JRCTAF
ISSN 0028-0011
ปีที่ ๑๙ เล่มที่ ๑
Vol. 19, No. 1
มกราคม - มิถุนายน ๒๕๓๐
January - June 1987

สำนักบรรณสารการพัฒนา
LIBRARY AND INFORMATION CENTER
14 ส.ค. 2535

วารสาร

สำนักงานคณะกรรมการวิจัยแห่งชาติ

JOURNAL OF THE NATIONAL RESEARCH COUNCIL OF THAILAND

วารสารสำนักงานคณะกรรมการวิจัยแห่งชาติ
พิมพ์ปีละ ๒ ฉบับ การบอกรับวารสารติดต่อ
สำนักงานคณะกรรมการวิจัยแห่งชาติ
บางเขน กรุงเทพฯ ๑๐๙๐๐

ค่าบำรุง

ในประเทศ ปีละ ๖๐ บาท (รวมค่าส่ง)
ต่างประเทศ ปีละ ๑๘๐ บาท (รวมค่าส่ง)

Journal of the National Research Council of Thailand is a semiannual publication. Correspondences should be addressed to the National Research Council, Bangkok 10900, Thailand.

Annual subscription

Local 60 baht (postpaid)
Foreign 180 baht (U.S.$7.00 postpaid)

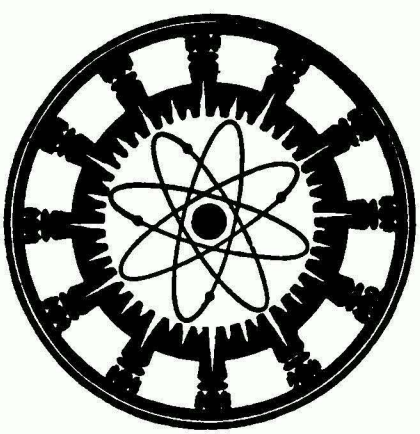
ด้วยอภินันทนาการ
จาก
กองแปลและวิเทศสัมพันธ์
สำนักงานคณะกรรมการวิจัยแห่งชาติ

ปีที่ ๑๙ เล่มที่ ๑ Vol. 19, No. 1
มกราคม – มิถุนายน ๒๕๓๐ January – June 1987

14 ต.ค. 2535
สำนักบรรณสารการพัฒนา
LIBRARY AND INFORMATION CENTER

วารสาร

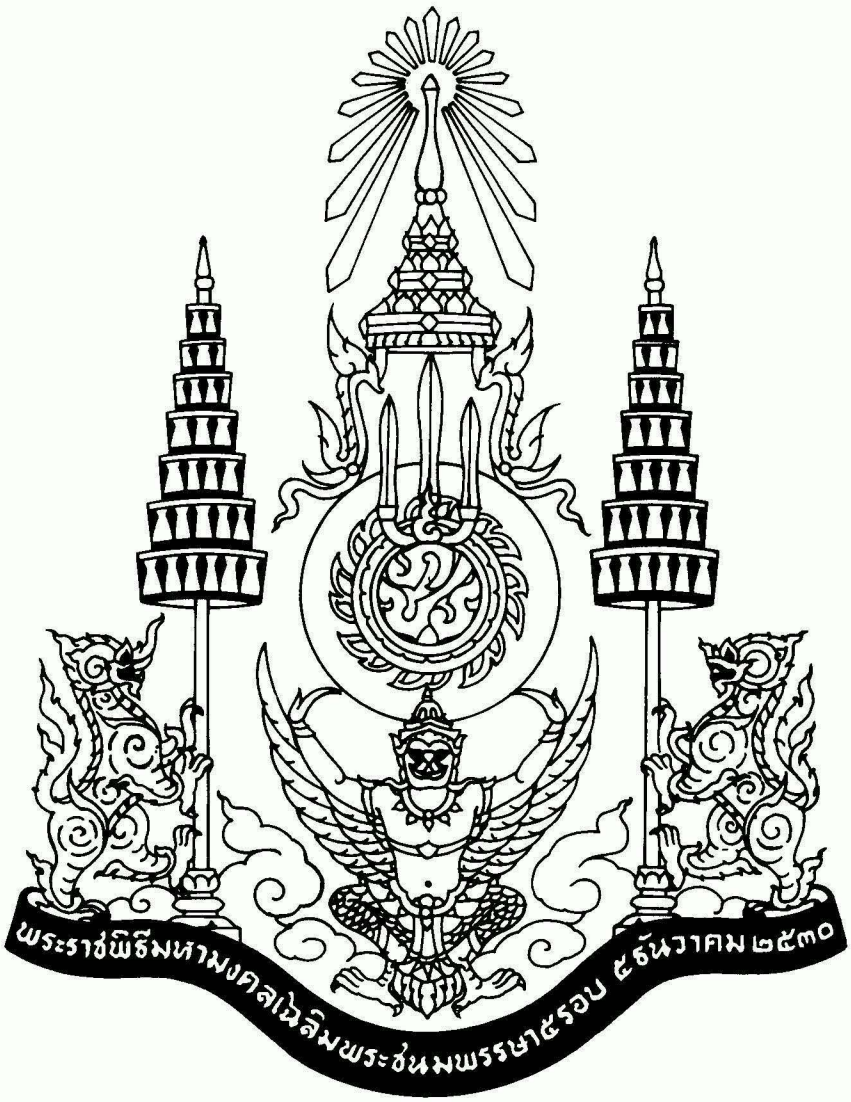
สำนักงานคณะกรรมการวิจัยแห่งชาติ



JOURNAL
OF
THE NATIONAL RESEARCH COUNCIL
OF THAILAND

พิมพ์ที่ ห้างหุ้นส่วนจำกัดฟันนี่พับบลิชชิ่ง
549/1 ซอยเสนานิคม 1 ถนนพหลโยธิน บางเขน กรุงเทพมหานคร โทร. 5793352
นางทิวาศรี ปิยะพันธ์ ผู้พิมพ์ผู้โฆษณา พ.ศ. 2530

Printed by Funny Publishing Ltd., Part.
549/1 Soi Senanikom 1, Phaholyotin Rd., Bangkhen Bangkok Tel. 5793352
Mrs. Tiwasree Piyapan Printer and Publisher, 1987


พระราชพิธีมหามงคลเฉลิมพระชนมพรรษา๕รอบ ๕ธันวาคม๒๕๓๐

สภาวิจัยแห่งชาติ
NATIONAL RESEARCH COUNCIL

กรรมการบริหาร

EXECUTIVE BOARD

ประธาน	สัญญา ธรรมศักดิ์	**Chairman:**	Sanya Dharmasakti
กรรมการ	สง่า สรรพศรี	**Committee:**	Sanga Sabhasri
	ประดิษฐ์ เชี่ยวสกุล		Pradisth Cheosakul
	ประเวศ วะสี		Prawase Wasi
	พล.อ.อ.อรุณ พร้อมเทพ		A.C.M. Arun Promdhep
	สุขุม ศรีธัญรัตน์		Sukhum Sritanyaratana
	ธงชัย ปภัสราทร		Tongchai Papasarathorn
	ประพฤทธิ์ ณ นคร		Praprit na Nagara
	จาริน อัตถะโยธิน		Charin Atthayodhin
	บุญเยี่ยม มีศุข		Boonyium Meesook
	วิทย์ วิศทเวทย์		Wit Wisadavet
	กำธร พันธุลาภ		Kamthorn Bhandhulabh
	กระมล ทองธรรมชาติ		Kramol Tongdhamachart
	วิชิตวงศ์ ณ ป้อมเพชร		Vichitvong Na Pombhejara
	นิพนธ์ คันธเสวี		Niphon Kantasewi

เลขาธิการฯ	**Secretary - General:**
จุมพล สวัสดิยากร	Choompol Swasdiyakorn
รองเลขาธิการฯ ฝ่ายวิทยาศาสตร์	**Deputy Secretary-General for Natural Science:**
อภิรัต อรุณินท์	Aphirat Arunin
รองเลขาธิการฯ ฝ่ายสังคมศาสตร์	**Deputy Secretary-General for Social Science:**
สุมล ทรายแก้ว	Sumol Saikeo

วารสารสำนักงานคณะกรรมการวิจัยแห่งชาติ

คณะกรรมการที่ปรึกษา

ศาสตราจารย์ นายแพทย์อุดม โปษะกฤษณะ
ศาสตราจารย์ (พิเศษ) ประดิษฐ์ เชี่ยวสกุล
ศาสตราจารย์ ประเสริฐ ณ นคร

คณะบรรณาธิการวารสารสำนักงานคณะกรรมการวิจัยแห่งชาติ

นายจุมพล สวัสดิยากร	**บรรณาธิการ**
นายอภิรัต อรุณินท์	**ผู้ช่วยบรรณาธิการฝ่ายวิทยาศาสตร์**
นางสุมล ทรายแก้ว	**ผู้ช่วยบรรณาธิการฝ่ายสังคมศาสตร์**
ศาสตราจารย์ วิรุฬห์ สายคณิต	**ประจำกองบรรณาธิการ**
ศาสตราจารย์ ประเสริฐ ทองเจริญ	"
รองศาสตราจารย์ อรพรรณ มาตังคสมบัติ	"
ผู้ช่วยศาสตราจารย์ บรรพต ณ ป้อมเพชร	"
ผู้ช่วยศาสตราจารย์ ศศิธร บุญ-หลง	"
นายนิจ หิญชีระนันทน์	"
ผู้ช่วยศาสตราจารย์ เกียรติขจร วัจนะสวัสดิ์	"
รองศาสตราจารย์ สุรพล ราชภัณฑารักษ์	"
นายชัยวัฒน์ วิบูลย์สวัสดิ์	"
รองศาสตราจารย์ เพ็ญพร ธีระสวัสดิ์	"
นางสาววนาศรี สามนเสน	**ผู้จัดการ**
นางอัจฉรา สุพรรณพัฒน์	**ผู้ช่วยผู้จัดการ**
นางสาวอัฐพร แจ้งใจ	"
นายวิเชียร คงทอง	"

JOURNAL
OF
THE NATIONAL RESEARCH COUNCIL

ADVISORY BOARD

Udom Poshakrishna, M.B. (Med.)
Pradisth Cheosakul, Ph.D.
Prasert na Nagara, Ph.D.

EDITORIAL BOARD

Editor

Choompol Swasdiyakorn, M.Sc., Ph.D.

Assistant Editor for Natural Science
Aphirat Arunin, Ph.D.

Assistant Editor for Social Science
Sumol Saikeo, B.S.

Representatives of the Divisions

Physical Science and Mathematics:	Virulh Sa-yakanid, Ph.D. (Physics)
Medical Science:	Prasert Thongcharoen, Dr. med., D.T.M.
Chemical and Pharmaceutical Sciences:	Oraphan Matangkasombut, B.Sc. in Pharm., Cert. Quality Control, Ph.D.
Agriculture and Biology:	Banpot Napompeth, Ph.D. (Entomology)
Engineering and Industrial Research:	Sasithorn Boon-Long, Dr. 3e Cycle (Chemical Engineering)
Philosophy:	Nid Hinshiranan, M.R.P.
Law:	Kietkajorn Vachanasvasti, S.J.D.
Political Science and Public Administration:	Suraphol Rajbhandaraks, Docteur en Droit
Economics:	Chaiyawat Wibulsawasdi, Ph.D. (Econ.)
Sociology:	Penporn Tiraswat, Ph.D. (Sociology Demography)

BUSINESS STAFF

Manager:	Wanasri Samanasena, M.A.
Assistant Manager:	Achara Supanapat, B.A.
Assistant Manager:	Addhaporn Jangjai, B.A.
Assistant Manager:	Wichian Kongtong, B.Sc.

วารสารสำนักงานคณะกรรมการวิจัยแห่งชาติ

JOURNAL OF THE NATIONAL RESEARCH COUNCIL OF THAILAND

ภาค ๑

วิทยาศาสตร์

PART I

NATURAL SCIENCE

ปีที่ ๑๙ เล่มที่ ๑ Vol. 19, No. 1
มกราคม-มิถุนายน ๒๕๓๐ January – June 1987

วารสารสำนักงานคณะกรรมการวิจัยแห่งชาติ
Journal of the National Research Council

THE HYPOGLYCEMIC ACTIVITY OF *MOMORDICA CHARANTIA* LINN. IN NORMAL AND ALLOXAN – INDUCED DIABETIC RABBITS

ฤทธิ์ของสารสกัดจากมะระในการลดน้ำตาลในเลือดของกระต่ายปกติ และกระต่ายที่เป็นเบาหวานจาก alloxan

Chongkol Tiangda
จงกล เที่ยงดาห์

Rachanee Mekmanee
รัชนี เมฆมณี

Kampanat Praphapraditchote
กัมปนาท ประภาประดิษฐ์โชติ

Malyn Ungsurungsie
มาลิน อังษุรังษี

Chitkavi Paovalo
จิตต์กวี เปาวโร

Faculty of Pharmacy, Mahidol University
คณะเภสัชศาสตร์ มหาวิทยาลัยมหิดล

ABSTRACT

The acidified water-chloroform extract of unriped fruits of Momordica charantia *Linn. was tested for hypoglycemic activity at several dosage levels in normal and alloxan-induced diabetic rabbits. The blood glucose was measured at 2 h interval for 10 h period by O-toluidine method. In diabetic rabbits, a significant decrease in blood glucose level occurred at 10 and 20 mg/kg after intravenous injection whereas no hypoglycemic action was found in*

normal rabbits even at the high dosage of 20 mg/kg. This pattern of the acidified water-chloroform extract action contrasted with that of tolbutamide which produced the hypoglycemic action only in normal rabbits.

บทคัดย่อ

การทดสอบฤทธิ์ในการลดน้ำตาลในเลือดของยาที่สกัดด้วย acidified water-chloroform จากผลมะระ (*Momordica charantia* Linn.) ในกระต่ายปกติและกระต่ายที่ทำให้เป็นเบาหวานโดยการฉีด alloxan พบว่า การฉีดสารสกัดนี้ 10 และ 20 มก./กก. เข้าเส้นเลือดดำ ทำให้กระต่ายที่เป็นเบาหวานมีระดับน้ำตาลในเลือดลดลงอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ แต่ไม่มีผลในกระต่ายปกติ เมื่อเปรียบเทียบกับ tolbutamide พบว่าให้ผลแตกต่างกัน คือ tolbutamide มีฤทธิ์ลดน้ำตาลในเลือดเฉพาะในกระต่ายปกติ แต่ไม่มีผลกับกระต่ายที่ทำให้เป็นเบาหวาน แสดงว่ากลวิธานการออกฤทธิ์ของยาสกัดด้วย acidified water-chloroform จากผลมะระน่าจะแตกต่างออกไปจาก tolbutamide

INTRODUCTION

Momordica charantia Linn. (Family Cucurbitaceae), commonly known as bitter gourd, which was widely cultivated in Thailand and other tropical countries was usually used as vegetable.[16,17,22] In addition, various parts of this herb were useful in folkloric medicine, one of which was the antidiabetics which has long been used in Puerto Rico.[5] The scientific studies of this plant began in 1941 by Rivera[18,19] who isolated the hypoglycemic principles in the alcoholic extract of the fruits of this plant. Since then, there were many investigators[1,3,7-14,20,21,23,24] who were interested in the hypoglycemic action of this plant. Sharma et al.[20] administered the fruit juice to normal and alloxan-induced diabetic rabbits and reported a decrease in blood glucose of both groups. The hypoglycemic action of the fruit juice was confirmed in the pituitary extract induced diabetic rats which fed with glucose,[7] in non-diabetic rats and non-insulin dependent diabetic patients.[12] On the other hand, oral administration of the dried juice in normal rabbits showed no hypoglycemic effect either as an acute single dose or a chronic administration. However, it prolonged the action of tolbutamide.[10] Akhtar et al.[1] studied the hypoglycemic action of dried fruit powder in normal and alloxan-induced diabetic rabbits and found that a lower dosage was required for normal animals. They proposed that there might be more than one kind of active principles in the fruits of this plant. In fact, Lotlikar and Rao[13] had isolated a non-nitrogenous substances with a phytosterol like property named charantin, which brought about the hypoglycemic action[14] in normal rabbits by both oral and intravenous administration. The structure of charantin was identified by Sucrow[21] as ß-D-glucosides of ß-sitosterol and stigmasta-5, 25 diene-3ß-ol in proportion of 1:1. Moreover, an insulin like polypeptide was also isolated and identified from this plant.[3,9] Recently, Visarata

and Ungsurungsie[23] using a modified extraction method of Rivera[18] have detected the steroidal compounds in acidified water-chloroform extract which exhibited antibacterial activity *in vitro*.[24] Whether this extract could decrease blood glucose has not been reported. Therefore, the present investigation was undertaken to study the hypoglycemic effect of the acidified water-chloroform extract in normal and alloxan-induced diabetic rabbits in comparison with the standard hypoglycemic drug, tolbutamide.

MATERIALS AND METHODS

Large variety of *M. charantia,* fresh green fruits, (Figure 1) was obtained from vegetable markets in Bangkok area. After the seeds were removed, the fruits were cut into small pieces and dried at 60°C. They were powdered and extracted according to the method described by Visarata and Ungsurungsie[23] as shown in Figure 2. The acidified water-chloroform extract was evaporated until dry and collected for pharmacological testing. The extract was dissolved in normal saline solution before the injection was made intravenously into the rabbits.

Male adult healthy albino rabbits of local strain weighing 1.5-2.5 kg were used in this experiment. The rabbits were kept in the animal room of the Department of Pharmacology and fed with commercial food and tap water *ad libitum*. They were divided into 2 groups composed of normal and diabetic rabbits and were induced diabetes by injection 80 mg/kg of alloxan monohydrate intravenously.[15] The blood glucose levels were determined daily for 7 days after the injection. The blood glucose of more than 150 mg/100 ml was considered diabetes. Any rabbits which were not diabetics were repeatedly injected with the same dose of alloxan until the blood glucose level was in the range of diabetes.

Both normal and diabetic rabbits were randomly divided into 5 groups of 6 animals each. Group 1 was served as a control. The rabbits were received 4 ml of normal saline intravenously. Group 2, 3 and 4 were intravenously administered with a solution of acidified water-chloroform extract in normal saline at 5, 10 and 20 mg/kg respectively. The last group was treated with tolbutamide 100 mg/kg orally.

Prior to testing, all rabbits were fasted for 14 h and 1 ml of blood samples were drawn from an ear vein into NaF-coated test tubes at 0, 2, 4, 6, 8 and 10 h. The blood samples were centrifuged and the plasma were kept for the glucose determination by O-toluidine method.[4] The blood glucose levels were measured at 2 h interval for a period of 10 h.

The blood glucose was expressed in mg/100 ml (Mean $\pm$ SEM). Changes in blood glucose levels of normal and diabetic rabbits at various time intervals (2, 4, 6, 8 and 10 h) from initial value before drug treatment (0 h) were analysed by using paired Student's t test. $P < 0.01$ was considered statistically significant.

RESULTS

Effect of *Momordica charantia* Linn. and tolbutamide on blood glucose level in diabetic rabbits

Intravenous administration of 5 mg/kg acidified water-chloroform extract of *M. charantia* had no significant effect on blood glucose. However, the hypoglycemic action was observed at higher doses. At a dose of 10 mg/kg, the extract produces a significant decrease in blood glucose in the alloxan-induced diabetic rabbits at 8 and 10 h after the treatment. At 20 mg/kg, the significant decrease was seen earlier at 4 h and maintained for at least 10 h (Table 1). On the contrary, oral administration of tolbutamide at 100 mg/kg produced only a slight but not significant decrease in blood glucose as in the control group (Table 1).

Effect of *Momordica charantia* Linn. and tolbutamide in the normal rabbits

In contrast to the diabetic rabbits, acidified water-chloroform extract at the same dosage produced no hypoglycemic action in the normal rabbits. As shown in Figure 3, the highest dosage at 20 mg/kg which significantly decreased the blood glucose level in diabetic rabbits with a maximum effect of about 30%, had no significant effect on the blood glucose level in normal rabbits. On the other hand, oral administration of tolbutamide at 100 mg/kg decreased the blood glucose level significantly about 40% (Table 2) whereas there was no effect in the diabetic rabbits (Figure 4).

DISCUSSION AND CONCLUSION

The present experiment reveals that acidified water-chloroform extract of *M. charantia* produces a significant decrease of blood glucose level in alloxan-induced diabetic rabbits. However, higher dosages should be further tested in normal group. The hypoglycemic effect of this extract is obviously different from that of tolbutamide which produced a significant effect only in the normal rabbits. The major acute action of tolbutamide is able to stimulate a secretion of insulin from the pancreatic ß-cell[11] but is ineffective in completely pancreectomized or alloxan-induced diabetic animals.[6,11] Therefore, the hypoglycemic mechanism of the acidified water-chloroform extract of this plant is different from tolbutamide and may be extra-pancreatic, a direct action on glucose absorption and metabolism. It is also noted that this acidified water-chloroform extract has a slow onset, even through the intravenous route it needs as much as 4 h to be effective. This is in contrast to a rapid action of the orally administered tolbutamide. However, both drugs have long duration of action, which last for more than 10 h. Moreover, the pattern of blood glucose changes by acidified water-chloroform extract is different from that of charantin, a sterol glycoside which is isolated and identified by Lotlikar and Rao.[13,14]

The intravenous (15 mg/kg) and oral (25 mg/kg) administration of charantin in normal fasting rabbits produced the same hypoglycemic effect whereas a variable response was observed in alloxan-diabetic rabbits.[14] Moreover, the hypoglycemic effect of charantin will only last for 4 h after which the blood sugar is tended to reach its same level before treatment.[14]

Besides charantin, an isolation of other active principles of a polypeptide class which has an insulin-like activity after subcutaneous and intramuscular injection in diabetic patients have been reported.[3,9] Although this polypeptide had been thought to be hydrolysed if the fruit juice was taken orally, many literatures reported its effectiveness.[7,12,20] Therefore, this polypeptide may be acid resistant which can be experimentally proof. There may be some other active principles in the fruits of this plant beyond p-insulin like substances and charantin. One of which may be the steroidal substances which has been identified in the acidified water-chloroform extract.[23] In addition to the hypoglycemic action, this extract has an advantageous antibacterial activity[24] for the diabetic patients. An isolation and purification of these substances from acidified water-chloroform extract for pharmacological and toxicological studies are therefore worthwhile in order to elucidate the active principles in this extract. Since the fruits of *Momordica charantia* Linn. contain many active hypoglycemic components of different mechanisms, this plant may be very useful for the diabetic patients and further studies on this plant should be performed.

ACKNOWLEDGEMENT

The authors wish to thank the National Research Council of Thailand for a partial support of this work.

REFERENCES

1. Akhtar, M.S., Athar, M.A. and Yaqub, M. Effect of *Momordica charantia* on blood glucose level of normal and alloxan-diabetic rabbits. *Planta Medica*, 1981, **42**(3), 205-212.
2. Ayensu, E.S. Medicinal plants of West Africa. Research Publications, Inc., Michigan, 1978, 115-116.
3. Baldwa, V.S., Bhandari, C.M., Pangaria, A. and Coyal, R.K. Clinical trial in patients with diabetes mellitus of an insulin-like compound obtained from plant source. *Uppala J. Med. Sci.*, 1977, **82**, 39-41.
4. Ceriotti, C. and Frank, A.D.N. An improved procedure for blood glucose determination with O-toluidine. *Clin. Chem. Acta*, 1969, **24**, 311-313.
5. Diaz, L.T. Preliminary study of an alkaloid-like material obtained from "cundeamor" or *M.charantia* L. *Puerto Rico J. Pub. Health Trop. Med.*, 1936, **11**,812.
6. Dulin, W.E. Basic pharmacological technique for evaluating antidiabetic agents. Yearbook Medical Publishers, Chicago, 1964, 515.

7. Gupta, S.S. Experimental studies on pituitary diabetes. III. Effect of indigenous anti-diabetic drugs against the acute hypoglycemic response of anterior pituitary extract in glucose fed albino rats. *Indian J. Med. Res.*, 1963, **51**, 716-724.

8. Kedar, P. and Chakrabarti, C.H. Effects of bittergourd (*Momordica charantia* L.) seed & glibenclamide in streptozotocin induced diabetes mellitus. *Indian J. Exp. Biol.*,1982, **20**, 232-235.

9. Khanna, P. and Jain, S.C. Hypoglycemic activity of polypeptide-P from a plant source. *J. Natl. Prod.*, 1981, **44**, 648-654.

10. Kulkarni, R.D. and Gaitonde, B.B. Potentiation of tolbutamide action by Jasad bhasma and Karela (*Momordica charantia*). *Indian J. Med. Res.*, 1962, **50**(5), 715-719.

11. Larner, J. Insulin and oral hypoglycemic drugs; glucagon. In Gilman, A.G., Goodman, L.S., Rall, T.W. and Murad, F. (eds.). The pharmacological basis of therapeutics.. 7th ed., Macmillan Publishing Co., Inc., New York, 1985, 1504-1507.

12. Leatherdale, B.A., Panesar, R.K., Singh, G., Atkins, T.W., Bailey, C.J. and Bignell, A.H.C. Improvement in glucose tolerance due to *Momordica charantia* L. (Karela). *Brit. Med. J.*, 1981, **282**, 1823-1824.

13. Lotlikar, M.M. and Rao, M.R.R. Note on hypoglycemic principle isolated from the fruits of *Momordica charantia* L. *J. Univ. Bombay*, 1961, **29**, 223.

14. Lotlikar, M.M. and Rao, M.R.R. Pharmacology of a hypoglycemic principle isolated from the fruit of *Momordica charantia* Linn. *Indian J. Pharm.*, 1966, **28**, 129-133.

15. Pongmarutai, M. and Dechativong, Kh. Alloxan as an diabetic inducer in rabbits. *Thai J. Pharmacol.* 1981, **3**(2), 57-64 (in Thai).

16. Pongboonrod, S. *Momordica charantia* L. Thai medicinal plants. Kasembunakit, Bangkok, 1965, 427 (in Thai).

17. Quisumbing, E. Medicinal plants of the Philippines. Manila Bureau of Printing, Manila, 1951, 944-948.

18. Rivera, G. Preliminary chemical and pharmacological studies on "cundeamor" *Momordica charantia* L. (Part I). *Am. J. Pharm.*, 1941, **113**, 281-297.

19. Rivera, G. Preliminary chemical and pharmacological studies on "cundeamor" *Momordica charantia* L. (Part II). *Am. J. Pharm.*, 1942, **114**, 72-87.

20. Sharma, V.N., Sogani, R.K. and Arora, R.B. Some observations on hypoglycemic activity of *Momordica charantia*. *Indian J. Med. Res.*, 1960, **48**, 471.

21. Sucrow, W. Uber Steringglucoside und die neues Stigmastadienol aus *Momordica charantia* L. *Tetrahedron Lett.*, 1965, **26**, 2217.

22. Thacker, M.S. et al. The Wealth of India. Vol. VI, Council of Scientific & Industrial Research, New Delhi, 1962, 408.

23. Visarata, N. and Ungsurungsie, M. Extracts from *Momordica charantia* L. *Quart. J. Crude Drug Res.*, 1981, **19**(2-3), 75-80.

24. Visarata, N. and Ungsurungsie, M. The antibacterial activity and mechanism of action of extracts from *Momordica charantia* L. *Thai J. Pharm. Sci.*, 1981, **6**, 1-14.

25. Watt, J.M. and Breyer-Brandwijk, M.G. The medicinal and poisonous plants of southern and eastern Africa. 2nd ed., E&S Livingstone, Ltd., Edinburgh, 1962, 363-364.

Table 1. The blood glucose level (Mean ± SEM) in diabetic rabbits at various time intervals after intravenous administration of acidified water-chloroform extract from *Momordica charantia* L., NSS and oral administration of 100 mg/kg tolbutamide.

Treatment	Blood glucose level (mg/100 ml)					
	0 h	2 h	4 h	6 h	8 h	10 h
Acidified water-chloroform extract						
5 mg/kg (n = 5)	284±52	296±54	276±47	298±42	294±43	275±42
10 mg/kg (n = 5)	268±48	272±48	247±51	235±56	221±51*	201±50*
20 mg/kg (n = 6)	355±75	339±70	300±35*	274±36*	250±31*	241±24*
NSS (n = 6)	306±30	315±29	312±32	296±31	292±29	280±28
Tolbutamide (n = 6)	332±40	349±40	338±40	301±42	305±46	295±45

* $P < 0.01$

Table 2. The blood glucose level (Mean ± SEM) in normal rabbits at various time intervals after intravenous administration of 20 mg/kg acidified water-chloroform extract and oral administration of 100 mg/kg tolbutamide.

Treatment	Blood glucose level (mg/100 ml)					
	0 h	2 h	4 h	6 h	8 h	10 h
Acidified water-chloroform extract (n = 6)	98±4	104±6	106±2	108±3	109±4	102±5
Tolbutamide (n = 6)	104±5	88±7*	71±4*	68±4*	62±5*	61±2*

* $P < 0.01$

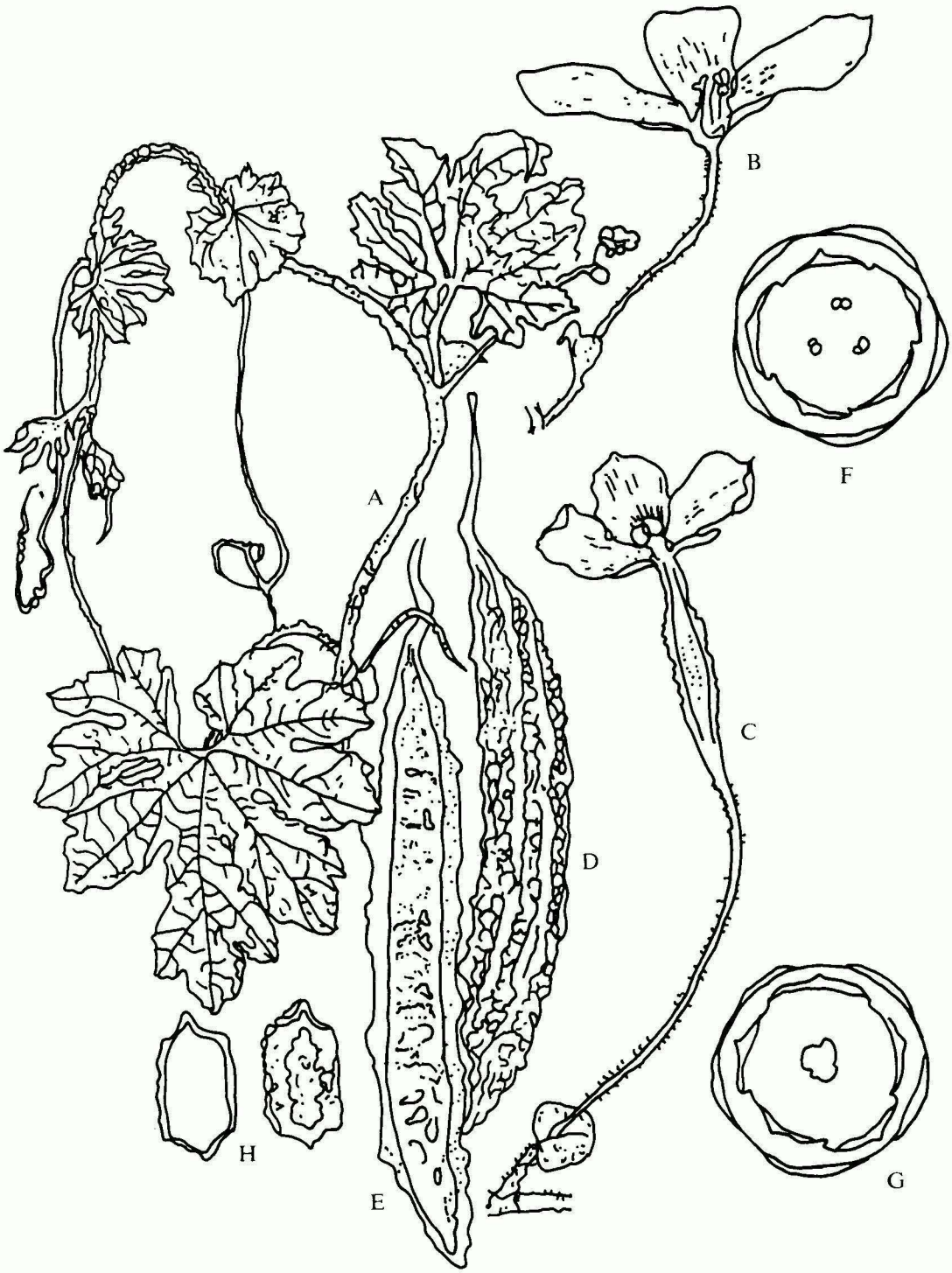


Fig. 1 *Momordica charantia* **Linn. (Mara-chean), showing leaves and tendrils, fruits, male and female flowers.**

A = shoot
B = staminate flower
C = pistillate flower
D = fruit
E = long section of fruit
F = cross section of fruit
G = external feature of seed
H = diagrammatic layer of seed

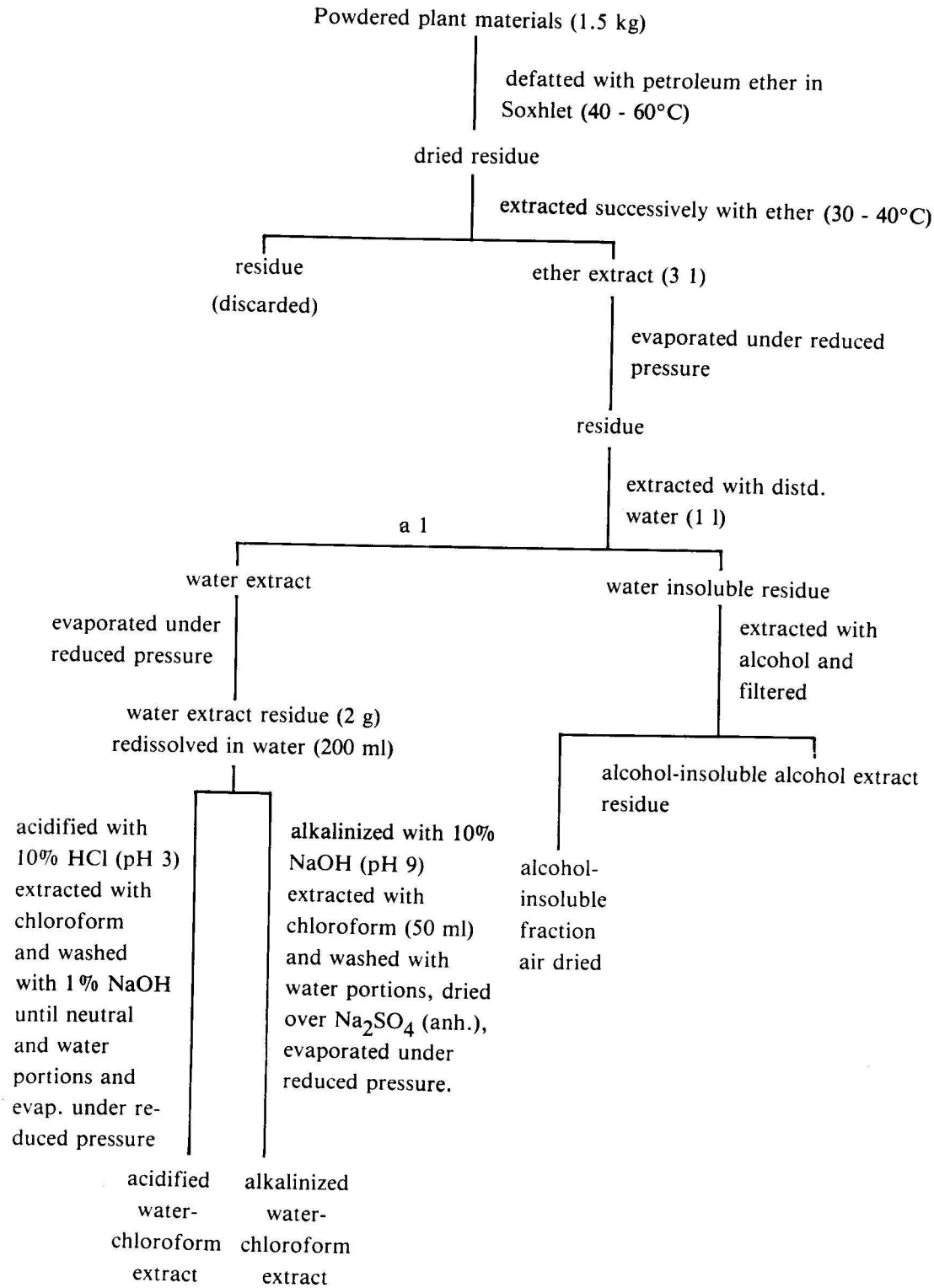


Fig. 2 Diagram showing the method of extraction of the fruits of *Momordica charantia* Linn.

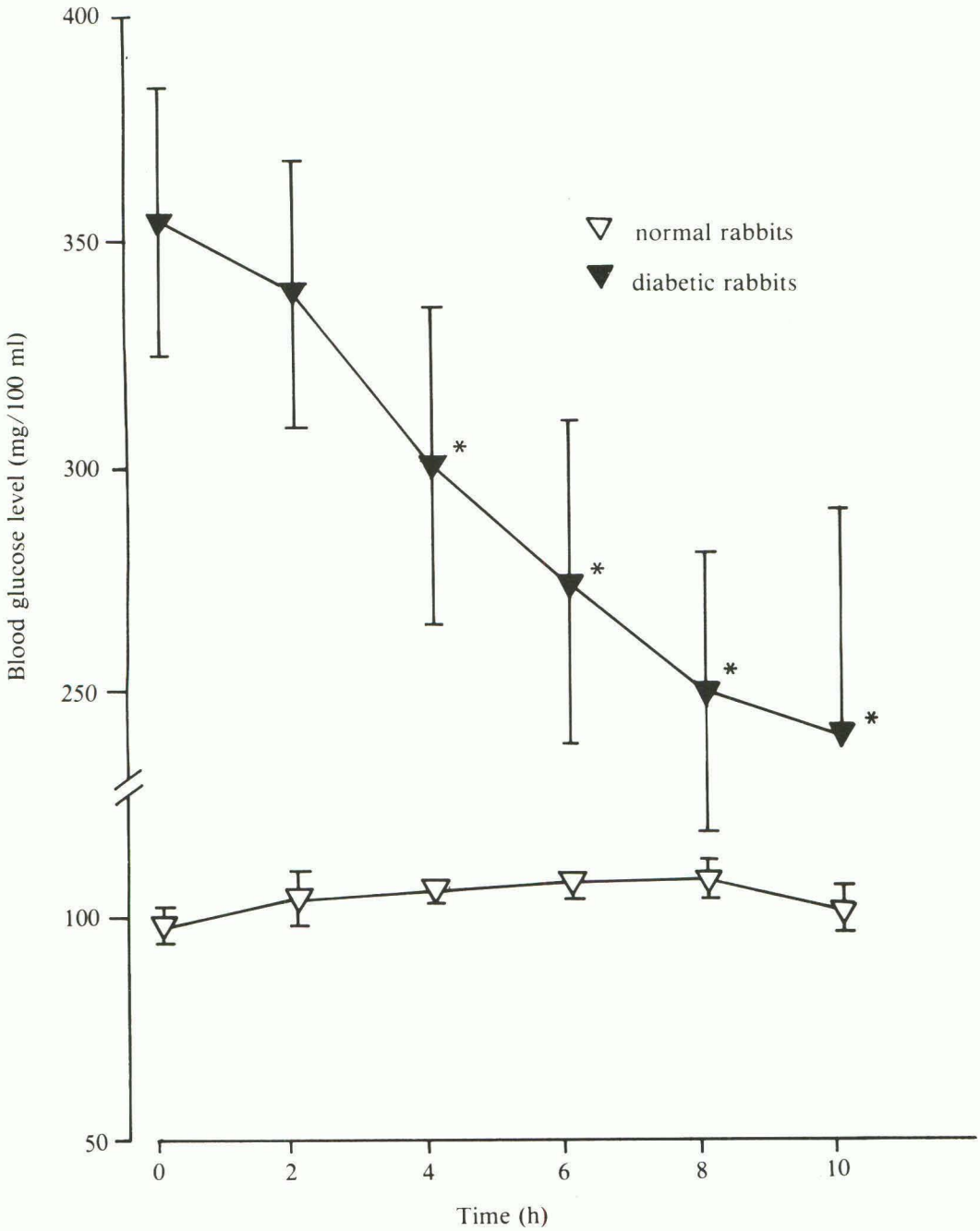


Fig. 3 Effect of intravenous administration of acidified water-chloroform extract at 20 mg/kg in normal and diabetic rabbits. (* $P < 0.01$)

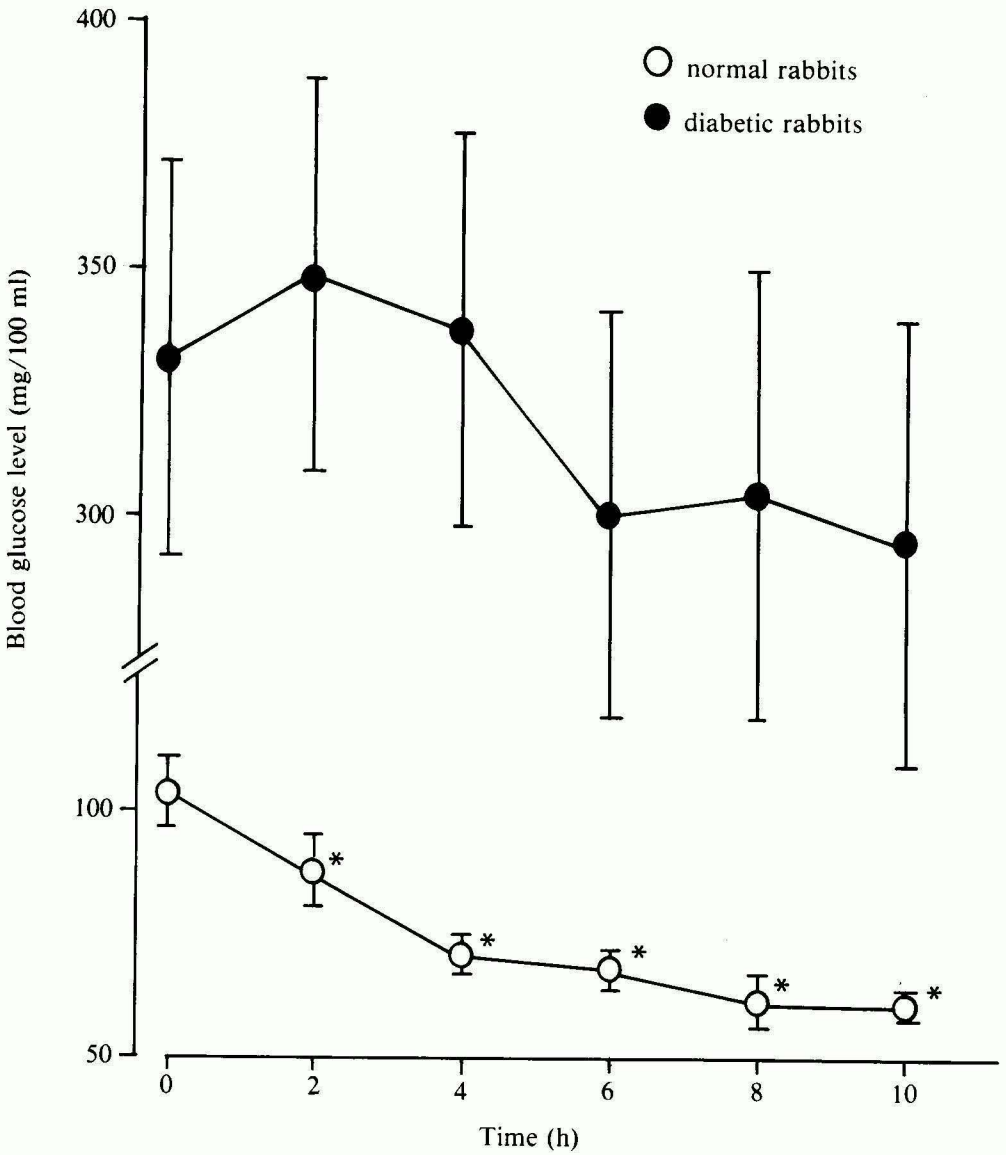


Fig. 4 Effect of oral administration of 100 mg/kg tolbutamide in normal and diabetic rabbits. (* $P < 0.01$)

การศึกษาปริมาณเหล็กที่จะถูกดูดซึมได้ในอาหารไทย และปัจจัยที่มีผลเกี่ยวข้อง

STUDIES OF IONIZABLE IRON IN THAI FOODS AND ITS INFLUENCING FACTORS

นภมน ศรีตงกุล

Nopamon Sritongkul

มลุลี ตัณฑวิรุฬห์

Malulee Tuntawiroon

ฉวีวรรณ พัฒนจักร

Chaweewan Pattanachak

เบญจพร นาคสุขสกุล

Benjaporn Naksuksakul

ฤดี ปลีหจินดา

Rudee Pleehachinda

นุชรี ปุตระเศรณี

Nucharee Putraserani

ศิริพร จงจิระศิริ

Siriporn Chongchirasiri

คณะแพทยศาสตร์ศิริราชพยาบาล มหาวิทยาลัยมหิดล

Faculty of Medicine, Siriraj Hospital, Mahidol University

บทคัดย่อ

การศึกษาวิเคราะห์หาปริมาณธาตุเหล็กที่จะถูกดูดซึมได้ในหลอดทดลอง พบว่า เป็นวิธีการที่ให้ความถูกต้องแม่นยำ ไม่ว่าจะเป็นการหาปริมาณภายในหรือระหว่างชุดของการวิเคราะห์ โดยมีค่าสัมประสิทธิ์ของความผันแปรต่ำกว่าร้อยละ 10 ซึ่งในทางสถิติยอมรับว่าเป็นวิธีที่ใช้ได้ดี วิธีการคือ ทำสภาพให้คล้ายคลึงกับการย่อยในกระเพาะอาหารและลำไส้ แล้ววัดการแตกตัวของเหล็ก คิดเป็นร้อยละโดยเทียบกับปริมาณของเหล็กกัมมันตรังสีทั้งหมดที่เติมลงไป อาหารตัวอย่างที่บดให้ละเอียดแล้ว จะถูกย่อยด้วยเอนไซม์เปปซินในสภาพที่เป็นกรดด้วยกรดเกลือ pH = 1.35 แล้วเติมเหล็กกัมมันตรังสี (เหล็ก–59) ลงไป เมื่อครบเวลาแล้ว ปรับสภาพให้มี pH = 7.5 ด้วยอะซิเตทบัฟเฟอร์ เพื่อทำให้มีสภาพคล้ายคลึงกับส่วนต้นของลำไส้เล็ก สกัดเอาเหล็กส่วนที่สามารถจะถูกดูดซึมได้โดยใช้ บาโทฟีแนนโทรลีน แล้วไปวัดปริมาณกัมมันตภาพรังสี หาร้อยละของเหล็กที่สามารถจะถูกดูดซึมได้ เทียบกับเหล็กกัมมันตรังสีที่ใส่ลงไปในอาหารทั้งหมด อาหารที่ใช้ทดลองการดูดซึมเหล็กในอาสาสมัคร เมื่อนำมาหาปริมาณเหล็กที่จะถูกดูดซึมได้ในหลอดทดลอง ให้ผลที่มีความสัมพันธ์กันได้ดี ทั้งการเปรียบเทียบกันในรูปร้อยละและในรูปอัตราส่วน

ผลการหาปริมาณเหล็กที่จะถูกดูดซึมได้ในหลอดทดลอง พบว่า ปลาทูทอด น้ำส้มคั้นและเนื้อหมู ช่วยเพิ่มปริมาณการแตกตัวของเหล็ก แต่ถั่วเขียวลดปริมาณการแตกตัวของเหล็ก ซึ่งเหมือนกับผลการทดลองการดูดซึมเหล็กในอาสาสมัคร ดังนั้น จึงอาจกล่าวได้ว่า วิธีการวิเคราะห์หาปริมาณเหล็กที่จะถูกดูดซึมได้ในหลอดทดลองนี้ สามารถใช้เพื่อการคาดคะเนปริมาณเหล็กที่อาจจะถูกดูดซึมจากอาหารได้

ABSTRACT

An in vitro *method for estimating availability of nonheme iron from food items was investigated. The coefficient of variation of intra and inter assay was less than 10 per cent which is statistically acceptable. The method involves simulated gastrointestinal digestion followed by radioactivity measurement of per cent ionizable iron which was extrinsically tagged by ^{59}Fe. Homogenized food sample was exposed to pepsin-HCl and extrinsically tagged with a radioisotope ^{59}Fe at pH 1.35. After incubation, the pH was adjusted to 7.5 by using acetate buffer. Ionizable iron was determined by the bathophenanthroline method. The per cent ionizable iron was calculated to compare to total added extrinsically tagged ^{59}Fe. Not only the per cent ionizable iron in a test meal but also its ratio compared to basal diet was shown to correlate highly with per cent and ratio iron absorption from the same diets observed in the adult males. Ionizable iron was shown to increase in presence of fish, orange juice and pork but to decrease in presence of mung bean. This observation was similar to the effect of these factors on iron absorption in human subjects. Thus this method has proved to be valuable as an* in vitro *method for predicting the availability of iron from food.*

คำนำ

โรคโลหิตจางเนื่องจากขาดธาตุเหล็ก เป็นปัญหาทางโภชนาการที่สำคัญในประเทศที่กำลังพัฒนาทั่วโลก สำหรับประเทศไทย จากการตรวจค่าฮีมาโตคริทของกลุ่มประชากรทั่วทุกภาค พบอุบัติการโลหิตจาง ตั้งแต่ร้อยละ 11 ในจังหวัดสระบุรี จนถึงร้อยละ 89 ในจังหวัดอุบลราชธานี[47] ภาวะการขาดธาตุเหล็กเป็นปัญหาที่พบบ่อยมากในเด็กและผู้หญิง[11] Sturgeon[44] รายงานว่า ถ้าเด็กเป็นโรคโลหิตจางเนื่องจากการขาดเหล็ก จะทำให้ระบบอิมมูนบกพร่อง ความต้านทานโรคลดลง และทำให้อัตราการตายในเด็กสูงขึ้น หญิงมีครรภ์ที่เป็นโรคโลหิตจางจะทำให้อัตราการเสี่ยงต่อการคลอดก่อนกำหนด รวมทั้งอัตราการตายของมารดาและทารกสูงขึ้น Viteri และ Torun[46] รายงานว่า ภาวะการขาดเหล็กในผู้ใหญ่ทำให้ความสามารถในการทำงานลดลง เป็นการบั่นทอนเศรษฐกิจของประเทศ

สาเหตุที่ทำให้ร่างกายได้รับธาตุเหล็กไม่เพียงพอ อาจเกิดขึ้นได้เนื่องจากมีการสูญเสียโลหิตแบบเรื้อรัง และ/หรือ มีการดูดซึมเหล็กเข้าสู่ร่างกายไม่เพียงพอ การเสียเลือดแบบเรื้อรังนั้น อาจจะเป็นไปโดยไม่รู้ตัว เช่น มีพยาธิปากขอ ซึ่งพบมากในประเทศไทย[45] โดยเฉพาะในเด็กพบถึงร้อยละ 90[1] การเป็นแผลในกระเพาะอาหาร ริดสีดวงทวาร หรือการเสียเลือดทางประจำเดือน เป็นต้น สำหรับการดูดซึมเหล็กเข้าสู่ร่างกายที่ไม่เพียงพอนั้น อาจเกิดจากในอาหารมีปริมาณเหล็กน้อยเกินไป หรือมีเหล็กอยู่ในปริมาณที่เพียงพอ แต่อยู่ในรูปที่ไม่เหมาะสมต่อการดูดซึม หรือเนื่องมาจากส่วนประกอบของอาหาร ซึ่งอาจจะมีตัวยับยั้งการดูดซึมเหล็กผสมอยู่มาก หรือมีตัวเพิ่มการดูดซึมเหล็กผสมอยู่น้อย

สำหรับสาเหตุที่มีการดูดซึมเหล็กน้อยในกรณีที่มีปริมาณเหล็กในอาหารเพียงพอนั้น เป็นสิ่งที่ควรศึกษาและแก้ปัญหาซึ่งสามารถทำได้หลายทาง เช่น การให้เหล็กทดแทน (Supplementation) การเสริมธาตุเหล็กลงในอาหาร (Fortification) ซึ่งเป็นทางตรง และการแนะนำส่งเสริมวิธีบริโภคอาหารที่เพิ่มการดูดซึมเหล็ก (Food modification) ซึ่งเป็นทางอ้อม การแก้ปัญหาโดยวิธีทางอ้อมนี้ เป็นการใช้เหล็กที่มีอยู่แล้วในอาหารให้เป็นประโยชน์ โดยไม่ต้องเติมจากภายนอกซึ่งเป็นวิธีการที่สิ้นเปลืองกว่า การศึกษาหาปริมาณเหล็กที่จะถูกดูดซึมได้ รวมทั้งปัจจัยต่าง ๆ ที่มีผลไม่ว่าจะเป็นส่วนช่วยเพิ่มหรือลดปริมาณของเหล็กที่จะถูกดูดซึมได้ ย่อมมีประโยชน์ในการนำผลมาช่วยแก้ไขปัญหา และส่งเสริมแนะนำการบริโภคให้เป็นไปในทางที่ถูกต้องยิ่งขึ้น

งานวิจัยนี้ยังไม่เคยมีผู้ใดทำมาก่อนในประเทศไทย สำหรับในต่างประเทศ มีผู้ทำการวิจัยมาแล้ว เช่น Jacobs[26] ได้คิดค้นวิธีการสกัดเอาเหล็กที่อยู่ในรูปซึ่งสามารถละลายได้ออกมาจากอาหารจำนวน 25 ชนิด และทำภายใต้สภาพที่คล้ายคลึงกับสภาพทางกายภาพของกระเพาะอาหาร พบว่า ส่วนใหญ่ของเหล็กที่สกัดออกมาได้นั้น จะมีปริมาณน้อยกว่าครึ่งหนึ่งของจำนวนเหล็กทั้งหมดที่มีอยู่ในอาหาร ปริมาณของเหล็กที่จะถูกสกัดออกมานี้ขึ้นอยู่กับวิธีการปรุงอาหาร และรวมทั้งการมีปัจจัยอื่น ๆ ร่วมอยู่ในอาหารนั้นด้วย Jacobsกล่าวว่าปริมาณเหล็กทั้งหมดที่มีอยู่ในอาหารมิใช่ว่าจะเป็นส่วนที่ถูกดูดซึมได้ทั้งหมด

Hallberg[22] ได้คิดค้นวิธีการสำหรับวัดหาปริมาณของเหล็กที่จะถูกดูดซึมโดยวิธีภายนอกร่างกาย และใช้สารกัมมันตภาพรังสีเป็นตัวช่วยวัด ซึ่งทำการทดลองในภาวะเดียวกับสภาพทางกายภาพของกระเพาะอาหารในร่างกาย Hallberg ได้ทำการทดลองในอาหารหลายประเภท รวมทั้งอาหารที่มีเหล็กจากภายนอกมาปะปนด้วย พบว่า วิธีการแบบภายนอกร่างกายนี้ สามารถใช้หาปริมาณของเหล็กที่จะถูกดูดซึมจากเหล็กทั้งหมดที่มีอยู่ในอาหารได้เป็นอย่างดี

Miller[30] ได้ศึกษาวิธีการสำหรับวัดหาปริมาณของเหล็กที่จะถูกดูดซึมได้โดยวิธีภายนอกร่างกาย แต่อยู่ในสภาพที่คล้ายคลึงกับสภาพทางกายภาพของกระเพาะอาหาร และลำไส้ภายในร่างกายคน ได้ทดลองถึงผลของปัจจัยที่จะมีส่วนกระตุ้น หรือยับยั้งการเปลี่ยนแปลงสภาพของเหล็กในอาหารให้อยู่ในรูปที่จะดูดซึมได้

Schricker[41] ได้ศึกษาเปรียบเทียบผลของการดูดซึมเหล็กจากอาหาร โดยใช้วิธีวัดการดูดซึมเหล็กในร่างกายของคน เปรียบเทียบกับการหาปริมาณของเหล็กที่จะดูดซึมโดยวิธีภายนอกร่างกายตามวิธีของ Miller พบว่า ให้ผลเปรียบเทียบที่มีความสัมพันธ์กันเป็นอย่างดี นอกจากนี้ก็ยังทำการเปรียบเทียบผลการดูดซึมเหล็กในร่างกายคนกับในหนูทดลอง ซึ่งพบว่า ไม่มีความสัมพันธ์กันเลย

การดูดซึมเหล็กจากอาหาร และส่วนประกอบของอาหารนั้น เป็นการยากที่จะคาดการณ์ล่วงหน้าว่า จะได้รับเหล็กดี หรือ เลว มากน้อยเพียงใด ทั้งนี้ขึ้นอยู่กับชนิดของสารประกอบเหล็ก ปริมาณของเหล็กที่มีอยู่ รวมทั้งส่วนประกอบของอาหารที่แตกต่างกัน ทั้งปริมาณและคุณภาพของอาหารแต่ละจานที่รับประทานในแต่ละมื้อ รวมทั้งขึ้นอยู่กับสมรรถภาพของการดูดซึมเหล็กของแต่ละบุคคลด้วย[21,23,27] ดังนั้น เพื่อให้มีแนวทางพอที่จะคาดการณ์ได้ว่า เหล็กในอาหารแต่ละจานที่รับประทานนั้น มีโอกาสที่จะถูกดูดซึมได้มากหรือน้อยเพียงใด จึงทำการทดลองโดยใช้วิธีทางเคมีและกัมมันตรังสีในหลอดทดลอง ซึ่งเป็นวิธีที่ง่าย รวดเร็ว และประหยัดกว่าการทำการทดลองการดูดซึมจากอาหารในคน

อุปกรณ์และวิธีการ

การวิเคราะห์เหล็ก

การหาปริมาณเหล็กทั้งหมด (Total iron): ใช้วิธีของ Bjorn Rasmussen และคณะ[3] มีหลักการคือ อาหารจะถูกเผาที่อุณหภูมิ 600°ซ. แล้วนำมาละลายในกรดเกลือ จากนั้นเหล็กจะรวมตัวเป็นสารประกอบเชิงซ้อนกับบาโทฟีแนนโทรลีน ซัลโฟเนท (Bathophenanthroline sulfonate) ให้สีชมพู ซึ่งจะวัดความเข้มของการดูดแสงที่ความยาวคลื่น 546 นาโนเมตร แล้วเปรียบเทียบความเข้มกับสารละลายเหล็กมาตรฐาน

การหาปริมาณเหล็กที่จะถูกดูดซึมได้ (Ionizable Fe): หลักการคือ บดอาหารให้ละเอียด แล้วนำไปย่อยด้วยเอนไซม์เปปซินในสภาพที่เป็นกรดด้วยกรดเกลือ แล้วเติมเหล็กกัมมันตรังสี (เหล็ก 59) เป็นเทรเสอร์ (tracer) สำหรับวัดปริมาณเหล็กที่จะถูกดูดซึมได้ลงไปหลังจากที่ตั้งไว้ใน Shaking water bath 37°ซ. ครบ 30 นาที แล้วนำมาเติมอะซิเตทบัฟเฟอร์ เพื่อทำให้สภาพคล้ายคลึงกับส่วนต้นของลำไส้เล็ก แล้วสกัดเอาเหล็กส่วนที่สามารถจะถูกดูดซึมได้โดยใช้บาโทฟีแนนโทรลีน นำไปวัดปริมาณรังสีหาร้อยละของเหล็กที่สามารถจะถูกดูดซึมได้ เทียบกับเหล็กกัมมันตรังสีที่ใส่ลงไปในอาหารทั้งหมด วิธีที่ใช้นี้ดัดแปลงมาจากวิธีของ Rao และ Prabhavathi[36] โดยตัดขั้นตอนการกรอง เพราะกากอาหารทำให้เสียเวลา และเพิ่มการใช้เหล็กกัมมันตรังสี เป็นตัวเทรเสอร์

การวิเคราะห์สารที่มีผลต่อการดูดซึมเหล็ก

การวิเคราะห์หาปริมาณไวตามินซี: ใช้วิธีของ Shich and Sweet[42] หลักการคือ ไวตามินซีจะรีดิวซ์สารละลาย Copper (II)-2, 2′-biquinoline ได้สารละลายสีม่วงของ Copper (I)-2, 2′-biquinoline complex ในบัฟเฟอร์ อะซิโตน หาปริมาณได้โดยวัดความเข้มของการดูดแสงที่ความยาวคลื่น 540 นาโนเมตร หาปริมาณไวตามินซีในอาหารได้โดยนำอาหารที่บดละเอียดแล้ว 5 ก. มาเติมบัฟเฟอร์ของฟอสเฟต กรดซิตริกที่เข้มข้น 0.01 โมล/ลิตร pH 3.0 จำนวน 25 มล. บัฟเฟอร์นี้จะต้องผ่านก๊าซไนโตรเจนก่อน ไวตามินซีในอาหารจะละลายอยู่ในบัฟเฟอร์ นำสารละลายจำนวน 1 มล. มาเติมสารละลาย Copper (II)-2, 2′-biquinoline จำนวน 20 มล. นำไปวัดความเข้มของการดูดแสงที่มีความยาวคลื่น 540 นาโนเมตร หาปริมาณไวตามินซีโดยเทียบกับสารละลายมาตรฐานของ L-ascorbic acid

การวิเคราะห์หาปริมาณโปรตีน: ใช้วิธี Micro-kjeldahl[18] หลักการคือย่อยสารอินทรีย์ไนโตรเจนในโปรตีนให้อยู่ในรูปของสารอนินทรีย์ไนโตรเจน โดยไนโตรเจนจะถูกเปลี่ยนเป็นแอมโมเนียที่ละลายในกรดกำมะถันได้เป็นแอมโมเนียมซัลเฟต แล้วจึงกลั่นโดยให้ทำปฏิกิริยากับโซเดียมไฮดรอกไซด์ที่มากเกินพอ เพื่อปล่อยให้แอมโมเนียมออกมาอยู่ในกรดบอริก แล้วหาปริมาณไนโตรเจนทั้งหมดโดยวิธีไตเตรท (Titration) ด้วยกรดเกลือที่ทราบความเข้มข้นที่แน่นอน

การวิเคราะห์หาปริมาณฟัยเตท (phytate): ใช้วิธีของ Oberleas[33] หลักการคือ ตกตะกอนฟัยเตทให้อยู่ในรูปของเฟอริกฟัยเตท ด้วยสารละลายเฟอริกคลอไรด์ เปลี่ยนตะกอนที่ได้ให้เป็นโซเดียม-ฟัยเตท หลังจากนั้นละลายตะกอนในกรดกำมะถันเข้มข้น แล้วนำไปไฮโดรไลส์ด้วยกรดดินประสิวเข้มข้นหรือกรดเพอร์คลอริก 65% นำสารละลายที่ได้จากการไฮโดรไลส์ไปหาปริมาณฟัยเตท ซึ่งจะอยู่ในรูปของอินโนซิทอล ฟอสเฟต (Inositol phosphate) ตามวิธีการของ Lindberg และ Ernster[28]

การศึกษาการดูดซึมเหล็กจากอาหาร

การดูดซึมเหล็กจากอาหาร: ใช้วิธีของ Cook[12] โดยแบ่งกลุ่มทดลองเป็น 2 กลุ่ม แล้วให้รับประทานอาหารตามที่กำหนด (ตารางที่ 1)

การเจาะเลือด: ก่อนเริ่มการทดลอง จะมีการเจาะเลือดเพื่อเป็นกลุ่มควบคุม (control) เมื่อผู้ทดลองรับประทานอาหารตามกำหนดแล้ว จะมีการเจาะเลือดในวันที่ 14 ก่อนที่จะรับประทานมื้อ ค และเจาะเลือดอีกครั้งในวันที่ 28 เลือดที่เก็บนี้จะนำมาวิเคราะห์หาปริมาณเหล็ก 55 และ เหล็ก 59 ในเม็ดเลือดแดง เพื่อหาค่าปริมาณของเหล็กที่ถูกดูดซึมเข้าสู่ร่างกาย

การวิเคราะห์เลือดหาปริมาณเหล็กกัมมันตรังสี

ใช้วิธีของ Eakins และ Brown[17] นำตัวอย่างเลือด 10 มล. ไปสลายสารอินทรีย์ด้วยกรดกำมะถันและกรดดินประสิวเข้มข้น จนได้สารละลายสีเหลืองส้ม นำสารละลายที่ได้ไปออกซิไดซ์ด้วยไฮโดรเจนเพอร์ออกไซด์ 30% จนได้สารละลายใส นำสารละลายนี้ไปตกตะกอนด้วยแอมโมเนียม-ไฮดรอกไซด์ จนได้ตะกอนเฟอริกไฮดรอกไซด์ ละลายตะกอนด้วยกรดฟอสฟอริกเข้มข้น แล้วตกตะกอนเหล็กด้วยแอมโมเนียมคลอไรด์ในเอทิลแอลกอฮอล์ ได้ตะกอนสีขาวของเฟอริกฟอสเฟต นำตะกอนไปตรวจปริมาณรังสีโดยใช้ Liquid scintillant (Aquasol) แล้วนำไปตรวจวัดปริมาณรังสีเหล็ก 55/เหล็ก 59 ด้วยเครื่องวัดรังสี

ผล

1. การศึกษาความถูกต้องของวิธีการที่ใช้ในการวิเคราะห์ทางเคมีและรังสี เพื่อหาปริมาณการแตกตัวของเหล็กที่จะถูกดูดซึมได้ในหลอดทดลอง (*in vitro*)

จากการทำ Quality control เพื่อหาความถูกต้องของวิธีการทั้ง Intra และ Inter assay ตามจำนวนครั้งที่เพียงพอ ได้ค่าสัมประสิทธิ์ความผันแปร (Coefficient of variation) ไม่เกินร้อยละ 10 (ตารางที่ 2 และ 3)

2. การทดลองหาปริมาณของเหล็กที่จะถูกดูดซึมได้ (*in vitro*) ในสารละลายของสารประกอบเหล็ก ชนิดและปริมาณต่าง ๆ กัน

สารประกอบเหล็กที่ใช้ในการทดลองมี 4 ชนิด คือ $FeSO_4$, เหล็กเชิงซ้อน ($FeSO_4$: SHMP:$NaHSO_4$ = 10:8:5), $FeCl_3$ และ FeNaEDTA ปริมาณของเหล็กที่ใช้เริ่มตั้งแต่ 0.5 มคก.* ถึง 20 มก. พบว่า สารประกอบเหล็กในสภาพของสารละลายที่ให้ปริมาณของเหล็กที่จะถูกดูดซึมได้ดีคือ $FeSO_4$ และเหล็กเชิงซ้อนซึ่งเป็นเหล็กในรูปของ Fe^{+2} รองลงมาคือ $FeCl_3$ และ FeNaEDTA ซึ่งเป็นเหล็กในรูป Fe^{+3} ในปริมาณที่สูงกว่า 600 มคก.ขึ้นไป $FeCl_3$ จะให้เหล็กที่จะถูกดูดซึมได้ดีกว่าในเหล็กเชิงซ้อน $FeSO_4$ และ FeNaEDTA ตามลำดับ (รูปที่ 1, ตารางที่ 4 และ 5)

---

* มคก. = ไมโครกรัม

3. การทดลองผลของไวตามินซีในการส่งเสริมปริมาณเหล็กที่จะถูกดูดซึมได้ ของสารประกอบเหล็ก $FeSO_4$ และ FeNaEDTA ในน้ำ

พบว่าสารละลายของเหล็กในรูป $FeSO_4$ ในน้ำ ไม่มีการเปลี่ยนแปลงเกิดขึ้นเมื่อเติมไวตามินซีลงไป ไม่ว่าจะเป็นปริมาณเท่าใดก็ตาม (รูปที่ 2, ตารางที่ 6 และ 7) สำหรับสารละลายของเหล็กในรูป FeNaEDTA ในขนาด 60 และ 400 มคก. ในน้ำ เมื่อเติมไวตามินซีลงไปจะช่วยเพิ่มการดูดซึมของเหล็ก (รูปที่ 2 และ ตารางที่ 8)

4. การทดลองผลของไข่ไก่ในการขัดขวาง (inhibit) ปริมาณเหล็กที่จะถูกดูดซึมได้ของสารประกอบ $FeSO_4$, $FeCl_3$ และ FeNaEDTA ในน้ำ

จากตารางที่ 9 จะเห็นได้ว่า เมื่อเติมไข่แดงลงไปในน้ำที่มีสารประกอบเหล็ก $FeSO_4$ และ $FeCl_3$ ทำให้ปริมาณเหล็กที่จะถูกดูดซึม ลดลงจากเดิม ซึ่งให้ผลตรงกันข้ามกับการเติมไข่ขาวลงไป เพราะไข่ขาวทำให้ปริมาณเหล็กที่จะถูกดูดซึมเพิ่มขึ้น แต่ในกรณีของสารประกอบเหล็ก FeNaEDTA ในน้ำ ทั้งไข่ขาวและไข่แดงมีผลต่อการเปลี่ยนแปลงน้อยมาก

5. การวิเคราะห์อาหารกลุ่มต่าง ๆ

จากการวิเคราะห์หาปริมาณเหล็กที่จะถูกดูดซึมได้และปริมาณเหล็กทั้งหมดของอาหารกลุ่มต่าง ๆ เช่น พวกคาร์โบไฮเดรต ผัก ผลไม้ โปรตีนพืชและโปรตีนสัตว์ รวมทั้งการวิเคราะห์หาไวตามินซีและฟัยเตท ซึ่งเป็นปัจจัยที่อาจมีผลส่งเสริมและขัดขวางต่อการดูดซึมของเหล็ก พบว่าในกลุ่มคาร์โบไฮเดรต ทั้งข้าวเจ้าและข้าวเหนียว มีปริมาณของเหล็กและการแตกตัวไม่สูงมาก พบมีปริมาณฟัยเตทเล็กน้อย สำหรับกลุ่มพืช ผัก ไม่พบฟัยเตท แต่ในพริกขี้หนู พบมีปริมาณไวตามินซีสูงมาก และมีการแตกตัวของเหล็กมากกว่าพืชผักอื่น ๆ ในกลุ่มผลไม้ พบไวตามินซีสูงในมะละกอ ส้มเขียวหวาน และสับปะรด การแตกตัวของเหล็กก็สูงด้วย สำหรับกลุ่มโปรตีนพืช พบมีปริมาณฟัยเตทสูงและปริมาณของเหล็กค่อนข้างสูงโดยเฉพาะในถั่วเหลือง แต่การแตกตัวของเหล็กมีปริมาณต่ำ สำหรับกลุ่มโปรตีนสัตว์ การแตกตัวของเหล็กสูงพอ ๆ กันทั้งใน เนื้อไก่ วัว หมู ปลา และตับ ปริมาณของเหล็กทั้งหมด พบสูงมากในตับเมื่อเทียบกับเนื้อสัตว์ต่าง ๆ สำหรับไข่ไก่ พบว่าไข่ขาวให้ปริมาณเหล็กที่จะดูดซึมสูงกว่าไข่แดง แต่ปริมาณเหล็กทั้งหมดต่ำกว่า

6. คุณภาพของอาหารที่ใช้ในการทดลอง

เพื่อศึกษาถึงปัจจัยต่าง ๆ เช่น ไวตามินซี โปรตีนพืช และโปรตีนสัตว์ต่อการเพิ่ม หรือลดความสามารถในการดูดซึมเหล็กในคน (*in vivo*) และต่อปริมาณการแตกตัวของเหล็กที่จะถูกดูดซึมได้ในหลอดทดลอง (*in vitro*) จึงได้เตรียมอาหารขึ้น 5 ประเภท ตั้งแต่ 1–5 โดยมีปริมาณและส่วนประกอบแสดงไว้ในตารางที่ 11 และ 12 ผลการวิเคราะห์อาหารทั้ง 5 ประเภทแสดงในตารางที่ 13

7. สถานภาพทางเหล็กของอาสาสมัคร

คัดเลือกอาสาสมัครเฉพาะบุคคลที่มีสุขภาพสมบูรณ์ และมีสถานภาพทางเหล็กปกติ ตารางที่ 14 แสดงผลการวิเคราะห์เลือดของอาสาสมัครชาย จำนวน 23 คน โดยแบ่งเป็น 2 กลุ่ม กลุ่มแรก 11 คน กลุ่มที่สอง 12 คน ทั้งหมดมีอายุเฉลี่ย 30 ปี ส่วนสูง 164.8 ซม. น้ำหนัก 57.4 กก. ปริมาณเม็ดเลือดแดงอัดแน่น ร้อยละ 38.4 ปริมาณฮีโมโกลบิน 13.8 ก.% ปริมาณของเลือดทั้งหมด 4439.5 มล. ปริมาณของโปรโตปอฟัยรินในเม็ดเลือดแดง (Red cell protoporphyrin) 65.35 มคก.%

8. การศึกษาผลของโปรตีนจากปลาและไวตามินซีในน้ำส้มคั้นต่อการดูดซึมเหล็กในอาหารพื้นฐาน

จากการทดลองในอาสาสมัครกลุ่มที่ 1 พบว่า โปรตีนจากปลาและไวตามินซีในน้ำส้มคั้นให้ร้อยละของการดูดซึมเหล็กที่สูงกว่าอาหารพื้นฐาน โดยมีค่าเฉลี่ยร้อยละของการดูดซึมเหล็กในอาหารพื้นฐานเท่ากับ 12.89 ในอาหารที่มีโปรตีนจากปลาเท่ากับ 14.99 และในอาหารที่มีไวตามินซีจากน้ำส้มคั้นเท่ากับ 31.77 ดังแสดงในตารางที่ 15 และเมื่อปรับค่าการดูดซึมเหล็กของ Reference dose เป็นร้อยละ 40 จะได้ค่าการดูดซึมเหล็กในอาหารพื้นฐานเป็น 10.46 ในอาหารที่มีโปรตีนจากปลาเป็น 11.64 และอาหารที่มีไวตามินซีจากน้ำส้มคั้นเป็น 23.85 (ตารางที่ 16)

9. การศึกษาผลของโปรตีนพืชจากถั่วเขียว และโปรตีนสัตว์จากเนื้อหมูต่อการดูดซึมเหล็กในอาหารพื้นฐาน

จากการทดลองในอาสาสมัครกลุ่มที่ 2 พบว่า โปรตีนพืชจากถั่วเขียวให้ร้อยละของการดูดซึมเหล็กที่ต่ำกว่าอาหารพื้นฐาน และโปรตีนสัตว์จากเนื้อหมูให้ร้อยละของการดูดซึมเหล็กที่สูงกว่าอาหารพื้นฐาน โดยค่าเฉลี่ยร้อยละของการดูดซึมเหล็กในอาหารพื้นฐาน อาหารที่มีถั่วเขียว และอาหารที่มีเนื้อหมูเป็น 8.87, 5.24 และ 22.23 ตามลำดับ (ตารางที่ 17) สำหรับค่าการดูดซึมเหล็กในอาหารทั้ง 3 ประเภทในตารางที่ 18 นั้น เป็นค่าที่ปรับการดูดซึมเหล็กของ Reference dose เป็นร้อยละ

40 และให้ค่าเฉลี่ยร้อยละของการดูดซึมเหล็กในอาหารพื้นฐานเป็น 10.47 ในอาหารที่มีถั่วเขียวเป็น 5.93 และในอาหารที่มีเนื้อหมูเป็น 27.40

10. การศึกษาหาปริมาณการแตกตัวของเหล็กที่จะถูกดูดซึมได้ในหลอดทดลอง

นำอาหารทั้ง 5 ประเภท ที่เตรียมขึ้นสำหรับทดลองในอาสาสมัครมาทำการทดลอง พบว่าอาหารที่มีโปรตีนจากปลา ไวตามินซีจากน้ำส้มคั้น และโปรตีนจากเนื้อหมูให้ร้อยละของการแตกตัวของเหล็กสูงกว่าอาหารพื้นฐาน แต่อาหารที่มีโปรตีนพืช (ถั่วเขียว) ให้ร้อยละของการแตกตัวของเหล็กต่ำกว่าอาหารพื้นฐาน โดยมีค่าเฉลี่ยร้อยละของการแตกตัวของเหล็กในอาหารพื้นฐาน อาหารที่มีโปรตีนจากปลา อาหารที่มีไวตามินซีจากน้ำส้มคั้น อาหารที่มีโปรตีนจากถั่วเขียว และอาหารที่มีโปรตีนจากเนื้อหมูเป็น 24.49, 49.28, 88.65, 23.10 และ 74.53 ตามลำดับ (ตารางที่ 19)

11. การเปรียบเทียบผลการทดลองการดูดซึมเหล็กจากอาหารในอาสาสมัคร และปริมาณการแตกตัวของเหล็กที่มีโอกาสจะถูกดูดซึมได้ในหลอดทดลอง

ผลการทดลองในอาสาสมัคร และในหลอดทดลอง ได้นำมาเปรียบเทียบกันทั้งในรูปของอัตราส่วนและร้อยละ พบว่า มีสหสัมพันธ์ (correlation) ที่ดี ตารางที่ 20 และรูปที่ 3 เป็นการเปรียบเทียบในรูปของอัตราส่วนระหว่างการดูดซึมเหล็กจากอาหารในอาสาสมัคร และปริมาณการแตกตัวของเหล็กที่มีโอกาสจะถูกดูดซึมได้ในหลอดทดลอง ได้ค่าความสัมพันธ์ $r = 0.9192$ สำหรับการเปรียบเทียบในรูปของร้อยละ ตารางที่ 21 และรูปที่ 4 ได้ค่าความสัมพันธ์ $r = 0.9197$

วิจารณ์

วิธีการที่ใช้ในการหาปริมาณการแตกตัวของเหล็กที่จะถูกดูดซึมได้ในหลอดทดลองได้ให้ความถูกต้อง โดยมีค่าสัมประสิทธิ์ความผันแปรของ Intra และ Inter assay น้อยกว่า 10% วิธีการนี้ไม่ได้ใส่ Pancreatin แต่ใช้การเพิ่ม pH ด้วยอะซิเตทบัฟเฟอร์ ให้มีสภาพคล้ายคลึงกับส่วนต้นของลำไส้เล็ก โดยดำเนินตามวิธีการของ Rao และ Prabhavathi ซึ่งกล่าวว่า Pancreatin ไม่มีผลต่อการดูดซึมและการละลายของเหล็ก[36] และจากการศึกษาของ Bothwell พบว่า Pancreatin น้ำดีและน้ำย่อยภายในลำไส้เล็กไม่มีผลโดยตรงต่อการดูดซึมเหล็ก[5] ดังนั้น วิธีการนี้จึงเป็นที่ยอมรับและเป็นวิธีการที่ใช้ทดลองต่อไป

การศึกษาเพื่อดูผลของปริมาณ (dosage) และวาเลนซี (valency) ของเหล็กในการแตกตัวเพื่อหาปริมาณเหล็กที่จะถูกดูดซึมได้ในหลอดทดลองนั้น ได้ใช้สารประกอบเหล็ก 4 ชนิด คือ $FeSO_4$, เหล็กเชิงซ้อน ($FeSO_4$: SHMP:$NaHSO_4$ = 10:8:5), $FeCl_3$ และ FeNaEDTA พบว่า ความสัมพันธ์

ระหว่างปริมาณเหล็กที่ใช้ทดลอง ตั้งแต่ 0.5 มคก. ถึง 20 มก. กับปริมาณของเหล็กที่จะถูกดูดซึมได้จะเพิ่มขึ้น เมื่อปริมาณเหล็กเพิ่มขึ้น แต่ร้อยละของเหล็กที่จะถูกดูดซึมได้จะลดลงเมื่อปริมาณเพิ่มขึ้น ผลที่ได้นี้เหมือนกับการทดลองของ Smith[43], Bothwell[6] และ Bonnet[4]

โดยทั่ว ๆ ไป เหล็กที่มีวาเลนซี 2 จะให้ปริมาณและร้อยละของการดูดซึมมากกว่าวาเลนซี 3[31,32] ในการทดลองนี้ พบว่า เหล็กที่มีวาเลนซี 2 ซึ่งได้แก่ $FeSO_4$ และเหล็กเชิงซ้อนในปริมาณที่ต่ำกว่า 600 มคก. ให้ทั้งปริมาณและร้อยละของเหล็กที่จะถูกดูดซึมได้มากกว่าเหล็กที่มีวาเลนซี 3 ซึ่งได้แก่ $FeCl_3$ และ FeNaEDTA แต่ในปริมาณที่สูงกว่า 600 มคก. ผลมิได้เป็นไปตามหลักทั่วไป คือพบว่าสารประกอบเหล็กในรูปเหล็กเชิงซ้อน และ $FeCl_3$ ให้ปริมาณและร้อยละของเหล็กที่จะถูกดูดซึมได้มากกว่า $FeSO_4$ ที่เป็นเช่นนี้สามารถอธิบายได้ว่าปริมาณเหล็กที่จะถูกดูดซึมได้ของ $FeSO_4$ ไม่เพิ่มขึ้นเมื่อปริมาณเหล็กเพิ่มขึ้นเนื่องมาจากขีดจำกัดของความสามารถในการละลายของ $FeSO_4$ เมื่อเทียบกับสารประกอบเหล็กในรูปอื่น ๆ ซึ่งละลายได้ดีกว่าเช่น เหล็กเชิงซ้อนมี SHMP และ $NaHSO_4$ เป็นตัวช่วยป้องกันไม่ให้ $FeSO_4$ ตกตะกอน และ $FeCl_3$ ซึ่งมีความสามารถในการละลายสูงกว่า $FeSO_4$ วิธีนี้ก็สามารถใช้หาปริมาณเหล็กที่จะถูกดูดซึมได้ในอาหาร เพราะปริมาณเหล็กในอาหารที่รับประทานแต่ละมื้อของคนไทย จะไม่เกิน 10 มก.[34] ซึ่งในส่วนของตัวอย่างอาหารที่นำมาวิเคราะห์ จะมีปริมาณเหล็กอยู่ไม่เกิน 100 มคก. จึงเป็นช่วงที่ไม่มีปัญหาเกี่ยวกับการละลายของเหล็ก ไม่ว่าจะอยู่ในรูปใด ๆ สำหรับสาร-ประกอบเหล็กในรูป FeNaEDTA นั้น จำนวนร้อยละ และปริมาณของการดูดซึมน้อยกว่าเหล็กทุกชนิด ผลที่ได้เหมือนกับงานของ Brise[7] และ Cook[14]

ได้มีผู้ศึกษาเกี่ยวกับเรื่องของไวตามินซีหลายคน และพบว่าไวตามินซีเป็น powerful reductant ของเหล็ก มีส่วนช่วยเพิ่มการดูดซึมเหล็กพวก nonheme ในอาหาร[25,37,38,39]

Conrad[10] กล่าวว่า ไวตามินซีเป็นตัวคีเลเตอร์ (Chelator) ช่วยทำให้เหล็กในรูป Ferric ละลายได้มากกว่า Ferrous สำหรับการทดลองผลของไวตามินซีในการส่งเสริมปริมาณเหล็กที่จะถูกดูดซึมของสารประกอบ $FeSO_4$ และ FeNaEDTA ในน้ำ ให้ผลเช่นเดียวกัน คือ ไวตามินซีช่วยเพิ่มปริมาณเหล็กที่จะถูกดูดซึมของ FeNaEDTA ให้มากขึ้น โดยที่ไม่ได้ช่วยเพิ่มปริมาณเหล็กที่จะถูกดูดซึมของ $FeSO_4$ เลย

จากการทดลองผลของไข่ไก่ ในการขัดขวางการแตกตัวของสารประกอบเหล็ก $FeSO_4$ และ $FeCl_3$ พบว่า ไข่แดงลดปริมาณเหล็กที่จะถูกดูดซึม ซึ่งได้ผลเหมือนกับการศึกษาของ Cook[13], Callender [8] และ Monsen[31] ที่กล่าวว่า ไข่แดงมีฟอสโฟโปรตีน (phosphoprotein) ซึ่งเป็นตัวยับยั้ง (inhibitor) การดูดซึมเหล็ก nonheme ในอาหาร สำหรับไข่ขาว พบว่าช่วยเพิ่มปริมาณเหล็กที่จะถูกดูดซึมเหมือนกับผลการศึกษาทาง *in vitro* ของ Miller[30] และการศึกษาทาง *in vivo* ของ Peters[35]

สำหรับ FeNaEDTA นั้น ไม่พบความเปลี่ยนแปลงต่อการแตกตัวของเหล็กเลย ไม่ว่าจะเป็นไข่ขาวหรือไข่แดง ทั้งนี้อาจเนื่องมาจาก EDTA เป็นตัวคีเลเตอร์ป้องกันเหล็กไม่ให้ถูกยับยั้งโดยฟอสโฟ-โปรตีนที่จัดเป็นตัวขัดขวางที่สำคัญในไข่แดง[20] และไม่สามารถถูกส่งเสริมได้ด้วยอัลบูมิน (albumin) ในไข่ขาว

จากการวิเคราะห์อาหารกลุ่มต่าง ๆ พบฟัยเตทในกลุ่มคาร์โบไฮเดรตทั้งข้าวเจ้าและข้าวเหนียว แต่ไม่พบในผักและผลไม้ ทั้งนี้อาจจะเล็ดลอดไปได้ เพราะวิธีการที่ใช้หาปริมาณฟัยเตทนี้ เป็นวิธีสำหรับการวิเคราะห์แบบ Macro ไม่สามารถตรวจพบได้ถ้ามีปริมาณน้อย ๆ นอกจากนี้ ปริมาณฟัยเตทที่หาได้ยังไม่เฉพาะเจาะจงเพราะเป็นการตกตะกอนด้วยเฟอริกคลอไรด์ ซึ่งมีคุณสมบัติในการตกตะกอนพวกสาร-ประกอบฟอสฟอรัสทุกชนิด ในการวิจัยนี้ จำเป็นต้องใช้วิธีนี้ เพราะยังไม่มีวิธีใดเลยที่สามารถหาปริมาณฟัยเตทที่เฉพาะเจาะจง และในปริมาณขนาดไมโครกรัมได้

อาหารประเภทผักและผลไม้ พบมีปริมาณไวตามินซีสูง เหมาะสำหรับใช้ในการช่วยเพิ่มการดูดซึมเหล็กจากอาหาร อาหารประเภทโปรตีนพืช พบมีฟัยเตทสูงซึ่งจัดอยู่ในกลุ่มของตัวขัดขวางการดูดซึมเหล็กจากอาหาร จากผลการวิเคราะห์นี้ ควรนำมาศึกษาต่อทั้งส่วนประกอบของอาหารแต่ละชนิด (individual item) และอาหารทั้งมื้อ (whole meal) เพื่อดูผลของการเพิ่มหรือลดปริมาณของเหล็กที่จะถูกดูดซึมได้ในหลอดทดลอง รวมทั้งความสามารถในการดูดซึมเหล็กในคนด้วย เพื่อให้การทดลองมีความแปรปรวนระหว่างรายน้อยที่สุด จึงได้เติมจำนวนเหล็กเข้าไปเสริมจำนวนเหล็กที่มีอยู่ในอาหารให้เท่ากันคือ 3 มก. (ตารางที่ 12) สำหรับกลุ่มที่มีการเปรียบเทียบผลของโปรตีนทั้งจากพืชและสัตว์ ได้จัดให้มีปริมาณโปรตีนใกล้เคียงกันที่สุด นอกจากนี้ปริมาณแคลอรีของอาหารทั้ง 5 ประเภท ที่ใช้ทำการทดลองนี้ ก็มีปริมาณไม่แตกต่างกันมากนัก

ผลการทดลองการดูดซึมเหล็กจากอาหารในอาสาสมัครชายปกติ พบว่าปลาช่วยเพิ่มการดูดซึมเหล็ก[15,29] แต่ไม่สูงมาก ทั้งนี้ อาจเนื่องมาจากวิธีการเตรียมอาหาร เช่น การทอด นึ่ง หรือต้มยำเป็นต้น[40] ไวตามินซีในน้ำส้มคั้นช่วยเพิ่มการดูดซึมเหล็กได้ผลเช่นเดียวกับงานของ Callender[9] สำหรับถั่วเขียวที่จัดเป็นโปรตีนพืช ลดการดูดซึมเหล็กในอาหารเหมือนกับผลงานของ Hallberg[24] และ Cook[16] เนื้อหมูที่จัดเป็นโปรตีนสัตว์ ช่วยเพิ่มการดูดซึมเหล็กในอาหาร ให้ผลเหมือนกับงานของ Bjorn-Rasmussen[2] และ Cook[15]

อาหารที่ใช้ทดลองการดูดซึมเหล็กในอาสาสมัคร เมื่อนำมาหาปริมาณเหล็กที่จะถูกดูดซึมได้ในหลอดทดลอง ให้ผลเช่นเดียวกันคือ ปลาทูทอด ไวตามินซีในน้ำส้มคั้นและเนื้อหมู ช่วยเพิ่มปริมาณร้อยละของการแตกตัวของเหล็ก สำหรับถั่วเขียวจะลดปริมาณร้อยละของการแตกตัวของเหล็ก เมื่อเปรียบเทียบกับอาหารพื้นฐาน

การเปรียบเทียบผลการทดลองการดูดซึมเหล็กในอาสาสมัคร และปริมาณของเหล็กที่จะถูกดูดซึมได้ในหลอดทดลอง ให้ผลที่มีสหสัมพันธ์ที่ใช้ได้ แต่ยังจำเป็นจะต้องรวบรวมข้อมูลเช่นนี้ **เพิ่มเติมให้** เพียงพอต่อไป

สรุป และข้อเสนอแนะ

วิธีวิเคราะห์หาปริมาณเหล็กที่จะถูกดูดซึมได้ในหลอดทดลอง ซึ่งเป็นวิธีที่ดีกว่าการหาปริมาณการดูดซึมเหล็กในคน เพราะถ้าทำการทดลองในคนจะยุ่งยาก สิ้นเปลืองและใช้เวลานานกว่า นอกจากนี้ยังมีความจำกัดในตัวอย่างอาหารที่ใช้ในการทดลอง เพราะไม่สามารถทำการศึกษาได้ทีละหลาย ๆ ตัวอย่าง

ข้อเสนอแนะคือ ควรจะเพิ่มเติมข้อมูลให้มากขึ้น เพื่อยืนยันวิธีการวิเคราะห์ในหลอดทดลองให้เป็นที่ยอมรับ และสามารถนำมาใช้เพื่อคาดการณ์ปริมาณของเหล็กที่จะถูกดูดซึมได้ ซึ่งอาจนำมาทดแทนการทดลองการดูดซึมเหล็ก ประโยชน์ของผลงานวิจัยนี้ ก็เพื่อประยุกต์ใช้ในการคัดเลือกชนิดของอาหารที่มีปริมาณเหล็กที่จะถูกดูดซึมได้สูง และสามารถนำวิธีการมาใช้ศึกษาปัจจัยอื่น ๆ ที่จะมีผลกระทบทั้งในด้านการยับยั้งและการส่งเสริมการดูดซึมเหล็ก เป็นการช่วยปรับปรุงภาวะโภชนาการของเหล็กในอาหารให้ดีขึ้น เพื่อแก้ปัญหาโรคโลหิตจางจากการขาดธาตุเหล็ก และอาจจะใช้เป็นแนวทางเพื่อถ่ายทอดความรู้ในด้านการเสริมธาตุเหล็กให้กับกลุ่มประชากรเป้าหมาย และผู้เกี่ยวข้องอื่น ๆ ต่อไป

คำขอบคุณ

งานวิจัยนี้ได้รับคำแนะนำและความช่วยเหลือทางวิชาการจาก ศาสตราจารย์ นายแพทย์ร่มไทร สุวรรณิก และสำนักงานคณะกรรมการวิจัยแห่งชาติได้ให้ทุนอุดหนุนการวิจัยครั้งนี้ ผู้วิจัยและคณะขอขอบคุณเป็นอย่างยิ่ง

เอกสารอ้างอิง

1. Areekul, S., Devakul, K., Smitananda, N., Boonyananta, C. and Klongkumnuangarn, K. Prevalence of Anaemia in Thai School Children. *J. Med. Assoc. Thailand*, 1972, **55**, 457.
2. Bjorn-Rasmussen, E. and Hallberg, L. Effect of Animal Proteins on the Absorption of Food Iron in Man. *Nutr. Metab.*, 1979, **23**, 192-202.
3. Bjorn-Rasmussen, E., Hallberg, L., Isaksson, B. and Arvidsson, B. Food Iron Absorption in Man. Application of the Two-pool Extrinsic Tag Method to Measure Heme and Nonheme Iron Absorption from the Whole Diet. *J. Clin. Invest.*, 1974, **53**, 274-355.
4. Bonnet, T.D., Hagedorn, A.B. and Owen, C.A. A Quantitative Method for Measuring the Gastrointestinal Absorption of Iron. *Blood*, 1960, **15**, 36-44.
5. Bothwell, T.H., Charlton, R.W., Cook, J.D. and Finch, C.A. Iron Metabolism in Man. Blackwell, Oxford, 1979.
6. Bothwell, T.H., Pirzio-Biroli, G. and Finch, C.A. Iron Absorption. I. Factors Influencing Absorption. *J. Lab. & Clin. Med.*, 1958, **51**, 24-36.
7. Brise, H. and Hallberg, L. Iron Absorption Studies. *Acta Med. Scand. Suppl.*, 1962, **171**(7), 376.
8. Callender, S.T., Marney, S.R. and Warner, G.T. Eggs and Iron Absorption. *Brit. J. Haemat.*, 1970, **19**, 657-665.
9. Callender, S.T. and Warner, G.T. Iron Absorption from Bread. *Am. J. Clin. Nutr.*, 1968, **21**, 1170-1174.
10. Conrad, M.E. and Schade, S.G. Ascorbic Acid Chelate in Iron Absorption. A Role for Hydrochloric Acid and Bile. *Gastroenterology*, 1968, **55**, 35.
11. Cook, J.D.,Finch, C.A. and Smith, N. Evaluation of the Iron Status of a Population. *Blood*, 1976, **48**, 449-455.
12. Cook, J.D., Layrisse, M.,Martinez-Torres, C. et al. Food Iron Absorption Measured by Extrinsic Tag. *J. Clin. Invest.*, 1972, **51**, 805-810.
13. Cook, J.D. and Monsen, E.R. Food Iron Absorption. I. Use of a Semisynthetic Diet to Study Absorption of Nonheme Iron. *Am. J. Clin. Nutr.*, 1974, **28**, 1289-1295.
14. Cook, J.D. and Monsen, E.R. Food Iron Absorption in Man. II. The Effect of EDTA on Absorption of Dietary Nonheme Iron. *Am. J. Clin. Nutr.*, 1976, **29**, 614-620.
15. Cook, J.D. and Monsen, E.R. Food Iron Absorption in Human Subjects. III. Comparison of the Effect of Animal Proteins on Nonheme Iron Absorption. *Am. J. Clin. Nutr.*, 1976, **29**, 859-867.
16. Cook, J.D., Morck, T.A. and Lynch, S.R. The Inhibitory Effect of Soy Products on Nonheme Iron Absorption in Man. *Am. J. Clin. Nutr.*, 1981, **34**, 2622-2629.
17. Eakins, J.D. and Brown, D.A. An Improved Method for the Simultaneous Determination of Iron-55 and Iron-59 in Blood by Liquid Scintillation Counting. *Intern. J. Appl. Radiation Isotopes*, 1966, **17**, 391-397.
18. Garvey, J.S., Cremer, N.E. and Sussdorf, D.H. Methods in Immunology. A Laboratory Text for Instruction and Research. 3rd ed., Massachusetts Advanced Book Program Reading Inc., Massachusetts, 1977.
19. Hahn, P.F., Jones, E., Lowe, R.C., Meneely, G.R. and Peacock, W. The Relative Absorption and Utilization of Ferrous and Ferric Iron in Anaemia as Determined with the Radioactive Isotope. *Am. J. Physiol.*, 1945, **143**, 191.
20. Halkett, J.A.E., Peters, T. and Ross, J.F. Studies on the Deposition and Nature of Egg Yolk Iron. *J. Biol. Chem.*, 1958, **231**, 187-199.
21. Hallberg, L. and Bjorn-Rasmussen, E. Determination of Iron Absorption from Whole Diet. *Scand. J. Haematol.*, 1972, **9**, 193.
22. Hallberg, L. and Bjorn-Rasmussen, E. Measurement of Iron Absorption from Meals Contaminated with Iron. *Am. J. Clin.Nutr.*, 1981, **34**, 2808-2815.
23. Hallberg, L., Garby, L., Suwanik, R. and Bjorn-Rasmussen, E. Iron Absorption from South-east Asain Diets. *Am. J. Clin. Nutr.*, 1974, **27**, 826.
24. Hallberg, L. and Rossander, L. Effect of Soy Protein on Nonheme Iron Absorption in Man. *Am. J. Clin. Nutr.*, 1982, **36**, 514-520.

25. Hallberg, L. and Rossander, L. Improvement of Iron Nutrition in Developing Countries: Comparison of Adding Meat, Soy Protein, Ascorbic Acid, Citric Acid and Ferrous Sulphate on Iron Absorption from a Simple Latin American-type of Meal. *Am. J. Clin. Nutr.*, 1984, **39**, 577-583.
26. Jacobs, A. and Greenman, D.A. Availability of Food Iron. *Brit. Med. J.*, 1969, **1**, 673-676.
27. Layrisse, M., Martinez-Torres, C. and Gonzalez, M. Measurement of the Total Daily Dietary Iron Absorption by the Extrinsic Tag Model. *Am. J. Clin. Nutr.*, 1974, **27**, 152.
28. Lindberg, O. and Ernster, L. Determination of Organic Phosphorus Compounds by Phosphate Analysis. *Methods Biochem. Analy.*, 1956, **3**.
29. Martinez-Torres, C. and Layrisse, M. Effect of Amino Acids on Iron Absorption from a Staple Vegetable Food. *Blood*, 1970, **33**, 669.
30. Miller, D.D., Schricker, B.R., Rasmussen, R.R. and Van Campen, D. An In Vitro Method for Estimation of Iron Availability from Meals. *Am. J. Clin. Nutr.*, 1981, **34**, 2248-2256.
31. Monsen, E.R. and Cook, J.D. Food Iron Absorption in Human Subjects: V. Effects of the Major Dietary Constituents of a Semisynthetic Meal. *Am. J. Clin. Nutr.*, 1979, **32**, 804-808.
32. Moore, C.V., Dubach, R., Minnich, V. and Roberts, H.K. Absorption of Ferrous and Ferric Radioactive Iron by Human Subjects and by Dogs. *J. Clin. Invest.*, 1944, **23**, 755.
33. Oberleas, D. The Determination of Phytate and Inositol Phosphate. *Methods Biochem. Analy.*, 1971, **20**.
34. Pattanachak, C., Pleehachinda, R., Pattanachak, S., Pattanapunyasut, K., Charoonpongsak, S., Tuntawiroon, M. and Suwanik, R. Iron Intake of Thais. *J. Med. Assoc. Thailand*, 1981, **64**(1), 49-50.
35. Peters, T., Apt, L. and Ross, J.F. Effect of Phosphates upon Iron Absorption Studied in Normal Human Subjects and in an Experimental Model Using Dialysis. *Gastroenterology*, 1971, **61**, 315-322.
36. Rao, B.S.N. and Prabhavathi, T. An In Vitro Method for Predicting the Bioavailability of Iron From Food. *Am. J. Clin. Nutr.*, 1978, **31**, 169-175.
37. Sayers, M.H., Lynch, S.R., Jacobs, P., Charlton, R.W., Bothwell, T.H., Walker, R.B. and Mayet, F. The Effects of Ascorbic Acid Supplementation on the Absorption of Iron in Maize, Wheat and Soya. *Brit. J. Haemat.*, 1973, **24**, 209-218.
38. Sayers, M.H., Lynch, S.R., Charlton, R.W., Bothwell, T.H., Walker, R.B. and Mayet, F. The Fortification of Common Salt with Ascorbic Acid and Iron. *Brit. J. Haemat.*, 1974, **28**, 483-495.
39. Sayers, M.H., Lynch, S.R., Charlton, R.W., Bothwell, T.H., Walker, R.B. and Mayet, F. Iron Absorption from Rice Meals Cooked with Fortified Salt Containing Ferrous Sulphate and Ascorbic Acid. *Brit. J. Nutr.*, 1974, **31**, 367-375
40. Schricker, B.R. and Miller, D.D. Effect of Cooking and Chemical Treatment of Heme and Nonheme Iron in Meat. *J. Food Sci.*, 1983, **48**, 1340-1349.
41. Schricker, B.R., Miller, D.D., Rasmussen, R.R. and Van Campen, D. A Comparison of In Vivo and In Vitro Methods for Determinating Availability of Iron From Meals. *Am. J. Clin. Nutr.*, 1981, **34**, 2257-2263.
42. Shich, H.H. and Sweet, T.S. Spectrophotometric Determination of Ascorbic Acid. *Anal. Biochem.*, 1979, **96**, 1-5.
43. Smith, M.D. and Pannacciulli, I.M. Absorption of Inorganic Iron from Graded Dosed: Its Significance in Relation to Iron Absorption Tests and the "Mucosol Block" Theory. *Brit. J. Haemat.*, 1958, **4**, 428-434.
44. Sturgeon, P. Studies of Iron Requirements in Infants. III. Influence of Supplemental Iron During Normal Pregnancy on Mother and Infant. *Brit. J. Haemat.*, 1959, **5**, 45-55.
45. Vajarasthira, S. and Harinasuta, C. Study in Helminthic Infections in Thailand. I. Incidence Distribution and Epidermiology of Seven Common Intestinal Helminths. *J. Med. Assoc. Thailand*, 1957, **40**, 309.
46. Viteri, F.E. and Torun, B. Anaemia and Physical Work Capacity. *Clin. Haematol.*, 1974, **3**(3).
47. Wasi, P. Prevalence of Anaemia in Thailand. *J. Med. Assoc. Thailand*, 1972, **55**(12), 685-688.
48. Weast, R.C., Melvin, J.A. and Bayer, W.H. Handbook of Chemistry and Physics. 65th ed., CRC Press, Inc., Boca Raton, Florida, 1984-1985.

ตารางที่ 1. การรับประทานอาหารของอาสาสมัคร

กลุ่มที่	วันที่	มื้อ	สารกัมมันตรังสี	อาหาร
1	1	ก	เหล็ก 55	อาหาร
	2	ข	เหล็ก 59	อาหาร + ปัจจัย 1
	14	ค	เหล็ก 55	อาหาร + ปัจจัย 2
	15	ร	เหล็ก 59	Reference dose
2	1	ก	เหล็ก 55	อาหาร
	2	ข	เหล็ก 59	อาหาร + ปัจจัย 3
	14	ค	เหล็ก 55	อาหาร + ปัจจัย 4
	15	ร	เหล็ก 59	Reference dose

ตารางที่ 2. การศึกษาความถูกต้องแม่นยำในการหาปริมาณเหล็กที่จะถูกดูดซึมได้ของเฟอร์รัสซัลเฟต ระหว่างชุดของการวิเคราะห์

ตัวอย่าง	$FeSO_4 \cdot 7H_2O$ (มคก. *)	จำนวน	$\bar{X} \pm SD$	% สัมประสิทธิ์ความผันแปร
กลุ่มควบคุม A	0.5	8	49.83 ± 4.09	8.22
กลุ่มควบคุม B	10.0	8	74.76 ± 1.56	2.09
กลุ่มควบคุม C	60.0	8	85.42 ± 3.51	4.10

* มคก. = ไมโครกรัม

ตารางที่ 3. การศึกษาความถูกต้องแม่นยำในการหาปริมาณเหล็กที่จะถูกดูดซึมได้ของเฟอร์รัสซัลเฟตภายในชุดของการวิเคราะห์

ตัวอย่าง	$FeSO_4 \cdot 7H_2O$ (มคก.)	จำนวน	$\bar{X} \pm SD$	% สัมประสิทธิ์ความผันแปร
กลุ่มควบคุม A	0.5	8	48.69 ± 3.07	6.32
กลุ่มควบคุม B	10.0	6	74.29 ± 2.29	3.09
กลุ่มควบคุม C	60.0	7	88.76 ± 3.34	3.76

ตารางที่ 4. การหาปริมาณเหล็กที่จะถูกดูดซึมได้จากสารประกอบเหล็กชนิดต่าง ๆ และการเปรียบเทียบในรูปอัตราส่วนกับเฟอร์รัสซัลเฟต

เหล็ก (มก.)	ปริมาณเหล็กที่จะถูกดูดซึมได้ (มคก.)				Fe cpx. / $FeSO_4$	$FeCl_3$ / $FeSO_4$	FeNaEDTA / $FeSO_4$
	$FeSO_4$	Fe cpx.	$FeCl_3$	FeNaEDTA			
0.01	7.31	6.37	3.11	1.70	0.87	0.43	0.23
0.10	86.12	84.70	17.30	3.16	0.98	0.20	0.04
0.60	116.40	126.60	148.09	24.83	1.09	1.27	0.21
1.00	149.30	152.90	217.36	26.93	1.02	1.46	0.18
10.00	220.00	482.00	1331.68	87.48	2.19	6.05	0.40
20.00	206.90	810.00	1995.97	194.74	3.91	9.65	0.94

ตารางที่ 5. การหาเหล็กที่จะถูกดูดซึมได้ทั้งในรูปร้อยละและปริมาณของสารประกอบเหล็กชนิดต่าง ๆ

เหล็ก	ปริมาณเหล็กที่จะถูกดูดซึมได้ (%)				ปริมาณเหล็กที่จะถูกดูดซึมได้ (มคก.)			
	$FeSO_4$	Fe cpx.	$FeCl_3$	FeNaEDTA	$FeSO_4$	Fe cpx.	$FeCl_3$	FeNaEDTA
มคก.								
0.5	47.84	47.59	44.18	44.85	0.24	0.24	0.23	0.17
1.0	52.11	55.80	37.96	42.56	0.52	0.55	0.39	0.32
2.0	62.98	54.13	32.44	44.99	1.27	1.08	0.67	0.68
4.0	69.53	50.07	27.89	32.44	2.79	2.00	1.50	0.99
10.0	72.76	63.70	22.44	22.36	7.31	6.37	3.11	1.70
20.0	81.39	70.37	20.23	14.48	16.35	14.07	4.18	2.20
40.0	86.56	87.22	11.75	11.16	34.78	34.89	4.38	3.40
60.0	90.42	88.92	12.15	8.86	54.50	53.35	7.53	4.04
80.0	84.66	85.04	13.51	5.94	68.03	68.03	13.60	3.61
มก.								
0.1	85.73	84.70	16.75	4.16	86.12	84.70	17.30	3.16
0.2	38.42	43.43	22.44	7.89	77.20	86.86	46.36	12.00
0.4	26.85	23.52	24.39	5.54	107.90	94.08	100.78	16.86
0.6	19.32	21.10	23.89	5.44	116.40	126.60	148.09	24.83
1.0	14.86	15.29	21.04	3.54	149.30	152.90	217.36	26.93
2.0	6.93	11.68	20.04	2.61	139.20	233.60	414.07	39.71
4.0	3.92	8.58	14.83	2.54	157.50	343.20	612.83	77.29
6.0	2.19	5.48	14.43	1.56	132.00	328.80	894.47	71.20
8.0	3.22	4.79	12.30	1.54	258.80	383.20	1016.58	93.72
10.0	2.19	4.82	12.89	1.15	220.00	482.00	1331.68	87.48
20.0	1.03	4.05	9.66	1.28	206.90	810.00	1995.97	194.74

ตารางที่ 6. ผลของไวตามินซีต่อปริมาณของเหล็กที่จะถูกดูดซึมได้ในรูปของสารละลายเฟอร์รัสซัลเฟต ที่มีเหล็กอยู่ 0.5 มก.

เหล็ก : ไวตามินซี (โมล)	ไวตามินซี (มก.)	ปริมาณเหล็กที่จะถูกดูดซึมได้ (%)
0.5 : 0	0	16.93
0.5 : 0.5	1.58	17.80
0.5 : 1	3.15	16.62
0.5 : 2	6.31	17.71
0.5 : 4	12.61	18.66
0.5 : 8	25.23	20.78
0.5 : 16	50.46	18.82
0.5 : 32	100.91	16.73

ตารางที่ 7. ผลของไวตามินซีต่อปริมาณของเหล็กที่จะถูกดูดซึมได้ในรูปของสารละลายเฟอร์รัสซัลเฟต ที่มีเหล็กอยู่ 1 มก.

เหล็ก : ไวตามินซี (โมล)	ไวตามินซี (มก.)	ปริมาณเหล็กที่จะถูกดูดซึมได้ (%)
1 : 0	0	12.52
1 : 0.5	1.58	13.43
1 : 1	3.15	13.22
1 : 2	6.31	13.59
1 : 4	12.61	13.61
1 : 8	25.23	13.78
1 : 16	50.46	16.36
1 : 32	100.91	13.54

ตารางที่ 8. ผลของไวตามินซีต่อปริมาณของเหล็กที่จะถูกดูดซึมได้ในรูปของสารละลาย

ไวตามินซี (มก.)	ปริมาณเหล็กที่จะถูกดูดซึมได้ (%)	
	เหล็ก 60 มคก.	เหล็ก 400 มคก.
0	7.82	2.04
1	41.50	24.69
2	67.29	42.74
4	93.05	46.05

ตารางที่ 9. ผลของไข่ไก่ต่อปริมาณของเหล็กที่จะถูกดูดซึมได้ในสารละลายของสารประกอบเหล็กชนิดต่าง ๆ ที่มีเหล็กอยู่ 0.5 มก.

ตัวอย่าง	ปริมาณเหล็กที่จะถูกดูดซึมได้ (%)
$FeSO_4 . 7H_2O$	19.94
$FeSO_4 . 7H_2O$ + ไข่แดง 1 ก.	1.68
$FeSO_4 . 7H_2O$ + ไข่ขาว 1 ก.	21.19
$FeSO_4 . 7H_2O$ + ไข่ไก่ทั้งฟอง 1 ก.	1.33
$FeCl_3 . 6H_2O$	28.93
$FeCl_3 . 6H_2O$ + ไข่แดง 1 ก.	0.0
$FeCl_3 . 6H_2O$ + ไข่ขาว 1 ก.	36.20
$FeCl_3 . 6H_2O$ + ไข่ไก่ทั้งฟอง 1 ก.	7.54
FeNaEDTA	7.78
FeNaEDTA + ไข่แดง 1 ก.	7.98
FeNaEDTA + ไข่ขาว 1 ก.	6.95
FeNaEDTA + ไข่ไก่ทั้งฟอง 1 ก.	6.67

ตารางที่ 10. การวิเคราะห์อาหารกลุ่มต่าง ๆ

ชนิดอาหาร	ปริมาณเหล็กทั้งหมด (มคก./ก.)	ปริมาณเหล็กที่จะถูกดูดซึมได้ (%)	ปริมาณเหล็กที่จะถูกดูดซึมได้ (มคก./ก.)	ฟัยเตท (มก./ก.)	ไวตามินซี (มคก./ก.)
ประเภทแป้ง					
ข้าวเจ้า	4.56	2.12	0.0967	14.1	—
ข้าวเหนียว	11.88	6.00	0.7128	12.5	—
ประเภทผัก					
คะน้า	8.8	3.44	0.3027	—	185.2
ผักกาดขาว	5.88	5.25	0.3087	—	73.5
กะหล่ำปลี	6.94	13.10	0.9091	—	71.1
ถั่วฝักยาว	7.44	7.90	0.5878	—	107.8
พริกขี้หนู	8.4	16.61	1.3952	—	339.8
ประเภทผลไม้					
กล้วยน้ำว้า	6.31	0.74	0.0467	—	45.0
มะละกอ	2.43	65.40	1.5892	—	375.0
ส้มเขียวหวาน	1.36	67.14	0.9131	—	160.0
สับปะรด	8.20	65.15	5.3423	—	135.0
ประเภทโปรตีนพืช					
ถั่วเหลือง	27.75	4.47	1.2404	241.7	—
เต้าหู้ขาว	14.88	2.03	0.3021	75.0	—
เต้าหู้ไข่ไก่	8.13	0.74	0.0602	84.4	—
ถั่วเขียว	17.31	5.53	0.9572	76.6	—
นมไวตามิลค์	2.94	14.48	0.4257	38.5	—
ประเภทโปรตีนสัตว์					
ไก่	4.39	67.12	2.9466	—	—
วัว	22.11	79.87	17.6593	—	—
หมู	14.82	71.89	10.6541	—	—
ปลาทู	13.38	62.39	8.3478	—	—
ปลาช่อน	14.96	73.27	10.9612	—	—
ตับหมู	300.4	69.67	209.2887	—	—
ไข่ไก่ (ทั้งฟอง)	35.66	5.83	2.0790	—	—
– ไข่แดง	76.45	5.79	4.4265	—	—
– ไข่ขาว	5.20	45.48	2.3650	—	—

ตารางที่ 11. ส่วนประกอบและน้ำหนักของอาหารที่ใช้ทำการทดลอง

อาหาร	รายการ	ก./จาน						
		ข้าว	ผัก–กาดขาว	ปลา–ทูทอด	น้ำส้ม–คั้น	ถั่ว–เขียว	เนื้อหมู	รวม
1	อาหาร	280	125	—	—	—	—	405
2	อาหาร + เนื้อปลา	280	125	50	—	—	—	455
3	อาหาร + ไวตามินซี	280	125	—	320	—	—	725
4	อาหาร + ผัก	280	125	—	—	76	—	481
5	อาหาร + เนื้อหมู	280	125	—	—	—	74	479

– อาหาร 1, 2 และ 5 มีโปรตีน 10 ก. (ค่าจากตารางส่วนประกอบอาหาร)

– อาหารทุกชนิดปรับให้มีปริมาณเหล็ก 3 มก. โดยเติม $FeCl_3 . 6H_2O$

ตารางที่ 12. คุณค่าและส่วนประกอบทางโภชนาการของอาหารที่ใช้ทำการทดลอง

อาหาร	น้ำหนัก (ก.)	แคลอรี่*	ไขมัน* (ก.)	คาโบไฮเดรต* (ก.)	โปรตีน* (ก.)	แคลเซียม* (มก.)	ฟอสฟอรัส* (มก.)	ปริมาณเหล็ก (มก.)			
								เติม*	เพิ่ม	รวม	วิเคราะห์**
1	405	474.8	3.446	98.96	9.29	161.3	143.46	2.00	1.0	3.00	3.04
2	455	590.5	12.450	99.12	19.48	163.4	351.12	2.54	0.5	3.04	3.53
3	725	615.8	4.086	130.64	11.21	260.5	201.06	2.43	0.6	3.03	3.17
4	481	755.8	3.846	160.26	19.29	212.6	282.46	2.70	0.3	3.00	3.67
5	479	743.3	28.452	99.12	19.48	169.1	251.12	3.04	–	3.04	2.91

* ค่าคำนวณจากตารางแสดงคุณค่าอาหารไทยในส่วนที่กินได้ 100 กรัม กองโภชนาการ กรมอนามัย กระทรวงสาธารณสุข พ.ศ. 2521

** วิเคราะห์ในห้องปฏิบัติการ

ตารางที่ 13. การวิเคราะห์อาหารที่ใช้ทำการทดลอง

อาหาร	รายการ	น้ำหนัก (ก.)	เหล็ก (มก.)	ปริมาณเหล็กที่จะถูกดูดซึมได้ (%)	อัตราส่วนของเหล็กที่จะถูกดูดซึมได้
1	อาหาร	405	3.04	24.49	1
2	อาหาร + เนื้อปลา	455	3.53	49.28	2.01
3	อาหาร + ไวตามินซี	725	3.17	88.65	3.62
4	อาหาร + ผัก	481	3.67	23.10	0.94
5	อาหาร + เนื้อหมู	479	2.91	74.53	3.04

ตารางที่ 14. สถานภาพทางเหล็กของอาสาสมัคร

อาสาสมัคร เพศชาย	อายุ (ปี)	ส่วนสูง (ซม.)	น้ำหนัก (กก.)	% เม็ดเลือดแดงอัดแน่น	ฮีโมโกลบิน (ก.%)	จำนวนเลือดรวม (มล.)	ปริมาณโปรโตปอฟัยรินในเม็ดเลือดแดง (มคก./100 มล.)
กลุ่มที่ 1							
1	29	169.5	57.0	37.0	13.8	4404.1	49.5
2	28	161.5	60.0	40.0	16.3	4642.6	67.2
3	37	167.5	57.0	39.3	14.8	4404.1	86.8
4	23	164.5	58.5	36.0	12.7	4523.0	69.6
5	23	153.5	51.0	37.5	14.3	3928.1	59.9
6	24	163.0	52.5	35.0	12.7	4047.0	65.9
7	29	171.0	69.0	39.0	14.2	5360.0	54.2
8	37	169.0	65.0	36.0	12.7	5040.8	86.1
9	37	173.0	64.0	41.1	14.4	4961.1	45.3
10	28	153.5	43.0	35.0	12.7	3296.1	65.9
11	28	162.5	61.0	39.5	12.2	4722.1	55.7
Mean ± SEM	29.4 ± 1.56	164.4 ± 1.97	58.0 ± 2.19	37.8 ± 0.64	13.7 ± 0.37	4484.5 ± 173.53	64.2 ± 4.04

ตารางที่ 14. (ต่อ)

อาสาสมัครเพศชาย	อายุ (ปี)	ส่วนสูง (ซม.)	น้ำหนัก (กก.)	%เม็ดเลือดแดงอัดแน่น	ฮีโมโกลบิน (ก.%)	จำนวนเลือดรวม (มล.)	ปริมาณโปรโตปอฟัยรินในเม็ดเลือดแดง (มคก./100 มล.)
กลุ่มที่ 2							
1	19	172.0	55.0	36.0	13.3	4245.3	64.5
2	29	163.0	47.0	42.0	15.1	3611.7	70.0
3	32	165.0	66.0	39.0	13.5	5120.6	71.1
4	32	158.0	64.0	40.5	15.6	4961.1	53.4
5	31	167.0	52.5	40.5	14.8	4047.0	62.9
6	24	168.0	58.0	34.5	12.8	4483.5	51.1
7	34	163.5	70.0	38.0	14.0	5439.9	56.9
8	25	162.5	58.0	40.0	14.0	4483.5	118.3
9	26	163.5	57.5	42.0	14.8	4443.8	65.8
10	32	162.5	50.0	38.0	12.8	3849.0	72.8
11	31	172.5	55.0	39.0	13.9	4245.3	57.6
12	51	164.5	50.0	37.5	12.0	3849.0	52.6
Mean ± SEM	31.3 ± 2.18	165.1 ± 1.2	56.9 ± 1.99	38.9 ± 0.66	13.9 ± 0.31	4398.3 ± 158.89	66.4 ± 5.18
Total Mean ± SEM	30.0 ± 6.62	164.8 ± 1.11	57.4 ± 1.45	38.4 ± 0.47	13.8 ± 0.24	4439.5 ± 114.96	65.35 ± 3.26

ตารางที่ 15. ผลของปลาทูทอดและไวตามินซี ต่อการดูดซึมเหล็กจากอาหารพื้นฐานในรูปของร้อยละและอัตราส่วน

อาสาสมัคร กลุ่มที่ 1	การดูดซึมเหล็ก (%)				อาหาร2 / อาหาร1	อาหาร 3 / อาหาร 1
	อาหาร 1	อาหาร 2	อาหาร 3	Reference dose		
1	33.11	37.05	81.30	82.75	1.12	2.46
2	51.15	69.40	70.34	77.53	1.36	1.38
3	1.91	1.91	5.21	6.97	1.00	2.73
4	2.99	2.65	9.55	23.35	0.89	3.19
5	1.58	1.51	2.83	9.54	0.96	1.79
6	1.24	0.73	4.95	16.38	0.59	3.99
7	11.79	7.66	52.69	65.42	0.65	4.47
8	8.13	7.61	49.88	59.77	0.94	6.14
9	4.09	6.37	9.20	14.08	1.56	2.25
Mean ± SEM	12.89 ± 5.84	14.99 ± 7.76	31.77 ± 10.52	38.87 ± 10.61	1.01 ± 0.10	3.16 ± 0.50

ตารางที่ 16. ร้อยละของการดูดซึมเหล็กจากอาหารพื้นฐาน ผลจากปลาทูทอดและไวตามินซี เมื่อคิดที่ร้อยละ 40 ของสารละลายเหล็กมาตรฐาน

อาสาสมัคร กลุ่มที่ 1	การดูดซึมเหล็ก (%)		
	อาหาร 1	อาหาร 2	อาหาร 3
1	16.00	17.91	39.30
2	26.39	35.81	36.29
3	10.96	10.96	29.90
4	5.12	4.54	16.36
5	6.62	6.33	11.87
6	4.78	2.81	19.08
7	7.21	4.68	32.22
8	5.44	5.09	33.38
9	11.62	18.10	26.14
Mean ± SEM	10.46 ± 2.35	11.64 ± 3.53	23.85 ± 3.99

ตารางที่ 17. ผลของถั่วเขียวและเนื้อหมูต่อการดูดซึมเหล็กจากอาหารพื้นฐานในรูปของร้อยละและอัตราส่วน

อาสาสมัคร กลุ่มที่ 2	การดูดซึมเหล็ก (%)				อาหาร 4 / อาหาร 1	อาหาร 5 / อาหาร 1
	อาหาร 1	อาหาร 4	อาหาร 5	Reference dose		
1	3.77	1.13	36.41	24.11	0.30	9.66
2	4.95	1.66	8.00	27.05	0.34	1.62
3	33.28	18.55	35.62	61.60	0.56	1.07
4	8.33	1.57	7.01	19.22	0.19	0.84
5	1.74	0.60	18.74	20.77	0.35	10.77
6	3.05	1.86	9.19	17.38	0.61	3.01
7	7.02	6.83	14.84	16.03	0.97	2.11
8	28.19	22.96	70.30	100.00	0.81	2.49
9	3.29	2.30	3.50	8.99	0.70	1.06
10	2.21	1.51	5.62	10.83	0.68	2.54
11	5.87	2.39	32.95	38.65	0.41	5.61
12	4.75	1.52	24.60	37.90	0.32	5.18
Mean ± SEM	8.87 ± 3.02	5.24 ± 2.16	22.23 ± 5.78	31.88 ± 7.49	0.52 ± 0.07	3.89 ± 0.96

ตารางที่ 18. ร้อยละของการดูดซึมเหล็กจากอาหารพื้นฐาน ผลจากถั่วเขียวและเนื้อหมู เมื่อคิดเป็นร้อยละ 40 ของสารละลายเหล็กมาตรฐาน

อาสาสมัคร กลุ่มที่ 2	การดูดซึมเหล็ก (%)		
	อาหาร 1	อาหาร 4	อาหาร 5
1	6.25	1.87	60.41
2	7.32	2.45	11.83
3	21.61	12.05	23.13
4	17.34	3.27	14.59
5	3.35	1.16	36.09
6	7.02	4.28	21.15
7	17.52	17.04	37.03
8	11.28	9.18	28.12
9	14.64	10.23	15.57
10	8.16	5.58	20.76
11	6.08	2.47	34.10
12	5.01	1.60	25.96
Mean ± SEM	10.47 ± 1.71	5.93 ± 1.46	27.40 ± 3.85

ตารางที่ 19. การวิเคราะห์หาปริมาณเหล็กที่จะถูกดูดซึมได้ในหลอดทดลองของอาหารที่ใช้ทดลองในอาสาสมัคร

ลำดับที่	ปริมาณเหล็กที่จะถูกดูดซึมได้ (%)				
	อาหาร 1	อาหาร 2	อาหาร 3	อาหาร 4	อาหาร 5
1	16.85	39.72	84.21	24.70	76.36
2	15.82	47.82	88.18	22.28	68.27
3	35.22	50.87	81.80	29.91	66.14
4	24.40	49.04	97.90	24.57	75.13
5	33.58	52.48	95.79	22.24	77.70
6	29.28	49.26	92.33	24.19	83.60
7	24.11	53.55	87.68	18.30	–
8	34.68	47.04	88.69	19.96	–
9	24.11	52.05	80.65	24.92	–
10	26.19	47.40	89.25	20.93	–
11	28.40	46.67	–	21.12	–
12	20.70	51.23	–	–	–
13	20.75	54.20	–	–	–
14	20.77	–	–	–	–
15	19.29	–	–	–	–
16	22.48	–	–	–	–
17	21.92	–	–	–	–
18	22.14	–	–	–	–
Mean	24.49	49.28	88.65	23.10	74.53
± SEM	± 1.36	± 1.07	± 1.77	± 0.90	± 2.62
n	18	13	10	11	6

ตารางที่ 20. การเปรียบเทียบผลการดูดซึมเหล็กในอาสาสมัคร และปริมาณเหล็กที่จะถูกดูดซึมได้ในหลอดทดลอง ในรูปของอัตราส่วน

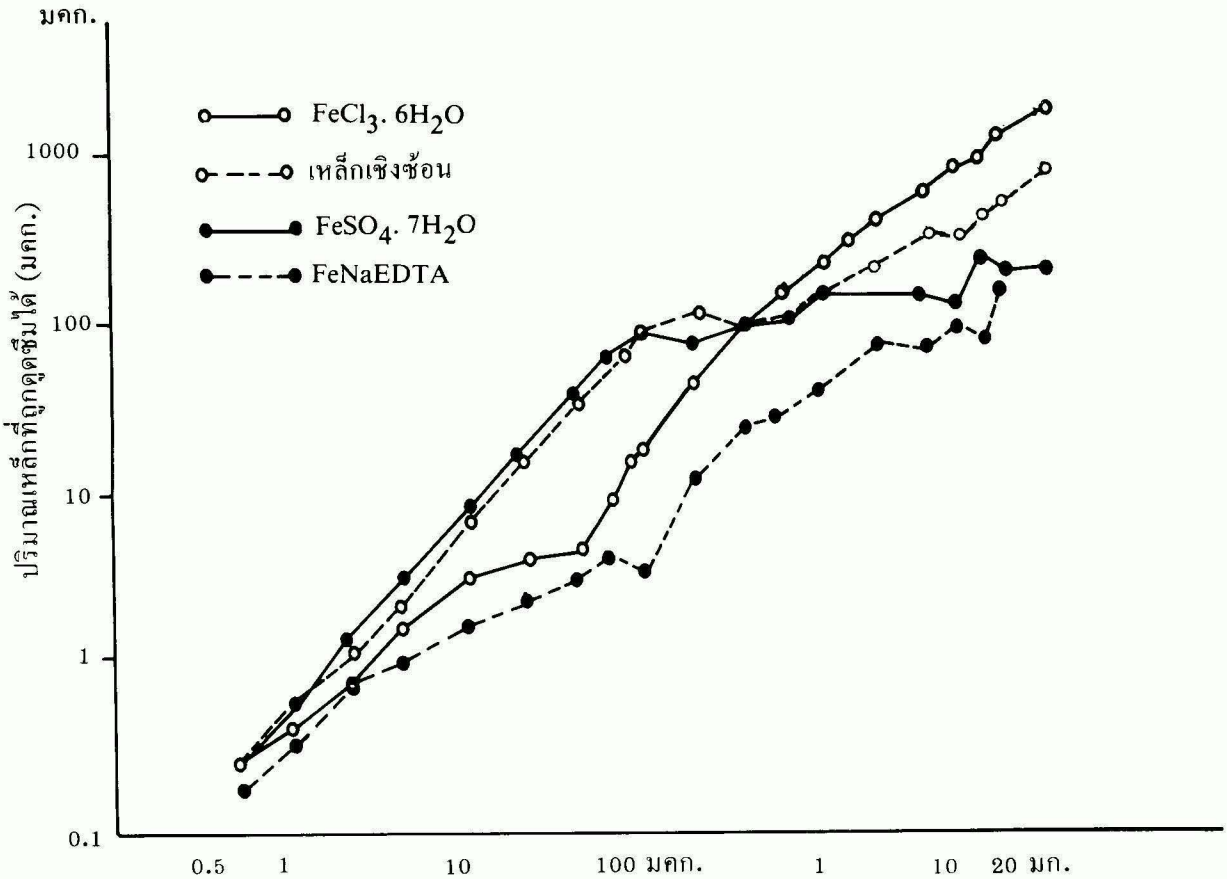
อาหาร	รายการ	อัตราส่วน การดูดซึมเหล็ก	อัตราส่วน เหล็กที่จะถูกดูดซึมได้
1	อาหาร	1.00	1.00
2	อาหาร + เนื้อปลา	1.11	2.01
3	อาหาร + ไวตามินซี	2.28	3.62
4	อาหาร + ผัก	0.57	0.94
5	อาหาร + เนื้อหมู	2.63	3.04

- ทุกค่าแทนอัตราส่วนมัชฌิมเลขคณิต
- สหสัมพันธ์ของอัตราส่วนการดูดซึมเหล็กและอัตราส่วนเหล็กที่จะถูกดูดซึมได้ $r = 0.9192$

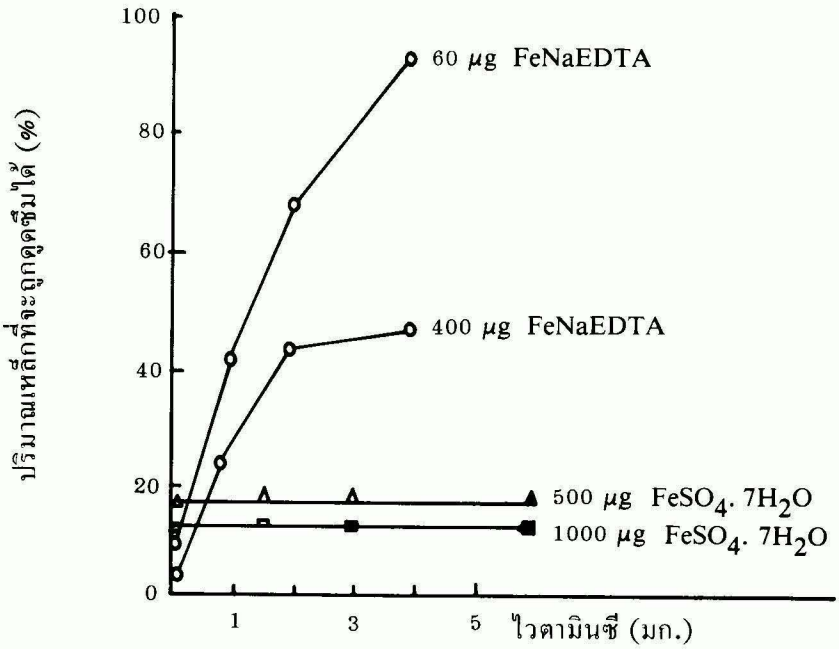
ตารางที่ 21. การเปรียบเทียบผลการดูดซึมเหล็กในอาสาสมัคร และปริมาณเหล็กที่จะถูกดูดซึมได้ในหลอดทดลอง ในรูปของร้อยละ

อาหาร	การดูดซึมเหล็ก (%)		เหล็กที่จะถูกดูดซึมได้ (%)	
	$\bar{X} \pm$ SEM	n	$\bar{X} \pm$ SEM	n
1	10.46 ± 1.36	21	24.49 ± 1.36	18
2	11.64 ± 3.53	9	49.28 ± 1.07	13
3	23.85 ± 3.99	9	88.65 ± 1.77	10
4	5.93 ± 1.46	12	23.10 ± 0.90	11
5	27.40 ± 3.85	12	74.53 ± 2.62	6

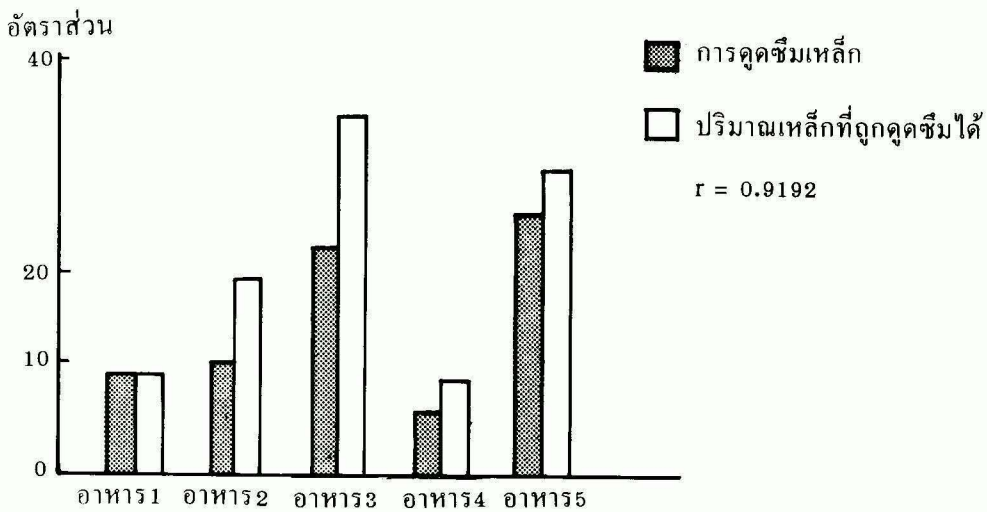
- สหสัมพันธ์ของการดูดซึมเหล็ก (%) และเหล็กที่จะถูกดูดซึมได้ (%) $r = 0.9197$



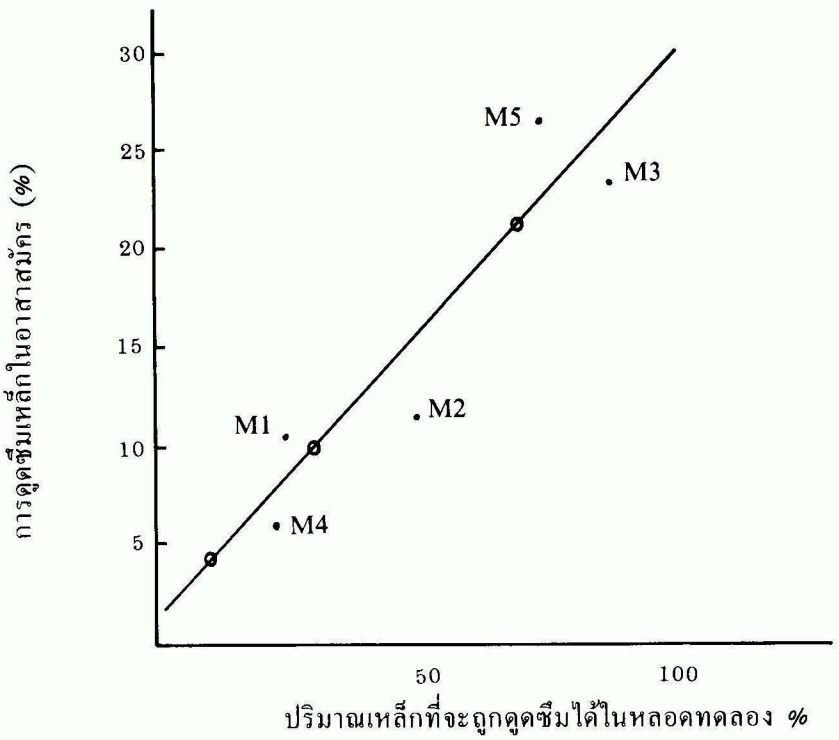
รูปที่ 1. การเปรียบเทียบปริมาณเหล็กที่ถูกดูดซึมได้ และปริมาณเหล็กที่มีอยู่ทั้งหมดของสารประกอบเหล็กชนิดต่าง ๆ



รูปที่ 2. ผลของไวตามินซีต่อปริมาณเหล็กที่จะถูกดูดซึมได้ ในสารละลาย FeNaEDTA และเฟอร์รัสซัลเฟต



รูปที่ 3. การเปรียบเทียบในรูปอัตราส่วนของผลการดูดซึมเหล็กในอาสาสมัคร และปริมาณเหล็กที่จะถูกดูดซึมได้ในหลอดทดลอง



รูปที่ 4. การเปรียบเทียบในรูปร้อยละของผลการดูดซึมเหล็กในอาสาสมัคร และปริมาณเหล็กที่จะถูกดูดซึมได้ในหลอดทดลอง

IMPROPER LABELLED CONCENTRATION OF PESTICIDE FORMULATION, A CAUSE OF AN ENVIRONMENTAL HEALTH PROBLEM

ความเข้มข้นของยาฆ่าแมลงที่ไม่ถูกต้องตามฉลาก ซึ่งอาจก่อให้เกิดปัญหาต่ออนามัยสิ่งแวดล้อม

Kanjana Pumala กาญจนา ภู่มาลา

Somchit Viriyanondha สมจิตต์ วิริยานนท์

Research Center, Department of Medicine, Ramathibodi Hospital, Mahidol University

ศูนย์วิจัย คณะแพทยศาสตร์ โรงพยาบาลรามาธิบดี มหาวิทยาลัยมหิดล

ABSTRACT

This study was to determine the concentration of active ingredient and the volume of pesticides in commercial products. The limit of percentage of active ingredient was based on FAO recommendation. The actual volume was measured and compared with the label. Three groups of pesticides, cypermethrin, monocrotophos and mevinphos were analyzed by gas chromatography. Ten from twelve brands of cypermethrin contained the active ingredient within FAO limit but the exact volume of all brands were less than the labelled amount. Only one out of eleven brands of monocrotophos had the active ingredient within the FAO limit (98.70%). The other average contents were only 58.40% of the label (0-86.23%). Two of these products had the same volume as the label. For mevinphos, twelve brands were analyzed. Only one contained the active ingredient in the limit (98.96%). The average concentrations of the others were 76.12% of the label (0-93.38%). None of these satisfied the volume labelled. It was concluded that these commercial pesticides contained less active ingredient and volume than the declared amount on the label.

บทคัดย่อ

ในวงการเกษตรกรรม เกษตรกรมักนิยมใช้ยาฆ่าแมลงในปริมาณมากกว่าที่กำหนดไว้ในฉลาก ทั้งนี้เพื่อหวังผลในการฆ่าแมลงให้มีประสิทธิภาพสูงสุด โดยคิดว่าการใช้ตามฉลากที่ระบุไว้จะไม่ได้ผลในการฆ่าแมลงเท่าที่ควร และแมลงบางชนิดอาจมีความต้านทานต่อยาฆ่าแมลงชนิดนั้น ๆ

ได้ ด้วยเหตุผลดังกล่าวที่ยังไม่แน่ชัดนัก ทำให้ต้องศึกษาถึงปริมาณของสารออกฤทธิ์ (active ingredient) ในสูตรสำเร็จของยาฆ่าแมลงที่มีจำหน่ายอยู่ในท้องตลาดว่าตรงกับที่กำหนดไว้ในฉลากหรือไม่ โดยอาศัยหลักเกณฑ์ขององค์การอาหารและเกษตรแห่งสหประชาชาติ (FAO) นอกจากนี้ ยังวัดปริมาตรของยาฆ่าแมลงเทียบกับที่ระบุไว้ในฉลากของยาฆ่าแมลงแต่ละตัวอย่างด้วย การวิเคราะห์หาปริมาณของยาฆ่าแมลงทำโดยใช้เครื่องก๊าซโครมาโตกราฟ โดยแบ่งชนิดของยาฆ่าแมลงออกเป็น 3 กลุ่มใหญ่ ๆ คือ ไซเปอร์เมตทริน โมโนโครโตฟอส และเมวินฟอส ผลจากการวิเคราะห์ กลุ่มไซเปอร์เมตทริน มีปริมาณของสารออกฤทธิ์ตรงตามกำหนดของ FAO อยู่ 10 ตัวอย่างจาก 12 ตัวอย่าง ส่วนอีก 2 ตัวอย่าง มีปริมาณสารออกฤทธิ์ 85.9 และ 92.56% และปริมาตรของทุกตัวอย่างต่ำกว่าที่ระบุไว้ในฉลากทั้งสิ้น กลุ่มโมโนโครโตฟอสมีเพียงตัวอย่างเดียวจาก 11 ตัวอย่าง ที่ตรงตามกำหนดของ FAO (98.70% ของสารออกฤทธิ์ที่ระบุไว้) ส่วนอีก 10 ตัวอย่างมีปริมาณของสารออกฤทธิ์โดยเฉลี่ยเพียง 58.40% เท่านั้น คือ ระหว่าง 0–86.23% และมีปริมาตรตรงตามกำหนดในฉลากเพียง 2 ตัวอย่าง สำหรับกลุ่มเมวินฟอส มีเพียงตัวอย่างเดียวจาก 12 ตัวอย่าง ซึ่งมีปริมาณของสารออกฤทธิ์ตรงตามกำหนด (98.96% ของสารออกฤทธิ์ที่ระบุไว้) ส่วนอีก 11 ตัวอย่างมีค่าเฉลี่ย 76.12% ของที่กำหนดในฉลาก คือ ระหว่าง 0–93.38% และปริมาตรของทุกตัวอย่างไม่ตรงตามที่กำหนดไว้ในฉลาก สรุปผลการทดลองว่ายาฆ่าแมลงส่วนใหญ่ ปริมาณของสารออกฤทธิ์และปริมาตรต่ำกว่าที่ระบุไว้ในฉลาก เกษตรกรจึงใช้ยาฆ่าแมลงในปริมาณที่มากกว่าคำแนะนำวิธีการใช้ที่ระบุไว้ในฉลาก ในกรณีที่เกษตรกรใช้ยาฆ่าแมลงบางชนิดซึ่งมีค่าใกล้เคียงกับที่ระบุไว้ในฉลากโดยใช้ในปริมาณ 3 ถึง 4 เท่าของที่แนะนำ จะทำให้เกิดอันตรายอย่างยิ่งต่อเกษตรกรเอง และยังส่งผลกระทบต่อสิ่งแวดล้อมต่าง ๆ ทำให้กลายเป็นปัญหาสำคัญเกี่ยวกับอนามัยสิ่งแวดล้อม

INTRODUCTION

About 16,700 tons of pesticides, a cause of health problems in Thailand, were imported in 1983. The majority of them was insecticides. It must be considered that these insecticides will be less harmful if it is used properly. From the experience in the field, it was found that Thai farmers used more pesticides than the recommended dose to control insects effectively. Some of them dispensed 2 or more kinds of pesticides together to get an additive effect. The results from using more pesticides than recommended dose would be a direct hazard to the farmers themselves and the environment. From this point of view, it could be summarized that :

1. The use of higher amount of pesticides than the recommended dose might be hazardous to the farmers themselves. The toxicity may be acute or chronic.

2. The farmer uses more pesticide than necessary. The cost of control will then be increased. As a result, the cost of products will be higher.

3. Widespread use of pesticides will affect human health. The ecological disruption will occur, and non-target organisms and wildlife will be affected.

If the concentration of pesticide used by farmers is correct as stated in the label, it should be adequate to kill insects. In fact, from the experience of the farmers, they found that it was not always true. They have to use more pesticide than the recommended dose which they thought it will be high enough to kill insects. To make insecticide more effective, sometimes they use the concentration which is 2 to 4 times higher than the labelled dose. They also claimed that insects in that area are resistant to these pesticides. The question is whether the concentration of pesticides in the containers are the same as written on the label.

According to the fact that the farmers normally use more pesticides than recommended dose, the analysis of the concentration of commercial products of pesticides which are available in the markets become a necessity. The results of which could be further stipulated and certain measured implemented to correct such a malpractice performed by pesticide dealers.

MATERIALS AND METHODS

Materials

Commercial brands of pesticides were collected from different provinces such as Lop Buri, Nakhon Sawan, Phetchabun and Bangkok. The organophosphates, monocrotophos and mevinphos, collected include 23 brands which were used in this study. Twelve brands of pyrethroid group were also collected and analysed. The 3 groups of pesticide standards and samples were :

1. Monocrotophos [dimethyl (E)-1-methyl-2-methylcarbamoylvinyl phosphate] and 11 brands of samples
2. Mevinphos (2-methoxy-carbonyl-1-methylvinyl dimethyl phosphate) and 12 brands of samples
3. Cypermethrin [(S,R)- α -cyano-3-phenoxybenzyl-(1R, 1S, cis, trans)-2, 2-dimethyl-3-(2, 2-dichlorovinyl) cyclopropanecarboxylate] and 12 brands of samples

Reagent

Acetone (AR grade)

Apparatus

Gas chromatograph (Varian Techtron Model 3700 equipped with CDS 111 and recorder).

Method

1. The volume of each commercial products was measured by using measuring cylinder.

2. The specific gravity of the samples was determined by using hydrometers and was reported at 30°C.

3. The active ingredient of the pesticide in the sample was determined by gas chromatograph. The operating condition of the instruments were shown in Table 1.

The standard of pesticide was weighed to the nearest 0.2 g. It was transferred into 50 ml volumetric flask and was made up to the volume with acetone. Standard and sample solution 5 μl were injected into GLC. The calculation was done as follows.

For external standard

Basic Formula

$$\text{Amount} = \text{Area} \times \text{CF}$$

From CDS 111

$$\text{Amount} = \text{Area} \times \text{CF} \times \frac{\text{Scalar}}{10{,}000}$$

$$\text{CF} = \text{Calculation Factor} = \frac{\text{Amount ext. st.} \times 10{,}000}{\text{Area ext. std.}}$$

Scalar = multiplication factor for unit conversion

From the result of CDS 111, each sample solution content was calculated as %W/W and %W/V by the following equations :

$$\%\text{W/W} = \frac{C \times V}{m}$$

$$\%\text{W/V} = \frac{C \times V \times \rho}{m}$$

where C = Concentration of pesticides in sample solution % W/V
V = Volume of sample solution used (ml)
m = mass of original sample (g)
ρ = density of original sample

RESULTS

The analysis of the active ingredient of the pesticides in 3 groups revealed that among cypermethrin group, 10 from 12 brands contained the active ingredient within FAO limit.[3] Only 2 of them had the concentration below the FAO Limit (Table 2, Figure 1). The actual volume of all brands was less than the labelled amount (Table 3). Among monocrotophos, only one brand had the active ingredient within the FAO limit (Table 4). The concentration was 98.70% of the label (Table 8). Others had concentrations ranged from 0-86.20% of the label. The average contents were only 58.40% of the label. Two of these products had no monochrotophos appeared on the chromatogram (Figure 2). From 11 brands of monocrotophos group, only 2 had the same volume as the labels (Table 5).

Among mevinphos, twelve brands were analyzed. Only one contained the active ingredient within the FAO limit (Table 6). Its exact content was 98.96% of the label (Table 8). The average concentration of the others were 76.12% of the label. The contents ranged from 0-93.38% of the label. One product had no mevinphos appeared on the chromatogram (Figure 3). None of these products satisfied the volume labelled (Table 7).

DISCUSSION

From this study, it is found that the active ingredient in some commercial products which are available in the markets contained less active ingredient as stated on the label. The majority of them are mevinphos and monochrotophos groups. Unfortunately, these 2 groups of pesticides are very popular in the country. Two out of eleven commercial brands of monochrotophos, namely, Azodren and Kegan, contained no active ingredient. Eight brands contained less active ingredient than the label. Only one brand contained the active ingredient as the label. When farmers follow the recommended dose, the killing effect will not be effective. For mevinphos, Thanaphos contained no active ingredient. Only one out of twelve contained the same active ingredient as the label. Ten out of twelve contained the active ingredient less than the labels. In a normal practice the farmers will fail to obtain the killing effect from these pesticides. Normally, the farmers dispense more pesticide than the recommended dose that appeared on the label. When they mix 2 to 4 times of the labelled amount, it will then be effective. It is concluded that farmers have to dispense more pesticide than labelled dose because most of the commercial products contain less amount of active ingredient than the labels. Some of them also mixed 2 or more pesticides together to get better effect. They do not know that the products they are using do not contain the same amount of pesticide as shown on the label.

From the farmers' experience, when they used higher amount of pesticide, they had the symptom of pesticide toxicity. In addition, the pesticide residue will be left in the environment more than when normally used. Wongphanich[4] reported that 33.3% of pesticide poisoning was found among the farmers who were engaged in dispensing of the pesticide. This would agree with our study in the case when the farmers dispense larger amount of pesticide which contain the specified amount of active ingredient as labelled. It would be more hazardous to them. Besides, such practices will interfere with the environment. Large amount of pesticides from sprayed crops and vegetables will be accumulated in the body of the consumers, and those left in soil and water will adversely affect the wildlife and the environment.

We recommend that the quality control of commercial products must be exercised and regulated. The active ingredient in each product should be certified before selling in the market. Restriction on the sale of highly toxic pesticides in a number of developing country must be performed.[1] The enforcement by law between the government and industry in the responsibility to the farmers should be established.[2]

CONCLUSION

The active ingredient of pesticides, mevinphos and monochrotophos, from the commercial products which are available in the markets contained less active ingredients than the actual concentrations which are stated on the labels. Farmers usually dispense 2 to 4 times of the labelled amount to obtain better effect. Some of them experienced pesticide poisoning. The result from improper use of these products will be a health hazard to the farmers. It also leads to the deterioration of the environment.

REFERENCES

1. Beine, B.P. Pest Management. Leonard Hill, London, 1967.
2. Chiarappa, L., Chiang, H.C. and Smith, R.F. Plant pest and diseases : Assessment of crop losses. *Science*, **1972, 176**, 769-773.
3. FAO. Manual on the Use of FAO Specifications for Plant Protection Products. Agricultural Development Paper No. 93, FAO Rome, 1971, 20.
4. Wongphanich, M., Prasertsud, P., Samathiwat, A., Kongprasart, S., Kochavej, L., Bupachanok, T. and Samarnsin, S. A Research Report : Pesticides poisoning among agricultural workers. Chaopraya Press, Bangkok, 1985, 27.

Table 1. Condition of the instrument

	cypermethrin*	monocrotophos	mevinphos
Column			
Material	Glass	Glass	Glass
Length × ID	1.0 m × ¼"	2.0 m × ¼"	2.0 m × ¼"
Stationary phase	3% OV 101	3% OV 101	3% OV 101
Solid support	Chromosorb W-HP, 80/100	Chromosorb W-HP, 80/100	Chromosorb W-HP 80/100
Detector	FID	FID	FID
Temperature (°C)			
Column oven	250	190	145
Injection port	270	210	160
FID	270	250	250
Carrier Gas	Nitrogen	Nitrogen	Nitrogen
Flow rate	30 ml/min	14 ml/min	25 ml/min
Attenuator	× 4	× 8	× 4
Injection volume	5 μl	5 μl	5 μl

* The injection end of column cannot be plugged by the quartz wool, because the decomposition of "cypermethrin" during analysis will appear.[3]

Table 2. Content of cypermethrin

No.	Trade name	Sp. Gr.	Declared percentage of active ingredient in formulation	Detected percentage of active ingredient in formulation	Acceptable[3] limits of percentage of active ingredient
1.	Champ	0.9573	25*	25.43% W/W	23.5-26.5
2.	Cymbush	Non-detectable	25*	23.14% W/W(0)	23.5-26.5
3.	Cyper	0.9513	25% W/V	24.60% W/V	23.5-26.5
4.	Cypersect	0.9513	25*	24.88% W/W	23.5-26.5
5.	Matang	0.9513	25% W/V	24.52% W/V	23.5-26.5
6.	Mix-25	Non-detectable	25% W/V	25.00% W/V	23.5-26.5
7.	Nurelle	0.9940	25% W/V	23.47% W/V	23.5-26.5
8.	Sherpa	0.9597	25% W/V	24.52% W/V	23.5-26.5
9.	Ripcord	0.9113	15% W/V	14.13% W/V	14.1-15.9
10.	Tack-D	1.0753	15% W/V	14.25% W/V	14.1-15.9
11.	Cymbush-D	0.8943	10% W/V	8.59% W/V(0)	9-11
12.	Nurelle	0.9273	10% W/V	10.40% W/V	9-11

* Not mentioned as W/V or W/W

(0) Active ingredient is below FAO limit

Table 3. Measured volume of cypermethrin

No.	Trade name	Labelled volume (ml)	Actual volume (ml)	% Difference of volume	Price (baht)
1.	Champ 25%	500	465	−7.0	628/500 ml
2.	Cymbush 25%	100	98	−2.0	150/100 ml
3.	Cyper 25% W/V	500	476	−4.8	600/500 ml
4.	Cypersect 25%	500	494	−1.2	650/500 ml
5.	Matang 25% W/V	500	485	−3.0	670/500 ml
6.	Mix-25 25% W/V	100	97	−3.0	150/100 ml
7.	Nurelle 25% W/V	500	477	−4.6	600/500 ml
8.	Sherpa 25% W/V	500	482	−3.6	650/500 ml
9.	Ripcord 15% W/V	500	490	−2.0	380/500 ml
10.	Tack-D 15% W/V	500	487	−2.6	475/500 ml
11.	Cymbush-D 10% W/V	500	490	−2.0	350/500 ml
12.	Nurelle 10% W/V	500	485	−3.0	300/500 ml

Table 4. Content of monocrotophos

No.	Trade name	Sp. Gr.	Declared percentage of active ingredient in formulation	Detected percentage of active ingredient in formulation	Acceptable[3] limits of percentage of active ingredient
1.	Azodrin	1.0913	60% W/V	59.22% W/V[(A)]	57.5-62.5
2.	Barasol	1.1324	60% W/V	48.36% W/V	57.5-62.5
3.	Mophos	1.1531	60% W/V	51.74% W/V	57.5-62.5
4.	Azodren	1.0874	56% WSC	0 % W/W	53.5-58.5
5.	Monocron	1.1394	56% W/V	47.77% W/V	53.5-58.5
6.	Novaren	1.1533	56% W/V	43.20% W/V	53.5-58.5
7.	Nuvacron	1.1393	56% WSC	28.33% W/W	53.5-58.5
8.	Crotophos	1.1193	55% W/W	34.79% W/W	52.5-57.5
9.	Kegan	0.9733	55% W/W	0.04% W/W	52.5-57.5
10.	Mocron	1.1194	55% W/W	38.45% W/W	52.5-57.5
11.	Novaren	1.0874	40% W/V	28.39% W/V	38.0-42.0

WSC = Water Soluble Concentrate
(A) Active ingredient is in FAO limit

Table 5. Measured volume of monocrotophos

No.	Trade name	Labelled volume (ml)	Actual volume (ml)	% Difference of volume	Price (baht)
1.	Azodrin 60% W/V	500	500	0	120/500 ml
2.	Barasol 60% W/V	1000	980	−2.0	165/1000 ml
3.	Mophos 60% W/V	1000	850	−15.0	–
4.	Azodren 56% WSC	500	475	−5.0	110/500 ml
5.	Monocron 56% W/V	1000	1000	0	200/1000 ml
6.	Novaren 56% W/V	500	488	−2.4	110/500 ml
7.	Nuvacron 56% W/V	500	477	−4.6	120/500 ml
8.	Crotophos 55% W/W	500	480	−4.0	100/500 ml
9.	Kegan 55% W/W	500	470	−6.0	120/500 ml
10.	Mocron 55% W/W	500	480	−4.0	95/500 ml
11.	Novaren 40% W/V	500	505	+1.0	–

Table 6. Content of mevinphos* (E&Z isomer)

No.	Trade name	Sp. Gr.	Declared percentage of active ingredient in formulation	Detected percentage of active ingredient in formulation	Acceptable[3] limits of percentage of active ingredient
1.	Phosdyne	0.9333	25**	21.59% W/W	23.5 -26.5
2.	Dithrinphos	0.9245	24% W/V	21.10% W/V	22.56-25.44
3.	Ecomax	0.9260	24**	15.10% W/W	22.56-25.44
4.	Grophos	0.9343	24% W/V	21.23% W/V	22.56-25.44
5.	Mevinphos[(a)]	0.9303	24% W/V	22.27% W/V	22.56-25.44
6.	Mevinphos[(b)]	0.9385	24% W/V	20.12% W/V	22.56-25.44
7.	Mevinphos[(c)]	0.9343	24**	17.71% W/W	22.56-25.44
8.	Ozo	–	24**	20.57% W/W	22.56-25.44
9.	Phosdrex	0.9270	24**	22.41% W/W	22.56-25.44
10.	Phosdrin	0.9329	24% W/V	23.75% W/V[(A)]	22.56-25.44
11.	Twinphos	0.9613	24**	19.72% W/W	22.56-25.44
12.	Thanaphos	1.0274	24**	0.00% W/W	22.56-25.44

[(a),(b),(c)] Products from different manufacturers

[(A)] Active ingredient is in FAO limit

* The calculation of total mevinphos content derive by multiplying the mevinphos (E) with $\frac{100}{60}$

** Not mentioned as W/V or W/W

Table 7. Measured volume of mevinphos

No.	Trade name	Labelled volume (ml)	Actual volume (ml)	% Difference of volume	Price (baht)
1.	Phosdyne 25%	500	470	−6.0	55/500 ml
2.	Dithrinphos 24% W/V	500	465	−7.0	55/500 ml
3.	Ecomax 24%	500	375	−25.0	55/500 ml
4.	Grophos 24% W/V	1000	995	−0.5	90/1000 ml
5.	Mevinphos[a] 24% W/V	500	470	−6.0	55/500 ml
6.	Mevinphos[b] 24% W/V	500	475	−5.0	55/500 ml
7.	Mevinphos[c] 24% EC	500	488	−2.4	60/500 ml
8.	Ozo 24%	100	87	−13.0	–
9.	Phosdrex 24% EC	1000	980	−2.0	90/1000 ml
10.	Phosdrin 24% W/V	500	499	−0.2	65/500 ml
11.	Twinphos 24% EC	500	437	−12.6	55/500 ml
12.	Thanaphos 24% EC	500	458	−8.4	60/500 ml

(a), (b), (c) Products from different manufacturers

Table 8. Percentage of detected active ingredient of pesticides as compared with labelled concentration

Cypermethrin		Monocrotophos		Mevinphos	
Trade name	% of active ingredient (detected)	Trade name	% of active ingredient (detected)	Trade name	% of active ingredient (detected)
Champ	101.72	Azodrin	98.70	Phosdyne	86.36
Cymbush	92.56	Barazol	80.60	Dithrinphos	87.92
Cyper	98.40	Mophos	86.23	Ecomax	62.92
Cypersect	99.52	Azodren	0	Grophos	88.46
Matang	98.08	Monocron	85.30	Mevinphos[(a)]	92.79
Mix-25	100.00	Novaren	77.14	Mevinphos[(b)]	83.83
Nurelle	93.88	Nuvacron	50.60	Mevinphos[(c)]	73.79
Sherpa	98.08	Crotophos	63.25	Ozo	85.71
Ripcord	94.20	Kegan	0.07	Phosdrex	93.38
Tack-D	95.00	Mocron	69.91	Phosdrin	98.96
Cymbush-D	85.90	Novaren	70.98	Twinphos	82.17
Nurelle	104.00			Thanaphos	0

(a), (b), (c) Products from different manufacturers

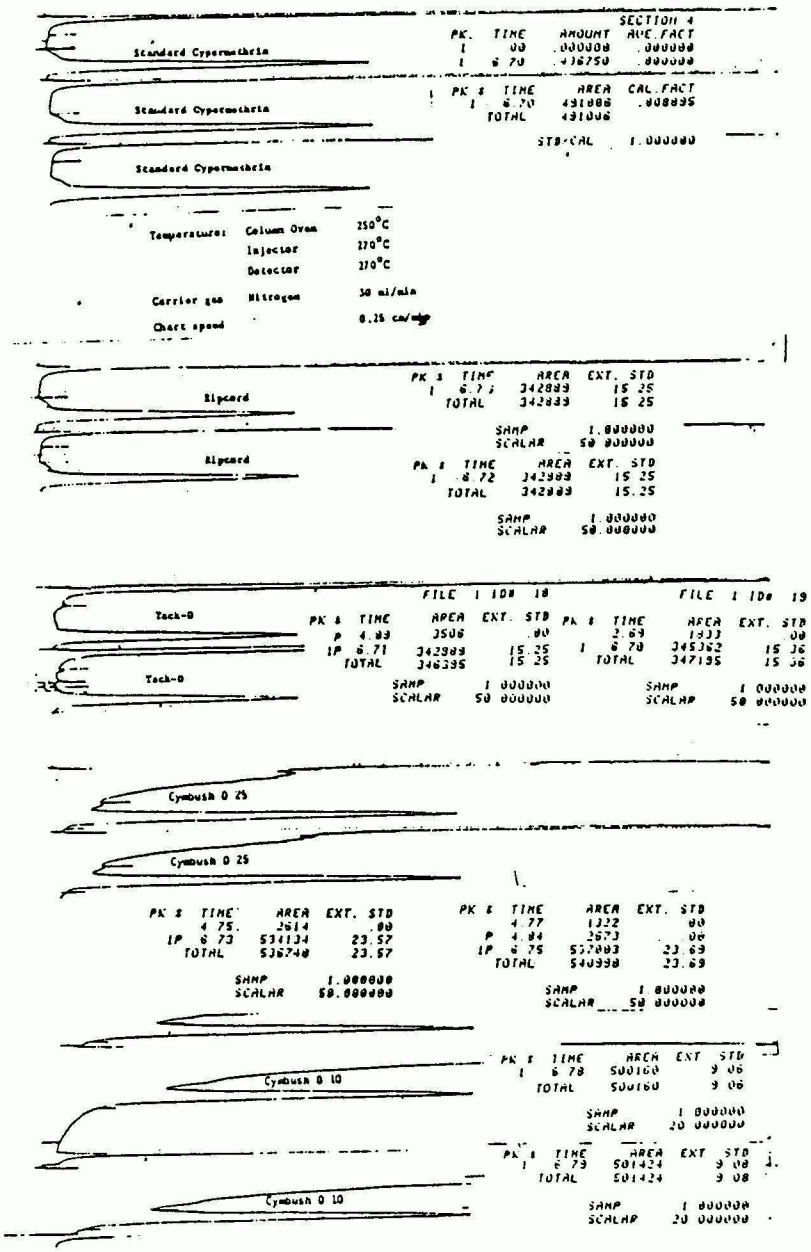


Fig. 1 Chromatogram of cypermethrin

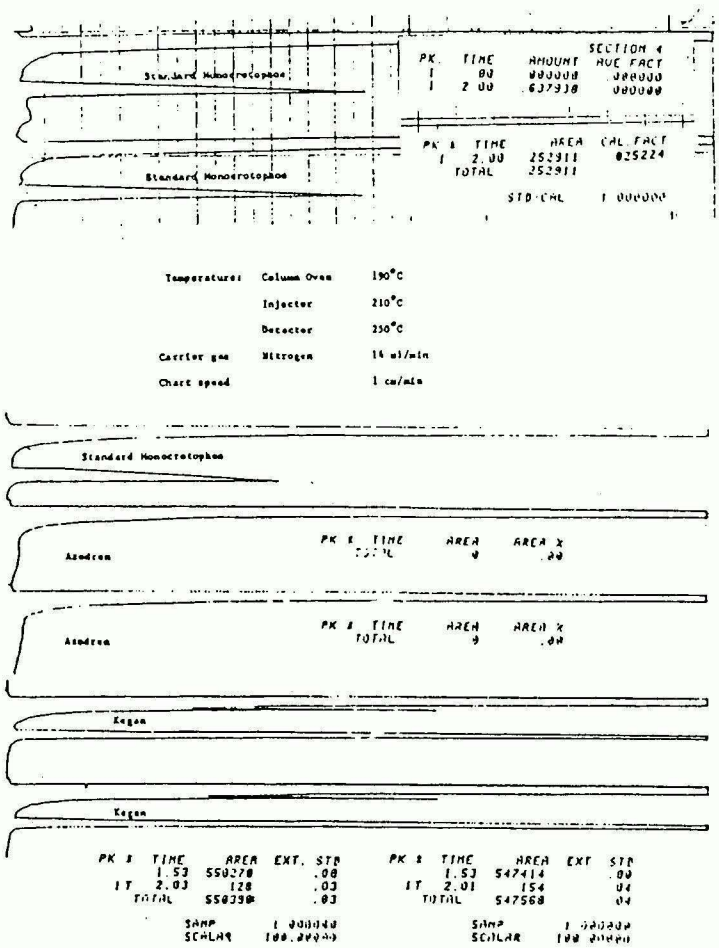


Fig. 2 Chromatogram of monocrotophos

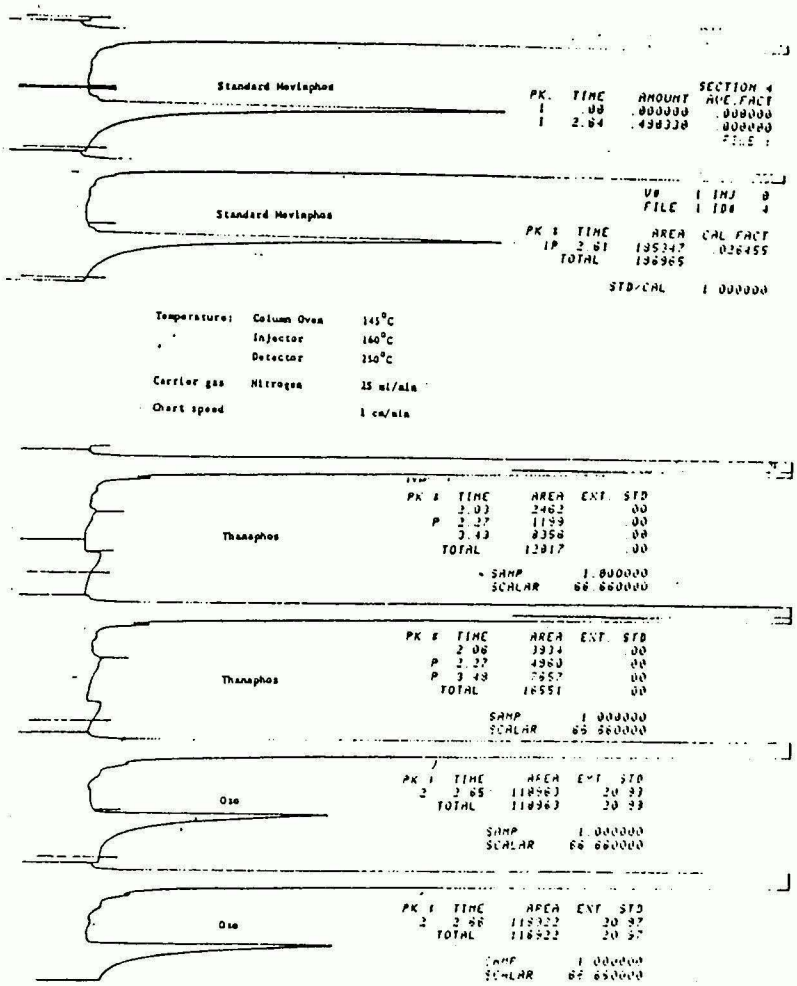


Fig. 3 Chromatogram of mevinphos

ต้นฉบับเป็นหน้าว่าง

BLANK PAGE IN ORIGINAL

STUDY ON ANTIBIOTIC-PRODUCING ACTINOMYCETES FROM CAVE SOIL IN CENTRAL REGION OF THAILAND

การศึกษาเชื้อแอคติโนมัยซีตีสจากดินถ้ำบริเวณภาคกลางของประเทศไทย ที่สามารถสร้างสารปฏิชีวนะ

Somyot Laorpaksa
สมยศ ลออปักษา
Santi Thoongsuwan
สันติ ถุงสุวรรณ
Aurapin Yingyong
อรพิณ ยิ่งยง
Areerat Pongsopida
อารีรัตน์ พงษ์โสภิดา

Faculty of Pharmaceutical Science, Chulalongkorn University
คณะเภสัชศาสตร์ จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

ABSTRACT

In preliminary screening for actinomycetes, thirty soil samples collected from six caves in Changwat Kanchanaburi, Ratchaburi and Saraburi were used. The percentage of actinomycetes isolated from caves namely : Mungkorn-tong, Kao-lam, Sarika, Jom-pon, Kao-bin and Pothisat were 2.23, 3.92, 7.23, 0.16, 1.16 and 0.84 respectively. The net per cent of isolated actinomycetes was 3.81. Screening for antibiotic-producing strains was carried out by the streak plate method using Staphylococcus aureus *ATCC 6538-P,* Bacillus subtilis *ATCC 6633,* Streptococcus faecalis *Department of Microbiology, Faculty of Medicine, Chulalongkorn Hospital,* Escherichia coli *ATCC 10534,* Pseudomonas aeruginosa *NCTC 10612 and* Candida albicans *ATCC 10231 as test organisms. Fifty-one out of 104 strains (49.04%) were found active and produced antibiotics. They were classified into 6 groups according to their antibiotic activity. The selected strain ST-13-2 which gave high antibiotic activity in plate assay against all test organisms was selected for further taxonomic study and antibiotic production in liquid media. Taxonomic studies revealed that it is closely related to* Streptomyces parvullus. *Fermentation for antibiotic production in glucose soybean medium, at pH 7.0 (before sterilization), and at temperature 23 ° C was found optimum.*

บทคัดย่อ

การศึกษาหาเชื้อ แอคติโนมัยซีตีส ทำโดยการเก็บตัวอย่างดินถ้ำจำนวน 30 ตัวอย่างจาก ถ้ำ 6 แห่งในจังหวัดกาญจนบุรี ราชบุรี และสระบุรี พบว่าสามารถแยกเชื้อนี้ได้จากถ้ำมังกรทอง 2.23%, ถ้ำเขาแหลม 3.92%, ถ้ำสาริกา 7.23%, ถ้ำจอมพล 0.16%, ถ้ำเขาบิน 1.16% และถ้ำโพธิสัตว์ 0.84% คิดเป็นเชื้อแอคติโนมัยซีตีสแยกได้ทั้งหมด 3.81% เมื่อนำเชื้อที่แยกได้มาทดสอบความสามารถในการสร้างสารปฏิ-ชีวนะบนอาหารแข็งที่มีผลยับยั้งต่อเชื้อ *Staphylococcus aureus* ATCC 6538-P, *Bacillus subtilis* ATCC 6633, *Streptococcus faecalis* Department of Microbiology, Faculty of Medicine, Chulalongkorn Hospital, *Escherichia coli* ATCC 10534, *Pseudomonas aeruginosa* NCTC 10612 และ *Candida albicans* ATCC 10231 พบเชื้อ 51 สายพันธุ์จาก 104 สายพันธุ์ (49.04%) ที่สามารถสร้างสารปฏิชีวนะได้ จำแนกเชื้อตามผลการยับยั้งเชื้อทดสอบออกได้เป็น 6 กลุ่ม คัดเลือกเชื้อ ST-13-2 ที่ให้ผลดีต่อการยับยั้งเชื้อทดสอบทุกชนิดบนอาหารแข็งมาศึกษา เพื่อจำแนกบ่งชี้เชื้อและศึกษาการสร้างสารปฏิชีวนะในอาหารเหลว พบว่าเชื้อที่คัดเลือก ST-13-2 จัดอยู่ในกลุ่มของ *Streptomyces* โดยมีลักษณะใกล้เคียงกับเชื้อ *Streptomyces parvullus* มากที่สุด การเพาะเลี้ยงเชื้อนี้ในอาหาร glucose soybean medium ที่มี pH 7.0 (ก่อนผ่านการฆ่าเชื้อโดยความดัน) ณ อุณหภูมิ 23°ซ. จะให้ผลในการสร้างสารปฏิชีวนะสูงสุด

INTRODUCTION

The field of antibiotics has undergone spectacular developments since the discovery of Penicillin in 1929. Later Waksman and his associates reported the isolation of Actinomycin in 1940, Streptothricin in 1942, Streptomycin in 1943 and Neomycin in 1949. The discovery of Streptomycin, which was found to be particularly useful in treating bacterial infection especially tuberculosis, greatly stimulated the search for useful antibiotics among actinomycetes. The actinomycetes belonging to the genus *Streptomyces* have recently occupied an eminent place because many of them are important producers of antibiotics. This group of microorganisms is the source of many of the currently used antibiotics. Chloramphenicol, the first of the so-called broad-spectrum antibiotics of commercial importance, was first isolated by Ehrlich in 1947. The following year, Dugger described Aureomycin, an antibiotic obtained from cultures of *Streptomyces aureofaciens*. This event opened up the search and the discovery of the important class of antibiotics called the Tetracyclines. Following these discoveries, the pace of new discoveries accelerated.[3] The potentiality of a particular antibiotic for important therapeutic usefulness in the treatment of one or more infectious diseases depends upon its action on the causative agents of the disease and its lack of toxicity of the affected animals. In Thailand, new antibiotics from the actinomycetes were researched from the soils. In 1979, Meevootisom and Nomi[9] isolated antibiotic producing *Streptomyces* from the soil. Kulprecha and co-workers isolated a new species of *Streptomyces*, that was found to produce antifungal antibiotics in the culture filtrate and mycelium, from the soil from a rubber plantation in Thailand.[6]

It was known that the natives treated the infection wound by using cave soil. According to this local practice, cave soil samples were collected from the central region of Thailand for investigation. It is anticipated to find new antibiotics from the actinomycetes that could help solve major problem of chemotherapy especially the prevalence of certain microbes resistant to specific antibiotics.

MATERIALS AND METHODS

Isolation methods [10, 12, 13, 17]

Thirty soil samples were collected from various caves in the central region of Thailand. The soil samples and their sources were shown in Table 1. Fresh soil was taken from the soil surface and down to a depth of 6 cm. The samples were placed in the laboratory at 4 °C in refrigerator.

To isolate antibiotic-producing actinomycetes, 10 g of each soil sample was suspended in sterile distilled water to make 1:10, 1:100, 1:1000 and 1:10000 dilutions. One ml portion of soil dilution was plated with potato dextrose agar (plus nystatin 50 μg/ml) to determine the total count.

The soil suspension of 0.1 ml was applied to the other agar surface by pipette, then spread across the surface with sterile glass rod to isolate selected colonies. Two sets of each soil sample were studied. One was incubated at 28-30°C for 3-5 days under aerobic condition and another under anaerobic condition in gas pak jar.

The isolated colonies of actinomycetes were subcultured and purified by streaking, before making stock cultures on the potato dextrose agar slants and kept in a cold room at 4°C.

Screening of cultures for antibiotic production [2, 16]

The pure cultures were streaked in a narrow band across the centers of the nutrient agar plates, then incubated at 28 -30°C for 5 days or until growth and, possibly, sporulation had occurred. Six test organisms were then streaked from the edges of the plates up to but not touching the growth, they were as follows :

Staphylococcus aureus	ATCC 6538-P
Bacillus subtilis	ATCC 6633
Streptococcus faecalis	Department of Microbiology, Faculty of Medicine, Chulalongkorn Hospital
Escherichia coli	ATCC 10534
Pseudomonas aeruginosa	NCTC 10612
Candida albicans	ATCC 10231

The assay plates were further incubated at 35-37°C to allow growth of the test organisms. The clear inhibition distance over which the growth of each test organism had been inhibited by antibiotic in the vicinity of the actinomycetes was observed. Only those actinomycetes that had produced antibiotics with anticipated microbial inhibition spectra were retained for further testing.

Taxonomic studies of selected strain

Morphological and physiological properties of a selected strain (strain ST-13-2) were determined by media and methods described by Shirling and Gotllieb[14] along with several supplementary tests.

A. Morphological characterization

The culture media were medium 2 (yeast extract-malt extract agar), medium 3 (oatmeal agar), medium 4 (inorganic salts-starch agar) and medium 5 (glycerol-asparagine agar). Each medium was poured into 7 plates.

The suspension of spores or mycelium was inoculated to make the crosshatched culture on the agar surface. The plates were incubated in the dark at 25-28°C. For each culture two plates of each medium were observed after 7 days, 14 days and 21 days. One extra plate was also inoculated to prevent any accidental loss.

Determination of the characteristics of the culture was carried out as follows :

1. Direct light microscopic examination. Observation was done at 100 × - 700 × to establish the presence (or absence) of chains of spores, the number of spores at the end of mature hyphae, the form of the spores chain and spore bearing hyphae.

2. Color determinations. This was done to describe the aerial mass color, the color of substrate mycelium (reverse color), and the soluble colors other than melanoid pigmentation.

3. Scanning electron microscopic examination.[18, 20] The culture was cut to some small cubes (3-5 mm^3) and then primary fixed in a 4% solution of paraformaldehyde in 0.1 M phosphate buffer pH 7.2 at room temperature for 2 h. After that they were washed 3 times with buffer and were treated with secondary fixative, a 1% solution of osmium tetroxide in buffer, and were washed in the same process before dehydrating through a graded ethanol series and finally drying in the critical point dryer. Fix the specimen to a stub and coat with thin film of gold by Sputter coater.

The spore chains were observed in the scanning electron microscope at the magnification of 5,000 × - 10,000 ×.

B. Physiological characteristics

1. Melanin production. A heavy inoculum of spores and aerial mycelium was streaked on the agar slants of medium 1 (tryptone - yeast extract agar), medium 6 (peptone iron agar, Difco, supplement with 0.1% yeast extract), and medium 7 (Shinobu's modification of Masumoto's tyrosine agar). The agar slants were incubated at 25-28°C and melanoid pigments observed after 48 h and 96 h.

In comparing inoculated tubes with uninoculated controls, culture forming a greenish brown to black diffusible pigment or a distinct brown pigment modified by other color was recorded as positive (+).

2. Carbon utilization. Placed 0.05 ml of washed inoculum (culture in broth and washed with normal saline) onto the agar surface. Streak the drop straight across the dish and repeated with a second drop. Inoculated duplicate plates. Carbon sources used in the basal media (medium 8, Pridham and Gottlieb carbon utilization medium) were D-glucose (positive control) L-arabinose, D-xylose, D-fructose, inositol, L-rhamnose, D-galactose, D-mannose, sucrose, raffinose, D-mannitol, salicin and cellulose. The plates were incubated at 25 - 28°C and observed at 10-16 days.

Results were recorded in term of strongly positive utilization (+ +), positive utilization (+), utilization doubtful (±) and utilization negative (−).

C. Biochemical reactions[8]

1. Nitrate reduction

Inoculated two nitrate broth tubes with the culture and incubated at 28 - 30 °C for 4 to 6 days. On the 4th day, transferred 1 ml of the medium into a test tube and add 3 drops of sulfanilic acid reagent, followed by 2 drops of dimethyl-α-napthylamine solution. If nitrites were present, the mixture would become pink. When a positive test for nitrates was obtained, incubated the tubes further, and then performed the qualitative test for ammonia by Nessler's solution. If ammonia was present, a yellow-brown color was developed in the medium.

2. Starch hydrolysis

Streaked the culture in a band across the centers of the starch agar plate and incubated at 28 - 30°C for 5 days. After incubation was complete, flood the surface of the plate with dilute Gram's iodine solution. If starch hydrolysis was present, a dark-blue color did not appear.

3. Gelatin liquefaction

Streaked the culture in a band across the centers of the 0.4% nutrient gelatin agar and incubated at 28-30°C for 5 days. After incubation was complete, flood the surface of the plate with saturated ammonium sulfate solution. Whenever, the gelatin has been hydrolyzed, turbidity did not appear.

4. Litmus milk reduction

Inoculated two tubes of litmus milk with the culture and incubated at 28-30°C, and observed daily through a ten day period for a) reduction of litmus, b) milk coagulation, c) milk peptonization, d) gas production, and e) any changes in pH according to the indicator.

5. Casein decomposition

Made a single streak across the center of the skim-milk plus nutrient agar plate with the culture and incubated at 28-30°C for 5 days. Observed the clear zone if there was any casein decomposition.

6. Tyrosine and xanthine decomposition

Streaked the culture in a band across the centers of the tyrosine agar plate

and xanthine agar plate. The plates were incubated at 28-30°C for 5 days. If the decomposition was present, the clear zone was resulted.

Development of methods for submerged-culture antibiotics production[2, 12]

A. Development of media[15]

1. Liquid media

The selected antibiotic producing actinomycetes strain ST-13-2 which showed broad spectrum and strong inhibition when tested on solid media was tested for its ability to produce antibiotic in 3 kinds of liquid media : glucose peptone medium, glucose soybean medium, and maltose soybean medium. Thirty-five ml of each liquid medium in 250 ml Erlenmeyer flask with 20 glass beads was used in this test.

2. Inoculation for antibiotic production

The inoculum was prepared by adding 3-5 ml of sterile distilled water to the stock slant and using a sterile wire loop to get the spores or mycelial fragments. Each liquid medium was inoculated with 0.5 ml of the inoculum and was incubated on a rotary shaker (180 rpm, 28°C) for 3, 5 and 7 days. By this time, 5 ml of each culture fluid was taken aseptically to assay for antibiotic activity against 6 test organisms by agar diffusion method.

3. Antibiotic assay[5]

3.1 Preparation of inoculum

The fresh cultures of each test organism on antibiotic medium no. 1 slants that had been incubated at 37°C for 16-18 h were used. They were washed out with sterile normal saline and standardized by determining the dilution that would permit 25% light transmission at wave length 525 nm.

3.2 Preparation of assay plate

The flasks with 100 ml medium no. 1 were melted then cooled to 48°C, and inoculated with 0.5 ml of each inoculum suspension. After thorough mixing avoiding air bubbles, the 20 ml of agar was poured into 9 cm sterile petri dishes. A sterile cork borer with 6 mm diameter was used to press upon the hardened agar to make 5 sharp circles to give holes after removing the agar within the circles.

3.3 Assay procedures

The inoculated agar plates were filled in each hole with 50 μl of each fermented liquid medium. The plates were left 1 h at room temperature for diffusion into the agar medium. Then, they were incubated at 37°C for 16-18 h. Compared the diameters of the inhibition zone by measuring with a sliding caliper.

B. Determination of optimum pH and temperature

1. Preparation of liquid media

The selected liquid medium from development of media was dispensed into 3 sets of the 500 ml Erlenmeyer flasks, each set had 6 flasks containing 130 ml of the medium. The pH of the medium in each set was adjusted to pH 4, 5, 6, 7, 8 and 9 with either 1N NaOH or 1N H_2SO_4 before sterilization.

2. Preparation of seed medium

Prepared 3.0 ml of turbid suspension of mycelial growth from strain ST-13-2 in sterile water and inoculated into a 500 ml Erlenmeyer flask containing 130 ml of the selected liquid media (pH 7.0). The flask was incubated on a rotary shaker (300 rpm, 28°C) for 3 days.

3. Fermentation

A 5.0 ml aliquot of the culture from the seed medium was inoculated into each of 500 ml Erlenmeyer flask described in B.1. Fermentation was carried out for each set at 23, 30, and 33°C with agitation (300 rpm).

The pH of the culture fluid was measured and the antibiotic production during fermentation was monitored by agar diffusion method using *S. aureus* ATCC 6539-P as the test organism. An example of a typical time course of the fermentation in each 500 ml Erlenmeyer flask was determined every day until the antibiotic activity was decreased.

RESULTS

Isolation of actinomycetes from cave soil

The calculation of total number of actinomycetes isolated from each cave soil and total count under the aerobic condition were shown in Table 2. There were no isolated colony of actinomycetes from any cave soil sample incubated under anaerobic condition. The numbers of actinomycetes strains isolated to study from Mungkorn-tong, Kao-lam, Sarika, Jom-pon, Kao-bin and Pothisat were 19, 14, 49, 5, 16 and 1 respectively so that the total strains of actinomycetes were 104.

Determine of antibiotic-producing actinomycetes

According to the screening of cultures for antibiotic production, we have selected 51 active ones out of 104 by streak plate method and classified them into 6 groups (Table 3). The strain ST-13-2 isolated from Mungkorn-tong cave inhibited a wide range of test organism (classified in group 1) and much more clear inhibition distance was selected for further study.

Taxonomic studies of strain ST-13-2

The cultural characteristic of strain ST-13-2 on various media were shown in Table 4. Strain ST-13-2 formed sporophores monopodially branched, with long, regular, open spirals. The number of spore at the end of the mature hyphae was more than 10 (Figure 1). The spore under scanning electron microscopic was cylindrical and 1.09×0.5 μm in size as shown in Figure 2. The surface of the spore was smooth. Morphological characteristics of strain ST-13-2, placed it in the genus *Streptomyces*. The melanin production of strain ST-13-2 was negative. The utilization of carbon sources and biochemical properties were summarized in Table 5 and 6 respectively.

Antibiotic production in liquid media

Development of liquid media

The strain ST-13-2 was fermented in 3 kinds of liquid media. The glucose soybean medium produced the highest activity of antibiotic against all test organisms at approximately 3 and 5 days (Table 7).

Determination of optimum pH and temperature

Three sets of glucose soybean medium (pH 4, 5, 6, 7, 8 and 9 before sterilization) were fermented with strain ST-13-2 at 23 , 30 and 33°C. The pH changes and antibiotic production during fermentation of temperature 23, 30 and 33°C were shown in Figure 3, 4 and 5 respectively. They showed that the pH shifted to approximately pH 7, then slowly increased until the fermentation course were over. Among these temperatures, the temperature at 33°C provided the most sharply curve between 2 and 3 days or 3 and 4 days.

The antibiotic productions were dominant when the initial pH before sterilization was in range 6-8 at 23°C, range 7-9 at 30°C, and range 5-7 at 33°C.

Figure 6 showed that the optimum temperature for antibiotic production was 23°C. The highest peak of antibiotic activity of temperature 23, 30 and 33°C were 14.0, 10.5 and 7.8 mm respectively. The optimum initial pH before sterilization that gave the maximum of antibiotic at 23°C was 7.

DISCUSSION

To isolate successfully a wide variety of actinomycetes from soil samples it was necessary to eliminate or greatly curtail fungal and bacteria spreaders in the isolation medium without producing an adverse effect on actinomycetes. This could be accomplished in one, or a combination of more than one, of the following ways : 1) control of the medium constituents, 2) addition of inhibitors to the medium, 3) prior treatment of the soil sample.[4]

Fungal contaminants could be virtually eliminated by adding antifungal agents to the isolation medium. In this study, nystatin, added at the level of approximately 50 μg/ml[19] to selective media such as those above, effectively eliminated most undesired contaminants in isolation plates.

The isolation of actinomycetes from cave soil in our primary screening accounted 3.81% of the total microorganisms. Since the soil samples was too shallow, about 6 cm in depth, there was no isolated colony of actinomyces under anaerobic condition. An early representative study was that of Danish soils, the number of actinomycetes varied from none to 13 million / g and the per cent of the total microflora from 0 to 73.[11]

In the antibiotic screening, 51 strains of actinomycetes out of 104 strains (49.04%) were able to elaborate antibiotic substances by the streak plate method as compared to Kuroya and co-workers demonstrated only 360 active ones out of 1,800 strains (20.0%).[7]

The isolated strain ST-13-2 from Mungkorn-tong cave inhibited more clear inhibition distance to all test organisms was selected for further study. The results of morphological characteristics showed that it belongs to genus *Streptomyces*. The cultural and physiological characteristics of strain ST-13-2 were compared with those of the known species of *Streptomyces* described by Waksman[15] and Burgey's Manual of Determinative Bacteriology.[1] The results indicated that strain ST-13-2 was closely related to *S. parvullus*. Difference observed between these two strains were as follows : the spore chain of strain ST-13-2 was long open spiral, spore cylindrical, no soluble pigment on nutrient agar and no gelatin liquefaction while the spore chain of *S. parvullus* was long closed spiral, spore spherical, yellow soluble pigment on nutrient agar and slow gelatin liquefaction. These differences were not sufficient to consider strain ST-13-2 as a new species.

The ability of strain ST-13-2 to produce broad spectrum antibiotics in 3 kinds of liquid medium showed that the glucose soybean medium was superior to glucose peptone medium and maltose soybean medium. The medium supplied nutrients for growth, energy, building of all substance and biosynthesis of fermentation products. Of particular importances were the sources of carbon and nitrogen in the medium, since microbial cells and fermentation products were composed largely of these elements. A poor choice of medium components could cause limited cellular growth and alter the type and ratios of products. Thus the types and amounts of the nutritive components of a medium were critical.[2] According to the composition of 3 kinds of liquid medium, it seemed that glucose and soybean powder were suitable for the sources of carbon and nitrogen in antibiotic production of strain ST-13-2 in this study.

During microbial growth, pH changes can occur for one of several reasons. Obviously, an acidic or alkaline fermentation product can alter the pH picture. Also, an inorganic salt component of the medium can cause pH changes. The media selected are then studied further in several aspects. The initial pH and temperature were varied so as to determine the effect of pH and product yields.[2] The optimum pH and temperature for antibiotic production of strain ST-13-2 fermented in the glucose soybean medium were pH 7 (before sterilization) at 23°C. The incubation peroid of high yield was between 2 and 6 days.

CONCLUSION

The percentage of actinomycetes isolated from Mungkorn-tong, Kao-lam, Sarika, Jom-pon, Kao-bin and Pothisat were 2.23, 3.92, 7.23, 0.16, 1.16 and 0.84 respectively. The net actinomycetes isolated was 3.81%. From these isolated actinomycetes, 51 active ones out of 104 strains (49.04%) were able to produce antibiotics against test organisms, and were then classified into 6 groups.

One of the isolates, strain ST-13-2 was selected for further study. It was identified as a species closely related to *Streptomyces parvullus*. Antibiotic production of strain ST-13-2 was compared in 3 liquid media : glucose peptone medium, glucose soybean medium and maltose soybean medium. The glucose soybean medium was found most suitable. An initial pH of 7.0 (before sterilization) proved to be optimum for antibiotic production and the optimum temperature was 23°C. The high yield was in the incubation peroid between 2 and 6 days.

ACKNOWLEDGEMENT

A grateful acknowledgement goes to the Chulalongkorn University Graduate School which provided partial financial support for this study.

REFERENCES

1. Buchanan, R.E. and Gibbons, N.E. Burgey's Manual of Determinative Bacteriology. 8th ed., The Williams and Wilkins Company, Baltimore, 1974, 657-865.
2. Casida, L.E. Basis and Development of Industrial Fermentation Processes. Industrial Microbiology. John Wiley and Sons Inc., New York, London, Sydney, 1968, 51-151.
3. Encyclopedia of Chemical Technology. Alkoxides, Metal to Antibiotic Peptide. 3rd ed, A Wiley-Interscience Publication, John Wiley and Sons Inc., New York, 1978, **2**, 809-811.
4. Erikson, D. Studies on Some Lake-Mud Strains of Micromonospora. *J. Bacteriol.*, 1941, **41**, 277-300.
5. Kavanagh, F. Analytical Microbiology. Academic Press, New York, San Francisco, London, 1963, 1-255.
6. Kulprecha, S., Tanaka, N., Yamamori, A. and Taguchi, H. Antifungal Antibiotics Produced by *Streptomyces* sp. 7-1 Isolated from Thai Soil. Annual Reports of International Center of Cooperative Research and Development in Microbial Engineering, 1980, **3**, 217-228.
7. Kuroya, M., Ishida, N., Kobayashi, S., Konno, J. and Chida, R. Studies on the Antibiotic Substances from Actinomyces, III. On the Identification by Specificity of Culture Filtrates of the Antibiotics from *Actinomyces :* So-called Secondary Screening of the First Group of *Actinomyces*. *J. Antibiotics*, 1949, **2**, 45-80.
8. Lennette, E.H., Spaulding, E.H. and Truant, J.P. Manual of Clinical Microbiology. 2nd ed., American Society for Microbiology, Washington D.C., 1974.
9. Meevootisom, V. and Nomi, R. Isolation of Antibiotic-Producing *Streptomyces* from Soil in Thailand. Annual Reports of International Center of Cooperative Research and Development in Microbial Engineering, 1979, **2**, 255-256.
10. National Academy of Sciences. Antibiotics and Vaccines in Microbial Processes : Promising Technologies for Developing Countries. National Research Council, Washington D.C., 1979, 158-163.
11. Porter, J.N. Prevalence and Distribution of Antibiotic-Producing Actinomycetes. In Perlman, D. (ed.). Advances in Applied Microbiology. Academic Press, New York, London, 1971, **14**, 74-75.
12. Prescott, S.C. and Dunn, C.G. Antibiotics. Industrial Microbiology. 3rd ed., Mc Graw-Hill Book Company Inc., New York, Toronto, London, 1959, 762-835.
13. Reiner, R. Antibiotics. In Korte, F. and Goto, M., (ed.). Methodicum Chimicum Vol. 11. Natural Compounds, Part 2 : Antibiotic, Vitamins and Hormones. Academic Press, New York, 1977, 2-68.
14. Shirling, E.B. and Gottlieb, D. Methods for Characterization of *Streptomyces* Species. *Intern. J. Syst. Bacteriol.*, 1966, **16** (3), 313-340.
15. Waksman, S.A. The Actinomycetes Vol. II. The Williams and Wilkins Company, Baltimore, 1961, 1-334.

16. Waksman, S.A. and Lechevalier, H.A. Guide to the Classification and Identification of the Actinomycetes and their Antibiotics. The Williams & Wilkins Company, Baltimore, 1953, 1-161.
17. Waksman, S.A. and Schatz, A. Soil Enrichment and Development of Antagonistic Microorganisms. *J. Bacteriol.*, **1964. 51**, 308-316.
18. Weakley, B.S. A Beginner's Handbook in Biological Electron Microscopy. Churchill Livingstone, Edinburgh, London, 1972, 77-95.
19. Williams, S.T. and Davies, F.L. Use of Antibiotics for Selection Isolation and Enumeration of Actinomycetes in Soil. *J. Gen. Microbiol.*, 1965, **38**, 251-261.
20. Williams, S.T. and Veltkamp, C.J. The Value of Scanning Electron Microscopy for the Examination of Actinomycetes. In Heywood, V.H., (ed.). Scanning Electron Microscopy. Academic Press, London, New York, 1971, 285-296.

Table 1. The cave soil samples and their sources

Sample number	Cave	Changwat
1-5	Mungkorn-tong	Kanchanaburi
6-10	Kao-lam	Kanchanaburi
11-15	Sarika	Ratchaburi
16-20	Jom-pon	Ratchaburi
21-25	Kao-bin	Ratchaburi
26-30	Pothisat	Saraburi

Table 2. Microbiological population of cave soil

Cave	No. of microorganisms/g		
	Actinomycetes	Total count	Per cent
Mungkorn-tong	1,695	25,958	2.23
Kao-lam	1,423	36,346	3.92
Sarika	4,451	61,575	7.23
Jom-pon	14	8,525	0.16
Kao-bin	269	23,220	1.16
Pothisat	7	830	0.84
Total	7,859	206,454	3.81

Table 3. Classification of 51 active strains of actinomycetes

Group	No. of inhibited test organism	No. of actinomycetes strains	Per cent
1	6	6	5.77
2	5	8	7.69
3	4	7	6.73
4	3	7	6.73
5	2	8	7.69
6	1	15	14.42
Total		51	49.04

Table 4. Cultural characteristics of strain ST-13-2

Medium	Growth	Aerial mycelium	Substrate-mycelium	Soluble pigment
Yeast extract-malt extract agar	Abundant	Grayish, powdery	Dark brown	Slightly yellow
Oatmeal agar	Abundant	Grayish, powdery	Dark brown	Cream
Inorganic salt-starch agar	Abundant	Grayish, powdery	Gray	No
Glycerol-asparagine agar	Abundant	Grayish, powdery	Brown-gray	No

Table 5. Carbon utilization pattern of strain ST-13-2

D-glucose	+	D-mannose	+
L-arabinose	+ +	Sucrose	±
D-xylose	+	Raffinose	−
D-fructose	+	D-mannitol	+ +
Inositol	+	Salicin	+
L-rhamnose	+ +	Cellulose	+ +
D-galactose	+ +	Control	−

Table 6. Biochemical properties of strain ST-13-2

Nitrate reduction	positive
Starch hydrolysis	positive
Gelatin liquefaction	negative
Milk peptonization	positive
Milk coagulation	positive
Melanin formation	negative
Casein decomposition	positive
Tyrosine decomposition	positive
Xanthine decomposition	positive

Table 7. Antibiotic production of strain ST-13-2 in various media

Medium	Fermentation time (days)	Average of inhibition zone in mm against					
		S. aureus	*B. subtilis*	*S. faecalis*	*E. coli*	*Ps. aeruginosa*	*C. albicans*
Glucose peptone medium	3	0	0	0	0	0	0
	5	8.7	9.65	8.6	7.4	9.05	0
	7	8.2	9.85	8.5	0	8.7	0
Glucose soybean medium	3	11.2	12.05	9.2	9.4	8.8	14.45
	5	10.5	12.3	8.7	8.5	8.9	13.9
	7	9.9	11.6	8.7	8.2	8.6	12.5
Maltose soybean medium	3	7.8	7.55	0	0	0	12.3
	5	7.8	8.7	8.2	0	8.0	0
	7	7.4	9.05	8.0	0	7.8	0

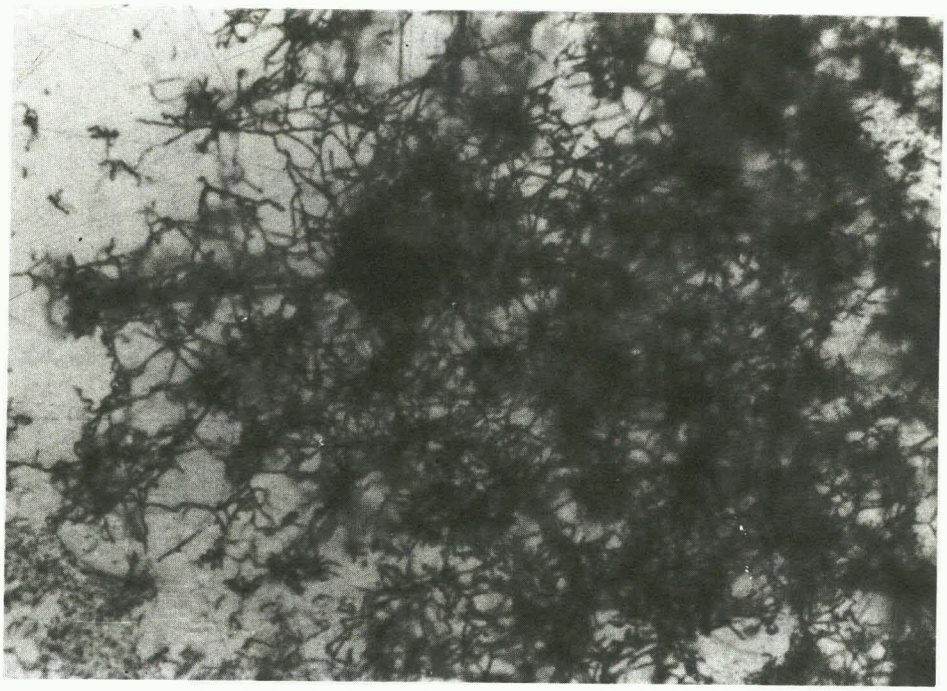


Fig. 1 Photomicrograph of strain ST-13-2 (on oatmeal agar, × 400)

Fig. 2 Scanning electronmicrograph of spore surface of strain ST-13-2 (on oatmeal agar, 30°C, 7 days, × 10,000)

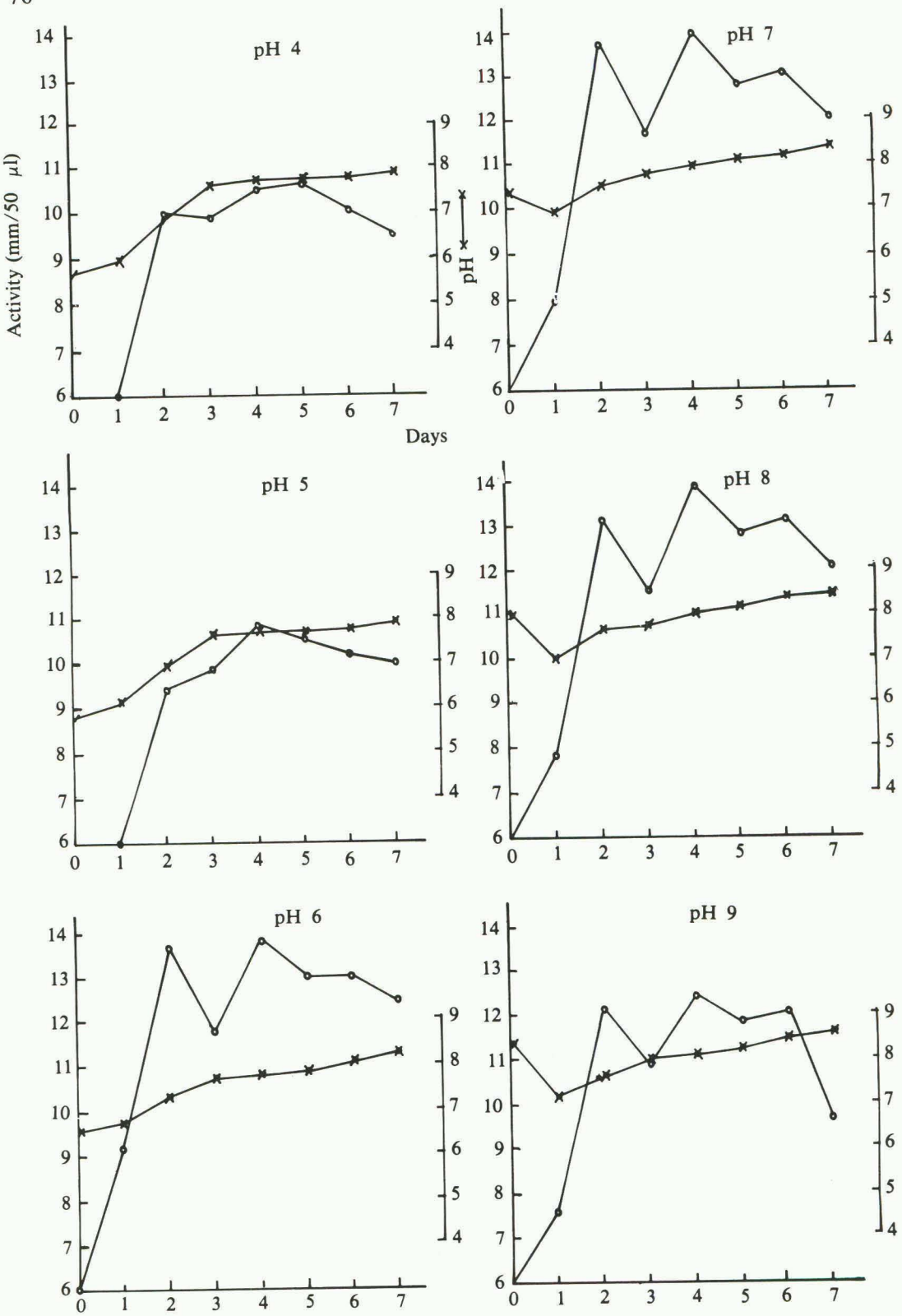


Fig. 3 Fermentation of antibiotic from strain ST-13-2 in various pH at 23°C

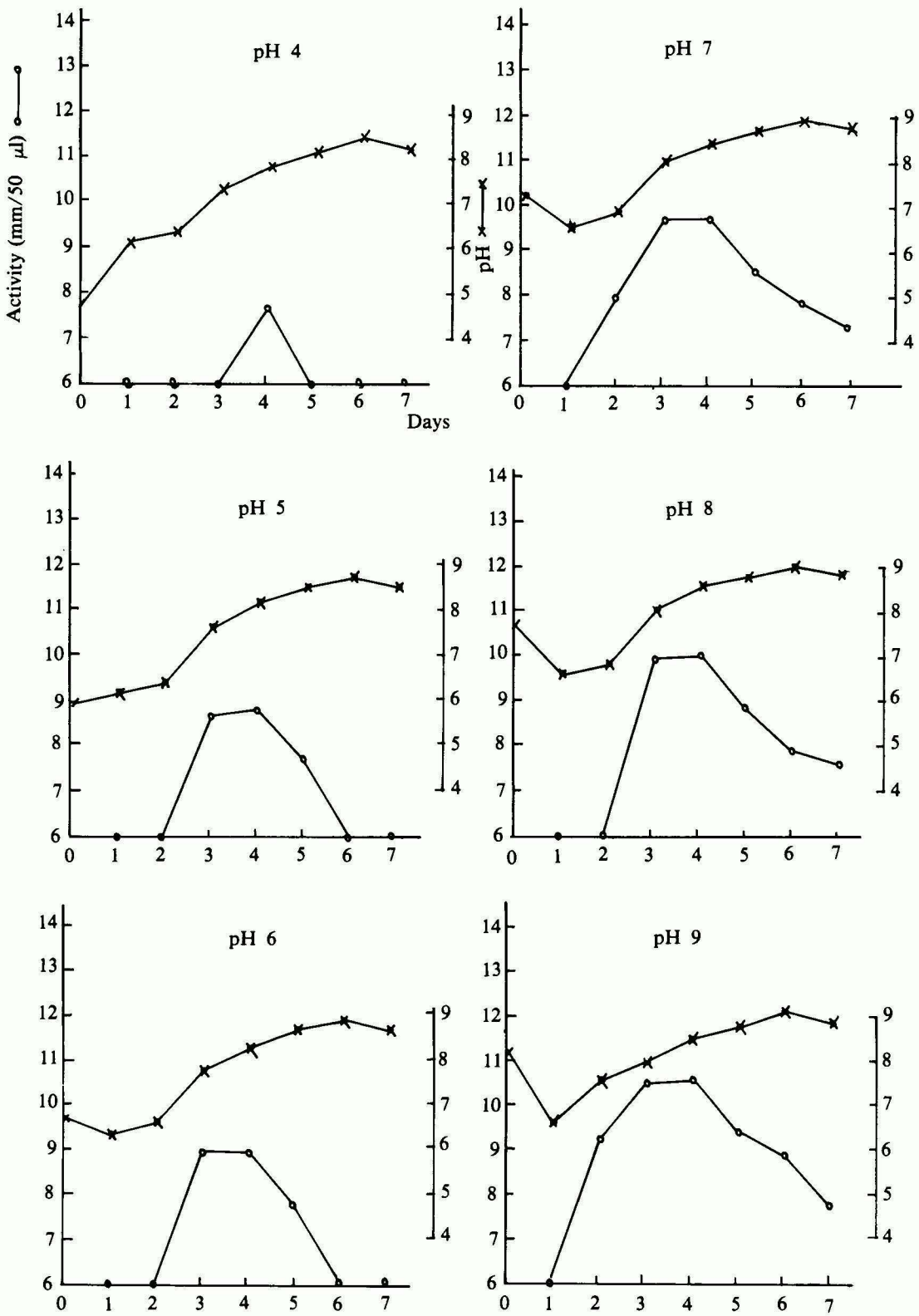


Fig. 4 Fermentation of antibiotic from strain ST-13-2 in various pH at 30°C

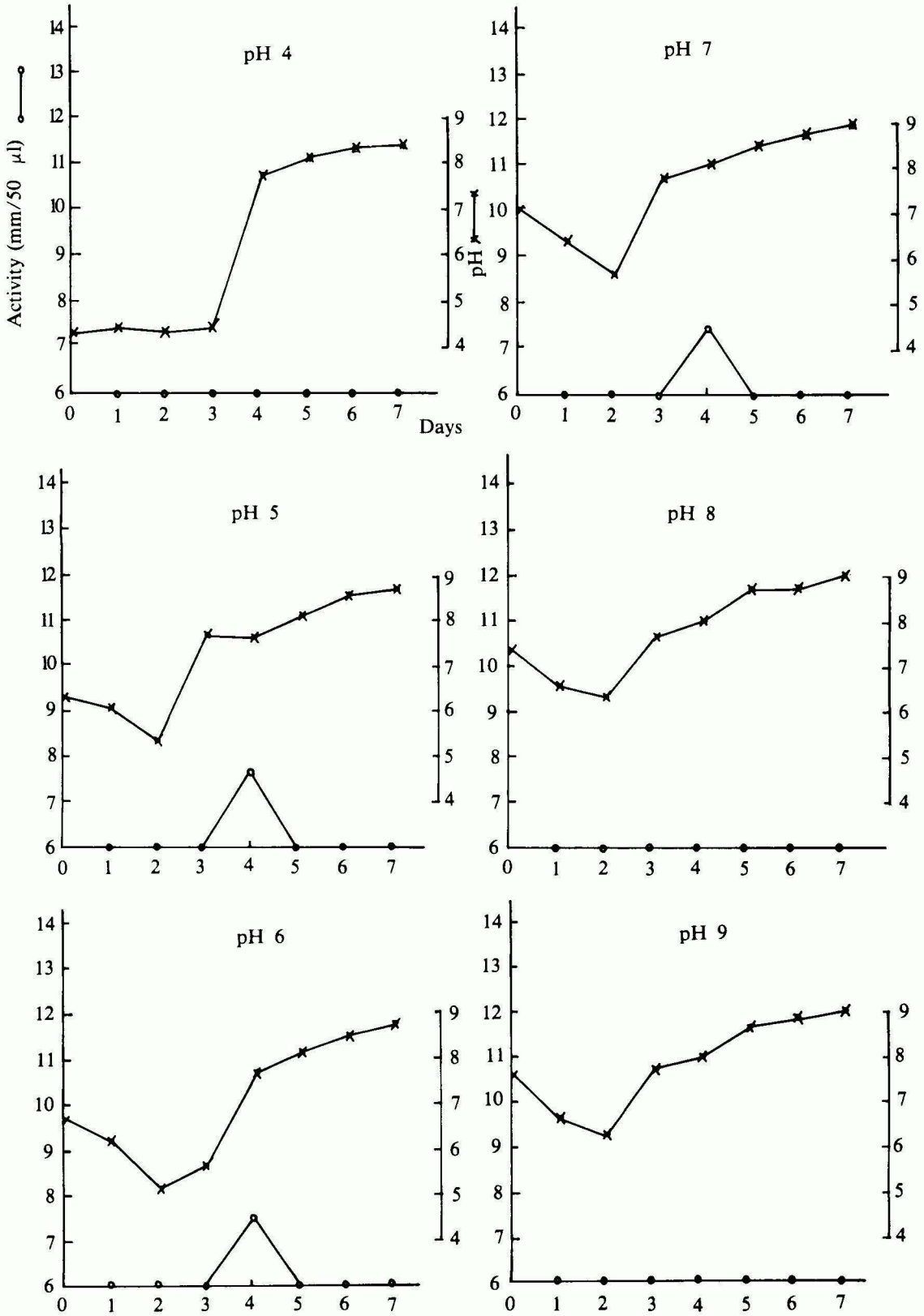


Fig. 5 Fermentation of antibiotic from strain ST-13-2 in various pH at 33°C

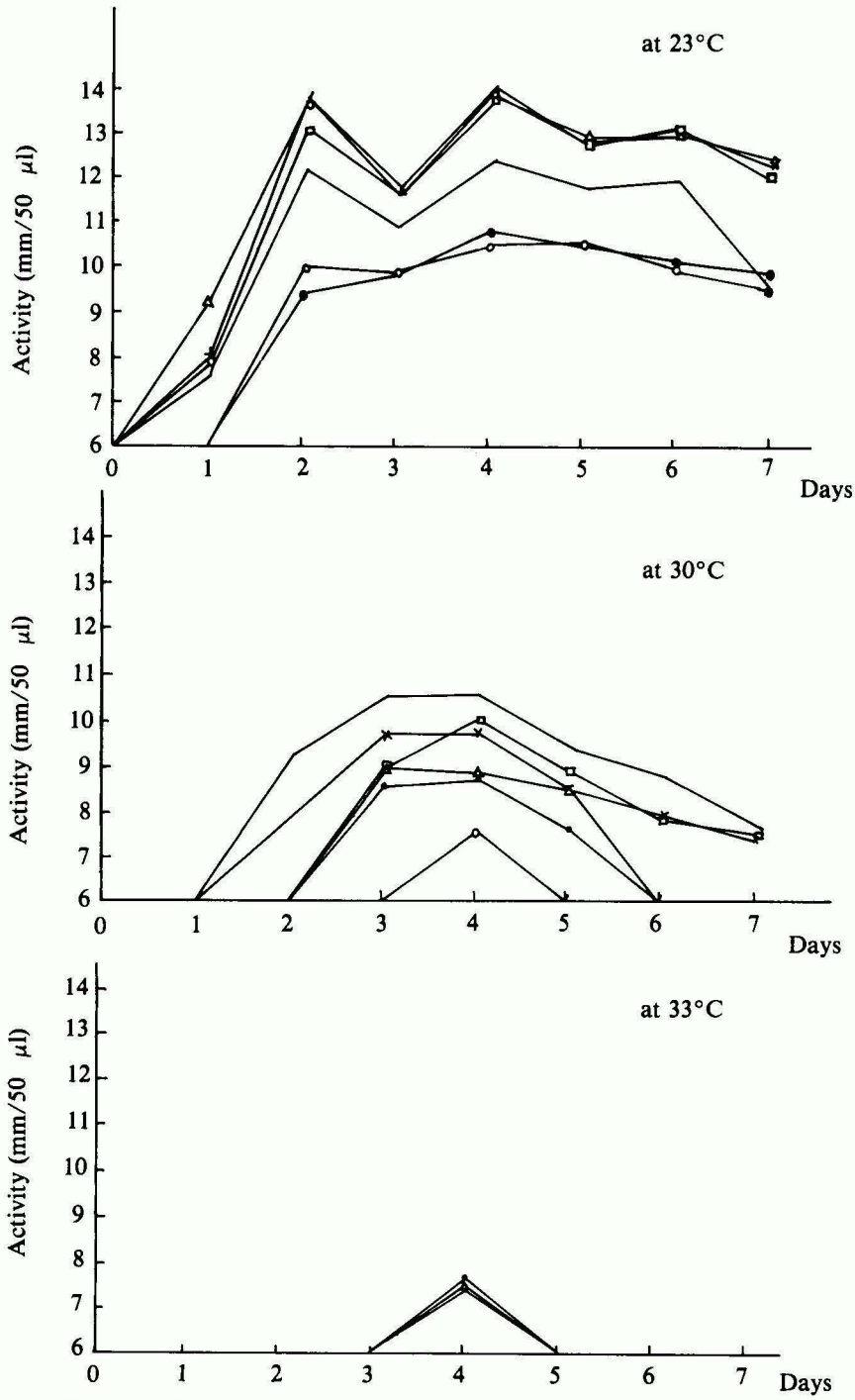


Fig. 6 The comparison of antibiotic production pattern of strain ST-13-2 in various pH and temperature

pH 4 pH 7
pH 5 pH 8
pH 6 pH 9

วารสารสำนักงานคณะกรรมการวิจัยแห่งชาติ

JOURNAL OF THE NATIONAL RESEARCH COUNCIL OF THAILAND

ภาค ๒

สังคมศาสตร์

PART II

SOCIAL SCIENCE

THAILAND'S BARE-HEADED DOCTORS
หมอพระในประเทศไทย

David Gosling
เดวิด กอสลิง

Faculty of Theology, University of Hull
คณะศาสนศาสตร์ มหาวิทยาลัยฮัล

ABSTRACT

Thailand, with its resilient Buddhist culture, such communities are best created and maintained by Buddhist monks, whose unbroken historical continuity provides them with an ideal opportunity for transforming Thai society from within. While many of the principles set out in what follows may be valid outside Thailand and among non-Buddhist Thai minorities (Catholics, Protestants and Muslims), there appears to be a uniqueness about the potential role of the Thai Sangha *as a vehicle of social change. For the last few years an imaginative programme for training Buddhist monks in basic health care has been in operation in Thailand. The scheme, originally based on two* wats *(temples) in Bangkok, is now being extended to the Northeast where poverty and malnutrition are most acute. This article is based on fieldwork conducted in Thailand in 1983. It evaluates the programme from the point of view of participant monks, setting it against the background of traditional and modern medical practice.*

บทคัดย่อ

ประเทศไทยมีวัฒนธรรมที่สำคัญยิ่งคือพุทธศาสนา ประชาชนชาวไทยให้ความเคารพนับถือพระสงฆ์ มีความศรัทธาว่าเป็นผู้ที่สร้างสรรค์และดำรงรักษาสิ่งที่ดีงามให้แก่สังคมไทยตลอดมา แม้ว่าภายในสังคมไทยจะมีการเปลี่ยนแปลงจากอดีตถึงปัจจุบันค่อนข้างมาก สถาบันสงฆ์ก็ยังคงมีบทบาทสำคัญในการควบคุมการเปลี่ยนแปลงให้เป็นไปอย่างถูกต้องเหมาะสม

ในระยะ 2–3 ปีที่ผ่านมามีผู้จัดทำโครงการหมอพระขึ้น เพื่ออบรมพระสงฆ์ให้มีความรู้ทางด้านการรักษาสุขภาพอนามัย โดยเริ่มอบรมที่วัดสามพระยาและวัดเบญจมบพิตรก่อน ต่อมาจึงขยายการอบรม

ไปยังวัดในภาคตะวันออกเฉียงเหนือ การอบรมเน้นการใช้สมุนไพรรักษาโรคแทนการรักษาแบบโบราณและแบบสมัยใหม่ซึ่งปรากฏว่าได้ผลดีและไม่สิ้นเปลืองค่าใช้จ่าย

INTRODUCTION

Dr. Prawase Wasi, the originator of the Thailand's bare-headed doctor programme traces its genesis to a three-week course in health care which he directed at *Wat Thongnopakun* in *Changwat* Thonburi in 1976. More recently *Wat Samphraya* and *Wat Benjamabopitr* in Bangkok have been offering five-day courses for groups of up to fifty monks recruited from Central and Northern Thailand. By January 1984 plans were afoot for less centralized schemes based on regional centres in the Northeast.

The research was conducted in August 1983 by interviewing a dozen monks who had taken part in *Maw Phra* (Doctor-Monk) training schemes based on *Wat Samphraya* and *Wat Benjamabopitr* in Bangkok. The monks were interviewed at their home *wats* in order to ascertain what practical difference the course had made to them. Invariable they mentioned the ability to diagnose accurately, the importance of prevention rather than cure, and the use of a combination of indigenous herbal and inexpensive modern medicines.

Besides, approximately 350 young scholar monks at Mahachulalongkorn Buddhist University were requested to answer the detailed questionnaires about their attitudes towards the role of the *Maw Phra* in the context of Thai rural life and Buddhist beliefs and practices. The questionnaire was designed in the light of the earlier interviews thus anthropology shaped sociology.[4] The data was analysed on the University of Hull's ICL-1904-S computer.

The focus of the investigation was the monks' own understanding of the potential role of the *Maw Phra* in relation to both contemporary social needs in rural Thailand and how "appropriate" or otherwise certain activities are from the point of view of Buddhist orthodoxy. It is not possible, for example, to understand why a monk who is willing to give an injection to a man may none-the-less feel it totally inappropriate to do the same for a woman, without recognizing the importance of the *Vinaya* (rules of conduct which are binding on members of the *Sangha).*

The *Maw Phra* programme is important not only on account of its culturally sensitive fusion of tradition and modernity, but also because of its potential as a means of creating long-term self-reliance among communities hitherto undermined by rural-urban and ultimately international patterns of dependency. While national and international legislation to curb the activities of

the drug multinationals may be important, the only long-term solution is to create vigorous self-reliant indigenous communities which are no longer obliged to satisfy their medical and other basic needs within a context of dependency.

Rural Health Care

The "medical geography" of rural Thailand is a complex mix of government health care and traditional practice. The former is divided into four levels of which the first three are Government financed and the fourth, though Government sponsored, is voluntary. Tertiary medical care is highly specialised and based on large hospital. Dr. Prawase Wasi, who originated the *Maw Phra* programme, was Director of Siriraj Hospital and Vice-Rector of Mahidol University, both of which are located in Bangkok Metropolis (*Krung Thep Maha Nakhon*).

Secondary medical care is based on provincial (*Changwat*) hospitals of which there are 73 provinces in the country. At the district (*Amphoe*) level less than half the total of 661 districts possessed hospitals a few years ago, and of these only 80 had more than 30 beds.[8] Primary health care tends to be based on *Tambol* (village administrative unit) rather than *Amphoe*; a typical *Amphoe* with a population of 50,000 may be made up of 18 *Tambol*, each of which may contain 12 *Moo-Baan* (hamlets). The basic components of primary health care are nutrition, health education, water, immunisation, basic treatment, essential medicines, maternal and child health and sanitation. Voluntary health care occurs at *Tambol* and *Moo-Baan* level.

A typical *Amphoe* hospital may be staffed by three doctors, five nurses, three midwives (*Phadungkhan*), a sanitarian and a dentist. There may be two or three health clinics under its jurisdiction (plus that of the *Amphoe* health officers), each run by a sanitarian and a midwife. Sanitarians and midwives train for approximately a year at *Changwat* hospital schools. It is important to distinguish government midwives from traditional village midwives (*Maw Tamjee*). The former fulfil a much broader role than the delivery of babies, and can also function as "injection doctors" (*Maw Chiid Jaa*).[7] Much more could be said about the various levels of official health care. But it is at the village (*Tambol* and *Moo-Baan*) level that the modern and traditional medical systems intermesh and at which the *Maw Phra* is able to fulfil an important role The most frequently encountered traditional practitioner was the *Maw Boraan*, whose range of functions both complements and overlaps those of government personnel at the *Tambol* clinic (except that babies are always delivered by the midwife). Mr. Panpikul is a famous *Maw Boraan* for curing children's illnesses at Bang Pa In. He is also known as *Maw Suk* (*Suksala*), which suggests that he holds an official medical position. His use of herbal medicines (*Samun Prai*) is one of the most characteristic features of a *Maw Boraan* and is central to the *Maw Phra* programme. Such indigenously prepared medicines not only cost much less than their imported counterparts, but often produce fewer side effects. Mr. Panpikul's medicine chest included cummin oil and *Borapet* * (*Tinospora tuberculata* Beumee), the stem is used to treat fever.[9]

* The Thai names of medicinal plants were obtained from the practitioners and were checked by botanists from Mahidol and Chulalongkorn Universities.

The role of *Maw Saiyasat* (magic doctor) seemed to be diminishing. Only one *Saiyasat* monk was encountered in the Northeast; a lay *Saiyasat* practitioner interviewed in Doi Saket (*Changwat* Chiang Mai) had learned his arts as a novice at the nearby *wat*. *Saiyasat* activities were seldom mentioned in the Northeast, and there is evidence that their role in village life is diminishing. Jane Bunnag reports that "in *Changwat* Phra Nakhon Si Ayutthaya at least, very few monks were *Saiyasat*."[1] Phra Khru Sakorn Sangvorakij, the influential abbot of *Wat Yokkrabut* in *Changwat* Samut Sakhon and a close associate of Dr. Prawase Wasi, maintained that local villagers dislike *Saiyasat* practitioners. It is important to note that in any given locality they tend to be recognized for particular skills. Howard Kaufman reports from Bangkuad on the activities of two *Maw Boraans*, one of whom is also a head teacher, plus a woman Shaman: "Each specializes in one aspect of healing and they do not actually compete with each other."[6]

Village headmen (*Puyaiban*) and schoolteachers (*Khru*) may function in either traditional or modern medical sectors. It would not be particularly unusual in the Northeast to find a headman who is both a government health volunteer and a *Maw Khwan* (the lay officient at *Khwan* rites).

General characteristics of the respondents

Mahachulalongkorn University is one of Thailand's two monk universities, began in 1890 when King Chulalongkorn moved the monastic school at the Chapel of the Emerald Buddha to *Wat Mahathat*. It was accorded university status in 1947. In any given year between 350 and 450 monks may be enrolled for the four year B.A. degree. Mahachulalongkorn caters for Maha Nikai monks whereas Mahamakut based on the prestigious *Wat Bovornives*, is Dhammayut. Education at both is free, funds being derived from the government, the *Sangha* and private sources. Monks attend classes in the afternoon and early evening.

Mahachulalongkorn describes its main aim as being to provide monks and novices with a level of education commensurate with the tasks of understanding and preaching the *Dhamma* in contemporary situations. The curriculum is designed "to present the fundamental Buddhist principles and doctrines in terms understandable to modern man and in the manner applicable to modern living, both individual and social." The first two years of the B.A. are spent in the Faculty of Buddhism after which candidates can either remain in the same faculty or opt for Education or Humanities and Social Welfare. All students are expected to meditate regularly and to participate in development programmes. These latter involve practical activities such as the construction of roads, bridges, wells, water pumps, sanitary facilities, power lines, schools and *wats*, and it is against the background of these programmes that the *Maw Phra* scheme should be set. William Klausner has described the involvement of the *Sangha* in such activities in the Northeast of Thailand.[5]

Practical development programmes raise major questions as to the "appropriateness" of certain actions for monks. According to the 227 precepts of the *Pātimokkha* a monk must not dig the earth or damage plants. This rules out the chopping down of trees, but doesn't mean that a monk can't saw a log if somebody else has felled the tree (or it has fallen). It is not "appropriate" for a monk to propel himself in a vehicle because insects and small creatures may die, but he may paddle a canoe, and nowadays may ride on a bus.

The *Pātimokkha* is particularly important in Thailand because the reforms of King Mongkut, from which the Dhammayut order (or "sect" - neither word is particularly satisfactory) originated, were largely based on it. But the notion of "appropriateness" also contains a significant psychological dimension derived from the values and mores of Thai society. Exceptions to certain activities appear to be made when it is clear that they carry forward the basic purposes or principles of Buddhism. Thus the success of Phra Chamrun, the abbot of *Wat Tham Krabok* near *Changwat* Saraburi, in curing heroin addiction, is generally held to justify such traditionally inappropriate activities as clearing up lay peoples' vomit, building and operation sauna baths, and administering a large community of volatile young men and women.

It will be clear from what has been said that medical activities on the part of a monk need careful evaluation before they can be regarded as appropriate. Virtually all monks at the Buddhist universities have migrated to the capital from the provinces, especially the Northeast. It is important to distinguish in general terms between monks who ordain at an early age in order to secure a good education and those who ordain for a short time often for specific reasons such as the bestowal of merit (*Bun*). Typically a boy may have completed compulsory primary education by the age of thirteen, obtaining the highest grade (Prathom seven). He could then ordain to the noviciate at a *wat* near his home and pursue traditional *Pariyattitham* studies based on Pali language and texts. To take the higher *Pali Parian* examinations he would probable have to move to a provincial capital where he might ordain as a monk in his early twenties, moving eventually to Bangkok where he might enrol for the B.A. at Mahachulalongkorn or Mahamakut. This, however, is something of an oversimplified picture, and there is a wide spread of possible options. Monks increasingly choose secular educational routes because these equip them for a broader range of jobs if and when they disrobe.[2,3] By the time they reach the Buddhist universities they may be in their late twenties or thirties. It is not appropriate, incidentally, for a monk to study at a secular university because this would bring him into an unacceptable level of contact with women.

The first six questions in the questionnaire cover the monks' biographies, qualifications and educational routes. Three hundred and forty of the 400 who received questionnaires returned them. Of these 41% came from the Northeast and 19%, 18% and 19% were born in the North, Central and Southern Thailand respectively. Two respondents came from the Metropolis and six from outside Thailand, notably Indonesia and Nepal. The questionnaires, incidentally, were distributed and collected during class periods by Phra Maha Narong Cittasobhano, the much respected Dean of the university.

Eighteen per cent of the sample (25 monks) were born in *Changwat* Nakhon Ratchasima, which is not surprising since it contains the largest population in the Northeast. *Changwat* Khon Kaen, with 11% of the sample from a population two-thirds of the size, is equally predictable. But *Changwat* Surin (12%), *Changwat* Si Sa Ket (10%), and *Changwat* Roi Et (9%) are unexpected in comparison with *Changwat* Udon Thani, which has a larger population than *Changwat* Khon Kaen (or at any rate had in 1976), and yet accounted for only 1.4% of the sample. *Changwat* Ubon Ratchathani, with 4.3% of the sample coming from a comparatively very large population, is probably a typical in that its population decreased between 1970 and 1976 as shown in Table 1.

The *Maw Phra* in village context

Respondents were asked to specify who, in their home villages, performs specific functions. Seventy-one per cent stated that most babies were delivered by the traditional midwife, 16% specified the government midwife, 11% gave the *Amphoe* hospital, and 2% a local health volunteer. Clearly traditional midwives are very much in demand in spite of the fact that their government equivalents also perform other roles such as giving medicines and injections.

Forty-nine per cent of the sample said that the sanitarian gave most injections, 17% specified the *Amphoe* hospital, 12% mentioned unofficial doctor, and 11% each specified a private clinic or the government midwife. Seventy-eight per cent combined with both western medicine and medicinal herbs. Twenty per cent indicated western medicine alone, and 2% specified *Samun Prai.* It was clear that the monks understand the legitimate role of modern medical science.

Table 2 indicates the first choice of medical assistance for specific health problems in the monks' home villages. The unofficial doctors, who in practice give a sizeable proportion of injections (12%), are ranked consistently low. The *Maw Saiyasat* only comes into his own with psychological problems (28%), and, surprisingly, severe stomach pains (15%). The *Maw Boraan* scores higher on severe stomach pains (39%), which is not very satisfactory because severe stomach pains indicates the possibility of appendicitis. Perhaps he, like the health clinic, is consulted only for preliminary advice. Fever, which is unlikely to be particularly serious initially, is handled effectively by the health clinic (41%), but malaria is much more appropriately dealt with at the *Amphoe* hospital (39% as compared with 12% for fever). A rabid dog bite should be directed to either the clinic (42%) or hospital (36%) for the necessary injections, though some respondents thought that the *Maw Boraan* could be of assistance.

So far the category monk has scored quite low for the various ailments (9-15%). But for psychological problems he comes into his own (40%). Similarly an *Amphoe* hospital, presumably with specialists on hand, is better equipped than a health clinic (32% as compared with 12%), though the *Maw Saiyasat* does surprisingly well (28%). This must be on account

of the belief that spirits are responsible for mental ill health. But the presumed role of the monk as the person to whom one should go first with psychological problems is interesting and important.

Table 3 shows a series of possible functions for a *Maw Phra.* In each case respondents were asked to state whether or not, in their personal opinion, a particular role is appropriate. Eighty-seven per cent of the 340 respondents endorsed the view that the curing of psychological illness is a legitimate role for a *Maw Phra.* This is not surprising in view of what has already been noted. But it is interesting that the curing of fever (89%), teaching of sanitation (98%), and giving of herbal medicines (88%) rank even higher. Many monks teach sanitation during their regular sermons and grow their own *Samun Prai* in *wat* compounds. Diabetes is presumably stabilised rather than cured (81%), and stomach pains are likely to be treated with *Samun Prai* (80%). But the difference between the appropriateness of giving an injection to a layman (75%) and to a woman (15%) is enormous, and clearly reflects the structures of the *Pātimokkha* (which is part of the more comprehensive *Vinaya).*

Sixty-six per cent of the respondents thought it is appropriate for a monk to use a stethoscope and test blood pressure. Sixty-two per cent approved of the teaching of family planning, and 56% thought that a monk should try to cure sickness by *Samathi* (a less specific term for meditation than *Vipassanā*). The fact that 30% of the sample thought that it is appropriate for a member of the *Sangha* to attempt to cure venereal diseases reflects the frankness and pragmatism of Thai monks in dealing with what elsewhere are often regarded as "moral" issues. Twenty-eight per cent of the sample believed that a monk could exorcise a bad Winyān, 24% thought that he could cast a spell to remove sickness (which amounts do much the same thing), 15% approved of giving an injection to a woman, and 5% thought that it is appropriate for a monk to deliver babies. This last is not only inappropriate on account of the degree of contact with a woman presupposed, but it is unnecessary because it is the legitimate role of both kinds of village midwife.

CONCLUSION

The *Maw Phra* scheme has an enormous potential for preventing and alleviating rural health problems, and doing so in a manner which circumvents the misuse of expensive imported medicines since the monks are taught to administer an admixture of cheap modern drugs and indigenous *Samun Prai.* From the point of view of historical Buddhism the *Maw Phra* represents not so much an adaptation as the rediscovery of an ancient role (thereby giving the *Sangha* a stronger sense of identity both in the eyes of its members and the general public).

It is important to recognize that the effectiveness of the *Maw Phra* is due to the fact that it interprets the concerns of the past and of the present in such a culturally potent manner,

and that no amount of external funding, training and effort could ever hope to achieve the same. In a country which has not been subjected to western colonial domination and perhaps in some which have the indigenous culture is the only true context for significant social change. Religion (*Sasanā*), in harmony with the other two overarching Thai institutions, the Nation and the Monarchy, is the primary vehicle for social transformation.

In the long run there is only one solution to the stultifying dependencies which drain the lifeblood from rural and poor urban populations everywhere, and this is the creation of self-reliant communities which utilize a combination of traditional and modern expertise, the main criterion for which being its appropriateness in a given situation as determined by the people themselves. And in Thailand the Buddhist monks are playing a crucial role in bringing such communities into being.

ACKNOWLEDGEMENTS

The author wishes to express his gratitude to the National Research Council of Thailand for permission to carry out this research and to the British Academy for a grant to fund it. Also to his research advisors, Dr. Prawase Wasi and Phra Maha Narong Cittasobhano, for their constant advice and encouragement. He also received assistance from Dr. Sulak Sivaraksa, Dr. W.J. Klausner, Dr. Surakiat Achananuparp, Mrs. Netnapa Kumtong, and, of course, from the 340 scholar monks at Mahachulalongkorn University who so conscientiously completed his questionnaire.

REFERENCES

1. Bunnag, J. Buddhist Monk, Buddhist Layman. Cambridge University Press, London, 1973, 22, 59,74,149.
2. Gosling, D. New Directions in Thai Buddhism. *Mod. Asian Studies*, 1980, **14** (3), 411.
3. Gosling, D. Redefining the Sangha's Role in Northern Thailand : An Investigation of Monastic Careers at Five Chiang Mai Wats. *J. Siam Soc.*, 1983, **71** (1-2), 75.
4. Jacobs, M. The Alliance of Anthropological and Sociological Concepts and Methodologies in Field Research in Thailand. *J. Siam Soc.*, 1974, **62** (1), 35.
5. Klausner, J.W. Reflections in a Log Pond. Suksit Siam, Bangkok, 1972.
6. Kaufman, K.H. Bangkhuad : A Community Study in Thailand. Monographs of the Association for Asian Studies no. 10, Charles E. Tuttle, 1976, 35.
7. Riley, N.J. and Santhat, S. The Variegated Thai Medical System as a Context for Birth Control Services. Working paper no. 6, Mahidol University, 1974.
8. Wasi, P. Health Services and Medical Education in Thailand. Research Report, Mahidol University, 1978.

Table 1. Province of origin of Northeastern respondents at Mahachulalongkorn University

Province (*Changwat*)	Proportion of sample %	Population of province (1976) thousands
Nakhon Ratchasima	17.9	1778
Surin	12.1	940
Khon Kaen	11.4	1239
Si Sa Ket	10.0	1002
Roi Et	9.3	1007
Buri Ram	7.9	1025
Nakhon Phanom	7.1	703
Maha Sarakham	5.7	713
Kalasin	4.3	707
Ubon Ratchathani	4.3	1428
Nong Khai	2.9	576
Sakon Nakhon	2.9	724
Loei	1.4	404
Udon Thani	1.4	1331
Chaiyaphum	0.7	786

Table 2. First choice of medical assistance for specific ailments

	Severe stomach pains %	Fever %	Malaria %	Rabid dog bite %	Psychological problems %
Monk	15	12	10	9.4	40
Health clinic	40	41	42	42	12
Amphoe hospital	19	12	39	36	32
Maw Boraan	39	29	18	25	14
Unofficial doctor	3.8	4.1	5.3	1.5	1.2
Maw Saiyasat	15	9.1	8.2	6.8	28

Table 3. The monk's estimation of appropriate roles for the *Maw Phra*

Function of *Maw Phra*	Whether appropriate (%)
Teach sanitation	98
Cure a fever	89
Give *Samun Prai*	88
Treat psychological illness	87
Cure diabetes	81
Cure stomach pains	80
Give an injection to a layman	75
Use stethoscope and test blood pressure	66
Teach family planning	62
Cure sickness through meditation	56
Cure venereal diseases	30
Remove a bad *Winyān*	28
Cast a spell to remove sickness	24
Give an injection to a woman	15
Deliver babies	5

ดนตรีผู้ไทย

THE PHU-THAI MUSIC

เจริญชัย ชนไพโรจน์
Jaroenchai Chonpairot

คณะมนุษยศาสตร์ มหาวิทยาลัยศรีนครินทรวิโรฒ มหาสารคาม
Faculty of Huma-nities, Srinakharinwirot University,
Maha Sarakham Campus

บทคัดย่อ

ผู้ไทย เป็นชาวไทยสาขาหนึ่งปัจจุบันอาศัยอยู่ในภาคตะวันออกเฉียงเหนือของประเทศไทย ประเทศลาว และตอนเหนือของประเทศเวียดนาม วัฒนธรรมทางดนตรีของชาวผู้ไทยในภาคตะวันออกเฉียงเหนือ แบ่งได้เป็น 3 กลุ่ม คือ

1. วัฒนธรรมโคราช เป็นวัฒนธรรมทางดนตรีของชาวโคราช ได้แก่ เพลงโคราชและลิเก
2. วัฒนธรรมกันตรึม เป็นวัฒนธรรมของชาวจังหวัดสุรินทร์ บุรีรัมย์ และศรีสะเกษ ซึ่งใช้เครื่องดนตรีและมีบทเพลงคล้ายคลึงกับดนตรีไทยเดิมของไทยภาคกลาง
3. วัฒนธรรมหมอลำ เป็นวัฒนธรรมของชนกลุ่มใหญ่ในภาคอีสาน ซึ่งมีหมอลำและหมอแคนเป็นหลัก ดนตรีของชาวผู้ไทยจัดอยู่ในกลุ่มวัฒนธรรมหมอลำและหมอแคน แต่ที่ต่างไปจากกลุ่มหมอลำส่วนใหญ่ก็คือมีการใช้ปี่เป่าประกอบ

รายงานวิจัยนี้กล่าวถึงดนตรีของชาวผู้ไทยที่อาศัยอยู่ในจังหวัดกาฬสินธุ์ นครพนม มุกดาหาร และสกลนคร ทั้งด้านดนตรีประเภทบรรเลง และดนตรีประเภทขับร้องที่เรียกว่า "ลำผู้ไทย"

ดนตรีผู้ไทยเป็นมรดกเก่าแก่ของชาวไทยที่ยังคงดำรงอยู่ในสังคมปัจจุบันซึ่งนอกจากความไพเราะของทำนองดนตรีแล้ว บทกลอน และถ้อยคำร้องของลำผู้ไทย ยังให้ความรู้เกี่ยวกับการดำรงชีวิตของชาวผู้ไทยซึ่งน่าศึกษาค้นคว้าเป็นอย่างยิ่ง จึงนับว่าดนตรีผู้ไทย เป็นศิลปวัฒนธรรมที่มีคุณค่าสมควรได้รับการส่งเสริมและอนุรักษ์ไว้ให้เยาวชนไทยสืบไป

ABSTRACT

The Phu-thai are an ethnic Thai people group, living in the Northeast of Thailand, Laos and the north of Vietnam.

There are three main musical traditions in the Northeast of Thailand:

1. The musical tradition of Korat *consists of* Phleng Korat *(the* Korat *folk song) and* Li-kay *(a type of folk opera of Central Thailand)*

2. The Kan-truem *tradition is the musical tradition practiced by people in Changwat Surin, Buri Ram and Si Sa Ket. Musical instruments and repertoires of the* Kan-truem *tradition are similar to the court music of Central Thailand.*

3. The Lam *tradition is the musical tradition of the majority of people in the Northeast. The main musical feature is poetical singing with* Khaen *(bamboo mouth organ). The Phu-thai music also belongs to the* Lam *tradition.*

This study covers the music of the Phu-thai who live in Changwat Kalasin, Nakhon Phanom, Mukdahan and Sakon Nakhon concerning both aspects : instrumental music and vocal music called Lam Phu-thai.

Phu-thai music is a Thai musical heritage that still survives in the Thai society. Besides, its tone system, the Lam Phu-thai *poetical singings are harmonious and interesting in vocabulary, form of poetry, code of conduct and way of life which are worthwhile for study. The Phu-thai music is regarded as the musical cultural art which should be promoted and preserved.*

คำนำ

วัฒนธรรมของภาคตะวันออกเฉียงเหนือแบ่งได้เป็น 3 กลุ่มคือ วัฒนธรรมโคราช วัฒนธรรมกันตรึม และวัฒนธรรมหมอลำ ซึ่งแต่ละกลุ่มวัฒนธรรมต่างก็มีลักษณะพิเศษของตนเอง เช่นวัฒนธรรมโคราชอันได้แก่วัฒนธรรมของชาวนครราชสีมา มีมหรสพที่เป็นหลักคือ เพลงโคราชและลิเก วัฒนธรรมกันตรึมซึ่งเป็นวัฒนธรรมของชาวสุรินทร์ บุรีรัมย์ และศรีสะเกษ มีมหรสพที่เป็นหลักคือ เจรียงและกันตรึม ส่วนวัฒนธรรมหมอลำนั้นเป็นวัฒนธรรมของชาวอีสานใน 13 จังหวัด ซึ่งได้แก่กาฬสินธุ์ ขอนแก่น ชัยภูมิ นครพนม มุกดาหาร มหาสารคาม ยโสธร ร้อยเอ็ด เลย สกลนคร หนองคาย อุดรธานี และอุบลราชธานี มหรสพที่เป็นหลักของชาวจังหวัดเหล่านี้ก็คือ หมอลำและหมอแคน

จะเห็นได้ว่ากลุ่มวัฒนธรรมที่ใหญ่ที่สุดคือกลุ่มวัฒนธรรมหมอลำ ซึ่งหากจะแบ่งเป็นกลุ่มย่อยลงไปอีกตามลักษณะของเครื่องดนตรีที่ใช้บรรเลงประกอบการลำแล้วก็อาจจะแบ่งได้เป็น 2 กลุ่มคือ กลุ่มที่ใช้แคนเป่าประกอบแต่เพียงอย่างเดียว ซึ่งเรียกว่า กลุ่มลำแคน ส่วนอีกกลุ่มหนึ่งนอกจากแคนแล้วยังมีปี่เป่าประกอบด้วย เรียกว่ากลุ่มลำปี่แคน และกลุ่มลำปี่แคนนี้ก็คือกลุ่มของชาวผู้ไทย

คำว่า "ผู้ไทย" ในพจนานุกรมฉบับราชบัณฑิตยสถาน หมายถึง ชนชาติไทยสาขาหนึ่งแถบสิบสองจุไทย

นายถวิล เกษรราช กล่าวไว้ในหนังสือประวัติผู้ไทยว่า "ผู้ไทย" คำนี้เป็นชื่อชาติไม่ใช่พวก เมื่อบอกว่าผู้ไทยก็คือไทย ผู้ไทยที่มีอยู่ในสิบสองจุไทย ชาวหลวงพระบางเรียกว่าลาวเก่า (คือพวกอ้าย–ลาวเดิม) และมีในมณฑลยูนนานกับที่เมืองเซโปนฝั่งซ้ายลำแม่น้ำโขง คำว่า "ผู้ไทย" มีผู้สะกดต่างกันไปหลายอย่าง เช่นผู้ไท ผู้ไทย ภูไท ภูไทย พูไท และพูไทย ในเรื่องนี้นายถวิล จันลาวงศ์ กล่าวไว้ในหนังสือผู้ไทยรำลึกกาฬสินธุ์ครั้งที่ 2 ว่า "ผู้ไทย" น่าจะเป็นคำที่ถูกคือหมายถึง "คนไทย" ส่วนคำว่า "ภูไทย" นั้นน่าจะไม่ถูกต้องเพราะชาวผู้ไทยไม่ใช่ผู้ที่ชอบอยู่บนเขา เพราะไม่สะดวกต่อการทำนา ซึ่งเป็นอาชีพหลักของชาวผู้ไทย

เกี่ยวกับประวัติความเป็นมาของคำว่า "ผู้ไทย" นายสุวรรณ สว่างโคตร อดีตผู้ใหญ่บ้านบ้านโพนสวาง ตำบลกุดสิมคุ้มใหม่ อำเภอเขาวง จังหวัดกาฬสินธุ์ เล่าว่า คำว่า "ผู้ไทย" มาจากคำว่า "ปู่ไล่" ซึ่ง "ปู่" หมายถึงพระเจ้ากรุงสญชัยในเรื่องเวสสันดรชาดก "ไล่" เอากัณหา–ชาลีผู้เป็นหลานคืนจากชูชก ชาวผู้ไทยเชื่อว่าพวกตนเป็นผู้สืบเชื้อสายมาจาก "กัณหา–ชาลี" จึงเรียกตนเองว่า "ปู่ไล่" หรือ "ผู้ไทย" และผู้เขียนเสนอความคิดเห็นเพิ่มเติมอีกสองทางคือ อาจจะมาจากคำว่า "ปู่ไทย" ซึ่งหมายถึงกลุ่มที่เป็นบรรพบุรุษเก่าแก่ของไทยหรืออาจจะมาจากคำว่า "พุทธา" ซึ่งหมายถึงพวกที่นับถือศาสนาพุทธและต่อมาก็ออกเสียงกลายเป็นพุทธาย พุทไธ พูไท หรือผู้ไทยในที่สุด

ในหมู่ผู้ไทยด้วยกันอาจแบ่งได้เป็น 3 พวกตามลักษณะสีของเครื่องแต่งกายคือ ผู้ไทยขาวเดิมอยู่แถวเมืองไลใกล้กับจีน ต่อมาได้อพยพมาอยู่ในแขวงพงสาลี แขวงหลวงพระบาง และแขวงซำเหนือของลาว พวกนี้นุ่งห่มขาวในงานศพ พวกไทยดำเป็นพวกที่อพยพจากแถวเมืองแถงมาอยู่ในแขวงซำเหนือ แขวงเชียงขวาง แขวงเวียงจันทน์ แขวงคำม่วน และแขวงสุวรรณเขต และในประเทศไทย พวกนี้ใช้เครื่องแต่งกายสีดำ ส่วนพวกผู้ไทยแดงนั้นนิยมแต่งกายด้วยเสื้อผ้าสีแดงและอาศัยอยู่แถวลุ่มแม่น้ำแดงของเวียดนามและในแขวงซำเหนือของลาว

นายถวิล เกษรราช ให้ความเห็นว่าผู้ไทยที่อยู่ในประเทศไทยเป็นผู้ไทยดำซึ่งส่วนใหญ่อพยพมาจากเมืองวังเวียงแขวงเวียงจันทน์ เมืองเซโปน เมืองพิน และเมืองนองแขวงสุวรรณเขต และจากแขวงมหาชัยในประเทศลาว

ผู้ไทยในภาคอีสานอยู่กันเป็นกลุ่มก้อนในหลายท้องที่ เช่นอำเภอเรณูนคร อำเภอนาแก อำเภอธาตุพนม และอำเภอศรีสงคราม จังหวัดนครพนม อำเภอคำชะอี และกิ่งอำเภอหนองสูง จังหวัดมุกดาหาร อำเภอพรรณานิคม อำเภอวาริชภูมิ อำเภอวานรนิวาส และอำเภอสว่างแดนดิน จังหวัดสกลนคร อำเภอกุฉินารายณ์ อำเภอเขาวง อำเภอคำม่วง และอำเภอสหัสขันธ์ จังหวัดกาฬสินธุ์ อำเภอศรีธาตุ และกิ่งอำเภอไชยวาน จังหวัดอุดรธานี และกิ่งอำเภอเมยวดี จังหวัดร้อยเอ็ด เป็นต้น

ชาวผู้ไทยมีชีวิตความเป็นอยู่เช่นเดียวกับชาวชนบททั่ว ๆ ไปของอีสานคือมีอาชีพทำนา ทำไร่ ทำสวน เลี้ยงสัตว์ ปลูกฝ้าย ปลูกหม่อน เลี้ยงไหม ทอผ้า ทำเครื่องนุ่งห่มและเครื่องใช้สอยในครัว-เรือนเอง เช่นกระบอกน้ำเต้า กล่องข้าว ตะกร้า เชี่ยนหมาก กระหยัง กระบอกเหล็กไฟ และฝักมีด เป็นต้น (รูปที่ 1)

ชาวผู้ไทยมีอุปนิสัยขยันขันแข็ง ซื่อตรง เอื้อเฟื้อเผื่อแผ่ มีความสามัคคี ใจบุญสุนทาน และเคารพนับถือผู้นำ **การศึกษาดนตรีผู้ไทยซึ่งเป็นดนตรีของชาวบ้านจะก่อให้เกิดคุณแก่ประเทศชาติหลายสถาน** เพราะดนตรีพื้นบ้านนอกจากเป็นมรดกอันมีค่าแล้ว ยังจะเป็นเครื่องชี้บอกถึงความรู้สึกนึกคิด ความเชื่อ นิสัยใจคอ ตลอดจนวิถีการดำเนินชีวิตได้เป็นอย่างดี

พื้นฐานของดนตรีผู้ไทย (Foundations of Phu-thai music)

ดนตรีผู้ไทยเป็นดนตรีพื้นบ้านเก่าแก่ของภาคอีสานและมีลักษณะพิเศษที่น่าศึกษาเป็นอย่างยิ่ง จากการสำรวจข้อมูลที่เกี่ยวกับเครื่องดนตรี การบรรเลง การลำ และการฟ้อน ทำให้พบหลักการพื้นฐานของดนตรีผู้ไทยดังนี้

การจัดระบบเสียง (Tuning system)

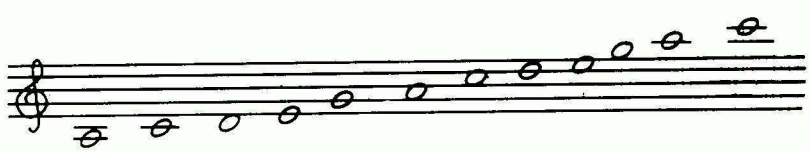
ระบบเสียงของเครื่องดนตรีประเภททำนอง ได้แก่ ซอ ปี่ กระจับปี่ หมากกลิ้งกล่อม (โปงลาง) และแคน มีลักษณะดังนี้

1. ซอ

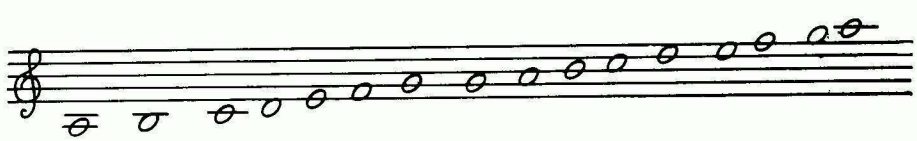
2. ปี่

3. กระจับปี่

4. หมากกลิ้งกล่อม



5. แคน



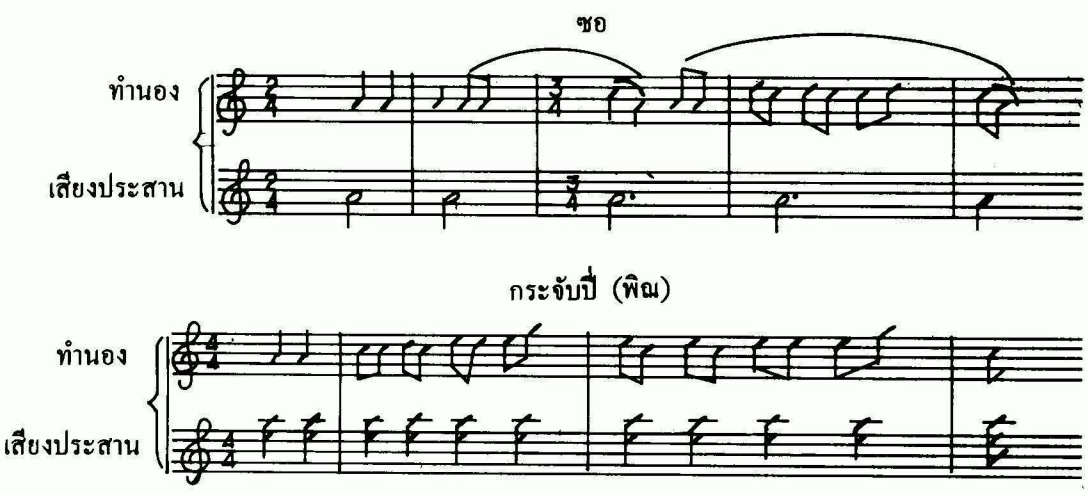
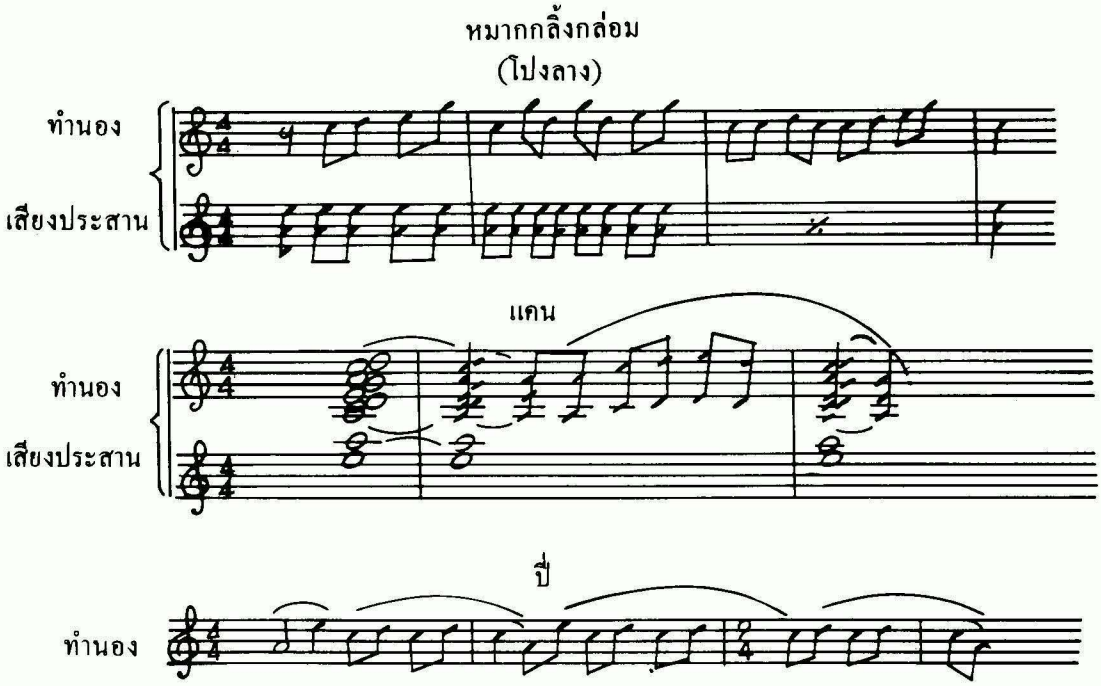
จากแผนผังแสดงพิกัดเสียงของเครื่องดนตรีต่าง ๆ พบว่า ซอมี 5 เสียง ปี่มี 6 เสียง กระจับปี่มี 8 เสียง หมากกลิ้งกล่อมมี 12 เสียง และแคนมี 16 เสียง หากพิจารณาเฉพาะในช่วงหนึ่งคู่แปดแล้ว กระจับปี่จะมี 7 เสียง หมากกลิ้งกล่อมมีเพียง 5 เสียง และแคนมี 7 เสียง การจัดระบบเสียงของกระจับปี่และแคนมีระบบเสียงเป็นแบบ diatonic ของฝรั่ง คือมีทั้งระยะที่เป็นครึ่งเสียงและเต็มเสียง

ในช่วงหนึ่งคู่แปด แม้ปี่จะมี 6 เสียง กระจับปี่และแคนมี 7 เสียง แต่ในทางปฏิบัติแล้ว เครื่องดนตรีทุกอย่างตลอดจนการลำจะใช้เสียงเพียง 5 เสียงเท่านั้นคือ

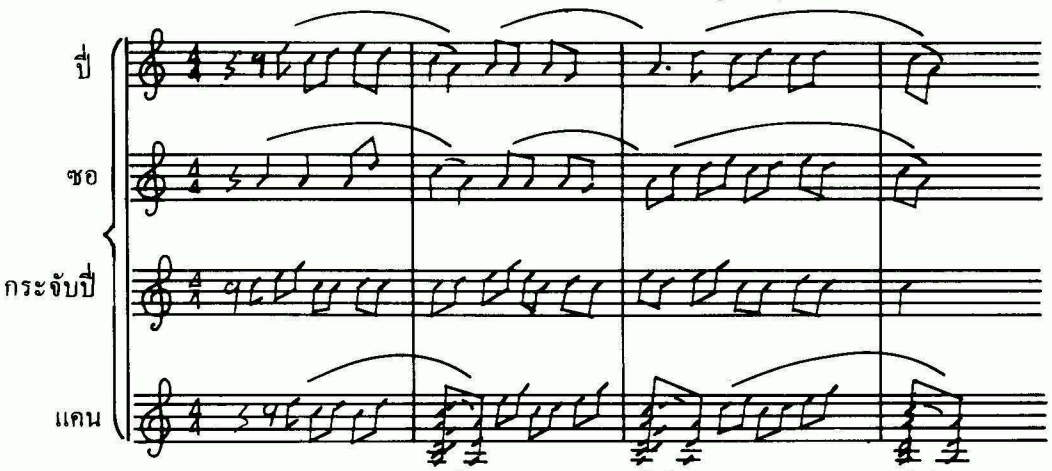
จึงพอสรุปได้ว่าระบบเสียงของดนตรีผู้ไทยเป็นระบบ 5 เสียง หรือที่เรียกว่า pentatonic scale ซึ่งหากจะวัดระยะทางระหว่างเสียงต่าง ๆ ในบันไดเสียงจะได้ดังนี้คือ เสียงที่หนึ่งกับเสียงที่สองห่างกันหนึ่งเสียงครึ่ง เสียงที่สองกับเสียงที่สามห่างกันหนึ่งเสียงเต็ม เสียงที่สามกับเสียงที่สี่ห่างกันหนึ่งเสียงเต็ม เสียงที่สี่กับเสียงที่ห้า ห่างกันหนึ่งเสียงครึ่ง

ลักษณะการประสานเสียง (Texture)

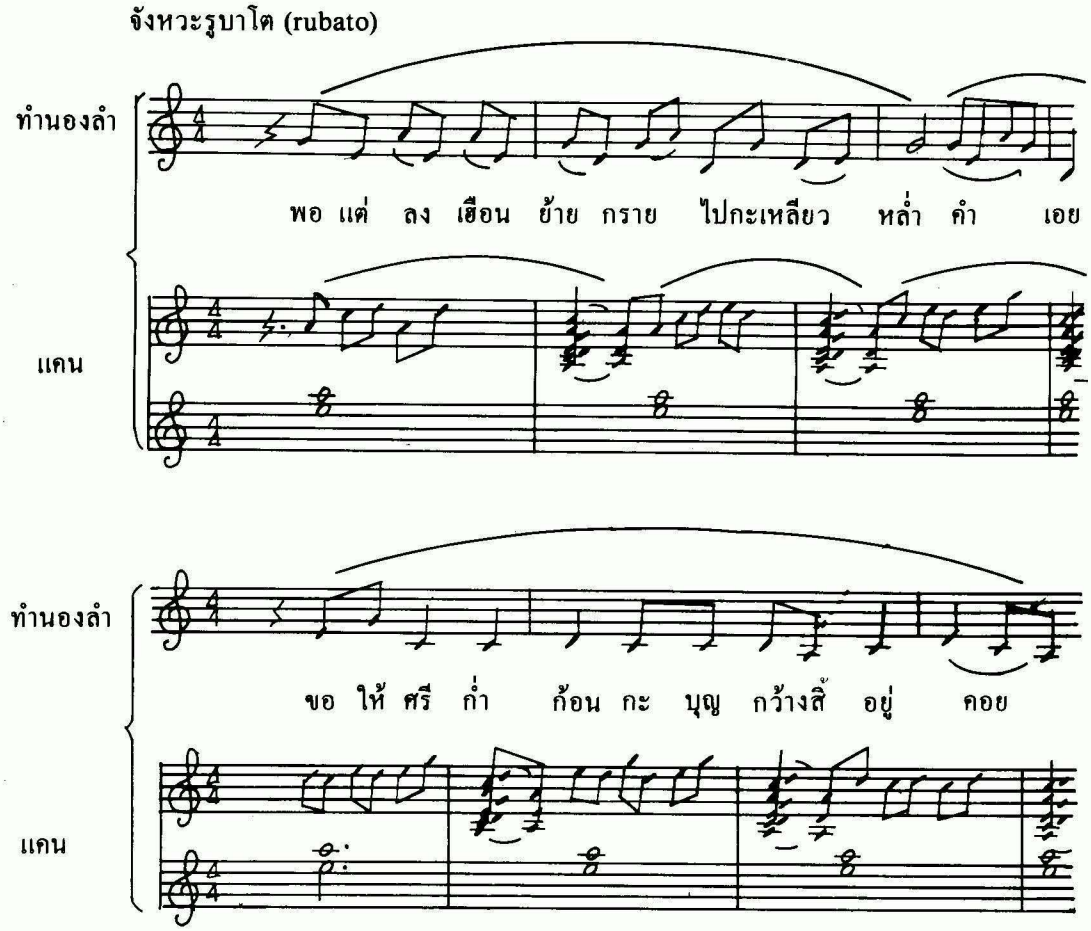
เสียงประสานของดนตรีผู้ไทยเกิดขึ้นได้ 3 ลักษณะคือ

1. เสียงประสานที่เกิดขึ้นภายในเครื่องดนตรีแต่ละชนิด หมายถึงเสียงที่เกิดจากเสียงที่เป็นทำนอง (melody) และเสียงที่เป็นเสียงประสาน (accompaniment) ซึ่งเสียงประสานนี้ชาวผู้ไทยเรียกว่า "เสียงกล่อม" (drone) และพวกกลุ่มลำแคนเรียกว่า "เสียงเสพ" (drone) ดังตัวอย่างต่อไปนี้

เนื่องจากปี่ไม่มีเสียงประสานหรือเสียงกล่อมในตัวของมันเอง เสียงปี่จึงมีหน้าที่เป็นประเภททำนองไปรวมกับเสียงกล่อมของเครื่องดนตรีอื่น ๆ

2. เสียงประสานที่เกิดขึ้นจากเครื่องดนตรีภายในวง ในการดำเนินทำนองของเครื่องดนตรีแต่ละอย่าง จะยึดทำนองแคนเป็นหลัก แต่เครื่องดนตรีแต่ละอย่างมีธรรมชาติในการบรรเลงต่างกัน จึงผิดแผกกันบ้างเล็กน้อย เกิดการประสานเสียงในลักษณะที่เรียกว่า heterophony ดังนี้



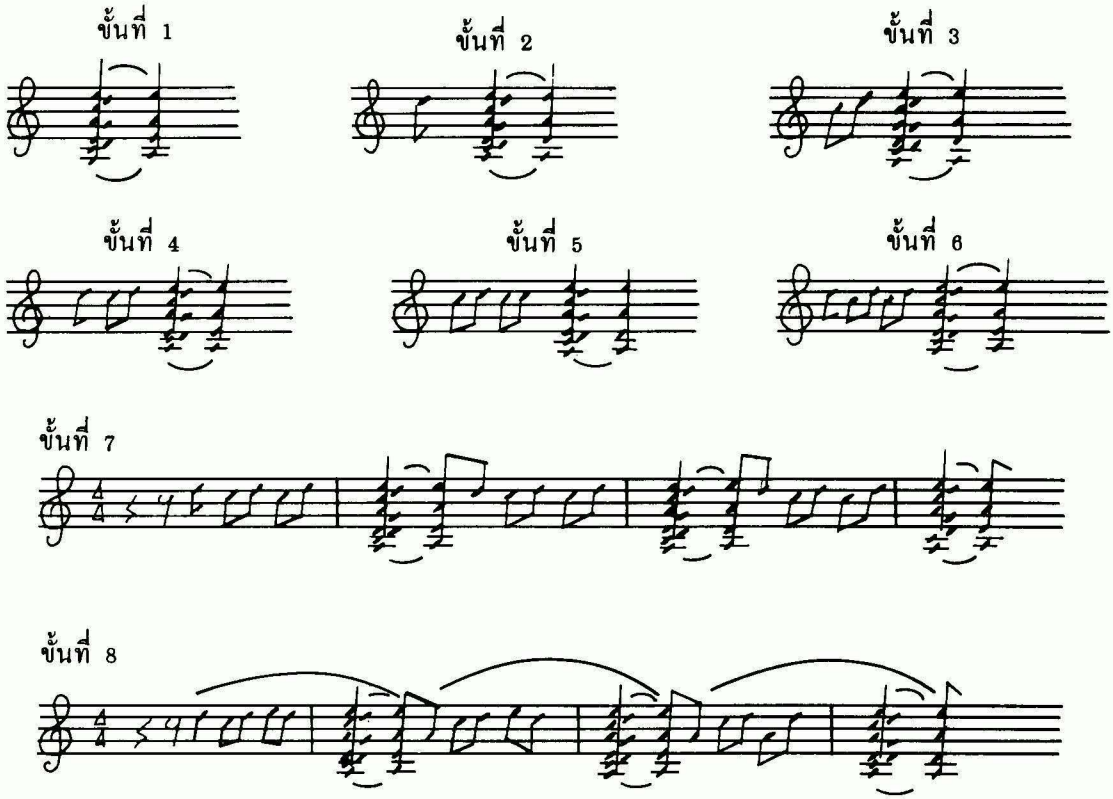
3. เสียงประสานที่เกิดจากวงดนตรีและเสียงลำ เมื่อวงดนตรีบรรเลงประกอบการลำ เสียงลำจะทำหน้าที่เป็นผู้ดำเนินทำนอง ในขณะที่เสียงของวงดนตรีจะทำหน้าที่เป็นเสียงกล่อม หรือเสียงประสานในลักษณะที่บรรเลงให้จังหวะลีลาเป็นประโยคสั้น ๆ ที่เรียกว่า ostinato



ทำนอง (Melody)

เมื่อพิจารณาดูทำนองของเครื่องดนตรีของผู้ไทยแล้ว พบว่ามีทำนองอยู่ประโยคเดียวหรือวรรคเดียวเท่านั้น ซึ่งวรรคหนึ่งมี 4 จังหวะ จังหวะสุดท้ายของแต่ละวรรค จะมี chord triad เป็นตัวกำกับ แต่ละวรรคจะมีลักษณะเป็น cadence ไปในตัว เมื่อทำนองเพลงมีเพียงวรรคเดียวบรรเลงนาน ๆ เข้ารู้สึกซ้ำซากน่าเบื่อ ผู้บรรเลงจึงเปลี่ยนแปลงทำนองให้ผิดแผกกันไปบ้างเล็กน้อยในลักษณะที่เรียกว่าทางเปลี่ยน (variation)

สิ่งที่น่าพิจารณาอีกอย่างหนึ่งก็คือทำนองสั้น ๆ วรรคละ 4 จังหวะนี้น่าจะเกิดมาจากแคน คือเกิดจากการเป่าเสียงให้เป็นคอร์ด (chord) สำหรับประสานเสียงลำเป็นระยะ ๆ ไป ครั้นต่อมาจะมีการเพิ่มเติมเสียงที่หน้าคอร์ดนั้นทีละเล็กทีละน้อยจนมีทำนองเป็นวรรคขึ้นมา ดังนี้

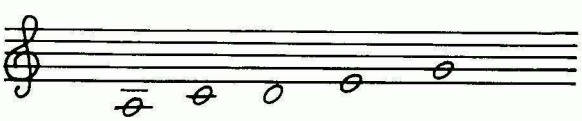


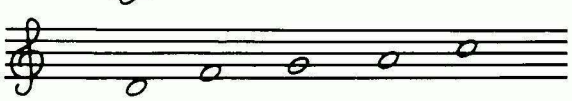
ส่วนทำนองทางลำนั้นเกิดจากรูปแบบและโครงสร้างของเสียง ตามลักษณะของฉันทลักษณ์ของกลอนลำ

บันไดเสียง (Scale)

ดนตรีผู้ไทยมีบันไดเสียงเพียงอย่างเดียว แต่เปลี่ยนการบรรเลงเป็น 2 ระดับ หรือ 2 ทาง (mode) คือ

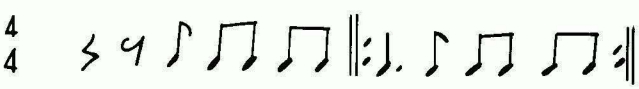
1. ทางผู้ไทยใหญ่



2. ทางผู้ไทยน้อย

ทางผู้ไทยใหญ่ (ลายผู้ไทยใหญ่) เป็นทำนองที่มีเสียงทุ้ม นิยมใช้บรรเลงประสานเสียงหมอลำฝ่ายชาย ส่วนทางผู้ไทยน้อย (ลายผู้ไทยน้อย) นิยมใช้บรรเลงประสานเสียงหมอลำฝ่ายหญิง และบรรเลงประกอบหมอเหยา (หมอลำผีฟ้า)

จังหวะลีลา (Rhythm)

จังหวะลีลาของดนตรีผู้ไทยเป็นจังหวะเรียบ ๆ ง่าย ๆ ดังนี้



ความสัมพันธ์ระหว่างทำนองลำกับทำนองดนตรี

แนวดำเนินทำนองของการลำทำหน้าที่เป็นทำนองเพลง ส่วนแนวทำนองของวงดนตรีทำหน้าที่เป็นเสียงประสานในลักษณะ ostinato คือบรรเลงให้จังหวะลีลาเป็นประโยคสั้น ๆ ซ้ำอยู่ตลอดเวลา ทำนองลำและทำนองดนตรีจะแตกต่างกันทั้งจังหวะหนักเบา และการแบ่งวรรคตอนก็ไม่เกี่ยวข้องกัน จะเกี่ยวเฉพาะเป็นบันไดเสียงเดียวกันเท่านั้น ลักษณะการประสานเสียงนี้เป็นแบบ homophony

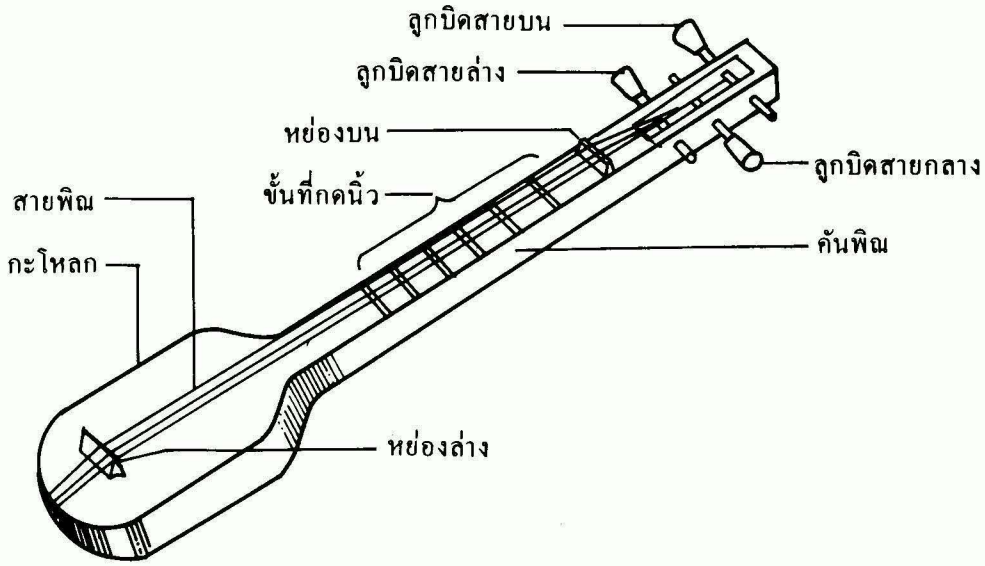
เครื่องดนตรีผู้ไทย

ชาวผู้ไทยมีเครื่องดนตรีมากมายหลายอย่าง ซึ่งล้วนแล้วแต่เป็นเครื่องดนตรีเก่าแก่ทั้งสิ้น เครื่องดนตรีเหล่านี้หากจะแบ่งประเภทตามลักษณะการแบ่งเครื่องดนตรีไทย ก็จะแบ่งได้ดังนี้

1. **เครื่องดีด ได้แก่กระจับปี่ (พิณ) และ โกย (หุน, หืน, หรือจ้องหน่อง)**
2. เครื่องสี ได้แก่ซอ
3. เครื่องตี ได้แก่หมากกลิ้งกล่อม(โปงลาง) ฆ้อง พางฮาด(ฆ้องที่ไม่มีปุ่ม) กลองแต่ (กลองเส็งหรือกลองจิ่ง) กลองตุ้ม(ตะโพน) กลองกระเบื้อง กลองหาง หมากกับแก้บ (กรับ) สิ่ง(ฉิ่ง) และแส่ง(ฉาบ)
4. เครื่องเป่า ได้แก่ ปี่ แคน และโหวด

1. กระจับปี่

กระจับปี่เป็นพิณชนิดหนึ่งอาจมี 2 สาย 3 สาย หรือ 4 สาย แต่ที่พบส่วนมากมี 3 สาย คำว่ากระจับปี่นี้อินเดียเรียกว่า กัจฉะปิวีณา เป็นพิณโบราณของอินเดียที่กะโหลกทำเป็นรูปเต่า ส่วนประกอบแบ่งออกเป็น 8 ส่วน คือ กระโหลก คันพิณ ลูกบิด สาย หย่องบน ขั้นที่กดนิ้ว หย่องล่าง และไม้ดีด



หน้าที่ของส่วนประกอบต่าง ๆ คือ 1. ไม้ดีด ใช้สำหรับดีดสาย 2. สาย ทำหน้าที่สั่นสะเทือนเกิดเป็นเสียง 3. หย่องบนและหย่องล่าง เป็นตัวกำหนดระยะความสั้นยาวของสายให้เป็นช่วงที่ยาวที่สุดของการสั่นสะเทือน 4. ขั้นที่กดนิ้ว (ศัพท์ดนตรีไทยเรียกว่านม) มีหน้าที่ควบคุมช่วงความยาวของสายที่จะทำให้สั่นสะเทือนตามระดับเสียงที่ต้องการ ซึ่งทำได้โดยใช้มือกดบนสายด้านซ้ายของขั้นนั้น ๆ 5. ลูกบิด มีหน้าที่ปรับและควบคุมความตึงของสายแต่ละสายให้ถูกต้องตามระบบเสียง 6. กะโหลก มีหน้าที่ขยายเสียงต่อจากสายอีกขั้นหนึ่ง

ตัวกระจับปี่ส่วนที่เป็นกะโหลกและคันพิณทำจากไม้ชิ้นเดียว ซึ่งส่วนมากนิยมใช้ไม้ขนุน ไม้ยอป่า หรือไม้เปลือย โดยตัดเอาไม้ทั้งท่อนที่มีความหนาและความยาวตามต้องการ มาถากด้วยมีดโต้ให้เป็นรูปทรงที่เป็นกะโหลกกับคันพิณ ใช้สิ่วเจาะส่วนที่จะเป็นกะโหลกให้ลึกเป็นราง แล้วหาไม้อีกแผ่นหนึ่งมาปิดประกบเข้าเป็นฝาหน้ากะโหลก ตอนบนของคันพิณเจาะรูสำหรับใส่ลูกบิด 3 อัน พร้อมกันนี้ก็เจาะเป็นร่องให้สายสอดผ่านเข้าไปผูกกับลูกบิด ปลายอีกข้างหนึ่งของสายผูกกับตะปูที่ตอกไว้ด้านข้างของกะโหลกตอนล่าง ซึ่งสายทั้งสามจะพาดกับหย่องล่างและหย่องบนในลักษณะที่หย่องล่างสูงกว่าหย่องบน เสร็จแล้วจะเป็นการติดตั้งขั้นที่กดนิ้วโดยเริ่มติดตั้งขั้นบน คือขั้นที่อยู่ใกล้หย่องบนก่อน ให้มีระดับสูงลดหลั่นลงมาจากบนมาล่างตามลำดับ ส่วนระยะห่างระหว่างขั้นต่าง ๆ นั้นเทียบเอาจากระดับเสียงของแคนเป็นหลัก ซึ่งจะพบว่า บางขั้นจะชิดกัน บางขั้นจะห่างกัน ไม้ที่ใช้ทำขั้นและทำหย่องนิยมใช้ไม้ไผ่ ลูกบิดนิยมใช้ชนิดเดียวกับที่ทำตัวพิณ สายลวดใช้ลวดจากห้ามล้อรถจักรยาน ส่วนไม้ดีดทำจากเขาควายกาวที่ใช้ติดขั้นที่กดเสียงนิยมใช้ขี้สูดหรือขี้แมงน้อย

การขึ้นสายกระจับปี่ขึ้นได้เป็นหลายแบบดังนี้

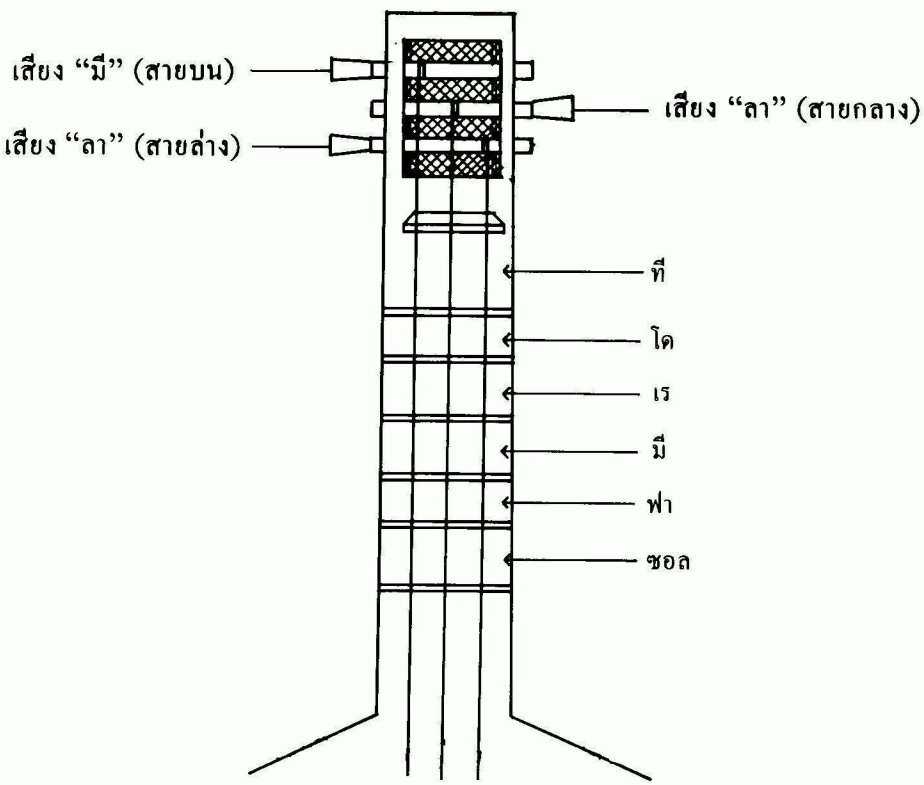
1. สายบนเป็นเสียง "ลา" สายกลางเป็นเสียง "ลา" (เท่ากันกับสายบน) และสายล่างเป็นเสียง "มี" (สูงขึ้นจากสายกลางเป็นเสียงคู่ห้าเพอร์เฟคท์)

2. สายบนเป็นเสียง "มี" สายกลางเป็นเสียง "ลา" (สูงขึ้นกว่าเสียงสายกลางเป็นขั้นคู่สี่เพอร์เฟคท์) และสายล่างเป็นเสียง "มี" (เท่ากันกับเสียงสายกลาง)

3. สายบนเป็นเสียง "มี" สายกลางเป็นเสียง "ลา" (สูงกว่าเสียงสายบนเป็นขั้นคู่สี่เพอร์เฟคท์) สายล่างเป็นเสียง "มี" (สูงกว่าเสียงสายกลางเป็นขั้นคู่ห้าเพอร์เฟคท์)

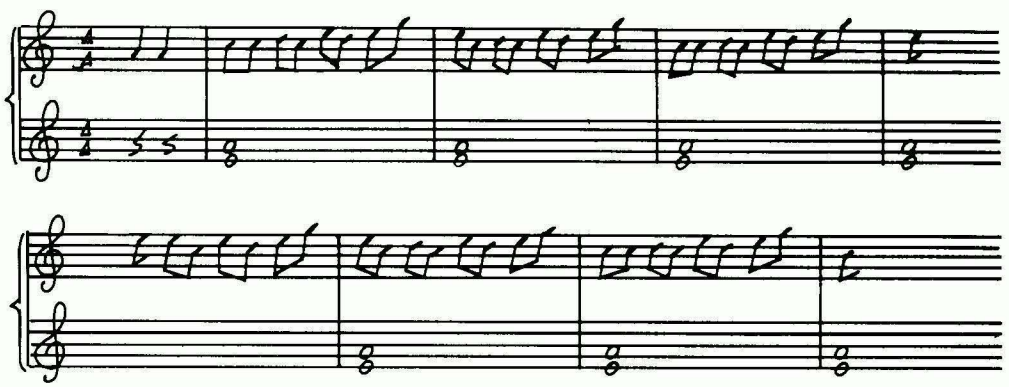
4. สายบนเป็นเสียง "ลา" สายกลางเป็นเสียง "เร" (สูงกว่าเสียงสายบนเป็นขั้นคู่สี่เพอร์เฟคท์) สายล่างเป็นเสียง "เร" (เท่ากันกับเสียงสายกลาง)

การที่จะเลือกใช้ระบบการขึ้นสายอย่างไรนั้นขึ้นกับ "ลายแคน" หรือ "ทาง" ของเพลงแคนที่จะใช้ สำหรับชาวผู้ไทยนิยมเล่นอยู่สองทางคือ "ทางผู้ไทยน้อย" และ "ทางผู้ไทยใหญ่" "ทางผู้ไทยน้อย" เป็นทางที่เหมาะสำหรับหมอลำหญิงและหมอเหยาโดยเทียบเสียงกระจับปี่สายบน สายกลาง และสายล่าง เป็นเสียงลา – เร – เร ส่วน "ทางผู้ไทยใหญ่" เหมาะสำหรับหมอลำชาย ถ้าจะเทียบเสียงกระจับปี่เพื่อดีดประสานเสียงกับแคนประกอบการลำฝ่ายชายก็จะขึ้นเสียงสายบน สายกลาง และสายล่าง เป็นเสียง มี – ลา – ลา



แผนผังแสดงการเทียบเสียงกระจับปี่สำหรับลำผู้ไทยฝ่ายชาย (ทางลำผู้ไทยใหญ่)

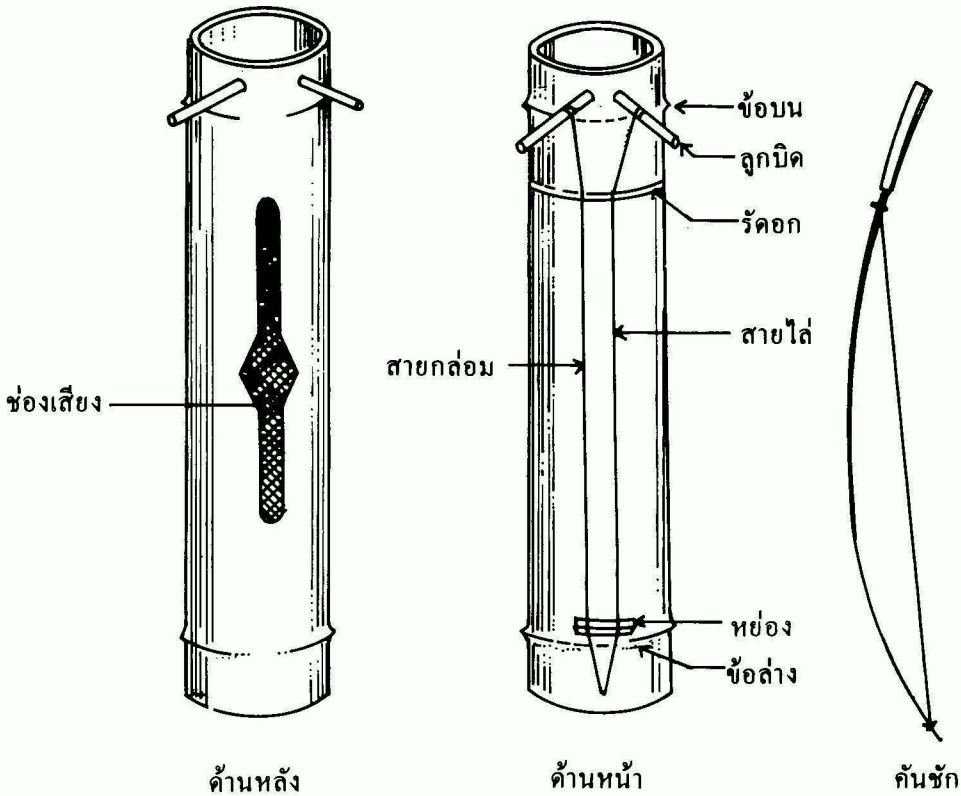
วิธีเล่น ใช้เชือกผูกส่วนบนและล่างของพิณแล้วสะพายไว้ที่คอ มือขวาจับไม้ดีด มือซ้ายใช้อุ้ง-มือระหว่างนิ้วหัวแม่มือกับนิ้วทั้งสี่ กดคันพิณไว้หลวม ๆ นิ้วชี้ นิ้วกลาง นิ้วนางและนิ้วก้อยของมือซ้ายก็จะเป็นนิ้วสำหรับกดสายตามขั้นที่ต้องการ ส่วนนิ้วชี้ นิ้วกลางและนิ้วหัวแม่มือของมือขวาก็จะใช้สำหรับจับไม้ดีดซึ่งดีดลงเป็นหลัก บางครั้งจะดีดเฉพาะสายล่างซึ่งเป็นสายที่ทำทำนอง บางครั้งก็ดีดทั้งสามสายพร้อมกัน สายที่ทำทำนองนี้ชาวผู้ไทยเรียกว่า "สายไล่เสียง" (melody string) ส่วนสายที่ทำเสียง-ประสานเรียกว่า "สายกล่อม" (drone string)

ในสมัยก่อนหนุ่มผู้ไทยนิยมดีดพิณขณะเดินทางจะไปหาสาวคนรักในตอนหัวค่ำ และขณะเดิน-ทางกลับในตอนดึก หรือไม่ก็ดีดในงานบุญขณะเดินดูสาวที่ไปในงาน การดีดกระจับปี่นี้จะดีดคนเดียวหรือดีดประสานเสียงกับเครื่องดนตรีอื่นก็ยิ่งดี โดยเฉพาะอย่างยิ่ง ในปัจจุบันนี้ดนตรีผู้ไทยนิยมเล่นกันเป็นวงซึ่งประกอบด้วยแคนเป็นหลัก นอกจากนี้ก็มีพิณ ปี่ ซอ และกลองเป็นต้น ดนตรีผู้ไทยไม่นิยมบรรเลงเป็นเอก-เทศ แต่นิยมบรรเลงประกอบการลำและการฟ้อน ทำนองเพลงที่เครื่องดนตรีผู้ไทยใช้บรรเลงล้วนแต่อิงทำนองของแคนทั้งสิ้น คือเป็นลักษณะของวลีหรือประโยคสั้น ๆ ซึ่งประโยคหนึ่ง ๆ มี 4 จังหวะ จังหวะสุดท้ายของแต่ละประโยคจะก่อรูปเป็นคอร์ดแบบสามเสียงซ้อนกันขึ้น อย่างลักษณะการประสานเสียงของ chord triad ของดนตรีฝรั่ง ซึ่งของดนตรีผู้ไทยจะเป็น chord minor triad ตัวอย่างของเพลงพิณมีดังนี้คือ

2. ซอ

ซอผู้ไทยเป็นเครื่องดนตรีที่แปลกกว่าซอชนิดอื่น ๆ ของไทย เช่น ตัวซอทำด้วยไม้ไผ่ทั้งปล้องเป็นชิ้นเดียวกัน ไม่แยกเป็นกะโหลก หรือเป็นคันซอ เพราะกระบอกไม้ไผ่นี้เป็นทั้งกะโหลกและทำหน้าที่เป็นคันซอไปในตัว นอกจากนี้ การขึ้นสายเทียบเสียงก็ยังผิดกับซอชนิดอื่น ๆ อีกโดยทั่วไป

ที่เรียกชื่อว่า "ซอ" สันนิษฐานว่าจะเป็นคำมาจากภาษาอินเดีย เพราะซอสามสายของอินเดียในแคว้นแคชเมียร์เรียกว่า "ซาซ์" หรืออาจจะมาจากคำ "ซะโร" ซึ่งเป็นชื่ออีกชื่อหนึ่งของซอ "ซารินดา" ของอินเดีย แม้ในภาคเหนือของไทยก็เรียกซอว่า "ซอล้อ" หรือ "สะล้อ" หรือ "ทะล้อ" หรือ "ตะล้อ"

ซอผู้ไทยมีส่วนประกอบอยู่ 6 ส่วนคือ บั้ง (กระบอก) สาย หย่อง รัดอก ลูกบิด และคันชัก ดังรูป



บั้ง ทำหน้าที่เป็นทั้งคันซอและกะโหลกซอ คือ เป็นทั้งที่จับและเป็นกล่องสำหรับขยายเสียงจากการสั่นสะเทือนของสายซอ หย่อง มีหน้าที่ยกสายซอให้สูงขึ้นจากบั้งซอและเป็นจุดกำหนดความยาวของสายซอส่วนที่จะสั่นสะเทือนโดยทำหน้าที่ร่วมกันกับรัดอก ช่วงระหว่างรัดอกกับหย่องคือช่วงของสายที่จะสั่นสะเทือน ลูกบิด มีหน้าที่เป็นที่ผูกยึดของสายกับทำหน้าที่ดันสายให้ตึง และให้สายด้านบนดันรัดอก ทำให้สายที่จะสั่นสะเทือนห่างออกจากผิวของบั้งมีอิสระในการสั่น เมื่อใช้คันชักสีที่สายซอ สายซอจะสั่นเกิดเป็นเสียง บั้งซอก็จะขยายเสียงจากสายซอให้ดังเพิ่มขึ้นอีก เมื่อต้องการจะได้เสียงระดับต่าง ๆ ผู้สีซอจะใช้นิ้วกดที่สายที่ทำทำนองซึ่งชาวผู้ไทยเรียกว่า "สายไล่" หรือ "สายไล่เสียง" และขณะเดียวกันต้องสีทั้งสองสายตลอดเวลา คือต้องสีทั้ง "สายไล่" (สายทำทำนอง) และ "สายกล่อม" (สายทำเสียงประสาน)

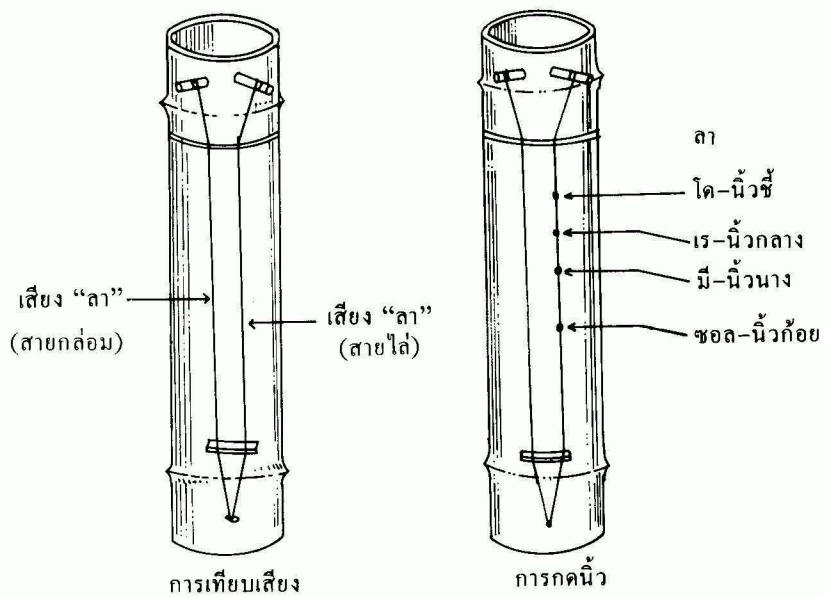
ซอผู้ไทย บางทีก็เรียกว่า ซอบั้งไม้ไผ่ ทำจากไม้ไผ่ชนิดหนึ่งบนภูเขา (หมอลำแพง กุตรแสง ซึ่งเป็นช่างทำซอและหมอซอเรียกไผ่ชนิดนี้ว่า ไม้กุ) ตัดมาจากบนภูเขา ขณะกำลังจะผลิแขนงและใบอ่อน แล้วนำมาตัดเป็นบั้งโดยตัดใต้ข้อล่างประมาณ 1 นิ้ว เหนือข้อบนประมาณ 5 นิ้ว ตรงเหนือข้อบนใช้มีดขูดเปลือกออกเล็กน้อย ส่วนปล้องระหว่างข้อทั้งสองใช้มีดขูดให้บางประมาณ 2 มม. เพื่อทำหน้าที่สั่น–

สะเทือนคล้ายกับเป็นหนังหุ้มหน้าซอของซอชนิดอื่น ขณะเดียวกันบั้งซอก็จะทำหน้าที่เป็นกล่องขยายเสียงด้วย

เมื่อขูดจนบางได้ที่แล้วก็ใช้เหล็กซี (เหล็กแหลมที่เผาไฟจนร้อนแดง) เจาะรูเล็ก ๆ ใต้ข้อล่างเพื่อเป็นรูสำหรับสอดสายลวดเข้าไปผูกปมไว้ใต้ข้อด้านใน ตรงเหนือข้อบนของบั้งใช้เหล็กซีเผาไฟให้ร้อนแดงแล้วเจาะรู 2 รู ให้ทะลุบั้งเพื่อเป็นรูลูกบิด ใช้มีดปลายแหลมเจาะข้อบนให้ทะลุ หาไม้ไผ่ธรรมดามาทำหย่องและลูกบิด หาสายจากลวดห้ามล้อจักรยานมาขึงจากรูขึงสายด้านล่างเข้ากับลูกบิด แล้วหาหวายมาทำเป็นรัดอก จะต้องนำซอนี้ไปผึ่งแดดให้แห้งจนอยู่ตัวเพื่อกันมิให้มอดกิน หากมีมอดกินอาจใช้น้ำเกลือเค็ม ๆ ราดก็ได้

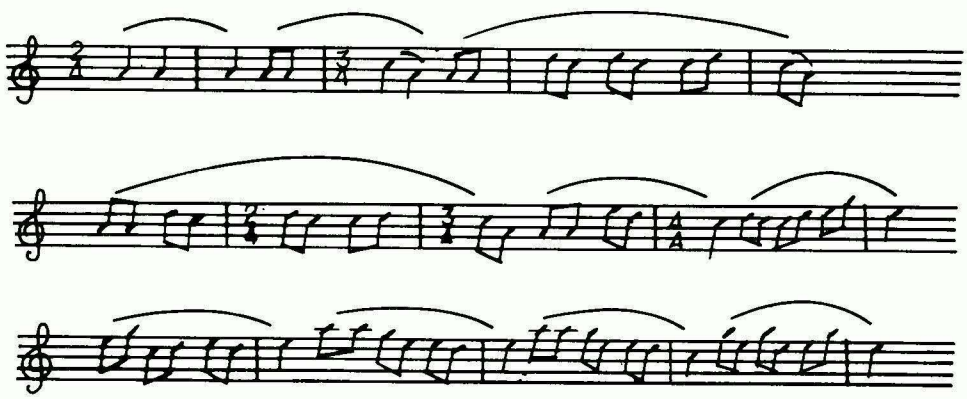
ซอบั้งไม้ไผ่มี 2 สาย สายนอกมีหน้าที่ทำทำนองซึ่งนักดนตรีผู้ไทยเรียกว่า "สายไล่" ขึ้นเสียงเป็นเสียง "ลา" โดยเทียบกับเสียงแคนลูกที่สามด้านขวามือ ส่วนสายในซึ่งเรียกว่า "เสียงกล่อม" นั้นก็เทียบเสียง "ลา" เช่นเดียวกันคือเป็นเสียงคู่หนึ่งที่ฝรั่งเรียกเป็นศัพท์ทางดนตรีว่า unison

วิธีเล่น ใช้มือซ้ายกางให้นิ้วหัวแม่มือแยกจากนิ้วทั้งสี่แล้วจับที่คอซอตรงรัดอก ตั้งซอไว้บนพื้นตรงหน้าและเอียงซอไปทางซ้ายประมาณ 45° มือขวาจับคันชักด้านโคน ใช้นิ้วนางสอดเข้าไปในหางม้านิ้วชี้และนิ้วกลางอยู่ด้านนอกคันชัก นิ้วชี้กดคันชักลงเป็นการบีบยึดคันชักร่วมกับนิ้วชี้และนิ้วกลางดึงคันชักไปซ้ายและขวาหรือที่ดนตรีไทยเรียกว่า "สีเข้า-สีออก" ต่างกันแต่ว่าคันชักนี้อยู่นอกสาย และต้องสีให้หางม้าถูกกับสายทั้งสองพร้อมกันทุกครั้ง ขณะเดียวกันนิ้วของมือซ้ายก็จะกดสายไล่ เพื่อให้ได้เสียงตามต้องการซึ่งมีอยู่ 5 เสียง คือ หากสีสายเปล่า (คือไม่กดนิ้ว) จะได้เสียง "ลา" หากกดนิ้วชี้จะได้เสียง "โด" หากกดนิ้วกลางจะได้เสียง "เร" หากกดนิ้วนางจะได้เสียง "มี" หากกดนิ้วก้อยจะได้เสียง "ซอล" ทั้งนี้จะสังเกตระยะห่างระหว่างตำแหน่งที่กดนิ้วชี้-นิ้วกลาง และนิ้วกลาง-นิ้วนาง ดังรูป



ซอบั้งไม้ไผ่เป็นซอที่มีเสียงเบาไม่เหมาะที่จะเล่นคนเดียว จำเป็นต้องร่วมวงบรรเลงกับเครื่องดนตรีอื่น ๆ เช่นซอตัวอื้น แคน กระจับปี่และปี่ อย่างไรก็ตาม เสียงของซอบั้งไม้ไผ่เป็นเสียงที่มีเสน่ห์ทำให้กระแสเสียงของวงดนตรีไพเราะและอ่อนหวานยิ่งนัก ฉะนั้น ซอจึงได้รับความนิยมในการบรรเลงเป็นหมู่คณะกับเครื่องดนตรีอื่น ๆ ในโอกาสต่าง ๆ เช่น บรรเลงขณะเดินทางไปและกลับจากพบปะสาวยามค่ำคืน บรรเลงประกอบลำผู้ไทย และบรรเลงประกอบการฟ้อนรำผู้ไทย

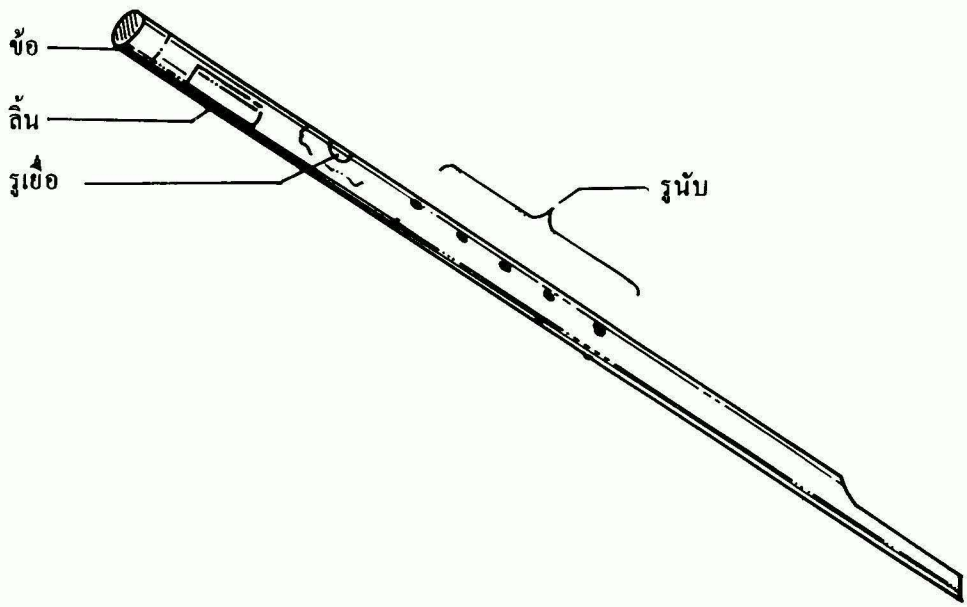
เพลงที่เล่นก็เป็นเพลงเดียวกันกับพิณหรือแคน จะแตกต่างกันอยู่บ้างก็เฉพาะจังหวะลีลาหรือสำนวน (idiom) นั่นเอง คือซอจะมีลักษณะพิเศษในการทำเสียงเลื่อนไหล (glissando) จากเสียงหนึ่งไปยังอีกเสียงหนึ่ง โดยเฉพาะอย่างยิ่งจากเสียง "โด" เลื่อนไหลลงมาหาเสียง "ลา" หรือจากเสียง "ลา" เลื่อนไหลขึ้นไปหาเสียง "โด" โดยการเลื่อนนิ้วรูดขึ้น–ลงตามสายซอ โดยปกติเมื่อซอบรรเลงร่วมกับเครื่องดนตรีอื่น ๆ ก็จะรักษาประโยควรรคตอนของเพลงเป็นวรรคละ 4 จังหวะ แต่เมื่อซอเล่นคนเดียว จำนวนจังหวะในแต่ละวรรคตอนอาจจะไม่แน่นอน อาจจะมีวรรคละ 2 หรือ 3 หรือ 4 จังหวะก็เป็นได้และโดยธรรมชาติแล้ว ทำนองของซอจะเกาะเกี่ยวไปกับทำนองของปี่อย่างใกล้ชิด จนลำบากแก่ผู้ฟังในการแยกเสียงเครื่องดนตรีทั้งสองนี้ ต่อไปนี้เป็นตัวอย่างโน้ตซอที่สีคนเดียว



3. ปี่

ปี่ เป็นเครื่องดนตรีพิเศษอีกชิ้นหนึ่งของชาวผู้ไทย เสียงใสไพเราะยิ่งนัก เมื่อดูลักษณะทั่วไปของปี่จะรู้สึกว่าปี่เป็นเครื่องดนตรีผสมระหว่างขลุ่ยกับแคน ปี่ผู้ไทยเป็นปี่ชนิดเดียวกับที่ใช้กันในภาคเหนือของไทยที่เรียกว่า "ปี่ซอ" เพราะใช้เป่าประกอบการขับร้องที่เรียกว่า "ซอ" และบางทีก็เรียกว่า "ปี่ซุม" (ออกเสียง "ปี่จุม") เพราะเป่ารวมกันเป็นคณะ แต่ชาวเหนือเองเรียกแต่เพียง "ปี่" ซึ่งก็หมายถึงปี่ซอนั่นเอง

ปี่ แบ่งส่วนประกอบออกเป็น 2 ส่วน คือตัวปี่ (หรือเลาปี่) กับลิ้นปี่ เมื่อลิ้นปี่ถูกลมเป่า ลิ้นจะสั่นขึ้น–ลงทำให้เกิดเป็นเสียง และทำให้อากาศภายในตัวปี่สั่นสะเทือนไปด้วย ขณะเดียวกันตัวปี่ก็จะทำหน้าที่เป็นกล่องขยายเสียงจากลิ้นปี่นั้นด้วย นอกจากนี้เยื่อที่ปิดไว้กับรูเยื่อจะทำให้เกิดกระแสเสียงในลักษณะพิเศษทำให้ไพเราะยิ่งขึ้นดังปี่แก้ว ปี่ชนิดนี้จึงมีชื่อเรียกว่า "ปี่แก้ว" อีกชื่อหนึ่ง ส่วนรูนับนั้นมีไว้สำหรับกดนิ้วตามระดับเสียงที่ต้องการ เป็นการควบคุมปริมาตรของมวลอากาศที่ทำหน้าที่สั่นสะเทือนและทำให้เกิดเสียงตามช่วงความยาวที่ปิดด้วยนิ้ว ดังรูป



ปี่ทำจากไม้เฮี้ยหรือไม้กู่แคน (สำเนียงผู้ไทยออกเสียงเป็น "ไม้เฮ้" และเนื่องจากปี่ทำจากไม้กู่-แคนซึ่งเปรียบเสมือนเป็นลูกของแคน บางทีจึงเรียกว่า "ปี่ลูกแคน") โดยนำกู่ไม้เฮี้ยมาตัดออกเป็นท่อน คือตัดเอาเพียงปล้องเดียว ตัดด้านบนให้เหลือขังข้อเอาไว้ ส่วนด้านล่างตัดข้อทิ้งเป็นปลายเปิด ใช้มีดปาดปลายกู่ด้านล่างด้านหน้าให้เรียวแหลมยาวประมาณ 7 ซม. ความยาวตลอดตัวปี่ประมาณ 35.5 ซม. ตรงด้านบนของกู่ใกล้กับข้อ ใช้มีดปาดเจาะเป็นช่องสี่เหลี่ยมผืนผ้าสำหรับเป็นที่สอดใส่ลิ้นแคน เมื่อใส่ลิ้นแคนเข้าที่แล้วช่างจะปรับระดับเสียงโดยขูดลิ้นแคนให้ได้เสียงเท่ากับเสียง "เสมอ" หรือเสียง "สะแนน" ของแคน (เสียง "ซอล") แล้วเจาะรู ซึ่งตามหลักแล้วรูแรกที่เจาะคือรูต่ำสุด กะเอาระยะรูแพวล่างของแคนลูกที่สี่ด้านขวามือ (เสียง "ลา") ต่อจากนี้ก็เทียบเสียงที โด เร ตามลำดับ แต่ในทางปฏิบัติแล้ว ช่างที่ชำนาญสามารถกะตำแหน่งที่เจาะรูได้โดยไม่ต้องวัดเทียบกับรูแพวล่างของลูกแคน ในสมัยก่อนลิ้นปี่และลิ้นแคนทำด้วยผิวไม้ไผ่ แต่ในปัจจุบันทำด้วยโลหะทองแดง ทองเหลือง หรือโลหะผสมระหว่างทองแดงกับเงินซึ่งมักจะเรียกกันง่าย ๆ ว่า ลิ้นทอง หรือลิ้นเงิน ส่วนรูเยื่อนั้นเจาะตรงจุดเหนือรูนับบนสุดขึ้นไปประมาณ 4.5 ซม. เดิมใช้เยื่อไม้ไผ่ปิด แต่ปัจจุบันนิยมใช้แผ่นถุงพลาสติกแทนเพราะทนทานต่อการใช้งานดีกว่าเยื่อไม้ไผ่

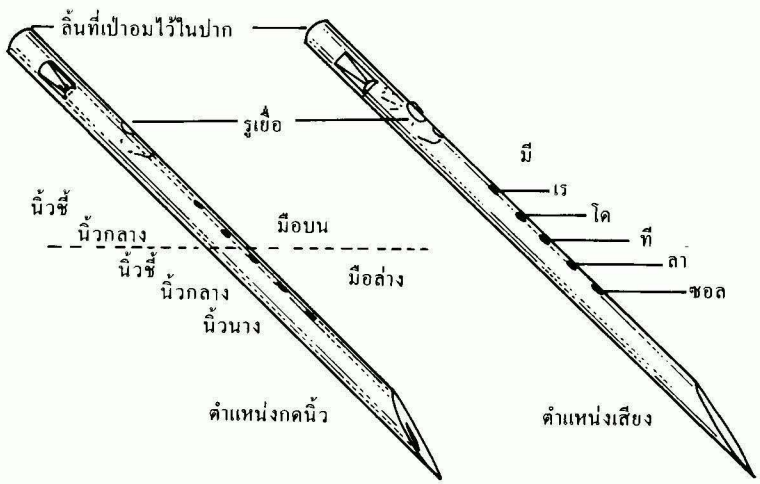
ปี่มีรูนับ 5 รู สามารถทำเสียงได้ 6 เสียงจากต่ำไปสูงดังนี้คือ ซอล ลา ที โด เร มี แต่ใช้เพียง 5 เสียงเท่านั้นคือ ซอล ลา โด เร มี ตามระบบเสียงแคน ลักษณะโครงสร้างของปี่เมื่อพิจารณาตำแหน่งของลิ้นและตำแหน่งของรูนับเป็นที่น่าเชื่อว่า เดิมนั้นท่าเป่าและการถือปี่คงจะเป็นแบบเฉลียงข้าง (horizontal) แต่ปัจจุบันอมส่วนที่เป็นลิ้นเข้าไปในปาก และถือปี่ในแนวตั้ง (vertical) คล้ายการเป่าขลุ่ยของภาคกลาง

ถึงแม้ปี่จะเป็นเครื่องดนตรีที่มีขนาดเล็ก แต่ก็สามารถทำเสียงเด่นลอยอยู่เหนือเสียงเครื่องดนตรีอื่นได้ การจับปี่จะเอามือซ้ายหรือขวาไว้บนหรือล่างก็ได้ แต่ส่วนมากนิยมเอามือซ้ายไว้บน มือขวาไว้ล่าง การวางนิ้วใช้นิ้วชี้มือบนปิดรูบนสุด นิ้วกลางมือบนปิดรูถัดลงมา ส่วนรูที่เหลือถัดลงมาก็ใช้นิ้วชี้ นิ้วกลาง และนิ้วนางของมือล่าง

หากต้องการจะเป่าเป็นเสียงต่าง ๆ ก็ทำได้ดังนี้คือ 1. เสียงซอล ซึ่งเป็นเสียงต่ำสุด ให้ปิดรูนับทุกรู 2. ถ้าต้องการเสียงลา ให้เปิดนิ้วนางมือล่าง 3. เสียงที เป็นเสียงที่ไม่จำเป็นต้องใช้จึงข้ามไป 4. ถ้าต้องการเสียงโดให้เปิดนิ้วนาง นิ้วกลาง และนิ้วชี้มือล่าง 5. ถ้าต้องการเสียงเร ให้เปิดมือล่างทุกรูนับและเปิดนิ้วกลางของมือบน 6. ถ้าต้องการเสียงมี ให้เปิดนิ้วทุกรูนับ

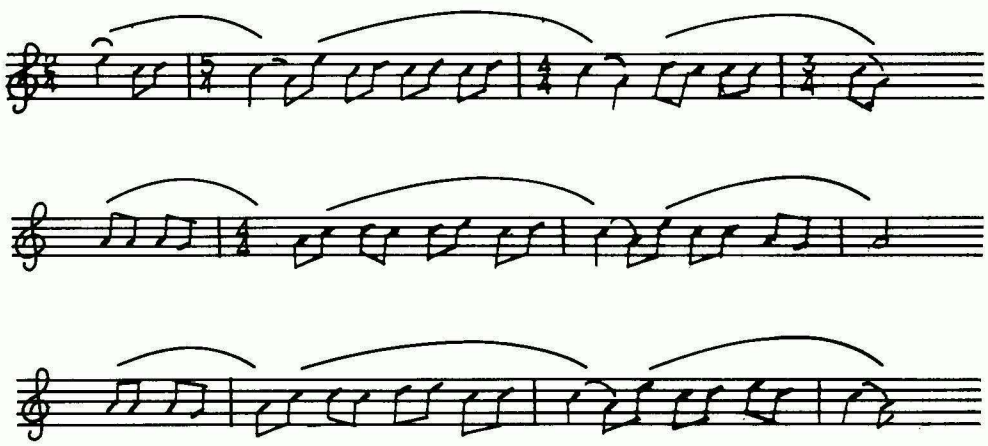
มีเทคนิคอันหนึ่งที่ผู้เป่าปี่ชอบใช้เช่นเดียวกับเทคนิคของซอ คือการทำเสียงเลื่อนไหลจากเสียงหนึ่งไปยังอีกเสียงหนึ่ง ที่เด่นที่สุดคือจากเสียงลาไหลไปหาเสียงโด และจากเสียงโดเลื่อนไหลมาหาเสียงลา วิธีทำก็คือใช้นิ้วชี้ซึ่งเป็นนิ้วที่ใช้กดรูกลาง (รูที่ 3) ลูบผ่านรูจากซ้ายไปขวาในลักษณะค่อย ๆ เปิดรูทีละนิดในขณะที่นิ้วกลางยังคงปิดรูที่สองอยู่ สิ่งที่เกิดขึ้นก็คือ ตอนแรกนิ้วต่าง ๆ กดที่รูนับ ยกเว้นนิ้วนางมือล่าง ถัดจากนี้ก็เคลื่อนไหวเฉพาะนิ้วชี้มือล่าง ลักษณะการลูบผ่านรูนับเช่นนี้หมอปี่เรียกว่า "การเช็ด" ทำให้เสียงค่อย ๆ เปลี่ยนระดับเลื่อนไหลจากเสียงลาไปยังเสียงโด ถ้าต้องการให้เสียงเลื่อนไหลจากเสียงโดลงมายังเสียงลาก็สามารถทำได้โดยนัยกลับกัน

สำหรับตำแหน่งของเสียงและการวางนิ้วให้ดูรูปต่อไปนี้



ปี่เป็นเครื่องดนตรีที่ไม่เหมาะที่จะเล่นคนเดียว เพราะขาดเสียงประสานในตัวประการหนึ่ง กับอีกประการหนึ่งเป็นเครื่องดนตรีที่กินลม แม้จะเป่าได้ทั้งลมออกและลมเข้าก็ตาม จึงเหมาะที่จะนำไปผสมกับเครื่องดนตรีอื่น ๆ ซึ่งเมื่อประสานกันเข้าแล้วจะให้กระแสเสียงที่ไพเราะยิ่งนัก เมื่ออยู่ในวง ปี่จะไม่ดำเนินทำนองตรง ๆ แต่กลับพลิกแพลงวรรคตอนให้เยิ่นเย้อออกไปกว่าเครื่องดนตรีอื่น ๆ ทำให้เคาะจังหวะตามลำบาก โดยเฉพาะอย่างยิ่งเวลาเป่าปี่ทำนองลายผู้ไทยน้อย เป็นต้น โอกาสในการเป่าปี่ก็เหมือนกับเครื่องดนตรีอื่น ๆ เช่น แคน พิณ และซอ ซึ่งนิยมเป่าเดินเลาะบ้านยามค่ำคืนเพื่อไปหาสาวตามบ้านต่าง ๆ และที่สำคัญก็คือเป่าเข้าวงประกอบการลำผู้ไทยและการฟ้อนผู้ไทย

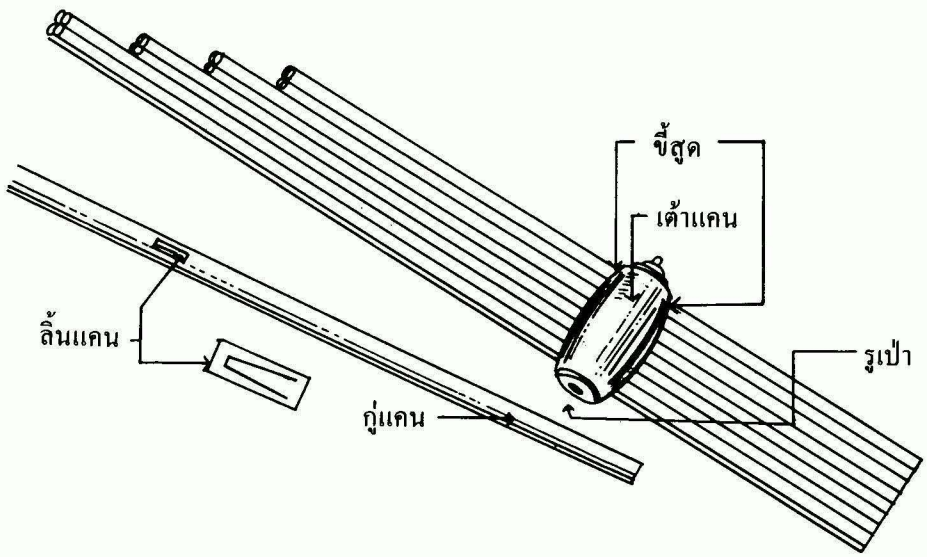
เพลงผู้ไทยที่ใช้สำหรับบรรเลงมีอยู่ทำนองเดียวเหมือนกันหมด ต่างกันแต่สำนวนลีลาอันเป็นลักษณะเฉพาะของแต่ละเครื่องดนตรีกับระดับเสียงที่ใช้เท่านั้น โดยเทียบกับระดับเสียงหรือทางของแคนที่เรียกว่า "ทางผู้ไทยใหญ่" (ลายผู้ไทยใหญ่) หรือ "ทางผู้ไทยน้อย" (ลายผู้ไทยน้อย) ดังตัวอย่างโน้ตต่อไปนี้



4. แคน

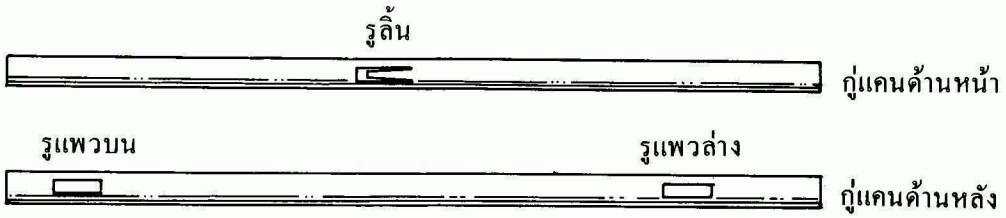
แคน เป็นเครื่องดนตรีที่เก่าแก่ที่สุดของโลกชนิดหนึ่ง จากหลักฐานทางโบราณคดีของจีนพบว่ามีอายุไม่ต่ำกว่า 2,400 ปี และแคนยังเป็นเครื่องดนตรีที่นิยมกันแพร่หลายในหลายประเทศ หลายกลุ่มชนทั้งในหมู่ชาวเขาและชาวบ้าน เช่นในประเทศจีน เกาหลี ญี่ปุ่น และอินโดนีเซีย เป็นต้น

แคน แบ่งส่วนประกอบออกเป็น 4 ส่วนคือ กู่แคน ลิ้นแคน เต้าแคน และขี้สูด ลิ้นมีหน้าที่ทำให้เกิดเสียงเมื่อถูกเป่า กู่แคนหรือลูกแคนเป็นตัวขยายเสียงของลิ้นแคนให้ผู้ฟังได้ยิน เต้าแคนเป็นที่ยึดหรือศูนย์รวมของลูกแคนและเป็นศูนย์ควบคุมลมเป่าให้ไปถึงลิ้นแคนของทุกลูกอย่างมีประสิทธิภาพ ขี้สูดหรือขี้แมงน้อยทำหน้าที่เป็นชันสำหรับอุดลมที่เป่าไม่ให้รั่วไปที่อื่น เพื่อให้ลมเป่าไปทำให้ลิ้นแคนสั่นและดังตามที่ผู้เป่าต้องการ ดังรูป



เมื่อช่างแคนได้ไม้กู่แคนมาแล้วก็จะตากให้แห้ง แล้วจึงนำมาเจาะทะลุข้อ ดัดให้ตรง และตัดเป็นท่อนตามขนาดที่ต้องการ ต่อจากนี้ก็เจาะรูลิ้น รูแพว สำหรับลิ้นนั้นทำจากโลหะ เช่น ทองเหลือง ทองแดง หรือโลหะผสมคือทองแดงผสมเงินซึ่งจะมีช่างโลหะโดยตรงเป็นผู้ผสมและตีเป็นแผ่นมาตรฐานมาให้ช่างแคน ช่างแคนก็จะนำมาตัดเป็นเส้นและตีให้เป็นแผ่นบาง ๆ ให้ได้ขนาดที่จะสับเป็นลิ้นแคน นำลิ้นแคนไปสอดใส่ไว้ในช่องรูลิ้นของกู่แคนหรือลูกแคนแต่ละลูก ดังรูป

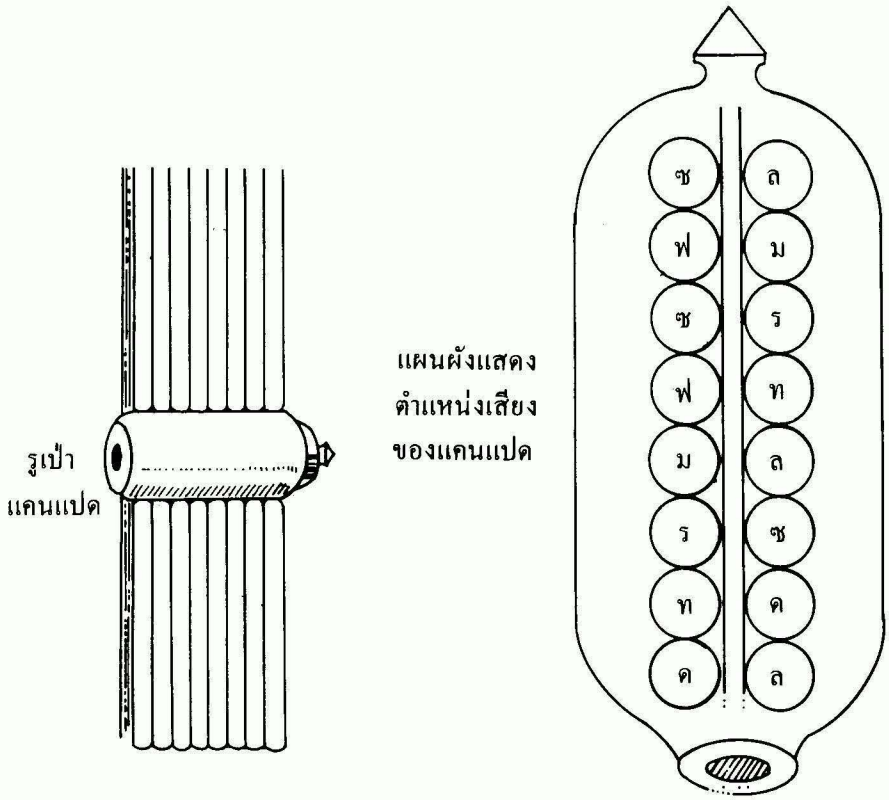
แผนผังแสดงตำแหน่งรูแพวและรูลิ้น



เต้าแคน ช่างแคนทำจากไม้ประดู่หรือไม้น้ำเกลี้ยง (ไม้รัก) ถ้าเป็นไม้ประดู่นิยมใช้รากเพราะตัดหรือปาดง่ายด้วยมีดตอก ใช้สิ่วเจาะให้กลวงเพื่อเป็นที่สอดใส่ลูกแคน และเป็นทางให้ลมเป่าผ่านไปยังลิ้นแคนได้สะดวก เมื่อสอดใส่ลูกแคนเข้าไปในเต้าแล้วต้องใช้ขี้สูด หรือขี้แมงน้อยมาเป็นชันอุดและเชื่อมลูกแคนเข้ากับเต้าแคน และใช้สำหรับปิดรูนับคือรูเสียงเสพหรือที่ชาวผู้ไทยเรียกเสียงกล่อม ทำให้เป่าแคนเป็นทำนองลีลาต่างกันออกไปเกิดเป็นสูตรเพลงแคนขึ้นมาเป็นลายน้อย ลายใหญ่และอื่น ๆ ขึ้นมา ขี้สูดนี้เข้าใจว่าเป็นสารพวกขี้ผึ้งดำ ได้จากรังของแมลงชนิดหนึ่งคล้ายมิ้มหรือผึ้งเล็ก ๆ แมลงชนิดนี้ชาวบ้านเรียกว่าแมงน้อยหรือแมงขี้สูด

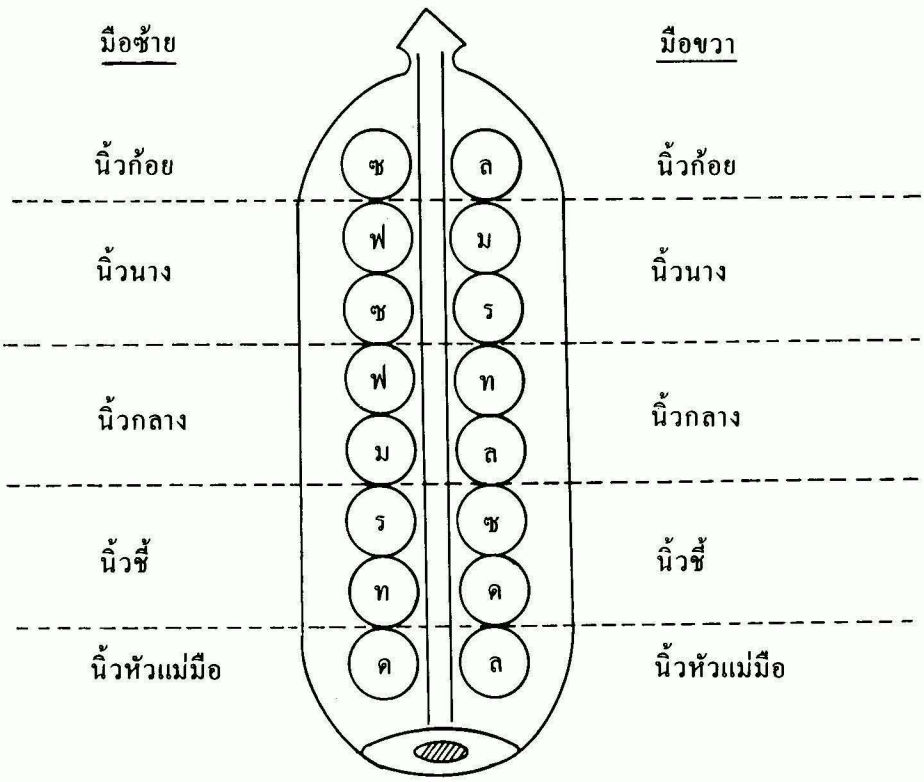
เนื่องจากแคนมีหลายชนิด หากจะแบ่งตามจำนวนลูกแคนเป็นคู่ ๆ ก็จะแบ่งได้เป็นแคนสาม (ปกติเรียกกันว่าแคนหก เพราะมีหกลูกหรือสามคู่) แคนสี่ แคนห้า แคนเจ็ด แคนแปด และแคนเก้า ในที่นี้จะกล่าวเฉพาะแคนแปดซึ่งเป็นแคนที่นิยมใช้แพร่หลายที่สุด

ระบบเสียงของแคนแปดมีเสียงทั้งหมด 16 เสียง แต่เป็นระดับเสียงที่ซ้ำกันเสีย 2 เสียง ฉะนั้นจึงมีเสียงที่มีระดับแตกต่างกันทั้งหมด 15 เสียง เรียงลำดับจากต่ำไปสูงดังนี้คือ ลา ที โด เร มี ฟา ซอล (ซอล) ลา ที โด เร มี ฟา ซอล ลา แต่เสียงทั้ง 16 เสียงนี้มิได้เรียงลำดับอย่างเสียงระนาดหรือเสียงเปียโน หากแต่เสียงเหล่านี้นำไปเรียงกันเข้าไปในลักษณะที่คล้ายคลึงกับการเรียงตัวอักษรของพิมพ์ดีด ทั้งนี้เพื่อความสะดวกและเหมาะสมในการบรรเลงเพลงพื้นบ้าน และลักษณะการประสานเสียงดนตรีของชนแต่ละกลุ่ม สำหรับการจัดวางตำแหน่งเสียงของแคนแปดมีดังนี้



การฝึกหัดเป่าแคนของชาวผู้ไทยก็เหมือนกับการฝึกหัดเครื่องดนตรีอื่น ๆ คือเรียนด้วยตนเองจากการสังเกตจดจำจากที่เคยได้ยินได้ฟัง ผู้ที่จะฝึกหัดนิยมไปหาซื้อแคนมาเอง ค่อยศึกษาทีละนิดละหน่อย บางทีก็จะขอคำแนะนำจากผู้ที่เป่าเป็นแล้ว เมื่อจำทำนองอันใดได้ก็เอามาประติดประต่อเป็นของตนเอง สิ่งที่ผู้ฝึกหัดจำเป็นต้องรู้ก็คือต้องรู้ตำแหน่งของเสียงแคนว่าลูกใดเป็นเสียงใด ลูกใดคู่กับลูกใด นอกจากนี้ยังต้องรู้ตำแหน่งของนิ้วมือด้วยว่านิ้วใดใช้กดหรือนับลูกใดบ้าง

เนื่องจากแคนแปดมีลูกแคนข้างละแปดลูก จำเป็นต้องแบ่งหน้าที่ให้เป็นระบบดังนี้คือ 1. หัวแม่มือ มีหน้าที่กดได้เฉพาะลูกที่หนึ่ง (ลูกที่อยู่ใกล้รูเป่าที่สุด) 2. นิ้วชี้ มีหน้าที่กดได้สองลูก คือลูกที่สองกับลูกที่สาม 3. นิ้วกลาง มีหน้าที่กดได้สองลูกคือลูกที่สี่กับลูกที่ห้า 4. นิ้วนาง กดได้สองลูกคือลูกที่หกกับลูกที่เจ็ด 5. นิ้วก้อย มีหน้าที่กดได้ลูกเดียวคือลูกที่แปด คือลูกเล็กที่สุดที่อยู่ปลายสุด ดังแผนผังข้างล่าง

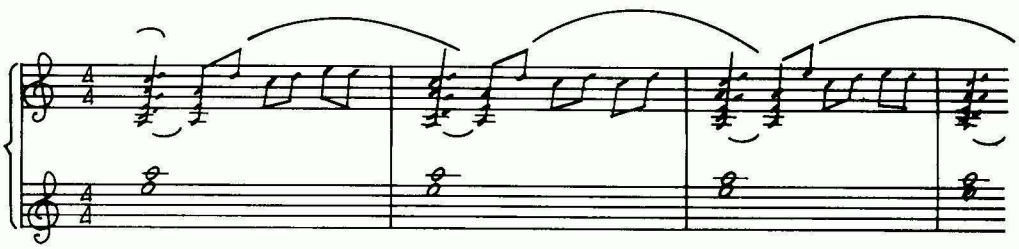


แผนผังแสดงการวางนิ้ว

แคนเป็นเครื่องดนตรีที่สำคัญที่สุดของชาวผู้ไทย เพราะการบรรเลงดนตรีทุกอย่างของชาวผู้ไทยจะต้องอิงแคนเป็นหลัก และทำนองเพลงของเครื่องดนตรีต่าง ๆ ก็ล้วนแล้วแต่ยึดแบบอย่างของเพลงแคนทั้งสิ้น ในสมัยโบราณพวกหนุ่ม ๆ นิยมเป่าแคน ดีดพิณ เดินไปบ้านสาวหรือไม่ก็ไปงานบุญพระเวสฯ พวกหนุ่ม ๆ จะพากันเป่าปี่ เป่าแคน ดีดพิณ สีซอ เลาะตามตูบหรือผาม (ปะรำ) พร้อมกับลำเกี้ยวสาวไปด้วยซึ่งเรียกว่า "ลำเลาะตูบ" แต่ในปัจจุบัน ประเพณีต่าง ๆ เหล่านี้สูญไปแล้ว คงเหลือแต่การบรรเลงประกอบลำและประกอบฟ้อนในงานที่มีการจ้างหาในรูปแบบอื่น ๆ

การผสมวงของดนตรีผู้ไทยไม่มีกำหนดมาตรฐานตายตัว ขึ้นอยู่กับความสะดวกและสิ่งที่พอจัดหาได้ ซึ่งส่วนมากแล้วจะประกอบด้วยแคน พิณ ซอและปี่เป็นหลัก ส่วนเครื่องกำกับจังหวะอื่น ๆ อาจจะมีหรือไม่มีก็ได้ เช่น กลอง กรับหรือฉิ่ง ฉาบ เป็นต้น แต่ดนตรีที่ใช้บรรเลงประกอบการฟ้อนนั้น เครื่องดนตรีที่สำคัญที่สุดคือกลอง โดยเฉพาะอย่างยิ่งกลองหาง (กลองยาว) กลองตุ้ม (กลองที่มีสองหน้า –ตะโพน) กลองกระเบื้อง (กลองหน้าเดียว–รำมะนา) หมากกับแก้บหรือหมากกิ่งแก้บ (กรับ) หมากกลิ้งกล่อม (โปงลาง–ระนาด) สิ่ง (ฉิ่ง) และแส่ง (ฉาบ)

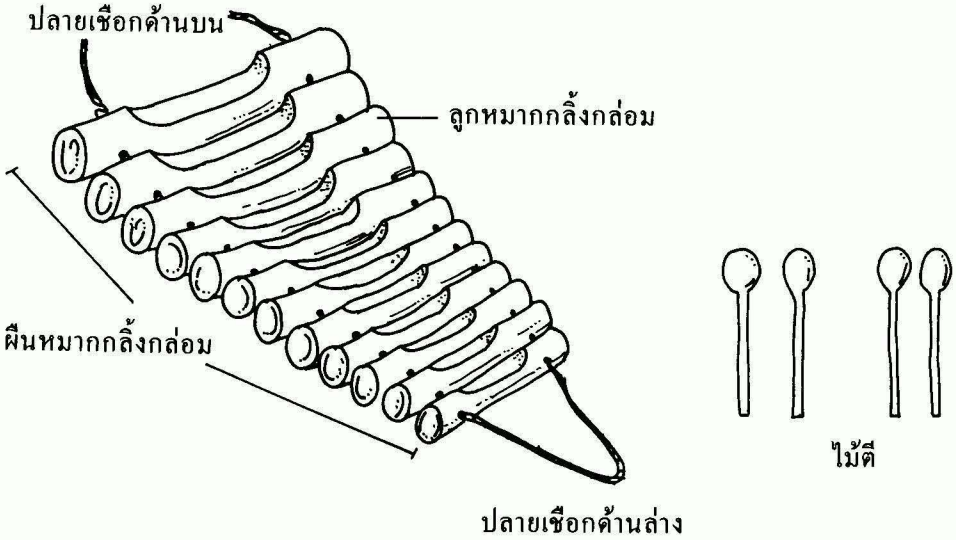
เพลงแคนของผู้ไทยมีอยู่ทำนองเดียวแต่เล่นได้สองทางคือทางเสียงแหลม ซึ่งประกอบด้วยเสียง เร ฟา ซอล ลา โด อาจจะเรียกว่า "ลายผู้ไทยน้อย" นิยมเป่าประกอบหมอลำฝ่ายหญิง และเป่าประกอบหมอเหยา อีกทางหนึ่งคือเสียงทางทุ้ม ประกอบด้วยเสียง ลา โด เร มี ซอล อาจจะเรียกว่า "ลายผู้ไทยใหญ่" นิยมเป่าประกอบหมอลำฝ่ายชาย ตามตัวอย่างโน้ตดังนี้



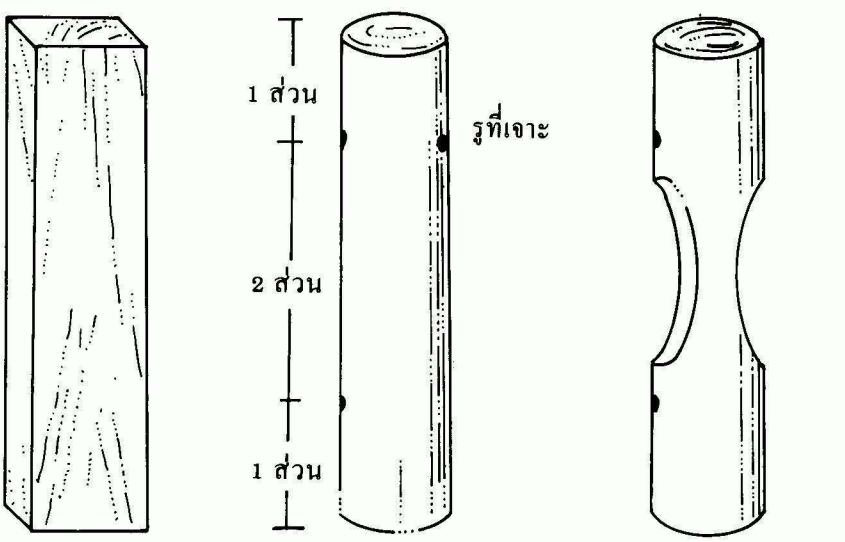
5. หมากกลิ้งกล่อม (หมากโปงลาง)

หมากกลิ้งกล่อมเป็นระนาดขนาดใหญ่ มีชื่อเรียกกันหลายอย่าง เช่น ระนาดยักษ์ ระนาดอีสาน หมากขอลอ และหมากโปงลาง เป็นเครื่องดนตรีที่มีมาแต่โบราณ ที่ได้ชื่อว่าระนาดก็เพราะรูปร่างคล้ายระนาด ที่ได้ชื่อว่าหมากขอลอเพราะแต่ละลูกมีเสียงดังคล้ายเสียงขอลอ (เกราะ) ของผู้ใหญ่บ้าน ที่ได้ชื่อว่าหมากโปงลางเพราะมีเสียงดังเหมือนเสียงโปงลาง (กระดึงสำริด) ที่ผูกไว้หลังวัวต่าง (วัวที่บรรทุกเป้สินค้า) ในสมัยโบราณที่ดัง "โปงลาง–โปงลาง" ที่ได้ชื่อว่า "หมากกลิ้งกล่อม" เพราะมีเสียงไพเราะสามารถกล่อมให้ผู้ฟังเคลิบเคลิ้มหลับไหลได้

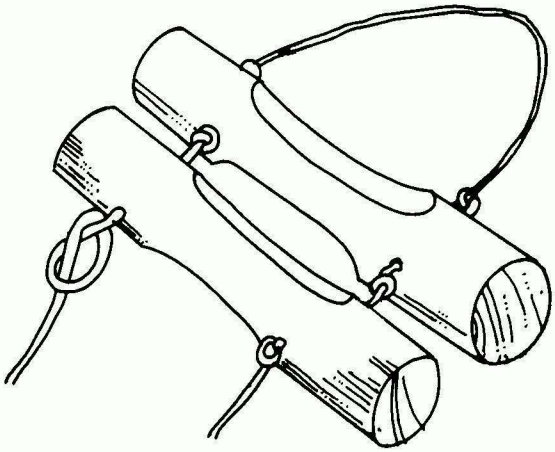
หมากกลิ้งกล่อมแบ่งส่วนประกอบออกเป็น 2 ส่วนคือผืนหมากกลิ้งกล่อมและไม้ตี ผืนหมากกลิ้งกล่อมประกอบด้วยท่อนไม้ที่ตัดและถากให้ได้ขนาดใหญ่เล็กและสั้นยาวลดหลั่นกันตามระดับเสียงที่ต้องการ ส่วนไม้ตีนั้นมี 2 คู่ คู่หนึ่งสำหรับคนตีลูกกล่อม อีกคู่หนึ่งสำหรับคนตีลูกไล่ ลูกหมากกลิ้งกล่อมมีจำนวนประมาณ 12 ลูก ใช้เชือกร้อยรวมกันเข้าเป็นผืน เวลาจะใช้ตีจะต้องนำไปแขวนตามเสาในลักษณะห้อยลงมา ส่วนปลายเชือกด้านล่างบางทีผู้ตีก็ผูกไว้กับขาหรือเอวของตน บางทีก็ผูกกับเสาอื่น ๆ ปัจจุบันเสาหมากกลิ้งกล่อมนิยมทำสำเร็จรูป เพื่อสะดวกในการติดตั้งเวลาจะบรรเลง



หมากกลิ้งกล่อมทำจากไม้เนื้อแข็ง ที่นิยมกันมากคือไม้หมากหาดและไม้หมากเหลื้อม เมื่อโค่นต้นไม้ลงแล้ว ช่างจะเลื่อยลำต้นออกเป็นท่อนขนาดสั้นยาวตามต้องการ จากนั้นจะใช้ขวานผ่าออกเป็นซีกขนาดโตกว่าลูกหมากกลิ้งกล่อม ใช้มีดถากและตัดแต่งให้เป็นแท่งกลม เจาะรูร้อยเชือกด้วยสิ่วหรือสว่าน แล้วถากตรงกลางให้เว้าบางเข้าให้ได้เสียงเท่ากับเสียงแคนดวงที่จะใช้ประกอบกัน โดยจะทำลูกยาวคือลูกที่มีเสียงต่ำที่สุดก่อน ซึ่งอาจจะเป็นเสียง "มี" หรือเสียง "ลา" ก็ได้ ต่อจากนี้จึงจะทำลูกอื่น ๆ ซึ่งมีเสียงสูงขึ้นและขนาดสั้นและเล็กลงเรื่อย ๆ จนครบ ใช้เชือกปอหรือเชือกไนลอนร้อยลูกหมากกลิ้งกล่อมเข้าเป็นผืนและผูกปมเป็นข้อเอาไว้ระหว่างลูกต่าง ๆ ดังรูป

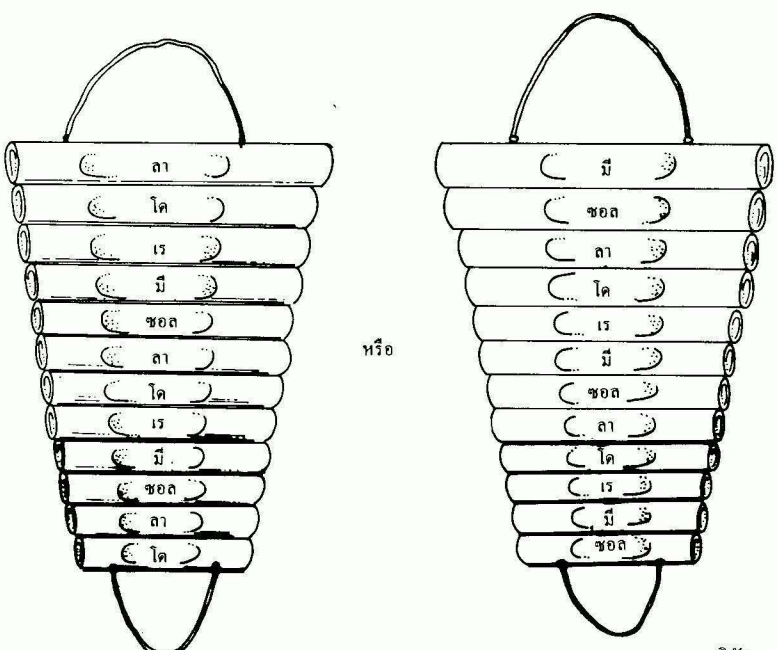


ปมเชือก



การเทียบเสียงลูกหมากกลิ้งกล่อมใช้เทียบกับเสียงแคนเป็นหลัก แต่เทียบเอาเพียง ๕ เสียงเท่านั้น เพราะหมากกลิ้งกล่อมมีห้าเสียงคือ โด เร มี ซอล ลา การจัดลำดับเสียงของลูกหมากกลิ้งกล่อมจัดได้เป็นหลายอย่าง แต่ที่นิยมมากก็คือจัดให้เสียง "ลา" หรือเสียง "มี" เทียบกับลูกที่มีเสียงต่ำสุด (ลูกใหญ่และยาวที่สุด) เมื่อรวมเข้าเป็นชุดก็จะเป็นเสียงดังนี้คือ ลา โด เร มี ซอล ลา โด เร มี ซอล ลา โด หรือ มี ซอล ลา โด เร มี ซอล ลา โด เร มี ซอล

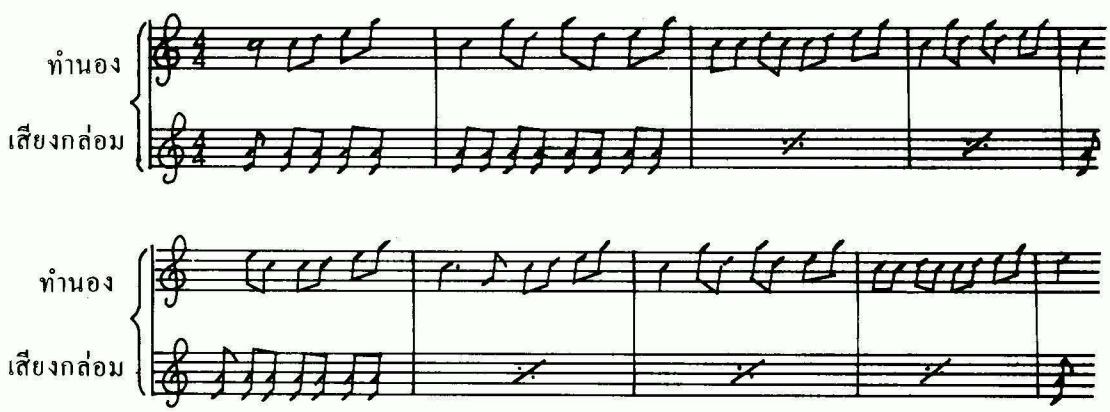
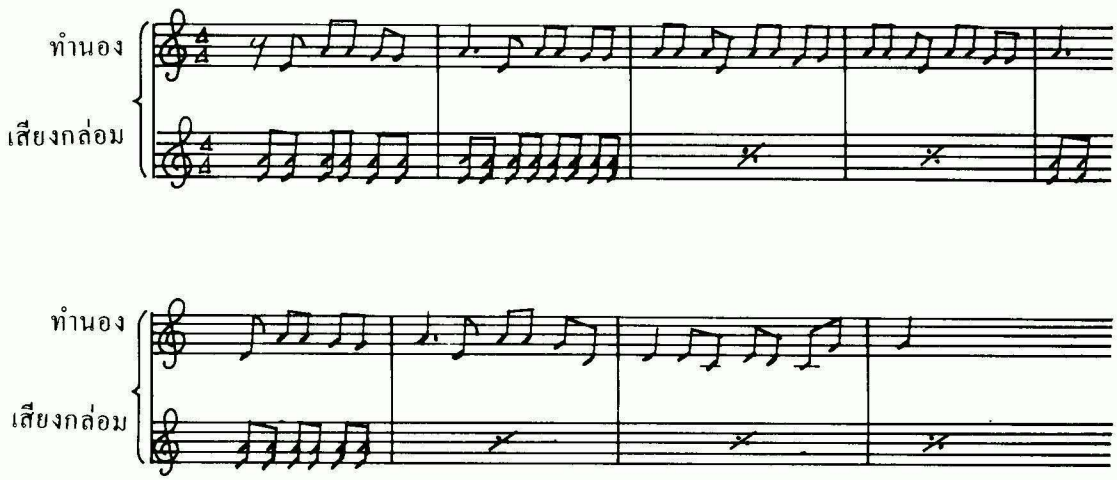
การเทียบเสียงหมากกลิ้งกล่อมกับแคนอาจทำได้สองวิธีคือ ทำหมากกลิ้งกล่อมให้ตรงกับเสียงแคนที่จะใช้ หรืออาจจะทำแคนให้ตรงกับเสียงหมากกลิ้งกล่อมก็ได้ แต่การปรับเสียงลูกหมาก-กลิ้งกล่อมนั้นทำได้สองวิธีคือ ถ้าต้องการให้เสียงสูงขึ้นให้ตัดลูกให้สั้นเข้า หากต้องการให้เสียงต่ำลงก็ปาดตรงกลางลูกให้บางเข้าแต่ก็ปรับเสียงลงได้เพียงเล็กน้อย หมากกลิ้งกล่อมเมื่อทำเสร็จแล้วจะได้เสียงดังนี้



การฝึกตีหมากกลิ้งกล่อมนี้บางคนก็ฝึกหัดด้วยตนเองตามที่ได้สังเกตและได้ยินได้ฟังมา เพราะเพลงที่ใช้ตีหมากกลิ้งกล่อมก็เป็นเพลงเดียวกับที่ใช้เป่าแคนหรือดีดกระจับปี่นั่นเอง บางคนก็เรียนจากครูโดยตรงก็มี แต่โดยหลักการแล้วการฝึกหัดตีหมากกลิ้งกล่อมขั้นแรกต้องหัดตีลูกให้ถูกต้องและแม่นยำตามเสียงที่ต้องการ ต่อจากนั้นก็หัดใช้มือให้ถูกต้องว่าเมื่อไรจะใช้มือซ้ายหรือมือขวา หรือทั้งสองมือพร้อมกัน พยายามฟังการบรรเลงของคนอื่นให้มาก ๆ เพื่อจะได้นำทำนองที่ไพเราะของเพลงต่าง ๆ มาปรุงแต่งเข้าเป็นของตน ส่วนคนที่ตีลูกกล่อม (ลูกเสพ) ก็จะตีเสียงคู่ห้าเพอร์เฟคท์ ลา–มี เป็นเสียงยืนไว้สำหรับทางลายใหญ่ สำหรับทางลายน้อยก็จะใช้เสียงกล่อม เร–ลา เป็นเสียงยืน ผู้ตี (ชาวผู้ไทยใช้คำว่า "ต่อย" แทนคำว่า "ดีด" หรือ "ตี") ลูกเสียงกล่อมจะต้องตีให้เข้ากับจังหวะลีลาของแต่ละเพลง

หมากกลิ้งกล่อมเป็นเครื่องดนตรีที่มีเสียงกังวานและไพเราะยิ่งอย่างหนึ่ง จะใช้บรรเลงเดี่ยวหรือบรรเลงผสมวงกับเครื่องดนตรีพื้นบ้านอื่น ๆ ก็ได้ เช่นผสมกับกระจับปี่ แคน ฆ้อง กลอง สิ่งและแส่ง วงดนตรีที่มีหมากกลิ้งกล่อมเหมาะที่จะบรรเลงเป็นดนตรีล้วน ๆ และเหมาะอย่างยิ่งสำหรับบรรเลงประกอบการรำฟ้อนรำต่าง ๆ แต่ถ้าจะบรรเลงประกอบการลำจะต้องจัดระบบเสียงให้สมดุลระหว่างเสียงดนตรีกับเสียงลำ มิฉะนั้นแล้วเสียงดนตรีจะดังกลบเสียงลำหมด

เดิมหมากกลิ้งกล่อมนิยมใช้เฉพาะในหมู่ชาวผู้ไทย แต่ต่อมาได้แพร่หลายไปยังกลุ่มอื่น ๆ โดยเฉพาะอย่างยิ่งกลุ่มลำแคน ฉะนั้นเพลงที่ใช้สำหรับบรรเลงหมากกลิ้งกล่อมจึงมีทั้งเพลงดั้งเดิมของผู้ไทยและเพลงของกลุ่มลำแคน ทั้งยังตั้งชื่อเพลงหรือลายให้เป็นที่น่าสนใจต่าง ๆ นานา เช่น ลายกาเต้น–ก้อน ลายแม่ฮ้างกล่อมลูก ลายผู้ไทยเลาะตูบ ลายลมพัดพร้าว ลายนกไส่บินข้ามทุ่ง เป็นต้น แต่ลายต่าง ๆ เหล่านี้ล้วนเป็นลายที่ดัดแปลงมาจากลายผู้ไทยใหญ่หรือลายผู้ไทยน้อยแทบทั้งสิ้น เพียงแต่ทำให้จังหวะลีลาแปลกออกไป เช่น ให้ช้าหรือเร็ว วังเวง โศกเศร้า หรือคึกคักขึ้น ดังตัวอย่างโน้ตต่อไปนี้

ก. ลายผู้ไทยใหญ่แบบดั้งเดิมเรียบ ๆ

ข. ลายผู้ไทยใหญ่ที่ดัดแปลงจังหวะลีลาออกไป

การลำผู้ไทย

การลำผู้ไทยหมายถึงการขับร้องเพลงที่เป็นทำนองดั้งเดิมของชาวผู้ไทย (ไม่ได้หมายถึงการรำผู้ไทย เพราะถ้าจะให้หมายถึงการรำผู้ไทยจะต้องใช้คำว่า การฟ้อนผู้ไทย) ผู้ขับร้องหรือผู้ลำเรียกว่า "หมอลำ" ซึ่งมีทั้งหมอลำชายและหมอลำหญิง อาจจะมีคนเดียวหรือหลายคนขึ้นอยู่กับลักษณะและประเภทของการลำ

ประเภทของการลำผู้ไทย

ลำผู้ไทยหากจะแบ่งตามลักษณะของจุดมุ่งหมายหรือประโยชน์ของการลำแล้วอาจแบ่งได้เป็น 7 อย่างคือ

1. ลำเลาะบ้าน เป็นการลำของพวกคนหนุ่มที่พากันเดินไปตามทางในหมู่บ้านยามค่ำคืนเพื่อไปเกี้ยวสาว ขณะเดินทางไปบางคนก็เล่นเครื่องดนตรี เช่น เป่าแคน ต่อยกระจับปี่ (ดีดพิณ) เป่าปี่ ดีดจ้องหน่อง บางคนที่ลำได้ก็ลำประสานเสียงกับเครื่องดนตรี การลำในลักษณะอย่างนี้จึงเรียกว่า "ลำเลาะบ้าน"

2. ลำเลาะภู เป็นการลำของหนุ่มหรือสาว ขณะออกไปตามไร่นาหรือตามภู เช่นไปเก็บผักหักฟืนหรือของป่าอื่น ๆ เมื่ออยู่กับธรรมชาติที่น่ารื่นรมย์ก็มักจะอดลำไม่ได้ จึงเกิดการลำขึ้น หนุ่มบางคนก็ประทับใจเสียงสาวที่ลำแถวดีนภูก็เกิดอารมณ์ผูกพันถึงกับตามไปเกี้ยวพาราสีจนได้แต่งงานกันก็มี

3. ลำเลาะตูบ เป็นการลำเกี้ยวกันระหว่างหนุ่มสาวที่ไปเที่ยวงานเทศกาล ที่สำคัญคืองานบุญพระเวสฯ ในงานนี้แต่ละหมู่บ้านก็จะมีที่พักชั่วคราวสร้างไว้ต้อนรับภายในวัด ปะรำที่พักที่สร้างไว้นี้เรียกกันว่า "ผาม" หรือ "ตูบ" ส่วนในหรือส่วนที่ยกพื้นเป็นที่สูงก็จะเป็นที่พักของภิกษุสามเณร

ปะรำส่วนนอกก็จะเป็นที่พักของอุบาสกอุบาสิกาที่มาในงานรวมทั้งสาว ๆ ก็จะพากันนั่งอยู่ตามขอบปะรำเหล่านี้ หนุ่มทั้งหลายพร้อมด้วยเครื่องดนตรีอันได้แก่ปี่ แคน ซอ และกระจับปี่ ก็จะพากันเดินเลาะเลียบดู มองหาสาวสวยที่ถูกใจเข้าไปลำเกี้ยว ฝ่ายหญิงอาจตอบด้วยคำผญา (คำเกี้ยวที่กล่าวเป็นกลอน) การลำนี้จึงเรียกว่า "ลำเลาะตูบ"

4. ลำลงข่วง เป็นการลำเกี้ยวกันระหว่างหนุ่มสาวขณะลงข่วงเข็นฝ้าย ในหน้าหนาวสาวผู้ไทยจะพากันรวมกลุ่มกันเข็นฝ้ายตามบริเวณลานบ้าน โดยสร้างเป็นยกพื้นปูด้วยฟาก มีสาวประมาณ 3–5 คนนำหลาเข็นฝ้ายของตนมาตั้งบนยกพื้น ทำงานไปเรื่อย ๆ ตรงกลางข่วงหรือข้างข่วงจะมีไฟกองใหญ่ก่อไว้ให้ความอบอุ่นตลอดเวลา พวกหนุ่มก็จะพากันตระเวนหาสาวตามข่วงต่าง ๆ ถ้าชอบสาวใดที่ข่วงก็จะพากันแวะมาลำเกี้ยว ฝ่ายสาวก็จะตอบด้วยคำผญา การลำชนิดนี้จึงเรียกว่า "ลำลงข่วงเข็นฝ้าย" หรือเรียกสั้น ๆ ว่า "ลำลงข่วง"

5. ลำเสี่ยงโชคชะตา เป็นการลำเพื่อทำนายโชคชะตาราศี แทนที่จะดูดวงแล้วทำนายด้วยคำพูดธรรมดา ก็ทำนายด้วยการลำให้ฟัง ซึ่งจะลำทำนายกันเป็นรายปีไปเลยทีเดียว โดยมากจะตรวจสอบโชคชะตาในปัจจุบัน โชคชะตาย้อนหลังประมาณห้าปี และทำนายอนาคตอีกประมาณห้าปี หมอลำเสี่ยงโชคชะตา เป็นหมอลำผู้ชาย จะใช้เครื่องดนตรีประกอบหรือไม่ก็ได้ การลำเสี่ยงโชคชะตาเป็นการลำที่มีผู้นิยมมากชนิดหนึ่งในหมู่ชาวผู้ไทย

6. ลำอวยพร เป็นการลำอวยพรขอบคุณแก่ผู้นำจตุปัจจัยมาร่วมทำบุญในงาน ซึ่งอาจจะเป็นงานบุญที่วัดหรืองานบุญที่บ้านโดยเฉพาะอย่างยิ่งในงานบุญอุทิศส่วนกุศลแก่ญาติผู้ล่วงลับหรือที่เรียกกันว่า "บุญแจกข้าว" การลำนี้มีหมอลำผู้ชายและลำโดยไม่ต้องใช้ดนตรีประกอบ เพราะผู้ฟังต้องการฟังเฉพาะเสียงลำอวยพรของหมอลำเท่านั้น

7. ลำในพิธีเหยา พิธีเหยาเป็นพิธีกรรมที่จัดขึ้นเพื่อการรักษาคนที่เจ็บป่วย ซึ่งในพิธีนี้ใช้การลำเป็นหลักและใช้แคนเป็นเครื่องเป่าประกอบการลำ ผู้ลำในพิธีเหยาเป็นผู้หญิง มีหลายคนแต่ผลัดเปลี่ยนกันลำ ตัวอย่างกลอนลำของหมอเหยามีดังต่อไปนี้

ห่านี้แม่นว่านอ ครันว่าเวรเฮานี้
โอยเด ทางไปมิทันแหล้ว
เหมิดซุแนวมิทันแล้วเจ้าคุบ่อน ไทยเฮานา...
โอยเด ซาวช้างเฮาอย่าได้เซาหลาย
ซาวควายเฮาอย่าได้เซาซ้า
อันว่าซาวช้างม้าเฮาอย่าอยู่เหิงนาน นา...
สามพันเอยผู้ไดอยู่นำเจ้า
เจ้าฮ้อยผู้ไดอยู่นำนาง เด...
โอยนอคำแพงเอยครันผู้ไดได้เฝ้า
เจ้าผู้ไดได้อยู่แนม นา...

กลอนลำ

กลอนลำที่ใช้ในลำผู้ไทยเป็นกลอนที่มีลักษณะเดียวกันกับที่หมอลำของกลุ่มลำแคนใช้คือ กลอนบทหนึ่งจะมีอยู่ 4 วรรค ๆ หนึ่งมีอยู่ 4 จังหวะ ซึ่งหากจะคิดเป็นจำนวนคำหรือจำนวนพยางค์แล้ว วรรคหนึ่ง ๆ จะมีคำระหว่าง 7–12 พยางค์ ตัวอย่างเช่น

ครันแม่นซายเว้าแล้วแข้วหล่อนบ่มีหนี
แม่นนางตายเป็นผีพี่ซิลงเป็นด้ำ
นำลงป้องยมภิบาลไว้ซะก่อน
บ่ได้ซ้อนซาตินี้ซิหมายซ้อนซาติซิมา
(คำที่ขีดเส้นใต้คือคำที่สัมผัสระหว่างวรรค)

วรรคหนึ่ง ๆ จะแบ่งออกได้เป็น 4 จังหวะดังนี้คือ

ครันแม่นซาย/ เว้าแล้ว/ แข้วหล่อน/ บ่มีหนี
แม่นนางตาย/ เป็นผี/ พี่ซิลง/ เป็นด้ำ
นำ/ ลงป้อง/ ยมภิบาล/ ไว้ซะก่อน
บ่ได้ซ้อน/ ซาตินี้/ ซิหมายซ้อน/ ซาติซิมา
(คำที่ขีดเส้นใต้คือคำที่ลงจังหวะหนัก)

หากจะเปรียบเทียบเป็นจังหวะด้วยโน้ตฝรั่งก็จะได้ดังนี้

นอกจากนี้ก็มีคำห้อยหน้าและห้อยหลังของแต่ละวรรค เพื่อให้ได้ความสมบูรณ์ชัดเจน และได้อารมณ์ตามความหมายและรสของบทกลอน ตัวอย่างเช่น

คำห้อยหน้าของกลอนลำฝ่ายชายมีดังต่อไปนี้คือ โอนอ ว่าโอนอ โอนอนางเอย โอนอน้องเอย นางเอยนาง โอเดพระนางเอย โอเดน้องสาวเอย โอเดน้องเอย โอยสาวผู้ไทยเอย และ โอยสาวผู้ไทยข้อยนี้เอย เป็นต้น

คำห้อยหน้าของกลอนลำฝ่ายหญิงก็มีคล้ายคลึงกันกับฝ่ายชายดังนี้คือ โอเดพี่ซายเอย โอเดบ่าวพี่ซายเอย โอเดพี่ซายเอย โอเดอ้ายเอย โอเดบ่าวผู้ไทยเอย โอพี่ซายเอย โอยเดพี่ซายเอย โอยนอพี่ซายเอย โอนออ้ายเอย ก่อยล่อยน้อยบ่าวไทไกลเอย อ่อยล่อยน้อยบ่าวพี่ซายเอย และอ่อยล่อยน้อยบ่าวผู้ไทยเอย เป็นต้น

คำห้อยหน้ามักจะอยู่ตอนเริ่มต้นของบทกลอนของแต่ละฝ่าย เช่น

ชาย โอยสาวผู้ไทยเอย อ้ายนี้หมายมาหมั้นหมายมาพันความแต่ง
ผู้ไดซังโกรธอ้ายคอยถ้าหล้ะเบิ่งมือ

หรือ หญิง โอเดอ้ายเอย อย่ามาติแถลงเว้าเอาเสามาจักตอก
จักบ่อถึกข้อหย้อบ่ถึกปล้องมันสิเซ้วใส่มือ เจ้าดาย

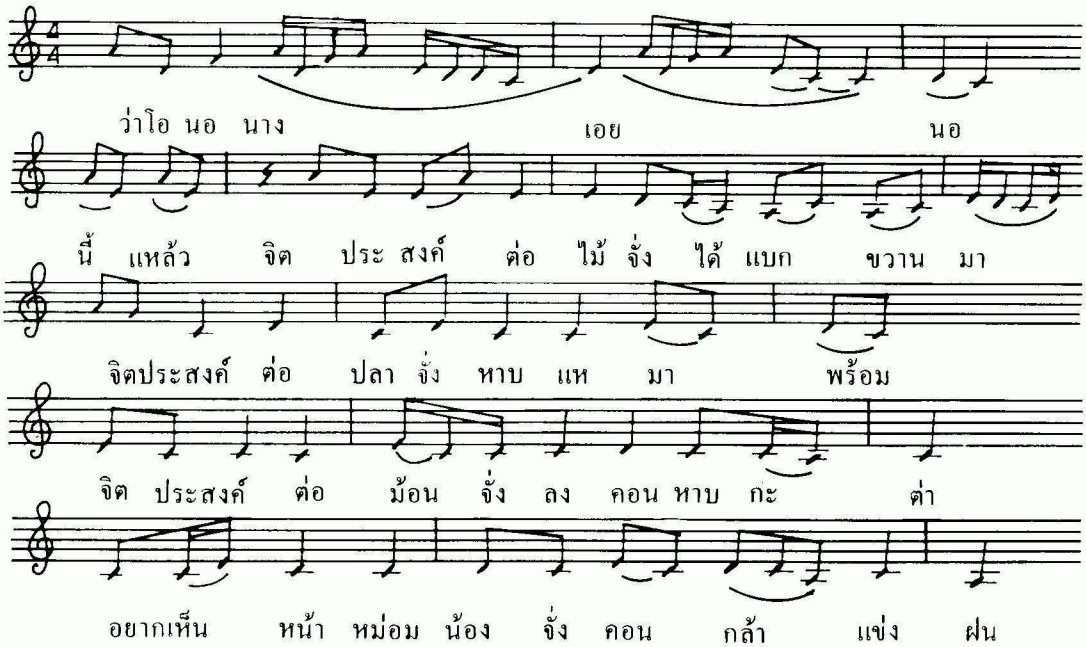
ส่วนคำห้อยหลังนั้นมีมากมาย บางคำก็ใช้เฉพาะฝ่ายชายหรือฝ่ายหญิง แต่ส่วนมากเป็นคำกลาง ๆ ที่ใช้ได้ทั้งฝ่ายชายฝ่ายหญิง เพราะเป็นเรื่องของเนื้อหาสาระของบทกลอน เช่น ขยายความในวรรคนั้น ๆ ให้ได้ความสมบูรณ์และชัดเจนยิ่งขึ้น เช่น

ครันแม่นฟังเสียงเว้าเสียงจามาคือม่วน แท้นอนางเอย หรือ
ครันแม่นกาเวาฮ้องงอยตอนางอย่าได้เว้าต่อ ผู้ไดเดอนางเดอ หรือ
ครันแม่นจักบ่อถึกข้อหย้อบ่ถึกปล้องมันสิเซ้วใส่มือ เจ้าดาย

คำห้อยหลังส่วนใหญ่แล้วจะเป็นคำที่ต้องการเน้นหรือเพิ่มอารมณ์ความรู้สึกแก่บทกลอน เช่น การปลอบประโลมด้วยถ้อยคำที่สุภาพอ่อนโยนให้อีกฝ่ายหนึ่งเคลิบเคลิ้มและหลงใหล เกิดความรัก เกิดความเสน่หาอาลัยอาวรณ์ซึ่งกันและกัน ดังตัวอย่าง

ซายนี้คิดฮอดน้องมื้อนึ่งแม่นสามยาม คำเอย หรือ
พอแต่ลงเฮือนย้ายกรายไปก็เหลียวหล่ำ คำเอยนอ หรือ
ขอให้สายสมรน้องกรุณาผายโผด แด่ถ้อน หรือ
ซายซิเอาะอ่อมอ้อยออยน้องว่าแต่ดี บุญมีเอย

ทำนองลำ

แม้ลำผู้ไทยจะแบ่งออกเป็นหลายประเภทเช่นลำในพิธีเหยา ลำเสี่ยงโชคชะตาราศี ลำอวยพร และลำเกี้ยวผญาต่าง ๆ แต่ลำผู้ไทยมีอยู่ทำนองเดียวเท่านั้น ซึ่งหากจะเทียบกับการลำของกลุ่มลำแคนแล้ว ก็จะเทียบได้กับทำนอง "ลำทางยาว" (ลำทำนองเอื้อน) นั่นเอง ลำผู้ไทยเป็นทำนองลำจังหวะช้าและเยือกเย็นค่อนไปทางโศก แต่ชาวผู้ไทยกลับไม่มีความคิดในเรื่องโศกหรือไม่โศก พึงใจแต่เพียงว่าทำนองลำผู้ไทยนั้นมีความไพเราะเป็นที่ถูกใจของชาวผู้ไทยดีแล้ว ถึงแม้ทำนองลำผู้ไทยจะมีอยู่เพียงทำนองเดียว แต่เทคนิคการลำมีความวิจิตรพิสดารอย่างยิ่ง โดยเฉพาะถ้อยคำที่มีการเอื้อนเช่น คำห้อยหลังดังปรากฏตามโน้ตที่ถอดมาคร่าว ๆ ดังนี้

การฟ้อนผู้ไทย

การฟ้อนผู้ไทยเป็นศิลปการแสดงที่ขึ้นหน้าขึ้นตามากอย่างหนึ่งของชาวผู้ไทย การฟ้อนผู้ไทยชุดแรกที่มีคนรู้จักมากที่สุดคือชุดฟ้อนผู้ไทยที่อาจารย์ปัน วงศ์เทพ (ถึงแก่กรรมแล้ว) โรงเรียนบ้านหนองศาลา ตำบลพังขว้าง อำเภอเมือง จังหวัดสกลนคร เป็นผู้ประดิษฐ์และปรับปรุงขึ้น โดยดัดแปลงทำนองมาจากเพลงแม่แล้ลำปางของชาวเหนือ และแต่งบทร้องขึ้นประกอบดังนี้

ไปเยอเฮาไป ไปโห่เอาชัยเอาช่อง
ไปโฮมพี่โฮมน้อง ไปช่วยแช่ชร้องเอาชัย
เทิงเขาแสนจน หนทางก็ลำบาก
ข้อยสู้ทนยาก มาร้องรำให้เพิ่นชม
ข้อยอยู่เทิงเขา ยังเอาใจมาช่วย
พวกข้อยขออำนวย อวยชัยให้ละเนอ
ขออำนาจไตรรัตน์ จงปกปักรักษา
ชาวไทยทั่วหน้า ให้วัฒนาสืบไป
เวลาก็จวน ข้อยสิ้ด่วนจากไป
ขอความมีชัย แก่ทุกท่านเทอญ
ข้อยลาละเนอ ข้อยลาละเนอ

ปัจจุบันการฟ้อนผู้ไทยได้เป็นที่นิยมแพร่หลายเข้าไปยังสถานศึกษาต่าง ๆ ทุกระดับ เช่น ตามโรงเรียนประถมศึกษา โรงเรียนมัธยมศึกษา วิทยาลัยครู วิทยาลัยนาฏศิลป์ และมหาวิทยาลัย ทางวิทยาลัยนาฏศิลป์ร้อยเอ็ดก็ได้ส่งคณาจารย์ทางนาฏศิลป์ออกไปเก็บข้อมูลด้านการฟ้อนผู้ไทยจากแหล่งต่าง ๆ นำมาสอนในวิทยาลัยนาฏศิลป์ และมหาวิทยาลัยศรีนครินทรวิโรฒมหาสารคามก็ได้ทำการศึกษาค้นคว้านำมาสอนแก่นิสิตนักศึกษา ตลอดจนนำออกเผยแพร่ตามที่ต่าง ๆ อยู่เสมอ และเป็นที่ชื่นชอบแก่ผู้ได้ดูได้ชมเป็นอันมาก

การฟ้อนผู้ไทยอาจจะมีผู้ฟ้อนเป็นหญิงล้วน หรือมีทั้งชายและหญิง ทั้งนี้ขึ้นกับลักษณะเนื้อหาของท่าที่ฟ้อน และจำนวนผู้ฟ้อนก็อาจจะมีตั้งแต่สองคนขึ้นไปถึงจำนวนเป็นร้อยก็ได้ ทั้งนี้แล้วแต่ความเหมาะสม

เครื่องแต่งกายฝ่ายหญิงประกอบด้วย เสื้อ ผ้าซิ่น ผ้าสไบ ดอกไม้ ตุ้มหู สร้อยสังวาล และเข็มขัด เสื้อฝ่ายหญิงเป็นเสื้อแขนกระบอกยาวหรือแขนสามส่วนสีคราม หรือสีดำ คอตั้งหรือคอธรรมดา ตรงปลายแขนหรือปลายคอเสื้ออาจทำเป็นแถบสีหรือแถบผ้าขิดที่สวยงาม ส่วนผ้าซิ่นนั้นอาจจะเป็นผ้าฝ้ายย้อมสีครามหรือสีดำ หรืออาจเป็นผ้ามัดหมี่มีเชิงเป็นลายขิดที่สวยงาม ผู้ที่ใส่ผ้าซิ่นที่แยกกับเสื้อจำเป็นต้องคาดเข็มขัด เช่นเข็มขัดนาคหรือเข็มขัดเงิน แต่ผู้ที่ใช้ชุดเสื้อและผ้าถุงต่อกันก็ไม่จำเป็นต้องใช้เข็มขัด แต่ก็ยังนิยมทำเป็นแถบสีคาดไว้แทนเข็มขัด ผ้าสไบก็เป็นของจำเป็นมากสำหรับผู้ฟ้อนฝ่ายหญิง บางท่านก็เรียกว่าผ้าเบี่ยงหรือแพรวา อาจเป็นผ้าขิดหรือผ้าถัก ใช้พาดบนไหล่ซ้ายหรือพันเฉลียงไหล่ซ้ายกับลำตัวด้านขวา หรือคล้องคอก็มี นอกจากนี้ฝ่ายหญิงนิยมปักดอกไม้สดแซมไว้ที่ผม มีตุ้มหู และสร้อยสังวาล เป็นต้น

การแต่งกายของฝ่ายชายนิยมใส่เสื้อม่อฮ่อมสีครามหรือสีดำแขนสั้น กางเกงขาก๊วยสีเดียวกัน ใช้ผ้าขาวม้าคาดเอว และมีสร้อยสังวาล เช่นเดียวกันกับฝ่ายหญิง บางทีคณะฟ้อนผู้ไทยอาจจะใช้หญิงแต่งตัวเป็นชาย โดยนุ่งกางเกงขาสั้นและใส่เสื้อม่อฮ่อม ผ้าขาวม้าคาดเอวและคาดศีรษะ

ท่าฟ้อนของการฟ้อนผู้ไทยมีผู้สืบต่อและปรับปรุงกันมากมายหลายท่า บางท่าก็ไม่มีชื่อเรียก เรียกกันแต่เพียงเป็นที่หมายรู้ว่า "ท่าฟ้อนผู้ไทย" ท่าฟ้อนผู้ไทยมีชื่อต่าง ๆ ดังต่อไปนี้คือ* ท่าดอกบัวตูม ท่าดอกบัวบาน ท่าม้วนข้าง ท่ามโนราห์ ท่ากาเต้นก้อน ท่าเสือออกเหล่า ท่าหนุมานถวายแหวน และท่าสีดาเสาะหาด และข้อมูลที่ได้จากอาจารย์ไชยบดินทร์ สาลีพันธุ์ โรงเรียนเรณูวิทยาคาร อำเภอเรณูนคร จังหวัดนครพนม เมื่อปี พ.ศ. 2528 ว่ามีท่าต่อไปนี้คือ ท่าเตรียม ท่านกกะบาบิน ท่ากาเต้นก้อน ท่านกไส่บินข้ามทุ่ง ท่าถวายแหวน ท่าเสือออกเหล่า ท่าเตี้ยเป็ด ท่าก้อนข้าวเย็น ท่าฟ้อนม้วน ท่าฟ้อนส่าย ท่าฟ้อนบูชา ท่าจระเข้ฟาดหาง และท่าบายศรีสู่ขวัญ เป็นต้น

---

* จากคำบอกเล่าของ อาจารย์ปัน วงศ์เทพ

เครื่องดนตรีที่สำคัญที่สุดได้แก่แคนและกลองหาง นอกจากนี้อาจจะมีพิณ กระจับปี่ ซอ ปี่ หมากกลิ้งกล่อม (โปงลาง) กลองตุ้ม (ตะโพน) สิ่ง (ฉิ่ง) แส่ง (ฉาบ) หมากกับแก้บ (กรับ) ฆ้อง (โหม่ง) และพังฮาด (ฆ้องโบราณไม่มีปุ่ม) เป็นต้น

เพลงที่ใช้บรรเลงประกอบการฟ้อนผู้ไทยไม่มีกำหนดที่แน่นอนแต่อย่างใด แต่ส่วนใหญ่แล้วเป็นเพลงแคนลายผู้ไทยใหญ่หรือลายผู้ไทยน้อย ข้อสำคัญอยู่ที่จังหวะลีลาของเพลงและจังหวะลีลาของเสียงกลอง ซึ่งวรรคหรือประโยคหนึ่ง ๆ ของเพลงจะมี 4 จังหวะ ในการบรรเลงจะมีการขับร้องหรือไม่มีก็ได้

การฟ้อนผู้ไทยนอกจากจะให้ความรื่นเริงบันเทิงใจแก่ผู้ชมและผู้ฟ้อนเองแล้ว ยังเป็นสื่อในการสังสรรค์สมาคมของคนหนุ่มสาวที่จะมีโอกาสได้รู้จักกัน เพื่อเลือกหาคู่ครองของตนต่อไป

สรุป

แม้ชาวผู้ไทยจะพยายามรักษาขนบประเพณีต่าง ๆ รวมทั้งการดนตรีและนาฏศิลป์ไว้ได้เป็นอย่างดีก็ตาม แต่ก็พบว่ามีหลายสิ่งหลายอย่างที่ค่อย ๆ ผสมกลมกลืนกับวัฒนธรรมที่อยู่ข้างเคียง เช่น คณะดนตรีผู้ไทยของชาวบ้านหนองโอ ตำบลโนนยาง กิ่งอำเภอหนองสูง จังหวัดมุกดาหาร ก็รับเอาการเล่นหนังตะลุงของกลุ่มลำแคนจากจังหวัดอุบลราชธานี และรับเอาการเล่นลิเกจากของภาคกลาง (หรือของโคราช) เลิกใช้ซอบั้งไม้ไผ่ซึ่งเป็นซอดั้งเดิม หันมาใช้ซอปี๊บเล็กของกลุ่มลำแคน คณะหมอลำของบ้านแก่นทราย ตำบลสำราญ อำเภอคำม่วง จังหวัดกาฬสินธุ์ รับเอาวัฒนธรรมลำหมู่กับหนังตะลุงของกลุ่มลำแคน และหมอลำผู้ไทยบางคนก็เคยฝึกหัดลำกลอนจากกลุ่มลำแคนจนเป็นหมอลำกลอนก็มี หรือนิยมเป่าแคนลายอื่น ๆ ที่เป็นของกลุ่มลำแคน เช่นลายสุดสะแนน ลายลำเพลิน เป็นต้น นอกจากนี้หมอลำผู้ไทยบางคนยังหันไปเอาดีทางเล่นหมอลำหมู่เป็นอาชีพด้วย

ถ้าจะว่าไปแล้วก็เป็นไปตามหลักทางเศรษฐกิจ หลักของประโยชน์ใช้สอย สิ่งใดที่ไม่ก่อให้เกิดประโยชน์จนไม่สามารถดำรงตนอยู่ได้ สิ่งนั้นก็จะเสื่อมสูญไปในที่สุด สิ่งดีงามหลายอย่างกำลังจะสูญสิ้นไป สมควรที่ผู้รู้และผู้มีบารมีทั้งหลายควรจะเอาใจใส่ หาทางอนุรักษ์และทำนุบำรุงศิลปะและวัฒนธรรมอันดีงามเช่น การดนตรีและนาฏศิลป์ของชาวผู้ไทยเอาไว้ โดยการส่งเสริมให้มีการศึกษาวิจัยให้กว้างขวางและลึกซึ้งยิ่ง ๆ ขึ้นไป แล้วนำผลที่ได้จากการวิจัยออกเผยแพร่ในรูปแบบต่าง ๆ เช่นทำเป็นตำรา คู่มือการทำเครื่องดนตรี คู่มือการเล่นดนตรีแต่ละชนิด คู่มือการลำ และคู่มือการฟ้อน เป็นต้น

นอกจากนี้ควรหาโอกาสให้ศิลปินพื้นบ้านได้ออกแสดงในงานต่าง ๆ ของราชการตลอดจนออกอากาศทางวิทยุและโทรทัศน์ ให้ทุนการศึกษาแก่นักเรียน นิสิตนักศึกษาและผู้สนใจอื่น ๆ สร้างหลักสูตรดนตรีพื้นบ้านสำหรับการศึกษาระดับต่าง ๆ อย่างทั่วถึง

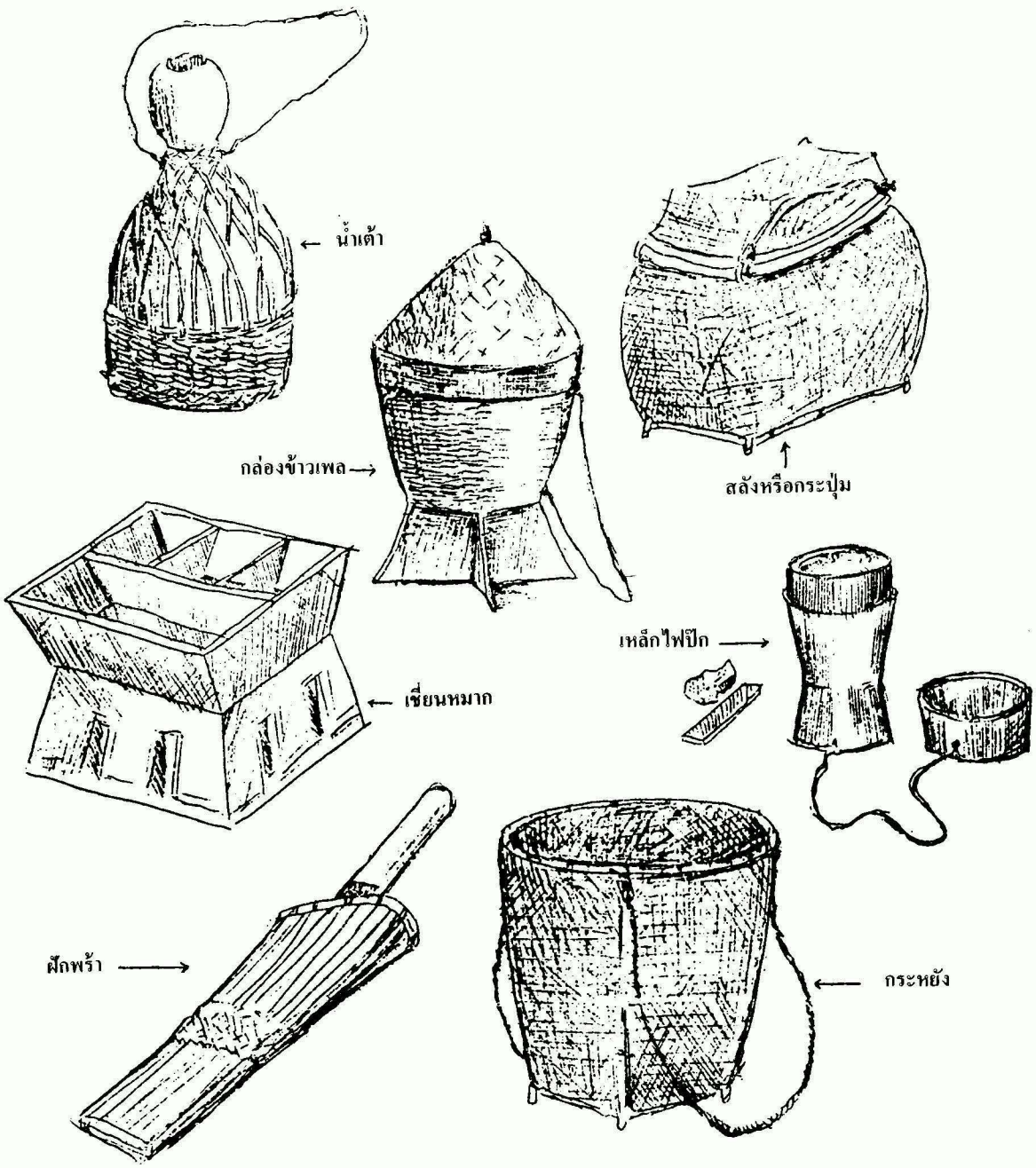
คำขอบคุณ

ผู้วิจัยใคร่ขอขอบคุณ อาจารย์เมธา คำบุศย์ โรงเรียนร้อยเอ็ดวิทยาลัย และอาจารย์มุณี พันธุ์ทวี แห่งมหาวิทยาลัยศรีนครินทรวิโรฒ มหาสารคาม ที่ได้กรุณาวาดรูปเครื่องใช้ประจำครัวเรือนของชาวผู้ไทย และรูปเครื่องดนตรีผู้ไทย

นอกจากนี้ผู้วิจัยใคร่ขอขอบคุณศิลปินชาวผู้ไทย ได้แก่ ศิลปินคณะบ้านโพนสวาง ตำบลกุดสิมคุ้มใหม่ อำเภอเขาวง จังหวัดกาฬสินธุ์ คณะบ้านหนองโอ ตำบลโนนยาง กิ่งอำเภอหนองสูง จังหวัดมุกดาหาร คณะบ้านหนองแก่นทราย ตำบลสำราญ อำเภอคำม่วง จังหวัดกาฬสินธุ์ ช่างแคน บ้านจำปาทอง (บ้านโพนตูม) ตำบลก้านเหลือง อำเภอนาแก จังหวัดนครพนม อาจารย์ไชยบดินทร์ สาลีพันธุ์ และคณะฟ้อนผู้ไทย โรงเรียนเรณูวิทยาคาร อำเภอเรณูนคร จังหวัดนครพนม ตลอดจนผู้มีส่วนช่วยเหลือในด้านอื่น ๆ โดยเฉพาะอย่างยิ่งมหาวิทยาลัยศรีนครินทรวิโรฒที่กรุณาให้ทุนสนับสนุนในการวิจัย

บรรณานุกรม

1. เกษรราช, ถวิล. ประวัติผู้ไทย. กรุงสยามการพิมพ์, 2512, 472.
2. จันลาวงศ์, ถวิล. ผู้ไทยรำลึกกาฬสินธุ์ครั้งที่ 2. โรงพิมพ์สุ่งไค่, 2515, 62.
3. วงศ์ประทุม, ฉรงค์. วิเคราะห์ภาษาภูไทย อำเภอวาริชภูมิ จังหวัดสกลนคร. มหาวิทยาลัยศรีนครินทรวิโรฒ มหาสารคาม, 2521, 95.
4. ยี่วาศรี, นงลักษณ์. ลำผู้ไทย. มหาวิทยาลัยศรีนครินทรวิโรฒ มหาสารคาม, 2525, 73.
5. ขนิษฐานันท์, วิไลวรรณ. ภาษาผู้ไทย. มหาวิทยาลัยธรรมศาสตร์, 2520, 109.



รูปที่ 1. เครื่องใช้ประจำครัวเรือนของชาวผู้ไทย

วารสารสำนักงานคณะกรรมการวิจัยแห่งชาติ

วัตถุประสงค์

เพื่อส่งเสริมวิทยาการ เผยแพร่ผลงานวิจัยและงานสำรวจต่าง ๆ ทางด้านวิทยาศาสตร์และสังคมศาสตร์ที่จัดทำขึ้นในประเทศไทย ในขณะเดียวกันก็เพื่อให้เป็นสื่อการแลกเปลี่ยนความรู้ทางด้านวิจัยกับต่างประเทศ

หลักเกณฑ์การส่งรายงานวิจัยลงวารสาร

1. รายงานวิจัยจะต้องทำในประเทศไทยและไม่เคยตีพิมพ์ในวารสารใดวารสารหนึ่งมาก่อน
2. ต้นฉบับเป็นตัวพิมพ์ดีดหรือลายมือที่อ่านง่าย ภาษาอังกฤษหรือภาษาไทย หรือภาษาไทยปนคำศัพท์ภาษาอังกฤษ (ในกรณีที่คำศัพท์ภาษาอังกฤษเป็นคำเฉพาะที่แปลไม่ได้หรือแปลแล้วได้ความหมายไม่ชัดเจน)
3. การวางรูปต้นฉบับ ประกอบด้วย
   - 3.1 ชื่อเรื่อง ชื่อและนามสกุลผู้เขียน สถาบันที่สังกัด และที่อยู่สำหรับการติดต่อ ทั้งภาษาไทยและอังกฤษ
   - 3.2 บทคัดย่อ (Abstract) สรุปเนื้อหา และรายละเอียดที่จำเป็นของเรื่อง ทั้งภาษาไทยและอังกฤษ
   - 3.3 คำนำ (Introduction)
   - 3.4 อุปกรณ์และวิธีการ (Materials and Methods)
   - 3.5 ผล (Results)
   - 3.6 อภิปรายและวิจารณ์ (Discussion)
   - 3.7 สรุป (Conclusion)
   - 3.8 คำขอบคุณ (Acknowledgement)
   - 3.9 เอกสารอ้างอิง (References) เรียงตามลำดับอักษรชื่อสกุลขึ้นก่อนตามด้วยชื่อบทความ ชื่อหนังสือหรือวารสาร ปีพิมพ์ เล่มที่ หน้า (ถ้าเป็นหนังสือต้องมีสำนักพิมพ์ และเมืองพิมพ์ด้วย)
   - 3.10 ตาราง (Table)
   - 3.11 ภาพ (Figure) ภาพลายเส้นควรเขียนด้วยหมึกดำบนกระดาษการ์ด ถ้าเป็นภาพถ่ายขาว-ดำควรใช้ขนาดโปสการ์ด และควรเลือกภาพที่ชัดเจนที่สุด
4. ความยาวของรายงานวิจัยประมาณ 15-30 หน้า

ระยะเวลาการส่งต้นฉบับ

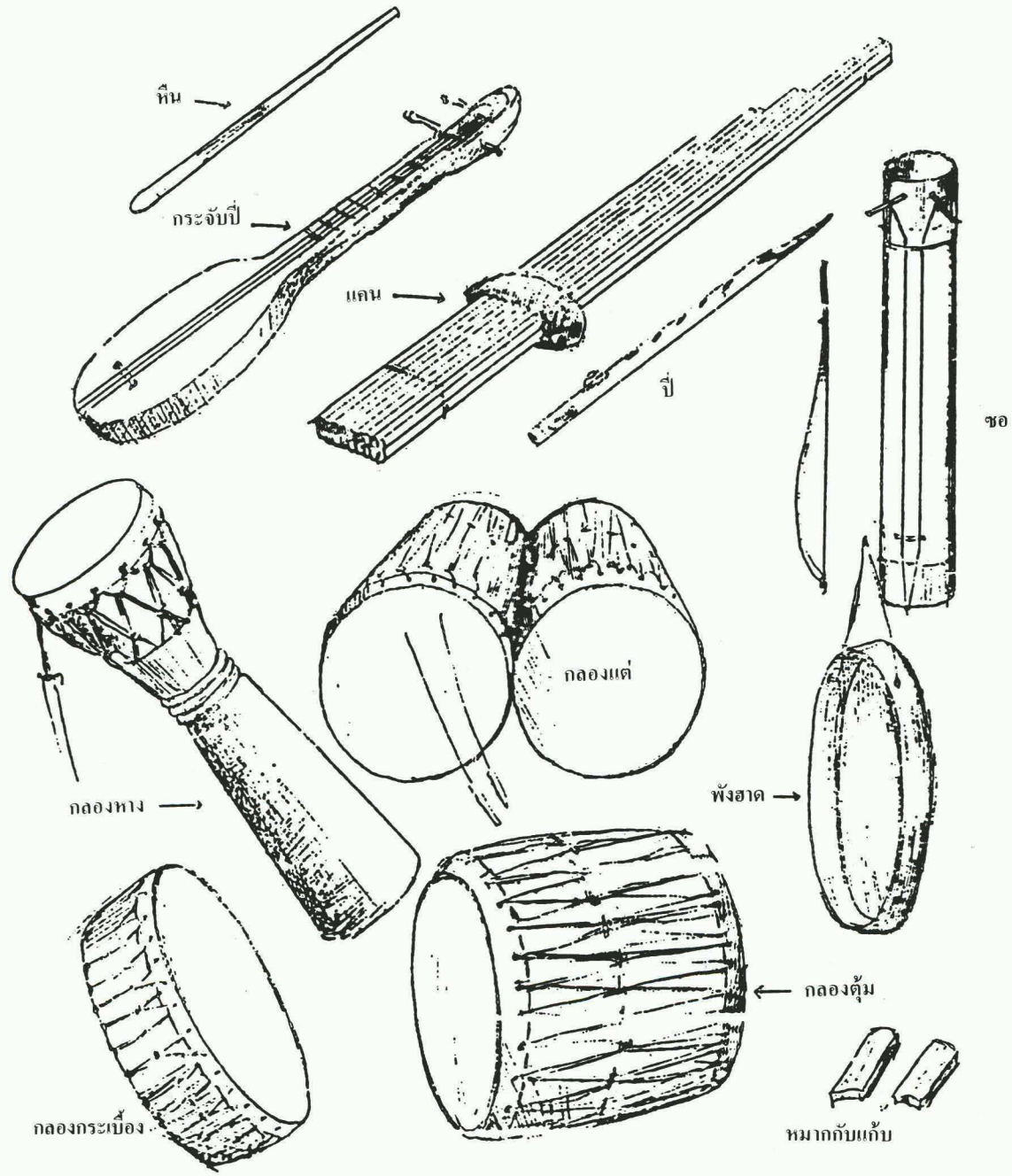
- ภายในเดือนกันยายน สำหรับวารสารเล่มที่ 1
- ภายในเดือนมีนาคม สำหรับวารสารเล่มที่ 2

การส่งต้นฉบับ

ส่งมาที่ : ผู้อำนวยการกองแปลและวิเทศสัมพันธ์
กองแปลและวิเทศสัมพันธ์
สำนักงานคณะกรรมการวิจัยแห่งชาติ
บางเขน กรุงเทพฯ 10900
โทรศัพท์ 5792285

หมายเหตุ

1. รายงานวิจัยที่ได้รับการตีพิมพ์จะต้องผ่านการพิจารณาให้ความเห็นชอบและตรวจแก้ไขจากผู้แทนสาขาประจำกองบรรณาธิการวารสารทุกครั้ง
2. ผู้เขียนจะได้รับวารสาร 1 เล่ม และ Reprint 75 เล่ม



รูปที่ 2. เครื่องดนตรีผู้ไทย

รูปที่ 3. วงดนตรีผู้ไทย คณะบ้านโพนสวาง อำเภอเขาวง จังหวัดกาฬสินธุ์

รูปที่ 4. คณะฟ้อนผู้ไทย โรงเรียนเรณูวิทยาคาร อำเภอเรณูนคร จังหวัดนครพนม

สารบาญ

วารสารสำนักงานคณะกรรมการวิจัยแห่งชาติ ปีที่ ๑๙ เล่มที่ ๑ ม.ค.-มิ.ย. ๒๕๓๐

วิทยาศาสตร์

ฤทธิ์ของสารสกัดจากมะระในการลดน้ำตาลในเลือดของกระต่ายปกติและกระต่ายที่เป็นเบาหวานจาก alloxan 1

จงกล เที่ยงดาห์ และคณะ

การศึกษาปริมาณเหล็กที่จะถูกดูดซึมได้ในอาหารไทย และปัจจัยที่มีผลเกี่ยวข้อง 13

นภมน ศรีตงกุล และคณะ

ความเข้มข้นของยาฆ่าแมลงที่ไม่ถูกต้องตามฉลากซึ่งอาจก่อให้เกิดปัญหาต่ออนามัยสิ่งแวดล้อม 45

กาญจนา ภู่มาลา และ สมจิตต์ วิริยานนท์

การศึกษาเชื้อแอคติโนมัยซีตีสจากดินถ้ำบริเวณภาคกลางของประเทศไทยที่สามารถสร้างสารปฏิชีวนะ 61

สมยศ ลออปักษา และคณะ

สังคมศาสตร์

หมอพระในประเทศไทย 1

เดวิด กอสลิง

ดนตรีผู้ไทย 11

เจริญชัย ขนไพโรจน์

เรื่องต่าง ๆ ที่ปรากฏในวารสารนี้จะนำไปตีพิมพ์ ณ ที่อื่นได้ต่อเมื่ออ้างถึงสำนักงานคณะกรรมการวิจัยแห่งชาติไว้เป็นหลักฐาน ข้อคิดเห็นในบทความเป็นของผู้เขียนโดยเฉพาะ ซึ่งสำนักงานคณะกรรมการวิจัยแห่งชาติไม่จำเป็นจะต้องเห็นพ้องด้วยเสมอไป

CONTENTS

Journal of the National Research Council Vol. 19, No. 1, Jan. - Jun. 1987

Natural Science

The Hypoglycemic Activity of *Momordica charantia* L. in Normal and Alloxan Diabetic Rabbits 1
Chongkol Tiangda et al.

Studies of Ionizable Iron in Thai Foods and Its Influencing Factors 13
Nopamon Sritongkul et al.

Improper Labelled Concentration of Pesticide Formulation, a Cause of an Environmental Health Problem 45
Kanjana Pumala and Somchit Viriyanondha

Study on Antibiotic-producing Actinomycetes from Cave Soil in Central Region of Thailand 61
Somyot Laorpaksa et al.

Social Science

Thailand's Bare-headed Doctors 1
David Gosling

The Phu-Thai Music 11
Jaroenchai Chonpairot

Articles and other material published in this Journal may be reproduced, provided due acknowledgement is made. Signed articles express the views of the author and not necessarily those of the National Research Council