



วารสารวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยี
มหาวิทยาลัยราชภัฏพระนคร

Journal of Science & Technology
Phranakhon Rajabhat University

ปีที่ 1 ฉบับที่ 1 สิงหาคม 2554
Vol. 1 No. 1 August 2011





วารสารวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยี
มหาวิทยาลัยราชภัฏพระนคร

Journal of Science & Technology
Phranakhon Rajabhat University

ปีที่ 1 ฉบับที่ 1 สิงหาคม 2554
Vol. 1 No. 1 August 2011

เจ้าของ

คณะวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยี
มหาวิทยาลัยราชภัฏพระนคร

สำนักงาน

คณะวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยี อาคาร 21
มหาวิทยาลัยราชภัฏพระนคร
โทรศัพท์ 0-2522-6609 โทรสาร 0-2522-6609

วัตถุประสงค์

1. เพื่อส่งเสริมและเผยแพร่งานวิชาการในสาขาวิชาต่างๆ ทางด้านวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยี
2. เพื่อเผยแพร่ผลงานทางด้านการวิจัย และการศึกษา ค้นคว้า ของอาจารย์ นักศึกษา และผู้สนใจ
3. เพื่อเป็นสื่อกลางแลกเปลี่ยนความรู้ และแนวคิดทางวิชาการ ของบุคลากรทั้งภายในและนอกสถาบัน

Publisher

Faculty of Science and Technology
Phranakhon Rajabhat University

Office

Faculty of Science and Technology, Building 21
Phranakhon Rajabhat University
Tel. 0-2522-6609 Fax 0-2522-6609

Objectives

1. To promote dissemination of knowleng in all fields of science and technology.
2. To publish research results of faculty, students and researchers.
3. To be a medium for the exchange of knowledge and ideas among faculty, students and researchers of Phranakhon Rajabhat University and other institutes.

บรรณาธิการ

ดร. ไพบุลย์ วิริยะวัฒน์นะ มหาวิทยาลัยราชภัฏพระนคร
คณบดีคณะวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยี

กองบรรณาธิการ

ศ.ดร. พวงเพ็ญ ศิริรักษ์	มหาวิทยาลัยสงขลานครินทร์
ศ.ดร. สีน่า สุนทรสุข	มหาวิทยาลัยมหิดล
รศ.ดร. เพียงพบ มนต์นวลปรางค์	มหาวิทยาลัยราชภัฏพระนคร
รศ.ดร. สมวงษ์ แปลงประสพโชค	มหาวิทยาลัยราชภัฏพระนคร
ผศ.ดร. เดช บุญประจักษ์	มหาวิทยาลัยราชภัฏพระนคร
ผศ.ดร. โสภณ บุญถือ	มหาวิทยาลัยขอนแก่น
ดร. ขวัญชัย คูเจริญไพศาล	มหาวิทยาลัยราชภัฏพระนคร
ดร. จุฑาทพร แสงวงแก้ว	มหาวิทยาลัยขอนแก่น
ดร. ธงชัย พุฒทองศิริ	สถาบันเทคโนโลยีพระจอมเกล้าเจ้าคุณทหารลาดกระบัง
ดร. ธัชชา รัมมะศักดิ์	มหาวิทยาลัยราชภัฏพระนคร
ดร. ประกายดาว ยิ่งสง่า	มหาวิทยาลัยราชภัฏพระนคร
ดร. รัศมี แสงศิริมงคลยิ่ง	มหาวิทยาลัยราชภัฏพระนคร
ดร. สมคิด สุทธิธารธวัช	มหาวิทยาลัยราชภัฏพระนคร
ดร. สมฤดี สาธิตคุณ	มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์
ดร. สุชาดา ไม้สนธิ์	มหาวิทยาลัยราชภัฏพระนคร
ดร. สุดาพิทย์ อินทร์ชื่น	มหาวิทยาลัยมหาสารคาม
ดร. สืบตระกูล สุชาติ	มหาวิทยาลัยราชภัฏพระนคร
ดร. อธิยา รัตนพิทยาภรณ์	มหาวิทยาลัยราชภัฏพระนคร
ดร. อรพรรณ อนุรักษ์วรกุล	มหาวิทยาลัยราชภัฏพระนคร
ดร. อัญชลี นิลสุวรรณ	มหาวิทยาลัยราชภัฏพระนคร
ดร. โองการ วัฒนชีวะ	มหาวิทยาลัยราชภัฏพระนคร

ฝ่ายศิลป์และภาพ

นางสาวขวัญเรือน ปัจจ๊ะ มหาวิทยาลัยราชภัฏพระนคร

ฝ่ายจัดการและเลขานุการ

นางชนิษฐา อยู่หนูช	มหาวิทยาลัยราชภัฏพระนคร
นางสาวนณิศา งามสมภาร	มหาวิทยาลัยราชภัฏพระนคร
นางสาวเวียงศิริ แซ่อึ้ง	มหาวิทยาลัยราชภัฏพระนคร
นางหนึ่งฤทัย ขยัน	มหาวิทยาลัยราชภัฏพระนคร
นางสาวอารีย์ รอดดำรงค์	มหาวิทยาลัยราชภัฏพระนคร

บทความหรือข้อคิดเห็นใดๆ ในวารสารนี้เป็นของผู้เขียน ไม่จำเป็นต้องสอดคล้องกับทัศนะของกองบรรณาธิการ
The views and opinions expressed in this journal are those of the author(s), and do not necessarily reflect the views and opinions of the editorial board.

บทบรรณาธิการ

วารสารวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยี มหาวิทยาลัยราชภัฏพระนคร ฉบับปฐมฤกษ์เดือนสิงหาคม ประจำปีพุทธศักราช 2554 จัดทำขึ้นเนื่องในวันวิทยาศาสตร์แห่งชาติ เพื่อเทิดพระเกียรติพระบาทสมเด็จพระจอมเกล้าเจ้าอยู่หัวรัชกาลที่ 4 แห่งพระบรมราชจักรีวงศ์ พระมหากษัตริย์ผู้ทรงเป็นพระบิดาแห่งวิทยาศาสตร์ไทย และปีนี้ยังเป็นปีมหามงคลของเหล่าพสกนิกรชาวไทย เพราะเป็นปีที่พระบาทสมเด็จพระปรมินทรมหาภูมิพลอดุลยเดช ทรงมีพระชนมายุครบ 84 พรรษา อีกทั้งในปีนี้ยังเป็นการครบรอบ ปีที่ 36 ของการก่อตั้งคณะวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยี ซึ่งมีปรัชญา “วิทยาศาสตร์สร้างองค์ความรู้ คู่คุณธรรม นำสังคม” ดังนั้นคณะวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยี จึงพยายามทุ่มเทในการผลิตบัณฑิตให้มีความรู้คู่คุณธรรม ร่วมกันพัฒนาวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยีให้เกิดความก้าวหน้า ภูมิปัญญาท้องถิ่นก้าวไกลสู่สากล พัฒนาคุณภาพชีวิตและเศรษฐกิจอย่างยั่งยืนตามแนวทางของปรัชญาเศรษฐกิจพอเพียง

ดังนั้นช่วงเวลา นับจากนี้ไปจึงเป็นช่วงเวลาที่เหมาะสมที่คณะวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยี จะได้มีย้อนเวลาในอดีตและมองก้าวข้ามไปในอนาคต เพื่อทบทวนบทบาทหน้าที่ของคณะให้เกิดความแจ่มชัดในเป้าหมายและยุทธศาสตร์การดำเนินงาน พร้อมทั้งจะก้าวเดินไปข้างหน้าร่วมกับการพัฒนาของมหาวิทยาลัยราชภัฏพระนคร วารสารวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยี มหาวิทยาลัยราชภัฏพระนคร ฉบับนี้มีวัตถุประสงค์เพื่อส่งเสริมและเผยแพร่งานวิชาการในสาขาวิชาต่างๆ ทางด้านวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยี รวมทั้งผลงานทางด้านการวิจัย ด้านการศึกษา ค้นคว้าของคณาจารย์ นักศึกษา และผู้สนใจเป็นสื่อกลางแลกเปลี่ยนความรู้ และแนวคิดทางวิชาการ ของบุคลากรทั้งภายในและนอกสถาบัน

ในโอกาสนี้ขอขอบพระคุณอย่างสูงสำหรับผู้มีส่วนเกี่ยวข้อง รวมทั้งผู้เขียนบทความทุกท่านที่ส่งบทความมาลงตีพิมพ์เผยแพร่และขอขอบพระคุณผู้อ่านทุกท่าน หวังเป็นอย่างยิ่งว่าผู้อ่านทุกท่านคงได้รับประโยชน์จากวารสารฉบับนี้อย่างเต็มที่



ดร. ไพบุลย์ วิริยะวัฒนะ
คณบดีคณะวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยี
บรรณาธิการ

สารบัญ

บทความวิจัย

อิทธิพลของพื้นที่ปลูกและอายุของไรโซมต่อความผันแปรของปริมาณสาร 1- Acetoxychavicol Acetate (ACA) ภายในไรโซมซ่า คงเอก ศิริงาม ธรรมศักดิ์ ทองเกตุ สรัญญา วิชโรทัย และเฉลิมพล เกิดมณี.....	1
การสกัด การวิเคราะห์องค์ประกอบทางเคมีและการประยุกต์ใช้น้ำมันหอมระเหยจากดอกปีป พนิดา แสนประกอบ และสื่อกัญญา จารุพินทุโสภณ.....	16
การพัฒนาเว็บระบบการสมัครสอบการวัดความรู้ทางคอมพิวเตอร์และภาษาอังกฤษของนักศึกษาระดับ ปริญญาโทของโครงการบัณฑิตศึกษา มหาวิทยาลัยราชภัฏพระนคร วาสนา เสนาะ และรณกร รัตนธรรมมา.....	25
ผลของสารให้ความคงตัวต่อคุณภาพไอศกรีมโยเกิร์ตสตอเบอรี่ สุจิตรา ทิมทวด และ ขนิษฐา อุ่มอารีย์.....	32
การต้านอนุมูลอิสระจากแก่นสีเสียด อรพรรณ อนุรักษ์วรกุล.....	39
A modified DNA extraction protocol for PCR-RAPD analysis of Durian (<i>Durio zibethinus</i> Murr.) Ongkarn Vanijajiva.....	46
Measurement of the Verdet Constant by using ellipsometry technique Suebarkul Suchat, Paiboon Viriyavathana, Pairote Jaideaw, Nichapa Haisirikul, Warunee Kersang, Suthee Petcharavut and Phattaradet phattaranachit.....	57
บทแนะนำและวิจารณ์หนังสือ Bergey's Manual of Systematic Bacteriology กนกกร สีนมา และขวัญชัย คูเจริญไพศาล.....	63

อิทธิพลของพื้นที่ปลูกและอายุของไรโซมต่อความผันแปรของปริมาณสาร
1'- Acetoxychavicol Acetate (ACA) ภายในไรโซมข่า
Influence of Plantation Area and Rhizome Age on Variation of
1'- Acetoxychavicol Acetate (ACA) in Galangal

คงเอก ศิริงาม¹ ธรรมศักดิ์ ทองเกต² สรัญญา วัชรทัย³ เฉลิมพล เกิดมณี⁴
Kongake Siringam¹ Thammasak Thongket² Srunya Vajrodaya³ Chalermopol Kirdmanee⁴

¹ สาขาวิชาเกษตรศาสตร์ คณะวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยี มหาวิทยาลัยราชภัฏพระนคร

² ภาควิชาพืชสวน คณะเกษตร มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์

³ ภาควิชาพฤกษศาสตร์ คณะวิทยาศาสตร์ มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์

⁴ ศูนย์พันธุวิศวกรรมและเทคโนโลยีชีวภาพแห่งชาติ สำนักงานพัฒนาวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยีแห่งชาติ

Agriculture, Faculty of Science and Technology, Phranakhon Rajabhat University

² Department of Horticulture, Faculty of Agriculture, Kasetsart University

³ Department of Botany, Faculty of Science, Kasetsart University

⁴ National Center for Genetic Engineering and Biotechnology, National Science and Technology Development Agency

* Corresponding author: siringam@yahoo.com

บทคัดย่อ

ข่า (*Alpinia galanga* (Linn.) Swartz.) เป็นพืชล้มลุกอายุหลายปี จัดอยู่ในวงศ์ *Zingiberaceae* และเป็นพืชท้องถิ่นบริเวณเอเชียตะวันออกเฉียงใต้ โดยภายในไรโซมข่าสามารถผลิตสาร 1'- Acetoxychavicol Acetate (ACA) ซึ่งเป็นสารออกฤทธิ์ทางชีวภาพที่มีรายงานว่ามียูทรีในการยับยั้งการเจริญของเชื้อ *Mycobacterium tuberculosis* ซึ่งเป็นเชื้อสาเหตุในการเกิดวัณโรคที่มีแนวโน้มในการดื้อยาเพิ่มสูงขึ้น อย่างไรก็ตามปริมาณสารออกฤทธิ์ทางชีวภาพภายใต้จากพืชมีความผันแปรกับปัจจัยทางพันธุกรรม สภาพแวดล้อม และอิทธิพลร่วมระหว่างพันธุกรรมและสภาพแวดล้อม ดังนั้นวัตถุประสงค์ในการทดลองนี้ คือ ศึกษาปริมาณสาร ACA ภายในไรโซมข่าอ่อนและแก่ที่เก็บรวบรวมจาก 55 จังหวัดภายในประเทศไทย จากการศึกษา พบว่า ไรโซมข่าอ่อนและแก่ที่ปลูกในพื้นที่ปลูกต่างกันมีผลทำให้ปริมาณสาร ACA แตกต่างกัน โดยสามารถจัดกลุ่มตามปริมาณสาร ACA ภายในไรโซมข่าอ่อนและแก่ได้ 3 ระดับ คือ ระดับต่ำ (0-20 ไมโครกรัมต่อกรัมน้ำหนักแห้ง) ระดับปานกลาง (20-40 ไมโครกรัมต่อกรัมน้ำหนักแห้ง) และระดับสูง (มากกว่า 40 ไมโครกรัมต่อกรัมน้ำหนักแห้ง) ตามลำดับ นอกจากนี้ความแตกต่างของอายุไรโซมข่ามีผลต่อปริมาณสาร ACA โดยไรโซมข่าแก่มีปริมาณสาร ACA สูงกว่าในไรโซมข่าอ่อน และปริมาณสาร ACA ภายในไรโซมข่าอ่อน มีความสัมพันธ์เชิงบวกกับปริมาณสาร ACA ภายในไรโซมข่าแก่

คำสำคัญ: พื้นที่ปลูก ข่า สารออกฤทธิ์ทางชีวภาพ 1'- Acetoxychavicol Acetate (ACA) วัณโรค

Abstract

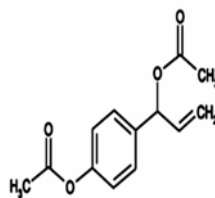
Galangal (*Alpinia galanga* (Linn.) Swartz.) is a herbaceous perennial plant. It belongs to *Zingiberaceae* family that is native plant of south-east Asia. Galangal rhizome produces 1'- Acetoxychavicol Acetate (ACA) which is a bioactive compound. The ACA had been reported to affect on drug-resistance of *Mycobacterium tuberculosis* that it caused infection of tuberculosis (TB). However, the bioactive compound content from rhizome depended on genetic, environment and their interactions. Therefore, the aim of this research was to

investigate the ACA content in young and old galangal rhizomes that were collected from 55 provinces in Thailand. This research found that the ACA content in young and old galangal rhizomes were significant when grew under different plantation areas. Quantity of ACA content in young and old galangal rhizomes was divided into three groups including, low ($0-20 \mu\text{g g}^{-1}$ dry weight), medium ($20-40 \mu\text{g g}^{-1}$ dry weight) and high (more than $40 \mu\text{g g}^{-1}$ dry weight), respectively. Moreover, the difference of galangal rhizome ages affected to the ACA content which was higher in old galangal rhizome than that the young galangal rhizome. Furthermore, these results demonstrated that the ACA content in young galangal rhizome was positively related to the ACA content in old galangal rhizome.

Keywords: Plantation area, Galangal, Bioactive compound,
1'- Acetoxychavicol Acetate (ACA), Tuberculosis

คำนำ

ข่า (*Alpinia galanga* (Linn.) Swartz.) เป็นพืชล้มลุกอายุหลายปี จัดอยู่ในวงศ์ *Zingiberaceae* และมีถิ่นกำเนิดบริเวณเอเชียตะวันออกเฉียงใต้ (Perry, 1980) โดยภายในโรโซมข่ามีการสังเคราะห์และเก็บสะสมสารประกอบหลายชนิด สาร 1'- Acetoxychavicol Acetate (ACA) (ภาพที่ 1) เป็นสารออกฤทธิ์ทางชีวภาพชนิดหนึ่งที่สามารถพบได้ภายในโรโซมข่า โดย Palittapongarpim *et al.* (2002) รายงานว่า สาร ACA ที่สกัดได้จากโรโซมข่าสามารถยับยั้งการเจริญเติบโตของเชื้อสาเหตุวัณโรคที่ดีเยี่ยม เนื่องจากวัณโรคเป็นโรคติดเชื้อที่มีเชื้อแบคทีเรีย *Mycobacterium tuberculosis* เป็นเชื้อสาเหตุ โดยเชื้อนี้มีผลต่อการทำงานของปอดระบบประสาท รวมถึงระบบภูมิคุ้มกัน ปัจจุบันสถิติของจำนวนผู้ป่วยวัณโรคเพิ่มขึ้นทุกปี รวมถึงผู้ติดเชื้อวัณโรคที่เข้ารับการรักษาไม่ตรงตามแผนการรักษาซึ่งเป็นปัจจัยที่เอื้อให้เชื้อวัณโรคเกิดการดื้อยาที่ใช้ในการรักษา



ภาพที่ 1 โครงสร้างโมเลกุลของสาร 1'-Acetoxychavicol acetate (ACA)
(Palittapongarpim *et al.*, 2002)

อย่างไรก็ตามสารออกฤทธิ์ทางชีวภาพที่สกัดได้จากพืชที่ปลูกในสภาพธรรมชาติมีความสัมพันธ์กับปัจจัยทางด้านพันธุกรรม สภาพแวดล้อม และอิทธิพลร่วมระหว่างพันธุกรรมและสภาพแวดล้อม (Kirakosyan *et al.*, 2004) สภาพแวดล้อมในธรรมชาติ ประกอบด้วย ภูมิอากาศ อุณหภูมิ แสง ความชื้น และความอุดมสมบูรณ์ของ

ดิน ที่มีผลต่อความสามารถในการผลิตสารออกฤทธิ์ทางชีวภาพภายในพืช (Jeffery *et al.*, 2003) โดยงานวิจัยของ Brown *et al.* (2002) แสดงให้เห็นว่า การสังเคราะห์สาร aliphatic glucosinolate ภายในบร็อคโคลี่ถูกควบคุมโดยพันธุกรรม 60 เพอร์เซ็นต์ สภาพแวดล้อม 5 เพอร์เซ็นต์ และอิทธิพลร่วมระหว่างพันธุกรรมและสภาพแวดล้อม 10 เพอร์เซ็นต์ ในขณะที่ปริมาณสาร indolyl glucosinolate ถูกควบคุมโดยพันธุกรรม 12 เพอร์เซ็นต์ สภาพแวดล้อม 33 เพอร์เซ็นต์ และอิทธิพลร่วมระหว่างพันธุกรรมและสภาพแวดล้อม 21 เพอร์เซ็นต์

ปัจจัยทางสภาพแวดล้อมที่มีบทบาทสำคัญต่อการผลิตสารออกฤทธิ์ทางชีวภาพภายในพืช ประกอบด้วย ธาตุอาหาร อุณหภูมิ และค่าความเป็นกรด-เบส (Jeffery *et al.*, 2003) โดยงานวิจัยของ Mairapetyan *et al.* (1999) พบว่า สัดส่วนของไนโตรเจน (N) ฟอสฟอรัส (P) และโพแทสเซียม (K) ที่เหมาะสมต่อการผลิต essential oil ภายใน peppermint และ citric sorghum คือ 48:20:32 และ 20:35:15 ต่อจำนวนอะตอมทั้งหมด ในขณะที่งานวิจัยของ Wu and Zhong (1999) แสดงให้เห็นว่าอุณหภูมิที่เหมาะสมต่อการเจริญเติบโต และการผลิตสาร saponin ของโสม คือ 24-28 องศาเซลเซียส ในขณะที่ความเป็นกรด-เบสมีบทบาทในการควบคุมความเป็นประโยชน์ของธาตุอาหารและการดูดซึมธาตุอาหาร รวมทั้งยังมีผลต่อการผลิตสารออกฤทธิ์ทางชีวภาพภายในพืช (Hahn *et al.*, 2003) โดย Hattori and Ohta (1985) รายงานว่า การเปลี่ยนแปลงของค่าความเป็นกรด-เบสมีผลต่อการทำงานของเอนไซม์ phenylalanine ammonia lyase ที่มีความสัมพันธ์กับการสังเคราะห์สาร isoflavone glucosides ในถั่ว ดังนั้นในการทดลองนี้มีวัตถุประสงค์ เพื่อศึกษาถึงอิทธิพลของพื้นที่ปลูกและอายุของไรโซมต่อปริมาณสาร ACA ภายในไรโซมขาที่เก็บรวบรวมจากจังหวัดต่างๆ ภายในประเทศไทย รวมทั้งศึกษาความสัมพันธ์ระหว่างปริมาณสาร ACA ภายในไรโซมขาอ่อนและไรโซมขาแก่

วิธีการดำเนินการทดลอง

ทำการเก็บรวบรวมไรโซมขาจาก 55 จังหวัดภายในประเทศไทย โดยแบ่งเก็บเป็น 2 ส่วน คือ ส่วนอ่อนและส่วนแก่ หลังจากนั้นชั่งน้ำหนักไรโซมทั้งส่วนอ่อนและส่วนแก่ ส่วนละ 10 กรัม นำไปอบที่อุณหภูมิ 60 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 72 ชั่วโมง หลังจากนั้นนำมาสกัดด้วยสารละลาย Hexane จำนวน 20 มิลลิลิตร นำไปเขย่าที่ความเร็วรอบ 90 ต่อนาที เป็นเวลา 72 ชั่วโมง นำมาปั่นให้ละเอียดพร้อมทั้งกรองสารสกัดผ่านกระดาษกรองเส้นผ่านศูนย์กลางขนาด 110 มิลลิเมตร นำสารสกัดที่ผ่านการกรองมาระเหยภายในตู้ดูดควัน ประมาณ 24 ชั่วโมง นำสารสกัดที่ได้ไปชั่งน้ำหนัก หลังจากนั้นนำสารสกัดมาทำละลายด้วย Dimethylsulphoxide (DMSO) ที่ระดับความเข้มข้น 10 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร และนำไปตรวจหาปริมาณสาร ACA โดยการวัดค่าการดูดกลืนแสงโดยเครื่อง Spectrophotometer ที่ความยาวคลื่น 234 นาโนเมตร หลังจากนั้นนำค่าการดูดกลืนแสงไปเปรียบเทียบเพื่อหาปริมาณสาร ACA จากกราฟมาตรฐานของค่าการดูดกลืนแสงของสาร ACA บริสุทธิ์

การวิเคราะห์ผลทางสถิติ

การทดลองนี้วางแผนการทดลองแบบ Completely Randomize Design (CRD) ทำการทดลองทั้งหมด 3 ซ้ำ โดยนำข้อมูลปริมาณสาร ACA มาวิเคราะห์ผลทางสถิติ โดยใช้โปรแกรม SPSS (SPSS for Windows, SPSS Inc., USA) และศึกษาความสัมพันธ์ของปริมาณสาร ACA ภายในไรโซมขาอ่อนและปริมาณสาร ACA ภายในไรโซมขาแก่

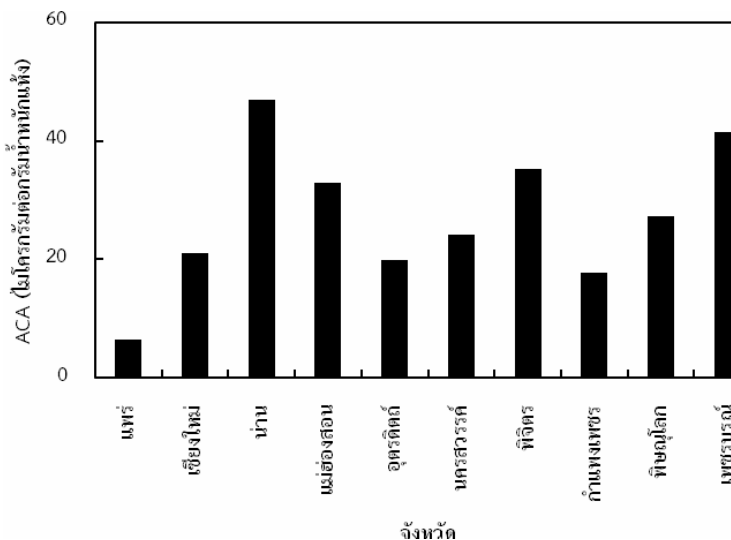
ผลการวิจัยและอภิปรายผลการวิจัย

จากการศึกษาพบว่า ปริมาณสาร ACA ที่สามารถสกัดได้จากไรโซมข้าวอ่อนและไรโซมข้าวแก่ที่เก็บรวบรวมจาก 55 จังหวัดภายในประเทศไทยมีความแตกต่างกัน รวมทั้งยังสามารถจัดกลุ่มตามปริมาณสาร ACA ที่ตรวจพบได้ 3 กลุ่ม คือ ระดับต่ำ (0-20 ไมโครกรัมต่อกรัมน้ำหนักแห้ง) ระดับปานกลาง (20-40 ไมโครกรัมต่อกรัมน้ำหนักแห้ง) และระดับสูง (มากกว่า 40 ไมโครกรัมต่อกรัมน้ำหนักแห้ง) ตามลำดับ โดยปริมาณสาร ACA ภายในไรโซมข้าวอ่อนที่เก็บรวบรวมได้จากจังหวัดต่างๆ ทั้งในภาคเหนือ ภาคตะวันออกเฉียงเหนือ ภาคกลาง ภาคตะวันออก และภาคใต้ โดยพิจารณาตามปริมาณสาร ACA ในแต่ละพื้นที่ปลูกตามภูมิภาคได้ดังนี้

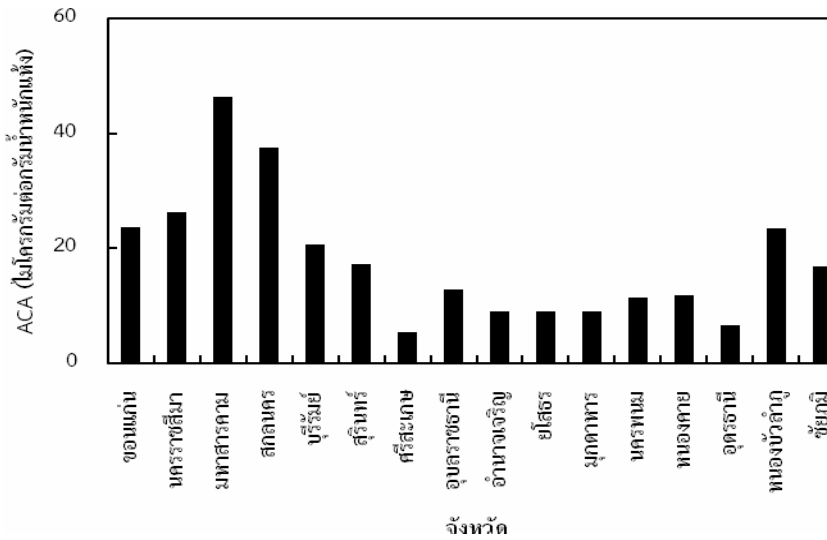
1. ระดับต่ำ (0-20 ไมโครกรัมต่อกรัมน้ำหนักแห้ง) โดยภาคเหนือ ประกอบด้วย แพร่ อุตรดิตถ์ และกำแพงเพชร (ภาพที่ 2) ภาคตะวันออกเฉียงเหนือ ประกอบด้วย สุรินทร์ ศรีสะเกษ อุบลราชธานี อำนาจเจริญ ยโสธร มุกดาหาร นครพนมหนองคาย อุตรธานี และชัยภูมิ (ภาพที่ 3) ภาคกลาง ประกอบด้วย สระบุรี ชัยนาท และประจวบคีรีขันธ์ (ภาพที่ 4) และภาคใต้ ประกอบด้วย สุราษฎร์ธานี ชุมพร ระนอง พังงา และพัทลุง (ภาพที่ 6)

2. ระดับปานกลาง (20-40 ไมโครกรัมต่อกรัมน้ำหนักแห้ง) โดยภาคเหนือ ประกอบด้วย เชียงใหม่ แม่ฮ่องสอน นครสวรรค์ พิจิตร และพิษณุโลก (ภาพที่ 2) ภาคตะวันออกเฉียงเหนือ ประกอบด้วย ขอนแก่น นครราชสีมา สกลนคร บุรีรัมย์ และหนองบัวลำภู (ภาพที่ 3) ภาคกลาง ประกอบด้วย เพชรบุรี ลพบุรี สิงห์บุรี กาญจนบุรี ปทุมธานี และอุทัยธานี (ภาพที่ 4) ภาคตะวันออก ประกอบด้วย ชลบุรี สระแก้ว และปราจีนบุรี (ภาพที่ 5) และภาคใต้ ประกอบด้วย นครศรีธรรมราช ตรัง และกระบี่ (ภาพที่ 6)

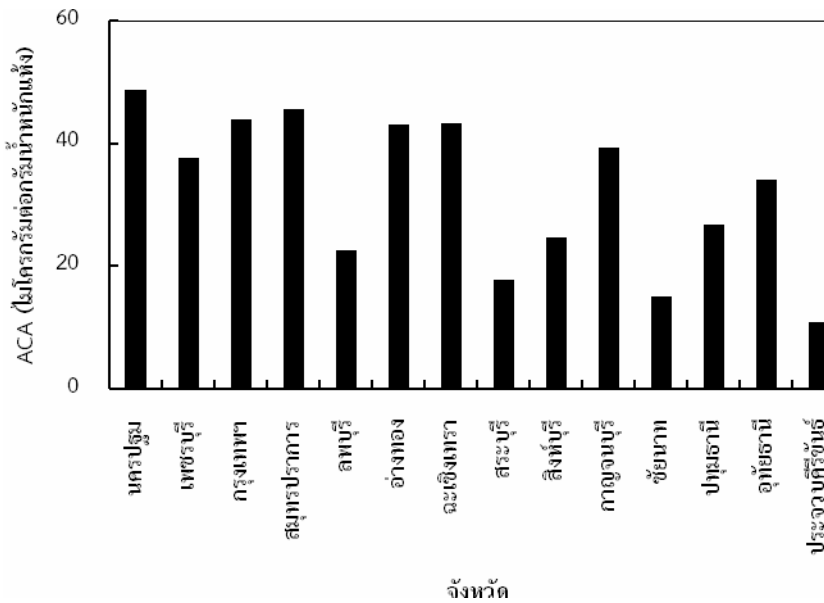
3. ระดับสูง (มากกว่า 40 ไมโครกรัมต่อกรัมน้ำหนักแห้ง) โดยภาคเหนือ ประกอบด้วย น่าน และเพชรบูรณ์ (ภาพที่ 2) ภาคตะวันออกเฉียงเหนือ ประกอบด้วย มหาสารคาม (ภาพที่ 3) ภาคกลาง ประกอบด้วย นครปฐม กรุงเทพมหานคร สมุทรปราการ อ่างทอง และฉะเชิงเทรา (ภาพที่ 4) และภาคตะวันออก ประกอบด้วย ระยอง จันทบุรี ตราด และนครนายก (ภาพที่ 5)



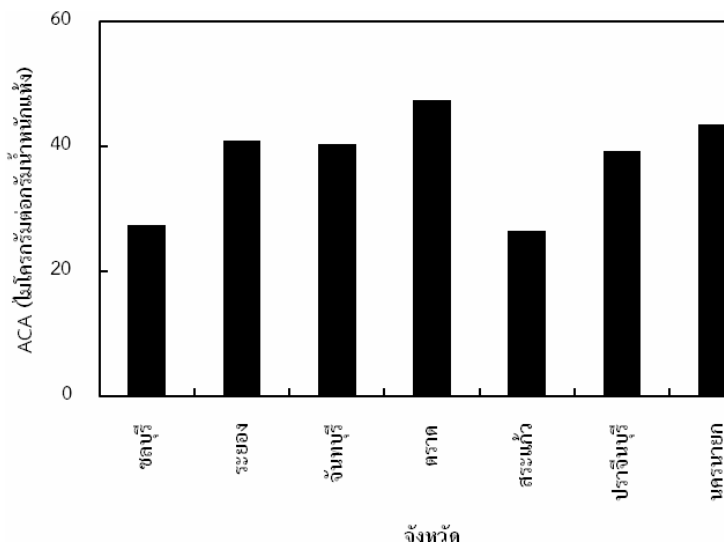
ภาพที่ 2 ปริมาณสาร ACA ในไรโซมอ่อนของข้าที่เก็บรวบรวมจากภาคเหนือ



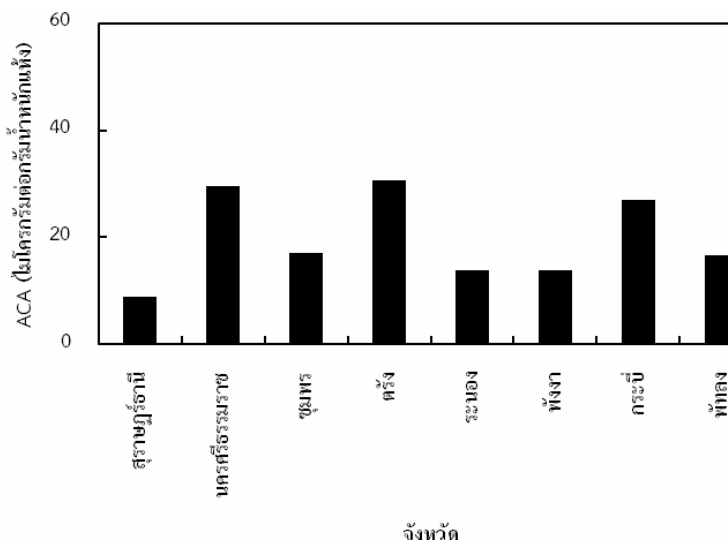
ภาพที่ 3 ปริมาณสาร ACA ในไรโซมอ่อนของข้าวที่เก็บรวบรวมจากภาคตะวันออกเฉียงเหนือ



ภาพที่ 4 ปริมาณสาร ACA ในไรโซมอ่อนของข้าวที่เก็บรวบรวมจากภาคกลาง



ภาพที่ 5 ปริมาณสาร ACA ในไรโซมอ่อนของข่าที่เก็บรวบรวมจากภาคตะวันออก



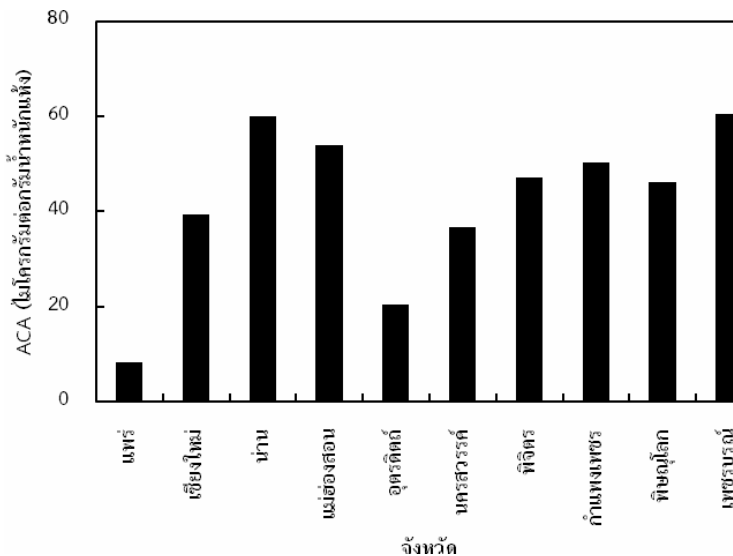
ภาพที่ 6 ปริมาณสาร ACA ในไรโซมอ่อนของข่าที่เก็บรวบรวมจากภาคใต้

ส่วนปริมาณสาร ACA ภายในโรโซมแช่แก่ที่เก็บรวบรวมได้จากจังหวัดต่างๆ ทั้งในภาคเหนือ ภาคตะวันออกเฉียงเหนือ ภาคกลาง ภาคตะวันออก และภาคใต้ โดยพิจารณาตามปริมาณสาร ACA ในแต่ละพื้นที่ปลูกตามภูมิภาค ได้ดังนี้

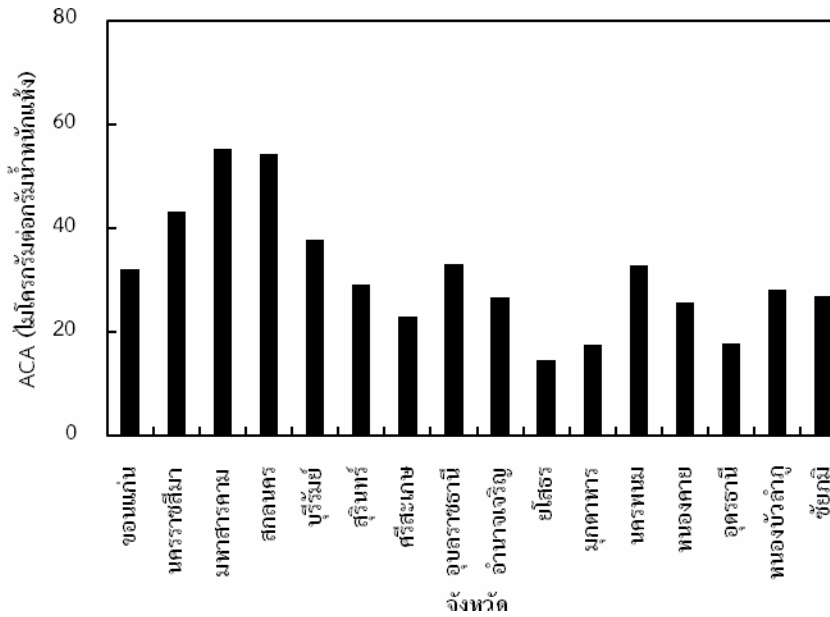
1. ระดับต่ำ (0-20 ไมโครกรัมต่อกรัมน้ำหนักแห้ง) โดยภาคเหนือ ประกอบด้วย แพร่ และอุดรดิตถ์ (ภาพที่ 7) และภาคตะวันออกเฉียงเหนือ ประกอบด้วย ยโสธร มุกดาหาร และอุดรธานี (ภาพที่ 8)

2. ระดับปานกลาง (20-40 ไมโครกรัมต่อกรัมน้ำหนักแห้ง) โดยภาคเหนือ ประกอบด้วย เชียงใหม่ และ นครสวรรค์ (ภาพที่ 7) ภาคตะวันออกเฉียงเหนือ ประกอบด้วย ขอนแก่น บุรีรัมย์ สุรินทร์ ศรีสะเกษ อุบลราชธานี อำนาจเจริญ นครพนมหนองคาย หนองบัวลำภู และชัยภูมิ (ภาพที่ 8) ภาคกลาง ประกอบด้วย ลพบุรี สระบุรี และประจวบคีรีขันธ์ (ภาพที่ 9) และภาคใต้ ประกอบด้วย สุราษฎร์ธานี ระนอง พังงา กระบี่ และพัทลุง (ภาพที่ 11)

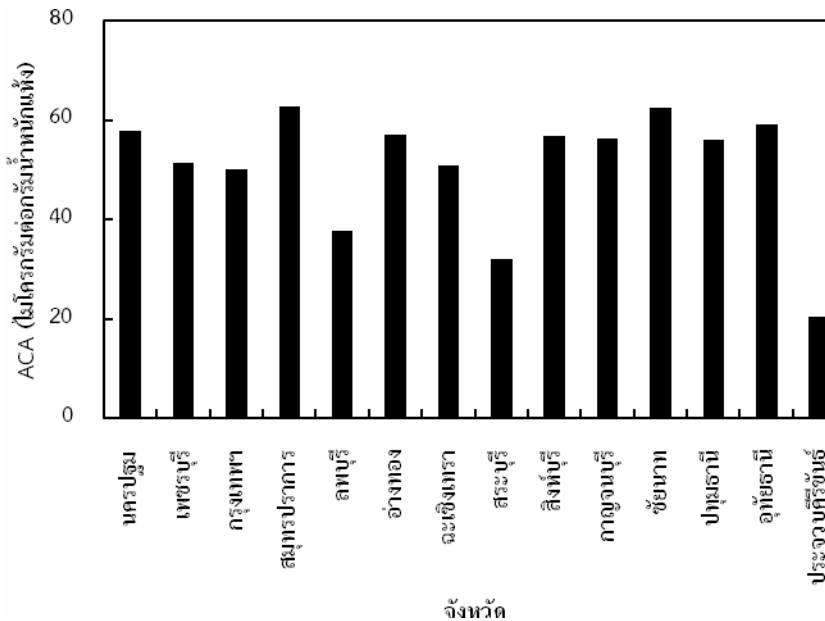
3. ระดับสูง (มากกว่า 40 ไมโครกรัมต่อกรัมน้ำหนักแห้ง) โดยภาคเหนือ ประกอบด้วย น่าน แม่ฮ่องสอน พิจิตร กำแพงเพชร พิชญโลก และเพชรบูรณ์ (ภาพที่ 7) ภาคตะวันออกเฉียงเหนือ ประกอบด้วย นครราชสีมา มหาสารคาม และสกลนคร (ภาพที่ 8) ภาคกลาง ประกอบด้วย นครปฐม เพชรบุรี กรุงเทพมหานคร สมุทรปราการ อ่างทอง ฉะเชิงเทรา สิงห์บุรี กาญจนบุรี ชัยนาท ปทุมธานี และอุทัยธานี (ภาพที่ 9) ภาคตะวันออก ประกอบด้วย ชลบุรี ระยอง จันทบุรี ตราด สระแก้ว ปราจีนบุรี และนครนายก (ภาพที่ 10) และภาคใต้ ประกอบด้วย นครศรีธรรมราช ชุมพร และตรัง (ภาพที่ 11)



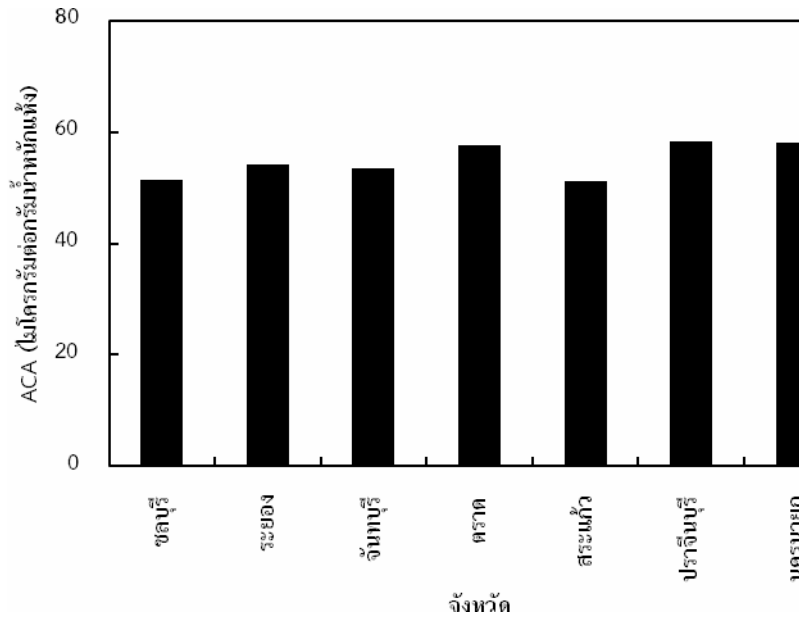
ภาพที่ 7 ปริมาณสาร ACA ในโรโซมแก่ของข้าที่เก็บรวบรวมจากภาคเหนือ



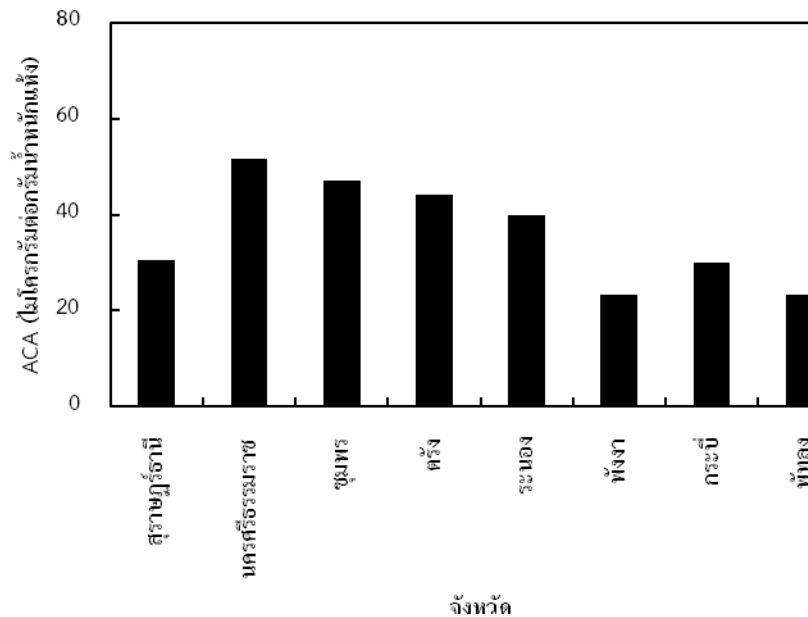
ภาพที่ 8 ปริมาณสาร ACA ในไรโซมแก่ของข้าวที่เก็บรวบรวมจากภาคตะวันออกเฉียงเหนือ



ภาพที่ 9 ปริมาณสาร ACA ในไรโซมแก่ของข้าวที่เก็บรวบรวมจากภาคกลาง

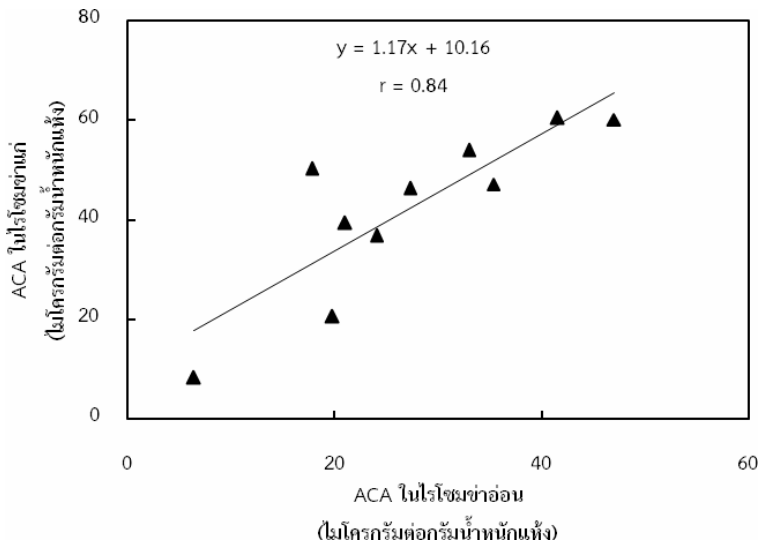


ภาพที่ 10 ปริมาณสาร ACA ในโรโซมแก่ของข้าที่เก็บรวบรวมจากภาคตะวันออก

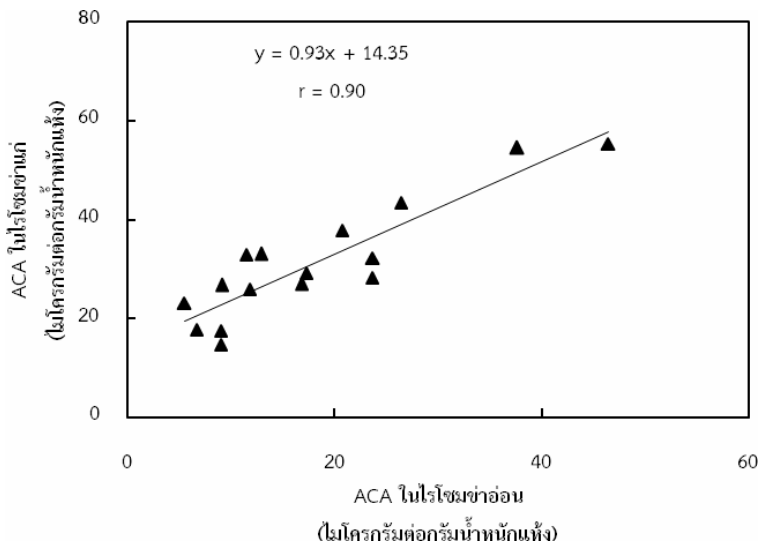


ภาพที่ 11 ปริมาณสาร ACA ในโรโซมแก่ของข้าที่เก็บรวบรวมจากภาคใต้

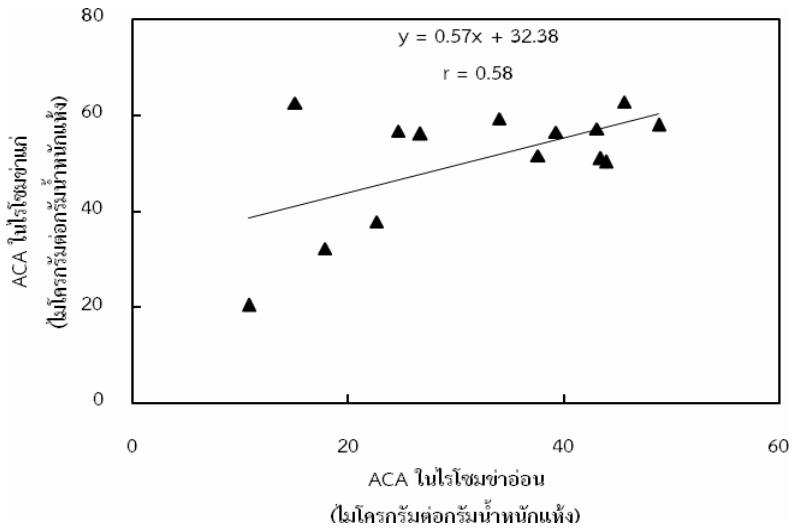
นอกจากนี้จากการศึกษาพบว่า ปริมาณสาร ACA ในไรโซมข้าวแ่ก่มีปริมาณสูงกว่าปริมาณสาร ACA ในไรโซมข้าวอ่อนในทุกภูมิภาคประมาณสองเท่า รวมทั้งยังพบว่า การเปลี่ยนแปลงของปริมาณสาร ACA ในไรโซมข้าวอ่อนมีความสัมพันธ์เชิงบวกกับปริมาณสาร ACA ในไรโซมข้าวแ่ก่ทั้งในภาคเหนือ ($r = 0.84$) (ภาพที่ 12) ภาคตะวันออกเฉียงเหนือ ($r = 0.90$) (ภาพที่ 13) ภาคกลาง ($r = 0.58$) (ภาพที่ 14) ภาคตะวันออก ($r = 0.82$) (ภาพที่ 15) และภาคใต้ ($r = 0.50$) (ภาพที่ 16)



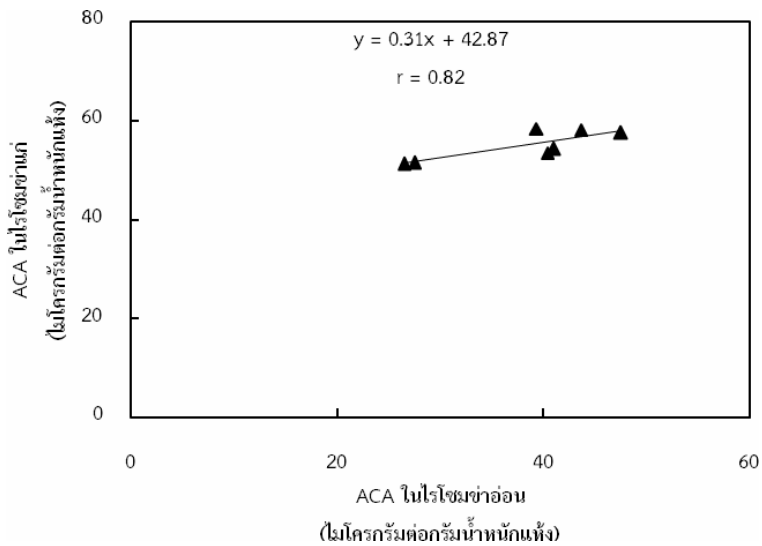
ภาพที่ 12 ความสัมพันธ์ระหว่างปริมาณสาร ACA ในไรโซมอ่อนและแ่ก่ของข้าวที่เก็บรวบรวมจากภาคเหนือ



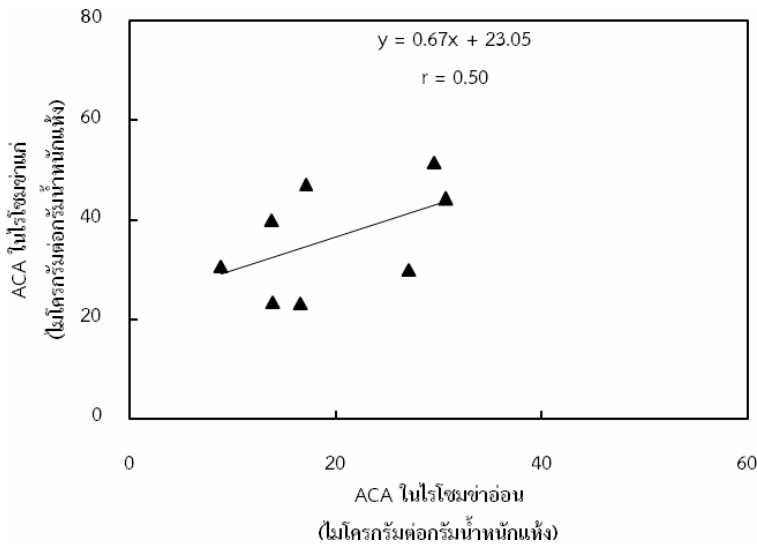
ภาพที่ 13 ความสัมพันธ์ระหว่างปริมาณสาร ACA ในไรโซมอ่อนและแ่ก่ของข้าวที่เก็บรวบรวมจากภาคตะวันออกเฉียงเหนือ



ภาพที่ 14 ความสัมพันธ์ระหว่างปริมาณสาร ACA ในโรยงอ่อนและแก่ของข้าวที่เก็บรวบรวมจากภาคกลาง



ภาพที่ 15 ความสัมพันธ์ระหว่างปริมาณสาร ACA ในโรยงอ่อนและแก่ของข้าวที่เก็บรวบรวมจากภาคตะวันออกเฉียง



ภาพที่ 16 ความสัมพันธ์ระหว่างปริมาณสาร ACA ในโรโซมอ่อนและแก่ของข่าที่เก็บรวบรวมจากภาคใต้

ความแตกต่างของปริมาณสาร ACA ภายในโรโซมข่าอ่อนและโรโซมข่าแก่ น่าจะเกิดมาจากความแตกต่างของสภาพแวดล้อมในแต่ละพื้นที่ปลูก เช่น ธาตุอาหาร อุณหภูมิ ความเป็นกรด-เบส เป็นต้น (มัญญ, 2544; สมบุญ, 2538; Bryant *et al.*, 1983) โดยรายงานของ Grahle and Hoeltzel (1963) และ Tetenyi (1991) แสดงให้เห็นว่าปริมาณ essential oil ใน peppermint ได้รับอิทธิพลจากสภาพแวดล้อมที่พืชเจริญอยู่ โดยปัจจัยที่สำคัญ คือ ธาตุอาหารพืช โดยเฉพาะอย่างยิ่งในกลุ่มของธาตุอาหารหลัก ประกอบด้วย ไนโตรเจน (N) ฟอสฟอรัส (P) และโพแทสเซียม (K) ที่มีบทบาทสำคัญทั้งในด้านการเจริญเติบโตและพัฒนาของพืช (Anghinoni and Barber, 1980; Nguluu *et al.*, 1996; Andrew *et al.*, 1999; Arvidsson, 1999; Gremigni *et al.*, 2001) รวมทั้งยังมีความสัมพันธ์กับกระบวนการสังเคราะห์สารออกฤทธิ์ทางชีวภาพ โดยงานวิจัยของ Zhang *et al.* (1996) และ Zhang and Zhong (1997) พบว่า การเพิ่มปริมาณไนโตรเจนและฟอสฟอรัสสามารถชักนำการสังเคราะห์สารประกอบในกลุ่ม phenylpropanoid เช่น saponin ในโสมได้

นอกจากนี้ในส่วนของความแตกต่างของอุณหภูมิมีผลต่อความสามารถในการผลิตสารออกฤทธิ์ทางชีวภาพ ซึ่งสามารถแสดงให้เห็นโดยงานวิจัยของ Levesque and Svoboda (1997) ที่พบว่า ภายใต้สภาวะอุณหภูมิต่ำส่งผลทำให้การเจริญเติบโตและการผลิตสารออกฤทธิ์ทางชีวภาพลดลง โดย Wu and Zhong (1999) รายงานว่า อุณหภูมิที่เหมาะสมในการผลิต saponin ในโสมอยู่ในช่วงระหว่าง 24-28 องศาเซลเซียส แต่ที่อุณหภูมิที่สูงหรือต่ำกว่าระดับนี้มีผลทำให้ปริมาณ saponin ลดลง ในส่วนของค่า

ความเป็นกรด-เบสที่ส่งเสริมการเจริญเติบโตของพืชมีค่าเท่ากับ 5.5 เนื่องจากค่าในช่วงนี้ส่งเสริมความเป็นประโยชน์และการดูดซึมธาตุอาหารพืช (Marschner *et al.*, 1986)

นอกจากนี้ค่าความเป็นกรด-เบสมีความสัมพันธ์กับการทำงานของเอนไซม์ที่เกี่ยวข้องกับการสังเคราะห์สารออกฤทธิ์ทางชีวภาพ โดย Hattori and Ohta (1985) รายงานว่า ค่าความเป็นกรด-เบสมีผลต่อการทำงานของเอนไซม์ phenylalanine ammonia lyase ซึ่งมีบทบาทสำคัญในการสังเคราะห์สารออกฤทธิ์ทางชีวภาพในกลุ่ม phenylpropanoid (Hahn *et al.*, 2003) ส่วนความแตกต่างของอายุพืชมีผลต่อปริมาณสาร ACA ใน

โรโซมซ่า ทั้งนี้อาจเนื่องมาจากโรโซมซ่าแก่มีการเจริญเติบโตและพัฒนามากกว่า มีผลทำให้มีกระบวนการสังเคราะห์สารออกฤทธิ์ทางชีวภาพที่มีประสิทธิภาพสูงกว่าโรโซมซ่าอ่อนในทุกภูมิภาค ทำให้สามารถตรวจพบปริมาณสาร ACA โรโซมซ่าแก่ในระดับที่สูงกว่าโรโซมซ่าอ่อน ซึ่งสอดคล้องกับค่ากล่าวของ Piccaglia *et al.* (1993) ที่ว่าการเปลี่ยนแปลงของปริมาณ essential oil ภายในพืชมีความสัมพันธ์อย่างใกล้ชิดกับอายุของพืชและระยะเวลาในการปลูกพืช

สรุปผลการทดลอง

ปริมาณสาร ACA ที่สกัดได้จากโรโซมซ่าอ่อนและโรโซมซ่าแก่ในแต่ละพื้นที่ปลูกมีความแตกต่างกัน รวมทั้งปริมาณสาร ACA ภายในโรโซมซ่าแก่มีปริมาณสูงกว่าโรโซมซ่าอ่อน และปริมาณสาร ACA ในโรโซมซ่าอ่อนมีความสัมพันธ์อย่างใกล้ชิดกับปริมาณสาร ACA ในโรโซมซ่าแก่

การนำผลการวิจัยไปใช้ประโยชน์

นำข้อมูลจากผลการทดลองไปเป็นข้อมูลพื้นฐานในการศึกษาสภาพแวดล้อมในแต่ละพื้นที่ปลูก เพื่อให้ทราบถึงอิทธิพลของสภาพแวดล้อมแต่ละชนิดที่ส่งเสริมการผลิตสาร ACA และนำไปพัฒนาและสร้างระบบการผลิตที่มีมาตรฐานเพื่อรองรับการพัฒนาไปสู่อุตสาหกรรมการผลิตต่อไป

กิตติกรรมประกาศ

งานวิจัยนี้ได้รับการสนับสนุนเงินทุนในการทำวิจัยจากศูนย์พันธกิจวิศวกรรมและเทคโนโลยีชีวภาพแห่งชาติ สำนักงานพัฒนาวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยีแห่งชาติ

เอกสารอ้างอิง

- มนูญ ศิริพงษ์. 2544. การปลูกพืชโดยไม่ใช้ดินสู่การปฏิบัติในประเทศไทย. คณะวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยี มหาวิทยาลัยสงขลานครินทร์ วิทยาเขตปัตตานี. 90 หน้า
- สมบุญ เตชะภิญญาวัฒน์. 2538. สรีรวิทยาของพืช. สำนักพิมพ์ร่วมเขียว. กรุงเทพฯ. 213 หน้า.
- Andrews, M., J.I. Sprent, J.A. Raven and P.E. Eady. 1999. Relationships between shoot root ratio, growth and leaf soluble protein concentration of *Pisum sativum*, *Phaseolus vulgaris* and *Triticum aestivum* under different nutrient deficiencies. *Plant Cell Environ.* 22: 949-958.
- Anghinoni, I. and S.A. Barber. 1980. Phosphorus influx and growth characteristics of corn roots as influenced by P supply. *Agron. J.* 72: 685-688.
- Avidsson, J. 1999. Nutrient uptake and growth of barley as affected by soil compaction. *Plant Soil* 208: 9-19.
- Brown, A.F., G.G. Yousef, E.H. Jeffery, B.P. Klein, M.A. Wallig, M.M. Kushad and J.A. Juvik. 2002. Glucosinolate profiles in broccoli: Variation in levels and implications in breeding for cancer chemoprotection. *J. Amer. Hort. Sci.* 127: 807-813.
- Bryant, J.P., F.S. III. Chapin and D.R. Klein. 1983. Carbon nutrient balance of boreal plants in relation to vertebrate herbivory. *Oikos* 40: 357-368.

- Grahle, A. and C. Hoeltzel. 1963. Photoperiodic dependence of the formation of essential oils in *Mentha piperita*. *Naturwissenschaften* 50: 552.
- Gremigni, P., M.T.F. Wong, N.K. Edwards, D.J. Harris and J. Hamblin. 2001. Potassium nutrition effects on seed alkaloid concentrations, yield and mineral content of lupins (*L. angustifolius*). *Plant Soil* 237: 131-142.
- Hahn, E.J., Y.S. Kim, K.W. Yu, C.S. Jeong and K.Y. Paek. 2003. Adventitious root cultures of *Panax ginseng* c.v. Meyer and Ginsenoside production through large-scale bioreactor system. *J. Plant. Biotechnol.* 5: 1-6.
- Hattori, T. and Y. Ohta. 1985. Induction of phenylalanine ammonialyase activation and isoflavone glucoside accumulation in suspension-cultured cells of red bean, *Vigna angularis*, by phytoalexin elicitors, vanadate, and elevation of medium pH. *Plant Cell Physiol.* 26: 1101-1110.
- Jeffery, E.H., A.F. Brown, A.C. Kurillich, A.S. Keck, N. Matusheski, B.P. Klein and J.A. Juvik. 2003. Variation in content of bioactive components in broccoli. *J. Food Compos. Anal.* 16: 323-330.
- Kirakosyan, A., T. M. Servent, D.M. Gibson and P.B. Kaufman. 2004. The Production of Hypericin by in vitro culture of St. John's wort (*Hypericum perforatum*). *Biotechnol. Appl. Biochem.* 39: 71-81.
- Mairapetyan, S.K., A.H. Tadevosyan, S.S. Alexanyan and B.T. Stepanyan. 1999. Optimization of the N:P:K ratio in the nutrient medium of some aromatic and medicinal plants. *Acta Hort.* 502: 29-32.
- Marschner, H., W.J. Horst, P. Martin and V. Romheld. 1986. Root induced changes in the rhizosphere: Importance for the mineral nutrition of plants. *Z. Pflanz. Bodenk.* 149: 441-456.
- Nguluu, S.N., M.E. Probert, R.J.K. Myers and S.A. Waring. 1996. Effect of tissue phosphorus concentration on the mineralization of nitrogen from stylo and cowpea residues. *Plant Soil* 191: 139-146.
- Palittapongarnpim, P., C. Kirdmanee, P. Kittakoop and K. Rukseree. 2002. 1'-Acetoxychavicol Acetate for Tuberculosis Treatment. US Patent Application no. 2002192262.
- Piccaglia, R., V. Dellacecca, M. Marotti and E. Giovanelli. 1993. Agronomic factors affecting the yields and the essential oil composition of peppermint (*Mentha x piperita* L.). *Acta Hort.* 344: 29-40.
- Perry, L.M. 1980. *Medicinal Plants of East and South-East Asia; Attributed Properties and Uses.* MIT press, Cambridge (Mass.) and London 436 p.
- Tetenyi, P. 1991. Biological Preconditions for Cultivation and Processing of Medicinal Plants. In "The Medicinal Plant Industry Wijesekera R.O.B. ed." CRC Press, 33-41 p.

- Wu, J. and J.J. Zhong, 1999. Production of ginseng and its bioactive components in plant cell culture: Current technological and applied aspects. *J. Biotechnol.* 68: 89-99.
- Zhang, Y.H., J.J. Zhong, and J.T. Yu. 1996. Effect of nitrogen source on cell growth and production of ginseng saponin and polysaccharide in suspension cultures *Panax notoginseng*. *Biotechnol. Prog.* 12: 567-571.
- Zhang, Y.H. and J.J. Zhong. 1997. Hyperproduction of ginseng saponin and polysaccharide by high density cultivation of *Panax notoginseng*. *Enzym. Microb. Technol.* 21: 59-63.

การสกัด การวิเคราะห์องค์ประกอบทางเคมีและการประยุกต์ใช้น้ำมันหอมระเหย
จากดอกปีบ

Extraction, Identification, and Application of Essential Oil
from *Millingtonia hortensis* Linn.

พนิดา แสนประกอบ¹ และสี้อักัญญา จารุปินทุโสภณ^{1*}
Panida Saenprakob¹ and Suekanya Jarupinthusophon¹

สาขาวิชาเคมี คณะวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยี มหาวิทยาลัยราชภัฏพระนคร
Chemistry Program, Faculty of Science and Technology, Phranakhon Rajabhat University

* Corresponding author: ruja@hotmail.com

บทคัดย่อ

การศึกษาวิธีการสกัดน้ำมันหอมระเหยจากดอกปีบ (*Millingtonia hortensis* Linn.) โดยการสกัดด้วยไขมันแบบเย็น (Cold Enfleurage) การสกัดด้วยไขมันแบบร้อน (Hot Enfleurage) และการสกัดด้วยปิโตรเลียมอีเทอร์ (Petroleum ether Extraction) ได้ผลผลิตร้อยละของน้ำมันหอมระเหยต่อน้ำหนักสดของดอกปีบเท่ากับ 0.2786 0.6794 0.1275 ตามลำดับ และเมื่อวิเคราะห์องค์ประกอบหลักทางเคมีของน้ำมันหอมระเหยด้วยเครื่องแก๊สโครมาโทกราฟีแมสสเปกโตรมิเตอร์ (GC-MS) พบว่าการสกัดด้วยไขมันแบบเย็นมีองค์ประกอบหลักคือ Linalool ขณะที่การสกัดด้วยวิธีไขมันแบบร้อนมี 1,8-Cineole และ Linalool เป็นองค์ประกอบหลัก นอกจากนี้ยังทำการสำรวจความพึงพอใจที่มีต่อน้ำมันหอมระเหยจากกลุ่มประชากร 50 คน พบว่าน้ำมันหอมระเหยจากวิธีสกัดด้วยไขมันแบบเย็นมีลักษณะกลิ่นใกล้เคียงกับดอกปีบ ทำให้รู้สึกผ่อนคลายและสดชื่น จึงมีคุณสมบัติที่เหมาะสมสำหรับการนำไปพัฒนาเป็นผลิตภัณฑ์น้ำมันนวดอโรมามากกว่าวิธีอื่น

คำสำคัญ: ดอกปีบ, น้ำมันหอมระเหย, การสกัดด้วยไขมัน, การสกัดด้วยตัวทำละลาย, องค์ประกอบทางเคมี

Abstract

This study aims to assess the efficiency of extraction methods for essential oil from the Indian cork (*Millingtonia hortensis* Linn.) flower. Cold enfleurage, hot enfleurage, and petroleum ether extraction were used. The results showed that the oil extraction yield was influenced by the extraction method. The percentage yield of cold enfleurage, hot enfleurage, and petroleum ether extraction were 0.2786%, 0.6794%, and 0.1275%, respectively. The constituent of absolute from Indian cork were identified by GC-MS. The chemical constituent of cold enfleurage absolute only includes Linalool whereas 1,8-Cineole (50.59%) and Linalool (49.41%) were found in hot enfleurage. The assessment of 50 volunteers found that the absolute from cold enfleurage more closely resemble Indian cork flowers by feeling relaxed and fresh than others. Therefore, cold enfleurage is suitable method for develop into aromatherapy massage oil.

Keywords: *Millingtonia hortensis* Linn., essential oil, enfleurage, solvent extraction, chemical constituent

คำนำ

การนำพืชสมุนไพรมาใช้ในการบำบัดโรคนั้นมีมาตั้งแต่สมัยโบราณ ในปัจจุบันมนุษย์ได้ให้ความสนใจในเรื่องของการดูแลสุขภาพของตนเองมากขึ้น เนื่องมาจากสิ่งแวดล้อมที่ต้องเผชิญทำให้เกิดความเครียด ส่งผลให้ร่างกายอ่อนแอ เจ็บป่วยเกิดเป็นโรคภัยไข้เจ็บตามมา หลายคนจึงให้ความสนใจในวิธีสุขภาพบำบัดหรือ อโรมาเธอราปี (Aromatherapy) ซึ่งเป็นศาสตร์และศิลป์ในการใช้น้ำมันหอมระเหยจากธรรมชาติ เพื่อบำบัดหรือบรรเทาอาการของโรค ทำให้สุขภาพดีทั้งทางร่างกายและจิตใจ ตลอดจนสามารถใช้ช่วยเสริมความงามได้อีกด้วย โดยอาศัยคุณสมบัติที่มีกลิ่นหอมและระเหยได้ของน้ำมันหอมระเหย ซึ่งโมเลกุลขนาดเล็กของน้ำมันหอมระเหยเมื่อสูดดมเข้าไปแล้ว จะซึมผ่านไปยังผิวหนังส่วนต่าง ๆ ของร่างกาย มีผลทำให้การทำงานของระบบอวัยวะต่าง ๆ ของร่างกาย รวมไปถึงจิตใจเกิดความสมดุล จึงสามารถบำบัดอาการได้ เช่น ลดความเครียด ช่วยให้หลับสบาย หรือกระตุ้นให้สดชื่น มีพลัง ตลอดจนการหลังของฮอร์โมนบางชนิดได้ น้ำมันหอมระเหยเป็นน้ำมันที่พืชผลิตขึ้นเองตามธรรมชาติเก็บไว้ตามส่วนต่าง ๆ เช่น กลีบดอก ใบ ผิวของผล เกสร รากหรือเปลือกของลำต้น โดยน้ำมันหอมระเหยเหล่านี้เป็นกลุ่มสารอินทรีย์ที่มีคุณสมบัติเด่นคือ มีกลิ่นหอมและระเหยได้ง่ายที่อุณหภูมิห้อง (เฉลิมพล, 2545) การนวดเพื่อสุขภาพ ซึ่งเป็นวิธีหนึ่งที่ใช้ในการบำบัดรักษาด้วยกลิ่นหอม โดยปัจจุบันได้รับความนิยมและสนใจเป็นอย่างมาก ไม่ว่าจะเป็นการนวดด้วยน้ำมันนวดหรือนวดด้วยน้ำมันหอมระเหย ซึ่งเป็นทางเลือกหนึ่งที่จะช่วยให้ความรู้สึกสดชื่นผ่อนคลายทั้งทางร่างกายและจิตใจ

ปีป (*Millingtonia hortensis* Linn.) สัตถลักษณะประจำมหาวิทยาลัยราชภัฏพระนคร จัดอยู่ในวงศ์ Bignoniaceae เป็นไม้ยืนต้นขนาดกลางถึงขนาดใหญ่มีความสูงประมาณ 10-20 เมตร เปลือกมีสีเทาเข้ม แตกเป็นร่องลึก มีช่องอากาศ รากเกิดเป็นหน่อ เจริญเป็นต้นใหม่ได้ ใบ มีรูปร่างเป็นรูปหอกแกมรูปไข่ ฐานใบรูปลิ้น ขอบหยักเป็นซี่หยาบ ปลายเรียวแหลม เนื้อใบบางคล้ายกระดาษเกลี้ยง ดอกเป็นช่อกระจุกแยกแขนง ดอกย่อยประกอบด้วย กลีบเลี้ยงมีสีเขียวเชื่อมกันเป็นรูปประฆังปลายตัด กลีบดอกมีสีขาว กลิ่นหอม เชื่อมกันเป็นหลอดปากแตรแยกเป็น 5 แฉก 3 แฉก รูปขอบขนาน 2 แฉก ด้านล่างค่อนข้างแหลม เกสรเพศผู้มีจำนวน 4 อัน สองคู่ยาวไม่เท่ากัน เกสรเพศเมียมีจำนวน 1 อัน อยู่เหนือวงกลีบ ออกดอกประมาณเดือนพฤษภาคมถึง พฤษภาคม ผลเป็นผลแห้งแตก ลักษณะแบนยาวขอบขนาน มีเนื้อ เมล็ดมีจำนวนมาก เป็นแผ่นบางมีปีก ใบและดอกมีประโยชน์เอนกประสงค์ทั้งทางด้านอาหาร ยา และอุตสาหกรรม (เสริมสิริ, 2541)

Moongkarndi *et al.* (1991) ศึกษาฤทธิ์การยับยั้ง 5-Lipoxygenase pathway ของสารจากดอกปีป ทำการสกัดสารจากดอกปีปโดยใช้วิธีการสกัดเย็นด้วยเมทานอลเป็นตัวทำละลายแล้วนำมาแยกด้วยปิโตรเลียมอีเทอร์, คลอโรฟอร์ม, นอร์มัลบิวทานอล พบว่าในชั้นของคลอโรฟอร์มมีสาร Hispidulin ซึ่งสามารถยับยั้ง 5-Lipoxygenase pathway ได้ถึงร้อยละ 65 ที่ความเข้มข้น 64 μM Bunyapraphatsara *et al.* (1995) ศึกษาฤทธิ์ในการต้านการอักเสบ (Antiphlogistic) ของดอกปีป โดยทำการสกัดดอกปีปด้วยเมทานอล จากนั้นทำการแยกส่วนที่อยู่ในชั้นของคลอโรฟอร์มออกมา พบว่ามีสาร Hispidulin ซึ่งสามารถออกฤทธิ์ดังกล่าวได้ Leelapompisid *et al.* (2008) ศึกษาผลผลิตร้อยละของน้ำมันหอมระเหยและฤทธิ์ในการต้านอนุมูลอิสระ (Antioxidant) ของสมุนไพรไทยที่ใช้ใน อโรมาเธอราปี โดยทำการสกัดดอกปีปด้วยปิโตรเลียมอีเทอร์และสกัดต่อด้วยเอทานอล ได้แอบโซลูทร้อยละ 0.1366 เมื่อนำไปทดสอบมีฤทธิ์ Antioxidant ที่ IC₅₀ ความเข้มข้น 1.6765 mg/ml Sittiwet *et al.* (2009) ศึกษาฤทธิ์ Antimicrobial ของน้ำมันหอมระเหยจากดอกปีป โดยทำการสกัดน้ำมันหอมระเหยจากดอกปีปด้วยวิธีการกลั่นด้วย ไอน้ำ ได้ผลผลิตร้อยละของน้ำมันหอมระเหย 0.5 - 2 และพบว่าสาร Hispidulin และ Hortensis สามารถออกฤทธิ์ยับยั้งการเจริญเติบโตของเชื้อจุลินทรีย์ (Antimicrobial) ได้ และ Samakradhamrongthai *et al.* (2009) ศึกษาองค์ประกอบทางเคมีของดอกไม้แห้ง

ที่มีกลิ่นหอมของไทยและการนำไปประยุกต์ทำเป็นชา โดยทำการสกัดน้ำมันหอมระเหยจากดอกไม้ด้วยเทคนิควิธี solid-phase microextraction (SPME) และวิเคราะห์องค์ประกอบทางเคมีด้วยเครื่อง Gas Chromatography-Mass Spectrometer (GC-MS) พบองค์ประกอบหลักในดอกปีป คือ linalyl anthranilate, caryophyllene, α -bergamotene และ 1-octen-3-ol

งานวิจัยนี้ได้ทำการศึกษาหาวิธีการสกัดน้ำมันหอมระเหยของดอกปีปที่เหมาะสม โดยศึกษาผลผลิตร้อยละของน้ำมันหอมระเหยที่ได้จากวิธีการสกัดทั้ง 3 วิธีคือ การสกัดด้วยไขมันแบบเย็น (Cold Enfleurage) การสกัดด้วยไขมันแบบร้อน (Hot Enfleurage) และการสกัดด้วยปิโตรเลียมอีเทอร์ (Petroleum ether Extraction) วิเคราะห์องค์ประกอบทางเคมีของน้ำมันหอมระเหยของดอกปีป และพัฒนาน้ำมันหอมระเหยเป็นผลิตภัณฑ์น้ำมันนวดอโรมาตอกปีป เพื่อเป็นต้นแบบในการประยุกต์ใช้น้ำมันหอมระเหยจากดอกปีปสำหรับผลิตภัณฑ์ทางด้านสุขภาพ

วิธีการดำเนินการทดลอง

การเตรียมวัตถุดิบ

เก็บดอกปีปที่ร่วงตอนเช้า ในช่วงเวลา 06.00 ถึง 07.00 น. และ 16.00 ถึง 17.00 น. บริเวณในมหาวิทยาลัยราชภัฏพระนคร ลักษณะของดอกปีปที่เก็บมาจะต้องมีสีขาว สด ไม่ช้ำ ไม่เหี่ยว

การสกัดสาร

การสกัดดอกปีปด้วยไขมันแบบเย็น

เตรียมไขมันปาล์มโดยให้ความร้อนไขมันปาล์มที่เป็นของแข็งจนละลายกลายเป็นน้ำมันปริมาตร 100 มิลลิลิตร เทน้ำมันใส่ภาตสแตนเลส รอให้เป็นไขมันแล้วใส่ดอกปีปที่ทราบน้ำหนักให้เต็มภาต ทำซ้ำอีกภาตแล้วนำมาประกบให้สนิท เก็บไว้ที่อุณหภูมิ 15-20 องศาเซลเซียส เปลี่ยนดอกปีปทุก ๆ 24 ชั่วโมง จนไขมันปาล์มในภาตอิมตัวจึงสกัดด้วยแอบโซลูทเอทานอล แล้วนำไปเก็บที่อุณหภูมิ 15-20 องศาเซลเซียส นาน 24 ชั่วโมง กรองแยกไขมันปาล์มออก ทำซ้ำจนไขมันปาล์มไม่มีกลิ่นหอมของดอกปีป จากนั้นนำสารสกัดที่ได้ทั้งหมดไประเหยเอาตัวทำละลายออก ด้วยเครื่อง Rotary evaporator จะได้น้ำมันหอมระเหยที่เรียกว่าแอบโซลูท (absolute)

การสกัดดอกปีปด้วยไขมันแบบร้อน

นำน้ำมันปาล์มบริสุทธิ์ร้อยละ 100 ที่มีลักษณะเป็นของเหลวสีเหลือง ที่อุณหภูมิห้อง ให้ความร้อนที่อุณหภูมิ 60-80 องศาเซลเซียส ใส่ดอกปีปที่ทราบน้ำหนักลงไป ทิ้งให้เย็นประมาณ 30 นาที นำไปเก็บที่อุณหภูมิ 15-20 องศาเซลเซียส หลังจากครบ 24 ชั่วโมง น้ำมันปาล์มจะเป็นไขมัน นำมาให้ความร้อนอีกครั้งด้วยอุณหภูมิเท่าเดิม เพื่อให้ไขมันกลายเป็นน้ำมัน ตั้งทิ้งไว้ให้เย็น กรองดอกปีปออก ทำซ้ำโดยใช้น้ำมันปาล์มชุดเดิมจนกว่าปริมาณน้ำมันปาล์มจะอยู่ในระดับเดียวกับดอกปีปที่แช่ จึงนำน้ำมันปาล์มที่ไปสกัดด้วยแอบโซลูทเอทานอล จนกว่าน้ำมันปาล์มจะไม่มีกลิ่นหอมของดอกปีป นำน้ำมันที่ได้ระเหยตัวทำละลาย จะได้น้ำมันหอมระเหยที่เรียกว่าแอบโซลูท (absolute)

การสกัดด้วยปิโตรเลียมอีเทอร์

นำปิโตรเลียมอีเทอร์ปริมาตร 1000 มิลลิลิตร เเทลงในขวดเก็บสารซึ่งดอกปีป 100 กรัม ใส่ลงไป ปิดฝาขวดให้สนิท ตั้งไว้ให้พ้นแสง นาน 25-30 นาที ระหว่างนั้นเขย่าประมาณ 2 ครั้ง เพื่อให้เกิดประสิทธิภาพในการสกัดสารเพิ่มมากขึ้น จากนั้นทำการกรองดอกปีปออก ทำซ้ำโดยใช้ปิโตรเลียมในขวดเดิมจนกว่าปริมาณของปิโตรเลียมอีเทอร์อยู่ในระดับเดียวกับดอกปีปที่แช่แล้วนำสารสกัดที่ได้ไประเหยตัวทำละลายด้วยเครื่อง

Rotary evaporator สารสกัดที่ได้จะมีลักษณะเป็นไข สถานะของแข็งที่อุณหภูมิห้อง ที่เรียกว่า “concrete” นำ concrete ไปสกัดด้วยแอบโซลูทเอทานอล จะได้ผลิตภัณฑ์ที่เป็นน้ำมันหอมระเหย เพื่อให้ได้สารหอมที่เรียกว่าแอบโซลูท (absolute)

การวิเคราะห์องค์ประกอบหลักทางเคมีของน้ำมันหอมระเหย

นำน้ำมันหอมระเหยที่ได้จากวิธีสกัดด้วยไขมันแบบเย็นและแบบร้อน มาวิเคราะห์องค์ประกอบทางเคมีด้วยเครื่องแก๊สโครมาโทกราฟีแมสสเปกโตรมิเตอร์ (Shimadzu capillary GC-quadrupole MS system QP 5050A) โดยใช้คอลัมน์ J&W DB-5 (60 เมตรx0.25 มิลลิเมตร) ความหนาของฟิล์ม 0.25 ไมโครเมตรอุณหภูมิ Injector 250 องศาเซลเซียส อุณหภูมิ Detector 250 องศาเซลเซียส โหมดการฉีดแบบทิ้งสาร (split mode) spit ratio 1:10 แก๊สตัวพาเป็นฮีเลียม อัตราการไหล 1.2 มิลลิลิตรต่อนาที โปรแกรมอุณหภูมิ เริ่มต้นที่ 80 องศาเซลเซียส ทิ้งไว้ 5 นาที เพิ่มอุณหภูมิ 4 องศาเซลเซียสต่อนาที จนถึง 180 องศาเซลเซียส แล้วเพิ่มอุณหภูมิ 10 องศาเซลเซียสต่อนาที จนถึง 250 องศาเซลเซียส ทิ้งไว้ 10 นาที ส่วนน้ำมันหอมระเหยที่ได้จากวิธีสกัดด้วยไขมันแบบร้อน สภาวะการสกัดคือ อุณหภูมิ Injector 240 องศาเซลเซียส อุณหภูมิ Detector 240 องศาเซลเซียส โหมดการฉีดแบบทิ้งสาร (split mode) spit ratio 1:3 แก๊สตัวพาเป็นฮีเลียม อัตราการไหล 1.2 มิลลิลิตรต่อนาที โปรแกรมอุณหภูมิ เริ่มต้นที่ 80 องศาเซลเซียส ทิ้งไว้ 5 นาที เพิ่มอุณหภูมิ 4 องศาเซลเซียสต่อนาที จนถึง 180 องศาเซลเซียส แล้วเพิ่มอุณหภูมิ 10 องศาเซลเซียสต่อนาที จนถึง 250 องศาเซลเซียส ทิ้งไว้ 10 นาที

การทำน้ำมันนวดโรมาดอปปีบ

น้ำมันนวดโรมาดอปปีบมีส่วนผสมของ Carrier oils ต่อ Essential oils ต่อสารป้องกันการหืนเป็นอัตราส่วนเท่ากับ 100 ต่อ 100 ต่อ 0.05

Carrier oils 100 ส่วน

Sweet almond oil	ร้อยละ 60
Jojoba oil	ร้อยละ 30
น้ำมันมะพร้าว	ร้อยละ 10

Essential oils 100 ส่วน

น้ำมันหอมระเหยดอปปีบ	ร้อยละ 100
----------------------	------------

สารป้องกันการหืน 0.05 ส่วน

BHT (Butylated hydroxy toluene)	ร้อยละ 100
---------------------------------	------------

นำ sweet almond oil, jojoba oil, น้ำมันมะพร้าว และ BHT ผสมเข้าด้วยกัน จากนั้นคนหรือปั่นจนจน BHT ละลายหมด เติมน้ำมันหอมระเหยดอปปีบลงไป คนให้เข้ากัน บรรจุใส่บรรจุภัณฑ์

ผลการวิจัยและอภิปรายผลการวิจัย

การสกัดน้ำมันหอมระเหยดอปปีบ

ผลผลิตร้อยละต่อน้ำหนักสดของดอปปีบที่ได้จากการสกัดด้วยวิธีไขมันแบบเย็น แบบร้อน และปิโตรเลียมอีเทอร์ คิดเป็น 0.2786 0.6794 และ 0.1275 ตามลำดับ (ตารางที่ 1)

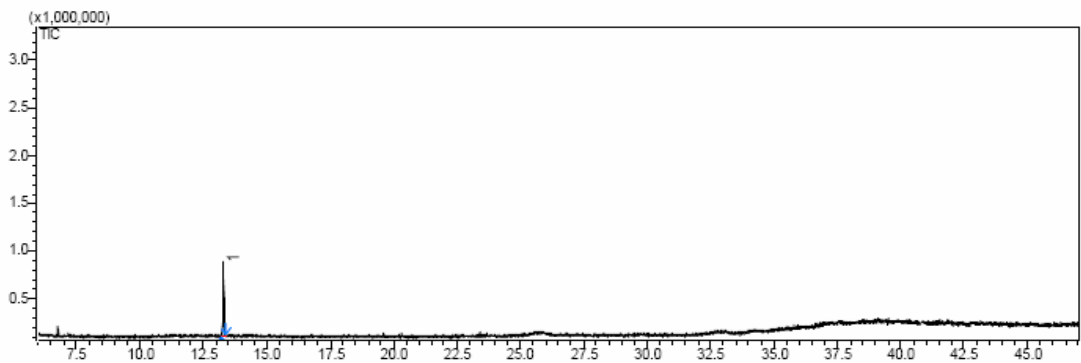
ตารางที่ 1 ผลการสกัดน้ำมันหอมระเหยดอกปีด้วยไขมันแบบเย็น แบบร้อน และปิโตรเลียมอีเทอร์

วิธีสกัด	ปริมาณสารที่ใช้สกัด (มิลลิลิตร)	ปริมาณดอกปี (กรัม)	ปริมาณน้ำมันหอมระเหย (กรัม)	ลักษณะทางกายภาพ
สกัดด้วยไขมันแบบเย็น	600*	6000	16.7150	ของเหลวหนืด สีเหลืองเข้ม ใสเล็กน้อย
สกัดด้วยไขมันแบบร้อน	1500**	1200	8.1523	ของเหลวหนืด สีเหลืองเข้ม
สกัดด้วยปิโตรเลียมอีเทอร์	3000***	2400	3.8250	ของเหลว หนืดเล็กน้อย สีเหลืองปนน้ำตาล

หมายเหตุ *ใช้ไขมันปาล์ม **ใช้น้ำมันปาล์ม ***ใช้ปิโตรเลียมอีเทอร์

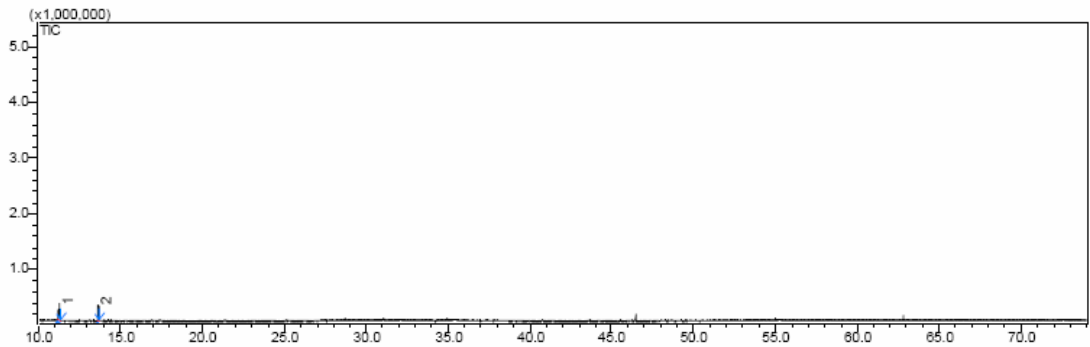
การวิเคราะห์องค์ประกอบทางเคมีของน้ำมันหอมระเหยดอกปี

จากการนำตัวอย่างน้ำมันหอมระเหยดอกปีที่ได้จากการสกัดด้วยไขมันแบบเย็น ไปวิเคราะห์องค์ประกอบทางเคมีด้วยเครื่องแก๊สโครมาโทกราฟีแมสสเปกโตรมิเตอร์พบองค์ประกอบหลัก คือ Linalool มีค่ารีเทนชันไทม์เท่ากับ 13.288 นาที พื้นที่ใต้กราฟคิดเป็นร้อยละ 100 รายงานผลด้วย โครมาโทแกรมในภาพที่ 2

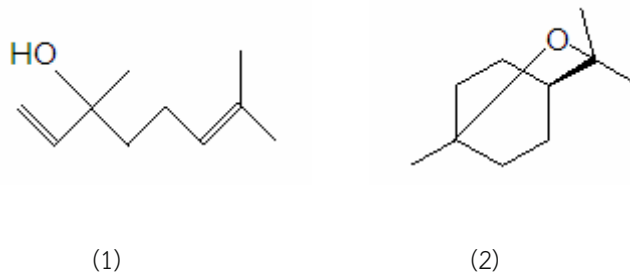


ภาพที่ 2 แสดงโครมาโทแกรมของน้ำมันหอมระเหยที่สกัดจากไขมันแบบเย็น

ส่วนน้ำมันหอมระเหยดอกปีที่ได้จากวิธีสกัดด้วยไขมันแบบร้อน พบองค์ประกอบหลัก 2 ชนิด คือ 1,8-Cineole มีค่ารีเทนชันไทม์เท่ากับ 11.251 นาที พื้นที่ใต้กราฟคิดเป็นร้อยละ 50.59 และ Linalool มีค่ารีเทนชันไทม์เท่ากับ 13.646 นาที พื้นที่ใต้กราฟคิดเป็นร้อยละ 49.41 รายงานผลด้วย โครมาโทแกรมในภาพที่ 3 และแสดงโครงสร้างในภาพที่ 4



ภาพที่ 3 แสดงโครมาโทแกรมของน้ำมันหอมระเหยที่สกัดด้วยไขมันแบบร้อน



ภาพที่ 4 แสดงโครงสร้างของ Linalool (1) และ 1,8-Cineole (2)

การประยุกต์ใช้น้ำมันหอมระเหยจากดอกปีบ

น้ำมันหอมระเหยดอกปีบจากการสกัดทั้ง 3 วิธี แต่ละวิธีให้น้ำมันหอมระเหยที่มีลักษณะทางกายภาพแตกต่างกัน ดังนั้นก่อนนำน้ำมันหอมระเหยไปพัฒนาเป็นผลิตภัณฑ์น้ำมันนวดโรมาดอกปีบที่มีคุณสมบัติที่เหมาะสมสำหรับบุคคลทั่วไป จึงทำการสำรวจความพึงพอใจที่มีต่อน้ำมันหอมระเหยจากการสกัดทั้ง 3 วิธี ผลการประเมินความพึงพอใจของบุคคลทั่วไปที่มีต่อน้ำมันหอมระเหยดอกปีบที่ได้จากการสกัดทั้ง 3 วิธี

จากการประเมินพบว่าผู้ทำการประเมินทั้งหมด 50 คน เป็นเพศหญิง 44 คน เพศชาย 6 คน มีอายุต่ำกว่า 20 ปี 38 คน อายุอยู่ในช่วงระหว่าง 20-30 ปี 8 คน อยู่ในช่วงระหว่าง 31-40 ปี 3 คน อายุมากกว่า 40 ปี 1 คน เป็นนักศึกษา 43 คน เป็นอาจารย์ 5 คน และเป็นเจ้าหน้าที่ 2 คน โดยรายงานผลการประเมินได้ตามตารางที่ 2

ตารางที่ 2 ผลการประเมินความพึงพอใจต่อกลิ่นของน้ำมันหอมระเหย

ประเด็น	จำนวนบุคคลที่พึงพอใจ (คน)		
	ตัวอย่าง 1	ตัวอย่าง 2	ตัวอย่าง 3
1. ตัวอย่างที่มีกลิ่น ทำให้รู้สึกผ่อนคลาย	31	15	4
2. ตัวอย่างที่มีกลิ่น ทำให้รู้สึกสดชื่น	36	10	3
3. ตัวอย่างที่มีลักษณะกลิ่นใกล้เคียงกับดอกปีป	17	9	22
4. ความพึงพอใจโดยรวมต่อกลิ่นของน้ำมันหอมระเหย	32	11	5

ในการสำรวจความพึงพอใจ น้ำมันหอมระเหยจากการสกัดด้วยไขมันแบบเย็นคือตัวอย่างที่ 1 จากการสกัดด้วยไขมันแบบร้อนคือตัวอย่างที่ 2 และจากการสกัดด้วยปิโตรเลียมอีเทอร์คือตัวอย่างที่ 3 จากผลการประเมินพบว่าตัวอย่างกลิ่นที่ทำให้รู้สึกผ่อนคลายมากที่สุดคือตัวอย่างที่ 1 มีจำนวนบุคคลที่พึงพอใจ 31 คน รองลงมาคือตัวอย่างที่ 2 พึงพอใจ 15 คน และตัวอย่างที่มีคนพึงพอใจน้อยที่สุดคือตัวอย่างที่ 3 พึงพอใจ 4 คน ตัวอย่างที่มีคนพึงพอใจกลิ่นที่ทำให้รู้สึก สดชื่นมากที่สุดคือตัวอย่างที่ 1 พึงพอใจ 36 คน รองลงมาคือตัวอย่างที่ 2 พึงพอใจ 10 คน และตัวอย่างที่คนพึงพอใจน้อยที่สุดคือตัวอย่างที่ 3 พึงพอใจ 3 คน ตัวอย่างที่มีคนพึงพอใจกลิ่นที่ใกล้เคียงกับธรรมชาติมากที่สุดคือตัวอย่างที่ 3 พึงพอใจ 22 คน รองลงมาคือตัวอย่างที่ 1 พึงพอใจ 17 คน และตัวอย่างที่มีคนพึงพอใจน้อยที่สุดคือตัวอย่างที่ 2 พึงพอใจ 9 คน และตัวอย่างที่มีคนพึงพอใจต่อกลิ่นของน้ำมันหอมระเหยมากที่สุดคือ ตัวอย่างที่ 1 พึงพอใจ 32 คน รองลงมาคือตัวอย่างที่ 2 พึงพอใจ 11 คน และตัวอย่างที่มีคนพึงพอใจน้อยที่สุดคือตัวอย่างที่ 3 พึงพอใจ 5 คน โดยภาพรวมน้ำมันหอมระเหยที่ได้จากการสกัดด้วยไขมันแบบเย็นได้รับความพึงพอใจมากที่สุด 32 คน แบ่งเป็นเพศชาย 3 คน มีอายุต่ำกว่า 20 ปี 1 คน อายุระหว่าง 20-30 ปี 1 คน และอายุอยู่ในช่วง 31-40 ปี 1 คน มีอาชีพเป็นนักศึกษา 2 คน เป็นอาจารย์ 1 คน และเพศหญิง 29 คน มีอายุต่ำกว่า 20 ปี 25 คน อายุระหว่าง 20-30 ปี 3 คน และอายุอยู่ในช่วง 31-40 ปี 1 คน มีอาชีพเป็นนักศึกษา 26 คน เป็นอาจารย์ 2 คน เป็นเจ้าหน้าที่ 1 คน ดังนั้นจึงเลือกตัวอย่างที่ 1 ไปพัฒนาเป็นผลิตภัณฑ์น้ำมันนวดอโรมาดอกปีป

ผลการประเมินความพึงพอใจของบุคคลทั่วไปที่มีต่อน้ำมันนวดอโรมาดอกปีป

จากการประเมินพบว่าผู้ประเมินทั้งหมด 50 คน เป็นเพศหญิง 38 คน เพศชาย 12 คน มีอายุต่ำกว่า 20 ปี 10 คน อายุอยู่ในช่วงระหว่าง 20-30 ปี 34 คน อยู่ในช่วงระหว่าง 31-40 ปี 5 คน อายุมากกว่า 40 ปี 1 คน เป็นนักศึกษา 40 คน เป็นอาจารย์ 8 คน และเป็นเจ้าหน้าที่ 2 คน รู้จักน้ำมันนวดอโรมา จำนวน 45 คน ไม่รู้จัก 5 คน เคยใช้บริการนวดเพื่อสุขภาพด้วยน้ำมันนวดอโรมา จำนวน 15 คน ไม่เคยใช้บริการนวด 35 คน รู้จักดอกปีป จำนวน 49 คน ไม่รู้จัก 1 คน พึงพอใจกลิ่นดอกปีปในธรรมชาติ 49 คน ไม่พึงพอใจ 1 คน โดยรายงานผลการประเมินได้ตามตารางที่ 3

ตารางที่ 3 ผลการประเมินความพึงพอใจในระดับต่าง ๆ ที่มีต่อน้ำมันนวดอโรมาดอกปีบ

ประเด็น	จำนวนบุคคลที่พึงพอใจ (คน)				
	มากที่สุด	มาก	ปานกลาง	น้อย	น้อยที่สุด
1. ช่วยให้ผู้รู้สึกสดชื่น	4	20	22	4	-
2. ช่วยให้ผู้รู้สึกผ่อนคลาย	3	30	16	1	-
3. ความเหนียวเหนอะ	1	3	16	19	11
4. การซึมซับสู่ผิว	6	27	12	5	-
5. ความหอมของน้ำมันนวด	4	22	16	6	2
6. ความพึงพอใจโดยรวม	6	31	10	3	-

จากตารางที่ 3 ผลการประเมินความพึงพอใจของบุคคลทั่วไปที่มีต่อผลิตภัณฑ์น้ำมันนวดอโรมาดอกปีบ พบว่าผลิตภัณฑ์น้ำมันนวดอโรมาดอกปีบ ช่วยให้ผู้รู้สึกสดชื่น มีคนพึงพอใจในระดับมากที่สุด จำนวน 4 คน พึงพอใจในระดับมาก จำนวน 20 คน พึงพอใจในระดับปานกลาง จำนวน 22 คน และพึงพอใจในระดับน้อย จำนวน 4 คน ผลิตภัณฑ์น้ำมันนวดอโรมาดอกปีบ ช่วยให้ผู้รู้สึกผ่อนคลาย มีคนพึงพอใจในระดับมากที่สุด จำนวน 3 คน พึงพอใจในระดับมาก จำนวน 30 คน พึงพอใจในระดับปานกลาง จำนวน 16 คน และพึงพอใจในระดับน้อย จำนวน 1 คน ความเหนียวเหนอะของผลิตภัณฑ์น้ำมันนวดอโรมาดอกปีบ มีคนพึงพอใจในระดับมากที่สุด จำนวน 1 คน พึงพอใจในระดับมาก จำนวน 3 คน พึงพอใจในระดับปานกลาง จำนวน 16 คน พึงพอใจในระดับน้อย จำนวน 19 คน และพึงพอใจในระดับน้อยที่สุด 11 คน การซึมซับสู่ผิวของผลิตภัณฑ์น้ำมันนวดอโรมาดอกปีบ มีคนพึงพอใจในระดับมากที่สุด จำนวน 6 คน พึงพอใจในระดับมาก จำนวน 27 คน พึงพอใจในระดับปานกลาง จำนวน 12 คน และพึงพอใจในระดับน้อย จำนวน 5 คน ความหอมของผลิตภัณฑ์น้ำมันนวดอโรมาดอกปีบ มีคนพึงพอใจในระดับมากที่สุด จำนวน 4 คน พึงพอใจในระดับมาก จำนวน 22 คน พึงพอใจในระดับปานกลาง จำนวน 16 คน พึงพอใจในระดับน้อย 6 คน และพึงพอใจในระดับน้อย จำนวน 2 คน และความพึงพอใจโดยรวมต่อผลิตภัณฑ์น้ำมันนวดอโรมาดอกปีบ มีคนพึงพอใจในระดับมากที่สุด จำนวน 6 คน พึงพอใจในระดับมาก จำนวน 31 คน พึงพอใจในระดับปานกลาง จำนวน 10 คน และพึงพอใจในระดับน้อย จำนวน 3 คน โดยภาพรวมผลิตภัณฑ์น้ำมันนวดอโรมาดอกปีบ มีบุคคลพึงพอใจอยู่ในเกณฑ์ระดับมากที่สุดจำนวน 31 คน ซึ่งแบ่งเป็นเพศชาย 8 คน มีอายุต่ำกว่า 20 ปี 1 คน อายุอยู่ในช่วง 20-30 ปี 6 คน อายุอยู่ในช่วง 30 - 40 ปี 1 คน เป็นนักศึกษา 7 คนเป็นอาจารย์ 1 คน และเพศหญิง 23 คน มีอายุต่ำกว่า 20 ปี 3 คน อายุอยู่ในช่วง 20-30 ปี 17 คน ช่วง 30-40 ปี 3 คน เป็นนักศึกษา 19 คนและเป็นอาจารย์ 4 คน

ผลิตภัณฑ์น้ำมันนวดอโรมาที่พัฒนาขึ้นมีส่วนผสมของน้ำมันหอมระเหยดอกปีบจากการสกัดด้วยไขมันแบบเย็น มีองค์ประกอบหลักคือ linalool ซึ่งเป็นสารอินทรีย์ในกลุ่มของ terpene alcohol ที่มีคุณสมบัติเด่นคือ ช่วยให้ผู้รู้สึกผ่อนคลาย คลายเครียด และหลับสบาย ซึ่งเป็นคุณสมบัติที่ดีของน้ำมันนวดอโรมา

สรุป

วิธีการสกัดน้ำมันหอมระเหยจากดอกปีบทั้ง 3 วิธี การสกัดที่ได้ผลผลิตร้อยละของน้ำมันหอมระเหยดอกปีบมากที่สุดคือ วิธีการสกัดด้วยไขมันแบบร้อนได้ร้อยละโดยน้ำหนักสดของดอกปีบ 0.6794 น้ำมันหอมระเหยที่ได้เป็นของเหลวหนืดสีเหลืองเข้ม ส่วนวิธีที่ได้ผลผลิตร้อยละของน้ำมันหอมระเหยรองลงมาคือ วิธีการสกัดด้วย

ไขมันแบบเย็นได้ร้อยละโดยน้ำหนักสดของดอกปีบ 0.2786 น้ำมันหอมระเหยที่ได้เป็นของเหลวหนืดสีเหลืองเข้ม มีความใสเล็กน้อย และวิธีสุดท้ายที่ได้ผลผลิตร้อยละของน้ำมันหอมระเหยน้อยที่สุดคือ วิธีการสกัดด้วยตัวทำละลายปิโตรเลียมอีเทอร์ได้ร้อยละโดยน้ำหนักสดของดอกปีบ 0.1275 น้ำมันหอมระเหยที่ได้เป็นของเหลวหนืดเล็กน้อย สีเหลืองปนน้ำตาล องค์ประกอบหลักทางเคมีของน้ำมันหอมระเหยจากการสกัดด้วยไขมันแบบเย็นคือ Linalool ในขณะที่องค์ประกอบหลักของน้ำมันหอมระเหยที่ได้จากการสกัดด้วยวิธีไขมันแบบร้อนคือ 1,8-Cineole และ Linalool

การประเมินความพึงพอใจที่มีต่อกลิ่นหอมของน้ำมันหอมระเหยดอกปีบแบบเย็นมากที่สุด จึงเลือกน้ำมันหอมระเหยที่ได้จากการสกัดด้วยไขมันแบบเย็นมาพัฒนาเป็นผลิตภัณฑ์น้ำมันนวดอโรมาดอกปีบและพบว่า การประเมินความพึงพอใจของบุคคลทั่วไปที่มีต่อผลิตภัณฑ์น้ำมันนวดอโรมาดอกปีบผู้ประเมิน 31 คนมีความพึงพอใจโดยรวมต่อผลิตภัณฑ์อยู่ในเกณฑ์ระดับมาก

การสกัดน้ำมันหอมระเหยดอกปีบ โดยใช้วิธีสกัดด้วยปิโตรเลียมอีเทอร์และวิธีสกัดด้วยไขมันแบบร้อนเหมาะที่จะสกัดน้ำมันหอมระเหย เพื่อนำไปใช้ในระดับอุตสาหกรรมที่เกี่ยวข้องกับการค้าขาย หรือการส่งออกน้ำมันหอมระเหย เนื่องจากเป็นวิธีที่สะดวกและไม่ยุ่งยากสามารถทำในลักษณะกระบวนการต่อเนื่องได้ ส่วนวิธีการสกัดด้วยไขมันแบบเย็นเหมาะที่จะนำไปใช้ในการสกัดน้ำมันหอมระเหย เพื่อใช้เป็นผลิตภัณฑ์เกี่ยวกับน้ำหอม เครื่องสำอาง ความงาม และยังสามารถนำไปพัฒนาเป็นผลิตภัณฑ์สำหรับใช้ในร้านสปา ร้านนวดที่มีการนวดแบบอโรมาเธอราปี เนื่องจากในกระบวนการสกัดด้วยไขมันแบบเย็น ต้องใช้ความระมัดระวัง ความปราณีต และความละเอียดเพื่อให้ได้มาซึ่งน้ำมันหอมระเหยที่มีกลิ่นหอมละมุนที่ใกล้เคียงกับธรรมชาติมากที่สุดอีกด้วย

เอกสารอ้างอิง

- เสริมสิริ วินิจฉัยกุลม 2541. **สมุนไพรพื้นบ้าน (2)**. สำนักพิมพ์ ประชาชน จำกัด. กรุงเทพฯ ฯ.
- เฉลิมพล วนวงศ์ไทย 2545. **การบำบัดด้วยกลิ่น (Aromatherapy)**. ภาควิชาเภสัชกรรม คณะเภสัชศาสตร์ มหาวิทยาลัยศิลปากร. นครปฐม.
- อุไรวรรณ ติลกคุณานันท์ และคณะ 2549. **การสกัดแยกสารและน้ำมันหอมระเหยจากพืชขึ้นพื้นฐาน**. สำนักพิมพ์มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์. กรุงเทพฯ ฯ.
- Moongkarndi, P. *et al.*, The Inhibitory Activity in 5-Lipoxygenase Pathway of Hispidulin from *Millingtonia hortensis* Linn F. J.Sci.Soc.Thailand, 17, 1991: 51-56.
- Leelapompisid, P. *et al.*, Antioxidant Activity of some Volatile Oils and Absolute from Thai Aroma Plant. Department of Pharmaceutical Science, Faculty of Pharmacy, Chiang Mai University, Chiang Mai Thailand 2008: 61-65.
- Sittiwet, C. **Anti-Microbial Activities of *Millingtonia hortensis* Linn. Flowers Essential Oil**. J. Pharmacol. Toxicol. 4(1), 2009: 41-44.
- Samakradhamrongthai, R. *et al.*, Identification of volatile compounds from dry scented Thai flowers and their potential application in flower-mixed tea. As. J. Food Ag-Ind. 2(04), 2009: 525-534.

การพัฒนาเว็บระบบการสมัครสอบการวัดความรู้ทางคอมพิวเตอร์และภาษาอังกฤษของ
นักศึกษาระดับปริญญาโทของโครงการบัณฑิตศึกษา มหาวิทยาลัยราชภัฏพระนคร
The Development of Web-based Computer Examination and English
Examination Apply System Of Graduate Students
Phranakhon Rajabhat University

วาสนา เสนาะ* และรณกร รัตนธรรมมา
Wasana Sanor and Ronnagorn Rattanatumma

สาขาวิทยาการคอมพิวเตอร์ คณะวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยี
มหาวิทยาลัยราชภัฏพระนคร
Department of Computer Science, Faculty of Science and Technology Phranakhon Rajabhat University

* Corresponding author: wasana_sanor@hotmail.com

บทคัดย่อ

การวิจัยในครั้งนี้ มีวัตถุประสงค์ เพื่อพัฒนาเว็บระบบการสมัครสอบ การวัดความรู้ทางคอมพิวเตอร์และภาษาอังกฤษของนักศึกษาระดับปริญญาโทของโครงการบัณฑิตศึกษา มหาวิทยาลัยราชภัฏพระนคร การพัฒนาเว็บระบบการสมัครสอบการวัดความรู้ทางคอมพิวเตอร์และภาษาอังกฤษ ได้ดำเนินการตามทฤษฎีของวัฏจักรการพัฒนากระบวนการ (System Development Life Cycle หรือ SDLC) แผนภาพการไหลข้อมูล (Data Flow Diagram) และการออกแบบฐานข้อมูลในระดับแนวคิดด้วยแผนภาพอีอาร์ไอโตะแกรม (Entity Relationship Diagram หรือ E-R Diagram) และพัฒนาโปรแกรมด้วย PHP และ MySQL สำหรับเขียนโปรแกรมประยุกต์บนเว็บไซต์ ขั้นตอนการทดสอบระบบ ได้ทดลองกับสถานการณ์จริงในภาคการศึกษาที่ 1 ปีการศึกษา 2554 ผลที่ได้จากการวิจัย คือ เว็บระบบการสมัครสอบการวัดความรู้ทางคอมพิวเตอร์และภาษาอังกฤษ สามารถอำนวยความสะดวกต่อผู้สมัครสอบ อาจารย์ และเจ้าหน้าที่วิชาการของโครงการบัณฑิตศึกษาเป็นอย่างมาก ผลการประเมินความพึงพอใจอยู่ในระดับมาก นอกจากนี้สามารถลดขั้นตอนการทำงานของเจ้าหน้าที่ ในการรายงานจำนวนผู้เข้าสอบ การประกาศผลสอบ สำหรับอาจารย์เพียงกรอกคะแนนเท่านั้น ไม่ต้องรวมคะแนนเหมือนเช่นเดิม ระบบจะทำการรวมคะแนน และประเมินผลการสอบผ่านหรือไม่ผ่าน สามารถประหยัดเวลาได้มาก ประสิทธิภาพโดยรวมของระบบอยู่ในระดับดี

คำสำคัญ: ระบบการสมัครสอบการวัดความรู้คอมพิวเตอร์, ระบบการสมัครสอบการวัดความรู้
ภาษาอังกฤษ, สมัครสอบวัดความรู้

Abstract

The objective of this research is to study the process of the Web-Based System development applying for the Computer and English examination of Graduate Students at Phranakhon Rajabhat University There are three concepts that had been introducing in this research. Firstly is the System Development Life Cycle (SDLC). Secondly is the Data Flow Diagram and the last one is the Entity Relationship Diagram (E-R Diagram) for designing the level of the data based. In order to design the web-based this research had applied PHP program and MySQL to organize and experiment in the real situation of semester one in the year of 2011. The results of this research have been showing that the Web-Based System that had been developed and use in applying examination in Computer and English subjects of Graduate Students at Phranakhon Rajabhat University are useful and make more comfortable for the students, teachers and staff who are working in this program. There is a high level of satisfaction by using this web-based program. Moreover, it is reducing the process of work because it is not necessary to report the number of students who are sitting in the examinations or reporting the student's marking, the web-based is the one who report that. For the teachers, they only fill the marking that each student has in the web-based, they do not need to calculate and reports what the level or the ranking that each student has in their examinations or to report how many of them are pass or fail in the examinations. The web-based has been working efficiency and overall the performance of this program is good.

Keywords: The development of web-based computer examination and English examination apply system of Graduate students

บทนำ

โครงการบัณฑิตศึกษา มหาวิทยาลัยราชภัฏพระนคร กำหนดให้นักศึกษาในระดับปริญญาโททุกคนจะต้องมีพื้นฐานความรู้ความสามารถ ทักษะทางคอมพิวเตอร์ และภาษาอังกฤษ สำหรับนักศึกษาที่มีพื้นฐานอยู่ในเกณฑ์ดี หรือได้ผลการเรียนไม่ต่ำกว่า C สามารถขอยกเว้นได้ตามประกาศมหาวิทยาลัยราชภัฏพระนคร เรื่อง “หลักเกณฑ์การยกเว้นรายวิชาคอมพิวเตอร์ และรายวิชาภาษาอังกฤษ”

โครงการบัณฑิตศึกษา กำหนดให้มีการสมัครสอบวัดความรู้ความสามารถทางคอมพิวเตอร์และภาษาอังกฤษ ในภาคการศึกษา 1 และ 2 ของทุกปี และแจ้งกำหนดการวันรับสมัครทางปฏิทินวิชาการ โดยไม่ได้ระบุห้องสอบ นักศึกษาที่ต้องการสมัครสอบจะต้องกรอกแบบฟอร์มและส่งใบสมัครให้กับเจ้าหน้าที่ฝ่ายวิชาการของบัณฑิตศึกษา ซึ่งจะนำมาสรุปว่ามีกี่คน จากนั้นประสานไปยังสาขาวิทยาการคอมพิวเตอร์ และสาขาภาษาอังกฤษเพื่อจัดเตรียมข้อสอบ และห้องสอบ ในการจัดสอบแต่ละครั้งที่ผ่านมานั้น พบว่าจำนวนที่สมัครสอบกับรายชื่อ และจำนวนที่ส่งให้กรรมการสอบไม่ตรงกัน คือจำนวนที่มาสอบจริงจะมากกว่าจำนวนที่แจ้งกรรมการสอบ สาเหตุน่าจะมาจากการนับ และมาสมัครสอบหลังจากที่ได้สรุปจำนวนและแจ้งกรรมการแล้ว นอกจากนี้การสรุปรายชื่อจากใบสมัครที่มาจากการนับจากกระดาษ มีความผิดพลาดได้ง่าย และไม่ได้มีการประกาศรายชื่อของผู้เข้าสอบก่อนจะถึงเวลาเข้าสอบจริง ทำให้เกิดปัญหาโดยเฉพาะในรายวิชาคอมพิวเตอร์

เพราะจะเกี่ยวข้องกับการบริหารจัดการห้องสอบ และกรรมการคุมสอบ อีกทั้งนักศึกษาที่สอบไม่ผ่านการวัดระดับความรู้ นักศึกษาจะต้องลงทะเบียนเรียนในรายวิชาคอมพิวเตอร์สำหรับนักศึกษาบัณฑิต และภาษาอังกฤษสำหรับนักศึกษามหาบัณฑิต ซึ่งอาจจะต้องเรียนรวมกันหลายหมู่

จากปัญหาดังกล่าว ผู้วิจัยจึงได้พัฒนาเว็บระบบการสมัครสอบการวัดความรู้ทางคอมพิวเตอร์และภาษาอังกฤษของนักศึกษาระดับปริญญาโทของโครงการบัณฑิตศึกษา มหาวิทยาลัยราชภัฏพระนคร เพื่ออำนวยความสะดวกให้นักศึกษาในการสมัครสอบ และประกาศรายชื่อนักศึกษาที่สมัครผ่านทางเว็บ ที่ทำได้ สะดวก รวดเร็ว และลดงานของเจ้าหน้าที่ฝ่ายวิชาการของโครงการบัณฑิตศึกษา อีกทั้งสามารถทราบจำนวนนักศึกษาที่จะต้องเรียนในรายวิชาคอมพิวเตอร์สำหรับนักศึกษามหาบัณฑิต และภาษาอังกฤษสำหรับนักศึกษามหาบัณฑิต เพื่อช่วยในการจัดการเรียนการสอนที่สามารถรวมหมู่กันได้ วัตถุประสงค์ของการวิจัย เพื่อพัฒนาเว็บระบบการสมัครสอบการวัดความรู้ทางคอมพิวเตอร์และภาษาอังกฤษของนักศึกษาระดับปริญญาโทของโครงการบัณฑิตศึกษา มหาวิทยาลัยราชภัฏพระนคร

วิธีการดำเนินงาน

การวิจัยครั้งนี้เป็นการวิจัยประยุกต์ ซึ่งเป็นการพัฒนาเว็บระบบการสมัครสอบวัดความรู้ทางคอมพิวเตอร์และภาษาอังกฤษของนักศึกษาระดับปริญญาโทของโครงการบัณฑิตศึกษา โดยใช้ระยะเวลาการศึกษาและวิจัยเป็นเวลา 12 เดือน ตั้งแต่เดือนมิถุนายน 2553 – มิถุนายน 2554 กรรรมวิธีในการพัฒนาระบบจะใช้มาตรฐานที่ใช้แผนภาพการไหลข้อมูล (Data Flow Diagram หรือ DFD) และแผนภาพความสัมพันธ์ระหว่างเอนทิตี

การพัฒนาจะใช้วงจรชีวิตของการพัฒนาระบบ (System Development Life Cycle หรือ SDLC) ตามแนวทางการแก้ปัญหาของเฟรดริก เทย์เลอร์ (Frederick Taylor) มีขั้นตอน ดังนี้

1. การศึกษาความเป็นไปได้ เป็นการพิจารณาทางเลือกในการพัฒนาระบบงานสารสนเทศที่มีความคุ้มค่ามากที่สุด โดยพิจารณาในปัจจัย 2 ประการคือ ฮาร์ดแวร์และซอฟต์แวร์
2. การรวบรวมความต้องการและวิเคราะห์ เป็นการรวบรวมความต้องการจากผู้ใช้ระบบ เพื่อจำแนกถึงปัญหา และความต้องการออกเป็นกลุ่ม ซึ่งจะใช้กำหนดขอบเขตสารสนเทศที่จะพัฒนาขึ้น
3. การออกแบบ แบ่งเป็นการกำหนดความต้องการของระบบใหม่ ให้สอดคล้องและสนองความต้องการของผู้ใช้ โดยใช้ DFD เป็นตัวช่วยอธิบายและกำหนดลักษณะข้อมูลที่จะต้องจัดเก็บใน Data Store ของระบบใหม่ ขึ้นต่อไปคือ การออกแบบระบบใหม่ นำข้อมูลต่างๆ ทั้งหมดในขั้นตอนที่ผ่านมา เขียนแบบจำลองทางกายภาพของระบบใหม่โดยใช้ DFD เป็นตัวช่วยอธิบาย เพื่อให้บรรลุตามวัตถุประสงค์ของระบบ มีการกำหนดมาตรการควบคุมป้องกันและแก้ปัญหา เปรียบเทียบทางเลือกต่างๆ และนำเสนอระบบใหม่
4. การทำต้นแบบ ส่วนต่างๆที่ได้ออกแบบไว้ จะนำมาพัฒนาต้นแบบของระบบงาน เพื่อนำต้นแบบไปใช้ตรวจสอบความถูกต้องของระบบงาน ก่อนนำไปใช้งานจริง
5. การพัฒนาโปรแกรม เป็นการนำข้อมูลทั้งหมดมาพัฒนาโปรแกรมเพื่อให้ได้ตามวัตถุประสงค์ที่กำหนดไว้ แบ่งเป็น การศึกษารายละเอียดข้อมูลต่างๆ สร้างผังโปรแกรม สร้างไฟล์ข้อมูลที่ใช้ในโปรแกรม เขียนโปรแกรม และเขียนคู่มือการทำงานขององค์ประกอบต่างๆ ของโปรแกรม
6. การตรวจสอบความถูกต้องและทดสอบ เพื่อให้เกิดความมั่นใจว่าโปรแกรมต่างๆ สามารถทำงานได้อย่างถูกต้อง

7. ปฏิบัติงานจริง เป็นการนำระบบที่พัฒนาและผ่านการทดสอบแล้ว มาติดตั้งและดำเนินการจริง รวมทั้งการฝึกอบรมบุคลากรของหน่วยงานที่เกี่ยวข้องกับระบบ พร้อมทั้งจัดทำเอกสารคู่มือการใช้งานและรายละเอียดต่างๆ ของระบบ ทั้งคู่มือสำหรับใช้งาน และผู้ดูแลระบบ

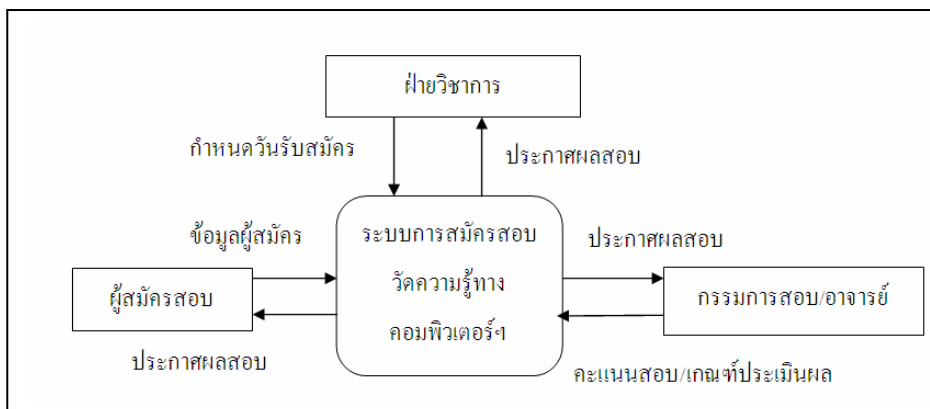
ตัวแปรที่ศึกษา

1. ประชากร คือ นักศึกษาระดับปริญญาโท ของโครงการบัณฑิตศึกษาทุกสาขาที่ยังไม่ได้เรียนรายวิชาคอมพิวเตอร์สำหรับนักศึกษابัณฑิต และรายวิชาภาษาอังกฤษสำหรับนักศึกษابัณฑิต

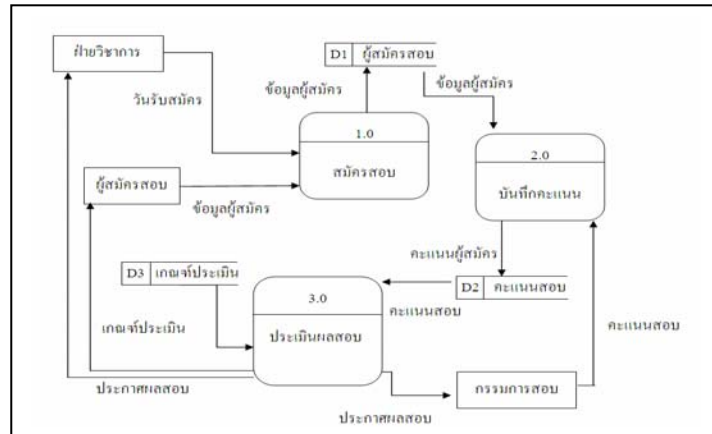
2. กลุ่มตัวอย่าง คือ นักศึกษาระดับปริญญาโทที่เรียนในศูนย์มหาวิทยาลัยราชภัฏพระนคร ที่ยังสอบไม่ผ่านรายวิชาคอมพิวเตอร์สำหรับนักศึกษابัณฑิต และรายวิชาคอมพิวเตอร์สำหรับนักศึกษابัณฑิต ภาคการศึกษาที่ 1/2554 จำนวน 14 คน

ผลการวิจัยและอภิปรายผลการวิจัย

ผลการวิจัย การพัฒนาเว็บระบบการสมัครสอบการวัดความรู้ทางคอมพิวเตอร์ และภาษาอังกฤษของนักศึกษาระดับปริญญาโทของโครงการบัณฑิตศึกษา การออกแบบเพื่อพัฒนาระบบ ได้ออกแบบ DFD เพื่อพัฒนาระบบ อาศัยทฤษฎีการวิเคราะห์ระบบ การออกแบบระบบ และฐานข้อมูล เป็นหลักในการพัฒนาระบบ แผนภาพจำลองขั้นตอนการทำงานของระบบด้วย DFD ดังภาพที่ 1 และภาพที่ 2



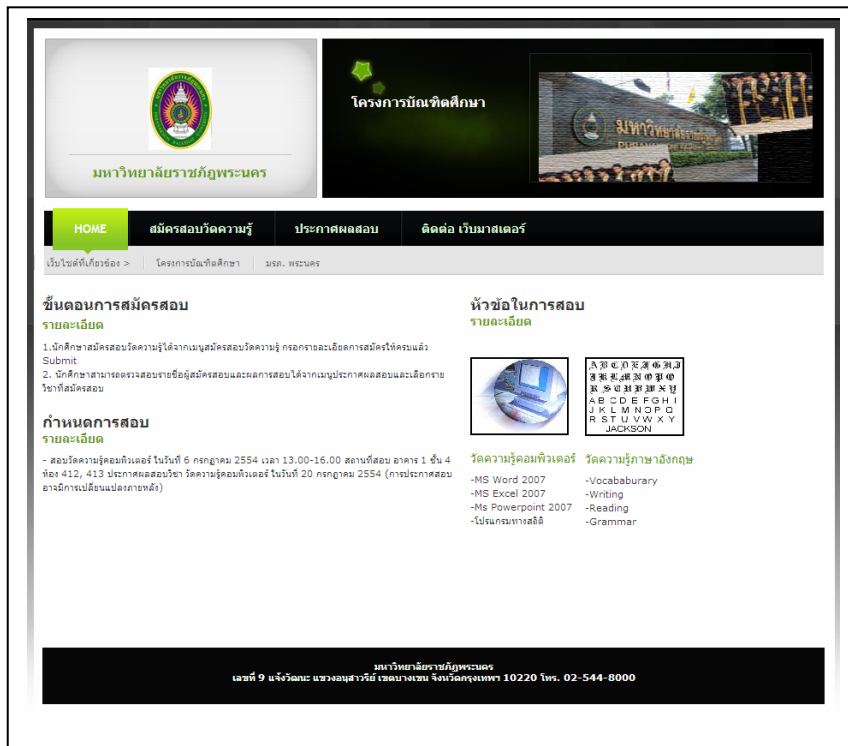
ภาพที่ 1 แสดงผังการไหลข้อมูลระดับ 0 (Context Diagram)



ภาพที่ 2 แสดงผังการไหลข้อมูลระดับ 1

ภาษาที่ใช้ในการเขียนโปรแกรม ได้แก่ ภาษา PHP ซึ่งเป็นภาษาโปรแกรมประยุกต์บนเว็บไซต์
ฐานข้อมูลใช้ MySQL

การพัฒนาโปรแกรมและระบบได้ติดตั้งโปรแกรมที่เว็บไซต์ <http://www.pnruweb.com/master>
ดังภาพที่ 3



ภาพที่ 3 <http://www.pnruweb.com/master>

แบ่งการทำงานเป็น 2 ส่วน ได้แก่ ส่วนของผู้ดูแลระบบ หรือ admin กับส่วนผู้สมัครสอบ หรือ user ส่วนที่ 1 ส่วนผู้ดูแลระบบ จะใช้การ Log in เข้าสู่ระบบ แบ่งเป็น 6 งาน ได้แก่ (1) การเปิดรับสมัคร (2) การแจ้งข่าว ประกาศวันสมัครสอบ วันที่เริ่มสอบ และหัวข้อการสอบแก่ผู้สมัคร (3) การปิดรับสมัคร (4) การแก้ไขข้อมูลผู้สมัครสอบ และการบันทึกคะแนน (5) แสดงผลการสอบ (6) ประกาศผลการสอบ จะทำหลังจากทางโครงการบัณฑิตศึกษาได้อนุมัติผลแล้ว ส่วนที่ 2 ส่วนผู้ใช้ แบ่งเป็น 2 งาน ได้แก่ (1) การลงทะเบียนสมัครสอบ (2) การประกาศผลสอบ ผลการวิเคราะห์ข้อมูลจากแบบประเมินและสัมภาษณ์ ในกลุ่มผู้ดูแลระบบ ได้แก่ ผู้บริหารโครงการบัณฑิตศึกษา 1 คน เจ้าหน้าที่วิชาการ 1 คน อาจารย์ที่สอนรายวิชาคอมพิวเตอร์สำหรับนักศึกษาบัณฑิต 1 คน และอาจารย์ที่สอนรายวิชาภาษาอังกฤษสำหรับนักศึกษาบัณฑิต 1 คน รวมจำนวน 4 คน เห็นว่า ประสิทธิภาพโดยรวมของโปรแกรมอยู่ในระดับดี และกลุ่มผู้ใช้จำนวน 14 คนระดับความพึงพอใจอยู่ในเกณฑ์ดีถึงดีมาก เช่นเดียวกัน

สรุปผล

การพัฒนาเว็บระบบการสมัครสอบการวัดความรู้ทางคอมพิวเตอร์และภาษาอังกฤษของนักศึกษาระดับปริญญาโทของโครงการบัณฑิตศึกษา ได้ออกแบบความสัมพันธ์ระหว่างเอนทิตี ช่วยในการออกแบบ และจัดสร้างฐานข้อมูลด้วยโปรแกรม PHP และ MySQL เป็นหลัก ผลการประเมินความพึงพอใจของกลุ่มตัวอย่างอยู่ในระดับมาก สามารถลดขั้นตอนการทำงานของเจ้าหน้าที่ ในการแจ้งกำหนดการสอบ การรายงานจำนวนผู้เข้าสอบ การประกาศผลสอบ สำหรับอาจารย์เพียงกรอกคะแนนเท่านั้น ไม่ต้องรวมคะแนน และตัดเกรดเหมือนเช่นเดิม ระบบจะทำการรวมคะแนน และประเมินผลการสอบผ่านหรือไม่ผ่าน สามารถประหยัดเวลาได้มาก ประสิทธิภาพโดยรวมของระบบอยู่ในระดับดี

การนำผลการวิจัยไปใช้ ก่อให้เกิดประโยชน์สำหรับนักศึกษา เป็นอย่างมาก ในเรื่องความสะดวกและรวดเร็ว ในการสมัครสอบ และอาจารย์ผู้ทำหน้าที่เป็นกรรมการ จัดห้องสอบ สามารถทราบจำนวน เพื่อจะจัดห้องสอบและข้อสอบได้เหมาะสม

ข้อเสนอแนะ

ในการจะพัฒนาระบบต่อ ให้ระบบสามารถนับจำนวนครั้งของการสมัครเข้าสอบของนักศึกษา เพื่อจำกัดจำนวนครั้งในการสอบด้วย เพราะการสมัครสอบไม่มีค่าใช้จ่ายทำให้หลายคนสมัครสอบแต่ไม่มาสอบมีเป็นจำนวนมาก ดังนั้นกรณีที่มีการประกาศให้นักศึกษาสามารถสอบได้เพียง 2 ครั้ง ถ้าเกินนักศึกษาก็ต้องชำระเงินเพื่อจัดการการสอบ

กิตติกรรมประกาศ

ขอขอบพระคุณคณะผู้บริหาร สถาบันวิจัยและพัฒนา มหาวิทยาลัยราชภัฏพระนคร ที่ได้อนุมัติให้จัดทำงานวิจัยในครั้งนี้จนกระทั่งสำเร็จลุล่วงด้วยดี และขอขอบคุณผู้บริหาร เจ้าหน้าที่ของโครงการบัณฑิตศึกษาที่ได้ให้ข้อมูล คำแนะนำที่มีประโยชน์ต่อผู้วิจัยเป็นอย่างดี

เอกสารอ้างอิง

- กิตติ ภัคดีวัฒนกุล .2547.คัมภีร์ PHP.พิมพ์ครั้งที่6.กรุงเทพฯ.เคทีพี คอมพ์ แอนด์ คอนซัลท์.608 หน้า.
- สุโกศล วโชนทยสพิทักษ์. 2551. การพัฒนาระบบการสอบออนไลน์ผ่านเครือข่ายอินเทอร์เน็ต.รายงานการวิจัย
เสนอต่อมหาวิทยาลัยคริสเตียน.
- มนัชยา ชมธวัช.2548.เรื่องน่ารู้เกี่ยวกับความปลอดภัย MySQL Server. เข้าถึงข้อมูลวันที่ 10 มกราคม 2554
จาก http://thaicert.nectec.or.th/paper/unix_linux/mysql.php

ผลของสารให้ความคงตัวต่อคุณภาพไอศกรีมโยเกิร์ตสตรอปอเรีย Effect of Stabilizer on Quality of Strawberry Yoghurt Ice Cream

สุจิตรา ทิมทวด และ ขนิษฐา อุ่มอารีย์*
Sujittra Thimthud and Kanitta Oumaree*

คณะวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยี มหาวิทยาลัยราชภัฏพระนคร
Faculty of Science and Technology Phranakhon Rajabhat University

* Corresponding author: k.oumaree@gmail.com

บทคัดย่อ

การวิจัยครั้งนี้มีวัตถุประสงค์เพื่อศึกษาอัตราส่วนระหว่าง CMC : Methocel ที่เหมาะสมในการผลิตไอศกรีมโยเกิร์ตสตรอปอเรีย โดยแปรอัตราส่วนระหว่าง CMC : Methocel เป็น 5 ระดับ คือ 1:0, 2:1, 1:1, 1:2 และ 0:1 ตามลำดับ พบว่า อัตราส่วนระหว่าง CMC : Methocel ที่เหมาะสมในการผลิตไอศกรีมโยเกิร์ตสตรอปอเรีย คือ อัตราส่วน 0:1 หรือใช้ Methocel เป็นสารให้ความคงตัวเพียงอย่างเดียว ไอศกรีมโยเกิร์ตสตรอปอเรียที่ผลิตได้มีปริมาณของแข็งทั้งหมดโปรตีนไขมัน เยื่อใย เถ้า คาร์โบไฮเดรต และกรดทั้งหมด ร้อยละ 34.97, 2.96, 0.08, 0.24, 0.68, 31.06 และ 0.73 ตามลำดับ มีค่าความเป็นกรด - ด่าง เท่ากับ 5.77 มีปริมาณน้ำตาลรีดิวซ์ และปริมาณน้ำตาลทั้งหมด เท่ากับ 6.72 และ 10.30 มิลลิกรัม/100 มิลลิลิตร ตามลำดับ มีความหนืดของไอศกรีมมิกซ์ เท่ากับ 243.33 เซนติพอยซ์ ค่าโอเวอร์รันร้อยละ 92.91 และอัตราการละลายเท่ากับ 2.40 กรัม/นาที มีค่าสี L* a* และ b* เท่ากับ 64.80, 25.00 และ 6.63 ตามลำดับ จากการประเมินคุณภาพทางประสาทสัมผัส พบว่าได้รับคะแนนความชอบด้านลักษณะปรากฏ สี การละลาย ความเรียบเนียน รสชาติ และความชอบรวม เท่ากับ 7.16, 7.14, 7.12, 7.10, 7.30 และ 7.22 คะแนน ตามลำดับ ไอศกรีมโยเกิร์ตสตรอปอเรียมีปริมาณจุลินทรีย์ทั้งหมด <30 CFU/g และไม่พบเชื้อยีสต์และรา

คำสำคัญ : ไอศกรีมโยเกิร์ต สตรอปอเรีย สารให้ความคงตัว

Abstract

This research aims to study the suitable ratio of CMC (carboxymethylcellulose): Methocel for strawberry yogurt ice cream production. The use of CMC: Methocel ratio at 5 levels was studied that are 1:0, 2:1, 1:1, 1:2 and 0:1, respectively. It was found that the suitable ratio for strawberry yogurt ice cream production is 0:1 or only use Methocel for constant substance. The percentage of protein, fat, fiber, ash and carbohydrate are 34.97, 2.96, 0.08, 0.24, 0.68, 31.06 and 0.73 respectively, with pH 5.77. The total sugar and reducing sugar equal to 6.72 and 10.30 mg/100 ml, respectively. The viscosity of ice cream mix was 243.33 centipoises. The percentage of overrun 92.91 and melting rate 2.40 g / min. The color values L * a * and b * equal 64.80, 25.00 and 6.63, respectively. The quality of sensory evaluated found that color, melted, smooth, taste and preference are 7.16, 7.14, 7.12, 7.10, 7.30 and 7.22 points. The strawberry yogurt ice cream production was composed bacteria <30 CFU / g and yeast and fungi were not found.

Keywords : Yoghurt Ice Cream, Strawberry, Stabilizer

คำนำ

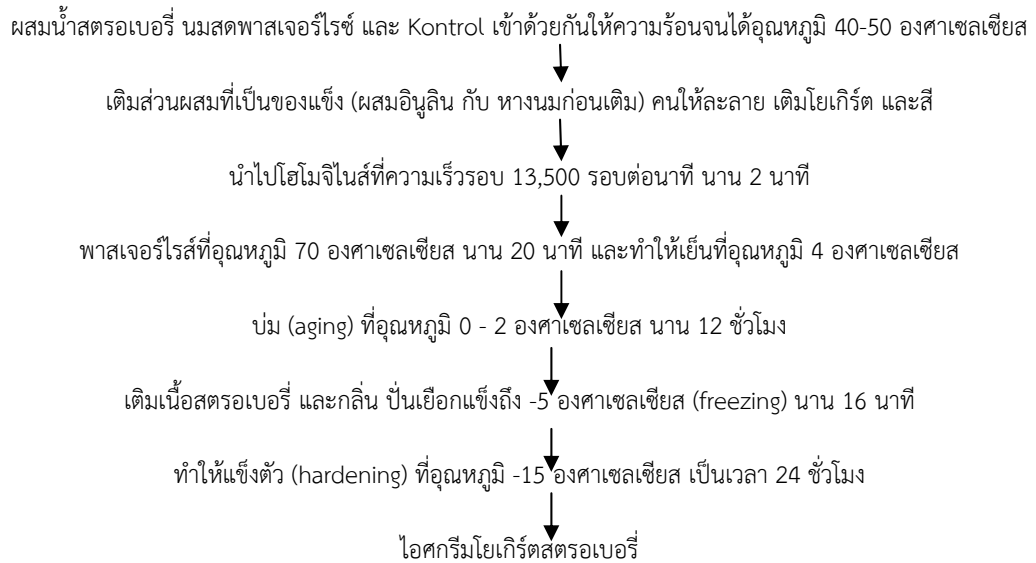
ไอศกรีมโยเกิร์ตเป็นผลิตภัณฑ์จากนมชนิดหนึ่งที่ได้รับค่านิยมมากของผู้บริโภค เนื่องจากไอศกรีมโยเกิร์ตมีไขมันในส่วนผสมเพียงร้อยละ 0.8 - 2.5 ซึ่งน้อยกว่าไอศกรีมนมหรือไอศกรีมมาตรฐาน ในอุตสาหกรรมการผลิตไอศกรีมมีการนำสารทดแทนไขมันมาใช้เป็นส่วนผสมในการผลิตเพื่อช่วยลดต้นทุนให้กับผลิตภัณฑ์ การเลือกใช้สารทดแทนไขมันต้องคำนึงถึงคุณสมบัติเชิงหน้าที่ เช่น ความสามารถในการจับตัวกับน้ำ ความคงตัวต่อการเกิดอิมัลชัน และการมีลักษณะคล้ายไขมันที่สามารถนำมาใช้ในการเลียนแบบสมบัติทางประสาทสัมผัสของไขมันได้ แต่การใช้สารทดแทนไขมันจะส่งผลให้ไอศกรีมมีค่าโอเวอร์รันลดลง ส่งผลต่อเนื้อสัมผัสของไอศกรีม และในทางธุรกิจยังทำให้ต้นทุนการผลิตสูงขึ้นอีกด้วย ในการวิจัยครั้งนี้จึงได้มีการนำ Methocel มาใช้เป็นส่วนผสมของไอศกรีม เนื่องจาก Methocel มีคุณสมบัติที่ช่วยให้โฟมคงตัวชนิดหนึ่ง โดยมีสายโพลีเมอร์ของเซลลูโลสเป็นองค์ประกอบหลัก ไม่มีรสชาติ และไม่ทำปฏิกิริยากับอาหารที่เติมลงไป ลักษณะเป็นผง มีความบริสุทธิ์ และให้พลังงานต่ำ สามารถละลายน้ำได้ดี มีคุณสมบัติเป็นสารยึดเกาะ การใช้ Methocel จึงเป็นการช่วยคงคุณภาพของไอศกรีมไว้ และหากสามารถช่วยเพิ่มค่าโอเวอร์รันของไอศกรีมโยเกิร์ตสตอเบอร์รี่ได้ จะเป็นการลดต้นทุนการผลิตอีกด้วย

วิธีการทดลอง

ศึกษาอัตราส่วนระหว่างคาร์บอกซีเมทิลเซลลูโลส (Carboxymethylcellulose, CMC) ต่อ Methocel ที่เหมาะสมในการผลิตไอศกรีมโยเกิร์ตสตอเบอร์รี่ โดยแปรอัตราส่วนระหว่าง CMC : Methocel เป็น 5 ระดับ คือ 1:0, 2:1, 1:1, 1:2 และ 0:1 ตามลำดับ นำตัวอย่างไปวิเคราะห์คุณภาพทางเคมี กายภาพ และจุลินทรีย์ วางแผนการทดลองแบบสุ่มอย่างสมบูรณ์ (Completely Randomized Design, CRD) นำข้อมูลที่ได้มาวิเคราะห์ความแปรปรวน (ANOVA) และหาความแตกต่างค่าเฉลี่ยด้วยวิธี Duncan's New Multiple Range Test (DNMRT) ในการประเมินคุณภาพทางประสาทสัมผัส วางแผนการทดสอบแบบ สุ่มในบล็อกสมบูรณ์ (Randomized Complete Block Design, RCBD) นำข้อมูลที่ได้มาวิเคราะห์ความแปรปรวน (ANOVA) และหาความแตกต่างค่าเฉลี่ยด้วยวิธี Duncan's New Multiple Range Test (DNMRT)

ตารางที่ 1 ส่วนผสมของไอศกรีมโยเกิร์ตสตอเบอร์รี่ที่ใช้ในการทดลอง

ส่วนผสม (ร้อยละ)	สิ่งทดลอง				
	1	2	3	4	5
น้ำสตอเบอร์รี่	34.5	34.5	34.5	34.5	34.5
เนื้อสตอเบอร์รี่	0.49	0.49	0.49	0.49	0.49
นมขาดมันเนยพาสเจอร์ไรส์	24.65	24.65	24.65	24.65	24.65
โยเกิร์ตไม่มีไขมัน	14.29	14.29	14.29	14.29	14.29
อินูลิน	9.66	9.66	9.66	9.66	9.66
หางนมผง	7.69	7.69	7.69	7.69	7.69
Kontrol	8.32	8.32	8.32	8.32	8.32
CMC	0.4	0.27	0.2	0.13	0
Methocel	0	0.13	0.2	0.27	0.4
สี (มิลลิลิตร)	1	1	1	1	1
กลิ่น (มิลลิลิตร)	2	2	2	2	2



ภาพที่ 1 ขั้นตอนการผลิตไอศกรีมโยเกิร์ตสตอเบอร์รี่
ที่มา : ดัดแปลงจาก อุษา (2541)

ผลการวิจัยและอภิปรายผลการวิจัย

ผลการศึกษาอัตราส่วนระหว่าง CMC : Methocel พบว่า ไม่มีผลต่อปริมาณของแข็งทั้งหมด โปรตีน ไขมัน และคาร์โบไฮเดรตของไอศกรีมโยเกิร์ตสตอเบอร์รี่อย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p > 0.05$) เนื่องจากปริมาณของแข็งทั้งหมดมาจากส่วนผสมที่เป็นของแข็ง ซึ่งใช้ในปริมาณเท่ากันในทุกสิ่งทดลอง ไอศกรีมโยเกิร์ตสตอเบอร์รี่มีปริมาณของแข็งทั้งหมดอยู่ในช่วงร้อยละ 34.73 - 34.97 โดยทั่วไปไอศกรีมโยเกิร์ตที่มีปริมาณของแข็งทั้งหมดร้อยละ 23.6 - 38.90 (สมจิต, 2536) นอกจากนี้ CMC และ Methocel ที่ใช้ในการทดลองเป็นสารไฮโดรคอลลอยด์จัดเป็นคาร์โบไฮเดรตประเภทโพลีแซคคาไรด์ วัตถุประสงค์หลักใช้เพื่อช่วยปรับปรุงเนื้อสัมผัสไอศกรีม จึงไม่ส่งผลต่อโปรตีน ไขมัน และคาร์โบไฮเดรต ไอศกรีมโยเกิร์ตสตอเบอร์รี่ที่ได้จากการทดลองมีปริมาณโปรตีน ไขมัน และคาร์โบไฮเดรต อยู่ในช่วงร้อยละ 2.96 - 3.26, 0.06 - 0.08 และ 30.01 - 31.02 โดยทั่วไปไอศกรีมโยเกิร์ตที่มีปริมาณโปรตีน ไขมัน คาร์โบไฮเดรตร้อยละ ร้อยละ 1.7 - 4.5, 0.8 - 2.5 และ 17.50 - 34.00 (สมจิต, 2536) สังเกตได้ว่าไอศกรีมโยเกิร์ตสตอเบอร์รี่ที่ได้จากการทดลองมีปริมาณไขมันค่อนข้างต่ำ เนื่องจากในการผลิตไอศกรีมโยเกิร์ตสตอเบอร์รี่มีการใช้อินูลินทดแทนส่วนของเนื้อมันหรือไขมันในส่วนผสม อินูลิน (Inulin) เป็นเส้นใยอาหารคาร์โบไฮเดรตจัดอยู่ในกลุ่ม Fructo - oligosaccharides หรือที่เรียกว่า fructan ซึ่งไม่ถูกย่อยสลายด้วยเอนไซม์แอลฟา-อะไมเลส ซูเครส และมอลเทส จึงทำให้ผ่านลำไส้เล็กไปยังลำไส้ใหญ่ได้โดยไม่ถูกย่อยและไม่ถูกดูดซึม อินูลินมีอยู่ในผัก และผลไม้มากกว่า 3,600 ชนิด โดยเฉพาะผักในตระกูล cichorium เช่น ชิคอรี (chicory) ที่ใช้ในตระกูลหอม เช่น หอมหัวใหญ่ หัวกระเทียม และกลัวย เป็นต้น (สุวรรณศรี, 2547)

ตารางที่ 2 องค์ประกอบทางเคมีของไอศกรีมโยเกิร์ตสตอเบอร์รี่ (ร้อยละ)

CMC:Methocel	ของแข็ง ทั้งหมด ^{ns}	โปรตีน ^{ns}	ไขมัน ^{ns}	เยื่อใย	เถ้า	คาร์โบไฮเดรต ^{ns}
1:0	34.75±0.01	3.26±0.20	0.07±0.01	0.49±0.03 ^ก	0.92±0.15 ^ก	30.01±0.16
2:1	34.79±0.01	3.22±0.02	0.06±0.01	0.38±0.03 ^ข	0.83±0.03 ^{กข}	30.30±0.86
1:1	34.73±0.03	3.20±0.15	0.07±0.02	0.34±0.02 ^ข	0.84±0.12 ^{กข}	30.33±0.66
1:2	34.76±0.28	3.13±0.68	0.07±0.02	0.29±0.02 ^ก	0.73±0.05 ^ข	30.54±0.38
0:1	34.97±0.02	2.96±0.38	0.08±0.02	0.24±0.05 ^ก	0.68±0.03 ^ข	31.02±0.31

หมายเหตุ : เปรียบเทียบค่าเฉลี่ยตามแนวตั้งตัวอักษรที่ต่างกันมีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p \leq 0.05$)
: ns หมายถึง ค่าเฉลี่ยไม่มีความแตกต่างกันทางสถิติ

จากการวิเคราะห์ปริมาณเยื่อใย และเถ้าของไอศกรีมโยเกิร์ตสตอเบอร์รี่ พบว่า อัตราส่วนระหว่าง CMC : Methocel มีผลต่อปริมาณเยื่อใย และเถ้าอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p \leq 0.05$) โดยสังเกตได้ว่าเมื่ออัตราส่วนของ CMC ลดลง ผลิตภัณฑ์จะมีปริมาณเยื่อใย และเถ้าลดลง อาจเนื่องจาก CMC เป็นเซลลูโลสที่มีโมเลกุลขนาดใหญ่ที่ผ่านกระบวนการทำให้เป็นอนุพันธ์ที่มีขนาดโมเลกุลเล็กลง (อุษา, 2541) ขณะที่ Methocel เป็นกัม ที่มีการเติมหมู่ hydroxylpropyl กับ methoxyl ไปแทนที่ในหมู่ ethers (Dow Chemical Company, 1962)

นอกจากนี้ยังพบว่า อัตราส่วนระหว่าง CMC ต่อ Methocel ไม่มีผลต่อปริมาณกรดทั้งหมด ค่าความเป็นกรด-ต่าง ปริมาณน้ำตาลทั้งหมด และน้ำตาลรีดิวซ์อย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p > 0.05$) เนื่องจากปริมาณกรดทั้งหมด และค่าความเป็นกรด-ต่าง มาจากส่วนผสมที่เป็นโยเกิร์ต และน้ำสตอเบอร์รี่ ซึ่งมีปริมาณเท่ากันทุกสิ่งทดลอง และ CMC และ Methocel ที่ใช้ในการทดลองเป็นคาร์โบไฮเดรตประเภทโพลีแซคคาไรด์ มีลักษณะเป็นผงสีขาวไม่มีกลิ่น และรสชาติ โดยที่ปริมาณกรดทั้งหมด และค่าความเป็นกรด-ต่าง ของไอศกรีมโยเกิร์ตสตอเบอร์รี่อยู่ในช่วงร้อยละ 0.73 – 0.75 และ 5.76 – 5.77 ตามลำดับ โดยทั่วไปไอศกรีมโยเกิร์ตมีค่าความเป็นกรด - ต่าง อยู่ในช่วง 5.76-6.72 (Schmidt *et al.*, 1997) เช่นเดียวกับกับปริมาณน้ำตาลทั้งหมด และน้ำตาลรีดิวซ์ซึ่งมาจากส่วนผสม คือ Kontrol และน้ำสตอเบอร์รี่ซึ่งใช้ในปริมาณเท่ากันในทุกสิ่งทดลอง ปริมาณน้ำตาลทั้งหมด และน้ำตาลรีดิวซ์ของไอศกรีมโยเกิร์ตสตอเบอร์รี่อยู่ในช่วง 10.30 – 10.59 และ 651 – 6.78 mg/100 มิลลิลิตร

ตารางที่ 3 คุณภาพทางกายภาพของไอศกรีมโยเกิร์ตสตรอเบอร์รี่

CMC:Methocel	ความหนืด (เซนติพอยซ์)	ค่าโอเวอร์รัน (ร้อยละ)	อัตราการ ละลาย (กรัม/นาที)	ค่าสี		
				L*	a*	b*
1:0	362.67±2.52 ^ก	45.07±0.02 ^ข	0.86±0.05 ^ค	63.07±0.15 ^ง	28.57±0.06 ^ฉ	10.53±0.06 ^ช
2:1	335.33±5.51 ^ช	58.51±0.21 ^ฉ	1.36±0.03 ^ช	63.27±0.06 ^ค	28.27±0.21 ^ค	9.17±0.21 ^ค
1:1	317.67±2.52 ^ค	60.97±0.24 ^ค	1.78±0.03 ^ค	64.67±0.06 ^ค	27.07±0.15 ^ค	8.17±0.21 ^ค
1:2	287.67±4.16 ^ค	74.08±0.06 ^ค	2.09±0.04 ^ค	64.73±0.12 ^ค	26.20±0.00 ^ค	7.93±0.06 ^ค
0:1	243.33±5.03 ^ค	92.91±0.17 ^ค	2.40±0.04 ^ค	64.80±0.00 ^ค	25.00±0.40 ^ค	6.63±0.15 ^ค

หมายเหตุ : เปรียบเทียบค่าเฉลี่ยตามแนวตั้งตัวอักษรที่ต่างกันมีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ (p<0.05)

ผลการวิเคราะห์ความหนืดของไอศกรีมโยเกิร์ตสตรอเบอร์รี่ (ไอศกรีมมิกซ์) พบว่า อัตราส่วนระหว่าง CMC : Methocel มีผลต่อความหนืดของไอศกรีมโยเกิร์ตสตรอเบอร์รี่อย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ (p<0.05) สังเกตได้ว่า ไอศกรีมโยเกิร์ตสตรอเบอร์รี่ (ไอศกรีมมิกซ์) ที่มี Methocel ในอัตราส่วนเพิ่มมากขึ้นจะมีแนวโน้มของความหนืดลดลง การวัดความหนืดทำภายหลังจากบ่มส่วนผสมที่อุณหภูมิ 0 - 5 องศาเซลเซียส ซึ่งความหนืดของ Methocel จะลดลงอย่างรวดเร็วเมื่อเกิดปฏิกิริยาผันกลับภายหลังจากที่อุณหภูมิลดลงในช่วงทำให้เย็น (Dow Chemical Company, 1962) ขณะที่ความหนืดของ CMC จะเพิ่มขึ้นเมื่ออุณหภูมิลดลง (อุษา, 2541) นอกจากนี้ยังพบว่า อัตราส่วนระหว่าง CMC : Methocel มีผลต่อค่า โอเวอร์รัน อัตราการละลาย ค่าสี L* a* และ b* ของไอศกรีมโยเกิร์ตสตรอเบอร์รี่อย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ (p<0.05) สังเกตได้ว่าค่าโอเวอร์รันสัมพันธ์กับความหนืดของไอศกรีมมิกซ์ คือ หากมีความหนืดต่ำจะมีค่าโอเวอร์รันสูง แต่ถ้าหากมีความหนืดสูงจะมีค่าโอเวอร์รันต่ำ เมื่อใช้ Methocel ในส่วนผสมของสารให้ความคงตัวมากขึ้นจะมีแนวโน้มของค่าโอเวอร์รันสูงขึ้น อาจเนื่องมาจาก Methocel ทำให้เกิดสภาพฟิล์มขึ้น (film foaming) ในอาหารได้ทั้งที่อุณหภูมิสูง และต่ำได้ (Dow Chemical Company, 1962) ขณะที่ CMC มีคุณสมบัติเป็นสารเพิ่มความคงตัว ช่วยให้ไอศกรีมที่มีเนื้อสัมผัสนุ่ม และชะลอหรือลดการเกิดผลึกน้ำแข็งในระหว่างการเก็บ (อุษา, 2541) แต่ถ้าหากมีการใช้ในปริมาณที่มากเกินไป จะส่งผลทำให้ค่าโอเวอร์รันลดลง (Marshall and Arbuckle, 1996) อัตราการละลายของไอศกรีมโยเกิร์ตสตรอเบอร์รี่ยังแปรผันโดยตรงกับค่าโอเวอร์รัน คือ เมื่อค่าโอเวอร์รันมาก แสดงว่า มีปริมาณของอากาศแทรกตัวอยู่ในเนื้อของไอศกรีมมาก เมื่ออากาศแตกตัวมาก อัตราการละลายก็จะมาก และเมื่อค่าโอเวอร์รันน้อย อัตราการละลายก็จะน้อย (Arbuckle, 1986) และเมื่อพิจารณาค่าสี L* a* และ b* ร่วมกับค่าโอเวอร์รันของไอศกรีมโยเกิร์ตสตรอเบอร์รี่ พบว่า หากค่าโอเวอร์รันสูงไอศกรีมโยเกิร์ตสตรอเบอร์รี่จะมีค่า L* สูงเช่นกันอาจเนื่องจากอากาศที่เพิ่มมากขึ้น ทำให้ในเนื้อไอศกรีมโยเกิร์ตสตรอเบอร์รี่มีช่องว่าง และโปร่งมากขึ้นทำให้แสงส่องผ่านหรือกระจายตัวได้ดีขึ้น ขณะเดียวกันก็ส่งผลให้ค่าสี a* และ b* มีแนวโน้มลดลง



(a)



(b)

ภาพที่ 2 ไอศกรีมโยเกิร์ตสตอเบอร์รี่หลังเสร็จขั้นตอนปั่นเยือกแข็ง

(a) สิ่งทดลองที่ 1 อัตราส่วนระหว่าง CMC:Methocel เท่ากับ 1:0

(b) สิ่งทดลองที่ 4 อัตราส่วนระหว่าง CMC:Methocel เท่ากับ 1:2

ตารางที่ 4 การประเมินคุณภาพทางประสาทสัมผัสของไอศกรีมโยเกิร์ตสตอเบอร์รี่

ลักษณะ	CMC:Methocel				
	1:0	2:1	1:1	1:2	0:1
ลักษณะปรากฏ	7.62±0.78 ^ก	7.36±0.83 ^ข	7.20±0.83 ^ข	7.20±0.81 ^ข	7.16±0.71 ^ข
สี	7.24±0.82 ^{กข}	7.50±0.81 ^ก	7.24±0.80 ^{กข}	7.34±0.77 ^{กข}	7.14±0.76 ^ข
การละลาย	6.64±0.92 ^ข	6.86±0.88 ^{กข}	6.94±0.84 ^{กข}	7.04±0.67 ^ก	7.12±1.00 ^ก
ความเรียบเนียน	7.16±0.77 ^ก	6.90±0.91 ^{กข}	6.76±0.92 ^ข	6.86±0.97 ^{กข}	7.10±0.79 ^{กข}
รสชาติ ^{ns}	7.34±0.89	7.28±0.70	7.16±0.84	7.18±0.75	7.30±0.84
ความชอบรวม	7.40±0.93 ^ก	6.98±0.80 ^ข	7.14±0.77 ^{กข}	7.02±0.91 ^ข	7.22±0.76 ^{กข}

หมายเหตุ : เปรียบเทียบค่าเฉลี่ยตามแนวนอนตัวอักษรภาษาไทยที่ต่างกันมีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ($p \leq 0.05$)

: ns หมายถึง ค่าเฉลี่ยไม่มีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p > 0.05$)

จากการประเมินคุณภาพทางประสาทสัมผัสของไอศกรีมโยเกิร์ตสตอเบอร์รี่ พบว่า อัตราส่วนระหว่าง CMC : Methocel มีผลต่อคุณภาพด้านลักษณะปรากฏ สี การละลาย ความเรียบเนียน และความชอบรวมอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p \leq 0.05$) แต่ไม่ส่งผลต่อคุณภาพทางด้านรสชาติ และผลการวิเคราะห์คุณภาพทางจุลินทรีย์ของไอศกรีมโยเกิร์ตสตอเบอร์รี่ พบว่า มีปริมาณจุลินทรีย์ทั้งหมดน้อยกว่า 30 CFU/g และไม่พบเชื้อยีสต์และรา เนื่องจากในกระบวนการผลิตไอศกรีมโยเกิร์ตสตอเบอร์รี่ นี้ยังมีการพาสเจอร์ไรส์ที่อุณหภูมิ 70 องศาเซลเซียสนาน 20 นาที และไอศกรีมโยเกิร์ตสตอเบอร์รี่ ที่ได้จากการทดลองยังมีคุณภาพทางจุลินทรีย์เป็นไปตามประกาศกระทรวง

สาธารณสุข ฉบับที่ 222 (พ.ศ. 2544) ที่กำหนดไว้ว่าไอศกรีมหวานเย็น ไอศกรีมนม และไอศกรีมดัดแปลงหรือ ไอศกรีมผสม กำหนดไว้ว่าต้องมีปริมาณเชื้อจุลินทรีย์ทั้งหมดไม่เกิน 1×10^5 cfu/g

สรุปผลการทดลอง

จากการศึกษาอัตราส่วนระหว่าง CMC : Methocel แปรผันอัตราส่วนออกเป็น 5 ระดับ คือ 1:0, 2:1, 1:1, 1:2 และ 0:1 ตามลำดับ พบว่า อัตราส่วนที่เหมาะสม คือ 0 : 1 หรือใช้ Methocel เป็นสารให้ความคงตัวเพียงอย่างเดียว ไอศกรีมโยเกิร์ตสตอเบอร์รี่ที่ผลิตได้มีปริมาณของแข็งทั้งหมด โปรตีน ไขมัน เยื่อใย แล็กโทบิโอไฮเดรต และกรดทั้งหมด ร้อยละ 34.97, 2.96, 0.08, 0.24, 0.68, 31.02 และ 0.73 ตามลำดับ มีค่าความเป็นกรด – ด่าง เท่ากับ 5.77 มีปริมาณน้ำตาลรีดิวซ์ และปริมาณน้ำตาลทั้งหมด เท่ากับ 6.72 และ 10.30 mg/100 มิลลิลิตร ตามลำดับ มีความหนืดของไอศกรีมมีค่าเท่ากับ 243.33 เซนติพอยซ์ ค่าโอเวอร์รันร้อยละ 92.91 และอัตราการละลายเท่ากับ 2.40 กรัมต่อนาที มีค่าสี L^* a^* และ b^* เท่ากับ 64.80, 25.00 และ 6.63 ตามลำดับ จากการประเมินคุณภาพทางประสาทสัมผัส พบว่า ได้รับคะแนนความชอบด้านลักษณะปรากฏ สี การละลาย ความเรียบเนียน รสชาติ และความชอบรวม เท่ากับ 7.16, 7.14, 7.12, 7.10, 7.30 และ 7.22 คะแนน ตามลำดับ ไอศกรีมโยเกิร์ตสตอเบอร์รี่มี ปริมาณจุลินทรีย์ <30 CFU/g และไม่พบเชื้อยีสต์และ รา มีความปลอดภัย และผ่านเกณฑ์มาตรฐานตามประกาศกระทรวงสาธารณสุข ฉบับที่ 222 (2544)

เอกสารอ้างอิง

- ประกาศกระทรวงสาธารณสุข ฉบับที่ 222 2544. **เรื่องไอศกรีม**. กระทรวงสาธารณสุข : กรุงเทพมหานคร. สมจิต ฤกษ์ห่วย. 2536. **ไอศกรีมโยเกิร์ต**. วารสารอุตสาหกรรมเกษตร. 4(1) : 15 -19. อ้างโดย ณีพิพร ดีพลภักดี. 2548. ผลของน้ำผึ้งต่อการเหลือรอดของเชื้อ *Bifidobacterium longum* .ในไอศกรีมโยเกิร์ตข้าวกล้อง. วิทยานิพนธ์ปริญญาวิทยาศาสตรมหาบัณฑิต สาขาวิชาวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยี การอาหาร, มหาวิทยาลัยเชียงใหม่ : เชียงใหม่.
- สุวรรณศรี ประถมบุตร. 2547. **การใช้อินูลินทดแทนไขมันในการผลิตไส้ขนมจีบ**. ปัญหาพิเศษสาขาวิชา วิทยาศาสตร์และเทคโนโลยีการอาหาร, มหาวิทยาลัยราชภัฏพระนคร : กรุงเทพมหานคร.
- อุษา นาคจิรังกูร. 2541. **ผลของสารคงตัวต่อไอศกรีมเชอร์เบตมีกซ์รสผลไม้**. วิทยานิพนธ์วิทยาศาสตร์ มหาบัณฑิต สาขาวิชาวิทยาศาสตร์การอาหาร, มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์ : กรุงเทพมหานคร
- Arbuckle, W., S. 1986. **Ice Cream**. 4th ed. The AVI Publishing Co. Inc, Westport. 296p.
- Dow Chemical Company, 1962. **Methocel Premium Food Gums in Baked Goods** Dow Chemical Company. Midland : Michigan.
- Marshall, R.T. and W.S. Arbuckle. 1996. **Ice Cream**. 5th ed. Chapman & Hall, New York. 315p.
- Schmidt, K.A., J. Kimand and I.J. Jeo. 1997. **Composition of carbohydrates and concentration of β - galactisidase of commercial frozen yogurt**. J. Food. Qual. 20 : 349 – 358.

การต้านอนุมูลอิสระจากแก่นสีเสียด Antioxidant activity from heart wood of *Acacia catechu* (L.f.) Willd

อรพรรณ อนุรักษ์วรกุล*
Oraphan Anurukvorakun

คณะวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยี มหาวิทยาลัยราชภัฏพระนคร
Faculty of Science and Technology, Phranakhon Rajabhat University
* Corresponding author: jangor2002@yahoo.com

บทคัดย่อ

อิทธิพลของปัจจัยในการสกัดสารจากแก่นสีเสียดต่อฤทธิ์การต้านอนุมูลอิสระ (เปอร์เซ็นต์ของเอทานอล อุณหภูมิ อัตราส่วนของตัวทำละลายต่อสารสกัด เวลา และ จำนวนครั้งในการสกัด) ได้ถูกนำมาศึกษาอย่างเป็นระบบด้วยการออกแบบการทดลองแบบแฟกทอเรียล จากการศึกษาที่ได้พบว่าเปอร์เซ็นต์ของเอทานอลในการสกัดเป็นปัจจัยหลักที่มีผลต่อฤทธิ์การต้านอนุมูลอิสระของสารสกัดที่ได้จากแก่นสีเสียด โดยการเพิ่มเปอร์เซ็นต์ของเอทานอลจะทำให้ฤทธิ์ในการต้านอนุมูลอิสระน้อยลง

คำสำคัญ: แก่นสีเสียด แฟกทอเรียล อนุมูลอิสระ

Abstract

The influence of extraction parameters of *Acacia catechu* (L.f.) Willd (i.e., percent of ethanol, temperature, ratio of solvent per the extract, time and number of the extraction) on its antioxidant activity was investigated using a systematic strategy, factorial experimental design (ED). Results from the factorial design experiment indicated that percent of ethanol was the main affecting parameter for the antioxidant activity by increasing percent of ethanol for the extraction solvent cause decreasing of the antioxidant activity.

Keywords: *Acacia catechu* (L.f.) Willd, factorial design, radical

คำนำ

สีเสียด (catechu หรือ catch) เป็นพืชสมุนไพรที่พบได้ทั่วทุกภาคของประเทศไทย ซึ่งเป็นพืชในวงศ์เดียวกับกระถินพิมาน กระถินณรงค์ คือสกุล (Genus) *Cassia* ในวงศ์พวงไม้แดง มีชื่อทางวิทยาศาสตร์ว่า (*Acacia catechu* (L.f.) Willd) วงศ์ Mimosaceae (วิมล ศรีสุข, 2552) และในปัจจุบันมีการนำแก่นสีเสียดมาใช้ในรูปแบบต่าง ๆ เช่น นำแก่นสีเสียดไปเกี่ยวกับน้ำได้สารรสฝาดและมีสีน้ำตาล สามารถใช้ย้อมผ้า แห อวน หนัง หรือใช้ผสมกับปูนแดงกินกับหมากพลูป้องกันไม่ให้ปูนแดงกัดปาก สารสกัดที่ได้เมื่อเคี้ยวเป็นก้อนแล้ว เป็นยาสมานอย่างแรง แก้ก้องร่วงโรคบิด แก้ไข้จับสั่น อมแก้เสียงแห้ง รักษาโรคเหงือกเพดาน ลิ้น ฟัน รักษาแผลของต่อมในลำคอ ล้างแผลไฟไหม้ แผลเน่าเปื่อย เนื้อในของเมล็ด ใช้ในการรักษาโรคหิด และโรคผิวหนัง (วิมล ศรีสุข, 2552) ทั้งนี้แก่นสีเสียดที่สกัดหรือเคี้ยวด้วยน้ำร้อนดังกล่าวมีรายงานสารสำคัญหลายชนิด ได้แก่ epicatechin-3-O-gallate, epicatechin, flavonol dimmers, flavonol glycosides, rutin และ catechins (Shen *et al.*, 2006) (Azed *et al.*, 2001)

rutin และ catechins เป็นสารฟลาโวนอยด์ที่พบมากในแก่นสีเสียด โดยสารกลุ่มฟลาโวนอยด์เป็นสารทุติยภูมิ (secondary metabolites) ที่ได้จากพืชผักผลไม้และพืชสมุนไพรต่าง ๆ ฟลาโวนอยด์ที่มีน้ำตาลในโมเลกุลเรียกว่า glycosides และฟลาโวนอยด์ที่ไม่มีน้ำตาลในโมเลกุลเรียกว่า aglycones ฟลาโวนอยด์มีความสำคัญทางเภสัชวิทยา เช่น ต้านการแพ้ ต้านการอักเสบ ป้องกันการเกิดโรคมะเร็ง ต้านจุลชีพ และต้านอนุมูลอิสระ (Basile *et al.*, 1999)

อนุมูลอิสระ คือ โมเลกุลที่มีอิเล็กตรอนเดี่ยว ซึ่งอยู่ในภาวะไม่คงตัว ว่องไวต่อการเกิดปฏิกิริยาเคมีสาเหตุการเกิดอนุมูลอิสระมีได้หลายทาง เช่น แสงแดด อาหารที่รับประทานทุกวัน ภาวะมลพิษ รอบ ๆ ตัวเรา เช่น คาร์บอนบุหรี่ ยาฆ่าแมลง และสารเคมีจากผลิตภัณฑ์ที่ใช้ในบ้านทั่ว ๆ ไป ในสภาวะปกติอนุมูลอิสระถูกจำกัดโดยระบบป้องกันของร่างกาย แต่ถ้ามีปริมาณมากอนุมูลอิสระเหล่านี้จะส่งผลต่อระบบภูมิคุ้มกัน และการเกิดพยาธิสภาพของโรคต่าง ๆ เช่น ปวดเมื่อย โรคเกี่ยวกับหัวใจ โคเลสเตอรอลสูง แก่ก่อนวัย รวมทั้งเป็นสาเหตุของโรคมะเร็ง (โอภา และคณะ, 2549)

สารต้านอนุมูลอิสระสามารถยับยั้งการเกิดอนุมูลอิสระหรือทำลายอนุมูลอิสระที่เกิดขึ้นภายในร่างกาย ป้องกันเนื้อเยื่อหรือซ่อมแซมส่วนของเซลล์ที่ถูกทำลายโดยอนุมูลอิสระ แหล่งที่ให้สารต้านอนุมูลอิสระได้แก่ร่างกาย อาหารบางชนิด เนื่องจากสิ่งแวดล้อมที่มีมลภาวะสูงทั้งในและนอกบ้าน การรับประทานอาหารที่ไม่เหมาะสม การสูบบุหรี่ และคนส่วนมากได้รับสารต้านอนุมูลอิสระไม่เพียงพอ จึงควรได้รับสารต้านอนุมูลอิสระให้เพียงพอต่อความจำเป็นของร่างกาย โดยสารต้านอนุมูลอิสระแต่ละชนิดจะทำหน้าที่ในการต้านอนุมูลอิสระที่แตกต่างกันสำหรับสารฟลาโวนอยด์ นั้นทำหน้าที่ทั้งป้องกันและต่อต้านอนุมูลอิสระ (โอภา และคณะ, 2549)

ในการสกัดสารฟลาโวนอยด์มีปัจจัยที่เกี่ยวข้องและส่งผลกระทบต่อฤทธิ์การในต้านอนุมูลอิสระหลายปัจจัย ได้แก่ เปอร์เซ็นต์เอทานอล อุณหภูมิ อัตราส่วนของตัวทำละลายต่อแก่นสีเสียด เวลา และจำนวนครั้งในการสกัด อย่างไรก็ตามยังไม่มีรายงานอธิบายถึงความสัมพันธ์ของปัจจัยต่างของวิธีการสกัดกับฤทธิ์ในการต้านอนุมูลอิสระ ในขณะที่ระบบการศึกษาของงานวิจัยนี้ใช้การออกแบบ คือ two - factorial design และการทดสอบทางสถิติ Multiway factorial ANOVA ทำให้สามารถใช้ในการประเมินผลของปัจจัยต่าง ๆ ของการสกัดต่อฤทธิ์ในการต้านอนุมูลอิสระได้

สำหรับงานวิจัยนี้จึงเน้นในการศึกษาหาความสัมพันธ์ของปัจจัยต่าง ๆ ในการสกัดต่อฤทธิ์ในการต้านอนุมูลอิสระจากสารสกัดหยาบชั้นเอทานอลของแก่นสีเสียด ด้วยการออกแบบทางสถิติแบบ two - factorial design และการทดสอบทางสถิติ Multiway factorial ANOVA และเพื่อศึกษาความสัมพันธ์ของปัจจัยต่างในวิธีการสกัดแก่นสีเสียดกับฤทธิ์ในการต้านอนุมูลอิสระเพื่อหาวิธีสกัดที่ให้ฤทธิ์ในการต้านอนุมูลอิสระที่ดีที่สุด

อุปกรณ์และวิธีการ

1. การเตรียมวัตถุดิบ

แก่นสีเสียด เก็บจากอุทยานแห่งชาติเขาใหญ่ จังหวัดนครราชสีมา เก็บเมื่อเดือนสิงหาคม 2553 อายุประมาณ 10 - 15 ปี นำมาปอกเปลือกออกและสับเป็นชิ้นเล็ก ๆ ทำให้แห้งโดยอบที่อุณหภูมิ 40 องศาเซลเซียส เก็บรักษาไว้ในที่มีอากาศเย็นและแห้ง มีการระบายอากาศดี

2. การสกัดสาร

ก. ชั่งแก่นสีเสียด 100 กรัม

ข. ผสมกับตัวทำละลาย (เอทานอล 100 % หรือเอทานอล 70 %) ที่อุณหภูมิ 60 องศาเซลเซียส หรืออุณหภูมิ 70 องศาเซลเซียส

ค. อัตราส่วนของตัวทำละลายต่อแก่นสีเสียด ที่ 10:1 น้ำหนัก/ปริมาตร และ 15:1 น้ำหนัก/ปริมาตร
ง. สกัดเป็นเวลา 8 หรือ 12 ชั่วโมง

จ. จำนวนครั้งในการสกัด 2 หรือ 4 ครั้ง (โดยใช้ตัวทำละลายในการสกัดที่มีปริมาณเท่ากัน สำหรับการสกัดที่มีอัตราส่วนของตัวทำละลายต่อแก่นสีเสียดที่เท่ากันและสกัดอย่างต่อเนื่อง)

การสกัดมีการศึกษาปัจจัยที่เกี่ยวข้องกับการสกัดทั้งหมด 5 ปัจจัย ได้แก่ เปอร์เซ็นต์ เอทานอล อุณหภูมิ อัตราส่วนของแก่นสีเสียดต่อตัวทำละลาย เวลา และจำนวนครั้งในการสกัดแต่ละปัจจัยศึกษาเป็น 2 ระดับ (ตารางที่ 1) จึงมีวิธีสกัดทั้งหมด 32 วิธี ตามตารางที่ 2

ตารางที่ 1 ตารางแสดงระดับและปัจจัยในการสกัดแก่นสีเสียด

ระดับของปัจจัยในการสกัด	เปอร์เซ็นต์เอทานอล (%)	อุณหภูมิ (องศาเซลเซียส)	อัตราส่วนของตัวทำละลายต่อแก่นสีเสียด	เวลา (ชั่วโมง)	จำนวนครั้งในการสกัด
ระดับสูง	100	70	15	12	4
ระดับต่ำ	70	60	10	8	2

ตารางที่ 2 ตารางแสดงวิธีการสกัดแก่นสีเสียดจากระดับและปัจจัยในการสกัด (2 ระดับ 5 ปัจจัย)

วิธีสกัด	เอทานอล (%)	อุณหภูมิ (องศาเซลเซียส)	อัตราส่วนของตัวทำละลายต่อแก่นสีเสียด	เวลา (ชั่วโมง)	จำนวนครั้งในการสกัด
1	100	70	10	12	2
2	100	60	15	8	4
3	100	70	10	8	4
4	100	60	15	12	2
5	100	60	10	8	2
6	100	60	10	12	4
7	100	60	15	12	4
8	100	60	10	12	2
9	100	70	15	8	4
10	100	60	15	8	2
11	100	70	15	12	4
12	100	60	10	8	4
13	100	70	15	12	2
14	70	60	10	8	4
15	70	60	15	8	4
16	100	70	10	12	4

ตารางที่ 2 ตารางแสดงวิธีการสกัดแก่นสีเสียดจากระดับและปัจจัยในการสกัด (2 ระดับ 5 ปัจจัย) (ต่อ)

วิธีสกัด	เอทานอล (%)	อุณหภูมิ (องศาเซลเซียส)	อัตราส่วนของตัวทำละลายต่อแก่นสีเสียด	เวลา (ชั่วโมง)	จำนวนครั้งในการสกัด
17	70	70	15	8	4
18	70	60	10	8	2
19	70	70	10	12	4
20	70	70	15	12	4
21	70	70	15	8	2
22	70	70	15	12	2
23	100	70	15	8	2
24	70	60	10	12	2
25	70	60	15	12	2
26	70	60	15	12	4
27	70	70	10	8	4
28	100	70	10	8	2
29	70	60	15	8	2
30	70	60	10	12	4
31	70	70	10	8	2
32	70	70	10	12	2

3. การทดสอบทดสอบฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระ

ปิเปต 1.5 มิลลิลิตร ของสารละลาย 2,2-Diphenyl-1-picrylhydrazyl (DPPH) และปิเปต 1.5 มิลลิลิตร ของสารสกัดจากสีเสียด ที่ความเข้มข้นต่าง ๆ (ช่วงความเข้มข้น 2-12 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร 5 ความเข้มข้น) ลงในหลอดทดลอง โดยแต่ละความเข้มข้นของสารสกัดจากสีเสียดทำการทดลองซ้ำ 3 ครั้ง สารละลายผสมเป็นเนื้อเดียวกันตั้งทิ้งไว้ในที่มืดนาน 15 นาที นำไปวัดค่าการดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 515 นาโนเมตร ด้วยเครื่องสเปกโทรโฟโตมิเตอร์ วิเคราะห์ผลการทดลองในการทดสอบฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระและรายงานผลเป็นค่าความเข้มข้นที่ต้านการออกซิเดชัน 50 % (EC_{50})

4. การทดสอบและวิเคราะห์ผลทางด้านสถิติ

วิเคราะห์ความสัมพันธ์และความเกี่ยวข้องของปัจจัยต่าง ๆ (correlation and factorial model) ในการสกัดกับฤทธิ์ในการต้านอนุมูลอิสระด้วยการออกแบบการทดสอบทางสถิติแบบ two - factorial design และทดสอบแบบ Multiway factorial ANOVA ด้วยโปรแกรม Design - Expert Version 6.0.5

ผลการวิจัยและอภิปรายผลการวิจัย

1. ผลการทดสอบฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระ

จากการทดลองนำสารละลาย 2,2-Diphenyl-1-picrylhydrazyl (DPPH) 1.5 มิลลิลิตร และ สารสกัดจากสีเสียด 1.5 มิลลิลิตร ที่ความเข้มข้นต่าง ๆ (ช่วงความเข้มข้น 2-12 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร 5 ความเข้มข้น)

โดยแต่ละความเข้มข้นของสารสกัดจากสีเสียดทดลองซ้ำ 3 ครั้ง นำไปวัดค่าการดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 515 นาโนเมตร ด้วยเครื่องสเปกโทรโฟโตมิเตอร์ (ตามวิธีการทดสอบตอนที่ 3) ผลการทดลองแสดงผลการรายงานค่าเฉลี่ยและค่าเบี่ยงเบนมาตรฐานของค่าความเข้มข้นที่ด้านการออกซิเดชัน 50 % (EC₅₀) (ตารางที่ 3) ตารางที่ 3 แสดงค่าความเข้มข้นที่ด้านการออกซิเดชัน 50 % (EC₅₀)

วิธีสกัด	ค่าเฉลี่ย EC ₅₀ (ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร)	วิธีสกัด	ค่าเฉลี่ย EC ₅₀ (ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร)
1	10.31 ± 0.47	18	11.71 ± 0.55
2	7.20 ± 2.99	19	9.91 ± 0.24
3	7.71 ± 0.21	20	9.09 ± 0.16
4	13.17 ± 0.44	21	12.92 ± 0.44
5	8.94 ± 0.15	22	9.07 ± 0.23
6	13.41 ± 0.55	23	7.89 ± 0.28
7	8.21 ± 0.18	24	8.81 ± 0.33
8	13.23 ± 1.91	25	7.97 ± 0.29
9	10.71 ± 0.56	26	8.60 ± 0.26
10	8.64 ± 0.31	27	7.73 ± 0.28
11	10.33 ± 0.09	28	13.41 ± 0.35
12	10.14 ± 0.04	29	10.04 ± 0.44
13	8.68 ± 0.34	30	8.01 ± 0.23
14	11.82 ± 0.27	31	12.84 ± 0.44
15	12.71 ± 0.72	32	8.41 ± 0.18
16	8.20 ± 0.19	รูติน	4.33 ± 0.23
17	11.37 ± 0.26	คาทีชินส์	2.69 ± 0.13

จากการทดลองพบว่าสารสกัดหยาบด้วย 70 % เอทานอล และ 100 % เอทานอลของแก่นสีเสียด มีค่า effective concentration (EC₅₀) สูงสุด และ ต่ำสุด เท่ากับ 13.41 และ 7.20 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร และจากการทดสอบฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระ โดยเปรียบเทียบกับ EC₅₀ ของสารมาตรฐานรูติน และ คาทีชินส์ มีค่า EC₅₀ เท่ากับ 4.33 และ 2.69 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร ตามลำดับ

2. ผลการทดสอบและวิเคราะห์ผลทางด้านสถิติ

จากผลการวิเคราะห์ที่ได้แสดงสมการความสัมพันธ์ของปัจจัยต่าง ๆ ในการสกัด ด้วยการออกแบบทางสถิติแบบ two - factorial design และการทดสอบทางสถิติแบบ Multiway factorial ANOVA ด้วยโปรแกรม Design - Expert Version 6.0.5 ผลการทดสอบแสดงได้ดังสมการที่ 1

สมการที่ 1 มีค่าความสัมพันธ์กันของปัจจัยในการสกัดต่อฤทธิ์ในการต้านอนุมูลอิสระ (EC₅₀) เท่ากับ 0.9584 โดยมีปัจจัยที่สำคัญและส่งผลกระทบต่อฤทธิ์การต้านอนุมูลอิสระ (EC₅₀) อย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ (P < 0.05) คือ AC AD ABD BCE BDE CDE และ ABCE

สมการที่ 1 แสดงความสัมพันธ์ของปัจจัยต่าง ๆ ในการสกัดฤทธิ์ในการต้านอนุมูลอิสระ
 ฤทธิ์ในการต้านอนุมูลอิสระ (EC_{50}) = + 10.04 - 0.026 A - 0.13 B - 0.25 C - 0.32 D - 0.34 E
 - 0.23 AB - 0.41 AC + 1.01 AD - 0.18 AE + 0.35 BC - 0.34 BD - 0.19 BE - 0.073 CD
 + 0.33 CE + 0.097 DE + 0.059 ABC - 0.62 ABD + 0.29 ABE - 0.049 ACE - 0.23 ADE
 + 0.020 BCD + 0.57 BCE + 0.57 BDE - 0.42 CDE + 0.69 ABCE(1)

หมายเหตุ

A คือ เปอร์เซ็นต์เอทานอล (%) C คือ อัตราส่วนของตัวทำละลายต่อแก่นสีเสียด
 B คือ อุณหภูมิ (องศาเซลเซียส) D คือ เวลา (ชั่วโมง) E คือ จำนวนครั้งในการสกัด

สรุปผลการทดลอง

1. การทดสอบฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระ

จากผลการทดสอบฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระของสารสกัดหยาบด้วย 70 %เอทานอล และ 100% เอทานอลของแก่นสีเสียด ทดลองซ้ำ 3 ครั้ง พบว่าสารสกัดสีเสียดสามารถยับยั้งอนุมูลอิสระ (DPPH) โดยมีค่า EC_{50} สูงสุด และ ต่ำสุด เท่ากับ 13.41 และ 7.20 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร ส่วนรูติน และ คาทีชินส์ มีค่า EC_{50} เท่ากับ 4.33 และ 2.69 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร ตามลำดับ และเมื่อเปรียบเทียบกับค่า EC_{50} ที่ต่ำสุดของสารสกัด (7.20 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร) พบว่าสารสกัดจากแก่นสีเสียดมีฤทธิ์ในการต้านอนุมูลอิสระน้อยกว่าประมาณ 1.5 เท่าของ EC_{50} จากสารมาตรฐานรูติน และน้อยกว่าประมาณ 5 เท่า ของสารมาตรฐานคาทีชินส์ อย่างไรก็ตามการสกัดสารที่ใช้ตัวทำละลาย (เอทานอล) นั้นเป็นวิธีที่ง่าย และสารสกัดจากแก่นสีเสียดที่ได้นั้นสามารถนำไปใช้ได้จริง โดยมีฤทธิ์ในการต้านอนุมูลอิสระ (DPPH) ดีกว่าสารมาตรฐานเพียงเล็กน้อย (1.5 - 5 เท่า) ตามที่ได้กล่าวมาแล้ว

2. การทดสอบและวิเคราะห์ผลทางด้านสถิติ

จากผลการทดสอบและวิเคราะห์ผลทางด้านสถิติแบบ Multiway factorial ANOVA สามารถสรุปความสัมพันธ์และความเกี่ยวข้องของปัจจัยต่าง ๆ ในการสกัดกับฤทธิ์ในการต้านอนุมูลอิสระ ได้ดังตารางที่ 3

ตารางที่ 3 แสดงความสัมพันธ์และความเกี่ยวข้องของปัจจัยต่าง ๆ ในการสกัดกับและฤทธิ์ในการต้านอนุมูลอิสระ

	เอทานอล (%)	อุณหภูมิ (องศาเซลเซียส)	อัตราส่วนของตัวทำละลายต่อแก่นสีเสียด	เวลา (ชั่วโมง)	จำนวนครั้งในการสกัด
ค่าการต้านอนุมูลอิสระ (EC_{50})ลดลง	↑	↓	↑	↓	↓

จากการวิเคราะห์พบว่าถ้าต้องการสกัดแก่นสีเสียดให้ได้มีค่าการต้านอนุมูลอิสระ (EC_{50}) น้อย (ความเข้มข้นที่ใช้ในการต้านการเกิดออกซิเดชัน 50 % ลดลง) โดยสามารถสกัดสารได้ คือ ลุดอุนทงมูลง เพิ่มอัตราส่วนของตัวทำละลายต่อแก่นสีเสียดให้มากขึ้น ใช้เวลาและจำนวนครั้งในการสกัดให้น้อยลง ยกเว้นเปอร์เซ็นต์เอทานอล ถ้าต้องการให้ค่าการต้านอนุมูลอิสระ (EC_{50}) ลดลง ต้องเพิ่มเปอร์เซ็นต์เอทานอลขึ้น

ข้อเสนอแนะ

1. ควรศึกษาชนิดและปริมาณของสารสำคัญที่พบในสารสกัดจากแก่นสีเสียดด้วยเทคนิคอื่นเพิ่มเติม เช่น เทคนิคโครมาโทกราฟีชนิดของเหลวสมรรถนะสูง (High Performance Liquid Chromatography, HPLC)
2. ควรศึกษาจากสมการที่แสดงความสัมพันธ์ของปัจจัยต่าง ๆ ในการสกัดต่อการออกฤทธิ์ ต้านอนุมูลอิสระ โดยสกัดสารจากแก่นสีเสียดให้มีปริมาณมากขึ้นเพื่อให้สามารถนำไปแยกสารที่องค์ประกอบต่าง ๆ ได้ ทำให้ทราบถึงองค์ประกอบทางเคมีของสารสกัดจากแก่นสีเสียดอย่างครบถ้วนมากขึ้น

กิตติกรรมประกาศ

งานวิจัยนี้ได้รับการสนับสนุนงบประมาณในการทำวิจัยจาก มหาวิทยาลัยราชภัฏพระนคร

เอกสารอ้างอิง

- วิมล ศรีสุข. 2552. สมุนไพรไทย. สำนักงานข้อมูลสมุนไพร. คณะเภสัชศาสตร์ มหาวิทยาลัยมหิดล.
โอภา วัชรคุปต์, ปรีชา บุญจูง และจินทนา บุญยะรัตน์. 2549. สารต้านอนุมูลอิสระ. สำนักพิมพ์พี.เอส.พริน, กรุงเทพฯ.
- D. Shen., Q. Wu ., M. Wang., Y. Yang., J. Edmond., Lavoie, and James E. Simon. Determination of the Predominant Catechins in *Acacia catechu* by Liquid chromatography/Electrospray Ionization–Mass Spectrometry. 2006. *J. Agric. Food Chem.*54 (9): 3219–3224.
- K. Azad., Q. Kand., and T. Sassa. Isolation of (+) – catechin and new polyphenolic compound in Bengal catechu. 2001. *J wood sci.* 47 : 406-409.
- A. Basile, S. Giordano, J. Antonio López-Sáez and R. Castaldo Cobianchi. Antibacterial activity of pure flavonoids isolated from mosses. 1999. *Phytochemistry.* 52: 1479.

A modified DNA extraction protocol for PCR-RAPD analysis of Durian (*Durio zibethinus* Murr.)

Ongkarn Vanijajiva*

Faculty of Science and Technology, Phranakhon Rajabhat University, Bangkok, 10220, Thailand.

* Corresponding author: vanijajiva@pnru.ac.th

Abstract

A protocol for extracting high quality DNA from Durian (*Durio zibethinus* Murr.), an economically important fruit in Thailand, is presented. The leaf of Durian contains high level of polysaccharides, polyphenols and secondary metabolites. The extracted DNA from Durian cultivars when subjected to RAPD-PCR is often problematic, especially when mature tissues are used for DNA extraction. In order to overcome these problems a protocol has been developed, availing on a high salt concentration and on the combination of Polyvinylpyrrolidone (PVP) and Hexadecyltrimethylammonium bromide (CTAB) in the extraction buffer in order to prevent the solubilization of polysaccharides and polyphenols during the DNA extraction method. Using this method, DNA was extracted from 8 Durian cultivars including young leaves, old leaves and withered old leaves. The yield of DNA ranged from 1-2 $\mu\text{g}/\mu\text{l}$ per gram of the leaf sample/tissue and the purity ratio was between 1.7-1.8 indicating minimal levels of secondary metabolites contamination. The optimization of RAPD protocol was based on the use of 50 ng of template DNA, higher concentration of MgCl_2 (5 mM), primer (0.5 mM), *Thermus aquaticus* (Taq) polymerase (0.5 units) and an annealing temperature of 36 °C, which resulted, optimal amplification. In all PCR reactions reproducible amplifiable products were observed. Thus, this protocol proved amenable for PCR-RAPD analysis and can be applicable to study the genetic variation in the future in Durian cultivars of Thailand.

Key words: Durian, polysaccharides, phenols, PCR amplification, DNA extraction, RAPD

Introduction

Durian (*Durio zibethinus* Murr.) “King of Fruits” is an economically important fruit in Thailand (Somsri, 2008). It belongs to the family Malvaceae in the order Malvales originating in the Malay Peninsula (Brown, 1997; APG, 2003). Approximately 200 Durian cultivars have been named in Thailand (Somsri, 2007). Moreover the difference between its cultivars is practically not studied. There is not much information available on the genetic relationship between cultivated Durian varieties in Thailand (Somsri, 2007). Earlier classification and evaluations of Durian were done primarily based on phenotypic expression of the plants such as shape of fruit, size of thorns on the skin and other morphological characters (Somsri, 2007; Somsri,

2008). Unfortunately, morphological variation has limited ability to distinguish genetically similar individuals. For this reason, the use of molecular markers has become a standard method to study variability among closely related taxa (Weising *et al.*, 1995).

During the last decade numerous novel molecular markers which have been widely used to investigate population genetics, including random amplified polymorphic DNA (RAPD), simple sequence repeat (SSR), inter-simple sequence repeat (ISSR), and amplified fragment length polymorphism (AFLP) techniques. These molecular markers can be linked to important traits, and used for early selection of potentially desirable genotypes and individuals (Crawford, 1990; Williams *et al.*, 1990). Polymorphisms detected by randomly amplified polymorphic DNA (RAPD) markers have been used for numerous applications in genetics research despite having the disadvantage of poor reproducibility and not generally being associated with distinct gene regions (Williams *et al.*, 1990; Vanijajiva *et al.*, 2005). But the cost advantage of RAPD to other molecular techniques tends to favor it, especially for initial genetic studies. Another advantage is that it is a multi loci marker with the simplest and fastest detection technology Williams *et al.*, 1990; Rajaseger *et al.*, 1997). The technique has been successfully employed for determination of genetic diversity in several organisms (Rath *et al.*, 1998, Pushpakumara *et al.*, 2007; Qianwen *et al.*, 2010; Chaudhary *et al.*, 2010).

Isolating high quality DNA is essential for molecular analysis. Durian leaf contains exceptionally high amounts of polysaccharides, polyphenols, tannins, secondary metabolites such as alkaloids, flavanoids and phenols, and terpenes which interfere with DNA isolation procedure (Crawford, 1990; Ashraf *et al.*, 2010). The problem encountered due to these compounds include co-isolation of highly viscous polysaccharides degradation of DNA due to endonuclease, inhibitor compounds like polyphenols and other secondary metabolites which directly or indirectly interfere with enzymatic amplification of DNA by the polymerase chain reaction (PCR) (Rath *et al.*, 1998; Vanijajiva *et al.*, 2005). Although, various protocols for DNA extraction have been successfully applied to many plant species (Doyle & Doyle, 1987; Katterman & Shattuck, 1983; Moller *et al.*, 1992; Dabo *et al.*, 1993; Wang & Taylor, 1993; Ramser *et al.*, 1996; Porebski *et al.*, 1996) which were further modified to provide DNA suitable for several kinds of analyses (Doyle & Doyle, 1987; Moller *et al.*, 1992) these DNA extraction methods are generally expensive and time consuming (Ziegenhagen & Scholz, 1993). The need for rapid and efficient method of DNA isolation for Durian having high contents of polysaccharides is necessary when hundreds of samples need to analyzed rapidly for variation studies and marker aid programs. Moreover, the reproducibility of RAPD results may be overcome by optimizing experimental conditions and following precisely a chosen experimental protocol (Kotchoni *et al.*, 2003; Vanijajiva *et al.*, 2005).

The main objective of this study was therefore to define a simple method for isolation of high quality genomic DNA from Durian cultivars and to optimize for RAPD proved to be

inexpensive with relation to the use of primer, quantity of DNA, usage of dNTPs, *Taq* polymerase and the reaction volume. The isolated DNA and optimized of PCR-RAPD protocol would be suitable for further downstream applications.

Material and Methods

Plant material

DNA isolation and RAPD analysis were carried out using fresh leaf samples from 8 accessions collected from the Nonthaburi province, Thailand (Table 1). All cultivars are cultivated in a greenhouse at the Faculty of Science and Technology, Phranakhon Rajabhat University. Voucher specimens of all accessions are deposited in the Phranakhon Rajabhat University Herbarium.

Table 1 Samples of Durian used in this study

Durian Cultivars	Collection site in Nonthaburi	Vouchers	Sample number
Kop Watklaul	Bang Kruai	OV011-10	D1
Kop Maethao	Bang Kruai	OV007-10	D2
Kop Tatao	Bang Kruai	OV002-10	D3
Kop Takum	Bang Kruai	OV019-10	D4
Kanyao	Bang Bua Thong	OV020-10	D5
Luang	Bang Kruai	OV022-10	D6
Monthong	Pak Kret	OV003-10	D7
Chanee	Pak Kret	OV005-10	D8

DNA isolation protocol

Genomic DNA was extracted from the leaves of 8 accessions using the CTAB method following the procedure of Doyle and Doyle (1987) with minor modifications. The leaves (1 g) were ground in a mortar with a pestle. Extraction buffer [(1% (w/v) CTAB, 50 mM Tris-HCl (pH 8), 0.7 M NaCl, 2% PVP and 0.1% β -mercaptoethanol] 500 μ l was added and the solution was incubated at 60 C^o for 30 min. The homogenate was mixed with 25:24:1 phenol:chloroform:isoamyl alcohol (v/v/v) by gentle inversion. After centrifugation at 13,000 rpm for 15 min, the upper aqueous layer was transferred to a fresh tube. RNA was removed by treating with 2.5 ml of the RNase (10 mg/ml) for 30 min at 37 C^o. The extraction of DNA with phenol/chloroform/isoamyl alcohol was repeated one more time (long term mixing of samples in phenol:chloroform:isoamyl alcohol approximately for 30 minutes, will help in removal of pigments and formation of brownish colour in DNA sample can be omitted). The supernatant was carefully decanted and transferred to a new tube and DNA in the

solution was precipitated with 0.6 volume of ice-cold isopropanol and washed with 70% ethanol. Following this, the DNA was extracted using CTAB DNA extraction protocol without RNase. The process was repeated until the DNA pellet was free of colour (two to three times) and the final pellet was dissolved in sterile deionized water. DNA quality and quantity were determined on 0.8% agarose gel. The DNA was stored at -20°C , for further use as templates for PCR amplification.

Quantification of extracted DNA and purity checking

The yield of DNA per gram of leaf tissue isolated was measured using a UV spectrophotometer at 260 nm. The purity of DNA was determined by estimating the ratio of absorbance at 260 nm to that of 280 nm. DNA concentration and purity was also determined by running the samples on 0.8 %. The nucleic acid concentration was estimated following (Sambrook *et al.*, 1989).

Optimization of RAPD reaction

For the optimization of RAPD reaction using DNA extracted from 8 different Durian cultivars, oligonucleotide primers (Operon Technologies, California, USA) of random sequences were used (Table 2). The reactions were performed using a Thermocycler (Thermo Hybaid Px2). Each 25 μl reaction volume contained about 10X Promega reaction buffer (100 mM Tris-HCl pH 9, 500 mM KCl, 1% Triton X-100), 0.4 mM of each dNTP, 0.5 mM of primer, 0.5 unit of *Taq* polymerase (Promega), 5 mM MgCl_2 and 50 ng template DNA. The thermocycler was programmed for an initial melting step at 94°C for 4 min, followed by 45 cycles, each cycle consisting of three steps of 94°C for 1 min, 36°C for 1 min and 72°C for 2 min. A final extension step at 72°C for 4 min was performed after the 45 cycles. A negative control reaction in which DNA was omitted was included in every run in order to verify the absence of contamination. The RAPD products were separated by agarose (1.8% w/v) gel electrophoresis at 100 A for 50 minutes in 0.04 M TAE (Tris-acetate 0.001 M-EDTA) buffer pH 8. The gels were stained with ethidium bromide (10 mg/ml), and photographed on a UV trans-illuminated gels were photographed in gel documentation and image analysis system (Syngene, Synoptics Group, Cambridge, UK). To determine RAPD profiles, the size of each DNA band was inferred by comparison with a 1 kb DNA ladder (Promega), used as a molecular weight marker (M). Polymorphisms at all loci were confirmed by three repeating tests for each primer at different times.

Table 2. Nucleotide sequence of the 9 decanucleotide primers used in this study.

Primer	Sequence	%GC
OPAM-03	5'- CTTCCCTGTG -3'	60
OPAM-12	5'- TCTCACCGTC -3'	60
OPAM-18	5'- ACGGGACTCT -3'	60
OPB-01	5'- GTTTCGCTCC-3'	60
OPB-14	5'- TCCGCTCTGG -3'	70
OPC-01	5'- TTCGAGCCAT -3'	60
OPC-05	5'- GATGACCGCC -3'	70
OPK-05	5'- TCTGTCGAGG -3'	60
OPZ-03	5'- CAGCACCGCA -3'	70

Results and Discussion

DNA yield and purity

Extraction of genomic DNA from the leaf of 8 varieties of Durian (Table 1) was carried out using modified CTAB DNA isolation protocol (Doyle & Doyle, 1987). The isolated DNA was of high quality as it showed a reading in between 1.7 to 1.8 after calculating the ratio of absorbance 260/280 nm (Fig. 1). Tannins, terpenes and resins considered as secondary metabolites are also difficult to separate from DNA (Ziegenhagen & Scholz, 1998). Certain polysaccharides are known to inhibit RAPD reactions. They distort the results in many analytical applications and therefore, lead to wrong interpretations (Ramser *et al.*, 1996, Kotchoni *et al.*, 2003). Polysaccharide co-precipitation is avoided by adding a selective precipitant of nucleic acids, i.e., cetyltrimethyl ammonium bromide (CTAB) to keep polysaccharides in solution through SDS (Padmalatha *et al.*, 2006). The presence of polyphenols, which are powerful oxidizing agents present in many plant species, can reduce the yield and purity by binding covalently with the extracted DNA making it useless for most research applications (Dellaporta *et al.*, 1983; Padmalatha & Prasad, 2006). Mixing of PVP along with CTAB may bind to the polyphenolic compounds by forming a complex with hydrogen bonds and may help in removal of impurities to some extent (Pushpakumara & Harris, 2007). The removal of chlorophyll and other colouring substances such as pigments, dyes, etc. occurred by the help of long term phenol:chloroform:isoamyl alcohol treatment. Many DNA isolation procedures also yield large amounts of RNA, especially 18S and 25S rRNA (Doyle & Doyle, 1987). The yield of PCR reduction can be possible by large amounts of RNA in the sample. A prolonged 2 hour RNase treatment degraded RNA into small ribonucleotides that do not contaminate DNA preparation and yielded RNA free pure DNA. To avoid the DNA degradation and precipitation for some extent all the steps were carried out at RT (Padmalatha & Prasad, 2006). Additional centrifugation steps, modified speed and time

removed large amounts of precipitates like protein and polysaccharides. We found these modified steps necessary to standardize and increase the quality and quantity of genomic DNA. The degree of purity and quantity varies between applications (Doyle & Doyle, 1987; Vanijajiva *et al.*, 2005). Isolation of good quality DNA suitable for analysis from semi-processed or processed botanicals is also a challenge (Wang & Taylor, 1993, Ramser *et al.*, 1996). DNA isolated by this method yielded strong and reliable amplification products showing its compatibility for RAPD-PCR using random decamer primers (Fig. 2). The amplified fragments size ranged in between 100 bp to 3000 bp.

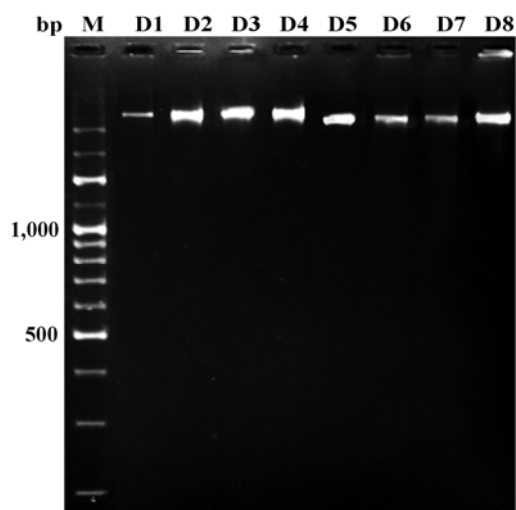


Fig.1. Genomic DNA were loaded in 0.8% agarose gel and separated by electrophoresis for 50 min at 100 A. (Lane M: 1 kb ladder size standard marker, Lane D1-D8: genomic DNA isolated from different Durian cultivars. The numbers on the top of the lanes correspond the genotypes of Durian is given in Table-1.)

Optimization of RAPD-PCR parameters

The parameters for the random amplification of polymorphic DNA from Durian cultivars were studied. All parameters had an effect on banding patterns and reproducibility, but the concentration of template DNA and magnesium chloride were most important. The optimized conditions for RAPD protocol are given in Table 3. The described conditions in the present work, modified for use in RAPD analysis, consistently amplified DNA fragments of different Durian cultivars belonging to *Durio zibethinus* which are highly recalcitrant.

Table 3. Optimization of the RAPD-PCR reaction parameters for 8 Durian cultivars.

PCR condition	Range (tested)	Optimum conditions	Inference
DNA concentration (ng)	20, 50, 70 and 100	50 ng	At higher concentration the presence of smear and with lower concentration absence of amplification effected the repeatability.
Magnesium chloride (mM)	2, 3, 4 and 5	5 mM	Non specificity and yield of product increases excess or lower conc.
Deoxynucleotide triphosphates (dNTPs mM)	1, 2, 3, 4 and 5	4 mM	Reduction of free Mg ²⁺ occurs at increased concentration, interfering with the enzyme.
Primer concentration (mM)	0.2, 0.5, 0.8, 1.0, 1.5, 2.0, 2.5, 3.0, 4.0 and 5.0	0.5 mM	Primer dimer formation and absence of amplification occurs at higher and lower concentrations respectively.
<i>Taq</i> polymerase (units)	0.2, 0.5, 1.0, 2.0 and 3.0	0.5 U	Proper amplification cannot be shown at lower concentration. specificity decreased at higher concentration.
Initial denaturation time interval (minute) at 94°C	1,2, 3, 4 and 5	94°C for 4 minutes	Reduction in amplification, loss of <i>Taq</i> polymerase activity and lack of reproducibility happened at higher/lower time intervals (from optimum).
Annealing temperature (°C)/Time intervals (seconds)	30, 36, 40, 45, 50, 55 and 60 30,50,60,80,100, 120 and 160	36°C for 60 seconds	Difference in specificity found at higher/lower annealing temperature (from optimum).

PCR condition	Range (tested)	Optimum conditions	Inference
Reaction volume (μ l)	20, 25, 30, 35 and 40	25	Influences cost of PCR ingredients
Number of cycles	30, 35, 40, 42, 43,44, 45, 48, 50 and 60	45	Lower/Higher cycles (from optimum) effects the amplification

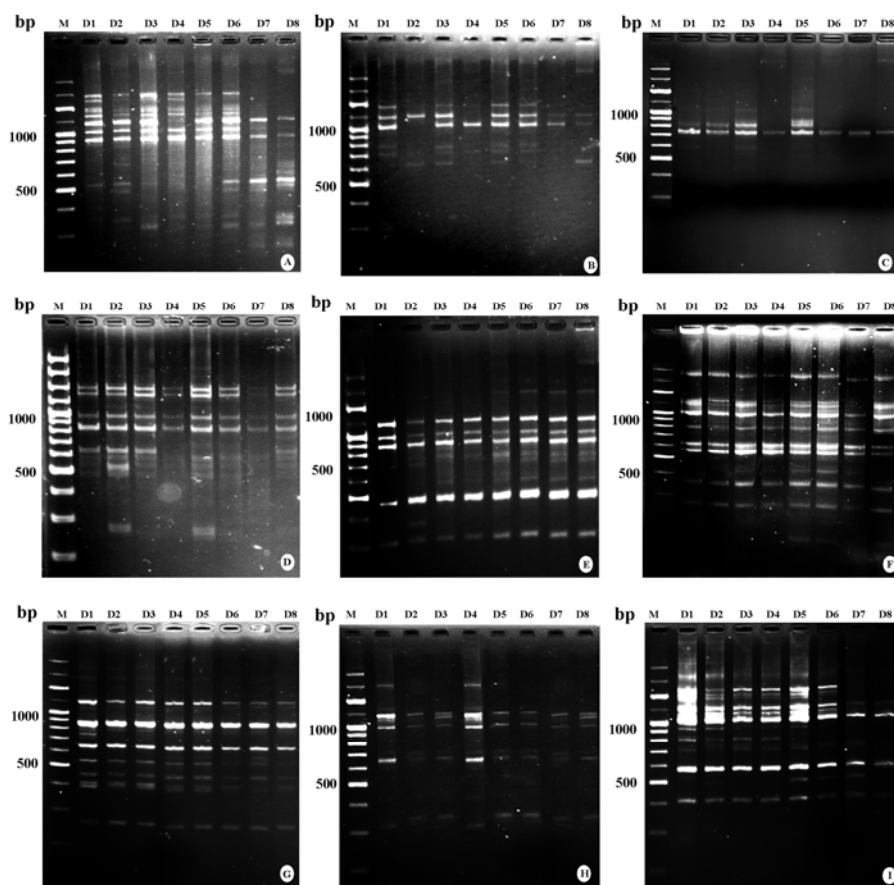


Fig. 2 RAPD-PCR polymorphisms from 8 Durian cultivars revealed by decanucleotide primers (A) OPAM-03 (B) OPAM-12 (C) OPAM-18 (D) OPB-01 (E) OPB-14 (F) OPC-01 (G) OPC-05 (H) OPK-05 (I) OPZ-03 (left to right: Lane M: 1 kb ladder size standard marker, Lane D1-D8: genomic DNA isolated from different Durian cultivars. The numbers on the top of the lanes correspond the genotypes of Durian is given in Table-1.)

Conclusions

The optimized DNA isolation and RAPD technique may serve as an efficient tool for further molecular studies. We have recently performed this protocol for genomic DNA isolation from withered old leaves and young leaves of other plant such as Canna lilies (*Canna* spp.). Results prove the reproducibility, reliability and practicality of this protocol. Thus we concluded that present protocol describes a reliable, simple, and consistent DNA isolation method for Durian and other common crops.

Acknowledgements

This work was supported by the Phranakhon Rajabhat University. The author thanks Mr. Adisorn Shimnoi for his generosity in providing some plant materials and useful information.

References

- APG, II., 2003. An update of the angiosperm phylogeny group classification for the orders and families of flowering plants: APG II. Bot. J. Linn. Soc. 141: 399-436.
- Ashraf, M.A, M.J., Maah and I., Yusoff, 2010. Estimation of Antioxidant Phytochemicals in Four Different varieties of Durian (*Durio zibethinus murray*) Fruit. Middle-East J. Sci. Res. 6: 465-471.
- Brown, M.J., 1997. Durio – a bibliographic review. IPGRI Office for South Asia, New Delhi.
- Crawford, D.J., 1990. Plant Molecular Systematics: Macromolecular Approaches. Wiley, New York.
- Chaudhary, L., A., Sindhu, M., Kumar, R., Kumar and M. Saini, 2010. Estimation of genetic divergence among some cotton varieties by RAPD analysis. J. Plant Breed. and Crop Sci. 2: 039-043.
- Dabo, S.M., E.D., Mitchell and U., Melcher, 1993. A method for the isolation of nuclear DNA from cotton (*Gossypium*) leaves. Anal. Biochem. 210: 34-38.
- Dellaporta, S.L., J., Wood, and J.B., Hicks, 1983. A plant DNA mini-preparation; Version II. Plant Mol. Bio. Rep. 1: 19-21.
- Doyle, J.J. and J.L., Doyle, 1987. A rapid DNA isolation procedure for small quantities of fresh leaf tissue. Phyto. Bull. 19: 11–15.
- Katterman, F.R.H. and V.I., Shattuck, 1983. An effective method of DNA isolation from mature leaves of *Gossypium* species that contain large amounts of phenolic terpenoids and tannins. Prep. Biochem. 13: 347-359.
- Kotchoni, S.O., Gachomo, E.W., E. Betiku and O.O. Shonukan, 2003. A home made kit for plasmid DNA mini preparation. Afr. J. of Bio. 2: 88-90.

- Moller, E.M., G., Bahnweg, H., Sandermann and H.H., Geiger, 1992. A simple and efficient protocol for isolation of high molecular weight DNA from filamentous fungi, fruit bodies and infected plant tissues. *Nucle. Acids Res.* 22: 6115-6116.
- Padmalatha, K. and M.N.V., Prasad, 2006. Optimization of DNA isolation and PCR protocol for RAPD analysis of selected Medicinal and aromatic plants of conservation concern from Peninsular India. *Afr. J. Biotech.* 5: 230-234.
- Porebski, S., L.G., Baily and B.R., Baum 1997. Modification of a CTAB DNA extraction protocol for plants containing high polysaccharide and polyphenol components. *Plant Mol. Bio. Rep.* 15: 8-15.
- Pushpakumara, D.K.N.G. and S.A., Harris, 2007. Potential of RAPD markers for identification of fruit types of *Artocarpus heterophyllus* Lam.(jackfruit). *J. Nat. Sci. Found. Sri Lanka.* 35 : 175-179.
- Qianwen, X., W. Kaizhi, Z. Lanying and S. Shi, Zhang Li, Lisen, J. Yinchun and M. Dongmei, 2010. RAPD markers and Heterotic Effect of Walnut Quality in Sichuan of China. *Adv. Bio. Res.* 4: 81-85
- Ramser, J., C.L., Peralta, R., Wetzel, K., Weising and G., Kahl, 1996. Genome variation and relationships in aerial yam detected by RAPD. *Genome*, 39: 17– 25.
- Rajaseger, G., H.T.W., Tan, I.M., Turner and P.P., Kumar, 1997. Analysis of genetic diversity among *Ixora* cultivars (Rubiaceae) using random amplified polymorphic DNA. *Ann. Bot.* 80: 355–361.
- Rath, P., G., Rajaseger, C.J., Goh and P.P., Kumar, 1998. Phylogenetic analysis of dipterocarps using random amplified polymorphic DNA markers. *Ann. Bot.* 82: 61–65.
- Sambrook, J., E.F., Fritsch and T., Maniatis, 1989. *Molecular cloning: a laboratory manual*. Cold spring Harbor Laboratory Press, Cold Spring, Harbour, New York, USA.
- Somsri, S., 2007. *Thai Durian*. Horticulture Research Institute, Department of Agriculture Chatuchak, Bangkok.
- Somsri, S., 2008. Durian: Southeast Asia's King of Fruits. *Chron. Hort.* 48:19-21.
- Vanijajiva, O., P., Sirirugsa and W., Suvachittanont, 2005. Confirmation of relationships among *Boesenbergia* (Zingiberaceae) and related genera by RAPD. *Biochem. Syst. Eco.* 33: 159-170.
- Wang, Y. and D.E., Taylor, 1993. A rapid CTAB DNA isolation technique useful for RAPD fingerprinting and other PCR applications. *Biotechniques.* 14: 748-750.
- Weising, K., H., Nybom, K., Wolff, and W., Meyer, 1995. *DNA Fingerprinting in Plants and Fungi*. CRC Press Inc., USA.
- Williams, J.G.K., A.R., Kubelik, K.J., Livak, J.A., Rafalski and V.S., Tingey, 1990. DNA polymorphism amplified by arbitrary primers are useful as genetic markers. *Nucl. Acids Res.* 18: 6531-6535.

- Ziegenhagen, B. and F., Scholz, 1993. A procedure for mini preparation of genomic DNA from needles of silver fir (*Abies alba* Mill.). *Plant Mol. Bio. Rep.* 11: 117-121.
- Ziegenhagen, B. and F., Scholz, 1998. Methods for difficult plant species. In: Karp A, P.G., Issac and D.S., Ingram (eds). *Molecular Tools for screening Biodiversity 2.2 Plants and Animals*, Chapman and Hall, London pp. 32-35.

Measurement of the Verdet Constant by using ellipsometry technique

Suebtarkul Suchat, Paiboon Viriyavathana, Pairote Jaideaw, Nichapa Haisirikul
Warunee Kerdsang, Suthee Petcharavut and Phattaradet phattaranachit

Department of Physics , Phranakhon Rajabhat University, Bangkhen, Bangkok, Thailand 10220

* Corresponding author: sueb@pnru.ac.th

Abstract

This experiment is designed to measure the Verdet constant V through Faraday Effect rotation of a polarized laser beam as it passes through different mediums, Flint Glass and water, parallel to the magnetic field B . As the B varies, the plane of polarization rotates and the transmitted beam intensity is observed. The angle through which it rotates is proportional to B and the proportionality constant is the Verdet constant times the optical path length. That by using ellipsometric parameters of under study was obtained. These are used to determine the Verdet constant for each medium and compared with standard known values. The experimental results are in good agreement with the corresponding theoretical analysis.

Keywords: Ellipsometry, Verdet constant

Introduction

The Verdet constant is an optical constant that describes the strength of the Faraday effect for a particular material. The phenomenon of the Faraday Effect was first observed by Michael Faraday in 1845. He discovered the concrete evidence for the relationship between the major branches of optics, magnetism and atomic physics (Jenkins & white). He found out that when a block of glass is subjected to a strong magnetic field, it becomes optically active. The effect occurs when the rotation of a linearly polarized wave passes through a thickness of a transparent medium. However, rotations of polarized light are not only limited to optically active materials, but also including some optically inactive materials exposed to high magnetic field. In magnetized medium the refractive indices for right- and left-handed circularly polarized light are different. This effect manifests itself in a rotation of the plane of polarization of linearly polarized light. This observable fact is called magneto optic effect. Magneto optic effects are those effects in which the optical properties of certain materials are affected by applied magnetic fields or the material's own magnetization. Magneto optic effects occur in gases, liquids, and solids.

In this work, we propose a new method for measurement of the Verdet Constant (Wen *et al.*, 2009; Koerd *et al.*, 2003; Jain *et al.*, 1998; Suchart & Chitaree,) in different mediums by using ellipsometry techniques limited only by the transmittance of the optical components and polarization ratio. The ellipsometry system (Suchart & Chitaree, 1998; Azzam.& Bashara) has been studied by using the instrument to change the angle parameter of various materials,

namely, Flint glass and water, when change magnetic field. The experimental values for wavelength of 635 nm are measurement and to compare its value to a theoretical calculated value.

Theory

The Faraday effect is a magneto optic in which a plane of polarized light is rotated as it passes through a medium that is in a magnetic field. The amount of rotation is dependent on the amount of sample that the light passes through, the strength of the magnetic field and proportionality constant called the Verdet Constant. The Verdet constant is the proportionality constant between the angle of rotation θ of plane polarized light and the product of the path length l through the sample and the applied magnetic field B . More explicitly, the Verdet constant V is the proportionality constant in Eq. (1).

$$\Delta = VIB \quad (1)$$

The theory underlying why the Faraday Effect works lies in the quantum mechanical realm but can be understood on a more basic level using classical electrodynamics. The precession of the angular momentum of an electron orbiting the nucleus leads to different indices of refraction for rightly or leftly polarized light. This leads to a rotation of plane polarized light. To understand better how the Faraday Effect works, a classical electrodynamics approach gives an expression for the Verdet constant that is a function of the wavelength of light used in the experiment (the wavelength in a vacuum) and the change in index of refraction per change in wavelength. The verdet contant can be calculated from Eq. (2). This equation can be represented by the following empirical expression

$$V(\lambda) = \frac{\pi}{\lambda} \frac{n^2(\lambda) - 1}{n(\lambda)} \left(A + \frac{B}{\lambda^2 - \lambda_0^2} \right) \quad (2)$$

Where A is 15.7116×10^{-7} rad/T, B is 6.3430×10^{-19} m².rad/T, $n(\lambda)$ is index of refraction at a given wavelength, λ_0 is 156.4 nm. The indices of refraction are given from Schott Optical Glass.

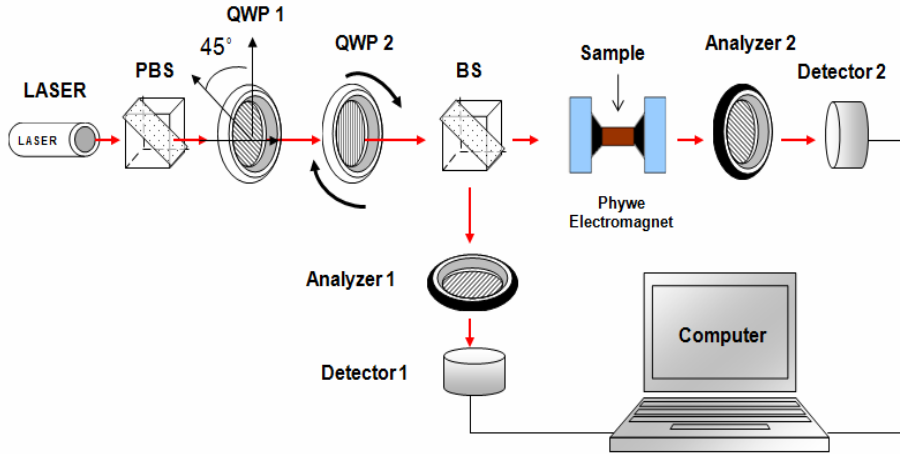


Fig. 1: The experimental setup, QWP: Quarter wave plate, PBS: Polarizing beam splitter, BS: beam splitter.

To analyze the process as shown in Fig. 1, the electric field \vec{E} of the output rotating linearly polarized light (after QWP2) can be represented by a vector, using Jones notation.

$$\vec{E}_1 = \begin{bmatrix} \cos \phi' \\ \sin \phi' \end{bmatrix} E_0 e^{i\epsilon} \quad \text{Where } \phi' = \frac{1}{2} \left(\theta + \frac{\pi}{2} \right) \text{ and } \epsilon = \omega_0 t + \gamma \quad (3)$$

After the reflection at a sample surface with an incident angle of ϕ_0 the light beam then transverse an analyzer 2 with its axis at 45° to the plane of incidence. The change in polarization of light beam as a result of this, observed at the detector 2, can be described in terms of the product of Jones matrices as follows,

$$\vec{E}_2 = S \vec{E}_1 = \begin{bmatrix} t_p \cos \phi' \\ t_s \sin \phi' \end{bmatrix} E_0 e^{i\epsilon} \quad (4)$$

When the Jones matrix of the sample (S) written by $S = \begin{bmatrix} t_p & 0 \\ 0 & t_s \end{bmatrix}$. Therefore, the vector

electric field through the sample (S) to the polarizer at an angle θ relation to the plane of incidence is as follows.

$$\vec{E}_{3,\theta} = P_\theta \vec{E}_2 = \begin{bmatrix} t_p \cos \phi' \cos^2 \theta - t_s \sin \phi' \cos \theta \sin \theta \\ t_p \cos \phi' \cos \theta \sin \theta - t_s \sin \phi' \sin^2 \theta \end{bmatrix} E_0 e^{i\epsilon} \quad (5)$$

where t_p, t_s = Fresnel transmission coefficients, for the incident polarization p, parallel, and s, perpendicular, to the plane of incidence, ϕ' = time-dependent azimuth of the polarization beam. When the polarizer angle 45° to the plane of incidence is written as

$$\vec{E}_{3,45^\circ} = \begin{bmatrix} 1 \\ 1 \end{bmatrix} (t_p \cos \phi' - t_s \sin \phi') \frac{E_0}{2} e^{i\epsilon} \quad (6)$$

Therefore, the intensity of light from the detector 2 is

$$I_{45} = (\vec{E}_{3,45^\circ}) (\vec{E}_{3,45^\circ})^* = \frac{I_0}{2} [T_p \cos^2 \phi' + T_s \sin^2 \phi' - \sqrt{T_p T_s} \sin 2\phi' \cos \Delta] \quad (7)$$

Note that when light from the modulated parallel to the plane of incidence, intensity of light that the detector will be

$$I_{\text{Parallel}} = (\vec{E}_{3,45,\phi'=0}) (\vec{E}_{3,45,\phi'=0})^* = \frac{I_0 T_p}{2} \quad (8)$$

Similarly, when the light is perpendicular to the plane of incidence. Intensity of light that can be

$$I_{\text{Perpendicular}} = \left(\vec{E}_{3,45,\phi'=\frac{\pi}{2}} \right) \left(\vec{E}_{3,45,\phi'=\frac{\pi}{2}} \right)^* = \frac{I_0 T_s}{2} \quad (9)$$

When light at an angle to the plane of incidence angle is 45° , we can determine by

$$I_{45^\circ} = \left(\vec{E}_{3,45,\phi'=\frac{\pi}{4}} \right) \left(\vec{E}_{3,45,\phi'=\frac{\pi}{4}} \right)^* = \frac{I_0}{2} \left(\frac{T_p}{2} + \frac{T_s}{2} - \sqrt{T_p T_s} \cos \Delta \right) \quad (10)$$

When T_p and T_s are the intensity of light by Fresnel transmission. where $T_p = |t_p|^2$, $T_s = |t_s|^2$ and I_0 are a constant. In ellipsometry measurements, the experimentally measured parameters Δ and Ψ are related to the physical properties of the system by the relation Where $\tan \psi = |t_p|/|t_s|$ and $\Delta = \delta_{rp} - \delta_{rs}$ are the ellipsometric angles.

Results and Discussion

The experimental setup system is shown in fig.1. Light from a laser diode ($\lambda = 635\text{nm}$) is transformed into a circularly polarized beam by a quarter wave plate (QWP1). The light then is launched into the second quarter wave plate (QWP2). The function of the wave plate is to transform the output beams into two orthogonal circularly polarized

beams with opposite handedness. This is equivalent to linear polarization state with an azimuth determined by the phase difference between the two circularly polarized beams. As the phase difference is modulated, the azimuth of polarization is modulated. A fraction of the output is sampled by a beam splitter passes through an analyzer 1 orientated at a pre-determined direction and onto a detector 1 to form a reference signal. From this signal, the azimuth of polarization may be determined at any time. The main light beam is incident onto a sample at an angle of incidence ϕ_0 . The transmission light then propagates through an analyzer 2 with its transmission axis orientated at 45° to the plane of incidence, and onto detector 2 to provide the output signal. Both signals (detection and reference) then transferred to an online computer for analysis.

At the sample, the DC output 1.5 A of the power supply is connected via an ampere meter to the coils of the electromagnet which is in series. The electromagnet needed for the experiment is constructed from a laminated U-shaped iron core, two 600-turn coils and the drilled pole pieces, the electromagnet then being arranged in a stable manner on the table on rod. After the flux-density distribution has been measured, the 30 mm long flint glass cylinder is inserted in the pole piece holes and the jack is raised so that the magnet is interpolated in the experimental setup between the two polarization filters. Similarly, a water sample in a glass cuvette is placed in the gap and data is recorded

Since electromagnets were used to generate the magnetic field for this experiment, a correlation between the current supplied to the electromagnets and the average magnetic field in the space between the poles could be obtained by the curve fitting method. A linear curve was fit to the average magnetic field versus applied current 1.5A as shown in 60 mT (Phywe: LEB 2.0.6.01). In order to see how much the polarized beam is rotated as a function of the magnetic field strength, the relationship between the angles of rotation Δ . The equations that fit the angle Δ versus average magnetic field for wavelength of 635 nm it have shown that the angle of rotation of flint glass and water are 2.00 degree and 1.14 degree, respectively. The Verdet constant can be calculated from (1). From the results, they could be concluded that the Verdet constant for dense flint glass and water at 635 nm are 19.39 rad/T.m and 11.05 rad/T.m, respectively. Theoretically, the Verdet constant can be calculated from Eq.(2), the theoretical Verdet constant are revealed. For 635 nm, this theoretical value is 19.97 rad/T.m and 9.32 rad/T.m. The percentage errors of Verdet constant from this experimental are less than 2.9% for flint glass and 18.56% for water.

Conclusions

This experiment shows the measurement of the Verdet constant for the different mediums by using ellipsometry technique Included with using Faraday effect. However, in the future, the Faraday effect could be explored in a number of different ways. One way is to choose a different sample such as other liquid, for which the Verdet constant is known and find a way to increase the accuracy and precision of the apparatus used in order to get better experimental values. Furthermore, temperature dependence of the Verdet constant in diamagnetic glass should be determined because it may be significant in certain applications, such as high accuracy sensors.

Acknowledgement

This work supported by the research fund for fiscal year 2009 of Faculty of Science and technology, Phranakhon Rajabhat University (PNRU).

References

- Azzam, R. M. A. and N. M. Bashara. 1972 . Ellipsometric Measurement of the Polarization Transfer Function of an Optical System, *J. Opt. Soc. Am.* 62: 336-340..
- Jain, A., J. Kumar, F. Zhou, L. Li and S. Tripathy. 1999. Simple experiment for determining Verdet constants using alternating current magnetic fields,. *Am. J. Phys.* 67: 714-717.
- Jenkins, F. and H. white .1976 *Fundamentals of Optics*, McGraw-Hill, Inc., New York.
- Koerdt, C., G. L. J. A. Rikkenb and E. P. Petrovc. 2003. Faraday effect of photonic crystals. *Applied Physics Letters*, Vol. 82, No. 10, 1538-1540, 2003.
- Suchart, S. and R. Chitaree. 1998. A Novel Optical Fiber Ellipsometer,” *The IEEE Asia- Pacific Conference on Circuits and Systems*, Chiangmai, Thailand. Pp. 205-208.
- Wen, H., M. A. Terrel, H. K. Kim and M. J. F. Dignonet. 2009. Measurements of the Birefringence and Verdet Constant in an Air-Core Fiber. *Journal of Lightwave Technology*. 27: 3194 - 3201.

บทแนะนำและวิจารณ์หนังสือ *Bergey's Manual of Systematic Bacteriology*

¹กนกกร สินมา และ ²ขวัญชัย คุเจริญไพศาล

¹Kanokkorn Sinma and ²Khwanchai Khucharoenphaisan

¹ภาควิชาชีววิทยาเคมีประยุกต์ คณะเกษตร มหาวิทยาลัยชิซูกะ ประเทศญี่ปุ่น

²คณะวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยี มหาวิทยาลัยราชภัฏพระนคร ประเทศไทย

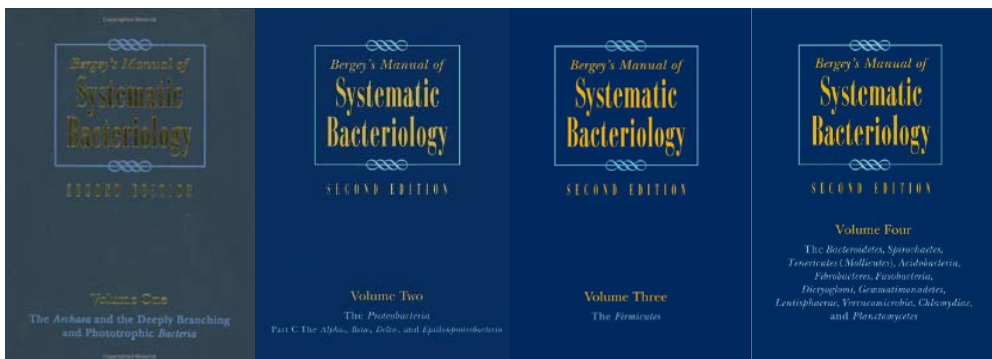
1 Department of Applied Biological Chemistry, Faculty of Agriculture, Shizuoka University, Japan.

2 Faculty of Science and Technology, Phranakhon Rajabhat University, Thailand

* Corresponding author: khwanchai@pnru.ac.th

ผู้แต่ง David R. Boone and Richard W. Castenholz (vol.1) Don J. Brenner, Noel R. Krieg and James T. Staley (vol.2) Paul De Vos, George Garrity, Dorothy Jones, Noel R. Krieg, Wolfgang Ludwig, Fred A. Rainey, Karl-Heinz Schleifer and William B. Whitman (vol.3) Noel R. Krieg, James T. Staley, Daniel R. Brown, Brian Hedlund, Bruce J. Paster, Naomi Ward, Wolfgang Ludwig and William B. Whitman (vol. 4) Michael Goodfellow, Peter Kämpfer, Hans-Jürgen Busse, Martha Trujillo, Ken-ichiro Suzuki, Wolfgang Ludwig and William B. Whitman (vol. 5) ปีที่พิมพ์ 2001-2011 (second edition) จำนวนหน้า 2816 หน้า

หนังสือ *Bergey's Manual of Systematic Bacteriology* เป็นคู่มือหลักที่นิยมใช้จัดจำแนกสายพันธุ์จุลินทรีย์ในปัจจุบัน โดยอาศัยข้อมูลพื้นฐานหลายอย่าง คู่มือนี้ได้ตั้งชื่อตาม Dr. David Hendricks Bergey นักแบคทีเรียวิทยาชาวสหรัฐอเมริกา ซึ่งเป็นประธานคนแรกของคณะกรรมการที่ตั้งขึ้นโดย Society of American bacteriologist (ปัจจุบันคือ American society for microbiology) นอกจากนี้ยังเป็นนักวิทยาศาสตร์คนแรกสามารถแยกเชื้อจุลินทรีย์ที่เรียกว่า actinomycetes ได้จากมนุษย์เป็นครั้งแรกในปี ค.ศ. 1907 ในปัจจุบันการตีพิมพ์ *Bergey's manual* ได้ดำเนินการภายใต้ *Bergey's manual Trust*





David Hendricks Bergey

ที่มา : <http://deadscientistoftheweek.blogspot.com/2009/12/david-hendricks-bergey.html>

แบคทีเรียได้มีการอธิบายไว้ใน Bergey's manual of Systematic Bacteriology ภายในคู่มือนี้ได้รวบรวมและบันทึกเชื้อแบคทีเรียที่ได้รับการอธิบายคุณลักษณะ ซึ่งเป็นที่ยอมรับและจัดจำแนกใน taxonomic group โดยการตีพิมพ์ครั้งแรกประกอบด้วย 4 วัสดุเล่ม (Volume) โดยตีพิมพ์ในช่วงปี ค.ศ. 1984-1989 ในการตีพิมพ์ครั้งที่สอง (second edition) ได้แบ่งเนื้อหาของคู่มือออกเป็น 5 วัสดุเล่มเพื่อให้ครอบคลุมโปรคาริโอตชนิดต่างๆ ซึ่งมีการค้นพบมากขึ้น

ในการตีพิมพ์ครั้งที่สอง นี้ phylogenetic tree ของแบคทีเรียแต่ละกลุ่มได้ถูกสร้างขึ้นใหม่ด้วยการวิเคราะห์ด้วย maximum-likelihood และ maximum parsimony analysis การจัดเรียงเนื้อหาในการตีพิมพ์ครั้งที่สองจะเรียงไปตามลำดับของ phylogenetic tree ซึ่งมาจากการวิเคราะห์ลำดับของนิวคลีโอไทด์ของ ribosomal small subunit RNA มากกว่าการใช้ข้อมูลทางด้านลักษณะที่แสดงออกมาภายนอก อย่างไรก็ตาม phylogenetic tree ถือได้ว่าเป็นเครื่องมือชนิดหนึ่งซึ่งใช้ในการวิเคราะห์ข้อมูลแต่ไม่คงที่และเปลี่ยนแปลงได้หากมีข้อมูลใหม่เพิ่มขึ้นหรือมีการพัฒนาวิธีการวิเคราะห์แบบใหม่ๆ ขึ้นมา ซึ่งข้อมูลที่เพิ่มขึ้นมาเป็นจำนวนมากในปัจจุบันสืบเนื่องมาจากการพัฒนาความสามารถในการวิเคราะห์ การพัฒนาเครื่องมือตรวจวัด รวมทั้งวิธีการต่างๆ ที่ทำให้การวิเคราะห์ลำดับนิวคลีโอไทด์และข้อมูลทางชีวเคมีต่างๆ ทำได้อย่างง่ายและรวดเร็ว จะเห็นได้จากจำนวนของแบคทีเรียสายพันธุ์ใหม่ที่เพิ่มขึ้นและได้รับการตีพิมพ์ในวารสารระดับนานาชาติที่เป็นที่ยอมรับ การจัดจำแนกในการตีพิมพ์ครั้งที่สอง เน้นไปที่การเปรียบเทียบข้อมูลลำดับนิวคลีโอไทด์ของ ribosomal small subunit RNA ยีนซึ่งยังเป็นข้อถกเถียงในกรณีของการใช้ marker molecule เพียงชนิดเดียวในการจัดจำแนกแบคทีเรียจะมีความแม่นยำเพียงพอหรือไม่ แต่อย่างไรก็ตามพบว่าการวิเคราะห์โดยอาศัย marker gene มากกว่าหนึ่งชนิดยังไม่สามารถทำได้ในปัจจุบันเนื่องจากข้อจำกัดด้านจำนวนฐานข้อมูลของ non-rRNA marker ยังมีไม่มากพอ จากการศึกษาจีโนมของแบคทีเรียหลายชนิดได้ค้นพบกลุ่มของยีนที่เรียกว่า conserved core of prokaryotic genome ซึ่งเมื่อทำการเปรียบเทียบลำดับของ core gene เหล่านี้พบว่า

เป็นข้อมูลที่สนับสนุนว่า small subunit rRNA มีความเกี่ยวข้องกับการวิวัฒนาการของ prokaryote ในการตีพิมพ์ครั้งที่สอง พบว่าในส่วนที่อธิบายคุณลักษณะของแบคทีเรียได้มีการเพิ่มเติมข้อมูลบางส่วนเข้าไปซึ่งมีประโยชน์อย่างมากต่อการจัดจำแนกแบคทีเรียสมัยใหม่ได้แก่ ชนิดของ major fatty acid, ความคล้ายคลึงของ DNA, overall DNA-DNA similarity, Mol% G+C ของ DNA และ GenBank accession number ของลำดับ 16S rRNA gene ซึ่งข้อมูลเหล่านี้มีความสำคัญอย่างยิ่งในการจัดจำแนกแบคทีเรีย รวมทั้งการวิเคราะห์ข้อมูลเหล่านี้ต้องใช้เครื่องมือและสารเคมีที่มีราคาแพง ซึ่งต่างไปจากข้อมูลทาง phenotypic ซึ่งใช้วิธีการที่ไม่ยุ่งยากและค่าใช้จ่ายต่ำ

วอลลุ่มที่ 1 กล่าวถึง *Archaea*, deeply branching bacteria และ phototrophic bacteria โดยมีจำนวนทั้งสิ้น 721 หน้า ในวอลลุ่มนี้ประกอบด้วยบทนำที่เกี่ยวข้องเกี่ยวกับพื้นฐานทางด้านอนุกรมวิธาน (Taxonomy) ของโปรคาริโอต นอกเหนือไปจากการบรรยายลักษณะของ *Archaea*, phototrophic bacteria และ deep bacterial บางชนิด ในส่วนของบทนำยังได้แบ่งย่อยออกเป็น การจัดจำแนกเชื้อโปรคาริโอต, การกำหนดสปีชีส์ของแบคทีเรีย, numerical และ polyphasic taxonomy, bacterial nomenclature และ ประวัติของคำ (etymology) ที่นำมาใช้ในการตั้งชื่อโปรคาริโอต, และการใช้กรด นิวคลีอิกแอซิดในการตรวจวัดและประยุกต์ใช้ในจุลชีววิทยาสิ่งแวดล้อม (environmental microbiology), ศูนย์เก็บรักษาสายพันธุ์ (culture collections) รวมไปถึงโปรคาริโอตที่ได้รับการขึ้นทะเบียนทรัพย์สินทางปัญญา (intellectual property) ในวอลลุ่มนี้ประกอบไปด้วยการอธิบายลักษณะของจุลินทรีย์กลุ่มนี้มากถึง 413 สปีชีส์ใน 165 เจนเนอราซึ่งได้ถูกจัดให้อยู่ในไฟลัม *Crenarchaeota*, *Euryarchaeota*, *Aquificae*, *Thermatogae*, *Thermodesulfobacteria*, *Deinococcus-Thermus*, *Chrysiogenetes*, *Chloroflexi*, *Thermomicrobia*, *Nitospira*, *Deferribacteres*, *Cyanobacteria*, และ *Chlorobi* นอกจากนี้ยังมีบทนำที่เกี่ยวข้องกับ nonoxygenic, phototrophic species ของแบคทีเรียกลุ่ม *Proteobacteria* และ *Firmicutes* โดยรวมแล้วในวอลลุ่มนี้ประกอบไปด้วยข้อมูลที่มีค่า, โดยเฉพาะความรู้พื้นฐานทั่วไปซึ่งมีรายละเอียดเพิ่มมากขึ้นจากการตีพิมพ์ครั้งแรก คู่มือนี้เป็นคู่มือที่รู้จักกันดีในหมู่นักจุลชีววิทยา นักแบคทีเรียวิทยาและนักอนุกรมวิธานของจุลินทรีย์กลุ่มโปรคาริโอต

วอลลุ่มที่ 2 ตีพิมพ์ในปี ค.ศ. 2004 โดยมีจำนวน 2816 หน้า โดยใช้บุคลากรมากถึง 339 คน โดยในวอลลุ่มนี้ได้ อธิบายลักษณะของแบคทีเรียไว้มากกว่า 2000 สปีชีส์ ใน 538 เจนเนอรา ซึ่งจัดให้อยู่ในไฟลัม *Proteobacteria* นอกจากนี้ภายในวอลลุ่มนี้ยังแบ่งออกเป็นสามส่วนย่อย โดยส่วนแรกเป็นบทนำทั่วไปที่เกี่ยวข้องกับโปรติโอแบคทีเรีย ส่วนที่สองกล่าวถึง Gamma-proteobacteria ซึ่งเป็นกลุ่มใหญ่ที่สุดในโปรติโอแบคทีเรีย ส่วนที่สามจะเป็นการรวมกันของโปรติโอแบคทีเรียกลุ่มที่เหลือได้แก่ Alpha-, Beta-, Delta และ Epsilonproteobacteria เนื้อหาภายในวอลลุ่มนี้ใช้เวลาปรับปรุงเนื้อหาในส่วนสูงสุดถึงสี่ปีซึ่งเป็นความพยายามของ Bergey's Manual Trust และผู้เชี่ยวชาญที่มีชื่อเสียงในระดับนานาชาติจำนวนกว่า 150 คน เพื่อจัดเตรียมเนื้อหาให้ครอบคลุมกลุ่มของ *Proteobacteria* ซึ่งเป็นไฟลัมที่ใหญ่ที่สุดของโปรคาริโอตให้ได้มากที่สุด ซึ่งในปัจจุบันมีจำนวนของแบคทีเรียที่ได้รับการบันทึกไว้จำนวนมากถึง 6250 สปีชีส์ โดยโปรติโอแบคทีเรียเป็นไฟลัมเดียวที่มีขนาดใหญ่ที่สุด โดยแบ่งออกเป็น 72 แฟมิลี 425 เจนเนอรา และครอบคลุมมากถึง 1875 สปีชีส์ โปรติโอแบคทีเรียเป็นกลุ่มแบคทีเรียที่มีความหลากหลายทางด้านกระบวนการเมแทบอลิซึมและ

ทางระบบนิเวศ โดยหลายสายพันธุ์มีความสำคัญทางด้านสุขภาพของมนุษย์ สัตว์ และพืช ส่วนสายพันธุ์ที่มีความสำคัญทางการแพทย์ได้กล่าวถึงในบทย่อ B และ C ดังนั้นคู่มือนี้จำเป็นอย่างยิ่งสำหรับนักจุลชีววิทยา

วอลลุ่ม 3 เกี่ยวกับ *Firmicutes* โดยตีพิมพ์ในปี ค.ศ. 2009 เป็นการปรับปรุงเนื้อหาใหม่โดยผู้เชี่ยวชาญที่คว้าหวอดทางด้านอนุกรมวิธานของแบคทีเรีย (bacterial taxonomy) ในวอลลุ่มนี้ได้มีการจัดเรียงความสัมพันธ์เชิงวิวัฒนาการใหม่เพื่อสะท้อนถึงสถานะของอนุกรมวิธานของโปรคาริโอตในปัจจุบัน เนื้อหาของวอลลุ่มนี้ได้ทำการปรับปรุงแก้ไขส่วนของอนุกรมวิธานโดยอาศัยข้อมูลจาก SILVA project (ฐานข้อมูลที่มีประสิทธิภาพในการตรวจวัดเชิงคุณภาพรวมถึงการเปรียบเทียบความสัมพันธ์ของสิ่งมีชีวิตใน three domain of life ซึ่งได้พัฒนาโดย Microbial genome group ร่วมกับสถาบันและมหาวิทยาลัยที่มีชื่อเสียงในประเทศเยอรมัน) รวมไปถึงการอธิบายลักษณะของจุลินทรีย์ในกลุ่มนี้ซึ่งมีจำนวนมากถึง 1346 สปีชีส์ 235 เจอเนออล่าซึ่งจัดอยู่ในไฟลัม *Firmicutes* หรือในอีกชื่อหนึ่งคือ low mol% G+C Gram positive prokaryotes โดยแตกสาขา (taxa) หลักประกอบไปด้วย *Alicyclobacillus*, *Bacillus*, *Clostridium*, *Enterococcus*, *Erysipelothrix*, *Eubacterium*, *Haloanaerobium*, *Heliobacterium*, *Lachnospira*, *Lactobacillus*, *Leuconostoc*, *Listeria*, *Paenibacillus*, *Peptococcus*, *Ruminococcus*, *Staphylococcus*, *Streptococcus*, *Syntrophomonas*, *Thermoactinomyces*, *Thermoanaerobacter*, *Veillonella* และมีอีกจำนวน 229 เจอเนออล่าที่ได้เสริมเข้าไปนอกจากนี้ในคู่มือยังได้มีการกล่าวถึงลำดับการจัดจำแนกชั้น (taxa) ที่มีความสำคัญทางการแพทย์และอุตสาหกรรมหลายชนิด ใน edition นี้ phylum *Fermicutes* ประกอบด้วย 3 กลุ่ม ได้แก่ *Bacilli*, *Clostridia* และ *Erysipelotrichia* เช่นเดียวกับการจัดจำแนกโดย Garrity et al. (2005) อย่างไรก็ตาม *Mollicutes* ได้ถูกย้ายออกจากไฟลัมนี้เนื่องจากข้อมูลทางด้าน genetic marker ให้การสนับสนุนน้อยรวมทั้งลักษณะเฉพาะได้แก่ การไม่มีผนังเซลล์ (rigid wall structure) วงศ์ *Erysipelotrichaceae* ซึ่งรวมไปถึงแบคทีเรียกลุ่ม wall-forming Gram positive ซึ่งก่อนหน้านี้ได้จัดจำแนกให้อยู่ในกลุ่ม *Mollicutes* นั้นยังคงอยู่ใน *Fermicutes* แต่ได้กลายเป็น กลุ่ม และ อันดับ ใหม่คือ กลุ่ม *Erysipelotrichia* และ อันดับ *Erysipelotrichales* ส่วน กลุ่ม *Clostridia* พบว่ามีแนวโน้มจะแยกตัวออกจาก *Fermicutes* และมีโอกาสที่จะจัดเป็นไฟลัม ที่แยกออกจากกันนอกจากนี้ยังรวมไปถึง ลำดับการจัดจำแนกชั้นซึ่งก่อนหน้านี้จัดให้อยู่ใน *Thermoanaerobacterales* และ *Syntrophomonadaceae* ซึ่งประกอบด้วยแบคทีเรียจำนวนหนึ่งซึ่งมีความแตกต่างกันในระดับไฟลัม อย่างไรก็ตามยังไม่มีเหตุผลหนักแน่นจาก phylogenetic marker อันต่อการย้ายไฟลัมทำให้ทั้ง 2 ลำดับการจัดจำแนก นี้ยังคงจัดให้อยู่ในกลุ่มของ *Fermicutes*

วอลลุ่มที่ 4 เกี่ยวกับ *Bacteroides* โดยเนื้อหาในวอลลุ่มนี้กล่าวถึง ความสัมพันธ์เชิงวิวัฒนาการได้นำมาใช้ในการประเมินและปรับปรุงอนุกรมวิธานของแบคทีเรียในกลุ่ม *Bacteroidetes*, *Spirochaetes*, *Tenericutes* (*Mollicutes*), *Acidobacteria*, *Fibrobacteres*, *Fusobacteria*, *Dictyoglomi*, *Gemmatimonadetes*, *Lentisphaerae*, *Verrucomicrobia*, *Chlamydiae*, และ *Planctomycetes* นอกจากนี้ยังรวมถึง phylum อื่นๆที่ยังไม่ได้กล่าวถึงใน วอลลุ่ม 1-3 ยกเว้น *Actinobacteria* ซึ่งถูกจัดอยู่ใน วอลลุ่ม 5 ซึ่งเป็น วอลลุ่มสุดท้ายของ edition นี้

ในวอลลุ่มนี้ได้ทั้งการปรับปรุงการจัดจำแนก เช่นเดียวกับวอลลุ่มก่อนหน้านี้โดยการทำให้เป็นระบบเดียวกัน การแยกหรือย้ายกลุ่มเท่านั้น ใน edition นี้พบว่าชื่อของแบคทีเรียหลายชนิดและการจัดจำแนกโดย Cavalier-Smith จะไม่นำมาใช้ใน edition นี้โดยให้เหตุผลว่าการจัดจำแนกนั้นไม่ครอบคลุม “Rule of the

Code and priority and proposed type without standing in nomenclature” ด้วยเหตุผลนี้ทำให้ชื่อของหลาย phylum หายไปหรือไม่ถูกนำมาใช้ ได้แก่ *Planctobacteria*, *Sphingobacteria* และ *Spirochaete* เช่นเดียวกับ ชื่อคลาส บางส่วนที่จะหายไป ได้แก่ *Acidobacteria*, *Chlamydiae*, *Flavobacteria*, *Planctomycetes* และ *Spirochaetes*

วอลกลุ่มที่ 5 เกี่ยวกับ *Actinobacteria* โดยเนื้อหาในวอลกลุ่มนี้กล่าวถึงการจัดจำแนกแบคทีเรีย โดยยกเลิกการจัดจำแนกในระดับ ชั้นคลาส และ ชั้นออเดอร์ และเปลี่ยนมาใช้กลุ่ม แทน ชั้นคลาส และ อันดับ แทน ชั้นออเดอร์ การเปลี่ยนแปลงนี้ก็เพื่อให้การจัดจำแนก *Actinobacteria* มีความสอดคล้องกับ prokaryote ชนิดอื่นๆ ซึ่งจะทำให้สามารถเปรียบเทียบกันระหว่าง phylum และทำให้การจัดจำแนกระหว่างแบคทีเรียและอาร์คีเป็นระบบเดียวกัน นอกจากนี้ยังได้ลดจำนวนของ ชั้นดิวิชัน จาก 6 กลุ่ม คือ ชั้นคลาส, อันดับ, ชั้นออเดอร์, วงศ์ และ สกุล ลดลงเหลือ 4 คือ กลุ่ม คือ อันดับ, วงศ์ และ สกุล ซึ่งจากการลดจำนวนของ ชั้นดิวิชัน ทำให้ กลุ่ม *Actinobacteria* แยกออกจากชั้นคลาส *Acidimicrotidae*, *Coriobacteridae*, *Nitrospirillum* และ *Rubrobacteridae* โดยการยกระดับจากชั้นคลาส ให้เป็นกลุ่ม นอกจากนี้ยังยกชั้นออเดอร์ ให้เป็นอันดับ ปัจจุบันอันดับ *Actinomycetales* ได้จำกัดให้ใช้เฉพาะสมาชิกใน วงศ์ *Actinomycetales* ส่วน ชั้นออเดอร์ *Micrococccineae* และ *Pseudonocardineae* จะไม่ได้ถูกจัดอยู่ในกลุ่มนี้ จากที่กล่าวมาข้างต้นทำให้ *actinobacteria* ได้แบ่งออกเป็น 6 กลุ่ม โดย กลุ่ม *Actinobacteria* ในปัจจุบันได้จำเพาะสำหรับแบคทีเรียซึ่งก่อนหน้านี้ได้ถูกจัดให้อยู่ในชั้นออเดอร์ *Actinobacteridae* (first edition) ส่วนกลุ่ม *Acidimicrobidia*, *Coriobacteriia*, *Nitrospirillum*, *Rubrobacteria* และ *Thermoleophilum* ได้ถูกตั้งขึ้นมาใหม่

ข้อแนะนำในการเขียนบทความลงวารสารวิทยาศาสตร์

มหาวิทยาลัยราชภัฏพระนคร

ประเภทของเรื่องที่จะตีพิมพ์

1. รายงานผลการวิจัยและค้นคว้าหรือการสำรวจที่ยังไม่เคยตีพิมพ์ในวารสารหรือหนังสืออื่นมาก่อน
2. บทความปริทัศน์ ได้แก่ งานเขียนที่รวบรวมหรือเรียบเรียงจากเอกสารหรือหนังสือต่าง ๆ เพื่อเผยแพร่ และฟื้นฟูงานด้านวิชาการระดับต่าง ๆ
3. บทความแสดงข้อคิดเห็นหรือข้อเสนอแนะที่เป็นประโยชน์ในด้านวิชาการ เรื่องแปล ข่าววิชาการ ย่อความจากงานวิจัยหรือหนังสือใหม่ที่น่าสนใจ

รูปแบบของการเขียนและเตรียมต้นฉบับ

ต้นฉบับเรื่องเต็ม ต้องพิมพ์ด้วยโปรแกรมไมโครซอฟต์เวิร์ด (Microsoft Word for Windows) เวอร์ชัน 2000 หรือ XP โดยใช้รูปแบบอักษรเป็น TH SarabunPSK เท่านั้นทั้งฉบับ (ขนาดของตัวอักษรใหญ่ในรายละเอียดของแต่ละหัวข้อ) ยกเว้น ตัวอักษรที่เป็นสัญลักษณ์ ให้ใช้รูปแบบอักษรเป็น Symbol เท่านั้น ซึ่งรายละเอียดในส่วนต่างๆ ต้องเป็นดังนี้

ขนาดกระดาษต้นฉบับ ใช้กระดาษขนาด Executive สีขาว พิมพ์แบบ Portrait โดยตั้งค่าหน้ากระดาษ (page setup) ส่วนระยะขอบ (Margins) ดังนี้ ด้านบน (Top) 2.81 ซม. ด้านล่าง (Bottom) 2.54 ซม. ด้านซ้าย (Left) 2.54 ซม. ด้านขวา (Right) 1.7 ซม.

รายละเอียดของหัวข้อหลัก ควรเรียงตามลำดับดังนี้

ชื่อเรื่อง : อยู่ขีดขอบบนของหน้า มีทั้งภาษาไทยและภาษาอังกฤษ (แยกกันคนละบรรทัด) ชื่อเรื่องแต่ละภาษามีความยาวไม่เกิน 2 บรรทัด แต่ให้อธิบายสาระของเรื่องได้ดี กำหนดให้ใช้ อักษร TH SarabunPSK ขนาด 16 points พิมพ์ตัวหนา (bold) กำหนดระยะห่างบรรทัด (Line spacing) เป็น ค่าแน่นอน (Exactly) ขนาด (At:) 16 points [เรียกคำสั่งจากเมนู รูปแบบ (Format),ย่อหน้า (Paragraph), การเยื้องและระยะห่าง (Indent and Spacing), กำหนดระยะห่างบรรทัด (Line spacing)] และจัดให้อยู่กึ่งกลางหน้ากระดาษ ถ้ามีตัวอักษรที่เป็นสัญลักษณ์ให้ใช้อักษร Symbol ขนาด 14 points หรือขนาดตัวอักษรเท่ากับตัวอักษรอื่นในบรรทัดนั้น

ชื่อผู้เขียนและคณะ : เว้น 1 บรรทัดจากชื่อเรื่องภาษาอังกฤษ ให้ใช้ชื่อเต็ม มีทั้งภาษาไทยและภาษาอังกฤษ (แยกคนละบรรทัด) ให้ครบทุกคน และต้องใส่เชิงอรรถ (Footnote) (รายละเอียดเชิงอรรถให้ดูย่อหน้าถัดไป) เป็นแบบลำดับตัวเลข (ยกกำลัง) กำกับไว้ท้ายนามสกุลให้ครบทุกคน ชื่อผู้เขียนกำหนดให้ใช้อักษร TH SarabunPSK ขนาด 12 points พิมพ์ตัวหนา (Bold)กำหนดระยะห่างบรรทัด (Line spacing) เป็น ค่าแน่นอน (Exactly) ขนาด (At:) 16 points จัดขีดขอบขวาของหน้ากระดาษการแทรกเชิงอรรถ (Footnote) [จากเมนู แทรก (Insert), เชิงอรรถ (Footnote)] ให้ใช้แบบลำดับตัวเลขอัตโนมัติ (1, 2, 3, ...) โดยใช้อักษรแบบ

TH SarabunPSK ขนาด 10 points กำหนดระยะห่างบรรทัด (Line spacing) เป็น ค่าแน่นอน (Exactly) ขนาด (At:) 10 points และจัดข้อความชิดขอบซ้ายของหน้ากระดาษ

บทคัดย่อ : มีรายละเอียดดังนี้

ให้เว้น 1 บรรทัดจากชื่อผู้แต่ง และพิมพ์คำว่า บทคัดย่อ และขึ้นย่อหน้าใหม่เป็นเนื้อหาบทคัดย่อ คำว่า "บทคัดย่อ" ให้ใช้อักษร TH SarabunPSK ขนาด 14 points และพิมพ์ตัวหนา (Bold) กำหนดระยะห่างบรรทัด (Line spacing) เป็น ค่าแน่นอน Exactly) ขนาด (At:) 16 points จัดกึ่งกลางหน้ากระดาษ ส่วนเนื้อหาของตัวบทคัดย่อ ให้ใช้อักษร TH SarabunPSK ขนาด 14 points กำหนดระยะห่างบรรทัด (Line spacing) เป็น ค่าแน่นอน (Exactly) ขนาด (At:) 16 points และบรรทัดแรกของย่อหน้าให้เอียงมาทางขวา 0.5 นิ้ว และจัดข้อความในแต่ละย่อหน้าแบบข้อความชิดขอบ (Justified) ห้ามใช้การจัดแบบกระจายแบบไทย (Thai distribute) โดยเด็ดขาด ถ้ามีตัวอักษรที่เป็นสัญลักษณ์หรืออักษรกรีก ให้ใช้อักษร Symbol ขนาด 12 points หรือขนาดที่เท่ากับตัวอักษรอื่นในบรรทัดนั้น บทคัดย่อเป็นการสรุปสาระสำคัญของเรื่อง โดยเฉพาะอย่างยิ่งวัตถุประสงค์ วิธีการและผล ไม่ควรเกิน 300 คำ กำหนดคำสำคัญทั้งภาษาไทยและภาษาอังกฤษอย่างละ 3-5 คำ

เนื้อหา : ประกอบด้วยส่วนต่างๆ คือ คำนำ อุปกรณ์และวิธีการ ผลการวิจัยและอภิปราย ผลการวิจัย สรุป การนำผลการวิจัยไปใช้ประโยชน์ กิตติกรรมประกาศและเอกสารอ้างอิงทุกส่วนให้ทำตามข้อกำหนดดังนี้คือ เมื่อขึ้นย่อหน้าใหม่ ให้เว้น 1 บรรทัดเสมอ (ย่อหน้าต่างๆ ในส่วนเดียวกันไม่ต้องเว้นบรรทัด) โดย คำนำ อุปกรณ์ และวิธีการ ผล วิจัยและผล สรุป และเอกสารอ้างอิง กำหนดให้ใช้อักษร TH SarabunPSK ขนาด 14 points พิมพ์ตัวหนา (Bold) กำหนดระยะห่างบรรทัด

(Line spacing) เป็น ค่าแน่นอน (Exactly) ขนาด (At:) 16 points จัดกึ่งกลางหน้ากระดาษส่วนของเนื้อหาข้อความในแต่ละย่อหน้า กำหนดให้ใช้อักษร TH SarabunPSK ขนาด 14 points กำหนดระยะห่างบรรทัด (Line spacing) เป็น ค่าแน่นอน (Exactly) ขนาด (At:) 16 points บรรทัดแรกของแต่ละย่อหน้าให้เอียงเข้ามาทางขวา 0.5 นิ้ว และจัดข้อความแต่ละย่อ

หน้าแบบข้อความชิดขอบ (Justified) ห้ามจัดแบบกระจายแบบไทย (Thai distribute) โดยเด็ดขาด ถ้ามีตัวอักษรที่เป็นสัญลักษณ์หรืออักษรกรีกให้ใช้อักษร Symbol ขนาด 12 points หรือขนาดตัวอักษรที่เท่ากับตัวอักษรอื่นในบรรทัดเดียวกัน

เนื้อหาส่วนต่าง ๆ ควรมีลักษณะดังต่อไปนี้

- 1. คำนำ :** เพื่อกล่าวถึงปัญหา ที่มา วัตถุประสงค์การวิจัย และรวมถึงการตรวจเอกสาร (Literature review) ด้วย
- 2. อุปกรณ์และวิธีการ :** ควรประกอบด้วย คำอธิบายเกี่ยวกับเครื่องมือและอุปกรณ์ที่ใช้ในการทดลอง โดยไม่ต้องระบุหมายเลขแยกเป็นข้อ คำอธิบายถึงวิธีการที่ใช้ทดลอง แต่ไม่จำเป็นต้องอธิบายวิธีการที่ถือว่าเป็นแบบฉบับ ซึ่งเป็นที่เข้าใจอันดีโดยทั่วไปอยู่แล้ว การเขียนอุปกรณ์และวิธีการ ให้เขียนเป็นส่วนเดียวกัน ไม่ต้องแยกหัวข้อ

3. ผลการวิจัยและอภิปรายผลการวิจัย : เป็นการเสนอผลของการวิจัย ถ้าเป็นไปได้ ควรควบคู่ไปกับการใช้ ตาราง กราฟ หรือภาพ ประกอบการอธิบาย คำอธิบายควรกะทัดรัด และเป็นอิสระกับเนื้อเรื่อง คำอธิบายและ ตัวอักษรต่าง ๆ ใน ตาราง กราฟและภาพ ใช้อักษร TH SarabunPSK ขนาด 14 points (หรือเล็กกว่า แต่ยังสามารถอ่านได้อย่างชัดเจน) กำหนดระยะห่างบรรทัด (Line spacing) เป็น ค่าแน่นอน (Exactly) ขนาด (At:) 16 points หรือน้อยกว่าถ้ามีตัวอักษรที่เป็นสัญลักษณ์ให้ใช้อักษร Symbol ที่มีขนาดเท่ากับตัวอักษรอื่นใน บรรทัดนั้นพร้อมทั้งอภิปรายผลการทดลองหรือการวิจัย โดยมีลักษณะดังต่อไปนี้

- (1) เพื่อให้คล้ายตามถึงความสัมพันธ์หรือหลักการที่มาจากผล
- (2) สนับสนุนหรือคัดค้านทฤษฎีที่มีผู้เสนอมาก่อน
- (3) เปรียบเทียบกับผลการวิจัยและการตีความหมายของผู้อื่น
- (4) ชี้ให้เห็นประเด็นที่เด่นหรือสำคัญของการวิจัย

4. สรุป : เป็นการย่อสาระสำคัญและประจักษ์พยานของผลการวิจัย

5. การนำผลการวิจัยไปใช้ประโยชน์ : เป็นการกล่าวถึงการนำผลการวิจัยไปใช้ประโยชน์ในห้องถิ่นหรือชุมชน

6. กิตติกรรมประกาศ : อาจมีหรือไม่มีก็ได้ เป็นการแสดงความขอบคุณแก่ผู้ที่ช่วยเหลือให้งานวิจัยและการเตรียมเอกสารลุล่วงไปด้วยดี แต่มิได้เป็นผู้ร่วมทำงานวิจัยด้วย

7. เอกสารอ้างอิง : การอ้างอิงเอกสารในเนื้อเรื่องใช้ระบบชื่อและปี (name-and-year system) เช่น จินดา (2536) รายงานว่า... หรือ ... (ศิวาพร และ สลักจิต, 2536) ในกรณีเป็นภาษาอังกฤษหรือภาษาใด ๆ ที่เขียนด้วย ตัวอักษรภาษาอังกฤษ ให้ใช้ชื่อสกุลเป็นภาษาอังกฤษแล้วตามด้วย ค.ศ. เช่น Jackson (1967) ... หรือ ... (Murashige and Skoog, 1962) ในกรณีที่มีผู้แต่งตั้งแต่ 3 คนขึ้นไปให้ใช้ และคณะ เช่น สมศรี และคณะ (2530) .. หรือ ..(สมศรี และคณะ, 2530) ถ้าเป็นภาษาอังกฤษหรือภาษาใดๆ ที่เขียนด้วยตัวอักษรภาษาอังกฤษ ให้ใช้ *et al.* ต่อท้ายผู้แต่งคนแรก เช่น Schaad *et al.* (1992) หรือ (Schaad *et al.*,1992) และให้ใส่ชื่อครบทุกคนในบัญชีเอกสารอ้างอิงท้ายเรื่องในบัญชีเอกสารอ้างอิง ซึ่งปรากฏอยู่ท้ายเรื่อง กำหนดให้ใช้อักษร TH SarabunPSK ขนาด 12 points กำหนดระยะห่างบรรทัด (Line spacing) เป็น ค่าแน่นอน (Exactly) ขนาด (At:) 13 points การพิมพ์เอกสารอ้างอิงแต่ละฉบับให้พิมพ์แบบหน้าลอย (Hanging) โดยบรรทัดแรกของ เอกสารอ้างอิงแต่ละฉบับ ให้พิมพ์ชิดขอบซ้าย ส่วนบรรทัดที่เหลือของฉบับนั้น ให้เยื้องเข้ามาทางขวา 0.5 นิ้ว และจัดข้อความแต่ละย่อหน้าแบบ justify ห้ามจัดแบบกระจายแบบไทย (Thai distribute) โดยเด็ดขาด ถ้ามี ตัวอักษรที่เป็นสัญลักษณ์หรืออักษรกรีก ให้ใช้อักษรSymbol ขนาด 10 points หรือขนาดเท่ากับตัวอักษรอื่นใน บรรทัดนั้น

การเรียงลำดับเอกสารอ้างอิง ให้เรียงลำดับเอกสารอ้างอิงที่เป็นภาษาไทยขึ้นก่อนและตามด้วยภาษาอังกฤษ หรือภาษาอื่น ๆ และไม่ต้องใส่หมายเลขหน้า ให้แสดงเฉพาะเอกสารที่นำมาอ้างอิงในเนื้อเรื่องเท่านั้น ไม่ควร อ้างอิงเอกสารใด ๆ ที่ยังไม่ได้มีการตีพิมพ์ โดยเรียงลำดับดังนี้

- เอกสารอ้างอิงที่เป็นภาษาไทย ให้เรียงตามลำดับอักษรตัวแรกของชื่อ (ถ้ามีหลายคนให้เรียงไป ตามลำดับ) และตามด้วยปี พ.ศ. ที่ตีพิมพ์ (ปีเก่ามาปีใหม่สุดตามลำดับ)

- เอกสารอ้างอิงที่เป็นภาษาอังกฤษหรือภาษาอื่น ให้เรียงตามลำดับอักษรตัวแรกของชื่อสกุล(ถ้ามีหลายคนให้เรียงไปตามลำดับ) และตามด้วยปี ค.ศ. ที่ตีพิมพ์ (ปีเก่ามาปีใหม่สุดตามลำดับ)

ตัวอย่างการเขียนเอกสารอ้างอิง

สำหรับวารสาร (Periodicals) ควรเรียงลำดับ ดังนี้

- สำหรับวารสารภาษาไทยชื่อตัว ชื่อสกุล, ชื่อตัว ชื่อสกุล (ใช้ และ คั่นชื่อสุดท้าย) ปี พ.ศ. ชื่อเรื่อง. ชื่อวารสาร (ใช้ชื่อย่อถ้ามี). ปีที่ : หน้า.

- สำหรับวารสารภาษาอังกฤษหรือภาษาอื่น ชื่อสกุล, อักษรตัวแรกของชื่อแรก.ชื่อกลาง., อักษรตัวแรกของชื่อแรก.ชื่อกลาง ชื่อสกุล. (ใช้ and คั่นชื่อสุดท้าย) ปี ค.ศ. ชื่อเรื่อง. ชื่อวารสาร (ใช้ชื่อย่อถ้ามี). ปีที่ : หน้า.

สำหรับตำรา (Text books) ควรเรียงลำดับดังนี้

ชื่อตัว ชื่อสกุล, ชื่อตัว ชื่อสกุล (ใช้ และ คั่นชื่อสุดท้าย) ปี พ.ศ. (ค.ศ.). ชื่อหนังสือสำนักพิมพ์. เมืองที่พิมพ์. หน้า.

สำหรับเอกสารประกอบรายงาน (Reports and Proceedings) ควรเรียงลำดับดังนี้

ชื่อตัว ชื่อสกุล ปี พ.ศ. (ค.ศ.). ชื่อเรื่อง. ชื่อรายงานหรือการประชุม. สถานที่. หน้า.

ภาพประกอบ : ควรมีลักษณะดังนี้

ภาพถ่าย ควรเป็นภาพขาว-ดำ ใช้ขนาดภาพไม่เกิน 6 x 9 นิ้ว หรือเท่าตัวจริง ให้แทรกภาพลงในไฟล์โดยตรง ภาพที่แทรกควรมีความคมชัดสูง ความสว่างและคอนทราสต์พอเหมาะภาพเขียน เขียนด้วยหมึกสีดำ ควรเขียนตัวหนังสือด้วย Lettering guide หรือ Letter press และแทรกภาพลงในไฟล์โดยตรง การแทรกภาพควรมีการจัดรูปแบบภาพ (Format picture) ดังนี้ รูปแบบ (Layout), ลักษณะการตัดคำ (Wrapping style), แบบข้างหลังข้อความ (Behind text)

การเขียนคำไทยเป็นภาษาอังกฤษหรืออักษรโรมัน : ให้ใช้ระบบของราชบัณฑิตยสถาน

การพิมพ์เครื่องหมายองศา : ให้พิมพ์โดย กด Alt+0176 จะได้เครื่องหมายองศา

ส่งต้นฉบับมาที่

กองบรรณาธิการวารสารวิทยาศาสตร์

คณะวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยี

มหาวิทยาลัยราชภัฏพระนคร

เลขที่ 9 ถนนแจ้งวัฒนะ เขตบางเขน กรุงเทพมหานคร 10220

E-mail : pnrscience@gmail.com

อภิสิทธิ์นาการสำหรับผู้เขียน

เรื่องที่ได้รับการตีพิมพ์ ผู้เขียนจะได้รับวารสารฉบับนั้น 1 เล่ม



วารสารวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยี มหาวิทยาลัยราชภัฏพระนคร

Journal of Science & Technology Phranakhon Rajabhat University

อิทธิพลของพื้นที่ปลูกและอายุของไรโซมต่อความผันแปรของปริมาณสาร 1- Acetoxychavicol Acetate (ACA) ภายในไรโซมช่ คองเอก ศิริงาม ธรรมศักดิ์ ทองเกตุ สรัญญา วัชรโรทัย และเฉลิมพล เกิดมณี.....	1
การสกัด การวิเคราะห์องค์ประกอบทางเคมีและการประยุกต์ใช้น้ำมันหอมระเหยจากดอกปีบ พนิดา แสนประกอบ และสี้อกัญญา จารุพินทุโสภณ.....	16
การพัฒนาเว็บระบบการสมัครสอบการวัดความรู้ทางคอมพิวเตอร์และภาษาอังกฤษของนักศึกษาระดับปริญญาโท ของโครงการบัณฑิตศึกษา มหาวิทยาลัยราชภัฏพระนคร วาสนา เสนาะ และธรรณกร รัตนธรรมมา.....	25
ผลของสารให้ความคงตัวต่อคุณภาพไอศกรีมโยเกิร์ตสตอเบอรี่ สุจิตรา ทิมทวด และ ชนิษฐา อัมอารีย์.....	32
การต้านอนุมูลอิสระจากแก่นสีเสียด อรพรรณ อนุรักษ์วรกุล.....	39
A modified DNA extraction protocol for PCR-RAPD analysis of Durian (<i>Durio zibethinus</i> Murr.) Ongkarn Vanijajiva.....	46
Measurement of the Verdet Constant by using ellipsometry technique Suebtarkul Suchat, Paiboon Viriyavathana, Pairote Jaideaw, Nichapa Haisirikul, Warunee Kerdsang, Suthee Petcharavut and Phattaradet phattaranachit.....	57
บทแนะนำและวิจารณ์หนังสือ Bergey's Manual of Systematic Bacteriology กนกกร ลินมา และขวัญชัย คูเจริญไพศาล.....	63