



วารสารวิทยาศาสตร์ปริดิยาร

PRIDIYATHORN SCIENCE JOURNAL

ปีที่ 2 ฉบับที่ 1 มกราคม - มิถุนายน 2566
Vol.2 No.1 January - June 2023



Vol.2

1

คณะวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยี
มหาวิทยาลัยนราธิวาสราชนครินทร์



วารสารวิทยาศาสตร์ปริดิยารธร

Pridiyathorn Science Journal

บทความวิจัย

- การสกัดและการศึกษาปริมาณเคอร์คูมินอยด์ในขมิ้นชันแคปซูล Extraction and Determination of Curcuminoids in Turmeric Capsules
- การศึกษาตัวทำละลายที่เหมาะสมในการสกัดใบนางดำเพื่อยับยั้งการเจริญของแบคทีเรีย Solvent Optimization of Pitang Leaves (*Gynochthodes sublaceolata* Miq.) Extraction for Bacterial Growth Inhibition
- Predicting Diabetes using Deep Belief Network

บทความวิชาการ

- เฟอร์โรซีนและอนุพันธ์สำหรับการประยุกต์ใช้ทางการแพทย์ Ferrocene and Its Derivatives for Medical Applications
- ปัจจัยและแนวทางการลดการเกิดสารพอลิไซคลิกอะโรมาติกไฮโดรคาร์บอนในผลิตภัณฑ์อาหารย่างด้วยถ่าน Factors and reduction strategies of Polycyclic Aromatic Hydrocarbons (PAHs) Formation in Charcoal-Grilled Food Products

ปีที่ 2 ฉบับที่ 1 มกราคม – มิถุนายน 2566

ปีที่ 2 ฉบับที่ 1 มกราคม – มิถุนายน 2566

วารสารวิทยาศาสตร์ปริทัศน์ รับผิดชอบตีพิมพ์ผลงานทางวิชาการประเภท บทความวิจัย บทความวิชาการ ทั้งนี้บทความต้องไม่เคยตีพิมพ์ในวารสารอื่นใดมาก่อนนับจากวันที่ผู้เขียนได้ส่งบทความต้นฉบับนี้มายังกองบรรณาธิการ

วัตถุประสงค์ การจัดทำวารสารวิชาการคณะวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยี ถือเป็นภารกิจสำคัญของคณะในการส่งเสริมให้บุคลากรทั้งภายในและภายนอกหน่วยงานได้เผยแพร่ผลงานวิชาการสู่หน่วยงานภายนอกและความก้าวหน้าทางวิชาการในสาขาต่างๆ ของคณะ และยังเป็นการสร้างเครือข่ายเผยแพร่ข้อมูลทางวิชาการ ตลอดจนถ่ายทอดเทคโนโลยี ผลงานทางวิชาการในรูปแบบสื่อออนไลน์ โดยรับผิดชอบตีพิมพ์บทความวิชาการด้านวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยี โดยนำเสนอเป็นบทความวิชาการหรือบทความวิจัยที่เป็นภาษาไทยหรือภาษาอังกฤษ และกำหนดตีพิมพ์ปีละ 2 ฉบับ (มกราคม-มิถุนายน และ กรกฎาคม-ธันวาคม)

สำนักงาน กองบรรณาธิการวารสารวิทยาศาสตร์ปริทัศน์ คณะวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยี มหาวิทยาลัยราชภัฏวชิราขจรนครินทร์ อำเภอเมือง จังหวัดนครราชสีมา 96000
โทร. 09-9416-9355 <https://www2.st.pnu.ac.th/journal/index.php>
E-mail: journal_sci@pnu.ac.th

ปีที่ 2 ฉบับที่ 1 มกราคม – มิถุนายน 2566

ที่ปรึกษา	กองบรรณาธิการ
ผู้ช่วยศาสตราจารย์ ดร.จรงค์ พลาศัย	ผู้ช่วยศาสตราจารย์ ดร.นวัล ปินเหยียนิยิ
รองศาสตราจารย์ ดร.รสสุคนธ์ แสงมณี	ผู้ช่วยศาสตราจารย์ ดร.สาธิตา สมานหมาน
ศาสตราจารย์ ดร.สมปอง เตชะโต	อาจารย์ ดร.สาพิตรี นาแวน
รองศาสตราจารย์ ดร.อุปลักษณ์ มีสวัสดิ์	อาจารย์ ดร.นาริสา ปินเหยียดิง
รองศาสตราจารย์ ดร.ศิริพันธุ์ ศิริพันธุ์	อาจารย์ ดร.นนทกร ประชุมกาเยะมาต
ผู้ช่วยศาสตราจารย์ ดร.สายทอง แก้วฉาย	อาจารย์สุรลักษณ์ มะ
อาจารย์ ดร.อาสสัน ทิเล	อาจารย์ศิรินุช ด้วงสุข
ผู้ช่วยศาสตราจารย์ ดร.รักษนก ภูวพัฒน์	อาจารย์วิจิตรา เฉิดฉิม
ผู้ช่วยศาสตราจารย์ ดร.สุชาดา แสงวิมาน	
บรรณาธิการ	
ผู้ช่วยศาสตราจารย์ ดร.นรารัตน์ วัฒนาพันธ์	
ผู้ช่วยบรรณาธิการ	
อาจารย์ ดร.นุรอามาลี ตีนามอ	
อาจารย์ ดร.จิตติมา มานะการ	
อาจารย์ ดร.มนทกานต์ พิมเสน	
อาจารย์ ดร.นิกรือชง ไต้ะลือบาจิ	
กองจัดการ	
อาจารย์ ดร.อิรพิน มะแซสาอิ	นางสาวอาภรณ์ นงรัตน์
อาจารย์สิทธิเดช ชูด้วง	นางสาวรัชณี บุญเจริญ
ผู้ช่วยศาสตราจารย์ ดร.สุพจน์ แสนสุข	
อาจารย์ ดร.อิบรอฮีม ซาโยะ	
นางสาววันทนี ทองสุวรรณ	
เจ้าของ	
คณะวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยี มหาวิทยาลัย	
นราธิวาสราชนครินทร์	
กำหนดออก	
ปีละ 2 ฉบับ ดังนี้	
ฉบับที่ 1 มกราคม – มิถุนายน	
ฉบับที่ 2 กรกฎาคม – ธันวาคม	
วารสารวิทยาศาสตร์ปริติยธร มหาวิทยาลัยนราธิวาสราชนครินทร์เป็นวารสารที่มีผู้ทรงคุณวุฒิตรวจสอบเนื้อหาบทความเพื่อลงตีพิมพ์จำนวน 3 ท่านต่อบทความ และ บทความหรือข้อคิดเห็นใด ๆ ที่ปรากฏในวารสารมหาวิทยาลัยนราธิวาสราชนครินทร์ เป็นวรรณกรรมของผู้เขียน บรรณาธิการหรือมหาวิทยาลัยนราธิวาสราชนครินทร์ไม่จำเป็นต้องเห็นด้วย	

ปีที่ 2 ฉบับที่ 1 มกราคม – มิถุนายน 2566

บทบรรณาธิการ

“วารสารวิทยาศาสตร์ปริติยาธร” เป็นวารสารที่จัดทำขึ้นโดยคณะวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยี มหาวิทยาลัยนราธิวาสราชนครินทร์ ตีพิมพ์ฉบับประจำเดือนมกราคม - มิถุนายน พ.ศ. 2566 เป็นฉบับแรก ด้วยวัตถุประสงค์หลักคือ เพื่อเผยแพร่ผลงานวิชาการ งานวิจัย และนวัตกรรม ด้านวิทยาศาสตร์แขนงต่างๆ สู่หน่วยงานภายนอก และยังเป็นการสร้างเครือข่ายเผยแพร่ข้อมูลวิชาการตลอดจนถ่ายทอดเทคโนโลยี ผลงานวิชาการในรูปแบบสื่อออนไลน์ โดยในฉบับนี้มีผู้สนใจส่งบทความเพื่อตีพิมพ์เป็นจำนวน 5 เรื่อง

บรรณาธิการใคร่ขอขอบพระคุณผู้นิพนธ์ทุกท่านที่ให้ความสนใจส่งผลงานมาตีพิมพ์ในวารสารวิทยาศาสตร์ปริติยาธร ขอขอบพระคุณคณบดีคณะวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยี ตลอดจนผู้บริหารที่สนับสนุนให้มีการจัดทำวารสารขึ้น ขอขอบพระคุณที่ปรึกษาวารสารที่ช่วยให้คำแนะนำในการจัดทำวารสาร ผู้ทรงคุณวุฒิทุกท่านที่ช่วยประเมินคุณภาพของบทความ และขอขอบคุณกองบรรณาธิการทุกท่านที่ร่วมดำเนินการเพื่อให้วารสารสำเร็จลุล่วงไปด้วยดี และหวังเป็นอย่างยิ่งว่าวารสารวิทยาศาสตร์ปริติยาธรจะเป็นประโยชน์ต่อนักวิจัย นักวิชาการ ผู้อ่านและผู้ที่เกี่ยวข้องทุกท่าน

บรรณาธิการ

ปีที่ 2 ฉบับที่ 1 มกราคม – มิถุนายน 2566

สารบัญ...

บทความวิจัย	หน้าที่ Page	Research Article
<p>การสกัดและการศึกษาปริมาณเคอร์คูมินอยดในขมิ้นชัน แคปซูล</p> <p>จารุวรรณ แดงโรจน์ ฟูชาน่า มะเซ็ง แวแย สาเมาะ ศิรินุช ด้วงสุข สีหะยะ กาเร็ง อาร์วีญา ดอเลาะ ปฎิมา ไพนุพงศ์</p>	<p>1</p>	<p>Extraction and Determination of Curcuminoids in Turmeric Capsules</p> <p>Charuwan Daengrot Fuzana Maseng Waeyae Samoh Sirinut Duangsook Seeyah Kareng Arwiya Doloh Patima Phainuphong</p>
<p>การศึกษาตัวทำละลายที่เหมาะสมในการสกัดใบนางดำเพื่อ ยับยั้งการเจริญของแบคทีเรีย</p> <p>จารุวรรณ ประดับแสง สุชาดา แสงวิมาน สุพัตน์ ศรีสวัสดิ์ ไอนุน ยีปอง</p>	<p>9</p>	<p>Solvent Optimization of Pitang Leaves (Gynochthodes sublancoolata Miq.) Extraction for Bacterial Growth Inhibition Wasana Mudor</p> <p>Charuwan Pradabsang Suchada Saengwiman Supat Srisawat Inun Yipong</p>
<p>Predicting Diabetes using Deep Belief Network</p> <p>Sureeluk Ma Marusdee Yusoh Nitinun Pongsiri</p>	<p>24</p>	<p>Predicting Diabetes using Deep Belief Network</p> <p>Sureeluk Ma Marusdee Yusoh Nitinun Pongsiri</p>

ปีที่ 2 ฉบับที่ 1 มกราคม – มิถุนายน 2566

สารบัญ...

บทความวิชาการ	หน้าที่ Page	Academic article
เฟอร์โรซีนและอนุพันธ์สำหรับการประยุกต์ใช้ทางด้านการแพทย์ สุพจน์ แสนสุข กนกวรรณ ภูมิวนิชกิจ อาสสัน ทิเล	33	Ferrocene and Its Derivatives for Medical Applications Supojjane Sansook Kanokwan Phumivanichakit Aslan Hilae
ปัจจัยและแนวทางการลดการเกิดสารพอลิไซคลิกอะโรมาติกไฮโดรคาร์บอนในผลิตภัณฑ์อาหารย่างด้วยถ่าน มาดีนา น้อยทับทิม ปิยาภรณ์ วงศิริกุล อาสสัน ทิเล	44	Factors and reduction strategies of Polycyclic Aromatic Hydrocarbons (PAHs) Formation in Charcoal-Grilled Food Products Madeena Noitubtim Piyaporn Wangsirikul Aslan Hilae

การสกัดและการศึกษาปริมาณเคอร์คูมินอยด์ในขมิ้นชันแคปซูล

Extraction and Determination of Curcuminoids in Turmeric Capsules

จารุวรรณ แดงโรจน์^{1*}, พุชนา มะแข็ง¹, แวแย สามะ¹, ศิรินุช ต้วงสุข¹, สีหะ กาเร็ง²,

อาร์วีญา ดอเลาะ² และ ปัทมา ไพนุพงศ์¹

Charuwan Daengrot^{1*}, Fuzana Maseng¹, Waeyae Samoh¹, Sirinut Duangsook¹, Seeyah Kareng²,

Arwiya Doloh² and Patima Phainuphong¹

(Received: 15 May,2023 ; Revised: 1 June,2023 ; Accepted 15 June,2023)

บทคัดย่อ

งานวิจัยนี้มีวัตถุประสงค์เพื่อศึกษาปริมาณเคอร์คูมินอยด์ (Curcuminoids) จากสารสกัดหยาบชนิดต่างๆ และศึกษาปริมาณเคอร์คูมินอยด์จากขมิ้นชันแคปซูล ซึ่งองค์ประกอบทางเคมีของขมิ้นชันจะมีสารกลุ่มเคอร์คูมินอยด์เป็นสารสีเหลืองสกัดได้จากเหง้าขมิ้นชัน (*Curcuma longa* Linn.) ศึกษาปริมาณเคอร์คูมินอยด์ ด้วยเทคนิคทางสเปกโทรสโกปีโดยสารสกัดหยาบจากเมทานอลปริมาณเคอร์คูมินอยด์ ที่สูงที่สุดคือร้อยละ 62.51 รองลงมาคือ สารสกัดหยาบอะซิโตนร้อยละ 43.56 และไดคลอโรมีเทนร้อยละ 39.24 ตามลำดับ ส่วนการศึกษาปริมาณเคอร์คูมินอยด์ จากขมิ้นชันแคปซูลจำนวน 3 ยี่ห้อ พบว่า ยี่ห้อ ลังกาสูกะ มีปริมาณเคอร์คูมินอยด์ สูงที่สุดคือร้อยละ 11.50 รองลงมา คือ ยี่ห้อ อภัยภูเบศร ร้อยละ 10.39 และ อ้วยอันโอสธ ร้อยละ 9.71 ตามลำดับ

คำสำคัญ: ขมิ้นชัน ขมิ้นชันแคปซูล เคอร์คูมินอยด์ สเปกโทรสโกปี

Abstract

The purpose of this research was to study the curcuminoid content from crude extracts and determination of curcuminoids from turmeric capsules. Chemical composition of turmeric contains curcuminoids, it is a yellow substance extracted from turmeric rhizomes. Determination

¹คณะวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยี มหาวิทยาลัยราชภัฏวชิราวุธานุสรณ์

¹Faculty of Science and Technology, Princess of Naradhiwas University

²โรงพยาบาลจะนะ

²Chanae Hospital

Corresponding Author, E-mail: charuwan.d@pnu.ac.th

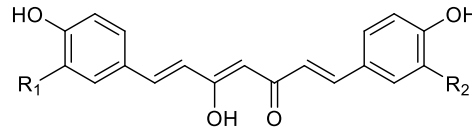
of curcuminoids by spectroscopic techniques. Crude extract from methanol, curcuminoid content was the highest at 62.51%, followed by acetone crude extract at 43.56% and dichloromethane at 39.24%, respectively whereas the study of curcuminoids from 3 brands of turmeric capsules found that Langkasuka brand, the amount of curcuminoids was the highest at 11.50%, followed by Abhaibhubejhr brand, 10.39%, and Ouay-An-Osoth brand, 9.71 %, respectively.

Keywords: turmeric, turmeric capsules, curcuminoid, spectroscopic techniques

บทนำ

ขมิ้นชัน ถือได้ว่าเป็นสมุนไพรไทยที่มีการนำมาใช้เป็นอาหาร เครื่องสำอางและยา มาเป็นเวลานาน ทั้งในประเทศไทยและต่างประเทศ ขมิ้นชันมีชื่อวิทยาศาสตร์ว่า *Curcuma longa* Linn วงศ์ Zingiberaceae ตำรายาไทยใช้เหง้ารักษาโรคผิวหนังผื่นคัน หรือรับประทานแก้ท้องอืด ท้องเฟ้อ นอกจากนี้ขมิ้นชันยังมีรายงานทางวิทยาศาสตร์ที่พบว่า มีฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระ ต้านการอักเสบ ต้านจุลินทรีย์ ต้านมาลาเรีย และต้านมะเร็งเป็นต้น (Agarwal & Sung, 2009; Sanphui, Goud, Khandavilli, Bhanoth, & Nangia, 2011) ขมิ้นชันมีสารประกอบทางเคมีที่สำคัญอยู่ 2 กลุ่มคือ น้ำมันหอมระเหย (essential oil) มีสีเหลืองอ่อน โดยส่วนใหญ่พบที่ราก (root) ร้อยละ 4.3 ร่องลมาคือ เหง้า (rhizome) ร้อยละ 3.8 ใบ (leaf) ร้อยละ 1.3 และ ดอก (flower) ร้อยละ 0.3 สารที่พบมากจากเหง้าและรากคือ turmerone ร้อยละ 31 และ 46.8 สารที่พบมากในใบคือ α -phellandrene ร้อยละ 32.6 และสารที่พบมากจากดอกคือ *p*-cymene-8-ol ร้อยละ 26 นอกจากนี้ยังมีน้ำมันหอมระเหยอื่น ๆ อีกหลายชนิด พบว่าสารส่วนใหญ่ที่พบในดอกและใบของขมิ้นชันเป็นสารกลุ่มโมโนเทอร์ปีน (monoterpene; โครงสร้างมีจำนวนคาร์บอน 10 คาร์บอน) และน้ำมันหอมระเหยที่พบจากรากและเหง้าส่วนใหญ่เป็นสารกลุ่มเซสควิเทอร์ปีน (sesquiterpene; โครงสร้างมีจำนวนคาร์บอน 15 คาร์บอน) นอกจากนี้ยังมีน้ำมันหอมระเหยชนิดอื่นอีก (Leela, Tava, Shafi, John & Chempakam, 2002) เช่น α -pinene, β -pinene, myrcene, α -terpinene, *p*-cymene, 1,8-cineol, linalool, ar-curcumene, α -zingiberene, β -bisabolene, α -turmerone, β -turmerone, curcuphenol ซึ่งแต่ละพื้นที่ที่ปลูกขมิ้นชันจะมีปริมาณของน้ำมันหอมระเหยแตกต่างกัน และพบว่าเหง้าสดจะมีปริมาณน้ำมันหอมระเหยมากกว่าเหง้าแห้ง ในเหง้าสดจะมีปริมาณน้ำมันหอมระเหยประมาณ ร้อยละ 7.87-16.14 อีกกลุ่มที่พบมากจากเหง้าของขมิ้นชัน คือเคอร์คูมินอยด์ เป็นสารสีเหลืองส้ม ประกอบด้วยสาร 3 ตัว คือ เคอร์คูมิน (curcumin) ร้อยละ 75-81 เดสเมธอกซีเคอร์คูมิน (demethoxycurcumin) ร้อยละ 15-19 และ

บิสเดสเมธอกซีเคอร์คูมิน (bisdemethoxycurcumin) ร้อยละ 2.2-6.6 โครงสร้างสารดังแสดงในภาพที่ 1 ซึ่งสารทั้งสามนี้จะมีการดูดกลืนแสงสูงสุดที่ความยาวคลื่น 420 นาโนเมตร (Li et al., 2011)



$R_1 = R_2 = \text{OCH}_3$ curcumin (C)
 $R_1 = \text{OCH}_3, R_2 = \text{H}$ demethoxycurcumin (DMC)
 $R_1 = R_2 = \text{H}$ bisdemethoxycurcumin (BDMC)

ภาพที่ 1 โครงสร้างทางเคมีของสารในกลุ่มเคอร์คูมินอยด์ที่พบในขมิ้นชัน

จากสรรพคุณเหล่านี้ทำให้ปัจจุบันนี้ได้มีการนำขมิ้นชันมาใช้เพื่อเป็นยารักษาโรคระเคาะ โรคผิวหนัง อาหารเสริม หรือใช้เป็นผลิตภัณฑ์เครื่องสำอาง แต่การที่ขมิ้นชันจะมีฤทธิ์ทางการรักษาที่ดีได้ จะต้องเป็นขมิ้นชันที่มีคุณภาพ กล่าวคือจะต้องมีปริมาณสารสำคัญในปริมาณที่กำหนดในเภสัชตำรับ ซึ่งในเภสัชตำรับของประเทศไทย (กระทรวงสาธารณสุข ตำรามาตรฐานยาสมุนไพร, 2017) ได้มีข้อกำหนดของขมิ้นชัน ว่าจะต้องมีสารกลุ่มเคอร์คูมินอยด์ไม่น้อยกว่าร้อยละ 5 และมีน้ำมันหอมระเหยไม่น้อยกว่าร้อยละ 6 ทำให้ผู้วิจัยสนใจที่จะวิเคราะห์และเปรียบเทียบปริมาณเคอร์คูมินอยด์ จากขมิ้นชันแคปซูลยี่ห้อล้งกาสุกะซึ่งเป็นผลิตภัณฑ์ของโครงการล้งกาสุกะโมเดลกับขมิ้นชันยี่ห้ออภัยภูเบศรและอ้วยอันโอสถว่ามีปริมาณเคอร์คูมินอยด์มากน้อยเพียงใด เพื่อสร้างความมั่นใจให้แก่ผู้บริโภคให้มีความเชื่อมั่นในผลิตภัณฑ์ของโครงการล้งกาสุกะโมเดลซึ่งเป็นผลิตภัณฑ์ที่ผลิตในโรงงานแปรรูปสมุนไพรโรงพยาบาลจะนะที่ได้ส่งเสริมให้ชุมชนในพื้นที่สามจังหวัดชายแดนใต้ปลูกขมิ้นชันที่มีคุณภาพสูงส่งขายให้กับโรงงานแปรรูปต่อไป

วัตถุประสงค์การวิจัย

1. เพื่อสกัดเคอร์คูมินอยด์ด้วยตัวทำละลายชนิดต่างๆ
2. เพื่อศึกษาปริมาณเคอร์คูมินอยด์จากขมิ้นชันแคปซูล

วิธีดำเนินการวิจัย

1. วัตถุดิบ สารเคมี และเครื่องมือที่ใช้ในการวิจัย

ขมิ้นชันแคปซูล 3 ยี่ห้อคือ ล้งกาสุกะ อภัยภูเบศรและอ้วยอันโอสถ, เตตระไฮโดรฟูแรน (Tetrahydrofuran A.R. grade), เฮกเซน (Hexane), ไดคลอโรมีเทน (dichloromethane A.R. grade), อะซีโตน (Acetone A.R. grade), เมทานอล (Methanol A.R. grade) สารมาตรฐาน Curcumin (merck) เครื่องวัด

การดูดกลืนแสงชนิดแบบอัลตราไวโอเล็ตและแบบแสงมองเห็น (UV-visible Spectrophotometer) เครื่องระเหยแบบหมุนภายใต้สุญญากาศ (Rotary evaporator)

2. การสกัดเคอร์คูมินอยด์ด้วยตัวทำละลายชนิดต่างๆ

การสกัดสารในการวิจัยนี้ทำการสกัดโดยวิธีการหมัก (maceration) ด้วยตัวทำละลาย 4 ชนิด ได้แก่ เฮกเซน, ไดคลอโรมีเทน, อะซิโตน และ เมทานอล ซึ่งได้ดัดแปลงวิธีการมาจาก Tewtrakul, Tansakul, Daengrot, Ponglimanont, & Karalai (2010) ดังนี้

1) ชั่งน้ำหนักผงขมิ้นชัน 140 กรัม ห่อด้วยผ้าขาวบางแล้วนำมาใส่ลงในขวดรูปชมพู่ สกัดด้วยเฮกเซน ประมาณ 500 มิลลิลิตร โดยแช่ไว้ประมาณ 2 วัน แช่เฮกเซนซ้ำ 2 รอบ

2) นำสารละลายมากรองด้วยกระดาษกรองเบอร์ 1 แล้วระเหยตัวทำละลายด้วยเครื่องกลั่นระเหยแบบหมุนภายใต้สุญญากาศได้ส่วนสกัดหยาบเฮกเซน

3) ทำการทดลองเช่นเดียวกับข้อที่ 1 และ 2 โดยเปลี่ยนตัวทำละลายเป็นไดคลอโรมีเทน อะซิโตน และเมทานอล โดยใช้ผงขมิ้นชันเดิม ได้ส่วนสกัดหยาบไดคลอโรมีเทน อะซิโตนและเมทานอลตามลำดับ

3. วิธีวิเคราะห์ปริมาณเคอร์คูมินอยด์

ในการวิจัยนี้ได้วิเคราะห์ปริมาณเคอร์คูมินอยด์ โดยใช้เคอร์คูมินเป็นสารมาตรฐานตามตำรามาตรฐานยาสมุนไพร (THP 2017) และคาตามและคณะ (Kadam, Bhingare, Nikam & Pawar, 2013) โดยมีวิธีการดังนี้

3.1 การเตรียมสารละลายมาตรฐานเคอร์คูมิน

- 1) ละลายเคอร์คูมิน 2 มิลลิกรัม ด้วยเมทานอล ในขวดวัดปริมาตร 5 มิลลิลิตร
- 2) เจือจางละลายมาตรฐานจากข้อที่ 1 มาใส่ขวดวัดปริมาตรขนาด 10 มิลลิลิตร ให้ได้ความเข้มข้น 30, 50, 100 และ 150 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร ตามลำดับ ปรับปริมาตรด้วยเมทานอล
- 3) นำสารละลายมาตรฐานทั้ง 4 ความเข้มข้นมาวัดค่าการดูดกลืนแสงที่ 420 นาโนเมตร ด้วยเครื่องวัดการดูดกลืนแสงชนิดแบบอัลตราไวโอเล็ตและแบบแสงมองเห็น (UV-visible Spectrophotometer) โดยใช้เมทานอลเป็น Blank แล้วสร้างกราฟมาตรฐานเคอร์คูมิน

3.2 การเตรียมสารตัวอย่างและการวิเคราะห์ปริมาณเคอร์คูมินอยด์

3.2.1 การเตรียมสารตัวอย่างสารสกัดขมิ้นชันจากสารสกัดหยาบเฮกเซน ไดคลอโรมีเทน อะซิโตน และเมทานอล

1) ชั่งสารสกัดหยาบแต่ละส่วน 10 มิลลิกรัม ใส่ในขวดวัดปริมาตรขนาด 10 มิลลิลิตร ละลายและปรับปริมาตรด้วยเมทานอล

2) เจือจางสารตัวอย่างโดยนำส่วนของสารละลายได้จากข้อที่ 1) มา 1 มิลลิลิตร ใส่ในขวดวัดปริมาตรขนาด 25 มิลลิลิตร แล้วปรับปริมาตรด้วยเมทานอล

3) นำสารละลายจากข้อ 2) มา 1 มิลลิลิตร ใส่ในขวดวัดปริมาตรขนาด 50 มิลลิลิตร ปรับปริมาตรด้วยเมทานอล

4) วัดค่าการดูดกลืนแสงที่ 420 นาโนเมตร เครื่องวัดการดูดกลืนแสงชนิดแบบอัลตราไวโอเล็ตและแบบแสงมองเห็น (UV-visible Spectrophotometer) โดยใช้ เมทานอลเป็น Blank คำนวณหาร้อยละของเคอร์คูมินอยด์ในตัวอย่างจากกราฟมาตรฐานของเคอร์คูมิน

3.2.2 การเตรียมสารตัวอย่างและการวิเคราะห์ปริมาณเคอร์คูมินอยด์ในไขมันชั้นแคปซูล

1) นำไขมันชั้นจากแคปซูล 3 ตัวอย่าง ตัวอย่างละ 20 แคปซูล แกะเอาผงไขมันชั้นออกมาผสมให้เข้ากัน

2) ชั่งน้ำหนักตัวอย่างละ 300 มิลลิกรัม (ทำ 3 ซ้ำ) ใส่ในขวดวัดปริมาตรขนาด 10 มิลลิลิตร ปรับปริมาตรด้วยเตตระไฮโดรฟิวแรน เขย่าให้เข้ากันที่อุณหภูมิห้อง เป็นเวลา 24 ชั่วโมง

3) เจือจางสารตัวอย่างเช่นเดียวกับข้อ 2) ถึง 4) ในตอนที่ 3.2.1

ผลการวิจัย

1. การศึกษาความสามารถในการสกัดเคอร์คูมินอยด์ด้วยตัวทำละลายชนิดต่างๆ

จากการนำผงไขมันชั้นสกัดโดยวิธีการหมักด้วยตัวทำละลาย 4 ชนิด กรองเอาส่วนที่ละลายใสแล้วนำไประเหยตัวทำละลายทิ้งด้วยเครื่องระเหยแบบหมุนภายใต้สุญญากาศจนกระทั่งได้สารสกัดหยาดข้อมูลในตารางที่ 1

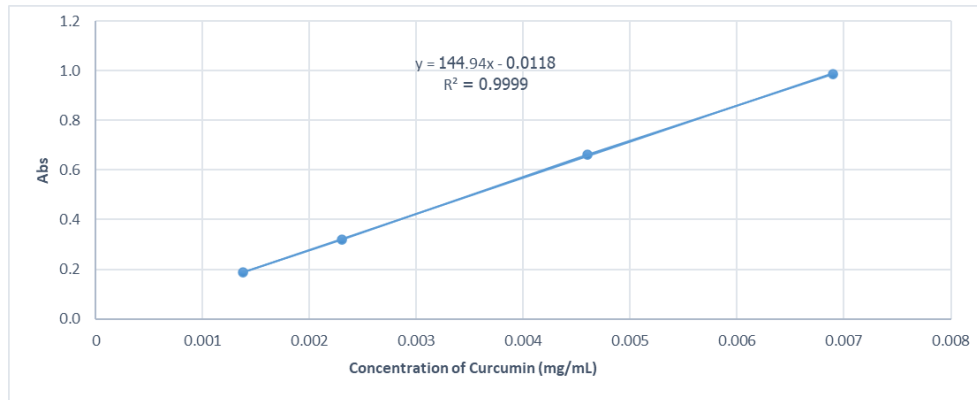
ตารางที่ 1 ปริมาณของสารสกัดหยาดที่สกัดด้วยตัวทำละลายชนิดต่าง ๆ

ตัวทำละลาย	ร้อยละของสารสกัดหยาด
เฮกเซน	0.09
ไดคลอโรมีเทน	5.35
อะซีโตน	5.97
เมทานอล	7.34

จะเห็นได้ว่าการสกัดไขมันชั้นด้วยตัวทำละลาย 4 ชนิดที่แตกต่างกันมีผลต่อปริมาณสารสกัดหยาดที่ได้ ซึ่งในการสกัดด้วยตัวทำละลายแต่ละชนิด พบว่าการสกัดด้วยเมทานอลสามารถสกัดสารได้ปริมาณสูงที่สุดคือร้อยละ 7.34 รองลงมาคืออะซีโตนร้อยละ 5.97 ไดคลอโรมีเทนร้อยละ 5.35 และต่ำสุดคือเฮกเซนร้อยละ 0.13

2. การศึกษาปริมาณเคอร์คูมินอยด์จากสารสกัดหยาดและไขมันชั้นแคปซูล

สร้างกราฟมาตรฐานเคอร์คูมินพบว่าได้กราฟเส้นตรง แสดงความสัมพันธ์ระหว่างค่าการดูดกลืนแสงกับความเข้มข้นของเคอร์คูมิน แสดงดังภาพที่ 2



ภาพที่ 2 กราฟสารมาตรฐานเคอร์คูมินวัดค่าการดูดกลืนแสงที่ 420 นาโนเมตร

จากการศึกษาในครั้งนี้พบว่า การวิเคราะห์หาปริมาณเคอร์คูมินอยด์จากสารสกัดหยาบที่ได้จากผงขมิ้นชันด้วยตัวทำละลาย 4 ชนิด คือ เฮกเซน ไดคลอโรมีเทน อะซิโตน และเมทานอล พบว่าปริมาณเคอร์คูมินอยด์ที่ได้จากสารสกัดหยาบจากตัวทำละลายทั้ง 4 ชนิดแตกต่างกันคือ ไดคลอโรมีเทนร้อยละ 39.24 อะซิโตนร้อยละ 43.56 และเมทานอลร้อยละ 62.51 ส่วนเฮกเซนมีปริมาณสารสกัดน้อยมากไม่สามารถนำสารสกัดมาวิเคราะห์ได้ ดังนั้นจะเห็นได้ว่าสารสกัดหยาบจากขมิ้นชันด้วยเมทานอลจะมีปริมาณเคอร์คูมินอยด์ที่สูงที่สุด รองลงมาคือตัวทำละลาย อะซิโตน และไดคลอโรมีเทน ตามลำดับดังข้อมูลแสดงในตารางที่ 2

ตารางที่ 2 ปริมาณเคอร์คูมินอยด์ในสารสกัดหยาบตัวอย่างขมิ้นชันแคปซูล

	สารสกัดหยาบ			ตัวอย่างขมิ้นชันแคปซูลหือ		
	ไดคลอโรมีเทน	อะซิโตน	เมทานอล	ลังกาสุกะ	อภัยภูเบศร	อ้วยอันโอสถ
ร้อยละของเคอร์คูมินอยด์	39.24	43.56	62.51	11.50	10.39	9.71

อภิปรายผลการวิจัย

จากการสกัดขมิ้นชันด้วยตัวทำละลาย 4 ชนิดซึ่งให้ผลที่สอดคล้องกับงานวิจัยของ (Kulkarni et al., 2017) โดยสกัดสารด้วยตัวทำละลายชนิดต่างๆ คือ คลอโรฟอร์ม, เมทานอล, เอธิลอะซิเตตและอะซิโตน พบว่าได้สารสกัดหยาบมากที่สุดเมื่อสกัดตัวเมทานอล ร้อยละ 5.6 เช่นเดียวกันกับการศึกษาของ (Nabati et al., 2014) ที่ได้ศึกษาการแยกและลักษณะเฉพาะของ curcumin จากขมิ้นที่มีขายในตลาดเมือง เมราเกสประเทศอิหร่าน โดยวิธีที่หลากหลายพบว่า การสกัดด้วยวิธี ซอกเลตโดยใช้เมทานอลเป็นตัวทำละลายให้เคอร์คูมินอยด์ออก

มามากที่สุด ในขณะที่ (Revathy et al., 2011) พบว่าอะซิโตนก็สามารถสกัดสารเคอร์คูมินได้ดีเช่นเดียวกันแต่ประสิทธิภาพในการสกัดจะน้อยกว่าเมทานอล

จากผลการวิเคราะห์ปริมาณเคอร์คูมินอยด์เข้มข้นแคปซูลทั้ง 3 ยี่ห้อพบว่า ยี่ห้อล้งกาสุกะ มีปริมาณเคอร์คูมินอยด์สูงสุดที่สุด คือร้อยละ 11.50 รองลงมา คือ ยี่ห้อภักย์ภูเบศร ร้อยละ 10.39 และอ้วยอันโอสธ ร้อยละ 9.71 ตามลำดับ ซึ่งทั้ง 3 ยี่ห้อปริมาณเคอร์คูมินอยด์สูงกว่าค่ามาตรฐานที่กำหนดไว้ในตำรามาตรฐานยาสมุนไพรคือ ร้อยละ 5 (กระทรวงสาธารณสุข ตำรามาตรฐานยาสมุนไพร, 2017) แสดงให้เห็นว่าเข้มข้นแคปซูลจากโครงการล้งกาสุกะโมเดลเป็นผลิตภัณฑ์ที่มีปริมาณสารสำคัญตามที่มาตรฐานกำหนด

สรุปผล

จากการศึกษาในครั้งนี้พบว่าสารสกัดหยาบจากเมทานอลให้ปริมาณเคอร์คูมินอยด์ที่สูงที่สุดคือร้อยละ 62.51 รองลงมาคือสารสกัดหยาบอะซิโตนร้อยละ 43.56 และไตรคลอโรมีเทนร้อยละ 39.24 ตามลำดับ ส่วนการศึกษาปริมาณเคอร์คูมินอยด์จากเข้มข้นแคปซูลจำนวน 3 ยี่ห้อ พบว่า ยี่ห้อล้งกาสุกะ มีปริมาณเคอร์คูมินอยด์สูงสุดที่สุด คือร้อยละ 11.50 รองลงมา คือ ยี่ห้อภักย์ภูเบศร ร้อยละ 10.39 และอ้วยอันโอสธ ร้อยละ 9.71 ตามลำดับ

กิตติกรรมประกาศ

ขอขอบคุณ ศ.ดร.กฤษณา ไกรสินธุ์ ประธานมูลนิธิกฤษณา ไกรสินธุ์ และ ผศ.ดร.สิริรัศมี ปิ่นสุวรรณ คณะเภสัชศาสตร์ มหาวิทยาลัยสงขลานครินทร์ สำหรับคำแนะนำให้คำปรึกษาและความอนุเคราะห์สารมาตรฐานและสารเคมีบางส่วนสำหรับทำวิจัยทำให้โครงการสามารถดำเนินไปได้อย่างดียิ่ง

อ้างอิง

- กระทรวงสาธารณสุข ตำรามาตรฐานยาสมุนไพร, (2017). การวิเคราะห์ เคอร์คูมิน ด้วยวิธีการวัดค่าการดูดกลืนแสง ด้วยเครื่อง UV-visible Spectrophotometer, 136, 135-145.
- Agarwal, BB., & Sung, B. (2009). Pharmacological basis for the role of curcumin in chronic diseases: an age-old spice with modern targets. *Trends in Pharmacological Sciences*, 30, 85-94.

- Kadam, P. V., Bhingare, C. L., Nikam, R. Y., & Pawar, S. A. (2013). Development and validation of UV Spectrophotometric method for the estimation of Curcumin in cream formulation. *Pharmaceutical Methods*, 4(2), 43–45.
- Kulkarni, S.J., Maske, K.N., Budre M.P., & Mahajan, R.P. (2017). Extraction and purification of curcuminoids from Turmeric (*Curcuma longa* L.). *International Journal of Pharmacology and Pharmaceutical Technology*, 1(2), 81-84.
- Leela, NK., Tava A., Shafi PM., John HP., & Chempakam B. (2002). Chemical composition of essential oils turmeric (*Curcuma longa* L.). *Acta Pharmaceutica*, 52, 137-141.
- Li, S., Yuan, W., Deng, G., Wang, P., Yang P., & Aggarwal B. B. (2011). Chemical Composition and Product Quality Control of Turmeric (*Curcuma longa* L.). *Pharmaceutical Crops*, 2, 28-54.
- Nabati, M., Mahkam, M., & Heidari, H. (2014). Isolation and characterization of curcumin from powdered rhizomes of turmeric plant marketed in Maragheh city of Iran with soxhlet technique. *Iranian Chemical Communication*, 2, 236-243.
- Revathy, S., Elumalai, S., Benny, M., & Antony, B. (2011). Isolation, Purification and Identification of Curcuminoids from Turmeric (*Curcuma longa* L.) by Column Chromatography *Journal of Experimental Sciences*, 2(7), 21-25.
- Sanphui P., Goud NR., Khandavilli UBR., Bhanoth S., & Nangia A. (2011). New polymorphs of curcumin. *Chemical Communications*, 47, 5013-5015.
- Tewtrakul, S., Tansakul, P., Daengrot, C., Ponglimanont, C., & Karalai, C. (2010). Anti-inflammatory principles from *Heritiera littoralis* bark. *Phytomedicine*, 17, 851-855.

การศึกษาตัวทำละลายที่เหมาะสมในการสกัดใบนางดำ เพื่อยับยั้งการเจริญของแบคทีเรีย

Solvent Optimization of Pitang Leaves (*Gynochthodes sublanceolata* Miq.) Extraction for Bacterial Growth Inhibition

จารุวรรณ ประดับแสง^{1*}, สุชาดา แสงวิมาน¹, สุพัฒน์ ศรีสวัสดิ์², และไอนุน ยีปอง¹

Charuwan Pradabsang^{1*}, Suchada Saengwiman¹, Supat Srisawat², and Inun Yipong¹

(Received: 15 May,2023 ; Revised: 1 June,2023 ; Accepted 15 June,2023)

บทคัดย่อ

ย่านนางดำหรือปีแแต่ (*Gynochthodes sublanceolata* Miq.) เป็นพืชสมุนไพรที่พบได้ในภาคใต้ของประเทศไทย ส่วนใหญ่นำมาใช้เป็นสัผสมอาหารที่ได้จากธรรมชาติ ฤทธิ์ทางเภสัชวิทยาของพืชชนิดนี้มีความน่าสนใจจึงควรมีการศึกษาเพิ่มเติม วัตถุประสงค์ในการศึกษานี้คือเพื่อเปรียบเทียบตัวทำละลายที่เหมาะสมในการสกัดใบนางดำและทดสอบฤทธิ์ยับยั้งแบคทีเรีย ตัวทำละลายที่ใช้สกัดในการทดลองนี้ คือ น้ำ เอทานอล อะซิโตน และเอทิลอะซิเตต พบว่า ค่าร้อยละของผลผลิต (%yield) ของสารสกัดอยู่ในช่วงระหว่าง 1.14 ถึง 3.2 โดยสารสกัดจากตัวทำละลายน้ำมีค่า %yield สูงที่สุด คือ 3.2 เมื่อนำสารสกัดมาทดสอบฤทธิ์ยับยั้งแบคทีเรีย โดยใช้วิธี disc diffusion พบว่าตัวทำละลายที่เหมาะสมในการสกัดใบนางดำ คือ อะซิโตน มีค่าเฉลี่ยวงใสของการยับยั้ง *Bacillus subtilis* ATCC 6051 เท่ากับ 10.00 ± 0.667 มิลลิเมตร และของ *Staphylococcus aureus* ATCC 6538P เท่ากับ 6.90 ± 0.875 มิลลิเมตร ตามลำดับ ดังนั้นสารสกัดจากตัวทำละลายอะซิโตนของใบนางดำสามารถยับยั้งแบคทีเรียแกรมบวกได้ดีกว่าตัวทำละลายอื่น อย่างไรก็ตามตามสมุนไพรชนิดนี้ต้องมีการศึกษาคุณสมบัติทางเภสัชวิทยาต่อไป เช่น ฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระ และความเป็นพิษในสิ่งมีชีวิต

¹ คณะวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยี มหาวิทยาลัยนราธิวาสราชนครินทร์

² คณะแพทยศาสตร์ มหาวิทยาลัยนราธิวาสราชนครินทร์

¹ Science and Technology Princess of Naradhiwas University

² Medicine Princess of Naradhiwas University

*Corresponding Author, E-mail: charuwan.p@pnu.ac.th

คำสำคัญ: ใบนางดำ ตัวทำละลาย การสกัด คุณสมบัติการต้านเชื้อแบคทีเรีย

Abstract

Nang dam or Pitang (*Gynochthodes sublanceolata* Miq.) is a medicinal plant, found in southern Thailand. The leaves are mostly used as a natural food coloring agent and the studies on the pharmacological properties of this plant are needed. The aim of this study was to compare the effectiveness of solvents used for extracting Nang dam leaves and investigate their antibacterial activity. Water, ethanol, acetone, and ethyl acetate were used to extract the leaves. The extraction yield of the crude ranged from 1.14 to 3.2. The highest yield was found in the water-soluble extract (3.2%). However, acetone-soluble extract rendered the highest antibacterial activity using the disc diffusion method, this concluded that acetone was the suitable solvent for extracting Nang dam leaves. The average inhibition zone for *Bacillus subtilis* ATCC 6051 was 10.00 ± 0.667 mm, and *Staphylococcus aureus* ATCC 6538P was 6.90 ± 0.875 mm, respectively. Therefore, the acetone extract of Nang dam leaves inhibited Gram-positive bacteria more effective than other solvents. However, its pharmacological properties, such as antioxidant activity and toxicity in living organisms required further studies.

Keywords: Pitang leaves, Solvent, Extraction, Antibacterial property

บทนำ

พืชพรรณธรรมชาติในสามจังหวัดชายแดนใต้มีความหลากหลายของสายพันธุ์ทำให้ประชาชนรู้จักการนำพืชเหล่านี้มาใช้ประโยชน์อย่างกว้างขวาง เช่น เป็นอาหาร สร้างที่อยู่อาศัย และใช้เป็นยารักษาโรค รวมทั้งพืชสมุนไพรบางชนิดถูกนำมาใช้รักษาบาดแผลและยั้งเชื้อแบคทีเรีย แต่ยังไม่มีการศึกษาทางจุลชีววิทยาถึงประสิทธิภาพของการออกฤทธิ์ของสมุนไพรในการยับยั้งเชื้อจุลินทรีย์มากนัก จากการวิจัยพบว่าปัจจุบันสามจังหวัดชายแดนภาคใต้นิยมใช้สมุนไพรในการรักษาโรคมามากถึงร้อยละ 73.8 และรู้จักการนำสมุนไพรมาใช้

หลากหลายประมาณ 44 ชนิด เพื่อรักษาโรคและกลุ่มอาการต่างๆ ซึ่งสอดคล้องกับการศึกษาในภูมิภาคอื่นๆ ในประเทศไทย (อรุณพร และคณะ, 2543; เกศริน, 2544; พิสิษฐ์, 2552) พืชพรรณประจำถิ่นที่นำมาใช้รักษาโรคแตกต่างกันไปตามแต่ละพื้นที่ โดยมากการใช้สมุนไพรในการรักษาโรคนำมาใช้รักษาโรคหรือกลุ่มอาการพื้นฐานที่ประสบอยู่เป็นประจำ

พืชใบย่านางดำ (Pitang leaves) หรือใบพันสมอเป็นพืชที่อยู่ในวงศ์ Rubiaceae มีชื่อทางวิทยาศาสตร์ *Gynochthodes sublanceolata* Miq. เป็นไม้ลำต้นเกลียวเลื้อยตามต้นไม้และดิน ส่วนใหญ่พบมากทางภาคใต้โดยเฉพาะในสามจังหวัดชายแดนภาคใต้ และปัจจุบันประชาชนในสามจังหวัดชายแดนภาคใต้จะใช้ใบย่านางดำมาทำเป็นสัสมอาหารโดยเฉพาะนำมาใช้เป็นสีของข้าวยา เพราะในใบย่านางดำมีส่วนประกอบของสารสีม่วง หรือสารแอนโทไซยานิน (Anthocyanin) ดังรูปที่ 1 ต้นนางดำ และรูปที่ 2 ใบและผลของนางดำ จากการศึกษาพบว่าใบย่านางดำมีสารต้านอนุมูลอิสระและพฤกษศาสตร์เคมี เช่น แอนโทไซยานิน ฟลาโวนอยด์ อัลคาลอยด์ ไกลโคไซด์ ซาโปนิน กรดไขมัน และกรดอะมิโน โดยเฉพาะสารแอนโทไซยานินที่พบในพืชชนิดนี้มีปริมาณมาก รวมทั้งสารแอนโทไซยานินมีคุณสมบัติเป็นสารรงควัตถุ (Pigment) ที่สามารถให้สีแดง สีม่วงและสีน้ำเงิน ใช้เป็นสารให้สี (Coloring agent) พบในพืชทั้งในดอกและผลของผักและผลไม้ (Adisakwattana *et al.*, 2020) โดยตัวทำละลายที่ใช้ในการสกัดแอนโทไซยานิน ได้แก่ น้ำ เอทานอล เมทานอลและ อะซีโตน โครงสร้างของแอนโทไซยานินเป็นสารประกอบกลุ่ม ฟลาโวนอยด์ (Flavonoids) โดยประกอบด้วย 3 ส่วน ได้แก่ อะไกลโคน (Aglycone) น้ำตาล (Sugar) และหมู่เอซิล (Acyl group) แอนโทไซยานินมีโครงสร้างหลักเป็น anthocyanidins หรือเรียกว่า aglycone โดยมีคาร์บอนทั้งหมด 15 อะตอม โครงสร้างพื้นฐานเป็นแบบ C6-C3-C6 คือ glycoside ของ 2-phenyl benzopyrylium หรือ flavylium cation (Fang, Haider, Pervaiz & Songtao, 2017) เชื่อมต่อกัน โดยมีอยู่ประมาณ 6 ชนิด ที่จะเจอบ่อยในพืช ได้แก่ เดลฟินิดิน (Delphinidin) ไซยานิดิน (Cyanidin) เพทูนิดิน (Petunidin) เพลาโกนิดิน (Pelargonidin) พีโอนิดิน (Peonidin) และมอลวิดิดิน (Malvidin) (Promyos *et al.*, 2020) แอนโทไซยานินสามารถแบ่งได้เป็น 2 ประเภทใหญ่ๆ คือ นอนอะซิลเลตเทด แอนโทไซยานิน (Non-acylated anthocyanin) และอะซิลเลตเทด แอนโทไซยานิน (Acylated anthocyanin) นอกจากนี้ประโยชน์ของแอนโทไซยานินจัดเป็นพืชที่มีสารต้านอนุมูลอิสระ (Antioxidant) โดยช่วยลดความเสี่ยงต่อการเกิดโรคหลอดเลือดหัวใจอุดตัน โรคเบาหวาน โรคมะเร็งชนิดนี้เองก็มีฤทธิ์ช่วยเสริมให้ร่างกายต่อต้านเชื้อโรค สมานแผล เสริมภูมิคุ้มกันในร่างกายให้ดีขึ้น รวมทั้งสามารถยับยั้งเชื้อแบคทีเรีย (Bacteria) ในระบบทางเดินอาหาร ซึ่งเป็นสาเหตุของโรคท้องร่วง และอาหารเป็นพิษ (Hagiwara *et al.*, 2001; Pradabsang, Saengwiman, Srisawat & Srichuay, 2015) จากงานวิจัยพบว่าวิธีการสกัดด้วยตัวดูดซับของแข็ง (Solid Phase Extraction)

เป็นวิธีที่นิยมใช้ในการทำให้แอนโทไซยานินบริสุทธิ์ โดยการวิเคราะห์ปริมาณแอนโทไซยานินสามารถแบ่งเป็น 2 แบบ คือ การวิเคราะห์ปริมาณแอนโทไซยานินทั้งหมด เช่น วิธีพีเอช-ดิฟเฟอเรนเชียล (pH-Differential) ด้วยสเปกโตรมิเตอร์และการวิเคราะห์ชนิดและปริมาณของแอนโทไซยานิน โดยใช้เครื่อง โครมาโทกราฟีของเหลวสมรรถนะสูง (High Performance Liquid Chromatography) การย่อยด้วยกรด และการย่อยด้วยด่างหรือการใช้แมสสเปกโตรมิเตอร์เป็นเทคนิคที่ใช้ร่วมกับเครื่อง HPLC เพื่อการวิเคราะห์แอนโทไซยานินที่ไม่ทราบชนิด (กรกต สุกานดา และ คณิต, 2555) นอกจากนี้การวิเคราะห์ชนิดและปริมาณของแอนโทไซยานินโดยใช้วิธี HPLC จะอาศัยความมีขั้วของสารแอนโทไซยานินในการแยก โดยใช้วิธี reverse—phase HPLC จะแยกตามความเป็นขั้วได้แก่ delphinidin < cyaniding < Petunidin < Pelargonidin < Peonidin < Malvidin (สำนักหอสมุดและศูนย์สารสนเทศวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยี, 2553)



รูปที่ 1 ลักษณะต้นของย่านางดำ (*G. sublanceolata* Miq., Pitang)



รูปที่ 2 ลักษณะใบและผลของย่านางดำ (*G. sublanceolata* Miq., Pitang)

ปัจจุบันเชื้อแบคทีเรียที่ก่อให้เกิดโรคมะเร็งหลายชนิดสามารถพบได้ทั้งในดิน น้ำและอากาศ ตัวอย่างเชื้อแบคทีเรียที่เป็นสาเหตุสำคัญที่ทำให้ก่อโรค ได้แก่ *E. coli* เป็นแบคทีเรียแกรมลบ ลักษณะเป็นแท่ง (Rod) อยู่ใน Family *Enterobacteriaceae* สามารถพบได้ในลำไส้ของมนุษย์และสัตว์เลี้ยงลูกด้วยนมเกือบทุกชนิด นอกจากนี้ยังเป็น

เชื้อประจำถิ่นในระบบทางเดินอาหารที่ก่อให้เกิดโรคอุจจาระร่วง และโรคติดเชื้อในระบบทางเดินปัสสาวะสามารถติดต่อได้ทางอาหาร โดยมีการกระจายเชื้อผ่านมือที่ปนเปื้อนแมลงสาบและแมลงวัน (มาลัย, 2545) ส่วน *S. aureus* เป็นแบคทีเรียแกรมบวก รูปร่างกลม (Cocci) โดยอยู่รวมกันเป็นกลุ่มคล้ายพวงองุ่น ต้องการอากาศในการเติบโต (Aerobic) และไม่สร้างสปอร์ นอกจากนี้ *S. aureus* เป็นเชื้อก่อโรคที่สำคัญ มีการเพิ่มจำนวนในบาดแผลซึ่งเป็นสาเหตุของการเกิดฝีหนอง รวมทั้งเป็นเชื้อฉวยโอกาสในผู้ป่วยที่มีร่างกายอ่อนแอทำให้เกิดโรคปอดบวมที่ทำให้มีอัตราการเสียชีวิตสูงถึงร้อยละ 50 (นิติพงษ์ และเอกชัย, 2554) ส่วน *B. subtilis* เป็นแบคทีเรียแกรมบวก รูปร่างแท่ง (Rod) สามารถสร้างสปอร์ โดยเป็นตัวแทนของเชื้อที่ก่อให้เกิดอาการคออักเสบ ปวดท้องอย่างรุนแรง มีไข้ อาเจียน ท้องเสียเป็นเลือด และซ็อก มีอัตราการตายสูง (นงลักษณ์, 2547)

งานวิจัยนี้เป็นงานวิจัยที่ต้องการศึกษาสารออกฤทธิ์เพื่อยับยั้งแบคทีเรียในสมุนไพรท้องถิ่นที่นิยมใช้ในสามจังหวัดชายแดนภาคใต้ เพื่อทราบถึงคุณสมบัติ การออกฤทธิ์ และเป็นแนวทางในการใช้พืชสมุนไพรที่ถูกต้องและเพิ่มมูลค่าของพืชสมุนไพรท้องถิ่นในสามจังหวัดชายแดนภาคใต้เหล่านี้ต่อไปในอนาคต

วัตถุประสงค์การวิจัย

1. เพื่อศึกษาการออกฤทธิ์ของตัวทำละลาย 4 ชนิด คือ น้ำ เอทานอล อะซิโตน และเอทิลอะซิ-เตทที่เหมาะสมในการสกัดใบนางดำ
2. เพื่อศึกษาความสามารถของสารสกัดหยาบจากใบนางดำในการยับยั้งการเจริญของแบคทีเรีย โดยใช้แบคทีเรีย 3 ชนิด ได้แก่ *B. subtilis* ATCC 6051, *E. coli* ATCC 25922 และ *S. aureus* ATCC 6538P

วิธีดำเนินการวิจัย

1. สมุนไพรที่ใช้ในงานวิจัย

ใบนางดำ เก็บจากตำบลยี่งอ อำเภอยี่งอ จังหวัดนราธิวาส ในช่วงเดือนพฤษภาคมถึงมิถุนายน โดยวิธีการเด็ดใบไม่แก่หรืออ่อนเกินไป รวมทั้งใบต้องไม่เป็นโรค

2. การสกัดสารจากใบนางดำ

2.1 การสกัดด้วยน้ำ

นำใบนางดำมาล้างให้สะอาดผึ่งให้แห้ง และนำมาหั่นเป็นชิ้นเล็กๆ จากนั้นชั่ง 50 กรัม ใส่ใน ปีกเกอร์ปริมาตร 500 มิลลิลิตร จากนั้นเติมน้ำปริมาตร 250 มิลลิลิตรในปีกเกอร์ นำมาต้มที่อุณหภูมิ 60 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 30 นาที นำมากรองด้วยเครื่องกรองสุญญากาศ ผ่านกระดาษกรอง Whatman เบอร์ 4 สารสกัดที่ได้นำมาระเหยตัวทำละลายออกโดยใช้เครื่องระเหยสุญญากาศ (Rotary evaporator) เมื่อได้สารสกัดนำไป แช่แข็งที่อุณหภูมิ -20 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 24 ชั่วโมง จากนั้นนำมาทำให้แห้งอีกครั้งด้วยเครื่องระเหยแห้ง แบบเยือกแข็ง (Freeze dry) จะได้สารสกัดหยาบ ชั่งน้ำหนักของสารที่สกัดได้มาคำนวณหาร้อยละของผลผลิต (%yield)

2.2 การสกัดด้วยตัวทำละลาย

นำใบนางดำมาล้างให้สะอาดผึ่งให้แห้ง และนำมาหั่นเป็นชิ้นเล็กๆ อบแห้งด้วยเครื่องอบลม ร้อน (Hot air oven) ที่อุณหภูมิ 60 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 24 ชั่วโมง จากนั้นนำใบนางดำที่อบแห้งมาชั่ง น้ำหนัก 50 กรัม ใส่ลงในขวดรูปชมพู่ (Flask) ปริมาตร 500 มิลลิลิตร เติมตัวทำละลายคือ เอทานอล 95% อะซิ โตน และเอทิลอะซิเตท ปริมาตร 250 มิลลิลิตร ลงในขวดวัดปริมาตรปิดฝาให้สนิทด้วยกระดาษฟอยล์ (Foil) ตั้ง ทิ้งไว้พร้อมเขย่าบนเครื่องเขย่าเป็นเวลา 24 ชั่วโมง เมื่อครบกำหนดนำไปกรองแยกสารสกัดหยาบโดยใช้เครื่อง กรองสุญญากาศโดยผ่านกระดาษกรอง Whatman เบอร์ 4 จากนั้นนำสารที่สกัดได้มาระเหยตัวทำละลายออก โดยใช้เครื่องระเหยสุญญากาศ (Rotary evaporator) เมื่อได้สารสกัดนำไปแช่แข็งที่อุณหภูมิ -20 องศาเซลเซียส นาน 24 ชั่วโมง ทำให้แห้งอีกครั้งด้วยเครื่องระเหยแห้งแบบเยือกแข็ง (Freeze dry) ชั่งน้ำหนักของสารที่สกัดได้มา คำนวณหาร้อยละของผลผลิต (%yield)

3. การทดสอบฤทธิ์ต้านแบคทีเรีย

3.1 ขั้นตอนการเตรียมเชื้อ

นำเข็มเย็บเชื้อแบบห่วง (Loop) สก๊อบเพื่อฆ่าเชื้อ นำไปแช่เชื้อทั้ง 3 ชนิดจากหลอดเก็บเชื้อ คือ *B. subtilis* ATCC 6051, *E. coli* ATCC 25922, *S. aureus* ATCC 6538P แล้วนำมาลากหรือขีด (Streak) ลงบนจานเพาะเชื้อที่มีอาหาร NA เชื้อละ 2 จาน โดยในการขีดทุกแนวควรเปลี่ยน Loop ที่ใช้หรือมีการเผาไฟทุก ครั้งเพื่อฆ่าเชื้อที่มากเกินไป จากนั้นนำไปบ่มเพาะเชื้อที่อุณหภูมิ 35 ± 2 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 24 ชั่วโมง เลือก โคลนินของแบคทีเรียแต่ละชนิด จำนวน 1 โคลนิน ใช้เข็มเย็บเชื้อแบบปลายแหลมเลือกแต่ละส่วนบนของโคลนิน ใส่ใน อาหารเพาะเชื้อ NB นำไปบ่มที่อุณหภูมิ 35 ± 2 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 24 ชั่วโมง เพื่อเพิ่มปริมาณเชื้อ

3.2 การทดสอบฤทธิ์ต้านแบคทีเรีย

นำเชื้อที่เลี้ยงในอาหาร NB มาทำการเจือจางตั้งแต่ความเจือจางเข้มข้น 10^{-1} ถึง 10^{-7} CFU/ml จากนั้นนำเชื้อที่ dilution ที่ความเข้มข้น 10^{-7} CFU/ml ดูดมาปริมาณ 0.1 มิลลิลิตร ในอาหารเหลว NB มาใส่ในอาหาร NA จากนั้นทำการป้ายเชื้อ (Swab) โดยใช้สำลีพันปลายไม้ที่มีเชื้อแบคทีเรียลงบนจานเพาะเลี้ยง โดยทำเชื้อละ 10 จาน (3 ซ้ำ) ซึ่งสารสกัดที่สกัดจากแต่ละตัวทำละลายมาอย่างละ 0.1 กรัม ใส่ในหลอดทดลอง จากนั้นนำไปละลายด้วย Dimethyl sulfoxide (DMSO) ในปริมาณ 500 ไมโครลิตร แล้วดูดมาปริมาณ 20 ไมโครลิตร ลงในดิสก์ยา นำไปวางบนอาหารที่ทำการ swab เชื้อและนำไปบ่มที่ตู้บ่มเชื้อ (Incubator) อุณหภูมิ 35 ± 2 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 24-48 ชั่วโมง ทำการวัดขนาดความกว้างของบริเวณใสที่เกิดขึ้นรอบดิสก์ยา (Clear zone)

3.3 การวิเคราะห์ทางสถิติ





ทำการวิเคราะห์ข้อมูลทางสถิติโดยใช้โปรแกรม SPSS 16.0 ในการวิเคราะห์ Independent-Samples T-test และ One-way ANOVA

ผลการวิจัย

1. ลักษณะ และร้อยละของผลผลิต (%yield) ของสารสกัดหยาบไบนางดำในตัวทำละลายแต่ละชนิด

การสกัดหยาบจากไบนางดำด้วยตัวทำละลาย น้ำ เอทานอล อะซิโตน และเอทิลอะซิเตด ในอัตราส่วนไบนางดำต่อตัวทำละลายเท่ากับ 1 ต่อ 5 ใช้เวลาในการสกัด 24 ชั่วโมง เมื่อผ่านเครื่อง Freeze dry จะได้สารสกัดหยาบที่มีลักษณะแตกต่างกัน คือ สารสกัดด้วยตัวทำละลายน้ำให้ลักษณะเป็นผงมีสีเทา สารสกัดด้วยตัวทำละลายเอทานอลให้ลักษณะเป็นผงสีเขียวเข้ม สารสกัดด้วยตัวทำละลายอะซิโตนให้ลักษณะเป็นผงสีเขียวเข้มอมเหลือง และสารสกัดด้วยตัวทำละลายเอทิลอะซิเตดให้ลักษณะเป็นผงสีเขียวอ่อน หลังจากซึ่งสารสกัดไบนางดำจากตัวทำละลายแต่ละชนิดแล้วนำค่าที่ได้ไปคิดร้อยละของผลผลิต (%yield) พบว่า สารสกัดหยาบที่ใช้ตัวทำละลายแต่ละชนิดมีค่า %yield อยู่ในช่วงระหว่าง 3.20-1.14 โดยสารสกัดที่สกัดด้วยตัวทำละลายน้ำจะให้ค่า %yield สูงสุด คือ 3.20 รองลงมา คือสารสกัดด้วยตัวทำละลายเอทิลอะซิเตด 1.32 สารสกัดด้วยตัวทำละลายเอทานอล 1.24 และสารสกัดด้วยตัวทำละลายอะซิโตน ต่ำสุด คือ 1.14 ตามลำดับ ดังแสดงในตารางที่ 1

ตารางที่ 1 ลักษณะสีและร้อยละของผลผลิต (%yield) ของสารสกัดใบนางดำและตัวทำละลายแต่ละชนิด

สมุนไพร	ตัวทำละลาย	ลักษณะและสีของสารสกัดหยาบ	%yield
ใบนางดำ	น้ำ	 ผงสีเทา	3.20
	เอทานอล	 ผงสีเขียวเข้ม	1.24
	อะซิโตน	 ผงเขียวเข้มอมเหลือง	1.14
	เอทิลอะซิเตต	 ผงเขียวอ่อน	1.32

2.ฤทธิ์ยับยั้งเชื้อแบคทีเรียของสารสกัดใบนางดำในตัวทำละลายต่างๆ

การทดสอบความสามารถในการยับยั้งแบคทีเรียของสารสกัดด้วยตัวทำละลายน้ำ เอทานอล อะซิโตน และเอทิลอะซิเตต จากใบนางดำ โดยทดสอบการยับยั้งเชื้อแบคทีเรีย 3 ชนิดคือ *B. subtilis* ATCC 6051, *E. coli* ATCC 25922, *S. aureus* ATCC 6538P ด้วยวิธี Agar disc diffusion พบว่าสารสกัดด้วยตัวทำละลายอะซิโตนสามารถยับยั้ง *B. subtilis* ATCC 6051 และ *S. aureus* ATCC 6538P ได้ดีที่สุด คือ 10.00 ± 0.667 มิลลิเมตร และ 6.90 ± 0.875 มิลลิเมตร ตามลำดับ รองลงมาคือสารสกัดจากตัวทำละลายเอทิลอะซิเตตที่สามารถยับยั้ง *B. subtilis* ATCC 6051, *S. aureus* ATCC 6538P เช่นเดียวกันคือ 8.90 ± 0.568 มิลลิเมตร และ 5.80 ± 0.632 มิลลิเมตร ตามลำดับ ส่วนสารสกัดจากตัวทำละลายเอทานอล และน้ำ สามารถยับยั้ง *B. subtilis* ATCC 6051 ได้เพียงชนิดเดียว คือ 7.40 ± 0.516 มิลลิเมตร และ 6.80 ± 0.919 มิลลิเมตร ตามลำดับ ส่วน *E. coli*

ATCC 25922 ไม่มีสารสกัดจากตัวทำละลายชนิดใดสามารถยับยั้งเชื้อดังกล่าวได้ ดังนั้นพืชสมุนไพรบางชนิดมีขีดจำกัด เช่น สารเมือก (Polysaccharide) ทำให้พืชที่สกัดมีความหนืด และเป็นอุปสรรคต่อการสกัด ดังนั้นตัวทำละลายที่มีลักษณะแตกต่างกันขึ้นอยู่กับชนิดและส่วนต่างๆ ของพืชด้วย

ตารางที่ 2 ฤทธิ์ยับยั้งเชื้อแบคทีเรียของสารสกัดใบนางคำในตัวทำละลายต่างๆ

สมุนไพร	ตัวทำละลายที่ใช้ในการสกัด	ค่าเฉลี่ยของการยับยั้งแบคทีเรีย (มิลลิเมตร)			หมายเหตุ
		<i>B. subtilis</i>	<i>S. aureus</i>	<i>E. coli</i>	
		ATCC 6051	ATCC 6538P	ATCC 25922	
ใบนางคำ	น้ำ	6.80±0.919	-	-	ชัดเจน
	เอทานอล	7.40±0.516	-	-	เส้นผ่าศูนย์กลาง
	อะซิโตน	10.00±0.667	6.90±0.875	-	นัยก
	เอทิลอะซิเตต	8.90±0.568	5.80±0.632	-	กลาง
	Control (H ₂ O)	-	-	-	ของ
	Control (Ethanol)	-	-	-	ดิสก์
	DMSO	-	-	-	ยา

0.5 มิลลิเมตร, - คือ ไม่มีการเกิดวงใสการยับยั้งเชื้อ

แสดงค่าเฉลี่ย ± ส่วนเบี่ยงเบนมาตรฐาน (mean ± S.D. , n=10)

จากตารางที่ 3 พบว่าขนาดเส้นผ่าศูนย์กลางวงใสการยับยั้งแบคทีเรีย *B. subtilis* ATCC 6051 ของสารสกัดหยาบจากอะซิโตน และเอทิลอะซิเตต มีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติที่ระดับความเชื่อมั่น 95% ($P < 0.05$)

ตารางที่ 3 ค่าเฉลี่ยขนาดเส้นผ่าศูนย์กลางวงใสการยับยั้งเชื้อแบคทีเรีย *B. subtilis* ATCC 6051 ของสารสกัดหยาบทั้ง 4 ชนิด

	สารสกัด	จำนวน	ค่าเฉลี่ย	ส่วนเบี่ยงเบนมาตรฐาน	F
<i>B. subtilis</i> ATCC 6051	น้ำ	10	6.80	0.919	44.787*
	เอทานอล	10	7.40	0.516	
	อะซิโตน	10	10.00	0.667	
	เอทิลอะซิเตต	10	8.90	0.568	

* แตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติที่ระดับ 0.05

จากตารางที่ 4 พบว่าค่าเฉลี่ยของขนาดเส้นผ่าศูนย์กลางวงใสการยับยั้งแบคทีเรีย *S. aureus* ATCC 6538P จากสารสกัดหยาบใบนางดำที่สกัดด้วยตัวทำละลายทั้ง 2 ชนิด มีค่าไม่แตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติที่ระดับความเชื่อมั่น 95% ($P < 0.05$)

ตารางที่ 4 ค่าเฉลี่ยขนาดเส้นผ่าศูนย์กลางวงใสการยับยั้งแบคทีเรีย *S. aureus* ATCC 6538P ของสารสกัดทั้ง 2 ชนิด

	สารสกัด	จำนวน	ค่าเฉลี่ย	ส่วนเบี่ยงเบนมาตรฐาน	F
<i>S. aureus</i>					
ATCC 6538P	อะซิโตน	10	6.90	0.875	3.220
	เอทิลอะซิเตด	10	5.80	0.632	

อภิปรายผล และสรุปผล

จากการสกัดสารจากใบนางดำโดยใช้ตัวทำละลายทั้งหมด 4 ชนิด คือ น้ำ เอทานอล อะซิโตน และเอทิลอะซิเตด พบว่าสารสกัดที่สกัดด้วยตัวทำละลายพวก Polar aprotic solvents คือ ตัวทำละลายอะซิโตนสามารถยับยั้งได้ดีที่สุด เนื่องจากแอลคิลเฮไลด์มีหมู่ฟังก์ชันคือเฮไลด์มีสูตรทั่วไปเป็น R-X เมื่อ R คือ หมู่แอลคิลเฮไลด์ ซึ่งเป็นตัวทำละลายที่มีขั้วปราศจากไฮโดรเจนที่แตกตัวได้ ทำให้สามารถสกัดสารได้ดีในใบนางดำ ส่วนการสกัดด้วยน้ำด้วยวิธีการต้มมีผลต่อการสกัด เนื่องจากการต้มมีอุปสรรคต่อการออกสีของสารแอนโทไซยานิน ซึ่งสอดคล้องกับงานวิจัยของ ณัฐราวดี นูรดาเนา ชูรายา และจากรูธรรม (2560) พบว่าตัวทำละลายที่เหมาะสมในการสกัดใบนางดำ คือ อะซิโตนและเมทานอล แต่พบสารซาโปนินในสารสกัดใบนางดำสกัดด้วยตัวทำละลายอะซิโตนและน้ำ ทำให้มีอุปสรรคต่อการสกัดเช่นเดียวกัน

เมื่อนำใบนางดำมาทดสอบฤทธิ์ต้านแบคทีเรีย ด้วยวิธี Agar disc diffusion โดยทำการสกัดใบนางดำด้วยตัวละลาย 4 ชนิด คือ น้ำ เอทานอล อะซิโตน และเอทิลอะซิเตด พบว่าสารสกัดจากตัวทำละลาย อะซิโตน มีการออกฤทธิ์ยับยั้งแบคทีเรียแกรมบวกได้ดี คือ *B. subtilis* ATCC 6051 และ *S. aureus* ATCC 6538P คือ 10.00 ± 0.667 มิลลิเมตร และ 6.90 ± 0.875 มิลลิเมตร ตามลำดับ เมื่อนำไปเปรียบเทียบกับงานวิจัยของ วรยุทธ ประเวทย์ และชรณี (2550) ที่ศึกษาสารสกัดหับทิมที่มีสารแอนโทไซยานินเช่นเดียวกันด้วยตัวทำละลายเอทานอลและอะซิโตน พบว่ามีการออกฤทธิ์ยับยั้งได้ดีในแบคทีเรียแกรมบวก คือ *B. subtilis* และ *S. aureus* เท่ากับ 11.00 มิลลิเมตร และ 10.30 มิลลิเมตร ส่วนในตัวทำละลายเอทานอล คือ 15.00 มิลลิเมตร และ 12.50

มิลลิเมตรในตัวทำละลายอะซิโตน ตามลำดับ ในสารสกัดหยาบทั้งใบนางดำและสารสกัดทับทิมไม่สามารถยับยั้ง *E. coli* นอกจากนี้จากงานวิจัยของ Azuara, Beristain, Castillo & Jimenez (2011) ได้ศึกษาสารสกัดจาก Capulin (*Prunus serotina* subsp. capuli) ในตัวทำละลายต่างๆ เพื่อยับยั้งแบคทีเรีย พบว่า สารสกัดจาก Capulin (*P. serotina* subsp. capuli) จากตัวทำละลายอะซิโตน ยับยั้งแบคทีเรีย *S. aureus* ATCC 25923 ได้เล็กน้อย โดยมีขนาดเส้นผ่าศูนย์กลางวงใสการยับยั้งประมาณ 2-3 มิลลิเมตร ซึ่งต่างจากใบนางดำ (*G. sublanceolata* Miq.) ซึ่งมีการยับยั้งได้ดีกว่า คือ 6.90 ± 0.875 มิลลิเมตร ส่วนสารสกัดจาก Capulin (*P. serotina* subsp. capuli) ในตัวทำละลายน้ำ และเอทานอล สามารถยับยั้งแบคทีเรียแกรมลบได้เล็กน้อย โดยมีขนาดเส้นผ่าศูนย์กลางวงใสการยับยั้งประมาณ 2-3 มิลลิเมตร ซึ่งต่างจากสารสกัดจากใบนางดำ (*G. sublanceolata* Miq.) ซึ่งไม่มีฤทธิ์ยับยั้งแบคทีเรียแกรมลบ จากการศึกษาพบว่าแบคทีเรียสามารถจำแนกได้ 2 ชนิด ขึ้นกับความแตกต่างของผนังเซลล์ของแบคทีเรีย แกรมบวก (*B. subtilis* ATCC 6051 และ *S. aureus* ATCC 6538P) และแบคทีเรียแกรมลบ (*E. coli* ATCC 25922) โดยแบคทีเรียมีส่วนประกอบของเปปติโดไกลแคน (Peptidoglycan) ประกอบด้วยไกลแคนसानเปน รวงแหวกกับเปปไทด์สายสั้น ซึ่งแบคทีเรียแกรมบวกมีชั้นเปปติโดไกลแคนและพอลิแซ็กคาไรด์ (Polysaccharide) ที่หนากว่าแบคทีเรียแกรมลบทำให้มีความซับซ้อนมากกว่า เนื่องมาจากการมีเยื่อหุ้มเซลล์ที่ประกอบด้วยฟอสโฟลิปิดถึง 2 ชั้น โดยเยื่อหุ้มเซลล์ชั้นนอกมีไลโปพอลิแซ็กคาไรด์ (Lipopolysaccharide) เป็นส่วนประกอบ โดยจากการทดลองพบว่าแบคทีเรียแกรมบวก (Gram-positive) มีประสิทธิภาพในการยับยั้งมากกว่าแบคทีเรียแกรมลบ (Gram-negative) อาจเกิดจากกระบวนการสกัดและตัวทำละลายที่เลือกใช้ ทำให้สามารถสกัดสารประเภทอื่นๆ ออกมาโดยเฉพาะสารทุติยภูมิ (Secondary metabolite) ซึ่งเป็นสารประกอบที่มีลักษณะเฉพาะ และส่วนใหญ่เป็นสารที่มีสรรพคุณทางยาหรือมีฤทธิ์ทางชีวภาพ เช่น สามารถมีฤทธิ์ยับยั้งแบคทีเรียแกรมบวกได้ดี นอกจากนี้พบว่าพืชใบนางดำมีสารทุติยภูมิที่น่าสนใจในการต้านอนุมูลอิสระ จากงานวิจัยของ ณัฐราวุฒิ และคณะ (2560) พบว่า ปริมาณฟลาโวนอยด์จากสารสกัดใบนางดำแห้งด้วยตัวทำละลายอะซิโตน มีค่า 1.28 ± 0.01 mgQE/g sample การทดสอบฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระ ด้วยวิธี ABTS assay มีค่า 2.28 ± 0.40 mgTEAC/g sample ส่วนวิธี FRAP assay มีค่า 4.34 ± 0.16 mg TEAC/g sample และวิธี DPPH assay มีค่า 1.29 ± 0.03 mg TEAC/g sample ทำให้สารสกัดจากตัวทำละลายอะซิโตนมีฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระได้ดีเมื่อเปรียบเทียบกับตัวทำละลายอื่นๆ คือ เมทานอล เอทานอล และน้ำ นอกจากนี้จะเห็นได้ว่าการสกัดจะขึ้นอยู่กับตัวทำละลายซึ่งต่างชนิดกันโดยเปรียบเทียบผลการเปรียบเทียบความสามารถของสารสกัดภายใต้สารอินทรีย์ที่เป็นตัวกลางต่างชั่วคราว รวมทั้งฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระของสารสกัดขึ้นกับองค์ประกอบทางพฤกษเคมีที่แตกต่างกันในแต่ละสารสกัดซึ่งแสดงให้เห็นว่าตัวทำละลายที่ใช้ในการสกัดเป็นตัวแปรสำคัญเพราะตัวทำ

ละลายสามารถเป็นตัวกำหนดปริมาณของสารแอนโทไซยานิน และสารทุติยภูมิอื่นๆ ที่สกัดได้ นอกจากนี้ขึ้นอยู่กับชนิดและส่วนประกอบของพืช เช่น เปลือก ใบ หรือผล ซึ่งมีความแตกต่างกัน รวมทั้งปริมาณสารที่อยู่ในพืช วิธีในการเก็บที่ถูกต้อง เช่น ใบ เก็บในช่วงที่พืชมีการเจริญเติบโตมากที่สุด บางชนิดอาจจะบุช่วงเวลาเก็บที่ชัดเจน อาจเก็บใบที่ไม่อ่อนหรือแก่เกินไป ดอกตูม ดอกเริ่มบานหรือบานเต็มที่ เป็นต้น การกำหนดช่วงการเก็บจะสัมพันธ์กับปริมาณสารในใบของพืชแต่ละชนิด และวิธีการเก็บเป็นวิธีการเด็ดหรือตัด (รุจิจันทร์, 2554) รวมทั้งพืชสมุนไพรบางชนิดมีขี้ดจำกัด เช่น สารเมือก (Polysaccharide) ทำให้พืชที่สกัดมีความหนืด และเป็นอุปสรรคต่อการสกัดได้ ส่งผลถึงสารที่เราต้องการนั้นมีปริมาณน้อย และมีผลต่อการออกฤทธิ์ ในส่วนของการเลือกตัวทำละลายในการสกัดถือว่าเป็นปัจจัยหลักในการสกัดเพราะในตัวทำละลายแต่ละประเภทมีความเหมาะสมต่อพืชแต่ละชนิดแตกต่างกัน เช่น น้ำ เป็นตัวทำละลายที่สำคัญไม่ว่าไฟ ไม่เป็นพิษ หาง่าย ราคาถูก และสามารถสกัดสารได้มากแต่ไม่มีความคงตัวอาจทำให้เกิดปฏิกิริยาได้ง่าย ก่อนนำมาใช้ต้องผ่านกระบวนการกำจัดเชื้อก่อน เอทานอลเป็นที่นิยมใช้เพราะมีความเป็นพิษต่ำ มีความสามารถในการละลายสารกว้างมาก และยังใช้ทำละลายเอนไซม์ในพืชได้ ลดปฏิกิริยาการสลายตัวของน้ำ สามารถจัดออกได้ง่ายโดยไม่ต้องใช้ความร้อนสูง และอะซิโตน เป็นตัวทำละลายที่กำจัดไขมันได้ดี และสามารถละลายสารพื้นฐานในพืชได้บ้าง แต่มีกลิ่นฉุน และกำจัดออกได้ยาก (กัลทิมา, 2555)

อย่างไรก็ตาม เนื่องจากใบนางคำ เป็นพืชท้องถิ่นและเป็นแหล่งที่ให้สารแอนโทไซยานินที่น่าสนใจเมื่อเทียบกับแหล่งแอนโทไซยานินจากพืชอื่นๆ ดังนั้นการพัฒนากำหนดเอาสารแอนโทไซยานินที่มีอยู่ในใบนางคำไปประยุกต์ใช้ให้เกิดประโยชน์ในทางอุตสาหกรรมทางด้านเภสัชภัณฑ์จึงควรมีการศึกษาและพัฒนาต่อไปอย่างต่อเนื่อง

ข้อเสนอแนะ

1. ทำการวิเคราะห์หาปริมาณสารแอนโทไซยานินทั้งหมด และสารทุติยภูมิอื่นๆ (Secondary metabolite) รวมทั้งการทดสอบด้วยวิธี TLC, HPLC หรือ HPTLC เพิ่มเติม เพื่อสามารถนำไปประยุกต์ใช้ในการพัฒนาผลิตภัณฑ์ในรูปแบบต่างๆ ต่อไปในอนาคต
2. ทำการศึกษาสารสกัดกับจุลินทรีย์ชนิดอื่นๆ เช่น เชื้อรา ยีสต์ และเชื้อก่อโรคลำไส้ที่สำคัญ เช่น เชื้อ 0157:H7, เชื้อ MRSA และเชื้อดื้อยา เพื่อทดสอบฤทธิ์ในการยับยั้งเชื้อดังกล่าว เช่น ทดสอบค่า Minimal inhibitory concentration (MIC) และค่า Minimal bactericidal concentration (MBC)

กิตติกรรมประกาศ

ผู้วิจัยขอขอบคุณคณะวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยี มหาวิทยาลัยนราธิวาสราชนครินทร์ ที่อนุเคราะห์สถานที่และอุปกรณ์สำหรับในการทำวิจัยครั้งนี้

อ้างอิง

- กรกต สุนทรกุล, สุกานดา วิชิตพันธ์ และคณิต วิชิตพันธ์. (2555). ประสิทธิภาพการยับยั้งการเจริญ ของแบคทีเรียก่อโรคของสาโทแดง ที่ผลิตจากข้าวเหนียวดำร่วมกับ *Monascus purpureus* TISTR-3 0 0 2 . วิทยานิพนธ์ระดับปริญญาโท ภาควิชาเทคโนโลยีชีวภาพ คณะเทคโนโลยี มหาวิทยาลัยขอนแก่น.
- กัลทิมา พิชัย. (2555). การศึกษาการใช้สารสกัดพืชสมุนไพรบางชนิดในการยับยั้งการเจริญของเชื้อรา สาเหตุโรคพืชที่สำคัญในพื้นที่สละวง อ.แมริม จ.เชียงใหม่ เพื่อพัฒนาเป็นผลิตภัณฑ์ ท้องถิ่น. รายงานวิจัย. มหาวิทยาลัยราชภัฏเชียงใหม่.
- เกศริน มณีมน. (2544). พฤกษศาสตร์พื้นบ้านของชนเผ่าชาวกูในจังหวัดตรัง พัทลุง และยะลา. ภาควิชาพฤกษศาสตร์ คณะวิทยาศาสตร์ มหาวิทยาลัยสงขลานครินทร์.
- ณัฐฐาวุฒิ จิตติปราโมทย์, นูรดาน่า ลาเตะ, ชูรายา ตีมะ และจารุวรรณ ประดับแสง. (2560). การศึกษาตัวทำละลายที่เหมาะสมในการสกัดของสารสกัดใบนางคำเพื่อใช้ในผลิตภัณฑ์ธรรมชาติ. *การประชุมวิชาการ 9th Annual Conference of Northeastern Pharmacy Research 2017: Innovative Pharmaceutical Products and Services in Thailand 4.0*, 1-9.
- นงลักษณ์ สุวรรณพินิจ. (2547). แบคทีเรียที่เกี่ยวข้องกับโรค. พิมพ์ครั้งที่ 3. กรุงเทพฯ: ศูนย์หนังสือจุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย.
- นิติพงษ์ ศิริวงศ์ และเอกชัย ชูเกียรติโรจน์. (2554). อุบัติการณ์ของเชื้อ *Staphylococcus aureus* ที่สามารถต้านทานต่อยาปฏิชีวนะและโลหะซึ่งแยกได้จากโรงพยาบาลในจังหวัดเชียงรายประเทศไทย. [ออนไลน์]. *การประชุมวิชาการ 33rd Congress on Science and Technology of Thailand*.
- พิสิฏฐ์ บุญไชย. (2552). ความรู้ความเชื่อในการใช้ประโยชน์พืชสมุนไพรในวนอุทยานถ้ำเพชร-ถ้ำทอง อำเภอตากลี จังหวัดนครสวรรค์. สำนักงานบริหารพื้นที่อนุรักษ์ที่ 12 (นครสวรรค์) กรมอุทยานแห่งชาติ สัตว์ป่า และพันธุ์พืช.

- มาลัย วรวิจิตร. (2545). แแบคทีเรียก่อโรค. สยามศิลปะการพิมพ์, กรุงเทพฯ.
- รุจิจันทร์ วิชวานิเวศน์. (2554). การพัฒนาระบบฐานความรู้ด้านการรักษาโรคด้วยสมุนไพร. รายงาน วิจัย . คณะวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยี มหาวิทยาลัยราชภัฏสวนสุนันทา.
- วรยุทธ ยอดบุญ, ประเวทย์ ต้อยเต็มวงศ์ และชรรณี ต้อยเต็มวงศ์. 2550. ผลของสารสกัดสมุนไพรในการยับยั้งเชื้อจุลินทรีย์ก่อโรคในอาหาร. ภาควิชาจุลชีววิทยา คณะวิทยาศาสตร์ มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์.
- สำนักหอสมุดและศูนย์สารสนเทศวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยี. (2553, มิถุนายน). แอนโทไซยานิน (Anthocyanin). ประมวลสารสนเทศพร้อมใช้.
- อรุณพร อัฐรัตน์, เพชรน้อย สิงห์ช่างชัย, ภัทวิภา คุโรปรกรณ์พงศ์, ณรงค์ศักดิ์ สิงห์ไพบูลย์พร, ปราณี รัตนสุวรรณ และโสภา คามี. (2543). พฤติกรรมและความพร้อมในการใช้สมุนไพรตามโครงการสาธารณสุขมูลฐานของบุคลากรทางการแพทย์ในจังหวัดภาคใต้ของประเทศไทย. *สงขลานครินทร์เวชสาร*, 18(2), 93-103.
- Adisakwattana, S., Aksornchu, P., Chamnansilpa, N., Dahlan, W., Mäkynen, K, Ngamukote, S., & Thilavech, T. (2020). Anthocyanin-rich fraction from Thai berries interferes with the key steps of lipid digestion and cholesterol absorption. *Heliyon* 6, 6(11), e05408.
- Hagiwara, A., Kadota, T., Miyashita, K., Nakanishi, T., Sano, M., Shirai, T., & Tamano, S. (2001). Pronounced Inhibition by a Natural Anthocyanin, Purple Corn Color, of 2-Amino-1-Methyl-6-Phenylimidazo [4,5-b] Pyridine (PhIP)- Associated Colorectal Carcinogenesis in Male F344 Rats Pretreated with 1,2-Dimethylhydrazine. *Cancer Letters*, 171(1), 17-25.
- Fang, J. Haider, M. S., Pervaiz, T., & Songtao, J. (2017). Naturally Occurring Anthocyanin, Structure, Functions and Biosynthetic Pathway in Fruit Plants. *Journal of Plant Biochemistry & Physiology*, 5(2), 1-9.
- Pradabsang, C., Saengwiman, S., Srisawat, S., & Srichuay, W. (2015). Screening for Antibacterial Activity of Local Herb Extracts. The International Conference on Herbal and Traditional Medicine (HTM 2015), January 28-30.

Promyos, N., Suttisansanee, U., & Temviriyankul, P. (2020). Investigation of Anthocyanidins and Anthocyanins for Targeting α -Glucosidase in Diabetes Mellitus. *Preventive Nutrition and Food Science*, 25(3), 263.

Azuara, E., Beristain, C., Castillo, I., & Jimenez, M. I. (2011). Antioxidant and Antimicrobial Activity of Capulin (*Prunus serotina* subsp capuli) Extracts. *Revista mexicana de ingeniería química*, 10(1), 29-37.

Predicting Diabetes using Deep Belief Network

Sureeluk Ma¹, Marusdee Yusoh^{2*}, Nitinun Pongsiri

(Received: 15 May,2023 ; Revised: 1 June,2023 ; Accepted 15 June,2023)

Abstract

Diabetes is a common disease affecting millions of people in the United States. The prevalence of diabetes has been steadily increasing over the past few decades. Left untreated diabetes leads to a risk factor for multiple complications such as heart disease, stroke, kidney and nerve damage. However, diabetes can be effectively managed when early diagnosed. Recent clinical data have applied various advanced technologies to diagnose or predict people with diabetes. Therefore, this paper aims to predict diabetes by using a Deep Belief Network (DBN) with Rectified Linear Unit (ReLU) activation function. Learning parameters from data through unsupervised path using minimized contrastive divergent algorithm, followed by supervised path using back-propagation algorithm. Diabetes Dataset from the National Institute of Diabetes and Digestive and Kidney Diseases was used, consisting of female patients aged at least 21 years old of Pima Indian heritage. The result shows that the DBN with ReLU activation function provides an 81% accuracy in diabetes prediction.

keywords: Artificial Neural Network, Deep Learning, Classification, Diabetes Modeling, Pima Indians

¹Faculty of Science and Technology, Princess of Naradhiwas University, Narathiwat, 96000, Thailand

²Islamic Sciences Demonstrations School, Prince of Songkla University, Pattani campus, 94000, Thailand

³Faculty of Science and Technology, Prince of Songkla University, Pattani campus, 94000, Thailand

*Corresponding Madrusdee Yusoh, E-mail: madrusfee@gmail.com

Introduction

Diabetes is a chronic disease that occurs when the pancreas does not produce enough insulin or the body can not effectively use the insulin. Insulin is a hormone that regulates blood glucose. The importance of insulin is to move glucose from the blood into body cells. Improper functioning of insulin causes glucose accumulation in the bloodstream. Three types of diabetes are known type 1, type 2 and gestational. An autoimmune reaction causes type 1 diabetes, which stops the body from producing insulin. Type 2 diabetes, usually caused by excess body weight and physical inactivity, results from the body's ineffective use of insulin. Gestational diabetes occurs during pregnancy, which is hyperglycemia characterized by higher than normal blood glucose values. Women with gestational diabetes have an increased risk of pregnancy complications, and their children also have an increased risk of type 2 diabetes (Centers for Disease Control and Prevention, 2023).

Approximately 422 million people worldwide have diabetes, the majority of whom live in low-and middle-income countries (World Health Organization, 2023). The number of cases and the prevalence of diabetes have been increasing dramatically over the past few decades. Each year, 1.5 million deaths are directly attributed to diabetes (World Health Organization, 2023). The Pima are North American Indians who traditionally lived along the Gisa and Salt rivers in Arizona, United States (US). The population of Pima Indians has one of the highest prevalence of diabetes in the US (Pearson, 2015).

Recent healthcare studies have applied various technologies to predict disease dynamics based on clinical data. A variety of diabetes prediction algorithms have been proposed to diagnose diabetes. For instance, Wu, Diao, Li, Fang & Ma (2009) have proposed a semi-supervised learning method based on Laplacian support vector machine (LapSVM) to predict diabetes. The results show that LapSVM can be of great help to physicians in the process of diagnosing diabetes. Sanakal & Jayakumari (2014) have diagnosed diabetes using the prognosis of fuzzy c-means clustering and support vector machine (SVM). Their findings indicated an

accurate implementation of SVM through SMO algorithm for diseases diagnosis. Dagliati et al. (2018) proposed logistic regression (LR), naive Bayes (NB), SVMs, and Random forest (RF) to predict diabetes. The results showed that the values of AUC are higher for SVMs and RF. Gadekallu et al. (2020) classified the extracted features of diabetic retinopathy dataset using the principal component analysis based deep neural network model using Grey Wolf Optimization (GWO) algorithm. The proposed model is further compared with the traditional machine learning (ML) algorithms such as the SVM, NB Classifier, decision trees (DT) and XGBoost. The results showed that the proposed model offered better performance than the aforementioned algorithms. Faruque, Asaduzzaman & Sarker (2019) employed four popular ML algorithms to predict diabetes mellitus, namely the SVM, NB classifier, K-Nearest Neighbor (KNN) and C4.5 decision tree. The findings from the study showed that the C 4.5 decision tree achieved higher accuracy than other ML models. Zou et al. (2018) used DT, RF and neural network to predict diabetes mellitus with hospital physical examination data in Luzhou, China. It contains 14 attributes. The results showed that prediction with random forest could reach the highest accuracy. Dey, Hossain & Rahman (2018) built a web application based on the higher prediction accuracy of some robust ML algorithms. The artificial neural network (ANN) had the highest prediction accuracy (82.35%).

The examined literature above indicates that a variety of ML models have been applied to predict diabetes among different populations with varying accuracy. In order to predict binary data, this research presented a deep learning neural network called Deep Belief Network (DBN) with Restricted Boltzmann Machine (RBM) to predict diabetes. The main objective was to apply the DBN with Rectified Linear Unit (ReLu) activation function to predict diabetes based on data from the national institute of diabetes and digestive and kidney diseases.

Data

The Diabetes dataset used in this study was obtained from the national institute of Diabetes and digestive and kidney disease. The dataset consists of 767 female patients of Pima Indian heritage and at least 21 years old. There are eight independent variables, including age, pregnancies, glucose, blood pressure, skin thickness, insulin, BMI, and diabetes pedigree function. The dependent variable was whether or not the patient had been diagnosed with diabetes, which was binary and indicated as yes or no. The independent variables were re-categorized as 1 and 0, representing yes and no, respectively.

The data was divided into two sets, training and testing, according to the ratio 8:2.

Method

Restricted Boltzmann Machine (RBM) was introduced by Chen and Murray in 2003. The structure of RBM is made up of two layers, visible and hidden layers. The visible layer consists of visible neurons, while the hidden layer consists of hidden neurons. The architecture of RBM is a complete bipartite graph shown in Fig1.

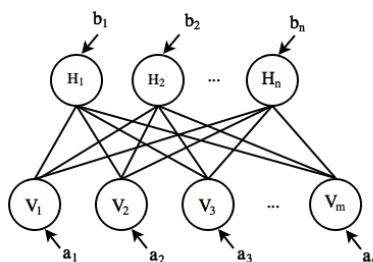


Fig1: Binary Restricted Boltzmann Machine

The visible layer (V_i) consists of m neurons, and each neuron has two values: input and output. Let c_i be the input value and $R(c_i)$ be the output value called Rectified Linear Unit (ReLU) of visible neuron, as follows:

$$c_i = \sum_{j=1}^m h_j w_{ij} + a_i$$

$$R(c_i) = \max(0, c_i)$$

where h_j is the output value of H_j , w_{ij} is the weight value from V_i to H_j and a_i is the bias value of V_i .

The hidden layer (H_j) consists of n neurons, and each neuron has two values: input and output. Let d_j be the input value and $R(d_j)$ be the output value called Rectified Linear Unit (ReLU) of hidden neuron, as follows:

$$d_j = \sum_{i=1}^n v_i w_{ij} + b_j$$

$$R(d_j) = \max(0, d_j)$$

where v_i is the output value of V_i , w_{ij} is the weight value from H_j to V_i and b_j is the bias value of H_j .

The deep belief network (DBN) is a stack of RBM, and the structure is shown in Fig2. There are two paths to find the appropriate weight values between each layer: unsupervised and supervised paths. In the unsupervised path, each RBM uses a minimizing contrastive divergence algorithm as follow:

$$\Delta \hat{w}_{ij} = \eta_w \langle v_i^{(0)} h_j^{(0)} \rangle - \langle v_i^{(1)} h_j^{(1)} \rangle,$$

$$\Delta \hat{a}_i = \eta_a \langle v_i^{(0)} \rangle - \langle v_i^{(1)} \rangle,$$

$$\Delta \hat{b}_j = \eta_b \langle h_j^{(0)} \rangle - \langle h_j^{(1)} \rangle$$

where η_w, η_a and η_b are the learning rate for weight parameters, bias value in V_i and bias value in H_j respectively. $v_i^{(0)}$ be the output value of V_i at the initial state, $v_i^{(1)}$ be the output

value of V_i at the one-step Gibb sampling state, $h_j^{(0)}$ be the output value of H_j at the initial state, $h_j^{(1)}$ be the output value of H_j at the one-step Gibb sampling state. The best weight value in the unsupervised path will be the initial value in the supervised path. Back-propagation neuron network algorithm was used to learn the data in the supervised path.

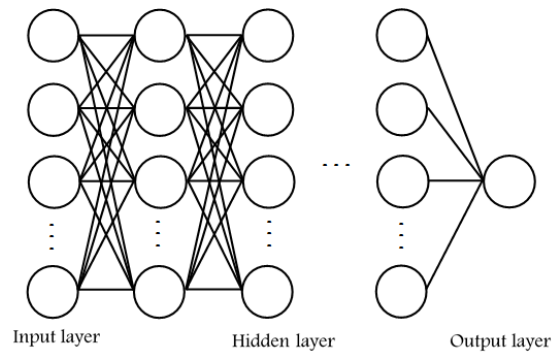


Fig2: Deep Belief Network

There is no mature method to determine the architecture of DBN. Therefore, this study used the experimentation method. This research constructed the architecture of DBN consisting of 2 RBMs stacked together. The MSE MAE and R-squared methods were used to assess the performance of the model.

Result

This research constructed the architecture of DBN consisting of 2 RBMs stacked together. The experimentation results of the first hidden layer are shown in Table 1.

Table1: Effects of first hidden layer

Input node	First hidden layer	MSE	MAE	R-squared
8	5	0.4698	0.2207	0.7792
	10	0.4413	0.1948	0.8051

Input node	First hidden layer	MSE	MAE	R-squared
	15	0.4558	0.2077	0.7922
	20	0.4486	0.2012	0.7987
	25	0.4629	0.2142	0.7857
	30	0.4558	0.2077	0.7922
	35	0.4558	0.2077	0.7922
	40	0.4629	0.2142	0.7857
	45	0.4486	0.2012	0.7987
	50	0.4558	0.2077	0.7922

The smallest MSE and MAE of experimentation in Table 1 occur with 10 neurons in the first hidden layer. A second hidden layer was added to the structure. The experimental results after adding a second hidden layer are shown in Table 2.

Table2: Effects of second hidden layer

Input node	Fist hidden layer	Second hidden layer	MSE	MAE	R-squared
8	10	5	0.4629	0.2142	0.7857
		10	0.4767	0.2272	0.7727
		15	0.4486	0.2012	0.7987
		20	0.4901	0.2402	0.7597
		25	0.4558	0.2077	0.7922
		30	0.4834	0.2337	0.7662
		35	0.448663	0.201299	0.798701
		40	0.455842	0.207792	0.792208
		45	0.455842	0.207792	0.792208
		50	0.469871	0.220779	0.779221

The smallest MSE and MAE of the experimentation after adding second hidden layer had higher errors than the smallest MSE and MAE of adding the first hidden layer. Therefore, the appropriate architecture of diabetes data is 8 input nodes, 10 neurons in first hidden layer and 1 output node. This architecture provides 81 percent accuracy in predicting diabetes.

Conclusion

Deep Belief Network with Restricted Boltzmann machine is a predictive method for binary data. There is no mature method to determine architecture of DBN. Therefore, this research define to construct architecture of DBN consists of 2 RBMs stacked together, with this experimentation provides 81 percent accuracy in predicting diabetes. Defining a variety of experiments by adding hidden layer and hidde neuron may achieve high accuracy. Furthermore, diabetes Dataset from national institute of Diabetes and digestive and kidney includes a small number of petient with a total of 767 cases.

References

- Centers for Disease Control and Prevention. (2023). Retrieved April 11, 2023, from:<https://www.cdc.gov/diabetes/basics/diabetes.html>
- Dey, S. K., Hossain, A., & Rahman, M. M. (2018, December). Implementation of a web application to predict diabetes disease: an approach using machine learning algorithm. In 2018 21st international conference of computer and information technology (ICCIT) (pp. 1-5). IEEE.
- Pearson, E. R. Dissecting the Etiology of Type 2 Diabetes in the Pima Indian Population. *Diabetes* 1 December 2015; 64 (12): 3993–3995.

- Faruque, M. F., & Sarker, I. H. (2019, February). Performance analysis of machine learning techniques to predict diabetes mellitus. In *2019 International Conference on Electrical, Computer and Communication Engineering (ECCE)* (pp. 1-4). IEEE.
- Gadekallu, T. R., Khare, N., Bhattacharya, S., Singh, S., Maddikunta, P. K. R., & Srivastava, G. (2020). Deep neural networks to predict diabetic retinopathy. *Journal of Ambient Intelligence and Humanized Computing*, 1-14.
- Sanakal, R., & Jayakumari, T. (2014). Prognosis of diabetes using data mining approach-fuzzy C means clustering and support vector machine. *International Journal of Computer Trends and Technology*, 11(2), 94-98.
- World Health Organization (2023). Retrieved April 5, 2023, from: <https://www.who.int/news-room/fact-sheets/detail/diabetes>
- Wu, J., Diao, Y. B., Li, M. L., Fang, Y. P., & Ma, D. C. (2009). A semi-supervised learning based method: Laplacian support vector machine used in diabetes disease diagnosis. *Interdisciplinary Sciences: Computational Life Sciences*, 1, 151-155.
- Zou, Q., Qu, K., Luo, Y., Yin, D., Ju, Y., & Tang, H. (2018). Predicting diabetes mellitus with machine learning techniques. *Frontiers in genetics*, 9, 515.

เฟอร์โรซีนและอนุพันธ์สำหรับการประยุกต์ใช้ทางการแพทย์

Ferrocene and Its Derivatives for Medical Applications

สุพจน์ แสนสุข^{1*}, กนกวรรณ ภูมิวนิชกิจ², และอาสกัน ทิเล³

Supojanee Sansook^{1*}, Kanokwan Phumivanichakit², and Aslan Hilae³

(Received: 15 May,2023 ; Revised: 1 June,2023 ; Accepted 15 June,2023)

บทคัดย่อ

เฟอร์โรซีน หรือมีอีกชื่อเรียกว่า ไดไซโคลเพนตะไดอินิลโอออน จัดเป็นสารประกอบโลหะอินทรีย์ชนิดหนึ่ง ที่ประกอบด้วยธาตุทรานซิชัน คือ เหล็กและวงไซโคลเพนตะไดอินิล 2 วง มีรูปร่างคล้ายแซนวิช จึงมีชื่อเรียก สารประกอบในลักษณะนี้ว่า สารประกอบแซนวิชหรือเมทัลโลซีน ซึ่งจากการศึกษาที่ผ่านมา เฟอร์โรซีนและอนุพันธ์ได้ถูกนำไปศึกษาอย่างกว้างขวาง และน่าสนใจในด้านการแพทย์ เช่น ใช้ศึกษาสมบัติการยับยั้งเอนไซม์ในกลุ่มโคเนส ซึ่งหากเอนไซม์เหล่านี้มีการทำงานที่ผิดปกติเกิดขึ้น จะส่งผลเกี่ยวข้องกับการเกิดโรคบางอย่าง เช่น โรคมะเร็ง โรคระบบประสาท โรคเบาหวาน โรคหัวใจ เป็นต้น บทความนี้จึงมีความสนใจในการศึกษาลำดับการคิดค้นสารประกอบเฟอร์โรซีนและอนุพันธ์ เพื่อนำมาใช้ในการศึกษาทางการแพทย์ เนื่องจากข้อมูลจากหลายกลุ่มวิจัยได้ทำการศึกษาและพบว่าสมบัติสำคัญบางประการของสารในกลุ่มเมทัลโลซีน มีแนวโน้มที่มีความสามารถในการนำไปใช้ทางยาได้ จึงมีการสังเคราะห์สารประกอบของเฟอร์โรซีนอย่างกว้างขวางและแพร่หลายมากยิ่งขึ้น นับตั้งแต่การค้นพบเฟอร์โรซีน

คำสำคัญ: เฟอร์โรซีน โลหะอินทรีย์ สารประกอบแซนวิช เมทัลโลซีน ตัวยับยั้งโคเนส

^{1,2 และ 3} คณะวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยี มหาวิทยาลัยราชภัฏวราชนครินทร์ หนองบัวลำภู 96000 ประเทศไทย

^{1,2 and 3} Faculty of Science and Technology, Princess of Naradhiwas University, Narathiwat, 96000 Thailand

*Corresponding Author, E-mail: sansook.s@pnu.ac.th

Abstract

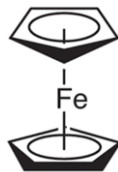
Ferrocene, also known as dicyclopentadienyliron, is classified as one of the organometal compounds that contain a transition metal (iron) and 2 cyclopentadienyl rings in its sandwich-like molecule. Due to its structural characteristic, this can also be called “Sandwich compound” or “Metallocene”. Ferrocene and its derivatives have been studied extensively, especially in the field of medicine, for example, their kinase inhibiting properties, which inactivate malfunctioned enzymes resulting in the reduction of the occurrence of certain diseases such as cancers, neurological diseases, diabetes, heart disease, and etc. This review paper is intended to elaborate on the sequence of ferrocene compounds and their derivatives in medical application. The data from various research groups have highlighted some important properties of metallocene compounds as pharmaceutical agents. Therefore, the synthesis of ferrocene compounds has become more widespread and well-known since the discovery of ferrocene.

Keywords: Ferrocene, Organometallic, Sandwich-compound, Metallocene, Kinase-inhibitor

บทนำ

สารประกอบออร์แกโนเมทัลลิก ตัวอย่างเช่น สารประกอบของโลหะ Fe(II), Os(II), Ir(III), Ru(II) ได้ถูกสังเคราะห์และนำมาใช้ศึกษาในด้านเคมีทางการแพทย์ โดย Jaouen et al. (2010) เช่น การยับยั้งเซลล์มะเร็ง ยับยั้งเชื้อแบคทีเรีย ยับยั้งเชื้อมาลาเรีย Gasser et al. (2012) เป็นต้น ส่งผลให้ปัจจุบันมีการศึกษาสารประกอบในกลุ่มนี้อย่างแพร่หลาย เพื่อที่จะศึกษาหาแนวทางในการออกแบบ สังเคราะห์สารประกอบตัวใหม่ ๆ เพื่อเป็นทางเลือกในทางการแพทย์ และมีความมุ่งหวังให้เกิดผลข้างเคียงน้อยที่สุด Bruijninx et al. (2008) โดย Ferrocene จัดเป็นสารประกอบออร์แกโนเมทัลลิกตัวหนึ่ง ที่ได้รับความสนใจเป็นอย่างยิ่ง ซึ่งประกอบด้วยโลหะคือ เหล็ก (Fe) และวงไซโคลเพนเตไดอีนิล จำนวน 2 วง (ภาพที่ 1) สูตรโมเลกุล คือ $\text{Fe}(\text{C}_5\text{H}_5)_2$ มีโครงสร้างประกบกันคล้ายรูปร่างแซนวิช จึงเรียกลักษณะนี้ว่าเป็น Sandwich compound ถูกสังเคราะห์ขึ้น

โดยบังเอิญ ในปี 1951 Pauson และ Kealy เป็นปฏิกิริยาระหว่าง magnesium bromide และ ferric chloride ได้สาร Ferrocene แทนสารที่ต้องการสังเคราะห์ คือ Fulvalene



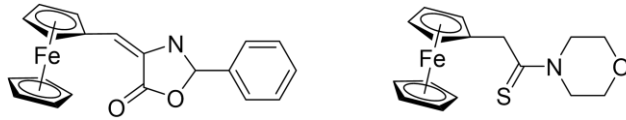
ภาพที่ 1 โครงสร้างสารประกอบเฟอร์โรซีน

เฟอร์โรซีนเป็นสารเชิงซ้อน π ซึ่งอันตรกิริยาระหว่าง d-ออร์บิทัลของโลหะอะตอมกลาง Fe^{2+} กับ π -ออร์บิทัลของระนาบไซโคลเพนตะไดอินลิแกนด์ทั้งสอง ($C_5H_5^-$) ก่อตัวเป็นพันธะโลหะ-ลิแกนด์ เฟอร์โรซีนเป็นของแข็งสีส้มที่เสถียรในอากาศ และสามารถออกซิไดซ์เป็นเฟอร์โรซีนเนียมไอออนบวก $[(C_5H_5)_2Fe]^+$ ที่อุณหภูมิห้องสามารถตกผลึกในรูปแบบโมโนคลินิกและแสดงการจัดตัวแบบ staggered (D_{5d}) ในขณะที่ในสถานะก๊าซ เฟอร์โรซีนจะมีการจัดเรียงตัวแบบ eclipsed (D_{5h}) การค้นพบเฟอร์โรซีนเป็นจุดเริ่มต้นของเคมีออร์กาโนเมทัลลิก และจากนั้นได้ถูกรวมเข้ากับชีวเคมีกลายเป็นสาขาเคมีใหม่ที่เรียกว่า เคมีไบโอออร์แกโนเมทัลลิก (Bioorganometallic chemistry) และการใช้ประโยชน์เฟอร์โรซีนได้ขยายวงกว้างแพร่หลายเพิ่มมากขึ้น

เนื้อเรื่อง

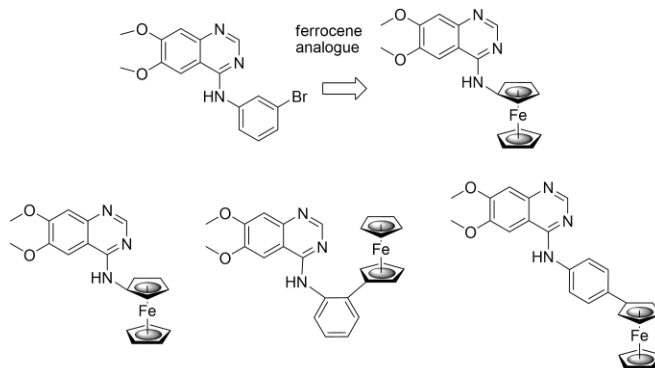
จากการค้นพบเฟอร์โรซีน ทำให้เฟอร์โรซีนและอนุพันธ์ของเฟอร์โรซีนถูกสังเคราะห์และมีการศึกษาอย่างกว้างขวางเพิ่มมากขึ้น Fouda et al. (2007) โดยในปี 1978 กลุ่มวิจัยของ Steven Brynes ได้เผยแพร่ผลงานตีพิมพ์ในวารสาร Journal of Medicinal Chemistry เกี่ยวกับศักยภาพในการต้านมะเร็งของสารประกอบ ferrocenyl ที่มีกลุ่ม amine หรือ amide ต่อมะเร็งเม็ดเลือดขาวชนิด lymphocytic P-388 ซึ่งนำสารประกอบไปทดสอบกับหนูเพื่อศึกษาฤทธิ์ต้านเนื้องอก พบว่าสารกลุ่มเฟอร์โรซีนสามารถเพิ่มฤทธิ์ต้านเนื้องอกได้ Victor et al. (1978) และในปี 2005 คณะของ Anand ได้ตีพิมพ์ผลงานเกี่ยวกับสารประกอบเฟอร์โรซีนิล และศึกษาฤทธิ์ทางชีวภาพเพื่อต่อต้าน Topoisomerase II α และ β ซึ่ง topoisomerase เป็นเอนไซม์ที่เกี่ยวข้องกับเกลียวและ

การคล้ายเกลียวของดีเอ็นเอในเซลล์ปกติ ผลการศึกษาพบว่า azalactone ferrocene และ thiomopholide amido methyl ferrocene (ภาพที่ 2) แสดงปฏิกิริยากับ topoisomerase II และยับยั้งการทำงานของมันและทำให้เซลล์ตาย Anand et al. (2005).



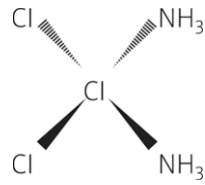
ภาพที่ 2 โครงสร้าง azalactone และ thiomopholide amido methyl ferrocene

คณะของ John Spencer ได้ออกแบบสารกลุ่มอนุพันธ์ของเฟอร์โรซีนและแสดงให้เห็นว่ามีฤทธิ์ต้านมะเร็ง ซึ่งมีการทดสอบสำหรับฤทธิ์ต้านมะเร็งในหลอดทดลองกับตัวรับการเจริญเติบโตของผิวหนัง (EGFR) Spencer et al. (2009) และโครงสร้างของกลุ่มสารดังกล่าวแสดงดังภาพที่ 3



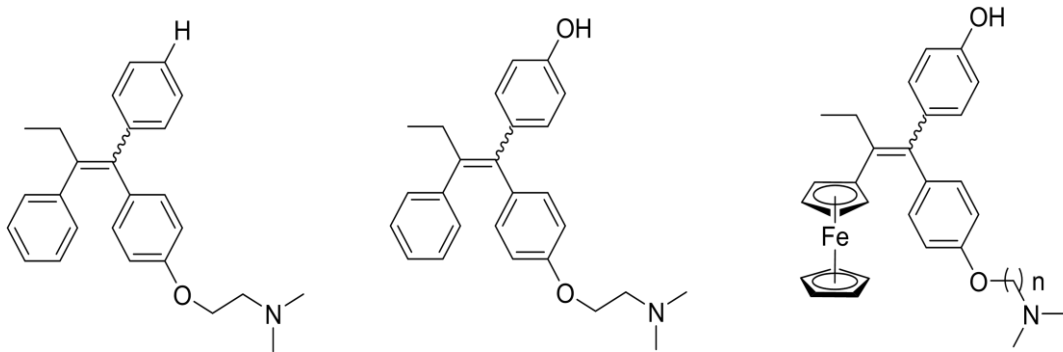
ภาพที่ 3 โครงสร้างของ Ferrocene analogue

นอกจากนี้ สาร Suberoyl anilide hydroxamic acid (SAHA) ก็จัดเป็นอีกหนึ่งสารที่มีการศึกษาแนวโน้มในการเป็นสารที่ใช้รักษามะเร็ง โดยได้รับการศึกษาทางคลินิกในการต่อต้าน Cutaneous T-cell lymphoma (CTCL) หรือมะเร็งต่อมน้ำเหลืองที่ผิวหนัง โดยพบว่า SAHA มีฤทธิ์ต่อต้าน HDAC (ฮิสโตนดีอะซี



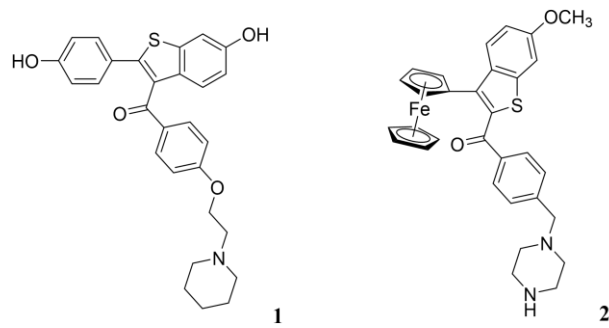
ภาพที่ 6 โครงสร้างของ Cisplatin

Nguyen et al. (2007) ได้สังเคราะห์ tamoxifen, hydroxytamoxifen และ hydroxyferrocifens ผลการประเมินการต้านการเพิ่มจำนวน hydroxyferrocifens ในเซลล์ MCF-7 (เซลล์มะเร็งเต้านมที่ขึ้นกับฮอร์โมน) hydroxyferrocifens มีศักยภาพมากกว่า hydroxytamoxifen เล็กน้อย ที่ความเข้มข้น 0.1 μM และสูงกว่าที่ 1 μM ในขณะที่ hydroxytamoxifen ไม่ออกฤทธิ์บนเซลล์ที่ไม่ขึ้นกับฮอร์โมน และ hydroxyferrocifens แสดงค่า IC_{50} ที่ต่ำอย่างน่าสนใจ



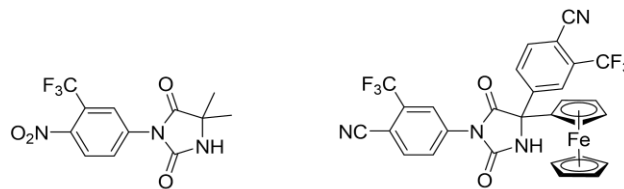
ภาพที่ 7 โครงสร้างของ tamoxifen, hydroxytamoxifen และ hydroxyferrocifens

Ferreira et al., (2009). ได้แทนที่วงแหวนฟีนิลด้วยเฟอร์โรซีนิลบน raloxifene สารประกอบที่ทดสอบทั้งหมด แสดงฤทธิ์ที่เป็นพิษต่อเซลล์ต่อรังไข่ มะเร็งปากมดลูก ปอด ลำไส้ใหญ่ และมะเร็งเต้านม ในบรรดาสารประกอบทั้งหมด แสดงค่า IC_{50} ในระดับไมโครโมลาร์ต่ำ และต่ำกว่าของ Cisplatin



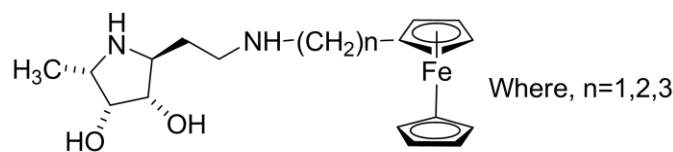
ภาพที่ 8 โครงสร้างของ raloxifene และ ferrocenyl-ralocifene

Payen et al. (2008) ได้ปรับปรุงสมบัติทางการรักษาของ Nilutamide โดยการแทนที่บางตำแหน่งของโมเลกุลด้วย กลุ่มเฟอร์โรซีนิล (Nilutamide เป็นยาด้านแอนโดรเจนที่ไม่ใช่สเตียรอยด์ สำหรับใช้ในมะเร็งต่อมลูกหมาก) ซึ่งสารประกอบใหม่นี้ แสดงฤทธิ์ที่เป็นพิษต่อเซลล์ที่ต้านเซลล์มะเร็งต่อมลูกหมากที่ไม่ขึ้นกับฮอร์โมน PC-3 ด้วยค่า IC_{50} ที่ 5.4 μM



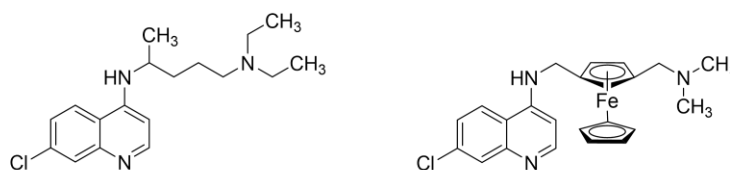
ภาพที่ 9 โครงสร้างของ Nilutamide และ Ferrocenyl - nilutamide

Hottin et al. (2012) ได้ทำการสังเคราะห์ชุดของน้ำตาล iminosugar-ferrocene hybrids ซึ่งแสดงการยับยั้งที่มีศักยภาพของฟูโคซิเดส (ไตของวัว) และการยับยั้งการเพิ่มจำนวนเซลล์มะเร็งเต้านม MDA-MB-231 ที่ระดับ μM ต่ำ การเตรียมสารประกอบใหม่ทำโดยเปลี่ยนความยาวของตัวเชื่อมโยงที่ยึดหยุนซึ่งเชื่อมต่อเฟอร์โรซีนกับน้ำตาลอิมิโนเพื่อสร้างความสัมพันธ์ระหว่างโครงสร้างและฤทธิ์



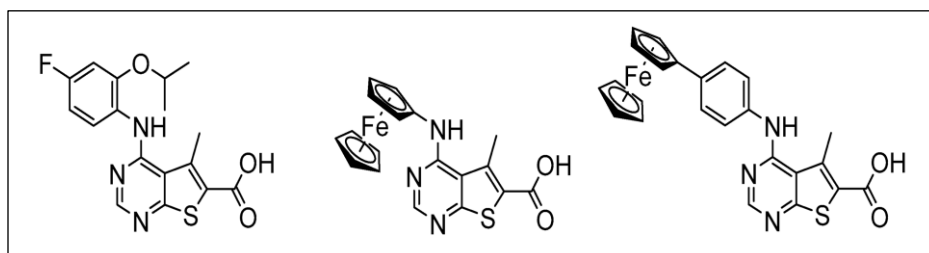
ภาพที่ 10 โครงสร้างของ Iminosugar-ferrocene hybrids

Johnson et al. (1952) ได้ทำการสังเคราะห์ Chloroquine ซึ่งเป็นยาต้านมาลาเรีย จากนั้นภายหลังได้ปรับปรุงโดยแทนที่หมู่เฟอร์โรซีนในโมเลกุลของ Chloroquine และเรียกว่า “Ferroquine” Ferroquine เป็นยาต้านมาลาเรียตัวใหม่ ถูกสังเคราะห์โดย Biot (2004) โดยที่ Ferroquine ได้รับการพิสูจน์แล้วว่าเป็นยาต้านมาลาเรียที่ดีที่สุด ณ ปัจจุบัน



ภาพที่ 11 โครงสร้างของ Chloroquine และ Ferroquine

Sansook et al. (2018) ได้มีการสังเคราะห์สารประกอบที่ประกอบด้วยเฟอร์โรซีน 2 ชนิดร่วมกับสารยับยั้ง ไคเนส MNK1/2 (MAPK-interacting kinase) สารประกอบนี้ได้รับการออกแบบให้มีลักษณะพิเศษ โดยให้ ferrocene ไปอยู่ตรงตำแหน่งที่เป็น hydrophobic pocket จากผลการศึกษาแสดงให้เห็นว่าทั้งสองแสดงฤทธิ์ต้านมะเร็งที่มีศักยภาพในมะเร็งเต้านมหลายชนิดและเซลล์ AML (มะเร็งเม็ดเลือดขาวชนิดเฉียบพลันแบบไมอีลอยด์)



ภาพที่ 12 โครงสร้างของ MNK1/2 inhibitor อนุพันธ์ ferrocene 1 และ อนุพันธ์ ferrocene 2

บทสรุป

นับตั้งแต่การค้นพบ Ferrocene ทำให้มีการศึกษาสารในกลุ่มเมทัลโลซีนเพิ่มเติมอย่างกว้างขวางมากขึ้น เนื่องจาก เป็นสารกลุ่มที่มีคุณสมบัติที่น่าสนใจ หนึ่งในสมบัติที่น่าสนใจ ก็คือ การนำไปเป็น Bioisostere เพื่อนำไปใช้ประโยชน์ทางการแพทย์ เช่น การสังเคราะห์และพัฒนา Inhibitor agents ยาชนิดใหม่ เป็นต้น นอกจากนี้ยังมีการสังเคราะห์และศึกษาสมบัติทางชีวภาพของสารประกอบอื่นๆที่มีธาตุโลหะอะตอมกลางอื่นที่น่าสนใจอีกมากมาย เช่น Ir, Os, Ru เป็นต้น ซึ่งการศึกษาเหล่านี้จะเป็นตัวเริ่มต้นที่ทำให้มีการค้นพบยารักษาโรคต่างๆเพิ่มมากขึ้นในอนาคต

อ้างอิง

- Anand, K. K., Gade P., Satyanarayana, N., Robin, M., and Marvin S. R. (2005). A biochemical analysis of topoisomerase II α and β kinase activity found in HIV-1 infected cells and virus. *Archives of Biochemistry and Biophysics*, 441, 41-55.
- Biot, C. (2004). Anti-Infective Agents. *Curr. Med. Chem*, 3, 135-147.
- Bruijnincx, P. C., and Sadler, P. J. (2008). New trends for metal complexes with anticancer activity. *Current opinion in chemical biology*, 12, 197-206.
- Butler, L. M., Agus, D. B., Scher, H. I., Higgins, B., Rose, A., Cordon-Cardo, C., Thaler, H. T., Rifkind, R. A., Marks, P. A., and Richon, V. M. (2000). Suberoylanilide hydroxamic acid, an inhibitor of histone deacetylase, suppresses the growth of prostate cancer cells in vitro and in vivo** *Cancer research*, 60, 5165-5170.
- Ferreira, A. P., Da Silva, J. L. F., Duarte, M. T., Da Piedade, M. F. M., Robalo, M. P., Harjivan, S. G. S. G., Marzano, C., Gandin, V., and Marques, M. M. (2009). Synthesis and Characterization of New Organometallic Benzo[b]thiophene Derivatives with Potential Antitumor Properties. *Organometallics*, 2009, 28, 5412-5423.
- Fouda, M. F., Abd-Elzaher, M. M., Abdelsamaia, R. A., and Labib, A. A. (2007). On the medicinal chemistry of ferrocene. *Applied Organometallic Chemistry*, 21, 613-625.

- Gasser, G., and Metzler-Nolte, N. (2012). The potential of organometallic complexes in medicinal chemistry. *Current opinion in chemical biology*, 16, 84-91.
- Goel, A., Savage, D., Alley, S. R., Kelly, P. N., O'Sullivan, D., Mueller-Bunz, H., and Kenny, P. T.M. (2007). The synthesis and structural characterization of novel *N-meta*-ferrocenyl benzoyl dipeptide esters: The X-ray crystal structure and *in vitro* anti-cancer activity of *N*-{*meta*-ferrocenyl}benzoyl-L-alanine-glycine ethyl ester. *J. Organomet. Chem*, 692, 1292–1299.
- Hottin, A., Dubar, F., Steenackers, A., Delannoy, P., Biot, C., and Behr, J.-B. (2012). Iminosugar-ferrocene conjugates as potential anticancer agents. *Org. Biomol. Chem*, 10, 5592.
- Jaouen, G. and Metzler-Nolte, N. (2010). Medicinal organometallic chemistry; *Springer Science & Business Media*.
- Johnson, W. S., and Buell, B. G. (1952). A New Synthesis of Chloroquine. *J. Am. Chem. Soc*, 74, 4513–4516.
- Mooney, Á., Corry, A. J., O'Sullivan, D., Rai, D. K., and Kenny, P. T. M. (2009). The synthesis, structural characterization and *in vitro* anti-cancer activity of novel *N*-(3-ferrocenyl-2-naphthoyl) dipeptide ethyl esters and novel *N*-(6-ferrocenyl-2-naphthoyl) dipeptide ethyl esters. *J. Organomet. Chem*, 694, 886–894.
- Nguyen, A., Vessières, A., Hillard, E. A., Top, S., Pigeon, P., and Jaouen, G. (2007). Ferrocifens and Ferrocifenols as New Potential Weapons against Breast Cancer. *Chim. Int. J. Chem*, 61, 716–724.
- Payen, O., Top, S., Vessières, A., Brulé, E., Plamont, M.-A., McGlinchey, M. J., Müller-Bunz, H., and Jaouen, G. (2008). Synthesis and Structure–Activity Relationships of the First Ferrocenyl-Aryl-Hydantoin Derivatives of the Nonsteroidal Antiandrogen Nilutamide. *J. Med. Chem*, 1791–1799.
- Sansook, S., Lineham, E., Hassell-Hart, S., Tizzard, G. J., Coles, S. J., Spencer, J., and Morley, S. J. (2018). Probing the anticancer action of novel ferrocene analogues of MNK Inhibitors. *Molecules*, 23 (2126), pp. 1-13, ISSN 1420-3049.

- Spencer, J., Mendham, A. P., Kotha, A. K., Richardson, S. C., Hillard, E. A., Jaouen, G., Male, L., Hursthouse, M. B. (2009). Synthesis of a 1,4-benzodiazepine containing palladacycle with *in vitro* anticancer and cathepsin B activity. *Dalton Transactions*, 22, 918.
- Victor, J. F., Ronald, J.D., and Steven. B. (1978). Ferrocenyl polyamines as agents for the chemoimmunotherapy of cancer. *Journal of Medicinal Chemistry*, 172, 393–395

ปัจจัยและแนวทางการลดการเกิดสารพอลิไซคลิกอะโรมาติกไฮโดรคาร์บอน ในผลิตภัณฑ์อาหารย่างด้วยถ่าน

Factors and reduction strategies of Polycyclic Aromatic Hydrocarbons (PAHs) Formation in Charcoal-Grilled Food Products

มาดีนา น้อยทับทิม^{1*} ปิยาภรณ์ วงศ์ศิริกุล¹ และ อาสลัน ฮิลเล¹

Madeena Noitubtim^{1*}, Piyaporn Wangsirikul¹ and Aslan Hilae¹

(Received: 15 May,2023 ; Revised: 1 June,2023 ; Accepted 15 June,2023)

บทคัดย่อ

ปัจจุบันอาหารย่างเป็นที่นิยมอย่างแพร่หลายโดยเฉพาะอาหารย่างด้วยถ่าน เนื่องจากการย่างด้วยถ่านทำให้เกิดสี กลิ่น และรสชาติเฉพาะตัว กระบวนการย่างอาหารด้วยถ่านทำให้เกิดการปนเปื้อนของสาร PAHs ในอาหารได้ ซึ่งสาร PAHs เป็นสารก่อมะเร็ง ดังนั้นการเข้าใจกลไกการเกิดสาร PAHs จึงเป็นสิ่งสำคัญ เพื่อให้สามารถหาแนวทางลดสาร PAHs ในอาหารย่างด้วยถ่านได้ งานวิจัยที่ผ่านมาสันนิษฐานกลไกการเกิดสาร PAHs ในอาหารย่างด้วยถ่านจากปฏิกิริยาดังต่อไปนี้ ปฏิกิริยาการเผาไหม้ไม่สมบูรณ์ (incomplete combustion) ปฏิกิริยาไพโรไลซิส (pyrolysis) ปฏิกิริยาเมลลาร์ด (Maillard reaction) ปฏิกิริยาลิพิดออกซิเดชัน (lipid oxidation) และปฏิกิริยาการสลายตัว (degradation) ทั้งนี้การเกิดสาร PAHs จากปฏิกิริยาดังกล่าวจะขึ้นอยู่กับปัจจัยที่ใช้ในกระบวนการย่าง ได้แก่ ปริมาณของไขมันในเนื้อสัตว์ ส่วนประกอบของเครื่องปรุงรสหรือน้ำหมักที่ใช้ในการหมักเนื้อสัตว์ก่อนนำไปย่าง อุณหภูมิและเวลาที่ใช้ในกระบวนการย่าง และถ่านที่ใช้ในการย่าง สำหรับวิธีการควบคุมปัจจัยที่จะทำให้เกิดสาร PAHs ในอาหารย่าง มีดังนี้ การออกแบบอุปกรณ์เพื่อลดควันระหว่างกระบวนการย่างและน้ำมันจากเนื้อสัตว์ที่หยดลงบนถ่าน การใช้ถ่านคุณภาพสูง การเผาถ่านทิ้งก่อนก่อนนำไปย่างอาหาร การทำให้เนื้อสัตว์สุกบางส่วนก่อนนำไปย่างเพื่อลดเวลาในการย่าง การป้องกันน้ำมันไม่ให้หยดบนถ่านด้วยการห่อเนื้อสัตว์ด้วยอลูมิเนียมฟอยด์ก่อนนำไปย่าง ซึ่งวิธีการข้างต้นสามารถลดสาร PAHs ในอาหารย่างด้วยถ่าน สำหรับแนวทางการศึกษาในอนาคตนั้น การศึกษาปัจจัยร่วมที่ทำให้เกิดสาร PAHs ในอาหารย่างด้วยถ่านเป็นหัวข้อที่น่าสนใจจะทำให้ทราบถึงความสัมพันธ์ของปัจจัยที่ทำให้เกิดสาร PAHs ในอาหารย่างด้วยถ่าน

¹คณะวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยี มหาวิทยาลัยนราธิวาสราชนครินทร์ จังหวัดนราธิวาส 96000

¹Faculty of Science and Technology, Princess of Naradhiwas University, Narathiwat 96000

*Corresponding author: madeena.n@pnu.ac.th

คำสำคัญ: สารโพลีไซคลิกอะโรมาติกไฮโดรคาร์บอน สารก่อมะเร็ง อาหารย่าง

Abstract

Nowadays, grilled food is very popular, especially charcoal-grilled food since it produces color, unique smell, and taste. Charcoal grilling can lead to the contamination of PAHs in food which are carcinogens. Therefore, it is important to understand the mechanisms of PAHs formation to find solutions for reducing PAHs in charcoal-grilled foods. Although the mechanism of its occurrence is still unclear, previous research has assumed the mechanism of PAHs formation in charcoal-grilled food as following reactions: incomplete combustion, pyrolysis, the Maillard reaction, lipid oxidation and degradation. The reaction depends on grilling process factors including the amount of fat in the meat, the component of marinate meat before grilling, temperature, cooking time, and charcoal used for grilling. The methods for controlling the factors that cause PAHs formation are as follows: equipment design for reducing the smoke during grilling process and oil dripping onto the charcoal, using high-quality charcoal, burning whole charcoal before grilling food, partially cooked meat before grilling, prevention of oil drop on the charcoal by wrapping the meat before grilling, which can reduce PAHs formation in charcoal-grilled food. For future study guidelines, it is interesting to study the cofactors of PAHs in charcoal-grilled food to determine the relationships between the factors contributing to PAHs in charcoal-grilled food.

Keywords: polycyclic aromatic hydrocarbons, carcinogen, grilled food

บทนำ

สารโพลีไซคลิกอะโรมาติกไฮโดรคาร์บอน หรือ Polycyclic Aromatic Hydrocarbon (PAHs) เป็นสารประกอบไฮโดรคาร์บอนสามารถเกิดได้เองตามธรรมชาติ ซึ่งเกิดจากการเผาไหม้ไม่สมบูรณ์ของสารอินทรีย์ (Viegas, Novo, Pinto, Pinho & Ferreira, 2012) เช่น ไฟป่า ภูเขาไฟ และสามารถเกิดจากกิจกรรมของมนุษย์ ได้แก่ การเผาป่าเพื่อทำการเกษตร การปล่อยควันของโรงงานอุตสาหกรรม การปล่อยไอเสียจากรถยนต์ และกระบวนการแปรรูปอาหารโดยใช้ความร้อน เช่น การย่าง การทอด การรมควัน เป็นต้น ซึ่งทำให้เกิดสาร PAHs

ปนเปื้อนในอาหารได้ (Singh, Varhney & Agawal, 2016; Simko, 2011) การปนเปื้อนของสาร PAHs ในอาหารสามารถปนเปื้อนตั้งแต่แหล่งวัตถุดิบของอาหาร เนื่องจากสาร PAHs พบได้ในสิ่งแวดล้อม แต่จะพบสาร PAHs เพิ่มขึ้นในอาหารเมื่อผ่านกระบวนการให้ความร้อน ปริมาณสาร PAHs ที่ปนเปื้อนในอาหารจะแตกต่างกันขึ้นอยู่กับกระบวนการแปรรูปอาหาร (Orecchio, 2009) จากรายงานการทดลองหาปริมาณสาร PAHs ในอาหารปิ้งย่าง ประเภทเนื้อบาร์บีคิว เท่ากับ 164 ไมโครกรัมต่อกิโลกรัม ในขณะที่อาหารทอดพบสาร PAHs ในปริมาณไม่มากนัก (Phillips, 1999) ปัจจุบันได้มีการนิยมนบริโภคอาหารอย่างมากขึ้นในหลายประเทศ เนื่องจากอาหารอย่างมีลักษณะเฉพาะตัวทั้งด้านกลิ่น รสชาติ และเนื้อสัมผัส เช่น ประเทศมาเลเซียมีการนิยมนบริโภคอาหารอย่าง ได้แก่ เนื้อสะเต๊ะ ไก่ย่าง และปลาย่าง อาหารดังกล่าวมีการปนเปื้อนของสาร PAHs ซึ่งพบสาร PAHs ในเนื้อสะเต๊ะอย่างด้วยค่า 6.98 ± 2.01 ไมโครกรัมต่อกิโลกรัม (Jahurul, 2013) และพบว่ามีแนวโน้มในทิศทางเดียวกับการเป็นโรคมะเร็งของคนในประเทศมาเลเซีย (Farhadian, Jinap, Faridah, & Zaidul, 2010) เนื่องจากสาร PAHs เป็นสารก่อมะเร็งและร้อยละ 88-98 ร่างกายได้รับจากการปนเปื้อนในอาหาร จึงได้มีการกำหนดมาตรฐานปริมาณสูงสุดที่พบได้ในอาหารประเภทปิ้งย่าง คือ ปริมาณสูงสุดที่พบสารเบนโซเอไพรีน (benzo(a)pyrene) เท่ากับ 5 ไมโครกรัมต่อกิโลกรัม และ ปริมาณโดยรวมสูงสุดที่พบสารเบนโซเอไพรีน (benzo(a)pyrene), สารเบนโซแอนทราซีน (benzo(a)anthracene), สารเบนโซฟลูออแรนทีน (benzo(b)fluoranthene) และสารไครซีน (chrysene) เท่ากับ 30 ไมโครกรัมต่อกิโลกรัม (Commission Regulation (EC) No 835/2011)

สาร PAHs สามารถก่อให้เกิดการกลายพันธุ์และก่อให้เกิดมะเร็งได้จึงมีการเฝ้าระวังอันตรายที่อาจจะเกิดขึ้น เนื่องจากร่างกายสามารถรับสาร PAHs ได้หลายทาง เช่น การสูดดมไอระเหยหรือเขม่าควัน การสัมผัสทางผิวหนัง และการกินอาหารที่มีการปนเปื้อนสาร PAHs ซึ่งพบว่าในคนที่ไม่สูบบุหรี่จะได้รับสาร PAHs จากการสูดดมร้อยละ 2-12 และจากการกินอาหารที่ปนเปื้อนสาร PAHs ร้อยละ 88-98 (Alomirah et al., 2011) เมื่อเข้าสู่ร่างกายแล้วจะทำให้เกิดการเปลี่ยนแปลงโครงสร้างสามารถจับตัวกับดีเอ็นเอได้ (Phillips, 1999) สาร PAHs จับกับดีเอ็นเอเกิดขึ้นจากปฏิกิริยาของ esterified N-hydroxyl-HAs และอะตอม C-8 ของ hydroxyguanosine เพื่อทำให้เกิดการจับตัวของ dG-C8 HAs (Hassan, 2010)

กลไกการเกิดสาร PAHs ระหว่างกระบวนการผลิตอาหารโดยใช้ความร้อนนั้น มีการสันนิษฐานการเกิดสาร PAHs จากปฏิกิริยาต่างๆ โดยมีความสัมพันธ์กับปัจจัยที่เกี่ยวข้องกับการแปรรูปอาหารที่ใช้ความร้อน เช่น แหล่งให้ความร้อน ชนิดของอาหาร อุณหภูมิ และเวลา เป็นต้น บทความนี้จะกล่าวถึงเฉพาะปัจจัยที่มีผลต่อการเกิดสาร PAHs ในกระบวนการย่างด้วยถ่าน ซึ่งการเข้าใจถึงกลไกการเกิดสาร PAHs ระหว่างการย่างจะทำให้สามารถลดและป้องกันการเกิดสาร PAHs ในอาหารย่างด้วยถ่านได้ ซึ่งได้รวบรวมเนื้อหาที่เกี่ยวข้องกับสาร PAHs ดังนี้ ลักษณะทั่วไปของสาร PAHs อันตรายของสาร PAHs ปัจจัยและปฏิกิริยาที่มีผลต่อการเกิดสาร PAHs รวมทั้งแนวทางที่เป็นไปได้ในการลดปริมาณสาร PAHs ในอาหารย่างด้วยถ่าน

ลักษณะทั่วไปของสาร PAHs

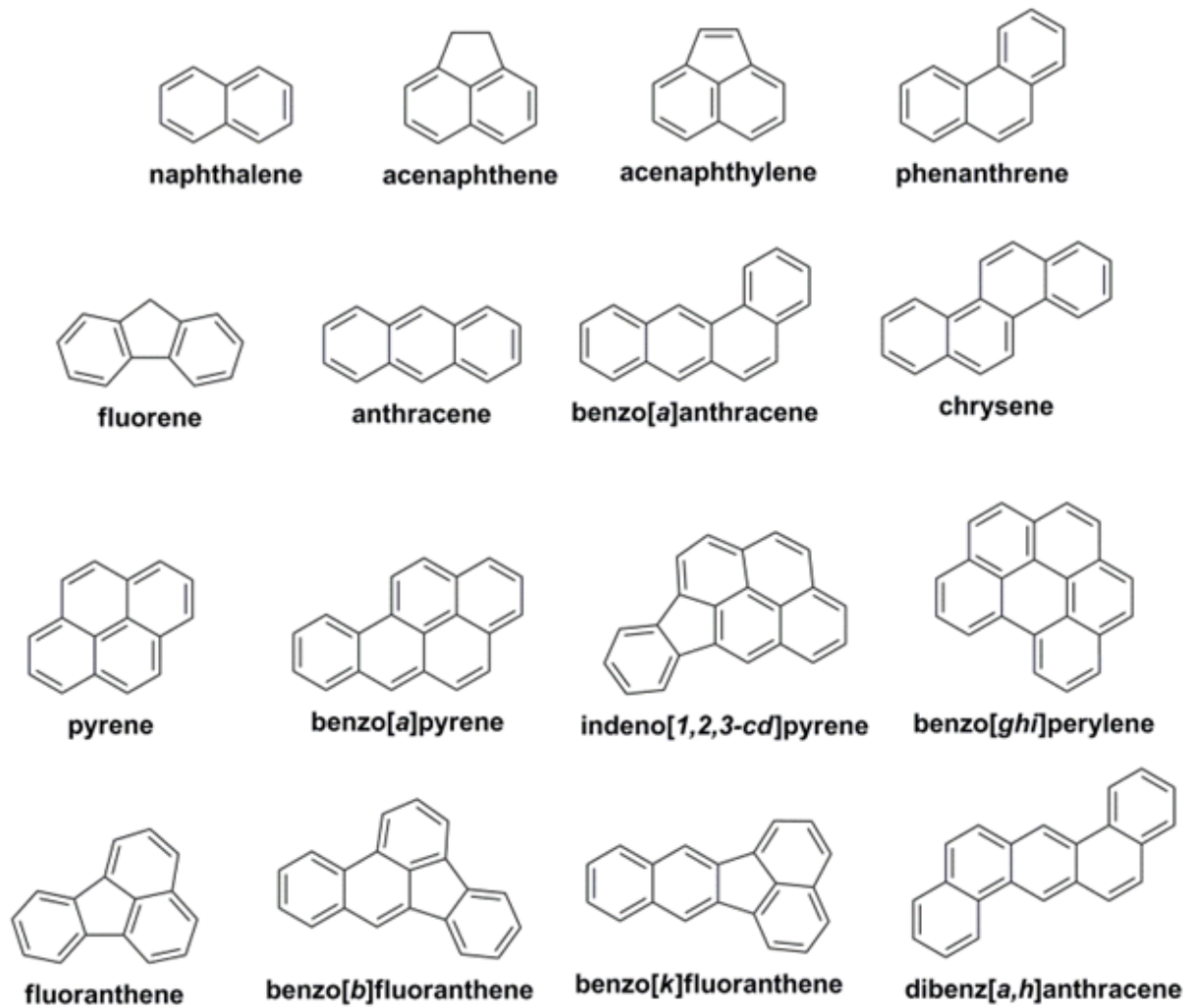
สารโพลีไซคลิกอะโรมาติกไฮโดรคาร์บอน หรือ Polycyclic Aromatic Hydrocarbon (PAHs) เป็นสารประกอบไฮโดรคาร์บอนที่มีมากกว่า 100 ชนิด สาร PAHs เป็นสารประกอบด้วยวงเบนซินตั้งแต่ 2 วงขึ้นไป ละลายได้ดีในไขมันและละลายได้น้อยในน้ำ เนื่องจากเป็นสารที่ไม่มีขั้ว สาร PAHs เป็นกลุ่มสารที่มีลักษณะเป็นของแข็ง สีขาว หรือสีเหลืองอ่อนปนเขียว ในธรรมชาติจะไม่พบสารนี้ชนิดเดียวมักพบปะปนอยู่กับสารชนิดอื่นเสมอ ความสามารถในการละลายได้ของสาร PAHs จะเกิดการเปลี่ยนแปลงอย่างมากในสภาวะความเค็ม มีการเปลี่ยนแปลงเล็กน้อยโดยเฉพาะในที่อุณหภูมิต่ำ สาร PAHs สามารถออกซิไดซ์โดยแสง ความสามารถในการกลายเป็นไอจะผกผันกับน้ำหนักโมเลกุล สามารถพบสาร PAHs ได้ในสิ่งแวดล้อม ดิน น้ำ และอากาศ โดยทั่วไปแล้วจะพบสาร PAHs ปนเปื้อนกับสารพิษชนิดอื่นโดยเฉพาะโลหะหนักหลายชนิด ได้แก่ สารหนู แบริียม แคดเมียม โครเมียม ตะกั่ว ปรอท นิกเกิล และ สังกะสี (Tamakawa, 2008)

อันตรายของสาร PAHs

เนื่องจากสาร PAHs เป็นสารที่ก่อให้เกิดการกลายพันธุ์และก่อให้เกิดมะเร็งในมนุษย์ ดังนั้นจึงมีการเฝ้าระวังปริมาณสาร PAHs ในสิ่งแวดล้อมโดยสำนักงานปกป้องสิ่งแวดล้อมประเทศสหรัฐอเมริกา (The United States the Environmental Protection Agency, U.S.EPA) ได้กำหนดสาร PAHs จำนวน 16 ชนิด ดังรูปที่ 1 เพื่อเฝ้าติดตามในสิ่งแวดล้อม และสาร PAHs จากการเผาไหม้ไม้และถ่าน สำหรับการปนเปื้อนสาร PAHs ในอาหารจากสิ่งแวดล้อมและกระบวนการแปรรูปโดยแบ่งตามระดับความเป็นพิษที่อาจก่อให้เกิดมะเร็งในมนุษย์ โดยองค์การวิจัยโรคมะเร็งนานาชาติ (International Agency for Research on Cancer, IARC) มีการกำหนดสาร PAHs จำนวน 4 ชนิด ได้แก่ สารเบนโซเอไพรีน (benzo(a)pyrene), สารเบนโซเอแอนทราซีน (benzo(a)anthracene) สารเบนโซฟลูออแรนทีน (benzo(b)fluoranthene) และสารไครซีน (chrysene) ตามระดับการก่อให้เกิดมะเร็งดังตารางที่ 1 โดยสาร PAHs ชนิดเบนโซเอไพรีน (benzo(a)pyrene) เป็นตัววัดของสาร PAHs ชนิดที่เป็นสารก่อมะเร็ง เนื่องจากเป็นชนิดที่มีฤทธิ์ก่อมะเร็งมากที่สุด ความเป็นพิษของสาร PAHs เมื่อร่างกายได้รับในปริมาณมาก จะทำให้เกิดอาการระคายเคืองตา คลื่นไส้ อาเจียน ท้องเสีย อาการแพ้ หรืออาการสับสนฉับพลัน สาร PAHs อาจจะรบกวนการทำงานของเยื่อหุ้มเซลล์ที่ทำงานร่วมกับระบบเอนไซม์ซึ่งเป็นสาเหตุก่อให้เกิดโรคมะเร็งและมีผลต่อการกลายพันธุ์ได้ การเกิดมะเร็งขึ้นอยู่กับปัจจัยต่างๆ ได้แก่ ปริมาณที่ร่างกายได้รับความไวต่อการตอบสนองต่อสาร PAHs และความสามารถในการซ่อมแซมดีเอ็นเอของร่างกาย

ตารางที่ 1 การจำแนกประเภทสารก่อมะเร็งโดยองค์การวิจัยโรคมะเร็งนานาชาติ (U.S.EPA)

สาร PAHs	กลุ่ม	การจำกัดความ
สารเบนโซเอไพรีน (benzo(a)pyrene)	1	ก่อให้เกิดมะเร็งในมนุษย์
สารเบนโซเอแอนทราซีน (benzo(a)anthracene) สารเบนโซฟลูออแรนทีน (benzo(b)fluoranthene) สารไครซีน (chrysene)	2B	อาจจะก่อให้เกิดมะเร็งในมนุษย์



รูปที่ 1 สาร PAHs ที่ใช้ในการเฝ้าระวัง จำนวน 16 ชนิด (U.S.EPA)

จากการศึกษาวิจัยที่เกี่ยวข้องต่อการเกิดสาร PAHs ในกระบวนการย่างนั้น พบว่ากลไกการเกิดสาร PAHs มาจากหลายปฏิกิริยา เนื่องจากมีความซับซ้อน Alomirah et al. (2011) ได้สรุปกลไกการเกิดสาร PAHs ในอาหารย่างด้วยถ่าน ซึ่งอาจจะเกิดจาก 3 กลไก คือ

1. เกิดจากปฏิกิริยาไพโรไลซิส (pyrolysis) ของสารอินทรีย์ ได้แก่ ไขมัน โปรตีน และคาร์โบไฮเดรตที่อุณหภูมิสูงกว่า 200 องศาเซลเซียส การก่อตัวของสาร PAHs จะเกิดได้ดีที่อุณหภูมิ 500-900 องศาเซลเซียส โดยที่ปริมาณสาร PAHs จะเพิ่มขึ้นตามปริมาณไขมันในอาหาร
2. เกิดจากปริมาณน้ำมันที่หยดลงบนถ่านขึ้นอยู่กับอุณหภูมิที่ทำให้ความร้อนแก่เนื้อสัตว์ ทำให้เกิดสาร PAHs ลอยมากับควันแล้วติดที่ผิวของเนื้อสัตว์
3. เกิดจากการเผาไหม้ไม่สมบูรณ์ของถ่านขณะย่างเนื้อสัตว์ ซึ่งจะทำให้เกิดสาร PAHs ติดมากับควัน

ปัจจัยการเกิดสาร PAHs ในอาหารย่างด้วยถ่านจากปริมาณไขมันของเนื้อสัตว์

ไขมันของเนื้อสัตว์จะถูกเก็บไว้ในเนื้อเยื่อไขมัน ซึ่งเกิดจากสัตว์ได้พลังงานจากอาหารมากกว่าที่ร่างกายต้องการใช้ จึงสะสมไว้ในลักษณะของไขมันในกล้ามเนื้อต่างๆ ของร่างกาย เนื้อสัตว์สามารถเกิดปฏิกิริยาออกซิเดชันระหว่างการเก็บรักษาเนื่องจากการทำงานของเอนไซม์ เมื่อเนื้อสัตว์ถูกความร้อนระหว่างกระบวนการแปรรูปจะทำลายเอนไซม์ที่เป็นตัวเร่งปฏิกิริยาการเกิดออกซิเดชันได้ ปฏิกิริยาออกซิเดชันที่เกิดขึ้นระหว่างกระบวนการให้ความร้อนจะมีออกซิเจนและโลหะเป็นตัวเร่งปฏิกิริยา

เมื่อนำเนื้อสัตว์ไปย่างด้วยถ่านไขมันในเนื้อสัตว์จะถูกความร้อนทำให้เกิดปฏิกิริยาลิพิดออกซิเดชัน (lipid oxidation) และการสลายตัว (degradation) ของไขมันที่ไม่อิ่มตัว จากนั้นจะทำให้เกิดสาร hydroperoxide หรือสารประกอบ cyclohexene สารที่เกิดขึ้นนี้สามารถเปลี่ยนไปเป็นเบนซิน ซึ่งมีการสันนิษฐานว่าเบนซินที่เกิดขึ้นมาจาก 3 วิธี

- 1) เมื่อไขมันเกิดการสลายตัว (degradation) เกิด cyclohexene ซึ่งสามารถออกซิไดซ์ (oxidized) เป็นเบนซิน
- 2) เมื่อไขมันเกิดการสลายตัว (degradation) พันธะคู่ระหว่างคาร์บอนกับคาร์บอนอาจทำปฏิกิริยากับสารประกอบ dienophilic เพื่อสร้างสารประกอบที่ประกอบด้วยวงแหวนเบนซินผ่านปฏิกิริยา Diels-Alder
- 3) กรดไขมันไม่อิ่มตัวจะถูกออกซิไดซ์ (oxidized) เพื่อก่อให้เกิดไฮโดรเจนเปอร์ออกไซด์ (hydroperoxide) จากนั้นจะเกิดปฏิกิริยาภายในโมเลกุลที่ก่อตัวของสารประกอบเชิงซ้อน เช่น cyclohexene

นอกจากนี้ไขมันอิ่มตัวสามารถเกิด degradation และได้เบนซินโดยผ่านปฏิกิริยา Diels-Alder ซึ่งเบนซินเป็นสารตั้งต้นในการเกิดสาร PAHs (Chen & Chen, 2001) เมื่อผิวของเนื้อสัตว์ถูกความร้อนที่อุณหภูมิสูงมาก

และอากาศแห้ง ไขมันที่ผิวของเนื้อสัตว์สามารถเกิดปฏิกิริยาไพโรไลซิส (pyrolysis) ซึ่งจากปฏิกิริยาดังกล่าวจะทำให้เกิดสารเบนซิน (Maher & Bressler, 2007) การอย่างเป็นทางการให้ความร้อนโดยตรงแก่เนื้อสัตว์ จะทำให้เกิดการก่อตัวของเกิดสาร PAHs โดยปฏิกิริยาไพโรไลซิส (pyrolysis) ของไขมันที่ผิวเนื้อสัตว์และจะสะสมสาร PAHs บนเนื้อสัตว์ (Phillip, 1999) รายงานของ Maher & Bressler (2007) และ Phillip (1999) ได้สนับสนุนข้อสันนิษฐานกลไกการเกิดสาร PAHs ข้อที่ 1 ของ Alomirah et al. (2011)

ปัจจัยการเกิดสาร PAHs ในกระบวนการย่างด้วยถ่านจากเครื่องปรุงรสหรือน้ำหมัก

ก่อนการนำเนื้อสัตว์ไปย่างได้มีการเพิ่มรสชาติด้วยเครื่องปรุงรสหรือน้ำหมัก (Marinate) โดยทั่วไป ส่วนประกอบหลักของน้ำหมัก มีดังนี้ ซอสถั่วเหลือง น้ำมัน น้ำตาล และเครื่องเทศ การหมักเนื้อสัตว์ด้วยน้ำหมักมีผลต่อการเกิดสาร PAHs มีงานวิจัยการใช้ น้ำหมักที่มีส่วนประกอบของเครื่องเทศพบว่าสามารถลดสารก่อมะเร็งประเภท Heterocyclic aromatic amine ระหว่างการปรุงอาหารด้วยความร้อนได้ (Gibis, 2007) สำหรับงานวิจัยการใช้ น้ำหมักที่มีส่วนประกอบของเครื่องเทศในการลดสาร PAHs ในอาหารย่างนั้น ข้อมูลยังไม่มากนัก

การหมักเนื้อสัตว์ก่อนนำไปย่างเป็นการเพิ่มรสชาติและลักษณะเนื้อสัมผัสของเนื้อสัตว์ น้ำหมักเป็นปัจจัยสำคัญที่อาจจะก่อให้เกิดสาร PAHs ในกระบวนการย่าง เนื่องจากส่วนประกอบของน้ำหมัก มีการเติมไขมันหรือน้ำมันในส่วนประกอบของน้ำหมักจะทำให้เพิ่มปริมาณไขมันบริเวณผิวของเนื้อสัตว์ ซึ่งจะทำให้เพิ่มการเกิดปฏิกิริยาลิพิดออกซิเดชัน (lipid oxidation) และการสลายตัว (degradation) ขึ้น จากปฏิกิริยาดังกล่าวจะทำให้เกิดเบนซินที่เป็นสารตั้งต้นของการเกิดสาร PAHs ปริมาณกรดไขมันไม่อิ่มตัวต่อกรดไขมันอิ่มตัวในน้ำมันที่เป็นส่วนประกอบของน้ำหมักมีผลทำให้เกิดสาร PAHs ในไก่ย่าง พบว่าน้ำมันที่มีกรดไขมันไม่อิ่มตัวสูงจะมีปริมาณการเกิดสาร PAHs ไก่ย่างน้อยกว่า ทั้งนี้อาจจะมีผลเกี่ยวข้องกับสารต้านออกซิเดชัน (antioxidant) ที่มีอยู่ในส่วนประกอบของน้ำหมัก และพบว่าค่า pH ของน้ำหมักที่เพิ่มขึ้นมีผลต่อการเกิดสาร PAHs ในไก่ย่าง ซึ่งค่า pH มากกว่า 7.5 จะทำให้สาร PAHs เพิ่มขึ้น 70% (Wongmaneepratip & Vangnai, 2017)

ในทางกลับกันการเติมเครื่องเทศ (spices) เช่น กระเทียม หัวหอม เป็นส่วนประกอบของน้ำหมักในปริมาณที่เหมาะสมสามารถป้องกันการเกิดปฏิกิริยาเมลลาร์ด (Maillard reaction) พบว่า การเกิดปฏิกิริยาเมลลาร์ด (Maillard reaction) ในขั้นตอนแรกนั้นจะทำให้เกิดสาร Proline amadori compound (intermediate) สามารถก่อตัวเป็นสาร PAHs ได้ (Britt, 2004) การหมักเนื้อหมูก่อนนำไปย่างด้วยชามาเต (yerba mate tea) ซึ่งมีความสามารถในการเป็นสารต้านออกซิเดชัน (antioxidant) สามารถลดการเกิด benzo(a)pyrene ลงอย่างมาก (Park, 2017)

ปัจจัยการเกิดสาร PAHs ในอาหารย่างด้วยถ่านจากถ่านไม้

ถ่าน เป็นของแข็งที่ได้จากการแปรรูปไม้ด้วยกระบวนการเคมีความร้อน (Thermochemical process) หรือกระบวนการไพโรไลซิส (pyrolysis) โดยการเผาไหม้ในที่จำกัดอากาศ ทำให้เกิดการเปลี่ยนแปลงองค์ประกอบทางเคมีของไม้ ซึ่งถ่านจะมีองค์ประกอบ 2 ส่วน คือ คาร์บอน และของเหลว เช่น น้ำมันดิน (tars) ตามมาตรฐานผลิตภัณฑ์ชุมชนเลขที่ มผช.658/2547 ถ่านไม้สำหรับปิ้งและย่าง ครอบคลุมเฉพาะถ่านที่ได้จากการเผาไม้ ใช้สำหรับปิ้งและย่างอาหาร ถ่านไม้หุงต้มต้องมีสีดำสม่ำเสมอ ไม่มีเศษดินและไม้ที่เผาไหม้ไม่สมบูรณ์ปนอยู่ ความชื้นไม่เกินร้อยละ 8 โดยน้ำหนัก ค่าความร้อนไม่น้อยกว่า 7,000 แคลอรีต่อกรัม ถ่านไม้หุงต้มไม่เกินร้อยละ 8 โดยน้ำหนัก สารระเหยไม่เกินร้อยละ 3 โดยน้ำหนัก การใช้งานเมื่อติดไฟต้องไม่มีสะเก็ดไฟกระเด็น มีควันได้เล็กน้อย

สำหรับองค์ประกอบของถ่านนอกจากจะขึ้นอยู่กับชนิดของไม้ที่นำมาทำถ่านแล้ว อุณหภูมิในการคาร์บอนไนเซชัน (carbonization) เป็นปัจจัยหนึ่งที่ทำให้องค์ประกอบของถ่านที่ได้มีความแตกต่างกัน การเผาไม้เนื้อแข็งใช้อุณหภูมิคาร์บอนไนเซชัน (carbonization) 400 องศาเซลเซียส จะได้ถ่านที่มีองค์ประกอบคือ Cellulose 33.8-48.7%, Hemicellulose 23.2-37.7%, Lignin 19.1-30.3%, Extractives 1.1-9.6% พบว่า % Yield ของถ่านขึ้นอยู่กับ Lignin และ Hemicellulose ที่เป็นส่วนประกอบของผนังเซลล์ของไม้

การใช้ถ่าน ก่อนนำถ่านไปใช้จะมีการเผาถ่านให้ติดไฟสม่ำเสมอทั่วทั้งก้อนก่อนนำไปย่างอาหาร สังเกตได้จากร้านอาหารปิ้งย่างทั่วไปจะมีการนำถ่านที่ติดไฟทั่วทั้งก้อนบริการให้ลูกค้าสำหรับการย่างอาหาร การทำให้ถ่านติดไฟทั่วทั้งก้อนนั้น จะทำให้ลดปริมาณควันและสาร PAHs เป็นการไล่ความชื้นและน้ำมันดิน (tars) ในถ่าน เมื่อนำเนื้อมาวางบนถ่านติดไฟทั่วทั้งก้อนและมีอุณหภูมิประมาณ 200 องศาเซลเซียส พบว่าสาร PAHs มีปริมาณลดลง (Kao, Chen, Huang, Chen & Chen, 2014)

ปัจจัยการเกิดสาร PAHs ในอาหารย่างด้วยถ่านจากกระบวนการผลิต

1. อุณหภูมิที่ใช้ในการย่าง

การย่างเนื้อสัตว์โดยทั่วไปแล้วจะใช้อุณหภูมิ 200-300 องศาเซลเซียส เมื่ออาหารได้รับความร้อนอุณหภูมิสูงมากกว่า 200 องศาเซลเซียส แบบให้ความร้อนโดยตรง เช่น การอบ การย่าง ทำให้เกิดสาร PAHs ชนิดก่อให้เกิดมะเร็งได้ เนื่องจากการสลายตัวของสารอินทรีย์ในอาหาร เช่น คาร์โบไฮเดรต โปรตีน ไขมันไปเป็นสาร PAHs (Bansal & Kim, 2015) เมื่อนำอาหารไปย่างบนถ่านไม้ อุณหภูมิสูงจะเป็นตัวเร่งการเกิดปฏิกิริยาออกซิเดชัน (lipid oxidation) และการสลายตัว (degradation) จากปฏิกิริยาดังกล่าวจะเกิดเบนซิน ซึ่งเป็นสารตั้งต้นในการเกิดสาร PAHs การย่างอาหารที่อุณหภูมิสูงจะทำให้ไขมันหยดบนถ่านมากขึ้นเกิดปฏิกิริยาไพโรไล

ซิส (pyrolysis) จะทำให้เกิดเบนซินได้ นอกจากนี้อุณหภูมิที่สูงจะทำให้ไขมันสะสมบนถ่านมากขึ้นซึ่งจะส่งผลต่อการเกิดควันและสาร PAHs มาเกาะที่ผิวของอาหารย่าง

2. เวลาที่ใช้ในการย่าง

Pan & Cao (2010) ทำการทดลองผลของเวลาการย่างต่อการเกิดสาร PAHs พบว่าปริมาณ Benzo(a)pyrene ในเนื้อหมูเพิ่มขึ้นเมื่อเวลาการย่างเพิ่มขึ้น ซึ่งสอดคล้องกับการทดลองของ Kao et al. (2014) ได้ศึกษาปริมาณ 16 PAHs ในส่วนต่างๆ ของไก่ย่างที่เวลาแตกต่างกัน พบว่า ส่วนของไก่ย่างทุกส่วนมีปริมาณสาร PAHs เพิ่มขึ้นเมื่อเวลาเพิ่มขึ้น การใช้ระยะเวลาอย่างนานจะทำให้เกิดปฏิกิริยาลิพิดออกซิเดชัน (lipid oxidation) และการสลายตัว (degradation) เพิ่มขึ้นและเพิ่มโอกาสการปนเปื้อนสาร PAHs ที่ติดมากับควัน บริเวณผิวของอาหารย่างและเพิ่มการสะสมของไขมันที่หยดลงบนถ่านไม้จากเนื้อสัตว์ได้

ปัจจัยการเกิดสาร PAHs ในอาหารย่างด้วยถ่านจากหยดของน้ำมันลงบนถ่าน

ระหว่างการย่างอาหารที่อุณหภูมิสูงโดยใช้ถ่านไม้เป็นแหล่งให้ความร้อนนั้น ไขมันจากอาหารสามารถหยดลงบนถ่าน จะทำให้เกิดสาร PAHs เนื่องมาจากการเกิดปฏิกิริยาการเผาไหม้ไม่สมบูรณ์ของไขมันที่หยดลงบนถ่านขณะที่มีอุณหภูมิสูง ซึ่งจะทำให้เกิดควันขึ้นโดยที่สาร PAHs จะติดมากับควันแล้วไปเกาะบริเวณผิวของอาหารย่าง นอกจากนี้ไขมันที่หยดลงบนถ่านจะทำให้เกิดปฏิกิริยาไพโรไลซิส (pyrolysis) ของไขมันที่หยดลงมาบริเวณถ่านร้อนซึ่งจะทำให้เกิดสาร PAHs ขึ้น การวิเคราะห์หาสาร PAHs ในควันที่เกิดจากไขมันที่หยดออกจากไก่ย่างที่อุณหภูมิ 250 และ 400 องศาเซลเซียส เท่ากับ 16.63 และ 105 ไมโครกรัมต่อกรัม เกิดจากปฏิกิริยาไพโรไลซิสของไขมันที่หยดลงบนแหล่งให้ความร้อนปริมาณสาร PAHs ในควันจะเพิ่มขึ้นเมื่ออุณหภูมิ 400-1000 องศาเซลเซียส (Prathomtong, Panchatee, Kunanopparat, Srichumpuang & Nopharatana, 2016)

แนวทางการลดปริมาณสาร PAHs ในอาหารย่างด้วยถ่าน

1. ปริมาณไขมันที่เป็นองค์ประกอบในเนื้อสัตว์

การเลือกวัตถุดิบ (เนื้อสัตว์) ที่นำมาปรุงอาหารควรเลือก ส่วนของเนื้อสัตว์หรือชนิดของเนื้อสัตว์ที่มีปริมาณไขมันต่ำ ซึ่งหากไม่สามารถเลือกวัตถุดิบ (เนื้อสัตว์) ที่มีปริมาณไขมันต่ำมาปรุงอาหารได้ ควรมีการใช้ขั้นตอนหรือวิธีการผลิตอื่นร่วมด้วย เช่น การทำให้สุกก่อนนำไปย่าง เช่น การนึ่งหรือต้ม วิธีการนี้ไม่ได้เป็นการลดปริมาณไขมันในเนื้อสัตว์ แต่เป็นการควบคุมปัจจัยตัวอื่นที่อาจจะสามารถลดสาร PAHs ระหว่างกระบวนการย่างได้ จากการศึกษาปริมาณ 16 PAHs ในอาหารย่างที่มีองค์ประกอบทางเคมีแตกต่างกัน ดังนี้ ข้าวโพด กุ้ง ปลาเทราท์ เนื้อวัว และเนื้อหมู พบว่าเนื้อหมูมีปริมาณ 16 PAHs สูงที่สุดคือ 78 ไมโครกรัมต่อกิโลกรัม ตามด้วยปลาเท

ราร์ท 2.1 ไมโครกรัมต่อกิโลกรัม และเนื้อวัว 1.5 ไมโครกรัมต่อกิโลกรัม ปริมาณไขมันในเนื้อหมูมีมากที่สุด รองลงมาคือปลาเทราท์ และเนื้อวัว จะเห็นได้ว่าเนื้อหมูมีปริมาณไขมันมาก ทำให้มีพบปริมาณ 16 PAHs มากกว่าอาหารประเภทอื่นที่มีปริมาณไขมันน้อยกว่า (Saito, Tanaka, Miyazaki & Tsuzaki, 2014)

2. การหมักเนื้อสัตว์ด้วยเครื่องปรุงรสหรือน้ำหมัก

การเลือกส่วนประกอบของเครื่องปรุงรสหรือน้ำหมักให้เหมาะสม โดยการหลีกเลี่ยงการเติมน้ำมันหรือไขมันเป็นส่วนประกอบของน้ำหมัก เพราะจะเป็นการเพิ่มปริมาณไขมันที่ผิวของเนื้อสัตว์ นอกจากนี้การใช้เครื่องเทศ เช่น กระเทียม และหัวหอม ในปริมาณที่เหมาะสมจะสามารถป้องกันปฏิกิริยาเมลลาร์ด (Maillard reaction) ได้ การหมักเนื้อสัตว์ด้วยน้ำหมักมีผลต่อรสชาติและเนื้อสัมผัสของเนื้อสัตว์อย่าง การปรับปรุงส่วนประกอบของน้ำหมักเพื่อลดสาร PAHs จึงต้องมีการทดสอบประสิทธิภาพสัมผัสของผู้บริโภคควบคู่กันไปด้วย จากการศึกษาการหมักเนื้อสะเต๊ะด้วยน้ำหมักสูตรที่ไม่มีส่วนประกอบของน้ำมันหรือไขมัน และมีส่วนประกอบของกระเทียมและหัวหอมมีปริมาณ 16 PAHs ต่ำที่สุดเท่ากับ 45.19-56.09 $\mu\text{g}/\text{kg}$ เมื่อเทียบกับน้ำหมักที่มีส่วนประกอบของไขมันหรือน้ำมันและไม่มีส่วนประกอบของกระเทียมและหัวหอม (Farhadian, Jinap, Faridah & Zaidul, 2012)

3. ถ่านที่ใช้ในการย่าง

1. การลดปริมาณสารระเหยในถ่านโดยการใช้อุณหภูมิคาร์บอนไนเซชัน (carbonization) ที่สูงในกระบวนการผลิตถ่าน จากการศึกษาอุณหภูมิคาร์บอนไนเซชัน (carbonization) ในการผลิตถ่านไม้ ที่ 500, 750 และ 1,000 องศาเซลเซียส พบว่า ที่อุณหภูมิ 750 และ 1,000 องศาเซลเซียส มีปริมาณ 16 PAHs ที่เกิดจากการเผาไหม้ถ่านน้อยกว่าที่ 500 องศาเซลเซียส (Chaemsai et al., 2016)

2. การเผาถ่านให้ติดไฟทั้งก่อนก่อนนำไปใช้จะช่วยลดควันและสารระเหยที่เกิดขึ้นในช่วงแรกของการเผาถ่าน (Kao et al., 2014)

3. การเปลี่ยนถ่านที่สะสมของน้ำมันจะสามารถช่วยลดการเกิดสาร PAHs อาจจะทำให้เพิ่มค่าใช้จ่ายในการเปลี่ยนถ่าน แต่สามารถขายผลิตภัณฑ์ในราคาที่สูงขึ้นได้ เพราะแนวโน้มของผู้บริโภคในปัจจุบันมีการดูแลสุขภาพใส่ใจสุขภาพมากขึ้น การใช้ถ่านไม้ย่างเนื้อเป็นระยะเวลานานโดยไม่มีการเปลี่ยนถ่านจะทำให้อาหารย่างมีปริมาณสาร PAHs มากกว่าอาหารย่างที่ย่างด้วยถ่านในช่วงแรก เนื่องจากการสะสมของปริมาณน้ำมันที่หยดลงบนถ่าน (Viegas et al., 2012)

4. อุณหภูมิและเวลาในการย่าง

การย่างด้วยถ่านไม้เพื่อให้ได้กลิ่น รสเฉพาะ ดังนั้นการทำให้สุกด้วยวิธีการอื่น เช่น การนึ่ง อบไมโครเวฟ ก่อนนำไปย่างด้วยถ่านไม้ เพื่อลดระยะเวลาการย่างที่อุณหภูมิสูงเป็นการลดสาร PAHs ในอาหารย่างได้ จากการศึกษาปริมาณ 16 PAHs ในส่วนต่างๆ ของไก่ย่างที่เวลาแตกต่างกัน (ตารางที่ 2) พบว่า ส่วนของไก่ย่างทุกส่วน มีปริมาณ 16 PAHs เพิ่มขึ้นเมื่อเวลาเพิ่มขึ้น (Kao et al., 2014)

ตารางที่ 2 ตารางแสดงปริมาณ 16 PAHs ในส่วนต่างๆ ของไก่ย่างที่เวลาแตกต่างกัน (Kao et al., 2014)

	ดับไก่		น่องไก่		ก้นไก่		อกไก่	
เวลา	13 นาที	26 นาที	20 นาที	40 นาที	8 นาที	16 นาที	15 นาที	30 นาที
PAHs (ng/g)	78.2±9.8	88.2± 10.3	93.5±21.2	118.3±23.3	6.3±0.9	6.7±0.2	20.5±2.6	238.8±8.3

5. การหยุดของน้ำมันจากเนื้อสัตว์ลงบนถ่าน

1. การควบคุมไม่ให้ไขมันจากเนื้อสัตว์หยดลงบนถ่าน โดยการห่อหุ้มเนื้อสัตว์ก่อนนำไปย่างบนถ่าน ซึ่งวิธีการนี้อาจจะไม่เหมาะสมกับภาคอุตสาหกรรม แต่หากเป็นการผลิตในปริมาณที่ไม่มากนักสามารถนำวิธีการห่อหุ้มเนื้อสัตว์ก่อนนำไปย่างเพื่อลดปริมาณน้ำมันที่จะหยดลงบนถ่านได้ การใช้ใบตองและอลูมิเนียมฟอยด์ห่อหุ้มเนื้อสัตว์ก่อนนำไปย่างสามารถลดปริมาณสาร PAHs ได้ 80% และ 74% (Farhadian, Jinap, Hanifah & Zaidul, 2011) ทั้งนี้การลดลงของสาร PAHs อาจจะมาจากการควบคุมน้ำมันไม่ให้หยดลงบนถ่าน นอกจากนี้การห่อหุ้มเนื้อสัตว์เป็นการลดโอกาสการสัมผัสของควันที่มีสาร PAHs มาเกาะบนเนื้อสัตว์

2. การย่างแบบวางถ่านในแนวตั้ง โดยออกแบบแหล่งให้ความร้อนอยู่ในแนวตั้งเพื่อป้องกันการหยุดของน้ำมันลงบนถ่าน ซึ่งเป็นการป้องกันการเกิดปฏิกิริยาการเผาไหม้ไม่สมบูรณ์และปฏิกิริยาไพโรไลซิส (pyrolysis) ของน้ำมันที่หยดลงบนถ่าน Saint (1992) ได้ทดลองการย่างปลาซาร์ดีนโดยการออกแบบแหล่งให้ความร้อนแบบแนวนอนและแนวตั้ง พบว่า การย่างปลาซาร์ดีนด้วยแหล่งให้ความร้อนแบบแนวนอนมีปริมาณสาร PAHs สูงกว่า 10-30 เท่า เนื่องจากการหยุดของน้ำมันลงบนถ่าน

3. การลดปริมาณสาร PAHs จากหยุดของน้ำมันลงบนถ่านโดยการควบคุมกระบวนการย่าง Lee et al. (2016) ได้ศึกษาปริมาณสาร PAHs ในเนื้อวัวและเนื้อหมูย่างโดยการออกแบบอุปกรณ์การย่างที่ลดปริมาณการหยุดของน้ำมันลงบนถ่านและลดควันที่เกิดจากการย่าง พบว่าสามารถลดสาร PAHs ในเนื้อวัวและเนื้อหมูย่างลงได้ 48-89% ด้วยการลดปริมาณการหยุดของน้ำมันลงบนถ่านและลดสาร PAHs ลง 41-74% ด้วยการลดควันที่เกิดจากการย่าง

บทสรุป

การย่างอาหารด้วยถ่านเป็นกระบวนการแปรรูปอย่างหนึ่งที่ใช้ความร้อนอุณหภูมิสูงในการปรุงอาหารอาจทำให้เกิดการปนเปื้อนของสาร PAHs สามารถสรุปปัจจัยและปฏิกิริยาที่มีผลต่อการเกิดสาร PAHs ในอาหารย่าง

ด้วยถ่านได้ดังนี้ 1) ปริมาณไขมันในเนื้อสัตว์และน้ำมันเมื่อถูกความร้อนจะทำให้เกิดปฏิกิริยาออกซิเดชัน (lipid oxidation) และการสลายตัว (degradation) จะได้เบนซินเป็นสารตั้งต้นในการเกิดสาร PAHs 2) ถ่านที่ใช้เป็นแหล่งเชื้อเพลิงจะมีส่วนประกอบของสารระเหย (tar) เมื่อเกิดการเผาไหม้จะทำให้สาร PAHs ติดมากับควันและเกาะที่ผิวของเนื้อสัตว์ นอกจากนี้เมื่อถ่านเกิดการเผาไหม้ไม่สมบูรณ์จะทำให้เกิดสาร PAHs ขึ้น 3) การหยดของน้ำมันลงบนถ่านร้อนจะทำให้เกิดปฏิกิริยาไพโรไลซิส (pyrolysis) และเกิดการเผาไหม้ไม่สมบูรณ์เมื่อน้ำมันหยดลงบนถ่านทำให้เกิดควันขึ้นสาร PAHs จะลอยมาเกาะที่ผิวของเนื้อสัตว์ 4) อุณหภูมิในการย่างที่สูงกว่า 200 องศาเซลเซียส สามารถทำให้เกิดปฏิกิริยาไพโรไลซิส (pyrolysis) ได้ นอกจากนี้อุณหภูมิยังเป็นตัวเร่งในการเกิดปฏิกิริยาออกซิเดชัน (lipid oxidation) และการสลายตัว (degradation) ของไขมัน การใช้ระยะเวลาอย่างนานจะทำให้เกิดปฏิกิริยาออกซิเดชัน (lipid oxidation) และการสลายตัวจากความร้อน (degradation) เพิ่มขึ้น ซึ่งเพิ่มโอกาสการปนเปื้อนสาร PAHs ที่ติดมากับควัน บริเวณผิวของอาหารย่างและเพิ่มการสะสมของน้ำมันที่หยดลงบนถ่านไม้จากเนื้อสัตว์ได้

ข้อเสนอแนะ

การเสนอแนวทางการลดสาร PAHs ในอาหารย่างด้วยถ่านจากงานวิจัยที่ผ่านมา ทำได้โดยการควบคุมปัจจัยที่ทำให้เกิดขึ้น ได้แก่ การออกแบบอุปกรณ์เพื่อควบคุมควันระหว่างกระบวนการย่างและน้ำมันที่หยดลงบนถ่านขณะย่างอาหาร การใช้ถ่านคุณภาพสูง การเผาถ่านทิ้งก่อนก่อนนำไปย่างอาหาร การทำให้เนื้อสัตว์สุกบางส่วนก่อนนำไปย่าง การป้องกันน้ำมันไม่ให้หยดบนถ่านด้วยการห่อหุ้มเนื้อสัตว์ก่อนนำไปย่าง การใช้ถ่านคุณภาพสูง อาจจะทำให้ต้นทุนการผลิตเพิ่มขึ้น ดังนั้นควรทดลองตลาดก่อนนำไปใช้จริง การป้องกันน้ำมันหยดลงบนถ่านด้วยการหุ้มเนื้อสัตว์อาจจะมีผลต่อกลิ่นรสของเนื้อสัตว์ เพราะเนื้อสัตว์จะไม่สัมผัสกับควันที่มาจากถ่าน ซึ่งควันจากถ่านจะเป็นตัวที่ทำให้เกิดกลิ่นรสเฉพาะตัวในอาหารย่าง ดังนั้นควรมีการศึกษาระยะเวลาการย่างอาหารเพื่อให้อาหารสัมผัสควันทำให้เกิดกลิ่นรสที่เหมาะสมและมีปริมาณสาร PAHs เป็นไปตามมาตรฐานที่กำหนด

สรุป

การเกิดสาร PAHs ในอาหารย่างด้วยถ่านเป็นกลไกที่มีความซับซ้อน ซึ่งงานวิจัยที่ผ่านมาได้สันนิษฐานกลไกการเกิดสาร PAHs จากปฏิกิริยา ดังนี้คือ ปฏิกิริยาการเผาไหม้ไม่สมบูรณ์ (incomplete combustion) ปฏิกิริยาไพโรไลซิส (pyrolysis) ปฏิกิริยาเมลลาร์ด (Maillard reaction) ปฏิกิริยาออกซิเดชัน (lipid oxidation) และการสลายตัว (degradation) ปฏิกิริยาดังกล่าวจะขึ้นอยู่กับปัจจัยที่ใช้ในกระบวนการย่างอาหาร

ได้แก่ ปริมาณของไขมันในเนื้อสัตว์ ส่วนประกอบของเครื่องปรุงรสหรือน้ำหมักที่ใช้ในการหมักเนื้อสัตว์ก่อนนำไปย่าง อุณหภูมิและเวลาที่ใช้ในกระบวนการย่าง และถ่านที่ใช้เป็นแหล่งให้ความร้อน

อ้างอิง

- Alomirah, H., Al-Zenki, S., Al-Hooti, S., Zaghoul, S., Sawaya, W., Ahmed, N., and Kannan, K. (2011). Concentration and dietary exposure to polycyclic aromatic hydrocarbon (PAHs) from grilled and smoked foods. *Food Control*, 22, 2028-2035.
- Bansal, V. and Kim, K. (2015). Review of PAH contamination in food products and their health hazards. *Environment International*, 84, 26-38.
- Britt, P. (2004). Does glucose enhance the formation of nitrogen containing polycyclic aromatic compounds and polycyclic aromatic hydrocarbons in the pyrolysis of proline?. *Fuel*, 1417-1432.
- Chaemsai, S., Kunanopparat, T., Srichumpuang, J., Nopharatana, M., Tangduangdee, C., & Siriwattanayotin, S. (2016). Reduction of the polycyclic aromatic hydrocarbon (PAH) content of charcoal smoke during grilling by charcoal preparation using high carbonisation and a preheating step. *Food Additives & Contaminants: Part A*, 33(3), 385-390.
- Chen, B. H., & Chen, Y. C. (2001). Formation of Polycyclic Aromatic Hydrocarbons in the Smoke from Heated Model Lipids and Food Lipids. *J. Agric. Food Chem*, 5238-5243.
- COMMISSION REGULATION (EU) (n.d.) No 835/2011 of 19 August 2011 amending Regulation (EC) No 1881/2006 as regards maximum levels for polycyclic aromatic. Retrieved January 10, 2017). Web site: https://www.fsai.ie/uploadedFiles/Reg835_2011.pdf
- Farhadian, A., Jinap, S., Faridah, A., and Zaidul, I. S. (2010). Determination of polycyclic aromatic hydrocacons in grilled meat. *Food Control*, 606-610.
- Farhadian, A., Jinap, S., Hanifah, H. N., and Zaidul, I. S. (2011). Effects of meat preheating and wrapping on the levels of levels of polycyclic aromatic hydrocarbons in charcoal grilled meat. *Food Chemistry*, 141-146.

- Farhadian, A., Jinap, S., Faridah, A., and Zaidul, I. S. M. (2012) Effects of marinating on the formation of polycyclic aromatic hydrocarbons (benzo[a]pyrene, benzo[b]fluoranthene and fluoranthene) in grilled beef meat, *Food Control*, 28, 420-425.
- Gibis, M. (2007). Effect of oil marinades with garlic, onion and lemon juice on the formation of heterocyclic aromatic amines in fried beef patties. *Journal of Agriculture and Food Chemistry*, 55, 10240-10247.
- Hassan, G.M. (2010). Nutritional, biochemical and cytogenotoxicity studies on wasted fat released from chicken during grilling process. *Food and Chemical Toxicology*, 2675-2681.
- Jahurul, M. J. (2013). Determination of fluoranthene, benzo(b)fluoranthene and benzo(a)pyrene in meat and fish product and their intake by Malaysian. *Food Bioscience*, 73-80.
- Kao, T. H., Chen, S., Huang, C. W., Chen C. J., and Chen, B. H. (2014). Occurrence and exposure to Polycyclic aromatic hydrocarbons in kindling free charcoal grilled meat products in Taiwan. *Food and Chemical Toxicology*, 71, 149-158.
- Lee, J. G, Kim, S.Y , Moon, J.S , Kim , S.H , Kang, D.H, and Yoon, H.J. (2016). Effects of grilling procedure on levels of polycyclic aromatic hydrocarbons in grilled meats. *Food Chemistry*, 199, 632-638.
- Maher, K. & Bressler, L (2007). Pyrolysis of triglyceride materials for the production. *Bioresource Technology*, 2351-2368.
- Orecchio, S. C. (2009). Polycyclic aromatic hydrocarbon (PAHs) in coffee brew samples: Analytical method by GC-MS, profile, levels and sources. *Food and Chemical Toxicology*, 47(4), 819-826.
- Pan, H. and Cao, Y. (2010). Optimization of pretreatment procedures for analysis of polycyclic aromatic hydrocarbons in charcoal-grilled pork. *Anal. Lett.* 43, 97-109.
- Park, H. (2017). Effects of cooking methods and tea marinades on the formation of benzo[a]pyrene in grilled pork belly (Samgyeopsal). *Meat Science*, 129, 1-8.
- Phillips, D. H. (1999). Polycyclic aromatic hydrocarbons in the diet. *Mutation Research*, 139-147.
- Prathomtong, P, Panchatee, C., Kunanopparat, T., Srichumpuang, W. and Nophaeatara, M. (2016). Effect of charcoal composition and oil droplet combustion on the polycyclic aromatic

- hydrocarbon content of smoke during the grilling process, *International Food Research Journal*, 23(4), 1372-1378.
- Saint, C. (1992). Evaluation of the induction of Polycyclic Aromatic Hydrocarbons (PAHs) by cooking on two geometrically different types of barbecue. *J. Food Compos*, 257-263.
- Saito, E. Tanaka, T. N., Miyazaki A. and M. Tsuzaki. (2014). Concentration and particle size distribution of polycyclic aromatic hydrocarbons formed by thermal cooking. *Food Chemistry*, 285-291.
- Simko, P. (2011). Heat and processing generated contaminants in processed meat. *Processed meat*, 478-507.
- Singh, L., Varshney, J. G. and Agarwal. T. (2016). Polycyclic Aromatic Hydrocarbons' Formation and Occurrence in Processed Food. *Food chemistry*, 768-781.
- Tamakawa, K. (2008). Polycyclic aromatic hydrocarbons. In Y. PICO, *Food contaminants and residue analysis* (pp. 473-518). Hungary.
- Viegas, O., Novo, P., Pinto, E., Pinho, O., and Ferreira, I. (2012). Effect of charcoal types and grilling conditions on formation of heterocyclic aromatic amines (HAs) and polycyclic aromatic hydrocarbons (PAHs) in grilled. *Food and Chemical Toxicology*, 2128-2134.
- Wongmaneepratip, W and Vangnai. K., (2017). Effects of oil types and pH on carcinogenic polycyclic aromatic hydrocarbons (PAHs) in grilled chicken. *Food control*, 119-125.

คำแนะนำการเตรียมและส่งต้นฉบับ

วารสารวิทยาศาสตร์ปริทัศน์ มหาวิทยาลัยนราธิวาสราชนครินทร์

วารสารวิทยาศาสตร์ปริทัศน์ เป็นวารสารที่ตีพิมพ์เผยแพร่บทความวิจัยและบทความวิชาการ ที่เกี่ยวข้องกับวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยี สาขาต่างๆ ประกอบด้วย สาขาชีววิทยา เคมี ฟิสิกส์ คณิตศาสตร์ สถิติ และสารสนเทศ และด้านอื่นๆ ที่เกี่ยวข้องกับวิทยาศาสตร์ โดยบทความที่จะตีพิมพ์เผยแพร่ ต้องเป็นผลงานวิจัยที่แล้วเสร็จไม่เกิน 5 ปี ไม่เคยตีพิมพ์หรืออยู่ในระหว่างพิจารณาตีพิมพ์ในวารสารอื่น เมื่อได้รับการตอบรับให้ตีพิมพ์ ถ้าเป็นบทความวิจัยที่เป็นหรือเป็นส่วนหนึ่งของวิทยานิพนธ์/ดุษฎีนิพนธ์ต้องมีหนังสือรับรองและลงนามทั้งอาจารย์ที่ปรึกษาหลักและนักศึกษาผู้ทำวิทยานิพนธ์/ดุษฎีนิพนธ์ กองบรรณาธิการขอสงวนสิทธิ์ในการแก้ไขต้นฉบับเพื่อความเหมาะสมและเป็นไปตามเกณฑ์ที่กองบรรณาธิการกำหนด โดยบทความที่จะตีพิมพ์เผยแพร่ ต้องผ่านการพิจารณาถ่วงถ่วง ตรวจสอบจากผู้ทรงคุณวุฒิ (Peer review) ที่มีความรู้ ความชำนาญ มีประสบการณ์ ในด้านที่เกี่ยวข้องในการประเมินบทความ เพื่อให้ข้อคิดเห็น ข้อเสนอแนะ ที่เป็นประโยชน์ก่อนการตีพิมพ์เผยแพร่จำนวนอย่างน้อย 2 ท่าน โดยจะไม่เปิดเผยข้อมูลของผู้เขียนและผู้ประเมินบทความ (Double blinded peer review)

ประเภทของบทความ

1. บทความวิจัย
2. บทความวิชาการ
3. บทความปริทัศน์ บทความพิเศษ และปกิณกะ

การเตรียมบทความต้นฉบับ

1. ต้นฉบับพิมพ์ด้วยคอมพิวเตอร์โปรแกรมสำเร็จรูป MS Word 97/03 for Windows แบบอักษร TH SARABUN PSK ขนาดตัวอักษร 16 อักษรปกติ พิมพ์หน้าเดียวบนกระดาษ A4 ระยะขอบกระดาษ ด้านบน-ด้านล่าง 2.54 ซม. ด้านใน 2.54 ซม. ด้านนอก 2.54 ซม.
2. ชื่อเรื่อง ทั้งภาษาไทยและภาษาอังกฤษ พิมพ์ไว้หน้าแรกตรงกลางขนาดตัวอักษร 20 ตัวหนา
3. ชื่อผู้เขียน ทั้งภาษาไทยและภาษาอังกฤษ อยู่ที่ชื่อเรื่องโดยชิดขอบกระดาษด้านขวา ขนาด ตัวอักษร 14 อักษรปกติและให้ระบุตัวเลขเป็นตัวยกท้ายชื่อผู้เขียน เพื่อแสดงรายละเอียดเกี่ยวกับสถานที่ทำงานของผู้เขียนบทความทุกคนไว้ที่เชิงอรรถในหน้าแรก

4. ชื่อหน่วยงานของผู้เขียน ทั้งภาษาไทยและภาษาอังกฤษ อยู่ส่วนล่างสุดที่เชิงอรรถในหน้าแรก ขนาดตัวอักษร 12 หนา ระบุหน่วยงานรองและหน่วยงานหลัก และระบุตัวเลขเป็นตัวยกหน้าชื่อหน่วยงานผู้เขียนทุกท่าน และ E-mail Address ของผู้เขียนหลักเพื่อเป็น Corresponding Author

5. บทคัดย่อ (Abstract) ทั้งภาษาไทยและภาษาอังกฤษ ความยาวไม่เกิน 300 คำ

6. คำสำคัญ (Key words) ทั้งภาษาไทยและภาษาอังกฤษ (จำนวน 3-5 คำ)

7. การพิมพ์หัวข้อ หัวข้อใหญ่สุด ให้ขีดขอบด้านซ้าย หัวข้อย่อยเว้นห่างจากหัวข้อใหญ่ 4 ตัวอักษร และหัวข้อย่อยขนาดเดียวกัน ต้องพิมพ์ให้ตรงกัน เมื่อขึ้นหัวข้อใหญ่ควรเว้นระยะพิมพ์หนึ่งบรรทัด

8. การใช้ตัวเลขคำย่อ และวงเล็บควรใช้เลขอารบิกทั้งหมด ใช้คำย่อ ที่เป็นสากลเท่านั้น (ระบุคำเต็ม ไว้ในครั้งแรก) การวงเล็บภาษาอังกฤษ ควรใช้ดังนี้ (Student centered learning)

9. กรณีมีรูปภาพ บันทึกเป็นไฟล์ที่มีนามสกุล JPEGs หรือ Tiffs เท่านั้น

10. บทความวิจัย ให้เรียงลำดับสาระ ดังนี้

10.1 บทคัดย่อ (Abstract)

10.2 บทนำ ระบุความสำคัญของปัญหาการวิจัย กรอบแนวคิด สมมุติฐาน การ ทบทวนหรืออ้างอิงเอกสาร/ทฤษฎี/งานวิจัย ที่นำไปสู่กรอบแนวคิดหรือวัตถุประสงค์การวิจัย

10.3 วัตถุประสงค์การวิจัย

10.4 กรอบแนวคิดการวิจัย

10.5 วิธีการวิจัย (Research methodology) ระบุแบบแผนการวิจัยการได้มาซึ่งกลุ่มตัวอย่าง และการกำหนดขนาดกลุ่มตัวอย่าง เครื่องมือที่ใช้ในการวิจัย การหาคุณภาพเครื่องมือ วิธีการ เก็บรวบรวมข้อมูล และการวิเคราะห์ข้อมูล

10.6 ผลการวิจัย (Results) เสนอผลที่พบตามวัตถุประสงค์การวิจัยตามลำดับอย่างชัดเจน ควรเสนอในรูปตารางหรือแผนภูมิ

10.7 อภิปรายผล (Discussion) เสนอเป็นความเรียง ชี้ให้เห็นถึงความเชื่อมโยงของผลการวิจัยกับกรอบแนวคิด และงานวิจัยที่ผ่านมา ไม่ควรอภิปรายเป็นข้อ ๆ แต่ชี้ให้เห็นถึงความเชื่อมโยงของตัวแปรที่ศึกษาทั้งหมด

10.8 สรุป (Conclusions) ระบุข้อสรุปที่สำคัญ สอดคล้องกับวัตถุประสงค์หรือไม่

10.9 ข้อเสนอแนะ (Suggestion) ข้อเสนอแนะในการนำผลการวิจัยไปใช้ และสำหรับการวิจัยต่อไป

10.10 รายการอ้างอิง (References) ต้องเป็นรายการที่มีการอ้างอิงไว้ในเนื้อหาเท่านั้น รายการอ้างอิงที่นำมาอ้างอิงต้องมีความทันสมัย ทันต่อเหตุการณ์ และควรตีพิมพ์เผยแพร่ไม่เกิน 5 ปีย้อนหลัง และให้เขียนเป็นภาษาอังกฤษทั้งหมด

11. บทความวิชาการ ประกอบด้วย

11.1 บทคัดย่อ (Abstract)

11.2 บทนำ (Introduction)

11.3 เนื้อเรื่อง (Content) แสดงสาระสำคัญที่ต้องการนำเสนอตามลำดับ

11.4 บทสรุป (Conclusion)

11.5 ข้อเสนอแนะ (Suggestion)

11.6 รายการอ้างอิง (References)

12. การพิมพ์เอกสารอ้างอิง ให้ใช้ APA Formatted References, 6th edition ดังรายละเอียดท้ายเล่ม

13. การเขียนตาราง เขียนด้วยตัวหนา ชิดขอบซ้ายเส้นตารางให้มีเฉพาะแนวนอนตรงหัวและท้ายตารางเท่านั้น กรณีที่มีหมายเหตุใต้ตารางให้เขียนด้วยตัวปกติ ดังตัวอย่าง

ตารางที่ 3 จำนวนรากของยอดดาวเรืองที่วางเลี้ยงบนอาหารสูตร MS ที่เติม BA ความเข้มข้นต่างๆ เป็นเวลา 3 สัปดาห์

	สูตรอาหาร	ปริมาณรากที่เกิดขึ้น
	MS + 150 ml/l CW	++++
	MS + 150 ml/l CW + 1 mg/l BA	+++
	MS + 150 ml/l CW + 3 mg/l BA	++
	MS + 150 ml/l CW + 5 mg/l BA	+
หมายเหตุ	เครื่องหมาย (-)	= ไม่เกิดราก
	เครื่องหมาย (+)	= 1-5 ราก
	เครื่องหมาย (++)	= 6-10 ราก
	เครื่องหมาย (+++)	= 11-15 ราก

เครื่องหมาย (++++) = 16-20 ราก

ตัวอย่างการเขียนเอกสารอ้างอิง

1. การอ้างอิงในเนื้อหา

ใช้ระบบนาม-ปี (Author's last name – year of Publication) กรณีบทความวิจัย(paper) และเอกสารสืบเนื่องจากการประชุมวิชาการ(proceeding) ตัวอย่างเช่น

ผู้เขียน 1 คน: (Siripan, 2016)

ผู้เขียน 2 คน: (Siripan & Kaewchai, 2016)

ผู้เขียน 3-5 คน: การอ้างอิงครั้งแรกให้ใส่ชื่อสกุลของทุกคน และการอ้างอิงต่อไปให้ใส่เฉพาะชื่อสกุลของคนแรก แล้วตามด้วย et al. ตัวอย่างเช่น

(Seeley, VanPutte, Regan, & Russo, 2016) ในการอ้างอิงครั้งแรก

และ (Seeley et al., 2016) ในการอ้างอิงต่อไป

ผู้เขียนตั้งแต่ 6 คนขึ้นไป: อ้างอิงครั้งแรกและครั้งต่อไป ให้ใส่เฉพาะชื่อสกุลของคนแรก แล้วตามด้วย et al. เช่น

(Chongchareon et al., 2016)

2. การอ้างอิงในรายการอ้างอิง

2.1 การอ้างอิงทั่วไป

1) ถ้าผู้เขียนไม่เกิน 7 คน ใส่ชื่อผู้เขียนทุกคน ถ้าผู้เขียนตั้งแต่ 8 คนขึ้นไป ให้ใส่ชื่อ 6 คนแรกและตาม ด้วย...และชื่อผู้เขียนคนสุดท้าย

2) ถ้าแหล่งอ้างอิงมาจากหนังสือ หนังสือออนไลน์ หรือ ebook ให้เอียงชื่อหนังสือ

3) ถ้าแหล่งอ้างอิงมาจากวารสาร ให้เอียงชื่อวารสาร

4) ถ้าแหล่งอ้างอิงเป็นเอกสารสืบเนื่องจากการประชุมวิชาการ ให้เอียงชื่อการประชุม

5) กรณีบทความวิจัย(paper) และ เอกสารสืบเนื่องจากการประชุมวิชาการ(proceeding) ที่รายการอ้างอิง ไม่มีภาษาอังกฤษให้แปลเป็นภาษาอังกฤษ และให้วงเล็บ (in Thai) ตัวอย่างเช่น

Oliveira, L.F., Correa, J.L.G., Tosato P.G., Borges S.V., Alves J.G.L.F., & Fonseca, B.E. (2011). Sugarcane Bagasse Drying in a Cyclone: Influence of Device Geometry and Operational Parameters. *Drying Technology*, 29, 946-952.

Grimm, A., Elustondob, D., Mäkelä, M., Segerström M., Kalén, G., Fraikin L., Larsson, H. S. (2017). Drying recycled fiber rejects in a bench-scale cyclone: Influence of device geometry and operational parameters on drying mechanisms. *Fuel Processing Technology*, 167, 631-640.

Suriyawongpaisarn, P., Srithamrongsawat, S., Hempisut, P., Aueasiriwon, B., Pholpark,

A., & Wannasri. A. (2013). *The Emergency Management System of the Regional Emergency Medical System*. Health Insurance System. Research Office (HISRO). Health System Research Institute (HSRI). (in Thai).

2.2 ผู้เขียนเป็นหน่วยงาน ตัวอย่างเช่น

National Institute of Emergency Medicine. (2014). *The gap of Thai Emergency Medicine: Report Emergency Medical Service System 2013*. (1st ed.) Bangkok. NP Press.

Muangjunburee, P. (2012). *Welding Engineering*. Songkhla: Educational Technology, Faculty of Engineering, Prince of Songkhla University.

2.3 การอ้างอิงเฉพาะบทในหนังสือ ตัวอย่างเช่น

Sahieam, C. (2014). Nurse case management for clients with diabetes mellitus. In Sindhu S, Wongrod P. (editor). *Case management for clients with diabetes mellitus and hypertension* (2nd ed.) (pp.9-46). Bangkok: Wattanakanpim Printting.

Benedyk, J. (2010). Aluminum alloys for lightweight automotive structures. *Materials, Design and Manufacturing for Lightweight Vehicles, Woodhead Publishing Series in Composites Science and Engineering*, 79-113.

2.4 การอ้างอิงเอกสารจากอินเทอร์เน็ต ตัวอย่างเช่น

Inada, K. A. (1995). Buddhist response to the nature of human rights. *Journal of Buddhist Ethics* Retrieved May 21, from <http://www.psu.edu/jbe.html>

2.5 วิทยานิพนธ์ตัวอย่างเช่น

Siriphan, S. (2011). *Development of an Instructional Model Emphasizing Cultural Competency of Nursing Students*. A Dissertation Submitted in Partial Fulfillment of the Requirements for the Doctor of Philosophy School of Educational Studies Sukhothai Thammathirat Open University. (in Thai).

2.6 บทความในวารสาร

Sangnimitchaikul, W. (2012). Student-centered learning: A case study of Instructional model in the nursing care of children and adolescents course at the faculty of Nursing, Thammasat University. *Journal of Nursing and Education*, 5(2), 64-76.

ข้อแนะนำในการส่งต้นฉบับ

เมื่อผู้เขียนเตรียมไฟล์ต้นฉบับตามการเตรียมต้นฉบับบทความวิจัย/บทความวิชาการแล้ว สามารถส่งไฟล์ต้นฉบับทาง E-mail: journal_sci@pnu.ac.th

ข้อแนะนำการส่งเอกสารที่เกี่ยวข้อง

ผู้เขียนศึกษา ตรวจสอบขั้นตอนการส่งบทความวิจัย/วิชาการ และดาวน์โหลดเอกสารที่เกี่ยวข้อง ที่เว็บไซต์ <https://www2.st.pnu.ac.th/journal/index.php> หลังจากนั้นส่งเอกสารที่เกี่ยวข้องและบทความต้นฉบับ จำนวน 1 ชุด ทางไปรษณีย์ ส่งมาที่

บรรณาธิการวารสารวิทยาศาสตร์ปริทัศน์

คณะวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยี มหาวิทยาลัยนราธิวาสราชนครินทร์

99 หมู่ 8 ตำบลโคกเคียน อำเภอเมือง จังหวัดนราธิวาส 96000

การเขียนอ้างอิงแบบ APA ฉบับพิมพ์ครั้งที่ 6

การเขียนอ้างอิงแบบ APA เป็นการเขียนเอกสารอ้างอิงในผลงานวิชาการต่างๆ ที่กำหนดโดยสมาคมจิตวิทยาแห่งสหรัฐอเมริกา (American Psychological Association) หรือ APA จัดพิมพ์เป็นคู่มือ การเขียนรายการอ้างอิง ชื่อว่า Publication Manual of the American Psychological Association เริ่ม พิมพ์ครั้งแรกในปี ค.ศ. 1929 และฉบับปัจจุบัน เป็นฉบับพิมพ์ครั้งที่ 6 จัดพิมพ์ในปี ค.ศ. 2010 รูปแบบการ เขียนอ้างอิงแบบ APA ประกอบด้วย 2 ส่วน คือ 1) การอ้างอิงในเนื้อหา 2) การอ้างอิงท้ายเล่ม หรือ บรรณานุกรม

1. การอ้างอิงในเนื้อหา (In-text citation) เป็นการอ้างอิงในระบบนามปี (author-date citation system) โดยระบุชื่อผู้เขียน และปีพิมพ์เพื่อเป็นการชี้แนะผู้อ่านไปยังแหล่งข้อมูลที่อ้างอิงท้ายเล่ม หรือบรรณานุกรมของผลงานวิชาการ ที่มีการจัดเรียงตามลำดับตัวอักษร การอ้างอิงในเนื้อหา มี 2 ลักษณะ คือ

1. การอ้างอิงชื่อผู้เขียนก่อนข้อความ

เอกสารอ้างอิงภาษาไทย ใช้ ชื่อผู้เขียน เว้น 1 ตัวอักษร ตามด้วยปี พิมพ์ ในวงเล็บ กรณีที่ไม่มีปีพิมพ์ใช้คำว่า “ม.ป.ป.” หมายถึง ไม่ปรากฏปีพิมพ์ เช่น

นุชนาถ (2556) ได้ศึกษาพบว่า

สุวรรณณีและปฐมามาต(2550) พบว่า

รมณ์ฤดี (ม.ป.ป.) ได้ศึกษาแบบบรรยาย พบว่า

จากการศึกษาของ พงศ์เทพ, อมร, สุวัฒน์, และสุภัทร (2550) พบว่า เอกสารอ้างอิง

ภาษาอังกฤษ ให้เขียนนามสกุลของผู้เขียนทับศัพท์ เป็นภาษาไทยก่อน เว้น 1 ตัวอักษร ตามด้วย นามสกุลภาษาอังกฤษ เครื่องหมายจุลภาค (,) เว้น 1 ตัวอักษร และปี พิมพ์ในวงเล็บ กรณีที่ไม่มีปีพิมพ์ใช้คำว่า “n.d.” หมายถึง no date เช่น

วอคเกอร์ (Walker, 2007) พบว่า

การศึกษาของ เคิร์ชฮอฟฟ์ และเบคสเตรนด์ (Kirchhoff & Beckstrand, 2000) ได้ชี้ให้เห็นว่า

เลดเดอร์เลย์ และคณะ (Lederle et al., 2009) พบว่า

แฮส (Haas, n.d.) พบว่า.....

2. การอ้างอิงชื่อผู้เขียนท้ายข้อความ

เอกสารอ้างอิงภาษาไทย ใช้ชื่อผู้เขียน ตามด้วยเครื่องหมายจุลภาค (,) เว้น 1 ตัวอักษร และปี พิมพ์ภายในวงเล็บ เช่น

วิสัยทัศน์ของผู้อำนวยการโรงพยาบาลชุมชนที่ให้ความสำคัญกับการคัดกรองเบาหวาน เป็นปัจจัยสนับสนุนความสำเร็จ.....(เมธา, 2551)

การรับประทานยาให้ต่อเนื่องขึ้นอยู่กับความตั้งใจ หรือกำลังใจของผู้ป่วยและจำเป็นต้องอาศัยแผนการรักษา และทีมสุขภาพ (สมลักษณ์, ทับทิม, และวัลลภา, 2555)

การขาดความสามารถและขาดความชำนาญในการคิดวิเคราะห์เกี่ยวกับการวางแผนการพยาบาล ส่งผลให้ขาดความมั่นใจในการนำ ความรู้ไปใช้.....(ณัฐธยาน์, อรพินทร์, และอังศินันท์, 2553; Albutt, 2013)

เอกสารอ้างอิงภาษาอังกฤษ ใช้นามสกุลผู้เขียน เป็นภาษาอังกฤษ ตามด้วยเครื่องหมายจุลภาค (,) เว้น 1 ตัวอักษร และปี พิมพ์ภายในวงเล็บ เช่น

ความรู้ในการดูแลผู้ป่วยระยะสุดท้ายสามารถเกิดขึ้นได้จากการเรียนการสอนการอบรมเพิ่มเติม (Walker, 2007)

การออกกำลังกายแบบไท่จีซังจัดเป็นการออกกำลังกายแบบแอโรบิกที่มีความหนักเบาระดับปาน กลาง (Klein & Adams, 2004)

รูปแบบการเขียนอ้างอิงในเนื้อหา

1. การอ้างอิงที่มีผู้เขียน 1 คน

การอ้างอิงชื่อผู้เขียนก่อนข้อความ

สุทัสศรี (2554) พบว่า หลักกรรมมีผลต่อพฤติกรรมทางสังคมและจิตใจของผู้สูงอายุ ทำให้ผู้สูงอายุยอมรับสภาพที่เป็นอยู่ ณ ปัจจุบัน.....

พรหมพาหกุล (Prompahakul, 2011) พบว่า พยาบาลไทยในภาคใต้ส่วนใหญ่ไม่เคยอบรมการดูแลผู้ป่วยระยะสุดท้าย ซึ่งการอบรมเป็นสิ่งสำคัญ

วอคเกอร์ (Walker, 2007) พบว่า ภาวะวิกฤตทางจิตใจเป็นภาวะการณ์เสียสมดุลทางจิตใจ.....

หรือ

การอ้างอิงชื่อผู้เขียนท้ายข้อความ

ผู้ดูแลที่มีงานประจำต้องปรับเวลาทำงานให้มีความสะดวกในการดูแลผู้ป่วย ทำให้ผู้ดูแลรู้สึกเหนื่อย.....
(สุธีรา, 2554)

ส่วนใหญ่พบว่า ลักษณะการปวดศีรษะที่เกิดขึ้น เป็นชนิดไมเกรนมากที่สุด และปวดแบบตึงเครียด
รองลงมา (Walker, 2007)

2. การอ้างอิงที่มีผู้เขียน 2 คน

การอ้างอิงชื่อผู้เขียนก่อนข้อความ

ธารทิพย์และอรพิน (2547) กล่าวว่า ความชุกปัจจัยเสี่ยงต่อการเกิดเบาหวานมีเพิ่มขึ้น.....
บอยด์และวัตตัน (Boyd & Watton, 2001) กล่าวว่า การปรับเปลี่ยนวิถีการดำรงชีวิต.....
จากการศึกษาของ เคิร์ชฮอฟฟ์ และเบคสเตรนด์ (Kirchhoff & Beckstrand, 2000) ได้ชี้ให้เห็นว่า
การที่พยาบาลมีความรู้ในการดูแลผู้ป่วยระยะสุดท้ายที่ไม่เพียงพอเป็นอุปสรรคที่สำคัญในการดูแลผู้ป่วย.....

หรือ

การอ้างอิงชื่อผู้เขียนท้ายข้อความ

จำนวนผู้สูงอายุที่เพิ่มขึ้น ในปีพ.ศ. 2548 ร้อยละ 6.4 ในปี พ.ศ. 2553 เพิ่มขึ้นเป็นร้อยละ 7.5 และคาดว่า
ในปี พ.ศ. 2578 จะเพิ่มขึ้น เป็น ร้อยละ 15.9 (เป้ทมาและปราโมทย์, 2553)

ผู้สูงอายุที่อาศัยในบ้านพักคนชรา ประเทศเยอรมัน ส่วนใหญ่ไม่ต้องการรบกวนสมาชิกในครอบครัว
เนื่องจากมีความเห็นว่า บุตรหลาน ส่วนใหญ่ต่างก็มีชีวิตและภาระต่างๆ ของตนเองที่จะต้องรับผิดชอบ (Erichsen
& Bossing, 2013)

การบาดเจ็บที่ศีรษะแม้ไม่เป็นอันตรายแก่ชีวิต แต่รบกวนการดำเนินชีวิตประจำวัน ทั้งทางด้านอารมณ์
สมาธิสติปัญญาและสังคม ส่งผลให้คุณภาพชีวิตลดลง (Erickson & Theeler, 2012)

3. การอ้างอิงที่มีผู้เขียน 3-5 คน

กรณีอ้างอิงครั้งแรก (ในย่อหน้าเดียวกัน) ใส่ชื่อผู้เขียนทั้ง 3-5 คน

ลือชา, สมศักดิ์, ประพนอม, และสนอง (2553) พบว่า ความเจ็บปวดจากการใส่เครื่องช่วยหายใจ.....

แมคคอร์มิก, อิลเจน, และรอยส์ (McCormick, Ilgen, & Roy, 2001) พบว่า ประสบการณ์การช่วยฟื้นคืนชีพ.....

หรือ

การคาสายเพื่อติดตามความดันในหลอดเลือดดำ ส่วนกลาง.....(อารี, สมพร, วนิดา, และปราณี, 2553)
หลังได้รับการผ่าตัดผู้ป่วยมักจะมีการดำรงชีวิตเปลี่ยนแปลงไปจากเดิม.....(Pettersson, Mattsson, & Bergbom, 2009)

ค่าปกติของความดันในหลอดเลือดดำ ส่วนกลางที่ประเมินได้.....(Wood, Roy, Scales, & Smith, 2010)

กรณีตัวอย่างครั้งที่ 2 (ในย่อหน้าเดียวกัน) ใส่ชื่อผู้เขียนคนแรก เว้น 1 ตัวอักษร ตามด้วย “และคณะ” หรือ “et al.”

ลือชาและคณะ (2553) พบว่า ผู้สูงอายุโรคเบาหวานชนิดที่ 2 ที่มีภาวะเสี่ยงต่อการเกิดโรคไตเรื้อรัง มีพฤติกรรมสุขภาพ.....

แมคคอร์มิกและคณะ (McCormick et al., 2001) กล่าวว่า เมื่อบุคคลต้องเผชิญกับ ภาวะคุกคามทางสุขภาพ จะมีกระบวนการตอบสนองที่นำไปสู่วิธีการจัดการ.....

หรือ

ในการป้องกัน ภาวะแทรกซ้อนดังกล่าวมาแล้ว.....(ลือชาและคณะ, 2553)

การแลกเปลี่ยนความคิดเห็นแต่ละบุคคลเป็นการนำศักยภาพแต่ละบุคคลออกมาใช้ (McCormick et al., 2001)

4. การอ้างอิงที่มีผู้เขียน 6 คน หรือ มากกว่า 6 คนขึ้นไป ใส่ชื่อผู้เขียนคนแรก เว้น 1 ตัวอักษร ตามด้วย “และคณะ” หรือ “et al. ” กรณีที่อ้างอิงชื่อผู้เขียนก่อนข้อความ และกรณีที่อ้างอิงชื่อผู้เขียนหลังข้อความ

ชาธิปไตย และคณะ (2554) พบว่า การนวดไทยสามารถบรรเทาอาการปวด ในผู้ป่วยปวดศีรษะแบบตึงเครียดได้

เซง และคณะ (Cheng et al., 2010) พบว่า อาการของภาวะแทรกซ้อนที่พบบ่อย คือ อาการปวดขา /ขา บริเวณขาที่เกิดจากการอุดตันของลิ่มเลือด.....

หรือ

ปัญหาการดูแลผู้สูงอายุในครอบครัวและชุมชนว่า มีการเพิ่มขึ้นของผู้เจ็บป่วยเรื้อรัง(ทัศนาศ และคณะ, 2550)

ผู้ป่วยโรคหลอดเลือดแดงเออร์ตาในช่องท้องโป่งพอง ที่ได้รับการผ่าตัดแบบเปิดมีคุณภาพชีวิตหลังผ่าตัดอยู่ในระดับ เดียวกันกับผู้ป่วยที่ได้รับการผ่าตัดแบบสอดใส่หลอดเลือดเทียมผ่านทางสายสวน (Lederle et al., 2009)

5. การอ้างอิงเอกสารหลายฉบับจากผู้เขียนหลายๆ คน ให้เรียงลำดับการอ้างอิงตามลำดับตัวอักษร ผู้เขียนก่อน-หลังและแยกระหว่างผู้เขียนด้วยเครื่องหมายอัฒภาค (;) เช่น

ผู้ป่วยที่มีอาการเบื่ออาหาร คลื่นไส้ อาเจียน อ่อนเพลีย เหนื่อยง่าย ปัสสาวะออกน้อย ความดันโลหิตสูง บวม หัวใจวาย น้ำ ท่วมปอด ซึมหรือหมดสติและในผู้ป่วยที่รักษาไม่ทันอาจเสียชีวิตได้..... (รัตนานและบุญเรือง ,2550; วิชัย, 2551; ศิริพร, 2529; Alan, Brown, & Smith, 2003; Gordon et al., 2001)

6. การอ้างอิงเอกสารที่มีมากกว่า 1 เรื่อง ของผู้เขียนคนเดียวกัน และปีพิมพ์เดียวกัน ให้ใส่ส่วนที่ต่อท้าย (suffixes) ก, ข, ค (เอกสารภาษาไทย) หรือ a, b, c,... (เอกสารภาษาอังกฤษ) เช่น

จากการทบทวนงานวิจัย (อารี, 2548ก, 2548ข) พบว่า

จากการทบทวนงานวิจัยของ อีเดิ้ลลีน (Edeline, 2001a, 2001b) พบว่า

7. การอ้างอิงเอกสารที่ผู้เขียนเป็นองค์กร สมาคม สถาบัน หน่วยงาน หรือนิติบุคคล ให้ระบุชื่อเต็มทุกครั้ง ยกเว้นกรณีที่มีชื่อย่อ ให้ระบุชื่อย่อ พร้อมชื่อเต็ม ในการอ้างอิงครั้งแรก ส่วนการอ้างอิงครั้งต่อไป ให้ใช้ชื่อย่อได้ เช่น

การอ้างอิงครั้งแรก

จากการสำรวจข้อมูลโดยมูลนิธิสถาบันวิจัยและพัฒนาผู้สูงอายุไทย (2549) พบว่า การเข้าพักอาศัยใน

สถานสงเคราะห์คนชราเป็นสิ่งที่ผู้สูงอายุไม่ต้องการมากที่สุด.....

องค์การอนามัยโลก (World Health Organization [WHO], 2013) ได้กล่าวถึงการดูแลแบบประคับประคองว่า เป็นการดูแลเพื่อดำรงไว้ซึ่งคุณภาพชีวิตให้แก่ทั้งผู้ป่วยและครอบครัวเพื่อให้สามารถเผชิญกับปัญหาความเจ็บป่วย และลดความทุกข์ทรมาน.....

หรือ

การคัดกรองโรคเบาหวานเป็นการค้นหาบุคคลที่เป็นโรคระยะแรกเริ่ม เพื่อให้ได้รับการวินิจฉัยโดยเร็ว และให้การรักษาดังแต่เริ่มต้น (สถาบันวิจัยและพัฒนาาระบบสุขภาพชุมชน, 2552)

โรคจิตเภทนอกจากพบได้บ่อยแล้ว ยังเป็นโรคที่ติดอันดับ 1 ใน 10 ของโรคที่ก่อให้เกิดการเจ็บป่วยเรื้อรัง (กรมสุขภาพจิต, 2556)

การคัดกรองโรคเบาหวาน ทำให้ประหยัดค่าใช้จ่ายและการใช้ทรัพยากรในการดูแลรักษาโรค (World Health Organization [WHO], 2003)

การอ้างอิงครั้งต่อไป

การประชาสัมพันธ์ตามสถานที่ชุมชนและกิจกรรมที่สำคัญ ของชุมชน ทำให้ประชาชนเข้าสู่กระบวนการคัดกรองอย่างทั่วถึง (WHO, 2003)

8. การอ้างอิงเอกสารที่อยู่ระหว่างตีพิมพ์ ให้ใส่คำว่า “กำลังรอตีพิมพ์” (เอกสารภาษาไทย) หรือ “in press” (เอกสารภาษาอังกฤษ)

จากการทบทวนงานวิจัย (บุปผา, กำลังรอตีพิมพ์) พบว่า

จากการทบทวนงานวิจัย (Smith & Adam, in press) พบว่า

9. การอ้างอิงเอกสารที่ไม่มีชื่อผู้เขียน ให้ระบุชื่อเรื่องเพียง 2-3 คำแรก (กรณีชื่อเรื่องยาว) หรือชื่อเรื่องเต็มสั้นๆ ภายในเครื่องหมายอัญประกาศ (“...”) และตามด้วยปีพิมพ์เช่น

ในการดูแลผู้ป่วยเด็กโรกระบบทางเดินหายใจ..... (“การพยาบาล,” 2550)
(ชื่อเรื่องเต็ม: การพยาบาลผู้ป่วยเด็กที่มีความผิดปกติเกี่ยวกับระบบทางเดินหายใจ)

ปัจจัยที่มีความสัมพันธ์กับภาวะสุขภาพ..... (“Protection Against,” 2003)
(ชื่อเรื่องเต็ม: Protection against inflammation during the chronic and acute)

10. การอ้างอิงเอกสารโดยการคัดลอกข้อความมา โดยไม่ได้นำมาเรียบเรียงใหม่ ให้พิมพ์ชื่อผู้เขียนตามด้วยปีพิมพ์และหน้าที่คัดลอกมา กรณีข้อความที่คัดลอกมาน้อยกว่า 40 คำ ให้ใส่ข้อความนั้น ภายในเครื่องหมายอัญประกาศ (“...”) เช่น

บุษย์ (2550) กล่าวว่า “ผลของการให้ยาแก้ปวด ทำให้อาการปวดหายไปภายใน 1 นาที” (หน้า 41)
นักวิจัยกล่าวว่า “ผลของการให้ยาแก้ปวด ทำให้อาการปวดหายไปภายใน 1 นาที” (บุษย์, 2550, หน้า 41)

11. การอ้างอิงตามผู้เขียนคนอื่น (secondary source) ไม่ได้อ้างอิงโดยตรง หรือ อ้างอิงจากต้นฉบับ (original source) ในกรณีที่ไม่มีกรพิมพ์เอกสารแล้ว (out of print) ไม่สามารถค้นหาเอกสารต้นฉบับได้ หรือไม่มีฉบับที่พิมพ์เป็นภาษาไทย หรือ ภาษาอังกฤษ ให้ใช้คำว่า “อ้างตาม” สำหรับเอกสารภาษาไทย หรือ “as cited in” สำหรับเอกสารภาษาอังกฤษ

ส่วนการอ้างอิงท้ายเล่ม หรือ บรรณานุกรม ให้ใช้เอกสารอ้างอิงของผู้เขียนที่อ่านมา (secondary source) ไม่ใช่เอกสารอ้างอิงของผู้เขียนเอกสารต้นฉบับ (original source) เช่น

จากการศึกษาของเบ็ญจา (2547 อ้างตาม ญัฐกฤตา, 2553) ที่พบว่าปฏิบัติการกรรมการดูแลผู้ป่วยเป็นโรคจิตเภทที่บ้านโดยรวมระดับสูง มีความสัมพันธ์ทางบวก.....

การศึกษาของไซเดนเบิร์กและแมคเคลแลนด์ (Seidenberg & McClelland, 1990 as cited in Coltheart, Curtis, Atkins, & Haller, 1999) พบว่า.....

หรือ

ผู้ดูแลซึ่งมีอาชีพที่ถูกกำหนดไว้แน่นอน เช่น รัฐบาลการรัฐวิสาหกิจ หรือลูกจ้างอาจมีเวลาจำกัดในการดูแลผู้ป่วย (ไพรินทร์, 2543 อ้างตาม สำอาง, 2550)

ผู้ป่วยจิตเภทที่ไม่ร่วมมือในการรักษาด้วยยาเม็ดอัตราการกำเริบซ้ำ ถึง 18 เท่า (Maneesakorn et al., 2007 อ้างตาม รัชณี และเพ็ญญา, 2556)

บทบาทพยาบาลในการติดตามค่าความดัน หลอดเลือดดำ ส่วนกลาง....(Silva, 1978 as cited in Ward & Decan, 2004)

2.การอ้างอิงท้ายเล่ม หรือ บรรณานุกรม (Bibliography)

เป็นการรวบรวมรายการอ้างอิงที่ใช้อ้างอิงในเนื้อหา หรือ รายการอ้างอิงที่เกี่ยวข้องกับ เนื้อหาไว้ในส่วนท้ายเล่มของผลงานวิชาการ ภายใต้หัวข้อ “บรรณานุกรม” โดยจัดเรียงรายการอ้างอิง ตามลำดับอักษรของชื่อผู้เขียน หรือ ชื่อเรื่อง (กรณีที่ไม่มีชื่อผู้เขียน) จัดเรียงรายการอ้างอิงภาษาไทยก่อนรายการอ้างอิงภาษาอังกฤษ

หลักเกณฑ์ทั่วไปการเขียนบรรณานุกรมแบบ APA ฉบับพิมพ์ครั้งที่ 6 (ปี ค.ศ. 2010)

1. ผู้เขียน (Author)

1.1 ผู้เขียนคนเดียว

ผู้เขียนคนไทย ให้เขียนเฉพาะชื่อ นามสกุลไม่ต้องระบุตำแหน่งทางวิชาการ เช่น
ประเวศวะสี.

สมศรี อมาตยกุล.

ชาวต่างประเทศ ให้ใช้นามสกุล ตามด้วยเครื่องหมายจุลภาค (,) เว้น 1 ตัวอักษร ตามด้วยอักษรย่อ ชื่อต้นต่อด้วยเครื่องหมายมหัพภาค (.) ตามด้วยอักษรย่อ ชื่อกลาง (ถ้ามี) เช่น

Deming, D.

Victor, N. M.

Larson, J. R., Jr.

1.2 ผู้เขียน 2 คน

ผู้เขียน 2 คน ให้เขียนชื่อผู้เขียนคนที่ 1 ตามด้วยเครื่องหมายจุลภาค(,) เว้น 1 ตัวอักษร ต่อด้วย “และ”ไม่เว้นวรรค ตามด้วยผู้เขียนคนที่ 2 เช่น

จินตนา ลากเจริญ, และประไพ จันดี.

สวัสดิ์ ตันสกุล, และไพศาล เรื่องจินดา.

ชาวต่างประเทศให้เขียนนามสกุล ตามด้วยเครื่องหมายจุลภาค (,) เว้น 1 ตัวอักษรตามด้วยอักษรย่อชื่อต้นชื่อกลาง (ถ้ามี) และเครื่องหมายมหัพภาค (.) ตามด้วยเครื่องหมาย “&” และเว้น 1 ตัวอักษร ตามด้วยนามสกุลคนที่ 2 แล้วใส่เครื่องหมายจุลภาค (.) ตามด้วยอักษรย่อ ชื่อต้น ชื่อกลาง (ถ้ามี) และต่อด้วยเครื่องหมายมหัพภาค (.) เช่น

William, R., & Sales, B. D.

Hamosh A., & Brinker M. R.

1.3 ผู้เขียน 3-7 คน

คนไทยใช้ชื่อ นามสกุล คั่นด้วยเครื่องหมายจุลภาค (,) และเว้น 1 ตัวอักษรหน้าผู้เขียนทุกคน และใช้คำว่า “และ”โดยไม่เว้นวรรค หน้าผู้เขียนคนสุดท้าย เช่น

ปราณี คำจันทร์, ขนิษฐา นาคะ, และแสงอรุณ อิศระมาลัย.

อักษร พูลนิมิตร, ปานใจอินพุ่ม , อังคณา มูลสงคราม, และณรงค์ศักดิ์ วัชรโรทน .

ชาวต่างประเทศ เขียนเช่นเดียวกับข้อ 1.2 และใช้เครื่องหมายจุลภาค (,) คั่น ระหว่างเขียนทุกคน และใช้เครื่องหมาย “&” เว้น 1 ตัวอักษร หน้าผู้เขียนคนสุดท้าย เช่น

Salmon, M., Earman, J., Wilson, R. T., McGarry, D. D., Hopman, D.

Burke, D., & Bogduk, N.

หมายเหตุ: ใส่ผู้เขียนทั้ง 7 คน

1.4 ผู้เขียนมากกว่า 7 คน

คนไทยใช้ชื่อ นามสกุล ของผู้เขียน 1-6 คนแรก ตามด้วยเครื่องหมายจุลภาค(,) เว้น 1 ตัวอักษร ต่อด้วยจุด 3จุด เว้น 1 ตัวอักษร และต่อด้วย ชื่อ นามสกุลของผู้เขียนคนสุดท้าย เช่น

สุจิตต์ วงษ์เทศ, ประไพ จันดี, สงครีดีสกุล, ประพนธ์ เรืองนาม, สมศรีเรืองศักดิ์,

เพ็ญศรี จงสกุล, ... สมพร เรืองสงค์.

ชาวต่างประเทศ

Salmon, M., Earman, J., Wilson, R. T., McGarry, D. D., Hpoman, D.,

Dynaraki, S., ... Smith, D. C.

กรณีที่ไม่มีชื่อผู้เขียน

ให้ใช้ชื่อเรื่อง เป็นตัวเอียงแทนที่ชื่อผู้เขียน ตามด้วยเครื่องหมายมหัพภาค (.) ต่อด้วยปีพิมพ์บนเครื่องหมายวงเล็บ เช่น

ช็อคติชีวิตงาม. (2549).

Mosby's dictionary of medicine nursing & health. (2009).

2. ปี พิมพ์ (Date)

2.1 ใช้ปี พิมพ์ พ.ศ. หรือ ค.ศ. ในเครื่องหมายวงเล็บ ตามด้วยเครื่องหมายมหัพภาค (.) ต่อจากชื่อผู้เขียน เช่น

ไพศาล จุลพงษ์. (2550).

Thomas, W. (2006).

2.2 กรณีที่ไม่มีปีพิมพ์ใช้คำว่า (ม.ป.ป.) ในเครื่องหมายวงเล็บ คือ ไม่ปรากฏปี พิมพ์ หรือ (n.d.) คือ no date สำหรับเอกสารภาษาอังกฤษ ตามด้วยเครื่องหมายมหัพภาค (.) ต่อจากชื่อผู้เขียน เช่น

ช่อทิพย์กาญจนศิริ. (ม.ป.ป.).

Wilson, D. C. (n.d.).

2.3 กรณีที่สิ่งพิมพ์นั้น ได้รับการตอบรับเพื่อตีพิมพ์แล้ว แต่ยังไม่อยู่ในระหว่างการจัดพิมพ์ให้ระบุคำว่า “อยู่ระหว่างการตีพิมพ์” สำหรับเอกสารภาษาไทย “in press” สำหรับเอกสารภาษาอังกฤษ ไว้ในวงเล็บแทนปีพิมพ์ เช่น

ลัดดา สงวนวงศ์. (อยู่ระหว่างการตีพิมพ์)

Gilbert, D. G. (in press).

3. ชื่อเรื่อง (Title) ของหนังสือ บทความวารสาร ชื่อการประชุม เป็นต้น

ชื่อเรื่อง ให้ใช้ตัวเอียง ทั้งชื่อเรื่องภาษาไทย และภาษาอังกฤษ สำหรับชื่อเรื่องภาษาอังกฤษ ให้ใช้ตัวอักษรพิมพ์ใหญ่ เฉพาะอักษรตัวแรก

ถ้ามีคำอธิบายชื่อเรื่อง หรือ ชื่อเรื่องรอง ให้ใช้เครื่องหมายทวิภาค (:) คั่นเว้น 1 ตัวอักษร ตามด้วยอักษรตัวแรกเป็นตัวพิมพ์ใหญ่ นอกนั้น ใช้ตัวพิมพ์เล็ก

อักษรตัวพิมพ์ใหญ่ ใช้เฉพาะอักษรตัวแรกชื่อเรื่อง และอักษรตัวแรกชื่อเรื่องรอง รวมทั้งชื่อเฉพาะ ชื่อบุคคล ชื่อหน่วยงาน ชื่อย่อ ชื่อภูมิศาสตร์เท่านั้น นอกนั้น ใช้อักษรตัวเล็ก เช่น

หลักการพยาบาล: แนวคิดและข้อปฏิบัติ.

Nursing care: Principles & theory.

Fandroff and Martin's neonatal perinatal medicine.

4. ครั้งที่พิมพ์ (Edition) ของหนังสือ

ใช้สำหรับการจัดพิมพ์ครั้งที่ 2 เป็นต้นไป เช่น ให้ใช้คำว่า พิมพ์ครั้งที่ 2 สำหรับหนังสือภาษาไทย หรือ 2nd ed. สำหรับหนังสือภาษาอังกฤษ ใส่ภายในวงเล็บต่อจากชื่อเรื่อง เช่น

ภาณี แสงหิรัญ. (2550). เวชบำบัดวิกฤต (พิมพ์ครั้งที่ 2).

Sharma,P. (2015). Digestive system (3rd ed.).

5. สถานที่พิมพ์ (Place) และ สำนักพิมพ์ (Publisher) ของหนังสือ

5.1 หนังสือภาษาไทย ให้ใช้ชื่อจังหวัด ตามด้วยเครื่องหมายทวิภาค (:) ติดกับชื่อสถานที่ เว้น 1 ตัวอักษรตามด้วยชื่อสำนักพิมพ์ และเครื่องหมายมหัพภาค(.) เช่น

กรุงเทพฯ: โอเดียนสโตร์.

สงขลา: ภาควิชาพยาธิวิทยา คณะแพทยศาสตร์ มหาวิทยาลัยสงขลานครินทร์.

5.2 หนังสือภาษาอังกฤษ ให้ระบุชื่อเมือง เป็นสถานที่พิมพ์ กรณีที่ชื่อเมืองไม่เป็นที่รู้จักให้ใส่ชื่อรัฐ หรือชื่อประเทศที่เมืองนั้นตั้งอยู่ โดยค้นชื่อเมือง และชื่อรัฐ/ประเทศ ด้วยเครื่องหมายจุลภาค (,) เช่น

Sudbury, MA: Jones and Bartlett.

Oxford: Basil Blackwell.

St. Louis, MO: Mosby.

Princeton, NJ: Princeton University Press.

สำหรับเมืองที่เป็นที่รู้จัก ไม่ต้องใส่ชื่อรัฐ หรือชื่อประเทศที่เมืองนั้นตั้งอยู่ ได้แก่ Baltimore, Boston, Chicago, Los Angeles, New York, Philadelphia, San Francisco, Amsterdam, Jerusalem, Milan, Mosco, Paris, Rome, Stockholm, Tokyo, Vienna

5.3 กรณีที่หนังสือมีชื่อเมืองหลายเมืองให้ใช้ชื่อเมืองที่ปรากฏเป็นชื่อแรกเป็นสถานที่พิมพ์

5.4 สำนักพิมพ์ ให้ใช้ชื่อสำนักพิมพ์ที่ปรากฏในหน้าปกในเท่านั้น โดยตัดคำ ประกอบอื่นๆ ที่ไม่จำเป็นออก เช่น Publisher, Co., Inc., ห้างหุ้นส่วนจำกัด, บริษัท.....จำกัด ยกเว้นสำนักพิมพ์ของสถาบันอุดมศึกษา หรือ ชื่อสำนักพิมพ์ที่มีคำว่า Associations, Corporation, University Press, Books, Press เช่น

สำนักพิมพ์แห่งจุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย.

ไทยวัฒนาพานิช.

เรือนแก้วกาพิมพ์.

โรงพิมพ์ไทยรุ่งเรือง.

McGraw-Hill.

Big Picture Media Corporation.

Oxford University Press.

Penguin Books.

5.5 กรณีสำนักพิมพ์เป็นชื่อหน่วยงาน / สถาบัน ให้ใส่ชื่อหน่วยงานรองแล้วตามด้วยชื่อหน่วยงานหลัก สำหรับเอกสารภาษาไทย ให้เว้น 1 ตัวอักษร ระหว่างชื่อหน่วยงานรองกับ หน่วยงานหลัก เช่น

นนทบุรี: กองสุขศึกษา กรมอนามัย.

สงขลา: ภาควิชาพยาธิวิทยา คณะแพทยศาสตร์ มหาวิทยาลัยสงขลานครินทร์

ในกรณีที่ เป็นเอกสารภาษาอังกฤษ ให้ใช้เครื่องหมายจุลภาค (,) คั่น ระหว่างชื่อหน่วยงาน เช่น

Geneva: Epidemiology Division, World Health Organization.

5.6 กรณีที่หน่วยงาน / สถาบัน เป็นทั้งผู้เขียน และผู้จัดพิมพ์ในส่วนของผู้จัดพิมพ์ให้ใส่ชื่อย่อ หรือใส่ข้อความสั้นๆ ในส่วนของสำนักพิมพ์เช่น กรม, มหาวิทยาลัย, The Association, The Society เป็นต้น

World Health Organization. (2008). Report of mortality. Geneva: WHO.

มหาวิทยาลัยสงขลานครินทร์. คณะแพทยศาสตร์. ภาควิชาพยาธิวิทยา. (2552). รายงานประจำปี 2551.

สงขลา: มหาวิทยาลัย.

กรมอนามัย.กองโภชนาการ. (2545). แคลเซียมเพื่อสุขภาพ. นนทบุรี: กรม.

American Nurses Association. (2009). H1N1 (Swine Flu): Information for nurses. Silver Spring, MD: The Association.

กรมควบคุมโรค. สำนักระบาดวิทยา. (2552). สรุปรายงานการเฝ้าระวังโรคประจำปี2551. นนทบุรี: กรม.

5.7 กรณีที่ไม่มีสถานที่พิมพ์ให้ใช้คำ ดังนี้ แทนที่สถานที่พิมพ์

ม.ป.ท. หมายถึง ไม่ปรากฏสถานที่พิมพ์สำหรับหนังสือภาษาไทย

n.p. หมายถึง no place of publication สำหรับหนังสือภาษาอังกฤษ

เช่น

สถาบันพัฒนาและรับรองมาตรฐาน. (2548). เส้นทางสู่โรงพยาบาลคุณภาพ: คู่มือการเรียนรู้เชิงปฏิบัติการ

(ฉบับปรับปรุงครั้งที่2). ม.ป.ท.: สถาบัน.

หมายเหตุ: การพิมพ์เอกสารอ้างอิง บรรทัดแรกของแต่ละรายการให้พิมพ์ชิดขอบซ้ายมือ บรรทัดต่อไปพิมพ์

เข้าไปประมาณ 5 ตัวอักษร

รูปแบบการอ้างอิงเอกสารประเภทต่างๆ (เครื่องหมาย ✓ หมายถึง เว้น 1 ตัวอักษร)

1. บทความในวารสาร (Journal Article)

รูปแบบ

ชื่อผู้เขียน.✓ (ปี พิมพ์). ✓ ชื่อบทความ.✓ ชื่อวารสาร, ✓ ปี ที่(ฉบับที่), ✓ หน้าแรก-หน้าสุดท้าย.

ชื่อวารสาร และปี ที่ ใช้ตัวเอียง

1.1 วารสารทั่วไป

ตัวอย่าง

ศิริลักษณ์ วงษ์วิจิตรสุข, และฉัตรปวีณ์ จรัสรวาววัฒน์. (2551). การแก้ปัญหาระดับตะกั่ว ในเลือดสูง. ความปลอดภัย

และสิ่งแวดล้อม, 18(3), 26-31.

กฤษณา น้อมสกุล, ลักขณา กานดี, สิริพร สืบสาน, ปวีณ เกื้อกุล, มาลี อุดมผล,และสวัสดี รักดี. (2550). การดูแลผู้ป่วยโรคเบาหวาน. วารสารกรมอนามัย, 25(2), 56-60.

เกศรา เสนงาน, แจ่มจันทร์ กุลวิจิตร, และลักขณา คงแสง. ภาวะสุขภาพและปัจจัยที่มีความสัมพันธ์กับภาวะสุขภาพของเด็กที่รับบริการที่ฝ่ายพัฒนาเด็กปฐมวัย.วารสารพยาบาลสงขลานครินทร์, 32(1), 11-25.

Mellers, B. A. (2000). Choice and the relative pleasure of consequences. *Psychological Bulletin*, 126(3), 910-916.

Koulouglioti, C., Cole, R., & Kitzman, H. (2009). The role of children's routines of daily living,

supervision, and maternal fatigue in preschool children's injury risk. *Research in Nursing & Health*, 32(2), 517-529.

Johnson, M. E., Dose, A. M., Pipe, T. B., Petersen, W. O., Huschka, M., Gallenberg, M. M., ... Frest, M. H. (2009). Center prayer for women receiving chemotherapy for recurrent ovarian cancer: pilot study. *Oncology Nursing Forum*, 36(3), 424-428.

1.2 บทความวารสารที่มีหมายเลขฉบับเพิ่มเติม (Supplement) ให้ใส่คำว่า Suppl. ตามด้วยหมายเลข ไว้ในวงเล็บ หลังปีที่ของวารสาร เช่น

Regien, A. A., Narrow, W. E., & Rae, D. S. (1990). The epidemiology of anxiety disorder: the epidemiology catchment area experience. *Journal of Psychiatric Research*, 24(Suppl. 2), 3-14.

Weiden, P. T. (2009). Treatment in the prodromal phase of schizophrenia improves patient outcomes. *Journal of Clinical Psychiatry*, 70(Suppl. 1), 27-31.

1.3 วารสารที่ได้รับการตอบรับการตีพิมพ์และอยู่ในระหว่างรอตีพิมพ์ ให้ใช้คำว่า "in press" สำหรับ

เอกสารภาษาอังกฤษ หรือ "อยู่ระหว่างการตีพิมพ์" สำหรับเอกสารภาษาไทย แทนที่ปี พิมพ์ เช่น

Zuckerman, M., & Kieffer, S. C. (in press). Race differences in face-ism: Does facial prominence imply dominance? *Journal of Personality and Social Psychology*.

1.4 บทความวารสารที่มีลักษณะพิเศษ ให้ระบุข้อความที่บอกลักษณะพิเศษของบทความ เช่น [Editor], [Editorial], [Letter to the editor] เป็นต้น ไว้ในวงเล็บเหลี่ยม [] หลังชื่อบทความ เช่น

Lee, E. (2009). High-risk groups for charcoal-burning suicide attempt in Hong Kong, China, 2004 [Letter to the editor]. *Journal of Clinical Psychiatry*, 70(3), 431.

Marshall, D. R. (2009). Evidence-based management: Linking the data and AONE resources [Guest Editorial]. *Journal of Nursing Administration*, 39, 197-199.

Lanzino, G., & Boccarchi, E. (2009). Posterior fossa dural arteriovenous [Editorial]. *Journal of Neurosurgery*, 111(1), 887-888.

1.5 บทความวารสารที่เผยแพร่บนอินเทอร์เน็ต ใช้คำว่า “ค้นจาก” สำหรับเอกสารภาษาไทย หรือ “Retrieved from” สำหรับเอกสารภาษาอังกฤษ ต่อจากเลขหน้า โดยไม่ต้องใส่วันที่เข้าถึง

รูปแบบ

ชื่อผู้เขียน.√ (ปี พิมพ์). √ ชื่อบทความ.√ ชื่อวารสาร, √ ปี ที่(ฉบับที่), √ หน้าแรก-หน้าสุดท้าย.√ ค้นจาก
√√√√ http://

หลัง http:// ไม่ใส่เครื่องหมายห้พภาค (.)

ตัวอย่าง

กุกุม่าแก้วอินทจักร, คิน เลย์ คู, และกนก รัตนะกนกชัย. (2550). การทำให้ endoxylanase จาก alkaliphilic *Bacillus* sp. สายพันธุ์ BK บริสุทธิ์และสมบัติในการยึดเกาะและย่อยพอลิแซ็กคาไรด์ที่ไม่ละลายน้ำ . *Thai Journal of Biotechnology*, 8, 33-35.ค้นจาก <http://www.thairesearch.in.th/about.html>

มาณี จันทร์โสภา, ฉวี เบาทรวง, และสุกัญญา ปรีศัญญกุล. (2555). ผลของการสนับสนุนทางสังคมต่อความเจ็บปวด

ในการคลอดและการรับรู้ประสบการณ์การคลอดของผู้คลอดด้วยรุ่นครั้งแรก. *พยาบาลสาร*, 39(4), 71-84. ค้นจาก <http://www.tci-thaijo.org/index.php/cmunursing/article/view/7365/6372>

Fredrickson, B. L. (2000). Cultivating positive emotions to optimize health and well-being. *Prevention & Treatment*, 3, Article 00001a. Retrieved from <http://journala.aps.org/prevention/volume3>

Feig, D. S., Cleave, B., & Tomlinson, G. (2006). Long-term effects of a diabetes and pregnancy program: Dose the education last?. *Diabetes Care*, 29(3), 526-530. Retrieved from <http://care.diabetesjournals.org/content/29/3/526.full.pdf+html>

1.6 บทความวารสารที่เผยแพร่รูปแบบอิเล็กทรอนิกส์ ก่อนเผยแพร่เป็นฉบับพิมพ์ และมีหมายเลข

DOI

(Digital Object Identifier) กำกับให้ใช้เลข DOI ต่อจากเลขหน้า โดยไม่ต้องใส่เครื่องหมายมหัพภาค(.)

หลังเลข DOI

รูปแบบ

ชื่อผู้เขียน.√ (ปี พิมพ์). √ชื่อบทความ.√ชื่อวารสาร, √ปีที่(ฉบับที่). √เลขหน้า.√doi: √หมายเลข

ชื่อวารสารและปีที่ ใช้ตัวเอียง

ตัวอย่าง

Vanderwee, K., Clays, E., Bocquert, I., Verhaeghe, S., Lardennois M., & Defloor, T. (2001).

Malnutrition and nutritional care practices in hospital wards for older people. *Journal of Advanced Nursing*, 67(4), 736-746. doi: 10.1111/j.1365-2648.2010.05531.x

2. บทความในนิตยสาร หรือ หนังสือพิมพ์ (Magazine / Newspaper)

รูปแบบ

ชื่อผู้เขียน.√ (วัน เดือน ปี). √ ชื่อบทความ.√ ชื่อ นิตยสาร หรือ หนังสือพิมพ์, √ ปีที่, หน้า.

ชื่อนิตยสาร หรือ หนังสือพิมพ์ และ ปี ที่ ใช้ตัวเอียง

ตัวอย่าง

กิตติพงศ์ จิรวังศ์. (12 พฤศจิกายน 2557). การพัฒนาองค์กรตามแนวทาง TQA. กรุงเทพมหานคร, 12, หน้า 11.

Bilton, N. (2014, November 12). Artificial intelligence as a threat. Bangkok Post, p. 8.

3. หนังสือ (Book)

รูปแบบ

ชื่อผู้เขียน.√ (ปี พิมพ์). √ ชื่อหนังสือ √ (ครั้งที่พิมพ์). √ สถานที่พิมพ์: √ สำนักพิมพ์.

ชื่อหนังสือ ใช้ตัวเอียง

ตัวอย่าง

ชวนพิศ วงศ์สามัญ, และกล้าเผชิญ โขคบ่ารุง. (2546).*การตรวจทางห้องปฏิบัติการและการพยาบาล*(พิมพ์ครั้งที่ 4).

ขอนแก่น: ขอนแก่นการพิมพ์.

เบญจา ยอดดำเนิน-แอ็ดติงก์, และกาญจนา ตั้งชลทิพย์. (2552). การวิเคราะห์ข้อมูลเชิงคุณภาพ: การจัดการข้อมูล

การตีความและการหาความหมาย (เอกสารวิชาการหมายเลข 245). นครปฐม: สถาบันวิจัยประชากร

และ

สังคม มหาวิทยาลัยมหิดล.

สมภพ เรื่องตระกูล. (2550). *อาการปวด: โรคทางจิตเวชและการรักษา*. กรุงเทพฯ: คณะแพทยศาสตร์ศิริราชพยาบาล มหาวิทยาลัยมหิดล.

พลภัทร โรจน์นครินทร์. (2553). *โรคเลือดออกง่ายและหลอดเลือดอุดตันในเขตร้อน*. กรุงเทพฯ: สำนักพิมพ์แห่งจุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย.

จันทร์เพ็ญ สุวรรณ, อภิญญา เพียรพิจารณ์, และรัตนภรณ์ ศิริวัฒน์ชัยพร. (2553). *แนวคิดพื้นฐาน ทฤษฎีและกระบวนการพยาบาล*(พิมพ์ครั้งที่ 6). กรุงเทพฯ: โครงการสวัสดิการ สถาบันพระบรมราชชนก.

Meinert, C. L. (2012). *Clinical trials: Design, conduct, and analysis* (2nd ed.). Oxford: Oxford

University Press.

Katz, M. H. (2010). *Evaluating clinical and public health interventions: A practical guide to study design and statistics*. Cambridge, UK: Cambridge University Press.

Lawrence, R. A. (2009). *Breastfeeding: A guide for the medical profession* (4th ed.). St. Louis, MO: Mosby.

Lewe, W. (2009). *Orthopedic massage: Theory and technique* (2nd ed.). Philadelphia: Mosby Elsevier.

Martin, R. J., Fanaroff, A. A., & Walsh, M. C. (2006). *Fanaroff and Martin's neonatal – perinatal medicine: Diseases of the fetus and infant* (8th ed., Vol. 2). Philadelphia: Mosby Elsevier.

ในกรณีที่ผู้เขียนเป็นนิติบุคคลได้แก่หน่วยงาน องค์กร บริษัท และเป็นผู้รับผิดชอบในการจัดพิมพ์ให้
ใส่ชื่อย่อ หรือใส่ข้อความสั้นๆ ในส่วนของสำนักพิมพ์หรือ ผู้รับผิดชอบในการจัดพิมพ์ได้เนื่องจากได้เขียนชื่อ
เต็มไว้ในส่วนของผู้เขียนแล้ว เช่น WHO, The Association, The Institute, The Foundation, The Council,
The Society, มหาวิทยาลัย, สถาบัน, กรม, โรงพยาบาล เป็นต้น

ตัวอย่าง

โรงพยาบาลสงขลานครินทร์. ฝ่ายบริการพยาบาล. (2556). *สถิติผู้ป่วยสูติกรรม ปี 2555*. สงขลา: โรงพยาบาล.

โรงพยาบาลสงขลานครินทร์. ฝ่ายบริการพยาบาล. (2554). *สถิติหอผู้ป่วยพิเศษสูติกรรม ปี 2553*. สงขลา:

โรงพยาบาล

มหาวิทยาลัยสงขลานครินทร์. คณะแพทยศาสตร์. ภาควิชาศัลยศาสตร์. (2555). *รายงานข้อมูลการเกิดภาวะแทรก*

ซ้อนจากการผ่าตัดหัวใจ. สงขลา: มหาวิทยาลัย.

มหาวิทยาลัยสงขลานครินทร์. สำนักรงานอธิการบดี. กองการเจ้าหน้าที่. (2554). *มาตรฐานกำหนดตำแหน่ง*

พยาบาล *ชำนาญการ*. สงขลา: มหาวิทยาลัย.

- กรมควบคุมโรค. สำนักระบาดวิทยา. (2554). *สรุปรายงานการเฝ้าระวังโรคประจำปี 2553*. นนทบุรี: กรม.
- World Health Organization. (2013). *The world health report 2013: Research for universal health coverage*. Geneva: WHO.
- National Council on Radiation Protection and Measurements. (1998). *Quality assurance for diagnostic imaging equipment*. Bethesda, MD: The Council.
- Chonburi Cancer Center. (2009). *Cancer incidence and mortality in Chonburi, Thailand volume II. 2003-2009*. Chonburi: The Center.

4. บทหนึ่งในหนังสือ (Chapter in book) เป็นการอ้างอิงจากเนื้อหาที่มีผู้เขียนเฉพาะบทนั้น ๆ และมี
ชื่อบรรณาธิการที่หน้าปกของหนังสือ

รูปแบบ

ชื่อผู้เขียนในบท. ✓ (ปี พิมพ์). ✓ ชื่อบท. ✓ ใน ✓ ชื่อบรรณาธิการ ✓ (บรรณาธิการ), ชื่อหนังสือ
✓ ✓ ✓ ✓ ✓ (ครั้งที่พิมพ์, ✓ หน้าแรก-หน้าสุดท้ายของบท). ✓ สถานที่พิมพ์: ✓ สำนักพิมพ์.

ชื่อหนังสือ ใช้ตัวเอียง

ตัวอย่าง

- ปิยทัศน์ ทักษนาวิวัฒน์. (2550). ประวัติโรคไหลตาย. ใน สุมาลี นิมนานิตย์, และปรีดา มาลาสิน (บรรณาธิการ), *โรคไหลตาย: Sudden unexplained death syndrome* (พิมพ์ครั้งที่ 2, หน้า 12-25). กรุงเทพฯ: คณะแพทยศาสตร์ศิริราชพยาบาล มหาวิทยาลัยมหิดล.
- ปภาณิจ สวงโท. (2552). โรคอุจจาระร่วง. ใน ภาสกร อัครเสวี(บรรณาธิการ), *สรุปรายงานการเฝ้าระวังโรคประจำปี 2551* (หน้า 126-127). นนทบุรี: สำนักระบาดวิทยา กรมควบคุมโรค.
- รุจิเรศ ธนุรักษ์. (2551). การพยาบาลผู้ป่วยในระยะก่อนและหลังผ่าตัด. ใน สุปราณี เสนาดิสัย, และวรรณภา ประไพ พาณิช (บรรณาธิการ), *การพยาบาลพื้นฐาน แนวคิดและการปฏิบัติ* (พิมพ์ครั้งที่ 12, หน้า 677-697). กรุงเทพฯ: โรงพิมพ์จุดทอง.
- วิทยา เลิศวิริยะกุล. (2555). การให้ยาระงับความรู้สึกผู้สูงอายุ. ใน วิรัตน์ วคินวงศ์, ธวัช ชาญชญาณนท์, ศศิกานต์

นิมมานรัชต์, และธิดา เอื้อกฤดาธิการ (บรรณาธิการ), *วิสัยทัศน์พยาบาล* (พิมพ์ครั้งที่ 2, หน้า 247-270).

สงขลา: ชานเมืองการพิมพ์.

วรลักษณ์ ยมะสมิต. (2555). อาการคลื่นไส้อาเจียนในหญิงตั้งครรภ์. ใน *วรพจน์กฤษณ์(บรรณาธิการ), การดูแล*

ปัญหาที่พบบ่อยทางสูติศาสตร์ (หน้า 7-16). กรุงเทพฯ: ราชวิทยาลัยสูตินรีแพทย์แห่งประเทศไทย.

ปิยวรรณ เชียงไกรเวช. (2556). การบาดเจ็บในหญิงตั้งครรภ์. ใน *ปิยวรรณ เชียงไกรเวช, มณฑิรา ตันทนุช, และ*

นครชัย เผื่อนปฐม (บรรณาธิการ), การบาดเจ็บในเด็ก (หน้า 247-257). สงขลา: คณะแพทยศาสตร์

มหาวิทยาลัยสงขลานครินทร์.

Calico, P. A., Debisette, A. T., & Turbettaub, M. (2005). Nursing workforce: Challenges and opportunities. In M. M. Gullatte (Ed.), *Nursing management: Principles and practice* (4th ed., pp. 167-185). Pittsburgh, PA: Oncology Nursing Society.

Hassmiller, S., & Lumpkin, J. (2012). The role of foundations in improving health care. In D. J. Mason, J. K. Leavitt & M. W. Chaffee (Eds.), *Policy & politics in nursing and health care* (6th ed., pp. 286-291). St. Louis, MO: Elsevier.

5. หนังสือแปล

รูปแบบ

ชื่อผู้เขียน. ✓ (ปี พิมพ์). ✓ ชื่อเรื่องของหนังสือแปล ✓ (ชื่อผู้แปล, ✓ ผู้แปล หรือ Trans.). สถานที่พิมพ์:
✓✓✓✓สำนักพิมพ์.

ชื่อเรื่องของหนังสือแปล ใช้ตัวเอียง

ตัวอย่าง

มาซาอู, อิบูกะ. (2547). *รอให้ถึงอนุบาลก็สายเสียแล้ว* (ธีระ สมิตร, และพรอนงค์ นิยมคำ, ผู้แปล). กรุงเทพฯ: หมอ
ชาวบ้าน.

Piaget, J. (1968). *The psychology of the child* (H. Weaven, Trans.). New York: Basic Books.

6. หนังสืออิเล็กทรอนิกส์ (E-Book) จากฐานข้อมูลอิเล็กทรอนิกส์

รูปแบบ

ชื่อผู้เขียน. ✓ (ปี พิมพ์). ✓ ชื่อหนังสือ. ✓ ค้นจาก <http://>

ชื่อหนังสือ ใช้ตัวเอียง

ตัวอย่าง

Littleton, L. Y., & Engebretson, J. C. (2002). Maternal, neonatal, and women's health nursing.

Retrieved from <http://www.netlibrary.com/reader/>

7. บท หรือ ตอนในหนังสืออิเล็กทรอนิกส์ (Chapter in e-book from database)

รูปแบบ

ชื่อผู้เขียนในบท.√ (ปี พิมพ์). √ ชื่อบท.√ ใน √ ชื่อบรรณาธิการ √ (บรรณาธิการ), √ ชื่อหนังสือ
√√√√√ (ครั้งที่พิมพ์, √ หน้าแรก-หน้าสุดท้ายของบท). √ ค้นจาก<http://>

ชื่อหนังสือ ใช้ตัวเอียง

ตัวอย่าง

Starke, J. R. (2011). Tuberculosis: Mycobacterium tuberculosis. In R. M. Khegman, B. F. Stanton, J. W. Geme, N. F. Schor, R. E. Behrman (Eds). *Nelson textbook of pediatrics* (9th ed., pp. 996-1011.e1). Retrieved from <http://www.clinicalkey.com>

8. แผ่นพับ / จุลสาร

เขียนเช่นเดียวกับหนังสือแต่ใส่คำว่า [แผ่นพับ] หรือ [Brochure] [จุลสาร] หรือ [Pamphlet] หลังชื่อเรื่อง

รูปแบบ

ชื่อผู้เขียน. √ (ปี พิมพ์). √ ชื่อเรื่อง √ [แผ่นพับ]. √ สถานที่พิมพ์: √ สำนักพิมพ์.

ชื่อเรื่อง ใช้ตัวเอียง

ตัวอย่าง

มหาวิทยาลัยสงขลานครินทร์. คณะแพทยศาสตร์. ภาควิชาศัลยศาสตร์. (2552). *โรคจิตส์ดวงทวาร: เรื่องพบบ่อยที่ไม่ควรมองข้าม* [แผ่นพับ]. สงขลา: มหาวิทยาลัย.

มหาวิทยาลัยสงขลานครินทร์. คณะแพทยศาสตร์. ภาควิชาศัลยศาสตร์. (2552). *มารู้จักมะเร็งลำใหญ่และลำไส้ตรง ... กันเถอะ*[แผ่นพับ]. สงขลา: มหาวิทยาลัย.

National Library of Australia. (n.d.). *The Thai, Lao and Cambodia collections* [Pamphlet]. Canberra: Autor.

โรงพยาบาลจุฬาลงกรณ์ สภากาชาดไทย. ฝ่ายผู้ป่วยนอก. หน่วยสุขศึกษา. (ม.ป.ป.). *คำแนะนำสำหรับผู้ป่วยที่ได้รับการผ่าตัดทางนรีเวชกรรม* [แผ่นพับ]. ค้นจาก http://healthnet.md.chula.ac.th/text/forum1/takecare_sex/index.html

UpToDate. (2014). *UpToDate for institutions subscribers* [Brochure]. Waltham, MA: Wolters Kluwer Health.

Research and Training Center on Independent Living. (1993). *Guidelines for reporting and writing about people with disabilities* (4th ed.) [Brochure]. Lawrence, KS: Author.

Inside these doors: A guidebook of Elfreth's Alley homes [Brochure]. (n.d.). Philadelphia: Elfreth's Alley Association.

9. รายงานการประชุม / การสัมมนา / อภิปราย

รูปแบบ

ชื่อหน่วยงานที่จัดประชุม. ✓ (ปี พ.ศ.). ✓ ชื่อเรื่องการประชุม. ✓ ชื่อการประชุม. ✓ สถานที่จัดประชุม.

ชื่อการประชุม ใช้ตัวเอียง

ตัวอย่าง

สมาคมกำหนดอาหารแห่งประเทศไทย. (2552). การกำหนดอาหารกับโลกที่เปลี่ยนแปลง. *การประชุมวิชาการนักกำหนดอาหารประจำปี 2552*. กรุงเทพฯ.

10. บทความ / บทหนึ่งในหนังสือการประชุม (Proceedings of meeting and symposium)

1. กรณีบทความ หรือ บทหนึ่งในหนังสือการประชุม ให้เขียนเช่นเดียวกับบทหนึ่งในหนังสือ (Chapter in book) ชื่อการประชุม หรือ การอภิปราย ใช้ตัวเอียง และใช้ตัวอักษรพิมพ์ใหญ่เฉพาะอักษรตัวแรกทุกคำของชื่อการประชุม / การอภิปรายนั้น

รูปแบบ

ชื่อผู้เขียนในบท. ✓ (ปี พิมพ์). ชื่อเรื่อง. ✓ ใน ✓ ชื่อบรรณาธิการ, ✓ (บรรณาธิการ), ✓ ชื่อการประชุม
✓ ✓ ✓ ✓ ✓ (หน้าแรก-หน้าสุดท้าย). ✓ สถานที่พิมพ์: ✓ สำนักพิมพ์.

ชื่อการประชุม ใช้ตัวเอียง

ตัวอย่าง

สุขเกษม โฆษิตเศรษฐ์, และรัตนา เตียงทิพย์. (2552). การหาโปรตีนในปัสสาวะที่บ่งชี้โรคไตด้วยวิธีโปรตีนมิคส์.

ใน ขจร ลักษณะชยปรกรณ์(บรรณาธิการ), *Changes: New Trends in Medicine.การประชุมวิชาการ
คณะ*

แพทยศาสตร์มหาวิทยาลัยธรรมศาสตร์ ประจำปี พ.ศ. 2552(หน้า 52-59). ปทุมธานี:

มหาวิทยาลัยธรรมศาสตร์.

ไพฑูรย์ สีนลารัตน์. (2549). การศึกษาไทยในยุคปัจจุบัน. ใน กนกวรรณ สีนสุข(บรรณาธิการ), *รายงานการสัมมนา*

เรื่องการศึกษาไทยในยุคโลกาภิวัตน์(หน้า 12-19).กรุงเทพฯ: จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย.

Deci, E. L., & Ryan, R. M. (1991). A motivational approach to self: Integration in personality. In R.

Dienstbier (Ed.), *Nebraska Symposium on Motivation: Vol. 38 Perspectives on
motivation*

(pp.237-288). Lincoln, NM: University of Nebraska Press.

2. กรณีบทความ / โปสเตอร์ที่นำเสนอในที่ประชุม ที่ไม่ได้ตีพิมพ์เผยแพร่ (Unpublished paper or poster session presented at meeting) ให้ระบุคำว่า “เอกสารนำเสนอในที่ประชุม” สำหรับเอกสารภาษาไทย

หรือ Paper presented at.... สำหรับเอกสารภาษาอังกฤษ “โปสเตอร์นำเสนอในที่ประชุม” สำหรับเอกสารภาษาไทย หรือ Poster session presented at.....สำหรับเอกสารภาษาอังกฤษ

รูปแบบ

ชื่อผู้นำเสนอ. ✓ (ปี, เดือนของการประชุม). ✓ ชื่อเอกสาร หรือโปสเตอร์ที่นำเสนอ. ✓ เอกสารหรือ
 ✓ ✓ ✓ ✓ ✓ โปสเตอร์นำเสนอในที่ประชุม ชื่อการประชุม, ✓ สถานที่จัดประชุม.

ชื่อเอกสาร หรือโปสเตอร์ ที่นำเสนอ ใช้ตัวเอียง

ตัวอย่าง เอกสารนำเสนอในที่ประชุม (Paper presented at the meeting of) เป็นฉบับพิมพ์

วันเพ็ญ ภิรมย์ภักดี. (กรกฎาคม 2551). *Discharge planning: บันทึกที่ครบวงจร*. เอกสารนำเสนอในที่ประชุม

วิชาการประจำปี 2551 สมาคมพยาบาลแห่งประเทศไทยเรื่องบันทึกทางการแพทย์: สมรรถนะที่สำคัญของวิชาชีพ, กรุงเทพฯ. ค้นจาก [http://www.thainurse.org/images/7_9maxx/nurserec\(10\).pdf](http://www.thainurse.org/images/7_9maxx/nurserec(10).pdf)

Antani, S., Long L. R., Thomas, G. R., & Lee, D. J. (2003, September). *Anatomical shape representation in spine X-ray images*. Paper presented at the 3rd IASTED International Conference on Visualization, Imaging and Image Processing, Benalmadena, Spain.

Sunpuwan, M. (2009, June). *Older household headship and gendered pattern of poverty*. Paper presented at the 9th Conference of Asia Pacific Sociological Association, Bali, Indonesia.

3. เอกสารนำ เสนอในที่ประชุมที่เผยแพร่บนอินเทอร์เน็ตเฉพาะบทคัดย่อ (Conference paper abstract

retrieve online) ให้เขียนคำว่า “Abstract retrieved from” สำหรับเอกสารภาษาอังกฤษ หรือ “บทคัดย่อค้นจาก” สำหรับเอกสารภาษาไทย ต่อจากชื่อการประชุม เช่น

ตัวอย่าง

Johannes, A., Zollhoefer, B., Kredel, M., Roewer, R., Muellenbach, R. M. (2009, October).

Maximization of oscillatory frequencies during HFOV: *A long term large animal study of ARDS*. Paper presented at The 2009 ASA Annual Meeting. Abstract retrieved from <http://www.asaabstracts.com/strands/asaabstracts/abstract.htm>

ตัวอย่าง โปสเตอร์นำเสนอในที่ประชุม (Poster session presented at the meeting)

Chasman, J. Kaplan R. F. (2006, June). *The effect of occupation on preserved cognitive functioning in dementia*. Poster session presented at the 4th Annual Conference of the American Academy of Clinical Neuropsychology on Excellence in Clinical Practice, Philadelphia, PA

Sunpuwan, M., Podhisita, C. (2008, September). *Asset-based approaches to measuring household / socioeconomic status: what is an approach technique for cross section and longitudinal study?*. Poster session presented at 8th INDEPTH Network Annual General and Scientific Meeting, Dar Salaam, Tanzania.

11. วิทยานิพนธ์ (Theses & Dissertations)

รูปแบบ

ชื่อผู้เขียน. √ (ปี พิมพ์). √ ชื่อวิทยานิพนธ์. √ (ระดับวิทยานิพนธ์). √ มหาวิทยาลัย, √ เมืองที่ตั้ง
√√√√ มหาวิทยาลัย.

ตัวอย่าง

ถนนม จันทกุล. (2554). *พฤติกรรมเชิงจริยธรรมของพยาบาลจากประสบการณ์ของผู้ป่วยผู้ใหญ่ที่เข้ารับการรักษาในโรงพยาบาล*. (วิทยานิพนธ์ปริญญามหาบัณฑิต). มหาวิทยาลัยสงขลานครินทร์, สงขลา.

จรัส ลัดดาพันธ์. (2549). *การปฏิบัติของผู้บริหารการพยาบาลโรงพยาบาลทั่วไปเกี่ยวกับนโยบายและการวางแผนกำลังคนทางการพยาบาล*. (วิทยานิพนธ์ปริญญามหาบัณฑิต). มหาวิทยาลัยเชียงใหม่, เชียงใหม่.

Niphawan, S. (2008). *Caregiver role strain and rewards of caregiving: A study of caring for traumatic brain injured patients in eastern Thailand*. (Doctoral dissertation). Mahidol University, Bangkok.

Caprette, C. L. (2005). *Conquering the cold shudder: The origin and evolution of snake eyes*. (Doctoral dissertation). Ohio State University, Columbus, OH.

12. รายงานการวิจัย (Technical and/ or Research report) ของหน่วยงานที่มีหมายเลขเอกสาร

รูปแบบ

ชื่อผู้เขียน.√ (ปี พ.ศ.). √ ชื่อเรื่อง √ (หมายเลขเอกสาร). √ สถานที่พิมพ์: √ สำนักพิมพ์.

ชื่อเรื่อง ใช้ตัวเอียง

ตัวอย่าง

เบญญา ยอดดำเนิน-แอ๊ดติกส์, อุไรวรรณ คณิงสุขเกษม, สุภาณีปลื้มเจริญ, เอี่ยมพร ทองกระจาย, และจันทร์สุดาศุวรรณจันดี. (2549). *เสียงและทางเลือกของผู้หญิงติดเชื้อเอชไอวีในประเทศไทย* (เอกสารทางวิชาการ หมายเลข 312). นครปฐม: สถาบันวิจัยประชากรและสังคม มหาวิทยาลัยมหิดล.

Tayama, T. (2006). *Velocity influence on detection and prediction of changes in color and motion direction* (Report No. 38, 1-20). Sapporo, Japan: Psychology Department, Hokkaido University.

13. รายงานการวิจัย (Technical and/ or Research report) ของหน่วยงานที่มีหมายเลขเอกสาร และเผยแพร่บนอินเทอร์เน็ต

รูปแบบ

ชื่อผู้เขียน.√ (ปี พ.ศ.). √ ชื่อเรื่อง √ (หมายเลขเอกสาร). √ ค้นจากhttp://

ชื่อเรื่อง ใช้ตัวเอียง

ตัวอย่าง

Deming, D., & Dynarski, S. (2008). *The lengthening of childhood* (NBER Working Paper 14124). Cambridge, MA: National Bureau of Economic Research. Retrieved from <http://www.nber.org/paper/w1424>

Congressional Budget Office. (2008). *Effects of gasoline prices on driving behavior and vehicle markets: A CBO study* (CBO Publication No. 2883). Retrieved from <http://www.cbogov/ftpdocs/88xx/doc8893/01-14-GasolinePrices.pdf>

National Mental Health Information Center. (2004). *Mental health consumers and members of faith-based and community organization in dialogue* (DHHS Publication No. (SMA): 04-

3868). Retrieved from <http://mentalhealth.samhsa.gov/publications/allpubs/SMA04-3868/default.asp>

14. เอกสารจากเว็บไซต์ (Web site) ใช้คำว่า “ค้นจาก” หรือ “Retrieved from” หลังชื่อเรื่อง โดยไม่ต้องใส่วันที่เข้าถึง

รูปแบบ

ชื่อผู้เขียน. √ (ปี พิมพ์). √ชื่อเรื่อง.√ค้นจาก http://

ชื่อเรื่อง ใช้ตัวเอียง และ หลัง http:// ไม่ใส่เครื่องหมายทับภาค(.)

ตัวอย่าง

นิภา ผ่องพันธ์. (2552). *เปิดโลกทัศน์ให้ ผู้สูงอายุ*. ค้นจาก http://www.suanprung.go.th/article_new

สำนักอนามัยสิ่งแวดล้อม. (2552). *งานรณรงค์สถานีขนส่งสะอาด ป้องกันการระบาดไข้หวัดใหญ่สายพันธุ์ใหม่ ชนิด A H1N1*. ค้นจาก <http://203.157.64.26ewtadmin/emv/ewt>

ขจรศักดิ์ ศิลปะโกชากุล. (ม.ป.ป.). *คำแนะนำการกำจัดลูกน้ำยุงลายในภาชนะต่างๆ*. ค้นจาก http://medinfo.psu.ac.th/pr/pr2008/Pr20081119_Mosquito.pdf

ผกายมาศ กิตติวิทยากุล. (2550). *คู่มือการดูแลผู้ป่วยเด็กโรคลมชัก*. ค้นจาก http://medinfo.psu.ac.th/pr/pr2008/Epilepsy_in_Children.pdf

Centers for Disease Control and Prevention. (2003). *Take charge of your diabetes*. Retrieved from <http://www.cdc.gov/diabetes /pubs/paf/ted.pdf>

Wong, A. W. (2009). *Pregnancy postpartum infections*. Retrieved from <http://emedicine.medscape.com/article/796892-overview>

Center to Advance Palliative Care. (2014). *Palliative care facts and stats*. Retrieved from

<http://www.capc.org/news-and-events/press-kit/press-kit-palliative-care-facts.pdf>

การใช้เครื่องหมายวรรคตอน และการเว้น 1 ตัวอักษรในรายการอ้างอิง

เครื่องหมาย	ชื่อเรียก	การใช้ในรายการอ้างอิง
.	มหัพภาค (full stop)	<ol style="list-style-type: none"> 1. ใช้หลังชื่อผู้เขียน ชื่อเรื่อง 2. ใช้หลังข้อความที่อยู่ในวงเล็บของ ปีพิมพ์ ครั้งที่พิมพ์ 3. ใช้หลังสำนักพิมพ์ 4. ใช้หลังเลขหน้า ในการเขียนอ้างอิงบทความวารสาร 5. ใช้หลังข้อความที่อยู่ในวงเล็บเหลี่ยม ในการเขียนอ้างอิง แผ่นพับ จุลสาร และวิทยานิพนธ์ <p>ยกเว้น หลัง http:// ในการเขียนอ้างอิงเอกสารอิเล็กทรอนิกส์ ไม่ต้องใส่เครื่องหมายมหัพภาค</p>
,	จุลภาค (comma)	<ol style="list-style-type: none"> 1. ใช้คั่นหลังชื่อผู้เขียน หรือชื่อบรรณาธิการมากกว่า 1 คน 2. ใช้หลังชื่อบรรณาธิการ และชื่อหนังสือ ในการเขียนอ้างอิงบทหนึ่งในหนังสือ 3. ใช้หลังครั้งที่พิมพ์และเลขหน้า ในการเขียนอ้างอิงบทหนึ่งในหนังสือ 4. ใช้หลังชื่อวารสาร ฉบับที่ ในการเขียนอ้างอิงบทความวารสาร 5. ใช้หลังชื่อมหาวิทยาลัย ในการเขียนอ้างอิงวิทยานิพนธ์
:	ทวิภาค (colon)	<ol style="list-style-type: none"> 1. ใช้หลังชื่อเรื่องย่อ 2. ใช้หลังชื่อเมืองที่พิมพ์ 3. ใช้หลัง http:// ในการเขียนอ้างอิงเอกสารอิเล็กทรอนิกส์
()	วงเล็บกลม (parentheses)	<ol style="list-style-type: none"> 1. ใช้กับปีพิมพ์ 2. ใช้กับชื่อบรรณาธิการ ในการเขียนอ้างอิงบทหนึ่งในหนังสือ 3. และเอกสารการประชุม 4. ใช้กับฉบับที่ ในการเขียนอ้างอิงบทความวารสาร 5. ใช้กับครั้งที่พิมพ์ในการเขียนอ้างอิงหนังสือ 6. ใช้กับเลขหน้า ในการเขียนอ้างอิงบทหนึ่งในหนังสือ

		7. ใช้กับครั้งที่พิมพ์และครั้งที่พิมพ์ + หน้า ในการเขียนอ้างอิง บทหนึ่งในหนังสือ เอกสารการประชุม 8. ใช้กับระดับปริญญา ในการเขียนอ้างอิงวิทยานิพนธ์
-	ยัติภังค์ (hyphen)	1. ใช้แสดงช่วงจำนวนหน้า ในการเขียนอ้างอิงบทความวารสาร บทหนึ่งในหนังสือ และเอกสารการประชุม
[]	วงเล็บเหลี่ยม (square brackets)	1. ใช้กับข้อความที่บอกประเภทของข้อมูลในการเขียนอ้างอิง แผ่นพับ และจุลสาร

หมายเหตุ หลังเครื่องหมายดังต่อไปนี้ให้เว้น 1 ตัวอักษร

. เครื่องหมายมหัพภาค

, เครื่องหมายจุลภาค

: เครื่องหมายทวิภาค

การใช้ตัวเอียง ได้แก่ ชื่อหนังสือ ชื่อบทหนึ่งในหนังสือ ชื่อวารสาร ปีที่ของวารสาร

ชื่อการประชุม ชื่อแผ่นพับ ชื่อวิทยานิพนธ์ ชื่อรายงานการวิจัย

ชื่อเอกสารจากเว็บไซต์

บรรณานุกรม

เท็ดส์คัตต์ ไม้เท้าทอง. (2554). การอ้างอิงทรัพยากรสารสนเทศอิเล็กทรอนิกส์ตามรูปแบบของ APA.

วารสารบรรณารักษศาสตร์, 31(1), 1-22.

มหาวิทยาลัยสงขลานครินทร์. คณะพยาบาลศาสตร์. (2556). การเขียนบรรณานุกรมและเอกสารอ้างอิง.

(อัดสำเนา). สงขลา: คณะพยาบาลศาสตร์ มหาวิทยาลัยสงขลานครินทร์.

American Psychological Association. (2010). *Publication manual of the American Psychological Association* (6th ed.). Washington, D.C.: The Association.

Curtain University Library. (2012). *APA 6th referencing*. Retrieved from

<http://libguides.library.curtin.edu.au/>

Monash University Library. (2012). *American Psychological Association (APA) style examples*.

Retrieved from <http://guides.lib.monash.edu/citing-referencing/ap>

Research Article.

- Extraction and Determination of Curcuminoids in Turmeric Capsules
- Solvent Optimization of Pitang Leaves (*Gynochthodes sublaceolata* Miq.)

Extraction for Bacterial Growth Inhibition

- Predicting Diabetes using Deep Belief Network

Academic article.

- Ferrocene and Its Derivatives for Medical Applications
- Factors and reduction strategies of Polycyclic Aromatic Hydrocarbons (PAHs)

Formation in Charcoal-Grilled Food Products

กองบรรณาธิการวารสารวิทยาศาสตร์ปริทัศน์

คณะวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยี

มหาวิทยาลัยนราธิวาสราชนครินทร์

อำเภอเมือง จังหวัดนราธิวาส 96000

โทร. 09-9416-9355

<https://www2.st.pnu.ac.th/journal/index.php>

E-mail: journal_sci@pnu.ac.th



วารสารวิทยาศาสตร์ปริทัศน์

คณะวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยี มหาวิทยาลัยราชภัฏวราชนครินทร์
99 หมู่ 8 ตำบลโคกเคียน อำเภอเมือง จังหวัดราชบุรี 96000
โทรศัพท์/โทรสาร 073-709030 ต่อ 1173
อีเมล: journal_sci@pnu.ac.th