

JOURNAL OF

# SCIENCE AND TECHNOLOGY

MAHASARAKHAM UNIVERSITY

Volume 44 Number 6 November - December 2025

ISSN (Print) : 2985-2617  
ISSN (Online) : 2985-2625

JOURNAL OF SCIENCE AND TECHNOLOGY  
MAHASARAKHAM UNIVERSITY  
INDEXED IN



# วารสารวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยี มหาวิทยาลัยมหาสารคาม

## วัตถุประสงค์

วารสารวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยี มหาวิทยาลัยมหาสารคาม จัดทำขึ้นโดยมีวัตถุประสงค์เพื่อเป็นแหล่งเผยแพร่ผลงานทางวิชาการที่มีคุณภาพของนักวิชาการทั้งในและต่างประเทศ โดยเผยแพร่บทความวิจัย (research article) บทความปริทัศน์ (review article) ในสาขาวิชาต่างๆ ได้แก่ คณิตศาสตร์ วิทยาศาสตร์ เทคโนโลยี วิศวกรรมศาสตร์ เกษตรศาสตร์ แพทยศาสตร์ วิทยาศาสตร์สุขภาพ และสหวิทยาการด้านวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยี

## เจ้าของ

มหาวิทยาลัยมหาสารคาม  
สำนักงานกองบรรณาธิการ  
กองส่งเสริมการวิจัยและบริการวิชาการ มหาวิทยาลัยมหาสารคาม  
ตำบลขามเรียง อำเภอกันทรวิชัย จังหวัดมหาสารคาม 44150  
โทรศัพท์ภายใน 1754 โทรศัพท์ 0-4371-9827

## ที่ปรึกษา

อธิการบดีมหาวิทยาลัยมหาสารคาม  
ศาสตราจารย์ ดร.วิสุทธิ์ ไบไม่  
ศาสตราจารย์ ดร.วิชัย บุญแสง  
ศาสตราจารย์ ดร.พีระศักดิ์ ศรีนิเวศน์

## บรรณาธิการ

ศาสตราจารย์ ดร.ปรีชา ประเทพา

## ผู้ช่วยบรรณาธิการ

ศาสตราจารย์ ดร.ไพโรจน์ ประมวล  
มหาวิทยาลัยมหาสารคาม  
ศาสตราจารย์ ดร.ศิริธร ศิริอมพรพรณ  
มหาวิทยาลัยมหาสารคาม  
ศาสตราจารย์ ดร.อนงค์ฤทธิ์ แข็งแรง  
มหาวิทยาลัยมหาสารคาม  
รองศาสตราจารย์ นายสัตวแพทย์ ดร.วรพล เองวานิช  
มหาวิทยาลัยมหาสารคาม  
รองศาสตราจารย์ ดร.วัลยา สุทธิชา  
มหาวิทยาลัยมหาสารคาม  
รองศาสตราจารย์ ดร.อรวิทย์ กุมพล  
มหาวิทยาลัยมหาสารคาม  
ผู้ช่วยศาสตราจารย์ ดร.สมนึก พ่วงพรพิทักษ์  
มหาวิทยาลัยมหาสารคาม

## กองบรรณาธิการ

ศาสตราจารย์ ดร.ทวีศักดิ์ บุญเกิด  
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย  
ศาสตราจารย์ ดร.ละอศรี เสนาะเมือง  
มหาวิทยาลัยขอนแก่น  
ศาสตราจารย์ ดร.ปราณี อานเป็รื่อง  
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย  
ศาสตราจารย์ ดร.นิวัฒน์ เสนาะเมือง  
มหาวิทยาลัยขอนแก่น  
ศาสตราจารย์ ดร.วงศา เล้าหศิริวงศ์  
มหาวิทยาลัยขอนแก่น  
ศาสตราจารย์ ดร.ขวัญใจ กนกเมธากุล  
มหาวิทยาลัยขอนแก่น

ศาสตราจารย์ นายแพทย์ศิริเกษม ศิริลักษณ์  
มหาวิทยาลัยนครสวรรค์  
รองศาสตราจารย์ ดร.สุนันท์ สายกระสุน  
มหาวิทยาลัยมหาสารคาม  
รองศาสตราจารย์ ดร.สุวรรณา บุญยะลีพรรณ  
มหาวิทยาลัยขอนแก่น  
รองศาสตราจารย์ ดร.ฉันทนา อารมย์ดี  
มหาวิทยาลัยขอนแก่น  
รองศาสตราจารย์ ดร.บุญจง ขาวสิทธิวงษ์  
สถาบันบัณฑิตพัฒนบริหารศาสตร์  
รองศาสตราจารย์ ดร.พรเทพ ถนนแก้ว  
มหาวิทยาลัยขอนแก่น  
รองศาสตราจารย์ ดร.นฤมล แสงประดับ  
มหาวิทยาลัยขอนแก่น  
รองศาสตราจารย์ ดร.ชวลิต บุญปก  
มหาวิทยาลัยมหาสารคาม  
รองศาสตราจารย์เทอดศักดิ์ คำเหม็ง  
มหาวิทยาลัยนครพนม  
รองศาสตราจารย์ยืน ภู่วรรณ  
มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์  
รองศาสตราจารย์ นายสัตวแพทย์ ดร.ณัฐพล ภูมิพันธุ์  
มหาวิทยาลัยมหาสารคาม  
ผู้ช่วยศาสตราจารย์ ดร.นพรัตน์ พุทธกาล  
มหาวิทยาลัยเทคโนโลยีราชมงคลธัญบุรี  
ผู้ช่วยศาสตราจารย์ ดร.อนุชา เพียรชนะ  
มหาวิทยาลัยราชภัฏอุบลราชธานี  
ผู้ช่วยศาสตราจารย์ ดร.เสกสรรค์ สุขะเสนา  
มหาวิทยาลัยนครสวรรค์  
ผู้ช่วยศาสตราจารย์ ดร.วัลย์พร ทองเจริญบัวงาม  
มหาวิทยาลัยมหาสารคาม  
ผู้ช่วยศาสตราจารย์ ดร.อลงกรณ์ ละม่อม  
มหาวิทยาลัยมหาสารคาม  
อาจารย์ เกสัชกร ดร.รักษ์จินดา วัฒนาลัย  
มหาวิทยาลัยสยาม

## เลขานุการ

ผู้อำนวยการกองส่งเสริมการวิจัยและบริการวิชาการ

## ผู้ช่วยเลขานุการ

พักรัตน์ไฉ่ จันทร์ลอย  
จิรารัตน์ ภูสิญฤทธิ์

## กำหนดเผยแพร่

ปีละ 6 ฉบับ  
ฉบับที่ 1 มกราคม-กุมภาพันธ์  
ฉบับที่ 2 มีนาคม-เมษายน  
ฉบับที่ 3 พฤษภาคม-มิถุนายน  
ฉบับที่ 4 กรกฎาคม-สิงหาคม  
ฉบับที่ 5 กันยายน-ตุลาคม  
ฉบับที่ 6 พฤศจิกายน-ธันวาคม

บทความและความคิดเห็นในวารสารวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยี มหาวิทยาลัยมหาสารคาม เป็นความคิดเห็นของผู้เขียน กองบรรณาธิการไม่จำเป็นต้องเห็นด้วยเสมอไป และบทความในวารสารวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยี สงวนสิทธิ์ตามกฎหมายไทย การจะนำไปเผยแพร่ต้องได้รับอนุญาตเป็นลายลักษณ์อักษรจากกองบรรณาธิการเท่านั้น

## บทบรรณาธิการ

### สาหร่ายหางกระรอก (*Egeria densa*) ชนิดพันธุ์ต่างถิ่นที่มีศักยภาพรบกวนระบบนิเวศน้ำจืด

สาหร่ายหางกระรอก (*Egeria densa*) มีถิ่นกำเนิดในทวีปอเมริกาใต้ เป็นพืชน้ำจืดต่างถิ่นที่ได้รับการรายงานอย่างต่อเนื่องว่ามีผลกระทบต่อโครงสร้างและหน้าที่ของระบบนิเวศน้ำจืดในหลายภูมิภาคทั่วโลก เนื่องจากสามารถตั้งตัวในแหล่งน้ำใหม่ได้รวดเร็ว โดยอาศัยการแตกส่วนของลำต้นและการเจริญเติบโตที่มีอัตราสูง ภายใต้ระดับแสงและอุณหภูมิที่หลากหลาย การก่อตัวของมวลพืชหนาแน่น ทำให้แสงส่องผ่านลดลงและเกิดการเปลี่ยนแปลงของสภาวะแสงใต้น้ำ ส่งผลโดยตรงต่อการสังเคราะห์แสงของพืชพื้นถิ่น และมีความสัมพันธ์กับการลดลงของความหลากหลายทางชีวภาพของพืชน้ำจืด นอกจากนี้ การสลายตัวของมวลชีวภาพขนาดใหญ่ยังมีผลต่อกระบวนการรีดักชันในแหล่งน้ำ ซึ่งเชื่อมโยงกับการลดลงของออกซิเจนที่ละลายในน้ำบางสภาวะ (Hussner *et al.*, 2017)

ในระดับการจัดการเชิงพื้นที่ หลายประเทศรายงานต้นทุนที่เพิ่มขึ้นจากการอุดหนุนของทางน้ำ การชะลออัตราการไหล และผลกระทบต่อโครงสร้างพื้นฐานทางน้ำ รวมถึงข้อจำกัดด้านทรัพยากรในการควบคุมสาหร่ายหางกระรอกในระยะยาว (Larson *et al.*, 2011) การเลือกพืชชนิดนี้เป็นภาพปกในฉบับปัจจุบัน จึงเน้นย้ำให้เห็นความสำคัญของพันธุ์พืชต่างถิ่นที่อาจก่อให้เกิดการเปลี่ยนแปลงของระบบนิเวศ และ สนับสนุนแนวทางจัดการที่อาศัยข้อมูลเชิงนิเวศ สรีรวิทยา และความเสี่ยงเชิงพื้นที่อย่างเป็นระบบในการแก้ปัญหา

### เอกสารอ้างอิง

- Hussner, A., Stiers, I., Verhofstad, M. J., Bakker, E. S., Grutters, B. M., Haury, J., ... & Hofstra, D. (2017). Management and control methods of invasive alien freshwater aquatic plants: A review. *Aquatic Botany*, 136, 112–137.
- Larson, D. L., Phillips-Mao, L., Quiram, G., Sharpe, L., Stark, R., Tonneson, B., & Turner, C. (2011). A framework for sustainable invasive species management: Environmental, social, and economic objectives. *Journal of Environmental Management*, 92(1), 14–22.

รองศาสตราจารย์ นายสัตวแพทย์ ดร.วรพล เองวานิช

ผู้ช่วยบรรณาธิการ

วารสารวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยี

## สารบัญ

### Agricultural Science

- การพัฒนาตำรับมาตรฐานปลานวลจันทร์ทะเล (*Chanos chanos*) ต้มซีอิ๊ว 523  
 The development of braised milkfish (*Chanos chanos*) in soy sauce standard recipe  
 ไส้หมักริม กล้ากล่อมจิตร, มารศรี จันสี, พชร พิริยาพร, สุธิดา กิจจาวรเสถียร และ นันทิดา แดงขาว  
 Sommarat Klumklomjit, Marasri Jansi, Phatchara Phiriyaphorn, Suthida Kitjavorasatien and Nantida Dangkhaw

### Biological Science

- การระบุชนิดปูน้ำเค็ม ในบริเวณป่าชายเลนที่มีการฟื้นฟู อ่าวคุ้งกระเบน จังหวัดจันทบุรี โดยใช้ดีเอ็นเอบาร์โค้ด 533  
 Species identification of marine crabs in reforested mangrove at Kung Krabaen Bay, Chanthaburi Province, using DNA barcodes  
 วิรัชกร กรินชัยญุกิจ, ชุตานา คุณสุข และ เสาวภา สุราวุธ  
 Wirangrong Karinthanyakit, Chutapa Kunsook and Saowapha Surawut
- ฤทธิ์ทางชีวภาพจากโปรตีนไหมเซรีซินและการนำไปใช้ประโยชน์ 544  
 Biological activity of silk sericin protein and its application  
 สุชาวลี ชูลักษณ์, รั้วพร เลหาเรณู และ สุนทรต์ ชูลักษณ์  
 Suchawalee Chooluck, Rattaporn Laoharenu and Sunthorn Chooluck
- ผลของ NAA และผงถ่านกัมมันต์ต่อการชักนำรากของเทียนสีรินธร (*Impatiens sirindhorniae* Triboun & Suksathan) 559  
 Effects of NAA and activated charcoal on root induction of *Impatiens sirindhorniae* Triboun & Suksathan  
 ไชนีเยะ สะมาลา, สุรรัตน์ เยนชอน และ สหณัฐ เพชรศรี  
 Sainiya Samala, Sureerat Yenchon and Sahanat Petchsri

### Chemistry

- การศึกษาความเป็นไปได้ในการนำฟอสโฟลิพิดจากน้ำมันของเมล็ดยางพาราไปใช้ประโยชน์ในรูปของอนุภาคไลโปโซม 565  
 Feasibility study on the utilization of phospholipids derived from para rubber seed oil for liposome particle formation  
 สุวัชชัย มิสุนา และ นีรมล ศรีชนะ  
 Suwatchai Misuna and Niramol Srichana
- ฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระของสารสกัดผลมะม่วงหาวมะนาวโห่ (*Carissa carandas* Linn.) และการประยุกต์ใช้ในผลิตภัณฑ์สบู่เหลว 575  
 Antioxidant activity of *Carissa carandas* Linn. fruit extract and its application in a liquid soap product  
 สุธิดา กรณสูตร และ เวธกา เจ้าเจริญ  
 Suthida Kunnasut and Wethaka Chaochareon

### Computer and Information Technology

- การประเมินพฤติกรรมทุจริตระหว่างการสอบออนไลน์ด้วยปัญญาประดิษฐ์ระบบการรับรู้การแสดงออกทางสีหน้าของนักศึกษาแบบอัตโนมัติ 584  
 Assessment of fraudulent conduct during online exams using an artificial intelligence-based automatic student facial expression recognition system  
 วุฒิชัย ร่มสายหยุด, สุภาวดี วีระธรรมากร, พิมพกา ประเสริฐศิลป์ และ ภิรมย์ คงเลิศ  
 Walisa Romsaiyud, Supawadee Theerathamakorn, Pimpaka Prasertsilp and Pirom Konglerd
- การเปรียบเทียบประสิทธิภาพของตัวแบบสำหรับการวิเคราะห์ความคิดเห็นจากบทวิจารณ์เกม 595  
 Evaluating model performance for sentiment analysis on game reviews  
 ณัฐภูมิ นามูจ, อนิรุทธิ์ โชติถนอม, วรารัตน์ สงฆ์แป้น และ อาทิตยาพร โรจรัตน์  
 Natthapumin Manucham, Anirut Chottanom, Wararat Songpan and Artitayaporn Rojarath
- การศึกษาเปรียบเทียบวิธีการเติมค่าสูญหายสำหรับการจัดกลุ่มข้อมูลที่มีการสูญหาย 612  
 A comparative study on imputation methods for clustering with missing data  
 พินิจญา โชติถนอม, นิวรรณ วัฒนกิจรุ่งโรจน์ และ ศศิพร ทองแมน  
 Pinidchaya Chottanom, Niwan Wattanakitrunroj and Sasiporn Tongman

### Engineering

- อิทธิพลของปริมาณยางพาราและพลังงานบดอัด ต่อค่าการซึมผ่านของน้ำในดินและกำลังรับแรงอัดของดินเม็ดหยาบ 625  
 Influence of rubber content and compaction energy on the permeability and compressive strength of coarse-grained soil  
 วงศกานต์ ธนบุรี, นัฐวุฒิ เหมะบุลิน, พัฒนศักดิ์ ชัยพรรณา และ จิรวัฒน์ ศุภโกศล  
 Wongsakan Thonburee, Nuttawut Hemathulin, Pattanasak Chaipanna and Jirawat Supakosol

# การพัฒนาตำรับมาตรฐานปลานวลจันทร์ทะเล (*Chanos chanos*) ต้มซีอิ๊ว

## The development of braised milkfish (*Chanos chanos*) in soy sauce standard recipe

โสมาตรมี กล้ากล่อมจิตร<sup>1</sup>, มารศรี จันสี<sup>1</sup>, พชร พิริยาพร<sup>1</sup>, สุธิดา กิจจาวรเสถียร<sup>2</sup> และ นันทิดา แดงขาว<sup>1\*</sup>

Sommarat Klumklomjit<sup>1</sup>, Marasri Jansi<sup>1</sup>, Phatchara Phiriyaphorn<sup>1</sup> and Suthida Kitjavorasatien<sup>2</sup>

and Nantida Dangkhaw<sup>1\*</sup>

Received: 5 July 2024 ; Revised: 15 November 2024 ; Accepted: 8 January 2025

### บทคัดย่อ

ปลานวลจันทร์ทะเลอายุต่ำกว่า 8 เดือนจะมีขนาดตัวเล็กและก้างในเนื้อปริมาณมากจึงเป็นข้อจำกัดในการประกอบอาหาร งานวิจัยนี้มีวัตถุประสงค์เพื่อพัฒนาตำรับมาตรฐานปลานวลจันทร์ทะเลต้มซีอิ๊วให้มีก้างนุ่ม โดยเก็บข้อมูลเชิงพรรณนาและข้อมูลเคมีกายภาพของปลา การพัฒนาตำรับมาตรฐานใช้การประเมินทางประสาทสัมผัสวิธี 9-Points Hedonic scale และ just about right (JAR) ทดสอบคุณสมบัติทางเคมีกายภาพได้แก่ ค่าความชื้น ค่าสี ( $L^*$ ,  $a^*$ ,  $b^*$ ) และเนื้อสัมผัสแบบ Texture profile analysis (TPA) และประเมินคุณค่าทางโภชนาการตามฉลากโภชนาการไทย พบว่าตำรับมาตรฐานที่พัฒนาได้เนื้อปลาท้มซีอิ๊วมีค่าความชื้นร้อยละ 59.59 มีค่าความสว่าง ( $L^*$ ) เท่ากับ 38.47 ค่าสีแดง ( $a^*$ ) เท่ากับ 6.08 และค่าสีเหลือง ( $b^*$ ) เท่ากับ 14.58 ค่าความแข็ง (Hardness) 110.47 N ค่าความเหนียวเป็นยาง (Gumminess) ความเหนียว (Chewiness) ซึ่งแสดงถึงความรู้สึกใช้แรงขณะเคี้ยว 50.87 N และ 29.03 N ตามลำดับ ปลานวลจันทร์ทะเลต้มซีอิ๊วที่พัฒนาขึ้นได้รับคะแนนความชอบด้านลักษณะปรากฏ กลิ่น รสชาติ กลิ่น-รส เนื้อสัมผัส และความชอบโดยรวมคือ 8.7 8.4 8.6 8.3 7.6 และ 8.0 ตามลำดับ และมีคุณค่าทางโภชนาการในขนาดรับประทาน 125 กรัม (ปลา 1 ตัว) ให้พลังงานทั้งหมด 190 กิโลแคลอรี ให้โปรตีนสูง 21 กรัม มีแคลเซียมสูงร้อยละ 50 มีธาตุเหล็กร้อยละ 10 มีข้อควรระวังคือโซเดียมร้อยละ 40 และคอเลสเตอรอลร้อยละ 37 การวิจัยนี้แสดงให้เห็นความเป็นไปได้ในการใช้ปลานวลจันทร์ทะเลที่มีขนาดตัวเล็กมีก้างในเนื้อมากในการประกอบอาหารรายการต้มซีอิ๊ว ที่ได้รับคะแนนความชอบโดยรวมระดับชอบมาก มีโภชนาการโดดเด่นด้านโปรตีนและแคลเซียมสูง

คำสำคัญ : ปลานวลจันทร์ทะเล, ตำรับมาตรฐาน, ปลาท้มซีอิ๊ว, ปลาก้างนุ่ม

### Abstract

Milkfish specimens under the age of 8 months typically exhibit a smaller size and a significant proportion of bones in their flesh, which presents a challenge in culinary applications. The objective of this research is to develop a standardized recipe for braised milkfish in soy sauce that results in a more tender bone texture. The descriptive data on the physical characteristics of fish were collected. The physicochemical properties of braised milkfish in soy sauce, including moisture content, color value ( $L^*$ ,  $a^*$ ,  $b^*$ ), and Texture Profile Analysis (TPA), were determined. The sensory evaluation was applied to determine the preference of the standard recipes using 9-Point Hedonic scale and a just about right (JAR) scale. Nutritional value was evaluated according to Thai nutrition labeling standards. The results showed that the standard recipe for braised milkfish had a moisture content of 59.59%, and the color values  $L^*$ ,  $a^*$ , and  $b^*$  were 38.47, 6.08, and 14.58, respectively. The hardness value was 110.47 N, while gumminess and chewiness, which

<sup>1</sup> สาขาวิชาศิลปะการประกอบอาหาร คณะศิลปการประกอบอาหาร วิทยาลัยดุสิตธานี โทรศัพท์: 02 361 7805

<sup>2</sup> สาขาวิชาอาหารโภชนาการ คณะเทคโนโลยีคหกรรมศาสตร์ มหาวิทยาลัยเทคโนโลยีราชมงคลพระนคร กรุงเทพฯ โทรศัพท์: 02 665 3777

<sup>1</sup> Culinary Arts, Faculty of Culinary Arts, Dusit Thani College Tel. 02 361 7805

<sup>2</sup> Foods and Nutrition Program, Faculty of Home Economics Technology, Rajamangala University of Technology Phra Nakhon, Bangkok. Tel. 02 665 3777

\* Corresponding Email: Nantida.da@dtc.ac.th

indicate the texture during chewing, were 50.87 N and 29.03 N, respectively. Sensory liking scores for overall appearance, aroma, taste, flavor, texture, and overall liking were 8.7, 8.4, 8.6, 8.3, 7.6, and 8.0, respectively, on the 9-point hedonic scale. The nutritional values according to the format of Thai nutrition labels showing this recipe (Serving size 125 grams) provided a total energy of 190 Kcal, 21 grams of protein, 50% of calcium, and 10% of iron. However, the recipe showed high sodium (40% of the daily value) and cholesterol (37% of the daily value). This research demonstrated that the potential for using small-sized, bone-rich milkfish to produce a braised milkfish in soy sauce had high sensory preference scores, high in protein and calcium content.

**Keywords:** Milkfish, *Chanos chanos*, braised milkfish in soy sauce, soft bone fish recipe

## บทนำ

ปลานวลจันทร์ทะเลเป็นปลาเศรษฐกิจในภูมิภาคเอเชียตะวันออกเฉียงใต้ โดยเฉพาะประเทศฟิลิปปินส์ มีชื่อเรียกตามภาษาตากาล็อกว่า บังงุส (Bungus) มีชื่อภาษาอังกฤษคือ Milkfish ชื่อวิทยาศาสตร์คือ *Chanos chanos* อาศัยในน้ำกร่อยหรือน้ำจืดได้ พบตามชายฝั่งทะเลแถบอบอุ่นทั่วภูมิภาคของโลก มักอยู่รวมกันเป็นฝูง มีรูปร่างกลม (Round Fish) เปรียวาวเกล็ดเล็กละเอียดสีเงินแวววาว ครีบท้องและครีบหลังเล็ก ครีบหางเว้าลึก มีความว่องไว ปราดเปรียว มีขนาดโตเต็มที่ยาวได้ถึง 1.5 เมตร กินปลาที่มีขนาดเล็กกว่า และสัตว์น้ำชนิดอื่น ๆ รวมถึงสาหร่ายทะเลเป็นอาหาร (Freyhof *et al.*, 2019; Bagarinao, 1991) ในประเทศไทยปลานวลจันทร์ทะเลสามารถพบได้ในทะเลแถบจังหวัดเพชรบุรี ประจวบคีรีขันธ์ ชุมพร และพบเล็กน้อยในจังหวัดตราด

ปลานวลจันทร์ทะเลเริ่มมีการเพาะเลี้ยงในโครงการพระราชดำริ และสนับสนุนให้มีการเพาะเลี้ยงในประเทศไทยจากที่พระบาทสมเด็จพระบรมชนกาธิเบศร มหาภูมิพลอดุลยเดชมหาราช บรมนาถบพิตร ทรงมีพระราชกระแสรับสั่งให้มีการเพาะเลี้ยงปลานวลจันทร์ทะเลเชิงพาณิชย์ เนื่องจากใช้เงินทุนเลี้ยงต่ำกว่าการเลี้ยงปลาชนิดอื่นที่กินเนื้อ สามารถเจริญเติบโตรวดเร็ว ทนทานต่อโรค สามารถเลี้ยงโดยให้อาหารทั้งพืชและสัตว์ เช่น ปลาอื่นที่ขนาดเล็กกว่า สาหร่าย ตะไคร่น้ำ แพลงก์ตอน ไรน้ำ ไรข้าว ขี้แดด รวมถึงให้อาหารสำเร็จรูปได้ (นิริวัฒน์ วงศ์วิวัฒน์, 2553) การที่ปลานวลจันทร์ทะเลกินพืช ไรน้ำ ขี้แดดต่าง ๆ ได้ จึงเป็นปลาที่ช่วยเรื่องระบบนิเวศได้ สามารถเลี้ยงในบ่อที่เล็กเลี้ยงกึ่งแล้ว เพื่อบำบัดน้ำเสียในบ่อ กุ้งให้คืนสภาพดีก่อนเลี้ยงกุ้งรอบใหม่ ซึ่งปลาจะเจริญเติบโตเร็ว เพราะได้รับสารอาหารที่ตกค้างในบ่อกุ้งอย่างสมบูรณ์ จากต้นทุนการเลี้ยงที่ต่ำปัจจุบันยังมีการเลี้ยงปลานวลจันทร์ทะเลเพื่อใช้เป็นเหยื่อล่อปลาพันธุ์ต่าง ๆ ในการทำการประมงปลาหน้าด้วย (นิริวัฒน์ วงศ์วิวัฒน์, 2553) มีรายงานว่าปลานวลจันทร์ทะเลมีรสชาติอร่อย คล้ายปลากะพงขาว และปลาชะบะ และมีคุณค่าทางโภชนาการที่ดีเป็นของแหล่งโปรตีน

คุณภาพสูงที่ร่างกายย่อยง่ายกว่าเนื้อสัตว์ประเภทอื่น ๆ เนื้อปลาเมื่อโปรตีนประมาณร้อยละ 22 มีไขมันที่จำเป็นต่อร่างกาย โดยเฉพาะกรดไขมันโอเมก้า 3 กรดไขมันโอเมก้า 6 มีวิตามินและแร่ธาตุที่สำคัญ ได้แก่ วิตามินบีหนึ่ง บีสอง และไนอะซิน (มณีวรรณ วงศ์นอก, 2555) ดังนั้นตั้งแต่ปี พ.ศ. 2556 โครงการในพระราชดำริได้เริ่มถ่ายทอดความรู้โดยมีหลักสูตรฝึกอบรมเรื่องการเลี้ยงปลานวลจันทร์ทะเลแก่เกษตรกรชาวประมงให้สามารถสร้างอาชีพ สร้างรายได้ มีการส่งเสริมช่องทางการขายโดยสนับสนุนให้นำปลานวลจันทร์ทะเลเป็นวัตถุดิบในการประกอบอาหาร และแปรรูปเป็นผลิตภัณฑ์อื่น เช่น ในประเทศฟิลิปปินส์ ได้เห็น สามารถพบเห็นผนังท้องหรือฟองปลานวลจันทร์ทั่วไปในท้องตลาด โดยเฉพาะในร้านข้าวต้ม และร้านอาหารตามสั่ง นอกจากนี้เนื้อที่แลและทอดก้างออกแล้วยังใช้เนื้อไปทำลูกชิ้น ใช้หนังปลาไปทอดได้ (วัชร คงรัตน์ และอรรณพ คงพันธุ์, 2558) ในประเทศไทยปัจจุบันมีผลิตภัณฑ์หลากหลายชนิดจากปลาชนิดนี้ เช่น ปลานวลจันทร์ทอดก้าง ปลาอัดไส้ ปลาแกงนึ่ง ปลากระป๋อง มีงานวิจัยที่พัฒนาเป็นผลิตภัณฑ์เป็นปลาโย เส้นก๋วยเตี๋ยวจากเนื้อปลา ปลาต้ม และผลิตภัณฑ์อื่น (นันธิดา แดงขาว และคณะ, 2566; นันธิดา แดงขาว, 2561) ส่วนใหญ่เป็นการแปรรูปโดยใช้ปลาทอดก้าง หรือการลดขนาดของเนื้อปลา แต่ยังต้องการพัฒนาเพื่อนำไปใช้เป็นตำรับอาหารที่สามารถทำได้ง่ายในระดับครัวเรือน ตลอดจนสามารถต่อยอดในเชิงพาณิชย์ หรือวิสาหกิจชุมชนได้ เพื่อให้สามารถบริโภคได้หลากหลายตลอดจนเป็นที่นิยมอย่างแพร่หลายในหมู่ผู้บริโภคเช่นเดียวกับปลาเศรษฐกิจสายพันธุ์อื่น ๆ ดังนั้นเพื่อลดข้อจำกัดด้านมีก้างในเนื้อปลา จึงต้องใช้ระยะเวลาเลี้ยงนานประมาณ 8 เดือนให้มีขนาดเฉลี่ย 500-600 กรัม/ตัว เพื่อนำปลาไปทอดก้างก่อนมาประกอบอาหาร ผู้วิจัยจึงมีวัตถุประสงค์เพื่อพัฒนาผลิตภัณฑ์เป็นรายการอาหารจากปลานวลจันทร์ทะเล โดยเลือกการการปลานวลจันทร์ทะเลต้มซีอิ๊ว (Braised Milkfish in Soy Sauce) เพื่อใช้วัตถุดิบเป็นปลานวลจันทร์ทะเลที่มีขนาดเล็กกว่าปกติ ไม่สามารถทอดก้างได้ หรืออาจเป็นปลาที่ใช้เวลาเลี้ยงสั้นลง

เหลือเพียง 4-6 เดือน เพื่อลดขั้นตอนการแปรรูปด้วยการถอดก้างปลา ก่อนนำมารับประทาน จึงพัฒนาเป็นตำรับมาตรฐาน โดยผู้เชี่ยวชาญด้านอาหาร จากนั้นทำการประเมินคุณภาพด้านประสาทสัมผัสเพื่อศึกษาการยอมรับในผลิตภัณฑ์ของผู้บริโภค และประเมินคุณค่าทางโภชนาการของตำรับอาหาร

## การทดลอง

### 1. การเตรียมปลานวลจันทร์ทะเล และการประกอบอาหารรายการปลาต้มซีอิ๊ว

ใช้ปลานวลจันทร์ที่เลี้ยงในบ่อดินตามวิธีของศูนย์วิจัยและพัฒนาการเพาะเลี้ยงสัตว์น้ำชายฝั่งเพชรบุรี อายุประมาณ 3-4 เดือน น้ำหนักโดยประมาณ 150-200 กรัมต่อตัว ชนส่งโดยบรรจุลงน้ำแข็งไม่เกิน 24 ชั่วโมง ตัดแต่งปลารูปแบบทั้งตัว (Dressed) โดยนำปลามาขูดเกร็ด ตัดครีบ ตัดหัว ควักไส้ ก่อนล้างทำความสะอาด ดัง Figure 1



Figure 1 Milkfish (Dressed)

สูตรเพื่อการประกอบอาหารผู้วิจัยใช้สูตรปลาทุต้มซีอิ๊ว ซึ่งเรียกอีกชื่อว่าปลาทุต้มชาเตี๊ยะที่ผลิตเพื่อการจำหน่ายมาแล้วกว่า 10 ปี เป็นสูตรพื้นฐาน จากนั้นเปลี่ยนวัตถุดิบเป็นปลานวลจันทร์ทะเล ซึ่งสูตรพื้นฐานประกอบไปด้วยปลาที่ตัดแต่งแล้ว ร้อยละ 67.93 สับปะรด (หั่นตามขวางทั้งเปลือก) ร้อยละ 6.79 อ้อย ร้อยละ 4.53 ตะไคร้ ร้อยละ 2.26 รากผักชี ร้อยละ 0.45 กระเทียม ร้อยละ 0.68 พริกไทยขาว ร้อยละ 0.11 ขิงแก่ ร้อยละ 0.68 ใบเตยหอม ร้อยละ 0.68 น้ำตาลปี๊บ ร้อยละ 6.34 น้ำกระเทียมดอง ร้อยละ 2.26 น้ำปลา ร้อยละ 1.81 เกลือ ร้อยละ 0.45 ซีอิ๊วขาว ร้อยละ 1.13 น้ำมันหอย ร้อยละ 1.13 ซีอิ๊วดำ ร้อยละ 0.68 รายการวัตถุดิบสำหรับการตกแต่งได้แก่ พริกชี้ฟ้าแห้งทอด ร้อยละ 1.81 ใบผักชี ร้อยละ 0.07 ขิงแก่ ร้อยละ 0.07 และพริกชี้ฟ้าแดง ร้อยละ 0.11 โดยมีอัตราส่วนของน้ำหนักปลาต่อน้ำหนักน้ำเปล่าวัตถุดิบทั้งหมด 1:1.1 และมีขั้นตอนประกอบอาหาร ดังนี้ (1) ผสมน้ำปรุงต้มปลาใส่หม้อพร้อมกับส่วนผสมทั้งหมด นำไปตั้งไฟพอเดือด (100 องศาเซลเซียส นาน 3 นาที) แล้วยกลง พักให้เย็น (2) วางสับปะรด อ้อยทุบ ตะไคร้ทุบ กระเทียมบุบ ใบเตย

ลงไปในก้นหม้อหรือภาชนะที่ใช้สำหรับปรุง (3) จัดวางวางปลานวลจันทร์ที่เตรียมไว้ให้เรียบร้อย (4) วางรากผักชี พริกไทย และขิงแก่ลงไป (5) ราดน้ำปรุงต้มปลาลงไปให้น้ำท่วมปริ่มขึ้นปลา แล้วนำไปต้มจนเดือด ตักฟองทิ้งแล้วเคี่ยวไฟอ่อนที่สุด (อุณหภูมิไม่เกิน 70 องศาเซลเซียส) โดยการปิดฝาหม้อ เคี่ยวไปเรื่อย ๆ จนกว่าปลาจะสุกจนก้างนุ่มทุกส่วน (ใช้เวลานาน 14-15 ชั่วโมง) ระหว่างเคี่ยวถ้าจำเป็นต้องเติมน้ำลงไป ให้เติมเพิ่มเพื่อรักษาระดับน้ำต้มไว้ โดยควบคุมค่าของแข็งที่ละลายได้ทั้งหมด (Total soluble solid) อยู่ที่  $29 \pm 1$  °Brix (6) เสิร์ฟปลานวลจันทร์ต้มซีอิ๊ว ตกแต่งด้วยพริกชี้ฟ้าหนุทอด ใบผักชี ขิงแก่ และพริกชี้ฟ้าแดง วิธีการนำเสนอจานอาหาร คือ จัดใส่จานหรือภาชนะบรรจุ 2 ตัว (200 กรัม) ให้น้ำซอสลูกกลี (50 กรัม) แล้วใส่วัตถุดิบสำหรับตกแต่ง

### 2. การพัฒนาสูตรเพื่อใช้เป็นตำรับมาตรฐาน

การพัฒนามี 3 ขั้นตอน คือ (2.1) การให้ข้อมูลเชิงพรรณานื้อปลานวลจันทร์ทะเลรูปแบบปลาถอดก้างหนึ่ง และให้นิยามคุณลักษณะที่ดีของปลานวลจันทร์ทะเลต้มซีอิ๊ว ด้านลักษณะปรากฏ (Appearance) สี (Color) ด้านกลิ่น (Odor) รสชาติ (Taste) และเนื้อสัมผัส (Texture) โดยใช้แบบสอบถามกึ่งสัมภาษณ์ในการทดสอบทางประสาทสัมผัสจากผู้เชี่ยวชาญด้านอาหาร จำนวน 10 ท่าน (อาจารย์ที่สอนในศาสตร์การประกอบอาหารอย่างน้อย 3 ชั้นปี และเคยเป็นเชฟที่ประกอบอาหารในครัวโรงแรมขนาดใหญ่ อย่างน้อย 3 ปีขึ้นไปเช่นกัน)

(2.2) การพัฒนาสูตรเพื่อให้ได้รายการอาหารตามนิยามคุณลักษณะที่ดีในข้อ (2.1) ใช้วิธีทดสอบทางประสาทสัมผัสจากผู้เชี่ยวชาญด้านอาหาร ในระยะแรกใช้การทดสอบฮิโดนิค 9 ระดับ (9 Points Hedonic scale) สอบถามความชอบ (Meilgaard *et al.*, 2007) และทดสอบด้วยสเกลความพอดี (just about right; JAR) เพื่อการหาทิศทางปรับสูตร โดยเมื่อทดสอบชิม แล้วทำแบบทดสอบ Degree of change scale (DCS) (Pokorny & Davidek, 1986) เช่น ปรับให้เพิ่มขึ้นมาก ปรับให้เพิ่มขึ้นเล็กน้อย พอดี (ไม่ต้องปรับ) ปรับให้ลดลงเล็กน้อย หรือปรับให้ลดลงมาก โดยการแปลผลจากการใช้สเกลความพอดี (JAR) พิจารณาอย่างง่ายจากระดับความพอดีที่ตั้งเกณฑ์ไว้ (Rothman, 2007) หากความพอดีมีความถี่ตั้งแต่ร้อยละ 70 (Cut-off point) ไม่ต้องปรับปรุงคุณลักษณะดังกล่าว แต่หากมีค่าไม่ถึงให้พิจารณาค่าขนาดและทิศทางของความแตกต่างระหว่างตัวอย่าง (Net effect หรือค่า Net scores) ซึ่งหาได้จากร้อยละของคำตอบที่บอกว่า “เข้มไป” ลบด้วยร้อยละของคำตอบที่บอกว่า “อ่อนไป” หากค่า

Net effect มีความแตกต่างกันน้อยกว่าร้อยละ 20 ยังไม่ต้องทำการปรับปรุงในคุณลักษณะนั้น ๆ (Rothman & Parker, 2009) แต่หากมีค่าความแตกต่างมากกว่าร้อยละ 20 ให้พิจารณาปรับตามทิศทางที่มีค่ามากกว่า และการพัฒนาสูตรระยะที่ 2 ได้วางแผนการทดลองแบบสุ่มตลอด (Completely Randomized Design: CRD) ศึกษาปริมาณเกลือ 3 ระดับ คือ 20 กรัม (F1:สูตรพื้นฐาน) 15 กรัม (F2) และ 10 กรัม (F3) และใช้การทดสอบฮิโดนิค 9 ระดับ สอบถามความชอบ และทดสอบด้วยสเกลความพอใจ เพื่อเลือกสูตรที่มีคุณลักษณะดีตามคำนิยาม โดยมีคะแนนความชอบสูงสุด และมีค่าความพอใจด้าน กลิ่น รสชาติ กลิ่นรส และเนื้อสัมผัสมาเป็นตัวรับมาตรฐานของปลานวลจันทร์ทะเลต้มซีอิ๊ว

(2.3) การทดสอบคุณสมบัติทางเคมีกายภาพ (Physicochemical properties) เนื้อปลานวลจันทร์ทะเลโดยนำเนื้อปลาที่ยังไม่ประกอบอาหารรูปแบบปลาทอดก้างแล้วทำให้สุกด้วยวิธีการึ่งในระยะเวลา 15 นาที และเนื้อปลาจากตัวรับมาตรฐานปลานวลจันทร์ทะเลต้มซีอิ๊วที่พัฒนาได้ มาวิเคราะห์ดังนี้ วัดค่าสี ( $L^* a^* b^*$ ) โดยเครื่องวัดสี (Color Global: Model Color Quest XE, America) วัดค่าวอเตอร์แอคทิวิตี (Water activity) ตามวิธีของ AOAC (2005) ด้วยเครื่องวัดวอเตอร์แอคทิวิตี (TH-500, AW sprint novasina, Neuheinstrasse, Switzerland) วัดค่าความชื้นตามวิธีของ AOAC (2005) วัดค่า pH โดยเครื่อง pH meter (FiveEasy Benchtop F20, METTLER TOLEDO, Switzerland) วัดค่าความหนืดด้วยเครื่อง Brookfield viscometer (Polyvisc, Visco Basic Plus, Switzerland) โดยใช้หัววัด Spindle No. 61, Speed 200 rpm วัดค่าความหวาน (°Brix) ด้วยเครื่อง Refractometer วัดค่าความเค็ม (%Salinity) ด้วยเครื่อง Salinity Meter และวัดค่าเนื้อสัมผัสแบบ Texture profile analysis (TPA) ด้วยเครื่องวัดเนื้อสัมผัส TA-XT Plus texture analyzer (Stable Micro Systems Ltd, Godalming, Surrey, UK) ใช้หัววัด aluminum cylinder P50, Compression 70% of the original weight, Speed 60 mm/min ขนาดชิ้นตัวอย่าง กว้าง×ยาว×สูง ที่ 3×3×1 ซม.)

### 3. การประเมินคุณภาพทางประสาทสัมผัสในตัวรับมาตรฐาน

การทดสอบทางประสาทสัมผัสโดยใช้แบบสอบถามเพื่อประเมินการยอมรับของผู้บริโภค ด้วยฮิโดนิค 9 ระดับ (9 Points Hedonic test) ให้คะแนนความชอบ (Meilgaard *et al.*, 2007) ด้านลักษณะปรากฏ (Appearance) ด้านกลิ่น (Odor) ด้านรสชาติ (Taste) กลิ่นรส (Flavor) เนื้อสัมผัส (Texture)

และความชอบโดยรวม (Overall liking) โดยผู้เชี่ยวชาญ (เซฟที่ประกอบอาหารในครัวโรงแรมขนาดใหญ่ตำแหน่งหัวหน้างานขึ้นไปและมีอายุงานอย่างน้อย 5 ปี) จำนวน 10 ท่าน ในกระบวนการทดสอบทางประสาทสัมผัสผลิตภัณฑ์จากปลานวลจันทร์ทะเลผ่านกระบวนการพิจารณาจากคณะกรรมการจริยธรรมการวิจัยในมนุษย์มหาวิทยาลัยรังสิต เลขที่ใบรับรองจริยธรรมในมนุษย์ RSUERB2022-018 โดยผู้เข้าร่วมวิจัยเป็นบุคคลที่มีอายุมากกว่า 18 ปี ซึ่งเคยรู้จักและเคยรับประทานรายการอาหารประเภทปลานวลจันทร์ทะเล/ปลาทะเลมาก่อน ไม่มีประวัติการแพ้ปลา และส่วนผสมในรายการอาหาร ผู้วิจัยได้แจ้งส่วนผสม ข้อมูลที่อาจส่งผลต่อสุขภาพให้ผู้เชี่ยวชาญรับทราบก่อนการทดสอบ เช่น วัตถุดิบที่ใช้ในกระบวนการผลิตที่จัดเป็นอาหารก่อการแพ้ได้ และผู้วิจัยจะยุติการทดสอบทันทีเมื่อผู้เชี่ยวชาญมีอาการเจ็บป่วย หรือมีอาการแพ้จากอาหารดังกล่าว

### 4. การประเมินคุณค่าทางโภชนาการของตัวรับที่พัฒนาได้

การประเมินคุณค่าทางโภชนาการตามรูปแบบของฉลากโภชนาการของประเทศไทยของงานวิจัยนี้ทั้งหมดผ่านการวิเคราะห์จากบริษัทห้องปฏิบัติการกลาง (ประเทศไทย) อ้างอิงพื้นฐานตามวิธีการของ AOAC (2019) ทำการประเมินคุณค่าทางโภชนาการจำนวน 15 รายการตามกรอบข้อมูลโภชนาการ เพื่อใช้แสดงเป็นฉลากโภชนาการ ได้แก่ พลังงานทั้งหมด (Total Calories) พลังงานจากไขมัน (Calories from fat) คาร์โบไฮเดรตทั้งหมด (Total Carbohydrates in clued dietary fiber) (by different) โปรตีน (Protein) / Total Nitrogen ไขมันทั้งหมด Total fat) ไขมันอิ่มตัว (Saturated fat) คอเลสเตอรอล (Cholesterol) โยอาหาร (Dietary fiber) น้ำตาลทั้งหมด (Total sugar) วิตามิน เอ (Vitamin A) วิตามิน บี1 (Vitamin B1) วิตามิน บี2 (Vitamin B2) โซเดียม (Sodium) แคลเซียม (Calcium) และเหล็ก (Iron)

### 5. การวิเคราะห์ทางสถิติ

ผู้วิจัยได้กำหนดค่าสถิติที่ใช้ในการวิเคราะห์ ได้แก่ ค่าเฉลี่ย (Mean) ค่าส่วนเบี่ยงเบนมาตรฐาน (Standard Deviation) สำหรับคะแนนความชอบของการศึกษาปริมาณเกลือ 3 ระดับ ได้วิเคราะห์ความแปรปรวนของข้อมูลทางสถิติด้วยวิธี Analysis of Variance (ANOVA) โดยเปรียบเทียบค่าเฉลี่ยแบบ Duncan's New Multiple Range Test (DMRT) สำหรับข้อมูลการทดสอบคุณสมบัติทางเคมีกายภาพของเนื้อปลานวลจันทร์ทะเลจากการต้มซีอิ๊วและการึ่งได้วิเคราะห์

เปรียบเทียบค่าเฉลี่ยด้วย Paired sample t-test กำหนดนัยสำคัญทางสถิติที่ระดับ .05

## ผลการทดลองและอภิปรายผล

### 1. การพัฒนาสูตรที่เหมาะสมเพื่อใช้เป็นตำรับมาตรฐาน

(1.1) ข้อมูลเชิงพรรณนาจากผู้เชี่ยวชาญของเนื้อปลานวลจันทร์ทะเล พบว่าเนื้อปลาดิบมีสีเทาอมชมพู หนึ่ ปลาหนาและเหนียว เมื่อหนึ่งสุกเนื้อปลามีสีค่อนข้างขาว และมีกลิ่นเนื้อดำตามแนวร่องกลางลำตัวหรือร่องข้างเล็กน้อย ผงในท้องปลาจะมีสีดำและกลิ่นความมากกว่าตระกูลปลาเนื้อขาว รสชาติเนื้อปลาหวาน มัน เปรี้ยวเล็กน้อย เนื้อปลาเหนียวแน่น แต่ค่อนข้างหยาบ และร่วนง่าย คล้ายตระกูลปลาทุ่นหรือปลาโอ การทดลองนี้เมื่อนำเนื้อปลามาหนึ่งและทดสอบคุณสมบัติทางเคมีกายภาพ (Physicochemical properties) พบว่าเนื้อปลาหนึ่งมีค่าความชื้นร้อยละ 70.87 มีค่าความสว่าง  $L^*$  เท่ากับ 75.77 ค่าสีแดง  $a^*$  เท่ากับ 5.59 และค่าสีเหลือง  $b^*$  เท่ากับ 7.59 ปลานวลจันทร์ทะเลมีลักษณะทางสัณฐานวิทยาตามธรรมชาติของปลาทะเลผิวหน้า (Pelagic fishes) ที่อาศัยในทะเลตั้งแต่ระดับผิวน้ำลงไปถึงระดับกลางน้ำ เช่นเดียวกับปลาจำพวกปลาทุ่น ปลาอินทรี ปลาโอ ซึ่งปลาที่อาศัยอยู่บริเวณผิวน้ำต้องใช้ชีวิตกับคลื่นและศัตรูอื่น ๆ จึงมีกิจกรรมสูงเคลื่อนไหวตัวหรือว่ายน้ำได้ว่องไวในกล้ามเนื้อจึงมีเม็ดเลือดมีสารประกอบและเอนไซม์ต่าง ๆ ที่สนับสนุนให้มีการเคลื่อนไหวได้เร็ว ซึ่งเลือดและสารประกอบเหล่านั้นจะส่งผลต่อสี รสชาติ และเนื้อสัมผัสของปลาเช่นกัน (Chaijan *et al.*, 2010)

กรณีที่นำปลานวลจันทร์ทะเลมาประกอบอาหารเป็นรายการต้มซีอิ๊ว ผู้เชี่ยวชาญให้นิยามว่า ควรมีคุณลักษณะที่ดีดังนี้ ปลาเป็นสีน้ำตาลทอง ผิวตึงแน่น ไม่เละ น้ารับประทาน ส่วนของน้ำต้มเป็นสีน้ำตาลดำ ชุ่นได้เล็กน้อยจากส่วนผสม และมีเจลาตินของปลา มีกลิ่นหอมของเครื่องปรุงรส (ซีอิ๊วดำ น้ำตาล และน้ำกระเทียมดอง) รสชาติหวานนำเค็มตาม กลมกล่อม มีรสเปรี้ยวจากสับปะรดเล็กน้อย เนื้อสัมผัสของปลานุ่มและแน่น เคี้ยวง่าย ก้างปลานิ่มจนสามารถเคี้ยวแล้วกลืนได้ทั้งหมด (ดังแสดงใน Figure 2)



**Figure 2** Braised milkfish in soy sauce at serving size: 250 g. (Drain wt. 200 g.)

(1.2) การพัฒนาสูตรปลานวลจันทร์ทะเลต้มซีอิ๊ว เพื่อให้ได้คุณลักษณะที่ดีตามค่านิยามจากผู้เชี่ยวชาญด้านอาหาร ในข้อ 1.1 ผลการทดสอบทางประสาทสัมผัสปลานวลจันทร์ทะเลต้มซีอิ๊วสูตรพื้นฐานดังแสดงใน Table 1 พบว่าได้คะแนนความชอบด้านลักษณะปรากฏ ด้านกลิ่น ด้านรสชาติหวาน และเปรี้ยว ด้านกลิ่นรส ตั้งแต่ 7.5 คะแนนขึ้นไป และคะแนนความชอบโดยรวมที่ 7.8 แต่ด้านรสชาติเค็มและด้านเนื้อสัมผัสได้คะแนนความชอบที่ 6.5 และ 5.7 ตามลำดับ การทดสอบด้วยสเกลวัดความพอดี (JAR) ในการหาทิศทางเพื่อปรับสูตรได้ข้อมูลดังแสดงใน Table 2 พบว่าปลานวลจันทร์ต้มซีอิ๊วได้ค่าความพอดีจากผู้เชี่ยวชาญในด้านกลิ่น ด้านรสชาติหวาน รสชาติเปรี้ยว ไม่ต่ำกว่าร้อยละ 70 จึงไม่ต้องปรับปรุงคุณลักษณะนั้น ขณะที่รสชาติเค็มและเนื้อสัมผัสมีค่าความพอดีต่ำกว่าร้อยละ 70 และมีค่า Net effect ที่ร้อยละ 40 และ 50 ตามลำดับ ซึ่งมากกว่าร้อยละ 20 ควรต้องปรับปรุงโดยปรับรสชาติเค็มให้น้อยลง ทั้งนี้ผู้เชี่ยวชาญได้ให้ความเห็นเพิ่มเติมว่าปลาต้มซีอิ๊วใช้เวลาเคี้ยว/ตุนนานการมีรสเค็มมากไปจะส่งผลให้กลิ่นรส (Flavor) ของอาหาร มีรสชาติเค็มขึ้นจมูก (Top nose) มากเกินไป และด้านเนื้อสัมผัสต้องการให้ก้างปลาส่วนแกนกลางอ่อนนุ่มและเคี้ยวได้ง่ายขึ้น ดังนั้นแนวทางที่ต้องพัฒนาต่อประเด็นสำคัญคือ ต้องปรับลดรสชาติเค็ม และเพิ่มระยะเวลาในการเคี้ยว

**Table 1** Liking score of braised milkfish in soy sauce  
(Basic formular)

| Attribute      | Liking score |
|----------------|--------------|
| Appearance     | 8.1±0.63     |
| Odor           | 7.5±0.82     |
| Sweet          | 7.7±0.82     |
| Salty          | 6.5±0.78     |
| Sour           | 7.8±0.76     |
| Flavor         | 7.5±0.82     |
| Texture        | 5.7±0.67     |
| Overall liking | 7.8±0.84     |

Data are expressed as mean±SD (n = 10)

**Table 2** The result of just about right scale (JAR) of  
braised milkfish in soy sauce (Basic formular)

| Attribute | just about right scale |           |                  |            |                 | Net effect |
|-----------|------------------------|-----------|------------------|------------|-----------------|------------|
|           | Much too light         | Too light | Just about right | Too strong | Much too strong |            |
| Odor      |                        |           | 90%              | 10%        |                 |            |
| Sweet     |                        | 10%       | 70%              | 20%        |                 |            |
| Salty     |                        |           | 60%              | 20%        | 20%             | 40         |
| Sour      |                        | 20%       | 80%              |            |                 |            |
| Flavor    |                        |           | 70%              | 30%        |                 |            |
| Texture   |                        |           | 50%              | 50%        |                 | 50         |

การพัฒนาสูตรระยะที่ 2 ได้ใช้ระยะเวลาการต้มและเคี่ยวปลานวลจันทร์ทะเลต้มซีอิ๊วที่ 15 ชั่วโมง จากสูตรที่ใช้ปลาทุกตัวไป 7 ชั่วโมง (พฤษภา สวาทสุข, 2559) ทั้งนี้ปลานวลจันทร์ทะเลมีก้างแกนลำตัวที่ค่อนข้างแข็งกว่าปลาหมาก ต้องใช้เวลาต้มเคี่ยวนานกว่า จึงจะสามารถทำให้ก้างนิ่มจนรับประทานด้วยการเคี้ยวได้ เมื่อทดสอบทางประสาทสัมผัสตั้งแสดงใน Table 3 พบว่าปลานวลจันทร์ทะเลต้มซีอิ๊วทั้ง 3 สูตรได้คะแนนความชอบด้านลักษณะปรากฏ ด้านกลิ่น ด้านรสชาติ หวาน และเปรี้ยว ด้านกลิ่นรส และเนื้อสัมผัสไม่แตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ( $p>0.05$ ) แต่คะแนนความชอบด้านรสชาติเค็ม และความชอบโดยรวมของสูตร F1 (สูตรพื้นฐาน) ได้คะแนนความชอบที่ 6.8 และ 7.1 ตามลำดับ ซึ่งน้อยกว่าสูตร F2 และ F3 อย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ( $p<0.05$ ) โดยที่คะแนนความชอบด้านรสชาติเค็มและความชอบโดยรวมของสูตร F2 และ F3 ไม่แตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ

( $p>0.05$ ) ซึ่งคะแนนความชอบด้านรสชาติเค็มของสูตร F2 และ F3 มีค่า 8.1 และ 8.4 ตามลำดับ และคะแนนความชอบโดยรวมของสูตร F2 และ F3 มีค่า 8.1 และ 8.0 ตามลำดับ

**Table 3** Liking score in three formulations of braised milkfish in soy sauce

| Attribute      | Liking score          |                       |                       |
|----------------|-----------------------|-----------------------|-----------------------|
|                | F1                    | F2                    | F3                    |
| Appearance     | 8.2±0.63 <sup>a</sup> | 8.3±0.67 <sup>a</sup> | 8.2±0.67 <sup>a</sup> |
| Odor           | 7.7±0.82 <sup>a</sup> | 7.8±0.63 <sup>a</sup> | 7.9±0.56 <sup>a</sup> |
| Sweet          | 7.5±1.17 <sup>a</sup> | 7.7±0.94 <sup>a</sup> | 7.7±0.67 <sup>a</sup> |
| Salty          | 6.8±0.78 <sup>b</sup> | 8.1±0.73 <sup>a</sup> | 8.4±0.52 <sup>a</sup> |
| Sour           | 7.6±0.84 <sup>a</sup> | 7.7±1.05 <sup>a</sup> | 7.7±1.25 <sup>a</sup> |
| Flavor         | 7.6±0.84 <sup>a</sup> | 7.5±0.84 <sup>a</sup> | 7.7±0.93 <sup>a</sup> |
| Texture        | 7.8±0.78 <sup>a</sup> | 7.8±0.78 <sup>a</sup> | 7.9±0.56 <sup>a</sup> |
| Overall liking | 7.1±0.51 <sup>b</sup> | 8.1±0.66 <sup>a</sup> | 8.0±0.81 <sup>a</sup> |

F1 means 20 g of salt; F2 means 15 g of salt; F3 means 10 g of salt. Within a row, the average values with different letters are significantly different ( $p<0.05$ ). The values are expressed as mean±SD (n=10).

**Table 4** The result of just about right scale (JAR) in three formulations of braised milkfish in soy sauce

| Attribute | just about right scale |           |                  |            |                 | Net effect |
|-----------|------------------------|-----------|------------------|------------|-----------------|------------|
|           | Much too light         | Too light | Just about right | Too strong | Much too strong |            |
| Odor      | F1                     |           | 90%              | 10%        |                 |            |
|           | F2                     |           | 90%              | 10%        |                 |            |
|           | F3                     | 20%       | 80%              |            |                 |            |
| Sweet     | F1                     | 10%       | 70%              | 20%        |                 |            |
|           | F2                     | 10%       | 70%              | 20%        |                 |            |
|           | F3                     | 10%       | 70%              | 20%        |                 |            |
| Salty     | F1                     |           | 60%              | 10%        | 30%             | 20         |
|           | F2                     |           | 70%              | 20%        | 10%             |            |
|           | F3                     | 10%       | 80%              | 10%        |                 |            |
| Sour      | F1                     | 20%       | 80%              |            |                 |            |
|           | F2                     | 10%       | 90%              |            |                 |            |
|           | F3                     |           | 100%             |            |                 |            |
| Flavor    | F1                     |           | 70%              | 30%        |                 |            |
|           | F2                     |           | 80%              | 20%        |                 |            |
|           | F3                     | 10%       | 80%              | 10%        |                 |            |
| Texture   | F1                     |           | 100%             |            |                 |            |
|           | F2                     |           | 90%              | 10%        |                 |            |
|           | F3                     | 10%       | 80%              | 10%        |                 |            |

F1 means 20 g of salt; F2 means 15 g of salt; F3 means 10 g of salt.

การทดสอบด้วยสเกลวัดความพอดี (JAR) ทั้งสูตร F2 และ F3 มีค่าความพอดีโดยไม่ต้องปรับสูตรครบทุกด้าน (ด้านกลิ่น ด้านรสชาติหวาน เค็ม และเปรี้ยว ด้านกลิ่นรส และเนื้อสัมผัส) ดังแสดงใน Table 4 ดังนั้นเมื่อพิจารณาค่าคะแนนความชอบร่วมกับค่าความพอดี ผู้วิจัยคัดเลือกสูตร F3 ซึ่งมีคะแนนความชอบโดยรวมที่ 8.0 (ระดับชอบมาก) และมีความเค็มน้อยที่สุดเป็นตำรับมาตรฐาน เพื่อลดปริมาณเกลือในการปรุงรสอาหารซึ่งจะส่งผลให้ลดปริมาณโซเดียมในอาหารด้วย

(1.3) ทดสอบคุณสมบัติทางเคมีกายภาพ (Physicochemical properties) จากตำรับมาตรฐานที่พัฒนาได้แยกระหว่างส่วนของเนื้อปลาต้มซีอิ๊ว และส่วนของน้ำต้มซีอิ๊ว (ของเหลว) พบว่าส่วนของเนื้อปลาต้มซีอิ๊วมีค่าความชื้น (Moisture content) ร้อยละ 59.59 น้อยกว่าความชื้นของเนื้อปลาที่หนึ่งสุกอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ( $p < 0.05$ ) ด้านค่าสีพบว่าเนื้อปลาต้มซีอิ๊วมีค่าความสว่าง  $L^*$  เท่ากับ 38.47 ค่าสีแดง  $a^*$  เท่ากับ 6.08 และค่าสีเหลือง  $b^*$  เท่ากับ 14.58 เมื่อเปรียบเทียบกับเนื้อปลาที่หนึ่งสุกมีค่าความสว่าง ( $L^*$ ) น้อยกว่า ในขณะที่มีค่าความเป็นสีแดง ( $a^*$ ) และค่าความเป็นสีเหลือง ( $b^*$ ) มากกว่าอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ( $p < 0.05$ ) คุณลักษณะด้านเนื้อสัมผัสปลาต้มซีอิ๊วมีค่าที่บ่งบอกความแข็ง (Hardness) เท่ากับ 110.47 N ค่าการยืดเกาะ (Cohesiveness) และค่าการยึดติด (Adhesiveness) เท่ากับ 0.41 และ 1.37 ตามลำดับ ค่าความยืดหยุ่น (Springiness) เท่ากับ 0.58 ค่าความเหนียวเป็นยาง (Gumminess) และความเหนียว (Chewiness) เท่ากับ 50.87 และ 29.03 ตามลำดับ เมื่อเปรียบเทียบกับเนื้อปลาที่หนึ่งสุกแล้วจะมีค่ามากกว่าอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ( $p < 0.05$ ) จึงบ่งชี้ถึงการใช้แรงในการเคี้ยวที่มากกว่าโดยเฉพาะค่าที่บ่งบอกความแข็ง (Hardness) ของชิ้นเนื้อปลาดังแสดงใน Table 5

ปลานวลจันทร์ทะเลต้มซีอิ๊วส่วนที่เป็นของเหลวแสดงค่าสีที่มีค่าความสว่าง  $L^*$  เท่ากับ 21.83 ค่าสีแดง  $a^*$  เท่ากับ 1.16 และค่าสีเหลือง  $b^*$  เท่ากับ 0.79 มีค่าความหนืด เท่ากับ 6.90 cP ค่า pH เท่ากับ 5.01 ค่าความเค็มร้อยละ 25.8 และค่าความหวาน 29.0 °Brix ดังแสดงใน Table 6

**Table 5** Physicochemical properties of braised milkfish and steam milkfish

| Characteristics      | Braised Milkfish in soy sauce | Steamed Milkfish        |
|----------------------|-------------------------------|-------------------------|
| Moisture content (%) | 59.59±0.61 <sup>b</sup>       | 70.87±0.59 <sup>a</sup> |
| Color                |                               |                         |
| $L^*$                | 38.47±2.32 <sup>b</sup>       | 75.77±1.51 <sup>a</sup> |
| $a^*$                | 6.08±0.45 <sup>a</sup>        | 5.59±0.54 <sup>b</sup>  |
| $b^*$                | 14.58±1.91 <sup>a</sup>       | 7.59±0.29 <sup>b</sup>  |
| Texture profiles     |                               |                         |
| Hardness (N)         | 110.47±8.07 <sup>a</sup>      | 75.02±0.95 <sup>b</sup> |
| Adhesiveness (N.sec) | 1.37±0.14 <sup>a</sup>        | 0.03±0.00 <sup>b</sup>  |
| Cohesiveness         | 0.41±0.02 <sup>a</sup>        | 0.19±0.01 <sup>b</sup>  |
| Springiness          | 0.58±0.04 <sup>a</sup>        | 0.46±0.01 <sup>b</sup>  |
| Gumminess (N)        | 50.87±2.36 <sup>a</sup>       | 17.87±0.49 <sup>b</sup> |
| Chewiness (N)        | 29.03±2.74 <sup>a</sup>       | 9.20±0.68 <sup>b</sup>  |
| Resilience           | 0.15±0.02 <sup>a</sup>        | 0.07±0.01 <sup>b</sup>  |

Data are expressed as mean±SD. (n = 6 for moisture content; n = 8 for color; n = 8 for texture profiles), Values with the different superscripts in each row are significantly different ( $p < 0.05$ ).

**Table 6** Physicochemical properties of soy sauce

| Characteristics | Soy Sauce  |
|-----------------|------------|
| Color           |            |
| $L^*$           | 21.83±0.02 |
| $a^*$           | 1.16±0.03  |
| $b^*$           | 0.79±0.03  |
| Viscosity, cP   | 6.90±0.21  |
| pH              | 5.01±0.02  |
| Salinity, %     | 25.8±0.82  |
| °Brix           | 29.0±0.45  |

Data are expressed as mean±SD (n =15 for color; n =5 for viscosity)

ในการทดลองนี้พบว่าเมื่อใช้ความร้อนต้มปลาให้เดือด 100 องศาเซลเซียส จากนั้นทำการเคี้ยวปลานวลจันทร์ทะเลต้มซีอิ๊วต่อไปด้วยไฟอ่อนที่อุณหภูมิโดยรวมไม่เกิน 70 องศาเซลเซียส ในระยะเวลา 15 ชั่วโมง ส่งผลต่อการเปลี่ยนแปลงคุณสมบัติทางเคมีกายภาพ และคุณลักษณะทางประสาทสัมผัสของปลานวลจันทร์ทะเลต้มซีอิ๊วอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ( $p < 0.05$ ) โดยเฉพาะเมื่อเปรียบเทียบกับปลา

ที่ใช้ความร้อนด้วยการนึ่งให้สุกภายใน 15 นาที โดยปลาจะเสียคุณสมบัติการอุ้มน้ำทำให้มีความชื้นในเนื้อปลาลดลง ทำให้มีค่า Hardness สูงขึ้น สาเหตุเกิดจากในระหว่างการประกอบอาหารให้สุกด้วยการต้มและเคี่ยวเป็นการใช้ความร้อนในระยะเวลาอันยาวนานจะทำให้พันธะไฮโดรเจนระหว่างสายพอลิเพปไทด์ถูกทำลาย ดังนั้นโปรตีนในเนื้อปลาจะเกิดการสูญเสียสภาพธรรมชาติด้วยความร้อน (Thermal denaturation) เนื่องจากโปรตีนไมโอซิน (Myosin) ในเส้นใยกล้ามเนื้อ (Myofibril) ของปลาเกิดการคลายตัว และตกตะกอนทำให้เนื้อไม่มีสีและเนื้อสัมผัสที่เปลี่ยนไปแบบผันกลับไม่ได้ (Irreversible) หากการหุงต้มใช้อุณหภูมิสูงมากจะยิ่งทำลายโครงสร้างโปรตีนให้เสียหายได้มาก เมื่อโปรตีนถูกทำลายด้วยความร้อนจนเกิดการเปลี่ยนแปลงโครงสร้างจะสูญเสียคุณสมบัติการอุ้มน้ำ และจับตัวกันเหนียวแน่นมากขึ้น ส่งผลให้เนื้อสัมผัสแข็งหรือเหนียวมากขึ้น เช่นเดียวกับรายงานของ Zhang *et al.* (2021) พบว่าอุณหภูมิส่งผลให้เกิดการเปลี่ยนแปลงคุณสมบัติทางเคมีกายภาพของปลาอย่างเห็นได้ชัด โดยส่งผลต่อการเปลี่ยนแปลงของสี เนื้อสัมผัส และส่งผลต่อคุณค่าทางโภชนาการด้วย โดยอุณหภูมิที่สูงขึ้นตั้งแต่ 40 องศาเซลเซียสสามารถเปลี่ยนแปลงโครงสร้างของโปรตีนไมโอซิน (Myosin) และคอลลาเจน (Collagen) ได้ และอุณหภูมิที่สูงขึ้นตั้งแต่ 72 องศาเซลเซียส จะเปลี่ยนแปลงโครงสร้างโปรตีนแอคติน (Actin) ได้ ด้านค่าสีของปลานวลจันทร์ทะเลต้มซีอิ๊วทั้งส่วนของเนื้อปลาและส่วนของเหลว มีค่าความสว่าง ( $L^*$ ) น้อยมากเกิดจากโปรตีนที่ตกตะกอนด้วยความร้อน ด้านค่าสีแดง ( $a^*$ ) และค่าสีเหลือง ( $b^*$ ) มีค่าสูงจากส่วนผสมทั้งสีของซีอิ๊วดำและน้ำตาลที่ถูกเคี่ยวด้วยความร้อน เมื่อใช้เวลานานขึ้นส่วนผสมของน้ำตาลถูกดูดซึมเข้าเนื้อปลามากขึ้นสีจะเข้มขึ้น ร่วมกับปฏิกิริยาเมลลาร์ด (Maillard reaction) ที่เกิดขึ้นระหว่างการลดอะมิโน (Amino acid) และน้ำตาลรีดิวซ์ (Reducing sugar) ในเนื้อปลา (พฤกษา สวาทสุข, 2559; Bindu *et al.*, 2007)

## 2. การประเมินคุณภาพทางประสาทสัมผัส ตามมาตรฐานปลานวลจันทร์ทะเลต้มซีอิ๊ว

ปลานวลจันทร์ต้มซีอิ๊วได้คะแนนความชอบโดยรวมระดับชอบมากที่สุด 8.0 เช่นเดียวกับคะแนนความชอบด้านลักษณะปรากฏโดยรวม กลิ่น รสชาติ กลิ่นรส ขณะเคี้ยวและกลิ่นที่ระดับชอบมากที่สุด (8 คะแนนขึ้นไป) ในขณะที่ด้านเนื้อสัมผัสได้รับคะแนนระดับชอบปานกลางที่ 7.6 ดังแสดงใน Table 7 ทั้งนี้ผู้ทดสอบชิมให้ข้อมูลเพิ่มเติมว่าเนื้อปลาค่อนข้างเหนียวมากจึงต้องใช้แรงเคี้ยว และก้างแกนลำตัวของปลานวลจันทร์ทะเลค่อนข้างแข็งแต่ก็อยู่ในเกณฑ์ที่ยอมรับได้

เพราะเนื้อปลามีรสชาติดี สอดคล้องกับค่า Hardness ของเนื้อปลาดมซีอิ๊วที่สูงถึง 110.47 N ต่างจากปลาทุ้มเค็มหรือต้มซีอิ๊วที่ต้มนาน 7 ชั่วโมง มีค่า Hardness เท่ากับ 1.54 N (156.53 gram force) (พฤกษา สวาทสุข, 2559) อย่างไรก็ตามคุณลักษณะทางเคมีกายภาพของปลานวลจันทร์ทะเลที่มีความเหนียวโดยเฉพาะค่า Hardness และค่า Gumminess และมีหนังปลาที่หนาและเหนียว เป็นปัจจัยสนับสนุนในการนำไปประกอบอาหารประเภทเคี้ยวตุ๋นได้ดี การมีหนังปลาหนาและเหนียวจะช่วยพยุงรูปร่างชิ้นอาหารไม่ให้เปื่อยยุ่ยได้ง่าย อีกทั้งหนังปลาจะมีโปรตีนคอลลาเจน (Chansomboon & Chankajornkul, 2023) และจะถูกเปลี่ยนเป็นเจลาตินเมื่อใช้เวลานานจะสนับสนุนให้ลดความกระด้างของเนื้อสัมผัสขณะเคี้ยวได้ดี ดังนั้นเมื่อประกอบอาหารรายการปลานวลจันทร์ต้มซีอิ๊วตามตำรับมาตรฐานที่พัฒนาได้ จึงได้ผลิตภัณฑ์ที่มีคุณลักษณะที่ดีเป็นที่ยอมรับ

**Table 7** Liking score of braised milkfish in soy sauce.

| Characteristics | Liking score |
|-----------------|--------------|
| Appearance      | 8.7±0.66     |
| Odor            | 8.4±0.88     |
| taste           | 8.6±0.55     |
| Flavor          | 8.3±0.70     |
| Texture         | 7.6±0.70     |
| Overall liking  | 8.0±0.78     |

Data are expressed as mean±SD (n = 10)

## 3. การประเมินคุณค่าทางโภชนาการของ ผลิตภัณฑ์แต่ละตำรับที่พัฒนาได้ ตามรูปแบบของฉลาก โภชนาการไทย

ผลการประเมินคุณค่าทางโภชนาการ รายงานปริมาณสารอาหารใน 100 กรัม ดังแสดงใน Table 8 พบว่าปลานวลจันทร์ทะเลต้มซีอิ๊วให้พลังงานทั้งหมดเพียง 144.70 กิโลแคลอรี ให้โปรตีนสูงถึง 16.45 กรัม ไขมันและคอเลสเตอรอลต่ำ มีแร่ธาตุเหล็ก 1.10 มิลลิกรัม และแคลเซียมสูงถึง 309.95 มิลลิกรัม แต่มีข้อควรระวังเรื่องโซเดียมที่อยู่ 644.81 มิลลิกรัม ทั้งนี้เมื่อปริมาณเสิร์ฟที่ 125 กรัม จะมีปริมาณสารอาหารคิดเทียบปริมาณแนะนำให้บริโภคต่อวันสำหรับคนไทยอายุตั้งแต่ 6 ปี ขึ้นไป (Thai RDI) (กรอบข้อมูลโภชนาการ) ดังนี้ พลังงานทั้งหมด 190 กิโลแคลอรี (พลังงานจากไขมัน 20 กิโลแคลอรี) ไขมันทั้งหมดร้อยละ 4 เป็นไขมันอิ่มตัวร้อยละ 5 คอเลสเตอรอลร้อยละ 37 โปรตีน 21 กรัม คาร์โบไฮเดรตร้อยละ 7 โยอาหารร้อยละ 4 น้ำตาล 17 กรัม โซเดียมร้อยละ 40 วิตามินเอร้อยละ 6 วิตามินบีหนึ่งร้อยละ 4

เหล็กร้อยละ 10 และแคลเซียมร้อยละ 50 มีข้อควรระวังคือ โซเดียมสูงที่ร้อยละ 40 และคอเลสเตอรอลร้อยละ 37 กล่าวได้ว่ารายการอาหารจากปลานวลจันทร์ทะเลมีคุณค่าทางโภชนาการสูงเป็นแหล่งโปรตีนที่ดี มีไขมันต่ำ หากรับประทานได้ทั้งตัวทั้งก้างจะได้รับแคลเซียมในปริมาณมาก แต่ต้องระวังปริมาณโซเดียมเนื่องจากเป็นอาหารทะเลจึงมีเกลือโซเดียม โดยธรรมชาติสูง สอดคล้องกับ Malle *et al.* (2019) รายงานคุณค่าทางอาหารของปลานวลจันทร์ (*Chanos Chanos, Forskal*) (Pangkep) ในประเทศอินโดนีเซีย ว่ามีแคลเซียม 54.92 ./100. โพแทสเซียม 320.01 ./100. แมกนีเซียม 39.97 ./100. วิตามินบีสิบสอง 3.81 ./100. โดยมีโปรตีน 22 ./100. ไขมันต่ำเพียง 3.0 ./100. จากคุณค่าโภชนาการที่ดีนี้จะส่งเสริมให้รับประทานปลานวลจันทร์ทะเลต้มซีอิ๊วเป็นที่พึงพอใจของผู้บริโภค สามารถต่อยอดในการสร้างมูลค่าของผลิตภัณฑ์ ดังรายงานของ จิราพร วิญญุตตานนท์ และคณะ (2566) ว่าผู้บริโภคส่วนใหญ่จะให้ความสนใจต่อข้อมูลด้านคุณค่าทางโภชนาการของอาหารในรูปแบบของฉลากโภชนาการ ซึ่งผู้ผลิตอาหารใช้ฉลากเป็นข้อมูลในการโฆษณาผลิตภัณฑ์ทั้งหน่วยงานภาครัฐใช้ในการติดตามตรวจสอบคุณภาพอาหารเพื่อความปลอดภัยของผู้บริโภค อีกทั้งผู้บริโภคในยุคปัจจุบันเลือกรับประทานโดยพิจารณาจากฉลากที่มีการระบุวัน/เดือน/ปีที่ผลิตชัดเจน มีเครื่องหมายรับรองคุณภาพ และมาตรฐานสากลตามข้อกำหนดของกระทรวงสาธารณสุขเพื่อความปลอดภัยด้านสุขภาพ

**Table 8** The nutrition facts of braised milkfish in soy sauce.

| Nutrition Facts           | 100 g. of sample |
|---------------------------|------------------|
| Total energy, Kcal        | 144.70           |
| Energy form fat, Kcal     | 16.38            |
| Total fat, gm.            | 1.82             |
| Saturated fat, gm         | 0.73             |
| Cholesterol, mg           | 87.09            |
| Protein (factor 6.25), gm | 16.45            |
| Total carbohydrate, gm    | 15.63            |
| Fiber, gm                 | 0.86             |
| Sugars, gm                | 13.61            |
| Sodium, mg                | 644.81           |
| Vitamin A, mcg RAE        | 40.24            |
| Vitamin B1, mg            | 0.053            |
| Vitamin B2, mg            | Less than 0.020  |
| Calcium, mg               | 309.95           |
| Iron, mg                  | 1.10             |
| Ash, gm                   | 3.45             |
| Moisture, gm              | 62.65            |

## สรุปผลการวิจัย

ปลานวลจันทร์ทะเลที่มีขนาดเล็กไม่สามารถทอดก้างก่อนนำมาประกอบอาหารได้เหมาะสมต่อการประกอบอาหารรายการปลานวลจันทร์ทะเลต้มซีอิ๊ว โดยตำรับมาตรฐานที่พัฒนาขึ้น เป็นที่ยอมรับของผู้บริโภคได้คะแนนความชอบโดยรวม ระดับชอบมาก ด้านข้อมูลตามฉลากโภชนาการปลานวลจันทร์ทะเลต้มซีอิ๊วขนาดรับประทาน 125 กรัม (ปลา 1 ตัว) ให้พลังงานทั้งหมด 190 กิโลแคลอรี ให้โปรตีนสูงถึง 21 กรัม แร่ธาตุเหล็กร้อยละ 10 โดยเฉพาะอย่างยิ่งแคลเซียมสูงถึงร้อยละ 50 แต่มีข้อควรระวังเรื่องโซเดียมร้อยละ 40 และคอเลสเตอรอลร้อยละ 37 อย่างไรก็ตามรายการอาหารนี้ให้พลังงานต่ำ ไขมันต่ำ อุดมไปด้วยโปรตีน และมีแคลเซียมสูงจัดเป็นรายการอาหารทางเลือกจากการใช้ปลานวลจันทร์เป็นวัตถุดิบ

## กิตติกรรมประกาศ

งานวิจัยนี้ได้รับทุนสนับสนุนจากวิทยาลัยดุสิตธานี และได้รับการสนับสนุนวัตถุดิบจากศูนย์วิจัยและพัฒนาการเพาะเลี้ยงสัตว์น้ำชายฝั่งเพชรบุรี ผู้วิจัยขอขอบคุณมา ณ โอกาสนี้

## เอกสารอ้างอิง

- จิราพร วิญญุตตานนท์, ปัทมา หิรัญญิกาส, นันทิยา เฟื่องขจรพิง, ธิติรัตน์ แสนพรม และณฤมล เปียเชื้อ. (2566). การพัฒนาชุดอาหารกล่องพลังงานต่ำจากอาหารไทยวังสวนสุนันทา. *วารสารวิจัย มหาวิทยาลัยเทคโนโลยีราชมงคลศรีวิชัย*, 15(1), 121–132.
- นันทิดา แดงขาว. (2561). การพัฒนาผลิตภัณฑ์เส้นก๋วยเตี๋ยวจากปลานวลจันทร์เสริมสาหร่ายพวงองุ่น. *วารสารวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยี*, 26(8), 1311–1324.
- นันทิดา แดงขาว, ประพัฒน์ กอสวัสดิ์พัฒน์, ฉวีวรรณ สุขศรี และโสภณรัตน์ กล้ากลมจิตร. (2566). ผลของปริมาณเกลือในกระบวนการหมักต่อคุณภาพของปลาสามจากปลานวลจันทร์ทะเล. *วารสารวิทยาศาสตร์บูรพา*, 28(2), 848–864.
- นิธิวัฒน์ วงศ์วิวัฒน์. (2553). การศึกษาการเจริญเติบโตของปลานวลจันทร์ที่เลี้ยงด้วยอาหารเม็ดในบ่อดิน [ปริญญา นิพนธ์วิทยาศาสตรบัณฑิต, มหาวิทยาลัยแม่โจ้].
- พฤกษา สวาทสุข. (2559). ผลของเวลาการให้ความร้อนต่อลักษณะทางกายภาพของปลาทุ้มเค็มในบรรจุภัณฑ์รีทอร์ทเพาซ์. *วารสารแก่นเกษตร*, 44(2), 257–264.

- มณีวรรณ วงศ์นอก. (2555). เมนูอาหารจากปลาคู้มค่าเพราะกินได้ทั้งตัว. สำนักงานประมงจังหวัดอุบลราชธานี.
- วัชรวิทย์ คงรัตน์ และอรรณพ คงพันธุ์. (2558). การพัฒนาผลิตภัณฑ์จากปลานวลจันทร์ (*Chanos chanos, Forskal*) (รายงานผลการวิจัยฉบับที่ 8/2558). กองวิจัยและพัฒนาอุตสาหกรรมสัตว์น้ำ กรมประมง.
- AOAC. (2005). Method 950.46. In W. Horwitz (Ed.), *Official methods of analysis of AOAC International* (18th ed.). AOAC International.
- AOAC. (2019). Method 937.09–981.12. In W. Horwitz (Ed.), *Official methods of analysis of AOAC International* (21st ed.). AOAC International.
- Bagarinao, T. U. (1991). *Biology of milkfish (Chanos chanos Forskal)*. Aquaculture Department Southeast Asian Fisheries Development Center (SEAFDEC).
- Bindu, J., Ravishankar, C. N., & Srinivasa Gopal, T. K. (2007). Physico-chemical and microbiological changes in farmed pearl spot (*Eetroplus suratensis*) during iced storage. *Journal of Food Science and Technology*, 44(5), 469–473.
- Chaijan, M., Panpipat, W., & Benjakul, S. (2010). Physicochemical properties and gel-forming ability of surimi from three species of mackerel caught in Southern Thailand. *Food Chemistry*, 121(1), 85–92.
- Chansomboon, C., & Chankajornkul, S. (2023). Production of biodegradable film from milkfish (*Chanos chanos, Forskal*) skin gelatin. In *Proceeding of the Annual Conference on Fisheries 2023* (pp. 70–79).
- Freyhof, J., Sparks, J. S., Kaymaram, F., Feary, D., Bishop, J., Al-Husaini, M., Almkhtar, M., Hartmann, S., Alam, S., & Al-Khalaf, K. (2019). *Chanos chanos*. The IUCN Red List of Threatened Species 2019: e.T60324A151598011. <https://doi.org/10.2305/IUCN.UK.2019-2.RLTS.T60324A151598011.en>
- Malle, S., Tawali, A. B., Tahir, M. M., & Bilang, M. (2019). Nutrient composition of milkfish (*Chanos chanos, Forskal*) from Pangkep, South Sulawesi, Indonesia. *Malaysian Journal of Nutrition*, 25(1), 155–162.
- Meilgaard, M. C., Civille, G. V., & Carr, B. T. (2007). *Sensory evaluation techniques* (4th ed.). CRC Press.
- Pokorny, J., & Davidek, J. (1986). Application of hedonic sensory profiles for the characterization of food quality. *Die Nahrung*, 30(8), 757–763.
- Rothman, L. (2007). *The use of just-about-right (JAR) scales in food product development and reformulation*. Consumer-led food product development.
- Rothman, L., & Parker, M. J. (2009). *Just-about-right scales: Design, usage, benefits, and risks* (ASTM Manual MNL63). ASTM International.
- Zhang, Z., Pham, H., Tan, Y., Zhou, H., & McClements, D. J. (2021). Investigation of protein denaturation and textural changes of Atlantic salmon (*Salmo salar*) during simulated cooking. *Food Biophysics*, 16, 512–519.

# การระบุชนิดปูน้ำเค็มในบริเวณป่าชายเลนที่มีการฟื้นฟูอ่าวคุ้งกระเบน จังหวัดจันทบุรี โดยใช้ดีเอ็นเอบาร์โค้ด

## Species identification of marine crabs in reforested mangrove at Kung Krabaen Bay, Chanthaburi Province, using DNA barcodes

วิรังรอง กรินท์ธัญญกิจ<sup>1\*</sup>, ชุตาทา คุณสุข<sup>1</sup> และ เสาวภา สุราวุธ<sup>1</sup>

Wirangrong Karinthanyakit<sup>1\*</sup>, Chutapa Kunsook<sup>1</sup> and Saowapha Surawut<sup>1</sup>

Received: 28 October 2024 ; Revised: 2 December 2024 ; Accepted: 15 January 2025

### บทคัดย่อ

การทำลายพื้นที่ป่าชายเลนในประเทศไทย ส่งผลกระทบทำให้ความหลากหลายทางชีวภาพลดลง รวมถึงสัตว์อย่างปูน้ำเค็มอ่าวคุ้งกระเบน จังหวัดจันทบุรี เป็นหนึ่งในพื้นที่ที่มีการจัดทำโครงการปลูกป่าชายเลน และการศึกษาความหลากหลายชนิดของปูน้ำเค็มในบริเวณดังกล่าวสามารถใช้เป็นตัวชี้วัดถึงความสำเร็จของโครงการได้ โดยการจำแนกชนิดปูน้ำเค็มในปัจจุบันมีการใช้ข้อมูลทางพันธุกรรมร่วมกับลักษณะทางสัณฐาน เพื่อให้ได้ข้อมูลที่มีความถูกต้องแม่นยำมากยิ่งขึ้น เนื่องจากปูบางชนิดมีลักษณะทางสัณฐานที่คล้ายคลึงกัน การวิจัยนี้มีวัตถุประสงค์เพื่อศึกษาการใช้ดีเอ็นเอบาร์โค้ดมาระบุชนิดปูน้ำเค็มในบริเวณป่าชายเลนที่มีการฟื้นฟูอ่าวคุ้งกระเบน จังหวัดจันทบุรี โดยการวิเคราะห์ลำดับนิวคลีโอไทด์ของยีน Cytochrome oxidase subunit I (COI) ในดีเอ็นเอของปูน้ำเค็มจำนวน 58 ตัวอย่าง ผลการวิจัยพบว่าสามารถเพิ่มปริมาณดีเอ็นเอในส่วนที่ยีน COI โดยเทคนิค PCR และได้ข้อมูลลำดับนิวคลีโอไทด์ของปูน้ำเค็มทุกตัวอย่าง เมื่อเปรียบเทียบข้อมูลพันธุกรรมของตัวอย่างปูกับข้อมูลรหัสพันธุกรรมในฐานข้อมูลพันธุกรรม GenBank พบว่า สามารถระบุชนิดปูได้จำนวน 11 ชนิด โดย 10 ชนิด มีความคล้ายคลึงทางพันธุกรรมสูงถึง 97.26% – 100% ได้แก่ ปูขาว (*Scylla paramamosain*) ปูม่วง (*S. tranquebarica*) ปูดำ (*S. olivacea*) ปูม้า (*Portunus pelagicus*) ปูหินก้ามฟ้า (*Thalamita crenata*) ปูกระตอยแดง (*Charybdis affinis*) ปูก้ามหัก (*Venitus latreillei*) ปูใบก้ามโต (*Myomenippe hardwickii*) ปูแป้น (*Varuna yui*) และปูเสฉวนขาฟ้า (*Clibanarius longitarsus*) ส่วนอีก 1 ชนิด คือปูเป้ใบไม้ (*Neodoriippe callida*) ไม่พบข้อมูลลำดับนิวคลีโอไทด์ของยีน COI ในฐานข้อมูล ความหลากหลายชนิดของปูน้ำเค็มในพื้นที่ป่าชายเลนที่มีการฟื้นฟูของอ่าวคุ้งกระเบนที่พบในการศึกษาค้นคว้าครั้งนี้ จำนวน 11 ชนิดนั้น มีความใกล้เคียงกับจำนวนชนิดปูที่พบในพื้นที่ป่าชายเลนธรรมชาติของอ่าวคุ้งกระเบนที่พบจำนวน 13 ชนิด และปูทะเลในสกุล *Scylla* ซึ่งเป็นปูเศรษฐกิจ พบในการศึกษาค้นคว้าครั้งนี้จำนวน 3 ชนิด จากที่เคยมีรายงานพบเพียง 1 ชนิด จากผลการวิจัยสรุปได้ว่า ดีเอ็นเอบาร์โค้ดช่วยเพิ่มความเชื่อมั่นในการระบุชนิดปูน้ำเค็มได้เป็นอย่างดี ความหลากหลายชนิดของปูในพื้นที่ป่าชายเลนฟื้นฟูที่มีใกล้เคียงกับพื้นที่ธรรมชาติ เป็นสิ่งที่บ่งบอกถึงความอุดมสมบูรณ์ของพื้นที่ป่าชายเลนปลูกบริเวณอ่าวคุ้งกระเบน จังหวัดจันทบุรี ผลที่ได้จากการศึกษานี้สามารถนำไปใช้เป็นข้อมูลพื้นฐานในการติดตามความสำเร็จของการฟื้นฟูป่าชายเลนและความหลากหลายทางชีวภาพซึ่งจะเป็นแนวทางสำคัญในการวางแผนอนุรักษ์และจัดการทรัพยากรปูให้เกิดความยั่งยืน

คำสำคัญ: ดีเอ็นเอบาร์โค้ด, การระบุชนิด, ปูน้ำเค็ม, ป่าชายเลนที่มีการฟื้นฟู, อ่าวคุ้งกระเบน

### Abstract

The problem of mangrove forest destruction has led to a decline of biodiversity in Thailand, including animals such as marine crabs. Kung Krabaen Bay in Chanthaburi Province is one of the areas where a mangrove reforestation project has been implemented. The study of marine crab species diversity in this area can be used as an indicator of

<sup>1</sup> ผู้ช่วยศาสตราจารย์, ภาควิชาชีววิทยา คณะวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยี มหาวิทยาลัยราชภัฏรำไพพรรณี จังหวัดจันทบุรี 22000

<sup>1</sup> Assistance Professor, Department of Biology, Faculty of Science and Technology, Rambhai Barni Rajabhat University, Chanthaburi Province, 22000

\* Corresponding author. Wirangrong Karinthanyakit, Department of Biology, Faculty of Science and Technology, Rambhai Barni Rajabhat University, Chanthaburi Province, 22000 Email: wirangrong.k@rbru.ac.th

the project's success. Currently, the identification of marine crab species uses genetic data in conjunction with morphological characteristics to obtain more accurate information, as some species exhibit similar morphological traits. This study aimed to study the species identification of marine crabs in reforested mangrove at Kung Krabaen Bay, Chanthaburi Province, using DNA barcodes. Fifty-eight samples of marine crab were species identified by analyzing the nucleotide sequence of the Cytochrome oxidase I (COI) gene on mitochondrial DNA. All 58 marine crabs were successfully PCR amplified and sequenced. The identity of all sequences was determined by comparing them with the GenBank genetic database. The results found that 11 species were identified. Ten species showed a high genetic similarity of 97.26% – 100%, including *Scylla paramamosain*, *S. tranquebarica*, *S. olivacea*, *Portunus pelagicus*, *Thalamita crenata*, *Charybdis affinis*, *Venitus latreillei*, *Myomenippe hardwickii*, *Varuna yui* and *Clibanarius longitarsus*. However, the remaining species, *Neodoriippe callida*, did not have a nucleotide sequence of the COI gene in the GenBank database. The diversity of marine crab species in the reforested mangrove area of Kung Krabaen Bay, which comprised 11 species, was close to the 13 species found in the natural mangrove area of the bay. Three economically important crab species in the genus *Scylla* were identified, as opposed to only one species previously reported. DNA barcoding significantly increases the confidence in identifying marine crab species. The diversity of crab species in the reforested mangrove, which is close to the natural areas, indicates the abundance of the planted mangrove forest area in Kung Krabaen Bay, Chanthaburi Province. The results of this study can be used as basic data to monitor the success of mangrove reforestation and biodiversity, which will lead to planning for conservation and sustainable management of crab resources.

**Keywords:** DNA barcodes, species identification, marine crabs, reforested mangrove, Kung Krabaen Bay

## บทนำ

ป่าชายเลนเป็นระบบนิเวศที่มีความสำคัญต่อการดำรงชีวิตของสิ่งมีชีวิตในทะเลและชายฝั่ง โดยเป็นแหล่งที่อยู่อาศัย แหล่งอนุบาลสัตว์น้ำ ทำหน้าที่ในการป้องกันการกัดเซาะชายฝั่ง รวมไปถึงการสะสมคาร์บอนในดิน เพื่อป้องกันการเปลี่ยนแปลงสภาพภูมิอากาศ (กรมทรัพยากรทางทะเลและชายฝั่ง, 2556) อย่างไรก็ตาม ในหลายทศวรรษที่ผ่านมา ป่าชายเลนในหลายพื้นที่ของประเทศไทยถูกทำลายลงมากจากกิจกรรมต่างๆ ของมนุษย์ ซึ่งรวมไปถึงป่าชายเลนในบริเวณอ่าวคุ้งกระเบน จังหวัดจันทบุรี ที่ถูกเปลี่ยนแปลงไปเป็นพื้นที่เพาะเลี้ยงสัตว์น้ำ นาเกลือ และการสร้างท่าเรือ (Department of Marine and Coastal Resources, 2013) ซึ่งกิจกรรมเหล่านี้ส่งผลกระทบต่อจำนวนสัตว์น้ำที่อาศัยอยู่ในบริเวณดังกล่าว โดยเฉพาะปูน้ำเค็ม (marine crabs) ที่มีบทบาทสำคัญต่อการควบคุมระบบนิเวศและห่วงโซ่อาหารในป่าชายเลน (Gao & Lee, 2022) อีกทั้งมีความสำคัญในแง่เศรษฐกิจสำหรับชุมชนท้องถิ่น โดยปูน้ำเค็มหลายชนิด ได้แก่ ปูม้า และปูทะเลในสกุล *Scylla* เป็นปูเศรษฐกิจที่มีความสำคัญต่อการทำประมงในพื้นที่อ่าวคุ้งกระเบน

อ่าวคุ้งกระเบน จังหวัดจันทบุรี เป็นหนึ่งในพื้นที่ที่มีการดำเนินโครงการฟื้นฟูป่าชายเลนอย่างต่อเนื่อง โดยศูนย์ศึกษาการพัฒนาอ่าวคุ้งกระเบน ร่วมกับสำนักงานประมง

จังหวัด และชุมชนอ่าวคุ้งกระเบน จัดทำโครงการปลูกป่าชายเลนเพื่อฟื้นฟูป่าระบบนิเวศและแหล่งที่อยู่อาศัยให้กับสัตว์น้ำ (Kung Krabaen Bay Royal Development Study, 2020; ชุตาทา คุณสุข และคณะ, 2565) และเพื่อประเมินผลกระทบและความสำเร็จของโครงการ จึงควรมีการศึกษาความหลากหลายชนิดของปูน้ำเค็ม ซึ่งเป็นสัตว์เศรษฐกิจในพื้นที่ดังกล่าว ผลที่ได้สามารถใช้เป็นข้อมูลพื้นฐานในการอนุรักษ์และการจัดการทรัพยากรธรรมชาติอย่างยั่งยืน อย่างไรก็ตาม การระบุชนิดปูน้ำเค็มโดยใช้ข้อมูลจากลักษณะทางสัณฐานเพียงอย่างเดียวอาจไม่เพียงพอ เนื่องจากปูน้ำเค็มหลายชนิด มีลักษณะทางสัณฐานที่คล้ายคลึงกัน เช่น ปูทะเลในสกุล *Scylla* ปูก้ามหักในสกุล *Venitus* และปูแป้นในสกุล *Varuna* เป็นต้น ซึ่งอาจทำให้เกิดความสับสนในการระบุชนิด เทคนิคดีเอ็นเอบาร์โค้ด (DNA Barcodes) จึงเข้ามามีบทบาทสำคัญในการระบุชนิดสิ่งมีชีวิต โดยใช้การวิเคราะห์ลำดับนิวคลีโอไทด์ของยีนที่จำเพาะเจาะจง โดยในสัตว์มักใช้ส่วนของยีนไซโตโครม ออกซิเดส วัน (Cytochrome oxidase I; COI) ซึ่งพบว่ามีศักยภาพในการระบุชนิดสิ่งมีชีวิต เนื่องจากลำดับนิวคลีโอไทด์ในส่วนนี้มีลักษณะเป็นเอกลักษณ์เฉพาะในสิ่งมีชีวิตชนิดเดียวกัน และแตกต่างจากสิ่งมีชีวิตชนิดอื่นๆ อย่างชัดเจน (Hebert *et al.*, 2003)

ดังนั้น วัตถุประสงค์ในการศึกษานี้ เพื่อศึกษาการใช้ดีเอ็นเอบาร์โค้ดในการระบุชนิดปูน้ำเค็มในบริเวณป่าชาย

เลนที่มีการฟื้นฟูอ่าวคุ้งกระเบน จังหวัดจันทบุรี โดยผลที่คาดว่าจะได้รับคือ ข้อมูลความหลากหลายชนิดของปูน้ำเค็มในพื้นที่ดังกล่าว ซึ่งจะช่วยสนับสนุนการอนุรักษ์และจัดการทรัพยากรทางทะเลอย่างยั่งยืน ทั้งยังมีประโยชน์ต่อการฟื้นฟูระบบนิเวศชายฝั่งในอนาคต และช่วยเสริมสร้างองค์ความรู้ในการนำเทคนิคดีเอ็นเอบาร์โค้ด มาใช้ในการศึกษาความหลากหลายทางชีวภาพในระบบนิเวศชายฝั่ง

## วิธีการศึกษา

### 1. การเก็บรวบรวมตัวอย่าง

เก็บตัวอย่างในพื้นที่ป่าชายเลนปลูกรอบบริเวณอ่าวคุ้งกระเบน ซึ่งเป็นพื้นที่ที่มีรายงานการแพร่กระจายของปูน้ำเค็ม (อรอนงค์ บุญมี, 2563; ชุตานา คุณสุข และคณะ, 2565) โดยกำหนดจุดเก็บตัวอย่างทั้งหมด 6 จุด ได้แก่ บริเวณคลองในป่าชายเลน 3 สถานี และบริเวณหน้าป่าชายเลนที่ติดกับหญ้าทะเล 3 สถานี ออกเก็บตัวอย่างปูน้ำเค็มในพื้นที่ป่าชายเลน บริเวณอ่าวคุ้งกระเบนทุกเดือน เป็นเวลา 6 เดือน (เดือนกุมภาพันธ์ มีนาคม กรกฎาคม สิงหาคม กันยายน พ.ศ. 2566 และเดือนมกราคม พ.ศ. 2567) โดยใช้ลอบแบบพับได้ที่มีเยื่อเป็นพลาสติก ขนาดตาที่ทอกลบ 2.5 นิ้ว นำไปวางในจุดเก็บตัวอย่างจำนวน 60 ลูก ระยะห่างระหว่างลอบ 5 เมตร จากนั้นรอระยะเวลาเพื่อให้ปูเข้าลอบ นำตัวอย่างปูออกจากลอบ รักษาสภาพด้วยน้ำแข็ง และนำกลับมายังห้องปฏิบัติการจัดจำแนกชนิดปูโดยใช้ลักษณะทางสัณฐานวิทยา โดยใช้คู่มือของ ธรณ์ ขำรงนาวาสวัสดิ์ และพันธุ์ทิพย์ วิเศษพงษ์พันธุ์ (2550) และสหัส ราชเมืองขวาง (2557)

### 2. การสกัดดีเอ็นเอและเพิ่มปริมาณดีเอ็นเอด้วยปฏิกิริยาลูกโซ่พอลิเมอเรส (Polymerase Chain Reaction, PCR)

สกัดดีเอ็นเอจากตัวอย่างปูน้ำเค็มที่รวบรวมได้จำนวน 58 ตัวอย่าง โดยสุ่มตัวอย่างปูน้ำเค็มชนิดละ 2-3 ตัวอย่าง ยกเว้นปูน้ำเค็มในสกุล *Scylla* ที่ใช้ตัวอย่างทุกตัว เนื่องจากเป็นกลุ่มปูที่มีลักษณะทางสัณฐานคล้ายคลึงกัน ใช้น้ำเยื่อปู 0.07 กรัม สกัดด้วยชุดน้ำยาสำเร็จรูป FavorPrep™ Tissue Genomic DNA extraction Kit (Favorgen, Taiwan) และสกัดดีเอ็นเอตามคำแนะนำของผู้ผลิต จากนั้นตรวจสอบคุณภาพดีเอ็นเอที่สกัดได้โดยวิธี 1% อะกาโรสเจล อิเล็กโทรโฟรีซิส (agarose gel electrophoresis) นำดีเอ็นเอที่สกัดได้ไปเพิ่มปริมาณในส่วนที่ยีน COI ด้วยเทคนิค PCR ปฏิกิริยาดังกล่าวประกอบด้วยสารต่างๆ (PCR mixture) ซึ่งมีปริมาตรรวม 50 ไมโครลิตร (μl) ดังนี้ 1x Taq buffer, 1.5 mM MgCl<sub>2</sub>, 0.5 μM Forward และ Reverse

primers, 0.2 mM dNTPs, 1U Taq DNA Polymerase (Recombinant) (Fermentas, Germany) และดีเอ็นเอที่สกัดได้ ปริมาตร 4 μl ไพรมเมอร์ที่ใช้ในปฏิกิริยา PCR คือ คู่ไพรมอร์ LCO1490 และ HCO2198 (Folmer *et al.*, 1994) ซึ่งเป็น universal primer สามารถเพิ่มปริมาณดีเอ็นเอได้ขึ้นส่วนขนาดประมาณ 700 คู่เบส โดยมีสภาวะการทำงานทั้งหมด 35 รอบ ดังนี้ อุณหภูมิ 95 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 30 วินาที 45 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 30 วินาที และ 72 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 1 นาที (Folmer *et al.*, 1994) จากนั้นทำผลผลิตของ PCR ที่ได้ให้บริสุทธิ์โดยใช้ชุดน้ำยาสำเร็จรูป GenepHlow™ Gel/PCR kit (Geneaid, Taiwan) แล้วส่งไปวิเคราะห์หาลำดับนิวคลีโอไทด์ด้วยเครื่องหาลำดับนิวคลีโอไทด์อัตโนมัติ (automated sequencer) ดำเนินการโดยบริษัท Macrogen ประเทศเกาหลีใต้ ซึ่งไพรมเมอร์ที่ใช้ในการหาลำดับนิวคลีโอไทด์คือไพรมอร์คู่เดียวกับที่ใช้ในปฏิกิริยา PCR

### 3. การวิเคราะห์ข้อมูลลำดับนิวคลีโอไทด์

ตรวจสอบความถูกต้องของลำดับนิวคลีโอไทด์ของแต่ละตัวอย่างโดยตรวจสอบลักษณะของกราฟโครมาโทแกรม (chromatogram) ด้วยโปรแกรม MEGA v.11 (Tamura *et al.*, 2021) ระบุชนิดปูโดยนำลำดับนิวคลีโอไทด์ในส่วนที่ยีน COI ของแต่ละตัวอย่างไปเปรียบเทียบกับความคล้ายคลึงกับลำดับนิวคลีโอไทด์ของสิ่งมีชีวิตชนิดต่างๆ ในฐานข้อมูลพันธุกรรม GenBank โดยใช้โปรแกรม Blastn (Nucleotide Basic Local Alignment Search Tool) โดยค่าความคล้ายคลึงทางพันธุกรรมที่ใช้ในการระบุชนิดต้องมีค่าไม่ต่ำกว่า 97% หากต่ำกว่านี้ สันนิษฐานได้วยังไม่มีผู้ใดศึกษาดีเอ็นเอบาร์โค้ดของชนิดนั้นมาก่อน (ตุจตุติ ปานพรหมมินทร์, 2556; Wong & Hanner, 2008)

วิเคราะห์ความสัมพันธ์เชิงวิวัฒนาการระหว่างตัวอย่างปูน้ำเค็ม โดยนำลำดับนิวคลีโอไทด์ในส่วนที่ยีน COI ของทุกตัวอย่างมาเปรียบเทียบกัน (multiple sequence alignment) รวมถึงสิ่งมีชีวิตนอกกลุ่ม (outgroup) ที่เพิ่มเข้ามา 2 ชนิด คือ ปูเสฉวนขาสาม (*Clibanarius infraspinus*) และปูเสฉวนยักษ์จุดขาว (*Dardanus megistos*) จากนั้นสร้างแผนภูมิต้นไม้แสดงความสัมพันธ์ทางวิวัฒนาการ (phylogenetic tree) ด้วยวิธี Neighbor-joining (NJ) โดยใช้โปรแกรม MEGA v. 11 ทดสอบความเชื่อมั่นของ Phylogenetic tree ที่ได้ด้วยการทดสอบ Bootstrap จำนวน 1,000 ซ้ำ (Tamura *et al.*, 2021)

วิเคราะห์ค่าระยะห่างทางพันธุกรรมภายในชนิด (Intraspecific genetic distance) และระหว่างชนิด (Interspecific genetic distance) โดยใช้โปรแกรม MEGA v. 11 (Tamura *et al.*, 2021)

## ผลการศึกษา

### 1. การระบุชนิดปูน้ำเค็มจากลักษณะทางสัณฐาน

ในจำนวนตัวอย่างปูทั้งหมด 58 ตัวอย่าง มีปูบางชนิดที่มีความสับสนในการจำแนกชนิดด้วยลักษณะทางสัณฐาน ได้แก่ ปูทะเลในสกุล *Scylla* ปูก้ามหัก และปูแป้น ปูทะเล *Scylla* spp. มีลักษณะที่คล้ายคลึงกัน โดยเฉพาะในส่วนของลักษณะหนามระหว่างตา ลักษณะและสีของกระดอง แต่เมื่อพิจารณาโดยละเอียดแล้ว ลักษณะที่นำมาเป็นจุดในการระบุชนิดได้ คือ สีก้ามและลายร่างแหบนรยางค์ โดยปูม่วง (*S. tranquebarica*) ก้ามด้านหน้าครึ่งบนไม่มีจุดสี ส่วนครึ่งล่างมีสีน้ำตาล น้ำตาลม่วงหรือน้ำตาลเข้ม มีลายร่างแหปรากฏที่ขาเดินทุกขา ปูขาว (*S. paramamosain*) บริเวณครึ่งบนของก้ามด้านหน้ามีสีเขียวมอมน้ำตาล มีจุดสีเขียวมอมเหลืองขนาดเล็กกระจายอยู่ ครึ่งล่างของก้ามมีสีเหลืองอ่อน มีลายร่างแหชัดเจนบริเวณขาที่ 3 และขาว่ายน้ำ ปูดำ (*S. olivacea*) ก้ามมีสีโทนแดงหรือน้ำตาลแดง ไม่ปรากฏลายร่างแหทั้งบนก้ามขาเดิน และขาว่ายน้ำ (ประดิษฐ์ แสงทอง, 2549) ปูก้ามหักมี 2 ชนิดที่มีลักษณะรยางค์ขา และลักษณะรูปร่างของกระดองคล้ายคลึงกัน คือ *Venitus vietnamensis* และ *V. latreillei* แต่มีจุดที่แตกต่างกัน สามารถนำมาใช้เป็นเกณฑ์ระบุชนิดได้ คือ ลักษณะของหนามข้างกระดอง โดยปูก้ามหัก (*V. vietnamensis*) มีหนามข้างกระดอง 4 ซี่ มีขนาดเล็ก สั้นและมน ทำให้มองเห็นได้ไม่ชัดเจน ส่วนปูก้ามหัก (*V. latreillei*) มีหนามข้างกระดอง 3 ซี่ มีขนาดใหญ่ ยาว และแหลม ทำให้มองเห็นได้อย่างชัดเจน (Naruse *et al.*, 2014) ส่วนปูแป้นมี 2 ชนิดที่มีลักษณะภายนอกคล้ายคลึงกันในส่วนของลักษณะก้ามและรยางค์ขา แต่มีจุดที่แตกต่างกัน คือ รูปร่างของกระดองและ

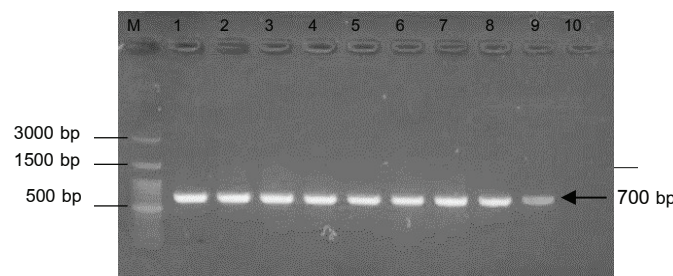
ลายบนกระดอง โดยปูแป้น (*Varuna yui*) มีลักษณะของกระดองเป็นรูปสี่เหลี่ยมคางหมู มีลายและมีร่องตื้นๆ อยู่ที่ผิวของกระดองเห็นได้ชัดเจน ส่วนปูแป้น (*V. litterata*) มีลักษณะของกระดองเป็นรูปสี่เหลี่ยมจัตุรัส มีลายและมีร่องตื้นๆ อยู่ที่ผิวของกระดองเพียงเล็กน้อย (มนัสวัฒน์ แสงศักดิ์ ภัทรธำรง และคณะ, 2561)

ผลการระบุชนิดทางอนุกรมวิธาน พบปูน้ำเค็ม 6 วงศ์ 11 ชนิด ในจำนวนนี้เป็นปูแท้จริง (Brachyura) 5 วงศ์ 10 ชนิด คือ วงศ์ Portunidae จำนวน 6 ชนิด ได้แก่ ปูม่วง ปูขาว ปูดำ ปูม้า (*Portunus pelagicus*) ปูหินก้ามฟ้า (*Thalamita crenata*) และปูกะตอยแดง (*Charybdis affinis*) วงศ์ Macrophthalmidae 1 ชนิด คือ ปูก้ามหัก (*V. latreillei*) วงศ์ Menippidae 1 ชนิด คือ ปูแป้น (*V. yui*) และ วงศ์ Dorippidae 1 ชนิด คือ ปูเป๋ใบไม้ (*Neodorippe callida*) ปูไม่แท้จริง (Anomura) พบ 1 วงศ์ คือ Diogenidae จำนวน 1 ชนิด ได้แก่ ปูเสฉวนขาฟ้า (*C. longitarsus*)

### 2. การเพิ่มปริมาณดีเอ็นเอด้วยเทคนิค PCR

ดีเอ็นเอของปูน้ำเค็ม 58 ตัวอย่างที่สกัดได้นำไปเพิ่มปริมาณดีเอ็นเอในส่วนที่ยีน COI ด้วยเทคนิค PCR และตรวจสอบผลด้วยวิธี 1% อะกาโรสเจล

อิเล็กโทรโฟรีซิส และใช้ดีเอ็นเอมาตรฐาน 100 bp DNA ladder (Biotech rabbit GmbH, Germany) เป็นตัวเปรียบเทียบ พบว่าปรากฏแถบดีเอ็นเอขนาดประมาณ 700 คู่เบส (bp) ทุกตัวอย่าง ตัวอย่างผลการเพิ่มปริมาณดีเอ็นเอแสดงใน Figure 1



**Figure 1** Agarose gel showing PCR fragments (approximately 700 bp) of some crab samples (Lane 1-9).

A 100 bp DNA ladder was used in the first well (M) and negative control was included using water to ensure no contamination had occurred. (Lane 10)

### 3. การวิเคราะห์ลำดับนิวคลีโอไทด์

เมื่อนำผลผลิต PCR ของปูน้ำเค็มจำนวน 58 ตัวอย่าง ไปวิเคราะห์หาลำดับนิวคลีโอไทด์ พบว่าได้ผลลำดับนิวคลีโอไทด์ของยีน COI ทุกตัวอย่าง โดยมีความยาวของลำดับนิวคลีโอไทด์อยู่ในช่วง 617-687 คู่เบส

เมื่อนำผลผลิต PCR ของปูน้ำเค็มจำนวน 58 ตัวอย่าง ไปวิเคราะห์หาลำดับนิวคลีโอไทด์ พบว่าได้ผลลำดับนิวคลีโอไทด์ของยีน COI ทุกตัวอย่าง โดยมีความยาวของลำดับนิวคลีโอไทด์อยู่ในช่วง 617-687 คู่เบส

เมื่อเปรียบเทียบลำดับนิวคลีโอไทด์ของปูตัวอย่างกับฐานข้อมูลพันธุกรรมสากล GenBank พบว่าสามารถระบุชนิดปูได้ 11 ชนิด ในจำนวนนี้มี 10 ชนิด ที่มีค่าความ

คล้ายคลึงทางพันธุกรรมไม่ต่ำกว่า 97% (97.26% – 100%) และสอดคล้องกับการระบุชนิดด้วยลักษณะทางสัณฐาน ได้แก่ ปูม่วง ปูขาว ปูดำ ปูม้า ปูหินก้ามฟ้า ปูกะตอยแดง ปูก้ามหัก ปูใบก้ามโต ปูแป้น และปูเสฉวนขาฟ้า ส่วนอีก 1

ชนิด คือ ปูเป๋ใบไม้ พบว่ามีความคล้ายคลึงทางพันธุกรรมต่ำกว่า 97% (95.14% – 95.29%) โดยมีความคล้ายคลึงทางพันธุกรรมกับปูเป๋ใบไม้ (*N. simplex*) (Table 1)

**Table 1** Similarity search results of the studied samples in GenBank database.

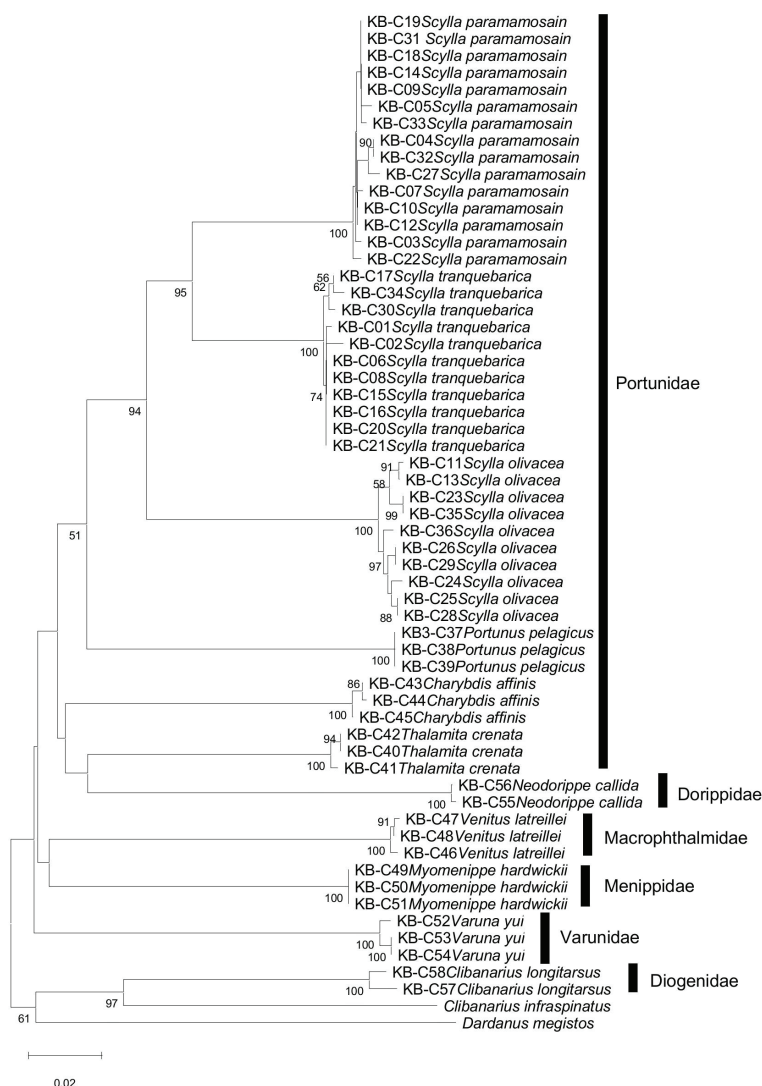
| Sample ID | Morphological identification |           | Highest similarity search in GenBank |                    |                  |
|-----------|------------------------------|-----------|--------------------------------------|--------------------|------------------|
|           | Scientific name              | Thai name | Scientific name                      | Max similarity (%) | Accession Number |
| KB-C01    | <i>S. tranquebarica</i>      | ปูม่วง    | <i>S. tranquebarica</i>              | 99.70              | FJ827759         |
| KB-C02    | <i>S. tranquebarica</i>      | ปูม่วง    | <i>S. tranquebarica</i>              | 99.52              | KT921348         |
| KB-C03    | <i>S. paramamosain</i>       | ปูขาว     | <i>S. paramamosain</i>               | 99.56              | JX457150         |
| KB-C04    | <i>S. paramamosain</i>       | ปูขาว     | <i>S. paramamosain</i>               | 99.53              | JX457150         |
| KB-C05    | <i>S. paramamosain</i>       | ปูขาว     | <i>S. paramamosain</i>               | 99.41              | MG197997         |
| KB-C06    | <i>S. tranquebarica</i>      | ปูม่วง    | <i>S. tranquebarica</i>              | 100.00             | FJ827759         |
| KB-C07    | <i>S. paramamosain</i>       | ปูขาว     | <i>S. paramamosain</i>               | 99.56              | JX457150         |
| KB-C08    | <i>S. tranquebarica</i>      | ปูม่วง    | <i>S. tranquebarica</i>              | 99.56              | FJ827759         |
| KB-C09    | <i>S. paramamosain</i>       | ปูขาว     | <i>S. paramamosain</i>               | 99.85              | MG197997         |
| KB-C10    | <i>S. paramamosain</i>       | ปูขาว     | <i>S. paramamosain</i>               | 99.71              | JX457150         |
| KB-C11    | <i>S. olivacea</i>           | ปูดำ      | <i>S. olivacea</i>                   | 99.85              | MK091844         |
| KB-C12    | <i>S. paramamosain</i>       | ปูขาว     | <i>S. paramamosain</i>               | 99.71              | JX457150         |
| KB-C13    | <i>S. olivacea</i>           | ปูดำ      | <i>S. olivacea</i>                   | 100.00             | MK091844         |
| KB-C14    | <i>S. paramamosain</i>       | ปูขาว     | <i>S. paramamosain</i>               | 100.00             | MG197997         |
| KB-C15    | <i>S. tranquebarica</i>      | ปูม่วง    | <i>S. tranquebarica</i>              | 99.85              | FJ827759         |
| KB-C16    | <i>S. tranquebarica</i>      | ปูม่วง    | <i>S. tranquebarica</i>              | 100.00             | FJ827759         |
| KB-C17    | <i>S. tranquebarica</i>      | ปูม่วง    | <i>S. tranquebarica</i>              | 99.55              | FJ827759         |
| KB-C18    | <i>S. paramamosain</i>       | ปูขาว     | <i>S. paramamosain</i>               | 100.00             | MG197997         |
| KB-C19    | <i>S. paramamosain</i>       | ปูขาว     | <i>S. paramamosain</i>               | 100.00             | MG197997         |
| KB-C20    | <i>S. tranquebarica</i>      | ปูม่วง    | <i>S. tranquebarica</i>              | 100.00             | FJ827759         |
| KB-C21    | <i>S. tranquebarica</i>      | ปูม่วง    | <i>S. tranquebarica</i>              | 100.00             | KT921348         |
| KB-C22    | <i>S. paramamosain</i>       | ปูขาว     | <i>S. paramamosain</i>               | 99.69              | JX457150         |
| KB-C23    | <i>S. olivacea</i>           | ปูดำ      | <i>S. olivacea</i>                   | 98.50              | MN635599         |
| KB-C24    | <i>S. olivacea</i>           | ปูดำ      | <i>S. olivacea</i>                   | 99.70              | NC012569         |
| KB-C25    | <i>S. olivacea</i>           | ปูดำ      | <i>S. olivacea</i>                   | 99.25              | NC012569         |
| KB-C26    | <i>S. olivacea</i>           | ปูดำ      | <i>S. olivacea</i>                   | 99.85              | NC012569         |
| KB-C27    | <i>S. paramamosain</i>       | ปูขาว     | <i>S. paramamosain</i>               | 99.25              | JX457150         |
| KB-C28    | <i>S. olivacea</i>           | ปูดำ      | <i>S. olivacea</i>                   | 99.70              | MK091843         |
| KB-C29    | <i>S. olivacea</i>           | ปูดำ      | <i>S. olivacea</i>                   | 99.55              | NC012569         |
| KB-C30    | <i>S. tranquebarica</i>      | ปูม่วง    | <i>S. tranquebarica</i>              | 100.00             | KT921348         |
| KB-C31    | <i>S. paramamosain</i>       | ปูขาว     | <i>S. paramamosain</i>               | 99.83              | KT921347         |
| KB-C32    | <i>S. paramamosain</i>       | ปูขาว     | <i>S. paramamosain</i>               | 99.54              | KT921347         |
| KB-C33    | <i>S. paramamosain</i>       | ปูขาว     | <i>S. paramamosain</i>               | 99.69              | KT921347         |
| KB-C34    | <i>S. tranquebarica</i>      | ปูม่วง    | <i>S. tranquebarica</i>              | 99.25              | FJ827759         |
| KB-C35    | <i>S. olivacea</i>           | ปูดำ      | <i>S. olivacea</i>                   | 98.94              | NC012569         |
| KB-C36    | <i>S. olivacea</i>           | ปูดำ      | <i>S. olivacea</i>                   | 99.55              | FJ827760         |
| KB-C37    | <i>P. pelagicus</i>          | ปูม้า     | <i>P. pelagicus</i>                  | 100.00             | MN337016         |
| KB-C38    | <i>P. pelagicus</i>          | ปูม้า     | <i>P. pelagicus</i>                  | 99.70              | MN337016         |

**Table 1** Similarity search results of the studied samples in GenBank database. (Continue)

| Sample ID | Morphological identification |              | Highest similarity search in GenBank |                    |                  |
|-----------|------------------------------|--------------|--------------------------------------|--------------------|------------------|
|           | Scientific name              | Thai name    | Scientific name                      | Max similarity (%) | Accession Number |
| KB-C39    | <i>P. pelagicus</i>          | ปูม้า        | <i>P. pelagicus</i>                  | 100.00             | MN337016         |
| KB-C40    | <i>T. crenata</i>            | ปูหินก้ามฟ้า | <i>T. crenata</i>                    | 99.41              | MN425338         |
| KB-C41    | <i>T. crenata</i>            | ปูหินก้ามฟ้า | <i>T. crenata</i>                    | 98.98              | MN425338         |
| KB-C42    | <i>T. crenata</i>            | ปูหินก้ามฟ้า | <i>T. crenata</i>                    | 99.42              | MN425338         |
| KB-C43    | <i>C. affinis</i>            | ปูกระตอยแดง  | <i>C. affinis</i>                    | 99.70              | MZ393897         |
| KB-C44    | <i>C. affinis</i>            | ปูกระตอยแดง  | <i>C. affinis</i>                    | 99.54              | MZ393897         |
| KB-C45    | <i>C. affinis</i>            | ปูกระตอยแดง  | <i>C. affinis</i>                    | 99.39              | MZ393897         |
| KB-C46    | <i>V. latreillei</i>         | ปูก้ามหัก    | <i>V. latreillei</i>                 | 100.00             | LC097126         |
| KB-C47    | <i>V. latreillei</i>         | ปูก้ามหัก    | <i>V. latreillei</i>                 | 99.68              | LC097126         |
| KB-C48    | <i>V. latreillei</i>         | ปูก้ามหัก    | <i>V. latreillei</i>                 | 99.69              | LC097126         |
| KB-C49    | <i>M. hardwickii</i>         | ปูใบก้ามโต   | <i>M. hardwickii</i>                 | 100.00             | OQ954126         |
| KB-C50    | <i>M. hardwickii</i>         | ปูใบก้ามโต   | <i>M. hardwickii</i>                 | 100.00             | OQ954126         |
| KB-C51    | <i>M. hardwickii</i>         | ปูใบก้ามโต   | <i>M. hardwickii</i>                 | 100.00             | OQ954126         |
| KB-C52    | <i>V. yui</i>                | ปูแป้น       | <i>V. yui</i>                        | 99.12              | NC037155         |
| KB-C53    | <i>V. yui</i>                | ปูแป้น       | <i>V. yui</i>                        | 99.41              | NC037155         |
| KB-C54    | <i>V. yui</i>                | ปูแป้น       | <i>V. yui</i>                        | 99.70              | NC037155         |
| KB-C55    | <i>N. callida</i>            | ปูเป้ใบไม้   | <i>N. simplex</i>                    | 95.14              | EU636975         |
| KB-C56    | <i>N. callida</i>            | ปูเป้ใบไม้   | <i>N. simplex</i>                    | 95.29              | EU636975         |
| KB-C57    | <i>C. longitarsus</i>        | ปูเสฉวนขาฟ้า | <i>C. longitarsus</i>                | 97.26              | MH482001         |
| KB-C58    | <i>C. longitarsus</i>        | ปูเสฉวนขาฟ้า | <i>C. longitarsus</i>                | 97.39              | OP972582         |

ผลการวิเคราะห์ความสัมพันธ์เชิงวิวัฒนาการระหว่างตัวอย่างปูน้ำเค็ม พบว่าปูทั้ง 11 ชนิด แยกสายวิวัฒนาการออกจากกันอย่างชัดเจน โดยสามารถแบ่งกลุ่มปูน้ำเค็มออกเป็น 2 กลุ่มใหญ่คือ กลุ่มปูแท้จริง และกลุ่มปูไม่แท้จริง โดยกลุ่มปูแท้จริง มี 10 ชนิด ประกอบด้วยปูในวงศ์ Portunidae 6 ชนิด วงศ์ Macrophthalmidae 1 ชนิด วงศ์ Menippidae 1 ชนิด วงศ์ Varunidae 1 ชนิด และวงศ์ Dorippidae 1 ชนิด ส่วนปูไม่แท้จริงได้แก่ วงศ์ Diogenidae มี 1 ชนิด (Figure 2)

ผลการวิเคราะห์ค่าระยะห่างทางพันธุกรรมภายในชนิดพบว่าปูม้าและปูใบก้ามโต มีค่าระยะห่างทางพันธุกรรมภายในชนิดเท่ากับ 0.000 ปูม่วง ปูหินก้ามฟ้า ปูกระตอยแดง ปูก้ามหักมีค่าระยะห่างทางพันธุกรรมภายในชนิดเท่ากัน คือ 0.003 ปูขาวและปูแป้นมีค่าเท่ากัน คือ 0.004 ปูดำ ปูเป้ใบไม้ และปูเสฉวนขาฟ้ามีค่าระยะห่างทางพันธุกรรมภายในชนิดเท่ากับ 0.008, 0.001 และ 0.007 ตามลำดับ (Table 2) ส่วนค่าระยะห่างทางพันธุกรรมระหว่างชนิด พบว่าปูขาวและปูม่วงมีระยะห่างทางพันธุกรรมระหว่างชนิดน้อยที่สุด เท่ากับ 0.092 ในขณะที่ปูม้าและปูเป้ใบไม้มีระยะห่างทางพันธุกรรมระหว่างชนิดมากที่สุด มีค่าเท่ากับ 0.256 (Table 2)



**Figure 2** Phylogenetic tree based on COI gene sequences was constructed with Neighbor-joining (NJ) method.

Two species of anomuran crabs, *C. infraspinitus* and *D. megistos*, were used as outgroup.

## อภิปรายและสรุปผลการศึกษา

งานวิจัยครั้งนี้เป็นการศึกษาการใช้ดีเอ็นเอบาร์โค้ดเพื่อระบุชนิดปูน้ำเค็ม ในบริเวณป่าชายเลนที่มีการฟื้นฟูผืนป่าอ่าวคุ้งกระเบน จังหวัดจันทบุรี ร่วมกับการใช้ข้อมูลทางสัณฐานวิทยา ซึ่งเป็นการวิเคราะห์ข้อมูลในส่วนของยีน COI ที่มีความยาวประมาณ 700 คู่เบส โดยยีนดังกล่าวมีรายงานวิจัยพบว่าเป็นบริเวณที่มีศักยภาพสูงในการนำมาใช้เป็นข้อมูลสำหรับระบุชนิดของสัตว์ รวมถึงปู (Evans, 2018; Suthamrit & Thaewnon-Ngiw, 2021) เนื่องจากมีความหลากหลายภายในชนิดต่ำมาก แต่ถ้าเป็นสัตว์คนละชนิดจะมีความแตกต่างกันอย่างชัดเจน จึงสามารถนำมาใช้ระบุชนิดสัตว์ที่มีลักษณะคล้ายคลึงกันได้ (Hebert *et al.*, 2003)

จากการศึกษาลำดับนิวคลีโอไทด์ของยีน COI ของตัวอย่างปูจำนวน 58 ตัวอย่าง เมื่อเปรียบเทียบกับลำดับนิวคลีโอ

ไทด์ของปูกับฐานข้อมูลพันธุกรรมสากล GenBank เพื่อระบุชนิด พบว่าปูจำนวน 56 ตัวอย่าง ระบุชนิดปูได้จำนวน 10 ชนิด โดยมีค่าความคล้ายคลึงทางพันธุกรรมอยู่ในช่วง 97.26% – 100% ซึ่งค่าความคล้ายคลึงทางพันธุกรรมที่มีค่าตั้งแต่ 97% ขึ้นไปเป็นค่าที่ยอมรับได้ในการนำมาใช้ระบุชนิดของสัตว์ (จุฑาดี ปานพรหมมินทร์, 2556; Wong & Hanner, 2008) ส่วนปูอีก 2 ตัวอย่าง คือ ปูเป็ใบไม้ มีค่าความคล้ายคลึงทางพันธุกรรมกับปูเป็ใบไม้ อยู่ในช่วง 95.14% - 95.29% ในกรณีนี้ที่ต่ำกว่า 97% จึงสรุปว่าในฐานข้อมูล GenBank ยังไม่มีรายงานลำดับนิวคลีโอไทด์ของยีน COI ของปูเป็ใบไม้

ความสัมพันธ์เชิงวิวัฒนาการของตัวอย่างปูน้ำเค็มแสดงให้เห็นถึงสายวิวัฒนาการที่แยกออกจากกันอย่างชัดเจนของปูน้ำเค็มทั้ง 11 ชนิด ใน 6 วงศ์ โดยในวงศ์ Portunidae ปูทะเลในสกุล *Scylla* แยกสายวิวัฒนาการออกเป็น 3 กลุ่ม คือ

ปูขาว ปูม่วง และปูดำ โดยปูขาว และปูม่วง มีความสัมพันธ์เชิงวิวัฒนาการใกล้ชิดกันมากกว่าปูดำ สอดคล้องกับงานวิจัยของ Ma *et al.* (2012) ที่ศึกษาการจำแนกชนิดปูในสกุล *Scylla* โดยใช้ยีน COI ผลการศึกษาพบว่า ปูในสกุล *Scylla* แบ่งออก

เป็น 4 กลุ่ม คือ ปูขาว ปูม่วง ปูดำ และปูเขี้ยว (*S. serrata*) โดยพบว่าปูขาวและปูม่วง มีความใกล้ชิดกันเชิงวิวัฒนาการมากที่สุด

**Table 2** Genetic distance within and between marine crab species.

|                            | 1     | 2     | 3     | 4     | 5     | 6     | 7     | 8     | 9     | 10    | 11    |
|----------------------------|-------|-------|-------|-------|-------|-------|-------|-------|-------|-------|-------|
| 1. <i>S. tranquebarica</i> | 0.003 |       |       |       |       |       |       |       |       |       |       |
| 2. <i>S. paramamosain</i>  | 0.092 | 0.004 |       |       |       |       |       |       |       |       |       |
| 3. <i>S. olivacea</i>      | 0.132 | 0.143 | 0.008 |       |       |       |       |       |       |       |       |
| 4. <i>P. pelagicus</i>     | 0.170 | 0.182 | 0.203 | 0.000 |       |       |       |       |       |       |       |
| 5. <i>T. crenata</i>       | 0.158 | 0.194 | 0.185 | 0.202 | 0.003 |       |       |       |       |       |       |
| 6. <i>C. affinis</i>       | 0.176 | 0.195 | 0.199 | 0.178 | 0.168 | 0.003 |       |       |       |       |       |
| 7. <i>V. latreillei</i>    | 0.217 | 0.207 | 0.217 | 0.232 | 0.237 | 0.241 | 0.003 |       |       |       |       |
| 8. <i>M. hardwickii</i>    | 0.194 | 0.197 | 0.197 | 0.212 | 0.180 | 0.200 | 0.203 | 0.000 |       |       |       |
| 9. <i>V. yui</i>           | 0.206 | 0.215 | 0.248 | 0.252 | 0.203 | 0.207 | 0.231 | 0.213 | 0.004 |       |       |
| 10. <i>N. calida</i>       | 0.222 | 0.217 | 0.213 | 0.256 | 0.194 | 0.223 | 0.251 | 0.231 | 0.253 | 0.001 |       |
| 11. <i>C. longitarsus</i>  | 0.230 | 0.241 | 0.242 | 0.249 | 0.233 | 0.233 | 0.243 | 0.238 | 0.217 | 0.242 | 0.007 |

เมื่อพิจารณาผลการวิเคราะห์ค่าระยะห่างทางพันธุกรรมภายในชนิดปูน้ำเค็มทั้ง 11 ชนิด พบว่าปูม้าและปูใบก้ามโตไม่มีระยะห่างทางพันธุกรรมภายในชนิด ส่วนชนิดอื่นๆ มีค่าอยู่ในช่วง 0.001 – 0.008 สอดคล้องกับค่าระยะห่างทางพันธุกรรมภายในชนิดปูที่มีรายงานในการศึกษาก่อนหน้า เช่น Rosly *et al.* (2017) และ Naim *et al.* (2020) รายงานว่าปูในสกุล *Scylla* มีค่าระยะห่างทางพันธุกรรมภายในชนิดเท่ากับ 0.003 - 0.011 และ 0.003 - 0.006 ตามลำดับ ค่าระยะห่างทางพันธุกรรมภายในชนิดของปูม้า จากงานวิจัยของ Andriyono *et al.*, (2022) มีค่า 0.000 – 0.006 และจากงานวิจัยของ Bravo *et al.* (2021) รายงานว่าค่าระยะห่างทางพันธุกรรมภายในชนิดปูจากบริเวณป่าชายเลนในฮ่องกงจำนวน 58 ชนิด มีค่าอยู่ในช่วง 0.000 – 0.015 ส่วนค่าระยะห่างทางพันธุกรรมระหว่างชนิดจากการศึกษาครั้งนี้ พบว่าปูขาวและปูม่วงที่อยู่ในสกุลเดียวกันคือ สกุล *Scylla* มีระยะห่างทางพันธุกรรมระหว่างชนิดน้อยที่สุดเท่ากับ 0.092 สอดคล้องกับงานวิจัยของ Ma *et al.* (2012), Rosly *et al.* (2017) และ Naim *et al.* (2020) ที่รายงานปูในสกุล *Scylla* ปูขาวและปูม่วงมีความใกล้ชิดกันทางพันธุกรรมมากที่สุด โดยมีระยะห่างทางพันธุกรรมอยู่ในช่วง 0.092 – 0.100 ส่วนค่าระยะห่างทางพันธุกรรมระหว่างชนิดในปูชนิดอื่นๆ ในงานวิจัยนี้ มีค่าอยู่ในช่วง 0.132 – 0.256 ซึ่งใกล้เคียงกับระยะห่างทางพันธุกรรมระหว่างชนิดของปูที่มีรายงานในงานวิจัยก่อนหน้า (Magalhães

*et al.*, 2016; Bravo *et al.*, 2021) ที่มีค่าอยู่ในช่วง 0.114 – 0.247 จากการวิเคราะห์ค่าระยะห่างทางพันธุกรรมในงานวิจัยนี้พบว่า ค่าระยะห่างทางพันธุกรรมระหว่างชนิดมีค่ามากกว่าระยะห่างทางพันธุกรรมภายในชนิดมากกว่า 10 เท่า โดยค่าระยะห่างทางพันธุกรรมภายในชนิดมีค่าที่น้อยมาก แสดงให้เห็นว่าดีเอ็นเอบาร์โค้ดหรือลำดับนิวคลีโอไทด์ของยีน COI มีความแตกต่างภายในชนิดต่ำมาก จึงมีศักยภาพในการนำมาใช้จำแนกชนิดสิ่งมีชีวิตออกจากกันได้ (Ward *et al.*, 2005; Balasubramanian *et al.*, 2016)

ข้อมูลที่ได้จากการศึกษาในครั้งนี้ คือพบปูน้ำเค็มบริเวณป่าชายเลนที่มีการฟื้นฟูอ่าวคุ้งกระเบน จังหวัดจันทบุรี จำนวน 11 ชนิด สอดคล้องกับการศึกษาของอรอนงค์ บุญมี (2563) ที่ศึกษาความหลากหลายชนิดของปูน้ำเค็มในบริเวณป่าชายเลนอ่าวคุ้งกระเบน จังหวัดจันทบุรี โดยรายงานพบปูน้ำเค็ม บริเวณป่าชายเลนปลูก จำนวน 11 ชนิดเช่นกัน โดยมีชนิดที่ตรงกันกับการศึกษาครั้งนี้ 10 ชนิด คือ ปูขาว ปูม่วง ปูดำ ปูม้า ปูหินก้ามฟ้า ปูกะตอยแดง ปูก้ามหัก ปูใบก้ามโต ปูแป้น และปูเสฉวนขาฟ้า โดยในรายงานวิจัยของอรอนงค์ บุญมี (2563) พบปูเสฉวนบก (*Coenobita variabilis*) อีก 1 ชนิด ซึ่งไม่พบในการศึกษาครั้งนี้ แต่เป็นที่น่าสังเกตว่าปูเสฉวนบกในรายงานของอรอนงค์ บุญมี (2563) นั้น พบเพียงแค่ 1 ตัวอย่างเท่านั้น ส่วนปูใบไม้ ที่พบในการศึกษาครั้งนี้ ในรายงานของอรอนงค์ บุญมี (2563) ไม่พบในบริเวณป่าชายเลน

ที่มีการฟื้นฟู แต่พบในพื้นที่ป่าชายเลนธรรมชาติ ซึ่งในพื้นที่ป่าชายเลนธรรมชาติ อรอนงค์ บุญมี (2563) ได้รายงานพบปูน้ำเค็มจำนวน 13 ชนิด โดยมี 3 ชนิดที่ไม่พบในการศึกษาค้างนี้ คือ ปูแสมก้ามม่วง (*Metopograpsus frontalis*) ปูใบสีน้ำตาล (*Menippe rumphii*) และปูใบ (*Epixanthus dentatus*)

ในส่วนของความหลากหลายชนิดของปูทะเลในสกุล *Scylla* ในการศึกษาค้างนี้พบ 3 ชนิด คือ ปูขาว ปูม่วง และปูดำ สอดคล้องกับการศึกษาของ ชุตานา คุณสุข และคณะ (2565) ที่พบปูทะเลทั้ง 3 ชนิดนี้ทั้งบริเวณป่าชายเลนธรรมชาติและป่าชายเลนปลูกของอ่าวคุ้งกระเบน จังหวัดจันทบุรี แสดงให้เห็นว่าความหลากหลายชนิดของปูทะเลซึ่งเป็นสัตว์เศรษฐกิจในพื้นที่นั้นเพิ่มขึ้น จากก่อนหน้านี้นี้มีรายงานพบเพียง 1 ชนิด คือ ปูม่วง (Kunsook & Dumrongrojwattana, 2017) ทั้งนี้อาจเป็นเพราะการศึกษาของ Kunsook and Dumrongrojwattana (2017) ศึกษาความหลากหลายชนิดของปูน้ำเค็มทั้งหมด โดยเน้นศึกษาในพื้นที่อ่าว ไม่ได้เจาะจงศึกษาในพื้นที่ป่าชายเลนที่เป็นแหล่งอาศัยหลักของปูทะเล นอกจากนี้ จำนวนชนิดที่เพิ่มขึ้นอาจเป็นผลมาจากกิจกรรมการปล่อยพันธุ์สัตว์น้ำ ในโครงการฟื้นฟูป่าชายเลน ที่มีรายงานว่ามีการปล่อยปูทะเลทั้ง 4 ชนิด คือ ปูขาว ปูม่วง ปูดำ และปูเขียว

งานวิจัยนี้สรุปได้ว่า ดีเอ็นเอบาร์โค้ดหรือการศึกษาลำดับนิวคลีโอไทด์ในส่วนของยีน COI มีศักยภาพในการจำแนกชนิดปูน้ำเค็มได้เป็นอย่างดี โดยสามารถจำแนกความแตกต่างของปูแต่ละชนิดได้อย่างชัดเจน ในปูที่มีลักษณะคล้ายคลึงกันคือ ปูทะเลในสกุล *Scylla* ปูก้ามหักในสกุล *Venitus* และปูแป้นในสกุล *Varuna* และสามารถใช้ศึกษาความสัมพันธ์เชิงวิวัฒนาการได้ โดยจัดแบ่งกลุ่มปูได้สอดคล้องตามระบบอนุกรมวิธาน จากการศึกษาที่พบปูน้ำเค็ม 11 ชนิดในพื้นที่ป่าชายเลนที่มีการฟื้นฟูของอ่าวคุ้งกระเบน จังหวัดจันทบุรี ถือว่ามีความหลากหลายชนิดที่ค่อนข้างสูง เมื่อเทียบกับพื้นที่ป่าชายเลนธรรมชาติที่พบปูจำนวน 13 ชนิด (อรอนงค์ บุญมี, 2563) ในจำนวนปูน้ำเค็ม 11 ชนิด พบปูทะเลที่เป็นสัตว์เศรษฐกิจในพื้นที่อ่าวคุ้งกระเบน จำนวน 3 ชนิด คือ ปูขาว ปูม่วง และปูดำ ความหลากหลายชนิดของปูทะเลที่เพิ่มขึ้น รวมถึงปูน้ำเค็มชนิดอื่นๆ เป็นดัชนีบ่งชี้ถึงความอุดมสมบูรณ์ของป่าชายเลนปลูก และถือเป็นความสำเร็จของโครงการฟื้นฟูป่าชายเลนในพื้นที่อ่าวคุ้งกระเบน จังหวัดจันทบุรี

## กิตติกรรมประกาศ

การวิจัยนี้สนองพระราชดำริในโครงการอนุรักษ์พันธุกรรมพืช มหาวิทยาลัยราชภัฏรำไพพรรณี และได้รับทุนสนับสนุนการวิจัยจากงบประมาณแผ่นดิน กองทุนส่งเสริม

วิทยาศาสตร์ วิจัยและนวัตกรรม (ววน.) สำนักงานคณะกรรมการส่งเสริมวิทยาศาสตร์ วิจัยและนวัตกรรม (สกสว.) ปีงบประมาณ 2566 ผู้วิจัยขอขอบคุณคณาจารย์และเจ้าหน้าที่ภาควิชาชีววิทยา คณะวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยี มหาวิทยาลัยราชภัฏรำไพพรรณีทุกท่าน สำหรับการอำนวยความสะดวกในการศึกษาวิจัยและการให้คำแนะนำ ตลอดจนความช่วยเหลือในด้านต่างๆ ด้วยดีเสมอมา และขอขอบคุณคุณสหส ราชเมืองขวาง และคุณณัฐภัทร โง้วเกิด ที่ให้ความอนุเคราะห์ในการตรวจสอบความถูกต้องของการจัดจำแนกชนิดปู

## เอกสารอ้างอิง

- กรมทรัพยากรทางทะเลและชายฝั่ง. (2556, 9 กรกฎาคม). ป่าชายเลน – ประโยชน์และความสำคัญ. [https://km.dmcr.go.th/c\\_11/d\\_684](https://km.dmcr.go.th/c_11/d_684)
- ชุตานา คุณสุข, วิจัยรอง กรินทร์ธัญญกิจ และอรอนงค์ บุญมี. (2565). การศึกษาโครงสร้างประชากรปูทะเล สกุล *Scylla* sp. เปรียบเทียบระหว่างป่าชายเลนธรรมชาติ และป่าชายเลนปลูกบริเวณอ่าวคุ้งกระเบน จังหวัดจันทบุรี. *วารสารวิทยาศาสตร์บูรพา*, 27(3), 1407–1424.
- ดุจฤดี ปานพรหมมินทร์. (2556). ดีเอ็นเอบาร์โค้ดในปลา และการประยุกต์ใช้. *วารสารนเรศวรพะเยา*, 6(3), 174–181.
- ธรณ์ ธำรงนาวาสวัสดิ์ และพันธุ์ทิพย์ วิเศษพงษ์พันธุ์. (2550). *คู่มืออันทามัน : ปูทะเลไทย*. บริษัท ไชเบอร์พริ้นท์ จำกัด.
- ประดิษฐ์ แสงทอง. (2549). ความแตกต่างของนิวคลีโอไทด์ในไมโทคอนเดรียดีเอ็นเอของปูทะเล (*Scylla* spp.) ชนิดต่างๆ. [วิทยานิพนธ์วิทยาศาสตร์ดุสิตบัณฑิต, มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์]. มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์.
- มนัสวัฒน์ แสงศักดิ์ ภัทรธำรง, ณัฐนา แก้วไฟ และเรืองฤทธิ์ พรหมดำ. (2561). ความหลากหลายชนิดและการแพร่กระจายของปูที่จับได้จากโพงพางในทะเลสาบสงขลาตอนนอก. *วารสารแก่นเกษตร*, 46(6), 1159–1166.
- สหส ราชเมืองขวาง. (2557). *สัตว์น้ำในป่าชายเลนคลองกำพวน จังหวัดระนอง*. สถาบันวิจัยและพัฒนาแห่งมหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์.
- อรอนงค์ บุญมี. (2563). *ความหลากหลายชนิดของปูน้ำเค็มในบริเวณป่าชายเลนอ่าวคุ้งกระเบน จังหวัดจันทบุรี*. [วิทยานิพนธ์วิทยาศาสตร์บัณฑิต, มหาวิทยาลัยราชภัฏรำไพพรรณี]. มหาวิทยาลัยราชภัฏรำไพพรรณี.
- Andriyono, S., Hidayah, R. I., Sulmartiwi, L., Hidayani, A. A., & Alam, M. J. (2022). Molecular identification and phylogenetic trees reconstruction of blue swimming crabs (Decapoda: Portunidae) from Pangpang Bay,

- Banyuwangi. *ILMU KELAUTAN: Indonesian Journal of Marine Sciences*, 27(2), 93–100. <https://doi.org/10.14710/ik.ijms.27.2.93-100>
- Balasubramanian, C. P., Cubelio, S. S., Mohanlal, D. L., Ponniah, A. G., Kumar, R., Bineesh, K. K., Ravichandran, P., Gopalakrishnan, A., Mandal, A., & Jena, J. K. (2016). DNA sequence information resolves taxonomic ambiguity of the common mud crab species (Genus *Scylla*) in Indian waters. *Mitochondrial DNA*, 27(1), 270–275.
- Bravo, H., Cheng, C. L. Y., Iannucci, A., Natali, C., Quadros, A., Rhodes, M., Yip, M. M. L., Cannicci, S., & Fratini, S. (2021). A DNA barcode library for mangrove gastropods and crabs of Hong Kong and the Greater Bay Area reveals an unexpected faunal diversity associated with the intertidal forests of Southern China. *BMC Ecology and Evolution*, 21(1), 1–15.
- Department of Marine and Coastal Resources. (2013, November 22). *Mangrove forest area in the past*. [https://km.dmcr.go.th/th/c\\_11/d\\_690](https://km.dmcr.go.th/th/c_11/d_690)
- Evans, N. (2018). *Molecular phylogenetics of swimming crabs (Portunoidea Rafinesque, 1815) support a revised family-level classification and suggests a single derived origin of symbiotic taxa*. PeerJ, 6, e4260. <https://doi.org/10.7717/peerj.4260>
- Folmer, O., Black, M., Hoeh, W., Lutz, R., & Vrijenhoek, R. (1994). DNA primers for amplification of mitochondrial cytochrome c oxidase subunit I from diverse metazoan invertebrates. *Molecular Marine Biology and Biotechnology*, 3(5), 294–299.
- Gao, X., & Lee, S. Y. (2022). Feeding strategies of mangrove leaf-eating crabs for meeting their nitrogen needs on a low-nutrient diet. *Frontiers in Marine Science*, 9, 1–14.
- Hebert, P. D. N., Cywinska, A., Ball, S. L., & deWaard, J. R. (2003). Biological identifications through DNA barcodes. *Proceedings of the Royal Society of London. Series B: Biological Sciences*, 270(1512), 313–321.
- Kung Krabaen Bay Royal Development Study. (2020). *Forest builders foundation in collaboration with Kung Krabaen Bay development study center forest and the Kung Krabaen Bay animal non-hunting area organize mangrove planting activities*. [https://www4.fisheries.go.th/local/index.php/main/view\\_activities/127/86669](https://www4.fisheries.go.th/local/index.php/main/view_activities/127/86669).
- Kunsook, C., & Dumrongrojwatthana, P. (2017). Species diversity and abundance of marine crab (Portunidae: Decapoda) from a collapsible crab trap fishery at Kung Krabaen Bay, Chanthaburi Province, Thailand. *Tropical Life Sciences Research*, 28(1), 45–67.
- Ma, H., Ma, C., & Ma, L. (2012). Molecular identification of genus *Scylla* (Decapoda: Portunidae) based on DNA barcoding and polymerase chain reaction. *Biochemical Systematics and Ecology*, 41, 41–47.
- Magalhães, T., Robles, R., Felder, D. L., & Mantelatto, F. L. (2016). Integrative taxonomic study of the purse crab genus *Persephona* Leach, 1817 (Brachyura: Leucosiidae): Combining morphology and molecular data. *PLoS ONE*, 11(4), 1–34.
- Naim, D. M., Nor, S. A. M., & Mahbool, S. (2020). Reassessment of species distribution and occurrence of mud crab (*Scylla* sp., Portunidae) in Malaysia through morphological and molecular identification. *Saudi Journal of Biological Sciences*, 27(3), 643–652.
- Naruse, T., Darren, C. J., & Osawa, M. (2014). Notes on a collection of stomatopod and decapod crustaceans from Cambodia. *Cambodian Journal of Natural History*, 2014(1), 24–36.
- Rosly, H. A. A. M., Nor, S. A. M., & Naim, D. M. (2017). Phylogenetic relationships within the *Scylla* (Portunidae) assessed by the mitochondrial DNA sequence. *Biodiversitas*, 18(4), 1696–1704.
- Suthamrit, W., & Thaewnon-Ngiw, B. (2021). DNA barcoding of mountain crabs (Potamidae) from Phetchabun Mountains of Thailand: The first report of endemic and endangered species. *Biochemistry & Molecular Biology*, 7(26), 1–7.
- Tamura, K., Stecher, G., & Kumar, S. (2021). MEGA11: Molecular Evolutionary Genetics Analysis version 11. *Molecular Biology and Evolution*, 38(7), 3022–3027.

- Ward, R. D., Zemlak, T. S., Innes, B. H., Last, P. R., & Hebert, P. D. N. (2005). DNA barcoding Australia's fish species. *Philosophical Transactions of the Royal Society B: Biological Sciences*, 360(1462), 1847–1857.
- Wong, E. H. K., & Hanner, R. H. (2008). DNA barcoding detects market substitution in North American seafood. *Food Research International*, 41(8), 828–837.

# ฤทธิ์ทางชีวภาพจากโปรตีนไหมเซรีซินและการนำไปใช้ประโยชน์

## Biological activity of silk sericin protein and its application

สุชาวาลี ชูลักษณ์<sup>1</sup>, รัฐพร เลหาเรณู<sup>2</sup> และ สุนทนต์ ชูลักษณ์<sup>2\*</sup>

Suchawalee Chooluck<sup>1</sup>, Rattaporn Laoharenu<sup>2</sup> and Sunthorn Chooluck<sup>2\*</sup>

Received: 8 May 2024 ; Revised: 4 June 2024 ; Accepted: 9 July 2024

### บทคัดย่อ

โปรตีนเซรีซิน (Sericin protein) หรือโปรตีนกาวไหม (Silk glue protein) จัดเป็นพอลิเมอร์ทางชีวภาพชนิดหนึ่งที่เกิดจากหนอนไหม มีฤทธิ์ทางชีวภาพที่เป็นประโยชน์หลากหลาย โดยในช่วงทศวรรษที่ผ่านมา กาวไหมได้รับความสนใจเป็นอย่างมากสำหรับนำไปประยุกต์ใช้ทางการแพทย์ และเวชสำอางเนื่องจากคุณสมบัติทางชีวภาพที่เข้ากันได้กับร่างกายและสามารถย่อยสลายได้ตามธรรมชาติ รวมทั้งยังมีฤทธิ์ที่เป็นประโยชน์มากมายที่เกิดจากกรดอะมิโนที่เป็นองค์ประกอบในกาวไหมอีกด้วย บทความนี้จะกล่าวถึงโครงสร้างและองค์ประกอบรวมถึงคุณสมบัติทางชีวภาพของกาวไหม วิธีต่างๆ ที่ใช้ในการลอกกาวไหมและการนำไปประยุกต์ใช้ในทางการแพทย์เช่นการรักษาโรคเฉพาะและการส่งเสริมการฟื้นฟูเนื้อเยื่อ รวมถึงฤทธิ์ในการต้านอนุมูลอิสระ ฤทธิ์ส่งเสริมการเจริญของเซลล์ และฤทธิ์ทางชีวภาพอื่นๆ บทความนี้ยังกล่าวถึงการนำกาวไหมไปสร้างวัสดุชีวภาพและความก้าวหน้าในการนำไปใช้ในทางวิศวกรรมเนื้อเยื่อและการนำส่งยาและงานวิจัยที่จะช่วยเสริมศักยภาพของวัสดุชีวภาพจากกาวไหม

**คำสำคัญ:** เซรีซิน, การสกัด, อนุมูลอิสระ, สารประกอบฟีนอลิก, ฟลาโวนอยด์

### Abstract

Silk sericin protein or Silk glue protein, a natural protein biopolymer produced by silkworms, has attracted significant attention particularly in biomedical and cosmeceutical applications over the past decade. Sericin possesses exceptional biocompatibility, biodegradability, and unique amino acid composition endowing it with a range of beneficial properties, making it a promising candidate for various biomedical and cosmeceutical applications. This comprehensive review looks insight into the multifaceted aspects of silk sericin, encompassing its structure, compositions as well as exploring various extraction methods. Biological properties including antioxidant activity and stimulating cell proliferation, therapeutic potential, and applications in tissue engineering and drug delivery were also discussed. Research attempts focused on improving the properties and applications of sericin-based biomaterials were also mentioned.

**Keywords:** Sericin, extraction, free radical, phenolic compound, flavonoid

<sup>1</sup> โรงเรียนชลกันยานุกูล ถนนต่าหมื่นน้ำ ตำบลบางปลาสร้อย อำเภอเมืองชลบุรี จังหวัดชลบุรี 20000.

<sup>2</sup> ภาควิชาชีวเคมี คณะวิทยาศาสตร์ มหาวิทยาลัยบูรพา ต.แสนสุข อ.เมือง จ.ชลบุรี 20131

\* ติดต่อผู้พิมพ์: สุนทนต์ ชูลักษณ์ อีเมล: sunthornc@buu.ac.th

<sup>1</sup> Chonkanyanukoon School, Tamnaknum Road, Bang Pla Soi, Mueang, Chonburi, 20000 Thailand

<sup>2</sup> Department of Biochemistry, Faculty of Science, Burapha University, Saensuk, Mueang, Chonburi, 20131 Thailand

\* Corresponding author: Sunthorn Chooluck Email: sunthornc@buu.ac.th

## บทนำ

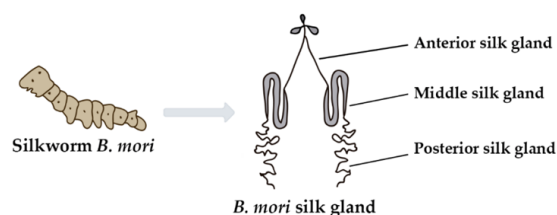
เส้นไหมเป็นองค์ประกอบสำคัญของอุตสาหกรรมสิ่งทอและการเลี้ยงไหม ผลิตมาจากหนอนไหมหลายชนิดที่อยู่ในวงศ์ Bombycidae, Lasiocampidae และ Saturniidae รวมถึงแมงมุมบางชนิด Bombycidae จัดเป็นวงศ์ที่มีหนอนไหมที่เป็นที่นิยมแพร่หลายที่สุดสำหรับการผลิตเส้นไหมทางการค้า คือ หนอนไหมบ้านหรือไหมกินหม่อน *Bombyx mori* ส่วนหนอนไหมในวงศ์ Lasiocampidae จะผลิตเส้นไหมที่มีความแข็งแรงและทนทาน ตัวอย่างที่รู้จักกันดี เช่น หนอนไหมจากผีเสื้อหนอนใบกระถ่านหรือผีเสื้อยักษ์ *Attacus atlas* ส่วนวงศ์ Saturniidae จะมีมีหนอนไหมที่ผลิตเส้นไหมที่มีสีสันหลากหลาย ตัวอย่างเช่น หนอนไหมจากมอดญี่ปุ่น (Japanese oak silkworm) *Antheraea yamamai* ส่วนแมงมุมบางชนิด เช่น แมงมุม *Nephila clavipes* สามารถผลิตเส้นไหมที่สามารถใช้ทำเสื้อผ้าได้แต่ปริมาณการผลิตยังมีน้อยเมื่อเทียบกับหนอนไหม *B. mori* (Barajas Gamboa *et al.*, 2016; Seo *et al.*, 2023)

เส้นไหมมีส่วนประกอบที่สำคัญคือโปรตีนเส้นไหมที่เรียกว่าไฟโบรอิน (Fibroin) และเคลือบด้วยกาวที่ทำจากโปรตีนเซรีซิน (Sericin) หรือกาวไหม โดยในระหว่างกระบวนการผลิตและแปรรูปเส้นไหมดิบ กาวไหมจะถูกกำจัดออกไปและมักจะถูกทิ้งรวมกับของเสียในอุตสาหกรรมสิ่งทอมาเป็นระยะเวลานาน การนำกาวไหมกลับมาใช้ประโยชน์จะก่อให้เกิดประโยชน์ทั้งทางเศรษฐกิจ สังคมและสิ่งแวดล้อมจากการศึกษาพบว่า กรดแอมิโนที่เป็นองค์ประกอบของกาวไหม เช่น เซอรีน ทรีโอนีนและกรดแอสพาร์ติก รวมถึงความหลากหลายในหน้าที่ของหมู่ฟังก์ชันอื่นๆ เช่น Delocalizing electrons ในวงแหวนอะโรมาติก รวมถึงสารออกฤทธิ์ทางชีวภาพพวก secondary metabolite ที่อยู่ในรังไหม ทำให้สารสกัดกาวไหมมีฤทธิ์ทางชีวภาพที่น่าสนใจ เช่นคุณสมบัติต้านอนุมูลอิสระ ความสามารถในการให้ความชุ่มชื้น ความสามารถในการฟื้นฟูเซลล์และการสร้างเนื้อเยื่อ โดยส่งเสริมการเจริญเติบโตของเซลล์เคราติโนไซต์ (Keratinocytes) และไฟโบรบลาสต์ (Fibroblasts) ซึ่งนำไปสู่การพัฒนาไหมเพื่อใช้ประโยชน์ในด้านต่างๆ เช่นพัฒนาวัสดุชีวภาพ (Biomaterials) จากกาวไหมสำหรับการซ่อมแซมเนื้อเยื่อผิวหนัง โดยเฉพาะอย่างยิ่งเป็นแผ่นปิดแผล นอกจากนี้กาวไหมยังสามารถใช้สร้างเนื้อเยื่อกระดูก เนื่องจากมีความสามารถในการกระตุ้นการสร้างไฮดรอกซีอะพาไทต์ (Hydroxyapatite) ซึ่งมีโครงสร้างคล้ายกระดูก ในปัจจุบัน กาวไหมยังสามารถนำมาใช้สำหรับกระบวนการนำส่งยาได้เนื่องจากปฏิกิริยาทางเคมีและการตอบสนองต่อค่าความเป็นกรด-ด่าง ซึ่งช่วยในการผลิตอนุภาค

นาโน ไฮโดรเจล และโมเลกุลคอนจูเกต (Conjugated molecule) ที่สามารถเพิ่มฤทธิ์ทางชีวภาพของยาได้อีกด้วย (Ahsan *et al.*, 2018; Kumar & Mandal, 2017; Li *et al.*, 2023)

## การสังเคราะห์เส้นไหม

กาวไหมถูกสังเคราะห์ขึ้นที่ต่อมเลเบียล (Labial gland) ของหนอนไหมซึ่งมักเรียกว่า ต่อมไหม (Silk gland) (Figure 1) ซึ่งเป็นอวัยวะรูปท่อคู่ที่ทอดตัวยาวไปทางด้านข้างท้อง (Lateroventrally) ไปยังระบบย่อยอาหาร เริ่มต้นตั้งแต่ปล้องริมฝีปาก (Labial segment) ไปจนถึงบริเวณหาง (Caudal region) ในการสร้างเส้นไหมของหนอนไหมนั้น ในระยะไหมสุกก่อนเข้าทำรัง เมื่อต่อมไหมเจริญเต็มที่จนเข้าไปเบียดส่วนของกระเพาะอาหารทำให้หนอนไหมหยุดกินอาหารและเกิดกระบวนการบีบตัวเองให้ของเหลวในต่อมไหมพุ่งออกมาทางรูฟันเส้นไหม สารไหมเหลวจะถูกขับออกมาทางต่อมไหมส่วนท้าย (Posterior silk gland) และหลังจากนั้นส่งไปยังต่อมไหมส่วนกลาง (Middle silk gland) ระหว่างที่อยู่ในต่อมไหมส่วนกลาง สารไหมเหลวจะกลายเป็นเจลลาติน จากนั้นกาวไหมจะถูกขับออกมาจากส่วนอื่นของต่อมไหมส่วนกลางเพื่อที่จะเคลือบเจลลาติน เมื่อโตเต็มที่แล้วหนอนไหมจะหยุดกินอาหาร และฟันของเหลวออกจากต่อมน้ำลาย 2 ชนิดทางปากอย่างต่อเนื่อง เมื่อของเหลวสัมผัสกับอากาศจะแข็งตัวเกิดเป็นเส้นไหมไหมขึ้น (Babu, 2012; Bedge & Dixit- Potadar, 2022)



**Figure 1** Structure of silk gland from silk worm *Bombyx mori* (Silva *et al.*, 2022)

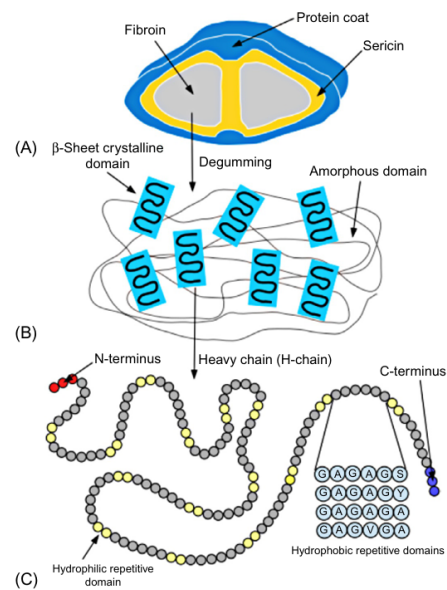
## โครงสร้างและองค์ประกอบของเส้นไหม

เส้นไหม (Silk filament) มีโปรตีนเป็นองค์ประกอบหลัก 2 ชนิด คือ

### 1) โปรตีนไฟโบรอิน

เป็นไกลโคโปรตีน (Glycoprotein) ที่มีลักษณะเป็นเส้นใย (Fibrous) มีคุณสมบัติเฉพาะทางฟิสิกส์และเคมีพบประมาณร้อยละ 70-75 ของเส้นไหม เป็นเส้นคู่ยาวต่อเนื่องตรงแกนกลางถูกเคลือบไว้ด้วยโปรตีนกาวไหม (Figure 2) ไฟโบรอินประกอบด้วยกรดแอมิโนที่สำคัญคือ ไกลซีน อะลานีน

เซอริน วาสินและไทโรซีนมีส่วนที่เป็นลำดับกรดแอมิโนซ้ำๆ อยู่มาก (Highly repetitive motifs) ในรูปแบบ (Gly-Ala-Gly-Ala-Gly-Ser)<sub>n</sub> หรือ Gly-X (X=Ala/Ser/Thr/Val) ซึ่งเป็นกลุ่มของกรดแอมิโนขนาดเล็กและไม่มีขั้ว ทำให้ไฟโบรอินไม่ละลายน้ำ แต่สามารถละลายได้ในกรดแก่หรือเบสแก่เข้มข้น ไฟโบรอินมีโครงสร้างเป็นไดเมอร์ (Dimer) ที่มีเปปไทด์เป็นองค์ประกอบสองสายในอัตราส่วน 1:1 คือ โปรตีนสายหลัก (Heavy chain) มีน้ำหนักประมาณ 350 กิโลดาลตัน ประกอบด้วยกรดแอมิโนที่สำคัญ 2 ชนิด คือ ไกลซีนและอะลานีน โปรตีนสายรอง (Light chain) มีน้ำหนักประมาณ 25 กิโลดาลตันประกอบด้วยกรดแอมิโนหลายชนิด เช่น ลิวซีน ไอโซลิวซีนและวาซีน โดยมีไกลโคโปรตีน P25 ทำหน้าที่เชื่อม Heavy chain และ Light chain เข้าด้วยกัน โดยใช้พันธะไดซัลไฟด์และ Hydrophobic interaction ซึ่ง P25 มีน้ำหนักโมเลกุล 30 กิโลดาลตันประกอบด้วยพอลิเปปไทด์ (Polypeptide) และโอลิโกแซ็กคาไรด์ (Oligosaccharide) ที่ประกอบด้วยน้ำตาลโมเลกุลเดี่ยว 2-10 โมเลกุลโดยส่วนใหญ่จะเป็นน้ำตาลแมนโนส (Mannose) โครงสร้างทุติยภูมิของไฟโบรอินประกอบด้วย 2 ส่วนหลัก คือ ส่วนที่มีการจัดเรียงตัวเป็นผลึกและส่วนที่มีการจัดเรียงตัวแบบอสัณฐาน (Amorphous) นอกจากนี้ส่วนที่มีโครงสร้างการจัดเรียงตัวเป็นผลึกยังสามารถแบ่งย่อยออกเป็น 3 แบบ ได้แก่ โครงสร้าง Silk I โครงสร้าง Silk II และโครงสร้าง Silk III โดยโครงสร้าง Silk I มีโครงสร้างแบบก่อนเปลี่ยนแปลงไปเป็นผลึกเส้นใย (Pre-spun pseudo crystalline) ที่เป็นแบบเกลียวสุ่ม (Random coil) หรือโครงสร้างแบบเกลียว  $\alpha$ -helix ทำให้สามารถละลายน้ำได้ เป็นโครงสร้างที่ไม่เสถียรสามารถเปลี่ยนเป็นโครงสร้าง Silk II ได้ เมื่อได้รับความร้อน (Heating) การปั่นกว (Spinning) การให้แรงทางไฟฟ้า (Electric field) หรือการเติมสารละลายที่มีขั้ว เช่น เมทานอล หรือ อะซิโตน โครงสร้าง Silk II มีรูปแบบเป็นเส้นใยและถือเป็นโครงสร้างหลักของไฟโบรอิน ประกอบด้วยโครงสร้างการจัดเรียงตัวแบบเบต้าชีท ( $\beta$ -sheet) สายพอลิเปปไทด์เรียงตัวแบบไม่ขนาน (Anti-parallel) ยึดกันด้วยพันธะไฮโดรเจนระหว่างหมู่คาร์บอกซิลกับหมู่อะมิโน โดยระหว่างเบต้าชีทแต่ละแผ่นซ้อนทับกันด้วยแรงแวนเดอร์วาลส์ (Van der Waals) ส่งผลให้ไฟโบรอินมีคุณสมบัติเชิงกลที่มีความแข็งแรงสูง ไม่สามารถละลายน้ำได้โดยตรง ต้องใช้สารพวก Chaotropes เป็นตัวทำลายเช่น ลิเทียมคลอไรด์หรือโซเดียมไทโอไซยาไนด์ (Babu, 2012; Costa *et al.*, 2018; Mondal, 2007; Padamwar & Pawar, 2004)



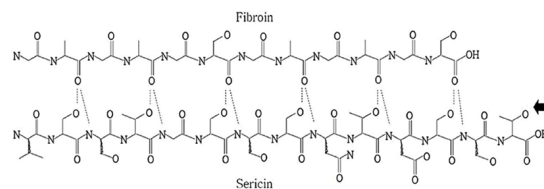
**Figure 2** The structure of silk fibroin. A) The raw silk fiber B)  $\beta$ -sheet crystallite embedded in the amorphous matrix of silk fibroin fibers. C) Silk fibroin heavy chain (H-chain) consists of hydrophobic and hydrophilic repetitive domains (Costa *et al.*, 2018)

## 2) โปรตีนไหมเซริซิน

โปรตีนเซริซินหรือกาวไหม มีลักษณะเหนียวคล้ายกาวทำหน้าที่ห่อหุ้มเส้นใย โดยในเส้นไหมจะมีโปรตีนไฟโบรอิน 2 เส้นประสานกันด้วยกาวไหมยึดเหนี่ยวเส้นใยเข้าด้วยกันเพื่อประกอบกันเป็นรังไหม กาวไหมเป็นโปรตีนที่มีของกรดแอมิโนที่มีขั้วเป็นองค์ประกอบจำนวนมากทำให้สามารถละลายน้ำได้ดี และมีขนาดของโมเลกุลอยู่ที่ 20 ถึง 400 กิโลดาลตัน (Cao & Zhang, 2016) พบประมาณร้อยละ 25-30 ของเส้นไหม สร้างจากต่อมได้สมองส่วนกลางของหนอนไหม และถูกขับออกมาเคลือบแกนไหมเพื่อให้ยึดกันเป็นเส้นใย ประกอบด้วยเปปไทด์ที่มีขนาดแตกต่างกัน โดยเปปไทด์ที่มีน้ำหนักโมเลกุลเล็กจะสามารถละลายได้ดีในน้ำเย็น ส่วนพวกที่มีน้ำหนักโมเลกุลใหญ่จะละลายได้ดีในน้ำร้อน ในกาวไหมนอกจากจะมีกรดแอมิโนไกลซีน อะลานีน และเซอรินในอัตราส่วนที่สูงแล้วยังประกอบด้วยกรดกลูตามิก ทรีโอนีนและไทโรซีน ที่สามารถกักเก็บน้ำได้ ทำให้ช่วยป้องกันผิวแห้ง สามารถลดเลือนริ้วรอย มีฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระมีไทโรซีนซึ่งเป็นต้นเหตุของผิวหมองคล้ำ และจุดต่างดำ กรดแอมิโนเหล่านี้จะก่อเป็นบริเวณอสัณฐานในโครงสร้างของกาวไหมจะพบได้ 2 แบบ คือเบต้าชีท ( $\beta$ -sheet) ที่จะพบอยู่ในส่วนที่เป็นผลึก (Crystalline) และโครงสร้างแบบเกลียวสุ่ม โดยโครงสร้างหลักที่พบมากที่สุดคือโครงสร้างแบบเกลียวสุ่มซึ่งกรดแอมิโนที่เป็นองค์ประกอบจะเรียงตัวแบบสุ่ม

ไม่เป็นระเบียบทำให้โครงสร้างมีความยืดหยุ่น ละลายน้ำได้ง่าย ส่วนโครงสร้างแบบ  $\beta$ -sheet จะพบได้น้อยกว่าและละลายน้ำได้ยาก เมื่อการไหมสัมผัสกับความชื้นซ้ำ ๆ (Repeated moisture absorption) โครงสร้างของโมเลกุลจะปรับตัวเพื่อยึดจับกับโมเลกุลของน้ำ ส่งผลให้เกิดการเปลี่ยนแปลงโครงสร้างจากแบบ Random coil ไปเป็นแบบ  $\beta$ -sheet หรือเมื่อมีแรงดึงทางกล (Mechanical stretching) โครงสร้างโมเลกุลของการไหมจะถูกดึงให้เรียงตัวเป็นระเบียบส่งผลให้เกิดการเปลี่ยนแปลงเป็นโครงสร้างมาเป็นแบบ  $\beta$ -sheet ได้เช่นกัน (Li *et al.*, 2023; Padamwar & Pawar, 2004) กรดแอมิโนที่เป็นองค์ประกอบในการไหม จะมีการจัดเรียงตัวแบบซ้ำ ๆ กัน (Repeat sequence) ของ (Gly-Ser-Val-Ser-Ser-Thr-Gly-Ser-Ser-Ser-Asn-Thr-Asp-Ser-Ser-Thr)<sub>n</sub> โดย Gly Ser Val Thr Asn Asp คือกรดแอมิโนไกลซีน เซอรีน แวลีน ทรีโอนีน แอสพาราจีน และกรดแอสพาร์ติก ตามลำดับ (Lee, 2004; Silva *et al.*, 2022) การไหมเป็นโปรตีนโมเลกุลขนาดใหญ่ตามธรรมชาติที่ประกอบด้วยโปรตีน Sericin 1 (Ser1), Sericin 2 (Ser2) และ Sericin 3 (Ser3) โปรตีน Ser1 อยู่ชั้นนอกสุด ละลายน้ำได้ประมาณ 40% ในยีน ser1 มีขนาดประมาณ 23 kb และมี 9 exons เก็บรหัสสำหรับ mRNA ขนาด 10.5, 9.0, 4.0 และ 2.8 kb ตามลำดับผ่านกระบวนการ alternative splicing เมื่อเจอกับความร้อนหรือตัวทำละลายอินทรีย์ ก็สามารถเปลี่ยนแปลงเป็นโปรตีน Ser2 ซึ่งละลายน้ำได้ประมาณ 40-50% โครงสร้างของยีน ser2 มี 13 exons เก็บรหัสสำหรับ mRNA ขนาด 3.1 และ 5.0–6.4 kb เป็นชั้นกลาง สามารถละลายได้ด้วย Chaotropes หลายชนิด โปรตีน Ser 3 ละลายได้ประมาณ 10% โครงสร้างของยีน ser3 มี 2 exons มีขนาดประมาณ 3.5 bp เก็บรหัสสำหรับ mRNA ขนาด 4.5 kb อยู่ชั้นในสุดติดกับไฟโบรอิน (Bedge & Dixit- Potadar, 2022; Kunz *et al.*, 2016)

การไหมจะทำหน้าที่เหมือนการธรรมชาติช่วยเชื่อมและยึดเกาะเส้นใยไฟโบรอินไว้ด้วยกันด้วยพันธะไฮโดรเจนที่เกิดขึ้นระหว่างหมู่คาร์บอนิล (C=O) ของการไหมกับไฮโดรเจนอะตอม (N-H) ของหมู่เอมีน (NH<sub>2</sub>) ของไฟโบรอิน (Figure 3) ส่งผลให้เส้นไหมมีความแข็งแรง ทนทานต่อแรงดึง และไม่เปราะง่าย เมื่อทำการลอกการไหม (Degumming) ออก ชั้นการไหมจะหายไปทำให้เส้นใยไฟโบรอินซึ่งเรียงตัวอย่างหนาแน่นจะสัมผัสกันโดยตรงส่งผลให้พื้นผิวของเส้นใยเรียบเนียนและเกิดการสะท้อนแสง มีความนุ่มนวลและเงางาม (Seo *et al.*, 2023)



**Figure 3** Chemical structure of silk demonstrating the intermolecular H-bonding between sericin and fibroin (Seo *et al.*, 2023)

การไหมมีฤทธิ์ทางชีวภาพที่หลากหลายเนื่องจากมีกรดแอมิโนที่สำคัญต่อร่างกายอยู่มาก มีคุณสมบัติในการต้านอนุมูลอิสระ (Jena *et al.*, 2018; Kumar & Mandal, 2017; Napavichayanun *et al.*, 2017) สามารถป้องกันผิวจากรังสี UV (Kaur *et al.*, 2013) เป็นตัวกักเก็บน้ำและเพิ่มความชุ่มชื้นให้แก่ผิว (Padamwar *et al.*, 2005) สามารถกระตุ้นให้เกิดการเจริญเติบโตและเพิ่มการยึดเกาะของเซลล์ผิวหนัง (Minoura *et al.*, 1995) ลดการเจริญเติบโตของเนื้องอกในลำไส้ใหญ่ของหนูทดลองได้ (Zhaorigetu *et al.*, 2001) สามารถยับยั้งเอนไซม์ไทโรซิเนสซึ่งเป็นต้นเหตุของผิวหมองคล้ำและจุดด่างดำ (P. Aramwit *et al.*, 2010; Shitole *et al.*, 2020) จึงมีประโยชน์อย่างมากในการนำไปพัฒนาและประยุกต์ใช้ในอุตสาหกรรมเวชสำอาง นำไปผลิตวัสดุทดแทนกระดูกในกระบวนการการชักนำให้เนื้อเยื่อกระดูกคืนสภาพ (Guided bone regeneration, GBR) (Kim *et al.*, 2023) ใช้ในวิศวกรรมเนื้อเยื่อ (Tissue engineering) และทางการแพทย์ (Silva *et al.*, 2022)

## โครงสร้างและรูปแบบของการไหม

สามารถแบ่งการไหมได้หลายรูปแบบโดยแบ่งตามความสามารถในการละลายได้เป็น 3 ชนิด คือ

เซรีซิน เอ (Sericin A): อยู่ชั้นนอกสุดของรังไหม ไม่ละลายในน้ำร้อนมีไนโตรเจนเป็นองค์ประกอบอยู่ประมาณ 17.2% มีกรดแอมิโนที่พบมากคือเซอรีน ทรีโอนีน ไกลซีนและกรดแอสพาร์ติก

เซรีซิน บี (Sericin B): อยู่ในชั้นกลาง สามารถละลายได้ในน้ำร้อน มีกรดแอมิโนที่เป็นองค์ประกอบเหมือนในเซรีซิน เอ นอกจากนี้ยังมีกรดแอมิโน ทริปโตเฟนและมีไนโตรเจนอยู่ประมาณ 16.8%

เซรีซิน ซี (Sericin C): อยู่ชั้นในสุดติดกับไฟโบรอิน ไม่ละลายในน้ำร้อน สามารถแยกออกจากไฟโบรอินได้โดยใช้สารละลายกรดเจือจางหรือด่าง มีองค์ประกอบกรดแอมิโนเหมือนใน เซรีซิน บี และมีกรดแอมิโนโพรลีน กำมะถัน และมี

ไนโตรเจนประมาณ 16.6% (Kunz et al., 2016; Padamwar & Pawar, 2004)

จากการศึกษาพบว่ากาวไหมจัดเป็นไกลโคโปรตีนที่มีโอลิโกแซคคาไรด์เป็นองค์ประกอบอยู่สองชนิด ชนิดแรกประกอบด้วยน้ำตาลแมนโนสหลายโมเลกุลจับอยู่กับ N-acetyl glucosamine 2 โมเลกุล เชื่อมกับกาวไหมที่ตำแหน่งของกรดแอมิโนแอสพาราจีน ชนิดที่ 2 ประกอบด้วย N-acetyl glucosamine และน้ำตาลไดแซคคาไรด์  $\beta$ -Galactosyl (1 $\rightarrow$ 3)-N-acetylgalactosamine เชื่อมกับกาวไหมที่ตำแหน่งกรดแอมิโนเซอรีนหรือทรีโอนีน (Kunz et al., 2016)

นอกจากนี้ยังมีการจัดแบ่งโปรตีนกาวไหมออกเป็น 3 กลุ่ม ตามน้ำหนักโมเลกุล ได้แก่ เซรีซิน A (250 kDa) เซรีซิน M (400 kDa) และเซรีซิน P (180 kDa) ซึ่งกระจายอยู่บริเวณด้านหน้า (Anterior: A) กลาง (Middle: M) และหลัง (Posterior: P) ของต่อมไหมส่วนกลาง (MSG) เซรีซิน M และ P เป็นผลผลิตของยีน *ser 1* ในขณะที่เซรีซิน A เป็นผลผลิตของยีน *ser 3* แต่ไม่พบว่ายีน *ser 2* เกี่ยวข้องในการสร้างโปรตีนหลักของรังไหม (Bedge & Dixit-Potadar, 2022) เซรีซิน A M และ P มีกรดแอมิโน เซอรีน ไกลซีน และกรดแอสพาร์ติก เป็นองค์ประกอบอยู่สูง อย่างไรก็ตาม เซรีซิน A จะมีองค์ประกอบของกรดแอมิโนที่แตกต่างจากเซรีซิน M และ P คือ มีกรดกลูตามิกและไลซีนอยู่มาก ขณะที่กรดแอมิโนทรีโอนีนและไทโรซีนในปริมาณที่น้อยกว่า โดยที่ไทโรซีนและทรีโอนีนเป็นส่วนสำคัญในการเกิดโครงสร้างทุติยภูมิแบบ  $\beta$ -sheet ส่วนกรดกลูตามิกและไลซีนเป็นกรดแอมิโนที่ทำให้โครงสร้างแบบ  $\beta$ -sheet นั้นไม่เสถียร ทำให้โครงสร้างของ เซรีซิน A จะเกิดเป็นโครงสร้าง  $\beta$ -sheet น้อยกว่าเซรีซิน M และ P และสามารถในการละลายน้ำของกาวไหมจะลดลงเมื่อมีโครงสร้างแบบ  $\beta$ -sheet เพิ่มมากขึ้น (Bedge & Dixit-Potadar, 2022; Takasu et al., 2002)

### คุณสมบัติของกาวไหม

การย่อยสลายกาวไหมด้วยสารเคมี ความร้อน และเอนไซม์ จะทำให้ได้ส่วนผสมของเปปไทด์ที่มีมวลโมเลกุล (Molecular Mass) ที่แตกต่างกัน เปปไทด์ที่มีขนาดของโมเลกุลใหญ่ (50 ถึง 300 kDa) จะละลายได้ดีในน้ำร้อน (> 60°C) แต่ละลายได้น้อยในน้ำเย็น เปปไทด์ขนาดใหญ่เหล่านี้ นิยมนำไปใช้ประโยชน์ในด้านต่างๆ เช่น วัสดุชีวภาพที่ย่อยสลายได้ (Degradable Biomaterials) วัสดุทางชีวการแพทย์ (Biomedical Materials) และวัสดุพอลิเมอร์สังเคราะห์ (Synthetic Polymer Materials) เป็นต้น เปปไทด์ที่มีขนาดของโมเลกุลเล็ก (น้อยกว่า 50 kDa) จะสามารถละลายได้ดีใน

น้ำเย็น และมีคุณสมบัติเด่นในเรื่องของการดูดซับความชื้นและปล่อยความชื้นได้ดีเนื่องจากมีกรดแอมิโนเซอรีนอยู่มาก ซึ่งเซอรีนเป็นกรดแอมิโนที่พบได้มากที่สุดในกลุ่มตัวชีวิตความชื้นตามธรรมชาติของมนุษย์ (Natural moisture factor; NMF) ซึ่งเป็นส่วนประกอบของชั้นนอกสุดของผิวหนังที่ช่วยรักษาระดับความชื้น NMF ประกอบด้วยกรดแอมิโนที่สามารถดูดซับน้ำได้ดี เช่น เซอรีน ไกลซีน และกรดแอสพาร์ติก กรดแอมิโนเหล่านี้จะดึงน้ำจากชั้นล่างของผิวหนังและกักเก็บไว้บนชั้นผิวทำให้ผิวนุ่มนวลและชุ่มชื้น (Bedge & Dixit-Potadar, 2022; Li et al., 2023; Padamwar et al., 2005) ปริมาณของกรดแอมิโนในกาวไหมโดยทั่วไปแล้วจะมีสัดส่วนที่คงที่ แต่เทคนิคที่ใช้ในการสกัดกาวไหมจะส่งผลต่อสัดส่วนของกรดแอมิโนเหล่านั้นเล็กน้อย มีงานวิจัยมากมายที่ระบุว่าเซอรีนเป็นกรดแอมิโนที่พบมากที่สุดในการไหมคิดเป็นประมาณ 30% รองลงมาคือกรดแอสพาร์ติกและไกลซีนโดยที่เซอรีนมีหมู่ไฮดรอกซิลที่มีขั้วสูงเป็นหมู่ฟังก์ชัน ซึ่งส่งผลต่อคุณสมบัติและหน้าที่ทางชีวภาพของกาวไหม นอกจากนี้ กรดแอสพาร์ติกและไกลซีนก็มีบทบาทสำคัญเช่นกัน กาวไหมยังประกอบด้วยกรดแอมิโนที่ชอบน้ำ (Hydrophilic amino acid) ประมาณ 70% ส่งผลให้สามารถละลายน้ำได้ดีและมีคุณสมบัติในการซึมผ่านของน้ำที่ดี ในทางกลับกัน กรดแอมิโนที่มีหมู่ฟังก์ชันเป็นวงแหวนอะโรมาติกเช่น ฟีนอลอะลานีนและทริปโตเฟน จะพบได้ในปริมาณที่น้อยกว่ามาก (Table 1) (Ahsan et al., 2018; Seo et al., 2023)

กระบวนการฟอร์มตัวเป็นเจล (Gelation process) ของโปรตีนกาวไหมเกิดขึ้นได้จากการเปลี่ยนโครงสร้างทุติยภูมิจากแบบ Random coil ไปเป็น  $\beta$ -sheet ซึ่งกาวไหมที่มีโครงสร้างส่วนใหญ่แบบ Random coil จะละลายได้ดีในน้ำร้อน แต่เมื่อลดอุณหภูมิลงต่ำ (ประมาณ 10°C) และค่า pH ประมาณ 6-7 โครงสร้างแบบ Random coil จะเปลี่ยนไปเป็น  $\beta$ -sheet ทำให้เกิดการสร้างเครือข่ายสามมิติ (3D-network) และส่งเสริมการก่อตัวของเจลกาวไหมขึ้นมา ปรากฏการณ์นี้สามารถย้อนกลับได้เมื่อนำเจลที่เกิดขึ้นไปให้ความร้อนประมาณ 50–60°C นอกจากนี้ Gelation process ของกาวไหมยังสามารถทำได้โดยวิธี Chemical crosslinking โดยเติมสารเคมีเช่น กลูตารัลดีไฮด์ (Glutaraldehyde) ซึ่งจะนำไปสู่การสร้างโครงสร้าง  $\beta$ -sheet ที่คงตัว (Silva et al., 2022) ส่วนค่า Isoelectric point (pI) ซึ่งเป็นค่า pH ที่ทำให้โมเลกุลมีประจุไฟฟ้าสุทธิเป็นศูนย์นั้น โปรตีนกาวไหมมีค่า pI ที่รายงานอยู่ระหว่าง 3.5 ถึง 4.0 ส่งผลให้กาวไหมจะมีประจุสุทธิเป็นบวกเมื่ออยู่ภายใต้สภาวะที่ pH ต่ำกว่า 3.5 และมีประจุสุทธิเป็นลบที่ pH สูงกว่า 4.0 (Barajas Gamboa et al., 2016)

**Table 1** Amino acid composition of sericin from selected published works.

| Amino Acid (mol%) | Author                        |                                |                                 |
|-------------------|-------------------------------|--------------------------------|---------------------------------|
|                   | (Terada <i>et al.</i> , 2002) | (Aramwit <i>et al.</i> , 2012) | (Keawkorn <i>et al.</i> , 2013) |
| Glycine           | 15.7                          | 15.03                          | 13.5                            |
| Alanine           | 5.3                           | 4.1                            | 6.0                             |
| Serine            | 32.2                          | 33.63                          | 33.4                            |
| Tyrosine          | 3.7                           | 3.45                           | 2.6                             |
| Valine            | 3.6                           | 2.88                           | 2.8                             |
| Aspartic acid     | 18.0                          | 15.64                          | 16.7                            |
| Arginine          | 1.8                           | 2.87                           | 3.1                             |
| Glutamic acid     | 4.6                           | 4.61                           | 4.4                             |
| Isoleucine        | 0.7                           | 0.56                           | 0.7                             |
| Leucine           | 1.1                           | 1.0                            | 1.1                             |
| Phenylalanine     | 0.4                           | 0.28                           | 0.5                             |
| Threonine         | 8.4                           | 8.16                           | 9.7                             |
| Cysteine          | <0.05                         | 0.4                            | 0.2                             |
| Histidine         | 1.3                           | 1.06                           | 1.3                             |
| Lysine            | 2.5                           | 2.35                           | 3.3                             |
| Methionine        | <0.05                         | 3.39                           | 0.04                            |
| Proline           | 0.6                           | 0.54                           | 0.7                             |
| Tryptophan        | 0                             | 0                              | 0.2                             |

### การลอกกาไหมและทำบริสุทธิ์

การลอกกาไหมจะเป็นการย่อยสลายโปรตีน (Protein hydrolysis) โดยสลายพันธะเอไมด์ (Amide bond) ในโมเลกุลของกาไหมออกเป็นชิ้นส่วนโปรตีนขนาดเล็กที่สามารถละลายได้ในตัวทำละลายที่ใช้ในการลอกกา (Degumming agent) โปรตีนในเส้นใยไหมคือไฟโบรอินและกาไหมจะมีคุณสมบัติทางกายภาพและทางเคมีที่แตกต่างกัน ในอุตสาหกรรมสิ่งทอจะอาศัยความแตกต่างนี้ในการลอกกาไหมเพื่อนำเส้นไหมไปใช้ประโยชน์ ซึ่งเส้นใยไหมไฟโบรอินจัดเป็นโปรตีนเส้นใยที่ไม่ละลายน้ำ มีกรดแอมิโนไม่ชอบน้ำ (Hydrophobic amino acid) เป็นจำนวนมาก (ประมาณ 76%) ทำให้ไฟโบรอินเป็นโครงสร้างหลักที่แข็งแรงของเส้นใยไหม ส่วนกาไหมเป็นโปรตีนที่มีโครงสร้างเป็นแบบอสัณฐาน ละลายได้ในน้ำร้อน สารละลายต่าง สบู่ กรดอินทรีย์ และ

สารซักล้างสังเคราะห์ (Synthetic detergent) โดยทั่วไปการลอกกาไหมจากรังไหมจะนิยมใช้สภาวะที่รุนแรง เช่น ความร้อนสูง ความดันสูง หรือใช้สารเคมีพวก ยูเรีย หรือ โซเดียมคาร์บอเนต และกรด ซึ่งวิธีการเหล่านี้ถึงแม้ว่าจะเป็นวิธีที่สะดวก รวดเร็ว แต่ส่งผลกระทบต่อโครงสร้างธรรมชาติ

ของกาไหมและอาจทำให้สูญเสียหน้าที่ทางชีวภาพไป อีกทั้งการกำจัดสารเคมีที่ตกค้างจากกระบวนการสกัดนั้นยุ่งยาก ซับซ้อนและอาจส่งผลกระทบต่อสิ่งแวดล้อมได้ (Bedge & Dixit- Potadar, 2022; Li *et al.*, 2023) นอกจากนี้ กาไหมที่ถูกลอกออกมาจากเส้นไหมในอุตสาหกรรมสิ่งทอ มักจะถูกทิ้งเป็นของเสียที่ไม่ได้ใช้ประโยชน์ ปล่อยรวมลงไปในน้ำเสีย ส่งผลกระทบต่อสิ่งแวดล้อมเนื่องจากการย่อยสลายโปรตีนกาไหมในธรรมชาติมีความต้องการใช้ออกซิเจน (Chemical oxygen demand; COD) ในปริมาณที่สูง ซึ่งหมายความว่าจุลินทรีย์จำเป็นต้องใช้ออกซิเจนจำนวนมากในการย่อยสลายกาไหม ส่งผลให้น้ำเสียมีปริมาณออกซิเจนน้อยลง อีกทั้งน้ำเสียจากอุตสาหกรรมสิ่งทอที่มีสารประกอบไนโตรเจน (Nitrogen) และ ฟอสฟอรัส (Phosphorus) ซึ่งเป็นธาตุอาหารหลักในแหล่งน้ำในปริมาณมาก อาจนำไปสู่ภาวะสาหร่ายสะพรั่ง (Eutrophication) หรือมลภาวะจากธาตุอาหารพืช (Nutrient Pollution) ได้ ส่งผลกระทบต่อสิ่งมีชีวิตในน้ำ ดังนั้นการนำกาไหมกลับมาใช้ประโยชน์ เช่นผลิตเป็นผลิตภัณฑ์ต่างๆ ที่มีกาไหมเป็นส่วนประกอบ นอกจากจะช่วยลดมลพิษต่อสิ่งแวดล้อมแล้วยังสามารถสร้างมูลค่าทางเศรษฐกิจได้อีกด้วย

## การลอกกาวยไหมด้วยน้ำบริสุทธิ์

การลอกกาวยไหมด้วยความร้อนและความดันสูง (High temperature high pressure : HTHP) หรือการใช้หม้อ นึ่งฆ่าเชื้อแรงดันสูง (Autoclave) ที่ 115 °C เป็นวิธีแบบดั้งเดิม ที่นิยมใช้กันอย่างแพร่หลายกับเกษตรกรผู้เลี้ยงไหมรายย่อย โดยใช้ น้ำกลั่นเป็นตัวทำละลาย และมีรายงานว่าสามารถลอก กาวยไหมได้มีประสิทธิภาพที่ดีกว่าการต้มด้วยสารละลายต่าง (Alkali treatment) โดยไม่ส่งผลกระทบต่อโครงสร้างของเส้นใย ไฟโบรอินมากนัก การลอกกาวยไหมโดยการ Autoclave รังไหม ในน้ำที่ 115 °C นาน 180 นาที สามารถลอกกาวยไหมได้ถึง 96% ข้อดีของวิธีนี้คือปลอดภัยต่อสิ่งแวดล้อมมากกว่าวิธีการ สกัดโดยใช้สารเคมี (Choudhury & Devi, 2016) อย่างไรก็ตาม วิธีนี้ยังไม่ถูกนำไปใช้ในเชิงพาณิชย์อย่างจริงจัง เนื่องจากมีข้อ จำกัดหลายประการ เช่น คุณภาพของรังไหมส่งผลต่อการ ละลายของกาวยไหม การใช้รังไหมที่ยังไม่แก่ (Unripe cocoon) จะละลายได้ไม่ดีและจะเกิดเป็นผลึก (Crystalline structures) นอกจากนี้การแช่รังไหมด้วย 70% Ethanol ก่อนนำไปลอกกาวย จะช่วยกำจัดสารฟลาโวนอยด์และรงควัตถุพวกแคโรทีนอยด์ ออกจากรังไหมที่มีสีได้ (Bedge & Dixit- Potadar, 2022)

## การลอกกาวยไหมด้วยวิธีต้มด้วยสารละลายต่าง และสบู่

การลอกกาวยไหมโดยใช้การต้มด้วยสารละลายต่าง และสบู่เป็นวิธีที่นิยมใช้กันอย่างแพร่หลายในอุตสาหกรรมสิ่งทอ วิธีนี้เป็นวิธีที่สะดวก รวดเร็ว สามารถนำไปใช้ในการลอกกาวย ในโรงงานได้อย่างมีประสิทธิภาพ โดยจะต้มรังไหมใน 0.5% โซเดียมคาร์บอเนตเป็นเวลา 30 นาทีแล้วทำการกรองเอา เส้นใยไฟโบรอินไปใช้ประโยชน์ ความเข้มข้นของสารละลาย ต่างจะขึ้นอยู่กับชนิดของไหม เส้นใยไหมที่ละเอียดอ่อนจะต้อง ใช้สารละลายต่างที่มีความเข้มข้นต่ำกว่า การใช้สบู่ซึ่งมีฤทธิ์ เป็นด่างอ่อนจะช่วยให้โมเลกุลของกาวยไหมดูดซับน้ำ เกิดการ พองตัวและสลายพันธะไฮโดรเจนที่เชื่อมต่อกันระหว่างโมเลกุล ช่วยลดแรงตึงผิวระหว่างกาวยไหมกับน้ำ ทำให้กาวยไหมกระจาย ตัวเป็นหยดเล็กๆ ลอยอยู่ในน้ำเกิดเป็นอิมัลชันขึ้นและจะถูก ชะล้างออกจากเส้นใยไหมด้วยน้ำร้อน การลอกกาวยโดยใช้สบู่ นิยมใช้สบู่ที่ทำจากน้ำมันมะกอก แต่มีข้อจำกัดคือมีราคาแพง และต้องนำเข้าจากต่างประเทศ ดังนั้น โรงงานอุตสาหกรรม จึงนิยมใช้สบู่แบบโฮมเมดแทน โดยมีส่วนประกอบหลักเป็น โซเดียมสเตียเรต อย่างไรก็ตามการใช้สบู่และต่างในการลอกกาวย จะผลกระทบต่อสิ่งแวดล้อม หากมีการปลดปล่อยสู่แหล่งน้ำใน ปริมาณสูงจะก่อให้เกิดมลพิษรุนแรงต่อแหล่งน้ำได้ (P. Aramwit *et al.*, 2010; Mahmoodi *et al.*, 2010)

## การลอกกาวยไหมด้วยสารละลายกรด

การลอกกาวยไหมโดยใช้สารละลายกรดอินทรีย์ เป็น สภาวะที่รุนแรงน้อยกว่าการใช้สารละลายต่าง ในอุตสาหกรรม สิ่งทอนิยมใช้กรดซิตริกซึ่งเป็นกรดอินทรีย์ที่ได้จากกระบวนการหมัก โดยนำรังไหมมาสกัดด้วยกรดซิตริกเข้มข้น 30% (w/v) ที่ อุณหภูมิ 98 °C จะสามารถกำจัดเซรีซินได้เกือบ 100% อีกทั้ง การลอกกาวยด้วยวิธีนี้ทำให้เส้นไหมสูญเสียความแข็งแรงตึง (Tensile strength) น้อยกว่าการลอกกาวยแบบสบู่-ต่าง (Soap-alkali method) (Khan *et al.*, 2010) นอกเหนือจากกรดซิตริก แล้ว การใช้กรดทาร์ทาริก (Tartaric acid) ในการลอกกาวย ก็ให้ผลลัพธ์ที่ดีในแง่ของสมบัติทางกายภาพของเส้นไหม (Physicochemical properties) และการย้อมสีที่ดียิ่งขึ้น (Bedge & Dixit- Potadar, 2022)

## การลอกกาวยไหมโดยใช้เอนไซม์

การลอกกาวยไหมโดยใช้เอนไซม์ (Enzymatic degumming) เป็นกระบวนการที่ใช้ตัวเร่งปฏิกิริยาทางชีวภาพ เป็นมิตรกับสิ่งแวดล้อม และมีผลกระทบต่อเส้นไหมน้อย ได้ผลผลิตเป็นเส้นไหมที่นุ่มนวลและผ่านการลอกกาวยอย่าง สมบูรณ์ เอนไซม์ที่นำมาลอกกาวยเป็นเอนไซม์ในกลุ่มที่ย่อย สลายโปรตีนหรือโปรตีเอส (Protease) ส่วนใหญ่ทำงานได้ดีที่ อุณหภูมิและความเข้มข้นต่ำ และสามารถช่วยประหยัดทรัพยากร ต่างๆ เช่น น้ำ พลังงาน สารเคมี และลดภาระในการบำบัดน้ำ เสีย นอกจากนี้ เอนไซม์โปรตีเอสยังสามารถย่อยสลายกาวย ไหมได้ดีและมีผลต่อไฟโบรอินน้อย โดยเอนไซม์โปรตีเอสชนิด ต่าง (Alkali protease) มีประสิทธิภาพสูงที่สุดในการลอกกาวย ไหม คงความแวววาวของเส้นไหม และรักษาคุณสมบัติด้าน ความแข็งแรง (Tensile properties) วิธีการลอกกาวยไหมด้วย เอนไซม์มีประสิทธิภาพมากกว่าการใช้สารละลายต่างซึ่งจะ กำจัดกาวยไหมแบบไม่จำเพาะเจาะจง อีกทั้งส่งผลกระทบต่อโครงสร้าง และคุณสมบัติของเส้นใยไฟโบรอิน (Kim *et al.*, 2016) เอนไซม์ โปรตีเอสที่ใช้ในการลอกกาวยนั้นมีหลายชนิดทั้งที่ได้จากสัตว์ พืช และจุลินทรีย์

การใช้เอนไซม์โปรตีเอสจากแบคทีเรียและราที่นิยม ใช้ในการลอกกาวยไหม ได้แก่ อัลคาเลส (Alcalase) และซาวินเนส (Savinase) หรือใช้เอนไซม์ทั้งสองชนิดผสมกัน โดยที่มี รายงานว่าการใช้เอนไซม์ซาวินเนส มีประสิทธิภาพที่ดีกว่า นอกจากองค์ประกอบที่เป็นโปรตีนแล้ว เส้นไหมยังมีส่วนที่ ไม่ใช่โปรตีน เช่น คาร์โบไฮเดรต ฟัน ไช (Wax) และแรธาตุ ไชเป็นสารที่ไม่ละลายน้ำซึ่งจะส่งผลกระทบต่อความแวววาวและความ นุ่มของไหม การกำจัดไชออกจากเส้นไหมจึงมีความสำคัญ ดังนั้น การใช้เอนไซม์ไลเปส (Lipase) ร่วมกับโปรตีเอสจะให้

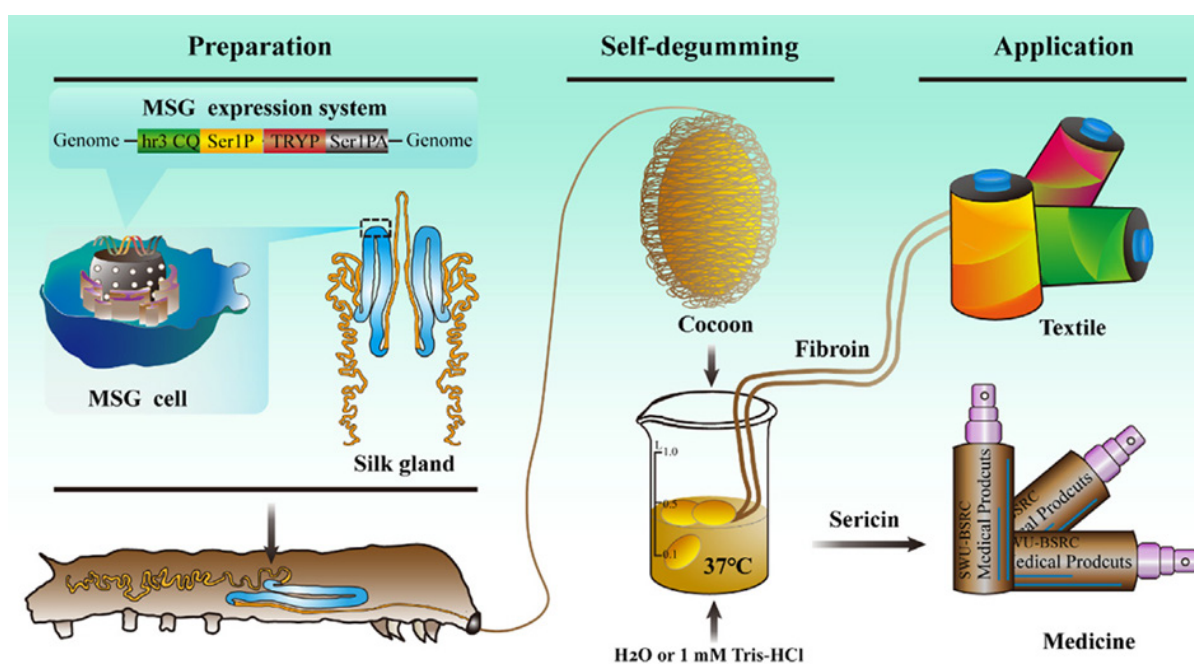
ผลลัพธ์ที่ใกล้เคียงกับการลอกกาด้วยสบู่ นอกจากนั้นการลอกกาโดยใช้เอนไซม์ยังช่วยปรับปรุงการย้อมติดสีของเส้นไหมที่มีมักจะเป็นปัญหาเมื่อใช้สารละลายต่างหรือสบู่ในการลอกกาได้อย่างมีนัยสำคัญ (Gulrajani, Agarwal, Grover, *et al.*, 2000)

เอนไซม์ดีกัมเมส (Degummase) ที่ผลิตโดยเชื้อแบคทีเรีย *Bacillus subtilis* สามารถนำมาใช้ลอกกาไหมได้ โดยมีประสิทธิภาพในการลอกกาไหมทำให้น้ำหนักรังไหมหายไป (weight loss) ประมาณ 22% ที่อุณหภูมิ 50°C ในขณะที่การใช้สบู่หรือต้องใช้อุณหภูมิ 100 °C ขึ้นไปจึงจะได้ค่าน้ำหนักที่หายไป 24% นอกจากนี้ เอนไซม์โปรติเอสจากเชื้อรา ก็ถูกนำมาใช้ในการลอกกาไหมได้เช่นกัน ตัวอย่างเช่น เอนไซม์โปรติเอสที่ได้จากเชื้อรา *Conidiobolus* sp. เข้มข้น 3 mg/ml ใช้เวลา 3 ชั่วโมง ที่อุณหภูมิ 37 °C ทำให้น้ำหนักรังไหมหายไปได้ประมาณ 19.8% (Freddi *et al.*, 2003; Gulrajani, Agarwal, & Chand, 2000) ส่วนเอนไซม์ โปรติเอสจากเชื้อรา *C. breffeldianus* และ *Actinomycete* ได้ค่าน้ำหนักที่หายไป 19.58% ถึง 21.78% (More *et al.*, 2013) ซึ่งใกล้เคียงกับการใช้สารละลายต่างหรือสบู่ในการลอกกา

เอนไซม์โปรติเอสจากพืชสามารถนำมาใช้ลอกกาไหมได้เช่นกัน โดยเอนไซม์ปาเปน (Papain) ที่สกัดได้จากยางของมะละกอดิบ มีคุณสมบัติในการย่อยสลายโปรตีนและนำมาใช้ลอกกาได้ผลใกล้เคียงกับการใช้สารละลายต่างหรือสบู่ อีกทั้งยังช่วยรักษา Tensile strength ของเส้นไหมและทำให้เส้นไหมสามารถติดสีได้ดีขึ้นหลังการย้อมเช่นกัน (Nakpathom

*et al.*, 2009)

ในกรณีที่หนอนไหมจะเปลี่ยนไปเป็นดักแด้ ซึ่งเป็นระยะที่ไม่กินอาหารและจะสร้างเส้นใยไหมเพื่อห่อหุ้มตัวเอาไว้เพื่อก่อตัวเป็นรังไหม (Cocoon) จากนั้นเมื่อดักแด้ฟักออกมาเป็นผีเสื้อจะใช้เอนไซม์ Cocoonase ช่วยในการออกจากรังไหม Cocoonase เป็นเอนไซม์ในกลุ่มเซอรินโปรติเอสที่มีโครงสร้างและกลไกการทำงานคล้ายกับเอนไซม์ทริปซิน (Trypsin-like serine protease) ผลิตโดยผีเสื้อไหมหลายชนิด ทั้งที่กินใบหม่อนและไม่กินใบหม่อน ทำหน้าที่หลักคือย่อยสลายกาไหม ทำให้ให้ผีเสื้อไหมมุดออกมาจากรังไหมได้ง่าย เอนไซม์ชนิดนี้มีความจำเพาะสูง คือจะย่อยเฉพาะโปรตีนกาไหมเท่านั้น ไม่ย่อยไฟโบรอิน ผีเสื้อไหมจึงสามารถขุดรูที่ปลายรังไหมที่ไฟโบรอินนั้นไม่มีการยึดติดอีกต่อไปและมุดออกมาจากรังไหมได้ (Rodbumrer *et al.*, 2012) ด้วยความจำเพาะของ Cocoonase ทำให้นักวิทยาศาสตร์สนใจนำไปใช้ในการลอกกาไหม ด้วยวิธีการโคลนยีนที่เก็บรหัสสำหรับเอนไซม์ Cocoonase เพื่อสร้าง Recombinant cocoonase ทั้งในแบคทีเรีย *Escherichia coli* ใน Insect cell และในยีสต์ *Pichia pastoris* เพื่อผลิตเอนไซม์ในปริมาณมาก โดยเอนไซม์ที่ได้จากกระบวนการพันธุวิศวกรรมนี้สามารถย่อยสลายกาไหมได้ถึง 98% โดยไม่กระทบต่อเส้นใยไฟโบรอิน นอกจากนี้ยังช่วยเพิ่มคุณภาพของเส้นใยไหมด้วยการทำให้สีของเส้นใยอ่อนลงและมีประสิทธิภาพที่ดีกว่า cocoonase จากธรรมชาติที่สกัดจากหนอนไหมอีกด้วย (Rodbumrer *et al.*, 2012; Unajak *et al.*, 2015)



**Figure 4** A novel technique to generate self-degummed cocoon using genetic engineering (Wang *et al.*, 2023)

ได้มีการศึกษาค้นคว้าวิธีการสลายรังไหมแบบ Self-degumming โดยใช้เทคนิคการตัดต่อพันธุกรรมของหนอนไหมซึ่งเป็นนวัตกรรมใหม่ที่อาศัยการตัดต่อยีนที่เก็บรหัสสำหรับโปรตีนทริปซินโนเจน (Trypsinogen) ซึ่งเป็น Precursor ของเอนไซม์ทริปซิน แล้วนำเข้าสู่เซลล์เพื่อให้มีการผลิต Recombinant protein ของทริปซินโนเจน ซึ่งจะเกิด Auto-activation เปลี่ยนไปเป็นเอนไซม์ทริปซินในปริมาณมากภายในชั้นของกาไหมในรังไหม ทริปซินโนเจนเป็นเอนไซม์ที่ยังไม่พร้อมที่จะเร่งปฏิกิริยา (Inactive) จะต้องผ่านกระบวนการกระตุ้นตัวเอง (Auto-activation) หรือถูกกระตุ้นโดยเอนไซม์ชนิดอื่น (Enterokinase) โดยการตัดส่วน Inhibitory peptides ที่มีลำดับกรดแอมิโน Phe-Pro-Thr-Asp-Asp-Asp-Lys ออกจากทริปซินโนเจนเพื่อกลายเป็นเอนไซม์ทริปซินที่ทำหน้าที่เร่งปฏิกิริยาการย่อยสลายพันธะเปปไทด์บริเวณ C-terminal ในตำแหน่งที่มีกรดแอมิโนไลซีนและอาร์จินีนที่อยู่ติดกัน นอกจากนี้ทริปซินยังมีความจำเพาะสูงเพราะจะไม่สามารถย่อยสลายไฟโบรอินเนื่องจากโมเลกุลของไฟโบรอินมีตำแหน่งที่ทริปซินตัดได้ (Cleavage site; Lys-Arg) น้อยมาก ส่วนโมเลกุลของกาไหมมีตำแหน่งที่ทริปซินตัดได้ค่อนข้างมากทำให้ทริปซินสามารถกำจัดชั้นกาไหมออกจากเส้นไหมได้โดยไม่กระทบต่อโครงสร้างของไฟโบรอิน (Omar *et al.*, 2021) อีกทั้งยังส่งผลให้ได้เส้นไหมที่มีคุณภาพดีและได้กาไหมไปใช้ประโยชน์โดยไม่ต้องใช้สารเคมีใดๆในการลอกกาไหมอีกด้วยโดยนำรังไหมไปแช่ในน้ำกลั่นหรือ 1 mM Tris-HCl, pH = 8.0 แล้วนำไปต้มที่ 37°C เป็นเวลา 24 ชั่วโมง (Figure 4) (Wang *et al.*, 2023)

### การลอกกาไหมด้วยสารละลายยูเรีย

การลอกกาไหมด้วยสารละลายยูเรียควบคุมคู่กับการใช้ Autoclave มีประสิทธิภาพในการลอกกาไหมมากกว่า (18.60–23.10% และ 17.00–21.27% weight loss ตามลำดับ) เมื่อเทียบกับการสกัดโดยใช้สารละลายกรดซิตริกและโซเดียมคาร์บอเนต (8.33–15.19% และ 5.93–12.69% weight loss ตามลำดับ) นอกจากนี้การใช้ยูเรียในการสกัดจะส่งผลให้โปรตีนกาไหมที่มีมวลโมเลกุลสูงกว่า (10 ถึง >225 kDa) เมื่อเทียบกับขนาดของโปรตีนที่ได้จากการลอกกาไหมด้วยสารละลายกรด (50–150 kDa) สารละลายด่าง (15–75 kDa) หรือใช้ความร้อนสูง (25–150 kDa) และเมื่อนำไปวิเคราะห์แบบแผนโปรตีนด้วยวิธี SDS-PAGE กาไหมที่สกัดด้วยสารละลายยูเรียจะเห็นแถบของโปรตีนได้ชัดเจนกว่าวิธีอื่นๆ ซึ่งแสดงให้เห็นว่าวิธีการสกัดด้วยยูเรียมีผลกระทบต่อการย่อยสลายหรือการเสียสภาพธรรมชาติของกาไหมน้อยและได้ผลผลิตที่สูง (P. Aramwit *et al.*, 2010; Silva *et al.*, 2022)

## ฤทธิ์ทางชีวภาพของกาไหมและการนำไปใช้ประโยชน์

### 1. Biocompatibility และ immunogenicity

กาไหมเป็นพอลิเมอร์ชีวภาพที่มีประโยชน์ใช้สอยหลากหลายในด้านชีวการแพทย์ มีคุณสมบัติเข้ากันได้กับร่างกาย (Biocompatibility) ไม่ก่อให้เกิดการแพ้ เพราะไม่กระตุ้นการตอบสนองของระบบภูมิคุ้มกัน ซึ่งเป็นสิ่งสำคัญสำหรับวัสดุที่จะนำไปใช้ทางการแพทย์ ทำให้เป็นวัสดุที่เหมาะสมสำหรับการนำไปใช้ประโยชน์ในทางชีวภาพ งานวิจัยใหม่ๆ ชี้ให้เห็นว่ากาไหมมีศักยภาพที่ดีในการเป็นวัสดุทางชีวภาพที่มีความปลอดภัยสูงและยังช่วยส่งเสริมการเจริญของเซลล์และเนื้อเยื่อได้เป็นอย่างดี ในปัจจุบัน นักวิจัยกำลังศึกษาและพัฒนาการไหมสำหรับการใช้งานทางการแพทย์ที่หลากหลาย เช่น เป็นวัสดุปลูกถ่ายเนื้อเยื่อ วัสดุที่ใช้ในการขนส่งยา แผ่นปิดแผลที่ช่วยในการรักษาแผล ช่วยให้แผลหายเร็ว ลดการอักเสบ และป้องกันการติดเชื้อ (Liu *et al.*, 2022) เป็นต้น โดยได้มีการศึกษาและพัฒนาวัสดุปิดแผลชนิดไฮโดรเจลที่ทำจากโปรตีนกาไหม (Silk sericin based hydrogel; SSH) โดยใช้เอนไซม์ Horseradish peroxidase (HRP) เป็นตัวเชื่อมประสาน (Crosslink) ผลการทดลองพบว่า SSH มีคุณสมบัติที่เหมาะสมสำหรับการใช้งานในทางคลินิกและไม่ก่อให้เกิดการอักเสบ ส่งเสริมประสิทธิภาพในการรักษาแผลรวมถึงเพิ่มจำนวนของหลอดเลือดที่สร้างใหม่ได้ ซึ่งจากการศึกษาในหนูทดลองที่ถูกเหนี่ยวนำให้เป็นโรคเบาหวาน พบว่า การใช้ SSH ที่บาดแผลของหนูทดลองช่วยลดระยะห่างของขอบแผลและทำให้แผลสมานกันได้เร็วขึ้น รวมถึงมีประสิทธิภาพมากกว่าเมื่อเทียบกับการใช้ยารักษาแผล Tegaderm เพียงอย่างเดียว นอกจากนี้ยังพบว่าแผลที่ได้รับการรักษาด้วย SSH มีการรอกของรากขนตามปกติ ลดภาวะพังผืดที่ผิวหนังและมีระดับของสารกระตุ้นการอักเสบในเนื้อเยื่อแผลน้อยกว่าซึ่งอาจเป็นปัจจัยสำคัญในการลดรอยแผลเป็นและส่งผลต่อคุณภาพผิวที่ดีขึ้น (Baptista-Silva *et al.*, 2022) กาไหมยังสามารถนำมาผลิตเป็นพลาสติกชีวภาพ (Biodegradable polymers) ที่ย่อยสลายได้ตามธรรมชาติ โดยการนำไปผสมกับเรซินชนิดอื่น ๆ นอกจากนี้ โฟมยูรีเทน (Polyurethane foams) ที่มีส่วนผสมของกาไหม ยังมีคุณสมบัติในการดูดซับและปล่อยความชื้นได้ดีเยี่ยม (Minoura *et al.*, 1995) แผ่นฟิล์มที่ทำจากกาไหมและไฟโบรอิน มีคุณสมบัติเด่นตรงที่สามารถให้ออกซิเจนซึมผ่านได้ดี เหมาะสำหรับการนำไปใช้สร้างกระจกตาเทียม นอกจากนี้ยังสามารถนำไปผลิตวัสดุทางการแพทย์ที่มีสมบัติในการต้านการแข็งตัวของเลือด (Anticoagulant properties) โดยผสมกาไหมและไฟโบรอินแล้วนำไปผ่านกระบวนการซัลโฟเนต (Sulfonation treatment) (Bedge & Dixit- Potadar, 2022)

## 2. ความสามารถในการส่งเสริมการเจริญของเซลล์

จากการวิจัยพบว่า กาวไหมมีคุณสมบัติช่วยส่งเสริมการแบ่งตัวของเซลล์และยังรักษาหน้าที่ทางชีวภาพของเซลล์ประเภทต่างๆ ไว้ได้ ทั้งเซลล์สัตว์เลี้ยงลูกด้วยน้ำนมปกติ (Normal mammalian cell) เซลล์มะเร็ง (Tumor cell) และเซลล์แมลง (Insect cell) ซึ่งเป็นผลมาจากการที่กาวไหมสามารถใช้ทดแทนโปรตีนพวก Bovine serum albumin (BSA) หรือ Fetal bovine serum (FBS) เพื่อใช้เป็นสารอาหารเลี้ยงเซลล์ได้ ตัวอย่างเช่น อาหารเลี้ยงเซลล์ DMEM (Dulbecco's Modified Eagle Medium) ที่ไม่มีซีรัม เมื่อผสมกับกาวไหม (0.05%) สามารถช่วยเพิ่มความสามารถในการต่อต้านริ้วรอยของเซลล์ Skin fibroblasts ได้ และอาหารเลี้ยงเซลล์ Roswell Park Memorial Institute (RPMI) 1640 ที่มีเซรีซิน (0.01%) ช่วยรักษาการทำงานของ Pancreatic islet cells ในการลดระดับน้ำตาลในเลือด (Li *et al.*, 2023; Liu *et al.*, 2022) กาวไหมยังมีความสามารถในการรองรับการยึดเกาะของเซลล์ โดยแผ่นฟิล์มที่ผลิตจากกาวไหมสามารถนำไปใช้ในการเพาะเลี้ยงเซลล์ไฟโบรบลาสต์ของหนู (L929) ซึ่งผลการทดลองพบว่า เซลล์สามารถยึดเกาะและเพิ่มจำนวนได้ดีเทียบเท่ากับ Styrene culture plate ที่ใช้กันโดยทั่วไป (Pornanong Aramwit *et al.*, 2010)

จากการศึกษาพบว่ากาวไหมสามารถช่วยป้องกันเซลล์ผิวหนังจากการเกิดการตายของเซลล์อย่างเป็นระบบ (Programmed cell death หรือ Apoptosis) ที่เหนี่ยวนำด้วยรังสี UV ได้ เมื่อเซลล์ได้รับรังสี UV ทำให้เอนไซม์ Caspase-3 ถูกกระตุ้นและทำให้เกิดการสลายตัวของโปรตีนที่จำเป็นสำหรับการอยู่รอดของเซลล์ กาวไหมสามารถยับยั้งการกระตุ้น Caspase-3 และป้องกันเซลล์จากการตายได้ ทำให้กาวไหมมีศักยภาพในการป้องกันผิวจากรังสี UV (Dash *et al.*, 2008) นอกจากนี้กาวไหมยังช่วยกระตุ้นการแบ่งตัวของเซลล์และช่วยส่งเสริมกระบวนการ Cell differentiation อีกด้วย โดยมีงานวิจัยที่ชี้ให้เห็นว่ากาวไหมสามารถกระตุ้น Primary human retinal pigment epithelial cells (hRPEs) ให้เกิดการ Differentiate และเจริญเติบโตได้อย่างรวดเร็ว โดยอาศัย NF- $\kappa$ B pathway และพบว่าใน hRPEs มีการสังเคราะห์ยีนที่เกี่ยวข้องกับวงจรการมองเห็น (Visual cycle) เช่น RPE65, RDH10 และ CRALBP เพิ่มขึ้นอย่างมีนัยสำคัญ (Liu *et al.*, 2022) ส่วนทางด้านวิศวกรรมเนื้อเยื่อกระดูก (Bone tissue engineering) กำลังมีการศึกษาค้นคว้าเพื่อนำกาวไหมมาประยุกต์ใช้ในงานปลูกถ่ายกระดูกเพราะกาวไหมมีคุณสมบัติที่น่าสนใจหลายประการ ได้แก่ เข้ากันได้กับร่างกาย ชอบน้ำ (Hydrophilic) และมีราคาไม่แพง ทำให้เป็นตัวเลือกที่ดีในการ

เสริมประสิทธิภาพของวัสดุปลูกถ่ายกระดูกแบบเดิม นอกจากนี้ฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระ ด้านการอักเสบ (Anti-inflammatory) และป้องกันรังสี UV ของกาวไหมยังส่งเสริมสภาพแวดล้อมที่เหมาะสมต่อการฟื้นฟูของกระดูก อีกทั้งการนำกาวไหมไปผสมผสานกับเทคโนโลยีการพิมพ์สามมิติ (3D-printing) อาจจะช่วยสร้างวัสดุปลูกถ่ายกระดูกแบบเฉพาะบุคคลได้อีกด้วย (Kim *et al.*, 2023) จะเห็นได้ว่ากาวไหมเหมาะสำหรับการนำไปประยุกต์ใช้ในด้านวิศวกรรมเนื้อเยื่อ โดยวัสดุชีวภาพที่ผลิตจากกาวไหมมีการศึกษาและนำไปใช้กันอย่างแพร่หลายในด้านต่างๆ เช่น วิศวกรรมเนื้อเยื่อไขมัน (Adipose tissue engineering) การฟื้นฟูประสาทที่ได้รับบาดเจ็บ (Nerve injury repair) การรักษาแผลบนผิวหนัง (Skin injury repair) และการรักษาแผลที่กระจกตา (Corneal epithelial repair) เป็นต้น (Li *et al.*, 2023; Liu *et al.*, 2022)

## 3. ฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระ

มีงานวิจัยที่ศึกษาฤทธิ์ในการต้านอนุมูลอิสระของกาวไหมในหลอดทดลอง (*in vitro*) เป็นครั้งแรกในปี ค.ศ. 1998 พบว่า กาวไหมสามารถยับยั้งการเกิด Lipid peroxidation ในเนื้อเยื่อสมองของสัตว์ทดลองซึ่งเกิดจากการที่มีกรดไขมันไม่อิ่มตัวหลายตำแหน่ง (Polyunsaturated fatty acids) ซึ่งมีความไม่คงตัวสูงและสามารถสลายไปเป็น Malondialdehyde ซึ่งถ้ามีอยู่ในเซลล์ในปริมาณมาก จะนำไปสู่การเกิดโรคหัวใจและหลอดเลือด ความดันโลหิตสูง เบาหวาน และไขมันในเลือดสูง (Hyperlipidemia) นอกจากนั้นกาวไหมยังมีประสิทธิภาพในการยับยั้งเอนไซม์ไทโรซิเนส (Tyrosinase) ซึ่งเป็นเอนไซม์ที่สำคัญในปฏิกิริยาการเกิดเป็นสีน้ำตาลของอาหารต่างๆ (Browning reactions) และการสังเคราะห์เมลานิน รวมถึงมีบทบาทในการเกิดโรคกระด้างและโรคระบบประสาทเสื่อม (Kato *et al.*, 1998)

ในรังไหมของหนอนไหมบ้าน *Bombyx mori* ประกอบด้วยสารประกอบฟีนอลิก ฟลาโวนอยด์และรงควัตถุหลายชนิด รวมถึงแคโรทีนอยด์สะสมอยู่ในชั้นของกาวไหม สารเหล่านี้มีคุณสมบัติทางชีวภาพที่สำคัญคือเป็นสารต้านอนุมูลอิสระและสามารถยับยั้งเอนไซม์ไทโรซิเนส จากการวิจัยพบว่า กาวไหมที่สกัดจากรังไหมที่มีสี มีฤทธิ์ยับยั้งเอนไซม์ไทโรซิเนส ได้ดีกว่ากาวไหมที่สกัดได้จากรังไหมที่ผ่านกระบวนการกำจัดรงควัตถุด้วยเอทานอลแต่ก็ยังคงมีศักยภาพในการยับยั้งเอนไซม์นี้แสดงให้เห็นว่ากาวไหมเองก็มีฤทธิ์ยับยั้งเอนไซม์ไทโรซิเนสได้อย่างมีนัยสำคัญ นอกจากนี้สายพันธุ์ของหนอนไหม และวิธีการลอกกาวไหมจะส่งผลต่อคุณสมบัติทางกายภาพและเคมีรวมทั้งฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระด้วยเช่นกัน (P. Aramwit *et al.*,

2010; Kurioka & Yamazaki, 2002) การลอกกาวยไหมโดยใช้สารละลายยูเรียจะได้เปปไทด์ที่มีน้ำหนักโมเลกุลตั้งแต่ 10 ถึง 225 kDa และมีฤทธิ์ยับยั้งเอนไซม์ไทโรซิเนสได้ดีที่สุดเมื่อเทียบกับเปปไทด์ที่ได้จากการลอกกาวยไหมด้วยสารละลายต่าง การลอกกาวยด้วยยูเรีนนั้นจะพบเปปไทด์สายสั้นๆที่มีกรดแอมิโนอาร์จินีนและวาซีนเป็นองค์ประกอบในปริมาณสูงซึ่งเปปไทด์กลุ่มนี้ที่มีฤทธิ์ในการจับกับเอนไซม์ไทโรซิเนส และมีฤทธิ์ในการยับยั้งที่ดีที่สุดในกลุ่มเปปไทด์ขนาดเล็ก และจากการศึกษาวิจัยไหมของหนอน *B. mori* 20 สายพันธุ์ แสดงให้เห็นว่าแหล่งที่มาของกาวยไหมมีผลต่อคุณสมบัติต้านอนุมูลอิสระ ฤทธิ์ยับยั้งเอนไซม์ไทโรซิเนส ฤทธิ์ยับยั้งเอนไซม์อีลาสเทส และการกำจัดอนุมูลอิสระอีกด้วย (Chlapanidas *et al.*, 2013; Kunz *et al.*, 2016)

มีงานวิจัยที่แสดงให้เห็นผลของวิธีการสกัดต่อศักยภาพต้านอนุมูลอิสระของสารสกัดกาวยไหมที่ได้มาจากรังไหมของหนอนไหม 3 สายพันธุ์คือ *B. mori*, *Antheraea assamensis* และ *Philosamia ricini* จากผลการทดลองพบว่าวิธีการสกัดที่ใช้คือ ใช้ความร้อน Autoclave สารละลายกรด สารละลายต่าง และสารละลายยูเรีย นั้นส่งผลต่อน้ำหนักโมเลกุลและโครงสร้างทุติยภูมิของเปปไทด์ที่ได้ นอกจากนั้น ปริมาณของสารประกอบฟีนอลิกและฟลาโวนอยด์ ยังแตกต่างกันไปตามวิธีการสกัดด้วย และพบว่าสารสกัดด้วยสารละลายกรดจะได้ปริมาณฟลาโวนอยด์มากที่สุด ส่วนการสกัดด้วยสารละลายต่างต่างจะได้เปปไทด์ที่มีน้ำหนักโมเลกุลต่ำ มีโครงสร้างทุติยภูมิแบบ Random coil และ  $\alpha$ -helix เป็นหลัก และละลายได้ดีในเมทานอล รวมถึงมีฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระที่ดีที่สุดโดยแสดงความสามารถในการกำจัดอนุมูล DPPH ได้อย่างมีประสิทธิภาพ รวมถึงกำจัด Reactive Oxygen Species และยับยั้งการเกิด Lipid peroxidation ภายใน เซลล์ไฟโบรบลาสต์ของหนู L-929 ได้ดีที่สุด (Kumar & Mandal, 2017)

กาวยไหมยังมีฤทธิ์ในการปกป้องเซลล์ตับและกระเพาะอาหารจากการเกิด Oxidative damage ที่เกิดจากการเหนียว น้ำด้วยแอลกอฮอล์ในหลอดทดลอง โดยคณะผู้วิจัยพบว่าหนูที่ได้รับโปรตีนกาวยไหมสามารถขับแอลกอฮอล์ออกทางปัสสาวะได้มากกว่าหนูในกลุ่มควบคุม ส่งผลให้ความเข้มข้นของแอลกอฮอล์ในเลือดลดลง อีกทั้งยังช่วยกระตุ้นให้เอนไซม์ที่ทำหน้าที่ในการต้านอนุมูลอิสระภายในเซลล์เช่น เอนไซม์ Superoxide dismutase (SOD) เอนไซม์ Catalase (CAT) และเอนไซม์ Glutathione peroxidase (GPx) ให้ทำหน้าที่ได้ดียิ่งขึ้น แสดงให้เห็นถึงบทบาทในการปกป้องเซลล์ตับจากภาวะ Lipid peroxidation และยับยั้งการสร้างอนุมูลอิสระ นอกจากนี้กาวยไหมยังช่วยฟื้นฟูสภาวะของเซลล์และรักษา

ความสมบูรณ์ของไมโทคอนเดรียในเซลล์เยื่อบุกระเพาะอาหาร ซึ่งมีความสัมพันธ์กับฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระของกาวยไหมเช่นกัน (Jena *et al.*, 2018; Li *et al.*, 2008) นอกจากนี้ยังมีการศึกษาเพื่อประเมินประสิทธิภาพในการปกป้องผิวของสารสกัดกาวยไหม จากไหมไทยพื้นบ้าน *B. mori* สามสายพันธุ์โดยใช้ เซลล์มะเร็งผิวหนังชนิด Human epidermoid carcinoma (A431) และแบบจำลองเนื้อเยื่อผิวหนังชั้นนอกของมนุษย์ (Reconstructed human epidermis; RhE) โดยใช้ยา Chlorpromazine (CPZ) เหนี่ยวนำให้เซลล์เกิดภาวะ Phototoxicity ผลการศึกษาพบว่า สารสกัดกาวยไหมช่วยเพิ่มความแข็งแรงของเซลล์ A431 ได้อย่างมีประสิทธิภาพหลังจากการสัมผัสกับยา CPZ และการฉายรังสี UVA โดยมีค่า  $IC_{50}$  ของยา CPZ และรังสี UVA ที่เพิ่มขึ้นอย่างมีนัยสำคัญรวมถึงมีสัดส่วนของเซลล์ที่ตาย (Apoptotic cells) ที่ลดลง ซึ่งกลไกการปกป้องนี้เกี่ยวข้องกับกลไกระดับของความเครียดออกซิเดชัน (Oxidative stress) ภายในเซลล์ผ่านกระบวนการเพิ่มระดับกลูตาไธโอน (Glutathione) นอกจากนี้ สารสกัดกาวยไหมยังแสดงฤทธิ์ในการปกป้องผิวหนังจำลอง (RhE) จากอาการแพ้แสงที่เกิดจากยา CPZ ร่วมกับรังสี UVA โดยสังเกตจากการคงอยู่ของเซลล์ผิวหนังชั้นนอกและการลดลงของสารไซโตไคน์ interleukin-1 $\alpha$  ซึ่งเป็นสารที่กระตุ้นการอักเสบ ผลการวิจัยนี้ชี้ให้เห็นถึงศักยภาพของสารสกัดกาวยไหมในการนำไปใช้ประโยชน์ใหม่ๆ โดยเฉพาะอย่างยิ่งในด้านการปกป้องผิวจากอาการแพ้แสงที่เกิดจากการใช้ยา (Rosena *et al.*, 2018)

การแช่แข็งเพื่อเก็บรักษา (Cryopreservation) เป็นเทคโนโลยีสำคัญสำหรับการเพาะเลี้ยงเซลล์และเนื้อเยื่อต่างๆ รวมถึงสามารถนำไปใช้ประโยชน์ได้อย่างหลากหลาย อย่างไรก็ตามการแช่แข็งที่อุณหภูมิต่ำมากนั้นก่อให้เกิดความเครียดออกซิเดชันอย่างรุนแรงต่อเซลล์ เนื้อเยื่อ และอวัยวะ ส่งผลให้อัตราการรอดชีวิตนั้นลดลงและส่งผลกระทบต่อการทำหน้าที่ทางชีวภาพ จากการวิจัยพบว่า กาวยไหมมีฤทธิ์ในการปกป้องเซลล์จากความเครียดออกซิเดชันที่เกิดจากอุณหภูมิต่ำๆได้ อีกทั้งยังมีคุณสมบัติต้านอนุมูลอิสระ จึงได้มีการศึกษาเพื่อพัฒนาสารป้องกันเซลล์จากการแช่แข็ง (Cryoprotectants) ที่มีส่วนผสมของกาวยไหมขึ้นมาเพื่อใช้ปกป้องเซลล์ของสัตว์เลี้ยงลูกด้วยนม น้ำเชื้อกระบือ และสเปิร์มของมนุษย์ในการแช่แข็งเพื่อเก็บรักษา โดยการเติมสารสกัดกาวยไหม (0.25%–0.5%) ซึ่งส่งผลให้ระดับของ Malondialdehyde ในน้ำเชื้อลดลง พร้อมทั้งช่วยเพิ่มกิจกรรมของเอนไซม์ GPx และ SOD ทำให้เยื่อหุ้มเซลล์สเปิร์มมีความสมบูรณ์แข็งแรงมากขึ้นและทำให้อัตราการรอดชีวิตของสเปิร์มในการแช่แข็งเพื่อเก็บรักษาสูงขึ้น (Aghaz *et al.*, 2020; Cao & Zhang, 2017; Liu *et al.*, 2022)

ในร่างกายของสิ่งมีชีวิตถึงแม้จะมีการสร้าง ROS ขึ้นมาตลอดเวลาจากกระบวนการเมแทบอลิซึม แต่ ROS จะส่งผลเสียกับร่างกายเมื่อสะสมอยู่ในปริมาณที่มากเกินไป ซึ่ง ROS เหล่านี้มีอนุมูลอิสระที่ทำปฏิกิริยากับสารอื่นๆได้เนื่องจากความไม่เสถียรที่จะส่งผลเสียต่อเซลล์และนำไปสู่การเกิดโรคต่างๆ ในอุตสาหกรรมอาหาร (Food industry) มักนิยมใช้สารต้านอนุมูลอิสระสังเคราะห์ เช่น BHT (Butylated hydroxytoluene) และ BHA (Butylated hydroxyanisole) เพราะมีประสิทธิภาพสูงกว่าสารต้านอนุมูลอิสระจากธรรมชาติและมีราคาถูกกว่า อย่างไรก็ตามสารสังเคราะห์เหล่านี้ก็มักสร้างความกังวลด้านความปลอดภัยต่อสุขภาพ ดังนั้นสารต้านอนุมูลอิสระจากธรรมชาติจึงเป็นที่ต้องการมากกว่าสารต้านอนุมูลอิสระสังเคราะห์ ในปัจจุบันมีการนำโปรตีนกาวไหมมาประยุกต์ใช้เป็นสารต้านอนุมูลอิสระในอุตสาหกรรมอาหารเนื่องจากมีกรดแอมิโนที่มีหมู่ฟังก์ชันต่างๆที่ทำให้อนุมูลอิสระเปลี่ยนเป็นโมเลกุลที่เสถียรและช่วยยับยั้งปฏิกิริยาออกซิเดชันของอนุมูลอิสระ เช่น ไทโรซีน ทรีโตนิน ฮิสทีดีนและซิสเทอีน นอกจากนี้ในกาวไหมยังมีสารฟีนอลิกและฟลาโวนอยด์ที่มีศักยภาพในการต้านอนุมูลอิสระอีกด้วย ด้วยเหตุนี้การนำกาวไหมไปใช้ประโยชน์ในอุตสาหกรรมอาหารจะส่งผลดีต่อคุณภาพและอายุการเก็บรักษาของอาหารได้เป็นอย่างดี (Fan *et al.*, 2009; Seo *et al.*, 2023)

มีผลการวิจัยมากมายที่แสดงให้เห็นว่าคุณสมบัติต้านอนุมูลอิสระของกาวไหมน่าจะมาจากสององค์ประกอบหลักได้แก่ปริมาณของกรดแอมิโนเซอรีนและทรีโอนีนที่สูงซึ่งกรดแอมิโนทั้งสองชนิดนี้มีหมู่ไฮดรอกซิลซึ่งทำหน้าที่จับ (Chelation) กับแร่ธาตุต่างๆ เช่น ทองแดงและเหล็ก แร่ธาตุเหล่านี้สามารถเร่งปฏิกิริยาการเกิดออกซิเดชันในร่างกายซึ่งเป็นสาเหตุของการสร้างอนุมูลอิสระขึ้นภายในเซลล์ แต่กาวไหมสามารถช่วยในการยับยั้งกระบวนการนี้ได้ นอกจากนี้ปริมาณของสารประกอบฟีนอลิกและ ฟลาโวนอยด์ที่พบในชั้นของกาวไหมก็มีส่วนสำคัญในการต้านอนุมูลอิสระเช่นกัน ทำให้กาวไหมมีคุณสมบัติเด่นในการต้านอนุมูลอิสระ เนื่องจากองค์ประกอบทางเคมีที่หลากหลายและเป็นสารที่ปลอดภัย เหมาะสมสำหรับใช้เป็นส่วนผสมในอุตสาหกรรมอาหารและเวชสำอาง (Devi *et al.*, 2011; Jena *et al.*, 2018; Kunz *et al.*, 2016; Liu *et al.*, 2022)

## บทสรุป

เซอรีนหรือกาวไหมเป็นโปรตีนที่พบในธรรมชาติพบได้ในรังไหมและดอมไหม มีคุณสมบัติที่ไม่เป็นพิษต่อเซลล์ร่างกาย และสามารถย่อยสลายได้เองตามธรรมชาติ แต่ในอุตสาหกรรมสิ่งทอ กาวไหมส่วนใหญ่กลับถูกทิ้งให้สูญเปล่าไป

กับของเสียในอุตสาหกรรม ทำให้ไม่ได้ถูกนำมาใช้ประโยชน์อย่างเต็มที่ จากการศึกษาพบว่ากาวไหม มีคุณสมบัติทางชีวภาพที่น่าสนใจ เช่นสามารถยับยั้งการทำงานของเอนไซม์ไทโรซิเนส ทำให้ลดการสร้างเม็ดสี มีประโยชน์ในผลิตภัณฑ์ดูแลผิว และเวชสำอาง มีฤทธิ์ยับยั้งการแข็งตัวของเลือด มีฤทธิ์ต้านการเจริญของเซลล์มะเร็ง และฤทธิ์ในการฆ่าเชื้อแบคทีเรีย หรือช่วยป้องกันรังสี UV เป็นต้น นอกจากนี้ กาวไหมยังช่วยส่งเสริมการเจริญเติบโตและการแบ่งตัวของเซลล์ชนิดต่างๆ ที่เลี้ยงในอาหารเลี้ยงที่ไม่มีซีรัม จะเห็นได้ว่าการนำกาวไหมมาใช้ประโยชน์นั้นมีข้อได้เปรียบกว่าการใช้วัสดุธรรมชาติชนิดอื่นๆ เพราะนำมาใช้ได้ง่าย สะดวก สามารถนำไปผสมกับพอลิเมอร์ธรรมชาติหรือพอลิเมอร์สังเคราะห์ชนิดอื่นได้ ข้อดีนี้เมื่อรวมกับศักยภาพทางด้านต่างๆที่กล่าวมาและคุณสมบัติทางชีวภาพที่หลากหลายเหล่านี้ รวมถึงการที่สามารถสกัดกาวไหมจากของเสียที่ไม่ได้ใช้ประโยชน์ในอุตสาหกรรมสิ่งทอจึงมีราคาที่ไม่สูง ทำให้กาวไหมจัดเป็นโปรตีนจากธรรมชาติที่มีศักยภาพสำหรับการนำไปใช้ในทางเภสัชกรรม การแพทย์ชีวภาพ เวชสำอาง อุตสาหกรรมอาหาร และเทคโนโลยีชีวภาพอีกด้วย

## เอกสารอ้างอิง

- Aghaz, F., Khazaei, M., Vaisi-Raygani, A., & Bakhtiyari, M. (2020). Cryoprotective effect of sericin supplementation in freezing and thawing media on the outcome of cryopreservation in human sperm. *The Aging Male*, 23(5), 469-476. <https://doi.org/10.1080/13685538.2018.1529156>
- Ahsan, F., Ansari, T. M., Usmani, S., & Bagga, P. (2018). An insight on silk protein sericin: From processing to biomedical application. *Drug Res (Stuttg)*, 68(6), 317-327. <https://doi.org/10.1055/s-0043-121464>
- Aramwit, P., Damrongsakkul, S., Kanokpanont, S., & Srichana, T. (2010). Properties and antityrosinase activity of sericin from various extraction methods. *Biotechnol Appl Biochem*, 55(2), 91-98. <https://doi.org/10.1042/ba20090186>
- Aramwit, P., Kanokpanont, S., Nakpheng, T., & Srichana, T. (2010). The effect of sericin from various extraction methods on cell viability and collagen production. *Int J Mol Sci*, 11(5), 2200-2211. <https://www.mdpi.com/1422-0067/11/5/2200>

- Aramwit, P., Keongamaroon, O., Siritientong, T., Bang, N., & Supasyndh, O. (2012). Sericin cream reduces pruritus in hemodialysis patients: a randomized, double-blind, placebo-controlled experimental study. *BMC Nephrol*, 13, 119. <https://doi.org/10.1186/1471-2369-13-119>
- Babu, K. M. (2012). *Silk production and the future of natural silk manufacture*. In (Vol. 2, pp. 3-29). <https://doi.org/10.1533/9780857095510.1.3>
- Baptista-Silva, S., Bernardes, B. G., Borges, S., Rodrigues, I., Fernandes, R., Gomes-Guerreiro, S., . . . Oliveira, A. L. (2022). Exploring silk sericin for diabetic wounds: An in situ-forming hydrogel to protect against oxidative stress and improve tissue healing and regeneration. *Biomolecules*, 12(6). <https://doi.org/10.3390/biom12060801>
- Barajas Gamboa, J., Guerra, A., Restrepo Osorio, A., & Álvarez, C. (2016). *Sericin applications: A globular silk protein*. 18, 193-206.
- Bedge, P., & Dixit- Potadar, S. (2022). *A Review on The Silk Protein Sericin in Silkworms (Bombyx mori)*.
- Cao, T.-T., & Zhang, Y.-Q. (2017). The potential of silk sericin protein as a serum substitute or an additive in cell culture and cryopreservation. *Amino Acids*, 49(6), 1029-1039. <https://doi.org/10.1007/s00726-017-2396-3>
- Cao, T. T., & Zhang, Y. Q. (2016). Processing and characterization of silk sericin from *Bombyx mori* and its application in biomaterials and biomedicines. *Mater Sci Eng C Mater Biol Appl*, 61, 940-952. <https://doi.org/10.1016/j.msec.2015.12.082>
- Chlapanidas, T., Faragò, S., Luccioni, G., Perteghella, S., Galuzzi, M., Mantelli, M., . . . Faustini, M. (2013). Sericins exhibit ROS-scavenging, anti-tyrosinase, anti-elastase, and in vitro immunomodulatory activities. *Int J Biol Macromol*, 58, 47-56. <https://doi.org/10.1016/j.ijbiomac.2013.03.054>
- Choudhury, M., & Devi, D. (2016). Impact of high temperature and pressure on sericin scouring of muga silk cocoons. *Indian J Fibre Text Res*, 41, 93-96.
- Costa, F., Silva, R., & Boccaccini, A. R. (2018). 7 - Fibrous protein-based biomaterials (silk, keratin, elastin, and resilin proteins) for tissue regeneration and repair. In M. A. Barbosa & M. C. L. Martins (Eds.), *Peptides and Proteins as Biomaterials for Tissue Regeneration and Repair* (pp. 175-204). Woodhead Publishing. <https://doi.org/https://doi.org/10.1016/B978-0-08-100803-4.00007-3>
- Dash, R., Mandal, M., Ghosh, S. K., & Kundu, S. C. (2008). Silk sericin protein of tropical tasar silkworm inhibits UVB-induced apoptosis in human skin keratinocytes. *Mol Cell Biochem*, 311(1-2), 111-119. <https://doi.org/10.1007/s11010-008-9702-z>
- Devi, R., Deori, M., & Devi, D. (2011). Evaluation of antioxidant activities of silk protein sericin secreted by silkworm *Antheraea assamensis* (Lepidoptera: Saturniidae). *J. Pharm. Res.*, 4, 4688-4691.
- Fan, J. B., Wu, L. P., Chen, L. S., Mao, X. Y., & Ren, F.-Z. (2009). Antioxidant activities of silk sericin from silkworm *Bombyx Mori*. *J Food Biochem*, 33, 74-88. <https://doi.org/10.1111/j.1745-4514.2008.00204.x>
- Freddi, G., Mossotti, R., & Innocenti, R. (2003). Degumming of silk fabric with several proteases. *J Biotechnol*, 106(1), 101-112. <https://doi.org/https://doi.org/10.1016/j.jbiotec.2003.09.006>
- Gulrajani, M., Agarwal, R., & Chand, S. (2000). Degumming of silk with a fungal protease. *Indian J Fibre Text Res*, 25, 138-142.
- Gulrajani, M., Agarwal, R., Grover, A., & Suri, M. (2000). Degumming of silk with lipase and protease. *Indian J Fibre Text Res*, 25, 69-74.
- Jena, K., Pandey, J. P., Kumari, R., Sinha, A. K., Gupta, V. P., & Singh, G. P. (2018). Free radical scavenging potential of sericin obtained from various ecoraces of tasar cocoons and its cosmeceuticals implication. *Int J Biol Macromol*, 120(Pt A), 255-262. <https://doi.org/10.1016/j.ijbiomac.2018.08.090>
- Kato, N., Sato, S., Yamanaka, A., Yamada, H., Fuwa, N., & Nomura, M. (1998). Silk protein, sericin, inhibits lipid peroxidation and tyrosinase activity. *Biosci Biotechnol Biochem*, 62(1), 145-147. <https://doi.org/10.1271/bbb.62.145>

- Kaur, J., Rajkhowa, R., Tsuzuki, T., Millington, K., Zhang, J., & Wang, X. (2013). Photoprotection by silk cocoons. *Biomacromolecules*, 14(10), 3660-3667. <https://doi.org/10.1021/bm401023h>
- Keawkorn, W., Limpeanchob, N., Tiyaboonchai, W., Pongcharoen, S., & Sutheerawattananonda, M. (2013). The effect of dietary sericin on rats. *ScienceAsia*, 39, 252. <https://doi.org/10.2306/scienceasia1513-1874.2013.39.252>
- Khan, M. R., Tsukada, M., Gotoh, Y., Morikawa, H., Freddi, G., & Shiozaki, H. (2010). Physical properties and dyeability of silk fibers degummed with citric acid. *Bioresour Technol*, 101(21), 8439-8445. <https://doi.org/10.1016/j.biortech.2010.05.100>
- Kim, J., Kwon, M., & Kim, S. (2016). Biological Degumming of Silk Fabrics with Proteolytic Enzymes. *J Nat Fibers*, 13(6), 629-639. <https://doi.org/10.1080/15440478.2015.1093578>
- Kim, J. Y., Kim, S. G., & Garagiola, U. (2023). Relevant Properties and Potential Applications of Sericin in Bone Regeneration. *Curr Issues Mol Biol*, 45(8), 6728-6742. <https://doi.org/10.3390/cimb45080426>
- Kumar, J. P., & Mandal, B. B. (2017). Antioxidant potential of mulberry and non-mulberry silk sericin and its implications in biomedicine. *Free Radic Biol Med*, 108, 803-818. <https://doi.org/https://doi.org/10.1016/j.freeradbiomed.2017.05.002>
- Kunz, R. I., Brancalhão, R. M. C., Ribeiro, L. d. F. C., & Natali, M. R. M. (2016). Silkworm Sericin: Properties and Biomedical Applications. *Biomed Res Int*, 2016, 8175701. <https://doi.org/10.1155/2016/8175701>
- Kurioka, A., & Yamazaki, M. (2002). Purification and identification of flavonoids from the yellow green cocoon shell (Sasamayu) of the silkworm, Bombyx mori. *Biosci Biotechnol Biochem*, 66(6), 1396-1399. <https://doi.org/10.1271/bbb.66.1396>
- Lee, K. (2004). Silk Sericin Retards the Crystallization of Silk Fibroin. *Macromol Rapid Commun*, 25, 1792-1796. <https://doi.org/10.1002/marc.200400333>
- Li, Y., Wei, Y., Zhang, G., & Zhang, Y. (2023). Sericin from fibroin-deficient silkworms served as a promising resource for biomedicine. *Polymers (Basel)*, 15(13). <https://doi.org/10.3390/polym15132941>
- Li, Y. G., Ji, D. F., Lin, T. B., Zhong, S., Hu, G. Y., & Chen, S. (2008). Protective effect of sericin peptide against alcohol-induced gastric injury in mice. *Chin Med J (Engl)*, 121(20), 2083-2087.
- Liu, J., Shi, L., Deng, Y., Zou, M., Cai, B., Song, Y., . . . Wang, L. (2022). Silk sericin-based materials for biomedical applications. *Biomaterials*, 287, 121638. <https://doi.org/https://doi.org/10.1016/j.biomaterials.2022.121638>
- Mahmoodi, N. M., Mazaheri, F., & Rahimi, S. (2010). Degradation of sericin (degumming) of Persian silk by ultrasound and enzymes as a cleaner and environmentally friendly process. *J Clean Prod*, 18, 146-151. <https://doi.org/10.1016/j.jclepro.2009.10.003>
- Minoura, N., Aiba, S., Higuchi, M., Gotoh, Y., Tsukada, M., & Imai, Y. (1995). Attachment and growth of fibroblast cells on silk fibroin. *Biochem Biophys Res Commun*, 208(2), 511-516. <https://doi.org/10.1006/bbrc.1995.1368>
- Mondal, M. S. (2007). The silk proteins , sericin and fibroin in silkworm , Bombyx mori.
- More, S. V., Khandelwal, H. B., Joseph, M. A., & Laxman, R. S. (2013). Enzymatic Degumming of Silk with Microbial Proteases. *J Nat Fibers*, 10(2), 98-111. <https://doi.org/10.1080/15440478.2012.761114>
- Nakpathom, M., Somboon, B., & Narumol, N. (2009). Papain enzymatic degumming of thai Bombyx mori silk fibers. *Microsc Microanal Res*, 23, 142-146.
- Napavichayanun, S., Lutz, O., Fischnaller, M., Jakschitz, T., Bonn, G., & Aramwit, P. (2017). Identification and quantification and antioxidant activity of flavonoids in different strains of silk cocoon, Bombyx mori. *Arch Biochem Biophys*, 631, 58-65. <https://doi.org/https://doi.org/10.1016/j.abb.2017.08.010>
- Omar, A., Gao, Y., Wubulikasimu, A., Arken, A., Aisa, H. A., & Yili, A. (2021). Effects of trypsin-induced limited hydrolysis on the structural, functional, and bioactive properties of sericin [10.1039/D1RA03772B]. *RSC Advances*, 11(41), 25431-25440. <https://doi.org/10.1039/D1RA03772B>
- Padamwar, M., & Pawar, A. (2004). Silk sericin and its applications: A review. *J Sci Ind Res*, 63, 323-329.

- Padamwar, M. N., Pawar, A. P., Daithankar, A. V., & Mahadik, K. R. (2005). Silk sericin as a moisturizer: an in vivo study. *J Cosmet Dermatol*, 4(4), 250-257. <https://doi.org/10.1111/j.1473-2165.2005.00200.x>
- Rodbumrer, P., Arthan, D., Uyen, U., Yuvaniyama, J., Svasti, J., & Wongsangchantra, P. Y. (2012). Functional expression of a Bombyx mori cocoonase: potential application for silk degumming. *Acta Biochimica et Biophysica Sinica*, 44(12), 974-983. <https://doi.org/https://doi.org/10.1093/abbs/gms090>
- Rosena, A., Koobkokkrud, T., Eaknai, W., Bunwatcharaphansakun, P., Maniratanachote, R., & Aueviriyavit, S. (2018). Protective effect of Thai silk extracts on drug-induced phototoxicity in human epidermal A431 cells and a reconstructed human epidermis model. *J Photochem Photobiol B*, 188, 50-59. <https://doi.org/https://doi.org/10.1016/j.jphotobiol.2018.08.022>
- Seo, S. J., Das, G., Shin, H. S., & Patra, J. K. (2023). Silk Sericin Protein Materials: Characteristics and Applications in Food-Sector Industries. *Int J Mol Sci*, 24(5). <https://doi.org/10.3390/ijms24054951>
- Shitole, M., Dugam, S., Tade, R., & Nangare, S. (2020). Pharmaceutical applications of silk sericin. *Ann Pharm Fr*, 78(6), 469-486. <https://doi.org/10.1016/j.pharma.2020.06.005>
- Silva, A., Costa, E., Reis, S., Spencer, C., Calhelha, R., Miguel, S., . . . Coutinho, P. (2022). Silk Sericin: A Promising Sustainable Biomaterial for Biomedical and Pharmaceutical Applications. *Polymers*, 14, 4931. <https://doi.org/10.3390/polym14224931>
- Takasu, Y., Yamada, H., & Tsubouchi, K. (2002). Isolation of three main sericin components from the cocoon of the silkworm, Bombyx mori. *Biosci Biotechnol Biochem*, 66(12), 2715-2718. <https://doi.org/10.1271/bbb.66.2715>
- Terada, S., Nishimura, T., Sasaki, M., Yamada, H., & Miki, M. (2002). Sericin, a protein derived from silkworms, accelerates the proliferation of several mammalian cell lines including a hybridoma. *Cytotechnology*, 40(1-3), 3-12. <https://doi.org/10.1023/a:1023993400608>
- Unajak, S., Aroonluke, S., & Promboon, A. (2015). An active recombinant cocoonase from the silkworm Bombyx mori: bleaching, degumming and sericin degrading activities. *J Sci Food Agric*, 95(6), 1179-1189. <https://doi.org/10.1002/jsfa.6806>
- Wang, R., Wang, Y., Song, J., Tian, C., Jing, X., Zhao, P., & Xia, Q. (2023). A novel method for silkworm cocoons self-degumming and its effect on silk fibers. *J Adv Res*, 53, 87-98. <https://doi.org/https://doi.org/10.1016/j.jare.2022.12.005>
- Zhaorigetu, S., Sasaki, M., Watanabe, H., & Kato, N. (2001). Supplemental silk protein, sericin, suppresses colon tumorigenesis in 1,2-dimethylhydrazine-treated mice by reducing oxidative stress and cell proliferation. *Biosci Biotechnol Biochem*, 65(10), 2181-2186. <https://doi.org/10.1271/bbb.65.2181>

# ผลของ NAA และผงถ่านกัมมันต์ต่อการชักนำรากของเทียนสีรินทร์ (*Impatiens sirindhorniae* Triboun & Suksathan)

## Effects of NAA and activated charcoal on root induction of *Impatiens sirindhorniae* Triboun & Suksathan

ไชนียะ สะมาลา<sup>1</sup>, สุรรัตน์ เย็นช้อน<sup>2</sup>, และ สหณัฐ เพชรศรี<sup>3\*</sup>

Sainiya Samala<sup>1</sup>, Sureerat Yenchon<sup>2</sup> and Sahanat Petchsri<sup>3\*</sup>

Received: 10 November 2024 ; Revised: 2 December 2024 ; Accepted: 2 January 2025

### บทคัดย่อ

เทียนสีรินทร์ (*Impatiens sirindhorniae*) เป็นพันธุ์ไม้ดอกสวยงามและพืชเฉพาะถิ่นที่เจริญบริเวณภูเขาหินปูน พบได้ที่จังหวัดกระบี่ และสุราษฎร์ธานีเท่านั้น ปัจจุบันจัดอยู่ในสถานภาพมีแนวโน้มใกล้สูญพันธุ์ หากสามารถขยายพันธุ์ได้จำนวนมากจะช่วยในการอนุรักษ์พันธุกรรมได้ ดังนั้นการศึกษครั้งนี้จึงมีวัตถุประสงค์เพื่อศึกษาอิทธิพลของ NAA และผงถ่านกัมมันต์ต่อการชักนำรากในเทียนสีรินทร์สำหรับการผลิตต้นกล้าเพื่อย้ายปลูกอนุรักษ์ในถิ่นธรรมชาติ โดยนำเทียนสีรินทร์ที่ได้จากการเพาะเลี้ยงในสภาวะปลอดเชื้อ ความยาว 2 เซนติเมตร มาวางเลี้ยงบนอาหารเพาะเลี้ยงสูตร 1/3 MS ขวดละ 2 ต้น แบ่งเป็น 6 ตำรับการทดลอง ได้แก่ ตำรับการทดลองที่เติม NAA ความเข้มข้น 0, 0.5, 1.0, 1.5 และ 2.0 มิลลิกรัมต่อลิตร และ ตำรับการทดลองที่เติมผงถ่านกัมมันต์ 1 กรัมต่อลิตรลงในอาหาร โดยตำรับที่เติม NAA ความเข้มข้น 0 มิลลิกรัมต่อลิตรเป็นตำรับควบคุม หลังจากวางเลี้ยงครบ 4 สัปดาห์ สังเกตและบันทึกอัตราการเกิดราก จำนวนรากต่อต้น และลักษณะของราก โดยแต่ละตำรับการทดลองทำ 3 ซ้ำ ซ้ำละ 10 ขวด วางแผนการทดลองแบบ CRD เปรียบเทียบค่าเฉลี่ยโดยวิธี DMRT และวิเคราะห์ข้อมูลทางสถิติด้วยโปรแกรม R ผลการศึกษาพบว่าอาหารที่ไม่เติม NAA (ตำรับควบคุม) สามารถชักนำให้เกิดรากได้ดีที่สุด คือมีอัตราการเกิดราก (ร้อยละ 100) จำนวนรากเฉลี่ยต่อต้น (5.31 ราก) ความยาวรากเฉลี่ย (3.50 ซม.) และความกว้างรากเฉลี่ย (0.23 ซม.) สูงที่สุด รองลงมาคือ อาหารที่เติมผงถ่านกัมมันต์ (ตำรับการทดลองที่ 6) มีอัตราการเกิดราก (ร้อยละ 100) จำนวนรากเฉลี่ยต่อต้น (5.58 ราก) และความยาวราก (2.66 ซม.) ไม่แตกต่างกันทางสถิติกับอาหารในชุดควบคุม ดังนั้นจึงสรุปได้ว่า NAA มีผลยับยั้งการชักนำรากในเทียนสีรินทร์ และควรใช้อาหารสูตร 1/3 MS ที่ไม่เติมผงถ่านกัมมันต์ในการชักนำให้ยอดเทียนสีรินทร์เกิดราก

**คำสำคัญ:** การขยายพันธุ์พืชปลอดเชื้อโรค, พืชที่มีแนวโน้มใกล้สูญพันธุ์ในธรรมชาติ, อาหาร MS

### Abstract

*Impatiens sirindhorniae* are beautiful flowering plants and endemic plants that grow on limestone mountains. It was only found in Krabi province and Surat Thani province. Currently, its conservation status is classified as a vulnerable species. Micropropagation allows the production of plantlets for the preservation of genetic resources. The objective of this research was to investigate the influence of NAA and activated charcoal on micro-propagation of *I. sirindhorniae* for producing plantlets for transplanting and conservation in their natural habitat. Shoots developed explants obtained

<sup>1</sup> สาขาชีววิทยา คณะวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยี มหาวิทยาลัยราชภัฏสุราษฎร์ธานี จ.สุราษฎร์ธานี 84000

<sup>2</sup> สาขาวิชานวัตกรรมและการเกษตรและการจัดการ คณะทรัพยากรธรรมชาติ มหาวิทยาลัยสงขลานครินทร์ จ.สงขลา 90110

<sup>3</sup> ภาควิชาวิทยาศาสตร์และนวัตกรรมชีวภาพ คณะศิลปศาสตร์และวิทยาศาสตร์ มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์ จ.นครปฐม 73140

<sup>1</sup> Biology Program, Faculty of Science and Technology, Suratthani Rajabhat University, Surat Thani, 84000 Thailand

<sup>2</sup> Agricultural Innovation and Management Division, Faculty of Natural Resources, Prince of Songkhla University, Songkhla, 90110 Thailand

<sup>3</sup> Department of Science and Bioinnovation, Faculty of Liberal Arts and Science, Kasetsart University, 73140 Thailand

\* Corresponding author +668 1345 5990 e-mail: faassnps@ku.ac.th

from cultivation in sterile conditions, approximately 2.0 centimeters long and without root formation, were taken for root induction. Shoot explants were cultured on 1/3 strength of solidified MS medium, 2 shoots per bottle. The experiment was divided into 6 treatments, viz. 1/3 MS supplemented with various concentrations of NAA (0, 0.5, 1.0, 1.5, and 2.0 mg/L) and 1 g/L of activated charcoal. The treatment with only 1/3 MS is the control. After culturing for 4 weeks, the root induction rate, number of roots and root characteristics were recorded. Three replications, with ten bottles per replicate and two explants per bottle, were used for each treatment. CRD experiment in a completely randomized design was carried out. The root induction rate, root length and root width were highest in the control (100%, 3.50 cm, 0.23 cm). However, plantlets cultured on media supplemented with activated charcoal (treatment 6) had a root induction rate (100%), average number of roots per plant (5.58 roots), and root length (2.66 cm), not significantly different from the control. Therefore, it can be concluded that all concentrations of NAA had an inhibitory effect on root induction in *I. sirindhorniae*. While 1/3 MS supplemented with or without activated charcoal should be used on root induction in *I. sirindhorniae*.

**Keywords:** Pathogen-free plant propagation, vulnerable, MS medium

## บทนำ

เทียนสิรินธร (*Impatiens sirindhorniae* Triboun & Suksathan) เป็นพืชที่จัดอยู่ในสกุล *Impatiens* L. วงศ์ Balsaminaceae จัดเป็นพืชถิ่นเดียวของไทย (Suksathan & Triboun, 2009) พบกระจายอยู่ในพื้นที่แคบ ๆ ของระบบนิเวศเขาหินปูนบริเวณ อ.ปลายพระยา จ.กระบี่ และ ภูเขาหินปูนในอ่างเก็บน้ำเขื่อนรัชชประภา จ.สุราษฎร์ธานี โดยมีสถานภาพทางอนุรักษณ์เป็นพืชที่มีแนวโน้มใกล้สูญพันธุ์ในธรรมชาติ (Vulnerable: VU) (Pattarakulpisutti, 2021) กอปรกับเป็นพรรณไม้ที่มีดอกสวยงามจึงมีผู้นิยมเพาะปลูกเป็นไม้ประดับ ทำให้มีการลักลอบนำพันธุ์ไม่ออกจากพื้นที่ธรรมชาติอยู่เสมอก่อให้เกิดการรบกวนและทำลายถิ่นอาศัยจากกิจกรรมของมนุษย์ (Samala et al., 2022a)

ปัจจุบันการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อพืชในสภาวะปลอดเชื้อเป็นการขยายพันธุ์พืชที่มีประสิทธิภาพสูง รวดเร็ว และประหยัดต้นทุนมากกว่าวิธีการอื่น เหมาะแก่การขยายพันธุ์พืชป่า พืชที่เจริญช้า หรือ พรรณไม้หายาก ตลอดจนการเตรียมต้นกล้าเพื่อย้ายปลูกในแหล่งธรรมชาติสำหรับการอนุรักษ์ (De Mello et al., 2020) โดยพบว่ามีผู้นำเทคนิควิธีการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อมาขยายพันธุ์พืชสกุลเทียน (*Impatiens* L.) บ่อยครั้ง (Tharawoot, 2012; Rakkid et al., 2013; Mohamed et al., 2018; Kaviani et al., 2021; Luo et al., 2023) เนื่องจากเป็นพืชที่ติดฝักตามธรรมชาติได้น้อย ทำให้การขยายพันธุ์ด้วยการเพาะเมล็ดจึงไม่เพียงพอต่อการขยายพันธุ์เพื่อนำไปปลูกยังถิ่นธรรมชาติสำหรับการอนุรักษ์ในพื้นที่เดิมได้ ดังนั้นคณะผู้วิจัยเลือกใช้เทคนิควิธีเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อมาขยายพันธุ์เทียนสิรินธรเพื่อให้ได้ต้นพันธุ์เป็นจำนวนมาก อย่างไรก็ตามงาน

วิจัยที่ได้กล่าวถึงไว้ข้างต้นได้รายงานผลการชักนำรากโดยการใช้นaphthaleneacetic acid (NAA) ไว้บ้าง โดยครั้งนี้เป็นการศึกษาเพิ่มเติมจากงานวิจัยในครั้งก่อนที่เคยศึกษาไว้ (Samala et al., 2022a; Samala et al., 2022b) ซึ่งรายงานเกี่ยวกับการทำความสะอาดชิ้นส่วนพืชและการชักนำให้เกิดยอดโดยใช้ BA ร่วมกับ IBA หรือ NAA

แม้ว่าจะยังไม่พบรายงานการใช้ผงถ่านกัมมันต์ในการชักนำรากของพืชสกุลเทียน แต่การเติมผงถ่านกัมมันต์ลงในอาหารเพาะเลี้ยงสำหรับการชักนำรากนั้น มีวัตถุประสงค์เพื่อดูดซับสารชีวเคมีที่อาจมีผลยับยั้งการสร้างราก พร่างแสงในอาหาร และปรับสมดุลของสารควบคุมการเจริญเติบโตให้เหมาะสมต่อการเกิดรากอีกด้วย (Te-chato & Lim, 1999) ทำให้ผู้วิจัยสนใจที่จะศึกษาผลของการเติมผงถ่านกัมมันต์ลงในอาหารเพาะเลี้ยงต่อการชักนำรากเทียนสิรินธรในการวิจัยครั้งนี้ด้วย

ดังนั้นงานวิจัยชิ้นนี้จึงมุ่งหมายที่จะศึกษาผลของ NAA ความเข้มข้นต่าง ๆ และการเติมผงถ่าน กัมมันต์ลงในอาหารเพาะเลี้ยงต่อการชักนำราก เพื่อส่งเสริมการผลิตต้นกล้าของเทียนสิรินธรในสภาวะปลอดเชื้อสำหรับการย้ายปลูกโดยจะอนุบาลในเรือนเพาะชำก่อน จากนั้นจะนำไปทดลองย้ายปลูกบริเวณภูเขาหินปูนอันเป็นถิ่นอาศัยตามธรรมชาติของพรรณไม้ เพื่อเพิ่มจำนวนประชากรพืชในท้องถิ่นต่อไป

## วิธีดำเนินการวิจัย

จากการศึกษาเบื้องต้นเกี่ยวกับความเข้มข้นของอาหารเพาะเลี้ยงชิ้นส่วนเทียนสิรินธรก่อนหน้านี้ (Yenchon, personal communication, October 1, 2022) พบว่าอาหาร

กึ่งแข็งสูตร 1/3 MS (Murashige & Skoog, 1962) สามารถชักนำรากได้ดีที่สุด ดังนั้นในการวิจัยครั้งนี้จึงใช้อาหารสูตร 1/3 MS มาเป็นฐานการวิจัยต่อไป

โดยนำต้นเทียนสิรินธรที่ชักนำได้จากการเพาะเลี้ยงชิ้นส่วนข้อบนอาหารสูตร MS ที่เติม BA ความเข้มข้น 2 มิลลิกรัมต่อลิตร อายุ 4 สัปดาห์ มาตัดแยกเป็นยอดเดี่ยว ๆ และเลือกใช้ยอดที่มีความยาวเริ่มต้น 2 เซนติเมตร ทั้งนี้ แต่ละชุดการทดลองทำ 3 ซ้ำ ซ้ำละ 10 ขวด ขวดละ 2 ต้น โดยวางแผนการทดลองแบบสุ่มสมบูรณ์ (Completely randomize design : CRD) จากนั้นย้ายเลี้ยงบนอาหารกึ่งแข็งสูตร 1/3 MS ที่เติม NAA ความเข้มข้น 0, 0.5, 1.0, 1.5 และ 2.0 มิลลิกรัมต่อลิตร และเติมผงถ่านกัมมันต์ 1 กรัมต่อลิตร ปรับความเป็นกรด-ด่างเป็น 5.7 เติมน้ำตาลซูโครส 30 กรัมต่อลิตร และผงวุ้น 7.5 กรัมต่อลิตร แล้ววางเลี้ยงไว้ในตู้อุณหภูมิ 25±2 องศาเซลเซียส โดยให้แสงที่ความเข้มแสง 1,000 ลักซ์ นาน 14 ชั่วโมงต่อวัน เป็นระยะเวลา 4 สัปดาห์ จากนั้นบันทึกอัตราการเกิดราก จำนวนรากต่อต้น ความยาวและความกว้างของราก โดยนำต้นพืชออกจากขวดเพาะเลี้ยง ล้างวุ้นให้สะอาด และนำไปวางบนกระดาษกราฟเพื่อวัดความกว้างของราก จากนั้นใช้เส้นด้ายหาบตลอดความยาวรากเพื่อวัดขนาด แล้วนำเส้นด้ายมาเทียบบนกระดาษกราฟอีกครั้ง วิเคราะห์ข้อมูลทางสถิติด้วยโปรแกรม R (R Core Team, 2019) วิเคราะห์ความแปรปรวนของข้อมูลด้วย one way analyses of variance และเปรียบเทียบค่าเฉลี่ยโดยวิธี Duncan's New Multiple Range Test (DMRT) ที่ระดับความเชื่อมั่น ร้อยละ 99

## ผลการวิจัย

หลังจากนำยอดเทียนสิรินธรไปชักนำให้เกิดราก โดยวางเลี้ยงบนอาหารกึ่งแข็งสูตร 1/3 MS ที่เติม NAA ความเข้มข้นต่าง ๆ และอาหารกึ่งแข็งสูตร 1/3 MS ที่เติมผงถ่านกัมมันต์ เป็นเวลา 4 สัปดาห์ พบว่าอาหารสูตร 1/3 MS ที่เติม NAA 0.5, 1.0, 1.5 และ 2.0 มิลลิกรัมต่อลิตร มีอัตราการเกิดรากเท่ากับ ร้อยละ 22.22±14.70 – 62.51±18.30 (Table 1)

ในขณะที่อาหารสูตร 1/3 MS ที่เติม NAA 0.0 มิลลิกรัมต่อลิตรและอาหารสูตร 1/3 MS ที่เติมผงถ่านกัมมันต์ มีอัตราการเกิดรากอยู่ที่ ร้อยละ 100 ทั้ง 2 การทดลอง นอกจากนี้อาหารสูตร 1/3 MS ที่เติม NAA 0.5, 1.0, 1.5 และ 2.0 มิลลิกรัมต่อลิตร มีจำนวนรากเฉลี่ยต่อต้น ความยาว และความกว้างของราก น้อยกว่าอาหารสูตร 1/3 MS ที่เติม NAA 0.0 มิลลิกรัมต่อลิตร และอาหารสูตร 1/3 MS ที่เติมผงถ่านกัมมันต์ อย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ( $P \leq 0.01$ ) ดัง Table 1 และเมื่อพิจารณาเปรียบเทียบระหว่างอาหารสูตร 1/3 MS ที่เติม NAA 0.0 มิลลิกรัมต่อลิตร (ตัวรับควบคุม) และอาหารสูตร 1/3 MS ที่เติมผงถ่านกัมมันต์แล้ว พบว่าแม้ว่าทั้ง 2 ตัวรับการทดลองจะสามารถชักนำให้เกิดรากที่อัตราร้อยละ 100 แต่อาหารสูตร 1/3 MS ที่เติม NAA 0.0 มิลลิกรัมต่อลิตร มีแนวโน้มชักนำให้เกิดรากที่มีลักษณะดีกว่าอาหารสูตร 1/3 MS ที่เติมผงถ่านกัมมันต์ กล่าวคือรากที่ได้มีขนาดที่ใหญ่กว่า (ความกว้างราก 0.23±0.00 เซนติเมตร เปรียบเทียบกับ 0.15±0.00 เซนติเมตร ตามลำดับ) สำหรับจำนวนรากเฉลี่ยต่อต้นนั้นอาหารสูตรที่เติมผงถ่านกัมมันต์สามารถชักนำให้เกิดรากต่อต้นได้มากกว่าตัวรับควบคุม (5.58±0.65 เซนติเมตร เปรียบเทียบกับ 5.31±0.65 เซนติเมตร) แต่ไม่มีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ร้อยละ 99 ดังผลการทดลองใน Table 1

**Table 1** Effect of NAA and activated charcoal (AC) on root formation from single shoot explants of *Impatiens sirindhorniae* after 4 weeks of culture on 1/3 MS medium.

| Medium                   | Survival rate (%) | Rooting (%)               | No. of root (roots/explant) | Root length (cm)        | Root width (cm)        |
|--------------------------|-------------------|---------------------------|-----------------------------|-------------------------|------------------------|
| 1. 1/3 MS + 0.0 mg/L NAA | 100±0.00          | 100±0.00 <sup>a</sup>     | 5.31±0.65 <sup>a</sup>      | 3.50±0.13 <sup>a</sup>  | 0.23±0.00 <sup>a</sup> |
| 2. 1/3 MS + 0.5 mg/L NAA | 100±0.00          | 62.51±18.30 <sup>ab</sup> | 4.25±0.56 <sup>ab</sup>     | 0.64±0.10 <sup>b</sup>  | 0.10±0.00 <sup>b</sup> |
| 3. 1/3 MS + 1.0 mg/L NAA | 100±0.00          | 44.44±17.57 <sup>b</sup>  | 3.11±1.06 <sup>bc</sup>     | 0.38±0.13 <sup>bc</sup> | 0.03±0.02 <sup>c</sup> |
| 4. 1/3 MS + 1.5 mg/L NAA | 100±0.00          | 40.07±16.33 <sup>b</sup>  | 1.70±0.65 <sup>cd</sup>     | 0.25±0.08 <sup>c</sup>  | 0.05±0.00 <sup>c</sup> |
| 5. 1/3 MS + 2.0 mg/L NAA | 100±0.00          | 22.22±14.70 <sup>b</sup>  | 0.89±0.56 <sup>d</sup>      | 0.26±0.15 <sup>c</sup>  | 0.03±0.02 <sup>c</sup> |
| 6. 1/3 MS + 1 g/L AC     | 100±0.00          | 100±0.00 <sup>a</sup>     | 5.58±0.65 <sup>a</sup>      | 2.66±0.13 <sup>a</sup>  | 0.15±0.00 <sup>b</sup> |
| F-test                   | ns                | **                        | **                          | **                      | **                     |
| C.V. (%)                 | -                 | 50.65                     | 30.59                       | 16.19                   | 14.78                  |

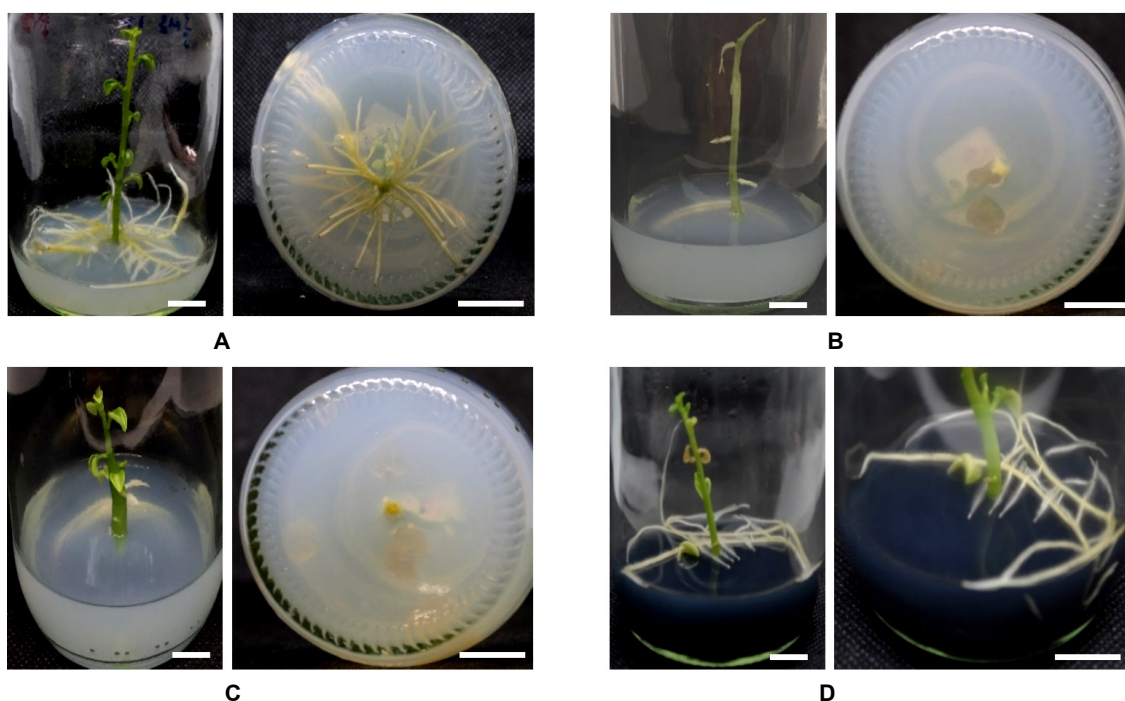
Remark Means ± standard deviation followed by different letters in the same column denote significant differences as determined by DMRT (ns = nonsignificant, \*\* = significant at  $P \leq 0.01$ ).

## วิจารณ์ผลการวิจัย

การศึกษาครั้งนี้ พบว่ายอดเทียนสิรินธรที่วางเลี้ยงบนอาหารกึ่งแข็งสูตร 1/3 MS ที่ปราศจากสารควบคุมการเจริญเติบโต (NAA 0.0 มิลลิกรัมต่อลิตร) สามารถชักนำให้เกิดรากได้ดีที่สุด (Table 1) ในเกือบทุกพารามิเตอร์ ได้แก่ อัตราการเกิดราก จำนวนรากเฉลี่ย รากเฉลี่ยสูงสุด ความยาวรากเฉลี่ยสูงสุด และความกว้างรากเฉลี่ยสูงสุด ซึ่งอาหารกึ่งแข็งสูตร 1/3 MS นั้นมีการลดความเข้มข้นของธาตุอาหารหลักลง 1 ใน 3 ส่วน แต่เทียนสิรินธรก็สามารถเจริญเติบโตและสร้างรากได้ดี ทั้งนี้ อาจเนื่องจากถิ่นอาศัยในสภาพธรรมชาติที่เป็นหินปูน ดินขาดแคลนธาตุอาหาร มีธาตุไนโตรเจน และ ฟอสฟอรัสต่ำ (Ziaratmai *et al.*, 2009) แต่เทียนสิรินธรก็ยังสามารถพัฒนารากได้ดี

ดังนั้นเมื่อเพาะเลี้ยงในสูตรอาหารที่ลดความเข้มข้นของธาตุอาหารลง ทำให้มีสภาวะใกล้เคียงกับสภาพธรรมชาติ สอดคล้องกับงานวิจัยในพืชอื่น เช่น การชักนำให้เกิดรากของยอดอ่อนเอื้องนางชี และตาข้างของไผ่เหลียงและไผ่หนามบนอาหารแข็งสูตร 1/2 MS นั้นสามารถเกิดรากได้ดีเช่นกัน (Senawong *et al.*, 2014; Desai *et al.*, 2019)

ในขณะที่อาหารที่เติม NAA นั้นพบว่าเมื่อความเข้มข้นของ NAA สูงขึ้นจะยิ่งส่งผลเชิงลบต่อการชักนำราก โดยอาหารที่ชักนำให้เกิดรากได้ดีที่สุด คือ อาหารที่เติม NAA ความเข้มข้น 0.5 มิลลิกรัมต่อลิตร ส่วนอาหารที่ชักนำรากได้น้อยที่สุด คือ อาหารที่เติม NAA ความเข้มข้น 2.0 มิลลิกรัมต่อลิตร (Table 1) ส่วนอาหารดำรับควบคุม และอาหารที่เติมผงถ่านกัมมันต์ซึ่งล้วนปราศจากสารควบคุมการเจริญเติบโต (NAA = 0.0 มิลลิกรัมต่อลิตร) กลับสามารถชักนำรากได้ดี ทั้งนี้ อาจ



**Figure 1** Root induction (formation and elongation, respectively) from explants of *Impatiens sirindhorniae* growing in 1/3 MS medium. A: 1/3 MS; B: 1/3 MS + 1.5 mg/L NAA; C: 1/3 MS + 2 mg/L NAA; D: 1/3 MS + 1 g/L AC. Scale bar = 1 cm.

เนื่องจากภายในยอดเทียนสิรินธรตามธรรมชาติมีปริมาณของออกซินที่เพียงพอต่อการชักนำรากได้ จึงไม่จำเป็นต้องรับปริมาณออกซินสังเคราะห์ผ่านอาหารเพาะเลี้ยง ทำให้เมื่อเพิ่มระดับความเข้มข้นของ NAA ในอาหารจึงมีผลในการยับยั้งการเกิดราก (Kongbonsook *et al.*, 2021)

ส่วนการเติมผงถ่านกัมมันต์ลงในอาหารเพาะเลี้ยงส่งผลให้มีแนวโน้มการชักนำรากดีกว่าตัวควบคุมเล็กน้อย คือ มีจำนวนรากเฉลี่ยต่อต้นสูงกว่าตัวควบคุมซึ่งไม่ได้เติมผงถ่านกัมมันต์ลงในอาหาร ( $5.58 \pm 0.65$  เปรียบเทียบกับ  $5.31 \pm 0.65$  รากต่อต้น ตามลำดับ) แต่รากที่ได้สั้นและเล็กกว่า โดยทั้ง 3 พารามิเตอร์นี้ (จำนวนรากเฉลี่ยต่อต้น ความยาว

ราก และ ความกว้างราก) ไม่มีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ (Table 1) แม้ว่าผงถ่านกัมมันต์ที่ใส่ในอาหารเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อจะเกิดประโยชน์หลายอย่าง อาทิ สร้างสภาพมืด ทำให้อาหารอยู่ในสภาพที่เหมาะสมต่อการเกิดรากเหมือนในดิน หรือดูดซับสารประกอบฟีนอลิก ลดอัตราการเกิดสีน้ำตาลของชิ้นส่วนพืช รวมถึงสารควบคุมการเจริญเติบโต หรือสารอินทรีย์ในอาหารเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อ (Thomas, 2008) นอกจากนี้ผงถ่านที่เติมลงไปให้อาหารมีส่วนช่วยในการควบคุมการลดลงของ pH อาหารในระหว่างการเพาะเลี้ยงให้อยู่ในระดับที่เหมาะสมต่อการพัฒนาของชิ้นส่วนพืช (Owen *et al.*, 1991) อย่างไรก็ตาม ผงถ่านกัมมันต์ที่ใส่ในอาหารเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อพืช นั้น อาจจะส่งเสริมหรือยับยั้งการเจริญเติบโตของชิ้นส่วนพืชได้ ขึ้นอยู่กับชนิดและเนื้อเยื่อที่ใช้ (Promchan *et al.*, 2016)

### สรุปผลการวิจัย

1. สารควบคุมการเจริญเติบโต (NAA) ความเข้มข้นสูงมีผลยับยั้งการเกิดรากของยอดเทียนสรีนธร
2. ไม่พบความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญในส่งเสริมให้เกิดรากของยอดเทียนสรีนธรระหว่างดำรับควบคุมและการเติมผงถ่านกัมมันต์
3. สูตรอาหารที่เหมาะสมในการชักนำรากของยอดเทียนสรีนธรคือ อาหารสูตร 1/3 MS ที่ไม่เติมผงถ่านกัมมันต์ และสารควบคุมการเจริญเติบโต (NAA)

### กิตติกรรมประกาศ

ขอขอบคุณ การไฟฟ้าฝ่ายผลิตแห่งประเทศไทย (เขื่อนรัชชประภา) ที่สนับสนุนงบประมาณในการวิจัยครั้งนี้ ขอขอบคุณผู้อำนวยการเขื่อนรัชชประภา และผู้บริหารทุกท่านที่อำนวยความสะดวกในการทำวิจัยครั้งนี้ในทุกมิติ ขอขอบคุณ ดร.ครรชิต งามแสนโรจน์และนายกิจจา ศรีทองกุล ที่ให้ความกรุณาเป็นที่ปรึกษางานวิจัย ขอขอบคุณ ดร.ปิยรัชฎ์ ปริญญาพงษ์ เจริญทรัพย์ ที่ประสานการดำเนินงาน อพ.สธ. และให้ความกรุณาเป็นที่ปรึกษา ขอขอบคุณ นายวิโรจน์ ไรจน์จินดา นายเอวลักษณะ สุวรรณคง ดร.กิตติมา คงทน ว่าที่ร้อยตรี สุทธิรักษ์ หนองแก้ว นายณพรัตน์ สุลีทัศน์ นายสุเทพ เทพสุริวงศ์ นายปราโมทย์ บัวแก้ว นายวิชัย เพ็งจันทร์ และนายอำนวยการที่ให้ความร่วมมืออย่างดีในการวิจัยครั้งนี้

### เอกสารอ้างอิง

- De Mello, T., De Oliveira, G. E., Alexandre, S. R., Schmildt, R. E., & Otoni, C. W. (2020). Establishment and in vitro morphogenesis of *Sapucaya* explants (Lecythidaceae). *In Vitro Cellular & Developmental Biology - Plant*, 56(6), 882–893. <https://doi.org/10.1007/s11627-020-10087-w>
- Desai, P., Desai, S., Patel, A., Mankad, M., Gajera, B., Patil, G., & Narayanan, S. (2019). Development of efficient micropropagation protocol through axillary shoot proliferation for *Bambusa vulgaris* 'Wamin' and *Bambusa bambos* and assessment of clonal fidelity of the micropropagated plants through random amplified polymorphic DNA markers. *Agriculture and Natural Resources*, 53(1), 26–32. <https://doi.org/10.34044/j.anres.2019.53.1.04>
- Kaviani, B., Almasi, A., Sedaghatthoor, S., & Khoddamzadeh, A. A. (2021). A protocol for fast in vitro propagation of *Impatiens hawkeri* cv. Sweeties Blue Star, an important ornamental-cover species. *Rodriguésia*, 72, e02562019. <https://doi.org/10.1590/2175-7860202172023>
- Kongbonsook, P., Jarutsumrid, N., Saridnum, O., & Thanarut, C. (2021). Plant growth regulators on *Melientha suavis* Pierre propagations. *Naresuan Agricultural Journal*, 18(2), e0180201. <https://doi.org/10.14456/naj.2021.13>
- Luo, L., Li, Y., Huang, X., Zhang, X., Tan, Y., Liu, Z., Huang, H., & Huang, M. (2023). Establishment of a highly efficient in vitro plant regeneration system for *Impatiens hawkeri* W. Bull cv. 'Pink' and its background resistance to kanamycin. *Plant Cell, Tissue and Organ Culture*, 155(3), 627–636. <https://doi.org/10.1007/s11240-023-02591-w>
- Mohamed, N., Taha, R. M., Razak, U. N. A., & Elias, H. (2018). The role of plant growth regulators in the development of in vitro flowering, histology and ultrastructural studies in *Impatiens balsamina* cv. Dwarf Bush. *Planta Daninha*, 36, e018165357. <https://doi.org/10.1590/S0100-83582018360100010>

- Murashige, T., & Skoog, F. (1962). A revised medium for rapid growth and bio assays with tobacco tissue cultures. *Physiologia Plantarum*, 15(3), 473–497. <https://doi.org/10.1111/j.1399-3054.1962.tb08052.x>
- Owen, H. R., Wengerd, D., & Miller, A. R. (1991). Culture medium pH is influenced by basal medium, carbohydrate source, gelling agent, activated charcoal, and medium storage method. *Plant Cell Reports*, 10(11), 583–586. <https://doi.org/10.1007/BF00232439>
- Pattarakulpisutti, P. (2021). Floral morphology and pollination readiness of *Impatiens sirindhorniae* Triboun & Suksathan in a greenhouse: A preliminary study for conservation. *Thai Journal of Botany*, 13(2), 81–91. <https://li01.tci-thaijo.org/index.php/TJB/article/view/254425>
- Promchan, T., Ramasoot, S., & Bunwest, P. (2016). Effects of activated charcoal and growing media on seedling growth and survival rate of *Aerides odorata*. *Wicha Journal*, 35(2), 53–61. <https://ph02.tci-thaijo.org/index.php/wichajournal/article/view/66367>
- R Core Team. (2019). *R: A language and environment for statistical computing*. R Foundation for Statistical Computing. <https://www.R-project.org/>
- Rakkid, P., Triboun, P., Sangkasa-ad, P., Piriavinit, P., & Kanjanawattanawong, P. (2013). *Study on in vitro conservation technique of Impatiens sirindhorniae and Zingiber sirindhorniae*. Annual Academic Seminar 2013, Biotechnology Research and Development Office. Department of Agriculture.
- Samala, S., Kongton, K., Yenchon, S., Petchsri, S., Suwannakong, Y., Rotchanajinda, W., & Chareonsap, P. P. (2022a). Effect of auxins and cytokinin on micropropagation of *Impatiens sirindhorniae* Triboun & Suksathan in vitro. *Acta Horticulturae*, 1339, 217–225. <https://doi.org/10.17660/ActaHortic.2022.1339.29>
- Samala, S., Kongton, K., Yenchon, S., Petchsri, S., Suwannakong, Y., Rotchanajinda, W., Buakaew, P., Suleethat, N., Thepsuriwong, S., Pengjun, W., Nongkaew, S., Chareonsap, P. P., & Thammastiri, K. (2022b). Enhancement of surface sterilization protocol for in vitro propagation of *Impatiens sirindhorniae*. *Acta Horticulturae*, 1334, 257–262. <https://doi.org/10.17660/ActaHortic.2022.1334.34>
- Senawong, R., Sansuk, P., & Sansuk, S. (2014). In vitro tissue culture of *Dendrobium kontumense* Gagnep. *KKU Science Journal*, 42(2), 399–413. [https://li01.tci-thaijo.org/index.php/kku\\_sci/article/view/21033](https://li01.tci-thaijo.org/index.php/kku_sci/article/view/21033)
- Suksathan, P., & Triboun, P. (2009). Ten new species of *Impatiens* (Balsaminaceae) from Thailand. *Gardens' Bulletin Singapore*, 61(1), 159–184.
- Te-chato, S., & Lim, M. (1999). Plant regeneration of mangosteen via nodular callus formation. *Plant Cell, Tissue and Organ Culture*, 59(2), 89–93. <https://doi.org/10.1023/A:1006403515865>
- Tharawoot, T., Samyam, W., & Vessabutr, S. (2012). Colchicine induced polyploidy of in vitro *Impatiens patula* Craib. *Thai Journal of Botany*, 4(Special Issue), 75–80. <https://li01.tci-thaijo.org/index.php/TJB/article/view/241851>
- Thomas, T. D. (2008). The role of activated charcoal in plant tissue culture. *Biotechnology Advances*, 26(6), 618–631. <https://doi.org/10.1016/j.biotechadv.2008.08.005>
- Ziaratmai, S. M., Kunert, K. J., & Lall, N. (2009). Elicitation of 7-methyljuglone in *Drosera capensis*. *South African Journal of Botany*, 75(1), 97–103. <https://doi.org/10.1016/j.sajb.2008.09.001>

# การศึกษาความเป็นไปได้ในการนำฟอสโฟลิพิดจากน้ำมันของเมล็ดยางพาราไปใช้ประโยชน์ ในรูปของอนุภาคไลโปโซม

## Feasibility study on the utilization of phospholipids derived from para rubber seed oil for liposome particle formation

สุวัชชัย มิสุนา\* และ นีรมล ศรีชนะ

Suwatchai Misuna\* and Niramol Srichana

Received: 14 October 2024 ; Revised: 22 November 2024 ; Accepted: 13 December 2024

### บทคัดย่อ

อนุภาคไลโปโซมสังเคราะห์ขึ้นได้โดยใช้ฟอสโฟลิพิดเป็นสารตั้งต้น ประโยชน์ของอนุภาคไลโปโซมคือสามารถกักเก็บสารสำคัญไว้ภายในเพื่อป้องกันการเสื่อมสลายและเพิ่มความคงตัวของสารสำคัญ งานวิจัยนี้มีวัตถุประสงค์เพื่อนำฟอสโฟลิพิดจากน้ำมันเมล็ดยางพาราไปใช้ประโยชน์ในรูปแบบอนุภาคไลโปโซม สกัดน้ำมันจากเมล็ดยางพาราสายพันธุ์ RRIM 600 โดยใช้เฮกเซนเป็นตัวทำละลาย แยกฟอสโฟลิพิดออกจากน้ำมันโดยการตีกับด้วยความร้อนและน้ำ ตรวจสอบความบริสุทธิ์ วิเคราะห์ชนิดและปริมาณของฟอสโฟลิพิดด้วยเทคนิคโครมาโทกราฟีของเหลวที่มีสมรรถนะสูง สังเคราะห์อนุภาคไลโปโซมโดยวิธีการระเหยกลับวัฏภาค ศึกษาคุณสมบัติทางกายภาพของอนุภาคไลโปโซมด้วยเทคนิคการกระเจิงแสงแบบพลวัต ศึกษาสัณฐานวิทยาของอนุภาคไลโปโซมด้วยกล้องจุลทรรศน์อิเล็กตรอนแบบส่องผ่านและศึกษาความคงตัวของอนุภาคไลโปโซมที่ระยะเวลา 0-12 สัปดาห์ที่อุณหภูมิ 4°C ผลการทดลองพบว่าเมล็ดยางพารามีปริมาณน้ำมัน 45.25±0.04 %w/w ฟอสโฟลิพิดที่พบมากที่สุดไนกัมที่แยกได้จากน้ำมันเมล็ดยางพาราคือฟอสฟาติดีลโคลีนและฟอสฟาติดีลเอทานอลามีน (22.36±3.10 และ 17.39±0.51 มิลลิกรัม/น้ำมัน 100 กรัม) เมื่อใช้ฟอสโฟลิพิดเข้มข้น 0.1-2.0 %w/v ไปสังเคราะห์อนุภาคไลโปโซมด้วยวิธีการระเหยกลับวัฏภาคพบว่าอนุภาคไลโปโซมที่ได้กระจายตัวอยู่ในตัวกลางที่เป็นน้ำมีลักษณะเป็นสารผสมเนื้อเดียวสีเหลือง สัณฐานวิทยาของอนุภาคไลโปโซมมีรูปร่างเป็นทรงกลม ขนาดอนุภาคไลโปโซมอยู่ระหว่าง 524-644 นาโนเมตร การกระจายตัวของขนาดอนุภาคอยู่ในช่วง 0.33 ถึง 0.46 ค่าประจุบนผิวอนุภาคมีค่าระหว่าง -33 ถึง -58 มิลลิโวลต์ และอนุภาคไลโปโซมที่สังเคราะห์ได้มีความคงตัวสูงสุดที่เวลา 8 สัปดาห์ ผลการศึกษาสามารถสรุปได้ว่าฟอสโฟลิพิดที่ได้จากน้ำมันของเมล็ดยางพาราส่งนำไปใช้ประโยชน์ในรูปแบบอนุภาคไลโปโซมได้

**คำสำคัญ:** อนุภาคไลโปโซม, ฟอสโฟลิพิด, เมล็ดยางพารา, วิธีการระเหยกลับวัฏภาค

### Abstract

Liposome particles can be synthesized using phospholipids as precursors. These particles can encapsulate crucial substances, prevent degradation and enhance the stability of the substances. The primary aim of this research is to investigate the application of phospholipids derived from para rubber seed oil for the formulation of liposome particles. Oil was extracted from para rubber seeds of the RRIM 600 variety using hexane as a solvent. Phospholipids were separated from the oil through a heat and water degumming process. The type and quantity of phospholipids were analyzed via a high-performance liquid chromatography technique. Liposome particles were synthesized using the reverse phase evaporation method, and the physical properties of liposome particles were measured by using the dynamic light scattering technique. The morphology of liposome particles was examined through transmission electron

\* สาขาวิชาเคมี คณะวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยี มหาวิทยาลัยราชภัฏเลย ต.เมือง อ.เมืองเลย จ.เลย 42000

\* Program of Chemistry, Faculty of Science and Technology, Loei Rajabhat University, Muang, Muang Loei district, Loei province, 42000

\* Corresponding author: E-mail: suwatchai.mis@lru.ac.th

microscopy. Additionally, the stability of the liposome particles was examined over a period of 0 to 12 weeks at 4 °C. The oil content in para rubber seeds was found to be  $45.25 \pm 0.04$  %w/w. The predominant phospholipids identified in the gums isolated from para rubber seed oil were phosphatidylcholine and phosphatidylethanolamine ( $22.36 \pm 3.10$  and  $17.39 \pm 0.51$  mg/100g of oil). When synthesizing liposome particles using 0.1-2.0% w/v of phospholipids, a homogeneous yellow mixture was obtained, with particles dispersed in an aqueous phase. These liposomes exhibited a spherical shape, with sizes ranging from 524 to 644 nanometers. The polydispersity index ranged from 0.33 to 0.46. The z-potential of the particles ranged from -33 to -58 mV and the synthesized particles exhibited the highest stability for 8 weeks. In summary, the phospholipids derived from para rubber seed oil can be utilized to form liposome particles.

**Keywords:** Liposome particles, phospholipid, para rubber seed, reverse phase evaporation method

## บทนำ

ไลโปโซมเป็นรูปแบบหนึ่งของเทคโนโลยีเอนแคปซูลชั้นที่ใช้สร้างชั้นป้องกัน ห่อหุ้มหรือกักเก็บสารสำคัญที่อยู่ภายใน เช่น ยา วิตามิน สารต้านการเจริญของเชื้อ จุลินทรีย์และสารต้านออกซิเดชัน เป็นต้น ไลโปโซมสามารถป้องกันปฏิกิริยาต่างๆ ที่เกิดขึ้นกับสารสำคัญ ลดการเสื่อมสลายของสารสำคัญรวมถึงลดความเป็นพิษและลดการระคายเคืองจากการใช้สารสำคัญนั้นโดยตรง นอกจากนี้ไลโปโซมยังสามารถใช้ส่งสารสำคัญไปสู่อวัยวะเป้าหมายได้อย่างจำเพาะเจาะจงและควบคุมการปลดปล่อยสารสำคัญภายใต้สภาวะที่เหมาะสม (Estevinho *et al.*, 2014) ลักษณะของไลโปโซมเป็นอนุภาคกลมเกิดจากการเรียงตัวกันของสารแอมฟิฟิลล์ที่นำส่วนที่มีขั้วหันออกหาโมเลกุลของน้ำ ในขณะที่เดียวกันจะหันส่วนที่ไม่มีขั้วเข้าหาส่วนที่ไม่มีขั้วของโมเลกุลเดียวกันเกิดเป็นอนุภาคที่มีหลายชั้นและหลายขนาด เช่น ไลโปโซมชั้นเดียว (Unilamella vesicle, ULV) ไลโปโซมหลายชั้น (Multilamella vesicle, MLV) ไลโปโซมขนาดเล็กและมีชั้นเดียว (Small unilamellar vesicle, SUV) หรือไลโปโซมขนาดใหญ่กว่า 100 นาโนเมตรและมีชั้นเดียว (Large unilamellar vesicle, LUV) (Madene *et al.*, 2006) โดยสารที่ใช้ในการสังเคราะห์อนุภาคไลโปโซมประกอบไปด้วยสองเฟส คือเฟสภายนอก (Exterior phase) เช่น สารชั้นเคลือบที่อยู่ด้านนอก (Coating) สารที่ทำหน้าที่เป็นโครงสร้างหลัก (Matrix) และสารที่ทำหน้าที่เป็นตัวพา (Carrier material) ส่วนเฟสภายใน (Internal phase) เป็นส่วนของสารที่ถูกกักเก็บไว้ภายในอนุภาคไลโปโซม (Core material หรือ Active agent) (Terron-Mejia *et al.*, 2018) สารที่นิยมนำมาทำชั้นห่อหุ้มของอนุภาคไลโปโซมได้แก่เลซิทีนและสารในกลุ่มของฟอสโฟลิพิด เช่น ฟอสฟาติดีลโคลีน ฟอสฟาติดีลเอทานอลามีนและฟอสฟาติดีลอินซิทอล เนื่องจากมีความปลอดภัยและสามารถเข้ากันได้ทั้งทางชีวภาพ (Venugaranti & Perumal, 2009) สำหรับการเตรียมอนุภาคไลโปโซมทำได้หลายวิธี เช่น วิธีอัลตราซาวนด์ วิธีปั่นผสมเป็นเนื้อเดียวกันด้วยความดันสูง

วิธีอัลตร้าผ่านแผ่นกรอง วิธีฉีดด้วยตัวทำละลาย วิธีทินฟิล์มไฮเดรชัน (Thin film hydration) และวิธีการระเหยกลับวัฏภาค (Schmidt & Lamprecht, 2009)

ฟอสโฟลิพิดเป็นลิพิดที่เกิดจากการรวมตัวกันระหว่างกลีเซอรอล กรดไขมันและหมู่ฟอสเฟตที่มาจากกรดฟอสฟอริก โครงสร้างทางเคมีของฟอสโฟลิพิดประกอบด้วยส่วนที่มีขั้วชอบน้ำและส่วนที่ไม่มีขั้วไม่ชอบน้ำอยู่ในโมเลกุลเดียวกันเรียกว่าแอมฟิฟิลล์ เมื่อนำฟอสโฟลิพิดไปละลายน้ำจะเกิดโครงสร้างได้ 3 แบบ ได้แก่ แบบไมเซลล์ แบบแผ่นชั้นเดียว และแบบแผ่นสองชั้น ความหลากหลายของฟอสโฟลิพิดขึ้นอยู่กับหมู่ที่มาเชื่อมต่อกับหมู่ฟอสเฟต เช่น ฟอสฟาติดีลโคลีน ฟอสฟาติดีลเอทานอลามีน ฟอสฟาติดีลอินซิทอล กรดฟอสฟาติกและไลโซฟอสฟาติดีลโคลีน เป็นต้น ปัจจุบันได้มีการนำฟอสโฟลิพิดที่ได้จากธรรมชาติในรูปของเลซิทีนไปใช้ในอุตสาหกรรมอาหารและเครื่องสำอาง โดยสามารถแยกเลซิทีนได้จากน้ำมันของเมล็ดพืช เช่น ถั่วเหลือง เรพซิดและทานตะวัน (Hoogevest & Wendel, 2014) ขั้นตอนการแยกเลซิทีนออกจากราน้ำมันเมล็ดพืชมี 3 ขั้นตอน เริ่มด้วยการสกัดน้ำมัน (Oil extraction) การแยกกัมออกจากน้ำมัน (Degumming) และกำจัดน้ำมัน (Deoiling) จนได้เลซิทีน ถ้าต้องการฟอสโฟลิพิดที่มีความบริสุทธิ์สูงต้องนำเลซิทีนที่ได้ไปผ่านขั้นตอนการสกัดด้วยตัวทำละลายและทำบริสุทธิ์ด้วยเทคนิคโครมาโทกราฟีจนได้ฟอสโฟลิพิดบริสุทธิ์ ตัวอย่างของฟอสโฟลิพิดที่พบมากในเลซิทีนที่ได้จากน้ำมันเมล็ดพืช เช่น เมล็ดถั่วเหลืองพบฟอสฟาติดีลโคลีน ฟอสฟาติดีลเอทานอลามีนและฟอสฟาติดีลอินซิทอล เมล็ดทานตะวันและเมล็ดเรพซิดพบฟอสฟาติดีลโคลีนและฟอสฟาติดีลอินซิทอลเป็นองค์ประกอบมากที่สุด (Srinuan *et al.*, 2020)

ยางพารา (*Hevea brasiliensis*) จัดเป็นพืชเศรษฐกิจที่สำคัญของประเทศไทย พบการเพาะปลูกมากที่สุดที่ภาคใต้และภาคตะวันออกเฉียงเหนือ ผลผลิตหลักที่ได้จากการเพาะปลูกยางพาราคือน้ำยาง น้ำยางสามารถนำมาใช้เป็นวัตถุดิบ

ในอุตสาหกรรมต่างๆ ได้อย่างหลากหลาย เช่น การผลิตยางรถยนต์ ถังมือยาง รวมถึงเครื่องมือแพทย์ นอกจากนี้ยางแล้วในปัจจุบันพบว่าเมล็ดยางพาราที่เป็นวัตถุดิบเหลือทิ้งจากอุตสาหกรรมยางสามารถนำไปใช้ประโยชน์ในอุตสาหกรรมต่างๆ ซึ่งถือเป็นผลพลอยได้ของการใช้ประโยชน์จากยางพารา เช่น การนำน้ำมันที่ได้จากเมล็ดยางพาราไปประยุกต์ใช้ในผลิตภัณฑ์เครื่องสำอาง (Lourith, 2013) หรือการนำน้ำมันจากเมล็ดยางพาราไปเพิ่มมูลค่าเป็นผลิตภัณฑ์ทำความสะอาดผิวหน้าเพื่อการล้างเครื่องสำอางและเพิ่มความชุ่มชื้นให้แก่ผิว (Raknam *et al.*, 2020) ต้นยางพาราที่มีอายุ 3-5 ปี ให้เมล็ดยางพาราเฉลี่ยไร่ละ 10 กิโลกรัมต่อปี เมล็ดยางพาราจะถูกนำไปเพาะเพื่อทำเป็นต้นตอ ก่อนจะเสียบยอดพันธุ์ปละร้อยละ 0.5 อีกร้อยละ 1.5 นำมาสกัดเป็นน้ำมันไบโอดีเซลส่วนที่เหลืออีกกว่าร้อยละ 98 ถูกทิ้ง (Raknam *et al.*, 2020) มีรายงานว่าในเมล็ดยางพาราสายพันธุ์ RRIM 600 มีน้ำมันเป็นส่วนประกอบร้อยละ 41 ในน้ำมันมีกรดไขมันอิ่มตัวร้อยละ 15 และพบว่ามีกรดไขมันไม่อิ่มตัวร้อยละ 83 (Kittigowittana *et al.*, 2013)

จากการสืบค้นงานวิจัยไม่พบการนำฟอสโฟลิพิดจากน้ำมันของเมล็ดยางพารามาประยุกต์ใช้ในรูปแบบของอนุภาคไลโปโซม ดังนั้นในงานวิจัยนี้จึงเป็นงานวิจัยแรกๆ ที่ทำการศึกษาการใช้ประโยชน์ของฟอสโฟลิพิดที่ได้จากน้ำมันเมล็ดยางพาราในรูปแบบของอนุภาคไลโปโซม โดยวัตถุประสงค์ของงานวิจัยนี้เพื่อศึกษาถึงการนำฟอสโฟลิพิดที่ได้จากน้ำมันเมล็ดยางพาราสายพันธุ์ RRIM 600 ที่เป็นวัตถุดิบเหลือทิ้งจากอุตสาหกรรมยางไปสังเคราะห์ให้ได้เป็นอนุภาคไลโปโซมด้วยวิธีการระเหยกลั่นวัฏภาค ศึกษาคุณสมบัติทางกายภาพของอนุภาคไลโปโซม ได้แก่ ขนาดอนุภาค การกระจายตัวของขนาดอนุภาค ประจุนผิวอนุภาคและศึกษาสัณฐานวิทยาของอนุภาคไลโปโซม รวมถึงความคงตัวของอนุภาคไลโปโซมที่ระยะเวลาต่างๆ

## การทดลอง

### 1. การสกัดน้ำมันและการวิเคราะห์ฟอสโฟลิพิด

การสกัดน้ำมันและแยกฟอสโฟลิพิดจากน้ำมันเมล็ดยางพาราได้ดัดแปลงจากวิธีของ Lourith *et al.* (2014) และวิธีของ Wendel and Hoogevest (2014) ทำได้โดยเก็บตัวอย่างเมล็ดยางพาราสายพันธุ์ RRIM 600 ในระยะแก่จากบ้านป่าไม้งาม ตำบลโคกขมิ้น อำเภอสว่างซาว จังหวัดเลย แกะเปลือกของเมล็ดยางพาราและนำเอาเฉพาะส่วนเนื้อใน (Figure 1) มาทำให้แห้งด้วยตู้อบลมร้อนที่ 70°C บดให้ละเอียดและชั่งตัวอย่างที่แห้งและละเอียด 300 กรัม มาสกัดในเฮกเซน

600 มิลลิลิตร ที่อุณหภูมิห้อง เป็นเวลา 24 ชั่วโมง กรองด้วยกระดาษกรองเบอร์ 1 นำส่วนกากไปสกัดต่อจนครบ 3 ครั้ง รวมส่วนของสารละลายที่กรองได้เข้าด้วยกันแล้วนำไประเหยตัวทำละลายออกด้วยเครื่องระเหยแบบสูญญากาศ นำน้ำมันที่ได้ไปทำการทดลองในขั้นต่อไป



**Figure 1** RRIM 600 para rubber seed A=Para rubber seed, B=Kernel of the para rubber seed

นำน้ำมันเมล็ดยางพารามาให้ความร้อน 80°C ผสมกับน้ำกลั่นร้อยละ 2 กวนด้วยเครื่องกวนสาร เป็นเวลา 15 นาที นำไปปั่นเหวี่ยงที่ความเร็ว 13,500 รอบต่อนาที เป็นเวลา 15 นาที ส่วนของกัมที่ได้จะนำไปกำจัดน้ำมันโดยผสมกับเฮกเซนในอัตราส่วนของกัมต่อเฮกเซน 1:5 เป็นเวลา 30 นาที นำไปปั่นเหวี่ยงที่ความเร็ว 4,500 rpm เป็นเวลา 10 นาที นำชั้นตะกอนที่ได้มาสกัดต่อในอะซิโตน โดยใช้อัตราส่วนของกัมต่ออะซิโตน 1:1.5 เป็นเวลา 30 นาที นำส่วนที่ไม่ละลายมาผสมกับเอทานอลในอัตราส่วน 1:1 โดยนำหนักต่อปริมาตร นำไปให้ความร้อนที่อุณหภูมิ 50°C เป็นเวลา 15 นาที ผสมให้เข้ากัน นำไปปั่นเหวี่ยงที่ความเร็ว 4,500 รอบต่อนาที เป็นเวลา 10 นาที สารละลายส่วนใสนำไปกำจัดตัวทำละลายโดยการให้ความร้อนด้วยตู้อบลมร้อนที่อุณหภูมิ 70°C ตรวจสอบความบริสุทธิ์เบื้องต้นด้วยวิธีโครมาโทกราฟีแบบแผ่นบาง ใช้เฟสเคลื่อนที่เป็นเฮกเซนต่อไดเอทิลอีเทอร์ในอัตราส่วน 50:50 ปล่อยให้เฟสเคลื่อนที่เคลื่อนที่ขึ้นไป 20 เซนติเมตร นำไปส่องใต้กล้องยูวีที่ความยาวคลื่น 254 นาโนเมตร เทียบกับสารมาตรฐานฟอสโฟลิพิด

การวิเคราะห์ชนิดและปริมาณของฟอสโฟลิพิดดัดแปลงจากวิธีของ Rehman *et al.* (2017) ทำได้โดยละลายฟอสโฟลิพิดด้วยเมทานอลแล้วกรองผ่านกระดาษกรองที่มีขนาดรูพรุน 0.45 ไมโครเมตร ฉีดตัวอย่างปริมาตร 10 ไมโครลิตร เข้าสู่เฟสคงที่ที่เป็น C18 reverse phase column (300 mm x 4.5 mm x 5  $\mu$ m) แยกตัวอย่างออกจากเฟสคงที่โดยใช้เมทานอลในระบบไอโซเครติกด้วยอัตราการไหล 1 มิลลิลิตรต่อนาที ตรวจสอบตัวอย่างที่แยกได้ด้วยตัวตรวจวัดชนิดแสงยูวีที่ความยาวคลื่น 205 นาโนเมตร เทียบกับสาร

มาตรฐานฟอสโฟลิพิด คำนวณปริมาณของฟอสโฟลิพิดโดยใช้กราฟมาตรฐานฟอสโฟลิพิดแต่ละชนิด (ฟอสฟาทีดิลโคลีน  $Y=8.0559X + 115.63$  ฟอสฟาทีดิลเอทานอลามีน  $Y=12.136X + 121.74$ )

## 2. การสังเคราะห์อนุภาคไลโปโซม

การสังเคราะห์อนุภาคไลโปโซมดัดแปลงจากวิธีของ Fotini *et al.* (2004) และวิธีของ Azucena *et al.* (2019) ทำได้โดยเตรียมฟอสโฟลิพิดเข้มข้น 0.1-2.0 %w/v ผสมกับคลอเลสเทอรอล 0.001 กรัม ที่ละลายในคลอโรฟอร์ม 5 มิลลิลิตร ผสมให้เข้ากันในขวดกันกลม กำจัดตัวทำละลายด้วยเครื่องระเหยสารแบบสูญญากาศ ที่อุณหภูมิ 40°C ปรับการหมุนของขวดกันกลมที่ 80 รอบต่อนาที เติมน้ำไดเอทิลอีเทอร์ 3 มิลลิลิตร น้ำกลั่น 1 มิลลิลิตร เร่งการเกิดอนุภาคโดยใช้คลื่นเสียงความถี่สูงที่ 20 กิโลเฮิร์ตซ์ อุณหภูมิ 25°C เป็นเวลา 30 นาที ต่อจากนั้นกำจัดไดเอทิลอีเทอร์และปรับปริมาตรด้วยน้ำกลั่นให้ได้ 5 มิลลิลิตร นำอนุภาคไลโปโซมที่ได้ไปศึกษาคุณสมบัติทางกายภาพโดยเทคนิคการกระเจิงแสงแบบพลวัต (Dynamic light scattering, DLS) ศึกษาสัณฐานวิทยา (Morphology) ของอนุภาคไลโปโซมด้วยกล้องจุลทรรศน์อิเล็กตรอนแบบส่องผ่านชนิด Field-Emission (Field-Emission Transmission electron microscope, FE-TEM)

## 3. การศึกษาคุณสมบัติทางกายภาพและสัณฐานวิทยาของอนุภาคไลโปโซม

เจือจางอนุภาคไลโปโซมด้วยน้ำปราศจากไอออน 10 เท่า ปิเปตอนุภาคไลโปโซมมา 1 มิลลิลิตร ใส่ลงในหลอดแคพิลลารีชนิด Disposable folded capillary cells วัดขนาดอนุภาค (Particle size) การกระจายตัวของขนาดอนุภาค (Polydispersity index, PDI) และประจุบนผิวอนุภาค (z-potential) โดยเครื่องวัดขนาดอนุภาคและประจุบนผิวอนุภาค (Zetasizer Nano ZS) วิเคราะห์ผลของขนาดอนุภาค การกระจายตัวของขนาดอนุภาค ประจุบนผิวอนุภาคด้วยโปรแกรม Zetasizer software

หยดอนุภาคไลโปโซมลงบนแผ่น Carbon film copper grids ขนาด 200 เมช ทิ้งให้แห้งที่อุณหภูมิห้อง นำไปส่องด้วยกล้องจุลทรรศน์อิเล็กตรอนแบบส่องผ่านชนิด Field-Emission ยี่ห้อ Thermo Scientific โมเดล Talos F200X G2 ใช้กำลังไฟฟ้า 200 กิโลโวลต์ กำลังขยาย 1,500,000X และตั้งค่าความสว่าง (Brightness)  $1.0 \times 10^9$  A/cm<sup>2</sup>

## 4. การศึกษาความคงตัวของอนุภาคไลโปโซม

เก็บอนุภาคไลโปโซมที่สังเคราะห์ได้ไว้ที่อุณหภูมิ 4°C ตรวจสอบขนาดอนุภาค การกระจายตัวของขนาดอนุภาคและประจุบนผิวอนุภาคทุก 2 สัปดาห์ เป็นเวลาทั้งสิ้น 12 สัปดาห์

## 5. การวิเคราะห์ผลทางสถิติ

วิเคราะห์ข้อมูลทางสถิติโดยใช้การวิเคราะห์ความแปรปรวน (Analysis of variance) และตรวจสอบความแตกต่างของค่าเฉลี่ยโดยวิธี Duncan's Multiple Rang Test (DMRT) ที่ระดับความเชื่อมั่นร้อยละ 95 โดยใช้โปรแกรมสำเร็จรูป SPSS ในการวิเคราะห์ผลทางสถิติ

## ผลการทดลองและอภิปรายผล

### ปริมาณน้ำมัน ชนิดและปริมาณฟอสโฟลิพิดในน้ำมันเมล็ดยางพารา

ปริมาณน้ำมันจากเมล็ดยางพาราสายพันธุ์ RRIM 600 เท่ากับ  $45.24 \pm 0.04$  %w/w (Figure 2A และ Table 1) ในส่วนของกัม (Polar lipid) ที่แยกได้จากน้ำมันเมล็ดยางพารามีปริมาณกัมเท่ากับ  $16.34 \pm 0.11$  %w/w (Figure 2B-2C และ Table 1) สำหรับฟอสโฟลิพิดที่เป็นองค์ประกอบมากที่สุดคือน้ำมันเมล็ดยางพาราฟอสฟาทีดิลโคลีน (PC) และฟอสฟาทีดิลเอทานอลามีน (PE) คิดเป็น  $22.36 \pm 3.10$  และ  $17.39 \pm 0.51$  มิลลิกรัม/น้ำมัน 100 กรัม ตามลำดับ (Figure 2D-2E และ Table 1) การศึกษาครั้งนี้พบว่าฟอสโฟลิพิดที่พบในน้ำมันเมล็ดยางพาราโดยเฉพาะฟอสฟาทีดิลโคลีนมีปริมาณใกล้เคียงกับที่พบในถั่วเหลือง (20-22 มิลลิกรัม/น้ำมัน 100 กรัม) เมล็ดทานตะวัน (20-26 มิลลิกรัม/น้ำมัน 100 กรัม) และเมล็ดเรพซีฟ (23-31 มิลลิกรัม/น้ำมัน 100 กรัม) (Srinuan *et al.*, 2020) ในขณะที่ฟอสฟาทีดิลเอทานอลามีนในน้ำมันเมล็ดยางพารามีปริมาณใกล้เคียงกับที่พบในถั่วเหลือง (16-22 มิลลิกรัม/น้ำมัน 100 กรัม) แต่มากกว่าในเมล็ดทานตะวัน (4-10 มิลลิกรัม/น้ำมัน 100 กรัม) และเมล็ดเรพซีฟ (9-15 มิลลิกรัม/น้ำมัน 100 กรัม) (Srinuan *et al.*, 2020)

โครงสร้างทางเคมีของฟอสฟาทีดิลโคลีนและฟอสฟาทีดิลเอทานอลามีนประกอบไปด้วยหมู่โคลีนหรือหมู่เอทานอลามีนที่ต่ออยู่กับหมู่ฟอสเฟต (Figure 3A-3B) จัดเป็นส่วนที่มีขั้วมีคุณสมบัติชอบน้ำ (Hydrophilic) ในขณะที่ส่วนไฮโดรคาร์บอนเป็นส่วนที่ไม่มีขั้ว มีคุณสมบัติไม่ชอบน้ำ (Hydrophobic) โดยส่วนนี้ประกอบไปด้วยกรดไขมันแต่ละชนิด (R และ R') ที่จะต่ออยู่กับคาร์บอนอะตอมที่ 1 และ 2 ของกลีเซอรอล (Figure 3A-3B) จากคุณสมบัติการชอบน้ำและไม่ชอบน้ำของฟอสโฟ

ลิพิดจึงสามารถนำฟอสโฟลิพิดที่ได้จากน้ำมันของเมล็ดยางพาราไปสังเคราะห์เป็นอนุภาคไลโปโซมได้ต่อไป

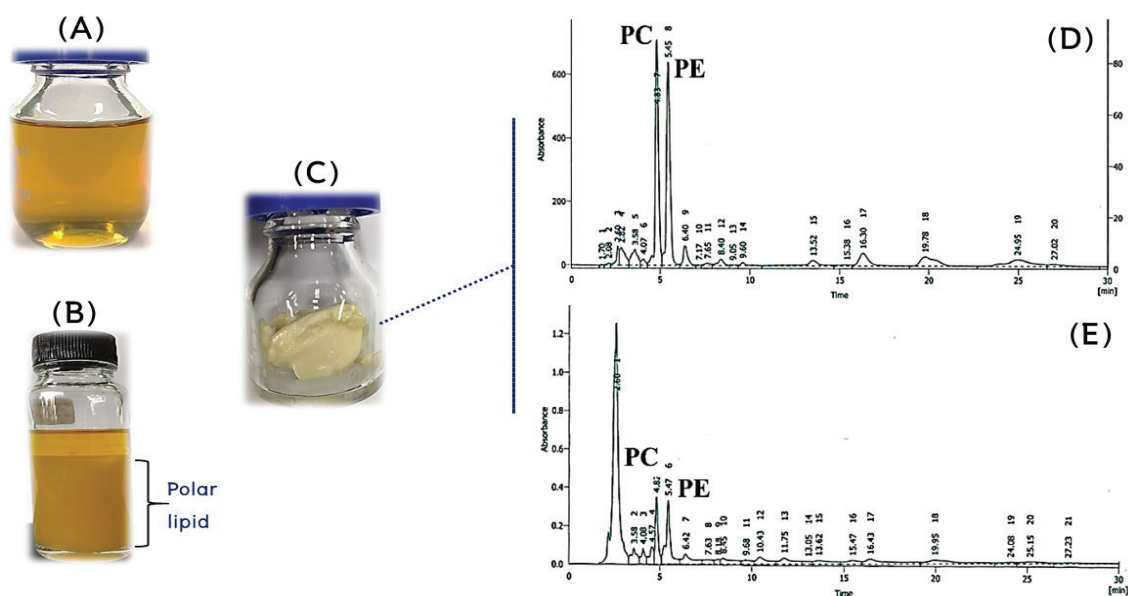
#### ลักษณะทางกายภาพ ขนาดอนุภาค การกระจายตัวของขนาดอนุภาคและประจุบนผิวอนุภาคไลโปโซม

เมื่อใช้ฟอสโฟลิพิดจากน้ำมันเมล็ดยางพาราเข้มข้น 0.1-2.0 %w/v ไปสังเคราะห์อนุภาคไลโปโซมพบว่าลักษณะของสารผสมที่ได้เป็นสารผสมเนื้อเดียวสีเหลืองตามความเข้มข้นของฟอสโฟลิพิดที่ใช้ (Figure 4) โดยอนุภาคไลโปโซมจะกระจายตัวอยู่ในตัวกลางที่เป็นน้ำ ขนาดของอนุภาคไลโปโซมอยู่ระหว่าง  $524.40 \pm 16.15$  ถึง  $644.70 \pm 12.75$  นาโนเมตร ขึ้นอยู่กับปริมาณของฟอสโฟลิพิดที่ใช้ในการสังเคราะห์ (Figure 5(A)-5(C) และ Table 2) พบว่าเมื่อใช้ฟอสโฟลิพิดที่เข้มข้น 0.25-1.00 %w/v ขนาดของอนุภาคไลโปโซมจะเล็กกว่าเมื่อใช้ฟอสโฟลิพิด 0.10 และ 2.00 %w/v (Table 2)

การกระจายตัวของขนาดอนุภาคไลโปโซมมีค่าระหว่าง  $0.33 \pm 0.02$  ถึง  $0.46 \pm 0.03$  (Table 2) พบว่าเมื่อใช้ฟอสโฟลิพิด 1.00 %w/v ให้ค่าการกระจายตัวของขนาดอนุภาคน้อยที่สุด ส่วนของค่าประจุบนผิวอนุภาคไลโปโซมอยู่

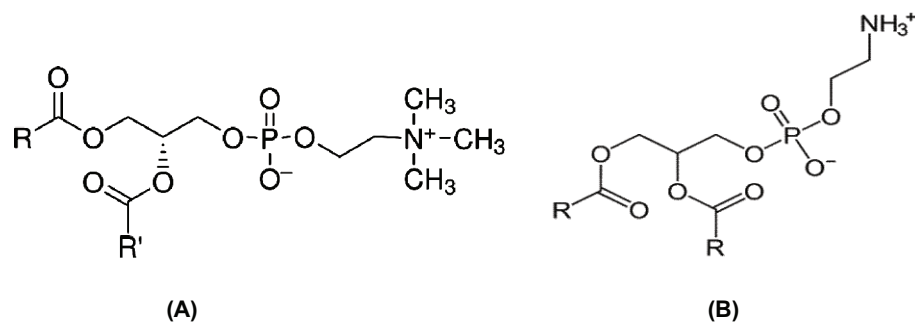
ในช่วง  $-33.96 \pm 2.75$  ถึง  $-58.73 \pm 0.15$  มิลลิโวลต์ (Figure 5(D)-5(F) และ Table 2) พบว่าเมื่อใช้ฟอสโฟลิพิด 0.5-2.00 %w/v อนุภาคไลโปโซมมีค่าประจุบนผิวอนุภาคเป็นประจุลบมากกว่าการใช้ฟอสโฟลิพิดที่เข้มข้น 0.1-0.25 %w/v

จากการใช้ฟอสโฟลิพิดที่ได้จากน้ำมันเมล็ดยางพารา มาสังเคราะห์อนุภาคไลโปโซมด้วยวิธีการระเหยกลีบวัฏภาค พบว่าอนุภาคไลโปโซมที่ได้แบ่งเป็น 2 กลุ่ม คือกลุ่มที่มีขนาดอนุภาคในช่วง 524-548 นาโนเมตร และ 601-644 นาโนเมตร (Table 2) โดยขนาดอนุภาคไลโปโซมจะขึ้นอยู่กับปริมาณของฟอสโฟลิพิดที่ใช้ เมื่อใช้ความเข้มข้นของฟอสโฟลิพิด 0.25-1.00 %w/v ทำให้อนุภาคไลโปโซมมีขนาดเล็กกว่าเมื่อใช้ความเข้มข้นของฟอสโฟลิพิด 0.10 หรือ 2.00 %w/v (Table 2) เนื่องจากปริมาณฟอสโฟลิพิดที่ต่ำเกินไปทำให้โครงสร้างของเยื่อหุ้มไลโปโซมมีความบางจึงทำให้อนุภาคไลโปโซมเกิดการรวมตัว (Aggregation) ได้ง่าย ส่งผลให้อนุภาคไลโปโซมมีขนาดใหญ่ขึ้น (Sturm & Poklar Ulrich, 2021; Ang *et al.*, 2023)



**Figure 2** Characteristics of oil, polar lipid (gum) and HPLC-UV chromatogram of phospholipids extracted from para rubber seed oil

- (A) Para rubber seed oil (B) Precipitated gum from para rubber seed oil (C) Gum from para rubber seed oil  
(D) Phospholipid Standards (PC = Phosphatidylcholine and PE = Phosphatidylethanolamine)  
(E) Types of phospholipids in para rubber seed oil



**Figure 3** Phospholipid structures. (A) Phosphatidylcholine (PC), (B) Phosphatidylethanolamine (PE),

R, R' = Fatty acid residues

**Table 1** Oil content, types and amounts of phospholipids in para rubber seed oil.

| Oil<br>(%w/w) | Gum<br>(%w/w) | Phospholipid (mg/oil 100 g) |                               |
|---------------|---------------|-----------------------------|-------------------------------|
|               |               | Phosphatidylcholine (PC)    | Phosphatidylethanolamine (PE) |
| 45.24±0.04    | 16.34±0.11    | 22.36±3.10                  | 17.39±0.51                    |

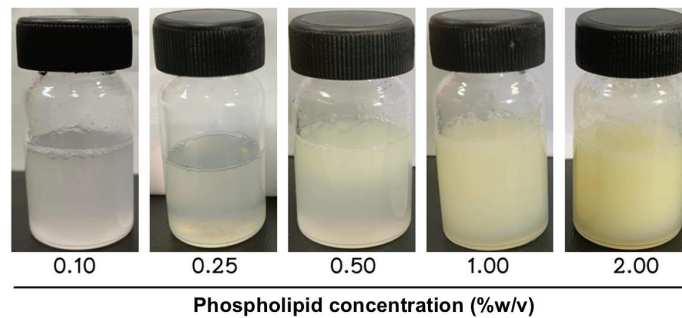
ในทางตรงกันข้ามถ้าใช้ปริมาณฟอสโฟลิพิดที่สูงเกินไป (ในการทดลองนี้คือ 2.0 %w/v) สารผสมที่ได้จะมีความหนืดเพิ่มขึ้นทำให้การกระจายตัวของอนุภาคไลโปโซมทำได้ยากขึ้น อนุภาคไลโปโซมจึงมีแนวโน้มรวมตัวเป็นกลุ่มใหญ่และมีขนาดใหญ่ขึ้น (Šturm & Poklar Ulrih, 2021; Ang *et al.*, 2023) การทดลองนี้ยืนยันว่าการเลือกใช้ความเข้มข้นของฟอสโฟลิพิดที่ได้จากเมล็ดยางพาราในปริมาณที่เหมาะสม (0.25-1.00 %w/v) มีผลต่อขนาดของอนุภาคไลโปโซมโดยตรงซึ่งให้ผลสอดคล้องกับงานวิจัยของ Akbarzadeh *et al.* (2013) และ Mozafari *et al.* (2008)

ค่าการกระจายตัวของอนุภาคเป็นค่าที่บ่งชี้ถึงความสม่ำเสมอของขนาดอนุภาค ค่าการกระจายตัวของอนุภาคที่มีค่าน้อยบ่งชี้ถึงขนาดของอนุภาคมีความสม่ำเสมอมากกว่าค่าการกระจายตัวของอนุภาคที่มีค่ามาก เกณฑ์มาตรฐานของค่าการกระจายตัวของขนาดอนุภาคที่ยอมรับได้สำหรับอนุภาคไลโปโซมควรมีค่าน้อยกว่า 0.30 เพื่อแสดงถึงการกระจายตัวของขนาดอนุภาคที่มีความสม่ำเสมอ (Danaei *et al.*, 2018) การที่อนุภาคไลโปโซมมีค่าการกระจายตัวของขนาดอนุภาคต่ำกว่า 0.30 บ่งชี้ว่าอนุภาคไลโปโซมมีขนาดที่ใกล้เคียงกันส่งผลให้ระบบมีความเสถียรเหมาะสมสำหรับนำอนุภาคไลโปโซมไปประยุกต์ใช้ในการขนส่งสารสำคัญอื่นๆ (Danaei *et al.*, 2018) จากการทดลองพบว่าอนุภาคไลโปโซมที่สังเคราะห์จากฟอสโฟลิพิดจากน้ำมันเมล็ดยางพารามีค่าการกระจายตัวของอนุภาคระหว่าง 0.33 ถึง 0.46 (Table 2) ซึ่งใกล้เคียงกับเกณฑ์มาตรฐาน (น้อยกว่า 0.30) โดยเฉพาะเมื่อใช้ความเข้มข้นของฟอสโฟลิพิด 1.0 %w/v ให้ค่าการกระจายตัวของอนุภาค

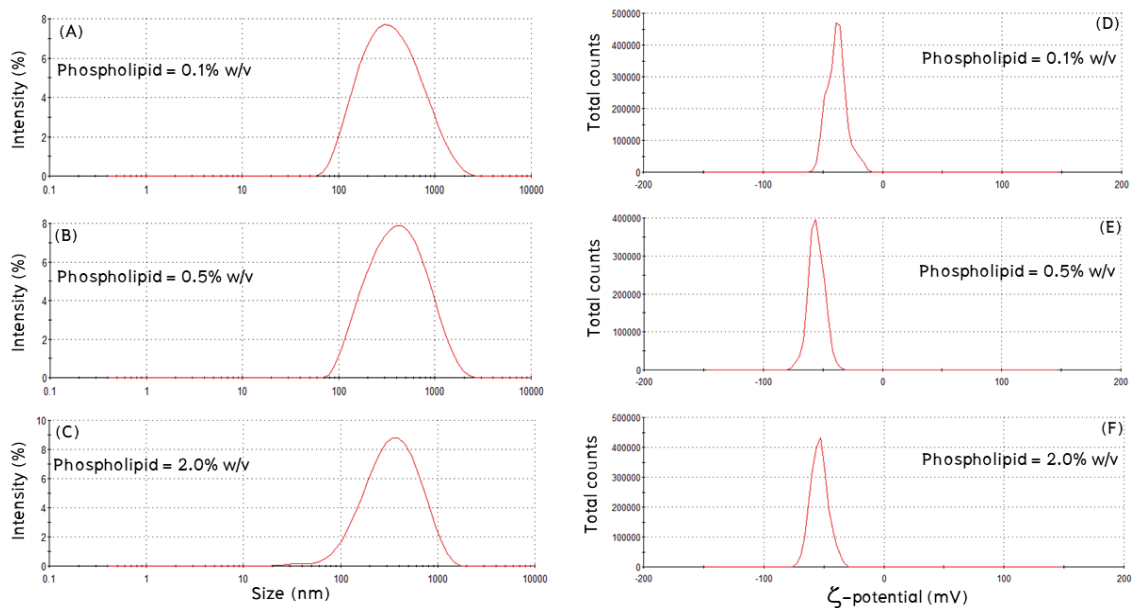
เท่ากับ 0.33 การที่อนุภาคไลโปโซมที่สังเคราะห์ได้มีค่าการกระจายตัวของอนุภาคที่สูงเนื่องมาจากการเตรียมอนุภาคที่แตกต่างกัน มีรายงานว่า การใช้คลื่นเสียงความถี่สูงที่นานเกินไปทำให้เยื่อหุ้มของอนุภาคไลโปโซมเกิดความเสียหายและเพิ่มความหลากหลายของขนาดอนุภาคส่งผลให้ค่าการกระจายตัวของอนุภาคเพิ่มสูงขึ้น (Šturm & Poklar Ulrih, 2021; Mozafari *et al.*, 2008) หรือการใช้วิธีการสังเคราะห์หลายขั้นตอน (Multi step) เช่น การอัดผ่านเมมเบรน (Extrusion) หลังจากการเตรียมไลโปโซมขั้นต้นจะช่วยทำให้ขนาดของอนุภาคมีความสม่ำเสมอมากขึ้น ลดค่าการกระจายตัวของอนุภาคได้ดีกว่าการใช้วิธีเพียงขั้นตอนเดียว เช่น การละลายฟอสโฟลิพิดในตัวทำละลายเพียงอย่างเดียว (Akbarzadeh *et al.*, 2013) ค่าประจุบนผิวอนุภาคเป็นตัวบ่งชี้สำคัญถึงคุณภาพและความเสถียรของอนุภาคไลโปโซมที่สังเคราะห์ได้ ค่าประจุบนผิวอนุภาคในช่วง 0 ถึง ±10 มิลลิโวลต์ ทำให้อนุภาคมีโอกาสมีกกลุ่มกันอย่างรวดเร็วเนื่องจากแรงยึดเหนี่ยวระหว่างอนุภาคสูงทำให้อนุภาคมีการกระจายตัวไม่สม่ำเสมอมีแนวโน้มที่จะตกตะกอน ค่าประจุบนผิวอนุภาคในช่วง ±10 ถึง ±30 มิลลิโวลต์ อนุภาคเริ่มมีความเสถียรแต่ยังไม่เพียงพอต่อการป้องกันการเกาะกลุ่มมีโอกาสนำอนุภาคจะรวมตัวและตกตะกอนได้ แต่ถ้าค่าประจุบนผิวอนุภาคสูงกว่า ±30 มิลลิโวลต์ บ่งบอกถึงอนุภาคมีความเสถียรที่ดีขึ้น โดยเฉพาะเมื่อค่ามากกว่า ±60 มิลลิโวลต์ แสดงถึงอนุภาคมีความเสถียรที่ดีเยี่ยมทำให้อนุภาคมีความคงตัว ไม่รวมตัวกันตกตะกอน (Németh *et al.*, 2022) ผลการทดลองพบว่าอนุภาคไลโปโซมที่สังเคราะห์จากฟอสโฟลิพิดของน้ำมันเมล็ดยางพารามีค่า

ประจุบนผิวอนุภาคสูงกว่า  $\pm 30$  มิลลิโวลต์ (Table 2) โดยเฉพาะเมื่อใช้ความเข้มข้นของฟอสโฟลิพิด 1.0 %w/v แสดงให้เห็นว่าอนุภาคไลโปโซมที่ได้มีเสถียรภาพที่ดีไม่จับกลุ่มกัน

ตกตะกอนเนื่องจากการมีค่าประจุลบในระดับสูงจะช่วยป้องกันการเกาะกลุ่มของอนุภาคจากแรงผลักรันทางไฟฟ้าสถิตเป็นผลดีต่อการคงเสถียรภาพของอนุภาคไลโปโซมในระยะยาว



**Figure 4** Characteristics of a mixture containing liposome particles dispersed in an aqueous phase



**Figure 5** Particle size and z-potential of liposome particles using dynamic light scattering (DLS) with a Zetasizer Nano ZS: (A) - (C) Particle size, (D) - (F) z-potential

#### สัณฐานวิทยาของอนุภาคไลโปโซม

เมื่อนำอนุภาคไลโปโซมไปส่องด้วยกล้องจุลทรรศน์อิเล็กตรอนแบบส่องผ่านชนิด Field-Emission ลักษณะสัณฐานวิทยาของอนุภาคไลโปโซมที่ได้มีรูปร่างเป็นทรงกลม (Spherical shape) ในทุกความเข้มข้นของฟอสโฟลิพิดที่ใช้ในการสังเคราะห์

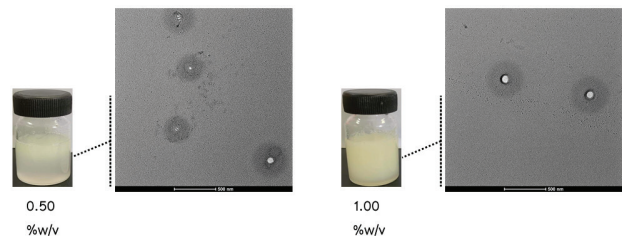
(Figure 6) ผลการศึกษาสัณฐานวิทยายืนยันว่าเมื่อนำฟอสโฟลิพิดจากน้ำมันเมล็ดยางพารามาสังเคราะห์เป็นอนุภาคไลโปโซม พบการจัดเรียงตัวของฟอสโฟลิพิดที่เป็นระเบียบ บ่งชี้ถึงเสถียรภาพของอนุภาคไลโปโซมที่ได้ ผลการทดลองในครั้งนี้ยังสอดคล้องกับงานวิจัยของ

**Table 2** Particle size, Polydispersity index and z-potential of liposome particles

| Phospholipid<br>(%w/v) | Particle size<br>(nm)     | Polydispersity index<br>(PDI) | z-potential<br>(mV)      |
|------------------------|---------------------------|-------------------------------|--------------------------|
| 0.10                   | 601.50±28.71 <sup>a</sup> | 0.45±0.05 <sup>a</sup>        | -33.96±2.75 <sup>a</sup> |
| 0.25                   | 548.95±13.78 <sup>b</sup> | 0.42±0.01 <sup>b</sup>        | -39.66±1.73 <sup>b</sup> |
| 0.50                   | 538.93±19.07 <sup>b</sup> | 0.37±0.01 <sup>c</sup>        | -54.20±0.26 <sup>c</sup> |
| 1.00                   | 524.40±16.15 <sup>b</sup> | 0.33±0.02 <sup>d</sup>        | -58.73±0.15 <sup>d</sup> |
| 2.00                   | 644.70±22.75 <sup>a</sup> | 0.46±0.03 <sup>a</sup>        | -53.76±1.20 <sup>c</sup> |

Note: Values in the same column followed by different letters (<sup>a-d</sup>) are significantly different ( $p < 0.05$ ). Each value in table is represented as means  $\pm$  SD (n=3).

Liu *et al.* (2013) และ Farouk *et al.* (2023) ที่ใช้ฟอสโฟลิพิดและเลซิทีนมาสังเคราะห์อนุภาคไลโปโซมเพื่อกักเก็บแลคโตเฟอริน (Lactoferrin) และกักเก็บของเหลวที่สกัดได้จาก *Allolobophora caliginosa* ตามลำดับ ซึ่งพบว่าอนุภาคไลโปโซมที่ได้มีการจัดเรียงตัวของฟอสโฟลิพิดที่เป็นระเบียบ มีความเสถียรภาพที่ดี ไม่เกาะกลุ่มและรวมตัวกันตกตะกอนได้ง่าย

**Figure 6** Morphological of liposome particles**Table 3** Changes in particle size and z-potential of liposome particles over a period of 12 weeks

| Physical properties | Weeks                     |                           |                           |                           |                           |                           |                           |
|---------------------|---------------------------|---------------------------|---------------------------|---------------------------|---------------------------|---------------------------|---------------------------|
|                     | 0                         | 2                         | 4                         | 6                         | 8                         | 10                        | 12                        |
| Particle size (nm)  | 524.40±16.15 <sup>a</sup> | 519.06±26.40 <sup>a</sup> | 534.95±23.78 <sup>a</sup> | 548.40±16.15 <sup>a</sup> | 535.20±27.54 <sup>a</sup> | 604.70±32.75 <sup>b</sup> | 689.50±37.49 <sup>b</sup> |
| z-potential (mV)    | -58.73±0.15 <sup>a</sup>  | -56.24±2.16 <sup>a</sup>  | -51.35±1.48 <sup>b</sup>  | -48.11±1.37 <sup>c</sup>  | -43.27±1.32 <sup>d</sup>  | -33.52±2.05 <sup>e</sup>  | -26.19±1.81 <sup>f</sup>  |

Note: Physical property values in the same row followed by different letters (<sup>a-f</sup>) are significantly different ( $p < 0.05$ ). Each value in table is represented as means  $\pm$  SD (n=3)

### ความคงตัวของอนุภาคไลโปโซม

เมื่อนำอนุภาคไลโปโซมไปไว้ในที่อุณหภูมิ 4°C วัดขนาดอนุภาคและประจุบนผิวอนุภาคทุก 2 สัปดาห์ เป็นเวลาทั้งสิ้น 12 สัปดาห์ พบว่าอนุภาคไลโปโซมเริ่มมีขนาดที่เปลี่ยนแปลงอย่างชัดเจนตั้งแต่สัปดาห์ที่ 10 เป็นต้นไป (ในที่นี้คือขนาดใหญ่ขึ้น) (Table 3) ในขณะที่ประจุบนผิวอนุภาคเริ่มเปลี่ยนแปลงอย่างมีนัยสำคัญตั้งแต่สัปดาห์ที่ 4 (Table 3) แต่ในสัปดาห์ที่ 8 อนุภาคไลโปโซมยังมีค่าประจุบนผิวอนุภาคสูงกว่า  $\pm 30$  มิลลิโวลต์ แสดงให้เห็นว่าอนุภาคไลโปโซมที่ได้มีเสถียรภาพที่ดีไม่จับกลุ่มกันตกตะกอนแม้ว่าจะผ่านไปถึง 8 สัปดาห์

### สรุปผลการทดลอง

ฟอสโฟลิพิดที่เป็นองค์ประกอบหลักในน้ำมันเมล็ดยางพาราสายพันธุ์ RRIM 600 คือฟอสฟาติดีลโคลีนและฟอสฟาติดีลเอทานอลามีน สามารถนำฟอสโฟลิพิดที่ได้ไปเป็น

สารตั้งต้นเพื่อสังเคราะห์อนุภาคไลโปโซมทำให้ได้อนุภาคไลโปโซมที่มีขนาด 524-644 นาโนเมตร อนุภาคไลโปโซมที่ได้มีการกระจายตัวของขนาดอนุภาคระหว่าง 0.33 ถึง 0.46 มีค่าประจุบนผิวอนุภาคไลโปโซม -33 ถึง -58 มิลลิโวลต์ และอนุภาคไลโปโซมที่สังเคราะห์ได้มีความคงตัวสูงสุดที่เวลา 8 สัปดาห์ โดยอนุภาคไลโปโซมที่ได้สามารถนำไปต่อยอดเพื่อประยุกต์ใช้ในรูปแบบอื่นๆ ได้อีกในอนาคต เช่น เป็นตัวนำส่งหรือตัวกักเก็บสารสำคัญซึ่งจะเป็นการเพิ่มมูลค่าให้กับเมล็ดยางพาราสายพันธุ์ RRIM 600 ที่เป็นวัตถุดิบเหลือทิ้งจากอุตสาหกรรมยาง

### ข้อเสนอแนะ

ในการสังเคราะห์อนุภาคไลโปโซมอาจใช้วิธีอื่น เช่น วิธีอัลตราซาวนด์ วิธีปั่นผสมเป็นเนื้อเดียวกันด้วยความดันสูง วิธีอัลตร้าผ่านแผ่นกรอง วิธีฉีดด้วยตัวทำละลายหรือวิธีทินฟิล์มไฮดรอนเพื่อให้อนุภาคไลโปโซมที่มีขนาดเล็กในระดับนาโน

ควรศึกษาถึงประสิทธิภาพในการกักเก็บสารสำคัญไว้ภายในอนุภาคไลโปโซมและประสิทธิภาพในการปลดปล่อยสารสำคัญออกจากอนุภาคไลโปโซม

ในการศึกษาสัณฐานวิทยาของอนุภาคไลโปโซมเพื่อให้ได้ลักษณะของอนุภาคไลโปโซมที่ชัดเจนยิ่งขึ้นอาจต้องนำอนุภาคไลโปโซมไปศึกษาด้วยกล้องจุลทรรศน์อิเล็กตรอนแบบส่องผ่านชนิดเย็นจัด (Cryo-TEM)

ในการศึกษาความคงตัวของอนุภาคไลโปโซมควรเพิ่มสภาวะในการศึกษาอื่นๆ เช่น สภาวะที่มีค่าความเป็นกรด-ด่างแตกต่างกันหรืออุณหภูมิที่แตกต่างกัน

### กิตติกรรมประกาศ

งานวิจัยนี้ได้รับทุนสนับสนุนจากสำนักงานคณะกรรมการส่งเสริมวิทยาศาสตร์ วิจัยและนวัตกรรม ประเภท Fundamental Fund ประจำปีงบประมาณ พ.ศ. 2565 (รหัสข้อเสนอการวิจัย 65A152000001 รหัสโครงการ 172523) โดยสถาบันวิจัยและพัฒนา มหาวิทยาลัยราชภัฏเลย ผู้เขียนขอขอบคุณสาขาวิชาเคมี คณะวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยี มหาวิทยาลัยราชภัฏเลย ที่ให้การสนับสนุนสารเคมี อุปกรณ์เครื่องมือและสถานที่ในการทำวิจัย และขอขอบคุณศูนย์เครื่องมือวิจัย มหาวิทยาลัยขอนแก่นที่ให้ความอนุเคราะห์ในการใช้เครื่องวัดขนาดอนุภาคและประจุบนผิวอนุภาครวมถึงกล้องจุลทรรศน์อิเล็กตรอนแบบส่องผ่านชนิด Field-Emission

### เอกสารอ้างอิง

Akbarzadeh, A., Rezaei-Sadabady, R., Davaran, S., Joo, S. W., Zarghami, N., Hanifepour, Y., Samiei, M., Kouhi, M., & Nejati-Koshki, K. (2013). Liposome: classification, preparation, and applications. *Nanoscale Research Letters*, 8(1), 1–9. <https://doi.org/10.1186/1556-276X-8-102>

Ang, S. S., Thoo, Y. Y., & Siow, L. F. (2023). Encapsulation of hydrophobic apigenin into small unilamellar liposomes coated with chitosan through ethanol injection and spray drying. *Food Bioprocess Technology*, 16(6), 1–16. <https://doi.org/10.1007/s11947-023-03140-y>

Azucena, G. G., Saifuddin, S., Kenji, M., & Zeinab, H. (2019). Liposomal nanovesicles for efficient encapsulation of staphylococcal antibiotics. *ACS Omega*, 4(1), 10866–10876. <https://doi.org/10.1021/acsomega.9b00825>

Danaei, M., Dehghankhold, M., Ataei, S., Hasanzadeh Davarani, F., Javanmard, R., Dokhani, A., Khorasani, S., & Mozafari, M. R. (2018). Impact of particle size and polydispersity index on the clinical applications of lipidic nanocarrier systems. *Pharmaceutics*, 10(2), 57. <https://doi.org/10.3390/pharmaceutics10020057>

Estevinho, B. N., Damas, A. M., Martins, P., & Rocha, F. (2014). The influence of microencapsulation with a modified chitosan (water soluble) on  $\beta$ -galactosidase activity. *Drying Technology*, 32(13), 1575–1586. <https://doi.org/10.1080/07373937.2014.909843>

Farouk, A. E., Fahmy, S. R., & Soliman, A. M. (2023). A nano-liposomal formulation potentiates antioxidant, anti-inflammatory, and fibrinolytic activities of *Allopolophora caliginosa* coelomic fluid: Formulation and characterization. *BMC Biotechnology*, 23, 28. <https://doi.org/10.1186/s12896-023-00795-5>

Fotini, M., Sophia, H., Kostas, D., Dimitrios, K., & Costas, D. (2004). Liposome formulation from phospholipids of Greek almond oil, properties, and biological activity. *Zeitschrift für Naturforschung C*, 59(3–4), 330–334. <https://doi.org/10.1515/znc-2004-5-607>

Hoogevest, V. P., & Wendel, A. (2014). The use of natural and synthetic phospholipids as pharmaceutical excipients. *European Journal of Lipid Science and Technology*, 116(9), 1088–1107. <https://doi.org/10.1002/ejlt.201400219>

Kittigowittana, K., Wongsakul, S., Krisdaphong, P., Jimtaisong, A., & Saewan, N. (2013). Fatty acid composition and biological activities of seed oil from rubber (*Hevea brasiliensis*) cultivar RRIM 600. *International Journal of Applied Research in Natural Products*, 6(2), 1–7.

Liu, W., Ye, A., Liu, W., Liu, C., & Singh, H. (2013). Stability during in vitro digestion of lactoferrin-loaded liposomes prepared from milk fat globule membrane derived phospholipids. *Journal of Dairy Science*, 96(4), 2061–2070. <https://doi.org/10.3168/jds.2012-6072>

Lourith, N. (2013). *Biological activities and essential fatty acids in cosmetics in rubber seed of RRIM 600 cultivar*. Thailand Science Research and Innovation.

- Lourith, N., Kanlayavattanukul, M., Sucontphunt, A., & Ondee, T. (2014). Para rubber seed oil: New promising unconventional oil for cosmetics. *Journal of Oleo Science*, 63(7), 709–716. <https://doi.org/10.5650/jos.ess14015>
- Madene, A., Jacquot, M., Scher, J., & Desobry, S. (2006). Flavor encapsulation and controlled release—a review. *International Journal of Food Science & Technology*, 41(1), 1–21. <https://doi.org/10.1111/j.1365-2621.2005.00980.x>
- Mozafari, M. R., Johnson, C., Hatziantoniou, S., & Demetzos, C. (2008). Nanoliposomes and their applications in food nanotechnology. *Journal of Liposome Research*, 18(4), 309–327. <https://doi.org/10.1080/08982100802465941>
- Németh, Z., Csóka, I., Semnani Jazani, R., Sipos, B., Haspel, H., Kozma, G., Kónya, Z., & Dobó, D. G. (2022). Quality by design-driven zeta potential optimization study of liposomes with charge imparting membrane additives. *Pharmaceutics*, 14(9), 1798. <https://doi.org/10.3390/pharmaceutics14091798>
- Raknam, P., Pinsuwan, S., & Amnuaikit, T. (2020). Rubber seed cleansing oil formulation and its efficacy of makeup remover. *International Journal of Pharmaceutical Sciences and Research*, 11(1), 146–155. [https://doi.org/10.13040/IJPSR.0975-8232.11\(1\).146-55](https://doi.org/10.13040/IJPSR.0975-8232.11(1).146-55)
- Rehman, S., Welter, D., Wildenauer, D., & Ackenheil, M. (2017). Simple and rapid separation and determination of phospholipid by HPLC-UV system. *Annals of Pharmacy and Pharmacology*, 6, 1–3.
- Schmidt, C., & Lamprecht, A. (2009). *Nanocarriers in drug delivery: Design, manufacture and physicochemical properties*. Pan Stanford Publishing.
- Srinuan, C., Kritsunankul, O., & Singanusong, R. (2020). *Effect of extraction conditions on lecithin from rice bran gum and soybean gum*. In Proceedings of RSU International Research Conference (pp. 588–595). Rangsit University.
- Šturm, L., & Poklar Ulrih, N. (2021). Basic methods for preparation of liposomes and studying their interactions with different compounds, with the emphasis on polyphenols. *International Journal of Molecular Sciences*, 22(12), 6547. <https://doi.org/10.3390/ijms22126547>
- Terron-Mejia, A. K., Martinez-Benavidez, E., Higuera-Ciapara, I., Virues, C., Hernandez, J., & Dominguez, Z. (2018). Mesoscopic modeling of the encapsulation of capsaicin by lecithin/chitosan liposome nanoparticles. *Nanomaterials*, 8(6), 425. <https://doi.org/10.3390/nano8060425>
- Venugaranti, V. V., & Perumal, O. P. (2009). *Nanosystems for dermal and transdermal drug delivery*. Informa Healthcare USA.
- Wendel, A., & Hoogevest, V. P. (2014). The use of natural and synthetic phospholipids as pharmaceutical excipients. *European Journal of Lipid Science and Technology*, 116(9), 1088–1107. <https://doi.org/10.1002/ejlt.201400219>

# ฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระของสารสกัดผลมะม่วงหาวมะนาวโห่ (*Carissa carandas* Linn.) และการประยุกต์ใช้ในผลิตภัณฑ์สบู่เหลว

## Antioxidant activity of *Carissa carandas* Linn. fruit extract and its application in a liquid soap product

สุธิดา กรรณสูตร<sup>1\*</sup> และ เวธกา เช้าเจริญ<sup>1</sup>

Suthida Kunasut, <sup>1\*</sup> and Wethaka Chaochareon<sup>1</sup>

Received: 3 October 2024 ; Revised: 20 September 2024 ; Accepted: 12 December 2024

### บทคัดย่อ

มะม่วงหาวมะนาวโห่เป็นพืชที่มีสรรพคุณทางยา สารสกัดจากผลและใบของพืชชนิดนี้มีสารออกฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระที่มีประสิทธิภาพสูง การวิจัยนี้มีวัตถุประสงค์เพื่อศึกษาฤทธิ์การต้านอนุมูลอิสระของสารสกัดของผลมะม่วงหาวมะนาวโห่ ฤทธิ์การยับยั้งการทำงานของเอนไซม์ไทโรซิเนส และพัฒนาสูตรสบู่เหลวจากสารสกัดของผลมะม่วงหาวมะนาวโห่ตามมาตรฐาน มอก.เอส 14-2562 ผลการวิจัยพบว่า สารสกัดจากผลมะม่วงหาวมะนาวโห่ด้วยเอทานอล 95% มีลักษณะข้นหนืด มีสีแดงเข้ม และมีกลิ่นคล้ายน้ำตาลไหม้ มีผลได้ร้อยละเท่ากับ 21.80 โดยมวล การทดสอบฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระของสารสกัดมะม่วงหาวมะนาวโห่ด้วยวิธี DPPH เทียบกับวิตามินซีมาตรฐาน มีค่า IC<sub>50</sub> เท่ากับ 14.24 ± 0.03 mg/mL และทดสอบฤทธิ์การยับยั้งการทำงานของเอนไซม์ไทโรซิเนสด้วยวิธี Modified Dopachrome พบว่ามีค่า IC<sub>50</sub> เท่ากับ 14.37 ± 0.05 mg/mL เมื่อนำไปพัฒนาผลิตภัณฑ์สบู่เหลวจากสารสกัดผลมะม่วงหาวมะนาวโห่และทดสอบคุณสมบัติทางเคมีของสบู่เหลวจากสารสกัดผลมะม่วงหาวมะนาวโห่ พบว่า มีปริมาณไขมันทั้งหมดร้อยละ 15.40 โดยมวล มีความเป็นกรด – ด่าง 4.5 ไม่พบค่าต่างอิสระที่มีปริมาณของสารที่ไม่มีละลายในเอทานอลลร้อยละ 0.45 โดยมวล ซึ่งผ่านเกณฑ์มาตรฐาน มอก.เอส 14-2562 สารต้านอนุมูลอิสระจากผลมะม่วงหาวมะนาวโห่เป็นงานที่น่าสนใจอย่างมาก เนื่องจากผลมะม่วงหาวมะนาวโห่มีคุณสมบัติที่มีประโยชน์ต่อสุขภาพผิวและมีสารสกัดที่มีฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระที่สามารถใช้ในผลิตภัณฑ์เสริมอาหารและเครื่องสำอางได้

**คำสำคัญ:** มะม่วงหาวมะนาวโห่, อนุมูลอิสระ, เอนไซม์ไทโรซิเนส สบู่เหลว

### Abstract

*Carissa carandas* Linn. is a plant that has medicinal properties. Extracts from the fruit and leaves of this plant contain antioxidant active substances with high efficiency. The objectives of this research were to study the antioxidant activity of extracts of *C. carandas* L. fruit, investigate the effect of inhibiting the activity of the enzyme tyrosinase, and develop a liquid soap formula from extracts of *C. carandas* L. fruit tested according to TIS standards 14–2019. The research results found that *C. carandas* L. fruit extract made from 95% ethanol has a viscous consistency. It has a dark red color and smells like burnt sugar. It has a yield of 21.80% by mass. Testing the antioxidant activity of *C. carandas* L. extract using the DPPH method compared to standard vitamin C. It has an IC<sub>50</sub> value equal to 14.24 ± 0.03 mg/mL and tested the effect of inhibiting the activity of the tyrosinase enzyme using the modified dopachrome method. It was found that the inhibition value of the tyrosinase enzyme of the *C. carandas* L. extract was 50%, equal to 14.37 ± 0.05 mg/mL. When used to develop a liquid soap product from *C. carandas* L. fruit extract and test the chemical properties of the liquid soap from *C. carandas* L. fruit extract, it was found that it has a total fat content of

<sup>1</sup> สาขาวิชาเคมี คณะวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยี มหาวิทยาลัยราชภัฏเพชรบุรี

<sup>1</sup> Department of Chemistry, Faculty of science and technology, Phetchaburi Rajabhat University

\* Corresponding author; e-mail suthida.tho@mail.pbru.ac.th

15.40 percent by mass. It has an acidity-alkalinity of 4.5. No free alkalinity was found. There is an amount of substances that are not soluble in ethanol of 0.45 percent by mass, which passes the TIS 14-2019 standard criteria. Antioxidants from *C. carandas* L. fruit are very interesting because the *C. carandas* L. fruit has properties that are beneficial to skin health and contains extracts that have antioxidant effects that can be used in dietary supplements and cosmetics.

**Keywords:** *Carissa carandas* Linn., free radicals, tyrosinase, liquid soap

## บทนำ

มะม่วงหาวมะนาวโห่ (*Carissa carandas* Linn.) เป็นผลไม้พื้นบ้านที่มีสรรพคุณทางยาหลากหลาย อุดมไปด้วยวิตามินซี ช่วยเสริมสร้างภูมิคุ้มกันและต้านอนุมูลอิสระมีสรรพคุณช่วยบำรุงหัวใจ ลดความดันโลหิต ลดไขมันในเลือด แก้อาการท้องเสีย ทั้งยังช่วยบรรเทาอาการของโรคเบาหวาน โรคเกาต์และปวดข้อ ผลของมะม่วงหาวมะนาวโห่สามารถนำไปทำเป็นยาหรือผลิตภัณฑ์เสริมอาหารในรูปแบบต่าง ๆ เช่น แยม น้ำหมัก หรือรับประทานสด (สมชาย มูลเจริญ, 2550) จากการศึกษาทางวิจัยเกี่ยวกับมะม่วงหาวมะนาวโห่ พบว่า สารสกัดจากผลและใบของพืชชนิดนี้มีสารออกฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระที่มีประสิทธิภาพสูง สารสำคัญที่พบมาก ได้แก่ ฟลาโวนอยด์ (flavonoids) และฟีนอลิก (phenolic compounds) (พัชรภรณ์ ปัญญาวรรณ, 2563) ซึ่งช่วยลดความเสี่ยงในการเกิดโรคที่เกี่ยวข้องกับความเสื่อมของเซลล์ เช่น โรคเมอเร็ง โรคหัวใจ และโรคเบาหวาน งานวิจัยยังระบุว่ามะม่วงหาวมะนาวโห่มีค่า ORAC (Oxygen Radical Absorbance Capacity) สูง ซึ่งบ่งชี้ถึงความสามารถในการต้านอนุมูลอิสระ โดยเฉพาะสารแอนโทไซยานิน (anthocyanin) ที่ช่วยลดการอักเสบและปกป้องเซลล์จากความเสียหาย (Mahale & Pathade, 2013; Prabhakar *et al.*, 2011) เอนไซม์ไทโรซิเนส (Tyrosinase) เป็นเอนไซม์ที่มีบทบาทสำคัญในการสังเคราะห์เมลานิน ซึ่งเป็นสารที่กำหนดสีผิว สีผม และสีตาในมนุษย์และสัตว์ กระบวนการนี้เริ่มจากการเปลี่ยนแปลงกรดอะมิโนไทโรซีนเป็น DOPA และจากนั้นเป็น DOPAquinone ซึ่งนำไปสู่การสร้างเมลานิน ไทโรซิเนสเป็นตัวเร่งปฏิกิริยาในขั้นตอนนี้ การทำงานของไทโรซิเนสที่มากเกินไปอาจทำให้เกิดความผิดปกติทางเม็ดสี เช่น ฝ้าและกระ การยับยั้งไทโรซิเนสจึงเป็นหัวใจสำคัญในผลิตภัณฑ์บำรุงผิวและการรักษาภาวะสีผิวที่ไม่สม่ำเสมอ นอกจากนี้ยังมีการใช้งานในอุตสาหกรรมอาหาร เพื่อป้องกันการเกิดสีน้ำตาลในผลไม้และผักบางชนิดที่เกิดจากปฏิกิริยาออกซิเดชันของเอนไซม์นี้

การยับยั้งการทำงานของเอนไซม์ไทโรซิเนสเป็นหัวข้อที่มีการศึกษาอย่างกว้างขวาง เนื่องจากเอนไซม์นี้มีบทบาทสำคัญในการสร้างเมลานินและความเกี่ยวข้องกับโรค

ที่เกี่ยวกับเม็ดสีผิว เช่น ฝ้า กระ และภาวะผิวแห้งเมลานินรวมถึงการป้องกันการเกิดสีน้ำตาลในอาหาร นอกจากนี้ยังมีการค้นคว้าเพื่อพัฒนาไทโรซิเนสอินฮิบิเตอร์สำหรับใช้ในเครื่องสำอางและผลิตภัณฑ์อาหาร โดยสารที่พบว่ามีศักยภาพในการยับยั้งเอนไซม์นี้ประกอบด้วย 1) Hydroquinone เป็นสารยับยั้งที่มีประสิทธิภาพสูงในการลดการสร้างเมลานิน แต่มีความเสี่ยงต่อการเกิดผลข้างเคียง จึงต้องใช้อย่างระมัดระวัง 2) Kojic Acid เป็นสารที่สกัดจากเชื้อรา ใช้แพร่หลายในผลิตภัณฑ์ความงามเนื่องจากมีความปลอดภัยและมีประสิทธิภาพ 3) Arbutin สารที่สกัดจากพืช ซึ่งมีฤทธิ์ยับยั้งเอนไซม์ไทโรซิเนสเช่นกัน แต่ปลอดภัยกว่าไฮโดรควิโนน (Di Petrillo *et al.*, 2016)

สบู่เป็นผลิตภัณฑ์ที่มีความสำคัญอย่างมากในชีวิตประจำวันของมนุษย์ ไม่เพียงแต่สำหรับการรักษาความสะอาดและสุขอนามัย แต่ยังมีความสำคัญในการป้องกันโรคและส่งเสริมสุขภาพทั่วไป ดังนี้ 1) การรักษาความสะอาด สบู่ช่วยล้างสิ่งสกปรกและน้ำมันส่วนเกินออกจากผิวหน้า ซึ่งเป็นปัจจัยสำคัญในการรักษาความสะอาดส่วนบุคคล 2) ป้องกันการติดเชื้อ การล้างมือด้วยสบู่เป็นวิธีที่มีประสิทธิภาพในการฆ่าเชื้อแบคทีเรียและไวรัสที่อาจทำให้เกิดโรค การใช้สบู่จึงช่วยลดความเสี่ยงของการติดเชื้อและการแพร่กระจายของโรค 3) สุขอนามัยส่วนบุคคล การอาบน้ำด้วยสบู่ช่วยขจัดเหงื่อ กลิ่นตัว และสิ่งสกปรกที่สะสมอยู่บนผิวหนัง ช่วยให้ร่างกายสดชื่นและมีความสะอาด 4) ความสวยงามและการดูแลผิวพรรณ สบู่บางชนิดมีส่วนผสมที่ช่วยบำรุงผิวพรรณ เช่น มอยส์เจอไรเซอร์ วิตามิน และสารสกัดจากธรรมชาติ ซึ่งช่วยให้ผิวนุ่มนวลและมีสุขภาพดี 5) สุขอนามัยทางสังคม ในบริบทของสังคม การรักษาความสะอาดส่วนบุคคลโดยใช้สบู่เป็นการแสดงความรับผิดชอบต่อสุขอนามัยของตนเองและผู้อื่น ลดการแพร่กระจายของเชื้อโรคในชุมชน 6) ประโยชน์ด้านจิตใจ การอาบน้ำด้วยสบู่หอมสามารถช่วยผ่อนคลายความเครียดและความเหนื่อยล้า ทำให้รู้สึกสดชื่นและมีพลังในการดำเนินชีวิตประจำวัน ดังนั้น สบู่จึงเป็นผลิตภัณฑ์ที่มีบทบาทสำคัญในการส่งเสริมสุขภาพอนามัยและคุณภาพชีวิตของคนในทุกช่วงวัย (Centers for Disease Control and Prevention, 2020;

World Health Organization, 2020) การนำผลของมะม่วงหาวมะนาวโห่มาผลิตเป็นสบู่เหลวนั้นมีความน่าสนใจและมีคุณประโยชน์หลายประการ ดังนี้ คือ 1) สารสกัดจากผล *C. carandas* L. มีฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระที่สามารถช่วยปกป้องผิวหน้จากการเสื่อมสภาพที่เกิดจากอนุมูลอิสระได้ซึ่งเป็นปัจจัยที่สำคัญในการรักษาความสุขของผิวหน้ 2) สบู่เหลวนี้นมีคุณสมบัติที่ช่วยทำให้ผิวหน้ชุ่มชื้น ทำให้ผิวหน้ดูสุขภาพดี 3) เป็นการนำสารสกัดจากพืชธรรมชาติช่วยให้ผลิตภัณฑ์มีคุณภาพและปลอดภัยต่อผิวหน้ ด้วยคุณสมบัติเหล่านี้ การนำผล *C. carandas* L. มาผลิตเป็นสบู่เหลวเป็นทางเลือกที่ดีอีกทางหน้ในการดูแลและปกป้องผิวหน้

งานวิจัยนี้ผู้วิจัยจึงมีวัตถุประสงค์ในการพัฒนาสูตรสบู่เหลวจากผลของสารสกัดมะม่วงหาวมะนาวโห่ด้วยเหตุผลดังที่กล่าวมาแล้วข้างต้นและเพื่อให้สบู่เหลวที่พัฒนาขึ้นมีคุณสมบัติทางเคมีเป็นไปตาม มาตรฐานมอก. เอส 14 – 2562 (มาตรฐานผลิตภัณฑ์อุตสาหกรรมเอส, 2562) ต่อไป

## วิธีดำเนินการวิจัย

### 1. การสกัดสารสำคัญจากผลมะม่วงหาวมะนาวโห่และการศึกษาฤทธิ์การต้านอนุมูลอิสระ

1.1 การเตรียมตัวอย่างผลมะม่วงหาวมะนาวโห่และการสกัด นำผลมะม่วงหาวมะนาวโห่ที่มีจำหน่ายในตลาดจังหวัดเพชรบุรีที่มีสีม่วงมาปอกเปลือกและนำเมล็ดออก นำส่วนเนื้อมาห่อด้วยผ้าขาวบางและนำไปแช่หมักใน 95% เอทานอล อัตราส่วน 1 : 1 โดยน้ำหนักต่อปริมาตร ในภาชนะปิดทิ้งไว้เป็นเวลา 3 วัน จากนั้นกรองแยกส่วนกากเนื้อและเก็บส่วนของตัวทำละลายไว้ จากนั้นนำกากเนื้อผลมะม่วงหาวมะนาวโห่ที่สกัดแล้วแช่ในเอทานอลซ้ำในอัตราส่วนเดิมเป็นเวลา 3 วัน ทำซ้ำอีก 2 ครั้ง จากนั้นนำสารสกัดที่ได้มาระเหยให้แห้งด้วยเครื่องกลั่นระเหยสารแบบหมุน (rotary evaporator) จนแห้งจะได้สารสกัดเอทานอลของมะม่วงหาวมะนาวโห่และนำไปใช้ในการศึกษาฤทธิ์การต้านอนุมูลอิสระในขั้นตอนต่อไป

1.2 การศึกษาฤทธิ์การต้านอนุมูลอิสระของสารสกัดจากผลมะม่วงหาวมะนาวโห่ ด้วยวิธี DPPH Assay นำสารละลาย DPPH ความเข้มข้น 0.10 mM มาวัดค่าการดูดกลืนแสงโดยใช้เครื่อง UV-Visible Spectroscopy ที่ความยาวคลื่น 400 – 800 nm เพื่อหาค่าความยาวคลื่นที่สารละลาย DPPH สามารถดูดกลืนแสงได้ดีที่สุด ( $\lambda_{max}$ ) เตรียมสารละลายตัวอย่างทั้งหมดและวิตามินซีที่มีความเข้มข้น 1000 ppm (stock solution) ใน methanol เตรียมสารละลายตัวอย่างทั้งหมดและวิตามินซีจาก stock solution ที่มีความเข้มข้น 1 10 50 100 และ 500 ppm ใน methanol ปิเปตสารละลายแต่ละความเข้มข้น

ใส่ในหลอดทดลองหลอดละ 1.60 mL และสารละลาย DPPH 2.40 mL โดยทำการทดลอง 3 ซ้ำ เขย่าให้เข้ากันแล้วตั้งทิ้งไว้ในที่มืดเป็นเวลา 30 นาที จากนั้นนำสารละลายมาวัดค่าการดูดกลืนแสงด้วยเครื่อง UV-VIS spectrophotometer ที่ความคลื่น 516 nm แล้วนำไปคำนวณเปอร์เซ็นต์การยับยั้งอนุมูลอิสระ (% inhibition) ดังสมการ

$$\% \text{ inhibition} = \frac{(A_{\text{control}} - A_{\text{sample}})}{A_{\text{control}}} \times 100$$

โดย A sample คือ ค่าการดูดกลืนแสงของสารตัวอย่าง

A control คือ ค่าการดูดกลืนแสงของสารมาตรฐาน

จากนั้น สร้างกราฟความสัมพันธ์ระหว่างความเข้มข้นต่าง ๆ ของสารสกัดกับ % inhibition และคำนวณหาค่าความเข้มข้นของสารสกัดที่สามารถยับยั้งอนุมูลอิสระ (DPPH) ได้ 50% ( $IC_{50}$ )

### 2. การศึกษาฤทธิ์การยับยั้งการทำงานของเอนไซม์ไทโรซิเนส

นำสารละลาย Tyrosinase ความเข้มข้น 314.8 unit/mL มาวัดค่าการดูดกลืนแสงโดยใช้เครื่อง UV-VIS spectroscopy ที่ความยาวคลื่น 400-800 nm และเตรียมสารละลายบัฟเฟอร์ 0.02 M Sodium Phosphate Buffer (pH 6.8) โดยชั่ง  $Na_2HPO_4 \cdot 2H_2O$  1.76 g และ  $NaH_2PO_4 \cdot H_2O$  0.69 g ละลายด้วยน้ำกลั่นและปรับปริมาตรเป็น 1000.00 mL โดยปรับค่า pH ให้ได้ 6.8 จากนั้น เตรียมสารละลายตัวอย่างและวิตามินซีให้มีความเข้มข้น 0.01 0.05 0.1 0.5 และ 1 mg/mL ใน methanol และเตรียมสารละลาย L-DOPA (L-3,4 dihydroxyphenylalanine) เข้มข้น 0.34 mM

จากนั้น นำสารละลายตัวอย่างที่มีความเข้มข้นต่าง ๆ กันมาทดสอบฤทธิ์ยับยั้งการทำงานของเอนไซม์ไทโรซิเนส ด้วยวิธี Dopachrome method โดยใช้สารละลายวิตามินซีเป็นสารละลายมาตรฐาน โดยดำเนินการ ดังนี้ เติมสารละลาย control (สารละลายเอนไซม์ไทโรซิเนส 500  $\mu$ L Sodium Phosphate Buffer 0.02 M (pH 6.8) 1500  $\mu$ L และ Methanol 500  $\mu$ L และ สารตัวอย่าง (สารละลายเอนไซม์ไทโรซิเนส 500  $\mu$ L Sodium Phosphate Buffer 0.02 M (pH 6.8) 1500  $\mu$ L และสารละลายตัวอย่างหรือสารละลายมาตรฐาน 500  $\mu$ L) แยกกันลงในขวดปรับปริมาตรขนาด 5.00 mL เขย่าให้สารละลายผสมกันบ่มที่อุณหภูมิ 25 °C นาน 10 นาที จากนั้น

เติมสารละลาย L-DOPA 500  $\mu$ L ลงในแต่ละขวดปรับปริมาตรด้วย methanol เขย่าและวัดค่าการดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 495 nm จากนั้นบ่มที่อุณหภูมิ 25 °C ต่ออีก 2 นาที แล้ววัดค่าการดูดกลืนแสงอีกครั้งที่ความยาวคลื่นเดิม (ทำซ้ำ 3 ครั้ง) คำนวณหาเปอร์เซ็นต์การยับยั้งการทำงานของเอนไซม์ไทโรซิเนส (%inhibition) ดังสมการ

$$\% \text{ inhibition} = \frac{(A_{\text{control}} - A_{\text{sample}})}{A_{\text{control}}} \times 100$$

โดย A sample คือ ค่าการดูดกลืนแสงของสารตัวอย่าง

A control คือ ค่าการดูดกลืนแสงของสารมาตรฐาน

สร้างกราฟความสัมพันธ์ระหว่างความเข้มข้นต่างๆของสารสกัดกับ % inhibition เพื่อคำนวณค่าความเข้มข้นของสารสกัดที่สามารถยับยั้งเอนไซม์ไทโรซิเนสได้ 50% ( $IC_{50}$ )

### 3. การพัฒนาสูตรสบู่เหลวจากสารสกัดมะม่วงหาวมะนาวโห่และการทดสอบคุณสมบัติทางกายภาพและเคมีของสบู่เหลว

วัตถุดิบหลักที่ใช้ในการผลิตสบู่เหลวประกอบด้วย 1) sodium laureth sulfate หรือ N70 2) cocamidopropyl betaine 3) glycerin 4) น้ำสะอาด 5) สารกันเสีย และ 6) น้ำหอม โดยผู้วิจัยได้พัฒนาสูตรสบู่โดยใช้ข้อมูลจากการศึกษาฤทธิ์การต้านอนุมูลอิสระและฤทธิ์การยับยั้งการทำงานของเอนไซม์ไทโรซิเนส โดยมีวิธีในการผลิตสบู่ดังนี้ ชั่งน้ำหนัก N70, cocamidopropyl betaine, glycerin, สารสกัดธรรมชาติ และสารกันเสียให้เรียบร้อย ผสมส่วนประกอบน้ำ โดยเติมน้ำสะอาดลงในภาชนะผสมขนาดใหญ่ ค่อยๆ เติม N70 ลงในน้ำสะอาดทีละน้อย ขณะเติมควรคนเบาๆ เพื่อให้ N70 ละลายเข้ากับน้ำ เติมสารลดแรงตึงผิวรอง โดยเติม cocamidopropyl betaine ลงในส่วนผสมและคนให้เข้ากัน เติม glycerin และสารสกัดลงในส่วนผสมแล้วคนให้เข้ากัน เติมน้ำหอมและสารกันเสียลงในส่วนผสมและคนให้เข้ากัน ปรับความหนืด โดยเติมเกลือแกงทีละน้อย (ประมาณ 1-2%) โดยการละลายเกลือในน้ำกลั่นเล็กน้อยก่อน แล้วค่อยๆ เติมลงในส่วนผสมหลัก คนให้เข้ากันจนได้ความหนืดตามต้องการ (Barel *et al.*, 2014) จากนั้นนำสบู่เหลวที่พัฒนาขึ้นทดสอบคุณสมบัติทางกายภาพและคุณสมบัติทางเคมีอ้างอิงตามมาตรฐานผลิตภัณฑ์ มอก. เอส 14 – 2562 (มาตรฐานผลิตภัณฑ์อุตสาหกรรมเอส, 2562) ประกอบด้วย ค่าความเป็นกรด - ด่างทดสอบโดยใช้เครื่องมือ

วัดความเป็นกรด-ด่าง ปริมาณไขมันทั้งหมดตามวิธี ISO 685 ปริมาณต่างอิสระทดสอบโดยการไทเทรตด้วยสารละลายกรดไฮโดรคลอริกและสารที่ไม่ละลายในเอทานอลตามวิธี ISO 673 รายละเอียดของวิธีการทดสอบคุณสมบัติทางเคมีดังแสดงใน Table 1

**Table 1** Chemical characteristics of herbal liquid soap according to TIS 14 – 2019 standards

| Order | Chemical characteristics                             | Criteria |
|-------|------------------------------------------------------|----------|
| 1     | Total fat (%w/w) not less than                       | 12       |
| 2     | Acidity - Alkalinity                                 | 4 – 8    |
| 3     | Free alkali (%w/w calculated as NaOH) not more than  | 0.05     |
| 4     | Substances insoluble in ethanol (%w/w) not less than | 2.0      |

### ผลการทดลองและอภิปรายผล

1. การสกัดสารสำคัญจากผลมะม่วงหาวมะนาวโห่และการศึกษาฤทธิ์การต้านอนุมูลอิสระ

1.1 การสกัดสารสำคัญจากผลมะม่วงหาวมะนาวโห่เมื่อนำผลมะม่วงหาวมะนาวโห่สุกที่ปอกเปลือกและนำมาเมล็ดออกแล้ว มาแช่หมักโดยใช้เอทานอลเป็นตัวทำละลาย สกัดเป็นระยะเวลา 3 วัน และทำซ้ำ 3 ครั้ง พบว่า สารสกัดที่ได้มีลักษณะขุ่นหนืด มีสีแดงเข้มและมีกลิ่นคล้ายน้ำตาลไหม้ ร้อยละของน้ำหนักสารสกัดหยาบ (% yield) เท่ากับ 21.80 สารสกัดเอทานอลของผลมะม่วงหาวมะนาวโห่แสดงดัง Figure 1



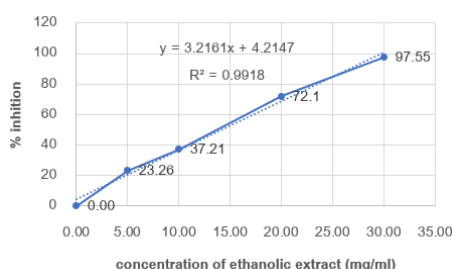
**Figure 1** Ethanolic extract of *Carissa carandas* Linn. fruits

1.2 ผลการศึกษาฤทธิ์การต้านอนุมูลอิสระของสารสกัดเอทานอลจากผลมะม่วงหาวมะนาวโห่ด้วยวิธี DPPH Assay ผลการศึกษาฤทธิ์การต้านอนุมูลอิสระของสารสกัดเอทานอลจากผลมะม่วงหาวมะนาวโห่ด้วยวิธี DPPH Assay (DPPH) เมื่อนำสารละลาย DPPH ความเข้มข้น 0.10 mM มาวัดค่าการดูดกลืนแสงโดยใช้เครื่อง UV-Visible spectrophotometer พบว่า มีค่าการดูดกลืนแสงสูงสุด ( $\lambda_{max}$ ) ที่ความยาวคลื่น 516 nm จากการทดสอบฤทธิ์การต้านอนุมูลอิสระของสารสกัดผลมะม่วงหาวมะนาวโห่ด้วยวิธี DPPH ผลการศึกษาแสดงดัง Table 2

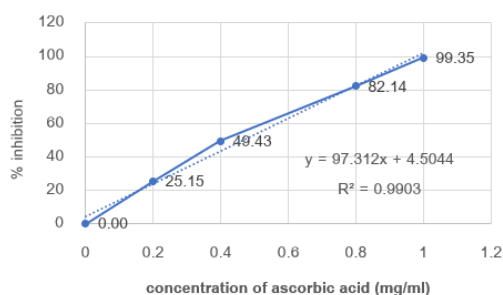
**Table 2** Results of testing the antioxidant activity of *Carissa carandas* Linn. fruits extract and standard using the DPPH method

| Substance                                                  | IC <sub>50</sub> (mg/mL) |
|------------------------------------------------------------|--------------------------|
| Ethanollic extract of <i>Carissa carandas</i> Linn. fruits | 14.24 ± 0.03             |
| Ascorbic acid                                              | 0.47 ± 0.01              |

จาก Table 2 พบว่า สารสกัดผลมะม่วงหาวมะนาวโห่มีค่าการยับยั้งอนุมูลอิสระได้ 50% เท่ากับ 14.24 ± 0.03 mg/mL และสารมาตรฐานวิตามินซีมีค่าการยับยั้งอนุมูลอิสระได้ 50% เท่ากับ 0.47 ± 0.01 mg/mL



**Figure 2** The graph shows the % free radical inhibition of ethanolic extracts



**Figure 3** The graph shows the % free radical inhibition of standard ascorbic acid

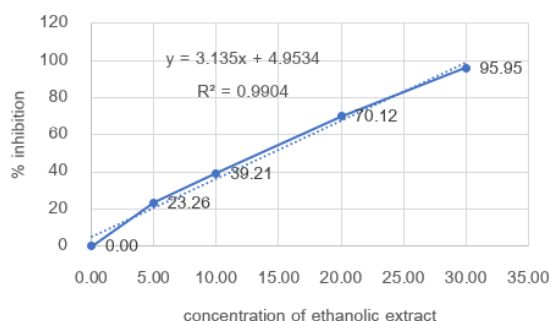
จากการศึกษาฤทธิ์การต้านอนุมูลอิสระของสารสกัดผลมะม่วงหาวมะนาวโห่ด้วยวิธี DPPH Assay นั้น พบว่า สารสกัดจากผลมะม่วงหาวมะนาวโห่มีค่า IC<sub>50</sub> เท่ากับ 14.03 mg/mL ซึ่งสอดคล้องกับการศึกษาของ สุขสวัสดิ์ พงษ์ทวีกุล และคณะ (2562) ศึกษาการยับยั้งอนุมูลอิสระของสารสกัดจากผล *Carissa carandas* L. ผลการวิจัยแสดงให้เห็นถึงประสิทธิภาพในการยับยั้งอนุมูลอิสระที่ดี เช่นเดียวกับกับ Mahale and Pathade (2013) และ Monika *et al.* (2024) ที่พบว่าสารสกัดจากมะม่วงหาวมะนาวโห่มีศักยภาพในการต้านอนุมูลอิสระอย่างมีนัยสำคัญ การที่ผลของมะม่วงหาวมะนาวโห่มีฤทธิ์ในการต้านอนุมูลอิสระนั้น เนื่องมาจากผลมะม่วงหาวมะนาวโห่มีสารสำคัญหลายชนิดที่มีคุณสมบัติต้านอนุมูลอิสระสูง สารเหล่านี้ช่วยในการจับอนุมูลอิสระและลดความเสียหายที่เกิดขึ้นจากปฏิกิริยาออกซิเดชันในร่างกาย เช่น วิตามินซี พอลิฟีนอล ฟลาโวนอยด์ แอนโทไซยานิน เป็นต้น ซึ่งสารเหล่านี้ช่วยในการลดปฏิกิริยาออกซิเดชันและป้องกันความเสียหายต่อเซลล์ (Monika *et al.*, 2024; Mahale & Pathade, 2013) จากผลการศึกษาค่า IC<sub>50</sub> ของสารสกัดจากผลมะม่วงหาวมะนาวโห่สูงกว่าวิตามินซีมาตรฐานอย่างมีนัยสำคัญ (14.24 มก./มล. เทียบกับ 0.47 มก./มล.) ซึ่งหมายความว่าสารสกัดจากผลมะม่วงหาวมะนาวโห่ต้องใช้ในความเข้มข้นที่สูงกว่าวิตามินซีเพื่อให้ได้ผลการยับยั้งอนุมูลอิสระที่เท่ากัน แม้ว่าสารสกัดจากผลมะม่วงหาวมะนาวโห่จะมีประสิทธิภาพในการยับยั้งอนุมูลอิสระน้อยกว่าวิตามินซี แต่การมีค่า IC<sub>50</sub> เท่ากับ 14.24 ± 0.03 mg/mL แสดงให้เห็นว่าสารสกัดนี้ยังมีศักยภาพในการเป็นสารต้านอนุมูลอิสระ ซึ่งมีประโยชน์ในด้านการพัฒนาเป็นผลิตภัณฑ์สุขภาพหรือเครื่องสำอาง สารสกัดจากผลมะม่วงหาวมะนาวโห่สามารถนำมาใช้ร่วมกับสารต้านอนุมูลอิสระอื่นๆ เพื่อเพิ่มประสิทธิภาพ

2. การศึกษาฤทธิ์การยับยั้งการทำงานของเอนไซม์ไทโรซิเนส นำสารละลาย Tyrosinase ความเข้มข้น 314.8 unit/mL มาวัดค่าการดูดกลืนแสงโดยใช้เครื่อง UV-Visible spectrophotometer พบว่า มีค่าการดูดกลืนแสงสูงสุด ( $\lambda_{max}$ ) ที่ความยาวคลื่น 495 nm จากการศึกษาศักยภาพการยับยั้งการทำงานของเอนไซม์ไทโรซิเนสของสารสกัดจากผลมะม่วงหาวมะนาวโห่ไปทดสอบฤทธิ์ยับยั้งเอนไซม์ไทโรซิเนสด้วยวิธี Modified Dopachrome เทียบกับวิตามินซีมาตรฐานและคำนวณหาความเข้มข้นของสารสกัดที่สามารถยับยั้งเอนไซม์ไทโรซิเนสได้ 50% (IC<sub>50</sub>) ผลแสดงดัง Table 3

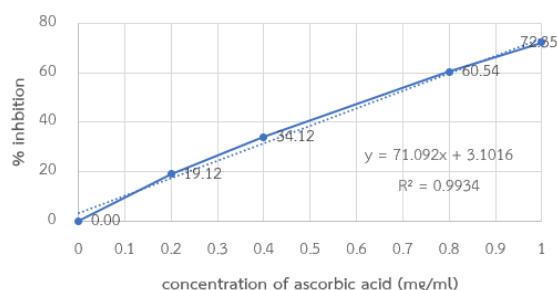
**Table 3** Results of the study on the tyrosinase-inhibiting activity of the extracts from the fruits of the mangosteen and the standard compounds using the modified dopachrome method

| สาร                                  | ค่า $IC_{50} \pm SD$ (mg/mL) |
|--------------------------------------|------------------------------|
| Mango and gooseberry ethanol extract | $14.37 \pm 0.05$             |
| Standard Vitamin C                   | $0.66 \pm 0.02$              |

จาก Table 3 พบว่า สารสกัดผลมะม่วงหาวมะนาวโห่มีค่าการยับยั้งการทำงานของเอนไซม์ไทโรซิเนสได้ 50% เท่ากับ  $14.37 \pm 0.05$  mg/mL และสารมาตรฐานวิตามินซีมีค่าการยับยั้งการทำงานของเอนไซม์ไทโรซิเนสได้ 50% เท่ากับ  $0.66 \pm 0.02$  mg/mL



**Figure 4** The graph shows the % inhibition of tyrosinase enzyme activity of ethanolic extract



**Figure 5** The graph shows the % inhibition of tyrosinase enzyme activity of ascorbic acid

จากการศึกษาความสามารถในการยับยั้งการทำงานของเอนไซม์ไทโรซิเนสด้วยวิธี Modified Dopachrome พบว่า สารสกัดผลมะม่วงหาวมะนาวโห่มีค่าการยับยั้งการทำงานของเอนไซม์ไทโรซิเนสได้ 50% เท่ากับ  $14.37 \pm 0.05$  mg/mL และสารมาตรฐานวิตามินซีมีค่าการยับยั้งการทำงานของเอนไซม์ไทโรซิเนสได้ 50% เท่ากับ  $0.66 \pm 0.02$  mg/mL ซึ่งผลงานวิจัยของผู้ที่เคยศึกษาเกี่ยวกับสารต้านอนุมูลอิสระหรือ

การยับยั้งเอนไซม์ไทโรซิเนสผลการวิจัยพบว่าสารสกัดจากผลมะม่วงหาวมะนาวโห่มีค่าการยับยั้งการทำงานของเอนไซม์ไทโรซิเนส 50% ( $IC_{50}$ ) เท่ากับ  $14.37 \pm 0.05$  mg/mL ซึ่งแสดงถึงศักยภาพในการต้านอนุมูลอิสระของสารสกัดธรรมชาติ (Monika *et al.*, 2024) และงานวิจัยของ Kokate *et al.* (2009) ศึกษาฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระและฤทธิ์ด้านการอักเสบของผล *Carissa carandas* L. ซึ่งมีความเป็นไปได้ที่จะมีการศึกษาฤทธิ์การยับยั้งเอนไซม์ไทโรซิเนสด้วยเช่นกัน การยับยั้งการทำงานของเอนไซม์ไทโรซิเนสจากสารสกัดของผลมะม่วงหาวมะนาวโห่จึงเป็นผลจากการมีสารประกอบชีวภาพที่มีประสิทธิภาพสูงในการยับยั้งการทำงานของเอนไซม์ที่เกี่ยวข้อง สารสกัดจากผลมะม่วงหาวมะนาวโห่มีสารประกอบที่สามารถจับกับเอนไซม์ไทโรซิเนสที่เป็นเอนไซม์สำคัญในการผลิตเมลานิน (เม็ดสีผิว) ทำให้ปฏิกิริยาทางเคมีที่เอนไซม์นี้ทำงานอยู่ไม่สามารถเกิดขึ้นได้หรือเกิดขึ้นในอัตราที่ลดลงอย่างมาก ส่งผลให้การผลิตเม็ดสีเมลานินลดลง สารสำคัญในผลมะม่วงหาวมะนาวโห่ที่มีความสามารถในการยับยั้งการทำงานของเอนไซม์ไทโรซิเนสได้ประกอบด้วย สารประกอบในกลุ่มของฟลาโวนอยด์ (Flavonoids) โพลีฟีนอล (Polyphenols) กรดแกลลิก (Gallic acid) และวิตามินซี (Ascorbic acid) เป็นต้น ซึ่งเป็นสารต้านอนุมูลอิสระที่มีบทบาทสำคัญในการยับยั้งเอนไซม์ไทโรซิเนส โดยสามารถจับกับเอนไซม์และยับยั้งการเกิดปฏิกิริยาทางเคมีที่เกี่ยวข้องกับการผลิตเมลานิน (Monika *et al.*, 2024; Mahale & Pathade, 2013; Jiang *et al.*, 2011; Choudhary & Swarnkar, 2011; Siddiqui *et al.*, 2018; สุขสวัสดิ์ พงษ์ทวีกุล และคณะ, 2562) จากการศึกษาความสามารถในการยับยั้งการทำงานของเอนไซม์ไทโรซิเนส ผลการวิจัยแสดงให้เห็นว่าสารสกัดจากผลมะม่วงหาวมะนาวโห่มีความสามารถในการยับยั้งการทำงานของเอนไซม์ไทโรซิเนสที่ความเข้มข้น  $14.37 \pm 0.05$  mg/mL ซึ่งถือว่ามีประสิทธิภาพ แต่ต้องใช้ความเข้มข้นสูงเมื่อเทียบกับวิตามินซี แม้ว่าสารสกัดจากผลมะม่วงหาวมะนาวโห่จะมีค่า  $IC_{50}$  สูงกว่าวิตามินซีแต่ยังคงแสดงให้เห็นถึงศักยภาพในการยับยั้งการทำงานของเอนไซม์ไทโรซิเนสแต่สารสกัดจากผลมะม่วงหาวมะนาวโห่เป็นสารสกัดจากธรรมชาติซึ่งมีข้อได้เปรียบเนื่องจากมีส่วนประกอบหลายชนิดที่อาจมีประโยชน์เพิ่มเติม เช่น สารต้านอนุมูลอิสระอื่น ๆ หรือสารอาหารที่เป็นประโยชน์ต่อสุขภาพ นอกจากนี้สารสกัดจากธรรมชาติอาจมีผลข้างเคียงน้อยกว่าเมื่อใช้ในผลิตภัณฑ์เครื่องสำอางหรือการบำรุงผิวพรรณ ในการศึกษาครั้งต่อไปอาจมีการปรับปรุงกระบวนการสกัดหรือการเพิ่มความเข้มข้นของสารสำคัญอาจช่วยเพิ่มประสิทธิภาพของสารสกัดในการยับยั้งเอนไซม์ไทโรซิเนสหรือกลไกการ

ทำงานของสารสำคัญในสารสกัดที่มีผลต่อการยับยั้งเอนไซม์ไทโรซิเนสหรือการทดสอบผลของสารสกัดในผลิตภัณฑ์ที่ใช้จริงเพื่อประเมินประสิทธิภาพและความปลอดภัยในการใช้งาน

**3. การพัฒนาสูตรสบู่เหลวจากสารสกัดมะม่วงหาวมะนาวโห่และการทดสอบคุณสมบัติทางกายภาพและเคมีของสบู่เหลว** ผลการพัฒนาสบู่เหลวมะม่วงหาวมะนาวโห่ โดยมีอัตราส่วนร้อยละของส่วนในสบู่เหลวแสดงดัง Table 4 สบู่เหลวจากสารสกัดมะม่วงหาวมะนาวโห่ที่ได้เป็นของเหลวใสสีแดงชมพูแสดงดัง Figure 6

**Table 4** Recipe ratio of liquid soap from *Carissa carandas* Linn. fruit extract

| component                                | properties                     | weight (%w/w) |
|------------------------------------------|--------------------------------|---------------|
| 1. sodium laureth sulfate                | major surfactants              | 30            |
| 2. cocamidopropyl betaine                | minor surfactants              | 5             |
| 3. glycerine                             | moisturizing substances        | 5             |
| 4. water                                 | solvent                        | 57            |
| 5. sodium chloride                       | viscosity modifier             | 1 – 2         |
|                                          | preservatives add              |               |
| 6. preservatives                         | fragrance                      | 0.5           |
| 7. perfume                               | antioxidants/                  | 1             |
| 8. <i>C.carandas</i> Linn. fruit extract | inhibitor of tyrosinase enzyme | 1.4           |
| total                                    |                                | 100           |



**Figure 6** liquid soap from *Carissa carandas* Linn. fruit extract

จากการทดสอบคุณสมบัติทางกายภาพ พบว่า สบู่เหลวมะม่วงหาวมะนาวโห่เป็นของเหลวใสสีชมพูแดง ไม่แยกชั้น มีกลิ่นหอม ผลการทดสอบคุณสมบัติทางเคมีของสบู่เหลวมะม่วงหาวมะนาวโห่ พบว่า มีปริมาณไขมันทั้งหมดร้อยละ 15.40 โดยมวล มีความเป็นกรด - ด่าง 4.5 ไม่พบค่าต่างอิสระมีปริมาณของสารที่ไม่มีละลายในเอทานอลร้อยละ 0.45 โดยมวล ซึ่งผ่านเกณฑ์มาตรฐาน มอก.เอส 14-2562 (มาตรฐานผลิตภัณฑ์อุตสาหกรรมเอส, 2562) เมื่อตั้งทิ้งไว้ 30 วัน สีของสบู่เหลวมีสีเปลี่ยนแปลงจากเดิมเล็กน้อย ผลการทดสอบคุณสมบัติทางเคมีของสบู่เหลวมะม่วงหาวมะนาวโห่แสดงดัง Table 5

ในการพัฒนาสูตรสบู่เหลวมะม่วงหาวมะนาวโห่ ผู้วิจัยนำข้อมูลจากการศึกษาฤทธิ์การต้านอนุมูลอิสระและฤทธิ์การยับยั้งการทำงานของเอนไซม์ไทโรซิเนสมาใช้เป็นข้อมูลในการออกแบบสูตรสบู่เหลวจากสารสกัดจากผลมะม่วงหาวมะนาวโห่ โดยให้ความเข้มข้นของสารสกัดจากผลมะม่วงหาวมะนาวโห่ที่ 14.24 mg/mL หรือ 1.4 %w/w ร่วมกับสูตรสบู่เหลวที่ใช้ N70 เป็นวัตถุดิบหลักเป็นวัตถุดิบหลักนั้นได้รับความนิยมอย่างมาก เนื่องจากสามารถสร้างฟองได้ดีและมีประสิทธิภาพในการทำทำความสะอาด (McDaniel, 2000) เป็นสูตรพื้นฐานที่พบได้ทั่วไปในเอกสารและแหล่งข้อมูลด้านการทำผลิตภัณฑ์เครื่องสำอางและผลิตภัณฑ์ทำความสะอาด เป็นสูตรที่สามารถนำไปใช้ได้จริงในระดับครัวเรือนหรือระดับการผลิตขนาดเล็ก การปรับสูตรสามารถทำได้ตามความต้องการ ซึ่งสอดคล้องกับ Spencer (2014) ที่สรุปไว้ว่า N70 หรือ SLES เป็นสารลดแรงตึงผิวที่มีประสิทธิภาพสูงและมีการใช้งานอย่างแพร่หลายในผลิตภัณฑ์ทำความสะอาดหลากหลายประเภท เนื่องจากมีความสามารถในการทำความสะอาดดี สร้างฟองได้มากและมีความปลอดภัยในการใช้งานเมื่อควบคุมความเข้มข้นอย่างเหมาะสม อย่างไรก็ตาม ต้องมีการควบคุมการผลิตและการใช้งานเพื่อลดผลกระทบต่อสิ่งแวดล้อมและความปลอดภัยของผู้ใช้และกระบวนการทำสบู่สามารถทำได้โดยการใช้กลีเซอรินและสารเติมแต่งอื่นๆ เพื่อให้ได้ผลิตภัณฑ์ที่ใสและมีฟองละเอียด (Failor, 2000) และสำหรับสบู่เหลวที่มีการเติมสารสกัดจากธรรมชาติลงไปมักถูกพิสูจน์แล้วว่ามีความปลอดภัยที่ดีต่อผิวหนัง มีความอ่อนโยนและมั่นใจได้ว่าไม่มีสารเคมีที่อันตราย

**Table 5** Results of testing the chemical properties of *Carissa carandas* Linn. fruit extract liquid soap

| attribute<br>according to<br>standard<br>TIS 14-2019                      | specified<br>criteria | Test<br>results | Evaluation<br>results<br>according<br>to standard<br>TIS 14-2019 |
|---------------------------------------------------------------------------|-----------------------|-----------------|------------------------------------------------------------------|
| 1. Total fat content<br>(percentage by<br>mass)                           | not less than<br>12   | 15.40           | pass                                                             |
| 2. pH value                                                               | 4 - 8                 | 4.5             | pass                                                             |
| 3. Free alkalinity<br>(percentage by mass<br>of NaOH)                     | not more than<br>0.05 | nd*             | pass                                                             |
| 4. substances that<br>are insoluble in<br>ethanol (percentage<br>by mass) | not more than<br>2.0  | 0.45            | pass                                                             |

\* nd = not detected

การช่วยให้ผิวเนียน ลดริ้วรอยหรือลดการอักเสบของผิวมีสารต้านอนุมูลอิสระซึ่งช่วยในการปกป้องผิวจากอันตรายของอนุมูลอิสระที่เกิดจากการรบกวนจากปัจจัยภายนอก เช่น แสงแดดและมลพิษจากสิ่งแวดล้อมผู้บริโภคในปัจจุบันมีแนวโน้มที่จะเลือกใช้ผลิตภัณฑ์ที่มีส่วนผสมธรรมชาติและเป็นมิตรกับสิ่งแวดล้อมมากขึ้น ดังนั้นการเติมสารสกัดธรรมชาติในสบู่เหลวจะช่วยเพิ่มความน่าสนใจและความเชื่อมั่นของผู้บริโภค สำหรับสบู่เหลวมะม่วงหาวมะนาวโห่สารสกัดธรรมชาติที่มีอยู่ในมะม่วงหาวมะนาวโห่มีฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระ ดังนั้นจึงช่วยลดการเสียสีของผิวและช่วยลดการทำลายของเซลล์ผิวที่เกิดจากอนุมูลอิสระและยังมีส่วนช่วยยับยั้งการสร้างเม็ดสีเมลานินซึ่งส่งผลให้เกิดเม็ดสีของผิวลดลงอีกด้วย จากผลการทดสอบคุณสมบัติทางเคมีของสบู่เหลวมะม่วงหาวมะนาวโห่ พบว่า มีปริมาณไขมันทั้งหมดร้อยละ 15.40 โดยมวล มีความเป็นกรด - ด่าง 4.5 ไม่พบค่าต่างอิสระที่มีปริมาณของสารที่ไม่ละลายในเอทานอลร้อยละ 0.45 โดยมวล ซึ่งผ่านเกณฑ์มาตรฐาน มอก.เอส 14-2561 เหมาะสมตามมาตรฐานที่กำหนดไว้ ปริมาณไขมันทั้งหมดร้อยละ 15.40 โดยมวลบ่งชี้ถึงคุณสมบัติของส่วนผสมในสบู่ โดยมีส่วนผสมของไขมัน ค่าความเป็นกรด - ด่างที่เหมาะสมของสบู่เหลว สบู่เหลวมีความบริสุทธิ์และไม่มีการปนเปื้อนต่างอิสระ สบู่เหลวมีปริมาณของสารที่ไม่ละลายในเอทานอลร้อยละ 0.45 โดยมวล แสดงให้เห็นว่าสบู่มีคุณภาพดีและประสิทธิภาพ

ในการใช้งาน ผลของการทดสอบแสดงให้เห็นว่าสบู่เหลวมะม่วงหาวมะนาวโห่มีคุณภาพที่เหมาะสมและตรงตามมาตรฐานที่กำหนดไว้และเหมาะสมสำหรับการใช้งานในการผลิตสบู่และการใช้งานอื่น ๆ ที่เกี่ยวข้อง

### สรุปผลการทดลองและข้อเสนอแนะ

สารสกัดผลมะม่วงหาวมะนาวโห่มีค่าการยับยั้งอนุมูลอิสระได้ 50% ( $IC_{50}$ ) เท่ากับ  $14.24 \pm 0.03$  mg/mL มีค่าการยับยั้งการทำงานของเอนไซม์ไทโรซิเนสได้ 50% ( $IC_{50}$ ) เท่ากับ  $14.37 \pm 0.05$  mg/mL และเมื่อนำมาพัฒนาเป็นสูตรสบู่เหลวมะม่วงหาวมะนาวโห่คุณสมบัติทางกายภาพของสบู่เหลวมะม่วงหาวมะนาวโห่เป็นของเหลวใสสีชมพูแดง ไม่แยกชั้น มีกลิ่นหอม และเมื่อตั้งทิ้งไว้ 30 วัน สีของสบู่เหลวมีสีเปลี่ยนแปลงจากเดิมเล็กน้อยและผลการทดสอบคุณสมบัติทางเคมีของสบู่เหลวมะม่วงหาวมะนาวโห่ผ่านเกณฑ์ตามมาตรฐาน มอก.เอส 14 - 2562 สารต้านอนุมูลอิสระจากผลมะม่วงหาวมะนาวโห่เป็นงานที่น่าสนใจอย่างมาก เนื่องจากผลมะม่วงหาวมะนาวโห่มีคุณสมบัติที่มีประโยชน์ต่อสุขภาพผิวและมีสารสกัดที่มีฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระที่สามารถใช้ในผลิตภัณฑ์เสริมอาหารและเครื่องสำอางได้

### กิตติกรรมประกาศ

ผู้วิจัยขอขอบคุณกองทุนส่งเสริมวิทยาศาสตร์ วิจัยและนวัตกรรม (ววน.) ปีงบประมาณ 2566 ที่ให้การสนับสนุนงบประมาณในงานวิจัยนี้ รวมถึงสาขาวิชาเคมี คณะวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยี ศูนย์วิทยาศาสตร์และวิทยาศาสตร์ประยุกต์ มหาวิทยาลัยราชภัฏเพชรบุรีที่สนับสนุนสถานที่ อุปกรณ์และเครื่องมือที่ใช้ในงานวิจัย

### เอกสารอ้างอิง

- พัชรภรณ์ ปัญญาวรรณจิตร. (2563). การสร้างน้ำเฆลาจากลูกเฆลาสดเป็นเครื่องดื่มสุขภาพ. วารสารการอาหารและสารพัดสำนักวิจัยและพัฒนาผลิตภัณฑ์อาหาร, 10(1), 15-24.
- มาตรฐานผลิตภัณฑ์อุตสาหกรรมเอส. (2562). มาตรฐานการผลิตสบู่เหลว (มอก.เอส 14-2562). กรมมาตรฐานสิ่งแวดล้อม กระทรวงอุตสาหกรรม. <https://www.tisi.go.th/assets/website/pdf/tiss/14-2562.pdf>
- สมชาย มูลเจริญ. (2550). พิษไทย: สมุนไพรที่ใช้เป็นอาหาร. สำนักพิมพ์มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์.
- สุขสวัสดิ์ พงษ์ทวีกุล, รัชดา บัวไพโรจน์ และวิสูตร เจริญวงศ์. (2562). การศึกษาสารสกัดและสมบัติต้านอนุมูลอิสระจากผล *Carissa carandas* Linn. วารสารวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยี มหาวิทยาลัยราชภัฏสุราษฎร์ธานี, 8(3), 41-49.

- Barel, A. O., Paye, M., & Maibach, H. I. (Eds.). (2014). *Handbook of cosmetic science and technology* (4th ed.). CRC Press.
- Centers for Disease Control and Prevention. (2020). *The importance of hand hygiene*. CDC Hand Hygiene Guidelines.
- Choudhary, R., & Swarnkar, P. L. (2011). Antimicrobial and antioxidant activity of *Carissa carandas* (Linn.) fruit extracts. *Journal of Medicinal Plants Research*, 5(10), 2054–2058.
- Di Petrillo, A., González-Paramás, A. M., Era, B., Medda, R., Pintus, F., Santos-Buelga, C., & Fais, A. (2016). Tyrosinase inhibition and antioxidant properties of *Asphodelus microcarpus* extracts. *BMC Complementary and Alternative Medicine*, 16, Article 404. <https://doi.org/10.1186/s12906-016-1393-z>
- Failor, C. (2000). *Making transparent soap: The art of crafting, molding, scenting & coloring*. Storey Publishing.
- Jiang, W., An, M., & Zhang, Z. (2011). Phenolic compounds from *Carissa carandas* fruits. *Journal of Natural Products*, 74(4), 699–704. <https://doi.org/10.1021/np100789z>
- Kokate, C. K., Purohit, A. P., & Gokhale, S. B. (2009). Antioxidant and anti-inflammatory activity of *Carissa carandas* Linn. fruit extracts. *Indian Journal of Experimental Biology*, 47(2), 125–130.
- Mahale, A. R., & Pathade, G. R. (2013). Study of antioxidant properties in *Carissa carandas* L. fruit extracts. *Journal of Phytochemistry and Pharmacology*, 45(2), 120–130.
- McDaniel, A. (2000). *The soapmaker's companion: A comprehensive guide with recipes, techniques & know-how*. Storey Publishing.
- Monika, S., Thirumal, M., & Kumar, P. R. (2024). Pharmacognostical studies of *Carissa carandas* Linn leaves. *International Journal of Biology, Pharmacy and Allied Sciences*, 13(1), 61–70. <https://doi.org/10.31032/IJBPAS/2024/13.1.7563>
- Prabhakar, P., Rao, S., & Sharma, K. (2011). Antioxidant and medicinal properties of *Carissa carandas* (Bengal Currant). *International Journal of Medicinal Plants Research*, 1(1), 30–35.
- Siddiqui, S., Verma, A., Rather, A. A., Jabeen, F., & Meghvansi, M. K. (2018). *Carissa carandas* Linn.: A comprehensive review on pharmacological, biochemical, and ethnomedicinal aspects. *Journal of Ethnopharmacology*, 224, 67–79. <https://doi.org/10.1016/j.jep.2018.05.027>
- World Health Organization. (2020, October 8). *Guidelines on hand hygiene in health care*. <https://www.who.int/publications/i/item/9789241597906>

# การประเมินพฤติกรรมทุจริตระหว่างการสอบออนไลน์ด้วยปัญญาประดิษฐ์บนระบบการรับรู้การแสดงออกทางสีหน้าของนักศึกษาแบบอัตโนมัติ

## Assessment of fraudulent conduct during online exams using an artificial intelligence-based automatic student facial expression recognition system

วณัชย์ ร่มสายหยุด<sup>1\*</sup>, สุภาวดี ธีรธรรมากร<sup>1</sup>, พิมพ์กา ประเสริฐศิลป์<sup>2</sup> และ ภิรมย์ คงเลิศ<sup>2</sup>

Walisa Romsaiyud<sup>1\*</sup>, Supawadee Theerathamakorn<sup>1</sup>, Pimpaka Prasertsilp<sup>2</sup> and Pirom Konglerd<sup>2</sup>

Received: 11 October 2024 ; Revised: 21 September 2024 ; Accepted: 16 December 2024

### บทคัดย่อ

ปัญหาหลักจากการเปลี่ยนแปลงการสอบแบบเผชิญหน้าที่ห้องสอบมาเป็นการสอบแบบออนไลน์ คือ การแสดงออกทางสีหน้าและพฤติกรรมเฉพาะตัวของนักศึกษาแต่ละคนซึ่งยากต่อการเข้าใจด้วยมนุษย์ งานวิจัยครั้งนี้มีวัตถุประสงค์เพื่อ 1) พัฒนานวัตกรรมทางการศึกษาที่รองรับระบบการประเมินพฤติกรรมทุจริตระหว่างการสอบออนไลน์ด้วยปัญญาประดิษฐ์บนระบบการรับรู้การแสดงออกทางสีหน้าของนักศึกษาแบบอัตโนมัติ 2) ประเมินประสิทธิผลของแบบจำลอง จากค่าความถูกต้อง ค่าความแม่นยำ ค่าความครบถ้วน และค่าประสิทธิผลโดยรวม และ 3) ประเมินผลประสิทธิผลของระบบการประเมินพฤติกรรมทุจริตระหว่างการสอบออนไลน์ด้วยปัญญาประดิษฐ์ในการทดสอบการใช้งานจริง ผลการวิจัยพบว่า 1) แบบจำลองที่พัฒนาขึ้นเป็นการแก้ปัญหาด้วยวิธีการเรียนรู้เชิงลึกของปัญญาประดิษฐ์ ประกอบด้วย 6 ขั้นตอน ได้แก่ การเก็บรวบรวมข้อมูลจากไฟล์วิดีโอการสอบออนไลน์ การเตรียมข้อมูลโดยตัดไฟล์ภาพวิดีโอออกเป็นเฟรมภาพ การสร้างแบบจำลองการรับรู้อัตโนมัติจากการแสดงออกทางใบหน้า หรือ ชื่อว่า STOU-ASFER โดยใช้อัลกอริทึม 2 ตัว ได้แก่ โครงข่ายประสาทเทียมแบบคอนโวลูชัน และโครงข่ายประสาทเทียมแบบหลายชั้น การประเมินแบบจำลองด้วย 4 เมตริกหลัก ได้แก่ ค่าความถูกต้อง ค่าความแม่นยำ ค่าความครบถ้วน และค่าประสิทธิผลโดยรวม การปรับค่าพารามิเตอร์ และการนำไปใช้เพื่อแจ้งเตือนแบบเรียลไทม์และสร้างรายงานสรุป 2) การประเมินแบบจำลองพบว่า มีค่าความถูกต้อง 86.2% ค่าความแม่นยำ 77.34% ค่าความครบถ้วน 95.7% และค่าประสิทธิผลโดยรวม 85.6% และ 3) แบบจำลองมีประสิทธิภาพในการทำนายพฤติกรรมทุจริตในสภาพแวดล้อมการสอบจำลอง อย่างไรก็ตามแบบจำลองยังต้องการการปรับปรุงในส่วนของการตรวจจับใบหน้าในกรณีที่ใบหน้าอยู่ในตำแหน่งเบี่ยงหรือมีขนาดเล็กเพื่อเพิ่มความแม่นยำและประสิทธิผลในอนาคต

**คำสำคัญ:** การแสดงออกทางสีหน้า, การสอบออนไลน์, ปัญญาประดิษฐ์, โครงข่ายประสาทเทียมคอนโวลูชัน, โครงข่ายประสาทเทียมแบบหลายชั้น

### Abstract

The primary issues arising from the disruption of traditional face-to-face examinations in the exam room and the shift to online exams are the unique facial expressions and behaviors of students, which are difficult for humans to understand. The purposes of this research were to 1) develop a model of educational innovation for the assessment of fraudulent conduct during online exams, using Artificial Intelligence (AI) based on an Automatic Student Facial Expression Recognition (ASFER) system; 2) evaluate the effectiveness of the model through metrics such as accuracy, precision, recall, and F-measure; and 3) evaluate the effectiveness of the model in assessing fraudulent

<sup>1</sup> รองศาสตราจารย์ สาขาวิชาวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยี มหาวิทยาลัยสุโขทัยธรรมาธิราช นนทบุรี 11120

<sup>2</sup> ผู้ช่วยศาสตราจารย์ สาขาวิชาวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยี มหาวิทยาลัยสุโขทัยธรรมาธิราช นนทบุรี 11120

<sup>1</sup> Associate Professor, School of Science and Technology, Sukhothai Thammathirat Open University, Nonthaburi, 11120

<sup>2</sup> Assistant Professor, School of Science and Technology, Sukhothai Thammathirat Open University, Nonthaburi, 11120

\* Corresponding author E-mail: walisa.rom@stou.ac.th

conduct during online exams, using AI based on an ASFER system during its actual use. The results revealed that 1) the model that was developed addressed the problem based on a deep learning method in artificial intelligence, consisting of six steps: data collection from online exam videos, data preparation by extracting frames, development of the Automatic Student Facial Expression Recognition Model, also known as STOU-ASFER using two algorithms: a convolutional neural network (CNN) and a multilayer perceptron (MLP) for classifying the results into those exhibiting a regular face and those exhibiting a face showing signs of fraudulent conduct, evaluation of the model using the four main metrics of accuracy, precision, recall, and F-measure, parameter optimization, and deployment for real-time alerts and summary reporting. 2) The evaluation of the model showed an accuracy value of 86.2%, a precision value of 77.34%, a recall value of 95.7%, and an F-measure of 85.6%, and 3) the evaluation of the model performed well in predicting fraudulent behavior in the simulated examination environment. However, the model needs to be improved for face detection when faces are randomly positioned and when small image sizes are encountered.

**Keywords:** Facial expressions, online examination, artificial intelligence, convolutional neural network, multi-layer perceptron

## บทนำ

จากสถานการณ์การแพร่ระบาดของเชื้อโคโรนา 2019 หรือ โควิด-19 (COVID-19) ส่งผลกระทบอย่างหนักต่อเศรษฐกิจและสังคมของโลก โดยเฉพาะผลกระทบต่อระบบการศึกษาในทุกระดับชั้น ตั้งแต่ชั้นอนุบาล ชั้นประถมศึกษา ชั้นมัธยมศึกษา ถึงชั้นอุดมศึกษา ทำให้หน่วยงานที่เกี่ยวข้อง จำเป็นต้องมีการปรับเปลี่ยนรูปแบบการเรียนและการสอบจากเดิมที่เป็นแบบเผชิญหน้าในห้องเรียน มาเป็นรูปแบบออนไลน์ (online) ทั้งการจัดการเรียนการสอนแบบออนไลน์ (online courses) สัมมนาออนไลน์ (online seminar) และโดยเฉพาะอย่างยิ่งการสอบออนไลน์ (online examinations) ที่นำเทคโนโลยีคอมพิวเตอร์ เครือข่ายระบบอินเทอร์เน็ต และแพลตฟอร์ม (platforms) ต่างๆ เข้ามาช่วยสนับสนุนการดำเนินการที่เป็นมาตรฐาน สร้างความน่าเชื่อถือและเป็นที่ยอมรับ โดยในหลายมหาวิทยาลัยได้มีการเตรียมความพร้อมสำหรับการสอบออนไลน์ และการป้องกันการทุจริตในการสอบหลายรูปแบบ อาทิ มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์กำหนดให้นักศึกษาติดตั้งกล้อง 2 ตัว หรือกล้อง 360 องศา เพื่อให้เห็นภาพที่ครอบคลุมทั้งใบหน้านักศึกษา และด้านหลังของนักศึกษารวมถึงโต๊ะและหน้าจอคอมพิวเตอร์ที่นักศึกษาใช้สอบ เพื่อป้องกันไม่ให้มีเอกสารและอุปกรณ์ที่ไม่เกี่ยวข้องกับการสอบอยู่บนโต๊ะนักศึกษาในขณะทำการสอบ และมหาวิทยาลัยเชียงใหม่ มีการใช้กล้องจากคอมพิวเตอร์ที่นักศึกษาใช้สอบ แต่มีการกำหนดให้นักศึกษาติดตั้งโปรแกรมป้องกันการใช้งานเบราว์เซอร์ (browser) อื่นระหว่างการสอบ (Safe Exam Browser: SEB) บนอุปกรณ์ของตนเองที่ใช้สอบด้วย แต่ระหว่างการสอบเมื่อใช้กล้องจากคอมพิวเตอร์ของนักศึกษา ผู้คุมสอบจะไม่สามารถเห็นหน้าจอที่นักศึกษาทำสอบได้อย่างครอบคลุมว่ามีการเปิด

อ่านข้อมูลจากแหล่งอื่นบนหน้าจอหรือไม่ ซึ่งส่งผลต่อการนำไปสู่การทุจริตในการสอบได้ ทั้งนี้ในการสอบของทั้งสองมหาวิทยาลัยจะมีการจำกัดจำนวนของนักศึกษาที่ผู้คุมสอบออนไลน์สามารถควบคุมได้ไม่เกิน 30 คน อย่างไรก็ตามในการคุมสอบเจ้าหน้าที่ประจำห้องสอบจะต้องเฝ้ามองหน้าจอเพื่อสังเกตการแสดงออกทางสีหน้า (facial expression) และพฤติกรรมของนักศึกษาที่สงสัยว่าจะสอบทุจริตหรือไม่ อาจทำให้เกิดข้อผิดพลาดได้จากจำนวนนักศึกษานบนหน้าจอที่จำนวนมาก และมีความหลากหลายของมุมมองของภาพนักศึกษาในแต่ละราย

งานวิจัยต่างๆ มีการประยุกต์ใช้หลักการของคอมพิวเตอร์วิทัศน์ (computer vision) เพื่อจดจำใบหน้า (face recognition) และตรวจจับใบหน้า (face detection) ดังงานวิจัยของ Ekundayo and Viriri (2021) ทำการสกัดคุณลักษณะและการจำแนกคุณลักษณะจากชุดข้อมูลการจดจำการแสดงออกบนใบหน้า (Facial Expression Recognition: FER) และงานวิจัยของ Guodong and Na (2019) ศึกษาหลักการเรียนรู้เชิงลึก (deep learning) และอัลกอริธึมต่างๆ เช่น โครงข่ายประสาทเทียม (Artificial Neural Networks: ANN) โครงข่ายประสาทเทียมคอนโวลูชัน (Convolutional Neural Network: CNN) โครงข่ายประสาทเทียมแบบหลายชั้น (Multi-Layer Perceptron: MLP) โครงข่ายประสาทแบบเวียนซ้ำ (Recurrent Neural Network: RNN) และ หน่วยความจำระยะสั้นแบบยาว (Long Short-Term Memory: LSTM) สำหรับการจดจำใบหน้าทั้งจากภาพและวิดีโอตามอนุกรมเวลา (time series) โดยในงานวิจัยของ Ramzan *et al.* (2024) มีการประยุกต์ใช้โครงข่ายประสาทเทียมคอนโวลูชันที่ได้รับการฝึกอบรมล่วงหน้า (pre-trained) ในการตรวจจับกิจกรรมที่ผิดปกติในการสอบออนไลน์จาก

วิดีโอ พบว่าการสร้างแบบจำลองด้วยโครงข่ายประสาทเทียมคอนโวลูชันมีค่าความถูกต้อง (accuracy) 92% มีค่าความแม่นยำ (precision) 92% มีค่าความครบถ้วน (recall) 92% และมีค่าประสิทธิภาพโดยรวม 91%

นอกจากนี้ในงานวิจัยต่างๆ นำเสนอการตรวจจับจุดสังเกตบนใบหน้า (facial landmark detection) มาช่วยในการเพิ่มประสิทธิภาพของแบบจำลอง เช่น งานวิจัยของ Iqbal *et al.* (2023) นำเสนอวิธีการตรวจติดตามสายตา (eye tracking) และการตรวจจับวัตถุ (object detection) บนไฟล์วิดีโอในระหว่างการสอบออนไลน์บนโครงข่ายประสาทเทียมคอนโวลูชันซึ่งมีค่าความถูกต้อง (accuracy) สูงถึง 92% และงานวิจัยของ Soltane and Laouar (2021) เพิ่มเติมวิธีการตรวจจับเสียง (voice detection) ตรวจจับใบหน้า (face detection) การจดจำใบหน้า (face recognition) และการตรวจม่านตา (iris detection) บนไฟล์วิดีโอในระหว่างการสอบออนไลน์บนโครงข่ายประสาทเทียมคอนโวลูชัน อย่างไรก็ตามการจดจำการแสดงออกบนใบหน้าแบบเรียลไทม์ (real-time) เป็นเรื่องที่มีความยุ่งยากและซับซ้อนมากในการจำแนกข้อมูล (data classification) และสกัดคุณลักษณะ (feature extraction) ของแต่ละใบหน้าเพื่อให้แบบจำลองมีความถูกต้องและน่าเชื่อถือ จึงมีการผสมผสานอัลกอริทึมต่างๆ เช่น งานวิจัยของ Abdullah *et al.* (2020) โดยผสมผสานวิธีการของ 2 อัลกอริทึม ได้แก่ โครงข่ายประสาทเทียมคอนโวลูชัน และหน่วยความจำระยะสั้นแบบยาวสำหรับสร้างแบบจำลองการแสดงออกทางสีหน้าในวิดีโอที่มีความถูกต้องสูงสำหรับข้อมูลทดสอบ (test data) และงานวิจัยของ Haghpahan *et al.* (2022) ผสมผสานวิธีการของ 2 อัลกอริทึม ได้แก่ โครงข่ายประสาทเทียมคอนโวลูชัน และโครงข่ายประสาทเทียมแบบหลายชั้นมาประยุกต์ใช้ในการสร้างแบบจำลองเพื่อให้แบบจำลองมีความถูกต้องสูงมากถึง 96% ดังนั้นในงานวิจัยนี้จึงนำผลการศึกษาดำเนินการจากงานวิจัยต่างๆ ดังกล่าว มาดำเนินการพัฒนาแบบจำลองสำหรับการประเมินพฤติกรรมทุจริตระหว่างการสอบออนไลน์ด้วยปัญญาประดิษฐ์บนระบบการรับรู้การแสดงออกทางสีหน้าของนักศึกษาแบบอัตโนมัติ

ดังนั้นงานวิจัยนี้ขอเสนอ 2 ประเด็นหลัก ได้แก่ 1) การพัฒนาระบบการประเมินพฤติกรรมทุจริตระหว่างการสอบออนไลน์ด้วยปัญญาประดิษฐ์บนระบบการรับรู้การแสดงออกทางสีหน้าของนักศึกษาแบบอัตโนมัติ จากปัญญาประดิษฐ์ (AI) ด้วยอัลกอริทึมการเรียนรู้เชิงลึก 2 อัลกอริทึม ได้แก่ โครงข่ายประสาทเทียมแบบคอนโวลูชัน และโครงข่ายประสาทเทียมแบบหลายชั้น เพื่อจำแนกการแสดงออกทางสีหน้าว่าเป็นใบหน้าปกติหรือใบหน้าที่สื่อทุจริต และ 2) การประเมินผลแบบ

จำลองด้วยคอนฟิวชัน เมทริก (confusion matrix) โดยใช้ตัวชี้วัดมาตรฐาน 4 ค่าได้แก่ค่าความถูกต้อง (accuracy) ค่าความแม่นยำ (precision) ค่าความครบถ้วน (recall) และค่าประสิทธิภาพโดยรวม (F-measure) ที่สามารถนำไปใช้จริงในสภาพแวดล้อมการสอบจำลองเพื่อแสดงให้เห็นถึงความเป็นไปได้ในทางปฏิบัติและสิ่งที่ต้องปรับปรุงแก้ไข เพื่อให้ระบบมีความถูกต้องและน่าเชื่อถือ

## ทฤษฎีและงานวิจัยที่เกี่ยวข้อง

เนื้อหาในส่วนนี้ขออธิบายทฤษฎี และงานวิจัยที่เกี่ยวข้อง จำนวน 3 ประเด็น ได้แก่ การแสดงออกทางสีหน้า โครงข่ายประสาทเทียมคอนโวลูชัน และโครงข่ายประสาทเทียมแบบหลายชั้น รายละเอียดดังนี้

### 1. การแสดงออกทางสีหน้า (Facial expressions)

การแสดงออกทางสีหน้า คือ การแสดงอารมณ์หรือความรู้สึกของบุคคลที่สามารถมองเห็นได้จากการเปลี่ยนแปลงของกล้ามเนื้อบนใบหน้า เช่น การยิ้ม การขมวดคิ้ว หรือการย่นหน้าผาก ซึ่งเป็นการสื่อสารที่สำคัญในคน (Frank, 2001) โดยงานวิจัยส่วนใหญ่มุ่งเน้นไปที่การรับรู้การแสดงออกทางสีหน้าแบบอัตโนมัติ (Automatic Facial Expression Recognition: AFER) ตามทฤษฎีของ Ekman (1992) ซึ่งแนะนำอารมณ์ความรู้สึกพื้นฐานที่ใช้อย่างเป็นสากลในทุกวัฒนธรรมไว้ 6 อารมณ์ ได้แก่ ความสุข (happiness) ความประหลาดใจ (surprise) ความโกรธ (anger) ความเศร้า (sadness) ความกลัว (fear) และการรังเกียจ (disgust) ในการตรวจสอบการแสดงออกทางอารมณ์ความรู้สึกที่แสดงออกทางใบหน้า จะอ้างอิงรูปแบบของใบหน้าที่มีการแสดงอารมณ์ความรู้สึกออกมาในลักษณะหรือรูปแบบต่างๆ ดัง Figure 1



**Figure 1** Examples from the FER2013 dataset for each emotion with labeled data

จาก Figure 1 (ก.)-(ฉ.) แสดงตัวอย่างอารมณ์ทั้ง 6 ประเภทจากชุดข้อมูล FER2013 ที่มีการกำหนดป้ายกำกับข้อมูลแต่ละประเภท (labeled data)

จากงานวิจัยของ Mohamad Nezami *et al.* (2020) นำเสนอการพัฒนาแบบจำลองการจดจำการมีส่วนร่วมของนักเรียนแบบอัตโนมัติด้วยอัลกอริทึมการเรียนรู้เชิงลึก โดยใช้ชุดข้อมูลของ FER2013 จำนวน 35,887 ตัวอย่าง ประกอบด้วยข้อมูลสำหรับฝึกสอนแบบจำลองจำนวน 28,709 ตัวอย่าง และข้อมูลสำหรับทดสอบแบบจำลองจำนวน 3,589 ตัวอย่าง ด้วยโครงข่ายประสาทเทียมคอนโวลูชัน พบว่าแบบจำลองสามารถทำนายผลการมีส่วนร่วมของนักเรียนได้ถูกต้องถึง 87.06% และในงานวิจัยของ Gavade *et al.* (2023) ดำเนินการพัฒนากระบวนการระบุและจำแนกการแสดงออกทางสีหน้าจากวิดีโอแบบอัตโนมัติ ซึ่งแบ่งชุดข้อมูลเป็น 2 ประเภท คือ ไฟล์วิดีโอที่ถ่ายในป่า (มีข้อจำกัดเรื่องแสงเงา) และไฟล์วิดีโอที่ถ่ายในสภาพแวดล้อมที่ควบคุมได้ โดยใช้อัลกอริทึมโครงข่ายประสาทเทียมคอนโวลูชัน และหน่วยความจำระยะสั้นแบบยาว และทำการทดสอบโดยการเปรียบเทียบกับชุดข้อมูลต่างๆ และชุดข้อมูลจาก FER พบว่าแบบจำลองมีค่าความถูกต้อง 80%

#### โครงข่ายประสาทเทียมคอนโวลูชัน (Convolutional Neural Network Algorithm หรือ CNN)

โครงข่ายประสาทเทียมคอนโวลูชันเป็นโครงข่ายประสาทเทียมที่ถูกออกแบบมาสำหรับการประมวลผลภาพ เช่น การจำแนกรูปภาพ การตรวจจบบั้วต หรือการประมวลผลข้อมูลภาพต่างๆ (Indolia *et al.*, 2018) โดยใช้วิธีการคำนวณแบบคอนโวลูชัน (convolutional) เข้าไปในโครงข่าย ทำให้สามารถวิเคราะห์ข้อมูลของภาพหรือวิดีโอได้อย่างถูกต้องและรวดเร็ว การทำงานของโครงข่ายประสาทเทียมคอนโวลูชัน ประกอบด้วย 4 ขั้นตอน ได้แก่ 1) ชั้นอินพุต (input layer) 2) ชั้นคอนโวลูชัน (convolutional layer) 3) ชั้นพูลลิ่ง (pooling layer) และ 4) ชั้นเชื่อมโยงแบบสมบูรณ์ (fully-connected layer) (Lapan, 2020) ดัง Figure 2

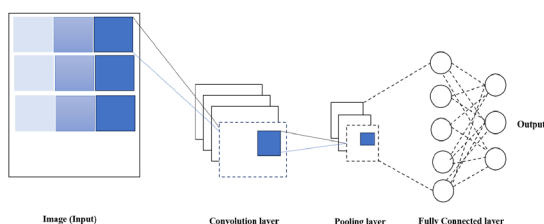


Figure 2 Convolutional Neural Network

จาก Figure 2 ขั้นตอนการทำงานของอัลกอริทึมโครงข่ายประสาทเทียมคอนโวลูชัน ได้แก่ 1) ชั้นอินพุต (input layer) เป็นชั้นแรกที่น่าข้อมูลเข้า จากนั้นทำการแปลงข้อมูลให้เป็นเวกเตอร์ 2) ชั้นคอนโวลูชัน (convolutional layer) เป็น

ขั้นที่สองของแบบจำลอง ซึ่งทำหน้าที่สกัดคุณลักษณะสำคัญจากเวกเตอร์ ประกอบด้วย 2 ขั้นตอน ได้แก่ การกำหนดตัวกรอง (filters) หรือเคอร์เนล สำหรับกรองลักษณะสำคัญที่ใช้ในการรู้จำวัตถุ ในรูปแบบตารางสองมิติ และ แผ่นฟังก์ชันคุณลักษณะ (feature maps) เป็นผลลัพธ์จากขั้นตอนการกำหนดตัวกรอง เพื่อส่งข้อมูลที่ได้ออกไปในขั้นตอนต่อไป 3) ชั้นพูลลิ่ง (pooling layer) เป็นขั้นที่สามที่ทำหน้าที่คำนวณผลรวมของข้อมูล เพื่อลดขนาดของเวกเตอร์ ทำให้ข้อมูลมีขนาดเล็กลงเมื่อเทียบกับข้อมูลต้นฉบับ ส่งผลให้สามารถเพิ่มความเร็วในการประมวลผลได้เป็นอย่างมาก และ 4) ชั้นเชื่อมโยงแบบสมบูรณ์ (fully-connected layer) เป็นขั้นสุดท้ายสำหรับแสดงผลลัพธ์ของโครงข่ายประสาทเทียมคอนโวลูชัน

#### โครงข่ายประสาทเทียมแบบหลายชั้น (Multi-Layer Perceptron หรือ MLP)

โครงข่ายประสาทเทียมแบบหลายชั้นเป็นโครงข่ายประสาทเทียมที่ถูกออกแบบมาสำหรับการจำแนกภาพ (image classification) การจดจำรูปแบบเสียง (speech recognition) การพยากรณ์ข้อมูลเวลา (time series prediction) และการวิเคราะห์ข้อความ (text analysis) ที่มีจุดเด่นในการเรียนรู้จากข้อมูลที่ไม่เป็นเส้นตรง (non-linear data) ได้ เนื่องจากใช้ฟังก์ชัน activation ที่ไม่เป็นเชิงเส้น จึงเหมาะกับปัญหาที่ต้องการการจำแนก (classification) และการทำนาย (prediction) (Zhang *et al.*, 2018) การทำงานของโครงข่ายประสาทเทียมแบบหลายชั้น ประกอบด้วย 3 ขั้นตอน ได้แก่ ชั้นนำเข้า (input layer) จำนวน 1 ชั้น มีจำนวนชั้นผลลัพธ์ (output layer) 1 ชั้น และมีจำนวนชั้นซ่อน (hidden layer) อย่างน้อย 1 ชั้น โดยในแต่ละชั้นเชื่อมต่อกัน (Lapan, 2020) ดัง Figure 3

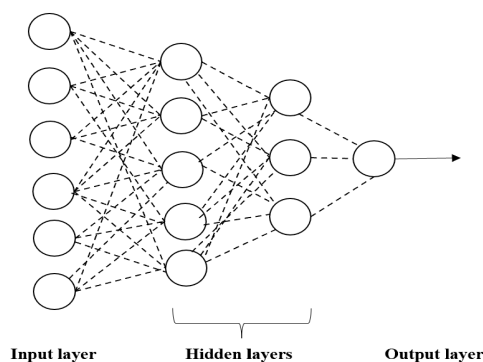


Figure 3 Multi-Layer Perceptron

จาก Figure 3 ขั้นตอนการทำงานของอัลกอริทึมการเรียนรู้หลายระดับชั้น โดยข้อมูลเข้าสู่ชั้นอินพุต (input layer) เพื่อทำการฝึกสอน จากนั้นส่งข้อมูลเข้าสู่ชั้นซ่อน (hidden layer) เพื่อจดจำรูปแบบข้อมูล แยกแยะภาพตามค่าน้ำหนัก (weight)

ของแต่ละโหนด (ซึ่งมีค่าน้ำหนักเฉพาะสำหรับคำนวณค่าถ่วงน้ำหนัก) จากนั้นนำค่าน้ำหนักมารวมกัน และแปลงให้ออกมาเป็นผลลัพธ์ และแสดงผลลัพธ์ที่ชั้นเอาต์พุต (output layer) จากค่าน้ำหนัก เพื่อทำนายผลลัพธ์ตามความน่าจะเป็น (Aggarwal, 2018)

### วิธีดำเนินการวิจัย

เนื้อหาในส่วนนี้ขออธิบายขั้นตอนการทำงานของระบบการประเมินพฤติกรรมทุจริตระหว่างการสอบออนไลน์ ด้วยปัญญาประดิษฐ์บนระบบการรับรู้การแสดงออกทางสีหน้าของนักศึกษาแบบอัตโนมัติ ดัง Figure 4

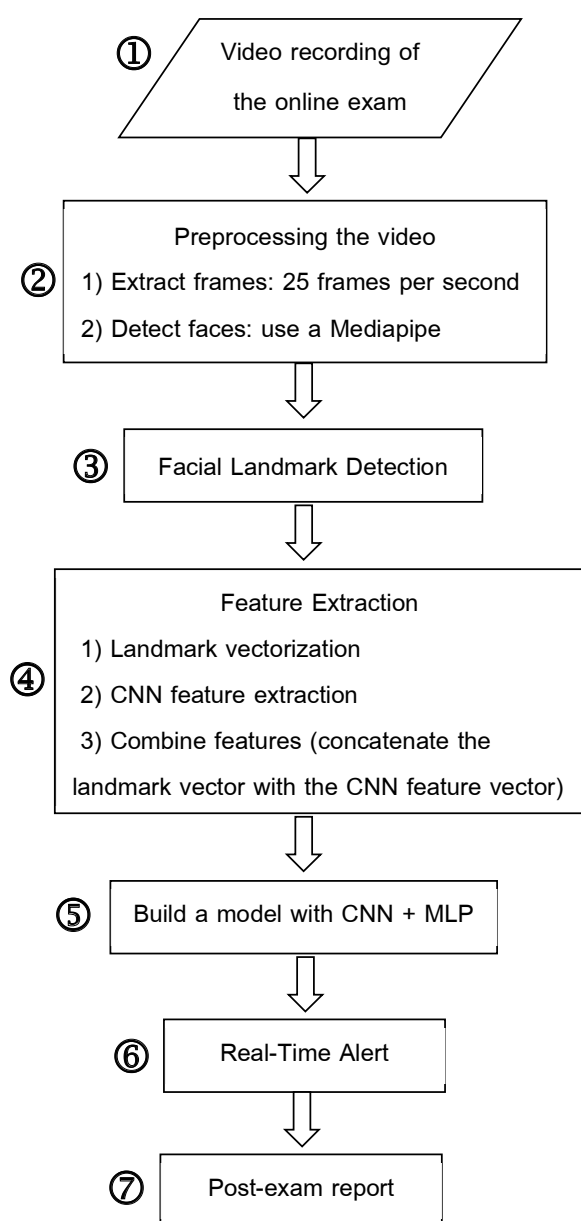


Figure 4 The workflow of STOU-ASFER

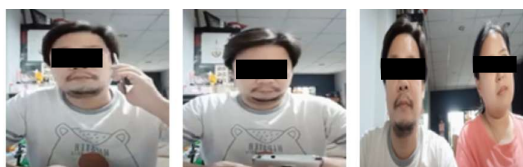
จาก Figure 4 แสดงขั้นตอนการทำงานของ STOU-ASFER ซึ่งประกอบด้วย 7 ขั้นตอน ได้แก่ 1. การบันทึกวิดีโอการสอบออนไลน์ 2. การประมวลผลวิดีโอ ซึ่งประกอบด้วย 2 ขั้นตอนย่อย ได้แก่ การแยกเฟรม และการตรวจจับใบหน้า โดยใช้ Mediapipe 3. การตรวจจับจุดสังเกตบนใบหน้า 4. การสกัดคุณลักษณะ ซึ่งประกอบด้วย 3 ขั้นตอนย่อย ได้แก่ 1) การสร้างเวกเตอร์แลนด์มาร์ก 2) การสกัดคุณลักษณะด้วย CNN และ 3) รวมคุณลักษณะเข้าด้วยกัน โดยการเชื่อมเวกเตอร์แลนด์มาร์กกับเวกเตอร์คุณลักษณะของ CNN 5. การสร้างแบบจำลองแบบผสมผสานด้วย CNN+MLP 6. การแจ้งเตือนแบบเรียลไทม์ และ 7. การสร้างรายงานหลังสอบ รายละเอียดดังนี้

#### 1. การบันทึกวิดีโอการสอบออนไลน์ (Video recording of the online exam)

เป็นการนำเข้าข้อมูลจากการรวบรวมข้อมูลของกลุ่มตัวอย่าง ซึ่งประกอบด้วยข้อมูลไฟล์วิดีโอใบหน้าของอาสาสมัครผู้เข้าร่วมในโครงการวิจัยนี้จำนวน 80 คน โดยแบ่งเป็น 2 กลุ่ม กลุ่มแรกสำหรับฝึกสอนแบบจำลอง และทดสอบแบบจำลอง จำนวน 50 คน และกลุ่มที่สองสำหรับทดสอบการใช้งานจริง จำนวน 30 คน (ตามหนังสือแสดงความยินยอมเข้าร่วมโครงการวิจัยสำหรับผู้เข้าร่วมโครงการอายุ 18 ปีขึ้นไป)

ตัวอย่างไฟล์วิดีโอของกลุ่มตัวอย่าง ที่ทำการสอบเสมือนจริง โดยทำการสอบครั้งละ 5, 10 และ 15 นาที ตามจำนวนเฟรม โดย 5 นาที =  $5 \times 60 \times 25$  เฟรม, 10 นาที =  $10 \times 60 \times 25$  และ 15 นาที =  $15 \times 60 \times 25$  เฟรม รวมเป็นชุดข้อมูลทั้งหมด  $7,500 + 15,000 + 22,500 = 45,000$  เฟรม แบ่งเป็นการสอบแบบปกติ หรือสุจริต (innocent) = 35,000 เฟรม และการสอบแบบทุจริต (cheat) = 10,000 เฟรม และกำหนดป้ายกำกับ (labeled data) โดยใช้วิธีการระบุช่วงเวลาของพฤติกรรมที่เกิดขึ้นในวิดีโอ พร้อมทั้งมีผู้เชี่ยวชาญที่มีความรู้และประสบการณ์จากสำนักทะเบียนและวัดผล มหาวิทยาลัยสุโขทัยธรรมาราช (2566) (บนระบบการสอบแบบออนไลน์) ตัดสินการกำหนดข้อมูลที่มีป้ายกำกับที่ถูกต้อง สำหรับการกำหนดใบหน้าที่เป็นแบบสุจริต (innocent) คือใบหน้าที่มีองศาใบหน้า ตำแหน่งตา รูปแบบการมอง การหันศีรษะ อยู่ในบริเวณหน้าจอ ตามระยะเวลาที่กำหนด และใบหน้าที่เป็นแบบทุจริต (cheat) คือการแสดงใบหน้าที่มีตำแหน่งองศาใบหน้า ผิดรูปแบบการมองหน้าจอคอมพิวเตอร์ ดำเนินการกำหนดใบหน้าที่เป็นแบบทุจริตตามระเบียบมหาวิทยาลัยสุโขทัยธรรมาราช ว่าด้วยการสอบออนไลน์ของนักศึกษาระดับปริญญาตรีและระดับต่ำกว่าปริญญา พ.ศ. 2563 หมวด 4 แนวปฏิบัติตนในการเข้าสอบของนักศึกษา และจากงานวิจัยของ Noorbehbahani *et al.* (2022) กำหนดพฤติกรรมทุจริต

ในการสอบออนไลน์ ดังนี้ 1) การใช้หนังสือ หรือแหล่งข้อมูลออนไลน์ขณะทำการสอบ 2) การกำหนดให้บุคคลอื่นสอบแทน 3) การขอความช่วยเหลือจากบุคคลที่สามในการสอบ 4) การรับหรือเผยแพร่คำถามจากบุคคลอื่น 5) การคัดลอกและจำหน่ายข้อสอบให้นักศึกษาท่านอื่นหรือนำไปใช้ในปีต่อไป และ 6) การใช้อุปกรณ์เคลื่อนที่เพื่อการสื่อสารแบบคัดลอก ดัง Figure 5

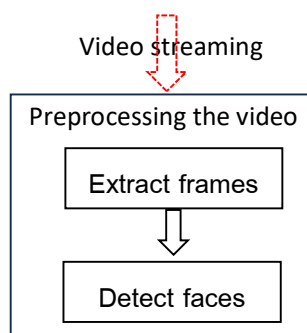


**Figure 5** Examples of Cheating Behaviors During Online Exams

จาก Figure 5 ตัวอย่างพฤติกรรมการทุจริตระหว่างการสอบออนไลน์ โดย (ก.) แสดงการใช้โทรศัพท์เพื่อติดต่อสอบถาม (ข.) แสดงการใช้อุปกรณ์เคลื่อนที่เพื่อการสื่อสารหรือค้นหาข้อมูลเพิ่มเติม และ (ค.) แสดงการขอความช่วยเหลือจากบุคคลอื่นหรือมีบุคคลอื่นร่วมอยู่ด้วยในการสอบ

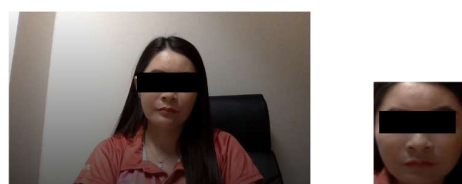
## 2. การประมวลผลวิดีโอ (Preprocessing the video)

เป็นการนำไฟล์วิดีโอจากขั้นตอนที่ 1 มาดำเนินการ 1) การแยกเฟรม (extract frames) และ 2) การตรวจจับใบหน้า (detect faces) โดยใช้ Mediapipe ซึ่งเป็นเฟรมเวิร์กของ Google ซึ่งผู้วิจัยได้ใช้ส่วนของฟังก์ชัน Mediapipe Face Mesh (Google AI for Developers, 2022) ซึ่งสามารถพล็อต (plot) จุดบนใบหน้าได้สูงสุดถึง 468 ตำแหน่ง มาทำการตรวจจับใบหน้า และนำค่าการเคลื่อนไหวของแต่ละภาพ ดัง Figure 6



**Figure 6** The video preprocessing step

จาก Figure 6 การแยกเฟรมดำเนินการโดยการแปลงไฟล์วิดีโอให้เป็นเฟรมด้วยอัตราเฟรมคงที่ (fixed frame rate) ซึ่งกำหนดให้มีค่าเป็น 25 เฟรมต่อวินาที สำหรับเพิ่มประสิทธิภาพการจดจำการแสดงออกบนใบหน้าได้อย่างเหมาะสม และทำการลบหรือข้ามเฟรมที่ซ้ำซ้อนเพื่อลดภาระในการคำนวณ จากนั้นการตรวจจับใบหน้าด้วย Mediapipe เพื่อระบุตำแหน่งใบหน้าในแต่ละเฟรม และแยกเฉพาะส่วนของใบหน้าเพื่อใช้ในการวิเคราะห์ ดัง Figure 7

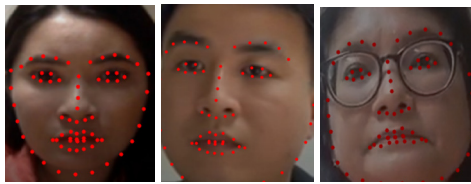


**Figure 7** Cropped face images extracted from individual frames

จาก Figure 7 (ก.) จากต้นฉบับ จากนั้นทำการครอบตัดเฉพาะส่วนใบหน้า ซึ่งแสดงในภาพ (ข.) และจัดเก็บข้อมูลเป็นไฟล์ภาพ

## 3. การตรวจจับจุดสังเกตบนใบหน้า (Facial Landmark Detection)

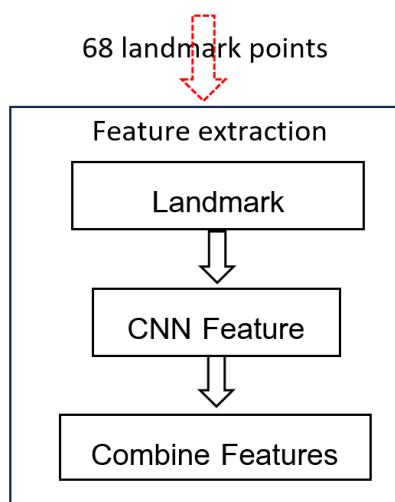
เป็นการนำภาพใบหน้าจากขั้นตอนที่ 2 มาดำเนินการกำหนดการตรวจจับจุดสังเกตบนใบหน้า ซึ่งกำหนดที่ 68 จุด สำหรับการตรวจ 1) กราม (jawline) โดยกำหนดจุดสังเกตตั้งแต่เลขที่ 0–16 เพื่อกำหนดรูปร่างของกรามจากหูข้างหนึ่งไปยังอีกข้างหนึ่ง 2) คิ้ว (eyebrows) โดยกำหนดจุดสังเกตที่คิ้วขวาด้วยเลข 17–21 และคิ้วซ้ายด้วยเลข 22–26 3) จมูก (nose) โดยกำหนดจุดสังเกตของสันจมูกด้วยเลข 27–30 และรูปทรงจมูกด้วยเลข 31–35 4) ตา (eyes) โดยกำหนดจุดสังเกตของตาขวาด้วยเลข 36–41 และตาซ้ายด้วยเลข 42–47 เพื่อแสดงรูปร่างของดวงตา และใช้เพื่อตรวจจับการเคลื่อนไหวของดวงตาหรือการกระพริบตา 5) ปาก (mouth) โดยกำหนดจุดสังเกตที่รูปทรงริมฝีปากด้านนอกด้วยเลข 48–59 และรูปทรงริมฝีปากด้านในด้วยเลข 60–67 เพื่อตรวจจับการเคลื่อนไหวของริมฝีปาก เช่น การพูดคุยกับบุคคลอื่น ดัง Figure 8



**Figure 8** Setting up facial landmark detection with 68 points on the face

#### 4. การสกัดคุณลักษณะ (Feature extraction)

เป็นการนำจุดสังเกตบนใบหน้าทั้ง 68 จุด มาดำเนินการดังนี้ 1) การสร้างเวกเตอร์จุดสังเกต (landmark vectorization) โดยแบ่งจุดสังเกตให้เป็นเวกเตอร์เดี่ยว [ , , , ..., , ] 2) การดึงคุณลักษณะของ CNN (CNN feature extraction) นำภาพใบหน้าส่งเข้าสู่แบบจำลอง CNN และ 3) รวมคุณลักษณะ (combine features) ทำการเชื่อมเวกเตอร์จุดสังเกตกับเวกเตอร์คุณลักษณะของ CNN ให้เป็นเวกเตอร์คุณลักษณะอินพุตเดี่ยว ดัง Figure 9



**Figure 9** The Feature Extraction Step

#### 5. การสร้างแบบจำลองแบบผสมผสานด้วย CNN+MLP (Build a model with CNN + MLP)

เป็นการนำข้อมูลจากการรวมคุณลักษณะ (combine features) ของขั้นตอนที่ 4 ที่แสดงเป็นอาร์เรย์ (array) แบบ 2 มิติประกอบด้วย โดย คือความสูงของภาพ คือความกว้างของภาพ และ คือจำนวนช่องสัญญาณสี มาดำเนินการฝึกสอน (training) ซึ่งใน CNN เริ่มต้นจากชั้นคอนโวลูชันที่ 1, 2,... ตามลำดับ จากนั้นดำเนินการโดยใช้ตัวกรองของภาพ และสร้างแผนผังคุณลักษณะ ดังสมการที่ (1)

$$F^{(n)} = W^{(n)} * X + b^{(n)} \quad (1)$$

จากสมการที่ (1) คือชั้นคอนโวลูชันที่ คือตัวกรองของภาพ และ คือการกำหนดค่า bias จากนั้น Activation (ReLU) จะทำการปรับผลลัพธ์ให้อยู่ในช่วงที่ต้องการ ดังสมการที่ (2)

$$A^{(n)} = \text{ReLU}(F^{(n)}) = \max(0, F^{(n)}) \quad (2)$$

ชั้นพูลลิง ทำการคำนวณผลรวมค่าสูงสุดของข้อมูลเพื่อลดขนาดเชิงพื้นที่ของภาพ ดังสมการที่ (3)

$$P^{(n)} = \text{MaxPool}(A^{(n)}) \quad (3)$$

และทำการปรับให้เป็นแบบราบ (flattening) ทำให้ผลลัพธ์จากแต่ละชั้นถูกรวมในเวกเตอร์ 1 มิติ ดังสมการที่ 4 และจะถูกนำไปใช้เป็นข้อมูลเข้าของ MLP

$$Z = \text{Flatten}(A^{(n)}) \quad (4)$$

ที่ MLP เริ่มต้นจากชั้นอินพุตไปยังชั้นซ่อน  $H^{(n)}$  จะทำการคำนวณโดยใช้ค่าถ่วงน้ำหนัก  $W^{(n)}$  และค่าเอนเอียงไปที่เวกเตอร์  $Z$  ที่ถูกปรับให้เป็นแบบราบ ดังสมการที่ (5)

$$H^{(n)} = \sigma(W^{(n)}Z + b^{(n)}) \quad (5)$$

โดย  $\sigma$  คือ activation function (ReLU) จากนั้นที่ชั้นเอาต์พุต จะคำนวณค่าความน่าจะเป็นของคลาสซึ่งในงานวิจัยนี้เป็นแบบ 2 คลาสหรือไบนารีคลาส (binary class) ได้แก่ คลาสสุจริต (Innocent) และคลาสนักทุจริต (Cheat) โดยใช้ฟังก์ชัน Softmax ดังสมการที่ (6)

$$H^{(k)} = \sigma(W^{(k)}H^{(k-1)} + b^{(k)}) \quad (6)$$

จากสมการที่ (6) กำหนดให้  $k$  คือจำนวนชั้นซ่อน และฟังก์ชัน =  $\text{Softmax}(x_i) = \frac{e^{x_i}}{\sum_{j=1}^{C_{\text{classes}}} e^{x_j}}$

#### 6. การแจ้งเตือนแบบเรียลไทม์ (Real-Time Alert)

เป็นการวิเคราะห์ภาพแบบเฟรมต่อเฟรม สำหรับตรวจจับใบหน้า สกัดคุณลักษณะ (landmark detection + CNN) และการจำแนกประเภทคลาสด้วย MLP เพื่อทำการแจ้งเตือนแบบเรียลไทม์หากตรวจพบพฤติกรรมการทุจริต โดยจะปรากฏกรอบสีแดงล้อมรอบภาพของนักศึกษาแต่ละคนสำหรับแจ้งเตือนแก่ผู้คุมสอบ ให้เฝ้าระวังเป็นพิเศษ พร้อมทั้งแจ้งเตือนนักศึกษาหากมีพฤติกรรมที่กำลังจะนำไปสู่การทุจริต

## 7. การสร้างรายงานหลังสอบ (Post-exam report)

เป็นขั้นตอนสุดท้าย ซึ่งดำเนินการโดยทำการสร้างรายงานสรุปผลการสอบและพฤติกรรมต่างๆ ของนักศึกษาแต่ละคน ตลอด 3 ชั่วโมง ซึ่งประกอบด้วยข้อมูลนักศึกษา จำนวนครั้งของการทุจริต และเวลา

## ผลการดำเนินงาน

### 1. ชุดข้อมูล และสภาพแวดล้อม

ชุดข้อมูลวิชาจำนวน 4 ชุดวิชา ได้แก่ ชุดวิชา 96408 การจัดการระบบฐานข้อมูล 99419 ความมั่นคงปลอดภัยไซเบอร์ 99420 การโปรแกรมเว็บ และ 96412 การบริหารโครงการด้านเทคโนโลยีสารสนเทศ ที่มีการสอบเป็นเฉพาะแบบปรนัยซึ่งนักศึกษาจะต้องมองข้อสอบและเลือกคำตอบที่ถูกต้องผ่านหน้าจอ โดยชุดวิชาเหล่านี้มีจำนวนข้อสอบเท่ากันทั้งหมด 120 ข้อ และใช้เวลาสอบ 3 ชั่วโมง สำหรับเครื่องเซิร์ฟเวอร์ (server) GPU NVIDIA A100 Tensor Core ที่มีหน่วยความจำ GPU 40 GB. และติดตั้งโปรแกรมไพธอนรุ่น 3.10.15 โดยกำหนดให้ใน 1 หน้าจอการสอบ แสดงรูปภาพแบบตารางขนาด  $5 \times 5 = 25$  ช่อง (สำหรับ 25 คน) และแต่ละหน้าจอย่อยมีขนาดประมาณ  $200 \times 200$  พิกเซล (แสดงผลแบบสี่เหลี่ยมจัตุรัส)

### 2. การกำหนดค่าพารามิเตอร์ของแต่ละอัลกอริธึม

**Table 1** Example of Parameter Settings for the CNN and MLP Algorithms

| Algorithms | Types             | Settings                                    |
|------------|-------------------|---------------------------------------------|
| CNN        | Conv1             | 32 filters, kernel size (3, 3), ReLU        |
|            | MaxPool1          | Pool size (2, 2)                            |
|            | Conv2             | 64 filters, kernel size (3, 3), ReLU        |
|            | MaxPool2          | Pool size (2, 2)                            |
|            | Conv3             | 128 filters, kernel size (3, 3), ReLU       |
|            | MaxPool3          | Pool size (2, 2)                            |
|            | Dropout           | 0.25 after pooling layers                   |
| MLP        | Dense1            | 512 units, ReLU                             |
|            | Dropout           | 0.5                                         |
|            | Dense2            | 256 units, ReLU                             |
|            | Dropout           | 0.3                                         |
|            | Dense3            | 128 units, ReLU                             |
|            | Dropout           | 0.3                                         |
|            | Final Dense layer | 1 unit, sigmoid (for binary classification) |

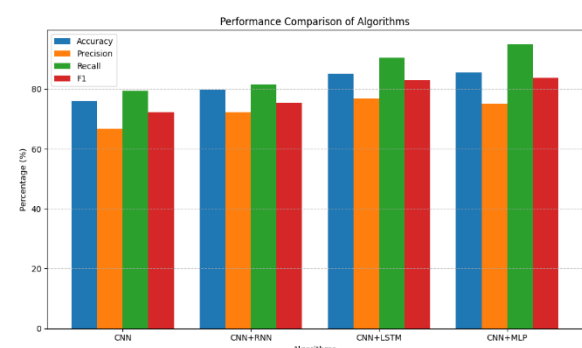
จาก Table 1 ที่ CNN layer กำหนดจำนวนของการกรองเริ่มต้นที่ 32, 64 และ 128 ตัวกรอง และกำหนดขนาดของพูลลิ่งเป็น  $2 \times 2$  ของแต่ละชั้น Convolution และที่ MLP layer เริ่มต้นกำหนดแผนที่ยุคตลักษณ์ที่ 512, 256 และ 128 หน่วย และในชั้น final layer ใช้ฟังก์ชัน sigmoid สำหรับไบนารีคลาส

### 3. การแบ่งข้อมูล

การแบ่งข้อมูลออกเป็น 3 ส่วนได้แก่ข้อมูลฝึกสอน (training data) ข้อมูลตรวจสอบ (validation data) และข้อมูลทดสอบ (testing data) และ โดยกำหนดเป็น 64:16:20 ตามลำดับ ซึ่งเป็นสัดส่วนมาตรฐานที่เหมาะสมกับข้อมูลชุดนี้ที่มีจำนวนมากพอในการสร้างและทดสอบแบบจำลอง และลดความเอนเอียงหรืออคติในการแบ่งข้อมูลโดยใช้ cross validation เป็น 5-fold cross-validation เพื่อประเมินผลแบบจำลองในระหว่างการฝึกสอนแบบจำลอง โดยการใช้ 5-fold cross validation กับชุดข้อมูลนี้ที่มีขนาดใหญ่ ทำให้แต่ละ fold มีขนาดที่เพียงพอสำหรับการฝึกสอนแบบจำลอง (หากกำหนดเป็น 10-fold cross validation ทำให้ข้อมูลในแต่ละ fold เล็กเกินไป ซึ่งผลที่ได้ไม่ถูกต้องเท่ากับ 5-fold cross validation)

### 4. การประเมินประสิทธิภาพแบบจำลอง

การประเมินผลแบบจำลองด้วย 4 อัลกอริธึม ได้แก่ CNN, CNN+RNN โดย RNN คือโครงข่ายประสาทแบบเวียนซ้ำ (Recurrent Neural Network: RNN), CNN+LSTM และ CNN+MLP ซึ่งในงานวิจัยนี้วิดีโอไฟล์บันทึกการสอบจะเกี่ยวข้องกับอนุกรมเวลา จึงนำอัลกอริธึม RNN และ LSTM มาทดสอบการสร้างแบบจำลอง และประเมินผลแบบจำลองด้วย 4 เมตริกได้แก่ ค่าความถูกต้อง ค่าความแม่นยำ ค่าความครบถ้วน ดัง Figure 10



**Figure 10** Compares four algorithms using a confusion matrix

จาก Figure 10 จะเห็นว่าอัลกอริทึม CNN+MLP มีค่าความถูกต้อง = 85.5% ค่าความแม่นยำ = 75.0% ค่าความครบถ้วน = 94.9% และค่าประสิทธิภาพโดยรวม = 83.7% สูงกว่าอัลกอริทึมอื่น ดังนั้นงานวิจัยนี้จึงเลือกใช้อัลกอริทึม CNN+MLP สำหรับสร้างแบบจำลอง

### 5. การปรับแต่งพารามิเตอร์

นำแบบจำลองมาดำเนินการปรับแต่งพารามิเตอร์ต่างๆ ด้วย GridSearchCV พบว่า Optimizer choices กำหนดเป็น adam, conv\_filter = 32, dense\_units = 512, drop\_out\_rate = 0.3, epochs = 200 ซึ่งทำให้แบบจำลองมีประสิทธิภาพดีขึ้นดัง Table 2

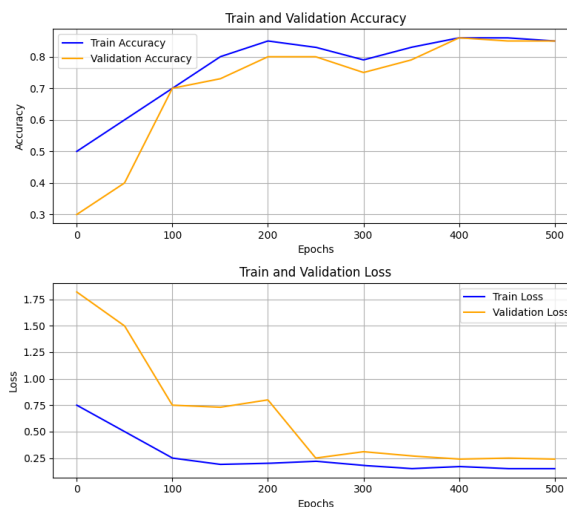
**Table 2** Hyperparameter tuning for CNN+MLP models

|           | CNN+MLP                      |                             |
|-----------|------------------------------|-----------------------------|
|           | Before Hyperparameter tuning | After Hyperparameter tuning |
| Accuracy  | 85.5                         | 86.2                        |
| Precision | 75.0                         | 77.3                        |
| Recall    | 94.9                         | 95.7                        |
| F1        | 83.7                         | 85.6                        |

จาก Table 2 การเปรียบเทียบประสิทธิภาพแบบจำลองก่อนและหลังจากการปรับแต่งพารามิเตอร์ แสดงให้เห็นว่าแบบจำลองมีประสิทธิภาพสูงขึ้น โดยค่าความถูกต้อง = 86.2% ค่าความแม่นยำ = 77.34% ค่าความครบถ้วน = 95.7% และค่าประสิทธิภาพโดยรวม = 85.6%

### 6. การประเมินค่าการสูญเสียและค่าความถูกต้อง

นำแบบจำลองที่ปรับแต่งพารามิเตอร์เรียบร้อยแล้วมาดำเนินการประเมินค่าการสูญเสีย (loss) และค่าความถูกต้องของแต่ละ epoch โดยกำหนดค่าเป็น 50, 100, 200 และ 500 ดัง Figure 11



**Figure 11** Test Loss and Accuracy for Each Epoch (50, 100, 200, 500)

### 7. การปรับใช้แบบจำลอง

เป็นกระบวนการนำแบบจำลองการเรียนรู้เชิงลึกที่ได้พัฒนา และทดสอบเรียบร้อยแล้ว ไปประยุกต์ปรับใช้งานในสภาพแวดล้อมจริง โดยในการทดลองนี้ ทางทีมผู้วิจัยใช้ทดสอบการใช้งานจริงในสภาพแวดล้อมการสอบจำลอง กับ ไฟล์วิดีโอ 4 ชุดวิชาได้แก่ ชุดวิชา 96408 การจัดการระบบฐานข้อมูล 99419 ความมั่นคงปลอดภัยไซเบอร์ 99420 การโปรแกรมเว็บชุดวิชา และ 96412 การบริหารโครงการด้านเทคโนโลยีสารสนเทศ ดัง Table 3

**Table 3** compares the model performance results with four courses

| Course ID | Accuracy    | Precision   | Recall      | F1          |
|-----------|-------------|-------------|-------------|-------------|
| 96408     | 85.4        | 76.1        | 95.2        | 84.6        |
| 99419     | 87.4        | <b>79.4</b> | 96.5        | 87.1        |
| 99420     | 84.5        | 78.2        | 92.7        | 84.9        |
| 96412     | <b>87.5</b> | 76.0        | <b>98.7</b> | <b>85.8</b> |

จาก Table 3 จะเห็นว่าแบบจำลองมีประสิทธิภาพสูงเมื่อนำไปประยุกต์ใช้งานจริง โดยมีค่าความถูกต้อง ค่าความแม่นยำ ค่าความครบถ้วน และค่าประสิทธิภาพโดยรวมของ 4 ชุดวิชาได้แก่ ชุดวิชา 96408 การจัดการระบบฐานข้อมูล 99419 ความมั่นคงปลอดภัยไซเบอร์ 99420 การโปรแกรมเว็บชุดวิชา และ 96412 การบริหารโครงการด้านเทคโนโลยีสารสนเทศ มีค่าเฉลี่ยของค่าความถูกต้อง = 86.2 ค่าเฉลี่ยของ

ค่าความแม่นยำ = 77.4 ค่าเฉลี่ยของค่าครบถ้วน = 95.7 และค่าเฉลี่ยของค่าประสิทธิผลโดยรวมของระบบในการใช้งานจริง = 85.6

## อภิปรายผลและข้อเสนอแนะ

### 1. อภิปรายผล

จากผลการดำเนินการพัฒนาระบบการประเมินพฤติกรรมทุจริตระหว่างการสอบออนไลน์ด้วยปัญญาประดิษฐ์บนระบบการรับรู้การแสดงออกทางสีหน้าของนักศึกษาแบบอัตโนมัติ ที่มีชื่อเรียก STOU-ASFER ย่อมาจาก STOU-Automatic Student Facial Expression Recognition Model เป็นการนำข้อมูลเข้าจากไฟล์วิดีโอที่ได้จากการสอบออนไลน์ส่งเข้าไปในกระบวนการเตรียมข้อมูล (data preparation) เพื่อตัด VDO ออกเป็นเฟรมภาพใบหน้า แล้วส่งเฟรมภาพนี้เข้าสู่การสร้างแบบจำลองการรับรู้อัตโนมัติจากท่าทางของหน้า (STOU-ASFER) ด้วยอัลกอริทึม Convolution Neural Network เพื่อกรองคุณลักษณะ (feature) ที่สำคัญที่อยู่บนใบหน้าตามท่าทางที่แตกต่างกัน ซึ่งคล้ายกับงานวิจัยของ Bargal *et al.* (2016) ที่นำเสนอการใช้วิธีการวิเคราะห์ภาพโดยใช้การประมวลผลภาพและโครงข่ายประสาทเทียมคอนโวลูชัน (CNN) เพื่อใช้ในการสอบและตรวจสอบความถูกต้องของการสอบออนไลน์ (eExam) และการคุมสอบออนไลน์ (online proctoring) โดยมีลักษณะสำคัญของใบหน้าที่จับ และงานวิจัยของ Panlima and Sukvichai (2023) ที่พัฒนาระบบการรับรู้อัตโนมัติ (automatic recognition system) ของอารมณ์ที่แสดงผ่านใบหน้าด้วยอัลกอริทึม CNN+MLP แต่ในงานวิจัยนี้ดำเนินการขยายขีดความสามารถโดยการเพิ่มประสิทธิภาพการทำงานของแบบจำลอง โดยใช้อัลกอริทึม MLP เพื่อหาความสัมพันธ์ของแต่ละเฟรมภาพตามอนุกรมเวลา โดยความสัมพันธ์นี้จะนำไปใช้ในการให้น้ำหนักและผลทำนายทุจริตการสอบ

การประเมินประสิทธิผลของแบบจำลอง จากค่าความถูกต้อง ค่าความแม่นยำ ค่าความครบถ้วน และค่าประสิทธิผลโดยรวมของระบบในการใช้งานจริง (จากไฟล์วิดีโอการสอบออนไลน์) จำนวน 4 ชุดวิชาได้แก่ ชุดวิชา 96408 การจัดการระบบฐานข้อมูล 99419 ความมั่นคงปลอดภัยไซเบอร์ 99420 การโปรแกรมเว็บชุดวิชา และ 96412 การบริหารโครงการด้านเทคโนโลยีสารสนเทศ มีค่าเฉลี่ยของค่าความถูกต้อง = 86.2 ค่าเฉลี่ยของค่าความแม่นยำ = 77.4 ค่าเฉลี่ยของค่าครบถ้วน = 95.7 และค่าเฉลี่ยของค่าประสิทธิผลโดยรวมของระบบในการใช้งานจริง = 85.6 และมีค่าความถูกต้องของแบบจำลองสำหรับการใช้งานจริง

### 2. ข้อเสนอแนะ

เครื่องคอมพิวเตอร์สำหรับรันโปรแกรมมีพื้นที่จัดเก็บไฟล์มากกว่า 25 GB. (ต่อการสอบ 1 ครั้งสำหรับนักศึกษา 25 - 50 คน และเป็นข้อสอบปรนัย)

กรณีการสอบออนไลน์ ที่มีนักศึกษาเกิน 25 คน โปรแกรม WebeX จะทำการสุ่ม (random) สลับใบหน้ากลับไปกลับมาของแต่ละตำแหน่งใหม่ ทำให้แบบจำลองเกิดข้อจำกัดของงานวิจัย ที่ต้องมีการระบุตำแหน่งของนักศึกษาแบบคงที่ เพื่อให้แบบจำลองแสดงผลได้ถูกต้อง

รายงานสรุปผลการทำงาน สามารถใช้เป็นเอกสารเพื่อสนับสนุนหรือประกอบการพิจารณาตัดสินพฤติกรรมส่อทุจริตเท่านั้น

การสอบออนไลน์ของนักศึกษา นอกจากจะต้องแสดงภาพใบหน้าทั้งหมด 25 ใบหน้าต่อครั้งแล้ว จะต้องมีส่วนสำหรับการสนทนา หรือ chat ของกรรมการคุมสอบและนักศึกษาอีกด้วย ทำให้พื้นที่แสดงใบหน้าของนักศึกษามีขนาดเล็กลง ดังนั้นในการพัฒนาต่อยอดงานวิจัยนี้ ควรพัฒนาให้โปรแกรมมีความสามารถเพิ่มมากขึ้นในจดจำภาพใบหน้าของนักศึกษาที่มีขนาดเล็กได้อย่างถูกต้อง และแม่นยำ

## กิตติกรรมประกาศ

คณะผู้วิจัยขอขอบพระคุณกลุ่มตัวอย่างที่เข้าร่วมโครงการวิจัย ซึ่งโครงการวิจัยนี้ดำเนินการภายใต้การขอรับรองจริยธรรมการวิจัยในมนุษย์ รหัส STOUIRB 2565/019.1703

## เอกสารอ้างอิง

- มหาวิทยาลัยสุโขทัยธรรมมาธิราช. (2566, 5 พฤษภาคม). *ระเบียบและแนวปฏิบัติในการสอบออนไลน์*. <https://www.stou.ac.th/offices/ore/rere/goto/newsfeed353>
- Abdullah, M., Ahmad, M., & Han, D. (2020). Facial expression recognition in videos: An CNN-LSTM based model for video classification. *2020 International Conference on Electronics, Information, and Communication (ICEIC)*, 1–3.
- Aggarwal, C. (2018). *Neural networks and deep learning*. Springer.
- Bargal, A., Barsoum, E., Ferrer, C., & Zhang, C. (2016, October). Emotion recognition in the wild from videos using images. In *Proceedings of the 18th ACM International Conference on Multimodal Interaction* (pp. 433–436).

- Ekman, P. (1992). Facial expressions of emotion: An old controversy and new findings. *Philosophical Transactions of the Royal Society of London. Series B: Biological Sciences*, 335(1273), 63–69.
- Ekundayo, O. S., & Viriri, S. (2021). Facial expression recognition: A review of trends and techniques. *IEEE Access*, 9, 136944–136973.
- Frank, M. G. (2001). Facial expressions. In *International encyclopedia of the social & behavioral sciences* (pp. 5230–5234).
- Gavade, P. A., Bhat, V. S., & Gavade, A. B. (2023). Learning face expression features from video using spatio-temporal feature extractor and CNN-LSTM. *2023 Seventh International Conference on Image Information Processing (ICIIP)*, 46–50.
- Google AI for Developers. (2022, November 11). *Face landmark detection guide*. [https://ai.google.dev/edge/mediapipe/solutions/vision/face\\_landmarker](https://ai.google.dev/edge/mediapipe/solutions/vision/face_landmarker)
- Guodong, G., & Na, Z. (2019). A survey on deep learning-based face recognition. *Computer Vision and Image Understanding*, 189, 1–37.
- Haghpanah, M., Saeedizade, E., Masouleh, M. T., & Kalhor, A. (2022). Real-time facial expression recognition using facial landmarks and neural networks. *2022 International Conference on Machine Vision and Image Processing (MVIP)*, 1–7.
- Indolia, S., Kumar, A., Goswami, M., & Pooja, A. (2018). Conceptual understanding of convolutional neural network- A deep learning approach. *Procedia Computer Science*, 132, 679–688.
- Iqbal, T., Ali, T., Shaf, A., & Ali, M. S. (2023). Enhancing online exam security: Deep learning algorithms for cheating detection. *2023 International Conference on Frontiers of Information Technology (FIT)*, 126–131.
- Lapan, M. (2020). *Deep reinforcement learning hands-on* (2nd ed.). Packt Publishing.
- Mohamad Nezami, O., Dras, M., Hamey, L., Richards, D., Wan, S., & Paris, C. (2020). Automatic recognition of student engagement using deep learning and facial expression. In *Machine learning and knowledge discovery in databases. ECML PKDD 2019. Lecture notes in computer science* (Vol. 11908, pp. 273–289). Springer.
- Noorbehbahani, F., Mohammadi, A., & Aminazadeh, M. (2022). A systematic review of research on cheating in online exams from 2010 to 2021. *Education and Information Technologies*, 27(6), 8413–8460.
- Panlima, A., & Sukvichai, K. (2023). Investigation on MLP, CNNs and Vision Transformer models performance for extracting a human emotions via facial expressions. *Proceedings of the IEEE International Conference on Instrumentation, Control, Artificial Intelligence, and Robotics (ICA-SYMP)*, 127–130.
- Ramzan, M., Abid, A., Bilal, M., Aamir, K. M., Memon, S. A., & Chung, T.-S. (2024). Effectiveness of pre-trained CNN networks for detecting abnormal activities in online exams. *IEEE Access*, 12, 21503–21519.
- Soltane, M., & Laouar, M. R. (2021). A smart system to detect cheating in the online exam. *2021 International Conference on Information Systems and Advanced Technologies (ICISAT)*, 1–5.
- Zhang, C., Pan, X., Huapeng, L., Gardiner, A., Sargent, I., Hare, J., & Atkinson, P. (2018). A hybrid MLP-CNN classifier for very fine resolution remotely sensed image classification. *ISPRS Journal of Photogrammetry and Remote Sensing*, 140, 133–144.

# การเปรียบเทียบประสิทธิภาพของตัวแบบสำหรับการวิเคราะห์ความคิดเห็นจากบทวิจารณ์เกม

## Evaluating model performance for sentiment analysis on game reviews

ณัฐภูมิ นามจุ<sup>1</sup>, อนิรุทธิ์ โชติถนอม<sup>2</sup>, วรารัตน์ สงฆ์แป้น<sup>3</sup> และ อาทิตยาพร โรจรัตน์<sup>4,\*</sup>

Natthapumin Manucham<sup>1</sup>, Anirut Chottanom<sup>2</sup>, Wararat Songpan<sup>3</sup> and Artitayaporn Rojarath<sup>4,\*</sup>

Received: 9 December 2024 ; Revised 19 December 2024 ; Accepted: 18 April 2025

### บทคัดย่อ

การศึกษานี้มีวัตถุประสงค์เพื่อเข้าใจความคิดเห็นของผู้เล่นเกมและต้องการเปรียบเทียบให้เห็นลักษณะของตัวแบบที่ใช้ในการจำแนกประเภทโดยเป็นข้อมูลภาษาไทยในกรณีที่มีทรัพยากรที่จำกัด จากการประเมินประสิทธิภาพของตัวแบบ Machine learning ได้แก่ วิธีการ Naïve bayes และ Support vector machine ในส่วนของตัวแบบ Convolutional neural network model ได้แก่ 1D-CNN ซึ่งนำมาเปรียบเทียบกับตัวแบบ Transformer ได้แก่ เทคนิค BERT Multilingual และ WangchanBERTa ในการวิเคราะห์ความคิดเห็นเกี่ยวกับเกมซึ่งใช้ชุดข้อมูลที่เป็นการแสดงความคิดเห็นที่ใช้ภาษาไทยเป็นหลัก ในงานวิจัยได้ใช้เทคนิค Bag of words, TF-IDF และ Word2Vec ในการสกัดคุณลักษณะพิเศษจากข้อความสำหรับตัวแบบ Machine learning ในขณะที่ตัวแบบ Transformer ใช้การ Embedding ที่ผ่านการ pre-trained มาก่อน จากผลการทดลองแสดงให้เห็นว่า WangchanBERTa เป็นตัวแบบที่มีประสิทธิภาพดีที่สุด โดยมีค่าความถูกต้องสูงถึง 82.16% ค่า Precision ที่ 87.06% ค่า Recall ที่ 86.18% และ ค่า F1-score ที่ 86.62% ในขณะที่วิธีการ Support vector machine ที่ใช้ เทคนิค BoW เป็นตัวแบบที่แสดงผลลัพธ์ที่ดีที่สุดในกลุ่มของตัวแบบ Machine learning ด้วยค่าความถูกต้องที่ 81.26% ส่วนผลการทดลองในกลุ่มของเทคนิคการแปลงข้อความแสดงให้เห็นว่าการสกัดคุณลักษณะพิเศษจากข้อความมีความสำคัญต่อตัวแบบ Machine learning โดยจากการศึกษาพบว่าการสกัดคุณลักษณะพิเศษจากข้อความที่สนใจเฉพาะคำ เช่นเทคนิค BoW และ TF-IDF สามารถสกัดคุณลักษณะพิเศษจากข้อความได้ดีกว่าการสนใจบริบทของคำ เช่นเทคนิค Word2Vec เมื่อวิเคราะห์ถึงผลการทดลองจะเห็นว่าค่าความถูกต้องของวิธีการที่ดีที่สุดของทั้ง 2 ประเภทตัวแบบต่างกันเพียงประมาณ 1% โดยตัวแบบ Machine learning ได้ค่าความถูกต้องที่ใกล้เคียงกันกับตัวแบบ Transformer แต่ใช้ทรัพยากรน้อยกว่าจึงเหมาะสำหรับสถานการณ์ที่มีข้อจำกัดด้านทรัพยากร

**คำสำคัญ:** การวิเคราะห์ความรู้สึก, การเรียนรู้ของเครื่อง, การสกัดคุณลักษณะพิเศษ, การประมวลผลภาษาธรรมชาติ, บทวิจารณ์เกม

### Abstract

This research aimed to examine game reviews and compare the characteristics of classification models using Thai language data, particularly in contexts with limited resources. The experiment evaluates the performance of machine

<sup>1</sup> นิสิตปริญญาตรี สาขาวิชาเทคโนโลยีสารสนเทศ คณะวิทยาการสารสนเทศ มหาวิทยาลัยมหาสารคาม

<sup>2</sup> ผู้ช่วยศาสตราจารย์ สาขาวิชาเทคโนโลยีสารสนเทศ คณะวิทยาการสารสนเทศ มหาวิทยาลัยมหาสารคาม

<sup>3</sup> รองศาสตราจารย์ วิทยาลัยการคอมพิวเตอร์ มหาวิทยาลัยขอนแก่น

<sup>4</sup> อาจารย์ หน่วยงานวิจัยห้องปฏิบัติการมัลติเอเจนต์ ระบบอัจฉริยะ และการจำลองสถานการณ์ สาขาวิชาเทคโนโลยีสารสนเทศ คณะวิทยาการสารสนเทศ มหาวิทยาลัยมหาสารคาม

<sup>1</sup> Bachelor Student, Department of Information Technology, Faculty of Informatics, Mahasarakham University

<sup>2</sup> Assistant Professor, Department of Information Technology, Faculty of Informatics, Mahasarakham University

<sup>3</sup> Associate Professor, College of Computing, Khon Kaen University

<sup>4</sup> Lecturer, Multi-agent Intelligent Simulation Laboratory (MISL) Research Unit, Department of Information Technology, Faculty of Informatics, Mahasarakham University

\* Corresponding author E-mail: artitayaporn.r@msu.ac.th

learning models, including Naïve Bayes, support vector machines, and 1D-CNN, and compares them with transformer-based models, namely BERT Multilingual and WangchanBERTa, in analyzing game-related reviews using a dataset primarily consisting of Thai-language comments. This research employs Bag of words, TF-IDF, and word2vec techniques to generate text transformations for machine learning models and CNN model. In contrast, transformer models employ pre-trained embeddings. The experimental results indicate that WangchanBERTa achieves the highest overall performance, with an accuracy of 82.16%, a precision of 87.06%, a recall of 86.18%, and an F1-score of 86.62%. Meanwhile, the support vector machine method employing the Bag of Words technique demonstrates the best performance among the machine learning models, with an accuracy of 81.26%. The experimental findings within the text transformation methods indicate that feature extraction is a critical factor in optimizing the performance of machine learning models. The study reveals that feature extraction methods focusing exclusively on individual words, such as Bag-of-Words and TF-IDF, demonstrate greater effectiveness in feature extraction compared to context-aware approaches such as word2vec. An analysis of the experimental results reveals that the accuracy of the best-performing models in both categories differs by approximately 1%. The machine learning models achieve accuracy levels comparable to those of the transformer models while requiring fewer resources, making them well-suited for resource-constrained environments.

**Keywords:** Sentiment analysis, machine learning, feature extraction, natural language processing, game reviews

## บทนำ

ในปัจจุบัน ประเทศไทยมีผู้เล่นเกมผ่านคอมพิวเตอร์ส่วนตัว (PC) ประมาณ 16.3 ล้านคน ซึ่งประมาณหนึ่งในสามของผู้เล่นเกมเหล่านี้เป็นผู้หญิง (Gimme, 2018) นอกจากนี้ ข้อมูลจาก Marketeer Online ยังแสดงให้เห็นว่าอุตสาหกรรมเกมในประเทศไทยมีการใช้จ่ายเงินเล่นเกมเฉลี่ยปีละ 2,200 บาทต่อคน (Eukeik, 2011) สำหรับการอัตราการเติบโตของผู้ชมอีสปอร์ตในประเทศไทย มีการคาดการณ์ว่าจะเพิ่มขึ้นประมาณ 30% ระหว่างปี 2560 ถึง 2564 นี้แสดงให้เห็นถึงการเติบโตที่รวดเร็วของตลาดเกมในประเทศไทย ไม่เพียงแต่ในด้านของการเล่นเกมเท่านั้น แต่ยังรวมถึงด้านการชมการแข่งขันอีสปอร์ตด้วย เนื่องด้วยการเติบโตของตลาดเกมในประเทศไทย ทำให้แพลตฟอร์มจำหน่ายเกมชื่อดังอย่าง Steam มีผู้ใช้งานจากประเทศไทยมากขึ้นในทุกๆ ปี ตามข้อมูลในปี 2024 แพลตฟอร์มเกม Steam เป็นแพลตฟอร์มร้านค้าออนไลน์สำหรับตลาดเกม PC ในการจัดจำหน่ายจากค่ายเกมต่างๆ ให้สามารถเข้าถึงกันได้ทั่วโลก มีผู้ใช้งานในประเทศไทยประมาณ 1.2 ล้านคน ซึ่งสะท้อนถึงวัฒนธรรมการเล่นเกมที่แข็งแกร่งในประเทศ และในระดับโลก (Wresearch, 2022) Steam ยังคงเติบโตอย่างต่อเนื่องโดยมีจำนวนผู้ใช้งานที่เพิ่มขึ้น ซึ่งจำนวนผู้ใช้งานพร้อมกัน 31 ล้านคนทั่วโลกในปี 2024 และ Steam มีเกมให้เลือกมากมายโดยมีเกมให้เล่นเกือบ 50,361 เกม และมีเกมใหม่ๆ ที่กำลังเปิดตัวในปี 2024 (Shewale, 2024) ด้วยการทำที่มีเกมให้เล่นมากมายนี้ ทำให้ผู้บริโภคส่วนใหญ่จะทำการสืบค้นข้อมูลเกี่ยวกับตัวเกม เช่น ประเภทของเกม, คุณภาพ

ของเกม, ราคาของเกม และปัจจัยที่สำคัญที่ส่งผลกระทบต่อ การเลือกซื้อเกมของผู้บริโภคนั้นก็คือ ข้อมูลการแสดงความ คิดเห็น หรือบทวิจารณ์จากผู้ที่เคยซื้อไปแล้ว Steam จะมีการ เปิดให้มีการเขียนบทวิจารณ์เกมจากผู้ซื้อตัวเกมนั้นๆ ทำให้ผู้ที่สนใจที่จะซื้อตัวเกมนั้นสามารถเข้าไปอ่านเพื่อประกอบการตัดสินใจ ซึ่งบทวิจารณ์จากผู้ซื้อนั้นเป็นการแสดงความ รู้สึกในรูปแบบข้อความที่มีต่อตัวเกมพร้อมกับการให้คะแนน ความนิยมเพื่อสรุปว่าแนะนำหรือไม่แนะนำให้ซื้อเกม จาก การที่มักพบปัญหาที่เกิดขึ้น คือบทวิจารณ์นั้นและคะแนนที่ ให้มีความขัดแย้งกันจากการวิจารณ์แนวประชดประชัน การใช้ถ้อยคำเสียดสี และความคลุมเครือในการใช้ภาษา ทำให้ สร้างความสับสนทั้งผู้ซื้อที่ต้องการข้อมูลเพื่อประกอบการตัดสินใจซื้อและนักพัฒนาเกมที่จะนำข้อมูลบทวิจารณ์เหล่านี้ ไปประกอบการปรับปรุงในตัวเกม

Bais *et al.* (2017) ศึกษาเกี่ยวกับการจำแนกความรู้สึกของรีวิวเกมบน Steam โดยการจำแนกความรู้สึกในข้อความ มีความน่าสนใจโดยเฉพาะการใช้ภาษาที่มีความซับซ้อน เช่น การใช้ภาษาที่แสดงถึงการเสียดสี, การใช้ภาษาอังกฤษที่ไม่ถูกหลักไวยากรณ์ และความรู้สึกที่ผสมผสานกัน ในงานวิจัยนี้มีการจำแนกข้อความที่เป็นเชิงบวกและเชิงลบ โดยพิจารณาจากภาษาเขียนของผู้ใช้ Steam ผู้วิจัยได้มีการใช้อัลกอริทึม ได้แก่ Support Vector Machine (SVM), Logistic Regression, Naïve Bayes และ Turney Algorithm ซึ่งข้อมูลทดสอบเป็นแบบ Unsupervised Sentiment นอกจากนี้ยัง พิจารณาลักษณะที่สำคัญอื่นๆ ในการวิเคราะห์ความรู้สึก เช่น

เปอร์เซ็นต์ของผู้ที่พบว่ารีวิรมีประโยชน์หรือตลก และจำนวนชั่วโมงที่ผู้รีวิวเล่นเกมที่รีวิว ผลการทดลองพบว่า Logistic Regression มีค่าความถูกต้องสูงที่สุด ที่ 93.5% รองลงมาคือ Linear SVM ที่ค่าความถูกต้อง 93.1%

วนสวรรค์ มีประเสริฐ และเอกรัฐ รัฐกาญจน์ (2564) ได้ศึกษาเกี่ยวกับการวิเคราะห์ความคิดเห็นจากทวิตเตอร์ของลูกค้าบริษัทข้อปปีประเทศไทย โดยใช้เทคนิคการเรียนรู้ของเครื่อง (Machine Learning) โดยใช้ Random Forest, SVM และ Logistic Regression สำหรับการจำแนกหัวข้อ ใช้ Model ที่มีผู้พัฒนาไว้แล้วในการแยกความรู้สึก คือ WangchanBERTa และมีการคัดเลือกคุณลักษณะด้วย Bag of Words และ TF-IDF สำหรับการจำแนกความรู้สึก ซึ่งให้ประสิทธิภาพที่ดีที่สุดสำหรับข้อความภาษาไทย จากการวิจัยพบว่าวิธีการวิเคราะห์ข้อมูลเพื่อจัดหมวดหมู่ประเด็นปัญหาที่มีประสิทธิภาพมากที่สุดคือวิธี Random Forest ส่วนวิธีการวิเคราะห์ข้อมูลที่มีประสิทธิภาพมากที่สุดเพื่อวิเคราะห์ความรู้สึกแต่ละประเด็นสำคัญ คือ WangchanBERTa

ปราชญ์ภาคย์ เหล่าสังข์สุข และคณะ (2560) ในงานวิจัยนี้เสนอระบบวิเคราะห์และสรุปความคิดเห็นเกี่ยวกับร้านอาหารจากเว็บไซต์รีวิวโดยอัตโนมัติที่ใช้เทคนิคการตัดคำในประโยคโดยอาศัยฐานคำศัพท์ การวิเคราะห์ประเภทคำและรูปประโยค เพื่อหาความหมายเชิงบวกหรือเชิงลบของประโยค และนำมาคำนวณเป็นค่าคะแนนความพึงพอใจสำหรับปัจจัยด้านการบริการต่างๆ ซึ่งจากผลการประเมินความพึงพอใจของผู้ใช้ในด้านความสอดคล้องของผลสรุปจากระบบและผลสรุปจากผู้ให้พบว่า การสรุปความคิดเห็นด้านการบริการและอาหารอยู่ในระดับดี ขณะที่ด้านอื่นๆ อยู่ในระดับพอใช้

วิสุตา เทศเมือง และนิเวศ จิระวิชิตชัย (2560) นำเสนอวิธีการจำแนกความคิดเห็นโดยการวิเคราะห์ความคิดเห็นภาษาไทยเกี่ยวกับการรีวิวสินค้าออนไลน์ ด้านการบริการห้องพัก โรงแรม รีสอร์ท จาก Agoda Thailand และ Twitter Thailand โดยใช้เทคนิคเหมืองข้อความวิเคราะห์ความคิดเห็นภาษาไทยเกี่ยวกับการรีวิวการบริการห้องพัก และสร้างแบบจำลองด้วยอัลกอริทึม 4 วิธี ได้แก่ ซัพพอร์ตเวกเตอร์แมชชีน ต้นไม้ตัดสินใจ นาอ์ฟเบย์ และเคเนียร์เรนเบอร์ เพื่อเปรียบเทียบประสิทธิภาพการวิเคราะห์ความคิดเห็นภาษาไทยเกี่ยวกับการรีวิวการบริการห้องพัก มีการใช้การแทนคำดัชนีด้วยค่า TF-IDF และลดคุณลักษณะด้วยค่า ChiSquare พบว่า อัลกอริทึมซัพพอร์ตเวกเตอร์แมชชีนให้ประสิทธิภาพในการจำแนกที่ดีที่สุดที่ 83.38%

วสวัตดี อินทร์แปลง และจารี ทองคำ (2563) งานวิจัยนี้มีวัตถุประสงค์เพื่อค้นหาเทคนิคการจำแนก จาก 5 เทคนิค

ที่มีประสิทธิภาพ คือ เทคนิค Naïve Bayes, SVM, K-Nearest Neighbor เทคนิคต้นไม้ตัดสินใจ C4.5 และเทคนิค Random Forest โดยเก็บรวบรวมข้อมูลความคิดเห็นต่อเกมมือถือผับจีจำนวน 3,798 ข้อความ ในกระบวนการคัดเลือกคำบางคำเพื่อใช้ในการแยกคุณลักษณะได้เลือกใช้คำวิเศษณ์ และคำสแลงบางคำที่ความหมายของคำเป็นคำวิเศษณ์เพื่อทำการแยกคุณลักษณะเชิงบวกและเชิงลบ งานวิจัยยังมีการปรับความสมดุลของข้อมูลด้วยวิธี SMOTE และใช้หลักการ 10-fold cross validation ในการแบ่งกลุ่มข้อมูลเป็นชุดข้อมูลเรียนรู้และชุดข้อมูลทดสอบ เมื่อทำการทดสอบและวัดประสิทธิภาพของตัวแบบพบว่า เทคนิค K-Nearest Neighbor ให้ผลดีที่สุดในการวิเคราะห์ความคิดเห็น โดยให้ค่าความแม่นยำ 99.75% ค่าความระลึก 100% และค่าความถูกต้อง 99.87%

การศึกษาค้นคว้าครั้งนี้ผู้วิจัยมีแนวคิดที่จะสร้างตัวแบบการวิเคราะห์ความรู้สึกทางอารมณ์ สำหรับจำแนกบทวิจารณ์จากผู้ซื้อ โดยใช้เทคนิค Machine Learning แบบการเรียนรู้แบบ Supervised Learning ส่วนข้อมูลที่ใช้ คือบทวิจารณ์เกมจากแพลตฟอร์ม steam ที่เป็นภาษาไทย เพื่อให้การวิเคราะห์มีความแม่นยำ ข้อมูลที่ใช้ในการฝึกตัวแบบถูกแปลงเป็นคุณลักษณะหลายประเภท ได้แก่ Bag of Words, TF-IDF และ Word Embedding (Word2Vec) ซึ่งเป็นวิธีการที่ช่วยในการแทนคำคำในลักษณะที่สามารถนำไปใช้ในการฝึกตัวแบบได้อย่างมีประสิทธิภาพ ในการศึกษาได้เลือกใช้เทคนิคการเรียนรู้ของเครื่องที่หลากหลายเพื่อเปรียบเทียบผลลัพธ์ เช่น ตัวแบบ Machine Learning อย่าง Naïve Bayes, SVM และ 1D-CNN (One-dimensional Convolutional Neural Network) ซึ่งเป็นเทคนิคที่มีความหลากหลายในการจัดการกับข้อมูลที่มีลักษณะต่างๆ นอกจากนี้ยังได้ใช้ตัวแบบ Transformer อย่าง BERT Multilingual และ WangchanBERTa ซึ่งถูกออกแบบมาเพื่อจัดการกับข้อมูลภาษาธรรมชาติในหลายภาษาและโดยเฉพาะสำหรับภาษาไทย

งานวิจัยฉบับนี้ จะนำเสนอการวิเคราะห์ความรู้สึกจากบทวิจารณ์เกมบน Steam โดยมุ่งเน้นที่การรับรู้และทำนายความรู้สึกหรือทัศนคติที่ปรากฏในบทวิจารณ์ โดยใช้เทคนิคด้านการประมวลผลภาษาธรรมชาติ (Natural Language Processing: NLP) การวิเคราะห์ความรู้สึก (Sentiment Analysis) และเทคนิคการจำแนกข้อความ (Text Classification) เพื่อสร้างตัวแบบที่เหมาะสมสำหรับการวิเคราะห์ความรู้สึกจากบทวิจารณ์เกมบน Steam เนื่องจากบทวิจารณ์เกมมักจะเต็มไปด้วยคำสแลง คำหยาบ หรือคำเฉพาะกลุ่มที่เกี่ยวข้องกับการเล่นเกม ซึ่งทำให้การวิเคราะห์และการทำนายความรู้สึกเป็นเรื่องที่ท้าทาย ดังนั้นจึงจำเป็นต้องพัฒนาและ

ปรับแต่งตัวแบบการวิเคราะห์ความรู้สึกนี้เพื่อให้สามารถจัดการกับความหลากหลายของภาษาที่พบในบทวิจารณ์เกมได้อย่างมีประสิทธิภาพ

ในงานวิจัยมีส่วนที่เป็น Research Contribution ดังต่อไปนี้

1) ในงานวิจัยมีการเปรียบเทียบให้เห็นประสิทธิภาพของตัวแบบ 3 ประเภทในการวิเคราะห์ความรู้สึกกับความคิดเห็นที่เป็นภาษาไทย ซึ่งประกอบด้วย machine learning model, CNN model และ transformer model

2) ขั้นตอนของการเตรียมข้อมูลมีกระบวนการในการจัดการข้อมูลที่เป็น imbalanced data ด้วยวิธี oversampling ซึ่งทำให้ประสิทธิภาพด้านความถูกต้องของตัวแบบทั้ง 3 ประเภทเพิ่มขึ้น

3) เปรียบเทียบวิธีการสกัดคุณลักษณะพิเศษที่จะนำไปใช้งานร่วมกับตัวแบบ machine learning โดยคุณลักษณะพิเศษที่สนใจจำนวนคำที่ปรากฏในเอกสาร เช่น BoW และ TF-IDF และคุณลักษณะพิเศษที่สนใจบริบทของคำ เช่น Word2Vec

## วิธีการดำเนินการวิจัย

ขั้นตอนการดำเนินการจะประกอบไปด้วย 5 ส่วนที่สำคัญ ดังแสดงที่ Figure 1 ซึ่งมีรายละเอียดดังนี้

### 1. การรวบรวมข้อมูล (Data collection)

การวิเคราะห์ความรู้สึกจากบทวิจารณ์เกมบนสตรีม ใช้ข้อมูลจากเว็บไซต์ Kaggle (<https://www.kaggle.com/datasets/boatlnwza/steam-review-thai>) ซึ่งเป็นข้อมูลการแสดงความคิดเห็นเกี่ยวกับเกม โดยชุดข้อมูลมีจำนวน 45,891 แถวแบ่งเป็น 2 คลาส ได้แก่ คลาส True ที่แสดงถึงความคิดเห็นเชิงบวก มีจำนวน 31,238 แถว และคลาส false ที่แสดงถึงความคิดเห็นเชิงลบ มีจำนวน 14,653 แถว แสดงดังตัวอย่างที่ Table 1 โดยที่ชุดข้อมูลทั้งหมดยังไม่ได้ผ่านการเตรียมข้อมูล

### 2. การเตรียมข้อมูล (Preprocessing Data)

#### 2.1 การทำความสะอาดข้อความ (Text Cleaning)

เป็นขั้นตอนที่ช่วยจัดการและปรับปรุงข้อความให้อยู่ในรูปแบบที่เหมาะสมสำหรับการนำไปใช้วิเคราะห์หรือสร้างตัวแบบ โดยเริ่มต้นจากการลบข้อความที่มีอีโมจิ เนื่องจากอีโมจิมักจะไม่สอดคล้องกับการวิเคราะห์เนื้อหา

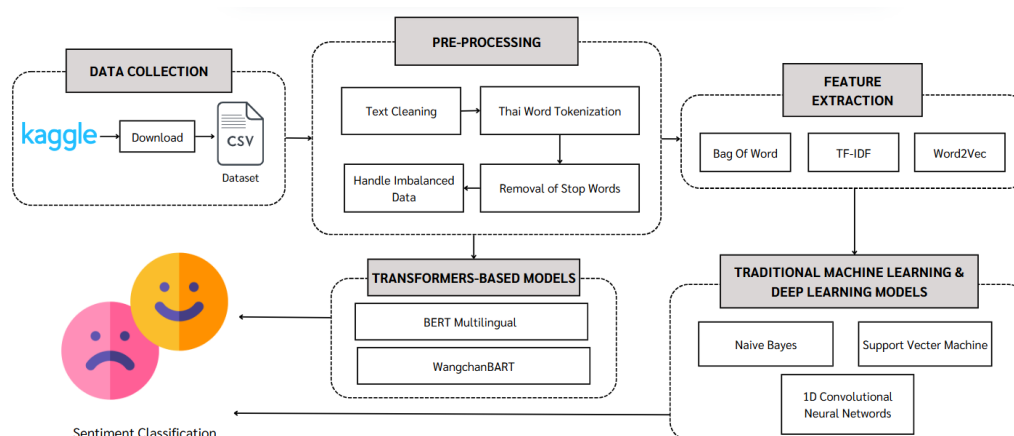


Figure 1 Framework of the sentiment analysis process based on game reviews on Steam

นอกจากนี้ยังเลือกเก็บไว้เฉพาะตัวอักษรโดยการลบสัญลักษณ์ หรือตัวอักษรที่ไม่ใช่ภาษาไทยและภาษาอังกฤษออกเพื่อให้ข้อมูลเป็นไปในรูปแบบที่ถูกต้องชัดเจนยิ่งขึ้น และคำภาษาอังกฤษจะเปลี่ยนเป็นตัวพิมพ์เล็กทั้งหมดเพื่อให้ข้อมูลอยู่ในรูปแบบเดียวกัน ดังแสดงตัวอย่างที่ Table 2

หลังจากการทำความสะอาดข้อความ หากในคอลัมน์ของข้อมูลที่ทำความสะอาดแล้วมีข้อความใดที่ว่างเปล่าไม่มีข้อมูล ข้อมูลแถวนั้นจะถูกลบออกซึ่งมีจำนวนทั้งหมด 404 แถว ข้อมูลจะเหลือทั้งหมด 45,487 แถว จากการลบแถว

ที่ว่าง 404 แถว โดยแบ่งเป็น 2 คลาส ได้แก่ true ที่แสดงถึงความคิดเห็นเชิงบวก มีจำนวน 30,910 แถว และ false ที่แสดงถึงความคิดเห็นเชิงลบ มีจำนวน 14,577 แถว แสดงดัง Figure 2

#### 2.2 การตัดคำ (Word Tokenization)

การตัดคำเป็นกระบวนการสำคัญในงานประมวลผลภาษาธรรมชาติ โดยมีเป้าหมายในการแยกข้อความออกเป็นหน่วยย่อยหรือ "Token" ซึ่งแต่ละ Token มักจะเป็นคำหรือวลีที่มีความหมายในตัวเอง แต่สำหรับภาษาไทยซึ่งไม่มีการเว้นวรรคระหว่างคำ กระบวนการนี้จึงมีความซับซ้อน

ซ้อนมากขึ้น จำเป็นต้องใช้อัลกอริทึมเฉพาะในการแยกคำออกจากกัน โดยมีเทคนิคที่น่าสนใจ 3 เทคนิค ได้แก่ newmm, multi-cut และ deepcut ดังแสดงใน Table 3 จากตารางแสดงให้เห็นการเปรียบเทียบการตัดคำระหว่าง newmm, multi-cut และ deepcut แต่ละเทคนิคมีจุดเด่นต่างกัน โดยเทคนิค newmm เหมาะกับการแยกคำที่พบในรูปแบบทั่วไปและ

คำที่ตรงกับพจนานุกรม มีการแยกคำค่อนข้างครบ แต่บางครั้งอาจไม่เหมาะสมสำหรับรีวิวที่มีการใช้คำผสมไทยและอังกฤษหรือคำที่ไม่ได้อยู่ในพจนานุกรม เช่น “2D” เทคนิค multi-cut มีความสามารถแยกคำที่รวมกันเป็นวลีได้ เช่น “เกมดีมากครับ” ทำให้เห็นเนื้อหาโดยรวมได้ดีขึ้น แต่จะมีปัญหาเกี่ยวกับการแยกคำเชิงละเอียด ซึ่งอาจจำเป็นในการวิเคราะห์รีวิวที่เน้นไปที่คำแสดงอารมณ์หรือคำแสดงความรู้สึกเชิงบวกและลบ เทคนิค deepcut สามารถแยกคำละเอียดได้มากที่สุด โดยเฉพาะประโยคที่ผสมระหว่างคำภาษาไทยและภาษาอังกฤษที่ปะปนกัน ช่วยให้สามารถจับคำในเชิงรายละเอียดได้ดี เหมาะกับงานที่ต้องการข้อมูลแบบคำต่อคำเพื่อนำไปวิเคราะห์ต่อ

โดยสรุปหากต้องการการวิเคราะห์รีวิวเกมหรือความคิดเห็นที่ต้องการความละเอียดสูงในเชิงอารมณ์ และมีการผสมคำภาษาไทยและภาษาอังกฤษ จึงเหมาะสมที่จะเลือกใช้เทคนิค deepcut เทคนิค deepcut สามารถแยกคำละเอียดโดยเฉพาะคำภาษาไทย เช่น “ดี”, “มาก” และ “ครับ” ที่ตัดออกมาเป็นคำเดี่ยว ซึ่งทำ

**Table 1** Example of game reviews.

| Review                                         | Recommended |
|------------------------------------------------|-------------|
| เกมดีมากครับ เล่นได้ยาวๆ เล่นกับเพื่อนสนุกมาก  | True        |
| สนุกมากๆ แนะนำเลย                              | True        |
| โคตรดี โคตรมันส์ โคตรเพลิน                     | True        |
| โลกกว้างก็จริง แต่ไม่ได้รู้สึกตื่นตากับอะไรเลย | False       |
| โคตรของโคตรของโคตรบัด ทั้งบัดทั้งหน่วง         | False       |

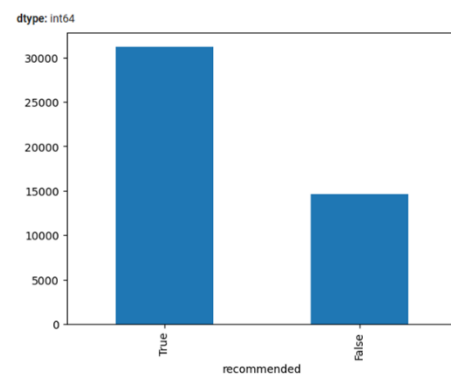
**Table 2** Text cleaning example.

| Text                                             | Text cleaning                                    |
|--------------------------------------------------|--------------------------------------------------|
| เกมดีมากครับ เล่นได้ยาวๆ เล่นกับเพื่อนสนุกมาก    | เกมดีมากครับ เล่นได้ยาว เล่นกับเพื่อนสนุกมาก     |
| ผู้พัฒนาแย่มากที่ปล่อย DLC ที่เสียหายอยู่เสมอ    | ผู้พัฒนาแย่มากที่ปล่อย dlc ที่เสียหายน้อยเสมอ    |
| เป็นเกมที่ดี ฝึกความ Creative สมเป็นเกมต้นแบบ 2D | เป็นเกมที่ดี ฝึกความ creative สมเป็นเกมต้นแบบ 2d |
| เกมไม่ดี!!!!!!                                   | เกมไม่ดี                                         |
|                                                  | null                                             |

ให้สามารถจับคำแสดงอารมณ์หรือคำคุณศัพท์ได้ดีกว่า นอกจากนี้ deepcut สามารถตัดคำผสมภาษาไทยและภาษาอังกฤษได้ดี เช่น “2d” ซึ่งมีความสำคัญในรีวิวเกมที่มีคำศัพท์เฉพาะในภาษาอังกฤษ การแยกคำออกมาได้ชัดเจนทำให้การวิเคราะห์เห็นชั้นถัดไปแม่นยำขึ้น

### 2.3 การลบคำหยุด (Stop words removal)

การลบคำหยุดเป็นกระบวนการที่เป็นส่วนสำคัญในการประมวลผลข้อความ เพื่อลดขนาดของข้อมูลและเพิ่มประสิทธิภาพในการทำนาย ทำให้สามารถเน้นคำที่สำคัญและมีความหมายมากขึ้น โดยใน stop word list มีทั้งหมด 1030 คำ ซึ่งจะแบ่งออกเป็น 1) คำสรรพนาม เช่น “ฉัน”, “คุณ”, “เธอ” 2) คำเชื่อม เช่น “และ”, “กับ”, “แต่” 3) คำบุพบท เช่น “ใน”, “บน”, “ที่” 4) คำบ่งบอกเวลา เช่น “เมื่อ”, “ก่อน”, “หลัง” 5) คำช่วยหรือคำบอกอารมณ์ เช่น “ครับ”, “ค่ะ”, “นะ” 6) คำแสดงความเป็นเจ้าของ เช่น “ของ”, “นั้น”, “นี้” และ 7) คำทั่วไปที่ไม่จำเป็นต่อความหมายหลัก เช่น “แล้ว”, “ก็”, “ด้วย” เป็นต้น ดังแสดงตัวอย่างที่ Table 4



**Figure 2** Graph comparing the number of instances in both classes after text cleaning

เมื่อทำการลบคำหยุดจะทำให้บางแถวเป็นคำว่าง ซึ่งมีจำนวนทั้งหมด 1,908 แถว จากนั้นจะทำการลบแถวที่เป็นคำว่างนั้นทิ้ง ชุดข้อมูลจะเหลือทั้งหมด 43,579 แถว โดยมีแถวที่เป็นคลาส true ที่แสดงถึงความคิดเห็นเชิงบวกมีจำนวน 29,402 แถว และคลาส false ที่แสดงถึงความคิดเห็นเชิงลบ มีจำนวน 14,177 แถว

### 2.4 การแบ่งข้อมูล (Data splitting)

กระบวนการนี้เริ่มจากการนำข้อมูลทั้งหมดแบ่งออกเป็นชุดฝึกสอน (train) 70% และชุดทดสอบ (test) 30% หลังจากการแบ่งข้อมูลจากชุดข้อมูล 43,579 แถวจะได้ชุด train 70% จำนวน 30,505 แถว โดยแบ่งเป็นคลาส true จำนวน 20,640 แถว และคลาส false จำนวน 9,865 แถว และ

ชุด test 30% จำนวน 13,074 แถว โดยแบ่งเป็นคลาส true จำนวน 8,762 แถว และคลาส false จำนวน 4,312 แถว ดังแสดง Table 5

## 2.5 การจัดการข้อมูลที่ไม่สมดุล (Improving imbalanced data)

การจัดการข้อมูลที่ไม่สมดุลเป็นกระบวนการที่สำคัญต่อ machine learning model เนื่องจากข้อมูลที่ไม่สมดุลอาจทำให้ตัวแบบเรียนรู้ข้อมูลไม่เต็มที่และมีแนวโน้มที่จะคาดการณ์ไปยังคลาสที่มีตัวอย่างมากกว่า ส่งผลให้ความแม่นยำของการทำนายลดลง โดยเทคนิคที่นิยมใช้ในการแก้ไขปัญหานี้คือ Random Oversampling (ROS) และ Random

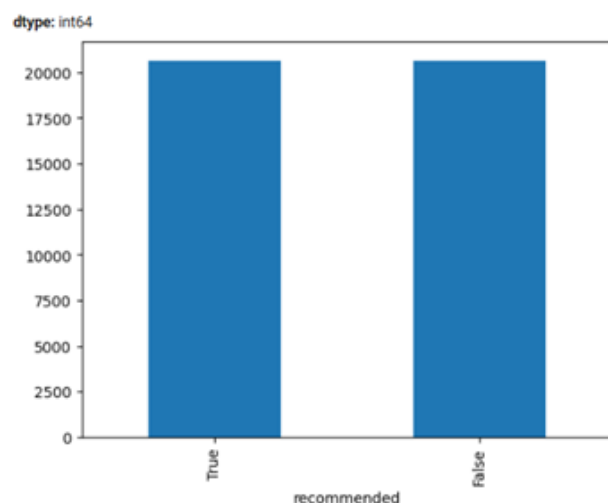
Undersampling (RUS) (Rojarath *et al.*, 2024)

วิธีการ ROS เป็นวิธีการเพิ่มจำนวนตัวอย่างข้อมูลในคลาสที่มีจำนวนน้อย โดยการคัดลอกตัวอย่างที่มีอยู่แล้วในคลาสนั้นมาเพิ่ม ทำให้คลาสที่มีจำนวนน้อยมีจำนวนตัวอย่างเพิ่มขึ้นจนใกล้เคียงกับคลาสที่มีจำนวนมาก วิธีการนี้ช่วยให้ตัวแบบสามารถเรียนรู้จากตัวอย่างที่มากขึ้นจากคลาสที่มีจำนวนน้อย ซึ่งจะช่วยลดความลำเอียง (bias) ของตัวแบบต่อคลาสที่มีจำนวนมาก ในงานวิจัยมี training dataset จำนวน 30,505 แถว เป็นคลาส true จำนวน 20,640 แถว

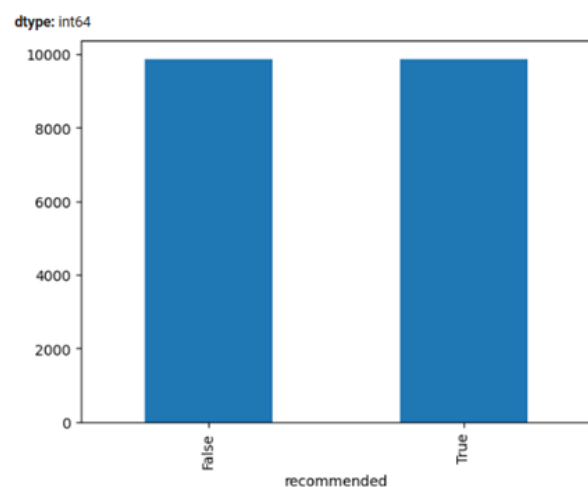
**Table 3** Examples of word tokenization

| Word segmentation techniques | Word segmentation                                                                                    |
|------------------------------|------------------------------------------------------------------------------------------------------|
| newmm                        | ['เกม', 'ดีมาก', 'ครับ', 'เล่น', 'ได้', 'ยาว', 'เล่น', 'กับ', 'เพื่อน', 'สนุก', 'มาก']               |
|                              | ['เป็น', 'เกม', 'ที่', 'ดี', 'ฝึก', 'ความ', 'creative', 'สม', 'เป็น', 'เกม', 'ต้น', 'แบบ', '2', 'd'] |
| Multi_cut                    | ['เกมดีมากครับ', 'เล่น', 'ได้', 'ยาว', 'เล่น', 'กับ', 'เพื่อน', 'สนุก', 'มาก']                       |
|                              | ['เป็น', 'เกมที่', 'ดี', 'ฝึก', 'ความ', 'creative', 'สม', 'เป็น', 'เกมต้น', 'แบบ', '2', 'd']         |
| deepcut                      | ['เกม', 'ดี', 'มาก', 'ครับ', 'เล่น', 'ได้', 'ยาว', 'เล่น', 'กับ', 'เพื่อน', 'สนุก', 'มาก']           |
|                              | ['เป็น', 'เกม', 'ที่', 'ดี', 'ฝึก', 'ความ', 'creative', 'สม', 'เป็น', 'เกม', 'ต้น', 'แบบ', '2d']     |

คลาส false จำนวน 9,865 แถว เมื่อใช้ ROS แล้วชุดฝึกสอนจะมีจำนวน 41,280 แถว โดยมีคลาส true จำนวน 20,640 แถว และ คลาส false จำนวน 20,640 แถว เท่ากัน ดังแสดงที่ Figure 3 วิธีการ RUS เป็นวิธีการลดจำนวนตัวอย่างในคลาสที่มีจำนวนมากลง โดยการสุ่มลบตัวอย่างบางส่วนออกจากคลาสที่มีจำนวนมาก เพื่อให้จำนวนข้อมูลในคลาสนั้นมี



**Figure 3** Graph after performing Random Oversampling (ROS) technique



**Figure 4** Graph after performing Random Undersampling (RUS) technique

ความสมดุลกับคลาสที่มีจำนวนน้อย วิธีนี้มักใช้เมื่อมีจำนวนข้อมูลในคลาสใดคลาสหนึ่งมากเกินไปและส่งผลให้ขนาดข้อมูลทั้งหมดใหญ่เกินไป ซึ่งอาจทำให้การประมวลผลและการฝึกตัวแบบใช้เวลานาน การลดขนาดข้อมูลด้วยวิธีการ RUS จะทำให้กระบวนการฝึกฝนตัวแบบเร็วขึ้นและลดการใช้ทรัพยากรจำนวนมากในการประมวลผล จากชุดฝึกสอนจำนวน 30,505 แถว โดยมีคลาส true จำนวน 20,640

แถว และ คลาส false จำนวน 9,865 แถว เมื่อใช้ RUS แล้ว ชุดฝึกสอนจะมีจำนวน 19,730 แถว โดยมีคลาส true จำนวน 9,865 แถว และ คลาส false จำนวน 9,865 แถวเท่ากัน ดัง Figure 4

### 3. การสกัดคุณลักษณะพิเศษ (Feature Extraction)

#### 3.1 การสร้างคลังคำศัพท์ (Bag of Words)

โดยใช้ฟังก์ชัน CountVectorizer จากไลบรารี scikit-learn ซึ่งจะทำการแปลงข้อความในแต่ละเอกสารให้อยู่ในรูปแบบของ Bag of Words โดยการนับจำนวนคำที่ปรากฏในแต่ละเอกสาร กระบวนการนี้ไม่สนใจลำดับของคำหรือความหมายในเชิงไวยากรณ์ แต่สนใจว่าคำใดปรากฏและปรากฏกี่ครั้งในแต่ละเอกสาร โดยมีคำที่พบมากที่สุด 10 อันดับ ดังแสดงที่ Figure 5

#### 3.2 การคัดเลือกคุณลักษณะด้วย TF-IDF

##### (Term Frequency-Inverse Document Frequency)

ใช้ฟังก์ชัน TfidfVectorizer จากไลบรารี scikit-learn เป็นเทคนิคที่ใช้การประเมินความสำคัญของคำศัพท์ในชุดข้อมูลที่เป็น text โดยการให้ค่าน้ำหนักแก่คำศัพท์ตามความถี่ของคำนั้นๆ ในเอกสารแต่ละรายการ

**Table 4** Examples of stop word removal.

| words                                                                            | words + stop words                        |
|----------------------------------------------------------------------------------|-------------------------------------------|
| [เกม, ดี, มาก, ครี, เล่น, ได้, ยาว, เล่น, กับ, เพื่อน, สนุก, มาก]                | [เกม, ดี, เล่น, เล่น, เพื่อน, สนุก]       |
| [สนุก, มาก, เกม, ก็, เล่น, ลื่น, แต่, คือ, ยัง, ไร, อยาก, เล่น, ต่อ, นะ, ขอร้อง] | [สนุก, เกม, เล่น, ลื่น, เล่น, ขอร้อง, ละ] |

**Table 5** Data splitting.

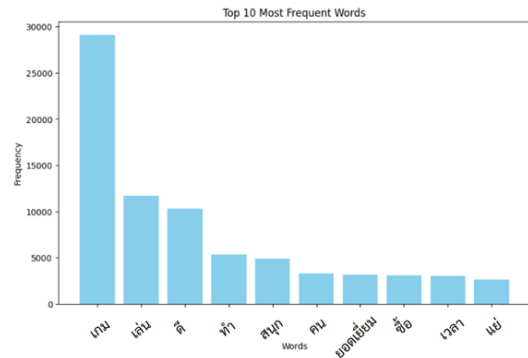
| Dataset      | Instances | True   | False |
|--------------|-----------|--------|-------|
| Training set | 30,505    | 20,640 | 9,865 |
| Test set     | 13,074    | 8,762  | 4,312 |

และยังคำนวณค่าน้ำหนักให้แกคำศัพท์ที่มีความสำคัญสูงในเอกสารทั้งหมดของชุดข้อมูล

Term Frequency (TF) เป็นค่าที่บอกความถี่ของคำศัพท์ที่ปรากฏในเอกสาร ดังสมการที่ 1

$$TF(t, d) = \frac{\text{จำนวนครั้งที่คำศัพท์ } t \text{ ปรากฏในเอกสาร } d}{\text{จำนวนคำทั้งหมดในเอกสาร } d} \quad (1)$$

Inverse Document Frequency (IDF) เป็นการคำนวณค่าน้ำหนักที่แสดงถึงการใช้คำหนึ่งคำโดยคำที่ใช้บ่อยในเอกสารจะมีค่า IDF ต่ำ ซึ่งหมายถึงคำนั้นไม่สำคัญมากในเชิงความหมายของเอกสารนั้นๆ ส่วนคำที่ถูกนำมาใช้น้อยในเอกสารจะมีค่า IDF สูง ดังสมการที่ 2



**Figure 5** Top 10 most frequent words

$$IDF(t, D) = \log \left( \frac{\text{จำนวนเอกสารทั้งหมดในชุดข้อมูล } D}{\text{จำนวนเอกสารที่มีคำศัพท์ } t \text{ ปรากฏในนั้น}} \right) \quad (2)$$

ดังนั้น นำการคำนวณทั้งสองส่วนมารวมกัน จะได้การคำนวณหาค่า TF-IDF โดยจะนำค่า TF กับค่า IDF มาคูณเข้าด้วยกัน ซึ่งเป็นการคัดแยกคำตามความสำคัญ โดยการให้น้ำหนักคำในแต่ละคำในเอกสารแต่ละรายการ ดังสมการที่ 3

$$TF - IDF(t, d, D) = TF(t, d) \cdot IDF(t, D) \quad (3)$$

#### 3.3 การคัดเลือกคุณลักษณะด้วย Word2Vec

เป็นหนึ่งในเทคนิคหลักที่ใช้ในการสร้าง Word Embedding ซึ่งเป็นวิธีการที่แปลง text ให้เป็นเวกเตอร์ ซึ่งสามารถใช้ในการจับความหมายของคำและความสัมพันธ์ระหว่างคำได้ดีขึ้น โดยใช้ Continuous Bag of Words (CBow) ในการเรียนรู้ word embeddings โดยตัวแบบจะพยายามทำนายคำที่เป็นเป้าหมาย หรือคำตรงกลางจากคำที่อยู่รอบข้างที่อยู่รอบๆ คำนั้นในประโยค ซึ่งช่วยให้ตัวแบบเรียนรู้การแทนความหมายของคำในบริบทที่หลากหลาย ดังสมการที่ 4

$$Context = \{w_{t-c}, w_{t-c+1}, \dots, w_{t-1}, w_{t+1}, \dots, w_{t+c}\} \quad (4)$$

สำหรับคำเป้าหมาย  $w_t$  ในประโยค คำรอบๆ จะถูกกำหนดเป็น  $C$  ซึ่งอาจจะมีความยาว  $C$  ตัวอักษรที่อยู่ด้านซ้ายและด้านขวา โดยคำรอบๆ จะถูกแทนที่ด้วยเวกเตอร์ CBow ใช้เวกเตอร์ของคำใน context เพื่อคาดการณ์คำเป้าหมาย  $w_t$  ดังสมการที่ 5

$$P(w_t|C) = \frac{e^{v_{w_t}^T \cdot h}}{\sum_{w \in V} e^{v_w^T \cdot h}} \quad (5)$$

โดยที่  $h$  คือเวกเตอร์เฉลี่ยของ context words,  $V_{w_t}$  คือ เวกเตอร์ของคำเป้าหมาย และ  $V$  คือชุดของคำทั้งหมดในคลังคำ

#### 4. การสร้างตัวแบบ

##### 4.1 Naïve Bayes Multinomial

Naïve Bayes Multinomial เป็นอัลกอริทึมการจำแนกประเภทที่ใช้ในการประมวลผลข้อมูลประเภทข้อความ เช่น การจัดประเภทเอกสาร หรือการวิเคราะห์ความคิดเห็น โดยอิงตามทฤษฎีของ Bayes และมีสมมติฐานว่าแต่ละฟีเจอร์เป็นอิสระจากกัน หลักการพื้นฐานของทฤษฎี Bayes สมการสำหรับการคำนวณความน่าจะเป็นที่ข้อมูล  $x$  จะอยู่ในคลาส  $C_k$  คือ

$$P(C_k|x) = \frac{P(x|C_k) \cdot P(C_k)}{P(x)} \quad (6)$$

สำหรับ Naïve Bayes Multinomial วิธีนี้จะใช้ตัวแบบการคำนวณความน่าจะเป็นของการเกิดฟีเจอร์ คือ คำในข้อความ โดยการนับจำนวนครั้งของคำแต่ละคำที่ปรากฏในคลาส  $C_k$  ซึ่งคำนวณด้วยสมการที่ 7

$$P(x_i|C_k) = \frac{N_{x_i, C_k} + \alpha}{N_{C_k} + \alpha \cdot V} \quad (7)$$

หลังจากคำนวณความน่าจะเป็นของคำแต่ละคำแล้ว ความน่าจะเป็นของทั้งข้อความ  $x$  สามารถคำนวณได้จากสมการที่ 8

$$P(x_i|C_k) = \prod_{i=1}^n P(x_i|C_k) \quad (8)$$

โดย  $x_i$  คือ ลำดับคำที่ปรากฏในข้อความนั้น และ  $n$  คือ จำนวนคำทั้งหมดในข้อความ

จากนั้นตัวแบบ Naïve Bayes Multinomial จะทำการคำนวณความน่าจะเป็นของแต่ละคลาส  $P(C_k|x)$  และทำการเลือกคลาสที่มีค่าความน่าจะเป็นสูงสุดเป็นคำตอบ

##### 4.2 Support Vector Machine แบบ Linear

Support Vector Machine แบบ linear เป็นอัลกอริทึมการจำแนกประเภทที่ใช้เส้นตรงในการแยกข้อมูลออกเป็นสองคลาส โดยมีวัตถุประสงค์ในการหาขอบเขตการตัดสินใจที่ดีที่สุดซึ่งเรียกว่า hyperplane โดย hyperplane ที่

ดีที่สุด คือเส้นที่ทำให้ระยะห่างระหว่างข้อมูลจากสองคลาสที่ใกล้ hyperplane ที่สุดมีค่ามากที่สุด ซึ่งข้อมูลที่อยู่ใกล้ hyperplane นี้เรียกว่า support vectors หรือจุดข้อมูลที่อยู่ใกล้กับเส้นแบ่งระหว่างคลาสและถูกใช้ในการกำหนดขอบเขตของการตัดสินใจ

SVM พยายามหาค่าของเวกเตอร์น้ำหนัก ( $w$ ) และค่า bias ( $b$ ) เพื่อหาฟังก์ชันสมการของเส้นตรง ดังสมการที่ 9

$$f(x) = w^T x + b \quad (9)$$

โดยเส้น hyperplane นี้จะแยกข้อมูลจากสองคลาสได้ ข้อมูลจากคลาสหนึ่งต้องอยู่ฝั่งหนึ่งของเส้นและข้อมูลจากอีกคลาสหนึ่งต้องอยู่ฝั่งตรงข้าม ซึ่งสามารถเขียนเงื่อนไขการจำแนกได้เป็น ดังสมการที่ 10

$$y_i(w^T x_i + b) \geq 1 \quad (10)$$

สำหรับข้อมูลทุกตัว  $x_i$  ในชุดข้อมูลการฝึก โดยที่  $y_i$  คือคลาสของข้อมูล ซึ่ง  $y_i = 1$  หรือ  $y_i = -1$  ขึ้นอยู่กับคลาสของข้อมูล ซึ่ง svm พยายามที่จะหา hyperplane ที่ทำให้ระยะห่างระหว่าง support vectors จากสองคลาสมีค่าสูงสุด โดยระยะห่างนี้เรียกว่า margin ซึ่งสมการในการหาค่า margin ดังสมการที่ 11

$$\text{Margin} = \frac{2}{\|w\|} \quad (11)$$

โดยการหา  $\|w\|$  หมายถึง การหาขนาดของเวกเตอร์น้ำหนัก  $w$  ดังนั้น SVM จะพยายามหาค่า  $w$  ที่ทำให้ margin มากที่สุด ซึ่งแปลงเป็นการแก้ปัญหาในรูปแบบฟังก์ชัน ดังสมการที่ 12

$$\min_{w,b} \frac{1}{2} \|w\|^2 \quad (12)$$

ภายใต้เงื่อนไข  $y_i(w^T x_i + b) \geq 1$

### 4.3 1D-CNN (1D Convolutional Neural Networks)

1D-CNN เป็นโครงข่ายประสาทเทียมรูปแบบหนึ่ง ที่ใช้สำหรับประมวลผลข้อมูลที่เป็นลำดับ จะทำการ convolution กับข้อมูลในรูปของเวกเตอร์ข้อมูล แบบ 1 มิติ ประกอบด้วยหลายขั้นตอนซึ่งรวมถึงการทำการคอนโวลูชัน การทำ max pooling การใช้งาน fully connected layers และการใช้ activation functions เพื่อดึงลักษณะเด่นที่เกี่ยวข้องกับลำดับข้อมูล

เลเยอร์ Conv1D แรก จะทำการคำนวณการคอนโวลูชัน 1D บนข้อมูลลำดับ การคำนวณการคอนโวลูชันสามารถแสดงเป็นสมการได้ดังสมการที่ 13

$$y(t) = (x \cdot w)(t) = \sum_{i=0}^{k-1} x(t+i)w(i) \quad (13)$$

โดยที่  $x(t)$  คือข้อมูลอินพุตที่ตำแหน่ง  $t$  และ  $w(i)$  คือฟิลเตอร์คอนโวลูชันที่มีขนาด  $k$  และใช้ฟังก์ชันการกระตุ้นแบบ ReLU เพื่อเพิ่มความ non-linearity ให้กับตัวแบบหลังจากการคอนโวลูชันครั้งแรก จะใช้ MaxPooling เพื่อย่อขนาดของ feature map การทำ MaxPooling จะลดมิติข้อมูลโดยเลือกค่ามากที่สุดจากทุกตำแหน่งที่กำหนดที่อยู่ติดกันบน feature map ซึ่งช่วยสรุปฟีเจอร์และลดความซับซ้อนของข้อมูล การทำ pooling นี้ช่วยคงฟีเจอร์สำคัญไว้ขณะที่ลดขนาดของ input เพื่อให้เหมาะสมกับเลเยอร์ถัดไป ดังสมการที่ 14

$$y(t) = \max(x(t), x(t+1)) \quad (14)$$

จากนั้นจะทำการคอนโวลูชันและ pooling ซ้ำ โดยใช้ฟิลเตอร์ 64 และ 32 ตัวตามลำดับ และยังคงใช้ขนาดฟิลเตอร์เท่ากับ 5 เลเยอร์ ซึ่งจะช่วยให้ดึงลักษณะซับซ้อนมากขึ้นจากข้อมูลเมื่อประมวลผลต่อไปในเครือข่าย ขั้นตอนต่อไป จะทำการลดมิติข้อมูลด้วยการนำค่ามากที่สุดจาก feature map ทั้งหมดออกมา การทำ global max pooling นี้จะย่อข้อมูลทั้งหมดให้เป็นเวกเตอร์เดียว โดยคงฟีเจอร์ที่สำคัญที่สุดจากข้อมูลลำดับทั้งหมด

หลังจากการ pooling แล้ว ข้อมูลที่ได้จะถูกส่งผ่านไปยัง fully connected layers สองเลเยอร์ โดยเลเยอร์แรกมีหน่วยประมวลผล 64 หน่วยพร้อมการกระตุ้นแบบ

ReLU และเลเยอร์ที่สองมีหน่วยประมวลผล 1 หน่วยพร้อมการกระตุ้นแบบ sigmoid ฟังก์ชัน sigmoid ดังสมการที่ 15

$$\sigma(x) = \frac{1}{1 + e^{-x}} \quad (15)$$

จากสมการที่ 15 ฟังก์ชันนี้จะเปลี่ยนผลลัพธ์ให้อยู่ในรูปแบบความน่าจะเป็น ซึ่งเหมาะสำหรับการจำแนกประเภทแบบ binary classification คือแบ่งข้อมูลออกเป็นสองประเภท ตัวแบบจะถูกคอมไพล์โดยใช้ตัวปรับค่า Adam และ loss function แบบ binary crossentropy ซึ่งเหมาะสำหรับปัญหาการจำแนกประเภทแบบ binary classification ระหว่างการฝึกตัวแบบจะปรับน้ำหนักของเลเยอร์ต่างๆ เพื่อให้ข้อผิดพลาดในการจำแนกลดลงอย่างต่อเนื่อง

### 4.4 BERT Multilingual (mBERT)

mBERT เป็นตัวแบบภาษาที่ใช้พื้นฐานจากโครงสร้างของ BERT แต่มีการปรับปรุงและออกแบบมาให้เหมาะสมกับบริบทที่แตกต่างกันของภาษาและงานประมวลผลข้อมูล

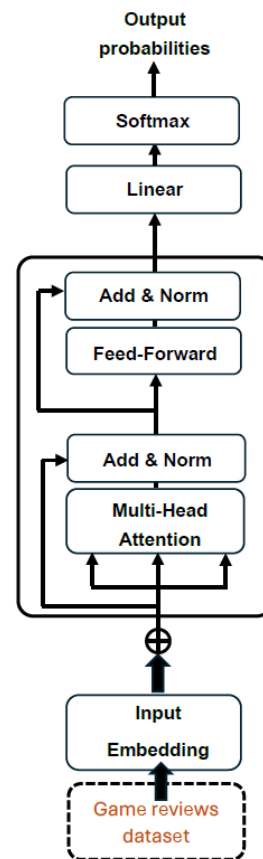
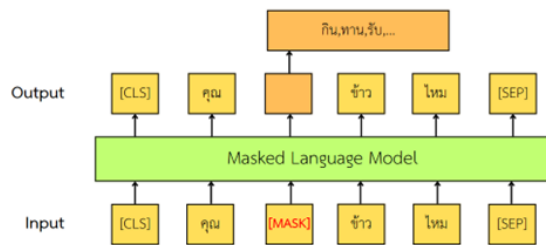


Figure 6 The structure of the BERT model



**Figure 7** The structure of Mask Language Model

จาก Figure 6 แสดงการวิเคราะห์ผลลัพธ์ จะเป็นการทำนายว่าข้อความนั้นมีความคิดเห็นเชิงบวกหรือเชิงลบ โดยโครงสร้างของ BERT จะใช้กระบวนการ embedding สามแบบประกอบด้วยกระบวนการ ได้แก่ 1) token embedding กระบวนการแปลงคำหรือ token ในข้อความให้อยู่ในรูปแบบของเวกเตอร์ เช่น [CLS], [SEP] และคำอื่น ๆ ซึ่งแต่ละเวกเตอร์จะมีข้อมูลเชิงความหมายที่ช่วยให้ตัวแบบเข้าใจบริบทของคำในประโยค 2) position embedding เวกเตอร์นี้ระบุตำแหน่งของคำในประโยค ทำให้ตัวแบบสามารถเข้าใจลำดับของคำในข้อความได้ เช่น ตำแหน่งของ [CLS] ที่แสดงถึงจุดเริ่มต้นของข้อความ 3) segment embedding ใช้เพื่อระบุว่า token ใดอยู่ในประโยคไหน หากมีการเปรียบเทียบประโยคหรือวิเคราะห์ความสัมพันธ์ระหว่างข้อความสองชุด เช่น ประโยคคำถามและคำตอบ เมื่อ embeddings ทั้งสามส่วนรวมกันจะถูกส่งผ่านเข้าตัวแบบ BERT โดยที่ BERT จะคำนวณและทำการเรียนรู้จากข้อมูลในทุกตำแหน่งของคำในข้อความ จากนั้นผลลัพธ์ที่ได้จากตำแหน่ง [CLS] ซึ่งเป็นตำแหน่งพิเศษที่ใช้สำหรับการทำนายประเภทของข้อความ จะถูกใช้ในการพิจารณาว่าข้อความนั้นมีความคิดเห็นเชิงบวกหรือเชิงลบ โดยปกติจะใช้ขั้นสุดท้ายของ BERT เพื่อคำนวณค่า ความน่าจะเป็นของแต่ละคลาส

#### 4.5 WangchanBERTa

WangchanBERTa เป็น Thai Transformer-based NLP Model ใช้หลักการของ RoBERTa ได้รับการพัฒนาโดยเฉพาะสำหรับการประมวลผลภาษาธรรมชาติในภาษาไทยโดยใช้สองแนวทางหลักในการฝึกฝนตัวแบบ คือ encoder only model แสดงที่ Figure 6 ซึ่งเป็นสถาปัตยกรรมแบบ transformers รูปแบบหนึ่งที่ใช้งานส่วน encoder เท่านั้น โดยมักจะถูก pre-train ด้วยวิธี Masked Language Modeling (MLM) แสดงที่ Figure 7 ซึ่งเป็นการเติมคำที่หายไปในวลีหรือประโยค โดยตัวแบบภาษาประเภทนี้มีความถนัดในการทำงานที่เกี่ยวข้องกับการทำความเข้าใจภาษาธรรมชาติ เช่น ตัวแบบการจำแนกประเภทของข้อความ หรือตัวแบบภาษา

และวิธี MLM หรือการทำนายคำในประโยคที่ถูกแทนที่ด้วย masked token โดยชุดข้อมูลที่ใช้ในการเทรนตัวแบบ จะเป็นชุดข้อมูลจากแหล่งต่างๆ เช่น วิกิพีเดียภาษาไทย ข่าวจากสำนักข่าวในประเทศไทย โพสต์ คอมเมนต์จากโซเชียลมีเดีย ซับไตเติลจากโครงการ OpenSubtitles และชุดข้อมูลอื่นๆ ที่มีการเผยแพร่และเปิดข้อมูลสู่สาธารณะจะสำหรับการฝึกฝนตัวแบบการประมวลผลภาษาไทยในโจทย์ต่างๆ เช่น machine translation, sentiment analysis และ text classification รวมเป็นข้อมูลขนาด 78.5 GB เนื่องด้วยการนำชุดข้อมูลเข้าสู่ตัวแบบเพื่อการทำนาย masked token จะต้องผ่านกระบวนการตัดแบ่งคำ

โดยการตัดแบ่งคำที่ใช้นั้นจะเป็น 4 รูปแบบ การตัดแบ่งคำ คือ 1) การตัดแบ่งหน่วยคำย่อย (subword-level tokenization) ด้วยไลบรารี SentencePiece (spm) โดยตัวตัดแบ่งหน่วยคำย่อยอาศัยข้อมูลทางสถิติของการปรากฏร่วมกันของตัวอักษรในชุดข้อมูลในการกำหนดขอบเขตของหน่วยคำย่อย 2) การตัดแบ่งคำจาก dictionary ของคำในภาษาไทยด้วย maximal matching algorithm (newmm) ด้วยไลบรารี PyThaiNLP 3) การตัดแบ่งพยางค์ในภาษาไทยจาก dictionary ของพยางค์ในภาษาไทยด้วย maximal matching algorithm (ชื่อย่อว่า syllable) ด้วยไลบรารี PyThaiNLP 4) การตัดแบ่งคำจากตัวแบบ machine learning (sefr)

#### ผลการวิจัย

จากการทดลองจากตัวแบบที่ใช้สถาปัตยกรรม Transformer และได้รับการพัฒนาโดยเฉพาะสำหรับการประมวลผลภาษาธรรมชาติในภาษาไทย

##### 1. การตั้งค่าพารามิเตอร์

##### 1.1 การตั้งค่าพารามิเตอร์ Naïve Bayes Multinomial

ในการทำงานกับข้อมูลข้อความสามารถมีอิทธิพลต่อประสิทธิภาพของตัวแบบได้ โดยในที่นี้มีการตั้งค่าหลักๆ ได้แก่ 1) alpha หลักการ คือควบคุมการป้องกันเกิด overfitting และควบคุมความ bias ของตัวแบบต่อคำที่หายาก เป็นค่าที่ใช้ในการคำนวณความน่าจะเป็นใช้แก้ปัญหาคำที่ไม่เคยพบในชุดข้อมูล train โดยสามารถทดลองค่าต่างๆ เช่น 0.01, 0.1, 1.0, และ 10.0 เพื่อดูว่าค่าที่ดีที่สุดสำหรับชุดข้อมูลค่าที่สูงจะทำให้การ smoothing มีมากขึ้น แต่ก็อาจทำให้ตัวแบบสูญเสียความสามารถในการเรียนรู้จากข้อมูลจริงไป 2) fit\_prior ค่าที่ใช้กำหนด prior probabilities ของแต่ละคลาสที่ได้จากข้อมูลฝึก ถ้าตั้งเป็น true ตัวแบบจะใช้ prior probabilities ที่ได้จากข้อมูลฝึก ถ้าเป็น false ตัวแบบจะสมมุติว่าแต่ละ

คลาสมี prior ที่เท่ากัน 3) class\_prior เป็นค่าที่ใช้กำหนด prior probability สำหรับแต่ละคลาส ซึ่งสามารถใช้ค่าที่กำหนดเป็น list หรือ none หากเป็น none ตัวแบบจะคำนวณ prior จากข้อมูลการฝึก ค่าที่กำหนดใน list จะช่วยให้สามารถปรับความน่าจะเป็นให้เหมาะสมกับการกระจายของข้อมูลในชุดฝึก ตัวแบบ Naïve bayes แบบ bag of words ค่าพารามิเตอร์ที่ดีที่สุดคือ alpha ที่ 0.1, ไม่กำหนด class\_prior (เป็น none) และ fit\_prior ตั้งเป็น true โดยได้ค่าความถูกต้องที่ดีที่สุดคือ 0.8323 ต่อมาตัวแบบ Naïve bayes แบบ TF-IDF ค่าพารามิเตอร์ที่ดีที่สุดจากการตั้งค่า alpha ที่ 0.1, ไม่กำหนด class\_prior และ fit\_prior ตั้งเป็น true โดยได้ค่าความถูกต้องที่ดีที่สุดคือ 0.8313 และสุดท้ายการทดลองด้วยตัวแบบ Naïve bayes แบบ word2vec ค่าพารามิเตอร์ที่ดีที่สุดคือ alpha ที่ 15.0, ไม่กำหนด class\_prior และ fit\_prior ตั้งเป็น false โดยได้ค่าความถูกต้องที่ดีที่สุดคือ 0.6820

## 1.2 การตั้งค่าพารามิเตอร์ Support Vector Machines (Linear Kernel)

การตั้งค่าพารามิเตอร์หลักสำหรับ SVM ได้แก่ ค่า C ค่านี้ คือพารามิเตอร์หลักสำหรับ SVM ที่ควบคุมการกระจายของ hyperplane ในการแยกคลาส หากค่า C มีค่าที่สูงจะหมายถึงการให้ความสำคัญกับการลดข้อผิดพลาดในการจำแนกประเภทมากขึ้น ซึ่งอาจนำไปสู่การ overfitting ในขณะที่ค่าที่ต่ำจะทำให้ตัวแบบมีความยืดหยุ่นมากขึ้น แต่ก็อาจทำให้เกิดการ underfitting ได้เช่นกัน การทดลองใช้ค่าหลากหลาย เช่น 0.1, 1, 10, และ 100 จะช่วยให้สามารถค้นหาค่าที่เหมาะสมที่สุดสำหรับข้อมูลได้

สำหรับตัวแบบ SVM แบบ BoW มีค่า C ที่ดีที่สุดคือ 1 โดยได้ค่าความถูกต้องคือ 0.8424 ส่วนตัวแบบ SVM แบบ TF-IDF ก็มีค่า C ที่ดีที่สุดคือ 0.1 โดยได้ค่าความถูกต้องที่ดีที่สุดคือ 0.8357 และตัวแบบ SVM แบบ Word2Vec มีค่า C ที่ดีที่สุดคือ 0.1 โดยได้ค่าความถูกต้องที่ดีที่สุดคือ 0.7388

## 1.3 การตั้งค่าพารามิเตอร์ 1D-CNN

ในการประมวลผลข้อความ มีหลายองค์ประกอบที่สำคัญซึ่งส่งผลต่อประสิทธิภาพของตัวแบบ การใช้ Conv1D มีบทบาทในการจับลักษณะของข้อมูลที่เป็นลำดับ โดยในที่นี้ได้กำหนดจำนวนฟิลเตอร์ที่ 128 ขนาดของฟิลเตอร์ที่ 5 และใช้ฟังก์ชันการเปิดใช้งาน ReLU เพื่อเพิ่ม non-linear ให้กับตัวแบบ ข้อมูลที่ผ่านการ convolutions จะถูกส่งไปยัง Max Pooling1D ซึ่งช่วยลดขนาดของข้อมูลและเน้นคุณลักษณะที่สำคัญ

จากนั้นมีการใช้ Conv1D อีกสองครั้ง โดยลดจำนวนฟิลเตอร์ลงเหลือ 64 และ 32 ตามลำดับ และใช้ MaxPooling1D ในแต่ละชั้นเพื่อช่วยลดมิติของข้อมูลให้เล็กลงอีก หลังจากการ convolutions และ pooling หลายชั้น ข้อมูลจะถูกส่งไปยัง GlobalMaxPooling1D ซึ่งช่วยในการดึงค่าที่มีความสำคัญสูงสุดจากลำดับทั้งหมดในแต่ละฟีเจอร์ และข้อมูลจะถูกเชื่อมต่อเข้าสู่ชั้น dense ที่มี 64 นิวรอนและใช้ฟังก์ชันการเปิดใช้งาน ReLU เพื่อให้ตัวแบบสามารถเรียนรู้ลักษณะความสัมพันธ์ที่ซับซ้อนได้ดีขึ้น ชั้นสุดท้ายคือ dense ที่มีนิวรอน 1 ตัวและใช้ฟังก์ชันการเปิดใช้งาน sigmoid เพื่อให้ผลลัพธ์ที่เป็นค่าความน่าจะเป็นระหว่าง 0 และ 1 สำหรับการจำแนกประเภทที่เป็น binary

สุดท้ายการใช้ Adam เป็น optimizer ที่เป็นที่นิยมในงาน deep learning ซึ่งช่วยในการหาค่าที่เหมาะสมได้อย่างรวดเร็ว โดยใช้ loss function เป็น binary\_crossentropy ซึ่งเหมาะสมสำหรับปัญหาการจำแนกประเภท binary และการตั้งค่า epochs และ batch\_size เป็นส่วนสำคัญในการฝึกตัวแบบ 1D-CNN ซึ่งมีผลต่อประสิทธิภาพและความสามารถในการเรียนรู้ของตัวแบบ โดยการตั้งค่า epochs จำนวนรอบที่ตัวแบบจะผ่านข้อมูลในการฝึก โดยการตั้งค่าเป็น 5, 10, 15, หรือ 20 ช่วยให้เห็นถึงผลกระทบของการ train ในระยะเวลาต่างๆ การ train นานขึ้นสามารถช่วยให้ตัวแบบเรียนรู้ลักษณะของข้อมูลได้ดีขึ้น แต่ก็มีความเสี่ยงที่จะ overfit ถ้า train data นานเกินไป ในส่วนของ batch\_size จำนวนตัวอย่างที่ตัวแบบจะนำมาใช้ในการอัปเดตน้ำหนักในแต่ละรอบ การตั้งค่าเป็น 8, 16, หรือ 32 จะแสดงให้เห็นถึงความสมดุลระหว่างประสิทธิภาพและความเร็วในการ train ขนาด batch ที่เล็กจะทำให้ตัวแบบสามารถอัปเดตค่า weight ได้บ่อย แต่จะใช้เวลาในการ train ที่มากกว่า

เมื่อตัวแบบถูก train ด้วย epochs ที่ตั้งค่าเป็น 10 และ batch\_size ที่ตั้งค่าเป็น 16 ผลลัพธ์ที่ได้คือค่าความถูกต้องที่ 0.76 ซึ่งให้ค่าความถูกต้องที่ดีที่สุดเมื่อเทียบกับตั้งค่าแบบอื่นๆ

## 1.4 การตั้งค่าพารามิเตอร์ BERT multilingual และ WangchanBERTa

ทั้ง 2 วิธีการมีความสำคัญต่อการฝึกตัวแบบเพื่อให้สามารถประมวลผลภาษาต่างๆ ได้อย่างมีประสิทธิภาพ โดยการตั้งค่าที่สำคัญ ดังนี้ num\_train\_epochs เป็นการกำหนดจำนวนรอบที่ตัวแบบจะผ่านข้อมูลในระหว่างการ train โดยการตั้งค่าที่เหมาะสมช่วยให้ตัวแบบเรียนรู้จากข้อมูลได้ดีขึ้น แต่ถ้าตั้งค่าสูงเกินไปอาจทำให้เกิดการ overfitting การตั้งค่า train\_batch\_size สำหรับควบคุมจำนวนตัวอย่างที่ใช้ใน

การอัปเดตค่า weight ในแต่ละรอบขนาดที่เหมาะสมจะช่วยเพิ่มความเร็วในการ train

**Table 6** Performance comparison of different imbalanced data handling methods for Naïve Bayes classification using bag of words representation.

| Evaluation Metrics | Imbalanced Data | Balanced Data |       |
|--------------------|-----------------|---------------|-------|
|                    |                 | ROS           | RUS   |
| Accuracy           | 82.00           | 79.53         | 79.56 |
| Precision          | 83.69           | 87.12         | 88.31 |
| Recall             | 90.84           | 81.51         | 80.10 |
| F1-Score           | 87.12           | 84.22         | 84.00 |

และให้ตัวแบบเรียนรู้จากข้อมูลได้ดี สำหรับตัวแบบ BERT multilingual มีค่า num\_train\_epochs ที่ดีที่สุดคือ 6 และค่า train\_batch\_size ที่ดีที่สุดคือ 64 โดยได้ค่าความถูกต้องที่ดีที่สุดคือ 0.78 ส่วนตัวแบบ WangchanBERTa มีค่า num\_train\_epochs ที่ดีที่สุดคือ 3 และค่า train\_batch\_size ที่ดีที่สุดคือ 64 โดยได้ค่าความถูกต้องที่ดีที่สุดคือ 0.90

## 2. ผลการเปรียบเทียบการจัดการข้อมูลที่ไม่สมดุล

ในงานวิจัยนี้วัดประสิทธิภาพของตัวแบบด้วย ค่าความถูกต้อง (Accuracy) ค่าความแม่นยำ (Precision) ค่าความระลึก (Recall) ค่าความถ่วงดุล (F1-score) (Khruahong *et al.*, 2022; Phiphitphatphisit & Surinta, 2024)

จากการเปรียบเทียบวิธีการจัดการข้อมูลที่ไม่สมดุล ได้แก่ วิธี ROS และวิธี RUS โดยใช้วิธีการจำแนกประเภทด้วย ตัวแบบ Naïve bayes แบบ BoW และวัดประสิทธิภาพบนข้อมูลทดสอบได้ผลการเปรียบเทียบค่าวัดประสิทธิภาพต่างๆ แสดงดัง Table 6

จาก Table 6 พบว่าค่าความถูกต้องของชุดข้อมูลที่ไม่สมดุลอยู่ที่ 82.00% เมื่อเทียบกับการใช้เทคนิค ROS และ RUS ซึ่งให้ค่า accuracy ใกล้เคียงกัน โดย ROS อยู่ที่ 79.53% และ RUS อยู่ที่ 79.56% สำหรับค่า precision ของข้อมูลเริ่มต้นอยู่ที่ 83.69% ขณะที่ ROS มีค่า precision สูงขึ้นเป็น 87.12% และ RUS สูงสุดที่ 88.31% ในขณะที่ค่า recall ของชุดข้อมูลที่ไม่สมดุลสูงที่สุดที่ 90.84% ตามด้วย ROS ที่มี recall 81.51% และ RUS ที่ 80.10% ค่า F1-score ซึ่งเป็นค่าที่สะท้อนทั้ง precision และ recall พบว่าชุดข้อมูลที่ไม่สมดุลมีค่า F1-score อยู่ที่ 87.12% ซึ่งลดลงเล็กน้อยเมื่อใช้ ROS โดยมีค่า F1-score อยู่ที่ 84.22% และ RUS ค่า F1-score ที่ 84.00%

เมื่อพิจารณาจากผลลัพธ์พบว่า ROS เป็นเทคนิคที่เหมาะสมที่สุดในการจัดการข้อมูลที่ไม่สมดุลเนื่องจาก ROS ช่วยเพิ่มจำนวนตัวอย่างในคลาสที่มีจำนวนน้อยโดยการคัดลอกข้อมูลจากคลาสนั้น ซึ่งทำให้ตัวแบบเรียนรู้ลักษณะของกลุ่มน้อยได้ดีขึ้น ผลที่ได้คือค่า precision ที่สูงขึ้นจาก 83.69% เป็น 87.12%

**Table 7** Performance comparison of machine learning models.

| Models      | Features | Evaluation metrics |        |               |           |        |          |
|-------------|----------|--------------------|--------|---------------|-----------|--------|----------|
|             |          | 5-CV (STD)         |        | Accu-<br>racy | Precision | Recall | F1-Score |
| Naïve Bayes | BoW      | 0.81               | 0.0094 | <b>79.53</b>  | 87.12     | 81.51  | 84.22    |
|             | TF-IDF   | 0.82               | 0.0097 | 79.00         | 87.99     | 79.52  | 83.54    |
|             | Word2Vec | 0.68               | 0.0032 | 67.12         | 69.97     | 89.24  | 78.44    |
| SVM         | BoW      | 0.83               | 0.0111 | <b>81.26</b>  | 85.80     | 86.33  | 86.06    |
|             | TF-IDF   | 0.82               | 0.0100 | 80.70         | 86.98     | 83.73  | 85.32    |
|             | Word2Vec | 0.74               | 0.0051 | 72.79         | 86.03     | 70.91  | 77.74    |

เนื่องจากตัวแบบสามารถทำนายคลาสกลุ่มน้อยได้แม่นยำขึ้น แม้ว่า recall จะลดลงเมื่อเทียบกับชุดข้อมูลที่ไม่สมดุลจาก 90.84% เป็น 81.51% แต่ค่า recall ของ ROS ยังสูงกว่าค่า recall ของ RUS ที่ 80.10% ซึ่งแสดงว่า ROS ยังคงสามารถจับคลาสกลุ่มน้อยได้ดีแม้จะเพิ่มจำนวนตัวอย่างในกลุ่มน้อยขึ้น F1-Score ของ ROS อยู่ที่ 84.22% ซึ่งแม้จะลดลงจากข้อมูลเริ่มต้นที่ 87.12% แต่ยังคงอยู่ในระดับที่เหมาะสมเมื่อเทียบกับการใช้ RUS ที่มีค่า F1-score ที่ 84% ซึ่งหมายความว่า ROS สามารถรักษาสมดุลระหว่าง precision และ recall ได้ดีกว่า และเนื่องจาก ROS ไม่ได้ลบข้อมูลจากคลาสกลุ่มใหญ่เหมือนกับ RUS การใช้ ROS จึงไม่ทำให้สูญเสียข้อมูลที่อาจมีความสำคัญจากคลาสใหญ่ไป ทำให้ตัวแบบยังสามารถเรียนรู้จากข้อมูลทั้งหมดได้

ดังนั้น จากผลลัพธ์ที่ได้นี้ ROS จึงเป็นวิธีที่เหมาะสมกว่าในการจัดการกับข้อมูลที่ไม่สมดุล เพราะช่วยเพิ่มความแม่นยำในการทำนายคลาสกลุ่มน้อย โดยไม่ทำให้ตัวแบบเสียสมดุลในการเรียนรู้จากข้อมูลทั้งสองคลาส

## 3. ผลการวิจัย Machine Learning Model

ส่วนนี้จะเป็นการเปรียบเทียบผลลัพธ์ที่ได้จากการประเมินประสิทธิภาพของ machine learning model ได้แก่ Naïve bayes และ SVM สำหรับการจำแนกความคิด

เห็นของผู้เล่นเกม โดยใช้วิธี feature extraction ร่วมกันกับตัวแบบ machine learning model ได้แก่ Bag of Words, TF-IDF และ Word2Vec และ CNN model ได้แก่ 1D-CNN จาก Table 7 ที่แสดงการเปรียบเทียบประสิทธิภาพระหว่าง 2 ประเภทตัวแบบพบว่า machine learning model ได้แก่ วิธี SVM ที่ประมวลผลร่วมกันกับเทคนิค BoW (SVM+BoW) มีค่าเฉลี่ยของค่า accuracy ที่ได้จากการทดสอบตัวแบบแบบ 5 fold cross validation เท่ากับ 0.83 หรือ 83% ซึ่งมากที่สุดและมีค่า standard deviation เท่ากับ 0.0111 หมายความว่าได้ว่าการเปลี่ยนแปลงของค่า accuracy ระหว่างแต่ละ fold มีค่าเบี่ยงเบนเพียงเล็กน้อยแสดงว่าตัวแบบมีความเสถียรดีเมื่อทดสอบกับ fold ที่ต่างกัน และเมื่อเทียบประสิทธิภาพกับ CNN model ที่แสดงบน Table 9 การวัดค่าเมตริกซ์ของทั้ง 7 ตัวแบบแสดงให้เห็นว่า SVM+BoW เป็นวิธีการที่ให้ค่า accuracy สูงที่สุดที่ 81.26% ส่วน CNN model ซึ่งก็คือ 1D-CNN ให้ค่า accuracy ที่ต่ำกว่าที่ 72.96%

#### 4. ผลการวิจัย Transformer Model

การวิเคราะห์ประสิทธิภาพของตัวแบบ transformer ในการจำแนกประเภทความคิดเห็น โดยได้ทดสอบกับ 2 ตัวแบบ ได้แก่ BERT Multilingual และ WangchanBERTa ผลลัพธ์ที่ได้จากการทดลองแสดงดัง Table 8 ซึ่งแสดงถึงค่า mean และค่า standard deviation ของ 5-fold cross validation จากชุด train และค่า accuracy, ค่า precision, ค่า recall และค่า F1-score จากชุดทดสอบ

**Table 8** Performance comparison of transformer models.

| Transformer Models | Evaluation metrics |              |              |              |              |
|--------------------|--------------------|--------------|--------------|--------------|--------------|
|                    | 5-CV (STD)         | Accuracy     | Precision    | Recall       | F1-Score     |
| BERT Multilingual  | 0.79<br>0.0079     | 78.03        | 83.74        | 83.57        | 78.03        |
| WangchanBERTa      | 0.79<br>0.1492     | <b>82.16</b> | <b>87.06</b> | <b>86.18</b> | <b>86.62</b> |

**Table 9** Performance comparison of 1D-CNN model.

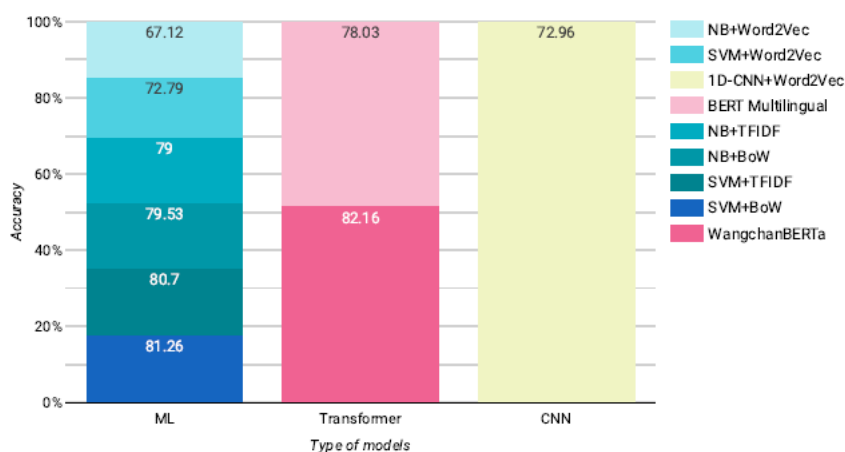
| Model  | Features | Evaluation metrics |           |        |          |
|--------|----------|--------------------|-----------|--------|----------|
|        |          | Accuracy           | Precision | Recall | F1-Score |
| 1D-CNN | BoW      | 60.31              | 68.85     | 74.45  | 71.54    |
|        | TF-IDF   | 50.85              | 73.03     | 42.28  | 53.55    |
|        | Word2Vec | 72.96              | 85.90     | 71.37  | 77.97    |

จาก Table 8 ที่แสดงการเปรียบเทียบประสิทธิภาพของทั้ง 2 ตัวแบบพบว่า WangchanBERTa และ mBERT มีค่าเฉลี่ยของค่า accuracy ที่ได้จากการทดสอบตัวแบบแบบ 5 fold cross validation เท่ากัน คือ 0.79 หรือ 79% แต่เมื่อพิจารณาที่ค่า standard deviation ซึ่ง mBERT มีค่า STD ที่น้อยกว่า คือ 0.0079 ซึ่งหมายความว่า mBERT เป็นตัวแบบที่มีความเสถียรมากกว่าในการทดสอบด้วย 5-CV ในส่วนของการวัดประสิทธิภาพของตัวแบบพบว่า WangchanBERTa ให้ค่า accuracy ที่สูงกว่าคือ 82.16% ซึ่งสูงที่สุดเมื่อเปรียบเทียบกันแล้ว ดังนั้นจึงอาจวิเคราะห์ได้ว่า WangchanBERTa เป็นตัวแบบที่มีค่า accuracy ที่สูงที่สุดในตัวแบบประเภท transformer model สามารถประมวลผลได้ดีในบาง fold แต่ประสิทธิภาพไม่คงที่เมื่อทำการ cross-validation ระหว่างแต่ละ fold และเมื่อเปรียบเทียบกับ 1D-CNN ตัวแบบประเภท CNN model ที่ Table 9 แล้ว WangchanBERTa มีประสิทธิภาพของการจำแนกคลาสที่ดีกว่าถึง 10% โดย 1D-CNN มีค่า accuracy อยู่ที่ 72.96% เมื่อพิจารณาที่ตัวแบบทั้ง 2 ประเภทแล้วพบว่า transformer model มีค่า accuracy ที่มากที่สุด

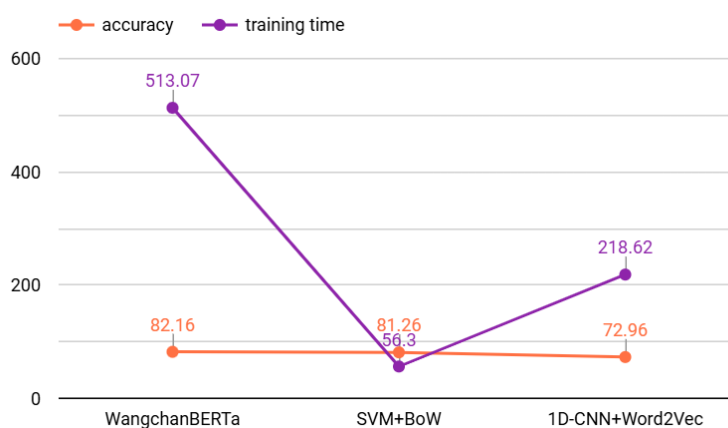
#### 5. ผลการเปรียบเทียบ Training Time ในงานวิจัยนี้ได้ทำการเปรียบเทียบระยะเวลา

ในการ train ตัวแบบที่ใช้ในการจำแนกข้อความความคิดเห็น โดยได้ทำการเปรียบเทียบตัวแบบที่แตกต่างกัน 3 ตัวแบบ ได้แก่ SVM แบบ BoW, 1D-CNN แบบ Word2Vec และ WangchanBERTa เพื่อวิเคราะห์ประสิทธิภาพในด้านของ training time โดยการทดลองทั้งหมดดำเนินการบน google colab โดยใช้ T4 GPU เพื่อเพิ่มประสิทธิภาพในการประมวลผล

จากผลการทดลอง Table 10 พบว่า SVM แบบ BoW ใช้เวลาในการ train ที่ 56.30 วินาที ซึ่งน้อยที่สุดเมื่อเทียบกับตัวแบบอื่น เนื่องจาก SVM เป็นวิธีการที่มีโครงสร้างที่เข้าใจง่ายและรวมเข้ากับคุณลักษณะการแปลงข้อความจากเทคนิค BoW ที่ไม่ต้องการการเรียนรู้เชิงลึกของลำดับข้อมูล ในขณะที่ 1D-CNN แบบ Word2Vec ใช้เวลา 218.62 วินาที ซึ่งมีการประมวลผลที่มากขึ้นเนื่องจากต้องทำการเรียนรู้เชิงลึกจากเวกเตอร์ของคำที่ได้จาก Word2Vec



**Figure 13** Comparative analysis of the accuracy performance across the three model categories



**Figure 14** Comparison of accuracy and training time across the best-performing model categories

**Table 10** A comparison of the training time of sentiment analysis models

| Models             | Training time (seconds) |
|--------------------|-------------------------|
| SVM (Bag of Words) | 56.30                   |
| 1D-CNN (Word2Vec)  | 218.62                  |
| WangchanBERTa      | 513.07                  |

ดังนั้น ส่วนของตัวแบบที่ใช้เวลาฝึกสอนมากที่สุด คือ WangchanBERTa โดยมี training time ที่ 513.07 วินาที ซึ่งเกิดจากโครงสร้างของตัวแบบที่เป็นแบบ transformer และมีจำนวนพารามิเตอร์สูง ส่งผลให้ต้องใช้ทรัพยากรในการคำนวณมากขึ้น ถึงแม้ว่าตัวแบบ WangchanBERTa จะใช้เวลาในการ train มากสุดแต่เมื่อเทียบค่าความถูกต้องในการเรียนรู้บริบทของภาษาไทยแล้ว จะเห็นได้ว่า WangchanBERTa ให้ค่าความถูกต้องที่ดีที่สุดเมื่อเทียบกับตัวแบบอื่น

## วิจารณ์ผลการวิจัย

จาก Figure 13 แสดงการเปรียบเทียบค่าความถูกต้องจากทุกตัวแบบด้วยกราฟ stack column ซึ่งในงานวิจัยของเรามีทั้งหมด 9 ตัวแบบ จากรูปภาพแสดงการเปรียบเทียบแบ่งเป็น 3 ประเภทตัวแบบ จะเห็นได้ว่า WangchanBERTa ซึ่งอยู่ในประเภท transformer model มีค่าความถูกต้องสูงที่สุดที่ 82.16% รองลงมาคือ SVM แบบ BoW ค่าความถูกต้องอยู่ที่ 81.26% ซึ่งเป็นตัวแบบประเภท machine learning model ส่วนตัวแบบประเภท CNN ให้ค่าความถูกต้องในการประมวลผลชุดข้อมูลภาษาไทยต่ำสุดในสามประเภทตัวแบบอยู่ที่ 72.96% คือ 1D-CNN

ส่วนของวิธีการแปลงข้อความให้อยู่ในรูปแบบเวกเตอร์ที่สามารถนำไปใช้กับตัวแบบต่างๆ ทั้ง 3 วิธี ได้แก่ BoW, TF-IDF และ Word2Vec จากกราฟ stack column แล้ว BoW เมื่อนำไปใช้กับ machine learning เดียวกัน โดย SVM+BoW ให้ค่าความถูกต้องที่ 81.26% ซึ่งมีค่าสูงกว่า SVM+TFIDF ที่

มีค่าความถูกต้องที่ 80.7% และตัวแบบ Naïve bayes ก็ให้ค่าความถูกต้องที่สูงกว่าเช่นเดียวกัน เนื่องจากวิธีการ BoW อาจเหมาะสำหรับการทำ sentiment analysis แบบพื้นฐาน ไม่ใช้การตัดคำที่ละเอียดเกินไปจึงเหมาะกับการนำไปใช้กับประโยคสั้นๆ อย่างเช่นข้อความแสดงความคิดเห็นได้ดี ถึงแม้ว่า TF-IDF จะเป็นวิธีการที่พัฒนาเพิ่มเติมให้มีประสิทธิภาพที่ดีขึ้นจาก BoW แต่จากผลการทดลองจะเห็นได้ว่าเมื่อนำไปใช้กับ machine learning ตัวแบบเดียวกันวิธีการ BoW ให้ค่าความถูกต้องสูงกว่า TF-IDF

เมื่อวิเคราะห์ถึงหลักการของวิธีการแปลงข้อความทั้ง 2 วิธี และการทดลองของเราใช้ชุดข้อมูลที่เป็นภาษาไทย โดยข้อความในภาษาไทยจะไม่มีการเว้นวรรคระหว่างคำ และมักจะมีคำที่ใช้บ่อย ซ้ำๆ สำคัญต่อความหมาย ด้วยหลักการของ BoW ที่ไม่ได้ทำการปรับ weight ด้วย IDF จึงสามารถจับลักษณะพิเศษนี้ได้ดี เพราะ BoW จะให้ความสำคัญกับคำที่ปรากฏบ่อยตามธรรมชาติของภาษา แต่ TF-IDF จะลดความสำคัญของคำที่ปรากฏบ่อยในชุดข้อมูลข้อความความคิดเห็น ซึ่งบางครั้งคำที่ปรากฏบ่อยๆ ที่ถูกตัดออกไปตามหลักการอาจมีความสำคัญต่อการจำแนกคำในข้อความความคิดเห็นได้ จึงอาจส่งผลให้ประสิทธิภาพของ machine learning เมื่อรวมกับ TF-IDF แล้วอาจจะทำให้ค่าความถูกต้องลดลงได้ อีกหนึ่งเหตุผลในการทดลองของเรา TF-IDF จะเหมาะสมกับ deep learning models และ Transformers model ที่สามารถเรียนรู้จากข้อมูลที่ปรับ weight ได้มากกว่า

ความแตกต่างระหว่าง BERT และ WangchanBERTa เป็นเรื่องที่สำคัญในงานวิจัยที่ใช้เทคนิค transformer เพื่อประมวลผลภาษาธรรมชาติ โดย BERT มีความสามารถในการเรียนรู้บริบทของคำทั้งด้านซ้ายและขวา โดยใช้โครงสร้าง transformer ที่ช่วยให้มันสามารถจับลำดับและความสัมพันธ์ระหว่างคำในประโยคได้ดี ข้อมูลจะถูกประมวลผลแบบพร้อมกันทั้งประโยค BERT ถูกออกแบบมาเพื่อการใช้งานทั่วไปและไม่ได้เน้นเฉพาะกับภาษาใดภาษาหนึ่ง ซึ่งอาจทำให้ไม่เหมาะสมกับการประมวลผลภาษาไทยที่มีลักษณะเฉพาะที่แตกต่างจากภาษาอังกฤษ ในขณะที่ WangchanBERTa ได้รับการพัฒนาโดยเน้นการปรับปรุงการประมวลผลภาษาไทยโดยเฉพาะ โดยจะทำการ train ตัวแบบให้สามารถเข้าใจลักษณะเฉพาะของภาษาไทย เช่น การใช้พยัญชนะที่ซับซ้อนและการสะกดคำที่ไม่เป็นระเบียบ แต่ข้อมูลที่ใช้ต้องเป็นข้อความล้วนไม่มี HTML หรือ markup ทำให้ WangchanBERTa มีประสิทธิภาพดีกว่า BERT ในการทำงานกับภาษาไทย ดังแสดง Table 8

จาก Table 8 แสดงให้เห็นว่า WangchanBERTa มีประสิทธิภาพในการประมวลผลชุดข้อมูลรีวิวเกมที่ดีกว่า BERT ในทุกค่าการวัดประสิทธิภาพ เพราะคุณสมบัติหลักของ WangchanBERTa สามารถจับความหมายของคำและโครงสร้างภาษาไทยได้แม่นยำกว่า BERT ที่ไม่ได้รับการ train โดยเฉพาะกับภาษาไทย ดังนั้นการใช้ WangchanBERTa จึงเหมาะสมกว่าในการประมวลผลภาษาไทย เพราะเป็นเทคนิคที่เหมาะสมกับภาษาที่ไม่มีการเว้นวรรคระหว่างคำอย่างเช่นภาษาไทย เนื่องจาก WangchanBERTa ใช้ SentencePiece แบบ Unigram ที่ไม่ต้องอาศัยการเว้นวรรคในการตัดคำและภาษาไทยไม่มีช่องว่างระหว่างคำ อีกทั้ง WangchanBERTa ใช้แนวทางของ RoBERTa ซึ่งเป็นวิธีการที่พัฒนาจาก BERT ให้มีประสิทธิภาพของการประมวลผลข้อความที่ดีขึ้น นอกจากนี้ WangchanBERTa ยังสามารถเข้าใจคำแสดง คำย่อ และศัพท์โซเชียลที่มักจะอยู่ในข้อความรีวิวต่างๆ นั้นได้ดีกว่า BERT ที่เน้นภาษาอังกฤษที่เป็นทางการ จึงทำให้ WangchanBERTa มีประสิทธิภาพในการวิเคราะห์ข้อมูลภาษาไทยได้ดีกว่า BERT

นอกจากการวัดประสิทธิภาพด้วยเมตริกซ์ต่างๆ แล้วระยะเวลาที่ใช้ในการ train ตัวแบบก็เป็นส่วนสำคัญโดยเฉพาะการประมวลผลบนอุปกรณ์ที่มีข้อจำกัดเรื่องทรัพยากร Figure 14 แสดงการเปรียบเทียบด้วยกราฟเส้นจากตัวแบบที่มีค่าความถูกต้องสูงสุดของแต่ละประเภทตัวแบบจะเห็นได้ว่า WangchanBERTa เป็นตัวแบบที่มีประสิทธิภาพดีที่สุด โดยมีค่าความถูกต้องสูงถึง 82.16% ในขณะที่วิธีการ Support Vector Machines ที่ใช้ เทคนิค BoW เป็นตัวแบบที่แสดงผลลัพธ์ที่ดีที่สุดในกลุ่มของ machine learning model ด้วยค่าความถูกต้องที่ 81.26% เมื่อวิเคราะห์ถึงผลการทดลองจะเห็นว่าค่าความถูกต้องของวิธีการที่ดีที่สุดของทั้ง 2 ประเภทตัวแบบมีค่าห่างกันเพียงเล็กน้อย โดยตัวแบบ machine learning ได้ค่าความถูกต้องที่ใกล้เคียงกันกับ transformer model แต่ใช้ทรัพยากรน้อยกว่า ในกรณีนี้จึงเหมาะสำหรับสถานการณ์ที่มีข้อจำกัดด้านทรัพยากร ข้อมูลเชิงลึกนี้มีประโยชน์สำหรับงานการวิเคราะห์ความคิดเห็นที่มีลักษณะเป็นข้อความรีวิวสามารถใช้ตัวแบบ machine learning ในการประมวลผลข้อมูลที่เป็นข้อความความคิดเห็นได้

## สรุปผลการวิจัย

จากผลการทดลองแสดงให้เห็นถึงประสิทธิภาพของตัวแบบทั้งในกลุ่ม machine learning และ transformer พบว่าในกลุ่ม machine learning ตัวแบบที่ทำงานได้ดีที่สุดคือ SVM ที่ใช้ BoW ซึ่งมีค่า accuracy ที่ 81.26% และมีค่า

precision ค่า recall ค่า F1-score ที่ให้ผลลัพธ์ที่ดี โดยค่า precision และค่า recall อยู่ที่ 85.80% และ 86.33% ตามลำดับ โดยวิธีแบบ BoW มีคุณสมบัติที่ดีกับการจับคำโดยไม่ต้องเข้าใจโครงสร้างประโยคเหมาะสมกับข้อความที่เป็นรีวิว การแสดงความคิดเห็น จากผลการทดลองจึงแสดงให้เห็นว่าตัวแบบนี้สามารถจับข้อมูลได้แม่นยำและมีการจำแนกข้อมูลได้ดีส่วนในกลุ่ม transformer ตัวแบบที่มีประสิทธิภาพดีที่สุดคือ WangchanBERTa โดยมีค่า accuracy ที่ 82.16% ซึ่งสูงที่สุดในกลุ่ม transformer models และมีค่า precision ค่า recall และค่า F1-score ที่ดีที่สุดเมื่อเทียบกับ BERT Multilingual เนื่องจากข้อความรีวิวที่เป็นภาษาไทยไม่มีช่องว่างระหว่างคำในประโยค จึงไม่ต้องทำการ Tokenization จึงอาจทำให้ tokenizer ของ BERT มีการตัดคำผิดพลาดได้และส่งผลให้การประมวลผลของ BERT เข้าใจ context ผิด

นอกจากนี้ WangchanBERTa สามารถจับความหมายของคำได้ดีโดยไม่ต้องเข้าใจความหมายของทั้งประโยค และจับความหมายในประโยคที่ไม่เป็นทางการได้ดีกว่าจากข้อมูลที่เป็นข้อความรีวิวที่เป็นลักษณะของประโยคที่มีคำที่เป็นภาษาโซเชียล หรือมีคำสแลงอยู่ด้วย จากผลการทดลองและคุณสมบัติของตัวแบบจึงแสดงให้เห็นว่า WangchanBERTa เหมาะสมที่สุดในการวิเคราะห์ข้อมูลภาษาไทยในชุดข้อมูลนี้ แม้ว่าตัวแบบ machine learning จะให้ผลลัพธ์ที่ดี แต่ตัวแบบ transformer อย่าง WangchanBERTa แสดงถึงความสามารถที่ดีกว่าในด้านความถูกต้องและการจำแนกประเภทข้อความที่ซับซ้อนโดยเฉพาะข้อมูลภาษาไทย ผลการทดลองแสดงให้เห็นว่าการทำ feature extraction มีความสำคัญต่อ machine learning model โดยจากการศึกษาพบว่า วิธีการ feature extraction ที่สนใจเฉพาะคำซึ่งได้แก่ BoW และ TF-IDF สามารถแยกคุณลักษณะได้ดีกว่าวิธีการที่สนใจบริบทของคำ เช่น Word2Vec

งานวิจัยในอนาคตมีแนวคิดที่จะเพิ่มการทดลองในส่วนของการสร้าง feature ด้วยวิธีการ word embeddings ที่หลากหลายขึ้น เช่น Word2Vec, GloVe รวมถึงการผสมผสานระหว่างวิธีการต่าง ๆ เพื่อเพิ่มความแม่นยำในการจับความหมายโดยเฉพาะข้อมูลที่เป็นภาษาไทย และส่วนของตัวแบบ transformer อาจจะมีการทดลองโดยใช้ตัวแบบที่หลากหลายขึ้น เช่น GPT, RoBERTa เพื่อเปรียบเทียบและปรับปรุงประสิทธิภาพให้ดีขึ้นต่อไป

## กิตติกรรมประกาศ

โครงการวิจัยนี้ได้รับการสนับสนุนจากเงินอุดหนุนการวิจัยจากงบประมาณเงินรายได้ คณะวิทยาการสารสนเทศ มหาวิทยาลัยมหาสารคามประจำปีงบประมาณ 2568

## เอกสารอ้างอิง

- ปราชญ์ภาคย์ เหล่าสังข์สุข, อนัส จินดา และสิริยา สิทธิสาร. (2560). การวิเคราะห์ความคิดเห็นเกี่ยวกับร้านอาหารบนเว็บไซต์รีวิว. *วารสารมหาวิทยาลัยทักษิณ*, 20(1), 39–47. <https://ph02.tci-thaijo.org/index.php/tsujournal/issue/view/6788>
- วิสูตรา เทศเมือง และนิเวศ จิระวิชิตชัย. (2560). การวิเคราะห์ความคิดเห็นภาษาไทยเกี่ยวกับการรีวิวสินค้าออนไลน์โดยใช้ขั้นตอนวิธีพอร์เตอร์เวกเตอร์แมทซ์. *วารสารวิศวกรรมศาสตร์ มหาวิทยาลัยสยาม*, 18(1), 1–12.
- วันสวรรค์ มีประเสริฐ และเอกรัฐ รัชกาญจน์. (2564). การวิเคราะห์ความคิดเห็นจากทวิตเตอร์ของลูกค้าบริษัทช้อปปิ้งในประเทศไทย. *วารสารระบบสารสนเทศด้านธุรกิจ*, 7(3), 6–18. <https://doi.org/10.14456/jisb.2021.11>
- วสันต์ดี อินทร์แปลง และจารี ทองคำ. (2563). การวิเคราะห์ความคิดเห็นต่อเกมมือถือที่พบบ่อยด้วยเหมืองข้อความ. *วารสารวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยี มหาวิทยาลัยมหาสารคาม*, 39(5), 523–531. <https://li01.tci-thaijo.org/index.php/scimsujournal/article/view/235350/172284>
- Bais, R., Odek, P., & Ou, S. (2017). *Sentiment classification on Steam reviews*. Stanford University. <https://cs229.stanford.edu/proj2017/final-posters/5147938.pdf>
- Eukeik. (2011). ตลาดเกมมูลค่าใหญ่แค่ไหนในประเทศไทย [How big is the game market value in Thailand?]. Marketeer Online. <https://marketeeronline.co/archives/241572>
- Gimme. (2018). *เปิดตัวเลขคนเล่นเกมในไทย* [Revealing the number of gamers in Thailand]. Droidsans. <https://droidsans.com/thai-gamer-esport-viewer-number>
- Khruahong, S., Surinta, O., & Lam, S. C. (2022). Sentiment analysis of local tourism in Thailand from YouTube comments using BiLSTM. In M. H. H. N. D. C. L. T. T. N. Vo (Eds.), *Lecture Notes in Computer Science: Vol. 13732. Multi-disciplinary trends in artificial intelligence* (pp. 169–177). Springer. [https://doi.org/10.1007/978-3-031-20992-5\\_15](https://doi.org/10.1007/978-3-031-20992-5_15)
- Phiphitphatphaisit, S., & Surinta, O. (2024). Multi-layer adaptive spatial-temporal feature fusion network for efficient food image recognition. *Expert Systems with Applications*, 255, 124834. <https://doi.org/10.1016/j.eswa.2024.124834>

- Shewale, R. (2024). *Steam statistics for 2024*. Demand Sage. <https://www.demandsage.com/steam-statistics>
- Wresearch. (2022). *Thailand gaming market outlook (2022-2028)*. 6Wresearch. <http://www.6wresearch.com/industry-report/thailand-gaming-market-outlook>

# การศึกษาเปรียบเทียบวิธีการเติมค่าสูญหายสำหรับการจัดกลุ่มข้อมูลที่มีการสูญหาย

## A comparative study on imputation methods for clustering with missing data

พินิจชญา โชติถนอม<sup>1</sup>, นิวรรณ วัฒนกิจรุ่งโรจน์<sup>1\*</sup> และ ศศิพร ทองแมน<sup>2</sup>

Pinidchaya Chottanom<sup>1</sup>, Niwan Wattanakitrungrroj<sup>1\*</sup> and Sasiporn Tongman<sup>2</sup>

Received: 8 December 2024 ; Revised: 13 January 2025 ; Accepted: 19 March 2025

### บทคัดย่อ

การจัดการข้อมูลสูญหายด้วยการเติมข้อมูลมีความท้าทายต่อการวิเคราะห์ข้อมูล โดยเฉพาะข้อมูลที่มีน้อยและมีความสำคัญไม่สามารถตัดออกได้ โดยทั่วไปข้อมูลสูญหายอาจเติมโดยใช้ค่ากลางของข้อมูล เช่น ค่าเฉลี่ยหรือฐานนิยม (Mean/Mode) อย่างไรก็ตาม วิธีการดังกล่าวไม่เหมาะสมสำหรับข้อมูลที่มีการกระจายตัวที่หลากหลาย การประยุกต์ใช้การเรียนรู้ของเครื่องเพื่อทำนายค่าที่สูญหายไปจึงเป็นทางเลือกหนึ่ง งานวิจัยนี้ศึกษาผลกระทบของวิธีการเติมค่าข้อมูลสูญหายต่อประสิทธิภาพในการจัดกลุ่มโดยใช้ข้อมูลจำลองสองมิติและข้อมูลจริงเกี่ยวกับลูกค้าธนาคาร ซึ่งแต่ละชุดข้อมูลได้ทดลองให้มีอัตราการสูญหายสามระดับต่อมาเปรียบเทียบการเติมค่าข้อมูลสูญหาย 5 วิธี ได้แก่ วิธี Mean/Mode วิธี K-Nearest Neighbors (KNN) วิธี Multivariate Imputation by Chained Equations (MICE) KNN วิธี MICE Random Forest และวิธี MICE Bayesian Ridge จากนั้นจัดกลุ่มด้วยวิธี Hierarchical Clustering และวิธี Density-based Spatial Clustering of Applications with Noise (DBSCAN) โดยกำหนดค่าพารามิเตอร์ที่หลากหลาย เพื่อเปรียบเทียบประสิทธิภาพ ผลการทดลองพบว่า การเติมข้อมูลสูญหายในข้อมูลที่มีอัตราการสูญหายทั้งสามระดับด้วยวิธี KNN วิธี MICE KNN และ วิธี MICE Random Forest จะให้ค่า Adjusted Rand Index (ARI) ค่า Normalized Mutual Information (NMI) ค่า Fowlkes-Mallows Index (FMI) และ ค่า Purity สูงสุดเป็นอันดับต้นเสมอ นอกจากนี้ แต่ละชุดข้อมูลจะพบวิธีการจัดกลุ่มที่เหมาะสมแตกต่างกันไป ดังนั้น การใช้วิธีการที่เหมาะสมทั้งวิธีการจัดกลุ่มและวิธีการเติมข้อมูลสูญหายแทนที่จะใช้วิธีการเติมด้วยค่ากลางแบบดั้งเดิมจะช่วยเพิ่มประสิทธิภาพการจัดกลุ่มได้มากขึ้น โดยได้ค่าประสิทธิภาพที่ดีของตัวชี้วัดเหล่านี้อยู่ในช่วงค่า 0.81 ถึงค่าใกล้เคียง 1

**คำสำคัญ:** การจัดกลุ่มแบบลำดับชั้น, การจัดกลุ่ม DBSCAN, ข้อมูลสูญหาย, วิธีการเติมค่าสูญหาย

### Abstract

Managing missing data by data imputation always challenges the subsequent data analysis process. Especially when a small amount of important data cannot be eliminated. In General, missing data can be imputed by filling its central value, such as the mean or mode value, although such methods might be unsuitable for every dataset with various distributions. Therefore, machine learning approaches to predict missing values are an interesting option. In this research, the impact of five missing data imputation methods was experimented with by clustering data with three missing rate levels. Two simulated 2D datasets and one real-world bank customer dataset were used in this work. Five missing data imputation methods, including Mean/Mode, K-Nearest Neighbors (KNN), Multivariate Imputation by Chained Equations (MICE), KNN, MICE Random Forest, and MICE Bayesian Ridge methods, were compared. After imputation, the data were clustered by both Hierarchical Clustering and Density-based Spatial Clustering of

<sup>1</sup> คณะเทคโนโลยีสารสนเทศ มหาวิทยาลัยเทคโนโลยีพระจอมเกล้าธนบุรี

<sup>2</sup> สาขาเทคโนโลยีชีวภาพ คณะวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยี มหาวิทยาลัยธรรมศาสตร์

<sup>1</sup> School of Information Technology, King Mongkut's University of Technology Thonburi

<sup>2</sup> Department of Biotechnology, Faculty of Science and Technology, Thammasat University

\* Corresponding author; e-mail address: watta.niwan@gmail.com

Applications with Noise (DBSCAN) Clustering approaches with various parameter setups for comparison. The experimental results show that KNN, MICE KNN, and MICE Random Forest imputation methods usually perform well, and consistently yield high values of Adjusted Rand Index (ARI), Normalized Mutual Information (NMI), Fowlkes-Mallows Index (FMI), and Purity regardless of data missing rate level. In addition, each clustering method may be suitable for each dataset differently. Therefore, using both an appropriate clustering approach and an imputation method to fill up data in this study, rather than traditional mean and mode imputation techniques, can expressively enhance clustering performance values ranging from 0.81 to nearly 1.

**Keywords:** Hierarchical clustering, DBSCAN clustering, missing data, imputation method

## บทนำ

การดำเนินธุรกิจในปัจจุบันให้ความสำคัญการจัดการข้อมูลลูกค้าเป็นอย่างยิ่ง การทำความเข้าใจความต้องการและการวิเคราะห์กลุ่มลูกค้าปัจจุบันและอนาคตเป็นเรื่องที่กำลังท้าทาย การดำเนินธุรกิจ โดยเฉพาะธุรกิจการเงิน การบริการ อสังหาริมทรัพย์ การศึกษา และการซื้อสินค้า เป็นต้น การจัดกลุ่มลูกค้า (Customer clustering) คือ การจัดให้กลุ่มลูกค้าที่มีพฤติกรรมใกล้เคียงกันหรือเหมือนกันไว้ในกลุ่มเดียวกัน (Maryani, 2018) วิธีการจัดกลุ่มลูกค้ามีหลากหลายรูปแบบ ซึ่งการจัดกลุ่มแบบลำดับขั้น (Hierarchical Clustering) เป็นหนึ่งในวิธีที่นิยมใช้ โดยสามารถจัดกลุ่มลูกค้าได้โดยไม่ต้องกำหนดจำนวนกลุ่มล่วงหน้า และสร้างโครงสร้างการจัดกลุ่มที่สามารถแสดงความสัมพันธ์ของข้อมูลในระดับต่าง ๆ ได้อย่างชัดเจน แต่ในการวิเคราะห์กลุ่มลูกค้าจากข้อมูลที่ได้จากการเก็บรวบรวมจริง มักประสบปัญหาข้อมูลสูญหาย (Missing Data) ซึ่งส่งผลให้การจัดกลุ่มลูกค้าอาจไม่แม่นยำ ดังนั้น การจัดการข้อมูลสูญหายจึงมีความสำคัญอย่างยิ่ง ดังนั้นจึงต้องทำการทำความสะอาดข้อมูล (Data Cleansing) ซึ่งเป็นกระบวนการในการตรวจสอบ แก้ไข ลบ แทนที่ และจัดรูปแบบของข้อมูลที่ไม่สมบูรณ์หรือข้อมูลที่ผิดพลาด เพื่อให้ข้อมูลมีความถูกต้องเป็นระเบียบพร้อมสำหรับการนำไปใช้งานอย่างมีประสิทธิภาพ นอกจากนี้ การจัดการข้อมูลสูญหายยังจำเป็นต้องดำเนินการผ่านกระบวนการนี้ด้วย เพื่อให้ได้ข้อมูลที่สมบูรณ์และเหมาะสมสำหรับการวิเคราะห์ต่อไป การจัดการข้อมูลสูญหายมีหลายวิธี เช่น การตัดข้อมูลที่มีการสูญหายทิ้งไป การประมาณค่าพารามิเตอร์ การเติมค่าข้อมูลสูญหายโดยค่าประมาณจากการคำนวณ (พัชณา สุวรรณแสน, 2562; Batista *et al.*, 2003; Sanjar *et al.*, 2020)

ในงานวิจัยนี้สนใจศึกษาอิทธิพลของวิธีการจัดการข้อมูลสูญหายในการจัดกลุ่มข้อมูลลูกค้า วิเคราะห์ความสัมพันธ์ของวิธีการจัดการข้อมูลสูญหายที่มีปริมาณข้อมูลสูญหายแตกต่างกันที่มีต่อประสิทธิภาพการจัดกลุ่ม

## หลักการและงานวิจัยที่เกี่ยวข้อง

ในหัวข้อนี้กล่าวถึง ประเภทของข้อมูลสูญหาย วิธีการจัดการข้อมูลสูญหาย การจัดกลุ่มข้อมูล และงานวิจัยที่เกี่ยวข้อง ดังต่อไปนี้

### 1. ประเภทของข้อมูลสูญหาย

ในการวิเคราะห์ข้อมูล สามารถแบ่งประเภทข้อมูลสูญหายได้เป็น 3 ประเภท ดังนี้

1) การสูญหายแบบสุ่มอย่างสมบูรณ์ (Missing Completely At Random; MCAR) เป็นลักษณะของข้อมูลสูญหายที่เกิดขึ้นแบบสุ่มจากค่าทั้งหมด ความน่าจะเป็นที่ข้อมูลสูญหายที่จุดใด ๆ ไม่มีความสัมพันธ์กับค่าของข้อมูลอื่นในตัวแปรที่มีข้อมูลสูญหายเองหรือตัวแปรอื่น

2) การสูญหายแบบสุ่ม (Missing At Random: MAR) เป็นลักษณะของข้อมูลสูญหายที่ขึ้นกับตัวแปรอื่นในชุดข้อมูล แต่ไม่ขึ้นกับค่าของตัวแปรที่สูญหายเอง

3) การสูญหายแบบไม่สุ่ม (Missing Not At Random; MNAR) เป็นลักษณะของข้อมูลสูญหายที่ไม่ได้เกิดขึ้นแบบสุ่ม โดยค่าของข้อมูลสูญหายมีความสัมพันธ์กับค่าของข้อมูลที่ไม่สูญหายในตัวแปรเดียวกันรวมถึงตัวแปรตัวอื่น เช่น ลูกค้าที่รายได้ต่ำอาจไม่กรอกข้อมูล Income เพื่อหลีกเลี่ยงการเปิดเผย

### 2. วิธีการจัดการข้อมูลสูญหาย

การจัดการข้อมูลสูญหายมีได้หลายวิธี โดยทั่วไปเราสามารถแบ่งวิธีการจัดการข้อมูลสูญหายเป็น 2 แบบหลักได้แก่

1) การตัดข้อมูลสูญหาย (Ignoring and discarding data) ใช้ในกรณีที่ข้อมูลสูญหายเกิดขึ้นหลายตัวแปร แต่สัดส่วนการสูญหายไม่ควรเกิน 5% ของข้อมูลทั้งหมด มีวิธีลบข้อมูล 2 แบบ ได้แก่ การลบแบบ Listwise คือ การลบข้อมูลทั้งหมดของแถวที่มีค่าสูญหาย เหมาะสำหรับข้อมูลที่สูญหายน้อย และการลบแบบ Pairwise deletion มีการวิเคราะห์ความสัมพันธ์ระหว่างคู่ของตัวแปร โดยจะวิเคราะห์ข้อมูลจากข้อมูล

ส่วนที่ไม่มีค่าสูญหายทั้งสองตัวแปร วิธีนี้มีข้อดีในส่วนของการใช้งานข้อมูลอย่างเต็มที่และมีประสิทธิภาพแต่ซับซ้อนกว่าวิธี Listwise

2) การประมาณค่าพารามิเตอร์ (Parameter estimation) การประมาณค่าความเป็นไปได้มากที่สุด (Maximum likelihood estimation) ซึ่งคำนวณจากข้อมูลทั้งหมดโดยค่าความเป็นไปได้มากที่สุดจะถูกคำนวณโดยแยกคำนวณจากข้อมูลที่ไม่มีการสูญหายของบางตัวแปร และคำนวณจากข้อมูลในทุกตัวแปร จากนั้นค่าความเป็นไปได้ที่มากที่สุดจากการคำนวณทั้งสองจะถูกนำไปใช้ในการประมาณค่าข้อมูลสูญหาย วิธีการเติมค่าข้อมูลสูญหายด้วยค่าประมาณเป็นวิธีการประมาณค่าสูญหายโดยเอาหลักการทางคณิตศาสตร์มาเติมค่าที่สูญหายไป เช่น การแทนข้อมูลสูญหายของตัวแปรนั้นด้วยค่าเฉลี่ย ค่ามัธยฐาน หรือค่าฐานนิยมของตัวแปร การแทนค่าข้อมูลสูญหายด้วยค่าทำนายด้วยการวิเคราะห์ถดถอย (Regression Method) การแทนค่าด้วยวิธีเคเนียร์เรสเบอร์ (K-Nearest Neighbors; KNN) วิธีเกรย์เคเนียร์เรสเบอร์ (Grey KNN) และวิธีการแทนค่าแบบพหุด้วยสมการลูกโซ่ (Multivariate Imputation by Chained Equations; MICE) เป็นต้น (Pan *et al.*, 2015)

### 3. การจัดกลุ่มข้อมูล

ในงานนี้ศึกษาประสิทธิภาพของการเติมข้อมูลสูญหายที่มีผลต่อวิธีการจัดกลุ่มข้อมูล ซึ่งการวิเคราะห์กลุ่มข้อมูล (Cluster Analysis) เป็นเทคนิคจัดกลุ่มหน่วยข้อมูล หรือเป็นการแบ่ง คน สัตว์ สิ่งของ องค์กร ฯลฯ ออกเป็นกลุ่มโดยที่ภายในกลุ่มแต่ละกลุ่มหน่วยตัวอย่างจะต้องมีลักษณะคล้ายคลึงกัน และระหว่างกลุ่มหน่วยตัวอย่างจะต้องมีลักษณะที่แตกต่างกัน การจัดกลุ่มเป็นการเรียนรู้แบบไม่มีผู้สอน (Unsupervised Learning) เป็นวิธีการจัดกลุ่มข้อมูลโดยไม่ต้องใช้ข้อมูลตัวอย่างที่มีการระบุป้ายกำกับ (Labels) ไว้ล่วงหน้า การจัดกลุ่มช่วยในการค้นหารูปแบบ หรือโครงสร้างที่ซ่อนอยู่ในข้อมูล การจัดกลุ่มมีหลายวิธี โดยในงานนี้ทำการทดลองกับวิธีการจัดกลุ่มที่นิยมสองวิธี ได้แก่ Density-based Clustering และ Hierarchical Clustering

DBSCAN (Density-Based Spatial Clustering of Applications with Noise) เป็นวิธีการจัดกลุ่มข้อมูลโดยอาศัยความหนาแน่นของข้อมูลในบริเวณหนึ่ง เหมาะสำหรับการจัดการข้อมูลที่มีรูปทรงไม่แน่นอนและสามารถจัดการข้อมูลที่เป็นสัญญาณรบกวน (Noise) โดยใช้พารามิเตอร์สำคัญสองตัว ได้แก่ ค่า Eps สำหรับกำหนดรัศมีของพื้นที่ใกล้เคียง และ ค่า MinPts สำหรับกำหนดจำนวนจุดขั้นต่ำในพื้นที่

ถือว่าเป็นกลุ่ม จุดที่มีความหนาแน่นเพียงพอจะถูกจัดเป็น "Core Point" และขยายกลุ่มโดยรวมจุดใกล้เคียงที่เชื่อมโยกันผ่าน Core Point วิธีนี้มีประโยชน์ในกรณีที่จำนวนคลัสเตอร์ไม่ชัดเจนล่วงหน้า และมีข้อได้เปรียบในด้านการจัดการข้อมูลที่ซับซ้อนเมื่อเทียบกับวิธีการจัดกลุ่มแบบดั้งเดิม (Ester *et al.*, 1996)

Hierarchical Clustering คือ การจัดกลุ่มข้อมูลด้วยวิธีการรวมกลุ่มที่ละชั้น (Agglomerative) หรือลดกลุ่มที่ละชั้น (Divisive) โดยการสร้างโครงสร้างแบบลำดับชั้น (Hierarchical Structure) เป็นวิธีการจัดกลุ่มที่ไม่จำเป็นต้องทราบจำนวนจำนวนคลัสเตอร์มาก่อน และสามารถใช้กับข้อมูลผสมโดยใช้ร่วมกับมาตรวัดระยะห่างสำหรับข้อมูลผสม เช่น มาตรวัด Gower's Distance เป็นต้น แตกต่างจาก K-Means Clustering ที่ต้องทราบจำนวนกลุ่มมาก่อน (กัลยา วานิชปัญญา, 2558)

### 4. งานวิจัยที่เกี่ยวข้อง

Wood *et al.* (2004) ได้สำรวจผลงานวิจัยที่มีการตีพิมพ์ในวารสาร BMJ, JAMA, Lancet and New England Journal of Medicine จำนวน 71 เรื่อง พบว่า งานวิจัยส่วนใหญ่ (ร้อยละ 89) มีข้อมูลสูญหายและไม่มีการจัดการก่อนการวิเคราะห์ ซึ่งระดับความรุนแรงของผลกระทบนี้ขึ้นอยู่กับคุณลักษณะและความสำคัญของข้อมูลสูญหาย จึงควรมีการศึกษาจัดการข้อมูลสูญหายอย่างเหมาะสม

Batista *et al.* (2003) ได้ทำการทดลองทดสอบประสิทธิภาพของการเติมค่าข้อมูลสูญหายด้วย KNN กับ Mean/Mode พบว่าวิธี KNN มีประสิทธิภาพในการประมาณค่าสูญหายที่ดีกว่า นอกจากนั้น ผู้วิจัยยังได้พัฒนาวิธี KNN ให้มีประสิทธิภาพมากขึ้นโดยวิธีการถ่วงน้ำหนัก

พัชนา สุวรรณแสน (2562) ใช้วิธีการจัดการข้อมูลสูญหาย ด้วยวิธี KNN พบว่าสามารถเป็นแนวทางในการทำให้ได้ข้อมูลที่มีความสมบูรณ์เหมาะสมในการดำเนินงานในขั้นตอนต่อไปของการวิจัย

อุมาพร ยกกำพล และคณะ (2561) เปรียบเทียบประสิทธิภาพวิธีการจัดกลุ่มข้อมูลแบบลำดับชั้น และการจัดกลุ่มแบบเคมีน สำหรับข้อมูลผสมเชิงหมวดหมู่ กับเชิงตัวเลข โดยแปลงตัวแปรเชิงหมวดหมู่ เป็นค่าทวิภาคและแปลงตัวแปรให้เป็นบรรทัดฐาน พบว่าวิธีการจัดกลุ่มแบบลำดับชั้นมีประสิทธิภาพดีกว่าวิธีการจัดกลุ่มแบบเคมีน แต่การแปลงตัวแปรให้เป็นบรรทัดฐานจะช่วยเพิ่มประสิทธิภาพการจัดกลุ่มแบบเคมีนได้มากขึ้น

ศรีรักษ์ ศรีทองชัย (2566) ศึกษาวิธีการเติมค่าข้อมูลสูญหายในการพยากรณ์ความเข้มข้นของ PM 2.5 ด้วยแบบจำลองโครงข่ายประสาทเทียม ด้วยวิธีค่าเฉลี่ย วิธีการประมาณค่าในช่วงแบบเชิงเส้น วิธี KNN และ MICE พบว่าวิธี KNN และ วิธี MICE ให้ค่าความผิดพลาดน้อยที่สุด ทั้งสองวิธีให้ผลลัพธ์ดีกว่าวิธีค่าเฉลี่ยและวิธีการประมาณค่าในช่วงแบบเชิงเส้น แต่อย่างไรก็ตามเงื่อนไขของแบบจำลองมีอิทธิพลต่อความแม่นยำของการใช้ค่าพยากรณ์จากวิธีดังกล่าว

## การดำเนินงานวิจัย

ในหัวข้อนี้จะกล่าวถึงการดำเนินงานวิจัยประกอบด้วย ข้อมูลที่ใช้ การเติมค่าสูญหาย การจัดกลุ่ม การประเมินผล ดัง Figure 1

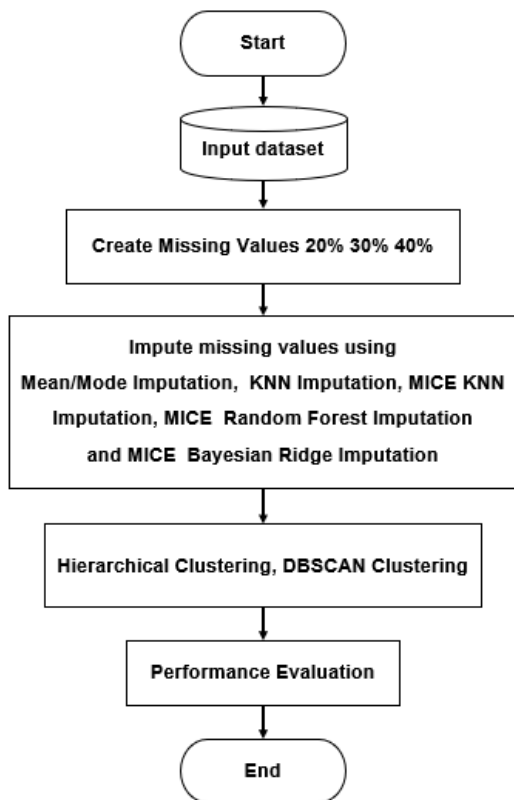


Figure 1 Overview of the experimental processes

### 1. ข้อมูลที่ใช้ในงานวิจัย

ในการศึกษาการเติมข้อมูลที่สูญหายเพื่อการจัดกลุ่ม ใช้ข้อมูล ดัง Table 1 ประกอบด้วยข้อมูลสังเคราะห์จำนวน 2 ชุด คือ DS1 และ DS2 ที่สร้างขึ้นโดยกำหนดให้ข้อมูลของสมาชิกในแต่ละกลุ่มมีการกระจายตัวตามการแจกแจงแบบปกติ (Normal Distribution) โดยข้อมูลของแต่ละกลุ่มถูกกำหนดให้มีลักษณะแตกต่างกันในเชิงตำแหน่ง

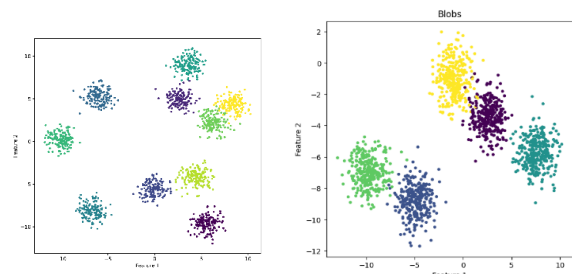
(Mean) และการกระจายตัว (Variance) เพื่อให้เกิดความชัดเจนของกลุ่ม หรือในบางกรณีอาจมีการซ้อนทับกันเล็กน้อยระหว่างกลุ่ม ดัง Figure 2 สำหรับชุดข้อมูลจริง (Real Data) เป็นข้อมูลเกี่ยวกับข้อมูลลูกค้าผู้ถือบัญชีธนาคาร มีรายละเอียดข้อมูลดัง Table 2 และเพื่อให้เห็นความสัมพันธ์เชิงภาพของข้อมูลจริงจึงแสดงเป็นองค์ประกอบหลัก (PCA) 2 มิติ ดัง Figure 3

Table 1 Data used in the experiments

| Data Set | Data Count | Description                                                                                                                                                                                         |
|----------|------------|-----------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|
| DS1      | 1,500      | 2D Simulated Data 5 Clusters                                                                                                                                                                        |
| DS2      | 1,500      | 2D Simulated Data 10 Clusters                                                                                                                                                                       |
| DS3      | 1,000      | Bank Customer Data, partially selected from a public data source (Singal, 2023), consisting of 7 features: Credit Score, Country, Age, Balance, Products Number, Credit Card, and Estimated Salary. |

Table 2 Details of the DS3 dataset

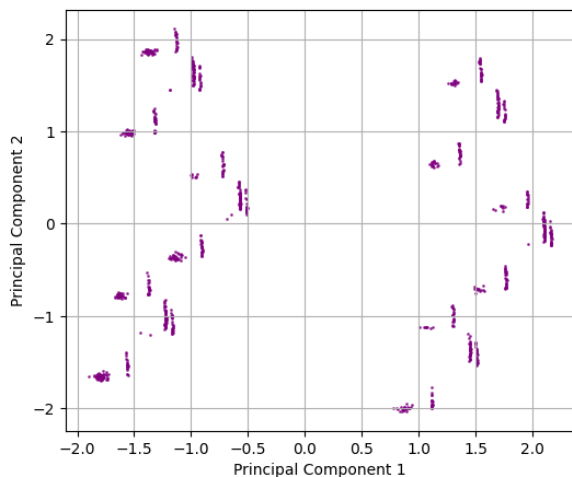
| Feature          | Range of Values         |
|------------------|-------------------------|
| Credit Score     | 300 - 850               |
| Country          | France, Germany, Spain  |
| Age              | 24 - 83                 |
| Balance          | 2658 - 214347           |
| Products Number  | 1 - 5                   |
| Credit Card      | Binary: Yes (1), No (0) |
| Estimated Salary | 600 - 5029354           |



(a) DS1

(b) DS2

Figure 2 DS1 and DS2 datasets



**Figure 3** The first two principal components of the DS3 dataset. Denote that categorical data were transformed to binary features by one-hot encoding process

ในแต่ละชุดข้อมูล จะมีการจำลองการสูญหายของข้อมูลแบบ MNAR โดยมี Missing rate 20% 30% และ 40% เพื่อทำการทดลองเปรียบเทียบวิธีการเติมค่าสูญหายแล้วนำไปจัดกลุ่มต่อไป

## 2. วิธีประมาณการค่าสูญหาย

ในงานนี้ ใช้วิธีประมาณการค่าสูญหาย มี 5 วิธีดังต่อไปนี้

### 2.1 Mean/Mode Imputation

การแทนค่าสูญหายด้วยค่าเฉลี่ยสำหรับตัวแปรสำหรับข้อมูลเชิงตัวเลข และแทนค่าสูญหายด้วยค่าฐานนิยมสำหรับตัวแปรสำหรับเชิงหมวดหมู่ (Zhang, 2016)

### 2.2 KNN Imputation

การแทนค่าสูญหายด้วยวิธี KNN (Murti *et al.*, 2019) จะคำนวณระยะห่างระหว่างข้อมูลตัวที่มีค่าสูญหายที่ต้องการจะเติมกับข้อมูลอื่นทุกตัว หากค่าคุณลักษณะ (features) ที่ไม่มีค่าสูญหายมีความใกล้เคียงกัน จะถูกนำมาใช้ในการแทนค่าสูญหาย โดยพิจารณาข้อมูลใกล้เคียงกันหรือเรียกว่าเป็นเพื่อนบ้านกัน  $k$  ตัว นำมาหาค่าเฉลี่ยแล้วแทนค่าให้กับข้อมูลที่สูญหายนั้น โดยค่าสูญหาย  $\hat{x}$  คำนวณดังสมการ (3)

$$\hat{x} = \frac{\sum_{i=1}^k x_i}{k} \quad (3)$$

เมื่อแทนค่าคุณลักษณะในคอลัมน์ที่ต้องการเติมค่าสูญหายของเพื่อนบ้านตัวที่

### 2.3 MICE KNN Imputation

การแทนค่าสูญหายด้วยวิธี MICE (Multi-variate Imputation by Chained Equations) (Van Buuren & Groothuis-Oudshoorn, 2011) ใช้การประมาณค่าแบบหลายตัวแปร เติมค่าที่ขาดหายในแต่ละคอลัมน์แบบลูกโซ่ (chain) โดยใช้ K-Nearest Neighbors เพื่อคาดเดาค่าที่เหมาะสมเหมาะสำหรับการเติมค่าสูญหายซึ่งสัมพันธ์กับหลายตัวแปรในชุดข้อมูล

### 2.4 MICE Random Forest Imputation

การแทนค่าสูญหายด้วยวิธี MICE ใช้การประมาณค่าแบบหลายตัวแปร เติมค่าที่ขาดหายในแต่ละคอลัมน์แบบวนซ้ำ โดยใช้ Random Forest (Shah *et al.*, 2014) เป็นโมเดลสำหรับการคาดเดาค่าที่เหมาะสมสำหรับชุดข้อมูลที่ซับซ้อนซึ่งมีความสัมพันธ์แบบไม่เชิงเส้นระหว่างตัวแปร Random Forest เป็นโมเดลที่ใช้การรวมผล (ensemble) ของต้นไม้ตัดสินใจ (Decision Trees) โดยจะสร้างต้นไม้หลายต้นจากตัวอย่างสุ่มในชุดข้อมูล ในการแบ่งข้อมูลแต่ละครั้ง เพื่อลดการเกิด overfitting และเพิ่มความแม่นยำ สำหรับคอลัมน์ที่มีค่าหาย (missing values) ใช้ Random Forest สร้างโมเดลโดยพิจารณาตัวแปรที่เหลืออยู่ ค่าที่หายจะถูกประมาณจากค่าเฉลี่ยของผลลัพธ์จากต้นไม้หลายต้นใน Random Forest การคาดการณ์ค่าที่ขาดหาย  $\hat{y}$  ใช้ค่าเฉลี่ยจากต้นไม้ดังสมการ (4)

$$\hat{y} = \frac{1}{N_t} \sum_{i=1}^{N_t} T_i(x) \quad (4)$$

โดยที่  $T_i(x)$  คือ ผลลัพธ์จากต้นไม้  $i$  และ  $N_t$  คือ ต้นไม้ทั้งหมดใน Random Forest

### 2.5 MICE Bayesian Ridge Imputation

การแทนค่าสูญหายด้วยวิธี ใช้การประมาณค่าแบบหลายตัวแปร เติมค่าที่ขาดหายในแต่ละคอลัมน์แบบวนซ้ำ โดยใช้ Bayesian Ridge Regression (Mostafa *et al.*, 2020) เป็นโมเดลสำหรับคาดเดาค่าที่เหมาะสม Bayesian Ridge Regression เป็นการปรับปรุงโมเดล Linear Regression โดยเพิ่มการแจกแจงความน่าจะเป็นแบบ Bayesian เพื่อประเมินพารามิเตอร์ ของโมเดล สมการพื้นฐานของ Ridge Regression เป็นดังสมการ (5)

$$\hat{y} = X\beta + \epsilon, \quad \epsilon \sim N(0, \sigma^2) \quad (5)$$

สำหรับคอลัมน์ที่มีค่าหาย ใช้ Bayesian Ridge Regression สร้างโมเดลโดยพิจารณาตัวแปรอื่น ๆ ที่เหลืออยู่ ค่าที่ขาดหาย

จะถูกแทนด้วยค่าเฉลี่ยจากการแจกแจง posterior ของโมเดล Bayesian ค่าประมาณ  $\beta$  คำนวณจาก posterior distribution เพื่อประมาณค่าพารามิเตอร์ที่ดีที่สุด

### 3. จัดกลุ่มข้อมูล

ในงานนี้ ศึกษาอิทธิพลของวิธีการเติมข้อมูล สูญหายที่มีต่อการจัดกลุ่มข้อมูล มีวิธีจัดกลุ่มข้อมูล 2 วิธี ได้แก่ วิธี Hierarchical Clustering และ วิธี DBSCAN Clustering ใช้ร่วมกับ Gower's distance ซึ่งเป็นการคำนวณระยะห่างระหว่างคู่ของข้อมูลที่ประกอบด้วยคุณลักษณะที่เป็นข้อมูลเชิงตัวเลขและข้อมูลเชิงหมวดหมู่ โดยจะคำนวณระยะห่างจากลักษณะต่าง ๆ ของข้อมูลแต่ละประเภทและนำมารวมกันเป็นค่าระยะห่างสุดท้าย

สำหรับ Hierarchical Clustering จะศึกษาสามวิธี ได้แก่ วิธี Single Linkage วิธี Complete Linkage และวิธี Ward Linkage

สำหรับ DBSCAN Clustering จะศึกษาการกำหนดพารามิเตอร์ MinPts สามค่า ได้แก่ MinPts = 3 MinPts = 5 และ MinPts = 10 จากนั้น กำหนดช่วงค่า Eps เพื่อคำนวณหาค่า Eps ที่เหมาะสมสำหรับ MinPts แต่ละค่า

### 4. การประเมินประสิทธิภาพ

เนื่องจากในงานนี้ทำการศึกษาวิธีการเติมข้อมูลที่มีการสูญหายที่มีผลต่อการจัดกลุ่ม จึงดำเนินการวัดประสิทธิภาพจากผลการจัดกลุ่มที่ได้ (Cluster Labels) เมื่อเทียบกับการจัดกลุ่มจริง (Ground Truth Labels) โดยใช้ตัวชี้วัดดังต่อไปนี้

#### 4.1 Adjusted Rand Index (ARI)

ARI วัดว่าการจับคู่ระหว่างคู่ของข้อมูลในผลการจัดกลุ่มที่ได้ และการจัดกลุ่มจริงนั้นตรงกันมากน้อยเพียงใด โดยคำนึงถึงผลลัพธ์ที่อาจเกิดขึ้นแบบสุ่ม มีสูตรการคำนวณดังสมการ (6)

$$ARI = \frac{RI - \text{expected } RI}{\max(RI) - \text{expected } RI} \quad (6)$$

เมื่อ  $RI = \frac{TP+TN}{TP+FP+FN+TN}$  ซึ่งอยู่ในช่วง  $[0,1]$

$TP$ : จำนวนคู่ข้อมูลที่ถูกจัดให้อยู่ในกลุ่มเดียวกันทั้งใน Cluster Labels และ Ground Truth Labels

$TN$ : จำนวนคู่ข้อมูลที่ถูกจัดให้อยู่ในกลุ่มต่างกันทั้งใน Cluster Labels และ Ground Truth Labels

$FP$ : จำนวนคู่ข้อมูลที่ถูกจัดให้อยู่ในกลุ่มเดียวกันใน Cluster Labels แต่ต่างกลุ่มใน Ground Truth Labels

$FN$ : จำนวนคู่ข้อมูลที่ถูกจัดให้อยู่ในกลุ่มต่างกันใน Cluster Labels แต่กลุ่มเดียวกันใน Ground Truth Labels

#### 4.2 Fowlkes-Mallows Index (FMI)

FMI เป็นตัวชี้วัดที่ใช้ในการประเมินคุณภาพของการจัดกลุ่ม โดยการเปรียบเทียบการจัดกลุ่มที่ได้จากโมเดลกับการจัดกลุ่มจริงโดยเฉพาะความแม่นยำและความสมบูรณ์ของการจัดกลุ่ม มีสูตรการคำนวณ ดังสมการ (7)

$$FMI = \sqrt{\frac{TP}{(TP+FP)} \cdot \frac{TP}{(TP+FN)}} \quad (7)$$

#### 4.3 Normalized Mutual Information (NMI)

NMI เป็นตัวชี้วัดที่ใช้ในการประเมินคุณภาพของการจัดกลุ่ม โดยเปรียบเทียบ Cluster Labels ที่ได้จากการจัดกลุ่มกับ Ground Truth ซึ่งแสดงถึงระดับ ความสัมพันธ์ระหว่างการจัดกลุ่มและคำตอบที่แท้จริง มีสูตรการคำนวณ ดังสมการ (8)

$$NMI = \frac{2 \cdot I(X;Y)}{H(X)+H(Y)} \quad (8)$$

เมื่อ  $X$  แทน Cluster Labels และ  $Y$  แทน Ground Truth

$$I(X;Y) = \sum_{x \in X} \sum_{y \in Y} p(x,y) \log \frac{p(x,y)}{p(x)p(y)}$$

$$H(X) = - \sum_{x \in X} p(x) \log p(x)$$

$$H(Y) = - \sum_{y \in Y} p(y) \log p(y)$$

#### 4.4 Purity

Purity เป็นตัวชี้วัดที่ใช้ในการประเมินคุณภาพของการจัดกลุ่มโดยการวัดว่าแต่ละกลุ่มที่ได้จากการจัดมีการจับข้อมูลที่มีลักษณะเหมือนกันมากน้อยแค่ไหนโดยการเปรียบเทียบกลุ่มที่ได้กับ Ground Truth Labels มีสูตรการคำนวณ ดังสมการ (9)

$$Purity = \frac{1}{N} \sum_{k=1}^K \max |C_k \cap L_j| \quad (9)$$

เมื่อ

$N$  แทนจำนวนข้อมูลทั้งหมด

$K$  แทนจำนวนกลุ่มที่ได้จากการจัดกลุ่ม

$C_k$  แทนข้อมูลทั้งหมดในกลุ่มที่  $k$  จากการจัดกลุ่ม

$L_j$  แทนข้อมูลทั้งหมดใน Ground Truth Label  $j$

สำหรับข้อมูลสังเคราะห์ DS1 และ DS2 กำหนด Ground Truth Labels จากกลุ่มที่สังเคราะห์ขึ้นโดยตรง แต่สำหรับ DS3 ซึ่งเป็นข้อมูลจริง จะกำหนด Ground Truth Labels จากการจัดกลุ่มข้อมูลที่ไม่มีการสูญหาย โดยใช้วิธี KneeLocator Method [12] ในการหาจำนวนกลุ่มที่ดีที่สุดสำหรับวิธี Hierarchical Clustering ส่วน DBSCAN Clustering จะใช้วิธีเพื่อกำหนดค่า Eps ที่เหมาะสมสำหรับ MinPts แต่ละค่า

## ผลการทดลอง

ผลการเปรียบเทียบการเติมข้อมูลสูญหาย 5 วิธี ได้แก่ วิธี Mean/Mode วิธี KNN วิธี MICE KNN วิธี MICE Random Forest และวิธี MICE Bayesian Ridge ที่ส่งผลต่อประสิทธิภาพการจัดกลุ่มบนชุดข้อมูล DS1 DS2 และ DS3 ซึ่งแต่ละชุดข้อมูลมีการจำลองสถานการณ์การสูญหาย 3 ระดับ ได้แก่ สูญหาย 20% 30% และ 40% โดยใช้วิธีการจัดกลุ่ม 2 วิธี คือ Hierarchical Clustering และ DBSCAN Clustering แต่ละวิธีมีการตั้งค่าพารามิเตอร์ต่างกัน 3 แบบ จากนั้นวิเคราะห์ประสิทธิภาพการจัดกลุ่ม ดังต่อไปนี้

### การจัดกลุ่มด้วย Hierarchical Clustering

Tables 5-7 แสดงผลการทดลองบนชุดข้อมูล DS1 DS2 และ DS3 ตามลำดับ ซึ่งเป็นการเปรียบเทียบค่าประสิทธิภาพ 4 ค่า คือ ARI NMI FMI และ Purity ซึ่งเป็นตัวชี้วัดประสิทธิภาพการจัดกลุ่มบนชุดข้อมูล DS1 DS2 และ DS3 หลังจากการเติมข้อมูลสูญหาย 5 วิธี โดยวิธีการจัดกลุ่มคือ Hierarchical Clustering (HC) ร่วมกับการใช้วิธีการรวมสองกลุ่มย่อยแบบ Single Linkage แบบ Complete Linkage หรือ แบบ Ward Linkage

เนื่องจากชุดข้อมูล DS1 และ DS2 ได้มาจากการสังเคราะห์ข้อมูลขึ้นมาด้วยวิธีเดียวกัน แต่มีจำนวนกลุ่ม 5 และ 10 กลุ่ม ตามลำดับ ผลการทดลองบนชุดข้อมูล DS1 และ DS2 จึงใกล้เคียงกัน ดัง Tables 5-6 พบว่าประสิทธิภาพการจัดกลุ่มโดยวิธี Hierarchical Clustering (HC) แบบ Ward linkage ให้ค่าประสิทธิภาพสูงในอันดับต้นสามอันดับแรกในทุกตัวชี้วัด ได้แก่ ARI NMI FMI และ Purity เมื่อแทนค่าข้อมูลสูญหายด้วยวิธี KNN และ วิธี MICE KNN กล่าวคือ มีผลค่าในช่วง 0.93 ถึงค่าใกล้ 1 ในทั้ง 3 ระดับการสูญหาย 20% 30% และ 40% ที่ได้ทำการทดลอง ส่วนวิธีที่มีประสิทธิภาพสูงรองลงมา

คือ วิธี MICE Random Forest กับการแทนที่ข้อมูลสูญหาย 20% และ 30% ซึ่งยังคงมีค่าประสิทธิภาพสูง 0.97 ขึ้นไป ส่วนการแทนค่าข้อมูลสูญหาย 40% บนชุดข้อมูล DS1 พบว่า วิธี MICE Random Forest ก็ยังแสดงผลประสิทธิภาพสูงในอันดับต้นติดอยู่สามอันดับแรก ในขณะที่การแทนค่าข้อมูลสูญหาย 40% บนชุดข้อมูล DS2 พบว่า ผลจากวิธี MICE Random Forest ในบางตัวชี้วัดไม่ได้ติดอยู่ในสามอันดับแรก แต่ก็ยังแสดง ค่าประสิทธิภาพสูง 0.97 ขึ้นไปในทุกตัวชี้วัด นอกจากนี้ การใช้ Complete linkage ยังให้ผลที่ดีในการทดลองกับชุดข้อมูล DS2 ในบางกรณี แต่อย่างไรก็ตาม การใช้ Ward linkage มักจะให้ผลที่ดีโดยทั่วไปในทั้งสองชุดข้อมูล ต่อมาเมื่อพิจารณารูปร่างคลัสเตอร์ของชุดข้อมูล DS1 และ DS2 ใน Figure 2 จะเห็นว่า ข้อมูลมีลักษณะกลุ่มเป็นรูปร่างกลมวงรี แยกจากกันค่อนข้างชัดเจน ดังนั้น ผลการทดลองที่ได้นี้อาจจะสามารถประยุกต์ใช้เติมข้อมูลสูญหายที่มีระดับมากถึง 40% แทนที่วิธีการที่มักใช้กันอย่างแพร่หลายอย่างวิธี Mean/Mode สำหรับชุดข้อมูล DS3 เป็นข้อมูลจริงเกี่ยวกับลูกค้าธนาคารที่มีจำนวน 7 คุณสมบัติ ซึ่งจะกำหนด Ground truth label ดังกล่าวไว้ในหัวข้อที่ 3 ของการดำเนินงานวิจัย ผลการเปรียบเทียบการเติมข้อมูลสูญหาย 5 วิธี ดัง Table 7 ที่มีข้อมูลสูญหาย 20% 30% และ 40% ปรากฏว่า การแทนค่าข้อมูลสูญหายด้วยวิธี MICE Random Forest ผนวกกับการจัดกลุ่มโดยวิธี Hierarchical Clustering แบบ Ward linkage ให้ค่าประสิทธิภาพสูงในสองอันดับแรกในทุกตัวชี้วัด ได้แก่ ARI NMI FMI และ Purity โดยมีผลอยู่ในช่วง 0.67 ถึง 0.88 ส่วนวิธีที่มีประสิทธิภาพรองลงมาสำหรับการแทนค่าข้อมูลสูญหาย 20% และ 30% คือ วิธี KNN และวิธี MICE KNN เมื่อผนวกกับการจัดกลุ่มโดยวิธี HC แบบ Ward linkage แต่ในการแทนที่ข้อมูลสูญหาย 40% การเติมข้อมูลสูญหายด้วยวิธี MICE Random Forest และวิธี MICE KNN ผนวกกับ HC แบบ Complete linkage ก็ให้ผลประสิทธิภาพสูงในอันดับต้นสามอันดับแรกในทุกตัวชี้วัด

กล่าวโดยภาพรวม จากผลการทดลองกับทั้ง 3 ชุดข้อมูลข้างต้น และข้อมูลมีอัตราการสูญหายไม่เกิน 40% การแทนค่าข้อมูล สูญหายด้วย MICE Random Forest กับการจัดกลุ่มด้วยวิธี Hierarchical Clustering (HC) แบบ Ward linkage มักจะให้ค่า ประสิทธิภาพที่สูงในทุกตัวชี้วัด

**Table 5** Performance of Hierarchical Clustering on DS1 with three levels missing data imputed by five methods

| HC               | Imputation Methods  | DS1 with 20% missing        |                             |                             |                             | DS1 with 30% missing        |                             |                             |                             | DS1 with 40% missing        |                             |                             |                             |
|------------------|---------------------|-----------------------------|-----------------------------|-----------------------------|-----------------------------|-----------------------------|-----------------------------|-----------------------------|-----------------------------|-----------------------------|-----------------------------|-----------------------------|-----------------------------|
|                  |                     | ARI                         | NMI                         | FMI                         | Purity                      | ARI                         | NMI                         | FMI                         | Purity                      | ARI                         | NMI                         | FMI                         | Purity                      |
| Single Linkage   | Mean/Mode           | 0.2317                      | 0.4237                      | 0.5260                      | 0.4020                      | 0.0000                      | 0.0079                      | 0.4448                      | 0.2040                      | 0.2089                      | 0.4719                      | 0.5399                      | 0.4013                      |
|                  | KNN                 | 0.3738                      | 0.5870                      | 0.6180                      | 0.4027                      | 0.3738                      | 0.5870                      | 0.6180                      | 0.4027                      | 0.2095                      | 0.4727                      | 0.5405                      | 0.4013                      |
|                  | MICE KNN            | 0.3738                      | 0.5870                      | 0.6180                      | 0.4027                      | 0.3734                      | 0.5864                      | 0.6175                      | 0.4033                      | 0.2089                      | 0.4718                      | 0.5396                      | 0.4020                      |
|                  | MICE Random Forest  | 0.3734                      | 0.3734                      | 0.6175                      | 0.4033                      | 0.3738                      | 0.5870                      | 0.6180                      | 0.4027                      | 0.2089                      | 0.4718                      | 0.5396                      | 0.4020                      |
|                  | MICE Bayesian Ridge | 0.0000                      | 0.0079                      | 0.4448                      | 0.2040                      | 0.0000                      | 0.0079                      | 0.4448                      | 0.2040                      | 0.4814                      | 0.7396                      | 0.6723                      | 0.6013                      |
| Complete Linkage | Mean/Mode           | 0.4570                      | 0.6167                      | 0.5691                      | 0.6087                      | 0.4720                      | 0.6005                      | 0.6277                      | 0.5567                      | 0.3714                      | 0.6134                      | 0.5521                      | 0.5973                      |
|                  | KNN                 | 0.7411                      | 0.8124                      | 0.7946                      | 0.8760                      | 0.5833                      | 0.7337                      | 0.6982                      | 0.6313                      | 0.3801                      | 0.6723                      | 0.5801                      | 0.6000                      |
|                  | MICE KNN            | 0.6538                      | 0.7535                      | 0.7285                      | 0.8200                      | 0.5843                      | 0.7353                      | 0.7004                      | 0.626                       | 0.3571                      | 0.6458                      | 0.5659                      | 0.5907                      |
|                  | MICE Random Forest  | 0.6212                      | 0.7358                      | 0.7067                      | 0.7840                      | 0.6336                      | 0.7597                      | 0.7181                      | 0.7373                      | 0.3680                      | 0.6691                      | 0.5700                      | 0.5993                      |
|                  | MICE Bayesian Ridge | 0.3768                      | 0.5401                      | 0.5452                      | 0.5467                      | 0.1936                      | 0.3798                      | 0.4686                      | 0.4473                      | <b>0.7178<sup>(2)</sup></b> | 0.8497                      | <b>0.7901<sup>(2)</sup></b> | 0.7933                      |
| Ward Linkage     | Mean/Mode           | 0.6582                      | 0.7544                      | 0.7299                      | 0.7820                      | 0.6938                      | 0.7786                      | 0.7629                      | 0.7873                      | 0.5627                      | 0.7618                      | 0.6792                      | 0.7380                      |
|                  | KNN                 | <b>0.9802<sup>(2)</sup></b> | <b>0.9729<sup>(3)</sup></b> | <b>0.9841<sup>(3)</sup></b> | <b>0.9920<sup>(2)</sup></b> | <b>0.9867<sup>(2)</sup></b> | <b>0.9817<sup>(2)</sup></b> | <b>0.9894<sup>(2)</sup></b> | <b>0.9947<sup>(2)</sup></b> | <b>0.9301<sup>(1)</sup></b> | <b>0.9396<sup>(1)</sup></b> | <b>0.9441<sup>(1)</sup></b> | <b>0.9700<sup>(1)</sup></b> |
|                  | MICE KNN            | <b>0.9802<sup>(2)</sup></b> | <b>0.9740<sup>(2)</sup></b> | <b>0.9842<sup>(2)</sup></b> | <b>0.9920<sup>(2)</sup></b> | <b>0.9901<sup>(1)</sup></b> | <b>0.9867<sup>(1)</sup></b> | <b>0.9921<sup>(1)</sup></b> | <b>0.9960<sup>(1)</sup></b> | <b>0.9301<sup>(1)</sup></b> | <b>0.9396<sup>(1)</sup></b> | <b>0.9441<sup>(1)</sup></b> | <b>0.9700<sup>(1)</sup></b> |
|                  | MICE Random Forest  | <b>0.9851<sup>(1)</sup></b> | <b>0.9797<sup>(1)</sup></b> | <b>0.9881<sup>(1)</sup></b> | <b>0.9940<sup>(1)</sup></b> | <b>0.9852<sup>(3)</sup></b> | <b>0.9807<sup>(3)</sup></b> | <b>0.9881<sup>(3)</sup></b> | <b>0.9940<sup>(3)</sup></b> | 0.7144                      | <b>0.8530<sup>(2)</sup></b> | 0.7866                      | <b>0.7960<sup>(2)</sup></b> |
|                  | MICE Bayesian Ridge | 0.6010                      | 0.7130                      | 0.6862                      | 0.7387                      | 0.4354                      | 0.5633                      | 0.5775                      | 0.5580                      | 0.5754                      | 0.7623                      | 0.6873                      | 0.7433                      |

Note: Bold values indicating the top three values in each metric (or each column) with a superscript number in each bracket denoting the ranking.

**Table 6** Performance of Hierarchical Clustering on DS2 with three levels missing data imputed by five methods

| HC               | Imputation Methods  | DS2 with 20% missing        |                             |                             |                             | DS2 with 30% missing        |                             |                             |                             | DS2 with 40% missing        |                             |                             |                             |
|------------------|---------------------|-----------------------------|-----------------------------|-----------------------------|-----------------------------|-----------------------------|-----------------------------|-----------------------------|-----------------------------|-----------------------------|-----------------------------|-----------------------------|-----------------------------|
|                  |                     | ARI                         | NMI                         | FMI                         | Purity                      | ARI                         | NMI                         | FMI                         | Purity                      | ARI                         | NMI                         | FMI                         | Purity                      |
| Single Linkage   | Mean/Mode           | 0.389                       | 0.6474                      | 0.4958                      | 0.5407                      | 0.2273                      | 0.5565                      | 0.3944                      | 0.45                        | 0.1204                      | 0.456                       | 0.3554                      | 0.378                       |
|                  | KNN                 | 0.7333                      | 0.8965                      | 0.787                       | 0.7007                      | 0.7338                      | 0.8977                      | 0.7874                      | 0.7013                      | 0.734                       | 0.8983                      | 0.7877                      | 0.7007                      |
|                  | MICE KNN            | 0.7326                      | 0.8947                      | 0.7863                      | 0.7007                      | 0.7317                      | 0.8949                      | 0.7856                      | 0.7856                      | 0.8063                      | 0.9293                      | 0.8403                      | 0.8                         |
|                  | MICE Random Forest  | 0.7326                      | 0.8958                      | 0.7863                      | 0.7007                      | 0.7331                      | 0.896                       | 0.7866                      | 0.7013                      | 0.797                       | 0.9203                      | 0.8321                      | 0.7967                      |
|                  | MICE Bayesian Ridge | 0.4643                      | 0.7665                      | 0.5748                      | 0.6107                      | 0.3816                      | 0.6886                      | 0.4919                      | 0.576                       | 0.117                       | 0.4482                      | 0.3523                      | 0.3587                      |
| Complete Linkage | Mean/Mode           | 0.4969                      | 0.6891                      | 0.5525                      | 0.6513                      | 0.3067                      | 0.5550                      | 0.4046                      | 0.5173                      | 0.2286                      | 0.5162                      | 0.3862                      | 0.4213                      |
|                  | KNN                 | 0.9661                      | 0.9754                      | 0.9695                      | 0.9840                      | <b>0.9956<sup>(1)</sup></b> | <b>0.9948<sup>(1)</sup></b> | <b>0.9960<sup>(1)</sup></b> | <b>0.9980<sup>(1)</sup></b> | 0.9882                      | 0.9881                      | 0.9894                      | 0.9947                      |
|                  | MICE KNN            | <b>0.9754<sup>(2)</sup></b> | <b>0.9790<sup>(2)</sup></b> | <b>0.9778<sup>(2)</sup></b> | <b>0.9887<sup>(2)</sup></b> | 0.9475                      | 0.9691                      | 0.9528                      | 0.9733                      | <b>0.9926<sup>(2)</sup></b> | <b>0.9917<sup>(2)</sup></b> | <b>0.9933<sup>(2)</sup></b> | <b>0.9967<sup>(2)</sup></b> |
|                  | MICE Random Forest  | 0.8863                      | 0.9469                      | 0.8991                      | 0.9227                      | 0.9770                      | 0.9791                      | 0.9792                      | 0.9893                      | 0.9839                      | 0.9841                      | 0.9855                      | 0.9927                      |
|                  | MICE Bayesian Ridge | 0.5427                      | 0.7296                      | 0.5926                      | 0.6853                      | 0.4697                      | 0.6664                      | 0.5296                      | 0.5873                      | 0.3483                      | 0.5907                      | 0.4622                      | 0.4973                      |
| Ward Linkage     | Mean/Mode           | 0.5129                      | 0.6990                      | 0.5668                      | 0.7000                      | 0.4034                      | 0.6285                      | 0.4780                      | 0.6093                      | 0.4845                      | 0.6758                      | 0.5507                      | 0.6387                      |
|                  | KNN                 | <b>0.9867<sup>(1)</sup></b> | <b>0.9861<sup>(1)</sup></b> | <b>0.9880<sup>(1)</sup></b> | <b>0.9940<sup>(1)</sup></b> | <b>0.9882<sup>(2)</sup></b> | <b>0.9881<sup>(2)</sup></b> | <b>0.9894<sup>(2)</sup></b> | <b>0.9947<sup>(2)</sup></b> | <b>0.9941<sup>(1)</sup></b> | <b>0.9934<sup>(1)</sup></b> | <b>0.9947<sup>(1)</sup></b> | <b>0.9973<sup>(1)</sup></b> |
|                  | MICE KNN            | <b>0.9753<sup>(3)</sup></b> | <b>0.9789<sup>(3)</sup></b> | <b>0.9778<sup>(2)</sup></b> | <b>0.9887<sup>(2)</sup></b> | <b>0.9882<sup>(2)</sup></b> | <b>0.9877<sup>(3)</sup></b> | <b>0.9894<sup>(2)</sup></b> | <b>0.9947<sup>(2)</sup></b> | <b>0.9911<sup>(3)</sup></b> | <b>0.9904<sup>(3)</sup></b> | <b>0.9920<sup>(3)</sup></b> | <b>0.9960<sup>(3)</sup></b> |
|                  | MICE Random Forest  | 0.9724                      | 0.9771                      | 0.9752                      | 0.9873                      | 0.9755                      | 0.9773                      | 0.9779                      | 0.9887                      | 0.9779                      | 0.9802                      | 0.9801                      | 0.9900                      |
|                  | MICE Bayesian Ridge | 0.5528                      | 0.7593                      | 0.6033                      | 0.7080                      | 0.5182                      | 0.7189                      | 0.5706                      | 0.6553                      | 0.6114                      | 0.7544                      | 0.6522                      | 0.7047                      |

Note: Bold values indicating the top three values in each metric (or each column) with a superscript number in each bracket denoting the ranking.

**Table 7** Performance of Hierarchical Clustering on DS3 with three levels missing data imputed by five methods

| HC               | Imputation Methods  | DS3 with 20% missing        |                             |                             |                             | DS3 with 30% missing        |                             |                             |                             | DS3 with 40% missing        |                             |                             |                             |
|------------------|---------------------|-----------------------------|-----------------------------|-----------------------------|-----------------------------|-----------------------------|-----------------------------|-----------------------------|-----------------------------|-----------------------------|-----------------------------|-----------------------------|-----------------------------|
|                  |                     | ARI                         | NMI                         | FMI                         | Purity                      | ARI                         | NMI                         | FMI                         | Purity                      | ARI                         | NMI                         | FMI                         | Purity                      |
| Single Linkage   | Mean/Mode           | 0.4165                      | 0.5840                      | 0.5261                      | 0.7000                      | 0.3902                      | 0.5708                      | 0.5065                      | 0.7000                      | 0.3999                      | 0.5796                      | 0.5137                      | 0.7000                      |
|                  | KNN                 | 0.4087                      | 0.5675                      | 0.5175                      | 0.7000                      | 0.4032                      | 0.5632                      | 0.5136                      | 0.7000                      | 0.4055                      | 0.5669                      | 0.5153                      | 0.7000                      |
|                  | MICE KNN            | 0.4087                      | 0.5675                      | 0.5175                      | 0.7000                      | 0.4032                      | 0.5632                      | 0.5136                      | 0.7000                      | 0.4055                      | 0.5669                      | 0.5153                      | 0.7000                      |
|                  | MICE Random Forest  | 0.4087                      | 0.5675                      | 0.5175                      | 0.7000                      | 0.4032                      | 0.5632                      | 0.5136                      | 0.7000                      | 0.4055                      | 0.5669                      | 0.5153                      | 0.7000                      |
|                  | MICE Bayesian Ridge | 0.4087                      | 0.5675                      | 0.5175                      | 0.7000                      | 0.4032                      | 0.5632                      | 0.5136                      | 0.7000                      | 0.4055                      | 0.5669                      | 0.5153                      | 0.7000                      |
| Complete Linkage | Mean/Mode           | 0.2450                      | 0.3590                      | 0.5149                      | 0.5820                      | 0.1340                      | 0.2255                      | 0.4510                      | 0.5190                      | 0.2224                      | 0.3160                      | 0.4837                      | 0.5440                      |
|                  | KNN                 | 0.5039                      | 0.5701                      | 0.6499                      | 0.7790                      | 0.5095                      | 0.5797                      | 0.6518                      | 0.7860                      | 0.3989                      | 0.4663                      | 0.5768                      | 0.7290                      |
|                  | MICE KNN            | 0.5139                      | 0.5916                      | 0.6553                      | 0.7880                      | 0.4579                      | 0.4749                      | 0.6237                      | 0.7240                      | <b>0.4860<sup>(3)</sup></b> | <b>0.5420<sup>(3)</sup></b> | <b>0.6379<sup>(3)</sup></b> | <b>0.7690<sup>(3)</sup></b> |
|                  | MICE Random Forest  | 0.5322                      | 0.6175                      | 0.6689                      | 0.7950                      | 0.4129                      | 0.5125                      | 0.5905                      | 0.7220                      | <b>0.7630<sup>(1)</sup></b> | <b>0.8644<sup>(1)</sup></b> | <b>0.8012<sup>(1)</sup></b> | <b>0.8700<sup>(1)</sup></b> |
|                  | MICE Bayesian Ridge | 0.1158                      | 0.1956                      | 0.3954                      | 0.4960                      | 0.1388                      | 0.2420                      | 0.4315                      | 0.5100                      | 0.6419                      | 0.7654                      | 0.6979                      | 0.7800                      |
| Ward Linkage     | Mean/Mode           | 0.1670                      | 0.2313                      | 0.4823                      | 0.5870                      | 0.1869                      | 0.2359                      | 0.4860                      | 0.6060                      | 0.2194                      | 0.2545                      | 0.4986                      | 0.6300                      |
|                  | KNN                 | <b>0.6798<sup>(1)</sup></b> | <b>0.6898<sup>(2)</sup></b> | <b>0.7917<sup>(1)</sup></b> | <b>0.8740<sup>(1)</sup></b> | <b>0.6492<sup>(3)</sup></b> | <b>0.6484<sup>(2)</sup></b> | <b>0.7720<sup>(3)</sup></b> | <b>0.8630<sup>(2)</sup></b> | 0.4373                      | 0.5288                      | 0.6313                      | 0.7420                      |
|                  | MICE KNN            | <b>0.6717<sup>(3)</sup></b> | <b>0.6658<sup>(3)</sup></b> | <b>0.7869<sup>(3)</sup></b> | <b>0.8730<sup>(2)</sup></b> | <b>0.6497<sup>(2)</sup></b> | <b>0.6480<sup>(3)</sup></b> | <b>0.7723<sup>(2)</sup></b> | <b>0.8630<sup>(2)</sup></b> | 0.4345                      | 0.5248                      | 0.6295                      | 0.7410                      |
|                  | MICE Random Forest  | <b>0.6792<sup>(2)</sup></b> | <b>0.6909<sup>(1)</sup></b> | <b>0.7913<sup>(2)</sup></b> | <b>0.8740<sup>(1)</sup></b> | <b>0.6794<sup>(1)</sup></b> | <b>0.6819<sup>(1)</sup></b> | <b>0.7913<sup>(1)</sup></b> | <b>0.8750<sup>(1)</sup></b> | <b>0.6685<sup>(2)</sup></b> | <b>0.6707<sup>(2)</sup></b> | <b>0.7844<sup>(2)</sup></b> | <b>0.8700<sup>(1)</sup></b> |
|                  | MICE Bayesian Ridge | 0.1322                      | 0.1893                      | 0.4526                      | 0.5810                      | 0.0441                      | 0.0470                      | 0.3890                      | 0.5220                      | 0.0426                      | 0.0473                      | 0.3894                      | 0.5200                      |

Note: Bold values indicating the top three values in each metric (or each column) with a superscript number in each bracket denoting the ranking.

### การจัดกลุ่มด้วย DBSCAN Clustering

Tables 8-10 แสดงผลการทดลองบนชุดข้อมูล DS1 DS2 และ DS3 ตามลำดับ ซึ่งเป็นการเปรียบเทียบค่าประสิทธิภาพ 4 ค่า คือ ARI NMI FMI และ Purity ซึ่งเป็นตัววัดประสิทธิภาพการจัดกลุ่มบนชุดข้อมูล DS1 DS2 และ DS3 หลังจากการเติมข้อมูลสูญหาย 5 วิธี ดังกล่าวข้างต้น โดยวิธีการจัดกลุ่ม คือ วิธี DBSCAN Clustering ซึ่งได้ทดลองตั้งค่า MinPts 3 ค่า คือ ค่า MinPts เท่ากับ 3 ค่า MinPts เท่ากับ 5 และ ค่า MinPts เท่ากับ 10 แต่ละค่าหาค่า Eps ที่เหมาะสมด้วย Elbow Method

จากผลการทดลองข้างต้นของชุดข้อมูล DS1 DS2 และ DS3 เมื่อพิจารณาค่าประสิทธิภาพที่ดีสามอันดับแรกในแต่ละตัวชี้วัดที่ระดับข้อมูลสูญหายต่างกัน จะพบว่า แต่ละชุดข้อมูลจะมีค่า MinPts ได้เหมาะสมมากกว่า 1 ค่า

สำหรับชุดข้อมูล DS1 (Table 8) วิธีการเติมข้อมูลสูญหายที่ให้ประสิทธิภาพที่ดีติดสามอันดับต้นในตัวชี้วัดส่วนใหญ่ในการทดลองทั้ง 3 ระดับข้อมูลสูญหาย คือ วิธี MICE KNN และรองลงมา คือ วิธี MICE Random Forest เมื่อ DBSCAN Clustering กำหนด MinPts เท่ากับ 3 หรือ 5

ส่วนผลการจัดกลุ่มในชุดข้อมูล DS2 (Table 9) วิธีการเติมข้อมูลสูญหายที่ให้ประสิทธิภาพที่ดีติดสามอันดับต้นได้แก่ วิธี KNN วิธี MICE KNN และ วิธี MICE Random Forest

พบได้กระจายในการทดลองกำหนดค่า MinPts ทั้ง 3 ค่า ต่อมาหากเลือกวิธีการเติมข้อมูลเพียงวิธีเดียวที่ให้ประสิทธิภาพที่ดีในทั้ง 3 ระดับข้อมูลสูญหาย เมื่อกำหนดค่า MinPts เป็น 3 ค่านี้ปรากฏว่า วิธี MICE Random Forest จะให้ผลค่าประสิทธิภาพที่ดีในทุกตัวชี้วัด ในช่วงค่า 0.80-0.98

ในการทดลองจัดกลุ่มด้วย DBSCAN Clustering ในทั้ง 3 ระดับข้อมูลสูญหายบนชุดข้อมูลจริง DS3 (Table 10) ปรากฏว่า ที่การกำหนดค่า MinPts เท่ากับ 5 วิธีการเติมข้อมูลสูญหายที่ให้ประสิทธิภาพที่ดีติดสามอันดับต้นในทุกตัวชี้วัดได้แก่ วิธี KNN วิธี MICE KNN และ วิธี MICE Random Forest

ประสิทธิภาพการเติมข้อมูลสูญหายในชุดข้อมูล DS1 DS2 และ DS3

จะเห็นได้ว่า วิธีการจัดกลุ่มพร้อมทั้งพารามิเตอร์และวิธีการเติมค่าสูญหายมีผลต่อประสิทธิภาพการจัดกลุ่ม Figures 4-6 แสดงการเปรียบเทียบวิธีการเติมค่าสูญหายบนชุดข้อมูล DS1 DS2 และ DS3 ตามลำดับ ทั้ง 3 ระดับข้อมูลสูญหาย โดยเลือกผลการจัดกลุ่มที่ดีที่สุดมาเปรียบเทียบกัน จากผลการเปรียบเทียบ พบว่า Hierarchical Clustering ให้ผลค่าตัวชี้วัดประสิทธิภาพที่ดีกว่าวิธี DBSCAN Clustering ในชุดข้อมูล DS1 และ DS 2 (Figure 4-5) โดยส่วนใหญ่จะเป็นผลการเติมค่าสูญหายด้วยวิธี KNN และวิธี MICE KNN รองลงมาคือวิธี MICE Random Forest แต่สำหรับชุดข้อมูล DS3

ซึ่งเป็นข้อมูลจริง (Figure 6) พบว่า DBSCAN Clustering ให้ผลค่าตัวชี้วัดประสิทธิภาพที่ดีกว่าวิธี Hierarchical Clustering โดยจะเป็นผลการเติมค่าสูญหายด้วยวิธี KNN วิธี MICE KNN และวิธี MICE Random Forest ที่ให้ค่าประสิทธิภาพดีใกล้เคียงกัน

จากผลการทดลองข้างต้นโดยรวมพบว่า การเติมข้อมูลสูญหายด้วยวิธีการที่มีพื้นฐานมาจากแมชชีนเลิร์นนิง จะได้ประสิทธิภาพที่ดีกว่าวิธีพื้นฐานอย่างการเติมด้วยค่ากลาง นอกจากนี้จะเห็นได้ว่า วิธีการเติมข้อมูลสูญหายวิธีหนึ่ง หากใช้เติมข้อมูลสูญหายที่ชุดข้อมูลแตกต่างกัน แม้จะใช้วิธีการจัดกลุ่มแบบเดียวกัน จะได้ประสิทธิภาพการจัดกลุ่มที่ต่างหาก เมื่อดูที่ค่าตัววัดเดียวกัน หากมองในอีกมุม ชุดข้อมูล

เดียวกันที่มีอัตราการสูญหายเท่ากัน หากใช้วิธีการเติมข้อมูลสูญหายแตกต่างกัน แม้จะใช้วิธีการจัดกลุ่มและพารามิเตอร์เหมือนกัน ประสิทธิภาพในการจัดกลุ่มมีความแตกต่างกันในค่าตัววัดเดียวกันเช่นกัน

ดังนั้น ปัจจัยที่เกี่ยวข้องกับประสิทธิภาพการจัดกลุ่ม ได้แก่ ชุดข้อมูล วิธีการเติมข้อมูลสูญหาย อัตราการสูญหายของข้อมูล อัลกอริทึมการจัดกลุ่มและการกำหนดพารามิเตอร์ ซึ่งการจัดการข้อมูลสูญหายอย่างมีประสิทธิภาพสำหรับการจัดกลุ่ม หากเข้าใจการกระจายของตัวข้อมูลรวมถึงอัตราการสูญหาย จะทำให้มีผลดีเกี่ยวข้องกับการเลือกใช้วิธีการและพารามิเตอร์ที่เหมาะสมได้

**Table 8** Performance of DBSCAN Clustering on DS1 with three levels missing data imputed by five methods

| DB<br>SCAN  | Imputation Methods  | DS1 with 20% missing        |                             |                             |                             | DS1 with 30% missing        |                             |                             |                             | DS1 with 40% missing        |                             |                             |                             |
|-------------|---------------------|-----------------------------|-----------------------------|-----------------------------|-----------------------------|-----------------------------|-----------------------------|-----------------------------|-----------------------------|-----------------------------|-----------------------------|-----------------------------|-----------------------------|
|             |                     | ARI                         | NMI                         | FMI                         | Purity                      | ARI                         | NMI                         | FMI                         | Purity                      | ARI                         | NMI                         | FMI                         | Purity                      |
| MinPts = 3  | Mean/Mode           | 0.2197                      | 0.4024                      | 0.5092                      | 0.4100                      | 0.2073                      | 0.4047                      | 0.5145                      | 0.4067                      | 0.4605                      | 0.6759                      | 0.6353                      | 0.6233                      |
|             | KNN                 | 0.3651                      | 0.5544                      | 0.6012                      | 0.4087                      | 0.7450                      | 0.8374                      | 0.8110                      | 0.7907                      | 0.4770                      | 0.7265                      | 0.6670                      | 0.5993                      |
|             | MICE KNN            | <b>0.5919<sup>(3)</sup></b> | 0.7343                      | <b>0.7190<sup>(3)</sup></b> | <b>0.6040<sup>(1)</sup></b> | <b>0.9451<sup>(1)</sup></b> | <b>0.9226<sup>(1)</sup></b> | <b>0.9561<sup>(1)</sup></b> | <b>0.9780<sup>(1)</sup></b> | <b>0.7386<sup>(2)</sup></b> | <b>0.8315<sup>(2)</sup></b> | <b>0.8015<sup>(2)</sup></b> | <b>0.8073<sup>(1)</sup></b> |
|             | MICE Random Forest  | 0.5915                      | <b>0.7353<sup>(3)</sup></b> | 0.7188                      | <b>0.6040<sup>(1)</sup></b> | <b>0.8510<sup>(2)</sup></b> | <b>0.8584<sup>(2)</sup></b> | <b>0.8815<sup>(2)</sup></b> | <b>0.9740<sup>(2)</sup></b> | 0.7248                      | 0.8037                      | <b>0.7936<sup>(3)</sup></b> | 0.7880                      |
|             | MICE Bayesian Ridge | 0.0001                      | 0.0195                      | 0.4392                      | 0.2113                      | 0.0001                      | 0.0161                      | 0.4396                      | 0.2107                      | 0.4605                      | 0.7045                      | 0.6492                      | 0.6080                      |
| MinPts = 5  | Mean/Mode           | 0.2574                      | 0.5103                      | 0.5332                      | 0.4880                      | 0.2271                      | 0.4825                      | 0.5227                      | 0.4580                      | 0.7158                      | 0.7960                      | 0.7814                      | 0.7893                      |
|             | KNN                 | 0.3687                      | 0.5615                      | 0.6076                      | 0.4007                      | 0.3694                      | 0.5639                      | 0.6099                      | 0.3993                      | 0.4785                      | 0.7258                      | 0.6681                      | 0.5980                      |
|             | MICE KNN            | <b>0.5986<sup>(1)</sup></b> | <b>0.7513<sup>(1)</sup></b> | <b>0.7271<sup>(1)</sup></b> | 0.5960                      | <b>0.7503<sup>(3)</sup></b> | <b>0.8442<sup>(3)</sup></b> | <b>0.8154<sup>(3)</sup></b> | <b>0.7840<sup>(3)</sup></b> | <b>0.7268<sup>(3)</sup></b> | <b>0.8201<sup>(3)</sup></b> | 0.7912                      | <b>0.7940<sup>(2)</sup></b> |
|             | MICE Random Forest  | <b>0.5973<sup>(2)</sup></b> | <b>0.7462<sup>(2)</sup></b> | <b>0.7252<sup>(2)</sup></b> | <b>0.5967<sup>(3)</sup></b> | 0.6019                      | 0.7279                      | 0.7044                      | 0.7100                      | 0.7208                      | 0.7982                      | 0.7883                      | 0.7787                      |
|             | MICE Bayesian Ridge | 0.0001                      | 0.0134                      | 0.4393                      | 0.2087                      | 0.0000                      | 0.0027                      | 0.4437                      | 0.2027                      | 0.4604                      | 0.7025                      | 0.6492                      | 0.6073                      |
| MinPts = 10 | Mean/Mode           | 0.0000                      | 0.0013                      | 0.4463                      | 0.2007                      | 0.2271                      | 0.4825                      | 0.5227                      | 0.4580                      | 0.2087                      | 0.4636                      | 0.5332                      | 0.4080                      |
|             | KNN                 | 0.3703                      | 0.5670                      | 0.6113                      | 0.3993                      | 0.3713                      | 0.5711                      | 0.6130                      | 0.4007                      | <b>0.7645<sup>(1)</sup></b> | <b>0.8682<sup>(1)</sup></b> | <b>0.8279<sup>(1)</sup></b> | <b>0.7920<sup>(3)</sup></b> |
|             | MICE KNN            | 0.3712                      | 0.5695                      | 0.6123                      | 0.4007                      | 0.3707                      | 0.5724                      | 0.6127                      | 0.4007                      | 0.4642                      | 0.6916                      | 0.6520                      | 0.6007                      |
|             | MICE Random Forest  | 0.3715                      | 0.5736                      | 0.6137                      | 0.4013                      | 0.3690                      | 0.5561                      | 0.6052                      | 0.4100                      | 0.2133                      | 0.4769                      | 0.5310                      | 0.4267                      |
|             | MICE Bayesian Ridge | 0.0000                      | 0.0036                      | 0.4393                      | 0.2053                      | 0.0047                      | 0.0682                      | 0.4219                      | 0.2473                      | 0.2070                      | 0.4340                      | 0.5278                      | 0.4093                      |

Note: Bold values indicating the top three values in each metric (or each column) with a superscript number in each bracket denoting the ranking.

**Table 9** Performance of DBSCAN Clustering on DS2 with three levels missing data imputed by five methods

| DB<br>SCAN  | Imputation Methods  | DS2 with 20% missing        |                             |                             |                             | DS2 with 30% missing        |                             |                             |                             | DS2 with 40% missing        |                             |                             |                             |
|-------------|---------------------|-----------------------------|-----------------------------|-----------------------------|-----------------------------|-----------------------------|-----------------------------|-----------------------------|-----------------------------|-----------------------------|-----------------------------|-----------------------------|-----------------------------|
|             |                     | ARI                         | NMI                         | FMI                         | Purity                      | ARI                         | NMI                         | FMI                         | Purity                      | ARI                         | NMI                         | FMI                         | Purity                      |
| MinPts = 3  | Mean/Mode           | 0.5022                      | 0.7268                      | 0.5676                      | 0.7120                      | 0.3934                      | 0.6793                      | 0.5019                      | 0.6327                      | 0.6947                      | 0.5921                      | 0.4334                      | 0.4307                      |
|             | KNN                 | 0.8031                      | <b>0.9221<sup>(3)</sup></b> | 0.8367                      | 0.7947                      | 0.8004                      | 0.9170                      | 0.8335                      | 0.7933                      | 0.8889                      | 0.9544                      | 0.9040                      | 0.8940                      |
|             | MICE KNN            | 0.8036                      | <b>0.9246<sup>(2)</sup></b> | 0.8374                      | 0.7960                      | 0.8796                      | <b>0.9417<sup>(2)</sup></b> | 0.8951                      | 0.8873                      | 0.9417                      | <b>0.9568<sup>(2)</sup></b> | 0.9484                      | <b>0.9893<sup>(1)</sup></b> |
|             | MICE Random Forest  | 0.8002                      | 0.9175                      | 0.8314                      | 0.8107                      | 0.8667                      | 0.9313                      | 0.8831                      | 0.8873                      | <b>0.9470</b>               | 0.9513                      | <b>0.9525<sup>(3)</sup></b> | <b>0.9820<sup>(2)</sup></b> |
|             | MICE Bayesian Ridge | 0.5216                      | 0.7285                      | 0.5827                      | 0.7227                      | 0.4063                      | 0.7048                      | 0.5104                      | 0.6727                      | 0.3390                      | 0.6663                      | 0.4872                      | 0.5653                      |
| MinPts = 5  | Mean/Mode           | 0.2903                      | 0.6234                      | 0.4552                      | 0.5147                      | 0.5294                      | 0.7201                      | 0.5869                      | 0.6947                      | 0.3390                      | 0.6679                      | 0.6679                      | 0.5713                      |
|             | KNN                 | 0.5178                      | 0.8182                      | 0.6421                      | 0.6000                      | <b>0.9001<sup>(2)</sup></b> | 0.9110                      | <b>0.9108<sup>(2)</sup></b> | <b>0.9460<sup>(3)</sup></b> | <b>0.9644<sup>(1)</sup></b> | <b>0.9603<sup>(1)</sup></b> | <b>0.9681<sup>(1)</sup></b> | 0.9767                      |
|             | MICE KNN            | <b>0.8174<sup>(2)</sup></b> | 0.8847                      | 0.8370                      | <b>0.8540<sup>(3)</sup></b> | <b>0.8878<sup>(3)</sup></b> | 0.9102                      | <b>0.9005<sup>(3)</sup></b> | <b>0.9547<sup>(2)</sup></b> | 0.8597                      | 0.9013                      | 0.8771                      | 0.9620                      |
|             | MICE Random Forest  | <b>0.8107<sup>(3)</sup></b> | 0.9204                      | <b>0.8774<sup>(1)</sup></b> | <b>0.8967<sup>(1)</sup></b> | 0.8594                      | 0.9238                      | 0.8763                      | 0.8813                      | 0.8805                      | 0.9017                      | 0.8943                      | 0.9587                      |
|             | MICE Bayesian Ridge | 0.2182                      | 0.6194                      | 0.4471                      | 0.4567                      | 0.5444                      | 0.7407                      | 0.5992                      | 0.7253                      | 0.5506                      | 0.7627                      | 0.6062                      | 0.7380                      |
| MinPts = 10 | Mean/Mode           | 0.5313                      | 0.7393                      | 0.5968                      | 0.7167                      | 0.2768                      | 0.6133                      | 0.4303                      | 0.5453                      | 0.4682                      | 0.6938                      | 0.5483                      | 0.6307                      |
|             | KNN                 | <b>0.8581<sup>(1)</sup></b> | 0.9181                      | <b>0.8746<sup>(2)</sup></b> | <b>0.8733<sup>(2)</sup></b> | 0.8609                      | 0.9229                      | 0.8775                      | 0.8753                      | <b>0.9580<sup>(2)</sup></b> | <b>0.9550<sup>(3)</sup></b> | <b>0.9624<sup>(2)</sup></b> | 0.9733                      |
|             | MICE KNN            | 0.5182                      | 0.8194                      | 0.6426                      | 0.6000                      | <b>0.9636<sup>(1)</sup></b> | <b>0.9584<sup>(1)</sup></b> | <b>0.9674<sup>(1)</sup></b> | <b>0.9780<sup>(1)</sup></b> | 0.9287                      | 0.9444                      | 0.9370                      | <b>0.9807<sup>(3)</sup></b> |
|             | MICE Random Forest  | 0.8050                      | <b>0.9287<sup>(1)</sup></b> | <b>0.8392<sup>(3)</sup></b> | 0.7973                      | 0.8726                      | <b>0.9375<sup>(3)</sup></b> | 0.8890                      | 0.8873                      | 0.9459                      | 0.9479                      | 0.9515                      | 0.9767                      |
|             | MICE Bayesian Ridge | 0.5160                      | 0.7197                      | 0.5776                      | 0.7187                      | 0.2847                      | 0.6323                      | 0.4383                      | 0.5573                      | 0.5702                      | 0.7716                      | 0.6264                      | 0.7407                      |

Note: Bold values indicating the top three values in each metric (or each column) with a superscript number in each bracket denoting the ranking.

**Table 10** Performance of DBSCAN Clustering on DS3 with three levels missing data imputed by five methods

| DB<br>SCAN  | Imputation Methods  | DS3 with 20% missing        |                             |                             |                             | DS3 with 30% missing        |                             |                             |                             | DS3 with 40% missing        |                             |                             |                             |
|-------------|---------------------|-----------------------------|-----------------------------|-----------------------------|-----------------------------|-----------------------------|-----------------------------|-----------------------------|-----------------------------|-----------------------------|-----------------------------|-----------------------------|-----------------------------|
|             |                     | ARI                         | NMI                         | FMI                         | Purity                      | ARI                         | NMI                         | FMI                         | Purity                      | ARI                         | NMI                         | FMI                         | Purity                      |
| MinPts = 3  | Mean/Mode           | 0.6746                      | 0.8036                      | 0.7373                      | 0.7490                      | 0.1395                      | 0.5264                      | 0.2659                      | 0.2090                      | 0.1517                      | 0.5509                      | 0.2723                      | 0.2370                      |
|             | KNN                 | 0.8578                      | 0.8638                      | 0.8723                      | 0.8670                      | 0.2143                      | 0.6037                      | 0.3088                      | 0.2850                      | 0.2252                      | 0.6119                      | 0.3168                      | 0.2990                      |
|             | MICE KNN            | 0.8343                      | 0.8465                      | 0.8501                      | 0.8730                      | 0.2174                      | 0.6071                      | 0.3101                      | 0.2880                      | 0.2224                      | 0.6091                      | 0.3144                      | 0.2980                      |
|             | MICE Random Forest  | 0.8489                      | 0.8588                      | 0.8632                      | 0.8800                      | 0.2223                      | 0.6147                      | 0.3142                      | 0.2930                      | 0.2247                      | 0.6129                      | 0.3165                      | 0.2950                      |
|             | MICE Bayesian Ridge | 0.8724                      | 0.8585                      | 0.8846                      | 0.8760                      | 0.1854                      | 0.5781                      | 0.2868                      | 0.2600                      | 0.1926                      | 0.5817                      | 0.2932                      | 0.2690                      |
| MinPts = 5  | Mean/Mode           | 0.6955                      | 0.8120                      | 0.7522                      | 0.7600                      | 0.2185                      | 0.6056                      | 0.3076                      | 0.2960                      | 0.5758                      | 0.7273                      | 0.6630                      | 0.6610                      |
|             | KNN                 | <b>0.8820<sup>(3)</sup></b> | <b>0.8890<sup>(3)</sup></b> | <b>0.8940<sup>(3)</sup></b> | <b>0.8900<sup>(3)</sup></b> | <b>0.7962<sup>(2)</sup></b> | <b>0.8276<sup>(2)</sup></b> | <b>0.8190<sup>(2)</sup></b> | <b>0.8110<sup>(2)</sup></b> | <b>0.8124<sup>(2)</sup></b> | <b>0.8372<sup>(2)</sup></b> | <b>0.8328<sup>(2)</sup></b> | <b>0.8240<sup>(2)</sup></b> |
|             | MICE KNN            | 0.8707                      | 0.8772                      | 0.8840                      | 0.8830                      | <b>0.7867<sup>(3)</sup></b> | <b>0.8200<sup>(3)</sup></b> | <b>0.8111<sup>(3)</sup></b> | <b>0.8030<sup>(3)</sup></b> | <b>0.8098<sup>(3)</sup></b> | <b>0.8357<sup>(3)</sup></b> | <b>0.8306<sup>(3)</sup></b> | <b>0.8230<sup>(3)</sup></b> |
|             | MICE Random Forest  | <b>0.8843<sup>(1)</sup></b> | <b>0.8915<sup>(2)</sup></b> | <b>0.8960<sup>(1)</sup></b> | <b>0.8920<sup>(1)</sup></b> | <b>0.8051<sup>(1)</sup></b> | <b>0.8360<sup>(1)</sup></b> | <b>0.8263<sup>(1)</sup></b> | <b>0.8160<sup>(1)</sup></b> | <b>0.8165<sup>(1)</sup></b> | <b>0.8410<sup>(1)</sup></b> | <b>0.8363<sup>(1)</sup></b> | <b>0.8260<sup>(1)</sup></b> |
|             | MICE Bayesian Ridge | 0.8636                      | 0.8493                      | 0.8771                      | 0.8720                      | 0.6002                      | 0.7300                      | 0.6719                      | 0.6960                      | 0.5872                      | 0.7203                      | 0.6647                      | 0.6690                      |
| MinPts = 10 | Mean/Mode           | 0.6802                      | 0.8141                      | 0.7428                      | 0.7490                      | 0.5516                      | 0.7056                      | 0.6381                      | 0.6600                      | 0.0027                      | 0.0268                      | 0.3038                      | 0.1350                      |
|             | KNN                 | 0.8790                      | 0.8876                      | 0.8914                      | 0.8870                      | 0.7534                      | 0.7951                      | 0.7804                      | 0.7980                      | 0.6597                      | 0.7542                      | 0.7088                      | 0.7160                      |
|             | MICE KNN            | 0.8717                      | 0.8821                      | 0.8848                      | 0.8850                      | 0.7539                      | 0.7938                      | 0.7806                      | 0.7980                      | 0.5418                      | 0.6972                      | 0.6331                      | 0.6470                      |
|             | MICE Random Forest  | <b>0.8825<sup>(2)</sup></b> | <b>0.8920<sup>(1)</sup></b> | <b>0.8944<sup>(2)</sup></b> | <b>0.8910<sup>(2)</sup></b> | 0.5352                      | 0.6681                      | 0.6205                      | 0.6440                      | 0.7731                      | 0.8071                      | 0.7971                      | 0.8150                      |
|             | MICE Bayesian Ridge | 0.7121                      | 0.8173                      | 0.7573                      | 0.7910                      | 0.5913                      | 0.7113                      | 0.6577                      | 0.7010                      | 0.5595                      | 0.6840                      | 0.6374                      | 0.6580                      |

Note: Bold values indicating the top three values in each metric (or each column) with a superscript number in each bracket denoting the ranking.

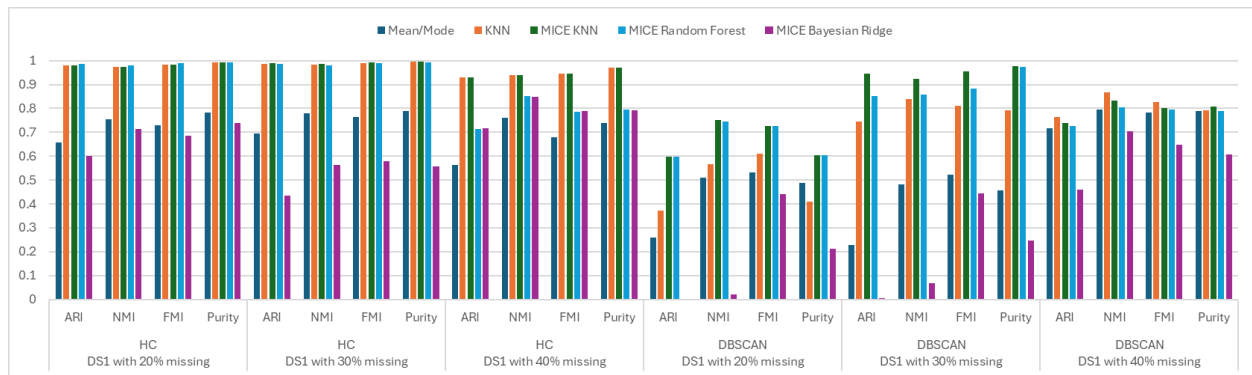


Figure 4 Comparison of DS1 best performance yielded by five imputation methods

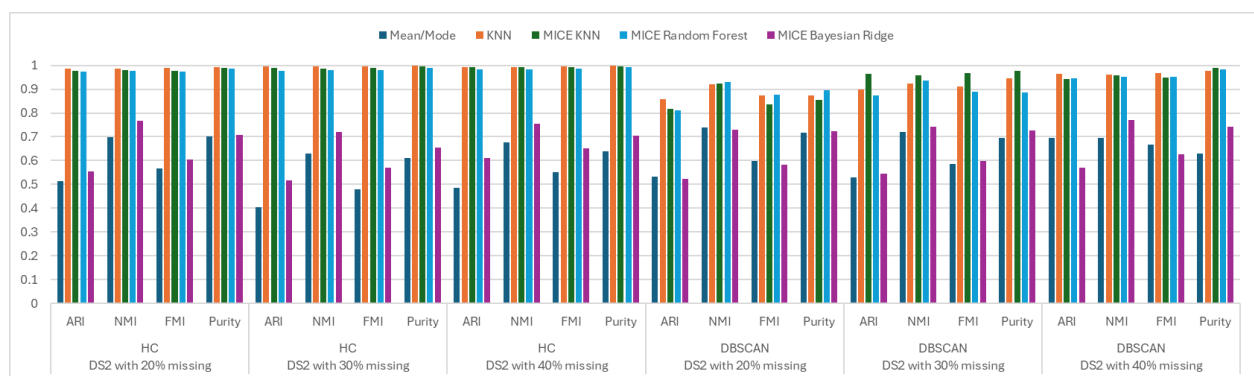


Figure 5 Comparison of DS2 best performance yielded by five imputation methods

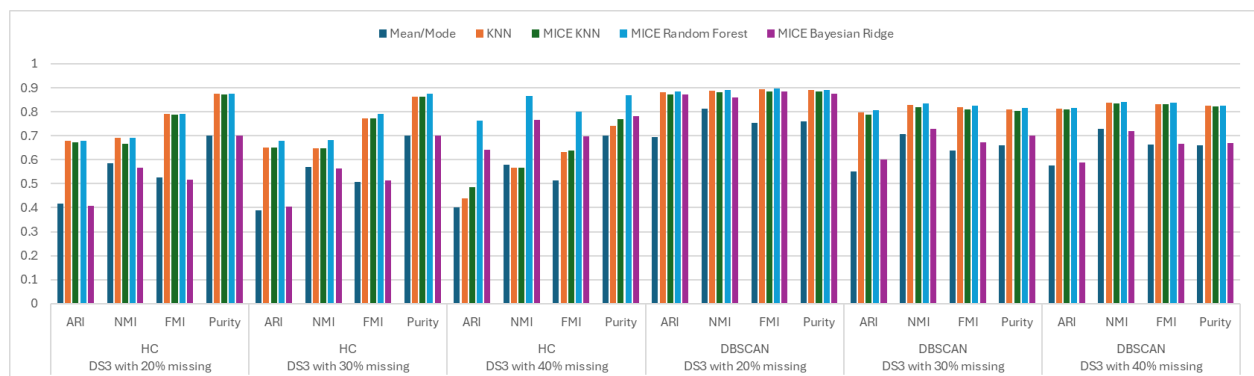


Figure 6 Comparison of DS3 best performance yielded by five imputation methods

### สรุปผลการทดลองและข้อเสนอแนะ

ในงานวิจัยนี้ศึกษาอิทธิพลของวิธีการประมาณค่าข้อมูลสูญหายที่มีต่อประสิทธิภาพการจัดกลุ่ม โดยใช้ข้อมูลจำลองและข้อมูลจริงที่เกี่ยวข้องกับลูกค้าธนาคาร โดยใช้วิธีจัดกลุ่ม Hierarchical Clustering และ DBSCAN Clustering จากการทดลองพบว่า เมื่อกำหนดค่าพารามิเตอร์ที่เหมาะสม วิธี KNN วิธี MICE KNN และวิธี MICE Random Forest ถือเป็นวิธีที่มีประสิทธิภาพในการจัดการข้อมูลที่สูญหายได้ดี ที่ให้ผลค่า ARI NMI FMI และ Purity สูงกว่าวิธีอื่น ๆ ในทุกชุดข้อมูล

ที่ทำการทดลอง แม้ว่าจะมีการสูญหายของข้อมูลมากถึง 40% ก็ตาม อย่างไรก็ตาม หากทำการทดสอบวิธีการจัดกลุ่มในรูปแบบอื่น เช่น K-Means หรือ Gaussian mixture models (GMM) เป็นต้น อาจช่วยให้ได้ผลลัพธ์ที่หลากหลายและเหมาะสมกับลักษณะของข้อมูลแบบอื่น นอกจากนี้ ประสิทธิภาพการใช้พื้นที่และเวลาในการทำนายเพื่อเติมค่าข้อมูลสูญหายเป็นปัจจัยที่สำคัญสำหรับแนวทางในการวิจัยในอนาคตที่จะเลือกวิธีการเติมค่าสูญหายที่เหมาะสมมากขึ้น

## เอกสารอ้างอิง

- กัลยา วานิชปัญษา. (2558). การวิเคราะห์สถิติขั้นสูงด้วย SPSS for Windows (พิมพ์ครั้งที่ 10). ศูนย์หนังสือจุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย.
- พัทธนา สุวรรณแสน. (2562). การจัดการข้อมูลสูญหาย: วิธีเคเนียร์เรสเนเบอร์. วารสารวิจัยวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยีมหาวิทยาลัยราชภัฏนครราชสีมา, 11(2), 45–57.
- ศรัทธา ศรีทองชัย. (2566). การเปรียบเทียบวิธีการประมาณค่าสูญหายในการพยากรณ์ความเข้มข้นของ PM2.5 ด้วยโครงข่ายประสาทเทียม LSTM. วารสารนวัตกรรมการเรียนรู้และเทคโนโลยี, 3(1), 59–67.
- อุมาพร ยกกำพล, อธิวัฒน์ รัตนเลิศสุรณ และอุไรวรรณ เจริญกิจติกุล. (2561). การเปรียบเทียบประสิทธิภาพของการจัดกลุ่มข้อมูลวิธีการแบบลำดับขั้นและวิธีการเคมีนสำหรับข้อมูลผสมเชิงหมวดหมู่กับเชิงตัวเลข. ใน การประชุมวิชาการสถิติประยุกต์และเทคโนโลยีสารสนเทศระดับชาติ ประจำปี 2561: Digital Transformation and Thailand 4.0 (น. 1–6). คณะสถิติประยุกต์ สถาบันบัณฑิตพัฒนบริหารศาสตร์.
- Batista, G. E. A. P. A., & Monard, M. C. (2003). *Experimental comparison of k-Nearest Neighbour and Mean or Mode Imputation Methods with the internal strategies used by C4.5 and CN2 to treat missing data*. University of São Paulo at São Carlos.
- Ester, M., Kriegel, H.-P., Sander, J., & Xu, X. (1996). A density-based algorithm for discovering clusters in large spatial databases with noise. In *Proceedings of the Second International Conference on Knowledge Discovery and Data Mining* (pp. 226–231). AAAI Press.
- Maryani, I., Riana, D., Astuti, R. D., Ishaq, A., Sutrisno, & Pratama, E. A. (2018). Customer segmentation based on RFM model and clustering techniques with K-Means algorithm. *2018 Third International Conference on Informatics and Computing (ICIC)*, 1–6.
- Mostafa, S. M., Eladimy, A. S., Hamad, S., & Amano, H. (2020). CBRG: A novel algorithm for handling missing data using Bayesian ridge regression and feature selection based on gain ratio. *IEEE Access*, 8, 216969–216985.
- Murti, D. M. P., Pujiyanto, U., Wibawa, A. P., & Akbar, M. I. (2019). K-Nearest Neighbor (k-NN) based missing data imputation. *2019 5th International Conference on Science in Information Technology (ICSITech)*, 83–88.
- Pan, R., Yang, T., & Cao, J. (2015). Missing data imputation by k nearest neighbours based on grey relational structure and mutual information. *Applied Intelligence*, 43(3), 614–632.
- Sanjar, K., Bekhzod, O., Kim, J., & Paul, A. (2020). Missing data imputation for geolocation-based price prediction using KNN–MCF method. *ISPRS International Journal of Geo-Information*, 9(6), Article 347.
- Shah, A. D., Bartlett, J. W., Carpenter, J., Nicholas, O., & Hemingway, H. (2014). Comparison of random forest and parametric imputation models for imputing missing data using MICE: A CALIBER study. *American Journal of Epidemiology*, 179(6), 764–774.
- Singal, A. (2023). *Bank term deposit predictions* [Data set]. Kaggle. <https://www.kaggle.com/datasets/thedevastator/bank-term-deposit-prediction>
- Van Buuren, S., & Groothuis-Oudshoorn, C. G. M. (2011). mice: Multivariate imputation by chained equations in R. *Journal of Statistical Software*, 45(3), 1–67.
- Wood, A. M., White, I. R., & Thompson, S. G. (2004). Are missing outcome data adequately handled? A review of published randomized controlled trials in major medical journals. *Clinical Trials*, 1(4), 368–376.
- Zhang, Z. (2016). Missing data imputation: Focusing on single imputation. *Annals of Translational Medicine*, 4(1), Article 19.

# อิทธิพลของปริมาณยางพาราและพลังงานบดอัด ต่อค่าการซึมผ่านของน้ำในดินและกำลังรับแรงอัดของดินเม็ดหยาบ

## Influence of rubber content and compaction energy on the permeability and compressive strength of coarse-grained soil

วงศ์กานต์ ธนบุรี<sup>1</sup>, นัฐวุฒิ เหมะธูลิน<sup>2\*</sup>, พัฒนศักดิ์ ชัยพรรณา<sup>2</sup> และ จิรวัฒน์ ศุภโกศล<sup>2</sup>

Wongsakan Thonburee<sup>1</sup>, Nuttawut Hemathulin<sup>2\*</sup>, Pattanasak Chaipanna<sup>2</sup> and Jirawat Supakosol<sup>2</sup>

Received: 12 September 2024 ; Revised: 16 October 2024 ; Accepted: 19 November 2024

### บทคัดย่อ

งานวิจัยนี้เป็นการศึกษาและปรับปรุงคุณสมบัติดินเม็ดหยาบด้วยการผสมน้ำยางพารารักษาสภาพ เพื่อลดการซึมของน้ำและกำลังรับแรงอัดในดินเม็ดหยาบ เนื่องจากบ่อขุดในพื้นที่ที่เป็นดินเม็ดหยาบมีการรั่วซึมของน้ำสูง โดยการศึกษานี้จะใช้อัตราส่วนผสมเนื้อยางพาราที่ 0%, 1%, 2% และ 3% โดยน้ำหนักดินแห้ง ทำการบดอัดแบบมาตรฐานด้วยพลังงาน 25%, 50%, 75%, และ 100% ในแต่ละอัตราส่วน บ่มตัวอย่างในอากาศที่อายุ 3 วัน จากนั้นนำตัวอย่างไปทดสอบหาค่าการซึมผ่านด้วยแรงดัน โดยใช้หลักเกณฑ์การประเมินค่าการซึมผ่าน ( $k_{20}$ ) เท่ากับ 0.5 cm/hr และทดสอบค่ากำลังรับแรงอัด ผลที่ได้พบว่าในดินที่ไม่มีการปรับปรุงด้วยน้ำยางพารารักษาสภาพมีค่าการซึมผ่านลดลงตามพลังงานบดอัดที่เพิ่มขึ้น ส่วนในดินที่มีการปรับปรุงด้วยน้ำยางพารารักษาสภาพเมื่อเปรียบเทียบในพลังงานบดอัดเดียวกันพบว่า ค่าการซึมผ่านมีแนวโน้มลดลงตามปริมาณเนื้อยางพาราที่เพิ่มขึ้น การทำนายหาปริมาณเนื้อยางพาราที่ใช้ในการปรับปรุงคุณสมบัติดินที่ผ่านหลักเกณฑ์การประเมิน ผลที่ได้คือ ที่พลังงานบดอัด 25%, 50%, 75%, และ 100% จะต้องใช้ปริมาณเนื้อยางพาราไม่น้อยกว่า 2.85%, 2.57%, 2.39% และ 2.15% ตามลำดับ และตัวอย่างที่ปรับปรุงด้วยน้ำยางพารารักษาสภาพ 1.0% ที่พลังงานบดอัด 100% มีค่ากำลังรับแรงอัดมีค่าสูงที่สุดเท่ากับ 1.51 ksc ผลที่ได้สามารถประยุกต์ใช้โดยการทำเป็นวัสดุคาดกันบ่อและผนังบ่อจะเป็นการเพิ่มประสิทธิภาพการกักเก็บน้ำให้แก่เกษตรกรในพื้นที่นอกเขตชลประทานที่เป็นดินเม็ดหยาบ

**คำสำคัญ:** ยางพารา, ดินเม็ดหยาบ, การบดอัดแบบมาตรฐาน, ค่าการซึมผ่าน

### Abstract

This research focuses on studying and improving the properties of coarse-grained soil by mixing it with Preservative natural rubber latex to reduce water seepage in coarse-grained soils. Excavated ponds in areas with coarse-grained soil experience high water leakage, preventing them from retaining water for use during the dry season. Rubber latex content was used at ratios of 0%, 1%, 2%, and 3% by weight of dry soil. The samples were compacted using standard compaction energies of 25%, 50%, 75%, and 100% for each ratio, then cured in open air for 3 days. The samples were subsequently tested for permeability coefficient under pressure, using a criterion of a permeability coefficient ( $k_{20}$ ) equal to 0.5 cm/hr, and for compressive strength. The results showed that, in soil without rubber latex improvement, the permeability coefficient decreased as compaction energy increased. In soils improved with rubber latex, the permeability coefficient decreased at the same compaction energy as the rubber latex content increased.

<sup>1</sup> นักศึกษาปริญญาโท, สาขาวิศวกรรมโยธา มหาวิทยาลัยเทคโนโลยีราชมงคลอีสาน วิทยาเขตสกลนคร

<sup>2</sup> อาจารย์, สาขาวิศวกรรมโยธา มหาวิทยาลัยเทคโนโลยีราชมงคลอีสาน วิทยาเขตสกลนคร

<sup>1</sup> Master Student, Department of Civil Engineering, Rajamangala University of Technology Isan Sakhon Nakhon Campus

<sup>2</sup> Lecturer, Department of Civil Engineering, Rajamangala University of Technology Isan Sakhon Nakhon Campus

\* Corresponding author, Email: nattawut.he@rmuti.ac.th

The prediction for the amount of rubber latex required to improve soil properties to meet the evaluation criteria indicated that compaction energies of 25%, 50%, 75%, and 100% needed at least 2.85%, 2.57%, 2.39%, and 2.15% rubber latex content, respectively. The sample improved with 1% rubber latex at 100% compaction energy had the highest compressive strength value of 1.51 ksc. These findings can be applied by using the improved soil as lining material for the bottoms and walls of ponds, which will enhance water retention efficiency for farmers in coarse-grained soil areas outside irrigation zones.

**Keywords:** Natural rubber, coarse-grained soil, standard compaction, coefficient of permeability

## บทนำ

ปัจจุบันปัญหากักเก็บน้ำและการขาดแคลนน้ำส่งผลกระทบต่อเป็นวงกว้างในหลายพื้นที่ และมีแนวโน้มความรุนแรงเพิ่มมากขึ้นจากหลายปัจจัย เช่น การเพิ่มขึ้นของจำนวนประชากร การเปลี่ยนแปลงสภาพภูมิอากาศ และการจัดการทรัพยากรน้ำที่ไม่มีประสิทธิภาพ ไม่ว่าจะเป็น อ่างเก็บน้ำ ฝายตามธรรมชาติ และสระน้ำที่มีอยู่ ยังไม่สามารถกักเก็บน้ำไว้ใช้ได้เพียงพอต่อความต้องการในการอุปโภคบริโภค โดยเฉพาะภาคการเกษตร ซึ่งในไทยมีพื้นที่ทำการเกษตรประมาณ 149.25 ล้านไร่ โดยพื้นที่การเกษตรดังกล่าวเป็นพื้นที่ที่มีระบบชลประทานประมาณ 32.79 ล้านไร่ หรือร้อยละ 21.97 ของพื้นที่ทำการเกษตร ส่วนพื้นที่ 116.45 ล้านไร่ หรือร้อยละ 78.02 เป็นพื้นที่นอกเขตชลประทาน (กองแผนงาน, สำนักวิศวกรรมเพื่อการพัฒนาที่ดิน, กรมพัฒนาที่ดิน, 2567) ที่ขาดการจัดการน้ำที่มีประสิทธิภาพอีกหลายพื้นที่

ปัญหาการขาดน้ำในพื้นที่นอกเขตชลประทาน ส่งผลให้รัฐมีการพัฒนาโดยนโยบายโครงการขุดสระในไร่นานอกเขตชลประทาน ขนาด 1,260 ลูกบาศก์เมตร เพื่อช่วยเกษตรกรกักเก็บน้ำใช้ในฤดูแล้งนาน 6 เดือน อย่างไรก็ตามปัญหาต่อมาคือการสูญเสียน้ำ การสูญเสียน้ำในบ่อจะมีอยู่ 2 ปัจจัยหลักๆ คือจากการระเหย และการรั่วซึมลงในดิน การสูญเสียน้ำจากการระเหยนั้นเป็นปัจจัยทางธรรมชาติที่ควบคุมได้ค่อนข้างยาก แต่การสูญเสียน้ำจากการรั่วซึมลงในดินนั้นจะขึ้นอยู่กับลักษณะดินในแต่ละพื้นที่ ในทางวิศวกรรมสามารถปรับปรุงและพัฒนาคุณสมบัติให้ดินมีความกักเก็บน้ำได้ โดยทั่วไปดินที่มีลักษณะเป็นดินเม็ดหยาบหรือดินทรายจะมีการรั่วซึมค่อนข้างสูง โดยเฉพาะในจังหวัดสกลนคร ซึ่งกรมพัฒนาที่ดินได้ทำการสำรวจและวินิจฉัยคุณภาพดิน เพื่อการใช้ประโยชน์ทางการเกษตรและวิศวกรรม โดยจำแนกดินตามระบบ Unified Soil Classification System พบว่ามีลักษณะเป็นดินร่วนปนทรายที่มีกรวดลูกรัง ดินล่างเป็นดินร่วนปนกรวด ซึ่งจัดอยู่ในกลุ่ม SM หรือ ML ซึ่งน้ำสามารถซึมผ่านได้ง่าย และจะเห็นได้ว่าการขุดบ่อน้ำในพื้นที่ดินเม็ดหยาบหรือดินทรายจึงไม่ค่อยมีประสิทธิภาพเท่าไรนัก การปรับปรุงคุณสมบัติดินเพื่อลดการ

รั่วซึมในอดีตนิยมใช้วัสดุธรรมชาติที่หาได้ง่าย เช่น มูลสัตว์ ผสมฟาง และนอกจากนี้ยังมียางพาราที่ถือว่าเป็นวัสดุทางธรรมชาติที่จะนำไปปรับปรุงคุณสมบัติดินเพื่อลดการรั่วซึมได้ เนื่องจากยางพารามีคุณสมบัติเด่นในการกักน้ำ เป็นวัสดุเชื่อมประสาน และหาได้ง่าย

ในจังหวัดสกลนคร ปี พ.ศ.2565 มีเนื้อที่ยางพารายืนต้นทั้งหมด 398,954 ไร่ มีเนื้อที่ยางพาราที่สามารถกรีตได้ 375,183 ไร่ สามารถผลิตน้ำยางพาราได้ถึง 85,646 ตันต่อปี (สำนักงานเศรษฐกิจการเกษตร, 2565) และมีเนื้อที่ยางพาราที่ยังรอกรีตอีก 23,771 ไร่ ซึ่งถือว่าเป็นพืชเศรษฐกิจของจังหวัดสกลนครและเป็นพืชเศรษฐกิจสำคัญของไทยอีกด้วย โดยมีการผลิตน้ำยางพาราจำนวนมากทั้งเพื่อการส่งออกและใช้งานในประเทศ น้ำยางพาราสจะต้องได้รับการเติมสารรักษาสภาพภายใน 2-3 ชั่วโมงเพื่อคงสภาพเป็นของเหลว และทำเป็นน้ำยางข้นที่มีปริมาณเนื้อยางแห้งประมาณ 60% เพื่อประหยัดค่าขนส่ง ชื่อทางเคมีของยางพารา คือ cis-1,4 Polyisoprene เมื่อแข็งตัวถือเป็นโพลิเมอร์ชนิดหนึ่งที่มีคุณสมบัติเด่นหลายประการ เช่น ความยืดหยุ่น ความเหนียว และความต้านทานการขาด เป็นต้น

จากผลพยากรณ์ผลการผลิตยางพารา ของสำนักงานเศรษฐกิจการเกษตร ในภาคตะวันออกเฉียงเหนือ มีเนื้อที่กรีตได้ในปี 2567 คาดว่าเพิ่มขึ้นจากการขยายพื้นที่ปลูกใหม่เมื่อปี 2561 เริ่มให้ผลผลิตได้ในปี 2567 นี้ สำหรับผลผลิตต่อเนื้อที่กรีตได้คาดว่าจะเพิ่มขึ้น ประกอบกับกรมอุตุนิยมวิทยาคาดการณ์จะเข้าสู่สภาวะลานีญาในช่วงปลายปีคาดว่าปริมาณน้ำฝนมากกว่าปีที่แล้ว ทำให้ต้นยางสมบูรณ์ขึ้น ส่งผลให้ภาพรวมผลผลิตเพิ่มขึ้น ซึ่งให้เห็นว่าเมื่อมีปริมาณยางพาราในตลาดเพิ่มขึ้น (สำนักงานเศรษฐกิจการเกษตร, 2567) อาจส่งผลให้ราคาต่อหน่วยของยางพาราลดลง

ที่ผ่านมาได้มีการศึกษาในการนำน้ำยางพารามาใช้เป็นสารผสมเพิ่มหรือนำมาใช้เป็นวัสดุเชื่อมประสาน หนึ่งในนั้น คือ พีรวัดน์ ปลาเงิน (2561) ได้ประยุกต์ใช้น้ำยางพาราและดินซีเมนต์พัฒนาน้ำสื่อน้ำต้านภัยแล้ง ได้ศึกษาคุณสมบัติการดูดซึมน้ำของดินลูกรังซีเมนต์ผสมน้ำยางพารา ผลพบว่า

อัตราส่วนของดินลูกรัง ปูนซีเมนต์ น้ำ เท่ากับ 5 : 2 : 1 มีค่าการดูดซึมน้ำเท่ากับ 12% และเมื่อมีการปรับปรุงด้วยน้ำยาง 7.5% ของปริมาณน้ำ มีค่าการดูดซึมน้ำลดลงต่ำที่สุดเท่ากับ 6.23% และนำไปใช้งานภาคสนามโดยการก่อสร้างสระน้ำ ดินซีเมนต์ผสมน้ำยางพารา

ศาสน์ สุขประเสริฐ และคณะ (2560) ประยุกต์ใช้ยางพาราปรับปรุงคุณภาพดินซีเมนต์สำหรับก่อสร้างพื้นทางผลพบว่า ดินซีเมนต์ที่ปรับปรุงคุณภาพด้วยน้ำยางพารา 5% โดยน้ำหนัก มีสมบัติทางวิศวกรรมตามมาตรฐานพื้นทางดินซีเมนต์ และมีกำลังอัดเพิ่มขึ้น 16.67% เมื่อเปรียบเทียบกับดินซีเมนต์ที่ไม่ปรับปรุงด้วยยางพารา

จากงานวิจัยที่ผ่านมาจะเห็นได้ว่าน้ำยางพารารวมชาติสามารถเพิ่มคุณสมบัติทางด้านวิศวกรรมของดินได้ แต่ส่วนใหญ่จะใช้ร่วมกับปูนซีเมนต์ ด้วยเหตุนี้ผู้วิจัยจึงได้มีแนวคิดในการใช้ยางพาราเพียงอย่างเดียว ในการปรับปรุงคุณสมบัติของดินเม็ดหยาบเพื่อการลดการรั่วซึมของน้ำในบ่อขุด โดยอาศัยหลักการใช้น้ำยางพาราเป็นสารเชื่อมประสานและอุดช่องว่างระหว่างเม็ดดิน ซึ่งเป็นการเพิ่มประสิทธิภาพการกักเก็บน้ำผิวดินและบรรเทาการขาดแคลนน้ำ อีกทั้งเป็นการเพิ่มคุณค่าให้น้ำยางพาราอีกด้วย ในการปรับปรุงคุณสมบัติของดินเม็ดหยาบด้วยน้ำยางพารารักษาสภาพในการวิจัยนี้ ใช้หลักเกณฑ์การประเมินอัตราการรั่วซึมหรือค่าการซึมผ่านของน้ำในดิน ( $k_{20}$ ) เท่ากับ 0.5 cm/hr หรือ  $1.38 \times 10^{-4}$  cm/s ซึ่งเป็นค่าที่เหมาะสมที่สุด ที่กรมพัฒนาที่ดินใช้ในการประเมินความเหมาะสมของดินสำหรับสร้างบ่อขุด (สุวณี ศรีวัช ฒ อยู่ธยา, 2538)

## ระเบียบและวิธีการวิจัย

### 1. ขั้นตอนการวิจัย

รายละเอียดในงานวิจัยและขั้นตอนการเตรียมตัวอย่างสำหรับการทดสอบหาค่าการซึมผ่านของดินเม็ดหยาบที่ปรับปรุงด้วยน้ำยางพารารักษาสภาพ ดัง Figure 1

ดินที่ใช้ในการศึกษาเป็นดินเม็ดหยาบในจังหวัดสกลนคร จากนั้นนำไปทดสอบคุณสมบัติพื้นฐานของดิน และทดสอบการบดอัดดินแบบมาตรฐาน โดยใช้ ค้อนบดอัดน้ำหนัก 5.5 ปอนด์ บดอัดด้วยพลังงาน 25%, 50%, 75% และ 100% ของจำนวน 25 ครั้ง แล้วหาความสัมพันธ์ระหว่างความหนาแน่นแห้ง และค่าความชื้นที่มีความเหมาะสมของแต่ละพลังงาน เนื่องจากผู้วิจัยมีความพยายามในการจำลองการปรับปรุงดินบริเวณสระน้ำในสนามจริงกรณีที่มีข้อจำกัดเรื่องการใช้เครื่องทุ่นแรง อีกทั้งพลังที่ใช้ในการบดอัดมีผลต่อค่าการซึมผ่านของน้ำในดิน

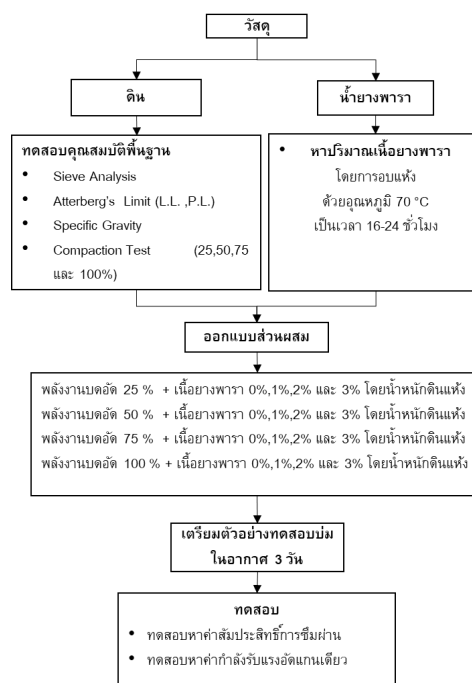


Figure 1 Research process

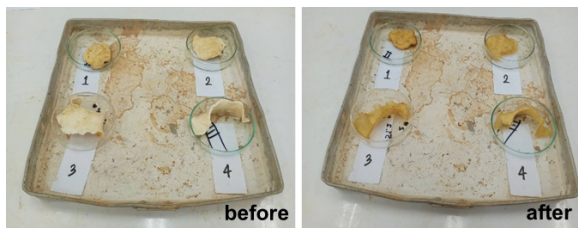
น้ำยางพาราในงานวิจัยนี้จะใช้น้ำยางพารารักษาสภาพ และเนื่องจากในน้ำยางพารารักษาสภาพจะมีส่วนที่เป็นเนื้อยางประมาณ 60% และไม่ใช่ส่วนที่เป็นเนื้อยางพารา ดังนั้นจำเป็นต้องมีการทดสอบหาปริมาณเนื้อยางพารา (Dry Rubber content, DRC) ด้วยวิธีการอบ ตามมาตรฐาน ISO 126:2005 เพื่อให้ทราบปริมาณเนื้อยางที่แน่นอน โดยนำน้ำยางมาทำให้จับตัวด้วยกรดแอซิดิกเข้มข้น เมื่อยางจับตัวกันดีแล้วทำการรีดเป็นแผ่นบางๆ โดยมีความหนาไม่เกิน 2 มิลลิเมตร ล้างแผ่นยางด้วยน้ำกลั่น 2 - 3 ครั้ง จากนั้นนำแผ่นยางพาราไปอบให้แห้งในตู้อบอุณหภูมิประมาณ 70°C ใช้เวลา 16 ชั่วโมงแต่ไม่เกิน 24 ชั่วโมง ดัง Figure 2 (a) คำนวณหาเปอร์เซ็นต์เนื้อยางแห้งได้จากสมการ

$$DRC = \frac{m_1}{m_0} \times 100 \quad (1)$$

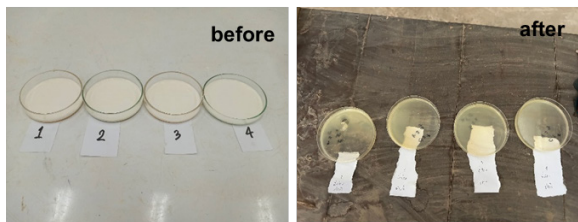
เมื่อ  $DRC$  = ปริมาณเนื้อยางแห้งโดยน้ำหนัก (%)  
 $m_0$  = น้ำหนักน้ำยางพารา (ก่อนอบ) (g)  
 $m_1$  = น้ำหนักแผ่นยางแห้ง (หลังอบ) (g)

จากนั้นจะทำการทดสอบหาระยะเวลาการแข็งของตัวอย่างยางพารา โดยการเทตัวอย่างน้ำยางพาราหนัก 10 กรัม ลงในภาชนะถ้วยแก้วทดสอบ แล้วทิ้งไว้ในอุณหภูมิห้อง แล้วบันทึกข้อมูลโดยการชั่งน้ำหนักทุกๆ 1 วัน จนกว่าจะได้ น้ำหนักเนื้อยางแห้งเท่ากับการทดสอบหาปริมาณเนื้อยาง

พาราโดยการอบ เพื่อใช้เป็นข้อมูลในการบ่มตัวอย่างก่อนการทดสอบ ดัง Figure 2 (b)



(a) Before and after curing rubber at a temperature of 70°C



(b) Before and after of natural rubber when left at room temperature for 3 days

**Figure 2** Testing for the amount of preservative natural rubber latex

อัตราส่วนผสมในการศึกษานี้ เนื่องจากน้ำที่ใช้ในการเตรียมตัวอย่างซึ่งเป็นค่าความชื้นสูงสุด (Optimum Moisture Content) ที่ได้จากการทดสอบการบดอัดดินในพลังงานต่างๆ เพื่อไม่ให้ผลของน้ำบางส่วนที่อยู่ในน้ำยางพารากระทบต่อค่าความชื้นสูงสุด ในการศึกษานี้จึงเลือกใช้ปริมาณน้ำยางพาราเป็นอัตราส่วนผสมต่อน้ำหนักดินแห้ง ส่วนปริมาณน้ำที่อยู่ในน้ำยางพาราจะถือเป็นส่วนหนึ่งของค่าความชื้นสูงสุด จากผลงานวิจัยที่ผ่านมา (พีรวัฒน์ ปลาเงิน, 2561; ศาสน์ สุขประเสริฐ และคณะ, 2560) พบว่าปริมาณน้ำยางพาราที่เหมาะสมอยู่ที่ประมาณ 1.5% – 5.0% โดยน้ำหนักหรือปริมาณเนื้อยางแห้งที่ 0.9% – 3.0% ดังนั้นในการศึกษานี้จึงเลือกใช้ปริมาณน้ำยางพาราที่อัตราส่วน 0.0%, 1.0%, 2.0% และ 3.0% โดยน้ำหนักดินแห้ง แต่ละอัตราส่วนทำการบดอัดด้วยพลังงาน 25%, 50%, 75% และ 100% ของจำนวนครั้งตามมาตรฐาน

การทดสอบหาค่าการซึมผ่านเป็นการทดสอบโดยใช้แรงดัน โดยค่าการซึมผ่าน ( $k_{20}$ ) คำนวณได้จากสมการ

$$k = \frac{Q}{Ait} = \frac{QL}{hAt} \quad (2)$$

$$\text{โดยที่} \quad h = z + \frac{P}{\gamma_w} \quad (3)$$

เมื่อ

$Q$  = ปริมาณน้ำที่ไหลซึมผ่านมวลดิน

$A$  = พื้นที่หน้าตัดของตัวอย่างดิน

$t$  = เวลาของน้ำที่ไหลซึมผ่านของน้ำในตัวอย่าง

$i$  = ความลาดชันทางชลศาสตร์

$L$  = ความยาวตัวอย่างดิน

$h$  = ผลรวมของความต่างของระดับน้ำที่ไหลผ่าน

ตัวอย่างดิน (Total Head)

$z$  = ความสูงของตำแหน่งที่สนใจ เทียบกับระดับ

อ้างอิง

$P$  = ความสัติการไหล ณ ตำแหน่งที่สนใจ

$\gamma_w$  = ความหนาแน่นของน้ำ

## 2. การเตรียมตัวอย่างและอุปกรณ์การทดสอบ

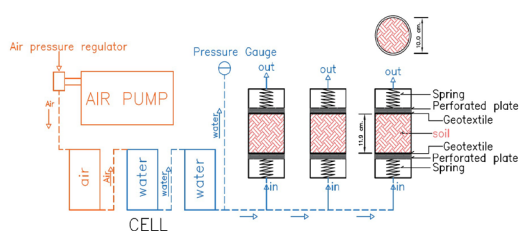
### 2.1 การทดสอบหาค่าการซึมผ่าน

การเตรียมตัวอย่างทดสอบ ทำการบดอัดดินที่ผสมกับน้ำยางพาราที่เปอร์เซ็นต์เนื้อยางต่างๆ ลงในโมลด์ขนาดเส้นผ่าศูนย์กลาง 10.0 ซม. ให้ตัวอย่างดินมีความสูง 11.9 ซม. บ่มในอากาศ 3 วัน จากนั้นทำการติดตั้งแผ่นซีโอเท็กซ์ไทล์ซึ่งทำหน้าที่เป็นตัวกรองไม่ให้เม็ดดินหลุดออกจากตัวอย่างไปกับน้ำขณะทดสอบ จากนั้นติดตั้งเพลาเหล็กเจาะรูและสปริงเพื่อประคองตัวอย่างไม่ให้เคลื่อนที่ โดยติดตั้งประกบทั้งสองด้านจากนั้นประกอบเข้ากับชุดทดสอบ ดัง Figure 3 (a)

ชุดทดสอบหาค่าการซึมผ่านโดยใช้แรงดันเข้าช่วย ประกอบไปด้วยปั๊มลมซึ่งเป็นตัวให้แรงดัน ควบคุมแรงดันด้วยตัวควบคุมแรงดัน (Regulators) ผ่านไปยังเซลล์น้ำ โดยระหว่างตัวควบคุมแรงดันและเซลล์น้ำ ทำการติดตั้งเซลล์อากาศ ซึ่งเป็นตัวดันน้ำในกรณีมีแรงดันคงค้างในระบบ ซึ่งทำให้น้ำไหลย้อนไปยังปั๊มลม หลังจากนั้นน้ำไหลผ่านโมลด์ที่ได้เตรียมตัวอย่างดินไว้ รอจนกระทั่งตัวอย่างอิ่มตัวด้วยน้ำและอัตราการไหลคงที่แล้ว เริ่มวัดอัตราการไหลพร้อมจับเวลา โดยทำการทดสอบ 3 ครั้งแล้วหาค่าเฉลี่ย ดัง Figure 3(b)



(a) Sample Preparation



(b) Testing Diagram

**Figure 3** Sample preparation and testing procedure diagram for permeability coefficient using pressure

## 2.2 การทดสอบ Unconfined Compressive Strength

ในการทดสอบหาค่าแรงแกนเดี่ยวอ้างอิงมาตรฐานที่ ทล.-ม. 204/2533 และการทดลองที่ ทล.ท. 105/2515 (เทียบเท่า AASHTO T 208) ของกรมทางหลวง

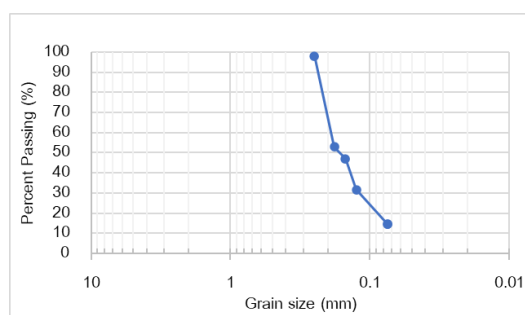
**Figure 4** Unconfined compressive strength test

การเตรียมตัวอย่างทดสอบทำการบดอัดดินที่ผสมกับน้ำยางพาราที่เปอร์เซ็นต์เนื้อยางต่างๆ ลงในโมลด์ขนาด 4 นิ้ว สูง 4.584 นิ้ว ด้วยการลดจำนวนครั้งในการบดอัดให้มีพลังงานบดอัด 25%, 50%, 75% และ 100% จากนั้นดินตัวอย่างออกจากโมลด์แล้วบ่มตัวอย่างในอากาศ 3 วัน แล้วนำไปหาค่ากำลังอัดแกนเดี่ยว ดัง Figure 4

## 3. ผลการทดสอบคุณสมบัติพื้นฐาน

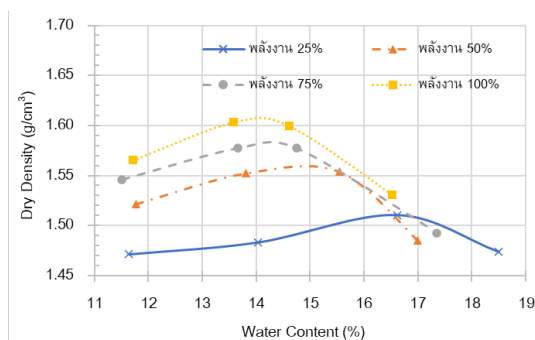
### 3.1 การจำแนกดิน

ดินตัวอย่างเป็นดินในจังหวัดสกลนครมีการกระจายตัวดังแสดงใน Figure 5 และทดลองหาขีดความชื้นเหลวของดิน (Atterberg's Limit) พบว่าค่า LL และ PL มีค่าเท่ากับ 22.8% และ 21.1% ตามลำดับ นำข้อมูลที่ได้มาจำแนกชนิดของดินระบบ Unified Soil Classification System, USCS. พบว่าดินตัวอย่างที่ใช้ในการทดสอบเป็นดินทรายที่มีตะกอนทรายปน หรือสัญลักษณ์กลุ่มคือ SM และมีค่าความถ่วงจำเพาะเท่ากับ 2.65

**Figure 5** Particle Size Distribution Curve

### 3.2 การทดสอบการบดอัดแบบมาตรฐาน

การทดสอบการบดอัดได้ค่าความหนาแน่นแห้งสูงสุดและปริมาณความชื้นที่เหมาะสมของดินตัวอย่างที่ไม่ได้ผสมน้ำยางพาราที่พลังงานบดอัด 25%, 50%, 75% และ 100% มีปริมาณความชื้นเหมาะสมเท่ากับ 16.60%, 14.90%, 14.30% และ 14.00% ตามลำดับ ดัง Figure 6 ซึ่งใช้ค่านี้ในการเตรียมตัวอย่างดิน เพื่อทดสอบหาค่าการซึมผ่านของน้ำในดิน

**Figure 6** The relationship between dry density and water content

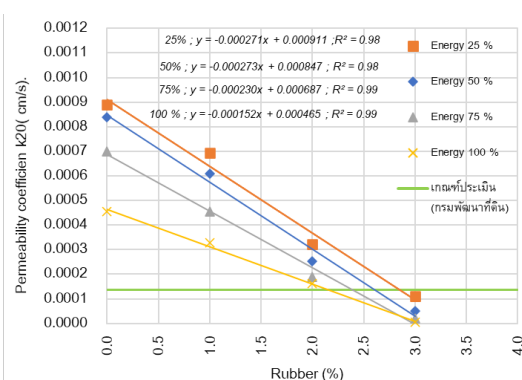
### 3.3 การทดสอบคุณสมบัติยางพารารักษาสภาพ

การทดสอบหาปริมาณเนื้อยางพารา (Dry Rubber content, DRC) ด้วยวิธีการมาตรฐาน ISO 126:2005 ผลที่ได้คือตัวอย่างน้ำยางพารารักษาสภาพมีเนื้อยางแห้งเท่ากับ 62.52% และการทดสอบหาระยะเวลาการแข็งของตัวอย่างน้ำยางพารารักษาสภาพ ผลทดสอบพบว่าต้องใช้ระยะเวลาอย่างน้อย 3 วัน จึงจะได้ปริมาณเนื้อยางแห้งเท่ากับ 62.52% ดังนั้นผู้วิจัยจะใช้ระยะเวลาบ่มตัวอย่างก่อนการทดสอบ 3 วัน

## ผลการทดลองและอภิปรายผล

### 1. ผลการทดสอบค่าการซึมผ่าน

จากผลทดสอบดัง Figure 7 พบว่า เมื่อเปรียบเทียบตัวอย่างดินที่ปรับปรุงด้วยเนื้อยางพารารักษาสภาพในอัตราส่วนเดียวกัน เห็นได้ว่าค่าการซึมผ่านมีแนวโน้มลดลงตามพลังงานบดอัดที่เพิ่มขึ้น มีค่าต่ำสุดที่พลังงานบดอัด 100% เนื่องจากการบดอัดดินเป็นผลให้เม็ดดินเรียงตัวกันแน่นขึ้น ทำให้อัตราส่วนช่องว่างลดลงส่งผลให้การซึมผ่านของน้ำลดลงตามไปด้วย แต่เมื่อทำการเปรียบเทียบตัวอย่างดินที่บดอัดในพลังงานเดียวกันพบว่าค่าการซึมผ่านมีแนวโน้มลดลงตามปริมาณเนื้อยางพาราที่เพิ่มมากขึ้น มีค่าต่ำสุดที่ปริมาณเนื้อยางพารา 3.0% เนื่องจากเนื้อยางพาราจะแทรกเข้าไปแทนที่ช่องว่างระหว่างเม็ดดินทำให้ดินมีความทึบมากขึ้น อีกทั้งดินที่ปรับปรุงด้วยน้ำยางพารามีลักษณะเป็นแผ่นฟิล์มเคลือบอยู่เม็ดดิน ทำให้ป้องกันการซึมของน้ำได้ (สุทธิชัย เจริญกิจ, 2560) ซึ่งตรงกับ อรุณ ลูกจันทร์ และคณะ (2561) กล่าวว่า ช่องว่างระหว่างอนุภาคเม็ดดินบางส่วนถูกแทนที่ด้วยอนุภาคของยางพารา โดยเม็ดดินถูกเคลือบจนเกิดการเชื่อมแน่นระหว่างเม็ดดิน เป็นผลทำให้ค่าการซึมผ่านลดลง

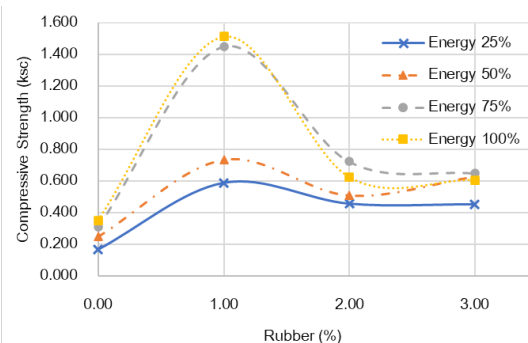


**Figure 7** The relationship between the soil water permeability coefficient (k20) and the amount of natural rubber content

จาก Figure 7 จะเห็นได้ว่าความสัมพันธ์ระหว่างค่าการซึมผ่าน (k20) และปริมาณเนื้อยางพารา มีลักษณะเป็นเส้นตรง เมื่อพิจารณาผลทดสอบโดยใช้สมการเชิงเส้นในแต่ละพลังงานบดอัดได้แก่ 25%, 50%, 75% และ 100% จะได้สมการเชิงเส้น เมื่อพิจารณาถึงค่า R<sup>2</sup> พบว่าข้อมูลมีความน่าเชื่อถือเป็นอย่างมาก ดังนั้นผู้วิจัยจะใช้สมการจาก Figure 7 ในการทำนายหาปริมาณเนื้อยางพาราที่ต้องใช้ในการปรับปรุงคุณสมบัติดินให้ผ่านหลักเกณฑ์การประเมินที่ค่าการซึมผ่าน (k20) เท่ากับ 0.000138 cm/s โดยจะแทนค่า y เท่ากับ 0.000138 จากนั้นทำการแก้สมการหาค่าตัวแปร x ได้ปริมาณเนื้อยางพาราที่ต้องใช้ในการปรับปรุงดินของแต่ละพลังงานบดอัด ผลที่ได้คือที่พลังงานบดอัด 25%, 50%, 75% และ 100% จะต้องใช้ปริมาณเนื้อยางพารารักษาสภาพเท่ากับ 2.85%, 2.57%, 2.39% และ 2.15% ตามลำดับ

### 2. ผลการทดสอบหาค่าแรงอัดแกนเดียว

จากผลการทดสอบหาค่าแรงอัดแกนเดียวใน Figure 8 เห็นได้ว่าเมื่อเปรียบเทียบตัวอย่างที่ปรับปรุงด้วยเนื้อยางพาราที่อัตราส่วนเดียวกัน ตัวอย่างดินที่ไม่ปรับปรุงด้วยเนื้อยางพารา และปรับปรุงด้วยเนื้อยางพาราอัตราส่วน 1% ของน้ำหนักดินแห้ง ค่ากำลังรับแรงอัดมีแนวโน้มเพิ่มขึ้นตามพลังงานบดอัดและมีค่าสูงสุดที่พลังงานบดอัด 100% มีค่าเท่ากับ 1.51 ksc เนื่องจากพลังงานบดอัดทำให้เม็ดดินเรียงตัวกันแน่นขึ้น ส่วนตัวอย่างที่ปรับปรุงด้วยเนื้อยางพาราอัตราส่วน 2.0% และ 3.0% ของน้ำหนักดินแห้ง ค่ากำลังรับแรงอัดมีค่าสูงสุดที่พลังงานบดอัด 75% มีค่าเท่ากับ 0.72 ksc และ 0.65 ksc ตามลำดับ เนื่องจากปริมาณยางพาราที่เพิ่มสูงขึ้น ทำให้เม็ดดินเรียงตัวกันในลักษณะหลวม เมื่อใช้พลังงานบดอัดที่สูงเกินไปจะทำให้เกิดความไม่สม่ำเสมอระหว่างยางพาราและเม็ดดิน



**Figure 8** The relationship between unconfined compressive strength and rubber latex content

จาก Figure 8 เมื่อเปรียบเทียบตัวอย่างทดสอบในพลังงานบดอัดเดียวกัน พบว่าค่ากำลังรับแรงอัดของตัวอย่างดินที่ปรับปรุงด้วยเนื้องานพาราที่อัตราส่วน 1.0% ของน้ำหนักดินแห้ง มีแนวโน้มเพิ่มขึ้นจากตัวอย่างดินที่ไม่ปรับปรุงด้วยยางพารา จากนั้นค่ากำลังรับแรงอัดมีแนวโน้มลดลง เมื่อตัวอย่างดินมีการปรับปรุงด้วยเนื้องานพารามากกว่า 1.0% ซึ่งคล้ายกับผลการศึกษาของ พีรวัฒน์ ปลายเงิน (2561) พบว่าอัตราส่วนของดินลูกรัง ปูนซีเมนต์ น้ำ เท่ากับ 5 : 2 : 1 มีกำลังรับแรงอัดเท่ากับ 59 ksc และเมื่อปรับปรุงด้วยน้ำยางพารา 5% ของปริมาณน้ำ พบว่ามีกำลังเพิ่มขึ้น 3.38% จากนั้นกำลังอัดมีแนวโน้มลดลงเมื่อมีการปรับปรุงด้วยน้ำยางพารามากกว่า 5% ของปริมาณน้ำ ดังที่ อรุณ ลูกจันทร์ และคณะ (2561) กล่าวว่า ความหนาแน่น ความชื้นแน่น การยึดลือระหว่างเม็ดดิน และอัตราส่วนกำลังรับแรงอัดมีความสัมพันธ์กับยางพาราในลักษณะระฆังคว่ำ เมื่อปริมาณยางพาราเพิ่มขึ้นทำให้การเชื่อมแน่นระหว่างเม็ดดินเพิ่มขึ้น เม็ดดินเรียงตัวแน่นขึ้นทำให้ความหนาแน่นเพิ่มขึ้น แต่เมื่อเพิ่มปริมาณยางพาราที่มากเกินไป เป็นการดันเม็ดดินให้อยู่ในลักษณะหลวม ทำให้ความหนาแน่น ความชื้นแน่น การยึดลือระหว่างเม็ดดิน และอัตราส่วนกำลังรับแรงอัดลดลงตามไปด้วย

### สรุปผลและข้อเสนอแนะ

งานวิจัยนี้ศึกษาและปรับปรุงคุณสมบัติดินเม็ดหยาบด้วยการผสมน้ำยางพารารักษาสภาพ เพื่อลดความสามารถในการซึมผ่านของน้ำ โดยใช้หลักเกณฑ์การประเมินค่าการซึมผ่านของน้ำในดิน ( $k_{20}$ ) เท่ากับ 0.00138 cm/s ใช้ปริมาณเนื้องานพาราในอัตราส่วน 0.0%, 1.0%, 2.0% และ 3.0% ของน้ำหนักดินแห้ง จากนั้นทำการบดอัดแบบมาตรฐานด้วยพลังงาน 25%, 50%, 75% และ 100% ของจำนวนครั้งตามมาตรฐาน บ่มตัวอย่างในอากาศที่อายุ 3 วัน แล้วทดสอบหาค่าการซึมผ่านด้วยแรงดัน และการทดสอบหาค่ากำลังรับแรงอัดแกนเดียวผลการศึกษสามารถสรุปได้ดังนี้

- การปรับปรุงคุณสมบัติดินเม็ดหยาบด้วยยางพารารักษาสภาพ ทำให้ค่าการซึมผ่านลดลงเมื่อเทียบกับตัวอย่างดินที่ไม่มีการปรับปรุงด้วยยางพารา และค่าการซึมผ่านมีแนวโน้มลดลง ตามปริมาณเนื้องานพาราที่เพิ่มมากขึ้น จึงมีค่าต่ำสุดในตัวอย่างดินที่ปรับปรุงด้วยปริมาณเนื้องานพาราในอัตราส่วน 3.0% ของน้ำหนักดินแห้งเท่านั้น ดังนั้นควรศึกษาอัตราส่วนปริมาณเนื้องานพาราที่มากกว่า 3.0% และจากการทำนายปริมาณเนื้องานพาราที่ใช้ในการปรับปรุงคุณสมบัติดินเม็ดหยาบ ต้องใช้ปริมาณเนื้องานพาราไม่น้อยกว่า 2.85%,

2.57%, 2.39% และ 2.15% สำหรับพลังงานบดอัด 25%, 50%, 75% และ 100% ตามลำดับ จึงจะผ่าน หลักเกณฑ์การประเมินที่ค่าการซึมผ่าน ( $k_{20}$ ) เท่ากับ 0.00138 cm/s

- สำหรับค่ากำลังรับแรงอัดการใช้ยางพารารักษาสภาพปรับปรุงคุณสมบัติดินเม็ดหยาบทำให้มีความต้านทานแรงอัดเพิ่มมากขึ้น ปริมาณเนื้องานพาราที่เหมาะสมคืออัตราส่วน 1.0% ของน้ำหนักดินแห้ง

- ควรพิจารณาเรื่องปริมาณยางพารา การใช้ยางพารามากเกินไปจะเป็นผลเสียต่อความแข็งแรงของตัวอย่างทดสอบเนื่องจากปริมาณยางพาราที่มากเกินไปจะเข้าไปแทนที่มวลเนื้อดิน ซึ่งส่งผลต่อความหนาแน่นแห้ง ทำให้ความหนาแน่นแห้งลดลง ประกอบกับยางพาราเป็นวัสดุที่มีความยืดหยุ่น จึงทำให้ค่ากำลังรับแรงอัดของตัวอย่างทดสอบที่ปรับปรุงด้วยปริมาณเนื้องานพารามากกว่า 1.0% มีแนวโน้มลดลง

จากการศึกษาการปรับปรุงคุณสมบัติดินเม็ดหยาบด้วยการผสมน้ำยางพารารักษาสภาพ เพื่อลดความสามารถในการซึมผ่านของน้ำนั้น มีข้อเสนอแนะดังนี้

- ควรพิจารณาเรื่องปัจจัยด้านเวลาในการเตรียมตัวอย่าง เนื่องจากถ้าใช้ระยะเวลาน้อยเกินไปจะทำให้การกระจายตัวดินและยางพาราเกิดความไม่สม่ำเสมอ และถ้าใช้เวลามากเกินไปยางพาราจะจับตัวกัน ทำให้อนุภาคของยางพาราไม่สามารถแทรกเข้าไปช่องว่างของมวลดินได้

- ควรพิจารณาเรื่องอุณหภูมิและระยะเวลาในการบ่ม ซึ่งมีผลต่อการแข็งตัวของยางพารา เนื่องจากงานวิจัยนี้บ่มตัวอย่างในอากาศที่อุณหภูมิห้อง ซึ่งในแต่วันอุณหภูมิอาจมีการเปลี่ยนแปลงไม่เท่ากัน จึงทำให้ผลมีความคลาดเคลื่อน จึงควรพิจารณาวิธีการและระยะเวลาในการบ่มเป็นปัจจัยที่สำคัญอีกปัจจัยหนึ่งด้วย

- งานวิจัยนี้ได้นำไปประยุกต์ใช้ในภาคสนามที่เป็นพื้นที่นอกเขตชลประทาน มีลักษณะเป็นเม็ดหยาบหรือดินทราย โดยการทำเป็นวัสดุลาดกันบ่อและผนังบ่อจะเป็นการเพิ่มประสิทธิภาพการกักเก็บน้ำและลดการขาดแคลนน้ำในพื้นที่ทำการเกษตร ช่วยให้เกษตรกรสามารถเพาะปลูกได้ในช่วงฤดูแล้ง อีกทั้งยังเป็นการเพิ่มรายได้ให้แก่เกษตรกรในพื้นที่ดังกล่าวไม่มากนัก

### กิตติกรรมประกาศ

ผู้วิจัยขอขอบคุณ สาขาวิชาวิศวกรรมโยธา คณะอุตสาหกรรมและเทคโนโลยี มหาวิทยาลัยเทคโนโลยีราชมงคลอีสาน วิทยาเขตสกลนคร ที่ให้ความอนุเคราะห์ด้านสถานที่และเครื่องมือในการทำการทดสอบ

## เอกสารอ้างอิง

- กองแผนงาน, สำนักวิศวกรรมเพื่อการพัฒนาที่ดิน, กรมพัฒนาที่ดิน. (2567). หนังสือคู่มือโครงการแหล่งน้ำไร่นานอกเขตชลประทาน ปรับปรุง กุมภาพันธ์ 2565 (พิมพ์ครั้งที่ 2). กระทรวงเกษตรและสหกรณ์.
- พีรวัฒน์ ปลาเงิน. (2561). ประยุกต์ใช้น้ำยางพาราและดินซีเมนต์พัฒนาน้ำสระน้ำด้านภัยแล้ง. วารสารวิศวกรรมศาสตร์ มหาวิทยาลัยเชียงใหม่, 25(2), 170–180.
- ศาสน์ สุขประเสริฐ, สุนันันต์ เพชรรัตน์ และรุ่งอรุณ บุญถ่าน. (2560). รายงานวิจัย เรื่อง การประยุกต์ใช้น้ำยางพาราและดินซีเมนต์สำหรับงานก่อสร้างถนน. มหาวิทยาลัยเทคโนโลยีสุรนารี.
- สำนักงานเศรษฐกิจการเกษตร. (2565). สถิติการเกษตรของประเทศไทย ปี 2565. กระทรวงเกษตรและสหกรณ์.
- สำนักงานเศรษฐกิจการเกษตร. (2567). เอกสารประกอบการแถลงข่าวภาวะเศรษฐกิจการเกษตรปี 2566 และแนวโน้มปี 2567. กระทรวงเกษตรและสหกรณ์.
- สุทธิชัย เจริญกิจ. (2560). การปรับปรุงคุณสมบัติของดินลูกรังด้วยน้ำยางพาราธรรมชาติ. [วิทยานิพนธ์ปริญญาวิศวกรรมศาสตรมหาบัณฑิต, มหาวิทยาลัยสงขลานครินทร์].
- สุวณี ศรีวัช ณ อยุธยา. (2538). การวินิจฉัยคุณภาพของดินด้านปฐพีกลศาสตร์ตามกลุ่มชุดดินของประเทศไทย. กองสำรวจและจำแนกดิน กรมพัฒนาที่ดิน.
- อรุณ ลูกจันทร์, อาศิส อัยรักษ์, สมมาตร สวัสดิ์ และจารุญ สมบูรณ์. (2561). คุณลักษณะกำลังต้านทานแรงเฉือนของทรายที่เพิ่มแรงยึดเกาะด้วยยางพารา. วิศวกรรมสารฉบับวิจัยและพัฒนา วิศวกรรมสถานแห่งประเทศไทย ในพระบรมราชูปถัมภ์, 29(4), 5–18.

## คำแนะนำสำหรับผู้พิมพ์

วารสารวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยี มหาวิทยาลัยมหาสารคาม กำหนดพิมพ์ปีละ 6 ฉบับ ฉบับที่ 1 (มกราคม-กุมภาพันธ์) ฉบับที่ 2 (มีนาคม-เมษายน) ฉบับที่ 3 (พฤษภาคม-มิถุนายน) ฉบับที่ 4 (กรกฎาคม-สิงหาคม) ฉบับที่ 5 (กันยายน-ตุลาคม) ฉบับที่ 6 (พฤศจิกายน-ธันวาคม) ผู้พิมพ์ทุกท่านสามารถส่งบทความวิจัยเพื่อรับการพิจารณาลงตีพิมพ์ได้ โดยไม่ต้องเป็นสมาชิกและไม่จำเป็นต้องสังกัดมหาวิทยาลัยมหาสารคาม ผลงานที่ได้รับการพิจารณาในวารสารจะต้องมีสาระที่น่าสนใจ เป็นงานที่ทบทวนความรู้เดิมหรือองค์ความรู้ใหม่ ที่ทันสมัย รวมทั้งข้อคิดเห็นทางวิชาการที่เป็นประโยชน์ต่อผู้อ่าน และจะต้องเป็นงานที่ไม่เคยตีพิมพ์เผยแพร่ในวารสารอื่นมาก่อน รวมถึงไม่อยู่ระหว่างพิจารณาลงพิมพ์ในวารสารใด บทความอาจถูกตัดแปลง แก้ไข เนื้อหา รูปแบบ และสำนวน ตามที่กองบรรณาธิการเห็นสมควร ทั้งนี้ เพื่อให้วารสารมีคุณภาพในระดับมาตรฐานสากลและนำไปอ้างอิงได้

### การเตรียมต้นฉบับ

1. ต้นฉบับพิมพ์เป็นภาษาไทยหรือภาษาอังกฤษ แต่ละเรื่องจะต้องมีบทคัดย่อทั้งภาษาไทยและภาษาอังกฤษ การใช้ภาษาไทยให้ยึดหลักการใช้คำศัพท์การเขียนทับศัพท์ภาษาอังกฤษตามหลักของราชบัณฑิตยสถาน ให้หลีกเลี่ยงการเขียนภาษาอังกฤษรวมกับภาษาไทยในข้อความ ยกเว้นกรณีจำเป็น เช่น ศัพท์ทางวิชาการที่ไม่มีทางแปล หรือคำที่ใช้แล้วทำให้เข้าใจง่ายขึ้น คำศัพท์ภาษาอังกฤษที่เขียนเป็นภาษาไทยให้ใช้ตัวเล็กทั้งหมด ยกเว้นชื่อเฉพาะ สำหรับต้นฉบับภาษาอังกฤษ ควรได้รับการตรวจสอบความถูกต้องของภาษาจากผู้เชี่ยวชาญด้านภาษาอังกฤษก่อน

2. ขนาดของต้นฉบับ ใช้กระดาษขนาด A4 (8.5x11 นิ้ว) และพิมพ์โดยเว้นระยะห่างจากขอบกระดาษด้านละ 1 นิ้ว จัดเป็น 2 คอลัมน์

3. ชนิดของขนาดตัวอักษร ทั้งภาษาไทยและภาษาอังกฤษให้ใช้ตัวอักษร **Browallia New**

3.1 ชื่อเรื่องให้ใช้อักษรขนาด **18 pt.** ตัวหนา

3.2 ชื่อผู้พิมพ์ใช้อักษรขนาด **16 pt.** ตัวปกติ

3.3 หัวข้อหลักใช้อักษรขนาด **16 pt.** ตัวหนา

3.4 หัวข้อรองใช้อักษรขนาด **14 pt.** ตัวหนา

3.5 บทคัดย่อและเนื้อหาใช้ตัวอักษรขนาด **14 pt.** ตัวบาง ซึ่งบทคัดย่อควรประกอบด้วย เนื้อหา 5 ส่วน คือ 1) ที่มาของปัญหาการวิจัย 2) วัตถุประสงค์ของการวิจัย 3) วิธีการศึกษาโดยย่อแต่ครอบคลุมรายละเอียด 4) ผลการวิจัย 5) สรุปและแนวทางการนำไปใช้ประโยชน์ จำนวนคำไม่เกิน 350 คำ

3.6 เชิงอรรถอยู่หน้าแรกที่เป็นรายละเอียดชื่อตำแหน่งทางวิชาการ และที่อยู่ของผู้พิมพ์ใช้อักษรขนาด 12 pt. ตัวบาง และใส่ Corresponding author

4. ผู้พิมพ์จะต้องจัดเตรียมต้นฉบับในรูปแบบของไฟล์ “.doc” (MS Word) และ “.pdf” (Portable Document Format)

5. จำนวนหน้า ความยาวของบทความไม่ควรเกิน 12 หน้า รวมตาราง รูป ภาพ และเอกสารอ้างอิง

6. รูปแบบการเขียนต้นฉบับ แบ่งเป็น 2 ประเภท ได้แก่ ประเภทบทความรายงานผลวิจัยหรือบทความวิจัย (research article) และบทความจากการทบทวนเอกสารวิจัยที่ผู้อื่นทำเอาไว้ หรือบทความทางวิชาการ หรือบทความทั่วไป หรือบทความปริทัศน์ (review article)

7. การส่งบทความ ส่ง online ผ่านระบบ ThaiJo โดยสามารถเข้าไปดูรายละเอียดที่ [www.scjmsu.msu.ac.th](http://www.scjmsu.msu.ac.th)

8. หากจัดรูปแบบไม่ถูกต้องทางวารสารจะจัดส่งคืนผู้พิมพ์เพื่อปรับแก้ไข ก่อนเสนอผู้ทรงคุณวุฒิพิจารณา ซึ่งอาจทำให้กระบวนการตีพิมพ์ล่าช้า

## บทความวิจัย/บทความวิชาการ ให้เรียงลำดับหัวข้อดังนี้

**ชื่อเรื่อง (Title)** ชื่อเรื่องให้มีทั้งภาษาไทยและภาษาอังกฤษ ควรสั้น กระชับ และสื่อเป้าหมายหลักของงานวิจัย ไม่ใช่คำย่อ ความยาวไม่เกิน 100 ตัวอักษร

**ชื่อผู้พิมพ์ [Author (s)]** และที่อยู่ ให้มีทั้งภาษาไทยและภาษาอังกฤษ และระบุตำแหน่งทางวิชาการ หน่วยงาน หรือสถาบันที่สังกัด และ E-mail address ของผู้พิมพ์ไว้เป็นเชิงอรรถของหน้าแรก เพื่อกองบรรณาธิการสามารถติดต่อได้

**บทคัดย่อ (Abstract)** เป็นการย่อเนื้อความงานวิจัยทั้งเรื่องให้สั้น และมีเนื้อหา ประกอบด้วย วัตถุประสงค์ ผลการค้นพบที่สำคัญ และสรุป มีทั้งภาษาไทยและภาษาอังกฤษ โดยบทคัดย่อภาษาอังกฤษมีความยาวไม่เกิน 350 คำ สำหรับบทคัดย่อภาษาไทยให้สอดคล้องกับบทคัดย่อภาษาอังกฤษ

**คำสำคัญ (Keywords)** ทั้งภาษาไทยและภาษาอังกฤษ ไม่เกิน 5 คำ ให้ระบุไว้ท้ายบทคัดย่อของแต่ละภาษา

**บทนำ (Introduction)** เป็นส่วนเริ่มต้นของเนื้อหา ที่บอกความเป็นมา เหตุผล และวัตถุประสงค์ ที่นำไปสู่งานวิจัยนี้ ให้ข้อมูลทางวิชาการที่เกี่ยวข้องจากการตรวจสอบเอกสารงานวิจัยที่เกี่ยวข้องที่มีรายงานการศึกษาก่อนหน้า

**วัสดุอุปกรณ์และวิธีการศึกษา (Materials and Methods)** ให้ระบุรายละเอียด วัสดุอุปกรณ์ สิ่งที่มาศึกษา จำนวน ลักษณะเฉพาะของตัวอย่างที่ศึกษา อธิบายวิธีการศึกษา แผนการทดลองทางสถิติ วิธีการเก็บข้อมูลการวิเคราะห์และการแปลผล

**ผลการศึกษา (Results)** รายงานผลที่ค้นพบ ตามลำดับขั้นตอนของการวิจัย อย่างชัดเจนได้ใจความ ถ้าผลไม่ซับซ้อน และมีตัวเลขไม่มากควรใช้คำบรรยาย แต่ถ้ามีตัวเลข หรือ ตัวแปรมาก ควรใช้ตารางหรือแผนภูมิประกอบการรายงานผลการศึกษา

**วิจารณ์และสรุปผล (Discussion and Conclusion)** การอภิปรายผลการศึกษว่าตรงกับวัตถุประสงค์และเปรียบเทียบกับสมมติฐานของการวิจัยที่ตั้งไว้ หรือแตกต่างไปจากผลงานที่มีผู้รายงานไว้ก่อนหรือไม่ อย่างไร เหตุผลใดจึงเป็นเช่นนั้น และมีพื้นฐานอ้างอิงที่เชื่อถือได้ ผู้พิมพ์อาจมีข้อเสนอแนะที่นำผลงานวิจัยไปใช้ประโยชน์ หรือทิ้งประเด็นคำถามการวิจัย ซึ่งเป็นแนวทางสำหรับการวิจัยต่อไป

**ตาราง รูป ภาพ แผนภูมิ (Table, Figures, and Diagrams)** ควรคัดเลือกเฉพาะที่จำเป็น แทรกไว้ในเนื้อเรื่อง โดยเรียงลำดับให้สอดคล้องกับคำอธิบายในเนื้อเรื่อง และมีคำอธิบายเป็นภาษาอังกฤษ ที่สื่อความหมายได้สาระครบถ้วน กรณีที่เป็นตาราง คำอธิบายอยู่ด้านบน ถ้าเป็นรูป ภาพ แผนภูมิ คำอธิบายอยู่ด้านล่าง

**กิตติกรรมประกาศ (Acknowledgements)** ระบุงานวิจัยได้รับการสนับสนุนงบประมาณ หรือสนับสนุนด้านอื่นๆ รวมถึงความช่วยเหลือจากองค์กรใดหรือผู้ใดบ้าง

**เอกสารอ้างอิง (References)** ระบุงานการเอกสารที่นำมาใช้อ้างอิงให้ครบถ้วนไว้ท้ายเรื่อง โดยใช้ APA Style ดังตัวอย่าง สามารถดูรายละเอียดและตัวอย่างเพิ่มเติมได้ที่ [www.scjmsu.msu.ac.th](http://www.scjmsu.msu.ac.th)

## เอกสารอ้างอิงให้เขียนตามรูปแบบ “Publication Manual of the American Psychological Association” (7<sup>th</sup> Edition)

### 1. หนังสือ (ในรูปแบบรูปเล่ม)

ชื่อ-สกุล. (ปีพิมพ์). ชื่อเรื่อง (พิมพ์ครั้งที่). สำนักพิมพ์.

ตัวอย่าง:

วิธาน ฐานะวุฒ. (2547). หัวใจใหม่-ชีวิตใหม่. ปิตีศึกษา.

## 2. บทความในวารสารอิเล็กทรอนิกส์

ชื่อ-สกุล. (ปีพิมพ์). ชื่อบทความ. ชื่อวารสาร, เลขของปีที่ (เลขของฉบับที่), เลขหน้า. /<https://doi.org/เลขdoi>

ตัวอย่าง:

มานะ สินฐานานนท์. (2549). ปัจจัยส่งเสริมการจัดการศึกษาที่ส่งผลต่อคุณภาพนักเรียนในภาคตะวันออกเฉียงเหนือ. วารสาร  
ครุศาสตร์, 18 (2), 115-116.

## 3. รายงานการประชุมเชิงวิชาการ (Proceeding)

ชื่อ-สกุล. (ปี). ชื่อบทความ. ในชื่อบรรณานุกรม (บ.ก.), ชื่อหัวข้อการประชุม. ชื่อการประชุม (น. เลขหน้า). ฐานข้อมูล.

ตัวอย่าง:

พัชรภา ตันติสุขเวช. (2553). การศึกษาทั่วไปกับคุณลักษณะบัณฑิตที่พึงประสงค์ในประเทศมาเลเซีย และสิงคโปร์ ศึกษา  
โดยเปรียบเทียบกับประเทศไทย. ใน ศิริชัย กาญจนวาสี (บ.ก.), การขับเคลื่อนคุณภาพการศึกษาไทย. การประชุมวิชาการ  
และเผยแพร่ ผลงานวิจัยระดับชาติ (น. 97-102). คณะครุศาสตร์ จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย.

## 4. หนังสือพิมพ์และหนังสือพิมพ์ออนไลน์

ชื่อสกุล. (ปี, /วัน/เดือน). ชื่อคอลัมน์. ชื่อหนังสือพิมพ์, เลขหน้า.

ตัวอย่าง:

พงษ์พรรณ บุญเลิศ. (2561, 15 สิงหาคม). เติลนิวส์ว่าไรต์: 'สื่อพิพิธภัณฑ' เชื่อม ยุคสมัย เข้าถึงด้วย 'มิติใหม่' อินเทอร์เน็ต.  
เติลนิวส์, 4.

## 5. หนังสือ (ในรูปแบบอิเล็กทรอนิกส์)

ชื่อ สกุล. (ปีพิมพ์). ชื่อเรื่อง (พิมพ์ครั้งที่). URL

ตัวอย่าง:

กระทรวงศึกษาธิการ. (2560). หลักสูตรการศึกษาปฐมวัย พุทธศักราช 2560 สำหรับเด็กอายุ ต่ำกว่า 3-5 ปี. [http://drive.google.com/file/d/1HiTWiRh1Er73hVYIMh1cYWzQiaNI\\_Vc/view](http://drive.google.com/file/d/1HiTWiRh1Er73hVYIMh1cYWzQiaNI_Vc/view)

## Instruction for Authors

Research manuscripts relevant to subject matters outlined in the objectives are **Accepted** from all institutions and private parties provided they have not been preprinted elsewhere. The context of the papers may be **Revised** as appropriate to the standard. The manuscript must be interesting topic, review knowledge, modern knowledge, and academic comments that are beneficial to readers. The journal publishes 6 issues a year. Vol.1 (January-February) Vol.2 (March-April) Vol.3 (May-June) Vol.4 (July-August) Vol.5 (September-October) Vol.6 (November-December).

### Preparation of manuscripts:

1. Manuscripts can be written in either Thai or English with the abstract in both Thai and English. The use of Thai language adheres to the principles of vocabulary, transliteration in English according to the principles of the Royal Society of Thailand. Manuscript should be specific, clear, concise, accurate, and consistent. Mixing Thai and English should be avoided except for the case of necessity, such as academic vocabulary with no translation or mixing words for easier understanding. English vocabulary written in Thai must use all lowercase except for unique names. English language manuscripts should be checked by an English language editor prior to submission.

2. Manuscript should be on A4 standard size paper. Each side must have 1" margins with 2 columns.

3. Browallia New font is required with font size as follows:

3.1 Title of the article: **18 pt. Bold**

3.2 Name (s) of the authors: **16 pt. Unbold**

3.3 Main Heading: **16 pt. Bold**

3.4 Sub-heading: **14 pt. Bold**

3.5 Body of the text: **14 pt. Unbold**, The abstract should consist of 5 parts: 1) the origin of the research problem, 2) the objectives of the research, 3) a brief but detailed study method, 4) the research results, 5) a conclusion and guidelines for use.

3.6 Footnotes for authors and their affiliations: **12 pt. Unbold**, must be cited at the bottom of the first page. Academic position and corresponding author must be added at footnotes.

4. Manuscripts should be typed in MS word ".doc" and ".pdf" (Portable Document Format)

5. The number of pages are limited to 12 pages, including references, Tables, graphs, or pictures.

6. Types of manuscripts: research articles and review articles.

7. Manuscript submission: online submission via [www.scjmsu.msu.ac.th](http://www.scjmsu.msu.ac.th).

**8. Manuscript with uncorrected format will be sent back to the author before review process which can delay the publication process.**

### Research article / review article must be in sequence as follows:

**Title:** denoted in both Thai and English, must be concise and specific to the point, normally less than 100 characters.

**Name (s) of the author (s):** denoted with affiliation must be in Thai and English, academic position must be specified, and email address for contact the author.

**Abstract:** This section of the paper should follow an informative style, concisely covering all the important of findings. The abstract must include objectives, findings, and conclusion. Thai and English abstract is required. The English abstract is restricted to **350 words**. Thai abstract should be relevant to English version.

**Keywords:** Give 4-5 concise words to specify your article

**Introduction:** This section is the initial part of the article, contain information about background, reasons, purposes, and review section.

**Materials and Methods:** A discussion of the materials used, and a description clearly detailing how the experiment was undertaken, e.g., experimental design, data collection and analysis, and interpretation

**Results:** Present the output. Li the information in complicated, add Tables, graphs, diagrams etc., as necessary.

**Discussion and Conclusion:** Discuss how the results are relevant/oppose to the objective and hypothesis. How the result is different/relevant when comparing to the former findings. Give us your reason why result is like that base on reliable researches. This part should end with suggestions for research utilization or providing questions for future studies.

**Tables, figures, diagrams:** Selected only necessary objects to insert in the body of manuscript in accordance with the description in the text. The short description is required in English with completely meaningful. For figures and diagrams, the description is below the picture. But, for Table, the description is on top of the Table.

**Acknowledgement:** the name of the persons, organization, or funding agencies who helped support the research are acknowledged in this section.

**References:** listed and referred in APA.

## Reference are written in “Publication Manual of the American Psychological Association” (7<sup>th</sup> Edition)

### 1. Book

Mertens, D.M. (2014). *Research and evaluation in education and psychology: Integrating diversity with quantitative, qualitative, and mixed methods* (4<sup>th</sup> ed.). SAGE.

### 2. Academic Journal

Herbst-Damm, K.L., & Kulik, J.A. (2005). Volunteer support, marital status, and the survival times of terminally ill patients. *Health Psychology*, 24, 225-229. <https://doi.org/10.1037/0278-6133.24.2.225>

### 3. Conference Proceeding

Katz, I., Gabayan, K., & Aghajan, H. (2007). A multi-touch surface using multiple cameras. In J. Blanc-Talon, W. Philips, D. Popescu, & P. Scheunders (Eds.), *Lecture notes in computer science: Vol. 4678. Advanced concepts for intelligent vision systems* (pp. 97-108). Springer-Verlag. [https://doi.org/10.1007/978-3-540-74607-2\\_9](https://doi.org/10.1007/978-3-540-74607-2_9)

### 4. Newspaper / Online Newspaper

Brody, J.E. (2007, December 11). Mental reserves keep brain agile. *The New York Times*. <http://www.nytimes.com>

### 5. E-book

Dahlberg, G., & Moss, P. (2005). *Ethics and politics in early childhood education*. <https://epdf.tips/ethics-and-politics-in-early-childhoodeducation-contesting-early-childhood.html>



## **Aim and Scope:**

The Journal of Science and Technology aims to disseminate of scientific knowledge in the discipline of Mathematics, Science, Technology, Engineering, Agriculture, Medicine, Health Science, Interdisciplinary in science and technology. The journal publishes both research article and review article.

## **Ownership**

Maharakham University  
Editorial Office  
Division of Research Facilitation and Dissemination,  
Khamriang Sub-distict, Kantharawichai District,  
Maha Sarakham Province 44150  
Tel & Fax: 0 4371 9827 ext. 1754

## **Advisors**

President of Maharakham University  
Professor Dr.Visut Baimai  
Professor Dr.Vichai Boonsaeng  
Professor Dr.Peerarak Srinives

## **Editor-in-Chief**

Professor Dr.Preecha Prathepha

## **Assistant Editors**

Professor Dr.Pairot Pramual  
Maharakham University  
Professor Dr.Sirithon Siriamornpun  
Maharakham University  
Professor Dr.Anongrit Kangrang  
Maharakham University  
Associate Professor Dr.Worapol Aengwanich  
Maharakham University  
Associate Professor Dr.Vallaya Sutthikhum  
Maharakham University  
Associate Professor Dr.Orawich Goompol  
Maharakham University  
Assistant Professor Dr.Somnuk Puangpronpitag  
Maharakham University

## **Editorial Board**

Professor Dr.Thaweesakdi Boonkerd  
Chulalongkorn University  
Professor Dr.La-orsri Sanoamuang  
Khon Kaen University  
Professor Dr.Pranee Anprung  
Chulalongkorn University  
Professor Dr.Niwat Sonoamuang  
Khon Kaen University  
Professor Dr.Wongsa Laohasiriwong  
Khon Kaen University  
Professor Dr.Kwanjai Kanokmedhakul  
Khon Kaen University

Professor Dr.Sirikasem Sirilak  
Naresuan University  
Associate Professor Dr.Sunan Saikrasun  
Maharakham University  
Associate Professor Dr.Suwanna Boonyaleepun  
Khon Kaen University  
Associate Professor Dr.Chantana Aromdee  
Khon Kaen University  
Associate Professor Dr.Boonchong Chawsithiwong  
National Institute of Development Administration  
Associate Professor Dr.Porntep Tanonkeo  
Khon Kaen University  
Associate Professor Dr.Narumon Sangpradub  
Khon Kaen University  
Associate Professor Dr.Chawalit Boonpok  
Maharakham University  
Associate Professor Terdsak Khammeng  
Nakhon Phanom University  
Associate Professor Yuen Poovarawan  
Kasetsart University  
Associate Professor Dr.Natapol Pumipuntu  
Maharakham University  
Assistant Professor Dr.Napparat Buddhakala  
Rajamangala University of Technology Thanyaburi  
Assistant Professor Dr.Anucha Pranchana  
Ubon Ratchathani Rajabhat University  
Assistant Professor Dr.Seckson Sukhasena  
Naresuan University  
Assistant Professor Dr.Walaiporn Tongjaroenbuengam  
Maharakham University  
Assistant Professor Dr.Alongkorn Lamom  
Maharakham University  
Dr.Rakjinda Wattanalai  
Siam University

## **Secretary**

Director of the Division of Research Facilitation and Dissemination

## **Assistant secretary**

Phakwilai Janloy  
Jirarat Puseerit

## **Six issues per year**

Number 1 January-February  
Number 2 March-April  
Number 3 May-June  
Number 4 July-August  
Number 5 September-October  
Number 6 November-December

วารสาร

# วิทยาศาสตร์ และ เทคโนโลยี

มหาวิทยาลัยมหาสารคาม

ปีที่ 44 ฉบับที่ 6 พฤศจิกายน – ธันวาคม 2568

ISSN (Print) : 2985-2617  
ISSN (Online) : 2985-2625

JOURNAL OF SCIENCE AND TECHNOLOGY  
MAHASARAKHAM UNIVERSITY  
INDEXED IN

