

เจ้าของ	คณะวิทยาศาสตร์ มหาวิทยาลัยบูรพา	
สำนักงาน	คณะวิทยาศาสตร์ มหาวิทยาลัยบูรพา ถ.ลงหาดบางแสน ต.แสนสุข อ.เมือง จ.ชลบุรี 20131 โทร. 0-3810-3042 โทรสาร. 0-3839-4480	
บรรณาธิการที่ปรึกษา	ศ.นพ.สมพล พงศ์ไทย ศ.ดร.สุชาติ อุปถัมภ์ ศ.ดร.ธีรวุฒิ บุญยโสภณ ศ.ดร.วิชัย ธีวตระกูล Prof.Dr. Frederick W.H. Beamish	รศ.ดร.เสรี ชัดรัมย์ ผศ.ดร.พิชาญ สว่างวงศ์ ผศ.ดร.สมถวิล จริตควร ผศ.ดร.อุษาวดี ตันติวานุรักษ์
ผู้เชี่ยวชาญภายนอกสถาบัน	ศ.นพ.เรื่อน สมณะ ศ.ดร.ชิตชนก เหลือสินทรัพย์ ศ.ดร.สมพงษ์ ธรรมพงษา ศ.ดร.สุทัศน์ ยกส้าน ศ.ดร.เปี่ยมศักดิ์ เมนะเศวต ศ.ดร.สมศักดิ์ พันธุ์วัฒนา ศ.ดร.สมศักดิ์ ปัญหา ศ.ดร.วิเชียร เลหาทโกศล รศ.ดร.โกสุม จันทร์ศิริ	รศ.ดร.วิทยา เรืองพรวิสุทธิ์ รศ.ดร.วิเชียร มากตุ่น รศ.ดร.จินตนา จิรถาวร รศ.ดร.ดุขมู อุดภาพ รศ.ดร.วิไล รังสาดทอง ผศ.ดร.ธรรมศักดิ์ ยี่มิน ดร.ปาหนัน เรืองสำราญ ดร.สุรพล ภัทรนคร
บรรณาธิการ	รศ.ดร.วิภูษิต มั่นชะจิตร	
ผู้ช่วยบรรณาธิการ	ผศ.ดร.ศิริโฉม พุงเกล้า ผศ.ดร.เอกรัฐ ศรีสุข ดร.เอกพงษ์ สุวัฒน์มาลา	ผศ.จักรพันธ์ ถาวรธิดา ดร.อโนชา สุขสมบูรณ์
กองบรรณาธิการ	ผศ.ดร.คณินทร์ ธีรภาพโอฬาร ผศ.ดร.กล่าวขวัญ ศรีสุข ผศ.ดร.วิสาตรี คงเจริญสุนทร ผศ.ดร.สุวรรณา ภาณุตระกูล ผศ.ดร.อรสา สุริยาพันธ์ ผศ.ดร.อนุเทพ ภาสุระ ผศ.นवलศรี เด่นวัฒนา ดร.นิตยา ไชยเนตร	ดร.อาดุลย์ มีพูล ดร.พรเพ็ญ อาทรกิจวัฒน์ ดร.อารีรักษ์ ชัยวร อาจารย์กันทิมา อ่อนละออ อาจารย์อติดา อ่อนเอื้อน อาจารย์ประจักษ์ จิตเงินมะตัน นางรังสิมา สุตรอนันต์
กำหนดออก	ปีละ 2 ฉบับ ฉบับที่ 1 (มกราคม-มิถุนายน) ฉบับที่ 2 (กรกฎาคม-ธันวาคม)	
ทุนอุดหนุน	ได้รับทุนอุดหนุนจากงบประมาณเงินรายได้ คณะวิทยาศาสตร์ มหาวิทยาลัยบูรพา	
การเผยแพร่	แจกฟรีให้กับสถาบันการศึกษาต่างๆ ในประเทศไทย และผู้ที่สนใจ	
พิมพ์ที่	ชลบุรีการพิมพ์ โทร. 0-3827-4991, 0-3828-2370 โทรสาร. 0-3827-2732	

บรรณาธิการแถลง

วารสารวิทยาศาสตร์บูรพาฉบับนี้เป็นปีที่ 16 ฉบับที่ 2 ฉบับนี้รักษาเวลาการตีพิมพ์ได้ตามกำหนด ทางกองบรรณาธิการใคร่ขอขอบคุณ กรรมการผู้ประเมินและผู้ส่งผลงาน ที่ตรวจและแก้ไขบทความได้ตามกำหนดเวลา สำหรับปัจจุบันวารสารวิทยาศาสตร์บูรพาได้ดำเนินการเผยแพร่ผ่านทาง Internet เรียบร้อยแล้ว ซึ่งต้องขอขอบคุณกรรมการที่ดูแลทางด้าน IT ที่พัฒนาจนระบบสามารถดำเนินการได้ในปัจจุบัน ทั้งนี้ผู้สนใจสามารถเข้าใช้ได้ทั้งที่ <http://www.sci.buu.ac.th/ebooks/> โดยสามารถดู หรือ Download ได้อย่างสะดวก การดำเนินงานนี้ส่วนหนึ่งเพื่อเป็นการรองรับการเชื่อมต่อไปสู่ระบบฐานข้อมูลวารสารในประเทศและในกลุ่มประเทศอาเซียน ดังนั้นอนาคตเรื่องที่ตีพิมพ์จะใช้ภาษาสากลมากขึ้น กระผมจึงใคร่ขอเชิญชวนทุกท่านให้ส่งผลงานเป็นภาษาอังกฤษ

ท้ายนี้กระผมและทีมงานขอกราบขอบคุณที่ปรึกษา กรรมการ และท่านกรรมการผู้ตรวจประเมินทุกท่าน ที่ให้ความอนุเคราะห์ และหวังว่าทางวารสารฯ จะได้รับความอนุเคราะห์ที่ดีต่อไป

วิภูษิต มัณฑะจิตร

บรรณาธิการ

การตายของหอยมุกกัลปังหา (*Pteria penguin*, Roding, 1798) จากการติดแกนมุกและวิธีการเลี้ยง
Mortality of Winged Pearl Oysters, *Pteria penguin* (Roding, 1798)
Caused by Nucleation and Rearing

กรรณิการ์ กาญจนชาติตรี^{1*} กนกธร ปิยธำรงรัตน์² ละม้าย ทองบุญ³ และ จิตติ อินทรเจริญ⁴

¹ คณะเทคโนโลยีและสิ่งแวดล้อม มหาวิทยาลัยสงขลานครินทร์ วิทยาเขตภูเก็ต

^{2,3} คณะวิทยาศาสตร์ มหาวิทยาลัยสงขลานครินทร์ วิทยาเขตหาดใหญ่

⁴ บริษัทภูเก็ตเพิร์ลอินดัสทรี

Kannika Kanjanachatree^{1*}, Kanoktorn Piyathamrongrut², Lamy Thongboon³ and Jitti Inthoncharoen⁴

¹ Faculty of Technology and Environment, Prince of Songkla University, Phuket Campus

^{2,3} Faculty of Science, Prince of Songkla University, Hat Yai Campus

⁴ Phuket Pearl Industry, Co. Ltd.

บทคัดย่อ

สาเหตุการตายของหอยมุกกัลปังหาต้องศึกษาหลายๆ สาเหตุด้วยกันเพื่อป้องกันสาเหตุที่แน่นอน จากการทดลองใช้หอยมุกกัลปังหาจำนวน 2,400 ตัวบริเวณอ่าวสะป่า จังหวัดภูเก็ต ในปี 2550 สาเหตุแรกการตายของหอยมุกจากการใส่แกนมุกโดยแบ่งออกเป็น 2 ปัจจัยปัจจัยแรกหอยมุกที่ตายจากการใส่แกนมุกมีขนาดต่างกันคือขนาด 10 มม. และ 18 มม. พบว่าอัตราการตายเฉลี่ยเป็น 63.17% และ 69.17% ผลผลิตมุกที่ได้เฉลี่ยเป็น 36.83% และ 30.83% ตามลำดับ ปัจจัยที่สองหอยมุกที่ตายจากการติดแกนมุกจำนวนต่างกันคือติดแกนมุกขนาด 10 มม. ตัวละ 1 แกน ตัวละ 2 แกน (ติดฝาละ 1 แกน) และตัวละ 4 แกน (ติดฝาละ 2 แกน) พบมีอัตราการตายเฉลี่ยเป็น 63.16%, 64.66% และ 68.83% ผลผลิตมุกที่ได้เป็น 36.83% 70.60% และ 124.62% ตามลำดับ ส่วนสาเหตุที่ 2 ศึกษาสาเหตุการตายของหอยมุกกัลปังหาจากวิธีการเลี้ยงหอยมุก พบว่าการเลี้ยงโดยการแขวนหอยมุก 5 ตัว 8 ตัวด้วยเชือก และเลี้ยงในกะบะเหล็กพบอัตราการตายเฉลี่ยเป็น 56.87% 62.00% และ 79.37% ได้ผลผลิตมุกเฉลี่ย 86.87% 70.62% และ 41.25% ตามลำดับ แต่อย่างไรก็ตามขนาดของแกนมุกไม่มีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติที่ระดับความเชื่อมั่น 95% ($P > 0.05$)

คำสำคัญ : หอยมุกกัลปังหา วิธีการเลี้ยงหอยมุก การติดแกนมุก อัตราการตายของหอยมุก

*Corresponding author. E-mail: kanika.k@phuket.psu.ac.th

Abstract

Factors affecting mortality of Winged pearl oysters, *Pteria penguin* (Roding, 1798) were studied in order to clarify the certain causes by rearing the 2,400 Winged pearl oysters in Sapam Bay Phuket 2007. Firstly, two effects of the oysters' nucleation were investigated: nucleus size and nucleus number. Comparing between nucleus sizes of 10 mm. and 18 mm., the mortality rates were 63.17% and 69.17% while obtained pearl productivity were 36.83% and 30.83%, respectively. According to the inserted number of 10 mm. nuclei, the pearl oysters were nucleated with 1, 2 (one for each shell side) and 4 nuclei (two for each side). The results showed that the mortality rates were 63.16%, 64.66% and 68.83% while pearl productivity were 36.83%, 70.60% and 124.62, respectively. Further effects that caused the oysters' death were rearing methods: the oyster suspension with strings and rearing in the iron tray. The resulted mortality rates of the pearl oysters were 56.87%, 62.00% and 79.37% while pearl productivity were 86.87%, 70.62% and 41.25%, respectively. However, the nuclei diameters were not significantly different ($P > 0.05$)

Keywords : Winged pearl oysters, *Pteria penguin* (Roding, 1798) rearing, nucleation and mortality of Winged pearl oysters

บทนำ

มุกเลี้ยงเป็นมุกที่เกิดจากการผสมผสานระหว่างความคิดริเริ่มของมนุษย์กับตัวหอยจนทำให้เกิดอัญมณีมีค่าขึ้นในท้องทะเล หอยมุกกัลปังหาเป็นหอยมุกที่ผลิตมุกซีกหรือเรียกมุกมาเบ้ (Mabe) เป็นมุกที่มีการพัฒนาเทคนิคจากประเทศจีนเมื่อสองพันปีมาแล้ว (Dan, 2003) ซึ่งปัจจุบันคนไทยสามารถผลิตได้เองหลายรูปแบบ โดยไม่ต้องอาศัยผู้เชี่ยวชาญจากต่างประเทศเหมือนการผลิตมุกกลม แกนมุกซีกสามารถกำหนดขนาดและออกแบบได้ตามความเหมาะสม ส่วนใหญ่มีขนาดเส้นผ่าศูนย์กลาง 10-13 มม. สูง 7-9 มม. จัดเป็นปัจจัยสำคัญของต้นทุนการผลิตมุกเพราะแกนมุกอาจจะร่วงหล่นลงทะเลทำให้สูญหายได้ในระหว่างที่เลี้ยงหอย และหากใช้ชนิดของแกนมุก ขนาดและจำนวนที่ไม่เหมาะสมกับตัวหอยมีผลทำให้หอยตายได้ (Knuuer & Taylor, 2002) ซึ่งสอดคล้องกับการศึกษาของกรรณิการ์ กาญจนชาติ และคณะ (2550) พบว่าหอยที่ฝังแกนมุกที่ทำจากเปลือกของหอยมุกแกลบ มีอัตราการรอดสูงที่สุดคือ 47% ไม่ยอมรับแกนมุกเพียง 8% และเก็บผลผลิตได้ 31% ในขณะที่หอยที่ฝังแกนมุกที่ทำจากเปลือกของหอยมุกงานเป็น 38%, 17.5% และ 14% ตามลำดับ เพราะแกนมุกจากเปลือกหอยมุกแกลบมีขนาดเล็กทำให้เกิดการระคายเคืองน้อย มีผลให้การไม่ยอมรับแกนมุกต่ำจึงทำให้อัตรารอดและผลผลิตสูงด้วยถึงแม้มุกที่ได้จะมีขนาดเล็กเมื่อเปรียบเทียบกับแกนมุกชนิดอื่นๆ ในขณะที่แกนมุกจากเปลือกหอยมุกงานซึ่งมีขนาดใหญ่ที่สุดย่อมทำให้หอยระคายเคืองมาก การไม่ยอมรับแกนมุกจึงเกิดขึ้นมากด้วยและส่งผลให้หอยมุกตายในเวลาต่อมา นอกจากนี้กรรณิการ์ กาญจนชาติ และคณะ (2546) ได้รายงานถึงสาเหตุการตายจากการเลี้ยงหอยมุกกัลปังหาพบว่าทั้งขนาดของหอยมุก ความลึกของระดับน้ำทะเลและสิ่งมีชีวิตอื่นที่เกาะเปลือกหอย (fouling organisms) มีผลต่อการสร้างชั้นมุกและอัตราการตายของหอยเพราะเกี่ยวข้องโดยตรงกับปริมาณแสงและการเกิดอาหารธรรมชาติ จึงเห็นได้ว่าปัจจัยเหล่านี้ล้วนเป็นสาเหตุให้หอยมุกตายได้ทั้งสิ้น แม้แต่การใช้สารสลบกับหอยมุก *P. margaritifera*, *P. albina*, *P. fucata* ในกระบวนการการผลิตมุกก็มีผลให้หอยมุกตายเช่นกันแต่หากพ้นระยะเวลา 7 วัน อัตราการตายก็จะลดลง (กรรณิการ์ กาญจนชาติ และคณะ, 2549; Acosta-Salmon & Southgate, 2005) ดังนั้นจุดประสงค์ของการทดลองในครั้งนี้เพื่อหาสาเหตุการตายของหอยมุกกัลปังหาจากการติดแกนมุกที่ขนาดและจำนวนต่างกันเปรียบเทียบกับวิธีเลี้ยงในกะบะเหล็กและการแขวนด้วยเชือก

การเลี้ยงหอยมุก

การเลี้ยงหอยมุกที่นิยมมี 2 วิธี ดังนี้

การเลี้ยงในตะกร้าลวด (wire basket) มีหลายแบบด้วยกัน ตะกร้าอาจทำด้วยลวดเป็นตาข่ายชั้นเดียว ขนาด 15x20 นิ้ว หรือทำด้วยเชือกหรือไม้ไผ่ สำหรับตะกร้าลวดที่ใช้ในปัจจุบันนั้นบรรจุหอยมุกได้ประมาณ 12-20 ตัว หรืออาจจะมากกว่านี้ขึ้นอยู่กับคุณภาพแหล่งน้ำ ในการเลี้ยงหอยมุกงาน (*Pinctada maxima*) โดยให้มีความหนาแน่น 28 ตัว/ตะกร้า และ 48 ตัว/ตะกร้า เลี้ยงเป็นระยะเวลา 6 สัปดาห์ เปรียบเทียบการเจริญเติบโตและอัตราการรอด พบว่าที่ความหนาแน่น 28 ตัว/ตะกร้า มีอัตราการรอดเป็น 99% ส่วนที่ความหนาแน่น 48 ตัว/ตะกร้า มีอัตราการรอดสูงเช่นกัน คือ 94.8% แต่แบบแรกจะมีการเจริญเติบโตที่ดีกว่า (Taylor, et.al., 1997)

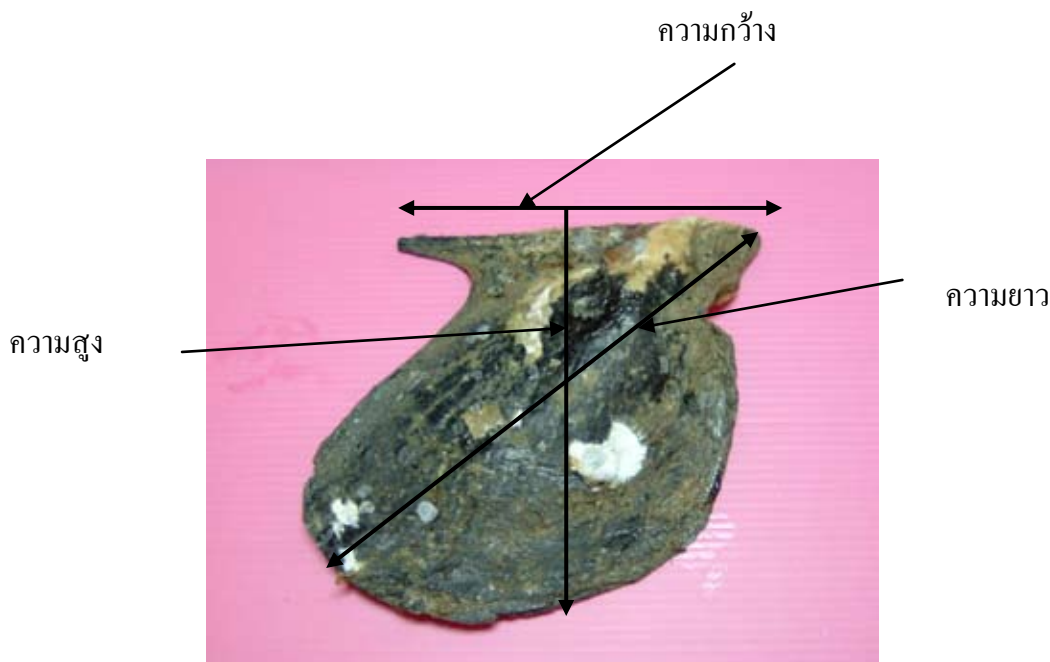
การเลี้ยงโดยวิธีการแขวนอิสระ (free suspension) โดยใช้ด้ายไนลอนร้อยผ่านรูเล็กๆ ของเปลือกแต่ละตัว แล้วผูกติดกับเชือกยาวประมาณ 200 ฟุต จากนั้นนำไปแขวนกับแพไม้ ซึ่งลอยอยู่บนผิวน้ำโดยตรง ทำให้สามารถเคลื่อนไปตามจังหวะคลื่นลมได้ดี วิธีนี้ได้รับความนิยมมาก เพราะหอยมุกเจริญเติบโตได้รวดเร็วกว่าวิธีแรก เนื่องจากได้รับอาหารมากกว่า แต่มีข้อเสีย คือ เปิดโอกาสให้ศัตรูหอยเข้าถึงได้ง่าย (กรรณิการ์ กาญจนชาติ และคณะ, 2546)

การติดแกนมุก

นำหอยมุกกัลปังหาใส่ภาชนะแห้งไว้ในที่ร่ม ปล่อยให้ถูกอากาศเป็นเวลา 30 นาที หรือให้น้ำไหลผ่านตลอดเวลา หอยจะเริ่มอ้าปาก และทันทีที่หอยอ้าปากก็จะเสียบลิ้มไม้ขนาดเล็กสอดจางไว้ นำหอยทั้งหมดที่เตรียมไว้มาติดแกนมุกที่ด้านในของเปลือกด้านใดด้านหนึ่งหรือทั้งสองด้านบริเวณที่ใกล้กับกล้ามเนื้อ adductor แต่อย่าให้ใกล้บานพับ (hinge) ของเปลือกมากเกินไป (Ruiz-Rubio et al., 2006) ติดด้วยกาวชนิดพิเศษ Acosta-Salmon et al (2005) กล่าวว่าถ้ากาวมีส่วนผสมของ cyanoacrylate จะทำให้แกนมุกติดแน่นขึ้น กันน้ำได้ดีและทำให้หอยมุกระคายเคืองน้อยที่สุด ซึ่งอาจส่งผลถึงอัตราการรอดของหอย หอยมุกที่ติดแกนมุกแล้วนำมาพักและเลี้ยงในทะเลด้วยวิธีการแขวนเลี้ยงอิสระ (free suspension) โดยใช้เชือกไนลอนร้อยผ่านรูเล็กๆ ของเปลือกทีละตัว ติดป้ายบันทึกข้อมูลวัน เดือน ปี

วัตถุประสงค์และวิธีการวิจัย

ศึกษาสาเหตุการตายของหอยมุกกัลปังหา



ภาพที่ 1 การวัดขนาดของหอยมุกกัลปังหา

1. สาเหตุจากแกนมุก

นำหอยมุกกัลปังหาความยาวเปลือก 150-160 มิลลิเมตร (มม.) ความกว้าง 100-110 มม. และความสูง 120-130 มม. (ภาพที่ 1) จำนวน 2,400 ตัว

1.1 ศึกษาขนาดของแกนมุก (กลุ่ม A)

นำหอยมุก 1,200 ตัว ใส่แกนมุกซึ่งทำด้วยเรซินขนาด 10 มม. จำนวน 600 ตัว (กลุ่มควบคุม) เปรียบเทียบกับหอยมุกที่ใส่แกนมุกขนาด 18 มม. จำนวน 600 ตัว

1.2 ศึกษาจำนวนของแกนมุก (กลุ่ม B)

นำหอยมุก 1,200 ตัว ใส่แกนมุกขนาด 10 มม. จำนวน 600 ตัวโดยใส่แกนมุกฝาละ 1 แกน บริเวณกล้ามเนื้อ adductor รวม 2 แกน/ตัว (กลุ่มควบคุม) เปรียบเทียบกับหอยมุกที่ใส่แกนมุกขนาด 10 มม. จำนวน 600 ตัว โดยใส่แกนมุกฝาละ 2 แกน บริเวณกล้ามเนื้อ adductor รวม 4 แกน/ตัว

2. สาเหตุจากวิธีการเลี้ยงหอยมุก

นำหอยที่ติดแกนมุกแต่ละชนิดเลี้ยงด้วยวิธีที่แตกต่างกัน โดยแบ่งเป็น

2.1 การเลี้ยงหอยแบบแขวน 8 ตัว ต่อเชือก 1 เส้น

กลุ่มที่ 1 แขนหอย 8 ตัวต่อเชือก 1 เส้น ทั้งหมด 25 เส้น เป็นหอยที่ติดแกนมุกขนาด 10 มม. จำนวน 200 ตัว (กลุ่ม A) กลุ่มที่ 2 แขนหอย 8 ตัวต่อเชือก 1 เส้น ทั้งหมด 25 เส้น เป็นหอยที่ติดแกนมุกขนาด 18 มม. จำนวน 200 ตัว (กลุ่ม B)

A) กลุ่มที่ 3 แขนหอย 8 ตัวต่อเชือก 1 เส้น ทั้งหมด 25 เส้น เป็นหอยที่ติดแกนมุกขนาด 10 มม. และติดแกนมุก 2 เม็ด/ตัว จำนวน 200 ตัว (กลุ่ม B) กลุ่มที่ 4 แขนหอย 8 ตัวต่อเชือก 1 เส้น ทั้งหมด 25 เส้น เป็นหอยที่ติดแกนมุกขนาด 10 มม. และติดแกนมุก 4 แกน/ตัว จำนวน 200 ตัว (กลุ่ม B)

2.2 การเลี้ยงหอยแบบแขวน 5 ตัวต่อเชือก 1 เส้น (กลุ่มควบคุม)

กลุ่มที่ 1 แขนหอย 5 ตัวต่อเชือก 1 เส้น ทั้งหมด 40 เส้น เป็นหอยที่ติดแกนมุกขนาด 10 มม. จำนวน 200 ตัว (กลุ่ม A) กลุ่มที่ 2 แขนหอย 5 ตัวต่อเชือก 1 เส้น ทั้งหมด 40 เส้น เป็นหอยที่ติดแกนมุกขนาด 18 มม. จำนวน 200 ตัว (กลุ่ม A) กลุ่มที่ 3 แขนหอย 5 ตัวต่อเชือก 1 เส้น ทั้งหมด 40 เส้น เป็นหอยที่ติดแกนมุกขนาด 10 มม. และติดแกนมุก 2 แกน/ตัว จำนวน 200 ตัว (กลุ่ม B) กลุ่มที่ 4 แขนหอย 5 ตัวต่อเชือก 1 เส้น ทั้งหมด 40 เส้น เป็นหอยที่ติดแกนมุกขนาด 10 มม. และติดแกนมุก 4 แกน/ตัว จำนวน 200 ตัว (กลุ่ม B)

2.3 การเลี้ยงหอยในกะบะ

กะบะที่ 1 นำหอยกลุ่ม (A) ใส่ตะกร้าแล้ววางลงบน กะบะเหล็กขนาด 4x4 เมตรแบ่งออกเป็น 4 ช่อง ดังนี้ช่องที่ 1 นำหอยที่ใส่แกนมุกขนาด 10 มม. จำนวน 200 ตัว ช่องที่ 2 นำหอยที่ใส่แกนมุกขนาด 18 มม. จำนวน 200 ตัว ช่องที่ 3 นำหอยที่ใส่แกนมุกขนาด 10 มม. โดยใส่แกนมุกฝาละ 1 แกน

บริเวณกล้ามเนื้อ adductor รวม 2 แขนง/ตัว จำนวน 200 ตัว ช่องที่ 4 นำหอยที่ใส่แกนมุกขนาด 10 มม. โดยใส่แกนมุกฝาละ 2 แขนง บริเวณกล้ามเนื้อ adductor รวม 4 แขนง/ตัว จำนวน 200 ตัว กระบะที่ 2 นำหอยกลุ่ม (B) ใส่ตะกร้าแล้ววางลงบนกระบะเหล็ก ขนาด 4X4 เมตร แบ่งออกเป็น 4 ช่อง ทำเหมือนกระบะที่ 1

การทดลองเลี้ยงหอยมุกบนแพทั้งแบบแขวนและแบบเลี้ยงในกระบะบนแพ โดยให้ตัวหอยลึกกว่าระดับผิวน้ำ 2 เมตร (กรรณิการ์ กาญจนชาติรี และคณะ, 2546) บริเวณอ่าวสะพาน จังหวัดภูเก็ต ตั้งแต่เดือนสิงหาคม 2550 ถึงเดือนมิถุนายน 2551 ทำความสะอาดเปลือกหอยมุกทุก 2 สัปดาห์ เพื่อป้องกันการเกาะของสิ่งมีชีวิตอื่น

ผลการวิจัยและวิจารณ์ผล

ศึกษาสาเหตุการตายของหอยมุกกัลปังหา

1. สาเหตุจากแกนมุก

1.1 ขนาดของแกนมุก (กลุ่ม A)

การตายของหอยมุกกัลปังหาหลายสาเหตุด้วยกัน พบได้ทั้งปัจจัยจากการใส่แกนมุกในตัวหอย วิธีการเลี้ยงตลอดจนปัจจัยของสิ่งแวดล้อมบริเวณที่เลี้ยง ดังนั้นจึงจำเป็นต้องมีการศึกษาหลายๆ ปัจจัยในเวลาเดียวกัน จากตารางที่ 1 หอยมุกที่ตายจากการใส่แกนมุกที่มีขนาดต่างกันคือขนาด 10 มม. และ 18 มม. (ภาพที่ 2) พบอัตราการตายเป็น 63.17% และ 69.17% ผลผลิตมุกที่ได้เป็น 36.83% และ 30.83% ตามลำดับ



ภาพที่ 2 ก. เปรียบเทียบมุก ขนาด 10 มม. 18 มม. และ 10 มม. 2 เม็ด ข. มุกขนาด 10 มม. 2 เม็ด ค. มุกขนาด 10 มม. 1 เม็ด ง. มุกขนาด 18 มม.

ตารางที่ 1 เปรียบเทียบจำนวนหอยมุกที่ตายจากการใส่แกนมุกขนาด 10 มม. และ 18 มม. ที่เลี้ยงแบบแขวน 5 ตัว 8 ตัว และเลี้ยงในกะบะในแต่ละเดือน

ขนาดแกน	แกนขนาด 10 มม.						แกนขนาด 18 มม.					
	แขวน 5 ตัว		แขวน 8 ตัว		กะบะ		แขวน 5 ตัว		แขวน 8 ตัว		กะบะ	
จำนวนหอย/เชือก	ตาย	แกนหลุด	ตาย	แกนหลุด	ตาย	แกนหลุด	ตาย	แกนหลุด	ตาย	แกนหลุด	ตาย	แกนหลุด
เดือน												
ส.ค. 50	27	4	27	2	51	2	36	9	30	7	35	4
ก.ย. 50	16	3	9	1	14	2	17	1	16	5	15	4
ต.ค. 50	11	2	4	1	11	3	12	1	9	4	11	7
พ.ย. 50	6	0	2	0	6	0	3	2	12	4	8	1
ธ.ค. 50	2	0	2	0	2	0	7	3	3	0	2	0
ม.ค. 51	1	0	3	0	4	0	0	0	0	0	4	1
ก.พ. 51	5	1	0	0	1	1	1	0	3	0	2	0
มี.ค. 51	2	0	4	0	6	0	4	0	3	2	6	0
เม.ย. 51	2	0	1	0	52	3	7	0	5	0	5	0
พ.ค. 51	26	1	38	2	10	3	28	0	30	1	55	4
มิ.ย. 51	9	1	13	3	12	3	15	2	11	2	20	1
จำนวนหอยที่ตาย (ตัว)	107	12	103	9	169	17	130	18	122	25	163	22
รวม (ตัว)	379						415					
จำนวนมุกที่ได้ (เม็ด)	93		97		31		70		78		37	
รวม (เม็ด)	221						185					

แต่ในทางธุรกิจขนาดของมุกเป็นปัจจัยที่สร้างให้มุกมีมูลค่าเพิ่มขึ้นนั่นคือมุกขนาด 18 มม. ถึงแม้จะพบอัตราการตายของหอยสูงแต่มุกที่ได้มีมูลค่าสูงกว่ามุกขนาด 10 มม. ส่วนปัจจัยของจำนวนแกนมุก (ตารางที่ 2) ที่ติดบริเวณด้านในของเปลือกหอยพบว่าหอยมุกที่ติดแกนมุกขนาด 10 มม. ตัวละ 1 แกน ตัวละ 2 แกน (ติดฝาละ 1 แกน) และตัวละ 4 แกน (ติดฝาละ 2 แกน) มีอัตราการตายเป็น 63.16% 64.66% และ 68.83% ผลผลิตมุกที่ได้เป็น 36.83% 70.6% และ 124.62% ตามลำดับ

1.2 จำนวนของแกนมุกขนาด 10 มม. (กลุ่ม B)

หอยมุก 1 ตัว ที่ติดแกนมุกจำนวน 4 แกนพบอัตราการตายสูงสุดแต่ก็สามารถผลิตเม็ดมุกได้สูงสุดเช่นกัน (ภาพที่ 3) ซึ่งสอดคล้องกับรายงานของ Ruiz-Rubio *et al* (2006) กล่าวว่า การใส่แกนมุกในหอยสายพันธุ์ *Pteria* sp. โดยทั่วไปใส่ได้ 3 แกน คือบริเวณฝาเปลือกด้านล่าง 2 แกน และฝาเปลือกด้านบน 1 แกน แต่ถ้าเป็นหอยสายพันธุ์ *Pinctada* เช่น *Pinctada margaritifera*

และ *albina* สามารถใส่แกนมุกได้ถึง 4-5 แกน ในขณะที่หอยมุกขนาดใหญ่เช่นหอยมุกจาก *P. maxima* สามารถใส่แกนมุกได้ถึง 7 แกน (Southgate *et al.*, 2006) จากการทดลองพบว่าทั้งขนาดและจำนวนของแกนมุกมีผลต่อการตายของหอยมุก ขณะเดียวกันในทางธุรกิจก็สามารถเพิ่มมูลค่ามุกได้ด้วยหากเลือกใช้ขนาดและจำนวนที่เหมาะสมกับหอยมุกซึ่ง Strack (2006) กล่าวว่า การประเมินคุณค่าของมุกแตกต่างจากเพชรและอัญมณีอื่นๆ โดยทั่วไปกำหนดคุณค่าของมุกเป็นเกรด (grade) ไว้ 5 อย่างคือขนาด รูปร่าง สี ความแวววาว และผิวของชั้นมุกนั่นคือถ้ามุกมีขนาดใหญ่ รูปร่างกลมจะมีคุณค่ากว่ามุกซีก มุกผิวเรียบและแวววาวจะมีคุณค่ามากที่สุด ส่วนสีของมุกขึ้นอยู่กับชนิดของหอยมุก เช่น มุกตาฮิติ (Tahitian) เรียกมุกดำจากทะเลใต้ (Black South Sea pearls) มีสีม่วง สีเขียวหรือสีชมพูซึ่งได้จากหอยมุก *P. margaritifera* มีคุณค่าและราคาสูงกว่ามุกที่มีสีเทาหรือสีน้ำตาล ส่วนมุกขาวจากทะเลใต้ (White South Sea pearls)

ตารางที่ 2 เปรียบเทียบจำนวนหอยมุกที่ตายจากการใส่แกนมุกขนาด 10 มม. โดยหอยมุก 1 ตัวต่อ 1 แกน หอยมุก 1 ตัวต่อ 2 แกน และหอยมุก 1 ตัวต่อ 4 แกน ที่เลี้ยงแบบแขวน 5 ตัว 8 ตัว และเลี้ยงในกะบะ ในแต่ละเดือน

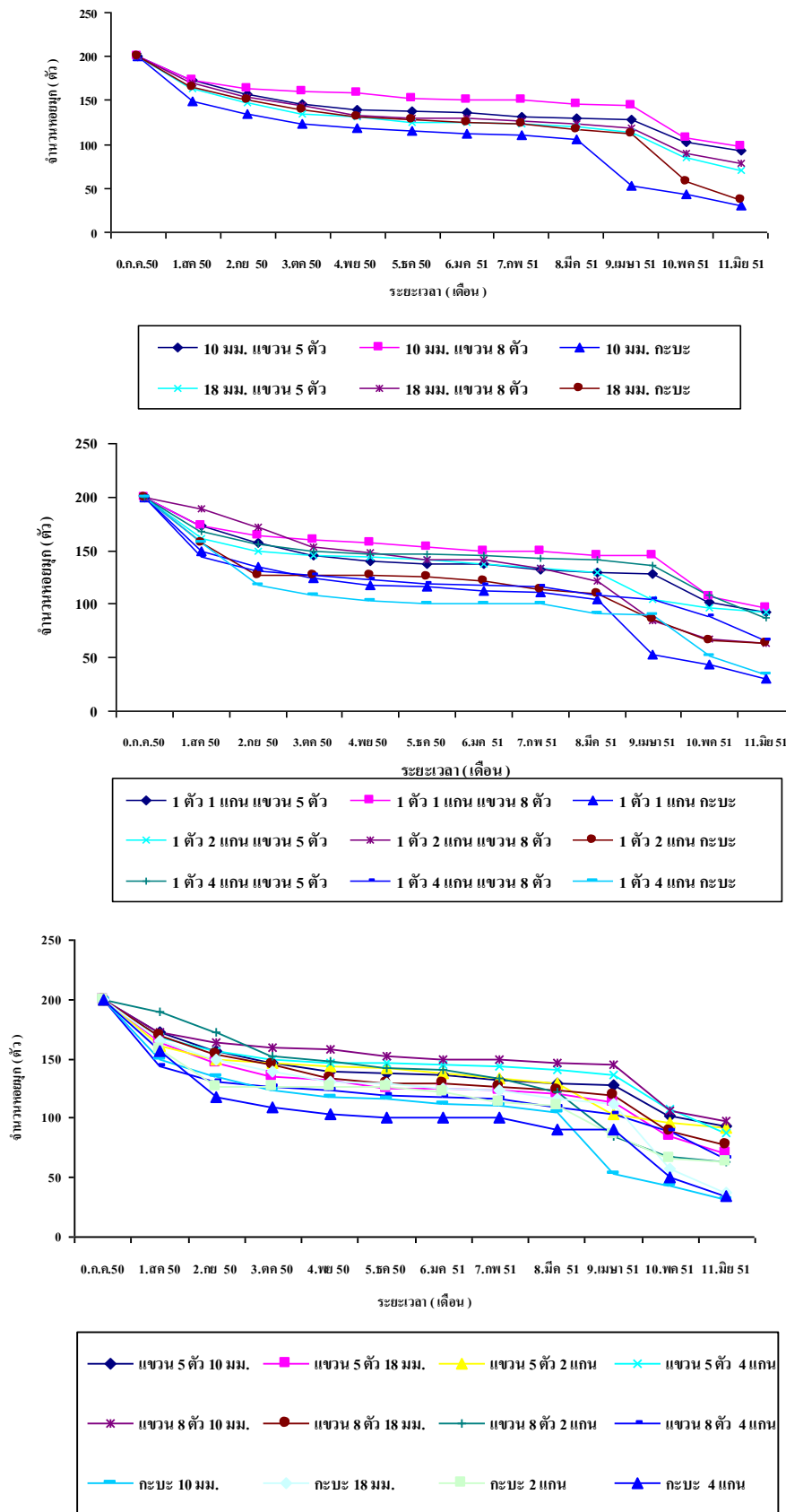
จำนวนแกน	1 ตัว 1 แกน						1 ตัว 2 แกน						1 ตัว 4 แกน					
	แขวน 5 ตัว /เชือก		แขวน 8 ตัว /เชือก		กะบะ		แขวน 5 ตัว /เชือก		แขวน 8 ตัว /เชือก		กะบะ		แขวน 5 ตัว /เชือก		แขวน 8 ตัว /เชือก		กะบะ	
เดือน	ตาย	แกนหลุด	ตาย	แกนหลุด	ตาย	แกนหลุด	ตาย	แกนหลุด	ตาย	แกนหลุด	ตาย	แกนหลุด	ตาย	แกนหลุด	ตาย	แกนหลุด	ตาย	แกนหลุด
ส.ค. 50	27	4	27	2	51	2	39	4	11	7	42	2	32	22	56	18	43	14
ก.ย. 50	16	3	9	1	14	2	11	0	17	4	31	2	12	0	13	3	39	20
ต.ค. 50	11	2	4	1	11	3	4	0	19	0	0	0	7	1	4	0	9	8
พ.ย. 50	6	0	2	0	6	0	2	0	5	14	0	1	2	9	4	4	6	1
ธ.ค. 50	2	0	2	0	2	0	2	0	6	16	1	4	0	1	4	0	3	0
ม.ค. 51	1	0	3	0	4	0	4	0	1	8	4	0	5	1	1	0	0	0
ก.พ. 51	5	1	0	0	1	1	4	2	8	8	8	0	2	1	2	0	0	0
มี.ค. 51	2	0	4	0	6	0	5	12	11	3	4	1	2	4	7	0	9	10
เม.ย. 51	2	0	1	0	52	3	25	2	37	5	24	0	5	5	5	0	1	0
พ.ค. 51	26	1	38	2	10	3	8	13	17	4	20	2	28	6	15	3	39	16
มิ.ย. 51	9	1	13	3	12	3	4	6	5	6	9	3	18	2	23	0	17	5
จำนวนหอยที่ตาย (ตัว)	107	12	103	9	169	17	108	39	137	75	143	15	113	52	134	28	166	74
รวม (ตัว)	379						388						413					
จำนวนมุกที่ได้ (เม็ด)	93		97		31		184		126		114		348		264		136	
รวม (เม็ด)	221						336						748					



ภาพที่ 3 ก. การติดแกนมุก 4 แกน พบการขับแกนมุกทิ้ง 1 แกน และไม่เคยล้อมมุก ข. การติดแกนมุก 4 แกน พบการขับแกนมุกทิ้ง 1 แกน และไม่เคยล้อมมุก

ตารางที่ 3 เปรียบเทียบจำนวนหอยมุกที่ตายจากการเลี้ยงแบบแขวน 5 ตัว 8 ตัว และเลี้ยงในกะบะกับขนาดและจำนวนของแกนมุกที่ต่างกันในแต่ละเดือน

วิธีการเลี้ยง	แขวน 5 ตัว / เชือก						แขวน 8 ตัว / เชือก						กะบะ													
	10 มม.		18 มม.		2 แกน		4 แกน		10 มม.		18 มม.		2 แกน		4 แกน		10 มม.		18 มม.		2 แกน		4 แกน			
	ตาย	แกนหลุด	ตาย	แกนหลุด	ตาย	แกนหลุด	ตาย	แกนหลุด	ตาย	แกนหลุด	ตาย	แกนหลุด	ตาย	แกนหลุด	ตาย	แกนหลุด	ตาย	แกนหลุด	ตาย	แกนหลุด	ตาย	แกนหลุด	ตาย	แกนหลุด		
เดือน																										
ส.ค. 50	27	4	36	9	39	4	32	22	2	27	2	30	7	11	7	56	18	51	2	35	4	11	2	43	14	
ก.ย. 50	16	3	17	1	11	0	12	0	1	9	1	16	5	17	4	13	3	14	2	15	4	17	2	39	20	
ต.ค. 50	11	2	12	1	4	0	7	1	1	4	1	9	4	19	0	4	0	11	3	11	7	19	0	9	8	
พ.ย. 50	6	0	3	2	2	0	2	0	2	0	12	4	5	14	4	4	4	6	0	8	1	5	1	6	1	
ธ.ค. 50	2	0	7	3	2	0	0	1	2	0	3	0	6	16	4	0	2	0	2	0	2	0	6	4	3	0
ม.ค. 51	1	0	0	0	4	0	5	1	3	0	0	0	1	8	1	0	4	0	4	1	1	1	0	0	0	
ก.พ. 51	5	1	1	0	4	2	2	1	0	0	3	0	8	8	2	0	1	1	2	0	8	0	0	0	0	
มี.ค. 51	2	0	4	0	5	12	2	4	4	0	3	2	11	3	7	0	6	0	6	0	11	1	1	9	10	
เม.ย. 51	2	0	7	0	25	2	5	5	1	0	5	0	37	5	5	0	52	3	5	0	37	0	1	0	0	
พ.ค. 51	26	1	28	0	8	13	28	6	38	2	30	1	17	4	15	3	10	3	55	4	17	2	39	16		
มิ.ย. 51	9	1	15	2	4	6	18	2	13	3	11	2	5	6	23	0	12	3	20	1	5	3	17	5		
จำนวนหอยที่ตาย (ตัว)	107	12	130	18	108	39	113	52	103	9	122	25	137	75	134	28	169	17	163	22	137	15	166	74		
รวม (ตัว)	455						496						635													
จำนวนมุกที่ได้ (เม็ด)	93	70	184	348	97	78	126	264	31	37	126	31	37	126	136	330										
รวม (เม็ด)	695						565						330													



ภาพที่ 4 เปรียบการตายของหอยมุกจากขนาด จำนวนของแกนมุกและวิธีการเลี้ยงที่ต่างกันในแต่ละเดือน

จะได้มุกสีทองซึ่งได้จากหอยมุก *P. maxima* ขนาดของมุกวัดได้จากเส้นผ่านศูนย์กลางหน่วยเป็นมิลลิเมตรหรือมีหน่วยเป็นบู (bu) ซึ่งเป็นหน่วยวัดขนาดของชาวญี่ปุ่นมีค่าเทียบประมาณ 3.2 มม. ขนาดของมุกน้ำเค็มก็ขึ้นอยู่กับสายพันธุ์ของหอย เช่น หอยมุกโกย่าจะมีขนาด 5-9 มม. ส่วน *P. margaritifera* มีขนาด 8-16 มม. และ *P. maxima* มีขนาด 9-20 มม. (Strack, 2006) ขนาดของมุกมีผลทำให้มูลค่าของมุกสูงขึ้นเพราะหากมุกมีขนาดเล็กจะทำให้การขึ้นตัวเรือนและการออกแบบผลิตภัณฑ์ยากขึ้นและอาจทำให้มุกแตก เสียหายหรือมีตำหนิจากการเจาะดังนั้นมุกขนาดเล็กจึงไม่ค่อยมีมูลค่าทางการค้าเท่ามุกขนาดใหญ่

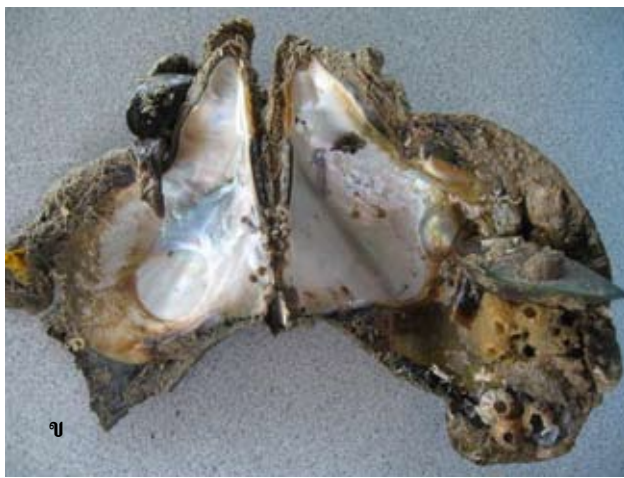
2. สาเหตุจากวิธีการเลี้ยงหอยมุก

วิธีการเลี้ยงหอยมุกโดยการแขวนหอยมุก 5 ตัว 8 ตัว ด้วยเชือก และเลี้ยงในกะบะเหล็ก (ตารางที่ 3) พบอัตราการตายเป็น 56.87% 62.00% และ 79.37% (ภาพที่ 4) ได้ผลผลิตมุก 86.87% 70.62% และ 41.25% ตามลำดับ จากการทดลองพบว่าวิธีการเลี้ยงหอยมุกในกะบะเหล็กมีอัตราการตายสูงสุดและได้ผลผลิตมุกต่ำสุด สาเหตุจากคลื่นพัดพาหอยมุกไปทับถมกัน ด้านใดด้านหนึ่งของกะบะ ทำให้มีผลต่อการกรรองอาหารของหอยได้น้อยลง ส่วนวิธีการเลี้ยงหอยมุกโดยการแขวนหอยมุก 5 ตัว และ 8 ตัว ด้วยเชือกพบว่าการแขวนหอยมุก 5 ตัว หอยตายน้อยที่สุด และได้ผลผลิตมุกสูงสุด เนื่องจากบริเวณที่เลี้ยงหอยมุกเมื่อน้ำทะเลขึ้นสูงสุดวัดระดับน้ำทะเลได้ 8 เมตร แต่เมื่อน้ำลงต่ำสุดวัดระดับน้ำทะเลได้ 5 เมตร ซึ่งเมื่อแขวนหอย 5 ตัว จะไม่ได้รับผลกระทบจากโคลนพื้นทะเลเมื่อเกิดคลื่นขึ้นแต่จะกระทบต่อเชือกที่แขวนหอย 8 ตัว ส่วนใหญ่พบว่าหอยที่ตายจะเป็นหอยตัวที่ 7-8 บริเวณปลายเชือกและพบโคลนในตัวหอยซึ่งสอดคล้องกับ Milke & Ward

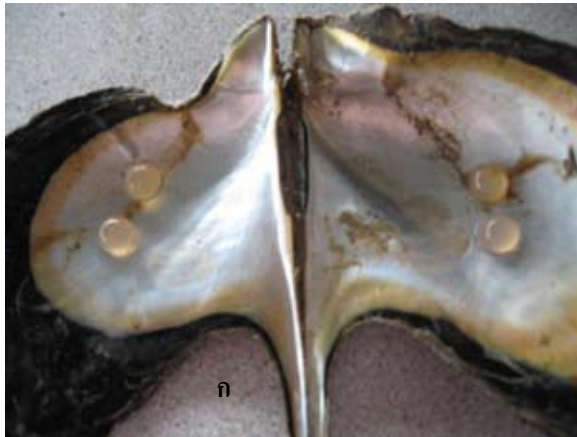
(2003) รายงานว่าบริเวณที่มีความเข้มข้นของตะกอนสูงระบบการย่อยของหอยสองฝาจะมีประสิทธิภาพการทำงานลดลง และบริเวณที่พบตะกอนมากจะพบการตายของหอยด้วยเช่นกันจึงสรุปได้ว่าตะกอนเป็นสาเหตุการตายของหอย โดย Kripa *et al.* (2007) ศึกษาคุณภาพของน้ำเมื่อเริ่มเลี้ยงหอยมุกโกย่าพบว่า การตายของหอยมีความสัมพันธ์กับความขุ่นของน้ำ นั่นคืออัตราการตายของหอยสูงเมื่อความขุ่นในน้ำสูงในขณะที่คุณภาพน้ำอื่นๆ ปกติ ซึ่งสอดคล้องกับการทดลองที่แขวนหอย 8 ตัว และสัมผัสกับโคลน (ภาพที่ 5)

3. ความหนาของชั้นมุก

หลังจากใส่แกนมุกในหอยแล้วนำไปเลี้ยงในทะเล การสร้างชั้นมุกเกิดขึ้นในช่วง 1-2 เดือนแรก (ภาพที่ 6) และพบหอยตายมากในช่วงเดือนนี้ เนื่องจากความระคายเคืองจากแกนมุกที่ใส่ (ภาพที่ 7) และหลังจากติดแกนมุกแล้วใช้เวลาประมาณ 6-12 เดือน จึงเก็บผลผลิต จะได้ความหนาของชั้นมุก 0.7-2.5 มม. การสร้างชั้นมุกขึ้นอยู่กับสายพันธุ์ของหอย สิ่งแวดล้อม และวิธีการเลี้ยง Ruiz-Rubio *et al.* (2006) ศึกษาชั้นมุกมาเบ้ที่เกิดจากหอย *Pteria sterna* ใช้เวลาเลี้ยง 5 เดือน ได้มุกหนา 0.75 มม. อย่างไรก็ตามมุกที่มีคุณภาพดี ควรเป็นมุกที่เลี้ยงและเก็บเกี่ยวหลังจากเดือนที่ 9 ซึ่งสอดคล้องกับการทดลองซึ่งเลี้ยงหอยมุกนาน 11 เดือน ความหนาของชั้นมุกทั้งขนาด 10 มม. ที่ใส่แกนมุก 1, 2, 4 แกนและแกนมุกขนาด 18 มม. ที่เลี้ยงหอยมุกโดยการแขวนหอยมุก 5 ตัว 8 ตัว ด้วยเชือก และเลี้ยงในกะบะเหล็ก ค่าความหนาของชั้นมุกเพิ่มขึ้น 1.9-2.5 มม. และทุกค่าของชั้นมุกที่วัดได้ในตารางที่ 4 และ ตารางที่ 5 ไม่มีความแตกต่างทางสถิติ



ภาพที่ 5 ก-ข ลักษณะหอยตายจากโคลนที่เข้าไปในตัวหอย พบจากการแขวนหอย 8 ตัว ต่อเชือก



ภาพที่ 6 ก หอยตายในช่วง 1-2 เดือนแรก ยังไม่ได้เคลือบมุก ข หอยตายในช่วง 1-2 เดือนแรก เริ่มเคลือบมุกแล้ว



ภาพที่ 7 หอยตายในช่วง 1-2 เดือนแรกหลังจากติดแกนมุก

สรุปผลการวิจัย

1. สาเหตุการตายของหอยมุกกัลปังหาจากการใส่แกนมุก
 - 1.1 หอยมุกกัลปังหาที่ตายจากการใส่แกนมุกมีขนาดต่างกันคือขนาด 10 มม. และ 18 มม. พบว่าอัตราการตายเป็น 63.17% และ 69.17% ผลผลิตมุกที่ได้เป็น 36.83% และ 30.83% ตามลำดับ
 - 1.2 หอยมุกที่ตายจากการติดแกนมุกจำนวนต่างกันคือ ติดแกนมุกขนาด 10 มม. ตัวละ 1 แกน ตัวละ 2 แกน (ติดฝาละ 1 แกน) และตัวละ 4 แกน (ติดฝาละ 2 แกน) พบมีอัตราการตายเป็น 63.16% 64.66% และ 68.83% ผลผลิตมุกที่ได้เป็น 36.83% 70.60% และ 124.62% ตามลำดับ

2. สาเหตุการตายของหอยมุกกัลปังหาจากวิธีการเลี้ยงหอยมุกโดยการแขวนหอยมุก 5 ตัว 8 ตัว ด้วยเชือก และเลี้ยงในกะบะเหล็กพบอัตราการตายเป็น 56.87% 62.00% และ 79.37% ได้ผลผลิตมุก 86.87% 70.62% และ 41.25% ตามลำดับ
3. ความหนาของชั้นมุกจากการใส่แกนมุกขนาด 10 มม. ติดแกนมุก 1, 2 และ 4 แกน เลี้ยงแบบแขวน 5 ตัว 8 ตัว และเลี้ยงในกะบะ และความหนาของชั้นแกนมุกขนาด 18 มม. เลี้ยงแบบแขวน 5 ตัว 8 ตัว และเลี้ยงในกะบะ ค่าความหนาของชั้นมุกทุกค่าไม่มีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติที่ระดับความเชื่อมั่น ($P > 0.05$)

ตารางที่ 4 ความหนาของชั้นมุกจากแกนมุก 10 มม. โดยติดแกนมุก 1, 2 และ 4 แกนเลี้ยงแบบแขวน 5 ตัว 8 ตัว และเลี้ยงในกะบะ (\pm S.D)

	แขวน 5 ตัว			แขวน 8 ตัว			กะบะ		
	1 แกน	2 แกน	4 แกน	1 แกน	2 แกน	4 แกน	1 แกน	2 แกน	4 แกน
ส.ค. 50	10.29 \pm 0.13	10.58 \pm 0.08	10.36 \pm 0.16	10.73 \pm 0.12	10.57 \pm 0.09	10.18 \pm 0.12	10.78 \pm 0.62	10.71 \pm 0.38	10.35 \pm 0.08
ก.ย. 50	10.60 \pm 0.10	10.75 \pm 0.19	10.63 \pm 0.18	10.75 \pm 0.11	10.7 \pm 0.21	11.170 \pm 0.47	10.9 \pm 0.2	10.76 \pm 0.23	10.99 \pm 0.17
ต.ค. 50	11.09 \pm 0.33	11.10 \pm 0.35	10.88 \pm 0.11	10.88 \pm 0.23	10.97 \pm 0.12	11.21 \pm 0.29	11.08 \pm 0.34	10.97 \pm 0.23	11.22 \pm 0.30
พ.ย. 50	11.19 \pm 0.19	11.43 \pm 0.11	11.18 \pm 0.39	10.95 \pm 0.26	11.15 \pm 0.23	11.42 \pm 0.37	11.63 \pm 0.32	11.03 \pm 0.34	11.25 \pm 0.24
ธ.ค. 50	11.32 \pm 0.14	11.82 \pm 0.22	11.55 \pm 0.31	11.17 \pm 0.13	11.36 \pm 0.37	11.57 \pm 0.42	11.75 \pm 0.53	11.28 \pm 0.27	11.40 \pm 0.40
ม.ค. 51	11.60 \pm 0.11	11.85 \pm 0.13	11.62 \pm 0.29	11.500 \pm 0.25	11.72 \pm 0.37	11.80 \pm 0.60	12.06 \pm 0.39	11.68 \pm 0.39	11.51 \pm 0.14
ก.พ. 51	11.68 \pm 0.11	12.04 \pm 0.23	11.78 \pm 0.17	11.68 \pm 0.36	11.90 \pm 0.32	12.03 \pm 0.40	12.19 \pm 0.40	11.86 \pm 0.28	11.76 \pm 0.18
มี.ค. 51	11.93 \pm 0.26	12.11 \pm 0.26	11.85 \pm 0.34	11.88 \pm 0.25	12.11 \pm 0.29	12.16 \pm 0.16	12.25 \pm 0.43	12.03 \pm 0.09	11.85 \pm 0.17
เม.ย. 51	12.19 \pm 0.14	12.17 \pm 0.27	11.90 \pm 0.29	11.98 \pm 0.19	11.21 \pm 0.21	12.20 \pm 0.40	12.35 \pm 0.13	12.20 \pm 0.25	12.07 \pm 0.31
พ.ค. 51	12.32 \pm 0.06	12.23 \pm 0.15	12.31 \pm 0.15	12.22 \pm 0.41	12.33 \pm 0.33	12.38 \pm 0.38	12.42 \pm 0.21	12.44 \pm 0.35	12.11 \pm 0.17
มิ.ย. 51	12.39 \pm 0.08	12.36 \pm 0.18	12.35 \pm 0.22	12.26 \pm 0.31	12.48 \pm 0.17	12.45 \pm 0.41	12.51 \pm 0.19	12.56 \pm 0.24	12.37 \pm 0.43

ค่าความหนาของชั้นมุกไม่มีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติที่ระดับความเชื่อมั่น 95% ($P > 0.05$)

ตารางที่ 5 ความหนาของชั้นมุกจากแกนมุก 18 มม. เลี้ยงแบบแขวน 5 ตัว 8 ตัว และเลี้ยงในกะบะ (\pm S.D)

	แขวน 5 ตัว	แขวน 8 ตัว	กะบะ
ส.ค. 50	18.84 \pm 0.08	18.44 \pm 0.13	18.45 \pm 0.06
ก.ย. 50	19.21 \pm 0.23	18.70 \pm 0.12	18.71 \pm 0.28
ต.ค. 50	19.60 \pm 0.09	19.05 \pm 0.28	19.00 \pm 0.26
พ.ย. 50	19.71 \pm 0.06	19.21 \pm 0.35	19.20 \pm 0.16
ธ.ค. 50	19.83 \pm 0.09	19.4 \pm 0.51	19.50 \pm 0.16
ม.ค. 51	19.89 \pm 0.22	19.52 \pm 0.15	19.81 \pm 0.25
ก.พ. 51	20.08 \pm 0.21	19.78 \pm 0.07	19.93 \pm 0.26
มี.ค. 51	20.26 \pm 0.12	19.87 \pm 0.13	20.28 \pm 0.21
เม.ย. 51	20.29 \pm 0.05	20.17 \pm 0.48	20.36 \pm 0.60
พ.ค. 51	20.32 \pm 0.08	20.22 \pm 0.74	20.55 \pm 0.26
มิ.ย. 51	20.4 \pm 0.20	20.39 \pm 0.48	20.78 \pm 0.77

ค่าความหนาของชั้นมุกไม่มีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติที่ระดับความเชื่อมั่น 95% ($P > 0.05$)

ข้อเสนอแนะ

1. การตายของหอยมุกกัลปังหาในจังหวัดภูเก็ตส่วนใหญ่มีสาเหตุหลักจากการใส่แกนมุกในตัวหอย ทั้งขนาดและจำนวนแกนมุกล้วนเป็นสาเหตุทั้งสิ้น แต่ในทางตรงข้ามทั้งขนาดและจำนวนแกนมุกที่ใส่กลับสร้างมูลค่าในทางการค้ามากกว่าในระยะเก็บเกี่ยวผลผลิตที่เท่ากัน เกษตรกรและผู้ประกอบการจึงควรตระหนักในข้อนี้ด้วย

2. วิธีการเลี้ยงหอยมุกให้คำนึงถึงความลึกบริเวณที่เลี้ยง อาจจะแขวนหอย 5 ตัว หรือ 8 ตัว ก็ได้ขึ้นอยู่กับข้อจำกัดของฟาร์มหรือพื้นที่ที่เลี้ยงเพียงแต่เมื่อแขวนในทะเลแล้ว หอย 2-3 ตัวที่อยู่ปลายเชือกอย่าให้สัมผัสโคลนในช่วงน้ำลง

3. ผู้ประกอบการควรทดลองติดแกนมุกขนาด 18 มม. 4 แกน ต่อหอยมุก 1 ตัว แต่ทั้งนี้ต้องใช้หอยมุกขนาดกลางและเลี้ยงแบบแขวนจะช่วยเพิ่มผลผลิตทางการค้าได้ดีกว่าการเลี้ยงในกะบะเหล็ก

กิตติกรรมประกาศ

ขอขอบคุณมหาวิทยาลัยสงขลานครินทร์ที่ให้ทุนสนับสนุนงานวิจัยนี้จากงบประมาณรายได้ประจำปี 2550 ขอขอบคุณบริษัทภูเก็ตเพิร์ลอินเตอร์ จำกัด ที่ให้การสนับสนุนสถานที่ฟาร์มเลี้ยงหอยมุก บริเวณอ่าวสะป่า จังหวัดภูเก็ต จนสิ้นสุดโครงการและให้คำแนะนำด้านวิชาการที่ดีมาโดยตลอด

เอกสารอ้างอิง

กรรณิการ์ กาญจนชาติรี กนกธร ปิยธำรงรัตน์ และนิกร อินทรเจริญ. (2546). ผลของความลึกของระดับน้ำทะเลและขนาดของหอยมุกกัลปังหา (*Pteria penguin*) ต่อการเกิดมุก. *วารสารสงขลานครินทร์วิทยาศาสตร์และเทคโนโลยี*, 25(5), 659-67.

กรรณิการ์ กาญจนชาติรี กนกธร ปิยธำรงรัตน์ และปิยะพงศ์ แก้วตืน. (2549). ผลของสารสลบก่อนการใส่แกนมุกต่ออัตราการรอดและคุณภาพมุกในหอยมุกแกลบ *Pinctada fucata*. *วารสารสงขลานครินทร์วิทยาศาสตร์และเทคโนโลยี*, 28(1), 87-97.

กรรณิการ์ กาญจนชาติรี กนกธร ปิยธำรงรัตน์ และจิตติ อินทรเจริญ. (2550). ชนิดของแกนมุก (nucleus) เพื่อเพิ่มคุณภาพของมุกที่ผลิตได้จากหอยมุกแกลบ *Pinctada fucata*. *วารสารสงขลานครินทร์วิทยาศาสตร์และเทคโนโลยี*, 1-15.

Acosta-Salmon, H., Martinez-Fernandez, E. & Southgate, P.C., (2005). Use of relaxants to obtain saibo tissue from the blacklip pearl oyster (*Pinctada margaritifera*) and the Akoya pearl oyster *Pinctada fucata*. *Aquaculture*, 246, 167-172.

Acosta-Salmon, H. & Southgate, P.C. (2005). Mantle regeneration in the pearl oysters *Pinctada fucata* and *Pinctada margaritifera*. *Aquaculture*, 246, 1-4.

Dan, H. (2003). Fresh water pearl culture and production in China. *Journal of Shellfish Research*, 22(1), 325.

Knauer, J. & Taylor, J.U. (2002). Assessment of external growth parameter of the silver-or goldlip pearl oyster *Pinctada maxima* as indicators of the required pearl nucleus size. *South Pacific Commission Pearl Oyster Information Bulletin*, 15, 36.

Kripa, V., Mohamed, K.S., Appukuttan, K.K. & Velayudhan, T.S. (2007). Production of Akoya pearls from the southwest coast of India. *Aquaculture*, 262, 347-354.

Milke, L.M. & Ward, J.E. (2003). Influence of diet on pre-ingestive particle processing in bivalves. II: Residence time in the pallial cavity and handling time on the labial palps. *Journal of Experimental Marine Biology and Ecology*, 293, 151-172.

Ruiz-Rubio, H., Acosta-Salmon, H., Olivera, A., Southgate, P.C. & Rangel-Davalos, C. (2006). The influence of culture method and culture period on quality of half-pearls (mabe) from the winged pearl oyster *Pteria sterna*, Gould, 1851. *Aquaculture*, 254, 269-274.

Southgate, P., Rubens, J., Kipanga, M. & Smumi, G. (2006). Pearls from Africa. *South Pacific Commission Pearl Oyster Information Bulletin*, 17, 16-17.

Strack, E. (2006). *Pearls*. Ruhle-Diebener-Verlag GmbH & Co., KG, Germany, 706 pp.

Taylor, J.J., Rose, R.A. & Southgate, P.C. (1997). Effects of stocking density on the growth and survival of juvenile silver-lip pearl oyster, *Pinctada maxima* (Jameson), in suspended and bottom culture. *Journal of Shellfish Research*, 16(2), 569-572.

ผลของความเค็มต่อการเปลี่ยนแปลงปริมาตรของไข่ในปูม้า (*Portunus pelagicus*) เพศเมียที่มีไข่นอกกระดอง
Effect of Salinity on Egg Volume of Ovigerous Female Blue Swimming Crab
(*Portunus pelagicus* Linnaeus, 1758)

นนุช ตั้งเกริกโอฬาร* และ ศุภางค์ ชำปฏี
ภาควิชาวาริชศาสตร์ คณะวิทยาศาสตร์ มหาวิทยาลัย

Nongnud Tangkrock-olan* and Supang Champati
Department of Aquatic Science, Faculty of Science, Burapha University.

บทคัดย่อ

ทำการศึกษาผลของความเค็มต่อการเปลี่ยนแปลงปริมาตรของไข่ในปูม้าเพศเมียที่มีไข่นอกกระดองในระยะต่างๆ พบว่าไข่ปูม้าในระยะสุดท้ายหรือไข่แก่จะมีความสามารถในการควบคุมสมดุลของน้ำและไอออนได้ดีกว่าไข่ระยะแรกหรือไข่อ่อน ไข่ปูม้าที่ระยะหัวใจเด่นมีความสามารถในการควบคุมการเข้าออกของน้ำและไอออนได้ดีที่สุด คือสามารถปรับตัวได้ที่ระดับความเค็มตั้งแต่ 20-40 พีเอสยู รองลงมาคือ ระยะเกิดจุดตาและเม็ดสีสามารถปรับตัวได้ที่ระดับความเค็ม 25-35 พีเอสยู ระยะคลีเวจและบลาสตูลามีความสามารถในการควบคุมเข้าออกของน้ำและไอออนได้น้อยที่สุด คือสามารถปรับตัวได้ที่ระดับความเค็ม 30-35 พีเอสยู

คำสำคัญ : ปูม้าเพศเมียที่มีไข่นอกกระดอง ความเค็ม ปริมาตรของไข่

Abstract

Studies on effect of salinity on volume change in different stages of eggs of ovigerous female blue swimming crabs. It has been found that late stage eggs had abilities to osmoregulate better than early stage eggs. Crab egg at the heart-beating stage showed the best osmoregulator as they can osmoregulate and survive in salinity 20-40 psu. Egg at the eyespot and pigmentation stages can osmoregulate and survive in salinity 25-35 psu. Egg at the cleavage and blastula stages was the weakest osmoregulator as they can osmoregulate and survive in salinity 30-35 psu.

Keyword : blue swimming crab, *Portunus pelagicus*, ovigerous female, salinity, egg volume

*Corresponding author. E-mail: nongnud@buu.ac.th

บทนำ

ปูม้า (*Portunus pelagicus*) จัดเป็นปูที่มีขนาดใหญ่ชนิดหนึ่ง และมีความสำคัญทางเศรษฐกิจมาก เนื่องจาก นอกจากจะถูกนำมาบริโภคเป็นอาหารแล้ว ยังสามารถส่งเป็นสินค้าออกทำรายได้ให้กับประเทศไทยเป็นมูลค่าสูง (กรมประมง, 2548) คนนิยมบริโภคปูม้ากันอย่างแพร่หลายเพราะมีรสชาติดีและมีโปรตีนสูง ปูม้าจึงเป็นที่ต้องการของตลาดทั้งภายในประเทศและต่างประเทศ แต่ในปัจจุบันปริมาณประชากรปูม้าในท้องทะเลไทยที่มีอยู่ตามธรรมชาติลดลง ทั้งนี้เป็นผลสืบเนื่องมาจากปูม้ามีราคาดี ตลาดมีความต้องการสูง เป็นแรงจูงใจให้ชาวประมงหันมาจับปูม้ามากขึ้น ทำให้ผลผลิตปูม้าในธรรมชาตินั้นลดลง ทำให้หน่วยงานต่างๆ หันมาสนใจทางด้าน การเพาะเลี้ยงปูม้ามากขึ้น (บรรจง เทียนสังข์ศรี, 2549)

การเพาะเลี้ยงปูม้านั้นต้องอาศัยความรู้ในหลายๆ ด้าน นอกจากความรู้พื้นฐานทางด้านชีววิทยาเกี่ยวกับพัฒนาการของ ศัพพะและระยะเวลาของการฟักไข่ในปูแม่เพศเมียที่มีไข่นอกกระดอง (นงนุช และศุภางค์, 2550) แล้ว การศึกษาเกี่ยวกับสรีรวิทยาของ ไข่ปูม้าก็มีความสำคัญและน่าจะเป็นข้อมูลพื้นฐานที่จำเป็นต่อ การเพาะเลี้ยง โดยเฉพาะในด้านที่เกี่ยวข้องกับความสามารถของ ไข่ปูในการปรับตัวต่อสภาพความเค็มต่างๆ ที่เปลี่ยนแปลงไป ทั้งนี้ความเค็มของน้ำ จัดเป็นหนึ่งในปัจจัยสำคัญที่มีผลต่อการ ดำรงชีวิตของสัตว์ทะเลหลายชนิด (Ramano & Zeng, 2006) รวมถึงไข่และตัวอ่อนของสัตว์ทะเลเหล่านี้ด้วย โดยมีความเกี่ยวข้อง โดยตรงต่อกระบวนการควบคุมสมดุลของน้ำและออสโมนภายใน ร่างกายของสัตว์ (Gilles, 1983; Louis & Gainey, 1994; Taylor & Seneviratna, 2005) ในปัจจุบันการศึกษาเกี่ยวกับสรีรวิทยา ปูม้าตัวเต็มวัยนั้นมียุ่่น้อยมาก (สุเมธ ตันตีกุล, 2527; เขียน สิ้นนวงค์, 2520; กรุณา สัตตมาศ, 2532) และไม่พบการศึกษาที่ เกี่ยวข้องกับสรีรวิทยาของไข่ปูม้า โดยเฉพาะเกี่ยวกับความสามารถ ในการควบคุมสมดุลของน้ำและออสโมนของไข่ปู ซึ่งมีผลต่อความ สามารถในการปรับตัวของไข่ปู โดยสามารถดูได้จาก การเปลี่ยนแปลง ปริมาตรของไข่เมื่อความเค็มของน้ำเปลี่ยนแปลงไป ซึ่งเกี่ยวข้อง โดยตรงกับความสามารถในการอยู่รอดของไข่ปูในสภาพความเค็ม ต่างๆ ซึ่งมีความสำคัญเนื่องจากข้อมูลเหล่านี้จะเป็นความรู้พื้นฐาน และนำไปใช้ประโยชน์ในด้านการเพาะพันธุ์และการอนุรักษ์ปูม้า

ดังนั้นในการศึกษาค้นคว้าครั้งนี้จึงมีจุดมุ่งหมายที่จะศึกษาผล ของความเค็มต่อการควบคุมปริมาตร (Volume Regulation) หรือการเปลี่ยนแปลงปริมาตร (volume Change) ของไข่ปูม้า ซึ่งการเปลี่ยนแปลงปริมาตรของไข่นั้นเป็นรูปแบบหนึ่งของการ ปรับตัวด้านการควบคุมปริมาตรน้ำในตัว เป็นความสามารถของสัตว์

ที่จะรักษาสมดุลการเข้าออกของน้ำและออสโม (osmoregulation) (Gilles, 1983) ในการเปลี่ยนแปลงปริมาตรของไข่ปูม้า ต่อระดับความเค็มต่างๆ นั้นสามารถที่จะบอกได้ว่าไข่ปูนั้นจะมี ความสามารถในการควบคุมการเข้าออกของน้ำภายนอกตัวได้ หรือไม่ มีการปรับตัวอย่างไร และสามารถทนอยู่ในน้ำที่มีระดับ ความเค็มต่างๆ มากน้อยอย่างไร

วัตถุประสงค์และวิธีการวิจัย

สัตว์ทดลอง

สัตว์ที่ใช้ทดลองคือ ปูม้า (*Portunus pelagicus*) เพศเมีย จำนวน 9 ตัว โดยมีไข่นอกกระดอง (ovigerous female crabs) ที่อยู่ในระยะคลีเวลจและบลาสตูลา ระยะเกิดจุดตาและเม็ดสี และ ระยะหัวใจเต้น (นงนุช ตั้งเกริกโอรพาร และศุภางค์ ชำปฏี, 2550) อย่างละ 3 ตัว ปูทั้งหมดมีความกว้างกระดองอยู่ในช่วง 11.7-15.5 เซนติเมตร หรือเฉลี่ย 13.81 ± 1.13 เซนติเมตร โดยนำมาเลี้ยง ปรับสภาพที่ความเค็ม 30 พีเอสยู และอุณหภูมิอยู่ในช่วง 25-27 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 24 ชั่วโมง

การเตรียมน้ำสำหรับใช้ในการทดลอง

นำน้ำทะเลจากบ่อเก็บน้ำของภาควิชาวาริชศาสตร์ คณะวิทยาศาสตร์ มหาวิทยาลัยบูรพา ซึ่งมีความเค็ม 33 พีเอสยู มาปรับให้ได้ความเค็ม 40 พีเอสยู โดยใส่เกลือแกงลงไป แล้วนำไป ฆ่าสิ่งมีชีวิตขนาดเล็กที่อุณหภูมิ 121 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 15 นาที ด้วยหม้อนึ่งความดัน (autoclave) จากนั้นปรับความเค็มน้ำ ให้ได้ระดับความเค็มต่างๆ ด้วยการคำนวณแล้วเจือจาง (dilute) โดยใช้ น้ำกลั่นและปรับความเค็มเป็น 7 ระดับ คือ 10, 15, 20, 25, 30, 35 และ 40 พีเอสยู

การศึกษารูปการเปลี่ยนแปลงปริมาตรของไข่ปูม้า

นำไข่ปูม้าระยะคลีเวลจและบลาสตูลา ระยะเกิดจุดตาและ เม็ดสี และระยะหัวใจเต้น จากปูม้าเพศเมียที่มีไข่นอกกระดอง ที่ถูกเลี้ยงปรับสภาพ (acclimation) ที่ความเค็ม 30 พีเอสยู เป็นเวลา 24 ชั่วโมง โดยใช้ปากคีบดึงไข่ปูม้าออกมาใส่ลงใน จานแก้วที่มีฝาครอบ (plate) ขนาดเส้นผ่านศูนย์กลาง 5 เซนติเมตร ที่มีน้ำความเค็มแตกต่างกัน 7 ระดับคือ 10, 15, 20, 25, 30, 35 และ 40 พีเอสยู ใส่ไข่ปูลงไปจานละ 5 ฟอง ทำการทดลองในไข่ปูทั้ง 3 ระยะ แต่ละระยะจะใช้เวลา 3 ชั่วโมง โดยไข่จากปูแต่ละตัวจะถูกนำมา ใส่จานทดลองในทุกระดับความเค็มๆ ละ 3 จาน แต่ละจานจะใช้ไข่ปู ทั้งหมด 5 ฟอง ดังนั้น ปูแต่ละตัวจะถูกนำไข่ออกมาทดลอง 105 ฟอง รวมไข่ปูที่ถูกนำออกมาจากแม่ปู เพื่อใช้ในการทดลองทั้งสิ้น 945 ใบ ทำการวัดขนาดเส้นผ่านศูนย์กลางของไข่ปูที่เปลี่ยนแปลง

ไปโดยใช้กล้องสแตเดียมที่มีไมโครมิเตอร์ (micrometer) ติดอยู่ที่เลนส์ตา ที่เวลา 0, 1, 3, 6, 9, 12, 24 และ 48 ชั่วโมง จากนั้นคำนวณปริมาตรของไข่มุ่ ตามวิธีของ Valdes *et al.* (1991) โดยใช้สูตร

$$V = 4/3 \pi (L/2) (V/2)^2$$

เมื่อ V = ปริมาตรของไข่มุ่ (ลูกบาศก์ไมโครเมตร (μm^3))
 L = เส้นผ่านศูนย์กลางที่ยาวที่สุดของไข่มุ่ (μm)
 l = เส้นผ่านศูนย์กลางที่สั้นที่สุดของไข่มุ่ (μm)

การวิเคราะห์ข้อมูล

คำนวณปริมาตรของไข่มุ่แล้วนำค่าเฉลี่ยมาเขียนกราฟระหว่างเวลาและปริมาตรที่เปลี่ยนแปลงไปของไข่มุ่ จากนั้นเปรียบเทียบความแตกต่างของปริมาตรที่เปลี่ยนแปลงไปของไข่มุ่ในระยะเดียวกันในระดับความเค็มต่างๆ โดยวิธีทางสถิติโดยใช้ One-way Analysis of Variance และเปรียบเทียบความแตกต่างโดยใช้ Duncan Multiple range Test

ผลการวิจัยและวิจารณ์ผล

โดยทั่วไปการวัดปริมาณความเข้มข้นของไอออนของสารละลาย สามารถวัดได้โดยใช้เครื่องมือวัดค่าออสโมติก หรือออสโมมิเตอร์ (osmometer) ซึ่งเป็นวิธีการวัดทางอ้อม ซึ่งวิธีการ

วัดโดยใช้ออสโมมิเตอร์ดังกล่าวมีความสะดวกและรวดเร็ว เช่นในการวัดค่าออสโมลาลิตีของเลือดสัตว์น้ำต่างๆ เป็นต้น อย่างไรก็ตาม สำหรับสัตว์ที่มีลำตัวอ่อนนุ่มนั้นวิธีการวัดค่าออสโมลาลิตีอาจไม่เหมาะสม ดังนั้นการวัดค่าออสโมลาลิตีโดยตรงจากการศึกษาการเปลี่ยนแปลงปริมาตรจึงถูกนำมาใช้ได้อย่างเหมาะสม โดยพบว่า การเปลี่ยนแปลงค่าออสโมลาลิตีของไข่มุ่ก็อาจศึกษาได้โดยตรงจากการเปลี่ยนแปลงปริมาตร ซึ่งสามารถนำมาเปรียบเทียบกับค่าออสโมลาลิตีที่วัดโดยใช้ออสโมมิเตอร์ได้ และวิธีนี้ก็ถูกใช้เรื่อยมาจนถึงปัจจุบัน เช่น การศึกษาการเปลี่ยนแปลงปริมาตรในหอยแมลงภู่ (Louis & Gainey, 1994) และในโพลีคีต (Fletcher, 1974) เป็นต้น

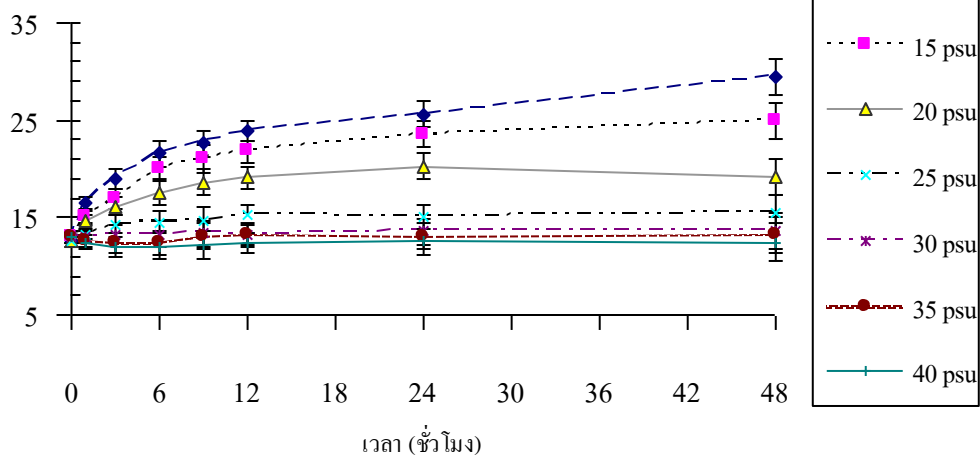
จากการทดลองนำไข่มุ่มาออกกระดองมา 3 ระยะ คือระยะคลีเวจและบลาสตูลา ระยะเกิดจุดตาและเม็ตี และระยะหัวใจเต้น นำมาปรับสภาพที่ความเค็ม 30 พีเอสยู เป็นเวลา 24 ชั่วโมง แล้วนำมาไว้ที่ระดับความเค็มน้ำ 10, 15, 20, 25, 30, 35 และ 40 พีเอสยู จากนั้นนำมาวัดขนาดเส้นผ่านศูนย์กลางด้วยไมโครมิเตอร์ ที่เวลา 0, 1, 3, 6, 9, 12, 24 และ 48 ชั่วโมง เพื่อคำนวณปริมาตรของไข่มุ่ จากการทดลองได้ปรับสภาพไข่มุ่ที่ระดับความเค็ม 30 พีเอสยู (control) เป็นเวลา 24 ชั่วโมง ดังนั้นที่ระดับความเค็มนี้จึงเป็นความเค็มควบคุม ปริมาตรของไข่มุ่จะค่อนข้างคงที่ เพราะการเข้าออกของน้ำและไอออนไม่เปลี่ยนแปลงมากนัก ส่วนที่ระดับความเค็มอื่นๆ พบการเปลี่ยนแปลงปริมาตรแตกต่างกัน (ตารางที่ 1) ดังนี้

ตารางที่ 1 ปริมาตร (ค่าเฉลี่ย \pm ส่วนเบี่ยงเบนมาตรฐาน, n=15) ของไข่มุ่ระยะคลีเวจและบลาสตูลา ระยะเกิดจุดตาและเม็ตี และระยะหัวใจเต้น ที่เวลา 24 ชั่วโมง ที่ระดับความเค็มน้ำต่างๆ

ความเค็ม	ปริมาตร (ลูกบาศก์ไมโครเมตร)		
	ระยะคลีเวจและบลาสตูลา	ระยะเกิดจุดตาและเม็ตี	ระยะหัวใจเต้น
10 พีเอสยู	25.62 \pm 1.58*	34.37 \pm 1.29*	35.64 \pm 1.67*
15 พีเอสยู	23.54 \pm 1.74*	28.80 \pm 1.44*	29.65 \pm 1.44*
20 พีเอสยู	20.27 \pm 1.45*	25.80 \pm 1.66*	28.34 \pm 1.76
25 พีเอสยู	15.05 \pm 1.31*	23.65 \pm 1.27	28.07 \pm 1.63
30 พีเอสยู	13.55 \pm 1.64	23.25 \pm 1.38	27.94 \pm 1.52
35 พีเอสยู	13.05 \pm 1.36	22.44 \pm 1.47	28.04 \pm 1.83
40 พีเอสยู	12.37 \pm 1.65*	21.73 \pm 1.16*	27.15 \pm 1.72

หมายเหตุ เครื่องหมาย * แสดงว่ามีความแตกต่างกับที่ระดับความเค็ม 30 พีเอสยู (กลุ่มควบคุม) อย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p < 0.05$)

ปริมาณ (ลูกบาศก์ไมโครเมตร)



ภาพที่ 1 การเปลี่ยนแปลงปริมาตรของไข่มุ้าระยะคลีเวจและบลาสตูลา ในช่วงเวลา 48 ชั่วโมง ที่ระดับความเค็มน้ำต่างๆ

ไข่มุ้าระยะคลีเวจและบลาสตูลา (ภาพที่ 1)

ที่ระดับความเค็ม 10, 15 และ 20 พีเอสยู ปริมาตรของไข่มุ้าจะเพิ่มขึ้นต่อเนื่องอย่างรวดเร็ว ในช่วงเวลา 12 ชั่วโมงแรก และไม่มีแนวโน้มที่จะคงที่ แสดงให้เห็นว่าไข่มุ้าไม่มีความสามารถในการควบคุมปริมาณน้ำและอออน และระบบควบคุมสมดุลของน้ำยังไม่มีการพัฒนา และอาจเป็นไปได้ว่าไข่มุ้าบางส่วนน่าจะตายลงแล้วในเวลา 3 ชั่วโมงแรก ของการทดลอง

ที่ระดับความเค็ม 25 พีเอสยู ที่เวลา 12 ชั่วโมงแรกของการทดลอง ปริมาตรของไข่มุ้าค่อยๆ เพิ่มขึ้นทีละน้อยตามเวลา และมีแนวโน้มคงที่ ที่เวลา 24 ชั่วโมงเรื่อยมา แสดงให้เห็นว่า

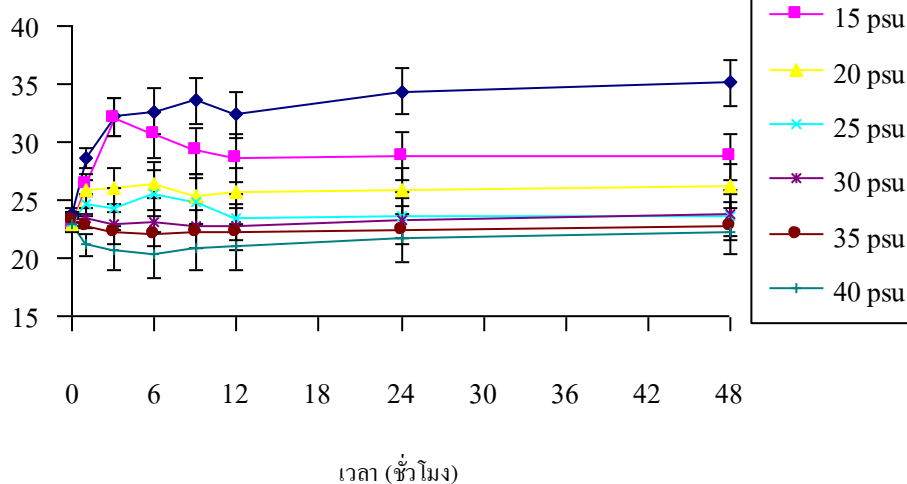
น้ำภายนอกค่อยๆ ออสโมซิสเข้าสู่ภายในไข่มุ้า 12 ชั่วโมงแรก หลังจากนั้นอาจเป็นไปได้ที่มีไข่มุ้าบางส่วนสามารถควบคุมปริมาณน้ำได้ และบางส่วนตายลง ปริมาตรไข่มุ้าจึงไม่เพิ่มขึ้น

ที่ระดับความเค็ม 35 และ 40 พีเอสยู ปริมาตรของไข่มุ้าจะลดลงในช่วงเวลา 6 ชั่วโมงแรก และจะค่อยๆ เพิ่มขึ้นในเวลาต่อมา แสดงให้เห็นว่าในช่วงแรกมีการออสโมซิสของน้ำออกจากตัวเนื่องจากความเข้มข้นของอออนภายนอกสูงกว่าภายในไข่มุ้า และไข่มุ้าสามารถปรับตัวได้โดยการดึงน้ำกลับเข้าไปและขับอออนส่วนที่เกินออกได้

ไข่มุ้าระยะเกิดจุดตาและเม็ดสี (ภาพที่ 2)

ที่ระดับความเค็ม 10 พีเอสยู ในช่วงเวลา 9 ชั่วโมงแรก

ปริมาณ (ลูกบาศก์ไมโครเมตร)



ภาพที่ 2 การเปลี่ยนแปลงปริมาตรของไข่มุ้าระยะเกิดจุดตาและเม็ดสี ในช่วงเวลา 48 ชั่วโมง ที่ระดับความเค็มน้ำต่างๆ

ปริมาตรของไขปุมมีการเพิ่มขึ้นอย่างต่อเนื่อง และมีการลดลงเพียงเล็กน้อยที่เวลา 12 ชั่วโมง เช่นเดียวกับที่ระดับความเค็ม 15 พีเอสยู ซึ่งปริมาตรมีการเพิ่มขึ้นอย่างรวดเร็วในช่วง 3 ชั่วโมงแรก แต่จะค่อยๆ ลดลงและค่อนข้างคงที่ ที่เวลา 6 ชั่วโมงเรื่อยมา แต่ปริมาตรยังคงสูงกว่าที่เวลาเริ่มต้น แสดงให้เห็นว่าในช่วงแรกน้ำภายนอกจะไหลเข้าสู่ไขอย่างรวดเร็วจนนั้นไขจะพยายามปรับตัว โดยการขับน้ำออกและดึงอออนกลับเข้าสู่ตัว แต่ความเค็มน้ำทั้ง 2 ระดับนี้มีความเจือจางมากเกินไปอาจต้องใช้พลังงานในการขับน้ำออกจากตัวมาก และเป็นไปได้ที่ไขส่วนใหญ่จะตายลงในเวลา 6 ชั่วโมงแรกของการทดลอง

ที่ระดับความเค็ม 20 และ 25 พีเอสยู ที่เวลา 6 ชั่วโมงแรก ปริมาตรของไขปุมค่อยๆ เพิ่มขึ้นและมีการลดลงที่เวลา 9 ชั่วโมงแล้วค่อยๆ คงที่เรื่อยมา แสดงให้เห็นว่าน้ำเข้าสู่ตัวไขในช่วงแรก หลังจากนั้นไขบางส่วนจะปรับตัวได้ ปริมาตรจึงยังคงสูงกว่าที่ปริมาตรเริ่มต้น

ที่ระดับความเค็ม 35 และ 40 พีเอสยู ปริมาตรของไขปุมค่อยๆ ลดลงจนถึงเวลา 9 ชั่วโมง และค่อยๆ เพิ่มขึ้น จนมีค่าใกล้เคียงกับปริมาตรเริ่มต้น แสดงว่าไขสามารถปรับตัวได้ โดยดึงน้ำกลับมาได้ ปริมาตรจึงใกล้เคียงกับปริมาตรเริ่มต้น

ไขปุม้าระยะหัวใจเต้น (ภาพที่ 3)

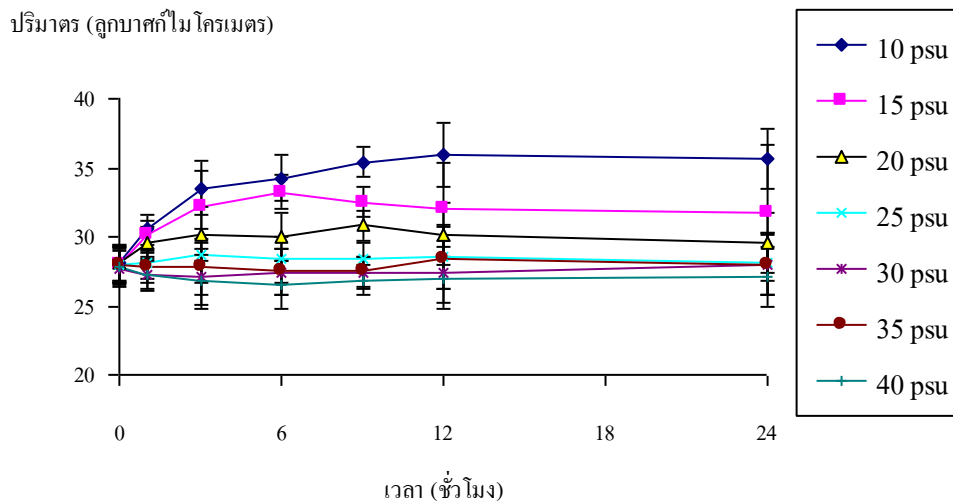
ที่ระดับความเค็ม 10 พีเอสยู และ 15 พีเอสยู ปริมาตรของไขปุมมีการเพิ่มขึ้นต่อเนื่องในช่วงเวลา 6-12 ชั่วโมงแรก และต่อมาจะค่อนข้างคงที่ แสดงให้เห็นว่าในช่วงแรกน้ำภายนอกจะไหลเข้าสู่ไขอย่างรวดเร็วจนนั้นไขจะพยายามปรับตัวโดยการขับน้ำออกและดึงอออนกลับเข้าสู่ตัว แต่ปริมาตรเฉลี่ยยังคงสูงกว่าที่เวลาเริ่มต้น

อาจเป็นไปได้ที่ไขส่วนใหญ่ตายลงเพราะไม่สามารถปรับตัวได้

ที่ระดับความเค็ม 20 และ 25 พีเอสยู ปริมาตรของไขปุมมีการเพิ่มขึ้นเล็กน้อยที่เวลา 3 ชั่วโมงแรก และค่อยๆ คงที่ที่เวลา 6 ชั่วโมงเรื่อยมา แต่ที่ระดับความเค็ม 25 พีเอสยู ปริมาตรของไขปุมจะมีค่าใกล้เคียงกับปริมาตรเริ่มต้นมากกว่าที่ระดับความเค็ม 20 พีเอสยู แสดงว่าที่ระดับความเค็ม 25 พีเอสยู ไขมีการปรับตัวได้ดีกว่าที่ 20 พีเอสยู เพราะความเข้มข้นของอออนใกล้เคียงกับความเข้มข้นของกลุ่มควบคุมมากกว่า

ที่ระดับความเค็ม 35 พีเอสยู และ 40 พีเอสยู ปริมาตรของไขปุมค่อนข้างคงที่ ปริมาตรของไขปุม ค่อยๆ ลดลงในช่วงเวลา 6 ชั่วโมงแรก แล้วค่อยๆ เพิ่มขึ้นที่เวลา 9 ชั่วโมง และมีแนวโน้มคงที่จนใกล้เคียงกับปริมาตรเริ่มต้น แสดงว่าไขมีการปรับตัวได้ สามารถดึงน้ำกลับเข้าตัวได้ดี

จากการทดลองผลของความเค็มต่อการเปลี่ยนแปลงปริมาตรของไขปุม้า ระยะคลีเวจและบลาสตูลา ระยะเกิดจุดตาและเม็ดสี และระยะหัวใจเต้น ได้นำข้อมูลมาวิเคราะห์ทางสถิติ โดยใช้ปริมาตรของไขปุมที่เวลา 24 ชั่วโมง มาทำการทดสอบทางสถิติพบว่า ไขปุม้าที่ระยะหัวใจเต้นมีความสามารถในการควบคุมเข้าออกของน้ำและอออนได้ดีที่สุด คือสามารถปรับตัวได้ที่ระดับความเค็มตั้งแต่ 20 พีเอสยู จนถึง 40 พีเอสยู รองลงมาคือ ระยะเกิดจุดตาและเม็ดสีสามารถปรับตัวได้ที่ระดับความเค็ม 25 ถึง 35 พีเอสยู และระยะคลีเวจและบลาสตูลามีความสามารถในการควบคุมเข้าออกของน้ำและอออนได้น้อยที่สุด คือสามารถปรับตัวได้ที่ระดับความเค็ม 30-35 พีเอสยู เพราะที่ระดับความเค็มของไขปุมแต่ละระยะดังกล่าวจะไม่มี ความแตกต่างทางสถิติ ($p > 0.05$) เมื่อ



ภาพที่ 3 การเปลี่ยนแปลงปริมาตรของไขปุม้าระยะหัวใจเต้น ในช่วงเวลา 24 ชั่วโมง ที่ระดับความเค็มน้ำต่างๆ

เปรียบเทียบกับกลุ่มควบคุมที่ระดับความเค็ม 30 พีเอสยู (control) ดังตารางที่ 1

จากการศึกษาและเปรียบเทียบ พบว่าระบบการควบคุมสมดุลของน้ำและออสโมนในไข่มุกร้าระยะคลีเวลและบลาสตูลายังไม่มีการพัฒนา เช่นเดียวกับไข่มุกร้าชนิดอื่น เช่น ปู *Hemigrapsus edwardsi*, *H. crenulatus*, *Heterozius rotundifron* และ *C. lavauxi* (Taylor & Seneviratna, 2005; Leelapiyanart, 1996) และเมื่อไข่มุกร้ามีการพัฒนามากขึ้นระบบการควบคุมสมดุลของน้ำและออสโมนก็จะมีการพัฒนาเพิ่มขึ้นตามไปด้วย โดยเฉพาะไข่มุกร้าในระยะหัวใจเต้นั้น น่าจะมีระบบการควบคุมสมดุลของน้ำและออสโมนที่มีประสิทธิภาพสูง เนื่องจากเป็นไข่มุกร้าในระยะสุดท้ายก่อนที่จะฟักออกเป็นตัวอ่อนในระยะซูเอีย (zoea) แต่ไข่มุกร้าจะมีช่วงความสามารถในการควบคุมสมดุลของน้ำและออสโมน น้อยกว่าปูชนิดอื่นที่ได้กล่าวมาข้างต้น เพราะปูม้าม้าเป็นปูที่อาศัยอยู่ในทะเลความเค็ม น้ำทะเลปกติ ส่วนปูที่กล่าวมาข้างต้นเป็นปูที่อาศัยอยู่ในเขตน้ำขึ้นน้ำลง เป็นพวกที่ทนต่อความเค็มได้ในช่วงกว้าง (euryhaline)

การควบคุมสมดุลของน้ำและออสโมน ในไข่มุกร้าที่ขึ้นเกิดขึ้นบริเวณเยื่อหุ้มไข่ (egg membrane) ซึ่งมีคุณสมบัติเป็นเยื่อหุ้มที่ยอมให้น้ำผ่านเข้าออกได้ (permeable membrane) โดยพบว่าเยื่อหุ้มไข่มุกร้าประกอบด้วยเยื่อ 2 ชั้น คือ เยื่อหุ้มชั้นนอก (outer membrane) จะมีลักษณะที่หยาบและเหนียว และเยื่อหุ้มชั้นใน (inner membrane) มีลักษณะที่บางและใส (Leelapiyanart, 1996) โดยระหว่างเยื่อหุ้ม 2 ชั้นนี้จะมีช่องว่างอยู่ ดังนั้นจึงเป็นไปได้ว่าช่องว่างระหว่างเยื่อหุ้มไข่มุกร้าสองชั้นนี้น่าจะช่วยป้องกันหรือชะลอการเคลื่อนที่ของน้ำและออสโมนระหว่างภายนอกและภายในตัวอ่อน ทำให้ตัวอ่อนของปูที่อยู่ภายในสามารถปรับตัวต่อการเปลี่ยนแปลงความเค็มของน้ำได้ แต่การแลกเปลี่ยนน้ำและออสโมนระหว่างของเหลวภายในและสิ่งแวดล้อมภายนอกก็มีขีดจำกัดเช่นกัน (Leelapiyanart, 1996) นอกจากนี้ยังมีรายงานในทางชีวเคมีว่า เยื่อหุ้มไข่มุกร้าเป็นสารประกอบพวกไขมัน (lipoid) อาจมีหน้าที่ป้องกันไข่มุกร้าที่อ่อนนุ่ม โดยจะติดกับตัวอ่อนตลอดจนกระทั่งฟักออกเป็นตัว ส่วนเยื่อหุ้มชั้นนอก เป็นไคติน (chitin) และมีคิวติเคิล (cuticle) เคลือบอยู่ จะติดกับไข่และจะแตกออกเมื่อฟักออกเป็นตัว (El-Sherief, 1993)

สรุปผลการวิจัย

1. ระบบการควบคุมสมดุลของน้ำและออสโมนจะมีการพัฒนาเพิ่มขึ้นเมื่อไข่มุกร้ามีการพัฒนาเพิ่มขึ้น หรือไข่มุกร้าจะมีการควบคุม

สมดุลของน้ำและออสโมนได้ดีกว่าไข่มุกร้า หรืออาจกล่าวได้ว่าไข่มุกร้าที่ระยะแก่จะแสดงความเป็นออสโมเรกูเลเตอร์ (osmoregulator) ส่วนไข่มุกร้าที่ระยะอ่อนจะแสดงความเป็นออสโมคอนฟอร์เมอร์ (osmoconformer)

2. ไข่มุกร้าที่ระยะหัวใจเต้นมีความสามารถในการควบคุมเข้าออกของน้ำและออสโมนได้ดีที่สุด คือสามารถปรับตัวได้ที่ระดับความเค็มตั้งแต่ 20 ถึง 40 พีเอสยู รองลงมาคือ ระยะเกิดจุดตา และเมื่อดีสสามารถปรับตัวได้ที่ระดับความเค็ม 25 ถึง 35 พีเอสยู และระยะคลีเวลและบลาสตูลามีความสามารถในการควบคุมเข้าออกของน้ำและออสโมนได้น้อยที่สุด คือสามารถปรับตัวได้ที่ระดับความเค็ม 30 ถึง 35 พีเอสยู

เอกสารอ้างอิง

- กรมประมง. (2548). สถิติการประมงแห่งประเทศไทย พ.ศ. 2546. เอกสารฉบับที่ 6/2548 กระทรวงเกษตรและสหกรณ์, 91 หน้า.
- กรรณา สัตตมาศ. (2532). การอนุบาลลูกปูม้าม้าวัยอ่อนให้มีอัตราการรอดสูง. เอกสารวิชาการฉบับที่ 2. กลุ่มพัฒนาแหล่งประมง ศูนย์พัฒนาประมงทะเลฝั่งอันดามัน. กองประมงทะเล กรมประมง. กรุงเทพฯ: 32 หน้า.
- เขียน สีนอนวงศ์. (2520). การศึกษาชีววิทยาของปูม้าม้า *Portunus pelagicus* (Linnaeus). ในอ่าวไทย. รายงานวิชาการ ฉบับที่ 14/2520. งานสัตว์น้ำอื่นๆ กองประมงทะเล. กรมประมง. กรุงเทพฯ: 24 หน้า.
- นงนุช ตั้งเกริกโอรพาร และศุภางค์ ชำปฏี. (2550). พัฒนาการของคัพภะและระยะเวลาของการฟักไข่ในปูม้าม้าเทศเมียที่มีไข่นอกกระดอง. วารสารวิทยาศาสตร์บูรพา, 12(2), 55-62.
- บรรจง เทียนสงฆ์ศรี. (2549). ปูม้าม้า สัตว์เศรษฐกิจพื้นฟูชีวิตชาวประมง. วารสารอภีเขต, 37-46.
- สุเมธ ดันตีกุล. (2527). ชีววิทยาการประมงปูม้าม้าในอ่าวไทย. เอกสารวิชาการฉบับที่ 1/2527. ฝ่ายสัตว์น้ำอื่นๆ. กองประมงทะเล กรมประมง. กรุงเทพฯ: 58 หน้า.
- El-Sherief, S.S. (1993). Histochemical characteristics of the egg membranes of *Portunus pelagicus* (L.). *Acta Biologica Hungarica*, 44(2-3), 269-280.
- Fletcher, C.R. (1974). Volume Regulation in Neries diversicolor-III. adaption to a reduce salinity. *Comparative Biochemistry and Physiology*, 47A, 1221-1234.

- Gilles, R. (1983). Volume maintenance and regulation in animal cells : Some features and trends. *Molecular Physiology*, 4, 3-16.
- Leelapiyanart, N. (1996). *Ecophysiology Studies on Developing and Ovigerous Females of Intertidal Crabs*. Thesis submitted in fulfillment on the requirements for degree of doctor of physiology in Zoology, University of Canterbury. New Zealand.
- Louis, F. & Gainey, JR. (1994). Volume regulation in tree species of marine mussels. *Journal of experimental Marine Biology and Ecology*, 181, 201-211.
- Ramano, N. & C. Zeng (2006) The effects of salinity on the survival, growth and haemolymph osmolality of early juvenile blue swimmer crabs, *Portunus pelagicus*. *Aquaculture*, 260, 151-162.
- Taylor, H.H. & Seneviratna, D. (2005). Ontology of salinity tolerance and hyper-osmoregulation by embryos of the intertidal crabs *Hemigrapsus edwardsi*, *Hemigrapsus crenulatus* (Decapoda, Grapsidae): Survival of acute hyposaline exposure. *Comparative Biochemistry and Physiology*, 140A, 495-505.
- Valdes, L., Alvarez, M.T. & Gozalez, E. (1991). Incubation of eggs of *Necora puber* (L., 1767) (Decapoda, Brachyura, Portunidae). Volume and biomass changes in embryonic development. *Crustaceana*, 60(2), 163-177.

การศึกษาความเหมาะสมของวัสดุสำหรับการย้ายปลุกปะการังเขากวาง (*Acropora* sp.) เพื่อการฟื้นฟู:
กรณีศึกษาในบริเวณเกาะขาม จังหวัดชลบุรี

Appropriate Material for Transplantation of Staghorn Coral (*Acropora* sp.): A Case study at Koh
Kham, Chonburi Province

ประสาน แสงไพบูลย์¹ และ สัมพันธ์ ทองหนูย์^{1, 2*}

¹ภาควิชาชีววิทยา คณะวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยี มหาวิทยาลัยราชภัฏรำไพพรรณี

^{1, 2}สาขาวิทยาศาสตร์ชีวภาพและทรัพยากรธรรมชาติ (ชีววิทยาเชิงอนุรักษ์) มหาวิทยาลัยมหิดล วิทยาเขตกาญจนบุรี

Prasan Sangphaibool¹ and Sampan Tongnunui^{1, 2*}

¹Department of Biology, Faculty of Science and Technology, Rambhai Barni Rajabhat University.

^{1, 2}Division of Biological Science and Natural Resources Sciences (Conservation Biology Program), Mahidol University,
Kanchanaburi Campus.

บทคัดย่อ

ศึกษาความเหมาะสมของวัสดุ 4 ชนิดคือ ท่อเหล็ก ท่ออลูมิเนียม ไม้ไผ่และท่อพีวีซี เพื่อนำมาใช้เตรียมสำหรับการปลุกปะการังเขากวาง (*Acropora* sp.) 1 ปีหลังการย้ายปลุกพบว่า อัตราการรอดตายและการเจริญเติบโตของปะการังที่ปลุกโดยวัสดุแต่ละชนิดมีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญที่ 0.05 คือ ปะการังเขากวางสามารถเจริญเติบโตบนท่อพีวีซีได้ดีที่สุด โดยมีความยาวเฉลี่ยที่เพิ่มขึ้นอยู่ที่ 10.2±2.8 เซนติเมตร และมีอัตราการรอดตายสูงสุดอยู่ที่ 92% สำหรับวัสดุ ท่อเหล็ก ท่ออลูมิเนียม และไม้ไผ่ ปะการังไม่สามารถเจริญเติบโตได้เพราะวัสดุทั้ง 3 ชนิด มีการผุกร่อนและหักทำให้ปะการังเขากวางล้มลงสู่พื้นทะเลและมีตะกอนทรายทับถมปะการังจึงไม่สามารถเจริญเติบโตได้

คำสำคัญ : การฟื้นฟูปะการัง *Acropora* sp. เกาะขาม ภาคตะวันออก

Abstract

Four kinds of material: metal pipe, aluminium pipe, bamboo and PVC pipe were used for transplantation of Staghorn coral (*Acropora* sp) at Koh Kham, Chnบุรี province. One year after transplantation, growth and percent survival of coral on PVC pipe were significantly higher than those on other materials ($p<0.05$). Coral which was gradual growth on the PVC were at 10.2±2.8 cm per year in length, and its percent survival was 92% while corals those grew on metal pipe, aluminium pipe and bamboo tubes were eroded and broken from sea water, the coral died from sediment covered.

Keywords : coral rehabilitation, *Acropora* sp., Koh Kham, Eastern of Thailand

*Corresponding author. E-mail: sampan_02@hotmail.com

บทนำ

ปัจจุบันแนวปะการังทั่วโลกได้รับความเสียหายและถูกทำลายอย่างรวดเร็วจึงก่อให้เกิดการสูญเสียของระบบนิเวศที่มีความสำคัญเป็นอย่างมาก (Wilkinson, 1998) แนวปะการังส่วนมากอยู่ในสภาวะที่เสื่อมลงซึ่งส่งผลมาจากกิจกรรมของมนุษย์ เช่น กิจกรรมการท่องเที่ยว การพัฒนาชายฝั่ง การสร้างท่าเรือ รวมถึงการปล่อยน้ำทิ้งจากโรงงานอุตสาหกรรม นอกเหนือจากนี้ การเกิดภัยธรรมชาติ เช่น พายุ การกัดเซาะ คลื่น และกระแสน้ำ ตลอดจนการเปลี่ยนแปลงสภาพภูมิอากาศโลกทำให้เกิดความสูญเสียของแนวปะการังซึ่งเป็นระบบนิเวศชายฝั่งที่มีความสำคัญ (Wilkinson, 2000) ล้วนแต่ส่งผลกระทบต่อระบบนิเวศแนวปะการังทั้งทางตรงและทางอ้อม

แนวปะการังของประเทศไทยทั้งทางฝั่งอันดามันและฝั่งอ่าวไทยประสบกับปัญหาภาวะการเสื่อมโทรมของแนวปะการังโดยสาเหตุต่างๆ เช่น ได้รับผลกระทบจากกิจกรรมการท่องเที่ยว การทำประมงเรืออวนลาก การระเบิดปลาและการขนส่งทางเรือ ทำให้แนวปะการังมีการเสื่อมโทรมลงค่อนข้างมาก (Chansang *et al.*, 1981) ซึ่งจากข้อมูลการศึกษาปะการังในประเทศไทยส่วนใหญ่แล้วจะมุ่งเน้นที่องค์ประกอบชนิด การแพร่กระจาย สังคมปะการัง ซึ่งชี้ให้เห็นถึงความหลายทางชีวภาพในระบบนิเวศ ดังนั้นแล้วข้อมูลดังกล่าวจึงสามารถบอกได้อย่างชัดเจนว่า ความหลากหลายของจำนวนชนิดของปะการังได้ลดลงจากการเปลี่ยนแปลงปัจจัยสิ่งแวดล้อมทั้งทางด้านเคมีและฟิสิกส์ (Yeemin, 1995; Zahir, 2000; Chansang *et al.*, 1992) สำหรับภาคตะวันออกของประเทศไทยแนวปะการังจะได้รับผลกระทบจากการพัฒนาเศรษฐกิจที่มุ่งเน้นภาคอุตสาหกรรมเป็นหลักที่ขาดการเอาใจใส่ต่อสิ่งแวดล้อมทางทะเล ตลอดจนกิจกรรมต่างของมนุษย์ที่เพิ่มขึ้น รวมถึงการใช้ประโยชน์โดยตรงจากระบบนิเวศในแนวปะการัง ซึ่งก่อให้เกิดผลกระทบในเชิงลบเพิ่มขึ้น (Srihunya, *et al.*, 1981; Poosuwan, 1999; Yeemin *et al.*, 2001) ดังนั้นแล้วจุดประสงค์ของการศึกษาในครั้งนี้เพื่อทดลองชนิดของวัสดุที่มีความเหมาะสมต่อการย้ายปลูกระบบนิเวศ เพื่อจะนำวัสดุมาเป็นแม่แบบสำหรับการฟื้นฟูปะการังในเขตภาคตะวันออก และเป็นแหล่งกึ่งพันธุ์ปะการังสำหรับนำมาแทนที่ปะการังที่อยู่ในสภาวะที่เสื่อมโทรม

วัสดุ อุปกรณ์และวิธีการวิจัย

1. พื้นที่ทำการศึกษ

เกาะขามเป็นเกาะหนึ่งที่ตั้งอยู่ในเขตภาคตะวันออกและตั้งอยู่ทางทิศใต้ของจังหวัดชลบุรี ซึ่งมีลักษณะทางกายภาพ คือ เกาะขามมีรูปร่างคล้ายตัวเอช (H) มีพื้นที่ประมาณ 62 ไร่ (ภาพที่ 1) ชายหาดของเกาะขามมี 2 หาดใหญ่ๆ คือหาดด้านทิศเหนือและทิศใต้ ชายหาดด้านทิศเหนือเป็นทรายค่อนข้างละเอียด ด้านทิศใต้เป็นหาดทรายหยาบมีหินกรวดและสามารถพบซากปะการังที่ถูกพัดพามากับคลื่นลมจากธรรมชาติ มีระดับความลึกของน้ำอยู่ที่ 3-6 เมตร ในบริเวณที่ความลึกดังกล่าวสามารถพบปะการังชนิดต่างๆ หลายชนิด เช่น ปะการังเขากวาง (*Acropora sp.*), ปะการังโต๊ะ (*Acropoda hyacinthus*) และปะการังสมอง (*Platygyra lamellina*) (สัมพันธ์ ทองหนูชัย, ไม่ได้ตีพิมพ์)

จากการสำรวจปะการังด้วยวิธีดำน้ำแบบ scuba diving ในพื้นที่ชายฝั่งเกาะขาม (ภาพที่ 1) ข้อมูลเบื้องต้นพบว่าบริเวณเกาะขามประกอบด้วยปะการังหลายชนิดและชนิดที่พบแพร่กระจายสูงสุดในเขตที่ทำการศึกษาคือ ปะการังเขากวาง (*Acropora sp.*) และเป็นปะการังที่ถูกทำลายจากกิจกรรมของมนุษย์ พายุคลื่นและกระแสน้ำ (ประสาน แสงโพบูลย์, ไม่ได้ตีพิมพ์) จึงได้นำปะการังชนิดนี้มาทำการย้ายปลูกโดยทดลองในวัสดุ 4 ชนิดคือ ท่อเหล็ก ท่ออลูมิเนียม ไม้ไผ่และท่อพีวีซี

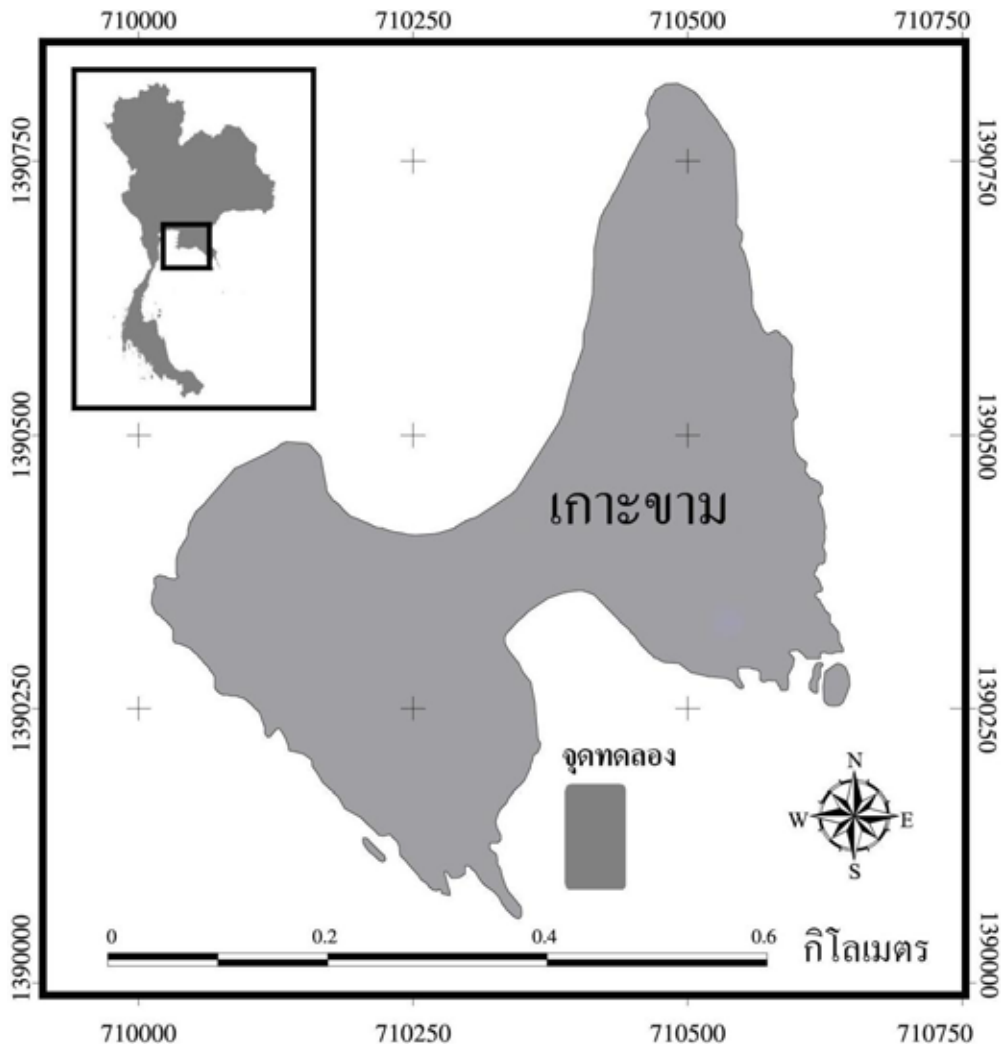
การทดลองการปลูกปะการังชนิด *Acropora sp.* ด้วยวัสดุ 4 ชนิดนั้น ได้ทดลองปลูกทางทิศใต้ของเกาะขาม มีระดับความลึกของน้ำทะเลที่ 5-6 เมตร เป็นแนวนานกับเกาะขาม (line transect) ซึ่งพื้นที่ท้องทะเลจะมีลักษณะเป็นกรวดและหิน เป็นตำแหน่งที่มีปะการังชนิด *Acropora sp.* เป็นชนิดเด่นในการศึกษาครั้งนี้จะไม่ส่งผลกระทบต่อปะการังที่มีอยู่เดิมในพื้นที่ทุกชนิด

วิธีการศึกษา

นำชิ้นส่วนของปะการังที่แตกหักจากสาเหตุต่างๆ ในพื้นที่มาเป็นกึ่งพันธุ์สำหรับการทดลองปลูก โดยเลือกชิ้นส่วนของปะการังที่มีขนาดความยาวอยู่ที่ 10-12 เซนติเมตร มาปลูก เพื่อจะได้ไม่ไปทำลายแนวปะการังที่มีความสมบูรณ์ตามธรรมชาติ ซึ่งอาจจะก่อให้เกิดความเสียหายได้ ปะการังจึงทดลองปลูกในเขตทะเลที่น้ำล้นต่ำสุด ซึ่งมีความลึกอยู่ที่ประมาณ 3-4 เมตร และในช่วงที่น้ำขึ้นสูงสุดปะการังจะอยู่ในระดับความลึกประมาณ 5-6 เมตร

การยึดปะการังเขากวางกับวัสดุทั้ง 4 ชนิด

1. นำกิ่งปะการังเขากวางที่แตกหักอยู่ตามพื้นทะเล



ภาพที่ 1 แผนที่เกาะขาม พื้นที่สำหรับทดลองการปลูกปะการังเขากวาง (*Acropora* sp.) ซึ่งตั้งอยู่ในเขตอำเภอสัตหีบ จังหวัดชลบุรี

บริเวณเกาะขามซึ่งมีขนาดความยาวประมาณ 10-12 เซนติเมตร มาปลูกสวมลงในท่อเหล็ก, ท่อลูมิเนียม, ไม้ไผ่ และท่อพีวีซีที่มีเส้นผ่าศูนย์กลางขนาด 3 เซนติเมตร ความยาวของวัสดุแต่ละชนิดเฉลี่ยที่ 10 เซนติเมตร

2. ปะการังจะถูกยึดติดกับวัสดุดังกล่าวด้วยตะปูเกลียว 2 อัน (ซ้ายและขวา) โดยเจาะรูที่วัสดุ แล้วใส่ตะปูเกลียวเข้าไป หลังจากนั้นจะใช้ไขควงขันตะปูเกลียวเข้าไปประมาณครึ่งหนึ่งของ กิ่งพันธุ์ปะการัง และชิ้นส่วนของกิ่งพันธุ์ปะการังจะอยู่ภายในท่อของวัสดุประมาณ 2 เซนติเมตร

3. การทดลองของวัสดุทั้ง 4 ชนิดจะประกอบด้วย 4 ชุด การทดลอง (4 ทรีทเมนต์) ในแต่ละชุดการทดลองจะประกอบด้วย กิ่งปะการัง 14 กิ่ง (n=14) ดังนั้น จำนวนตัวอย่างทั้งหมดเท่ากับ 52

ตัวอย่าง (N=52) ในแต่ละกิ่งปลูกห่างกันประมาณ 30 เซนติเมตร และวางแบบสลับฟันปลา ทั้ง 4 ชุดการทดลองจะวางห่างกันประมาณ 2 เมตร ในลักษณะที่เป็นแนวเดียวกันทั้งหมด (line transect)

4. ปะการังแต่ละกิ่งจะทำรหัสไว้ และวัดความยาวของกิ่ง เริ่มต้นที่นำมาปลูกโดยวัดจากส่วนที่อยู่เหนือวัสดุที่ทดลองปลูก และบันทึกข้อมูล เพื่อนำมาเปรียบเทียบเมื่อปะการังมีความยาวเพิ่มขึ้นหลังการย้ายปลูก

5. นำปะการังที่เตรียมเสร็จเรียบร้อยแล้วไปปลูกในทะเลซึ่งอยู่ในแนวเขต reef flat โดยการดำน้ำแบบ scuba diving โดย กิ่งปะการังที่ยึดติดอยู่กับวัสดุทั้ง 4 ชนิด ของแต่ละชุดการทดลอง จะยึดอีกครั้งกับพื้นที่ท้องทะเลโดยใช้แท่งเหล็กยาว 50 เซนติเมตร เพื่อป้องกันการล้มลงของวัสดุจากกระแสคลื่น

การวิเคราะห์ข้อมูล

การเจริญเติบโตของปะการังจะประเมินโดยการวัดความยาวของกิ่งปะการังที่งอกใหม่และบันทึกจำนวนกิ่งที่งอกใหม่ โดยทุกๆ กิ่งของปะการังที่งอกใหม่จะถูกทำรหัสไว้พร้อมความยาวเริ่มต้นที่วัดได้ในครั้งแรก แล้วนำมาคำนวณในการวัดครั้งต่อไปของทุกๆ กิ่งตามรอบของการวัดทุกๆ ครั้ง โดยทำการวัดทุกตัวอย่าง ที่ทำการปลูก (N=52) โดยใช้เครื่องมือ เวอร์เนียร์แคลิเปอร์

วัดอัตราการรอดตาย และการเจริญเติบโตของกิ่งปะการังทั้งหมดที่ย้ายปลูกทั้งหมด 4 ครั้ง (3 เดือน/ครั้ง) เป็นเวลา 1 ปี การประเมินอัตราการรอดตายของปะการังโดยคำนวณเป็นเปอร์เซ็นต์ของแต่ละชุดการทดลองของวัสดุทั้ง 4 ชนิด นำข้อมูลอัตราการรอดตายและการเจริญเติบโตของปะการังที่ปลูกในวัสดุทั้ง 4 ชนิด มาวิเคราะห์ความแปรปรวน (ANOVA) โดยใช้โปรแกรม SPSS เวอร์ชัน 11.5 โดยใช้ค่าการตัดสินใจที่ระดับนัยสำคัญที่ 0.05 หรือ 95%

ผลการวิจัย วิเคราะห์ผลและสรุปผลการวิจัย

ผลการทดลอง

วัสดุทั้ง 4 ชนิด ที่ทำการทดลองปลูกปะการังเขากวางเมื่อประเมินอัตราการรอดตายในระยะเวลา 1 ปี พบว่า อัตราการรอดตายและอัตราการเจริญเติบโตของปะการังเขากวางมีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญยิ่งที่ 0.05 คือ อัตราการรอดตายของปะการังเขากวางที่ทำการปลูกในท่อพีวีซีมีอัตราการรอดตายสูงสุดถึง 92% และการเจริญเติบโตหรือความยาวเฉลี่ยของปะการังที่เพิ่มขึ้นในแต่ละกิ่งอยู่ที่ 10.2 ± 2.8 เซนติเมตร/ปี ในขณะที่ท่อเหล็ก ท่ออลูมิเนียมและไม้ไผ่ ปะการังเขากวางไม่สามารถเจริญเติบโตในช่วงระยะเวลา 1 ปี (ตารางที่ 1 และ 2)

สำหรับอัตราการรอดตายของปะการังที่ปลูกในวัสดุทั้ง 4 ชนิดนั้น ในช่วงระยะเวลา 3 เดือนแรกปะการังสามารถเจริญเติบโตได้บนวัสดุทั้ง 4 ชนิด โดยจะมีการสร้างเนื้อเยื่อและสร้าง Axial corallite ตรงบริเวณส่วนปลายของปะการังที่เจริญเติบโต

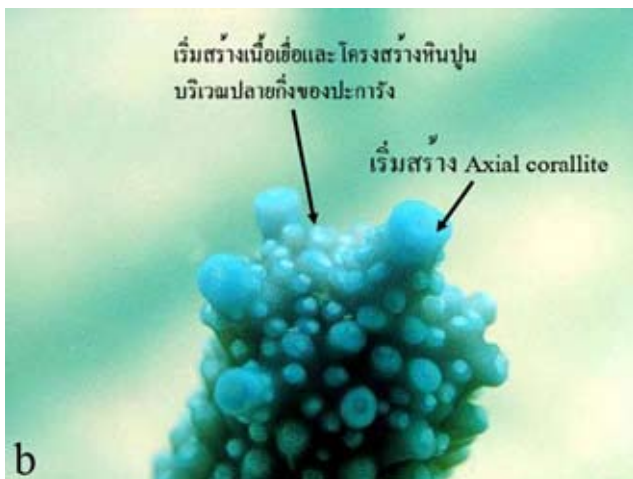
ตารางที่ 1 ผลการศึกษาความยาวกิ่งปะการัง (*Acropora* sp.) จากการย้ายปลูกด้วยวัสดุทั้ง 4 ชนิด (N=52) ในบริเวณเกาะขาม อำเภอสัตหีบ จังหวัดชลบุรี

เดือนที่	ท่อเหล็ก (n=14)	ความยาวกิ่งปะการังที่เพิ่มขึ้น (mean±SD) ซม.		
		ท่ออลูมิเนียม (n=14)	ไม้ไผ่ (n=14)	ท่อพีวีซี (n=14)
เริ่มต้น	0	0	0	0
3	0.3±0.2	0.4±0.1	0.5±0.3	1.0±0.5
6	0	0	0	3.5±1.5
9	0	0	0	6.3±3.0
12	0	0	0	10.2±2.8

ตารางที่ 2 ผลการศึกษาเปอร์เซ็นต์การรอดตายของกิ่งปะการัง (*Acropora* sp.) จากการย้ายปลูกด้วยวัสดุทั้ง 4 ชนิด (N=52) ในบริเวณเกาะขาม อำเภอสัตหีบ จังหวัดชลบุรี

เดือนที่	ท่อเหล็ก (n=14)	ความยาวกิ่งปะการังที่เพิ่มขึ้น (mean±SD) ซม.		
		ท่ออลูมิเนียม (n=14)	ไม้ไผ่ (n=14)	ท่อพีวีซี (n=14)
เริ่มต้น	100	100	100	100
3	50	57.1	71.4	92
6	0	0	0	92
9	0	0	0	92
12	0	0	0	92

บนวัสดุทั้ง 4 ชนิด โดยมีความยาวเฉลี่ยอยู่ที่ 0.3 ± 0.2 , 0.4 ± 0.1 , 0.5 ± 0.3 และ 1.0 ± 0.5 เซนติเมตร ตามลำดับ (ภาพที่ 2 a, b) กิ่งปะการังที่หักตรงส่วนปลายนั้นก็จะมีการสร้าง Axial corallite ได้ช้ากว่ากิ่งปะการังที่ส่วนปลายสมบูรณ์ ส่วนปะการังที่ส่วนปลายสมบูรณ์นั้นจะมีการสร้าง Axial corallite และเนื้อเยื่อ และโครงสร้างหินปูนได้เร็วกว่าปะการังที่ส่วนปลายหัก



ภาพที่ 2 a. ปะการังเขากวาง (*Acropora* sp.) อายุ 3 เดือน และ b. เริ่มสร้าง axial corallite เนื้อเยื่อ และโครงสร้างหินปูนขึ้นบริเวณส่วนปลายกิ่งของปะการัง

สำหรับในช่วงเวลาเดือนที่ 6, 9 และเดือนที่ 12 พบว่าปะการังสามารถเจริญได้เฉพาะวัสดุที่เป็นท่อพีวีซีเท่านั้น ภาพที่ 3, 4 และ 5 ตามลำดับ ส่วนในเดือนที่ 3 ปะการังเขากวางได้เริ่มสร้าง Axial corallite ขึ้นและมีเปอร์เซ็นต์การรอดตายอยู่ที่ 50%, 57.1%, 71.4% และ 92% ตามลำดับ โดยที่ ในเดือนที่ 3 ปะการังที่ปลูกด้วยวัสดุท่อเหล็ก ท่ออลูมิเนียม ไม้ไผ่และท่อพีวีซีมีจำนวนกิ่งการตายคือ 7, 4, 2 และ 1 กิ่ง ตามลำดับ และพบว่าในเดือนที่ 6, 9 และเดือนที่ 12 ปะการังที่ย้ายปลูกด้วยวัสดุท่อเหล็ก ท่ออลูมิเนียมและไม้ไผ่ ไม่สามารถเจริญเติบโตต่อไปได้และกิ่งปะการังได้ตายลงทั้งหมดทุกกิ่ง สำหรับปะการังเขากวางที่ย้ายปลูกด้วยวัสดุพีวีซีพบการตายเพียง 1 กิ่ง ในช่วงเดือนที่ 3 เท่านั้น หลังจากนั้นในเดือนที่ 6, 9 และเดือนที่ 12 ไม่พบการตายของกิ่งปะการังที่ย้ายปลูกด้วยพีวีซี

สำหรับการเจริญเติบโตของปะการังที่ย้ายปลูกด้วยท่อพีวีซีนั้น ในเดือนที่ 3 ได้มีการสร้าง Axial corallite เนื้อเยื่อ และโพลีปรตบริเวณส่วนปลายกิ่งของปะการังและด้านข้าง ในเดือนที่ 6 มีความยาวเพิ่มขึ้นและแตกกิ่งแขนงอย่างต่อเนื่องจนถึงช่วงเดือนที่ 12 ปะการังมีลักษณะเป็นทรงพุ่มชัดเจนและกิ่งปะการังสามารถนำไปขยายพันธุ์ต่อได้ (ตารางที่ 1) และจากการวิเคราะห์พบว่าท่อพีวีซีไม่เกิดปฏิกิริยาใดๆ กับน้ำทะเลที่จะนำไปสู่การ



ภาพที่ 3 ปะการังอายุ 6 เดือน



ภาพที่ 4 ปะการังอายุ 9 เดือน



ภาพที่ 5 ปะการังอายุ 12 เดือน

ผู้กร่อนและทำให้ปะการังที่งอกใหม่ออกมาเกิดความเสียหายได้ ในขณะที่ท่อเหล็กและท่ออลูมิเนียมมีปฏิกิริยาทางเคมีกับน้ำทะเล โดยจะเกิดเป็นสนิมและนำไปสู่การผู้กร่อนซึ่งไม่มีความคงทนเมื่ออยู่ในน้ำทะเล ท่อเหล็กและท่ออลูมิเนียมจะกร่อนและหักทำให้ปะการังล้มลงสู่พื้นท้องทะเล จึงทำให้ปะการังที่กำลังอยู่ในช่วงการสร้างเนื้อเยื่ออยู่นั้นถูกทับถมด้วยตะกอนทรายทำให้ปะการัง

ไม่สามารถเจริญต่อไปได้ ส่วนไม้ไผ่จะกร่อนและผุเนื่องจากจะมีกลุ่มไส้เดือนทะเล (Polychaetes) เข้ามาเจาะรูทำให้ไม้ไม่หักปะการังจึงไม่สามารถเจริญต่อไปได้เพราะจะถูกทับถมจากตะกอนทรายหลังจากที่ปะการังล้มลงสู่พื้นทะเล นอกเหนือจากนี้ปะการังไม่สามารถสร้างเนื้อเยื่อเพิ่มเพื่อที่จะยึดเกาะกับวัสดุท่อเหล็กท่ออลูมิเนียมและไม้ไผ่ได้ ในขณะที่เดียวกันปะการังเขากวางสามารถสร้างเนื้อเยื่อตรงตำแหน่งรอยต่อระหว่างท่อพีวีซีกับปะการังเพื่อเพิ่มแรงยึดเกาะทำให้ปะการังเขากวางไม่หลุดออกจากท่อพีวีซี

สรุปและวิจารณ์ผลการทดลอง

การศึกษาวิธีการปลูกปะการังเขากวางและวัสดุที่เหมาะสมเพื่อที่จะนำมาเป็นวิธีการฟื้นฟูปะการังในบริเวณเกาะขามซึ่งเป็นวิธี asexual reproduction และเป็นการสืบพันธุ์แบบ fragmentation ปกติโดยทั่วไปแล้วในสภาวะธรรมชาติเมื่อกิ่งปะการังมีการหักหรือแตกออกจากพ่อแม่ จากสาเหตุต่างๆ เช่น พายุ คลื่น และการหาอาหารของปลาบางกลุ่ม ปะการังส่วนที่หักออกมา ก็สามารถเจริญเติบโตต่อไปเมื่ออยู่ในแหล่งที่เหมาะสม (Highsmith, 1982; Bak & Engel, 1979; Gilmore & Hall, 1976) โดยพัฒนาต่อไปในลักษณะการแตกหน่อโดยเฉพาะปะการังกลุ่ม Acroporidae สกุล *Acropora* sp. (Highsmith, 1980; Randall, 1973; Sheppard, 1981) และพบว่าปะการังสกุล *Acropora* sp. มีการปล่อยตัวอ่อนออกมาน้อย และการสืบพันธุ์แบบ fragmentation จะพบมากที่สุดในการปลูกปะการังชนิด *Acropora* sp. (Highsmith, 1982) และสอดคล้องกับการศึกษาของ Mangkhornfar & Manthachitra (1992) พบว่า การปลูกปะการังชนิด *Acropora formosa* มีอัตราการรอดตายมากที่สุดเมื่อเปรียบเทียบกับชนิด *Pocillopora damicornis* และ *Montipora* sp. ดังนั้นการนำกิ่งของปะการังที่หักจากสาเหตุต่างนั้น มาปลูกลงในท่อพีวีซีจัดเป็นการเตรียมแหล่งที่อยู่อาศัยให้ปะการังให้มีความเหมาะสมที่จะฟื้นคืนสภาพให้กับระบบนิเวศทางทะเล เพราะส่วนใหญ่แล้วกิ่งปะการังที่หักและเกิดความเสียหายไม่สามารถเจริญเติบโตต่อไปได้ เนื่องจากจะมีตะกอนทรายเข้ามาทับถมปะการัง

การปลูกปะการังเขากวางโดยเชื่อมต่อเข้ากับท่อพีวีซีเพื่อเป็นวัสดุให้กับปะการังยึดเกาะจัดเป็นวิธีที่มีความเหมาะสมค่อนข้างมากเพราะปะการังสามารถเจริญเติบโตได้ และท่อพีวีซีมีความคงทนและสามารถนำมาใช้ใหม่ได้หลังจากนำปะการังไปฟื้นฟูเมื่อเปรียบเทียบกับ ท่อเหล็ก ท่ออลูมิเนียมและไม้ไผ่ นอกจากนี้

พีวีซีจัดเป็นวัสดุชนิดหนึ่งที่มีความเกี่ยวข้องกับชีวิตประจำวันของมนุษย์ เช่น ท่อประปา ท่อส่งน้ำสำหรับอุปโภคและบริโภค ส่วนในด้านการเพาะเลี้ยงสัตว์น้ำ พีวีซีและถังพลาสติกได้ถูกนำมาใช้ในการอนุบาลสัตว์น้ำวัยอ่อนตามโรงเพาะฟักต่างๆ อย่างกว้างขวาง ดังนั้นการใช้ท่อพีวีซีมาป็นวัสดุปลูกปะการังจึงไม่น่าจะมีผลกระทบต่อระบบนิเวศทางทะเล อย่างไรก็ตามท่อพีวีซีที่ใช้เป็นชนิดที่ผลิตออกมาใช้เฉพาะสำหรับเป็นท่อน้ำดื่มเท่านั้นจากการศึกษาพบว่ายังมีสัตว์ในกลุ่มอื่นๆ เช่น ฟองน้ำ และปะการังชนิดอื่นสามารถเข้ามาเจริญเติบโตบนท่อพีวีซีได้

กิตติกรรมประกาศ

ผู้วิจัยขอขอบคุณคณะวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยี มหาวิทยาลัยราชภัฏรำไพพรรณีในการใช้เครื่องมือในการศึกษาวิจัยและขอขอบคุณ นิสิต นักศึกษาที่ช่วยเก็บตัวอย่างตลอดจนงานวิจัยสำเร็จและขอขอบคุณนายสุชาติ ชายหาด ที่สละเวลาตรวจสอบข้อมูลด้าน GIS และขอขอบคุณมูลนิธิกิจกรรมวิทยาศาสตร์ทางทะเลและการอนุรักษ์ในการสนับสนุนแหล่งทุน

เอกสารอ้างอิง

Bak, R.P.M., & Engel, M.S. (1979). Distribution, abundance and survival of juvenile hermatypic corals (Scleractinia) and the importance of life history strategies in the parent coral community. *Marine Biology*, 54, 341-352.

Chansang, H., Boonyanate, P., & Charuchinda, M. (1981). Effect of sedimentation from coastal mining on coral reefs on the northwest coast of Phuket Island. In *Thailand. Proceeding of the 7th International Coral Reef Symposium 1*. (pp.129-136).

Chansang, H., Phongsuwan, N., & Boonyanate, P. (1992). Growth of the coral under effect of sedimentation along the northwest coast of Phuket Island, Thailand. In *Proceeding of the 7th International Coral reef Symposium 1*. (pp. 241-248).

Gilmore, M.D., & Hall, B.R. (1976). Life history, growth habits, and constructional role of *Acropora cervicornis* in the patch reef environment. *Journal Sedimentary Petrology*, 46, 519-522.

Highsmith, R.C. (1980). Geographic patterns of coral bioerosion: a productivity hypothesis. *Journal of Experimental Marine Biology and Ecology*, 46, 177-196.

Highsmith, R.C. (1982). Reproduction by fragmentation in corals. *Marine ecology-progress serie*, 7, 207-226.

Mangkhornfar, V., & Manthachitra, V. (1992). Coral transplantation. In *18th congress on Science and Technology of Thailand*, (pp338-339).

Poosuwan, C. (1999). *Temperal variation of the coral reefs of the east coast of the inner Gulf of Thailand*. Master's thesis, Department of Biological Science, Brock university, Ontario, Canada.

Randall, R.H. (1973). Reef physiography and distribution of coral at Tumon bay, Guam, before Crown-of-Thorns starfish *Acanthaster planci* (L) predation. *Micronesica*, 9, 119-158.

Sheppard, C.R.C. (1981). The reef and the soft-substrate coral fauna of Chagos, Indian Ocean. *Journal Natural History*, 15, 607-621.

Srithunya, S., Muchacheep, S., Sirirattanachai, S., & Harden, V. (1981). Pattern of distribution and correlated parameters of corals in coral reefs at Ko larn, Thailand (a preliminary report). In *Proceedings the 4th. International coral reef symposium*, 2. (pp.309-313).

Wilkinson, C.R. (1998). *Status of coral reefs of the world: 1998*. Australia Institute of Marine Science: Australia.

Wilkinson, C. (2000). *Status of Coral Reefs of the World: 2000*. Australian of Institute of Marine Science: Australia.

Yeemin, T. (1995). *Coral recruitment: the proper way for coral reef rehabilitation*. In M.S. Zaki, M. Terasaki, M.A. Ambak & M.S. Shahraza (ed) JSPS-VCC Joint seminar on marine science. (pp 87-91). Faculty of Fisheries and Marine Science, University Pertanian Malaysia, Selangor, Malasia.

- Yeemin, T., Sudara, S., Krairapanond, N., Silpsoonthorn, C., Ruengsawang, N. & Asa, S. (2001). *Country Report: Thailand*. International coral reef initiative (ICRI).
- Zahir, H. (2000). Status of the coral reefs of Maldives after the breaching event in 1998. In D. Souter, D. Obura & O. Linden (ed). *Coral reef degradation in the Indian Ocean: Status report 2000*. (pp 64-68). CORDIO, SAREC marine Science Program, Department of Zoology, Stockholm University, Sweden.

การตรวจวัดปริมาณสารกัมมันตรังสีตามธรรมชาติเรเดียม-226 ละลายน้ำ บริเวณบางปะกงเอสทูรี ในรอบปี 2545
A Quantitative Determination of a Natural Radioactive Dissolved ²²⁶Ra
in the Bangpakong Estuary in 2002

แพชโชค จินตเศรณี* และ อนุกูล บูรณประทีปรัตน์
ภาควิชาวาริชศาสตร์ คณะวิทยาศาสตร์ มหาวิทยาลัยบูรพา

Pachoenchoke Jintasaeranee* and Anukul Buranapratheprat
Department of Aquatic Science, Faculty of Science, Burapha University.

บทคัดย่อ

ทำการตรวจวัดปริมาณสารกัมมันตรังสีตามธรรมชาติเรเดียม-226 ละลายน้ำ โดยใช้ตัวดูดซับเส้นใยอะคริลิกแมงกานีสออกไซด์ ประสิทธิภาพสูงร่วมกับการวิเคราะห์ทางเคมีด้วยวิธีตกตะกอนร่วม บริเวณบางปะกงเอสทูรีในรอบปี 2545 พบว่าปริมาณเรเดียม-226 ละลายที่ผิวน้ำในเดือนเมษายน เปลี่ยนแปลงในช่วง 1.47 ± 0.26 ถึง 33.86 ± 1.24 พิโกกรัมต่อหนึ่งร้อยลิตร เดือนมิถุนายนในช่วง 0.32 ± 0.12 ถึง 19.39 ± 0.93 พิโกกรัมต่อหนึ่งร้อยลิตร เดือนกันยายนในช่วง 0.25 ± 0.11 ถึง 7.83 ± 0.59 พิโกกรัมต่อหนึ่งร้อยลิตร และเดือนธันวาคมในช่วง 0.21 ± 0.10 ถึง 6.31 ± 0.53 พิโกกรัมต่อหนึ่งร้อยลิตร โดยปริมาณสูงสุดพบในเดือนเมษายน ปริมาณที่ตรวจวัดได้มีค่าไม่เกินกำหนดมาตรฐานคุณภาพน้ำทะเล พ.ศ. 2549 เรเดียม-226 ละลายน้ำปริมาณมากบริเวณปากแม่น้ำบางปะกง รวมทั้งบริเวณตอนล่างและบริเวณฝั่งด้านทิศตะวันออกของเอสทูรีในช่วงฤดูแล้ง อาจส่งผลให้มีการสะสมเรเดียม-226 ในสิ่งมีชีวิตและสิ่งแวดล้อมเพิ่มขึ้น การศึกษาเพิ่มเติมเป็นสิ่งจำเป็นเพื่อให้เข้าใจพฤติกรรมของสารกัมมันตรังสีตามธรรมชาติละลายน้ำในเอสทูรี

คำสำคัญ : บางปะกงเอสทูรี เรเดียม-226 เส้นใยอะคริลิกแมงกานีสออกไซด์ สารกัมมันตรังสี การตกตะกอนร่วม

Abstract

This research was conducted for a quantitative determination on natural radioactive dissolved ²²⁶Ra using a high efficiency Manganese-Oxide acrylic fiber adsorbent and associated with a co-precipitation chemical analytical technique in the Bangpakong Estuary in 2002. Dissolved ²²⁶Ra in surface water ranged between 1.47 ± 0.26 and 33.86 ± 1.24 pg/100-l in April, 0.32 ± 0.12 and 19.39 ± 0.93 pg/100-l in June, 0.25 ± 0.11 and 7.83 ± 0.59 pg/100-l in September, and 0.21 ± 0.10 and 6.31 ± 0.53 pg/100-l in December. The highest quantity appears in April. These determinable values are below the criterion of seawater qualities standard of Thailand published in 2006. A high quantity of ²²⁶Ra appearing in the river mouth, lower part of the study area and the east coast of the estuary in dry season suggested a potential for the enhancement of the accumulation of ²²⁶Ra in living organisms and adjacent environment. Additional studies are the needs for better understanding the behavior of the natural radioactive dissolved materials in this estuary.

Keyword : Bangpakong Estuary, Ra-226, Manganese-Oxide acrylic fibers, radioisotopes, co-precipitation

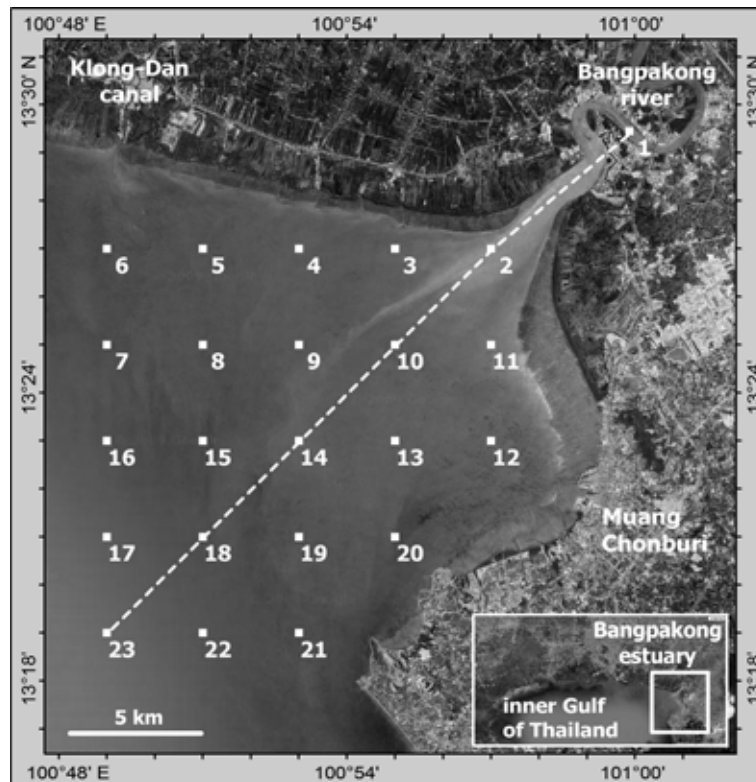
*Corresponding author. E-mail: pachoen@buu.ac.th

บทนำ

ลุ่มแม่น้ำบางปะกงครอบคลุมพื้นที่หลายจังหวัด เช่น ชลบุรี ฉะเชิงเทรา ปราจีนบุรี และกบินทร์บุรี เป็นต้น คิดเป็นพื้นที่ประมาณ 18500 ตารางกิโลเมตร ลุ่มน้ำนี้เป็นแหล่งเพาะเลี้ยงและแหล่งอนุบาลสัตว์น้ำที่สำคัญทางเศรษฐกิจของประเทศไทย (Bordalo *et al.*, 2001) โดยเฉพาะบริเวณบางปะกงเอสทรี (ภาพที่ 1) ซึ่งเป็นแหล่งเพาะเลี้ยงสำคัญของจังหวัดชายฝั่งทะเลภาคตะวันออก ข้อมูลการตรวจวัดคุณภาพน้ำบริเวณบางปะกงเอสทรีและชายฝั่งทะเลภาคตะวันออกตลอดหลายปีแสดงแนวโน้มความเสื่อมโทรมของเอสทรี เมื่อเทียบกับคุณภาพน้ำในอดีต (Bordalo *et al.*, 2001; ฉลอย มุสิกะ และคณะ, 2550) ซึ่งเป็นผลเนื่องมาจากการขยายตัวของชุมชนที่มีแนวโน้มเพิ่มมากขึ้นและอาจก่อผลกระทบต่อสิ่งแวดล้อมและเศรษฐกิจของประชากรที่ใช้ประโยชน์จากลุ่มน้ำนี้ แม้ว่าหน่วยงานที่เกี่ยวข้องในพื้นที่มีการติดตามการเปลี่ยนแปลงและตรวจวัดคุณภาพน้ำบริเวณเอสทรีนี้อย่างต่อเนื่อง แต่อย่างไรก็ตาม การตรวจวัดดังกล่าวมีจุดประสงค์เพื่อเฝ้าระวังการเปลี่ยนแปลงคุณภาพน้ำทางกายภาพ เช่น อุณหภูมิ น้ำ และคุณภาพน้ำทางเคมี

เช่น สารอาหารที่อาจก่อให้เกิดการเน่าเสียของน้ำและเกิดผลเสียต่อการเพาะเลี้ยงสัตว์น้ำ แต่ในบางกรณีหากมีสารปริมาณน้อย เช่น โลหะหนัก สารพิษ หรือสารกัมมันตรังสี ละลายเพิ่มเติมลงสู่แหล่งน้ำ แม้จะมีปริมาณน้อยก็อาจก่อให้เกิดปัญหาต่อสิ่งแวดล้อมและผู้บริโภคได้ หากปราศจากการเฝ้าระวังและการเตือนล่วงหน้า

สารกัมมันตรังสีตามธรรมชาติสามารถถูกชะล้างและละลายจากผิวดิน และถูกนำลงสู่เอสทรีและชายฝั่งได้ (Wang & Willis, 1965; Seymour, 1971; Dulaiova *et al.*, 2006) แต่ักพบในปริมาณที่ต่ำมากในช่วง 1-40 พิโกกรัมต่อหนึ่งร้อยลิตร (pg/100-l) (ฟูเกียรติ สีนาคม และคณะ, 2531; Moore, 1969; Moore & Reid, 1973; Hancock & Murray, 1996; Nozaki *et al.*, 2001) ถึงแม้ในธรรมชาติจะมีปริมาณต่ำมาก แต่สารกัมมันตรังสีละลายน้ำสามารถสะสมในตะกอน (Clulow *et al.*, 1998) และสิ่งมีชีวิตทั้งพืชและสัตว์ได้ (Shannon & Cherry, 1971; Lee & Kim, 2006; Lauria *et al.*, 2009) ยิ่งกว่านั้น สารกัมมันตรังสีที่สะสมในสิ่งมีชีวิต สามารถถ่ายทอดเข้าสู่ร่างกาย



ภาพที่ 1 ตำแหน่งสถานีเก็บตัวอย่าง 23 สถานี บริเวณบางปะกงเอสทรี (ดัดแปลงจากภาพถ่ายดาวเทียมจาก www.google.co.th)

ผู้บริโภครู้ได้ตามห่วงโซ่อาหาร (IAEA, 1990) โดยเฉพาะสารกัมมันตรังสีตามธรรมชาติเรเดียม-226 นั้น พบว่ามีการสะสมในกระดูกของมนุษย์ (Hallden *et al.*, 1963) และมีแนวโน้มก่อให้เกิดโรคมะเร็ง (Mays *et al.*, 1985; USEPA, 1996)

การวิจัยนี้เป็นการตรวจวัดปริมาณเรเดียม-226 ละลายน้ำ (ต่อไปในเอกสารนี้จะเรียกว่าเรเดียมละลายน้ำ) บริเวณบางปะกง เอสทรีโดยใช้ตัวกรองเส้นใยอะคริลิกแมงกานีสออกไซด์ ประสิทธิภาพสูงร่วมกับการวิเคราะห์โดยวิธีตกตะกอนร่วม ซึ่งเป็นครั้งแรกที่มีการตรวจวัดปริมาณเรเดียมละลายน้ำในบริเวณนี้ และเป็นการตรวจวัดในรอบปี ข้อมูลการตรวจวัดสามารถใช้อ้างอิงและเปรียบเทียบกับกำหนดมาตรฐานคุณภาพน้ำทะเล ซึ่งเป็นประโยชน์ต่อหน่วยงานที่เกี่ยวข้องกับการตรวจวัดคุณภาพน้ำ หน่วยงานจัดการสิ่งแวดล้อม รวมถึงผู้บริโภคต่อไป

วัสดุอุปกรณ์และวิธีการวิจัย

วิธีการศึกษา

เก็บตัวอย่างเรเดียมละลายน้ำ และตรวจวัดซาลินิตี (Salinity) ในหน่วยพีเอสยู (psu) (ต่อไปจะเรียกว่าความเค็ม) ที่ผิวหน้าน้ำในช่วงน้ำขึ้นสูงสุด จากสถานีเก็บตัวอย่างบริเวณบางปะกงเอสทรี 23 สถานี (ภาพที่ 1) จำนวน 4 ครั้งในรอบปี ในวันที่ 5-7 เมษายน, 15-16 มิถุนายน, 14-15 กันยายน และ 13-14 ธันวาคม พ.ศ. 2545 เก็บตัวอย่างเรเดียมละลายน้ำโดยตักน้ำจากแต่ละสถานีบรรจุใส่ถังโพลีเอทิลีนปริมาตร 20 ลิตร แล้วกรองตามแรงโน้มถ่วงผ่านเส้นใยอะคริลิกแมงกานีสออกไซด์ ชนิด MnO₂ AF-2 (เมซิอุโซค จินตเศรณี, 2551) หนัก 5 กรัม ที่บรรจุในท่อพลาสติกทรงกระบอกเส้นผ่านศูนย์กลาง 1.27 เซนติเมตร ยาว 20 เซนติเมตร โดยควบคุมอัตราการกรอง 500 มิลลิลิตรต่อนาที (ภาพที่ 2) แล้วนำกลับไปวิเคราะห์ปริมาณเรเดียมละลายน้ำด้วยวิธีการตกตะกอนร่วมดัดแปลงโดย เมซิอุโซค จินตเศรณี (2551) ตรวจวัดปริมาณเรเดียมละลายน้ำในตัวอย่างด้วยเครื่องวัดรังสีแอลฟาชนิด gas flow proportional counter ยี่ห้อ Berthold รุ่น LB770 แบบ 10 channel Low-Level counter การคำนวณปริมาณเรเดียม ละลายน้ำในหน่วย pg/100-l (สมการที่ 1) ตามวิธีของ ชนิษฐา กมลรัตน์ (2523) ดัดแปลงโดย เมซิอุโซค จินตเศรณี (2551) ตรวจวัดค่าความเค็มโดยใช้เครื่องวัดแบบหลายหัวอ่าน (multi-probe) ยี่ห้อ YSI รุ่น 6820

$$^{226}\text{Ra} = 1.6284 \left(\frac{D_{\text{cpm}} - B_{\text{cpm}}}{CS} \right) \quad (1)$$

เมื่อ D_{cpm} คือ ปริมาณเรเดียม-226 ในตัวอย่าง หน่วยจำนวนนับต่อนาที (counts per minute; cpm)

B_{cpm} คือ แบลกของตัวอย่าง หน่วย cpm

C คือ สัมประสิทธิ์เคมีคัลยิลด์ (chemical yield) ของตัวอย่าง คำนวณตามสมการ $C = 2.9421 w$

เมื่อ w คือน้ำหนักตะกอนของตัวอย่างหลังการตกตะกอนร่วม หน่วยมิลลิกรัม (เมซิอุโซค จินตเศรณี, 2551)

S คือ สัมประสิทธิ์ประสิทธิภาพการตรวจวัดรังสี เนื่องจากการดูดกลืนในตัวเองของตัวอย่าง คำนวณตามสมการ $S = 27.9636 T^{0.6152}$ เมื่อ T คือ ความหนาของตะกอนหลังการตกตะกอนร่วม หน่วยมิลลิกรัมต่อตารางเซนติเมตร (เมซิอุโซค จินตเศรณี, 2551)



ภาพที่ 2 ภาพถ่ายระบบกรองน้ำที่ใช้ในการเก็บตัวอย่างเรเดียม-226 ในการศึกษาครั้งนี้ ประกอบด้วยถังบรรจุตัวอย่างน้ำปริมาตร 20 ลิตร วาล์วควบคุมอัตราการกรอง และชุดกรองบรรจุตัวดูดซับเส้นใยอะคริลิกแมงกานีสออกไซด์ประสิทธิภาพสูง

ผลการวิจัยและวิจารณ์ผล

ผลการศึกษา

ปริมาณเรเดียมละลายน้ำและความเค็ม (ตารางที่ 1 และภาพที่ 3) ในเดือนเมษายน พบเปลี่ยนแปลงในช่วง 1.47 ± 0.26 ถึง 33.86 ± 1.24 pg/100-l และ 25.43 ถึง 29.88 psu โดยพบเรเดียมปริมาณสูงสุดที่สถานี 1 และปริมาณต่ำสุดที่สถานี 9, เดือนมิถุนายนในช่วง 0.32 ± 0.12 ถึง 19.39 ± 0.93 pg/100-l และ 6.8 ถึง 27.86 psu โดยพบเรเดียมปริมาณสูงสุดที่สถานี 15 และปริมาณต่ำสุดที่สถานี 10, เดือนกันยายนในช่วง 0.25 ± 0.11 ถึง 7.83 ± 0.59 pg/100-l และ 0.02 ถึง 18.95 psu โดยพบเรเดียมปริมาณสูงสุดที่สถานี 21 และปริมาณต่ำสุดที่สถานี 8, และเดือนธันวาคมในช่วง 0.21 ± 0.10 ถึง 6.31 ± 0.53 pg/100-l และ 20.92 ถึง 32.60 psu โดยพบเรเดียมปริมาณสูงสุดที่สถานี 12 และปริมาณต่ำสุดที่สถานี 7 และ 8 และพบว่าเรเดียมละลายน้ำและความเค็มเปลี่ยนแปลงในรอบปีในช่วง 0.21 ± 0.10 ถึง 33.86 ± 1.24 pg/100-l และ 0.02 ถึง 32.60 psu โดยการเปลี่ยนแปลงปริมาณเรเดียมในเดือนเมษายนและมิถุนายนมีช่วงกว้างกว่าในเดือนกันยายนและเดือนธันวาคม

การกระจายความเค็มและเรเดียม-226 (ภาพที่ 4) พบเรเดียมละลายน้ำในปริมาณสูงมาก ถึงประมาณ 34 pg/100-l บริเวณปากแม่น้ำบางปะกงในเดือนเมษายน นอกจากนี้ยังพบเรเดียมละลายน้ำปริมาณมากบริเวณชายฝั่งด้านทิศเหนือของเอสทูรีใกล้ปากแม่น้ำ บริเวณสถานี 1 ถึง 3 และด้านทิศตะวันออก

บริเวณสถานี 13, 14 และ 19 โดยมีค่าอยู่ในช่วงประมาณ 20-30 pg/100-l ส่วนบริเวณที่หลีกเลี่ยงการกระจายเรเดียมละลายน้ำมีค่าอยู่ในช่วงประมาณ 10-16 pg/100-l เท่านั้น ยกเว้นบริเวณสถานี 9, 16 และ 18 ที่พบว่ามีค่าประมาณ 6 pg/100-l (ภาพที่ 4a) เดือนมิถุนายนพบว่าปริมาณเรเดียมละลายน้ำบริเวณปากแม่น้ำรวมทั้งบริเวณด้านทิศตะวันออกของเอสทูรีที่เคยมีปริมาณสูงกลับลดลง แต่พบเรเดียมละลายน้ำปริมาณสูงประมาณ 10-20 pg/100-l เป็นบริเวณกว้างมากขึ้นบริเวณตอนกลางของเอสทูรีและทางด้านทิศตะวันออกบริเวณสถานี 8, 9, 12-15 และ 20 ครอบคลุมพื้นที่ส่วนใหญ่ของเอสทูรี (ภาพที่ 4b) ในเดือนกันยายนพบเรเดียมละลายน้ำบริเวณปากแม่น้ำมีปริมาณต่ำมากเพียงแค่ว่าประมาณ 2-6 pg/100-l เท่านั้น และพบกระจายเกือบสม่ำเสมอครอบคลุมพื้นที่ทั้งเอสทูรี ยกเว้นบริเวณสถานี 21 ซึ่งพบปริมาณสูงมากกว่าบริเวณอื่นเล็กน้อย โดยมีค่าใกล้ 8 pg/100-l (ภาพที่ 4c) ส่วนในเดือนธันวาคมพบลักษณะการกระจายโดยทั่วไปเช่นเดียวกับเดือนกันยายน และพบว่าบริเวณสถานี 21 ซึ่งเคยพบปริมาณสูงถึงประมาณ 8 pg/100-l กลับมีปริมาณต่ำลงมาอยู่ที่ประมาณ 4 pg/100-l ตรงกันข้ามกับบริเวณสถานี 12 ซึ่งเดิมมีปริมาณต่ำกลับมีปริมาณเพิ่มขึ้นมาใกล้ 8 pg/100-l (ภาพที่ 4d)

วิจารณ์ผลการศึกษา

ข้อมูลจากการตรวจวัด (ตารางที่ 1) พบว่าปริมาณเรเดียมละลายน้ำบริเวณบางปะกงเอสทูรีในรอบปี 2545 มีค่าต่ำกว่ากำหนดมาตรฐานคุณภาพน้ำทะเล ตามประกาศคณะกรรมการ

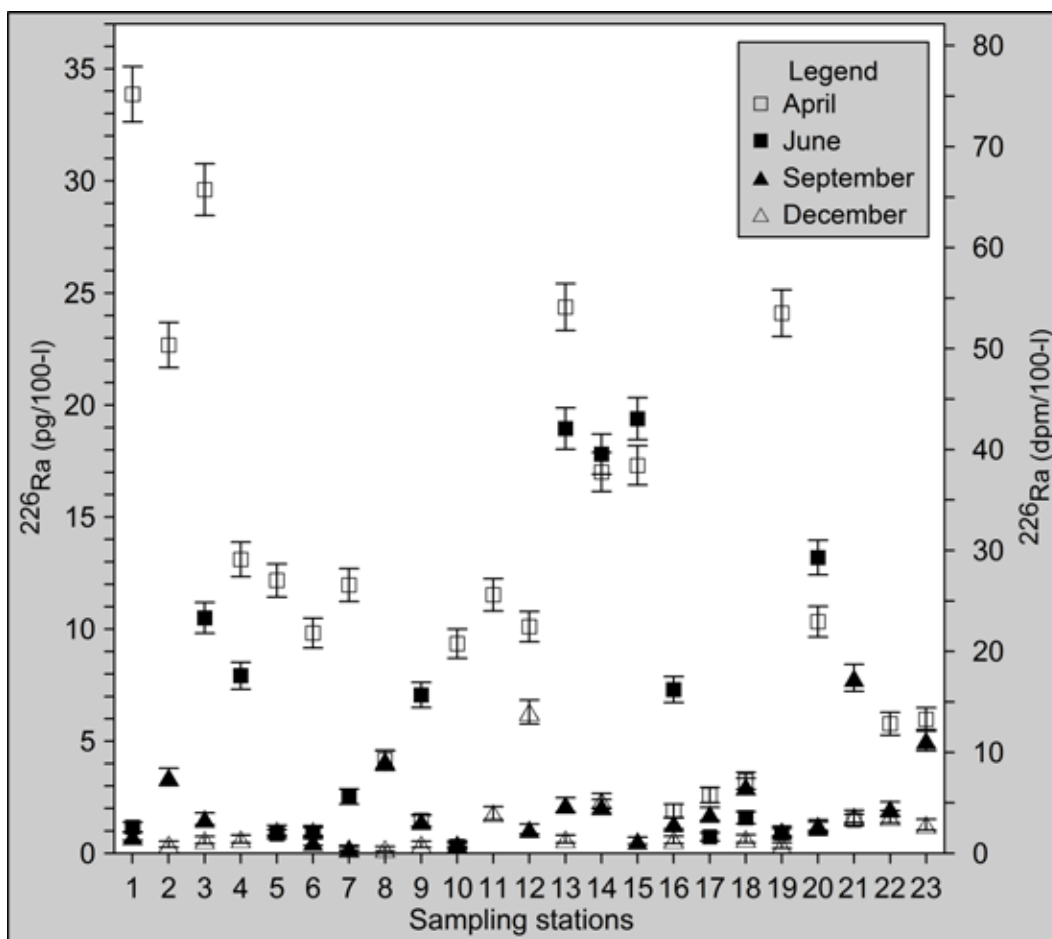
ตารางที่ 1 ข้อมูลช่วงการเปลี่ยนแปลงปริมาณเรเดียม-226 ละลายน้ำ (pg/100-l) และความเค็ม (psu) บริเวณบางปะกงเอสทูรีในรอบปี 2545, กำหนดมาตรฐานคุณภาพน้ำทะเล¹, ปริมาณเรเดียม-226 ละลายน้ำบริเวณเจ้าพระยาเอสทูรี² และเอสทูรีอื่น³

เดือน	เรเดียม-226 ละลายน้ำ $\pm 1\sigma$ (pg/100-l)	ความเค็ม (psu)
เมษายน	1.47 ± 0.26 - 33.86 ± 1.24	25.43 - 29.88
มิถุนายน	0.32 ± 0.12 - 19.39 ± 0.93	6.8 - 27.86
กันยายน	0.25 ± 0.11 - 7.83 ± 0.59	0.02 - 18.95
ธันวาคม	0.21 ± 0.10 - 6.31 ± 0.53	20.92 - 32.60

¹ กัมมันตภาพรังสีรวมแอลฟา ไม่เกิน 0.1 เบคเคอเรลต่อลิตร การตรวจวัดให้ใช้วิธีตกตะกอนร่วม (co-precipitation) (ราชกิจจานุเบกษา, 2550) (0.1 เบคเคอเรลต่อลิตร คิดเป็นค่าประมาณ 270 pg/100-l)

² เรเดียม-226 ละลายน้ำบริเวณเจ้าพระยาเอสทูรีเปลี่ยนแปลงในช่วง 5.63 ถึง 11.71 pg/100-l (Nozaki *et al.*, 2001)

³ เรเดียม-226 ละลายน้ำบริเวณเอสทูรีเปลี่ยนแปลงในช่วง 1.7 (Hancock & Murray, 1996) ถึง 24.24 pg/100-l (Lee & Kim, 2006)

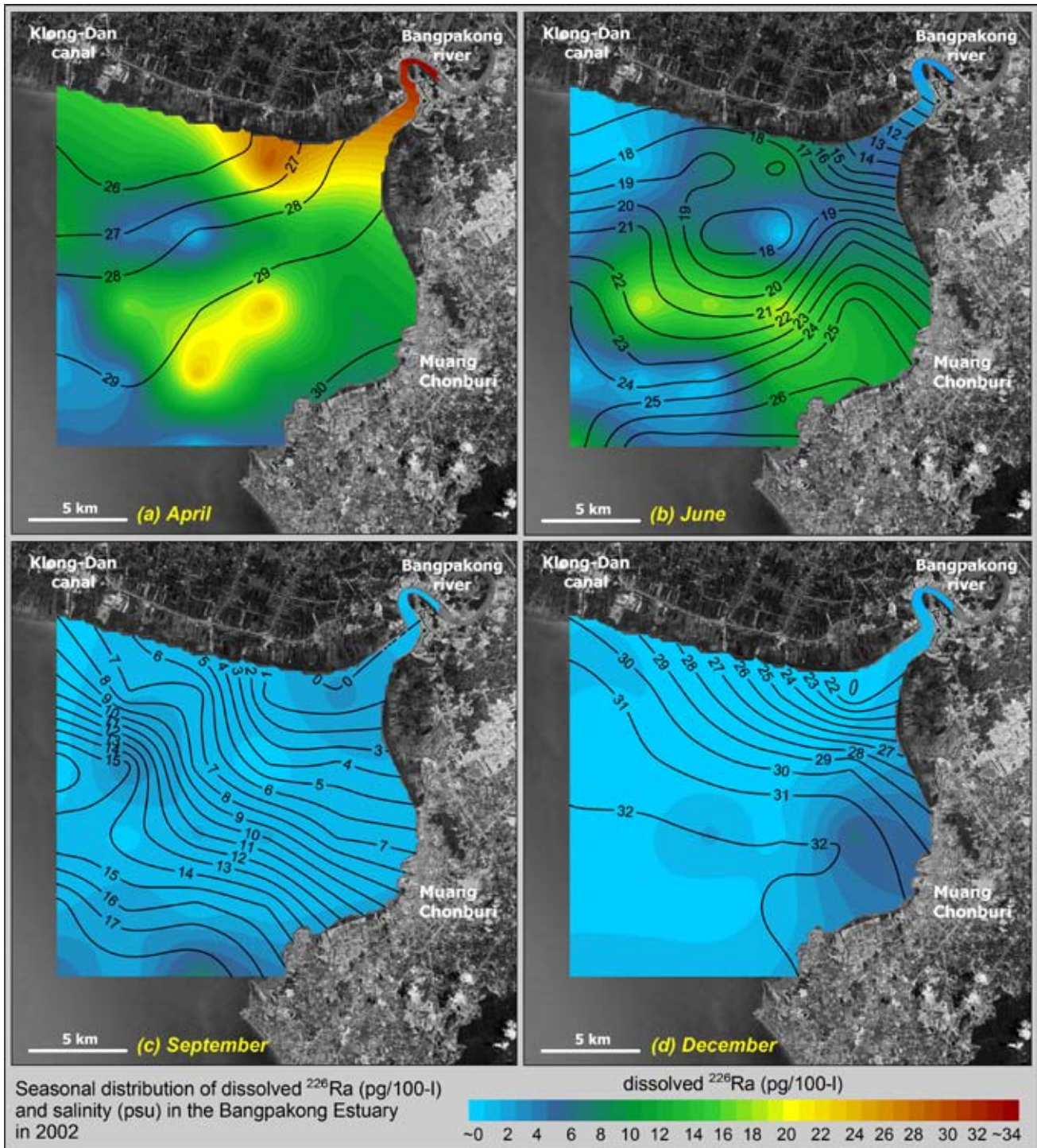


ภาพที่ 3 แผนภูมิแสดงปริมาณเรเดียม-226 ละลายที่ผิวหน้าน้ำ (pg/100-l) บริเวณบางปะกงเอสทรีในปี 2545 ค่าผิดพลาดของแต่ละข้อมูล (1σ) แสดงด้วยเส้นตั้ง

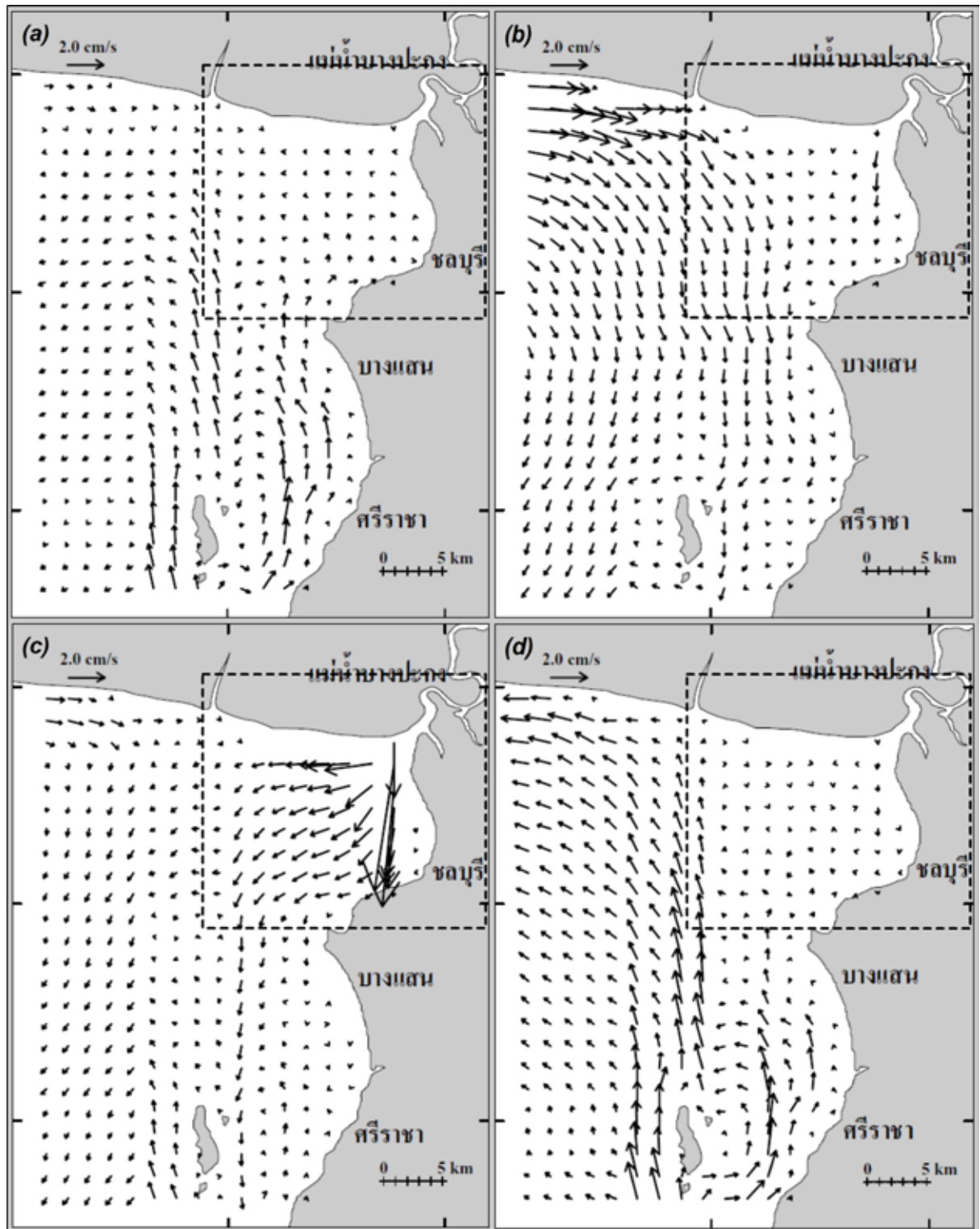
สิ่งแวดล้อมแห่งชาติ พ.ศ. 2549 (ราชกิจจานุเบกษา, 2550) และมีค่าใกล้เคียงกับบริเวณเจ้าพระยาเอสทรี ที่รายงานโดย Nozaki *et al.* (2001) (ตารางที่ 1 และภาพที่ 6) ยกเว้นบางสถานีในเดือนเมษายนและเดือนมิถุนายนที่มีค่าสูงกว่า อย่างไรก็ตาม แม้ปริมาณที่ตรวจวัดได้มีค่าสูงกว่าที่เคยมีรายงานไว้บริเวณเจ้าพระยาเอสทรีและบริเวณเอสทรีอื่น (Hancock & Murray, 1996; Lee & Kim, 2006) แต่ก็ยังมีปริมาณต่ำกว่าเกณฑ์มาตรฐานคุณภาพน้ำทะเลของประเทศไทย และต่ำกว่าเกณฑ์มาตรฐานคุณภาพน้ำทะเลสากล (USEPA, 1996) ข้อมูลจากการศึกษานี้สามารถนำไปใช้เป็นตัวอ้างอิงและเปรียบเทียบกับผลการตรวจวัดครั้งต่อไป

จากข้อมูลพบว่าลักษณะการกระจายความเค็มและปริมาณเรเดียมละลายน้ำบริเวณบางปะกงเอสทรีในรอบปีจากการตรวจวัดสอดคล้องกับลักษณะการไหลเวียนกระแสน้ำผิวหน้าบริเวณบางปะกงเอสทรีและชายฝั่งจังหวัดชลบุรีในรอบปี จากแบบจำลอง

ของ อนุกุล บูรณประทีปรัตน์ (2552) กล่าวคือ เรเดียมละลายน้ำบริเวณปากแม่น้ำบางปะกงในช่วงเดือนเมษายนที่มีค่าสูง (ภาพที่ 4a) น่าจะเนื่องจากเป็นช่วงฤดูแล้งมีปริมาณน้ำทำน้อย มวลน้ำไหลในเอสทรีค่อนข้างน้อยและมีรูปแบบการไหลเวียนที่ไม่ชัดเจน (ภาพที่ 5a) ประกอบกับอิทธิพลของน้ำขึ้นน้ำลงผลักดันให้มวลน้ำเคลื่อนเข้าออกผ่านบริเวณปากแม่น้ำสองครั้งในรอบวัน ส่วนการที่บริเวณสถานี 13, 14 และ 19 พบเรเดียมละลายน้ำปริมาณสูงน่าจะเกี่ยวข้องกับสาเหตุหลักสองประการ คือ มวลน้ำในเอสทรีไหลค่อนข้างน้อยและมีมวลน้ำที่มีความเร็วค่อนข้างน้อยไหลจากทางทิศใต้เข้ามาผสมในเอสทรี แล้วจึงไหลขึ้นไปทางทิศเหนือและไหลออกไปทางทิศตะวันตกในที่สุด การไหลเวียนเช่นนี้อาจเป็นสาเหตุการให้เรเดียมละลายน้ำถูกพาไปสะสมในบริเวณดังกล่าวในช่วงฤดูแล้งได้ในเดือนมิถุนายน (ภาพที่ 4b) เรเดียมละลายน้ำบริเวณปากแม่น้ำและบริเวณชายฝั่งด้านทิศเหนือของเอสทรี มีปริมาณลดต่ำลง



ภาพที่ 4 การกระจายความเค็มและเรเดียม-226 ละลายน้ำบริเวณบางปะกงเอสทวรีในรอบปี 2545 (a) เดือนเมษายน, (b) เดือนมิถุนายน, (c) กันยายน และ (d) เดือนธันวาคม (ระดับความเค็มเท่ากันแสดงด้วยเส้นทึบสีดำ)



ภาพที่ 5 แบบจำลองลักษณะการไหลเวียนกระแสน้ำผิวน้ำบริเวณบางปะกงเอสทิวรีและชายฝั่งจังหวัดชลบุรีในรอบปี (a) เดือนเมษายน, (b) เดือนมิถุนายน, (c) กันยายน และ (d) เดือนธันวาคม จากการศึกษาโดยใช้แบบจำลองทางคณิตศาสตร์ของอนุกุล บูรณประทีปรัตน์ (2552) พื้นที่ภายในกรอบสี่เหลี่ยมเส้นประแสดงบริเวณที่มีการตรวจวัดปริมาณเรเดียม-226 ละลายน้ำ ในการศึกษาครั้งนี้

น่าจะเกิดจากลมจากทิศตะวันตกซึ่งมีกำลังแรงมากที่สุดในรอบปี ผลักมวลน้ำบริเวณแม่น้ำเจ้าพระยาซึ่งมีปริมาณเรเดียมละลายน้ำต่ำกว่า เข้ามาผสมกับมวลน้ำและเจือจางปริมาณเรเดียมในบริเวณดังกล่าว นอกจากนี้ลมจากทิศตะวันตกที่มีกำลังแรงมากนี้ยังผลักให้มวลน้ำในเอสทรีไหลไปทางทิศตะวันออกและไหลออกจากเอสทรีลงไปทางทิศใต้ด้วยความแรงมากกว่าช่วงเดือนที่ผ่านมา (ภาพที่ 5b) ประกอบกับปริมาณน้ำท่าที่เริ่มเพิ่มสูงขึ้น จึงพบเรเดียมละลายน้ำปริมาณสูงขึ้นบริเวณตอนกลางและบริเวณฝั่งตะวันออกของเอสทรีเมื่อเทียบกับเดือนเมษายน ดังนั้นลักษณะการกระจายเรเดียมละลายน้ำในช่วงเดือนนี้น่าจะมีสาเหตุหลักมาจากการไหลของมวลน้ำไปทางทิศตะวันออก โดยมีปริมาณน้ำท่าที่เริ่มเพิ่มมากขึ้นเป็นตัวการนำเรเดียมจากแม่น้ำลงสู่เอสทรี เมื่อเข้าสู่เดือนกันยายน (ภาพที่ 4c) ซึ่งเป็นช่วงที่ปริมาณน้ำท่ามากที่สุดในรอบปี ส่งผลให้พบเรเดียมละลายน้ำที่บริเวณปากแม่น้ำในปริมาณต่ำ ประกอบกับเป็นช่วงเปลี่ยนลมมรสุมตะวันตกเฉียงใต้ไปเป็นลมมรสุมตะวันออกเฉียงเหนือ จึงเริ่มมีมวลน้ำไหลจากทางทิศใต้เข้ามาผสมในเอสทรี ในขณะที่มวลน้ำที่ไหลจากทางทิศตะวันตกเข้าสู่เอสทรีในช่วงก่อนหน้านี้นี้ยังปรากฏให้เห็นอยู่ (ภาพที่ 5c) แม้ว่าจะมีความเร็วน้อยกว่าช่วงเดือนมิถุนายนถึงเดือนสิงหาคมก็ตาม จึงพบปริมาณเรเดียมละลายน้ำในปริมาณต่ำและไม่แตกต่างกันมากนักตลอดทั้งเอสทรีในช่วงเดือนนี้ ยกเว้นบริเวณสถานี 8 และสถานี 21 ซึ่งพบเรเดียมละลายน้ำในปริมาณที่สูงกว่าบริเวณอื่น ซึ่งน่าจะเกิดจากการที่ยังมีมวลน้ำไหลเข้ามาจากทางทิศตะวันตกอย่างต่อเนื่องและเริ่มมีการไหลของมวลน้ำมาจากทางทิศใต้เข้ามาผสมในเอสทรีนั่นเอง ส่วนในช่วงเดือนธันวาคม (ภาพที่ 4d) เมื่อปริมาณน้ำท่าเริ่มลดลงและการไหลของมวลน้ำมาจากทางทิศใต้เริ่มมีความแรงมากขึ้น โดยมวลน้ำที่เข้ามาผสมนี้บางส่วนไหลเสียไปทางชายฝั่งด้านทิศตะวันออกของเอสทรี (ภาพที่ 5d) จึงพบการสะสมเรเดียมปริมาณสูงกว่าปกติเล็กน้อยบริเวณอ่าวชลบุรี

สรุปผลการวิจัย

ข้อมูลจากการตรวจวัดในรอบปี 2545 แสดงว่าเรเดียม-226 ละลายน้ำบริเวณบางปะกงเอสทรีมีการเปลี่ยนแปลงในช่วง 0.21 ± 0.10 ถึง 33.86 ± 1.24 pg/100-l โดยการเปลี่ยนแปลงในเดือนเมษายนและมิถุนายนมีช่วงกว้างกว่าในเดือนกันยายนและเดือนธันวาคม ปริมาณเรเดียมละลายน้ำที่ตรวจวัดได้มีค่าไม่เกินกำหนดมาตรฐานคุณภาพน้ำทะเล ตามประกาศคณะกรรมการสิ่งแวดล้อมแห่งชาติ พ.ศ. 2549 และกำหนดมาตรฐานคุณภาพน้ำทะเลสากล

รูปแบบการกระจายเรเดียม-226 ละลายน้ำในรอบปี 2545 พบว่าในช่วงฤดูแล้งพบเรเดียมละลายน้ำ ปริมาณสูงมากบริเวณปากแม่น้ำและในเอสทรี ส่วนในช่วงต้นฤดูน้ำมากพบเรเดียมละลายน้ำปริมาณสูงบริเวณตอนกลางและบริเวณฝั่งตะวันออกของเอสทรี และพบว่าเรเดียมละลายน้ำมีปริมาณลดลง และกระจายทั่วทั้งเอสทรีในช่วงปลายฤดูน้ำมาก

การตรวจวัดและการศึกษาการกระจายเรเดียม-226 ละลายน้ำ เพิ่มเติมในรอบปีอื่น เป็นสิ่งจำเป็นเพื่อให้เข้าใจพฤติกรรมของสารกัมมันตรังสีตามธรรมชาติละลายน้ำบริเวณบางปะกงเอสทรี

กิตติกรรมประกาศ

คณะผู้วิจัยขอขอบคุณภาควิชาวาริชศาสตร์ คณะวิทยาศาสตร์ มหาวิทยาลัยบูรพา ที่ให้ความอนุเคราะห์อุปกรณ์และสารเคมีบางส่วนที่ใช้ในการทำวิจัย อาจารย์ฤทธิ มีสัตย์ และผู้ช่วยศาสตราจารย์พรณี พักคง ภาควิชารังสีประยุกต์และไอโซโทป คณะวิทยาศาสตร์ มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์ ที่ให้ความช่วยเหลืออย่างดียิ่งในการวัดปริมาณเรเดียม-226

เอกสารอ้างอิง

- ฉลวย มุสิกะ, วันชัย วงสุดาวรรณ, อาวุธ หมั่นหาผล และแววตา ทองระอา. (2550). สถานการณ์คุณภาพน้ำทะเลชายฝั่งภาคตะวันออก ปี 2548. *วารสารวิทยาศาสตร์บูรพา* 12(1), 33-44.
- เผชญิโชค จินตเศรณี. (2551). ประสิทธิภาพของเส้นใยอะคริลิกแมงกานีสออกไซด์ในการดูดซับเรเดียม-226 จากน้ำทะเล. *วารสารวิทยาศาสตร์บูรพา* 13(1), 43-54.
- ฟูเกียรติ สีนาคม, ขนิษฐา ศรีสุขสวัสดิ์, บุญสม พรเทพเกษมสันต์ และนันทนา สันติวุฒิ. (2531). กัมมันตรังสีรวมเบตา กัมมันตรังสีรวมแอลฟา และปริมาณเรเดียม-226 ของน้ำผิวดินในประเทศไทย. *รายงานวิจัยสำนักงานพลังงานปรมาณูเพื่อสันติ*.
- ราชกิจจานุเบกษา. (2550). *ประกาศคณะกรรมการ สิ่งแวดล้อมแห่งชาติ ฉบับที่ 27 (พ.ศ. 2549) เรื่องกำหนดมาตรฐานคุณภาพน้ำทะเล*. เล่มที่ 124 ตอนที่ 11 ง (1 กุมภาพันธ์ 2550). 123-133.

- อนุกุล บูรณประทีปรัตน์. (2552). การไหลเวียนกระแส น้ำบริเวณปากแม่น้ำบางปะกงและชายฝั่งจังหวัดชลบุรี จากการศึกษาโดยใช้แบบจำลองไฮโดรไดนามิค. *วารสารวิทยาศาสตร์บูรพา*, 14(2), 50-60.
- Bordalo, A.A., Nilsunranchit, W., & Chalermwat, K. (2001). Water quality and used of the Bangpakong River (Eastern Thailand). *Water Research*, 35(15), 3635-3642.
- Clulow, F.V., Dave, N.K., Lim, T.P., & Avadhanula, R. (1998). Radium-226 in water, sediments, and fish from lakes near the city of Elliot Lake, Ontario, Canada. *Environmental Pollution*, 99, 13-28.
- Dulaiova, H., Burnett, W.C., Chanton, J.P., Moore W.S., Bokuniewicz, H.J., Charette, M.A., & Sholkovitz, E. (2006). Assessment of groundwater discharges into West Neck Bay, New York, via natural tracers. *Continental Shelf Research*, 26, 1971-1983.
- Hallden, N.A., Fisenne, I.M., and Harley, J.H. (1963). The determination of Radium-226 in human bone. *Talanta*, 10, 1223-1227.
- Hancock, G.J., & Murray, A.S. (1996). Source and Distribution of Dissolved Radium in the Bega River Estuary. Southeastern Australia. *Earth and Planetary Science Letters*, 138, 145-155.
- International Atomic Energy Agency (IAEA). (1990). *The Environmental Behavior of Radium: Volume 1*. Technical Reports Series No. 310. IAEA Austria.
- Lauria, D.C., Ribeiro, F.C.A., Conti, C.C., & Loureiro, F.A. (2009). Radium and uranium levels in vegetables grown using different farming management systems. *Journal of Environmental Radioactivity*, 100, 176-183.
- Lee, Y.W., & Kim, G. (2006). Linking groundwater-borne nutrients and dinoflagellate red-tide outbreaks in the Southern Sea of Korea using a Ra tracer. *Estuarine Coastal and Shelf Science*, 1-9.
- Mays C.W., Rowland, R.E., & Stehney, A.F. (1985). Cancer risk from the life time intake of Ra and U isotope. *Health Physics*, 48, 635-637.
- Moore, W.S. (1969). Oceanic Concentration of ²²⁸Radium. *Earth and Planetary Science Letters*, 437-446.
- Moore, W.S., & Reid, D.F. (1973). Extraction of Radium from Natural Water Using Manganese-Impregnated Acrylic Fibers. *Journal of Geophysics Research*, 78, 8880-8886.
- Nozaki, Y., Yamamoto, Y., Manaka, T., Amakawa, H., & Snidvongs, A. (2001). Dissolved Barium and Radium Isotopes in the Chao Phraya River Estuarine Mixing Zone in Thailand. *Continental Shelf Research*, 21, 1435-1448.
- Seymour, A.H. (1971). *Radioactivity in the Marine Environment*. National Academy of Science.
- Shannon, L.V., & Cherry, R.D. (1971). Radium-226 in marine phytoplankton. *Earth and Planetary Science Letters*, 11, 339-343.
- United States Environmental Protection Agency (USEPA). (1996). *Drinking Water Regulations and Health Advisories*. Washington DC: Office of Water, United States Environmental Protection Agency. (EPA 822-B-96-002).
- Wang, C.H., & Willis D.L. (1965). *Radiotracer Methodology in Biological Science*. Prentic-Hall, Inc.

การพัฒนาไบโอเซนเซอร์ด้วยเมทริกซ์ของวัสดุเชิงประกอบคาร์บอนนาโนทิวป์-ไคโตซานเร่งปฏิกิริยารีดักชันของ
ออกซิเจนด้วยแลคเคส

Development of a Biosensor Based on the Matrix of Carbon Nanotubes-Chitosan Composite
for Laccase-Catalyzed Oxygen Reduction

ยุวากร เสนศรี¹ เสนอ ชัยรัมย์¹ ดวงใจ นาคะปรีชา^{2,3} และ มะลิวรรณ อมตธงไชย^{1,3*}

¹ภาควิชาเคมี คณะวิทยาศาสตร์ มหาวิทยาลัยอุบลราชธานี

²ภาควิชาเคมี คณะวิทยาศาสตร์ มหาวิทยาลัยมหิดล

³ห้องปฏิบัติการนวัตกรรม-วิจัยการไหลเพื่อวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยี

Yuwakorn Sensri¹, Sanoe Chairam¹, Duangjai Nacapricha^{2,3} and Maliwan Amatatongchai^{1,3*}

¹Department of Chemistry, Faculty of Science, Ubonratchathani University.

²Department of Chemistry, Faculty of Science, Mahidol University.

³Flow Innovation-Research for Science and Technology Laboratories (FIRST Labs)

บทคัดย่อ

วัสดุเชิงประกอบคาร์บอนนาโนทิวป์-ไคโตซานเป็นเมทริกซ์ที่เหมาะสมในการนำไปพัฒนาอุปกรณ์ตรวจวัดทางชีวภาพเนื่องจากมีความเสถียรสูง สามารถเข้ากับสารชีวโมเลกุลและนำไฟฟ้าได้ดี งานวิจัยนี้เสนอการพัฒนาสภาพไวและความจำเพาะเจาะจงของไบโอเซนเซอร์ในการตรวจวัดปฏิกิริยารีดักชันของออกซิเจน โดยการตรึงเอนไซม์แลคเคสในฟิล์มของวัสดุเชิงประกอบคาร์บอนนาโนทิวป์-ไคโตซาน เอนไซม์แลคเคสถูกตรึงบนพื้นผิวของขั้วไฟฟ้าชนิดกลาสซีคาร์บอนบนวัสดุเชิงประกอบของคาร์บอนนาโนทิวป์-ไคโตซานและสารละลายโพลีเมอร์อัลบูมิน ทำให้สามารถใช้เป็นอุปกรณ์ตรวจวัดออกซิเจน ได้ศึกษาปฏิกิริยารีดักชันของออกซิเจนด้วยเทคนิคไซคลิกโวลแทมเมทรี ในสารละลายซีเทรตบัฟเฟอร์ความเข้มข้น 0.1 โมลาร์ พีเอช 5.0 ที่ใช้เป็นสารละลายอิเล็กโทรไลต์เกือหนุ่น โดยใช้ขั้วไฟฟ้าที่พัฒนาขึ้นนี้เป็นขั้วไฟฟ้าทำงาน ขั้วไฟฟ้าซิลเวอร์-ซิลเวอร์คลอไรด์เป็นขั้วไฟฟ้าอ้างอิง และแพลทินัมเป็นขั้วไฟฟ้าช่วย พบว่าออกซิเจนเกิดรีดักชันที่ศักย์ไฟฟ้า -0.35 โวลต์ (เมื่อเทียบกับ Ag/AgCl) นอกจากนี้ได้ศึกษาความเสถียรของไบโอเซนเซอร์ที่ได้พัฒนาขึ้น

คำสำคัญ : แลคเคส ไคโตซาน คาร์บอนนาโนทิวป์ ออกซิเจนรีดักชัน

*Corresponding author. E-mail: scmaliam@ubu.ac.th, m_amatatongchai@yahoo.com

The carbon nanotubes-chitosan (CNT-CS) composite provides a suitable biosensing matrix due to its high stability, good biocompatibility, and good conductivity. Development of a sensitive and selective biosensor was proposed by entrapping laccase enzyme into the composite film for detection of oxygen reduction. The nano-composite of CNT-CS could be conveniently cast on the glassy carbon (GC) electrode surfaces. With the aid of the CNT-CS composite and bovine serum albumin (BSA), laccase was then immobilized on the nanostructure film to form an oxygen sensor. Electrochemical reduction of oxygen was studied at the developed biosensor using cyclic voltammetry (CV). The GC/CNT-CS/laccase/BSA electrode was used as a working electrode, Ag/AgCl as a reference electrode and Pt wire as a counter electrode. Cyclic voltammograms of oxygen were measured in a 0.1 M citrate buffer pH 5.0. The reduction wave was observed at -0.35 V (Vs Ag/AgCl). The stability was also studied.

Keywords : laccase, chitosan, carbon nanotubes, oxygen reduction

บทนำ

ไบโอเซนเซอร์ (Biosensor) เป็นอุปกรณ์ที่พัฒนาขึ้นเพื่อตรวจวิเคราะห์สารตัวอย่างได้อย่างเฉพาะเจาะจง และใช้ตรวจวิเคราะห์สารต่างๆ ได้หลากหลายชนิด โดยทั่วไปไบโอเซนเซอร์ประกอบด้วยอุปกรณ์ 2 ส่วนคือตัวแปลงสัญญาณ และสารชีวภาพ ความจำเพาะของไบโอเซนเซอร์เป็นผลมาจากความจำเพาะของไบโอรีเซพเตอร์ ที่ใช้ในการเกิดปฏิกิริยาเฉพาะระหว่างสารที่ต้องการวิเคราะห์ (analyze) กับไบโอรีเซพเตอร์ ทำให้เกิดการเปลี่ยนแปลงสมบัติทางกายภาพและ/หรือทางเคมี เช่น การผลิตไอออน, อิเล็กตรอน, แก๊สและความร้อน, เกิดการเปลี่ยนแปลงมวล หรือสมบัติของสีหรือแสง ซึ่งการเปลี่ยนแปลงเหล่านี้สามารถตรวจวัดได้ด้วยตัวแปลงสัญญาณ (transducer) ที่เหมาะสม จึงเป็นการลดขั้นตอนที่ยากและสารเคมีที่ต้องใช้ในการวิเคราะห์ (โสภกา กลิ่นจันทร์, 2001; Rasooly *et al.*, 2009)

คาร์บอนนาโนทิวบ์ (carbon nanotubes) มีโครงสร้างประกอบด้วยคาร์บอนชนิด sp^2 เชื่อมต่อกันในลักษณะเป็นแผ่น ซึ่งสามารถส่งผ่านอิเล็กตรอนไปยัง π -electron ได้ดี มีสมบัติคล้ายแท่งโลหะ สารกึ่งตัวนำ และตัวนำยิ่งยวด (Iijima, *et al.*, 1993; Gong, *et al.*, 2005; Popov, 2004) สามารถนำไฟฟ้าได้ดี มีพื้นที่ผิวสูงรวมทั้งทนต่อกรด-เบส และความร้อนสูงได้ดีมาก (Gong, *et al.*, 2005) มีงานวิจัยที่นำคาร์บอนนาโนทิวบ์มาใช้ในการพัฒนาไบโอเซนเซอร์ โดยช่วยเพิ่มสมบัติในการขนส่งอิเล็กตรอนและช่วยเพิ่มประสิทธิภาพของเอนไซม์แลคเคสในการเร่งปฏิกิริยาการเกิดรีดักชันของน้ำเพื่อนำไปประยุกต์ใช้เป็นไบโอแคโทดในเซลล์เชื้อเพลิงชีวภาพ (biofuel cell) (Popov, 2004; Kaempgen, *et al.*, 2008; Zheng, *et al.*, 2008; Tan, *et al.*, 2009)

ไคโตซาน (chitosan) เป็นโพลีเมอร์ที่ประกอบไปด้วยหน่วยของดี-กลูโคซามีน [poly (D-glucosamine)] มีสมบัติละลายได้ดีในกรดอินทรีย์และมีประจุเป็นบวก มีความเหนียว ไสสารละลายไคโตซานสามารถขึ้นรูปได้หลายแบบ ไม่เป็นพิษต่อสิ่งมีชีวิตและย่อยสลายได้ตามธรรมชาติ (biodegradable) จึงมีการนำมาประยุกต์ใช้งานด้านต่างๆ เช่น การเกษตร อาหาร สิ่งทอ การแพทย์ ยา เครื่องสำอาง ใช้ในการจัดการคุณภาพน้ำ (Rinaudo, 2006; Klotzbach, *et al.*, 2006) และยังสามารถนำไคโตซานมาปรับปรุงให้มีสมบัติที่ดีขึ้นโดยการผสมกับวัสดุอื่น เช่น เอนไซม์ โดยที่หมู่เอมีนของไคโตซานจะสามารถจับกับหมู่แอลคิลของเอนไซม์ได้ (Rinaudo, 2006) ทำให้สามารถยึดจับเอนไซม์ได้ดี

แลคเคส (laccase) เป็นเอนไซม์ในกลุ่มของออกซิโดรีดักเทส (oxidoreductase) ทำหน้าที่ในการเร่งปฏิกิริยาการเคลื่อนย้ายอะตอมไฮโดรเจนหรือออกซิเจน หรืออิเล็กตรอน จากสารประกอบหนึ่งไปยังสารประกอบอื่น มีโปรตีนเป็นส่วนประกอบหลักและมีโลหะคอปเปอร์ 4 อะตอมอยู่ในโครงสร้าง โลหะคอปเปอร์ในโครงสร้างแบ่งออกเป็น 3 ชนิด ได้แก่ type-1 (T1) มีคอปเปอร์ 1 อะตอม, type-2 (T2) คอปเปอร์ 1 อะตอม และ type-3 (T3 และ T3') มีคอปเปอร์ 2 อะตอม (Zheng, *et al.*, 2008; Solomon, *et al.*, 1992) กระบวนการเร่งปฏิกิริยารีดักชันของออกซิเจนของเอนไซม์แลคเคสเริ่มขึ้นที่ตำแหน่ง T1 ซึ่งเป็นตำแหน่ง active site ที่มีการจับกับสารเป้าหมาย เกิดปฏิกิริยารีดักชันของคอปเปอร์ ที่ตำแหน่ง T1 และส่งผ่านอิเล็กตรอนไปยังตำแหน่ง T2/T3 และออกซิเจนเกิดปฏิกิริยารีดักชันไปเป็นน้ำ (Solomon, *et al.*, 1992) ข้อดีของการใช้เอนไซม์แลคเคสเป็นตัวเร่งที่เหนือกว่าตัวเร่งปฏิกิริยาอินทรีย์ ได้แก่ ความจำเพาะเจาะจง (selectivity) และอัตราการเกิดปฏิกิริยาสูง ไม่เป็นพิษ มีความสามารถในการละลายน้ำ สามารถทำซ้ำ (repeatability) ได้ ปฏิกิริยาเกิดได้ภายใต้สภาวะการทดลอง เช่น พีเอชของสารละลาย อุณหภูมิ และความดันที่ไม่รุนแรง และสามารถสลายตัวได้ทางชีวภาพ (Stolarczyk, *et al.*, 2008; Fernández-Sánchez, *et al.*, 2002)

งานวิจัยนี้จึงมีวัตถุประสงค์เพื่อพัฒนาไบโอเซนเซอร์ในการตรวจวัดปฏิกิริยารีดักชันของออกซิเจน ที่มีสภาพไว (sensitivity) ความจำเพาะเจาะจง (selectivity) และความเสถียร (stability) สูง โดยอาศัยการตรึงเอนไซม์แลคเคสในวัสดุเชิงประกอบของคาร์บอนนาโนทิวบ์-ไคโตซาน (CNT-CS) ซึ่งเป็นเมทริกซ์ที่มีสมบัติที่ดี สามารถนำมาพัฒนาไบโอเซนเซอร์ได้ คาร์บอนนาโนทิวบ์ช่วยทำให้สามารถตรึงเอนไซม์แลคเคสได้ในปริมาณที่เพิ่มมากขึ้น ส่วนไคโตซานซึ่งมีสมบัติที่เข้ากับสารชีวโมเลกุลได้ดี จึงเหมาะที่นำมาใช้งานควบคู่กับเอนไซม์แลคเคส ทำให้สามารถพัฒนาไบโอเซนเซอร์เป็นตัวตรวจวัดออกซิเจนและสามารถประยุกต์ใช้เป็นไบโอแคโทดในเซลล์เชื้อเพลิงชีวภาพ

วัสดุอุปกรณ์และวิธีการวิจัย

1. อุปกรณ์

เครื่องมือและอุปกรณ์ที่นำมาใช้ในการตรวจวัดทางเคมีไฟฟ้าในงานวิจัยนี้ประกอบด้วย เครื่องโพเทนชิโอสเตท รุ่น EA 161, e-Corder รุ่น 210 (บริษัท eDAQ, Australia) ระบบ 3 ขั้วไฟฟ้า

คือขั้วไฟฟ้าทำงาน (working electrode) ชนิดกลาสซีคาร์บอน (ขนาดเส้นผ่านศูนย์กลาง 3 มิลลิเมตร), ขั้วไฟฟ้าอ้างอิงซิลเวอร์-ซิลเวอร์คลอไรด์ (Ag/AgCl) และขั้วไฟฟ้าช่วย (auxiliary electrode) ชนิดลวดแพลทินัม (Pt) (บริษัท CH Instruments, USA.) มิเตอร์วัดอัตราการไหลของแก๊ส รุ่น RK 1200 (flow meter, 0-100 มิลลิลิตรต่อนาที, บริษัท Kofloc; Japan)

2. สารเคมี

เอนไซม์แลคเคส (Laccase, EC 1.10.3.2) จาก Tramestes Versicolor 22.4U/mg (Sigma-Aldrich) คาร์บอนนาโนทิวบ์ (Carbon nanotubes; CNT, บริสุทธิ์ 95%), (NanoLab), ไดเมทิลฟอร์แมนไมน์ (DMF), (Fluka) ไคโตซาน (Chitosan; CS, medium molecular weight, 75-85% deacetylated) (Sigma-Aldrich), โบวีนซีรัมอัลบูมิน (Bovine Serum Albumin; BSA, non acetylated), (Sigma-Aldrich), ซิเทรตบัฟเฟอร์ เตรียมจากซิติคแอซิดโมโนไฮเดรต และไดโซเดียมซิเทรต

3. การเตรียมสารเคมี

สารละลายแลคเคสความเข้มข้น 4 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร เตรียมโดยชั่งเอนไซม์แลคเคส 4 มิลลิกรัม ใส่ในขวดขนาด 2 มิลลิลิตร ปิดเต็สารละลาย 0.1 โมลาร์ ซิเทรตบัฟเฟอร์ พีเอช 5.0 ปริมาตร 1.00 มิลลิลิตร ใส่ลงในขวด นำสารละลายไปเขย่าด้วย vertex mixer ประมาณ 5 นาที

สารละลายโบวีนซีรัมอัลบูมินความเข้มข้น 1% เตรียมโดย ปิดเต็โบวีนซีรัมอัลบูมินมา 100 ไมโครลิตร ใส่ในขวดวัดปริมาตร ขนาด 10 มิลลิลิตร ปรับปริมาตรจนถึงขีดด้วยน้ำ

สารละลายคาร์บอนนาโนทิวบ์ความเข้มข้น 3 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร เตรียมโดยพัฒนาจากวิธีของ J. Wang และ M. Musameh (Wang & Musameh, 2004) โดยชั่งคาร์บอนนาโนทิวบ์ 3.0 มิลลิกรัม ใส่ในขวดขนาด 5 มิลลิลิตร ปิดเต็สารละลาย ไดเมทิลฟอร์แมนไมน์ปริมาตร 1.00 มิลลิลิตร ใส่ลงในขวด นำไป sonicate ด้วยเครื่อง ultrasonic sonicator เป็นเวลา 3 ชั่วโมง

สารละลายไคโตซานความเข้มข้น 1% เตรียมโดยพัฒนา จากวิธีของ T. Tangkuaram และคณะ (Tangkuaram, *et al.*, 2007) โดยชั่งไคโตซาน 0.10 กรัม ใส่ในขวดขนาด 25 มิลลิลิตร ปิดเต็กรดอะซิติกความเข้มข้น 2% ปริมาตร 10.00 มิลลิลิตร ใส่ในขวด นำไปกวนด้วย magnetic stirrer เป็นเวลา 2 ชั่วโมง

สารละลายของวัสดุเชิงประกอบคาร์บอนนาโนทิวบ์-ไคโตซาน เตรียมโดยปิดเต็สารละลายคาร์บอนนาโนทิวบ์ความเข้มข้น 3 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร และสารละลายไคโตซานความเข้มข้น 1% มาอย่างละ 500 ไมโครลิตร ใส่ในขวดขนาด 2 มิลลิลิตร

ผสมให้เข้ากันด้วยเครื่อง vertex mixer ประมาณ 5 นาที

หมายเหตุ น้ำที่ใช้เป็นตัวทำละลายในการเตรียมสารเคมี เป็นน้ำปราศจากไอออน

4. การเตรียมขั้วไฟฟ้า

ก่อนนำขั้วไฟฟ้ากลาสซีคาร์บอนไปตัดแปรรูปเป็นขั้วไฟฟ้า ชนิดต่างๆ จะนำขั้วไฟฟ้ามาทำความสะอาด โดยขัดผิวหน้าของ ขั้วไฟฟ้าด้วยผงอะลูมินากับผ้าสักหลาด โดยใช้ผงอะลูมินาขนาด 1.0, 0.3 และ 0.05 ไมครอน ตามลำดับ จากนั้นล้างให้สะอาดด้วย น้ำกลั่น นำไป sonicate ในน้ำเป็นเวลา 2 นาที แล้วเป่าให้แห้ง

4.1 ขั้วไฟฟ้า GC/laccase

หยดสารละลายเอนไซม์แลคเคสความเข้มข้น 4 มิลลิกรัม ต่อมิลลิลิตร ปริมาตร 40 ไมโครลิตร ทิ้งไว้ให้แห้งที่อุณหภูมิห้อง จะได้ขั้วไฟฟ้ากลาสซีคาร์บอนที่ตัดแปรรูปด้วยเอนไซม์แลคเคส (GC/laccase)

4.2 ขั้วไฟฟ้า GC/CNT

หยดสารละลายคาร์บอนนาโนทิวบ์ความเข้มข้น 3 มิลลิกรัม ต่อมิลลิลิตร บนขั้วไฟฟ้ากลาสซีคาร์บอน 20 ไมโครลิตร ทิ้งไว้ให้แห้งที่อุณหภูมิห้องจะได้ขั้วไฟฟ้า ขั้วไฟฟ้ากลาสซีคาร์บอนที่ ตัดแปรรูปด้วยคาร์บอนนาโนทิวบ์ (GC/CNT)

4.3 ขั้วไฟฟ้า GC/CNT-CS

หยดสารละลายของวัสดุเชิงประกอบคาร์บอนนาโนทิวบ์-ไคโตซาน บนขั้วไฟฟ้ากลาสซีคาร์บอน 20 ไมโครลิตร ทิ้งไว้ให้แห้ง ที่อุณหภูมิห้องจะได้ขั้วไฟฟ้า ขั้วไฟฟ้ากลาสซีคาร์บอนที่ตัดแปรรูป ด้วยวัสดุเชิงประกอบคาร์บอนนาโนทิวบ์-ไคโตซาน (GC/CNT-CS)

5. การตรึงเอนไซม์แลคเคสและสารละลายโบวีนซีรัมอัลบูมิน บนขั้วไฟฟ้า GC/CNT-CS

นำขั้วไฟฟ้า GC/CNT-CS ที่ได้จากการเตรียมในข้อ 4.3 มาตรึง เอนไซม์โดยการหยดเอนไซม์แลคเคสความเข้มข้น 4 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร ปริมาตร 40 ไมโครลิตรทิ้งไว้ให้แห้งที่ อุณหภูมิห้อง และหยดสารละลายโบวีนซีรัมอัลบูมินความเข้มข้น 1% ปริมาตร 5 ไมโครลิตร ทิ้งไว้ให้แห้งที่อุณหภูมิห้อง จะได้ขั้ว ไฟฟ้ากลาสซีคาร์บอนที่ตัดแปรรูปด้วยวัสดุเชิงประกอบคาร์บอนนาโน ทิวบ์-ไคโตซาน เอนไซม์แลคเคส และโบวีนซีรัมอัลบูมิน (GC/CNT-CS/laccase/BSA)

6. การตรวจวัดปริมาณออกซิเจน

ศึกษาปฏิกิริยารีดักชันของออกซิเจนด้วยเทคนิคไซคลิก โวลแทมเมทรี (cyclic voltammetry) โดยใช้เครื่องโพเทนชิโอสเตท และระบบ 3 ขั้วไฟฟ้า ใช้ขั้วไฟฟ้ากลาสซีคาร์บอน (GC) หรือ ขั้วไปโอเซนเซอร์ที่พัฒนาขึ้นมา เป็นขั้วไฟฟ้าทำงาน โดยการให้

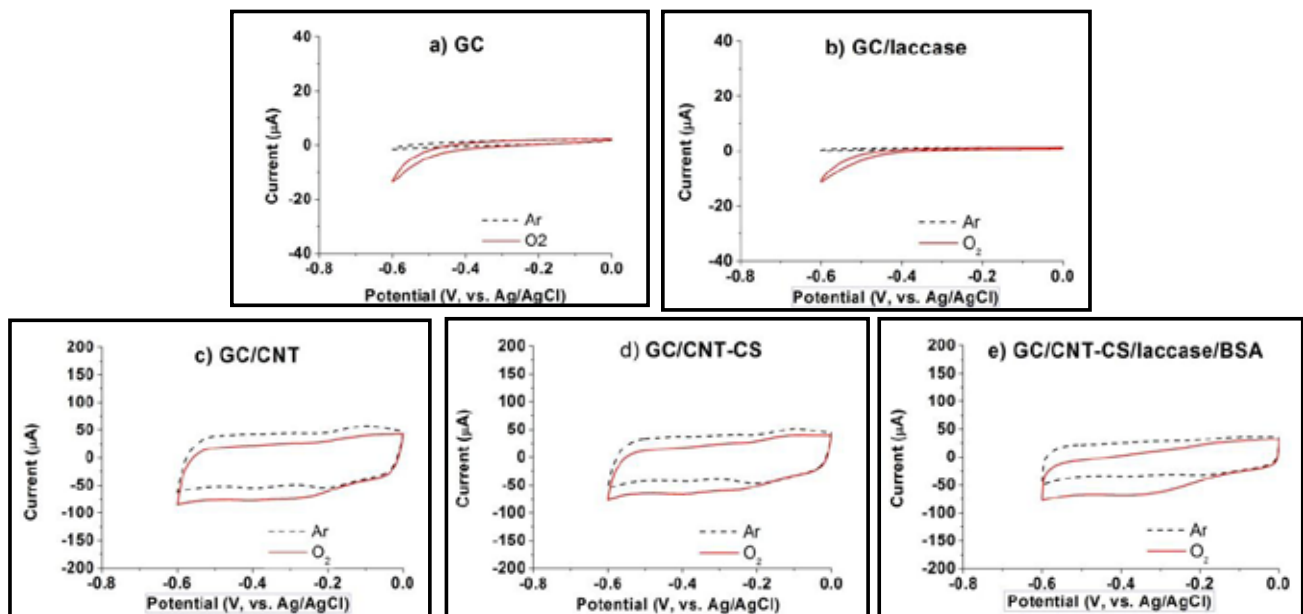
ศักย์ไฟฟ้าในช่วง 0.0 ถึง -0.6 โวลต์ เทียบกับขั้วไฟฟ้าอ้างอิง ให้แก่ขั้วไฟฟ้าทำงาน ในสารละลายของซิเทรตบัฟเฟอร์ความเข้มข้น 0.1 โมลาร์ พีเอช 5.0 ปริมาตร 10 มิลลิลิตร

การทดลองในสภาวะที่ไม่มีแก๊สออกซิเจน จะนำสารละลายซิเทรตบัฟเฟอร์ปริมาตร 10 มิลลิลิตรที่อิ่มตัวด้วยแก๊สอาร์กอน (Ar) มาทำการวัดด้วยเทคนิคไซคลิกโวลแทมเมทรีภายใต้บรรยากาศแก๊สอาร์กอน ส่วนในสภาวะที่มีออกซิเจนจะนำสารละลายซิเทรตบัฟเฟอร์ปริมาตร 10 มิลลิลิตร ที่อิ่มตัวด้วยแก๊สออกซิเจน มาทำการทดลองภายใต้อัตราการไหลของออกซิเจน 40 มิลลิลิตรต่อนาที

ผลการวิจัยและวิจารณ์ผล

การศึกษาหาคู่ประกอบที่เหมาะสมของไบโอเซนเซอร์

การศึกษาหาคู่ประกอบที่เหมาะสมของไบโอเซนเซอร์ โดยใช้แลคเคสในการทำให้ dioxygen (O₂) เกิด electro-enzymatic reduction เป็นน้ำ (H₂O) จะศึกษาการเกิดปฏิกิริยาที่ขั้วไฟฟ้าทั้ง 5 ชนิด (a-e) ได้แก่ a: ขั้วไฟฟ้ากลาสซีคาร์บอน (GC), b: ขั้วไฟฟ้ากลาสซีคาร์บอนที่ดัดแปรด้วยสารละลายเอนไซม์แลคเคส (GC/laccase), c: ขั้วไฟฟ้ากลาสซีคาร์บอนที่ดัดแปรด้วยสารละลายคาร์บอนนาโนทิวบ์ (GC/CNT), d: ขั้วไฟฟ้ากลาสซีคาร์บอนที่ดัดแปรด้วยวัสดุเชิงประกอบคาร์บอนนาโนทิวบ์-โคโตซาน (GC/CNT-CS) และ e: ขั้วไฟฟ้ากลาสซีคาร์บอนที่ดัดแปรด้วยวัสดุเชิงประกอบคาร์บอนนาโนทิวบ์-โคโตซาน เอนไซม์แลคเคส และโบวีนซีรัมอัลบูมิน (GC/CNT-CS/laccase/BSA) ผลการทดลองดังภาพที่ 1



ภาพที่ 1 ไซคลิกโวลแทมโมแกรมของ (a) ขั้วไฟฟ้า GC ในสภาวะที่ไม่มีแก๊สออกซิเจน (เส้นประ) และในสภาวะที่มีออกซิเจน (เส้นทึบ), (b) ขั้วไฟฟ้า GC/laccase, (c) ขั้วไฟฟ้า GC/CNT, (d) ขั้วไฟฟ้า GC/CNT-CS และ (e) ขั้วไฟฟ้า GC/CNT-CS/laccase/BSA ในสารละลายอิเล็กโทรไลต์ซิเทรตบัฟเฟอร์ความเข้มข้น 0.1 โมลาร์ พีเอช 5.0 (อัตราการไหลของออกซิเจนเหนือสารละลายเป็น 40 มิลลิลิตรต่อนาที)

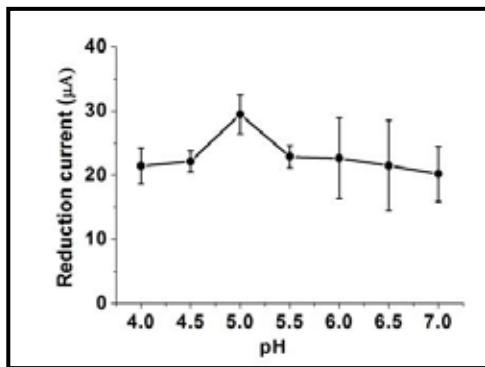
พบว่าปฏิกิริยารีดักชันของออกซิเจนเกิดที่ศักย์ไฟฟ้าสูงกว่า -0.6 V เมื่อใช้ GC และ GC/laccase เป็นขั้วไฟฟ้า แต่เมื่อใช้ขั้วไฟฟ้า GC/CNT, ขั้วไฟฟ้า GC/CNT-CS และขั้วไฟฟ้า GC/CNT-CS/laccase/BSA เป็นขั้วไฟฟ้าใช้งานปฏิกิริยารีดักชันเกิดที่ศักย์ไฟฟ้าประมาณ -0.3 ถึง -0.4 V จากผลการทดลอง (ภาพที่ 1 c, d และ e) พบว่าค่ากระแสพื้น (background current; B) ของขั้วไฟฟ้า

GC/CNT สูงที่สุดตามด้วย GC/CNT-CS และขั้วไฟฟ้า GC/CNT-CS/laccase/BSA ตามลำดับ เมื่อพิจารณาที่ขั้วไฟฟ้า GC/CNT-CS/laccase/BSA พบว่าให้สัญญาณ (Signal; S) จากค่ากระแสรีดักชันของออกซิเจนเมื่อลบด้วยค่ากระแสพื้น (S/B) ที่มีค่ามากที่สุด แสดงว่ามีสภาพที่สูงที่สุด และให้ค่าศักย์ที่ยอดพีค (Ep) ที่ศักย์ไฟฟ้า -0.35 V แสดงว่าปฏิกิริยารีดักชันของออกซิเจน

ถูกเร่งด้วยประสิทธิภาพสูงสุด ทั้งนี้เนื่องจากสมบัติของคาร์บอนนาโนทิวบ์ที่มีพื้นที่ผิวสูงและนำไฟฟ้าได้ดี และสมบัติที่เข้ากันได้ดีกับสารชีวภาพของโคโดซานจึงทำให้สามารถตรึงเอนไซม์ได้ดี และส่งเสริมการทำงานของเอนไซม์ อีกทั้งยังสนับสนุนด้วยโบวีนซีรัมอัลบูมินที่ช่วยให้เอนไซม์มีประสิทธิภาพในการทำงานมากขึ้น ส่งผลให้ค่ากระแสมีค่ามากที่สุด นอกจากนี้ยังพบว่า ขั้วไฟฟ้า GC/CNT-CS/laccase/BSA ที่เตรียมได้มีลักษณะทางกายภาพที่เสถียร คือเมื่อล้างด้วยน้ำกลั่นก่อนทำการวัดจะไม่ทำให้เกิดการหลุดร่อนของสารละลายที่นำมาติดแปรที่ผิวหน้าของขั้วไฟฟ้า

การศึกษาหาพีเอชของสารละลายอิเล็กโทรไลต์ที่เหมาะสม

ขั้วไฟฟ้า GC/CNT-CS/laccase/BSA จะถูกนำไปตรวจวัดปฏิกิริยารีดักชันของออกซิเจนในสารละลายซีเทรตบัฟเฟอร์ ความเข้มข้น 0.1 โมลาร์ ที่พีเอช 4.0, 4.5, 5.0, 5.5, 6.0, 6.5 และ 7.0 ตามลำดับ ผลการทดลองดังภาพที่ 2 ค่ากระแสรีดักชันในรูปเป็นค่าเฉลี่ยจาก ขั้วไฟฟ้าที่เตรียมขึ้น 3 ขั้วไฟฟ้า ส่วนแถบความคลาดเคลื่อน (error bar) แสดงค่าเบี่ยงเบนมาตรฐาน (S.D.) จากการวัด



ภาพที่ 2 ความสัมพันธ์ระหว่างค่ากระแสจากปฏิกิริยารีดักชันของออกซิเจน กับค่าพีเอช ของสารละลายอิเล็กโทรไลต์ 0.1 โมลาร์ ซีเทรตบัฟเฟอร์

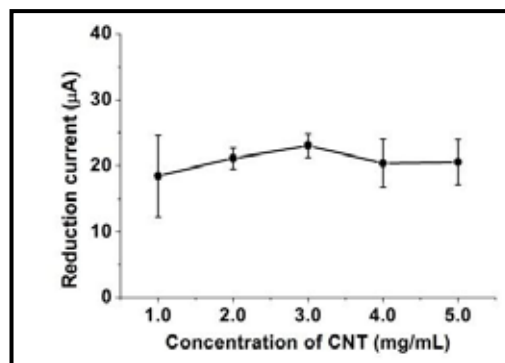
พบว่าความเป็นกรด-เบสของสารละลายมีผลต่อการทำงานของเอนไซม์ ที่พีเอช 5.0 ให้ค่ากระแสที่สูงที่สุด แสดงว่าเอนไซม์แลคเคสทำงานได้ดีในสารละลายอิเล็กโทรไลต์ พีเอช 5.0 สอดคล้องกับผลการทดลองของ B. Haghghi (Haghghi, *et al.*, 2003) และ M. Portaccio (Portaccio, *et al.*, 2006) ซึ่งใช้เอนไซม์แลคเคสในการพัฒนาไบโอเซนเซอร์สำหรับวัดสารประกอบฟีนอลิก (phenolic compounds) และพบว่าเอนไซม์แลคเคสสามารถทำงานได้ดีที่สุดที่พีเอช 5.0

เมื่อเพิ่มพีเอชของสารละลายให้สูงขึ้นค่ากระแสที่ได้ลดลง สอดคล้องกับงานวิจัยของ S. K. Lee และคณะ และ R. Santucci และคณะ (Lee *et al.*, 2002; Santucci *et al.*, 1998) ซึ่งพบว่าในขั้นตอนการเร่งปฏิกิริยารีดักชันของออกซิเจนไปเป็นน้ำของแลคเคส การเกิดรีดักชันของออกซิเจนที่ตำแหน่ง T2 และ T3 ไฮดรอกซิลและไฮยาไนด์สามารถยับยั้งการเข้าไปจับของออกซิเจนกับคอปเปอร์ที่ตำแหน่ง T2 และ T3 ของเอนไซม์แลคเคสได้ ทำให้แลคเคสสูญเสียสมบัติการเป็นตัวเร่งปฏิกิริยา ค่ากระแสจึงลดลงเมื่อพีเอชของสารละลายเพิ่มขึ้น

ดังนั้นงานวิจัยนี้จึงเลือกพีเอช 5.0 เป็นพีเอชของสารละลายอิเล็กโทรไลต์ที่เหมาะสม

การศึกษาปริมาณคาร์บอนนาโนทิวบ์ที่เหมาะสมในเมทริกซ์ของวัสดุเชิงประกอบคาร์บอนนาโนทิวบ์-โคโดซานคอมโพสิต

ในการศึกษาหาปริมาณคาร์บอนนาโนทิวบ์ในเมทริกซ์ของวัสดุเชิงประกอบคาร์บอนนาโนทิวบ์-โคโดซานที่เหมาะสม จะเตรียมไบโอเซนเซอร์ GC/CNT-CS/laccase/BSA โดยใช้สารละลายของคาร์บอนนาโนทิวบ์ 1.0, 2.0, 3.0, 4.0 และ 5.0 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร ผสมกับสารละลายโคโดซานความเข้มข้น 1.0% ผลของปริมาณคาร์บอนนาโนทิวบ์ต่อการตรวจวัดปฏิกิริยารีดักชันของออกซิเจนแสดงดังภาพที่ 3



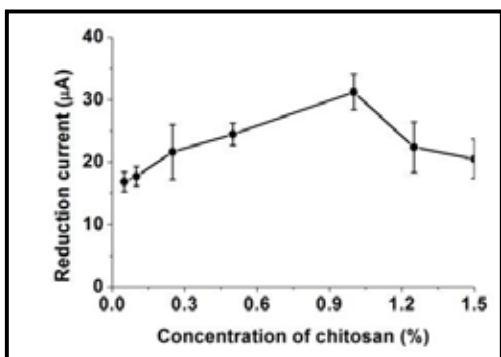
ภาพที่ 3 ความสัมพันธ์ระหว่างค่ากระแสจากปฏิกิริยารีดักชันของออกซิเจนกับความเข้มข้นของคาร์บอนนาโนทิวบ์ที่ใช้ในเมทริกซ์ของวัสดุเชิงประกอบคาร์บอนนาโนทิวบ์-โคโดซาน

จากผลการทดลอง เมื่อปริมาณของคาร์บอนนาโนทิวบ์เพิ่มขึ้นจาก 1-3 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร ค่ากระแสที่ได้เพิ่มขึ้น ซึ่งเป็นผลมาจากสมบัติของคาร์บอนนาโนทิวบ์ซึ่งเป็นสารที่มีพื้นที่ผิวสูงและมีความสามารถในการนำไฟฟ้าได้ดี เมื่อมีปริมาณของ

คาร์บอนนาโนทิวบ์มากขึ้นจึงทำให้สามารถตรึงเอนไซม์ได้มากขึ้น ค่ากระแสที่ได้จึงมีค่าเพิ่มสูงขึ้น แต่ถ้าปริมาณของคาร์บอนนาโนทิวบ์ มีมากเกินไปกลับทำให้ค่ากระแสลดลง ซึ่งเป็นผลจากการนำไฟฟ้า ได้ดีของคาร์บอนนาโนทิวบ์ ทำให้ค่ากระแสพื้น (background; B) มีขนาดใหญ่ขึ้น สัญญาณ (Signal; S) จากค่ากระแสรีดักชันของ ออกซิเจนเมื่อลบด้วยค่ากระแสพื้น (S/B) จึงมีค่าลดลง ดังนั้นจึง เลือกปริมาณคาร์บอนนาโนทิวบ์ 3 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร ซึ่งให้ค่า กระแสที่สูงที่สุดใช้ในการทดลองต่อไป

การศึกษาปริมาณโคโตซานที่เหมาะสมในเมทริกซ์ของวัสดุเชิง ประกอบคาร์บอนนาโนทิวบ์-โคโตซานคอมโพสิต

ในการศึกษาหาปริมาณของโคโตซานที่เหมาะสมใน เมทริกซ์ของวัสดุเชิงประกอบคาร์บอนนาโนทิวบ์-โคโตซาน ใช้ปริมาณของโคโตซานเข้มข้น 0.05, 0.1, 0.25, 0.5, 1.0, 1.25 และ 1.5% ในคาร์บอนนาโนทิวบ์ 3 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร ผลการทดลองแสดงดังภาพที่ 4



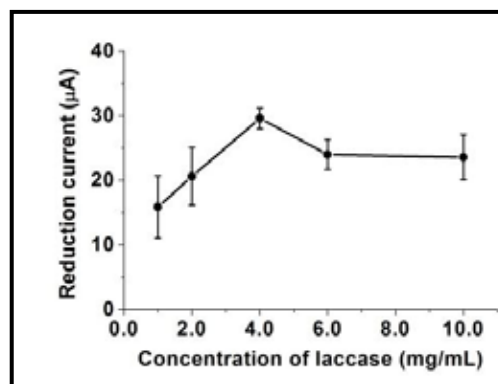
ภาพที่ 4 ความสัมพันธ์ระหว่างค่ากระแสจากปฏิกิริยารีดักชัน ของออกซิเจน กับความเข้มข้นของโคโตซานในเมทริกซ์ ของวัสดุเชิงประกอบคาร์บอนนาโนทิวบ์-โคโตซาน

พบว่าเมื่อความเข้มข้นของโคโตซานเพิ่มมากขึ้นค่า กระแสที่ได้เพิ่มขึ้น เนื่องจากสมบัติที่เข้ากันได้ดีของโคโตซาน กับสารชีวภาพ จึงช่วยส่งเสริมการทำงานของเอนไซม์แลคเคส ค่ากระแสที่ได้จึงเพิ่มขึ้น แต่เมื่อความเข้มข้นสูงขึ้นมากกว่า 1.0% พบว่าค่ากระแสเริ่มลดลง เนื่องจากถ้ามีปริมาณโคโตซานมากขึ้น จะมีความหนืดเพิ่มขึ้นและมีความสามารถในการนำไฟฟ้าลดลง ปริมาณโคโตซานที่มากขึ้นกว่า 1.0% ทำให้ประสิทธิภาพในการทำงานของเอนไซม์ลดลง ดังนั้นจึงเลือก 1.0% โคโตซานซึ่งให้ค่า กระแสที่สูงที่สุดเป็นค่าที่เหมาะสม

การศึกษาผลของปริมาณเอนไซม์แลคเคส

เมื่อได้อัตราส่วนของเมทริกซ์วัสดุเชิงประกอบคาร์บอน

นาโนทิวบ์-โคโตซานที่เหมาะสมแล้ว จึงทำการศึกษาผลของปริมาณ เอนไซม์แลคเคส ความเข้มข้นที่ศึกษาคือ 1.0, 2.0, 3.0, 4.0 และ 5.0 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร ผลการทดลองแสดงดังภาพที่ 5



ภาพที่ 5 ความสัมพันธ์ระหว่างค่ากระแสจากปฏิกิริยารีดักชัน ของออกซิเจน กับความเข้มข้นของเอนไซม์แลคเคสที่ใช้ ในการเตรียมขั้วไฟฟ้า GC/CNT-CS/laccase/BSA

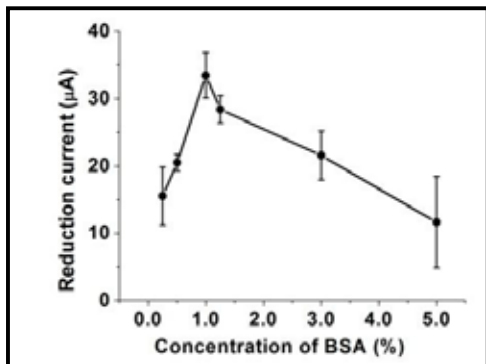
จากผลการทดลองในภาพที่ 5 เมื่อเพิ่มความเข้มข้นของ เอนไซม์แลคเคสจาก 1-4 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร จะได้ค่ากระแส รีดักชันของออกซิเจนที่สูงขึ้น เนื่องจากปริมาณเอนไซม์สูงขึ้น ช่วยเร่งปฏิกิริยาได้ดีขึ้น จึงเพิ่มความสามารถในการตรวจวัดสูงขึ้น ค่ากระแสที่ได้จึงสูงขึ้น โดยปริมาณเอนไซม์ 4 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร จะให้ค่ากระแสที่มากที่สุด แต่เมื่อเพิ่มความเข้มข้นของเอนไซม์ สูงขึ้นมากกว่า 4 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร ค่ากระแสได้ไม่เพิ่มขึ้น ทั้งนี้ อาจเป็นผลเนื่องจากพื้นที่ผิวในการตรึงเอนไซม์แลคเคสในเมทริกซ์ วัสดุเชิงประกอบมีปริมาณจำกัด ดังนั้นปริมาณที่เติมมากเกินไป ของเอนไซม์แลคเคสจึงไม่มีผลต่อค่ากระแส หรืออาจเกิดเนื่องมาจาก ปริมาณเอนไซม์ที่เติมเพิ่มมากเกินไป ส่งผลให้เกิดการต้านทาน การถ่ายเทอิเล็กตรอนได้ ดังนั้นจึงเลือกความเข้มข้นของเอนไซม์ แลคเคสที่ 4 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร ใช้ในการทดลองต่อไป

การศึกษาผลของปริมาณสารละลายโบวินซีรัมอัลบูมิน

การศึกษาปริมาณสารละลายโบวินซีรัมอัลบูมิน จะใช้ ความเข้มข้นของสารละลายโบวินซีรัมอัลบูมิน 0.25, 0.5, 1.0, 1.25, 3 และ 5% ผลของปริมาณสารละลายโบวินซีรัมอัลบูมินต่อขั้วไฟฟ้า GC/CNT-CS/laccase/BSA ต่อค่ากระแสรีดักชันของออกซิเจน แสดงดังภาพที่ 6

เมื่อเพิ่มความเข้มข้นของสารละลายโบวินซีรัมอัลบูมิน จาก 0.25 จนถึง 1.0% จะได้ค่ากระแสที่เพิ่มขึ้น (เพิ่มขึ้นจากเดิมถึง ประมาณ 120%) โดยค่าความเข้มข้นที่ 1.0% ให้ค่ากระแสสูงที่สุด

แสดงว่าสารละลายโบวินซีรัมอัลบูมินมีส่วนช่วยในการทำงานของ เอนไซม์ สอดคล้องกับงานวิจัยของ J. Kulys (Kulys *et al.* 2002) ซึ่งใช้แลคเคสเป็นตัวเร่งปฏิกิริยาออกซิเดชันของ methyl syringates และพบว่าโบวินซีรัมอัลบูมินสามารถป้องกันการเกิด inactivate ของเอนไซม์แลคเคส



ภาพที่ 6 ความสัมพันธ์ระหว่างค่ากระแสจากปฏิกิริยารีดักชันของออกซิเจนกับความเข้มข้นของสารละลายโบวินซีรัมอัลบูมินที่ใช้ในการเตรียมไบโอเซนเซอร์

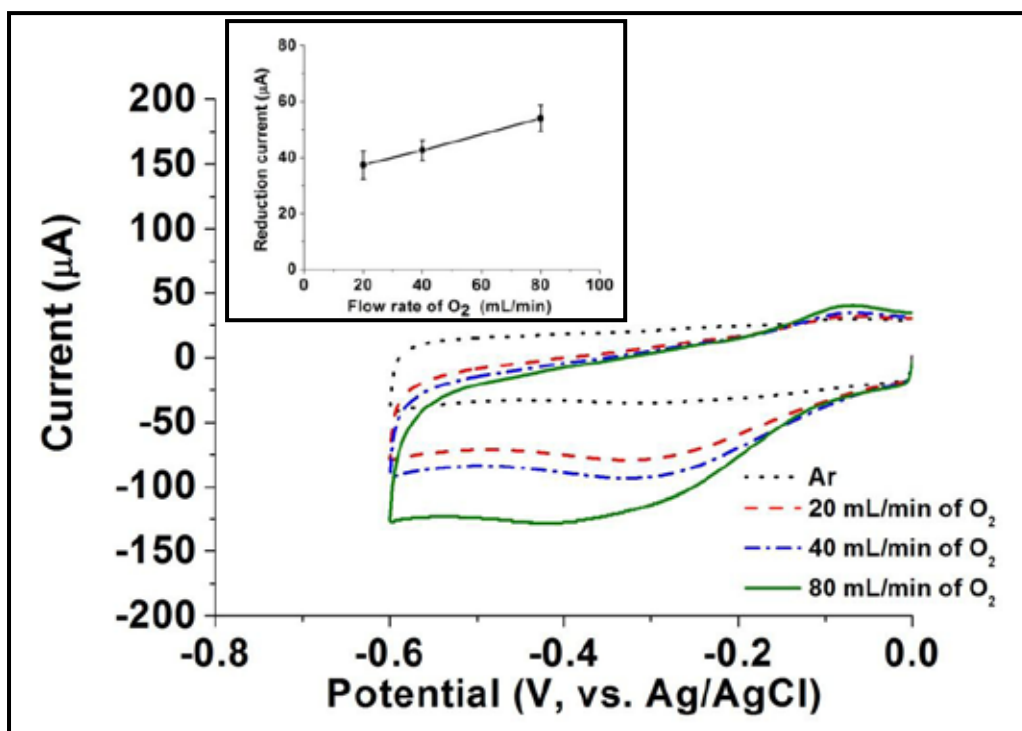
จากการทดลองเมื่อความเข้มข้นเพิ่มมากกว่า 1.0% ค่ากระแสที่ได้กลับลดลง ทั้งนี้อาจเป็นผลเนื่องจากปริมาณของ

โบวินซีรัมอัลบูมินที่มีมากเกินไปทำให้เกิดการขัดขวางการถ่ายเทอิเล็กตรอนได้ ค่ากระแสที่ได้จึงลดลง ดังนั้นจึงเลือกใช้ 1% โบวินซีรัมอัลบูมินในการตัดแปรชีวไฟฟ้า

การศึกษาสัญญาณการตอบสนองของชีวไฟฟ้า GC/CNT-CS/laccase/BSA ต่อปริมาณแก๊สออกซิเจน

จากผลการทดลองในการศึกษาหาสภาวะที่เหมาะสมพบว่าองค์ประกอบต่างๆ ที่เหมาะสมในการเตรียมชีวไฟฟ้า GC/CNT-CS/laccase/BSA คือใช้สารละลายของคาร์บอนนาโนทิวป์ 3.0 มิลลิกรัมต่อมิลลิตร ผสมกับสารละลายโคโคซานความเข้มข้น 1.0% นำมาหยดบนชีวไฟฟ้างลาสซีคาร์บอน 20 ไมโครลิตร ทิ้งไว้ให้แห้งที่อุณหภูมิห้อง จากนั้นนำมาตรึงเอนไซม์โดยการหยดเอนไซม์แลคเคสความเข้มข้น 4 มิลลิกรัมต่อมิลลิตรปริมาตร 40 ไมโครลิตร ทิ้งไว้ให้แห้งที่อุณหภูมิห้อง และหยดสารละลายโบวินซีรัมอัลบูมินความเข้มข้น 1% ปริมาตร 5 ไมโครลิตร ทิ้งไว้ให้แห้งที่อุณหภูมิห้อง จะได้ชีวไฟฟ้า GC/CNT-CS/laccase/BSA

เมื่อนำชีวไฟฟ้า GC/CNT-CS/laccase/BSA มาศึกษาการตอบสนองต่อปริมาณแก๊สออกซิเจน โดยในการทดลองจะควบคุมอัตราการไหลของออกซิเจนเหนือระดับสารละลายที่ 20, 40 และ 80 มิลลิตรต่อนาที ผลการทดลองแสดงดังภาพที่ 7



ภาพที่ 7 ความสัมพันธ์ระหว่างค่ากระแสจากปฏิกิริยารีดักชันของออกซิเจนกับอัตราการไหลของแก๊สออกซิเจน

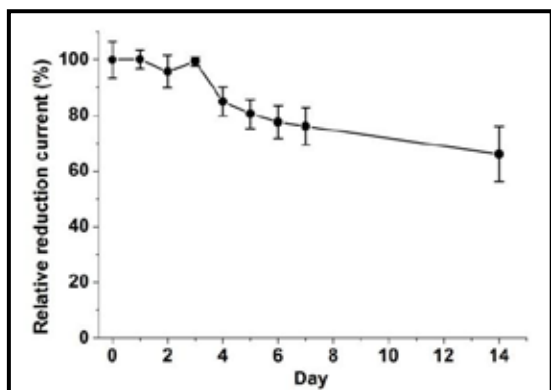
ค่ากระแสรีดักชันของออกซิเจนจะสัมพันธ์กับอัตราการไหลของแก๊สออกซิเจนที่เพิ่มขึ้นแบบเป็นเส้นตรง ($r^2 = 0.9996$, ค่าความชันของสมการเส้นตรงเป็น 0.279) ที่ช่วงของอัตราการไหลที่ทำการทดลอง 20- 80 มิลลิลิตรต่อนาที ค่ากระแสที่ได้จากการวัดซ้ำๆ มีความเที่ยง (precision) ตีมากคือให้ค่า %RSD เท่ากับ 3.89 ($n = 5$)

ผลการทดลองจากเทคนิคไซคลิกโวลแทมเมทรีแสดงให้เห็นว่า ขั้วไฟฟ้า GC/CNT-CS/laccase/BSA ที่พัฒนาขึ้นตอบสนองต่อปริมาณออกซิเจน สามารถใช้เป็นตัวตรวจวัดออกซิเจนและอาจจะนำมาประยุกต์ใช้เป็นตัวตรวจวัดในการวิเคราะห์ปริมาณออกซิเจนในระบบที่มีการไหลด้วยเทคนิคแอมเพอร์โรเมทรี เพื่อพัฒนาให้เป็นระบบวิเคราะห์ปริมาณออกซิเจนที่สะดวก รวดเร็ว และใช้สารปริมาณน้อย ต่อไป

ศึกษาความเสถียรของไบโอเซนเซอร์

ศึกษาความเสถียรของขั้วไฟฟ้า GC/CNT-CS/laccase/BSA โดยการเตรียมขั้วไฟฟ้า 3 ขั้ว และนำมาวัดค่ากระแสแสดงกฏิกิริยารีดักชันของออกซิเจน หลังจากเตรียมขั้วไฟฟ้าไว้เป็นระยะเวลา 0, 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7 และ 14 วัน

จากภาพที่ 8 พบว่าขั้วไฟฟ้า GC/CNT-CS/laccase/BSA มีความเสถียร โดยค่ากระแสรีดักชันของออกซิเจนที่ได้จากการวัดเมื่อเตรียมได้ใหม่ๆ หลังจากเตรียมไบโอเซนเซอร์ไว้ 1, 2 และ 3 วัน มีค่าที่ค่อนข้างคงที่และใกล้เคียงกับค่าเริ่มต้น (~100%) และเริ่มลดลงเมื่อวัดในวันที่ 4 โดยวัดค่ากระแสได้ประมาณ 85% และเมื่อทิ้งไว้ 7 วันค่ากระแสลดลงเหลือประมาณ 76% และลดลงเหลือประมาณ 70% เมื่อทิ้งไว้ 14 วัน



ภาพที่ 8 ความเสถียรของขั้วไฟฟ้า GC/CNT-CS/laccase/BSA ที่ระยะเวลาต่างๆ ในการเก็บรักษา (เก็บที่อุณหภูมิ 4°C)

เมื่อเปรียบเทียบกับความเสถียรของขั้วไฟฟ้า จากงานวิจัยของ H. L. Pang (Pang, *et al.*, 2010) ซึ่งศึกษาขั้วไฟฟ้า 2 ชนิด ได้แก่ ชนิดที่ 1 กลาสซีคาร์บอนที่ดัดแปรด้วยสารละลายคาร์บอนนาโนทิวบ์และเอนไซม์แลคเคส (GC/CNT/laccase) และขั้วไฟฟ้าชนิดที่ 2 ขั้วไฟฟ้างลาสซีคาร์บอนที่ดัดแปรด้วยสารละลายคาร์บอนนาโนทิวบ์ที่มีหมู่ฟังก์ชันเป็น 1-aminopyrene (CNT-AP) และนำมาตรึงเอนไซม์แลคเคสโดยใช้กลูตารัลดีไฮด์เป็นตัวช่วย (GC/CNT-AP/laccase) ซึ่งพบว่าเมื่อเก็บไว้เป็นเวลา 7 วัน ค่ากระแสที่ได้จากการวัดขั้วไฟฟ้าชนิดที่ 1 จะลดลงเหลือประมาณ 69.3% และในขั้วไฟฟ้าชนิดที่ 2 เหลือประมาณ 85.3% ขั้วไฟฟ้าที่พัฒนาขึ้นในงานวิจัยนี้ซึ่งตรึงเอนไซม์ในเมทริกซ์ของคาร์บอนนาโนทิวบ์-โคโคซานที่มีโบนินซิริมอัลบูมินจึงมีความเสถียรดีกว่าเมื่อเปรียบเทียบกับคาร์บอนนาโนทิวบ์ (ขั้วไฟฟ้าชนิดที่ 1 GC/CNT/laccase) และมีความเสถียรน้อยกว่าขั้วไฟฟ้าชนิดที่ 2 (GC/CNT-AP/laccase) เล็กน้อย แต่เมื่อเปรียบเทียบวิธีการในการเตรียมขั้วไฟฟ้าซึ่งในขั้วไฟฟ้าชนิดที่ 2 ต้องมีขั้นตอนในการเตรียมคาร์บอนนาโนทิวบ์ให้มีหมู่ฟังก์ชันเป็น 1-aminopyrene (CNT-AP) ซึ่งเป็นกระบวนการที่ค่อนข้างยุ่งยาก ซับซ้อน ขั้วไฟฟ้าที่พัฒนาขึ้นในงานวิจัยนี้จึงมีความสะดวกและง่ายในการเตรียมมากกว่า

ขั้วไฟฟ้าที่พัฒนาขึ้นมีความเสถียรดี สามารถใช้เป็นตัวตรวจวัดออกซิเจน และอาจจะนำมาประยุกต์ใช้เป็นไบโอแคโทดในเซลล์เชื้อเพลิงชีวภาพได้

สรุปผลการวิจัย

ไบโอเซนเซอร์ที่พัฒนาขึ้นโดยการตรึงเอนไซม์แลคเคสไว้ในเมทริกซ์ของวัสดุเชิงประกอบคาร์บอนนาโนทิวบ์-โคโคซาน ทำให้ได้ไบโอเซนเซอร์ที่มีสภาพไว มีความจำเพาะเจาะจง และมีความเสถียรที่ดี เนื่องจากวัสดุเชิงประกอบคาร์บอนนาโนทิวบ์-โคโคซานมีความสามารถเข้ากับสารชีวโมเลกุล (biocompatibility) สามารถช่วยเพิ่มพื้นที่ผิวสำหรับการตรึงเอนไซม์ให้สูงขึ้น และนำไฟฟ้าได้ดี เอนไซม์แลคเคสถูกตรึงที่พื้นผิวของขั้วไฟฟ้าชนิดกลาสซีคาร์บอนนาโนทิวบ์-โคโคซานและสารละลายโบนินซิริมอัลบูมิน ทำให้สามารถใช้เป็นตัวตรวจวัดออกซิเจน และอาจจะสามารถนำมาประยุกต์ใช้เป็นไบโอแคโทดในเซลล์เชื้อเพลิงชีวภาพได้ต่อไป

กิตติกรรมประกาศ

ขอขอบคุณสภาวิจัยแห่งชาติ, สำนักงานประมงแผ่นดิน
ประจำปิงประมาณ พ.ศ. 2553 และศูนย์ความเป็นเลิศด้าน
นวัตกรรมทางเคมี (PERCH-CIC) สำหรับเงินทุนสนับสนุนการวิจัย
และทุนการศึกษา

เอกสารอ้างอิง

โสภกา กลินจันทร์. (2001) ไปโอเซนเซอร์กับการประยุกต์ใช้. *The Journal of KMITNB.*, 11, 62-64.

Fernández-Sánchez, C., Tzanov T., Gübitz, G. M., & Paulo, A. C. (2002). Voltammetric monitoring of laccase-catalysed mediated reactions. *Bioelectrochemistry*, 58, 149-156.

Gong, K., Yan, Y., Zhang, M., Su, L., Xiong, S., & Mao, L. (2005). Electrochemistry and electroanalytical applications of carbon nanotubes: A review. *Analytical Sciences*, 21, 1383-1393.

Haghighi, B., Gorton, L., Ruzgas, T. & Jonsson, L.J. (2003). Characterization of graphite electrodes modified with laccase from *Tametes vesicolor* and their use for bioelectrochemical monitoring of phenolic compounds in flow injection analysis. *Analytica Chimica Acta*, 487, 3-14.

Iijima, S., & Ichihashi, T. (1993). Single-shell carbon nanotubes of 1-nm diameter. *Nature*, 363, 603-605.

Kaempgen, M., Lebert, M., Roth, S., Soehn, M., & Nicoloso, N. (2008). Fuel cells based on multifunctional carbon nanotube networks. *Journal of Power Sources*, 180, 755-759.

Klotzbach, T., Watt, M., Ansari, Y., & Minteer, S. D. (2006). Effects of hydrophobic modification of chitosan and Nafion on transport properties, ion-exchange capacities, and enzyme immobilization. *Journal of Membrane Science*, 282, 276-283.

Kulys, J., Krikstopaitis, K., Ziemys, Arturas., & Schneider, P. (2002). Laccase-catalyzed oxidation of syringates in presence of albumins. *Journal of Molecular Catalysis B: Enzymatics*, 18, 99-108.

Lee, S. K., George, S. D., Antholine, W. E., Hedman, B., Hodgson, K. O., & Solomon, E. I. (2002). Nature of the intermediate formed in the reduction of O₂ to H₂O at the trinuclear copper cluster active site in native laccase. *Journal of American Chemical Society*, 124, 6180-6193.

Pang, H. L., Liu, J., Hu, D., Zhang, X.H., & Chen J.H. (2010). Immobilization of laccase onto 1-aminopyrene functionalized carbon nanotubes and their electrocatalytic activity for oxygen reduction. *Electrochimica Acta*, 55, 6611-6616.

Popov, V.N., (2004). Carbon nanotubes: properties and application. *Materials Science and Engineering: R: Reports*, 43, 61-102.

Portaccio, M., Di Martino, S., Durante, D., De Luca, P., Lepore, M., Bencivenga, U., Rossi, S., De Maio, A., & Mita, D.G. (2006). Biosensors for phenolic compounds: The catechol as a substrate model. *Journal of Molecular Catalysis B: Enzymatic*, 41, 97-102.

Rasooly, A. & Herold, K. E. (Eds) (2009). Biosensors and biodetection methods and protocols, (pp.v-ix), New York, Humana Press.

Rinaudo, M. (2006). Chitin and chitosan: Properties and applications. *Progress in Polymer Science*, 31, 603-632.

Santucci, R., Ferri, T., Morpurgo, L., Savini, I., & Avigliano, L. (1998). Unmediated heterogenous electron transfer reaction of ascorbate oxidase and laccase at gold electrode. *Biochemistry Journal*, 332, 611-615.

Solomon, E. I., Baldwin, M. J., & Lowery, M. D. (1992). Electronic structures of active sites in copper proteins: contributions to reactivity, *Chemical Reviews*, 92, 521-542.

Stolarczyk, K., Nazaruk, E., Rogalski, J., & Bilexicz, R. (2008). Nanostructured carbon electrodes for laccase-catalyzed oxygen reduction without added mediators. *Electrochimica Acta*, 53, 3983-3990.

- Tan, Y., Deng, W., Ge, B., Xie, Q., Huang, J., & Yao, S. (2009). Biofuel cell and phenolic biosensor based on acid-resistant laccase-glutaraldehyde functionalized chitosan-multiwalled carbon nanotubes nanocomposite film. *Biosensors and Bioelectronics*, *24*, 2225-2231.
- Tanguaram, T., Wang, J., Rodriguez, M. C., Laocharoensuk, R., & Veerasai, W. (2007). Highly stable amplified low-potential electrocatalytic detection of NAD⁺ at azure-chitosan modified carbon electrodes. *Sensors and Actuators B*, *30*, 277-281.
- Wang, J. & Musameh, M. (2004). Electrochemical detection of trace insulin at carbon-nanotube-modified-electrodes. *Analytica Chimica Acta*, *511*, 33-36.
- Zheng, W., Zhou, H.M., Zheng, Y.F., & Wang, N. (2008). A comparative study on electrochemistry of laccase at two kinds of carbon nanotubes and its application for biofuel cell. *Chemical Physics Letters*, *457*, 381-385.

การปรับปรุงความคงทนของคอนกรีตในสภาวะแวดล้อมทะเลโดยใช้เถ้าถ่านหิน
Improving Durability of Concrete under Marine Environment by Using Fly Ash

วิเชียร ชาลี^{1*} และ ชัย จาตุรพิทักษ์กุล²

¹ภาควิชาวิศวกรรมโยธา คณะวิศวกรรมศาสตร์ มหาวิทยาลัยบูรพา

²ภาควิชาวิศวกรรมโยธา คณะวิศวกรรมศาสตร์ มหาวิทยาลัยเทคโนโลยีพระจอมเกล้าธนบุรี

Wichian Chalee^{1*} and Chai Jaturapitakul²

¹Department of Civil Engineering, Faculty of Engineering, Burapha University.

²Department of Civil Engineering, Faculty of Engineering, King Mongkut's University of Technology Thonburi.

บทคัดย่อ

งานวิจัยนี้ ศึกษาการแทรกซึมของคลอไรด์และการเกิดสนิมของแท่งเหล็กที่ฝังในคอนกรีตของปูนซีเมนต์ปอร์ตแลนด์ประเภทที่ 1 และ 5 ที่ผสมเถ้าถ่านหินที่แช่ในสภาวะแวดล้อมทะเล ทำการหล่อคอนกรีตควบคุมจากปูนซีเมนต์ปอร์ตแลนด์ประเภทที่ 1 และ 5 ให้มีอัตราส่วนน้ำต่อวัสดุประสาน (W/B) เท่ากับ 0.65 แทนที่ปูนซีเมนต์ปอร์ตแลนด์ประเภทที่ 1 และ 5 ด้วยเถ้าถ่านหินแม่เมาะ ในอัตราส่วนร้อยละ 0, 15, 25, 35 และ 50 โดยน้ำหนักของวัสดุประสาน และฝังเหล็กเส้นกลมขนาดเส้นผ่านศูนย์กลาง 12 มม. ยาว 50 มม. ในคอนกรีตรูปทรงลูกบาศก์ขนาด 200 มม. ให้มีระยะคอนกรีตหุ้มเหล็กเท่ากับ 10, 20, 50 และ 75 มม. นำคอนกรีตไปบ่มในน้ำประปาเป็นเวลา 28 วัน จากนั้นนำคอนกรีตไปแช่น้ำทะเลในสภาพเปียกสลับแห้ง ที่ จ.ชลบุรี และเก็บตัวอย่างคอนกรีตเพื่อทดสอบการแทรกซึมของคลอไรด์ และวัดการเกิดสนิมของแท่งเหล็กที่ฝังในคอนกรีตที่อายุ 3 ปี ผลการวิจัยพบว่า คอนกรีตที่ผสมเถ้าถ่านหินทุกส่วนผสมสามารถต้านทานการแทรกซึมของคลอไรด์ได้ดีกว่าคอนกรีตที่ใช้ปูนซีเมนต์ปอร์ตแลนด์ประเภทที่ 1 และ 5 เป็นวัสดุประสานเพียงอย่างเดียว คอนกรีตที่เพิ่มปริมาณเถ้าถ่านหินในส่วนผสมมากขึ้น สามารถลดการแทรกซึมของคลอไรด์และการกัดกร่อนในเหล็กเสริมได้ดีขึ้น นอกจากนี้พบว่า คอนกรีตของปูนซีเมนต์ปอร์ตแลนด์ประเภทที่ 5 ที่ผสมเถ้าถ่านหินสามารถต้านทานการกัดกร่อนเนื่องจากสภาวะแวดล้อมทะเลได้ดีกว่าคอนกรีตของปูนซีเมนต์ปอร์ตแลนด์ประเภทที่ 1 ที่ผสมเถ้าถ่านหิน

คำสำคัญ : ความคงทนของคอนกรีต การแทรกซึมของคลอไรด์ การกัดกร่อนเหล็กเสริม เถ้าถ่านหิน สภาวะแวดล้อมทะเล

*Corresponding author. E-mail: wichian@buu.ac.th

In this study, chloride penetration profile, and corrosion of embedded steel bars in concrete containing fly ash in marine environment were investigated. Control concretes were designed using Portland cement type I and V with water to binder ratios (W/B) of 0.65. The Mae Moh fly ash was used to replace Portland cement type I and V at the percentages of 0, 15, 25, 35 and 50 by weight of binder at the same W/B ratios of the control concretes. The 200 mm concrete cube specimens were cast and steel bar with 12 mm in diameter and 50 mm in length was embedded at the covering depths of 10, 20, 50 and 75 mm at the corner of concrete cube specimen. Concrete specimens were cured in fresh water for 28 days, then were placed at the tidal zone of sea water at Chonburi Province. The specimens were tested for chloride penetration and corrosion of embedded steel bars after being exposed to the tidal zone of sea water for 3 years. The results showed that concretes containing fly ash have a better resistance to chloride penetration than that of Portland cement type V and type I concretes. An increase of fly ash replacement in concrete could reduce the chloride penetration and steel corrosion in concrete. In addition, the use of fly ash in Portland cement type V concrete had more seawater corrosion resistance than in Portland cement type I.

Keywords : durability of concrete, chloride penetration, steel corrosion, fly ash, marine environment

บทนำ

ปัจจุบันคุณสมบัติด้านความคงทนของคอนกรีตเป็นอีกปัจจัยที่สำคัญในการออกแบบปฏิภาคส่วนผสมคอนกรีตนอกเหนือจากคุณสมบัติเชิงกล เนื่องจากคอนกรีตเสริมเหล็กในสภาวะแวดล้อมทะเล น้ำกร่อย หรือใกล้ชายฝั่งทะเล มักประสบปัญหาความเสียหายเนื่องจากการกัดกร่อนของสารเคมี และปัญหาเหล็กเสริมภายในคอนกรีตเป็นสนิม (Broomfield *et al.*, 1996; Mehta *et al.*, 1991) สาเหตุเหล่านี้เกิดจากน้ำทะเลที่มีเกลือคลอไรด์ และซัลเฟตละลายอยู่และส่งผลให้เกิดความเสียหายที่รุนแรงต่อโครงสร้างคอนกรีตเสริมเหล็ก โครงสร้างคอนกรีตเสริมเหล็กที่สัมผัสกับน้ำทะเลเลนินมิใช้ปูนซีเมนต์ปอร์ตแลนด์ประเภทที่ 5 เนื่องจาก มีปริมาณไตรแคลเซียมอลูมิเนต (C_3A) ต่ำ จึงลดการเกิดปฏิกิริยาระหว่าง C_3A กับซัลเฟตที่ส่งผลให้คอนกรีตเกิดการขยายตัวและแตกร้าวในคอนกรีตได้ (Neville, 1996) อย่างไรก็ตาม น้ำทะเลส่วนใหญ่มีคลอไรด์ประมาณร้อยละ 90 และซัลเฟตร้อยละ 10 ดังนั้นจึงควรพิจารณาผลกระทบจากคลอไรด์และซัลเฟตร่วมกัน โดยทั่วไปแล้วคอนกรีตที่มีปริมาณ C_3A ต่ำ ถึงแม้จะต้านทานการทำลายเนื่องจากซัลเฟตได้ดี แต่จะมีผลทำให้การทำลายเนื่องจากคลอไรด์มีมากขึ้น เนื่องจากปริมาณ C_3A ที่ต่ำทำให้การดักจับคลอไรด์ที่อยู่ในรูปปฏิกิริยาเคมีกับ C_3A ต่ำลงด้วย และจะปล่อยคลอไรด์อิสระ (free chloride) ที่ส่งผลกระทบต่อการทำลายเหล็กเสริมคอนกรีตในปริมาณที่สูงขึ้น (Arya *et al.*, 1995; Plang-ngern *et al.*, 1999; Yuan *et al.*, 2009) ด้วยเหตุนี้ การใช้ปูนซีเมนต์ที่มีปริมาณ C_3A สูง จะช่วยต้านทานการกัดกร่อนเนื่องจากคลอไรด์ได้ดีกว่าปูนซีเมนต์ที่มีปริมาณ C_3A ต่ำ (Rasheeduzzafar *et al.*, 1991) ในขณะเดียวกัน การป้องกันการกัดกร่อนเนื่องจากซัลเฟต มีความต้องการปริมาณ C_3A ที่ต่ำ ดังนั้นในการพัฒนาคอนกรีตเพื่อใช้ในสภาวะแวดล้อมทะเล จึงมีความจำเป็นต้องพิจารณาถึงปริมาณ C_3A ในวัสดุประสานที่เหมาะสม เพื่อป้องกันความเสียหายจากซัลเฟต และคลอไรด์ในน้ำทะเลควบคู่กันไป

การใช้ปูนซีเมนต์ปอร์ตแลนด์ประเภทที่ 5 แม้ว่าจะต้านทานการกัดกร่อนซัลเฟตได้ดี แต่การต้านทานการเป็นสนิมของเหล็กเสริมในคอนกรีตเนื่องจากคลอไรด์ยังน้อยกว่าปูนซีเมนต์ปอร์ตแลนด์ประเภทที่ 1 เนื่องจากมี C_3A น้อยกว่าปูนซีเมนต์ปอร์ตแลนด์ประเภทที่ 1 ดังนั้นการใช้ปูนซีเมนต์ปอร์ตแลนด์ประเภทที่ 5 เพียงอย่างเดียวอาจไม่เพียงพอสำหรับการก่อสร้างโครงสร้างคอนกรีตในสภาวะแวดล้อมทะเล การใช้แก้วกันแทนที่ปูนซีเมนต์บางส่วนเป็นการ

เปลี่ยนแคลเซียมไฮดรอกไซด์ ($Ca(OH_2)$) ให้เป็นแคลเซียมซิลิเกตไฮเดรต ซึ่งเป็นสารที่มีความแข็งแรงและมีคุณสมบัติในการยึดประสานที่ดี จึงทำให้คอนกรีตมีความทนทานมากขึ้น ตลอดจนการใช้แก้วกันแทนที่ปูนซีเมนต์ปอร์ตแลนด์ประเภทที่ 1 ด้วยแก้วกันแทนที่ปูนซีเมนต์ปอร์ตแลนด์ประเภทที่ 5 บางส่วนจึงเป็นทางเลือกที่น่าสนใจในการพัฒนาคอนกรีตให้มีความคงทนต่อการทำลายเนื่องจากซัลเฟต และคลอไรด์ควบคู่กันไป นั่นหมายถึงคอนกรีตสามารถทนทานจากการกัดกร่อนเนื่องจากสภาวะแวดล้อมทะเลได้ดีขึ้น

ดังนั้นงานวิจัยนี้จึงได้ศึกษาเปรียบเทียบผลการใช้แก้วกันแทนที่ปูนซีเมนต์บางส่วนในคอนกรีตของปูนซีเมนต์ปอร์ตแลนด์ประเภทที่ 1 และ 5 เพื่อช่วยลดผลกระทบเนื่องจากคลอไรด์ และการเกิดสนิมในเหล็กเสริมคอนกรีตที่สัมผัสกับสภาวะแวดล้อมทะเล ซึ่งเป็นการเพิ่มข้อมูลด้านความคงทนของคอนกรีตที่ได้จากการเก็บข้อมูลในสภาพแวดล้อมทะเลในประเทศให้มากขึ้น และเป็นฐานข้อมูลที่ใช้ประกอบการออกแบบส่วนผสมคอนกรีต ให้สามารถทนทานต่อการกัดกร่อนเนื่องจากสภาวะแวดล้อมทะเล ภายใต้ความคุ้มค่าทางเศรษฐศาสตร์และความก้าวหน้าทางวิศวกรรมต่อไป

วัตถุประสงค์และวิธีการวิจัย

วัตถุประสงค์

การศึกษานี้ใช้ปูนซีเมนต์ปอร์ตแลนด์ประเภทที่ 1, 5 และแก้วกันแทนที่ได้โดยตรงจากโรงไฟฟ้าแม่เมาะ ซึ่งมีความถ่วงจำเพาะเท่ากับ 2.23 มีอนุภาคที่ค้ำตะแกรงเบอร์ 325 ร้อยละ 32 ซึ่งอยู่ในเกณฑ์มาตรฐาน ASTM C 618 ที่กำหนดไว้ไม่เกินร้อยละ 34 โดยน้ำหนัก สำหรับบดประกอบทางเคมีของแก้วกันแทนที่แม่เมาะ มีปริมาณผลรวมของสารประกอบหลัก SiO_2 , Al_2O_3 และ Fe_2O_3 เท่ากับร้อยละ 79.45 และมีค่าการสูญเสียน้ำหนักเนื่องจากการเผา (LOI) ร้อยละ 0.52 สามารถจัดเป็นแก้วกันแทนที่ Class F ตามมาตรฐาน ASTM C 618 โดยลักษณะทางกายภาพและองค์ประกอบทางเคมีของวัสดุประสาน แสดงดังตารางที่ 1 และ 2 ตามลำดับ

ตารางที่ 1 ลักษณะทางกายภาพของวัสดุประสาน

ลักษณะทางกายภาพ	วัสดุ		
	ปูนซีเมนต์ปอร์ตแลนด์ประเภทที่ 1	ปูนซีเมนต์ปอร์ตแลนด์ประเภทที่ 5	เถ้าถ่านหิน (F)
Specific Gravity	3.15	3.17	2.23
Retained on a Sieve No.325 (%)	N/A	N/A	32
Mean Particle Size (μm)	25.1	19.2	30.2

ตารางที่ 2 องค์ประกอบทางเคมีของวัสดุประสาน

องค์ประกอบทางเคมี (%)	วัสดุประสาน		
	ปูนซีเมนต์ปอร์ตแลนด์ประเภทที่ 1	ปูนซีเมนต์ปอร์ตแลนด์ประเภทที่ 5	เถ้าถ่านหิน (F)
Silicon Dioxide, SiO_2	20.80	21.52	44.95
Aluminium Oxide, Al_2O_3	5.50	3.56	23.70
Iron Oxide, Fe_2O_3	3.16	4.51	10.80
Calcium Oxide, CaO	64.97	66.70	13.80
Magnesium Oxide, MgO	1.06	1.06	3.47
Sodium Oxide, Na_2O	0.08	0.10	0.07
Potassium Oxide, K_2O	0.55	0.24	2.38
Sulfur Trioxide, SO_3	2.96	2.11	1.31
Loss On Ignition, LOI	2.89	1.74	0.52

มวลรวม

ในการศึกษาครั้งนี้ใช้ทรายแม่น้ำเป็นมวลรวมละเอียด โดยมีค่ามอดูลัสความละเอียดเท่ากับ 2.71 และความถ่วงจำเพาะเท่ากับ 2.61 ส่วนมวลรวมหยาบใช้หินขนาดใหญ่ที่สุดเท่ากับ 19 มม. และมีความถ่วงจำเพาะเท่ากับ 2.74 ร้อยละการของดูดซึมน้ำของมวลรวมหยาบและมวลรวมละเอียดเท่ากับ 0.51 และ 1.00 ตามลำดับ

การเตรียมตัวอย่าง

การศึกษาครั้งนี้ใช้คอนกรีตที่มีอัตราส่วนน้ำต่อวัสดุประสาน (W/B) เท่ากับ 0.65 และใช้เถ้าถ่านหินที่ได้โดยตรงจากโรงไฟฟ้าแม่เมาะแทนที่ปูนซีเมนต์ปอร์ตแลนด์ประเภทที่ 1 และ 5 ในอัตราส่วนร้อยละ 15, 25, 35 และ 50 โดยน้ำหนักวัสดุประสาน ส่วนผสมของคอนกรีตที่ใช้ในการศึกษาแสดงในตารางที่ 3 หล่อตัวอย่างคอนกรีตขนาด 200x200x200 มม.³ และฝัง

เหล็กเส้นกลมขนาดเส้นผ่านศูนย์กลาง 12 มม. ยาว 50 มม. ที่ระยะหุ้มคอนกรีต 10, 20, 50 และ 75 มม. หลังจากบ่มคอนกรีตจนอายุครบ 28 วัน นำตัวอย่างคอนกรีตไปแช่บริเวณชายฝั่งทะเล จ.ชลบุรี โดยคอนกรีตสัมผัสกับน้ำทะเลในสภาพเปียกสลับแห้ง คุณสมบัติของน้ำทะเลบริเวณที่นำก้อนตัวอย่างคอนกรีตไปแช่มีค่าความเป็นกรดต่าง (pH) อยู่ในช่วง 7.9-8.2 และปริมาณคลอไรด์มีค่าอยู่ระหว่าง 16,000-19,000 มก./ล. ส่วนซัลเฟตระหว่าง 2,200-2,700 มก./ล. และมีอุณหภูมิอยู่ระหว่าง 25 ถึง 35 องศาเซลเซียส โดยภาพที่ 1 แสดงการเตรียมตัวอย่างเพื่อทดสอบการแทรกซึมของคลอไรด์และการเกิดสนิมเหล็กในคอนกรีตที่สัมผัสสภาวะแวดล้อมทะเล

การทดสอบการแทรกซึมของคลอไรด์ในคอนกรีต

หลังจากแช่ตัวอย่างคอนกรีตครบ 3 ปี นำคอนกรีตทรงลูกบาศก์มาทำการเจาะ เพื่อหาปริมาณคลอไรด์ที่แทรกซึมเข้า

ตารางที่ 3 อัตราส่วนผสมของคอนกรีต

ส่วนผสม	ส่วนผสมคอนกรีต (กก/ม ³)					
	ปูนซีเมนต์ปอร์ตแลนด์		เถ้าถ่านหิน (F)	ทราย	หิน	น้ำ
	ประเภทที่ 1	ประเภทที่ 5				
I	295	-	-	814	1,039	191
V	-	295	-	814	1,039	192
IF15	251	-	44	814	1,031	191
IF25	221	-	74	814	1,025	191
IF35	192	-	103	814	1,020	191
IF50	132	-	132	814	1,020	191
VF15	-	251	44	814	1,031	192
VF25	-	221	74	814	1,025	192
VF35	-	192	103	814	1,031	192
VF50	-	132	132	814	1,031	192

หมายเหตุ

- “I” หมายถึง คอนกรีตที่ใช้ปูนซีเมนต์ปอร์ตแลนด์ประเภทที่ 1 เป็นวัสดุประสาน
- “V” หมายถึง คอนกรีตที่ใช้ปูนซีเมนต์ปอร์ตแลนด์ประเภทที่ 5 เป็นวัสดุประสาน
- “F” หมายถึง เถ้าถ่านหินจากแม่เมาะ
- “15, 25, 35, 50” หมายถึง คอนกรีตที่แทนที่ปูนซีเมนต์ปอร์ตแลนด์ด้วยเถ้าถ่านหินในอัตราส่วนร้อยละ 15, 25, 35 และ 50 โดยน้ำหนักวัสดุประสาน ตามลำดับ

ตัวอย่างการอ่านสัญลักษณ์

- “I” หมายถึง คอนกรีตควบคุมที่ใช้ปูนซีเมนต์ปอร์ตแลนด์ประเภทที่ 1
- “VF15” หมายถึง คอนกรีตที่ใช้ปูนซีเมนต์ปอร์ตแลนด์ประเภทที่ 5 แทนที่ด้วยเถ้าถ่านหิน ในปริมาณร้อยละ 15 โดยน้ำหนักวัสดุประสาน

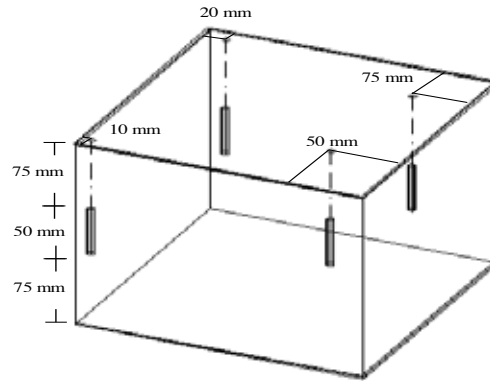
ในคอนกรีต โดยใช้กรดเป็นตัวทำลายตาม ASTM C 1152 ซึ่งได้เป็นปริมาณคลอไรด์ทั้งหมด (total chloride) โดยมีขั้นตอนดังนี้

- เจาะก้อนตัวอย่างคอนกรีตทรงลูกบาศก์ เพื่อทดสอบหาการแทรกซึมของคลอไรด์
- ทำการตัดแท่งตัวอย่างคอนกรีตที่ได้จากการเจาะเป็นชิ้นจากผิวบนไปยังแนวกึ่งกลางโดยในแต่ละชิ้นหนา 10 มม.
- ทำการบดตัวอย่างที่ตัดแต่ละชิ้นให้ละเอียด โดยนำบริเวณกึ่งกลางของแต่ละชิ้นมาบด
- นำตัวอย่างที่ทำการบดแล้วร่อนผ่านตะแกรงเบอร์ 20 เก็บส่วนที่ผ่านตะแกรงเบอร์ 20 เพื่อนำไปทดสอบหาปริมาณคลอไรด์

โดยใช้กรดเป็นตัวทำลายตาม ASTM C 1152 ซึ่งได้เป็นปริมาณคลอไรด์ทั้งหมด (total chloride content) ที่แทรกซึมเข้าไปในคอนกรีตที่ระดับความลึกต่างๆ

การทดสอบการเกิดสนิมของเหล็กที่ฝังในคอนกรีต

หลังจากเจาะตัวอย่างคอนกรีตเพื่อนำไปทดสอบหาปริมาณคลอไรด์แล้วจึงนำคอนกรีตมากดให้แตก เพื่อเก็บเหล็กที่ฝังในคอนกรีตที่ระยะหุ้มต่างๆ มาสำรวจความเป็นสนิมของเหล็กในคอนกรีต โดยทำการวัดพื้นที่ผิวของเหล็กเสริมที่เกิดสนิม ด้วยการใช้แผ่นกราฟพลาสติกใสที่มีช่องตารางขนาด 2x2 มม.² ทาบรอบแท่งเหล็กแล้วใช้ปากการะบายพื้นที่ที่เกิดสนิม นับพื้นที่สนิมที่เกิดขึ้น และนำมาเปรียบเทียบกับพื้นที่ผิวของแท่งเหล็กทั้งหมด



ก) ตัวอย่างคอนกรีตและตำแหน่งที่ฝังเหล็ก



ข) ตัวอย่างคอนกรีตที่แช่ในสภาวะแวดล้อมทะเลในสภาพเปียกกลับ



ค) การเจาะและตัดตัวอย่างคอนกรีตเพื่อทดสอบการแทรกซึมของคลอไรด์

ภาพที่ 1 แสดงการเตรียมตัวอย่างเพื่อทดสอบการแทรกซึมของคลอไรด์และการเกิดสนิมเหล็กของคอนกรีตในสภาวะแวดล้อมทะเล

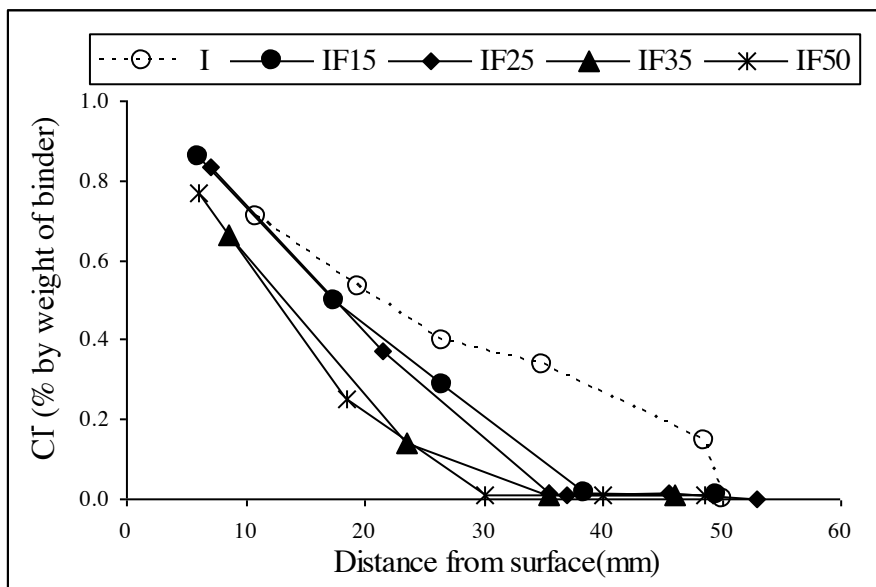
ค่าที่คำนวณได้คือพื้นที่การกัดกร่อนของเหล็ก (ร้อยละของพื้นที่ผิวที่เกิดสนิมเมื่อเทียบกับพื้นที่ผิวทั้งหมดของเหล็ก)

ผลการวิจัยและวิจารณ์ผล

การแทรกซึมของคลอไรด์

ภาพที่ 2 แสดงปริมาณคลอไรด์ที่แทรกซึมเข้าไปในคอนกรีต

ปูนซีเมนต์พอร์ตแลนด์ประเภทที่ 1 ที่ผสมแก้่านหินที่ระดับความลึกต่างๆ เมื่อแช่น้ำทะเลเป็นเวลา 3 ปี พบว่า ที่ระดับความลึก 5 มม. จากผิวหน้าคอนกรีตทุกส่วนผสมมีปริมาณคลอไรด์ค่อนข้างสูง และมีความแปรปรวนของข้อมูล เนื่องจากเป็นบริเวณที่อยู่ใกล้ผิวหน้าของคอนกรีตซึ่งได้รับผลกระทบทั้งทางกายภาพและเคมีของน้ำทะเลสูง ทำให้ไม่สามารถวิเคราะห์ถึงผลของการใช้

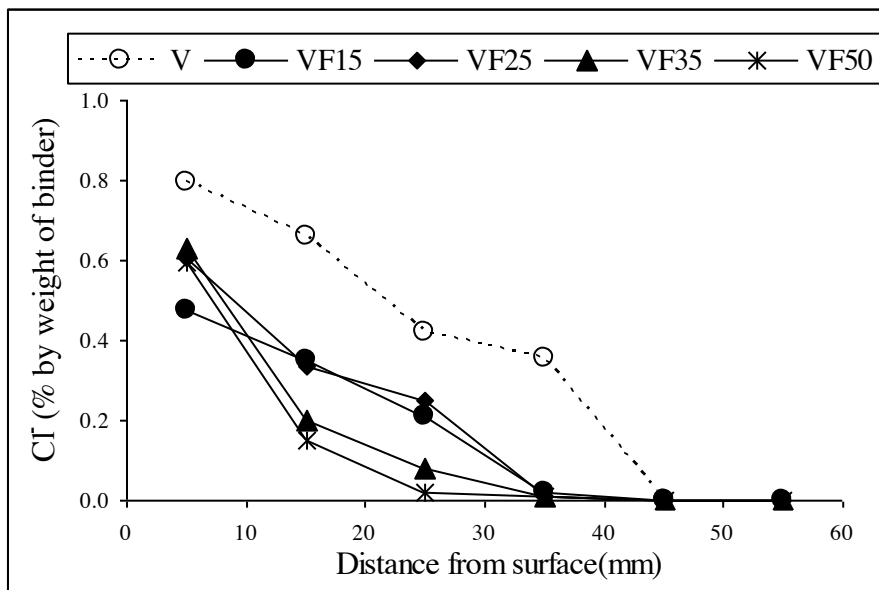


ภาพที่ 2 การแทรกซึมของคลอไรด์ในคอนกรีตของปูนซีเมนต์ปอร์ตแลนด์ประเภทที่ 1 ที่ผสมเถ้าถ่านหินเมื่อแช่ในสภาวะแวดล้อมทะเลเป็นเวลา 3 ปี

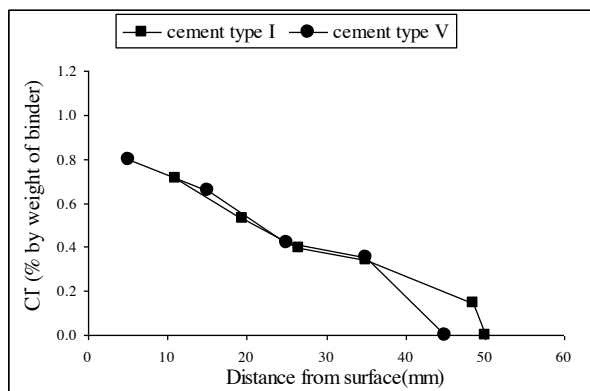
เถ้าถ่านหินต่อแนวโน้มของปริมาณคลอไรด์ที่ระดับความลึกดังกล่าว ได้ชัดเจน แต่ที่ระดับความลึกที่มากขึ้นพบว่า ปริมาณคลอไรด์ที่แทรกซึมเข้าไปในคอนกรีตของปูนซีเมนต์ปอร์ตแลนด์ประเภทที่ 1 มีแนวโน้มที่ชัดเจนมากขึ้น โดยคอนกรีตที่แทนที่ปูนซีเมนต์ปอร์ตแลนด์ประเภทที่ 1 ด้วยเถ้าถ่านหินทุกส่วนผสม พบปริมาณคลอไรด์ที่แทรกซึมเข้าไปในคอนกรีตทุกระดับความลึก มีค่าน้อยกว่าคอนกรีตที่ไม่ได้ผสมเถ้าถ่านหิน นั่นแสดงให้เห็นถึงการใช้เถ้าถ่านหินผสมในคอนกรีตของปูนซีเมนต์ปอร์ตแลนด์ประเภทที่ 1 สามารถต้านทานการแทรกซึมของคลอไรด์ได้ดีขึ้น และส่งผลให้คอนกรีตมีความคงทนมากขึ้น ทั้งนี้เนื่องจากอนุภาคขนาดเล็กของเถ้าถ่านหินช่วยลดช่องว่างในเนื้อคอนกรีต และปฏิกิริยาปอซโซลานระหว่างสารประกอบซิลิกาและอลูมินาในเถ้าถ่านหินกับแคลเซียมไฮดรอกไซด์ที่เป็นผลิตภัณฑ์จากปฏิกิริยาไฮเดรชันระหว่างปูนซีเมนต์กับน้ำ ส่งผลให้ลดสารแคลเซียมไฮดรอกไซด์ที่เป็นสารที่มีความแข็งแรงต่ำลงได้ ตลอดจนได้ แคลเซียมซิลิเกตไฮเดรต (C-S-H) และแคลเซียมอลูมิเนียมไฮเดรต (C-A-H) จากปฏิกิริยาปอซโซลานที่มีคุณสมบัติอุดประสานและช่วยลดช่องว่างในคอนกรีตลง ทำให้คอนกรีตมีความทึบแน่นมากขึ้น (Neville, 1996) โดยพบว่าเมื่อแทนที่เถ้าถ่านหินในปริมาณที่มากขึ้น ปริมาณคลอไรด์ที่แทรกซึมเข้าไปในคอนกรีตมีค่าลดลง ส่วนการแทรกซึมของคลอไรด์ในคอนกรีตของปูนซีเมนต์ปอร์ตแลนด์ประเภทที่ 5 ที่ผสมเถ้าถ่านหิน (ดังภาพที่ 3) พบว่า การแทรกซึมคลอไรด์ในคอนกรีตที่ผสมเถ้า

ถ่านหินมีแนวโน้มเหมือนกับคอนกรีตที่ใช้ปูนซีเมนต์ปอร์ตแลนด์ประเภทที่ 1 โดยปริมาณการแทรกซึมของคลอไรด์ลดลงเมื่อปริมาณการแทนที่เถ้าถ่านหินมากขึ้น ซึ่งแสดงให้เห็นว่า เถ้าถ่านหินสามารถลดการแทรกซึมของคลอไรด์เข้าไปในคอนกรีตของปูนซีเมนต์ปอร์ตแลนด์ประเภทที่ 5 ได้ดีเช่นเดียวกับกลุ่มที่ใช้ปูนซีเมนต์ปอร์ตแลนด์ประเภทที่ 1

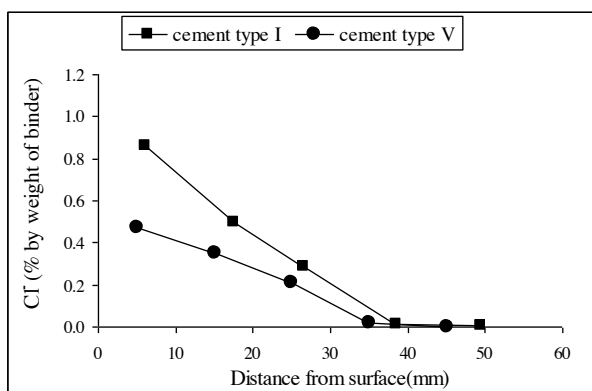
เมื่อพิจารณาเปรียบเทียบการแทรกซึมของคลอไรด์ในคอนกรีตของปูนซีเมนต์ปอร์ตแลนด์ประเภทที่ 1 และ 5 ที่ผสมเถ้าถ่านหิน ดังภาพที่ 4 พบว่า คอนกรีตของปูนซีเมนต์ปอร์ตแลนด์ประเภทที่ 1 และ 5 ที่ไม่ได้ผสมเถ้าถ่านหิน (ภาพ 4ก) มีการแทรกซึมของคลอไรด์หลังแช่น้ำทะเล 3 ปีใกล้เคียงกัน และไม่สามารถวิเคราะห์ถึงแนวโน้มที่ชัดเจนได้ เมื่อปรับปรุงคุณสมบัติของคอนกรีตโดยการแทนที่เถ้าถ่านหินบางส่วนในปูนซีเมนต์ปอร์ตแลนด์ทั้ง 2 ชนิด (ภาพที่ 4ข-4ง) พบว่า ที่ปริมาณการแทนที่เถ้าถ่านหินที่เท่ากัน คอนกรีตของปูนซีเมนต์ปอร์ตแลนด์ประเภทที่ 5 ที่ผสมเถ้าถ่านหินมีแนวโน้มที่จะต้านทานการแทรกซึมของคลอไรด์ได้ดีกว่าคอนกรีตของปูนซีเมนต์ปอร์ตแลนด์ประเภทที่ 1 ที่ผสมเถ้าถ่านหินเล็กน้อย การใช้เถ้าถ่านหินผสมในคอนกรีตของปูนซีเมนต์ปอร์ตแลนด์ประเภทที่ 5 สามารถที่จะต้านทานการแทรกซึมคลอไรด์ได้ดีกว่าคอนกรีตของปูนซีเมนต์ปอร์ตแลนด์ประเภทที่ 1 ที่ผสมเถ้าถ่านหิน อาจเนื่องจากปูนซีเมนต์ปอร์ตแลนด์ประเภทที่ 5 มีความละเอียดสูงกว่าปูนซีเมนต์ปอร์ตแลนด์ประเภทที่ 1 เล็กน้อย มีพื้นที่ผิวมากขึ้น



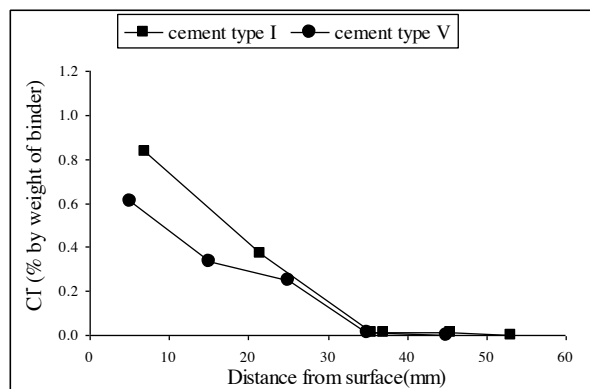
ภาพที่ 3 การแทรกซึมของคลอไรด์ในคอนกรีตของปูนซีเมนต์ปอร์ตแลนด์ประเภทที่ 5 ที่ผสมเถ้าถ่านหินเมื่อแช่ในสภาวะแวดล้อมทะเลเป็นเวลา 3 ปี



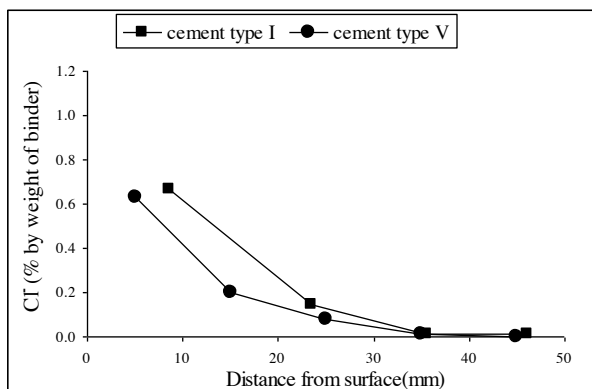
ก) คอนกรีตธรรมดา



ข) ผสมเถ้าถ่านหินร้อยละ 15



ค) ผสมเถ้าถ่านหินร้อยละ 25

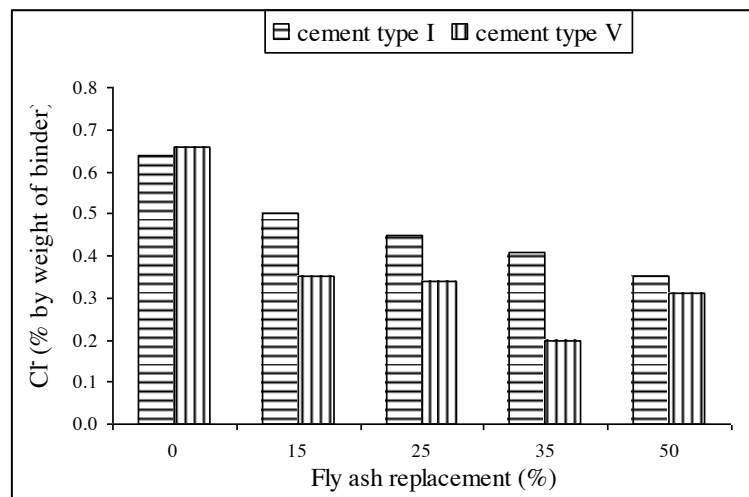


ง) ผสมเถ้าถ่านหินร้อยละ 35

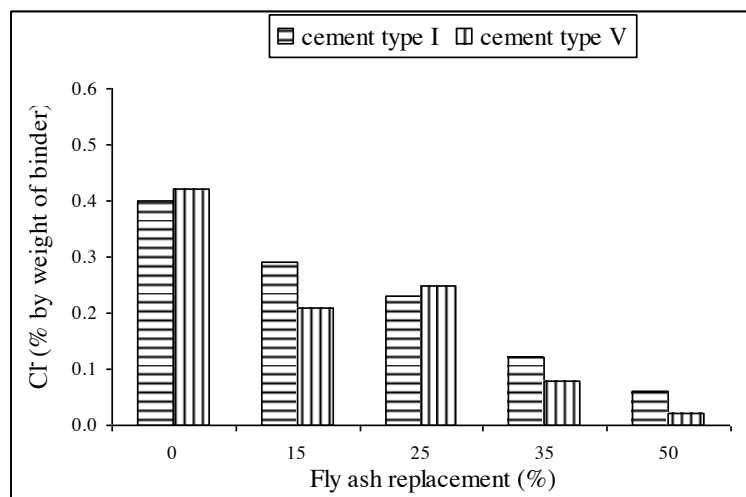
ภาพที่ 4 เปรียบเทียบการแทรกซึมของคลอไรด์ในคอนกรีตของปูนซีเมนต์ปอร์ตแลนด์ประเภทที่ 1 และ 5 ที่ผสมเถ้าถ่านหินเมื่อแช่ในน้ำทะเลเป็นเวลา 3 ปี

ทำให้อัตราการเกิดปฏิกิริยาไฮเดรชันดีกว่าปูนซีเมนต์ปอร์ตแลนด์ประเภทที่ 1 ส่งผลให้ได้สารแคลเซียมซิลิเกตไฮเดรตที่ทำให้เกิดการยึดประสานที่ดี รวมทั้งแคลเซียมไฮดรอกไซด์ที่ได้จากปฏิกิริยาดังกล่าวยังเกิดปฏิกิริยาปอซโซลานต่อเนื่องกับซิลิกาและอลูมินาจากเถ้าถ่านหิน ทำให้เกิดแคลเซียมซิลิเกตไฮเดรตอีกทางหนึ่งด้วย (Gengying *et al.*, 2004; Neville, 1996) และที่สำคัญยิ่งกว่านั้น จากกลไกทางเคมีพบว่า คอนกรีตของปูนซีเมนต์ปอร์ตแลนด์ประเภทที่ 5 ที่มีปริมาณ C_3A ที่ต่ำกว่า ปูนซีเมนต์ปอร์ตแลนด์ประเภทที่ 1 ที่มีปริมาณเถ้าถ่านหิน ซึ่งทำให้ลดการทำลายเนื่องจากซัลเฟตที่จะก่อให้เกิดการขยายตัวและเกิดโพรงในคอนกรีต ซึ่งอาจส่งผลเกื้อหนุนให้การแทรกซึมของคลอไรด์มีมากขึ้นด้วย

จึงส่งผลให้คอนกรีตของปูนซีเมนต์ปอร์ตแลนด์ประเภทที่ 5 ที่มีปริมาณเถ้าถ่านหินมีแนวโน้มในการต้านทานการแทรกซึมของคลอไรด์ที่อยู่ในน้ำทะเลได้ดีกว่า คอนกรีตของปูนซีเมนต์ปอร์ตแลนด์ประเภทที่ 1 ที่มีปริมาณเถ้าถ่านหิน อย่างไรก็ตามปฏิกิริยาปอซโซลานระหว่างเถ้าถ่านหินกับปูนซีเมนต์ปอร์ตแลนด์ทั้ง 2 ชนิดให้ผลค่อนข้างชัดเจนในทิศทางเดียวกันคือ ทำให้คอนกรีตมีความที่บ่มน้ำและช่วยลดการแทรกซึมของคลอไรด์ในน้ำทะเลที่เข้าไปอันตรายกับเหล็กเสริมในคอนกรีตได้ดีขึ้น โดยภาพที่ 5 แสดงให้เห็นว่าการใช้เถ้าถ่านหินผสมในคอนกรีตในปริมาณที่มากขึ้นส่งผลให้ปริมาณคลอไรด์ในน้ำทะเลที่แทรกซึมเข้าไปในคอนกรีตที่ระดับความลึก 15 มม. (ภาพ 5ก) และ 25 มม. (ภาพ 5ข) ลดลงอย่างชัดเจน



ก) ระดับความลึก 15 มม.



ข) ระดับความลึก 25 มม.

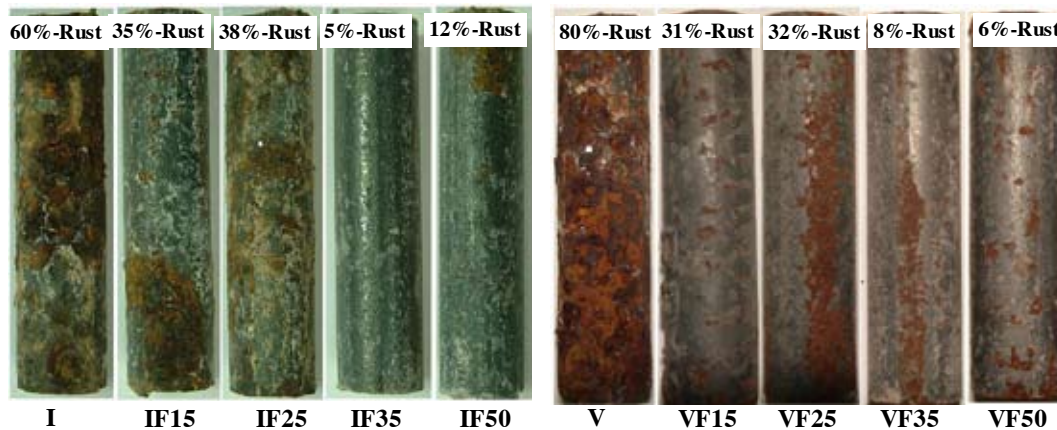
ภาพที่ 5 ผลของถ่านหินต่อการแทรกซึมของคลอไรด์ในคอนกรีต เมื่อแช่น้ำทะเลเป็นเวลา 3 ปี

เช่น คอนกรีตของปูนซีเมนต์ปอร์ตแลนด์ประเภทที่ 1 และ 5 ที่ผสมเถ้าถ่านหินในอัตราส่วนร้อยละ 15, 25, 35 และ 50 โดยน้ำหนักของวัสดุประสาน มีปริมาณคลอไรด์ที่ระดับความลึก 25 มม. เท่ากับ ร้อยละ 0.29, 0.23, 0.12, 0.06 และ 0.21, 0.25, 0.08, 0.02 โดยน้ำหนักของวัสดุประสาน ตามลำดับ

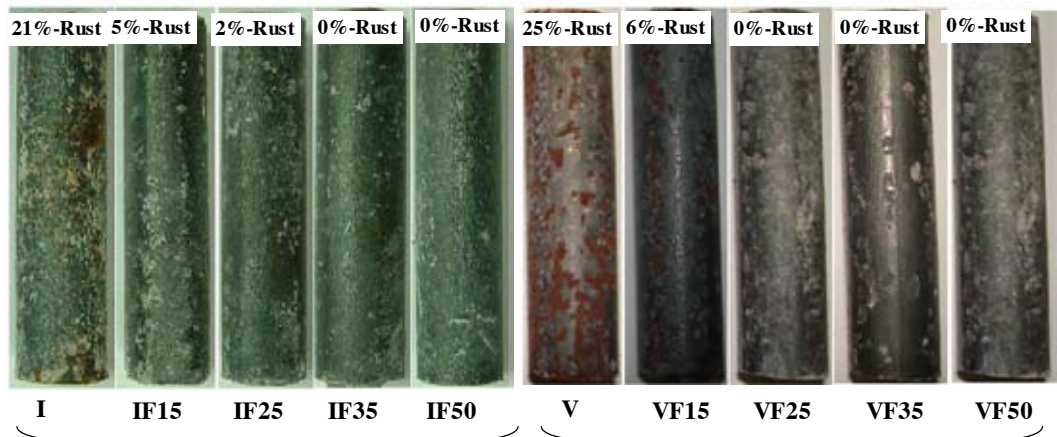
การกัดกร่อนเหล็กเสริมในคอนกรีต

ภาพที่ 6 (ก) แสดงลักษณะการเกิดสนิมของแท่งเหล็กที่ระยะคอนกรีตหุ้มเหล็ก 20 มม. หลังคอนกรีตแช่น้ำทะเลเป็นเวลา 3 ปี พบว่า การผสมเถ้าถ่านหินในคอนกรีตสามารถลดการเกิดสนิมของเหล็กที่ฝังในคอนกรีตเมื่อเทียบกับกลุ่มที่ไม่ได้ผสมเถ้าถ่านหินได้อย่างชัดเจน และมีแนวโน้มเหมือนกันทั้งกลุ่มที่ใช้ปูนซีเมนต์ปอร์ตแลนด์ประเภทที่ 1 และ 5 โดยคอนกรีตของปูนซีเมนต์

ปอร์ตแลนด์ประเภทที่ 1 และ 5 ที่ไม่ได้ผสมเถ้าถ่านหิน มีร้อยละของพื้นที่ที่เกิดสนิมในเหล็กเท่ากับ 60 และ 80 ของพื้นที่ทั้งหมดตามลำดับ และเมื่อผสมเถ้าถ่านหินในคอนกรีตดังกล่าวในอัตราส่วนร้อยละ 15, 25, 35 และ 50 โดยน้ำหนักของวัสดุประสานสามารถลดร้อยละของพื้นที่ของการเกิดสนิมในเหล็กลงเหลือ 35, 38, 5, 12 และ 31, 32, 8, 6 ของพื้นที่ทั้งหมด ตามลำดับ จากผลการศึกษาจะเห็นได้ว่า คอนกรีตของปูนซีเมนต์ปอร์ตแลนด์ประเภทที่ 5 ที่ไม่ได้ผสมเถ้าถ่านหินจะเกิดสนิมในเหล็กมากกว่าคอนกรีตของปูนซีเมนต์ปอร์ตแลนด์ประเภทที่ 1 ซึ่งเป็นผลจากปริมาณ C_3A ที่สูงในปูนซีเมนต์ปอร์ตแลนด์ประเภทที่ 1 สามารถยึดจับเกลือคลอไรด์บางส่วนและปล่อยคลอไรด์อิสระ มาทำลายเหล็กเสริมได้น้อยลง (Rasheeduzzafar *et al.*, 1991) อย่างไรก็ตาม



ก) ระยะคอนกรีตหุ้มเหล็ก 20 มม.



ข) ระยะคอนกรีตหุ้มเหล็ก 50 มม.

ภาพที่ 6 ลักษณะการเกิดสนิมของเหล็กที่ฝังในคอนกรีตที่ผสมเถ้าถ่านหินเมื่อแช่น้ำทะเล 3 ปี

การเกิดสนิมในเหล็กที่ฝังในคอนกรีตที่ระยะคอนกรีตหุ้มเหล็ก 20 มม. ในทุกส่วนผสมเกิดขึ้นค่อนข้างสูงและมีความแปรปรวนของผลการศึกษา ซึ่งแสดงให้เห็นว่าการใช้ระยะคอนกรีตหุ้มเหล็ก 20 มม. มีการทำลายเนื่องจากสภาวะแวดล้อมทะเลได้อย่างรวดเร็ว โดยเหล็กเสริมคอนกรีตสามารถถูกทำลายได้เมื่อสัมผัสกับสภาวะแวดล้อมทะเลเป็นเวลา 3 ปี ผลของเถ้านหินต่อการป้องกันการเกิดสนิมในเหล็กเสริมคอนกรีตสามารถวิเคราะห์ได้ชัดเจนมากขึ้นที่ระยะคอนกรีตหุ้มเหล็ก 50 มม. ตามภาพที่ 6 (ข) ซึ่งพบว่า การใช้เถ้านหินให้ผลในการป้องกันการเกิดสนิมในเหล็กที่ฝังในคอนกรีตได้ค่อนข้างชัดเจน และการเพิ่มปริมาณการแทนที่เถ้านหินในปริมาณที่สูงขึ้น ก็ยังส่งผลดีให้การเกิดสนิมในเหล็กลดลง และมีแนวโน้มเหมือนกันทั้งกลุ่มที่ใช้ปูนซีเมนต์ปอร์ตแลนด์ประเภทที่ 1 และ 5 ทั้งนี้เป็นผลมาจากการใช้เถ้านหินผสมในคอนกรีตมากขึ้น ส่งผลให้การแทรกซึมของปริมาณคลอไรด์ทั้งหมด (Total chloride) ลดลง รวมทั้งการดักจับคลอไรด์มีมากขึ้นซึ่งช่วยลดปริมาณคลอไรด์อิสระ (Free chloride) ที่ทำให้เกิดสนิมในเหล็กลงได้ (Cheewaket *et al.*, 2010; Yuan *et al.*, 2009)

เมื่อเปรียบเทียบการเกิดสนิมเหล็กในคอนกรีตของปูนซีเมนต์ปอร์ตแลนด์ประเภทที่ 1 และ 5 ที่ผสมเถ้านหินเมื่อแช่ในน้ำทะเลเป็นเวลา 3 ปี พบว่ามีสนิมเหล็กเกิดขึ้นใกล้เคียงกันและไม่เห็นความแตกต่างที่ชัดเจนในคอนกรีตทั้ง 2 กลุ่ม อย่างไรก็ตามเมื่อพิจารณาโดยภาพรวมแล้ว คอนกรีตของปูนซีเมนต์ปอร์ตแลนด์ประเภทที่ 5 ที่ผสมเถ้านหิน มีแนวโน้มของการเกิดสนิมน้อยกว่าคอนกรีตของปูนซีเมนต์ปอร์ตแลนด์ประเภทที่ 1 ที่ผสมเถ้านหินในอัตราส่วนเดียวกันเล็กน้อย และเป็นแนวโน้มในทิศทางเดียวกันกับการแทรกซึมคลอไรด์ในคอนกรีต ซึ่งแสดงให้เห็นว่า การใช้เถ้านหินในการปรับปรุงคุณสมบัติด้านความคงทนในคอนกรีตที่ใช้ปูนซีเมนต์ปอร์ตแลนด์ประเภทที่ 5 ให้ผลดีกว่าคอนกรีตของปูนซีเมนต์ปอร์ตแลนด์ประเภทที่ 1

สรุปผลการวิจัย

ผลการศึกษาสรุปได้ดังนี้

1. คอนกรีตที่แทนที่ปูนซีเมนต์ปอร์ตแลนด์ประเภทที่ 1 และ 5 ด้วยเถ้านหินทุกสัดส่วนผสม มีการแทรกซึมของคลอไรด์และการเกิดสนิมในเหล็กเสริมน้อยกว่าคอนกรีตที่ไม่ได้ผสมเถ้านหินอย่างชัดเจน
2. การแทนที่เถ้านหินในคอนกรีตในปริมาณที่สูงขึ้น ส่งผลให้การแทรกซึมของคลอไรด์และการเกิดสนิมในเหล็กเสริมเนื่องจากน้ำทะเลลดลง

3. คอนกรีตของปูนซีเมนต์ปอร์ตแลนด์ประเภทที่ 5 ที่ผสมเถ้านหินมีแนวโน้มต้านทานการแทรกซึมของคลอไรด์ และลดการเกิดสนิมในเหล็กเสริมได้ดีกว่าคอนกรีตของปูนซีเมนต์ปอร์ตแลนด์ประเภทที่ 1 ที่ผสมเถ้านหิน

กิตติกรรมประกาศ

ผู้เขียนขอขอบคุณ ทุนอุดหนุนการวิจัยและพัฒนา คณะวิศวกรรมศาสตร์ มหาวิทยาลัยบูรพา สัญญาเลขที่ 12/2553

เอกสารอ้างอิง

- ASTM. (2008). *Standard test method for acid-soluble chloride in mortar and concrete, C1152 M-04E01*. Annual Book of ASTM Standards; 04.02.
- ASTM. (1997). *Standard Specification for Coal Fly Ash and Raw or Calcined Natural Pozzolan for Use in Concrete, fly ash, natural pozzolan, pozzolans, C618*. Annual Book of ASTM Standards; 04.01.
- Arya, C. & Xu, Y., (1995). Effect of Cement Type on Chloride Binding and Corrosion of Steel in Concrete. *Cement and Concrete Research*, 25, 893-902.
- Asheeduzzafar, Hussain, S.E. & Al-Saadoun, S.S., (1991). Effect of Cement Composition on Chloride Binding and Corrosion of Reinforcing Steel in Concrete. *Cement and Concrete Research*, 21(5), 777-794.
- Broomfield, J.P., (1996). *Corrosion of Steel in Concrete*, England, Taylor & Francis Ltd.
- Chalee, W., Teekavanit, M., Kiattikomol, K., Siripanichgorn, A. & Jaturapitakkul, C., (2007). Effect of W/C Ratio on Covering Depth of Fly Ash Concrete in Marine Environment. *Construction and Building Materials*, 21, 965-971.
- Chalee, W., Jaturapitakkul, C. & Chindaprasirt P., (2009). Predicting the chloride penetration of fly ash concrete in seawater. *Marine Structures*, 22, 341-353.
- Cheewaket, T., Jaturapitakkul, C., & Chalee, W., (2010). Long term performance of chloride binding capacity in fly ash concrete in a marine environment. *Construction and Building Material*, 24, 1352-1357.

- Gengying, Li., (2004). Properties of High-Volume Fly Ash Concrete Incorporating Nano-SiO₂. *Cement and Concrete Research*, 33, 425-431.
- Mehta, P.K., (1991). *Concrete in the Marine Environment*, 1st ed., England, Taylor & Francis Ltd.
- Neville, A.M., (1996). *Properties of Concrete*, 4th ed., England, Addison Wesley.
- Plang-ngern, S., & Tangtermsirikul, S., (1999). Chloride Binding Capacity in Fly Ash Concrete. *Research and Development Journal of the Engineering Institute of Thailand*, 10, 1-8.
- Thomas, M.D.A. & Matthews, J.D., (2004). Performance of pfa Concrete in a Marine Environment-10-year Results. *Cement and Concrete Composites*, 26, 5-20.
- Yuan, Q., Shi, C., Schutter, G.D., Audenaert, K., Deng, D., (2009). Chloride binding of cement-based materials subjected to external chloride environment – A review. *Construction and Building Material*, 23, 1-13.

การกำจัดสีเมทิลเรดด้วยการดูดซับ/วิธีทางชีวภาพ
Removal of Methyl Red Color Employing Adsorption/Biological Treatments

สุดสายชล หอมทอง^{1*}, นเรศ เชื้อสุวรรณ² และ สุบันฑิต นิมรัตน์¹

¹ภาควิชาจุลชีววิทยา คณะวิทยาศาสตร์ มหาวิทยาลัยบูรพา

²สาขาวิชาอนามัยสิ่งแวดล้อม สำนักวิชาแพทยศาสตร์ มหาวิทยาลัยเทคโนโลยีสุรนารี

Sudsaiichon Homthong^{1*}, Nares Chuersuwan², and Subuntith Nimrat¹

¹Department of Microbiology, Faculty of Science, Burapha University

²School of Environmental Health, Institute of Medicine, Suranaree University of Technology

บทคัดย่อ

ในการศึกษาครั้งนี้ได้ทำการศึกษาการบำบัดสีเมทิลเรดความเข้มข้น 0.1 มิลลิโมลาร์ ด้วยวิธีการดูดซับต่อเนื่องด้วยการย่อยสลายด้วยวิธีทางชีวภาพ ผลการทดลองพบว่าถ่านกัมมันต์มีประสิทธิภาพในการกำจัดความเข้มข้นของสี (จากระดับ 0 ลดเหลือระดับ 8) และลดค่าซีไอได้ร้อยละ 49.19 จากนั้นนำสารจากการกรองในขั้นตอนดังกล่าวที่มีค่าซีไอเท่ากับ $1,095 \pm 45$ มิลลิกรัมต่อลิตร มาทำการบำบัดต่อเนื่องด้วยตะกอนแร่ภายใต้สภาวะแอโรบิกและสภาวะแอโรบิกดีไนทริฟิเคชัน ผลที่ได้พบว่าตะกอนแร่ทั้งสองสภาวะไม่สามารถลดค่าซีไอของสารจากการกรองด้วยถ่านกัมมันต์ได้ แต่กลับมีค่าซีไอเพิ่มขึ้นตามระยะเวลาของการทดลอง 10 วัน จากการศึกษาครั้งนี้สามารถสรุปได้ว่าการกำจัดสีเมทิลเรดความเข้มข้น 0.1 มิลลิโมลาร์ ด้วยวิธีการดูดซับด้วยถ่านกัมมันต์มีประสิทธิภาพค่อนข้างสูงแต่การย่อยสลายด้วยตะกอนแร่ภายใต้ทั้ง 2 สภาวะไม่สามารถลดค่าซีไอได้ตลอดระยะเวลาการทดลอง รวมทั้งในวันสุดท้ายของการทดลองพบว่าในตะกอนแร่ทั้ง 2 สภาวะมีค่าของแข็งแขวนลอยลดลงเพียงเล็กน้อย ปริมาณของแข็งละลายน้ำมีปริมาณลดลงแต่ยังสูงกว่า 200 mg/L ส่วนพีเอชลดลงจากเดิมคือ 6.72-6.73 เป็น 5.49 และ 5.96 ภายใต้สภาวะแอโรบิกและสภาวะอโรบิกดีไนทริฟิเคชันตามลำดับ นอกจากนี้ตะกอนแร่ภายใต้สภาวะแอโรบิกดีไนทริฟิเคชันมีปริมาณไนเตรตและไนไตรต์เปลี่ยนแปลงไม่มากนักตลอดระยะเวลาการทดลอง ดังนั้นสรุปได้ว่าวิธีการย่อยสลายด้วยตะกอนแร่ทั้ง 2 สภาวะยังไม่สามารถบำบัดสารสีที่ผ่านการบำบัดด้วยวิธีการดูดซับได้

คำสำคัญ : สีเมทิลเรด การดูดซับ แอโรบิก แอโรบิกดีไนทริฟิเคชัน

*Corresponding author. E-mail: sudsaiich@buu.ac.th

The objective of the present study was to investigate the adsorption/biological treatment for 0.1 mM methyl red. Results showed that the adsorption process using activated carbon was capable of removing color intensity of methyl red (from score 0 to score 8) and reducing COD by 49.19%. COD of the filtrate from the adsorption treatment was $1,095 \pm 45$ mg/L and was used for further studied for biodegradation by aerobic and aerobic denitrifying activated sludges. Results showed that two cultures were not able to reduce COD but increased the COD values within 10 days of the experiment. Results concluded that it is relatively effective in removal of 0.1 mM methyl red by adsorption treatment. In contrast, two biological treatments in this study showed no efficiency for COD removal of the filtrate. At the end of the experiment, two cultures were able to slightly reduce the suspended solids. Furthermore, dissolved solids value also declined but it was still higher than 200 mg/L. The pH level decreased from 6.72-6.73 to 5.49 under aerobic and to 5.96 under aerobic denitrifying treatments, respectively. Under acclimated aerobic denitrifying cultures, nitrate and nitrite values were relatively slight fluctuation along the course of experiment. As a consequence, the adsorption/biological treatment showed no efficiency for 0.1 mM methyl red removal.

Keywords : methyl red, adsorption, aerobic, aerobic denitrification

บทนำ

ปัจจุบันประเทศไทยมีจำนวนโรงงานอุตสาหกรรมสิ่งทอจำนวนมากและมีการส่งออกสิ่งทอไปขายต่างประเทศปีหนึ่งๆ เป็นมูลค่าหลายหมื่นล้านบาท ซึ่งนำรายได้มาสู่ประเทศไทยอย่างสูง นอกจากอุตสาหกรรมสิ่งทอแล้วอุตสาหกรรมอื่นๆ ที่ใช้สีย้อมในกระบวนการผลิต ได้แก่ อุตสาหกรรมฟอก ย้อมผ้า สิ่งพิมพ์ การถ่ายภาพ อุตสาหกรรมพลาสติกและอื่นๆ (Rajagura *et al.*, 2000) ส่งผลให้การใช้สีย้อมมีปริมาณเพิ่มสูงขึ้นและสีย้อมเหล่านี้อาจก่อให้เกิดปัญหาสิ่งแวดล้อมทางน้ำ ถ้าไม่มีการบำบัดน้ำเสียที่มีประสิทธิภาพ น้ำเสียที่ปล่อยออกจากโรงงานอุตสาหกรรมต่างๆ เหล่านี้จะประกอบด้วยสีย้อมชนิดต่างๆ ปนเปื้อนอยู่และส่วนใหญ่เป็นสีย้อมที่ได้จากการสังเคราะห์มากกว่าสีย้อมจากธรรมชาติ เนื่องจากสีย้อมสังเคราะห์มีการผลิตและมีคุณภาพที่แน่นอน ติดทนนาน ละลายน้ำได้ดีและดูดซับกับเส้นใยได้ง่ายกว่าสีธรรมชาติ รวมทั้งสีสังเคราะห์ยังหาได้ง่ายและมีราคาถูก ส่งผลให้สีสังเคราะห์ได้รับความนิยมนำมาใช้ในอุตสาหกรรมต่างๆ (Zoolinger, 1987) ในระหว่างกระบวนการผลิตของโรงงานอุตสาหกรรมเหล่านี้สีย้อมสามารถปนเปื้อนลงสู่น้ำเสียของโรงงานได้ตั้งแต่ร้อยละ 2-50 อันจะนำไปสู่การปนเปื้อนของสีย้อมสู่น้ำผิวดินและน้ำใต้ดินรอบบริเวณโรงงานอุตสาหกรรม (O'Neill *et al.*, 1999) สีสังเคราะห์หลายชนิดสามารถเห็นการปนเปื้อนในแหล่งน้ำได้แม้จะมีความเข้มข้นต่ำ (1 มิลลิกรัมต่อลิตร) ซึ่งน้ำเสียที่เกิดจากกระบวนการผลิตของโรงงานอุตสาหกรรมจะมีความเข้มข้นของสีอยู่ระหว่าง 10-20 มิลลิกรัมต่อลิตร ทำให้สีของน้ำเสียค่อนข้างเข้ม

จากคุณสมบัติของสีย้อมสังเคราะห์ที่มีโครงสร้างซับซ้อนทำให้สีเหล่านี้มีความคงตัวสูง ทนต่อการย่อยสลายของจุลินทรีย์ในธรรมชาติ ทำให้น้ำเสียที่เกิดจากโรงงานการผลิตสีย้อมไม่สามารถที่จะกำจัดออกได้โดยวิธีการบำบัดน้ำเสียโดยทั่วไป (Pagga & Brown, 1986) รวมทั้งสีสังเคราะห์และสารเมตาบอลิซึมของสีสังเคราะห์บางชนิดมีคุณสมบัติเป็นสารก่อมะเร็งในสิ่งมีชีวิต (Levine, 1991) ทำให้น้ำเสียที่มีสีย้อมปนเปื้อนเป็นอันตรายต่อสิ่งมีชีวิตรวมทั้งมนุษย์ จากการศึกษาของ Umbuzeiro และคณะ (2005) แสดงให้เห็นว่าสีย้อมสังเคราะห์ที่แพร่กระจายในสิ่งแวดล้อมทำให้เกิดการเปลี่ยนแปลงและเป็นมลพิษต่อแหล่งน้ำผิวดินและแหล่งน้ำใต้ดิน สีย้อมที่ปนเปื้อนในแหล่งน้ำมีผลขัดขวางการผ่านของแสงและการแพร่ของออกซิเจนสู่แหล่งน้ำ ซึ่งจะส่งผลกระทบต่อสัตว์น้ำและสิ่งมีชีวิตในแหล่งน้ำอย่างหลีกเลี่ยงไม่ได้ อีกทั้งยังส่งผลกระทบต่อสุขภาพอนามัยของประชาชนและแหล่งน้ำตามธรรมชาติ ซึ่ง

เป็นแหล่งน้ำที่ใช้ในการเพาะเลี้ยงสัตว์น้ำนานาชนิด ดังนั้นการมีสีย้อมปนเปื้อนอยู่ในแหล่งน้ำตามธรรมชาติจะก่อให้เกิดผลกระทบต่อโดยตรงต่อการเพาะเลี้ยงสัตว์น้ำ เพราะสีดังกล่าวมีความเป็นพิษต่อสัตว์น้ำ เช่น กุ้งกุลาดำ ปลาชนิดต่างๆ เป็นต้น

สีกลุ่มอะโซเป็นสีที่มีโครงสร้างเป็นสารประกอบอะโรมาติกที่มีหมู่อะโซ (-N=N-) 1 หมู่หรือมากกว่า 1 หมู่ในโครงสร้าง เช่น สีเมทิลเรด (Methyl red) สีอะโซเป็นสีที่มีการสังเคราะห์มาใช้ในการค้ามากที่สุดกลุ่มหนึ่ง (Zollinger, 1991) และเป็นสีที่นิยมใช้มากที่สุดเมื่อเปรียบเทียบกับสีย้อมชนิดต่างๆ ถึง 60-70% ของสีทั้งหมด (Shaul *et al.*, 1991; Chen, 2002) ในปี ค.ศ. 1994 มีการใช้สีสังเคราะห์ประมาณ 1 ล้านตัน โดยมากกว่าร้อยละ 50 ของปริมาณที่ใช้เป็นสีอะโซ (Stolz, 1999) สีอะโซนิยมใช้อย่างแพร่หลายในโรงงานอุตสาหกรรม เช่น อุตสาหกรรมย้อมผ้า อาหาร เครื่องสำอาง กระจก ผลิตภัณฑ์หนังฟอก เป็นต้น

จากคุณสมบัติที่มีความคงตัวสูงและทนต่อการย่อยสลาย จึงทำให้ปัจจุบันมีการศึกษาทั้งในประเทศไทยและต่างประเทศเพื่อเป็นแนวทางในการพัฒนาวิธีการย่อยสลายสารสีอะโซทั้งวิธีการทางกายภาพ ทางเคมีและชีวภาพ แต่ในปัจจุบันประเทศไทยยังคงมีปัญหาในการบำบัดน้ำเสียที่มีสีย้อมปนเปื้อน ซึ่งการบำบัดน้ำเสียจากสีย้อมส่วนใหญ่นิยมใช้การบำบัดทางเคมี (Reife & Freeman, 1996 อ้างโดย Razo-Flores *et al.*, 1997) เนื่องจากน้ำทิ้งที่เกิดจากกระบวนการย้อมสีผ้าจะมีความเข้มข้นของสีอยู่ระหว่าง 10-20 มิลลิกรัมต่อลิตร ทำให้สีของน้ำเสียค่อนข้างเข้มและมีความเป็นพิษค่อนข้างสูง (Levine, 1991) ดังนั้นในการบำบัดน้ำเสียด้วยกระบวนการทางเคมีจึงเป็นวิธีที่สะดวกและรวดเร็วกว่าวิธีอื่นๆ แต่อย่างไรก็ตามการบำบัดน้ำทิ้งด้วยวิธีเคมีต้องใช้พลังงานและค่าใช้จ่ายสูง เพราะต้องซื้อสารเคมีในการบำบัดจำนวนมาก รวมทั้งต้องเสียค่าใช้จ่ายในการบำบัดกากตะกอนที่เกิดจากการบำบัดน้ำเสีย นอกจากนี้การบำบัดด้วยวิธีทางเคมี เช่น การเติมคลอรีนยังทำให้เกิดสารประกอบอินทรีย์คลอรีนที่มีความเป็นพิษ (Sarasa *et al.*, 1998) ดังนั้นวิธีบำบัดทางเคมีจึงเป็นวิธีที่ไม่คุ้มค่าต่อการบำบัดน้ำเสียดังกล่าว เพราะมีค่าใช้จ่ายที่สูงจนเกินไปทำให้ต้นทุนการผลิตสูงขึ้นและอาจเกิดสารที่มีความเป็นพิษต่อสิ่งมีชีวิต

ดังนั้นจึงมีการศึกษาการบำบัดน้ำทิ้งจากโรงงานสีย้อมด้วยวิธีทางชีวภาพ ซึ่งการบำบัดน้ำทิ้งด้วยวิธีทางชีวภาพนั้นเป็นวิธีที่เป็นมิตรกับสิ่งแวดล้อมและสามารถนำไปสู่การย่อยสลายสีย้อมได้อย่างสมบูรณ์และมีค่าใช้จ่ายต่ำกว่าวิธีทางเคมี การบำบัดด้วยวิธีทางชีวภาพที่ได้รับความนิยมคือ การบำบัดด้วยระบบตะกอนเร่ง (Activated sludge process) ซึ่งเป็นการใช้จุลินทรีย์ที่มีอยู่

ตามธรรมชาติย่อยสลายสารอินทรีย์ จุลินทรีย์หลายชนิดไม่ว่าจะเป็นรา แบคทีเรีย ยีสต์และสาหร่ายมีความสามารถในการย่อยสลายสื้อโซได้อย่างสมบูรณ์ในสภาวะแวดล้อมปกติ (Vandevivere *et al.*, 1998; O'Neill *et al.*, 1999; Stolz, 1999) การบำบัดด้วยระบบตะกอนเร่งจะให้ผลในการบำบัดที่มีประสิทธิภาพสูงสามารถลดมลพิษประมาณ 40% ของสารมลพิษที่มีอยู่ในน้ำเสียและองค์ประกอบของสารอินทรีย์ในรูป COD หรือ BOD จะถูกย่อยสลายสุดท้ายไปเป็นน้ำและก๊าซคาร์บอนไดออกไซด์ทำให้ปริมาณของเสียลดลงอย่างชัดเจน (นฤมล ศิริทงธรรม, 2539) จากการศึกษาพบว่าสื้อโซบางชนิดถูกย่อยได้บางส่วนภายใต้สภาวะที่มีออกซิเจน ดังนั้นจึงมีการศึกษาการย่อยสลายสื้อโซภายใต้สภาวะอื่นๆ เช่น การย่อยสลายสื้อโซภายใต้สภาวะที่ไม่มีออกซิเจน ยกตัวอย่างเช่น Brown และ Laboureur (1983) ได้ทำการศึกษาความเป็นไปได้ของการใช้จุลินทรีย์ในการย่อยสลายสื้อย้อมบางชนิดภายใต้สภาวะที่ไม่มีออกซิเจน ซึ่งพบว่ามีความเป็นไปได้สูง แต่อย่างไรก็ตามพบว่าสื้อย้อมหลายชนิดไม่สามารถบำบัดได้อย่างสมบูรณ์ด้วยวิธีใดวิธีหนึ่ง

จากข้อมูลดังกล่าวข้างต้น ทำให้คณะผู้วิจัยมีแนวคิดที่จะพัฒนาระบบบำบัดน้ำเสียแบบผสมผสานโดยเริ่มต้นจากการศึกษาถึงการบำบัดสีเมทิลเรดซึ่งเป็นสีกลุ่มอะโซชนิดหนึ่งที่ยิยมใช้ในโรงงานอุตสาหกรรมมากที่สุด และยังมีผู้ศึกษาเกี่ยวกับการบำบัดสื้อชนิดนี้ไม่มากนักเพื่อเป็นพื้นฐานในการบำบัดน้ำเสียจริงต่อไป โดยเริ่มพัฒนาจากการศึกษาเปรียบเทียบความสามารถในการดูดซับด้วยตัวกลางที่เหมาะสมและมีราคาถูก และนำมาบำบัดต่อเนื่องด้วยการบำบัดด้วยวิธีทางชีวภาพที่ยิยมใช้ทั่วโลกและในประเทศไทย คือ ระบบตะกอนเร่งและวิธีประยุกต์ที่มีการเติมไนเตรตเพื่อให้เป็นสภาวะที่เรียกว่า Aerobic denitrification ซึ่งอาจจะเพิ่มประสิทธิภาพในการบำบัดน้ำเสียที่มีสีผสม ดังนั้นจากการศึกษาดังกล่าวจะทำให้ทราบถึงการย่อยสลายสีเมทิลเรดภายใต้สภาวะต่างๆ คือ สภาวะแอโรบิก (Aerobic conditions) และสภาวะแอโรบิกดีไนทริฟิเคชัน (Aerobic denitrification) ว่าสภาวะใดจะให้ผลต่างกันอย่างไร และสภาวะใดจะเหมาะสมที่สุดในการย่อยสลายสีเมทิลเรดร่วมกับการพัฒนาการบำบัดสีเมทิลเรดด้วยวิธีทางกายภาพด้วยสารธรรมชาติ เช่น ดิน และสารดูดซับที่มีราคาถูกและผลิตในประเทศไทยเพื่อทำให้เกิดระบบบำบัดที่ประหยัดค่าใช้จ่ายและคุ้มค่าเหมาะต่อการประยุกต์ต่อเนื่องไปยังระดับอุตสาหกรรมต่อไป

วัสดุอุปกรณ์และวิธีการ

1. วิธีการเตรียมและทำการวิเคราะห์สีเมทิลเรด (Nimrat *et al.*, 2004)

การเตรียมสีเมทิลเรดจะเตรียมด้วยการละลายด้วยตัวทำละลาย Dimethyl sulfoxide (DMSO) เพราะสีเมทิลเรดละลายในน้ำได้น้อยมาก รวมทั้งการเติมเกลือโซเดียมคลอไรด์ความเข้มข้น 7% (w/v) เพื่อทำให้เป็นสารสีที่มีลักษณะคล้ายกับน้ำเสียที่ปนเปื้อนโรงงานผลิตสีที่จะมีปริมาณเกลือโซเดียมคลอไรด์อยู่ร้อยละ 7

2. การทดสอบการกำจัดสีเมทิลเรดด้วยการดูดซับด้วยถ่านกัมมันต์

การทดสอบการกำจัดสีเมทิลเรดด้วยการดูดซับด้วยถ่านกัมมันต์ ซึ่งเป็นสารตัวกลางที่มีราคาถูกและผลิตในประเทศไทย โดยนำถ่านกัมมันต์บรรจุลงในคอลัมน์ขนาดความกว้าง 5 เซนติเมตร x ความยาว 12 เซนติเมตร x ความสูง 17 เซนติเมตร จากนั้นเทสีเมทิลเรดความเข้มข้น 0.1 mM ปริมาตร 250 มิลลิลิตร ลงในคอลัมน์โดยให้อัตราการไหลของสีผ่านคอลัมน์เท่ากับ 2.40 มิลลิลิตร ต่อนาที (ทำการทดลอง 3 ซ้ำ) การกรองสีเมทิลเรดผ่านคอลัมน์กระทำที่อุณหภูมิห้อง (ประมาณ 25 องศาเซลเซียส) จากนั้นนำสารที่ได้จากการกรองมาวัดปริมาณสีไอดีและความเข้มข้นของสีซึ่งจะได้กล่าวต่อไปในข้อที่ 4

3. การทดสอบการกำจัดสีเมทิลเรดด้วยวิธีผสมผสานโดยวิธีการดูดซับด้วยถ่านกัมมันต์ต่อเนื่องด้วยการย่อยสลายทางชีวภาพ

นำตัวอย่างจากข้อที่ 2 ที่ผ่านการดูดซับแล้วมาทำการทดสอบต่อเนื่องด้วยการย่อยสลายด้วยตะกอนเร่งที่ปรับสภาพภายใต้สภาวะแอโรบิกและแอโรบิกดีไนทริฟิเคชันตามรายละเอียดข้อ 3.1 ร่วมกับวิเคราะห์ความเข้มข้นของสี ค่าสีไอดี ของแข็งแขวนลอยของแข็งละลายน้ำและพีเอชในตะกอนเร่งภายใต้สภาวะแอโรบิกและสภาวะแอโรบิกดีไนทริฟิเคชัน ส่วนปริมาณไนเตรตและปริมาณไนโตรตทำการตรวจวัดในตะกอนเร่งภายใต้สภาวะแอโรบิกดีไนทริฟิเคชัน

3.1 การเตรียมตะกอนเร่งภายใต้สภาวะแอโรบิกและแอโรบิกดีไนทริฟิเคชัน

เก็บตัวอย่างตะกอนเร่งจากบ่อเติมอากาศของระบบตะกอนเร่งและเลี้ยงเชื้อให้คุ้นเคยกับสารละลายโซเดียมเบนโซเอตความเข้มข้น 0.5 M ที่ใช้เป็นแหล่งคาร์บอนของทั้ง 2 สภาวะ และเติมสารละลายโพแทสเซียมไนเตรตให้ได้ความเข้มข้นสุดท้ายเท่ากับ 0.5 M ลงในตะกอนเร่งที่เป็นสภาวะแอโรบิกดีไนทริฟิเคชันเพื่อใช้เป็นแหล่งไนโตรเจนและตัวรับอิเล็กตรอน

3.2 วิเคราะห์ลักษณะของตะกอนเร่งที่ผ่านการปรับสภาพ

วิเคราะห์ลักษณะของตะกอนเร่งในแต่ละสภาวะที่ผ่านการปรับสภาพตามวิธีมาตรฐานของ APHA (APHA, 1995) คือ การวัดค่าพีเอช ปริมาณสารแขวนลอยหนัก (Sludge volume index; SVI) และปริมาณสารแขวนลอยที่เป็นสารอินทรีย์ แร่ธาตุ และจุลินทรีย์ (Mixed-liquor suspended solids; MLSS)

3.3 การศึกษาการย่อยสลายสีเมทิลเรดภายในสภาวะตะกอนเร่งที่ผ่านการปรับสภาพทั้ง 2 สภาวะ (Nimrat *et al.*, 2004)

โดยทำการทดลองด้วยขวดทดลองเป็นส่วนของการทดลองในห้องปฏิบัติการขั้นต้น

3.3.1 ศึกษาการย่อยสลายสีเมทิลเรดภายใต้สภาวะแอโรบิก

โดยทำการทดลองนำขวดซีรัมขนาด 100 มิลลิลิตร 7 ขวด แบ่งการทดลองออกเป็น 3 ชุด คือ ชุด Sterile 2 ขวด โดยทำการเติมตะกอนเร่งปริมาตร 44 มิลลิลิตร และปิดฝาขวดด้วยจุกยางและตัวปิดล้อยอะลูมิเนียม นำไปฆ่าเชื้อด้วยหม้อนึ่งไอน้ำ 3 ครั้ง 3 วันติดต่อกัน หลังจากนั้นเติมสารละลายสีเมทิลเรดลงไป 5 มิลลิลิตร และโซเดียมคลอไรด์ความเข้มข้น 7% (w/v) ปริมาตร 1 มิลลิลิตร เพื่อทำให้ปริมาณสารในขวดทดลองสุดท้ายคือ 50 มิลลิลิตร ส่วนชุด Background จำนวน 2 ขวด โดยทำการเติมตะกอนเร่งปริมาตร 44 มิลลิลิตร และเติมโซเดียมคลอไรด์ความเข้มข้น 7% (w/v) ปริมาตร 1 มิลลิลิตร และปิดฝาขวดด้วยจุกยางและตัวปิดล้อยอะลูมิเนียม (ไม่ต้องนำไปฆ่าเชื้อด้วยหม้อนึ่งไอน้ำ) และ ชุด Active 3 ขวด ทำการเติมตะกอนเร่งปริมาตร 44 มิลลิลิตร เติมโซเดียมคลอไรด์ความเข้มข้น 7% (w/v) ปริมาตร 1 มิลลิลิตร และเติมสารละลายสีเมทิลเรดไป 5 มิลลิลิตร และปิดฝาขวดด้วยจุกยางและตัวปิดล้อยอะลูมิเนียม

เมื่อเตรียมชุดทดสอบเรียบร้อยแล้วทำการปรับระดับความดันอากาศให้เท่ากันทั้งขวดด้วยเข็มฉีดยาและนำไปบ่มที่อุณหภูมิห้องในที่มืด สังเกตการเปลี่ยนแปลงของสีเมทิลเรดและเก็บตัวอย่าง ตั้งแต่วันแรกของการทดลอง (Day 0) เพื่อศึกษาการย่อยสลายสีเมทิลเรดของเชื้อผสม (Mixed culture) ในช่วงเวลาต่างๆ

3.3.2 ศึกษาการย่อยสลายสีเมทิลเรดภายใต้สภาวะแอโรบิกดีไนทริฟิเคชัน

เตรียมชุดทดสอบเหมือนกับสภาวะแอโรบิก แต่มีการเติมโพแทสเซียมไนเตรดความเข้มข้น 250 มิลลิโมลาร์ ปริมาตร 1 มิลลิลิตร และนำตัวอย่างมาทดสอบเหมือนในข้อ 3.3.1

4. การวิเคราะห์ปริมาณสารต่างๆที่อยู่ในสารตัวอย่าง

4.1 การวัดค่าซีโอดี

ทำการวัดซีโอดีด้วยชุด COD Kit ด้วยวิธีการของ Hender-son *et al.* (1997)

4.2 การวัดปริมาณของแข็งแขวนลอย (Suspended solids) (ด้วยวิธีการของ Clescerl *et al.*, 1998)

การวัดปริมาณของแข็งแขวนลอยกระทำโดยนำกระดาษกรอง มาอบให้แห้งที่อุณหภูมิ 103-105 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 1 ชั่วโมง ทิ้งให้เย็นในโถดูดความชื้น แล้วนำมาชั่งน้ำหนัก จากนั้นนำกระดาษกรองวางในกรวยบุคเนอร์ซึ่งต่อเข้ากับเครื่องดูดอากาศ ใช้น้ำกลั่นฉีดกระดาษกรองให้เปียกแล้วเปิดเครื่องเปิดอากาศ เพื่อให้กระดาษกรองติดกรวยบุคเนอร์ และกรองตัวอย่างน้ำที่ผสมเข้ากันดีแล้ว 50-100 มิลลิลิตร โดยใช้เครื่องดูดอากาศ แล้วล้างเครื่องกรองด้วยน้ำกลั่น 10 มิลลิลิตร แล้วเปิดเครื่องทิ้งไว้ 3 นาที เมื่อแห้งแล้วนำกระดาษกรองมาไว้ในภาชนะเดิม (อาจเป็นถ้วยหรือกระดาษอะลูมิเนียมก็ได้) แล้วนำไปอบให้แห้งที่อุณหภูมิ 103-105 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 1 ชั่วโมง ทิ้งให้เย็นในโถดูดความชื้น แล้วชั่งน้ำหนักจนได้น้ำหนักคงที่ และนำไปคำนวณหาปริมาณของแข็งแขวนลอย

4.3 การวัดปริมาณของแข็งที่ละลายน้ำ (Dissolved solids) (ด้วยวิธีการของ Clescerl *et al.*, 1998)

การวัดปริมาณของแข็งละลายน้ำกระทำโดยนำน้ำส่วนที่ได้จากการกรองที่เหลือจากการหาของแข็งแขวนลอย ใส่ลงในถ้วยระเหยที่อบแห้งที่อุณหภูมิ 103-105 องศาเซลเซียส ทิ้งให้เย็นในโถดูดความชื้นและชั่งน้ำหนัก จากนั้นนำประเหยน้ำให้แห้งบนเครื่องอังไอน้ำ นำเข้าตู้อบ 103-105 องศาเซลเซียส เป็นเวลาอย่างน้อย 1 ชั่วโมง ทำให้เย็นในโถดูดความชื้นและชั่งน้ำหนักจนได้น้ำหนักคงที่ และนำไปคำนวณหาปริมาณของแข็งละลายน้ำ

4.4 การวัดปริมาณไนเตรด

การวัดปริมาณไนเตรดด้วยวิธีการทดลองของ ธงชัย พรรณสวัสดิ์ และอุษา วิเศษสุมน (2535) ซึ่งมีวิธีการดังนี้ คือทำการเจือจางตัวอย่างให้เป็น 40 เท่า โดยการดูดตัวอย่างจริง 50 ไมโครลิตร เจือจางด้วย NaCl 7% 1,950 ไมโครลิตร ให้มีปริมาตรรวมทั้งหมดในหลอดทดลองเท่ากับ 2,000 ไมโครลิตร ทำให้เย็นโดยนำไปแช่ในอ่างน้ำแข็ง เติมสารละลาย NaCl 400 ไมโครลิตร ผสมให้เข้ากัน แล้วเติมสารละลายกรดซัลฟิวริก 2,000 ไมโครลิตร นำไปแช่ต่อในอ่างน้ำแข็งอีกครั้งจนเกิดสี แล้วนำไปวัดค่าทรานสมิตแตนซ์ด้วย Spectrophotometer ที่ความยาวคลื่น 410 นาโนเมตร จะได้เป็นค่าแปลงของแต่ละ

ตัวอย่าง นำไปแช่ในอ่างน้ำแข็งอีกครั้ง เติมสารละลายบรูซอิน กรดซัลฟานิลิก 100 ไมโครลิตร เขย่าให้เข้ากัน จากนั้นนำไปแช่ ในเครื่องอังน้ำที่มีอุณหภูมิคงที่ไม่ต่ำกว่า 95 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 20 นาที จากนั้นนำมาแช่ในอ่างน้ำแข็งให้อุณหภูมิลดลง จนเท่าอุณหภูมิห้องจึงนำไปวัดค่าทรานสมิตแทนท์นำค่าที่ได้ไปหักกับ ค่าแปลงค้ที่วัดได้ครั้งแรกของแต่ละตัวอย่าง นำค่าทรานสมิตแทนท์ ที่ได้ไปคำนวณหาความเข้มข้นโดยการเทียบกับกราฟมาตรฐาน

4.5 การวัดปริมาณไนไตรต

การวัดปริมาณไนไตรตด้วยวิธีการทดลองของ ธงชัย พรรณสวัสดิ์ และอุษา วิเศษสุนน (2535) ซึ่งวิธีนี้ได้ประยุกต์ มาจากข้อมูลวิเคราะห์น้ำเสียเช่นเดียวกับไนเตรต ซึ่งมีวิธีการดังนี้ คือ ทำการเจือจางตัวอย่างให้เป็น 50 เท่า โดยการดูดตัวอย่างจริง 48 ไมโครลิตร เจือจางด้วย NaCl 7% 2,352 ไมโครลิตร ให้มี ปริมาตรรวมทั้งหมดในหลอดทดลองเท่ากับ 2,400 ไมโครลิตร เติมสารละลาย EDTA 16 ไมโครลิตร และกรดซัลฟานิลิก 16 ไมโครลิตร ผสมให้เข้ากันทำให้เกิดปฏิกิริยา 3-10 นาที จากนั้น นำมาเติมน้ำยาแวนทิลลามีนไฮโดรคลอไรด์ 16 ไมโครลิตร และ โซเดียมอะซีเตทบัฟเฟอร์ 16 ไมโครลิตร ผสมให้เข้ากัน ตั้งทิ้งไว้ 10-30 นาที จะเกิดสีม่วงแดง แล้วนำไปวัดค่าทรานสมิตแทนท์ที่ ความยาวคลื่น 543 นาโนเมตร

4.6 การวัดความเข้มข้นของสีเมทิลเรด (ด้วยวิธีการของ Nimrat et al., 2004)

การวัดความเข้มข้นของสีเมทิลเรดกระทำโดยนำตัวอย่างสี ที่ผ่านการกรองและสีที่ผ่านการบำบัดด้วยวิธีทางชีวภาพทั้ง 2 วิธี

มาเปรียบเทียบความเข้มข้นกับความเข้มข้นมาตรฐานของสีเมทิลเรด ที่ได้เจือจางและแบ่งระดับความเจือจางสีออกเป็น 10 ระดับ โดยกำหนดให้ 0 เป็นระดับที่มีความเข้มข้นสีสูงที่สุด (สีแดงเข้ม) และ 10 เป็นระดับที่มีความเข้มข้นสีต่ำที่สุด (ใสไม่มีสี)

5. วิธีการประเมินผล/สังเคราะห์ข้อมูล

นำผลการทดลองมาทำการเปรียบเทียบด้วยรูปและตาราง และคำนวณเปรียบเทียบทางสถิติของข้อมูลโดยใช้การวิเคราะห์ ความแปรปรวน และวิธี Duncan' multiple rank test โดยใช้ โปรแกรม SPSS 10.0 เพื่อทดสอบความแตกต่างที่ระดับนัยสำคัญ ($P\text{-value} = 0.05$)

ผลการวิจัยและวิจารณ์ผล

ผลการทดลอง

จากผลการทดลองพบว่าถ่านกัมมันต์มีความสามารถในการ ดูดซับสีเมทิลเรด 0.1 มิลลิโมลาร์ โดยพบว่าค่าซีไอลดลง 49.19 เปอร์เซ็นต์ และค่าเข้มของสีลดลงอย่างสูง โดยลดลงจาก Score 0 เป็น 8 ดังแสดงในตารางที่ 1 และลักษณะของตะกอนเร่งที่ผ่าน กระบวนการปรับตัวอย่างได้ 2 สภาวะ คือ สภาวะแอโรบิกและ แอโรบิกดีไนทริฟิเคชันมีค่าพีเอชค่อนข้างจะเป็นกรด (6.72-6.73) และมีปริมาณสารแขวนลอยหนักในเกณฑ์ที่ดี รวมทั้งมีปริมาณ สารแขวนลอยที่เป็นสารอินทรีย์ แร่ธาตุและจุลินทรีย์ที่อยู่ในเกณฑ์ มาตรฐาน ดังแสดงในตารางที่ 2

เมื่อเวลาผ่านไปพบว่าปริมาณซีไอดีในการย่อยสลายสีเมทิลเรด ด้วยตะกอนเร่งภายใต้สภาวะแอโรบิกและแอโรบิกดีไนทริฟิเคชัน

ตารางที่ 1 ค่าซีไอดีและความเข้มของสีเมทิลเรดก่อนและหลังการดูดซับด้วยถ่านกัมมันต์

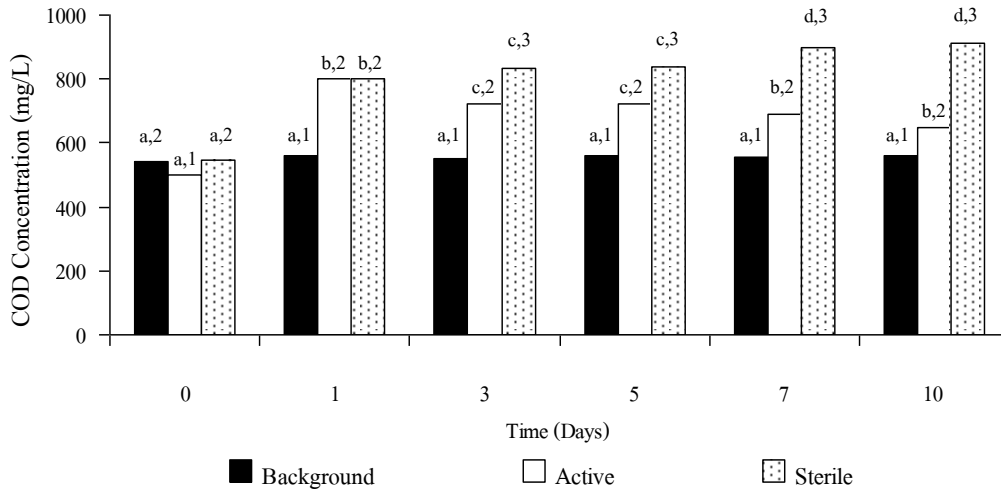
ตัวอย่าง	ค่าซีไอดี (mg/L)	%ค่าซีไอดีที่ลดลง	ความเข้มสี
ก่อนการบำบัด	2,155±5	49.19	0
หลังการบำบัด	1,095±45		8

ตารางที่ 2 ลักษณะของตะกอนเร่งภายใต้สภาวะแอโรบิกและแอโรบิกดีไนทริฟิเคชันหลังผ่านกระบวนการปรับสภาพ

พารามิเตอร์	ตะกอนเร่งสภาวะ	
	แอโรบิก	แอโรบิกดีไนทริฟิเคชัน
พีเอช	6.73	6.72
ปริมาณสารแขวนลอยหนัก (mL/g)	65.58	56.98
ปริมาณสารแขวนลอยที่เป็นสารอินทรีย์ แร่ธาตุและจุลินทรีย์ (mg/L)	2,986.86	3,757.03

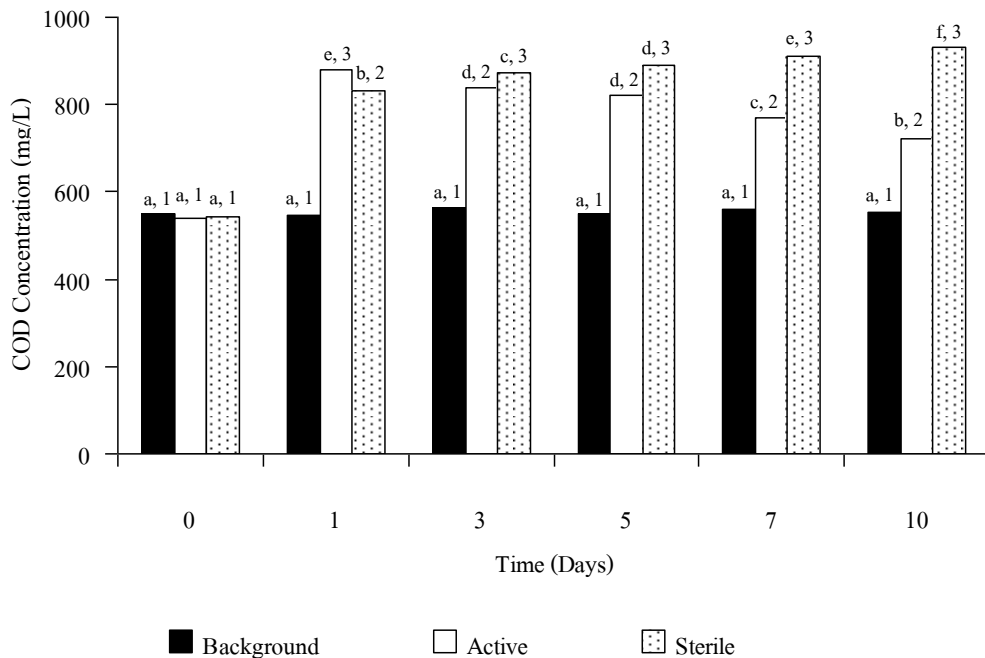
เพิ่มปริมาณขึ้นทั้งในขวด Active และขวด Sterile ส่วนปริมาณซีโอดีเมื่อเปรียบเทียบกับระหว่างการย่อยสลายสีเมทิลเรดด้วยตะกอนเร่งภายใต้สภาวะแอโรบิกและแอโรบิกดีไนทริฟิเคชันนั้นพบว่าในสภาวะแอโรบิกดีไนทริฟิเคชันมีปริมาณซีโอดีเพิ่ม

สูงกว่าสภาวะแอโรบิกเล็กน้อยในวันที่ 1-7 ส่วนในวันที่ 10 พบว่าปริมาณซีโอดีของทั้งสองสภาวะมีค่าไม่แตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($P < 0.05$) ดังแสดงในภาพที่ 1-3



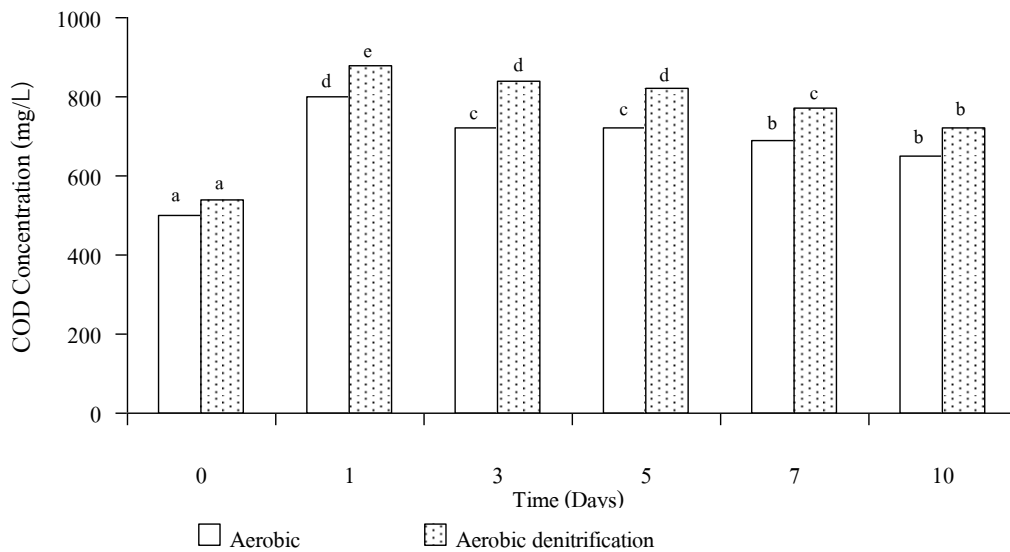
ภาพที่ 1 ปริมาณซีโอดีในการย่อยสลายสีเมทิลเรดด้วยตะกอนเร่งภายใต้สภาวะแอโรบิก

หมายเหตุ: ตัวอักษรที่เหมือนกันของชุดการทดลองเดียวกันที่วันต่างกัน แสดงว่าไม่มีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p < 0.05$)
ตัวเลขที่เหมือนกันของวันเดียวกันแต่ต่างชุดการทดลอง แสดงว่าไม่มีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p < 0.05$)



ภาพที่ 2 ปริมาณซีโอดีในการย่อยสลายสีเมทิลเรดด้วยตะกอนเร่งภายใต้สภาวะแอโรบิกดีไนทริฟิเคชัน

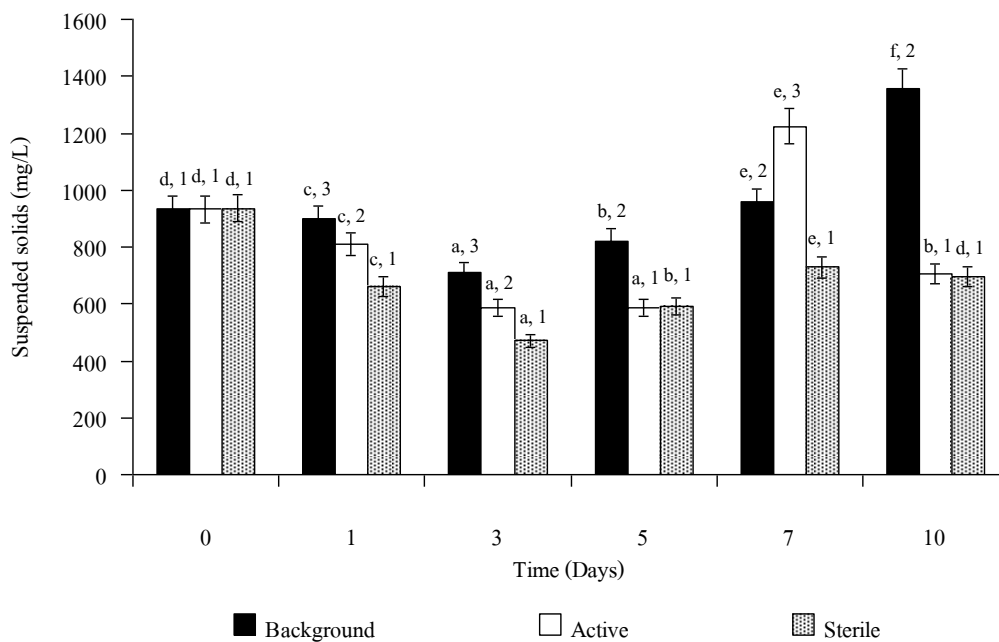
หมายเหตุ: ตัวอักษรที่เหมือนกันของชุดการทดลองเดียวกันที่วันต่างกัน แสดงว่าไม่มีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p < 0.05$)
ตัวเลขที่เหมือนกันของวันเดียวกันแต่ต่างชุดการทดลอง แสดงว่าไม่มีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p < 0.05$)



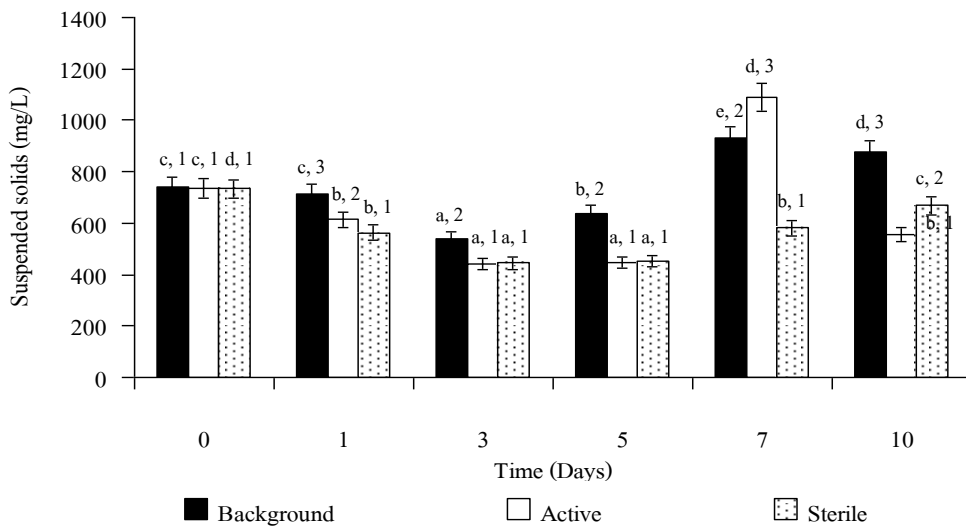
ภาพที่ 3 การเปรียบเทียบปริมาณซีโอดีในการย่อยสลายสีเมทิลเรดด้วยตะกอนเร่งภายใต้สภาวะแอโรบิกและสภาวะแอโรบิกดีไนทริฟิเคชัน
หมายเหตุ: ตัวอักษรที่เหมือนกันของชุดการทดลองเดียวกันที่วันต่างกัน แสดงว่าไม่มีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p < 0.05$)

ปริมาณของแข็งแขวนลอยในการย่อยสลายสีเมทิลเรดด้วยตะกอนเร่งภายใต้สภาวะแอโรบิกและแอโรบิกดีไนทริฟิเคชันพบว่าปริมาณของแข็งแขวนลอยในชุด Active ลดลงภายใน 3 วัน และมีค่าคงที่ในวันที่ 5 ของการทดลอง แต่ต่อมามีปริมาณ

ของแข็งแขวนลอยเพิ่มขึ้นในวันที่ 7 และลดลงในวันที่ 10 ของการทดลองอีกครั้ง แสดงในภาพที่ 4-6 ส่วนในชุด Sterile ปริมาณของแข็งแขวนลอยค่อยๆ ลดลงในวันที่ 3 และค่อยๆ เพิ่มขึ้นจนมีปริมาณใกล้เคียงกับวันที่ 1 ของการทดลองในวันที่ 10

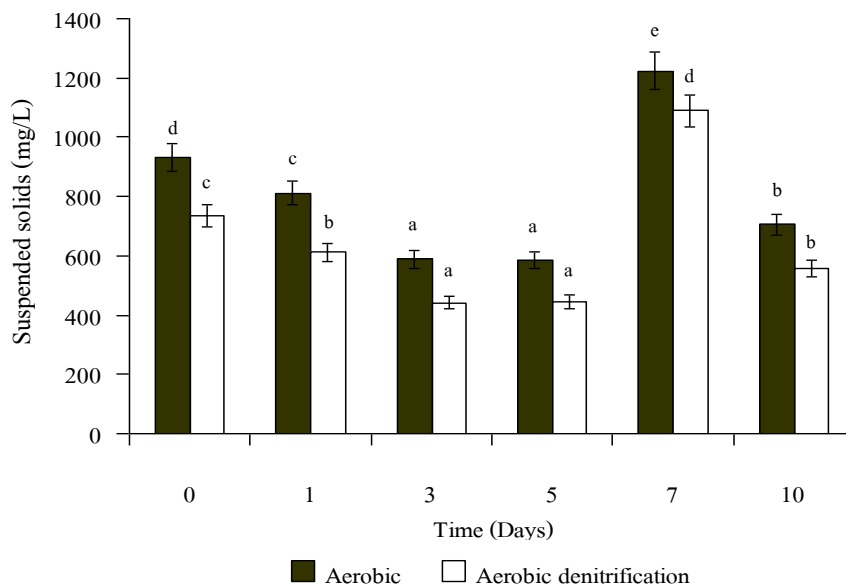


ภาพที่ 4 ปริมาณของแข็งแขวนลอยในการย่อยสลายสีเมทิลเรดด้วยตะกอนเร่งภายใต้สภาวะแอโรบิก
หมายเหตุ: ตัวอักษรที่เหมือนกันของชุดการทดลองเดียวกันที่วันต่างกัน แสดงว่าไม่มีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p < 0.05$)
 ตัวเลขที่เหมือนกันของวันเดียวกันแต่ต่างชุดการทดลอง แสดงว่าไม่มีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p < 0.05$)



ภาพที่ 5 ปริมาณของแข็งแขวนลอยในการย่อยสลายสีเมทิลเรดด้วยตะกอนเร่งภายใต้สภาวะแอโรบิกดีไนทริฟิเคชัน

หมายเหตุ: ตัวอักษรที่เหมือนกันของชุดการทดลองเดียวกันที่วันต่างกัน แสดงว่าไม่มีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p < 0.05$)
ตัวเลขที่เหมือนกันของวันเดียวกันแต่ต่างชุดการทดลอง แสดงว่าไม่มีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p < 0.05$)



ภาพที่ 6 การเปรียบเทียบปริมาณของแข็งแขวนลอยในการย่อยสลายสีเมทิลเรดด้วยตะกอนเร่ง ภายใต้สภาวะแอโรบิกและสภาวะแอโรบิกดีไนทริฟิเคชัน

หมายเหตุ: ตัวอักษรที่เหมือนกันของชุดการทดลองเดียวกันที่วันต่างกัน แสดงว่าไม่มีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p < 0.05$)

ของการทดลอง รวมทั้งในชุด Background มีการลดลงคล้ายกับชุด Active แต่ลดในปริมาณที่น้อยกว่าและคงเหลือสูงกว่าในวันที่ 10 ของการทดลอง

ปริมาณของแข็งละลายน้ำในการย่อยสลายสีเมทิลเรดด้วยตะกอนเร่งภายใต้ทั้ง 2 สภาวะในชุด Background ค่อนข้างคงที่

รวมทั้งปริมาณของแข็งละลายน้ำในชุด Active และ Sterile ที่เปลี่ยนแปลงใกล้เคียงกันโดยมีการลดลงในวันที่ 1-3 และค่อยๆ เพิ่มขึ้นในวันที่ 5-7 และค่อยๆ ลดลงอีกครั้งในวันที่ 10 โดยค่าของแข็งละลายน้ำในตะกอนเร่งภายใต้สภาวะแอโรบิกสูงกว่าตะกอนเร่งภายใต้สภาวะแอโรบิกดีไนทริฟิเคชัน (ไม่ได้แสดงผล)

การเปลี่ยนแปลงปริมาณไนเตรตในการย่อยสลายสีเมทิลเรดด้วยตะกอนเร่งภายใต้สภาวะแอโรบิกดีไนทริฟิเคชันในขวด Active และ Sterile ไปในทิศทางเดียวกันคือไม่มีการลดลงตลอดการทดลอง ส่วนปริมาณไนเตรตที่สะสมในขวด Background จะมีการลดลงเล็กน้อย (ไม่ได้แสดงผล)

ปริมาณไนเตรตในการย่อยสลายสีเมทิลเรดด้วยตะกอนเร่งภายใต้สภาวะแอโรบิกดีไนทริฟิเคชันในขวด Active จะเพิ่มขึ้นในวันที่ 7 และลดลงในวันสุดท้ายของการทดลอง ส่วนในขวด Sterile มีการเปลี่ยนแปลงคล้ายกับขวด Active เพียงแต่มีปริมาณที่สูงกว่าขวด Active ตั้งแต่วันที่ 7 จนถึงวันสุดท้ายของการทดลอง ส่วนปริมาณไนเตรตในขวด Background จะมีค่าคงที่ตลอดการทดลอง (ไม่ได้แสดงผล)

วิจารณ์ผล

การศึกษาในครั้งนี้ได้ทำการปรับสภาพตะกอนเร่งเพื่อให้เหมาะสมต่อสภาวะ 2 สภาวะ คือสภาวะแอโรบิกและแอโรบิกดีไนทริฟิเคชันพบว่าหลังจากที่มีการปรับตัว (Acclimate) แล้วจะมีลักษณะที่เปลี่ยนแปลงไปของตะกอนเร่งที่ผ่านการปรับสภาพภายใต้ทั้งสภาวะแอโรบิกและแอโรบิกดีไนทริฟิเคชัน คือ พบว่าพีเอชของตะกอนเร่งทั้ง 2 สภาวะมีค่าพีเอชลดลงเล็กน้อยและมีค่าพีเอชไม่แตกต่างกันมากนัก (ช่วง 6.72-6.73) สารเบนโซเอทที่เติมไปในขณะการปรับสภาพเนื่องจากโซเดียมเบนโซเอทมีโครงสร้างเป็นวงแหวนอะโรมาติก ซึ่งคล้ายกับโครงสร้างของสีเมทิลเรดและเพื่อกระตุ้นการทำงานของจุลินทรีย์ย่อยสลายสีเมทิลเรดได้รวดเร็วขึ้น (Limbergen *et al.*, 1998)

นอกจากนั้นยังพบว่าตะกอนเร่งทั้ง 2 สภาวะมีปริมาณสารแขวนลอยหนักที่ใกล้เคียงกันคืออยู่ในช่วง 56.98-65.58 มิลลิกรัมต่อกรัม ซึ่งเป็นช่วงที่ตะกอนเร่งยังมีประสิทธิภาพที่เหมาะสมในการทำงานต่อไป ส่วนปริมาณสารแขวนลอยที่เป็นสารอินทรีย์ แร่ธาตุและจุลินทรีย์นั้นพบว่าตะกอนเร่งภายใต้สภาวะแอโรบิกและแอโรบิกดีไนทริฟิเคชันมีปริมาณสารดังกล่าวอยู่ในเกณฑ์มาตรฐานของระบบตะกอนเร่งโดยทั่วไปคืออยู่ในช่วง 2,986-3,757.03 มิลลิกรัมต่อลิตร (สุบัญญัติ นิมรัตน์, 2548)

จากผลการทดลองการดูดซับของสีเมทิลเรดที่ความเข้มข้น 0.1 มิลลิโมลาร์ พบว่า ถ่านกัมมันต์มีความสามารถในการกำจัดสีได้ดี คือ เปลี่ยนจากสีแดงเข้มและคงเหลือเป็นสีแดงที่จางในระดับ 8 และสามารถลดค่าซีไอดีจาก 2,155±5 มิลลิกรัมต่อลิตร เป็น 1,095±45 มิลลิกรัมต่อลิตร ดังนั้นสรุปได้ว่าถ่านกัมมันต์มีประสิทธิภาพในการดูดซับสีเมทิลเรดได้ดีมีประสิทธิภาพซึ่งสอดคล้องกับรายงานของ Lee *et al.* (2006) ซึ่งได้ทำการศึกษา

ถึงความสามารถในการดูดซับของสีกลุ่มอะโซ (Orange 16 และ Black 5) พบว่าถ่านกัมมันต์มีความสามารถในการดูดซับสี Orange 16 และ Black 5 ได้ รวมทั้งยังสอดคล้องกับรายงานของ สุตสายชล หอมทอง และสุบัญญัติ นิมรัตน์ (2551) ที่พบว่าถ่านกัมมันต์สามารถกำจัดสีอะมิโนแบคทีเรียให้จางลงจากสีดำ (0) เป็นระดับ 10 ส่วนค่าซีไอดีพบว่าถ่านกัมมันต์สามารถลดค่าซีไอดีของสีอะมิโนแบคทีเรียได้ร้อยละ 99.68±21.12 คือเหลือเพียง 10.5±3.2 มิลลิกรัมต่อลิตร จาก 3,266.67±25.2 มิลลิกรัมต่อลิตร

หลังจากนั้นได้นำสารที่กรองได้จากถ่านกัมมันต์มาศึกษาการย่อยสลายสีเมทิลเรดต่อเนื่องด้วยตะกอนเร่งภายใต้สภาวะแอโรบิกและแอโรบิกดีไนทริฟิเคชัน เนื่องจากสีเมทิลเรดที่ผ่านกระบวนการดูดซับด้วยถ่านกัมมันต์ลดความเข้มข้นของสีได้อย่างมีประสิทธิภาพแต่ลดค่าซีไอดีเพียงบางส่วน โดยลดค่าซีไอดีจาก 2,155±5 มิลลิกรัมต่อลิตร เหลือ 1,095±45 มิลลิกรัมต่อลิตร ซึ่งยังเป็นค่าซีไอดีที่ยังสูงกว่าเกณฑ์มาตรฐานที่กำหนดของโรงงานอุตสาหกรรมและนิคมอุตสาหกรรมก่อนปล่อยสู่สิ่งแวดล้อมมากตามประกาศกระทรวงวิทยาศาสตร์ เทคโนโลยีและสิ่งแวดล้อมฉบับที่ 3 พ.ศ. 2539 (กระทรวงวิทยาศาสตร์ เทคโนโลยีและสิ่งแวดล้อม, 2539) ดังนั้นจึงสามารถสรุปได้ว่าสารที่หลงเหลือของสีเมทิลเรดในน้ำกรองที่ผ่านการดูดซับของถ่านกัมมันต์นั้นเป็นสารอินทรีย์ที่ไม่มีสีสะสมอยู่ในปริมาณสูง ในขั้นตอนต่อมาพบว่าเมื่อทำมาทำการย่อยสลายสารที่หลงเหลือในน้ำกรองด้วยตะกอนเร่งภายใต้ 2 สภาวะคือ สภาวะแอโรบิกและสภาวะแอโรบิกดีไนทริฟิเคชันพบว่าตะกอนเร่งทั้ง 2 สภาวะไม่สามารถย่อยสารดังกล่าวโดยพบว่ามีค่าซีไอดีในปริมาณที่ไม่ลดลงจากเดิมจากการศึกษาในครั้งนี้สรุปได้ว่าที่ความเข้มข้นของสีเมทิลเรดในการศึกษาครั้งนี้ไม่สามารถบำบัดด้วยกระบวนการดูดซับด้วยสารกัมมันต์หรือการดูดซับด้วยสารกัมมันต์ต่อเนื่องด้วยตะกอนเร่งทั้ง 2 สภาวะ

ดังนั้นเพื่อให้การบำบัดสีเมทิลเรดด้วยกระบวนการดังกล่าวอาจจะต้องทำการปรับเปลี่ยนและทดลองปัจจัยในการย่อยสลาย เช่น การเปลี่ยนแปลงพีเอช ดังรายงานของ Nozaki *et al.* (2008) ที่พบว่าการย่อยสลายสีจำนวน 27 ชนิดได้ดีภายใต้สภาวะพีเอชในช่วง 3.0-5.0 ซึ่งในการศึกษานี้ได้ทำการศึกษาเพียงสภาวะที่มีพีเอชเท่ากับ 5.49-6.73 เท่านั้น หรืออาจจะต้องทำการลดปริมาณสารกรองในขั้นตอนการย่อยสลายเนื่องจากอาจจะมีสารอินทรีย์ที่ย่อยสลายยากในปริมาณที่สูงจนเกินกว่าความสามารถของจุลินทรีย์ในตะกอนเร่งดังกล่าวในการย่อยสลายได้ดังรายงานของ Gopinath *et al.* (2009)

ที่พบว่าที่ระดับความเข้มข้น 1,500 มิลลิกรัมต่อลิตรของสีคองโกเรดจะทำให้การย่อยสลายของสีคองโกเรดด้วยแบคทีเรียกลุ่ม *Bacillus* sp. หยุดชะงักได้

สรุปผลการวิจัย

การกำจัดสีเมทิลเรดความเข้มข้น 0.1 มิลลิโมลาร์ โดยวิธีการดูดซับด้วยตัวกลางคือ ถ่านกัมมันต์ พบว่าถ่านกัมมันต์มีความสามารถในการกำจัดสีเมทิลเรดได้บางส่วนโดยลดความเข้มข้นของสีจากสีเข้มสุด (ระดับ 0) จนได้สีเข้มเพียงระดับ 8 และสามารถลดค่าซีไอได้ร้อยละ 49.19 และจากนั้นได้นำสีเมทิลเรดที่ผ่านการดูดซับด้วยถ่านกัมมันต์มาทำการบำบัดด้วยตะกอนเร่งภายใต้สภาวะแอโรบิกและสภาวะแอโรบิกดีในทรีฟิเคชันภายในระยะเวลา 10 วัน พบว่าทั้ง 2 สภาวะไม่มีประสิทธิภาพในการกำจัดสีเมทิลเรดที่เหลือจากการดูดซับได้ แต่พบว่าค่าซีไอมีค่าสูงขึ้นมากกว่าเดิม (จากค่าระหว่าง 500-540 เพิ่มเป็นค่าซีไอดีระหว่าง 650-720 มิลลิกรัมต่อลิตร) ภายในระยะเวลา 10 วัน รวมทั้งลดค่าของแข็งแขวนลอยได้เพียงเล็กน้อย โดยในวันแรกและวันสุดท้ายของการทดลองมีปริมาณของแข็งแขวนลอยมีค่าใกล้เคียงกันแต่มีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p < 0.05$) และทั้งสองสภาวะนี้สามารถลดปริมาณของแข็งละลายน้ำได้ แต่ยังมีปริมาณของแข็งละลายน้ำที่เหลือในวันสุดท้ายสูงกว่า 200 มิลลิกรัมต่อลิตร

ดังนั้นสรุปได้ว่าการบำบัดสีเมทิลเรดความเข้มข้น 0.1 มิลลิโมลาร์ ที่มีประสิทธิภาพคือ การกำจัดด้วยการดูดซับด้วยถ่านกัมมันต์ ส่วนการย่อยสลายด้วยระบบตะกอนเร่งภายใต้สภาวะแอโรบิก และแอโรบิกดีในทรีฟิเคชันไม่สามารถกำจัดสีเมทิลเรดที่ผ่านการดูดซับด้วยถ่านกัมมันต์ที่มีค่าซีไอสูงได้ ดังนั้นอาจจะต้องมีการศึกษาถึงสภาวะที่เหมาะสม หรืออาจปรับเปลี่ยนวิธีการในการย่อยสลายสีเมทิลเรดที่เหมาะสมต่อไป

เอกสารอ้างอิง

ธงชัย พรรณสวัสดิ์ และอุษา วิเศษสุนน. (2535). *คู่มือวิเคราะห์น้ำเสีย*. กรุงเทพฯ: สมาคมวิศวกรสิ่งแวดล้อมและ World environment center.

นฤมล ศิริทรงธรรม. (2539). เทคโนโลยีในการบำบัดน้ำเสียในโรงงานอุตสาหกรรมฟอกย้อมสิ่งทอ. *วารสารคัลเลอร์เวย์*, 2(10), 45-53.

ประกาศกระทรวงวิทยาศาสตร์ เทคโนโลยีและสิ่งแวดล้อม ฉบับที่ 3 (พ.ศ. 2539) ลงวันที่ 3 มกราคม 2539 เรื่องกำหนดมาตรฐานควบคุมการระบายน้ำทิ้งจากแหล่งกำเนิดประเภทโรงงานอุตสาหกรรมและนิคมอุตสาหกรรม ตีพิมพ์ในราชกิจจานุเบกษา เล่มที่ 113 ตอนที่ 13 ลงวันที่ 13 กุมภาพันธ์ 2539

สุดสายชล หอมทอง และสุภัณฑิต นิมรัตน์. (2551). การพัฒนาระบบบำบัดสีกลุ่มอะโซด้วยวิธีผสมผสาน. *วารสารมหาวิทยาลัยราชภัฏสุราษฎร์ธานี*, 1(1), 101-112.

สุภัณฑิต นิมรัตน์. (2548). *จุลชีววิทยาของน้ำเสีย*. กรุงเทพฯ: สำนักพิมพ์จุฬาลงกรณ์.

APHA, AWWA & WPCF (1995). *Standard methods for the examination of water and wastewater*, 19th Edition. APHA, Inc., New York.

Brown, D. & Laboureur, P. (1983). The degradation of dyestuffs: Part I – primary biodegradation under anaerobic conditions. *Chemosphere*, 12(3), 397-404.

Chen, B-Y. (2002). Understanding decolorization characteristics of reactive azo dyes by *Pseudomonas luteola*: toxicity and kinetics. *Process Biochemistry*, 38, 437-446.

Chescerl L.S., Greenberg A.E. & Eaton A.D. (1998). *Standard methods for the examination of water and wastewater*, 20th Edition. APHA, Washington, D.C.

Gopinath, K.P., Sahib, H.A.M., Muthukumar, K., & Velan, M. (2009). Improved biodegradation of congo red by *Bacillus* sp. *Bioresource Technology*, 100, 670-675.

Henderson A.L., Schmitt T.C., Heinze T.M. & Cerniglia C.E. (1997) Reduction of malachite green to leucomalachite green by intestinal bacteria. *Applied and Environmental Microbiology*, 63, 99-101.

Lee, J-W., Choi, S-P., Thiruvengkatachari, R., Shim, W-G., & Moon, H. (2006). Evaluation of the performance of adsorption and coagulation processes for the maximum removal of reactive dyes. *Dyes and Pigments*, 69, 196-203.

Levine, W.G. (1991). Metabolism of azo dyes: implication for detoxification and activation. *Drug Metabolism Review*, 23, 253-309.

- Limbergen, H. V., Top, E. M., & Verstraete, W. (1998). Bioaugmentation in activated sludge current features and future perspectives. *Applied Microbiology and Biotechnology*, 50, 16-23.
- Nimrat, S., Sawangchit, P & Vuthiphandchai, V. (2004). Removal of malachite green employing physical and biological processes. *Science Asia*, 30, 351-357.
- Nozaki, K., Beh, C.H., Mizuno, M., Isobe, T., Shiroishi, M., Kanda, T., & Amano, H. (2008). Screening and investigation of dye decolorization activities of basidiomycetes. *Journal of Bioscience and Bioengineering*, 105, 69-72
- O'Neill, C., Hawkes, F.R., Hawkes, D.L., Lourenco, N.D., Pinheiro, H.M. & Delee, W. (1999). Color in textile effluents sources, measurement, discharge consents and simulation: a review. *Journal of Chemical Technology and Biotechnology*, 74, 1009-1018.
- Pagga, U. & Brown, D. (1986). The degradation of dyestuffs. Part II. Behaviour of dyestuffs in aerobic biodegradation test. *Chemosphere*, 15, 479-491.
- Rajaguru, P., K. Kalaiselvi, M. Palanivel & Subburam V. (2000). Biodegradation of azo dyes in a sequential anaerobic-aerobic system. *Applied Microbiology and Biotechnology*, 54, 268-273.
- Razo-Flores, E., Lujiten, M., Donlon, B., Lettinga, G. & Field, J. (1997). Biodegradation of selected azo dyes under methanogenic conditions. *Water Science and Technology*, 36, 65-72.
- Reife, A. & Freeman, H.S. (1996). *Environmental chemistry of dyes and pigment*. John Wiley & Sons, New York.
- Sarasa, J., Roche, M.P., Ormad, M.P., Gimeno, E., Puig, A. & Ovelleiro, J.L. (1998). Treatment of a wastewater resulting from dyes manufacturing with ozone and chemical coagulation. *Water Research*, 32 (9), 2721-2727.
- Shaul, G.M., Holdsworth, T.J., Dempsey, C.R. & Dostal, K.A. (1991). Fate of water soluble azo dyes in the activated sludge process. *Chemosphere*, 22, 107-119.
- Stolz, A. (1999). Degradation of substituted naphthalenesulfonic acids by *Sphingomonas xenophaga* BN6. *Journal of Industrial Microbiology and Biotechnology*, 23, 391-399.
- Umbuzeiro, G.A., Freeman, H., Warren, S.H., Oliveira, D.P., Terao, Y., Watanabe, T. & Claxton, L.D. (2005). The contribution of azo dyes to the mutagenic activity of the Cristais River. *Chemosphere*, 60, 55-64.
- Vandevivere, P.C., Binachi, R. & Verstrate, W. (1998). Treatment of wastewater from textile wet processing industry: review of emerging technologies. *Journal of Chemical Technology and Biotechnology*, 72, 289-302.
- Zoolinger, H. (1987). *Color chemistry-syntheses, properties and applications of organic dyes and pigments*. VCH, New York.

ผลของเคอร์คูมินอยด์จากขมิ้นชันต่อการเปลี่ยนแปลงรูปร่างและจำนวนของเฮลิโคแบคเตอร์ไพโลไร
Effect of Curcuminoids from *Curcuma longa* Linn. on Cellular Morphology and Viability of
Helicobacter pylori

แสงอุษา ประดิษฐ์ศิลป์ และ พรรณีภา ศิริเพิ่มพูล*

ภาควิชาจุลชีววิทยา คณะวิทยาศาสตร์ มหาวิทยาลัยบูรพา

Sangousa Praditsin and Punnipa Siripermpool*

Department of Microbiology, Faculty of Science, Burapha University

บทคัดย่อ

การศึกษานี้มีวัตถุประสงค์เพื่อศึกษาผลของเคอร์คูมินอยด์จากขมิ้นชันต่อการเปลี่ยนแปลงรูปร่างและจำนวนของเฮลิโคแบคเตอร์ไพโลไร (*Helicobacter pylori*) โดยการทดสอบประสิทธิภาพของเคอร์คูมินอยด์ในการยับยั้งเชื้อเฮลิโคแบคเตอร์ไพโลไร จำนวน 5 ไอโซเลท ด้วยวิธี agar dilution พบว่าเคอร์คูมินอยด์สามารถยับยั้งการเจริญของ เฮลิโคแบคเตอร์ไพโลไรทั้ง 5 ไอโซเลทได้ โดยมีค่าความเข้มข้นต่ำสุดที่สามารถยับยั้งการเจริญได้เท่ากันคือเท่ากับ 50 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร เมื่อสุ่มศึกษาผลของเคอร์คูมินอยด์ต่อการเปลี่ยนแปลงลักษณะและจำนวนของเฮลิโคแบคเตอร์ไพโลไร หมายเลข 2 พบว่าเคอร์คูมินอยด์ความเข้มข้น 50 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร และเคอร์คูมินอยด์ในระดับความเข้มข้นต่ำกว่าความเข้มข้นต่ำสุดที่สามารถยับยั้งเชื้อได้ (25 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตรและ 3.125 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร) สามารถทำให้เชื้อเปลี่ยนรูปร่างจากท่อนโค้งไปเป็นท่อนสั้น รูปกลม และสลายไปจนกระทั่งเพาะเชื้อไม่ได้ในที่สุดตามระยะเวลาที่ได้รับเคอร์คูมินอยด์ที่เพิ่มขึ้น

คำสำคัญ : *H. pylori* เคอร์คูมินอยด์ ขมิ้นชัน

*Corresponding author. E-mail: punnipa@buu.ac.th

To investigate the effect of curcuminoids from *Curcuma longa* Linn. on the viability and morphology of *Helicobacter pylori*, antimicrobial activity of curcuminoids was determined by standard agar dilution method against 5 clinical isolates of *H. pylori*. Our results indicated that the curcuminoids could inhibit growth of all isolates of *H. pylori* with a minimum inhibitory concentration (MIC) of 50 µg/ml. In addition, the effect of curcuminoids on the morphology of one clinical isolate was also determined. Our results showed that the curcuminoids at the MIC level and at sub-inhibitory concentrations (25 µg/ml and 3.125 µg/ml) could irreversible transverse cellular morphology of *H. pylori* No. 2 from spiral shape to short rod, coccoid and cell debris, respectively. Finally, *H. pylori* turn to nonculturable state. The conversion of *H. pylori* from spiral form to coccoid form and cell debris was progressively changed depend on increasing curcuminoids exposure time.

Keywords : *H. pylori*, curcuminoids, *Curcuma longa* Linn.

บทนำ

Helicobacter pylori เป็นแบคทีเรียแกรมลบรูปร่างเป็นท่อนโค้งงอ (curved rod) ขนาดประมาณ 2.5 ถึง 5.0 ไมโครเมตร และสามารถเปลี่ยนเป็นรูปกลม (cocoid) ได้เมื่ออยู่ในสภาพแวดล้อมที่ไม่เหมาะสมเช่น ในสภาวะที่มีปริมาณออกซิเจนต่ำบรรยากาศปกติ และสภาวะที่ขาดแคลนสารอาหาร ซึ่งเชื่อที่เปลี่ยนรูปร่างไปเป็นแบบกลมแล้วนี้ไม่สามารถเพาะเลี้ยงให้เจริญได้ (Berry *et al.*, 1995; Kusters *et al.*, 1997; Eaton *et al.*, 1995) *H. pylori* เป็นเชื้อที่ต้องการออกซิเจนปริมาณน้อยในการเจริญ จึงจัดเป็นกลุ่ม microaerophilic bacteria และเป็นเชื้อสาเหตุของโรคแผลในกระเพาะอาหารและลำไส้เล็ก รวมทั้งมะเร็งกระเพาะอาหาร (Forman *et al.*, 1991; Nomura *et al.*, 1991; Parsonnet *et al.*, 1991.) การรักษาซึ่งทำได้โดยการให้ยาปฏิชีวนะเช่น clarithromycin, amoxicillin หรือ metronidazole ร่วมกับยาต้านการหลั่งกรดกลุ่ม H₂- blockers (เช่น ranitidine) และ bismuth salt เป็นระยะเวลา 2 สัปดาห์นั้น ยังคงมีปัญหาจากผลข้างเคียงของการใช้ยา เช่น อาการคลื่นไส้ อาเจียน คนไข้จึงมักหยุดยาเองทำให้อาการโรคกำเริบขึ้นมาใหม่ นอกจากนี้ยังมีปัญหาจากเชื้อดื้อยาปฏิชีวนะทั้งสามกลุ่มดังกล่าวข้างต้น (Boyanova, *et al.*, 2002., Mollison, *et al.*, 2000., Rimbara, *et al.*, 2005) ดังนั้นการเลือกใช้ยาใหม่ที่มีผลข้างเคียงน้อยหรือการแสวงหาแนวทางใหม่ในการกำจัดเชื้อ *H. pylori* จึงเป็นสิ่งจำเป็นและเป็นประโยชน์ในการรักษาโรค

ขมิ้นชัน (*Curcuma longa* Linn.) เป็นพืชสมุนไพรชนิดหนึ่งของไทยที่มีสรรพคุณด้านการอักเสบ ช่วยสมานแผลในกระเพาะอาหาร (สำนักงานคณะกรรมการการสาธารณสุขมูลฐาน, 2542) ซึ่งเป็นอาการที่พบได้จากการติดเชื้อ *H. pylori* นอกจากนี้ขมิ้นชันยังมีฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระและต้านมะเร็งอีกด้วย ฤทธิ์ทางชีวภาพดังกล่าวนี้เกิดจากสาร curcuminoids (คณะกรรมการแห่งชาติด้านยา, 2549) ซึ่งเป็นสารในกลุ่ม phenolic compound มีสีเหลืองส้ม พบเป็นส่วนประกอบอยู่ในขมิ้นชันประมาณ 3-6% curcuminoids ประกอบด้วยสารหลักที่สำคัญ 3 ชนิดคือ curcumin เป็นสารที่ทำให้มีสีเหลืองส้ม ไม่ละลายน้ำ แต่ละลายได้ดีใน dimethyl sulfoxide (DMSO) อะซิโตนและเอทานอล พบได้ในปริมาณมากที่สุดคือ 70-75% รองลงมาได้แก่ demethoxycurcumin พบได้ 15-20% และ bisdemethoxycurcumin พบได้ 3% (Bhavani & Sreenivasa, 1979) ดังนั้นหาก curcuminoids สามารถยับยั้งการเจริญของเชื้อหรือสามารถเปลี่ยนแปลงรูปร่างของเชื้อไปเป็นแบบที่ไม่สามารถเพาะเลี้ยงได้ก็อาจจะเป็นแนวทางใหม่

ในการเลือกใช้สารนี้เพื่อการจัดการติดเชื้อ *H. pylori* ในการวิจัยครั้งนี้จึงได้ศึกษาถึงผลของ curcuminoids ในการยับยั้งการเจริญ และการเปลี่ยนแปลงรูปร่างของ *H. pylori*

วัสดุอุปกรณ์และวิธีการวิจัย

1. สารที่ใช้ในการทดสอบ ได้แก่ Curcuminoids (องค์การเภสัชกรรม กรุงเทพมหานคร)

2. ยาต้านจุลชีพ ได้แก่ Gentamicin (Liwinner Pharmaceutical Ltd., ประเทศไทย)

3. แบคทีเรียที่ใช้ในการทดสอบ ได้แก่ 3.1) *Helicobacter pylori* จำนวน 5 isolates ซึ่งแยกได้จาก gastric biopsy ของผู้ป่วยที่มีแผลในกระเพาะอาหาร และเข้ารับการรักษา ณ โรงพยาบาลสมเด็จพระบรมราชเทวี ณ ศรีราชา จังหวัดชลบุรี เชื้อทั้งหมดนี้คัดแยกและพิสูจน์ชนิดตามคุณสมบัติชีวเคมีและการติดสีแกรม (Gram negative bacilli เซลล์มีขนาดเล็กโค้งงอ) เจริญได้เฉพาะในสภาวะ microaerobic ไม่เจริญในสภาวะ aerobic ให้ผลบวกต่อการทดสอบ catalase, oxidase และ urease test ไวต่อยา cephalothin ขนาด 30 ไมโครกรัม/disc ต่อดื้อยา nalidixic acid ขนาด 30 ไมโครกรัม/disc และ 3.2) *Staphylococcus aureus* ATCC 29213 เป็นเชื้อควบคุมการทดสอบความไวต่อยา

4. การหาค่าความเข้มข้นต่ำสุดของ curcuminoids ในการยับยั้งการเจริญของ *H. pylori* (Minimum inhibitory concentration; MIC) โดยวิธี agar dilution (Piccolomini *et al.*, 1997) ทำการทดสอบโดยเจือจางสารละลาย curcuminoids (ความเข้มข้น 1,000 ไมโครกรัม/มิลลิลิตร ในตัวทำละลาย 50% เอทานอล) ในอาหาร Mueller-Hinton agar + 5% human blood ในอัตราส่วน 1 : 19 (สารละลาย curcuminoids : อาหารเลี้ยงเชื้อ) ให้ความเข้มข้นสุดท้ายของ curcuminoids เท่ากับ 50, 25 และ 12.5 ไมโครกรัม/มิลลิลิตร เตรียมจาน positive control (Mueller-Hinton agar ซึ่งไม่เติม curcuminoids) และจาน diluent control (Mueller-Hinton agar + 50% เอทานอล แทนสารละลาย curcuminoids) จากนั้น spot เชื้อทดสอบ ปริมาตร 10 ไมโครลิตร ลงบนจานอาหารปริมาณเชื้อสุดท้าย ประมาณ $1-5 \times 10^5$ CFU/spot (ทำการทดสอบ 3 ซ้ำ) นำจานอาหารทั้งหมดไปบ่มที่อุณหภูมิ 37 องศาเซลเซียส ในสภาวะ microaerobic โดยใช้ microaerophilic gas pack (Mitsubishi®) นาน 3 วัน อ่านผลความเข้มข้นต่ำสุดของ curcuminoids ที่สามารถยับยั้งการเจริญของเชื้อได้ และทดสอบเชื้อควบคุมระบบการทดสอบหาค่า MIC โดยการ spot เชื้อ *S. aureus* ATCC 29213

ปริมาณเชื้อประมาณ 10^4 CFU/spot ลงบนอาหาร Mueller – Hinton agar ที่ผสมยา gentamicin ความเข้มข้นสุดท้าย 1.0, 0.5, 0.25 และ 0.125 ไมโครกรัม/มิลลิลิตร บ่มที่อุณหภูมิ 37 องศาเซลเซียส บรรยากาศปกติเป็นเวลา 18-24 ชั่วโมง อ่านผลความเข้มข้นต่ำสุดของยาที่สามารถยับยั้งการเจริญของเชื้อได้ (ทำการทดสอบ 3 ซ้ำ)

5. การศึกษาลักษณะรูปร่างเซลล์และจำนวนเชื้อ *H. pylori* เมื่อได้รับ curcuminoids ความเข้มข้นต่างๆ

จากการสุ่มเลือกเชื้อ *H. pylori* หมายเลข 2 (ปริมาณเชื้อสุดท้ายประมาณ 10^9 CFU/มิลลิลิตร) นำมาบ่มในอาหาร Mueller – Hinton broth + 10% fetal bovine serum (GIBCO®) ที่ผสมสารละลาย curcuminoids ความเข้มข้นสุดท้ายเท่ากับ 50, 25 และ 3.125 และ 0 ไมโครกรัม/มิลลิลิตร ที่อุณหภูมิ 37 องศาเซลเซียส สภาวะ microaerobic เมื่อครบเวลา 0, 2, 6, 24 และ 48 ชั่วโมง สุ่มตัวอย่างจากแต่ละชุดการทดลองมา 10 ไมโครลิตร ย้อมสีแกรมแบบดัดแปลง (โดยใช้ 0.3% carbol fuchsin แทน Safranin O) ตรวจสอบรูปร่าง ลักษณะเซลล์ จำนวน 100 เซลล์ และสุ่มตัวอย่างปริมาตร 10 ไมโครลิตร ในแต่ละช่วงเวลาเพาะเชื้อเพื่อนับจำนวนโคโลนีโดยวิธีการ drop plate ลงบน blood agar (เปลี่ยน microaerophilic gaspak ใหม่ทุกครั้งหลังจากสุ่มตัวอย่างในแต่ละช่วงเวลา)

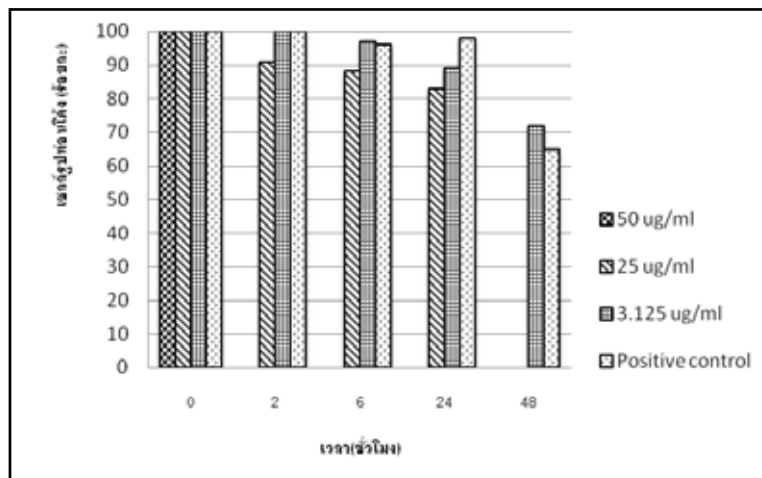
ผลการวิจัยและวิจารณ์ผล

1. ค่า Minimum Inhibitory Concentration (MIC) ของ curcuminoids ด้วยวิธี agar dilution

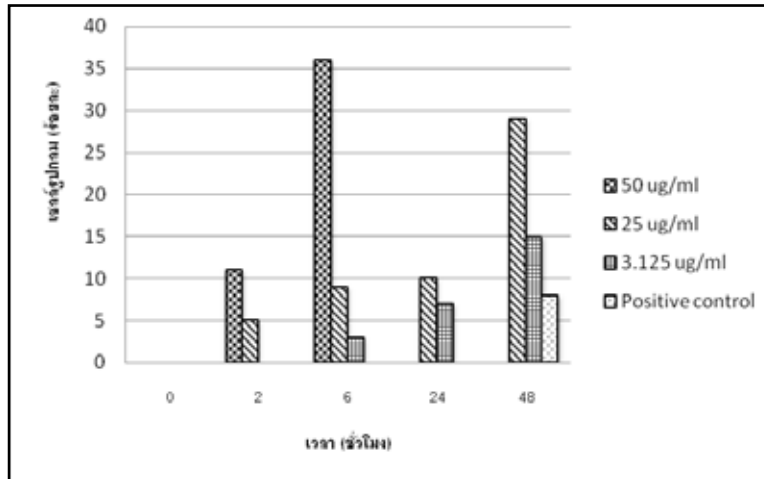
จากการหาค่า MIC ของ curcuminoids ด้วยวิธี agar dilution โดยใช้เอทานอลความเข้มข้นร้อยละ 50 เป็นตัวทำละลายพบว่าค่า MIC ของ curcuminoids ต่อ *H. pylori* ทั้ง 5 isolates มีค่าเท่ากันคือเท่ากับ 50 ไมโครกรัม/มิลลิลิตร ทั้งสามซ้ำของการทดลอง และเอทานอลในระดับความเข้มข้นเดียวกับที่ใช้เป็นตัวทำละลายไม่มีฤทธิ์ยับยั้ง การเจริญของ *H. pylori* ทั้ง 5 isolates ทั้งนี้ค่า MIC ของยา gentamicin ต่อเชื้อ *S. aureus* ATCC 29213 ในการทดสอบด้วยวิธี agar dilution มีค่าอยู่ในช่วง 0.25-0.5 ไมโครกรัม/มิลลิลิตร ตรงตามเกณฑ์มาตรฐานที่กำหนดโดย NCCLS, 1992

2. ลักษณะรูปร่างเซลล์และจำนวนเชื้อ *H. pylori* เมื่อได้รับ curcuminoids ความเข้มข้นต่างๆ

เมื่อเพาะเลี้ยงเชื้อที่เซลล์ตั้งต้นสมบูรณ์เต็มที่ในอาหารเหลวที่ผสม curcuminoids ความเข้มข้นสุดท้าย 50 25 และ 3.125 ไมโครกรัม/มิลลิลิตร (1x MIC 1/2x MIC และ 1/16x MIC) พบว่าเชื้อมีแนวโน้มในการเปลี่ยนรูปร่างจากท่อนโค้งไปเป็นท่อนสั้น รูปกลม และสลายไปในที่สุดตามระยะเวลาที่เพิ่มขึ้นหลังได้รับ curcuminoids โดยเมื่อให้ curcuminoids ความเข้มข้น 50 ไมโครกรัม/มิลลิลิตร (1xMIC) เชื้อมีการเปลี่ยนรูปร่างจากท่อนโค้งไปเป็นรูปท่อนสั้น รูปกลม และซากเซลล์อย่างรวดเร็ว กล่าวคือภายในเวลา 2 ชั่วโมงไม่พบเซลล์รูปท่อนโค้งเหลืออยู่อีกเลย (ภาพที่1) ในขณะที่ให้ curcuminoids ในระดับต่ำกว่าความเข้มข้นน้อยสุดที่สามารถยับยั้งเชื้อได้คือ 25 ไมโครกรัม/มิลลิลิตร และ 3.125 ไมโครกรัม/มิลลิลิตร (1/2x MIC และ 1/16x MIC) เชื้อจะเปลี่ยนรูปร่างจากท่อนโค้งไปเป็นรูปท่อนสั้น รูปกลม



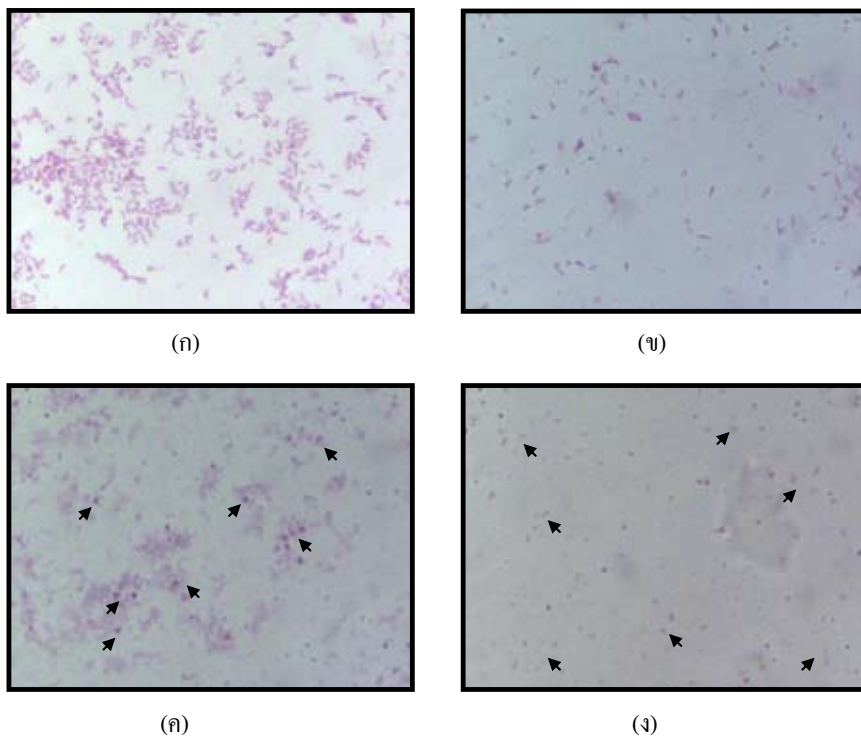
ภาพที่ 1 ร้อยละของเซลล์รูปท่อนโค้งของ *H. pylori* ที่เหลือหลังได้รับ curcuminoids ความเข้มข้นต่างๆ



ภาพที่ 2 ร้อยละของเซลล์รูปกลมของ *H. pylori* ที่ปรากฏหลังได้รับ curcuminoids ความเข้มข้นต่างๆ

และซากเซลล์แบบค่อยเป็นค่อยไปตามระยะเวลาที่เพิ่มขึ้น หลังได้รับ curcuminoids โดยภายใน 24 ชั่วโมงยังคงพบมีเซลล์รูปท่อนโค้งอยู่อีกกว่าร้อยละ 80 และพบเซลล์รูปกลมประมาณน้อยกว่าร้อยละ 10 (ภาพที่ 1 และภาพที่ 2) ลักษณะการเปลี่ยนแปลงรูปร่างของเซลล์เชื้อเมื่อได้รับ curcuminoids ในระดับความเข้มข้นที่ต่ำกว่าค่า MIC แสดงดังภาพที่ 3

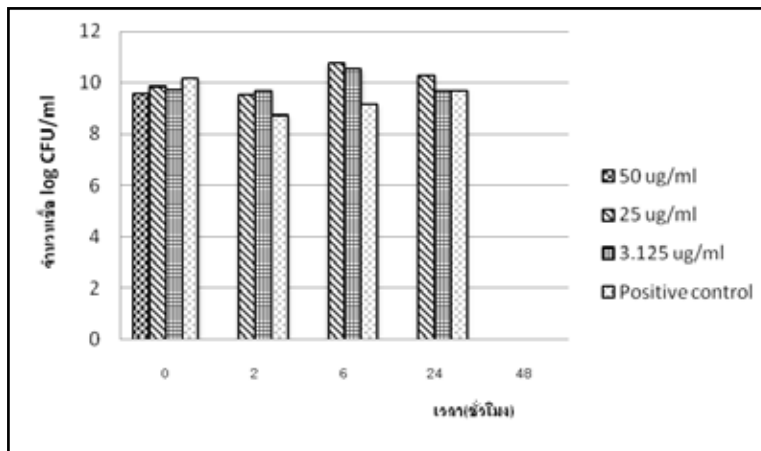
เมื่อเพาะเซลล์ตั้งต้นที่สมบูรณ์เต็มที่ในอาหารเหลวที่ไม่เติม curcuminoids พบว่าเชื้อมีการปรับตัวลดจำนวนลงประมาณ $2 \log_{10}$ CFU/มิลลิลิตร ในระยะเวลา 2 ชั่วโมงแรก แล้วจึงเพิ่มจำนวนขึ้นอย่างช้าๆ ในชั่วโมงที่ 6 และ 24 ของการเพาะเลี้ยง ซึ่งในระยะเวลาดังกล่าวนี้ยังคงมีเซลล์รูปท่อนโค้งอยู่อีกกว่าร้อยละ 90 มีเซลล์ส่วนน้อยเป็นรูปท่อนสั้น และเมื่อเวลาผ่านไป 48 ชั่วโมง



ภาพที่ 3 ลักษณะการเปลี่ยนแปลงรูปร่างของเซลล์เชื้อเมื่อได้รับ curcuminoids ในระดับความเข้มข้นที่ต่ำกว่าค่า MIC (ก. เซลล์เริ่มต้นรูปท่อนโค้ง; ข. เซลล์รูปท่อนสั้น; ค. เซลล์รูปกลม; ง. ซากเซลล์)

เชื้อเซลล์รูปร่างเป็นท่อนโค้งอยู่เพียงร้อยละ 65 ส่วนเซลล์ที่เหลือได้เปลี่ยนแปลงกลายเป็นรูปท่อนสั้น รูปกลม และซากเซลล์ส่งผลให้ไม่สามารถเพาะเลี้ยงเชื้อให้เจริญได้ในชั่วโมงที่ 48 ในขณะที่เซลล์ซึ่งเพาะเลี้ยงไว้ในอาหารเหลวที่เติม curcuminoids 50 ไมโครกรัม/มิลลิลิตร ได้เปลี่ยนรูปร่างไปเป็นท่อนสั้นและรูปกลม

จนหมด ไม่สามารถเพาะเลี้ยงได้อีกตั้งแต่ชั่วโมงที่ 2 หลังสัมผัสสาร แต่เมื่อลดความเข้มข้นของ curcuminoids เป็น 25 และ 3.125 ไมโครกรัม/มิลลิลิตร ยังคงสามารถเพาะเชื้อให้เจริญได้ตั้งแต่ชั่วโมงที่ 2 ถึงชั่วโมงที่ 24 ในแนวโน้มเดียวกับชุดควบคุมที่ไม่เติม curcuminoids (ภาพที่ 4)



ภาพที่ 4 จำนวนเชื้อ *H. pylori* หลังได้รับ curcuminoids ความเข้มข้นต่างๆ

วิจารณ์ผลการวิจัย

ในการศึกษาครั้งนี้พบว่า curcuminoids สามารถยับยั้งการเจริญของเชื้อ *H. pylori* ได้โดยมีค่า MIC เท่ากับ 50 ไมโครกรัม/มิลลิลิตร ใกล้เคียงกับผลการศึกษาของ Mahady *et al.* (2002) ที่ทดลองนำสารสกัดจากผงขมิ้นด้วยเอทานอลและสาร curcumin มาทดสอบประสิทธิภาพในการยับยั้งเชื้อ *H. pylori* พบว่าทั้งสารสกัดจากผงขมิ้นและสาร curcumin สามารถยับยั้งเชื้อ *H. pylori* ได้โดยมีค่า MIC อยู่ในช่วง 6.25 ถึง 50 ไมโครกรัม/มิลลิลิตร ซึ่งหากเปรียบเทียบค่าที่ได้จากการศึกษาครั้งนี้กับการศึกษาอื่นๆ เพื่อแสวงหาสารจากพืชสมุนไพรในธรรมชาติ เช่น หัวหอม กระเทียม เพื่อใช้รักษาการติดเชื้อ *H. pylori* พบว่าสารสกัดจากพืชดังกล่าวเหล่านี้มีค่าความเข้มข้นต่ำสุดที่สามารถยับยั้งการเจริญของเชื้อได้อยู่ในช่วง 0.064-12.5 มิลลิกรัม/มิลลิลิตร (Adeniyi *et al.* 2004., Li, *et al.*, 2005; O' Gara, *et al.*, 2000; Suk *et al.* 2010; Zaidi *et al.*, 2009) ซึ่งมากกว่าค่า MIC ของ curcuminoids ประมาณ 1.28-250 เท่า แสดงให้เห็นว่า curcuminoids อาจเป็นคู่แข่งชนิดใหม่ที่มีศักยภาพในการรักษาโรคติดเชื้อ *H. pylori*

ปัจจุบันมีการนำขมิ้นชันมาผลิตจำหน่ายในรูปแบบแคปซูล ใช้รับประทานเพื่อบรรเทาอาการท้องอืด ท้องเฟ้อ จุกเสียดแน่น เคลือบแผลในกระเพาะอาหาร แต่ละแคปซูลประกอบด้วย

curcuminoids 0.024 กรัม รับประทานวันละ 4 ครั้ง ครั้งละ 2 แคปซูล รวมปริมาณ curcuminoids 0.2 กรัมต่อวัน แต่เนื่องจาก curcuminoids เป็นสารที่ถูกดูดซึมได้ไม่ดีนักในระบบทางเดินอาหาร มีรายงานว่าตรวจพบระดับ curcumin ในกระแสเลือดคนเพียง 0.006 ± 0.005 ไมโครกรัม/มิลลิลิตร ภายในเวลา 1 ชั่วโมงหลังจากรับประทาน curcumin ปริมาณ 2 กรัม (Anand *et al.* 2007) ดังนั้นเพื่อผลสัมฤทธิ์ในการรักษาโรคจึงอาจต้องใช้ curcuminoids ร่วมกับยาปฏิชีวนะ ซึ่งขณะนี้ผู้วิจัยกำลังศึกษาการเสริมฤทธิ์ระหว่าง curcuminoids กับยาปฏิชีวนะบางชนิดในการยับยั้ง/ฆ่าเชื้อ *H. pylori* ในหลอดทดลอง

จากการศึกษาการเปลี่ยนแปลงรูปร่างและจำนวนของเชื้อเมื่อสัมผัสกับ curcuminoids โดยนำเซลล์เริ่มต้นที่สมบูรณ์เต็มที่ซึ่งทั้งหมดมีรูปร่างเป็นท่อนโค้ง ไปเลี้ยงในอาหารเหลวที่ผสม curcuminoids ความเข้มข้น 50 25 และ 3.125 ไมโครกรัม/มิลลิลิตร (1x MIC 1/2x MIC และ 1/16x MIC ตามลำดับ) ซึ่งพบว่าเซลล์ได้เปลี่ยนรูปร่างจากท่อนโค้งกลายเป็นรูปกลมและซากเซลล์ และไม่มี การเปลี่ยนแปลงรูปร่างกลับไปเป็นรูปเดิมได้อีกเลยแม้จะลดปริมาณ curcuminoids เหลือเพียง 1/16x MIC แล้วก็ตาม แสดงให้เห็นว่าการออกฤทธิ์ของ curcuminoids นั้นเป็นแบบ bactericidal และ dose-dependent คือความรุนแรงของการ

เปลี่ยนแปลงสัมพันธ์โดยตรงกับความเข้มข้นของสารซึ่งคล้ายกับการศึกษาของ Horii *et al.* (2002) ที่ได้ศึกษาผลของยาปฏิชีวนะในกลุ่ม β -lactamase inhibitors (clavulanate, sulbactam และ tazobactam) ต่อการเจริญและการเปลี่ยนแปลงรูปร่างของ *H. pylori* พบว่ายาในกลุ่มดังกล่าวนี้ทำให้เชื้อลดจำนวนลงโดยขึ้นกับความเข้มข้นของยา ทำให้เซลล์เปลี่ยนแปลงรูปร่างไปเป็น filament ล้วนๆ เป็น spheroplast และสลายไปในที่สุดเช่นกัน และคล้ายกับการศึกษาของ Sorberg *et al.* (1998) ที่ศึกษาการเปลี่ยนแปลงรูปร่างของ *H. pylori* และโอกาสเกิดการื้อยาภายหลังได้รับ amoxicillin, clarithromycin และ metronidazole แล้วพบว่าเมื่อให้ยา amoxicillin ความเข้มข้นสูง (0.25 ไมโครกรัม/มิลลิลิตร) จะทำให้เชื้อเปลี่ยนแปลงรูปร่างไปเป็น spheroplast ภายในเวลา 21 ชั่วโมง ส่วนยา clarithromycin และ metronidazole นั้นจะเหนี่ยวนำให้เชื้อเปลี่ยนแปลงรูปร่างไปเป็นแบบกลมได้ภายในเวลา 68 ชั่วโมง และ 21 ชั่วโมง (ตามลำดับ) และไม่พบการกลับมาเจริญได้ใหม่อีกของเชื้อที่เปลี่ยนเป็นแบบกลมแล้วเช่นเดียวกัน แต่จากการศึกษาในครั้งนี้พบว่า curcuminoids ในระดับ $1 \times \text{MIC}$ (50 ไมโครกรัม/มิลลิลิตร) ทำให้เซลล์รูปท่อนโค้งทั้งหมดเปลี่ยนไปเป็นรูปอื่นได้หมดภายในเวลา 2 ชั่วโมง แสดงให้เห็นว่า curcuminoids ออกฤทธิ์ได้เร็วกว่ายาปฏิชีวนะชนิดที่ใช้เป็นยารักษาการติดเชื้อชนิดนี้

สรุปผลการวิจัย

จากการศึกษาทั้งหมดนี้แสดงให้เห็นว่า 1) curcuminoids เป็นสารที่สามารถยับยั้งการเจริญของเชื้อ *H. pylori* ได้โดยมีค่า MIC เท่ากับ 50 ไมโครกรัม/มิลลิลิตร 2) curcuminoids ทำให้เซลล์ของ *H. pylori* เปลี่ยนแปลงรูปร่างจากท่อนโค้งไปเป็นรูปกลมและซากเซลล์อย่างรวดเร็ว และ 3) การออกฤทธิ์เป็นแบบ bactericidal และ dose-dependent ดังนั้นจึงอาจกล่าวได้ว่า curcuminoids น่าจะเป็นสารที่มีศักยภาพในการรักษาโรคติดเชื้อ *H. pylori*

กิตติกรรมประกาศ

ขอขอบคุณองค์การเภสัชกรรม กรุงเทพมหานคร ที่ได้ให้ความอนุเคราะห์ curcuminoids เพื่อใช้ในการศึกษาครั้งนี้

เอกสารอ้างอิง

- คณะกรรมการแห่งชาติด้านยา. (2549). *บัญชียาจากสมุนไพร พ.ศ. 2549*. กรุงเทพฯ: โรงพิมพ์ชุมนุมสหกรณ์การเกษตรแห่งประเทศไทย.
- สำนักงานคณะกรรมการการสาธารณสุขมูลฐาน. (2542). *ยาสมุนไพรในงานสาธารณสุขมูลฐาน (พิมพ์ครั้งที่ 2)*. กรุงเทพฯ: องค์การสงเคราะห์ทหารผ่านศึก.
- Adeniyi, B. A. & Anyiam, F. M. (2004). In vitro anti-*Helicobacter pylori* potential of methanol extract of *Allium ascalonicum* Linn. (Liliaceae) leaf: susceptibility and effect on urease activity. *Phytotherapy Research*, 18, 358-361.
- Anand, P., Kunnumakkara, A. B., Newman, R. A., & Aggarwal, B. B. (2007). Bioavailability of curcumin: problems and promises. *Molecular Pharmaceutics*, 4, 807-818.
- Berry, V., Jenings, K., & Woodnutt, G. (1995). Bactericidal and morphological effects of amoxycillin on *Helicobacter pylori*. *Antimicrobial Agents and Chemotherapy*, 39, 1859-1861.
- Bhavani, S. B., & Sreenivasa, M. S. (1979). Effect of turmeric (*Curcuma longa*) fractions on the growth of some intestinal pathogenic bacteria *in vitro*. *Indian Journal Experimental Biology*, 17, 1363-1366.
- Boyanova, L., Mentis, A., Gubina, M., Rozynek, E., Goscinia, G., Kalenic, S., Goral, V., Kupcinskas, L., Kantarceken, B., Aydin, A., Archimandritis, A., Dzierzanowska, D., Vcev, A., Ivanova, K., Marina, M., Mitov, I., Petrov, P., Ozden, A., & Popova, M. (2002). The status of antimicrobial resistance of *Helicobacter pylori* in eastern Europe. *Clinical Microbiology and Infection*, 8, 388-396.
- Eaton, K. A., Catrenich, C. E., Makin, K. M., & Krakowa, S. (1995). Virulence of coccoid and bacillary forms of *Helicobacter pylori* in gnotobiotic piglets. *The Journal of Infectious Diseases*, 171, 459-462.

- Forman, D., Newell, D. G., Fullerton, F., Yarnell, J. W., Stacey, A. R., Wald, N., & Sitas, F. (1991). Association between infection with *Helicobacter pylori* and risk of gastric cancer : evidence from a prospective investigation. *British Medical Journal*, *302*, 1302-1305.
- Horii, T., Mase, K., Suzuki, Y., Kimura, T., Ohta, M., Maekawa, M., Kanno, T., & Kobayashi, M. (2002). Antibacterial activities of β -lactamase inhibitors associated with morphological changes of cell wall in *Helicobacter pylori*. *Helicobacter*, *7*, 39-45.
- Kusters, J. G., Gerrits, M. M., Van Strijp, J. A. G., & Vandenbroucke-Grauls, C. M. J. E. (1997). Coccoid forms of *Helicobacter pylori* are the morphologic manifestation of cell death. *Infection and Immunity*, *65*, 3672-3679.
- Li, Y., Xu, C., Zhang, Q., Liu, J. Y., & Tan, R. X. (2005). In vitro anti-*Helicobacter pylori* action of 30 Chinese herbal medicines used to treat ulcer diseases. *Journal of Ethnopharmacology*, *98*, 329-333.
- Mahady, G. B., Pendland, S. L., Yun, G., & Lu, Z. Z. (2002). Turmeric (*Curcuma longa*) and curcumin inhibit the growth of *Helicobacter pylori*, a group 1 carcinogen. *Anticancer Research*, *22*, 4179-4181.
- Mollison, L. C., Stingemore, N., Wake, R. A., Cullen, D. J., & McGeachie, D. B. (2000). Antibiotic resistance in *Helicobacter pylori*. *The Medical Journal of Australia*, *173*, 521-523.
- National Committee for Clinical Laboratory Standards. (1992). *Methods for determining bactericidal activity of antimicrobial agents: tentative guideline M26-T*. Villanova, PA: NCCLS.
- Nomura, A., Stemmermann, G. N., Chyou, P. H., Kato, I., Perez-Perez, G. I., & Blaser, M. J. (1991). *Helicobacter pylori* infection and gastric carcinoma among Japanese Americans in Hawaii. *The New England Journal of Medicine*, *325*, 1132-1136.
- O'Gara, E. A., Hill, D. J., & Maslin, D. J. (2000). Activities of garlic oil, garlic powder, and their diallyl constituents against *Helicobacter pylori*. *Applied and Environmental Microbiology*, *66*, 2269-2273.
- Parsonnet, J., Friedman, G. D., Vandersteen, D. P., Chang, Y., Vogelman, J. H., Orentreich, N., & Sibley, R. K. (1991). *Helicobacter pylori* infection and the risk of gastric carcinoma. *The New England Journal of Medicine*, *325*, 1127-1131.
- Piccolomini, R., Bonaventura, G., Catamo, G., Carbone, F. & Neri, M. (1997). Comparative evaluation of the E test, agar dilution, and broth microdilution for testing susceptibilities of *Helicobacter pylori* strain to 20 antimicrobial agents. *Journal of Clinical Microbiology* *35*, 1842-1846.
- Rimbara, E., Niguchi, N., Tanabe, M., Kawai, T., Matsumoto, Y., & Sasatsu, M. (2005). Susceptibilities to clarithromycin, amoxicillin and metronidazole of *Helicobacter pylori* isolates from the antrum and corpus in Tokyo, Japan, 1995-2001. *Clinical Microbiology and Infection*, *11*, 307-311.
- Sörberg, M., Hanberger, H., Nilsson, M., Björkman, A., & Nilsson, L. E. (1998). Risk of development of *in vitro* resistance to amoxicillin, clarithromycin, and metronidazole in *Helicobacter pylori*. *Antimicrobial Agents and Chemotherapy*, *42*, 1222-1228.
- Suk, K. T., Kim, H. S., Kim, M. Y., Kim, J. W., Uh, Y., Jang, I. H., Kim, S. K., Choi, E. H., Kim, M. J., Joo, J. S., & Baik, S. K. (2010). In vitro antibacterial and morphological effects of the Urushiol component of the sap of the Korean lacquer tree (*Rhus vernicifera* Stokes) on *Helicobacter pylori*. *Journal of Korean Medical Science*, *25*, 399-404.
- Zaidi, S. F. H., Yamada, K., Kadowaki, M., Usmanghani, K. & Sugiyama, T. (2009) Bactericidal activity of medicinal plants, employed for the treatment of gastrointestinal ailments, against *Helicobacter pylori*. *Journal of Ethnopharmacology*, *121*, 286-291.

ฤทธิ์ยับยั้งการดูดซึมคอเลสเตอรอลของสารสกัดจากกล้วยสุกในเซลล์ Caco-2
Inhibitory Effect of Banana Extract on Cholesterol Absorption in Caco-2 Cells

อนันต์ อุ่นอรุณ^{1*}, อัจฉราภรณ์ ดวงใจ² และ นันทิทิพ ลิ้มเพียรชอบ²

คณะเภสัชศาสตร์ มหาวิทยาลัยนเรศวร

Anan Ounaroorn^{1*}, Acharaporn Duangjai², and Nanteetip Limpeanchob²

¹Department of Pharmaceutical Chemistry and Pharmacognosy, Faculty of Pharmaceutical Sciences,
Naresuan University

²Department of Pharmaceutical Practice, Faculty of Pharmaceutical Sciences, Naresuan University

บทคัดย่อ

งานวิจัยนี้มีวัตถุประสงค์เพื่อศึกษาฤทธิ์ของสารสกัดกล้วยเปรียบเทียบกับตัวยาลดระดับไขมัน ezetimibe ต่อการดูดซึม cholesterol เลือกใช้กล้วย 3 ชนิดที่แตกต่างกัน คือ กล้วยไข่ กล้วยหอม และกล้วยน้ำว้า เพื่อนำมาเตรียมสารสกัดด้วยน้ำ ด้วย gastric juice และด้วย gastric juice กับ intestinal juice เติมสารสกัดกล้วยที่ความเข้มข้น 100, 500 และ 1000 µg/ml พร้อมด้วย cholesterol micelle บ่มร่วมกับเซลล์เพาะเลี้ยง Caco-2 ผลของการนำ cholesterol micelle เข้าเซลล์ วัดได้จากปริมาณ [1α , $2\alpha(n)^3\text{H}$] cholesterol ซึ่งเป็นสารกัมมันตรังสี ผลจากการศึกษาพบว่าสารสกัดกล้วยทุกชนิดที่ความเข้มข้น 1000 µg/ml สามารถลดการดูดซึม cholesterol ของเซลล์ Caco-2 ได้

คำสำคัญ : กล้วย การดูดซึม cholesterol เซลล์ Caco-2

Abstract

The present study aimed to investigate the effects of banana extracts compared with lipid lowering drug, ezetimibe on cholesterol absorption. Three varieties of banana (*Musa sapientum* L.); Kluai khai, Kluai hom and Kluai namwa were used to prepare as water extract, gastric juice extract and gastric juice-intestinal juice extract. Together with cholesterol micelle, the banana extracts at concentration 100, 500 และ 1000 µg/ml were added to Caco-2 cell cultures. The cholesterol uptakes by Caco-2 cells were investigated by measuring the level of radioactive [1α , $2\alpha(n)^3\text{H}$] cholesterol. The result showed that all banana extracts at concentration 1000 µg/ml can reduce the cholesterol uptake into Caco-2 cells.

Keywords : *Musa sapientum* L., cholesterol absorption, Caco-2 cells

*Corresponding author. E-mail: ananounaroorn@yahoo.com

บทนำ

ภาวะหลอดเลือดแข็ง (atherosclerosis) เป็นสาเหตุสำคัญของการเป็นโรคหัวใจขาดเลือด (ischemic heart disease) และโรคหลอดเลือดในสมอง (cerebrovascular disease) ภาวะหลอดเลือดแข็งเกิดขึ้นเนื่องจากการคั่งของไขมันบริเวณผนังหลอดเลือด ไขมันที่คั่งส่วนใหญ่อยู่ในรูป cholesterol การลดระดับ cholesterol ในกระแสเลือดจึงเป็นเป้าหมายหนึ่งในการป้องกันการเกิดภาวะหลอดเลือดแข็ง ยาที่มีฤทธิ์ลดระดับ cholesterol มีอยู่หลายกลุ่ม ที่นิยมใช้กันมากคือยาในกลุ่ม statins ซึ่งออกฤทธิ์โดยไปยับยั้งการสังเคราะห์ cholesterol ที่ตับ ยาในกลุ่มนี้เป็นยาที่มีประสิทธิภาพดีและค่อนข้างปลอดภัยในการใช้ อย่างไรก็ตาม การใช้ยาในกลุ่ม statins ในขนาดสูง อาจทำให้เกิดพิษต่อตับและเกิดอาการปวดกล้ามเนื้อ (Garg *et al.*, 2007; Bhatnagar *et al.*, 2008) นอกจากนี้ยังพบว่า ผู้ป่วยบางกลุ่มไม่ตอบสนองต่อการใช้ยาเพียงชนิดเดียว แม้จะให้ในขนาดสูงแล้วก็ตาม ทำให้ต้องใช้ยามากกว่าหนึ่งชนิด เรียกว่าการใช้ยาแบบ combination drug therapy เช่น การใช้ยาในกลุ่ม statins ร่วมกับยาในกลุ่มที่ออกฤทธิ์ลดการดูดซึม cholesterol ในทางเดินอาหาร ข้อดีของการใช้ยาที่มีกลไกการออกฤทธิ์ต่างกันร่วมกัน คือ การเสริมฤทธิ์ซึ่งกันและกัน ทำให้สามารถลดขนาดที่ต้องใช้และอาการอันไม่พึงประสงค์ของยาแต่ละชนิด (Garg *et al.*, 2007; Pollex *et al.*, 2008)

นอกเหนือจากการใช้ยาเพื่อลดระดับ cholesterol แล้ว การปรับเปลี่ยนพฤติกรรมในการดำเนินชีวิต อันได้แก่ พฤติกรรมในการรับประทานอาหารและการออกกำลังกาย ก็เป็นปัจจัยสำคัญในการควบคุมระดับ cholesterol ในเลือด การรับประทานอาหารที่มีปริมาณ cholesterol, กรดไขมันอิ่มตัว และ trans-fat ต่ำ ร่วมกับอาหารที่มีปริมาณกากใย, plant sterols และ กรดไขมันโอเมก้า-3 (เช่น eicosapentaenoic acid และ docosahexaenoic acid) สูง มีผลในการช่วยลดระดับ cholesterol ในเลือด (Garg *et al.*, 2007) ปัญหา คือ การเปลี่ยนแปลงพฤติกรรม การบริโภคของมนุษย์ทำได้ไม่ถนัด คนส่วนใหญ่ไม่สามารถควบคุมการรับประทานอาหารที่มีระดับ cholesterol ต่ำได้อย่างสม่ำเสมอ และต่อเนื่องเป็นเวลานาน อีกทั้งข้อมูลเกี่ยวกับผลจากชนิดของอาหารที่มีต่อระดับ cholesterol ก็ยังไม่มีการศึกษาอย่างจริงจังอาศัยเพียงการสันนิษฐานและประเมินจากภาพรวม โดยการวัดค่า cholesterol ในร่างกาย ณ จุดเวลาต่างๆ เท่านั้น

คณะผู้วิจัยจึงสนใจที่จะศึกษาผลของการรับประทานผลไม้ต่อระดับของ cholesterol โดยมีสมมุติฐานเบื้องต้นว่า ผักหรือ

ผลไม้บางชนิดมีฤทธิ์ยับยั้งหรือลดการดูดซึม cholesterol เมื่อรับประทานพร้อมกับอาหารไขมันสูง คณะผู้วิจัยเลือกกล้วยเป็นผลไม้ต้นแบบในการศึกษา เนื่องจากกล้วยเป็นผลไม้ที่คนไทยนิยมรับประทาน มีให้รับประทานตลอดปี และมีราคาไม่สูง กล้วยมีชื่อวิทยาศาสตร์ว่า *Musa sapientum* L. เป็นพืชในวงศ์ Musaceae ชื่อหลักคือ กล้วยน้ำว้า (Kluai namwa) ส่วนกล้วยไข่ (Kluai khai) และ กล้วยหอม (Kluai hom) แม้ใช้ชื่อวิทยาศาสตร์เดียวกัน แต่มีความแตกต่างในเรื่องรูปร่างและรสชาติ ประโยชน์ของการรับประทานกล้วยคือ (1) การได้รับเส้นใยอาหาร ซึ่งช่วยดูดซับไขมัน และช่วยระบาย (2) การได้รับสารกลุ่มเบต้าแคโรทีน วิตามินอี และ วิตามินซี ซึ่งเป็นสารต้านอนุมูลอิสระ ช่วยลดความเสี่ยงของการเกิดภาวะหลอดเลือดอุดตัน และ (3) การได้รับแร่ธาตุที่จำเป็นต่อเมแทบอลิซึมของร่างกาย (Aurore, *et al.*, 2009) นอกจากนี้ในกล้วยยังมีสารอินนูลิน (inulin) ซึ่งเมื่อถูกย่อยด้วย *Lactobacillus* ในลำไส้ใหญ่ จะได้กรดแลกติก (lactic acid) กรดกลัยโคลิก (glycolic acid) และ กรดบิวทีริก (butyric acid) ส่งผลให้ภายในลำไส้มีสภาพเป็นกรด ไม่เหมาะสำหรับการเจริญเติบโตของแบคทีเรียที่เป็นสาเหตุของอาการท้องร่วง (Pompei, *et al.*, 2008) ส่วนการศึกษาเกี่ยวกับฤทธิ์ของกล้วยในการลดระดับ cholesterol พบเพียงงานวิจัยจากประเทศญี่ปุ่น รายงานว่ากล้วยสามารถลดระดับ cholesterol ในเลือดของหนูทดลอง โดยยังไม่มีการศึกษาถึงกลไกการออกฤทธิ์ (Horigome *et al.*, 1992)

คณะผู้วิจัยเลือกทดสอบสารสกัดจากกล้วยสุก ทั้งก่อนและหลังผ่านกระบวนการย่อย เพื่อเลียนแบบสภาวะในร่างกาย โดยจำลองกระบวนการย่อยอาหารในห้องปฏิบัติการตามวิธีของ Cabañero และคณะ (2004) จากนั้นนำสารสกัดที่ได้ไปศึกษาผลต่อการดูดซึม cholesterol ในเซลล์เพาะเลี้ยง Caco-2 ซึ่งเป็นเซลล์เพาะเลี้ยงที่นิยมใช้เพื่อศึกษาการขนส่งสารหรือการดูดซึมสารในลำไส้เล็ก เนื่องจากเซลล์ Caco-2 มีต้นกำเนิดมาจาก human colon adenocarcinoma เมื่อเพาะเลี้ยงแล้วสามารถเปลี่ยนสภาพเป็นเซลล์ที่มีรูปร่างและการทำงานเลียนแบบเซลล์ enterocyte ของลำไส้เล็ก (Sambuy *et al.*, 2005) ข้อดีของการทดสอบด้วยเซลล์ Caco-2 คือสามารถใช้ทดสอบสารสกัดได้หลายชนิด ในเวลาอันรวดเร็ว และให้ผลที่เชื่อถือได้

วัตถุประสงค์และวิธีการวิจัย

1. การเตรียมสารสกัดกล้วยสุก

1.1 การเตรียมสารสกัดด้วยน้ำของกล้วยสุก

ซังกล้วย แล้วเติมน้ำกลั่นปริมาตร 2 เท่า ปั่นให้เป็นเนื้อเดียวกันด้วยเครื่องปั่นนาน 10 วินาที กรองผ่านผ้าขาวบางเพื่อแยกกากออก นำส่วนของเหลวที่ได้ไปทำให้แห้งด้วยวิธีการทำแห้งเยือกแข็ง (freeze-drying)

1.2 การเตรียมสารสกัดกล้วยสุกที่หย่อยด้วย gastric juice

ตัดแปลงมาจากวิธีของ Cabañero และคณะ (2004) ซังกล้วย แล้วเติม gastric juice (0.6% w/v pepsin, 0.15 M NaCl, 0.01 M HCl) ปริมาตร 2 เท่า ปั่นให้เป็นเนื้อเดียวกันด้วยเครื่องปั่นนาน 10 วินาที แล้วนำไปบ่มใน water bath ที่อุณหภูมิ 37 °C นาน 4 ชั่วโมง เพื่อจำลองสภาวะการย่อยในกระเพาะอาหาร จากนั้นนำไปต้มที่ 100 °C นาน 10 นาที เพื่อทำลายเอนไซม์ กรองผ่านผ้าขาวบาง แล้วนำของเหลวที่ได้ไปทำให้แห้งด้วยวิธีการทำแห้งเยือกแข็ง

1.3 การเตรียมสารสกัดจากกล้วยสุกที่หย่อยด้วย gastric juice และ intestinal juice

เตรียมตามขั้นตอนการเตรียมสารสกัดกล้วยสุกที่หย่อยด้วย gastric juice แต่หลังจากผ่านการบ่ม 4 ชั่วโมงแล้ว ให้นำสารผสมมาปรับ pH เป็น 6.8 แล้วเติม intestinal juice (1.5% w/v pancreatin, 0.15% w/v bile extract, 0.15 M NaCl) ในปริมาตรที่เท่ากับ gastric juice นำไปบ่มใน water bath ที่อุณหภูมิ 37 °C นาน 4 ชั่วโมง เพื่อจำลองสภาวะการย่อยในลำไส้ จากนั้นนำไปต้มที่ 100 °C นาน 10 นาที เพื่อทำลายเอนไซม์ กรองผ่านผ้าขาวบาง แล้วนำของเหลวที่ได้ไปทำให้แห้งด้วยวิธีการทำแห้งเยือกแข็ง

2. การเพาะเลี้ยงเซลล์ Caco-2

เลี้ยงเซลล์ Caco-2 จากบริษัท American Type Culture Collection (ATCC) ใน erlenmayer flask ขนาด 75 ml ใช้อาหาร DMEM/F12 (Sigma) ที่เติม 10% FBS (Gibco) และ 1% penicillin-streptomycin (Gibco) บ่มที่อุณหภูมิ 37 °C และ 5% CO₂ จากนั้น subculture ทุก 3-4 วัน ลอกเซลล์จากภาชนะใช้ด้วย 0.25% Trypsin/EDTA (Gibco) เซลล์ที่ใช้เพื่อการทดสอบอยู่ใน passage ที่ 20-40

3. การทดสอบผลของสารสกัดจากกล้วยสุกชนิดต่างๆ ต่อการอยู่รอดของเซลล์

ทดสอบการอยู่รอดของเซลล์ (cell viability) ด้วยวิธี 3-[4,5-dimethylthiazol-2-yl]-2,5-diphenyl tetrazolium bromide assay (MTT assay) (Mosmann, 1983) โดยเลี้ยงเซลล์ Caco-2 ใน 96-well microplate จำนวน 10,000 cells/well

เป็นเวลา 1 วัน จากนั้นเลี้ยงด้วยอาหารที่เติมสารสกัดกล้วยสุกชนิดต่างๆ ที่ความเข้มข้น 100, 500 และ 1000 µg/ml นาน 2 ชั่วโมง แล้วจึงเติมสารละลาย MTT (Amresco) ความเข้มข้น 5 mg/ml จำนวน 10 µl บ่มต่ออีก 2 ชั่วโมง นำอาหารเลี้ยงเซลล์ออก แล้วเติม DMSO:ethanol (1:1 v/v) 200 µl นำไปวัดค่าการดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 595 nm ด้วยเครื่อง microplate autoreader (Multimode detector DTX 880, Beckmann Coulter) แต่ละการทดสอบทำ 3 ซ้ำ

4. การเตรียม cholesterol micelles

ใช้วิธีที่ตัดแปลงมาจากวิธีของ Yamanashi และคณะ (2007) โดยเตรียม stock solution ของ phosphatidylcholine (Sigma), cholesterol (Sigma) และ [1 α ,2 α (n)-3H] cholesterol (GE Healthcare) ใน chloroform และ stock solution ของ sodium taurocholate (Sigma) ใน methanol นำมาผสมกันในหลอดแก้วให้ได้ความเข้มข้นตามต้องการคือ ประกอบด้วย 4 mM sodium taurocholate, 100 µM phosphatidylcholine, 2 µM cholesterol และ 2 µCi/ml [1 α ,2 α (n)-3H] cholesterol นำไปทำให้แห้งโดยการเป่าด้วยก๊าซไนโตรเจน จากนั้นนำไปละลายใน DMEM/F12 ที่ไม่มี FBS แล้ว sonicate เป็นเวลา 1 ชั่วโมง สุดท้ายทำให้ปราศจากเชื้อโดยกรองผ่าน membrane ที่มีรูขนาด 2 µm เก็บสารละลายที่ได้ไว้ที่อุณหภูมิ 4 °C

5. การทดสอบการยับยั้งการดูดซึม cholesterol ในเซลล์ลำไส้เพาะเลี้ยงของสารสกัดจากกล้วยสุกชนิดต่างๆ

เลี้ยงเซลล์ Caco-2 ใน 24-well microplate จำนวน 50,000 cells/well เปลี่ยนอาหารเลี้ยงเซลล์ทุก 2-3 วัน เป็นเวลา 14-21 วัน เพื่อให้เซลล์เปลี่ยนแปลงรูปร่างและทำหน้าที่คล้าย enterocytes หลังจากนั้น เปลี่ยนไปใช้อาหารเลี้ยงเซลล์ที่ผสมสารสกัดกล้วยสุกชนิดต่างๆ ที่ความเข้มข้น 100, 500 และ 1,000 µg/ml ส่วนกลุ่มควบคุมใช้ ezetimibe (Schering-Plough) ที่ความเข้มข้น 100 µM บ่มไว้ที่ 37 °C เป็นเวลา 1 ชั่วโมง เติม cholesterol micelles 100 µl (0.2 µCi) แล้วบ่มต่ออีก 3 ชั่วโมง ดูอาหารเลี้ยงเซลล์ออก ล้างเซลล์ด้วยฟอสเฟตบัฟเฟอร์ แซ่เย็น 2 ครั้ง ทำให้เซลล์แตกด้วยสารละลาย Triton-X 100 (Thermo Scientific) ความเข้มข้น 0.1% v/v ที่เติม NaOH ให้ได้ความเข้มข้นสุดท้าย 0.2 N แบ่ง cell lysate เป็น 2 ส่วน ส่วนแรกนำไปวัดปริมาณโปรตีนโดยใช้ BCA protein assay kit (Pierce) อีกส่วนหนึ่งเติม scintillation cocktail (MicroScint™-20; PerkinElmer) แล้วนำไปวัดค่า radioactivity ด้วยเครื่อง Packard β -counter (Topcount NXTM) แต่ละการทดสอบทำ 3 ซ้ำ

ค่า cholesterol uptake และ % cholesterol uptake เทียบกับกลุ่มควบคุม คำนวณได้จากสมการที่ (1) และ (2) ดังนี้

$$\text{Cholesterol uptake} = \frac{\text{Radioactivity } (\mu\text{Ci})}{\text{Protein amount } (\mu\text{g})} \quad (1)$$

$$\% \text{ Cholesterol uptake} = \frac{\text{Cholesterol uptake of sample} \times 100}{\text{Cholesterol uptake of control}} \quad (2)$$

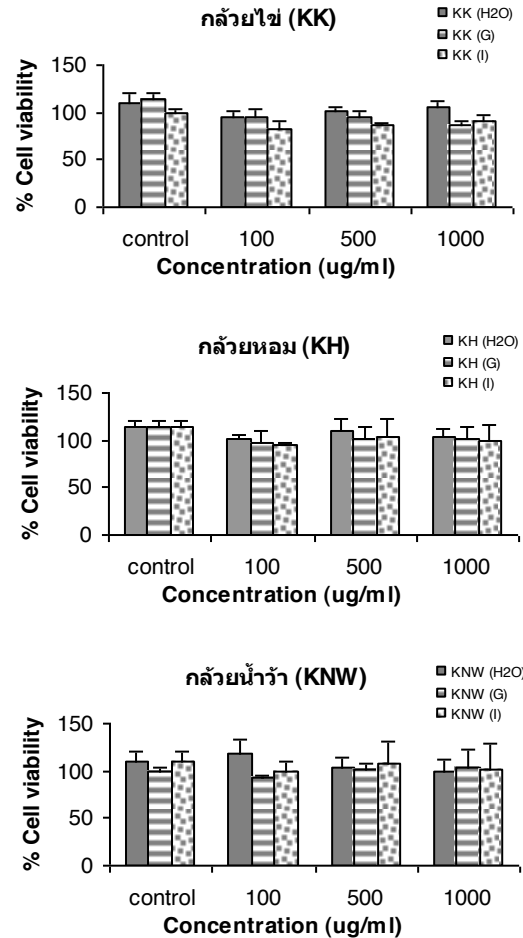
6. การเปรียบเทียบข้อมูลเชิงสถิติ

การทดสอบความแตกต่างของค่าเฉลี่ยระหว่างกลุ่มทำโดย ใช้ one-way ANOVA ตามด้วย post hoc multiple comparison tests (Tukey HSD หรือ Games-Howell test) โดยใช้ Levene's test for homogeneity of variances เป็นตัวกำหนด post hoc multiple comparison tests ที่ใช้ โดยใช้ Tukey HSD test ในกรณีที่ variances ไม่ต่างกัน และใช้ Games-Howell test ในกรณีที่ variances ต่างกัน เมื่อ $P < 0.05$ ถือว่ามีนัยสำคัญทางสถิติ การวิเคราะห์ทางสถิติทำโดยใช้โปรแกรม SPSS for Windows (version 17.0: SPSS Inc., Chicago, IL, USA)

ผลการวิจัยและวิจารณ์ผล

กล้วยสุก 3 ชนิด ได้แก่ กล้วยไข่ กล้วยหอม และกล้วยน้ำว้า ได้มาจากตลาดอำเภอเมือง จังหวัดพิษณุโลก จากการชั่งน้ำหนัก กล้วย 10 ผล ได้ค่าน้ำหนักเฉลี่ยของเนื้อกล้วยต่อผล เท่ากับ 39.49, 111.07 และ 60.65 กรัม ตามลำดับ และ %yield ของสารสกัดด้วยน้ำเท่ากับ 3.9, 4.1 และ 3.3 %w/w ตามลำดับ นำสารสกัดที่ได้มาทำ TLC fingerprint และ HPLC fingerprint เพื่อเก็บไว้เป็นข้อมูลพื้นฐาน (ข้อมูลไม่ได้แสดงไว้)

การทดสอบการอยู่รอดของเซลล์เป็นการทดสอบเพื่อดูผลของสารสกัดกล้วยสุกเมื่อผสมลงในอาหารเลี้ยงเซลล์ที่ความเข้มข้น 100, 500 และ 1,000 $\mu\text{g/ml}$ ว่ามีความเป็นพิษต่อเซลล์ Caco-2 หรือไม่ ผลการทดสอบ พบว่า สารสกัดด้วยน้ำของกล้วยสุก (H_2O) สารสกัดกล้วยสุกที่ย่อยด้วย gastric juice (G) และ สารสกัดกล้วยสุกที่ย่อยด้วย gastric juice และ intestinal juice (I) ของกล้วยไข่ (KK) กล้วยหอม (KH) และกล้วยน้ำว้า (KNW) ไม่มีความเป็นพิษต่อเซลล์ โดยมีค่าร้อยละการอยู่รอดของเซลล์ Caco-2 อยู่ในช่วง 83.00-117.43% (ภาพที่ 1) แม้กล้วยจะเป็นอาหารและมีความปลอดภัยสูง แต่การทดสอบนี้ ทำขึ้นเพื่อให้แน่ใจว่าสถานะแวดล้อมในการทดสอบนี้มีความเหมาะสมต่อการอยู่รอดของเซลล์ ก่อนทำการทดสอบขั้นต่อไป

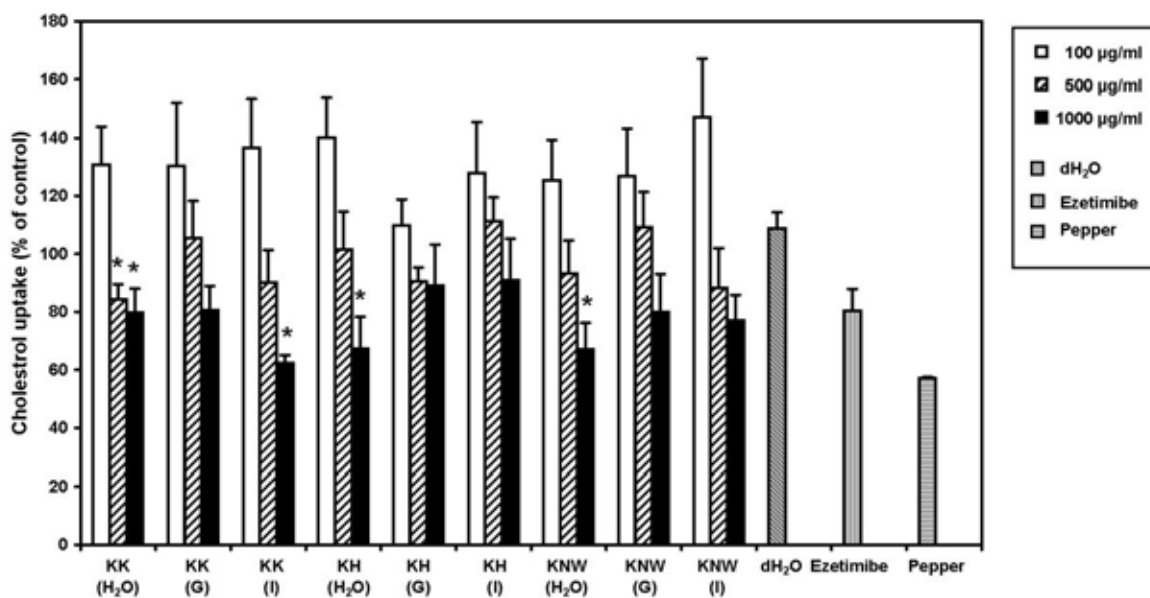


ภาพที่ 1

ผลทดสอบการอยู่รอดของเซลล์ Caco-2 ที่เติมสารสกัดจากกล้วยสุก 3 ชนิด ที่ความเข้มข้น 100, 500 และ 1000 $\mu\text{g/ml}$ ลงในอาหารเพาะเลี้ยง โดย KK หมายถึง กล้วยไข่, KH หมายถึง กล้วยหอม, KNW หมายถึง กล้วยน้ำว้า, (H_2O) หมายถึง สารสกัดด้วยน้ำของกล้วยสุก, (G) หมายถึง สารสกัดกล้วยสุกที่ย่อยด้วย gastric juice, (I) หมายถึง สารสกัดกล้วยสุกที่ย่อยด้วย gastric juice และ intestinal juice, กราฟแต่ละแห่งแสดงค่า mean \pm SD

ผลจากการให้สารสกัดกล้วยที่ความเข้มข้น 100, 500 และ 1000 $\mu\text{g/ml}$ ร่วมกับ cholesterol พบว่าการให้สารสกัดกล้วยที่ความเข้มข้น 100 $\mu\text{g/ml}$ ยังไม่แสดงผลการยับยั้งการดูดซึม cholesterol เมื่อเพิ่มสารสกัดกล้วยสุกในปริมาณสูงขึ้น จึงเห็นแนวโน้มว่าเซลล์ Caco-2 ซึ่งเปลี่ยนแปลงเป็น enterocyte มีการดูดซึม cholesterol เข้าเซลล์ลดลง เมื่อนำข้อมูลที่ได้มาเปรียบเทียบกับวิธีการทางสถิติ จะเห็นว่าสารสกัดที่ให้ผลยับยั้งการดูดซึม

Effects of banana extract on cholesterol uptake



ภาพที่ 2 ผลการยับยั้งการดูดซึม cholesterol ในเซลล์ Caco-2 ของสารสกัดจากกล้วยสุกทั้ง 3 ชนิด ที่ความเข้มข้น 100, 500 และ 1000 µg/ml โดย KK หมายถึง กล้วยไข่, KH หมายถึง กล้วยหอม, KNW หมายถึง กล้วยน้ำว้า, (H₂O) หมายถึง สารสกัดด้วยน้ำของกล้วยสุก, (G) หมายถึง สารสกัดกล้วยสุกที่ย่อยด้วย gastric juice, (I) หมายถึง สารสกัดกล้วยสุกที่ย่อยด้วย gastric juice และ intestinal juice, * $P < 0.05$ เมื่อเปรียบเทียบกับกลุ่มที่ได้รับสารสกัดจากกล้วยสุกที่ความเข้มข้น 100 µg/ml สารเปรียบเทียบที่ให้ผลบวก คือ ยา ezetimibe และสารสกัดพริกไทย, กราฟแต่ละแห่งแสดงค่า mean±SD

cholesterol อย่างชัดเจน ได้แก่ สารสกัดด้วยน้ำของกล้วยไข่ที่ความเข้มข้น 500 และ 1000 µg/ml, สารสกัดกล้วยไข่ที่ย่อยด้วย gastric juice และ intestinal juice ที่ความเข้มข้น 1000 µg/ml, สารสกัดด้วยน้ำของกล้วยหอมที่ความเข้มข้น 1000 µg/ml และ สารสกัดด้วยน้ำของกล้วยน้ำว้าที่ความเข้มข้น 1000 µg/ml

การเปรียบเทียบผลของสารสกัดจากกล้วยในงานวิจัยนี้ เลือกใช้ ezetimibe ที่ความเข้มข้น 100 µM เป็น positive control ซึ่ง ezetimibe นี้เป็นยาลดระดับไขมันในเลือดที่มีใช้อยู่ กลไกการออกฤทธิ์คือลดการดูดซึม cholesterol และอนุพันธ์ในกลุ่ม phytosterol นอกจากนี้ยังทำการเปรียบเทียบฤทธิ์ของสารสกัดจากกล้วยกับสารสกัดจากพริกไทยดำ เพื่อเป็นการเปรียบเทียบฤทธิ์ระหว่างสารสกัดจากธรรมชาติด้วยกันเอง สารสกัดพริกไทยดำที่ใช้เป็นสารสกัดด้วย 95% methanol ความเข้มข้นที่ใช้เท่ากับ 100 µg/ml เนื่องจากมีรายงานว่าสารสกัดพริกไทยดำที่ความเข้มข้นดังกล่าว มีฤทธิ์ลดการนำ cholesterol เข้าสู่เซลล์ (Duangjai *et al.*, 2011) พบว่าสารสกัดจากกล้วยมีฤทธิ์ยับยั้งการดูดซึม cholesterol ได้ดีเทียบเท่ากับ ezetimibe

และสารสกัดพริกไทยดำ โดยภาพรวมดูเหมือนว่ากล้วยไข่จะมีผลลดการดูดซึม cholesterol ได้ดีกว่ากล้วยชนิดอื่น จึงมีความน่าสนใจที่จะทำการศึกษาในเชิงลึกเกี่ยวกับกลไกการออกฤทธิ์ของสารสกัดกล้วยต่อไป ส่วนวิธีการที่ใช้ในงานวิจัยนี้ ถือว่าเป็นวิธีตรวจสอบเบื้องต้นที่มีประสิทธิภาพ สามารถใช้ตรวจสอบสารสกัดได้หลายชนิด ในเวลาอันรวดเร็ว และให้ผลที่เชื่อถือได้ ผลจากงานวิจัยนี้ เป็นการสนับสนุนแนวคิดเรื่องการบริโภคผลไม้ไทย เพื่อประโยชน์ในการสร้างเสริมสุขภาพ

สรุปผลการวิจัย

สารสกัดด้วยน้ำ ด้วย gastric juice และด้วย gastric juice กับ intestinal fluid ของกล้วยสุกทั้ง 3 ชนิด ได้แก่ กล้วยไข่ กล้วยหอม และกล้วยน้ำว้า ที่ความเข้มข้น 100, 500 และ 1000 µg/ml ไม่เป็นอันตรายต่อเซลล์ลำไส้เพาะเลี้ยง Caco-2 และเมื่อให้ร่วมกับ cholesterol สามารถยับยั้งการดูดซึม cholesterol เข้าสู่เซลล์ Caco-2 ได้ โดยเฉพาะที่ความเข้มข้น 500 และ 1000 µg/ml ผลจากงานวิจัยชี้ให้เห็นว่า การรับประทาน

กล้วยสุกพร้อมกับอาหารที่มีไขมันสูง สามารถช่วยลดการดูดซึม cholesterol เข้าสู่ร่างกายได้

กิตติกรรมประกาศ

คณะผู้วิจัยขอขอบคุณโครงการ Thai Fruits-Functional Fruits ของ สกว. ที่ให้การสนับสนุนทุนวิจัย

เอกสารอ้างอิง

Aurore, G., Parfait, B., & Fahrasmane, L. (2009). Bananas, raw materials for making processed food products. *Trends in Food Science & Technology*, 20, 78-91.

Bhatnagar, D., Soran, H., & Durrington, P.N. (2008). Hypercholesterolaemia and its management. *British Medical Journal*, 337, 503-508.

Cabañero, A.I., Madrid, Y., & Cámara, C. (2004). Selenium and mercury bioaccessibility in fish samples: an *in vitro* digestion method. *Analytica Chimica Acta*, 526(1), 51-61.

Duangjai, A., Ingkaninan, K., & Limpeanchob, N. (2011). Potential mechanisms of hypocholesterolaemic effect of Thai spices/dietary extracts. *Natural Product Research*, 25, 341-52.

Garg, A., & Simha, V. (2007). Update on dyslipidemia. *Journal of Clinical Endocrinology & Metabolism*, 92(5), 1581-1589.

Horigome, T., Sakaguchi, E., & Kishimoto, C. (1992). Hypocholesterolaemic effect of banana (*Musa sapientum* L. var. *Cavendishii*) pulp in the rat fed on a cholesterol-containing diet. *British Journal of Nutrition*, 68(1), 231-244.

Mosmann, T. (1983). Rapid colorimetric assay for cellular growth and survival: application to proliferation and cytotoxicity assays. *Journal of Immunological Methods*, 65(1-2), 55-63.

Pollex, R.L., Joy, T.R., & Hegele, R.A. (2008). Emerging antidyslipidemic drugs. *Expert Opinion on Emerging Drugs*, 13(2), 363-381.

Pompei, A., Cordisco, L., & Raimondi, S. (2008). *In vitro* comparison of the prebiotic effects of two inulin-type fructans. *Anaerobe*, 14, 280-286.

Sambuy, Y., De Angelis, I., Ranaldi, G., Scarino, M.L., Stammati, A., & Zucco, F. (2005) The Caco-2 cell line as a model of the intestinal barrier: influence of cell and culture-related factors on Caco-2 cell functional characteristics. *Cell Biology and Toxicology*, 21(1), 1-26.

Yamanashi, Y., Takada, T., & Suzuki, H. (2007). Niemann-Pick C1-like 1 overexpression facilitates ezetimibe-sensitive cholesterol and beta-sitosterol uptake in CaCo-2 cells. *Journal of Pharmacology and Experimental Therapeutics*, 320(2), 559-564.

ฤทธิ์ร่วมกันของสารแอลฟาแมงโกสตินกับยาเจนตามัยซินในการยับยั้ง *Staphylococcus aureus* ที่ดื้อต่อยา
เมธิซิลลินที่แยกได้จากโรงพยาบาลพระนารายณ์มหาราช

Synergistic Effect of Alpha-Mangostin and Gentamicin against Methicillin-resistant
Staphylococcus aureus Isolated from King Narai Hospital

อุมพร ทาโธสง* และ สิทติเดช แสงนวล

ภาควิชาจุลชีววิทยา คณะวิทยาศาสตร์ มหาวิทยาลัยบูรพา

Umaporn Thathaisong* and Sittideth Sangnual

Department of Microbiology, Faculty of Science, Burapha University

บทคัดย่อ

ปัจจุบันทั่วโลกกำลังให้ความสนใจเกี่ยวกับฤทธิ์ต้าน *Staphylococcus aureus* ที่ดื้อต่อยาเมธิซิลลิน (methicillin-resistant *S. aureus* : MRSA) อย่างมาก การค้นคว้าหาสารชนิดใหม่หรือวิธีการใหม่ที่มีประสิทธิภาพในการยับยั้งเชื้อดังกล่าว จึงมีความสำคัญยิ่งในการแก้ไขปัญหาการดื้อยาของเชื้อ การศึกษานี้มีจุดประสงค์เพื่อทดสอบหาฤทธิ์ร่วมกันของสารแอลฟาแมงโกสติน (alpha-mangostin) ที่แยกได้จากเปลือกผลมังคุดกับยาเจนตามัยซิน (gentamicin) ในการยับยั้งการเจริญของ MRSA จำนวน 16 ไอโซเลท และ *Staphylococcus aureus* ที่ไวต่อยาเมธิซิลลิน (methicillin-susceptible *S. aureus* : MSSA) จำนวน 1 ไอโซเลท ผลการทดสอบพบว่าค่าความเข้มข้นต่ำสุด (Minimum inhibitory concentration : MIC) ของสารแอลฟาแมงโกสตินและยาเจนตามัยซินต่อเชื้อทดสอบ มีค่าตั้งแต่ 6.25-12.5 $\mu\text{g/ml}$ และ 0.25-256 $\mu\text{g/ml}$ ตามลำดับ ค่าดัชนีชี้วัดประสิทธิภาพร่วม (fractional inhibitory concentration index : FICI) ของสารแอลฟาแมงโกสตินร่วมกับยาเจนตามัยซินต่อ MRSA ทุกไอโซเลท และ MSSA เท่ากับ 0.625-1.0 และ 0.5 ตามลำดับ การวิเคราะห์ฤทธิ์ร่วมกันของสารทั้งสองชนิดเมื่อเทียบกับสารเพียงชนิดเดียว พบว่าผลการยับยั้ง MRSA เป็นแบบไม่แตกต่างจากการใช้สารตัวเดียว และเมื่อทดสอบกับ MSSA พบว่ามีฤทธิ์แบบเสริมกัน ผลการศึกษานี้สามารถนำไปสู่การพัฒนาในการนำสารชนิดใหม่มาใช้ร่วมกับยาปฏิชีวนะเพื่อนำไปใช้รักษาโรคที่เกิดจากการติดเชื้อ MRSA ในอนาคต

คำสำคัญ : สารแอลฟาแมงโกสติน ยาเจนตามัยซิน *S. aureus* ที่ดื้อต่อยาเมธิซิลลิน ดัชนีชี้วัดประสิทธิภาพร่วม

*Corresponding author. E-mail: umaporn@buu.ac.th

The antimicrobial activity towards methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* (MRSA) is becoming worldwide interest. Searching for new bioactive compounds or other approaches which will effectively inhibit these bacteria is therefore crucial for solving drug resistance. This study aimed to test synergistic effect of alpha-mangostin isolated from mangosteen pericarp and gentamicin against 16 isolates of MRSA and 1 isolate of MSSA (methicillin-susceptible *S. aureus*). The results showed that minimum inhibitory concentrations (MICs) of alpha-mangostin and gentamicin against all bacterial isolates were 6.26 to 12.5 µg/ml and 0.25 to 256 µg/ml, respectively. The fractional inhibitory concentration index (FICI) of alpha-mangostin/gentamicin combination against all MRSA isolates and MSSA isolate were 0.625 to 1.0 and 0.5, respectively. Synergistic analysis between combination and individual drug were at indifference for MRSA, however synergism was found in MSSA. The results obtained here could lead to the development of new combination of antimicrobial agent with antibiotic against MRSA infection in the future.

Keywords : alpha-mangostin, gentamicin, methicillin-resistant *Staphylococcus aureus*, fractional inhibitory concentration index (FICI)

บทนำ

Staphylococcus aureus เป็นเชื้อแบคทีเรียก่อโรคที่มีบทบาทสำคัญทางการแพทย์เป็นอย่างมากซึ่งเป็นสาเหตุที่ทำให้เกิดการติดเชื้อในระบบต่างๆ ของร่างกาย เช่น เยื่อหุ้มหัวใจอักเสบ (endocarditis) โรคปอดอักเสบ (pneumonia) การติดเชื้อในกระแสเลือด (septicemia) อาการช็อกที่เกิดจากสารพิษ (toxic shock syndrome) และการติดเชื้อของกระดูกและกล้ามเนื้อ (osteomyelitis) เป็นต้น (ภัทรชัย กิรติสิน, 2549) นอกจากนี้ *S. aureus* เป็นแบคทีเรียที่สามารถแพร่กระจายได้ง่ายและอาจพบเชื้อที่บริเวณโพรงจมูกประมาณร้อยละ 40-50 ของคนที่มีสุขภาพดี และยังพบได้ทั่วไปตามผิวหนังของมนุษย์ (Lee *et al.*, 2008) *S. aureus* เป็นเชื้อที่มีความสามารถในการปรับตัวให้ต่อสู้ต่อยาต้านจุลชีพได้อย่างต่อเนื่อง ในสมัยก่อนยังไม่มียาปฏิชีวนะที่ใช้ในการรักษาโรคติดเชื้อจึงทำให้อัตราการตายจากการติดเชื้อ *S. aureus* ในกระแสเลือดสูง ต่อมาในปี พ.ศ. 2483 มีการนำยาเพนิซิลลิน จี มาใช้ในการรักษาจึงทำให้อัตราการตายจากการติดเชื้อ *S. aureus* ลดลงเป็นอย่างมากแต่ *S. aureus* เริ่มมีการปรับตัวให้สามารถต่อสู้ต่อยากลุ่มเบต้าแลคแทม เช่น เมธิซิลลิน มากขึ้นเรื่อยๆ และเรียก *S. aureus* สายพันธุ์ที่ต่อสู้ต่อยากลุ่มเบต้าแลคแทมนี้ว่า methicillin-resistant *S. aureus* (MRSA) (พรพนทิพย์ ฉายากุล, 2543) นอกจากนี้ MRSA จะต่อสู้ต่อยากลุ่มเบต้าแลคแทมแล้วยังมีรายงานพบว่าสามารถต่อสู้ต่อยากลุ่มอื่นๆ ได้อีกด้วย เช่น เตตราไซคลิน, อะมิโนไกลโคไซด์, คลอแรมเฟนิคอล, ฟลูออโรควิโนโลน และแมคโครไลด์ (Sahin *et al.*, 2003) ปัจจุบัน MRSA เป็นเชื้อก่อโรคที่มีความสำคัญทั้งในโรงพยาบาลและชุมชน ซึ่งพบได้ทั่วโลกเป็นเวลามากกว่า 20 ปีแล้ว และมีอุบัติการณ์ที่สูงขึ้นเรื่อยๆ (Lowy, 1998) และพบว่า MRSA มีการพัฒนาและปรับตัวให้มีการดื้อยาหลายชนิดมากยิ่งขึ้นและทำให้เกิดโรคติดเชื้อที่มีความรุนแรงซึ่งเป็นปัญหาที่ทั่วโลกให้ความสำคัญ ด้วยเหตุนี้จึงได้มีการศึกษาค้นคว้าหาสารต้านจุลชีพชนิดใหม่เพื่อนำมาใช้ในการรักษาโรคที่เกิดจากการติดเชื้อดังกล่าว

Garcinia mangostana หรือที่รู้จักกันโดยทั่วไปว่า มังคุด มีรายงานพบว่าสารสกัดจากเปลือกผลมังคุดมีฤทธิ์ยับยั้งการเจริญของ *S. aureus*, *Staphylococcus epidermidis*, *Pseudomonas aeruginosa*, *Salmonella Typhimurium*, *Enterococcus spp.*, *Mycobacterium tuberculosis* และ *Propionibacterium acnes* ได้ (Torrunguang *et al.*, 2007) นอกจากนี้ยังมีฤทธิ์ในการต้านการอักเสบ (anti-inflammatory) และสามารถยับยั้งการเจริญเติบโตของเซลล์มะเร็งได้ (Pothitirat & Gritsanapan,

2008) จากการศึกษาองค์ประกอบทางเคมีของเปลือกผลมังคุดพบว่าส่วนใหญ่เป็นสารที่อยู่ในกลุ่มแซนโทน ตัวอย่างเช่น แอลฟา-แมงโกสทิน เบต้าแมงโกสทิน และแกมมาแมงโกสทิน การทำปฏิกิริยาไฮโซแมงโกสทิน เป็นต้น (Mahabusarakam *et al.*, 1987) ซึ่งมีรายงานว่าสารแอลฟาแมงโกสทินมีฤทธิ์ต้านจุลชีพได้ดีที่สุด (Torrunguang *et al.*, 2007)

การใช้สารสกัดจากธรรมชาติถือเป็นทางเลือกหนึ่งในการนำมาใช้ในการรักษาโรคติดเชื้อและสามารถนำไปประยุกต์ใช้ร่วมกับยาต้านจุลชีพบางชนิดเพื่อเป็นการเสริมฤทธิ์กัน ดังนั้น การศึกษาในครั้งนี้จึงทำการศึกษาฤทธิ์ร่วมกันของสารแอลฟาแมงโกสทินที่สกัดได้จากเปลือกผลมังคุดกับยาเจนตามัยซินในการยับยั้ง *S. aureus* ที่ดื้อต่อยาเมธิซิลลิน ซึ่งยาเจนตามัยซินเป็นยาในกลุ่มอะมิโนไกลโคไซด์ที่มีราคาถูกและในอดีตเคยใช้รักษาเชื้อนี้ได้ เพื่อที่จะเป็นแนวทางในการนำสารสกัดดังกล่าวนำมาพัฒนาเป็นยารักษาโรค หรือนำไปใช้ร่วมกับยาที่เคยใช้รักษา *S. aureus* ได้และมีราคาถูก เพื่อใช้ในการรักษาโรคที่เกิดจากการติดเชื้อที่มีอัตราการดื้อยาสูงต่อไป

วัสดุอุปกรณ์และวิธีการวิจัย

1. เชื้อที่ใช้ทดสอบ

ได้แก่ *S. aureus* ATCC 43300 (MRSA), *S. aureus* ATCC 25923 (MSSA) และ MRSA ที่แยกได้จากคนไข้ในโรงพยาบาลพระนารายณ์มหาราช จังหวัดลพบุรี จำนวน 15 ไอโซเลท ซึ่งได้ทำการทดสอบยืนยันการดื้อยาเมธิซิลลิน ด้วยวิธี Disc diffusion โดยวาง oxacillin disc 1 μg ลงบนจานเพาะเชื้อทดสอบแต่ละไอโซเลท นำไปบ่มที่อุณหภูมิ 35 °C เป็นเวลา 18-24 ชั่วโมง แล้ววัดขนาดของ inhibition zone ซึ่ง MRSA ไม่เกิด inhibition zone กับ oxacillin disc 1 μg ส่วน MSSA เกิด inhibition zone ขนาดเส้นผ่านศูนย์กลางตั้งแต่ 12-26 มิลลิเมตร

2. การหาค่า Minimum Inhibitory Concentration (MIC) ของสารแอลฟาแมงโกสทินและยาเจนตามัยซิน โดยวิธี agar dilution (Hausler *et al.*, 1991)

2.1 การเตรียมเชื้อทดสอบ

เพาะเชื้อทดสอบลงบนอาหารเลี้ยงเชื้อ Nutrient agar บ่มที่อุณหภูมิ 35 °C เป็นเวลา 18-24 ชั่วโมง จากนั้นเชยโคโลนีเดี่ยวประมาณ 4-6 โคโลนี ใส่ลงใน Tryptic soy broth บ่มที่อุณหภูมิ 35 °C เป็นเวลา 4-6 ชั่วโมง จากนั้นนำมาเทียบความขุ่นให้เท่ากับ McFarland standard เบอร์ 0.5 (มีเชื้อประมาณ 1.5×10^8 cfu/ml) แล้วนำมาเจือจางด้วย 0.85% Normal Saline

Solution (NSS) ให้ได้จำนวนเชื้อโดยประมาณเท่ากับ 1.0×10^6 cfu/ml

2.2 การเตรียมอาหารเลี้ยงเชื้อผสมสารทดสอบ

เจือจางยาเจนนตามัยซินและสารแอลฟาแมงโกสทินด้วย น้ำกลั่นปราศจากเชื้อแบบ two-fold dilution ผสมสารทดสอบ แต่ละความเข้มข้นกับ Mueller-Hinton agar หลอมเหลวใน อัตราส่วน 1 : 19 ml จากนั้นเทลงบนจานเพาะเชื้อจะได้ความเข้มข้นสุดท้ายของยาเจนนตามัยซินเท่ากับ 256, 128, 64, 32, 16, 8, 4, 2, 1, 0.5, 0.25 และ 0.125 $\mu\text{g/ml}$ ส่วนสารแอลฟาแมงโกสทิน เท่ากับ 2,000, 1,000, 500, 250, 125, 62.5 และ 31.25 $\mu\text{g/ml}$

2.3 วิธีการทดสอบ

หยดเชื้อทดสอบที่เตรียมไว้ปริมาตร 10 μl (1.0×10^4 cfu/หยด) ลงบนอาหารเลี้ยงเชื้อที่เตรียมไว้ แล้วนำจานเพาะเชื้อ ไปอบที่อุณหภูมิ 35 °C เป็นเวลา 18-24 ชั่วโมง จากนั้นอ่านค่า ความเข้มข้นที่ต่ำที่สุดที่สามารถยับยั้งการเจริญของเชื้อได้ (MIC)

3. การทดสอบประสิทธิภาพของสารแอลฟาแมงโกสทินร่วมกับ ยาเจนนตามัยซิน โดยวิธี checkerboard agar dilution (Lorian, 2005)

3.1 การเตรียมเชื้อทดสอบ

กระทำเช่นเดียวกับข้อ 2.1 ให้ได้จำนวนเชื้อโดยประมาณ เท่ากับ 1.0×10^6 cfu/ml

3.2 การเตรียมอาหารเลี้ยงเชื้อผสมสารแอลฟาแมงโกสทิน ร่วมกับยาเจนนตามัยซิน

ผสมสารผสมระหว่างสารแอลฟาแมงโกสทินและยา เจนนตามัยซิน ให้ได้ความเข้มข้นสุดท้ายของสารแต่ละตัวตั้งแต่ $2 \times \text{MIC}$ ถึง $1/8 \times \text{MIC}$ โดยอัตราส่วนของสารแอลฟาแมงโกสทิน ต่อยาเจนนตามัยซินและ Mueller-Hinton agar เท่ากับ 1 : 1 : 18 โดยมีปริมาตรรวมเท่ากับ 20 ml และเตรียม negative control โดยผสม 80% เอทานอล กับ Mueller-Hinton agar ในอัตราส่วน 1 : 19 ml

3.3 วิธีการทดสอบ

หยดเชื้อทดสอบที่เตรียมไว้ในปริมาตร 10 μl (1.0×10^4 cfu/หยด) ลงบนอาหารเลี้ยงเชื้อที่เตรียมไว้ แล้วนำจานเพาะเชื้อ ไปอบที่อุณหภูมิ 35 °C เป็นเวลา 18-24 ชั่วโมง จากนั้นอ่านค่า ความเข้มข้นที่ต่ำที่สุดของสารแอลฟาแมงโกสทินและยาปฏิชีวนะ เจนนตามัยซินที่สามารถยับยั้งการเจริญของเชื้อได้ (MIC)

3.4 ประเมินประสิทธิภาพการเสริมฤทธิ์ของสารแอลฟาแมงโกสทินและยาเจนนตามัยซิน ด้วยดัชนีชี้วัดที่เรียกว่า fractional inhibitory concentration index (FICI) ดังสูตร

$$\begin{aligned} \text{ค่า FICI} &= \text{FIC(A)} + \text{FIC(B)} \\ &= [\text{A}]/\text{MIC(A)} + [\text{B}]/\text{MIC(B)} \end{aligned}$$

[A] คือ ค่า MIC ของสาร A ในสารผสมระหว่างสาร A และสาร B

[B] คือ ค่า MIC ของสาร B ในสารผสมระหว่างสาร A และสาร B

MIC(A) คือ ค่า MIC ของสาร A

MIC(B) คือ ค่า MIC ของสาร B

การแปลผล FICI : ≤ 0.5 = เสริมฤทธิ์กัน (synergy), $0.5 < \text{FICI} \leq 4.0$ = ฤทธิ์ไม่แตกต่างจากการใช้สารตัวเดียว (indifference), > 4.0 = ฤทธิ์ต้านกัน (antagonism) (Lorian, 2005)

ผลการวิจัยและวิจารณ์ผล

1. ค่า MIC ของยาเจนนตามัยซินต่อเชื้อทดสอบ

จากการทดสอบความไวของเชื้อทดสอบต่อยาเจนนตามัยซิน โดยวิธี agar dilution method ให้ผลดังตารางที่ 1 พบว่าค่า MIC ของยาเจนนตามัยซินต่อ *S. aureus* ATCC 25923 และ *S. aureus* ATCC 43300 มีค่าเท่ากับ 0.25 และ 16 $\mu\text{g/ml}$ ตามลำดับ และค่า MIC ของยาเจนนตามัยซินต่อ MRSA ที่แยกได้จากคนไข้จำนวน 15 ไอโซเลท มีค่าอยู่ในช่วง 32-256 $\mu\text{g/ml}$ ซึ่งมีจำนวน 5 ไอโซเลท ที่มีค่า MIC เท่ากับ 128 $\mu\text{g/ml}$ (33.3%) และ 5 ไอโซเลท ที่มีค่า MIC เท่ากับ 64 $\mu\text{g/ml}$ (33.3%) ส่วน 4 ไอโซเลท มีค่า MIC เท่ากับ 256 $\mu\text{g/ml}$ (26.7%) ซึ่งแสดงให้เห็นว่า MRSA ที่ใช้ในการศึกษาครั้งนี้ดื้อต่อยาเจนนตามัยซิน เนื่องจาก *S. aureus* ที่ดื้อต่อยาเจนนตามัยซินจะต้องมีค่า MIC $\geq 16 \mu\text{g/ml}$ (Murray *et al.*, 2003) จากผลการทดสอบชี้ให้เห็นว่ายาเจนนตามัยซินซึ่งเป็นยา กลุ่มอะมิโนไกลโคไซด์ไม่สามารถนำมารักษาโรคติดเชื้อ MRSA ได้ ถ้าหากต้องการใช้ยาเจนนตามัยซินในการรักษาจึงควรใช้ร่วมกับ ยาในกลุ่มอื่นๆ ด้วย เช่น ยาในกลุ่มเบต้าแลคแทม ไกลโคเปปไทด์ เป็นต้น (Kim *et al.*, 2007; Vincent *et al.*, 2006) ซึ่งการ ดื้อยาของกลุ่มอะมิโนไกลโคไซด์ของเชื้อเกิดจากหลายกลไก เช่น การ เปลี่ยนแปลงสมบัติการคัดเลือกสารผ่านเข้าสู่เซลล์ การสร้างเอนไซม์ มาเปลี่ยนแปลงโครงสร้างของยา และการเปลี่ยนแปลง binding site ของยาบนไรโบโซม โดยกลไกการดื้อยาอะมิโนไกลโคไซด์ของ staphylococci ที่พบบ่อยเกิดจากการสร้างเอนไซม์มาเปลี่ยนแปลง โครงสร้างของยาส่งผลให้ยาไม่สามารถออกฤทธิ์ทำลายเชื้อได้ เอนไซม์ที่สำคัญได้แก่ acetyltransferase (AAC), adenyltransferase (ANT) หรือ phosphotransferase (APH) ซึ่งเอนไซม์

AAC จะไปเปลี่ยนแปลงหมู่อะมิโนของยา ส่วนเอนไซม์ ANT หรือ APH จะเปลี่ยนแปลงหมู่ไฮดรอกซิลของยา เมื่อโครงสร้างของยาเปลี่ยนแปลงไปจึงทำให้ยาไม่สามารถจับกับไรโบโซมได้ ทำให้ไม่สามารถยับยั้งการสร้างโปรตีนของเชื้อได้ (Paulsen *et al.*, 1997) นอกจากนี้ยังมีรายงานว่าการดื้อยาเจนตามัยซินและการดื้อยาเจนตามัยซินพร้อมกับยาโทบรามัยซินและกานามัยซินของ staphylococci เกิดจากการทำงานร่วมกันของเอนไซม์ AAC(6') และ APH(2") (Ubukata *et al.*, 1984; Matsumara *et al.*, 1884)

ปัญหาที่สำคัญเป็นอันดับหนึ่งของการใช้ยาปฏิชีวนะนั้นก็คือการดื้อยา ซึ่งเป็นปัญหาที่แผ่ขยายไปทั่วโลก การที่เชื้อแบคทีเรียเกิดการดื้อยาหลายๆ ชนิดเพิ่มมากขึ้นส่งผลทำให้การรักษาโรคติดเชื้อมีความยากลำบากในการรักษามากขึ้น อย่างไรก็ตามการใช้ยาไปในทางที่ผิดและใช้ในการรักษาโรคติดเชื้อในปริมาณที่มากเกินไป ส่งผลให้เชื้อแบคทีเรียในธรรมชาติมีพัฒนาการและนำไปสู่

การดื้อยาเพิ่มมากขึ้น (Barrett *et al.*, 1968; Lowy, 1998; Parker & Hewitt, 1970) MRSA เป็นแบคทีเรียที่เป็นอันตรายมาก และเป็นปัญหาสำคัญทางการแพทย์เนื่องจากเป็นเชื้อที่ทำให้เกิดโรคติดเชื้อและเชื้อยังมีการดื้อยาหลายชนิดที่ใช้ในการรักษาอีกด้วย ปัจจุบันได้มีการศึกษาค้นคว้าหาสารจากธรรมชาติเพื่อใช้ในการยับยั้งเชื้อ MRSA เป็นจำนวนมาก และมีการนำสารดังกล่าวมาใช้เป็นยาเพื่อรักษาการติดเชื้อจาก *S. aureus* ซึ่งเป็นปัญหาที่ทั่วโลกให้ความสนใจ (Tsuji & Rybak, 2005)

2. ค่า MIC ของสารแอลฟาแมงโกสตินต่อเชื้อทดสอบ

ผลการทดสอบความไวของเชื้อต่อสารแอลฟาแมงโกสตินแสดงดังตารางที่ 1 ซึ่งพบว่าค่า MIC ของสารแอลฟาแมงโกสตินต่อ *S. aureus* ATCC 25923 และ *S. aureus* ATCC 43300 เท่ากับ 12.5 µg/ml และค่า MIC ของสารแอลฟาแมงโกสตินต่อ MRSA จำนวน 15 ไอโซเลท มีค่าอยู่ใน ช่วง 6.25-12.5 µg/ml ซึ่งมีจำนวน

ตารางที่ 1 ค่า MIC ของยาเจนตามัยซินและสารแอลฟาแมงโกสตินต่อเชื้อทดสอบ

เชื้อทดสอบ	MIC (µg/ml)	
	เจนตามัยซิน	แอลฟาแมงโกสติน
<i>S. aureus</i> ATCC 25923	0.25	12.5
<i>S. aureus</i> ATCC 43300	16	12.5
MRSA No. 1	256	12.5
MRSA No. 2	256	6.25
MRSA No. 3	256	6.25
MRSA No. 4	64	6.25
MRSA No. 5	64	6.25
MRSA No. 6	128	6.25
MRSA No. 7	128	6.25
MRSA No. 8	128	6.25
MRSA No. 9	64	6.25
MRSA No. 10	64	6.25
MRSA No. 11	128	6.25
MRSA No. 12	128	6.25
MRSA No. 13	32	6.25
MRSA No. 14	256	6.25
MRSA No. 15	64	12.5

13 ไอโซเลท ที่มีค่า MIC เท่ากับ 6.25 µg/ml (86.7%) และจำนวน 2 ไอโซเลท ที่มีค่า MIC เท่ากับ 12.5 µg/ml (13.3%) ซึ่งค่า MIC ของสารแอลฟาแมงโกสทินในการศึกษาครั้งนี้มีความสอดคล้องกับรายงานของ Sakagami *et al.* (2005) พบว่าสารแอลฟาแมงโกสทินสามารถยับยั้งการเจริญของ MRSA ได้โดยมีค่า MIC ตั้งแต่ 6.25-12.5 µg/ml และพบว่าสามารถยับยั้งการเจริญของเชื้อ *Enterococci spp.* ที่ดื้อต่อยาแวนโคมัยซิน (vancomycin-resistant *Enterococci spp.* : VRE) ได้อีกด้วย โดยมีค่า MIC เท่ากับ 6.25 µg/ml และจากการศึกษาของ linuma *et al.* (1996) พบว่าสารแอลฟาแมงโกสทินสามารถยับยั้งการเจริญของ MRSA ได้โดยมีค่า MIC อยู่ในช่วง 1.57-12.5 µg/ml นอกจากนี้สารแอลฟาแมงโกสทินยังสามารถยับยั้งการเจริญของ *Pseudomonas aeruginosa*, *Bacillus subtilis* และ *Salmonella Typhimurium* ได้ (Torrunguang *et al.*, 2007) รวมทั้งสามารถยับยั้งยีสต์ก่อโรคได้ เช่น *Candida albicans* เป็นต้น (Kaomongkolgit *et al.*, 2009)

3. การทดสอบประสิทธิภาพของสารแอลฟาแมงโกสทินร่วมกับยาเจนตามัยซิน โดยวิธี checkerboard agar dilution

เมื่อนำสารแอลฟาแมงโกสทินที่ระดับความเข้มข้นตั้งแต่ 2×MIC ถึง 1/8×MIC มาร่วมกับยาเจนตามัยซินที่ระดับความเข้มข้นตั้งแต่ 2×MIC ถึง 1/8×MIC มาทดสอบประสิทธิภาพในการยับยั้งการเจริญของ *S. aureus* ATCC 25923, *S. aureus* ATCC 43300 และ MRSA ที่แยกได้จากคนไข้ จำนวน 15 ไอโซเลท พบว่าค่า MIC ของสารแอลฟาแมงโกสทินและยาเจนตามัยซินในสารผสมต่อ *S. aureus* ATCC 25923 มีค่าลดลง 4 เท่าเมื่อเปรียบเทียบกับค่า MIC ของสารหรือยาเพียงชนิดเดียว และพบว่าค่า MIC ของยาเจนตามัยซินในสารผสมต่อ *S. aureus* ATCC 43300 และ MRSA ที่แยกได้คนไข้ลดลงเป็น 2-8 เท่าเมื่อเปรียบเทียบกับค่า MIC ของยาเจนตามัยซินเพียงชนิดเดียว ส่วนค่า MIC ของสารแอลฟาแมงโกสทินในสารผสมต่อ *S. aureus* ATCC 43300 และ MRSA ที่แยกได้คนไข้ลดลงเพียงเล็กน้อยคือลดลง 2 เท่าเมื่อเปรียบเทียบกับค่า MIC ของสารเพียงชนิดเดียว ซึ่งแสดงดังตารางที่ 1 และ 2 และเมื่อคำนวณค่าดัชนีชี้วัดประสิทธิภาพร่วม (FICI) ของสารแอลฟาแมงโกสทินร่วมกับยาเจนตามัยซิน พบว่าค่า FICI ต่อเชื้อทดสอบทุกไอโซเลท มีค่าอยู่ระหว่าง 0.5-1.0 โดยค่า FICI ต่อ *S. aureus* ATCC 25923 ซึ่งเป็น MSSA มีค่าเท่ากับ 0.5 หมายความว่าฤทธิ์ร่วมกันของสารแอลฟาแมงโกสทินและยาปฏิชีวนะเจนตามัยซินเป็นแบบเสริมฤทธิ์กัน ส่วนค่า FICI ต่อ *S. aureus* ATCC 43300 ซึ่งเป็น MRSA และ

MRSA ที่แยกได้จากผู้ป่วยทุกไอโซเลท มีค่ามากกว่า 0.5 ซึ่งหมายความว่าฤทธิ์ร่วมกันของสารแอลฟาแมงโกสทินและยาปฏิชีวนะเจนตามัยซินเป็นแบบไม่แตกต่างจากการใช้สารตัวเดียว ซึ่งจากรายงานของ Sakagami *et al.* (2005) พบว่าฤทธิ์ร่วมกันของสารแอลฟาแมงโกสทินกับยาเจนตามัยซินในการยับยั้ง MRSA จำนวน 9 ไอโซเลท เป็นแบบเสริมฤทธิ์กันบางส่วน โดยมีค่า FICI เท่ากับ 0.667 ส่วนฤทธิ์ร่วมกันของสารแอลฟาแมงโกสทินกับยาแวนโคมัยซินเป็นแบบเสริมฤทธิ์กัน ซึ่งมีค่า FICI เท่ากับ 0.441 (Sakagami *et al.*, 2005) นอกจากนี้ยังมีการศึกษาประสิทธิภาพร่วมของสารชนิดอื่นกับยาเจนตามัยซินในการยับยั้ง MRSA พบว่าสาร myristylamine ร่วมกับยาปฏิชีวนะเจนตามัยซินมีฤทธิ์แบบต้านกัน ส่วนฤทธิ์ร่วมกันของยาเจนตามัยซินกับสาร 20-hydroxyecdysone ซึ่งแยกได้จากรากของ *Achyranthes japonica* Nakai และฤทธิ์ร่วมกันของยาเจนตามัยซินกับสาร galangin ซึ่งแยกได้จากข่าตาแดง (*Alpinia officinarum*) เป็นแบบเสริมกัน (Eun Sook *et al.*, 2009; Lee *et al.*, 2008) จากผลการศึกษาในครั้งนี้แสดงให้เห็นว่าสารแอลฟาแมงโกสทินร่วมกับยาเจนตามัยซินอาจไม่สามารถนำไปใช้ในการรักษาโรคติดเชื้อ MRSA ได้ ดังนั้นควรจะมีการทดสอบฤทธิ์ร่วมกันของสารชนิดอื่นที่แยกได้จากสมุนไพรไทยร่วมกับยาเจนตามัยซินในการยับยั้งการเจริญของ MRSA ในขั้นต่อไป

สรุปผลการวิจัย

จากการทดสอบประสิทธิภาพของสารแอลฟาแมงโกสทินที่แยกได้จากเปลือกผลมังคุดและยาเจนตามัยซินในการยับยั้งการเจริญของ *S. aureus* ซึ่งได้แก่ *S. aureus* ATCC 43300 (MRSA), *S. aureus* ATCC 25923 (MSSA) และ MRSA ที่แยกได้จากคนไข้ จำนวน 15 ไอโซเลท โดยวิธี agar dilution พบว่าค่า MIC ของสารแอลฟาแมงโกสทินต่อเชื้อทดสอบมีค่าตั้งแต่ 6.25-12.5 µg/ml และค่า MIC ของยาเจนตามัยซินต่อเชื้อทดสอบมีค่าตั้งแต่ 0.25-256 µg/ml จากการทดสอบฤทธิ์ร่วมกันของสารแอลฟาแมงโกสทินกับยาเจนตามัยซินในการยับยั้ง MRSA โดยวิธี checkerboard agar dilution พบว่ามีฤทธิ์เป็นแบบไม่แตกต่างจากการใช้สารตัวเดียว แต่เมื่อทดสอบกับ MSSA พบว่ามีฤทธิ์เป็นแบบเสริมฤทธิ์กัน

กิตติกรรมประกาศ

ขอขอบคุณภาควิชาจุลชีววิทยา คณะวิทยาศาสตร์ มหาวิทยาลัยบูรพา ที่ให้การสนับสนุนการวิจัย ขอขอบคุณคณะเภสัชศาสตร์ มหาวิทยาลัยหัวเฉียวเฉลิมพระเกียรติ ที่ให้ความ

ตารางที่ 2 ค่า MIC และ FICI ของสารแอลฟาแมงโกสตินร่วมกับยาเจนตามัยซินต่อเชื้อทดสอบ

เชื้อทดสอบ	MIC (สารผสม) (µg/ml)		FICI	แปลผล*
	เจนตามัยซิน	แอลฟาแมงโกสติน		
<i>S. aureus</i> ATCC 25923	0.0625	3.125	0.50	synergy
<i>S. aureus</i> ATCC 43300	8	6.25	1.0	indifference
MRSA No. 1	64	6.25	0.75	indifference
MRSA No. 2	32	3.125	0.625	indifference
MRSA No. 3	64	3.125	0.75	indifference
MRSA No. 4	32	3.125	1.0	indifference
MRSA No. 5	16	3.125	0.75	indifference
MRSA No. 6	64	3.125	1.0	indifference
MRSA No. 7	32	3.125	0.75	indifference
MRSA No. 8	64	3.125	1.0	indifference
MRSA No. 9	8	3.125	0.625	indifference
MRSA No. 10	32	3.125	1.0	indifference
MRSA No. 11	32	3.125	0.75	indifference
MRSA No. 12	64	3.125	1.0	indifference
MRSA No. 13	8	3.125	0.75	indifference
MRSA No. 14	64	3.125	0.75	indifference
MRSA No. 15	32	6.25	1.0	indifference

หมายเหตุ : * หมายถึง FICI : ≤ 0.5 = เสริมฤทธิ์กัน (synergy), $0.5 < FICI \leq 4.0$ = ฤทธิ์ไม่แตกต่างจากการใช้สารตัวเดียว (indifference), > 4.0 = ฤทธิ์ต้านกัน (antagonism)

อนุเคราะห์สารแอลฟาแมงโกสติน ขอขอบคุณห้องปฏิบัติการจุลชีววิทยา โรงพยาบาลพระนารายณ์มหาราช จังหวัดลพบุรี ที่ให้ความอนุเคราะห์แบคทีเรียสำหรับทดสอบ

เอกสารอ้างอิง

ภัทรชัย กิรติสิน. (2549). ตำราวิทยาแบคทีเรียการแพทย์. กรุงเทพฯ: วี.เจ. พรินติ้ง.

พรรณทิพย์ ฉายากุล. (2543). โรคติดเชื้อที่ปรากฏขึ้นใหม่และโรคติดเชื้อที่ปรากฏขึ้นอีก 1. กรุงเทพฯ: โอลิสติก พับลิชชิ่ง.

Barrett, F. F., McGehee, R. F., & Finland, F. (1968). Methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* at boston city hospital. Bacteriologic and epidemiologic observations. *The New England Journal of Medicine*, 279, 441-448.

Eun Sook, K., Jepng, S., Kim, J.H., Park, C., Kim, S.M., Kim, J.K., Lee, K.M., Lee, S.H., So, H., & Park, R. (2009). Synergistic effects of the combination of 20-Hydroxycdysone with ampicillin and gentamicin against methicillin-resistant *Staphylococcus aureus*. *Journal of Microbiological Biotechnology*, 19, 1576-1581.

Hausler, W.J., Herrmann, K.L. & Isenberg, H.D. (1991). *Manual of clinical microbiology*. 5th ed. Washington, DC: American Society for Microbiology.

linuma, M., Tosa, H., Tanaka, T., Asai, F., Kobayashi, Y., Shimano, R., & Miyauchi, K. (1996). Antibacterial activity of xanthenes from guttiferaceae plants against methicillin-resistant *Staphylococcus aureus*. *Journal of Pharmacy and Pharmacology*, 48, 861-865.

- Kaomongkolgit, R., Jamdee, K., & Chaisomboon, N. (2009). Antifungal activity of alpha-mangostin against *Candida albicans*. *Journal of Oral Science*, *51*, 401-406.
- Kim, C., Lin, G., & Peter, C. A. (2007). Activity of daptomycin alone and in combination with rifampin and gentamicin against *Staphylococcus aureus* assessed by time-kill methodology. *Antimicrobial Agents and Chemotherapy*, *51*, 1504-1507.
- Lee, Y. S., Kang, O. H., Choi, J. G., Oh, Y. C., Chae, H. S., Kim, J. H., Park, H., Sohn, D. H., Wang, Z. T., & Kwon, D. Y. (2008). Synergistic effects of the combination of galangin with gentamicin against methicillin-resistant *Staphylococcus aureus*. *The Journal of Microbiology*, *46*, 283-288.
- Lorain, V. (2005). *Antibiotics in laboratory medicine*. 5th ed. Philadelphia: Lippincott Williams & Wilkins.
- Lowy, F. D. (1998). *Staphylococcus aureus* infections. *Journal of Medical Microbiology*, *339*, 520-532.
- Matsumara, M., Katakura, T., Imanaka, T. & Aiba, S. (1984). Enzymatic and nucleotide sequence studies of a kanamycin-inactivating enzyme encoded by a plasmid from thermophilic bacilli in comparison with that encoded by plasmid pUB110. *Journal of Bacteriology*, *160*, 413-420.
- Murray, P.R., Baron, E., Jorgensen, J.H., Tenover, M.A. & Tenover, R.H. (2003). *Manual of clinical microbiology*. 8th ed. Washington, DC: ASM press.
- Parker, M. T., & Hewitt, J. M. (1970). Methicillin resistance in *Staphylococcus aureus*. *Lancet*, *1*, 800-804.
- Paulsen, I. T., Firth, N. & Skurray, R. A. (1997). Resistance to antimicrobial agents other than β -lactams. In *The Staphylococci in Human Disease* (Crossley, K. B. & Archer, G. L., Eds), pp. 175-212. Churchill Livingstone, New York.
- Pothitirat, W., & Gritsanapan, W. (2008). Quantitative analysis of total mangostin in *Garcinia mangostana* fruit rind. *Journal of Health Research*, *22*, 161-166.
- Sakagami, Y., Inumab, M., Piyasenac, N. P., & Dharmaratne, H. R. (2005). Antibacterial activity of alpha-mangostin against vancomycin resistant Enterococci (VRE) and synergism with antibiotics. *Phytomedicine*, *12*, 203-208.
- Sahin, F., Karaman, I., Gulluce, M., Ogutcu, H., Sengul, M., Adiguzel, A., Ozturk, S., Kotan, R. (2003). Evaluation of antimicrobial activities of *Satureja hortensis* L. *Journal of Ethnopharmacology*, *87*, 61-65.
- Torrungruang, K., Vichienroj, P., & Chutimaworapan, S. (2007). Antibacterial activity of mangosteen pericarp extract against cariogenic *Streptococcus mutans*. *Chulalongkorn University Dental Journal*, *30*, 1-10.
- Tsuji, B. T. & Rybak, M. J. (2005). Short-course gentamicin in combination with daptomycin or vancomycin against *Staphylococcus aureus* in an *in vitro* pharmacodynamic model with simulated endocardial vegetations. *Antimicrobial Agents and Chemotherapy*, *49*, 2735-2745.
- Ubukata, K., Yamashita, N., Gotoh, A. & Konno, M. (1984). Purification and characterization of aminoglycoside-modifying enzymes from *Staphylococcus aureus* and *Staphylococcus epidermidis*. *Antimicrobial Agents and Chemotherapy*, *25*, 754-759.
- Vincent, H. T., Kabbara, S., Vo, G., Schilling, A. N., & Coyle, E. A. (2006). Comparative pharmacodynamics of gentamicin against *Staphylococcus aureus* and *Pseudomonas aeruginosa*. *Antimicrobial Agents and Chemotherapy*, *50*, 2626-2631.

สมรรถนะของข่ายงานระบบประสาทแบบ Multi-Layer Perceptron และ Radial Basis Function
สำหรับแผนภูมิควบคุมคุณภาพหลายตัวแปร
Performance of Neural Networks, Multi-Layer Perceptron and Radial Basis Function,
for Multivariate Quality Control Charts

จตุภัทร เมฆพ่ายัพ และ กิดาการ สายธนู*
ภาควิชาคณิตศาสตร์ คณะวิทยาศาสตร์ มหาวิทยาลัยบูรพา
Jatupat Mekpariyup and Kidakan Saithanu*

Department of Mathematics, Faculty of Science, Burapha University.

บทคัดย่อ

บทความวิชาการนี้ต้องการแสดงให้เห็นถึงการประยุกต์ใช้ข่ายงานระบบประสาทที่มีสถาปัตยกรรมหรือโครงสร้างของข่ายงานระบบประสาทอย่างง่ายแบบ Multi-Layer Perceptron (MLP) และโครงสร้างของข่ายงานระบบประสาทขั้นสูงแบบ Radial Basis Function (RBF) สำหรับการควบคุมกระบวนการเชิงสถิติของการควบคุมคุณภาพหลายตัวแปร โดยโครงสร้างของข่ายงานระบบประสาททั้งสองแบบมีความแข็งแกร่งต่อข้อสมมุติที่ว่าคุณลักษณะเชิงคุณภาพต้องมีการแจกแจงปกติหลายตัวแปรและยังให้การตรวจค้นพบการเปลี่ยนแปลงของค่าเฉลี่ยสำหรับคุณลักษณะเชิงคุณภาพได้ดีไม่ว่าการเปลี่ยนแปลงของค่าเฉลี่ยสำหรับคุณลักษณะเชิงคุณภาพจะมีขนาดเล็กหรือมีขนาดใหญ่ อีกทั้งยังแสดงให้เห็นว่าการใช้ข่ายงานระบบประสาทที่มีโครงสร้างขั้นสูงแบบ RBF นั้นมีสมรรถนะในการตรวจค้นพบกระบวนการผลิตได้ดีในส่วนที่โครงสร้างอย่างง่ายแบบ MLP มีสมรรถนะด้อยกว่าแผนภูมิควบคุมค่ากำลังสองและแผนภูมิควบคุม MEWMA ซึ่งเป็นแผนภูมิควบคุมแบบดั้งเดิม

คำสำคัญ : แผนภูมิควบคุมคุณภาพหลายตัวแปร ข่ายงานระบบประสาทแบบ Multi-Layer Perceptron (MLP) ข่ายงานระบบประสาทแบบ Radial Basis Function (RBF) จำนวนผลิตภัณ์ทีโดยเฉลี่ย

Abstract

This article is purposed to show how to apply Neural Networks, Multi-Layer Perceptron (MLP) which is a simple architecture and Radial Basis Function (RBF) which is an advanced neural network architecture, for Statistical Process Control (SPC) of Multivariate Quality Control. Both types of Neural Network Architecture provides the robustness to normality assumption for quality characteristics and good performance in detecting both small shift and large shift. Furthermore, RBF provides the better performance in detecting in case of MLP cannot outperform the traditional Control Charts, Chi-square Control Chart and Multivariate Exponentially Weighted Moving Average Control Chart.

Keywords : Multivariate Quality Control Charts, Multi-Layer perceptron Neural Network (MLP), Radial Basis Function Neural Network (RBF) Average Run Length (ARL)

*Corresponding author. E-mail: ksaithan@buu.ac.th

บทนำ

การควบคุมกระบวนการเชิงสถิติ (Statistical Process Control : SPC) เป็นกระบวนการควบคุมคุณภาพของกระบวนการผลิตให้เป็นไปตามมาตรฐานที่กำหนดไว้ โดยสามารถควบคุมคุณลักษณะเชิงคุณภาพ (Quality characteristics) ได้ทั้งตัวแปรเชิงปริมาณ (Quantity variable) และตัวแปรเชิงคุณภาพ (Quality variable) ซึ่งปัจจุบันการควบคุมกระบวนการเชิงสถิติได้เข้ามามีบทบาทสำคัญกับงานด้านอุตสาหกรรมเป็นอย่างมาก เนื่องจากกระบวนการผลิตที่อยู่ในการควบคุมนั้นจะให้ผลิตภัณฑ์ (Product) ที่มีคุณภาพตรงตามมาตรฐานที่กำหนดไว้และผลิตภัณฑ์ที่มีคุณภาพก็เป็นปัจจัยสำคัญปัจจัยหนึ่งที่ช่วยสร้างข้อได้เปรียบทางธุรกิจที่มีการแข่งขันค่อนข้างสูงในขณะนี้

แผนภูมิควบคุม (Control charts) ที่ใช้ในการควบคุมคุณภาพของกระบวนการผลิตนั้นมีทั้งแผนภูมิควบคุมสำหรับหนึ่งตัวแปร (Control charts for univariate) และแผนภูมิควบคุมสำหรับหลายตัวแปร (Control charts for multivariate) ในที่นี้จะขอกล่าวถึงแผนภูมิควบคุมสำหรับหลายตัวแปร แผนภูมิควบคุมสำหรับหลายตัวแปรที่เป็นที่นิยมใช้กันมาแต่ดั้งเดิม อาทิเช่น แผนภูมิควบคุมไคกำลังสอง (Chi-square Control Chart) และแผนภูมิควบคุม MEWMA (Multivariate Exponentially Weighted Moving Average Control Chart) แต่เมื่อไม่นานมานี้ นักวิจัยได้จำลองการทำงานของระบบประสาท (Neural systems) เพื่อประยุกต์ใช้กับการควบคุมกระบวนการเชิงสถิติหรือที่เป็นที่รู้จักกันในชื่อ “ข่ายงานระบบประสาท (Neural networks หรือ Neural nets)” และสถาปัตยกรรม (Architecture) หรือโครงสร้างของข่ายงานระบบประสาทนั้นมีหลายแบบที่สามารถนำมาประยุกต์ใช้ควบคุมกระบวนการเชิงสถิติสำหรับคุณลักษณะเชิงคุณภาพหลายตัวแปรได้ บทความวิชาการนี้จะกล่าวถึงโครงสร้างของข่ายงานระบบประสาทแบบ Multi-Layer Perceptron (MLP) และโครงสร้างของข่ายงานระบบประสาทแบบ Radial Basis Function (RBF) โดยจะมุ่งเน้นศึกษาถึงสมรรถนะ (Performance) ของโครงสร้างของข่ายงานระบบประสาททั้งสองแบบว่าเหมาะสมสำหรับการควบคุมกระบวนการผลิตเชิงสถิติหรือไม่ โดยวัดได้จากค่าของจำนวนผลิตภัณฑ์โดยเฉลี่ยที่ทำการตรวจค้นพบได้ก่อนที่จะมีจำนวนผลิตภัณฑ์ของข้อมูลตัวอย่างตกอยู่นอกขีดจำกัดควบคุม (Average Run Length : ARL)

ข่ายงานระบบประสาท (Neural Networks)

ข่ายงานระบบประสาทเป็นแบบจำลอง (Model) ทางคณิตศาสตร์ที่นักวิจัยนิยมใช้ประมวลผลข้อมูล โดยมีพื้นฐาน

มาจากการเลียนแบบการทำงานของระบบประสาทของมนุษย์ สำหรับการวิจัยเชิงสถิติจะประยุกต์ใช้ข่ายงานระบบประสาทสำหรับการควบคุมกระบวนการเชิงสถิติทั้งแบบหนึ่งตัวแปรและแบบหลายตัวแปร Hwang และ Hubele (1993a, 1993b) และ Cheng (1997) เป็นผู้ริเริ่มในการนำข่ายงานระบบประสาทมาประยุกต์ใช้กับการควบคุมกระบวนการเชิงสถิติ สำหรับโครงสร้างหรือสถาปัตยกรรมข่ายงานระบบประสาทรุ่น Lippmann (1987) เสนอไว้ทั้งหมด 6 แบบ ดังนี้ (1) Hopfield (2) Hamming (3) Carpenter/Grossberg Classifier (4) Perceptron (5) MLP และ (6) Kohonen Self-Organizing Feature Maps ต่อมา Hwang และ Hubele (1993a, 1993b) และ Zorriassatine และ Tannock (1998) เสนอโครงสร้างของข่ายงานระบบประสาทซึ่งเป็นที่รู้จักไว้ 6 แบบ ดังนี้ (1) Multi-Layer perceptron (MLP), (2) Radial Basis Function (RBF), (3) Learning Vector Quantization (LVQ), (4) Adaptive Resonance Theory (ART), (5) Auto-Associative NNs และ (6) Kohonen Self-Organizing Maps (SOM) ดังที่ได้กล่าวมาแล้วข้างต้น บทความวิชาการนี้จะศึกษาเฉพาะโครงสร้างของข่ายงานระบบประสาทแบบ MLP และ RBF

โครงสร้างของข่ายงานระบบประสาทแบบ Multi-Layer Perceptron (MLP) และ Radial Basis Function (RBF)

โครงสร้างของข่ายงานระบบประสาทแบบ MLP นั้นเป็นโครงสร้างของข่ายงานระบบประสาทอย่างง่ายจึงเป็นโครงสร้างที่ไม่ยุ่งยากและซับซ้อนต่อผู้ใช้จึงมีผู้วิจัยให้ความสนใจศึกษากันมากทั้งแผนภูมิควบคุมสำหรับหนึ่งตัวแปรและหลายตัวแปร สำหรับโครงสร้างของข่ายงานระบบประสาทแบบ MLP สำหรับแผนภูมิควบคุมหนึ่งตัวแปรมีผู้สนใจศึกษา อาทิเช่น Pugh (1989, 1991), Guo และ Dooley (1992), Smith (1994) และ Stutzle (1995) ส่วนโครงสร้างของข่ายงานระบบประสาทแบบ MLP สำหรับแผนภูมิควบคุมหลายตัวแปร จตุภัทร (2552) ได้เสนอการทำงานของ MLP เอาไว้อย่างชัดเจน และยังมีผู้สนใจศึกษาอีกมาก อาทิเช่น Zorriassatine และ Tannock (1998), กิตการ และ ปรียารัตน์ (2551) เป็นต้น

สำหรับโครงสร้างของข่ายงานระบบประสาทแบบ RBF นั้นเป็นโครงสร้างของข่ายงานระบบประสาทขั้นสูงจึงเป็นโครงสร้างที่ยุ่งยากและซับซ้อนซึ่งเหมาะสำหรับผู้ใช้งานหรือผู้ปฏิบัติการที่มีความรู้หรือความชำนาญเกี่ยวกับข่ายงานระบบประสาท จึงทำให้ยังไม่เป็นที่แพร่หลายมากนักถ้าเทียบกับโครงสร้างของข่ายงานระบบประสาทแบบ MLP แต่ก็ยังมีนักวิจัยให้ความสนใจศึกษา อาทิเช่น จตุภัทร และ กิตการ (2552)

การศึกษาข่ายงานระบบประสาทแบบ MLP และ RBF จะพิจารณาตามหัวข้อดังต่อไปนี้ (1) สถาปัตยกรรม (Architecture) หรือโครงสร้าง (2) ชนิดของการเชื่อมต่อ (Type of connection) (3) ฟังก์ชันการกระตุ้น (Activation function) หรือฟังก์ชันการส่งต่อ (Transfer function) (4) ฟังก์ชันการส่งผ่าน (Combination function) และ (5) ขั้นตอนวิธี (Algorithm)

1. สถาปัตยกรรม (Architecture) หรือโครงสร้าง

การพิจารณาสถาปัตยกรรมหรือโครงสร้างของข่ายงานระบบประสาทนั้นจะแยกพิจารณาตามหัวข้อดังนี้

1.1 จำนวนชั้น (Number of layers)

จำนวนชั้นของโครงสร้างของข่ายงานระบบประสาทได้แก่ (1) ชั้นอินพุต (Input layer) จำนวน 1 ชั้น (2) ชั้นซ่อน (Hidden layer) ต้องมีอย่างน้อย 1 ชั้นซ่อน และ (3) ชั้นเอาต์พุต (Output layer) จำนวน 1 ชั้น

1.2 จำนวนชั้นซ่อน (Number of hidden layers)

Guo และ Dooley (1992) กล่าวว่าหากกำหนดจำนวนชั้นซ่อนที่เหมาะสมสำหรับโครงสร้างของข่ายงานระบบประสาทนั้นไม่มีกฎเกณฑ์แน่นอน แต่ระบุไว้ว่าจะต้องมีชั้นซ่อนอย่างน้อย 1 ชั้นเสมอ

สำหรับโครงสร้างของข่ายงานระบบประสาทแบบ MLP จะมีจำนวนชั้นซ่อนอย่างน้อย 1 ชั้น แต่สำหรับโครงสร้างของข่ายงานระบบประสาทแบบ RBF จะมีจำนวนชั้นซ่อนเพียง 1 ชั้นเท่านั้น

1.3 จำนวนโหนด (Number of nodes)

ในแต่ละชั้นจะประกอบด้วยโหนด (Node) สำหรับโหนดในชั้นอินพุตจะเรียกว่า “โหนดชั้นอินพุต (Input layer node)” ส่วนโหนดในชั้นซ่อนจะเรียกว่า “โหนดชั้นซ่อน (Hidden layer node)” และโหนดที่อยู่ในชั้นเอาต์พุตจะเรียกว่า “โหนดชั้นเอาต์พุต (Output layer node)”

1.3.1 จำนวนโหนดชั้นอินพุต จะมีจำนวนโหนดเท่ากับจำนวนตัวแปรอินพุต (Input variable)

1.3.2 จำนวนโหนดชั้นซ่อน Guo และ Dooley (1992) กล่าวว่าไม่มีกฎเกณฑ์แน่นอนสำหรับการกำหนดจำนวนโหนดชั้นซ่อนซึ่งให้ผลสอดคล้องกับผลการวิจัยของ Hwang และ Hubele (1993b) และ Cheng (1997)

1.3.3 จำนวนโหนดชั้นเอาต์พุต ขึ้นอยู่กับรูปแบบ (Pattern) ของตัวแปรเอาต์พุต (Output variable) ที่ต้องการจะศึกษาซึ่งจะต้องสัมพันธ์กับชนิดของโครงสร้างของข่ายงานระบบประสาท

2. ชนิดของการเชื่อมต่อ (Type of connection)

การเชื่อมต่อระหว่างโหนด แบ่งเป็น 3 ช่วง ได้แก่

2.1 การเชื่อมต่อระหว่างโหนดชั้นอินพุตและโหนดชั้นซ่อน ดังภาพที่ 1 (ก)

2.2 การเชื่อมต่อระหว่างโหนดชั้นซ่อนและโหนดชั้นซ่อน (สำหรับกรณีที่มีชั้นซ่อนมากกว่า 1 ชั้นซ่อน) ดังภาพที่ 1 (ข)

2.3 การเชื่อมต่อระหว่างโหนดชั้นซ่อนและโหนดชั้นเอาต์พุต ดังภาพที่ 1 (ค)

ชนิดของการเชื่อมต่อ แบ่งเป็น 2 ประเภท ได้แก่

1. การเชื่อมต่อแบบโยงไปข้างหน้า (Feed-forward connection) ดังภาพที่ 2 (ก) และ 2 (ข) ซึ่งแบ่งเป็น 2 ประเภทย่อย ได้แก่

1.1 การเชื่อมต่อแบบโยงไปข้างหน้าแบบทั่วถึง (Fully-connected feed-forward connection)

1.2 การเชื่อมต่อแบบโยงไปข้างหน้าบางส่วน (Partial-connected feed-forward connection)

2. การเชื่อมต่อแบบโยงย้อนกลับ (Feedback connection หรือ Recurrent) ดังภาพที่ 2 (ค) เอาต์พุตจากโหนดจะถูกส่งกลับเข้ามายังโหนดเดิมเพื่อใช้เป็นข้อมูลอินพุต โดยกระบวนการจะดำเนินไปเรื่อยๆ จนกว่าจะได้ข้อมูลเอาต์พุต ซึ่งแบ่งเป็น 2 ประเภทย่อย ได้แก่

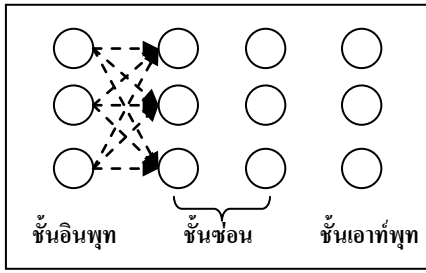
2.1 การเชื่อมต่อแบบโยงย้อนกลับแบบทั่วถึง (Fully-connected feedback connection)

2.2 การเชื่อมต่อแบบโยงย้อนกลับบางส่วน (Partial-connected feedback connection)

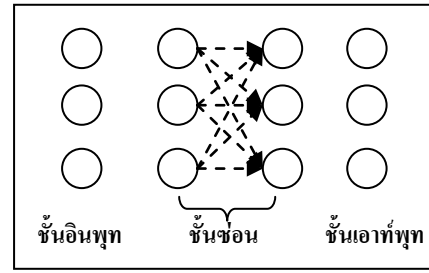
Pugh (1991) และ Chang และ Aw (1996) เสนอว่า ควรจะให้การเชื่อมต่อจากโหนดอินพุตไปยังทุกๆ โหนดของแต่ละชั้นเป็นแบบโยงไปข้างหน้าแบบทั่วถึง ซึ่งจะทำให้ข่ายงานระบบประสาทมีการลู่เข้า (Convergence)

3. ฟังก์ชันการกระตุ้น (Activation function) หรือฟังก์ชันการส่งต่อ (Transfer function)

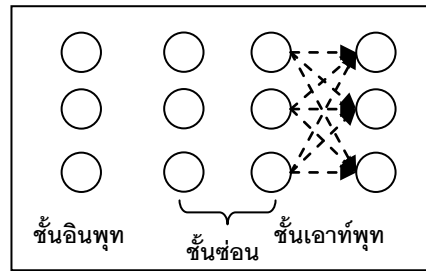
Zorriassatine และ Tannock (1998) ได้แบ่งฟังก์ชันการกระตุ้นหรือฟังก์ชันการส่งต่อเป็น 4 ประเภทได้แก่ (1) ฟังก์ชันเชิงเส้น (Linear function) (2) ฟังก์ชันไม่เชิงเส้น (Non-linear function) (3) ฟังก์ชันสมมาตร (Symmetrical function) และ (4) ฟังก์ชันไม่สมมาตร (Non-symmetrical function) ตัวอย่างของฟังก์ชันการกระตุ้น อาทิเช่น Hard limit, Symmetric hard limit, Sigmoid, Positive linear, Radial basis, Saturating linear, Symmetric saturating linear, Softmax, Hyperbolic tangent, Triangular basis เป็นต้น จากการวิจัย



(ก) ระหว่างโหนดชั้นอินพุตและโหนดชั้นซ่อน

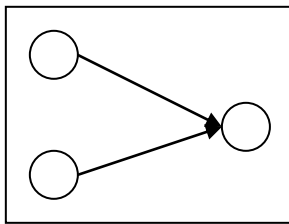


(ข) ระหว่างโหนดชั้นซ่อนและโหนดชั้นซ่อน

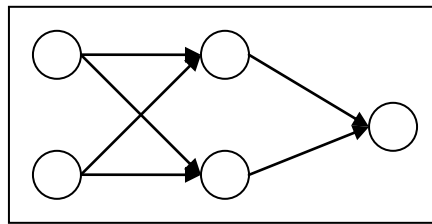


(ค) ระหว่างโหนดชั้นซ่อนและโหนดชั้นเอาต์พุต

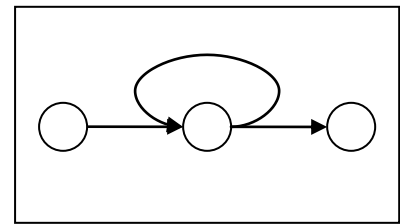
ภาพที่ 1 การเชื่อมต่อระหว่างโหนด



(ก) Single Layer Feed-forward



(ข) Multi-Layer Feed-forward

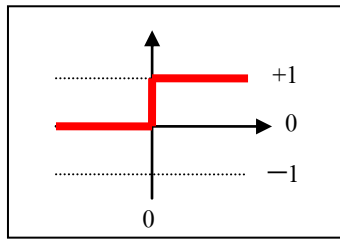


(ค) Multi-Layer Feedback or Recurrent

ภาพที่ 2 ชนิดของการเชื่อมต่อ

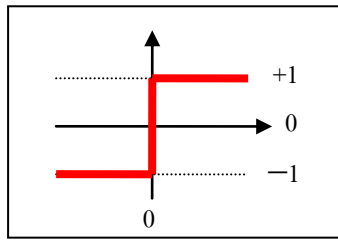
ที่ผ่านมาพบว่าการสร้างแผนภูมิควบคุมโดยใช้ข่ายงานระบบประสาทนั้นส่วนใหญ่จะใช้ฟังก์ชันการกระตุ้นไม่เชิงเส้น ส่วนข้อมูลเอาต์พุต (Output data) ที่ได้นั้นขึ้นอยู่กับการเลือกใช้ฟังก์ชันการกระตุ้น อาทิเช่น ถ้าเลือกใช้ฟังก์ชัน Sigmoid เป็นฟังก์ชันการกระตุ้น ค่าเอาต์พุตที่ได้จะมีค่าอยู่ในช่วงระหว่าง 0 ถึง 1 ดังภาพที่ 3 (ค) หรือถ้าเลือกใช้ฟังก์ชันไฮเพอร์โบลิกแทนเจนต์ (Hyperbolic tangent) เป็นฟังก์ชันการกระตุ้น ค่าเอาต์พุตที่ได้จะมีค่าอยู่ในช่วงระหว่าง -1 ถึง 1 ดังภาพที่ 3 (จ) หรือถ้าเลือกใช้ฟังก์ชัน Radial Basis เป็นฟังก์ชันการกระตุ้น ค่าเอาต์พุตที่ได้จะมีค่าอยู่ระหว่าง 0 ถึง 1 ดังภาพที่ 3 (ฉ) เป็นต้น

Cheng (1997) แสดงให้เห็นว่าเมื่อใช้ฟังก์ชันไฮเพอร์โบลิกแทนเจนต์เป็นฟังก์ชันการกระตุ้นสำหรับโครงสร้างของข่ายงานระบบประสาทแบบ MLP จะมีคุณสมบัติของความไม่แปรเปลี่ยนของทิศทาง (Directional invariance) นั่นคือไม่ว่าค่าเฉลี่ยของคุณลักษณะเชิงคุณภาพ \bar{x}_i ; $i = 1, 2, \dots, p$ ใดๆ เปลี่ยนแปลง หรือค่าเฉลี่ยของคุณลักษณะเชิงคุณภาพทั้ง p คุณลักษณะเปลี่ยนแปลงพร้อมกันจะไม่ทำให้ ARL เปลี่ยนแปลง แต่เมื่อใช้ฟังก์ชันการกระตุ้น Sigmoid กับโครงสร้างของข่ายงานระบบประสาทแบบ MLP Saithanu (2007) แสดงให้เห็นอย่างชัดเจนว่าโครงสร้างของข่ายงานระบบประสาทแบบ MLP จะ



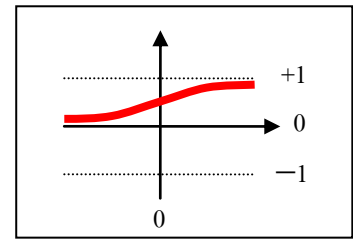
(ก) ฟังก์ชันการกระตุ้น

Hard limit



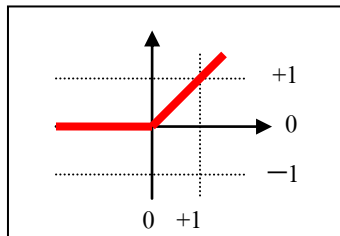
(ข) ฟังก์ชันการกระตุ้น

Symmetric hard limit



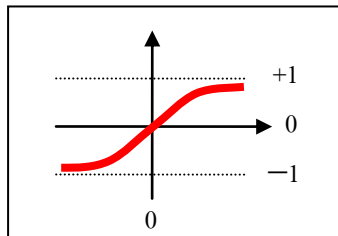
(ค) ฟังก์ชันการกระตุ้น

Sigmoid



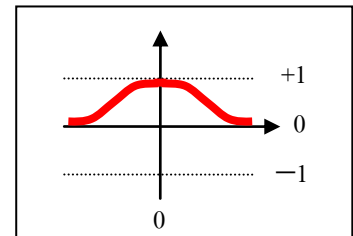
(ง) ฟังก์ชันการกระตุ้น

Positive linear



(จ) ฟังก์ชันการกระตุ้น

ไฮเพอร์โบลิกแทนเจนต์



(ฉ) ฟังก์ชันการกระตุ้น

Radial Basis

ภาพที่ 3 ฟังก์ชันการกระตุ้นหรือฟังก์ชันการส่งต่อ

ไม่มีคุณสมบัติดังกล่าว สำหรับโครงสร้างของข่ายงานระบบประสาทแบบ RBF นั้นจะใช้ฟังก์ชันการกระตุ้น Softmax

4. ฟังก์ชันการส่งผ่าน (Combination function)

ฟังก์ชันการกระตุ้นมีอาร์กิวเมนต์ (Argument) ที่เรียกว่า “ฟังก์ชันการส่งผ่าน” ฟังก์ชันการส่งผ่านที่ใช้ในโครงสร้างของข่ายงานระบบประสาทแบบ MLP นั้นจะใช้การส่งผ่านแบบเชิงเส้น (Linear combination) โดยมีฟังก์ชันการกระตุ้นหรือฟังก์ชันการส่งต่อแบบ Sigmoid หรือไฮเพอร์โบลิกแทนเจนต์ แต่ข่ายงานระบบประสาทแบบ RBF จะใช้การส่งผ่านแบบไม่สมมาตรชนิด Radial Basis โดยมีฟังก์ชันการกระตุ้นหรือฟังก์ชันการส่งต่อแบบ Softmax

5. ขั้นตอนวิธี (Algorithm)

ขั้นตอนวิธีที่ใช้สำหรับโครงสร้างของข่ายงานระบบประสาทมีหลายขั้นตอนวิธี อาทิเช่น (1) ขั้นตอนวิธีแบบ Backpropagation เป็นขั้นตอนวิธีแบบมีหลักการเรียนรู้แบบมีผู้สอน (Supervised learning rule) เนื่องจากทราบทั้งข้อมูลอินพุตและข้อมูลเอาท์พุต ซึ่ง Pugh (1989, 1991), Guo และ Dooley (1992), Smith (1994) และ Stutzle (1995) เสนอว่าข่ายงานระบบประสาทแบบ MLP ควรใช้ขั้นตอนวิธีแบบ Backpropagation (2) ขั้นตอนวิธีแบบ Genetic และ (3) ขั้นตอนวิธีแบบ Levenberg-Marquardt เป็น

ขั้นตอนวิธีที่ใช้ได้ทั้งโครงสร้างของข่ายงานระบบประสาทแบบ MLP และ RBF เนื่องจากจะทำให้ข่ายงานระบบประสาทมีการลู่เข้าเสมอ

การเปรียบเทียบสมรรถนะในการตรวจค้นพบการเปลี่ยนแปลงของกระบวนการผลิต

กิตติการ และ ปรียาร์ตน์ (2551) เสนอโครงสร้างของข่ายงานระบบประสาทแบบ MLP ไว้ 4 แบบได้แก่ MLP2(3) MLP2(5) MLP6(3) และ MLP6(5) ต่อมาจตุภัทร และกิตติการ (2552) เสนอโครงสร้างของข่ายงานระบบประสาทแบบ RBF ไว้ 4 แบบเช่นกัน ได้แก่ RBF2(3) RBF2(5) RBF6(3) และ RBF6(5) ทั้ง 2 งานวิจัยข้างต้นนี้มุ่งเน้นศึกษาสมรรถนะในการตรวจค้นพบการเปลี่ยนแปลงของกระบวนการผลิตโดยพิจารณาจาก

1. ค่า ARL เมื่อกระบวนการผลิตออกนอกการควบคุม เมื่อกำหนดเมทริกซ์ความแปรปรวนร่วม (Covariance matrix) ระหว่างคุณลักษณะเชิงคุณภาพ ทั้งที่มีค่าน้อยและมีค่ามากซึ่งเขียนแทนด้วยสัญลักษณ์ Σ

2. ความไว (sensitive) ของการตรวจค้นพบการเปลี่ยนแปลงกระบวนการผลิต (Detecting process shift) เมื่อค่าเฉลี่ยของคุณลักษณะเชิงคุณภาพมีการเปลี่ยนแปลง Montgomery (2005) เสนอว่าควรพิจารณาจากขนาดการเปลี่ยนแปลง

(Shift size) ที่เรียกว่า “พารามิเตอร์ไม่ศูนย์กลาง (Noncentrality parameter)” ซึ่งเขียนแทนด้วยสัญลักษณ์ δ งานวิจัยของกิตาการ และ ปรียาร์ตน์ (2551) และจตุภัทร และกิตาการ (2552) แสดงให้เห็นสมรรถนะของโครงสร้างข่ายงานระบบประสาทแบบ MLP และ RBF โดยพิจารณาขนาดการเปลี่ยนแปลง δ ดังนี้ (1) ถ้า $\delta = 0$ หมายความว่า กระบวนการผลิตอยู่ในการควบคุม (2) ถ้า $\delta = 1$ หมายความว่า กระบวนการผลิตออกนอกการควบคุม โดยมีการเปลี่ยนแปลงของค่าเฉลี่ยสำหรับคุณลักษณะเชิงคุณภาพด้วยขนาดเล็ก (small shift) และ (3) ถ้า $\delta = 3$ หมายความว่า กระบวนการผลิตออกนอกการควบคุม โดยมีการเปลี่ยนแปลงของค่าเฉลี่ยสำหรับคุณลักษณะเชิงคุณภาพด้วยขนาดใหญ่ (large shift)

เมื่อกำหนดเมทริกซ์ความแปรปรวนร่วมระหว่างคุณลักษณะเชิงคุณภาพให้มีค่าน้อยและมาก และกำหนดขนาดการเปลี่ยนแปลงของค่าเฉลี่ยสำหรับคุณลักษณะเชิงคุณภาพให้มีขนาดเล็ก ($\delta = 1$) และขนาดใหญ่ ($\delta = 3$) โดยพิจารณาค่า ARL เมื่อกระบวนการผลิตออกนอกการควบคุม จากงานวิจัยของจตุภัทร และกิตาการ (2552) ได้ข้อสรุปดังนี้

1. สำหรับโครงสร้างของข่ายงานระบบประสาทที่ประกอบไปด้วยจำนวนโหนดชั้นอินพุต 2 โหนดและจำนวนโหนดชั้นฮอน 3 โหนด (ดังภาพที่ 4)

พบว่าโครงสร้างของข่ายงานระบบประสาทแบบ RBF มีสมรรถนะในการตรวจค้นพบการเปลี่ยนแปลงของกระบวนการผลิตดีกว่าโครงสร้างของข่ายงานระบบประสาทแบบ MLP ทุกกรณี

2. สำหรับโครงสร้างของข่ายงานระบบประสาทที่ประกอบไปด้วยจำนวนโหนดชั้นอินพุต 2 โหนดและจำนวนโหนดชั้นฮอน 5 โหนด (ดังภาพที่ 5)

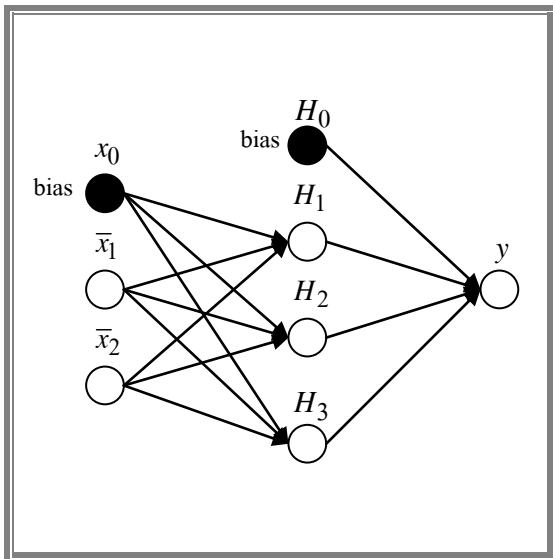
พบว่าโครงสร้างของข่ายงานระบบประสาทแบบ MLP มีสมรรถนะในการตรวจค้นพบการเปลี่ยนแปลงของกระบวนการผลิตดีกว่าโครงสร้างของข่ายงานระบบประสาทแบบ RBF ทุกกรณี

3. สำหรับโครงสร้างของข่ายงานระบบประสาทที่ประกอบไปด้วยจำนวนโหนดชั้นอินพุต 6 โหนดและจำนวนโหนดชั้นฮอน 3 โหนด (ดังภาพที่ 6)

พบว่าโครงสร้างของข่ายงานระบบประสาทแบบ MLP มีสมรรถนะในการตรวจค้นพบการเปลี่ยนแปลงของกระบวนการผลิตดีกว่าโครงสร้างของข่ายงานระบบประสาทแบบ RBF ทุกกรณี

4. สำหรับโครงสร้างของข่ายงานระบบประสาทที่ประกอบไปด้วยจำนวนโหนดชั้นอินพุต 6 โหนดและจำนวนโหนดชั้นฮอน 5 โหนด (ดังภาพที่ 7)

พบว่าโครงสร้างของข่ายงานระบบประสาทแบบ MLP มีสมรรถนะในการตรวจค้นพบการเปลี่ยนแปลงของกระบวนการผลิตดีกว่าโครงสร้างของข่ายงานระบบประสาทแบบ RBF เกือบทุกกรณี ยกเว้นเพียงกรณีเดียวคือกรณีที่เมทริกซ์ความแปรปรวนร่วมมีค่าน้อยและการเปลี่ยนแปลงของค่าเฉลี่ยสำหรับคุณลักษณะเชิงคุณภาพมีขนาดเล็ก สำหรับกรณีนี้โครงสร้างของข่ายงานระบบประสาทแบบ RBF จะมีสมรรถนะในการตรวจค้นพบการเปลี่ยนแปลงของกระบวนการผลิตดีกว่า



(ก) ฟังก์ชันการกระตุ้นของโครงสร้างข่ายงานระบบประสาทแบบ MLP2(3)

$$H_1 = 1/[1 + \exp(-\{w_{01} + w_{11}\bar{x}_1 + w_{21}\bar{x}_2\})]$$

$$H_2 = 1/[1 + \exp(-\{w_{02} + w_{12}\bar{x}_1 + w_{22}\bar{x}_2\})]$$

$$H_3 = 1/[1 + \exp(-\{w_{03} + w_{13}\bar{x}_1 + w_{23}\bar{x}_2\})]$$

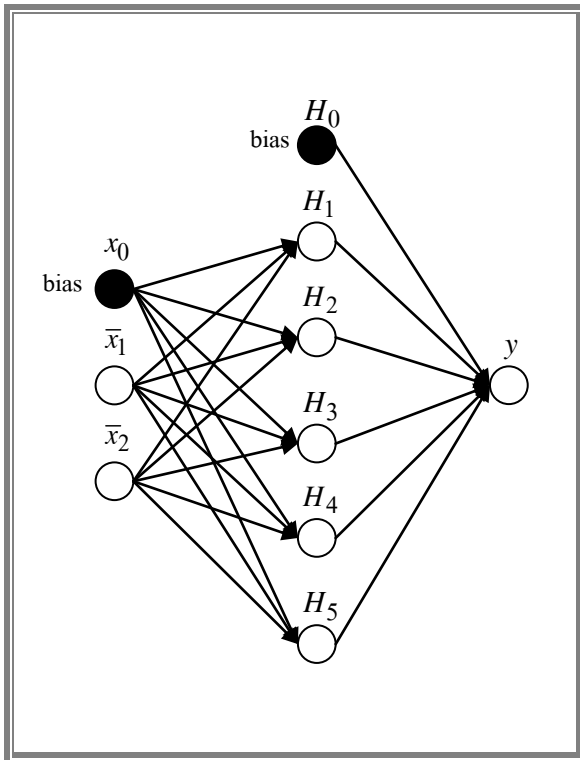
(ข) ฟังก์ชันการกระตุ้นของโครงสร้างข่ายงานระบบประสาทแบบ RBF2(3)

$$H_1 = \exp(-w_{01}^2[(\bar{x}_1 - w_{11})^2 + (\bar{x}_2 - w_{21})^2])$$

$$H_2 = \exp(-w_{02}^2[(\bar{x}_1 - w_{12})^2 + (\bar{x}_2 - w_{22})^2])$$

$$H_3 = \exp(-w_{03}^2[(\bar{x}_1 - w_{13})^2 + (\bar{x}_2 - w_{23})^2])$$

ภาพที่ 4 โครงสร้างของข่ายงานระบบประสาทที่มีจำนวนชั้นอินพุต 2 โหนดและมีจำนวนชั้นฮอน 3 โหนดที่มีฟังก์ชันการส่งผ่านเป็น



(ก) ฟังก์ชันการกระตุ้นของโครงสร้างข่ายงานระบบประสาทแบบ MLP2(5)

$$H_1 = 1/[1 + \exp(-\{w_{01} + w_{11}\bar{x}_1 + w_{21}\bar{x}_2\})]$$

$$H_2 = 1/[1 + \exp(-\{w_{02} + w_{12}\bar{x}_1 + w_{22}\bar{x}_2\})]$$

$$H_3 = 1/[1 + \exp(-\{w_{03} + w_{13}\bar{x}_1 + w_{23}\bar{x}_2\})]$$

$$H_4 = 1/[1 + \exp(-\{w_{04} + w_{14}\bar{x}_1 + w_{24}\bar{x}_2\})]$$

$$H_5 = 1/[1 + \exp(-\{w_{05} + w_{15}\bar{x}_1 + w_{25}\bar{x}_2\})]$$

(ข) ฟังก์ชันการกระตุ้นของโครงสร้างข่ายงานระบบประสาทแบบ RBF2(5)

$$H_1 = \exp(-w_{01}^2[(\bar{x}_1 - w_{11})^2 + (\bar{x}_2 - w_{21})^2])$$

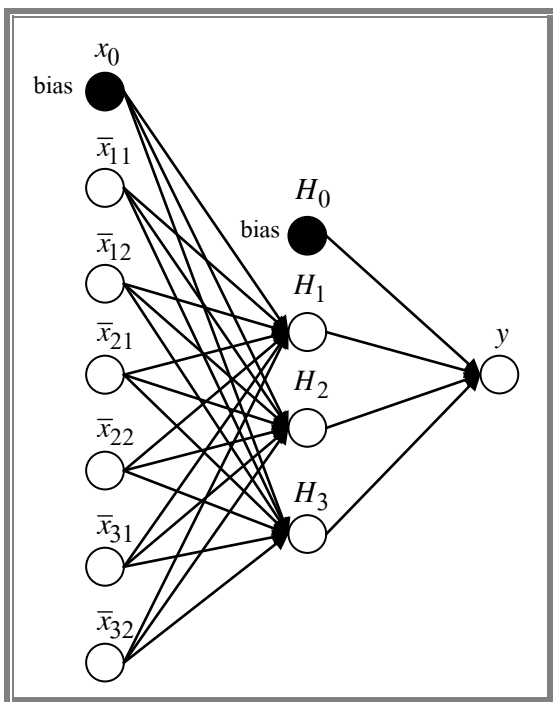
$$H_2 = \exp(-w_{02}^2[(\bar{x}_1 - w_{12})^2 + (\bar{x}_2 - w_{22})^2])$$

$$H_3 = \exp(-w_{03}^2[(\bar{x}_1 - w_{13})^2 + (\bar{x}_2 - w_{23})^2])$$

$$H_4 = \exp(-w_{04}^2[(\bar{x}_1 - w_{14})^2 + (\bar{x}_2 - w_{24})^2])$$

$$H_5 = \exp(-w_{05}^2[(\bar{x}_1 - w_{15})^2 + (\bar{x}_2 - w_{25})^2])$$

ภาพที่ 5 โครงสร้างของข่ายงานระบบประสาทที่มีจำนวนชั้นอินพุต 2 โหนดและมีจำนวนชั้นฮอน 5 โหนดที่มีฟังก์ชันการส่งผ่านเป็น



(ก) ฟังก์ชันการกระตุ้นของโครงสร้างข่ายงานระบบประสาทแบบ MLP6(3)

$$H_1 = 1/[1 + \exp(-\{w_{01} + w_{11}\bar{x}_1 + w_{21}\bar{x}_2 + \dots + w_{61}\bar{x}_6\})]$$

$$H_2 = 1/[1 + \exp(-\{w_{02} + w_{12}\bar{x}_1 + w_{22}\bar{x}_2 + \dots + w_{62}\bar{x}_6\})]$$

$$H_3 = 1/[1 + \exp(-\{w_{03} + w_{13}\bar{x}_1 + w_{23}\bar{x}_2 + \dots + w_{63}\bar{x}_6\})]$$

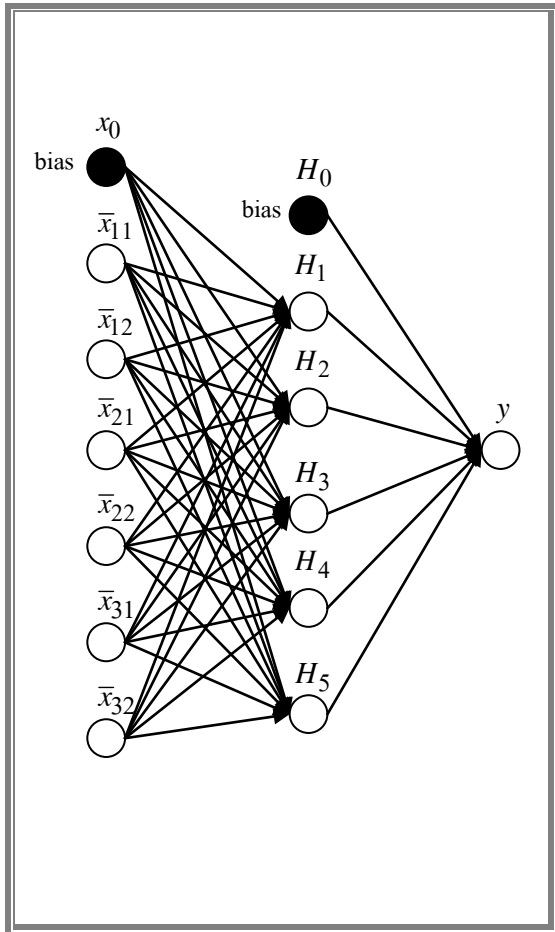
(ข) ฟังก์ชันการกระตุ้นของโครงสร้างข่ายงานระบบประสาทแบบ RBF6(3)

$$H_1 = \exp(-w_{01}^2[(\bar{x}_1 - w_{11})^2 + (\bar{x}_2 - w_{21})^2 + \dots + (\bar{x}_6 - w_{61})^2])$$

$$H_2 = \exp(-w_{02}^2[(\bar{x}_1 - w_{12})^2 + (\bar{x}_2 - w_{22})^2 + \dots + (\bar{x}_6 - w_{62})^2])$$

$$H_3 = \exp(-w_{03}^2[(\bar{x}_1 - w_{13})^2 + (\bar{x}_2 - w_{23})^2 + \dots + (\bar{x}_6 - w_{63})^2])$$

ภาพที่ 6 โครงสร้างของข่ายงานระบบประสาทที่มีจำนวนชั้นอินพุต 6 โหนดและมีจำนวนชั้นฮอน 3 โหนดที่มีฟังก์ชันการส่งผ่านเป็น



(ก) ฟังก์ชันการกระตุ้นของโครงสร้างข่ายงานระบบประสาทแบบ MLP6(5)

$$H_1 = 1/[1 + \exp(-\{w_{01} + w_{11}\bar{x}_1 + w_{21}\bar{x}_2 + \dots + w_{61}\bar{x}_6\})]$$

$$H_2 = 1/[1 + \exp(-\{w_{02} + w_{12}\bar{x}_1 + w_{22}\bar{x}_2 + \dots + w_{62}\bar{x}_6\})]$$

$$H_3 = 1/[1 + \exp(-\{w_{03} + w_{13}\bar{x}_1 + w_{23}\bar{x}_2 + \dots + w_{63}\bar{x}_6\})]$$

$$H_4 = 1/[1 + \exp(-\{w_{04} + w_{14}\bar{x}_1 + w_{24}\bar{x}_2 + \dots + w_{64}\bar{x}_6\})]$$

$$H_5 = 1/[1 + \exp(-\{w_{05} + w_{15}\bar{x}_1 + w_{25}\bar{x}_2 + \dots + w_{65}\bar{x}_6\})]$$

(ข) ฟังก์ชันการกระตุ้นของโครงสร้างข่ายงานระบบประสาทแบบ RBF6(5)

$$H_1 = \exp(-w_{01}^2[(\bar{x}_1 - w_{11})^2 + (\bar{x}_2 - w_{21})^2 + \dots + (\bar{x}_6 - w_{61})^2])$$

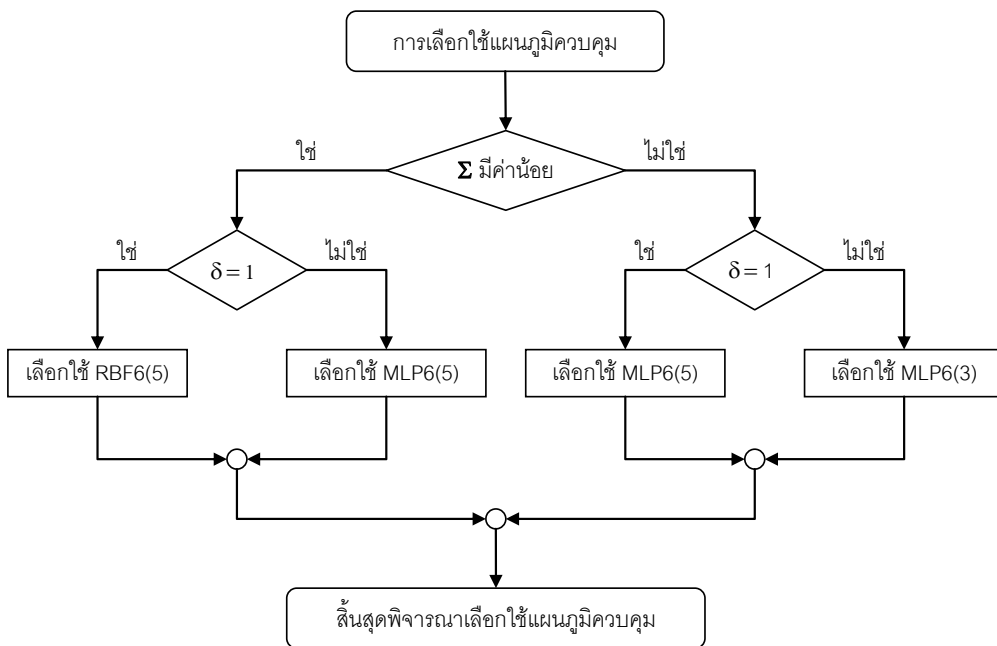
$$H_2 = \exp(-w_{02}^2[(\bar{x}_1 - w_{12})^2 + (\bar{x}_2 - w_{22})^2 + \dots + (\bar{x}_6 - w_{62})^2])$$

$$H_3 = \exp(-w_{03}^2[(\bar{x}_1 - w_{13})^2 + (\bar{x}_2 - w_{23})^2 + \dots + (\bar{x}_6 - w_{63})^2])$$

$$H_4 = \exp(-w_{04}^2[(\bar{x}_1 - w_{14})^2 + (\bar{x}_2 - w_{24})^2 + \dots + (\bar{x}_6 - w_{64})^2])$$

$$H_5 = \exp(-w_{05}^2[(\bar{x}_1 - w_{15})^2 + (\bar{x}_2 - w_{25})^2 + \dots + (\bar{x}_6 - w_{65})^2])$$

ภาพที่ 7 โครงสร้างของข่ายงานระบบประสาทที่มีจำนวนชั้นอินพุต 6 โหนดและมีจำนวนชั้นฮอน 5 โหนดที่มีฟังก์ชันการส่งผ่านเป็น



ภาพที่ 8 การเลือกใช้แผนภูมิควบคุม

ตารางที่ 1 การเปรียบเทียบโครงสร้างของข่ายงานระบบประสาทแบบ MLP และ RBF

องค์ประกอบ	โครงสร้างของข่ายงานระบบประสาท	
	MLP	RBF
1. สถาปัตยกรรมหรือโครงสร้าง		
1.1 จำนวนชั้น		
(1) จำนวนชั้นอินพุต	1 ชั้น	1 ชั้น
(2) จำนวนชั้นซ่อน	อย่างน้อย 1 ชั้น	1 ชั้น
(3) จำนวนชั้นเอาต์พุต	1 ชั้น	1 ชั้น
1.2 จำนวนโหนด		
(1) จำนวนโหนดชั้นอินพุต	เท่ากับจำนวนตัวแปรอินพุต (2 โหนด และ 6 โหนด)	
(2) จำนวนโหนดชั้นซ่อน	3 โหนด และ 5 โหนด	
(3) จำนวนโหนดชั้นเอาต์พุต	ขึ้นอยู่กับรูปแบบของตัวแปรเอาต์พุต (1 โหนด)	
3. ชนิดของการเชื่อมต่อ	แบบโยงไปข้างหน้าแบบทั่วถึง	
4. ฟังก์ชันการกระตุ้นหรือฟังก์ชันการการส่งต่อ	ฟังก์ชันแบบ Sigmoid หรือฟังก์ชันไฮเพอร์โบลิกแทนเจนต์	ฟังก์ชันแบบ Softmax
5. ฟังก์ชันการส่งผ่าน	การส่งผ่านเชิงเส้น	การส่งผ่านแบบไม่สมมาตรชนิด Radial Basis
6. ขั้นตอนวิธี	Levenberg-Marquardt	Levenberg-Marquardt

สรุป

การสร้างโครงสร้างของข่ายงานระบบประสาทแบบ MLP และ RBF สำหรับประยุกต์ใช้ควบคุมกระบวนการเชิงสถิติสำหรับคุณลักษณะเชิงคุณภาพหลายตัวแปรนั้น อาจพอสรุปได้ดังตารางที่ 1

การเลือกใช้โครงสร้างของข่ายงานระบบประสาทแบบ MLP และ RBF สำหรับการตรวจค้นพบการเปลี่ยนแปลงของกระบวนการผลิตตามปัจจัยของเมทริกซ์ความแปรปรวนร่วมระหว่างคุณลักษณะเชิงคุณภาพและขนาดการเปลี่ยนแปลงของค่าเฉลี่ยสำหรับคุณลักษณะเชิงคุณภาพ อาจพอสรุปได้ดังภาพที่ 8

ถ้าใช้ข่ายงานระบบประสาทสำหรับแผนภูมิควบคุมคุณภาพหลายตัวแปรแล้วจะมีสมรรถนะที่ดีกว่าแผนภูมิควบคุมแบบดั้งเดิม นั่นคือแผนภูมิควบคุมโคกำลังและแผนภูมิควบคุม MEWMA ในทุกกรณี โดย RBF(5) มีสมรรถนะดีกว่าแผนภูมิควบคุม MEWMA สำหรับกรณีที่ Σ มีค่าน้อยและ $\delta = 1$ ซึ่ง MLP มีสมรรถนะที่ดีกว่าดังแสดงใน จตุภัทร และ กิตาการ (2552) และจตุภัทร (2552)

ข้อเสนอแนะ

ควรประยุกต์ใช้ข่ายงานระบบประสาทสำหรับแผนภูมิควบคุมคุณภาพหลายตัวแปรสำหรับกรณีที่ค่าเฉลี่ยของกระบวนการมีการเปลี่ยนแปลงเป็นลักษณะอื่น อาทิเช่น เป็นแบบรูป (pattern) เป็นแนวโน้ม (trend) หรืออาจประยุกต์ใช้กับปัญหาการจำแนก (classification problem) เป็นต้น

เอกสารอ้างอิง

- กิตาการ สายธนู และ ปรียารัตน์ นาคสุวรรณ. (2551). การหาค่าประมาณของขีดจำกัดควบคุมของวิธีข่ายงานระบบประสาทสำหรับการควบคุมคุณภาพแบบหลายตัวแปร. *วารสารวิทยาศาสตร์บูรพา ฉบับที่ 2 ปีที่ 13 กรกฎาคม 2551 - ธันวาคม 2551*, 57-65.
- จตุภัทร เมฆพ่ายพ (2552). แผนภูมิควบคุมคุณภาพหลายตัวแปรด้วยข่ายงานระบบประสาทสำหรับการควบคุมกระบวนการเชิงสถิติ. *วารสารวิทยาศาสตร์ มข. ฉบับที่ 4 ปีที่ 37 กรกฎาคม 2552 - ธันวาคม 2552*, 386-397.

- จตุภัทร เมฆพ่ายพ์ และ กิตาการ สายธนู (2552). การประยุกต์ใช้
 ข่ายงานระบบประสาทสำหรับแผนภูมิควบคุมคุณภาพแบบ
 หลายตัวแปร. *วารสารวิทยาศาสตร์บูรพา ฉบับที่ 2 ปีที่ 14*
กรกฎาคม 2552 - ธันวาคม 2552. 99-110.
- Chang, S. I., & Aw, C. A. (1996). A Neural Fuzzy Control Chart
 for Detecting and Classifying Process Mean Shifts. *International Journal of Production Research*, 34,
 2265-2278.
- Cheng, C. S. (1997). A Neural Network Approach for the
 Analysis of Control Chart Patterns. *International Journal of Production Research*, 35, 667-697.
- Guo, Y., & Dooley, K. J. (1992). Identification of Change
 Structure in Statistical Process Control. *International Journal of Production Research*, 30,
 1655-1669.
- Hwang, H. B. & Hubele, N. F. (1993). Back-propagation
 Pattern Recognizers for \bar{x} Control Charts: Method-
 ology and Performance. *Computers Industrial Engineering*, 24, pp. 219-235.
- Hwang, H. B. & Hubele, N. F. (1993). Bar \bar{x} control chart
 pattern identification through efficient off-line
 neural network training. *IIE Transactions*, 25, 27-38.
- Limppmann, P. R. (1987). An Introduction to Computing
 with Neural Nets. *IEEE ASSP Magazine*, 4, pp. 4-22.
- Montgomery, Douglas C. (2005). *Introduction to Statistical Quality Control, 5th Edition*. New York: John Wiley & Sons.
- Pugh, G. A. (1989). Synthetic Neural Networks for Process
 Control. *Computers and Industrial Engineering*. 17,
 24-26.
- Pugh, G. A. (1991). A Comparison of Neural Networks to
 SPC Charts. *Computers and Industrial Engineering*,
 21, 253-255.
- Saithanu, K. (2007). Neural Networks: Construction and
 Evaluation, in *Encyclopedia of Statistics in Quality and Reliability*. 1234-1239. John Wiley & Sons Ltd,
 Chichester, UK: John Wiley & Sons Ltd.
- Smith, A. E. (1994). \bar{X} and R Control Chart Interpretation
 Using Neural Computing. *International Journal of Production Research*, 32, 309-320.
- Stutzle, T. (1995). A Neural Network Approach to Quality
 Control Charts from Natural to Artificial Neural
 Computation. In *Proceeding of the International Workshop on Artificial Neural Networks*, Malaga-
 Torrmolinos, Spain, (pp.1135-1141).
- Zorriassatine, F., & Tannock, J. D. T. (1998). A Review of
 Neural Networks for Statistical Process Control. *Journal of Intelligent Manufacturing*, 9, 209-224.

บททบทวนการออกแบบเชิงไลปูนอฟโดยใช้ฟังก์ชันควบคุมเชิงไลปูนอฟ
Review of Lyapunov Based Design via Control Lyapunov Functions

ชุตินันท์ ภัคดิบุญญ*

ภาควิชาคณิตศาสตร์ คณะวิทยาศาสตร์ประยุกต์ มหาวิทยาลัยเทคโนโลยีพระจอมเกล้าพระนครเหนือ

Chutipphon Pukdeboon*

Department of Mathematics, Faculty of Applied Science, King Mongkut's University of Technology North Bangkok

บทคัดย่อ

ในบทความนี้ การสร้างฟังก์ชันควบคุมเชิงไลปูนอฟได้ถูกทบทวน วิธีการของฟังก์ชันควบคุมเชิงไลปูนอฟถูกอ้างถึงเพื่อแก้ปัญหาการควบคุมแบบเหมาะสมที่สุดชนิดที่เวลาไม่จำกัด เราอธิบายสมการเชิงอนุพันธ์ย่อยของแฮมิลตัน ยาโคบี เบลแมนและพบว่าคำตอบที่เหมาะสมที่สุดแบบย่อยของสมการนี้สามารถหาได้จากการใช้ฟังก์ชันควบคุมเชิงไลปูนอฟ ต่อมาการประยุกต์ของสูตรของแพคเพื่อออกแบบตัวควบคุมแบบเหมาะสมที่สุดได้ถูกรวบรวมและสรุป บทความนี้อธิบายการสร้างฟังก์ชันควบคุมเชิงไลปูนอฟสำหรับระบบควบคุมที่ไม่เป็นเชิงเส้นซึ่งประกอบไปด้วย ระบบที่สามารถถูกทำให้เป็นเชิงเส้นแบบป้อนกลับและระบบที่มีอินทิเกรเตอร์แบคสเตปป์ นอกจากนี้ตัวอย่างเพื่อประกอบคำอธิบายการออกแบบเชิงไลปูนอฟโดยใช้ฟังก์ชันควบคุมเชิงไลปูนอฟได้ถูกนำเสนอ

คำสำคัญ : ฟังก์ชันควบคุมเชิงไลปูนอฟ สูตรของซองแทค การทำให้เป็นเชิงเส้นแบบป้อนกลับ อินทิเกรเตอร์แบคสเตปป์

Abstract

In this paper, the construction of control Lyapunov functions (CLFs) for nonlinear systems is reviewed. A CLF approach is restated to solve the infinite-time optimal control problem. The Hamilton–Jacobi–Bellman (HJB) partial differential equation is illustrated and suboptimal solutions can be found by the use of CLFs. Further, the application of the generalization of Sontag’s formula to design an optimal feedback stabilizing controller is briefly summarized. The construction of CLFs for several special classes of nonlinear systems including feedback linearization and integrator backstepping is explained with simplified expressions of developed theories. Examples are also presented to illustrate Lyapunov-based controller design techniques using a CLF.

Keywords : Control Lyapunov function (CLF), Sontag’s formula, feedback linearization, integrator backstepping

*E-mail: cpd@kmutnb.ac.th

Introduction

Lyapunov functions are used to show a sufficient condition for proving the stability of a dynamical system (for a reference see (Khalil, 1992 ; Hahn, 1967 ; Rouche *et al.*, 1977)). This energy-like function must always be a positive-definite function of the state, and it must be decreasing along trajectories of the state. Unfortunately, the Lyapunov functions prove stability for closed-loop systems, where the control law is already known. To harness the power of this theory for the purpose of control synthesis, Lyapunov's second method was extended to dynamical systems with inputs by Artstein (Artstein, 1983) and Sontag (Sontag, 1983) with the introduction of control Lyapunov functions (CLFs). Similar to Lyapunov stability theorem the existence of a CFL is also a necessary and sufficient condition for the stabilizability of nonlinear systems with control inputs. For nonlinear optimal control problem, it has shown that a standard dynamic programming approach reduces the problem to the HJB partial differential equation. In other word, to solve optimal control problems is equivalent to solve the HJB equation. However, it is very complicate to solve the HJB equation for nonlinear dynamic systems. Hence suboptimal solutions obtained by using the CLF concept are considered. In contrast with traditional Lyapunov functions, a CLF can be defined for a system with inputs without specifying a particular feedback function. Sontag (Sontag, 1989) has shown that, if a CLF is known for a nonlinear system, then the CLF and the system equations can be used to find a controller that makes the system asymptotically stable. Freeman and Kokotovi (Freeman & Kokotovi, 1996) have shown that every CLF solves the HJB equation associated with a meaningful cost. In other words, if a CLF exists for a nonlinear system, we can compute the resulting optimal control law without solving the HJB equation.

Finding a CLF for a general nonlinear system is an open problem. For several special classes of nonlinear systems, CLFs can be founded. Feedback linearization (Lin & Sontag,1991; Malisoff & Sontag, 1997) can be used

to construct a CLF when the system dynamics can be transformed into a linear structure. Likewise, integrator backstepping (Sepulchre *et al.*, 1997; Krstic *et al.*, 1975; Krstic & Li, 1998) will generate a CLF whenever the system can be put into a cascade structure. In this paper we summarize the application of a CLF to design an optimal feedback stabilizing controller and review the construction of CLFs for special classes of nonlinear systems. Furthermore, we give discussions of subsequent researches involving CLFs that may be performed in the future.

Problem Formation

Consider the following optimal control problem

$$\min_{u(\cdot)} \int_0^{\infty} [q(x) + u^2] dt \quad (1)$$

$$s.t. \frac{dx}{dt} = f(x) + g(x)u \quad (2)$$

where $x(t) \in \mathfrak{R}^n$ denotes the state, $u(t) \in \mathfrak{R}$ represents the control and $f(x) \in \mathfrak{R}^n$ is a sufficiently smooth function of the state vector $x(t)$, and $x(0)$ is the initial condition of the process. $q(x)$ is continuously differentiable, symmetric positive definite and (f, q) is zero-detectable.

The aim is to determine the control signal u to solve the system (2) and minimize the performance index (1). Next the procedure to derive the HJB equation presented by Primbs and his co-researchers (Primbs *et al.*, 1999) is restated.

Using a standard dynamic programming argument, the HJB equation for the above problem can be written as

$$V_x^* f - \frac{1}{4} V_x^* g g^T V_x^{*T} + q(x) = 0 \quad (3)$$

where $V_x^* = \left[\frac{\partial V^*}{\partial x_1}, \dots, \frac{\partial V^*}{\partial x_n} \right]$. V^* is the minimum cost

to go from the current state $x(t)$, *i.e.*,

$$V^*(x(t)) = \inf_{u(\cdot)} \int_t^\infty [q(x(\tau)) + u^2(\tau)] d\tau \quad (4)$$

If a continuously differentiable, positive solution to the HJB equation (3) exists, then the optimal control input is given by

$$u^* = -\frac{1}{2} V_x^* g(x) \quad (5)$$

At this stage, the HJB equation (3) solves the optimal control problem for every initial condition all at once. Hence, it is a global approach in this sense and offers a closed-loop feedback formula for the optimal controller. However, the HJB equation is extremely difficult to solve analytically. We alternatively seek a suboptimal solution. Thus, the basic concepts of a CLF (Primbs *et al.*, 1999) to obtain a suboptimal solution are also given below.

Definition 1 (Primbs *et al.*, 1999): A continuously differentiable positive definite function $V(x)$ is called a Control Lyapunov Function (CLF) for system (2) if for $x \in \mathfrak{R}^n$ and $x \neq 0$, $V_x g = 0 \Rightarrow V_x f < 0$. We assume that $V(x)$ is a CLF for the system (2) and $V(x)$ possesses the same shape level curves as those of the value function V^* . This implies a relationship between the gradients of V^* and V . In such a circumstance, there exists a scalar function $\lambda(x)$ such that $V_x^* = \lambda(x) V_x$ for every x . Thus the optimal controller (5) can also be rewritten as

$$u^* = -\frac{1}{2} V_x^* g(x) = -\frac{\lambda(x)}{2} V_x g(x). \quad (6)$$

In addition, substituting $V_x^* = \lambda(x) V_x$ into the HJB equation (3), $\lambda(x)$ can be determined by

$$\lambda(x) V_x f - \frac{1}{4} (\lambda(x))^2 V_x g g^T V_x^T + q(x) = 0. \quad (7)$$

Solving (7) and taking only the positive square root, yields

$$\lambda(x) = 2 \left(\frac{V_x f + \sqrt{(V_x f)^2 + q(x) [V_x g g^T V_x^T]}}{V_x g g^T V_x^T} \right). \quad (8)$$

Substituting (8) into (6), then the controller u^* becomes

$$u^* = \begin{cases} - \left(\frac{V_x f + \sqrt{(V_x f)^2 + q(x) [V_x g g^T V_x^T]}}{V_x g g^T V_x^T} \right) g^T V_x^T, & V_x g \neq 0 \\ 0, & V_x g = 0 \end{cases} \quad (9)$$

which is known as Sontag's formula (Sontag, 1989).

Note that u^* is bounded when $V_x g$ goes to zero. Under this control input it can be found that

$$\dot{V} = V_x (f(x) + g(x)u) \quad (10)$$

Substituting u^* into (10), we obtain

$$\dot{V} = -\sqrt{(V_x f)^2 + q(x) [V_x g g^T V_x^T]}. \quad (11)$$

Obviously, $\dot{V} < 0$ is ensured and one can conclude that this controller yields global asymptotic stability.

Construction of CLFs for a linear system

In this section we review a method to construct a CLF for a linear system

$$\dot{x} = Ax + Bu \quad (12)$$

where $x \in \mathfrak{R}^n$ denotes the state, $u \in \mathfrak{R}$ represents the control, $A \in \mathfrak{R}^{n \times n}$ is a constant matrix and $B \in \mathfrak{R}^n$ denotes a constant vector.

Freeman and Primbs (Freeman and Primbs, 1996) showed that a CLF for the system (12) is

$$V = x^T P x \quad (13)$$

where $P = P^T > 0$ is the unique solution of the Riccati equation

$$PA + A^T P + Q - PBB^T P = 0 \quad (14)$$

with any given $Q = Q^T > 0$ and $q(x) = x^T Q x$. It implies the feedback

$$u = -B^T P x \quad (15)$$

By the feedback above the closed-loop system becomes

$$\dot{x} = (A - BB^T P)x \quad (16)$$

With (13), the time derivative of V is

$$\dot{V} = x^T (A^T P + PA - 2PBB^T P)x \quad (17)$$

We now show that the quadratic Lyapunov function (13) is a CLF for the system (12). With the condition $V_x g = V_x B = 0$, one obtains

$$B^T Px = 0, \quad x \neq 0 \quad (18)$$

Substituting (18) into (17), we obtain

$$x^T (A^T P + PA)x = V_x f < 0 \quad (19)$$

Therefore, we obtain $V_x f < 0$ whenever $V_x g = 0$. Thus, the quadratic Lyapunov function (13) is a CLF for the system (12). After obtaining a CLF for the system (12) the Sontag's formula can be used to design a stabilizing control law

$$u^* = \begin{cases} -\left(\frac{x^T PAx + \sqrt{(x^T PAx)^2 + 4(x^T PB)^4}}{x^T PB} \right), & x^T PB \neq 0 \\ 0, & x^T PB = 0. \end{cases} \quad (20)$$

For linear systems, the unique solution P results in the optimal value function V . However, in general, this relation does not hold for nonlinear systems.

Construction of CLFs for feedback linearizable systems

In this section, we summarize a method to find a CLF for feedback linearizable systems by using of the linear transformation technique. Feedback linearization is a significant method to nonlinear control design. The main idea of this scheme is to find a state transformation $z = \Phi(x)$ and an input transformation $u = u(x, v)$ so that the nonlinear system dynamics is transformed into equivalent linear time-invariant systems. After obtaining the form $\dot{z} = Az + Bv$, then linear control technique can be applied.

The most convenient structure for a static state feedback control is of the form

$$u = \alpha(x) + \beta(x)v \quad (21)$$

where v is the external reference input. In fact the composition of this control with a system of a form

$$\begin{aligned} \dot{x} &= f(x) + g(x)u \\ y &= h(x) \end{aligned} \quad (22)$$

yields a closed-loop characterized by the similar structure

$$\begin{aligned} \dot{x} &= f(x) + g(x)\alpha(x) + g(x)\beta(x)v \\ y &= h(x). \end{aligned} \quad (23)$$

Consider a nonlinear system having relative degree $r = n$, i.e. exactly equal to the dimension of the state space. The change of coordinates required to construct to normal form is given exactly by

$$\Phi(x) = \begin{bmatrix} \varphi_1(x) \\ \varphi_2(x) \\ \dots \\ \varphi_n(x) \end{bmatrix} = \begin{bmatrix} h(x) \\ L_f h(x) \\ \dots \\ L_f^{n-1} h(x) \end{bmatrix}. \quad (24)$$

Note that the Lie derivative of $h(x)$ with respect to $f(x)$ is denoted by $L_f h = \left[\frac{\partial h(x)}{\partial x} \right]^T f(x)$. The following notations are often used to simplify expressions involving iterated Lie derivatives,

$$L_f^2 h = \left[\frac{\partial (L_f h(x))}{\partial x} \right]^T f(x) \text{ and } L_f^k h = \left[\frac{\partial (L_f^{k-1} h(x))}{\partial x} \right]^T f(x).$$

No extra functions are needed to complete the transformation. We obtain new coordinates as

$$z_i = \phi_i(x) = L_f^{i-1} h(x), \quad i = 1, \dots, n \quad (25)$$

Letting $z = [z_1, z_2, \dots, z_n]^T$, the system is now described by equation

$$\dot{z} = Az + Bv, \quad (26)$$

where

$$A = \begin{bmatrix} 0 & 1 & 0 & \dots & 0 \\ 0 & 0 & 1 & \dots & 0 \\ \vdots & \vdots & \vdots & \vdots & \vdots \\ 0 & 0 & 0 & \dots & 1 \\ 0 & 0 & 0 & \dots & 0 \end{bmatrix}, \quad B = \begin{bmatrix} 0 \\ 0 \\ \vdots \\ 0 \\ 1 \end{bmatrix} \quad (27)$$

and

$$y = h(\Phi^{-1}(z)). \quad (28)$$

We refer to this as input-state linearization. We are also interested in feedback laws that linearize input/output maps while leaving the state equations partially linearized. When a system is transformed to the form (26), the method in Section 3, can be used to determine a CLF.

Construction of CLFs by using the integrator backstepping technique

In this section a CLF for a more general class of nonlinear systems with the integrator backstepping technique is reviewed. Consider the system in control affine form with an integrator at the input

$$\begin{aligned}\dot{x} &= F(x) + G(x)\xi \\ \dot{\xi} &= u\end{aligned}\quad (29)$$

where $x \in \mathfrak{R}^n$, $\xi \in \mathfrak{R}$ are the states, and $u \in \mathfrak{R}$ is the control input. We want to design a feedback controller to stabilize the origin ($x=0$, $\xi=0$).

The system can be seen as the cascaded connection of two components. Suppose that the first component can be stabilized by a feedback law $\xi = \alpha(x)$ with $\alpha(0) = 0$, so that the origin of

$$\dot{x} = F(x) + G(x)\alpha(x) \quad (30)$$

is asymptotically stable.

Suppose that we know a CLF $V(x)$ that satisfies

$$\dot{V} = \frac{\partial V}{\partial x} [F(x) + G(x)\alpha(x)] \leq -W(x) \quad (31)$$

where $W(x)$ is a positive definite function. Adding and subtracting $G(x)\alpha(x)$ on the right hand side of (30), we obtain

$$\begin{aligned}\dot{x} &= [F(x) + G(x)\alpha(x)] + G(x)[\xi - \alpha(x)] \\ \dot{\xi} &= u.\end{aligned}\quad (32)$$

Letting $\omega = \xi - \alpha(x)$ and substituting this into (32), we obtain

$$\begin{aligned}\dot{x} &= [F(x) + G(x)\alpha(x)] + G(x)\omega \\ \dot{\omega} &= u - \dot{\alpha}.\end{aligned}\quad (33)$$

Note that ω represents the difference between the input ξ and the desired input $\alpha(x)$. The derivative of α can be computed using

$$\dot{\alpha} = \frac{\partial \alpha}{\partial x} [F(x) + G(x)\xi]. \quad (34)$$

Taking $v = u - \dot{\alpha}$ reduces the system to

$$\begin{aligned}\dot{x} &= [F(x) + G(x)\alpha(x)] + G(x)\omega \\ \dot{\omega} &= v\end{aligned}\quad (35)$$

which is similar to the system from which we began, except that now the first component is asymptotically stable when the input is zero.

A Lyapunov function candidate can be chosen as

$$V_c(x) = V(x) + \frac{1}{2}\omega^2. \quad (36)$$

The first time derivative of V_c is

$$\begin{aligned}\dot{V}_c &= \frac{\partial V}{\partial x} [F(x) + G(x)\alpha(x)] + \frac{\partial V}{\partial x} G(x)\omega + \omega v \\ &\leq -W(x) + \frac{\partial V}{\partial x} G(x)\omega + \omega v.\end{aligned}\quad (37)$$

Selecting $v = -\frac{\partial V}{\partial x} G(x)\omega - k\omega$, $k > 0$ and substituting this into (37), we obtain

$$\dot{V}_c \leq -W(x) - k\omega^2. \quad (38)$$

Clearly, \dot{V}_c is negative definite, so the origin $x = 0$ is asymptotically stable. Using $\alpha(0) = 0$ we can conclude that the origin $x = 0$, $\xi = 0$ is also asymptotically stable. This leads to the conclusion of a CLF. Hence, it can be seen that the Lyapunov function V_c defined in (36) is a CLF for the system (29).

Examples

We present examples which illustrate constructions of CLFs for a feedback linearizable system and a system with an integrator at the input.

Example I

Consider

$$\begin{aligned}\dot{x}_1 &= a \sin(x_2) \\ \dot{x}_2 &= -x_1^2 + u \\ y &= x_2\end{aligned}\quad (39)$$

where a is a constant. Suppose that we want to find a CLF for the system above. We begin by finding

$$h(x) = y = x_2$$

and

$$\begin{aligned}z_1 &= x_1 \\ z_2 &= L_f h(x) = \frac{\partial h(x)}{\partial x} f(x) = [1 \ 0] \begin{bmatrix} a \sin(x_2) \\ -x_1^2 \end{bmatrix} = a \sin(x_2) = \dot{x}_1\end{aligned}\quad (40)$$

This generates the transformed state system

$$\begin{aligned}\dot{z}_1 &= z_2 \\ \dot{z}_2 &= a \cos(x_2)(-x_1^2 + u)\end{aligned}\quad (41)$$

and the nonlinearity may now be cancelled by the control

$$u = x_1^2 + \frac{1}{a \cos(x_2)} v. \quad (42)$$

Now this particular transformation is invertible for $-\frac{\pi}{2} < x_2 < \frac{\pi}{2}$ and we can express x_1 and x_2 in terms of z_1 and z_2 as follows,

$$\begin{aligned}x_1 &= z_1 \\ x_2 &= \sin^{-1}\left(\frac{z_2}{a}\right).\end{aligned}\quad (43)$$

Substituting (43) into (41) yields

$$\begin{aligned}\dot{z}_1 &= z_2 \\ \dot{z}_2 &= a \cos\left(\sin^{-1}\left(\frac{z_2}{a}\right)\right)(-z_1^2 + u)\end{aligned}\quad (44)$$

where

$$\begin{aligned}u &= x_1^2 + \frac{1}{a \cos(x_2)} v \\ &= z_1^2 + \frac{1}{a \cos\left(\sin^{-1}\left(\frac{z_2}{a}\right)\right)} v\end{aligned}\quad (45)$$

Inserting (45) into the transformed system yields,

$$\begin{aligned}\dot{z}_1 &= z_2 \\ \dot{z}_2 &= v,\end{aligned}\quad (46)$$

which is completely linearized. To find a CLF, the system is now described by equation

$$\dot{z} = Az + Bv \quad (47)$$

where

$$z = \begin{bmatrix} z_1 \\ z_2 \end{bmatrix}, \quad A = \begin{bmatrix} 0 & 1 \\ 0 & 0 \end{bmatrix}, \quad B = \begin{bmatrix} 0 \\ 1 \end{bmatrix}. \quad (48)$$

Therefore, using (13) a CLF for the above system is

$$V = z^T P z \quad (49)$$

where $P = P^T > 0$ is the unique solution of the Riccati equation

$$PA + A^T P + Q - PBB^T P = 0. \quad (50)$$

Note that when we obtain a CLF, the Sontag's formula can be used to design a stabilizing control law.

Example II

Consider the system

$$\begin{aligned}\dot{x}_1 &= x_1^2 - x_1^3 + x_2 \\ \dot{x}_2 &= u\end{aligned}\quad (51)$$

and now suppose that in the first component x_1 is viewed as an input. A feedback controller $x_2 = \alpha(x_1)$ is designed to stabilize $x_1 = 0$.

With the following feedback

$$x_2 = \alpha(x_1) = -x_1^2 - x_1, \quad (52)$$

we cancel the nonlinear term x_1^2 to obtain

$$\dot{x}_1 = -x_1 - x_1^3 \quad (53)$$

and $V(x_1) = \frac{1}{2}x_1^2$ satisfies

$$\dot{V} = -x_1^2 - x_1^4 \leq -x_1^2, \quad (54)$$

so that $x_1 = 0$ is globally exponentially stable.

To apply the integrator backstepping technique, we use the change of variables

$$z_2 = x_2 - \alpha(x_1) = x_2 + x_1 + x_1^2 \quad (55)$$

to transform the system into the form

$$\begin{aligned}\dot{x}_1 &= -x_1 - x_1^3 + z_2 \\ \dot{z}_2 &= u + (1 + 2x_1)(-x_1 - x_1^3 + z_2)\end{aligned}\quad (56)$$

Consider the augmented control Lyapunov function

$$V_c(x) = \frac{1}{2}x_1^2 + \frac{1}{2}z_2^2. \quad (57)$$

Differentiating V_c gives

$$\dot{V}_c = -x_1^2 - x_1^4 + z_2(x_1 + (1 + 2x_1)(-x_1 - x_1^3 + z_2) + u) \quad (58)$$

Taking $u = -x_1 - (1 + 2x_1)(-x_1 - x_1^3 + z_2) - z_2$ gives

$$\dot{V}_c = -x_1^2 - x_1^4 - z_2^2 \quad (59)$$

Hence the origin is globally asymptotically stable and we obtain V_c defined in (57) as a CLF for the system (51).

Discussions on the main limitation and future researches of the CLF approach

The difficulty of the CLF scheme is to find a CLF because theory developed to find a CLF for a general nonlinear system has not appeared, but feedback linearization can be used to construct a CLF when the system dynamics can be transformed into a linear structure. Similarly, the integrator backstepping technique can be applied to generate a CLF whenever the system can be put into a cascade structure. However, practical system designs of general applications are normally involved with various classes of nonlinear systems. This is the reason why the CLF approach is not popular to be used in real-life applications. We believe that the future studies regarding the CLF approach will focus on the theory development to find a CLF for other classes of nonlinear systems. Once a CLF can be found for a general class of nonlinear systems, researches on practical applications of this method to design feedback stabilizing control laws will be later conducted.

Conclusion

In this paper reviews of synthesizing state feedback controller using the CLF method and the construction of CLFs for some special classes of nonlinear systems have been proposed. For practical implementation it is always difficult to find a CLF specifically for each nonlinear system. Due to the limitation of this method, it is rarely applied to design suboptimal controllers for practical nonlinear systems. Examples are presented to demonstrate the construction of CLFs for a feedback linearizable system and a system with integrator backstepping.

References

Artstein, Z. (1983). Stabilization with relaxed controls. *Nonlinear Analysis, Theory, Methods, and Applications*, 7(11), 1163-1173.

Freeman, R.A. & Kokotovic, P.V. (1996). Inverse optimality in robust stabilization. *SIAM Journal of Control and Optimization*, 34(4), 1365-1391.

Freeman, R.A. & Primbs, J.A. (1996). Control Lyapunov function: new ideas from an old source. In *Proceedings of the 35th IEEE Decision and Control Conference*. (pp. 3926-3931). Kobe, Japan,

Hahn, W., (1967). *Stability of Motion*. New York: Springer-Verlag.

Khalil, H. K. (1992). *Nonlinear Systems*. New York: Macmillan Publishing Company.

Krstic, M., Kanellakopoulos, I. & Kokotovic, P. V. (1995). *Nonlinear and Adaptive Control Design*. New York : John Wiley& Sons.

Krstic, M. & Li, Z.-H. (1998). Inverse optimal design of input-to-state stabilizing nonlinear controllers. *IEEE Transactions on Automatic Control*, 43(3), 336-350.

Lin, Y. & Sontag, E. D. (1991). A universal formula for stabilization with bounded controls, *Systems Control Letters*, 16, 393-397.

Malisoff, M. & Sontag, E. D. (1997). Universal formulas for CLF's with respect to Minkowski balls, In *Proceedings of the European Control Conference*. Brussels, Belgium.

Primbs, J. A., Nevistic, V. & Doyle, J. C. (1999). Nonlinear optimal control: A control Lyapunov function and receding horizon perspective. *Asian Journal of Control*, 1, 14-24.

Rouche, N., Habets, P. & Laloy, M. (1977). *Stability Theory by Lyapunov's Direct Method*: Springer-Verlag.

Sepulchre R., Jankovic, M. & Kokotovic, P. V. (1997). *Constructive Nonlinear Control*. Communication and Control Engineering Series. Berlin-Heidelberg-New York: Springer-Verlag.

Sontag, E. D. (1983). A Lyapunov-like characterization of asymptotic controllability. *SIAM Journal on Control and Optimization*, 21, 462-471.

Sontag, E. D. (1989). A universal construction of Artstein's theorem on nonlinear stabilization. *Systems and Control Letters*, 13, 117-123.

มอลลัสก์ในระบบนิเวศป่าชายเลนบริเวณอ่าวไทย: ความหลากหลายและการปรับตัว
Molluscs in Mangrove Ecosystems in the Gulf of Thailand: Diversity and Adaptation

ชีวารัตน์ พรินทรากูล*

ภาควิชาสัตววิทยา คณะวิทยาศาสตร์ มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์

Cheewarat Printrakoon*

Department of Zoology, Faculty of Science, Kasetsart University.

บทคัดย่อ

วัตถุประสงค์ของบทความนี้เพื่อทบทวนผลการศึกษาและวิจัยที่เกี่ยวข้องกับมอลลัสก์ในระบบนิเวศป่าชายเลนบริเวณอ่าวไทย ซึ่งความหลากหลายของมอลลัสก์ในป่าชายเลนเป็นผลเนื่องมาจากความหลากหลายของสภาพถิ่นอาศัยย่อย (microhabitat) ส่งผลให้เกิดการกระจายตัวตามนิเวศการดำรงชีวิตแตกต่างกันไป และพบว่าความหลากหลายของหอยสองฝาที่พบในป่าชายเลนของประเทศไทยมีน้อยกว่าหอยฝาเดียว ซึ่งอาจเป็นเพราะการปรับตัวต่อปัจจัยสิ่งแวดล้อมทางกายภาพที่เป็นไปอย่างยากลำบาก แต่อย่างไรก็ตามความหลากหลายกับความสามารถในการปรับตัวให้เหมาะสมในพื้นที่จำเพาะมิให้เห็นชัดเจน เช่น พรางตัวและหลบซ่อนหนีผู้ล่าที่ดี รวมถึงการตอบสนองต่ออุณหภูมิที่เพิ่มขึ้นในพื้นที่ได้ ตลอดจนประสิทธิภาพการปรับตัวอยู่ในเขตน้ำขึ้นน้ำลง รอยต่อระหว่างน้ำเค็มกับแนวแผ่นดินในพื้นที่ ปากแม่น้ำ รวมไปถึงการปรับตัวต่อตะกอนดินป่าชายเลนที่มีแนวโน้มอยู่ในภาวะขาดออกซิเจนและมีค่าความเป็นกรดสูงได้ดี

คำสำคัญ : ความหลากหลาย การปรับตัว มอลลัสก์ ป่าชายเลน อ่าวไทย

Abstract

The objective of this article is to review previous studies and researches of mangrove molluscs in the Gulf of Thailand. Microhabitats within mangrove ecosystems are very diverse, which reflect the diversity of Thai molluscs and accordingly effects the distribution in the candidate habitats. The lower number of visible bivalve species in mangrove reflects their inability to adapt to such an environment in comparison to the gastropods, which constitute the major group of molluscs in this ecosystem. However, mollusc diversity and their capacity of adaptation in such an environment is apparently due to camouflage options. The organisms also can disguise and survive under increased thermal conditions. Moreover, efficient adaptation of molluscs in intertidal zones between sea margin and land in estuary is related to anerobic and high acidic sediment.

Keyword : diversity, adaptation, mangrove molluscs, Gulf of Thailand

*E-mail: fscicrp@ku.ac.th

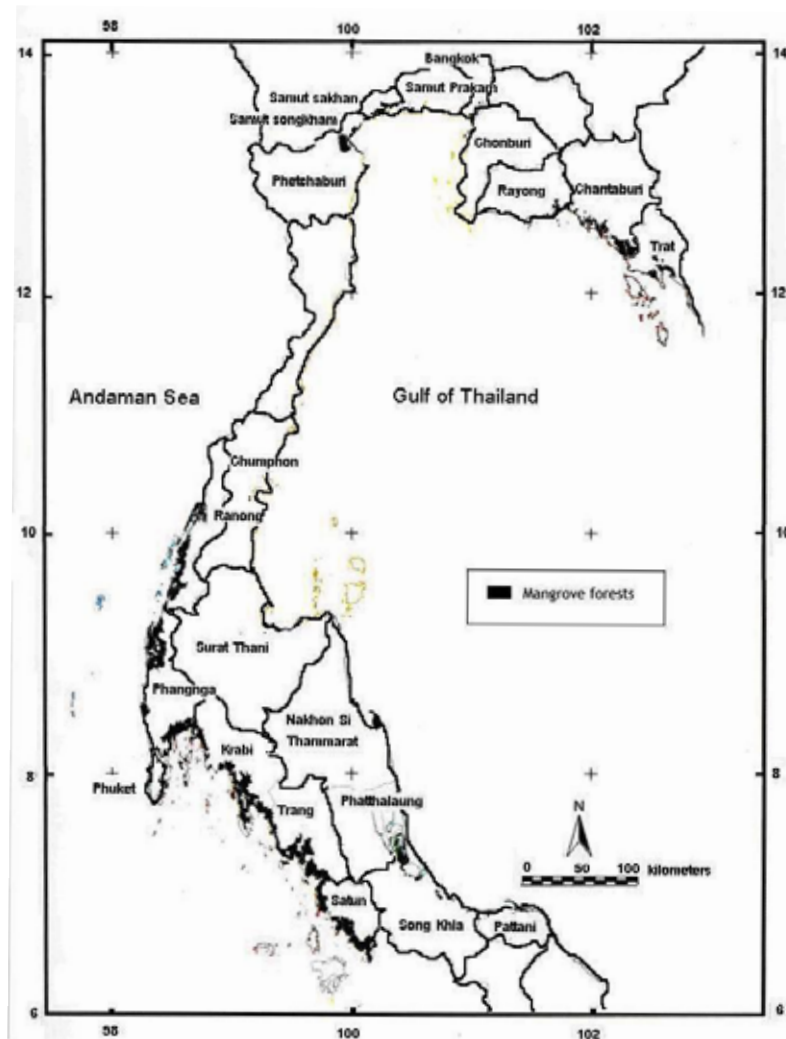
บทนำ

ระบบนิเวศป่าชายเลนเป็นหนึ่งในระบบนิเวศวิทยาที่สำคัญ ทั้งระบบนิเวศวิทยาของประเทศในแถบโซนร้อนแบบเขตร้อน (tropical region) และกึ่งร้อนหรือเขตเหนือและใต้โซนร้อน (sub-tropical region) ของโลก เพราะเป็นระบบนิเวศที่เป็นรอยต่อระหว่างพื้นน้ำทะเลและผืนแผ่นดิน จึงทำให้มีสภาพของพื้นที่ร่วมกันทั้งสองลักษณะ คือสภาพแนวหาดเลนกว้างที่มีน้ำท่วมถึงอย่างสม่ำเสมอต่อกับผืนป่าที่ปกคลุมด้วยพันธุ์ไม้เฉพาะชนิดที่ขึ้นและกระจายหลายชนิดในเขตน้ำขึ้นน้ำลง (สนิท อักษรแก้ว, 2542; Macnae, 1968; Hogarth, 1999) ด้วยเหตุนี้ป่าชายเลนจึงเป็นแหล่งที่มีคุณค่าทั้งทางนิเวศวิทยาและทางเศรษฐกิจ ในด้านนิเวศวิทยาป่าชายเลนมีบทบาทเป็นแหล่งผลิตอาหารปฐมภูมิแก่สิ่งมีชีวิตต่างๆ สัตว์ในป่าชายเลนบางชนิดหากินโดยตรงจากผลผลิตป่าชายเลน และบางชนิดหากินจากซากหรือซากเน่าเปื่อย

ของผลผลิตป่าชายเลน นอกจากนั้นยังเป็นแหล่งอนุบาลสัตว์น้ำในระยะตัวอ่อน เป็นแหล่งหาอาหาร และแหล่งวางไข่สำหรับสัตว์น้ำชนิดต่างๆ ด้วย (สนิท อักษรแก้ว, 2542; Hutchings & Saenger, 1987)

ปัจจัยทางสิ่งแวดล้อม เช่น ภูมิประเทศชายฝั่ง (coastal physiology) ภูมิอากาศ (climate) น้ำขึ้นน้ำลง (tide) คลื่นและกระแสน้ำ (waves and currents) ความเค็มของน้ำ (water salinity) ออกซิเจนละลายน้ำ (dissolved oxygen) ดิน (soil) และธาตุอาหาร (nutrients) ที่มีบทบาทสำคัญนิเวศป่าชายเลนในการดำรงชีวิต ของสิ่งมีชีวิตในระบบนิเวศป่าชายเลน ทั้งด้านชนิดและการกระจายตัว (สนิท อักษรแก้ว, 2542)

สำหรับป่าชายเลนของประเทศไทยมีการกระจายทั่วไปตามชายฝั่งบริเวณปากแม่น้ำ (ภาพที่ 1) โดยเฉพาะบริเวณอ่าวไทยพบกระจายวงกว้างที่สุด จากข้อมูลการสำรวจพื้นที่



ภาพที่ 1 การกระจายตัวของป่าชายเลนในประเทศไทย (UNEP, 2548)

ป่าชายเลนล่าสุดเมื่อปี 2547 พบพื้นที่ 446,062 ไร่ รวมพื้นที่ตั้งแต่ภาคตะวันออก ภาคกลาง ลงมายังภาคใต้ฝั่งตะวันออก (UNEP, 2548) สำหรับการศึกษาความหลากหลายและการแพร่กระจายของสิ่งมีชีวิตต่างๆ ที่อาศัยในป่าชายเลนบริเวณประเทศไทยมีแพร่หลายทั้งกลุ่มสัตว์มีกระดูกสันหลัง (Tongnunui *et al.*, 2002; Pauwels *et al.*, 2003; Cota *et al.*, 2009) และสัตว์ไม่มีกระดูกสันหลังชนิดต่างๆ (Shokita *et al.*, 1983; Macintosh *et al.*, 2002; Offenber *et al.*, 2004; Printragoon *et al.*, 2006, 2008) สัตว์กลุ่มมอลลัสก์ที่ถือว่าเป็นกลุ่มสัตว์ทางอนุกรมวิธาน (Taxon) ที่พบได้ทั่วไปและเป็นหนึ่งในกลุ่มเด่นซึ่งมีความจำเพาะในนิเวศวิทยาป่าชายเลน (Macnae, 1968; Sasekumar, 1974; Morton & Morton, 1983; Plaziat, 1984; Wells, 1983, 1990; Hogarth, 1999) ถึงแม้ว่ามอลลัสก์จะเป็นไฟลัมที่สำคัญในนิเวศป่าชายเลนแต่ข้อมูลในการศึกษาไม่มาก ถึงแม้การศึกษาเริ่มต้นมีมานานแล้วตั้งแต่ปี ค.ศ. 1974 โดย Brandt A.M. (1974) ทำการศึกษาชนิดของมอลลัสก์ที่พบในแหล่งน้ำที่ไม่ใช่แหล่งน้ำเค็มในประเทศไทย โดยส่วนหนึ่งเป็นมอลลัสก์ที่พบในแหล่งน้ำกร่อยบริเวณป่าชายเลนอ่าวไทย (Brandt, 1974) แต่การศึกษาความหลากหลายของมอลลัสก์ในระบบนิเวศป่าชายเลนบริเวณอ่าวไทยในปัจจุบันยังไม่มีการรวบรวมที่ชัดเจน ดังนั้นการรวบรวมความหลากหลายของมอลลัสก์ในระบบนิเวศอ่าวไทยจึงมีความสำคัญต่อการศึกษามอลลัสก์ในประเทศไทย โดยเฉพาะในพื้นที่ป่าชายเลนที่กำลังถูกคุกคามและลดปริมาณอย่างต่อเนื่อง

ความหลากหลายและการแพร่กระจายมอลลัสก์ในระบบนิเวศป่าชายเลนของอ่าวไทย

ความหลากหลายและการแพร่กระจายของมอลลัสก์ในระบบนิเวศป่าชายเลนในระดับโลกมีการศึกษามีอย่างกว้างขวาง (Macnae, 1968; Sasekumar, 1974; Morton & Morton, 1983; Plaziat, 1984; Wells, 1983, 1990; Hogarth, 1999) เนื่องจากมอลลัสก์เป็นกลุ่มที่มีความจำเพาะและพบทั่วไปในนิเวศวิทยาป่าชายเลน สำหรับการศึกษาความหลากหลายของมอลลัสก์ในระบบนิเวศป่าชายเลนของอ่าวไทย เริ่มมีการศึกษาเป็นข้อมูลครั้งแรกตั้งแต่ปี ค.ศ. 1974 โดย Brandt A.M. (1974) ทำการศึกษาชนิดของมอลลัสก์ที่พบในแหล่งน้ำที่ไม่ใช่แหล่งน้ำเค็มในประเทศไทยจำนวนทั้งสิ้น 431 ชนิด สามารถจำแนกเป็นหอยฝาเดียว 323 ชนิด และหอยสองฝา 108 ชนิด โดยส่วนหนึ่งเป็นมอลลัสก์ที่พบในแหล่งน้ำกร่อยบริเวณป่าชายเลนอ่าวไทย 56 ชนิด ต่อมาการศึกษาความหลากหลายของมอลลัสก์ในระบบนิเวศป่าชายเลนบริเวณอ่าวไทยเพิ่มเติมและต่อเนื่อง พบว่า มอลลัสก์ที่กระจายในป่าชายเลนบริเวณอ่าวไทย

พบทั้งสิ้น 78 ชนิด เป็นหอยฝาเดียว 55 ชนิด และ หอยสองฝา 23 ชนิด โดยมาจากอ่าวไทยตอนบนตั้งแต่จังหวัดตราดลงมายังจังหวัดสมุทรสงครามพบทั้งสิ้น 65 ชนิด สามารถจำแนกเป็นหอยฝาเดียว 47 ชนิด และหอยสองฝา 18 ชนิด (Sanpanich *et al.*, 2004; Printragoon, 2008; Printragoon, *et al.*, 2008; Printragoon & Temkin, 2008; Reid *et al.*, 2008; Tan, 2008) และในอ่าวไทยตอนล่างตั้งแต่จังหวัดเพชรบุรี ลงมายังจังหวัดปัตตานีพบทั้งสิ้น 59 ชนิด สามารถจำแนกเป็นหอยฝาเดียว 47 ชนิด และหอยสองฝา 12 ชนิด (Swennen *et al.*, 2001; Sri-aroon *et al.*, 2005; Printragoon, 2010) มอลลัสก์ในอ่าวไทยประกอบด้วยหอยฝาเดียว (Gastropod) ในวงศ์ (family) Assimineidae Amphibolidae Hamioeidae Iravadiidae Littorinidae Muricidae Nassariidae Onchidiidae Ellobiidae Neritidae Potamidiidae Stenothyridae และ Thiaridae ขณะที่หอยสองฝา (bivalve) ประกอบด้วย วงศ์ (family) Arcidae Anomiidae Corbiculidae Glauconomidae Isognomonidae Lucinidae Mactridae Mytilidae Noetiidae Ostreidae Tellinidae Teredinidae และ Veneridae

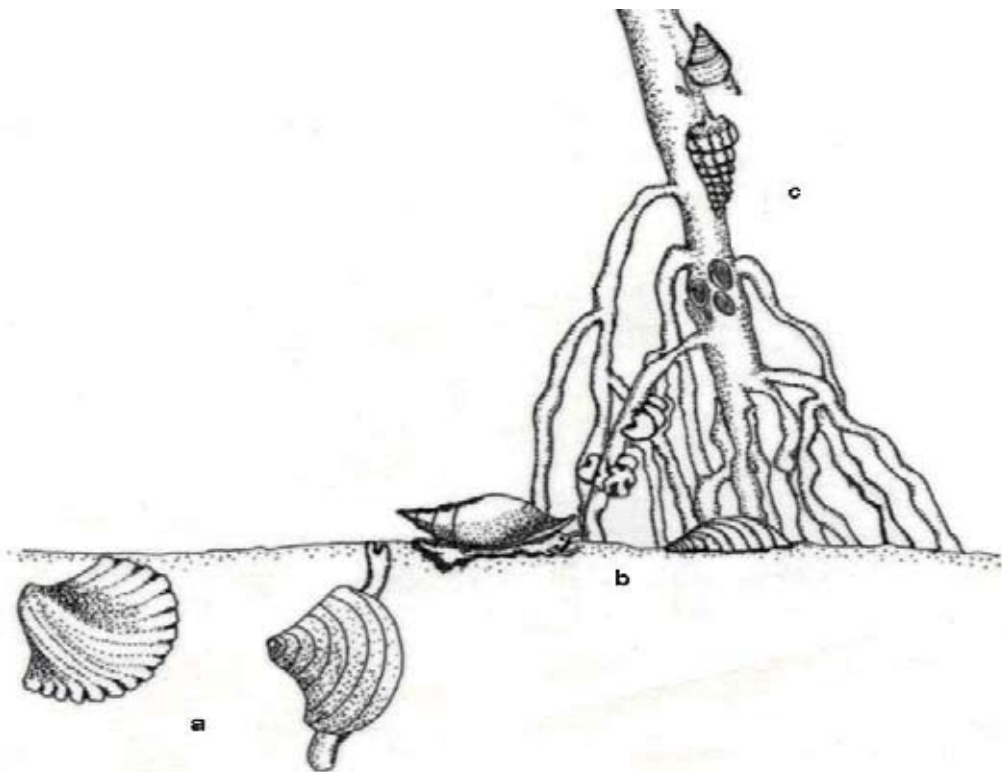
ความหลากหลายของมอลลัสก์ในป่าชายเลนกับสภาพถิ่นอาศัยย่อย

ความหลากหลายของมอลลัสก์ในป่าชายเลนเป็นผลมาจากความหลากหลายของสภาพถิ่นอาศัยย่อย (microhabitat) ในป่าชายเลนซึ่งประกอบไปด้วยบริเวณที่พบพันธุ์ไม้ชนิดต่างๆ (vegetated zone) ที่มีส่วนลำต้น กิ่ง ก้าน ใบ และรากแบบต่างๆ และเขตไม่พบพันธุ์ไม้เป็นหาดโคลนเป็นบริเวณแนวกว้าง (non-vegetated zone) เช่น บริเวณตะกอนหาดโคลน หาดโคลนปนทราย หรือคลองที่มีน้ำทะเลท่วมถึง (Berry, 1963; Plaziat, 1984; Printragoon, 2008; Printragoon *et al.*, 2008) โดย สภาพถิ่นอาศัยย่อยส่งผลให้เกิดการกระจายตัวตามนิสัยการดำรงชีวิตที่แตกต่างกันไป ซึ่งสามารถจำแนกเป็น 3 ประเภทคือ Epifauna, Infauna และ Arboreal แต่ละประเภทมีคำจำกัดความโดย Tood (2001) ระบุว่า Epifauna คือ มอลลัสก์ที่อยู่แนวดินชั้นล่าง อาจอยู่บนตะกอนดิน อยู่บนชั้นหญ้าทะเลหรือสาหร่ายที่ปกคลุมดินชั้นล่างด้วย Infauna คือ มอลลัสก์ที่อยู่ใต้แนวดินชั้นล่าง โดยวิธีการขุดลงไป หรือเจาะลงไป และ Arboreal คือ มอลลัสก์ที่อยู่เหนือแนวดินชั้นล่างโดยใช้ส่วนเท้าเกาะติดกับวัตถุเหนือดิน เช่น รากไม้ ต้นไม้ กลุ่มนี้สามารถเคลื่อนที่ลงมาบนแนวดินชั้นล่างด้วย ในบริเวณป่าชายเลนบริเวณอ่าวไทยมอลลัสก์ที่เป็น Infauna ทั้งหมด เป็นหอยสองฝาที่สามารถขุดลงไปใ้นโคลน ขณะที่

มอลลัสก์ที่เป็น Epifauna ทั้งหมด เป็นหอยฝาเดียวที่สามารถเคลื่อนที่ได้ และ Arboreal ส่วนใหญ่เป็นหอยฝาเดียวที่สามารถเคลื่อนที่ในแนวตั้งได้ รวมไปถึงหอยสองฝาที่เกาะกับที่ (Printrakoon, 2008; Printrakoon, *et al.*, 2008) (ภาพที่ 2)

เมื่อเปรียบเทียบในระดับสภาพถิ่นอาศัยย่อย แนวโน้มพบว่าบริเวณที่พบพันธุ์ไม้ชนิดต่างๆ (vegetated zone) ในอ่าวไทยจะมีความหลากหลายของมอลลัสก์ในป่าชายเลนมากกว่าและเขตไม่พบพันธุ์ไม้ที่เป็นหาดโคลนเป็นบริเวณแนวกว้าง (non-vegetated zone) (Printrakoon, 2008; Printrakoon *et al.*, 2008) เช่นเดียวกับการศึกษาในป่าชายเลนจากแหล่งอื่นๆ ในอินโดแปซิฟิกตะวันตก (Sasekumar, 1974; Henriques, 1980; Wells & Slack-Smith, 1981; Wells, 1983, 1984, 1986a, 1986b; Sasekumar & Chong, 1998; Macintosh *et al.*, 2002) เนื่องด้วยส่วนต่างๆ ของพันธุ์ไม้เป็นแหล่งอาศัยที่สำคัญของมอลลัสก์ ทั้งทำหน้าที่เป็นพื้นแข็งให้กลุ่ม Arboreal ประเภทหอยสองฝา เช่น วงศ์ Anomiidae Isognomonidae หรือวงศ์หอยแฉลบ Mytilidae ที่รู้จักดีในวงศ์หอยแมลงภู่ และ Ostreidae หรือวงศ์หอยนางรม มีอวัยวะพิเศษช่วยให้เกาะอยู่กับที่แบบถาวร

(Printrakoon & Tëmkin, 2008, Printrakoon *et al.*, 2008) ส่วนกลุ่ม Arboreal ประเภทหอยฝาเดียวสามารถเกาะเคลื่อนที่แบบคืบคลาน ชูดกินสาหร่ายหรือสารอินทรีย์ที่ติดกับรากอากาศแบบต่างๆ ได้ และประสบผลสำเร็จใช้เป็นแหล่งหลบซ่อนหนีผู้ล่าได้ (Peterson, 1991) เช่น วงศ์ Littorinidae และ Neritidae ในทางตรงกันข้ามหอยฝาเดียวผู้ล่าวงศ์ Muricidae สามารถคืบคลานเคลื่อนกินหอยฝาเดียวขนาดเล็ก หรือหอยสองฝาต่างๆ ที่เกาะบนกิ่งไม้ได้โดยใช้ฟันแรดูลา (radula) ซึ่งเป็นกลุ่มฟันซี่เล็กๆ จำนวนมากที่ทำงานคล้ายกับใบเลื่อยเจาะทะลุเปลือกหอยที่ตกเป็นเหยื่อได้เช่นกัน (Printrakoon & Tëmkin, 2008; Printrakoon *et al.*, 2008) นอกจากนั้นพันธุ์ไม้ในป่าชายเลนยังเป็นแหล่งอาศัยของกลุ่มหอยสองฝาประเภทหอยเจาะไม้ (ship worms) หรือเพรียงทำลายไม้ ในวงศ์ Teredinidae Pholadidae และ Spaeomatidae อีกด้วย โดยสามารถพบตามเศษไม้ป่าชายเลนบางชนิดที่ตายและผุพังโดยการย่อยสลายของรา แต่อย่างไรก็ตามความแปรผันของความหลากหลายมอลลัสก์ภายในป่าชายเลนมีความแตกต่างซึ่งอธิบายจากอายุและความซับซ้อนของโครงสร้างป่าโดยพื้นที่ที่เป็นป่าเก่าและมีชนิดพันธุ์ไม้ที่ซับซ้อนกว่าจะมีความ



ภาพที่ 2 ภาพวาดการกระจายตัวของมอลลัสก์ตามนิสัยการอยู่อาศัย (habitat) ในระบบนิเวศป่าชายเลนในอ่าวไทย a) infaunal species b) epifaunal species และ c) arboreal species

หลากหลายของสัตว์หน้าดินขนาดใหญ่มากกว่า เพราะจะเกิดแหล่งอาหารและเป็นแหล่งหลบภัยที่มากและซับซ้อนกว่า (Sasekumar & Chong, 1998; Hutchings, 1999; Macintosh *et al.*, 2002; Printragoon, 2008)

เมื่อพิจารณาลำดับวงศ์ที่มีความสำคัญมากที่สุดด้านความหลากหลายสปีชีส์อันดับแรกในป่าชายเลนของอ่าวไทย ล้วนเป็นหอยฝาเดียว อยู่ในคลาส Gastropoda ดังนี้ Ellobiidae พบจำนวนชนิด (number of species) มากที่สุด คือ 12 ชนิด ตามมาด้วย Potamididae พบ 10 ชนิด และ Littorinidae และ Neritidae พบ วงศ์ละ 7 คน ตามลำดับ (ภาพที่ 3) โดยเฉพาะวงศ์ Ellobiidae และวงศ์ Potamididae เป็นวงศ์เด่นและพบโดยทั่วไปเช่นเดียวกับป่าชายเลนแหล่งอื่นๆ ในเขตอินโดแปซิฟิกตะวันตก (Macnae, 1968; Morton & Morton, 1983; Ng & Sivasothi, 1999) การพบจำนวนของชนิดมากเป็นผลมาจากความสำเร็จในการดำรงชีวิตซึ่งสามารถปรับตัวให้เหมาะสมต่อการอาศัยในป่าชายเลน ในพื้นที่ปากแม่น้ำ (estuary) ที่เป็นรอยต่อ

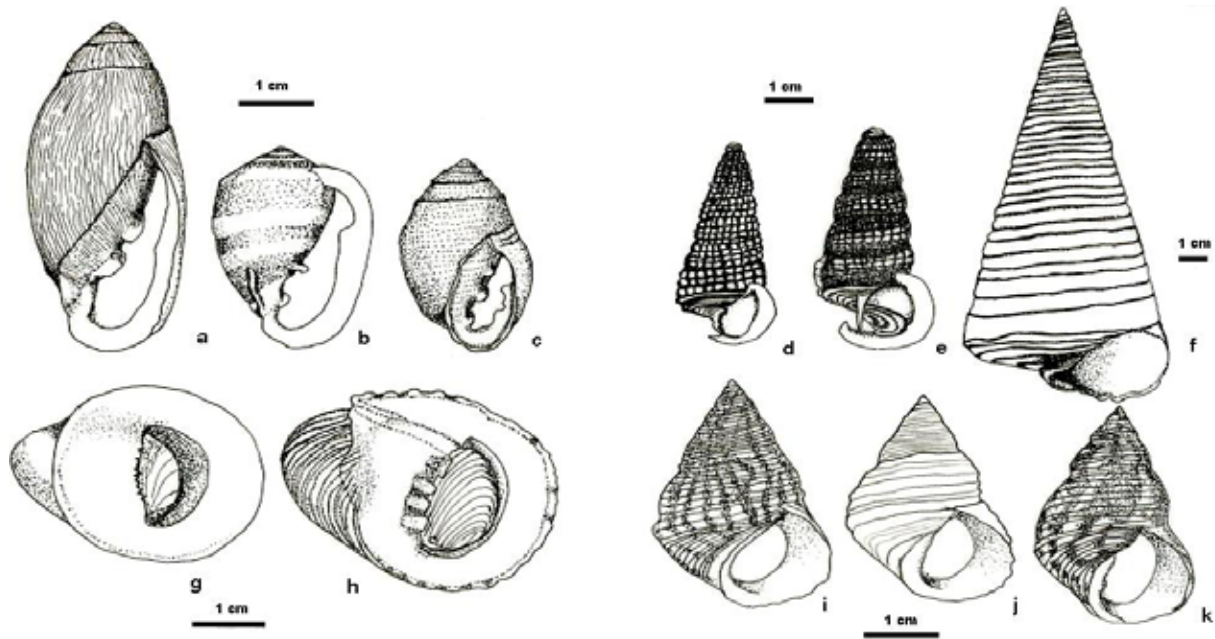
ระหว่างน้ำเค็มจากทะเลกับแนวแผ่นดิน และอยู่ในเขตน้ำขึ้นน้ำลง (intertidal) (Macnae, 1968; Wells, 1993)

การปรับตัวด้านสีเปลือกของมอลลัสก์ในป่าชายเลนอ่าวไทย

มอลลัสก์ทุกชนิดที่อยู่ในป่าชายเลนมีการปรับตัวด้านสีเปลือก โดยส่วนเปลือกชั้นนอกสุด (periostacum) ให้กลมกลืนกับแหล่งที่อยู่เพื่อพรางตัวจากแหล่งผู้ล่าได้ดีมาก ซึ่งส่วนใหญ่จะมีสีน้ำตาล และสีน้ำตาลเข้ม เหมือนดินโคลน เปลือกของรากไม้หรือใบไม้ในธรรมชาติ (ภาพที่ 4) ดังนั้นจึงต้องอาศัยการสังเกตอย่างมากจึงจะมองเห็นได้ (Swennen *et al.*, 2001)

การปรับตัวของมอลลัสก์ต่อภาวะขาดออกซิเจนและความเป็นกรดสูงในดินของนิเวศป่าชายเลนอ่าวไทย

ความหลากหลายของหอยสองฝาที่พบในป่าชายเลนของประเทศไทยมีน้อยกว่าหอยฝาเดียว ซึ่งอาจเป็นเพราะการปรับตัวต่อสิ่งแวดล้อม ที่เกิดความยากลำบากต่อการดำรงชีวิต เช่น ภาวะขาดออกซิเจน และความเป็นกรดในดิน (Vermeij, 1974) สิ่งแวดล้อมดินป่าชายเลนภายนอกมีแนวโน้มอยู่ในภาวะ



ภาพที่ 3 ภาพวาดลักษณะสัณฐานวิทยาของเปลือกของมอลลัสก์ วงศ์ที่มีความสำคัญมากที่สุดด้านความหลากหลายสปีชีส์อันดับแรกในบริเวณป่าชายเลนเขตอ่าวไทย วงศ์ Ellobiidae ตัวอย่างเช่น (a) *Ellobium aurisjudae* (Linnaeus, 1758) (b) *Cassidula mustelina* (Deshayes, 1830) และ (c) *Lemodonta punctatostriata* (H. and A Adam 1853) วงศ์ Potamididae ตัวอย่างเช่น (d) *Cerithidea cingulata* (Gmelin, 1790) (e) *Cerithidea obtusa* (Lamarck, 1822) และ (f) *Telescopium telescopium* (Linnaeus, 1758) วงศ์ Neritidae ตัวอย่างเช่น (g) *Neritina violacea* (Gmelin, 1790) และ (h) *Nerita chamaeleon* Linnaeus, 1758 วงศ์ Littorinidae ตัวอย่างเช่น (i) *Littoraria carinifera* และ (j) (k) *Littoraria pallescens*



ภาพที่ 4 การปรับตัวด้านสีเปลือกของมอลลัสก์ในป่าชายเลนชนิดต่างๆ ให้กลมกลืนกับแหล่งที่อยู่เพื่อพรางตัวจากผู้ล่า (ลูกศร คือ ตำแหน่งที่พบมอลลัสก์) ของ A) หอยน้ำพริก หอยฝาเดียววงศ์ Neritidae (บน) และ กลุ่มหอยแฉลบ *Isognomon ephippium* หอยสองฝา วงศ์ Isognomoidae (ล่าง) เกาะติดกับรากไม้โกงกาง B) หอยซี่เขื่อน หอยฝาเดียวชนิด *Teloscopium teloscopium* กระจายอยู่บนดิน C) หอยจู้บแจง *Cerithidea obtusa* หอยฝาเดียววงศ์ Potamididae (ซ้าย) และ หอยฝาเดียวผู้ล่า วงศ์ Muricidae (ขวา) แทรกตามร่องของรากไม้ D) ทากเปลือย *Onchidiidae* sp. เกาะลำต้นของไม้ ในป่าชายเลน

ขาดออกซิเจนและมีค่าความเป็นกรดสูง อันเป็นผลมาจากการทับถมของซากพืชและต้นไม้ที่ผุพังปริมาณที่มากทำให้สะสมไฮโดรเจนซัลไฟด์ (H_2S) ในดินสูง (สนิท อักษรแก้ว, 2542; Macnae, 1968; Hogarth, 1999) ภาวะดินกรดเช่นนี้เป็นปัญหาให้เปลือกชั้นนอกสุดผุกร่อนได้เพราะก่อให้เกิดการสลายตัวของแคลเซียมคาร์บอเนตที่ออกมากับเปลือกอย่างต่อเนื่อง โดยแคลเซียมจากเปลือกของมอลลัสก์จะถูกนำมาใช้ประโยชน์โดยการทำงานของแบคทีเรียที่ย่อยซัลเฟอร์ในดิน สังเกตได้ง่ายบริเวณปลายยอดสุดของเปลือก (apex) เป็นตำแหน่งที่พบการผุกร่อนมากที่สุด (Hogarth, 1999; Vermeij, 1974) โดยเฉพาะพบในกลุ่ม Epifauna ดังนั้นเปลือกของมอลลัสก์ที่อยู่บนดินเหล่านี้จะมีการปรับตัวสร้างเปลือกชั้นนอกสุด มีความหนาแน่นมากกว่าหอยที่พบในแหล่งอื่นๆ ซึ่งเห็นชัดในวงศ์ Potamididae ของคลาส

Gastropoda โดยเฉพาะสกุล (genus) *Teloscopium* และ *Terebralia* ที่มีเปลือกทรงกรวยขนาดใหญ่ ยาวมากถึง 19 เมตร และหนา จึงทำให้กลุ่มสกุลนี้จำเพาะในป่าชายเลนของอ่าวไทย และพบทั่วไปในเขตอินโดแปซิฟิกด้วย (Plaziat, 1984) (ภาพที่ 5)

ปัจจัยภาวะขาดออกซิเจนและมีค่าความเป็นกรดสูงในดิน มีผลให้กลุ่ม infauna หอยสองฝาส่วนใหญ่ไม่สามารถฝังตัวในตะกอนดินได้ลึกทำให้พวกมันส่วนใหญ่ถูกจำกัดที่อาศัยให้อยู่บริเวณหาดโคลน หรือหาดโคลนปนทรายขอบป่าชายเลนที่ติดกับทะเล (seaward fringe) มากกว่าฝังตัวอยู่ใต้ดินในป่าชายเลน (Vermeij, 1974; Berry, 1963) ยกเว้นกลุ่ม infauna ที่สามารถฝังเปลือกลงในดินที่มีความเป็นกรดสูงอยู่ตลอดเวลาที่มีการปรับตัวให้มีเปลือกหนาและใหญ่มาก จะเห็นได้ชัดเจน ในสกุล *Geloina* (Vermeij, 1974) ที่รู้จักกันดีในชื่อหอยพอก หรือหอยก้นในประเทศไทย



ภาพที่ 5 วงศ์ Potamidiadae ของคลาส Gastropoda การปรับตัวต่อภาวะดินกรดในป่าชายเลน โดยสร้างเปลือกชั้นนอกที่เห็นเป็นสีน้ำตาลและ หนา ตัวอย่างสกุล *Terebralia* (A) และ *Telescopium* (B) (สเกล 1 เซนติเมตร)

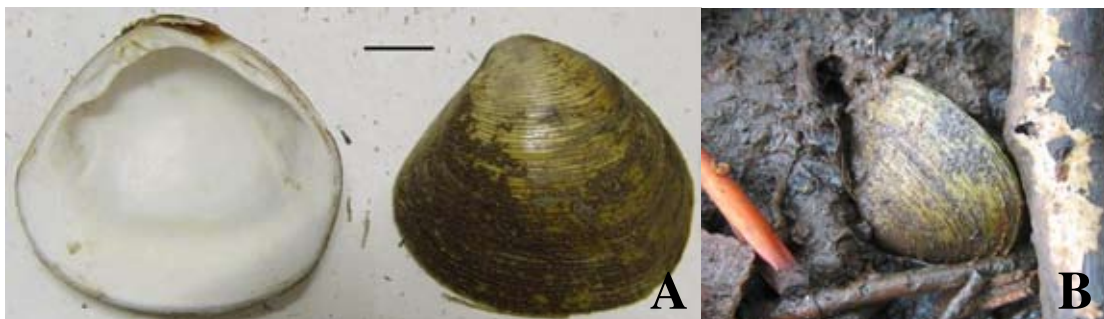
ที่มีเปลือกชั้นกลาง (prismatic layer) ที่มีสารประเภทแคลเซียมคาร์บอเนตเป็นองค์ประกอบ หนามาก (ภาพที่ 6) นอกจากนี้การมีเปลือกที่มีความหนาและใหญ่ยังมีประโยชน์ช่วยป้องกันการล่าของผู้ล่าโดยเฉพาะกลุ่มครัสเตรเชียนอีกด้วย ซึ่งบางครั้งจะสังเกตเห็นรอยแผลของการหนีบของกลุ่มครัสเตรเชียนบริเวณเปลือกภายนอก (Plaziat, 1984)

การปรับตัวของมอลลัสก์ด้านการรักษาสมดุลระดับน้ำและระดับอุณหภูมิของร่างกายต่อปัจจัยน้ำขึ้นน้ำลงในนิเวศป่าชายเลน

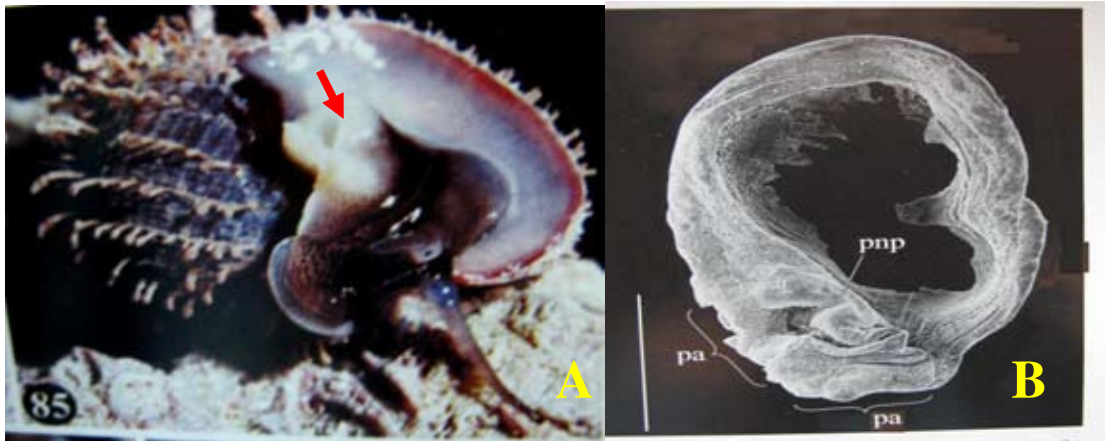
หอยฝาเดียวในป่าชายเลนสามารถปรับตัวให้อยู่ในสิ่งแวดล้อมที่มีภาวะแห้งในช่วงเวลาน้ำลงโดยมีการปรับตัวให้

สามารถหายใจในบรรยากาศได้ หอยหลายชนิดของวงศ์ Ellobiidae เป็นหอยฝาเดียวที่เหงือกทั้ง 2 ชั้น มีการลดรูปและสามารถมีการแลกเปลี่ยนแก๊สโดยการเปลี่ยนแปลงแผ่นแมนเทิล (mantle) ที่ปกคลุมก้อนอวัยวะภายใน (visceral mass) ให้ทำหน้าที่คล้ายปอดเหมือนหอยบก (Pulmonate snail) โดยแผ่นแมนเทิล พับเป็นแผ่นให้เกิดช่องแมนเทิล (mantle cavity) และภายในมีการสะสมของเหลว (Plaziat, 1984, Ng & Sivasothi, 1999; Martin, 2007) (ภาพที่ 7)

ส่วนหอยฝาเดียวชนิดที่อยู่แนวชายฝั่งสูงจากระดับน้ำมากๆ เช่น ทุกชนิดในวงศ์ Littorinidae อาศัยบนต้นไม้และคิบบลาน



ภาพที่ 6 หอยสองฝาคลาส Bivalvia ในสกุล *Geloina* มีเปลือกหนา (สเกล 1 เซนติเมตร) (A) เพื่อการปรับตัวที่มีการฝังเปลือกลงในภาวะดินที่มีความเป็นกรดสูง และมีประโยชน์ช่วยป้องกันการล่าของผู้ล่า (B)



ภาพที่ 7 การปรับตัวให้อยู่สิ่งแวดล้อมภาวะแห้งของหอยวงศ์ Ellobiidae การแลกเปลี่ยนแก๊สโดยการเปลี่ยนแปลงแผ่นเมนเทิล ทำหน้าที่คล้ายปอด สังเกตจากมีรูเปิดของปอด (pneumatophore-pnp) บริเวณแผ่นเมนเทิล (ลูกศร) (A) ของ สกุล *Cassidula* และ ปลอกของเมนเทิล (mantle collar) (B) ที่แสดงตำแหน่งและพื้นที่ของปอด (pneumostomal area-pa) (สเกล 1 มิลลิเมตร) (Martins, 2007)

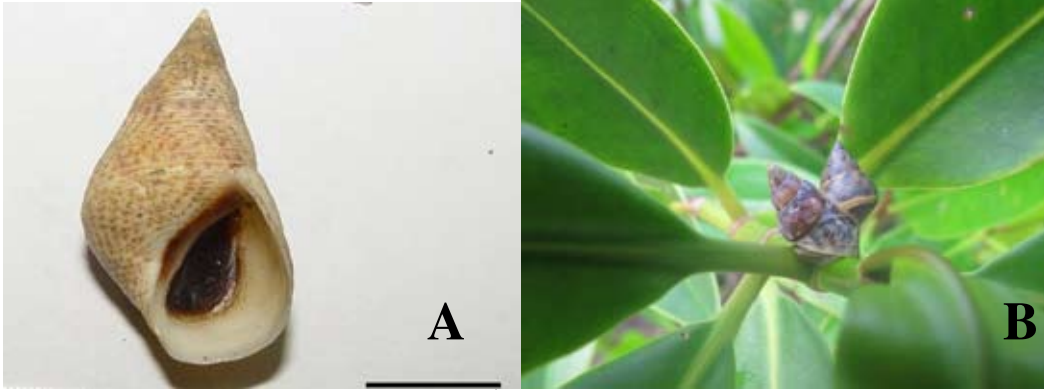
อยู่บนรากอากาศแบบต่างๆ ถึงแม้กลไกการรักษามวลน้ำใน ร่างกายอาจไม่ทำงานได้อย่างมีประสิทธิภาพ แต่สามารถปรับตัว อยู่ในพื้นที่เกิดภาวะแห้งเป็นเวลานานๆ โดยมีการมุดตัวเข้าไปใน เปลือกแล้วปิดฝาปิดเปลือก (operculum) ที่แน่นเพื่อลดการ ระเหยของน้ำออกจากเปลือกให้ต่ำที่สุด (ภาพที่ 6) ซึ่งกลไก ดังกล่าวมีผลกระทบต่อภารกิจปริมาณการแลกเปลี่ยนแก๊ส อีกด้วย ดังนั้นร่างกายจำเป็นต้องหายใจแบบไม่ใช้ออกซิเจน (anaerobic respiration) ในช่วงเวลาสั้นๆได้ (Macnae, 1968) อย่างไรก็ตามความสามารถของเนื้อเยื่อเกี่ยวพันมีทนต่อความร้อน และการรักษาน้ำภายในร่างกายมอลลัสก์ทุกชนิดมีอยู่อย่างจำกัด ดังนั้นเมื่ออุณหภูมิในสิ่งแวดล้อมเพิ่มขึ้น มอลลัสก์ในนิเวศ ป่าชายเลนจึงมีทิศทางการปรับตัวด้านพฤติกรรมให้เหมาะสม คล้ายคลึงกัน โดยที่พยายามรวมกลุ่มอยู่ใต้ร่มเงาไม้ เช่น บริเวณ ใต้ใบไม้ หรือรากไม้ เพื่อหลีกเลี่ยงความร้อนและการสูญเสีย น้ำ (Hogarth, 1999) ดังนั้นจะสามารถพบมอลลัสก์ชนิดต่างๆ ตามร่มเงาในป่าชายเลน ช่วงน้ำลงในเวลากลางวันที่มีอากาศร้อน (ภาพที่ 6)

หอยฝาเดียววงศ์ Littorinidae ที่อาศัยตามส่วนต่างๆ ของต้นไม้ป่าชายเลนจะเปลี่ยนแปลงที่อยู่ตามแนวระดับความ สูงหรือต่ำ ตามการเปลี่ยนแปลงของระดับน้ำขึ้นน้ำลง (Reid, 1986; Blanco & Cantera, 1999) หอยกลุ่มนี้ไม่ได้สัมผัสดิน เป็นหลัก ดังนั้นจึงไม่จำเป็นต้องมีเปลือกหนาแต่จะมีการปรับตัว ให้มีเปลือกบางเพื่อให้มีน้ำหนักเบาและสามารถปีนคลานตามส่วน

ต่างๆ ของต้นไม้ได้สูงขึ้น และเพื่อหนีจากผู้ล่ากลุ่มปู (Hogarth, 1999) การมีปากของเปลือก (aperture) ที่กลม บาง จำเพาะกับ พื้นที่เกาะและการมีเมือกเหนียวของหอยกลุ่มนี้ยังมีประโยชน์ เพื่อช่วยในการยึดเกาะกิ่งไม้และใบไม้ได้เป็นเวลานานๆ (ภาพที่ 8) นอกจากนี้เปลือกของหอยวงศ์นี้ยังมีความหลากหลายทั้ง ขนาด รูปทรง และสีสันทัน (Reid, 1986; Sanpanich *et al.*, 2004) กลุ่มที่มีเปลือกสีอ่อน เช่น สีเหลือง และเขียวอ่อน ได้รับความร้อน จากดวงอาทิตย์ได้น้อยกว่าสีเข้ม เพราะทำให้ตัวมันภายในเปลือก มีอุณหภูมิต่ำกว่า 1.5 องศาเซลเซียส (Cook & Freeman, 1986) และสีสันทคล้ายคลึงกับใบไม้ในธรรมชาตินี้ ของชนิด *L. pallescens* และ *L. melanostoma* (ภาพที่ 8) มีไว้เพื่อพรางตัวจากผู้ล่าชนิด อื่นๆ ตามที่สูง เช่น นก (Hogarth, 1999)

บทสรุป

สัตว์กลุ่มมอลลัสก์ถือว่าเป็นกลุ่มสัตว์ทางอนุกรมวิธาน (Taxon) ที่พบได้ทั่วไปและเป็นหนึ่งในสัตว์กลุ่มเด่นซึ่งมีความ จำเพาะในระบบนิเวศป่าชายเลนของอ่าวไทยและมีความหลาก ชนิดของมอลลัสก์ที่พบทั้งสิ้น 78 ชนิด เป็นหอยฝาเดียว 55 ชนิด และหอยสองฝา 23 ชนิด โดยความหลากหลายของมอลลัสก์ใน ระบบนิเวศป่าชายเลนบริเวณอ่าวไทยอาจกล่าวได้ว่ามีความสัมพันธ์ กับความสามารถในการปรับตัวให้เหมาะสมกับพื้นที่อาศัยจำเพาะ เช่น การปรับตัวอย่างมีประสิทธิภาพเพื่อตอบสนองต่อสิ่งแวดล้อม ทางกายภาพด้านต่างๆ เช่น อุณหภูมิที่เพิ่มขึ้น ตะกอนดินป่าชายเลน



ภาพที่ 8 วงศ์ Littorinidae มีกลไกเพื่อลดการระเหยน้ำออกจากร่างกาย มีการมุดตัวเข้าไปในเปลือกแล้วปิดฝาปิดเปลือกแน่น ตัวอย่าง *Littoraria melanostomata* (A) (สเกล 1 เซนติเมตร) และ การมีปากเปลือก ที่กลม บาง จำเพาะกับพื้นที่เกาะ และอาศัยอยู่ใต้เงาไม้เพื่อหลีกเลี่ยงความร้อนและการสูญเสียน้ำ เปลือกบางมีน้ำหนักเบาช่วยเคลื่อนที่ได้สูงถึงยอดไม้ ตัวอย่าง คือ *Littoraria paleseence* (B)

ที่มีแนวโน้มอยู่ในภาวะขาดออกซิเจนและมีค่าความเป็นกรดสูง ตลอดจนปรับตัวอยู่ในเขตน้ำขึ้นน้ำลง รอยต่อระหว่างน้ำเค็มกับแนวแผ่นดินในพื้นที่ และปากแม่น้ำได้ดี ซึ่งความรู้ที่ได้จากการศึกษาความหลากหลายและนิเวศวิทยาของมอลลัสก์ในระบบนิเวศป่าชายเลนบริเวณอ่าวไทยน่าจะเป็นข้อมูลพื้นฐานของการศึกษาความหลากหลายของมอลลัสก์ในระบบนิเวศป่าชายเลนของประเทศไทยในด้านต่างๆ ของมอลลัสก์ เช่น ด้านวิวัฒนาการ ด้านพันธุศาสตร์ และอื่นๆ เป็นต้น ตลอดจนเป็นข้อมูลพื้นฐานที่สามารถถ่ายทอดไปยังผู้สนใจเพื่อเป็นประโยชน์ต่อด้านการศึกษาด้านนิเวศวิทยาป่าชายเลน ทั้งกลุ่มนักเรียน นักศึกษา และการท่องเที่ยวเชิงนิเวศ อันนำไปสู่การอนุรักษ์และการจัดการทรัพยากรป่าชายเลนในอนาคตได้

กิตติกรรมประกาศ

ผู้เขียนขอขอบคุณ กองทุนสนับสนุนการวิจัย (สกว.) โครงการปริญญาเอกกาญจนาภิเษก 4B. MU/44/M.1 เป็นผู้มีส่วนสนับสนุนการศึกษาความหลากหลายของหอยในป่าชายเลนระยะเริ่มต้นบริเวณพื้นที่ภาคกลางและภาคตะวันออก ทำยที่สุดขอขอบคุณ ดร. กิติธร สรรพานิช จากสถาบันวิทยาศาสตร์ทางทะเลสำหรับข้อมูลหอย วงศ์ Littorinidae ในประเทศไทย และ รศ.ดร. ยาวลักษณ์ จิตรามวงศ์ จากภาควิชาชีววิทยา คณะวิทยาศาสตร์ มหาวิทยาลัยมหิดล ที่ให้โอกาส ในการศึกษาอมอลลัสก์ในป่าชายเลนของไทย

เอกสารอ้างอิง

- สนิท อักษรแก้ว. 2542. ป่าชายเลนนิเวศวิทยาและการจัดการ กรุงเทพฯ: มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์
- Berry, A.J. (1963). Faunal zonation in mangrove swamps. *Bulletin of the National Museum, State of Singapore*, 32, 90-98.
- Blanco, J.F. & Cantera, J.R. (1999). The vertical distribution of mangroves gastropods and environmental factors relative to tide level at Buenaventura Bay, Pacific Coast. *Bulletin of Marine Science*, 65, 617-360.
- Brandt, A.M. (1974). The non-marine aquatic Mollusca of Thailand. *Achiv fur Molluskenkunde*, 105, 1-123.
- Cook, L. M. & Freeman, P. M. (1986). Heating properties of morphs of the mangrove snail *Littoraria pallescens*. *Biological Journal of the Linnean Society*. 29, 295-300
- Cota, M., Chan-ard, T. & Makchai, S. (2000). Geographical Distribution and Regional Variation of *Varanus salvator macromaculatus* in Thailand. *Biawak*, 3(4), 134-143.
- Henriques, P.R. (1980). Faunal community structure of eight soft shores, intertidal habitats in Manuleak Harbour. *New Zealand Journal of Ecology*, 3, 97-103.

- Hogarth, P.J. (1999). *The Biology of Mangroves*. Oxford University Press, Oxford. 228 pp.
- Hutchings, P.A. & Saenger, P. (1987). *Ecology of Mangroves*. University of Queensland Press, St. Lucia, Queensland.
- Hutchings, P.A. (1999). Taxonomy of estuarine biota in Australia. Proceedings of International Conference of Ecology of Estuaries and soft sediment habitats. *Australian Journal of Ecology*, 24, 381-394.
- Ng, P.K.L. & Sivasothi, N. (1999). A Guide to Mangroves of Singapore, I (The Ecosystem and Plant diversity). II (Animal Diversity). Singapore Science Centre. Singapore.
- Macintosh, D. J., Ashton E.C. & Havanon. S. (2002). Mangrove rehabilitation and intertidal biodiversity: A study in the Ranong mangrove ecosystem, Thailand. *Estuarine, Coastal and Shelf Science*, 55, 331-345.
- Martin, A.M.F. (2007). Morphological and anatomical diversity within the Ellobiidae (Gastropoda, Pulmonata, Archaeopulmonata). *Vita Malacologia*, 4, 1-28.
- Morton, B. & Morton, J. (1983). *The Seashore ecology of Hong Kong*. Hong Kong University Press.
- Macnae, W. 1968. A general account of the fauna and flora of mangrove forests in the Indo-West Pacific region. *Advances in Marine Biology*, 6, 73-270.
- Offenberg, J., Havanon, S., Aksornkoae, S., Macintosh, D. & Nielsen, M.G. (2004). Observations on the ecology of weaver ants (*Oecophylla smaragdina* Fabricius) in a Thai mangrove ecosystem and their effect on herbivory of *Rhizophora mucronata* Lam. *Biotropica*, 36(3), 344-351.
- Pauwels O.S.G., David, P., Chimsunchart, C. & Thirakhupt, K. (2003). Reptiles of Phetchaburi Province, Western Thailand: a list of species, with natural history notes, and a discussion on the biogeography at the Isthmus of Kra. *The Natural History Journal of Chulalongkorn University*, 3(1), 23-53.
- Plaziat, J. C. (1984). Mollusk distribution in the mangal. In D. Por, & I. Dor. (Eds.), *Hydrobiology of the Mangal: the Ecosystem of the Mangrove Forests* (pp 111-143). Junk, Boston.
- Printrakoon, C., Ashton, E. & Havanond, S. (2005). A study on the effect of the December 26th 2004 tsunami on the distribution of benthic organisms in the mangrove forest at Ban Nam Khem, Phang Nga, Thailand. *Wave in Bay, ENVIS Publication*, 3, 39-52.
- Printrakoon, C. & Tëmkin, I. (2008). Comparative ecology of two parapatric species of Isognomon (Bivalvia: lognomonidae) of Khung Krabaen Bay, Thailand. *Raffles Bulletin of Zoology (Suppl.)*, 18, 75-94.
- Printrakoon, C. (2008). Ecology of molluscs in heavy metal contaminated mangrove areas along the upper Gulf of Thailand (Doctor of Philosophy thesis) Issued: 2009-07-28. 267 pp.
- Printrakoon, C., Wells, F.E., & Chitramvong, Y. (2008). Distribution of molluscs in mangroves at six sites in the Upper Gulf of Thailand. *Raffles Bulletin of Zoology (Suppl.)*, 18, 247-257.
- Printrakoon, C. (2010). Biogeographic distribution of gastropod associated mangrove from Thailand. Tropical Natural History. 17th World Congress of Malacology, 18-24 July 2010. Royal Phuket City Hotel, Phuket, Thailand.
- Reid, D.G. (1986). The littorinid mollusks of mangrove forests in the Indo-Pacific region. The genus *Littoraria*. British Museum (National History), London. 288 pp.
- Reid, D.G., Dyal, P., Lozouet, P., Glaubrecht, M. & Williams S.T. (2008). Mudwhelks and mangroves: The evolutionary history of an ecological association (Gastropoda: Potamididae). *Molecular Phylogenetics and Evolution*, 47, 680-699.
- Round, P. D. (1988). International Council for Bird Preservation, 211 pages.

- Sasekumar, A. (1974). Distribution of macrofauna on a Malayan mangrove shore. *Journal of Animal Ecology*, 43, 51-69.
- Sanpanich, K., Wells, F. E. & Chitramvong, Y. (2004). Distribution of the family Littorinidae (Mollusca: Gastropoda) in Thailand. *Records of the Western Australian Museum*, 22, 241-251.
- Shokita, A, Nazawa, N. Yoshikawa & Limsakul, S. (1983). Macrofauna in Mangrove Areas of Thailand, Japanese Ministry of Education, Science and Culture, 33-61.
- Swennen, C., Moolenbeek, R.G., Ruttanadaku, N., Hobbelink, H., Dekker H. & Hajisamae, S. 2001. The Molluscs of the Southern Gulf of Thailand. Thai Studies in Biodiversity (The Biodiversity Research and Training Program, Bangkok), 4, 1-210
- Sri-aroon, P., Lohachit, C. & Harada, M. (2005). Brackish-water mollusks of Surat Thani Province, Southern Thailand. *Southeast Asia Journal Tropical Medical Publication Health*, 36, 180-188.
- Tan, K.S. (2008). Mudflat predation on bivalve and gastropods by *Chicoreus capucinus* (Neogastropoda: Muricidae) at Krungkrabean Bay, Gulf of Thailand. *Raffles Bulletin of Zoology (Suppl.)*, 18, 235-245.
- Todd, J.A. (2001). Molluscan life habits databases. In Neogene marine biota of tropical America. 200 pp. <http://porites.uiowa.edu/database/mollusc/mollusclifestyles.htm>.
- Tongnunui P, Ikejima K, Yamane T, Horinouchi, M, Medej T, Sano M, Kurokura, H & Tanichi, T. (2002). Fish fauna of the Sikao Creek mangrove estuary, Trang, Thailand. *Fisheries Science*, 68, 10-17
- UNEP (United Nation Environmental Program), 2548. รายงานสถานการณ์ทรัพยากรธรรมชาติและสิ่งแวดล้อมเล่มที่ 1 ป่าชายเลน. UNEP GEF Project on “Reversing Environmental Degradation Trends in the South China Sea and Gulf of Thailand” 60 หน้า ISBN: 974-9929-66-7.
- Vermeij, G.J. (1974). Molluscs in mangrove swamps: physiognomy, diversity, and regional difference. *Systematic Zoology*, 22, 609-642.
- Wells, F.E. (1983). An analysis of marine invertebrate distributions in a mangrove swamp in northwestern Australia. *Bulletin of Marine Science*, 33, 736-744.
- Wells, F.E. (1984). Comparative distribution of macromolluscs and macrocrustaceans in a north-Western Australian mangrove system. *Australian Journal of Marine and freshwater Research*, 35, 591-596.
- Wells, F.E. (1986a). Distribution of molluscs across a pneumatophore boundary in a small bay in north Western Australian. *Journal of Molluscan Studies*, 46, 83-90.
- Wells, F.E. (1986b). Distribution of marine invertebrates in Hong Kong mangrove, with emphasis on molluscs. In *Proceedings of the Second International Workshop on Malacofauna of Hong Kong and Southern China, Hong Kong, 1983* (pp.783-793). Hong Kong University Press, Hong Kong.
- Wells, F. E. & Slack-Smith, S.M. (1981). Zonation of molluscs in a mangrove swamp in the Kimberley, Western Australia. In: *Biological Survey of Mitchell Plateau and Admiralty Gulf, Kimberley*, (pp 265-274). Western Australia, Perth.

การยับยั้งเอนไซม์ CYP2A6 ที่ย่อยสลายนิโคตินในคน: ทางเลือกใหม่ในการลดการสูบบุหรี่
Inhibition of the Human CYP2A6, the Nicotine-Metabolizing Enzyme: An Alternative Smoking
Cessation Strategy

ทรงกลด สารภูษิต*

ภาควิชาชีวเคมี คณะวิทยาศาสตร์ มหาวิทยาลัยบูรพา

Songklod Sarapusit*

Department of Biochemistry, Faculty of Science, Burapha University.

บทคัดย่อ

ในปัจจุบันปัญหาโรคระบบทางเดินหายใจ อันเนื่องมาจากการสูบบุหรี่ นับเป็นหนึ่งในปัญหาสำคัญที่ส่งผลกระทบต่อสุขภาพของประชาชนและด้านเศรษฐกิจของประเทศ จึงมีการศึกษาวิจัยเพื่อช่วยในการลด ละ เลิกการสูบบุหรี่ เพื่อป้องกันไม่ให้ผู้สูบบุหรี่และผู้ใกล้ชิด ได้รับสารพิษและสารก่อมะเร็งจากบุหรี่ ซึ่งจะลดภาวะการเกิดโรคและเพิ่มคุณภาพชีวิตของประชาชน จากการศึกษาพบว่า สารนิโคตินในบุหรี่ที่ออกฤทธิ์ทำให้ผู้สูบบุหรี่มีพฤติกรรมติดการสูบบุหรี่ และส่งผลให้ได้รับสารพิษที่ทำให้เกิดโรคเกี่ยวกับทางเดินหายใจต่างๆ นั้น จะถูกย่อยสลายด้วยเอนไซม์ CYP2A6 ในตับก่อนที่จะถูกย่อยสลายต่อไปจนถูกกำจัดออกจากร่างกายทางปัสสาวะ และบางส่วนของผู้สูบบุหรี่ที่มีการทำงานของเอนไซม์ CYP2A6 ลดน้อยลง มีแนวโน้มที่จะสูบบุหรี่น้อยและเลิกสูบบุหรี่ได้ง่ายกว่าผู้สูบบุหรี่ที่มีการทำงานของเอนไซม์ CYP2A6 ปกติ ดังนั้นการบำบัดรักษาอาการเสพติดบุหรี่ร่วมกับการลดการทำงานของเอนไซม์ CYP2A6 ด้วยตัวยับยั้งจำเพาะที่ไม่เป็นพิษต่อร่างกาย จะช่วยรักษาระดับนิโคตินในกระแสเลือด ซึ่งอาจส่งผลให้สูบบุหรี่ลดลงและลดโอกาสที่ร่างกายจะได้สัมผัสกับสารประกอบเป็นพิษในบุหรี่ จึงช่วยลดผลร้ายต่างๆ ที่จะเกิดขึ้นกับร่างกายในตัวผู้สูบบุหรี่และผู้ใกล้ชิดได้อย่างปลอดภัย

คำสำคัญ : การสูบบุหรี่ นิโคติน เอนไซม์ไซโตโครม พี450 CYP2A6 ตัวยับยั้ง

*E-mail: songklod@buu.ac.th

Cigarette smoking has enormous deleterious effects on healthcare and economic consequence and is the leading cause of various tobacco-specific respiratory diseases and premature death in the nation. Therefore, smoking cessation via experimental-based studies is crucially important for smoking control programs. Nicotine in cigarette is not a direct cause of most tobacco-related diseases, but the addictiveness of nicotine is the cause of the continuing use of tobacco products thus continued exposing to deleterious bioactive and carcinogenic compounds contained in cigarettes. Cigarette-derived nicotine is mainly metabolized by the liver specific cytochrome P450 2A6, CYP2A6, enzyme to nontoxic compounds before excretion from the body. In addition, some of deficient CYP2A6 allele smokers that drastically decrease in CYP2A6 activity tended to smoke few cigarettes per day and are low-risk of nicotine dependence compared to normal allele smokers. Thus, co-medication of smoking cessation therapy with specific CYP2A6 inhibitor could possibly aid in blood-nicotine level maintenance and reduce number of cigarette smoke, diminish chemical compounds exposure and health effect from cigarette smoke in both smokers and passive smokers.

Keyword : Cigarette smoking, Nicotine, Human cytochrome P450, CYP2A6, inhibitors

บทนำ

โรกระบบทางเดินหายใจอันเนื่องมาจากการสูบบุหรี่เป็นหนึ่งในปัญหาสำคัญในหลายประเทศทั่วโลกรวมถึงประเทศไทย โดยในปี 2549 พบว่าโรกระบบทางเดินหายใจจากการสูบบุหรี่ทำให้เกิดการสูญเสียทางเศรษฐกิจถึง 9.86 ล้านบาท (Leartsakulpanich *et al.*, 2007) และผลการสำรวจล่าสุดในปี พ.ศ. 2552 พบว่ามีคนไทยสูบบุหรี่ถึง 10.90 ล้านคนหรือร้อยละ 20.70 ของประชากรที่อายุมากกว่า 15 ปีทั้งประเทศ 52.7 ล้านคน โดยผู้สูบบุหรี่ส่วนใหญ่ร้อยละ 23.04 อยู่ในวัยทำงาน (อายุ 25-59 ปี) แยกเป็นชาย 10.40 ล้านคน และหญิง 0.54 ล้านคน นอกจากนี้ อัตราการสูบบุหรี่ยังเพิ่มขึ้นในกลุ่มเยาวชน กลุ่มผู้ด้อยโอกาส ผู้มีการศึกษาน้อย อยู่ในชนบท ยากจนและผู้มีฐานะในระดับปานกลางทั่วไป นอกจากนี้ผู้สูบบุหรี่เหล่านี้ร้อยละ 58.95 หรือ 6.39 ล้านคน สูบบุหรี่ขณะอยู่ในบ้านที่บุคคลในครอบครัวอาศัยอยู่เป็นประจำ รวมถึงสตรีมีครรภ์ราว 17,059 คน ที่สูบบุหรี่ในระหว่างตั้งครรภ์และในจำนวนนี้ร้อยละ 84.78 สูบบุหรี่ระหว่างให้นมบุตร ซึ่งส่งผลกระทบต่อสุขภาพของทารกตั้งแต่อยู่ในครรภ์มารดา จนเติบโตเป็นผู้ใหญ่ และยังเป็นการปลูกฝังพฤติกรรมกรรมการสูบบุหรี่ให้แก่เด็กและเยาวชนอีกด้วย และจากการสำรวจพบว่ามีผู้เลิกสูบบุหรี่ทั้งสิ้นร้อยละ 30.4 หรือ 4.7 ล้านคน จากประชากรที่เคยสูบบุหรี่ทั้งหมด 15.6 ล้านคน (ปัจจุบันยังสูบบุหรี่อยู่ 10.9 ล้านคน) โดยมี 1.77 ล้านคน ที่พยายามเลิกบุหรี่แต่ไม่ประสบความสำเร็จ ทั้งนี้เพราะเกิดการหงุดหงิด/ฉุนเฉียว/โกรธง่ายร้อยละ 38.61 และเพราะความเครียดร้อยละ 27.42 โดยเฉลี่ยผู้สูบบุหรี่จะเลิกบุหรี่ได้ 11.44 เดือนก่อนกลับมาสูบบุหรี่ซ้ำอีกครั้ง โดยที่แม่เลิกบุหรี่ไปแล้วถึง 20 ปีก็สามารถกลับมาสูบบุหรี่ได้อีก แสดงให้เห็นว่าการเลิกสูบบุหรี่นั้นทำได้ยาก (ศรีนยา และคณะ 2551, ศิริวรรณ และคณะ 2552)

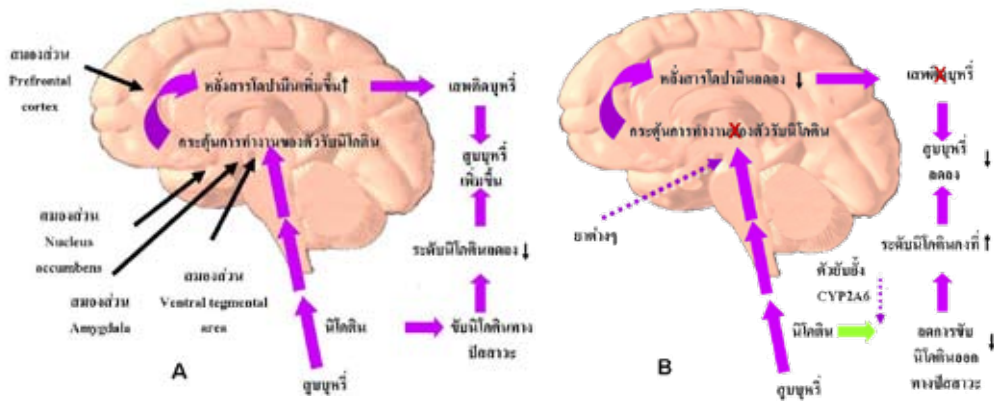
จากการศึกษาถึงสารเคมีต่างๆ ในบุหรี่พบว่า บุหรี่ประกอบด้วยสารประกอบต่างๆ มากมายกว่า 4,000 ชนิด โดยที่มากกว่า 40 ชนิด เป็นสารก่อมะเร็ง ดังนั้นผู้สูบบุหรี่และผู้ใกล้ชิด (Passive smokers) จึงมีอัตราเสี่ยงเป็นโรคมะเร็งปอดและโรคทางเดินหายใจอื่นๆ เช่น โรคถุงลมโป่งพองมากกว่าคนทั่วไป รวมถึงเป็นกลุ่มเสี่ยงที่จะมีอาการของโรคหัวใจขาดเลือด โรคหัวใจวาย และโรคที่เกี่ยวข้องต่างๆ อีกด้วย (WHO, 2008)

นิโคติน กลไกการเสพติดบุหรี่ และการรักษาการเสพติดบุหรี่ในปัจจุบัน

อุบัติการณ์การเกิดโรคต่างๆ จากการสูบบุหรี่เกิดขึ้น

เนื่องจากสารนิโคติน (Nicotine) ที่เข้าสู่ร่างกายผ่านการสูดควันบุหรี่ โดยนิโคตินประมาณ 1.8-3.25 มิลลิกรัมต่อมวน (จากที่มีประมาณ 9-13 มิลลิกรัมต่อมวน) จะถูกดูดซึมผ่านเยื่อหุ้มเซลล์ทางเดินหายใจและทางเดินอาหารเข้าสู่กระแสเลือดไปออกฤทธิ์กระตุ้นระบบตอบสนองต่อความยินดี (Brain reward system) ซึ่งเป็นบริเวณของสมองส่วนกลางที่ทำหน้าที่เกี่ยวข้องกับการเกิดความรู้สึกพึงพอใจและมีความสุข โดยการจับของนิโคตินกับตัวรับนิโคติน (Nicotinic Acetylcholine Receptor, NAR) ที่บริเวณปลายประสาทของสมองส่วน Ventral Tegmental Area (VTA) จะทำให้มีการหลั่งสารโดปามีน (Dopamine) ออกมาเพิ่มขึ้น (ภาพที่ 1A) ผู้สูบบุหรี่จึงมีอาการเป็นสุข ลดความเครียดต่างๆ และเกิดอาการติดการสูบบุหรี่ (เสพติดบุหรี่) นอกจากนี้นิโคตินยังมีผลเพิ่มการหลั่งของสารสื่อประสาทอื่นๆ เช่น Acetylcholine และ Norepinephrine เช่นเดียวกับสารเสพติด เช่น เอมเฟตามีนและโคเคน ผู้สูบบุหรี่จึงตื่นตัว สดชื่นและมีสมาธิขึ้นด้วยเหตุนี้ผู้สูบบุหรี่จึงเป็นผู้ที่เสพติดนิโคติน เพื่อคงระดับนิโคตินในเลือดทำให้นิโคตินไปออกฤทธิ์ที่ระบบประสาทส่วนกลางที่ระบบตอบสนองต่อความยินดี ดังนั้นเมื่อผู้เสพติดบุหรี่เลิกสูบบุหรี่จะทำให้มีความรู้สึกในเชิงลบ (อาการถอนนิโคติน) เช่น อารมณ์ไม่ดี หงุดหงิด เนื่องจากไม่ได้รับนิโคตินจากบุหรี่เข้าไปกระตุ้นระบบตอบสนองต่อความยินดีในสมองให้มีการหลั่งสารสื่อประสาทโดปามีนเพิ่มขึ้น ทำให้กลับมาสูบบุหรี่อีก เพื่อคงความรู้สึกในเชิงบวกเหมือนเดิม (Hukkanen *et al.*, 2005)

เนื่องด้วยการเสพติดบุหรี่จากนิโคตินเป็นสิ่งที่จำเป็นต้องได้รับการรักษา ปัจจุบันจึงมีวิธีต่างๆ เพื่อช่วยในการบำบัดและช่วยให้ผู้เสพติดเลิกจากการสูบบุหรี่ โดยใช้วิธีการรักษาที่ลดการย่อยสลายนิโคติน (ภาพที่ 1B) เพื่อคงระดับของนิโคตินในเลือด ทำให้นิโคตินจับกับตัวรับนิโคตินที่สมองได้นานขึ้น ส่งผลให้ลดการสูบบุหรี่และลดอัตราการได้รับสารพิษต่างๆ จากบุหรี่ยิ่ง (Carrozzi *et al.*, 2008) ทั้งการใช้นิโคตินทดแทนในรูปของนิโคตินหมากฝรั่งชนิดเคี้ยวและนิโคตินชนิดแผ่นติดผิวหนัง (Nicotine Replacement Therapy, NRT) ร่วมกับการบำบัดพฤติกรรมของผู้เสพติด แต่วิธีนี้ไม่ได้รับความนิยมเนื่องจากความไม่สะดวกในการใช้ เห็นผลช้าและมีผลข้างเคียง (Sellers *et al.*, 2003) เช่นเดียวกับการรักษาด้วยยาที่ไปลดการจับของนิโคตินกับตัวรับนิโคตินที่สมองทำให้ลดการเสพติดนิโคตินลง ทั้งในกลุ่มยาที่เลือกใช้ก่อน (First-line drug) เช่นยา Bupropion HCl และ Varenicline และยาในกลุ่มที่เลือกใช้ถัดไป (Second-line drug) เช่นยา Nortriptyline และ Clonidine ที่มีผลข้างเคียงกับผู้ใช้ยา



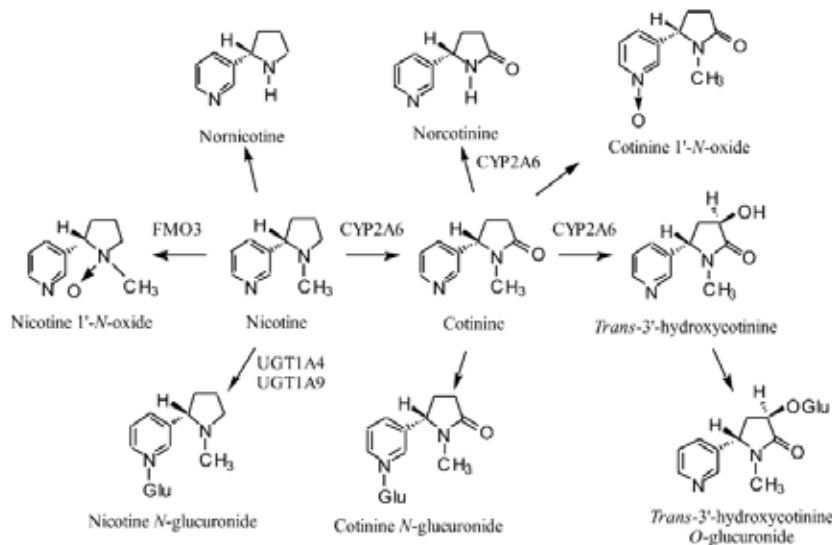
ภาพที่ 1 แผนภาพการออกฤทธิ์ที่ระบบประสาทของนิโคตินที่สมองและกลไกของยาที่ใช้ในการรักษาการสูบบุหรี่ในปัจจุบัน (ภาพที่ 1A) นิโคตินที่เข้าสู่สมองจะไปกระตุ้นการหลั่งของโดปามีนในสมอง ทำให้เกิดการเสพติดนิโคติน ส่งผลให้ผู้สูบบุหรี่มีอาการเป็นสุข ลดความเครียดต่างๆ ลงและสูบบุหรี่เพิ่มขึ้น (ภาพที่ 1B) กลไกของยาที่ใช้รักษาการเสพติดบุหรี่ในปัจจุบันที่มีทั้งกลไกในการแย่งจับกับตัวรับนิโคตินในสมอง ทำให้ลดการเสพติดและการใช้ตัวยับยั้งการย่อยสลายนิโคติน เพื่อคงระดับนิโคตินในกระแสเลือดทำให้สูบบุหรี่น้อยลง

ได้แก่การทำให้เกิดอาการนอนไม่หลับ ปากแห้ง มือสั่นและปวดศีรษะ อ่อนเพลีย มึนงง ความดันโลหิตสูง หรือทำให้เกิดอาการอาเจียน และปวดหัว เพราะฤทธิ์ของยาไปมีผลต่อการทำงานของสมองที่เป็นศูนย์กลางการสั่งงานของร่างกาย (Carrozzi *et al.*, 2008)

เอนไซม์ Cytochrome P450 2A6 (CYP2A6) กับการย่อยสลายนิโคติน

นิโคตินจากการสูบบุหรี่จะเข้าสู่ระบบทางเดินหายใจและระบบทางเดินอาหาร ผ่านทางการดูดซึมที่เซลล์เยื่อบุจมูกและ

เนื้อเยื่อคอตหลังที่ปาก โดยที่ประมาณร้อยละ 80-90 ของนิโคตินที่เข้าสู่ร่างกายจะเกิดปฏิกิริยาออกซิเดชัน (Oxidation) โดยเอนไซม์ CYP2A6 ในตับเกิดเป็นสารประกอบโคทีนิน (Cotinine) ที่จะเกิดปฏิกิริยา hydroxylation และถูกเติมหมู่ น้ำตาล (Glucuronation) อย่างต่อเนื่อง ได้เป็นสารประกอบต่างๆ เช่น *trans*-3'-hydroxycotinine, *trans*-3'-hydroxycotinine O-glucuronide, Cotinine N-glucuronide, Cotinine 1'-N-oxide และ Nornicotine (ภาพที่ 2) ที่จะถูกขับออกทางปัสสาวะ (Hukkanen *et al.*, 2005; Yamanaka *et al.*, 2004)



ภาพที่ 2 กลไกในการกำจัดนิโคตินในคน ที่เป็นการทำงานร่วมกันของเอนไซม์ CYP2A6 เอนไซม์ Flavin-containing monooxygenase และ UDP-glucuronosyltransferase 1A4 และ 1A9 (UGT1A4 และ UGT1A9) (ที่มา: Yamanaka *et al.*, 2004)

CYP2A6 เป็นเอนไซม์ในกลุ่มไซโตโครมพี 450 (cytochrome P450; CYP, P450) ที่เร่งปฏิกิริยาการย่อยสลายสารต่างๆ ทั้งภายในและภายนอกร่างกาย เช่น ฮอร์โมน ยาหรือสารปนเปื้อนในอาหารและสิ่งแวดล้อม ในคนมีเอนไซม์ P450 ถึง 18 กลุ่มใหญ่ (Family) และ 43 กลุ่มย่อย (Sub-Family) (<http://drnelson.utmen.edu/CytochromeP450.html>) โดยเอนไซม์ CYP2A6 จะพบมากที่สุด (ประมาณร้อยละ 1-10 ของเอนไซม์ P450 ที่ตับทั้งหมด) และส่วนน้อยที่เยื่อบุทางเดินหายใจ กล่องเสียง ปอดและอวัยวะอื่นๆ (Ortiz de Montellano., 2005) จากการศึกษาพบว่าเอนไซม์ CYP2A6 สามารถเร่งปฏิกิริยาการย่อยสลายยารักษาโรคต่างๆ ที่มีในปัจจุบันได้ประมาณร้อยละ 3 ของยาที่มีในท้องตลาด เช่น ยารักษาอาการชัก (Valproic acid หรือ Losigamone) ยารักษาโรคเอดส์ (Efavirenz) ยารักษาโรคมาเฟ็ง (Cyclophosphamine) (ในสัดส่วนร้อยละ 5-30, ร้อยละ 20-50 และร้อยละ 20-40 ของยาทั้งหมดที่เข้าสู่ร่างกายตามลำดับ) และมีส่วนช่วยในการย่อยสลายสารในร่างกาย เช่น Retinoic acid, Testosterone และ Estradiol ร่วมกับเอนไซม์ P450 อื่นๆ แต่บทบาทที่สำคัญของเอนไซม์ CYP2A6 คือการเร่งปฏิกิริยาการย่อยสลายสารนิโคตินในบุหรี่ (ร้อยละ 80-90 ของนิโคตินทั้งหมดที่เข้าสู่ร่างกาย) (Di et al., 2009; Ortiz de Montellano., 2005) โดยเอนไซม์ CYP2A6 ที่ได้จากตับและเอนไซม์ CYP2A13 ที่ได้จากปอดสามารถย่อยสลายนิโคตินได้ดีด้วยค่าอัตราเร็วของปฏิกิริยาสูงสุด (V_{max}) ที่สูงและค่าคงที่ Michealis (K_m) ต่อนิโคตินที่ต่ำ แต่บทบาทของเอนไซม์ CYP2A13 ในการย่อยสลายนิโคตินยังไม่ชัดเจน (Patten et al., 1996; Su et al., 2000) จากการศึกษาพบว่าเอนไซม์ P450 อื่นสามารถย่อยสลายนิโคตินได้เช่นกันแต่ไม่ใช่เอนไซม์หลักในการย่อยสลายนิโคติน โดยเอนไซม์เหล่านี้ได้แก่ CYP2B6 ที่พบในสมอง ลำไส้เล็กและไต เอนไซม์ CYP2D6 ที่พบในสมองและเอนไซม์ CYP2E1 ที่พบในปอดและสมอง ดังนั้นการย่อยสลายของนิโคตินที่ตับโดยเอนไซม์ CYP2A6 เป็นกระบวนการหลักของร่างกายในการกำจัดนิโคติน (Di et al., 2009; Hukkanen et al., 2005) นอกเหนือไปจากบทบาทหลักในการย่อยสลายนิโคตินแล้วเอนไซม์ CYP2A6 ยังสามารถกระตุ้นสารก่อมะเร็ง Nitrosamine ในบุหรี่ เช่น Nicotine-derived nitrosamine ketone หรือ NNK [4-(methylnitrosamino)-1-(3-pyridyl)-1-butanone] (Patten et al., 1996) ทำให้เกิดมะเร็งในหนูทดลอง (Hecht., 1998) ดังนั้นการย่อยสลายนิโคตินในร่างกายยังเป็นการเพิ่มอัตราเสี่ยงต่อการก่อโรคมะเร็งด้วย

จากการศึกษาพบว่าความหลากหลายทางพันธุกรรมของยีน CYP2A6 ที่ถอดรหัสเป็นเอนไซม์ CYP2A6 ในมนุษย์ (CYP2A6 Polymorphism) ที่มีถึง 37 อัลลีลนั้น (<http://www.cypalleles.ki.se/cyp2a6.htm>; Di et al., 2009; Kamataki et al., 2005) มีบทบาทต่อระดับนิโคตินในเลือดและพฤติกรรมกาสูบบุหรี่ของผู้สูบบุหรี่ โดยสามารถแบ่งเป็นกลุ่มได้ดังนี้ 1) กลุ่มคนที่มีอัลลีลของ CYP2A6 ปกติมากกว่าสองชุด ($CYP2A6^*1X2A$ หรือ $CYP2A6^*1X2B$) ที่มีการทำงานของเอนไซม์ CYP2A6 ดีกว่าปกติมาก (Ultrarapid Metabolizer; UM) 2) กลุ่มคนที่มีอัลลีลของ CYP2A6 ปกติสองชุด ($CYP2A6^*1A^*1A$ หรือ $CYP2A6^*1A^*1B$ หรือ $CYP2A6^*1B^*1B$) ที่มีการทำงานของเอนไซม์ CYP2A6 ปกติ (Extensive Metabolizer; EM) ซึ่งคนในทั้งสองกลุ่มนี้พบว่า จะย่อยสลายนิโคตินได้เร็วและสูบบุหรี่มากกว่าคนปกติ 3) กลุ่มคนที่มีกลุ่มคนที่มีอัลลีลของ CYP2A6 ปกติหนึ่งชุดและอัลลีลอื่นๆ ที่มีการทำงานของเอนไซม์ CYP2A6 ลดลงหนึ่งชุด ($CYP2A6^*1A^*4C$ หรือ $CYP2A6^*1B^*4C$ หรือ $CYP2A6^*1A^*7$ หรือ $CYP2A6^*1A^*8$ หรือ $CYP2A6^*1A^*9$ หรือ $CYP2A6^*1A^*10$ หรือ $CYP2A6^*1B^*7$ หรือ $CYP2A6^*1B^*8$ หรือ $CYP2A6^*1B^*9$ หรือ $CYP2A6^*1B^*10$) ซึ่งจะมีการทำงานของเอนไซม์ CYP2A6 น้อยกว่าปกติ (Intermediate Metabolizer; IM) และ 4) กลุ่มคนที่มีกลุ่มคนที่มีอัลลีลของ CYP2A6 อื่นๆ ที่มีการทำงานของเอนไซม์ CYP2A6 ลดลงสองชุดหรือหนึ่งชุดร่วมกับอัลลีล $CYP2A6^*4C$ ที่ยีนของ CYP2A6 หายไป ($CYP2A6^*7^*9$ หรือ $CYP2A6^*7^*10$ หรือ $CYP2A6^*9^*10$ หรือ $CYP2A6^*4C^*9$) หรือมีอัลลีล $CYP2A6^*4C$ ที่ยีนของ CYP2A6 หายไปสองชุด ($CYP2A6^*4C^*4C$) ทำให้มีการทำงานของเอนไซม์ CYP2A6 ต่ำกว่าปกติมากหรือไม่มีเลย (Poor Metabolizer; PM) (Di et al., 2009; Lynch & Price., 2007) โดยคนกลุ่ม PM นี้พบว่า จะย่อยสลายนิโคตินช้า มีอัตราการสูบบุหรี่ต่อวัน ความเสี่ยงในการเสพติดนิโคตินและการเป็นมะเร็งปอดน้อยกว่าผู้สูบบุหรี่ทั่วไป รวมถึงเลิกสูบบุหรี่ได้ง่ายกว่าผู้สูบบุหรี่ที่มีการทำงานของเอนไซม์ CYP2A6 ปกติหรือดีกว่าปกติ (Miyamoto et al., 1999; Tyndale & Sellers., 2001, 2002)

จากการศึกษาความหลากหลายทางพันธุกรรมของยีน CYP2A6 ในประเทศไทยพบว่าประเทศไทยมีประชากรที่มีการทำงานของเอนไซม์ CYP2A6 ปกติ (EM) น้อยกว่าปกติ (IM) และต่ำกว่าปกติมาก (PM) ร้อยละ 45.4 ร้อยละ 47.9 และร้อยละ 6.7 ตามลำดับ เมื่อทำการศึกษาความถี่ในการกระจายตัวของอัลลีลในกลุ่มประชากรพบว่าประชากรไทยมีความถี่ในการกระจายตัวของอัลลีลปกติ ($CYP2A6^*1A$ และ

CYP2A6*1B) รวมกันถึงร้อยละ 69.3 และมีความถี่ในการกระจายตัวของ CYP2A6*4C ที่เป็นการขาดหายไปของยีน CYP2A6 เพียงร้อยละ 9.3 เท่านั้น (Mahavorasirikul *et al.*, 2009; Peamkrasatam *et al.*, 2006) นอกจากนี้ยังพบว่าผู้สูบบุหรี่ร้อยละ 37.5 จะมีอัลลีลที่มียีนการทำงานของเอนไซม์ CYP2A6 ปกติ (EM) และคนกลุ่มนี้จะสูบบุหรี่ต่อวันมากกว่ากลุ่มคนที่มียีนการทำงานของเอนไซม์ CYP2A6 น้อย (IM) และต่ำกว่าปกติ (PM) (Apinan *et al.*, 2010; Mahavorasirikul *et al.*, 2009) ด้วยเหตุที่ประชากรส่วนใหญ่ของประชากรไทยเป็นคนที่มียีนการทำงานของเอนไซม์ CYP2A6 แบบปกติ (EM) และน้อยกว่าปกติ (IM) ทำให้ผู้สูบบุหรี่คนไทยมีแนวโน้มจะเสพติดบุหรี่ได้ง่ายเพราะระดับนิโคตินในเลือดลดลงอย่างรวดเร็ว จึงต้องสูบบุหรี่เพิ่มขึ้นเพื่อคงระดับนิโคตินในเลือดไว้ ทำให้ส่งผลเสียต่อสุขภาพทั้งผู้สูบบุหรี่และผู้ใกล้ชิด แม้ว่าจะยังต้องมีการศึกษาเพิ่มเติมถึงความเกี่ยวข้องหรือบทบาทของความหลากหลายทางพันธุกรรมของ CYP2A6 อัลลีลต่างๆ กับความสามารถในการย่อยสลายนิโคตินและพฤติกรรมการเสพติดบุหรี่ในผู้สูบบุหรี่และไม่สูบบุหรี่ในประเทศไทยต่อไป แต่การลดการสูบบุหรี่โดยการยับยั้งการทำงานของเอนไซม์ CYP2A6 เพื่อคงระดับของนิโคตินในเลือด น่าที่จะเป็นอีกหนึ่งกลไกที่สำคัญที่น่าจะช่วยลดการสูบบุหรี่ในผู้สูบบุหรี่ได้

การลดการย่อยสลายนิโคตินโดยตัวยับยั้งเอนไซม์ CYP2A6

ในปัจจุบันได้มีการศึกษาพบสารหลายตัวที่สามารถยับยั้งการทำงานของเอนไซม์ CYP2A6 เพื่อช่วยลดการเสพติดบุหรี่ และทำให้ผู้สูบบุหรี่น้อยลง ตัวอย่างสารยับยั้ง เช่น สาร Methoxsalen (8-methoxypsoralen หรือ 8-MOP) สาร Tranylcypromine และสาร Tryptamine สารเหล่านี้สามารถยับยั้งการทำงานของเอนไซม์ CYP2A6 ผ่านกลไกการยับยั้งแบบแข่งขัน (Competitive inhibition) และแบบ Mechanism-based inhibition (สารยับยั้งถูกย่อยสลายโดยเอนไซม์แต่ผลิตภัณฑ์หรือตัวกลางที่เกิดขึ้นจับแน่นกับเอนไซม์ ทำให้เอนไซม์หมดสภาพในการทำงาน) นอกจากนี้ยังพบว่าสาร 8-MOP สามารถยับยั้งการกระตุ้นการเกิดมะเร็งในหนู และสามารถลดการย่อยสลายนิโคตินและลดการกำจัดนิโคตินออกจากร่างกายของผู้สูบบุหรี่ได้ (Siu & Tyndale., 2007; Taavitsalnen, 2001) การใช้สาร 8-MOP และสาร Tranylcypromine ร่วมกับการได้รับนิโคติน จะทำให้ระดับของนิโคตินในกระแสเลือดเพิ่มขึ้น ใช้เวลานานขึ้นก่อนที่จะสูบบุหรี่วันต่อไป และลดจำนวนครั้งของการสูบบุหรี่ลง (Sellers *et al.*, 2000, 2003) แต่การใช้สาร 8-MOP หรือสาร Tranylcypromine ส่งผลกระทบบ้างเคียงต่อผู้ให้ทำให้ต้องระงับการใช้สารทั้งสองตัวนี้

(Siu & Tyndale, 2007)

นอกจากนี้ยังพบว่าสารสังเคราะห์ ที่มีโครงสร้างคล้ายคลึงกับนิโคติน (Nicotine analogs) เช่นอนุพันธ์ของ Pyridine ที่มีหมู่แทนที่ที่ตำแหน่งที่ 3 เป็นวง Heteroaromatic หรือหมู่ Alkynyl ชนิดต่างๆ สามารถยับยั้งการทำงานของเอนไซม์ CYP2A6 ได้อย่างจำเพาะ (Yano *et al.*, 2006) รวมถึงยา Selegiline ที่นำมาใช้ในการลดการสูบบุหรี่เพราะไปยับยั้งการทำงานของเอนไซม์ Monoamine oxidase ในสมอง ทำให้สมองสร้างสารสื่อประสาท โดปามีนลดลงนั้น สามารถยับยั้งการทำงานของเอนไซม์ CYP2A6 ได้ในหลอดทดลองเช่นกัน (Siu & Tyndale, 2008) อย่างไรก็ตาม ยังไม่มีการศึกษาเพิ่มเติมถึงความจำเพาะของฤทธิ์การยับยั้งในผู้สูบบุหรี่และผลข้างเคียง จากผลการศึกษาดังกล่าวแสดงให้เห็นว่าตัวยับยั้งเอนไซม์ CYP2A6 สามารถทำให้ผู้สูบบุหรี่น้อยลง ส่งผลให้การได้รับสารก่อมะเร็งในบุหรี่เข้ามาในร่างกายได้

การยับยั้งการทำงานของเอนไซม์ CYP2A6 ด้วยสารจากธรรมชาติ

เนื่องด้วยความเป็นพิษและผลข้างเคียงที่ไม่พึงประสงค์จากยาสังเคราะห์ที่ใช้ในการลดการสูบบุหรี่ในปัจจุบัน จึงมีการใช้สารจากธรรมชาติมาช่วยบำบัดอาการถอนนิโคตินให้บรรเทาลงอย่างปลอดภัยปราศจากผลข้างเคียง ซึ่งเป็นแนวทางที่เป็นผลดีต่อสุขภาพและคุณภาพชีวิตของผู้สูบบุหรี่ที่จะสามารถนำมาใช้ลดการสูบบุหรี่ต่อไปได้ในอนาคต เช่น การนำสารแต่งกลิ่น Menthol จากพืชที่สามารถยับยั้งการทำงานของเอนไซม์ CYP2A6 มาผสมลงในบุหรี่ และพบว่าสามารถเพิ่มครึ่งชีวิตของสารโคพินินในกระแสเลือดในผู้สูบบุหรี่ผู้หญิงได้ (MacDougall *et al.*, 2003) อย่างไรก็ตามยังไม่มีการศึกษาเพิ่มเติมถึงผลจากการใช้ Menthol เพียงอย่างเดียวในการลดการสูบบุหรี่

นอกจากนี้ยังมีพืชและผลไม้ต่างๆ ที่สามารถยับยั้งเอนไซม์ CYP2A6 ในหลอดทดลอง (*in vitro*) ได้เช่นสารสกัด Nootkatone บริสุทธิ์ที่สกัดจาก Grapefruit (ผลไม้ในกลุ่มของส้มโอแต่ไม่พบในประเทศไทย) ที่ยับยั้งการทำงานของเอนไซม์ CYP2A6 ได้ดี แต่เนื่องจากสารในกลุ่ม Furanocoumarin เช่น Bergamottin และสาร 6',7'-dihydroxybergamottin (DHB) บริสุทธิ์ที่อยู่ใน Grapefruit สามารถยับยั้งการทำงานของเอนไซม์ CYP3A4 ที่เป็นเอนไซม์หลักในการย่อยสลายสารยาและสารแปลกปลอมภายนอกร่างกายได้ดีกว่าเอนไซม์ CYP2A6 (He *et al.*, 1998; Merket *et al.*, 1994; Tassaneeyakul *et al.*, 2000) ทำให้การนำน้ำ Grapefruit มาใช้เพื่อลดการทำงานของเอนไซม์ CYP2A6 อาจส่งผลกระทบบต่อการย่อยสลายยาในร่างกาย (Herb-Drug

Interaction; HDI) ดังนั้นจึงจำเป็นต้องระวังผลกระทบต่อสุขภาพในการนำไปใช้จริง เช่นเดียวกับสารสกัดจากต้น Kava (*Piper methysticum*) ที่เป็นพืชในกลุ่มพริกไทยและสารในกลุ่ม Kavalactone ที่สามารถยับยั้งการทำงานของเอนไซม์ CYP3A4 และ CYP2C9 ได้ดีกว่าเอนไซม์ CYP2A6 (Mathews *et al.*, 2002) ในขณะที่สารประกอบในกลุ่ม Isothiocyanate ของพืชในกลุ่มผักกะหล่ำสามารถยับยั้งการทำงานของเอนไซม์ CYP2A6 ได้อย่างจำเพาะด้วยกลไกการยับยั้งแบบไม่แข่งขัน (Non-competitive inhibition) ที่สารยับยั้งจับกับเอนไซม์ที่บริเวณที่ไม่ใช่บริเวณเร่ง (Active site) ซึ่งมีผลลดอัตราเร็วในการเกิดปฏิกิริยา แต่ประสิทธิภาพในการยับยั้งอยู่ในระดับต่ำ (von Weymarn *et al.*, 2007) และสารสกัด Decursinol angelate บริสุทธิ์ที่สกัดได้จากรากของพืช *Angelica gigas* (ไม่พบพืชชนิดนี้ในประเทศไทย) ที่สามารถยับยั้งการทำงานของเอนไซม์ CYP2A6 ได้แบบ Mechanism-based inhibition แต่ยังไม่มีการรายงานถึงความจำเพาะในการยับยั้ง (Yoo *et al.*, 2007) จากการศึกษาเบื้องต้นแสดงให้เห็นว่าพืชและผลไม้ในธรรมชาติมีสารที่สามารถยับยั้งการทำงานของเอนไซม์ CYP2A6 ได้ เพียงแต่ยังต้องมีการศึกษาค้นคว้าเพิ่มเติมถึงความจำเพาะในการยับยั้งและผลข้างเคียงต่างๆ ที่อาจเกิดขึ้น (Xi *et al.*, 2009) และการบำบัดการสูบบุหรี่ด้วยวิธีการอื่นๆ ร่วมกับการใช้ไฟโตผลิตภัณฑ์จากพืชและผลไม้จากธรรมชาติที่พบว่ามีประสิทธิภาพในการยับยั้งการทำงานของเอนไซม์ CYP2A6 อย่างจำเพาะโดยไม่มีผลข้างเคียงและไม่เป็นพิษต่อร่างกาย น่าที่จะเป็นหนึ่งในแนวทางเลือกที่สำคัญในการป้องกันการเสพติดบุหรี่เพื่อลดภาวะการเกิดโรคทางเดินหายใจทั้งในผู้สูบบุหรี่และผู้ใกล้ชิดผู้สูบบุหรี่ต่อไป

การศึกษาฤทธิ์ในการยับยั้งเอนไซม์ CYP2A6 ของพืชสมุนไพรและผลไม้ไทยเพื่อนำมาใช้ในการลดการสูบบุหรี่อย่างปลอดภัย

เนื่องด้วยประเทศไทยมีพืชสมุนไพรและผลไม้ที่มีประโยชน์ต่อสุขภาพ ที่นิยมใช้รับประทานเพื่อดับกระหายและบำรุงสุขภาพอยู่มากมาย เพราะมีคุณค่าทางยาสูง สามารถพบได้ทั่วไปและนำมาดื่มหรือรับประทานได้ง่าย ทำให้นอกเหนือไปจากการบำบัดรักษาเพื่อลดการสูบบุหรี่ด้วยยาโคดีนทดแทนหรือยาอื่นๆ แล้วในปัจจุบันประเทศไทยจึงมีผลิตภัณฑ์ชาสมุนไพรหรือยาอมสมุนไพรจากพืชสมุนไพร เช่น หนุ่ยดอกขาว โปรงฟ้า ชะอมเทศ สมอไทย และมะนาว มาใช้สำหรับลดการสูบบุหรี่อย่างกว้างขวาง (Wongwiwatthananut *et al.*, 2009) โดยขาดหลักฐานรองรับทางวิชาการถึงกลไกและความปลอดภัยในการนำมาใช้ลดการ

สูบบุหรี่ของพืชสมุนไพรเหล่านี้ ด้วยเหตุนี้การศึกษาฤทธิ์ในการยับยั้งเอนไซม์ CYP2A6 ของพืชสมุนไพรต่างๆ ที่ใช้ลดการสูบบุหรี่ในปัจจุบัน ร่วมกับการศึกษาเพิ่มเติมเพื่อค้นหาพืชสมุนไพรและผลไม้ไทยชนิดใหม่ๆ ที่สามารถยับยั้งการทำงานของเอนไซม์ CYP2A6 ได้อย่างจำเพาะโดยไม่ยับยั้งการทำงานของเอนไซม์ P450 อื่นๆ ที่มีบทบาทหลักในการย่อยสลายยาและสารแปลกปลอมภายนอกเช่นเอนไซม์ CYP3A4 และ CYP2C9 น่าจะทำให้ได้ข้อมูลเบื้องต้นที่สำคัญที่จำเป็นสำหรับการวางแผนงานในการนำพืชสมุนไพรและผลไม้ไทยมาใช้ร่วมกับวิธีการบำบัดการสูบบุหรี่อื่นๆ ได้อย่างปลอดภัย และสามารถใช้ได้ทั่วไปเพื่อป้องกันอันตรายจากบุหรี่ต่อผู้สูบบุหรี่และผู้ใกล้ชิดอย่างยั่งยืน รวมถึงเป็นการเพิ่มมูลค่าของผลิตภัณฑ์จากพืชสมุนไพร ผักและผลไม้ไทยอีกด้วย

สรุป

ปัญหาโรคระบบทางเดินหายใจและการสูญเสียทางเศรษฐกิจอันเนื่องมาจากการสูบบุหรี่ เป็นปัญหาสำคัญของประเทศที่เกิดจากภาวะการเสพติดบุหรี่ อันเกิดจากการออกฤทธิ์ที่ระบบประสาทส่วนกลางของสารเสพติดนิโคตินในบุหรี่ ด้วยเหตุนี้การลดการทำงานของเอนไซม์ CYP2A6 ในตับที่ทำหน้าที่หลักในการย่อยสลายนิโคตินให้มีการย่อยสลายนิโคตินช้าลงโดยการใช้พืชสมุนไพรและผลไม้ไทย เพื่อให้ระดับนิโคตินในเลือดคงอยู่ได้นานขึ้นและลดการสูบบุหรี่ลง จึงเป็นอีกหนึ่งในแนวทางที่สำคัญ ที่น่าจะนำมาใช้ในการช่วยลดการสูบบุหรี่และการเสพติดนิโคตินในผู้สูบบุหรี่ร่วมกับวิธีการลดการทำงานของเซลล์ประสาทในสมองที่ทำหน้าที่ในการหลั่งสารสื่อประสาทโดปามีนและวิธีการบำบัดการสูบบุหรี่แบบอื่นๆ ได้ อย่างไรก็ตามแนวทางนี้ยังคงต้องมีการศึกษาค้นคว้าเพิ่มเติมถึงความจำเพาะในการยับยั้งและผลข้างเคียงต่างๆ ที่อาจเกิดขึ้น เพื่อให้สามารถนำพืชสมุนไพรและผลไม้ไทยในการช่วยลดการสูบบุหรี่ได้อย่างปลอดภัย ซึ่งจะเป็นการลดผลร้ายต่างๆ จากสารประกอบเป็นพิษในบุหรี่ที่จะเกิดขึ้นกับร่างกายของผู้สูบบุหรี่และผู้ใกล้ชิดต่อไป

กิตติกรรมประกาศ

ขอขอบคุณศูนย์วิจัยและจัดการความรู้เพื่อการควบคุมยาสูบ (ศจย.) ที่ให้ทุนสนับสนุนในการศึกษาวิจัย (53-01-04) และรศ. ดร. พรพิมล รงคันพรัตน์ ภาควิชาชีวเคมี คณะวิทยาศาสตร์ มหาวิทยาลัยมหิดล ที่ให้ความกรุณาตรวจทาน และให้คำแนะนำที่เป็นประโยชน์ในการเขียนบทความครั้งนี้

เอกสารอ้างอิง

- ศรีญา เบญจกุล มณฑา เก่งการพานิช และลักขณา เต็มศิริกุลชัย. (2551). *สถานการณ์การบริโภค ยาสูบของประชากรไทย พ.ศ. 2534-2550*. (ครั้งที่ 1). กรุงเทพฯ: ศูนย์วิจัยและจัดการความรู้เพื่อการควบคุมยาสูบ
- ยาสูบของประชากรไทย พ.ศ. 2534-2550. (ครั้งที่ 1). กรุงเทพฯ: ศูนย์วิจัยและจัดการความรู้เพื่อการควบคุมยาสูบ
- ศิริวรรณ พิทยรังสฤษฏ์ และประภาพรณ เอี่ยมอนันต์ (2552). *สรุปสถานการณ์การควบคุมการบริโภคยาสูบของประชากรไทย พ.ศ. 2552*. กรุงเทพฯ: ศูนย์วิจัยและจัดการความรู้เพื่อการควบคุมยาสูบ
- Apinan, R., Tassaneeyakul, W., Mahavorasirikul, W., Satarug, S., Kajanawart, S., Vannaprasaht, S, Ruenweerayut, R., & Na-Bangchang K. (2010). The influence of CYP2A6 polymorphisms and cadmium on nicotine metabolism in Thai population. *Environmental Toxicology and Pharmacology*, 28, 420-424.
- Carrozzi, L., Pistelli, F., & Viegi, G. (2008). Pharmacotherapy for smoking cessation. *Therapeutic Advances in Respiratory Disease*, 2, 301-317.
- Di, YM., Chow, VD., Yang LP., & Zhou SF. (2009). Structure, function, regulation and polymorphism of human cytochrome P450 2A6. *Current Drug Metabolism*, 10, 754-780.
- He, K., Iyer, KR., Hayes, RN., Sinz, MW., Woolf, TF., & Hollenberg, PF. (1998) Inactivation of Cytochrome P450 3A4 by Bergamottin, a Component of Grapefruit Juice. *Chemical Research in Toxicology*, 11(4), 252-259
- Hecht, SS. (1998). Biochemistry, biology, and carcinogenicity of tobacco-specific N-nitrosamines. *Chemical Research in Toxicology*, 11, 559-603.
- Hukkanen, J., Jacob, P., & Benowitz, NL. (2005) Metabolism and disposition kinetics of Nicotine. *Pharmacological Reviews*, 57, 79-115.
- Kamataki, T., Fujieda, M., Kiyotani, K., Iwano, S., & Kunitoh H. (2005). Genetic polymorphism of CYP2A6 as one of the potential determinants of tobacco-related cancer risk. *Biochemical and Biophysical Research Communication*, 338, 306-310.
- Leartsakulpanitch, J., Nganthavee, W., & Salole, E. (2007). The economic burden of smoking-related disease in Thailand: A prevalence-based analysis. *Journal of the Medical Association of Thailand*, 90, 1925-1929.
- Lynch, T., & Price, A. (2007). The effect of cytochrome P450 metabolism on drug response, interactions, and adverse effects. *American Family Physician*, 76, 391-396.
- MacDougall, JM., Fandrick, K., Zhang, X., Serafin, SV., & Cashman, JR. (2003). Inhibition of human liver microsomal (S)-nicotine oxidation by (-)-menthol and analogues. *Chemical Research in Toxicology*, 16, 988-993.
- Mahavorasirikul, W., Tassaneeyakul, W., Satarug, S., Reungweerayut, R., Na-Bangchang, C., & Na-Bangchang, K. (2009). CYP2A6 genotypes and coumarin-oxidation phenotypes in a Thai population and their relationship to tobacco smoking. *European Journal of Clinical Pharmacology*, 65, 377-384.
- Mathews, JM., Etheridge, AS., & Black, SR. (2002). Inhibition of human cytochrome P450 activities by kava extract and kavalactones. *Drug Metabolism and Disposition*, 30, 1153-1157.
- Merkel, U., Sigusch, H., & Hoffmann, A. (1994). Grapefruit juice inhibits 7-hydroxylation of coumarin in healthy volunteers. *European Journal of Clinical Pharmacology*, 46, 175-177.
- Miyamoto, M., Umetsu, Y., Dosaka-Akita, H., Sawamura, Y., Yokota, J., Kunitoh, H., Nemoto, N., Sato, K., Ariyoshi, N., & Kamataki, T. (1999). CYP2A6 gene deletion reduces susceptibility to lung cancer. *Biochemical and Biophysical Research Communication*, 261, 658-660.

- Ortiz de Montellano, PR. (Ed.), (2005). *Cytochrome P450: Structure, Mechanism and Biochemistry*, third edition. New York : Kluwer Academic/Plenum Publishers.
- Patten, CJ., Smith, TJ., Murphy, SE., Wang, MH., Lee, J., Tynes, RE., Koch, P., & Yang, CS. (1996). Kinetic analysis of the activation of 4-(methylnitrosamino)-1-(3-pyridyl)-1-butanone by heterologously expressed human P450 enzymes and the effect of P450-specific chemical inhibitors on this activation in human liver microsomes. *Archives of Biochemistry and Biophysics*, *333*, 127-138.
- Peamkrasatam, S., Sriwatanakul, K., Kiyotani, K., Fujieda, M., Yamazaki, H., Kamataki, T., & Yoovathaworn, K. (2006). In vivo evaluation of coumarin and nicotine as probe drugs to predict the metabolic capacity of CYP2A6 due to genetic polymorphism in Thais. *Drug Metabolism and Pharmacokinetics*, *21*, 475-484.
- Sellers, EM., Kaplan, HL., & Tyndale, RF. (2000). Inhibition of cytochrome P450 2A6 increases nicotine's oral bioavailability and decreases smoking. *Clinical Pharmacology and Therapeutics*, *68*, 35-43.
- Sellers, EM., Tyndale, RF., & Fernandes, LC. (2003). Decreasing smoking behaviour and risk through CYP2A6 inhibition. *Drug Discovery Today*, *8*, 487-493.
- Siu, ECK., & Tyndale, RF. (2007). Non-nicotinic therapies for smoking cessation. *Annual Review of Pharmacology and Toxicology*, *47*, 541-564.
- Siu, ECK., & Tyndale, RF. (2008). Selegiline is a mechanism-based inactivator of CYP2A6 inhibiting nicotine metabolism in humans and mice. *The Journal of Pharmacology and Experimental Therapeutics*, *324*, 992-999.
- Su, T., Bao, Z., Zhang, QY., Smith, TJ., Hong, JY., & Ding X. (2000). Human cytochrome P450 CYP2A13: predominant expression in the respiratory tract and its high efficiency metabolic activation of a tobacco-specific carcinogen, 4-(methylnitrosamino)-1-(3-pyridyl)-1-butanone. *Cancer Research*, *60*, 5074-5079.
- Taavitsainen, P., Juvonen, R., & Pelkonen, O. (2001). In vitro inhibition of cytochrome P450 enzymes in human liver microsomes by a potent CYP2A6 inhibitor, *trans*-2-phenylcyclopropylamine (tranylcypromine), and its nonamine analog, cyclopropylbenzene. *Drug Metabolism and Disposition*, *29*, 217-222.
- Tassaneeyakul, W., Guo, LO., Fukuda, K., Ohta, T., & Yamazoe, Y. (2000). Inhibition selectivity of grapefruit juice components on human cytochromes P450. *Archives of Biochemistry and Biophysics*, *378*, 356-363.
- Tyndale, RF., & Sellers, EM. (2001) Variable CYP2A6-mediated nicotine metabolism alters smoking behavior and risk. *Drug Metabolism and Disposition*, *29*, 548-552.
- Tyndale, RF., & Sellers, EM. (2002). Genetic variation in CYP2A6 mediated nicotine metabolism alters smoking behavior. *Therapeutic Drug Monitoring*, *24*, 163-171.
- Von Weymarn, LB., Chun, JA., & Hollenberg, PF. (2007). Effects of eleven isothiocyanates on P450 2A6- and 2A13-catalyzed coumarin 7-hydroxylation. *Chemical Research in Toxicology*, *20*, 1251-1259.
- WHO Report on the Global Tobacco Epidemic. (2008). The MPOWER package. Geneva, World Health Organization.
- Wongwiwatthanakul, S., Benjanakaskul, P., Songsak, T., Suwanamajo, S., & Verachai, V. (2009). Efficacy of *Vernonia cinerea* for smoking cessation. *Journal of Health Research*, *23*(1), 31-36

- Xi, ZX., Spiller, K., & Gardner, EL. (2009) Mechanism-based medication development for the treatment of nicotine dependence. *Acta Pharmacologica Sinica*, 30, 723-739.
- Yamanaka, H., Nakajima, M., Nishimura, K., Yoshida, R., Fukami, T., Katoh, M., & Yokoi, T. (2004). Metabolic profile of nicotine in subjects whose *CYP2A6* gene is deleted. *European Journal of Pharmaceutical Sciences*, 22, 419-425.
- Yano, JK., Denton, TT., Cerny, MA., Zhang, X., Johnson, EF., & Cashman, JR. (2006). Synthetic inhibitors of cytochrome P450 2A6: Inhibitory activity, difference spectra, mechanism of inhibition, and protein co-crystallization. *Journal of Medicinal Chemistry*, 49, 6987-7001.
- Yoo, HH., Lee, MW., Kim, YC., Yun, CH., & Kim DH. (2007). Mechanism-based inactivation of cytochrome P4502A6 by decursinol angelate isolated from *Angelica gigas*. *Drug Metabolism and Disposition*, 35, 1759-1765.

การแสดงถึงความไม่มีคำตอบและความไม่มีขอบเขตของปัญหาหลัก - ปัญหาคู่ควบ
โดยใช้วิธีการตามเส้นทางจุดภายใน
Infeasibility and Unboundedness of Primal-Dual Problems Using Interior-point Methods

ธนะศักดิ์ หมวกทองกลาง*
ภาควิชาคณิตศาสตร์ คณะวิทยาศาสตร์ มหาวิทยาลัยเชียงใหม่
Thanasak Mouktonglang*
Mathematics Department, Faculty of Science, Chiangmai University Thailand

บทคัดย่อ

บทความนี้ศึกษาการใช้วิธีจุดภายในในการหาตัวบ่งบอกถึงความไม่มีคำตอบและความไม่มีขอบเขตของปัญหาหลัก - ปัญหาคู่ควบ และได้ทำการศึกษากรณีที่ใช้ ขั้นตอนวิธีการตามเส้นทางคู่ควบ (Dual) และพบว่าพฤติกรรมทางทฤษฎีมีความแตกต่างไปจากขั้นตอนวิธีการตามเส้นทางหลัก-คู่ควบ (Primal-Dual) เนื่องจากฟังก์ชันขวางกั้นมาตรฐานมีความซับซ้อนน้อยกว่า

คำสำคัญ : วิธีจุดภายใน ความไม่มีคำตอบ หลัก-คู่ควบ

Abstract

We apply interior-point method to find infeasibility and unboundedness certifies. We study dual path-following interior-point method and compare it to primal-dual method. Both methods are able to find certifies. However, there are differences in the theories due the less of complexity of the universal barrier function.

Keywords : Interior-point methods, Infeasibility, Primal-dual.

*E-mail: thanasak@chiangmai.ac.th

บทนำ (Introduction)

วิธีการตามเส้นทางของจุดภายใน (path-following interior points method)(Gonzaga, 1992) เป็นขั้นตอนวิธีที่ใช้เส้นทางศูนย์กลาง (central path) ในการหาคำตอบที่เหมาะสม (optimal solution) (Ye, 1997) สำหรับปัญหาการกำหนดการเชิงเส้นและปัญหาการกำหนดการโคนิก (Conic programming) และการที่จะมีเส้นทางผ่านศูนย์กลางนั้น ปัญหาหลักและปัญหาย่อย-ปัญหาย่อยนั้นจะต้องมีคำตอบที่เป็นไปได้โดยแท้ (strictly feasible solution) นอกจากนี้ Todd (2004) ได้แสดงเหตุผลในการใช้ขั้นตอนวิธีหลัก-คู่ควบ ระบุว่าขั้นตอนวิธีนี้ใช้วิธีเส้นทางศูนย์กลางในการหาคำตอบที่เหมาะสมของปัญหาช่วย (auxiliary problem) ที่ได้แสดงถึงการไม่มีคำตอบที่เป็นไปได้และความไม่มีขอบเขต (infeasibility and unboundedness) ของปัญหาเริ่มต้น (Todd, 2004) เราได้ทำการศึกษารณีที่ใช้ ขั้นตอนวิธีการตามเส้นทางคู่ควบ (dual path-following algorithms) และได้พบว่าพฤติกรรมทางทฤษฎีมีความแตกต่างไปจากขั้นตอนวิธีการตามเส้นทางหลัก-คู่ควบ

$$\begin{array}{ll} \text{พิจารณา} & (D) \quad \max b^T y \\ & A^T y + s = c \\ & s \geq 0 \\ & (P) \quad \min c^T x \\ & Ax = b, \\ & x \geq 0 \end{array}$$

โดยที่ A เป็นเมทริกซ์ขนาด $m \times n$ และมีแรงค์ m และ c, x และ s เป็นเวกเตอร์ใน \mathbb{R}^n, b และ y เป็นเวกเตอร์ใน \mathbb{R}^m

เรามุ่งความสนใจไปที่ (D) เพราะว่าวิธีจุดภายในคู่ควบนี้เป็นตัวอย่างในการนำไปใช้กับรูปแบบปัญหาเหล่านี้ เช่น ขั้นตอนวิธีการตามเส้นทางคู่ควบของ Renegar (Renegar, 1988), dual affine-scaling method ของ Adler *et al.* (Adler *et al.*, 1989) และ dual potential-reduction algorithms ของ Benson, Ye, และ Zhang (Benson *et al.*, 2000) ในปัญหาการกำหนดการ semidefinite

ถ้าเราต้องการที่จะตรวจสอบความไม่มีคำตอบที่เป็นไปได้และความไม่มีขอบเขตอย่างมีประสิทธิภาพในขั้นตอนวิธีคู่ควบ เราจะต้องมีการคู่ควบฟังก์ชันขวางกัน นอกจากนี้เหตุผลในการนำไปใช้ในการพิจารณา (D) นั่นก็คือ มีฟังก์ชันขวางกัน ที่มีค่าเชิงซ้อน (complexity value) ที่น้อยกว่า n มากๆ

ตัวอย่างหนึ่งของฟังก์ชันขวางกัน คือ universal barrier สำหรับ L_1 -ball ใน \mathbb{R}^m โดย Güler (Güler, 1996) ถึงแม้ว่าฟังก์ชันขวางกันนี้ไม่สามารถที่จะคำนวณได้อย่างมีประสิทธิภาพ อย่างไรก็ตาม สำหรับงานศึกษาส่วนมากนั้นจะพิจารณาฟังก์ชันขวางกันมาตรฐาน $-\ln(s)$ สำหรับ \mathbb{R}_+^n และฟังก์ชันขวางกันที่สอดคล้อง $-\ln(c - A^T y)$ สำหรับ (D) โดยที่ $\ln(v)$ เป็นเวกเตอร์ที่เป็นผลรวมของลอการิทึมฐานธรรมชาติของส่วนประกอบของ v และที่ได้กล่าวมาก็เป็นตัวอย่างที่สามารถเข้าใจได้อย่างง่ายในการพัฒนา และในการนำไปเปรียบเทียบกับวิธีหลัก-คู่ควบ (Nesterov *et al.*, 1993)

ในการแก้ปัญหาลึกและปัญหาย่อย-ปัญหาย่อยเพื่อที่จะได้คำตอบที่เหมาะสมนั้น จะได้ว่าคำตอบที่ได้นั้นจะมีค่าที่ซึ่งอยู่บนขอบ และเพื่อแก้ปัญหานี้ เราจะทำการเพิ่มฟังก์ชันขวางกันเข้าไปในฟังก์ชันจุดประสงค์เพื่อที่จะแก้ปัญหาคำตอบที่ได้นั้นอยู่บนขอบ

พิจารณาปัญหาขวางกัน (barrier problem)

$$(BD_\mu) \quad \max b^T y + \mu \ln(s) \\ A^T y + s = c, \\ s > 0$$

$$(BP_\mu) \quad \min c^T x - \mu \ln(x) \\ Ax = b, \\ x > 0$$

โดยที่ $\ln(x) = \sum_{i=1}^n \ln x_i$ และ μ ลดลงเข้าสู่ 0 และ $s > 0$

เนื่องจากว่า ถ้า s เข้าสู่ขอบของเซตของคำตอบที่เป็นไปได้จะได้ว่า $\ln(s)$ จะลู่ออกสู่ลบอนันต์

พิจารณาเงื่อนไขความเหมาะสมสุด (optimality condition) ของ (BD_μ) และ (BP_μ) เงื่อนไขความเหมาะสมสุดเป็นเงื่อนไขพีชคณิต ที่จะต้องสอดคล้องกับคำตอบของปัญหาการกำหนดการเชิงเส้น เราจะประยุกต์ใช้ตัวคูณลากรานจ์ (lagrange multiplier) ในการหาเงื่อนไขที่เหมาะสมที่สุด เราจะเรียกเงื่อนไขนี้ว่า Karush-Kuhn-Tucker condition (KKT)

ต่อไปจะพิจารณาฟังก์ชันลากรานจ์ สำหรับปัญหาลึก-ปัญหาย่อย

$$L(x, y, s) = b^T y + \mu \sum_i \ln(s_i) - x^T (A^T y + s - c) \quad (1.1)$$

$$\nabla_y L = b^T - x^T A^T = 0 \quad (1.2)$$

$$\nabla_x L = A^T y + s - c = 0 \quad (1.3)$$

$$\frac{\partial L}{\partial s_i} = \frac{\mu}{s_i} - x_i = 0 \quad (1.4)$$

จาก (1.2) จะได้ว่า

$$Ax = b \quad (1.5)$$

จาก (1.3) จะได้ว่า

$$A^T y + s = c \quad (1.6)$$

และจาก (1.4) จะได้ว่า

$$x^T s = \mu \quad (1.7)$$

ดังนั้นจาก (1.5), (1.6) และ (1.7) จะได้เงื่อนไขตามความเหมาะสมที่สุดสำหรับ $(BD\mu)$ นั่นคือ มี $x \in \mathbb{R}^n$ ซึ่ง

$$\begin{aligned} A^T y + s &= c, \quad s > 0 \\ Ax &= b, \\ x^T s &= \mu \end{aligned} \quad (1.8)$$

ดังนั้นจะได้ว่า $x = \mu s^{-1} > 0$

พิจารณาฟังก์ชันลากรางจ์สำหรับปัญหาหลัก

$$L(x, y) = c^T x - \mu \sum_i \ln(x_i) - y^T (b - Ax) \quad (1.9)$$

$$\nabla_y L = b - Ax = 0 \quad (1.10)$$

$$\frac{\partial L}{\partial x_i} = c_i - \frac{\mu}{x_i} - y_i A = 0 \quad (1.11)$$

โดยที่การกระทำ ∇ คือการหาอนุพันธ์อันดับหนึ่ง และกำหนดให้

$$s_i = \frac{\mu}{x_i} \quad (1.12)$$

จาก (1.10) จะได้ว่า

$$Ax = b \quad (1.13)$$

จาก (1.11) จะได้ว่า

$$A^T y + s = c \quad (1.14)$$

และจาก (1.12) จะได้ว่า

$$x^T s = \mu \quad (1.15)$$

ดังนั้นจาก (1.13), (1.14) และ (1.15) จะได้เงื่อนไขความเหมาะสมที่สุดสำหรับ $(BP\mu)$ นั่นคือ มี $(y, s) \in \mathbb{R}^m \times \mathbb{R}^n$ ซึ่ง

$$\begin{aligned} A^T y + s &= c, \\ Ax &= b, \quad x > 0 \\ x^T s &= \mu \end{aligned} \quad (1.16)$$

ดังนั้นจะได้ว่า $x^T s = +\mu > 0$

จะเห็นว่าเงื่อนไขความเหมาะสมที่สุดของ $(BD\mu)$ และ $(BP\mu)$ นั้นสมมูลกัน จึงสามารถเขียนให้อยู่ในรูปสมมาตรได้ คือ

$$\begin{aligned} A^T y + s &= c, \quad s > 0 \\ Ax &= b, \quad x > 0 \\ XSe &= \mu e \end{aligned} \quad (1.17)$$

โดยที่ X และ S เป็นเมทริกซ์ทแยงมุม และ $e \in \mathbb{R}^n$ เป็นเวกเตอร์ที่มีสมาชิกเป็นหนึ่ง

$$X = \begin{pmatrix} x_1 & 0 & \cdots & 0 \\ 0 & x_2 & \cdots & 0 \\ \vdots & \vdots & \ddots & \vdots \\ 0 & 0 & \cdots & x_n \end{pmatrix}, \quad S = \begin{pmatrix} s_1 & 0 & \cdots & 0 \\ 0 & s_2 & \cdots & 0 \\ \vdots & \vdots & \ddots & \vdots \\ 0 & 0 & \cdots & s_n \end{pmatrix}$$

และ $e = [1 \ 1 \dots \ 1]^T$ และจะเรียกสมการ (1.17) นี้ว่าสมการเส้นทางศูนย์กลาง ((primal dual) central path equation)

ทฤษฎีบท 1. ทฤษฎีเส้นทางศูนย์กลาง (central path theorem)

สมมติให้ (P) และ (D) มีคำตอบที่เป็นไปได้โดยแท้ ($x > 0, s > 0$) แล้วจะได้ว่าทุก $\mu > 0$ ระบบสมการเชิงเส้นทางศูนย์กลางจะมีคำตอบเพียงค่าเดียว $(x(\mu), y(\mu), s(\mu))$ และถ้า $\mu > 0$ (จาก smooth path) และ $\mu \rightarrow 0$ จะได้ว่า $x(\mu)$ และ $(y(\mu), s(\mu))$ ลู่เข้าสู่คำตอบที่เหมาะสมของ (P) และ (D) ตามลำดับ ยิ่งไปกว่านั้นจะได้ว่า ถ้าทุก $\mu > 0$ จะได้ว่า $x(\mu)$ และ $(y(\mu), s(\mu))$ เป็นคำตอบค่าเดียวของ $(BP\mu)$ และ $(BD\mu)$ ตามลำดับ

พิจารณาระบบสมการ (1.17) จะเห็นว่าสมการสุดท้ายนั้นไม่เป็นสมการเชิงเส้น จึงทำให้การหาคำตอบของระบบสมการนี้เป็นไปได้ยาก ดังนั้นเราจะหาคำตอบโดยจะประยุกต์ใช้วิธีของนิวตันเข้าไปในวิธีการทำซ้ำ (x, y, s) โดยที่ $x > 0$ และ $s > 0$ ซึ่งจะกล่าวในหัวข้อต่อไป และจะได้ว่าถ้าวิธีการทำซ้ำ x และ (y, s) เป็นไปได้ (feasible) ใน (P) และ (D) ตามลำดับ จะเรียกว่าเป็น

วิธีจุดภายในที่เป็นไปได้ (feasible interior point methods) แต่ถ้าไม่มีคำตอบที่เป็นไปได้ (infeasible) เราจะเรียกว่าเป็น วิธีจุดภายในที่เป็นไปไม่ได้ (infeasible interior point methods: IIPM)

ในงานศึกษาที่เราสนใจที่จะศึกษาในกรณีที่ (D) มีคำตอบที่เป็นไปได้โดยแท้ ($s > 0$) (และมีเส้นทางศูนย์กลาง) และ (P) มีคำตอบที่เป็นไปไม่ได้โดยแท้ ($x > 0$) (ดังนั้นจะได้ว่า (D) ไม่มีขอบเขต) นั่นคือเราต้องการที่จะตรวจสอบ *ความไม่มีคำตอบที่เป็นไปได้ของปัญหาหลักและ ความไม่มีขอบเขตของปัญหาหลัก-ปัญหาคู่ควบ* โดยจะใช้ผลลัพธ์จากบทตั้งต่อไปนี้

บทตั้ง 2. (Farkas Lemma)

(i) (P) เงื่อนไข $(Ax = b, x \geq 0)$ จะไม่มีคำตอบที่เป็นไปได้ ก็ต่อเมื่อ มีบาง (y, s) ที่สอดคล้องกับ $A^T y + 0, s \geq 0, b^T y > 0$

(ii) (D) เงื่อนไข $(A^T y + s = c, s \geq 0)$ จะไม่มีคำตอบที่เป็นไปได้ ก็ต่อเมื่อ มีบาง x ที่สอดคล้องกับ $A^T = 0, x \geq 0, c^T x < 0$

เราจะเรียก (y, s) ที่สอดคล้องกับ (i) ว่าเป็น *ตัวบ่งบอกถึงความไม่มีคำตอบที่เป็นไปได้และความไม่มีขอบเขต (infeasibility-unboundedness certifies)*

(Todd et al., 2004) ได้กล่าวถึงการใช้อ IPM กับปัญหาหลัก-ปัญหาคู่ควบและปัญหาหลักในการตรวจสอบหา *ความไม่มีคำตอบที่เป็นไปได้และความไม่มีขอบเขตของปัญหาหลัก-ปัญหาคู่ควบ* โดยที่คำตอบที่ได้คือ ตัวบ่งบอกถึงความไม่มีคำตอบที่เป็นไปได้และความไม่มีขอบเขต พิจารณา

$$\begin{aligned} (\bar{D}) \quad & \max (Ax_0)^T \bar{y} \\ & A^T \bar{y} + \bar{s} = 0, \\ & b^T \bar{y} = 1, \\ & \bar{s} \geq 0 \end{aligned}$$

$$\begin{aligned} (\bar{P}) \quad & \min \bar{\zeta} \\ & A\bar{x} + b\bar{\zeta} = Ax_0, \\ & \bar{x} \geq 0 \end{aligned}$$

จะเห็นว่า (\bar{D}) มีเงื่อนไขบังคับที่สอดคล้องความเป็น primal infeasibility และฟังก์ชันจุดประสงค์นั้น ขึ้นอยู่กับ x_0 ที่เป็นการทำซ้ำเริ่มต้นและทุกๆ วิธีการทำซ้ำ (x, y, s) สำหรับ (P) และ (D) นั้น จะมีวิธีการทำซ้ำ $(\bar{x}, \bar{\zeta}, \bar{y}, \bar{s})$ สำหรับ (\bar{P}) และ (\bar{D}) เราจะเรียกการทำซ้ำนี้ว่า การทำซ้ำดั้งหลัก

(original iterate) และการทำซ้ำเงา (shadow iterate) ตามลำดับ และจากที่เราสมมติให้ (y, s) เป็นคำตอบที่เป็นไปได้โดยแท้สำหรับ (D) และ x เป็นคำตอบที่เป็นไปไม่ได้โดยแท้สำหรับ (P) ในวิธีการทำซ้ำ (x, y, s) แต่ในการทำซ้ำเงานั้นจะได้ว่า (\bar{y}, \bar{s}) เป็นคำตอบโดยประมาณที่เป็นไปได้สำหรับ (\bar{D}) และ $(\bar{x}, \bar{\zeta})$ เป็นคำตอบที่เป็นไปได้โดยแท้สำหรับ (\bar{P}) (ตัวอย่างเช่น ในกรณีที่การทำซ้ำเงาเริ่มต้น $\bar{x} = x_0$ และ $\bar{\zeta} = 0$) และใน (Todd et al., 2004) ได้เปรียบเทียบผลที่ได้จากการทำซ้ำดั้งหลักและการทำซ้ำเงา ซึ่งเราจะกล่าวในหัวข้อต่อไป

ปัญหาศูนย์กลาง (The centering problem)

ในหัวข้อนี้เราได้นิยาม natural centering problem สำหรับการหา primal infeasibility-dual unboundedness certificates และเงื่อนไขที่จำเป็นและเพียงพอในการหาคำตอบ โดยเราจะสมมติให้ (P) มีคำตอบที่เป็นไปได้โดยแท้ จากบทตั้งของ Farkas จะได้ว่า มี (\bar{y}, \bar{s}) ที่สอดคล้องกับ

$$A^T \bar{y} + \bar{s} = 0, \quad b^T \bar{y} = 1, \quad \bar{s} \geq 0$$

กำหนดให้ $(y, s) = \lambda(\bar{y}, \bar{s}) + (0, c) = (\lambda\bar{y}, \lambda\bar{s} + c)$

โดยที่ λ เป็นตัวคูณที่เป็นค่าคงที่ที่ค่ามากพอเพียงพอ และ c เป็นค่าคงที่ใดๆ จะได้ว่า

$$\begin{aligned} A^T \bar{y} + s &= A^T (\lambda\bar{y}) + (\lambda\bar{s} + c) \\ &= \lambda(A^T \bar{y} + \bar{s}) + c \\ &= c \quad \text{เนื่องจาก } A^T \bar{y} + \bar{s} = 0 \end{aligned}$$

จะได้ว่า $A^T \bar{y} + \bar{s} = c, s > 0$ ซึ่งสอดคล้องกับเงื่อนไขบังคับของ (D) ทำให้ได้ว่า (D) มีคำตอบที่เป็นไปได้โดยแท้ ($s > 0$) และ เนื่องจาก $b^T \bar{y} = b^T (\lambda\bar{y}) = \lambda b^T \bar{y} = \lambda (\because b^T \bar{y} = 1)$ นั่นคือ ถ้า $\lambda \rightarrow 0$ จะทำให้ฟังก์ชันจุดประสงค์ของ (D) มีค่าเข้าสู่อนันต์ด้วย ($b^T y \rightarrow \infty$ นั่นก็คือ (D) ไม่มีขอบเขต

พิจารณาปัญหาศูนย์กลาง

$$(CD) \quad \max \ln(\bar{s})$$

$$A^T \bar{y} + \bar{s} = 0$$

$$b^T \bar{y} = 1$$

$$\bar{s} \geq 0$$

คำตอบที่เหมาะสมของปัญหานี้ (ถ้ามี) ก็คือ analytic center ของเซตของ primal infeasibility-dual unboundedness

certificates ในการหาคำตอบเราจะพิจารณาเงื่อนไขที่จำเป็น และเพียงพอสำหรับปัญหานี้ โดยประยุกต์ใช้ตัวคูณลากรานจ์ ในการหาเงื่อนไข ดังนี้

พิจารณาฟังก์ชันลากรานจ์สำหรับปัญหาศูนย์กลาง โดยพิจารณาจาก (CD)

$$L(\bar{x}, \bar{y}, \bar{s}) = \ln(\bar{s}) - \bar{x}(A^T \bar{y} + \bar{s}) \quad (2.1)$$

$$\nabla_{\bar{y}} L = -\bar{x}A^T = 0 \quad (2.2)$$

$$\nabla_{\bar{s}} L = \frac{1}{\bar{s}} - \bar{x} = 0 \quad (2.3)$$

$$\nabla_{\bar{x}} L = -A^T \bar{y} - \bar{s} = 0 \quad (2.4)$$

จาก (2.3) จะได้ว่า

$$\bar{x} - \bar{s}^{-1} = 0 \quad (2.5)$$

จาก (2.4) จะได้ว่า

$$A^T \bar{y} + \bar{s} = 0 \quad (2.6)$$

และในการหาเงื่อนไขความเหมาะสมสุดของ (CD) นี้ ยังพิจารณาฟังก์ชันลากรานจ์จาก (\bar{P}) นั่นคือ

$$L(\bar{x}, \bar{\zeta}, \bar{y}) = \bar{\zeta} - \bar{y}(A\bar{x} + b\bar{\zeta} - Ax_0) \quad (2.7)$$

$$\nabla_{\bar{x}} L = -\bar{y}A = 0 \quad (2.8)$$

$$\nabla_{\bar{\zeta}} L = 1 - \bar{y}b = 0 \quad (2.9)$$

$$\nabla_{\bar{y}} L = A\bar{x} + b\bar{\zeta} - Ax_0 = 0 \quad (2.10)$$

กำหนดให้ $b_0 \equiv Ax_0$ จาก (2.9) จะได้ว่า

$$b^T \bar{y} = 1 \quad (2.11)$$

จาก (2.10) จะได้ว่า

$$A\bar{x} + b\bar{\zeta} = Ax_0 = 0 \quad (\because 0 = b_0 = Ax_0) \quad (2.12)$$

ดังนั้นจาก (2.5), (2.6), (2.11) และ (2.12) จะได้เงื่อนไขที่จำเป็นและเพียงพอสำหรับ (\bar{y}, \bar{s}) ในการคำตอบของ (CD) นั่นคือ มี $(\bar{x}, \bar{\zeta}) \in \mathbb{R}^n \times \mathbb{R}$ ซึ่ง

$$\begin{aligned} A^T \bar{y} + \bar{s} &= 0, \quad s > 0 \\ b^T \bar{y} &= 1, \\ A\bar{x} + b\bar{\zeta} &= 0, \\ \bar{x} - \bar{s}^{-1} &= 0, \end{aligned} \quad (2.13)$$

ต่อมาจะพูดถึงลักษณะเฉพาะที่จะบอกว่าเมื่อไรที่ (CD) จะมีคำตอบ

ประพจน์ 3. (CD) จะมีคำตอบที่เหมาะสมหรือระบบสมการ (2.13)

มีคำตอบก็ต่อเมื่อ สำหรับทุกๆ \tilde{b} ที่มีค่าเข้าใกล้ b อย่างเพียงพอ $\min \{ \tilde{b}^T y : A^T y + s = c, s > 0 \}$ มีคำตอบที่เหมาะสม หมายเหตุ เงื่อนไขนี้ก็คือปัญหาการหาค่าที่น้อยที่สุดที่มีคำตอบที่เหมาะสม (ถ้า $\tilde{b} = b$ จะได้ว่านี่ก็คือปัญหาการหาค่าที่มากที่สุด) พิสูจน์. (\Rightarrow) (CD) หรือ (2.13) มีคำตอบ ก็ต่อเมื่อ มีบางคำตอบที่เป็นไปได้โดยแท้ \bar{x}^* ซึ่ง

$$A\bar{x} + b\bar{\zeta} = 0, \quad \bar{x} \geq 0$$

พิจารณากรณี $\bar{\zeta} < 0$ จาก $A\bar{x} + b\bar{\zeta} = 0, \bar{x} \geq 0$ จะได้ว่า

$$A\bar{x} = -b\bar{\zeta}, \quad \bar{x} \geq 0$$

ให้ $\bar{\zeta} = -\bar{\zeta}^*$ โดยที่ $\bar{\zeta}^* > 0$ ดังนั้นจะได้ว่า

$$A\bar{x} = -b(-\bar{\zeta}^*) = b\bar{\zeta}^*$$

นั่นคือ $A\bar{x} = b\bar{\zeta}^*$ โดยที่ $\bar{\zeta}^* > 0$ นั่นคือ $A(\frac{\bar{x}}{\bar{\zeta}^*}) = b$

ให้ $\bar{x}^* = \frac{\bar{x}}{\bar{\zeta}^*}$ โดยที่ $\bar{x}^* > 0$ จะได้ว่า

$$A\bar{x}^* = b, \quad \bar{x}^* > 0$$

นั่นคือ ถ้า $\bar{\zeta} < 0$ จะได้ว่า (P) มีคำตอบที่เป็นไปได้ ซึ่งขัดแย้ง

จากที่ (P) ไม่มีคำตอบที่เป็นไปได้

พิจารณากรณี $\bar{\zeta} = 0$ จะได้ว่า $A\bar{x} = 0, \bar{x} \geq 0$

เนื่องจาก A มี พูลเร้นจ์ จะได้ว่า มี x ที่สอดคล้องกับ $Ax = b$

ให้ λ เป็นตัวคูณที่มีค่ามากอย่างเพียงพอ นั่นคือ $\lambda\bar{x} + x > 0$ โดยที่ $\lambda, \bar{x} > 0$ พิจารณา

$$\begin{aligned} A(\lambda\bar{x} + x) &= \lambda A\bar{x} + Ax \\ &= \lambda(0) + Ax \quad (\because A\bar{x} = 0) \\ &= Ax \\ &= b \end{aligned}$$

ดังนั้นจะได้ว่า $A(\lambda\bar{x} + x) = b$

ให้ $\bar{x}^* = \lambda\bar{x} + x$ จะได้ว่า

$$A\bar{x}^* = b, \quad \bar{x}^* > 0$$

นั่นคือ ถ้า $\bar{\zeta} = 0$ จะได้ว่า (P) มีคำตอบที่เป็นไปได้ แต่ในขณะเดียวกัน จากสมมติฐาน $A^T \bar{y} + \bar{s} = 0, s > 0$ และ $b^T \bar{y} = 1$ ซึ่งจะส่งผลให้เกิดข้อแย้งจากที่ (P) ไม่มีคำตอบที่เป็นไปได้ตามผลลัพธ์ ของบทตั้งที่ 2

พิจารณากรณี $\bar{\zeta} > 0$ จะได้ว่า $A\bar{x} = -b\bar{\zeta}, \bar{x} \geq 0, \bar{\zeta} > 0$ นั่นคือ

$$A(\frac{\bar{x}}{\bar{\zeta}}) = -b$$

ให้ $x = \frac{\bar{x}}{\zeta}$ โดยที่ $\bar{x} \geq 0$ จะได้ว่า

$$Ax = -b, x \geq 0$$

นั่นคือจะได้ว่า $\bar{\zeta} > 0$ เพียงกรณีเดียว

ดังนั้น (CD) จะมีคำตอบที่เหมาะสม ก็ต่อเมื่อมีบางคำตอบที่เป็นไปได้โดยแท้ x ซึ่ง $Ax = -b, x \geq 0$

เนื่องจาก A มี พูลโรวแร็งค์ (full row rank) เป็น m จะได้ว่ามีบางคำตอบ ที่ซึ่ง $Ax = \pm e_i$ โดยที่ e_i เป็นเวกเตอร์พิกัดที่ i ใน \mathbb{R}^m และจากที่มีบางคำตอบที่เป็นไปได้โดยแท้ $x > 0$ ซึ่ง $Ax = -b$

ให้ $x^* = x + \varepsilon e_i, x^* \geq 0, \varepsilon > 0$ จะได้ว่า

$$\begin{aligned} Ax^* &= A(x + \varepsilon e_i) \\ &= -(b - \varepsilon A e_i) \end{aligned}$$

ให้ $\tilde{b} = b - \varepsilon A e_i$ จะได้ว่า

$$Ax^* = -\tilde{b}, x^* \geq 0$$

ดังนั้นจะได้ว่ามีคำตอบที่เป็นไปได้ x ซึ่ง $Ax = -\tilde{b}, x \geq 0$ ทุกๆ \tilde{b} ที่มีค่าเข้าใกล้ b อย่างเพียงพอ

(\Leftarrow) จะแสดงว่า มีบางคำตอบที่เป็นไปได้โดยแท้ x ซึ่ง $Ax = -b, x \geq 0$

พิจารณา $x \geq 0$ ซึ่ง $Ax = -\tilde{b}$ เลือก $\tilde{b} = b + \varepsilon A e_i, \varepsilon > 0$ จะได้ว่า

$$\begin{aligned} Ax &= -(b + \varepsilon A e_i) \\ Ax &= -b - \varepsilon A e_i \\ Ax + \varepsilon A e_i &= -b \\ &= -b \end{aligned}$$

ให้ $x^* = x + \varepsilon e_i, x^* > 0$ จะได้ว่า

$$Ax^* = -b, x^* > 0$$

ดังนั้นจะได้ว่ามีคำตอบที่เป็นไปได้โดยแท้ $x > 0$ ที่สอดคล้องกับ $Ax = -b, x \geq 0$

นั่นคือ (D) มีคำตอบที่เป็นไปได้

พิจารณา (P) $\min c^T x$ ซึ่ง $Ax = -\tilde{b}, x \geq 0$ และ (D) $\max -\tilde{b}^T y$ ซึ่ง $A^T y + s = c, s \geq 0$

สามารถเขียนปัญหา (D) ในรูปของการหาค่าที่น้อยที่สุดได้ นั่นคือ

$$(D) \min -\tilde{b}^T y \text{ ซึ่ง } A^T y + s = c, s \geq 0$$

ดังนั้นจะได้ว่า (CD) จะมีคำตอบที่เหมาะสม (หรือ (2.13) มีคำตอบ) ก็ต่อเมื่อ สำหรับทุกๆ \tilde{b} ที่มีค่าเข้าใกล้ b อย่างเพียงพอ

ที่สอดคล้องกับ $\min \{ \tilde{b}^T y : A^T y + s = c, s \geq 0 \}$ มีคำตอบที่เหมาะสม

สรุปและข้อคิดเห็น (Concluding Remarks)

จากการศึกษาวิธีการตามเส้นทางของจุดภายในซึ่งเป็นขั้นตอนวิธีที่ใช้เส้นทางศูนย์กลางในการหาคำตอบที่เหมาะสมสำหรับปัญหาการกำหนดการเชิงเส้นและปัญหาการกำหนดการโคเนค และการที่จะมีเส้นทางศูนย์กลางนั้น ปัญหาหลักและปัญหาหลัก-ปัญหาคู่ควบนั้นจะต้องมีคำตอบที่เป็นไปได้โดยแท้นักคณิตศาสตร์หลายท่าน อาทิเช่น Michael J. Todd, Nesterov, Y และ E., Nemirovskii ได้แสดงผลในการใช้ขั้นตอนวิธีหลัก-คู่ควบ ใ้ว่าขั้นตอนวิธีนี้ใช้วิธีเส้นทางศูนย์กลางในการหาคำตอบที่เหมาะสมของปัญหาช่วยที่ได้แสดงถึงการไม่มีคำตอบที่เป็นไปไม่ได้และความไม่มีขอบเขตของปัญหาเริ่มต้น เราได้ทำการศึกษารณินที่ใช้ขั้นตอนวิธีการตามเส้นทางคู่ควบ และพบว่าพฤติกรรมทางทฤษฎีมีความแตกต่างไปจากขั้นตอนวิธีการตามเส้นทางหลัก-คู่ควบเนื่องจากฟังก์ชันขวางกันมาตรฐานมีความซับซ้อนน้อยกว่า จึงทำให้การคำนวณ มีความซับซ้อนที่น้อยกว่า ซึ่งทั้งสองวิธีนั้นเราสามารถหาตัวบ่งบอกถึงความไม่มีคำตอบที่เป็นไปได้และความไม่มีขอบเขตของปัญหาหลัก-ปัญหาคู่ควบได้

เอกสารอ้างอิง (References)

- Adler, I., Resende, M.G.C., Veiga, G., Karmarkar, N.K. (1989). An implementation of Karmarkar's algorithms for linear programming. *Mathematical Programming*. 44(3), 297-335.
- Benson, S.J., Ye, Y., Zhang, X., (2000). Solving large-scale sparse semidefinite programs for combinatorial optimization, *SIAM Journal of Optimization*. 10(2), 443-461.
- Gonzaga, C.C. (1992). Path following methods for linear programming. *SIAM Review*. 34(2), 167-224.
- Güler, O. (1996). Barrier functions in interior point methods. *Mathematics of Operations Research*. 21, 860-885.
- Nesterov, Y.E., Nemirovskii, A.S. (1993). *Interior Point Polynomial Method in Convex Programming: Theory and Algorithms*. SIAM, Philadelphia.

- Renegar, J. (1988). A polynomial-time algorithms based on Newton's method for linear programming. *Mathematical Programming.* 40, 59-93.
- Todd, M.J. (2004). Detecting infeasibility in infeasible-interior-point methods for optimization. In: Cucker, F., DeVore, R., Olver, P., Süli, E. (eds.) *Foundations of Computational Mathematics, Minneapolis 2002*, pp. 157-192. Cambridge University Press, Cambridge.
- Ye, Y. (1997). *Interior Point Algorithms: Theory and Analysis*. Wiley, New York.

คำแนะนำในการเสนอผลงานเพื่อตีพิมพ์ลงในวารสารวิทยาศาสตร์บูรพา

วารสารวิทยาศาสตร์บูรพา เป็นวารสารที่ได้รับการรับรองให้เป็นวารสารวิชาการด้านวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยี ซึ่งเป็นที่ยอมรับระดับชาติ จากสำนักงานคณะกรรมการการอุดมศึกษา และเป็นวารสารวิชาการระดับชาติ กลุ่มสาขาวิชาวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยี ที่สำนักงานกองทุนสนับสนุนการวิจัย (สกว.) ยอมรับให้เป็นวารสารสำหรับการพิจารณาผลงานตีพิมพ์เรื่องที่ 2 ของนักศึกษาทุนปริญญาเอกกาญจนาภิเษก (คปก.) ในหลักสูตรกลุ่มสาขาวิชาวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยี ตั้งแต่วันที่ 11 เป็นต้นไป ก่อนสำเร็จการศึกษาปริญญาเอก

บทความที่รับพิจารณาตีพิมพ์

บทความวิจัย และบทความวิชาการ ทางด้านวิทยาศาสตร์ โดยผลงานที่ส่งมาเพื่อพิจารณาตีพิมพ์จะต้องไม่เคยเผยแพร่ในวารสารใดมาก่อน และไม่อยู่ในระหว่างการพิจารณาตีพิมพ์ของวารสารอื่นๆ

การเตรียมต้นฉบับเพื่อการตีพิมพ์

1. ภาษา
ภาษาไทย Angsana New 16 หรือภาษาอังกฤษ Times New Roman 12
2. จำนวนหน้า
บทความวิจัย จำนวนหน้าไม่เกิน 15 หน้า
บทความวิชาการ จำนวนหน้าไม่เกิน 10 หน้า
(แสดงหมายเลขบรรทัดและระบุเลขหน้าที่มุมบนด้านขวาของหน้ากระดาษ)
3. องค์ประกอบบทความ
 - 3.1 ชื่อเรื่อง ภาษาไทย และภาษาอังกฤษ
 - 3.2 ชื่อผู้เขียน Corresponding author สถานที่ทำงาน Email-address ภาษาไทย และภาษาอังกฤษ
 - 3.3 บทคัดย่อภาษาไทย และคำสำคัญไม่เกิน 5 คำ
 - 3.4 บทคัดย่อภาษาอังกฤษ (Abstract) และ Keywords ไม่เกิน 5 คำ
 - 3.5 เนื้อเรื่อง (บทความวิจัย) ประกอบด้วย
บทนำ (Introduction)
วัสดุอุปกรณ์และวิธีการวิจัย (Materials and Methods)
ผลการวิจัยและวิจารณ์ผล (Results and Discussion)
สรุปผลการวิจัย (Conclusion)
 - 3.6 ตารางและรูปภาพ (ถ้ามี)
ระบุคำอธิบายไว้ส่วนบนตารางที่.../Table...
ระบุคำอธิบายไว้ส่วนใต้ภาพที่.../Figure...
 - 3.7 กิตติกรรมประกาศ (Acknowledgements) จะมีหรือไม่มีก็ได้
 - 3.8 เอกสารอ้างอิง (References)
4. รูปแบบการอ้างอิงในบทความ
 - 4.1 ใช้ระบบนาม-ปี (Name-Year System) ตามมาตรฐานสากล
 - 4.2 การอ้างอิงในบทความทุกรายการจะต้องระบุในเอกสารอ้างอิงด้วย
ตัวอย่างการอ้างอิงในบทความ
(อนุกุล บูรณประทีปรัตน์, 2552)
(อนุกุล บูรณประทีปรัตน์, 2552, 2553)
(อนุกุล บูรณประทีปรัตน์ และคณะ, 2553)
(กิตติการ สายธนู และ ปรียาร์ตน์ นาคสุวรรณ, 2551)
(Philchenkov *et al.*, 2007)
(Price & Stark, 2006)
(Price *et al.*, 2010)
(Price & Strak, 2006 ; อนุกุล บูรณประทีปรัตน์, 2551)
5. รูปแบบเอกสารอ้างอิง

- 5.1 เรียงลำดับภาษาไทยก่อนภาษาอังกฤษ
- 5.2 เรียงลำดับตามตัวอักษร สระ และตามจำนวนผู้เขียน และหากนามสกุลของผู้แต่งชาวต่างประเทศซ้ำกัน ให้เรียงลำดับโดยดูจากอักษรของชื่อต้น และชื่อกลางตามลำดับ ในกรณีผู้เขียนคนเดียวกันให้เรียงตามลำดับปีที่พิมพ์จากปีเก่าจนถึงปีล่าสุด
- 5.3 ตัวอย่างการเขียนเอกสารอ้างอิง
- **วารสาร**
 ชื่อผู้เขียน. (ปี). ชื่อเรื่อง. ชื่อวารสาร, ปีที่(ฉบับที่(ถ้ามี)), เลขหน้า-เลขหน้า.
 อนุกุล บุรณประทีปรัตน์. (2552). การไหลเวียนกระแสไฟฟ้าบริเวณปากแม่น้ำบางปะกงและชายฝั่งจังหวัดชลบุรี. *วารสารวิทยาศาสตร์บูรพา*, 15(1), 50-60.
 Philchenkov, A., Zavelevich, M., Imbs, T., Zvyagintseva, T., & Zaporozhets, T. (2007). Sensitization of human malignant lymphoid cells to etoposide by fucoidan, a brown seaweed polysaccharide. *Experimental Oncology*, 3, 181-185.
 - **ตำราหรือหนังสือที่ออกไม่เป็นวารสาร**
 ชื่อผู้เขียน. (ปี). ชื่อหนังสือ. (ครั้งที่พิมพ์). เมืองที่พิมพ์: สำนักพิมพ์หรือหน่วยงานที่พิมพ์.
 Price, P.W. (1975). *Insect Ecology*. New York: John Wiley & Sons.
 - **บทความในหนังสือ**
 ชื่อผู้เขียน. (ปี). ชื่อบทความ. ใน. ชื่อบรรณาธิการ. (บรรณาธิการ ถ้ามี), ชื่อหนังสือ. (หน้า เลขหน้า). สถานที่พิมพ์: สำนักพิมพ์.
 Kim, S-K. (1991). Natural occurrences of brassinosteroids. In H.G. Cutler, T. Yokota, & G. Adam. (Eds.), *Brassinosteroids, Chemistry, Bioactivity, and Applications*. (pp.26-35). Washington DC: American Chemical Society.
 - **รายงานการประชุมวิชาการ หรือการสัมมนาทางวิชาการ**
 ชื่อผู้เขียน. (ปี). ชื่อบทความ. ใน. ชื่อเอกสารการประชุมหรือสัมมนา. (หน้า เลขหน้า). สถานที่พิมพ์: สำนักพิมพ์.
 Gustavo, W. (1992). Community participation. In *Proceeding Habitat International Seminar*. (pp. 99-150). Columbia: Habinet.
 - **วิทยานิพนธ์/ดุษฎีนิพนธ์**
 ชื่อผู้ทำวิทยานิพนธ์หรือดุษฎีนิพนธ์. (ปี). ชื่อวิทยานิพนธ์หรือดุษฎีนิพนธ์. ระดับวิทยานิพนธ์หรือดุษฎีนิพนธ์, ชื่อสาขาวิชา, คณะ, ชื่อมหาวิทยาลัย.
 นพพร ไทยเจริญ. (2549). การสร้างชุดการสอนกลุ่มสาระการเรียนรู้วิทยาศาสตร์เรื่อง ดินและหินในท้องถิ่นสำหรับนักเรียนชั้นประถมศึกษาปีที่ 4. วิทยานิพนธ์การศึกษามหาบัณฑิต, สาขาหลักสูตรและการสอน, บัณฑิตวิทยาลัย, มหาวิทยาลัยบูรพา.
 Tiensing, T. (1997). *Sample handing of biology samples for Gas Chromatographic determination of organotin compounds*. Master's thesis, Department of Biology, Graduate School, Mahidol University.
 Sangnark, A. (2002). *Evaluation of dietary fibers produced from selected agri-byproducts for use as flour replacer in bread*. Doctoral dissertation, School of Environment, Resources and Development, Asian Institute of Technology.
6. การส่งต้นฉบับ สามารถเลือกส่งได้ 2 วิธี ดังนี้
- 6.1 ทางไปรษณีย์ ต้นฉบับ 2 ชุด ซีดีไฟล์บทความ .doc และ .pdf และไฟล์รูปภาพ .jpeg (ถ้ามี)
 ส่งมาที่ กองบรรณาธิการวารสารวิทยาศาสตร์บูรพา คณะวิทยาศาสตร์ มหาวิทยาลัยบูรพา ต.แสนสุข อ.เมือง จ.ชลบุรี 20131
- 6.2 ทางจดหมายอิเล็กทรอนิกส์ ส่งไฟล์บทความ .doc และ .pdf และไฟล์รูปภาพ .jpeg (ถ้ามี)
 ส่งมาที่ buscij@buu.ac.th
7. การดำเนินการ
- บทความทุกเรื่องที่จะมารับการพิจารณาตีพิมพ์ จะผ่านการกลั่นกรองจากผู้ทรงคุณวุฒิ และได้รับความเห็นชอบจากกองบรรณาธิการ บทความที่ได้รับการพิจารณาตีพิมพ์ ผู้เขียน/Corresponding author จะได้รับเล่มวารสาร พร้อมไฟล์ pdf บทความที่ได้รับการพิจารณาตีพิมพ์

วารสารวิทยาศาสตร์บูรพา

ขอเชิญส่งผลงานวิชาการ ประเภทบทความทางวิจัย / วิชาการ
เพื่อพิจารณาลงตีพิมพ์ในวารสารวิทยาศาสตร์บูรพา
ติดต่อสอบถามโดยตรงได้ที่

กองบรรณาธิการ วารสารวิทยาศาสตร์บูรพา

ผศ.จักรพันธ์ ถาวรธิดา หรือ คุณรังสิมา สุตรอนันต์

โทรศัพท์ 0-3810-3042 โทรสาร 0-3839-4480

E-mail: buscij@buu.ac.th