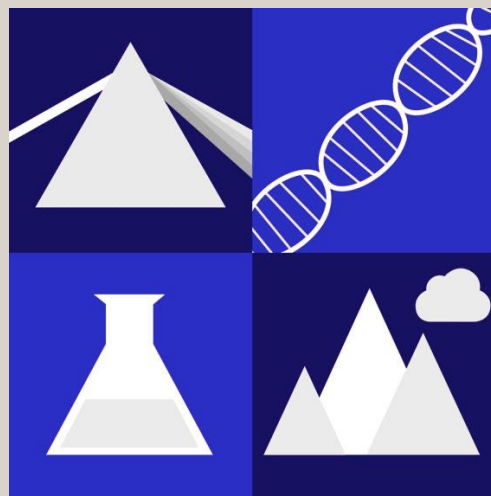
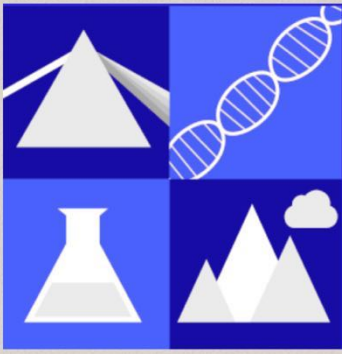




Thailand Scholastic Journal of Science



January – December, 2022
Volume 3, Issue 1



TSJOS.org
Thailand Scholastic Journal of Science

The Thailand Scholastic Journal of Science (TSJOS) is a bilingual, entry-level, reviewed journal dedicated to publishing the original research of Thai secondary school science students.

TSJOS เป็นวารสารสองภาษาที่ได้
จัดตั้งขึ้นเพื่อเผยแพร่ผลงาน
วิจัยทางวิทยาศาสตร์ของนักเรียน
ไทยระดับมัธยมศึกษา



About

ในโลกนี้การสอนวิทยาศาสตร์ให้นักเรียนระดับมัธยมนั้นไม่ควรเป็นเพียงแค่การสอนเนื้อหาวิทยาศาสตร์เท่านั้น แต่ควรสอนให้เป็นนักวิทยาศาสตร์ นักเรียนควรได้ทดลองทุกด้านของการเป็นนักวิทยาศาสตร์ ควรได้ทั้งการเรียนรู้ความรู้ทางวิทยาศาสตร์ที่มีอยู่ในหนังสือเรียน และการเรียนรู้วิธีการสร้างความรู้ใหม่ผ่านการวิจัยทางวิทยาศาสตร์ จากนั้นก็ต้องมีโอกาที่จะเผยแพร่ผลงาน ที่องค์กร StudentScientists.org เรามีเป้าหมายในการพัฒนาหลักสูตรวิทยาศาสตร์ที่เปิดโอกาสให้นักเรียนทำการวิจัยและเผยแพร่ผลงาน เราเลยได้จัดตั้งวารสารวิทยาศาสตร์ Thailand Scholastic Journal of Science ไว้

บทความการวิจัยที่ส่งไปยัง TSJOS ได้รับการคัดเลือกจากบรรณาธิการ จากนั้นบรรณาธิการจัดส่งบทความให้ผู้ทรงคุณวุฒิ (Reviewer) พิจารณา หลังจากการทบทวนและการยอมรับบรรณาธิการจะให้คำปรึกษากับผู้เขียนในการทบทวนบทความตามคำแนะนำของผู้ทรงคุณวุฒิ เมื่อแก้ไขเสร็จแล้วบรรณาธิการจะส่งบทความไปยังผู้ทรงคุณวุฒิเพื่อขออนุมัติขั้นสุดท้าย บทความจะถูกเผยแพร่ทั้งภาษาไทยและภาษาอังกฤษ วารสารรับบทความเพื่อตีพิมพ์บทความตามเกณฑ์ที่กำหนดตลอดทั้งปี

วารสารวิทยาศาสตร์ Thailand Scholastic Journal of Science เป็นวารสารออนไลน์ที่ไม่มีค่าใช้จ่ายในการเสนอบทความหรือค่าใช้จ่ายจากผู้เขียน บทความที่ตีพิมพ์ใน TSJOS มีลิขสิทธิ์ภายใต้การอนุญาต Creative Commons ประเภท CC BY ผู้เขียนจะถือลิขสิทธิ์ของบทความที่ตีพิมพ์ในวารสารไว้เป็นของตนเอง

In an ideal world, teaching science to secondary school students means not just teaching students the science content, but also teaching them *how to be scientists*. Students should experience all aspects of being a scientist. They should not only master current scientific knowledge found in text books, they should also learn how to *create new knowledge* through scientific research and then have the opportunity to *publish* their work. At StudentScientists.org, we work towards the development of science curricula that include opportunities for original student research and publishing. As a part of that effort, we have established the Thailand Scholastic Journal of Science.

The Thailand Scholastic Journal of Science is a bilingual, entry-level, peer-reviewed journal publishing papers in Thai and/or English. TSJOS is dedicated to publishing the original research of Thai secondary students in all areas of STEM. Papers submitted to the TSJOS undergo an editorial selection process and are then forwarded to a Reviewer. Following review and acceptance, the editor consults with the author to revise the paper according to the suggestions of the reviewer. Upon revision, the paper is sent to the reviewer for final approval. The TSJOS publishes papers on a rolling basis as they are received throughout the year.

The Thailand Scholastic Journal of Science is an online, Open-Access Journal with no author or submission fees. Papers in the TSJOS are copyrighted under Creative Commons licensing, CC BY. Authors retain the copyright to their papers published in the Journal.

Editorial Staff

Editor-in-Chief: Jonathan Eales, PhD

Editors

- Min Medhisuwakul, PhD
- Orawan Chaowalit, PhD

Editorial Board

- Arjaree Thirach
- Tanawan Leeboonngam
- Ian Jacobs, PhD



Aims & Scope

TSJOS เป็นวารสารที่เปิดโอกาสให้นักเรียนระดับชั้นมัธยมศึกษาตอนปลายได้มีโอกาสดำเนินงานวิจัยทางวิทยาศาสตร์ เทคโนโลยี วิศวกรรมและคณิตศาสตร์ หรือ สะเต็ม TSJOS ใช้กระบวนการคัดเลือกและแก้ไขอย่างเข้มงวดเพื่อให้แน่ใจว่าเอกสารที่ตีพิมพ์นั้นเป็นงานที่นักเรียนสร้างขึ้นเอง และส่งเสริมให้เกิดองค์ความรู้ทางวิทยาศาสตร์แก่มวลมนุษยชาติ

วารสารนี้เผยแพร่ผลงานวิจัยในระดับที่ไม่ยากมาก และเป็นงานวิจัยในระดับเริ่มต้นแต่มีความหมายในการเผยแพร่องค์ความรู้ด้านสะเต็ม งานวิจัยที่ทำร่วมกับสถาบันการศึกษาระดับสูงหรืองานที่ทำร่วมกับหน่วยงานวิจัยระดับอุตสาหกรรมอาจจะไม่เหมาะสมกับการตีพิมพ์ผลงาน ในวารสารนี้

งานวิจัยระดับเริ่มต้นนั้นไม่ได้คาดหวังว่าจะต้องเป็นเรื่องที่เกี่ยวข้องกับงานระดับโลก หากแต่เป็นงานวิจัยเล็ก ๆ ที่มีความหมาย และมีส่วนในการขยายองค์ความรู้ให้กว้างออกไป งานวิจัยที่ตีพิมพ์ใน TSJOS จะต้องแสดงให้เห็นถึงความใหม่ ความถูกต้อง และความมั่นใจในระดับสูงต่อการค้นพบในงานนั้น ๆ นอกจากนั้นจะต้องให้ข้อเสนอแนะสำหรับงานวิจัยที่อาจมีต่อเนื่องจากผลงานนั้น ๆ ได้

The Thailand Scholastic Journal of Science provides a venue for Thai secondary school students to publish original research conducted as part of their science and STEM studies. The TSJOS employs a rigorous selection, review and revision process to ensure that papers published constitute an original, valid contribution to human knowledge.

The Journal publishes entry-level research that has been conducted by Thai students in the secondary school laboratory. Papers are published in all areas of STEM and the natural sciences on any topic related to a typical secondary science curriculum. Special research conducted by secondary school science students outside their normal courses using university or industry laboratory facilities are not appropriate for publishing in the TSJOS.

Entry-level research is not expected to address cutting-edge topics. Entry-level papers represent a small but meaningful contribution to extending our knowledge of the world. Papers published in the TSJOS must demonstrate originality, validity, and high levels of confidence in the findings, and offer suggestions for continuing research.

Contact

ถ้ามีคำถามหรือคำแนะนำติดต่อได้ที่

If you have any questions or comments regarding the Thailand Scholastic Journal of Science please contact the Editor:

Dr. Jonathan Eales
Editor.TSJOS@gmail.com

The Thailand Scholastic Journal of Science is associated with

Student Scientists Organization
254/153 Ramkamhaeng 112, Sapan Soong
Bangkok, Thailand 10240
www.StudentScientists.org



Thailand Scholastic Journal of Science

Volume 3, Issue 1, January-December, 2022

[From the Editors](#)

Papers

1 [Kneading and Gluten Formation in Dough](#)

Phitawat Aramratsameekul and Supawan Huangchang

[การเกิดกลูเตนจากการนวดแป้งสาลี](#)

พิทวัส อรามรัตน์กุล และ ศุภาวรรณ ห่วงช้าง

2 [Treatment of Subcutaneous Infections With Plu Kao Extract in Nanogel](#)

Natnicha Danprakron and Pratiparn Kongkumnert

[การรักษาภาวะเนื้อเยื่อใต้ผิวหนังอักเสบด้วยระบบนำส่งสารสกัดจากพลูคาวในรูปแบบนาโนเจล](#)

ณัฐนิชา แदनประกรณ์ และ ปฏิภาณ คงกำหนด

3 [Screening for Aerobic Fibrolytic Microorganisms to Produce Glucose from Waste Paper](#)

Prabhawan Pakhin and Chonthicha Permrunguang

[การคัดกรองจุลินทรีย์แอโรบิกไฟโบรไลติกเพื่อใช้ผลิตกลูโคสจากขยะประเภทกระดาษ](#)

ประภาวรรณ ผลอินทร์ และ ชลธิชา เพิ่มรุ่งเรือง

4 [Factors Affecting the Frequency Produced by Resonating Bamboo Tubes](#)

T. Watthapornsiri, P. Sawangwong, Y. Sakaguchi, Y. Watanabe, M. Ishii, K. Meguro

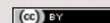
5 [Filtering Microplastics from Water with Lipids Extracted from Jackfruit Seeds](#)

Puarisa Lathalo, Suphanwadee Maneesuphachat and Burapha Saenwan

[การดักจับไมโครพลาสติกในน้ำด้วยสารกลุ่มไขมันของเมล็ดขนุน](#)

ปวีริศา ละทะโล, สุพรรณวดี มณีศุภชาติ และ บุรพา แสนวัน

ISSN ****-****



[Download Issue \(PDF\)](#)



Thailand Scholastic Journal of Science

Volume 3, Issue 1, January-December, 2022

From the Editor

Dear Readers,

Now that the COVID pandemic is beginning to ease, we have finally been able to begin to achieve our goal of offering Thai secondary school students the opportunity of publishing their original research in an entry-level reviewed scientific journal. In this issue we present papers by authors from all around Thailand on topics including gluten formation, filtering microplastics, herbal treatment of infection, and filtering microplastics from water.

We at TSJOS hope that the papers in our journal will inspire secondary students around Thailand to dream of publishing their own original research and making a contribution to our scientific understanding of a small corner of our world. We encourage all Thai secondary students to submit their original, entry-level research to the TSJOS for review.

Jonathan Eales
Editor-in-Chief, TSJOS

Kneading and Gluten Formation in Dough

Phitawat Aramratsameekul and Supawan Huangchang
Princess Chulabhorn Science High School Pathumthani
 51 Moo 6, Bo Ngoen, Lat Lum Kaeo, Pathum Thani, 12140
 Email: phitthawat555@gmail.com

Abstract

Gluten in wheat-based bread can both benefit and harm consumers and thus is an important factor in consumers' food choices. The effect of kneading time on the gluten content of bread was studied. Relative gluten content was determined by measuring the force needed to puncture both the kneaded dough and the baked bread. It was found that the force needed to puncture both the dough and the bread increased with increasing kneading time up to 12 minutes. Kneading for longer than 12 minutes resulted in a decrease in the measured force. The gluten content of the dough was also measured directly and found to follow a trend similar to the force.

Keywords: gluten, kneading time, wheat dough, pound bread

I. INTRODUCTION

Gluten is an important protein in wheat grains. It has the ability to act as a binding and expanding agent and is often used as an additive in processed foods to improve texture, taste and moisture retention.¹ Gluten is formed from a complex combination of hundreds of proteins, although it is mostly a combination of glutenin and gliadin proteins. When water is added to flour, the proteins come out of the 'frozen state', which makes them flexible, a process called 'hydration'. The two types of protein attach to each other chemically with disulfide bonds, as shown in Figure 1, forming gluten, which is tough, flexible and insoluble.²

Since gluten has a complex structure of large molecules that are tangled together (Figure 2), it forms a strong network which is both flexible and

extensible, enabling the dough to capture the carbon dioxide gas produced by the yeast, which causes the dough to rise.⁴ Gluten also helps make bread fluffier and gives it a soft, chewy texture. Wheat is rich in gluten proteins, with up to 23 grams per 100 grams of wheat, but consuming too much gluten can affect your immune system, leading to gluten intolerance for some.⁶

The amount of time for which wheat flour dough is kneaded affects the gluten content of the dough due to the time it takes for the glutenin and gliadin proteins to hydrate and then react with each other to form gluten.⁷ Since gluten forms a strong molecular network that is flexible and extensible, the gluten content of dough and baked bread will affect its elasticity and resilience, meaning that the force needed to puncture dough and bread can be used as a measure of relative gluten content.⁸

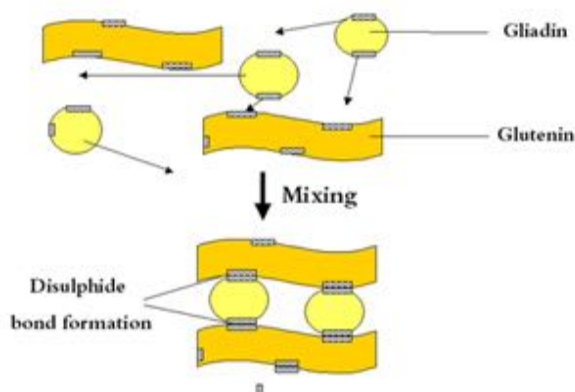


Figure 1. Binding of the proteins gliadin and glutenin by disulfide bonds to form gluten.³

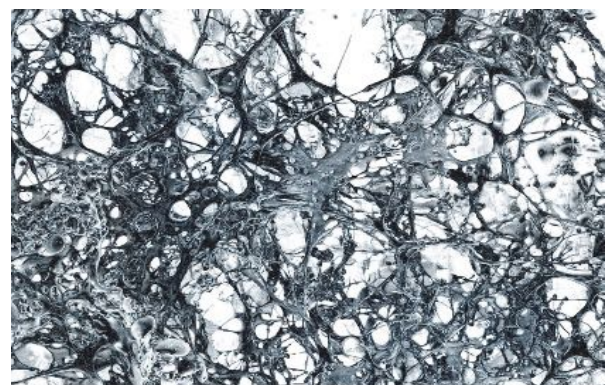


Figure 2. An image of gluten proteins taken with a scanning electron microscope.⁵

Here the effect of wheat dough kneading time on gluten content is studied. The relative gluten content of both the dough and the baked bread was determined by measuring the force needed to puncture the dough and bread. The gluten content in the dough was also determined by dissolving the dough in water and measuring the mass of the insoluble solids, which will be mainly the gluten proteins. It is hoped that the results of this study will be helpful for others in the food industry wanting to understand gluten levels in kneaded bread.

II. METHODS

Preparation of Pound Bread Dough

Bread flour (160 g) and cake flour (40 g) was sifted together, then yeast (3.0 g) was added and mixed well. Eggs (17 g), salt (2.0 g), sugar (30 g), and water (102 g) were then added and mixed well with the flour mixture.

Kneading the Dough

Unsalted butter (30 g) was put in a kneading machine, along with the dough mixture and set to mix at medium speed for 50 seconds. Seven batches of dough were made and kneaded for times ranging from 0 minutes to 20 minutes. Each batch was then taken out of the kneading machine and placed in a covered bowl for 45 minutes to allow it to rise. The risen dough was kneaded briefly to



Figure 3. The Force Probe being inserted into the bread to record the force needed to puncture it using Datalogger program.

expel excess air, and then divided into three 100 g portions, with the remainder (74-76 g) reserved for the insoluble solids testing. The 100 g portions were put into three bread molds which were placed on the left (A), center (B) and right (C) of the oven and baked for 30 minutes. The baked bread was removed from the mold to cool for 30 minutes, then placed back in the mold for testing. This process was repeated for a total of four batches for each kneading time tested.

Force Testing of the Dough and Bread

Before baking, the force needed to puncture the dough was recorded using Datalogger by inserting the Force Probe into the left, center, and right side of the dough in the mold. After baking and cooling, the part of the loaf extending above the edge of the mold was cut off to remove the top crust, and the force needed to puncture the bread was measured in the same way as the dough, as shown in figure 3.

Testing for Gluten Content

The reserved portion of the dough was weighed then soaked in water for 15 minutes and filtered to separate the water. The dough was then soaked in water for another 10 minutes leaving the insoluble gluten as a solid, as shown in Figure 4, then filtered. The insoluble portion (wet gluten) was weighed, then dried in an oven and weighed again to determine the amount of dry gluten formed in the dough.



Figure 4. The insoluble gluten left as a solid after soaking the dough in water.

III. RESULTS AND DISCUSSION

The results of measuring the force required to puncture the dough on the left side, center, and right side of the mold (sample shown in Figure 5), indicated that, on average, there was no significant difference in force between the three points. The results of the tests on the baked bread also showed no difference in the three points tested, indicating that the baking process did not change the reliability of using force as a measure of gluten content.

The results for the means of all the tests for both the dough and the bread are shown in Figure 6. It is clear that the trend is the same for both. For kneading times of 0 – 12 minutes, the force increased, indicating increasing gluten content as the gluten had more time to form. But for kneading times greater than 12 minutes, the force needed to puncture both the dough and bread decreased. This is likely due to the fact that after 12 minutes all the proteins in the dough had formed into gluten

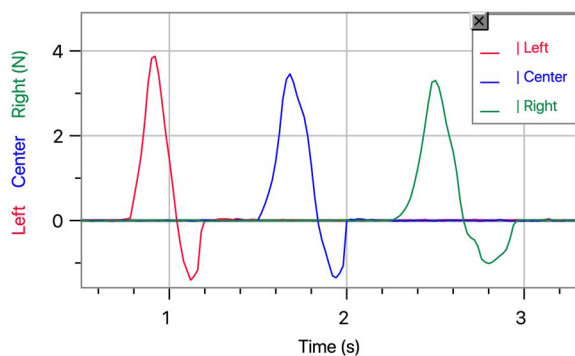


Figure 5. Representative sample of the results of the force measurements on the left, right, and center points of the dough in the mold.

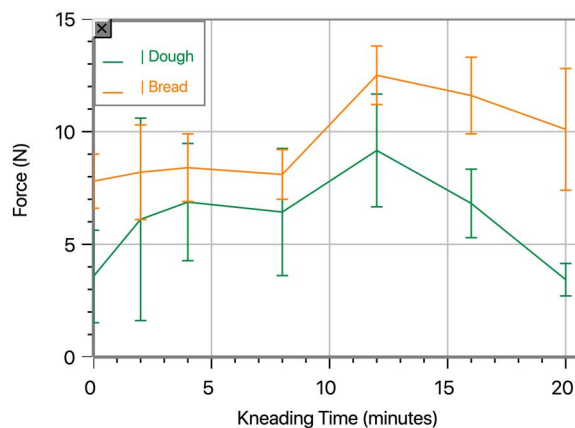


Figure 6. Force needed to puncture dough and baked bread as a function of kneading time.

networks, and further kneading acted to shear the aligned gluten molecules, reducing the strength of the gluten networks.⁴

While the force trends are the same for both dough and baked bread, the force required to puncture the bread was significantly higher. This is likely due to the baking process causing an increase in the resilience of the bread as a result of molecular changes during the baking process unrelated to gluten content.⁸

The results of the testing for gluten content, Figure 7, show a similar trend to the results of the force tests. The proportion of insoluble gluten in the dough increased with increasing kneading time from 0-12 minutes. This is because the kneading causes the particles in the flour to become smaller, allowing water to penetrate to more of the protein molecules and thus enabling the formation of gluten.⁸ For kneading times beyond 12 minutes gluten content stayed constant. This is likely because the water had completely penetrated to all the proteins and no more gluten formation was occurring.

IV. CONCLUSION

It has been shown that both the insoluble gluten content and the force needed to puncture the dough and bread increased for the first 12 minutes of kneading time, clearly showing increasing gluten content with increased kneading time up to a maximum of 12 minutes. For kneading times greater than 12 minutes, insoluble gluten content stayed constant, while puncture force declined, likely due to a breakdown in the integrity of the molecular networks of gluten.

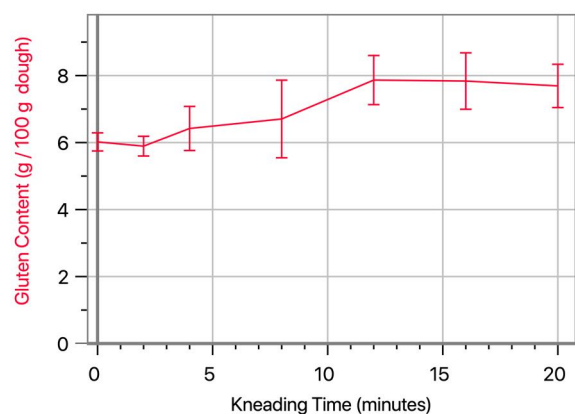


Figure 7. Mean gluten content in the dough as a function of kneading time.

V. REFERENCES

1. Biesiekierski, J.R. (2017). What is Gluten? *Journal of Gastroenterology and Hepatology*, 32, 78-81. doi.org/10.1111/jgh.13703.
2. Gupta, R., et al. (1993) Biochemical basis of flour properties in bread wheats. I. Effects of Variation in the Quantity and Size Distribution of Polymeric Protein. *Journal of Cereal Science*, 21 (2), 103-116, doi.org/10.1016/0733-5210(95)90026-8.
3. Pornchaloempongs, P., Ratanapanont, N., (2010). Gluten. *Food Network Solutions*. Retrieved 9 November, 2019 from <http://www.foodnetworksolution.com/>
4. Tilley, K., et al. (2001). Tyrosine Cross-Links: Molecular Basis of Gluten Structure and Function. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 49 (5), 2627-2632. DOI: 10.1021/jf010113h.
5. Modernist Cuisine. (2018). *Gluten: How Does It Work?* Retrieved November 10, 2019, from <https://modernistcuisine.com/2018/04/gluten-how-does-it-work/>
6. Van Der Borght, A., Goesaert, H., Veraverbeke, W., Delcour, J. (2005). Fractionation of wheat and wheat flour into starch and gluten: overview of the main processes and the factors involved. *J. of Cereal Science*, 41, (3) 221-237. doi.org/10.1016/j.jcs.2004.09.008.
7. Canja, C., Lupu, M., Taulea, G. (2014). The Influence of Kneading Time on Bread Dough Quality. *Bulletin of the Transylvania University of Brasov, Series II*, 7 (56) 79-84.
8. Mann, J., Schiedt, B., Baumann, A., Conde-Petit, B., & Vilgis, T. A. (2014). Effect of heat treatment on wheat dough rheology and wheat protein solubility. *Food Science and Technology International*, 20 (5), 341--351. doi.org/10.1177/1082013213488381

ACKNOWLEDGEMENTS

The authors would like to express their sincere thanks to Prof. Chutharat Jai-ngam, Chulabhorn Science School, Pathumthani, as well as Assoc. Prof. Dr. Jirarat Anantakul and Assoc. Prof. Dr. Panita Ngamchauchit of the Food Processing and Food Engineering Department, Faculty of Science, Chulalongkorn University for invaluable help and constant encouragement throughout the course of this research.

การเกิดกลูเตนจากการนวดแป้งสาลี

พิทวัส อร่ามรัศมีกุล และ ศุภาวรรณ ห่วงช้าง
โรงเรียนวิทยาศาสตร์จุฬาราชวิทยาลัย ปทุมธานี
51 หมู่ 6 ตำบลบ่อเงิน อ.ลาดหลุมแก้ว จังหวัดปทุมธานี 12140
อีเมลล์: phitthawat555@gmail.com

บทคัดย่อ

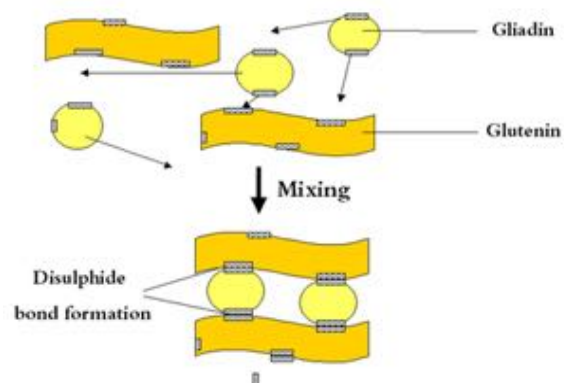
กลูเตนในแป้งสาลีจากโดว์และขนมปังปอนด์มีทั้งประโยชน์และโทษต่อผู้บริโภค ปริมาณกลูเตนจึงเป็นปัจจัยสำคัญในการเลือกรับประทานของผู้บริโภค เนื่องด้วยปริมาณกลูเตนในการวิจัยได้ศึกษาและเปรียบเทียบระยะเวลาในการนวดแป้งสาลีต่อการเกิดกลูเตนจากแรงกระทำของโดว์ และขนมปังปอนด์ ซึ่งพบว่า เมื่อระยะเวลาในการนวดช่วง 0-12 นาที ปริมาณกลูเตนเฉลี่ย กับแรงกดเฉลี่ยของโดว์ มีความสัมพันธ์กัน ในแนวโน้มที่เพิ่มขึ้น และเมื่อหลังจากการนวดช่วงเวลา 12-20 นาที ปริมาณกลูเตนเฉลี่ย แปรผันตรงกับแรงกดเฉลี่ยของโดว์ แต่เมื่อปริมาณกลูเตนเฉลี่ยที่คงที่แล้วแรงกดเฉลี่ยจะลดลง

คำสำคัญ: กลูเตน แป้งสาลี แรงกระทำของโดว์ขนมปังปอนด์ ระยะเวลาในการนวด

1. บทนำ

กลูเตนเป็นโปรตีนหลักในเมล็ดข้าวสาลี มีความสามารถในการทำหน้าที่เป็นสารจับตัวและขยายตัวและมักใช้เป็นสารเติมแต่งในอาหารแปรรูปเพื่อปรับปรุงพื้นผิวรสชาติ และการกักเก็บความชื้น¹ เกิดจากส่วนผสมที่ซับซ้อนของโปรตีนหลายร้อยชนิด โดยส่วนใหญ่จะเป็นการรวมตัวระหว่างโปรตีนกลูเตนินกับโปรตีนไกลอะดิน เมื่อมีการเติมน้ำโปรตีนทั้งสองจะออกมาจาก "สถานะแช่แข็ง" ทำให้มีความยืดหยุ่น และสามารถเคลื่อนไหวได้ กระบวนการนี้เรียกว่า "ไฮเดรชัน" โปรตีนทั้งสองจะยึดติดกันด้วยพันธะเคมี โดยสร้างพันธะไดซัลไฟด์ ดังรูปที่ 1 ทำให้กลูเตนมีลักษณะเหนียว ยืดหยุ่น และไม่ละลายน้ำ² เนื่องจากกลูเตนมีโครงสร้างที่ถูกถักเข้าด้วยกันเป็นเครือข่ายที่ยืดหยุ่นและแข็งแรง ซึ่งมีทั้งความยืดหยุ่น(ความสามารถในการยืดตัว) และความสามารถในการขยาย (ความสามารถในการยืดรูปร่าง) จัดเป็นสายรัด ดังรูปที่ 2 ทำให้สามารถกักเก็บก๊าซคาร์บอนไดออกไซด์ที่ผลิตขึ้นโดยสารที่ทำให้ขึ้นฟู เช่น ยีสต์ หรือผงฟู⁴

กลูเตนจะช่วยทำให้ขนมปังฟูขึ้น และขนมปังก็จะมีเนื้อนุ่มเคี้ยวอร่อย กลูเตนในข้าวสาลีก็อุดมไปด้วยโปรตีนถึง 23 กรัม ต่อข้าวสาลีประมาณ 100 กรัม แต่การบริโภคกลูเตนมากเกินไปอาจส่งผลกระทบต่อระบบภูมิคุ้มกันของร่างกาย และสำหรับบางคนก็อาจจะทำให้เกิดภาวะแพ้โปรตีนที่เป็นกลูเตนได้⁶



รูปที่ 1. การยึดกันของโปรตีนไกลอะดิน (gliadin) และกลูเตนิน (glutenin) ด้วยพันธะไดซัลไฟด์ (disulfide bond) เกิดเป็นกลูเตน³

ระยะเวลาที่ใช้ในการนวดแป้งสาลีนั้นส่งผลต่อปริมาณการเกิดกลูเตน เนื่องจากระยะเวลาที่ใช้ในการนวดแป้งสาลีจะทำให้โปรตีนกลูเตนินกับโปรตีนไกลอะดินจับตัวกันโดยมีน้ำเป็นตัวช่วย⁷

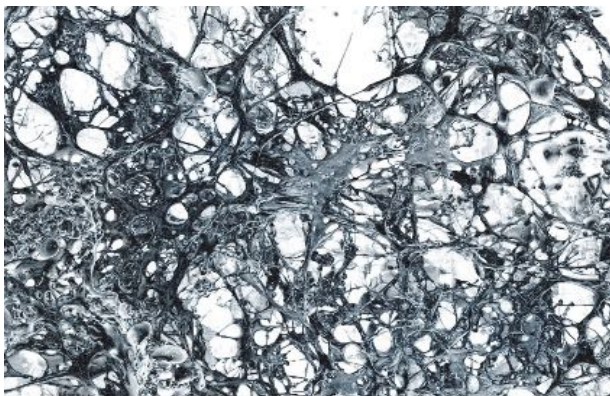
แรงกระทำของโดว์และขนมปังปอนด์มีผลต่อค่าความยืดหยุ่น ส่งผลให้แป้งมีรูปร่างหรือขนาดเปลี่ยนไปจากเดิม ถ้าแป้งมีความยืดหยุ่นก็จะสามารถคืนสู่สภาพเดิมได้ซึ่งแป้งที่มีความยืดหยุ่นได้นั้นเกิดมาจากกลูเตนเป็นส่วนสำคัญ ดังนั้นแรงกระทำของโดว์และขนมปังปอนด์มีความสัมพันธ์กับกลูเตน⁸

คณะผู้จัดทำจึงมีความสนใจที่จะศึกษาและเปรียบเทียบระยะเวลาในการนวดแป้งสาลีต่อการเกิดกลูเตนจากแรงกระทำของโดว์และขนมปังปอนด์ เพื่อศึกษาและเปรียบเทียบระยะเวลาในการนวดแป้งสาลีต่อการเกิดกลูเตน และศึกษาความสัมพันธ์ระหว่างกลูเตนกับแรงกระทำของโดว์และขนมปังปอนด์ โดยสามารถนำไปใช้ประโยชน์ให้กับงานวิจัยอื่นๆได้ เป็นแนวทางสำหรับผู้สนใจในการนำกลูเตนจากแป้งสาลีไปใช้ประโยชน์ และเป็นแนวทางสำหรับผู้สนใจในการต่อยอดเชิงอุตสาหกรรมต่อไป

2. วิธีการทดลอง

การเตรียมวัตถุดิบขนมปังปอนด์

ร่อนแป้งขนมปัง 160 กรัมและแป้งเค้ก 40 กรัมให้ละเอียด แล้วเติมยีสต์ 3.0 กรัมผสมให้เข้ากัน เติมน้ำไอ้ 17 กรัม เกลือ 2 กรัม น้ำตาล 30 กรัม น้ำ 102 กรัม และคนให้เข้ากันแล้วใส่แป้ง เนยจืด 30 กรัม ลงไปในเครื่องนวด



รูปที่ 2. แสดงภาพกลูเตนที่ถ่ายด้วยกล้องจุลทรรศน์อิเล็กตรอนแบบส่องกราด⁵

การทำขนมปังปอนด์

นวดแป้งด้วยความเร็วปานกลางเป็นเวลา 50 วินาที เมื่อส่วนผสมเริ่มกลายเป็นโดว์จึงเริ่มจับเวลาในการนวด กำหนดเวลาในการนวดที่ต่างกันจำนวน 7 ครั้ง เริ่มตั้งแต่ 0 นาที จนถึง 20 นาที จากนั้นโดว์ถูกนำออกจากเครื่องนวดแป้ง ใส่ลงโถผสม แล้วคลุมด้วยพลาสติกห่ออาหาร เพื่อพักโดว์ให้พองตัวนาน 45 นาที แล้วนวดใส่อากาศออก นำโดว์ออกจากโถผสมน้ำหนักประมาณ 374 - 376 กรัม แล้วแบ่งโดว์ออกเป็นสองส่วน ส่วนแรก 300 กรัม แบ่งใส่ลงไปในแม่พิมพ์ขนมปังปอนด์ พิมพ์ละ 100 กรัม จำนวน 3 พิมพ์ หลังจากอุ่นเตาอบที่อุณหภูมิ 180 องศาเซลเซียส นำโดว์ส่วนแรกเข้าอบเป็นเวลา 30 นาที โดยวางไว้ 3 ตำแหน่ง ได้แก่ ด้านซ้ายของเตาอบ (A), กลางเตาอบ (B), และ ด้านขวาของเตาอบ (C), เมื่ออบเสร็จ นำขนมปังออกจากแม่พิมพ์ พักให้เย็นตัวลงเป็นเวลา 30 นาที โดยกระบวนการทั้งหมด 7 ครั้ง ทำซ้ำครั้งละ 4 รอบ รวมทั้งหมด 28 ครั้ง

การทดสอบแรงกระทำของโดว์และขนมปังปอนด์

ก่อนอบขนมปังปอนด์ โดว์จากแม่พิมพ์ 3 พิมพ์ ถูกนำทดสอบแรงกระทำของโดว์ ทดสอบทั้งหมด 3 จุด ด้านซ้าย ตรงกลาง และด้านขวา โดยใช้เครื่องวัดและบันทึกข้อมูล(Datalogger)

หลังอบขนมปังปอนด์ ตัดส่วนหัวของขนมปังปอนด์ที่เกินจากแม่พิมพ์ออก นำส่วนที่อยู่ในแม่พิมพ์ไปทดสอบแรงกระทำของขนมปังปอนด์ด้วยวิธีเดียวกัน ดังรูปที่ 3



รูปที่ 3. ขนมปังปอนด์ขณะทดสอบแรงกระทำโดยใช้เครื่อง Datalogger



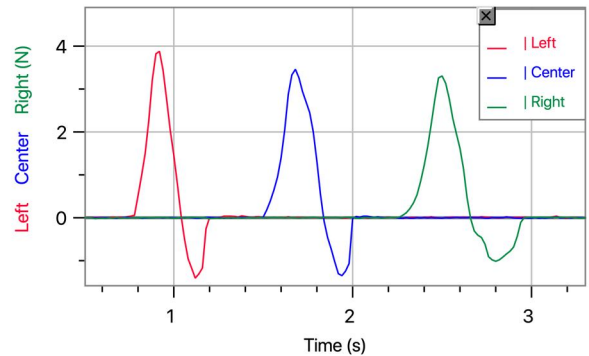
รูปที่ 4. แสดงตัวอย่างโดว์ที่นำไปแช่น้ำ เพื่อให้เหลือแต่กลูเตน

การทดสอบหาปริมาณกลูเตน

นำโดว์ส่วนที่สองที่แบ่งไว้ไปชั่งน้ำหนัก แล้วแช่น้ำ เป็นเวลา 15 นาที กรองแยกน้ำออก และนำไปแช่น้ำต่ออีก 10 นาที ดังรูปที่ 4 นำส่วนที่ไม่ละลายน้ำมาชั่งน้ำหนัก กลูเตนเปียก จากนั้นนำไปอบแห้งเพื่อชั่งน้ำหนักหาปริมาณกลูเตนแห้ง

3. ผลการทดลองและอภิปรายผลการทดลอง

ผลการทดสอบแรงกระทำของโดว์แสดง ดังรูปที่ 5 ได้ทดสอบทั้งหมด 3 จุด ด้านซ้าย, ตรงกลาง และด้านขวา โดยใช้เครื่องวัดและบันทึกข้อมูล (Datalogger) แสดงความสัมพันธ์ที่ไปในทิศทางเดียวกัน และผลการทดสอบแรงกระทำของขนมปังปอนด์ จากแม่พิมพ์ตำแหน่ง A, B และ C ตำแหน่งละ 3

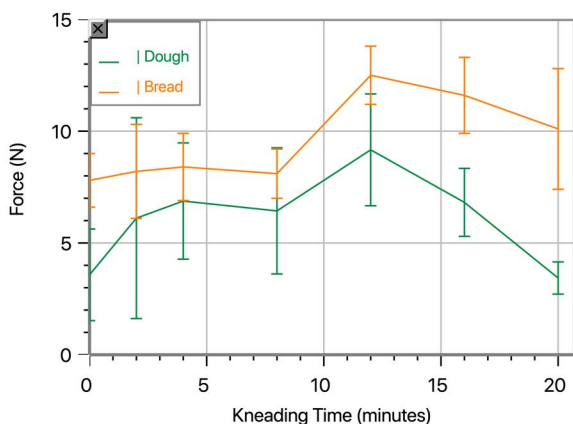


รูปที่ 5. ผลการทดสอบการวัดแรงกระทำของโดว์

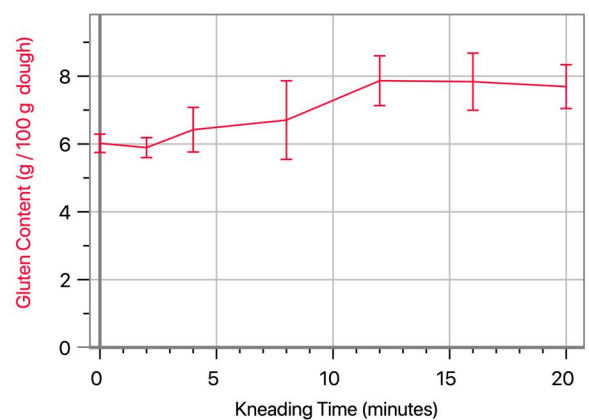
จุด ด้านซ้าย, ตรงกลาง และด้านขวา แสดงถึงความสัมพันธ์ที่ไปในทิศทางเดียวกันเช่นเดียวกัน

ความสัมพันธ์ที่ไปในทิศทางเดียวกันจึงสามารถสรุปเป็นค่าเฉลี่ยของผลการทดสอบแรงกระทำของโดว์ และขนมปังปอนด์ ดังรูปที่ 6 พบว่าแรงกดเฉลี่ยมีการเปลี่ยนแปลงอย่างเห็นได้ชัด

ความสัมพันธ์ระหว่างแรงกดเฉลี่ยของโดว์ก่อนอบ และหลังอบขนมปังปอนด์มีแนวโน้มไปในทิศทางเดียวกัน แสดงให้เห็นว่าเมื่อระยะเวลาในการนวดช่วง 0-12 นาที แรงกดเฉลี่ยมีค่าเพิ่มขึ้น เนื่องจากการนวดทำให้อนุภาคของแป้ง และโปรตีนผสมน้ำเปลี่ยนโครงสร้างเกิดเป็นกลูเตนมากขึ้น แต่ต่อจากนั้นช่วง 12-20 นาที จะลดลง เนื่องจากโดว์ผ่านจุดที่เกิดความยืดหยุ่นสูงแล้ว โดว์จะเกิดการแตกสลาย สาเหตุเกิดจากปรากฏการณ์แรงเฉือน ขณะนวดทำให้โมเลกุลของโปรตีนที่มีสายวางตัวในทิศทางเดียวกับการไหลของโดว์ทำให้แรงต้านทานการนวดลดลง⁴



รูปที่ 6. ผลการทดสอบแรงกดเฉลี่ยของโดว์ และ ขนมปังปอนด์ จากระยะเวลาการนวดเมื่อเริ่มเป็นโดว์เวลา 0-20 นาที



รูปที่ 7. ผลการทดสอบการวัดปริมาณกลูเตนเฉลี่ยจากระยะเวลาการนวดเมื่อเริ่มเป็นโดว์เวลา 0-20 นาที

ผลการทดสอบแรงกดเฉลี่ยพบว่าเมื่อนำมาเปรียบเทียบกับกัน แสดงให้เห็นถึงความสัมพันธ์ระหว่างแรงกดเฉลี่ยของโดว์ และ ขนมปังปอนด์ โดยแรงกดเฉลี่ยของขนมปังปอนด์ มีค่าเพิ่มขึ้น จากการให้ความร้อนทำให้โดว์มีการเปลี่ยนโครงสร้างที่ยืดหยุ่นน้อยลง^๑

การทดสอบหาปริมาณกลูเตน

เมื่อทดสอบหาปริมาณกลูเตนได้ผลการวัดดังแสดงในรูปที่ 7 พบว่า ปริมาณกลูเตนเฉลี่ย เมื่อระยะเวลาในการนวดช่วง 0-12 นาที มีค่าเพิ่มขึ้น เนื่องจากการนวดทำให้อุณหภูมิของแป้งขดสีกันจนเป็นอนุภาคที่เล็กลง ทำให้น้ำสามารถซึมผ่านได้ง่ายขึ้น จึงล้อมรอบโปรตีนและแป้ง ทำให้โปรตีนสามารถเกิดโครงสร้างเป็นกลูเตนมากขึ้น^๒ ต่อจากนั้นช่วง 12-20 นาที มีค่าคงที่ ผู้เขียนคิดว่าเนื่องจากอัตราส่วนของโปรตีนกับน้ำผสมกันจนหมดแล้ว

4. สรุปผลการทดลอง

เราได้แสดงให้เห็นว่า เมื่อระยะเวลาในการนวดช่วง 0-12 นาที ปริมาณกลูเตนเฉลี่ยกับแรงกดเฉลี่ยของโดว์ มีความสัมพันธ์กัน ในแนวโน้มที่เพิ่มขึ้น และเมื่อหลังจากการนวดช่วง 12-20 นาที ปริมาณกลูเตนเฉลี่ยกับแรงกดเฉลี่ยของโดว์ มีความสัมพันธ์กัน จากปริมาณกลูเตนเฉลี่ยที่คงที่ กับ แรงกดเฉลี่ยที่ลดลง

5. เอกสารอ้างอิง

1. Biesiekierski, J. R. (2017). What is Gluten? *Journal of Gastroenterology and Hepatology*, 32: 78– 81. doi.org/10.1111/jgh.13703.
2. Gupta, R., et al. (1993). Biochemical basis of flour properties in bread wheats. I. Effects of Variation in the Quantity and Size Distribution of Polymeric Protein. *Journal of Cereal Science*, 21 (2), 103-116, doi.org/10.1016/0733-5210(95)90026-8.
3. Pornchaloempongs, P., Ratanapanont, N., (2010). Gluten. *Food Network Solutions*. Retrieved 9 November, 2019 from <http://www.foodnetworksolution.com/>

4. Tilley, K., et al. (2001). Tyrosine Cross-Links: Molecular Basis of Gluten Structure and Function. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 49 (5), 2627-2632. DOI: 10.1021/jf010113h
5. Modernist Cuisine. (2018). Gluten: How Does It Work? Retrieved November 10, 2019, from <https://modernistcuisine.com/2018/04/gluten-how-does-it-work/>
6. Van Der Borght, A., Goesaert, H., Veraverbeke, W., Delcour, J. (2005). Fractionation of wheat and wheat flour into starch and gluten: overview of the main processes and the factors involved. *J. of Cereal Science*, 41, (3) 221-237. doi.org/10.1016/j.jcs.2004.09.008.
7. Canja, C., Lupu, M., Taulea, G. (2014). The Influence of Kneading Time on Bread Dough Quality. *Bulletin of the Transylvania University of Brasov, Series II*, 7 (56) 79-84.
8. Mann, J., Schiedt, B., Baumann, A., Conde-Petit, B., & Vilgis, T. A. (2014). Effect of heat treatment on wheat dough rheology and wheat protein solubility. *Food Science and Technology International*, 20 (5), 341–351. doi.org/10.1177/1082013213488381

กิตติกรรมประกาศ

ขอขอบคุณ อาจารย์จุฑารัตน์ ใจงาม โรงเรียนวิทยาศาสตร์จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย ปทุมธานี และ รศ. ดร. จิรารัตน์ อนันตกุล ผศ.ดร. พนิดา งามเชื้อชิต ประจำสาขากรรมวิธีผลิตอาหารและวิศวกรรมอาหาร คณะวิทยาศาสตร์ จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย สำหรับการให้คำปรึกษา และอำนวยความสะดวกในการทำวิจัย

Treatment of Subcutaneous Infections With Plu Kao Extract in Nanogel

Natnicha Danprakron and Pratiparn Kongkumnert
Chulabhorn Science High School, Pathumthani
51 Moo 6, Bo Ngoen, Lat Lum Kaeo, Pathumthani, 12140
Email : natnichanancy@gmail.com

Abstract

Plu Kao (*Houttuynia cordata*) extracts have well known antibacterial and anti-inflammatory effects. The potential for using Plu Kao extract to treat subcutaneous bacterial infections is investigated here. Because the crude extract is insoluble in water, subcutaneous penetration is enhanced by encasing it in a nanogel. It is found that applications of nanogel containing 10% and 15% Plu Kao extract are an effective way to enhance the penetration of Plu Kao extract through pig skin. It is also shown that nanogel containing 10% and 15% Plu Kao extract are both effective inhibitors of *Staphylococcus aureus*, indicating that this may be an effective method for treating subcutaneous infections in humans.

Keywords: *Plu Kao, Houttuynia cordata, nanogel, subcutaneous skin inflammation*

I. INTRODUCTION

Cellulitis is a skin condition that presents as swelling, redness and pain at the site of an infection. The most common cause is bacterial infection that may enter the body through wounds, cracks, or damaged skin. The most common bacterial species involved is *Staphylococcus aureus*. (See a Doctor, 2018)

Tinida Inta et al. (2019) studied the inhibition of *S. aureus* with a crude extract of Cockscomb (*Celosia argentea*). They identified alkaloids, tannins, flavonoids, and saponins in the extract. One or more of these compounds may be the reason that extract of Guava leaf also inhibits this bacterium. (Inta et al., 2019). There are many other herbal extracts known to have the same effect, including *Houttuynia cordata*, known in Thailand as Plu Kao.

Plu Kao, known also as Fish mint, is a well-known herb that contains the flavonoid Quercetin that has antibacterial properties (Bureau of Information, 2020). Because crude Plu Kao extract is largely insoluble in water, poor penetration is a major limitation in its use on the skin. An effective

method of delivery is required to treat subcutaneous skin infection.

A hyaluronic acid-grafted polymer was synthesized by Luckanagul et al (2021) that self assembles into nano particles forming a nanogel that can be used to deliver biocompatible metabolites containing curcumin.

A nanogel delivery system is a nanoparticle size carrier system that is a hydrophilic polymer lattice structure. (Kasa et al., 2019). Biomedical scientists often create nanogels from natural polysaccharides like hyaluronic acid because they have outstanding water-holding properties, low toxicity and are biodegradable (Thai Rath, 2020).

Hyaluronic acid can be chemically modified to become polyN-isopropylacrylamide, known as HA-pNIPAM, for use as a trans-dermal delivery system (Luckanagul et al., 2021). Luckanagul et al. (2021) found that nanogel transdermal delivery systems have the potential to improve drug absorption and mobility, which suggests that a nanogel could be used to deliver Plu Kao extract to the subcutaneous layers of the skin to control bacteria induced inflammation.

II. METHODS

Preparation of nanogel HA-pNIPAM and Plu Kao extract

Freshly picked leaves from healthy disease-free Plu Kao plants, were washed and allowed to dry in air for 20 minutes. The leaves were then placed in a 40 °C oven until completely dried, then ground thoroughly to a powder. Two hundred grams of leaf powder was soaked in 400 ml of 95 percent ethanol for 72 hours. The solution was filtered with Whatman No.1 paper, and the residue evaporated in a rotary evaporator at 40 °C until a viscous extract was obtained.

Nanogel, HA-pNIPAM, obtained from Nabsolute Co. Ltd., was prepared at 0.005% w/v in a buffer solution that was agitated by sonication for fifteen minutes. The resulting suspension was left to precipitate overnight at 4°C, then centrifuged at 3,000 g for five minutes. Plu Kao extract was added dropwise to the 0.005% HA-pNIPAM to obtain the following ratios: (100:0 95:5, 90:10 and 85:15) %v/v. The suspensions were centrifuged at 500 rpm. The four samples containing Plu Kao extract were then incubated in the dark at 4°C for 48 h. The preparations incorporating Plu Kao extract were designated as PK-HApNIPAM.

Particle Size Mean and Distribution

Samples containing the three different concentrations of Plu Kao extract, (0%, 5%, 10% and 15%) v/v were placed in a Zetasizer Nano ZS 90 nanoparticle size analyzer to measure particle size and distribution by dynamic light scattering, DLS. Values of mean particle diameter, DLSx, and Polydispersity index, PDI, were obtained.

Entrapment Efficiency (%EE) and Drug Loading Efficiency (%DLE)

A UV absorption spectrophotometer at a wavelength of 230 nm was used to measure the density of Plu Kao extract in each of the prepared suspensions. The suspensions were then centrifuged for stratification between the water and the nanogels at 4°C for 15 minutes to find Plu Kao entrapment efficiency in the polymer. The %EE was found as the ratio of the weight of the extract retained in the nanogel and the weight of the total extract. The %DLE was found as the ratio of the weight of the extract contained in the nanogel and the weight of the nanogel without the extract.

Plu Kao Extract Penetration through Pig Skin

The skin from the back of a pig's ear was prepared for permeability testing. A Franz Diffusion Cell

was prepared following Luckanagul et al. (2021). The temperature of the receptor was set to 37 °C and the magnetic stirrer was set to 100 rpm. The pig skin was cut to size and sealed at the base of the donor chamber. The acceptor chamber was filled with 12 ml of phosphate buffer, PBS, at a pH of 7.4. One ml of solution was removed and replaced by one ml of new buffer at intervals of 1, 2, 4, 8 and 24 hours. The samples were analyzed with the UV spectrophotometer to find the absorbance at a wavelength of 230 nm and the amount of Plu Kao extract present was found by comparing to the standard curve.

Growth inhibition of Staphylococcus aureus

The agar disc diffusion method was used to test for bacterial inhibition. A petri dish was prepared with Potato Dextrose Agar (PDA). Staphylococcus bacteria were prepared in Mueller Hinton Broth (MB). Sterile spatulas were dipped in the bacterial suspension and then swabbed onto the surface of the agar in the petri dish. Drops of concentrated Plu Kao extract (15% v/v) and nanogels containing the 3 different concentrations of Plu Kao extract were placed on the surface and left to dry. The agar plates were incubated at 37 °C for 24 hours, then the diameters of the clear inhibition zones were measured across three angles.

III. RESULTS AND DISCUSSION

Particle Size Mean and Distribution

Figure 1 shows the average particle size, DLSx, in each of the four nanogel samples and the size distribution index DLI. The 15% sample of PK-HApNIPAM had the smallest particles (mean 13.1 ± 1.5 nm), while the 5% sample had the largest (280.6 ± 3.3 nm). Supang Khondee (2017) found that insoluble particles larger than 10,000 nm remained on the surface of the skin, particles from

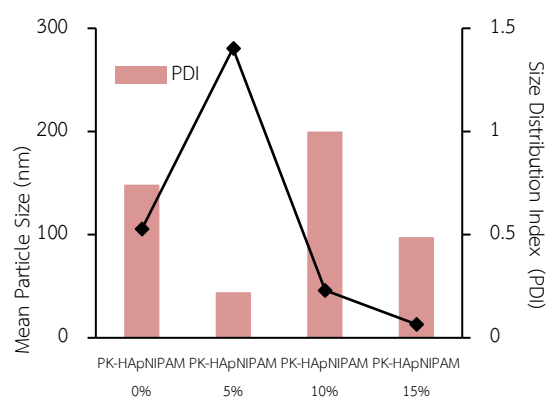


Figure 1. Mean Particle Size and Particle Size Distribution Index (PDI)

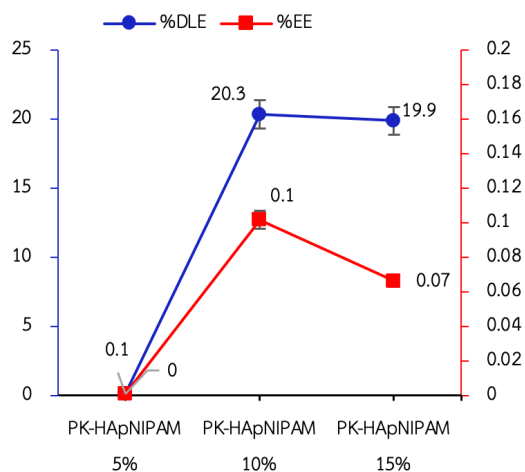


Figure 2. Nanogel Drug Loading Efficiency (%DLE) and Entrapment Efficiency (%EE)

3,000 – 10,000 nm accumulated in hair follicles and particles smaller than 3,000 nm penetrated through the pores in the epidermis. The particle size in all cases here were small enough to penetrate the epidermis.

Particle size distribution also varied, as shown in Figure 1. PK-HApNIPAM 5% had the lowest dispersion with a PDI of 0.22 ± 0.03 , followed by PK-HApNIPAM 15% with a PDI of 0.487 ± 0.007 , while PK-HApNIPAM 10% had a PDI of 1.00. The PDI value ranges from zero for a perfectly uniform nanogel to 1.0 for highly differentiated nanogels with multiple particle sizes.

A PDI of less than 0.5 is desirable because it is an indicator of the aggregation of smaller particles and uniform particle size leads to more uniform, stable delivery. (Danaei et al., 2018). The most suitable nanogel containing Plu Kao extract is the 15% PK-HApNIPAM with skin permeable mean particle size and a particle size distribution less than 0.5.

Extract Entrapment Efficiency and Drug Loading Efficiency

Extract Entrapment Efficiency (%EE) and Drug Loading Efficiency (%DLE) are shown in figure 2. The results show that the percentage of extract contained in the nanogel is very small. We note that Plu Kao extract is dense and viscous, and when centrifuged is readily precipitated. The percentage of polymer content also affects the retention.

The nanogels were kept for 27 days prior to testing, Table 1 shows that most of the Plu Kao extract content of PK-HApNIPAM 5% and

PK-HApNIPAM	%DLE	%EE	Extract levels before Centrifuging (µg/ml)	Extract levels after Centrifuging (µg/ml)
5%	0.1	0	89.84	0.4
10%	20.3	0.1	195.24	101.7
15%	19.9	0.07	393.18	99.4

Table 1. Nanogel Drug Loading Efficiency (%DLE), Entrapment Efficiency (%EE) and Extract Retention levels.

PK-HApNIPAM 10% is present in the ethanol fraction rather than in the polymer of the nanogel.

It was found that the nanogel containing Plu Kao extract had the ability to retain the extract and extract packaging efficiency at levels suitable for use. PK-HApNIPAM 10% and PK-HApNIPAM 15% had the highest percentage of extract filling and entrapment efficiency.

Further research should be conducted on ways to improve the duration of retention, the %EE, and the %DLE, in order to improve the effectiveness of the Plu Kao nanogel preparations.

Skin penetration

From Figure 3, PK-HApNIPAM 15% has the highest percentage permeability followed by PK-HApNIPAM 10% and PK-HApNIPAM 5%, respectively but the difference between the three concentrations is very small.

The result shows the improved penetration of insoluble extract particles through the pig skin with the nanogel delivery system which is consistent with the research report of Luckanagul et al. (2021).

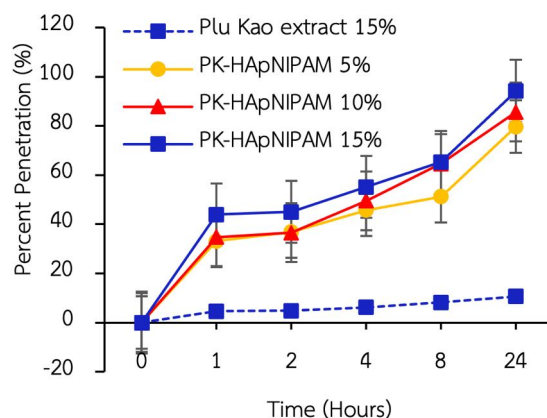
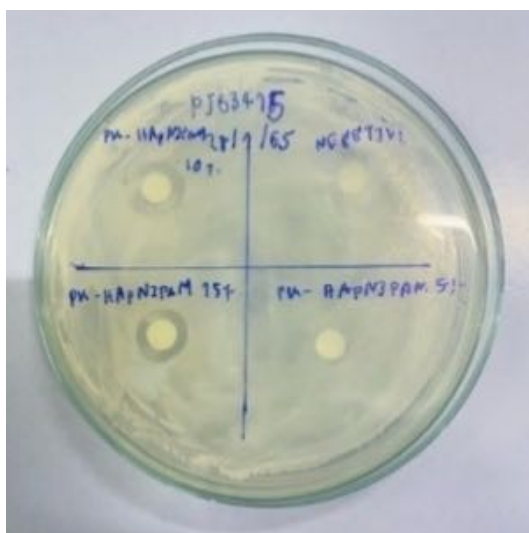


Figure 3. Penetration of extract through pig skin over time.



Nanogel PK-HApNIPAM: a = 5%, b = 10%, c = 15%, d = 0%

Figure 4. Inhibition of *S. Aureus*

Inhibition of *Staphylococcus aureus*

Figure 4 and table 2 show the diameters of the inhibition zones of *S. aureus* on the agar plate for the four different extract concentrations in the nanogel.

Significant and similar inhibition is seen for both 10% and 15% HApNIPAM concentrations and no effect is seen for 5%. This finding is consistent with the previous findings that 10% and 15% HApNIPAM concentrations demonstrated significant levels of %EE and %DLE, while 5% showed negligible levels of these measures.

These results show that the 10% HApNIPAM concentration is most effective at inhibiting *S. aureus*. Further research is recommended into its development as a medical treatment for subcutaneous infections.

IV. CONCLUSION

It was found that the nanogel delivery system HApNIPAM has the ability to deliver an extract of Plu Kao with small particle size (less than 250 micron) with a DPI of less than 0.5 to the subcutaneous layers of pig skin. Most importantly, the nanogel containing the Plu Kao extract is effective in inhibiting *Staphylococcus aureus* in the laboratory setting. It is hoped that future clinical trials will show that nanogel delivery of a Plu Kao extract is an effective treatment for subcutaneous inflammation caused by the common bacterium *Staphylococcus aureus*.

PK-HApNIPAM	Bacteria Inhibition Area Diameter (mm)			
	1	2	3	Mean
0%	NA	NA	NA	NA
5%	NA	NA	NA	NA
10%	12.5	13.0	12.0	12.5 ± 0.4
15%	11.0	10.5	11.0	10.8 ± 0.2

Note: NA = No inhibition

Table 2. Bacteria Inhibition Area Diameter for the Nanogel Extract Preparations tested.

V. REFERENCES

- Bureau of Information, Ministry of Public Health, (2020). Plu Kao – Kao Tong: Antiviral local herb. Retrieved 11 June 2021, from <https://pr.moph.go.th>
- Danaei, M, Dehghankhold M, Ataei S, Davarani FH, Javanmard R, Dokhani, A Khorasani S, and Mozafari MR (2018). Impact of Particle Size and Polydispersity Index on the Clinical Applications of Lipidic Nanocarrier Systems. *Pharmaceutics* 10 (2). DOI: 10.3390/pharmaceutics10020057
- Inta, T., Saelee, A., Samang, P., Srisayaem, M., Phalee, W., Chotinakaran, A. (2019). *Staphylococcus aureus* and antioxidant activity of crude extracts from cockscomb and guava. Phitsanulok: Faculty of Science and Technology, Phibunsongkhram Rajabhat University.
- Kasa P, Farran B, Raju, GS (2019). Are Nanocarriers Effective for the Diagnosis and Treatment of Pancreatic Cancer? In GP Nagaraju (Ed.), *Cancer Sensitizing Agents for Chemotherapy* (pp. 159–174, Ch. 10). Academic Press. DOI.org/10.1016/B978-0-12-817661-0.00010-X
- Kondee, Supang (2017). Why is particle size important? Phayao: Faculty of Pharmacy University of Phayao.
- Luckanagul, JA., Ratnatilaka Na Bhuket, P., Muangnoi, C., Rojsitthisak, P., Wang, Q., Rojsitthisak P. Self-Assembled Thermo-responsive Nanogel from Grafted Hyaluronic Acid as a Biocompatible Delivery Platform for Curcumin with Enhanced Drug Loading and Biological Activities. *Polymers (Basel)*. 2021 Jan 7; 13 (2):194.
- See a Doctor. (2018). Cellulitis (inflamed tissue cells). Retrieved June 4, 2021, from <https://www.pobpad.com/cellulitis-Cellulitis>.

Thairath. (2020). "Hyalu Ronik", the secret of beauty. Retrieved 11 June 2021, from <https://www.thairath.co.th/women/beauty/health/1894288>.

Acknowledgments

The authors would like to thank Ms. Pornphan Chomwong and Ms. Warangkana Thuphakdee, our project advisor, and Dr. Samorn Patho, Director of

Chulabhorn Science High School, Pathum Thani. We also thank Asst.Prof. Jittima Lagnakul, Ph.D., Faculty of Medicine, Department of Pharmacy, Chulalongkorn University as well as the students of the Department of Pharmaceutical Science and Industrial Pharmacy, Chulalongkorn University. Finally, we would like to thank NabSolute Co. Ltd. for providing the nanogel and the Young Scientist Competition 2022 for awarding funds to support this project.

การรักษาภาวะเนื้อเยื่อใต้ผิวหนังอักเสบด้วยระบบนำส่ง สารสกัดจากพลูควาวในรูปแบบนาโนเจล

ณัฐนิชา แดนประกรณ์ และ ปฎิภาณ คงกำเหนิด
โรงเรียนวิทยาศาสตร์จุฬาราชวิทยาลัย ปทุมธานี
51 หมู่ 6 ตำบลบ่อเงิน อ.ลาดหลุมแก้ว จังหวัดปทุมธานี 12140
อีเมลล์ : natnichanancy@gmail.com

บทคัดย่อ

งานวิจัยนี้มีวัตถุประสงค์เพื่อศึกษาประสิทธิภาพและฤทธิ์ทางชีวภาพของระบบนำส่งสารในรูปแบบนาโนเจลบรรจุสารสกัดพลูควาว เพื่อพัฒนาเป็นยาในการรักษาภาวะเนื้อเยื่อใต้ผิวหนังอักเสบ โดยมีเหตุว่า พลูควาวเป็นสมุนไพรชนิดหนึ่งที่มีสารสำคัญมีฤทธิ์ในการต้านแบคทีเรียที่ก่อให้เกิดโรค ผู้จัดทำจึงสนใจจัดทำนาโนเจลบรรจุสารสกัดพลูควาวระดับ 5% 10% และ 15% และ ศึกษาประสิทธิภาพในการบรรจุสารสกัด ระดับการซึมเข้าไปในผิวหนัง และ ประสิทธิภาพในการยับยั้งแบคทีเรีย *Staphylococcus aureus* ซึ่งพบว่านาโนเจลที่บรรจุสารสกัดพลูควาว 10% และ 15% มีปริมาณสารสกัดที่สามารถบรรจุลงในนาโนเจลมากที่สุด สารสกัดสามารถซึมผ่านผิวหนังเพิ่มมากขึ้นเมื่อมีการปรับปรุงระบบนำส่งสารเป็นในรูปแบบนาโนเจล และ นาโนเจลบรรจุสารสกัดพลูควาว 10% และ 15% สามารถยับยั้ง *S. aureus* ได้

คำสำคัญ: ภาวะเนื้อเยื่อใต้ผิวหนังอักเสบ, พลูควาว, นาโนเจล

1. บทนำ

ภาวะเนื้อเยื่อใต้ผิวหนังอักเสบคือภาวะติดเชื้อบริเวณเนื้อเยื่อผิวหนัง ซึ่งส่งผลให้มีอาการบวมแดงปวด หรือร้อนบริเวณที่มีการติดเชื้อ ซึ่งสาเหตุส่วนใหญ่ของภาวะเนื้อเยื่อใต้ผิวหนังอักเสบนั้นจะมาจาก การติดเชื้อแบคทีเรียที่อาจเข้าสู่ร่างกายผ่านทางรอยแผล รอยแตก หรือผิวหนังที่บอบบาง (พบแพทย์, 2561) โดยเชื้อแบคทีเรียชนิดที่พบส่วนใหญ่ คือ *Staphylococcus aureus* (*S. aureus*) จากงานวิจัยของ อินิดา อินตาและคณะ (2562) ที่ได้ศึกษาการยับยั้งเชื้อ *S. aureus* ของสารสกัดหยาดจากหงอนไก่ฝรั่ง (*Celosia argentea*) พบว่า สารจำพวกอัลคาลอยด์แทนนิน ฟลาโวนอยด์ และ ซาโปนิน อาจจะเป็นสาเหตุที่ทำให้สารสกัดจากใบหงอนไก่ฝรั่งสามารถยับยั้งเชื้อแบคทีเรียนี้ได้ (อินตา และคณะ, 2562) นอกจากนี้ใบหงอนไก่ฝรั่งก็ยังมีสมุนไพรอีกหลากหลายชนิดที่สามารถยับยั้งแบคทีเรียเหล่านี้ได้เช่นกัน หนึ่งในนั้นได้แก่ พลูควาว (*Houttuynia cordata* Thunb.)

พลูควาว หรือควาวตอง ควาวทอง พืชสมุนไพรหนึ่งที่มีสรรพคุณทางด้านชีวภาพที่หลากหลาย และ

นอกจากนี้พลูควาวก็ยังมีสาร Quercetin หนึ่งในกลุ่มสารฟลาโวนอยด์ที่มีฤทธิ์ต้านแบคทีเรีย (กลุ่มการกิจ, 2563) เนื่องจากสารสำคัญในสารสกัดพลูควาวเป็นสารที่ละลายในน้ำได้น้อยหรือแทบจะไม่ละลายเลย จึงทำให้เกิดข้อจำกัดของการซึมผ่านผิวหนัง นั่นก็คือ สารที่มีฤทธิ์ต้านแบคทีเรียของพลูควาวไม่สามารถซึมผ่านเข้าสู่ผิวหนังชั้นลึกได้หรือผ่านได้ในปริมาณที่น้อย และสารนั้นก็ไม่ได้เพียงพอต่อการออกฤทธิ์รักษา จึงมีความจำเป็นที่จะต้องพัฒนาระบบนำส่งแบบใหม่ เพื่อนำส่งเข้าสู่ร่างกายและเพิ่มการออกฤทธิ์ของตัวยา จากงานวิจัยของ Luckanagul et al. (2021) ที่ได้ศึกษานาโนเจล ทนความร้อนที่ประกอบเองจากกรดไฮยาลูโรนิกที่กราฟต์เป็นแพลตฟอร์มในการนำส่งสารที่เข้ากันได้ทางชีวภาพบรรจุเคอร์คูมิน ซึ่งพบว่าระบบนำส่งสารผ่านผิวหนังระบบนาโนเจลถือเป็นระบบหนึ่งที่มีศักยภาพในการปรับปรุงการดูดซึมยาและปริมาณยาเคลื่อนที่ไปถึงเซลล์เป้าหมายได้มากขึ้น

ระบบนำส่งสารในรูปแบบนาโนเจลคือระบบนำส่งสารในขนาดอนุภาคนาโนที่เป็นโครงสร้างตาข่าย

พอลิเมอร์ชอบน้ำมีอนุภาคในขนาดนาโนเมตร (Kasa et al., 2019) ซึ่งทางชีวการแพทย์มักสร้างนาโนเจลมาจากพอลิแซ็กคาไรด์ที่ได้จากธรรมชาติ อย่างเช่น กรดไฮยาลูโรนิก เนื่องจากกรดไฮยาลูโรนิกมีคุณสมบัติเด่นในด้านการอุ้มน้ำได้ดี ชอบน้ำ ความเป็นพิษต่ำ และมีคุณสมบัติในการย่อยสลายทางชีวภาพ (ไทยรัฐ, 2563) และนำไปตัดแปลงทางเคมีเป็นโพลี (N- isopropylacrylamide) หรือ pNIPAM พอลิเมอร์ที่มีคุณสมบัติทางความร้อนและมีสมบัติในการละลายน้ำขึ้นกับอุณหภูมิ (Luckanagul et al., 2021) เพื่อนำไปเป็นภาชนะสำหรับระบบนำส่งสารผ่านผิวหนัง

ดังนั้นทางคณะผู้จัดทำจึงมีความสนใจที่จะศึกษาประสิทธิภาพและฤทธิ์ทางชีวภาพของนาโนเจลบรรจุสารสกัดพลูควา ซึ่งได้แก่ ปริมาณของสารสกัดที่มีผลต่อขนาดอนุภาคและการกระจายขนาดอนุภาค, ความสามารถในการกักเก็บสารสกัดพืช (% Entrapment efficiency; %EE) และประสิทธิภาพการบรรจุสารสกัด (% Drug loading efficiency; %DLE) ของนาโนเจล ความสามารถในการซึมผ่านผิวหนังด้วย Franz Diffusion Cell และประเมินการต้านแบคทีเรียที่ก่อให้เกิดโรค เพื่อนำไปพัฒนาเป็นยาในการรักษาภาวะเนื้อเยื่อใต้ผิวหนังอักเสบได้อย่างมีประสิทธิภาพและปลอดภัย

2. วิธีการทดลอง

การเตรียมนาโนเจล HA-pNIPAM และบรรจุสารสกัดจากพลูควา

นำใบพลูควาที่เลือกเก็บจากต้นที่สมบูรณ์และไม่เป็นโรคมาล้างให้สะอาด ตากผึ่งลมให้แห้งประมาณ 20 นาที นำไปอบแห้งที่อุณหภูมิ 40 °C เป็นเวลา 1 วัน และบดให้ละเอียด นำใบพลูควาที่บดแล้วหนัก 200 g มาแช่ในตัวทำละลายเอทานอลความเข้มข้น 95 เปอร์เซ็นต์ ปริมาตร 400 ml เป็นเวลา 72 ชั่วโมง กรองตะกอนออกโดยใช้กระดาษกรอง Whatman No.1 และนำตัวอย่างที่ได้ไประเหยตัวทำละลายออกให้แห้งด้วยเครื่อง rotary evaporator ที่อุณหภูมิ 40°C จนได้สารสกัดที่เข้มข้น จากนั้นนำสารสกัดเข้มข้นที่ได้มาชั่งน้ำหนักและคำนวณหาร้อยละสารสกัดหยาบที่ได้ (%Yield Crude Extract)

นาโนเจล HA-pNIPAM จากความอนุเคราะห์จากบริษัท แนนโซลูท จำกัด จะถูกเตรียมที่ 0.005%w/v ในบัฟเฟอร์ PBS ตามด้วยโซนิเคชัน (Sonication) เป็น

เวลา 15 นาที ที่งนาโนเจลให้ตกตะกอนค้างคืนที่ 4 °C และปั่นเหวี่ยงที่ 3,000g เป็น

เวลา 5 นาที จากนั้นบรรจุสารสกัดพลูควาลงในนาโนเจลซึ่งจะทำได้ด้วยวิธี Incubation method อย่างง่าย โดยใช้อัตราส่วนระหว่าง นาโนเจล HA-pNIPAM ต่อปริมาณสารสกัดพลูควา เป็นดังนี้ 100:0 95:5 90:10 และ 85:15% v/v นำสารละลายสารสกัดพลูควาเติมแบบหยดลงใน 0.005% HA-pNIPAM nanogel และจะถูกนำมาทำการหมุนเหวี่ยงที่ 500 rpm หลังจากนั้นนาโนเจลบรรจุสารสกัดพลูควาจะถูกบ่มไว้ที่ 4 °C ป้องกันจากแสงเป็นเวลา 48 ชั่วโมง ซึ่งสูตรนาโนเจลที่บรรจุสารสกัดพลูควาที่ถูกตั้งชื่อว่า พลูควา-HApNIPAM หรือ PK-HApNIPAM

ขนาดอนุภาคและการกระจายขนาดอนุภาคนาโนเจล

นำนาโนเจลที่บรรจุสารสกัดในปริมาณที่แตกต่างกัน (0% 5% 10% และ 15% v/v) ไปวัดขนาดอนุภาคและการกระจายขนาดอนุภาค ด้วยเทคนิค Dynamic Light Scattering (DLS) จากเครื่อง Zetasizer Nano ZS 90 Nanoparticle Size Analyzer และทำการวัดค่าเส้นผ่านศูนย์กลางเฉลี่ยของอนุภาค (DLS x) และค่าพีดีไอ (Polydispersity index; PDI)

การกักเก็บสารสกัดพืช (%EE) และประสิทธิภาพการบรรจุสารสกัด (%DLE)

นำนาโนเจลที่บรรจุปริมาณสารสกัดพลูควาที่แตกต่างกันมาหาปริมาณสารสกัดพลูควาที่มีอยู่หลังจากการบรรจุลง นาโนเจล โดยใช้เครื่องสเปกโตรโฟโตมิเตอร์ที่มองเห็นด้วยแสง UV ที่ความยาวคลื่น 230 นาโนเมตร จากนั้นนำนาโนเจลไปปั่นเหวี่ยงแยกชั้นระหว่างน้ำกับนาโนเจลเพื่อหาสารสกัดพลูควาที่อยู่ในโพลิเมอร์ที่ 14,000 g, 4 °C, 15 นาที และวัดใหม่อีกครั้ง จากนั้นนำนาโนเจลที่ได้ไปหาสารสกัดพลูควาเทียบกับกราฟสารมาตรฐาน คำนวณ %EE โดยนำน้ำหนักของสารสกัดที่ถูกกักเก็บในนาโนเจลส่วนด้วยน้ำหนักของสารสกัดทั้งหมดที่ใช้คุณหนึ่งร้อย และ %DLE น้ำหนักของสารสกัดที่ถูกบรรจุในนาโนเจลหาร

ด้วยน้ำหนักของนาโนเจลที่ไม่ได้บรรจุสารสกัดคุณ
หนึ่งร้อย

ระดับการซึมเข้าไปในผิวหนังของสารสกัด

ทำการเตรียมผิวหนังจากหลังใบหูของสุกร
เพื่อใช้ในการทดสอบการซึมผ่านด้วยวิธีของ
Luckanagul et al. (2021) และเริ่มการศึกษาในระดับ
ปริมาณสารสกัดที่สามารถซึมผ่านผิวหนังด้วยเครื่อง
Franz Diffusion Cell โดยตั้งค่าอุณหภูมิของ
receptor ที่ 37 °C และตั้งค่าความเร็ว magnetic
stirrer ที่ 100 rpm จากนั้นเปิดเครื่องและตัดหนังสุกร
ให้มีขนาดใหญ่กว่า donor chamber มาซึ่งประกบใน
ส่วนของ acceptor จะใช้ฟอสเฟตบัฟเฟอร์ (PBS) ที่มี
ค่าความเป็นกรด-ด่างเท่ากับ 7.4 ปริมาตร 12
มิลลิลิตร เป็นตัวกลาง การเก็บตัวอย่างสารจาก
acceptor part จะเก็บครั้งละ 1 มิลลิลิตร ที่เวลา 1, 2,
4, 8 และ 24 ชั่วโมง ทุกครั้งที่เก็บตัวอย่างจะทำการ
เติมสารละลายฟอสเฟตบัฟเฟอร์ใหม่ปริมาตร 1 mL
ลงไปทดแทน หลังจากนั้นนำตัวอย่างที่ได้ไปวิเคราะห์
ด้วย เครื่อง UV-visible สเปกโตรโฟโตมิเตอร์ เพื่อหา
ค่าการดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 230 nm และนำ
ค่าการดูดกลืนแสงไป คำนวณหาปริมาณของสารสกัด
พลาควาที่พบในตัวอย่างโดยเทียบกับกราฟมาตรฐาน
(Standard curve)

ประสิทธิภาพในการยับยั้งแบคทีเรีย *S. aureus*

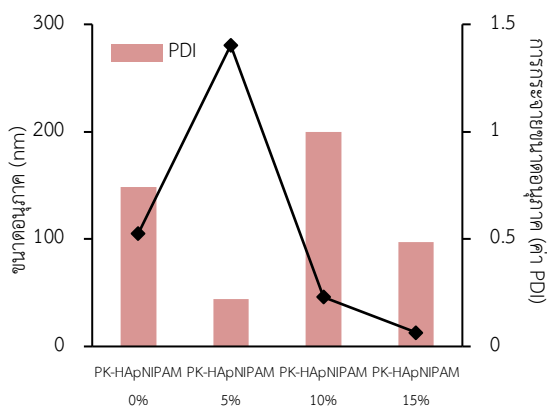
การทดสอบฤทธิ์ในการยับยั้งการเจริญของ
Staphylococcus aureus ด้วยวิธี Agar disc diffusion
โดยมีวิธีการทดสอบ คือ เตรียมจานอาหารเลี้ยงเชื้อที่
มีอาหาร Potato dextrose agar (PDA) แลเตรียมเชื้อ
Staphylococcus aureus ในอาหารเลี้ยงเชื้อ Mueller
Hinton Broth (MB) จากนั้นนำไม้พันสาลีที่ผ่านการ
ฆ่าเชื้อแล้วจุ่มลงในสารแขวนลอยที่เจือจางไว้ ทา
(swab) ลงบนผิวหนังของอาหารแข็ง จากนั้นวางแผ่น
ทดสอบลงบนผิวหนังของอาหารที่มีเชื้อที่ต้องการ
ทดสอบ แล้วนำสารสกัดพลาควาความเข้มข้น 15% v/v
และนาโนเจลที่บรรจุสารสกัดพลาควาในปริมาณที่
แตกต่างกัน (5% 10% และ 15% v/v) ปริมาตร 20
mL หยดลงบนแผ่นทดสอบ และทิ้งไว้ให้แห้ง หลังจาก
นั้นนำจานอาหารเลี้ยงเชื้อทั้งหมดไปบ่มที่อุณหภูมิ 37
องศาเซลเซียสเป็น เวลา 24 ชั่วโมง และทำการวัด
ขนาดเส้นผ่านศูนย์กลางยับยั้ง (inhibition zone) ที่

เกิดขึ้นจากการเกิดบริเวณใสจากปลายวงอีกฝั่งถึงอีก
ฝั่ง

3. ผลการทดลองและอภิปรายผลการทดลอง สารสกัดหยาบและขนาดอนุภาคของนาโนเจล

จากการศึกษาพบว่า ร้อยละสารสกัดหยาบที่ได้
มีค่า ร้อยละ 2.11 และสามารถสรุปผลได้ดังรูปที่ 1 ซึ่ง
พบว่า นาโนเจล PK-HApNIPAM 15% มีขนาดอนุภาค
เล็กที่สุด (13.1 ± 1.5 nm) และนาโนเจล PK-
HApNIPAM 5% มีขนาดอนุภาคใหญ่ที่สุด ($280.6 \pm$
 3.3 nm) ซึ่งสอดคล้องกับบทความวิจัยของ ศุภางค์ คน
ดี (2560) ที่ได้กล่าวไว้ว่า ตัวรับที่มีอนุภาคยาที่ละลาย
น้ำได้น้อย ขนาดอนุภาคจะมีความสำคัญในการ
ปลดปล่อย โดยอนุภาคที่ขนาดใหญ่กว่า 10,000 nm
จะคงค้างอยู่บนผิวหนัง อนุภาคขนาด 3,000 – 10,000
nm จะสะสมที่รูขุมขน ส่วนอนุภาคที่ขนาดเล็กกว่า
3,000 nm สามารถแทรกผ่านทั้งรูขุมขน และชั้นหนัง
กำพวด (คนดี, 2560) ซึ่งสอดคล้องกับผลการทดลอง
ที่นาโนเจลบรรจุสารสกัดพลาควาทั้ง 3 ความเข้มข้นมี
ขนาดอนุภาคในขนาดนาโนเมตร จึงสามารถซึมผ่าน
ผิวหนังในชั้นหนังกำพวดเพื่อปลดปล่อยยาและดูดซึม
ในชั้นใต้ผิวหนังจนถึงชั้นเนื้อเยื่อใต้ผิวหนังชั้นที่ลึกลง
ไปได้

การกระจายขนาดอนุภาคของ PK-HApNIPAM
5% มีการกระจายตัวดีที่สุด (PDI เท่ากับ $0.22 \pm$
 0.027) รองลงมาคือ PK-HApNIPAM 15% (PDI
เท่ากับ 0.487 ± 0.007) และ ของ PK-HApNIPAM
10% (PDI เท่ากับ 1.00) ตามลำดับ โดยพื้นฐานแล้ว
ค่า PDI จะอยู่ในช่วงตั้งแต่ 0.0 (สำหรับนาโนเจลที่
สม่ำเสมออย่างสมบูรณ์แบบเมื่อเทียบกับขนาด
อนุภาค) ถึง 1.0 (สำหรับนาโนเจลที่มีการกระจายตัว
สูงซึ่งมีหลายขนาดอนุภาค) ในทางการนำไปใช้ควรมี



รูปที่ 1. ขนาดอนุภาคและการกระจายขนาดของอนุภาค (ค่า PDI)

ค่า PDI ที่น้อยกว่า 0.5 เนื่องจากเป็นค่า PDI ที่เป็นตัวบ่งชี้การรวมตัวของอนุภาค หากมีค่ามากกว่านาโนเจลจะแสดงอยู่ในระบบ polydisperse ซึ่งมีลักษณะเป็นค่าเข้าใกล้ 0 นาโนเจลจะแสดงอยู่ในระบบ monodisperse ระบบที่มีลักษณะเป็นอนุภาคขนาดสม่ำเสมอในระยะการจัดกระจายของระบบกระจายตัว (Danaei et al., 2018)

จากผลการทดลองนี้พบว่านาโนเจลบรรจุสารสกัดพลูควาที่มีขนาดอนุภาคและการกระจายอนุภาคที่เหมาะสมสำหรับการนำไปใช้คือ PK-HApNIPAM 15% ที่มีขนาดอนุภาคที่สามารถซึมผ่านผิวหนังได้และการกระจายขนาดอนุภาคต่ำกว่า 0.5

การกักเก็บสารสกัดและการบรรจุสารสกัด

จากการศึกษาหาความสามารถในการกักเก็บสารสกัดพืช (%EE) และประสิทธิภาพการบรรจุสารสกัด (%DLE) ของนาโนเจลบรรจุปริมาณสารสกัดที่แตกต่างกัน สามารถสรุปผลได้ดังรูปที่ 2 ซึ่งพบว่า PK-HApNIPAM 10% มี %EE และ %DLE มากที่สุด รองลงมาคือ PK-pNIPAM 15% และ PK-HApNIPAM 5% ตามลำดับ จากผลการทดลองจะสังเกตได้ว่าร้อยละสารสกัดที่อยู่ในโพลีเมอร์ของนาโนเจลมีร้อยละที่น้อยมาก ผู้วิจัยคาดว่า เกิดจากปริมาณสารสกัดพลูควาที่นำไปบรรจุมีมากเกินไป ประกอบกับสารสกัดพลูความีความข้นหนืดเป็นสารหนัก

เมื่อนำไปปั่นเหวี่ยงสารสกัดพลูควาจึงตกตะกอนมาก ทำให้ % EE และ % DLE มีค่าร้อยละที่น้อย และอีกสาเหตุคาดว่าเกิดจากร้อยละปริมาณโพลีเมอร์ HApNIPAM ใน PBS ที่น้อยเกินไป หรือเกิดจากความคง

ตัวของนาโนเจลที่เปลี่ยนแปลงไป เนื่องจากนาโนเจลถูกกักเก็บไว้เป็นเวลา 27 วันก่อนการทดสอบ จากตารางที่ 1 แสดงให้เห็นว่าส่วนมากปริมาณสารสกัดพลูควาของ PK-HApNIPAM 15% และ PK-

PK-HApNIPAM	%DLE	%EE	ปริมาณสารสกัดก่อนปั่นเหวี่ยง ($\mu\text{g/ml}$)	ปริมาณสารสกัดหลังปั่นเหวี่ยง ($\mu\text{g/ml}$)
5%	0.1	0	89.84	0.4
10%	20.3	0.1	195.24	101.7
15%	19.9	0.07	393.18	99.4

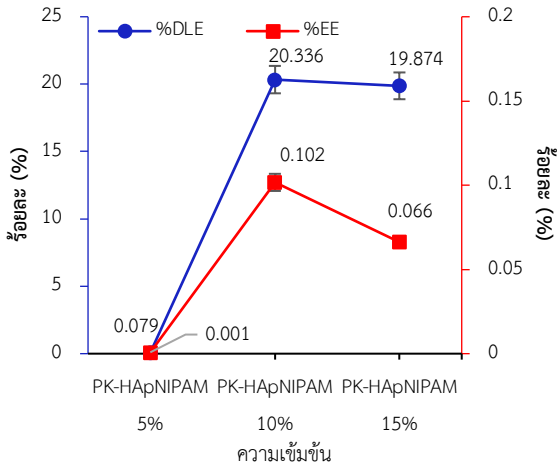
ตารางที่ 1. ร้อยละการกักเก็บสารสกัดพืช, ประสิทธิภาพการบรรจุสารสกัดและปริมาณสารสกัด

HApNIPAM 5% จะอยู่ในบริเวณของส่วนเอทานอลมากกว่าอยู่ในโพลีเมอร์ของนาโนเจล

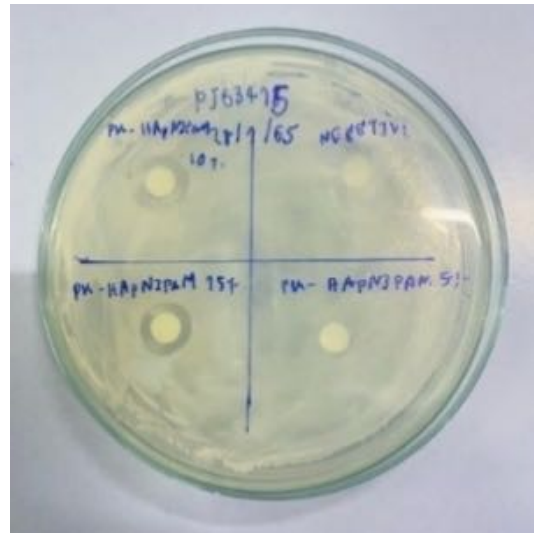
จากผลการทดลองนี้พบว่านาโนเจลบรรจุสารสกัดพลูควาที่มีความสามารถในการกักเก็บสารสกัดและประสิทธิภาพการบรรจุสารสกัดที่เหมาะสมสำหรับนำไปใช้คือ PK-HApNIPAM 10% และ PK-HApNIPAM 15% ที่มีร้อยละการบรรจุสารสกัดและประสิทธิภาพการบรรจุสารสกัดที่มากที่สุด ควรมีการศึกษาทำวิจัยเพิ่มเติมสำหรับระยะเวลาในการกักเก็บสารต่อความสามารถในการกักเก็บสารสกัดพืช (%EE) และประสิทธิภาพการบรรจุสารสกัด (%DLE) ที่เปลี่ยนแปลงไปเพื่อที่จะสามารถเพิ่มประสิทธิภาพในการบรรจุของนาโนเจลเพิ่มมากขึ้นด้วย

ระดับการซึมผ่านเข้าไปในผิวหนังของสารสกัด

จากการศึกษาหาระดับสารสกัดที่สามารถซึมผ่านเข้าไปในผิวหนังด้วย Franz Diffusion Cell ของสารสกัดพลูควา 15 % และนาโนเจลในปริมาณสารสกัดที่แตกต่างกัน 3 ความเข้มข้น สามารถสรุปผลได้ดังรูปที่ 3 ซึ่งพบว่า PK-HApNIPAM 15% มีร้อยละการซึมผ่านมากที่สุด รองลงมาคือ PK-HApNIPAM 10% และ PK-HApNIPAM 5% ตามลำดับ แต่ความแตกต่างระหว่างการซึมผ่านของนาโนเจลบรรจุสารสกัดจากพลูความีร้อยละที่น้อยมากและนาโนเจลบรรจุสารสกัดจากพลูควา 5% ก็มีร้อยละการซึมผ่านที่มากอยู่แล้ว เราจึงมีเหตุผลที่ไม่จำเป็นต้องใช้นาโนเจลบรรจุสารสกัดพลูควาถึง 15% แสดงว่าเมื่อสารสกัดพลูควาได้รับการปรับปรุงการดูดซึมสารผ่านผิวหนังด้วยระบบนำส่ง



รูปที่ 2. ร้อยละความสามารถในการกักเก็บสารสกัดพืช (%EE) และประสิทธิภาพการบรรจุสารสกัด (%DLE)



นาโนเจล PK-HApNIPAM: a = 5%, b = 10%, c = 15%, d = 0%

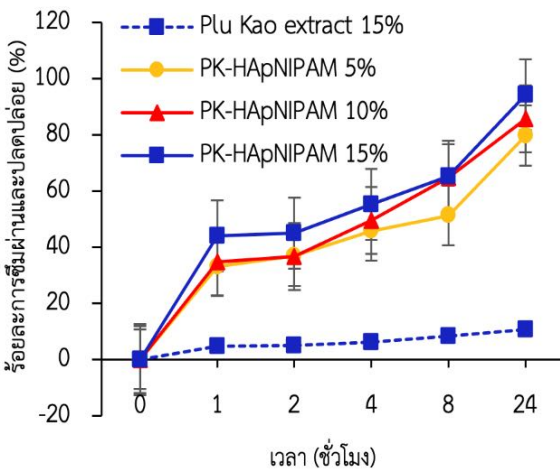
รูปที่ 4. การยับยั้งแบคทีเรีย S. aureus

สกัดพลูควา 15 % และนาโนเจลในปริมาณสารสกัดที่แตกต่างกัน 3 ความเข้มข้น สามารถสรุปผลได้ดังรูปที่ 4 และตารางที่ 2 พบว่านาโนเจลบรรจุสารสกัดพลูควา PK-HApNIPAM 10% มีความสามารถในการยับยั้ง โดยมีเส้นผ่านศูนย์กลางการยับยั้ง มากที่สุด และรองลงมาคือ PK-HApNIPAM 10 % ในส่วนของนาโนเจล PK-HApNIPAM 5 % พบว่าไม่มีความสามารถในการยับยั้งแบคทีเรีย S. aureus ซึ่งสอดคล้องกับการศึกษาหาร้อยละความสามารถในการกักเก็บสารสกัดพืช (% EE) และประสิทธิภาพการบรรจุสารสกัด (% DLE) ที่พบว่าปริมาณการบรรจุสารสกัดของ PK-HApNIPAM 10 % และ 15 % มีค่ามากกว่า 5 % บรรจุได้น้อยดังรูปที่ 2

จากผลการทดลองพบว่านาโนเจลบรรจุสารสกัดพลูควาที่มีความสามารถในการยับยั้งแบคทีเรีย S. aureus ได้มากที่สุดคือ PK-HApNIPAM 10% ซึ่งมีความสามารถในการยับยั้งแบคทีเรียได้ ซึ่งเหมาะสมสำหรับการนำไปพัฒนาเป็นยาทางชีวภาพ

4. สรุปผลการทดลอง

จากผลการทดลองดังกล่าวทั้งหมดทำให้ทราบว่าระบบนำส่งสารในรูปแบบนาโนเจลบรรจุสารสกัดพลูความีความสามารถในการปรับปรุงเรื่องการดูดซึมสารผ่านผิวหนังได้เพิ่มมากขึ้นโดยมีขนาดอนุภาคที่เล็กในระดับนาโนเมตร และยังมีสามารถในการกักเก็บสารสกัดพลูควาที่ได้ และที่สำคัญนาโนเจลบรรจุสารสกัดพลูควานี้มีฤทธิ์ทางชีวภาพในการยับยั้งแบคทีเรีย Staphylococcus aureus อีกด้วย แสดงให้เห็นว่านาโนเจลบรรจุสารสกัดพลูความีประสิทธิภาพ



รูปที่ 3. ร้อยละระดับสารสกัดที่สามารถซึมผ่านเข้าไปในผิวหนังต่อเวลา

สารในรูปแบบนาโนเจลจะทำให้สารสกัดพลูควาสามารถซึมผ่านผิวหนังได้เพิ่มมากขึ้น ซึ่งสอดคล้องกับรายงานวิจัยของ Luckanagul et al. (2021)

จากผลการทดลองนี้พบว่านาโนเจลบรรจุสารสกัดพลูควาที่มีประสิทธิภาพในการซึมผ่านผิวหนังที่ดีที่สุดคือ PK-HApNIPAM 15% แต่เนื่องจากความแตกต่างของร้อยละในการซึมผ่านผิวหนังมีค่าน้อย เราจึงสามารถใช้ทั้ง PK-HApNIPAM 10% และ PK-HApNIPAM 5% แทนได้เช่นกัน

การยับยั้งแบคทีเรีย S. aureus ของสารสกัด

จากการศึกษาประสิทธิภาพในการยับยั้งแบคทีเรีย S. aureus จากการวัดขนาดเส้นผ่านศูนย์กลางบริเวณยับยั้ง (inhibition zone) ของสาร

และฤทธิ์ทางชีวภาพที่จะสามารถนำไปพัฒนาเป็นยาทางชีวภาพในการรักษาภาวะเนื้อเยื่อใต้ผิวหนังอักเสบ

PK-HApNIPAM	ขนาดเส้นผ่านศูนย์กลางบริเวณยับยั้ง (มิลลิเมตร)			
	1	2	3	เฉลี่ย
0%	NA	NA	NA	NA
5%	NA	NA	NA	NA
10%	12.5	13.0	12.0	12.5 ± 0.4
15%	11.0	10.5	11.0	10.8 ± 0.2

หมายเหตุ NA หมายถึง ไม่สามารถยับยั้งได้

ตารางที่ 2. ขนาดเส้นผ่านศูนย์กลางบริเวณยับยั้งแบคทีเรีย ของสารสกัดพลูควาและนาโนเจลบรรจุสารสกัดพลูควาในปริมาณที่แตกต่างกัน

ได้ อีกทั้งยังเป็นยาตัวเลือกในการรักษาทางการแพทย์ได้ต่อไปในอนาคต

5. เอกสารอ้างอิง

กลุ่มภารกิจด้านวิเคราะห์และประมวลข่าวสาร สำนักสารนิเทศ. (2563). พลูควา-ควาตอง ผักพื้นบ้านต้านไวรัส. สืบค้น 11 มิถุนายน 2564, จาก <https://pr.moph.go.th/print.php?url=pr/ไทยรัฐ>. (2563). "ไฮยาลูโรนิก" ความลับแห่งความงาม. สืบค้น 11 มิถุนายน 2564, จาก <https://www.thairath.co.th/women/beauty/health/1894288>

ธินิดา อินตา, อาริสสา แซ่ลี, ภรภัทร สำอางค์, มนตรา ศรีชะแย้ม, วราภรณ์ ภาลี และอรุณลักษณ์ โชติ นาครินทร์. (2562). การยับยั้งเชื้อ Staphylococcus aureus และ ฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระของสารสกัดหยาดจากหงอนไก่ฝรั่ง. พิษณุโลก: คณะวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยี มหาวิทยาลัยราชภัฏพิบูลสงคราม.

พบแพทย์. (2561). Cellulitis (เซลล์เนื้อเยื่ออักเสบ). สืบค้น 4 มิถุนายน 2564, จาก <https://www.pobpad.com/cellulitis-เซลล์เนื้อเยื่ออักเสบ>

ศุภางค์ คนดี (2560). ขนาดอนุภาคนั้นสำคัญไฉน. พะเยา: คณะเภสัชศาสตร์ มหาวิทยาลัยพะเยา.

Danaei, M., Dehghankhold, M., Ataei, S., Davarani, F. H., Javanmard, R., Dokhani, A., Khorasani S. and Mozafari, M. R. (2018). Impact of Particle Size and Polydispersity Index on the Clinical Applications of Lipidic Nanocarrier Systems. *Pharmaceutics* 10 (2). DOI: 10.3390/pharmaceutics10020057

Kasa, P., Farran, B., Raju, G. S. (2019) Are Nanocarriers Effective for the Diagnosis and Treatment of Pancreatic Cancer? In G. P. Nagaraju (Ed.), *Cancer Sensitizing Agents for Chemotherapy* (pp. 159 – 174, Ch. 10). Academic Press. DOI.org/10.1016/B978-0-12-817661-0.00010-X

กิตติกรรมประกาศ

ขอขอบคุณ อาจารย์พรพรรณ โฉมวงษ์ และอาจารย์วรางคณา ฐักดิ์ดี อาจารย์ที่ปรึกษา ดร. สมร ปาโท ผู้อำนวยการโรงเรียนวิทยาศาสตร์จุฬาราชวิทยาลัย ปทุมธานี ผศ.ภญ.ดร.จิตติมา ลัคนากุล คณาจารย์ภาควิชาวิทยาการเภสัชกรรมและเภสัชอุตสาหกรรม คณะเภสัชศาสตร์ จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย รวมถึงพี่ๆนักศึกษา ภาควิชาวิทยาการเภสัชกรรมและเภสัชอุตสาหกรรม คณะเภสัชศาสตร์ จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

ขอขอบคุณ บริษัท แนบโซลูท จำกัด ที่ให้ความอนุเคราะห์นาโนเจลไฮยาลูโรนิกกราฟเฟลต และโครงการประกวดนักวิทยาศาสตร์รุ่นเยาว์ ประจำปี 2565 (Young Scientist Competition 2022) ที่มอบทุนสนับสนุนในการทำโครงงานครั้งนี้

Screening for Aerobic Fibrolytic Microorganisms to Produce Glucose from Waste Paper

Prabhawan Pakhin and Chonthicha Permrunguang
Chulapornaraj Wittaya Science School, Lopburi
216 Moo 1, Huai Pong, Khok Samrong, Lopburi
Email: *Prapajava@gmail.com*

Abstract

Waste paper, which is produced in large quantities, contains a high percentage of cellulose, which can be converted to glucose by enzymes produced by aerobic fibrolytic microorganisms. Samples from five natural sources: river water, pond water, clay, and dried and fresh cow dung were screened for the presence of these microorganisms. The samples were incubated with filter paper. It was found that the paper is digested by microorganisms in dried and fresh cow dung only. The conversion of cellulose to glucose over time was confirmed by testing with Benedict's reagent, confirming that the cow dung contains aerobic fibrolytic microorganisms.

Keywords: Aerobic fibrolytic microorganisms, cellulose, cow dung, waste paper.

1. INTRODUCTION

Cellulose is a linear polymer of glucose molecules that is an important structural component in the cell walls of plants. It is classed as a dietary fibre, insoluble in water and resistant to the enzymes found in the digestive systems of humans and animals. For this reason cellulose is used to make paper and various types of apparel. Paper and cardboard contain a high percentage of cellulose and is a major component of landfills. If a way can be found to cheaply digest the cellulose currently being deposited in landfills to glucose, (figure 1) it could partly replace sugar cane as a source of raw material to make ethanol.

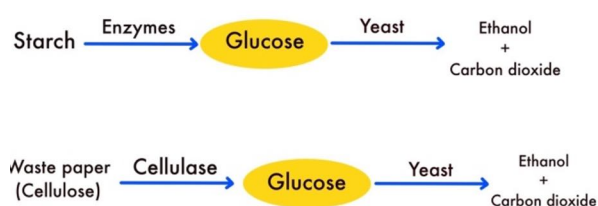


Figure 1: Ethanol production process using glucose as a product of cellulose digestion by cellulase

Aerobic fibrolytic microorganisms produce cellulase, the enzyme that digests cellulose fibers to obtain glucose. A number of organisms, including species of fungi, bacteria, (actinomycetes), and paenibacillus species, have been found to produce

enzymes that are active in digesting cellulose and hemicellulose (Islam, 2018).

A medium containing one or more of these organisms can be cultured in the laboratory to digest cellulose in the form of filterpaper. Samples from five natural sources are screened for the presence of aerobic fibrolytic microorganisms, which can be cultured for use in converting waste paper into glucose.

2. METHODS

Culturing microorganisms

Samples of 40 ml from five sources that possibly contain microorganisms: river water, pond water, clay, dry cow dung and fresh cow dung were each combined with ten ml of distilled water and put in five sterilised beakers, each with a 0.085 g strip of filter paper. Filter paper was chosen as the test material because it has a cellulose content close to 100%. The five cultures were incubated at 39°C until the paper was found to be digested in some of the beakers. The presence of glucose in the beakers after incubation was tested for with Benedict's reagent.

Following this, new samples of dry and fresh cow dung suspensions were sterilised by boiling. The filter paper from the cow dung in the first

experiment was added to sterilised beakers along with new filter paper and the mixtures were incubated for 18 hours at 39 °C. The final condition of the new filter paper was observed and the solutions were again tested for any increase in the concentration of glucose with Benedict’s reagent. This procedure was repeated three times.

The procedure was repeated with sterile shredded paper replacing the new filter paper strips. The condition of the waste paper and any increase in glucose concentration was observed in the same way after incubation.

3. RESULTS AND DISCUSSION

Figure 2 shows the results for the test for the ability of microorganisms in each of the samples to digest cellulose. The top row of images in figure 2 shows the sample solutions in the beakers after incubating with paper. The first three samples from the left do

not show any evidence of paper residue on the bottom, while in the beakers with dry and fresh cow dung samples there is a clear layer of residue left from the digestion of the filter paper.

The bottom row of images in figure 2 shows the pieces of filter paper after incubation. Again, the three on the left show no signs of degradation, while the paper that was in the dry and fresh cow dung shows clear signs of degradation, with the left end of the paper partially disintegrated. The microorganisms present in river water, pond water, and clay did not digest the paper, while those present in both dry and fresh cow dung clearly were able to digest the cellulose in the paper, resulting in disintegration of the paper and residue on the bottom of the beaker.

When the solutions were tested for the presence of glucose (figure 3) it was found that pre incubation testing of both fresh and dried cow dung gave a weak positive result (light green color), indicating a

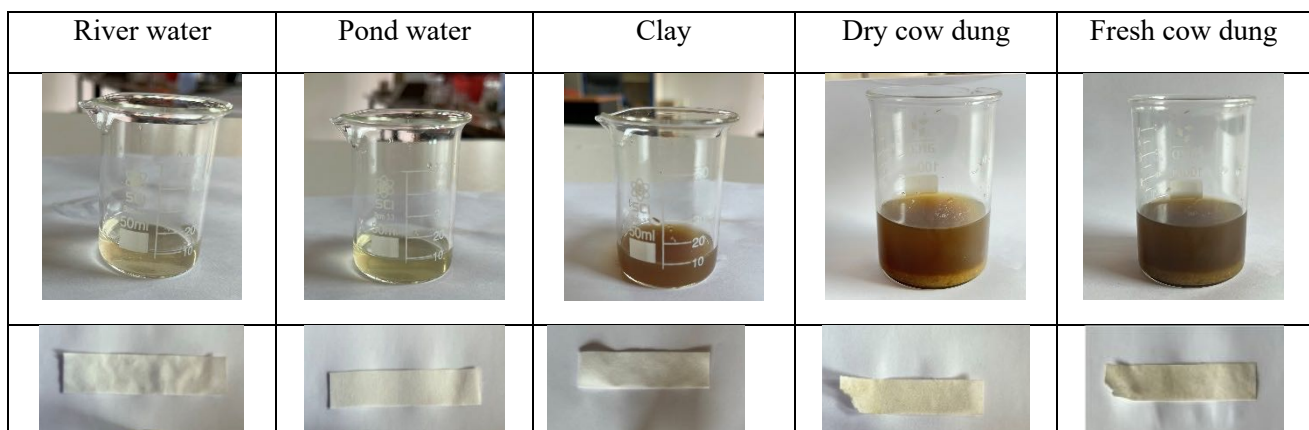


Figure 2. Digestion of cellulose filter paper by samples from natural sources media. The top row of pictures shows the digested residue from the shredded waste paper added to the beakers of dry and fresh cow dung. The bottom row of pictures shows the pieces of filter paper after incubation, with only the paper left in the dry and fresh cow dung showing evidence of being partially digested on the left end.







	River Water	Pond Water	Clay	Dry Cow Dung	Fresh Cow Dung
Pre incubation	No colour change	No colour change	No colour change	Weak positive 	Weak positive 
Following incubation	No colour change	No colour change	No colour change	Strong positive 	Strong positive 
Following incubation with cellulose residue in boiled cow dung	_____			Strong positive 	Strong positive 

Figure 3. Results of testing with Benedict’s solution. Only the dung showed the presence of glucose, with the increasing level of glucose after incubation being evidence for the conversion of cellulose to glucose.

low concentration of glucose. This is expected, since some sucrose would be expected in dung, even after sterilization, left from the digestion process. The result of the Benedict's test after incubation, for both the unsterilized and the sterilized condition, (rows 2 and 3 of figure 3) showed a dark green color, indicating that the fibrolytic microorganisms present in the filter paper that had been in the manure continued to break down cellulose during incubation, resulting in higher concentrations of glucose. No glucose was found in the water or clay samples, as expected.

Here, we show that fibrolytic microorganisms derived from cow dung can be used to digest cellulose, converting it into glucose. Whether this mechanism can be scaled up to produce commercial quantities of glucose from waste paper will be the subject of further research.

4. CONCLUSION

It has been demonstrated that cellulose in the form of filter paper is converted to glucose by microorganisms when incubation in either dry or fresh cow dung suspensions, but is not digested in river water, pond water, or clay samples. This indicates the presence of microorganisms in the dung that produce cellulase. Upon further incubation of the microorganisms derived from the cow dung in suspensions of sterilized dry and fresh cow dung, the production of glucose was shown using Benedict's test. This demonstrates the potential for using the microorganisms found in cow dung in the production of glucose from waste paper, for use in the production of ethanol.

5. REFERENCES

- Bai, S., Kumar, M.R., Mukesh Kumar, D.J., Balashanmugam, P., Kumaran, M.D., Kalaichelvan, P.T. (2012). Cellulase production by *Bacillus subtilis* isolated from cow dung. *Archives of Applied Science Research*, 4 (1):269-279
- Islam, F., Roy, N. (2018). Screening, purification and characterization of cellulase from cellulase producing bacteria in molasses. *BMC Research Notes* 11, 445. DOI: 10.1186/s13104-018-3558-4.
- Madhu. (2019). *Difference Between Cellobiose and Cellulose*, Retrieved from <https://www.differencebetween.com>
- Siangkasem, Oraphan. (2022). The Selection and Study of the characteristics of fiber-digesting bacteria from the rumen lining of the water buffalo. Special Issue Report, Kasetsart University
- Wongkoon, T., Boonlue, S., and Ritdej, N. (2013). Selection of cellulose-digesting microbes for stimulating the germination of rice seeds (*Oryza sativa* L.) and sweet corn (*Zeamays* L. var. *sacchata*). *Journal of Science*, Khon Kaen University, 41(4) 954-966.

Acknowledgements

We would like to thank Mr. Arathai Laomson, Chulapornaraj College of Science, Lopburi, Mr. Oraphan Sangkasem, Chulalongkorn Biotechnology University, Assoc. Prof. Dr. Suriya Savanon Ph.D., Microbiology Laboratory, Animal Sciences, Faculty of Agriculture, Kamphaengsaen, Kasetsart University, and Professor Yasuo Kobayashi, Department of Animal Sciences Faculty of Agriculture, Hokkaido University, for their assistance and consultations.

We would also like to thank the Laboratory of Animal Microbiology, Department of Agriculture, Kamphaeng Saen, for providing information and thank you to Thitithawat Emsathit, deputy director of the administrative group of Chulapornaraj College of Science, Lopburi.

การคัดกรองจุลินทรีย์แอโรบิกไฟโบรไลติกเพื่อใช้ผลิตกลูโคส จากขยะประเภทกระดาษ

ประภาวรรณ ผลอินทร์ และ ชลธิชา เพิ่มรุ่งเรือง
โรงเรียนวิทยาศาสตร์จุฬาราชวิทยาลัย ลพบุรี
216 หมู่ 1 ตำบลห้วยโป่ง อำเภอโคกสำโรง จังหวัดลพบุรี 15120
อีเมลล์: Prapajava@gmail.com

บทคัดย่อ

ปัจจุบันมีขยะประเภทกระดาษจำนวนมาก โดยกระดาษมีเซลลูโลสซึ่งเป็นพอลิแซ็กคาไรด์ที่มีกลูโคสเป็นองค์ประกอบดังนั้นจึงสามารถใช้ กระดาษเป็นวัตถุดิบสำหรับการผลิตกลูโคสได้ จุลินทรีย์แอโรบิกไฟโบรไลติกสามารถผลิตเอนไซม์เซลลูเลสสำหรับการย่อยเซลลูโลสเป็นน้ำตาลกลูโคส โครงการนี้ได้เก็บตัวอย่างจากธรรมชาติห้าแห่ง ได้แก่ น้ำในแม่น้ำ น้ำในนา ดินโคลนในสวน มูลวัวแห้งและมูลวัวสด และบ่มเพาะเชื้อ ด้วยกระดาษกรองเซลลูโลส ผลปรากฏว่ากระดาษกรองในสารละลายมูลวัวแห้งและมูลวัวสดถูกย่อย สรุปลงได้ว่าในมูลวัวแห้งและมูลวัวสดมีจุลินทรีย์ในกลุ่มแอโรบิกไฟโบรไลติก ต่อมานำกระดาษกรองที่ย่อยแล้วไปใส่ในสารละลายมูลวัวแห้งและมูลวัวสดซึ่งผ่านการต้มแล้ว และใส่กระดาษกรองและเศษกระดาษแล้วนำมาบ่ม ผลปรากฏว่าเศษกระดาษก็ถูกย่อยเช่นกัน และเมื่อทดสอบกลูโคสโดยใช้สารละลายเบนเนดิกต์แสดงให้เห็นว่ามีน้ำตาลกลูโคสเกิดขึ้น

คำสำคัญ จุลินทรีย์แอโรบิกไฟโบรไลติก เซลลูโลส มูลวัว ขยะประเภทกระดาษ

1. บทนำ

เซลลูโลส (cellulose) เป็นสารประกอบโพลีแซ็กคาไรด์ (polysaccharides) ประกอบด้วยกลูโคส น้ำตาลโมเลกุลเดี่ยว (monosaccharide) จำนวนหลายโมเลกุลมาเชื่อมต่อกัน จึงสามารถใช้เป็นวัตถุดิบสำหรับการผลิตกลูโคส เซลลูโลส เป็นส่วนประกอบของผนังเซลล์พืช (cell wall) ช่วยให้พืชตั้งตรงและแข็งแรง เซลลูโลสจัดเป็นเส้นใยอาหาร (dietary fiber) ซึ่งมีคุณสมบัติไม่ละลายน้ำ และมีความทนทานต่อปฏิกิริยาของเอนไซม์ในระบบทางเดินอาหารของมนุษย์และสัตว์กระเพาะเดี่ยวสามารถนำมาทำเครื่องนุ่งห่ม และกระดาษประเภทต่างๆ

ปริมาณการผลิตเอทานอล คาดว่ามีแนวโน้มสูงขึ้น เนื่องจากปริมาณการใช้สอยที่เพิ่มขึ้น ซึ่งวัตถุดิบในการผลิตเอทานอลมีมูลค่าที่เพิ่มสูงขึ้น ทำให้โอกาสในการได้รับเอทานอลในราคาที่ต่ำมีโอกาสน้อยลง ซึ่งปัจจุบันมีขยะประเภทกระดาษเหลือทิ้งหลังจากการใช้งานเป็นจำนวนมาก ขยะประเภท

กระดาษมีเซลลูโลสที่สามารถนำมาใช้เป็นวัตถุดิบในการผลิตกลูโคส

จุลินทรีย์ ประเภท แอโรบิกไฟโบรไลติก (aerobic fibrolytic microorganisms) หรือจุลินทรีย์ย่อยเยื่อใย สามารถผลิตเอนไซม์เซลลูเลส (cellulase) เพื่อย่อยเซลลูโลส (รูป 1) และได้น้ำตาลกลูโคส สายพันธุ์ของเซลลูเลส จำแนกได้ดังนี้ Paenibacillus sp., Bacillus sp. และ Aeromonas sp. ซึ่งพบว่าสายพันธุ์ Paenibacillus sp. มีศักยภาพสูงใน



รูปที่ 1. กระบวนการผลิตเอทานอลโดยใช้กลูโคสที่เป็นผลิตภัณฑ์จากการย่อยเศษกระดาษ(เซลลูโลส)โดยเซลลูเลส

การผลิตเซลล์สูงที่สุด (Islam, 2018) ซึ่งในธรรมชาติ มีจุลินทรีย์ประเภทแอโรบิกไฟโบรไลติกหลายชนิด เช่น เชื้อราแบคทีเรียแอคติโนมัยซีต (actinomycetes) (อรพรรณ, 2012)

ทิพย์นภา และ คณะ (2013) พบแบคทีเรีย 26 ไอโซเลต แอคติโนมัยซีต 4 ไอโซเลตและเชื้อรา (fungus) 1 ไอโซเลต จากการคัดแยกจุลินทรีย์เซลล์โลไลติก (cellulolytic) แบคทีเรียผลิตเอนไซม์เซลลูเลส เพื่อกระตุ้นการงอกของเมล็ดพืชจากฟิลเลอร์เค้กและน้ำกากส่าจากโรงกลั่นเหล้า Saraswati และคณะ (2012) ได้แสดงให้เห็นว่า เซลลูเลสจากมูลวัวมีคุณภาพดีกว่า เมื่อเทียบกับเซลลูเลสจากแหล่งอื่น ๆ

งานวิจัยนี้ได้ศึกษาเปรียบเทียบสารละลายจากตัวอย่างจากธรรมชาติ เพื่อศึกษาสารละลายที่มีเอนไซม์เซลลูเลสซึ่งมีประสิทธิภาพในการย่อยได้ดีที่สุด และนำไปใช้ในการย่อย ขยะกระดาษหรือขยะที่มีเยื่อใยเซลลูโลส เพื่อให้ได้กลูโคส และนำไปผลิตเอทานอล โดยจุดมุ่งหมายของงานวิจัยนี้คือการลดต้นทุนการผลิตเอทานอลและเพิ่มทางเลือกในการผลิตให้มากขึ้นนั่นเอง

2. วิธีการทดลอง

การบ่มเชื้อจุลินทรีย์

นำอุปกรณ์ที่ต้องการใช้งานมาฆ่าเชื้อ และเตรียมกระดาษกรองเซลลูโลส 100% ทำการบ่มเชื้อจุลินทรีย์ จากตัวอย่างจากแหล่งธรรมชาติ ห้าแหล่ง ได้แก่ น้ำในแม่น้ำ น้ำในนา ดินโคลนจากสวนมูลวัวสด และ มูลวัวแห้ง ในปริมาณ 40 mL โดยเจือจางด้วยน้ำต้มฆ่าเชื้อ 10 mL ใส่ลงในขวด พร้อมกระดาษกรองเซลลูโลส 100% หนัก 0.085 กรัม (3

ซ้ำ) จากนั้นบ่มเชื้อ จนกว่าจะพบว่ากระดาษกรองถูกย่อย โดยสังเกตการเปื่อยย่อยของกระดาษ และชุดทดลองควบคุม (Negative control) โดยนำตัวอย่างไปต้มฆ่าเชื้อและบ่มเชื้อที่อุณหภูมิ 39 องศาเซลเซียส

การเพิ่มปริมาณเชื้อจุลินทรีย์แอโรบิกไฟโบรไลติก











นำกระดาษกรองที่ถูกย่อยแล้ว ในแต่ละขวดใส่ในสารละลายมูลวัวแห้ง และมูลวัวสดที่ผ่านการฆ่าเชื้อโดยการต้มแล้ว แทนอาหารเลี้ยงเชื้อ แล้วใส่กระดาษกรองเซลลูโลส 100% ลงไปและบ่มเชื้อเป็นเวลา 18 ชั่วโมง (3 ซ้ำ) สังเกตการย่อยสลายของกระดาษ โดยดูจากการย่อย และเกิดการตะกอนของกระดาษในขวด

การเพาะเลี้ยงเชื้อด้วยเศษกระดาษ







เลี้ยงจุลินทรีย์แอโรบิกไฟโบรไลติก ที่เกิดจากการย่อยสลายของกระดาษเซลลูโลส โดยสารละลายมูลวัวแห้ง ด้วยการนำเศษกระดาษที่ผ่านการฆ่าเชื้อแล้วใส่ลงในขวด แล้วบ่มอีกครั้ง สังเกตการย่อยของกระดาษ จากนั้นนำสารละลาย ที่ได้จากการเลี้ยงเชื้อจุลินทรีย์มาตรวจสอบหากกลูโคสโดยการทดสอบเบเนดิกต์

3. ผลการทดลองและอภิปรายผลการทดลอง

รูปที่ 2 แสดงผลจากการบ่มเชื้อจากห้าตัวอย่างจากแหล่งธรรมชาติที่ จากรูปถ่ายแถบบนแสดงให้เห็นว่าเกิดการตะกอนในขวดใส่มูลวัวแห้ง และ มูลวัวสด อย่างเดียว จากรูปถ่ายแถบล่างได้สังเกตการย่อยของกระดาษที่ใส่ในขวดใส่มูลวัวแห้งและมูลวัวสด ซึ่งสรุปได้ว่า ในสารละลายของน้ำในแม่น้ำ น้ำในนา และดิน

น้ำในแม่น้ำ	น้ำในนา	ดิน	มูลวัวแห้ง	มูลวัวเปียก
				
				

รูปที่ 2 การย่อยกระดาษกรองเซลลูโลสในสารละลายตัวอย่างจากธรรมชาติ

	น้ำในแม่น้ำ	น้ำในนา	ดิน	มูลวัวแห้ง	มูลวัวเปียก
ก่อนบ่ม	ไม่พบ	ไม่พบ	ไม่พบ	น้อย 	น้อย 
หลังบ่ม	ไม่พบ	ไม่พบ	ไม่พบ	มาก 	มาก 
หลังการเพาะเลี้ยงเชื้อ	ไม่ได้ทำการเพาะเลี้ยงเชื้อ			มาก 	มาก 

รูปที่ 3 ผลการทดสอบกลูโคสด้วยเบนดิคซ์

โคลนในสวน กระจาดทรงเซลล์โลสไม่ถูกย่อย แต่ในสารละลายมูลวัวแห้ง และมูลวัวสด กระจาดทรงเซลล์โลสถูกย่อย สรุปได้ว่า ในตัวอย่างสารละลายมูลวัวแห้ง และสารละลายมูลวัวสด มีจุลินทรีย์แอโรบิกไฟโบรไลติก แต่ในตัวอย่างสารละลายที่ผ่านการต้มฆ่าเชื้อไม่ได้ถูกย่อย

ขั้นตอน ต่อมา ทำการเพาะเชื้อ ผลแสดงว่า กระจาดถูกย่อย ในขั้นตอน สุดท้ายทำการตรวจสอบน้ำตาลกลูโคส ด้วยการทดสอบด้วยเบนดิคซ์ทุกสภาวะการย่อยของกระจาด (รูปที่ 3) พบว่าเมื่อเปรียบเทียบกับผลการทดสอบด้วยเบนดิคซ์ของมูลวัวแห้ง และมูลวัวสดก่อนการบ่มเชื้อ และหลังการบ่มเชื้อ ได้ผลเป็นสีเขียวยที่มีลักษณะแตกต่างกัน ซึ่งในมูลวัวแห้ง และมูลวัวสดก่อนการบ่มเชื้อจะมีกลูโคสที่เกิดจากการย่อยอาหารของวัว ทำให้เมื่อนำมาทดสอบกับสารละลายเบนดิคซ์ จะพบว่าสีเขียวยอ่อนเกิดขึ้น หลังจากการบ่ม จุลินทรีย์ไฟโบรไลติกมีการเจริญเติบโต ทำให้เมื่อทดสอบเบนดิคซ์ ให้ผลเป็นบวกที่มีสีเขียวยเข้มขึ้น แต่ในสารละลายของน้ำในแม่น้ำ น้ำในนา และดินโคลนในสวน ให้ผล

เป็นลบ ทำให้ทราบว่าในสารละลายมูลวัวแห้ง และมูลวัวสดมีกลูโคสอยู่ในสารละลายผลจากการศึกษา พบว่าสามารถพบเชื้อจุลินทรีย์ แอโรบิกไฟโบรไลติกใน มูลวัวสด และมูลวัวแห้ง ซึ่งมีความสามารถในการผลิตเอนไซม์เซลล์เลส นำมาย่อยเซลล์โลสของกระจาดเหลือทิ้ง เป็นกลูโคส เพื่อเป็นวัตถุดิบในการผลิตเอทานอล

อย่างไรก็ตาม งานวิจัยนี้เป็นเพียงการคัดกรองจุลินทรีย์ประเภทแอโรบิกไฟโบรไลติก เท่านั้นซึ่งในอนาคต หากใช้เพื่อการผลิตกลูโคส เพื่อใช้ในอุตสาหกรรมขนาดใหญ่ จำเป็นต้องแยกและเลี้ยงเชื้อในปริมาณมากเฉพาะเอนไซม์สำหรับย่อยกลูโคสเท่านั้น

4. สรุปผลการทดลอง

จากการทดลอง กระจาดทรง เซลล์โลสในตัวอย่างทั้งห้า ได้แก่ น้ำในแม่น้ำ น้ำในนา ดินโคลนในสวน มูลวัวแห้ง และมูลวัวสด ได้ผลลัพธ์ดังนี้ น้ำในแม่น้ำและนา และสารละลายดินโคลนไม่เกิดการย่อยสลาย แสดงให้เห็นว่าตัวอย่างทั้งสามนี้ไม่มีจุลินทรีย์แอโรบิกไฟโบรไลติก แต่ในส่วนของ กระจาดทรงเซลล์โลส ในสารละลายมูลวัวแห้ง และมูลวัวสด นั้นถูกย่อยแสดงให้เห็นว่าทั้งสองอย่างนี้ มีจุลินทรีย์ แอโรบิกไฟโบรไลติก และเมื่อนำ กระจาดทรง ที่ถูกย่อยแล้วไปใส่สารละลาย มูลวัวแห้ง และมูลวัวสด ซึ่งผ่านการต้มฆ่าเชื้อผลปรากฏว่าเศษกระจาด ย่อยสลายและเมื่อนำผลลัพธ์ที่ได้ไปทดสอบหาน้ำตาลกลูโคสพบว่าผลการทดสอบเป็นบวก

จากผลการทดลอง แสดงให้เห็นว่าสารละลายจากมูลวัวสด และมูลวัวแห้ง สามารถนำมาใช้ย่อยขยะประเภทกระจาดที่เหลือทิ้งให้เป็นน้ำตาลกลูโคสเพื่อลดต้นทุนวัตถุดิบในการผลิตเอทานอล เพิ่มมูลค่าและลดปริมาณขยะประเภทกระจาด

5. เอกสารอ้างอิง

- ทิพย์นภา วงษ์คุณ, โสภณ บุญลือ และ นันทวัน ฤทธิเดช. (2013). การคัดแยกจุลินทรีย์ย่อยสลายเซลลูโลส เพื่อกระตุ้นการงอกของเมล็ดพันธุ์ข้าว (*Oryza sativa* L.) และข้าวโพดหวาน (*Zeamays* L. var. *sacchata*). วารสารวิทยาศาสตร์ มข. มหาวิทยาลัยขอนแก่น. 41(4) 954-966.
- อรพรรณ เสียงเกษม. (2022). การคัดแยกและศึกษาลักษณะบางประการของ แบคทีเรียย่อยเยื่อใยจากกระเพาะรูเมนของกระบือปลัก. รายงานปัญหาพิเศษ, มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์
- Bai, S., Kumar, M.R., Mukesh Kumar, D.J., Balashanmugam, P., Kumaran, M.D., Kalaichelvan, P.T. (2012). Cellulase production by *Bacillus subtilis* isolated from cow dung. Archives of Applied Science Research, 4 (1):269-279
- Islam, F., Roy, N. (2018). Screening, purification and characterization of cellulase from cellulase producing bacteria in molasses. BMC Research Notes 11, 445. DOI: 10.1186/s13104-018-3558-4.

Madhu. (2019). Difference Between Cellobiose and Cellulose, Retrieved from <https://www.differencebetween.com>

กิตติกรรมประกาศ

ขอขอบคุณ อาจารย์อรทัย ลำสัน โรงเรียนวิทยาศาสตร์จุฬาราชวิทยาลัย ลพบุรี คุณอรพรรณ เสียงเกษม เทคโนโลยีชีวภาพจุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย รศ. ดร.สุรียา สะวานนท์ ปริญญาเอก ศาสตราจารย์ห้องปฏิบัติการจุลชีววิทยา สาขาสัตวศาสตร์ คณะเกษตร กำแพงแสน , มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์ และ ดร. Yasuo Kobayashi ศาสตราจารย์ภาควิชาสัตวศาสตร์ คณะเกษตรมหาวิทยาลัยฮอกไกโด สำหรับการคำปรึกษาและความอนุเคราะห์จากห้องปฏิบัติการจุลชีววิทยา สัตวศาสตร์ภาควิชาเกษตรศาสตร์ กำแพงแสน ที่ได้ช่วยเหลือให้ข้อมูล และขอขอบคุณ รองอธิการบดี อเม สกิต รองผู้อำนวยการกลุ่มบริหารวิชาโรงเรียนวิทยาศาสตร์จุฬาราชวิทยาลัย ลพบุรี ที่ช่วยติดต่อประสานงาน

Factors Affecting the Frequency Produced by Resonating Bamboo Tubes

Thunchanok Watthapornsiri¹, Pimmada Sawangwong¹,
Yuika Sakaguchi², Yukino Watanabe²,
Minori Ishii², Kotaro Meguro³

1. Princess Chulabhorn Science High School Pathum Thani

2. Ritsumeikan Keisho Senior High School 3. Sapporo Minami High School

E-mail: ohmthun@gmail.com,

Abstract

Bamboo has been used to make flute-like instruments for millennium. While the formation of standing waves in rigid cylindrical tubes is well understood, bamboo tubes are typically neither completely rigid nor cylindrical, leading to the possibility that sound produced might diverge from theoretical predictions. The frequency of sound produced from bamboo tubes with one open end was therefore studied. Bamboo tubes of different length, radius, and hole position with respect to the tube mouth were prepared. The rim of each of the tubes was tapped with a metal rod and the resonant sound analysed. First, the effect of the length of the bamboo tube on the frequency produced was investigated for tubes ranging in length from 15 to 30 cm. The result showed that the longer the tube, the lower the frequency, matching the theory for a cylindrical tube. Next, the effect of the position at which a hole is drilled in the tube on the frequency was studied, with holes drilled at positions ranging from 5 to 25 cm away from the tube's mouth. The results showed that the further the hole was from the mouth, the higher the frequency. Lastly, the effect of the radius of the tube was observed and showed that the bigger the tube, the lower the frequency, and the higher the period, following the theoretical prediction.

Keywords: Bamboo tube, resonance, frequency, tube length

1. INTRODUCTION

Bamboo, scientifically known as Bambusoideae, is a subfamily of tall treelike grasses of the family Poaceae, comprising more than 115 genera and 1,400 species. Bamboos are distributed in tropical and subtropical to mild temperate regions, with the heaviest concentration and the largest number of species in East and Southeast Asia, for example, Japan and Thailand, and on islands of the Indian and Pacific Oceans. Bamboo wood is a light weight, flexible, tough, and high tensile. It is highly versatile raw material for different work such as building material, utensils and musical instruments (Britannica). Flute-like instruments have been made from bamboo since time immemorial. Many groups have their own instruments that are made from bamboo such as the Indian Bansuri and Venu, the Chinese Dizi, and the Filipino Kulintang (Sachs).

To understand the design and sound output of bamboo flutes, sound production in cylindrical tubes is important. The basic parameters that affect the frequency (f) and period (T) of the resonant standing waves produced in a cylindrical tube which is closed at one end are the length (L)

and radius (R) of the tube. The period of the standing wave which is formed in such a tube can

be modelled by the equation:

$$T = \frac{4(L+C)}{v} \quad (1)$$

where C is the end correction (Anderson, 1928). The length of the end correction is dependent on the radius of the tube, as:

$$C = 0.66R \quad (2)$$

as determined by Boelkes and Hoffmann (2011).

Figure 1 is a representation of the fundamental standing wave (red) formed in a cylindrical tube (black) with one open end, with the tube length (L), radius (R), and end correction (C) indicated. The closed end of the tube is a displacement node (pressure anti-node) while the

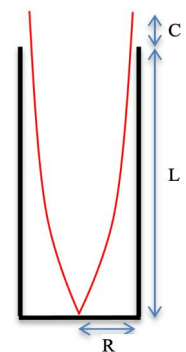


Figure 1. Standing wave in a tube.

displacement antinode (pressure node) is located a short distance beyond the open end of the tube.

While this is the theoretical model for a cylindrical tube, the bamboo tubes typically used to make flutes are not perfectly cylindrical, therefore might deviate from the theoretical model. Thus, the frequency of the resonant sound produced by the bamboo tubes as a function of tube length and radius were measured and compared to the idealized theoretical model, represented by PVC tubes.

Bamboo flutes typically have finger holes drilled at regular intervals along the tube. Having an open finger hole part way up the tube allows air to pass in and out at that point, which effectively makes that point a pressure node, a displacement antinode, and effectively makes that the end of the standing wave. Susan Wang (2009) showed that for a plastic recorder, the effective end correction at an open finger hole was not $0.66 R$, as it is for the end of a cylindrical tube, but was approximately three times greater, due to the smaller size of the finger holes. Here, holes were drilled in the bamboo tubes to test whether the end correction behaves similarly to Wang’s results for a plastic recorder.

2. METHODS

Four different lengths of bamboo tubes, $0.15, 0.20, 0.25,$ and 0.30 ± 0.01 m, measured from the external joint line seen between sections of the bamboo to the end of the tube were prepared. The radius of these tubes was kept fairly constant at 2.4 ± 0.2 cm. To test the effect of radius on sound frequency, four bamboo tubes of varying diameter were cut to a length of 0.15 ± 0.01 m. The inner

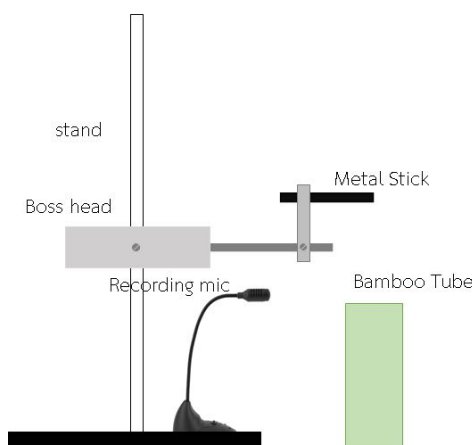


Figure 2. Experimental apparatus setup.

radius of the tubes ranged from 1.90 to 2.95 ± 0.05 cm. Finally, to determine the effect of the position of a hole drilled in the tube, five tubes of radius 2.4 ± 0.2 cm and length 0.30 ± 0.001 m had 8 mm diameter holes drilled at locations ranging from 0.050 to 0.250 ± 0.0002 m from the closed end of the tube. A set of tubes with dimensions in ranges similar to the bamboo tubes was made from PVC pipe.

Each of the tubes described above was suspended on a string, so it was free to resonate. The tube was then tapped with a metal rod on its open edge with a constant force. The resonant sound it made when tapped was recorded, then analysed with sound analysis software “Audacity” to determine the frequency. Three trials were recorded for each tube. The temperature was maintained at 26 ± 1 °C for all trials. A diagram of the experimental setup is shown in Figure 2.

3. RESULTS AND DISCUSSION

The period of the sound produced by both the bamboo and PVC tubes varied linearly with the length of the tube, as seen in Figure 3. The slopes of the linear fits for the bamboo and PVC were, 11.4 ± 0.35 ms/m and 11.2 ± 0.27 ms/m, respectively, which is equal to the value predicted by the theoretical model (Equation 1) of 11.7 ± 0.3 within uncertainties. The value for the bamboo tubes was lower than the PVC, but still just within uncertainty. This shows that the natural variations in the internal diameter of the bamboo tube over its length caused no significant deviation from the theoretically predicted behaviour of a cylindrical tube.

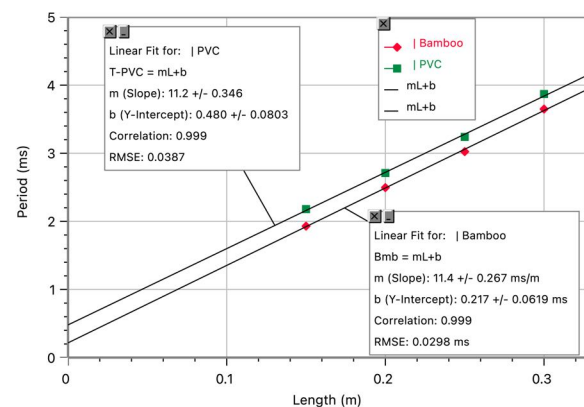


Figure 3. The length of the tubes and the period of the resonant sound produced.

The value for the y-intercept of the graphs, from Equations 1 and 2, depends on the radius of the tubes. The y-intercept of the bamboo and PVC fits both match the theoretical predicted value within uncertainties. It must be noted that the fact that the range of lengths tested, and the large distance that the fit was extrapolated, led to fairly large uncertainties, so not much weight should be placed on the agreement with theory here.

Looking at Figure 4, the period of the sound produced is linearly related to the radius of the four tubes of equal length, both for the bamboo and PVC pipes. However, the slope of the two fits is very different, and the quality of the fit for the bamboo tubes is very low, indicating the different radius bamboo tubes behaved very differently. From Equations 1 and 2, the slope of the fit can be used to calculate the proportionality constant in Equation 2 (0.66 ± 0.02 (Boelkes, 2011)).

The slope of the PVC fit gives a value of 0.68, which matches the model within uncertainties. The slope of the bamboo fit is much lower, and gives a constant of 1.8, which is almost double the accepted value. The largest radius bamboo tube produces a sound period similar to the matching PVC tube, but the narrower bamboo tubes increasingly deviate from the PVC results. It is possible that the internal structure of narrow bamboo tubes is different from larger radius tubes, and thus changes the behaviour of the resonating standing wave formed in the tube. This produces an end correction which is much longer than that predicted for a cylindrical tube of that radius. More research into standing wave formation in narrow bamboo tubes is needed to understand this result.

Since bamboo tubes are typically used to make flutes, the effect of the finger holes on the

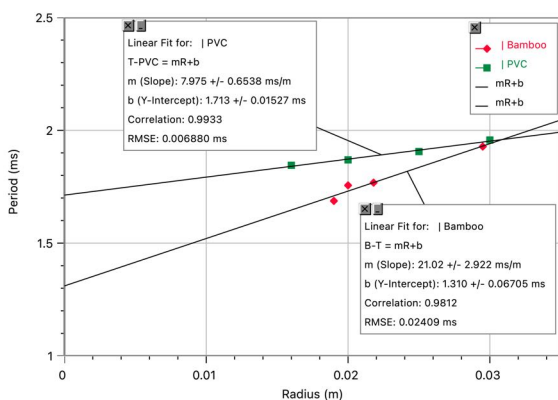


Figure 4. The radius of the tubes and the period of the resonant sound produced.

frequency of the sound produced was studied. Wang showed that, for a recorder, the finger holes effectively behaved as the displacement antinodes (pressure nodes) of the standing wave, albeit with significantly longer end corrections. Looking at Figure 5, it is clear that this is not how the tubes in this investigation behaved. Wang showed that the end correction was the same for each of the finger holes, and about three times longer than the end correction at the end of the recorder.

Here, as the hole moves closer to the base, the effective end correction of the standing wave increases dramatically. While the end correction for the 0.30 m hole position (just the 0.30 m long tube with no hole) is 0.035 m, which is in agreement with Equation 2, when the hole is drilled half way down the tube, at 0.15 m, the end correction is 0.14 m, meaning that the effective location of the displacement antinode is just 1 cm inside the end of the tube. When the hole is 0.05 m from the base, the effective location of the antinode has moved down only 4 cm, to 5 cm inside the end of the tube. Clearly, the holes are not acting as pressure nodes, as they did for Wang’s recorder. While more research is needed, it is likely that this is due to the relative sizes of the holes in the two cases. The finger holes in Wang’s recorder were approximately one third the diameter of the tube, but here, the finger holes were only one sixth the diameter of the tubes. Very small holes likely restrict air flow to the point where the holes do not act as pressure nodes, but only have a slight influence on the formation of the standing wave. More research is needed to determine how the relative size and location of a hole in a tube affects the formation of the standing wave.

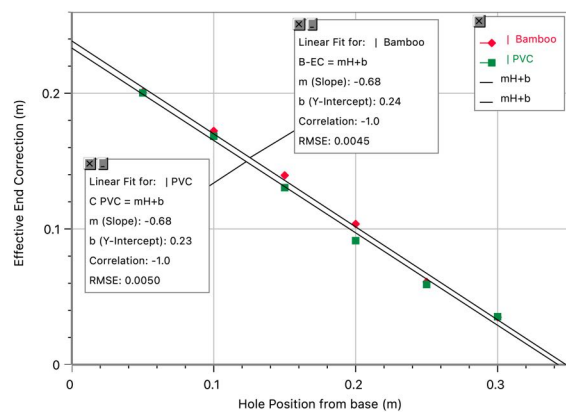


Figure 5. The distance of the drilled hole from the closed end of the tube and the period of the resonant sound produced. Note that the 0.30 m data shows the period for a tube with no hole.

4. CONCLUSION

Bamboo tubes, even though they are not perfectly regular cylinders with flat ends, have been shown to closely follow the theoretical model for the formation of resonant standing waves in cylindrical tubes. However, it was shown that holes drilled in the tube cause the standing wave behaviour to deviate significantly from the theoretical model. More research is needed to determine the effect of hole size on standing wave formation.

5. REFERENCES

- Anderson, S. H., and Floyd C. Ostensen. (1928) Effect of Frequency on the End Correction of Pipes. *Physical Review* 31 (2).
- Britannica, T. Editors of Encyclopaedia. bamboo. *Encyclopedia Britannica*. <https://www.britannica.com/plant/bamboo>.
- Boelkes, Taylor and Hoffmann, Ingrid. (2011). Pipe Diameter and End Correction of a Resonant Standing Wave. *International School Bangkok Journal of Physics* 5 (1).

Sachs, Kurt (1940). *The History of Musical Instruments*. New York: W. W. Norton & Company.

Wang, Susan, (2009). Wavelength and End Correction in a Recorder. *International School Bangkok Journal of Physics* 3 (1).

Acknowledgments

The authors would like to express our gratitude to our advisors Ms. Chutarat Chaingam, Mr. Narong Parapin, and Mr. Takayuki Fukuda for their guidance and support in completing our project. In addition, the authors would like to thank Princess Chulabhorn Science High School Pathum Thani and Ritsumeikan Keisho Senior High School for providing us with the budget the facilities required to complete this research.

Filtering Microplastics from Water with Lipids Extracted from Jackfruit Seeds

Puarisa Lathalo, Suphanwadee Maneesuphachat and Burapha Saenwan
Chulabhorn Science High School, Chiang Rai
345 Moo 2, Rob Wiang, Amphoe Mueang, Chiang Rai, 57000
Email: 04449_pawarisa@pcccr.ac.th

Abstract

This study explores a process that removes microplastics from water using lipids extracted from jackfruit seeds by fractional distillation. The lipids extract is applied to a sieve that is then used to filter a suspension of microplastics in water. Photographs of water samples taken with a microscope before and after filtering with and without the lipids extract showed that passing water through the lipid coated wire mesh removed 94.1 ± 0.5 % of the microplastic. Without lipids coating the sieve the rate of removal was 5.1 ± 0.2 %, showing that fatty coatings can greatly enhance the efficiency of microplastic capture in this setting.

Keywords: microplastics, lipids, Jackfruit seeds, fractional distillation

I. INTRODUCTION

Environmental protection is becoming a more pressing worldwide problem and developed countries are now aware of the need to control water quality and limit industrial waste. Various innovative methods are in development to reduce pollutants, including microplastics, which are now found in air, soil, water, and at every level in the food chain.

The highest density of environmental microplastics in the world has been identified in sediments in the Mediterranean Sea off the coast of Italy (Amos, 2020). Concerns that ocean currents that carry oxygen and nutrients to nourish deep sea creatures will become heavily contaminated with microplastics has stimulated research into their removal.

Treat-ment	Effluent type	Before (MP/L)	After (MP/L)	Removal (%)
DF1	Secondary	0.5±0.2	0.3±0.1	40.0
DF2	Secondary	2.0±1.3	0.03±0.01	98.5
RSF	Secondary	0.7±0.1	0.020±0.007	97.1
DAF	Secondary	2.00±0.07	0.10±0.04	95.0
BMR	Primary	5.9±1.0	0.005±0.004	99.9

DF1: disc filter with pore size 10 mm, **DF2:** disc filter with pore size 20 mm, **RSF:** rapid sand filters, **DAF:** dissolved air flotation and **MBR:** use of a membrane bioreactor.

Table 1. Microplastic capture efficiencies from Yeo and Julaihi (2021).

Biofilms of yeasts including marine species of *Candida* are found to adhere to plastics. These films have been studied as a way to remove microplastics that adhere to the film (Pananusorn and Muangsuntorn, 2021). Adding magnetic nanoparticles and oil to water containing microplastics is being investigated as another method of removing the particles from water (Table 1). (Yeo and Julaihi, 2021). Low surface tension oil acts as an adhesive between both types of particles, the aggregation can be removed with a magnet and the magnetic particles reused. Another possibility is the attachment of devices to boats to filter microplastics from the water.

Each of these methods separate microplastic particles from water but many have practical limitations. Biofilms are often toxic and magnetic nanoparticles may be harmful to living things.

The use of non-toxic fats extracted from plant material to trap microplastic particles avoids these limitations and is investigated here. Jackfruit (*Artocarpus heterophyllus*) is common in Thailand

Sample	Fat (%)
Jackfruit Pulp	1.49 ± 0.04
Jackfruit Seeds	4.29 ± 0.12
Jackfruit Leaves	0.73± 0.05

Table 2. Fat content of jackfruit parts (Amadi, 2018)

and has been selected as the source of organic fats. Table 2 shows that jackfruit seeds contain more fats than other parts of the plant. Lipids extracted from jackfruit seeds are non-polar and insoluble in water (Pollard, 2008) and might be able to be used as a coating to trap microplastic particles.

II. METHODS

Lipid extraction

Jackfruit seeds were cleaned and baked at 65°C for eight hours. The seeds were then ground to a powder that was soaked in 70 % Hexane for 48 hours. The hexane solution was filtered and lipids were extracted by fractional distillation at 90 - 100 °C. The crude extract was stored out of the sunlight at room temperature.

Suspending microplastic in water

Expanded polyethylene was shredded in a blender to chips with an average particle size of close to 25 µm. The blended microplastic was added to water at a concentration of 2 g/L and examined under a microscope. Measurements were made with the computer program ImageJ. Particles were counted down to a minimum size of 5 µm and mean size and total area were recorded.

Preparing a coated sieve

Five grams of lipid extract was applied to a sieve. Four hundred ml of microplastic suspension was poured through the sieve with and without the lipid coating. The procedure was repeated five times. Average particle sizes and percentages of plastic remaining after filtering were found with the microscope and ImageJ.

III. RESULTS AND DISCUSSION

Particle area under the microscope is a measure of the total plastic present per litre. Average particle size and total area after passing water through each type of sieve, with and without lipid coating, is shown in table 3. Microplastic in the pre-filtered water had a mean size of 25.4 ± 2.9 µm. That was not significantly reduced by filtering without the lipid coating (25.2 ± 3.6 µm) and the total plastic content per litre was reduced slightly from a relative area of 0.86 ± 0.02 to 0.81 ± 0.01 .

After filtering with a lipid coated sieve, the mean particle size was reduced by around 12%, from 25.4 ± 2.9 to 21.1 ± 1.0 µm, and the plastic content per

Testing Condition	Mean size (µm)	Area (Rel. units)
Before filtering	25.4 ± 2.9	0.86 ± 0.02
After filtering with an uncoated sieve	25.2 ± 3.6	0.81 ± 0.01
After filtering, with a lipid coated sieve	21.1 ± 1.0	0.051 ± 0.004

Table 3. Mean size and relative area before and after filtering.

litre was greatly reduced from a relative area of 0.86 ± 0.02 to 0.051 ± 0.004 . Comparing values in table 4 with Yeo and Julaihi's results in Table 1, the percentage reduction in total plastic per litre is equivalent within errors to the dissolved air flotation method, DAF.

A lipid coated sieve removes more microplastic because the surface of a coated sieve is more viscous and rougher than that of an uncoated one. Viscosity and roughness increase the capture efficiency (Yeo and Julaihi, 2021). A sieve coated with jackfruit seed lipid extract is more effective in trapping microplastic than an uncoated sieve.

This result provides proof of concept: a viscous insoluble coating may capture microplastic particles suspended in water, but there is no indication that the capture is reliable over the long term.

In practical applications, thickeners such as ethyl cellulose or carboxymethyl cellulose (Arancibia, 2016), which have the property of increasing viscosity, could be added. They are insoluble in water and will increase particle adhesion. A more concentrated hexane solution could be used to shorten the time required for the extraction of the lipid mixture in large quantities. The properties of other natural extracts, such as latex (Kientz et al., 1996), or saturated fat extracts from other plants, could also be investigated.

Sieve type	Microplastic Removed (%)
Uncoated	5.1 ± 2.9
Lipid-coated	94.1 ± 0.5

Table 4. Microplastic removed by filtering.

IV. CONCLUSION

Sieves coated with lipid extract from jackfruit seeds reduced the concentration of microplastic in the water by 94% compared to a very small reduction of only 5% when using an uncoated sieve, indicating that effective filtering of microplastics can in principle be achieved with lipid coatings.

V. REFERENCES

- Amadi, J., IHEMEJE, A., & AFAM-ANENE, A. (2018). Nutrient and phytochemical composition of jackfruit (*Artocarpus heterophyllus*) pulp, seeds and leaves. *International Journal of Innovative Food, Nutrition and Sustainable Agriculture*, 6(3), 27-32.
- Amos, J. (1 May, 2020). High microplastic concentration found on ocean floor. BBC News. Retrieved from <https://www.bbc.com/news/science-environment-52489126>
- Arancibia, C., Navarro-Lisboa, R., Zúñiga, R. N., & Matiacevich, S. (2016). Application of CMC as thickener on nanoemulsions based on olive oil: Physical properties and stability. *International Journal of Polymer Science*, 2016.
- Kientz, E., Charneau, J., Holl, Y., & Nause, G. (1996). Adhesion of latex films. *Journal of Adhesion Science and Technology*, 10(8), 745-759.
- Moreira, C. J. S., Bento, A., Pais, J., Petit, J., Escórcio, R., Correia, V. G., Pereira, C. S. (2020). An ionic liquid extraction that preserves the molecular structure of cutin shown by nuclear magnetic resonance. *Plant physiology*, 184(2), 592-606.
- Pollard, M., Beisson, F., Li, Y., & Ohlrogge, J. B. (2008). Building lipid barriers: biosynthesis of cutin and suberin. *Trends in plant science*, 13(5), 236-246.
- Trilokesh, C., & Uppuluri, K. B. (2019). Isolation and characterization of cellulose nanocrystals from jackfruit peel. *Science Reports*, 9(1), 1-8.
- Yeo, L., & Julaihi, M. (2021). Magnetic Ferrous Fluid for Microplastics Extraction Application. *Materials Science Forum* (Vol. 1030, pp. 138-145). Trans Tech Publications
- Pannanusorn, S. & Muang-soonthorn, N. (2021). A study of biofilm formation and hydrophobic properties of *Candida parapsilosis*. *Thai Journal of Science and Technology*, 10(1).

Acknowledgments

The authors would like to thank our advisor, Jirawat Waropas for your support during this project. We would also like to thank the National Science and Technology Development Agency, and the National Research Office, for the award of scholarships to support this project.

การดักจับไมโครพลาสติกในน้ำด้วยสารกลุ่มไขมันของเมล็ดขนุน

ปาวริศา ละทะโล, สุพรรณญาติ มณีศุภชาติ และ บุรพา แสนวัน

โรงเรียนวิทยาศาสตร์จุฬาราชวิทยาลัย เชียงราย

345 หมู่ 2 ตำบลรอบเวียง อำเภอเมือง จังหวัดเชียงราย รหัสไปรษณีย์ 57000

อีเมล : 04449_pawarisa@pcccr.ac.th

บทคัดย่อ

โครงการนี้มีวัตถุประสงค์เพื่อศึกษาและพัฒนาการดักจับไมโครพลาสติกด้วยสารสกัดสารกลุ่มไขมันของเมล็ดขนุน ให้มีประสิทธิภาพในการดักจับมากขึ้น เพื่อแก้ปัญหามลภาวะน้ำที่เกิดจากไมโครพลาสติก โดยทดลองกับแหล่งน้ำจำลองที่มีไมโครพลาสติกเจือปน การทดลองกระบวนการแรกคือการเตรียมเมล็ดขนุน แล้วนำไปสกัดโดยใช้เทคนิคการกลั่นลำดับส่วน และเก็บรักษาสารที่ได้ นำสารกลุ่มไขมันมาเคลือบตะแกรงโดยใช้ทฤษฎีการยึดเกาะ สมบัติทางกายภาพและเคมีของการกลุ่มไขมัน จากนั้นนำมาทดสอบกับน้ำจำลอง แล้วนำน้ำที่ผ่านการกรองมาบันทึกภาพด้วยกล้องจุลทรรศน์ และคำนวณผล ซึ่งพบว่าตะแกรงเคลือบสารกลุ่มไขมันมีประสิทธิภาพในการดักจับไมโครพลาสติกมากถึง $94.1 \pm 0.5\%$ จึงสรุปได้ว่า สารเคลือบกลุ่มไขมันสามารถเพิ่มประสิทธิภาพในการดักจับไมโครพลาสติกได้ โครงการนี้เป็นแนวทางที่สามารถนำไปพัฒนาเพื่อลดปัญหาไมโครพลาสติกในแหล่งน้ำอย่างยั่งยืนต่อไปในอนาคต

คำสำคัญ ไมโครพลาสติก สารกลุ่มไขมัน เมล็ดขนุน การกลั่นลำดับส่วน

1. บทนำ

ในปัจจุบันมนุษย์ให้ความสำคัญกับการรักษาสิ่งแวดล้อมมากขึ้น ซึ่งประเทศต่างๆ ที่พัฒนาแล้วได้ตระหนักถึงการปล่อยน้ำเสียและควันทิซจากโรงงานอุตสาหกรรม จึงได้คิดค้นนวัตกรรมวิธีการต่างๆ เพื่อลดและแก้ปัญหาในส่วนนี้ รวมไปถึงถึงการลดปัญหาขยะพลาสติก ที่เป็นปัญหาระดับโลกในตอนนี้ ไมโครพลาสติกเป็นปัญหาสิ่งแวดล้อมที่อันตรายและรุนแรงต่อสิ่งมีชีวิตเป็นอย่างมาก ไมโครพลาสติกนั้นกระจายอยู่ในดินน้ำและอากาศ นอกจากนั้นยังส่งผลต่อห่วงโซ่อาหารโดยตรง จุดที่พบไมโครพลาสติกสะสมตัวในปริมาณหนาแน่นมาก คือบริเวณแอ่งใต้ทะเล เช่น แอ่งใต้ทะเล Tyrrhenian ก็เป็นอีกหนึ่งบริเวณที่มีไมโครพลาสติกสะสมอยู่เป็นจำนวนมากที่สุดในโลก (Amos, 2020) ซึ่งเป็นปัญหาว่ากระแสใต้น้ำสมุทรที่พัดพาเอาออกซิเจนและสารอาหารต่าง ๆ ไปหล่อเลี้ยงบรรดาสัตว์ใต้ทะเลลึก จะถูกไมโครพลาสติกปนเปื้อนในปริมาณสูงไปด้วย หากเป็นเช่นนั้นเองปัญหาไมโครพลาสติกจะส่งผลกระทบต่อระบบนิเวศเป็นวงกว้าง

ซึ่งทำให้ทั่วโลกหันมาสนใจที่จะแก้ไขในเรื่องของไมโครพลาสติกกันมากขึ้นนักวิทยาศาสตร์

พยายามที่จะหาวิธีเพื่อกำจัดไมโครพลาสติก ไม่ว่าจะเป็นการคิดค้นไบโอฟิล์มจากแบคทีเรียเพื่อนำไปกรองไมโครพลาสติกด้วยเครื่องปฏิกรณ์ชีวภาพ (ปัญญานุสรณ์ และ ม่วงสุนทร, 2021) การใช้แมกนีไทต์ที่ใช้หลักการในการใช้สารไม่มีขั้วที่มีละลายน้ำมาใช้ในการดักจับไมโครพลาสติกที่เจือปนในน้ำโดยเทคนิคนี้ใช้ประโยชน์จากแรงดึงดูดที่ค่อนข้างต่ำของน้ำมัน และคุณสมบัติที่เข้ากันไม่ได้ในน้ำเป็นองค์ประกอบ กวาระหว่างไมโครพลาสติกโดยจะจับส่วนประกอบอนุภาคทั้งหมดเข้ากับตัวกลาง ของน้ำมัน (ตารางที่ 1) (Yeo and Julaihi, 2021) หรือไม่ก็การสร้างอุปกรณ์ที่สามารถติดตั้งกับเรือเพื่อดักจับไมโครพลาสติก ในน้ำ

วิธีเหล่านี้ล้วนแต่เป็นวิธีที่สามารถเอาไมโครพลาสติก ออกจากน้ำได้ แต่ก็ตามมาด้วยข้อจำกัดหลายๆอย่าง เช่น ไบโอฟิล์มเป็นพิษต่อสิ่งแวดล้อม (ปัญญานุสรณ์ และ ม่วงสุนทร, 2021) หรือการใช้วิธีแมกนีไทต์ทำให้เกิดการปนเปื้อนของสารที่เป็นอันตรายต่อสิ่งมีชีวิตตามมา (Yeo & Julaihi, 2021) เป็นต้น (ตาราง 1)

ผู้จัดทำจึงมีแนวคิดที่จะพัฒนาการดักจับไมโครพลาสติกที่มีแนวคิดผสมผสานจากวิธีข้างต้นมา ทำให้มีประสิทธิภาพมากขึ้น โดยได้ทำการศึกษา

Treat ment	Effluent type	Before (MP/L ⁻¹)	After (MP/L ⁻¹)	Removal (%)
DF 1	Secondary	0.5 ±0.2	0.3 ±0.1	40.0
DF 2	Secondary	2.0 ±1.3	0.03 ±0.01	98.5
RSF	Secondary	0.7 ±0.1	0.020 ±0.007	97.1
DAF	Secondary	2.00 ±0.07	0.10 ±0.04	95.0
BMR	Primary	5.9 ±1.0	0.005 ±0.004	99.9

DF 1 : disc filter with pore size 10 mm, DF2 : disc filter with pore size 20 mm, RSF : rapid sand filters, DAF : dissolved air flotation and MBR : membrane bioreactor

ตารางที่ 1. ประสิทธิภาพการดักจับไมโครพลาสติกในวิธีการต่างๆ (Yeo & Julaihi, 2021)

วิธีการใช้แมกนีไทด์ที่ใช้ไขมันซึ่งเป็นสารไม่มีชีวิตในการจับตัวกับไมโครพลาสติก ซึ่งสารจะต้องมีสมบัติความหนืดและความตึงผิวที่เพียงพอ เพื่อความสะดวกในการจับตัวกับไมโครพลาสติก (Yeo & Julaihi, 2021) จึงได้แนวคิดที่จะใช้สารที่อยู่ในพืช ซึ่งเป็นมิตรต่อสิ่งแวดล้อม คือสารกลุ่มไขมันในเซลล์พืช สารกลุ่มไขมันนั้นสามารถพบได้ในพืชทั่วไป (Trilokesh and Uppuluri, 2019) ซึ่งผู้จัดทำได้เลือกใช้สารกลุ่มไขมันจากเมล็ดขนุน (*Artocarpus heterophyllus*) เนื่องจากเป็นพืชที่หาได้ง่ายทั่วไปและมีจำนวนมากในประเทศไทย โดยสารกลุ่มไขมันนั้นมีคุณสมบัติเป็นสารที่ไม่มีชีวิตทำให้มีคุณสมบัติที่ไม่ละลายน้ำ (Pollard et al., 2008) จากคุณสมบัติที่ได้กล่าวไว้ข้างต้น ผู้จัดทำจึงตระหนักได้ว่าจะพัฒนาสารกลุ่มไขมัน ให้กลายเป็นสารเคลือบ เพื่อเพิ่มประสิทธิภาพในการดักจับไมโครพลาสติก ในน้ำ จากข้อมูลที่แสดงตารางที่ 2 เมล็ดขนุนมีไขมันอยู่มากกว่าส่วนอื่นๆ จึงเลือกเมล็ดขนุนมาศึกษา

Sample	Fat (%)
Jackfruit Pulp	1.49 ± 0.04
Jackfruit Seeds	4.29 ± 0.12
Jackfruit Leaves	0.73 ± 0.05

ตารางที่ 2. ปริมาณไขมันในส่วนต่าง ๆ ของขนุน (Amadi, 2018)

2. วิธีการทดลอง สกัดสารกลุ่มไขมัน

ทำความสะอาดเมล็ดขนุน จากนั้นอบเมล็ดขนุนด้วยอุณหภูมิ 65 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 8 ชั่วโมง แล้วนำมาบดให้ละเอียด แช่ผงเมล็ดขนุนใน Hexane ความเข้มข้น 70% เป็นเวลา 48 ชั่วโมง จากนั้นกรองสารละลายแล้วนำไปกลั่นลำดับส่วน ใช้อุณหภูมิประมาณ 90-100 องศาเซลเซียส เพื่อนำสารสกัดหยาบออกมา ซึ่งก็คือสารกลุ่มไขมัน (Moreira et al., 2020) ซึ่งจะเก็บรักษาสารที่ได้ที่อุณหภูมิห้อง และพ้นจากแสงแดด

เตรียมน้ำสถานะปนเปื้อนไมโครพลาสติก

นำ Expanded Polyethylene มาป่น ซึ่งมีขนาดเฉลี่ยประมาณ 25.4 ± 2.9 ไมโครเมตร จากนั้นผสมไมโครพลาสติกสังเคราะห์ที่ตกลงไปในน้ำอัตราส่วน 2 กรัมต่อลิตร และตรวจสอบโดยการใช้อัลตร้าจูลทรรศน์และวิเคราะห์ผลโดยการใช้โปรแกรม ImageJ ในการนับจำนวนไมโครพลาสติก การนับไมโครพลาสติกในโปรแกรมนี้ได้ตั้งเงื่อนไขไว้ว่าจะเริ่มนับไมโครพลาสติกที่มีขนาดต่ำสุดอยู่ที่ 5 ไมโครเมตร ขึ้นไป แล้ววิเคราะห์ผลขนาดไมโครพลาสติกเฉลี่ย ซึ่งขนาดไมโครพลาสติกหลังการป่น และขนาดไมโครพลาสติกของแหล่งน้ำจำลองเป็นค่าเดียวกัน

เคลือบสารกลุ่มไขมัน ทดสอบ และวิเคราะห์ผล

ทาสารสกัดกลุ่มไขมันลงบนตะแกรง ควบคุมโดยบนตะแกรงต้องมีสารกลุ่มไขมันน้ำหนัก 5 กรัม ทดสอบตะแกรงทั้งหมด 2 แบบ เหน้าจำลองผ่านในปริมาณ 400 มิลลิลิตร ทำการทดลองซ้ำ 5 ครั้ง และนำน้ำที่กรองมาคำนวณหาจำนวนไมโครพลาสติกดังวิธีก่อนหน้า

3. ผลการทดลองและการอภิปรายผลการ

หลังจากการนำ ข้อมูลที่ได้จาก การทดลองมา วิเคราะห์ หาขนาดไมโครพลาสติกเฉลี่ย และ เปอร์เซนต์พื้นที่ของกรองไมโครพลาสติก หลัง กรองไมโครพลาสติกด้วยตะแกรงเปล่า และหลัง กรองไมโครพลาสติกด้วยตะแกรงเคลือบสารกลุ่ม ไชมันพบว่าไมโครพลาสติกในแหล่งน้ำจำลองก่อน กรองนั้นมีขนาดของไมโครพลาสติกเฉลี่ยเท่ากับ 25.4 ± 2.9 ไมโครเมตร และมีปริมาณของ ไมโครพลาสติกต่อพื้นที่เท่ากับ $0.90 \pm 0.02\%$ ไมโครพลาสติกในน้ำหลังกรองด้วยตะแกรงเปล่า นั้นมีขนาดของไมโครพลาสติกเฉลี่ยเท่ากับ 25.2 ± 3.6 ไมโครเมตร และมีร้อยละปริมาณของ ไมโครพลาสติกต่อพื้นที่เท่ากับ 0.80 ± 0.01 ไมโครพลาสติกในน้ำหลังกรองด้วยตะแกรงเคลือบ สารกลุ่มไชมันนั้นมีขนาดของ ไมโครพลาสติกเฉลี่ย เท่ากับ 21.1 ± 1.0 ไมโครเมตร และมีปริมาณของ ไมโครพลาสติกต่อพื้นที่เท่ากับ $0.051 \pm 0.004\%$ ดังตารางที่ 3

จากวิเคราะห์ไมโครพลาสติกในน้ำหลังกรอง ด้วยตะแกรงเคลือบสารกลุ่มไชมันนั้นมีขนาด ไมโครพลาสติกเฉลี่ย และ มี ปริมาณ ไมโครพลาสติกลดลงถึง $94.1 \pm 0.5 \%$ เมื่อเทียบกับปริมาณไมโครพลาสติกในแหล่งน้ำจำลองก่อน กรอง ซึ่งมากกว่าการกรองด้วยตะแกรงเปล่าที่มี ปริมาณไมโครพลาสติกลดลงเพียง $5.1 \pm 2.9 \%$ เมื่อเทียบกับปริมาณไมโครพลาสติกในแหล่งน้ำ จำลองก่อนกรอง ดังตารางที่ 4

สไลด์	ขนาดเฉลี่ย (µm)	%พื้นที่
ก่อนกรอง ไมโครพลาสติก	25.4 ± 2.9	0.86 ± 0.02
หลังกรอง ไมโครพลาสติกด้วย ตะแกรงเปล่า	25.2 ± 3.6	0.81 ± 0.01
หลังกรอง ไมโครพลาสติกด้วย ตะแกรงเคลือบสาร กลุ่มไชมัน	21.1 ± 1.0	0.051 ± 0.004

ตารางที่ 3. ค่าเฉลี่ยขนาดไมโครพลาสติกรวมและ เปอร์เซนต์พื้นที่ไมโครพลาสติกรวมต่อพื้นที่ทั้งหมด

เมื่อเปรียบเทียบกับจากงานวิจัยของ Yeo and Julaihi (2021) จากตารางที่ 1 จะสังเกตได้ว่า ผลการ ทดลองที่ได้มานั้นมี แนวโน้มเดียวกันคือ ไมโครพลาสติกหลังกรองด้วยตะแกรงเคลือบสารกลุ่ม ไชมันมีจำนวนลดลง ซึ่งมีประสิทธิภาพใกล้เคียงกับวิธีการ แยกตะกอกไชมัน (DAF)ภายในงานวิจัย ซึ่งสามารถลด ปริมาณไมโครพลาสติก ได้ 95% ในขณะที่สารเคลือบ แผ่น กรอง จาก เมล็ด ขนุน สามารถ ดัก จับ ไมโครพลาสติกได้ 94.1%

เนื่องจากพื้นที่ผิวของตะแกรงเคลือบมีความ หนืดและขรุขระมากกว่าตะแกรงเปล่า ซึ่งความหนืดและ ขรุขระนี้จะเพิ่มประสิทธิภาพในการดักจับมากขึ้นดังนั้น การใช้ตะแกรงที่เคลือบสารสกัดกลุ่มไชมันจากเมล็ด ขนุนนั้นจะทำให้มี ประสิทธิภาพในการดักจับ ไมโครพลาสติกมากขึ้น (Yeo and Julaihi, 2020)

เนื่องจากโครงการนี้เป็นเพียงแนวคิดสำหรับการ ดักจับไมโครพลาสติกในแหล่งน้ำรูปแบบหนึ่งซึ่งเป็น แนวคิดที่ใช้สารที่มีคุณสมบัติในการยึดเกาะและไม่ ละลายน้ำ ซึ่งมีจุดอ่อนคือไม่สามารถยืนยันได้ถึง ความสามารถในการยึดเกาะในระยะยาว ดังนั้นในการ นำไปปรับใช้จริงในการแก้ปัญหาควรเพิ่มสารเพิ่มความ หนืด (Thickener) เช่น Ethylcellulose หรือ Carboxymethyl cellulose (Arancibia et al., 2016) ซึ่ง มีคุณสมบัติในการเพิ่มความหนืดให้กับสาร และมี คุณสมบัติไม่ละลายน้ำซึ่งจะทำให้มีประสิทธิภาพในการ ยึดเกาะมากขึ้น และมีความคงทนมากขึ้น ในการสกัด สารกลุ่มไชมันนี้ออกมาในปริมาณมากเพื่อใช้ผลิตใน อุตสาหกรรม ควรปรับใช้ Hexane มีความเข้มข้นมากขึ้น เพื่อลดระยะเวลาและเพิ่มประสิทธิภาพในการสกัดมาก ขึ้นจากแนวคิดของ โครงการนี้สามารถใช้ สารสกัดจาก ธรรมชาติชนิดอื่นที่มีคุณสมบัติคล้ายคลึงมาแทนได้เช่น น้ำยาง (Kientz et al., 1996) หรือสารสกัดกลุ่มไชมัน อิมตัวจากพืชชนิดอื่น เป็นต้น

ชนิดตะแกรง	ร้อยละการดักจับ ไมโครพลาสติก
ตะแกรงเปล่า	5.1 ± 2.9
ตะแกรงเคลือบสารกลุ่มไชมัน	94.1 ± 0.5

ตารางที่ 4. ร้อยละการดักจับไมโครพลาสติกของตะแกรงแต่ ละชนิดเมื่อเทียบเปอร์เซนต์พื้นที่ไมโครพลาสติกรวมต่อพื้นที่ ทั้งหมด

4. สรุปผลการทดลอง

ตะแกรงที่เคลือบสารสกัดกลุ่มไขมันจากเมล็ดขนุนนั้นมีประสิทธิภาพในการดักจับไมโครพลาสติกได้มากกว่าเมื่อเทียบกับการกรองจากตะแกรงเปล่า ซึ่งตะแกรงเปล่านั้นมีปริมาณของไมโครพลาสติกที่หลงเหลือแทบไม่ต่างจากปริมาณไมโครพลาสติกจากแหล่งน้ำก่อนกรอง ตะแกรงที่เคลือบสารสกัดกลุ่มไขมันสามารถลดปริมาณของไมโครพลาสติกในน้ำได้ถึง $94.1 \pm 0.5\%$ เมื่อเทียบกับปริมาณไมโครพลาสติกในแหล่งน้ำก่อนกรอง เนื่องจากสารสกัดกลุ่มไขมันที่ใช้เคลือบมีคุณสมบัติทางกายภาพในการช่วยดักจับไมโครพลาสติกมากขึ้น

5. เอกสารอ้างอิง

ศรีสุตา ปันณานุสรณ์ และ ณัฐธิดา ม่วงสุนทร. (2021). การศึกษาการสร้างไบโอฟิล์มและคุณสมบัติความไม่ชอบน้ำของเชื้อ *Candida parapsilosis*. *Thai Journal of Science and Technology*, 10(1).

Amadi, Ihemeje, J. A., & Afam-Anene, A. (2018). Nutrient and phytochemical composition of jackfruit (*Artocarpus heterophyllus*) pulp, seeds and leaves. *International Journal of Innovative Food, Nutrition and Sustainable Agriculture*, 6(3), 27-32.

Amos, J. (1 May 2020). High microplastic concentration found on ocean floor. BBC News. Retrieved from <https://www.bbc.com/news/science-environment-52489126>

Arancibia, C., Navarro-Lisboa, R., Zúñiga, R. N., & Matiacevich, S. (2016). Application of CMC as thickener on nanoemulsions based on olive oil: Physical properties and stability. *International Journal of Polymer Science*, 2016.

Kientz, E., Charneau, J., Holl, Y., & Nanse, G. (1996). Adhesion of latex films. *Journal of adhesion science and technology*, 10(8), 745-759.

Moreira, C. J. S., Bento, A., Pais, J., Petit, J., Escórcio, R., Correia, V. G., . . . Pereira, C. S. (2020). An ionic liquid extraction that preserves the molecular structure of cutin shown by nuclear magnetic resonance. *Plant physiology*, 184(2), 592-606.

Pollard, M., Beisson, F., Li, Y., & Ohlogge, J. B. (2008). Building lipid barriers: biosynthesis of cutin and suberin. *Trends in plant science*, 13(5), 236-246.

Trilokesh, C., & Uppuluri, K. B. (2019). Isolation and characterization of cellulose nanocrystals from jackfruit peel. *Science Reports*, 9(1), 1-8.

Yeo, L., and Julaihi, M. (2021). Magnetic Ferrous Fluid for Microplastics Extraction Application. In *Materials Science Forum* (Vol. 1030, pp. 138-145). Trans Tech Publications Ltd.

กิตติกรรมประกาศ

ขอขอบคุณ คุณครูจิรวัดน์ วโรภาษ สำหรับการให้คำปรึกษา ขอขอบคุณ สำนักงานพัฒนาวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยีแห่งชาติ และสำนักงานการวิจัยแห่งชาติ ที่ให้เกียรติมอบทุนในการทำโครงการ

