาสารสกัดที่มีแทนนินในใบชาเมี่ยงมาใช้ในการลดปริมาณแอมโมเนียในน้ำอันเป็นอีกแนวทางหนึ่งที่อาจช่วยลดต้นทุนการผลิต และนำน้ำที่มีอยู่กลับมาใช้ใหม่

วัตถุประสงค์ของการวิจัย

1. เพื่อศึกษาผลของสารสกัดหยาบจากใบชาเมี่ยงต่อการลดปริมาณแอมโมเนีย
2. เพื่อศึกษาผลของสารสกัดหยาบจากใบชาเมี่ยงต่อการเลี้ยงปลาสวยงาม

วิธีดำเนินการวิจัย

การทดลองที่ 1 ศึกษาผลของสารสกัดหยาบจากใบชาเมี่ยงต่อการลดปริมาณแอมโมเนีย

1.1 การวิเคราะห์ปริมาณแทนนินในสารสกัดหยาบจากใบชาเมี่ยง

1.1.1 การเตรียมสารสกัดหยาบจากใบชาเมี่ยง

เก็บตัวอย่างใบชาสดระยะใบแก่ พันธุ์อัสสัม *Camellia sinensis* var. *assamica* หรือใบชาเมี่ยงที่ปลูกในพื้นที่อำเภอมะแตง จังหวัดเชียงใหม่ นำใบชาสดระยะใบแก่ มาชั่งน้ำหนัก แล้วนำมาต้มด้วยน้ำดื่มสะอาด โดยใช้อัตราส่วนใบชา 1 kg ต่อน้ำ 3 l ใช้เวลาต้ม 2 ชั่วโมง จะได้สารสกัดหยาบสีน้ำตาลแดง กรองแยกสารสกัดหยาบจากใบชาด้วยผ้าขาวบาง นำสารสกัดหยาบมากรองต่อด้วยเครื่องกรองสุญญากาศผ่านกระดาษกรอง what man เบอร์ 3 จากนั้นเทสารสกัดหยาบที่ได้ใส่ขวดสีชาเก็บไว้ในตู้ทำความเย็น

1.1.2 การวิเคราะห์ปริมาณแทนนิน

การวิเคราะห์ปริมาณแทนนินจากปริมาณโพลีฟีนอลทั้งหมด ดัดแปลงตามวิธีการ AOAC (1990) โดยเตรียมสารละลายมาตรฐานกรดแทนนิกความเข้มข้น 0, 6.25, 12.5, 25, 50 และ 100 mg/l และเตรียมสารสกัดหยาบจากใบชาเมี่ยงเจือจาง 100, 200 และ 400 เท่า ปิเปตสารละลายมาอย่างละ 1 ml ต่อ 1 l หลอดทดลองๆ ละ 1 ข้าง ทำการทดลอง 3 ข้างในทุกความเข้มข้น เติมสารละลายโพลิน - ซิโอแคลทู รีเอเจนต์ปริมาตร 5 ml ต่อ 1 หลอดทดลอง ผสมให้เข้ากันและตั้งทิ้งไว้ 3-8 นาที เติมโซเดียมคาร์บอเนต Na_2CO_3 ความเข้มข้นร้อยละ 7.5 ปริมาตร 4 ml ต่อ 1 หลอดทดลอง ผสมให้เข้ากันและตั้งทิ้งไว้ 2 ชั่วโมง ในที่มีดที่อุณหภูมิห้อง แล้วนำไปวัดค่าดูดกลืนแสงด้วยเครื่องสเปกโตรโฟโตมิเตอร์ที่ความยาวคลื่น 740 นาโนเมตร หาปริมาณแทนนินในสารสกัดหยาบจากใบชาเมี่ยงโดยเทียบค่าที่ได้กับกราฟมาตรฐานของสารละลายกรดแทนนิก

1.2 ผลของสารสกัดหยาบจากใบชาเมี่ยงที่ความเข้มข้นต่างๆ ต่อการลดปริมาณ

แอมโมเนีย

1.2.1 การเตรียมสารละลายแอมโมเนียมาตรฐาน

ซึ่งสารละลายแอมโมเนียมคลอไรด์ NH_4Cl ปริมาณ 0.38158 g ละลายในน้ำกลั่น 1,000 ml จะได้สารละลายแอมโมเนียมาตรฐานที่ความเข้มข้น 1000 mg/l จากนั้นดูดสารละลายปริมาตร 5 ml เจือจางด้วยน้ำกลั่น 500 ml จะได้สารละลายแอมโมเนียมาตรฐานที่ความเข้มข้น 10 mg/l จากนั้นดูดสารละลายมา 15 ml เจือจางด้วยน้ำกลั่น 500 ml จะได้สารละลายแอมโมเนียมาตรฐานที่มีความเข้มข้น 0.3 mg/l

1.2.2 ผลของสารสกัดหยาบจากใบชาเมี่ยงต่อการลดปริมาณแอมโมเนีย

ออกแบบการทดลองเป็น 5 ชุดการทดลอง ๆ ละ 3 ข้าง ได้แก่ ชุดการทดลองที่ไม่ได้เติมสารสกัดหยาบจากใบชาเมี่ยง(เติมน้ำกลั่น) และชุดการทดลองที่เติมสารสกัดหยาบจากใบชาเมี่ยงที่มีแทนนินความเข้มข้น 3.5, 7, 21 และ 56 mg/l โดยเติมสารสกัดหยาบจากใบชาเมี่ยงความเข้มข้นต่างๆ ปริมาตร 2.5 ml ลงในหลอดทดลองที่มีสารละลายแอมโมเนียมาตรฐานที่มีความเข้มข้น 1 mg/l ปริมาตร 2.5 ml นำสารละลายรวมปริมาตร 5 ml ตั้งทิ้ง

ไว้เป็นเวลา 30, 60 และ 180 นาที ก่อนมาเติมสารละลาย rochelle salt solution ปริมาตร 200 μl , oxidizing solution ปริมาตร 250 μl และ phenate solution ปริมาตร 300 μl ตั้งทิ้งไว้ 15 นาที แล้วนำไปวัดค่าดูดกลืนแสงด้วยเครื่องสเปกโตรโฟโตมิเตอร์ ที่ความยาวคลื่น 630 นาโนเมตร พร้อม Reagent blank โดยใช้น้ำกลั่น และนำสารละลายแอมโมเนียมาตรฐาน ที่เตรียมไว้แล้วตามข้อ 1.2.1 ปริมาตร 5 ml มาวัดค่าดูดกลืนแสงในวิธีการเดียวกัน แล้วคำนวณหาปริมาณแอมโมเนียทั้งหมดของน้ำตัวอย่างโดยเปรียบเทียบกับสารละลายแอมโมเนียมาตรฐาน

การทดลองที่ 2 เพื่อศึกษาผลของสารสกัดหยาบจากใบชาเมี่ยงต่อการเลี้ยงปลาสวยงาม

2.1 อัตราการรอดของปลาสวยงาม ในน้ำที่เติมสารสกัดหยาบจากใบชาเมี่ยง

การเลือกความเข้มข้นที่เหมาะสมกับการเลี้ยงปลาสวยงามจากการศึกษางานวิจัย (นิวุฒิ หวังชัย และทิพสุคนธ์ พิมพ์พิมล, 2557, น. 7-10) ศึกษาความเข้มข้นของแทนนินที่ทำให้ลูกปลากะพงตายครึ่งหนึ่ง (LC_{50})

มีค่าเท่ากับ 296 mg/l และความเข้มข้นที่มีความปลอดภัยเท่ากับ 29.6 mg/l อีกทั้งความเข้มข้นของแทนนินสูงจะไปส่งผลกระทบต่อค่า pH ทำให้ค่า pH ของน้ำลดลงอย่างรวดเร็ว ทำให้สัตว์น้ำเกิดความเครียด และอาจส่งผลการเจริญเติบโตได้ จากการทดลองนี้คาดว่า การใช้แทนนินความเข้มข้น 3.5 mg/l ต่ออาทิตย์ในการเลี้ยงปลาคาร์ฟ สามารถควบคุมแอมโมเนียในน้ำได้ โดยทำการแบ่งการทดลองเป็น 2 ชุดการทดลอง ๆ ละ 3 ซ้ำ ได้แก่ เลี้ยงปลาแบบไม่เติมสารสกัดหยาบจากใบชาเมี่ยง (น้ำประปา) ในตู้ที่ 2, 4, 6 และเลี้ยงปลาแบบเติมสารสกัดหยาบจากใบชาเมี่ยงที่มีแทนนินความเข้มข้น 3.5 mg/l ในตู้ที่ 1, 3, 5 โดยเตรียมปลาคาร์ฟ น้ำหนัก 5-8 g ต่อตัว ช่วงลำตัวยาว 7-9 เซนติเมตร มาเลี้ยงในตู้ปลา 6 ตู้ ๆ ละ 5 ตัว รวมทั้งหมด 30 ตัว เตรียมน้ำเลี้ยงปลาโดยเติมน้ำประปาลงในตู้ปลาทั้ง 6 ตู้ละ 15 l ต่อปั๊มออกซิเจนและพักน้ำไว้ 24 ชั่วโมง แล้วปล่อยปลาลงในตู้ปลา ตู้ละ 5 ตัว พักปลาไว้ 12 ชั่วโมง ก่อนเติมสารสกัดหยาบจากใบชาเมี่ยง เทียบเท่าแทนนินความเข้มข้น 3.5 mg/l ลงในตู้ที่ 1, 3, 5 นับจำนวนปลาที่รอดชีวิตในแต่ละความเข้มข้นทุก 24 ชั่วโมง เป็นเวลา 1 อาทิตย์ นับจำนวนปลาที่รอดชีวิตในแต่ละความเข้มข้น คำนวณค่าร้อยละการอยู่รอดของปลา

2.2 ศึกษาปริมาณของแอมโมเนียที่เกิดขึ้นในน้ำเลี้ยงปลาสวยงาม

แบ่งการทดลอง 2 ชุดการทดลอง ๆ ละ 3 ซ้ำ ได้แก่ เลี้ยงปลาแบบไม่เติมสารสกัดหยาบจากใบชาเมี่ยง (น้ำประปา) ในตู้ที่ 2, 4, 6 และเลี้ยงปลาแบบเติมสารสกัดหยาบจากใบชาเมี่ยงที่มีแทนนินความเข้มข้น 3.5 mg/l ในตู้ที่ 1, 3, 5 เก็บตัวอย่างน้ำเลี้ยงปลาทุก 24

ชั่วโมง เป็นเวลา 1 อาทิตย์ เก็บโดยการแช่แข็ง ก่อนนำน้ำตัวอย่างแต่ละชุดการทดลอง ไปวัด
ค่าดูดกลืนแสง หาปริมาณแอมโมเนียดังเช่น การทดลองที่ 1.2.2

ผลการวิจัย

การทดลองที่ 1 ศึกษาผลของสารสกัดหยาบจากใบชาเมี่ยงต่อการลดปริมาณแอมโมเนีย

1.1 การวิเคราะห์ปริมาณแทนนินในสารสกัดหยาบจากใบชาเมี่ยง

ผลการวัดค่าดูดกลืนแสงของสารละลายกรดแทนนิกมาตรฐานที่ความเข้มข้น 0, 6.25, 12.5, 25, 50 และ 100 mg/l ได้ดูดกลืนแสงที่ 0.002, 0.069, 0.110, 0.218, 0.414 และ 0.857 ตามลำดับ (ตาราง 1) นำค่าที่ได้ไปสร้างเป็นกราฟมาตรฐานของสารละลายกรดแทนนิก

ตาราง 1 ค่าดูดกลืนแสงของสารละลายกรดแทนนิกมาตรฐานที่ความเข้มข้นต่างๆ

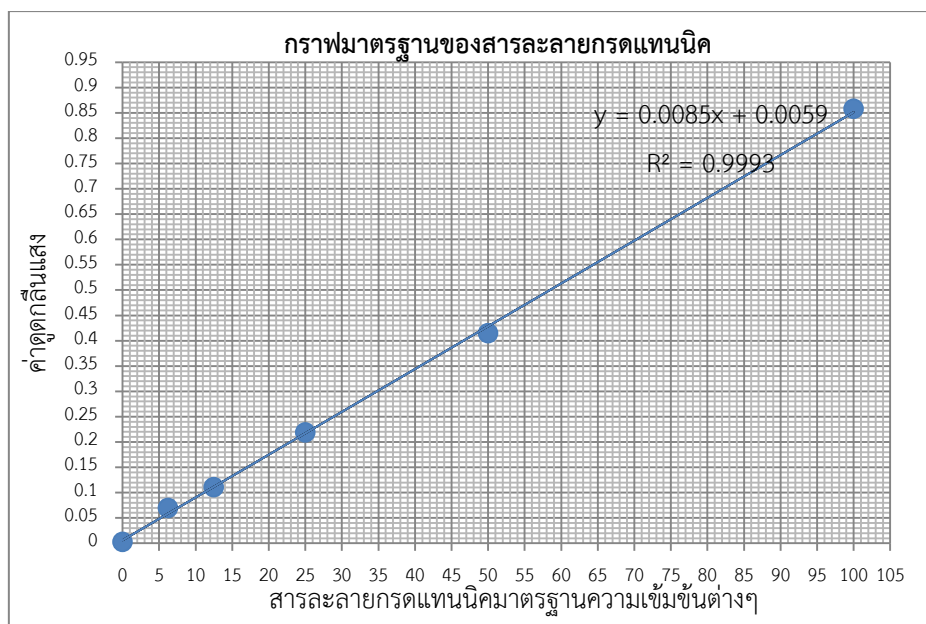
ความเข้มข้นกรดแทนนิก mg/l	ค่าดูดกลืนแสง
0.00	0.002
6.25	0.069
12.5	0.110
25.0	0.218
50.0	0.414
100	0.857

ผลการวัดค่าดูดกลืนแสงของ สารสกัดหยาบจากใบชาเมี่ยงเจือจาง 100, 200 และ 400 เท่า ได้ค่าดูดกลืนแสงที่ 0.157, 0.298 และ 0.563 ตามลำดับ (ตาราง2)

ตาราง2 ค่าดูดกลืนแสงของสารสกัดหยาบจากใบชาเมี่ยงเจือจาง 100, 200 และ 400 เท่า

สารสกัดหยาบจากใบชาเมี่ยง	ค่าดูดกลืนแสง
เจือจาง 100 เท่า	0.157
เจือจาง 200 เท่า	0.298
เจือจาง 400 เท่า	0.563

นำค่าที่ได้มาเทียบกับกราฟมาตรฐานของสารละลายกรดแทนนิก (ภาพ 1) พบว่า สารสกัด
หยาบจากใบชาเมี่ยงมีปริมาณแทนนินความเข้มข้น 7,600, 7,000 และ 6600 mg/l ตามลำดับ โดย
เลือกความเข้มข้นที่ใกล้เคียงค่าเฉลี่ยคือความเข้มข้น 7,000 mg/l ใช้ในการทดลองต่อไป



ภาพ 1 กราฟมาตรฐานของสารละลายกรดแทนนิก

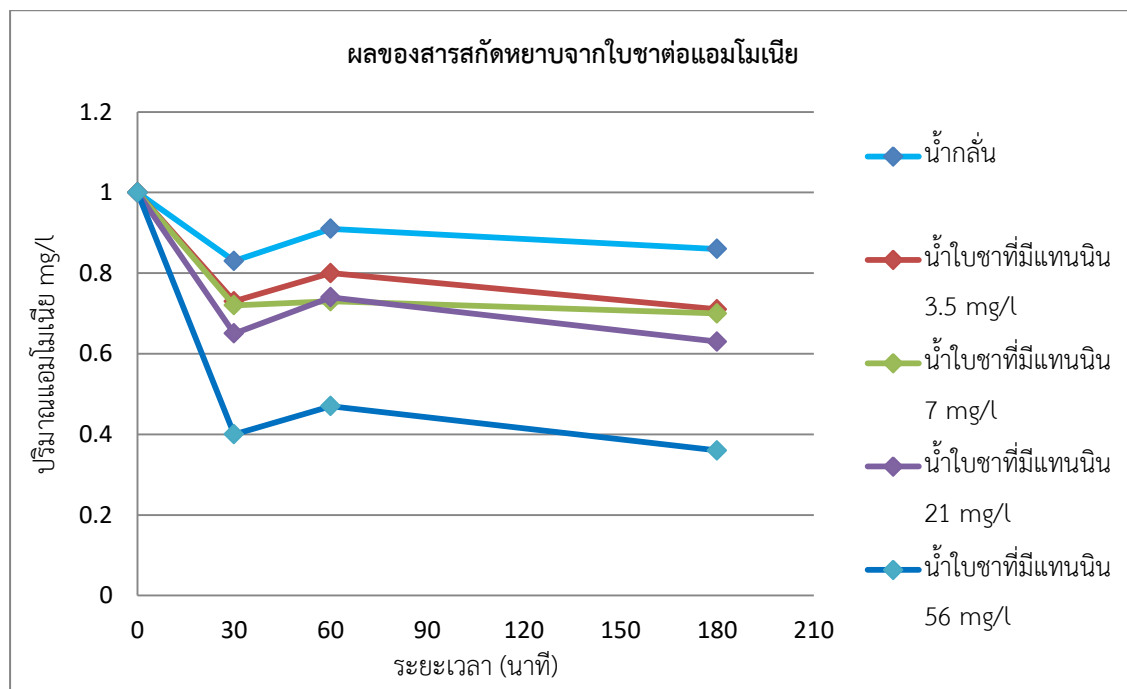
1.2 ผลของสารสกัดหยาบจากใบชาเมี่ยงที่มีความเข้มข้นต่างๆ ต่อการลดปริมาณแอมโมเนีย

จากการศึกษาผลการเพิ่มสารสกัดหยาบจากใบชาเมี่ยงที่มีแทนนินความเข้มข้น 0, 3.5, 7, 21 และ 56 mg/l ลงในสารละลายแอมโมเนียความเข้มข้น 1 mg/l นำไปวัดค่าดูดกลืนแสงในช่วงเวลา 30, 60, และ 180 นาที พบว่าชุดการทดลองที่เพิ่มสารสกัดหยาบจากใบชาเมี่ยงที่มีแทนนินความเข้มข้น 3.5, 7, 21 และ 56 mg/l ในทุกชุดการทดลองทำให้ปริมาณแอมโมเนียลดลง โดยเทียบกับชุดการทดลองที่ไม่ได้เพิ่มสารสกัดหยาบจากใบชาเมี่ยง (เติมน้ำกลั่น) ซึ่งลดลงจาก 1 mg/l เหลือ 0.83 mg/l ที่ระยะเวลา 30 นาที

โดยในชุดการทดลองที่เพิ่มสารสกัดหยาบจากใบชาเมี่ยงที่มีแทนนิน 56 mg/l สามารถลดแอมโมเนียได้ดีที่สุด ปริมาณแอมโมเนียลดลงเหลือ 0.36 mg/l ที่ระยะเวลา 180 นาที รองลงมาคือชุดการทดลองที่เพิ่มสารสกัดหยาบจากใบชาเทียบเท่าแทนนิน 21 mg/l มีปริมาณแอมโมเนียลดลงเหลือ 0.63 mg/l ที่ระยะเวลา 180 นาที ชุดการทดลองที่เพิ่มสารสกัดหยาบจากใบชาเทียบเท่าแทนนิน 7 mg/l มีปริมาณแอมโมเนียลดลงเหลือ 0.71 mg/l ที่ระยะเวลา 180 นาที ชุดการทดลองที่เพิ่มสารสกัดหยาบจากใบชาเทียบเท่าแทนนิน 3.5 mg/l มีปริมาณแอมโมเนียลดลงเหลือ 0.70 mg/l ที่ระยะเวลา 180 นาที ตามลำดับ จากการทดลองพบว่า ในชุดการทดลองที่เพิ่มสารสกัดหยาบจากใบชาเมี่ยงที่มีแทนนินในความเข้มข้นที่สูงขึ้น ปริมาณแอมโมเนียยิ่งลดลง จากการศึกษาช่วงเวลาทีลดแอมโมเนียได้ดีที่สุด คือระยะเวลา 180 นาที ซึ่งมีความใกล้เคียงกันกับระยะเวลารองลงมาคือระยะเวลา 30 นาที ส่วนระยะเวลา 60 นาที จะมีปริมาณแอมโมเนียเพิ่มสูงขึ้นเล็กน้อย

ตาราง 3 ผลของสารสกัดหยาบจากใบชาเมี่ยงที่ความเข้มข้นต่างๆ ต่อการลดปริมาณแอมโมเนียมาตรฐาน 1 mg/l

แทนนินในสารสกัดหยาบจากใบชา	ค่าเฉลี่ยแอมโมเนียที่ลดลง
เมี่ยง mg/l	mg/l
0.0	0.86
3.5	0.74
7.0	0.71
21	0.67
56	0.41



ภาพ 2 ผลของสารสกัดหยาบจากใบชาเมี่ยงที่ความเข้มข้นต่างๆ ต่อการลดแอมโมเนีย

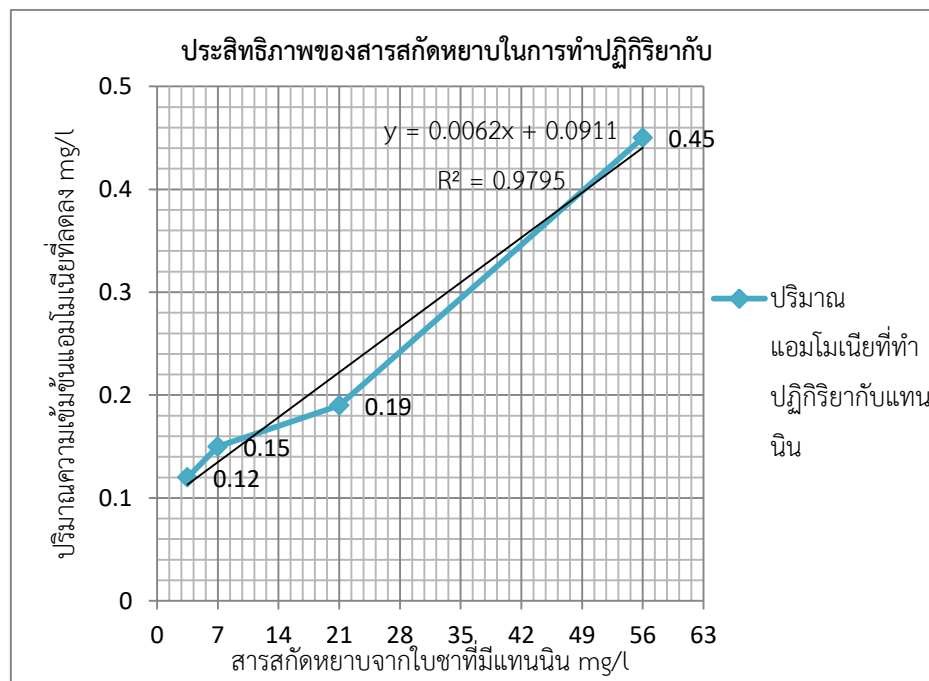
ประสิทธิภาพของสารสกัดหยาบจากใบชาเมี่ยงต่อการลดปริมาณแอมโมเนียมาตรฐาน จากการทดลองสารสกัดหยาบจากใบชาเมี่ยงที่ความเข้มข้นต่างๆ สามารถลดปริมาณแอมโมเนียได้ ซึ่งในแต่ละชุดการทดลองพบว่ามีปริมาณแอมโมเนียที่ลดลง เมื่อเทียบปริมาณแอมโมเนียกับชุดการทดลองที่ไม่ได้เติมสารสกัดหยาบจากใบชาเมี่ยง (เติมน้ำกลั่น) ซึ่งมีปริมาณแอมโมเนีย 0.86 mg/l จากการเปรียบเทียบพบว่า ในชุดการทดลองที่เติมสารสกัดหยาบจากใบชาเมี่ยงที่มีแทนนิน 56 mg/l มีประสิทธิภาพในการลดแอมโมเนียได้ดีมากที่สุด โดยสามารถทำปฏิกิริยากับแอมโมเนียได้ 0.43 N-

ppm รองลงมาคือชุดการทดลองที่เติมสารสกัดหยาบจากใบชาเมี่ยงที่มีแทนนิน 21 mg/l สามารถทำปฏิกิริยากับแอมโมเนียได้ 0.19 mg/l ชุดการทดลองที่เติมสารสกัดหยาบจากใบชาเมี่ยงที่มีแทนนิน 7 mg/l สามารถทำปฏิกิริยากับแอมโมเนียได้ 0.15 mg/l และชุดการทดลองที่เติมสารสกัดหยาบจากใบชาเมี่ยงที่มีแทนนิน 3.5 mg/l สามารถทำปฏิกิริยากับแอมโมเนียได้ 0.12 mg/l ตามลำดับ (ตาราง 4) และเมื่อเปรียบเทียบกับชุดควบคุม พบว่าค่าแอมโมเนียมีความแตกต่างทางสถิติ ($P < 0.05$)

ตาราง 4 ประสิทธิภาพของแทนนินในสารสกัดหยาบจากใบชาเมี่ยงในการจับแอมโมเนีย

แทนนินในสารสกัดหยาบจากใบชา เมี่ยง mg/l	แอมโมเนียที่ลดลง mg/l
3.5	0.12
7.0	0.15
21	0.19
56	0.45

ทำการหาประสิทธิภาพของสารสกัดหยาบจากใบชาเมี่ยงต่อการลดแอมโมเนีย โดยวิเคราะห์จากปริมาณแอมโมเนียที่ลดลงในแต่ละความเข้มข้นของแทนนิน เมื่อเทียบกับชุดควบคุมพบว่า แทนนินจากสารสกัดหยาบจากใบชาเมี่ยง 1 mg/l มีประสิทธิภาพในการทำปฏิกิริยากับแอมโมเนียในอัตรา 0.0062 mg/l

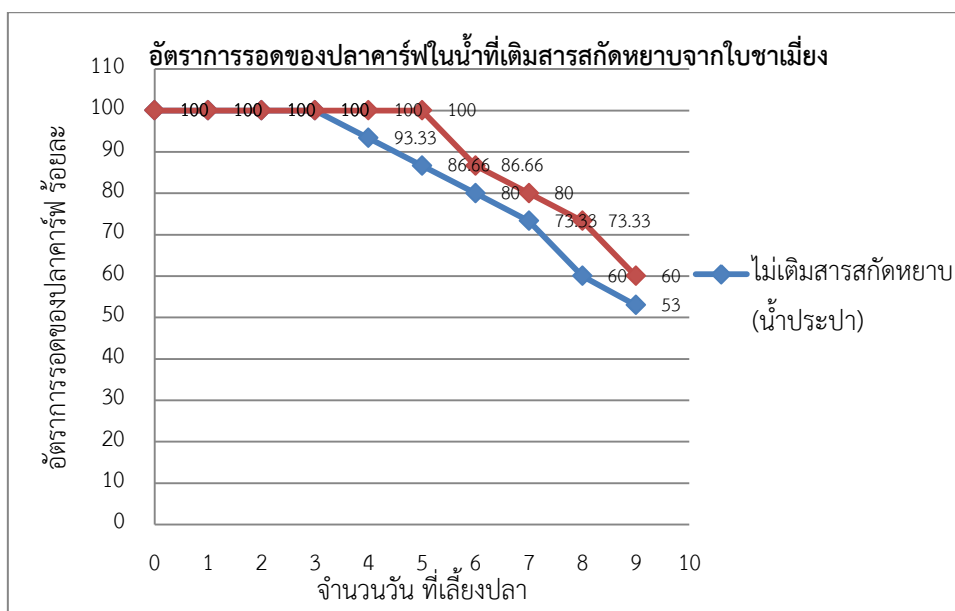


ภาพ 3 ประสิทธิภาพของแทนนินในสารสกัดหยาบจากใบชาเมี่ยงในการทำปฏิกิริยากับแอมโมเนีย

การทดลองที่ 2 เพื่อศึกษาผลของสารสกัดหยาบจากใบชาเมี่ยงต่อการเลี้ยงปลาสวายงาม

2.1 อัตราการรอดของปลาสวายงาม ในน้ำที่เติมสารสกัดหยาบจากใบชาเมี่ยง

จากการศึกษาอัตราการรอดของปลาคาร์ฟที่เลี้ยงแบบไม่เติมสารสกัดหยาบจากใบชาเมี่ยง (น้ำประปา) และแบบเติมสารสกัดหยาบจากใบชาเมี่ยงที่มีแทนนินความเข้มข้น 3.5 mg/l พบว่าการเลี้ยงปลาคาร์ฟแบบไม่เติมสารสกัดหยาบจากใบชาเมี่ยง (น้ำประปา) มีอัตราการรอดในวันที่ 1-3 ร้อยละ 100 และมีอัตราการรอดลดลงเรื่อย ๆ ในวันที่ 4-7 คือร้อยละ 93.33, 86.66, 80, และ 73.33 ตามลำดับ ผลจากการเลี้ยงปลาคาร์ฟแบบเติมสารสกัดหยาบจากใบชาเมี่ยงที่มีแทนนินความเข้มข้น 3.5 mg/l พบว่ามีอัตราการรอดในวันที่ 1-5 ร้อยละ 100 และมีอัตราการรอดลดลงเรื่อย ๆ ในวันที่ 6-7 คือร้อยละ 86.66 และ 80 ตามลำดับ (ภาพ 4)

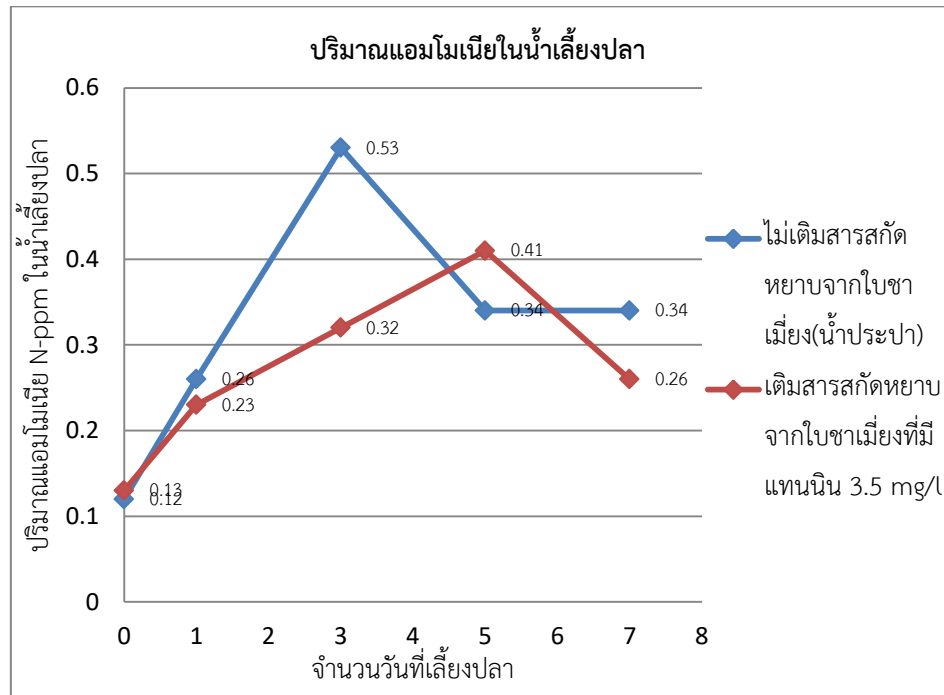


ภาพ 4 อัตราการรอดของปลาสวายงาม ในน้ำที่เติมสารสกัดหยาบจากใบชาเมี่ยง ที่ระยะเวลาต่างๆ

2.2 ศึกษาปริมาณของแอมโมเนียที่เกิดขึ้นในน้ำเลี้ยงปลาสวายงาม

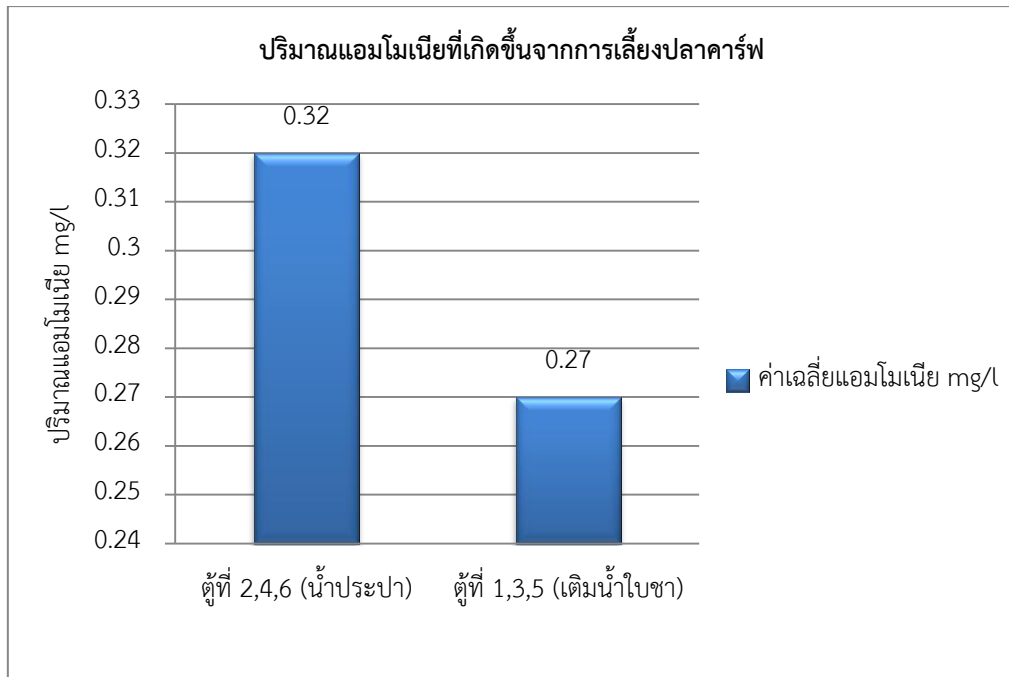
จากการศึกษาปริมาณของแอมโมเนียที่เกิดขึ้นจากน้ำเลี้ยงปลาคาร์ฟ โดยชุดการทดลองที่ 1 เลี้ยงแบบไม่เติมสารสกัดหยาบจากใบชาเมี่ยง (น้ำประปา) ชุดการทดลองที่ 2 เลี้ยงแบบเติมสารสกัดหยาบจากใบชาเมี่ยงเทียบเท่าแทนนิน 3.5 mg/l พบว่าการเลี้ยงปลาแบบไม่เติมสารสกัดหยาบจากใบชาเมี่ยง (น้ำประปา) มีปริมาณแอมโมเนียต่ำสุดในวันที่ 1 คือ 0.26 mg/l และมีค่าสูงสุดในวันที่ 3 คือ 0.53 mg/l โดยมีค่าเฉลี่ยของแอมโมเนียที่เกิดขึ้นในวันที่ 1-7 เท่ากับ 0.32 mg/l ซึ่งมีปริมาณแอมโมเนียซึ่งเป็นพิษต่อปลาสูงกว่า ส่วนผลการเลี้ยงปลาแบบเติมสารสกัดหยาบจากใบชาเมี่ยงที่มีแทนนินความเข้มข้น 3.5 mg/l ที่มีปริมาณแอมโมเนียต่ำสุดในวันที่ 1 คือ 0.23 mg/l และมีค่าสูงสุด

ในวันที่ 5 คือ 0.41 mg/l โดยมีค่าเฉลี่ยของแอมโมเนียที่เกิดขึ้นในวันที่ 1-7 เท่ากับ 0.27 mg/l (ภาพ 5) ซึ่งมีปริมาณแอมโมเนียน้อยกว่า และเมื่อเปรียบเทียบกับชุดควบคุม พบว่าค่าแอมโมเนียมีความแตกต่างทางสถิติ ($P < 0.05$)

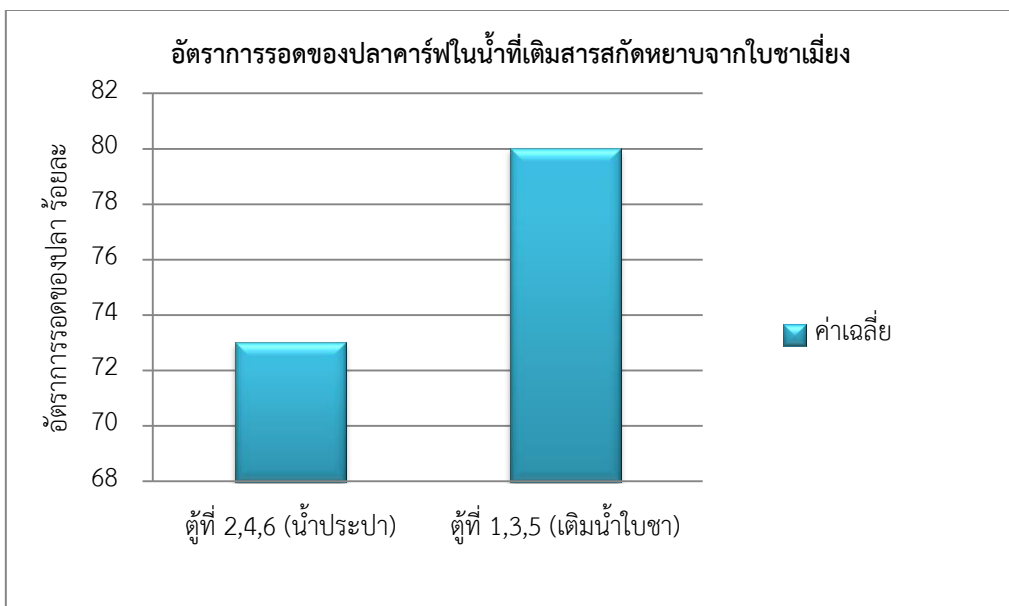


ภาพ 5 ปริมาณแอมโมเนียที่เกิดขึ้นในน้ำเลี้ยงปลาคาร์ฟ ที่ระยะเวลาต่างๆ

จากผลการทดลองพบว่าปริมาณแอมโมเนียมีความสัมพันธ์กับอัตราการรอดของปลา โดยในชุดการทดลองที่ไม่เติมสารสกัดหยาบจากใบชาเมี่ยง(น้ำประปา) จะมีปริมาณแอมโมเนียที่เป็นพิษเฉลี่ย 0.32 mg/l ส่งผลให้มีอัตราการรอดร้อยละ 73 เมื่อเทียบกับชุดการทดลองที่เติมสารสกัดหยาบจากใบชาเมี่ยงที่มีแทนนินความเข้มข้น 3.5 mg/l จะมีปริมาณแอมโมเนียที่เป็นพิษเฉลี่ยต่ำลง 0.27 mg/l และมีอัตราการรอดสูงขึ้น ร้อยละ 80 (ภาพ 6 และภาพ 7)



ภาพ 6 ค่าเฉลี่ยของแอมโมเนียในน้ำที่เติมสารสกัดหยาบจากใบชาเมี่ยง



ภาพ 7 อัตราการรอดของปลาสร้อยงาม ในน้ำที่เติมสารสกัดหยาบจากใบชาเมี่ยง

สรุปและอภิปรายผล

การควบคุมคุณภาพน้ำเป็นปัจจัยสำคัญในการเลี้ยงปลาสร้อยงามโดยเฉพาะการลดสารพิษแอมโมเนียในน้ำ เนื่องจากถ้ามีความเข้มข้นแอมโมเนียที่ระดับสูงอาจทำให้ปลาตายได้ จากการศึกษาครั้งนี้พบว่า สารสกัดหยาบจากใบชาเมี่ยงในทุกความเข้มข้นสามารถลดสารละลาย

แอมโมเนียได้ และสารหยาบจากใบชาเมี่ยงที่ระดับความเข้มข้นของแทนนิน 56 mg/l สามารถลดแอมโมเนียได้ดีที่สุด เมื่อเปรียบเทียบกับชุดควบคุม สอดคล้องกับการทดลองของ (อดิศักดิ์ อภิระนัง, 2559, น. 42-43) ได้สรุปว่าสารสกัดแทนนินจากน้ำหมักใบชาสามารถลดปริมาณแอมโมเนียได้ทั้งในน้ำจืด และน้ำกร่อย ที่เป็นเช่นนี้เพราะแทนนินไปจับกับแอมโมเนียอิสระ และสารแขวนลอยต่างๆในน้ำ ทำให้โมเลกุลมีขนาดใหญ่ขึ้น เหนียวนาให้ตกตะกอนสู่เบื้องล่าง น้ำด้านบนจึงใสขึ้น ตามที่ (ฤทัยรัตน์ น้อยคนดี, 2551) และสอดคล้องกับผลการวิจัย (ปทุมธานี สัมภาวะผล, 2554) พบว่าวัสดุเศษเหลือของพืชที่มีปริมาณฟีนอลิกและมีคอนเดนซ์แทนนินสูงมีคุณสมบัติในการตกตะกอนโปรตีน และตามที (Mahanato et al., 1982, pp. 959-978) ได้ศึกษาพบว่าสารสกัดแทนนินเป็นสารประกอบจำพวกฟีนอลที่มีหมู่ไฮดรอกซิล เป็นจำนวนมาก จึงสามารถไปจับกับโมเลกุลอื่นๆ เช่น โปรตีน น้ำตาล เกิดเป็นสารประกอบเชิงซ้อนเกิดเป็นก้อนตกตะกอนออกมาได้ คุณสมบัตินี้สามารถใช้ในการตกตะกอนโปรตีนได้ จึงนำไปใช้ในการตกตะกอนน้ำในบ่อกัก บ่อปลา ทำให้น้ำสะอาด คล้ายคลึงกับน้ำจากแหล่งธรรมชาติสอดคล้องกับ (สุชาติ สวรรค์พนา, 2558)

และการศึกษาประสิทธิภาพของสารสกัดหยาบ ต่อการลดแอมโมเนีย โดยวิเคราะห์จากปริมาณแอมโมเนียที่หายไปในแต่ละความเข้มข้นของแทนนินเมื่อเทียบกับชุดควบคุม พบว่าแอมโมเนียที่หายไป ถูกทำปฏิกิริยาด้วยแทนนินในอัตรา 0.0062 mg/l ต่อ 1 mg/l และความเข้มข้นของสารสกัดหยาบ มีความสัมพันธ์กับปริมาณแอมโมเนียที่ลดลง เมื่อศึกษาปริมาณแอมโมเนียต่ออัตราการรอดของปลาสวยงามโดยเติมสารสกัดหยาบจากใบชาเมี่ยงที่มีแทนนินให้ได้ความเข้มข้น 3.5 mg/l เปรียบเทียบกับชุดไม่เติมสารสกัดหยาบจากใบชาเมี่ยง พบว่าชุดที่เติมสารสกัดหยาบจากใบชาเมี่ยงมีปริมาณแอมโมเนียในน้ำเลี้ยงปลาลดลงและมีอัตราการรอดสูงขึ้นเมื่อเทียบกับชุดควบคุม มีงานทดลอง (นิวติ หวังชัย และทิพสุคนธ์ พิมพ์พิมล, 2557, น. 7-10) ศึกษาความเข้มข้นของแทนนินที่ทำให้ลูกปลากะพงตายครึ่งหนึ่ง (LC_{50}) มีค่าเท่ากับ 296 mg/l และความเข้มข้นที่มีความปลอดภัยมีค่าเท่ากับ 29.6 mg/l แต่จากการทดลองครั้งนี้ปริมาณแอมโมเนียมีความเข้มข้นไม่สูงมาก ซึ่งคาดว่า การใช้แทนนินความเข้มข้น 3.5 mg/l ต่ออาทิตย์ในการเลี้ยงปลาแคร์ฟ สามารถควบคุมแอมโมเนียในน้ำได้ ซึ่งเป็นความเข้มข้นที่ปลอดภัยและไม่ส่งผลกระทบต่อคุณภาพน้ำ เพราะความเข้มข้นแทนนินที่มากกว่า 3.5 mg/l จะไปส่งผลกระทบต่อค่า pH ทำให้ค่า pH ของน้ำลดลงอย่างรวดเร็ว ทำให้สัตว์น้ำเกิดความเครียด และอาจส่งผลต่อการเจริญเติบโตได้ และผลการทดลองนี้ยังสอดคล้องกับ (Suwanpakdee et al, 2016, pp. 11-13) ซึ่งรายงานว่าสารสกัดแทนนินจากการหมักฟางข้าว ปริมาณ 0.1 mg/l สามารถลดแอมโมเนียในน้ำตัวอย่างน้ำได้ดี เนื่องจากปัจจุบันมีการขายแทนนินในรูปแบบทางการค้า เพื่อใช้ในการควบคุมโรคในสัตว์บกดังนั้นจึงสามารถใช้แทนนินแบบผงในอุตสาหกรรมสัตว์น้ำได้ แต่อย่างไรก็ตามการประยุกต์ใช้แทนนินจากพืชชนิดอื่นจะต้องมีการศึกษาประสิทธิภาพต่อไป

กิตติกรรมประกาศ

ขอขอบคุณคณะเทคโนโลยีการประมงและทรัพยากรทางน้ำ มหาวิทยาลัยแม่โจ้ และศูนย์ปฏิบัติการวิจัยสรีรวิทยาและคณะวิทยาศาสตร์ มหาวิทยาลัยเชียงใหม่ ที่เอื้อเฟื้อสถานที่ทดลองเครื่องมือ รวมถึงสารเคมีต่าง ๆ ที่ใช้ในการวิจัย ตลอดระยะเวลาในการทำวิจัย จนงานวิจัยสำเร็จ ลุล่วงตามวัตถุประสงค์

ขอขอบคุณ โรงเรียนอนุบาลหนองป่าครั่ง สังกัดเทศบาลตำบลหนองป่าครั่ง ที่สนับสนุน ให้โอกาสในการใช้เวลาทำวิจัย จนงานวิจัยสำเร็จลุล่วงด้วยดี

เอกสารอ้างอิง

- นิรุฒิ หวังชัย และทิพสุคนธ์ พิมพ์พิมล. (2557). การพัฒนาเทคนิคการลดแอมโมเนียในระบบการผลิตสัตว์น้ำโดยสารแทนนินจากใบชา (รายงานวิจัยฉบับสมบูรณ์). เชียงใหม่: คณะเทคโนโลยีการประมงและทรัพยากรทางน้ำ มหาวิทยาลัยแม่โจ้.
- ประกร รามกุล. (2553). นวัตกรรมตัวดูดซับแทนนินในการแยกโลหะจากสารละลาย. วิศวกรรมสาร มก., 23 (72), 17-20.
- ปทุมณานิ สัมภาวะผล. (2554). สารสกัด องค์ประกอบ คุณสมบัติบางประการ และการประยุกต์ใช้ของสารสกัดแทนนินจากวัสดุเศษเหลือของพืช (รายงานการวิจัยฉบับสมบูรณ์). สงขลา: คณะวิทยาศาสตร์ มหาวิทยาลัยสงขลานครินทร์.
- ฤทัยรัตน์ น้อยคนตี. (2551). สารสกัดแทนนินจากใบมันสำปะหลังเพื่อการบำบัดคุณภาพน้ำเสีย (รายงานการวิจัยฉบับสมบูรณ์). กรุงเทพฯ: คณะวิทยาศาสตร์ มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์.
- สายลม สัมพันธ์เวชโสภา, พนม วิญญายอง, อีรพงษ์ เทพภรณ์ และประภัสสร ดำรงกุล อึ้งวิชัยพันธ์. (2551). การศึกษาสถานภาพปัจจุบันของชาไทย (รายงานการวิจัยฉบับสมบูรณ์). เชียงราย: สำนักงานกองทุนสนับสนุน- การวิจัย.
- สุชาติ สัจจรวงษ์พนา. (2558, 14 พฤษภาคม). สารแทนนินจากใบมันสำปะหลังอีกหนึ่งทางเลือกของเกษตรกร. ออนไลน์. สืบค้นเมื่อ 14 พฤษภาคม 2561. จาก :<http://www.vcharkam.com>
- อดิศักดิ์ อภิระนัน. (2559). ความหลากหลายของแอคติโนมัยซีส์ที่สร้างกลิ่นไม่พึงประสงค์ในบ่อเลี้ยงปลา(วิทยานิพนธ์ปริญญาโท). สาขาวิชาเทคโนโลยีการประมง มหาวิทยาลัยแม่โจ้. เชียงใหม่
- Association of Official Analytical Chemists. (1990). Official methods of analysis of the Association of Official Analytical Chemists, Washington, D. C. (A.O.A.C.).

- Hargreaves, J.A. (1998). Nitrogen biogeochemistry of aquaculture ponds. *Aquaculture* 166: 181-212.
- Lawson, T. B. (1995). *Fundamentals of Aquaculture Engineering*. Chapman & Hall, New York. 355 pp.
- MacIntyre, C.M., Ellis ,T., North, B.P. and Turnbull, J.F.. (2008). The Influences of Water Quality on The Welfare of Farmed Rainbow Trout: a review; In *Fish welfare*. Blackwell Publishing Ltd, Singapore.pp 150-159.
- Mahanato, S.B., Ganguly, A. N.and Sadhu, N. P. (1982). Review-steroid saponins. *Phytochemistry* 21(5): 959-978.
- Suwanpakdee et al. (2016). Study of the Effect of Gypsum and Rice Straw Extract on the Control of Earthy-Musty Odor in Tilapia Culture Pond, *Walailak Journal*, 13(7),1-15.

การหาปริมาณกรดแกลลิกในพืชสมุนไพรด้วยเทคนิคสแคว-เวฟ โวลแทมเมตรี

Determination of Gallic Acid in Herb by Square Wave Voltammetry

ชูดาพร ศรีวิรัตน์ (Chudaporn Sriwirat) ภัทราภรณ์ ดีธรรมมา (Pattharaporn Deethamma)

ตุลา รุจีนิमित (Tula Rujeenimit) ปุณยนุช ธรรมอาชีพ (Punyanuch Thammaacheep)

บันฐิตา ศาลา (Banthita sala) ฉัตรระวี สุขประเสริฐ (Chartrawee sukprasroet)

อนรรักษ์ จิตต์บึงพร้าว (Anurak Chitbuengphrao) กุลวดี ปิ่นวัฒนะ (Kulwadee Pinwattana)

อัญชนา ปรีชาวรพันธ์ (Anchana Preechaworapun)

สังกัด (สาขาวิชาเคมี คณะวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยี มหาวิทยาลัยราชภัฏพิจิตรสงคราม)

*Corresponding author. E-mail: anchaph@psru.ac.th

บทคัดย่อ

การศึกษาปฏิกิริยาออกซิเดชันของกรดแกลลิกโดยใช้ขั้วไฟฟ้าแกลสคาร์บอนเป็นขั้วไฟฟ้าทำงาน ได้ตรวจสอบคุณลักษณะด้วยเทคนิคไซคลิกโวลแทมเมตรีพบปฏิกิริยาออกซิเดชันที่ศักย์ไฟฟ้า 0.45 V และ 0.70 V ในสารละลายอิเล็กโทรไลต์ฟอสเฟตบัฟเฟอร์ (pH 7.0) การตรวจวัดกรดแกลลิกในระบบที่พัฒนาขึ้นโดยเลือกใช้เทคนิคสแคว-เวฟ โวลแทมเมตรี พบช่วงของความเข้มข้นที่เป็นเส้นตรงอยู่ที่ ทำการวิเคราะห์ได้ช่วงของความเข้มข้นที่เป็นเส้นตรงอยู่ระหว่าง 0.1 – 0.48 mM และ 0.48 – 0.83 mM ของตำแหน่งของศักย์ไฟฟ้าออกซิเดชัน 0.45 V และตำแหน่งศักย์ไฟฟ้า 0.70 V ช่วงของความเข้มข้นที่เป็นเส้นตรงอยู่ที่ 0.10 – 0.91 mM สามารถตรวจวัดในตัวอย่างสมุนไพรจริงได้

คำสำคัญ: กรดแกลลิก เคมีไฟฟ้า สมุนไพร

Abstract

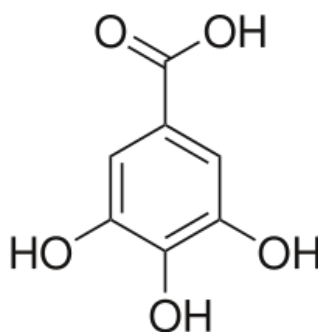
The electrochemical oxidation of gallic acid investigated by glassy carbon electrode. The electrochemical oxidation characterized by cyclic voltammetry. The results indicated that the electrodes showed excellent electrochemical oxidation with two oxidation peaks appeared at +0.45 and +0.70 V in pH 7.0 phosphate buffer solution. The electrochemical analysis developed quantitative analysis by the square-wave voltammetry technique. The results showed linearity as 0.1 – 0.48 mM and 0.48 – 0.83 mM at the anodic peak +0.45 V. The linearity of anodic peak at +0.70 V was 0.10 – 0.91 mM. The development method applied to determine gallic acid in Herb.

Keywords: Gallic acid, Electrochemistry, Herb

บทนำ

ปัจจุบันสมุนไพรไทยเป็นที่นิยมกันอย่างแพร่หลายอีกครั้งทั้งในประเทศและต่างประเทศ เพราะประชาชนได้รับทราบถึงผลดีของสมุนไพรและข้อจำกัดของยาแผนปัจจุบันกันมากขึ้น สมุนไพรหลายชนิดจึงถูกนำมาบริโภคในรูปของอาหารที่ให้ประโยชน์ต่อร่างกายเพื่อให้สุขภาพร่างกายแข็งแรง ในรูปของอาหารที่ให้ประโยชน์ต่อร่างกายเพื่อให้สุขภาพร่างกายแข็งแรง นอกจากนี้ยังเป็นส่วนหนึ่งของยารักษาโรค (Neamsuvan, Komonhiran, & Boonming, 2018) นิยมนำมาผลิตเป็นเครื่องดื่มสมุนไพรเพื่อให้สะดวกแก่การบริโภคและได้รสชาติที่แปลกใหม่ กลุ่มของสารต้านอนุมูลอิสระส่วนใหญ่ที่พบในสมุนไพรได้แก่ สารประกอบฟีนอลิก แครโทีนอยด์ ฟลาโวนอยด์และ วิตามินต่างๆ อย่างกรดแกลลิก (Gallic acid) จัดเป็นสารประกอบฟีนอลิกที่มีคุณสมบัติต้านอนุมูลอิสระที่มีความสำคัญกับร่างกายของเราตัวหนึ่ง(Gu, Zhang, Meng, Xu, & Xie, 2018)

กรดแกลลิก (3,4,5-trihydroxylbenzoic acid) มีโครงสร้างดังภาพที่ 1 เป็นสารประกอบโพลีฟีนอลที่สำคัญที่มีอยู่ผลไม้ต่างๆ ถั่ว ชาเขียว และไวน์แดง เป็นสารต้านอนุมูลอิสระที่มีศักยภาพซึ่งสามารถกำจัด DPPH (Diphenyl-1-picrylhydrazyl) ซึ่งมีประสิทธิภาพมากกว่าวิตามินอี การศึกษาเพิ่มเติมได้รายงานเกี่ยวกับความสามารถในการป้องกันระบบประสาทฤทธิ์การต้านมะเร็ง ฤทธิ์ต้านการอักเสบ ป้องกันหัวใจและหลอดเลือด ป้องกันตับ และป้องกันระบบทางเดินอาหาร (Gu et al., 2018; Zanwar, Badole, Shende, Hegde, & Bodhankar, 2014)



ภาพ 1 โครงสร้างของกรดแกลลิก

จากประโยชน์ของสมุนไพร และกรดแกลลิกที่มีอยู่ในสมุนไพรทำให้ผู้วิจัยมีความสนใจที่จะศึกษาหาปริมาณกรดแกลลิกในสมุนไพร การวิเคราะห์กรดแกลลิกสามารถวิเคราะห์ได้ด้วยเทคนิคสเปกโตรเมตรี (Lu et al., 2011) และเทคนิคโครมาโทกราฟีสมรรถนะสูง (Denderz & Lehotay, 2014; Lin, Lin, Liang, Lin-Shiau, & Juan, 1998) เป็นต้น เนื่องจากเทคนิคดังกล่าวต้องให้สารเคมีและระยะเวลาในการเตรียมตัวอย่างนาน ประกอบกับต้นทุนในการวิเคราะห์สูง ดังนั้นในงานวิจัยจึง

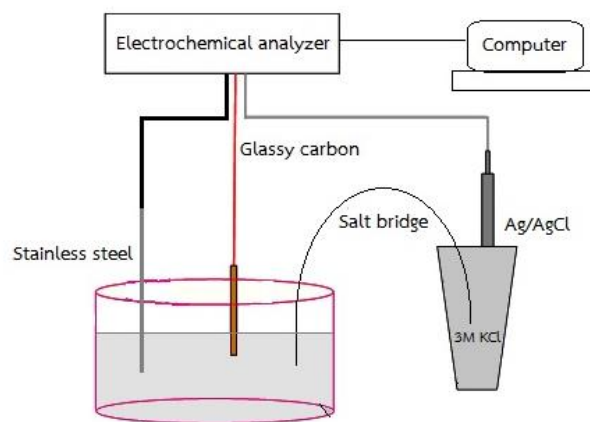
เลือกทำการพัฒนาวิธีวิเคราะห์โดยใช้เทคนิคทางเคมีไฟฟ้า ที่มีการวิเคราะห์ที่ง่ายและใช้สารเคมีน้อย สามารถประยุกต์วิเคราะห์หาปริมาณกรดแกลลิก ในตัวอย่างสมุนไพรได้

วัตถุประสงค์ของการวิจัย

เพื่อหาปริมาณกรดแกลลิกในพืชสมุนไพรโดยใช้เทคนิคสแคว-เวฟ โวลแทมเมตรีด้วยขั้วไฟฟ้า แกลสสิคาร์บอน

วิธีดำเนินการวิจัย

เครื่องมือและอุปกรณ์คือ เครื่องปั่นเหวี่ยง (Centrifuge) : ยี่ห้อ HERMLE รุ่น Z206A จาก ประเทศเยอรมัน เครื่องเขย่าสาร (Vortex) เครื่องโพเทนชิโอสแตท (Potentiostat) : รุ่น PGSTAT204, Netherland เครื่องกวนสารด้วยแม่เหล็กไฟฟ้า (magnetic stirrer) ขั้วไฟฟ้าทำงาน แกลสสิคาร์บอน (เส้นผ่าศูนย์กลาง 3 mm) ขั้วไฟฟ้าอ้างอิงซิลเวอร์/ซิลเวอร์คลอไรด์ (3 M KCl) และขั้วฟ้าช่วยเป็นสแตนเลสสตีล การติดตั้งเซลล์เคมีไฟฟ้า ได้ดังภาพที่ 2



ภาพ 2 องค์ประกอบของเซลล์เคมีไฟฟ้า

สารเคมีที่ใช้ในการทดลอง Gallic acid และ Sodium phosphate dibasic dodecahydrate ($\text{HNaPO}_4 \cdot 12\text{H}_2\text{O}$) จากบริษัท Sigma Sodium phosphate monobasic dihydrate ($\text{H}_2\text{NaPO}_4 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$) จากบริษัท Fluka น้ำปราศจากไอออน (DI water) ผลิตจากเครื่อง Ultrapure water (ยี่ห้อ: Adrona รุ่น: Crytal EX จากประเทศสวีเดน)

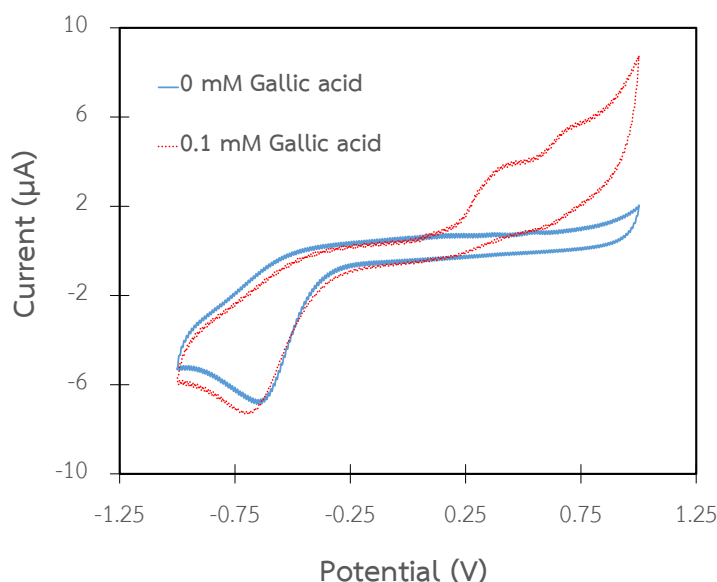
การเตรียมตัวอย่าง การศึกษาครั้งนี้ใช้ตัวอย่างเป็นใบของโหระพา (*Ocimum basilicum*) และใบเตย (*Pandanus odoratus*) โดยตัวอย่างดังกล่าวได้ทำการสุ่มเก็บตัวอย่างจากตำบลบ้านคลอง

อำเภอเมือง จังหวัดพิษณุโลก ในวันที่ 25 เมษายน 2561 จากนั้นนำมาทำความสะอาด ชักน้ำให้แห้ง และตัดเป็นชิ้นเล็กๆ นำตัวอย่างไปปั่นให้ละเอียดด้วยเครื่องปั่น จากนั้นชั่งตัวอย่าง 1 กรัม สกัดด้วย สารละลายฟอสเฟตบัฟเฟอร์ (pH 7) ที่ละลายใน 20% โดยปริมาตรของเอทานอล ปริมาตร 2 มิลลิลิตร ปั่นสกัดแบบหมุนไหลวนด้วยเครื่อง Vortex เป็นเวลา 10 นาที จากนั้นนำไปหมุนเหวี่ยงด้วย เครื่อง Centrifuge ที่ความเร็ว 4000 รอบต่อนาที เป็นเวลา 10 นาที จากนั้นเก็บส่วนที่ใสใส่ขวดวัด ปริมาตร ทำการสกัดซ้ำอีก 2 ครั้ง เก็บเฉพาะส่วนใส ปรับปริมาตรให้ครบ 5 มิลลิลิตร และทำการ วิเคราะห์ขั้นต่อไป

การวิเคราะห์ปริมาณกรดแกลลิกทางเคมีไฟฟ้า ตรวจวัดด้วยเทคนิคไซคลิกโวลแทมเมตรี และเทคนิคสแคว-เวฟโวลแทมเมตรี ต่อเซลล์เคมีไฟฟ้าในระบบ 3 ขั้วไฟฟ้า ดังภาพที่ 2 ในงานวิจัยนี้ ใช้กรดแกลลิกเป็นสารมาตรฐาน และใช้สารละลายฟอสเฟตบัฟเฟอร์ (pH 7) ความเข้มข้น 0.1 M ที่ละลายใน 20% โดยปริมาตรของเอทานอล เป็นสารละลายอิเล็กโทรไลต์ สภาวะของเทคนิคไซคลิกโวลแทมเมตรี ตรวจวัดที่อัตราสแกน 0.05 V/s ตรวจวัดในช่วงของศักย์ไฟฟ้า -1 V ถึง 1 V

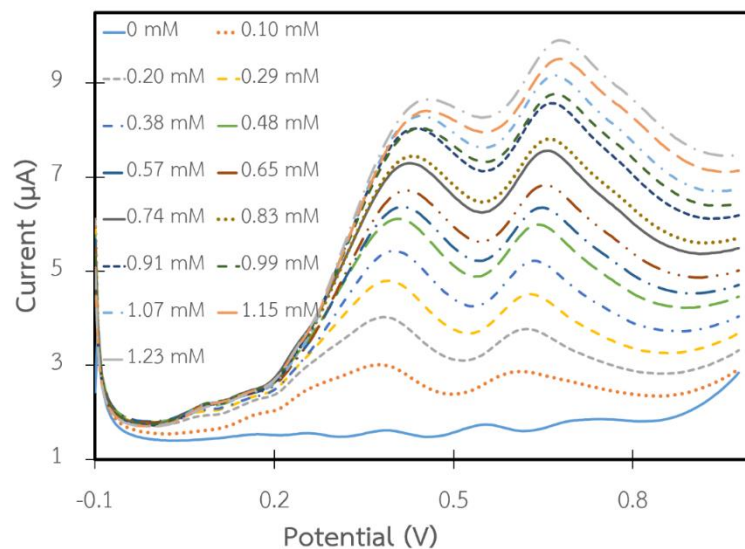
ผลการวิจัย

จากการศึกษาการวิเคราะห์กรดแกลลิกในอิเล็กโทรไลต์ฟอสเฟตบัฟเฟอร์ (pH 7) ที่ละลายใน 20% เอทานอลด้วยเทคนิคไซคลิกโวลแทมเมตรี โดยใช้ขั้วไฟฟ้าแกลสคาร์บอนเป็นขั้วไฟฟ้าทำงาน พบว่าสามารถเกิดปฏิกิริยาออกซิเดชันได้ 2 ตำแหน่งของศักย์ไฟฟ้า 0.45 V และที่ 0.70 V

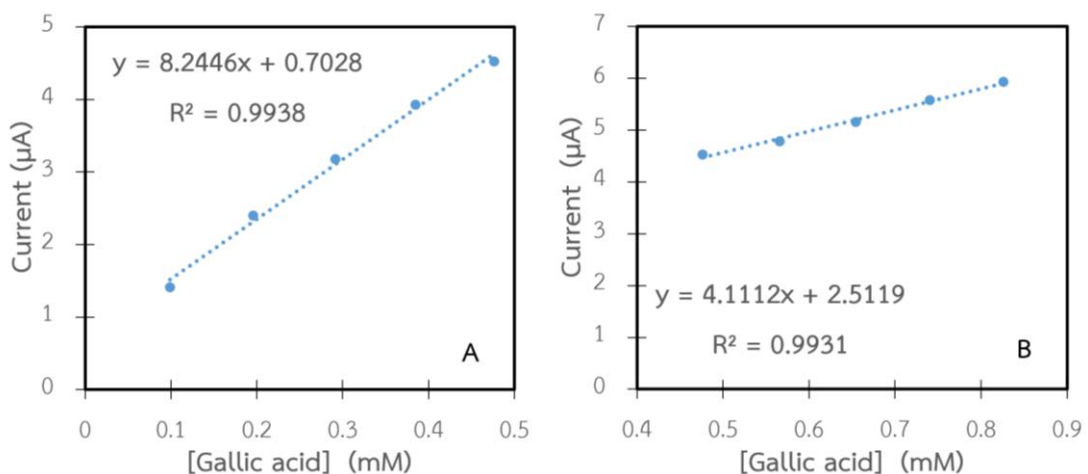


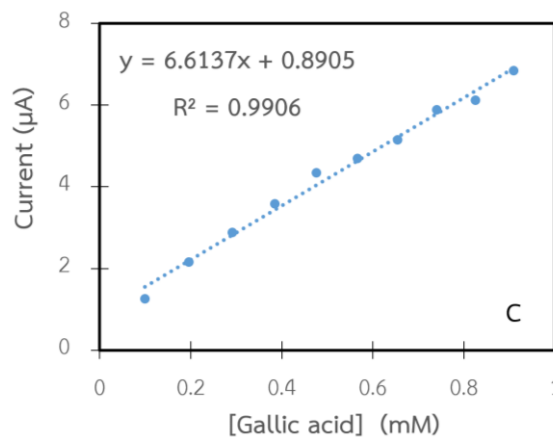
ภาพ 3 โวลแทมโมแกรมสารละลายกรดแกลลิกความเข้มข้น 0.1 mM ในสารละลายอิเล็กโทรไลต์ 0.1 M ฟอสเฟตบัฟเฟอร์ที่ pH 7 ตรวจวัดด้วยขั้วไฟฟ้าแกลสคาร์บอนด้วยเทคนิคไซคลิกโวลแทมเมตรี ที่อัตราการสแกน 0.05 V/s

ในการวิเคราะห์เชิงปริมาณตรวจวัดกรดแกลลิกด้วยเทคนิคสแคว-เวฟ โวลแทมเมตรี โดยตรวจวัดสารมาตรฐานตรวจวัดช่วง 0.10 – 1.07 mM ได้ผลดังภาพที่ 4 เมื่อวัดความสูงของกระแสพบช่วงของความสัมพันธ์ที่เป็นเส้นตรงของตำแหน่งศักย์ไฟฟ้าไฟฟ้า 0.45 V 2 ช่วงนั้นคือ 0.1 – 0.48 mM และ 0.48 – 0.83 mM และที่ตำแหน่งศักย์ไฟฟ้า 0.70 V ช่วงของความสัมพันธ์ที่เป็นเส้นตรงอยู่ที่ 0.10 – 0.91 mM ดังภาพที่ 5 ด้วยความไวในการตรวจวัด 8.24 $\mu\text{A}/\text{mM}$ 4.11 $\mu\text{A}/\text{mM}$ และ 6.61 $\mu\text{A}/\text{mM}$ ตามลำดับ ความไวในการตรวจวัดสูงสุดอยู่ที่ช่วงของความสัมพันธ์ที่เป็นเส้นตรงช่วงแรก ดังนั้นในการวิเคราะห์ปริมาณกรดแกลลิกในตัวอย่างสมุนไพรจึงวิเคราะห์โดยใช้สมการเส้นตรงของศักย์ไฟฟ้าที่เกิดปฏิกิริยาออกซิเดชันที่ 0.45 V



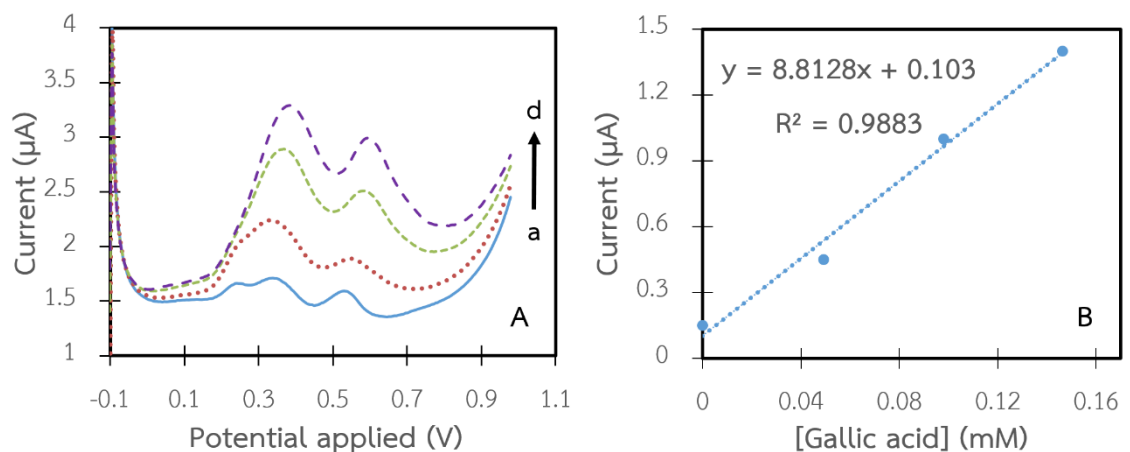
ภาพ 4 สแคว-เวฟ โวลแทมโมแกรมของสารละลายกรดแกลลิกความเข้มข้นต่างๆ กัน ในสารละลายอิเล็กโทรไลต์ 0.1 M ฟอสเฟตบัฟเฟอร์ที่ pH 7 ตรวจวัดด้วยขั้วไฟฟ้าแกลสซีคาร์บอน



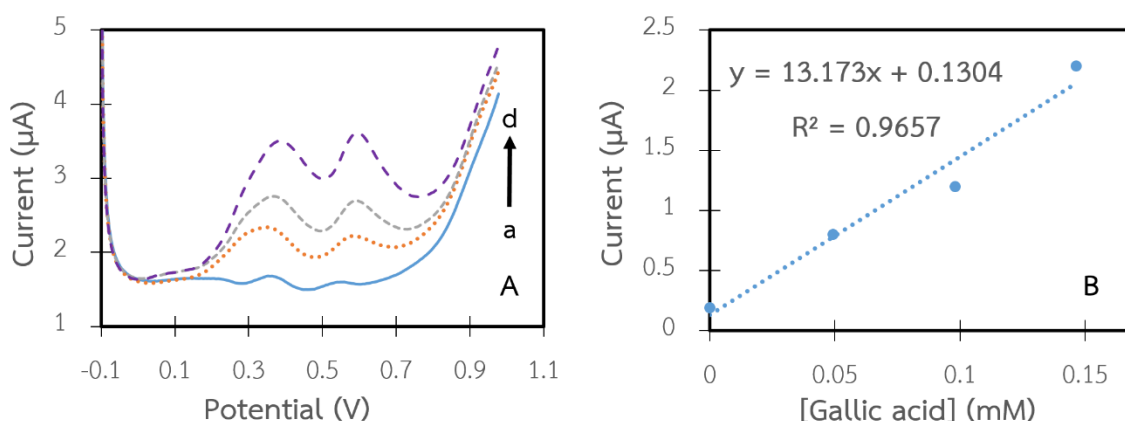


ภาพ 5 กราฟแสดงความสัมพันธ์เป็นเส้นตรงของความเข้มข้นของกรดแกลลิกกับกระแสไฟฟ้าในสารละลายอิเล็กโทรไลต์ 0.1 M ฟอสเฟตบัฟเฟอร์ที่ pH 7 ของ Linear บนขั้วไฟฟ้าแกลสคาร์บอนที่ตรวจวัดด้วยเทคนิคสแควร์-เวฟโวลแทมเมตรี (A) และ (B) กระแสที่ศักย์ไฟฟ้า 0.43 V และ (C) ที่ศักย์ไฟฟ้า 0.71 V

การวิเคราะห์ตัวอย่างสมุนไพร ใบโหระพา และใบเตย ทำการวิเคราะห์ด้วย standard addition ใช้เทคนิค สแคว-เวฟ โวลแทมเมตรีในการวิเคราะห์ได้ผลดังภาพที่ 6 (A) และ 7 (A) ของใบโหระพา และใบเตย ตามลำดับ เมื่อนำกระแสสแคว-เวฟ โวลแทมโมแกรมที่ได้จากกราฟพลอตกราฟ จะได้ดังภาพที่ ผลการวิเคราะห์ 6 (B) และ 7 (B) ของใบโหระพา และใบเตย ตามลำดับ คำนวณความเข้มข้นของกรดแกลลิกได้ 0.011 และ 0.010 mM เมื่อกำหนดปริมาณของกรดแกลลิกคิดเป็น 1,003 และ 850 mg/Kg ของตัวอย่างใบโหระพา และใบเตย ตามลำดับ ดังตารางที่ 1



ภาพ 6 (A) โวลแทมโมแกรมของการตรวจวัดกรดแกลลิกในตัวอย่างใบโหระพาแบบ Standard addition a) เป็นสัญญาณของตัวอย่างสารสกัดใบโหระพา โดยการเติมสารมาตรฐาน b) 0.049 mM c) 0.099 mM และ d) 1.4 mM และ (B) กราฟแสดงความสัมพันธ์ของความเข้มข้นของกรดแกลลิกที่เติมกับกระแสไฟฟ้า ในสารละลายอิเล็กโทรไลต์ 0.1 M ฟอสเฟตบัฟเฟอร์ที่ pH 7 บนขั้วไฟฟ้าแกลสคาร์บอนที่ตรวจวัดด้วยเทคนิคสแควร์-เวฟโวลแทมเมตรี



ภาพ 7 (A) โวลแทมโมแกรมของการตรวจวัดกรดแกลลิกในตัวอย่างใบเตยแบบ Standard addition a) เป็นสัญญาณของตัวอย่างสารสกัดใบเตย โดยการเติมสารมาตรฐาน b) 0.049 mM c) 0.099 mM และ d) 1.4 mM และ (B) กราฟแสดงความสัมพันธ์ของความเข้มข้นของกรดแกลลิกที่เติมกับกระแสไฟฟ้า ในสารละลายอิเล็กโทรไลต์ 0.1 M ฟอสเฟตบัฟเฟอร์ที่ pH 7 บนขั้วไฟฟ้าแกลสคาร์บอนที่ตรวจวัดด้วยเทคนิคสแควร์-เวฟโวลแทมเมตรี

ตาราง 1 ปริมาณกรดแกลลิก ในใบโหระพา และในใบเตย

ชนิดสมุนไพร	ปริมาณกรดแกลลิก (mg/Kg)
ใบโหระพา	1,003
ใบเตย	850

ตารางที่ 2 เป็นการหาค่าร้อยละการคืนกลับของการวิเคราะห์กรดแกลลิกในสมุนไพร โดยทำการเติมสารมาตรฐานกรดแกลลิกลงในตัวอย่างที่ทำการสกัดพบร้อยละการคืนกลับอยู่ที่ 82-100 ดังตารางที่ 2 ซึ่งอยู่ในช่วงที่ยอมรับได้ ดังนั้นวิธีการวิเคราะห์จึงสามารถนำมาประยุกต์วิเคราะห์ตัวอย่างสมุนไพรได้จริง

ตาราง 2 ร้อยละการคืนกลับของตัวอย่างสมุนไพร

ชนิดของตัวอย่าง	ความเข้มข้นของกรดแกลลิก (mM)			ร้อยละการคืนกลับ
	ในตัวอย่าง	สารมาตรฐานที่เติม	สารมาตรฐานรวมกับตัวอย่าง	
ใบโหระพา	0.011	0.049	0.058	96
		0.098	0.107	98
		0.146	0.137	86
ใบเตย	0.010	0.049	0.06	100
		0.098	0.091	82

สรุปและอภิปรายผล

จากผลการวิจัยพบว่า การตรวจวัดกรดแกลลิกด้วยเทคนิคทางเคมีไฟฟ้า โดยมีขั้วไฟฟ้าแกสลิคาร์บอนเป็นขั้วไฟฟ้าทำงาน สามารถเกิดปฏิกิริยาออกซิเดชันได้ 2 ตำแหน่งที่ศักย์ไฟฟ้า 0.45 และ 0.70 V ทำการวิเคราะห์ได้ช่วงของความเข้มข้นที่เป็นเส้นตรงอยู่ระหว่าง 0.10 – 0.48 mM และ 0.48 – 0.83 mM ของตำแหน่งของศักย์ไฟฟ้าออกซิเดชัน 0.45 V และตำแหน่งศักย์ไฟฟ้า 0.70 V ช่วงของความเข้มข้นที่เป็นเส้นตรงอยู่ที่ 0.10 – 0.91 mM พบว่าระบบการวิเคราะห์สามารถตรวจวัดในตัวอย่างสมุนไพรจริงได้ โดยพบกรดแกลลิกที่ 1,003 mg/Kg และ 850 mg/Kg เมื่อทำการตรวจสอบความถูกต้องของการวิเคราะห์พบร้อยละการคืนกลับของกรดแกลลิกอยู่ที่ 82-100 ซึ่งอยู่ในช่วงของการยอมรับได้

ข้อเสนอแนะ

จากการวิจัยสามารถทำการประยุกต์วิเคราะห์ได้ในตัวอย่างสมุนไพรได้จริง ดังนั้นจึงควรประยุกต์ใช้ในสมุนไพรอื่นๆ ต่อไป และสิ่งที่ควรพัฒนาคือควรพัฒนาให้หัตถ์สามารถตรวจวัดได้ที่มีความเข้มข้นต่ำกว่าในการวิจัยนี้เพื่อสามารถนำไปประยุกต์วิเคราะห์หัตถ์ในตัวอย่างที่มีความเข้มข้นของกรดแกลลิกต่ำๆได้

กิตติกรรมประกาศ

การวิจัยนี้ได้รับทุนสนับสนุนจากงบประมาณแผ่นดิน วช. ปี 61 ขอขอบคุณสาขาวิชาเคมี คณะวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยี และศูนย์วิทยาศาสตร์ มหาวิทยาลัยราชภัฏพิบูลสงคราม ที่ให้การสนับสนุนเครื่องมือ และอุปกรณ์ในการวิจัย

เอกสารอ้างอิง

- Denderz, N., & Lehotay, J. (2014). Using of molecularly imprinted polymers for determination of gallic and protocatechuic acids in red wines by high performance liquid chromatography. *Journal of Chromatography A*, 1372, 72-80. doi: <https://doi.org/10.1016/j.chroma.2014.10.070>
- Gu, R., Zhang, M., Meng, H., Xu, D., & Xie, Y. (2018). Gallic acid targets acute myeloid leukemia via Akt/mTOR-dependent mitochondrial respiration inhibition. *Biomedicine & Pharmacotherapy*, 105, 491-497. doi: <https://doi.org/10.1016/j.biopha.2018.05.158>

- Lin, J.-K., Lin, C.-L., Liang, Y.-C., Lin-Shiau, S.-Y., & Juan, I. M. (1998). Survey of Catechins, Gallic Acid, and Methylxanthines in Green, Oolong, Pu-erh, and Black Teas. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 46(9), 3635-3642. doi: 10.1021/jf980223x
- Lu, X., Wang, J., Al-Qadiri, H. M., Ross, C. F., Powers, J. R., Tang, J., & Rasco, B. A. (2011). Determination of total phenolic content and antioxidant capacity of onion (*Allium cepa*) and shallot (*Allium oschaninii*) using infrared spectroscopy. *Food Chemistry*, 129(2), 637-644. doi: <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2011.04.105>
- Neamsuvan, O., Komonhiran, P., & Boonming, K. (2018). Medicinal plants used for hypertension treatment by folk healers in Songkhla province, Thailand. *Journal of Ethnopharmacology*, 214, 58-70. doi: <https://doi.org/10.1016/j.jep.2017.11.032>
- Zanwar, A. A., Badole, S. L., Shende, P. S., Hegde, M. V., & Bodhankar, S. L. (2014). Chapter 80 - Role of Gallic Acid in Cardiovascular Disorders. In R. R. Watson, V. R. Preedy & S. Zibadi (Eds.), *Polyphenols in Human Health and Disease* (pp. 1045-1047). San Diego: Academic Press.