



Ramkhamhaeng Research Journal of Sciences and Technology

ปีที่ 19 ฉบับที่ 2 กรกฎาคม - ธันวาคม 2559 Vol. 19 No. 2 July - December 2016

- **การวิเคราะห์ความเข้มข้นของเอทานอลด้วยการสกัดด้วยตัวทำละลายอินทรีย์ร่วมกับวิธีไอโครเมต และการประยุกต์ใช้ในระดับห้องปฏิบัติการ**
 เวสารัช สุนทรชัยบูรณ์ สุทธิเดช ปรีชารัมย์ และรัชพล พะวงศิริรัตน์..... **1**
- **การศึกษาผลกระทบของกระบวนการแฟลชพาสเจอร์ไรส์ที่มีผลต่อปริมาณวิตามินบี 1 ในผลิตภัณฑ์นม**
 วิฐ ชูศรี และธัชพงศ์ ชูศรี..... **10**
- **ผลของสารประกอบทั้งสแตนคาร์ไบด์ต่อการกัดกร่อนของวัสดุเซอร์เมตกลุ่มไทเทเนียมคาร์ไบด์**
 นวรัตน์ วรอวยชัย นกฉัตร ธาธิลัก และเรืองเดช ธงศรี..... **26**
- **การสังเคราะห์สารประกอบคาร์บาโซลแอลคาลอยด์ (Mahanine) อารี่นีนเปปไทด์คอนจูเกตเพื่อใช้ในการยับยั้งการเจริญเติบโตของเซลล์มะเร็ง**
 จริญญา ร่มสายหยุด..... **39**

Ramkhamhaeng Research Journal of Sciences and Technology

Ramkhamhaeng University

Vol. 19 No. 2 July - December 2016

สถาบันวิจัยและพัฒนา
อาคารสุโขทัย ชั้น 12 มหาวิทยาลัยรามคำแหง
หัวหมาก บางกะปิ กรุงเทพมหานคร 10240
โทรศัพท์ 0-2310-8119 โทรสาร 0-2310-8696

สพ.17004

วารสารวิจัยรามคำแหง
วิทยาศาสตร์และเทคโนโลยี

<http://www.rd.ru.ac.th>

วารสารวิจัยรามคำแหง

ฉบับวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยี



ผู้จัดทำ

มหาวิทยาลัยรามคำแหง

ที่ปรึกษาบรรณาธิการ ผู้ช่วยศาสตราจารย์ วุฒิศักดิ์ ลากเจริญทรัพย์
ผู้ช่วยศาสตราจารย์ ดร.บุญชวล ทองประยูร
รองศาสตราจารย์ ดร.มณี อัครวานนท์

อธิการบดีมหาวิทยาลัยรามคำแหง
รองอธิการบดีฝ่ายวิชาการและประกันคุณภาพ
อดีตผู้อำนวยการสถาบันวิจัยและพัฒนา

บรรณาธิการ

ผู้ช่วยศาสตราจารย์ พรชัย วงศ์วานา

ผู้อำนวยการสถาบันวิจัยและพัฒนา

กองบรรณาธิการ

สาขาวิทยาศาสตร์
และเทคโนโลยี

ศาสตราจารย์ ดร.สนธิ อักษรแก้ว
ศาสตราจารย์ ดร.ประสาธ สืบคำ
ศาสตราจารย์ ดร.กฤษณะ สาคริก
ศาสตราจารย์ ดร.อภิชาติ สุขสำราญ
ศาสตราจารย์ ดร.งามผ่อง คงคาทิพย์
รองศาสตราจารย์ ดร.สุทัศน์ สุนิประเสริฐ
รองศาสตราจารย์ ดร.อำนาจ มีเวที
รองศาสตราจารย์ ดร.ชัยณรงค์ คันทพนิต
รองศาสตราจารย์ ดร.มาลี ณ นคร
รองศาสตราจารย์ ดร.เจริญ นิตธรรมยง
รองศาสตราจารย์ ดร.วรรณมา ตั้งเจริญชัย
รองศาสตราจารย์ ดร.สมนึก บุญเกิด
รองศาสตราจารย์ ดร.ไทยถาวร เลิศวิทยาประสิทธิ์
ผู้ช่วยศาสตราจารย์ ดร.ธรรมศักดิ์ ยี่มิน
ผู้ช่วยศาสตราจารย์ ดร.ธิตารัตน์ เอกสิทธิกุล
ผู้ช่วยศาสตราจารย์ ดร.วิมล จันทร์แจ่ม
ผู้ช่วยศาสตราจารย์ ดร.สุนันท์ ไรจนกิจ
ผู้ช่วยศาสตราจารย์ ดร.ปิติกานต์ กร้ามาตร
ผู้ช่วยศาสตราจารย์ ดร.วรรณนัท คงสง

สถาบันสิ่งแวดล้อมไทย
มหาวิทยาลัยเทคโนโลยีสุรนารี
มหาวิทยาลัยเทคโนโลยีสุรนารี
มหาวิทยาลัยรามคำแหง
มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์
มหาวิทยาลัยรามคำแหง
มหาวิทยาลัยเชียงใหม่
สถาบันคลังสมองแห่งชาติ
มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย
สถาบันเทคโนโลยีพระจอมเกล้าเจ้าคุณทหารลาดกระบัง
มหาวิทยาลัยรามคำแหง
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย
มหาวิทยาลัยรามคำแหง
มหาวิทยาลัยสยาม
มหาวิทยาลัยรามคำแหง
มหาวิทยาลัยรามคำแหง
มหาวิทยาลัยเทคโนโลยีราชมงคลธัญบุรี
มหาวิทยาลัยรามคำแหง
สถาบันบัณฑิตพัฒนบริหารศาสตร์
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย
มหาวิทยาลัยรามคำแหง
มหาวิทยาลัยธรรมศาสตร์
มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์
มหาวิทยาลัยศรีนครินทรวิโรฒ
มหาวิทยาลัยศรีนครินทรวิโรฒ
มหาวิทยาลัยรามคำแหง
มหาวิทยาลัยรามคำแหง
มหาวิทยาลัยรามคำแหง
มหาวิทยาลัยรามคำแหง
มหาวิทยาลัยศรีนครินทรวิโรฒ
มหาวิทยาลัยรามคำแหง
มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์

สาขามนุษยศาสตร์
และสังคมศาสตร์

ศาสตราจารย์ ดร.บุญทัน ดอกไธสง
ศาสตราจารย์ ดร.สุภางค์ จันทวานิช
รองศาสตราจารย์ ดร.พงษ์ศักดิ์ พันธุลาก
รองศาสตราจารย์ ดร.เสาวนีย์ ลิขิตวัฒน์
รองศาสตราจารย์ ดร.ชูชีพ พิพัฒนศิริ
รองศาสตราจารย์ ดร.ดุขฎิ โยเหลา
รองศาสตราจารย์ ดร.พรสุข หุ่นรินทร์
รองศาสตราจารย์ บุญผา บุญทิพย์
รองศาสตราจารย์ อนุภูม พลศิริ
ผู้ช่วยศาสตราจารย์ ดร.บงกชรัตน์ เตชะไตรศักดิ์
ผู้ช่วยศาสตราจารย์ ดร.ร่าจวน เบญจศิริ
ผู้ช่วยศาสตราจารย์ ดร.ทัศนวรรณ ภู่อารีย์
อาจารย์ ดร.กรวิภา สรรพกิจจานง
อาจารย์ ดร.สยามพร โยธาสุมุท

วารสารวิจัยรามคำแหง

ฉบับวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยี



ฝ่ายจัดทำ	ผู้ช่วยศาสตราจารย์ พรชัย วงศ์वासนา	ประธานฝ่ายจัดทำ
	อาจารย์ ยิ่งยง เมฆลอย	กรรมการ
	นายหนนศักดิ์ อังกูรวิบูลย์	กรรมการ
	นางสาวสายพิน รัตมัต	กรรมการ
	นางลักขิกา ขจัดภัย	กรรมการ
	นางสาวฐนิตฐา ยิบพิกุล	กรรมการ
	นางญนันทพร กลั่นเจริญ	กรรมการ
	นายอำนาจ สิงห์ตาลกง	กรรมการและเหรัญญิก
	นายอภิชาติ งามผิว	กรรมการและเลขานุการ
	นางบุปผา เอี่ยมเจริญ	กรรมการและผู้ช่วยเลขานุการ
	นางสาวแพรพิไล เจริญสิทธิ์กองคำ	กรรมการและผู้ช่วยเลขานุการ

วารสารวิจัยรามคำแหง ฉบับวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยี รับผิดชอบและตีพิมพ์บทความวิจัยสาขาวิชาด้านวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยี

กำหนดเผยแพร่ ออก 2 ฉบับต่อปี ตั้งแต่เดือนมกราคม – เดือนมิถุนายน, เดือนกรกฎาคม – เดือนธันวาคม

การเผยแพร่ มอบให้ห้องสมุดหน่วยงานรัฐบาล สถาบันการศึกษาในประเทศ

ข้อมูลการติดต่อ ฝ่ายจัดทำ
กองบรรณาธิการวารสารวิจัยรามคำแหง
สถาบันวิจัยและพัฒนา มหาวิทยาลัยรามคำแหง
อาคารสุขโขทัย ชั้น12 หัวมหาก บางกะปิ กรุงเทพฯ 10240
โทร. 02-310-8696
Email: ruresearch@ru.ac.th

พิมพ์ที่ สำนักพิมพ์มหาวิทยาลัยรามคำแหง

- บทความทุกบทความได้รับการตรวจสอบถูกต้องทางวิชาการโดยผู้ทรงคุณวุฒิ (peer review)
- มีผู้ทรงคุณวุฒิจากภายนอกประจำกองบรรณาธิการมากกว่าร้อยละ 50
- มีบทความจากนักวิชาการภายนอกลงตีพิมพ์ไม่น้อยกว่า 25% ทุกฉบับ
- ข้อความและบทความในวารสารวิจัยรามคำแหงเป็นแนวคิดของผู้เขียน การตีพิมพ์บทความซ้ำเป็นความรับผิดชอบของผู้เขียน ไม่ใช่ความคิดเห็นและความรับผิดชอบของคณะผู้จัดทำ บรรณาธิการ กองบรรณาธิการและมหาวิทยาลัยรามคำแหง
- กองบรรณาธิการไม่สงวนสิทธิ์การคัดลอก แต่ควรอ้างอิงแสดงที่มา

วารสารวิจัยรามคำแหง

ฉบับวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยี



บทบรรณาธิการ

วารสารวิจัยรามคำแหง ฉบับนี้ เป็นวารสารวิจัยของมหาวิทยาลัยรามคำแหง โดยสถาบันวิจัยและพัฒนา ซึ่งได้ก้าวเข้าสู่ปีที่ 19 ฉบับที่ 2 กรกฎาคม – ธันวาคม 2559 ซึ่งผ่านการประเมินคุณภาพวารสารวิชาการที่อยู่ในฐานข้อมูล TCI (รอบที่ 3) ถูกจัดอยู่ในกลุ่มที่ 2

สถานการณ์บ้านเมืองในปัจจุบันเข้าสู่ช่วงเวลาของการเปลี่ยนผ่าน อันเป็นหัวเลี้ยวหัวต่อที่สำคัญของสังคมไทย ทุกภาคส่วนของสังคมกำลังเข้ามามีบทบาทในการนำเสนอปรัชญา แนวคิด วิธีการในการขับเคลื่อนกระบวนการทางสังคม การเมือง และเศรษฐกิจของประเทศให้เดินต่อไปตามครรลอง อยู่บนวิถีแห่งความหลากหลาย และความแตกต่างกันทางความคิด ความขัดแย้งทางการเมืองและสถานการณ์ที่เลวร้ายต่าง ๆ จะวนเวียนกลับมาเกิดขึ้นใหม่ตามงล้อประวัติศาสตร์อีกหรือไม่นั้น ขึ้นอยู่กับความมากน้อยของสำนึกรับผิดชอบต่อแผ่นดินถิ่นเกิดของคนไทยหรือผู้ที่อาศัยแผ่นดินไทยทุกคน รวมถึงทางภาคส่วนของนักวิชาการที่มีบทบาทสำคัญในการเสนอแนะแนวทางที่ถูกต้อง ผ่านทางการนำเสนอผลงานในรูปแบบต่าง ๆ อันเป็นแหล่งความรู้พื้นฐานในการตัดสินใจอยู่บนฐานทางความคิดทางวิชาการที่น่าเชื่อถือ **แนวและทิศทางของการวิจัยของชาติกำลังมุ่งสู่การนำองค์ความรู้ที่มีสะสมมาจากอดีตมาประยุกต์ใช้ประโยชน์ นำผลการวิจัยจาก "หิ้งสู่ห้าง" ขับเคลื่อนประเทศไทยโดยการใช้งานวิจัยให้สามารถต่อยอดในเชิงพาณิชย์ อันเป็นหนทางหนึ่งที่ทำให้ประเทศไทยก้าวเข้าสู่ยุคใหม่ที่ดีกว่าเดิมทั้งแนวคิดทางสังคมและความก้าวหน้าของเทคโนโลยี**

กองบรรณาธิการและฝ่ายจัดทำขอขอบพระคุณ ศูนย์ดัชนีการอ้างอิงวารสารไทย (TCI) กับความพยายามในการรักษามาตรฐานวารสารในประเทศไทยให้คงอยู่ในระดับนานาชาติ อันเป็นความก้าวหน้าทางวิชาการที่สำคัญของประเทศไทย และขอขอบคุณนักวิชาการ นักวิจัย ที่ให้เกียรติ ให้ความสนใจและนำบทความอันทรงคุณค่าของท่านมาตีพิมพ์ในวารสารวิจัยรามคำแหง และหวังเป็นอย่างยิ่งว่าจะได้รับความไว้วางใจเช่นนี้ตลอดไป

ขอขอบพระคุณ
บรรณาธิการ

การวิเคราะห์ความเข้มข้นของเอทานอลด้วยการสกัดด้วยตัวทำละลายอินทรีย์ร่วมกับวิธีไดโครเมต และการประยุกต์ใช้ในระดับห้องปฏิบัติการ

An Analysis of Ethanol Concentration Using Organic Solvent Extraction with Dicromate Colorimetric Method and Its Application to Laboratory Scale

เวสัช สุขทรชัยบุรณ์¹ สุทธิเดช ปรีชารัมย์² และรัชพล พวงศรีรัตน์³



บทคัดย่อ

การศึกษานี้มีวัตถุประสงค์เพื่อคัดเลือกตัวทำละลายอินทรีย์ที่เหมาะสมจาก 4 ชนิดคือ Isobutyl acetate (ISA), Butyl acetate (BTA), Chloroform (CHF), Tributyl phosphate (TBP) และสารผสมของตัวทำละลายเหล่านี้ และหาสัดส่วนที่เหมาะสมในการสกัดเอทานอลร่วมกับวิธีไดโครเมต (dicromate colorimetric method) และความเป็นไปได้ในการประยุกต์ใช้ในระดับห้องปฏิบัติการ จากการทดลองพบว่า TBP:ISA (25:75 โดยปริมาตร) เป็นตัวทำละลายที่สามารถสกัดเอทานอลได้ดีที่สุดเมื่อเปรียบเทียบกับตัวทำละลายอื่นที่เหลือ ($p < 0.05$) จากนั้นศึกษาประสิทธิภาพการสกัดเอทานอลของตัวทำละลายในจากอาหารเลี้ยงเชื้อเหลว YPD ที่ระดับความเข้มข้นของน้ำตาลกลูโคส 2% และ 10% โดยน้ำหนักที่ผ่านการหมักด้วยเชื้อ *Saccharomyces cerevisiae* 5019 เปรียบเทียบกับ TBP พบว่าเมื่อตรวจสอบโดยเครื่องแก๊สโครมาโทกราฟี (GC) ให้ค่าความเข้มข้นของเอทานอลที่ใกล้เคียงกัน ดังนั้นจึงมีความเป็นไปได้ที่จะนำมาประยุกต์ใช้ในระดับห้องปฏิบัติการ และสามารถนำไปพัฒนาในระดับอุตสาหกรรมต่อไปได้

คำสำคัญ : วิธีไดโครเมต เอทานอล การสกัด ตัวทำละลาย

ABSTRACT

The aim of this study was to select the proper organic solvents [isobutyl acetate (ISA), butyl acetate (BTA), chloroform (CHF), tributyl phosphate (TBP) and their mixtures] and to find the proper proportions for ethanol determination with the dicromate colorimetric method and practical application for laboratory scale. The results showed that TBP:ISA (25:75 by volume) was the best ratio of the solvent for ethanol extraction among different solvents and their mixtures ($p < 0.05$). The ethanol extraction efficiency of selected solvents from fermented YPD medium at 2% and 10% (by weight) glucose using *Saccharomyces cerevisiae* 5019, compared with TBP, was investigated by gas chromatography (GC). The results showed that the selected

¹ นักศึกษา หลักสูตรวิทยาศาสตรบัณฑิต สาขาเคมี คณะวิทยาศาสตร์ มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์ วิทยาเขตกำแพงแสน

² อาจารย์ หลักสูตรจุลชีววิทยา คณะศิลปศาสตร์และวิทยาศาสตร์ มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์ วิทยาเขตกำแพงแสน

³ อาจารย์ หลักสูตรวิทยาศาสตรบัณฑิต สาขาเคมี คณะศิลปศาสตร์และวิทยาศาสตร์ มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์ วิทยาเขตกำแพงแสน

solvent gave the high accuracy values, as well as that of GC ($p < 0.05$). These results indicated that TBP:ISA (25:75 by volume) showed high feasibility for ethanol extraction at laboratory scale and could be developed for industrial scale in the future.

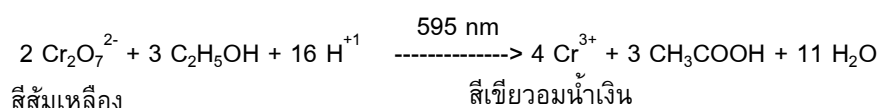
Keywords : dicromate colorimetric method, ethanol, extraction, solvent

บทนำ

จากสถานการณ์ในปัจจุบันกล่าวได้ว่าวิกฤติทางด้านพลังงานที่เกิดขึ้นทั่วโลกทำให้ส่งผลกระทบต่อภาคอุตสาหกรรมและภาคเกษตรกรรมอย่างหลีกเลี่ยงไม่ได้ ปัญหาการขาดแคลนพลังงาน เช่น น้ำมันซึ่งเป็นอีกปัญหาหนึ่งที่สำคัญ การหาแหล่งพลังงานทดแทนจึงได้รับความสนใจโดยเฉพาะเอทานอล (Ethanol) ถูกนำมาใช้เป็นพลังงานทดแทนมากขึ้น (รัชพล, 2554) ซึ่งกระบวนการผลิตเอทานอลสามารถผลิตได้จากชีวมวล (biomass) โดยมีการศึกษาและทำการวิจัยกันอย่างแพร่หลาย เนื่องจากเป็นวัสดุที่สามารถหาได้จากธรรมชาติ (วนิดา, 2553) โดยกระบวนการผลิตเอทานอลทำได้หลายกรรมวิธี โดยเฉพาะทางกรรมวิธีทางชีวภาพ ซึ่งมีขั้นตอนการผลิตที่เป็นมิตรกับสิ่งแวดล้อม มีมลพิษต่ำ ต้นทุนไม่สูง (เวสารัชและรัชพล, 2557)

โดยขั้นที่สำคัญอีกขั้นหนึ่งหลังจากกระบวนการผลิตเอทานอลคือ การวิเคราะห์ผลผลิตเอทานอล

ที่เกิดขึ้นซึ่งวิธีการวิเคราะห์ความเข้มข้นของเอทานอลในปัจจุบันสามารถทำได้หลากหลายวิธีการ เช่น การใช้เครื่องแก๊สโครมาโทกราฟี (Gas chromatography) แต่เทคนิคการวิเคราะห์โดยใช้เครื่องแก๊สโครมาโทกราฟีจะต้องใช้ค่าใช้จ่ายสูงและมีข้อจำกัด (Seo et al., 2009) จึงได้มีการดัดแปลงใช้วิธีการวิเคราะห์เอทานอลโดยใช้วิธีไดโครเมต (Dicromate colorimetric method) ซึ่งเป็นวิธีที่ง่าย และรวดเร็วเหมาะแก่การใช้ในห้องปฏิบัติการ (เวสารัชและรัชพล, 2557; Pilone, 1985; Seo et al., 2009) โดยหลักการของวิธีไดโครเมต คือ เอทานอล (C_2H_5OH) จะถูกออกซิไดซ์โดยไดโครเมตไอออน ($Cr_2O_7^{2-}$, $Cr(VI)$) จะได้กรดแอสติก (CH_3COOH) ร่วมกับโครเมียมทรี (Cr^{3+}) ไอออน เดิมไดโครเมตมีสีส้มเหลือง ส่วนโครเมียมทรี (Cr^{3+}) ไอออน มีสีเขียวอมน้ำเงิน ดังนั้นเมื่อทำปฏิกิริยากับเอทานอลจะเปลี่ยนจากสีส้มเหลืองเป็นสีเขียวอมน้ำเงิน ดังสมการ



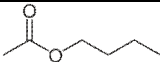
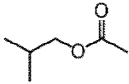
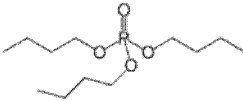
งานวิจัยของ Seo et al. (2009) พบว่าสารละลายไดโครเมตมีความไวต่ออาหารเลี้ยงเชื้อ รวมทั้งผลพลอยได้จากการผลิตเอทานอล จึงได้มีการดัดแปลงโดยใช้ตัวทำละลายอินทรีย์สกัดเอาเอทานอลออกจากอาหารเลี้ยงเชื้อก่อนที่จะใช้วิธีไดโครเมตเพื่อไม่ให้ค่าที่วิเคราะห์ได้เบี่ยงเบน และใกล้เคียงกับค่าจากตัวอย่างมากที่สุด หลักเกณฑ์ในการคัดเลือกตัวทำละลายอินทรีย์ที่ใช้ในการสกัดเอทานอลจากสารผสมน้ำและเอทานอลมีดังนี้ (1) สามารถดึงเอทานอลออกจากสารผสมน้ำและเอทานอลได้ดี (2) มีความจุเอทานอลที่สูงเพื่อลดการใช้

ตัวทำละลายอินทรีย์ (3) ละลายได้น้อยในน้ำเพื่อลดการสูญเสีย (4) มีความหนาแน่นที่แตกต่างกันระหว่างตัวทำละลายอินทรีย์และน้ำเพื่อเกิดการแยกชั้นที่รวดเร็ว (5) มีความเสถียรภาพทางเคมี (6) มีประสิทธิภาพในการได้คืนของเอทานอลและสามารถนำตัวทำละลายอินทรีย์กลับมาใช้ใหม่ได้ (Murphy et al., 1984) ซึ่งในงานวิจัยของ Seo et al. (2009) พบว่าตัวทำละลายอินทรีย์ Tributylphosphate (TBP) ให้ประสิทธิภาพดีที่สุดในการสกัดเอทานอล แต่เนื่องจากว่าตัวทำละลายอินทรีย์ดังกล่าวมีราคาสูง

ดังนั้นงานวิจัยนี้จึงมีวัตถุประสงค์เพื่อคัดเลือกตัวทำละลายอินทรีย์ที่เหมาะสมในการสกัดเอทานอลร่วมกับวิธีไดโครเมตในระดับห้องปฏิบัติการ โดยตัวทำละลายอินทรีย์ที่ใช้ในศึกษานี้ได้แก่ Isobutyl acetate (ISA), Butyl acetate (BTA), Chloroform (CHF) และ Tributylphosphate (TBP) (ตารางที่ 1) นอกจากนี้ยัง

ศึกษาผลของ ตัวทำละลายที่ใช้ในการสกัดเอทานอลที่ผลิตโดยเชื้อยีสต์ *Saccharomyces cerevisiae* TISTR 5019 ในอาหารเลี้ยงเชื้อ Yeast extract peptone dextrose (YPD) ที่มีน้ำตาลกลูโคสความเข้มข้นต่างกัน เพื่อสามารถนำไปพัฒนาต่อยอดสู่ระดับอุตสาหกรรมต่อไป

ตารางที่ 1 โครงสร้างเคมีและความหนาแน่นของตัวทำละลายอินทรีย์

ตัวทำละลายอินทรีย์	โครงสร้างเคมี	ค่าความหนาแน่น (g/cm ³) (ที่อุณหภูมิ 20-25°C)
Butyl acetate (BTA)		0.882
Isobutyl acetate (ISA)		0.875
Tributyl phosphate (TBP)		0.973
Chloroform (CHL)		1.489

ที่มา: Seo et al. (2009)

วิธีดำเนินการวิจัย

1. การคัดเลือกตัวทำละลายอินทรีย์ที่เหมาะสมในการสกัดเอทานอลร่วมกับวิธีไดโครเมต

การคัดเลือกตัวทำละลายอินทรีย์ที่เหมาะสมในการสกัดเอทานอลร่วมกับวิธีไดโครเมต โดยใช้ตัวทำละลายอินทรีย์ 3 ชนิด คือ BTA, ISA และ CHL และสารผสมระหว่างตัวทำละลายทั้ง 3 ชนิดกับ TBP ในอัตราส่วน 75:25, 50:50 และ 25:75 โดยปริมาตร โดยให้ TBP เป็นชุดควบคุม ทำการเตรียมสารละลายเอทานอลมาตรฐาน (ที่อุณหภูมิ 25°C) ที่ความเข้มข้นต่างๆ กัน (0.2, 0.4, 0.6, 0.8 และ 1.0 โดยปริมาตร) เริ่มด้วยการเติมตัวทำละลายอินทรีย์และสารละลายเอทานอลมาตรฐานอย่างละ 500 ไมโครลิตร ลงในหลอดไมโครทิวขนาด 1.5 มิลลิลิตร เขย่า เป็นเวลา 5 นาที ตั้งทิ้งไว้จนเกิดการแยกชั้น บันทึกเวลาที่ใช้หลังจากเกิดการแยกชั้น

อย่างสมบูรณ์ จากนั้นดูดสารละลายชั้นบน (ยกเว้น CHL ใช้ชั้นล่าง) ปริมาตร 350 ไมโครลิตร ใส่ในหลอดไมโครทิวขนาด 1.5 มิลลิลิตร นำไปวิเคราะห์หาปริมาณเอทานอลที่ได้ด้วยวิธีไดโครเมตดัดแปลงมาจากวิธีการของ Seo et al. (2009) โดยเติมสารละลายโพแทสเซียมไดโครเมต ปริมาตร 350 ไมโครลิตร ในสารสกัดเอทานอล ผสมให้เข้ากันด้วยเครื่องผสมสาร เป็นเวลา 5 นาที ตั้งทิ้งไว้จนเกิดการแยกชั้น จากนั้นดูดสารละลายชั้นบนทิ้ง เติมน้ำกลั่น ปริมาตร 500 ไมโครลิตร ผสมให้เข้ากันด้วยเครื่องผสมสาร เป็นเวลา 5 นาที นำไปวัดค่าการดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 595 นาโนเมตร เทียบกับสารละลายเอทานอลมาตรฐาน ในแต่ละความเข้มข้น แล้วหาค่าความชัน (Slope) และค่าความสัมพันธ์ร่วม (R^2) ของตัวทำละลายอินทรีย์เปรียบเทียบกับผลที่ได้ชุดควบคุม

2. การทดสอบประสิทธิภาพของตัวทำละลายอินทรีย์ที่ถูกคัดเลือก

การทดสอบประสิทธิภาพของตัวทำละลายอินทรีย์ที่ถูกคัดเลือกในการสกัดเอทานอลจากการผลิตเอทานอลโดยเชื้อ *S. cerevisiae* TISTR 5019 (จากศูนย์จุลินทรีย์สถาบันวิจัยวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยีแห่งประเทศไทย) ในอาหารเลี้ยงเชื้อ YPD เริ่มด้วยการเตรียมกล้าเชื้อ *S. cerevisiae* TISTR 5019 โดยตัดแปลงมาจากวิธีการของจิราพร (2552) โดยใช้อาหาร YPD ซึ่งประกอบไปด้วย Yeast extract ร้อยละ 1 กรัมต่อปริมาตร น้ำตาลกลูโคส ร้อยละ 2 กรัมต่อปริมาตร และเปปโตเนร้อยละ 2 กรัมต่อปริมาตร ปรับปริมาตรด้วยน้ำกลั่นให้ได้ปริมาตร 100 มิลลิลิตร ในฟลาสก์ขนาด 250 มิลลิลิตร ที่ความเร็ว 100 รอบต่อนาที บ่มที่อุณหภูมิ 30°C เป็นเวลา 18 ชั่วโมง (ได้จำนวนเซลล์เริ่มต้นประมาณ 2×10^8 เซลล์ต่อมิลลิลิตร และน้ำหนักเซลล์แห้งประมาณ 1 กรัมต่อลิตร) ใช้เป็นกล้าเชื้อเริ่มต้น

จากนั้นเตรียมอาหารเลี้ยงเชื้อ YPD ที่มีน้ำตาลกลูโคสความเข้มข้นต่างกันคือ ร้อยละ 2 และ 10 โดยน้ำหนักเติมกล้าเชื้อเริ่มต้น *S. cerevisiae* TISTR 5019 ในอาหาร YPD ปริมาตร 100 มิลลิลิตร ในฟลาสก์ขนาด 250 มิลลิลิตร นำไปบ่มที่อุณหภูมิ 30°C ที่ความเร็ว 100 รอบต่อนาที เป็นเวลา 24 ชั่วโมง ทำการเก็บตัวอย่างครั้งละ 5 มิลลิลิตร ที่ชั่วโมงที่ 0, 4, 8, 12, 16, 20 และ 24 ทำการวิเคราะห์ปริมาณของน้ำตาลที่เหลือในรูปของน้ำตาลรีดิวซ์ และวิเคราะห์ปริมาณเอทานอลที่เกิดขึ้นด้วยการสกัดด้วยตัวทำละลายอินทรีย์ที่ถูกคัดเลือกจากข้อ 1 ร่วมกับวิธีไดโครเมต นำมาเปรียบเทียบกับสารละลายเอทานอลมาตรฐาน และเปรียบเทียบปริมาณเอทานอลที่วิเคราะห์ด้วยเครื่องแก๊สโครมาโตกราฟี (GC)

3. การศึกษาค่าสัมประสิทธิ์การกระจายตัว (K_{DE})

ทำการการศึกษาค่าสัมประสิทธิ์การกระจายตัว (K_{DE}) ของตัวทำละลายอินทรีย์ที่ถูกเลือก และ TBP โดยเตรียมตัวทำละลายอินทรีย์ที่ถูกคัดเลือก ปริมาตร 500 ไมโครลิตร เติมหาสารละลายเอทานอลมาตรฐานความเข้มข้นต่างๆ กัน (0.2, 0.4, 0.6, 0.8 และ 1.0 โดยปริมาตร) ปริมาตร 500 ไมโครลิตร ในหลอดไมโครทิว

ขนาด 1.5 มิลลิลิตร ผสมให้เข้ากันเป็นเวลา 5 นาที ตั้งทิ้งไว้จนเกิดการแยกชั้น จากนั้นทำการวิเคราะห์ความสามารถในการกระจายตัวของเอทานอลในแต่ละชั้นของสารสกัด โดยดูดสารละลายแต่ละชั้น ปริมาตร 350 ไมโครลิตร ใส่ในหลอดไมโครทิวบี ขนาด 1.5 มิลลิลิตร นำไปวิเคราะห์หาปริมาณเอทานอลที่ได้ด้วยวิธีไดโครเมตเพื่อหาปริมาณเอทานอลที่ได้ แล้วคำนวณหาค่าสัมประสิทธิ์การกระจายตัว (partition coefficient, P) โดย

$$\log P = \log C_1/C_2$$

เมื่อ P คือ สัมประสิทธิ์การกระจายตัวของสารในระหว่างชั้นตัวทำละลายอินทรีย์และชั้นตัวอย่าง

C_1 คือ ความเข้มข้นของสารในชั้นตัวทำละลายอินทรีย์ (ชั้นบน) และ C_2 คือ ความเข้มข้นของสารในชั้นตัวอย่าง (ชั้นล่าง)

โดยถ้าค่า $\log P < 1$ แสดงว่าสารละลายในชั้นของตัวอย่างได้ดีกว่าชั้นตัวทำละลายอินทรีย์ ถ้าค่า $\log P > 1$ แสดงว่าสารชอบที่จะละลายในชั้นสารละลายอินทรีย์มากกว่า

4. วิธีการวิเคราะห์

การวิเคราะห์ปริมาณน้ำตาลที่เหลือในรูปของน้ำตาลรีดิวซ์โดยวิธี Dinitrosalicylic Colorimetric Method (DNS method) ตามวิธีของ James (1995) การวิเคราะห์ปริมาณเอทานอลด้วยวิธีไดโครเมตโดยตัดแปลงมาจากวิธีของเวสราซ และคณะ (2556) การวิเคราะห์ปริมาณเอทานอลด้วยเครื่อง GC ตัดแปลงมาจากวิธีการของ Offeman et al. (2005) โดยเครื่อง GC รุ่น Auto system (บริษัท Perkin Elmer, Germany) ใช้ Detector ชนิด Flame ionization (FID) ใช้แก๊สฮีเลียมเป็น Carrier gas ภายใต้สภาวะอุณหภูมิของ Oven เริ่มต้นที่ 40°C คงที่เป็นเวลา 2 นาที จากนั้นเพิ่มอุณหภูมิเป็น 50°C ด้วยอัตราเร็ว 4°C/นาที และเพิ่มอุณหภูมิเป็น 120°C ด้วยอัตราเร็ว 10°C/นาที เพื่อทำความสะอาดคอลัมน์ และอุณหภูมิของ Detector เท่ากับ 200°C

5. การวิเคราะห์ข้อมูล

ขั้นตอนในการศึกษาวิจัย และผลการทดลองทั้งหมดจากการศึกษาวิจัยทั้งหมด 3 ข้อ วิเคราะห์ความแปรปรวน (ANOVA) เปรียบเทียบความ

แตกต่างของค่าเฉลี่ยโดยใช้วิธี Duncan ที่ระดับความเชื่อมั่นร้อยละ 95.0 ($p < 0.05$)

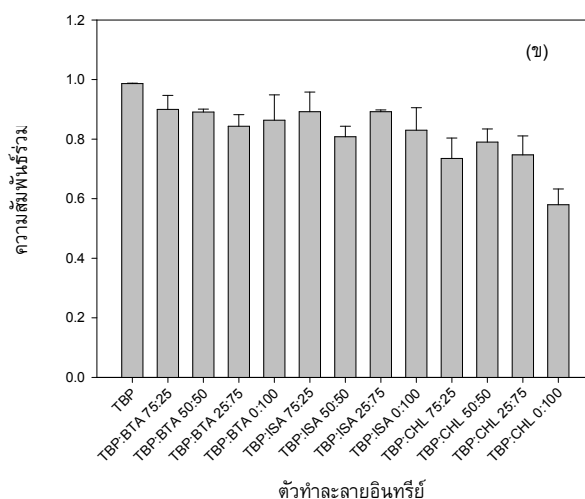
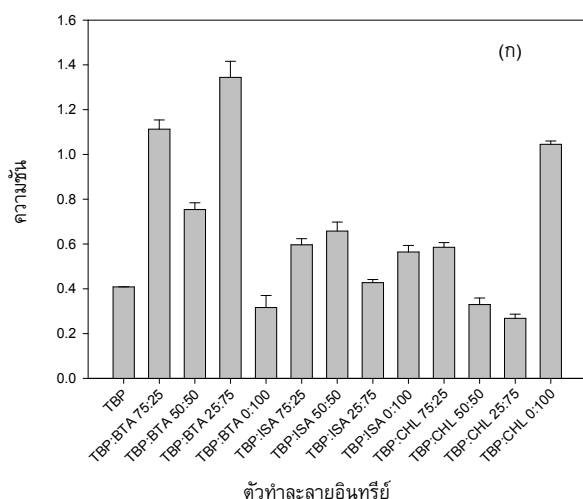
ผลการวิจัย

1. ผลการคัดเลือกตัวทำละลายที่เหมาะสมในการสกัดเอทานอล

สารทั้ง 4 ชนิดที่เลือกมา ได้แก่ Isobutyl acetate (ISA), Butyl acetate (BTA), Chloroform (CHF), Tributyl phosphate (TBP) มีคุณสมบัติละลายเข้ากันได้ดีกับเอทานอล แต่ละลายได้น้อยมากในน้ำ และมีความถ่วงจำเพาะที่แตกต่างกับน้ำ จึงเหมาะที่จะนำมาใช้ในการสกัดเอทานอลจากสารผสมน้ำและเอทานอล หมู่ฟังก์ชันของตัวทำละลายก็มีผลต่อการสกัดเอทานอลเช่นกัน โดยเรียงลำดับได้ดังนี้ $\text{carboxylic acids} > \text{alcohols} > \text{esters} > \text{amines} > \text{ketones} > \text{ethers} > \text{hydrocarbons}$ โดยความสามารถในการจุเอทานอลของตัวทำละลายยังขึ้นอยู่กับการเคลื่อนที่ โครงสร้างที่แตกต่างกันเช่น ตำแหน่งของกิ่ง และขนาดของกิ่ง อีกด้วย (Roddy, 1981; Munson and King, 1984; Cabral, 1991)

โดยทั่วไปแล้วอาหารเลี้ยงเชื้อประกอบไปด้วยสารอาหารหลายประเภท เช่น โมโนแซคคาไรด์ กลีเซอรอล เป็นต้น และยังมีผลิตภัณฑ์พลอยได้เช่น กลีเซอรอล (Cot et al., 2007) ซึ่งล้วนแต่ทำปฏิกิริยากับ

ไดโครเมต ดังนั้นจึงมีความจำเป็นในการสกัดเอทานอลออกจากอาหารเลี้ยงเชื้อก่อนที่จะทำการวัดปริมาณเอทานอล เพื่อไม่ให้เกิดการรบกวนของสี จากผลการวิเคราะห์ความเข้มข้นของเอทานอลที่ทำการสกัดด้วยตัวทำละลายอินทรีย์ต่างๆ เปรียบเทียบกับ TBP ร่วมกับวิธีไดโครเมต โดยพิจารณาผลของค่าความชันกราฟ (slope) ค่าความสัมพันธ์ของข้อมูล (R^2) (ภาพที่ 1 และตารางที่ 2) ซึ่งใช้เป็นค่าบ่งบอกถึงความแม่นยำของข้อมูล ความสัมพันธ์ของชุดข้อมูลที่อยู่บนเส้นตรงเดียวกัน (อัมรินทร์, 2552) และพิจารณาเวลาที่ใช้ในการแยกชั้น จากตารางที่ 2 พบว่า TBP มีค่า slope และ R^2 เท่ากับ 0.408 ± 0.001 และ 0.986 ± 0.002 ตามลำดับ ตัวทำละลายอินทรีย์และสารผสมของตัวทำละลายอินทรีย์ที่ให้ผลของค่า slope ไม่แตกต่างทางกับค่าของ TBP อย่างมีนัยสำคัญ ($p > 0.05$) คือ TBP:ISA 25:75 ส่วนตัวทำละลายอินทรีย์ TBP:BTA 75:25, TBP:BTA 50:50, TBP:ISA 75:25 และ TBP:ISA 25:75 มีค่าความสัมพันธ์ร่วมที่ไม่แตกต่างอย่างมีนัยสำคัญ ($p > 0.05$) กับ TBP เพราะฉะนั้นแล้วตัวทำละลายอินทรีย์ TBP:ISA 25:75 ให้ค่าความชันและความสัมพันธ์ร่วมที่ไม่แตกต่างอย่างมีนัยสำคัญกับชุดควบคุม อีกทั้งยังใช้เวลาในการแยกชั้นเพียง 35 นาที โดย TBP:ISA 25:75 ให้ผลที่ใกล้เคียงกับ TBP จึงถูกนำไปศึกษาในการทดลองต่อไป



ภาพที่ 1 กราฟแสดงความสัมพันธ์ระหว่างตัวทำละลายอินทรีย์กับ (ก) ความชัน (slope) และ (ข) กับความสัมพันธ์ร่วม (R^2)

ตารางที่ 2 ค่าความชัน (Slope) ค่าความสัมพันธ์ร่วม (R^2) และเวลาในการแยกชั้นของตัวทำละลายอินทรีย์

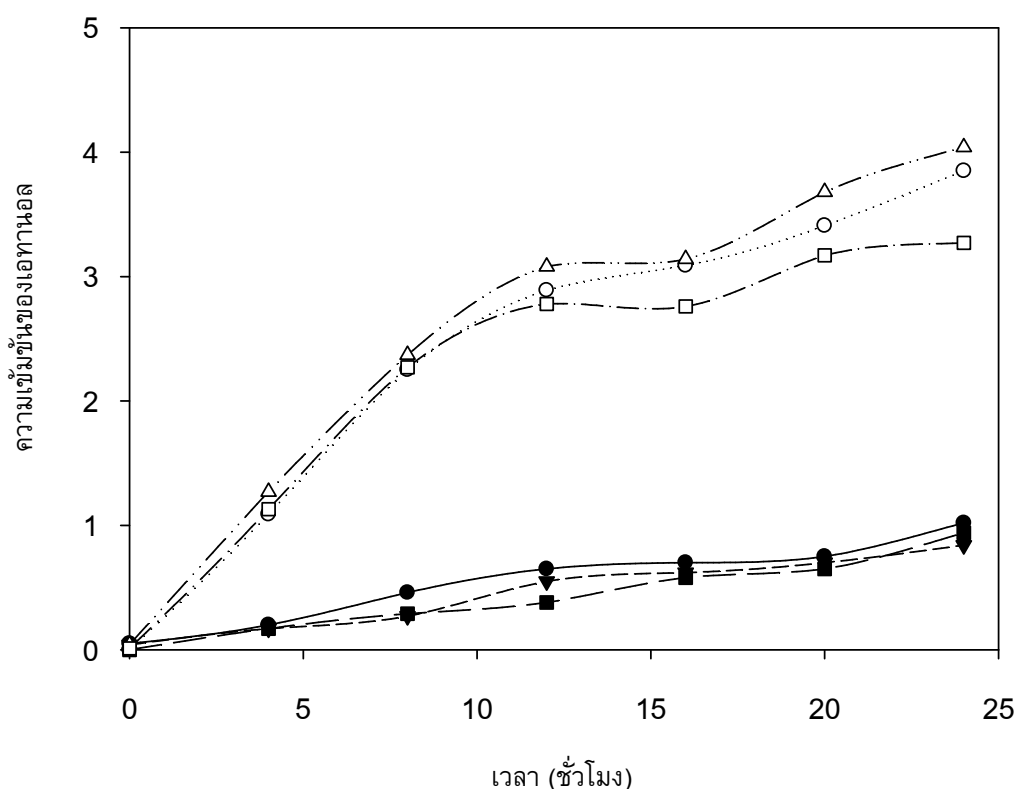
สัดส่วนของสารละลาย (โดยปริมาตร)	ความชัน (Slope)	ความสัมพันธ์ร่วม (R^2)	เวลาแยกชั้น(นาที)
TBP (ชุดควบคุม)	0.408±0.001 ^g	0.986±0.002 ^a	15
TBP: BTA 75:25	1.113±0.041 ^b	0.900±0.047 ^{ab}	20
TBP: BTA 50:50	0.754±0.031 ^d	0.891±0.010 ^{abc}	20
TBP: BTA 25:75	1.344±0.072 ^a	0.843±0.039 ^{bcd}	37
TBP: BTA 0:100	0.316±0.054 ^h	0.864±0.085 ^{bc}	180
TBP: ISA 75:25	0.597±0.027 ^f	0.892±0.066 ^{abc}	25
TBP: ISA 50:50	0.658±0.040 ^e	0.808±0.035 ^{bcd}	30
TBP: ISA 25:75	0.428±0.014 ^g	0.892±0.006 ^{ab}	35
TBP: ISA 0:100	0.564±0.029 ^f	0.830±0.076 ^{bcd}	180
TBP: CHL 75:25	0.585±0.021 ^f	0.735±0.068 ^e	60
TBP: CHL 50:50	0.330±0.029 ^h	0.790±0.044 ^{cde}	60
TBP: CHL 25:75	0.268±0.019 ^h	0.747±0.064 ^{cde}	90
TBP: CHL 0:100	1.045±0.015 ^c	0.580±0.053 ^f	195

หมายเหตุ a,b,c...อักษรที่แตกต่างกันในแนวดังหมายถึง มีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p \leq 0.05$)

2. ผลการทดสอบประสิทธิภาพของตัวทำละลายอินทรีย์ที่ถูกคัดเลือก

การวัดเอทานอลด้วยวิธีไดโครเมตออกซิเดชัน ร่วมกับการใช้ตัวทำละลาย TBP:ISA (25:75) สกัดเอทานอล เปรียบเทียบกับการใช้ตัวทำละลาย TBP และการใช้ เครื่องแก๊สโครมาโทกราฟี (GC) โดยทำการเลี้ยงเชื้อ *S.cerevisiae* TISTR 5019 ในอาหารเลี้ยงเชื้อที่มี ปริมาณน้ำตาลกลูโคสต่างกันคือ YPD น้ำตาลกลูโคส 2% และอาหาร YPD น้ำตาลกลูโคส 10% (ภาพที่ 2) นำมาทำการหมักเขย่าที่ความเร็ว 120 รอบต่อนาที ภายใต้สภาวะอุณหภูมิ 30 องศาเซลเซียส จากผลการ สกัดเอทานอลในอาหารเลี้ยงเชื้อ YPD น้ำตาลกลูโคส 2% พบว่าเมื่อใช้ตัวทำละลาย TBP:ISA (25:75) สามารถสกัดเอทานอลและวัดด้วยวิธีไดโครเมตออกซิเดชัน ออกมาได้ในปริมาณความเข้มข้นที่มีค่าที่ใกล้เคียงกับ ค่าความเข้มข้นของเอทานอลที่ใช้ตัวทำละลาย TBP สกัด และใกล้เคียงกับค่าความเข้มข้นของเอทานอลที่ใช้

เครื่องแก๊สโครมาโทกราฟีในการวัดความเข้มข้นด้วย เนื่องจากค่าสัมประสิทธิ์การกระจายตัวของสารในชั้น เอทานอลของ TBP 100 คือ 0.14 และของ ISA คือ 0.21 ซึ่งมีค่าใกล้เคียงกัน (Egan et al., 1988) เช่นเดียวกับการสกัดเอทานอลด้วยตัวทำละลาย TBP:ISA (25:75) ผลการวัดค่าความเข้มข้นของเอทานอลในอาหาร YPD ที่ น้ำตาลกลูโคส 2% และ 10% พบว่าอาหารเลี้ยงเชื้อไม่มีผล ต่อค่าความเข้มข้นของเอทานอลที่วัดได้เนื่องจากค่า ความเข้มข้นที่ใช้ตัวทำละลาย TBP:ISA (25:75) กับ การใช้ตัวทำละลาย TBP มีค่าใกล้เคียงกับความเข้มข้น ของเอทานอลที่ใช้แก๊สโครมาโทกราฟี นอกจากนี้ที่ น้ำตาล 10% ค่าความเข้มข้นของเอทานอลจะสูงกว่า เนื่องจากมีน้ำตาลสูงกว่าเชื้อจึงสามารถผลิตเอทานอล ได้สูงกว่าอาหารที่มีน้ำตาลน้อยๆ (สุรารักษ์, 2550) การสกัด ด้วยตัวทำละลาย TBP:ISA (25:75) และการสกัดเอทานอล ด้วยตัวทำละลาย TBP สามารถใช้สกัดเอทานอลได้ดี เมื่อเทียบกับการใช้แก๊สโครมาโทกราฟี



ภาพที่ 2 ประสิทธิภาพของตัวทำละลาย TBP:ISA (25:75) (สัญลักษณ์สามเหลี่ยม) และตัวทำละลาย TBP (สัญลักษณ์วงกลม) โดยสกัด เอทานอลจากเชื้อ *S.cerevisiae* TISTR 5019 ในอาหาร YPD น้ำตาลกลูโคส 2% (สัญลักษณ์สีดำ)และในอาหาร YPD น้ำตาลกลูโคส 10% (สัญลักษณ์สีขาว) เปรียบเทียบกับการใช้แก๊สโครมาโทกราฟี (GC) (สัญลักษณ์สี่เหลี่ยม)

3. ผลการศึกษาค่าสัมประสิทธิ์การกระจายตัว (K_{DE}) ของตัวทำละลาย

สกัดเอทานอลด้วย TBP แล้ววัดความเข้มข้นเอทานอลด้วยวิธีไดโครเมตออกซิเดชัน ทั้งชั้นของตัวทำละลาย (ชั้นบน) และชั้นของตัวอย่าง (ชั้นล่าง) โดยนำค่าความเข้มข้นของเอทานอลในตัวทำละลาย (ชั้นบน) หาค่าความเข้มข้นเอทานอลของชั้นของตัวอย่าง (ชั้นล่าง) แล้วนำมาพลอตกราฟ เพื่อแสดงประสิทธิภาพการดึงเอทานอลของตัวทำละลาย หากค่าสัมประสิทธิ์การกระจายตัวมีค่าเข้าใกล้หนึ่งมากๆ ยิ่งดี (Seo et al.,

2009) จากผลการทดลองพบว่าค่าสัมประสิทธิ์การกระจายตัว (K_{DE}) (ตารางที่ 3) ของTBP มีค่าสูงสุดคือ 0.35 ที่ความเข้มข้นเอทานอลมาตรฐาน 1% โดยปริมาตร ซึ่งเมื่อเปรียบเทียบกับพบว่า TBP:ISA (25:75) มีค่าสัมประสิทธิ์การกระจายสูงสุดที่ 0.59 ที่ความเข้มข้นเอทานอลมาตรฐาน 0.4% โดยปริมาตร ดังนั้นตัวทำละลาย TBP:ISA (25:75) สามารถใช้สกัดเอทานอลได้มากกว่าการใช้ TBP ซึ่งค่าสัมประสิทธิ์การกระจายตัวของตัวทำละลายแสดงถึงความสามารถในการสกัด (Offeman et al., 2005)

ตารางที่ 3 ค่าความเข้มข้น และค่าสัมประสิทธิ์การกระจายตัว (K_{DE}) ของเอทานอลชั้นบนต่อชั้นล่างของตัวทำละลาย

ความเข้มข้น เอทานอลมาตรฐาน (โดยปริมาตร)	ความเข้มข้นของเอทานอล (โดยปริมาตร)		ค่าสัมประสิทธิ์การกระจายตัว (K_{DE})	
	ชั้นของTBP	ชั้นของTBP:ISA (25:75)	ชั้นของTBP	ชั้นของTBP:ISA (25:75)
0.20	0.05	0.07	0.27	0.35
0.40	0.11	0.24	0.28	0.59
0.60	0.13	0.25	0.22	0.42
0.80	0.26	0.30	0.32	0.37
1.00	0.35	0.30	0.35	0.30

สรุปและวิจารณ์ผล

ตัวทำละลายที่ดีที่สุดเพื่อใช้ในการทดสอบหาความเข้มข้นของเอทานอลด้วยวิธีสกัดด้วยตัวทำละลายร่วมกับวิธีไดโครเมตออกซิเดชันคือ TBP:ISA (25:75) เนื่องจากสามารถสกัดเอทานอลออกมาได้ค่าความเข้มข้นมากกว่าการใช้ตัวทำละลาย TBP และการใช้แก๊สโครมาโทกราฟี โดยมีค่าความสัมพันธ์ร่วม (R^2) เท่ากับ 0.892 ± 0.006 ค่าความชันกราฟ (slope) คือ 0.428 ± 0.014 และเวลาที่ใช้ในการแยกชั้นคือ 35 นาที

การสกัดเอทานอลด้วยตัวทำละลาย TBP:ISA (25:75) ร่วมกับวิธีวัดความเข้มข้นของเอทานอลด้วยการไดโครเมตมีความเป็นไปได้ที่จะนำไปประยุกต์ใช้ได้ในระดับห้องปฏิบัติการเพราะอาหารเลี้ยงเชื้อไม่มีผลต่อการใช้ตัวทำละลาย TBP:ISA (25:75) สกัดเอทานอลและยังมีค่าสัมประสิทธิ์การกระจายตัว (K_{DE}) สูงกว่าของ TBP รวมทั้งให้ค่าความเข้มข้นของเอทานอลสูงกว่าแก๊สโครมาโทกราฟีด้วย

กิตติกรรมประกาศ

งานวิจัยนี้ได้รับการสนับสนุนจากทุนสนับสนุนทุนวิจัย ศูนย์ส่งเสริมการวิจัยและถ่ายทอดเทคโนโลยี (ศสวท.) คณะศิลปศาสตร์และวิทยาศาสตร์ มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์ วิทยาเขตกำแพงแสน ประจำปีงบประมาณ 2556

เอกสารอ้างอิง

- จิราพร ลิ้มประเสริฐ. 2552. การคัดเลือกสายพันธุ์ยีสต์ที่มีคุณสมบัติทนอุณหภูมิสูงและสภาวะความเป็นกรดสูงเพื่อนำไปประยุกต์ใช้ในการผลิตเอทานอล. ปัญหาพิเศษปริญญาตรี. มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์.
- รัชพล พะวงศรีรัตน์. 2554. การศึกษาสภาวะที่เหมาะสมในการเตรียมไฮโดรไลสเฟกตบขวาโดยหม้อหนึ่งไอน้ำแรงดันสูงเพื่อผลิตเอทานอล. Veridian E-Journal SU. 4(1): 891-901.
- เวสารัช สุนทรชัยบุรณ์ และ รัชพล พะวงศรีรัตน์. 2557. สภาวะที่เหมาะสมของการผลิตเอทานอลจากวัชพืชน้ำโดยใช้ถังหมักชีวภาพแบบแพคเบค. วารสารก้าวหน้าทางโลกวิทยาศาสตร์. 14(1): 243-255.
- เวสารัช สุนทรชัยบุรณ์ และ รัชพล พะวงศรีรัตน์. 2556. การใช้ประโยชน์วัสดุพุงจากขยะธรรมชาติสำหรับการตรึงเซลล์ และ ประยุกต์ใช้ในการผลิตเอทานอล. วารสารวิชาการ Veridian E-Journal, Silpakorn University. 6(1): 795-807.
- วนิดา ปานอุทัย. 2553. การผลิตเอทานอลจากไม้ยูคาลิปตัส โดยกระบวนการย่อยเป็นน้ำตาลและหมักพร้อมกัน. สำนักพิมพ์มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์, กรุงเทพฯ.
- สุรารักษ์ อวนญวน. 2550. โครงการผลิตเอทานอลจากไซโลส. ทุนอุดหนุนการวิจัย จากกองทุนส่งเสริมการอนุรักษ์พลังงาน ประจำปีงบประมาณ 2550. ภาควิชาเทคโนโลยีชีวภาพ คณะเทคโนโลยี มหาวิทยาลัยขอนแก่น, ขอนแก่น.

- อัมรินทร์. 2552. Adjusted R square. ที่มา: <http://supawong.blogspot.com/2009/09/square.html>. 12 ตุลาคม 2556.
- Cabral, J.M.S. 1991. Extractive removal of product by biocatalysis, in: B. Mattiasson, O. Holst (Eds.), *Extractive Bioconversions*, Marcell Dekker Inc., New York, pp. 207–235.
- Cot, M., Loreť, M-O., François, J., Benbadis, L. 2007. Physiological behaviour of *Saccharomyces cerevisiae* in aerated fed-batch fermentation for high level production of bioethanol. *FEMS Yeast Res* 7: 22–32. doi:10.1111/j.1567-1364.2006.00152.x.
- Egan, B.Z., Douglas, D.L., and David, A.M. 1988. Solvent extraction and recovery of ethanol from aqueous solutions. *Ind. Eng. Chem. Res.* 27 (7): 1330–1332.
- Jame, C.S. 1995. *Analytical chemistry of foods*. London: Blackie A and P.
- Munson, C.L., King, C.J. 1984. Factors influencing solvent selection for extraction of ethanol from aqueous solutions, *Ind. Eng. Chem. Process Des. Dev.* 23, 109–115.
- Murphy, T.K., Blanch, H.W., Wilke, C.R. 1984. *Recovery of Fermentation Products From Dilute Aqueous Solutions; Report LBL-17979; Lawrence Berkeley Laboratory: Berkeley, CA.*
- Offeman, R.D., Stephenson, S.K., Robertson, G.H., and Orts, W.J. 2005. Solvent extraction of ethanol from aqueous solutions.II.Linear, Branched and ring Alcohol Solvent. *Ind. Eng. Chem. Res.*, 2005, 44(17): 6797–6803.
- Pilone, G.J. 1985. Determination of ethanol in wine by titrimetric and spectrophotometric dichromate methods: collaborative study [Online]. Available Source: <http://europepmc.org/abstract/med/3988696>
- Roddy, J.W. 1981. Distribution of ethanol–water mixtures to organic liquids, *Ind. Eng. Chem. Process Des. Dev.* 20, 104–108.
- Seo, H.B., Kim, H.J., Lee, O.K., Ha, J.H., Lee, H.Y., and Jung, K.H. 2009. Measurement of ethanol concentration using solvent extraction and dichromate oxidation and its application to bioethanol production process. *J. Ind. Microbiol. Biotechnol.* 36: 285-292.

การศึกษาผลกระทบของกระบวนการแฟลชพาสเจอร์ไรส์ที่มีผลต่อปริมาณวิตามินบี 1 ในผลิตภัณฑ์นม

A Study of Flash Pasteurization Effects on Vitamin B1 in Milk Products

วิฐุ ชูศรี¹ และรัชพงศ์ ชูศรี²



บทคัดย่อ

กระบวนการพาสเจอร์ไรส์เป็นกระบวนการแปรรูปอาหารด้วยความร้อนเพื่อใช้ความร้อนทำลายจุลินทรีย์ในอาหารอาหารจึงมีความปลอดภัย และเก็บรักษาไว้ได้นาน แต่ความร้อนจะทำให้ผลิตภัณฑ์มีคุณภาพต่ำลงทั้งด้านโภชนาการ และกายภาพ ประสิทธิภาพของกระบวนการพาสเจอร์ไรส์ขึ้นอยู่กับรูปแบบของอุณหภูมิ และเวลา (time-temperature profile) ของตัวอย่างที่ผ่านกระบวนการ และยังสามารถแสดงได้ด้วยพารามิเตอร์ P^* ซึ่งบ่งชี้ถึงประสิทธิภาพในการยับยั้งเชื้อจุลินทรีย์ โดยจะเรียกกระบวนการพาสเจอร์ไรส์ที่ใช้อุณหภูมิสูง แต่เวลาสั้นกว่ากระบวนการพาสเจอร์ไรส์ปกติซึ่งมีค่า P^* เท่ากับ 1 ว่า แฟลชพาสเจอร์ไรส์ (flash pasteurization) ซึ่งจะสามารถคงคุณภาพผลิตภัณฑ์ไว้ได้ดีกว่ากระบวนการพาสเจอร์ไรส์เชิงการค้า งานวิจัยนี้จึงมุ่งศึกษาผลของระดับอุณหภูมิในช่วงพาสเจอร์ไรส์เชิงการค้าถึงแฟลชพาสเจอร์ไรส์ ($72-80^\circ\text{C}$) ที่ค่า P^* เท่ากันต่อคุณภาพของผลิตภัณฑ์นม โดยใช้การลดลงของวิตามินบี 1 และการเปลี่ยนแปลงสีเป็นดัชนีบ่งชี้ จากผลการทดลองพบว่า กระบวนการแฟลชพาสเจอร์ไรส์ที่ค่า P^* เท่ากับ 1 แต่อุณหภูมิสูงกว่าจะสูญเสียวิตามินบี 1 น้อยกว่า และมีแนวโน้มที่จะมีค่าความสว่างมากกว่าตัวอย่างที่ผ่านการพาสเจอร์ไรส์ที่อุณหภูมิต่ำกว่า นอกจากนี้ยังพบว่า กระบวนการพาสเจอร์ไรส์ที่ค่า P^* สูง จะสามารถลดปริมาณเชื้อ *S. aureus* ลงได้มากกว่ากระบวนการพาสเจอร์ไรส์ที่มีค่า P^* ต่ำกว่า

คำสำคัญ : แฟลชพาสเจอร์ไรส์ พารามิเตอร์ P^* *S.aureus* วิตามินบี 1

ABSTRACT

Pasteurization is the thermal process for inactivating microorganisms in foods to make them safe to eat and to preserve them for longer periods. However, the thermal process affects the quality of products in term of their nutrient and physical properties. Effects of the pasteurization depend on the time-temperature profile of the sample as it passes through the heat process. The time-temperature profile is indicated by P^* parameter, which shows the efficiency of microorganism inhibition. The pasteurization process at a higher temperature, but in a shorter period of time than that of the normal commercial pasteurization process ($P^*=1$), is called "flash pasteurization," which can maintain the quality of products better than the commercial process

¹ ภาควิชาเทคโนโลยีอาหาร คณะวิทยาศาสตร์ มหาวิทยาลัยรามคำแหง

² ภาควิชาเทคโนโลยีอาหาร คณะวิศวกรรมศาสตร์และเทคโนโลยีอุตสาหกรรม มหาวิทยาลัยศิลปากร วิทยาเขตพระราชวังสนามจันทร์

can. Therefore, this research studies the effects of pasteurization temperature on the quality of milk products in the temperature range of commercial pasteurization and flash pasteurization (72° and 80° C, respectively) at the same P^* value. The reduction of vitamin B1 and the change of color were used as indicators to evaluate the thermal process. The result showed that the flash pasteurization at $P^*=1$ and higher temperature preserved more vitamin B1, and the samples tended to possess more brightness than the samples pasteurized at the lower temperature. Moreover, the results revealed that the pasteurization at higher P^* was able to reduce the amount of *S. aureus* more than the pasteurization at lower P^*

Keywords : flash pasteurization, *S. aureus*, vitamin B, parameter P^*

บทนำ

กระบวนการพาสเจอร์ไรส์ (pasteurization) เป็นกระบวนการแปรรูปอาหารด้วยความร้อน (thermal processing) มีวัตถุประสงค์เพื่อยับยั้งจุลินทรีย์ก่อโรค (pathogenic microorganism) ทั้งหมดและลดจำนวนจุลินทรีย์ที่ทำให้อาหารเน่าเสีย (food spoilage microorganism) และยับยั้งการทำงานของเอนไซม์บางชนิด เพื่อให้อาหารมีความปลอดภัยจากจุลินทรีย์ และมีอายุการเก็บรักษายาวนานขึ้น (Ibarrola et al., 2002) โดยปกติกระบวนการแปรรูปอาหารด้วยความร้อนจะส่งผลให้เกิดการเปลี่ยนแปลงคุณภาพของอาหาร (Aguilar et al., 2012) เช่น การสูญเสียสารอาหารบางชนิดที่ไม่ทนต่อความร้อน การเกิดกลิ่นนมต้ม (cooked flavor) การเกิดสีน้ำตาลแบบไม่ใช่เอนไซม์ (non-enzymatic browning reaction) และการเกิดกลิ่นรสผิดปกติ (off-flavor) เป็นต้น ซึ่งสาเหตุเหล่านี้ส่งผลให้คุณภาพของอาหารลดต่ำลง (Martin et al., 1997; Chapman and Boor, 2001; Chiewchan et al., 2006; Gandy et al., 2008) ในปัจจุบันผู้บริโภคมีความต้องการบริโภคอาหารที่มีคุณภาพสูง และมีคุณภาพใกล้เคียงกับของสดมากที่สุด (Aronsson and Rönnér, 2001; Walkling-Ribeiro et al., 2011; Claeys et al., 2013) โดยเฉพาะอย่างยิ่งในผลิตภัณฑ์นม เนื่องจากนมเป็นอาหารที่อุดมไปด้วยสารอาหารครบถ้วนทั้งคาร์โบไฮเดรต โปรตีน ไขมัน วิตามิน และเกลือแร่ ดังนั้นการคงคุณภาพเดิมของอาหาร เช่น สี กลิ่น กลิ่นรส และสารอาหารที่ผ่านกระบวนการแปรรูปอาหารด้วย

ความร้อนจึงมีความสำคัญมากขึ้น โดยกระบวนการแปรรูปอาหารด้วยความร้อนที่สามารถคงคุณภาพ หรือเกิดการเปลี่ยนแปลงคุณภาพของอาหารน้อยที่สุดต้องเป็นกระบวนการที่มีการใช้ความร้อนในระยะเวลาที่สั้นที่สุด แต่ยังคงมีประสิทธิภาพในการยับยั้งจุลินทรีย์ให้อยู่ในระดับที่ปลอดภัย (Doyle et al., 1987; Gao et al., 2002; Grant et al., 1999) โดยกระบวนการเหล่านี้มีการใช้อุณหภูมิสูง แต่เวลาสั้น เช่น HTST และ flash pasteurization (Tijskens et al., 2000) งานวิจัยนี้จึงมุ่งที่จะศึกษาผลของระดับอุณหภูมิในกระบวนการพาสเจอร์ไรส์ ในช่วงพาสเจอร์ไรส์เชิงการค้า (commercial pasteurization) ถึงแฟลชพาสเจอร์ไรส์ (อุณหภูมิในช่วง $72-80^{\circ}$ C) ที่ค่า P^* เท่ากันต่อการเปลี่ยนแปลงคุณภาพของผลิตภัณฑ์นมทั้งด้านโภชนาการและกายภาพ ทั้งนี้เพื่อให้กระบวนการแปรรูปอาหารมีผลต่อการเปลี่ยนแปลงคุณภาพของผลิตภัณฑ์น้อยที่สุด

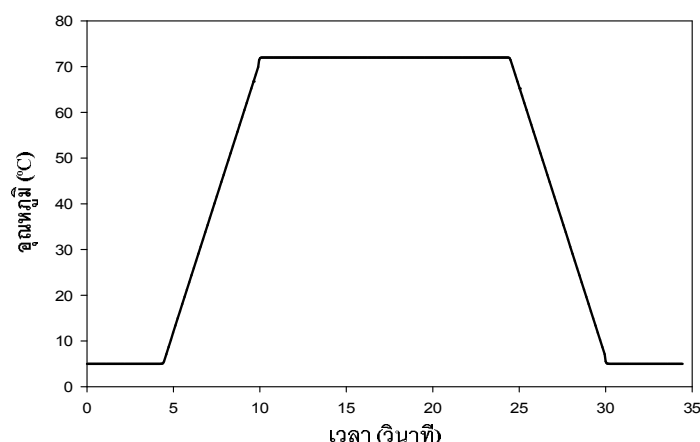
วิธีดำเนินการวิจัย

1. กระบวนการแฟลชพาสเจอร์ไรส์ที่ P^* เท่ากับ 1

การศึกษาจะใช้นมสดพร้อมดื่มยี่ห้อดัชมิลล์ รสจืด ที่ซื้อจากร้านค้า ทำการศึกษาในช่วงอุณหภูมิ $75-82^{\circ}$ C ที่สัมพันธ์กับเวลาซึ่งทำให้กระบวนการมีค่า P^* เท่ากับ 1 ในช่วง 2.0-14.5 วินาที โดยลักษณะการควบคุมอุณหภูมิ และเวลาของตัวอย่างในงานวิจัยนี้ (ภาพที่ 1) คือ

ลดอุณหภูมิของตัวอย่างลงจนอุณหภูมิคงที่ ที่อุณหภูมิต่ำในช่วง $5-10^{\circ}\text{C}$ จากนั้นเพิ่มอุณหภูมิของตัวอย่างขึ้นจนถึงอุณหภูมิที่กำหนด (อุณหภูมิสำหรับ

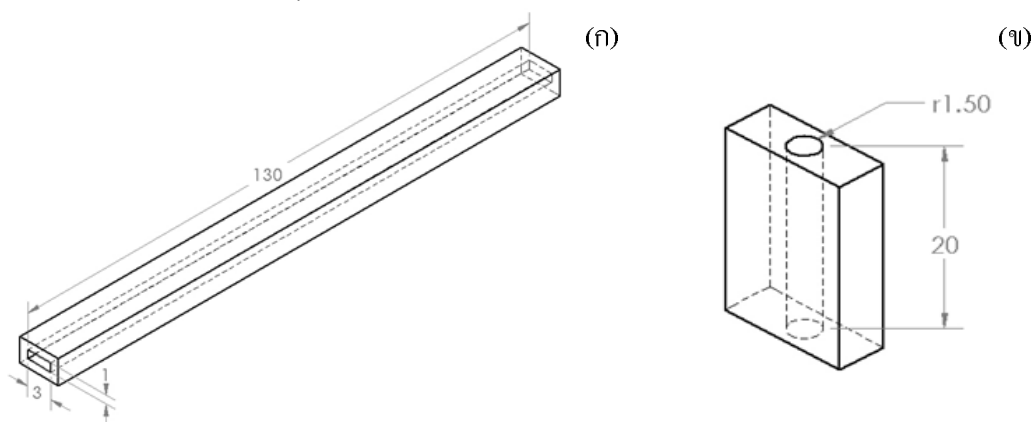
ฆ่าเชื้อในกระบวนการพาสเจอร์ไรส์) และคงอุณหภูมินี้ไว้ตามเวลาที่กำหนด จากนั้นลดอุณหภูมิของตัวอย่างลงจนอุณหภูมิคงที่ ที่อุณหภูมิต่ำในช่วง $5-10^{\circ}\text{C}$



ภาพที่ 1 ลักษณะการควบคุมอุณหภูมิและเวลาของตัวอย่างในกระบวนการพาสเจอร์ไรส์ในงานวิจัยนี้

สำหรับชุดอุปกรณ์ที่ใช้ควบคุมอุณหภูมิและเวลาเพื่อศึกษากระบวนการพาสเจอร์ไรส์ประกอบด้วยอุปกรณ์แลกเปลี่ยนความร้อน อ่างน้ำควบคุมอุณหภูมิ (thermostatic bath) รุ่น AD07R-20 (PolyScience, USA) แบบควบคุมอุณหภูมิภายนอก (external control) และปั๊มรีดสายยาง (peristaltic pump) ซึ่งสามารถปรับอัตราการไหลได้ในช่วง $0.05-0.4$ มล./วินาที โดยภายในอุปกรณ์แลกเปลี่ยนความร้อนจะประกอบไปด้วย 3 ส่วน คือ ส่วนแลกเปลี่ยนความร้อนที่อุณหภูมิต่ำ (cooling section) ส่วนแลกเปลี่ยนความร้อนที่อุณหภูมิสูง (heating section) และฉนวน (insulator) โดยอุปกรณ์แลกเปลี่ยน

ความร้อนนั้นจะประกอบไปด้วย 3 ส่วน คือ ส่วนแลกเปลี่ยนความร้อนที่อุณหภูมิต่ำ ส่วนแลกเปลี่ยนความร้อนที่อุณหภูมิสูง และฉนวน (ภาพที่ 2) โดยส่วนแลกเปลี่ยนความร้อนที่อุณหภูมิสูง และอุณหภูมิต่ำทำจากเหล็กกล้าไร้สนิมเกรด 316 (stainless steel) มีช่องใส่ตัวอย่างขนาด 3×1 มิลลิเมตร ยาว 130 มิลลิเมตร เป็นรูปทรงสี่เหลี่ยมผืนผ้า ดังแสดงในภาพที่ 2 (ก) และส่วนฉนวนเป็นองค์ประกอบหนึ่งในอุปกรณ์แลกเปลี่ยนความร้อนทำขึ้นจากเทฟลอน (Teflon) มีช่องใส่ตัวอย่างเป็นรูปทรงกระบอกขนาดเส้นผ่านศูนย์กลาง 3 มิลลิเมตร และยาว 20 มิลลิเมตร ดังแสดงในภาพที่ 2 (ข)

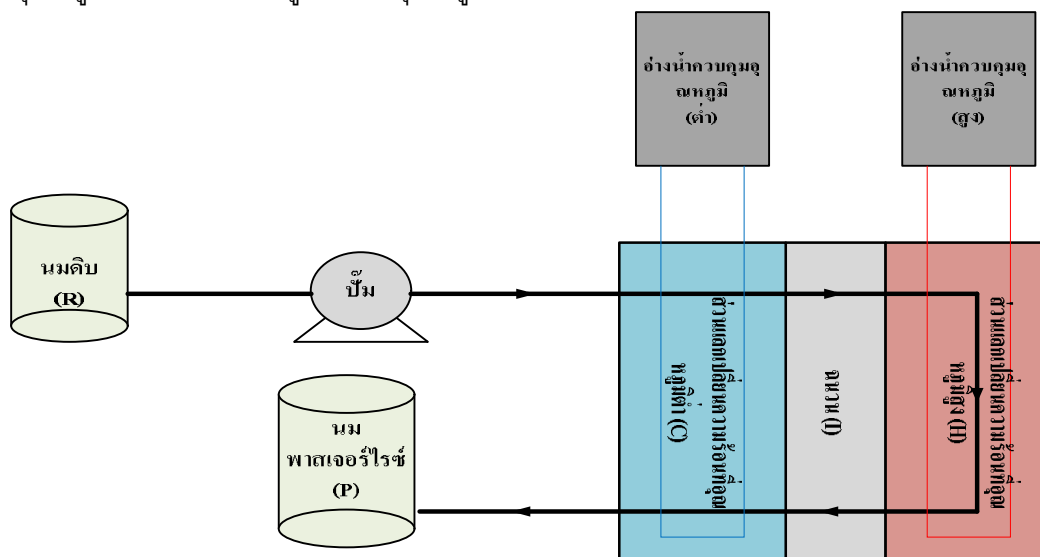


ภาพที่ 2 ขนาด และรูปร่างของอุปกรณ์แลกเปลี่ยนความร้อน โดย (ก) คือส่วนแลกเปลี่ยนความร้อน และ (ข) คือฉนวน

สำหรับขั้นตอนการทำงานของชุดอุปกรณ์เหล่านี้ (ภาพที่ 3) เป็นดังนี้คือ

ผ่านตัวอย่างปริมาณ 5 ลิตร ไหลเข้าสู่อุปกรณ์แลกเปลี่ยนความร้อนที่อุณหภูมิต่ำ ($R \rightarrow C$) เพื่อลดอุณหภูมิของตัวอย่างลงให้มีอุณหภูมิคงที่ในช่วง $5-10^{\circ}\text{C}$ จากนั้นตัวอย่างในข้อ 1 จะไหลผ่านเข้าสู่ฉนวน ($C \rightarrow I$) ที่เป็นจุดเชื่อมต่อระหว่างส่วนแลกเปลี่ยนความร้อนที่อุณหภูมิสูงกับอุณหภูมิต่ำ และทำหน้าที่ในการป้องกันการถ่ายโอนความร้อนระหว่างส่วนแลกเปลี่ยนความร้อนที่อุณหภูมิสูง และส่วนแลกเปลี่ยนความร้อนที่อุณหภูมิต่ำ จากนั้นตัวอย่างในข้อ 2 จะไหลผ่านเข้าสู่ส่วนแลกเปลี่ยนความร้อนที่อุณหภูมิสูง ($I \rightarrow H$) หรือเข้าสู่กระบวนการฆ่าเชื้อ ในส่วนนี้ตัวอย่างจะได้รับความร้อนเพื่อให้อุณหภูมิของตัวอย่างเพิ่มสูงขึ้นตามอุณหภูมิที่

กำหนด และคงอุณหภูมิไว้ตามเวลาที่กำหนด จากนั้นตัวอย่างที่ผ่านส่วนแลกเปลี่ยนความร้อนที่อุณหภูมิสูงหรือกระบวนการฆ่าเชื้อในข้อ 3 แล้ว จะไหลผ่านเข้าสู่ฉนวน ($H \rightarrow I$) ที่เป็นจุดเชื่อมต่อระหว่างส่วนแลกเปลี่ยนความร้อนที่อุณหภูมิสูงกับอุณหภูมิต่ำอีกครั้งหนึ่ง หลังจากนั้นตัวอย่างในข้อ 4 จะไหลผ่านเข้าสู่ส่วนแลกเปลี่ยนความร้อนที่อุณหภูมิต่ำ ($I \rightarrow C$) เพื่อลดอุณหภูมิของตัวอย่างลงให้มีอุณหภูมิคงที่ต่ำกว่า $5-10^{\circ}\text{C}$ อีกครั้งหนึ่ง และหลังจากนั้นตัวอย่างที่ออกจากอุปกรณ์แลกเปลี่ยนความร้อนแล้ว จะไหลเข้าสู่ภาชนะบรรจุที่ปลอดเชื้อ ($C \rightarrow P$) เพื่อนำตัวอย่างไปทำการวิเคราะห์ต่อไป



ภาพที่ 3 ขั้นตอนการทำงานของชุดอุปกรณ์สำหรับควบคุมอุณหภูมิและเวลาเพื่อศึกษากระบวนการพาสเจอร์ไรส์

2. การคำนวณค่า P^* และ C-value ของกระบวนการพาสเจอร์ไรส์

อุณหภูมิ และเวลาของตัวอย่างในกระบวนการพาสเจอร์ไรส์ถูกนำมาคำนวณเป็นค่า P^* และ C-value ของกระบวนการเมื่อการลดจำนวนลงของจุลินทรีย์ และการสลายตัวของสารอาหารเนื่องจากความร้อน เป็นแบบปฏิกิริยาอันดับหนึ่ง (first-order reaction) โดยอาศัย

ความสัมพันธ์จากสมการ $P^* = \frac{1}{15} \int_0^t 10^{\frac{T-72}{10}} dt$ และ

$C = \int_0^t 10^{\frac{T-T_{ref}}{10}} dt$ ตามลำดับ (Holdsworth, 1992; Holdsworth, 1997; Holdsworth and Simpon, 2007; Tijssens et al., 2000)

เมื่อ T คือ อุณหภูมิของตัวอย่าง ($^{\circ}\text{C}$)
 T_{ref} คือ อุณหภูมิอ้างอิง ($^{\circ}\text{C}$)
 Z คือ อุณหภูมิที่ส่งผลให้ค่า D-value ของการเปลี่ยนแปลงที่เป็นเป้าหมายเปลี่ยนแปลงไป 90% ($^{\circ}\text{C}$)
 T คือ เวลา (นาที)

3. การคำนวณอัตราส่วนการรอดชีวิตของเชื้อ *S. aureus* ในกระบวนการพาสเจอร์ไรส์

อุณหภูมิ และเวลาของตัวอย่างน้ำนมในกระบวนการพาสเจอร์ไรส์ถูกนำมาคำนวณเป็นอัตราส่วนการรอดชีวิตของเชื้อ *S. aureus* (N/N_0) โดยอาศัยความสัมพันธ์จากสมการ $\log\left(\frac{N}{N_0}\right) = -\frac{PU}{D_{ref}} = -\frac{15P^*}{D_{ref}}$ เมื่อการลดจำนวนลงของเชื้อ *S. aureus* เนื่องจากความร้อนเป็นปฏิกิริยาอันดับหนึ่ง (Holdsworth, 1992; Holdsworth, 1997; Holdsworth and Simpon, 2007; Buzrul, 2007) และกำหนดให้ค่าอุณหภูมิอ้างอิงค่า z-value และค่า D-value อ้างอิงของเชื้อ *S. aureus* มีค่าเท่ากับ 72°C, 5.1°C และ 0.137 นาที ตามลำดับ (Tomlins and Ordal, 1976) โดยที่

PU คือ พารามิเตอร์ที่ใช้บ่งชี้ระดับของกระบวนการพาสเจอร์ไรส์

P^* คือ พารามิเตอร์ที่ใช้บ่งชี้ระดับของกระบวนการพาสเจอร์ไรส์นม

N คือ ปริมาณจุลินทรีย์ที่รอดชีวิตหลังผ่านกระบวนการพาสเจอร์ไรส์ในตัวอย่าง

N_0 คือ ปริมาณจุลินทรีย์เริ่มต้นในตัวอย่าง

D_{ref} คือ เวลาที่ส่งผลให้ปริมาณจุลินทรีย์ลดลง 90% ที่อุณหภูมิอ้างอิง (นาที)

4. การคำนวณอัตราส่วนของปริมาณวิตามินบี 1 ที่เหลืออยู่

อุณหภูมิ และเวลาของตัวอย่างในกระบวนการพาสเจอร์ไรส์ถูกนำมาคำนวณเป็นอัตราส่วนของปริมาณวิตามินบี 1 ที่เหลืออยู่ (C/C_0) โดยอาศัยความสัมพันธ์จากสมการ $\log\left(\frac{C}{C_0}\right) = -\frac{C\text{-value}}{D_{ref}}$ เมื่อการสลายตัวของวิตามินบี 1 เนื่องจากความร้อนเป็นปฏิกิริยาอันดับหนึ่ง และกำหนดให้ค่าอุณหภูมิอ้างอิงค่า z-value และค่า D-value อ้างอิงของวิตามินบี 1 มีค่าเท่ากับ 120°C, 30°C และ 120 นาที ตามลำดับ (Maroulis and Saravacos, 2003) โดยที่

C-value คือ พารามิเตอร์ที่ใช้บ่งชี้ระดับการเปลี่ยนแปลงทางด้านคุณภาพของอาหาร

C คือ ความเข้มข้นของสารประกอบชีวเคมีในตัวอย่าง

C_0 คือ ความเข้มข้นของสารประกอบชีวเคมีเริ่มต้นในตัวอย่าง

D_{ref} คือ เวลาที่ส่งผลให้สารประกอบชีวเคมีมีปริมาณลดลง 90% ที่อุณหภูมิอ้างอิง (นาที)

5. การศึกษาผลของกระบวนการพาสเจอร์ไรส์ที่ค่า P^* ต่ำกว่า 1 ต่อการยับยั้งเชื้อ *S. aureus*

การศึกษาผลของกระบวนการพาสเจอร์ไรส์ที่ค่า P^* ต่ำกว่า 1 ต่อการยับยั้งเชื้อ *S. aureus* ในผลิตภัณฑ์นมมีจุดประสงค์เพื่อประเมินความใช้ได้ของแบบจำลองทางคณิตศาสตร์ในการทำนายอุณหภูมิและเวลาของตัวอย่างในกระบวนการพาสเจอร์ไรส์ (Ibarrola et al., 2002) ซึ่งประกอบด้วยขั้นตอนหลักดังนี้

นำน้ำนมมากรองด้วยผ้าขาวบางเพื่อกรองตะกอนขนาดใหญ่ที่อาจปนเปื้อนในนมออกไป จากนั้นนำไปทำให้เป็นเนื้อเดียวกันด้วยเครื่องโฮโมจิไนซ์ (Homogenizer, APV-2000, Denmark) และนำไปฆ่าเชื้อที่อุณหภูมิ 121°C เป็นเวลา 15 นาที ด้วยหม้อนิ่งฆ่าเชื้อ (Tomy, autoclave SS-325, Japan) จากนั้นนำซัสเพนชัน (suspension) ของเชื้อ *S. aureus* ATCC 14458 (ตามวิธีการเตรียมในข้อ 5.1) ปริมาณ 5 มล. เติมน้ำนมที่ผ่านการฆ่าเชื้อแล้ว และนำไปผ่านกระบวนการพาสเจอร์ไรส์ที่ P^* เท่ากับ 0.6, 0.4, 0.3 และ 0.2 (ตามขั้นตอนในข้อ 1.5.2) ต่อไป

5.1 การเตรียมเชื้อ *S. aureus*

นำเชื้อ *S. aureus* ATCC 14458 ที่ผ่านการบ่มที่อุณหภูมิ 37°C เป็นเวลา 18-24 ชั่วโมง ในอาหารเลี้ยงเชื้อ Mueller-Hinton Agar (acumedia, USA) มา 1 หลูป แล้วเพาะเชื้อลงในอาหารเหลว Mueller-Hinton broth ปริมาณ 5 มล. เขย่าให้เข้ากันดี และทำการนับปริมาณเชื้อเริ่มต้นด้วยวิธี pour plate พบว่าเชื้อเริ่มต้นมีปริมาณ 10^5 cfu/ml โดยประมาณ

5.2 กระบวนการพาสเจอร์ไรส์ตัวอย่างน้ำนม

นำเชื้อ *S. aureus* ในข้อ 5.1 ใส่ลงในน้ำนมที่ผ่านการฆ่าเชื้อแล้วที่อุณหภูมิ 121°C เป็นเวลา 15 นาที จากนั้นจึงทำการพาสเจอร์ไรส์น้ำนมโดยกำหนดค่า P^* ของกระบวนการพาสเจอร์ไรส์เท่ากับ 0.6, 0.4, 0.3 และ 0.2 หลังจากนั้นนำน้ำนมที่ผ่านการพาสเจอร์ไรส์แล้วที่ค่า P^*

ต่าง ๆ เหล่านี้จะถูกเก็บไว้ที่อุณหภูมิ 4°C จนกว่าจะนำไปวิเคราะห์ต่อไป

5.3 การนับปริมาณเชื้อที่รอดชีวิต

นำตัวอย่างในข้อ 5.2 ปริมาณ 1 มล. มาเจือจางด้วยวิธี 10-fold serial dilution ด้วย 0.1% peptone จากนั้นนำมานับปริมาณเชื้อที่รอดชีวิตด้วยวิธี pour plate และทำการบ่มที่อุณหภูมิ 37°C เป็นเวลา 48 ชั่วโมง ซึ่งผลการยับยั้งเชื้อ *S. aureus* จะแสดงอยู่ในรูปอัตราส่วนการรอดชีวิตของเชื้อ *S. aureus* คือ N/N_0 โดย N คือ ปริมาณเชื้อ *S. aureus* ในตัวอย่างที่ผ่านการพาสเจอร์ไรส์แล้ว และ N_0 คือ ปริมาณเชื้อ *S. aureus* ในตัวอย่างเริ่มต้น

6. การศึกษาผลของกระบวนการพาสเจอร์ไรส์ที่ค่า P^* เท่ากับ 1 ต่อการเปลี่ยนแปลงของวิตามินบี 1 ที่เป็นองค์ประกอบในนม

การศึกษาผลของกระบวนการพาสเจอร์ไรส์ต่อการเปลี่ยนแปลงของวิตามินบี 1 ที่เป็นองค์ประกอบในนม ทำได้โดยวัดปริมาณการสูญเสียวิตามินบี 1 ในตัวอย่างหลังจากผ่านกระบวนการพาสเจอร์ไรส์แล้ว โดยกำหนดให้ทุกสภาวะของกระบวนการพาสเจอร์ไรส์มีค่า P^* เท่ากับ 1 วิธีการตรวจสอบปริมาณวิตามินบี 1 ในตัวอย่างใช้วิธีการที่ดัดแปลงจาก Albalá-Hurtado et al. (1997) โดยมีวิธีการทดลองดังนี้ คือ

6.1 การเตรียมสารละลายมาตรฐานของวิตามินบี 1

นำไทอะมีนไฮโดรคลอไรด์ (thiamine hydrochloride) หรือวิตามินบี 1 (Sigma-Aldrich, St. Louis, MO) ที่มีความบริสุทธิ์มากกว่าหรือเท่ากับ 99% สำหรับการวิเคราะห์ด้วยโครมาโทกราฟีของเหลวสมรรถนะสูง (HPLC) มาละลายด้วยน้ำกลั่น (deionized water) ให้มีความเข้มข้น 1,000 มิลลิกรัม/ลิตร เพื่อเตรียมเป็นสารละลายมาตรฐานของวิตามินบี 1 (stock solution) หลังจากนั้นนำสารละลายมาตรฐานวิตามินบี 1 ที่เตรียมไว้มาเจือจางด้วยน้ำกลั่นให้มีความเข้มข้นเป็น 2.5, 5, 10, 15 และ 20 มก./ล. และนำไปวิเคราะห์ปริมาณสารเพื่อสร้างกราฟมาตรฐานของวิตามินบี 1

6.2 การเตรียมตัวอย่างนมเพื่อวิเคราะห์ปริมาณวิตามินบี 1

ชั่งตัวอย่างนมปริมาณ 10.5 กรัม ใส่ลงในบีกเกอร์ขนาด 50 มล. จากนั้นเติมสาร Trichloroacetic acid (TCA) ที่อยู่ในรูปของแข็ง 1 กรัม และใส่ magnetic stirring bar ลงในตัวอย่างที่เตรียมไว้แล้วทำการผสมบน magnetic stirring plate นาน 10 นาที เมื่อทำการผสมตัวอย่างจนเข้ากันดีแล้วจึงนำตัวอย่างจากบีกเกอร์ใส่ลงใน centrifuge tube ขนาด 50 มล. และนำตัวอย่างไปปั่นเหวี่ยงด้วยเครื่องปั่นเหวี่ยง (centrifuge, Hettich, Universal 16, Germany) ที่ความเร็วรอบ 1,250 g นาน 10 นาที เพื่อให้ตัวอย่างเกิดการแยกชั้นเป็นของแข็งด้านล่าง และของเหลวด้านบน จากนั้นทำการแยกส่วนของเหลวที่อยู่ด้านบนใส่ไว้ในขวดปรับปริมาตรขนาด 10 มล. แล้วพักไว้ก่อน ส่วนของแข็งที่เหลือจากแยกส่วนของเหลวนั้นจะนำไปปั่นเหวี่ยงอีกครั้งโดยการเติม 4% TCA ปริมาณ 3 มล. ที่ความเร็วรอบ 1250 g นาน 10 นาที จากนั้นส่วนของเหลวที่ได้จากการปั่นเหวี่ยงครั้งที่สองนำไปผสมกับส่วนของเหลวที่แยกได้ในครั้งแรกแล้วทำการปรับปริมาตรให้เป็น 10 มล. ด้วย 4% TCA ในขวดปรับปริมาตรขนาด 10 มล. จากนั้นจึงนำไปวิเคราะห์ปริมาณสาร

6.3 การวิเคราะห์ปริมาณวิตามินบี 1

การวิเคราะห์ปริมาณวิตามินบี 1 ในตัวอย่างนมจะอาศัยวิธี HPLC ด้วยเครื่อง HPLC (Shimadzu, Japan) โดยใช้ตัวตรวจวัด (detector) แบบ UV detector ที่ความยาวคลื่น 205 นาโนเมตร และคอลัมน์ ACE5 ชนิด C_{18} ขนาด 250 x 4.6 มล. เส้นผ่านศูนย์กลาง 5 ไมโครเมตร (ACE, Scotland) โดยใช้เฟสเคลื่อนที่ (mobile phase) เป็นสารละลายโพแทสเซียมไดไฮโดรเจนฟอสเฟต (KH_2PO_4) เข้มข้น 50 มิลลิโมลาร์ (mM) ที่ pH 3.0 ต่ออะซิโตนไนไตรล์ (CH_3CN) ในอัตราส่วน 95:5 ที่อัตราการไหล 0.8 มล./นาที ในสภาวะอุณหภูมิห้อง

7. การศึกษาผลของกระบวนการพาสเจอร์ไรส์ที่ค่า

P* เท่ากับ 1 ต่อการเปลี่ยนแปลงสีของนม

ตัวอย่างที่ผ่านการพาสเจอร์ไรส์แล้วจะนำมาวิเคราะห์ค่าสีด้วยวิธีการวัดการสะท้อนแสง (reflectance) ของตัวอย่าง โดยใช้เครื่อง color view (BYK Gardner, USA) ซึ่งใช้แหล่งกำเนิดแสงมาตรฐาน D65 ค่าสีที่วัดได้จะอยู่ในรูปของ L^* , a^* และ b^* เมื่อ L^* แสดงถึงค่าความสว่าง ($L^* = 0$ คือ สีดำ และ $L^* = 100$ คือ สีขาว) a^* แสดงถึงสีเขียวและสีแดง ($-a^*$ คือ สีเขียว และ $+a^*$ คือ สีแดง) และ b^* แสดงถึงสีน้ำเงินและสีเหลือง ($-b^*$ คือ สีน้ำเงิน และ $+b^*$ คือ สีเหลือง) โดยตัวอย่างจะถูกใส่ในช่องใส่ตัวอย่างที่อยู่เหนือแหล่งกำเนิดแสง ทำการวัดค่าสี 3 ซ้ำ ต่อการวัดหนึ่งตัวอย่าง (Yanes et al., 2002) โดยตัวอย่างที่นำมาวัดสีเป็นตัวอย่างที่ผ่านกระบวนการพาสเจอร์ไรส์ที่กำหนดสภาวะของกระบวนการให้มีค่า P* เท่ากับ 1 ดังนั้นการประเมินการเปลี่ยนแปลงสีของตัวอย่างจะแสดงอยู่ในรูปของความสัมพันธ์ระหว่างพารามิเตอร์ Δa^* และ Δb^* ซึ่งสามารถคำนวณได้ดังนี้

$$\Delta a^* = a^* - a_0^*$$

เมื่อ a^* คือ ค่าที่แสดงถึงสีเขียวและสีแดงของตัวอย่าง

a_0^* คือ ค่าที่แสดงถึงสีเขียวและสีแดงของตัวอย่างควบคุม

$$\Delta b^* = b^* - b_0^*$$

เมื่อ b^* คือ ค่าที่แสดงถึงสีน้ำเงินและสีเหลืองของตัวอย่าง

b_0^* คือ ค่าที่แสดงถึงสีน้ำเงินและสีเหลืองของตัวอย่างควบคุม

Chroma (C^*) เป็นพารามิเตอร์หนึ่งที่แสดงถึงการรับรู้ลักษณะของสีในตัวอย่าง ซึ่งค่านี้จะแสดงถึงค่าความเข้มของสี และใช้เปรียบเทียบความเข้มของสีในเฉดสีเดียวกัน ซึ่งค่า C^* สามารถคำนวณได้โดยอาศัยความสัมพันธ์จากสมการ

$$C^* = \sqrt{(a^*)^2 + (b^*)^2}$$

เมื่อ C^* คือ ค่าความบริสุทธิ์ของสี

a^* คือ ค่าที่แสดงถึงสีเขียวและสีแดงของตัวอย่าง

b^* คือ ค่าที่แสดงถึงสีน้ำเงินและสีเหลืองของตัวอย่าง

นอกจากนี้ยังทำการประเมินการเปลี่ยนแปลงสีของตัวอย่างจากความสัมพันธ์ระหว่างพารามิเตอร์ ΔC^* และ ΔL^* โดย ΔC^* คือ ความแตกต่างของค่าความเข้มของสีระหว่างตัวอย่างและตัวอย่างควบคุมดังสมการ

$$\Delta C^* = C^* - C_0^*$$

เมื่อ C^* คือ ค่าความบริสุทธิ์ของสีของตัวอย่าง

C_0^* คือ ค่าความบริสุทธิ์ของสีของตัวอย่างควบคุม

เมื่อตัวอย่างมีค่า ΔC^* เป็นบวกจะแสดงถึงความเข้มสีของตัวอย่างที่มีความเข้มสีมากกว่าในตัวอย่างควบคุมในเฉดสีเดียวกัน ในขณะที่ค่า ΔC^* เป็นลบจะแสดงถึงความเข้มสีของตัวอย่างที่มีความเข้มสีน้อยกว่าในตัวอย่างควบคุมในเฉดสีเดียวกัน และค่า ΔL^* เมื่อมีค่าเป็นบวกจะแสดงถึงตัวอย่างที่มีค่าความสว่างมากกว่าในตัวอย่างควบคุม ในขณะที่ค่า ΔL^* เมื่อมีค่าเป็นลบจะแสดงถึงตัวอย่างที่มีค่าความสว่างน้อยกว่าในตัวอย่างควบคุมดังสมการ

$$\Delta L^* = L^* - L_0^*$$

เมื่อ L^* คือ ค่าความสว่างของตัวอย่าง

L_0^* คือ ค่าความสว่างของตัวอย่างควบคุม

ผลการวิจัย

1. การศึกษาผลของกระบวนการพาสเจอร์ไรส์ที่ค่า

P* น้อยกว่า 1 ต่อการยับยั้ง *S. aureus*

การศึกษาผลของกระบวนการพาสเจอร์ไรส์ต่อการยับยั้ง *S. aureus* นั้น เป็นการศึกษาปัจจัยในเรื่องของอุณหภูมิ และเวลาของตัวอย่างในกระบวนการพาสเจอร์ไรส์ ดังนั้นจึงจำเป็นต้องศึกษาผลของกระบวนการพาสเจอร์ไรส์ที่สภาวะ P* น้อยกว่า 1 (คือที่ 0.6, 0.4, 0.3 และ 0.2) ด้วยเพื่อประเมินความใช้ได้ของแบบจำลองทางคณิตศาสตร์ในการทำนายอุณหภูมิ และเวลาของตัวอย่างในกระบวนการพาสเจอร์ไรส์ (Ibarrola et al., 2002) ทั้งนี้เนื่องจากที่สภาวะ P* เท่ากับ 1 จะไม่พบจุลินทรีย์ที่รอดชีวิต จึงทำให้ไม่สามารถประเมินความใช้ได้ของกระบวนการพาสเจอร์ไรส์ต่อการยับยั้งเชื้อ *S. aureus* ดังนั้นงานวิจัยนี้จึงศึกษาผลของกระบวนการพาสเจอร์ไรส์

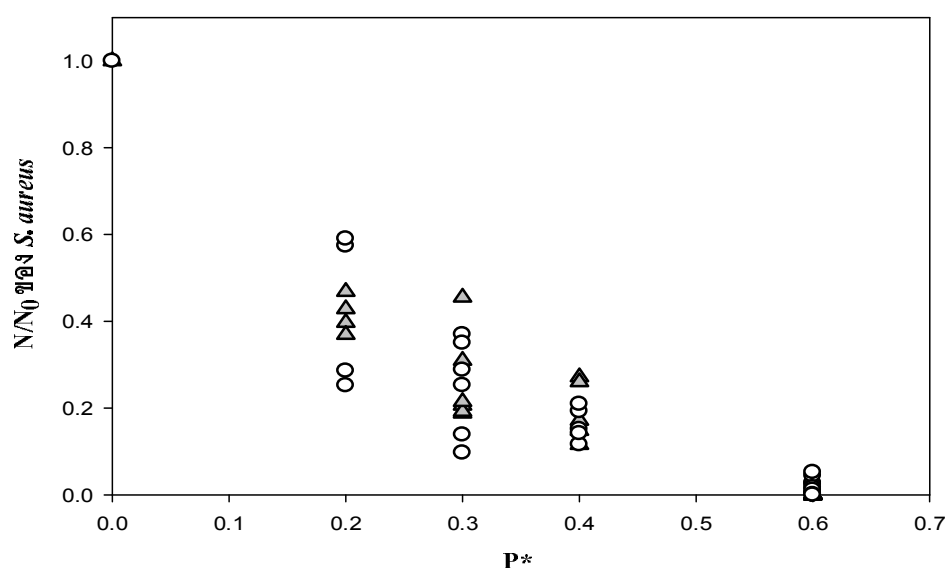
ที่ค่า P^* น้อยกว่า 1 ด้วย ซึ่งอุณหภูมิและเวลาของ กระบวนการพาสเจอร์ไรส์ที่ค่า P^* น้อยกว่า 1 เหล่านี้ แสดงไว้ในตารางที่ 1

ตารางที่ 1 อุณหภูมิ และเวลาของกระบวนการพาสเจอร์ไรส์ในการทดลองที่ค่า P^* น้อยกว่า 1

P^*	เวลา (วินาที)	อุณหภูมิ ($^{\circ}\text{C}$)
0.6	15.41±0.15	73.10±0.02
0.6	13.89±0.29	73.34±0.02
0.6	11.01±0.44	74.22±0.01
0.6	10.09±0.16	74.42±0.03
0.6	8.71±0.11	75.03±0.03
0.6	7.33±0.06	75.60±0.02
0.6	4.60±0.04	77.22±0.02
0.6	4.55±0.06	77.34±0.04
0.6	3.81±0.02	77.82±0.02
0.6	3.44±0.07	78.22±0.02
0.6	2.47±0.01	79.39±0.03
0.4	15.41±0.15	71.64±0.01
0.4	13.89±0.29	71.94±0.02
0.4	11.01±0.44	72.83±0.01
0.3	15.41±0.15	70.65±0.02
0.3	13.89±0.29	70.92±0.01
0.3	10.09±0.16	72.05±0.02
0.3	8.71±0.11	72.60±0.03
0.3	4.60±0.04	74.80±0.01
0.3	3.44±0.07	75.78±0.02
0.2	15.41±0.15	69.23±0.01
0.2	13.89±0.29	69.52±0.01
0.2	3.35±0.08	74.50±0.03
0.2	2.84±0.02	75.08±0.03

ความสัมพันธ์ระหว่างอัตราส่วนการรอดชีวิตของเชื้อ *S. aureus* กับค่า P^* ของกระบวนการพาสเจอร์ไรส์ที่ 0.6, 0.4, 0.3 และ 0.2 เมื่อทำการศึกษาที่อุณหภูมิ ต่างกัน แสดงดังภาพที่ 4 จากผลการทดลองพบว่า กระบวนการพาสเจอร์ไรส์ที่กำหนดค่า P^* สูงจะสามารถ ลดจำนวนเชื้อ *S. aureus* ได้มากกว่า ไม่ว่าจะเป็นผลที่ คำนวณได้จากแบบจำลองทางคณิตศาสตร์ และผลที่ได้ จากการทดลอง เนื่องจาก P^* เป็นพารามิเตอร์สำหรับ บ่งชี้ประสิทธิภาพของกระบวนการพาสเจอร์ไรส์นม โดย กระบวนการพาสเจอร์ไรส์ที่มีค่า P^* เท่ากับ 1 จะแสดงถึง

กระบวนการที่มีประสิทธิภาพเทียบเท่ากับการพาสเจอร์ไรส์ ที่อุณหภูมิ 72°C เป็นเวลา 15 วินาที ดังนั้นเมื่อ P^* ของ กระบวนการพาสเจอร์ไรส์ยังมีค่าสูง ประสิทธิภาพใน การยับยั้งจุลินทรีย์ก็จะมีค่าสูงขึ้นตามไปด้วย นอกจากนี้ในภาพที่ 4 ยังแสดงให้เห็นว่า อัตราส่วนการ รอดชีวิตของ *S. aureus* ที่คำนวณได้จากแบบจำลอง ทางคณิตศาสตร์ และจากการทดลองมีการเปลี่ยนแปลง ที่สอดคล้องกันในทุกๆ P^*



ภาพที่ 4 อัตราส่วนการรอดชีวิตของ *S.aureus* ที่ได้จากแบบจำลองทางคณิตศาสตร์ (O) และที่ได้จากการทดลอง (Δ)

2. การศึกษาผลของกระบวนการพาสเจอร์ไรส์ที่ค่า P^* เท่ากับ 1 ต่อการเปลี่ยนแปลงของวิตามินบี 1 ที่เป็นองค์ประกอบในนม

ผลของกระบวนการพาสเจอร์ไรส์ที่ค่า P^* เท่ากับ 1 ต่อการเปลี่ยนแปลงของวิตามินบี 1 ที่เป็น

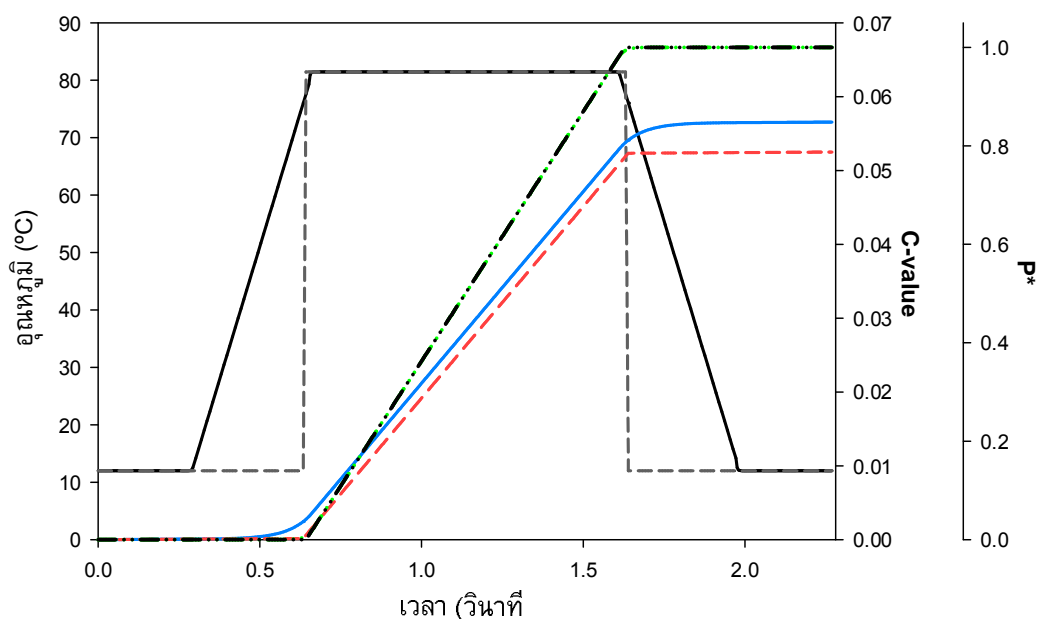
องค์ประกอบในนมจะใช้อุณหภูมิในการศึกษา คือ 77.93, 79.75, 80.43 และ 81.46°C ดังแสดงในตารางที่ 2

ตารางที่ 2 อุณหภูมิ และเวลาของกระบวนการพาสเจอร์ไรส์ในการทดลอง เมื่อกำหนดให้ P^* เท่ากับ 1

เวลา (วินาที)	อุณหภูมิ (°C)
6.40±0.04	77.93±0.03
3.74±0.02	79.75±0.02
3.10±0.07	80.43±0.03
2.32±0.04	81.46±0.08

การที่กำหนดให้ P^* เท่ากับ 1 นั้น เนื่องจากเป็นสภาวะในกระบวนการพาสเจอร์ไรส์ที่สอดคล้องกับข้อกำหนดตามประกาศกระทรวงสาธารณสุข ซึ่งสามารถลดจำนวนจุลินทรีย์ได้ถึง 6 log cycles ทำให้ผลิตภัณฑ์มีความปลอดภัยในการบริโภค (Claeys et al., 2013) ทั้งนี้พารามิเตอร์ที่ใช้อธิบายการเปลี่ยนแปลงปริมาณวิตามินบี 1 จากกระบวนการพาสเจอร์ไรส์ คือ ค่า C-value ซึ่งจะมีค่าเพิ่มขึ้นเมื่อตัวอย่างได้รับความร้อนเช่นเดียวกับค่า P^* โดยลักษณะการเปลี่ยนแปลงค่า P^* และ C-value ในระหว่างกระบวนการพาสเจอร์ไรส์ สามารถแสดงได้ดังภาพที่ 5

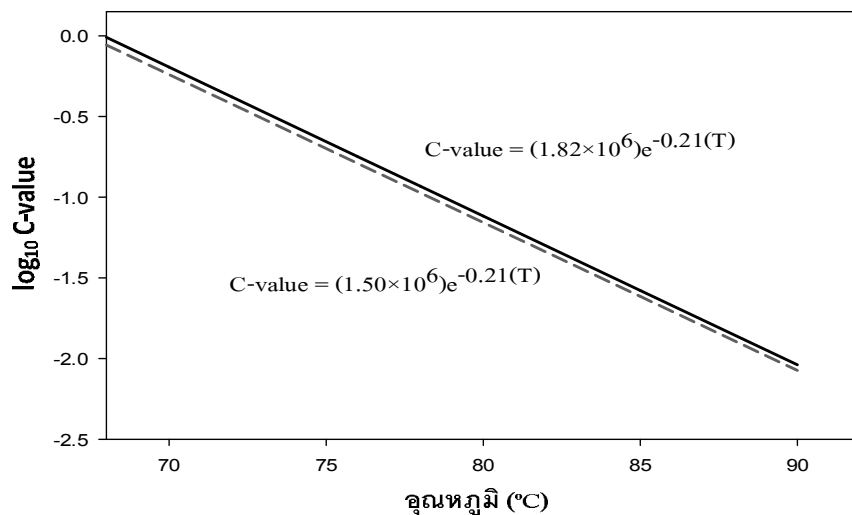
โดยจะเห็นว่าค่า P^* และ C-value มีค่าเพิ่มขึ้นอย่างรวดเร็วเมื่ออุณหภูมิของตัวอย่างมีค่าสูง และจะเพิ่มขึ้นอย่างช้าๆ จนคงที่เมื่อสิ้นสุดกระบวนการพาสเจอร์ไรส์ นอกจากนี้กระบวนการพาสเจอร์ไรส์จากแบบจำลองทางคณิตศาสตร์จะมีลักษณะการเปลี่ยนแปลงของค่า P^* ใกล้เคียงกับกระบวนการพาสเจอร์ไรส์แบบอุดมคติ เนื่องจากอุปกรณ์แลกเปลี่ยนความร้อนมีช่องใส่ตัวอย่างซึ่งมีขนาดเล็กมากจึงสามารถควบคุมการเพิ่มและลดอุณหภูมิได้อย่างรวดเร็ว จึงทำให้สามารถทำการทดลองในช่วงอุณหภูมิและเวลาที่ต้องการได้



ภาพที่ 5 การเปลี่ยนแปลงค่า P* และ C-value ที่ได้จากรูปแบบอุณหภูมิ และเวลาของกระบวนการพาสเจอร์ไรส์แบบอุดมคติและจากแบบจำลองทางคณิตศาสตร์

ในภาพที่ 6 จะแสดงผลการศึกษาการเปลี่ยนแปลงของค่า C-value ทั้งที่ได้จากกระบวนการพาสเจอร์ไรส์แบบอุดมคติ และจากแบบจำลองทางคณิตศาสตร์ที่อุณหภูมิ 77.93, 79.75, 80.43 และ 81.46°C เมื่อกำหนดค่า P* เท่ากับ 1 พบว่า ค่า C-

value ที่คำนวณได้จากแบบจำลองทางคณิตศาสตร์จะยังมีค่าใกล้เคียงมากขึ้นเมื่ออุณหภูมิสูงขึ้น ดังนั้น C-value ในสภาวะที่อุณหภูมิสูงแต่เวลาสั้น จะมีค่าน้อยกว่า C-value ที่อุณหภูมิต่ำแต่เวลานาน ที่สภาวะ P* เท่ากัน

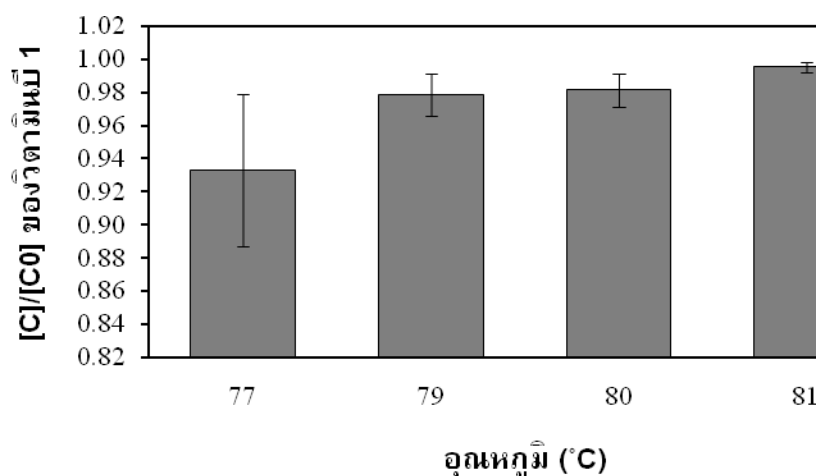


ภาพที่ 6 C-value ที่สภาวะต่างๆในกระบวนการพาสเจอร์ไรส์แบบอุดมคติ (—) และจากแบบจำลองทางคณิตศาสตร์ (---) เมื่อกำหนดค่า P* เท่ากับ 1

จากภาพที่ 6 จะเห็นว่า C-value มีค่าสูงขึ้นอย่างรวดเร็วเมื่อตัวอย่างได้รับความร้อน และเพิ่มขึ้นอย่างช้าๆ จนคงที่เมื่อสิ้นสุดกระบวนการพาสเจอร์ไรส์ โดย ค่า C-value นี้จะมีความสัมพันธ์แบบผกผันกับปริมาณวิตามินบี 1 ที่เป็นองค์ประกอบในตัวอย่างนม ดังนั้นจะเห็นได้ว่า ถ้าค่า C-value ของกระบวนการพาสเจอร์ไรส์มีค่าต่ำ วิตามินบี 1 จะถูกทำลายน้อยลง ซึ่งจะทำให้ได้ผลิตภัณฑ์นมที่ยังคงคุณค่าทางโภชนาการไว้ได้ ซึ่งสอดคล้องกับผลการศึกษาของ Reuter H. (1980, 1982) ที่พบว่าในกระบวนการ UHT นมที่อุณหภูมิต่ำแต่เวลานานจะส่งผลให้ค่า C*-value ที่เป็นพารามิเตอร์แสดงการลดลงของวิตามินบี 1 ในกระบวนการสเตอริไลซ์มีค่ามากกว่าในกระบวนการแปรรูปอาหารด้วยความร้อนที่อุณหภูมิสูงแต่เวลาสั้น ดังนั้นนมที่ผ่านกระบวนการ UHT ที่มีค่า C*-value ต่ำจะมีคุณค่าทางโภชนาการมากกว่านมที่ผ่านกระบวนการ UHT ที่มีค่า C*-value สูง

การวิเคราะห์ปริมาณวิตามินบี 1 ในตัวอย่างนมด้วยวิธี HPLC พบว่า วิตามินบี 1 จะถูกแยกได้ใช้เวลา

4.5 นาที และการเปลี่ยนแปลงปริมาณวิตามินบี 1 ในกระบวนการพาสเจอร์ไรส์จะแสดงในรูปอัตราส่วนของปริมาณวิตามินบี 1 ที่เหลืออยู่ (C/C_0) ในตัวอย่าง และจากผลการทดลองในภาพที่ 7 ซึ่งแสดงอัตราส่วนของปริมาณวิตามินบี 1 ที่เหลืออยู่ (C/C_0) ในตัวอย่างหลังผ่านกระบวนการพาสเจอร์ไรส์ที่อุณหภูมิ 77.93, 79.75, 80.43 และ 81.46°C ที่ค่า P^* เท่ากับ 1 พบว่าอัตราส่วนของปริมาณวิตามินบี 1 ที่เหลืออยู่ (C/C_0) ในตัวอย่างหลังผ่านกระบวนการพาสเจอร์ไรส์มีแนวโน้มเพิ่มขึ้นเมื่ออุณหภูมิที่ใช้ให้ความร้อนในกระบวนการพาสเจอร์ไรส์เพิ่มขึ้น แสดงให้เห็นว่ากระบวนการพาสเจอร์ไรส์ที่อุณหภูมิสูงจะสามารถรักษาปริมาณวิตามินบี 1 ไว้ได้มากกว่า ซึ่งสอดคล้องกับงานวิจัยของ Kessler and Horak (1981) ที่พบว่ากระบวนการ UHT นมที่อุณหภูมิสูงแต่เวลาสั้นจะเกิดการสูญเสียปริมาณวิตามินบี 1 น้อยกว่ากระบวนการ UHT ที่อุณหภูมิต่ำแต่เวลานาน โดยที่ประสิทธิภาพในการยับยั้งจุลินทรีย์ของทั้งสองกระบวนการไม่แตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญ



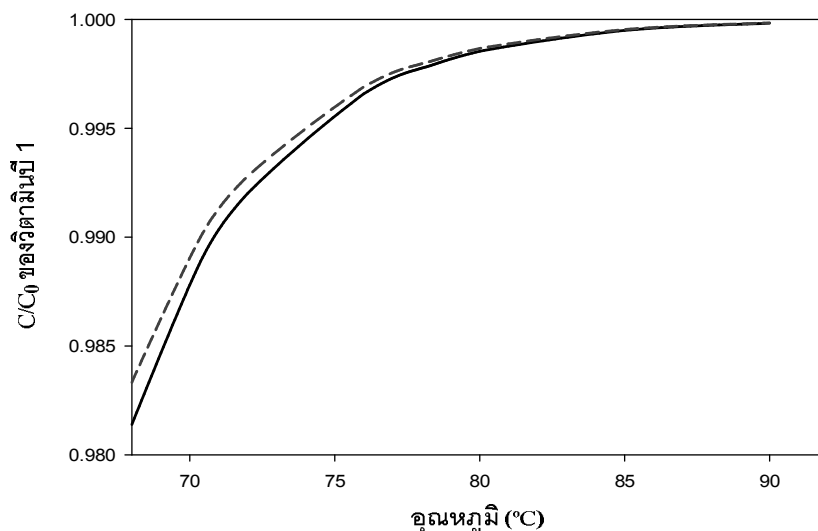
ภาพที่ 7 อัตราส่วนของปริมาณวิตามินบี 1 ที่เหลืออยู่ในตัวอย่างนมภายหลังจากผ่านกระบวนการพาสเจอร์ไรส์ที่อุณหภูมิต่างๆ เมื่อกำหนดค่า P^* เท่ากับ 1 โดย C คือ ปริมาณวิตามินบี 1 (มก./มล.) ในตัวอย่างที่ผ่านการพาสเจอร์ไรส์แล้ว และ C_0 คือ ปริมาณวิตามินบี 1 (มก./มล.) ในตัวอย่างเริ่มต้น ***** ใส่ error bar

เมื่อเปรียบเทียบการลดลงของวิตามินบี 1 ในรูปของอัตราส่วนของปริมาณวิตามินบี 1 ที่เหลืออยู่ (C/C_0) ในตัวอย่างที่ค่า P^* เท่ากับ 1 ทั้งจากกระบวนการพาสเจอร์ไรส์แบบอุดมคติ และจากแบบจำลองทางคณิตศาสตร์ จะพบว่า การลดลงของวิตามินบี 1 ในกระบวนการพาสเจอร์ไรส์ที่ใช้อุณหภูมิสูงจะมีค่าใกล้เคียงกับกระบวนการพาสเจอร์ไรส์แบบอุดมคติมากยิ่งขึ้น (ภาพที่ 8) และในตารางที่ 3 ที่

แสดงอัตราส่วนของปริมาณวิตามินบี 1 ที่เหลืออยู่ (C/C_0) ในตัวอย่างที่ได้จากการทดลอง จากแบบจำลองทางคณิตศาสตร์ และจากแบบอุดมคติ จะเห็นว่า แนวโน้มการเปลี่ยนแปลงปริมาณวิตามินบี 1 จากทั้ง 3 แบบมีแนวโน้มที่คล้ายกัน คือ เมื่ออุณหภูมิของกระบวนการพาสเจอร์ไรส์สูงขึ้นปริมาณวิตามินบี 1 จะคงเหลือมากขึ้น อย่างไรก็ตามอัตราส่วนของปริมาณวิตามินบี 1 ที่เหลืออยู่

(C/C_0) ในตัวอย่างจากการทดลอง จะมีค่าน้อยกว่าจากแบบจำลองทางคณิตศาสตร์ในช่วง 0.0027-0.065 อาจเนื่องมาจากค่าพารามิเตอร์ D-value และ z-value ของวิตามินบี 1 ที่นำมาใช้จาก Maroulis and Saravacos

(2003) อาจไม่ใช่ค่าที่เหมาะสมมากที่สุด เนื่องจากองค์ประกอบของตัวอย่างนมที่ใช้แตกต่างจากตัวอย่างที่ศึกษาค่า D-value และ z-value จากเอกสารอ้างอิงจึงอาจเกิดความคลาดเคลื่อนขึ้นได้



ภาพที่ 8 อัตราส่วนของปริมาณวิตามินบี 1 ที่เหลืออยู่ในตัวอย่างภายหลังจากผ่านกระบวนการพาสเจอร์ไรส์แบบอุดมคติ (---) และจากแบบจำลองทางคณิตศาสตร์ (—) ที่สภาวะต่างๆ เมื่อกำหนดค่า P^* เท่ากับ 1

ตารางที่ 3 อัตราส่วนของปริมาณวิตามินบี 1 ที่เหลืออยู่ในตัวอย่างภายหลังจากผ่านกระบวนการพาสเจอร์ไรส์ในการทดลอง เปรียบเทียบกับกระบวนการพาสเจอร์ไรส์แบบอุดมคติและจากแบบจำลองทางคณิตศาสตร์ที่สภาวะต่างๆ เมื่อกำหนดค่า P^* เท่ากับ 1

อุณหภูมิ (°C)	เวลา (วินาที)	อัตราส่วนของปริมาณวิตามินบี 1 ที่เหลืออยู่ในตัวอย่าง ภายหลังจากผ่านกระบวนการพาสเจอร์ไรส์ (C/C_0)		
		แบบอุดมคติ	แบบจำลอง	ในการทดลอง
77.93	6.40±0.04	99.79×10^{-2}	99.77×10^{-2}	$93.32 \times 10^{-2} \pm 4.59^b$
79.75	3.74±0.02	99.86×10^{-2}	99.84×10^{-2}	$97.86 \times 10^{-2} \pm 1.27^{ab}$
80.43	3.10±0.07	99.88×10^{-2}	99.86×10^{-2}	$98.14 \times 10^{-2} \pm 1.02^a$
81.46	2.32±0.04	99.90×10^{-2}	99.89×10^{-2}	$99.52 \times 10^{-2} \pm 0.33^a$

^{a,b,ab} ตัวอักษรที่ต่างกันในแต่ละแถว แสดงว่าแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p \leq 0.05$)

หมายเหตุ : กระบวนการพาสเจอร์ไรส์แบบอุดมคติคือ กระบวนการพาสเจอร์ไรส์โดยทำให้อุณหภูมิเริ่มต้นของตัวอย่างเพิ่มขึ้นถึงอุณหภูมิที่ต้องการอย่างทันทีทันใดและลดลงจากอุณหภูมิที่ฆ่าเชื้อลงสู่อุณหภูมิการเก็บรักษาอย่างทันทีทันใดเช่นกัน (Tijssens et al., 2000)

การศึกษาผลของกระบวนการพาสเจอร์ไรส์ต่อการเปลี่ยนแปลงสีของนม

การเปลี่ยนแปลงสีของตัวอย่างที่ได้รับความร้อนเป็นปัจจัยทางเคมีกายภาพที่สำคัญปัจจัยหนึ่งซึ่งมีความสัมพันธ์กับการเปลี่ยนแปลงคุณภาพของผลิตภัณฑ์อย่างมาก สำหรับการศึกษาผลของกระบวนการพาสเจอร์ไรส์จากอุณหภูมิ และเวลาของกระบวนการต่อการเปลี่ยนแปลงสีของตัวอย่างนม ดำเนินการภายใต้ค่า P^* เท่ากับ 1 ที่อุณหภูมิแตกต่างกัน คือ 75, 77, 79 และ 80°C การเปลี่ยนแปลงสีของตัวอย่างนมจะแสดงด้วยค่า ΔL^* , Δa^* , Δb^* และ ΔC^* ดังแสดงในตารางที่ 4 จากผลการทดลองพบว่า ΔL^* และ Δa^* ของตัวอย่างนมจะมีค่าลดลง ในขณะที่ Δb^* และ ΔC^* จะมีค่าเพิ่มขึ้นเมื่ออุณหภูมิในกระบวนการพาสเจอร์ไรส์เพิ่มสูงขึ้น และเมื่อเปรียบเทียบการ

เปลี่ยนแปลงค่าสี Δa^* และ Δb^* ของตัวอย่างนมที่ผ่านกระบวนการพาสเจอร์ไรส์ที่อุณหภูมิต่างๆ ดังตารางที่ 4 พบว่าแนวโน้มการเปลี่ยนแปลงสีของตัวอย่างนมที่ผ่านกระบวนการพาสเจอร์ไรส์จะมีค่า Δa^* ลดลง ในขณะที่มีค่า Δb^* มีค่าเพิ่มขึ้น แสดงว่าตัวอย่างนมมีค่าสีแดงลดลง แต่มีค่าสีเหลืองสูงขึ้นเมื่ออุณหภูมิของกระบวนการพาสเจอร์ไรส์สูงขึ้น แต่ทั้งนี้ความแตกต่างของ Δa^* และ Δb^* นี้จะแตกต่างกันอย่างไม่มีนัยสำคัญทางสถิติ แสดงว่าช่วงของอุณหภูมิที่ใช้ในการทดลองไม่มีความแตกต่างกันมากเพียงพอที่จะแสดงให้เห็นผลของอุณหภูมิต่อการเปลี่ยนแปลงของสีได้อย่างชัดเจน อย่างไรก็ตามเมื่อพิจารณาแนวโน้มการเปลี่ยนแปลงสีของตัวอย่างนมที่แสดงในภาพที่ 9 จะพบว่าอุณหภูมิที่สูงขึ้นมีแนวโน้มที่จะทำให้สีของตัวอย่างนมมีความสว่างมากขึ้น

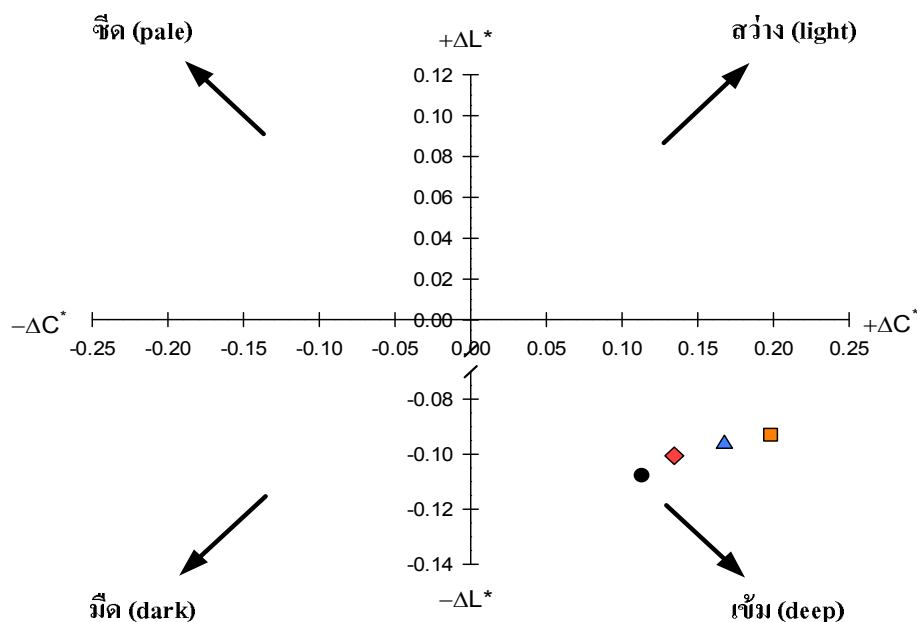
ตารางที่ 4 การเปลี่ยนแปลงสีของตัวอย่างนมหลังจากผ่านกระบวนการพาสเจอร์ไรส์ที่อุณหภูมิ 75, 77, 79 และ 80°C เมื่อกำหนดค่า P^* เท่ากับ 1

อุณหภูมิ (°C)	เวลา (วินาที)	การเปลี่ยนแปลง ค่าความสว่าง ^{ns} (ΔL^*)	การเปลี่ยนแปลง ค่าสีเขียวและแดง ^{ns} (Δa^*)	การเปลี่ยนแปลง ค่าสีน้ำเงินและ เหลือง ^{ns} (Δb^*)	การเปลี่ยนแปลง ค่าความเข้มของสี ^{ns} (ΔC^*)
75	14.57±0.21	-10.79×10 ⁻² ±0.05	3.52×10 ⁻² ±0.06	11.12×10 ⁻² ±0.06	11.34×10 ⁻² ±0.06
77	8.20±0.14	-10.06×10 ⁻² ±0.04	1.94×10 ⁻² ±0.02	13.33×10 ⁻² ±0.09	13.45×10 ⁻² ±0.08
79	4.62±0.04	-9.62×10 ⁻² ±0.03	1.62×10 ⁻² ±0.04	16.88×10 ⁻² ±0.06	16.76×10 ⁻² ±0.06
80	3.46±0.07	-9.29×10 ⁻² ±0.03 ^{ns}	0.83×10 ⁻² ±0.02	20.21×10 ⁻² ±0.05	19.82×10 ⁻² ±0.05

^{ns} แตกต่างกันอย่างไม่มีนัยสำคัญทางสถิติ ($p \geq 0.05$)

เมื่อพิจารณาการเปลี่ยนแปลงสีจากค่าความเข้มสี (ΔC^*) กับค่าความสว่างของสี (ΔL^*) ตามวิธีของ Almela et al. (1995) ดังภาพที่ 9 พบว่า ตัวอย่างที่ผ่านการพาสเจอร์ไรส์ที่อุณหภูมิต่ำมีแนวโน้มที่จะมีค่า ΔC^* และ ΔL^* ต่ำซึ่งแสดงถึงสีของตัวอย่างในลักษณะที่มีสีเข้ม (deep) และเมื่อเพิ่มอุณหภูมิของกระบวนการพาสเจอร์ไรส์

ให้สูงขึ้น จะส่งผลให้ค่า ΔC^* และ ΔL^* มีค่าเพิ่มสูงขึ้น ซึ่งหมายความว่า การเปลี่ยนแปลงสีในลักษณะที่มีค่าความสว่าง (light) ในทิศทางที่สูงขึ้น แสดงให้เห็นว่ากระบวนการพาสเจอร์ไรส์ที่อุณหภูมิสูงแต่เวลาสั้น ตัวอย่างที่ได้จะมีสีสว่างมากกว่าตัวอย่างที่ผ่านกระบวนการพาสเจอร์ไรส์ที่อุณหภูมิต่ำแต่เวลานาน



ภาพที่ 9 การเปลี่ยนแปลงค่าสี ΔC^* และ ΔL^* ของตัวอย่างที่ผ่านกระบวนการพาสเจอร์ไรส์ที่อุณหภูมิ 75 (●), 77 (◆), 79 (▲) และ 80°C (■) เมื่อกำหนดค่า P^* เท่ากับ 1

สรุปและวิจารณ์ผล

พารามิเตอร์ P^* ในกระบวนการพาสเจอร์ไรส์เป็นค่าที่บ่งบอกถึงประสิทธิภาพการยับยั้งจุลินทรีย์และการควบคุมค่า P^* ให้คงที่นั้นสามารถทำได้โดยการควบคุมอุณหภูมิ และเวลาในกระบวนการพาสเจอร์ไรส์ และจากการศึกษาผลของกระบวนการพาสเจอร์ไรส์ที่ค่า P^* ที่แตกต่างกัน พบว่ากระบวนการพาสเจอร์ไรส์ที่มีค่า P^* สูงจะสามารถลดปริมาณเชื้อ *S. aureus* ลงได้มากกว่ากระบวนการพาสเจอร์ไรส์ที่มีค่า P^* ต่ำกว่า นอกจากนี้ในงานวิจัยนี้ยังได้ศึกษาผลของอุณหภูมิในกระบวนการพาสเจอร์ไรส์ต่อปริมาณวิตามินบี 1 และการเปลี่ยนแปลงสีของผลิตภัณฑ์นมที่ค่า P^* ของกระบวนการคงที่เท่ากับ 1 พบว่ากระบวนการพาสเจอร์ไรส์

ที่อุณหภูมิสูง แต่เวลาสั้นจะมีผลทำให้ปริมาณของวิตามินบี 1 คงเหลืออยู่มากกว่ากระบวนการพาสเจอร์ไรส์ที่อุณหภูมิต่ำ แต่เวลานาน และผลิตภัณฑ์นมที่ผ่านกระบวนการพาสเจอร์ไรส์ที่อุณหภูมิสูง แต่เวลาสั้นมีแนวโน้มที่จะมีสีสว่างกว่าผลิตภัณฑ์นมที่ผ่านกระบวนการพาสเจอร์ไรส์ที่อุณหภูมิต่ำ แต่เวลานาน อย่างไรก็ตาม ลักษณะสีของผลิตภัณฑ์นมจากการทดลองไม่มีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($P>0.05$) จึงควรต้องทำการศึกษาอุณหภูมิของกระบวนการพาสเจอร์ไรส์ในช่วงที่มีความแตกต่างกันให้มากขึ้นจึงจะเห็นความแตกต่างของค่าสีของผลิตภัณฑ์นมได้อย่างชัดเจนยิ่งขึ้น

เอกสารอ้างอิง

- Aguilar H. F., Yamashita A. S. and Gut J. A. W. (2012). Development of enzymic time-temperature integrators with rapid detection for evaluation of continuous HTST pasteurization processes. *LWT - Food Science and Technology*, 47(1):110-116.
- Albalá-Hurtado S., Veciana-Nogués M. T., Izquierdo-Pulido M. and Mariné-Font A. (1997). Determination of water-soluble vitamins in infant milk by high-performance liquid chromatography. *Journal of Chromatography*, 778(1-2):247-253.
- Aronsson K. and Rönner U. (2001). Influence of pH, water activity and temperature on the inactivation of *Escherichia coli* and *Saccharomyces cerevisiae* by pulsed electric fields. *Innovative Food Science and Emerging Technologies*, 2(2):105-112.
- Buzrul S. (2007). A suitable model of microbial survival curves for beer pasteurization. *LWT Food Science and Technology*, 40(8):1330-1336.
- Chapman K. W. and Boor K. J. (2001). Acceptance of 2% ultra-pasteurized milk by consumers, 6–11 years old. *Journal of Dairy Science*, 84:951–954.
- Chiewchan N., Phungamngoen C. and Siri wattanayothin S. (2006). Effect of homogenizing pressure and sterilizing condition on quality of canned high fat coconut milk. *Journal of Food Engineering*, 73:38-44.
- Claeys W. L., Cardoen S., Daube G., De Block J., Dewettinck K., Dierick K., De Zutter L., Huyghebaert A., Imberechts H., Thiange P., Vandenplas Y. and Herman L. (2013). Raw or heated cow milk consumption: Review of risks and benefits. *Food Control*, 31(1):251-262.
- Doyle M. P., Glass K. A., Beery J. T., Garcia G. A., Pollard D. J. and Schultz R. D. (1987). Survival of *Listeria monocytogenes* in milk during high-temperature, short-time pasteurization. *Applied and Environmental Microbiology*, 57(3):1433-1438.
- Gandy A. L., Schilling M. W., Coggins P. C., White C. H., Yoon Y. and Kamadia V. V. (2008). The effect of pasteurization temperature on consumer acceptability, sensory characteristics, volatile compound composition, and shelf-life of fluid milk. *Journal of Dairy Science*, 91(5):1769-1777.
- Gao A., Mutharia L., Chen S., Rahn K. and Odumeru J. (2002). Effect of pasteurization on survival of *Mycobacterium paratuberculosis* in milk. *Journal of Dairy Science*, 85(12): 3198-3205.
- Grant I. R., Ball H. J. and Rowe M. T. (1999). Effect of higher pasteurization temperatures, and longer holding times at 72°C, on the inactivation of *Mycobacterium paratuberculosis* in milk. *Letters in Applied Microbiology*, 28(6):461-465.
- Holdsworth S. D. (1992). Aseptic processing and packaging of food products. Elsevier Applied Science, London.

- Holdsworth S. D. (1997). Thermal processing of packaged foods. Blackie Academic and Technical, London.
- Holdsworth D. and Simpon R. (2007). Thermal processing of packaged foods. 2nd ed. Springer Science+Business Media, LLC, New York, USA.
- Ibarrola J. J., Sandoval J. M., García-Sanz M. and Pinzolas M. (2002). Predictive control of a high temperature-short time pasteurisation process. Control Engineering Practice, 10(7):713-725.
- Kessler H. G. and Horak P. (1981). Objective evaluation of UHT-milk-heating by of bacteriological and chemical effects. Milchwissenschaft, 36(3), 129-133.
- Maroulis Z. B. and Saravacos G. D. (2003). Food process design. Marcel Dekker Inc., New York, USA.
- Martin O., Qin B. L., Chang F. J., Barbosa-Canovas G. V. and Swanson B. G. (1997). Inactivation of Escherichia coli in skim milk by high intensity pulsed electric fields. Journal of Food Process Engineering, 20(4):317-336.
- Reuter H. (1980). Evaluation of thermal efficiency of UHT installations for milk. Milchwissenschaft, 35:536-540.
- Reuter H. (1982). UHT milk from the technological viewpoint. Kieler Milchwissenschaft, 34:347-361.
- Tijssens L., Hertog L. and Nicolai B. (2000). Food Process Modelling. CRC Press Woodhead Publishing Limited, New York. USA. 540 pp.
- Tomlins R. I. and Ordal Z. J. (1976). In Skinner F. A. and Hugo W. B. (Eds.), Inhibition and inactivation of vegetative microbes. Academic Press, London.
- Walking-Ribeiro M., Rodríguez-González O., Jayaram S. and Griffiths M. W. (2011). Microbial inactivation and shelf life comparison of 'cold' hurdle processing with pulsed electric fields and microfiltration, and conventional thermal pasteurization in skim milk. International Journal of Food Microbiology, 144(3):379-386.
- Yanes M., Durán L. and Costell E. (2002). Rheological and optical properties of commercial chocolate milk beverages. Journal of Food Engineering, 51(3):229-234.

ผลของสารประกอบทังสเตนคาร์ไบด์ต่อการกัดกร่อนของวัสดุเซอร์เมต กลุ่มไทเทเนียมคาร์ไบด์

Effects of Tungsten Carbide on Corrosion of TiC-Based Cermet

นวรรณ์ วรไวชัย¹ นกนัตร์ ธารีลาภ² และเรืองเดช ธงศรี³



บทคัดย่อ

งานวิจัยนี้ได้ทดสอบสมบัติการกัดกร่อนของวัสดุเซอร์เมตกลุ่มไทเทเนียมคาร์ไบด์-นิกเกิล (TiC-Ni) และวัสดุเซอร์เมตกลุ่มไทเทเนียมคาร์ไบด์-นิกเกิล-ทังสเตนคาร์ไบด์ (TiC-Ni-WC) โดยวัสดุเซอร์เมตทั้งสองผ่านการเตรียมด้วยวิธีทางโลหะวิทยา (powder metallurgy) ผลการทดสอบการกัดกร่อนของวัสดุเซอร์เมตโดยใช้เทคนิคอานดิกโพลาไรเซชัน (anodic polarization) ในสภาวะกรดซัลฟูริกความเข้มข้น 0.3 โมลาร์ พบว่าเส้นโค้งโพลาไรเซชันของวัสดุเซอร์เมตมีลักษณะของการสร้างฟิล์มพาสซีฟ 2 ช่วง คือ เกิดฟิล์มพาสซีฟของไทเทเนียมคาร์ไบด์ในช่วงศักย์ไฟฟ้าต่ำและเกิดฟิล์มพาสซีฟของโลหะนิกเกิลเกิดในช่วงศักย์ไฟฟ้าสูง นอกจากนี้การเติมสารประกอบทังสเตนคาร์ไบด์ในปริมาณที่สูงขึ้นส่งผลให้ช่วงของฟิล์มพาสซีฟของวัสดุเซอร์เมตกว้างขึ้น ภายหลังจากการทดสอบการกัดกร่อนไม่สามารถตรวจพบโลหะนิกเกิลหลงเหลือในวัสดุเซอร์เมตกลุ่มไทเทเนียมคาร์ไบด์-นิกเกิล แต่พบโลหะนิกเกิลหลงเหลือในวัสดุเซอร์เมตกลุ่มไทเทเนียมคาร์ไบด์-นิกเกิล-ทังสเตนคาร์ไบด์ ดังนั้นการเติมสารประกอบทังสเตนคาร์ไบด์ในวัสดุเซอร์เมตกลุ่มไทเทเนียมคาร์ไบด์-นิกเกิลนั้น มีผลต่อพฤติกรรมการกัดกร่อนของวัสดุเซอร์เมตกลุ่มไทเทเนียมคาร์ไบด์-นิกเกิล โดยทำให้ช่วงของฟิล์มพาสซีฟและสมบัติด้านความต้านทานการกัดกร่อนเพิ่มขึ้น

คำสำคัญ : การกัดกร่อน ฟิล์มพาสซีฟ โลหะผงวิทยา วัสดุเซอร์เมตกลุ่มไทเทเนียมคาร์ไบด์-นิกเกิล ทังสเตนคาร์ไบด์

ABSTRACT

In this research, corrosion properties of two sintered cermets, namely TiC-Ni and TiC-Ni-WC, were investigated. These cermets were produced by the powder metallurgy process. The test of the corrosion of the sintered cermets was conducted by using the anodic polarization technique with 0.3M H_2SO_4 solution; it revealed that the polarization curve of the sintered cermets showed two passive regions. The passive film of hard TiC phase happened in the first passive region at low potential, whereas the passive film of the Ni metal binder appeared in the second region at high potential. Moreover, the total passive region increased with the

¹ อาจารย์ประจำภาควิชาเทคโนโลยีวัสดุ คณะวิทยาศาสตร์ มหาวิทยาลัยรามคำแหง

² อาจารย์ประจำสาขาวิชาเทคโนโลยีวัสดุ คณะพลังงานสิ่งแวดล้อมและวัสดุ มหาวิทยาลัยเทคโนโลยีพระจอมเกล้าธนบุรี

³ นักวิจัยประจำศูนย์เทคโนโลยีโลหะและวัสดุแห่งชาติ

บทนำ

วัสดุเซอร์เมตกลุ่มไทเทเนียมคาร์ไบด์ (TiC-based cermet) โดยทั่วไปผลิตด้วยวิธีทางโลหะผงวิทยา (powder metallurgy) ประกอบด้วยสามขั้นตอนหลัก คือ กระบวนการบดผสม (mixing) กระบวนการอัดขึ้นรูป (consolidation) และกระบวนการอบประสาน (sintering) วัสดุเซอร์เมตกลุ่มไทเทเนียมคาร์ไบด์นิยมนำมาผลิตเป็นเครื่องมือตัด หรือชิ้นส่วนที่ทนต่อการสึกกร่อน เนื่องจากวัสดุในกลุ่มนี้มีสมบัติเฉพาะตัวที่ดี เช่น มีความแข็งแรงสูง ทนต่อการสึกหรอสูง มีเสถียรภาพทางเคมีสูง และสามารถคงความแข็งแรงที่อุณหภูมิสูงได้ดี วัสดุเซอร์เมตดังกล่าวถูกพัฒนาขึ้นเพื่อนำมาทดแทนวัสดุกลุ่มทังสเตนคาร์ไบด์-โคบอลต์ (WC-Co) เนื่องจากความสามารถในการแข่งขันด้านราคา สมบัติด้านความต้านทานการสึกหรอและความต้านทานการกัดกร่อน

การพัฒนาสมบัติเชิงกลของวัสดุเซอร์เมตกลุ่มไทเทเนียมคาร์ไบด์นี้ทำได้โดยการเติมคาร์ไบด์ทุกติยภูมิ เช่น ทั้งสเดนคาร์ไบด์ (WC) หรือโมลิบดีนัมคาร์ไบด์ (Mo_2C) (Jung and Kang, 2004; Kwon et al., 2004; Qi and Kang, 1998; Wang et al., 2009; Ying et al., 2011) เพื่อเพิ่มความสามารถในการเปื่อยผิวดระหว่างไทเทเนียมคาร์ไบด์และโลหะนิกเกิล ทำให้เกิดการเชื่อมประสานของสองวัฏภาค (phase) ดีขึ้น ส่งผลให้มีสมบัติเชิงกลที่ดี การเติมคาร์ไบด์ทุกติยภูมิจึงกล่าวนี้ส่งผลถึงการเปลี่ยนแปลงสัณฐานวิทยาของวัสดุเซอร์เมตเป็นโครงสร้างคอร์-ริม (core-rim structure) ที่ประกอบด้วยสามส่วนหลัก คือ ส่วนแกนกลาง (core) เป็นวัฏภาคของไทเทเนียมคาร์ไบด์ ส่วนที่สองเป็นส่วนขอบ (rim) ที่เป็นสารละลายของแข็ง (Ti,W) C หรือสารละลายของแข็ง (Ti, Mo)C และส่วนสุดท้ายคือ ส่วนของโลหะนิกเกิลที่เป็นโลหะตัวประสาน (binder) (Ahn and

สำหรับสมบัติด้านการกัดกร่อนของวัสดุเซอร์เมต นั้น แม้ว่าวัสดุชนิดนี้จะมีสมบัติที่ดีดังที่กล่าวมา แต่การใช้งานของวัสดุชนิดนี้โดยเฉพาะอย่างยิ่งการนำไปผลิตเป็นเครื่องมือตัดที่ต้องการสัมผัสกับสารหล่อเย็นที่มีองค์ประกอบของคลอไรด์ (Shaokrani, et al., 2012) อาจทำให้เปลี่ยนสภาพเป็นกรดได้ในบางกรณี ซึ่งทำให้อายุการใช้งานของวัสดุเซอร์เมตลดลงเนื่องจากการกัดกร่อนดังกล่าวโดยทั่วไปวัสดุที่มีโครงสร้างพื้นฐานเป็นวัสดุเซรามิกจะมีความต้านทานการกัดกร่อนสูง แต่ในวัสดุกลุ่มเซอร์เมตที่ประกอบด้วยวัฏภาคเซรามิกและโลหะตัวประสานนั้นจะเกิดการกัดกร่อนแบบกัลวานิก (galvanic corrosion) ขึ้น เมื่อวัฏภาคทั้งสองที่มีศักย์ไฟฟ้าของการกัดกร่อน (corrosion potential) แตกต่างกัน เกิดการสัมผัสกันในสภาวะที่ก่อให้เกิดการกัดกร่อน โดยโลหะตัวประสาน(ศักย์ไฟฟ้าเคมีต่ำ) จะเกิดการกัดกร่อนหรือสูญเสียเนื้อวัสดุไป (Bhardwaj and Balasubramaniam, 2008; Thakare et al., 2007; Wan et al., 2012) ส่งผลให้วัฏภาคเซรามิกหลุดออก และวัสดุเซอร์เมตสูญเสียสภาพ

การศึกษาการกัดกร่อนของวัสดุเซอร์เมตจึงมีความสำคัญ เพื่อให้เข้าใจถึงพฤติกรรมการกัดกร่อน และสามารถนำข้อมูลนั้นมาปรับปรุงสมบัติด้านความต้านทานการกัดกร่อนควบคู่กับการปรับปรุงสมบัติเชิงกล สำหรับการศึกษาการกัดกร่อนจากรายงานวิจัยนั้น ส่วนใหญ่ไม่พบการศึกษาการกัดกร่อนของวัสดุเซอร์เมตกลุ่มไทเทเนียมคาร์ไบด์ที่มีการเติมสารประกอบคาร์ไบด์ทุติยภูมิ พบเพียงแต่การศึกษาในวัสดุกลุ่มทังสเตนคาร์ไบด์-โคบอลต์ (WC-Co) และวัสดุเซอร์เมตกลุ่มไทเทเนียมคาร์ไบด์ไนไตรด์ (TiCN-based cermet) (Ahn and Kang, 2000; Bhardwaj and

Balasubramaniam, 2008; Choi et al., 2001; Dong, et al., 2013; Wan et al., 2012; Wan et al., 2013; Yi et al., 2013; Zhang et al., 2013)

ดังนั้นงานวิจัยนี้จึงมีวัตถุประสงค์เพื่อศึกษาการกัดกร่อนของวัสดุเซอรเมตกลุ่มไทเทเนียมคาร์ไบด์ที่มีการเติมคาร์ไบด์ทังสเตม เมื่อมีการใช้งานในสภาพที่เป็นกรด เพื่อนำข้อมูลที่ได้ไปใช้เป็นแนวทางในการป้องกันการกัดกร่อนของวัสดุเซอรเมตกลุ่มไทเทเนียมคาร์ไบด์ และเพื่อให้สามารถเลือกใช้งานวัสดุกลุ่มนี้ได้ ในสภาวะที่เหมาะสม

วิธีดำเนินการวิจัย

การเตรียมวัสดุเซอรเมตกลุ่มไทเทเนียมคาร์ไบด์-นิกเกิล

วัสดุเซอรเมตกลุ่มไทเทเนียมคาร์ไบด์-นิกเกิล ที่ใช้สำหรับทดสอบการกัดกร่อนในงานวิจัยนี้ เตรียมจากผงไทเทเนียมคาร์ไบด์ (TiC) ขนาดน้อยกว่า 3 ไมครอน ผงทังสเตนคาร์ไบด์ WC ขนาด 1-1.99

ไมครอน และผงโลหะนิกเกิล (Ni) ขนาด 3-5 ไมครอน โดยวิธีทางโลหะผงวิทยาเริ่มโดยการบดผสม (mixing) ผงตามอัตราส่วนดังตารางที่ 1 ด้วยเครื่องบดชนิด planetary ball mill ด้วยความเร็ว 200 รอบ/นาที เวลา 24 ชั่วโมง หลังจากนั้นนำมาขึ้นรูปขั้นต้น (pre-shape) เป็นลักษณะแผ่นวงกลมขนาดเส้นผ่าศูนย์กลาง 25 มิลลิเมตร ความหนา 10 มิลลิเมตร ด้วยเครื่องอัดไฮดรอลิก ความดัน 20 เมกะปาสคาล และนำชิ้นทดสอบมาอัดอีกครั้งเพื่อเพิ่มความหนาแน่นของชิ้นงานด้วยเครื่องอัดแบบแรงดันเท่ากันทุกทิศทางทุกทางแบบเย็น (cold isostatic pressing; CIP) ที่ความดัน 200 เมกะปาสคาล นำชิ้นทดสอบ (องค์ประกอบทางเคมีดังตารางที่ 1) ที่ผ่านการขึ้นรูปมาอบประสานภายใต้สภาวะสุญญากาศ (vacuum sintering) ที่อุณหภูมิ 1300 องศาเซลเซียส ความดัน 10^{-5} เมกะปาสคาล เป็นเวลา 90 นาที ส่วนการเตรียมโลหะนิกเกิลเพื่อเป็นชิ้นทดสอบเปรียบเทียบกับลักษณะของการกัดกร่อนกับของวัสดุเซอรเมตกลุ่มไทเทเนียมคาร์ไบด์-นิกเกิล เตรียมชิ้นทดสอบโดยวิธีทางโลหะผงวิทยาเช่นเดียวกับวัสดุเซอรเมต

ตารางที่ 1 อัตราส่วนผสมทางเคมีของวัสดุเซอรเมตกลุ่มไทเทเนียมคาร์ไบด์-นิกเกิลและโลหะนิกเกิล

ลำดับ	ชิ้นทดสอบ	อัตราส่วนผสมทางเคมี (ร้อยละโดยน้ำหนัก ; wt%)		
		TiC	Ni	WC
1	TiC-Ni	80	20	-
2	TiC-Ni-5WC	75	20	5
3	TiC-Ni-10WC	70	20	10
4	TiC-Ni-15WC	65	20	15
5	Ni	-	100	-

การเตรียมชิ้นทดสอบสำหรับศึกษาสัณฐานวิทยาและสมบัติการกัดกร่อน

เตรียมชิ้นทดสอบด้วยวิธีทางโลหะวิทยา เริ่มจากการขัดหยาบเพื่อปรับระนาบผิวหน้าชิ้นงานด้วยจานขัดเพชร (resin bonded diamond grinding disc) เบอร์ 120 และขัดละเอียด ด้วยกระดาษทรายเบอร์ 600 และ 1200 ตามลำดับ หลังจากนั้นขัดมัน (polishing) ด้วยผงเพชรขนาด 6 ไมครอน และ 1 ไมครอน ตามลำดับ

การศึกษาสัณฐานวิทยาของวัสดุเซอรเมตกลุ่มไทเทเนียมคาร์ไบด์

ศึกษาสัณฐานวิทยาของชิ้นงานตัวอย่างก่อนและหลังการทดสอบการกัดกร่อนด้วยกล้องจุลทรรศน์อิเล็กตรอนแบบส่องกราด (scanning electron microscope) เพื่อวิเคราะห์สัณฐานวิทยาที่เปลี่ยนแปลงไปหลังเกิดการกัดกร่อนในแต่ละสภาวะการทดสอบ

การศึกษาองค์ประกอบทางเคมีของโครงสร้างคอร์-ริม

ศึกษาองค์ประกอบทางเคมีของโครงสร้างคอร์-ริมที่เกิดในวัสดุเซอรเมตกลุ่มไทเทเนียมคาร์ไบด์ด้วยเทคนิค energy-dispersive x-ray spectroscopy (EDS) เพื่อใช้ประเมินการเกิดโครงสร้างคอร์-ริมในระหว่างการอบประสານ

การศึกษาการกัดกร่อนของวัสดุเซอรเมตกลุ่มไทเทเนียมคาร์ไบด์และโลหะนิกเกิล

เตรียมชิ้นทดสอบตัวอย่างให้มีพื้นที่ขนาด 1 ตารางเซนติเมตร เพื่อนำมาศึกษาการกัดกร่อนด้วยเทคนิคทางเคมีไฟฟ้าด้วยเครื่อง potentiostat ซึ่งใช้เซลล์ทดสอบชนิด 3 ขั้ว ได้แก่ ขั้วไฟฟ้า working electrode (WE) หรือชิ้นทดสอบตัวอย่างขั้วไฟฟ้าอ้างอิงมาตรฐาน (reference electrode: RE) ใช้ขั้วไฟฟ้าอ้างอิงมาตรฐานชนิดซิลเวอร์/ซิลเวอร์คลอไรด์ (Ag/AgCl) และขั้วไฟฟ้า counter electrode (CE) ใช้โลหะแพลตินัม (Pt) ก่อนทำการทดสอบทำการวัดค่าศักย์ไฟฟ้าวงจรเปิด (open circuit potential; OCP) ก่อนการทดสอบเป็นเวลา 60 วินาที ในสภาวะกรดซัลฟิวริก ความเข้มข้น 0.3 โมลาร์ (ค่าความเป็นกรด-ด่าง; pH เท่ากับ 1) ด้วยเทคนิค anodic polarization โดยเริ่มป้อนศักย์ไฟฟ้าเริ่มต้นที่ -20 มิลลิโวลต์ อัตราการสแกน 1 มิลลิโวลต์/วินาที เพื่อศึกษาผลของทั้งสแตนคาร์ไบด์ที่มีต่อความต้านทานต่อการกัดกร่อนของวัสดุเซอรเมตกลุ่มไทเทเนียมคาร์ไบด์ในสภาวะกรด

ผลการวิจัย

สัณฐานวิทยาของวัสดุเซอรเมตกลุ่มไทเทเนียมคาร์ไบด์ก่อนทดสอบการกัดกร่อน

การศึกษาสัณฐานวิทยาของวัสดุเซอรเมตกลุ่มไทเทเนียมคาร์ไบด์ก่อนการทดสอบการกัดกร่อนด้วยกล้องจุลทรรศน์อิเล็กตรอนแบบส่องกราดในโหมด backscatter electron (BSE) โดยอาศัยความแตกต่างของเลขอะตอม (atomic number) ของธาตุ ซึ่งลักษณะของภาพที่ปรากฏจะแสดงความแตกต่างความสว่าง-มืดในบริเวณที่มีองค์ประกอบทางเคมีที่ต่างกัน โดยในบริเวณที่ประกอบด้วยธาตุที่มีเลขอะตอมสูงจะปรากฏ

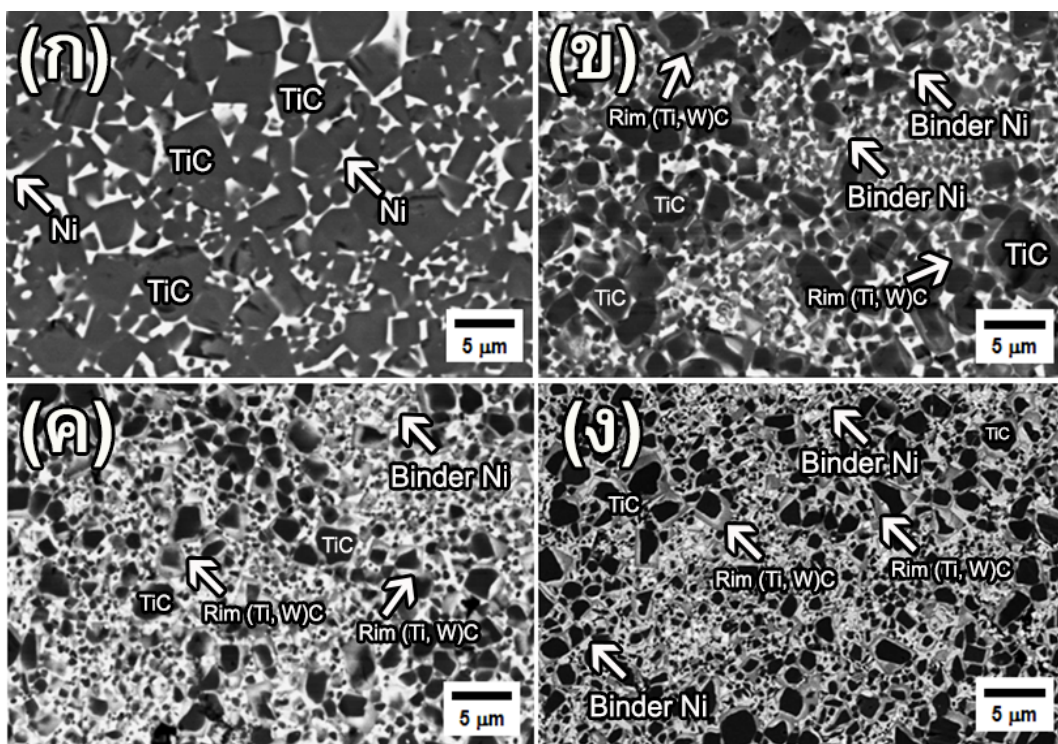
ภาพที่มีความสว่างมากกว่าบริเวณที่ประกอบด้วยธาตุที่มีเลขอะตอมต่ำกว่า

ภาพที่ 1 (ก) แสดงสัณฐานวิทยาของวัสดุเซอรเมตไทเทเนียมคาร์ไบด์-นิกเกิล (TiC-Ni) ซึ่งมีสองวัฏภาค ได้แก่ บริเวณที่มีสีเข้ม และบริเวณที่มีสีสว่าง เมื่อตรวจสอบด้วยเทคนิค EDS ดังภาพที่ 2 (ง) พบว่าบริเวณที่มีสีเข้มเป็นบริเวณที่มีธาตุไทเทเนียม (เลขอะตอม 22) เป็นองค์ประกอบหลัก ส่วนบริเวณที่มีสีสว่างเป็นบริเวณที่มีนิกเกิล (เลขอะตอม 28) เป็นองค์ประกอบ โดยสัณฐานวิทยาของวัสดุเซอรเมตมีลักษณะเป็นอนุภาคไทเทเนียมคาร์ไบด์ล้อมรอบด้วยวัฏภาคของโลหะผสมนิกเกิล-ไทเทเนียมที่เป็นโลหะตัวประสาน ดังภาพที่ 2 (ก) ซึ่งการเกิดโครงสร้างดังกล่าวเกิดผ่านกลไกการเปลี่ยนแปลงเฟส (phase transformation) ในระหว่างกระบวนการอบประสานครึ่งวัฏภาคของเหลว (liquid phase sintering; LPS) โดยขั้นแรกเมื่ออุณหภูมิในการอบประสานครึ่งขึ้นจนโลหะตัวประสานเปลี่ยนเป็นวัฏภาคของเหลว จะเกิดการจัดเรียงตัวใหม่ของวัฏภาคของเหลวและอนุภาคของไทเทเนียมคาร์ไบด์เนื่องจากอิทธิพลของความแตกต่างของความเค้นคาปิลารี (capillary stress gradient) หลังจากนั้นเกิดกระบวนการแน่นตัว (densification) และการปรับรูปร่างของเกรน (grain shape accommodation) ผ่านกระบวนการละลายออกและตกผลึกกลับ (dissolution-reprecipitation process) โดยอนุภาคขนาดเล็กของไทเทเนียมคาร์ไบด์เกิดการละลายลงสู่วัฏภาคของเหลวของโลหะตัวประสานนิกเกิล และเกิดการแพร่ไปตกผลึกบนผิวของอนุภาคไทเทเนียมคาร์ไบด์ที่มีขนาดใหญ่ทำให้ขนาดอนุภาคโดยเฉลี่ยมีขนาดใหญ่ขึ้นนอกจากนี้ในส่วนโลหะตัวประสานจะเกิดเป็นโลหะผสมนิกเกิล-ไทเทเนียมเนื่องจากแพร่ของไทเทเนียมคาร์ไบด์ผ่านวัฏภาคของเหลวนิกเกิลในขั้นตอนการละลายออก-ตกผลึกกลับดังกล่าว ซึ่งสอดคล้องกับผลการวิเคราะห์องค์ประกอบทางเคมีจากเทคนิค EDS ดังภาพที่ 2 (ง)

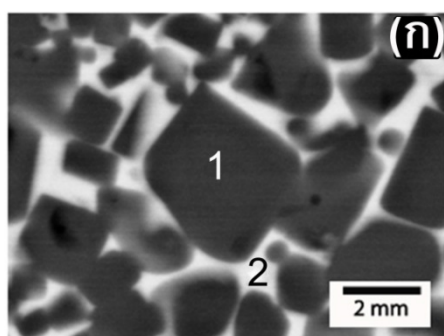
ส่วนในวัสดุเซอรเมตไทเทเนียมคาร์ไบด์-นิกเกิลที่มีการเติมทั้งสแตนคาร์ไบด์ (TiC-Ni-xWC) ในปริมาณร้อยละ 5-15 โดยน้ำหนักนั้น สัณฐานวิทยาที่เกิดขึ้นประกอบด้วย 3 วัฏภาค ได้แก่ วัฏภาคไทเทเนียมคาร์ไบด์ (บริเวณที่มีสี) วัฏภาคของโลหะตัวประสาน

นิเกิล-ไทเทเนียมคาร์ไบด์-ทังสเตนคาร์ไบด์ (บริเวณสว่าง) และวัฏภาคของสารละลายของแข็ง (Ti, W)C ที่มีลักษณะเป็นสีเทาเข้ม ดังภาพที่ 1 (ข) - 1(ง) เรียกว่า โครงสร้างคอร์-ริม (core-rim) ซึ่งเกิดจากกระบวนการละลายออก-ตกผลึกกลับผ่านโลหะตัวประสานระหว่างการอบประสานชนิดวัฏภาคของเหลวเช่นเดียวกับวัสดุเซอร์เมตไทเทเนียมคาร์ไบด์-นิเกิลโดยแกนกลาง (core) เป็นอนุภาคไทเทเนียมคาร์ไบด์ ส่วนขอบ (rim) เป็นส่วนของสารละลายของแข็ง (Ti, W) C ที่เกิดจากการละลายของทังสเตนคาร์ไบด์เข้าสู่วัฏภาคของเหลว และเกิดการตกผลึกกลับบนอนุภาคไทเทเนียมคาร์ไบด์ การเกิดโครงสร้างนี้สอดคล้องกับการวิเคราะห์ผลขององค์ประกอบทางเคมีของโครงสร้างคอร์-ริม ณ บริเวณต่างๆ ด้วยเทคนิค EDS ดังภาพที่ 3 (ง) ซึ่งพบว่าบริเวณแกนกลาง (core) มีปริมาณของไทเทเนียมคาร์ไบด์เป็นองค์ประกอบหลัก แต่ในส่วนขอบ (rim) มีปริมาณของไทเทเนียมและทังสเตนอยู่ในปริมาณสูงสอดคล้องกับรายงานวิจัยที่ผ่านมา (Ahn and Kang, 2000; Kim, et al., 2003) พบว่าทังสเตนสามารถแพร่เข้าสู่สารประกอบไทเทเนียมคาร์ไบด์และเกิดเป็นลักษณะของสารละลายของแข็ง (Ti, W) C ได้ เมื่อพิจารณาจากองค์ประกอบของโลหะตัวประสานพบว่า มีองค์ประกอบของนิเกิล ไทเทเนียมและทังสเตน เนื่องเกิดจากการละลายของธาตุทั้งสองสู่ของโลหะตัวประสาน ผ่านกลไกการละลายออกและตกผลึกกลับดังกล่าว

นอกจากนี้พบว่าเมื่อปริมาณทังสเตนคาร์ไบด์เพิ่มขึ้น ส่งผลให้ขนาดของไทเทเนียมคาร์ไบด์ลดลง ดังภาพที่ 1 (ก)–1 (ง) เนื่องจากการโต (growth) ของอนุภาคไทเทเนียมคาร์ไบด์ในกระบวนการอบประสานชนิดเฟสของเหลวนั้นจะเกิดผ่านกระบวนการละลายออกและตกผลึกกลับ ซึ่งอนุภาคของแข็งที่อยู่ในระบบมีแนวโน้มที่จะลดพลังงานพื้นผิว (surface energy) ลง จึงเกิดแรงขับ (driving force) ให้อนุภาคไทเทเนียมคาร์ไบด์ขนาดเล็กละลายลงสู่วัฏภาคของเหลวและแพร่ไปตกผลึกบนอนุภาคไทเทเนียมคาร์ไบด์ที่มีขนาดใหญ่กว่า ส่งผลให้ขนาดอนุภาคของไทเทเนียมคาร์ไบด์โดยเฉลี่ยสูงขึ้นส่วนในกรณีที่มีทังสเตนคาร์ไบด์อยู่ในระบบนั้น การโตของอนุภาคไทเทเนียมคาร์ไบด์จะถูกยับยั้งโดยการเกิดโครงสร้างคอร์-ริม เนื่องจากอนุภาคทังสเตนมีค่าการละลายในโลหะนิเกิลสูงกว่าไทเทเนียมคาร์ไบด์ (Upadhyaya, 1998) จึงเกิดการละลายของทังสเตนลงสู่วัฏภาคของเหลวก่อนและตกผลึกกลับบนอนุภาคของไทเทเนียมคาร์ไบด์ที่มีเสถียรภาพสูง เกิดเป็นโครงสร้างคอร์-ริม (ภาพที่ 2) โดยโครงสร้างริมที่เกิดขึ้นนั้นจะขัดขวางการละลายของอนุภาคไทเทเนียมคาร์ไบด์ลงสู่วัฏภาคของเหลว จึงทำให้อนุภาคไทเทเนียมคาร์ไบด์มีขนาดเฉลี่ยต่ำ

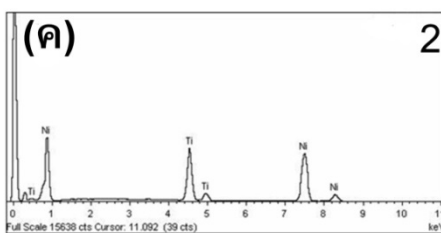
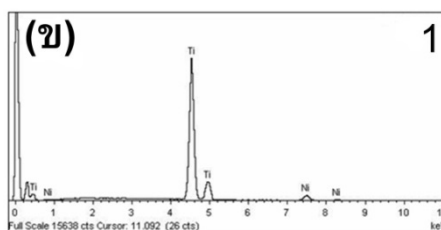


ภาพที่ 1 สัณฐานวิทยาของวัสดุเซรามิกกลุ่มไทเทเนียมคาร์ไบด์ (ก) TiC-Ni (ข) TiC-Ni-5WC
(ค) TiC-Ni-10WC (ง) TiC-Ni-15WC



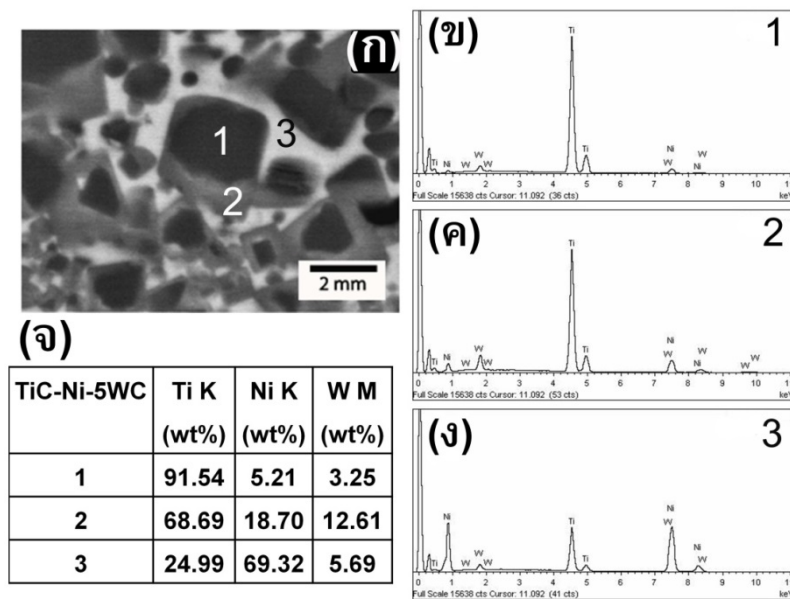
(ง)

TiC-Ni	Ti K (wt%)	Ni K (wt%)
1	91.39	8.61
2	28.61	71.39



ภาพที่ 2 องค์ประกอบทางเคมีของวัสดุเซรามิกไทเทเนียมคาร์ไบด์-นิกเกิล (TiC-Ni) ด้วยเทคนิค EDS

(ก) ตำแหน่งที่ใช้หาองค์ประกอบทางเคมี (ข) พิกัดแสดงองค์ประกอบทางเคมีของวัสดุไทเทเนียมคาร์ไบด์
(ค) พิกัดแสดงองค์ประกอบทางเคมีของวัสดุโลหะตัวประสาน (ง) ปริมาณธาตุต่างๆ ในโครงสร้างวัสดุเซรามิก
TiC-Ni

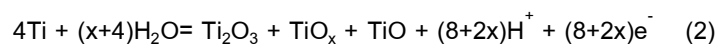


ภาพที่ 3 องค์ประกอบทางเคมีของวัสดุเซรามิกกลุ่มไทเทเนียมคาร์ไบด์ที่มีการเติมสารประกอบทั้งสแตนคาร์ไบด์ร้อยละ 5 โดยน้ำหนัก (TiC-Ni-5WC) ด้วยเทคนิค EDS (ก) ตำแหน่งที่ใช้หาองค์ประกอบทางเคมี (ข) พิกัดแสดงองค์ประกอบทางเคมีของโครงสร้างคอร์-ริม (ค) พิกัดแสดงองค์ประกอบทางเคมีของโครงสร้างคอร์-ริม (ง) พิกัดแสดงองค์ประกอบทางเคมีของโลหะตัวประสาน (จ) ปริมาณของธาตุต่างๆ ในโครงสร้างคอร์-ริม

ผลของสารประกอบทั้งสแตนคาร์ไบด์ที่มีต่อการกัดกร่อนของวัสดุเซรามิกกลุ่มไทเทเนียมคาร์ไบด์ในสภาวะกรด

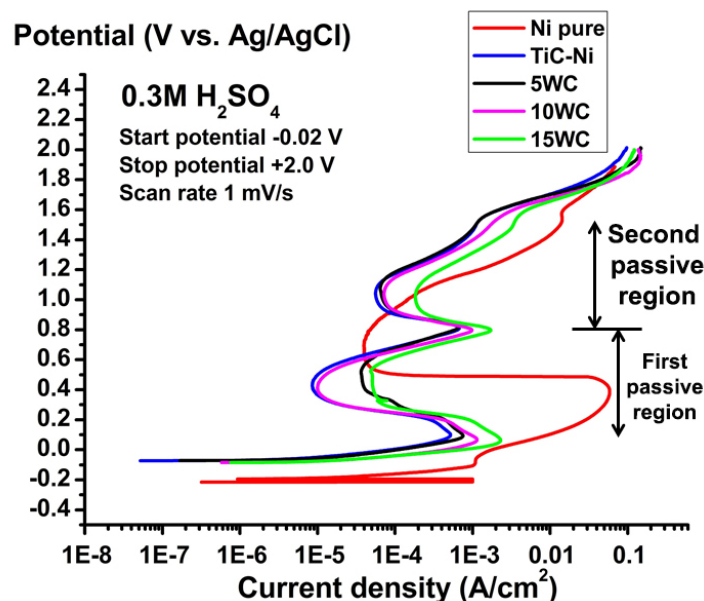
การศึกษาผลของสารประกอบทั้งสแตนคาร์ไบด์ที่มีต่อการกัดกร่อนของวัสดุเซรามิกกลุ่มไทเทเนียมคาร์ไบด์ในสภาวะกรด ซึ่งทดสอบการกัดกร่อนของโลหะนิกเกิลและวัสดุเซรามิก TiC-Ni และ TiC-Ni-xWC (x = ปริมาณของสารประกอบทั้งสแตนคาร์ไบด์ร้อยละ 5-10 โดยน้ำหนัก) ในสารละลายกรดซัลฟูริกที่มีความเข้มข้น 0.3 โมลาร์ ที่อุณหภูมิห้องพบว่า กราฟโพลาริเซชันของโลหะนิกเกิลและวัสดุเซรามิก TiC-Ni และ TiC-Ni-

xWC (ภาพที่ 4) ที่ได้มีลักษณะเป็นกราฟแอคทีฟ-พาสซีฟ (active-passive) โดยโลหะนิกเกิลแสดงบริเวณพาสซีฟ (passive region) เพียงช่วงเดียว แต่ในวัสดุเซรามิก TiC-Ni และ TiC-Ni-xWC นั้นแสดงบริเวณพาสซีฟสองช่วง ซึ่งสอดคล้องกับงานวิจัยของ Kumar et al., (2007) โดยบริเวณพาสซีฟช่วงแรก (first passive region) เป็นส่วนของการสร้างฟิล์มออกไซด์ของไทเทเนียม (Ti_2O_3 , TiO_x , TiO) ซึ่งเกิดจากปฏิกิริยาออกซิเดชันของสารประกอบไทเทเนียมคาร์ไบด์ในสารละลายกรดซัลฟูริก ดังสมการ



ส่วนบริเวณพาสซีฟในช่วงที่สอง (second passive region) ของวัสดุเซรามิกเกิดอยู่ในช่วงศักย์ไฟฟ้า 386-1512 มิลลิโวลต์ ของการสร้างฟิล์มโลหะนิกเกิลบริสุทธิ์ในขั้นตอนทดสอบเปรียบเทียบ ดังภาพ

ที่ 4 ซึ่งสอดคล้องกับ Kumar et al., (2007) ดังนั้นการสร้างฟิล์มพาสซีฟในช่วงที่สองจึงเป็นฟิล์มของโลหะนิกเกิล



ภาพที่ 4 กราฟโพลาริเซชันของโลหะนิกเกิลและวัสดุเซอร์เมตกลุ่มไทเทเนียมคาร์ไบด์ในกรดซัลฟูริก ความเข้มข้น 0.3 โมลาร์

จากภาพที่ 4 กราฟโพลาริเซชันของโลหะนิกเกิลและวัสดุเซอร์เมตกลุ่มไทเทเนียมคาร์ไบด์สามารถนำมาวิเคราะห์เพื่อหาตัวแปรในการเกิดพาสซีเวชัน (passivation) ของวัสดุแต่ละชนิด ได้ดังตารางที่ 2 และ 3 ค่าที่ใช้ในการวิเคราะห์มีดังต่อไปนี้

OCP (open circuit potential) เป็นค่าศักย์ไฟฟ้าวงจรเปิดของโลหะในสภาวะทดสอบ
 I_{crit} (critical current density for passivation) เป็นค่าความหนาแน่นกระแสไฟฟ้าวิกฤติในการสร้างฟิล์มพาสซีฟให้กับโลหะ
 E_{pp} (potential for primary passivation) เป็นค่าศักย์ไฟฟ้าของการสร้างฟิล์มพาสซีฟช่วงแรกให้กับโลหะ

I_{pass1} (the passive current density in first passive region) เป็นค่าความหนาแน่นของกระแสไฟฟ้าในช่วงแรกของการสร้างฟิล์มพาสซีฟให้กับโลหะ

I_{pass2} (the passive current density in second passive region) เป็นค่าความหนาแน่นของกระแสไฟฟ้าในช่วงที่สองของการสร้างฟิล์มพาสซีฟให้กับโลหะ

E_b (the breakdown potential) เป็นค่าศักย์ไฟฟ้าที่ทำให้ฟิล์มพาสซีฟของโลหะถูกทำลาย

ตารางที่ 2 ผลของการทดสอบการกัดกร่อนจากกราฟโพลาริเซชันในวัสดุเซอร์เมตไทเทเนียมคาร์ไบด์ในสภาวะกรดซัลฟูริกความเข้มข้น 0.3 โมลาร์

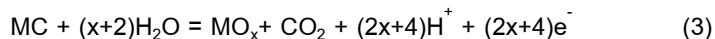
ชนิดวัสดุ	OCP (mV vs. Ag/AgCl)	I_{crit} ($\mu A/cm^2$)	E_{pp} (mV/Ag/AgCl)	I_{pass1} ($\mu A/cm^2$)	I_{pass2} ($\mu A/cm^2$)	E_b (mV/Ag/AgCl)
Ni	-196	57750	386	39.51	-	1512
TiC-Ni	-69	508	104	8.57	56.71	1429
TiC-Ni-5WC	-86	747	96	37.14	66.66	1445
TiC-Ni-10WC	-81	1370	63	10.08	72.55	1446
TiC-Ni-15WC	-81	2280	63	50.53	186.98	1478

จากตารางที่ 2 พบว่าค่าศักย์ไฟฟ้าวงจรเปิด (OCP) ของวัสดุเซอร์เมต TiC-Ni และ TiC-Ni-xWC มีค่าสูงกว่าโลหะนิกเกิล แสดงว่าวัสดุเซอร์เมตกลุ่มไทเทเนียมคาร์ไบด์ มีความเสถียรมากกว่าโลหะนิกเกิลเมื่ออยู่ในสภาวะกรดซัลฟูริกความเข้มข้น 0.3 โมลาร์ นอกจากนี้พบว่าค่าศักย์ไฟฟ้าของการเริ่มสร้างฟิล์มพาสซีฟช่วงแรก (E_{pp}) ของวัสดุเซอร์เมตกลุ่มไทเทเนียมคาร์ไบด์อยู่ในช่วง 63-104 มิลลิโวลต์ เมื่อเปรียบเทียบกับค่าศักย์ไฟฟ้าของการสร้างฟิล์มพาสซีฟในช่วงแรกของโลหะนิกเกิลที่มีค่าสูงถึง 386 มิลลิโวลต์ ซึ่งแสดงว่าวัสดุเซอร์เมตเกิดฟิล์มพาสซีฟได้ง่ายกว่าฟิล์มของโลหะนิกเกิล ดังนั้นจึงปกป้องโลหะได้ดีกว่า ส่งผลให้อัตราการกัดกร่อนของวัสดุเซอร์เมตลดลง นอกจากนี้พบว่าการเติมสารประกอบทั้งสแตนคาร์ไบด์ในวัสดุเซอร์เมตนั้นทำให้ค่าศักย์ไฟฟ้าของการสร้างฟิล์มพาสซีฟต่ำลง

จากภาพที่ 4 ซึ่งเป็นกราฟโพลาริเซชันของโลหะนิกเกิลและวัสดุเซอร์เมตกลุ่มไทเทเนียมคาร์ไบด์ จะเห็นว่าโลหะนิกเกิลมีบริเวณพาสซีฟเพียงช่วงเดียวที่ค่าศักย์ไฟฟ้า 1126 มิลลิโวลต์ (ดังตารางที่ 3) ส่วน

บริเวณพาสซีฟของวัสดุเซอร์เมตนั้นจะเกิดสองช่วง โดยช่วงแรกเป็นการสร้างฟิล์มของไทเทเนียมที่ 704-736 มิลลิโวลต์ และช่วงที่สองเป็นการสร้างฟิล์มของนิกเกิลในช่วง 621-679 มิลลิโวลต์ โดยจะมีช่วงของศักย์ไฟฟ้าที่ใช้ในการสร้างฟิล์มทั้งหมด 1325-1415 มิลลิโวลต์ ซึ่งจะเห็นได้ว่าช่วงพาสซีฟของวัสดุเซอร์เมตกลุ่มไทเทเนียมคาร์ไบด์กว้างกว่าช่วงพาสซีฟของโลหะนิกเกิลประมาณ 119-289 มิลลิโวลต์ โดยฟิล์มพาสซีฟของวัสดุเซอร์เมตกลุ่มไทเทเนียมคาร์ไบด์นั้นจะมีการสร้างฟิล์มของไทเทเนียมร่วมกับโลหะนิกเกิลดังที่ได้กล่าวไปแล้วข้างต้น

นอกจากนี้ผลของการเติมสารประกอบทั้งสแตนคาร์ไบด์ในวัสดุเซอร์เมตกลุ่มไทเทเนียมคาร์ไบด์นั้น มีผลทำให้บริเวณพาสซีฟกว้างมากขึ้น เนื่องจากในช่วงการสร้างฟิล์มออกไซด์โลหะไทเทเนียม เกิดการสร้างฟิล์มออกไซด์ของคาร์ไบด์ทุติยภูมิร่วมด้วย ดังสมการที่ 3 (Kumar et al., 2007)



M คือ โลหะทรานสิชัน เช่น ทังสเตน นีโอเบียม แทนทาลัม เป็นต้น

ดังนั้น จากปฏิกิริยาดังกล่าวจึงสอดคล้องกับการเพิ่มขึ้นของช่วงพาสซีฟของวัสดุเซอร์เมตกลุ่มไทเทเนียมคาร์ไบด์

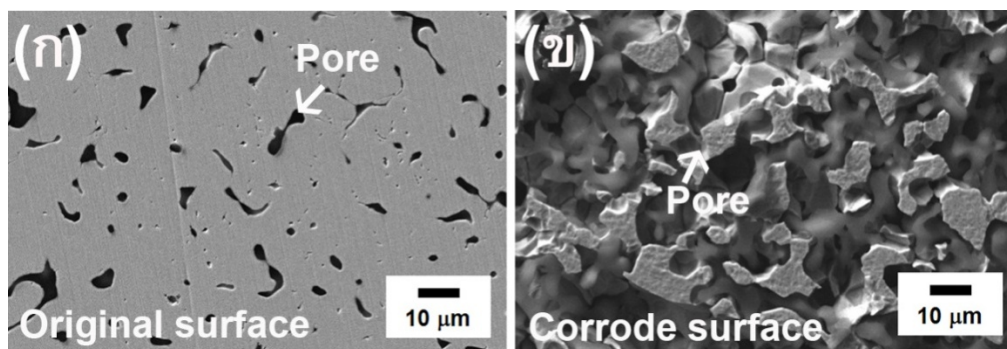
ตารางที่ 3 ผลของการเกิดฟิล์มพาสซีฟในวัสดุเซอร์เมตไทเทเนียมคาร์ไบด์ในสภาวะกรดซัลฟูริกความเข้มข้น 0.3 โมลาร์

ชนิดวัสดุ	Passive range1 (mV)	Passive range2 (mV)	Total passive range (mV)	Passive range VS Ni (mV)
Ni	1126	-	1126	-
TiC-Ni	704	621	1325	+199
TiC-Ni-5WC	720	629	1349	+223
TiC-Ni-10WC	736	647	1383	+257
TiC-Ni-15WC	736	679	1415	+289

สัณฐานวิทยาของวัสดุเซอร์เมตกลุ่มไทเทเนียมคาร์ไบด์ ที่ผ่านการกัดกร่อนในสภาวะกรดซัลฟูริกความเข้มข้น 0.3 โมลาร์

จากภาพที่ 5 (ก) โครงสร้างของโลหะนิกเกิลที่ผ่านการอบประสมที่อุณหภูมิ 1100 องศาเซลเซียสมีลักษณะเป็นวัฏภาคเดียวและมีรูพรุนที่เกิดจากกระบวนการโลหะผงวิทยา ภายหลังจากการทดสอบการกัดกร่อนด้วยเทคนิคอานดิกโพลาไรเซชันโดยการ

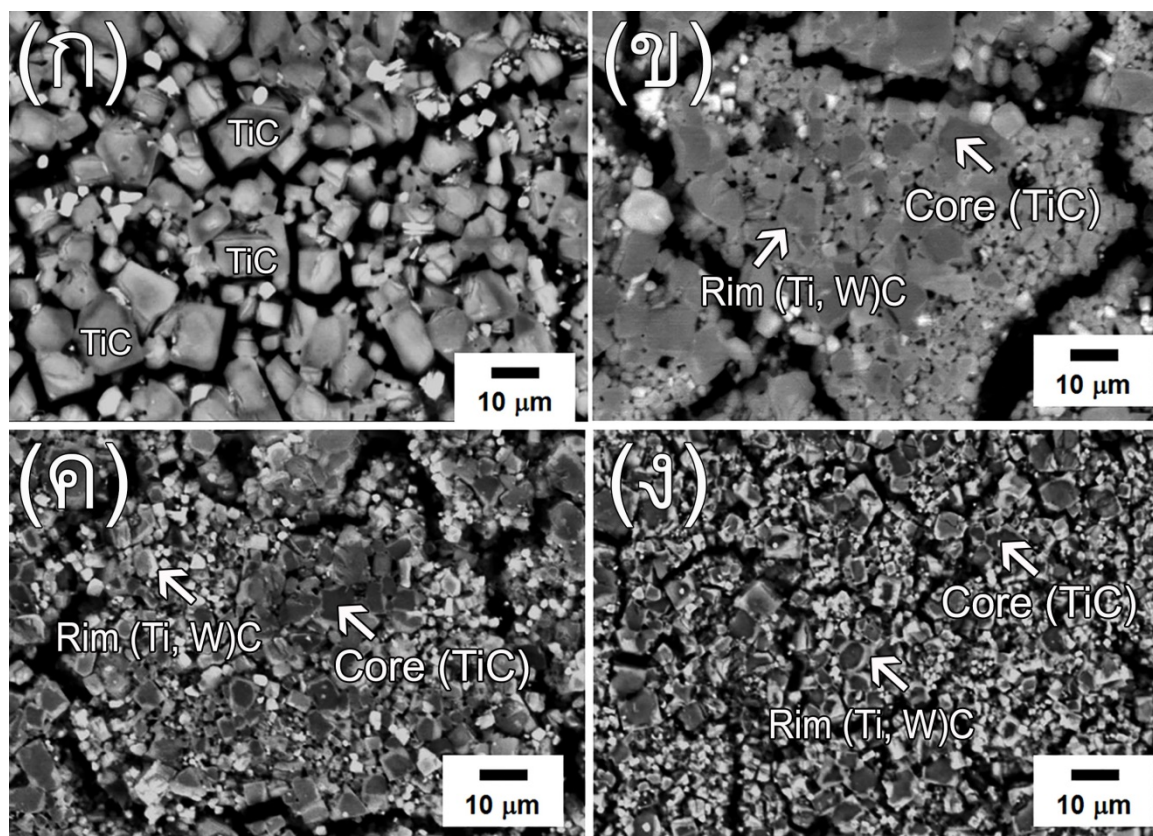
ป้อนศักย์ไฟฟ้าเริ่มต้น -0.02 มิลลิโวลต์ ถึง +2.00 มิลลิโวลต์ ในสารละลายกรดซัลฟูริกความเข้มข้น 0.3 โมลาร์ พบว่าโลหะนิกเกิลเกิดการกัดกร่อนจากปฏิกิริยาออกซิเดชัน ซึ่งจากกราฟโพลาไรเซชันของโลหะนิกเกิล (ภาพที่ 4) มีการสร้างฟิล์มพาสซีฟในช่วง 0.38-1.51 โวลต์ หลังจากช่วงศักย์ไฟฟ้าดังกล่าวฟิล์มพาสซีฟของโลหะนิกเกิลจะเกิดการแตกออก ส่งผลให้เนื้อของโลหะนิกเกิลถูกกัดกร่อน ดังภาพที่ 5 (ข)



ภาพที่ 5 สัณฐานวิทยาของโลหะนิกเกิลที่ผ่านการอบประสม (ก) ก่อนและ (ข) หลังการทดสอบการกัดกร่อนด้วยเทคนิค potentiodynamic polarization ในกรดซัลฟูริกความเข้มข้น 0.3 โมลาร์

ในกรณีของโครงสร้างภายหลังจากการทดสอบการกัดกร่อนของวัสดุเซอร์เมตไทเทเนียมคาร์ไบด์-นิกเกิล ในกรดซัลฟูริกความเข้มข้น 0.3 โมลาร์ ดังแสดงในภาพที่ 6 (ก) พบว่าโลหะนิกเกิลซึ่งเป็นโลหะตัวประสานจะถูกกัดกร่อนออกไปจนหมดจากนั้นวัฏภาคไทเทเนียมคาร์ไบด์หลุดออกบางส่วนเนื่องจากขาดตัวเชื่อมประสานระหว่างอนุภาค (ตารางที่ 4) ส่วนในกรณีของวัสดุเซอร์เมตไทเทเนียมคาร์ไบด์-นิกเกิล-ทังสเตนคาร์ไบด์ดังภาพที่ 6 (ข) – 6 (ง) พบว่าการกัดกร่อนเกิดในลักษณะเดียวกับวัสดุเซอร์เมตกลุ่มไทเทเนียมคาร์ไบด์-นิกเกิล คือ วัฏภาคของโลหะนิกเกิล-ไทเทเนียม-ทังสเตน จะถูกกัดกร่อนออกเป็นอันดับแรก หลังจากนั้นเกิดการหลุดออกของอนุภาคที่มีโครงสร้างคอร์-ริมไปบางส่วนเนื่องจากขาดตัวเชื่อมประสานระหว่างอนุภาคของเซรามิก

ดังกล่าว นอกจากนี้เกิดการกัดกร่อนที่ค่อนข้างรุนแรงโดยมีรอยแตกเกิดขึ้นทั่วไปในโครงสร้าง ซึ่งเป็นผลมาจากวัฏภาคเซรามิกเกิดการหลุดออก แต่อย่างไรก็ตามยังคงมีโครงสร้างของคอร์-ริมเกาะอยู่ในลักษณะเป็นกลุ่ม และเมื่อพิจารณาปริมาณของสารประกอบทังสเตนคาร์ไบด์พบว่า เมื่อปริมาณของสารประกอบทังสเตนคาร์ไบด์เพิ่มขึ้น ส่งผลให้การหลุดออกของวัฏภาคเซรามิก ลดลง ทำให้การกัดกร่อนลดลง อาจสันนิษฐานได้ว่า บริเวณพาสซีฟในวัสดุเซอร์เมตไทเทเนียมคาร์ไบด์-นิกเกิล-ทังสเตนคาร์ไบด์กว้างกว่าบริเวณพาสซีฟของวัสดุเซอร์เมตกลุ่มไทเทเนียมคาร์ไบด์-นิกเกิล และโลหะนิกเกิลจึงทำให้โครงสร้างคอร์-ริมบางส่วนยังคงเชื่อมติดกันอยู่ โดยลักษณะของการกัดกร่อนของวัสดุเซอร์เมตในสภาวะกรดสรุปดังตารางที่ 4



ภาพที่ 6 เปรียบเทียบสัณฐานวิทยาของ (ก) วัสดุเซรามิก TiC-Ni, (ข) TiC-Ni-5WC (ค) TiC-Ni-10WC (ง) TiC-Ni-15WC ภายหลังการทดสอบการกัดกร่อนด้วยเทคนิค potentiodynamic polarization ในกรดซัลฟิวริกความเข้มข้น 0.3 โมลาร์

ตารางที่ 4 สรุปผลการกัดกร่อนของวัสดุเซรามิกกลุ่มไทเทเนียมคาร์ไบด์ในสภาวะกรดซัลฟิวริกความเข้มข้น 0.3 โมลาร์

ชนิดวัสดุ	Total Passive range (mV)	Passive range Vs. Ni (mV)	ลำดับของการกัดกร่อน		
			Ni	TiC	Core-Rim
Ni	1126	-	โลหะนิกเกิลเกิดการกัดกร่อน	-	-
TiC-Ni	1325	+199	ลำดับที่ 1 วัฏภาคของโลหะตัว ประสานเกิดการกัดกร่อน	ลำดับที่ 2 วัฏภาคของ อนุภาค TiC หลุด ออกบางส่วน	-
TiC-Ni-5WC	1349	+223	ลำดับที่ 1 วัฏภาคของโลหะตัว ประสานเกิดการกัดกร่อน	-	ลำดับที่ 2 วัฏภาคของอนุภาค คอ- ริม หลุดออกบางส่วน
TiC-Ni-10WC	1383	+257	ลำดับที่ 1 วัฏภาคของโลหะตัว ประสานเกิดการกัดกร่อน	-	ลำดับที่ 2 วัฏภาคของอนุภาค คอ- ริมหลุดออกบางส่วน
TiC-Ni-15WC	1415	+289	ลำดับที่ 1 วัฏภาคของโลหะตัว ประสานเกิดการกัดกร่อน	-	ลำดับที่ 2 วัฏภาคของอนุภาค คอ- ริมหลุดออกบางส่วน

สรุปและวิจารณ์ผล

ผลของการกัดกร่อนในวัสดุเซอร์เมตกลุ่มไทเทเนียมคาร์ไบด์ในสภาวะกรดซัลฟูริกความเข้มข้น 0.3 โมลาร์นั้น พบว่า วัสดุเซอร์เมตสามารถเกิดการสร้างฟิล์มพาสซีฟขึ้นได้ในสภาวะกรดโดยฟิล์มพาสซีฟช่วงแรกเป็นของโลหะไทเทเนียมและช่วงที่สองเป็นของโลหะนิกเกิล

นอกจากนี้การเติมทังสเตนคาร์ไบด์ในวัสดุเซอร์เมตกลุ่มไทเทเนียมคาร์ไบด์นั้น ส่งผลบริเวณพาสซีฟของวัสดุเซอร์เมตในสภาวะกรดกว้างขึ้น เนื่องจาก มีการสร้างฟิล์มออกไซด์ของทังสเตนคาร์ไบด์ร่วมด้วยในช่วงการสร้างฟิล์มออกไซด์ของโลหะไทเทเนียมดังนั้น จึงทำให้ความสามารถในการต้านทานการกัดกร่อนของวัสดุเซอร์เมตในสภาวะกรดสูงขึ้น

ส่วนลักษณะของการกัดกร่อนในสภาวะกรดนั้น ของวัสดุเซอร์เมต TiC-Ni และ TiC-Ni-xWC เมื่อพิจารณาในลักษณะของกลไกการกัดกร่อนระหว่างภูมิภาคเซรามิกและโลหะตัวประสาน พบว่าจะเกิดการกัดกร่อนที่ภูมิภาคของโลหะตัวประสานก่อน เมื่อโลหะตัวประสานถูกกัดกร่อนจึงทำให้โครงสร้างที่เหลือของภูมิภาคเซรามิกไม่เสถียรเนื่องจากไม่มีตัวเชื่อมประสานจึงทำให้ภูมิภาคเซรามิกหลุดออก

จากผลการทดลองดังกล่าวสามารถนำมาใช้เป็นข้อมูลพื้นฐานสำหรับการเลือกใช้งานของวัสดุเซอร์เมตกลุ่มไทเทเนียมคาร์ไบด์ในด้านการกัดกร่อนในสภาวะกรด และนำไปพัฒนาวัสดุชนิดนี้ต่อไป

กิตติกรรมประกาศ

ผู้วิจัยขอขอบพระคุณคณะวิทยาศาสตร์ มหาวิทยาลัยรามคำแหง ที่สนับสนุนทุนวิจัย และภาควิชาเทคโนโลยีวัสดุ คณะวิทยาศาสตร์ ที่สนับสนุนการทำวิจัย นอกจากนี้ขอขอบพระคุณ ผู้ช่วยศาสตราจารย์ ดร.นุชธนา พูลทอง และนางสาวปิยนันท์ พันบุรี นักศึกษาปริญญาเอก สายวิชาเทคโนโลยีวัสดุ คณะพลังงานสิ่งแวดล้อมและวัสดุ มหาวิทยาลัยเทคโนโลยีพระจอมเกล้าธนบุรี สำหรับการสนับสนุนการวิจัย และให้ความช่วยเหลือทางด้านเทคนิคการใช้เครื่องมือทดสอบการกัดกร่อน

เอกสารอ้างอิง

- Ahn, S. Y. and Kang, S. 2000. Formation of Core/Rim Structures in Ti(C,N)-WC-Ni Cermets via a Dissolution and Precipitation Process. J. Am. Ceram. Soc. 83 (6): 1489-1494.
- Bhardwaj, M. and Balasubramaniam, R. 2008. Influence of material structure on the electrochemical behavior of nickel-titanium carbonitride composites. Mater.Charact. 59 (10): 1474-1480.
- Choi, Y., Baik, N. I., Lee, J. S., Hong, S. I. and Hahn, Y. D. 2001. Corrosion and wear properties of TiC/Ni-Mo composites produced by direct consolidation during a self-propagating high-temperature reaction. Compo. Sci. 61 (7): 981-986.
- Dong, G., Xiong, J., Yang, M., Guo, Z., Wan, W. and Yi, C. 2013. Effect of Mo₂C on electrochemical corrosion behavior of Ti(C,N)-based cermets. J. Cent. South Univ. 20 (4): 851-858.
- Jung, J. and Kang, S. 2004. Effect of ultra-fine powders on the microstructure of Ti(CN)-xWC-Ni cermets. Acta Mater. 52 (6): 1379-1386.
- Kim, S., Min, K. H. and Kang, S. 2003. Rim Structure in Ti(C_{0.7}N_{0.3})-WC-Ni Cermets. J. Am. Ceram. Soc. 86 (10): 1761-1766.
- Kwon, W. T., Park, J. S., Kim, S. W. and Kang, S. 2004. Effect of WC and group IV carbides on the cutting performance of Ti(C,N) cermet tools. Int. J. Mach. Tool. Manu. 44 (4): 341-346.
- Kumar, M. B. V., Balasubramaniam, R. and Basu, B. 2007. Electrochemical behavior of TiCN-Ni-based cermets. J. Am. Ceram. Soc. 90 (1): 205-210.

- Qi, F. and Kang, S. 1998. A study on microstructural changes in Ti(CN)-NbC-Ni cermets. *Mater. Sci. Eng., A*. 251 (1-2): 276-285.
- Shokrani, A., Dhokia, V., and Newman, S. T. 2012. Environmentally conscious machining of difficult-to-machine materials with regard to cutting fluids. *Int. J. Mach. Tool Manu.* 57: 83-101.
- Thakare, M. R., Wharton, J. A., Wood, R. J. K. and Menger, C. 2007. Exposure effects of alkaline drilling fluid on the microscale abrasion-corrosion of WC-based hardmetals. *Wear* 263 (1-6): 125-136.
- Upadhyaya, G.S. 1998, *Cemented Tungsten Carbides: Production, Properties, and Testing*, New Jersey: Noyes Publications.
- Wan, W., Xiong, J., Guo, Z., Dong, G. and Yi, C. 2013. Effects of Cr_3C_2 addition on the erosion-corrosion resistance of Ti(C,N)-based cermets in alkaline conditions. *Tribol. Int.* 64: 178-186.
- Wan, W., Xiong, J., Yang, M., Guo, Z., Dong, G. and Yi, C. 2012. Effects of Cr_3C_2 addition on the corrosion behavior of Ti(C, N)-based cermets. *Int. J. Refract. Met. Hard Mater.* 31: 179-186.
- Wang, J., Liu, Y., Feng, Y., Ye, J. and Tu, M. 2009. Effect of NbC on the microstructure and sinterability of Ti(C_{0.7}, N_{0.3})-based cermets. *Int. J. Refract. Met. Hard Mater.* 27 (3): 549-551.
- Yi, C., Fan, H., Xiong J., Guo, Z., Dong, G., Wan, W. and Chen, H. 2013. Effect of WC content on the microstructures and corrosion behavior of Ti(C, N)-based cermets. *Ceram. Int.* 39 (1): 503-509.
- Ying, X., Xiong, J., Guo, Z., Chen, J., Xiong, S., Yang, M. and Fan, H. 2011. Effect of VC addition on the microstructure and properties of Ti(C,N)-based nano cermets. *Rare Metals* 30 (6): 583-588.
- Zhang, Q., Lin, N. and He, Y. 2013. Effects of Mo additions on the corrosion behavior of WC-TiC-Ni hardmetals in acidic solutions. *Int. J. Refract. Met. Hard Mater.* 38: 15-25.

การสังเคราะห์สารประกอบคาร์บาโซลแอลคาลอยด์ (Mahanine) อาร์จินีนเปปไทด์ คอนจูเกตเพื่อใช้ในการยับยั้งการเจริญเติบโตของเซลล์มะเร็ง

Synthesis of Arginine-Rich Peptide-Conjugated Carbazole Alkaloid (Mahanine) to Suppress the Growth of Cancer Cells

จรรยา ร่มสายหยุด¹



บทคัดย่อ

คาร์บาโซลแอลคาลอยด์ ได้แก่ Mahanine เป็นสารประกอบที่มีฤทธิ์ทางชีวภาพที่หลากหลาย เช่น การป้องกันโรคสมองเสื่อม การต้านการอักเสบ และต้านการเกิดโรคมะเร็ง ในการวิจัยในครั้งนี้ ผู้วิจัยได้ทำการสังเคราะห์สารประกอบคาร์บาโซลแอลคาลอยด์ (Mahanine) อาร์จินีนเปปไทด์คอนจูเกตโดยใช้วิธีการสังเคราะห์บนนิวคลีโอไทด์ของแข็ง โดยเริ่มต้นจากโครงสร้างหลักของ Mahanine ผลิตภัณฑ์ที่สังเคราะห์ได้สามารถยับยั้งการเจริญเติบโตของเซลล์มะเร็งลำไส้ มะเร็งเต้านมและมะเร็งปากมดลูกได้ดีเยี่ยมโดยไม่ทำลายเซลล์ปกติ

คำสำคัญ : คาร์บาโซลแอลคาลอยด์ การสังเคราะห์เปปไทด์โดยใช้วิธี solid phase การยับยั้งการเจริญเติบโตของเซลล์มะเร็ง

ABSTRACT

Carbazole alkaloids, especially mahanine, belong to a privileged class of compounds possessing various biological activities, including anti-Alzheimer, anti-inflammatory and anti-cancer properties. In this research, the researcher synthesized arginine-rich peptide-conjugated carbazole alkaloid (mahanine) using solid phase peptide synthesis (SPPS), which started from a mahanine core structure. The compounds showed excellent cytotoxicity against colon cancer cells, breast cancer cells and cervical cancer cells, without damaging normal cell lines.

Keywords : carbazole alkaloid, solid phase peptide synthesis, anti-cancer

¹ Lecturer, Department of Chemistry and Center of Excellence for Innovation in Chemistry, Faculty of Science, Ramkhamhaeng University.

บทนำ

โรคมะเร็ง คือ กลุ่มของโรคที่เกิดเนื่องจากเซลล์ของร่างกายมีความผิดปกติที่ DNA หรือสารพันธุกรรม ซึ่งส่งผลให้เซลล์มีการเจริญเติบโต และแบ่งตัวเพื่อเพิ่มจำนวนเซลล์ได้รวดเร็วมากกว่าปกติ ทำให้เกิดก้อนเนื้อผิดปกติ ในที่สุดก็จะทำให้เกิดการตายของเซลล์ในก้อนเนื้อนั้น ถ้าเซลล์พวกนี้เกิดอยู่ในอวัยวะใดก็จะเรียกชื่อมะเร็ง ตามอวัยวะนั้น เช่น มะเร็งปอด มะเร็งสมอง มะเร็งเต้านม มะเร็งปากมดลูก มะเร็งเม็ดเลือดขาว มะเร็งต่อมน้ำเหลือง และมะเร็งผิวหนัง เป็นต้น โรคมะเร็งเป็นสาเหตุของการเสียชีวิตอันดับต้น ๆ ของคนทั่วโลกคิดเป็น 13% ของการเสียชีวิตทั้งหมด ซึ่งมีจำนวนมากกว่าผู้ที่เสียชีวิตด้วยโรคเอดส์ วัณโรค และมาลาเรีย รวมกัน โรคมะเร็งที่พบ 5 อันดับแรกของโลก ได้แก่ มะเร็งปอด มะเร็งเต้านม มะเร็งลำไส้ใหญ่ มะเร็งกระเพาะอาหาร และมะเร็งต่อมลูกหมาก องค์การอนามัยโลกคาดการณ์ว่าในปี ค.ศ. 2030 จะมีผู้ป่วยด้วยโรคมะเร็งเพิ่มมากขึ้นเป็น 21.4 ล้านคน และคาดว่าจะมีผู้เสียชีวิตประมาณ 13 ล้านคน (Cancer Facts and Figures, 2016)

สำหรับประเทศไทย โรคมะเร็งถือว่าเป็นสาเหตุของการเสียชีวิตอันดับหนึ่งของคนไทย รองลงมาคืออุบัติเหตุและโรคหัวใจ ตามลำดับ ซึ่งข้อมูลล่าสุดจากกระทรวงสาธารณสุข พบว่า คนไทยเสียชีวิตจากโรคมะเร็งประมาณ 60,000 คนต่อปี หรือเฉลี่ยชั่วโมงละเกือบ 7 ราย โดยมีสาเหตุจากการเสียชีวิตจากโรคมะเร็ง 5 อันดับแรก ได้แก่ มะเร็งตับและท่อน้ำดี มะเร็งปอด มะเร็งเต้านม มะเร็งลำไส้ใหญ่และทวารหนัก และมะเร็งปากมดลูก ซึ่งเมื่อจำแนกตามเพศ จะพบว่า ในเพศชาย มีจำนวนผู้เสียชีวิตจากโรคมะเร็ง 5 อันดับแรก ได้แก่ มะเร็งตับและท่อน้ำดี มะเร็งปอด มะเร็งลำไส้ใหญ่และทวารหนัก มะเร็งช่องปากและคอหอย และมะเร็งเม็ดเลือดขาว ส่วนในเพศหญิง มีจำนวนผู้เสียชีวิตจากโรคมะเร็ง 5 อันดับแรก ได้แก่ มะเร็งตับและท่อน้ำดี มะเร็งปอด มะเร็งเต้านม มะเร็งปากมดลูก และมะเร็งลำไส้ใหญ่และทวารหนัก (Thailand Human Papillomavirus and Related Cancers, 2016)

แนวทางในการรักษาโรคมะเร็ง

แนวทางในการรักษาโรคมะเร็ง มีหลายรูปแบบ ซึ่งในการวางแผนการรักษาให้พิจารณาจากระยะของโรคมะเร็งที่เป็นสุขภาพโดยรวม รวมทั้งความต้องการของผู้ป่วยด้วย เช่น การผ่าตัดเพื่อนำก้อนเนื้อออกออกถือว่าเป็นการรักษาที่ได้ผลดี แต่โอกาสที่จะผ่าตัดเพื่อเอาก้อนเนื้อออกออกได้หมดนั้นเป็นไปได้ยาก รวมถึงการมีเลือดออกภายหลังการผ่าตัดซึ่งถือเป็นภาวะแทรกซ้อนสำคัญที่ต้องเฝ้าระวัง นอกจากนี้ถ้าผ่าตัดได้ไม่หมด จะสามารถทำให้ก้อนเนื้อออกมีการเจริญเติบโตขึ้นมาใหม่ได้อีกในภายหลัง (Lin et al., 2014)

การผ่าตัดเพื่อเปลี่ยนถ่ายอวัยวะที่เป็นโรคมะเร็ง เป็นวิธีที่ได้ผลดี แต่มีข้อเสียคือ ผู้ป่วยที่ได้รับการเปลี่ยนถ่ายอวัยวะจะต้องได้รับยากภูมิคุ้มกันและยาป้องกันการต่อต้านของร่างกายต่ออวัยวะใหม่ ยาเหล่านี้มีความเสี่ยงและผลข้างเคียงโดยเฉพาะเพิ่มโอกาสเสี่ยงในการติดเชื้อ

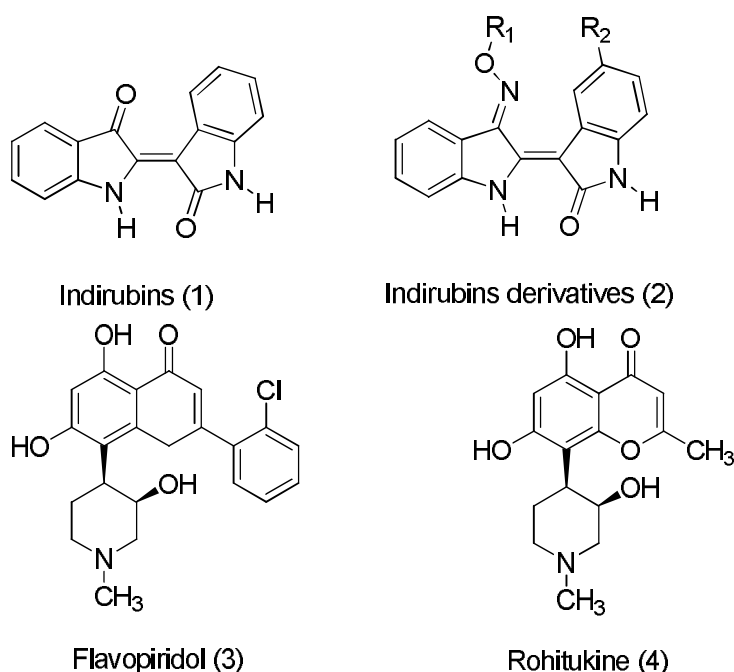
รังสีรักษา เป็นการรักษาโดยใช้รังสีพลังงานสูง เช่น เอกซเรย์ไปทำลายเซลล์มะเร็งและทำให้ก้อนเนื้อออกนั้นยุบลง การฉายรังสีจากภายนอก (External radiation) เป็นการนำรังสีจากแหล่งกำเนิดรังสีภายนอกเข้าไปทำลายเซลล์มะเร็งที่อยู่ภายในร่างกาย แต่การรักษาวิธีนี้ไม่สามารถใช้รังสีในปริมาณที่สูงมากได้เนื่องจากจะทำให้เนื้อที่อยู่รอบๆ เซลล์มะเร็งถูกทำลายไปด้วย การรักษาวิธีนี้เพื่อลดขนาดของก้อนมะเร็งและช่วยลดอาการปวด แต่ไม่สามารถรักษามะเร็งให้หายขาดได้ และไม่สามารถช่วยให้ผู้ป่วยมีชีวิตอยู่ยาวนานขึ้นได้ ผลข้างเคียงของรังสีรักษา เช่น ผิวหนังอักเสบเหมือนถูกแสงแดดบริเวณที่เป็นตำแหน่งฉายรังสี คลื่นไส้ อาเจียน อ่อนเพลีย อาการเหล่านี้จะค่อยๆ หายไปหลังหยุดการรักษา

ยาเคมีบำบัด มักใช้วิธีฉีดเข้าเส้นเลือดดำ เมื่อยาเข้าสู่กระแสเลือดจะกระจายไปทั่วร่างกาย เป็นประโยชน์สำหรับผู้ป่วยโรคมะเร็งในระยะที่กระจายไปที่อื่น ยาที่น่าจะใช้ได้ผลดีที่สุด คือ Doxorubicin (Adriamycin), 5-fluorouracil และ cisplatin แต่การศึกษาส่วนใหญ่ไม่ได้บ่งบอกว่ายาเหล่านี้ช่วยให้ผู้ป่วยมีชีวิตอยู่ได้นานขึ้น ปัจจุบันการรักษามะเร็งด้วยเคมี

บำบัดเริ่มเข้าสู่ทางตันเพราะพิษจากผลข้างเคียงของยาเคมีบำบัด เช่น แสบปาก การรับรสลดลง ผมั่ว เพิ่มโอกาสเสี่ยงต่อการติดเชื้อ เลือดออกง่าย เป็นจำเลือดเกล็ดเลือดลดลง นอกจากนี้ยังสามารถทำอันตรายต่อเนื้อเยื่อปกติด้วย จึงได้เกิดแนวทางการรักษาโดยแพทย์ทางเลือกโดยการพัฒนาสกัดแยกสารจากผลิตภัณฑ์ธรรมชาติ รวมถึงการปรับเปลี่ยนโครงสร้างสารจากผลิตภัณฑ์จากธรรมชาติเพื่อให้มีความสามารถในการยับยั้งการเจริญเติบโตของเซลล์มะเร็งได้ดีขึ้นโดยไม่ทำลายเซลล์ปกติ เพื่อทดแทนการหรือลดการใช้ยาทางเภสัชกรรม

สารสกัดจากผลิตภัณฑ์ธรรมชาติกับการยับยั้งการเจริญเติบโตของเซลล์มะเร็ง

Indirubins (1) และอนุพันธ์ (2) เป็นสารสกัดจากสมุนไพรจีนจากต้น *Danggui Longhui Wan* ซึ่งได้มีการพัฒนาไปเป็นยาเพื่อใช้ในการรักษาโรคมะเร็งเม็ดเลือดขาวเรื้อรัง (Leclerc et al., 2001)



Flavopiridol (3) เป็น flavonoid ที่สกัดแยกได้จากพืชพื้นเมืองของประเทศอินเดียมีฤทธิ์ในการยับยั้งการเจริญเติบโตของเซลล์มะเร็งได้ดีโดยเฉพาะมะเร็งที่ต่อมน้ำเหลือง มะเร็งต่อมลูกหมาก มะเร็งลำไส้ใหญ่ และมะเร็งกระเพาะอาหาร โดยกลไกการทำงานนั้น Flavopiridol (3) จะไปยับยั้งการทำงานของไคเนสส์ (Kinase) ในวัฏจักรการแบ่งเซลล์ในระยะ G1/S และ G2/M ซึ่งในปัจจุบันนี้ ได้มีการพัฒนาและวิจัย Flavopiridol (3) ทางคลินิกต่อไป (Patel et al., 1998)

Rohitukine (4) เป็นสารที่สกัดแยกได้จาก *Amoora rohituka*, *Dysoxylum binectariferum*

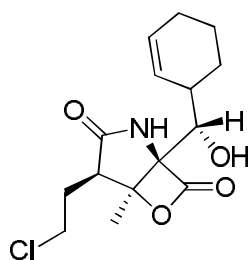
และ *Schumanniohyton problematicum* มีฤทธิ์ในการต้านการอักเสบ สร้างภูมิคุ้มกัน และยับยั้งการเจริญเติบโตของเซลล์มะเร็ง โดยเฉพาะมะเร็งลำไส้ใหญ่ (Mohana et al., 2015) สูตรโครงสร้างของสาร (1)-(4) แสดงในภาพที่ 1

R ₁	R ₂
	H
	H
	H
	H
H	COOH
H	OCH ₃
	H
	H
	H
	H
H	H

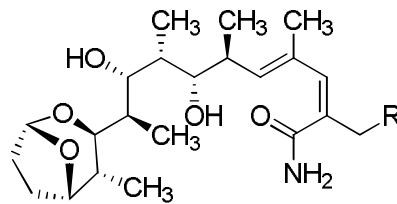
ภาพที่ 1 แสดงสูตรโครงสร้างทางเคมีของสารสกัดจากผลิตภัณฑ์ธรรมชาติที่มีฤทธิ์ในการยับยั้งการเจริญเติบโตของเซลล์มะเร็ง

ผลิตภัณฑ์จากธรรมชาติที่สกัดได้จากจุลินทรีย์ทางทะเล เช่น Salinosporamide A (5), Saliniketol A (6), Saliniketol B (7) และ marinomycins A (8) เป็น proteasome ที่มีศักยภาพในการยับยั้งการเจริญเติบโต

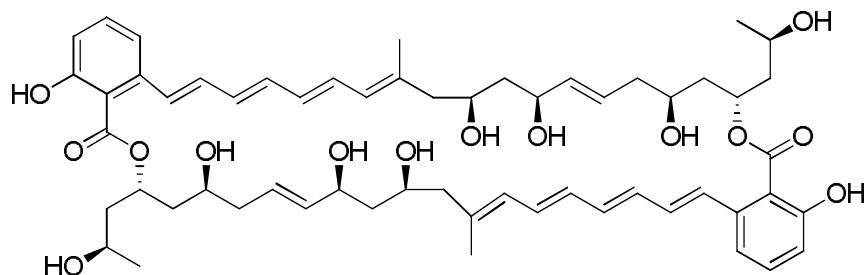
ของเซลล์มะเร็งปอด และมะเร็งเต้านมที่ดี (Nicolaou et al., 2007) ตอนนี้ได้มีการพัฒนาเข้าสู่ขั้นตอนการทดลองทางคลินิก ซึ่งได้มีการพัฒนาไปเป็นยาในการรักษาโรคมะเร็งต่อไป (ภาพที่ 2)



Salinosporamide A (5)



Saliniketal A (6) R = H
Saliniketal B (7) R = OH

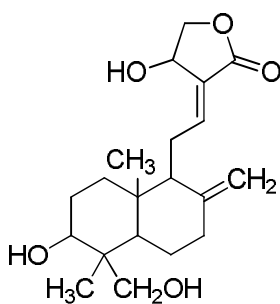


Marinomycins A (8)

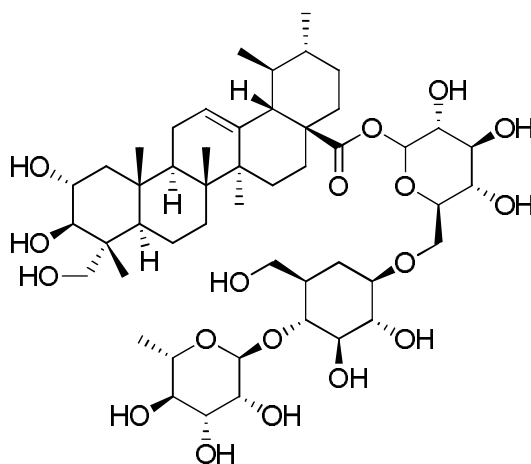
ภาพที่ 2 แสดงสูตรโครงสร้างทางเคมีของสารที่สกัดได้จากจุลินทรีย์ทางทะเล

ผลิตภัณฑ์จากธรรมชาติที่พบในประเทศไทย และมีฤทธิ์ในการยับยั้งการเจริญเติบโตของเซลล์มะเร็ง เช่น ฟ้าทะลายโจรมีสารสำคัญคือ Andrographolide (9), บัวบกมีสารสำคัญคือ Asiaticoside (10) ซึ่งมีฤทธิ์

ช่วยให้แผลเรื้อรังหายเร็วขึ้น เพิ่มภูมิคุ้มกัน และสามารถรักษามะเร็งปากมดลูกได้ (ภาพที่ 3) (Astha et al., 2011)



Andrographolide (9)

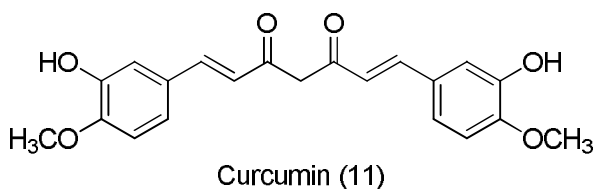


Asiaticoside (10)

ภาพที่ 3 สารสกัดจากผลิตภัณฑ์ธรรมชาติที่พบได้ในประเทศไทย

นอกจากนี้ยังมีพืชที่มีสารสำคัญ คือ Curcumin (11) มีฤทธิ์ต้านการออกซิไดซ์ และต้านการอักเสบที่รุนแรง สามารถทำให้เกิดการตายของเซลล์มะเร็งหลายชนิด เช่น มะเร็งผิวหนัง มะเร็งลำไส้ใหญ่

มะเร็งกระเพาะอาหาร มะเร็งลำไส้เล็ก มะเร็งรังไข่ และยังมีฤทธิ์ต้านไวรัส แบคทีเรีย และเชื้อราอีกด้วย ดังแสดงในภาพที่ 4 (Julie, 2009)

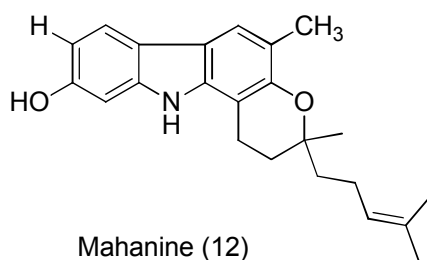


Curcumin (11)

ภาพที่ 4 สูตรโครงสร้างทางเคมีของ Curcumin (11)

หอมแขก มีชื่อทางวิทยาศาสตร์ว่า *Murraya koenigii* (L.) Spreng. อยู่ในวงศ์ Rutaceae เป็นไม้พุ่ม ตามลำต้นไม่มีหนาม เมื่อขยี้ใบจะมีกลิ่นฉุนจัด ดอก ออกเป็นช่อตามยอดและซอกใบ ดอกเล็ก กลีบดอก 5 กลีบ สีขาวเขียว ผลกลมสีดำพบตามป่าดิบชื้น ป่าเบญจพรรณ

ป่าละเมาะชายทะเล สรรพคุณ ใบ ใช้สำหรับแก้ปวดท้อง เป็นยาบำรุง แก้วปวดฟัน นอกจากนี้ยังมีรายงาน การวิจัยพบว่าสารแอลคาลอยด์ ที่พบในใบหอมแขก เช่น Mahanine (12) สามารถช่วยต้านความจำที่ลดลง เนื่องมาจากความชราได้ (Kaushik et al., 2014)



Mahanine (12)

ภาพที่ 5 สูตรโครงสร้างทางเคมีของ Mahanine (12)

ในงานวิจัยนี้ได้ทำการศึกษาฤทธิ์ทางชีวภาพ ของ Mahanine (12) ในด้านการต้านการเจริญเติบโต ของเซลล์มะเร็งและทำการสังเคราะห์เปปไทด์ที่มีหมู่ guanidine เป็นองค์ประกอบแล้วนำไปคอนจูเกต หรือ เชื่อมต่อกับโครงสร้างหลักของ Mahanine เพื่อเพิ่ม ประสิทธิภาพในด้านการต้านการเจริญเติบโตของ เซลล์มะเร็งโดยไม่ทำลายเซลล์ปกติ

วิธีดำเนินการวิจัย

1. ประเภทของข้อมูล ข้อมูลที่ได้มาจากการ นำผลิตภัณฑ์ที่สังเคราะห์ได้มาวิเคราะห์หาสูตร โครงสร้างด้วยเทคนิคทางสเปกโตรสโคปี เช่น

1.1) Nuclear Magnetic Resonance Spectroscopy (NMR) ซึ่งเป็นเครื่องมือที่ใช้ในการวิเคราะห์สูตร โครงสร้างของโมเลกุลโดยเครื่องรุ่น Bruker AVANCE 400 spectrometer operating (400 MHz) ค่า Chemical shift (δ) รายงานในหน่วย ppm และค่า coupling constants (J) รายงานในหน่วย Hz ตัวทำละลายที่ใช้ คือ CDCl₃, CD₃OD และ DMSO-*d*⁶

1.2) Mass Spectroscopy (MS) ซึ่งเป็น เครื่องมือที่ใช้ในการวิเคราะห์น้ำหนักของโมเลกุลวัด โดยเครื่องรุ่น Finnigan LC-Q mass spectrometer

1.3) Infrared Spectroscopy (IR) ซึ่งเป็น เครื่องมือที่ใช้ในการวิเคราะห์หาหมู่ฟังก์ชันของ โมเลกุล รุ่น PerkinElmer FT-IR Spectrum 400 spectrometer (ATR)

2. วิธีเก็บข้อมูล มีขั้นตอนดังนี้

- การสังเคราะห์เปปไทด์โดยใช้เทคนิค solid Phase Peptide Synthesis (SPPS)

- การนำเปปไทด์ที่สังเคราะห์ได้มาเชื่อมต่อกับ แอลคาลอยด์ (Mahanine, (12)) ที่สกัดแยกได้จาก ต้นหอมแขกโดยใช้ปฏิกิริยา coupling

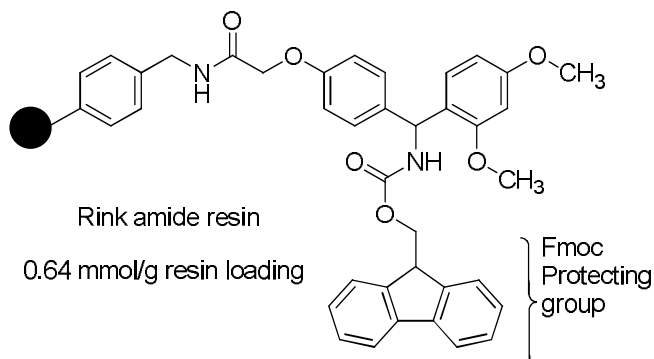
- นำสารที่สังเคราะห์ได้ (21) และ (22) มา ทดสอบฤทธิ์ในการยับยั้งการเจริญเติบโตของ เซลล์มะเร็ง

3. วิธีการสังเคราะห์

3.1) การสังเคราะห์เปปไทด์โดยใช้เทคนิค Solid Phase Peptide Synthesis (SPPS)

การสังเคราะห์เปปไทด์สำหรับงานวิจัยนี้ ผู้วิจัยได้ใช้เรซินชนิด Rink amide resin (ภาพที่ 6) เนื่องจากเป็นเรซินที่มีราคาถูก เมื่อใช้งานเสร็จแล้ว สามารถตัดสายเปปไทด์ที่ต้องการออกจากเรซินได้ง่าย โดยใช้

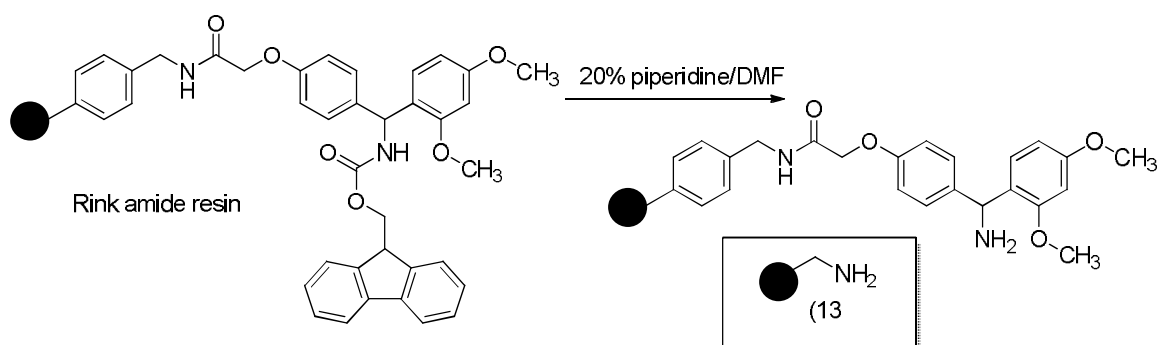
สารเคมีที่มีฤทธิ์เป็นกรด เช่น 20% TFA ใน dichloromethane (DCM)



ภาพที่ 6 แสดงสูตรโครงสร้างของ Rink amide resin

เนื่องจากเรซินชนิดนี้มี Fmoc-protecting group อยู่ในโครงสร้างด้วย ทำให้ก่อนผู้วิจัยจะเริ่มการสังเคราะห์ต้องมีการทำ Fmoc-deprotection โดยใช้ 20% piperidine/DMF

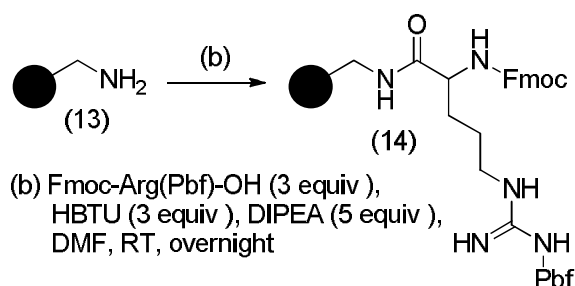
ก) Fmoc-deprotection from Rink amide resin



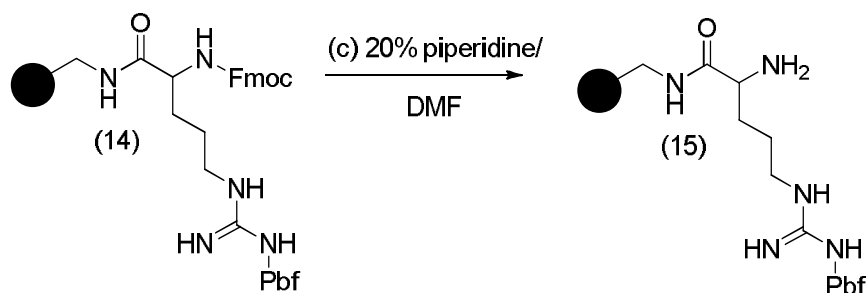
นำ Rink amide resin จำนวน 500 มก. (0.32 mmol) ใส่ในหลอดทดลอง แช่ด้วย dichloromethane (DCM) 2 mL เป็นเวลา 20 นาที เพื่อให้เรซิน (polymer) ขยายตัวเต็มที่ จากนั้นเติม 20% piperidine/DMF 1 mL เขย่าหลอดทดลองเป็นเวลา 20 นาที แล้วกรองสารละลายออก ล้างเรซินด้วยเมทานอล และ

dichloromethane (DCM) (ทำซ้ำสลับกัน 3 รอบ) นำไปทำให้แห้งในระบบสุญญากาศ จะได้เรซิน (13) ที่พร้อมใช้งาน

ข) Coupling reaction of resin (1) and the first amino acid (Fmoc-Arg(Pbf)-OH)



ใส่ *N,N*-Dimethyl formamide (DMF) 2 mL และ DIPEA (1.60 mmol, 5 equiv) ลงในเรซิน (13) 500 มก. (0.32 mmol) จากนั้นเติม *N,N,N',N'*-Tetramethyl-O-(1H-benzotriazol-1-yl) uranium hexafluorophosphate, (HBTU) (0.96 mmol, 3 equiv) ซึ่งผสมกับกรดอะมิโน Fmoc-Arg(Pbf)-OH (0.96 mmol, 3 equiv) ใน DMF 2 mL



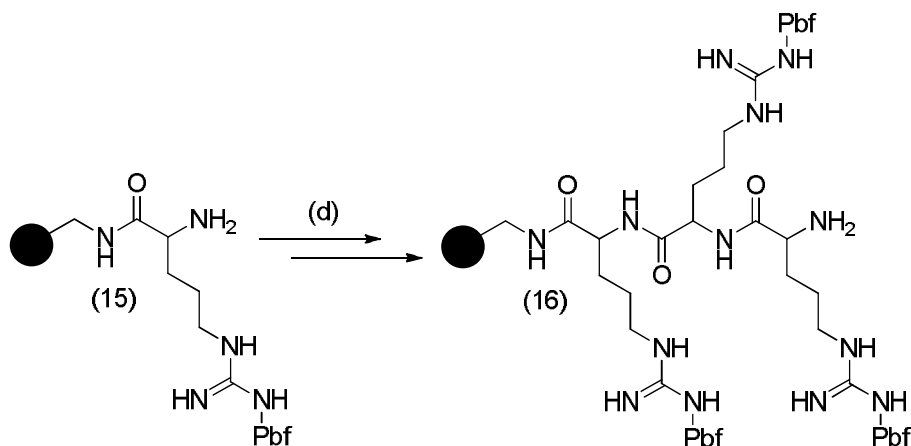
ใส่ 20% piperidine/DMF 1 mL ลงในหลอดทดลองที่บรรจุเรซิน 500 มก. (14) (0.32 mmol) เขย่าหลอดทดลองเป็นเวลา 20 นาที แล้วกรองเอาสารละลายที่ไม่ต้องการออก ล้างเรซินด้วยเมทานอล

เขย่าหลอดทดลองที่อุณหภูมิห้อง overnight จากนั้นกรองเอาสารละลายที่ไม่ต้องการออก ทำการล้างเรซินด้วยเมทานอล และ dichloromethane (DCM) นำผลิตภัณฑ์ (14) ไปทำให้แห้งโดยเข้าสู่สุญญากาศ

ค) Removal of Fmoc from resin (14)

และ dichloromethane (DCM) (ทำซ้ำ 3 รอบ) ไปทำให้แห้งโดยเข้าสู่สุญญากาศ จะได้เรซิน (15)

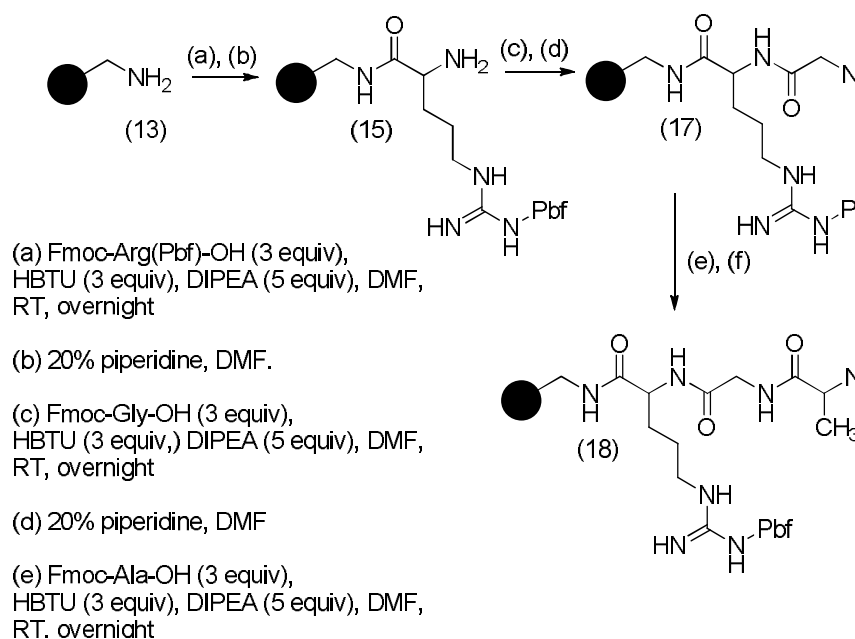
ง) Coupling reaction of (amino acid)_n เมื่อ n = 2, 3 ตามลำดับ



นำเรซิน (15) 500 มก. (0.32 mmol) มาทำการทดลองซ้ำด้วยปฏิกิริยา (ข) และ (ค) สลับกันไปเรื่อยๆ โดยการนำ Fmoc-Arg(Pbf)-OH (0.96 mmol, 3 equiv) เข้าไปเชื่อมต่อกับเรซิน (15) จนได้สายเปปไทด์ซึ่งมีลำดับของกรดอะมิโนตามต้องการ จากนั้นกรองเอา

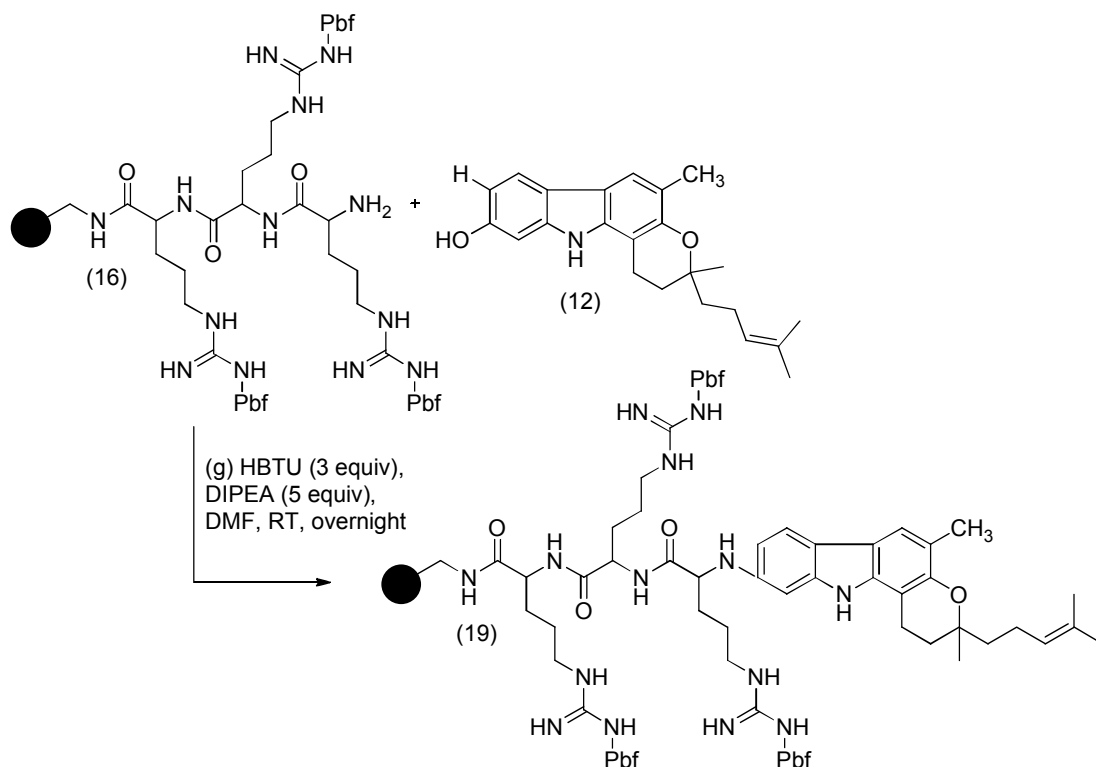
สารละลายที่ไม่ต้องการออก ทำการล้างเรซินด้วยเมทานอล และ dichloromethane (DCM) นำไปทำให้แห้งโดยเข้าสู่สุญญากาศจะได้ผลิตภัณฑ์ (16)

จ) การสังเคราะห์สายเปปไทด์ชนิดที่สอง



ในการสังเคราะห์สายเปปไทด์ชนิดที่สอง (18) ให้ทำการทดลองซ้ำ โดยเริ่มจากขั้นตอน (ก)-(ง) แต่เปลี่ยนลำดับของกรดอะมิโน เป็น Fmoc-Arg(Pbf)-OH, Fmoc-Gly-OH และ Fmoc-Ala-OH ตามลำดับ

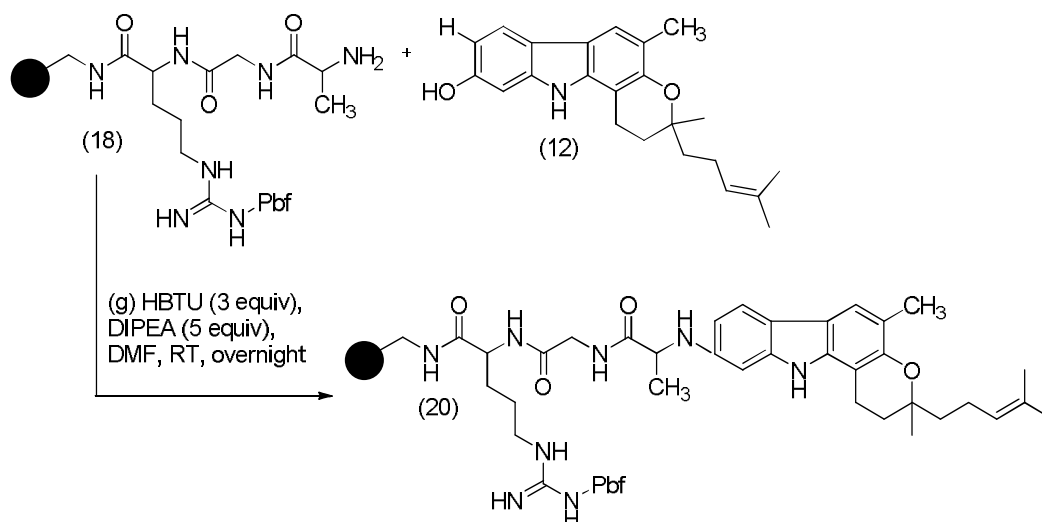
ฉ) Coupling reaction of tripeptide (16) with Mahanine (12)



ใส่ *N,N*-Dimethyl formamide (DMF) 2 mL และ DIPEA (1.60 mmol, 5 equiv) ลงในเรซิน (16) 500 มก. (0.32 mmol) จากนั้นเติม *N,N,N',N'*-Tetramethyl-O-(1H-benzotriazol-1-yl)uronium hexafluorophosphate, (HBTU) (0.96 mmol, 3 equiv) ซึ่งผสมกับ Mahanine (12) (0.96 mmol, 3 equiv) ใน DMF 2 mL เขย่าหลอดทดลองที่อุณหภูมิห้อง overnight จากนั้นกรองเอาสารละลายที่ไม่ต้องการออก ทำการล้างเรซินด้วยเมทานอล และ

dichloromethane (DCM) นำผลิตภัณฑ์ (19) ไปทำให้แห้งโดยเข้าตู้สุญญากาศ

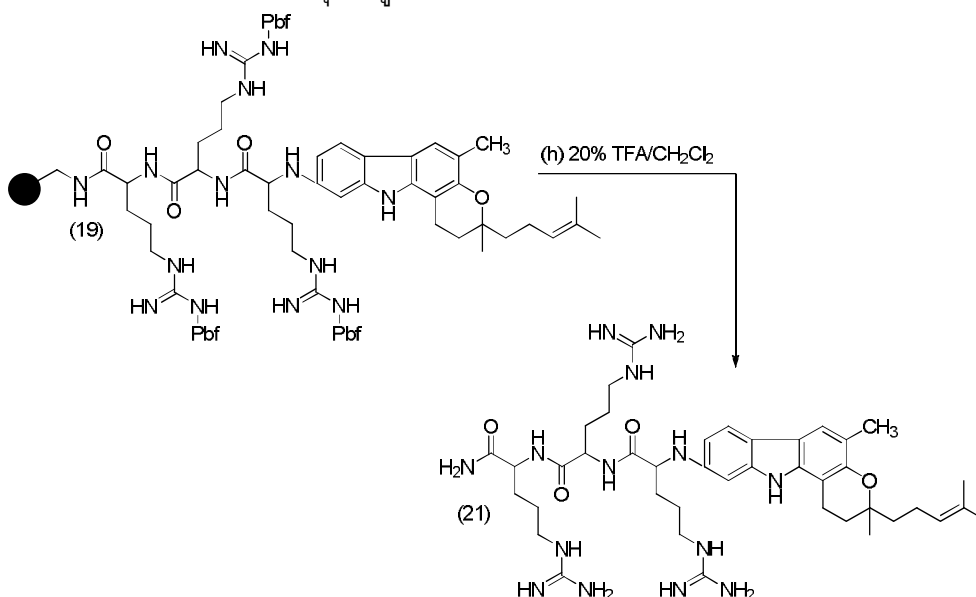
ข) Coupling reaction of tripeptide (18) with Mahanine (12)



ใส่ *N,N*-Dimethyl formamide (DMF) 2 mL และ DIPEA (1.60 mmol, 5 equiv) ลงในเรซิน (18) 500 มก. (0.32 mmol) จากนั้นเติม *N,N,N',N'*-Tetramethyl-O-(1H-benzotriazol-1-yl)uronium hexafluorophosphate, (HBTU) (0.96 mmol, 3 equiv) ซึ่งผสมกับ Mahanine (12) (0.96 mmol, 3 equiv) ใน DMF 2 mL เขย่าหลอดทดลองที่อุณหภูมิห้อง

overnight จากนั้นกรองเอาสารละลายที่ไม่ต้องการออก ทำการล้างเรซินด้วยเมทานอล และ dichloromethane (DCM) นำผลิตภัณฑ์ (20) ไปทำให้แห้งโดยเข้าตู้สุญญากาศ

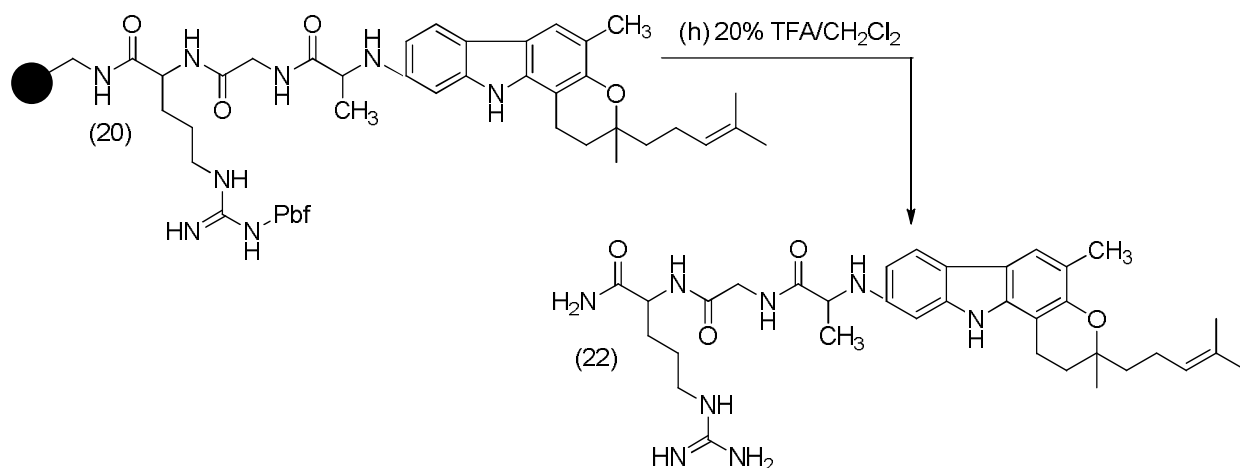
ข) Cleavage reaction



ใส่ 20% trifluoroacetic acid (TFA)/DCM จำนวน 1 มล. ลงในเรซิน (19) 500 มก. (0.32 mmol) เขย่าหลอดทดลอง 30 นาที แล้วกรองเก็บส่วนที่เป็น สารละลาย ล้างเรซินด้วยเมทานอล และ DCM (ทำซ้ำ 2 รอบ) จากนั้นนำสารละลายที่กรองได้ไปทำให้แห้งใน

ระบบสุญญากาศ และตกตะกอนโดยใช้เมทานอลและ อีเทอร์ จะได้ผลิตภัณฑ์ (21) มีลักษณะเป็นของแข็งสีขาว 92% yield

ฉ) Cleavage reaction



ใส่ 20% trifluoroacetic acid (TFA)/DCM จำนวน 1 มล. ลงในเรซิน (20) 500 มก. (0.32 mmol) เขย่าหลอดทดลอง 30 นาที แล้วกรองเก็บส่วนที่เป็น สารละลาย ล้างเรซินด้วยเมทานอล และ dichloromethane (DCM) (ทำซ้ำ 2 รอบ) จากนั้นนำ สารละลายที่กรองได้ไปทำให้แห้งในระบบสุญญากาศ และตกตะกอนโดยใช้เมทานอลและอีเทอร์ จะได้ ผลิตภัณฑ์ (22) มีลักษณะเป็นของแข็งสีขาว 89% yield นำเปปไทด์ที่สังเคราะห์ได้ (21), และ (22) ไป วิเคราะห์หาสูตรโครงสร้างโดยเทคนิคทางสเปกโตรสโกปี เช่น NMR, IR และ MS

3.2) การทดสอบฤทธิ์ในการยับยั้งการ เจริญเติบโตของเซลล์มะเร็ง (Anticancer activity)

นำผลิตภัณฑ์ (21) และ (22) ที่สังเคราะห์ได้ ส่งไปทดสอบฤทธิ์ในการยับยั้งการเจริญเติบโตของ เซลล์มะเร็ง ขั้นตอนการทดสอบฤทธิ์

ใส่เซลล์ลงใน 96-well plaet จำนวน 10,000 เซลล์ต่อช่อง และเติมอาหารเลี้ยงเซลล์จากนั้น incubate เป็นเวลา 24 ชั่วโมง ให้ล้างเอาอาหารเลี้ยง เซลล์ออก ใส่อาหารเลี้ยงเซลล์ใหม่ ที่ความเข้มข้นต่างๆ ลงไปในแต่ละช่อง นำไป Incubate ต่อเป็นเวลา 48

ชั่วโมง เมื่อครบ 48 ชั่วโมงแล้ว ให้ล้างเอาอาหารเลี้ยง เซลล์ออก จากนั้นใส่อาหารเลี้ยงเซลล์ที่ผสม 3-[4,5-dimethylthiazol-2-yl]-2,5-diphenyltetrazolium bromide (MTT) (0.5 มก./มล.) นำ plate ไป incubate ต่อเป็น เวลาอีก 4 ชั่วโมง จากนั้น ล้างเพื่อเอาอาหารเลี้ยงเซลล์ ออกเติม DMSO 100 ไมโครลิตร เพื่อละลายผลิตภัณฑ์ 3-[4,5-dimethylthiazol-2-yl]-2,5-diphenyltetrazolium bromide (MTT) แล้วนำ plate ไปวัดการดูดกลืนแสงที่ 550 นาโนเมตร นำมาคำนวณค่าเปรียบเทียบกับ control

เซลล์ที่ใช้ในการทดลอง

1. HT29 เซลล์มะเร็งลำไส้
2. MCF-7 เซลล์มะเร็งเต้านม
3. HeLa เซลล์มะเร็งปากมดลูก
4. HEK 293 เซลล์ไต (normal cell)

4. วิธีการเก็บรวบรวมข้อมูล

ข้อมูลได้มาจากการทดลองโดยแบ่งออกเป็น สองส่วนหลักคือ ข้อมูลที่ได้จากการพิสูจน์โครงสร้าง ของสารสังเคราะห์ด้วยเทคนิคทางสเปกโตรสโกปี และ ข้อมูลอีกส่วนหนึ่งที่ได้จากการทดสอบฤทธิ์ทางชีวภาพ จากนั้นนำข้อมูลทั้งสองชนิดมาเปรียบเทียบเพื่อศึกษา ความสัมพันธ์ระหว่างโครงสร้างและฤทธิ์ทางชีวภาพ

ผลการวิจัย

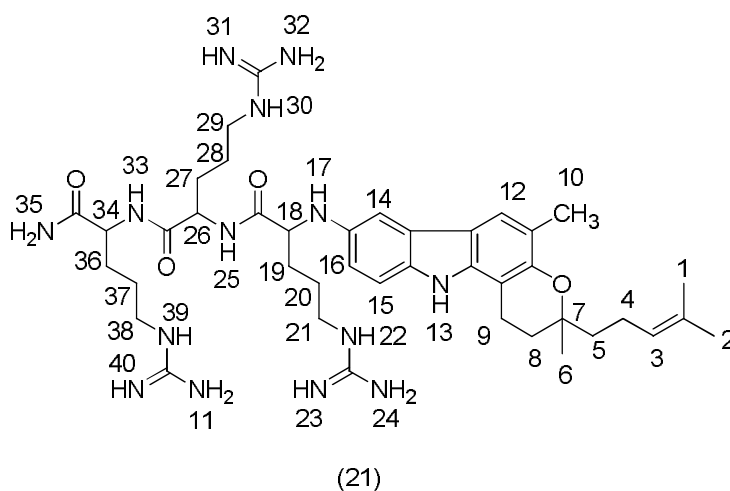
1. การสังเคราะห์และการวิเคราะห์สูตรโครงสร้าง

1.1) การสังเคราะห์เปปไทด์โดยเทคนิค solid phase peptide synthesis

ในการสังเคราะห์เปปไทด์สามารถทำได้หลายวิธี เช่น solution phase และ solid phase technique ซึ่งในงานวิจัยครั้งนี้ได้เลือกการสังเคราะห์แบบ solid phase เนื่องจากมีข้อดีคือ สามารถทำการสังเคราะห์สายเปปไทด์ได้เปอร์เซ็นต์ของผลิตภัณฑ์สูง ลดการเกิดผลิตภัณฑ์ที่ไม่ต้องการ ประหยัดเวลาในการแยกสารตัวกลาง (ไม่ต้องใช้ column chromatography) ทำให้สามารถสังเคราะห์ผลิตภัณฑ์ได้ในเวลาอันรวดเร็ว นอกจากนี้เรซินที่ใช้ในงานวิจัยนี้จะเป็นชนิด rink

amide resin เนื่องจากเมื่อทำการสังเคราะห์สายเปปไทด์จนได้ลำดับของกรดอะมิโนตามต้องการแล้ว เรายังสามารถตัดสายเปปไทด์ออกจากเรซินได้ง่าย โดยใช้ 20% trifluoroacetic acid (TFA)/ dichloromethane (DCM) รวมถึงการทำ deprotection ของ protecting group ต่างๆ ได้ภายในขั้นตอนเดียว

ในการวิเคราะห์หาสูตรโครงสร้างของเปปไทด์ (21) และ (22) สามารถยืนยันสูตรโครงสร้างได้โดยอาศัยเครื่องมือทางสเปกโตรสโคปี เช่น Nuclear Magnetic Resonance Spectroscopy (NMR), Mass Spectroscopy (MS) และ Infrared Spectroscopy (IR) เป็นต้น ซึ่งจะแสดงผล ดังนี้

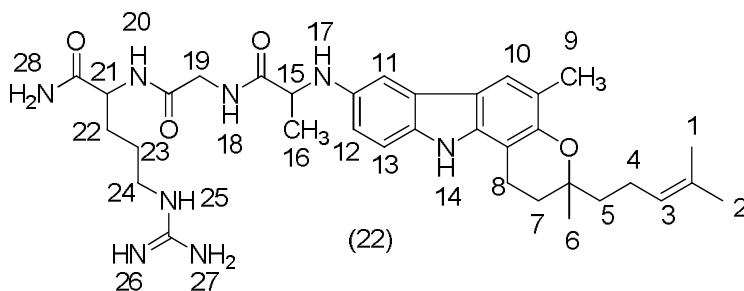


^1H NMR (400 MHz, DMSO- d_6): 1.51 (3H, s, CH_3 -6), 1.72 (3H, s, CH_3 -1), 1.82 (3H, s, CH_3 -2), 1.67-2.90 (26H, m, CH_2 -4, CH_2 -5, CH_2 -8, CH_2 -9, CH_2 -19, CH_2 -20, CH_2 -21, CH_2 -27, CH_2 -28, CH_2 -29, CH_2 -36, CH_2 -37, CH_2 -38), 2.15 (3H, s, CH_3 -10), 3.56 (1H, m, CH-18), 4.53 (1H, m, CH-34), 4.55 (1H, m, CH-26), 5.20 (1H, m, CH-3), 6.72 (1H, s, CH-14), 6.74 (1H, d, $J = 0.8$ Hz, CH-16), 7.41 (1H, d, $J = 0.8$ Hz, CH-15), 7.70 (1H, s, CH-12), 8.01-

10.40 (13H, br m, NH-13, NH-17, NH-25, NH-22, NH-23, NH_2 -24, NH-30, NH-31, NH_2 -32, NH-39, NH-40, NH_2 -11, NH_2 -35).

IR: V_{max} 3275, 2958, 2880, 1761, 1635 cm^{-1} .

ESMS (+ve): m/z (%rel. intensity): 818.04 $[\text{M}+\text{H}]^+$ (100).



^1H NMR (400 MHz, DMSO- d_6): 1.41 (3H, s, CH_3 -16), 1.50 (3H, s, CH_3 -6), 1.70 (3H, s, CH_3 -1), 1.82 (3H, s, CH_3 -2), 1.67-2.85 (14H, m, CH_2 -4, CH_2 -5, CH_2 -7, CH_2 -8, CH_2 -22, CH_2 -23, CH_2 -24), 2.15 (3H, s, CH_3 -9), 3.74 (1H, m, CH-15), 4.09 (2H, m, CH_2 -19), 4.53 (1H, m, CH-21), 5.20 (1H, m, CH-3), 6.70 (1H, s, CH-11), 6.74 (1H, d, $J = 0.8$ Hz, CH-12), 7.41 (1H, d, $J = 0.8$ Hz, CH-13), 7.72 (1H, s, CH-10), 8.03-11.20 (9H, br m, NH-14, NH-17, NH-20, NH_2 -28, NH-25, NH-26, NH_2 -27).

IR: V_{max} 3272, 2960, 2890, 1759, 1635 cm^{-1} .

ESMS (+ve): m/z (%rel. intensity): 633.81 $[\text{M}+\text{H}]^+$ (100).

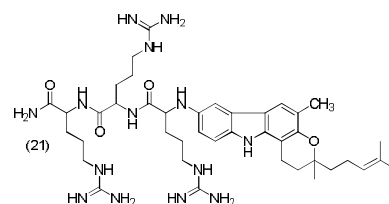
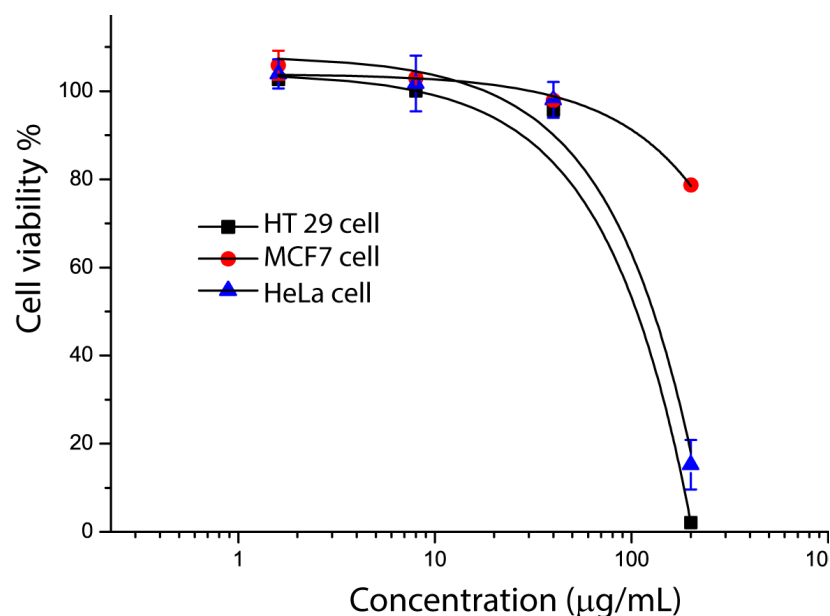
2. การทดสอบฤทธิ์ยับยั้งการเจริญเติบโตของเซลล์มะเร็ง (Anticancer activity)

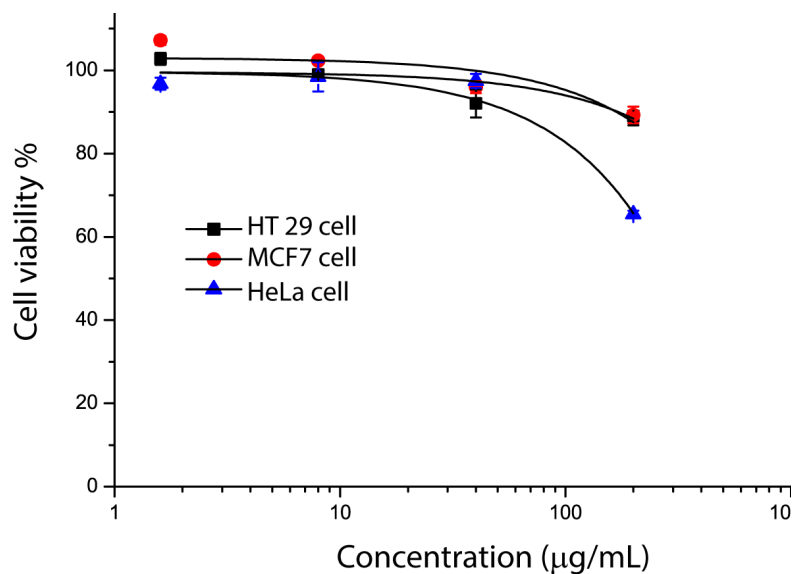
นำผลิตภัณฑ์ (21) และ (22) ไปทดสอบฤทธิ์ในการยับยั้งการเจริญเติบโตของเซลล์มะเร็ง

เซลล์ที่ใช้ในการทดลอง

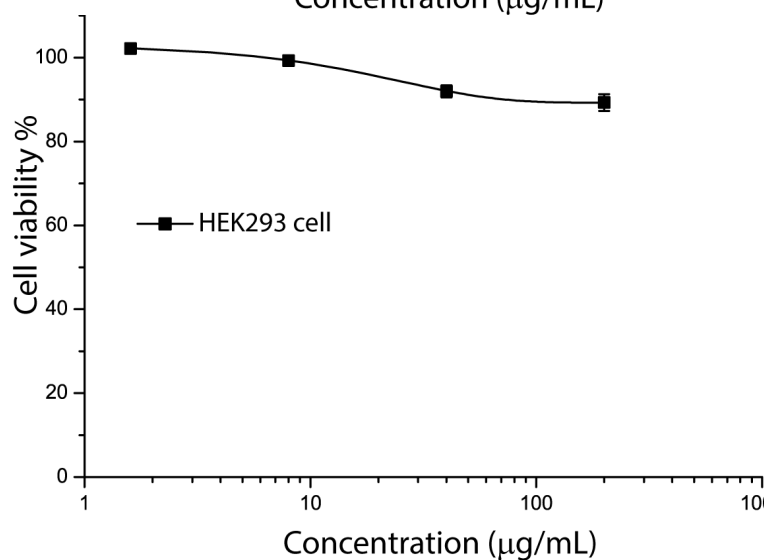
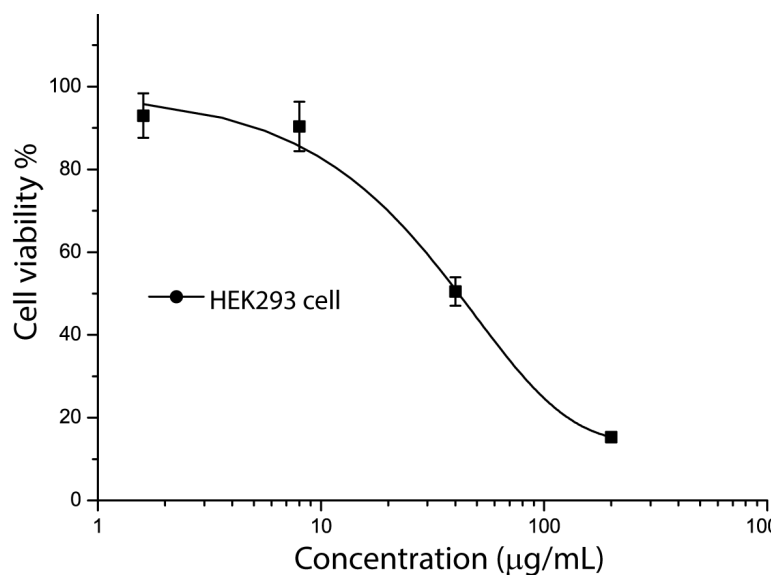
HT29	เซลล์มะเร็งลำไส้
MCF-7	เซลล์มะเร็งเต้านม
HeLa	เซลล์มะเร็งปากมดลูก
HEK 293	เซลล์ไต (normal cell)

2.1 ผลการทดสอบฤทธิ์ในการยับยั้งการเจริญเติบโตของเซลล์มะเร็ง

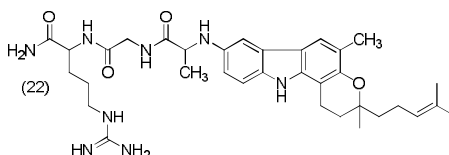
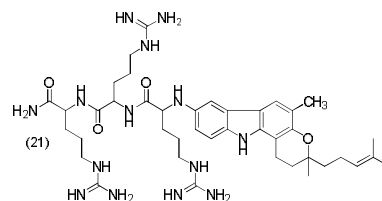
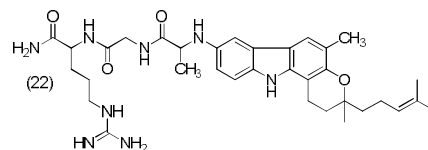




2.2 ผลการทดสอบฤทธิ์ในการยับยั้งการเจริญเติบโตของเซลล์ปกติ



2.3 การวิเคราะห์ผลการทดสอบฤทธิ์ในการยับยั้งการเจริญเติบโตของเซลล์มะเร็ง



ในงานวิจัยนี้ได้ทำการศึกษาความสัมพันธ์ระหว่างโครงสร้างของสารประกอบ carbazole alkaloid (Mahanine) peptide conjugate กับคุณสมบัติในการยับยั้งการเจริญเติบโตของเซลล์มะเร็ง สำหรับสารที่เป็นตัวควบคุม (control) หมายถึงเซลล์มะเร็งที่มีการเจริญเติบโตและได้รับอาหารตามปกติ ไม่ได้มีการเติมสารที่เป็นยา หรือสารสังเคราะห์ลงไป

จากผลของการศึกษาฤทธิ์ทางชีวภาพพบว่า สารประกอบ carbazole alkaloid (Mahanine) peptide conjugate (21) มีความสามารถในการยับยั้งการเจริญเติบโตของเซลล์มะเร็งได้ทั้งเซลล์มะเร็งลำไส้, เซลล์มะเร็งเต้านม และเซลล์มะเร็งปากมดลูกมากขึ้น เมื่อความเข้มข้นของสารประกอบ (21) เพิ่มขึ้น และเมื่อนำมาทดสอบฤทธิ์ทางชีวภาพกับเซลล์ปกติ พบว่า สารประกอบ (21) สามารถยับยั้งการเจริญเติบโตของเซลล์ปกติได้เช่นกัน ซึ่งอาจมีผลมาจากโครงสร้างของสารประกอบมีหมู่ guanidine มากเกินไป

ในขณะที่สารประกอบ carbazole alkaloid (Mahanine) peptide conjugate (22) มีความสามารถในการยับยั้งการเจริญเติบโตของเซลล์มะเร็งได้ทั้งเซลล์มะเร็งลำไส้, เซลล์มะเร็งเต้านม และเซลล์มะเร็งปากมดลูกมากขึ้น เมื่อความเข้มข้นของสารประกอบ (22) เพิ่มขึ้น แต่ไม่ทำลายเซลล์ปกติ

สรุปและวิจารณ์ผล

การสังเคราะห์สารประกอบ carbazole alkaloid (Mahanine) peptide conjugate (21) และ (22) สามารถทำได้โดยการสังเคราะห์เปปไทด์โดยตรง โดยใช้เทคนิค Solid Phase Peptide Synthesis ซึ่งเป็นเทคนิคที่ดี ประหยัดเวลาสามารถทำให้สังเคราะห์เปปไทด์ได้ในระยะเวลาสั้น โดยที่ไม่ต้องผ่านกระบวนการทำโครมาโตกราฟี รวมถึงการสังเคราะห์วิธีนี้ทำให้ได้ผลิตภัณฑ์ในปริมาณสูงเพียงพอต่อความต้องการนำไปคอนจูเกตกับ carbazole alkaloid (Mahanine)

เมื่อนำไปทดสอบฤทธิ์ในการยับยั้งการเจริญเติบโตของเซลล์มะเร็ง (anticancer activity) พบว่า carbazole alkaloid (Mahanine) peptide conjugate (21) เป็นสารประกอบที่มีหมู่ guanidine จำนวนมาก ทำให้

โมเลกุลมีความมีขั้วสูง ซึ่งมีผลต่อการยับยั้งการเจริญเติบโตของเซลล์มะเร็ง โดยถ้ามีหมู่ guanidine มากเกินไปจะสามารถฆ่าเซลล์ทุกเซลล์ได้ (ทั้งเซลล์มะเร็งและเซลล์ปกติ)

ส่วนสารประกอบ carbazole alkaloid (Mahanine) peptide conjugate (22) เป็นสารประกอบที่มีสายเปปไทด์ซึ่งประกอบด้วยกรดอะมิโน เช่น Arginine, Glycine และ Alanine ตามลำดับ ทำให้โมเลกุลมีความมีขั้วที่พอเหมาะที่จะแพร่ผ่านผนังเซลล์ และมีหมู่ guanidine ภายในโมเลกุลหนึ่งหมู่ ซึ่งเป็นหมู่ที่มีความสำคัญในการยับยั้งการเจริญเติบโตของเซลล์มะเร็ง เช่น เซลล์มะเร็งลำไส้, มะเร็งปากมดลูก และมะเร็งเต้านม โดยไม่ทำลายเซลล์ปกติ

กิตติกรรมประกาศ

งานวิจัยฉบับนี้สำเร็จลงได้ด้วยดี เนื่องจากได้รับความกรุณาอย่างสูงจาก ศาสตราจารย์ ดร. อภิชาติ สุขสำราญ และรองศาสตราจารย์ บุญเอก ยิ่งยงณรงค์กุล ที่ได้ช่วยให้คำปรึกษา แนะนำ ปรับปรุงแก้ไขข้อบกพร่องต่างๆ ด้วยความเอาใจใส่อย่างยิ่ง รวมถึงสารเคมีที่ได้ใช้ในงานวิจัยในครั้งนี้ ผู้วิจัยตระหนักถึงความตั้งใจจริงในความทุ่มเทของอาจารย์ทั้งสองท่านเป็นอย่างยิ่ง

ขอขอบคุณผู้ทรงคุณวุฒิ ผู้เชี่ยวชาญทุกท่านที่สละเวลาในการตรวจทานแก้ไขในข้อบกพร่อง ตรวจทานความถูกต้องของภาษาของงานวิจัยฉบับนี้

สุดท้ายนี้ ผู้วิจัยขอแสดงความกตัญญูต่เวทีตาคุณแต่บิดา มารดา และครอบครัว รวมถึงผู้มีพระคุณทุกท่านที่คอยช่วยเหลือและเป็นกำลังใจในงานวิจัยในครั้งนี้ได้สำเร็จลุล่วงเป็นอย่างดี

ผู้วิจัยหวังว่า งานวิจัยฉบับนี้จะมีประโยชน์เพื่อช่วยในการพัฒนาปรับปรุงหาโครงสร้างยาที่มีประสิทธิภาพต่อไป

เอกสารอ้างอิง

- Astha, V., Harish, P., Neeta, S. (2011) Andrographolide: A New Plant-Derived Antineoplastic Entity on Horizon. Evid-Based Compl. Alt: 1.
- Cancer Facts and Figures. 2016. Special Section: Cancer in Asian Americans, Native Hawaiians, and Pacific Islanders: 25.
- Julie, S. J. (2009) Anti-inflammatory Properties of Curcumin, a Major Constituent of Curcuma longa: A Review of Preclinical and Clinical Research. Altern. Med. Rev. 14 (2): 141.
- Kaushik, B., Arup, K. B., Rakshamani, T., Suman, K. S., Bikas, C. P., Chandrima, S., Chitra, M. 2014. Mahanine, a novel mitochondrial complex-III inhibitor induces G0/G1 arrest through redox alteration-mediated DNA damage response and regresses glioblastoma multiforme. Am. J. Cancer Res. 4 (6): 629.
- Leclerc, S., Garnier, M., Hoessel, R., Markos, D., Bibb, J. A., Snyder, G. L., Greengard, P., Biernati, J., Wui, Y. Z., Mandelkowi, E. M., Eisenbrand, G., Meijer, L. 2001. Indirubins Inhibit Glycogen Synthase Kinase-3b and CDK5/P25, Two Protein Kinases Involved in Abnormal Tau Phosphorylation in Alzheimer's Disease. J. Biol. Chem. 276 (1): 251.
- Lin, C. C., Mariotto, A. B., Siegel, R. L., Stein, K. D., Kramer, J. L., Alteri, R., Robbins, A. 2014. Cancer Treatment and Survivorship Statistics, Cancer Treatment and Survivorship Statistics: 252.
- Mohana K. P., Amitava, S., Ravikanth, G., Uma, S. R., Pradeep, T. (2015) Ambient ionization mass spectrometry imaging of rohitukine, a chromone anti-cancer alkaloid, during seed and seedling development in *dysoxylum binectariferum* hook.f (meliaceae). J. Plant. Physiol. Pathol. 2 (5): 86.
- Nicolaou, K. C., Nold, A. L., Miburn, R. R., Schindler, C. S., Cole, K. P., Yamaguchi, J. (2007) Total Synthesis of Marinomycins A-C and of Their Monomeric Counterparts Monomarinomycin A and iso Monomarinomycin A. J. Am. Chem. Soc. 129 (6): 1760.
- Patel, V., Senderowicz, A. M., Pinto, D., Tadashi, I., Mark, R., Leticia, Q. M., Ensley, J. S., Edward, A., S., Gutkind J. S. (1998) Flavopiridol, a Novel Cyclin-dependent Kinase Inhibitor, Suppresses the Growth of Head and Neck Squamous Cell Carcinomas by Inducing Apoptosis. J. Clin. Invest. 102(9): 1674.
- Thailand Human Papillomavirus and Related Cancers. 2016. ICO Information Centre on HPV and Cancer: 1.



หลักเกณฑ์ในการพิจารณาตีพิมพ์บทความ

1. ผลงานทางวิชาการที่ส่งมาเพื่อตีพิมพ์ต้องไม่เคยผ่านการเผยแพร่ที่ไหนมาก่อน
2. ผลงานทางวิชาการที่ส่งมาเพื่อตีพิมพ์ต้องไม่อยู่ระหว่างการพิจารณาของวารสารอื่น
3. ผลงานทางวิชาการที่ส่งมาเพื่อตีพิมพ์ต้องเป็นบทความที่มีคุณค่าทางวิชาการ คือ เกิดขึ้นจากผู้เขียนได้ทำการทดลอง สร้างสรรค์ สังเคราะห์ หรือมีส่วนเกี่ยวข้องกับงานโดยตรง หรือเป็นบทความที่เสนอถึงความคิดหรือหลักการใหม่ที่เป็นไปได้และมีทฤษฎีประกอบหรือสนับสนุนอย่างเพียงพอ มีประโยชน์ต่อการศึกษาและการวิจัย
4. ผลงานทางวิชาการที่ส่งมาเพื่อตีพิมพ์ต้องไม่ได้ลอกเลียนหรือดัดทอนมาจากผลงานวิจัยของผู้อื่นหรือจากบทความอื่นโดยไม่ได้รับอนุญาตหรือปราศจากการอ้างอิงที่ถูกต้อง
5. ผู้เขียนต้องจัดเตรียมต้นฉบับตามรูปแบบตามข้อกำหนดในการส่งต้นฉบับอย่างเคร่งครัด
6. ผู้เขียนได้แก้ไขความถูกต้องของบทความที่ส่งมาตีพิมพ์ตามข้อเสนอแนะของคณะผู้ทรงคุณวุฒิ (Peer review) แล้ว
7. บทความจะต้องผ่านการตรวจสอบความถูกต้องจากกองบรรณาธิการแล้วเท่านั้น

รูปแบบการจัดเตรียมต้นฉบับ

1. ให้พิมพ์โดยใช้กระดาษ **A4** พิมพ์หน้าเดียว
2. จัดพิมพ์ด้วยโปรแกรม **Microsoft Word for Windows**
3. ใช้ตัวอักษรแบบ **Browallia UPC/New**
4. ระยะห่างระหว่างบรรทัดใช้ **Double Space** โดยมีความยาวไม่เกิน 30 หน้า (รวมเอกสารอ้างอิง)
5. การตั้งค่าน้ำกระดาษ
 - ระยะขอบบน (Top margin) 1" หรือ 2.54 เซนติเมตร
 - ระยะขอบล่าง (Bottom margin) 1" หรือ 2.54 เซนติเมตร
 - ระยะขอบซ้าย (Left margin) 1" หรือ 2.54 เซนติเมตร
 - ระยะขอบขวา (Right margin) 1" หรือ 2.54 เซนติเมตร

รายละเอียดการจัดเตรียมต้นฉบับ

ชื่อเรื่อง ต้องมีทั้งภาษาไทย และภาษาอังกฤษ จัดให้อยู่ชิดซ้ายหน้ากระดาษ ชื่อภาษาอังกฤษ ขึ้นต้นคำให้พิมพ์ด้วยตัวพิมพ์ใหญ่ และให้ใช้ตัวอักษรขนาด 18 ตัวหนา

ชื่อผู้เขียน ให้ใช้ตัวอักษรขนาด 12 ตัวปกติ และให้จัดชิดซ้ายของหน้ากระดาษ โดยให้กำกับหมายเลขยกกำลังไว้ต่อท้ายด้วย สำหรับชื่อของหน่วยงานให้พิมพ์ไว้ในส่วนของเชิงอรรถ (หน้าที่ 1) โดยพิมพ์ชื่อหน่วยงานต้นสังกัดให้ตรงกับตัวเลขยกกำลังที่กำกับไว้ในหน้าเดียวกัน

บทคัดย่อ และ ABSTRACT ใช้ตัวอักษรขนาด 18 ตัวหนา และให้จัดกึ่งกลางหน้ากระดาษ สำหรับเนื้อความให้ใช้ตัวอักษรขนาด 14 ตัวปกติ จัดพิมพ์เป็น 1 คอลัมน์ โดยเนื้อหาต้องครอบคลุมถึงบทนำ วิธีดำเนินการวิจัย ผลการวิจัย สรุปและวิจารณ์ผล เป็นลำดับ

คำสำคัญ (Keywords): ทั้งภาษาไทย และภาษาอังกฤษ ควรเลือกคำสำคัญที่เกี่ยวข้องกับบทความ ประมาณ 3 - 5 คำ โดยพิมพ์ต่อจากส่วนเนื้อหาของบทคัดย่อ และ Abstract ให้ใช้ตัวอักษรขนาด 14 ตัวปกติ และให้จัดชิดซ้ายของหน้ากระดาษ

เนื้อหา ให้จัดพิมพ์เป็น 1 คอลัมน์ **หัวข้อใหญ่** ใช้ตัวอักษรขนาด 16 ตัวหนา **หัวข้อย่อย** ใช้ตัวอักษรขนาด 14 ตัวหนา จัดชิดซ้ายคอลัมน์ เนื้อความใช้ตัวอักษรขนาด 14 ตัวปกติ โดยให้บรรทัดแรกของทุกย่อหน้าเยื้อง 0.5 นิ้ว ของบรรทัดถัดไป โดยเรียงหัวข้อตามลำดับดังนี้ บทนำ วิธีดำเนินการวิจัย ผลการวิจัย สรุปและวิจารณ์ผล กิตติกรรมประกาศ และเอกสารอ้างอิง

รูปภาพ จัดให้ชิดซ้ายของคอลัมน์ ความละเอียดของรูปภาพไม่น้อยกว่า 600x600 dpi คำบรรยายรูปภาพให้พิมพ์ไว้ใต้รูปภาพ ให้ใช้ตัวอักษรขนาด 12 ตัวปกติ โดยให้แนบไฟล์รูปภาพที่ประกอบในเนื้อเรื่องมาต่างหาก จากไฟล์เอกสารปกติ

ตาราง จัดให้ชิดซ้ายของคอลัมน์ รูปแบบของตารางให้ใช้แบบ Table classic I คำบรรยายตารางให้จัดพิมพ์ไว้ด้านบนของหัวข้อตาราง และใช้ตัวอักษรขนาด 12 ตัวปกติ

หมายเหตุ ต้นฉบับบทความที่นำส่งจะต้องถูกต้องตามหลักเกณฑ์การเขียนที่กำหนดเท่านั้น จึงจะได้รับการพิจารณา ดำเนินการประเมินบทความก่อนตีพิมพ์

การอ้างอิงและการเขียนเอกสารอ้างอิง

• การอ้างอิงในเนื้อเรื่อง

ให้วงเล็บชื่อผู้แต่ง (ภาษาไทย) ชื่อสกุลผู้แต่ง (ภาษาต่างประเทศ) และปีที่พิมพ์ของเอกสารที่อ้างถึง ต่อท้ายข้อความที่ต้องการอ้าง ตัวอย่าง

..... (มณี และคณะ, 2550) หรือ (Archawaranon et al., 2003)
Archawaranon et al. (2003) หรือ มณี และคณะ (2550)

• การอ้างอิงท้ายเรื่อง

1. วารสาร

ก. ภาษาไทย

ชื่อผู้เขียน (ให้เขียนชื่อเต็ม ตามด้วยชื่อสกุล). ปีที่พิมพ์. ชื่อบทความ. ชื่อวารสาร (ใช้ชื่อเต็ม). ปีที่ (ฉบับที่): หน้า
ปรากฏบทความ. เช่น
พุทธชาติ ภิโรบาล และ ธนพันธ์ ตรงดี. 2541. สถานะของภาษาตากใบในภาษากัน. วารสาร
สงขลานครินทร์ ฉบับสังคมศาสตร์และมนุษยศาสตร์. 4(2): 167-187.

ข. ภาษาอังกฤษ

ใช้เช่นเดียวกับภาษาไทย แต่ชื่อผู้เขียนใช้ชื่อสกุลขึ้นก่อน, ตามด้วยตัวอักษรย่อของชื่อต้น. และวารสารใช้ชื่อตัวย่อ
ตามเกณฑ์ที่ใช้กัน เช่น

Archawaranon, M. 2003. The impact of human interference on Hill Mynahs *Gracula religiosa*
breeding in Thailand. Bird Conserv. Intl. 13 (2): 139-149.

2. หนังสือ

ชื่อผู้แต่ง. ปีที่พิมพ์. ชื่อหนังสือ. ครั้งที่พิมพ์. สถานที่พิมพ์. ผู้จัดพิมพ์. เช่น
มณี อัครวานนท์. 2549. นกขุนทอง: งานวิจัยเพื่อการอนุรักษ์นกในเขตร้อน. กรุงเทพฯ. อมรินทร์พริ้นติ้งแอนด์พับลิชชิ่ง.
Sharp, W.F. 1985. Investment. 3rd ed. New Jersey. Prentice-Hall.

3. บทความ/เรื่อง/ตอน ในหนังสือรวมเรื่องหรือรายงานประจำปี

ชื่อผู้แต่ง. ปีที่พิมพ์. ชื่อบทความ. ใน ชื่อบรรณาธิการ. ชื่อเรื่อง. (ฉบับพิมพ์ ถ้ามี), หน้าปรากฏบทความ.
ผู้จัดพิมพ์. สถานที่พิมพ์. เช่น
เสรี ลีลาชัย. 2542. เศรษฐกิจชาตินิยมในประเทศไทยกำลังพัฒนาและสถานการณ์ในประเทศไทย. ใน ณรงค์ เพ็ชรประเสริฐ
(บรรณาธิการ). 1999 จุดเปลี่ยนแห่งยุคสมัยใหม่ (หน้า 90-141). ศูนย์ศึกษาเศรษฐศาสตร์การเมือง คณะ
เศรษฐศาสตร์ จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย. กรุงเทพฯ.

4. การอ้างอิงจากวารสารออนไลน์

ชื่อผู้แต่ง. ปีที่พิมพ์. ชื่อบทความ. ชื่อวารสาร. ปีที่และฉบับที่พิมพ์: หน้าปรากฏบทความ. ที่มา:
สถานที่มาของสารสนเทศ. เช่น
Overby, J.M. 1996. Ozone brings better water. Water Technology [Online]. 19, no. 5:
62-64. Abstract from Dialog File: Water Resources Abstract (117) Item: 00798344

5. วิทยานิพนธ์

ชื่อผู้แต่ง. ปีที่พิมพ์. ชื่อวิทยานิพนธ์. สถานที่พิมพ์. ชื่อสถาบันการศึกษา
พรชัย วงศ์วาสนา. 2543. การศึกษาชีววิทยาประชากรของนกขุนทองในประเทศไทย. วิทยานิพนธ์
ปริญญาวิทยาศาสตรมหาบัณฑิต. กรุงเทพฯ. บัณฑิตวิทยาลัย มหาวิทยาลัยรามคำแหง.

การส่งต้นฉบับ

ส่งต้นฉบับ จำนวน 4 ชุด พร้อมแผ่น CD จำนวน 1 แผ่น ไปยัง กองบรรณาธิการวารสารวิจัยรามคำแหง สถาบันวิจัยและ
พัฒนา อาคารสุโขทัย ชั้น 12 มหาวิทยาลัยรามคำแหง ถนนรามคำแหง แขวงหัวหมาก เขตบางกะปิ กรุงเทพฯ 10240 โทรศัพท์ 0-2310-
8696, โทรสาร 0-2310-8119 Email: ruresearch@ru.ac.th

