JMedGlob 2024

ISSN2821-918X (Online)
Volume3:No3:Sep-Dec 2024

Journal of Medical Globalization

Bangkokthonburi University, Thailand

Editorial

❖ **Preceptorship Program at Indiana University for Master Degree Students in Implant Dentistry**

Yosananda Chantravekin

Original Article

❖ **Analysis of nicotine residue in cigarettes after smoking using UV-visible spectrophotometry**

Kiat Witoonchart, Pitchapa Pittayavinai, Supranee Watpathomsub, Natt thiensukont, Phongthon Sukosi, Dhanes Rangsrikajee, Poonsri Rangseekajee, Tamkan Junyangdikul, Titiya Meechai

❖ **Survey of tobacco consumption behavior and factors affecting smoking behavior of students at Bangkokthonburi University**

Amporn Krobthong, Artitaya Yatsomboon, Nattawan Sasingh, Phongthon Sukosi, Lalita Honghernsthit, Titiya Meechai

❖ **An analysis of Aflatoxin levels in Thai and foreign cigarette fibers**

Phitchan Sricharoen, Titiya Meechai, Jintapat Nateewattana and Jane Manonukul

❖ **Isolation of fungi producing protease enzymes from the gut of earthworm *Metaphire Posthuma***

Rungroj Kraisittipanit

Copyright ©2022 **Journal of Medical Globalization.** All right reserved.
https://he01.tci-thaijo.org/index.php/JMedGlob/
Bangkokthonburi University
16/10 Leabklongtaweewatana Rd., Taweewatana, Bangkok 10170 Thailand
Tel : 02-8006800 ext. 2013 | Email : jmedglobal@bkkthon.ac.th

บทบรรณาธิการ | Editorial

หลักสูตรศึกษาดูงานที่มหาวิทยาลัยอินเดียนาสำหรับนักศึกษาหลักสูตรวิทยาศาสตรมหาบัณฑิต สาขาวิชาทันตกรรมรากเทียม

ในบทบรรณาธิการของวารสารฉบับที่ 1/2567 กระผมได้กล่าวถึงการลงนามในบันทึกข้อตกลงทางวิชาการระหว่างมหาวิทยาลัยกรุงเทพธนบุรี กับมูลนิธิทันตนวัตกรรมในพระบรมราชูปถัมภ์ ในบทบรรณาธิการในวารสารฉบับนี้ กระผมมีความยินดีที่จะได้นำเสนอความก้าวหน้าของบันทึกข้อตกลงดังกล่าวแก่ท่านผู้อ่านทุกท่านครับ

ทางมูลนิธิทันตนวัตกรรมฯ ได้ทำข้อตกลงความร่วมมือในการส่งนักศึกษาจากประเทศไทย ไปศึกษาดูงานในหลักสูตร Preceptorship Program ที่มหาวิทยาลัยอินเดียนา ประเทศสหรัฐอเมริกา และทางคณะทันตแพทยศาสตร์ มหาวิทยาลัยกรุงเทพธนบุรีได้รับเกียรติให้เป็นสถาบันนำร่องในการคัดเลือกนักศึกษาหลักสูตรวิทยาศาสตรมหาบัณฑิต สาขาวิชาทันตกรรมรากเทียมจำนวนไม่เกิน 4 คน เพื่อเข้าร่วมโครงการดังกล่าว โดยในช่วงเดือนพฤศจิกายน พ.ศ. 2567 Prof. Wei-Shao Lin จากมหาวิทยาลัยอินเดียนาซึ่งได้เดินทางมาบรรยายในการประชุม Bangkok International Symposioum of Implant Dentistry 2024 (BIS 2024) ได้เข้าเยี่ยมชมมูลนิธิทันตนวัตกรรมฯ โดยมีผู้แทนจากคณะทันตแพทยศาสตร์ มหาวิทยาลัยกรุงเทพธนบุรีได้นำเสนอรายละเอียดของหลักสูตรวิทยาศาสตรมหาบัณฑิต สาขาวิชาทันตกรรมรากเทียม

หลักสูตรวิทยาศาสตรมหาบัณฑิต สาขาวิชาทันตกรรมรากเทียม เป็นหลักสูตรระดับปริญญาโทของคณะทันตแพทยศาสตร์ เปิดดำเนินการตั้งแต่ปีการศึกษา 2563 ประกอบด้วยการเรียนการสอนภาคทฤษฎี ปฏิบัติ คลินิก และการทำวิทยานิพนธ์หรือการค้นคว้าอิสระ และมีนักศึกษาให้ความสนใจเข้าศึกษาต่อเป็นจำนวนมาก ตามข้อตกลงความร่วมมือ เมื่อนักศึกษาจบการศึกษาในหลักสูตร สามารถแสดงความจำนงเข้า ศึกษาดูงานในหลักสูตร Preceptorship Program ที่มหาวิทยาลัยอินเดียนา ในช่วงเดือนสิงหาคม โดยรุ่นแรกจะเข้าร่วมโปรแกรมในปี พ.ศ. 2568 ที่จะถึงนี้

ดังที่กระผมได้กล่าวไว้บทบรรณาธิการก่อนหน้านี้ครับ การที่คณะได้รับเลือกให้เป็นสถาบันนำร่องของประเทศไทยนั้นเกิดจากลักษณะงานของมูลนิธิและคณะมีความสอดคล้องกัน สามารถนำจุดที่แข็งของแต่ละฝ่ายมาเสริมซึ่งกันและกัน เกิดประโยชน์ร่วมกันทั้งสองฝ่าย และกระผมมีความมั่นใจว่าจะมีโครงการที่ต่อยอดจากบันทึกข้อตกลงความร่วมมือระหว่างสองสถาบัน เพิ่มเติมขึ้นอีกในอนาคตครับ

ยสนันท์ จันทรเวคิน

Original Article

การตรวจวิเคราะห์ปริมาณนิโคตินที่สะสมในบุหรี่ที่เหลือจากการสูบด้วยเทคนิคยูวี-วิสิเบิล สเปกโทรโฟโตมิเตอร์

Analysis of nicotine residue in cigarettes after smoking using UV-visible spectrophotometry

เกียรติ วิฑูรชาติ, พิชชาภา พิทยาวินัย, สุปราณี วัฒน์ปฐมทรัพย์, ณัฐ ธียรสุคนธ์, พงศ์ธร สุโฆสิต, ธเนศ รังษีขจี, พูนศรี รังษีขจี, ตามกานต์ จรรยางค์ดีกุล, ธิติยา มีชัย*

Kiat Witoonchart, Pitchapa Pittayavinai, Supranee Watpathomsub, Natt thiensukont, Phongthon Sukosi, Dhanes Rangsrikajee, Poonsri Rangseekajee, Tamkan Junyangdikul, Titiya Meechai*

คณะแพทยศาสตร์ มหาวิทยาลัยกรุงเทพธนบุรี ทวีวัฒนา กรุงเทพฯ 10170

Faculty of Medicine, Bangkokthonburi University, Thawi Watthana, Bangkok 10170, Thailand

บทคัดย่อ การสูบบุหรี่ที่มีนิโคตินสะสมมาก ๆ อาจทำให้เป็นอันตรายต่อร่างกาย ซึ่งการสูบบุหรี่เริ่มจากการจัดให้ปลายบุหรี่ไหม้ไฟเกิดควัน และใช้แรงดูดของปอดสูบควันบุหรี่เข้าสู่ระบบทางเดินหายใจ ควันบุหรี่เริ่มเดินทางจากปลายบุหรี่ที่จุดไหม้ไฟผ่านเส้นใยบุหรี่ภายในมวนบุหรี่ ถึงปลายก้นกรองของบุหรี่ บุหรี่จะไหม้เรื่อย ๆ จนกระทั่งเหลือบางส่วนที่บางครั้งผู้สูบบุหรี่อาจจะเก็บไว้สูบต่อ ซึ่งบุหรี่ที่สูบเหลือแล้วเก็บไว้นั้นจะสัมผัสกับควันบุหรี่ที่ไหม้ไฟของบุหรี่ที่สูบไปแล้วอาจจะทำให้นิโคตินสะสมอยู่ในเส้นใยบุหรี่ที่เหลืออยู่ งานวิจัยนี้ศึกษาเกี่ยวกับปริมาณนิโคตินที่สะสมในบุหรี่ที่เหลือจากการสูบ โดยเก็บตัวอย่างจากตำแหน่งที่ห่างจากปลายบุหรี่ประมาณ 1 เซนติเมตร และทำการวิเคราะห์ด้วยเทคนิคยูวี-วิสิเบิล สเปกโทรโฟโตมิเตอร์ โดยใช้บุหรี่ทั้งที่ผลิตในประเทศไทยและที่นำเข้าจากต่างประเทศ ซึ่งทำการศึกษาในร้านสะดวกซื้อ ผลการวิจัยพบว่าบุหรี่ที่นำเข้าจากต่างประเทศมีปริมาณนิโคตินสูงที่สุด โดยมีความเข้มข้นของสารนิโคตินถึง 21 ± 0.25 มิลลิกรัม/กรัม จากการสกัดสารนิโคตินจากบุหรี่ที่เหลือจากการสูบ ข้อมูลจากงานวิจัยนี้เป็นประโยชน์ต่อการชี้นำสังคมและเป็นข้อมูลเพื่อให้ความรู้ ประชาสัมพันธ์พิษภัยของบุหรี่เพื่อรณรงค์การไม่สูบบุหรี่นำไปสู่การพัฒนาชุมชนต่อไป

คำสำคัญ: สารนิโคติน, สูบบุหรี่, ยูวี-วิสิเบิล สเปกโทรโฟโตมิเตอร์, ความเข้มข้นนิโคติน

Abstract Smoking cigarettes with a lot of accumulated nicotine can cause harm to the body. Smoking starts by setting the tip of the cigarette on fire to create smoke and using the suction force of the lungs to suck the cigarette smoke into the respiratory system. The cigarette begins its journey from the lit tip through the cigarette fibers inside the cigarette to the tip of the cigarette filter. The cigarette will continue to burn until some remains that the smoker may sometimes save it for

Correspondence to: **Titiya Meechai**

Faculty of Medicine, Bangkokthonburi University

Thawi Watthana, Bangkok 10170, Thailand

Tel: 088-9493956

E-mail: titiya.mee@bkkthon.ac.th

J Med Glob 2024 Sep; 3(3)

Website: https://he01.tci-thaijo.org/index.php/JMedGlob

ISSN: 2821-918X (Online)

Received 26 August 2024; revised 14 November 2024; accepted 2 December 2024

How to cite this article: Kiat Witoonchart, Pitchapa Pittayavinai, Supranee Watpathomsub, Natt thiensukont, Phongthon Sukosi, Dhanes Rangsrikajee, Poonsri Rangseekajee, Tamkan Junyangdikul, Titiya Meechai. Analysis of nicotine residue in cigarettes after smoking using UV-visible spectrophotometry. J Meb Glob. 2024 Sep;3(3): 52-57.

further smoking. Leftover cigarettes that are stored are exposed to the smoke from the burnt cigarettes, which may cause nicotine to accumulate in the remaining cigarette fibers. This research study investigated the nicotine residue in cigarettes left after smoking by collecting samples from a position approximately 1 cm from the cigarette tip and analyzing them using UV-visible spectrophotometry. The study used both domestically produced cigarettes in Thailand and imported cigarettes, with research conducted at convenience stores. The results revealed that the imported cigarettes had the highest nicotine content, with a nicotine concentration of 21 ± 0.25 mg/g in the nicotine extract from the cigarettes left after smoking. The findings from this research are beneficial in guiding society and providing knowledge to raise awareness of the harmful effects of smoking, aiming to promote anti-smoking campaigns that will contribute to community development.

Keywords: Nicotine, Smoking, UV-visible spectrophotometer, Nicotine concentration

บทนำ

บุหรี่แต่ละมวนนั้นประกอบด้วยสารพิษสำคัญที่เป็นอันตรายต่อสุขภาพโดยเฉพาะปอด ระบบหลอดเลือดและหัวใจ[1, 2] สุขภาพฟันและช่องปาก ก็ได้รับผลจากการสูบบุหรี่เช่นกัน เนื่องจากสารนิโคติน (nicotine) และสารทาร์ (tar) ที่เกิดจากการเผาไหม้บุหรี่และสูบควันบุหรี่เข้าไป[3-6] การสูบบุหรี่เริ่มจากการจุดให้ปลายบุหรี่ไหม้ไฟเกิดควันและใช้แรงดูดของปอดสูบควันบุหรี่เข้าสู่ระบบทางเดินหายใจ ควันบุหรี่เริ่มเดินทางจากปลายบุหรี่ที่จุดไหม้ไฟผ่านเส้นใยบุหรี่ภายในมวนบุหรี่ถึงปลายก้นกรองของบุหรี่ บุหรี่จะไหม้เรื่อย ๆ จนกระทั่งเหลือบางส่วนที่บางครั้งผู้สูบบุหรี่อาจจะเก็บไว้สูบต่อ ซึ่งบุหรี่ที่สูบเหลือแล้วเก็บไว้นั้นจะสัมผัสกับควันบุหรี่ที่ไหม้ไฟของบุหรี่ที่สูบไปแล้วและอาจทำให้มีนิโคตินสะสมอยู่ในเส้นใยบุหรี่ที่เหลืออยู่นั้น[7, 8] ปริมาณนิโคตินที่เป็นพิษต่อร่างกายมนุษย์และทำให้เสียชีวิตได้คือ 40 - 60 mg ฉะนั้นการสูบบุหรี่ที่มีนิโคตินสะสมมาก ๆ อาจจะทำให้เป็นอันตรายต่อร่างกายได้ [1]

สารนิโคติน ดังภาพที่ 1 เป็นสารพิษสำคัญในควันบุหรี่ที่มีฤทธิ์ทำให้เสพติด ส่งผลให้ผู้สูบมีความรู้สึกอยากจะสูบบุหรี่อีก จึงเกิดการติดบุหรี่ขึ้น หากได้รับสารนิโคตินในปริมาณมากเกินไป อาจทำให้เกิดอาการเวียนศีรษะ คลื่นไส้ อาเจียน ได้ นอกจากสารนิโคตินแล้ว ในควันบุหรี่ยังมีสารพิษและสารก่อมะเร็งอีกมากมายหลายชนิด[9]

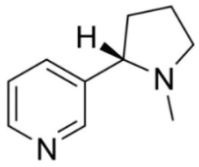


Figure 1 Nicotine chemical structure

การเก็บบุหรี่ไว้สูบต่อนั้นอาจมีปัญหาการสะสมของนิโคตินที่เกิดจากควันบุหรี่นำพาไปผ่านเส้นใยยาสูบของบุหรี่ที่เหลืออยู่จึงเป็นคำถามที่ว่านิโคตินอาจจะสะสมอยู่ในเส้นใยบุหรี่ที่เหลือมากกว่าเดิม งานวิจัยก่อนหน้าใช้เทคนิคยูวี-วิสิเบิล สเปกโทรโฟโตมิเตอร์ วัดการสลายตัวของนิโคตินในน้ำธรรมชาติและน้ำชะล้างที่ผลิตขึ้นจากก้นบุหรี่ [10]

หลักการวิเคราะห์สารด้วยยูวี-วิสิเบิล สเปกโทรโฟโตมิเตอร์ ซึ่งเป็นเครื่องมือที่ใช้ในการตรวจวัดปริมาณของแสงและค่า intensity หรือความเข้มแสงในช่วงรังสียูวีจนถึงช่วงแสงขาวที่เกิดจากทั้งการทะลุผ่าน การส่องผ่าน และการสะท้อนของวัสดุตัวอย่างที่ถูกวางไว้ในตัวเครื่องมือ โดยที่แต่ละความยาวคลื่นตลอดช่วงการวัดจะมีความสัมพันธ์กับทั้งในเชิงปริมาณ และชนิดของสารที่อยู่ในตัวอย่าง ซึ่งส่วนใหญ่จะเป็นสารอินทรีย์ สารประกอบเชิงซ้อน และสารอนินทรีย์ที่สามารถดูดกลืนแสงในช่วงความยาวคลื่น ทำการวัดปริมาณของแสงที่ผ่านการสะท้อนและการส่องผ่านจากวัสดุตัวอย่าง แล้วนำมาทำการเทียบกับแสงจากแหล่งกำเนิดที่ความยาวคลื่นค่าต่างๆ ตามกฎของ Beer-Lambert โดยค่าการดูดกลืนแสงหรือค่า absorbance ของสสารนั้น ๆ จะแปรผันตรงกับจำนวนโมเลกุลที่มีการดูดกลืนแสง ดังนั้น เราจึงสามารถนำเทคนิคนี้มาใช้สำหรับการระบุทั้งชนิดและปริมาณของสารต่าง ๆ ที่มีอยู่ในวัสดุตัวอย่างได้ การเลือกศึกษาบุหรี่ที่สูบเหลือแล้วเก็บไว้ขนาด 1 เซนติเมตรเป็นการศึกษาที่มุ่งเน้นการวัดสารนิโคตินในพื้นที่ที่สามารถสะสมได้มากที่สุดในบุหรี่ที่เหลือจากการสูบ การเก็บตัวอย่างที่ตำแหน่งนี้ช่วยให้สามารถศึกษาปริมาณของสารพิษที่สะสมในบุหรี่อย่างละเอียด และยังไม่มีรายงานเกี่ยวกับการศึกษาปริมาณนิโคตินในบุหรี่ที่สูบเหลือจากการสูบในประเทศไทยมาก่อน ดังนั้น งานวิจัยนี้จึงมีความสำคัญในการให้ข้อมูลที่สามารถใช้ในการป้องกันและให้ความรู้เกี่ยวกับพิษภัยจากบุหรี่ในสังคมได้

การศึกษาเกี่ยวกับบุหรี่ที่สูบเหลือแล้วเก็บไว้นั้นมีความสำคัญเนื่องจากสารนิโคตินที่สะสมอยู่ในเส้นใยบุหรี่ที่เหลือจากการสูบอาจมีผลต่อสุขภาพของผู้ที่สัมผัส หรือผู้ที่สูบบุหรี่อีกครั้งจากบุหรี่ที่สูบไปแล้ว การศึกษานี้จึงมุ่งเน้นที่การวิเคราะห์ปริมาณนิโคตินที่สะสมอยู่ในบุหรี่ที่เหลือจากการสูบ โดยการใช้เครื่องมือยูวี-วิสิเบิล สเปกโทรโฟโตมิเตอร์ ซึ่งเป็นวิธีที่สะดวกและแม่นยำในการวัดปริมาณสารนิโคตินในตัวอย่าง การศึกษานี้จะช่วยให้เห็นถึงความสำคัญของการเก็บบุหรี่ที่สูบไปแล้วและผลกระทบที่อาจเกิดขึ้นจากการสะสมของสารนิโคตินในบุหรี่ที่เหลือ รวมถึงสามารถนำข้อมูลนี้ไปใช้ในการรณรงค์เพื่อป้องกันและลดการสูบบุหรี่ในสังคมได้ งานวิจัยนี้ทำศึกษาปริมาณนิโคตินที่สะสมในบุหรี่ที่เหลือจากการสูบโดยเก็บที่ตำแหน่ง 1.0 เซนติเมตร ห่างจากปลายบุหรี่ ด้วยยูวี-วิสิเบิล สเปกโทรโฟโตมิเตอร์ ซึ่งเป็นวิธีที่ง่ายและยังไม่มีรายงานเกี่ยวปริมาณนิโคตินที่สะสมในบุหรี่ที่เหลือจากการสูบ ของบุหรี่ที่ผลิตในประเทศไทยด้วยยูวี-วิสิเบิล สเปกโทรโฟโตมิเตอร์ ข้อมูลจากงานวิจัยนี้เป็นประโยชน์ต่อการชี้นำสังคมและเป็นข้อมูลเพื่อให้ความรู้ ประชาสัมพันธ์พิษภัยของบุหรี่เพื่อรณรงค์การไม่สูบบุหรี่นำไปสู่การพัฒนาชุมชนต่อไป

วิธีการวิจัย

สุ่มตัวอย่างบุหรี่จำนวน 10 มวนจากบุหรี่ 5 เครื่องหมายการค้า ใบยาสูบในประเทศไทย (โดยตั้งชื่อตัวอย่างเป็น TM1, TM2, TM3, TM4 และ TM5) และนำเข้าจากต่างประเทศ (โดยตั้งชื่อตัวอย่างเป็น TN1, TN2, TN3, TN4 และ TN5) จากร้านสะดวกซื้อ โดยทำการทดลองซ้ำ 3 ครั้ง นำมาศึกษาลักษณะภายนอกโดยกล้องสเตอริโอไมโครสโคป จากนั้นนำมาทำการทดลอง จุดปลายบุหรี่มวนและเริ่มกระบวนการสูบด้วยการใช้ pump negative pressure สูบควันบุหรี่จนกระทั่งบุหรี่ที่สูบเหลือ หลังจากนั้นนำตัวอย่างเส้นใยบุหรี่ที่สูบเหลือนี้โดยเก็บที่ตำแหน่ง 1.0 เซนติเมตร ห่างจากปลายบุหรี่จำนวน 5 เส้นใย ดังภาพที่ 2 มาทำการสกัด จากนั้นวิเคราะห์ปริมาณนิโคตินวัดด้วยเทคนิค UV-visible spectrophotometer และวิเคราะห์ด้วยเครื่องแก๊สโครมาโทกราฟี - แมสสเปกโตรมิเตอร์ (Gas Chromatography - Mass Spectrometer, GC-MS) ซึ่งเป็นเครื่องมือที่มีประสิทธิภาพสูงมากในการวิเคราะห์หาสารประกอบอินทรีย์

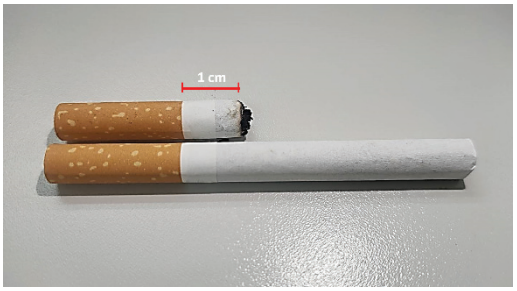


Figure 2 Leftover cigarettes with tobacco leaf fibers collected at a position 1 centimeter from the tip of the cigarette.

กระบวนการสกัดสารนิโคติน

กระบวนการสกัดสารนิโคตินออกจากยาสูบโดยใช้ตัวทำละลายที่เป็นด่างและสารอินทรีย์ โดนนำใบยาสูบใส่ในบีกเกอร์ 150 มล. และเติมเมทานอล 10 มล. ลงในสารละลาย ของผสมถูกเขย่าด้วยเครื่องเขย่าสารถึงเป็นเวลา 40 นาที ที่ 200 รอบต่อนาที เติมน้ำกลั่น 35 มล. และ KOH ความเข้มข้น 2 โมลาร์ ปริมาณ 1 มล. ลงในส่วนผสมแล้วกวนต่ออีก 40 นาที ส่วนผสมถูกทำให้ร้อนเป็นเวลา 15 นาที เพื่อให้เมทานอลระเหย ปล่อยให้เย็นแล้วกรอง สังกะสีเอทาโนเอต (CH_3COOZn) และโพแทสเซียมเฮกซาไซยาโนเฟอเรต ($K_4[Fe(CN)_6]$) ที่เตรียมขึ้นใหม่อย่างละ 1 มล. ก่อนถ่ายโอนไปยังขวดปริมาตร 50 มล. แล้วปรับปริมาตรด้วยน้ำกลั่น ส่วนผสมถูกเขย่าและหมุนเหวี่ยงเป็นเวลา 4 นาที ส่วนที่เป็นของเหลวถูกเทลงในบีกเกอร์อย่างระมัดระวังและทิ้งกากที่เหลือไป เติม Fuller's Earth 0.50 มก. ลงในของเหลวที่เทส่วนผสมแล้วเขย่าให้ทั่วและปล่อยให้ตั้งเป็นเวลา 3 นาทีที่อุณหภูมิห้อง ปรับค่า pH ของสารละลายเพิ่มขึ้นโดยการเติมสารละลาย KOH 0.01 M ลงในส่วนผสม ณ จุดนี้และสารละลายสุดท้ายถูกปรับปริมาตรเป็น 50 มล. ด้วยน้ำกลั่น หลังจากนั้นทำการวัดด้วยเทคนิค UV-visible spectrophotometer เปรียบเทียบกับกราฟมาตรฐานความเข้มข้นของสารนิโคตินเพื่อหาความเข้มข้น นำมาวิเคราะห์หาสารนิโคตินด้วยเทคนิค UV-visible spectrophotometer บันทึกข้อมูลแล้วนำไปวิเคราะห์ทางสถิติโดยพิจารณาค่า *p*-value น้อยกว่า 0.05 เป็นระดับที่มีนัยสำคัญ

ผลการวิจัยและอภิปรายผล

สารนิโคตินถูกนำมาวิเคราะห์ทำกราฟมาตรฐานความเข้มข้นของสารนิโคตินเพื่อหาความเข้มข้นของสารนิโคตินที่อยู่ในใบยาสูบของบุหรี่ด้วยเทคนิค UV-visible spectrophotometer ได้กราฟดังภาพที่ 3 หลังนั้นนำตัวอย่างบุหรี่จำนวน 10 มวนจากบุหรี่ 5 เครื่องหมายการค้า ใบยาสูบในประเทศไทย โดยตั้งชื่อตัวอย่างเป็น TM1, TM2, TM3, TM4 และ TM5 ใบยาสูบที่นำเข้าจากต่างประเทศ โดยตั้งชื่อตัวอย่างเป็น TN1, TN2, TN3, TN4 และ TN5 ลักษณะใบยาสูบถูกวิเคราะห์ลักษณะภายนอกโดยกล้องสเตอริโอไมโครสโคป (Stereo microscope) ที่มีกำลังขยายสูง ซึ่งจะช่วยให้เห็นภาพและรายละเอียด ของใบยาสูบที่ชัดเจนครบถ้วนยิ่งขึ้น ดังภาพที่ 4

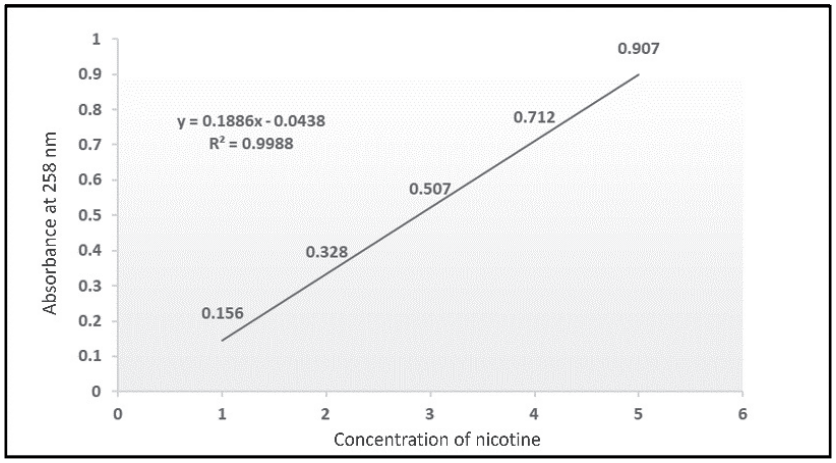


Figure 3 Nicotine concentration standard curve (Calibration curve 0.15 to 1.0 mg/g)

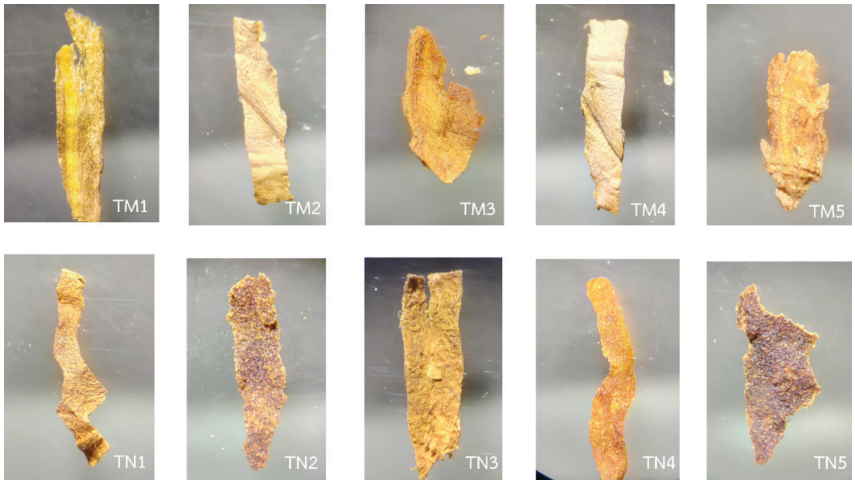


Figure 4 Illustration of tobacco leaves produced in Thailand (TM1, TM2, TM3, TM4 and TM5) and tobacco leaves imported from abroad (TN1, TN2, TN3, TN4 and TN5) from Stereo microscope

calibration curve เทียบของกราฟความเข้มข้นของการดูดกลืนแสงเป็นเส้นตรงดังที่แสดงไว้ด้านบน จากความสัมพันธ์เชิงเส้นตรงระหว่างความเข้มข้นและการดูดกลืนแสงของนิโคตินบริสุทธิ์ สามารถหาค่าสัมประสิทธิ์การดูดกลืนแสงของตัวอย่างได้โดยใช้กฎ Beer-Lambert law

$$A = \varepsilon bc$$

โดยที่ C คือ ความเข้มข้นของนิโคติน, ε คือ ค่าสัมประสิทธิ์การดูดกลืนแสงของตัวอย่าง, b คือความยาวเส้นทางผ่านตัวอย่าง

จากภาพที่ 4 แสดงถึงลักษณะใบยาสูบที่ผลิตในประเทศไทยและในต่างประเทศ พบว่า ใบยาสูบในประเทศมีลักษณะสีที่อ่อนกว่าใบยาสูบของที่ผลิตในต่างประเทศ อาจเป็นผลมาจากภูมิอากาศและภูมิประเทศ รวมถึงระยะเวลาการผลิตเพื่อเป็นผลิตภัณฑ์ออกมา (ตัวอย่างทุกมวนถูกผลิตปี 2023)

การสกัดสารนิโคตินออกจากยาสูบโดยใช้ตัวทำละลายที่เป็นด่างและสารอินทรีย์ ตามกระบวนการทดลอง เพื่อตรวจสอบความแม่นยำว่าสารที่สกัดออกมาเป็นสารนิโคติน ได้นำสารตัวอย่างไปวิเคราะห์ด้วยเครื่องแก๊สโครมาโทกราฟี - แมสสเปกโตรมิเตอร์ (Gas Chromatography - Mass Spectrometer, GC-MS) ซึ่งเป็นเครื่องมือที่มีประสิทธิภาพสูงมากในการวิเคราะห์หาสารประกอบอินทรีย์ประเภทต่าง ๆ เนื่องจากเป็นเครื่องมือที่ใช้เพื่อการวิเคราะห์เชิงคุณภาพและเชิงปริมาณที่ต้องการความแม่นยำสูง สามารถเปรียบเทียบผลวิเคราะห์กับฐานข้อมูล (Library) เพื่อความถูกต้องได้ ภาพที่ 5 แสดงถึงผลการวิเคราะห์องค์ประกอบของสารสกัดพบว่าสามารถสกัดสารนิโคตินออกมาได้จริง

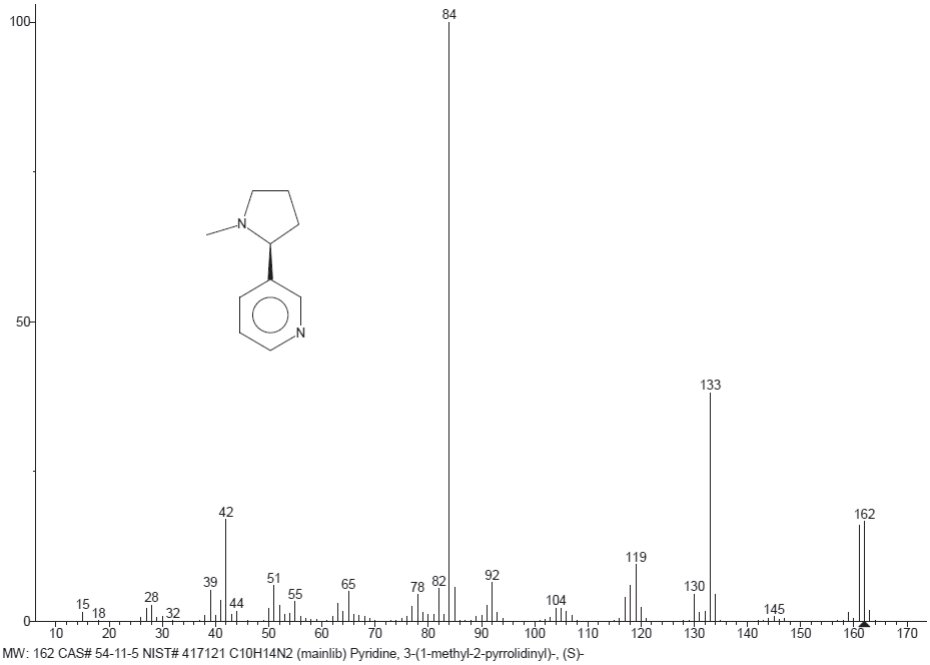


Figure 5 GC-MS chromatogram of nicotine

การศึกษาความเข้มข้นของนิโคตินในตัวอย่างบุหรี่ต่าง ๆ โดยใช้เครื่องยูวี-วิสิเบิล สเปกโทรโฟโตมิเตอร์เนื่องจากนิโคตินจะถูกออกซิไดซ์โดยโพแทสเซียมเปอร์แมงกาเนตภายใต้สภาวะพื้นฐานทำให้เกิดผลิตภัณฑ์สีเขียวที่ละลายน้ำได้โดยมีค่าการดูดกลืนแสงสูงสุดที่ 610 นาโนเมตร การก่อตัวของผลิตภัณฑ์ที่ละลายน้ำได้สีเขียวเกิดจากการลดโพแทสเซียมเปอร์แมงกาเนตไปเป็นแมงกาเนตซึ่งเป็นสีเขียว การดูดกลืนแสงของผลิตภัณฑ์สีเขียวเป็นสัดส่วนโดยตรงกับความเข้มข้นของนิโคตินบริสุทธิ์ ซึ่งค่าการดูดกลืนแสงสูงสุดของสารมาตรฐานนิโคตินที่เตรียมไว้ถูกเทียบกับสารตัวอย่างโดยใช้เครื่องยูวี-วิสิเบิล สเปกโทรโฟโตมิเตอร์ที่ความยาวคลื่นสูงสุด 610 นาโนเมตร

ผลการทดลองจากตารางที่ 1 แสดงผลของความเข้มข้นของสารนิโคตินในใบยาสูบที่ผลิตในประเทศไทยและนำเข้าจากต่างประเทศ พบว่า สารนิโคตินในใบยาสูบที่ผลิตในประเทศไทยมีปริมาณความเข้มข้นที่ไม่สูง เมื่อเปรียบเทียบกับใบยาสูบที่ถูกนำเข้าจากต่างประเทศ แต่ก็พบว่า TM1 มีปริมาณสูงที่สุดเมื่อเทียบกับแหล่งผลิตในประเทศไทย (TM1 11 ± 0.45 , TM2 9 ± 0.50 , TM3 8 ± 0.86 , TM4 8 ± 0.44 และ TM5 10 ± 0.52) แม้ผลการทดลองพบว่าสารนิโคตินที่อยู่ใบยาสูบมากกว่าของที่ผลิตในประเทศไทย แต่ก็มีงานวิจัยที่ศึกษาแหล่งที่มาของใบยาสูบที่มาจากลำต้นหรือส่วนต่าง ๆ ของลำต้น ทำให้มีปริมาณสารนิโคตินที่แตกต่างกันด้วยสารนิโคตินในต้นยาสูบชนิดเดียวกันก็แตกต่างกันไปตามตำแหน่งของใบ[11] ปริมาณนิโคตินในใบยาสูบพบว่ามี 1.22% (cutter), 2.87% (leaf) และ 3.60% (tip) ส่วนผสมยาสูบที่ใช้ในการผลิตบุหรี่ยี่ห้อใดยี่ห้อหนึ่งจะมีสัดส่วนของใบยาสูบ ทำให้ปริมาณนิโคตินในบุหรี่แต่ละยี่ห้อแตกต่างกัน

สรุปผลวิจัย

ปริมาณนิโคตินในบุหรี่ 10 ยี่ห้อที่มีจำหน่ายตามร้านสะดวกซื้อโดยใช้เทคนิคยูวี-วิสิเบิล สเปกโทรโฟโตมิเตอร์ การวิเคราะห์ปริมาณนิโคตินในแบรนด์บุหรี่ในประเทศไทยและบุหรี่นำเข้าพบว่า พบนิโคตินสูงสุดในแบรนด์บุหรี่นำเข้า (TN3 = 21 ± 0.25 มิลลิกรัม/กรัม) ระดับนิโคตินต่ำสุดที่พบในบุหรี่ยี่ห้อนำเข้า (TN5 = 11 ± 0.54 มิลลิกรัม/กรัม) นอกจากนี้ยังพบว่าแบรนด์บุหรี่ของประเทศไทยปริมาณนิโคตินต่ำ (8 -11 มิลลิกรัม/กรัม) อย่างไรก็ตามข้อมูลที่ได้ควรนำมาศึกษาต่อไปเพื่อศึกษาโดยละเอียดด้วยปัจจัยและสภาวะที่เกี่ยวข้องกับปริมาณสารนิโคตินในใบยาสูบของบุหรี่ ซึ่งประโยชน์ที่ได้รับจากงานวิจัยนี้เพื่อให้ทราบว่าสารนิโคตินที่มีอยู่ในบุหรี่ที่เหลือจากการสูบมีปริมาณเปลี่ยนแปลงไปในทิศทางใดอาจจะเพิ่มขึ้น เท่าเดิม หรือน้อยลง นำข้อมูลที่ได้แนะนำและประชาสัมพันธ์ภัยของการสูบบุหรี่

กิตติกรรมประกาศ

ผลงานวิจัยที่ตีพิมพ์นี้ ได้รับทุนสนับสนุนจากนายแพทย์ปราเสริฐ ปราสาททองโอสถ แพทยสมาคมแห่งประเทศไทยฯ

Table 1 Nicotine concentration in tobacco leaves produced in Thailand and imported from abroad

Example of cigarettes	Nicotine concentration in tobacco leaves (mg/g)
TM1	11 ± 0.45
TM2	9 ± 0.50
TM3	8 ± 0.86
TM4	8 ± 0.44
TM5	10 ± 0.52
TN1	19 ± 0.59
TN2	18 ± 0.63
TN3	21 ± 0.25
TN4	16 ± 0.81
TN5	11 ± 0.54

เอกสารอ้างอิง

1. Henningfield JE, Stapleton JM, Benowitz NL, Grayson RF, London ED. Higher levels of nicotine in arterial than in venous blood after cigarette smoking. Drug Alcohol Dependence. 1993;33:23-9.
2. Mishra A, Chaturvedi P, Datta S, Sinukumar S, Joshi P, Garg A. Harmful effects of nicotine. Indian J Med Paediatric Oncol. 2015;36:24-31.
3. Melikian AA, Djordjevic MV, Chen S, Richie J, Jr., Stellman SD. Effect of delivered dosage of cigarette smoke toxins on the levels of urinary biomarkers of exposure. Cancer Epidemiol Biomarkers Prev. 2007;16:1408-15.
4. Song MA, Benowitz NL, Berman M, Brasky TM, Cummings KM, Hatsukami DK, et al. Cigarette Filter Ventilation and its Relationship to Increasing Rates of Lung Adenocarcinoma. J Natl Cancer Inst. 2017;109.
5. Caraway JW, Ashley M, Bowman SA, Chen P, Errington G, Prasad K, et al. Influence of cigarette filter ventilation on smokers' mouth level exposure to tar and nicotine. Regul Toxicol Pharmacol. 2017;91:235-9.
6. McAdam K, Eldridge A, Fearon IM, Liu C, Manson A, Murphy J, et al. Influence of cigarette circumference on smoke chemistry, biological activity, and smoking behaviour. Reg Toxicol Pharmacol. 2016;82:111-26.
7. Poppendieck D, Khurshid S, Emmerich S. Measuring Airborne Emissions from Cigarette Butts: Literature Review and Experimental Plan Final Report to U.S. Food and Drug Administration under Interagency Agreement #244-15-9012 Measuring Airborne Emissions from Cigarette Butts: Literature Review and Experimental Plan Final Report to U.S. Food and Drug Administration under Interagency Agreement #244-15-90122016.
8. Hyodo T, Minagawa K, Inoue T, Fujimoto J, Minami N, Bito R, et al. Estimation of mouth level exposure to smoke constituents of cigarettes with different tar levels using filter analysis. Reg Toxicol Pharmacol. 2013;67:486-98.
9. Benowitz NL, Hukkanen J, Jacob P, 3rd. Nicotine chemistry, metabolism, kinetics and biomarkers. Handb Exp Pharmacol. 2009;192:29-60.
10. Alberti S, Sotiropoulou M, Fernández E, Solomou N, Ferretti M, Psillakis E. UV-254 degradation of nicotine in natural waters and leachates produced from cigarette butts and heat-not-burn tobacco products. Environmental Res. 2021;194:110695.
11. Kozlowski LT, Mehta NY, Sweeney CT, Schwartz SS, Vogler GP, Jarvis MJ, et al. Filter ventilation and nicotine content of tobacco in cigarettes from Canada, the United Kingdom, and the United States. Tobacco Control. 1998;7:369-75.

Original Article

การสำรวจพฤติกรรมการบริโภคยาสูบและปัจจัยที่มีผลต่อพฤติกรรมการสูบบุหรี่ของนักศึกษามหาวิทยาลัยกรุงเทพธนบุรี

Survey of tobacco consumption behavior and factors affecting smoking behavior of students at Bangkokthonburi University

อัมพร กรอบทอง, อาทิตยา ญาติสมบูรณ์, ณัฐวรรณ สาสิงห์, พงศ์ธร สุโฆสิต, ลลิตา หงษ์เหิรสถิตย์, ธิติยา มีชัย*

Amporn Krobthong, Artitaya Yatsomboon, Nattawan Sasingh, Phongthon Sukosi, Lalita Honghernsthit, Titiya Meechai*

คณะแพทยศาสตร์ มหาวิทยาลัยกรุงเทพธนบุรี ทวีวัฒนา กรุงเทพฯ 10170

Faculty of Medicine, Bangkokthonburi University, Thawi Watthana, Bangkok 10170, Thailand

* Corresponding author: E-mail: titiya.mee@bkkthon.ac.th, Tel: 088-9493956

บทคัดย่อ การบริโภคยาสูบเป็นปัจจัยเสี่ยงที่สำคัญที่ทำให้เกิดผลกระทบต่อสุขภาพหลายประการ โดยเฉพาะอย่างยิ่งกับกลุ่มโรคไม่ติดต่อ เช่น โรคมะเร็ง โรคหัวใจ และโรคหลอดเลือดสมอง นอกจากนี้การสูบบุหรี่ยังส่งผลเสียต่อระบบต่าง ๆ ของร่างกาย รวมถึงสุขภาพฟันและช่องปากอีกด้วย คณะผู้วิจัยจึงสนใจศึกษาพฤติกรรมการบริโภคยาสูบและปัจจัยที่มีผลต่อพฤติกรรมการสูบของนักศึกษามหาวิทยาลัยกรุงเทพธนบุรี เนื่องจากวัยรุ่นในช่วงนี้มีการเปลี่ยนแปลงทางด้านร่างกาย จิตใจ และสังคม โดยเฉพาะด้านอารมณ์ที่แปรปรวนและมีความเครียด ซึ่งหากไม่สามารถจัดการได้ก็อาจหันไปสูบบุหรี่เพื่อลดความเครียด อีกทั้งยังมีความเชื่อที่ผิดเกี่ยวกับผลกระทบจากการสูบบุหรี่ คณะผู้วิจัยได้ทำการสำรวจและเก็บข้อมูลจากกลุ่มตัวอย่างนักศึกษามหาวิทยาลัยกรุงเทพธนบุรี จำนวน 583 คน ซึ่งได้รับการตอบแบบสอบถามครบถ้วน 478 คน การวิเคราะห์ข้อมูลโดยใช้โปรแกรม SPSS พบว่า ผลิตภัณฑ์ยาสูบที่นักศึกษาส่วนใหญ่เลือกใช้คือบุหรี่ไฟฟ้า ซึ่งมีสัดส่วนถึงร้อยละ 52.2 โดยมีค่าเฉลี่ยอยู่ที่ 4.34 และส่วนเบี่ยงเบนมาตรฐาน 0.78 แสดงให้เห็นว่า ผู้ตอบแบบสอบถามส่วนใหญ่เห็นด้วยกับการจัดพื้นที่สำหรับสูบบุหรี่ ในขณะเดียวกันกลุ่มตัวอย่างส่วนใหญ่ทราบถึงอันตรายจากการสูบบุหรี่มวน แต่กลับมีจำนวนน้อยที่ไม่ทราบว่า บุหรี่ไฟฟ้าก็มีอันตราย ทำให้ทัศนคติของผู้ตอบแบบสอบถามส่วนใหญ่เลือกที่จะสูบบุหรี่ไฟฟ้าแทนบุหรี่ธรรมดา ผลการศึกษานี้เป็นข้อมูลสำคัญที่สามารถนำไปใช้ในการวางแผนป้องกันและแก้ไขปัญหาการสูบบุหรี่ในกลุ่มวัยรุ่น และเผยแพร่ความรู้เกี่ยวกับพิษภัยของยาสูบในสังคมได้อย่างมีประสิทธิภาพ

คำสำคัญ พฤติกรรมการสูบ, การบริโภคยาสูบ, ปัจจัยที่มีผลต่อพฤติกรรมการสูบ

Abstract Tobacco consumption is a significant risk factor that affects health, contributing to various diseases, especially non-communicable diseases such as cancer, heart disease, and stroke. Smoking also negatively impacts oral health, including teeth and gums. The researchers aimed to study tobacco consumption behavior and the factors influencing smoking behavior among students

Correspondence to: Titiya Meechai

Faculty of Medicine, Bangkokthonburi University

Thawi Watthana, Bangkok 10170, Thailand

Tel: 088-9493956

E-mail: titiya.mee@bkkthon.ac.th

J Med Glob 2024 Sep; 3(3)

Website: https://he01.tci-thaijo.org/index.php/JMedGlob

ISSN: 2821-918X (Online)

Received 26 August 2024; revised 25 November 2024; accepted 2 December 2024

How to cite this article: Amporn Krobthong, Artitaya Yatsomboon, Nattawan Sasingh, Phongthon Sukosi, Lalita Honghernsthit, Titiya Meechai. Survey of tobacco consumption behavior and factors affecting smoking behavior of students at Bangkokthonburi University. J Meb Glob. 2024 Sep;3(3): 58-64.

at Bangkokthonburi University. Adolescents experience changes in physical, mental, and social aspects, with fluctuating moods and stress. If not managed properly, they may turn to smoking to relieve stress and may hold misconceptions about the effects of smoking. The survey was conducted with 583 respondents, and 478 of them provided complete data for analysis. Data analysis using SPSS revealed that the most selected tobacco product was e-cigarettes, with 52.2% of respondents, an average score of 4.34, and a standard deviation (SD) of 0.78. This indicated that the majority of respondents agreed with the establishment of designated smoking areas. Additionally, most respondents were aware of the dangers of traditional cigarettes, but a smaller number were unaware that e-cigarettes are also harmful. As a result, their attitude led most of them to choose e-cigarettes over traditional cigarettes. The findings of this study provide essential data that can be used in planning preventive measures and solutions to smoking problems among adolescents, as well as in promoting awareness of the dangers of tobacco use in society.

Keywords: Smoking behavior, Tobacco consumption, Factors affecting smoking behavior

บทนำ

การบริโภคยาสูบเป็นปัจจัยเสี่ยงที่สำคัญต่อสุขภาพเป็นสาเหตุของการเกิดโรคต่าง ๆ รวมถึงกลุ่มโรคไม่ติดต่อ (non-communicable diseases: NCDs) [1-3] ที่เป็นปัญหาสาธารณสุขสำคัญของทั่วโลก ประเทศไทยได้มีการรณรงค์เพื่อแก้ไขปัญหาดังกล่าวมานาน โดยในภาพรวม อัตราการสูบบุหรี่มีแนวโน้มลดลง [4] แต่พบว่าในกลุ่มเยาวชนกลับมีการสูบเพิ่มขึ้น รวมถึงมีการใช้บุหรี่ในรูปแบบใหม่ ๆ เช่นบุหรี่ไฟฟ้ามากขึ้น

มูลนิธิรณรงค์เพื่อการไม่สูบบุหรี่ รายงานการสำรวจของ โครงการ International Tobacco Control Survey-Southeast Asia (Thailand) พบอัตราความชุกของการสูบบุหรี่ของวัยรุ่นเท่ากับ 22.4 ซึ่งสูงกว่าค่าเฉลี่ยของประเทศ ในประเด็นของปัจจัยแวดล้อมต่อการสูบบุหรี่ของวัยรุ่น พบว่าบุคคลในครอบครัว และเพื่อนสนิทต่างมีบทบาทสำคัญต่อพฤติกรรมการสูบบุหรี่ของวัยรุ่น [5, 6] โดยวัยรุ่นที่อาศัยอยู่ในครัวเรือนที่มีผู้สูบบุหรี่จะมีอัตราการสูบบุหรี่สูงกว่าครัวเรือนที่ไม่มีผู้สูบบุหรี่ นอกจากนี้วัยรุ่นที่สูบบุหรี่เกือบทั้งหมดมีเพื่อนสนิทสูบบุหรี่อย่างน้อย 1 คน และเกือบครึ่งมีเพื่อนสนิททั้ง 5 คนสูบบุหรี่ ปัจจัยที่ใช้ทำนายการสูบบุหรี่ ได้แก่ เพศ สถานภาพการศึกษา จำนวนเพื่อนสนิทที่สูบบุหรี่ พื้นที่ที่อนุญาตให้สูบบุหรี่ในบ้าน ความรู้สึกต่อตนเอง ความคิดเห็นต่อการสูบบุหรี่ และความถี่ในการเห็นฉลากคำเตือนบนซองบุหรี่

จากการศึกษาพฤติกรรมการสูบบุหรี่ของเยาวชน ในอำเภอท่าศาลา จังหวัดนครศรีธรรมราช พบพฤติกรรมเคยทดลองสูบบุหรี่ ร้อยละ 49.0 และปัจจุบันยังสูบร้อยละ 14.2 ปัจจัยที่สัมพันธ์กับพฤติกรรมการสูบบุหรี่ของเยาวชน ได้แก่ เพศ ระดับการศึกษา การอาศัยในพื้นที่ผลิตยาสูบ การสูบบุหรี่ของเพื่อนสนิท การสูบบุหรี่ของคนในครอบครัว และการรับรู้กฎหมายห้ามสูบบุหรี่ในที่สาธารณะ [7] มีการศึกษาวิจัยการสำรวจการบริโภคยาสูบและแอลกอฮอล์ร่วมกันในประเทศไทย โดยการประเมินร่วมกันพบว่า ยิ่งดื่มบ่อยเท่าไร โอกาสที่จะสูบบุหรี่ด้วยความถี่ก็จะยิ่งสูงขึ้น [8]

จากการสำรวจในจังหวัดกำแพงเพชร พบว่าจังหวัดกำแพงเพชรในกลุ่มวัยรุ่นอายุ 15 ปีขึ้นไป ซึ่งมีอัตรา การสูบบุหรี่สูงเป็นลำดับ 1 ของภาคเหนือร้อยละ 21.4 รองลงมาคือ จังหวัดลำพูน ร้อยละ 20.8 จังหวัดตาก ร้อยละ 20.5 จังหวัดเพชรบูรณ์ ร้อยละ 20.1 และจังหวดสุโขทัย ร้อยละ 18.3 ตามลำดับ (รายงานสถิติการบริโภคยาสูบของประเทศไทย พ.ศ. 2560) ซึ่งผลกระทบของการสูบบุหรี่ต่อสุขภาพร่างกาย เนื่องจากวัยนี้เป็นวัยที่มีการเปลี่ยนแปลงด้านร่างกาย จิตใจ อารมณ์ และสังคมมากที่สุด เมื่อเปรียบเทียบกันโดยเฉพาะอย่างยิ่งวัยรุ่นตอนกลาง อายุ 13 - 15 ปี ที่มีพัฒนาการด้านอารมณ์ที่มีลักษณะแปรปรวนบางครั้งประสบกับความเครียดและไม่สามารถจัดการด้วยตนเองได้ จึงหันไปสูบบุหรี่เพื่อลดความเครียดของตนเอง อีกทั้งมีความเชื่อที่ผิด เช่น สูบแล้วเท่ สูบแล้วไม่ติด ช่วยดึงดูดความสนใจจากเพศตรงข้าม ทำให้มีสมาธิ มีความมั่นใจในตนเองเพิ่มขึ้น สามารถลดความวิตกกังวล เป็นต้น จึงทำให้วัยรุ่นเริ่มต้นทดลองสูบบุหรี่จนกลายเป็น ผู้เสพติดบุหรี่ในที่สุด

จากสถิติและข้อมูลที่กล่าวไปข้างต้น คณะผู้วิจัยจึงสนใจศึกษาพฤติกรรมการบริโภคยาสูบ และปัจจัยที่มีผลต่อพฤติกรรมการสูบ ในนักศึกษามหาวิทยาลัยกรุงเทพธนบุรี เนื่องจากวัยรุ่นนั้นมีการเปลี่ยนแปลงทางด้านร่างกาย จิตใจ และสังคมมีพัฒนาการด้านอารมณ์ที่มี ลักษณะแปรปรวนหรือมีความเครียดไม่สามารถจัดการด้วยตนเองได้จึงหันไปสูบบุหรี่เพื่อลดความเครียดและมีความ เชื่อที่ผิด เพื่อนำผลมาประยุกต์ใช้แก้ไขปัญหาสุขภาพอนามัยของประชาชนในชุมชน จึงต้องทำการศึกษาในพื้นที่ชุมชน แนวทางในการวางแผนป้องกันการสูบบุหรี่

วัตถุประสงค์การทำวิจัย

เพื่อศึกษาศึกษาพฤติกรรมการบริโภคยาสูบและปัจจัยที่มีผลต่อพฤติกรรมการสูบ ในนักศึกษามหาวิทยาลัยกรุงเทพธนบุรี

วิธีดำเนินการวิจัย

ระเบียบวิธีวิจัยการศึกษานี้เป็นรูปแบบของโครงการ (study design) เป็น survey research ใช้รูปแบบการศึกษาประเภท cross- sectional study

ประชากรและกลุ่มตัวอย่าง

ประชากรที่ศึกษา (study population) นักศึกษามหาวิทยาลัยกรุงเทพธนบุรี แหล่งที่มาของประชากร (source of study population) นักศึกษามหาวิทยาลัยกรุงเทพธนบุรี ในคณะต่าง ๆ

การได้มาซึ่งประชากรที่ศึกษา (method of recruitment of study population) แบบสอบถามผ่านการประเมินความตรงเชิงเนื้อหา (content validity) คุณภาพด้านความเชื่อมั่น (reliability) ผู้วิจัยจะติดต่อขอจดหมายแนะนำตัว จากอธิการบดีมหาวิทยาลัยกรุงเทพธนบุรี เพื่อขอเข้าพบชี้แจ้งวัตถุประสงค์กับคณบดีทุกคณะ เพื่อขออนุญาตแจกแบบสอบถามกับนักศึกษา ทุกคนในมหาวิทยาลัย แบบสอบถามจะใช้แบบ google form ที่คณบดีอนุมัติ ส่งไปยังฝ่ายกิจการนักศึกษาของคณะนั้น ๆ การสร้างแบบสอบถามที่มีเนื้อหาครอบคลุมตามวัตถุประสงค์ของการวิจัยและตรวจสอบความเที่ยงตรงของเนื้อหาจากอาจารย์ที่ผู้ทรงคุณวุฒิจำนวน 3 ท่าน

กลุ่มตัวอย่าง: เกณฑ์การคัดเลือกประชากรที่ศึกษา (selection criteria)

มีเกณฑ์ก่อนเข้า (inclusion criteria) ประกอบด้วย

- นักศึกษามหาวิทยาลัยกรุงเทพธนบุรี
- มีความสมัครใจในการตอบแบบสอบถาม

เกณฑ์คัดเลือก (exclusion criteria) ประกอบด้วย

- นักศึกษา ที่ประสงค์ขอข้อมูล-แบบสอบถามคืน

จำนวนประชากรที่ต้องการจะศึกษา (sample size): จำนวนประชากร 21,479 คน (ข้อมูล ณ 30 กรกฎาคม 2565) ดังตารางที่ 1

วิธีการแบ่งกลุ่มประชากรที่ศึกษา (allocation of study population): การศึกษาแบ่งตามคณะต่าง ๆ / ชั้นปี การศึกษา

การเก็บข้อมูล (data collection) เครื่องมือที่ใช้เป็น แบบสอบถาม วิเคราะห์ข้อมูล ด้วยสถิติเชิงพรรณนา สถิติที่ใช้คือ ร้อยละ ค่าเฉลี่ย ค่าส่วนเบี่ยงเบนมาตรฐานและวิเคราะห์ข้อมูลทางสถิติด้วยโปรแกรมสำเร็จรูป SPSS

จริยธรรมวิจัย หนังสือรับรองโครงการวิจัยเลขที่ 11/2565 โดยคณะกรรมการพิจารณาจริยธรรมการวิจัยในมนุษย์ (วิทยาศาสตร์สุขภาพ) มหาวิทยาลัยกรุงเทพธนบุรี

ผลการวิจัยและการอภิปรายผล

กลุ่มตัวอย่างที่ใช้ในการศึกษา คือ นักศึกษามหาวิทยาลัยกรุงเทพธนบุรี และผู้มีความสมัครใจในการตอบแบบสอบถาม (บุคลากรภายในมหาวิทยาลัยกรุงเทพธนบุรี) การกำหนดกลุ่มตัวอย่างโดยใช้ ได้กลุ่มตัวอย่างจากจำนวนประชากร 21,479 คน (ข้อมูล ณ 30 กรกฎาคม 2565)

เทคนิควิธีการสุ่มตัวอย่าง ประชากรที่ใช้ในการวิจัยครั้งนี้ เป็นกลุ่มประชากรที่ทราบจำนวนที่แน่นอน ดังนั้นขนาดตัวอย่างจึง สามารถคำนวณได้จากสูตรที่ทราบขนาดตัวอย่างตามวิธีของ ยามาเน (Taro Yamane) ซึ่งสูตรในการคำนวณที่ใช้ (Yamane, 1973) ในการศึกษาครั้งนี้ คือ

$$n = \frac{N}{1 + Ne^2}$$

เมื่อ n คือ ขนาดกลุ่มตัวอย่าง

N คือ ขนาดประชากร

e คือ ความคลาดเคลื่อนของกลุ่มตัวอย่าง

(ระดับความเชื่อมั่นร้อยละ 95 สัดส่วนความคลาดเคลื่อนเท่ากับ 0.05)

จากการคำนวณโดยใช้สูตร ต้องใช้ขนาดตัวอย่างอย่างน้อย 393 คน ระดับความเชื่อมั่นร้อยละ 95 ดังนั้นขนาดตัวอย่าง ที่ถือได้ว่าผ่านเกณฑ์ตามที่เงื่อนไขกำหนด คือไม่น้อยกว่า 393 ตัวอย่างที่เหมาะสมของงานวิจัยนี้ ซึ่งพบว่าการดำเนินงานเก็บข้อมูลของแบบสอบถามของงานวิจัยครั้งนี้มีผู้สนใจทั้งสิ้นจำนวน 583 คน

การตอบแบบสอบถามมีจำนวนทั้งสิ้น 583 คน และพบว่ามีเพียง 478 คนที่ให้ข้อมูลครบถ้วนเพื่อใช้เป็นข้อมูลในการวิเคราะห์ได้ ซึ่งจำนวนข้อมูลที่ได้ยังอยู่ในเกณฑ์ขั้นต่ำของขนาดตัวอย่างที่ถูกคำนวนจากสูตรตามวิธีของ ยามาเน คือ 393 คน ซึ่งพบว่าจากภาพที่ 1 แสดงผู้ตอบแบบสอบถามส่วนใหญ่มีการศึกษาระดับปริญญาตรี คิดเป็นร้อยละ 80.5 (เป็นนักศึกษาชั้นปีที่ 1-4) รองลงมาคือระดับปริญญาโท คิดเป็นร้อยละ 12.40 และระดับปริญญาเอก คิดเป็นร้อยละ 5.90 จากจำนวนทั้งหมดเป็นผู้หญิงร้อยละ 67.4 และผู้ชายร้อยละ 32.9 อยู่ในช่วงอายุที่พบมากที่สุดคือ 20-25 ปี เนื่องจากส่วนใหญ่ในมหาวิทยาลัยเป็นนักศึกษาปริญญาตรี

ด้านทัศนคติต่อบุหรี่/บุหรี่ไฟฟ้า หรือ ผลิตภัณฑ์ยาสูบอื่น ๆ ของนักศึกษาในมหาวิทยาลัยกรุงเทพธนบุรีพบว่า ส่วนใหญ่มีความเห็นว่า “บุหรี่มวนอันตรายมาก เกิดโรคร้ายหลายชนิด” ถึงร้อยละ 50.3 รองลงมา “บุหรี่มวนอันตราย แต่บุหรี่ไฟฟ้าอันตรายน้อยกว่าบุหรี่มวน” ร้อยละ 31.7 ดังแสดงในภาพที่ 2 ซึ่งข้อมูลที่ได้มาอาจสรุปได้ว่าปัจจัยที่มีผลต่อการสูบมาจากการขาดความรู้ความเข้าใจว่าบุหรี่มวนและบุหรี่ไฟฟ้ามีความอันตรายจากข้อมูลเบื้องต้น จากงานวิจัยคนหนุ่มสาวในแคนาดาจำนวน 1.4 ล้านคนหรือร้อยละ 28 สูบบุหรี่ซึ่งเป็นสัดส่วนการสูบบุหรี่เพิ่มขึ้นอย่างมากเกิดขึ้นหลังอายุ 18 ปีจะมีพฤติกรรมการสูบบุหรี่ในคนหนุ่มสาวและอัตราการเลิกบุหรี่แตกต่างกันอย่างมากภายในกลุ่มย่อยของผู้ใหญ่วัยหนุ่มสาวโดยมีลักษณะเฉพาะตามสภาพแวดล้อมด้านอาชีพ [9] จึงทำให้ต้องมีการส่งเสริมและช่วยให้ความรู้แก่นักศึกษาและบุคลากรให้รู้ถึงอันตรายจากการสูบบุหรี่ ซึ่งการสูดควันบุหรี่มีความสัมพันธ์กับการระคายเคืองเรื้อรัง และมีผลต่อดวงตา จมูก และคอหอย ตั้งแต่ในปี 1964 มีการรายงานเกี่ยวกับการูบบุหรี่โดยกระทรวงสาธารณสุขของสหรัฐอเมริกาว่าเป็นปัจจัยที่ทำให้อาการจมูกอักเสบแย่ลง การเผาไหม้ของบุหรี่ก่อให้เกิดควันที่มีสารประกอบที่พิษมากมายซึ่งเป็นพิษต่อเยื่อบุผิวทางเดินหายใจ[10]

Table 1 Number of populations to be studied (sample size) (information as of 30 July 2022)

Education level	Students admitted				Number of students
	2565	2564	2563	2562	
Bachelor's degree	5,834	4,866	4,624	3,470	18,362
Master's degree	1,104	927	8	-	2,039
Doctoral degree	253	489	336	-	1,078
Total	6,741	6,282	4,986	3,470	21,479

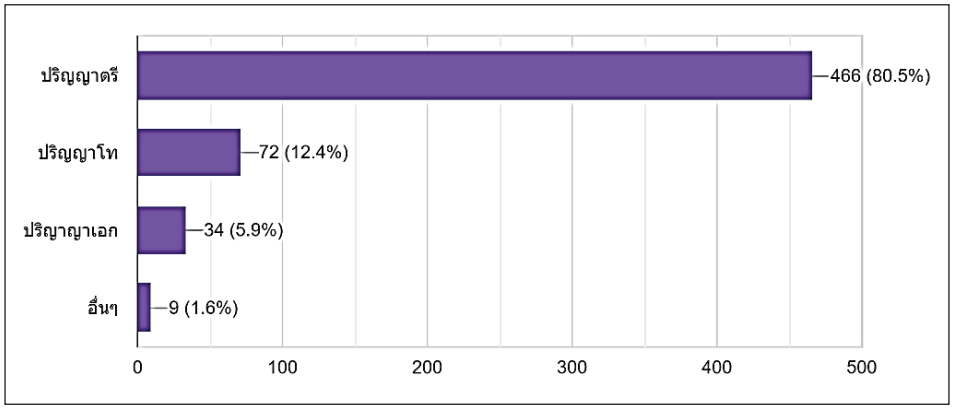


Figure 1 The number of students who responded to the questionnaire was divided by degree level.

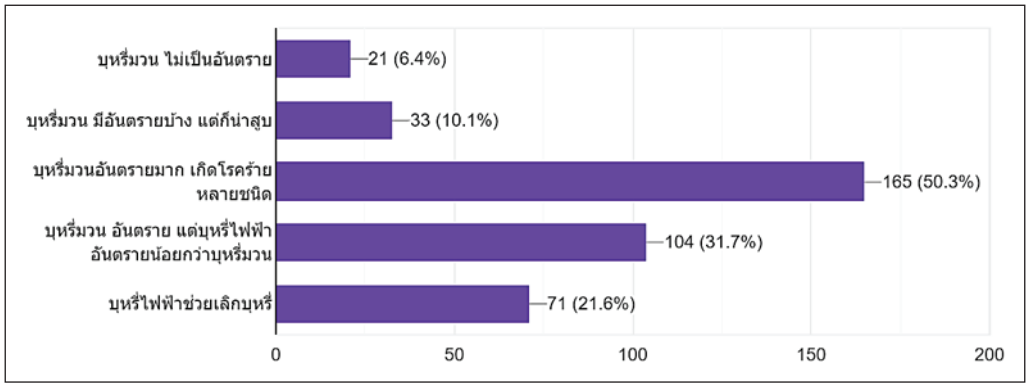


Figure 2 Attitudes towards cigarettes/e-cigarettes or other tobacco products.

จากภาพที่ 3 ผลิตภัณฑ์ยาสูบที่ผู้ตอบแบบสอบถามเลือกมากที่สุดคือ บุหรี่ไฟฟ้า ร้อยละ 52.2 ซึ่งอาจสรุปได้ว่า ประชากรในมหาวิทยาลัยกรุงเทพธนบุรี มีความสนใจการใช้บุหรี่ไฟฟ้า มากกว่าชนิดอื่น ๆ และจากแบบสอบถามพบว่า จำนวนผลิตภัณฑ์ยาสูบในแต่ละวันมากที่สุดคือ 1 มวนต่อวัน ในปี 2015 ในสหรัฐอเมริกาพบว่า พฤติกรรมการใช้บุหรี่ในวัยเรียนยังคงสูง และชนิดของยาสูบที่แพร่หลายที่สุดคือ คือบุหรี่ไฟฟ้า (ร้อยละ 16.0) บุหรี่ (ร้อยละ 9.3) ซิการ์ (ร้อยละ 8.6) และชนิดอื่น ๆ ประมาณครึ่งหนึ่งของนักเรียนมัธยมต้นและมัธยมปลาย พบพบว่าใช้ผลิตภัณฑ์ยาสูบตั้งแต่สองผลิตภัณฑ์ขึ้นไป และมีการใช้บุหรี่ผสมเมนทอลในกลุ่มผู้สูบบุหรี่อายุน้อยเพราะมีความเข้าใจว่ามีความรุนแรงน้อยกว่าการสูบบุหรี่ทั่วไป พฤติกรรมการสูบบุหรี่ในผู้ที่สูบบุหรี่ทุกวันพบว่าร้อยละ 87 เคยลองสูบเมื่ออายุ 18 ในวัยรุ่นพบว่าเกิดการเสพติดการสูบบุหรี่มักจะเกิดขึ้นเมื่อเริ่มสูบจนถึงวัยผู้ใหญ่ [11]

ผลการวิเคราะห์ด้วยโปรแกรม Statistical Package for the Social Sciences (SSPS) พบว่า มีท่านเห็นด้วยกับโครงการมหาวิทยาลัยปลอดบุหรี่ โดยจะจัดเขตปลอดบุหรี่ และ เขตสูบ (สำหรับผู้ที่ยังไม่สามารถเลิกได้) ดังตารางที่ 2

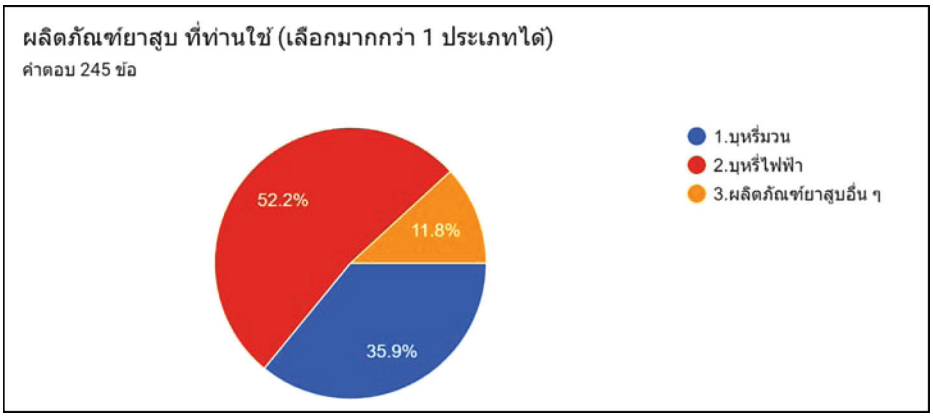


Figure 3 Respondents' tobacco products of choice (rolled cigarettes, e-cigarettes, and other tobacco products).

Table 2 Score level and number of people giving opinions on the smoke-free university project, which will organize smoke-free zones and smoking zones

Comment	Score level	Number of people
Strongly agree	5.0	232
Agree	4.0	194
I'm just not sure	3.0	41
Disagree	2.0	5
Strongly disagree	1.0	6

จากการวิเคราะห์ข้อมูลได้ค่าเฉลี่ย ($\bar{x}$) 4.34 และ ส่วนเบี่ยงเบนมาตรฐาน (SD) 0.78 ซึ่งสามารถสรุปได้ว่าตัวอย่างส่วนใหญ่เห็นด้วยกับการจัดพื้นที่สำหรับสูบบุหรี่ อย่างไรก็ตามยังคงต้องส่งเสริมด้านการบริการสาธารณสุข เพื่อกำหนดแนวทางในการดูแลเยาวชนในพื้นที่ ให้ลดการบริโภคยาสูบ

จากผลแบบสอบถามงานวิจัยนี้ประชากรตัวอย่างยังไม่รู้จักและทราบเนื้อหาเกี่ยวกับพระราชบัญญัติ ควบคุมผลิตภัณฑ์ยาสูบ พ.ศ. 2560 และยังไม่ทราบถึงปริมาณนิโคตินในบุหรี่ที่แน่ชัด ดังแสดงในภาพที่ 4

จากภาพที่ 5 ร้อยละ 50.0 ต้องการและประสงค์ที่จะพยายามเลิกสูบบุหรี่มวน แล้วมาสูบบุหรี่ไฟฟ้า ทำให้เห็นว่ากระแสการสูบบุหรี่ไฟฟ้ายังเป็นที่ต้องการ ซึ่งเป็นความเชื่อที่ผิดเป็นผลให้ยังควรมีการรณรงค์และให้ความรู้เกี่ยวกับการสูบบุหรี่ให้รู้ถึงโทษ จากงานวิจัยมีรายงานผู้ป่วยถึงภาวะแทรกซ้อนต่าง ๆ ที่เกิดจากการใช้บุหรี่ไฟฟ้าเพิ่มมากขึ้น ซึ่งเป็นที่นิยมโดยเฉพาะในหมู่คนหนุ่มสาวและอาจส่งผลเสียต่อสุขภาพได้ ภาวะแทรกซ้อนที่รายงาน ได้แก่ โรคปอดบวมจากไขมัน โรคปอดบวมอีโอซิโนฟิลิกเฉียบพลัน โรคปอดบวมจากภูมิไวเกิน โรคปอดบวมที่ลุกลาม การตกเลือดในถุงลมกระจาย ก้อนเนื้อในปอดที่เกิดปฏิกิริยาหลายก้อน หลอดลมฝอยอักเสบกึ่งเฉียบพลันและการบาดเจ็บในปากและลิ้น ยังมีการรายงานภาวะแทรกซ้อนที่เกิดขึ้นโดยตรงจากสารในอุปกรณ์และที่เกิดจากการระเบิดและการเผาไหม้ของอุปกรณ์ด้วยความถี่ที่เพิ่มขึ้น มีความจำเป็นเร่งด่วนในการออกกฎหมายและข้อจำกัดเกี่ยวกับการขายอุปกรณ์เหล่านี้ โดยพิจารณาจากความถี่ในการใช้งานที่เพิ่มขึ้นของผู้เยาว์[12]

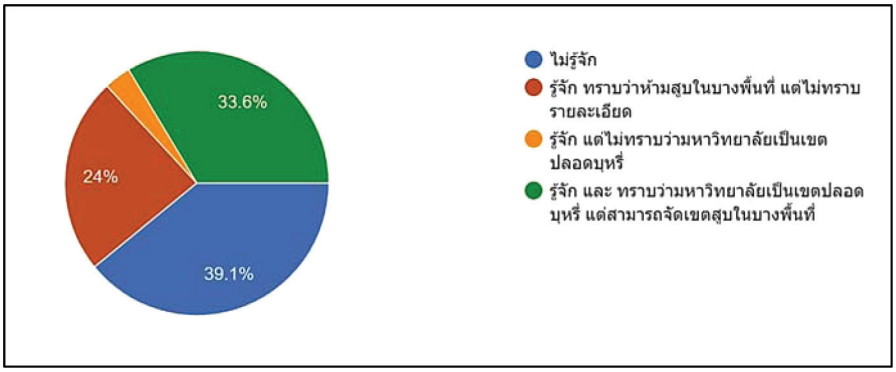


Figure 4 Persons who knew and knew the contents of the act regulate tobacco products

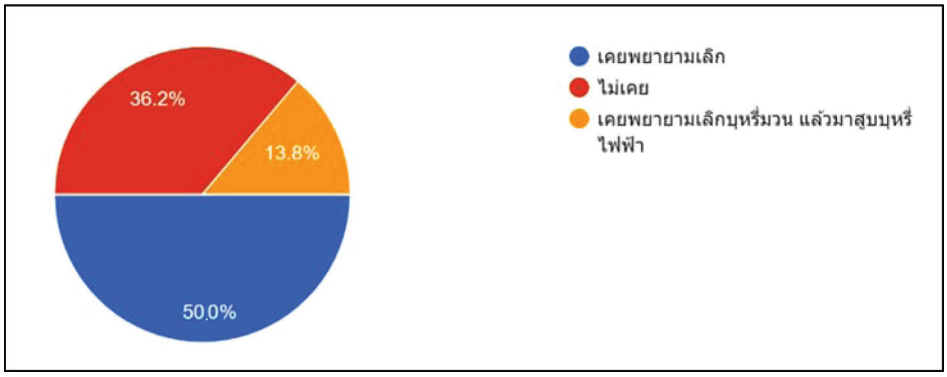


Figure 5 Sample population expressed their opinions about quitting smoking

การใช้บุหรี่ไฟฟ้าในปริมาณสูงในกลุ่มวัยรุ่นและเยาวชนมีสาเหตุจากหลายปัจจัย ซึ่งสามารถวิเคราะห์ได้คือ การรับรู้และทัศนคติที่ผิดเกี่ยวกับบุหรี่ไฟฟ้ากลุ่มวัยรุ่นมักมีความเข้าใจที่ผิดเกี่ยวกับบุหรี่ไฟฟ้า โดยเชื่อว่ามีความปลอดภัยกว่าบุหรี่มวน เนื่องจากไม่มีควันและมักถูกมองว่าเป็นทางเลือกที่ไม่เป็นอันตรายเท่ากับการสูบบุหรี่มวน ซึ่งทำให้เกิดความนิยมในกลุ่มนี้ การสูบบุหรี่ไฟฟ้ามีปัจจัยจากการกดดันจากเพื่อนฝูงที่มีทัศนคติที่เหมือนกันหรือพยายามตามกระแส โดยเฉพาะในสภาพแวดล้อมที่วัยรุ่นอาจมองว่าเป็นการแสดงออกถึงความทันสมัยและการเป็นส่วนหนึ่งของกลุ่ม การตลาดและการโฆษณาของผลิตภัณฑ์ การตลาดที่เน้นถึงข้อดีและความปลอดภัยของบุหรี่ไฟฟ้าโดยบริษัทผู้ผลิต รวมถึงการโฆษณาผ่านช่องทางต่าง ๆ ทำให้บุหรี่ไฟฟ้าดูเป็นสินค้าที่ไม่เป็นอันตราย และดึงดูดความสนใจจากกลุ่มวัยรุ่น ความเครียดและความต้องการหาทางออกจากปัญหาส่วนตัววัยรุ่นในช่วงที่มีการพัฒนาอารมณ์และสังคมอาจพบกับความเครียดและความวิตกกังวล ทำให้บางคนเลือกใช้บุหรี่ไฟฟ้าเพื่อลดความเครียดหรือหนีจากปัญหาทางจิตใจ

ดังนั้นควรมีการให้ความรู้เกี่ยวกับอันตรายของบุหรี่ไฟฟ้า ควรจัดทำโครงการให้ความรู้เกี่ยวกับอันตรายของบุหรี่ไฟฟ้าในกลุ่มวัยรุ่นและเยาวชน เพื่อให้พวกเขาทราบถึงผลกระทบต่อสุขภาพในระยะยาว รวมทั้งการเผยแพร่ข้อมูลที่ถูกต้องเกี่ยวกับสารพิษที่อยู่ในบุหรี่ไฟฟ้า ควรมีการควบคุมการโฆษณาและการตลาดของบุหรี่ไฟฟ้าโดยเฉพาะในช่องทางที่เข้าถึงกลุ่มวัยรุ่น เช่น สื่อสังคมออนไลน์หรือการใช้ผู้มีอิทธิพล (influencer) เพื่อป้องกันการดึงดูดให้กลุ่มวัยรุ่นหันมาใช้ การสร้างการสนับสนุนทางสังคมและจิตใจ การสนับสนุนทางอารมณ์และการให้คำปรึกษากับวัยรุ่นที่ประสบปัญหาทางอารมณ์หรือความเครียดจะช่วยให้พวกเขาสามารถจัดการกับความรู้สึกเหล่านั้นได้โดยไม่ต้องหันไปใช้บุหรี่ไฟฟ้าเป็นทางออก การส่งเสริมกิจกรรมทางเลือกเพื่อสุขภาพ เช่น การออกกำลังกาย การทำกิจกรรมสันทนาการ หรือการเข้าร่วมกลุ่มกิจกรรมที่มีประโยชน์จะช่วยให้วัยรุ่นสามารถหาทางออกจากความเครียดและลดการใช้บุหรี่ไฟฟ้า การจัดการการใช้บุหรี่ไฟฟ้าในปริมาณสูงจึงจำเป็นต้องมีการบูรณาการทั้งด้านการให้ความรู้ การควบคุมทางกฎหมาย และการสนับสนุนจากสังคมเพื่อช่วยป้องกันและลดการสูบบุหรี่ไฟฟ้าในวัยรุ่น

สรุปผลการวิจัย และข้อเสนอแนะ

จากการสำรวจแบบสอบถามพบว่ากลุ่มตัวอย่างส่วนใหญ่ทราบถึงอันตรายจากการสูบบุหรี่มวนแต่จำนวนน้อยที่ไม่ทราบว่าบุหรี่ไฟฟ้าอันตราย ซึ่งปัจจัยทำให้ทัศนคติของกลุ่มตัวอย่างเลือกที่จะสูบบุหรี่ไฟฟ้า และคำตอบส่วนใหญ่เป็นกลุ่มตัวอย่างนักศึกษาปริญญาตรี การวิเคราะห์ข้อมูลได้ค่าเฉลี่ย ($\overline{x}$) 4.34 และส่วนเบี่ยงเบนมาตรฐาน (SD) 0.78 ซึ่งสามารถสรุปได้ว่าตัวอย่างส่วนใหญ่เห็นด้วยกับการจัดพื้นที่สำหรับสูบบุหรี่

งานวิจัยนี้ประชากรตัวอย่างยังไม่รู้จักและทราบเนื้อหาเกี่ยวกับพระราชบัญญัติควบคุมผลิตภัณฑ์ยาสูบ พ.ศ. 2560 และยังไม่ทราบถึงปริมาณนิโคตินในบุหรี่ที่แน่ชัด ผลแบบสอบถามพบว่าการสูบบุหรี่ไฟฟ้าไม่ได้ช่วยลดการสูบบุหรี่ธรรมดาลง ยังทำให้อัตราการสูบบุหรี่โดยรวมทั้งธรรมดาและไฟฟ้าเพิ่มมากขึ้น ซึ่งผลที่ได้จากงานวิจัยนี้สามารถนำไปใช้ประโยชน์ในด้านการบริการสาธารณสุข เพื่อกำหนดแนวทางในการดูแลเยาวชนในพื้นที่ ให้ลดการบริโภคยาสูบ

ข้อเสนอแนะ

ผลของงานวิจัยนี้ทำให้เห็นว่า ควรมีการรณรงค์และให้ความรู้เกี่ยวกับการสูบบุหรี่ให้รู้ถึงโทษเพื่อการไม่สูบบุหรี่โดยการประชาสัมพันธ์พิษภัยของบุหรี่ กระตุ้นเตือนและเพื่อช่วยเหลือให้กำลังใจแก่ผู้ที่ต้องการเลิกสูบบุหรี่ และทำให้ผู้บริหารในระดับสูง และหัวหน้างานทุกฝ่ายจะต้องเห็นความสำคัญและให้ความร่วมมือในการกำหนดนโยบายที่ชัดเจน มีส่วนร่วมและดำเนินการตามนโยบายอย่างต่อเนื่อง งานวิจัยนี้เป็นที่จำนวนประชาชนที่ยังขาดความหลากหลายในช่วงวัย ทำให้ผลวิจัยไม่สามารถสรุปและมีเป้าหมายไม่ชัดแจ้ง ในงานวิจัยครั้งต่อไป ควรมีการจำกัดกลุ่มเป้าหมายและการคัดกรองกลุ่มอย่างเพื่อผลสรุปที่เฉพาะเจาะจงมากขึ้น และสามารถนำข้อมูลไปพัฒนาสังคม ชุมชนได้อย่างมีคุณภาพ

กิตติกรรมประกาศ

ผลงานวิจัยที่ตีพิมพ์นี้ ได้รับทุนสนับสนุนจากแพทยสภา (กองทุนพลตำรวจเอก นายแพทย์จงเจตน์ อาวเจนพงษ์)

เอกสารอ้างอิง

1. Bai S, Wang T, Tian Z, Cao K, Li J. Facile preparation of porous biomass charcoal from peanut shell as adsorbent. Scientific Reports. 2020;10:15845.
2. Mishra VK, Srivastava S, Muhammad T, Murthy PV. Relationship between tobacco use, alcohol consumption and non-communicable diseases among women in India: evidence from National Family Health Survey-2015-16. BMC Public Health. 2022;22:713.
3. Thakur J, Garg R, Narain J, Menabde N. Tobacco use: A major risk factor for non communicable diseases in South-East Asia region. Indian J Public Health. 2011;55:155-60.
4. Glantz S, Gonzalez M. Effective tobacco control is key to rapid progress in reduction of non-communicable diseases. Lancet (London, England). 2012;379:1269-71.
5. Oyston J. A fresh approach to tobacco control: raising the minimum legal age for access. Canadian Med Assoc J. 2017;189:E293-e4.
6. Kessel Schneider S, Buka SL, Dash K, Winickoff JP, O'Donnell L. Community reductions in youth smoking after raising the minimum tobacco sales age to 21. Tobacco Control. 2016;25:355-9.
7. Aungkulanon S, Pitayarangsarit S, Bundhamcharoen K, Akaleephan C, Chongsuvivatwong V, Phoncharoen R, et al. Smoking prevalence and attributable deaths in Thailand: predicting outcomes of different tobacco control interventions. BMC Public Health. 2019;19:984.
8. Witvorapong N, Vichitkunakorn P. Investigation of tobacco and alcohol co-consumption in Thailand: A joint estimation approach. Drug Alcohol Review. 2021;40:50-7.
9. Hammond D. Smoking behaviour among young adults: beyond youth prevention. Tobacco Control. 2005;14:181-5.

10. Dalhamn T. In vivo and in vitro ciliotoxic effects of tobacco smoke. Arch Environ Health. 1970;21:633-4.
11. Park-Lee E, Ren C, Cooper M, Cornelius M, Jamal A, Cullen KA. Tobacco Product Use Among Middle and High School Students United States, 2022. MMWR Morb Mortal Wkly Rep. 2022;71:1429-35.
12. Gülşen A, Uslu B. Health Hazards and Complications Associated with Electronic Cigarettes: A Review. Turkish Thoracic J. 2020;21:201-8.

Original Article

การวิเคราะห์ปริมาณอะฟลาทอกซินในเส้นใยบุหรี่ไทยและต่างประเทศ
An analysis of Aflatoxin levels in Thai and foreign cigarette fibers

พิชญ์ชาญ ศรีเจริญ[1,2], ธิติยา มีชัย[1], จินตพัฒน์ นทีวัฒนา[2], เจน มโนนุกุล[1,*]

Phitchan Sricharoen, Titiya Meechai, Jintapat Nateewattana and Jane Manonukul*

[1] คณะแพทยศาสตร์ มหาวิทยาลัยกรุงเทพธนบุรี ทวีวัฒนา กรุงเทพมหานคร 10170

[2] สาขาวิชาเทคโนโลยีสุขภาพ เครื่องสำอางและการชะลอวัย คณะวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยี มหาวิทยาลัยเทคโนโลยีราชมงคลพระนคร บางซื่อ กรุงเทพมหานคร 10800

[1] Faculty of Medicine, Bangkokthonburi University, Thawi Watthana, Bangkok 10170, Thailand

[2] Division of Health, Cosmetic and Anti-Aging Technology, Faculty of Science and Technology, Rajamangala University of Technology Phra Nakhon, Bangkok 10800, Thailand

* Corresponding author: Email: jane.man@bkkthon.ac.th

บทคัดย่อ งานวิจัยนี้ใช้เทคนิคการสกัดด้วยคลื่นเสียงอัลตร้าโซนิคเพื่อวิเคราะห์ปริมาณอะฟลาทอกซินในตัวอย่างบุหรี่ ทั้งที่ผลิตในประเทศไทยและนำเข้าจากต่างประเทศ การศึกษาได้พิจารณาพารามิเตอร์ที่เกี่ยวข้องกับสภาวะที่เหมาะสมต่อการสกัด ได้แก่ ปริมาณของสารละลาย เวลาการสกัด ชนิดของสารละลาย และอัตราส่วนของตัวทำละลายที่เหมาะสม ผลการวิจัยพบว่าสภาวะที่มีประสิทธิภาพสูงสุดสำหรับการสกัดอะฟลาทอกซินจากตัวอย่างบุหรี่คือการใช้สารละลายผสมระหว่างอะซีโตไนไตรล์และเมทานอล ในอัตราส่วน 1:1 v/v ด้วยปริมาตร 60 มิลลิลิตร และใช้เทคนิคอัลตร้าโซนิคสกัดเป็นเวลา 40 นาที ผลการศึกษาไม่พบการปนเปื้อนอะฟลาทอกซินในตัวอย่างบุหรี่ ทั้งจากประเทศไทยและต่างประเทศ แม้จะเก็บรักษาไว้นานถึง 12 เดือน ซึ่งแสดงให้เห็นว่าบุหรี่ที่จำหน่ายทั่วไปมีความปลอดภัยในด้านการปนเปื้อนอะฟลาทอกซินสำหรับผู้บริโภค

คำสำคัญ: อะฟลาทอกซิน; การสกัดด้วยคลื่นอัลตร้าโซนิค; เอชพีแอลซี; บุหรี่

Abstract This research employed an ultrasonic extraction technique to quantify Aflatoxin levels in cigarette samples. Parameters evaluated for optimal extraction conditions included solvent volume, extraction time, solvent type, and suitable solvent ratios. The results indicated that the most effective conditions for Aflatoxin extraction from cigarette samples were achieved using a solvent mixture of acetonitrile and methanol in a 1:1 v/v ratio, with a volume of 60 milliliters, and extraction conducted via ultrasonic equipment for 40 minutes. Analysis of both Thai and international

Correspondence to: Jane Manonukul
Faculty of Medicine, Bangkokthonburi University
Thawi Watthana, Bangkok 10170, Thailand
E-mail: jane.man@bkkthon.ac.th

J Med Glob 2024 Sep; 3(3)
Website: https://he01.tci-thaijo.org/index.php/JMedGlob
ISSN: 2821-918X (Online)

Received 26 August 2024; revised 21 November 2024; accepted 11 December 2024

How to cite this article: Phitchan Sricharoen, Titiya Meechai, Jintapat Nateewattana and Jane Manonukul. An analysis of Aflatoxin levels in Thai and foreign cigarette fibers. J Meb Glob. 2024 Sep;3(3): 65-69.

cigarette samples revealed no detectable levels of Aflatoxin in any sample, even after storage for up to 12 months. These findings suggested consumer safety concerning Aflatoxin contamination in cigarettes.

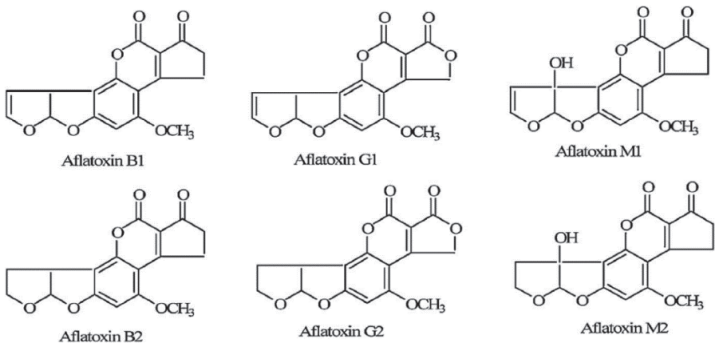
Keywords: Aflatoxin; Ultrasonic extraction; HPLC; Cigarette

บทนำ

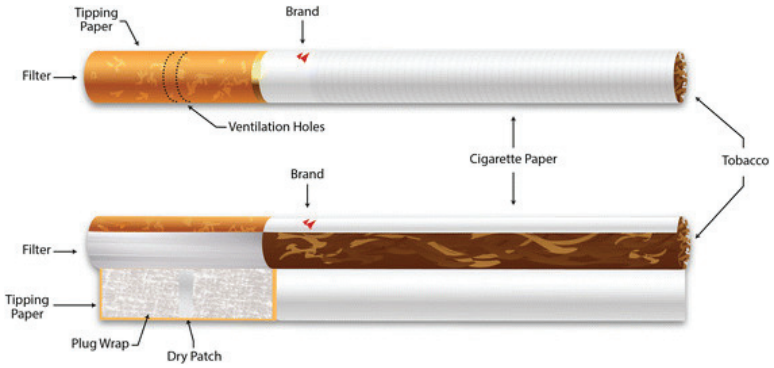
Aflatoxin เป็นสารพิษก่อมะเร็งในร่างกายที่เกิดผลกับอวัยวะ เช่น ตับ ไต ระบบทางเดินหายใจ ระบบทางเดินอาหาร ระบบประสาท ระบบสืบพันธุ์ และภูมิคุ้มกัน เป็นสารพิษที่ผลิตโดยเชื้อรา *Aspergillus flavus* และ *Aspergillus parasiticus* ในสภาวะที่มีความชื้นและอุณหภูมิที่เหมาะสมกับการเจริญเติบโตของเชื้อรา Aflatoxin สามารถปนเปื้อนในอาหารหลายชนิด เช่น เมล็ดถั่วแห้ง ข้าวโพด ข้าวฟ่าง มะพร้าว เครื่องเทศ รวมถึงผลิตภัณฑ์แปรรูปอาหาร ไม่ว่าจะเป็นอาหารของคนหรือสัตว์[1] นอกจากนี้ยังยากที่จะกำจัดด้วยความร้อนในการปรุงอาหาร เนื่องจากสามารถทนความร้อนได้ถึง 260 องศาเซลเซียส โดยทั่วไป Aflatoxin จะถูกทำลายด้วยวิธีทางเคมี เช่น ด่างและกรดเข้มข้น หรือการใช้รังสี แต่ยังคงไม่สามารถทำลายสารพิษนี้ได้ทั้งหมด และมักตกค้างอยู่ในอาหารที่เก็บรักษาไม่ถูกวิธี Aflatoxin ที่พบในธรรมชาติมีอยู่ 4 ชนิด คือ B1, B2, G1 และ G2 รวมถึง M1[2]

Aflatoxin B1 เป็นสารที่ก่อให้เกิดมะเร็งในตับของสัตว์ทดลอง จึงอาจก่ออันตรายต่อมนุษย์ได้ ประเทศไทยกำหนดให้การปนเปื้อนไม่เกิน 20 ไมโครกรัมต่ออาหาร 1 กิโลกรัม หรือ 20 พีพีบี ตามประกาศกระทรวงสาธารณสุขฉบับที่ 98 พ.ศ. 2529 และกำหนดให้การปนเปื้อนของ Aflatoxin ในถั่วลิสงไม่เกิน 15 พีพีบี โดยคณะกรรมการอาหารระหว่างประเทศ จากภาพที่ 1 สูตรที่เรียกตามอักษรนี้หมายถึงเมื่ออยู่ใต้แสง UV B (ประกอบด้วย B1 และ B2) จะเรืองแสงสีฟ้า ส่วน G จะเรืองแสงสีเขียว และ M หมายถึง Aflatoxin ที่พบในนมวัว โดยเป็นผลจากการเปลี่ยนแปลงของ Aflatoxin B ในอาหารผ่านกลไกของร่างกาย

บุหรี่เป็นผลิตภัณฑ์ทางการเกษตรที่ผลิตมาจากใบยาสูบซอยเป็นเส้นละเอียดแล้วขึ้นรูปเป็นมวน (ภาพที่ 2)[3] และบรรจุเก็บในซองเพื่อส่งไปยังท้องตลาด และวางจำหน่ายในห้างสรรพสินค้า ร้านสะดวกซื้อ และร้านโชห่วย ซึ่งมีสภาพแวดล้อมที่แตกต่างกัน เช่น ความชื้นและอุณหภูมิ ซึ่งอาจเป็นปัจจัยที่ส่งเสริมการเจริญเติบโตของเชื้อรา โดยเฉพาะ *Aspergillus flavus* และ *Aspergillus parasiticus* เชื้อราเหล่านี้จะสร้าง Aflatoxin สำหรับบุหรี่ที่ขายในท้องตลาดมีหลายยี่ห้อและมีระยะเวลาวันหมดอายุแตกต่างกัน โดยบุหรี่ไทยมีวันหมดอายุ 6 เดือน ในขณะที่บุหรี่ต่างประเทศ มีวันหมดอายุ 1 ปี



ภาพที่ 1 สูตรเคมีของ Aflatoxin [1]



ภาพที่ 2 ส่วนประกอบของบุหรี่ [3]

HPLC (High Performance Liquid Chromatography) เป็นเครื่องมือสำหรับแยกและวิเคราะห์สารประกอบที่ผสมอยู่ในตัวอย่าง โดยอาศัยหลักการความแตกต่างของอัตราการเคลื่อนที่ของสารประกอบบนเฟสคงที่ (stationary phase) โดยมีเฟสเคลื่อนที่ (mobile phase) เป็นตัวพาไป สารแต่ละชนิดจะถูกแยกออกมาเป็นส่วน ๆ ในเวลาที่ต่างกัน โดยสารที่แยกออกมาแต่ละชนิดจากคอลัมน์จะผ่านเข้าสู่อุปกรณ์ตรวจวัดสัญญาณด้วยตัวตรวจวัด (detector) ซึ่งสัญญาณที่บันทึกได้จะแปลผลออกมาเป็นโครมาโตแกรม (chromatogram) ที่มีลักษณะเป็นพีค (peak) ในการวิเคราะห์ผลจะนำพื้นที่ใต้พีคของแต่ละสารมาคำนวณ ผลเปรียบเทียบกับกราฟมาตรฐาน (calibration curve) ก็จะทราบปริมาณของสารในตัวอย่าง ปัจจุบันนิยมใช้เทคนิค HPLC ในการแยกและตรวจวัดปริมาณ Aflatoxin เนื่องจากสามารถตรวจวัดสารในปริมาณต่ำ (< 1 ng) โดยต้องทำการเปลี่ยน Aflatoxin ให้เป็นอนุพันธ์อื่นก่อน (derivatization) แล้วจึงตรวจวัดการเรืองแสงด้วย fluorescence detector ซึ่งเป็นวิธีการตรวจสอบที่มีความถูกต้องแม่นยำ[4-7]

การสกัดอะฟลาทอกซิน (Aflatoxin) จากเส้นใยบุหรี่ไทยและต่างประเทศโดยใช้เทคนิคอัลตร้าโซนิค (ultrasonic-assisted extraction, UAE) เป็นวิธีที่มีประสิทธิภาพและเป็นมิตรต่อสิ่งแวดล้อม โดย UAE ใช้คลื่นอัลตร้าโซนิคสร้างแรงเฉือนและโพรงอากาศ (cavitation) เพื่อเพิ่มอัตราการถ่ายโอนมวล ลดเวลาและปริมาณตัวทำละลายที่ใช้[8] ในการสกัดอะฟลาทอกซินจากเส้นใยบุหรี่ทั่วไปจะใช้ตัวทำละลายอินทรีย์ ร่วมกับการตั้งค่าความถี่คลื่นอัลตร้าโซนิคที่ 20-40 kHz หลังการสกัดอะฟลาทอกซินจะถูกวิเคราะห์ด้วยเทคนิค HPLC ช่วยให้สามารถเปรียบเทียบระดับการปนเปื้อนอะฟลาทอกซินในเส้นใยบุหรี่จากแหล่งต่าง ๆ ได้อย่างแม่นยำ โดยปัจจัยที่ส่งผลต่อระดับการปนเปื้อน ได้แก่ สภาพอากาศ การจัดการหลังการเก็บเกี่ยว และกระบวนการผลิตในแต่ละพื้นที่ ดังนั้นคณะผู้วิจัยจึงสนใจที่จะศึกษาปริมาณ Aflatoxin โดยใช้เทคนิค HPLC ในเส้นใยบุหรี่ไทยและบุหรี่ต่างประเทศ การศึกษา Aflatoxin ในเส้นใยบุหรี่มีความสำคัญ เนื่องจาก Aflatoxin เป็นสารพิษที่อาจปนเปื้อนในวัตถุดิบทางการเกษตร เช่น ใบยาสูบ ซึ่งมีผลต่อสุขภาพผู้บริโภค หากได้รับในปริมาณที่สูงเกินไป

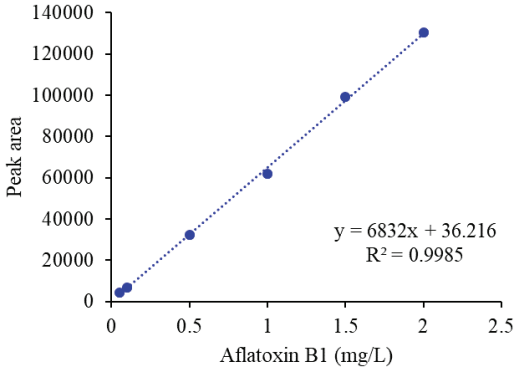
วิธีการดำเนินการวิจัย

ในการสกัด Aflatoxin จากตัวอย่างบุหรี่ นำตัวอย่างใบยาสูบที่แกะออกมาจากบุหรี่ น้ำหนัก 1 กรัม สกัดด้วยสารละลายผสมระหว่างแอซีโทไนไทรล์กับเมทานอลในอัตราส่วน 1:1 v/v ปริมาตร 60 มิลลิลิตร โดยทำการสกัดด้วยเครื่องอัลตราโซนิคนาน 40 นาที จากนั้นปั่นเหวี่ยงที่ความเร็ว 3000 รอบต่อนาที นาน 5 นาที แล้วนำสารละลายส่วนใสไปวิเคราะห์หาปริมาณ Aflatoxin ด้วยเทคนิค HPLC โดยใช้เฟสคงที่ชนิด Symmetry® C18 ขนาด 3.9x150 มม. 5 µm ภายใต้การควบคุมอุณหภูมิที่ 40 องศาเซลเซียส เฟสเคลื่อนที่ เป็นสารละลายผสมระหว่างอะซีโตไนไตรล์ เมทานอล และน้ำ (15:15:70 v/v/v) ที่อัตราการไหล 1 มิลลิลิตรต่อนาที โดยมีปริมาตรฉีด 10 ไมโครลิตร Aflatoxin ถูกตรวจวัดด้วยตัวตรวจวัดชนิดฟลูออเรสเซนต์ที่ความยาวคลื่นกระตุ้น 360 นาโนเมตร และความยาวคลื่นการคายแสงที่ 440 นาโนเมตร การทดลองดำเนินการซ้ำ 3 ครั้งสำหรับตัวอย่างแต่ละชนิด

ผลการวิจัยและอภิปรายผล

การหาสภาวะที่เหมาสมในการสกัด Aflatoxin จากบุหรี่

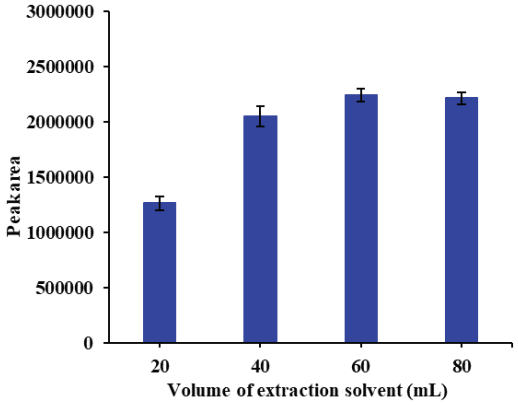
ทำการเตรียมสารมาตรฐาน Aflatoxin B1 ที่ความเข้มข้น 0.05 – 2 mg/L แล้วนำไปวิเคราะห์ด้วย HPLC จากภาพที่ 3 แสดงกราฟมาตรฐาน Aflatoxin B1 ซึ่งเป็นโมเดลในการวิเคราะห์นี้ ได้สมการเส้นตรงของกราฟมาตรฐาน y = 6832x + 36.216 โดยที่ R^2 = 0.9985 ซึ่งอยู่ในเกณฑ์ที่ยอมรับได้ ($R^2 \geq 0.995$) และจะนำสมการเส้นตรงของการหาปริมาณ Aflatoxin B1 มาใช้เป็นตัวอ้างอิงในการหาสภาวะที่เหมาะสมในการสกัดใบยาสูบจากบุหรี่โดยเทคนิคการสกัดแบบอัลตราโซนิค



ภาพที่ 3 กราฟมาตรฐาน Aflatoxin B1

ผลของปริมาตรตัวทำละลาย

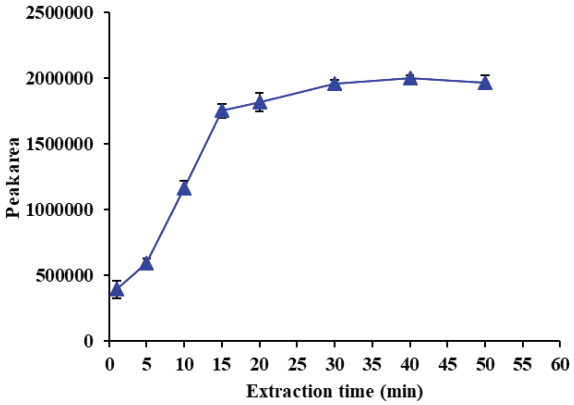
ในการสกัด Aflatoxin B1 จากตัวอย่างบุหรี่ เพื่อกำหนดปริมาตรขั้นต่ำที่จำเป็นในการสกัด Aflatoxin B1 อย่างสมบูรณ์ การทดลองนี้จะใช้ปริมาตรการสกัดด้วยตัวทำละลายแอซีโทไนไทรล์กับเมทานอลในอัตราส่วน 1:1 ปริมาตร 20, 40, 60 และ 80 มิลลิลิตร ใช้เวลาในการสกัดนาน 30 นาที ภาพที่ 4 แสดงให้เห็นว่าพื้นที่พีคของสารวิเคราะห์เพิ่มขึ้นตามปริมาตรการสกัดที่เพิ่มขึ้นจาก 40 ไปถึง 60 มิลลิลิตร และมีค่าคงที่ที่ 80 มิลลิลิตร ดังนั้นปริมาตรการสกัดของตัวทำละลายแอซีโทไนไทรล์กับเมทานอลในอัตราส่วน 40:60 v/v จึงถูกกำหนดไว้ที่ 60 มิลลิลิตร



ภาพที่ 4 ผลของปริมาตรตัวทำละลายที่ใช้ในการสกัด

ผลของเวลาในการสกัด

ในการศึกษาเวลาที่ใช้ในการสกัด Aflatoxin B1 จากตัวอย่างใบยาสูบในบุหรี่โดยใช้เทคนิคอัลตราโซนิคสกัดที่เวลา 1-50 นาที ผลการทดลองจากภาพที่ 5 พบว่าการสกัดเพิ่มขึ้นเมื่อเพิ่มเวลา จาก 1 นาที ถึง 40 นาที หลังจากนั้นปริมาณ Aflatoxin B1 เปลี่ยนแปลงน้อยมาก ดังนั้นเวลาในการสกัด 30 นาทีจึงเป็นเวลาที่เหมาะสมที่สุดเพราะให้ประสิทธิภาพการสกัดที่ดีที่สุด



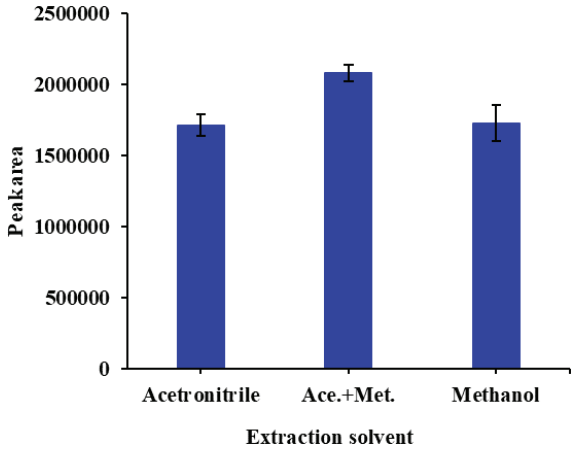
ภาพที่ 5 ผลของเวลาในการสกัด

ผลของชนิดตัวทำละลายในการสกัด

ตัวทำละลายอินทรีย์ที่ใช้โดยทั่วไปสำหรับ Aflatoxin B1 ได้แก่ อะซีโตไนไตรล์ และ เมทานอล จากภาพที่ 6 ชนิดตัวทำละลายในการสกัดให้ปริมาณ Aflatoxin B1 ของทั้ง อะซีโตไนไตรล์ และ เมทานอล ไม่แตกต่างกันมากนัก นอกจากนี้ยังตรวจสอบอัตราส่วนผสมอย่างง่ายของ 1:1 อะซีโตไนไตรล์ และ เมทานอล ผลลัพธ์นี้สามารถสังเกตได้ว่าพื้นที่พีคสูงสุดได้มาจากการใช้ 1:1 อะซีโตไนไตรล์ และ เมทานอล เป็นตัวทำละลายในการสกัดภายใต้เงื่อนไขการทดลองเดียวกัน และถูกใช้เป็นตัวทำละลายในการสกัดในการทดลองต่อไป

ปริมาณ Aflatoxin B1 ในบุหรี่ที่ผลิตในประเทศไทยและนำเข้าจากต่างประเทศ

จากการสุ่มตัวอย่างบุหรี่ทั้งที่ผลิตในประเทศไทย จำนวน 5 ยี่ห้อ และผลิตในต่างประเทศ จำนวน 5 ยี่ห้อ จากร้านค้าทั่วไป โดยไม่ได้คำนึงถึงสภาวะการเก็บรักษาบุหรี่ของแต่ละร้านค้า เพื่อที่จะทราบผลการวิจัยในสภาวะจริงของผู้บริโภค ทำการตรวจวัดในวันที่ซื้อบุหรี่มา ในวันที่ตั้งบุหรี่ทิ้งไว้ในอุณหภูมิห้อง (28 องศาเซลเซียส) เป็นเวลา 1 เดือน 6 เดือน และ 1 ปี จากตารางที่ 1 พบว่า ทุกตัวอย่างไม่ว่าจะเก็บไว้เป็นเวลานานสูงสุด 12 เดือน ก็ไม่พบ Aflatoxin B1 เลย ทั้งนี้อาจเกิดจากผู้ผลิตบุหรี่มีมาตรฐานในการผลิตที่ดีและปลอดภัยต่อผู้บริโภค การออกแบบผลิตภัณฑ์ตลอดจนการขนส่งและการเก็บสินค้าของร้านค้า ย่อมมีผลต่อการเจริญเติบโตของเชื้อ Aflatoxin B1 ทั้งสิ้น จากผลการทดลองทำให้เชื่อได้ว่า บุหรี่ที่ขายในท้องถิ่นไม่พบเชื้อ Aflatoxin B1 เลยในทุกตัวอย่างบุหรี่



ภาพที่ 6 ผลของชนิดตัวทำละลายในการสกัด

ตารางที่ 1 ปริมาณ Aflatoxin B1 ในใบยาสูบที่ผลิตในประเทศไทย (T) และนำเข้าจากต่างประเทศ (F)

ตัวอย่างบุหรี่	Aflatoxin B1 (mg/g)			
	Day 1	1 Month	6 Months	12 Months
T1	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.
T2	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.
T3	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.
T4	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.
T5	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.
F1	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.
F2	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.
F3	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.
F4	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.
F5	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.

N.D. = not detected

สรุปผลการวิจัย

งานวิจัยชิ้นนี้ได้ใช้เทคนิคอัลตราโซนิคในการสกัดหาปริมาณ Aflatoxin จากตัวอย่างบุหรี่ โดยมีการหาสภาวะที่เหมาะสมในการสกัด ได้แก่ ปริมาตรตัวทำละลาย เวลาที่ใช้ในการสกัด ชนิดของตัวทำละลาย และอัตราส่วนที่เหมาะสมของตัวทำละลายต่างๆ พบว่าสภาวะที่เหมาะสมต่อการสกัด Aflatoxin จากตัวอย่างบุหรี่คือการสกัดด้วยสารละลายผสมระหว่างอะซีโตไนไตรล์ กับเมทานอลในอัตราส่วน 1:1 v/v ปริมาตร 60 มิลลิลิตร ทำการสกัดด้วยเครื่องอัลตราโซนิคนาน 40 นาที จากการสุ่มตัวอย่างบุหรี่ไทยและต่างประเทศมาวิเคราะห์หาปริมาณ Aflatoxin พบว่าไม่มีตัวอย่างไหนที่ตรวจพบ Aflatoxin เลย ถึงแม้จะเก็บตัวอย่างไว้นานถึง 12 เดือนก็ตาม ทำให้เชื่อได้ว่าผู้บริโภคมีความปลอดภัยต่อเชื้อ Aflatoxin ในบุหรี่

เอกสารอ้างอิง

1. Jiang Y, Ogunade IM, Vyas D, Adesogan AT. Aflatoxin in dairy cows: toxicity, occurrence in feedstuffs and milk and dietary mitigation strategies. Toxins. 2021;13:283.
2. Campos-Avelar I, Colas de la Noue A, Durand N, Cazals G, Martinez V, Strub C, Fontana A, Schorr-Galindo S. *Aspergillus flavus* growth inhibition and aflatoxin b1 decontamination by streptomyces isolates and their metabolites. Toxins. 2021;13:340.
3. Stratton J, Shiplo S, Ward M, Babayan A, Stevens A, Edwards S. Assessing contraband tobacco in two jurisdictions: a direct collection of cigarette butts. BMC Public Health. 2016;16:622.
4. Areej Zuhair A, Mrwa Thamer H, Maha Muhamed K, Adel Saadi ALS, Noor Ibrahim K. Determination of Aflatoxins in feed by HPLC and PCR. J Food Pharm Sci. 2020;8:315-23.
5. Kim HJ, Lee MJ, Kim HJ, Cho SK, Park HJ, Jeong MH. Analytical method development and monitoring of Aflatoxin B1, B2, G1, G2 and Ochratoxin A in animal feed using HPLC with fluorescence detector and photochemical reaction device. Cogent Food Agriculture. 2017;3:1419788.
6. Hetmanski MT, Scudamore KA. A simple quantitative HPLC method for determination of Aflatoxins in cereals and animal feedstuffs using gel permeation chromatography clean-up. Food Additives Contaminants. 1989;6:35-48.
7. Gazioğlu I, Kolak U. Method validation for the quantitative analysis of Aflatoxins (B1, B2, G1, and G2) and Ochratoxin A in processed cereal-based foods by HPLC with fluorescence detection. J AOAC Int. 2015;98:939-45.
8. Gholizadeh S, Mirzaei H, Khandaghi J, Afshar Mogaddam MR, Javadi A. Ultrasound–assisted solvent extraction combined with magnetic ionic liquid based-dispersive liquid–liquid microextraction for the extraction of mycotoxins from tea samples. J Food Comp Analysis. 2022;114:104831.

Original Article

การคัดแยกเชื้อราผลิตเอนไซม์โปรติเอสจากลำไส้ไส้เดือนดินชนิด *Metaphire posthuma*

Isolation of fungi producing protease enzymes from the gut of earthworm *Metaphire posthuma*

รุ่งโรจน์ ไกรสิทธิพาณิชย์*

Rungroj Kraisittipanit*

อาจารย์สาขาชีววิทยา ศูนย์วิทยาศาสตร์สุขภาพพรีคลินิก คณะแพทยศาสตร์ มหาวิทยาลัยกรุงเทพธนบุรี

บทคัดย่อ ไส้เดือนดิน *M. posthuma* มีความสำคัญต่อคุณภาพทางนิเวศวิทยาดิน โดยจะกินซากพืชซากสัตว์แล้วถ่ายมูลที่มีประโยชน์เข้าสู่เนื้อดิน งานวิจัยนี้มีวัตถุประสงค์เพื่อศึกษาความสามารถในการสร้างเอนไซม์โปรติเอสจากเชื้อราที่คัดแยกได้มาจากลำไส้ของไส้เดือนดิน *M. posthuma* ผลการวิจัยแสดงให้เห็นว่า เชื้อราไอโซเลต E31 ไอโซเลต E39 และไอโซเลต E41 มีประสิทธิภาพในการผลิตเอนไซม์โปรติเอสในอาหารสูตร skim milk agar วัดสัดส่วนค่า C/G ของเชื้อราไอโซเลต E31 ไอโซเลต E39 และไอโซเลต E41 ได้ 1.17, 1.50 และ 1.08 ตามลำดับ โดยเชื้อราไอโซเลต E31 มีลักษณะสัณฐานวิทยาจัดอยู่ในสกุล *Mucor* ส่วนเชื้อรา E39 และ E41 จัดอยู่ในสกุล *Penicillium* ผลการวิจัยสามารถนำมาต่อยอดเพื่อสกัดเอนไซม์โปรติเอสสำหรับทดสอบฤทธิ์ทางชีวภาพต่อเชื้อก่อโรคทั้งในคนและสัตว์ได้

คำสำคัญ: ไส้เดือนดิน, เมทาไฟต์ โพสทูมา, โปรติเอส, เชื้อรา, ลำไส้ไส้เดือนดิน

Abstract The earthworm (*M. posthuma*) has importance to soil ecosystem quality, it engulfs death plant and animal and secretes casting into soil mass. The aim of this research was to study the fungi producing protease efficiency isolated from *M. posthuma* gut. The result indicated that isolate E31, isolate E39 and isolate E41 could produce protease enzyme in skim milk agar by estimating the C/G ratio in isolate E31, isolate E39 and isolate E41 as 1.17, 1.50 and 1.08 respectively. Fungi isolate E31 showed the morphology as genus *Mucor* and isolate E39 and E41 showed as genus *Penicillium.* The result could apply for extracting cellulase enzyme for testing biological property to pathogen both in human and animal.

Keyword: Earthworm, *Metaphire posthuman,* Protease, Mold, Earthworm gut

Correspondence to: **Rungroj Kraisittipanit**

Faculty of Medicine, Bangkokthonburi University

Thawi Watthana, Bangkok 10170, Thailand

E-mail: rungroj.kra@bkkthon.ac.th

J Med Glob 2024 Sep; 3(3)

Website: https://he01.tci-thaijo.org/index.php/JMedGlob

ISSN: 2821-918X (Online)

Received 30 August 2024; revised 14 November 2024; accepted 18 December 2024

How to cite this article: Rungroj Kraisittipanit. Isolation of fungi producing protease enzymes from the gut of earthworm Metaphire posthuma. J Meb Glob. 2024 Sep;3(3): 70-74.

บทนำ

ไส้เดือนดินเป็นสัตว์ที่มีบทบาทสำคัญต่อระบบนิเวศดิน เนื่องจากมีส่วนช่วยพัฒนาคุณภาพดินผ่านกระบวนการกินและย่อยสลายซากพืชและซากสัตว์ที่ตายแล้ว โดยในกระบวนการย่อยอาหารของไส้เดือนดิน ระบบลำไส้ซึ่งเต็มไปด้วยจุลินทรีย์หลากหลายชนิดจะเปลี่ยนสารอินทรีย์ที่ไส้เดือนกินเข้าไปให้กลายเป็นแร่ธาตุ วิตามิน และเอนไซม์ที่มีบทบาทสำคัญต่อการย่อยสลายวัสดุต่าง ๆ ทั้งอินทรียสารและอนินทรียสาร เมื่อสารเหล่านี้ถูกขับออกมาผสมในดินจะช่วยเพิ่มความอุดมสมบูรณ์และส่งเสริมการเจริญเติบโตของพืช จากการศึกษาของ Kraisittipanit และคณะ[1] พบว่า ในลำไส้ของไส้เดือนดินมีจุลินทรีย์กลุ่มเชื้อราจำนวนมาก และบางชนิดสามารถผลิตสารที่ส่งเสริมการเจริญเติบโตของพืช เช่น สารไซเดอร์โรฟอร์ ฮอร์โมนออกซิน และฮอร์โมนจิบเบอเรลลิน ซึ่งสารเหล่านี้ช่วยเพิ่มความสามารถของพืชในการดูดซึมธาตุอาหารและส่งเสริมการเติบโตได้อย่างมีประสิทธิภาพ

ในบรรดาไส้เดือนดินชนิดต่าง ๆ *Metaphire posthuma* เป็นชนิดที่น่าสนใจ เนื่องจากมีรายงานการตรวจพบสารไซเดอร์โรฟอร์ในปริมาณสูงเพียงพอที่จะเป็นตัวคีเลตธาตุโลหะ เช่น เหล็ก ทองแดง และแมงกานีส ซึ่งเป็นประโยชน์ต่อกระบวนการทางชีวภาพ นอกจากนี้ยังมีความเป็นไปได้ว่าในลำไส้ของไส้เดือนดินชนิดนี้อาจมีเชื้อจุลินทรีย์ที่สามารถผลิตเอนไซม์สำคัญ เช่น โปรติเอส (protease) ซึ่งเป็นเอนไซม์ที่มีบทบาทในการย่อยโปรตีน เอนไซม์โปรติเอสนี้ยังมีศักยภาพในการยับยั้งการเจริญเติบโตของเชื้อก่อโรคบางชนิด ทำให้มีความสำคัญต่อการพัฒนานวัตกรรมทางการแพทย์และการเกษตร

งานวิจัยนี้มีวัตถุประสงค์เพื่อคัดแยกเชื้อจุลินทรีย์กลุ่มเชื้อราจากลำไส้ของไส้เดือนดิน *M. posthuma* ที่มีความสามารถในการสร้างเอนไซม์โปรติเอส ผลการศึกษาที่ได้สามารถนำไปต่อยอดในการพัฒนาวิธีการยับยั้งเชื้อก่อโรค การพัฒนาเอนไซม์เพื่อการใช้งานในอุตสาหกรรม และการสร้างผลิตภัณฑ์ทางชีวภาพในอนาคต.

วิธีวิจัย

1. การเก็บรวบรวมไส้เดือนดินและจำแนกชนิดไส้เดือนดิน

ทำการเก็บตัวอย่างไส้เดือนดิน *Metaphire posthuma* จากพื้นที่สวนกล้วยในจังหวัดนครปฐมจำนวน 3 จุด โดยแต่ละจุดเก็บตัวอย่าง 4-5 ตัวอย่าง เริ่มจากการค้นหามูลของไส้เดือนดินในบริเวณเป้าหมาย เมื่อพบแล้วกำหนดพื้นที่เก็บตัวอย่างขนาดประมาณ 0.5 x 0.5 เมตร และขุดดินลึกไม่เกิน 30 เซนติเมตร จากนั้นทำการคัดแยกไส้เดือนดินเบื้องต้นโดยสังเกตพฤติกรรมเฉพาะตัวของไส้เดือนดิน *M. posthuma* ซึ่งจะขดตัวเมื่อได้รับแรงสั่นสะเทือนหรือเมื่อป้องกันตัวเอง แล้วจึงใช้มือคัดแยกไส้เดือนดิน (hand sorting) เมื่อได้ตัวอย่างไส้เดือนดินแล้วนำเข้าสู่กระบวนการทำให้สลบในห้องปฏิบัติการด้วยเอทานอลความเข้มข้น 30% V/V ก่อนยืนยันลักษณะของไส้เดือนดิน *M. posthuma* ตามลักษณะทางสัณฐานวิทยา (ภาพ 1)

2. การเตรียมอาหารและการคัดแยกเชื้อราจากลำไส้ไส้เดือน

2.1 การเตรียมอาหารสำหรับเลี้ยงเชื้อรา

เตรียมอาหารเลี้ยงเชื้อ Potato Dextrose Agar (PDA) โดยเริ่มจากผสม Potato Dextrose Broth (Himedia) ปริมาณ 30 กรัม เข้ากับผงวุ้น 15 กรัม ในขวดผสม จากนั้นเติมน้ำกลั่นให้ได้ปริมาตร 1,000 มิลลิลิตร และคนให้เข้ากัน โดยใส่แท่งแม่เหล็กกวนสารลงไปด้วย เพื่อเตรียมสำหรับผสมยาปฏิชีวนะในขั้นตอนต่อไป หลังจากผสมอาหารและวุ้นเรียบร้อยแล้ว ให้นำไปนึ่งฆ่าเชื้อด้วยเครื่องนึ่งไอน้ำแรงดัน (autoclave) ที่อุณหภูมิ 121.5 องศาเซลเซียส และความดัน 15 ปอนด์ต่อตารางนิ้ว เป็นเวลา 15 นาที เมื่ออาหารเลี้ยงเชื้อผ่านการฆ่าเชื้อแล้ว ให้เติมยาปฏิชีวนะ 2 ชนิด ได้แก่ Chloramphenicol 10% W/V และ Streptomycin 2% อย่างละ 1 มิลลิลิตร ลงในขวดอาหารเลี้ยงเชื้อ จากนั้นคนให้สารผสมเข้ากันดีแล้วปล่อยให้อุณหภูมิของอาหารเลี้ยงเชื้อลดลงจนถึงประมาณ 50 องศาเซลเซียส หรืออยู่ในระดับที่สามารถจับด้วยมือได้ ก่อนนำไปเทลงในจานอาหารเลี้ยงเชื้อในตู้เขี่ยเชื้อ (laminar flow cabinet) เพื่อป้องกันการปนเปื้อน.

ภาพ 1 ลักษณะพฤติกรรมการหดตัวของไส้เดือนดิน *M. posthuma* (A) และลักษณะสัณฐานวิทยาภายนอก (B) และโครงสร้างภายนอกแสดงให้เห็นส่วนของ Clitellum และโครงสร้างภายนอกที่สำคัญจากกล้องสเตอริโอ (C)

2.2 การคัดแยกเชื้อราจากลำไส้ไส้เดือนดิน

ใช้กรรไกรผ่าตัดที่ผ่านการฆ่าเชื้อด้วยการนึ่ง แยกลำไส้ของไส้เดือนดินแต่ละชนิด โดยขูดเนื้อเยื่อส่วนลำไส้ปริมาณ 0.1 กรัมจากแต่ละตัวอย่างและใส่ในหลอดเก็บตัวอย่างขนาด 1.5 มิลลิลิตรที่ผ่านการฆ่าเชื้อด้วยการนึ่งแล้ว จากนั้นเติมน้ำกลั่นที่นึ่งฆ่าเชื้อแล้วปริมาณ 900 ไมโครลิตรลงในหลอด แล้วทำการผสมให้เข้ากันด้วยเครื่อง **vortex** เป็นเวลา 1 นาที หลังจากนั้นเจือจางสารละลายจากลำไส้ไส้เดือนดินให้ได้ความเข้มข้น 10^{-3} ถึง 10^{-5} ซึ่งเป็นช่วงที่มีจำนวนโคโลนีของเชื้อราเหมาะสมในการคัดแยกเชื้อ (30-300 cfu/ml) โดยดูดของเหลวปริมาณ 100 ไมโครลิตรจากแต่ละความเข้มข้นมาเกลี่ย (spread plate) ลงบนเพลตอาหารเลี้ยงเชื้อ PDA (potato dextrose agar) นำเพลตไปบ่มในอุณหภูมิห้องเป็นเวลา 3 วัน เมื่อครบกำหนดเวลาเชื้อราจะขึ้นบนเพลต (ภาพ 2) ใช้มีดผ่าตัดที่ลนไฟฆ่าเชื้อ เก็บแยกโคโลนีเชื้อราที่มีลักษณะแตกต่างกันออกมาและวางลงบนเพลตอาหาร PDA ใหม่ แล้วบ่มต่อในอุณหภูมิห้องอีก 3 วัน หรือจนกระทั่งโคโลนีเชื้อรามีขนาดเส้นผ่านศูนย์กลางประมาณ 1.5 นิ้ว จากนั้นใช้มีดที่ผ่านการลนไฟฆ่าเชื้อ ตัดชิ้นวุ้นจากเพลตเป็นชิ้นเล็กขนาดประมาณ 2 x 2 เซนติเมตร และเก็บในหลอดเก็บตัวอย่างที่บรรจุกลีเซอรอลเข้มข้น 15% V/V ซึ่งผ่านการนึ่งฆ่าเชื้อแล้วก่อนนำหลอดเก็บตัวอย่างไปแช่ที่อุณหภูมิ -20 องศาเซลเซียส เพื่อใช้ในงานทดลองหรือการเก็บรักษาต่อไป

ภาพ 2 โคโลนีของเชื้อราที่ขึ้นบนอาหาร PDA ที่บ่มไว้เป็นเวลา 3 วัน

3 การทดสอบประสิทธิภาพในการผลิตเอนไซม์โปรติเอสจากเชื้อรา

3.1 การเตรียมอาหาร skim milk agar

เตรียมอาหาร skim milk agar (SM agar) ซึ่งประกอบด้วยเปปโตน 4 กรัม ผง skim milk 10 กรัม ผงวุ้น 15 กรัม ละลายส่วนผสมทั้งหมดด้วยน้ำกลั่น 500 มิลลิลิตร จากนั้นปรับปริมาณของเหลวให้ได้ 1,000 ml จึงนำอาหารที่ได้นึ่งฆ่าเชื้อด้วยเครื่องนึ่งความดันไอ (autoclave) ที่ 121.5 องศาเซลเซียส ความดัน 15 ปอนด์ต่อตารางนิ้ว เป็นเวลา 15 นาที ก่อนนำมาเทลงเพลตเพื่อใช้สำหรับทดสอบการสร้างเอนไซม์โปรติเอสต่อไป

3.2 การทดสอบประสิทธิภาพในการผลิตเอนไซม์โปรติเอสจากเชื้อรา

นำเชื้อราจากตู้ -20 องศาเซลเซียสมาละลายโดยตั้งทิ้งไว้ที่อุณหภูมิห้อง จากนั้นนำชิ้นวุ้นของเชื้อราที่ได้มาวางบนอาหาร SM agar ก่อนนำไปบ่มในที่มืดเป็นเวลา 3 วัน เมื่อครบกำหนดนำเชื้อราตรวจดู ถ้าเชื้อราผลิตเอนไซม์โปรติเอสจะเกิดวงใสรอบโคโลนี (clear zone; C) ทำการวัดขนาดเส้นผ่านศูนย์กลางของโคโลนี (growth; G) 3 ซ้ำ พร้อมกับวัดขนาดเส้นผ่านศูนย์กลางวงใส 3 ครั้ง แล้วหาค่าเฉลี่ย นำค่าเฉลี่ยมาคำนวณสัดส่วนโซนใสเฉลี่ยต่อขนาดเส้นผ่านศูนย์กลางเฉลี่ย (C/G) จะทราบประสิทธิภาพของเชื้อราในการผลิตเอนไซม์โปรติเอส

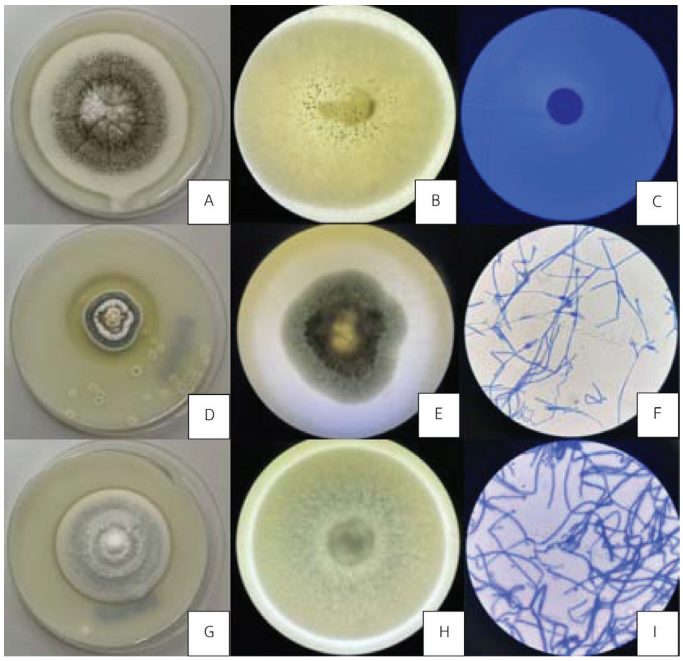
4. ตรวจสอบสกุลของเชื้อรา

นำเชื้อราที่มีประสิทธิภาพในการสร้างเอนไซม์โปรติเอสมาตรวจสอบสัณฐานวิทยาเบื้องต้น โดยดูลักษณะของโคโลนี สีโคโลนี ด้วยกล้องจุลทรรศน์สเตอริโอ จากนั้นดูลักษณะของสปอร์ภายใต้กล้องจุลทรรศน์เลนส์ประกอบ โดยใช้ใช้สีย้อม lactophenol blue

ผลวิจัย

คัดแยกเชื้อราจากลำไส้ของลำไส้ไส้เดือนดิน *M. posthuma* จำนวน 17 ไอโซเลต จากการทดสอบความสามารถในการสร้างเอนไซม์โปรติเอสด้วยอาหาร SM agar พบว่ามีเชื้อรา 3 ไอโซเลต ที่สามารถผลิตเอนไซม์โปรติเอสได้ คือ ไอโซเลต E31 ไอโซเลต E39 และไอโซเลต E41 โดยวัดค่า C/G ของไอโซเลต E31 ได้ 1.17 ไอโซเลต E39 วัดค่า C/G ได้ 1.50 และเชื้อราไอโซเลต E41 วัดค่า C/G ได้ 1.08 E44 (ตาราง 1) โดยเชื้อราไอโซเลต E39 มีความสามารถในการผลิตเอนไซม์โปรติเอสได้ดีที่สุด ($P < 0.01$) ลักษณะวงใสของแต่ละไอโซเลตแสดงในภาพ 3A ภาพ 3D และ ภาพ 3G

โดยเชื้อราไอโซเลต E31 มีลักษณะเส้นใยฟูมีขอบเขตชัดเจน สีครีม สร้างสปอร์สีดำ (ภาพ 3B) สร้าง Sporangiospore (ภาพ 3C) ซึ่งเป็นลักษณะสำคัญของราในสกุล *Mucor* ส่วนเชื้อราไอโซเลต E39 มีลักษณะโคโลนีสีขาวเทา สร้างสปอร์สีดำเขียว (ภาพ 3E) สร้าง Conidia (ภาพ 3F) ซึ่งเป็นลักษณะสำคัญของเชื้อราสกุล *Penicillium* สำหรับราไอโซเลต E41 สร้างโคโลนีสีขาว สร้างปอร์สีเทา (ภาพ 3H) สร้าง Conidia (ภาพ 3I) ซึ่งเป็นลักษณะสำคัญของเชื้อราสกุล *Penicillium*



ภาพ 3 แสดงวงใส ลักษณะโคโลนี และลักษณะสปอร์ของเชื้อราไอโซเลต E31 (A-C) E39 (D-F) และ E41 (G-I)

ตาราง 1 แสดงค่าอัตราส่วนการสร้างโซนใสต่อการเจริญเติบโต

รหัสเชื้อราจากลำไส้ไส้เดือน	ขนาดเส้นผ่านศูนย์กลางโคโลนี (มม.)	ขนาดเส้นผ่านศูนย์กลางวงใส (มม.)	ค่า C/G
E2	3.2 ± 0.03	ไม่สร้างวงใส	Neg
E18	3.6 ± 0.07	ไม่สร้างวงใส	Neg
E23	2.9 ± 0.02	ไม่สร้างวงใส	Neg
E25	3.5 ± 0.03	ไม่สร้างวงใส	Neg
E26	4.8 ± 0.08	ไม่สร้างวงใส	Neg
E28	3.8 ± 0.06	ไม่สร้างวงใส	Neg
E30	3.1 ± 0.07	ไม่สร้างวงใส	Neg
E31	2.4 ± 0.03	2.8 ± 0.07a	1.17b
E37	5.2 ± 0.10	ไม่สร้างวงใส	Neg
E38	4.5 ± 0.01	ไม่สร้างวงใส	Neg
E39	1.6 ± 0.01	2.4 ± 0.13b	1.50a
E40	3.3 ± 0.03	ไม่สร้างวงใส	Neg
E41	2.3 ± 0.12	2.5 ± 0.09b	1.08b
E42	3.3 ± 0.05	ไม่สร้างวงใส	Neg
E43	4.4 ± 0.12	ไม่สร้างวงใส	Neg
E44	3.3 ± 0.02	ไม่สร้างวงใส	Neg
E45	3.5 ± 0.23	ไม่สร้างวงใส	Neg

Neg หมายถึง ไม่มีประสิทธิภาพในการผลิตเอนไซม์โปรติเอสที่ดี

อภิปราย

จากการศึกษานี้พบเชื้อรา 3 ไอโซเลตจากลำไส้ของไส้เดือนดิน *Metaphire posthuma* ที่มีความสามารถในการผลิตเอนไซม์โปรติเอส ได้แก่ ไอโซเลต E31, E39 และ E41 โดยไอโซเลต E39 แสดงค่า C/G สูงสุดที่ 1.50 ผลการศึกษานี้สอดคล้องกับงานวิจัยของ Kraisittipanit และคณะ[1] ซึ่งระบุว่าในลำไส้ของไส้เดือนดินมีเชื้อราหลายชนิดที่สามารถผลิตเอนไซม์ที่มีความสำคัญต่อการย่อยสลายสารอินทรีย์ในดินได้อย่างมีประสิทธิภาพ และยังช่วยเพิ่มความอุดมสมบูรณ์ให้กับดิน

นอกจากนี้ งานวิจัยของ Bhadauria และคณะ[2] พบว่าเชื้อราสกุล *Aspergillus* ที่อาศัยในลำไส้ของไส้เดือนดินมีความสามารถในการผลิตเอนไซม์โปรติเอสซึ่งมีประสิทธิภาพสูง โดยพบว่าเอนไซม์นี้มีบทบาทสำคัญในการควบคุมเชื้อก่อโรคในดินและช่วยสร้างสมดุลให้กับระบบนิเวศ งานวิจัยของ Pathma และ Sakthivel[3] ก็สนับสนุนว่าลำไส้ของไส้เดือนดินเป็นแหล่งของจุลินทรีย์ที่ผลิตเอนไซม์ที่มีประโยชน์ทางการแพทย์ ซึ่งมีศักยภาพในการยับยั้งเชื้อก่อโรคในดินและอาจนำไปพัฒนาเป็นผลิตภัณฑ์ยาต้านจุลชีพในอนาคต

การวิจัยอื่นๆ โดย Jayasree และคณะ[4] ยังระบุว่าเชื้อราในลำไส้ของไส้เดือนดินมีศักยภาพในการผลิตเอนไซม์ที่ใช้ในการย่อยสลายโปรตีนและสารอินทรีย์ที่ซับซ้อน ซึ่งช่วยปรับปรุงคุณภาพดินและเพิ่มปริมาณธาตุอาหารที่เป็นประโยชน์ต่อพืช โดยเฉพาะในระบบเกษตรอินทรีย์ ซึ่งจำเป็นต้องอาศัยกระบวนการทางชีวภาพของจุลินทรีย์เพื่อเพิ่มผลผลิตให้กับพืช นอกจากนี้ ยังมีรายงานโดย Parthasarathi และ Ranganathan[5] ที่ยืนยันว่าเชื้อราที่อาศัยอยู่ในลำไส้ของไส้เดือนสามารถสร้างเอนไซม์โปรติเอสได้อย่างมีประสิทธิภาพ ซึ่งสามารถนำไปใช้ประโยชน์ในด้านการควบคุมเชื้อโรคในพืชและดินได้

ดังนั้น ผลการศึกษาในครั้งนี้แสดงให้เห็นว่าเชื้อราจากลำไส้ของไส้เดือนดิน *M. posthuma* มีศักยภาพสูงในการผลิตเอนไซม์โปรติเอส ซึ่งเป็นเอนไซม์ที่มีบทบาทสำคัญในการย่อยโปรตีนและสามารถประยุกต์ใช้ในการพัฒนาผลิตภัณฑ์เพื่อการควบคุมเชื้อก่อโรคในดินและในทางการแพทย์ เช่น การพัฒนาเป็นเอนไซม์ที่ใช้ในการกำจัดเชื้อโรคในระบบร่างกาย

สรุปผลการทดลอง

ลำไส้ของไส้เดือนดิน *M. posthuma* มีเชื้อราที่มีประสิทธิภาพในการผลิตเอนไซม์โปรติเอส ได้แก่ เชื้อราไอโซเลต E31, E39 และ E41 ซึ่งมีค่า C/G เท่ากับ 1.17, 1.50 และ 1.08 ตามลำดับ เมื่อตรวจสอบสัณฐานวิทยาพบว่าเชื้อรา E31 จัดอยู่ในสกุล *Mucor* ส่วนเชื้อรา E39 และ E41 จัดอยู่ในสกุล *Penicillium* ทั้งนี้เอนไซม์โปรติเอสที่ผลิตโดยเชื้อราเหล่านี้มีอาจมีศักยภาพในการนำไปประยุกต์ใช้ในทางการแพทย์ เนื่องจากเอนไซม์โปรติเอสมีบทบาทสำคัญในการย่อยโปรตีนซึ่งอาจนำไปใช้ในกระบวนการรักษาและฟื้นฟูบาดแผล โดยช่วยย่อยสลายเนื้อเยื่อที่เสียหายและเร่งกระบวนการซ่อมแซม ซึ่งเป็นแนวทางที่พัฒนาต่อได้

ข้อเสนอแนะ

หากนำเชื้อราที่ผลิตโปรติเอสได้มากมาสกัด จะสามารถนำเอนไซม์ดังกล่าวมาศึกษาฤทธิ์ทางชีวภาพต่อไปได้ รวมถึงอาจมีผลต่อการยับยั้งเชื้อโรคบางชนิดในดิน ซึ่งอาจติดต่อมาสู่คน

กิตติกรรมประกาศ

ผู้วิจัยขอขอบคุณมหาวิทยาลัยแม่โจ้ที่ให้ทุนสนับสนุนการศึกษาในครั้งนี้ รวมถึงสาขาชีววิทยา สาขาจุลชีววิทยา คณะแพทยศาสตร์ มหาวิทยาลัยกรุงเทพธนบุรี ที่เอื้อเฟื้อสถานที่สำหรับการศึกษาวิจัยและการทดลองในครั้งนี้

เอกสารอ้างอิง

1. Kraisittipanit R, Tancho A, Aumtong S. Bacterial diversity from metagenome in microbiome of vermicomposting liquid from *Perionyx* sp. 1 earthworm by next generation sequencing. Proceeding of *Science Technology and Innovation Conference*, Maejo University, March 19;2021:663-8.
2. Bhadauria S, Kumar P, Verma M. Protease producing potential of *Aspergillus* species from earthworm gut. *J Basic Microbiol*. 2017;57:63-9.
3. Pathma J, Sakthivel N. Microbial diversity of vermicompost bacteria that exhibit useful agricultural traits and waste management potential. *SpringerPlus*. 2021;1:26.
4. Jayasree R, Parthasarathi K, Ranganathan LS. Production of proteases by microbial communities in earthworm casts. *Environ Microbiol*. 2011;13:1601-10.
5. Parthasarathi K, Ranganathan LS. Aging effect on enzyme activities in pressmud vermicasts of *Lampito mauritii* (Kinberg) and *Eudrilus eugeniae* (Kinberg). *Bio Fertil Soils*. 2000;30:387-50.

JMedGlob 2024