

วารสาร

# วิทยาศาสตร์ และ เทคโนโลยี

มหาวิทยาลัยมหาสารคาม

ปีที่ 42 ฉบับที่ 3 พฤษภาคม - มิถุนายน 2566

JOURNAL OF SCIENCE AND TECHNOLOGY  
MAHASARAKHAM UNIVERSITY  
INDEXED IN

ISSN (Print Edition) : 1686-9664  
ISSN (Online Edition) : 2586-9795



# วารสารวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยี มหาวิทยาลัยมหาสารคาม

## วัตถุประสงค์

วารสารวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยี มหาวิทยาลัยมหาสารคาม จัดทำขึ้นโดยมีวัตถุประสงค์เพื่อเป็นแหล่งเผยแพร่ผลงานทางวิชาการที่มีคุณภาพของนักวิชาการทั้งในและต่างประเทศ โดยเผยแพร่บทความวิจัย (research article) บทความปริทัศน์ (review article) ในสาขาวิชาต่างๆ ได้แก่ คณิตศาสตร์ วิทยาศาสตร์ เทคโนโลยี วิศวกรรมศาสตร์ เกษตรศาสตร์ แพทยศาสตร์ วิทยาศาสตร์สุขภาพ และสหวิทยาการด้านวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยี

## เจ้าของ

มหาวิทยาลัยมหาสารคาม  
สำนักงานกองบรรณาธิการ  
กองส่งเสริมการวิจัยและบริการวิชาการ มหาวิทยาลัยมหาสารคาม  
ตำบลขามเรียง อำเภอกันทรวิชัย จังหวัดมหาสารคาม 44150  
โทรศัพท์ภายใน 1754 โทรศัพท์โทรสาร 0-4375-4416

## ที่ปรึกษา

อธิการบดีมหาวิทยาลัยมหาสารคาม  
ศาสตราจารย์ ดร.วิสุทธิ ไบไม้  
ศาสตราจารย์ ดร.วิชัย บุญแสง  
ศาสตราจารย์ ดร.พีระศักดิ์ ศรีนิเวศน์

## บรรณาธิการ

ศาสตราจารย์ ดร.ปรีชา ประเทพา

## ผู้ช่วยบรรณาธิการ

ศาสตราจารย์ ดร.ไพโรจน์ ประมวล  
มหาวิทยาลัยมหาสารคาม  
ศาสตราจารย์ ดร.ศิริพร ศิริอมพรพรรณ  
มหาวิทยาลัยมหาสารคาม  
ศาสตราจารย์ ดร.อนงค์ฤทธิ์ แข็งแรง  
มหาวิทยาลัยมหาสารคาม  
รองศาสตราจารย์ นายสัตวแพทย์ ดร.วรพล เองวานิช  
มหาวิทยาลัยมหาสารคาม  
รองศาสตราจารย์ ดร.วิลยา สุทธิขำ  
มหาวิทยาลัยมหาสารคาม  
รองศาสตราจารย์ ดร.อรวิชัย กุ่มพล  
มหาวิทยาลัยมหาสารคาม  
ผู้ช่วยศาสตราจารย์ ดร.สมนึก พ่วงพรพิทักษ์  
มหาวิทยาลัยมหาสารคาม

## กองบรรณาธิการ

ศาสตราจารย์ ดร.ทวีศักดิ์ บุญเกิด  
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย  
ศาสตราจารย์ ดร.ละออศรี เสนาะเมือง  
มหาวิทยาลัยขอนแก่น  
ศาสตราจารย์ ดร.ปราณี อานเป็ร้อง  
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย  
ศาสตราจารย์ ดร.นิวัฒน์ เสนาะเมือง  
มหาวิทยาลัยขอนแก่น  
ศาสตราจารย์ ดร.วงศา เล้าหศิริวงษ์  
มหาวิทยาลัยขอนแก่น  
ศาสตราจารย์ ดร.ขวัญใจ กนกเมธากุล  
มหาวิทยาลัยขอนแก่น

ศาสตราจารย์ นายแพทย์ศิริเกษม ศิริลักษณ์  
มหาวิทยาลัยนครสวรรค์  
รองศาสตราจารย์ ดร.สุนันท์ สายกระสุน  
มหาวิทยาลัยมหาสารคาม  
รองศาสตราจารย์ ดร.สุวรรณา บุญยะสิทธิ์พรณ  
มหาวิทยาลัยขอนแก่น  
รองศาสตราจารย์ ดร.ฉันทนา อารมย์ดี  
มหาวิทยาลัยขอนแก่น

รองศาสตราจารย์ ดร.บุญจง ขาวสิทธิวงษ์  
สถาบันบัณฑิตพัฒนบริหารศาสตร์  
รองศาสตราจารย์ ดร.พรเทพ ถนอมแก้ว  
มหาวิทยาลัยขอนแก่น

รองศาสตราจารย์ ดร.นฤมล แสงประดับ  
มหาวิทยาลัยขอนแก่น

รองศาสตราจารย์ ดร.ชาลิต บุญปก  
มหาวิทยาลัยมหาสารคาม

รองศาสตราจารย์เทอดศักดิ์ คำเหม็ง  
มหาวิทยาลัยนครพนม

รองศาสตราจารย์ยืน ภู่วรรณ  
มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์

ผู้ช่วยศาสตราจารย์ ดร.นพรัตน์ พุทธกาล  
มหาวิทยาลัยเทคโนโลยีราชมงคลธัญบุรี

ผู้ช่วยศาสตราจารย์ ดร.อนุชา เพียรชนะ  
มหาวิทยาลัยราชภัฏอุบลราชธานี

ผู้ช่วยศาสตราจารย์ ดร.เสกสรร สุขะเสนา  
มหาวิทยาลัยนครสวรรค์

ผู้ช่วยศาสตราจารย์ ดร.วัลย์พร ทองเจริญบัวงาม  
มหาวิทยาลัยมหาสารคาม

ผู้ช่วยศาสตราจารย์ ดร.อลงกรณ์ ละม่อม  
มหาวิทยาลัยมหาสารคาม

ผู้ช่วยศาสตราจารย์ นายสัตวแพทย์ ดร.ณัฐพล ภูมิพันธ์  
มหาวิทยาลัยมหาสารคาม

อาจารย์ เกียรติกร ดร.รักษิณดา วัฒนาลัย  
มหาวิทยาลัยสยาม

Dr.Adrian Roderick Plant  
มหาวิทยาลัยมหาสารคาม

## เลขานุการ

ผู้อำนวยการกองส่งเสริมการวิจัยและบริการวิชาการ

## ผู้ช่วยเลขานุการ

พัทตรีวิไล รุ่งวิสัย  
จิราวัฒน์ ภูสีฤทธิ์

## กำหนดเผยแพร่

ปีละ 6 ฉบับ  
ฉบับที่ 1 มกราคม-กุมภาพันธ์  
ฉบับที่ 2 มีนาคม-เมษายน  
ฉบับที่ 3 พฤษภาคม-มิถุนายน  
ฉบับที่ 4 กรกฎาคม-สิงหาคม  
ฉบับที่ 5 กันยายน-ตุลาคม  
ฉบับที่ 6 พฤศจิกายน-ธันวาคม

บทความและความคิดเห็นในวารสารวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยี มหาวิทยาลัยมหาสารคาม เป็นความคิดเห็นของผู้เขียน กองบรรณาธิการไม่จำเป็นต้องเห็นด้วยเสมอไป และบทความในวารสารวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยี สงวนสิทธิ์ตามกฎหมายไทย การจะนำไปเผยแพร่ต้องได้รับอนุญาตเป็นลายลักษณ์อักษรจากกองบรรณาธิการเท่านั้น



## บทบรรณาธิการ

วารสารฉบับนี้ เป็นฉบับต้อนรับฤดูฝน ที่ทำให้เราได้เห็นหลาย ๆ พื้นที่เริ่มมีสีเขียวข่มของใบไม้ผลิใหม่อันเป็นความสดใสให้แก่สายตาและความชุ่มชื้นให้แก่หัวใจได้เป็นอย่างดี ทางกองบรรณาธิการจึงได้เลือกภาพของใบ “สาบเสือ” เพื่อขึ้นปกวารสารฉบับนี้ ทั้งนี้เพราะเราสามารถใช้ต้นสาบเสือเป็นตัวชี้วัดสภาพอากาศและอุณหภูมิได้ เนื่องจากโดยปกติแล้วหากอากาศไม่แล้ง ต้นสาบเสือจะไม่ออกดอกนั่นเอง แม้เราจะเห็นต้นสาบเสือได้ทั่วไปในทุกภูมิภาคของประเทศไทย โดยสังเกตจากภาษาถิ่นที่เรียกต้นไม้ชนิดนี้แตกต่างกันไป เช่น หญ้าเสือหมอบ (กาญจนบุรี) ชีพุก๋วย (เชียงใหม่) หรือ หมาหลง (ชลบุรี) เป็นต้น และมีชื่อสามัญในภาษาอังกฤษชื่อหนึ่งว่า Siam weed เราจนอาจเข้าใจว่าต้นสาบเสือเป็นพืชพื้นถิ่นดั้งเดิมของภูมิภาคเรา แต่แท้จริงแล้ว พืชชนิดนี้กลับมีถิ่นกำเนิดในแถบอเมริกากลาง แล้วจึงได้แพร่กระจายไปยังพื้นที่เขตร้อนทั่วไปในทั่วทุกทวีป โดยจัดเป็นพรรณไม้ล้มลุก เป็นพืชที่แตกกิ่งก้านสาขามากจนเหมือนทรงพุ่ม กิ่งก้านและลำต้นจะปกคลุมไปด้วยขนนุ่มอ่อน ๆ มีลำต้นสูงประมาณ 1-2 เมตร สาเหตุที่ได้ชื่อว่า สาบเสือ เนื่องจากว่า ดอกของสาบเสือนั้นไม่มีกลิ่นหอมเลย แต่จะมีกลิ่นสาบคล้ายกลิ่นสาบเสือ คนเดินป่าในสมัยก่อนเมื่อจะหลบหนีสัตว์ที่ดุร้าย จะวิ่งเข้า “ดง” ของต้นสาบเสือเพื่อช่วยอำพรางกลิ่นของมนุษย์ และให้สัตว์ร้ายได้กลิ่นสาบเสือแทนทำให้ปลอดภัยขึ้น สิ่งนี้ทำให้นึกถึงพระราชนิพนธ์ของล้นเกล้ารัชกาลที่ 6 ที่ว่า “เสื่อพีเพราะป่าปก ป่ารกเพราะเสื่อยัง ดินเย็นเพราะหญ้าบัง หญ้ายังเพราะดินดี” ดงสาบเสือนั้นจะมีใบหนาแน่นได้ ก็ในฤดูที่น้ำทำอุดมสมบูรณ์นั่นเอง ซึ่งสะท้อนถึงความสำคัญของการอยู่ร่วมกันอย่างสมดุล นอกจากนี้ใบสาบเสือ ยังมีสารสำคัญหลายชนิด อาทิ กรดอะนิสิกและฟลาโวนอยด์หลายชนิด เช่น ไอโซชาควรานิน และไอโคราติน รวมถึงน้ำมันหอมระเหย เช่น ยูพาทอลคูมาริน โดยสารสำคัญเหล่านี้จะออกฤทธิ์ที่ผนังเส้นเลือดทำให้เส้นเลือดหดตัว และยังมีฤทธิ์ไปกระตุ้นสารที่ทำให้เลือดแข็งตัวได้เร็วขึ้น จึงสามารถใช้รักษาโรคหลอดเลือดหัวใจ ช่วยในการห้ามเลือด โดยกระตุ้นกระบวนการทำให้เลือดแข็งตัวได้เร็วยิ่งขึ้น ทั้งยังช่วยสมานแผลและป้องกันการเกิดรอยแผลเป็นได้ นอกจากนี้ ชาวโอรังอัสนีในรัฐเปเร ประเทศมาเลเซีย นำใบสาบเสื้อมาต้มเป็นยาขับปัสสาวะได้อีกด้วย สำหรับท่านที่สนใจเรื่องการใช้ประโยชน์จากสมุนไพรนั้น ในฉบับนี้ เรามีเรื่องของชาที่เตรียมจากสมุนไพรใบรางแดง มาให้ได้ศึกษากันอีกด้วย หวังว่าเนื้อหาในฉบับนี้ จะเป็นอาหารสมองสำหรับผู้สนใจ สบายตาสบายใจและเกิดความสุขแบบง่าย ๆ เมื่อได้เห็นใบไม้เขียว ๆ ใกลี้ ๆ ตัว

รองศาสตราจารย์ ดร.วัลยา สุทธิขำ  
ผู้ช่วยบรรณาธิการ



## สารบัญ

### Agricultural Science

ผลของอุณหภูมิ ระยะเวลา และรูปแบบการชงชาที่มีต่อปริมาณสารประกอบฟีนอลิก แทนนิน ฟลาโวนอยด์ และฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระในชาใบรางแดง (*Ventilago denticulata* Willd.)

97

**Effect of temperature, time and brewing method on phenolic compounds, tannins, flavonoids and antioxidant activity of infusion tea produced from *Ventilago denticulata* Willd.**

รวินิภา ศรีมูล และ ศิริกมล นิยมวรรณ

Rawinipa Srimoon and Sirikamol Niyomwan

### Biological Science

แคโริโอไทป์ และอิดิโอแกรมมาตรฐานของปลาชิวหนวดยาว (*Esomus metallicus*) ด้วยการย้อมสีแบบธรรมดา และแถบสีแบบนอร์

109

**Standardized karyotype and idiogram of striped flying barb (*Esomus metallicus*) by conventional staining and Ag-NOR banding techniques**

กษมา ด่านวันดี, กฤติมา กษมาวุฒิ, สำเนาวิ เสาวกุล และ สุพัชชา ชูเสียงแจ้ว

Kasama Danwandee, Krittima Kasamawut, Samnao Saowakoon and Supatcha Chooseangjaew

การเฝ้าระวังเชิงรุกของเชื้อ *Cryptococcus neoformans* ในสวนสัตว์นครราชสีมา ประเทศไทย

117

**Active surveillance of *Cryptococcus neoformans* in Nakhon Ratchasima Zoo, Thailand**

สุดาลักษณ์ ธัญญาหาร, วิรงรอง ช่างเพชร, นิจธร สังข์ศิริรินทร์, พลวรรต ทองสุข, ทศนีย์ เสาวนะ, ปวีวีดี ราษี, ประกายกานต์ กอผา และ ธนิต บุญศิริ

Sudaluck Thunyaharn, Wirongrong Changphet, Nitchatorn Sungsirin, Pollawat Thongsuk,

Tassanee Saovana, Patiwat Rasee, Pakaikan Kopha and Tanit Boonsiri

องค์ประกอบทางเคมีและฤทธิ์ยับยั้งแอลฟาอะไมเลสและแอลฟาไกลูโคซิเดส ของสารสกัดงวงตาล

127

**Chemical composition and inhibitory activities against  $\alpha$ -Amylase and  $\alpha$ -glucosidase of palmyra palm in *Borassus flabellifer* L. male flowers extracts**

พรอริยา ฉิรินัง, อิศรา วัฒนนภาเกษม, เจิมธง ปรรารถนารักษ์, จุติพร อินทะนิน และ ศิริวรรณ ณะวงษ์

Pornariya Chirinang, Isara Wattananapakasem, Chermdhong Prattanaruk,

Jutiporn Intanin and Siriwan Nawong

### Health Science

ผลของการออกกำลังกายด้วยโยคะต่อสมรรถภาพทางกายที่สัมพันธ์กับสุขภาพของนักเรียนประถมศึกษาที่มีภาวะน้ำหนักเกิน

137

**Influence of yoga exercise on health-related physical fitness of overweight students in primary school**

ธนุพร ลาภไธสงค์ และ ธัญญาวัฒน์ หอมสมบัติ

Thanupron Lapthaisong and Thanyawat Homsombat



# ผลของอุณหภูมิ ระยะเวลา และรูปแบบการชงชาที่มีต่อปริมาณสารประกอบฟีนอลิก แทนนิน ฟลาโวนอยด์ และฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระในชาใบรางแดง (*Ventilago denticulata* Willd.)

## Effect of temperature, time and brewing method on phenolic compounds, tannins, flavonoids and antioxidant activity of infusion tea produced from *Ventilago denticulata* Willd.

รวินิภา ศรีมูล<sup>1\*</sup> และ ศิริกมล นิยมวรรณ<sup>2</sup>  
Rawinipa Srimoon<sup>1\*</sup> and Sirikamol Niyomwan<sup>2</sup>

Received: 10 October 2022 ; Revised: 9 November 2022 ; Accepted: 24 November 2022

### บทคัดย่อ

การวิจัยนี้มีวัตถุประสงค์เพื่อศึกษาผลของอุณหภูมิน้ำ (70, 80, 90 และ 100 องศาเซลเซียส) เวลาที่ใช้ในการชงชา (1, 3, 5, 10 และ 15 นาที) และรูปแบบของการชงชา (ชาบรรจุซอง ใบชาชงในกา และใบชาชงในถุงกรองชา) ที่มีต่อปริมาณสารประกอบฟีนอลิก แทนนิน ฟลาโวนอยด์ และฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระในชาสมุนไพรใบรางแดง (*Ventilago denticulata* Willd.) ผลการศึกษาพบว่า ปริมาณฟีนอลิก แทนนิน ฟลาโวนอยด์ และร้อยละของฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระที่เพิ่มขึ้นเมื่อเพิ่มอุณหภูมิน้ำและเวลาที่ใช้ชงชา โดยมีค่าสูงสุดเมื่อเพิ่มอุณหภูมิน้ำจนถึง 100 องศาเซลเซียส และใช้เวลาชง 10 นาที หลังจาก 10 นาทีไปแล้วปริมาณสารต่างๆ เพิ่มขึ้นเล็กน้อยแต่ไม่มีนัยสำคัญ ( $p > 0.05$ ) นอกจากนี้ ชาชงจากซองชาให้ปริมาณสารต่างๆ มากกว่าการชงชาในกา น้ำชาและชาที่ชงด้วยถุงกรองชาอย่างมีนัยสำคัญ ( $p < 0.05$ ) เมื่อวิเคราะห์ความสัมพันธ์ระหว่างปัจจัยที่ศึกษา พบว่าปริมาณสารต้านอนุมูลอิสระต่างๆ มีความสัมพันธ์กับอุณหภูมิและเวลาที่ใช้ชง ( $r > 0.8$ ) ผลจากการวิจัยนี้ได้สภาวะที่เหมาะสมในการชงชาสมุนไพรใบรางแดงให้ได้ปริมาณฟีนอลิก แทนนิน ฟลาโวนอยด์ และฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระมากที่สุด และสามารถนำไปใช้เพื่อศึกษาการยอมรับของผู้บริโภคในแง่ของสี กลิ่น และรสชาติที่มีต่อชาที่ชงในสภาวะดังกล่าวต่อไป

**คำสำคัญ:** ชาสมุนไพร รางแดง การชงชา ฟีนอลิก ฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระ

### Abstract

This study aimed to investigate the effect of brewing temperature (70, 80, 90 and 100 °C), time (1, 3, 5, 10 and 15 minutes) and method of tea infusion (bagged tea, potted tea and filtered tea) on the amount of phenolics, tannins, flavonoids and antioxidant activity in *Ventilago denticulata* Willd. herbal tea. The results revealed that total phenolics, tannins, flavonoids and % antioxidant towards DPPH radical scavenging activity increased significantly with increasing brewing temperature and time, with the maximum value at 100 °C within 10 minutes. After this brewing time, the chemical contents were not significantly different ( $p > 0.05$ ). Furthermore, the content of phytochemicals in bagged tea were greater than those of potted and filtered tea ( $p < 0.05$ ). Values of Pearson's correlation coefficient suggested that total phenolics, tannins, flavonoids and antioxidant activity were significantly correlated to brewing time and temperature ( $r > 0.8$ ). In conclusion, the results of this study gave the best brewing conditions for *Ventilago denticulata* Willd. herbal tea thereby optimizing the extraction of phenolics, tannins, flavonoids and antioxidant

<sup>1</sup> รองศาสตราจารย์, สาขาวิชาวิทยาศาสตร์ประยุกต์และเทคโนโลยีชีวภาพ คณะเทคโนโลยีอุตสาหกรรมการเกษตร มหาวิทยาลัยเทคโนโลยีราชมงคลตะวันออก วิทยาเขตจันทบุรี ต.พลวง อ.เขาคิชฌกูฏ จ.จันทบุรี 22210

<sup>1</sup> นักวิชาการศึกษา, สาขาวิชาวิทยาศาสตร์ประยุกต์และเทคโนโลยีชีวภาพ คณะเทคโนโลยีอุตสาหกรรมการเกษตร มหาวิทยาลัยเทคโนโลยีราชมงคลตะวันออก วิทยาเขตจันทบุรี ต.พลวง อ.เขาคิชฌกูฏ จ.จันทบุรี 22210

<sup>1</sup> Associate Professor, Department of Applied Science and Biotechnology, Faculty of Agro-Industrial Technology, Rajamangala University of Technology Tawan-OK, Chanthaburi Campus, Pluang, Khao Kitchakoot District, Chanthaburi Province, 22210

<sup>1</sup> Science Educator, Department of Applied Science and Biotechnology, Faculty of Agro-Industrial Technology, Rajamangala University of Technology Tawan-OK, Chanthaburi Campus, Pluang, Khao Kitchakoot District, Chanthaburi Province, 22210

\* Corresponding author: e-mail: rawinipa\_sr@rmutto.ac.th

activity. Consequently, the color and sensory acceptance by consumers under these conditions will be an interesting future study.

**Keywords:** Herbal Tea, *Ventilago denticulata* Willd., Tea Infusion, Phenolics, Antioxidant Activity

## บทนำ

ชาสมุนไพร (Herbal tea) เป็นการนำพืชสมุนไพรผ่านกระบวนการคั่วหรือทำให้แห้งเช่นเดียวกับใบชาปกติ แล้วนำไปชงดื่มในน้ำร้อน ชาสมุนไพรเป็นที่นิยมมากในปัจจุบันเนื่องจากเป็นเครื่องดื่มเพื่อสุขภาพ จากการศึกษาพบว่าชาสมุนไพรหลายชนิดมีสารต้านอนุมูลอิสระในปริมาณสูง โดยเฉพาะอย่างยิ่งฟีนอลิก (Phenolics) และฟลาโวนอยด์ (Flavonoids) คาเทชิน (Catechin) ในรูปเอพิคาเทชิน (Epicatechin) เอพิแกลโลคาเทชิน (Epigallocatechin) แกลโลคาเทชิน (Gallocatechin) และเอพิคาเทชินแกลเลต (Epicatechin gallate) เป็นสารฟลาโวนอล (Flavonols) ที่จัดอยู่ในกลุ่มฟลาโวนอยด์ หรืออาจเรียกอีกอย่างว่าแอนโไฮโดรไลส์แทนนินหรือคอนเดนส์แทนนิน (Non-hydrolysed tannins/Condensed tannins) สารในกลุ่มคาเทชิน เป็นสารสำคัญที่ส่งผลต่อ สี กลิ่น และรสชาติขมฝาดของชา (Wang *et al.*, 2000 ; Pérez-Burillo *et al.*, 2018) สารเหล่านี้มีฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระ ช่วยยับยั้งการเกิดโรคเรื้อรังที่เกิดจากความเสื่อมของเซลล์ ลดโอกาสการเกิดมะเร็ง โรคเบาหวาน โรคหัวใจ และหลอดเลือด เป็นต้น (Kumamoto *et al.*, 2001 ; ปิยาภัทร ไตรสนธิ, 2560) สรรพคุณของชาสมุนไพรขึ้นกับสารประกอบที่พบในพืชสมุนไพรที่นำมาผลิต ตัวอย่างเช่น ชามินต์ และชาคาร์โมมายล์ มีปริมาณฟลาโวนอยด์สูง ช่วยเสริมภูมิคุ้มกัน กระตุ้นการทำงานของเม็ดเลือดขาว ผ่อนคลายกล้ามเนื้อ ต้านเชื้อแบคทีเรีย ยับยั้งการอักเสบลดการหลั่ง prostaglandin E2 และช่วยให้นอนหลับสบาย (McKay & Blumberg, 2006 ; Veljković *et al.*, 2013) ชาใบขลุ่ย (*Pluchea indica* (L.) Less) และชาใบหม่อน (*Morus alba* L.) มีฤทธิ์ยับยั้งเอนไซม์แอลฟาไกลูโคซิเดสและแอลฟาอะไมเลส ทำให้ลดการย่อยคาร์โบไฮเดรตและการดูดซึมกลูโคส ช่วยลดระดับน้ำตาลในเลือดได้ (รวินิภา ศรีมูล และคณะ, 2561 ; อนงค์ ศรีโสภา และกาญจนา วงศ์กระจ่าง, 2562) ชาใบมะกรูด ช่วยลดความดันโลหิต มีน้ำมันหอมระเหยช่วยคลายความวิตกกังวลและช่วยในการนอนหลับ (Navarra *et al.*, 2015) อย่างไรก็ตาม ปริมาณคาเทชินในชาสมุนไพรขึ้นกับกรรมวิธีการผลิต ชาสมุนไพรที่ผลิตแบบเดียวกับชาขาวและชาเขียวที่ผ่านกระบวนการทำให้แห้งหลายขั้นตอนมีปริมาณคาเทชินน้อยกว่าชาดำและชาแดงซึ่งผ่านกระบวนการหมักและเกิดปฏิกิริยาออกซิเดชันอย่างเต็มที่ทำให้เกิดสารบางกลุ่มที่มีฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระสูงขึ้น เช่น สารทีเอฟลาวิน (Teaflavins) ทีเอรูบิจิน (Thearubigin) และ ทีเอไซเนนซิน (Theasinensin) เป็นต้น (Cabrera *et al.*,

2003 ; Vuong, 2014)

รวงแดง (*Ventilago denticulata* Willd.) เป็นสมุนไพรพื้นบ้านทางภาคกลาง พบมากในตำบลเกาะเกร็ด อำเภอปากเกร็ด จังหวัดนนทบุรี มีฤทธิ์ทางยาคือ ช่วยลดไขมัน ลดความดันโลหิต ลดระดับน้ำตาลในเลือด ขับเสมหะ ช่วยให้เจริญอาหาร แก้อ่อนใน (Faculty of Pharmacy Mahidol University, 1996) จากการศึกษาของ Srimoon *et al.* (2020) พบว่า ในใบรวงแดงอบแห้งและคั่วด้วยวิธีเดียวกับการผลิตชาเขียว มีปริมาณสารประกอบฟีนอลิก ฟลาโวนอยด์ และแทนนิน 88-94 มิลลิกรัมกรดแกลลิกต่อกรัม, 63 มิลลิกรัมรูทีนต่อกรัม และ 89-91 มิลลิกรัมกรดแทนนิกต่อกรัม ตามลำดับ และมีฤทธิ์ยับยั้งอนุมูลอิสระดีพีพีเอช (DPPH) ได้ร้อยละ 50 (IC<sub>50</sub>) ที่ความเข้มข้น 0.03 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตรเทียบกับสารละลายโทรลอกซ์ เมื่อวิเคราะห์องค์ประกอบของสารที่พบในใบรวงแดง พบกรดโปรโตคาเทชอิก กรดวานิลลิก กรดไซแนปิก กรดเฟอรูลิก กรดแกลลิก เคอร์ซีทิน รูทีน และคาเทชิน นอกจากนี้ยังมีฤทธิ์ยับยั้งเอนไซม์แอลฟาอะไมเลส และแอลฟาไกลูโคซิเดสที่ค่า IC<sub>50</sub> 3-4 และ 11-13 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร ตามลำดับ รวงแดงถูกนำไปแปรรูปเป็นชาสมุนไพรโดยวิสาหกิจชุมชนที่มีชื่อเสียงในอำเภอเกาะเกร็ดจนได้รับเป็นผลิตภัณฑ์หนึ่งตำบลหนึ่งผลิตภัณฑ์ (OTOP)

อย่างไรก็ตาม ส่วนใหญ่การศึกษาเกี่ยวกับชาสมุนไพรจะศึกษาเกี่ยวกับการพัฒนากระบวนการผลิตใบชาที่ทำให้สารต้านอนุมูลอิสระสูงๆ ลดการสลายตัวของสารสำคัญ แต่ปริมาณสารต่างๆ ที่ผู้บริโภคชาสมุนไพรจะได้รับนอกจากจะขึ้นกับกรรมวิธีการผลิตแล้ว ขั้นตอนการชงชาสำหรับดื่มก็มีส่วนสำคัญที่มีผลต่อปริมาณสารต้านอนุมูลอิสระในน้ำชาด้วย ปัจจัยในการชงชา ได้แก่ อุณหภูมิของน้ำ เวลาในการชงชา ขนาดของใบชา รวมทั้งรูปแบบของการชง นอกจากจะมีผลต่อปริมาณสารต้านอนุมูลอิสระแล้ว ยังมีผลต่อสี กลิ่น และรสชาติของชาอีกด้วย (Liu *et al.*, 2018; Pérez-Burillo *et al.*, 2018) ดังนั้น ในการศึกษาวิจัยนี้จึงมีวัตถุประสงค์เพื่อศึกษาผลของอุณหภูมิและเวลาที่ใช้ชงชาใบรวงแดง และรูปแบบของการชงชา ได้แก่ การชงชาแบบชาของแซ่ในถ้วยชา การชงชาแบบใช้ใบชาชงในกาน้ำชา และการชงชาโดยใช้ถุงกรองชา ที่มีต่อปริมาณฟีนอลิก ฟลาโวนอยด์ แทนนิน และฤทธิ์ต้านอนุมูลดีพีพีเอช รวมทั้งวิเคราะห์ความสัมพันธ์ระหว่างปัจจัยที่ศึกษาเพื่อหาสภาวะที่เหมาะสมในการชงชาเพื่อให้ผู้บริโภคได้รับประโยชน์สูงสุดจากการดื่มชาสมุนไพรใบรวงแดง



## วัสดุ อุปกรณ์ และวิธีการศึกษา

### 1. อุปกรณ์และสารเคมี

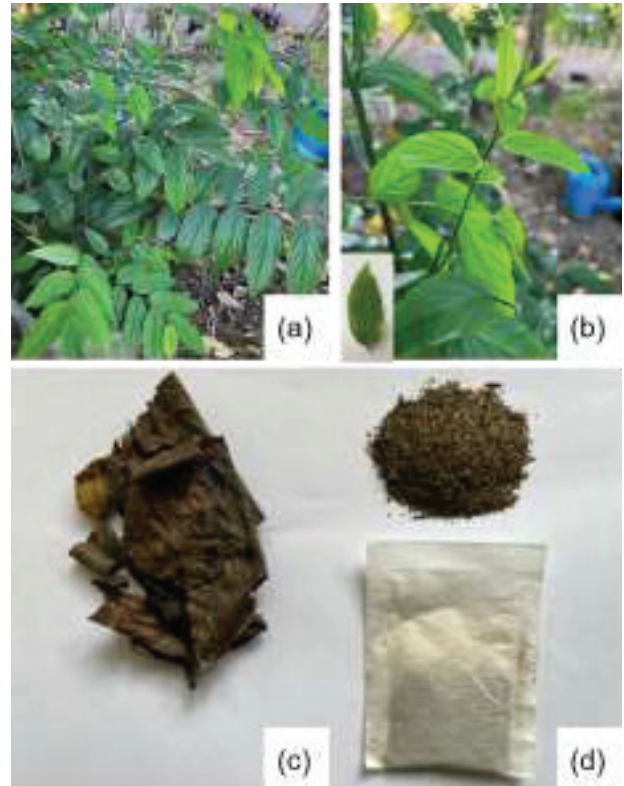
สารเคมีที่ใช้ในการวิจัยทั้งหมดเป็นเกรดวิเคราะห์ (Analytical reagent grade): กรดแทนนิก (Tannic acid) และ รูทีน (Rutin) ของ Alfa Aesar (UK) โทรลอคซ์ (Trolox) ดีพีพีเอช (DPPH หรือ 2,2-diphenyl-1-picryl hydrazyl) และกรดแกลลิก (Gallic acid) ของ Sigma-Aldrich (USA) โซเดียมไนไตรต์ ( $\text{NaNO}_2$ ) ของ Univar Ajax Finechem (Australia) Folin-Ciocalteu phenol reagent ของ Loba Chemie (India) โซเดียมคาร์บอเนต ( $\text{Na}_2\text{CO}_3$ ) และอะลูมิเนียมคลอไรด์ ( $\text{AlCl}_3$ ) ของ Univar Ajax Finechem (New Zealand) โพแทสเซียมแอสซีเตต ( $\text{CH}_3\text{COOK}$ ) ของ Unilab (Australia) เอทานอล (Ethanol) และเมทานอล (Methanol) ของ Merck (Germany) เครื่องสเปกโตรโฟโตมิเตอร์ ของ Libra S22 Biochrom เครื่องวัดความเป็นกรด-ด่าง (pH meter) ของ Consort C3010

### 2. การออกแบบการทดลอง

ออกแบบการทดลองแบบ  $3 \times 4 \times 5$  factorial in CRD โดยมีปัจจัยที่ศึกษา 3 ปัจจัย คือ ปัจจัยที่ 1 รูปแบบการชงชา 3 รูปแบบ ได้แก่ การชงชาโดยใช้ชาของแฉ่ในถ้วยชา การชงชาโดยนำใบชาลงในกา และการชงโดยใช้ใบชาในถุงกรองชา ปัจจัยที่ 2 อุณหภูมิน้ำที่ใช้ชง 4 ระดับ ได้แก่ 70, 80, 90 และ 100 องศาเซลเซียส และ ปัจจัยที่ 3 เวลาที่ใช้ชง 5 ช่วง ได้แก่ 1, 3, 5, 10 และ 15 นาที รวม 60 ทริทเมนต์ แต่ละทริทเมนต์ ทำซ้ำ 3 ซ้ำ เก็บตัวอย่างน้ำชาไปวิเคราะห์ปริมาณสารประกอบฟีนอลิกรวม ฟลาโวนอยด์รวม แทนนินรวม ฤทธิ์ต้านอนุมูลดีพีพีเอช และวัด pH ของน้ำชา

### 3. ตัวอย่างชาวางแดง

ตัวอย่างใบวางแดงได้มาจากวิสาหกิจชุมชนในตำบลเกาะเกร็ด อำเภอปากเกร็ด จังหวัดนนทบุรี (Figure 1) ใบอ่อนของวางแดงที่ยอด 1-3 ใบ ล้างด้วยน้ำให้สะอาด จากนั้นนำไปเตรียมเป็นใบชาตามวิธีการของ Srimoon *et al.* (2020) โดยลวกใบวางแดงในน้ำเดือดนาน 5 นาที นำไปผึ่งให้แห้ง จากนั้นนำไปคั่วในกระทะที่อุณหภูมิ 50 องศาเซลเซียส นาน 2 ชั่วโมง นำไปอบอีกครั้งที่อุณหภูมิ 50 องศาเซลเซียส นาน 2 ชั่วโมง ตัวอย่างใบวางแดงได้รับการระบุชนิดพันธุ์ที่แน่นอนด้วยผู้เชี่ยวชาญด้านพืชและพรรณไม้ Voucher specimens คือ R.SRIMOON 1 และเก็บรักษาไว้ที่สาขาวิชาเทคโนโลยีการผลิตพืชและภูมิทัศน์ มหาวิทยาลัยเทคโนโลยีราชมงคลตะวันออก วิทยาเขตจันทบุรี



**Figure 1** *Ventilago denticulata* Willd.: (a) living tree, (b) young leaves, (c) tea samples for potted tea and filtered tea, (d) blended tea samples for bagged tea

## 4. การเตรียมตัวอย่างน้ำชา

### 4.1 การชงชาโดยใช้ชาของ (Bagged tea)

เตรียมชาชนิดซองโดยบดใบชาวางแดงให้ละเอียด ชั่งน้ำหนัก 1.4 กรัม บรรจุลงในซองชาชนิดเยื่อกระดาษขนาด  $4 \times 6$  เซนติเมตร ซีลปากถุงให้สนิท เตรียมถ้วยเซรามิกซึ่งลวกด้วยน้ำร้อนตามอุณหภูมิที่ต้องการ (70, 80, 90 และ 100 องศาเซลเซียส) นำชาซองที่เตรียมไว้วางลงในถ้วย เทน้ำร้อนอุณหภูมิที่กำหนดลงไป 100 มิลลิลิตร (คิดเป็นร้อยละ 1.4 โดยน้ำหนักต่อปริมาตร) (Figure 2a) เก็บตัวอย่างน้ำชาไปวิเคราะห์ปริมาณต่างๆ ที่เวลา 1, 3, 5, 10 และ 15 นาที ตามลำดับ

### 4.2 การชงชาโดยใบชาลงในกา (Potted tea)

นำใบชาปริมาณ 1.4 กรัม ใส่ลงในกาเซรามิกซึ่งลวกด้วยน้ำร้อนตามอุณหภูมิที่ต้องการ (70, 80, 90 และ 100 องศาเซลเซียส) เทน้ำร้อนอุณหภูมิที่กำหนดลงไป 100 มิลลิลิตร (Figure 2b) เก็บตัวอย่างน้ำชาไปวิเคราะห์ปริมาณต่างๆ ที่เวลา 1, 3, 5, 10 และ 15 นาที ตามลำดับ

#### 4.3 การชงโดยใบชาในถุงกรองชา (Filtered tea)

เตรียมถ้วยเซรามิกส์ซึ่งลวกด้วยน้ำร้อนตามอุณหภูมิที่ต้องการ (70, 80, 90 และ 100 องศาเซลเซียส) นำใบชาปริมาณ 1.4 กรัม ใส่ในถุงกรองชาที่ทำจากผ้าขนาดเส้นผ่าศูนย์กลาง 7 เซนติเมตร ความยาวถุง 12 เซนติเมตร เทน้ำร้อนอุณหภูมิที่กำหนดลงไป 100 มิลลิลิตร โดยเทที่ความสูงประมาณ 20 เซนติเมตรจากถุงกรอง ซึ่งเป็นวิธีทำให้ใบชาตื่นตัว จากนั้นแช่ถุงชาไว้ในถ้วย (Figure 2c) เก็บตัวอย่างน้ำชานอกถุงกรองไปวิเคราะห์ปริมาณต่างๆ ที่เวลา 1, 3, 5, 10 และ 15 นาที ตามลำดับ

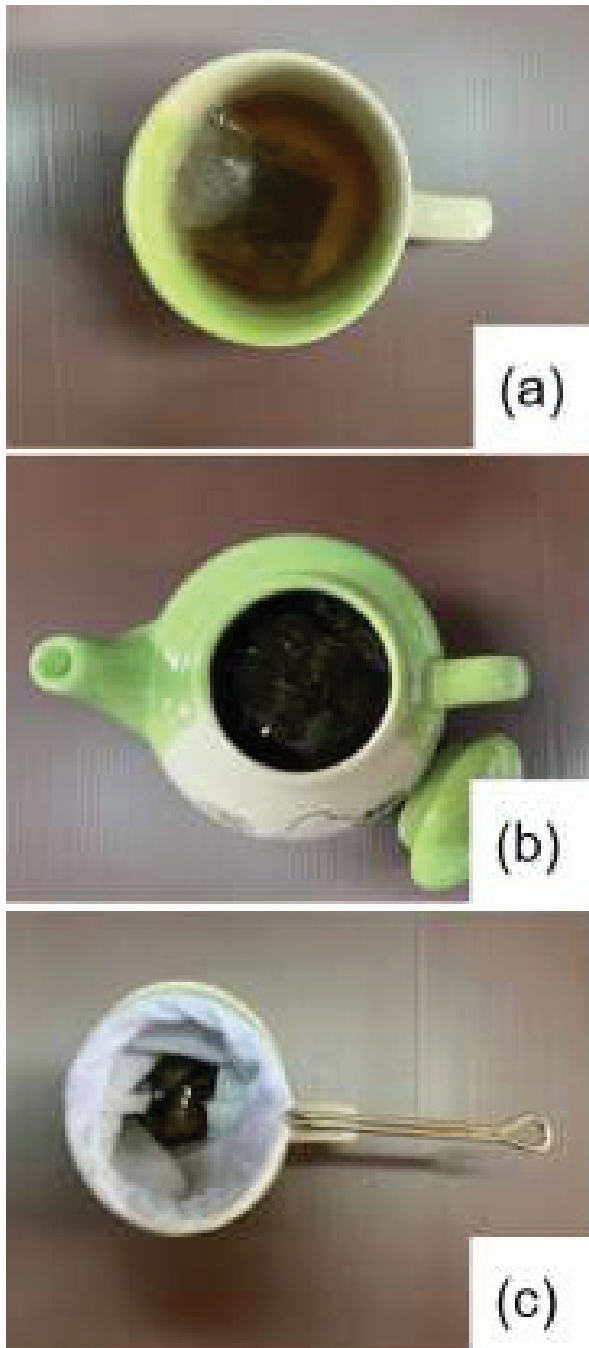


Figure 2 Brewing method: (a) bagged tea, (b) potted tea, (c) filtered tea

#### 5. การวิเคราะห์ปริมาณสารต้านอนุมูลอิสระ

##### 5.1 ปริมาณฟีนอลิกรวม

ปริมาณฟีนอลิกรวมวิเคราะห์ด้วยวิธี Folin-Ciocalteu ดัดแปลงจาก Wong *et al.* (2006) ผสมตัวอย่างน้ำชา 2 มิลลิลิตร กับสารละลาย Folin-Ciocalteu phenol reagent ร้อยละ 10 ปริมาตร 5 มิลลิลิตร ตั้งทิ้งไว้ 3 นาที เติมสารละลาย  $\text{Na}_2\text{CO}_3$  ร้อยละ 7.5 ลงไป 2 มิลลิลิตร ตั้งทิ้งไว้ที่อุณหภูมิห้องนาน 1 ชั่วโมง นำไปวัดค่าการดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 765 นาโนเมตร คำนวณปริมาณฟีนอลิกรวมในรูปมิลลิกรัมกรดแกลลิกต่อกรัม (mg GAE/g)

##### 5.2 ปริมาณฟลาโวนอยด์รวม

ปริมาณฟลาโวนอยด์รวมใช้วิธีการของ Malla *et al.* (2013) ตัวอย่างน้ำชา 0.5 มิลลิลิตร เติมน้ำกลั่น 2 มิลลิลิตร ตามด้วย  $\text{NaNO}_2$  ร้อยละ 5 ปริมาตร 0.15 มิลลิลิตร ตั้งทิ้งไว้ 6 นาที เติมสารละลาย  $\text{AlCl}_3$  ร้อยละ 10 ปริมาตร 0.15 มิลลิลิตร ตั้งทิ้งไว้ 6 นาที เติม  $\text{NaOH}$  ร้อยละ 4 ปริมาตร 2 มิลลิลิตร ปรับปริมาตรด้วยน้ำกลั่นให้เป็น 5 มิลลิลิตร ตั้งทิ้งไว้ 15 นาที จากนั้นนำไปวัดค่าการดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 510 นาโนเมตร คำนวณปริมาณฟลาโวนอยด์รวมในรูปของมิลลิกรัมรูทีนต่อกรัม (mg RE/g)

##### 5.3 ปริมาณแทนนินรวม

ปริมาณแทนนินรวมวิเคราะห์โดยใช้วิธี Folin-Ciocalteu ซึ่งดัดแปลงจาก Shad *et al.* (2012) ผสมตัวอย่างน้ำชา 2 มิลลิลิตร กับสารละลาย Folin-Ciocalteu phenol reagent ร้อยละ 10 ปริมาตร 5 มิลลิลิตร ตั้งทิ้งไว้ 3 นาที เติมสารละลาย  $\text{Na}_2\text{CO}_3$  ร้อยละ 7.5 ปริมาตร 2 มิลลิลิตร ตั้งทิ้งไว้ที่อุณหภูมิห้องนาน 1 ชั่วโมง นำไปวัดค่าการดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 765 นาโนเมตร คำนวณปริมาณแทนนินรวมในรูปมิลลิกรัมกรดแทนนิกต่อกรัม (mg TE/g)

#### 6. การวิเคราะห์ฤทธิ์ต้านอนุมูลดีพีพีเอช

สมบัติในการต้านอนุมูลอิสระในรูปของค่าร้อยละของการกำจัดอนุมูลดีพีพีเอช (%DPPH radical scavenging) ด้วยวิธี DPPH assay ใช้โทรลอกซ์เป็นสารมาตรฐาน ตามวิธีการของ Shimada *et al.* (1992) ผสมสารละลายดีพีพีเอช 0.2 มิลลิโมลาร์ กับตัวอย่างน้ำชา 1 มิลลิลิตร ทิ้งไว้ในที่มืดนาน 30 นาที นำไปวัดค่าการดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 515 นาโนเมตร ทำเช่นเดียวกันซ้ำแต่ใช้สารละลายมาตรฐานโทรลอกซ์เข้มข้น 0.1 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร คำนวณร้อยละของการยับยั้งอนุมูลอิสระดีพีพีเอช (%DPPH radical scavenging) จากสมการที่ (1)

$$\% \text{DPPH radical scavenging} = \frac{(A_{ct} - A_{sp})}{A_{ct}} \times 100 \quad (1)$$

เมื่อ A<sub>ct</sub> และ A<sub>sp</sub> คือ ค่าการดูดกลืนแสงของตัวอย่างควบคุมที่ไม่มีสารสกัด (ใช้น้ำเป็นตัวควบคุม) และค่าการดูดกลืนแสงของตัวอย่างน้ำชา ตามลำดับ

### 7. การวิเคราะห์ข้อมูลทางสถิติ

แต่ละการทดลองทำซ้ำ 3 ซ้ำ รายงานผลในรูปของค่าเฉลี่ย (mean±SD.) วิเคราะห์ความแปรปรวน (Analysis of Variance, ANOVA) ของผลการทดลอง และเปรียบเทียบความแตกต่างของค่าเฉลี่ยแต่ละที่ที่เม้นต์ด้วยวิธี Duncan's Multiple Range Test ที่ระดับความเชื่อมั่นร้อยละ 95 (p<0.05)

### ผลการทดลองและอภิปรายผล

ผลของอุณหภูมิและเวลาที่ใช้ชง รวมทั้งรูปแบบการชงชาที่มีผลต่อปริมาณสารประกอบฟีนอลิก แทนนิน ฟลาโวนอยด์ และฤทธิ์ต้านอนุมูลดีพีพีเอช แสดงใน Table 1

### ผลของอุณหภูมิและเวลาที่ในการชงชา

จากผลการทดลองพบว่า เมื่อเพิ่มอุณหภูมิน้ำที่ใช้ชง ปริมาณสารประกอบฟีนอลิกรวม แทนนินรวม ฟลาโวนอยด์รวม และฤทธิ์ต้านอนุมูลดีพีพีเอช มีค่าเพิ่มขึ้นอย่างมีนัยสำคัญ (p<0.05) ปริมาณสารต่างๆ และฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระมีค่ามากที่สุดเมื่อชงด้วยน้ำอุณหภูมิ 100 องศาเซลเซียส (p<0.05) จาก Figure 3 ปริมาณสารประกอบฟีนอลิก แทนนิน และฤทธิ์ต้านอนุมูลดีพีพีเอชเพิ่มขึ้นอย่างเห็นได้ชัดเมื่อเพิ่มอุณหภูมิจาก 80 เป็น 90 องศาเซลเซียส ในชาที่ชงโดยใช้ชงชาและชงในกา (เพิ่มขึ้นเฉลี่ยร้อยละ 65.9, 67.2 และ 47.5 ตามลำดับ) ในขณะที่ปริมาณฟลาโวนอยด์เพิ่มขึ้นอย่างเห็นได้ชัดเมื่อเพิ่มอุณหภูมิจาก 70 เป็น 80 องศาเซลเซียส (เพิ่มขึ้นเฉลี่ยร้อยละ 126.2) สำหรับชาที่ชงด้วยตุกรองอุณหภูมิน้ำมีผลน้อยกว่าการชงด้วยวิธีอื่น ปริมาณสารต่างๆ ในชาชงด้วยตุกรองเพิ่มขึ้นอย่างชัดเจนเมื่ออุณหภูมิเพิ่มจาก 70 เป็น 80 องศาเซลเซียส (เพิ่มขึ้นเฉลี่ยร้อยละ 59.4, 62.5, 123.8 และ 47.4 สำหรับสารประกอบฟีนอลิก แทนนิน ฟลาโวนอยด์ และฤทธิ์ต้านอนุมูลดีพีพีเอช ตามลำดับ)

**Table 1** Total phenolics, total tannins, total flavonoids and %DPPH radical scavenging activity of *Ventilago denticulata* Willd. herbal tea in different infusion method, time and temperature (n=3)

Infusion method	Compounds	Temperature (°C)	Brewing time (min)				
			1	3	5	10	15
Bagged tea	Total phenolics (mg GAE/g)	70	1.26±0.04 <sup>a,1</sup>	3.12±0.04 <sup>a,2</sup>	5.75±0.07 <sup>a,3</sup>	8.24±0.03 <sup>a,4</sup>	9.37±0.01 <sup>a,5</sup>
		80	1.91±0.02 <sup>b,1</sup>	3.60±0.01 <sup>b,2</sup>	5.89±0.04 <sup>a,3</sup>	9.02±0.03 <sup>b,4</sup>	9.77±0.04 <sup>b,4</sup>
		90	2.84±0.02 <sup>c,1</sup>	7.57±0.03 <sup>c,2</sup>	6.10±0.04 <sup>b,3</sup>	14.47±0.38 <sup>c,4</sup>	15.62±0.22 <sup>c,5</sup>
		100	4.94±0.06 <sup>d,1</sup>	8.35±0.03 <sup>d,2</sup>	14.21±0.11 <sup>c,3</sup>	17.56±0.45 <sup>d,4</sup>	18.45±0.21 <sup>d,5</sup>
	Total tannins (mg TE/g)	70	1.28±0.04 <sup>a,1</sup>	3.16±0.04 <sup>a,2</sup>	6.65±0.09 <sup>a,3</sup>	8.61±0.01 <sup>a,4</sup>	9.48±0.01 <sup>a,5</sup>
		80	1.94±0.03 <sup>b,1</sup>	3.10±0.04 <sup>a,2</sup>	6.61±0.11 <sup>a,3</sup>	9.13±0.03 <sup>b,4</sup>	9.89±0.04 <sup>b,4</sup>
		90	2.87±0.02 <sup>c,1</sup>	6.46±0.27 <sup>b,2</sup>	9.97±0.05 <sup>b,3</sup>	14.90±0.07 <sup>c,4</sup>	15.82±0.22 <sup>c,5</sup>
		100	4.97±0.01 <sup>d,1</sup>	8.46±0.03 <sup>c,2</sup>	14.39±0.11 <sup>c,3</sup>	18.16±0.29 <sup>d,4</sup>	18.96±0.12 <sup>d,4</sup>
	Total flavonoids (mg RE/g)	70	0.68±0.20 <sup>a,1</sup>	1.42±0.05 <sup>a,2</sup>	1.86±0.03 <sup>a,2</sup>	5.97±0.41 <sup>a,3</sup>	11.18±0.09 <sup>a,4</sup>
		80	2.05±0.15 <sup>b,1</sup>	4.36±0.39 <sup>b,2</sup>	4.97±0.25 <sup>b,2</sup>	7.61±0.27 <sup>b,3</sup>	17.95±0.54 <sup>b,4</sup>
90		1.82±0.26 <sup>b,1</sup>	4.17±.22 <sup>b,2</sup>	10.27±0.32 <sup>c,3</sup>	13.58±0.24 <sup>c,4</sup>	14.74±0.35 <sup>c,5</sup>	
100		4.21±0.08 <sup>c,1</sup>	8.11±0.40 <sup>c,2</sup>	6.03±0.10 <sup>d,3</sup>	13.45±0.38 <sup>c,4</sup>	19.28±0.14 <sup>d,5</sup>	
% DPPH radical scavenging activity	70	11.05±2.56 <sup>a,1</sup>	12.11±0.83 <sup>a,1</sup>	18.22±0.41 <sup>a,2</sup>	38.19±0.68 <sup>a,3</sup>	39.08±1.05 <sup>a,3</sup>	
	80	14.81±0.26 <sup>b,1</sup>	12.99±0.83 <sup>a,2</sup>	26.55±0.33 <sup>b,3</sup>	40.26±2.06 <sup>b,4</sup>	45.31±0.86 <sup>b,5</sup>	
	90	24.18±0.23 <sup>c,1</sup>	22.56±0.73 <sup>b,2</sup>	34.63±0.30 <sup>c,3</sup>	46.83±1.83 <sup>c,4</sup>	60.41±1.07 <sup>c,5</sup>	
	100	34.04±0.20 <sup>d,1</sup>	32.63±0.64 <sup>c,2</sup>	43.13±0.26 <sup>d,3</sup>	53.74±1.59 <sup>d,4</sup>	67.62±0.31 <sup>d,5</sup>	

**Table 1** Total phenolics, total tannins, total flavonoids and %DPPH radical scavenging activity of *Ventilago denticulata* Willd. herbal tea in different infusion method, time and temperature (n=3) (cont.)

Infusion method	Compounds	Temperature (°C)	Brewing time (min)				
			1	3	5	10	15
Potted tea	Total phenolics (mg GAE/g)	70	1.32±0.06 <sup>a,1</sup>	2.81±0.08 <sup>a,2</sup>	4.92±0.01 <sup>a,3</sup>	6.49±0.14 <sup>a,4</sup>	7.64±0.08 <sup>a,5</sup>
		80	3.38±0.08 <sup>b,1</sup>	4.12±0.03 <sup>b,1</sup>	6.55±0.17 <sup>b,2</sup>	7.09±0.04 <sup>b,2</sup>	9.00±0.18 <sup>b,3</sup>
		90	6.53±0.03 <sup>c,1</sup>	9.93±0.04 <sup>c,2</sup>	10.20±0.07 <sup>c,2</sup>	11.22±0.02 <sup>c,3</sup>	11.62±0.20 <sup>c,3</sup>
		100	7.69±0.15 <sup>d,1</sup>	11.92±0.06 <sup>d,2</sup>	12.85±0.04 <sup>d,3</sup>	13.84±0.33 <sup>d,4</sup>	15.01±0.02 <sup>d,5</sup>
	Total tannins (mg TE/g)	70	1.42±0.04 <sup>a,1</sup>	2.40±0.03 <sup>a,2</sup>	5.59±0.01 <sup>a,3</sup>	7.06±0.15 <sup>a,4</sup>	8.31±0.09 <sup>a,5</sup>
		80	3.68±0.08 <sup>b,1</sup>	3.96±0.08 <sup>b,1</sup>	7.21±0.02 <sup>b,2</sup>	8.41±0.21 <sup>b,3</sup>	9.79±0.20 <sup>b,4</sup>
		90	7.10±0.03 <sup>c,1</sup>	8.20±0.21 <sup>c,2</sup>	11.10±0.08 <sup>c,3</sup>	12.43±0.23 <sup>c,4</sup>	13.69±0.39 <sup>c,5</sup>
		100	6.18±0.27 <sup>d,1</sup>	11.55±0.09 <sup>d,2</sup>	14.07±0.19 <sup>d,3</sup>	15.27±0.04 <sup>d,4</sup>	16.32±0.24 <sup>d,5</sup>
	Total flavonoids (mg RE/g)	70	0.46±0.11 <sup>a,1</sup>	1.13±0.02 <sup>a,2</sup>	1.63±0.12 <sup>a,2</sup>	4.93±0.02 <sup>a,3</sup>	10.00±0.42 <sup>a,4</sup>
		80	1.37±0.19 <sup>b,1</sup>	3.39±0.36 <sup>b,2</sup>	4.07±0.04 <sup>b,2</sup>	6.30±0.31 <sup>b,3</sup>	12.18±0.56 <sup>b,4</sup>
		90	1.43±0.17 <sup>b,1</sup>	3.07±0.12 <sup>b,2</sup>	6.70±0.02 <sup>c,3</sup>	10.68±0.59 <sup>c,4</sup>	12.51±0.10 <sup>b,5</sup>
		100	2.98±0.02 <sup>c,1</sup>	4.96±0.02 <sup>c,2</sup>	5.10±0.08 <sup>d,2</sup>	9.97±0.15 <sup>c,3</sup>	13.55±0.26 <sup>c,4</sup>
% DPPH radical scavenging activity	70	9.89±0.83 <sup>a,1</sup>	9.48±0.86 <sup>a,1</sup>	17.00±0.19 <sup>a,2</sup>	31.83±0.69 <sup>a,3</sup>	37.22±1.11 <sup>a,4</sup>	
	80	14.52±0.89 <sup>b,1</sup>	15.38±0.88 <sup>b,1</sup>	31.30±1.13 <sup>b,2</sup>	33.36±0.37 <sup>a,3</sup>	43.89±2.20 <sup>b,4</sup>	
	90	23.07±0.80 <sup>c,1</sup>	26.15±2.95 <sup>c,2</sup>	41.60±1.96 <sup>c,3</sup>	52.15±4.23 <sup>b,4</sup>	61.39±1.92 <sup>c,5</sup>	
	100	24.16±1.21 <sup>c,1</sup>	25.91±0.23 <sup>c,1</sup>	47.76±0.35 <sup>d,2</sup>	58.31±0.16 <sup>c,3</sup>	64.90±0.77 <sup>d,4</sup>	
Filtered tea	Total phenolics (mg GAE/g)	70	0.85±0.03 <sup>a,1</sup>	1.02±0.02 <sup>a,1</sup>	3.45±0.01 <sup>a,2</sup>	4.25±0.05 <sup>a,3</sup>	4.42±0.02 <sup>a,3</sup>
		80	0.92±0.03 <sup>a,1</sup>	1.03±0.02 <sup>a,1</sup>	3.86±0.03 <sup>b,2</sup>	4.65±0.05 <sup>b,3</sup>	5.01±0.02 <sup>b,3</sup>
		90	1.11±0.07 <sup>a,1</sup>	1.47±0.02 <sup>b,1</sup>	4.84±0.05 <sup>c,2</sup>	5.05±0.03 <sup>c,2</sup>	6.09±0.13 <sup>c,3</sup>
		100	1.24±0.03 <sup>a,1</sup>	3.86±0.07 <sup>c,2</sup>	5.11±0.01 <sup>c,3</sup>	8.59±0.29 <sup>d,4</sup>	8.99±0.38 <sup>d,4</sup>
	Total tannins (mg TE/g)	70	0.86±0.03 <sup>a,1</sup>	1.03±0.02 <sup>a,1</sup>	3.50±0.02 <sup>a,2</sup>	4.30±0.05 <sup>a,3</sup>	4.48±0.02 <sup>a,3</sup>
		80	0.93±0.03 <sup>a,1</sup>	1.04±0.02 <sup>a,1</sup>	3.91±0.03 <sup>b,2</sup>	4.71±0.05 <sup>b,3</sup>	5.07±0.02 <sup>b,3</sup>
		90	1.13±0.07 <sup>a,1</sup>	1.49±0.02 <sup>a,1</sup>	4.94±0.04 <sup>c,2</sup>	5.34±0.09 <sup>c,2</sup>	6.68±0.16 <sup>c,3</sup>
		100	1.85±0.08 <sup>b,1</sup>	3.61±0.10 <sup>b,2</sup>	5.18±0.01 <sup>c,3</sup>	8.59±0.40 <sup>d,4</sup>	9.33±0.02 <sup>d,5</sup>
	Total flavonoids (mg RE/g)	70	0.29±0.02 <sup>a,1</sup>	0.88±0.07 <sup>a,2</sup>	1.34±0.20 <sup>a,2</sup>	3.81±0.21 <sup>a,3</sup>	7.62±0.45 <sup>a,4</sup>
		80	0.92±0.07 <sup>b,1</sup>	2.75±0.21 <sup>b,2</sup>	3.24±0.25 <sup>b,2</sup>	5.11±0.36 <sup>b,3</sup>	9.26±0.49 <sup>b,4</sup>
		90	1.29±0.10 <sup>b,1</sup>	2.54±0.20 <sup>b,2</sup>	5.31±0.41 <sup>c,3</sup>	9.37±0.23 <sup>c,4</sup>	10.43±0.26 <sup>c,5</sup>
		100	2.48±0.19 <sup>c,1</sup>	4.09±0.32 <sup>c,2</sup>	4.22±0.33 <sup>d,2</sup>	8.54±0.48 <sup>d,3</sup>	11.77±0.31 <sup>d,4</sup>
% DPPH radical scavenging activity	70	6.37±2.69 <sup>a,1</sup>	10.38±1.87 <sup>a,2</sup>	13.92±0.43 <sup>a,3</sup>	35.17±0.23 <sup>a,4</sup>	36.10±0.44 <sup>a,4</sup>	
	80	12.22±0.44 <sup>b,1</sup>	16.69±0.77 <sup>b,2</sup>	20.84±1.09 <sup>b,3</sup>	41.33±0.21 <sup>b,4</sup>	42.17±0.39 <sup>b,4</sup>	
	90	21.08±0.39 <sup>c,1</sup>	22.28±0.25 <sup>c,1</sup>	28.83±0.98 <sup>c,2</sup>	37.51±0.36 <sup>c,3</sup>	47.55±0.36 <sup>c,3</sup>	
	100	21.87±0.39 <sup>c,1</sup>	23.06±0.25 <sup>c,1</sup>	33.84±0.52 <sup>d,2</sup>	42.51±0.33 <sup>b,3</sup>	51.64±1.12 <sup>d,4</sup>	

Different letters indicate statistically significant differences ( $p < 0.05$ ) within the same column and the compound

Different superscript numbers indicate statistically significant differences ( $p < 0.05$ ) within the same line

% DPPH radical scavenging activity of standard Trolox =  $76.81 \pm 0.84\%$



เมื่อเพิ่มเวลาที่ใช้ชงชา ปริมาณสารประกอบฟีนอลิกรวม แทนนินรวม ฟลาโวนอยด์รวม และฤทธิ์ต้านอนุมูลดีพีพีเอชมีแนวโน้มสูงขึ้น โดยในช่วง 5 นาทีแรก ปริมาณสารต่างๆ ส่วนใหญ่มีค่าไม่แตกต่างกัน ( $p>0.05$ ) แต่เมื่อใช้เวลาชงชานาน 10 นาที มีค่าเพิ่มขึ้นอย่างมีนัยสำคัญ ( $p<0.05$ ) (เฉลี่ยเพิ่มขึ้นร้อยละ 87.3) แต่ไม่แตกต่างจากการชงชานาน 15 นาที ( $p>0.05$ ) (เพิ่มขึ้นเฉลี่ยร้อยละ 13.6) เมื่อพิจารณาการชงชาโดยใช้น้ำร้อนอุณหภูมิ 100 องศาเซลเซียส ซึ่งเป็นอุณหภูมิที่ชงชาได้ปริมาณสารต่างๆ ออกมามากที่สุด (Figure 4) จะเห็นว่า ปริมาณฟีนอลิก แทนนิน ฟลาโวนอยด์ และฤทธิ์ต้านอนุมูลดีพีพีเอช ในน้ำชาที่ชงจากทั้งสามวิธี เพิ่มขึ้นอย่างชัดเจนเมื่อชงชานาน 5 นาที ขึ้นไป ปริมาณฟีนอลิกและแทนนินมีแนวโน้มคงที่เมื่อเวลาผ่านไป 10 นาที ส่วน ฟลาโวนอยด์และฤทธิ์ต้านอนุมูลดีพีพีเอชมีแนวโน้มเพิ่มขึ้นจนสิ้นสุดการทดลอง อย่างไรก็ตาม ร้อยละของการต้านอนุมูลดีพีพีเอชในน้ำชาทุกช่วงเวลาและทุกอุณหภูมิ ก็ยังต่ำกว่าสารมาตรฐาน Trolox (ความสามารถในการต้านอนุมูลดีพีพีเอชเท่ากับร้อยละ  $76.81\pm 0.84$ ) แต่ชาที่ชงนานเกินไปแม้จะมีสารต่างๆ ถูกสกัดออกมามากกว่า แต่รสชาติของชาจะขมฝาดกว่าด้วย นอกจากนี้ จากการวิเคราะห์อิทธิพลร่วมระหว่างปัจจัยด้านอุณหภูมิและเวลาที่ใช้ในการชงชา มีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญ ( $p<0.05$ ) หมายความว่า อุณหภูมิที่ต่างกันและเวลาที่ใช้ในการชงชามีผลต่อปริมาณสารต้านอนุมูลดีพีพีเอชที่ได้ในน้ำชาารางแดง ผลการทดลองนี้สอดคล้องกับงานวิจัยของ Liu *et al.* (2018) ที่ศึกษาผลของอุณหภูมิและเวลาในการชงชาเขียว พบว่า ปริมาณสารประกอบฟีนอลิก ฟลาโวนอยด์ วิตามินซี น้ำตาล ทีเอ็นเอ็น เคอร์ซีทีน รูทีน คาเฟอีน และคาเทชิน รวมทั้งฤทธิ์ต้านอนุมูลดีพีพีเอชที่วัดด้วยวิธี ORAC เพิ่มขึ้นเมื่อเพิ่มอุณหภูมิและเวลาในการชงชา โดยมีค่าสูงสุดที่เวลา 5.1 นาที งานวิจัยของ Pérez-Burillo *et al.* (2018) ยังพบว่า ปริมาณคาเฟอีนและคาเทชิน และฤทธิ์ต้านอนุมูลดีพีพีเอชเอทีบีเอส (ATBS) ในชาขาว มีค่าเพิ่มขึ้นเมื่อเพิ่มอุณหภูมิน้ำ และมีปริมาณสูงสุดเมื่อชงด้วยน้ำอุณหภูมิ 98 องศาเซลเซียส นาน 7-15 นาที

ทั้งนี้จากการศึกษาปริมาณฟีนอลิกรวม แทนนินรวม ฟลาโวนอยด์รวม และฤทธิ์ต้านอนุมูลดีพีพีเอชในใบชาารางแดงของผู้วิจัยเองซึ่งรายงานไว้ใน Srimoon *et al.* (2020) พบว่า ใบชาารางแดงซึ่งสกัดด้วยวิธีดั้งเดิม (Maceration) โดยใช้เอทานอลร้อยละ 70 ในอัตราส่วนตัวอย่างใบชาต่อตัวทำละลายเท่ากับ 1:5 สกัดข้ามคืนซ้ำ 2 ครั้ง พบว่า ใบชาารางแดงมีปริมาณฟีนอลิกรวม ฟลาโวนอยด์รวม แทนนินรวม เท่ากับ 88.10-94.25 มิลลิกรัมกรดแกลลิกต่อกรัม, 89.34-91.66 มิลลิกรัมกรดแทนนิกต่อกรัม และ 62.57-63.09 มิลลิกรัมรูทีนต่อกรัม ตามลำดับ และฤทธิ์ต้านอนุมูลดีพีพีเอชในรูปค่า

IC<sub>50</sub> เท่ากับ 100.38-101.83 มิลลิกรัมโพลีฟีนอลต่อกรัม ใบชาารางแดงมีปริมาณสารต่างๆ และฤทธิ์ต้านอนุมูลดีพีพีเอชสูงกว่าผลที่ได้จากการวิจัยครั้งนี้ ทั้งนี้ ก็เนื่องจากความแตกต่างของตัวทำละลายและเวลาที่ใช้สกัด เมื่อนำใบชาารางแดงแล้วบริโภคน้ำชา ใช้เป็นน้ำดื่มและใช้เวลากัดสั้นกว่า ย่อมได้ปริมาณสารต่างๆ ออกมาจากใบชาน้อยกว่านั่นเอง

### ผลของรูปแบบการชงชา

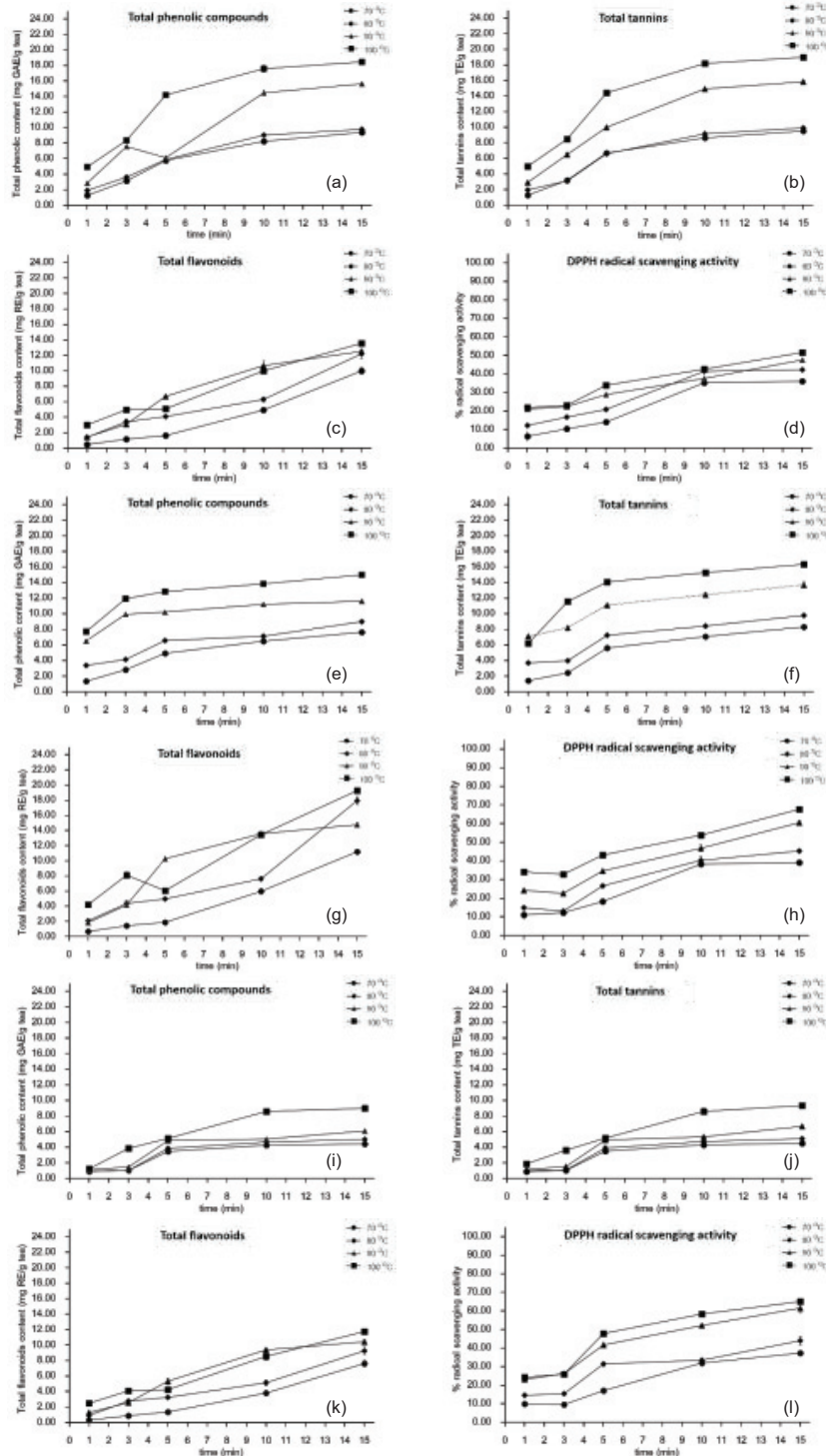
จากการทดลองพบว่า ชาารางแดงที่ชงแบบชาชงมีปริมาณสารประกอบฟีนอลิก แทนนิน ฟลาโวนอยด์ และฤทธิ์ต้านอนุมูลดีพีพีเอช สูงกว่าชาที่ชงในกา และชาที่ชงโดยใช้ถุงกรองชา ตามลำดับ ในช่วง 5 นาทีแรกของการชงชา ปริมาณสารประกอบฟีนอลิกและแทนนินในชาชงมีค่าต่ำกว่าในชาที่ชงในกา ร้อยละ 28.6 และ 25.0 ตามลำดับ แต่หลังจาก 5 นาทีไปแล้ว ปริมาณฟีนอลิกและแทนนินในชาชงสูงกว่าการชงในกาประมาณร้อยละ 21.6 และ 11.57 และมากกว่าชงด้วยถุงกรองถึงร้อยละ 143.4 และ 136.1 ตามลำดับ ในขณะที่ปริมาณฟลาโวนอยด์และฤทธิ์ต้านอนุมูลดีพีพีเอชในชาชงสูงกว่าชงในกาและชาจากถุงกรอง ร้อยละ 32.6 และ 66.4 สำหรับปริมาณฟลาโวนอยด์ และร้อยละ 14.5 และ 25.8 สำหรับฤทธิ์ต้านอนุมูลดีพีพีเอช ตามลำดับ สาเหตุที่ทำให้ปริมาณสารต่างๆ และฤทธิ์ต้านอนุมูลดีพีพีเอชในชาที่ชงแบบชงมีค่าสูงกว่าการชงชาในกาและการชงชาในถุงกรองชาเนื่องจากผลของขนาดใบชา ชาารางแดงที่บรรจุในชงมีการบิดใบชาารางแดงให้มีขนาดเล็กเพื่อให้สามารถบรรจุในชงได้ ในขณะที่ชาที่ชงในกาและในถุงกรองชาใช้ใบชาทั้งใบ เมื่อนำไปชงด้วยน้ำร้อนที่อุณหภูมิต่างๆ ใบชาที่มีขนาดเล็กกว่าจะถูกสกัดสารต่างๆ ออกมาได้มากกว่า ซึ่งเป็นผลมาจากการเพิ่มพื้นที่ผิวของใบชาทำให้สัมผัสกับตัวทำละลาย คือ น้ำร้อน ได้ดีกว่า ผลการศึกษาในครั้งนี้สอดคล้องกับงานวิจัยของ Castiglioni *et al.* (2015) ที่ศึกษาผลของขนาดใบชา (*Camellia sinensis*) ที่มีต่อปริมาณสารต้านอนุมูลดีพีพีเอช ซึ่งผู้วิจัยได้พบว่า เมื่อบดใบชาให้มีขนาดเล็กลง ปริมาณสารประกอบฟีนอลิกรวม ฟลาโวนอยด์รวม และฤทธิ์ต้านอนุมูลดีพีพีเอชเอทีบีเอส มีค่าเพิ่มขึ้น 2-4 เท่า เมื่อเทียบกับใบชาทั้งใบที่ไม่ได้นำไปบด และยังให้สี กลิ่น และรสขมฝาดมากกว่าอีกด้วย และยังสอดคล้องกับ Pérez-Burillo *et al.* (2018) ที่พบว่าฤทธิ์ต้านอนุมูลดีพีพีเอชเอทีบีเอสในชาขาวชนิดชงมีค่าสูงกว่าชาแบบใบประมาณสองเท่า Yu *et al.* (2021) ก็รายงานเช่นเดียวกันว่า ปริมาณฟีนอลิก ฟลาโวนอยด์ คาเฟอีน คาเทชิน และฟลาโวนอล มีค่าเพิ่มขึ้นเมื่อขนาดอนุภาคชาเล็กลง

นอกจากนี้ ปริมาณสารต่างๆ และฤทธิ์ต้านอนุมูลดีพีพีเอชในน้ำชาที่ชงจากกาน้ำชาที่มีค่าสูงกว่าน้ำชาที่ชงโดยใช้ถุงกรอง ทั้งที่ใช้ใบชาขนาดใหญ่เช่นเดียวกัน อาจเป็นผล



มาจากการที่กาน้ำชาสามารถเก็บความร้อนได้ดีกว่าตุกรองที่วางไว้ในถ้วยชาและน้ำในกาน้ำชายังสามารถสัมผัสใบชาได้โดยไม่มีความชื้น นอกจากนี้ การเก็บตัวอย่างน้ำชาจากตุกรองจะเก็บน้ำชาที่อยู่นอกตุกรอง จึงเป็นไปได้ว่าน้ำซึ่งเป็นตัวทำละลายไม่ได้สัมผัสกับใบชาภายในตุกรองอย่างทั่วถึง และน้ำร้อนที่ใช้ซึ่งเมื่อผ่านการชงที่ต้องเทจากที่สูงและผ่านตุกรองทำให้น้ำมีอุณหภูมิลดลง ทำให้ปริมาณสารต่างๆ และฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระในน้ำชาที่ได้จากการชงด้วยตุกรองชา

มีค่าน้อยที่สุด น้ำชาที่ได้จากการชงโดยใช้กาน้ำชาและตุกรองชา ซึ่งมีขนาดใบชาใหญ่กว่าชาที่ชงที่บรรจุในของชานี้ หากต้องการให้ได้รับปริมาณฟีนอลิก แทนนิน ฟลาโวนอยด์ รวมถึงฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระ ใกล้เคียงกับน้ำชาที่ชงโดยใช้ชาบรรจุซอง จะต้องชงด้วยน้ำร้อน 100 องศาเซลเซียสไม่ต่ำกว่า 15 นาที จึงจะได้ปริมาณสารต่างๆ สูงขึ้น แม้ว่าจะยังต่ำกว่าปริมาณที่ได้จากน้ำชาที่ชงจากชาบรรจุซองก็ตาม ซึ่งการชงชาโดยใช้เวลานานขนาดนั้นจะทำให้ชามีรสขมและฝาดเกินไปได้



**Figure 3** Total phenolics, total tannins, total flavonoids and %DPPH radical scavenging activity in tea in different brewing time and temperature; (a)-(d)=bagged tea, (e)-(h)=potted tea, (i)-(l)=filtered tea

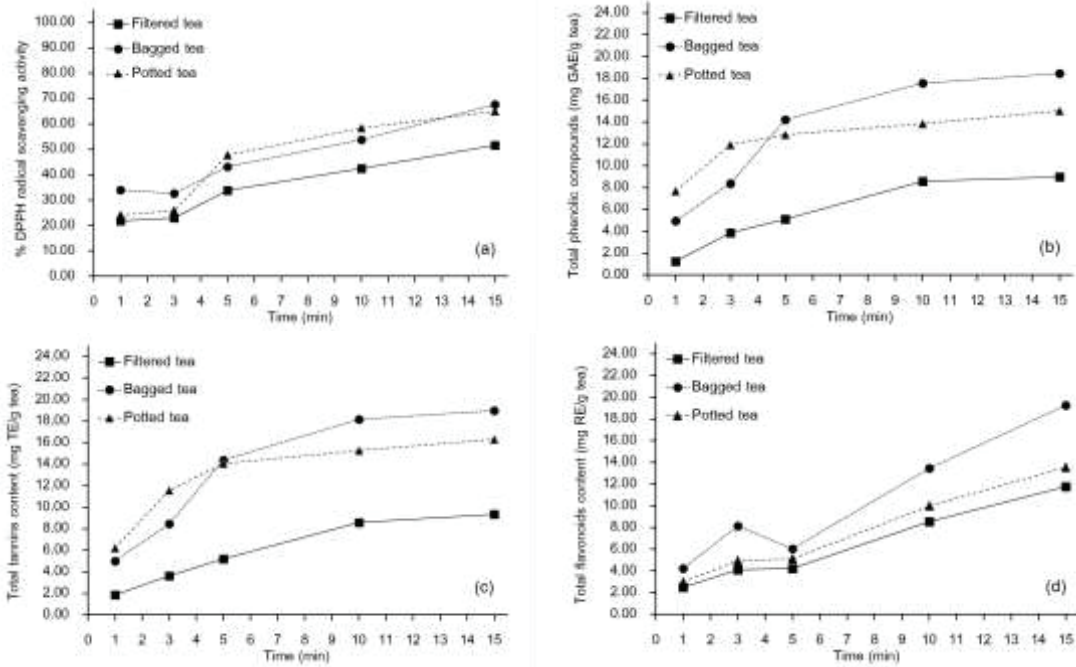


Figure 4 (a) % DPPH radical scavenging activity, (b) total phenolics, (c) total tannins, and (d) total flavonoids, in tea at 100°C with different brewing time

**ความสัมพันธ์ของอุณหภูมิและเวลาที่ใช้ในการชงชา กับ ปริมาณสารต้านอนุมูลอิสระ**

การวิเคราะห์ความสัมพันธ์ระหว่างอุณหภูมิและเวลาที่ใช้ในการชงชา กับ ปริมาณสารประกอบฟีนอลิก แทนนิน ฟลาโวนอยด์ และฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระ ใช้สัมประสิทธิ์สหสัมพันธ์ของ Pearson (Pearson correlation coefficient) ผลเป็นดัง Table 2 ถ้า  $1.0 \geq r > 0.8$  แสดงว่ามีความสัมพันธ์กันสูงมาก ถ้า  $0.8 \geq r > 0.6$  แสดงว่ามีความสัมพันธ์กันปานกลาง ถ้า  $0.6 \geq r > 0.4$  แสดงว่ามีความสัมพันธ์กันเล็กน้อย และถ้า  $0.4 \geq r > 0.0$  แสดงว่าไม่มีความสัมพันธ์กัน

จากการวิเคราะห์ค่า r แสดงให้เห็นว่า ปริมาณสารประกอบฟีนอลิก แทนนิน ฟลาโวนอยด์ และฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระในน้ำชาที่ชงจากทั้ง 3 วิธี มีความสัมพันธ์กับเวลาที่ชงสูงมาก ( $r > 0.8$ ) นั่นคือ เมื่อเพิ่มเวลาในการชง ปริมาณสารต่างๆ มีค่าเพิ่มขึ้น ในขณะที่สารประกอบฟีนอลิก แทนนิน และฟลาโวนอยด์ในชาที่ชงทั้ง 3 วิธี มีความสัมพันธ์กับอุณหภูมิที่ชงสูงมากเช่นกัน ( $r > 0.8$ ) แต่ฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระในชาชงแบบซองมีความสัมพันธ์กับอุณหภูมิปานกลาง ( $0.8 \geq r > 0.6$ ) ส่วนชาที่ชงในกาและชาที่ใช้ถุงกรองชา มีความสัมพันธ์กับอุณหภูมิเพียงเล็กน้อยเล็กน้อย ( $0.6 \geq r > 0.4$ )

**Table 2** Pearson correlation coefficient of *Ventilago denticulata* Willd. herbal tea with difference infusion method, brewing time and temperature

Infusion method	Total phenolics	Total tannins	Total flavonoids	%DPPH radical scavenging
Relationship among brewing time				
Bagged tea	0.8881	0.8744	0.9127	0.9110
Potted tea	0.8041	0.8442	0.9599	0.9126
filtered tea	0.8086	0.8290	0.9629	0.9450
Relationship among brewing temperature				
Bagged tea	0.9350	0.8856	0.8327	0.6375
Potted tea	0.9296	0.9018	0.9126	0.5584
filtered tea	0.9323	0.8937	0.8727	0.5979

### อุณหภูมิและเวลาที่ใช้ในการชงต่อ pH ของน้ำชา

จาก Table 3 พบว่า เมื่อเพิ่มอุณหภูมิและเวลาในการชง ค่า pH ของน้ำชาที่มีแนวโน้มลดลง โดยมีค่าอยู่ในช่วง 5.74-6.23 โดยน้ำที่นำมาชงชาที่มีค่า pH ตั้งต้นเฉลี่ย  $6.81 \pm 0.02$  เมื่อเพิ่มอุณหภูมิ pH ของน้ำชาที่ได้ลดลงอย่างมีนัยสำคัญ ( $p < 0.05$ ) และที่อุณหภูมิ 100 องศาเซลเซียส ค่า pH มีค่าต่ำที่สุด สอดคล้องกับ Akyuz & Yarat (2010) ซึ่งพบว่า ชาสมุนไพรหลายชนิด เช่น ชาสะระแหน่ ชาเปปเปอร์มินต์ ชาเฟนเนลหรือผักชีล้อม และชาคาร์โมไมล์ มีค่า pH ตั้งต้นเฉลี่ย 7.17 เมื่อชงผ่านไปนาน 5 และ 10 นาที ค่า pH ลดลงเหลือ 6.68 และ 6.67 ตามลำดับ แต่ Labbé *et al.* (2006) พบว่า ค่า pH ของน้ำชาเขียวลดลงจาก 5.69 ที่อุณหภูมิ 50 องศาเซลเซียส เป็น 5.41 ที่ 80 องศาเซลเซียส ( $p < 0.001$ ) แต่ค่า pH ไม่แตกต่างกันแม้จะเพิ่มเวลาที่ชง ( $p > 0.334$ ) การที่ค่า pH ของน้ำชาลดลงเนื่องจาก ที่อุณหภูมิสูง สารประกอบฟลาโวนอยด์ที่พบมากในชาและชาสมุนไพร เช่น คาเทชิน

สลายตัวได้ง่าย ในโมเลกุลของสารประกอบฟลาโวนอยด์มีหมู่ไฮดรอกซิล (-OH) หลายตำแหน่ง เมื่อสลายตัวจะทำให้ pH ของน้ำชาลดลง (Friedman & Jürgens, 2000)

จากการทดลองยังพบว่า ชาชงจากชงชาที่มีค่า pH ลดลงมากที่สุด ( $p < 0.05$ ) ส่วนชาที่ชงจากถุงกรองชาที่มีค่า pH ลดลงน้อยที่สุด ค่า pH ที่ลดลงนี้มีความสอดคล้องกับปริมาณสารประกอบฟีนอลิก แทนนิน และฟลาโวนอยด์ในน้ำชาที่ชงแตกต่างกันทั้ง 3 แบบ คือ ปริมาณสารต้านอนุมูลอิสระกลุ่มต่างๆ ในน้ำชาที่ชงจากชงมีค่าสูงสุด รองลงมาคือ ชาที่ชงในกา และชาที่ชงจากถุงกรองชา ตามลำดับ สารต้านอนุมูลอิสระหลายกลุ่มที่พบมากในใบชาแดงมีสมบัติเป็นกรด เช่น กรดโปรโทคาเทอซิก กรดวานิลลิก กรดไซแนปิก กรดเพอรูลิก กรดแกลลิก (De Lourdes Reis Giada, 2013) เมื่อสารเหล่านี้ถูกสกัดออกมาได้มากขึ้น จึงไปเพิ่มเป็นความกรดของน้ำชา ทำให้ค่า pH ของน้ำชาลดลง

**Table 3** pH value of *Ventilago denticulata* Willd. herbal tea with different infusion method, brewing time and temperature

Temperature (°C)	Infusion method		
	Bagged tea	Potted tea	Filtered tea
70	6.02±0.01 <sup>a,1</sup>	6.07±0.01 <sup>a,2</sup>	6.23±0.01 <sup>a,3</sup>
80	5.76±0.02 <sup>b,1</sup>	5.95±0.02 <sup>a,2</sup>	6.18±0.01 <sup>b,3</sup>
90	5.53±0.06 <sup>c,1</sup>	5.78±0.17 <sup>b,2</sup>	6.13±0.01 <sup>c,3</sup>
100	5.74±0.01 <sup>b,1</sup>	5.79±0.02 <sup>b,2</sup>	6.11±0.01 <sup>d,3</sup>

Different letters indicate statistically significant differences ( $p < 0.05$ ) within the same column

Different superscript numbers indicate statistically significant differences ( $p < 0.05$ ) within the same line

### สรุปผลและข้อเสนอแนะ

ปริมาณสารประกอบฟีนอลิก แทนนิน ฟลาโวนอยด์ และฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระในชาสมุนไพรใบชาแดงขึ้นกับอุณหภูมิ น้ำ เวลาที่ใช้ชง และรูปแบบของการชง ปริมาณสารต่างๆ จะมากขึ้นเมื่อเพิ่มอุณหภูมิน้ำจนถึง 100 องศาเซลเซียส และมีแนวโน้มเพิ่มขึ้นถ้าเพิ่มอุณหภูมิน้ำให้สูงขึ้นอีก และใช้เวลาชงนาน 10 นาที ภายหลังจาก 10 นาทีไปแล้วพบว่าปริมาณสารต่างๆ เพิ่มขึ้นเพียงเล็กน้อย นอกจากนี้ ชาชงจากชงชาให้ปริมาณสารต่างๆ มากกว่าการชงชาในกาและชาที่ชงด้วยถุงกรองชาที่ใช้ใบชาแช่ทั้งใบ เนื่องจากใบชาที่บรรจุในชงชาต้องมีการบดให้มีขนาดเล็กลงเสียก่อนทำให้สารต่างๆ ถูกสกัดออกมาได้ดีขึ้น อย่างไรก็ตาม การชงชาไม่จำเป็นต้องใช้น้ำเดือดอุณหภูมิ 100 องศาเซลเซียสเสมอไป เนื่องจากที่อุณหภูมิสูงมากและชงนาน ชาจะยังมี

รสขมฝาด โดยทั่วไปนิยมใช้น้ำที่อุณหภูมิประมาณ 80 องศาเซลเซียส และชงนาน 3-5 นาที แม้ว่าที่สภาวะนี้ปริมาณสารต่างๆ และฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระจะต่ำกว่าสภาวะที่ได้จากการศึกษาในครั้งนี้ประมาณ 2-3 เท่า (เทียบที่สภาวะการชงชาแบบชง โดยใช้น้ำร้อนอุณหภูมิ 100 องศาเซลเซียส ชงนาน 10 นาที กับน้ำร้อนอุณหภูมิ 80 องศาเซลเซียส ชงนาน 5 นาที) ซึ่งในงานวิจัยนี้ เป็นการหาสภาวะที่เหมาะสมในการชงชาสมุนไพรใบชาแดงให้ได้ปริมาณสารประกอบฟีนอลิก แทนนิน ฟลาโวนอยด์ และฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระมากที่สุด มิได้มุ่งเน้นการยอมรับของผู้บริโภคในแง่ของสี กลิ่น และรสชาติที่มีต่อชาที่ชงในสภาวะดังกล่าว ดังนั้น จึงเป็นงานวิจัยที่น่าสนใจต่อไป เพื่อให้การบริโภคชาสมุนไพรใบชาแดงได้ทั้งประโยชน์ต่อสุขภาพ และมีรสชาติดี เพิ่มสุนทรียภาพในการดื่มชาของผู้บริโภคไปด้วยพร้อมๆ กัน

## กิตติกรรมประกาศ

งานวิจัยนี้ได้รับการสนับสนุนจากมหาวิทยาลัยเทคโนโลยีราชมงคลตะวันออก ผู้วิจัยขอขอบคุณสาขาวิชาวิทยาศาสตร์ประยุกต์และเทคโนโลยีชีวภาพ สำหรับสถานที่ทำการวิจัย

## เอกสารอ้างอิง

ปิยาภักทร ไตรสนธิ. (2560). ชา: เครื่องดื่มเพื่อสุขภาพและสุนทรีย์ภาพ. *อาหาร*, 47(4), 12-18.

รวินิภา ศรีมูล, พิริยาภรณ์ อ้นอาดมิ่งงาม, และวิทยา คณาวงษ์. (2561). ประสิทธิภาพการยับยั้งเอนไซม์แอลฟา กลูโคซิเดสและแอลฟาอะไมเลสของสารสกัดจากใบชาขลุ้ในหลอดทดลอง. *วารสารวิจัยมหาวิทยาลัยเทคโนโลยีราชมงคลตะวันออก*, 11(1), 1-8.

อนงค์ ศรีโสภา และกาญจนา วงศ์กระจ่าง. (2562). การพัฒนาสูตรชาสมุนไพรใบหอมผสมสมุนไพรให้กลิ่นหอมที่มีฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระและฤทธิ์ต้านเอนไซม์กลูโคซิเดส. *Thai Journal of Science and Technology*, 9(2), 218-229.

Akyuz, S., & Yarat, A. (2010). The pH and neutralisable acidity of the most-consumed Turkish fruit and herbal teas. *Journal of Oral Health and Dental Management*, 10(2), 75-78.

Cabrera, C., Giménez, R., & López, M. C. (2003). Determination of tea components with antioxidant activity. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 51, 4427-4435.

Castiglioni, S., Damiani, E., Astolfi, P., & Carloni, P. (2015). Influence of steeping conditions (time, temperature, and particle size) on antioxidant properties and sensory attributes of some white and green teas. *International Journal of Food Sciences and Nutrition*, 66, 491-497.

De Lourdes Reis Giada, M. (2013). Chapter 4: Food phenolic compounds: main classes, sources and their antioxidant power. In Morales-González, J. A. (Ed.), *Oxidative stress and chronic degenerative disease-A role for antioxidants* (pp. 87-111). InTech Open.

Faculty of Pharmacy Mahidol University. (1996). *Lanna Traditional Herbs*. Amarin Printing and Publishing.

Friedman, M., & Jürgens, H. S. (2000). Effect of pH on the stability of plant phenolic compounds. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 48, 2101-2110.

Kumamoto, M., Sonda, T., Nagayama, K., & Tabata, M. (2001). Effects of pH and metal ions on antioxidative activities of catechins. *Bioscience, Biotechnology, and Biochemistry*, 65(1), 126-132.

Labbé, D., Tremblay, A., & Bazinet, L. (2006). Effect of brewing temperature and duration on green tea catechin solubilization: basis for production of EGC and EGCG-enriched fractions. *Separation and Purification Technology*, 49, 1-9.

Liu, Y., Luo, L., Lia, C., Chen, L., Wang, J., & Zeng, L. (2018). Effects of brewing conditions on the phytochemical composition, sensory qualities and antioxidant activity of green tea infusion: a study using response surface methodology. *Food Chemistry*, 269, 24-34.

Malla, M. Y., Sharma, M., Saxena, R. C., Mir, M. I., Mir, A. H., & Bhat, S. H. (2013). Phyto chemical screening and spectroscopic determination of total phenolic and flavonoid contents of *Eclipta Alba* Linn. *Journal of Natural Product and Plant Resources*, 3(2), 86-91.

McKay, D. L., & Blumberg, J. B. (2006). A review of the bioactivity and potential health benefits of chamomile tea (*Matricaria recutita* L.). *Phytotherapy Research*, 20, 519-530.

Navarra, M., Mannucci, C., Delbò, M., & Calapai, G. (2015). *Citrus bergamia* essential oil: from basic research to clinical application. *Frontiers in Pharmacology*, 6, 36-36.

Pérez-Burillo, S., Giménez, R., Rufián-Henares, J. A., & Pastoriza, S. (2018). Effect of brewing time and temperature on antioxidant capacity and phenols of white tea: relationship with sensory properties. *Food Chemistry*, 248, 111-118.

Shad, M. A., Nawaz, H., Rehman, T., Ahmad, H. B., & Hassain, M. (2012). Optimization of extraction efficiency of tannins from *Cichorium intybus* L: application of response surface methodology. *Journal of Medicinal Plants Research*, 28, 4467-4474.

- Shimada, K., Fujikawa, K., Yahara, K., & Nakamura, T. (1992). Antioxidative properties of xanthans on the autoxidation of soybean oil in cyclodextrin emulsion. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 40(6), 945-948.
- Srimoon, R., Anartgnam, P., & Tilarux, P. (2020). *In vitro* inhibitory efficiency of *Ventilago denticulata* Willd. dried leaves extract on alpha-glucosidase, alpha-amylase and lipase and antioxidant activities. *Science & Technology Asia*, 25(4), 135-149.
- Veljković, J. N., Pavlović, A. N., Mitić, S. S., Tošić, S. B., Stojanović, G. S., Kaličanin, B. M., Stanković, D. M., Stojković, M. B., Mitić, M. N., & Brčanović, J. M. (2013). Evaluation of individual phenolic compounds and antioxidant properties of black, green, herbal and fruit tea infusions consumed in Serbia: spectrophotometrical and electrochemical approaches. *Journal of Food and Nutrition Research*, 52(1), 12-24.
- Vuong, Q.V. (2014). Epidemiological evidence linking tea consumption to human health: a review. *Critical Reviews in Food Science and Nutrition*, 54, 523-536.
- Wang, H., Provan, G. J., & Helliwell, K. (2000). Tea flavonoids: their functions, utilization and analysis. *Trends in Food Science & Technology*, 11, 152-160.
- Wong, S. P., Leong, L. P., & Koh, J. H. W. (2006). Antioxidant activities of aqueous extracts of selected plants. *Food Chemistry*, 99, 775-783.
- Yu, J., Liu, Y., Zhang, S., Luo, L., & Zeng, L. (2021). Effect of brewing conditions on phytochemicals and sensory profiles of black tea infusions: a primary study on the effects of geraniol and  $\beta$ -ionone on taste perception of black tea infusions. *Food Chemistry*, 354, 129504.



# แคโรไทป์ และอิดิโอแกรมมาตรฐานของปลาชิวหนวดยาว (*Esomus metallicus*) ด้วยการย้อมสีแบบธรรมดา และแถบสีแบบนอร์

## Standardized karyotype and idiogram of striped flying barb (*Esomus metallicus*) by conventional staining and Ag-NOR banding techniques

กษมา ด่านวันดี<sup>1</sup>, กฤติมา กษมาวุฒิ<sup>1\*</sup>, สำเนาวิ เสาวกุล<sup>1</sup> และ สุพัชชา ชูเสียงแจ้ว<sup>2</sup>

Kasama Danwandee<sup>1</sup>, Krittima Kasamawut<sup>1\*</sup>, Samnao Saowakoon<sup>1</sup> and Supatcha Chooasangjaew<sup>2</sup>

Received: 18 October 2022 ; Revised: 23 November 2022 ; Accepted: 14 December 2022

### บทคัดย่อ

การศึกษาแคโรไทป์และอิดิโอแกรมมาตรฐานของปลาชิวหนวดยาว (*Esomus metallicus*) รวบรวมปลาชิวหนวดยาวจากอ่างเก็บน้ำห้วยเสนง จังหวัดสุรินทร์ คัดแยกเพศปลาและคัดเลือกปลาเพศผู้และเพศเมียอย่างละ 10 ตัว ศึกษาโดยเตรียมโครโมโซมจากไตด้วยเทคนิคการบดขยี้ (Squash Technique) ย้อมสีโครโมโซมด้วยเทคนิคการย้อมสีแบบธรรมดา (Conventional Staining Technique) และการย้อมแถบสีแบบนอร์ (Ag-NOR Banding Technique) ผลการศึกษาพบว่าปลาชิวหนวดยาวมีจำนวนโครโมโซมดิพลอยด์ ( $2n$ ) เท่ากับ 50 แท่ง และมีจำนวนโครโมโซมพื้นฐาน (NF) เท่ากับ 78 ทั้งในเพศผู้และเพศเมีย ซึ่งประกอบด้วยโครโมโซมชนิดเมทาเซนทริกขนาดใหญ่ 2 แท่ง โครโมโซมชนิดอะโครเซนทริกขนาดใหญ่ 4 แท่ง โครโมโซมชนิดซันเมทาเซนทริกขนาดกลาง 12 แท่ง โครโมโซมชนิดอะโครเซนทริกขนาดกลาง 10 แท่ง และโครโมโซมชนิดเทโลเซนทริกขนาดกลาง 22 แท่ง พบตำแหน่งนอร์ (NORs) อยู่บริเวณแขนข้างสั้นของโครโมโซมคู่ที่ 8 อีกทั้งไม่พบความแตกต่างของโครโมโซมเพศระหว่างปลาเพศผู้และเพศเมีย ปลาชิวหนวดยาวมีสูตรแคโรไทป์ ดังนี้  $2n (50) = L_2^m + L_4^a + M_{12}^{sm} + M_{10}^a + M_{22}^t$

คำสำคัญ: ปลาชิวหนวดยาว แคโรไทป์ โครโมโซม อิดิโอแกรม

### Abstract

Karyotype and standard ideograms of Striped flying barb (*Esomus metallicus*) which were collected from Huai Seng Reservoir, Surin Province were studied. 10 males and 10 females were selected for investigation. Chromosomes were prepared from kidney by squash technique and were stained by conventional staining and Ag-NOR banding techniques. The results showed that the diploid number of Striped flying barb was  $2n= 50$  and the fundamental number (NF) was 78 in both male and female. The karyotype consisted of 2 large submetacentric, 4 large acrocentric, 12 medium submetacentric, 10 medium acrocentric and 22 medium telocentric chromosomes. The NORs bearing chromosomes were detected on the short arm of the large acrocentric chromosome pairs 8<sup>th</sup>. In addition, there was no difference in the sex chromosomes between male and female. The karyotype formula of Striped flying barb is as follows:  $2n (50) = L_2^m + L_4^a + M_{12}^{sm} + M_{10}^a + M_{22}^t$

**Keywords:** *Esomus metallicus*, Karyotype, Chromosome, Idiogram

<sup>1</sup> คณะเกษตรศาสตร์และเทคโนโลยี มหาวิทยาลัยเทคโนโลยีราชมงคลอีสาน วิทยาเขตสุรินทร์ ต.นอกเมือง อ.เมือง จังหวัดสุรินทร์ 32000

<sup>2</sup> คณะวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยีการประมง มหาวิทยาลัยเทคโนโลยีราชมงคลศรีวิชัย วิทยาเขตตรัง ตำบลไม้ฝาด อำเภอสิเกา จังหวัดตรัง 92150

<sup>1</sup> Faculty of Agriculture and Technology, Rajamangala University of Technology Isan Surin Campus, Nok Mueang Subdistrict, mueang District, Surin Province 32000

<sup>2</sup> Faculty of Science and Fishery Technology, Rajamangala University of Technology Srivijaya, Trang Campus, Mai Fat Subdistrict, Sikao District, Trang Province 92150

\* Corresponding Author E-mail Address: krittima.sa@rmuti.ac.th

## บทนำ

ปลาชิวหนวดยาว (Striped Flying Barb) ชื่อวิทยาศาสตร์คือ *Esomus metallicus* เป็นปลาในวงศ์ย่อย Esominae ที่อยู่ภายในวงศ์ Danionidae ปลาชิวหนวดยาวเป็นปลาน้ำจืดขนาดเล็กที่พบชุกชุมและรู้จักกันทั่วไป สามารถพบได้ตามแหล่งน้ำธรรมชาติเกือบทุกภาคของประเทศไทย ชอบว่ายน้ำรวมกันเป็นฝูง และหลบซ่อนตามพรรณไม้ น้ำ ลักษณะเด่นของปลาชิวหนวดยาว คือ มีหนวด 2 คู่ โดยหนวดคู่ล่างจะยาวกว่าหนวดคู่บน ปลาเพศผู้หนวดจะยาวไปจนถึงฐานของครีบกัน ส่วนหนวดของปลาเพศเมียความยาวจะไม่เกินฐานครีบท้อง ปลาชิวหนวดยาวมีครีบอกที่มีขนาดใหญ่และแข็งแรงใช้สำหรับทรงตัวและกระโดดขึ้นเหนือผิวน้ำ มีลายพาดกลางลำตัวตั้งแต่หลังตาจนถึงโคนหางอย่างเห็นได้ชัด (Smith, 1945) ปลาชิวหนวดยาวส่วนใหญ่จัดเป็นปลาขนาดเล็กที่เป็นผลพลอยได้จากการทำการประมง ถึงแม้ว่าจะเป็นปลาที่มีขนาดเล็กแต่ก็เป็นแหล่งอาหารโปรตีนที่สำคัญของชาวไทยในชนบท รวมถึงเป็นปลาที่สามารถบริโภคได้ทั้งตัวซึ่งจะได้รับแคลเซียมที่สูง นอกจากนี้ยังมีความสำคัญต่อระบบนิเวศวิทยาของแหล่งน้ำ โดยเป็นผู้บริโภคอันดับต้น และเป็นอาหารสำหรับสัตว์ชนิดอื่นๆ อีกด้วย

เนื่องจากปลาชิวมีหลายชนิด บางชนิดมีลักษณะภายนอกที่มีความคล้ายคลึงกันมาก แต่มีลักษณะทางเซลล์อนุกรมวิธานที่แตกต่างกัน การใช้ลักษณะทางสัณฐานเพียงอย่างเดียวอาจทำให้เป็นอุปสรรคในการจัดจำแนกชนิด การนำวิธีการทางเซลล์อนุกรมวิธานโดยใช้ความรู้เกี่ยวกับพันธุศาสตร์ระดับเซลล์ ซึ่งเป็นหน่วยโครงสร้างที่สำคัญในการถ่ายทอดพันธุกรรมของเซลล์ จึงเป็นวิธีการที่สามารถนำมาประยุกต์ใช้ในการจัดจำแนกชนิดของสิ่งมีชีวิตได้อย่างแม่นยำ (Esmaeili *et al.*, 2008) การศึกษาลักษณะของโครโมโซมของปลาชิวหนวดยาว และการตรวจสอบเครื่องหมายโครโมโซมด้วยการย้อมสีแบบธรรมดาและการย้อมแถบสีแบบนอร์ เพื่อตำแหน่งยีนที่สร้างไรโบโซมอลอาร์เอ็นเอ (rRNA) ซึ่งเป็นประโยชน์ในการศึกษาด้านอนุกรมวิธานของปลาชิวหนวดยาว และเป็นข้อมูลที่สามารรถประยุกต์ใช้ในการศึกษาด้านอื่นๆ เช่น การปรับปรุงพันธุ์ การจำแนกชนิด และการบริหารจัดการและอนุรักษ์ความหลากหลายทางพันธุกรรม เพื่อก่อให้เกิดความมั่นคงของฐานความหลากหลายทางชีวภาพ

## การทดลอง

การดำเนินการวิจัยแบ่งออกเป็น 4 ขั้นตอน คือ การเก็บตัวอย่างปลาชิวหนวดยาว การเตรียมโครโมโซมและย้อมสีโครโมโซม การตรวจสอบโครโมโซม และการจัดทำ อิติโอแกรมมาตรฐาน และการสร้างสูตร โดยมีขั้นตอนดำเนินการวิจัย ดังนี้

## การเก็บตัวอย่าง

รวบรวมปลาชิวหนวดยาวจากอ่างเก็บน้ำห้วยเสนง จังหวัดสุรินทร์ ในช่วงระหว่างเดือน มีนาคม - เดือนเมษายน 2565 และนำมาเลี้ยง ในโรงเพาะฟักเพื่อลดความเครียดและปรับสภาพปลา จากนั้นสุ่มเก็บตัวอย่างปลาชิวหนวดยาวเพศผู้และเพศเมียอย่างละ 10 ตัว มาทำการศึกษา

## การเตรียมโครโมโซม

นำปลาชิวหนวดยาวเพศผู้และเพศเมียจำนวนเพศละ 10 ตัว มาวัดความยาวและทำการชั่งน้ำหนัก แล้วจดบันทึก จากนั้นฉีดสารละลายโคชิซินความเข้มข้นร้อยละ 0.05 เข้าบริเวณช่องท้องของปลา โดยปริมาณของโคชิซินที่ใช้ฉีดคำนวณจากอัตราส่วนของน้ำหนักตัว ในปริมาณ 100 กรัม น้ำหนักตัว ต่อ 1 มิลลิลิตร จากนั้นทิ้งไว้ 1 ชั่วโมง แล้วนำปลามาทำการการุณยฆาตด้วยความเย็น จากนั้นทำการผ่าตัดบริเวณช่องท้อง ตัดเอาตัวอย่างไตที่อยู่บริเวณกระดูกสันหลังด้านท้ายและบริเวณหัวไตที่อยู่ใกล้หัวใจ แล้วนำมาแช่สารละลายโพแทสเซียมคลอไรด์ (Potassium Chloride, KCl) ความเข้มข้น 0.075 โมลาร์ บดตัวอย่างไตให้ละเอียดแล้วย้ายลงในหลอดปั่นเหวี่ยง (Centrifuge Tube) ขนาด 15 มิลลิลิตร ปรับปริมาตรให้ได้ 7 มิลลิลิตร บ่มที่อุณหภูมิห้อง 15 นาที จากนั้นนำมาปั่นเหวี่ยง 1,250 รอบ ต่อนาที (Round Per Minute, RPM) เป็นเวลา 8 นาที รักษาสภาพเซลล์ด้วยน้ำยาคงสภาพ (Canoy's Fixative) ปรับปริมาตร 7 มิลลิลิตร ทำการปั่นเหวี่ยงอีกครั้งที่ความเร็ว 1,250 รอบ ต่อนาที เป็นเวลา 8 นาที ทำซ้ำ 3-4 รอบ จนได้ตะกอนขาวที่ก้นหลอด จากนั้นดูดสารละลายส่วนบนทิ้งไปเกือบหมดเหลือไว้เหนือเซลล์ประมาณ 0.5-1.0 มิลลิลิตร จากนั้นเติมน้ำยาคงสภาพอีกปริมาณ 1-2 มิลลิลิตร (ขึ้นอยู่กับปริมาณตะกอนเซลล์)

วิธีการหยดเซลล์ลงบนสไลด์แบบอุ่น เตรียมสไลด์ที่แห้งและสะอาด วางลงบนเครื่องให้ความร้อน (Hot Plate) ที่อุณหภูมิไม่เกิน 60 องศาเซลเซียส แล้วปูด้วยผ้าที่ชุบน้ำเปียกพอประมาณ ผสมสารละลายและตะกอนให้เข้ากันหยดน้ำยาคงสภาพเซลล์ (Fixative) 1-2 หยด ลงบนแผ่นสไลด์ จากนั้นใช้หลอดหยดหยดเซลล์ลงบนสไลด์และหยดน้ำยาคงสภาพเซลล์ต่ออีก 1-2 หยด รอให้แห้งและนำไปย้อมสีในขั้นตอนต่อไป

## การย้อมสีโครโมโซม

การย้อมสีโครโมโซมแบบธรรมดา ดัดแปลงจาก Rooney (2001) ย้อมสีโครโมโซมด้วยสีจีเมซ่า (Giemsa's Staining) ความเข้มข้นร้อยละ 20 ที่เตรียมจาก Stock Giemsa's Solution ใน Sorensen's Buffer เป็นเวลา 30 นาที แล้วล้างออกด้วยน้ำสะอาด ทิ้งไว้ให้แห้งแล้วนำไปแผ่นสไลด์ตรวจสอบโครโมโซมภายใต้กล้องจุลทรรศน์

การย้อมแถบสีแบบบอร์ ดัดแปลงจากวิธีการ Howell & Black (1980) ดังนี้ อบแผ่นสไลด์ที่อุณหภูมิ 60 องศาเซลเซียส อย่างน้อย 3 วัน จากนั้นหยดซิลเวอร์ในเตรทความเข้มข้น ร้อยละ 50 (50% AgNO<sub>3</sub>) ลงบนสไลด์ 4 หยด และหยดเจลาตินความเข้มข้นร้อยละ 4 (Gelatin) 2 หยด ลงบนสไลด์ ปิดด้วยกระจกปิดสไลด์ แล้วนำไปเข้าตู้อบความร้อนที่อุณหภูมิ 60 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 5 นาที จากนั้นล้าง ซิลเวอร์ในเตรทส่วนเกินออกด้วยน้ำสะอาด ผึ่งสไลด์ให้แห้ง นำไปย้อมด้วยสีจิมซำความเข้มข้นร้อยละ 10 ในฟอสเฟตบัฟเฟอร์ pH 7.2 เป็นเวลา 30 วินาที ล้างสีส่วนเกินออกด้วยน้ำสะอาด ผึ่งให้แห้ง แล้วนำสไลด์ไปตรวจสอบโครโมโซมภายใต้กล้องจุลทรรศน์แบบใช้แสงกำลังขยาย 400 เท่า

### การตรวจสอบโครโมโซม

นำสไลด์ที่ย้อมด้วยสีจิมซำความเข้มข้นร้อยละ 20 มาตรวจสอบภายใต้กล้องจุลทรรศน์แบบใช้แสง ตรวจหาเซลล์ในระยะเมทาเฟสที่มีโครโมโซมไม่ซ้อนทับกันและกระจายดี จากนั้นถ่ายภาพโครโมโซมด้วยกล้องจุลทรรศน์แบบใช้แสงที่ติดตั้งระบบถ่ายภาพแบบดิจิทัลด้วยกำลังขยาย 1,000 เท่า

### การจัดทำแคโรไทป์

คือ การศึกษารายละเอียดของโครโมโซมทั้งหมดของสิ่งมีชีวิตแต่ละชนิดโดยศึกษาทั้งจำนวน ชนิด และขนาดของโครโมโซม การจัดทำจะใช้โครโมโซมในระยะเมทาเฟสจำนวน 20 เซลล์ มาเป็นตัวแทนของสิ่งมีชีวิตชนิดนั้น โดยมีขั้นตอนดังนี้

1) ใช้รูปถ่ายที่ได้มา ใช้ในการจับคู่ของโครโมโซมคู่เหมือน (Homologous Chromosome) จากนั้นวัดค่าความยาวของแขนโครโมโซมข้างยาว และค่าความยาวของแขนโครโมโซมข้างสั้น นำค่าที่วัดได้มาใช้ในการจำแนกชนิด และขนาดของโครโมโซม

### 2) คำนวณหาค่า Relative Length (RL)

$$\frac{\text{ความยาวของโครโมโซมแต่ละแท่ง (LT)}}{\text{ความยาวทั้งหมดของโครโมโซมทุกแท่ง (ΣLT)}}$$

ค่า RL สามารถช่วยในการจับคู่โครโมโซมได้แม่นยำกว่าการใช้ค่าความยาวของโครโมโซม เพราะค่า RL ของโครโมโซมแต่ละแท่งจะมีค่าคงที่ในทุกเซลล์ ส่วนค่าความยาวของโครโมโซมในแต่ละเซลล์จะมีความแตกต่างกัน

### 3) คำนวณหาค่า Centromeric Index (CI)

$$\frac{\text{ความยาวของแขนโครโมโซมข้างยาว (L)}}{\text{ความยาวของโครโมโซมแต่ละแท่ง (LT)}}$$

ค่า CI ที่ได้นำมาใช้จัดชนิดของโครโมโซม ดังนี้

โครโมโซมที่มี CI อยู่ระหว่าง 0.500-0.599 จัดเป็นโครโมโซมชนิดเมทาเซนทริก

โครโมโซมที่มี CI อยู่ระหว่าง 0.600-0.699 จัดเป็นโครโมโซมชนิดซัพเมทาเซนทริก

โครโมโซมที่มี CI อยู่ระหว่าง 0.700-0.899 จัดเป็นโครโมโซมชนิดอะโครเซนทริก

โครโมโซมที่มี CI อยู่ระหว่าง 0.900-1.000 จัดเป็นโครโมโซมชนิดเทโลเซนทริก

4) ขนาดของโครโมโซม แบ่งออกเป็น 3 ขนาด โดยกำหนดให้โครโมโซมคู่ที่ยาวที่สุดเป็นโครโมโซมคู่ที่ 1 และโครโมโซมคู่ที่สั้นที่สุดเป็นโครโมโซมคู่สุดท้าย โดยเกณฑ์ในการจัดจำแนกขนาดของโครโมโซม มีดังนี้

โครโมโซมขนาดใหญ่ (Large = L)

$$L > \frac{LT \text{ เฉลี่ยคู่ที่ } 1 + LT \text{ เฉลี่ยคู่สุดท้าย}}{2}$$

โครโมโซมขนาดกลาง (Medium = M)

$$M \leq \frac{LT \text{ เฉลี่ยคู่ที่ } 1 + LT \text{ เฉลี่ยคู่สุดท้าย}}{2}$$

โครโมโซมขนาดเล็ก (Small = S)

$$S < \frac{LT \text{ เฉลี่ยคู่ที่ } 1}{2}$$

5) จัดเรียง โดยแยกชนิดของโครโมโซม แล้วจัดเรียงตามความยาวของโครโมโซมแต่ละคู่จากมากไปหาน้อย และบอกหมายเลขของโครโมโซมแต่ละคู่ไว้ด้านล่าง วางแท่งโครโมโซมให้แขนข้างสั้นอยู่ด้านบน แขนข้างยาวอยู่ด้านล่าง และวางแท่งโครโมโซมให้ตำแหน่งเซนโทรเมียร์อยู่ในระนาบเดียวกัน (Turpin & Leujin, 1965)

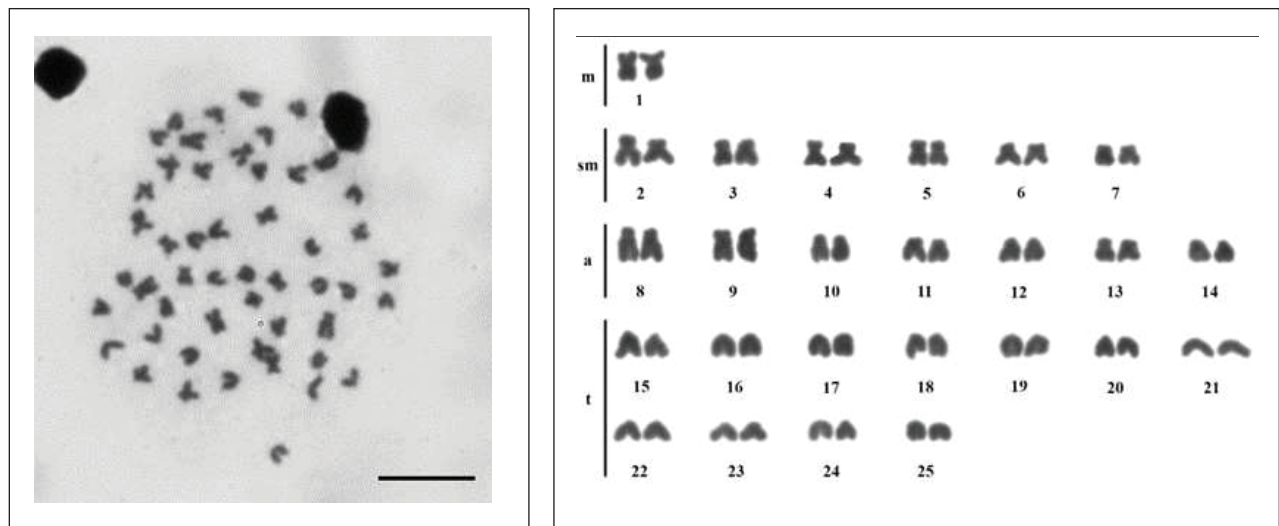
### การจัดทำอิดิโอแกรม

อิดิโอแกรม เป็นไดอะแกรมแสดงของโครโมโซมหนึ่งชุดแฮพลอยด์ ( $n$ ) โดยใช้ค่าเฉลี่ยความยาวของโครโมโซม และตำแหน่งของเซนโทรเมียร์ โดยใช้เซลล์ระยะเมทาเฟสจากการย้อมสีโครโมโซมแบบธรรมดาและการย้อมแถบสีแบบบอร์จำนวน 20 เซลล์ นำมาจัดโดยการแยกชนิด และวัดความยาวของแขนข้างสั้นและแขนข้างยาวของโครโมโซมทุกคู่ จากนั้นนำค่าเฉลี่ยความยาวของโครโมโซมแต่ละคู่มาจัดทำกราฟ โดยกำหนดแกนตั้ง (Y) และแกนนอน (X) เป็นลำดับของโครโมโซมคู่ที่มีขนาดใหญ่ที่สุดไปหาคู่ที่เล็กที่สุด

**ผลการทดลองและอภิปรายผล**

ปลาชิวหนวดยาวในพื้นที่จังหวัดสุรินทร์ มีจำนวนโครโมโซมดิพลอยด์ (2n) เท่ากับ 50 แห่ง ซึ่งสอดคล้องกับการศึกษาปลาชิวชนิดอื่นในวงศ์เดียวกัน โดย ธวัช ดอนสกุล และคณะ (2552) ศึกษาในปลาชิวผอม (*Rasbora agilis*) ปลาชิวหลังจุด (*R. dorsiocellata*) ปลาชิวหลังแดง (*R. rubrodorsalis*) ปลาชิวเพชรน้อย (*Boraras maculate*) และปลาชิวหนู (*B. urophthalmoides*) พบว่า มีจำนวนโครโมโซมดิพลอยด์เท่ากับ 50 แห่ง นูร์ฮีน ยีแสม และคณะ (2562) ศึกษาใน

ปลาชิวทอง (*R. einthovenii*) ธวัช ดอนสกุล (2540) ศึกษาในปลาชิวใบไม้ (*Danio regina*) ธวัช ดอนสกุล และ วิเชียร มากต่น (2545) ศึกษาในปลาชิวหางดอก (*R. caudimaculata*) ปลาชิว (*R. myersi*) ปลาชิวควายแถบดำ (*R. paviei*) และปลาชิวควาย (*R. retrodorsalis*) นอกจากนี้ เกรียงไกร สีตะพันธ์ุ และ ทักขิณา เหมยคำ (2547) ศึกษาในปลาชิวควาย (*R. aurotaenia*) พบว่ามีโครโมโซมดิพลอยด์เท่ากับ 50 แห่งเช่นกัน (Figure 1)



**Figure 1** Metaphase chromosome plate of Striped flying barb (*Esomus metallicus*, 2n = 50) by conventional staining, scale bar indicates 10 µm.

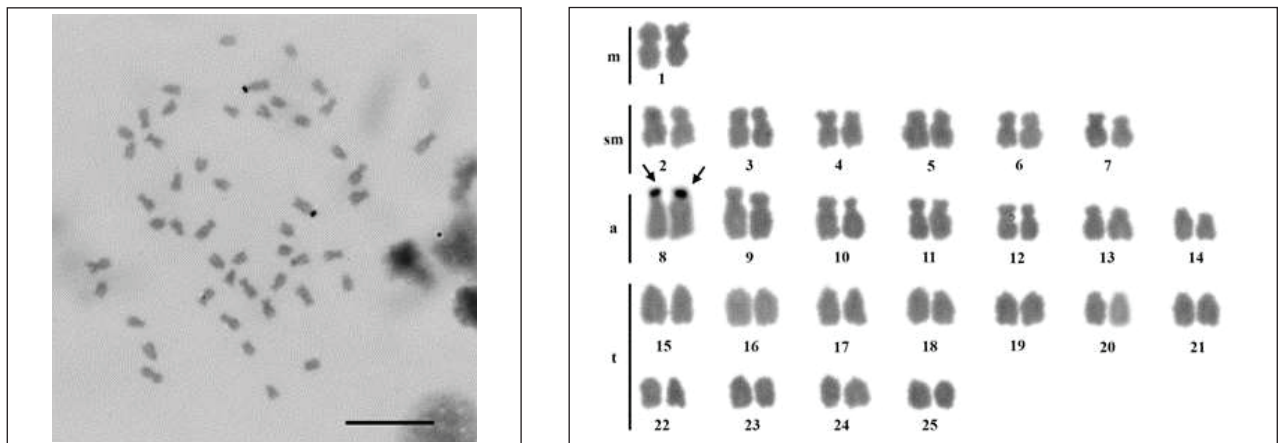
จากการศึกษาในครั้งนี้ ปลาชิวหนวดยาวมีโครโมโซม 2 ขนาด เป็นจัดเป็นโครโมโซมขนาดใหญ่มีความยาวอยู่ระหว่าง 114.18 - 131.54 เซนติเมตร และโครโมโซมขนาดกลางมีความยาวต่ำกว่า 114.18 เซนติเมตร โดยมีค่าเฉลี่ยความยาวของแขนโครโมโซมข้างสั้น ความยาวของแขนโครโมโซมข้างยาว ค่า Relative Length (RL) ค่าCentromeric Index (CI), ขนาด และชนิดของโครโมโซม ของปลาชิวหนวดยาว (Table 1) ประกอบด้วย โครโมโซมชนิดเมทาเซนทริกขนาดใหญ่ 2 แห่ง โครโมโซมชนิดซับเมทาเซนทริกขนาดกลาง 12 แห่ง โครโมโซมชนิดอะโครเซนทริกขนาดใหญ่ 4 แห่ง ขนาดกลาง 10 แห่ง และเป็นโครโมโซมชนิดเทโลเซนทริกขนาดกลาง 22 แห่ง จำนวนโครโมโซมพื้นฐาน เท่ากับ 78 การศึกษาครั้งนี้พบตำแหน่งของนอร์บนแขนข้างสั้นของโครโมโซมคู่ที่ 8 โดยการศึกษาครั้งนี้ ไม่พบความแตกต่างของโครโมโซม

เพศระหว่างปลาชิวหนวดยาวเพศผู้และเพศเมีย (Figure 2) สอดคล้องกับ Neeratanaphan *et al.* (2017) รายงานว่า ปลาชิวหนวดยาวมีโครโมโซมดิพลอยด์ (2n) จำนวน 50 แห่ง ประกอบด้วยโครโมโซมชนิดเมทาเซนทริก 14 แห่ง โครโมโซมชนิดซับเมทาเซนทริก 22 แห่ง และโครโมโซมชนิดอะโครเซนทริก 14 แห่ง นอกจากนี้ Aiumsumang *et al.* (2021) รายงานโครโมโซมของปลาชิวหนวดยาวที่เก็บตัวอย่างจากแม่น้ำยมและแม่น้ำป่าสัก พบว่า มีโครโมโซมเท่ากับ 50 แห่ง โดยประกอบด้วยโครโมโซมชนิดเมทาเซนทริก 8 แห่ง โครโมโซมชนิดซับเมทาเซนทริก 10 แห่ง โครโมโซมชนิดอะโครเซนทริกขนาดกลาง 30 แห่ง และโครโมโซมชนิดเทโลเซนทริกขนาดกลาง 2 แห่ง พบตำแหน่งของนอร์อยู่บริเวณแขนข้างสั้นของโครโมโซมคู่ที่ 7

**Table 1** Mean length of short arm (Ls), length of long arm (LI), length of total length (LT), Relative Length (RL), Centromeric Index (CI), chromosome size and chromosome type of Striped flying barb.

Chromosome Pair	Ls	LI	LT	RL±SD	CI±SD	Size	Type
1	49.72	64.46	114.18	0.0501±0.0006	0.5645±0.0036	Large	metacentric
2	36.67	61.92	98.60	0.0432±0.0005	0.6280±0.0071	Medium	submetacentric
3	35.70	60.61	96.32	0.0422±0.0005	0.6293±0.0074	Medium	submetacentric
4	32.71	53.28	85.99	0.0377±0.0008	0.6196±0.0076	Medium	submetacentric
5	32.65	52.87	85.52	0.0375±0.0007	0.6182±0.0081	Medium	submetacentric
6	30.85	48.89	79.74	0.0350±0.0008	0.6131±0.0091	Medium	submetacentric
7	25.42	44.39	69.81	0.0306±0.0010	0.6358±0.0119	Medium	submetacentric
8*	23.28	108.25	131.54	0.0577±0.0003	0.8230±0.0135	Large	acrocentric
9	24.68	95.05	119.74	0.0525±0.0006	0.7939±0.0144	Large	acrocentric
10	23.95	80.99	104.94	0.0460±0.0007	0.7718±0.0157	Medium	acrocentric
11	21.62	79.71	101.34	0.0444±0.0004	0.7866±0.0160	Medium	acrocentric
12	20.75	64.29	85.04	0.0373±0.0006	0.7560±0.0173	Medium	acrocentric
13	22.67	58.63	81.31	0.0356±0.0007	0.7211±0.0154	Medium	acrocentric
14	17.79	52.21	70.00	0.0307±0.0011	0.7458±0.0224	Medium	acrocentric
15	0.00	102.69	102.69	0.0450±0.0009	1.0000±0.0000	Medium	telocentric
16	0.00	99.88	99.88	0.0438±0.0008	1.0000±0.0000	Medium	telocentric
17	0.00	98.75	98.75	0.0433±0.0008	1.0000±0.0000	Medium	telocentric
18	0.00	91.29	91.29	0.0400±0.0007	1.0000±0.0000	Medium	telocentric
19	0.00	89.06	89.06	0.0390±0.0008	1.0000±0.0000	Medium	telocentric
20	0.00	85.52	85.52	0.0375±0.0007	1.0000±0.0000	Medium	telocentric
21	0.00	82.47	82.47	0.0362±0.0005	1.0000±0.0000	Medium	telocentric
22	0.00	79.27	79.27	0.0348±0.0005	1.0000±0.0000	Medium	telocentric
23	0.00	80.28	80.28	0.0352±0.0004	1.0000±0.0000	Medium	telocentric
24	0.00	75.19	75.19	0.0330±0.0005	1.0000±0.0000	Medium	telocentric
25	0.00	72.48	72.48	0.0318±0.0003	1.0000±0.0000	Medium	telocentric

Note: \* NOR bearing chromosomes



**Figure 2** Metaphase chromosome plate of Striped flying barb (*Esomus metallicus*, 2n = 50) by Ag-NOR banding technique, scale bar indicates 10 μm, arrows indicate nucleolar organizer regions.



ปลาในวงศ์เดียวกันที่มีลักษณะทางสัณฐานวิทยาคล้ายคลึงกัน มีจำนวนโครโมโซมเท่ากัน อาจมีที่แตกต่างกัน ซึ่งของปลาชนิดเดียวที่ได้จากการศึกษาจึงเป็นข้อมูลที่

บ่งบอกถึงความแตกต่างของชนิดของปลาได้เป็นอย่างดี เป็นไปในทิศทางเดียวกันกับการรายงานผลการศึกษาศึกษาของปลาในวงศ์ Danionidae เปรียบเทียบผลการศึกษาศึกษาใน Tabel 2

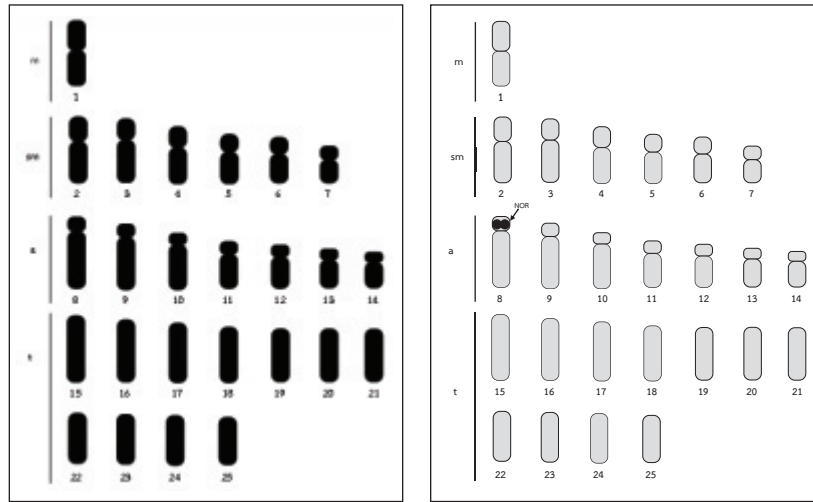


Figure 3 Standard idiograms of Striped flying barb (*Esomus metallicus*,  $2n = 50$ )

conventional staining and Ag-NOR banding techniques, The clearly observable nucleolar organizer regions/NORs, (arrow).

Tabel 2 Comparative karyological studies of family Danionidae

Species	2n	NF	Karyotype formula	NOR	References
<i>Boraras maculate</i>	50	92	12m+30sm+4st+4t		ชวัช ดอนสกุล และคณะ (2552)
<i>B. urophthalmoides</i>	50	94	18m+26sm+2st+4t		ชวัช ดอนสกุล และคณะ (2552)
<i>Esomus metallicus</i>	50	86	14m+22sm+14a		Neeratanaphan <i>et al.</i> (2017)
<i>E. metallicus</i>	50	68	8m+10sm+30a+2t	2	Aiumsumang <i>et al.</i> (2021)
<i>E. metallicus</i>	50	78	2m+12sm+14a+22t	2	การศึกษานี้
<i>Danio regina</i>	50	74	14m+10sm+16st+10a		ชวัช ดอนสกุล (2540)
<i>Devario aequipinnatus</i>	50	96	14m+32sm+4t		Khuda-Bukhsh <i>et al.</i> (1986)
<i>D. aequipinnatus</i>	50	96	8m+28sm+10st+4t		Magtoon & Arai (1994)
<i>D. aequipinnatus</i>	50	96	6m+34sm+6st+4t		Sukham <i>et al.</i> (2013)
<i>D. devario</i>	50	96	12m+24sm+10st+4t		Khuda-Bukhsh <i>et al.</i> (1986)
<i>D. devario</i>	50	100	10m+40st/a		Fontana <i>et al.</i> (1970)
<i>D. laoensis</i>	50	66	6m+10sm+34a	2	Aiumsumang <i>et al.</i> (2021)
<i>D. malabaricus</i>	50	100	10m+40st		Fontana <i>et al.</i> (1970) Hardie & Hebert (2004)
<i>D. regina</i>	50	68	6m+12sm+32a	2	Aiumsumang <i>et al.</i> (2021)
<i>D. yuensis</i>	50	98	10m+26sm+12st+2t		Sukham <i>et al.</i> (2013)
<i>Rasbora agilis</i>	50	100	24m+26sm		ชวัช ดอนสกุล และคณะ (2552)
<i>R. aurotaenia</i>	50	100	14m+26sm+2st+8a		เกรียงไกร สีตะพันธุ์ และ ทักษิณา เหมยคำ (2547)
<i>R. aurotaenia</i>	50	100	14m+26sm+2st+8a		Seetapan & Moeikum (2004)

**Tabel 2** Comparative karyological studies of family Danionidae (cont.)

Species	2n	NF	Karyotype formula	NOR	References
<i>R. borapetensis</i>	50	88	24m+14sm+12t		ธวัช ดอนสกุล และ อนันต์ พุทธิยาสถาพร (2548)
<i>R. buchanani</i>	50	100	30+m+18sm+2st		Manna & Khuda-Bukhsh (1977)
<i>R. daniconius</i>	50	90	32m+8sm+2st+8t		ธวัช ดอนสกุล และ อนันต์ พุทธิยาสถาพร (2548)
<i>R. daniconius</i>	50	80	18m+6sm+6st+20t		Khuda-Bukhsh (1979)
<i>R. dorsiocellata</i>	50	92	18m+24sm+8t		ธวัช ดอนสกุล และคณะ (2552)
<i>R. einthovenii</i>	50	100	16m+18sm+16a		นุรุอิน ยี่แสม และคณะ (2562)
<i>R. myersi</i>	50	100	20m+14sm+6st+10a		ธวัช ดอนสกุล และ วิเชียร มากตุ่น (2545)
<i>R. paviei</i>	50	100	10m+24sm+16st		ธวัช ดอนสกุล และ วิเชียร มากตุ่น (2545)
<i>R. retrodorsalis</i>	50	100	26m+10sm+2st+12a		ธวัช ดอนสกุล และ วิเชียร มากตุ่น (2545)
<i>R. rubrodorsalis</i>	50	82	16m+16sm+18t		ธวัช ดอนสกุล และคณะ (2552)
<i>R. sumatrana</i>	50	92	26m+16sm+2st+6a		ธวัช ดอนสกุล และ วิเชียร มากตุ่น (2538)
<i>R. trillineta</i>	50	92	26m+16sm+2st+6t		ธวัช ดอนสกุล และ อนันต์ พุทธิยาสถาพร (2548)

Abbreviations: diploid chromosome number (2n), fundamental number (NF), metacentric (m), submetacentric (sm), acrocentric (a), subtelo-centric(st), telocentric (t), Nucleolar Organizer Region (NOR).

**สรุปผลการทดลองและข้อเสนอแนะ**

การศึกษา และอิดิโอแกรมมาตรฐานของปลาชิวหนวดยาว (*E. metallicus*) โดยเตรียมโครโมโซมจากไตด้วยวิธีการบดขยี้เซลล์ ย้อมสีโครโมโซมแบบธรรมดาและแถบสีแบบนอร์ พบว่าปลาชิวหนวดยาวมีจำนวนโครโมโซมดิพลอยด์ (2n) เท่ากับ 50 แท่ง มีจำนวนโครโมโซมพื้นฐานเท่ากับ 78 ทั้งในเพศผู้และเพศเมีย โดยของปลาชิวหนวดยาว ประกอบด้วยโครโมโซมชนิดเมทาเซนทริกขนาดใหญ่ 2 แท่ง โครโมโซมชนิดอะโครเซนทริกขนาดใหญ่ 4 แท่ง โครโมโซมชนิดซันเมทาเซนทริกขนาดกลาง 12 แท่ง โครโมโซมชนิดอะโครเซนทริกขนาดกลาง 10 แท่ง และโครโมโซมชนิดเทโลเซนทริกขนาดกลาง 22 แท่ง นอกจากนี้พบว่าตำแหน่งของนอร์อยู่บริเวณแขนข้างสั้นของโครโมโซมคู่ที่ 8 อีกทั้งไม่พบความแตกต่างของโครโมโซมเพศระหว่างปลาเพศผู้และเพศเมีย และปลาชิวหนวดยาวมีสูตรแคริโอไทป์ คือ  $2n (50) = L^m_2 + L^a_4 + M^{sm}_{12} + M^a_{10} + M^t_{22}$

**เอกสารอ้างอิง**

เกรียงไกร สีตะพันธ์ุ และทักษิณา เหมยคำ. (2547). แคริโอไทป์ของปลา 10 ชนิดในวงศ์ Cyprinidae. *วิจัยและส่งเสริมวิชาการเกษตร*, 22 (ฉบับพิเศษ), 92-101.

ธวัช ดอนสกุล, อัจฉริยา รังษิรุจิ และวิเชียร มากตุ่น. (2552). แคริโอไทป์ของปลาชิวหมอม ชิวหลังจุด ชิวหลังแดง ชิวเพชรน้อยและปลาชิวหนูกที่พบในประเทศไทย. *การประชุมทางวิชาการของมหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์ ครั้งที่ 47* (น. 320-327). มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์

ธวัช ดอนสกุล. (2540). การศึกษาโครโมโซมของปลาสร้อยขาว ปลาร่องไม้ดัด ปลาเขยา และปลาชิวใบไม้ที่พบในประเทศไทย. *การประชุมทางวิชาการของมหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์ ครั้งที่ 35* (น. 155-164). มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์

ธวัช ดอนสกุล และวิเชียร มากตุ่น. (2545). แคริโอไทป์ของปลาชิวหางดอก ชิวควายแถบดำ และชิวควายที่พบในประเทศไทย. *การประชุมสัมมนาวิชาการเพื่อเสนอผลงานวิจัย* (น. 1-7). มหาวิทยาลัยศรีนครินทรวิโรฒ.

ธวัช ดอนสกุล และวิเชียร มากตุ่น. (2538). แคริโอไทป์ของปลาพรหม ปลากระมัง ปลาแปบ และปลาชิวควายที่พบในประเทศไทย. *การประชุมทางวิชาการของมหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์ ครั้งที่ 33* (น. 128-138). มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์.

ธวัช ดอนสกุล และอนันต์ พุทธิยาสถาพร. (2548). แคริโอไทป์ของปลาวงศ์ไซไพโรนிடี้ 5 ชนิดที่พบในประเทศไทย. *การประชุมวิชาการพันธุศาสตร์แห่งชาติครั้งที่ 14* (น. 217-222). กรุงเทพฯ.

- นุรอิน ยี่แสม, สิทธิศักดิ์ จันทรัตน์ และพัน ยี่สิน. (2562). พันธุศาสตร์เซลล์ของปลาชิวทอง (*Rasbora einthovenii*) บริเวณป่าพรุสิรินธร จังหวัดนราธิวาส. *วารสารวิจัยเทคโนโลยีการประมง*, 13(2), 58-68.
- Aiumsumang, S., Phimphan, C., Suwannapoom, P., Chaiyasan, W., Supiwong, W., & Tanomtong, A. (2021). A comparative chromosome study on five Minnow fishes (Cyprinidae, Cypriniformes) in Thailand. *Caryologia*, 74(1), 89-96.
- Esmaili, H. R., Ebrahimi, M., & Saifali, M. (2008). Karyological analysis of five tooth-carps (Actinopterygii: Cyprinodontidae) from Iran. *Journal of aquaculture*, 39(2), 95-100.
- Fontana, F., Chiarelli, B., & Rossi, A. C. (1970). Il Cariotipo di alcune specie di cyprinidae, Centrarchidae, characidae studiate mediante colture in vitro. *International journal of cytology, cytosystematics and cytogenetics. Caryologia*, 23(4), 549-564.
- Hardie, D. C., & Hebert, P.D.N. (2004). Genome size evolution in fishes. *Canadian Journal of Fisheries and Aquatic Sciences*, 61(9), 1636-1646.
- Howell, W. M., & Black, D. A. (1980). Controlled silver-staining of nucleolus organizer regions with a protective colloidal developer: a 1-step method. *Experientia*, 36(8), 1014-1015.
- Khuda-Bukhsh, A. R. (1979). Karyology of two species of hillstream fishes, *Barilius bendelisis* and *Rasbora daniconius* (Fam. Cyprinidae). *Current Science*, 48(17), 793-794.
- Khuda-Bukhsh, A. R., Chanda, T., & Barat, A. (1986). Karyomorphology and evolution in some Indian hillstream fishes with particular reference to polyploidy in some species. *Proceedings of the Second International Conference on Indo-Pacific Fishes* (pp. 886-898). Ichthyological Society of Japan.
- Magtoon, W., & Arai, R. (1994). Karyotypes of five *Rasbora* species and one *Danio* species (Cyprinidae) from Thailand. *Proceedings of the fourth Indo-Pacific fish conference* (pp. 484-496).
- Manna, G. K., & Khuda-Bukhsh, A. R. (1977). Karyomorphology of cyprinid fishes and cytological evaluation of the family. *Nucleus*, 20,119-127.
- Neeratanaphan, W., Khamlerd, C., Chowrong, S., Intamat, S., Sriuttha, M., & Tengjaroenkul, B. (2017). Cytotoxic assessment of flying barb fish (*Esomus metallicus*) from a gold mine area with heavy metal contamination. *International Journal of Environmental Studies*, 74(4),613-624.
- Rooney, D. E. (2001). *Human cytogenetics: constitutional analysis: a practical approach*. Oxford University Press.
- Smith, H. M. (1945). *The fresh-water fishes of Siam or Thailand*. Bulletin of the United States National Museum.
- Seetapan, K., & Moeikum, T. (2004). Karyotypes of ten Cyprinid fishes (Family Cyprinidae). *Journal of Agricultural Research and Extension*, 22(Special Issue), 92-101.
- Sukham, S., Chingakham, B., Thoidingjam, L. & Waikhom, G. (2013). Cytogenetic characterization of *Devario aequipinnatus* (McClelland, 1839) and *Devario yuensis* (Arunkumar and Tombi, 1998) (Cypriniformes: Cyprinidae) from Manipur, northeast India. *Journal of Zoology*, 706-712.
- Turpin, R., and Lejeune, J. (1965). *Les chromosomes humains*. Gauthier-Villars, Paris.

# การเฝ้าระวังเชิงรุกของเชื้อ *Cryptococcus neoformans* ในสวนสัตว์นครราชสีมา ประเทศไทย

## Active surveillance of *Cryptococcus neoformans* in Nakhon Ratchasima Zoo, Thailand

สุดาลักษณ์ ฐัญญาหาร<sup>1</sup>, วิรงรอง ช่างเพชร<sup>2</sup>, นิจทร สังข์ศิริ<sup>3\*</sup>, พลวรรต ทองสุข<sup>4</sup>,  
ทศนีย์ เสาวนะ<sup>5</sup>, ปฏิวดี ราษี<sup>6</sup>, ประกายกานต์ กอผา<sup>7</sup> และ ธนิต บุญศิริ<sup>8</sup>  
Sudaluck Thunyaharn<sup>1</sup>, Wirongrong Changphet<sup>2</sup>, Nitchatorn Sungsirin<sup>3</sup>, Pollawat Thongsuk<sup>4</sup>,  
Tassanee Saovana<sup>5</sup>, Patiwat Rasee<sup>6</sup>, Pakaikan Kopha<sup>7</sup> and Tanit Boonsiri<sup>8</sup>

Received: 26 April 2022 ; Revised: 10 November 2022 ; Accepted: 30 November 2022

### บทคัดย่อ

*Cryptococcus neoformans* เป็นเชื้อราก่อโรค cryptococcosis ทั้งในคนและสัตว์ เชื้อชนิดนี้มักพบในมูลนก การติดเชื้อจากสัตว์สู่คนโดยการหายใจเอาเชื้อเข้าไปทำให้เกิดปอดอักเสบ เชื้อสามารถแพร่กระจายไปที่ระบบประสาทส่วนกลางทำให้เกิดโรคเยื่อหุ้มสมองอักเสบซึ่งอาจเป็นอันตรายถึงชีวิต เพื่อเป็นการเฝ้าระวังและป้องกันการแพร่กระจายของเชื้อชนิดนี้ในสวนสัตว์นครราชสีมา ประเทศไทย ทั้งจากนกสู่นกหรือนกสู่นก งานวิจัยนี้ได้สำรวจอุบัติการณ์ของเชื้อ *C. neoformans* ในมูลนกชนิดต่างๆ ของสวนสัตว์นครราชสีมาในช่วงเดือนเมษายน พ.ศ. 2564 โดยเก็บมูลนกสดในกรงเลี้ยงนก 29 ชนิด ของนกในกลุ่มต่างๆ ได้แก่ นกกระเรียน 5 ชนิด ไก่ฟ้า 8 ชนิด นกเงือก 4 ชนิด นกแก้ว 4 ชนิด นกกระสา 3 ชนิด นกกระทง 1 ชนิด นกล่าเหยื่อ 1 ชนิด รวมทั้งนกบินไม่ได้ ได้แก่ นกอีมุม นกคาสโซวรีและนกเพนกวิน อย่างละ 1 ชนิด ได้จำนวนมูลนก 67 ตัวอย่าง นำมาเพาะแยกเชื้อบนอาหารเลี้ยงเชื้อ Sabouraud dextrose agar (SDA) ที่เติมยาคลอแรมเฟนิคอลและสารสกัดจากเมล็ดทานตะวัน พบว่ามูลนกทั้งหมดตรวจไม่พบเชื้อ *C. neoformans* แต่อย่างไรก็ตาม การเฝ้าระวังเชื้อ *C. neoformans* ในสวนสัตว์ควรดำเนินการศึกษาอย่างต่อเนื่อง

คำสำคัญ: *Cryptococcus neoformans*, Cryptococcosis, Sabouraud dextrose agar (SDA), สารสกัดจากเมล็ดทานตะวัน

### Abstract

*Cryptococcus neoformans* is an important pathogenic fungus causing cryptococcosis in humans and animals. This pathogen is usually found in avian droppings. Zoonosis infection occurs by inhalation of the fungus into the respiratory tract and causes pneumonia. The fungus can disseminate to the central nervous system and cause meningitis which can be life threatening. For active surveillance and prevention of *C. neoformans* in Nakhon Ratchasima Zoo, Thailand, either from bird to bird or bird to person, the present study investigated the incidence of *C. neoformans* in droppings of various captive birds in this zoo in April 2021. Dropping samples were collected from 29 avian species in various taxonomic groups which comprised cranes (5 species), pheasants (8 species), hornbills (4 species), parrots (4 species),

<sup>1</sup> ผู้ช่วยศาสตราจารย์, สาขาเทคนิคการแพทย์ คณะสหเวชศาสตร์ วิทยาลัยนครราชสีมา

<sup>2</sup> สัตวแพทย์หญิง สวนสัตว์นครราชสีมา

<sup>3,8</sup> อาจารย์, ภาควิชาจุลชีววิทยา วิทยาลัยแพทยศาสตร์พระมงกุฎเกล้า

<sup>4</sup> อาจารย์, สาขาเทคนิคการแพทย์ คณะสหเวชศาสตร์ วิทยาลัยนครราชสีมา

<sup>5</sup> รองศาสตราจารย์, สาขาเทคนิคการแพทย์ คณะสหเวชศาสตร์ วิทยาลัยนครราชสีมา

<sup>6,7</sup> นักศึกษา, สาขาเทคนิคการแพทย์ คณะสหเวชศาสตร์ วิทยาลัยนครราชสีมา

<sup>1</sup> Assistant Professor, Department of Medical Technology, Faculty of Allied Health Sciences, Nakhonratchasima College, E-mail: tanmicro@nmc.ac.th

<sup>2</sup> Veterinarian, Nakhon Ratchasima Zoo E-mail: wnoonc@hotmail.com

<sup>3,8</sup> Lecturer, Department of Microbiology, Phramongkutklao College of Medicine E-mail: boonsiri-t@hotmail.com

<sup>4</sup> Lecturer, Department of Medical Technology, Faculty of Allied Health Sciences, Nakhonratchasima College, E-mail: pollawat@nmc.ac.th

<sup>5</sup> Associate Professor, Department of Medical Technology, Faculty of Allied Health Sciences, Nakhonratchasima College, E-mail: tassanee@nmc.ac.th

<sup>6,7</sup> Student, Department of Medical Technology, Faculty of Allied Health Sciences, Nakhonratchasima College

\* Corresponding author: nitchatorn@pcm.ac.th

storks (3 species), pelican (1 species), vulture (1 species), and flightless birds including emu, cassowary, and penguin (1 species each). A total of 67 fresh avian dropping samples were isolated on Sabouraud dextrose agar (SDA) with chloramphenicol and sunflower seed extract. No colony of *C. neoformans* was found in all samples. Nevertheless, active surveillance for *C. neoformans* should be performed continuously.

**Keywords:** *Cryptococcus neoformans*, Cryptococcosis, Sabouraud dextrose agar (SDA), Sunflower seed extract

## Introduction

*Cryptococcus neoformans* is an important pathogenic encapsulated yeast which causes cryptococcosis in humans and animals (Maziarz & Perfect, 2016). This fungus is found worldwide in environments such as soil, decaying wood, tree hollows, and avian droppings which results in potential zoonotic transmission (Rosario et al., 2008). Infection commences after inhaling its basidiospores into the lungs of the host. The spores are deposited in alveoli and terminal bronchioles and cause pneumonia. The fungus can disseminate to the central nervous system and cause meningitis which can be life threatening especially in HIV/AIDS patients (Maepa, 2019). The incidence of cryptococcosis in AIDS is high, around 18.5%, which is the third most common opportunistic infection in AIDS in Thailand following tuberculosis and pneumocystis pneumonia (Chariyalertsak et al., 2001). The annual number with cryptococcal infection globally is high (almost 300,000) (Rajasingham et al., 2017). In addition, *C. neoformans* resistant to antifungal drugs has been increasingly reported worldwide (Tangwattanachuleeporn et al., 2013; Kobayashi et al., 2005).

*C. neoformans* can be classified into 3 varieties with 5 serotypes based on polysaccharide capsular structure: *C. neoformans* var. *grubii* (serotype A), *C. neoformans* var. *gattii* (serotype B and C), *C. neoformans* var. *neoformans* (serotype D), and hybrid of serotypes A and D (serotype AD) (Levitz, 1998; Franzot et al., 1999; Nelson & Lodes, 2006; Ito-Kuwa et al., 2007). In 2002, *C. neoformans* var. *gattii* was reclassified as another species, *C. gattii*, which is associated with eucalyptus trees (Kwon-Chung et al., 2002). According to previous studies, these two species have distinct differences in epidemiology, ecology, molecular patterns, geography, and clinical characteristics (Kwon-Chung et al., 2014; Faganello et al., 2009).

A zoo is a potential source of various infectious diseases such as bacterial, mycobacterial and fungal infections (Ahasan et al., 2008). There are many reports showing that animals in zoos suffered from cryptococcosis. A report of Bauwens et al. (2004) revealed cryptococcosis in rodents and lizards of Antwerp Zoo, Belgium. All the isolated strains were identified as *C. neoformans* var. *neoformans* serotype A (Bauwens et al., 2004). In Asia, a report of Ahasan et al. (2014) showed animals in Dhaka Zoo, Bangladesh, such as monkeys and antelopes suffered from cryptococcosis. Clinically, affected animals manifested frequent cough and anorexia, weakness followed by death. Necropsy findings showed granulomatous lesions of the affected organs (Ahasan et al., 2014). There is a report of Caicedo et al. (1999) indicating that birds are reservoirs of *C. neoformans*. This investigation used a sunflower seed agar culture medium for fungus isolation which showed the presence of *C. neoformans* in bird excreta (prevalence = 0.9%) and in the air circulating inside cages (prevalence = 0.7%) in the City Zoo of Cali, Colombia. All isolates were *C. neoformans* var. *neoformans* (Caicedo et al., 1999). In Thailand, there is a report of Keerativasee et al. (2008) about *C. neoformans* in avian droppings from Zoo. The periods of sample collection were in winter and summer (December 2005 to May 2006, respectively). A total of 97 avian dropping samples from 27 avian species in Chiang Mai Zoo showed a 1.03% prevalence of *C. neoformans*. One strain was isolated from red-billed hornbill droppings (Order Bucerotiformes) (Keerativasee et al., 2008). Although there are many reports of associations of *C. neoformans* with avian species, cryptococcosis in birds is rare. A report of Griner and Walch (1978) demonstrated *C. neoformans* from digestive tract of healthy birds in San Diego Zoo, United States (Griner & Walch, 1978). According to these reports, *C. neoformans* rarely affects captive birds in zoos but can cause epizootic infections in other animals and zoonotic infections in humans.



There are several reports showing that pigeons (Order Columbiformes) are the major reservoir for *C. neoformans*. Their droppings and dusts are potential sources of *C. neoformans* transmission to other hosts. However, *C. neoformans* can be found in other birds such as passerine birds (Order Passeriformes), psittacine birds (Order Psittaciformes), Hornbills (Order Bucerotiformes) and others (Rosario *et al.*, 2008; Tangwattanachuleeporn *et al.*, 2013; González-Hein *et al.*, 2010; Caicedo *et al.*, 1999; Keerativasee *et al.*, 2008; Griner & Walch, 1978).

In laboratory, culture is the gold standard for cryptococcosis diagnosis (Prariyachatigul *et al.*, 1996). *C. neoformans* can grow on most standard media used for fungal isolation except media with cycloheximide (Kwon-Chung & Bennett 1992). For fungal isolation according to Pal *et al.* (1990) SDA is a suitable medium for fungal culture (Pal *et al.*, 1990). Sunflower seed extract comprises phenolic and polyphenolic compounds as precursors of melanin pigment which can be utilized in phenoloxidase activity by cryptococcal yeasts which show as brown-pigmented colonies. (Krema *et al.*, 2018). Chloramphenicol can inhibit other organisms especially bacteria. SDA with chloramphenicol and sunflower seed extract is useful to identify and differentiate cryptococcal colonies from other yeasts (Pal *et al.*, 1990; Krema *et al.*, 2018). For confirmatory testing, matrix assisted laser desorption/ ionization-time of flight mass spectrometry (MALDI-TOF MS) was high accuracy and enables quick and easy identification of ( McTaggart *et al.*, 2011).

Northeast region of Thailand was reported to have the highest percentage of cryptococcosis in AIDS patients in Thailand (Chariyalertsak *et al.*, 2001). Thus, this region is an interesting area in which to study *C. neoformans*. In 2021, the prevalence of *C. neoformans* was 1.2% in pigeon droppings at Nakhonratchasima College, Nakhon Ratchasima province, northeast region of Thailand (Thunyaharn *et al.*, 2021). This incidence emphasizes the occurrence of this fungus in Nakhon Ratchasima province. To extend the study of the incidence of *C. neoformans*, the present study was designed to perform active surveillance for this fungus in the Nakhon Ratchasima Zoo, located near the college, where might contain public environmental reservoirs of *C. neoformans* in Nakhon Ratchasima province.

## Materials and methods

### Sample collection

The fresh avian droppings were collected in cages of 29 captive bird species (Figure 1) from Nakhon Ratchasima Zoo, Thailand, during April 2021.

Each sample of avian droppings was at least 5 g collected using a sterile plastic spatula (Figure 2) and placed in a sterile plastic container labeled with site and date of collection (Figure 2).

### Sample processing and isolation for *C. neoformans*

All samples were processed within 4 hours of collection. Approximately 1 gram of samples was suspended vigorously in 5 mL of saline solution (0.85% NaCl) with penicillin G (4 mg/mL) (Figure 2) and allowed to settle for 30 minutes at room temperature. Each sample was inoculated using a sterilized cotton swab and cultured on a selective medium which was Sabouraud dextrose agar (SDA) containing chloramphenicol (0.05 mg/mL) and sunflower seed extract (45 mg/mL) (Figure 2), incubated at 37 °C according to the method of Pal *et al.* 1990 (Pal *et al.*, 1990). Selective media were used for quality control by standard strains of *Candida albicans* ATCC10231 and *C. neoformans* ATCC90112 as the positive control, and *Escherichia coli* ATCC25922 as the negative control. The media were daily observed for brown mucoid colonies of *C. neoformans* for 3 days.

### Identification

The suspected brown mucoid colonies, which grew on the selective medium, were picked up and sub-cultured on SDA. The pure cultures were identified by India ink preparation and urease test as well as the method of Canteros *et al.* (1996), and then *C. neoformans* and *C. gattii* were differentiated by culture on canavanine glycine bromothymol blue (CGB) agar following the method of Kwon-Chung *et al.* 1982 (Kwon-Chung *et al.*, 1982). According to the method of McTaggart *et al.* (2011) MALDI-TOF MS was used to identify species of organism. The colonies were smeared on the target and irradiated with the laser. The matrix absorbed power from the laser resulting in protein ionization. The detection ionized proteins spectra in the region 2,000 to 20,000 m/z were compared with protein spectra profile analysis to confirm identity as *C. neoformans* (McTaggart *et al.*, 2011).

## Results and discussion

A total of 67 avian droppings from 29 captive bird species were collected from Nakhon Ratchasima Zoo as shown in Table 1. All samples showed colonies of various microorganisms but colonies of *C. neoformans* was absent (Figure 2). *C. neoformans* was not found in this study and might be considered for many reasons. First, samples were collected using plastic spatulas scooping on the fresh parts of avian droppings. The fresh droppings were collected as same as the study of Keerativasee et al. (2008) (Keerativasee et al., 2008). However, the samples might contain various organisms which can grow alongside the fungus. To solve this problem, the samples were kept in sterile containers. Specimens were processed within 2 hours using saline solution with penicillin G to reduce bacterial contamination. This method is similar to that described in the study of Keerativasee et al. (2008) (Keerativasee et al., 2008) which discovered *C. neoformans* in avian droppings. In the laboratory, isolation of *C. neoformans* by the culture method is the gold standard (Pariyachatigul et al., 1996). According to the method of Pal et al. (1990) SDA with sunflower seed extract as a plant supplement supports growth of *C. neoformans*, preventing / limiting growth of other organisms from unsterilized samples. Therefore, this medium with the supplement is very sensitive and highly

specific for *C. neoformans* (Pal et al., 1990; Krema et al., 2018). However, the present study revealed various organisms such as bacteria and other yeasts that grew on the media (Figure 2) and might inhibit *C. neoformans* according to the suggestion of Pal et al. (1990).

Besides, lack of a more extensive sampling might be another reason. The present survey was conducted in April representing the summer season. Interestingly, the presence of *C. neoformans* in avian droppings is related to seasonal variations. A study of Chae et al. (2012) reported significantly different prevalence of *C. neoformans* in avian droppings between fall and spring seasons (Chae et al., 2012). However, Kuroki et al. (2004) reported *C. neoformans* from chicken faces in dry season higher than rainy season. (Kuroki et al., 2004).

In the present study, *C. neoformans* might be absent in the zoo because of high standards of sanitization. The studies of Caicedo et al. (1999) and Keerativasee et al. (2008) reported that the prevalence of *C. neoformans* in avian droppings was 0.9% from the City Zoo of Cali, Colombia (Caicedo et al., 1999), and 1.03% from Chiang Mai Zoo, Thailand (Keerativasee et al., 2008). These previous studies suggested adequate cleaning and disinfection were the key factors of *C. neoformans* absence in zoos possibly.

**Table 1** Isolation of *C. neoformans* from avian droppings collected in Nakhon Ratchasima Zoo, in 2021

Order (bird groups) and species (common name)	No. of collected sample	No. of positive sample	% positive
Gruiformes (Cranes)			
<i>Antigone antigone</i> (Eastern sarus crane)	24	0	0
<i>Anthropoides virgo</i> (Demoiselle crane)	1	0	0
<i>Balearica regulorum</i> (Grey crowned crane)	1	0	0
<i>Balearica pavonina</i> (Black crowned crane)	1	0	0
<i>Grus paradise</i> (Blue crane)	1	0	0
Galliformes (Pheasants)			
<i>Lophura nycthemera</i> (Silver pheasant)	4	0	0
<i>Lophura ignita</i> (Crested fireback)	1	0	0
<i>Numida meleagris</i> (Guinea fowl)	1	0	0
<i>Rollulus rouloul</i> (Crested partridge)	1	0	0
<i>Syrnaticus reversii</i> (Reeves's pheasant)	1	0	0

**Table 1** Isolation of *C. neoformans* from avian droppings collected in Nakhon Ratchasima Zoo, in 2021 (cont.)

Order (bird groups) and species (common name)	No. of collected sample	No. of positive sample	% positive
<i>Polyplectron bicalcaratum</i> (Grey peacock-pheasant)	2	0	0
<i>Argusianus argus</i> (Great argus)	1	0	0
<i>Pavo muticus</i> (Green peafowl)	1	0	0
Bucerotiformes (Hornbills)			
<i>Buceros rhinoceros</i> (Rhinoceros hornbill)	4	0	0
<i>Anthracoceros albirostris</i> (Pied hornbill)	3	0	0
<i>Buceros bicornis</i> (Great hornbill)	2	0	0
<i>Rhyticeros undulates</i> (Wreathed hornbill)	2	0	0
Psittaciformes (Psittacines)			
<i>Electus roratus</i> (Eclectus parrot)	3	0	0
<i>Melopsittacus undulates</i> (Zebra parakeet)	1	0	0
<i>Psittacus erithacus</i> (African grey parrot)	1	0	0
<i>Psittacula eupatria</i> (Rose-ringed parakeet)	1	0	0
Ciconiiformes (Storks)			
<i>Ciconia episcopus</i> (White-necked stork)	1	0	0
<i>Eudocimus ruber</i> (Scarlet ibis)	1	0	0
<i>Mycteria cinerea</i> (Milky stork)	1	0	0
Pelecaniformes (Pelicans)			
<i>Pelecanus philippinensis</i> (Spot-billed pelican)	1	0	0
Accipitriformes (Vultures)			
<i>Sarcogyps calvus</i> (Red-headed vulture)	1	0	0
Casuariiformes (Ratites)			
<i>Casuarus casuarius</i> (Southern cassowary)	2	0	0
<i>Dromaius novaehollandiae</i> (Emu)	1	0	0
Sphenisciformes (Penguins)			
<i>Sphenicus humboldti</i> (Humboldt penguin)	2	0	0
<b>Total</b>	<b>67</b>	<b>0</b>	<b>0.00</b>

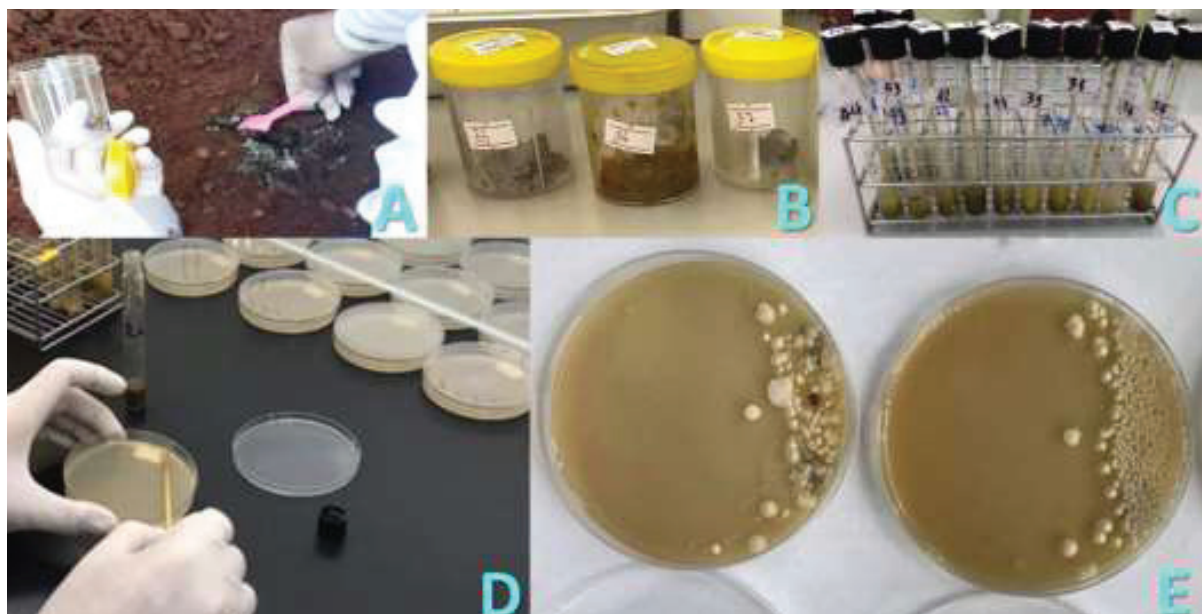


**Figure 1** Example of captive birds, in Nakhon Ratchasima Zoo, which were included in this study;

A: Eastern sarus crane (*Antigone antigone*), B: Eclectus parrot (*Eclectus roratus*),

C: Guinea fowl (*Numida meleagris*), D: Great hornbill (*Buceros bicornis*),

E: Cassowary (*Casuarius casuarius*) and F: Humboldt penguin (*Spheniscus humboldti*)



**Figure 2** Sample collection, processing and isolation for *C. neoformans*; A: A fresh portion of avian dropping was collected using a plastic spatula, B: Avian dropping storage in sterile containers, C: Samples in 0.85% NaCl with penicillin G, D: Isolation on Sabouraud dextrose agar (SDA) with sunflower seed extract and chloramphenicol, E: Colonies of various organisms grow on the selective SDA.



It has been acknowledged that pigeons (Order Columbiformes) are the major reservoirs of *C. neoformans* (Lugarini *et al.*, 2008; Mirpourian *et al.*, 2021; Bertout *et al.*, 2022). However, the present study investigated 29 captive bird species in 9 taxonomic groups of birds; cranes, pheasants, hornbills, psittacines, storks, pelicans, vultures, ratites, and penguins (Table 1). The negative results for *C. neoformans* in 5 bird groups (cranes, pheasants, storks, pelicans, and vultures) are similar to the report of Keerativasee *et al.* (2008) (Keerativasee *et al.*, 2008). However, the present study had negative results for *C. neoformans* in 2 bird groups (psittacines and hornbills), whereas previous reports showed the prevalence of *C. neoformans* in psittacines and hornbills was 6.67% (Lugarini *et al.*, 2008) and 11.11% (Keerativasee *et al.*, 2008) respectively. However, there have been several reports in Thailand indicating that pigeon droppings were the common habitat of *C. neoformans* (Khayhan *et al.*, 2018; Sriburee *et al.*, 2004; Krangvichain *et al.*, 2016) similar to the reports in many countries (Weber & Schäfer 1991; Nielsen *et al.*, 2007; Oh & Hwang 2005). These reports suggested that taxonomic group, especially pigeons, were important factors relating to the presence of *C. neoformans*.

However, the quality of captive animal management should not be overlooked. A report of Gilad *et al.* (2015) did not find *Cryptococcus* spp. in environments and animals from a zoo in Israel, although this zoo imported animals that were introduced from Australia. A previous study discussed that captive animal management is important to prevent *Cryptococcus* spp. (Gilad *et al.*, 2015).

In the present study, fungal identification was confirmed using MALDI-TOF MS. However, molecular techniques such as multiplex PCR (Ito-Kuwa *et al.*, 2007) and DNA sequencing (Kaucharoen *et al.*, 2013) should be considered for further epidemiology study. These techniques not only distinguish between *C. neoformans* and *C. gattii* but also identify *Cryptococcus* spp. and their serotypes.

In summary, *C. neoformans* was negative in the present study because of possible factors such as avian dropping collection, sanitization, bird species, and quality

of animal captivity. However, the active surveillance of *C. neoformans* in zoos should be concerned about these factors, and should be employ an adequate number of samples relating to each captive bird species.

### Declaration of interests

The authors declare no conflicts of interest for this article, and they alone are responsible for the content.

### Ethical considerations

This study was reviewed and approved by the Ethics Committee of the Nakhonratchasima College (approval no. S029b/57).

### Acknowledgement

This study was facilitated by Nakhon Ratchasima Zoo for sample collection places.

### References

- Maziarz, E. K., & Perfect, J. R. (2016). Cryptococcosis. *Infectious Disease Clinics of North America*, 30(1), 179-206. <https://doi.org/10.1016/j.idc.2015.10.006>.
- Rosario, I., Acosta, B., & Colom M. F. (2008). Pigeons and other birds as a reservoir for *Cryptococcus* spp. *Revista Iberoamericana de Micología*, 25(1), S13-18. [https://doi.org/10.1016/s1130-1406\(08\)70020-2](https://doi.org/10.1016/s1130-1406(08)70020-2).
- Maepa, H. M. (2019). Cryptic pulmonary cryptococcosis: An atypical presentation of pulmonary cryptococcosis in a HIV-infected patient. *African Journal of Thoracic and Critical Care Medicine*, 25(4), 145-147. <https://doi.org/10.7196/AJTCCM.2019.v25i4.002>.
- Chariyalertsak, S., Sirisanthana, T., Saengwonloey, O., & Nelson, K. E. (2001). Clinical presentation and risk behaviors of patients with acquired immunodeficiency syndrome in Thailand, 1994-1998: regional variation and temporal trends. *Clinical Infectious Diseases*, 15-32(6), 955-62. <https://doi:10.1086/319348>.
- Rajasingham, R., Smith, R. M., Park, B. J., Jarvis, J. N., Govender, N. P., Chiller, T. M., Denning, D. W., Loyse, A., & Boulware, D.R. (2017). Global burden of disease of HIV-associated cryptococcal meningitis: an updated analysis. *The Lancet Infectious Diseases*, 17(8), 873-881. [https://doi:10.1016/S1473-3099\(17\)30243-8](https://doi:10.1016/S1473-3099(17)30243-8).



- Tangwattanachuleeporn, M., Somparn, P., Poolpol, K., Gross, U., Weig, M., & Bader, O. (2013). Prevalence and antifungal susceptibility of *Cryptococcus neoformans* isolated from pigeon excreta in Chon Buri Province. *Eastern Thailand, Journal of Medical Mycology*, 54(3), 303-307. <https://doi.org/10.3314/mmj.54.303>.
- González-Hein, G., González-Hein, J., & Jarabrán, M. C. D. (2010). Isolation of *Cryptococcus neoformans* in dry droppings of captive birds in Santiago, Chile. *Journal of Avian Medicine and Surgery*, 24(3), 227-236. <https://doi.org/10.1647/2009-003.1>.
- Kobayashi, C. C. B. A., Souza, L. K. H., Fernandes, O. F. L., Brito, S.C.A., Silva, A.C., Sousa, E. D., & Silva, M. R. R. (2005). Characterization of *Cryptococcus neoformans* isolated from urban environmental sources in Goiânia, Goiás State, Brazil. *Revista do Instituto de Medicina Tropical de São Paulo*, 47(4), 203-207. <https://doi.org/10.1590/S0036-46652005000400005>.
- Levitz, S.M. (1998). *Cryptococcus neoformans* by Casadevall, Arturo & Perfect, John R. ASM Press. <https://doi.org/10.1111/j.1365-280X.1999.00238.x>.
- Franzot, S. P., Salkin, I. F., & Casadevall, A. (1999). *Cryptococcus neoformans* var. *grubii*: separate varietal status for *Cryptococcus neoformans* serotype A isolates. *Journal of Clinical Microbiology*, 37, 838-840. <https://doi.org/10.1128/JCM.37.3.838-840.1999>.
- Nelson, R. T., & Lodes J. K (2006). *Cryptococcus neoformans* pathogenicity. In: Brown, A.J.P. (Ed), *The Mycota XIII* (pp. 237-266). Springer-Verlag. <https://link.springer.com/book/10.1007/978-3-642-00286-1?noAccess=true>.
- Ito-Kuwa, S., Nakamura, K., Aoki, S., & Vidotto, V. (2007). Serotype identification of *Cryptococcus neoformans* by multiplex PCR. *Mycoses*, 50(4), 277-281. <https://doi.org/10.1111/j.1439-0507.2007.01357.x>.
- Kwon-Chung, K.J., Boekhout, T., Fell, J.W., & Diaz, M. (2002). Proposal to conserve the name *Cryptococcus gattii* against *C. honduricus* and *C. bacillisporus* (Basidiomycota, Hymenomycetes, Tremellomycetidae). *Taxon*, 51,804-806. <https://doi.org/10.2307/1555045>.
- Kwon-Chung, K. J., Fraser, J. A., Doering, T. L., Wang, Z., Janbon, G., Idnurm, A., & Bahn, Y. S. (2014). *Cryptococcus neoformans* and *Cryptococcus gattii*, the etiologic agents of cryptococcosis. *Cold Spring Harbor Perspectives in Medicine*, 4(7), a019760. <https://doi.org/10.1101/cshperspect.a019760>.
- Faganello, J., Dutra, V., Schrank, A., Meyer, W., Schrank, I. S., & Vainstein, M. H. (2009). Identification of genomic differences between *Cryptococcus neoformans* and *Cryptococcus gattii* by representational difference analysis (RDA). *Journal of Medical Mycology*, 47(6), 584-591. <https://doi.org/10.1080/13693780802272148>.
- Ahasan, S. A. & Rahaman, A. Z. (2008). Mortality in Dhaka zoo due to microbial agents. *Bangladesh Journal of Microbiology*, 24(2), 154-156. <https://doi.org/10.3329/bjm.v24i2.1263>.
- Bauwens, L., Vercammen, F., Wuytack, C., Van Looveren, K., & Swinne, D. (2004). Isolation of *Cryptococcus neoformans* in Antwerp Zoo's nocturnal house. *Mycoses*, 47(7), 292-296. <https://doi.org/10.1111/j.1439-0507.2004.00991.x>.
- Ahasan, S., Chowdhury, E., Khan, M., Parvin, R., Azam, S., Mohiuddin, G., Uddin, J., Rahman, M., Akter, L. & Khair, A. (2014). Histopathological investigation of cryptococcosis in Animals at Dhaka Zoo. *Progressive Agriculture*, 24(1-2), 123-129. <https://doi.org/10.3329/pa.v24i1-2.19114>.
- Caicedo, L. D., Alvarez, M. I., Delgado, M., & Cárdenas, A. (1999). *Cryptococcus neoformans* in bird excreta in the City Zoo of Cali, Colombia. *Mycopathologia*, 147(3), 121-124. <https://doi.org/10.1023/a:1007146700339>.
- Keerativasee, S., Takarn, P., Sanwong, K., Tharavichitkul, P., & Sriburee, P. (2008). Isolation of *Cryptococcus neoformans* from avian droppings in Chiang Mai from December 2005 to May 2006. *Chiang Mai Medical Journal*, 47(4), 149-154. <https://www.thaiscience.info/Journals/Article/CMMJ/10886724.pdf>.
- Griner, L. A., & Walch, H. A. (1978). Cryptococcosis in columbiformes at the San Diego Zoo. *Journal of Wildlife Diseases*, 14(3), 389-394. <https://doi.org/10.7589/0090-3558-14.3.389>.

- Prariyachatigul, C., Chaiprasert, A., Meevootisom, V., & Pattanakitsakul, S. (1996). Assessment of a PCR technique for the detection and identification of *Cryptococcus neoformans*. *Journal of medical and veterinary mycology: bi-monthly publication of the International Society for Human and Animal Mycology*, 34(4), 251-258. <https://doi.org/10.1080/02681219680000431>.
- Kwon-Chung, K.J., & Bennett, J.E. (1992). *Medical mycology*. Philadelphia.
- Pal, M., Onda, C., & Hasegawa, A. (1990). Isolation of saprophytic *Cryptococcus neoformans*. *Nihon Juigaku Zasshi*, 52(6), 1171-1174. <https://doi.org/10.1292/jvms1939.52.1171>.
- Krema, Z. A., Mokthar, E. S., El Magrabi, H.S., Eshwika, A., Ellabib, M., & Cogliati, M. (2018). Evaluation of novel culture media prepared from plant substrates for isolation and identification of *Cryptococcus neoformans* species complex. *International Journal of Microbiology Biochemistry and Technology*, 1, 9-13. <https://doi.org/10.29328/journal.ijcmbt.1001002>.
- McTaggart, L. R., Lei, E., Richardson, S. E., Hoang, L., Fothergill, A., & Zhang, S. X. (2011). Rapid identification of *Cryptococcus neoformans* and *Cryptococcus gattii* by matrix-assisted laser desorption ionization-time of flight mass spectrometry. *Journal of Clinical Microbiology*, 49(8), 3050-3053. <https://doi.org/10.1128/JCM.00651-11>.
- Thunyaharn, S., Sungsirin, N., Sukhapridasap, P., Kunyaboon, R., Saichanma, S., Kesakomol, P., & Boonsiri, T. (2021). Isolation of *Cryptococcus neoformans* from pigeon excreta in Nakhon Ratchasima College, Nakhon Ratchasima Province. *Progress in Applied Science and Technology*, 11(2), 6-9. <https://doi.org/10.14456/past.2021>.
- Canteros, C. E., Rodero, L., Rivas, M. C., & Davel, G. (1996). A rapid urease test for presumptive identification of *Cryptococcus neoformans*, *Mycopathologia*, 136(1), 21-23. <https://doi.org/10.1007/BF00436656>.
- Kwon-Chung, K. J., Polacheck, I., & Bennett, J. E. (1982). Improved diagnostic medium for separation of *Cryptococcus neoformans* var. *neoformans* (serotypes A and D) and *Cryptococcus neoformans* var. *gattii* (serotypes B and C). *Journal of Clinical Microbiology*, 15(3), 535-537. <https://doi.org/10.1128/jcm.15.3.535-537.1982>.
- Chae, H. S., Jang, G. E., Kim, N. H., Son, H. R., Lee, J. H., Kim, S. H., Park, G. N., Jo, H. J., Kim, J. T., & Chang, K. S. (2012). Classification of *Cryptococcus neoformans* and yeast-like fungus isolates from pigeon droppings by colony phenotyping and ITS genotyping and their seasonal variations in Korea. *Avian Diseases*, 56(1), 58-64. <https://doi.org/10.1637/9703-030711-Reg.1>.
- Kuroki, M., Phichaichumpon, C., Yasuoka, A., Chiranairadul, P., Chosa, T., Sirinirund, P., Miyazaki, T., Kakeya, H., Higashiyama, Y., Miyazaki, Y., Ishida, Y., Kohno, S. (2004). Environmental isolation of *Cryptococcus neoformans* from an endemic region of HIV-associated cryptococcosis in Thailand. *Yeast*, 21, 809-812. <https://doi.org/10.1002/yea.1112>.
- Lugarini, C., Goebel, C. S., Condas, L. A., Muro, M. D., de Farias, M. R., Ferreira, F. M., & Vainstein, M. H. (2008). *Cryptococcus neoformans* isolated from passerine and psittacine bird excreta in the state of Paraná, Brazil. *Mycopathologia*, 166(2), 61-69. <https://doi.org/10.1007/s11046-008-9122-3>.
- Mirpourian, S. S., Sharifi, N., Talazadeh, F., Jafari, R. A., & Ghorbanpoor, M. (2021). Isolation, molecular identification, and phylogenetic evaluation of *Cryptococcus neoformans* isolated from pigeon lofts, Psittaciformes, and Passeriformes in Ahvaz, Iran. *Comparative Immunology, Microbiology & Infectious Diseases*, 76, 101618. <https://doi.org/10.1016/j.cimid.2021.101618>.
- Bertout, S., Gouveia, T., Krasteva, D., Pierru, J., Pottier, C., Bellet, V., Arianiello, E., Salipante, F., Roger, F., & Drakulovski, P. (2022). Search for *Cryptococcus neoformans/gattii* complexes and related genera (*Filobasidium*, *Holtermanniella*, *Naganishia*, *Papiliotrema*, *Solicoccozyma*, *Vishniacozyma*) spp. biotope: Two years surveillance of wild avian fauna in Southern France. *Journal of Fungi*, 8(3), 227. <https://doi.org/10.3390/jof8030227>.

- Khayhan, K. (2018). Prevalence of *Cryptococcus neoformans* in avian droppings and tree debris in the North and Northeast, Thailand. *20<sup>th</sup> Congress of the International Society for Human and Animal Mycology*. P414. <https://doi.org/10.26226/moressier.5ac39996d462b8028d89a07a>.
- Sriburee, P., Khayhan, S., Khamwan, C., Panjaisee, S., & Tharavichitkul, P. (2004). Serotype and PCR-fingerprints of clinical and environmental isolates of *Cryptococcus neoformans* in Chiang Mai, Thailand. *Mycopathologia*, *158*(1), 25-31. <https://doi.org/10.1023/b:myco.0000038435.14281.f4>.
- Krangvichain, P., Niyomtham, W., & Prapasarakul, N. (2016). Occurrence and susceptibilities to disinfectants of *Cryptococcus neoformans* in fecal droppings from pigeons in Bangkok, Thailand. *The Journal of Veterinary Medical Science*, *78*(3), 391-396. <https://doi.org/10.1292/jvms.15-0594>.
- Weber, A., & Schäfer, R. (1991). The occurrence of *Cryptococcus neoformans* in fecal samples from birds kept in human living areas. *Berliner und Münchener tierärztliche Wochenschrift*, *104*(12), 419-421. <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/1786044/>
- Nielsen, K., de Obaldia, A.L., & Heitman, J. (2007). *Cryptococcus neoformans* Mates on Pigeon Guano: Implications for the Realized Ecological Niche and Globalization. *Eukaryotic Cell*, *6*(6), 949-959. <https://doi.org/10.1128/EC.00097-07>.
- Oh, K.S., & Hwang, S.M. (2005). Isolation and characterization of *Cryptococcus neoformans* from environmental sources in Busan. *Mycobiology*, *33*(4), 188-193. <https://doi.org/10.4489/MYCO.2005.33.4.188>.
- Gilad, A., Bakal-Weiss, M., Blum, S. E., Polacheck, I., & Elad, D. (2015). Environmental survey for *Cryptococcus gattii* in an Israeli Zoo populated with animals originating from Australia. *Israel Journal of Veterinary Medicine*, *70*(3), 47-51.
- Kaocharoen, S., Ngamskulrungraj, P., Firacative, C., Trilles, L., Piyabongkarn, D. Banlunara, W., Poonwan, N., Chaiprasert, A., Meyer, W., Chindamporn A. (2013). Molecular epidemiology reveals genetic diversity amongst isolates of the *Cryptococcus neoformans/C. gattii* species complex in Thailand. *PLOS neglected Tropical Diseases*, *7*(7), e2297. <https://doi.org/10.1371/journal.pntd.0002297>.

# องค์ประกอบทางเคมีและฤทธิ์ยับยั้งแอลฟาอะไมเลสและแอลฟาไกลูโคซิเดส ของสารสกัด วงตาล

## Chemical composition and inhibitory activities against $\alpha$ -Amylase and $\alpha$ -glucosidase of palmyra palm in *Borassus flabellifer* L. male flowers extracts

พรอริยา จิรินัง<sup>1\*</sup>, อิศรา วัฒนนภาเกษม<sup>2</sup>, เจิมรง ประรณนารักษ์<sup>3</sup>, จุติพร อินทะนิน<sup>3</sup> และ ศิริวรรณ ณะวงษ์<sup>4</sup>  
Pornariya Chirinang<sup>1\*</sup>, Isara Wattananapakasem<sup>2</sup>, Chermdhong Prattanaruk<sup>3</sup>,  
Jutiporn Intanin<sup>3</sup> and Siriwan Nawong<sup>4</sup>

Received: 9 September 2022 ; Revised: 17 October 2022 ; Accepted: 28 November 2022

### บทคัดย่อ

งานวิจัยนี้มีวัตถุประสงค์เพื่อศึกษาองค์ประกอบทางเคมีและฤทธิ์ยับยั้งแอลฟาอะไมเลสและแอลฟาไกลูโคซิเดสของวงตาล สารสกัดหยาบน้ำและเอทานอลจากวงตาล โดยผลการเปรียบเทียบขนาดอนุภาคด้วยเทคนิคกล้องจุลทรรศน์อิเล็กตรอนแบบส่องกราด (Scanning Electron Microscope, SEM) และเปรียบเทียบปริมาณธาตุด้วยเทคนิคเอกซเรย์สเปกโทรสโกปีแบบกระจายพลังงาน (Energy Dispersive X-ray Spectroscopy, EDS) พบว่า มีคาร์บอนเป็นธาตุองค์ประกอบหลัก รองลงมาคือ ออกซิเจน คลอรีน และโพแทสเซียม ตามลำดับ โดยมีขนาดอนุภาคของสารสกัดหยาบน้ำและเอทานอล เป็น 70.31 และ 78.96 ไมโครเมตร ตามลำดับ และมีขนาดอนุภาคค่อนข้างสม่ำเสมอ ผลการวิเคราะห์สารประกอบฟีนอลิกในวงตาลและสารสกัดหยาบน้ำและเอทานอล พบว่ามีแทนนินในปริมาณสูงที่สุด เท่ากับ 712.88, 617.81 และ 588.04 มิลลิกรัม/กิโลกรัม ตามลำดับ รองลงมาได้แก่ กรดแกลลิก ไอโซควอเซทิน ควอเซทิน คาเทชิน รูทีน และอะพิเจนิน ตามลำดับ แสดงว่าวงตาลและสารสกัดวงตาลอุดมไปด้วยสารที่มีคุณสมบัติในการต้านอนุมูลอิสระ การทดสอบฤทธิ์ยับยั้งแอลฟาอะไมเลสและแอลฟาไกลูโคซิเดส พบว่า สารสกัดหยาบน้ำและเอทานอลแสดงฤทธิ์ยับยั้งแอลฟาไกลูโคซิเดสได้สูงกว่าชุดควบคุมเชิงบวก แต่แสดงฤทธิ์ยับยั้งแอลฟาอะไมเลสได้ต่ำกว่าชุดควบคุมเชิงบวก นอกจากนี้ยังพบว่าการสกัดวงตาลด้วยน้ำจะให้ฤทธิ์ยับยั้งเอนไซม์ได้ดีกว่าการสกัดด้วยเอทานอล แสดงว่าวงตาลมีศักยภาพในการใช้บำบัดโรคเบาหวานได้

**คำสำคัญ:** วงตาล สารสกัด ฤทธิ์ยับยั้งแอลฟาอะไมเลส ฤทธิ์ยับยั้งแอลฟาไกลูโคซิเดส

### Abstract

The objectives of this research were to investigate chemical composition and  $\alpha$ -amylase and  $\alpha$ -glucosidase Inhibitory activities of water and ethanolic crude extracts of *Borassus flabellifer* L. male flowers. The size of residues was compared by Scanning Electron Microscopy (SEM) technique and elemental contents were compared by Energy Dispersive X-ray Spectroscopy (EDS). The results showed that the main element was carbon (C) following by oxygen (O), chlorine (Cl) and potassium (K), respectively. The particle size of water and ethanolic crude extracts were 70.31 and 78.96  $\mu$ m, respectively, and the particle size was quite uniform. The determination of phenolic compounds in *Borassus flabellifer* L. male flowers and water and ethanolic crude extracts showed tannin had the highest content at 712.88, 617.81 and 588.04 mg/kg, respectively, followed by gallic acid, isoquercetin, quercetin, catechin, rutin and

<sup>1</sup> สาขาวิชาอาหารและโภชนาการประยุกต์ คณะวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยี มหาวิทยาลัยราชภัฏเพชรบุรี จังหวัดเพชรบุรี ประเทศไทย

<sup>2</sup> สาขาวิชาเทคโนโลยีการอาหาร มหาวิทยาลัยแม่โจ้ วิทยาเขตแพร่ จังหวัดแพร่ ประเทศไทย

<sup>3</sup> สาขาวิชาวิศวกรรมพลังงาน คณะวิศวกรรมศาสตร์และเทคโนโลยีอุตสาหกรรม มหาวิทยาลัยราชภัฏเพชรบุรี จังหวัดเพชรบุรี ประเทศไทย

<sup>4</sup> สถาบันวิจัยแสงซินโครตรอน (องค์การมหาชน) 111 ถนนมหาวิทยาลัย อำเภอเมือง จังหวัดนครราชสีมา ประเทศไทย

<sup>1</sup> Department of Applied Food and Nutrition, Faculty of Science and Technology, Phetchaburi Rajabhat University, Phetchaburi, Thailand

<sup>2</sup> Department of Food Technology, MaeJo University Phrae campus, Phrae, Thailand

<sup>3</sup> Department of Energy Engineering, Faculty of Engineering and Industrial Technology, Phetchaburi Rajabhat University, Phetchaburi, Thailand

<sup>4</sup> Synchrotron Light Research Institute (Public Organization), 111 University Avenue, Muang District, Nakhon Ratchasima, Thailand

\* Corresponding author: e-mail: pomariya.chi@mail.pbru.ac.th

apigenin, respectively. These results demonstrated that *Borassus flabellifer* L. male flowers and crude extracts were good sources of antioxidants. The Inhibitory effect of crude extracts to inhibit  $\alpha$ -amylase and  $\alpha$ -glucosidase was investigated. Water and ethanolic crude extracts revealed better inhibitory effects for  $\alpha$ -glucosidase than the positive control, but the inhibition of  $\alpha$ -amylase was lower than the positive control. In addition, the inhibitory effect of water crude extract was better than that of ethanolic extract. Therefore, *Borassus flabellifer* L. male flowers have potential use in the treatment of diabetes.

**Keywords:** *Borassus flabellifer* L. male flowers, extracts,  $\alpha$ -amylase inhibitory activity,  $\alpha$ -glucosidase inhibitory activity

## บทนำ

รูปแบบการดำเนินชีวิตของประชาชนในปัจจุบันมีความเปลี่ยนแปลงไปอันเนื่องมาจากความเร่งรีบจากการทำงาน ความเจริญก้าวหน้าของเทคโนโลยีต่างๆ ส่งผลให้พฤติกรรมการบริโภคอาหารของประชาชนเปลี่ยนแปลงด้วย ซึ่งจากสถานการณ์การแพร่ระบาดของโรคโควิด-19 ยิ่งแสดงให้เห็นอย่างชัดเจน ประชาชนมีทางเลือกในการบริโภคมากขึ้นสามารถสั่งบริการขนส่งอาหารโดยไม่จำเป็นต้องทำรับประทานเองหรือออกไปรับประทานนอกบ้าน เทคโนโลยีด้านการติดต่อสื่อสารที่เข้าถึงได้ง่ายขึ้นในคนทุกกลุ่มโดยเฉพาะพฤติกรรมการติดสื่อโซเชียลมีเดีย ประกอบกับมีการออกกำลังกายน้อยลง รวมถึงพฤติกรรมการบริโภคอาหารที่ไม่ดีต่อสุขภาพ ได้แก่ อาหารประเภทเนื้อแดงหรือเนื้อที่ผ่านกระบวนการปรุงแต่ง (Processed meat) ไขมันพืชขัดสี และเครื่องดื่มที่มีน้ำตาลสูง ทำให้ประชาชนเกิดปัญหาด้านสุขภาพตามมาโดยเฉพาะกลุ่มโรคไม่ติดต่อเรื้อรัง (Non-communicable diseases; NCDs) ซึ่งหนึ่งในโรคที่เป็นปัญหาสำคัญคือ โรคเบาหวาน (Diabetes mellitus) โรคเบาหวานเกิดจากความผิดปกติของกระบวนการเมแทบอลิซึมของคาร์โบไฮเดรต ไขมัน และโปรตีนในร่างกาย ทำให้ร่างกายไม่สามารถรักษาระดับน้ำตาลในเลือดได้ เกิดภาวะน้ำตาลในเลือดสูง หากเป็นโรคเบาหวานเรื้อรังจะสัมพันธ์กับการทำลายเซลล์หรืออวัยวะภายในร่างกาย เกิดความผิดปกติของอวัยวะบางอย่าง เช่น ตา ไต ระบบประสาทหัวใจ และหลอดเลือด ปัจจุบันพบว่าประชาชนทั่วไปมีความเสี่ยงที่จะเป็นโรคเบาหวานชนิดที่ 2 ค่อนข้างสูง ซึ่งสาเหตุหลักมาจากวิถีชีวิตที่มีดั่งที่กล่าวข้างต้น จากการคาดการณ์ของ The International Diabetes Federation (IDF) ระบุว่าในปี ค.ศ.2011 จะมีผู้ป่วยโรคเบาหวานประมาณ 366 ล้านคน และจะเพิ่มสูงถึง 552 ล้านคน ในปี ค.ศ.2030 (Alam *et al.*, 2014; Zheng *et al.*, 2018) ซึ่งถือว่าเป็นปริมาณที่สูงมาก การรักษาโรคเบาหวานชนิดที่ 2 ในปัจจุบันมียาที่นิยมใช้ได้แก่ อะคาร์โบส (acarbose) ไมกลิทอล (miglitol) เป็นต้น อย่างไรก็ตามการรับประทานยาดังกล่าวส่งผลข้างเคียงต่อผู้ป่วย เช่น เกิดอาการท้องอืด แน่นท้อง บางครั้งถ่ายเหลว ปวดท้อง/ไม่สบายท้อง ซึ่งอาจมีสาเหตุมาจากการไปไฮเดรต

ที่ไม่ถูกย่อยเคลื่อนจากลำไส้เล็กไปยังลำไส้ใหญ่และเกิดการหมักโดยแบคทีเรียได้ผลผลิตเป็นแก๊สที่ทำให้เกิดอาการดังกล่าวขึ้น (Rosak & Mertes, 2012) ดังนั้นหากมีพืชสมุนไพรในท้องถิ่นที่มีคุณสมบัติในการช่วยรักษาโรคเบาหวานได้ เพื่อลดการใช้จ่ายและนำสมุนไพรในท้องถิ่นมาใช้ให้เกิดประโยชน์จึงเป็นทางเลือกหนึ่งที่น่าสนใจ

งวงตาล (*Borassus flabellifer* Linn male flowers) ถือเป็นสวนดอกของต้นตาลโตนด (Palmyra palm) เป็นส่วนที่ให้น้ำหวานหรือที่ทุกคนรู้จักกันดี คือ น้ำตาลสด แบ่งเป็นดอกตัวผู้และดอกตัวเมีย โดยงวงตาลคือช่อดอกตัวผู้ งวงตาลมีสรรพคุณทางยา โดยงวงตาลที่ยังอ่อนนำมาผานต้มเป็นยาบำรุงหัวใจ ยาเจริญอาหาร รักษาโรคตาขโมยในเด็ก นำมาฝนทำยารักษาแผล แก้อ่อนใน ใช้เป็นยาขับปัสสาวะ ขับพยาธิ ใช้ต้มชูกำลัง แก้อ่อนเพลีย ทำให้ชุ่มชื้น แก้เสมหะเหนียว แก้นิวไนด์และถุงน้ำดี (สำนักงานการเกษตรจังหวัดสงขลา, 2542; สมเกียรติ ชันอ่อน, 2552) อุดมไปด้วยสารต้านอนุมูลอิสระประเภทฟลาโวนอยด์และไตรเทอพีนอยด์ เป็นองค์ประกอบ (Kavatagimath *et al.*, 2016) มีฤทธิ์ในการลดระดับน้ำตาลในเลือด (Goyal *et al.*, 2014; Goyal *et al.*, 2015; Kavatagimath *et al.*, 2016) อย่างไรก็ตามข้อมูลที่ศึกษาในประเทศไทยยังมีค่อนข้างจำกัด ดังนั้นงานวิจัยนี้จึงมีวัตถุประสงค์เพื่อศึกษาองค์ประกอบทางเคมีของสารสกัดหยาบงวงตาลด้วยน้ำและเอทานอล ได้แก่ ปริมาณธาตุ สารประกอบฟีนอลิก น้ำตาลโมเลกุลเดี่ยวและน้ำตาลโมเลกุลคู่ และศึกษาฤทธิ์ยับยั้งแอลฟาอะไมเลสและแอลฟาไกลโคซิเดสของสารสกัดงวงตาลในจังหวัดเพชรบุรี เพื่อเป็นข้อมูลพื้นฐานนำไปต่อยอดพัฒนาเป็นผลิตภัณฑ์ต่างๆ ที่เหมาะสมสำหรับผู้ป่วยโรคเบาหวานต่อไป

## วิธีดำเนินการวิจัย

### 1. การเตรียมวัตถุดิบ

วัตถุดิบที่ใช้ คือ งวงตาลที่ปลูกภายในจังหวัดเพชรบุรี นำมาล้างทำความสะอาด หั่นเป็นชิ้นขนาดเล็ก ทำให้แห้งด้วยตู้อบลมร้อนที่อุณหภูมิ 60 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 24 ชั่วโมง จากนั้นนำมาบดให้ละเอียด บรรจุใส่ถุง ปิดผนึกแบบ



สูญญากาศ และเก็บรักษาจนกว่าจะนำไปใช้ในการทดลองต่อไป

## 2. การเตรียมสารสกัดจากงวงตาล

การสกัดดำเนินการโดยตัดแปลงจากวิธีของ Tsai *et al.*, (2007) นำผงงวงตาลแห้ง 10 กรัม เติมตัวทำละลาย (น้ำปราศจากไอออนหรือ 95%เอทานอล) ปริมาตร 100 มิลลิลิตร จากนั้นทำการเขย่าด้วยเครื่องบ่มเขย่าแบบควบคุมอุณหภูมิ (refrigerated shaking Incubator) ที่อุณหภูมิ 25 องศาเซลเซียส ความเร็วรอบ 150 rpm เป็นเวลา 24 ชั่วโมง เมื่อครบตามกำหนดทำการกรองสารละลายด้วยกระดาษกรองเบอร์ 4 โดยนำสารละลายที่ได้ทำการตกตะกอนด้วยเครื่องปั่นเหวี่ยงที่อุณหภูมิ 4 องศาเซลเซียส ความเร็วรอบ 8500 rpm เป็นเวลา 10 นาที นำส่วนใสที่สกัดได้แช่เย็นที่อุณหภูมิ 4 องศาเซลเซียส และนำตะกอนที่เหลือมาสกัดซ้ำอีก 1 ครั้ง นำส่วนใสที่ได้มารวมกัน ทำให้แห้งด้วยเครื่องระเหยสูญญากาศ (vacuum evaporator) ที่อุณหภูมิ 40-70 องศาเซลเซียส และทำให้แห้งด้วยเทคนิคแช่เยือกแข็ง (freeze dry) เป็นเวลา 48 ชั่วโมง เพื่อนำไปทดลองในขั้นตอนต่อไป

## 3. การวิเคราะห์องค์ประกอบทางเคมีของวัตถุดิบและสารสกัดจากงวงตาล

### 3.1 การวิเคราะห์องค์ประกอบของสารประกอบพอลิฟีนอลที่สำคัญ (Polyphenolic compounds) ในงวงตาลและสารสกัดจากงวงตาล

สารประกอบพอลิฟีนอลที่สำคัญในผงงวงตาลแห้งและสารสกัดจากงวงตาล ทำการตรวจวิเคราะห์โดยส่งตรวจที่บริษัท ห้องปฏิบัติการกลาง (ประเทศไทย) จำกัด จังหวัดเชียงใหม่ ด้วยเทคนิค Liquid chromatography-mass spectrometry (LC-MS) อ้างอิงจากวิธีวิเคราะห์ของ Peñarrieta *et al.*, (2007) โดยผลปริมาณสารประกอบพอลิฟีนอลรายงานในค่าของ มิลลิกรัมต่อกิโลกรัมของน้ำหนักสารสกัดแห้ง

### 3.2 การวิเคราะห์ปริมาณธาตุและขนาดอนุภาคของงวงตาลและสารสกัดจากงวงตาลด้วยเทคนิค Scanning Electron Microscope - Energy Dispersive X-Ray Spectroscopy (SEM-EDS)

ทำการวิเคราะห์ปริมาณธาตุและขนาดอนุภาคของผงงวงตาลแห้งและสารสกัดจากงวงตาลด้วยวิธี Scanning Electron Microscope - Energy Dispersive X-Ray Spectroscopy (SEM-EDS) ซึ่งวิธีนี้เป็นวิธีการวิเคราะห์องค์ประกอบทางเคมีด้วยสเปกโทรเมตรีรังสีเอกซ์แบบกระจายพลังงานที่ใช้ร่วมกับกล้องจุลทรรศน์อิเล็กตรอนแบบส่องกราดทำการเตรียมตัวอย่างงวงตาลและสารสกัดติดลงบน

คาร์บอนแท็บ (carbon tab) ที่อยู่บนอะลูมิเนียมมาตรฐาน (Aluminum Stub) ขนาดเส้นผ่านศูนย์กลาง 52 มิลลิเมตร จากนั้นตรวจวิเคราะห์ด้วยกล้องจุลทรรศน์อิเล็กตรอนแบบส่องกราดและตรวจวัดชนิดของธาตุ (SEM-EDS: FEI QUANTA 450, Oxford EDS XMax, England) โดยก่อนการวิเคราะห์ไม่จำเป็นต้องทำการเคลือบผิวตัวอย่างด้วยคาร์บอนหรือทองคำ ผลการวิเคราะห์ข้อมูลจะแสดงในรูปแบบเชิงพรรณนา (Descriptive Statistic) โดยทำการศึกษาปริมาณธาตุในเชิงคุณภาพและปริมาณ รายงานผลเป็นร้อยละของธาตุที่วิเคราะห์ที่มีอยู่

### 3.3 การวิเคราะห์ปริมาณน้ำตาลโมเลกุลเดี่ยวและน้ำตาลโมเลกุลคู่

การวิเคราะห์ปริมาณน้ำตาลโมเลกุลเดี่ยวและน้ำตาลโมเลกุลคู่ในผงงวงตาลแห้ง และสารสกัดจากงวงตาล ดำเนินการส่งตรวจที่บริษัท เอแอลเอส แลบอราทอรี กรุ๊ป (ประเทศไทย) จำกัด โดยการวิเคราะห์อ้างอิงตามวิธีของ AOAC (1992)

## 4. การทดสอบฤทธิ์ในการยับยั้งเอนไซม์แอลฟาไกลูโคซิเดส ( $\alpha$ -glucosidase)

การทดสอบฤทธิ์ในการยับยั้งเอนไซม์แอลฟาไกลูโคซิเดส ทำการตรวจวิเคราะห์โดยส่งตรวจที่ศูนย์นวัตกรรมสมุนไพรบวจร มหาวิทยาลัยแม่ฟ้าหลวง โดยตัดแปลงจากวิธีของ Phukhatmuen *et al.*, (2020) ซึ่งกระบวนการทดสอบต้องพิสูจน์ว่าสามารถดำเนินได้อย่างถูกต้องหรือไม่จึงจำเป็นต้องทดสอบฤทธิ์การต้านการยับยั้งของสารควบคุมเชิงบวก (อะคาร์โบส) ก่อน การเตรียมสารละลายอะคาร์โบส ทำได้โดยละลายอะคาร์โบสด้วย 5% Dimethyl sulfoxide (DMSO) ในสารละลายฟอสเฟตบัฟเฟอร์ (pH 6.8) จากนั้นเริ่มการทดสอบโดยปิเปตสารละลายอะคาร์โบสที่แต่ละความเข้มข้น ปริมาณ 50 ไมโครลิตร ผสมกับเอนไซม์แอลฟาไกลูโคซิเดส (0.35 ยูนิตต่อมิลลิลิตร) (Sigma-Aldrich, USA) ปริมาณ 100 ไมโครลิตร ในไมโครทิวป์ (microtube) บ่มเป็นเวลา 10 นาที ที่อุณหภูมิ 37 องศาเซลเซียส ปิเปตสารละลายไนโตรฟีนิล-แอลฟา-ดี-กลูโคไพราโนไซด์ (p-nitrophenyl- $\alpha$ -D-glucopyranoside, p-NPG) ความเข้มข้น 1.5 มิลลิโมลาร์ ปริมาณ 100 ไมโครลิตร ลงไปในหลอด บ่มที่อุณหภูมิ 37 องศาเซลเซียส อีกครั้งเป็นเวลา 20 นาที เมื่อครบระยะเวลาทำการหยุดปฏิกิริยาด้วยการปิเปตสารละลายโซเดียมคาร์บอเนต ( $\text{Na}_2\text{CO}_3$ ) ความเข้มข้น 1 โมลาร์ ปริมาณ 1000 ไมโครลิตร ลงไปในแต่ละไมโครทิวป์ จากนั้นทำการวัดค่าดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 405 นาโนเมตร และคำนวณเปอร์เซ็นต์การยับยั้งจากสมการดังนี้

$$\text{เปอร์เซ็นต์การยับยั้ง} = \frac{(A-B)-(C-D)}{A-B} \times 100$$

โดย

A = ค่าดูดกลืนแสงของสารละลายตัวควบคุมเชิงลบที่ประกอบด้วย 5% DMSO ในฟอสเฟตบัฟเฟอร์และเอนไซม์

B = ค่าดูดกลืนแสงของสารละลายที่ประกอบด้วย 5% DMSO ในฟอสเฟตบัฟเฟอร์

C = ค่าดูดกลืนแสงของการเกิดปฏิกิริยาในตัวอย่างที่ประกอบด้วยตัวอย่างและเอนไซม์

D = ค่าดูดกลืนแสงของสารละลายตัวควบคุมของตัวอย่างที่ประกอบด้วยสารละลายตัวอย่าง

คำนวณหาค่าความเข้มข้นของตัวอย่างที่ทำให้เกิดการยับยั้งเอนไซม์ที่ 50% ( $IC_{50}$ ) จากกราฟและสมการเส้นตรงระหว่างเปอร์เซ็นต์การยับยั้งและความเข้มข้นของตัวอย่าง

การทดสอบสารตัวอย่างดำเนินการหลังจากการทดสอบฤทธิ์การยับยั้งเอนไซม์ของสารควบคุมเชิงบวกหรืออะคาร์โบสเป็นที่เรียบร้อยแล้ว โดยเริ่มจากการเตรียมสารละลายตัวอย่างให้ได้ความเข้มข้นอยู่ในช่วง 10-1000 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร ด้วยสารละลาย 5% DMSO ในฟอสเฟตบัฟเฟอร์ (pH 6.8) สำหรับการทดสอบฤทธิ์การยับยั้งนั้นสามารถดำเนินการได้โดยใช้ขั้นตอนเช่นเดียวกันกับการทดสอบสารละลายอะคาร์โบสข้างต้น โดยเปลี่ยนจากสารละลายอะคาร์โบสเป็นสารละลายตัวอย่างในแต่ละความเข้มข้น โดยแต่ละตัวอย่างทำการทดสอบ 3 ซ้ำ

### 5. การทดสอบฤทธิ์ในการยับยั้งเอนไซม์แอลฟา อะไมเลส ( $\alpha$ -amylase)

การทดสอบฤทธิ์ในการยับยั้งเอนไซม์แอลฟาอะไมเลส ทำการตรวจวิเคราะห์โดยส่งตรวจที่ศูนย์นวัตกรรมสมุนไพรครบวงจร มหาวิทยาลัยแม่ฟ้าหลวง โดยดัดแปลงจากวิธีของ Kusano *et al.*, (2011) เริ่มจากการเตรียมสารละลายตั้งต้น โดยละลายแป้ง (starch) จำนวน 500 มิลลิกรัม ด้วยสารละลายโซเดียมไฮดรอกไซด์ความเข้มข้น 0.4 โมลาร์ ปริมาณ 25 มิลลิลิตร คนให้เข้ากันและต้มที่ 100 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 5 นาที หลังจากนั้นทำให้สารละลายเย็นตัวลงโดยการแช่ภาชนะบรรจุสารละลายไว้ในอ่างน้ำแข็ง เมื่อสารละลายเย็นตัวลง นำสารละลายมาปรับค่าพีเอชด้วยสารละลายไฮโดรคลอริกความเข้มข้น 2 โมลาร์ จนได้ค่าพีเอชเท่ากับ 7 ปรับปริมาตรให้เป็น 100 มิลลิลิตร ด้วยน้ำปราศจากไอออน เพื่อเตรียมใช้สำหรับการทดสอบฤทธิ์การยับยั้ง

ในเบื้องต้นเพื่อพิสูจน์ว่ากระบวนการดังกล่าวสามารถดำเนินไปอย่างถูกต้องหรือไม่ จำเป็นต้องทำการทดสอบฤทธิ์การต้านการยับยั้งของสารควบคุมเชิงบวกโดยใช้อะคาร์โบสก่อน โดยละลายตัวอย่างอะคาร์โบสด้วยสารละลายอะซีเตทบัฟเฟอร์ (acetate buffer, pH 6.5) จากนั้นเริ่มทำการทดสอบฤทธิ์โดยปิเปตสารตั้งต้น 120 ไมโครลิตร สารละลายอะคาร์โบส 60 ไมโครลิตร ผสมในไมโครทิวป์แล้วบ่มที่อุณหภูมิ 37 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 3 นาที ปิเปตสารละลายเอนไซม์แอลฟาอะไมเลส (28 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร) (Sigma-Aldrich, USA) แล้วบ่มอีกครั้งที่อุณหภูมิ 37 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 15 นาที เมื่อครบระยะเวลาทำการหยุดปฏิกิริยาของเอนไซม์โดยปิเปตสารละลายไฮโดรคลอริกความเข้มข้น 0.1 โมลาร์ ปริมาณ 240 ไมโครลิตร และสารละลายไอโอดีนความเข้มข้น 0.1 มิลลิโมลาร์ ปริมาณ 300 ไมโครลิตร ลงไปในแต่ละไมโครทิวป์ จากนั้นทำการวัดค่าการดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 650 นาโนเมตร และคำนวณเปอร์เซ็นต์การยับยั้งจากสมการดังนี้

$$\text{เปอร์เซ็นต์การยับยั้ง} = \frac{1-(A2-A1)}{A3-A4} \times 100$$

โดยที่

A1 คือ ค่าดูดกลืนแสงของสารละลายที่ประกอบด้วยตัวอย่าง สารละลายแป้ง และเอนไซม์

A2 คือ ค่าดูดกลืนแสงของสารละลายที่ประกอบด้วยตัวอย่างและสารละลายแป้ง

A3 คือ ค่าดูดกลืนแสงของสารละลายที่ประกอบด้วยสารละลายแป้งและเอนไซม์

A4 คือ ค่าดูดกลืนแสงของสารละลายที่ประกอบด้วยสารละลายแป้ง

จากนั้นคำนวณหาค่าความเข้มข้นของตัวอย่างที่ทำให้เกิดการยับยั้งเอนไซม์ที่ 50% ( $IC_{50}$ ) จากกราฟและสมการเส้นตรงระหว่างเปอร์เซ็นต์การยับยั้งและความเข้มข้นของตัวอย่าง

การทดสอบกับสารตัวอย่าง ทำได้โดยเตรียมสารละลายตัวอย่างให้ได้ความเข้มข้นของสารละลายอยู่ในช่วง 1-10 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร ด้วยสารละลายอะซีเตทบัฟเฟอร์ (pH 6.5) การทดสอบฤทธิ์ยับยั้งสามารถดำเนินการได้โดยใช้ขั้นตอนเช่นเดียวกับการทดสอบสารละลายอะคาร์โบสข้างต้น โดยเปลี่ยนเป็นสารละลายตัวอย่างในแต่ละความเข้มข้น โดยแต่ละตัวอย่างทำการทดสอบ 3 ซ้ำ

## ผลและวิจารณ์ผลการทดลอง

### 1. การวิเคราะห์ปริมาณสารประกอบฟีนอลิกในวงตาลและสารสกัดจากวงตาล

ผลการวิเคราะห์ปริมาณสารประกอบฟีนอลิกในวงตาลแห้งและสารสกัดหยาบเอทานอลและน้ำจากวงตาล แสดงดังตารางที่ 1 พบว่า สารประกอบฟีนอลิกที่พบโดยมีปริมาณเรียงลำดับจากมากไปหาน้อย ได้แก่ แทนนิน กรดแกลลิก ไอโซควอเซทิน ควอเซทิน คาเทชิน รูทีน และอะพิจินีตามลำดับ โดยจะพบว่า สารสกัดหยาบเอทานอลมีปริมาณกรดแกลลิก อะพิจินี ควอเซทิน และรูทีน (302.15, 25.11, 170.44 และ 72.82 มิลลิกรัมต่อกิโลกรัม ตามลำดับ) สูงกว่าวงตาล (212.61, 22.14, 111.38 และ 59.79 มิลลิกรัมต่อกิโลกรัม ตามลำดับ) ในขณะที่สารสกัดหยาบน้ำมีปริมาณอะพิจินี ควอเซทิน และรูทีน (27.27, 140.69 และ 72.63 มิลลิกรัมต่อกิโลกรัม ตามลำดับ) สูงกว่าวงตาล การสกัดด้วยเอทานอลจะให้ปริมาณกรดแกลลิกและควอเซทินสูงกว่า แต่ให้ปริมาณแทนนิน ไอโซควอเซทิน และคาเทชินต่ำกว่า

การสกัดด้วยน้ำ การสกัดอะพิจินีและรูทีนไม่ขึ้นกับชนิดของตัวทำละลายที่ใช้สกัด แสดงว่ากระบวนการสกัดทำให้สารประกอบฟีนอลิกบางชนิดมีปริมาณเพิ่มสูงขึ้น Terao (1999) ระบุว่าสารฟลาโวนอยด์ที่พบในพืชผลไม้โดยทั่วไปคือ สารควอซีทินไกลโคไซด์ (Quercetin glycosides) แบ่งเป็น 3 ชนิด ได้แก่ รูทีน (Rutin) ควอเซทิน (Quercetin) และควอซีมิริทริน (Quercimeritrin) สามารถแบ่งฟลาโวนอยด์เป็น 2 ประเภท คือ สารฟลาโวนอยด์ชนิดที่ชอบน้ำ สามารถละลายน้ำได้ดี ได้แก่ รูทีน และไอโซควอเซทิน และฟลาโวนอยด์ชนิดที่ไม่ชอบน้ำ ละลายน้ำไม่ดี ได้แก่ ควอเซทิน แต่สามารถละลายได้ดีในตัวทำละลายอื่นๆ เช่น เอทานอล ทำให้พบรูทีนและควอเซทินในสารสกัดหยาบเอทานอลและน้ำในปริมาณที่เพิ่มขึ้นเมื่อเทียบกับวัตถุดิบนั้นเอง ในขณะที่หลังการสกัดแทนนินและคาเทชินจะมีปริมาณลดลงเมื่อผ่านกระบวนการสกัด แต่ยังคงมีอยู่ในปริมาณที่ค่อนข้างสูงซึ่งแสดงว่าวงตาลและสารสกัดวงตาลมีคุณสมบัติในการเป็นสารต้านอนุมูลอิสระ

**Table 1** Polyphenolic compound (mg/kg) of *Borassus flabellifer* L. male flowers and extracts.

Polyphenolic compound	Content (mg/kg)		
	<i>Borassus flabellifer</i> L. male flowers	Water crude extract	Ethanol crude extract
Gallic acid	212.61	138.55	302.15
Eriodictyol	ND	ND	ND
Apigenin	22.14	27.27	25.11
Isoquercetin	120.76	89.37	59.27
Kaempferol	ND	ND	ND
Quercetin	111.38	140.69	170.44
Hydroquinin	ND	ND	ND
Rutin	59.79	72.63	72.82
Catechin	100.32	88.95	66.97
Tannic acid	712.88	617.81	588.04

ND = Not Detected

สารประกอบฟีนอลิกพบได้ในพืชที่มีในธรรมชาติมากมายหลายชนิด โดยพบในผักผลไม้ชนิดต่างๆ มีสูตรโครงสร้างทางเคมีเป็นวงแหวนที่มีหมู่ไฮดรอกซิลอย่างน้อยหนึ่งหมู่หรือมากกว่านั้น มีความสามารถละลายน้ำได้ มักจะรวมอยู่ในโมเลกุลของน้ำตาลในรูปของสารประกอบไกลโคไซด์ (Glycosides) และพบได้ในส่วนของช่องว่างภายในเซลล์ (Cell vacuole) การที่มีสูตรทางเคมีแตกต่างกันโดยมีจำนวนคาร์บอนและหมู่ที่เข้ามาแทนที่ในตำแหน่งต่างๆ ทำให้จำแนกสารประกอบฟีนอลิกได้มากกว่า 8,000 ชนิด

โดยจำแนกเป็นกลุ่มๆ ได้แก่ กรดฟีนอลิก (Phenolic acids) ลิกนิน (Lignin) กรด ไฮดรอกซินนามิก และอนุพันธ์ (Hydroxycinnamic acid and derivatives) และฟลาโวนอยด์ (Flavonoids) เป็นต้น (นิธิยา รัตนพานนท์, 2546) ฟลาโวนอยด์จัดเป็นสารพิษเคมีที่พบได้ทั่วไปในพืชหลากหลายชนิดพบได้ในส่วนต่างๆ ของพืช ไม่ว่าจะเป็นใบ เมล็ด เปลือก และดอก ในปัจจุบันพบว่ามีย้อมมากกว่า 4,000 ชนิด คุณสมบัติหลักของฟลาโวนอยด์คือ ต่อด้านอนุมูลอิสระ นอกจากนี้ยังให้ฤทธิ์อื่นๆ เช่น ฤทธิ์ในการต้านจุลินทรีย์ก่อโรค ฤทธิ์

ต้านมะเร็งฤทธิ์ต้านการอักเสบ ฤทธิ์ต้านอาการแพ้ และป้องกันโรคเกี่ยวกับหัวใจและหลอดเลือด เป็นต้น (ชิตากานต์ รัตนบรรณางกูร, 2554; Heim *et al.*, 2002)

จากผลข้างต้นสารประกอบฟีนอลิกที่พบมากที่สุดคือ กรดแทนนิกหรือแทนนิน แทนนินซึ่งเป็นฟีนอลิกที่มีรสฝาดในพืชบางชนิดเป็นพิเศษ สามารถยับยั้งการเกิดเอนไซม์ที่ช่วยย่อยอาหารในกระเพาะอาหารพวกสแตว์ มีโมเลกุลขนาดใหญ่และโครงสร้างซับซ้อน มีความเป็นกรดอ่อนๆ รสค่อนข้างฝาด แทนนินที่พบในพืชมี 2 ชนิด คือ คอนแดนส์แทนนินหรือเรียกอีกอย่างหนึ่งว่า โปรแอนโทไซยานิน (proanthocyanin) มักพบในเปลือกและแก่นของต้นไม้ และอีกชนิดหนึ่งคือสารไฮโดรไลซ์แทนนิน มักพบมากในส่วนของผัก ใบบ และส่วนที่ปูดออกมาเมื่อต้นไม้ได้รับอันตราย คุณสมบัติของแทนนินมีมากมาย เช่น คุณสมบัติตกตะกอนโปรตีน มีฤทธิ์ยับยั้งการเจริญของแบคทีเรียและเชื้อราได้ ใช้เป็นยาแก้ท้องร่วง แก้บิด สมานแผล (เสาวนีย์ ชัยเพชร และคณะ, 2559; พิมพ์เพ็ญ พรเฉลิมพงศ์, 2565) ในขณะที่กรดแกลลิกเป็นสารประกอบฟีนอลิกที่มีโครงสร้างทางเคมีเป็นกลุ่มไฮดรอกซิล ภายในโมเลกุลสามารถให้อิเล็กตรอนกับโมเลกุลอื่นได้ดี ด้วยกลไกนี้สารนี้จึงมีคุณสมบัติเป็นสารต้านอนุมูลอิสระที่ดี นิยมใช้เตรียมเป็นสารมาตรฐานในการวัดความสามารถต้านอนุมูลอิสระเนื่องจากสามารถละลายน้ำได้ดี (กิตติพัฒน์ ไสภิตธรรมคุณ และปานทิพย์ รัตนศิลป์ กัลชาญ, 2560) นอกจากนี้ Wafaa *et al.*, (2010) ระบุว่า สารประกอบที่มีอยู่ในธรรมชาติโดยเฉพาะในพืชสมุนไพรต่างๆ เช่น แอลคาลอยด์ กรดแกลลิก และฟลาโวนอยด์ มีฤทธิ์ในการยับยั้งแอลฟาไกลูโคซิเดสได้

**2. การวิเคราะห์ปริมาณธาตุและขนาดอนุภาคของวงตาลและสารสกัดจากวงตาลด้วยเทคนิค Scanning Electron Microscope - Energy Dispersive X-Ray Spectroscopy (SEM-EDS)**

การวิเคราะห์ปริมาณแร่ธาตุของวงตาลและสารสกัดเป็นการศึกษาเพื่อเป็นข้อมูลเบื้องต้นว่ามีธาตุใดเป็นองค์ประกอบ และกระบวนการสกัดส่งผลต่อปริมาณธาตุของสารสกัดอย่างไร เพราะแร่ธาตุแต่ละชนิดส่งผลต่อสุขภาพของผู้บริโภคแตกต่างกันไป เทคนิค Energy Dispersive X-Ray Spectroscopy (EDS) เป็นการวิเคราะห์องค์ประกอบทางเคมีด้วยสเปกโทรเมตรีรังสีเอกซ์แบบกระจายพลังงานที่ใช้ร่วมกับกล้องจุลทรรศน์อิเล็กตรอนแบบส่องกราด ซึ่งมีบทบาทสำคัญในปัจจุบันในการวิเคราะห์ธาตุทั้งทางด้านวัสดุศาสตร์ ชีวภาพ กายภาพ และอุตสาหกรรมอิเล็กทรอนิกส์ที่มีชิ้นส่วนขนาดเล็ก (ตลฤดี โตเย็น, 2565) ข้อดีของการใช้เทคนิค EDS ในการวิเคราะห์ คือ เป็นการตรวจวิเคราะห์ในเชิงคุณภาพซึ่งสามารถตรวจสอบตัวอย่างได้ครั้งละหลายๆ ธาตุพร้อมกันและใช้เวลาค่อนข้างสั้นในการตรวจวิเคราะห์ นอกจากนี้สภาพของตัวอย่างจะไม่ถูกทำลายหรือเสียสภาพเดิม และสามารถตรวจสอบวัตถุตัวอย่างในสภาพของแข็งได้อีกด้วย ดังนั้นเมื่อใช้เทคนิค EDS ร่วมกับการใช้กล้องจุลทรรศน์ SEM (SEM - EDS) จะทำให้สามารถวิเคราะห์องค์ประกอบและการมีอยู่ของธาตุบนพื้นผิวชิ้นงานตัวอย่างได้ละเอียดและมีความสมบูรณ์มากยิ่งขึ้น (พิชิตพล ราชคม และพัชราสินลอมมา, 2564)

ผลการวิเคราะห์ปริมาณธาตุในวงตาลและสารสกัดหายจากวงตาลแสดงดัง Table 2 พบว่า ธาตุคาร์บอนเป็นองค์ประกอบหลักในวงตาลและสารสกัดหายน้ำและเอทานอล โดยมีปริมาณร้อยละ 63.94, 49.99 และ 64.69 ตามลำดับ รองลงมาคือ ออกซิเจน คลอรีน และโพแทสเซียมตามลำดับ โดยสารสกัดหายน้ำมีปริมาณคลอรีน โพแทสเซียม ฟอสฟอรัส เพิ่มขึ้นหลังการสกัดอย่างเห็นได้ชัดเช่นเดียวกับสารสกัดหายเอทานอล นอกจากนี้สารสกัดหายน้ำและเอทานอลไม่พบธาตุกำมะถันเมื่อผ่านกระบวนการสกัด

**Table 2** Element content (%) of *Borassus flabellifer* L. male flowers and extracts by Energy Dispersive X-Ray Spectroscopy (EDS) technique.

Element	Content (%)		
	<i>Borassus flabellifer</i> L. male flowers	Water crude extract	Ethanolic crude extract
C	63.94 ± 4.0	49.99 ± 7.69	64.69 ± 2.07
O	30.91 ± 4.56	23.64 ± 6.06	27.42 ± 5.08
Na	0.41 ± 0.18	0.98 ± 0.28	0.32 ± 0.08
Mg	0.32 ± 0.17	1.14 ± 0.31	0.06 ± 0.02
Al	0.32 ± 0.04	0.42 ± 0.13	0.52 ± 0.34
Si	0.44 ± 0.53	0.10 ± 0.02	0.14 ± 0.04



**Table 2** Element content (%) of *Borassus flabellifer* L. male flowers and extracts by Energy Dispersive X-Ray Spectroscopy (EDS) technique (cont.)

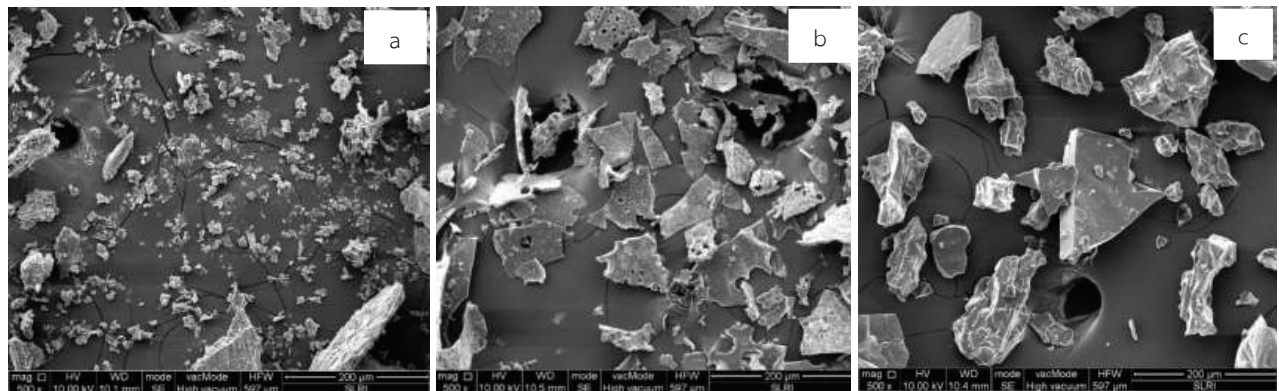
Element	Content (%)		
	<i>Borassus flabellifer</i> L. male flowers	Water crude extract	Ethanollic crude extract
P	0.28 ± 0.29	0.73 ± 0.23	-
S	0.39 ± 0	-	-
Cl	1.73 ± 1.11	11.44 ± 5.54	3.80 ± 1.94
K	1.74 ± 1.26	11.55 ± 6.22	2.68 ± 1.94
Ca	0.30 ± 0.11	0.43 ± 0.11	-
Cu	0.27 ± 0.10	-	0.67 ± 0.63

เมื่อทำการวิเคราะห์ลักษณะอนุภาคของวงตาลแห้งและสารสกัดจากวงตาลด้วยกล้องจุลทรรศน์อิเล็กตรอนแบบส่องกราด (SEM) ที่กำลังขยาย 500 เท่า (Figure 1) พบว่าสารสกัดจากวงตาลจะมีลักษณะของอนุภาคที่ใกล้เคียงกันและมีขนาดอนุภาคค่อนข้างสม่ำเสมอ ขณะที่วงตาลแห้งจะมีลักษณะของขนาดอนุภาคไม่สม่ำเสมอแตกต่างกันอย่างเห็นได้ชัด ซึ่งสารสกัดมีแนวโน้มที่จะสามารถละลายได้ในตัวทำละลายน้ำได้ดีกว่าหากพิจารณาในการนำไปต่อยอดเพื่อพัฒนาเป็นผลิตภัณฑ์เพื่อสุขภาพต่อไปในอนาคตโดยเฉพาะการบริโภคในรูปแบบเครื่องดื่มเพื่อสุขภาพ เมื่อทำการวิเคราะห์ขนาดของอนุภาคของสารสกัด พบว่า ทั้งสองชนิดมีขนาดใกล้เคียงกัน โดยมีค่าขนาดอนุภาคของสารสกัดหยาดน้ำและเอทานอล เป็น 70.31 และ 78.96 ไมโครเมตร ตามลำดับ

### 3. การวิเคราะห์ปริมาณน้ำตาลโมเลกุลเดี่ยวและน้ำตาลโมเลกุลคู่ในวงตาลและสารสกัดจากวงตาล

ผลการวิเคราะห์ปริมาณน้ำตาลโมเลกุลเดี่ยวและน้ำตาลโมเลกุลคู่ในวงตาลและสารสกัดจากวงตาลแสดงดัง Table 3 พบเพียงน้ำตาลฟรักโทสในวงตาลและสารสกัด

หยาดเอทานอล และน้ำตาลซูโครสในสารสกัดหยาดจากเอทานอล ในขณะที่สารสกัดหยาดจากน้ำไม่พบน้ำตาลเลย อาจกล่าวได้ว่าการบริโภคสารสกัดจากวงตาลเหมาะสำหรับผู้ที่ เป็นโรคเบาหวาน โดยจากการสำรวจในเบื้องต้นมีคนในชุมชนของจังหวัดเพชรบุรีนิยมนำวงตาลมาบริโภคในรูปแบบน้ำชาเพื่อประโยชน์ในด้านการดูแลสุขภาพโดยเฉพาะคุณสมบัติการต้านโรคเบาหวาน ซึ่งวงตาลถือว่าเป็นวัตถุดิบเริ่มต้นสำหรับการผลิตน้ำตาลสด จากงานวิจัยของรพีพร เอี่ยมสอาด และคณะ (2557) ได้ทำการศึกษาคูสมบัติทางเคมีกายภาพของน้ำตาลโตนด พบว่า น้ำตาลโตนดสดมีปริมาณน้ำตาลทั้งหมดร้อยละ 14.30 น้ำตาลรีตีวซ์เท่ากับร้อยละ 1.85 ประกอบด้วยน้ำตาลฟรักโทส กลูโคส ซูโครส และมอลโทสร้อยละ 0.87, 0.95, 12.50 และ 0.51 ตามลำดับ จะพบว่าในน้ำตาลสดพบน้ำตาลโมเลกุลเดี่ยวและโมเลกุลคู่ในขณะที่ในวงตาลและสารสกัดจากวงตาลพบเพียงไม่กี่ชนิด ทั้งนี้ อาจเนื่องมาจากปัจจัยในระหว่างกระบวนการบีบวงตาลก่อนที่จะเก็บกักเป็นน้ำตาลสด อย่างไรก็ตามในประเด็นนี้เป็นสิ่งที่น่าสนใจที่จะทำการศึกษาต่อไปในอนาคตถึงความแตกต่างของปริมาณน้ำตาลที่เกิดขึ้นจากการทดลองนี้



**Figure 1** Particle characteristics of (a) *Borassus flabellifer* L. male flowers powder (b) water crude extract (c) ethanolic crude extract by Scanning Electron Microscope (SEM) at 500X



**Table 3** Type and content of monosaccharides and disaccharides (g/100 g) in *Borassus flabellifer* L. male flowers and extracts

Monosaccharides & disaccharides	Content (g/100 g)		
	<i>Borassus flabellifer</i> L. male flowers	Water crude extract	Ethanollic crude extract
Fructose	0.74	ND	0.91
Glucose	ND	ND	ND
Lactose	ND	ND	ND
Maltose	ND	ND	ND
Sucrose	ND	ND	0.77
Total sugars	0.74	ND	1.68

ND = Not detected

**4. การทดสอบฤทธิ์ในการยับยั้งแอลฟาอะไมเลส ( $\alpha$ -amylase) และแอลฟาไกลูโคซิเดส ( $\alpha$ -glucosidase)**

เบาหวานเป็นโรคที่เกิดจากความผิดปกติของการเผาผลาญสารอาหารประเภทคาร์โบไฮเดรต โปรตีน ไขมัน เนื่องมาจากร่างกายผลิตอินซูลินไม่เพียงพอหรือมีภาวะดื้อต่ออินซูลิน ส่งผลให้เกิดภาวะน้ำตาลในเลือดสูง ซึ่งแนวทางในการรักษาโรคเบาหวาน คือ การพยายามที่จะลดระดับน้ำตาลในเลือดโดยการยับยั้งเอนไซม์ที่ย่อยอาหารจำพวกคาร์โบไฮเดรต ซึ่งชนิดที่สำคัญ ได้แก่ แอลฟาไกลูโคซิเดส ( $\alpha$ -glucosidase) และแอลฟา อะไมเลส ( $\alpha$ -amylase) ปัจจุบันมียาที่มีฤทธิ์ในการยับยั้งการทำงานของแอลฟาไกลูโคซิเดส ( $\alpha$ -glucosidase inhibitors) หลายชนิด ได้แก่ อะคาร์โบส (acarbose), ไมกลิทอล (miglitol) และวอกลีโบส (voglibose) (กานต์ศศิณ เที่ยอรุ่น, 2559) ดังนั้นในการทดสอบนี้จึงใช้อะคาร์โบสเป็นสารควบคุมเชิงบวก ผลการทดสอบฤทธิ์ยับยั้งแอลฟาไกลูโคซิเดส (Table 4) พบว่า ตัวอย่างวงตาล สารสกัดหยาบเอทานอล และสารสกัดหยาบน้ำ มีค่าความเข้มข้นของสารสกัดพืชตัวอย่างที่มีฤทธิ์ในการยับยั้งกิจกรรมเอนไซม์ได้ร้อยละ 50 ( $IC_{50}$ ) ที่ 7.76, 14.87 และ 2.25 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร ตามลำดับ ในขณะที่สารควบคุมเชิงบวก (อะคาร์โบส) มีค่า  $IC_{50}$  ที่ 46.03 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร แสดงว่า สารสกัดหยาบน้ำ สารสกัดหยาบเอทานอล และวงตาลซึ่งเป็นวัตถุดิบเริ่มต้นแสดงฤทธิ์ยับยั้งแอลฟาไกลูโคซิเดสได้ดี โดยเฉพาะสารสกัดหยาบน้ำ

มีค่า  $IC_{50}$  ต่ำกว่าสารควบคุมเชิงบวก ซึ่งแสดงว่าสารสกัดที่ได้จากการสกัดด้วยน้ำมีแนวโน้มในการเกิดคุณสมบัติการต้านโรคเบาหวานได้ดีกว่าการสกัดด้วยเอทานอล

ผลการทดสอบฤทธิ์ยับยั้งแอลฟาอะไมเลส (Table 4) พบว่า ตัวอย่างวงตาล สารสกัดหยาบเอทานอล และสารสกัดหยาบน้ำ มีค่า  $IC_{50}$  ที่ 519.30, 958.74 และ 177.16 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร ตามลำดับ ในขณะที่สารควบคุมเชิงบวกอะคาร์โบส มีค่า  $IC_{50}$  ที่ 66.75 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร แสดงว่า วงตาลและสารสกัดจากวงตาลทั้งสองชนิดแสดงฤทธิ์ยับยั้งแอลฟาอะไมเลสได้ไม่ดีเมื่อเทียบกับสารควบคุมเชิงบวก แต่อย่างไรก็ตามผลที่ได้สารสกัดหยาบน้ำแสดงฤทธิ์ยับยั้งแอลฟาอะไมเลสได้ดีกว่าการสกัดด้วยเอทานอล ผลการศึกษาในวงตาลนี้เป็นไปในแนวทางเดียวกับงานวิจัยที่ทำการศึกษาศมุนไพรพื้นบ้านไทยชนิดอื่นๆ ที่มีฤทธิ์ยับยั้งแอลฟา อะไมเลส โดยพรชนก ซิลปกรณ และพงศธร กล่อมสกุล (2560) ได้ทำการศึกษาฤทธิ์ในการยับยั้งแอลฟา อะไมเลสและแอลฟาไกลูโคซิเดสของสารสกัดฝาง ม้ากระที่บโรง และปลาไหลเผือก ผลการทดลองพบว่า สารสกัดฝางสามารถยับยั้งแอลฟาอะไมเลสและแอลฟาไกลูโคซิเดสได้ดีที่สุด รองลงมาคือ ม้ากระที่บโรงและปลาไหลเผือก ตามลำดับ นอกจากนี้ วิชา ไตรบุญ (2558) ศึกษาฤทธิ์ในการยับยั้งแอลฟาไกลูโคซิเดสจากสารสกัดเหง้าว่านนางคำพบว่า สารสกัดมีฤทธิ์ในการยับยั้งได้ดี ซึ่งดีกว่าอะคาร์โบสที่เป็นสารมาตรฐานถึง 12.6 เท่า

**Table 4**  $\alpha$ -amylase and  $\alpha$ -glucosidase Inhibitory activities of *Borassus flabellifer* L. male flowers and extracts.

Sample	$\alpha$ -glucosidase Inhibitory activity, $IC_{50}$ ( $\mu$ g/mL)	$\alpha$ -amylase Inhibitory activity, $IC_{50}$ ( $\mu$ g/mL)
<i>B. flabellifer</i> L. male flowers	7.76 $\pm$ 0.05	519.30 $\pm$ 4.97
Ethanollic crude extract	14.87 $\pm$ 0.05	958.74 $\pm$ 3.23
Water crude extract	2.25 $\pm$ 0.00	177.16 $\pm$ 3.96
Acarbose	46.03 $\pm$ 0.19	66.75 $\pm$ 0.89

## สรุปผลการทดลอง

จากการวิเคราะห์สารประกอบฟีนอลิก พบว่า สารประกอบฟีนอลิกที่มีปริมาณสูงที่สุดในวงตาลและสารสกัด หยาดน้ำและเอทานอล คือ แทนนิน รองลงมาได้แก่ กรดแกลลิก ไอโซควอเซทิน ควอเซทิน คาเทชิน รูทีน และอะพิเจนิน ตามลำดับ การวิเคราะห์ธาตุด้วย สเปกโทรเมตรีรังสีเอกซ์ แบบกระจายพลังงานที่ใช้ร่วมกับกล้องจุลทรรศน์อิเล็กตรอน แบบส่องกราด พบว่า มีคาร์บอนเป็นธาตุองค์ประกอบหลัก รองลงมาคือ ออกซิเจน คลอรีน และโพแทสเซียม ตามลำดับ และมีขนาดอนุภาคค่อนข้างสม่ำเสมอ การทดสอบฤทธิ์ในการ ยับยั้งแอลฟาอะไมเลส และแอลฟาไกลูโคซิเดส พบว่า สารสกัด หยาดน้ำและเอทานอลแสดงฤทธิ์ยับยั้งแอลฟาไกลูโคซิเดสได้ดี แต่แสดงฤทธิ์ยับยั้งแอลฟาอะไมเลสได้ไม่ดี โดยพบว่าสารสกัด หยาดน้ำจะให้ผลยับยั้งเอนไซม์ทั้งสองชนิดได้ดีกว่าสารสกัด หยาดเอทานอล แสดงให้เห็นว่าสารสกัดจากวงตาลอุดม ไปด้วยสารประกอบ ฟีนอลิกที่มีคุณสมบัติต้านอนุมูลอิสระ และยังช่วยลดระดับน้ำตาลในเลือดโดยการยับยั้งเอนไซม์ แอลฟาไกลูโคซิเดสได้ดีจึงเหมาะต่อการพัฒนาเป็นผลิตภัณฑ์ สำหรับผู้ป่วยโรคเบาหวาน

## กิตติกรรมประกาศ

งานวิจัยฉบับนี้สำเร็จลุล่วงไปด้วยดีต้องขอ ขอบพระคุณ กองทุนวิทยาศาสตร์ วิจัยและนวัตกรรม (ววน.) ที่ได้ให้เงินทุนสนับสนุนการวิจัยประจำปีงบประมาณ 2564 ขอขอบพระคุณสถาบันวิจัยแสงซินโครตรอน (องค์การ มหาชน) ที่ให้การสนับสนุนสถานที่และร่วมทำการวิจัยใน ครั้งนี้ ขอขอบพระคุณคณะวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยี และ สถาบันวิจัยและส่งเสริมศิลปวัฒนธรรม มหาวิทยาลัยราชภัฏ เพชรบุรีที่ให้การสนับสนุนและอำนวยความสะดวกในการทำ วิจัย

## เอกสารอ้างอิง

กานต์ศศิณ เตียรอุ้น. (2559). การศึกษาฤทธิ์ลดระดับน้ำตาล ในเลือดของสารสกัดชั้นน้ำของใบตาลสุกในหนูขาวที่ถูก เหนี่ยวนาให้เป็นโรคเบาหวานด้วยสเตรปโตโซโตซิน [วิทยานิพนธ์ระดับปริญญาโท, สาขาวิชาเภสัชวิทยา]. มหาวิทยาลัยสงขลานครินทร์.  
กิตติพัฒน์ ไสภิตธรรมคุณ และปานทิพย์ รัตนศิลป์ กัลชาญ. (2560). การสกัดและวิธีวัดความสามารถต้านอนุมูล อิสระในพืชสมุนไพร. *วารสารวิทย์.เทคโนโลยี.หัวเฉียว เฉลิมพระเกียรติ*, 3(1), 86-94.  
ดลฤดี โตเย็น. (2565). การวิเคราะห์ธาตุและองค์ประกอบด้วย เทคนิค Energy Dispersive X-ray Spectroscopy (EDS). <http://www3.rdi.ku.ac.th/knowledge/EDS>.

ธิดากานต์ รัตนบรรณางกูร. (2554). วิตามินบีเบิล. สำนักพิมพ์ อมรินทร์สุขภาพ.  
นิธิยา รัตนปานนท์. (2546). *สารประกอบฟีนอลิก*. สำนักพิมพ์ โอเดียนสโตร์.  
พรชนก ซิลปกรณ และพงศธร กล่อมสกุล. (2560). ฤทธิ์ในการยับยั้งแอลฟาอะไมเลสและแอลฟาไกลูโคซิเดสของ สารสกัดฝาง ม้ากระทืบโรง และปลาไหลเผือก. *วารสาร วิจัยราชภัฏพระนคร สาขาวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยี*, 12(1), 63-73.  
พิชิตพล ราชคม และพัชรา สิ้นลอยมา. (2564). การเปรียบเทียบลักษณะทางกายภาพและปริมาณเขม่าดินปืน บนผ้าภายหลังการยิงด้วยเทคนิค SEM/EDX. *บัณฑิต วิทยาลัย มหาวิทยาลัยสวนดุสิต*, 17(13), 113-128.  
พิมพ์เพ็ญ พรเฉลิมพงศ์. (2565). Tannin/แทนนิน. <https://www.foodnetworksolution.com/wiki/word/2376/tannin-แทนนิน>.  
รพีพร เอี่ยมสะอาด, เบญจวรรณ ธรรมชนารักษ์, รัฐกรณธ์ จำนงค์ผล และสุภาภรณ์ เลขวัตร. (2557). คุณสมบัติทาง เคมีกายภาพและการต้านอนุมูลอิสระของน้ำตาลโดนด. *วารสารวิทยาศาสตร์เกษตร*, 45(2), 657-660.  
วิชา ไตรบุญ. (2558). การศึกษาโครงสร้างและฤทธิ์ในการ ยับยั้งการทำงานของเอนไซม์แอลฟาไกลูโคซิเดส จาก องค์ประกอบทางเคมีของเหง้าว่านนางคำ [วิทยานิพนธ์ หลักสูตรวิทยาศาสตรมหาบัณฑิต, สาขาวิชาเคมี]. มหาวิทยาลัยศิลปากร.  
สมเกียรติ ชันอ่อน. (2552). การพัฒนาและการผลิตสารสกัด จากไม้พะยอมในรูปแบบผงเพื่อใช้ในกระบวนการผลิต น้ำตาลสด [วิทยานิพนธ์วิทยาศาสตรบัณฑิต, สาขา วิทยาศาสตร์ศึกษา]. มหาวิทยาลัยราชภัฏอุบลราชธานี.  
สำนักงานการเกษตรจังหวัดสงขลา. (2542). *ตาลโดนดสงขลา*. สำนักงานการเกษตรจังหวัดสงขลา.  
เสาวนีย์ ชัยเพชร, อภิญา วณิชพันธ์ และสมคิด ชัยเพชร. (2559). ผลของการทำแห้ง การสกัด และการ วิเคราะห์เชิงปริมาณของสารออกฤทธิ์จากพืชวงศ์ *Dipterocarpaceae* สู่ทิศทางด้านอาหาร. รายงานการ วิจัยทุนสนับสนุนจากมหาวิทยาลัยเทคโนโลยีราชมงคล ศรีวิชัยที่สนับสนุนงบประมาณแผ่นดินประจำปี พ.ศ. 2557-2558.  
Alam, U., Asghar, O., Azmi, S., & Malik, R. A. (2014). Chapter 15-General aspects of diabetes mellitus. *Handbook of Clinical Neurology*, 126, 211-222.  
AOAC. (1992). Official methods of analysis. *Association of Officiating Analytical Chemists*, 75(3), 443-464.

- Heim, K. E., Tagliaferro, A. R., & Bobilya, D. J. (2002). Flavonoid antioxidants: chemistry, metabolism and structure-activity relationships. *Journal of Nutritional Biochemistry*, 13, 572-584.
- Kavatagimath, S. A., Jalalpure, S. S., & Hiremath, R. D. (2016). Screening of ethanolic extract of *Borassus flabellifer* flowers for its antidiabetic and antioxidant potential. *Journal of Natural Remedies*, 16, 22-32.
- Kusano, R., Ogawa S., Matsuo Y., Tanaka T., Yazaki Y., & Kouno I. (2011).  $\alpha$ -Amylase and lipase inhibitory activity and structural characterization of Acacia bark proanthocyanidins. *Journal of Natural Product*, 74, 119-128.
- Goyal, P., Agarwal, A. K., Lakashminarasimhaiah, & Singh, G. K. (2014). Hypoglycemic activity of inflorescence of *Borassus flabellifer* extracts on blood glucose levels of streptozocin-induced diabetic rats. *Journal of Pharmacy Research*, 8(11), 1738-1742.
- Goyal, P., Agarwal, A. K., Lakashminarasimhaiah, & Singh, G. K. (2015). Antidiabetic and antihyperlipidemic effect of *Borassus flabellifer* in streptozotocin (STZ) induced diabetic rats. *World Journal of Pharmacy and Pharmaceutical Science*, 4(1), 1172-1184.
- Peñarrieta, J. M., M., Alvarado J. A., Akesson, B. & Bergenstahl, B. (2007). Separation of phenolic compounds from foods by reversed-phase high performance liquid chromatography. *Revista Boliviana de Química*, 24(1), 1-4.
- Phukhatmuen P., Raksat A., Laphookhieo S., Charoensup R., Duangyod T., & Maneerat W. (2020). Bioassay-guided isolation and identification of antidiabetic compounds from *Garcinia cowa* leaf extract. *Heliyon*, 6, 1-8.
- Rosak, C., & Mertes, G. (2012). Critical evaluation of the role of acarbose in the treatment of diabetes: patient considerations. *Diabetes, Metabolic Syndrome and Obesity: Targets and Therapy*, 5, 357-367.
- Terao, J. (1999). Dietary flavonoids as antioxidants in vivo: conjugated metabolites of (-)-epicatechin and quercetin participate in antioxidative defense in blood plasma. *Journal of Medical Investigation*, 46(3/4), 159-168.
- Tsai, S.Y., Tsai, H.L., & Mau J.L. (2007). Antioxidant properties of *Agaricus blazei*, *Agrocybe cylindracea*, and *Boletus edulis*. *LWT Food Science and Technology*, 40, 1392-402.
- Wafaa, B., Said, B., & Mohamed, B. (2010). Antidiabetic medicinal plants as a source of alpha glucosidase inhibitors. *Current Diabetes Reviews*, 6(4), 247-254.
- Zheng, Y., Ley, S. H., & Hu, F. B. (2018). Global aetiology and epidemiology of type 2 diabetes mellitus and its complications. *Nature Reviews Endocrinology*, 14, 88-98.

# ผลของการออกกำลังกายด้วยโยคะต่อสมรรถภาพทางกายที่สัมพันธ์กับสุขภาพของนักเรียนประถมศึกษาที่มีภาวะน้ำหนักเกิน

## Influence of yoga exercise on health-related physical fitness of overweight students in primary school

ธนุพร ลาภไธสงค์<sup>1</sup> และ ธัญญาวัฒน์ หอมสมบัติ<sup>2\*</sup>  
Thanupron Lapthaisong<sup>1</sup> and Thanyawat Homsombat<sup>2\*</sup>

Received: 14 September 2022 ; Revised: 17 November 2022 ; Accepted: 9 December 2022

### บทคัดย่อ

การศึกษาแบบกึ่งทดลองมีวัตถุประสงค์เพื่อศึกษาผลของการออกกำลังกายด้วยโยคะในต่อสมรรถภาพทางกายที่สัมพันธ์กับสุขภาพของนักเรียนประถมศึกษาที่มีภาวะน้ำหนักเกิน กลุ่มตัวอย่าง คือ นักเรียนที่มีน้ำหนักเกิน (ดัชนีมวลกาย  $\geq 23$ ) จำนวน 32 คน (10-12 ปี) ได้มาจากการสุ่มแบบหลายขั้นตอน วิธีการทดลอง คือ ออกกำลังกายด้วยโยคะ 8 สัปดาห์ (สัปดาห์ที่ 1-2 ออกกำลังกายด้วยโยคะเย็น และสัปดาห์ที่ 3-8 ออกกำลังกายด้วยโยคะร้อน) วัดสมรรถภาพทางกายที่สัมพันธ์กับสุขภาพก่อนการออกกำลังกาย หลังสัปดาห์ที่ 4 และสัปดาห์ที่ 8 ได้แก่ ความอ่อนตัว อัตราการเต้นของหัวใจ ความทนทานของกล้ามเนื้อ ความแข็งแรงของกล้ามเนื้อ และวัดองค์ประกอบของร่างกายด้วยเครื่องมือมาตรฐาน X-scan plus II วิเคราะห์ข้อมูลด้วยสถิติเชิงพรรณนา ได้แก่ ร้อยละ ค่าเฉลี่ย และส่วนเบี่ยงเบนมาตรฐาน และสถิติเชิงอนุมาน (Inferential statistics) คือ สถิติทดสอบ Repeated measure one-way ANOVA เพื่อวิเคราะห์ความแปรปรวนของสมรรถภาพทางกายที่สัมพันธ์กับสุขภาพ ก่อนการออกกำลังกาย หลังสัปดาห์ที่ 4 และสัปดาห์ที่ 8 และกำหนดนัยสำคัญทางสถิติที่ระดับ 0.05 ผลการศึกษาพบว่า กลุ่มตัวอย่างมีอายุเฉลี่ย 10.90 ปี ส่วนใหญ่มีดัชนีมวลกายอยู่ในระดับน้ำหนักเกิน (ร้อยละ 62.50) และอ้วน (ร้อยละ 37.50) เมื่อวิเคราะห์ความแปรปรวนของสมรรถภาพทางกายที่สัมพันธ์กับสุขภาพ พบว่า ค่าเฉลี่ยของดัชนีมวลกายลดลง 0.64 กิโลกรัม/ตารางเมตร รวมทั้งค่าเฉลี่ยของความอ่อนตัว ค่าเฉลี่ยของระยะทางกระโดดไกล และค่าเฉลี่ยของลูก-นึ่ง 60 วินาที เพิ่มขึ้น 4.45 เซนติเมตร 17.66 เซนติเมตร และ 7.35 ครั้ง/นาที ตามลำดับ อย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ทั้งนี้จากการเปลี่ยนแปลงดังกล่าว เนื่องจากผู้วิจัยวิเคราะห์ทำโยคะเพื่อจำแนกลักษณะของท่าให้สอดคล้องกับการออกกำลังกายของเด็กในวัยเรียน ดังนั้นควรประยุกต์ทำโยคะมาใช้ในการส่งเสริมสุขภาพให้อยู่ในรูปแบบการเรียนการสอนที่เหมาะสมมากที่สุด

**คำสำคัญ:** ภาวะน้ำหนักเกิน การออกกำลังกายด้วยโยคะ สมรรถภาพทางกายที่สัมพันธ์กับสุขภาพ

### Abstract

This quasi-experimental study aimed to determine the effects of yoga exercise on health-related physical fitness among overweight students in primary school. The samples consisted of 32 overweight students between 10 and 12 years old, whose body mass index was greater than or equal to 23. They were sampled using a multistage sampling technique. The experimental procedure was 8 weeks of yoga exercise (weeks 1-4 with hot yoga exercise and 3-8 weeks with cold yoga exercise), and health-related physical fitness was measured before and at the end of the 4th and 8th weeks by the standard X-scan plus II. The descriptive statistics were percentage, mean, and standard deviation to describe gender, age, and body mass index. The inferential statistic was a repeated measure one-way ANOVA used to analyze the variability of health-related physical fitness before exercise, after the 4<sup>th</sup> and 8<sup>th</sup> weeks; statistical significance was

<sup>1</sup> นักศึกษาปริญญาโท สาขาวิชาพลศึกษาและกีฬา คณะศึกษาศาสตร์ มหาวิทยาลัยการกีฬาแห่งชาติ วิทยาเขตอุดรธานี

<sup>2</sup> อาจารย์ คณะวิทยาศาสตร์การกีฬาและสุขภาพ มหาวิทยาลัยการกีฬาแห่งชาติ วิทยาเขตอุดรธานี

<sup>1</sup> Master Degree Student in Physical Education and Sports, Faculty of Education, Thailand National Sports University Udon Thani Campus

<sup>2</sup> Lecturer, Faculty of Sports Science and Health, Thailand National Sports University Udon Thani Campus

\* Corresponding author: Thanyawat Homsombat, E-mail: cmu\_kku@hotmail.com

set at the 0.05 level. The results showed that the subjects had a mean age of 10.90 years old. Most of them were overweight (62.50%) or obese (37.50%). When comparing the variability of health-related physical fitness, the mean body mass index statistically significantly decreased by 0.64 kg/m<sup>2</sup>. The means of flexibility, long jump distance, and 60 seconds sitting up, whose statistical significance increased by 4.45 cm, 17.66 cm, and 7.35 times/min, respectively. The researcher analyzed yoga postures to identify the postures according to the exercise of primary school students. Therefore, teachers should be applying yoga postures to promote health-related learning that is most suitable.

**Keywords:** Overweight students, Yoga exercise, health-related physical fitness.

## บทนำ

จากการสำรวจของสถาบันวิจัยระบบสาธารณสุข ปี พ.ศ.2562 กรมอนามัย (2562) พบว่า เด็กไทยทุกกลุ่มอายุมีความชุกของภาวะน้ำหนักเกินและโรคอ้วนเพิ่มมากขึ้น โดยเด็กอายุ 12-14 ปี มีความชุกของภาวะน้ำหนักเกินและโรคอ้วนรวมกันสูงสุด (ร้อยละ 15.3) รองลงมาเป็นเด็กอายุ 6-11 ปี (ร้อยละ 13.2) และเด็กอายุ 1-5 ปี (ร้อยละ 11.3) ตามลำดับ ภาคตะวันออกเฉียงเหนือเป็นภูมิภาคขนาดใหญ่ที่มีประชากรจำนวนมาก และจังหวัดอุดรธานี (เขตสุขภาพที่ 8) เป็น 1 ในจังหวัดขนาดใหญ่ที่มีประชากรอายุ 5-14 ปี จำนวน 187,334 คน (เพศชาย 95,565 คน และเพศหญิง 91,769 คน) ในจำนวนนี้มีเด็กที่มีน้ำหนักเกินร้อยละ 11.57 ซึ่งเป็นอันดับสองรองจากเขตสุขภาพที่ 9 (ร้อยละ 12.86) การออกกำลังกายนั้นเป็นสิ่งจำเป็นสำหรับทุกคนไม่เฉพาะช่วงใดช่วงหนึ่งของอายุ แต่มีความจำเป็นตลอดชีวิต ซึ่งการออกกำลังกายในแต่ละวัยมีความแตกต่างกันออกไปตามความเหมาะสมและความต้องการของร่างกายในแต่ละบุคคล ดังนั้นอายุจึงเป็นตัวแปรสำคัญต่อการเลือกวิธีการออกกำลังกายหรือเล่นกีฬา ซึ่งการออกกำลังกายที่เหมาะสมสำหรับวัยเด็กคือการออกกำลังกายที่ไม่รุนแรง ไม่มีความหนักมากเกินไป โดยเฉพาะการออกกำลังกายด้วยโยคะเป็นการสร้างสมดุลของร่างกาย จิตใจ และจิตวิญญาณโดยรวมให้เป็นหนึ่ง โยคะเป็นศิลปะของการบริหารร่างกายภายใต้การควบคุมของจิตใจ จนทำให้เกิดความสมดุลของพลังด้านบวกและด้านลบ ช่วยบรรเทาและบำบัดโรคได้ ซึ่ง Telles *et al.* (2010a) สามารถแบ่งโยคะออกเป็น 2 ประเภท ได้แก่ โยคะเย็น คือ การฝึกโยคะทั่วไป สามารถฝึกได้ในสถานที่แจ้งโล่งโปร่งอากาศสามารถถ่ายเทได้สะดวก เนื่องจากการเคลื่อนไหวของท่าทางการฝึกที่ฝึกร่วมกับการกำหนดลมหายใจเข้า-ออกนั้น ทำให้ผู้ฝึกรู้สึกสบาย ผ่อนคลาย ทำให้ไม่รู้สึกเหน็ดเหนื่อยมาก จิตใจเกิดความสงบ และโยคะร้อนเป็นโยคะที่ฝึกในอุณหภูมิปกติ ซึ่งมีอุณหภูมิประมาณ 37 องศาเซลเซียส มีต้นกำเนิดมาจากอเมริกาเนื่องจากอากาศที่หนาวของอเมริกา ความร้อนจึงมีความสำคัญที่จะช่วยทำให้ระบบต่างๆ ในร่างกายเกิดความยืดหยุ่น เพราะผู้ที่ฝึกโยคะร้อนมีความเชื่อว่าอุณหภูมิความร้อนจะช่วยในการเผาผลาญ

พลังงานได้ดี (Chauhan *et al.*, 2017) และเป็นการออกกำลังกายที่ทำให้รู้สึกเหมือนได้ออกกำลังกายในกลางแจ้ง เช่น การวิ่ง การตีเทนนิส กีฬาที่ให้เหงื่อ เป็นต้น การออกกำลังกายด้วยโยคะสามารถเสริมสร้างสมรรถภาพร่างกาย ซึ่งส่งเสริมให้สภาพของร่างกายสามารถประกอบกิจกรรม หรือการทำงานได้อย่างใดอย่างหนึ่งได้เป็นอย่างดี มีประสิทธิภาพโดยไม่เหน็ดเหนื่อย ล้าจนเกินไป และในขณะที่เด็วยุคนี้ก็สามารถจะถนอมกำลังให้เหลือไว้ใช้ในกิจกรรมที่จำเป็นสำหรับชีวิต รวมทั้งกิจกรรมในเวลาว่างเพื่อความสนุกสนานในชีวิตประจำวันได้อีกด้วย (วรศักดิ์ เพ็ชรชอบ, 2560)

สมรรถภาพทางกาย คือ สภาวะที่สมบูรณ์ของร่างกายซึ่งเป็นผลทำให้การปฏิบัติกิจกรรมของร่างกายเป็นไปอย่างมีประสิทธิภาพและสามารถดำรงชีวิตอยู่ในสังคมได้อย่างเป็นสุข ซึ่งสมรรถภาพทางกายสามารถแบ่งออกเป็น 2 ประเภท ได้แก่ สมรรถภาพทางกายที่สัมพันธ์กับทักษะ (Skill-related physical fitness) เป็นสมรรถภาพทางกายที่เกี่ยวข้องในการสนับสนุนให้เกิดระดับความสามารถและทักษะในการแสดงออกของการเคลื่อนไหวและการเล่นกีฬา มีประสิทธิภาพมากขึ้น ได้แก่ ความเร็ว กำลังของกล้ามเนื้อ ความคล่องแคล่วว่องไว การทรงตัว เวลาปฏิภักิริยา และการทำงานที่ประสานกัน (สุพิตร สมานีโต, 2564) และสมรรถภาพทางกายที่สัมพันธ์กับสุขภาพ (Health-related physical fitness) เป็นสมรรถภาพทางกายที่เกี่ยวข้องกับการพัฒนาสุขภาพและเพิ่มความสามารถในการทำงานของร่างกาย (สุพิตร สมานีโต, 2564) สมรรถภาพทางกายที่สัมพันธ์กับสุขภาพมีทั้งหมด 5 ประการ ได้แก่ องค์ประกอบของร่างกาย (Body composition) คือสัดส่วนปริมาณไขมันในร่างกายกับมวลร่างกายที่ปราศจากไขมัน โดยการคำนวณหาดัชนีมวลกาย (Body mass index; BMI) เพื่อประเมินรูปร่างเบื้องต้น จากการศึกษาของ Chauhan *et al.* (2017) ได้ศึกษาการออกกำลังกายด้วยโยคะทุกวันเป็นเวลา 1 ชั่วโมง ระยะเวลา 1 เดือน ในกลุ่มตัวอย่าง 64 คน อายุ 53.6 ปี พบว่าหลังจากการออกกำลังกายด้วยโยคะอาสาสมัครส่งผลให้ค่าดัชนีมวลกายลดลงอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ซึ่งตรงข้ามกับการศึกษาของ Moliver *et al.* (2011) พบว่า การออกกำลังกาย



ด้วยหะฐโยคะในกลุ่มผู้หญิงที่มีอายุมากกว่า 45 ปี ส่งผลให้ดัชนีมวลกายเพิ่มขึ้น รวมทั้งบางการศึกษาพบว่า ก่อนและหลังการออกกำลังกายด้วยโยคะร้อน ค่าดัชนีมวลกายไม่มีการเปลี่ยนแปลง (Hewett, 2017) สมรรถภาพทางกายที่สัมพันธ์กับสุขภาพอีกด้านคือ ความอดทนของระบบหัวใจและระบบไหลเวียนเลือด เป็นสมรรถนะเชิงปฏิบัติของระบบไหลเวียนเลือด (หัวใจและหลอดเลือด) และระบบหายใจในการลำเลียงออกซิเจนไปยังเซลล์กล้ามเนื้อ ทำให้ร่างกายสามารถยืดหยุ่นที่จะทำงานหรือออกกำลังกายที่ใช้กล้ามเนื้อมัดใหญ่เป็นระยะเวลายาวนานได้ซึ่งสามารถวัดความอดทนของระบบหัวใจและระบบไหลเวียนเลือดได้โดยการจับชีพจรขณะพักจากการศึกษาที่ผ่านมา พบว่า การออกกำลังกายด้วยโยคะทุกวันเป็นเวลา 1 ชั่วโมงในตอนเช้า ระยะเวลา 1 เดือน ในกลุ่มตัวอย่าง 64 คน มีอายุ 53.6 ปี และเปรียบเทียบกับคนที่มีความฟิต 26 คน พบว่า อายุ 53.6 ปี ไม่มีการเปลี่ยนแปลงการเพิ่มขึ้นของระบบไหลเวียนเลือด (Chauhan *et al.*, 2017) ซึ่งสอดคล้องกับการศึกษาของ Hewett (2017) ได้ทำการออกกำลังกายด้วยโปรแกรมโยคะร้อน จำนวน 16 สัปดาห์ ในกลุ่มตัวอย่างอายุ 27-47 ปี พบว่า กลุ่มการออกกำลังกายด้วยโยคะและกลุ่มควบคุมไม่มีผลต่ออัตราการเต้นของหัวใจและระบบไหลเวียนเลือด สมรรถภาพทางกายที่สัมพันธ์กับสุขภาพด้านต่อไป คือ ความอ่อนตัว เป็นการเคลื่อนไหวสูงสุดเท่าที่จะทำได้ของกล้ามเนื้อ เอ็น และกลุ่มข้อต่อ จากการศึกษานี้ของ Shafer (2018) ที่ศึกษาเกี่ยวกับโปรแกรมการออกกำลังกายด้วยโยคะผู้หญิงสุขภาพดี 15 คน อายุ 19-63 ปี ระยะเวลา 12 สัปดาห์ พบว่า มีความอ่อนตัวของร่างกายส่วนล่างดีขึ้นรวมทั้งบางการศึกษาพบว่า ผู้สูงอายุ 27 คน มีความอ่อนตัวเพิ่มขึ้น ผู้สูงอายุ 6 คน ความอ่อนตัวลดลง และอีก 2 คน ไม่มีการเปลี่ยนแปลง (Alverina *et al.*, 2020) การออกกำลังกายด้วยโยคะเหล็กสามารถเพิ่มความอ่อนตัวของแกนกลางลำตัวดีขึ้น (Selvaraja & Arumugam, 2018)

นอกจากนั้น สมรรถภาพทางกายที่สัมพันธ์กับสุขภาพยังมีด้านความอดทนของกล้ามเนื้อ (Muscular endurance) คือความสามารถของกล้ามเนื้อมัดใดมัดหนึ่งหรือกลุ่มกล้ามเนื้อในการหดตัวซ้ำๆ เพื่อต้านแรงหรือความสามารถในการคงสภาพการหดตัวครั้งเดียวได้เป็นระยะเวลา ยาวนาน จากการศึกษาที่ผ่านมา Hoy (2020) ได้ทำการศึกษาการออกกำลังกายด้วยโยคะเพื่อลดปัจจัยที่มีผลต่อระบบประสาทของผู้สูงอายุ 60-79 ปี ใช้เวลาออกกำลังกาย 90 นาที ต่อ 2 สัปดาห์ รวมระยะเวลา 10 สัปดาห์ โดยมีกลุ่มทดลอง 18 คนและกลุ่มควบคุม 15 คน พบว่า กลุ่มควบคุมไม่มีผลต่อการรับรู้ของระบบประสาท ความอดทนของกล้ามเนื้อ ในขณะที่กลุ่มทดลองไม่มีผลต่อการรับรู้ของระบบประสาทแต่สามารถเพิ่มความอดทนของกล้ามเนื้อได้ ส่วนการศึกษาของ Wooten *et al.* (2018) ศึกษาการออกกำลังกายด้วย

โยคะสมาธิต่อการรับรู้และความอดทนของกล้ามเนื้อในผู้สูงอายุก่อนและหลังการออกกำลังกาย จำนวน 16 คน ครั้งละ 45 นาที เป็นเวลา 3 วัน/สัปดาห์ รวมทั้งหมด 6 สัปดาห์ ผลการศึกษาพบว่า หลังจากการออกกำลังกายด้วยโยคะสมาธิสามารถทำให้เกิดความอดทนของกล้ามเนื้อเพิ่มขึ้นได้และสมรรถภาพทางกายที่สัมพันธ์กับสุขภาพด้านสุดท้ายคือ ความแข็งแรงของกล้ามเนื้อ (Muscular strength) คือ ปริมาณสูงสุดของแรงที่กล้ามเนื้อมัดใดมัดหนึ่งหรือกลุ่มกล้ามเนื้อสามารถออกแรงต้านทานได้ (ในช่วงการหดตัว 1 ครั้ง) ซึ่ง Widjaja *et al.* (2021) ได้ศึกษาโปรแกรมโยคะไทยในสตรีที่มีน้ำหนักเกินจำนวน 22 คน อายุ 61-63 ปี ใช้เวลาในการออกกำลังกาย 60 นาที สัปดาห์ละ 3 ครั้ง รวมระยะเวลาการออกกำลังกาย 8 สัปดาห์ พบว่า ทั้งสัปดาห์ที่ 4 และ 8 กลุ่มตัวอย่างมีความแข็งแรงของกล้ามเนื้อของร่างกายส่วนล่างในผู้สูงอายุได้ และการศึกษาของ Lau *et al.* (2015) ได้ทำการศึกษาเกี่ยวกับการออกกำลังกายด้วยหะฐโยคะในผู้ใหญ่ชาวจีนจำนวน 173 คน อายุระหว่าง 44-59 ปี ทั้งหมด 12 สัปดาห์ โดยแบ่งกลุ่มการออกกำลังกายด้วยโยคะ 87 คน พบว่า ผู้ใหญ่ชาวจีนมีความแข็งแรงของกล้ามเนื้อเพิ่มขึ้นอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ซึ่งจากงานวิจัยสมรรถภาพทางกายที่สัมพันธ์กับสุขภาพที่กล่าวมาในข้างต้น พบว่า ผู้วิจัยส่วนใหญ่ทำการออกกำลังกายด้วยโยคะในกลุ่มผู้สูงอายุและในกลุ่มผู้ป่วย แต่ยังมีกรวิจัยเกี่ยวกับการออกกำลังกายด้วยโยคะที่มีต่อสมรรถภาพทางกายที่สัมพันธ์กับสุขภาพกับเด็กในวัยเรียนในประเทศไทยที่มีน้ำหนักเกินมีจำนวนไม่มาก และจากการศึกษาที่ผ่านมาแสดงให้เห็นว่ายังเป็นที่ขัดแย้งว่าการออกกำลังกายด้วยโยคะสามารถลดน้ำหนักและองค์ประกอบของร่างกายได้ในเด็กที่มีภาวะน้ำหนักเกิน ดังนั้นจึงเป็นเหตุผลที่ผู้วิจัยสนใจที่จะศึกษาผลของการออกกำลังกายด้วยโยคะต่อสมรรถภาพทางกายที่สัมพันธ์กับสุขภาพของนักเรียนประถมศึกษาที่มีภาวะน้ำหนักเกิน รวมทั้งเพื่อหารูปแบบการออกกำลังกายด้วยโยคะที่เหมาะสมสำหรับเด็กประถมศึกษาที่มีภาวะน้ำหนักเกิน

### วัตถุประสงค์การวิจัย

เพื่อส่งเสริมการออกกำลังกายของเด็กวัยเรียนที่มีภาวะน้ำหนักเกินและอ้วน โดยมีวัตถุประสงค์ย่อยดังนี้

1. เพื่อศึกษาผลของการออกกำลังกายด้วยโยคะต่อสมรรถภาพทางกายที่สัมพันธ์กับสุขภาพของนักเรียนที่มีภาวะน้ำหนักเกินในระดับประถมศึกษา
2. เพื่อเปรียบเทียบค่าเฉลี่ยของผลการทดสอบสมรรถภาพทางกายที่สัมพันธ์กับสุขภาพก่อนการออกกำลังกาย หลังการออกกำลังกายสัปดาห์ที่ 4 และสัปดาห์ที่ 8 ของนักเรียนที่มีภาวะน้ำหนักเกินในระดับประถมศึกษา

## วิธีการศึกษา

งานวิจัยนี้ได้รับการรับรองจากคณะกรรมการจริยธรรมการวิจัยในมนุษย์ มหาวิทยาลัยการกีฬาแห่งชาติ วิทยาลัยเขตอุดรธานี เลขที่ TNSU-EDU 034/2565 วันที่ 16 เมษายน 2565

### รูปแบบการวิจัย

การศึกษาที่ทดลอง (Quasi-experimental study) เพื่อเปรียบเทียบความแตกต่างของสมรรถภาพทางกายที่สัมพันธ์กับสุขภาพก่อนการออกกำลังกาย หลังการออกกำลังกายสัปดาห์ที่ 4 และสัปดาห์ที่ 8 ของนักเรียนที่มีภาวะน้ำหนักเกินในระดับประถมศึกษา

### กลุ่มตัวอย่าง

กลุ่มตัวอย่าง ได้แก่ กลุ่มตัวอย่างที่ใช้ในการวิจัยครั้งนี้เป็นนักเรียนระดับประถมศึกษาที่มีภาวะน้ำหนักเกิน จำนวน 32 คน ได้มาจากการคำนวณขนาดตัวอย่าง ด้วยโปรแกรม G\*Power 3.1.9.7 (Cohen, 1988) จากนักเรียนจำนวน 388 คน โดยมีวิธีสุ่มแบบหลายขั้นตอน (Multistage stage sampling) ซึ่งก่อนเข้าร่วมการออกกำลังกาย นักเรียนที่เป็นกลุ่มตัวอย่างทุกคนจะได้รับการสอบถามถึงความสมัครใจในการเข้าร่วมกิจกรรมในครั้งนี้ รวมทั้งได้รับการชี้แจงจากผู้วิจัยเกี่ยวกับรายละเอียดของกิจกรรมที่จะได้รับซึ่งกลุ่มตัวอย่างสามารถถอนตัวออกจากการวิจัยนี้ได้ตามความต้องการ โดยมีเกณฑ์การคัดเข้า คือ ค่าดัชนีมวลกาย  $\geq 23.00$  มีอายุตั้งแต่ 10 ปี ถึง 12 ปี ที่มีสัญชาติไทย ไม่มีความพิการสติปัญญาปกติ มีสุขภาพที่สมบูรณ์แข็งแรง โดยจะได้รับการทำแบบประเมินความพร้อมก่อนการออกกำลังกาย (Physical Activity Readiness Questionnaire: PAR-Q) ไม่มีอาการบาดเจ็บที่เป็นอุปสรรคต่อการออกกำลังกาย และสามารถเข้าร่วมการออกกำลังกายตามโปรแกรมเป็นเวลา 8 สัปดาห์ ผู้ปกครองยินยอมให้กลุ่มตัวอย่างเข้าร่วมการออกกำลังกายด้วยโยคะ และสามารถเข้าร่วมการออกกำลังกายได้มากกว่า ร้อยละ 80

### ตัวแปรที่ศึกษา

1. ตัวแปรอิสระ ได้แก่ การออกกำลังกายด้วยโยคะ 8 ท่า (ท่าคีม (Pincers pose) ท่าผีเสื้อ (Butterfly pose) ท่ายืนก้มตัวมือวางพื้น (Standing forward bent pose) ท่าคันไถครึ่งตัว (Plough half pose) ท่าเรือ (Boat pose) ท่าต้นไม้ (Tree pose) โยคะท่างู (Cobra pose) ท่าต้นพื้น (Padasana pose)

2. ตัวแปรตาม ได้แก่ ความอ่อนตัว อัตราการเต้นของหัวใจ ความทนทานของกล้ามเนื้อ ความแข็งแรงของกล้ามเนื้อ และองค์ประกอบของร่างกาย

## เครื่องมือที่ใช้ในการวิจัย

เครื่องมือที่ใช้ในการวิจัยครั้งนี้ ประกอบด้วย 2 ส่วนคือ

1. เครื่องมือที่ใช้ในการทดลอง ได้แก่ โปรแกรมการออกกำลังกายด้วยโยคะ แบ่งออกเป็น 3 ขั้นตอน ได้แก่ ขั้นตอนอบอุ่นร่างกาย (Warm-up) 10 นาที ขั้นตอนการออกกำลังกายด้วยโยคะ 40 นาที (ก่อนทำการออกกำลังกายด้วยโยคะให้สวมเครื่องวัดอัตราการเต้นของหัวใจ โดยทำการออกกำลังกายด้วยโยคะท่าละ 4 นาที พัก 1 นาที หลังจากออกกำลังกายครบ 4 ท่า เริ่มทำกิจกรรมนันทนาการระยะเวลา 8 นาที หลังจากนั้นจึงออกกำลังกายเพิ่มอีก 4 ท่า เมื่อทำการออกกำลังกายด้วยโยคะทั้งหมด 8 ท่า จึงเป็นขั้นตอนการคลายอุ่น (Cool-down) 10 นาที โดยมีรายละเอียดการออกกำลังกายด้วยโยคะ ดังนี้

1.1 ท่าคีม นั่งตัวตรง เขยียดขาทั้ง 2 ข้างพร้อมยกแขนทั้ง 2 ข้างขึ้นเหนือศีรษะ และมือทั้ง 2 ข้างจับที่ปลายเท้า โดยปฏิบัติทั้งหมด 3 เซต เซตละ 1 นาที พัก 1 นาที รวมเป็น 4 นาที ซึ่งเป็นท่าที่เพิ่มสมรรถภาพด้านความอ่อนตัว

1.2 ท่าผีเสื้อ นั่งตัวตรง พับขาทั้ง 2 ข้าง ใช้มือจับที่ปลายนิ้วเท้าทั้ง 2 ข้าง และใช้ศอกดันเข้าให้อยู่ติดกับพื้น โดยปฏิบัติทั้งหมด 3 เซต เซตละ 1 นาที พัก 1 นาที รวมเป็น 4 นาที ซึ่งเป็นท่าที่เพิ่มสมรรถภาพด้านความอ่อนตัว

1.3 ท่ายืนก้มตัวมือวางพื้น ยืนตัวตรง ขาทั้ง 2 ข้างชิดกัน พร้อมยกแขนทั้ง 2 ข้างขึ้น และก้มตัวไปข้างหน้ามือทั้ง 2 ข้างวางบนพื้น โดยปฏิบัติทั้งหมด 3 เซต เซตละ 1 นาที พัก 1 นาที รวมเป็น 4 นาที ซึ่งเป็นท่าที่เพิ่มสมรรถภาพด้านความอ่อนตัว

1.4 ท่าคันไถครึ่งตัว นอนหงาย ขาเหยียดตรงชิดกันทั้ง 2 ข้าง คว่ำฝ่ามือลง และค่อยๆ ยกขาทั้ง 2 ข้างขึ้นพร้อมกัน โดยปฏิบัติทั้งหมด 3 เซต เซตละ 1 นาที พัก 1 นาที รวมเป็น 4 นาที ซึ่งเป็นท่าที่เพิ่มสมรรถภาพด้านความแข็งแรงของกล้ามเนื้อ หลังจากปฏิบัติท่าโยคะ 4 ท่า เป็นเวลา 16 นาที จึงทำกิจกรรมนันทนาการ สัปดาห์ที่ 1 วิ่งซิกแซก อ้อมกรวย สัปดาห์ที่ 2 วิ่งส่งลูกบอล สัปดาห์ที่ 3 ก้าวกระโดดข้ามกรวย 1 สเต็ป และสัปดาห์ที่ 4 ก้าวกระโดดข้ามกรวย 2 สเต็ป ซึ่งในแต่ละสัปดาห์ใช้เวลา 8 นาที จากนั้นจึงทำการปฏิบัติท่าโยคะที่เหลือ 4 ท่า ใช้เวลา 16 นาที ปฏิบัติได้ดังนี้

1.5 ท่าเรือ นอนหงาย ยกขาทั้ง 2 ข้างขึ้นชิดกัน 45 องศาจากพื้นยกลำตัวช่วงหน้าอกขึ้น และมือทั้ง 2 ข้างแตะที่หน้าแข้ง โดยปฏิบัติทั้งหมด 3 เซต เซตละ 1 นาที พัก 1 นาที รวมเป็น 4 นาที ซึ่งเป็นท่าที่เพิ่มสมรรถภาพด้านความแข็งแรงของกล้ามเนื้อ

1.6 ทำต้นไม้ ยืนตัวตรง ยกขาขวาพับขึ้น ให้ใช้ฝ่าเท้าขวาดันติดกับต้นขา ส่วนปลายเท้าขวาชี้ลงพื้น พร้อมยกแขนทั้ง 2 ข้างขึ้นพนมมือเหนือศีรษะ โดยปฏิบัติทั้งหมด 3 เซต เซตละ 1 นาที พัก 1 นาที รวมเป็น 4 นาที ซึ่งเป็นท่าที่เพิ่มสมรรถภาพด้านความอ่อนตัว

1.7 ท่างู นอนคว่ำอยู่บนพื้น เท้าเหยียด มือวางไว้ข้างลำตัว มื่อยันพื้นและเหยียดข้อศอก ยกศีรษะให้สูง หน้าอกเอวให้สูงขึ้นเงยหน้าไปด้านหลัง โดยปฏิบัติทั้งหมด 3 เซต เซตละ 1 นาที พัก 1 นาที รวมเป็น 4 นาที ซึ่งเป็นท่าที่เพิ่มสมรรถภาพด้านความทนทานของหัวใจและหลอดเลือด

1.8 ทำต้นไม้ นอนคว่ำ วางมือ ใช้ฝ่ามือดันพื้น งอข้อศอก เท้าทั้งสองชิดกัน ปลายนิ้วยันบนพื้น เหยียดข้อศอกให้ตึง ลำตัวเหยียดตรง คอยืดขึ้น ส่วนคอไหล่สะโพก และเท้าอยู่ในแนวเดียวกันโดยปฏิบัติทั้งหมด 3 เซต เซตละ 1

นาที พัก 1 นาที รวมเป็น 4 นาที ซึ่งเป็นท่าที่เพิ่มสมรรถภาพด้านความทนทานของกล้ามเนื้อ

2. เครื่องมือที่ใช้ในการเก็บข้อมูล ได้แก่ แบบทดสอบวัดความอ่อนตัว อัตราการเต้นของหัวใจ ความทนทานของกล้ามเนื้อ ความแข็งแรงของกล้ามเนื้อ และวัดองค์ประกอบของร่างกายด้วยเครื่องมือมาตรฐาน X-scan plus II ดังนี้

2.1 แบบทดสอบวัดความอ่อนตัว ทดสอบโดยการนั่งงอตัวไปข้างหน้า (Sit and reach test) มีหน่วยเป็นเซนติเมตร (cm)

2.2 อัตราการเต้นของหัวใจ โดยกลุ่มตัวอย่างจะถูกวัดอัตราการเต้นของหัวใจตลอดเวลาการออกกำลังกาย ด้วยเครื่องมือวัดที่เรียกว่า เครื่อง Polar โดยติดไว้ที่ราวนมและ

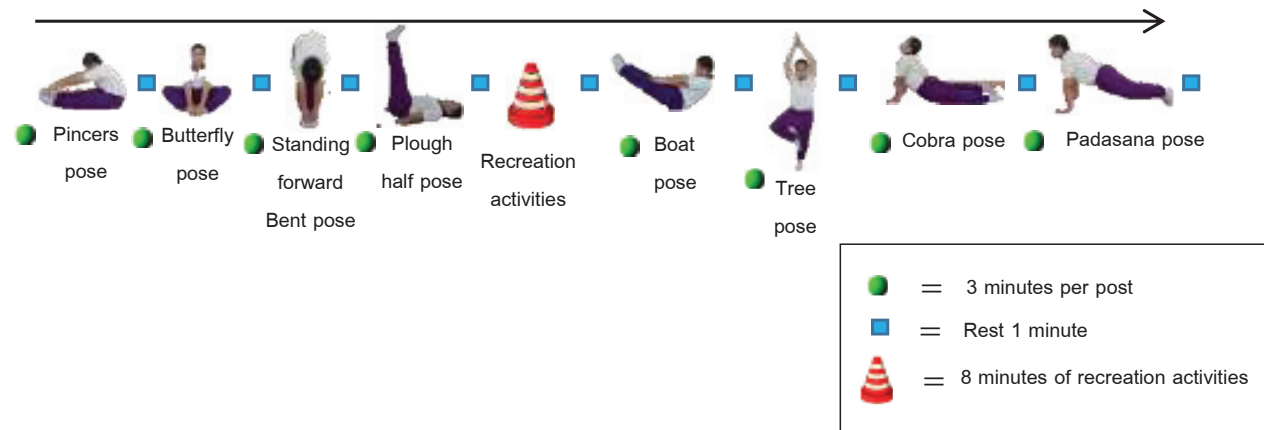


Figure 1 Yoga exercises

อ่านค่าอัตราการเต้นของหัวใจ โดยใช้ค่าอัตราการเต้นของหัวใจหลังออกกำลังกายครบ 60 นาที ซึ่งได้รับความอนุเคราะห์เครื่องมือจากมหาวิทยาลัยราชภัฏอุดรธานี (Polar Team Pro รุ่น V800 2017, USA.)

2.3 แบบทดสอบวัดความทนทานของกล้ามเนื้อ ทดสอบโดยการลุก-นั่ง 60 วินาที (Sit-ups 60 seconds) มีหน่วยวัดเป็นจำนวนครั้งภายในเวลา 60 วินาที

2.4 แบบทดสอบวัดความแข็งแรงของกล้ามเนื้อ ทดสอบโดยการวัดระยะทางกระโดดไกล (Standing board jump) มีหน่วยเป็น เมตร (m)

2.5 วัดองค์ประกอบของร่างกายด้วยเครื่องมือมาตรฐาน X-scan plus II มีรายละเอียดดังนี้

2.5.1 ดัชนีมวลกาย (Body mass index (BMI)) คือ ค่าดัชนีมวลกายที่ใช้ชี้วัดความสมดุลของน้ำหนักตัว (กิโลกรัม) และส่วนสูง (เซนติเมตร)

2.5.2 มวลน้ำหนักโดยไม่รวมไขมัน (Lean body mass: L.B.M) หน่วยเป็น เปอร์เซ็นต์ (%)

2.5.3 มวลกล้ามเนื้อ (Soft lean mass: S.L.M) มีหน่วยเป็น เปอร์เซ็นต์ (%)

2.5.4 มวลกล้ามเนื้อติดกระดูก (Skeletal muscle mass: S.M.M) มีหน่วยเป็น เปอร์เซ็นต์ (%)

2.5.5 มวลไขมัน (Body fat) มีหน่วยเป็น เปอร์เซ็นต์ (%)

2.5.6 เปอร์เซ็นต์ไขมันในร่างกาย (Percentage body fat: P.B.F) คือ สัดส่วนของไขมันในร่างกายที่คิดเป็นร้อยละเมื่อเทียบกับน้ำหนักร่างกาย

3. การเก็บรวบรวมข้อมูล

กลุ่มตัวอย่างมาyingห้องทดลองในวันแรกจะได้รับ การทดสอบสมรรถภาพทางกายที่สัมพันธ์กับสุขภาพ ได้แก่ ความอ่อนตัว อัตราการเต้นของหัวใจ ความทนทานของ

กล้ามเนื้อ ความแข็งแรงของกล้ามเนื้อ และวัดองค์ประกอบของร่างกายด้วยเครื่องมือมาตรฐาน X-scan plus II (Jawon, 2013) หลังจากนั้นเข้าสู่การทดลองเป็นเวลา 8 สัปดาห์ โดยในสัปดาห์ที่ 1-2 ออกกำลังกายด้วยโยคะเย็น และสัปดาห์ที่ 3-8 ออกกำลังกายด้วยโยคะร้อน ซึ่งมีท่าโยคะทั้งหมด 8 ท่าๆ ละ 4 นาที โดยทำท่าละ 3 ครั้ง (สาส์ สุภาภรณ์, 2544) แทรกด้วยกิจกรรมนันทนาการระหว่างการออกกำลังกายเป็นเวลา 8 นาที และการคลายอุ่นเป็นเวลา 10 นาที รวมเป็น 60 นาที ระยะเวลาทั้งหมด 8 สัปดาห์ (วันจันทร์ วันพุธ และวันศุกร์ ตั้งแต่เวลา 09.00-10.00 น.) ในขณะที่ออกกำลังกาย ผู้ช่วยวิจัยจะทำการบันทึกอัตราการเต้นของหัวใจ และบันทึกหลังการออกกำลังกายทันที อยู่ในระดับร้อยละ 60-80 ของอัตราการเต้นหัวใจสูงสุด เนื่องจากการออกกำลังกายด้วยโยคะจะต้องมีระดับความหนักปานกลาง (United States Department of Health and Human Services, 1996) ซึ่งในแต่ละสัปดาห์อัตราการเต้นของหัวใจขณะออกกำลังกายจะเพิ่มขึ้นเรื่อยๆ ตามระดับความหนักของการออกกำลังกายด้วยโยคะโดยเพิ่มความเร็วของการออกกำลังกายด้วยจังหวะของเพลง เพื่อกระตุ้นให้เกิดอัตราการเต้นของหัวใจที่เพิ่มขึ้น (สัปดาห์ที่ 1-2 อัตราการเต้นของหัวใจขณะออกกำลังกายร้อยละ 60-70 ของอัตราการเต้นของหัวใจสูงสุด สัปดาห์ที่ 3-8 อัตราการเต้นของหัวใจเป้าหมายเพิ่มเป็นร้อยละ 70-80 ของอัตราการเต้นของหัวใจสูงสุด (Chauhan *et al.*, 2017) โดยอัตราการเต้นของหัวใจขณะออกกำลังกาย ร้อยละ 60 หมายถึงการออกกำลังกายด้วยโยคะในระดับเบาถึงปานกลาง (Light zone) และร้อยละ 80 หมายถึงการออกกำลังกายด้วยโยคะในระดับหนัก (Hard zone) จากนั้นกลุ่มตัวอย่างจะได้รับการประเมินซ้ำอีกครั้งด้วยแบบทดสอบวัดความอ่อนตัว อัตราการเต้นของหัวใจ ความทนทานของกล้ามเนื้อ ความแข็งแรงของกล้ามเนื้อ และเครื่องมือมาตรฐาน X-scan plus II

#### 4. การวิเคราะห์ข้อมูล

ทดสอบการแจกแจงของประชากรเป็นโค้งปกติ ด้วยสถิติ Shapiro-wilk test สถิติเชิงพรรณนา (Descriptive statistics) ได้แก่ ร้อยละ (Percentage) ค่าเฉลี่ย Mean ( $\bar{X}$ ) และ

ส่วนเบี่ยงเบนมาตรฐาน (SD) เพื่อพรรณนาข้อมูลเพศและดัชนีมวลกาย และสถิติเชิงอนุมาน (Inferential statistics) ประกอบด้วย สถิติทดสอบ Repeated measure one-way ANOVA เพื่อวิเคราะห์ความแปรปรวนของสมรรถภาพที่สัมพันธ์กับสุขภาพ ก่อนการออกกำลังกาย หลังการออกกำลังกาย สัปดาห์ที่ 4 และสัปดาห์ที่ 8 กรณีทดสอบไม่เป็นไปตามข้อตกลงเบื้องต้น จะใช้สถิติไม่อิงพารามิเตอร์ Kruskal - wallis one - way analysis of variance และกำหนดนัยสำคัญทางสถิติที่ระดับ 0.05

#### ผลการศึกษา (Results)

จากการทดสอบความแตกต่างของผลการออกกำลังกายด้วยโยคะ ก่อนการออกกำลังกายและหลังการออกกำลังกายด้วยโยคะในสัปดาห์ที่ 4 และสัปดาห์ที่ 8 โดยใช้สถิติทดสอบ Repeated measure one-way ANOVA ผู้วิจัยได้ทดสอบข้อตกลงเบื้องต้นของสถิติดังกล่าว ถ้าไม่ผ่านข้อตกลงเบื้องต้นจะเปลี่ยนมาใช้สถิติไม่อิงพารามิเตอร์ Kruskal - wallis one - way analysis of variance ทดสอบการกระจายของข้อมูลด้วยสถิติ Shapiro-wilk test พบว่า ข้อมูลที่มีการกระจายแบบปกติ ได้แก่ อัตราการเต้นของหัวใจ ระยะทางกระโดดไกล ลูกนั่ง 60 วินาที มวลน้ำหนักโดยไม่รวมไขมัน มวลกล้ามเนื้อ มวลกล้ามเนื้อติดกระดูก และเปอร์เซ็นต์ไขมันในร่างกาย ( $P=0.11$ ,  $P=0.28$ ,  $P=0.26$ ,  $P=0.07$ ,  $P=0.06$ ,  $P=0.14$  และ  $P=0.73$  ตามลำดับ) ในขณะที่ดัชนีมวลกาย ความอ่อนตัว และมวลไขมัน มีการกระจายแบบไม่ปกติ ( $P=0.01$ ,  $P=0.01$  และ  $P<0.001$  ตามลำดับ) ผลการวิเคราะห์ข้อมูลมีรายละเอียดดังนี้

##### 1. ข้อมูลพื้นฐาน

กลุ่มตัวอย่างทั้งหมด 32 คน มีอายุเฉลี่ย 10.90 ปี ( $SD = 0.87$ ) โดยแบ่งเป็นเพศชาย 17 คน (ร้อยละ 57.33) และเพศหญิง 15 คน (ร้อยละ 42.67) กลุ่มตัวอย่างส่วนใหญ่มีดัชนีมวลกายอยู่ในระดับน้ำหนักเกิน (ร้อยละ 62.50) และระดับอ้วน (ร้อยละ 37.50) (Table 1)



**Table 1** Demographic characteristics of overweight students (n=32)

Variables	N (Percentage)	Variables	N (Percentage)
Sex		Age (year)	
Male	17 (57.33)	10	13 (40.63)
Female	15 (42.67)	11	9 (28.13)
Body mass index (Kg/m <sup>2</sup> )		12	10 (31.25)
Overweight (23-24.99)	20 (62.50)	$\bar{X}$ = 10.91 (0.86) Min-max (10-12)	
Obese (25-40.61)	12 (37.50)		
$\bar{X}$ = 28.69 (3.01) Min-max (23.10-40.60)			

## 2. อัตราการเต้นของหัวใจขณะการออกกำลังกายด้วยโยคะ

อัตราการเต้นของหัวใจขณะการออกกำลังกายด้วยโยคะในสัปดาห์ที่ 1 มีค่าเฉลี่ย 160.86 ครั้งต่อนาที (SD = 2.89) ในสัปดาห์ที่ 4 มีค่าเฉลี่ย 163.57 ครั้งต่อนาที (SD = 6.21) และในสัปดาห์ที่ 8 มีค่าเฉลี่ย 159.46 ครั้งต่อนาที (SD = 4.21) ซึ่งขณะก่อนและหลังทำการออกกำลังกาย ค่าเฉลี่ยของอัตราการเต้นของหัวใจมีแนวโน้มที่เพิ่มขึ้นตามลำดับ (Table 2)

## 3. ค่าเฉลี่ยและส่วนเบี่ยงเบนมาตรฐานของสมรรถภาพทางกายที่สัมพันธ์กับสุขภาพของนักเรียนประถมศึกษาที่มีภาวะน้ำหนักเกิน

การวิเคราะห์ข้อมูลค่าเฉลี่ยและส่วนเบี่ยงเบนมาตรฐานของสมรรถภาพทางกายที่สัมพันธ์กับสุขภาพของนักเรียนประถมศึกษาที่มีภาวะน้ำหนักเกิน ก่อนการทดลอง หลังการออกกำลังกายด้วยโยคะสัปดาห์ที่ 4 และสัปดาห์ที่ 8 ค่าเฉลี่ยและส่วนเบี่ยงเบนมาตรฐานของสมรรถภาพทางกายที่สัมพันธ์กับสุขภาพของนักเรียนประถมศึกษาที่มีภาวะน้ำหนักเกิน หลังการออกกำลังกายด้วยโยคะสัปดาห์ที่ 4 และสัปดาห์ที่ 8 กลุ่มตัวอย่างมีสมรรถภาพทางกายที่สัมพันธ์กับสุขภาพเปลี่ยนแปลง ดังนี้ ดัชนีมวลกาย มีค่าเฉลี่ย ( $\bar{X}$ ) 28.08 (SD=3.07) และ 28.05 (SD = 3.13) ความอ่อนตัว มีค่าเฉลี่ย ( $\bar{X}$ ) 4.20 (SD = 4.01) และ 5.34 (SD = 2.86) ระยะทางกระโดดไกล มีค่าเฉลี่ย ( $\bar{X}$ ) 104.06 (SD = 14.08) และ 109.84 (SD = 12.56) ลูกนั่ง 60 วินาที มีค่าเฉลี่ย ( $\bar{X}$ ) 17.25 (SD =

4.75) และ 19.56 (SD = 4.28) มวลน้ำหนักโดยไม่รวมไขมัน มีค่าเฉลี่ย ( $\bar{X}$ ) 44.61 (SD = 6.51) และ 44.95 (SD = 6.46) มวลกล้ามเนื้อ มีค่าเฉลี่ย ( $\bar{X}$ ) 40.94 (SD = 5.92) และ 41.25 (SD = 5.88) มวลกล้ามเนื้อติดกระดูก มีค่าเฉลี่ย ( $\bar{X}$ ) 20.49 (SD = 4.60) และ 20.50 (SD = 4.49) มวลไขมัน มีค่าเฉลี่ย ( $\bar{X}$ ) 19.69 (SD = 5.27) และ 19.85 (SD = 5.14) และเปอร์เซ็นต์ไขมันในร่างกาย มีค่าเฉลี่ย ( $\bar{X}$ ) 30.31 (SD = 3.35) และ 30.34 (SD = 3.45) (Table 3)

## 4. ความแปรปรวนของสมรรถภาพที่สัมพันธ์กับสุขภาพ ก่อนการออกกำลังกาย หลังการออกกำลังกาย สัปดาห์ที่ 4 และสัปดาห์ที่ 8

การวิเคราะห์ความแปรปรวนทางเดียวกรณีวัดซ้ำ โดยใช้สถิติ Repeated measure one-way ANOVA เพื่อวิเคราะห์ความแปรปรวนของสมรรถภาพที่สัมพันธ์กับสุขภาพ ก่อนการออกกำลังกาย หลังการออกกำลังกาย สัปดาห์ที่ 4 และสัปดาห์ที่ 8 ผลการศึกษา พบว่า ค่าเฉลี่ยของดัชนีมวลกายจาก 28.69 ลดลงเหลือ 28.05 กิโลกรัม/ตารางเมตร ซึ่งมีการเปลี่ยนแปลงอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ( $F(2,62)=4.91, p=0.01$ ) รวมทั้งค่าเฉลี่ยของความอ่อนตัวเพิ่มขึ้น 4.45 เซนติเมตร ( $F(2,62)=60.48$ ) ค่าเฉลี่ยของระยะทางกระโดดไกลเพิ่มขึ้น 17.66 เซนติเมตร ( $F(2,62) =132.56$ ) และค่าเฉลี่ยของลูกนั่ง 60 วินาทีเพิ่มขึ้น 7.35 ครั้ง/นาที ( $F(2,62)=226.20$ ) อย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ( $p<0.001, p<0.001$  และ  $p<0.001$  ตามลำดับ) ส่วนตัวแปรอื่นๆ ไม่ได้มีการเปลี่ยนแปลงอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ (Table 4)

**Table 2** Heart rate during exercise (n=32)

Variable	Before		Week 4		Week 8	
	$(\bar{X}, SD)$		$(\bar{X}, SD)$		$(\bar{X}, SD)$	
	Before	After	Before	After	Before	After
Heart rate	82.81 (5.45)	160.86 (2.89)	95.77 (5.44)	163.57 (6.21)	81.00 (4.96)	159.46 (4.21)

**Table 3** Health-related physical fitness of overweight students (n=32)

Variables	Before Week 4		Week 8
	$(\bar{X}, SD)$	$(\bar{X}, SD)$	$(\bar{X}, SD)$
Body mass index (Kg/m <sup>2</sup> )	28.69 (3.30)	28.08 (3.07)	28.05 (3.17)
Flexibility (cm)	0.89 (5.19)	4.20 (4.01)	5.34 (2.86)
Long jump distance (cm)	92.18 (15.28)	104.06 (14.08)	109.84 (12.56)
60 seconds sitting up (time)	12.21 (5.58)	17.25 (4.75)	19.56 (4.28)
Lean body mass (%)	44.80 (6.76)	44.61 (6.51)	44.95 (6.46)
Soft lean mass (%)	41.09 (6.15)	40.94 (5.92)	41.25 (5.88)
Skeletal muscle mass (%)	20.65 (5.06)	20.49 (4.60)	20.50 (4.49)
Body fat (%)	20.42 (5.76)	19.69 (5.27)	19.85 (5.14)
Percentage body fat (%)	30.91 (3.76)	30.31 (3.35)	30.34 (3.45)

**Table 4** The variability of health-related physical fitness before exercise, after the 4<sup>th</sup> and 8<sup>th</sup> weeks 8 (n=32)

Within group	Source	SS	df	MS	F	P
Body mass index	Time	8.26	2	28.52	4.91	0.01**
	Error (time)	52.15	62	4.13		
Heart rate	Time	279.33	2	21.53	6.46	<0.001*
	Error (time)	1339.83	62	139.66		
Flexibility	Time	339.87	2	45.29	60.48	<0.001**
	Error (time)	174.20	62	169.93		
Long jump distance	Time	5185.93	2	550.84	132.56	<0.001*
	Error (time)	1212.72	62	2592.96		
60 seconds sitting up	Time	897.06	2	68.21	226.20	<0.001*
	Error (time)	122.93	62	448.53		

\* Repeated measure one-way ANOVA \*\* Kruskal - wallis one - way ANOVA

### วิจารณ์และสรุปผล

กลุ่มตัวอย่างทั้งหมดเป็นนักเรียนที่มีน้ำหนักเกิน จำนวน 32 คน มีอายุเฉลี่ย 10.90 ปี (SD = 0.87) เป็นเพศชาย 17 คน (ร้อยละ 57.33) และเพศหญิง 15 คน (ร้อยละ 42.67) กลุ่มตัวอย่างส่วนใหญ่มีดัชนีมวลกายอยู่ในระดับน้ำหนักเกิน

(ร้อยละ 62.50) และอ้วน (ร้อยละ 37.50) ทั้งนี้เป็นเพราะว่าเด็กนักเรียนในสมัยปัจจุบันเป็นเด็กในยุคเทคโนโลยีสมัยใหม่ซึ่งมีความสะดวกสบายมากขึ้น มีกิจกรรมทางกายหรือการเคลื่อนไหวน้อยลงจึงทำให้เด็กมีภาวะเสี่ยงที่จะมีน้ำหนักเกินได้ง่ายกว่าในอดีต และพบว่าเมื่ออัตราเพิ่มสูงขึ้นเนื่องจาก

วิถีชีวิตเปลี่ยนแปลงไป ทั้งค่านิยมในการรับประทานอาหาร และกิจกรรมที่เด็กทำ (Penedo & Dahn, 2016) ซึ่งสอดคล้องกับองค์การอนามัยโลกที่รายงานว่า เด็กสมัยนี้มีกิจกรรมทางกายน้อยลง ดูไม่กระฉับกระเฉง และมีการออกกำลังกายน้อยลง ทำให้เด็กเหล่านี้ปัจจุบันเสี่ยงเป็นโรคอ้วนมากขึ้น และจากความอ้วนจะส่งผลให้เกิดโรคตามมา ไม่ว่าจะเป็นโรคเบาหวาน ความดันโลหิตสูง โรคหัวใจและหลอดเลือด (กรมอนามัย, 2562)

เมื่อเปรียบเทียบสมรรถภาพทางกายที่สัมพันธ์กับสุขภาพของกลุ่มตัวอย่าง ระหว่างก่อนการออกกำลังกาย หลังการออกกำลังกายสัปดาห์ที่ 4 และสัปดาห์ที่ 8 พบว่า ค่าเฉลี่ยของดัชนีมวลกายลดลงอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ จาก 28.69 เหลือ 28.05 กิโลกรัม/ตารางเมตร ( $0.64 \text{ kg/m}^2$ ) เพราะทำคันท่าและท่าวิ่ง ท่าทาง และท่าเรือซึ่งเป็นท่าที่สามารถลดไขมันที่สะสมบนเนื้อเยื่อไขมันได้ (Chauhan *et al.*, 2017) ซึ่งดัชนีมวลกายลดลงมากกว่าการศึกษาที่ผ่านมาที่ลดลงเพียง  $0.62 \text{ kg/m}^2$  และ  $0.59 \text{ kg/m}^2$  (Gokal *et al.*, 2007; Telles *et al.*, 2010b) ซึ่งการศึกษาของ Telles *et al.*, (2010b) ที่ศึกษาการออกกำลังกายด้วยโยคะร่วมกับโปรแกรมการกินอาหารที่มีไขมันต่ำและอาหารจำพวกพืชซึ่งส่งผลให้กลุ่มตัวอย่างที่มีน้ำหนักเกินมีดัชนีมวลกายลดลง ถึงแม้จะไม่มีกำกวดขนาดสัดส่วนของอาหารหรือปริมาณพลังงานที่กำหนดไว้ก็ตาม (Biolo *et al.*, 2007) นอกจากนี้ยังพบว่าโปรแกรม 1 สัปดาห์ที่ใช้อาหารไขมันต่ำ พลังงานต่ำ (แลคโต-โอโว-มังสวิรัต) และการออกกำลังกายในสภาพแวดล้อมที่ปราศจากความเครียดยังช่วยลดน้ำหนักตัว ดัชนีมวลกาย คอเลสเตอรอลในเลือด และปัจจัยเสี่ยงอื่นๆ ที่จะเกิดโรคหัวใจและหลอดเลือดในอาสาสมัคร 1349 คนได้ (Slavicek *et al.*, 2008) อย่างไรก็ตาม ในการศึกษาที่ค่าดัชนีมวลกายลดลงทั้งในเด็กนักเรียนผู้ชายและผู้หญิง ในขณะที่มวลกล้ามเนื้อ มวลกล้ามเนื้อโดยไม่รวมไขมัน มวลกล้ามเนื้อติดกระดูก มวลไขมัน และเปอร์เซ็นต์ไขมันในร่างกาย พบว่าไม่มีการเปลี่ยนแปลง ซึ่งตรงข้ามกับการศึกษาที่ผ่านมาที่พบว่า ค่าดัชนีมวลกายจะลดลงพร้อมกับการลดลงของกล้ามเนื้อที่ปราศจากไขมัน และปริมาณมวลน้ำที่ได้จากการวิเคราะห์องค์ประกอบร่างกาย (Telles *et al.*, 2010b) ซึ่งการออกแบบโปรแกรมการฝึกควรส่งผลให้เกิดการเปลี่ยนแปลงที่เป็นประโยชน์ต่อองค์ประกอบของร่างกาย โดยเน้นให้มีการลดไขมันในร่างกายและเพิ่มมวลกล้ามเนื้อ (Siani *et al.*, 2003) ในการศึกษาที่สาเหตุที่มวลน้ำหนักเปลี่ยนแปลง ทั้งนี้เป็นเพราะว่าไม่มีการกำหนดให้กลุ่มตัวอย่างจำกัดโปรแกรมการกินอาหารที่มีไขมันต่ำและอาหารจำพวกพืช ซึ่งจากการศึกษาที่ผ่านมารายงานว่า การกินอาหารที่จำกัดปริมาณแคลอรีส่งผลบวกต่อกระบวนการ แคแทบอลิซึม (Catabolism) ซึ่งเป็นการสลายสารอาหาร (สารชีวโมเลกุล)

ให้เป็นโมเลกุลเล็กและป้อน ATP สารนำอิเล็กตรอน (NAD<sup>+</sup>, NADP<sup>+</sup> และ FAD) และสารต้นตอสำหรับการสังเคราะห์ให้กับกระบวนการแอแนบอลิซึมเพื่อสร้างเป็นองค์ประกอบของร่างกายต่อไป ซึ่งจะทำให้มวลกล้ามเนื้อโดยไม่รวมไขมันในร่างกายลดลง (Sahay, 2007) แต่ในบางการศึกษากลับพบว่า องค์ประกอบของร่างกายไม่มีความแตกต่างระหว่างผู้ที่รับประทานมังสวิรัตกับผู้รับประทานอาหารทั่วไป (Dhume & Dhume, 1991) นอกจากนี้ยังเป็นเหตุผลที่ไม่แน่ชัดว่ามวลน้ำหนักโดยไม่รวมไขมันจะลดลงได้เพราะการฝึกโยคะ เพราะมีบางการศึกษาที่ศึกษาการฝึกโยคะในผู้ป่วยเบาหวานกลับพบว่าผู้ป่วยมีเปอร์เซ็นต์ไขมันในร่างกายลดลง แต่กลับมีมวลกล้ามเนื้อโดยไม่รวมไขมันเพิ่มขึ้น (Yang *et al.*, 2007) ซึ่งสาเหตุที่แท้จริงที่ทำให้มวลกล้ามเนื้อโดยไม่รวมไขมันลดลงยังไม่สามารถสรุปได้ แต่การลดลงของดัชนีมวลกายอาจมีความสัมพันธ์กับเด็กนักเรียนเนื่องจากมีกิจกรรมการเล่นโยคะเพิ่มขึ้น แต่เหตุผลดังกล่าวก็ยังไม่สามารถสรุปได้ว่าการออกกำลังกายด้วยโยคะเหมาะสมสำหรับเด็กที่มีภาวะน้ำหนักเกิน เพราะผลการศึกษาก่อให้เกิดการเปลี่ยนแปลงที่ยังไม่ชัดเจน แต่ที่แน่ชัดคือ ค่าดัชนีมวลกายลดลงหลังสัปดาห์ที่ 8

นอกจากนั้น ผลการศึกษายังพบว่า หลังการออกกำลังกายด้วยโยคะในสัปดาห์ที่ 8 สมรรถภาพทางกายของเด็กนักเรียนที่มีน้ำหนักเกิน โดยเฉพาะค่าเฉลี่ยของความอ่อนตัว ค่าเฉลี่ยของระยะทางกระโดดไกล และค่าเฉลี่ยของลูก-นึ่ง 60 วินาที เพิ่มขึ้นอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ( $p < 0.001$ ,  $p < 0.001$  และ  $p < 0.001$  ตามลำดับ) ซึ่งทุกท่าของการออกกำลังกายด้วยโยคะทั้งโยคะร้อนและโยคะเย็นล้วนเป็นท่าที่เน้นการยืดเหยียดกล้ามเนื้อ รวมทั้งมีการเกร็งกล้ามเนื้อเป็นเวลานานๆ จึงทำให้กลุ่มตัวอย่างมีความอ่อนตัว และความแข็งแรงของกล้ามเนื้อทุกส่วนเพิ่มมากขึ้น โดยเฉพาะในกลุ่มผู้สูงอายุที่ได้ออกกำลังกายด้วยโยคะ 6 ท่า เป็นเวลา 8 สัปดาห์ ในอุณหภูมิห้อง 37 องศาเซลเซียส ส่งผลให้มีความอ่อนตัวและมีความแข็งแรงของร่างกายส่วนล่างเพิ่มมากขึ้น (Bucht & Donath, 2019) แต่อย่างไรก็ตามเมื่อเปรียบเทียบระดับความหนักของการฝึกโยคะยังพบว่า ในการศึกษาที่มีระดับความหนักต่ำกว่าการศึกษาที่ผ่านมา รวมทั้งหลายการศึกษาที่แนะนำว่าการออกกำลังกายด้วยโยคะที่จะส่งผลต่อความอ่อนตัวและความแข็งแรง ควรออกกำลังกายอย่างน้อย 2-3 ครั้งต่อสัปดาห์ (Schmid *et al.*, 2010) นอกจากนี้ยังพบว่า บางการศึกษาใช้เวลาในการออกกำลังกายด้วยโยคะแต่ละครั้งนานกว่าในการศึกษานี้ แต่ในการศึกษานี้กลับใช้เวลานานกว่าการออกกำลังกายด้วยโยคะร้อนที่ผ่านมา (Hunter *et al.*, 2013a; Hunter *et al.*, 2013b) โดยอุณหภูมิของโยคะร้อนอาจต้องสูงกว่าโยคะร้อนทั่วๆ ไปประมาณ 10 องศาเซลเซียส (Laukkanen *et al.*, 2015)

## สรุปผลการทดลอง

การออกกำลังกายด้วยโยคะเป็นเวลา 8 สัปดาห์สามารถส่งผลต่อสมรรถภาพทางกายของเด็กนักเรียนที่มีน้ำหนักเกิน โดยเฉพาะความอ่อนตัวเพิ่มขึ้น ค่าเฉลี่ยของระยะทางกระโดดไกลเพิ่มขึ้น และค่าเฉลี่ยของลูก-นั่ง 60 วินาทีเพิ่มขึ้น แต่อย่างไรก็ตามตัวแปรด้านสรีรวิทยายังไม่มีการเปลี่ยนแปลง เช่น มวลกล้ามเนื้อโดยไม่รวมไขมัน มวลกล้ามเนื้อ มวลกล้ามเนื้อติดกระดูก มวลไขมัน และเปอร์เซ็นต์ไขมันในร่างกาย ดังนั้น จึงจำเป็นต้องอย่างยิ่งที่ควรจะมีการวิเคราะห์ท่าโยคะที่ส่งผลต่อการเปลี่ยนแปลงทางสรีรวิทยาดังกล่าว และควรมีการศึกษาผลของการออกกำลังกายด้วยโยคะในระยะยาวต่อไป

## ข้อเสนอแนะ

1. ควรควบคุมปัจจัยอื่นๆ ที่จะส่งผลกระทบต่อองค์ประกอบของร่างกายของผู้ที่มีภาวะน้ำหนักเกิน
2. ควรมีการศึกษาในระยะยาวของการออกกำลังกายด้วยโยคะที่ส่งผลต่อองค์ประกอบของร่างกายของผู้ที่มีภาวะน้ำหนักเกิน และในกลุ่มตัวอย่างที่มีขนาดใหญ่

## กิตติกรรมประกาศ

ขอขอบคุณ สาขาวิชาวิทยาศาสตร์การกีฬา คณะวิทยาศาสตร์การกีฬาและสุขภาพ มหาวิทยาลัยการกีฬาแห่งชาติ วิทยาเขตอุดรธานี ที่ได้สนับสนุนการดำเนินงานวิจัยในครั้งนี้

## เอกสารอ้างอิง

- กรมอนามัย. (2562). *ร้อยละของเด็กวัยเรียน (6-14 ปี) ภาวะเริ่มอ้วนและอ้วน ระดับเขตสุขภาพ*. ระบบสารสนเทศสนับสนุนด้านการส่งเสริมสุขภาพและอนามัยสิ่งแวดล้อม กระทรวงสาธารณสุข. <https://nutrition2.anamai.moph.go.th/webupload/6x22caac0452648c8dd1f534819ba2f16c/filecenter/file/doc/2564-1.11-2.pdf>.
- วรศักดิ์ เพียรชอบ. (2560). *ปรัชญา หลักการ วิธีสอนและการวัดเพื่อประเมินผลทางพลศึกษา (ฉบับปรับปรุง)*. สำนักพิมพ์แห่งจุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย.
- สาลี สุภาภรณ์. (2544). *ตำราโยคะโยคะ (พิมพ์ครั้งที่ 1)*. บริษัท เพ็ญฟ้า ปรีณติง จำกัด.
- สุพิตร สมานิติ. (2564). *แบบทดสอบและเกณฑ์มาตรฐานสมรรถภาพทางกายสำหรับเด็กไทยอายุ 7-18 ปี (พิมพ์ครั้งที่ 1)*. บริษัท เวิลด์ เอ็กซ์เพิร์ท จำกัด.

- Alverina, G., Wattimena, I., & Wulandari, Y. (2020). The difference in flexibility of lumbar joins before and after yoga gymnastics in integrated health center (Posyandu) Yuswo Widodo Surabaya. *Journal of Widya Medika Junior*, 2(4), 257-262.
- Biolo, G., Cioocchi, B., & Stulle, M. (2007). Calorie restriction accelerates the catabolism of lean body mass during 2 wk of bed rest. *Am J Clin Nutr*, 86(2), 366-372.
- Bucht, H., & Donath, L. (2019). Sauna Yoga superiorly improves flexibility, strength, and balance: A two-armed randomized controlled trial in healthy older adults. *Int J Environ Res Public Health*, 16(19), 3721. doi: 10.3390/ijerph16193721.
- Chauhan, A., Kumar, D., Prasad, S. S., & Badoni, M. R. (2017). Semwal3 yoga practice improves the body mass index and blood pressure: A randomized controlled trial. *International Journal of Yoga*, 10(2), 103-106.
- Cohen, J. (1998). *Statistical power analysis for the behavioral sciences* (2nd ed.). Lawrence Erlbaum Associates, Publishers.
- Dhume, R. R. & Dhume, R. A. (1991). A comparative study of the driving effects of dextroamphetamine and yogic meditation on muscle control for the performance of balance on balance board. *Indian J Physiol Pharmacol*, 35(3), 191-194.
- Gokal, R., Shillito, L., & Maharaj, S. R. (2007). Positive impact of yoga and pranayama on obesity, hypertension, blood sugar, and cholesterol: a pilot assessment. *J Altern Complement Med*, 13(10), 1056-1057.
- Hewett. (2017). Effect of a 16-week Bikram yoga program on heart rate variability and associated cardiovascular disease risk factors in stressed and sedentary adults. a randomized controlled trial. *BMC Complement Medicine and Therapies*, 17(1), 226-230.
- Hoy, S. (2020). Effects of yoga-based interventions on cognitive function in healthy older adults: A systematic review of randomized controlled trials. *Complementary Therapies in Medicine*, 58(1), 1-8.



- Hunter, S. D., Dhindsa, M. S., Cunningham, E., Tarumi, T., Alkatan, M., Nualnim, N., & Tanaka, H. (2013a). The effect of Bikram yoga on arterial stiffness in young and older adults. *J. Altern. Complement. Med. (New York, NY)*, *19*(12), 930-4. DOI: 10.1089/acm.2012.0709.
- Hunter, S. D., Dhindsa, M., Cunningham, E., Tarumi, T., Alkatan, M., & Tanaka, H. (2013b). Improvements in glucose tolerance with Bikram yoga in older obese adults: A pilot study. *J. Bodyw. Mov. Ther.*, *17*(4): 404-7. doi: 10.1016/j.jbmt.2013.01.002.
- Jawon. (2013). *Specializes in manufacturing and offering body composition analyzer, blood pressure monitor for hospital, and 30 kinds of other medical products.* Medical Co., Ltd.
- Lau, C., Yu, R., & Woo, J. (2015). Effects of a 12 week Hatha yoga intervention on cardiorespiratory endurance, muscular strength and endurance, and flexibility in Hong Kong Chinese adults. *Evid Based Complement Alternative Medicine.*, 2015, 958727. 1-12. doi: 10.1155/2015/958727.
- Laukkanen, T., Khan, H., Zaccardi, F., & Laukkanen, J. A. (2015). Association between sauna bathing and fatal cardiovascular and all-cause mortality events. *JAMA Intern. Med*, *175*(4), 542-8. doi:10.1001/jamainternmed.2014.8187.
- Moliver, N., Mika, E., Chartrand, M., Burrus, S., Hausmann, R., Khalsa, S. (2011). Increased Hathayoga experience predicts lower body mass index and reduced medication use in women over 45 year. *International Journal of Yoga*, *4*(2), 77-86.
- Penedo, F. J., & Dahn, J. R. (2016). Exercise and well being: A review of mental and physical health benefits associated with physical activity. *Curr Opin Psychiatry*, *18*(2), 189.
- Sahay, B. K. (2007). Role of yoga in diabetes. *J Assoc Physicians India*, *55*, 21-26.
- Schmid, A. A., Van Puymbroeck, M., & Kocejka, D. M. (2010). Effect of a 12-week yoga intervention on fear of falling and balance in older adults: A pilot study. *Arch. Phys. Med. Rehabil.*, *91*(4), 576-583. DOI: 10.1016/j.apmr.2009.12.018.
- Selvaraja, C., & Arumugam, S. (2018). Effect of iron yoga practices on core strength and flexibility among football players. *Ganesar College of arts and science*, *6*(4), 596-599.
- Shafer, L., M. (2018). *Shafer, Lauren Marie, Low-Impact Yoga improves flexibility, but has no effect on heart rate variability in sedentary adult women (2018)* [Master of Science]. Wright State University.
- Siani, V., Mohamed, E. I., & Maiolo, C. (2003). Body composition analysis for healthy Italian vegetarians. *Acta Diabetol*, *40*(Suppl.1), 297-298.
- Slavicek, J., Kittnar, O., & Fraser, G. E. (2008). Lifestyle decreases risk factors for cardiovascular diseases. *Cent Eur J Public Health*, *16*(4), 161-164.
- Telles, S., Singh, N., Joshi, M., & Balkrishna, A. (2010a). Post traumatic stress symptoms and heart rate variability in Bihar flood survivors following yoga: A randomized controlled study. *BioMed Central Psychiatry*, *10*(18), 1-10.
- Telles, S., Naveen, V. K., Balkrishna, A., & Kumar, S. (2010b). Short term health impact of a yoga and diet change program on obesity. *Med Sci Monit*, *16*(1), CR35-40.
- United States Department of Health and Human Services. (1996). *Physical activity and health: A report of the Surgeon General.* <http://www.cdc.gov/nccdphp/sgr/smm.html>.
- Widjaja, A.A., Chothani, S.P., & Cook, S.A. (2021). Different roles of interleukin 6 and interleukin 11 in the liver: implications for therapy. *Hum. Vaccin. Immunother*, *16*(1), 2357-2362.
- Wooten, S.V., Signorile, J.F., Desai, S.S., Paine, A.K., Mooney, K. (2018). Yoga meditation (YoMed) and its effect on proprioception and balance function in elders who have fallen: A randomized control study. *Complementary Therapies in Medicine*, *36*(1), 129-136.
- Yang, Y., Verkuilen, J., & Rosengren, K. (2007). Effect of combined Taiji and Qigong training on balance mechanisms: A randomized controlled trial of older adults. *Med Sci Monit*, *13*(8), CR339-348.



## คำแนะนำสำหรับผู้พิมพ์

วารสารวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยี มหาวิทยาลัยมหาสารคาม กำหนดพิมพ์ปีละ 6 ฉบับ ฉบับที่ 1 (มกราคม-กุมภาพันธ์) ฉบับที่ 2 (มีนาคม-เมษายน) ฉบับที่ 3 (พฤษภาคม-มิถุนายน) ฉบับที่ 4 (กรกฎาคม-สิงหาคม) ฉบับที่ 5 (กันยายน-ตุลาคม) ฉบับที่ 6 (พฤศจิกายน-ธันวาคม) ผู้พิมพ์ทุกท่านสามารถส่งบทความวิจัยเพื่อรับการพิจารณาลงตีพิมพ์ได้ โดยไม่ต้องเป็นสมาชิกและไม่จำเป็นต้องสังกัดมหาวิทยาลัยมหาสารคาม ผลงานที่ได้รับการพิจารณาในวารสารจะต้องมีสาระที่น่าสนใจ เป็นงานที่ทบทวนความรู้เดิมหรือองค์ความรู้ใหม่ ที่ทันสมัย รวมทั้งข้อคิดเห็นทางวิชาการที่เป็นประโยชน์ต่อผู้อ่าน และจะต้องเป็นงานที่ไม่เคยตีพิมพ์เผยแพร่ในวารสารอื่นมาก่อน รวมถึงไม่อยู่ระหว่างพิจารณาลงตีพิมพ์ในวารสารใด บทความอาจถูกดัดแปลงแก้ไข เนื้อหา รูปแบบ และสำนวน ตามที่กองบรรณาธิการเห็นสมควร ทั้งนี้ เพื่อให้วารสารมีคุณภาพในระดับมาตรฐานสากล และนำไปอ้างอิงได้

### การเตรียมต้นฉบับ

1. ต้นฉบับพิมพ์เป็นภาษาไทยหรือภาษาอังกฤษ แต่เรื่องจะต้องมีบทคัดย่อทั้งภาษาไทยและภาษาอังกฤษ การใช้ภาษาไทยให้ยึดหลักการใช้คำศัพท์การเขียนทับศัพท์ภาษาอังกฤษตามหลักของราชบัณฑิตยสถาน ให้หลีกเลี่ยงการเขียนภาษาอังกฤษร่วมกับภาษาไทยในข้อความ ยกเว้นกรณีจำเป็น เช่น ศัพท์ทางวิชาการที่ไม่มีทางแปล หรือคำที่ใช้แล้วทำให้เข้าใจง่ายขึ้น คำศัพท์ภาษาอังกฤษที่เขียนเป็นภาษาไทยให้ใช้ตัวเล็กทั้งหมด ยกเว้นชื่อเฉพาะ สำหรับต้นฉบับภาษาอังกฤษ ควรได้รับการตรวจสอบความถูกต้องของภาษาจากผู้เชี่ยวชาญด้านภาษาอังกฤษก่อน

2. ขนาดของต้นฉบับ ใช้กระดาษขนาด A4 (8.5x11 นิ้ว) และพิมพ์โดยเว้นระยะห่างจากขอบกระดาษด้านละ 1 นิ้ว จัดเป็น 2 คอลัมน์

3. ชนิดของขนาดตัวอักษร ทั้งภาษาไทยและภาษาอังกฤษให้ใช้ตัวอักษร **Browallia New**

3.1 ชื่อเรื่องให้อักษรขนาด **18 pt. ตัวหนา**

3.2 ชื่อผู้พิมพ์ให้อักษรขนาด **16 pt. ตัวปกติ**

3.3 หัวข้อหลักให้อักษรขนาด **16 pt. ตัวหนา**

3.4 หัวข้อรองให้อักษรขนาด **14 pt. ตัวหนา**

3.5 บทคัดย่อและเนื้อหาใช้ตัวอักษรขนาด **14 pt. ตัวบาง**

3.6 เชิงอรรถอยู่หน้าแรกที่เป็นรายละเอียดชื่อตำแหน่งทางวิชาการ และที่อยู่ของผู้พิมพ์ให้อักษรขนาด 12 pt. ตัวบาง และใส่ Corresponding author

4. ผู้พิมพ์จะต้องจัดเตรียมต้นฉบับในรูปแบบของไฟล์ “.doc” (MS Word) และ “.pdf” (Portable Document Format)

5. จำนวนหน้า ความยาวของบทความไม่ควรเกิน 12 หน้า รวมตาราง รูป ภาพ และเอกสารอ้างอิง

6. รูปแบบการเขียนต้นฉบับ แบ่งเป็น 2 ประเภท ได้แก่ ประเภทบทความรายงานผลวิจัยหรือบทความวิจัย (research article) และบทความจากการทบทวนเอกสารวิจัยที่ผู้อื่นทำเอาไว้ หรือบทความทางวิชาการ หรือบทความทั่วไป หรือบทความปริทัศน์ (review article)

7. การส่งบทความ ส่ง online ผ่านระบบ ThaiJo โดยสามารถเข้าไปดูรายละเอียดที่ [www.scjmsu.msu.ac.th](http://www.scjmsu.msu.ac.th)

8. หากจัดรูปแบบไม่ถูกต้องทางวารสารจะจัดส่งคืนผู้พิมพ์เพื่อปรับแก้ไข ก่อนเสนอผู้ทรงคุณวุฒิพิจารณา ซึ่งอาจทำให้กระบวนการตีพิมพ์ล่าช้า

## บทความวิจัย/บทความวิชาการ ให้เรียงลำดับหัวข้อดังนี้

**ชื่อเรื่อง (Title)** ชื่อเรื่องให้มีทั้งภาษาไทยและภาษาอังกฤษ ควรสั้น กระชับ และสื่อเป้าหมายหลักของงานวิจัย ไม่ใช่คำย่อ ความยาวไม่เกิน 100 ตัวอักษร

**ชื่อผู้พิมพ์ [Author (s)]** และที่อยู่ ให้มีทั้งภาษาไทยและภาษาอังกฤษ และระบุตำแหน่งทางวิชาการ หน่วยงาน หรือสถาบันที่สังกัด และ E-mail address ของผู้พิมพ์ไว้เป็นเชิงบรรณของหน้าแรก เพื่อกองบรรณาธิการสามารถติดต่อได้

**บทคัดย่อ (Abstract)** เป็นการย่อเนื้อความงานวิจัยทั้งเรื่องให้สั้น และมีเนื้อหา ประกอบด้วย วัตถุประสงค์ ผลการค้นพบที่สำคัญ และสรุป มีทั้งภาษาไทยและภาษาอังกฤษ โดยบทคัดย่อภาษาอังกฤษมีความยาวไม่เกิน 300 คำ สำหรับบทคัดย่อภาษาไทยให้สอดคล้องกับบทคัดย่อภาษาอังกฤษ

**คำสำคัญ (Keywords)** ทั้งภาษาไทยและภาษาอังกฤษ ไม่เกิน 5 คำ ให้ระบุไว้ท้ายบทคัดย่อของแต่ละภาษา

**บทนำ (Introduction)** เป็นส่วนเริ่มต้นของเนื้อหา ที่บอกความเป็นมา เหตุผล และวัตถุประสงค์ ที่นำไปสู่งานวิจัยนี้ ให้ข้อมูลทางวิชาการที่เกี่ยวข้องจากการตรวจสอบเอกสารงานวิจัยที่เกี่ยวข้องที่มีรายงานการศึกษาท่อนหน้า

**วัสดุอุปกรณ์และวิธีการศึกษา (Materials and Methods)** ให้ระบุรายละเอียด วัสดุอุปกรณ์ สิ่งื่อนำมาศึกษา จำนวน ลักษณะเฉพาะของตัวอย่างที่ศึกษา อธิบายวิธีการศึกษา แผนการทดลองทางสถิติ วิธีการเก็บข้อมูลการวิเคราะห์และการแปลผล

**ผลการศึกษา (Results)** รายงานผลที่ค้นพบ ตามลำดับขั้นตอนของการวิจัย อย่างชัดเจนได้ใจความ ถ้าผลไม่ซับซ้อน และมีตัวเลขไม่มากควรใช้คำบรรยาย แต่ถ้ามีตัวเลข หรือ ตัวแปรมาก ควรใช้ตารางหรือแผนภูมิประกอบการรายงานผลการศึกษา

**วิจารณ์และสรุปผล (Discussion and Conclusion)** การอภิปรายผลการศึกษาว่าตรงกับวัตถุประสงค์และเปรียบเทียบกับสมมติฐานของการวิจัยที่ตั้งไว้ หรือแตกต่างไปจากผลงานที่มีผู้รายงานไว้ก่อนหรือไม่ อย่างไร เหตุผลใดจึงเป็นเช่นนั้น และมีพื้นฐานอ้างอิงที่เชื่อถือได้ ผู้พิมพ์อาจมีข้อเสนอแนะที่นำผลงานวิจัยไปใช้ประโยชน์ หรือตั้งประเด็นคำถามการวิจัย ซึ่งเป็นแนวทางสำหรับการวิจัยต่อไป

**ตาราง รูป ภาพ แผนภูมิ (Table, Figures, and Diagrams)** ควรคัดเลือกเฉพาะที่จำเป็น แทรกไว้ในเนื้อเรื่อง โดยเรียงลำดับให้สอดคล้องกับคำอธิบายในเนื้อเรื่อง และมีคำอธิบายเป็นภาษาอังกฤษ ที่สื่อความหมายได้สาระครบถ้วน กรณีที่เป็นตาราง คำอธิบายอยู่ด้านบน ถ้าเป็นรูป ภาพ แผนภูมิ คำอธิบายอยู่ด้านล่าง

**กิตติกรรมประกาศ (Acknowledgements)** ระบุงานวิจัยได้รับการสนับสนุนงบประมาณ หรือสนับสนุนด้านอื่นๆ รวมถึงความช่วยเหลือจากองค์กรใดหรือผู้ใดบ้าง

**เอกสารอ้างอิง (References)** ระบุงานการเอกสารที่นำมาใช้อ้างอิงให้ครบถ้วนไว้ท้ายเรื่อง โดยใช้ APA Style ดังตัวอย่าง สามารถดูรายละเอียดและตัวอย่างเพิ่มเติมได้ที่ [www.scjmsu.msu.ac.th](http://www.scjmsu.msu.ac.th)

## เอกสารอ้างอิงให้เขียนตามรูปแบบ “Publication Manual of the American Psychological Association” (7<sup>th</sup> Edition)

### 1. หนังสือ (ในรูปแบบรูปเล่ม)

ชื่อ-สกุล. (ปีพิมพ์). *ชื่อเรื่อง* (พิมพ์ครั้งที่). สำนักพิมพ์.

ตัวอย่าง:

วิธาน ฐานะวุฑฒิ. (2547). *หัวใจใหม่-ชีวิตใหม่*. ปิตติศึกษา.



## 2. บทความในวารสารอิเล็กทรอนิกส์

ชื่อ-สกุล. (ปีพิมพ์). ชื่อบทความ. ชื่อวารสาร, เลขของปีที่ (เลขของฉบับที่), เลขหน้า. /<https://doi.org/เลขdoi>

ตัวอย่าง:

มานะ สินธุวงษานนท์. (2549). ปัจจัยส่งเสริมการจัดการศึกษาที่ส่งผลต่อคุณภาพนักเรียนในภาคตะวันออกเฉียงเหนือ. *วารสารครุศาสตร์*, 18 (2), 115-116.

## 3. รายงานการประชุมเชิงวิชาการ (Proceeding)

ชื่อ-สกุล. (ปี). ชื่อบทความ. ใน/ชื่อบรรณานุกรม (บ.ก.), ชื่อหัวข้อการประชุม. ชื่อการประชุม (น. เลขหน้า). ฐานข้อมูล.

ตัวอย่าง:

พัชราภา ตันติชูเวช. (2553). การศึกษาทั่วไปกับคุณลักษณะบัณฑิตที่พึงประสงค์ในประเทศมาเลเซีย และสิงคโปร์ ศึกษาโดยเปรียบเทียบกับประเทศไทย. ใน ศิริชัย กาญจนวาสี (บ.ก.), *การขับเคลื่อนคุณภาพการศึกษาไทย. การประชุมวิชาการและเผยแพร่ ผลงานวิจัยระดับชาติ* (น. 97-102). คณะครุศาสตร์ จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย.

## 4. หนังสือพิมพ์และหนังสือพิมพ์ออนไลน์

ชื่อสกุล. (ปี, /วัน/เดือน). ชื่อคอลัมน์. ชื่อหนังสือพิมพ์, เลขหน้า.

ตัวอย่าง:

พงษ์พรรณ บุญเลิศ. (2561, 15 สิงหาคม). เติลนิวส์ว่าไรดี: 'สื่อพิพิธภัณฑน์' เชื่อม ยุคสมัย เข้าถึงด้วย 'มิติใหม่' อินเทอร์เน็ต. *เติลนิวส์*, 4.

## 5. หนังสือ (ในรูปแบบอิเล็กทรอนิกส์)

ชื่อ สกุล. (ปีพิมพ์). ชื่อเรื่อง (พิมพ์ครั้งที่). URL

ตัวอย่าง:

กระทรวงศึกษาธิการ. (2560). *หลักสูตรการศึกษาปฐมวัย พุทธศักราช 2560 สำหรับเด็กอายุ ต่ำกว่า 3-5 ปี*. [http://drive.google.com/file/d/1HiTwiRh1Er73h\\_VYIMh1cYWzQiaNI\\_Vc/view](http://drive.google.com/file/d/1HiTwiRh1Er73h_VYIMh1cYWzQiaNI_Vc/view)

## Instruction for Authors

Research manuscripts relevant to subject matters outlined in the objectives are **Accepted** from all institutions and private parties provided they have not been preprinted elsewhere. The context of the papers may be **Revised** as appropriate to the standard. The manuscript must be interesting topic, review knowledge, modern knowledge, and academic comments that are beneficial to readers. The journal publishes 6 issues a year. Vol.1 (January-February) Vol.2 (March-April) Vol.3 (May-June) Vol.4 (July-August) Vol.5 (September-October) Vol.6 (November-December).

### Preparation of manuscripts:

1. Manuscripts can be written in either Thai or English with the abstract in both Thai and English. The use of Thai language adheres to the principles of vocabulary, transliteration in English according to the principles of the Royal Society of Thailand. Manuscript should be specific, clear, concise, accurate, and consistent. Mixing Thai and English should be avoided except for the case of necessity, such as academic vocabulary with no translation or mixing words for easier understanding. English vocabulary written in Thai must use all lowercase except for unique names. English language manuscripts should be checked by an English language editor prior to submission.

2. Manuscript should be on A4 standard size paper. Each side must have 1" margins with 2 columns.

3. Browallia New font is required with font size as follows:

3.1 Title of the article: **18 pt. Bold**

3.2 Name (s) of the authors: **16 pt. Unbold**

3.3 Main Heading: **16 pt. Bold**

3.4 Sub-heading: **14 pt. Bold**

3.5 Body of the text: **14 pt. Unbold**

3.6 Footnotes for authors and their affiliations: **12 pt. Unbold**, must be cited at the bottom of the first page. Academic position and corresponding author must be added at footnotes.

4. Manuscripts should be typed in MS word ".doc" and ".pdf" (Portable Document Format)

5. The number of pages are limited to 12 pages, including references, tables, graphs, or pictures.

6. Types of manuscripts: research articles and review articles.

7. Manuscript submission: online submission via [www.scjmsu.msu.ac.th](http://www.scjmsu.msu.ac.th).

**8. Manuscript with uncorrected format will be sent back to the author before review process which can delay the publication process.**

### Research article / review article must be in sequence as follows:

**Title:** denoted in both Thai and English, must be concise and specific to the point, normally less than 100 characters.

**Name (s) of the author (s) :** denoted with affiliation must be in Thai and English, academic position must be specified, and email address for contact the author.

**Abstract:** This section of the paper should follow an informative style, concisely covering all the important of findings. The abstract must include objectives, findings, and conclusion. Thai and English abstract is required. The English abstract is restricted to **300 words**. Thai abstract should be relevant to English version.

**Keywords:** Give 4-5 concise words to specify your article

**Introduction:** This section is the initial part of the article, contain information about background, reasons, purposes, and review section.

**Materials and Methods:** A discussion of the materials used, and a description clearly detailing how the experiment was undertaken, e.g., experimental design, data collection and analysis, and interpretation

**Results:** Present the output. Li the information in complicated, add tables, graphs, diagrams etc., as necessary.

**Discussion and Conclusion:** Discuss how the results are relevant/oppose to the objective and hypothesis. How the result is different/relevant when comparing to the former findings. Give us your reason why result is like that base on reliable researches. This part should end with suggestions for research utilization or providing questions for future studies.

**Tables, figures, diagrams:** Selected only necessary objects to insert in the body of manuscript in accordance with the description in the text. The short description is required in English with completely meaningful. For figures and diagrams, the description is below the picture. But, for table, the description is on top of the table.

**Acknowledgement:** the name of the persons, organization, or funding agencies who helped support the research are acknowledged in this section.

**References:** listed and referred in APA.

## Reference are written in “Publication Manual of the American Psychological Association” (7<sup>th</sup> Edition)

### 1. Book

Mertens, D.M. (2014). *Research and evaluation in education and psychology: Integrating diversity with quantitative, qualitative, and mixed methods* (4<sup>th</sup> ed.). SAGE.

### 2. Academic Journal

Herbst-Damm, K.L., & Kulik, J.A. (2005). Volunteer support, marital status, and the survival times of terminally ill patients. *Health Psychology*, 24, 225-229. <https://doi.org/10.1037/0278-6133.24.2.225>

### 3. Conference Proceeding

Katz, I., Gabayan, K., & Aghajan, H. (2007). A multi-touch surface using multiple cameras. In J. Blanc-Talon, W. Philips, D. Popescu, & P. Scheunders (Eds.), *Lecture notes in computer science: Vol. 4678. Advanced concepts for intelligent vision systems* (pp. 97-108). Springer-Verlag. [https://doi.org/10.1007/978-3-540-74607-2\\_9](https://doi.org/10.1007/978-3-540-74607-2_9)

### 4. Newspaper / Online Newspaper

Brody, J.E. (2007, December 11). Mental reserves keep brain agile. *The New York Times*. <http://www.nytimes.com>

### 5. E-book

Dahlberg, G., & Moss, P. (2005). *Ethics and politics in early childhood education*. <https://epdf.tips/ethics-and-politics-in-early-childhoodeducation-contesting-early-childhood.html>

## **Aim and Scope:**

The Journal of Science and Technology aims to disseminate of scientific knowledge in the discipline of Mathematics, Science, Technology, Engineering, Agriculture, Medicine, Health Science, Interdisciplinary in science and technology. The journal publishes both research article and review article.

## **Ownership**

Maharakham University  
Editorial Office  
Division of Research Facilitation and Dissemination,  
Khamriang Sub-district, Kantharawichai District,  
Maha Sarakham Province 44150  
Tel & Fax: 0 4375 4416 ext. 1754

## **Advisors**

President of Maharakham University  
Professor Dr.Visut Baimai  
Professor Dr.Vichai Boonsaeng  
Professor Dr.Peerasak Srinives

## **Editor-in-Chief**

Professor Dr.Preecha Prathepha

## **Assistant Editors**

Professor Dr.Pairot Pramual  
Maharakham University  
Professor Dr.Sirithon Siriamornpun  
Maharakham University  
Professor Dr.Anongrit Kangrang  
Maharakham University  
Associate Professor Dr.Worapol Aengwanich  
Maharakham University  
Associate Professor Dr.Vallaya Sutthikhum  
Maharakham University  
Associate Professor Dr.Orawich Goompol  
Maharakham University  
Assistant Professor Dr.Somnuk Puangpronpitag  
Maharakham University

## **Editorial Board**

Professor Dr.Thaweesakdi Boonkerd  
Chulalongkorn University  
Professor Dr.La-orsri Sanoamuang  
Khon Kaen University  
Professor Dr.Pranee Anprung  
Chulalongkorn University  
Professor Dr.Niwat Sonoamuang  
Khon Kaen University  
Professor Dr.Wongsa Laohasiriwong  
Khon Kaen University  
Professor Dr.Kwanjai Kanokmedhakul  
Khon Kaen University

Professor Dr.Sirikasem Sirilak  
Naresuan University  
Associate Professor Dr.Sunan Saikrasun  
Maharakham University  
Associate Professor Dr.Suwanna Boonyaleepun  
Khon Kaen University  
Associate Professor Dr.Chantana Aromdee  
Khon Kaen University  
Associate Professor Dr.Boonchong Chawsithiwong  
National Institute of Development Administration  
Associate Professor Dr.Porntep Tanonkeo  
Khon Kaen University  
Associate Professor Dr.Narumon Sangpradub  
Khon Kaen University  
Associate Professor Dr.Chawalit Boonpok  
Maharakham University  
Associate Professor Terdsak Khammeng  
Nakhon Phanom University  
Associate Professor Yuen Poovarawan  
Kasetsart University  
Assistant Professor Dr.Napparat Buddhakala  
Rajamangala University of Technology Thanyaburi  
Assistant Professor Dr.Anucha Pranchana  
Ubon Ratchathani Rajabhat University  
Assistant Professor Dr.Seckson Sukhasena  
Naresuan University  
Assistant Professor Dr.Walaiporn Tongjaroenbuengam  
Maharakham University  
Assistant Professor Dr.Alongkorn Lamom  
Maharakham University  
Assistant Professor Dr.Natapol Pumipuntu  
Maharakham University  
Dr.Rakjinda Wattanalai  
Siam University  
Dr.Adrian Roderick Plant  
Maharakham University

## **Secretary**

Director of the Division of Research Facilitation and Dissemination

## **Assistant secretary**

Phakwilai Rungwisai  
Jirarat Puseerit

## **Six issues per year**

Number 1 January-February  
Number 2 March-April  
Number 3 May-June  
Number 4 July-August  
Number 5 September-October  
Number 6 November-December