



วารสารวิทยาศาสตร์ประยุกต์ THE JOURNAL OF APPLIED SCIENCE

ISSN 1513-7805 [Print] ISSN 2586-9663 [Online]

ปีที่ 18 ฉบับที่ 1 [2562] Vol.18, No.1 [2019]



ASEAN
CITATION
INDEX



บทความวิจัย

หน้า

1. Electro-flotation harvesting of microalgae using a combination of electrode types 1
2. Light microscopic evidence of spermatogenesis of firefly, *Pyrocoelia tonkinensis* Olivier, 1886 (Coleoptera: Lampyridae) 12
3. The analysis of genomewide SNP data using nonparametric and kernel machine regression 20
4. Larvicidal effects of *Paederia pilifera* Hook.f. leaf and *Cuscuta reflexa* Roxb. stem extracts against the dengue vector mosquito *Aedes aegypti* Linn. 31
5. Bayesian parameters estimation of the negative binomial - two parameter weighted exponential distribution with application in biological data 39
6. การพยากรณ์ความผันผวนของดัชนี SET ด้วยตัวแบบโครงข่ายประสาทเทียม-GARCH 49
Forecasting volatility of SET with artificial neural network-GARCH models
7. การศึกษาประสิทธิภาพของแบคทีเรียตรึงไนโตรเจนอิสระที่แยกจากดินรอบรากข้าวในการผลิตออกซินและจิบเบอเรลลิน 62
Study on the efficiency of free-living nitrogen fixing bacteria isolated from rice rhizospheresoil on auxin and gibberellin production
8. การผลิตน้ำส้มสายชูหมักจากซังขนุนและเมล็ดขนุน 75
Production of vinegar from jackfruit rags and jackfruit seeds
9. การออกแบบแผนภูมิควบคุมผสมค่าเฉลี่ยเคลื่อนที่ถ่วงน้ำหนักแบบเลขชี้กำลังสองครั้ง-ทูเกียโดยใช้ค่าพิสัยเคลื่อนที่ 94
On designing of double exponentially weighted moving average-Tukey control chart based on moving range
10. ตัวแบบเชิงคณิตศาสตร์ของการแพร่กระจายเชื้อวัณโรคในประเทศไทยที่มีปัจจัยของการฉีดวัคซีนและการต่อต้านการรักษาด้วยยา 116
A mathematical model of tuberculosis transmission in Thailand with vaccination and anti-drug treatment

บทความวิชาการ

11. สมการอนุรักษ์ในกลศาสตร์ของไหล 135
Conservation law governing equations in fluid mechanics

วารสารวิทยาศาสตร์ประยุกต์

เป็นวารสารที่ตีพิมพ์และเผยแพร่บทความวิจัยและบทความทางวิชาการเพื่อเป็นสื่อกลางในการเผยแพร่ความรู้และวิทยาการด้านวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยี และเพื่อเป็นแหล่งแลกเปลี่ยนเรียนรู้ระหว่างคณาจารย์ นักวิชาการและนักศึกษา ทั้งภายในและภายนอกมหาวิทยาลัยเทคโนโลยีพระจอมเกล้าพระนครเหนือ บทความที่เสนอมาอาจเขียนเป็นภาษาไทยหรือภาษาอังกฤษก็ได้ วารสารจัดตีพิมพ์ปีละ 2 ฉบับ ผู้สนใจสามารถส่งต้นฉบับแบบออนไลน์ได้โดยตรงที่ www.tci-thaijo.org/index.php/JASCI/index โดยบทความดังกล่าวจะต้องไม่เคยตีพิมพ์เผยแพร่ในการประชุมวิชาการหรือวารสารวิชาการอื่นใดมาก่อน และเป็นข้อคิดเห็นของผู้ส่งบทความเท่านั้น

● วัตถุประสงค์

เพื่อเผยแพร่/พัฒนาผลงานจากการวิจัยและผลงานทางวิชาการที่เกี่ยวข้องทางวิทยาศาสตร์พื้นฐาน วิทยาศาสตร์ประยุกต์ และเทคโนโลยีที่เกี่ยวข้องกับคณิตศาสตร์ สถิติ ฟิสิกส์ อุตสาหกรรม อุปกรณ์การแพทย์ เทคโนโลยีสารสนเทศ เทคโนโลยีชีวภาพ อุตสาหกรรมเกษตร สิ่งแวดล้อม และเคมีอุตสาหกรรม

● กำหนดการเผยแพร่วารสาร ปีละ 2 ฉบับ คือ

ฉบับที่ 1 มกราคม-มิถุนายน ฉบับที่ 2 กรกฎาคม-ธันวาคม วารสารวิทยาศาสตร์ประยุกต์ไม่มีนโยบายเก็บค่าใช้จ่ายในการตีพิมพ์บทความทุกบทความ บทความทุกบทความจะต้องผ่านการพิจารณาจากผู้ทรงคุณวุฒิ อย่างน้อย 2 ท่าน ก่อนที่จะตอบรับการตีพิมพ์ เมื่อวารสารส่งบทความไปให้ผู้พิมพ์แก้ไขแล้ว หากไม่มีการติดต่อกลับภายใน 4 สัปดาห์ ทางวารสารขอปฏิเสธการตีพิมพ์บทความนั้น

● การเผยแพร่วารสาร

จัดส่งให้หน่วยงานห้องสมุด บริการวิชาการและหน่วยงานที่เกี่ยวข้องทั่วประเทศและสามารถค้นหาได้ในเว็บไซต์นี้

● การส่งบทความ

ส่งไฟล์บทความ .doc และ pdf

ที่ [http:// www.tci-thaijo.org/index.php/JASCI/index](http://www.tci-thaijo.org/index.php/JASCI/index)

● สำนักงาน

งานวิจัยและประกันคุณภาพการศึกษา

สำนักงานคณบดี คณะวิทยาศาสตร์ประยุกต์

มหาวิทยาลัยเทคโนโลยีพระจอมเกล้าพระนครเหนือ

1518 ถ.ประชาชาธิ์ 1 บางซื่อ กรุงเทพฯ 10800

โทรศัพท์ 02-5552000 ต่อ 4217

● ที่ปรึกษากองบรรณาธิการ

รศ.ดร.สุรพันธ์	ยิ้มมัน	มหาวิทยาลัยเทคโนโลยีพระจอมเกล้าพระนครเหนือ
รศ.ดร.สมโภชน์	น้อยจินดา	มหาวิทยาลัยเทคโนโลยีพระจอมเกล้าพระนครเหนือ
ผศ.ดร.โดม	โล่ห์เพ็ชร	มหาวิทยาลัยเทคโนโลยีพระจอมเกล้าพระนครเหนือ
ผศ.ดร.พิรพงษ์	พรวงศ์ทอง	มหาวิทยาลัยเทคโนโลยีพระจอมเกล้าพระนครเหนือ

● บรรณาธิการ

รศ.ดร.กิตติ	โพธิ์ปทุมะ	มหาวิทยาลัยเทคโนโลยีพระจอมเกล้าพระนครเหนือ
-------------	------------	--

● รองบรรณาธิการ

รศ.ดร. เสนอ	คุณประเสริฐ	มหาวิทยาลัยเทคโนโลยีพระจอมเกล้าพระนครเหนือ
รศ.ดร.เสาวณิต	สุภารังษี	มหาวิทยาลัยเทคโนโลยีพระจอมเกล้าพระนครเหนือ
รศ.ดร.วีระศักดิ์	อัครวงศ์อารยะ	มหาวิทยาลัยเทคโนโลยีพระจอมเกล้าพระนครเหนือ
ผศ.ดร.สมนต์ทิพย์	คงตันจันทร์พิภ	มหาวิทยาลัยเทคโนโลยีพระจอมเกล้าพระนครเหนือ
ผศ.ดร.วลัยพร	ปฤษณารณ เอื้อใจ	มหาวิทยาลัยเทคโนโลยีพระจอมเกล้าพระนครเหนือ
ผศ.ดร.เบญจพร	ลัษมรรมาภรณ์	มหาวิทยาลัยเทคโนโลยีพระจอมเกล้าพระนครเหนือ
ผศ.ดร.อภิชาติ	ศุภรณ์	มหาวิทยาลัยเทคโนโลยีพระจอมเกล้าพระนครเหนือ
ผศ.ดร.สุกัญญา	แพรสมบูรณ์	มหาวิทยาลัยเทคโนโลยีพระจอมเกล้าพระนครเหนือ

● ผู้ทรงคุณวุฒิในกองบรรณาธิการ

ศ.ดร.ประนอม	จันทร์โทย	มหาวิทยาลัยขอนแก่น
ศ.ดร.ยงควิมล	เลนบุรี	มหาวิทยาลัยมหิดล
ศ.ดร.สังวรณ์	กิจทวี	มหาวิทยาลัยมหิดล
ศ.ดร.วันชัย	ริ้วจุจ	สถาบันเทคโนโลยีพระจอมเกล้าเจ้าคุณทหารลาดกระบัง
รศ.ดร.มนตรี	มาลีวงศ์	มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์
รศ.ดร.คุณิ	อุตภาพ	มหาวิทยาลัยเทคโนโลยีพระจอมเกล้าธนบุรี
รศ.ดร.เฉลิมชัย	วงศ์อารี	มหาวิทยาลัยเทคโนโลยีพระจอมเกล้าธนบุรี
รศ.ดร.สอาด	ริยะจันทร์	มหาวิทยาลัยธรรมศาสตร์
รศ.ดร.สิทธิวัฒน์	เลิศศิริ	มหาวิทยาลัยมหิดล
รศ.ดร.มารินา	เกตุทัต-คาร์นส์	มหาวิทยาลัยเทคโนโลยีสุรนารี
รศ.ดร.วรารุทธิ์	พานิชกิจโกศล	มหาวิทยาลัยธรรมศาสตร์
รศ.ดร.เสน่ห์	รุจิวรรณ	มหาวิทยาลัยวลัยลักษณ์
ผศ.ดร.กนต์พงษ์	วรรณันปัญญา	สถาบันเทคโนโลยีพระจอมเกล้าเจ้าคุณทหารลาดกระบัง
ผศ.ดร.ศุภกานต์	พิมพ์เรศ	จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย
พ.อ.หญิง ผศ.ดร.ปนัดดา	หัตถ์โชติ	วิทยาลัยแพทยศาสตร์ พระมงกุฎเกล้า
ดร.ชีวารัตน์	ม่วงพัฒน์	มหาวิทยาลัยเทคโนโลยีพระจอมเกล้าธนบุรี
Dr.Elvin James Moor		มหาวิทยาลัยเทคโนโลยีพระจอมเกล้าพระนครเหนือ

● ฝ่ายประสานงานและจัดการ

นายภิรมย์	พานู	มหาวิทยาลัยเทคโนโลยีพระจอมเกล้าพระนครเหนือ
นายปิยะวัฒน์	สุธา	มหาวิทยาลัยเทคโนโลยีพระจอมเกล้าพระนครเหนือ
นางสาววิไลพร	ขันแก้ว	มหาวิทยาลัยเทคโนโลยีพระจอมเกล้าพระนครเหนือ
นางสาวดวงใจ	ฉล่องกิตติศักดิ์	มหาวิทยาลัยเทคโนโลยีพระจอมเกล้าพระนครเหนือ

“บทความที่ลงพิมพ์ เป็นข้อคิดเห็นของผู้เขียนเท่านั้น

และจะต้องเป็นผู้รับผิดชอบต่อผลทางกฎหมายใดๆ ที่อาจจะเกิดขึ้นจากบทความนั้น”

Research Article

Electro-flotation harvesting of microalgae using a combination of electrode types

Piyachat Wungmool¹, Nattha Rangsi¹, Nakorn Kumchaiseemak¹, Malee Sutthiopad¹ and Chaiya Luengviriya^{1,*}

¹Department of Physics, Kasetsart University, 50 Phaholyothin Road, Jatujak, Bangkok 10900, Thailand

*E-mail: fscycl@ku.ac.th

Received: 21/11/2018; Revised: 07/02/2019; Accepted: 22/02/2019

Abstract

This study aimed to search for a proper system for electro-flotation harvesting of microalgae *Dunaliella salina* with a minimization of metal contamination. An applied electrical current caused cell aggregation and produced small bubbles which levitated cell clusters to the top surface. Since no electrolytic erosion for cathodes (negative electrodes), we tested the harvesting by using planar cathodes, lying in the bottom of the reactor, made from different materials and forms. For a given electrical current, all cathodes resulted in a similar harvesting efficiency as well as the energy consumption. Unlike the cathode, the anode (positive electrodes) usually erodes in the electrolytic process. To avoid contamination of released metal, we used only graphite plates as the anode. Different settings of graphite anode plates (located above the cathode) were studied. For a given electrical current, all cases of anode settings had a similar harvesting efficiency but the energy consumption increased with the distance between the anode and the cathode. For a given setup of electrodes, we showed that both the harvesting efficiency and the energy consumption increased with the applied electrical current. By considering the above results as well as the fact that the stainless steel plate is cheaper and easier to handle in comparison to the graphite plate, we suggest that a combination of graphite anode and stainless steel cathode is an appropriate set for microalgae harvesting with an avoidance of metal contamination. Furthermore, for a convenience of the collection of the levitated microalgae cells, the top surface should be leaved widely opened by setting the graphite anode plates near the wall of the reactor. Finally, a large scale harvesting of the microalgae cultured with outdoor conditions is demonstrated in Nakhon Ratchasima, Thailand.

Keywords: *Dunaliella salina*, harvesting, electro-flotation, stainless steel, graphite

Introduction

Microalgae have a potential in a wide variety of applications. Microalgae have been considered as the natural sources of energy and bioproducts including carotene (Lamers et al., 2008; Zhu & Jiang, 2008). Several research pathways have been explored to improve the economics of the microalgae production including microalgae harvesting (Christenson & Sims, 2011; Dassey & Theegala, 2013). Different techniques of microalgae harvesting are currently investigated, e.g., chemical coagulation/flocculation, flotation, filtration, centrifugation, and electrical based process. Microalgae utilization is not economically sustainable due to difficult and high cost of harvesting. The operation cost depends on the harvesting method as well as

type of microalgal species. Quantitative and comprehensive cost comparisons of difference harvesting methods and microalgal types can be found in review articles, e.g., Lee et al., 2013; Barros et al., 2015 and Marrone et al., 2017. While centrifugation can harvest most algal types with rapid cell harvesting, its operational cost is much higher than others. The operation cost of other methods is quite similar.

Flotation is a process where gas bubbles fed to the liquid medium providing a lifting force needed for particle transport and separation. Electro-flotation generates bubbles through electrolysis (Baierle et al., 2015; Zhou et al., 2016; Vandamme et al., 2011). The generation of these bubbles can be done at both electrode and coupled with the electro-coagulation that occurs through the electrolytic oxidation that happens at the cathode (Gao et al., 2010). Separation by such flotation depends on bubble flux and size (Coward et al. 2014).

Electro-flotation harvesting of microalgae has been recently investigated by using electrodes made from various kinds of metals including Fe, Al, Cu, Mg and stainless steel. (Bleeke et al., 2015; Ryu et al., 2018; Ghernaout et al., 2014; Xu et al., 2010; Zenouzi et al., 2013; Shuman et al., 2015; Dassey & Theegala, 2014; Barros et al., 2015). During an application of electrical current, the positive electrodes release metal ions into the medium. These residual metal ions potentially act as coagulant and liberate adversely affecting microorganisms due to their toxicities in aqueous and microalgae biomass (Kim et al., 2012). An avoidance of this metal contamination has been demonstrated by using graphite plates for both positive and negative electrodes (Misra et al., 2014; Zhou et al., 2016).

In this article, we presented a study of microalgae harvesting using electro-flotation. To avoid adding metal contamination into the harvested microalgae, graphite plates were used as the anode which usually eroded by electrolysis. In contrast, an applied electrical current does not cause erosion of cathode. Therefore, we tested cathode plates made from different materials and forms. Then, the configuration of graphite anode as well as the electrical current were varied. A proper setup of electrodes was designed by considering the harvesting efficiency and energy consumption. Finally, a harvesting of the microalgae in a large scale was demonstrated.

Materials and methods

Microalgae *Dunaliella Salina* strain KU 11 (Wu et al., 2017) were cultured in transparent glass chambers (30 cm × 60 cm × 40 cm) using a modified Jonson's medium with 2 M NaCl (Wu et al., 2017). Each chamber contained 50 litres of medium and illuminated by fluorescent lamps with an average light intensity of 54 $\mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$ from top for 24 h day⁻¹. Harvesting experiments were carried out when the microalgae cultured for 14 days and the cell density was about 14.1×10^6 cells ml⁻¹.

As shown in Figure 1, the experiments were conducted using 4.0 liters of the microalgae culture in a transparent rectangular reactor with dimensions of 5 cm × 30 cm × 35 cm. The cathode plate was laid in the bottom of the reactor while the anode was set (either vertically or horizontally) above the cathode. An electrical current was applied using a DC power supply (Wanptek, Model KPS0D) in constant current mode.

The effect of electrode types as well as their configuration on the microalgae harvesting was studied. Four different cathodes (lying in the bottom of the reactor) were investigated; cathode I: a stainless steel plate with dimensions 4 cm × 28 cm × 0.1 cm, cathode II: a stainless steel plate with dimensions 2 cm × 28 cm × 0.1 cm, cathode III: a perforated stainless steel plate with dimensions 4 cm × 28 cm × 0.1 cm, 3-mm round holes and 40% open area, and cathode IV: a graphite plate with dimensions 4 cm × 28 cm × 1 cm

To avoid contamination of metals usually released from electrolytic erosion, we used the anodes made from only graphite. Four configurations of the anodes were tested in the setup using only cathode I. A couple of graphite plates with dimensions of 4 cm × 35 cm × 1 cm was set vertically at the left and the right of the reactor. The space between the cathode and the anode was varied for three cases: 1, 10, and 20 cm as anode I, II and III, respectively. The fourth configuration (anode IV) was a single graphite plate with dimensions of 4 cm × 28 cm × 1 cm, which was set horizontally with a distance of 20 cm apart from the cathode.

The influence of applied electrical current on the microalgae harvesting was examined in a setup with a couple of vertical graphite anodes setting at 1 cm (anode I) apart from a stainless steel cathode I (4 cm × 28 cm × 0.1 cm in dimensions). The applied electrical current was varied as 2, 4, and 8 A.

To determine the harvesting efficiency, 10 ml samples were collected from the middle of the reactor every minute during the experiments. The optical density of the samples was measured by using a spectrometer (Ocean optics, model HRS-4000). The harvesting efficiency was determined from the reduction in the optical density at a wavelength of 550 nm (OD_{550}) as

$$\text{harvesting efficiency (\%)} = (1-A/B) \times 100,$$

where A is the OD_{550} at time t and B is the OD_{550} before the application of the electrical current. The culture medium is used as the blank in the measurements so that in a null test (without microalgae), its optical density A is zero. The electrical energy consumption was estimated from the applied electrical current I (A), the applied voltage V (V), time t (h) and the microalgae volume L (m^{-3}) as

$$\text{energy consumption} = I \times V \times t / (1000 \times L)$$

which has a unit of kWh m^{-3} as usually reported (Barros et al., 2015).

To demonstrate the microalgae harvesting in a commercial scale, the microalgae *Dunaliella Salina* strain KU 11 were cultured in raceway tanks with a volume of 800 liters with outdoor conditions (Wu et al., 2017) in a salt production company located in Nakhon Ratchasima, Thailand (15° 8.4 N, 101° 9.4 E).

Microalgae biomass was harvested in a large transparent rectangular reactor with dimensions of 50 cm × 100 cm × 50 cm. Four graphite anodes (45 cm × 50 cm × 1 cm in dimensions) were placed vertically close to two opposite walls and above a stainless cathode plate (45 cm × 90 cm × 0.1 cm) which was laid at the bottom. A strong electrical current 120 A (the voltage of 12 V) was applied from a DC power supply (MEAN WELL SE-1500-12).

Results and discussion

Figure 1 demonstrates an example of the microalgae harvesting using electro-flotation. Prior to the application of the electrical current, the microalgae culture appeared dark green as in Figure. 1(a) and had a high optical density. When the electrical current was applied, many small bubbles generated from the electrolysis were distributed throughout the reactor. In the course of time, the bubbles as well as the levitated microalgae gradually accumulated as foam at the top surface. In Figure 1(b), the medium became lighter green at 5 min after the application of the electrical current and the harvesting efficiency was 49.3%. When most of the microalgae were lifted to the surface, the foam at the top surface appeared as two layers: a green layer with concentrated microalgae lying above a white layer composed of tiny bubbles

(e.g. in Figure 1(c) and Figure 1(d) where the harvesting efficiency was 87.3% and 90.0%, respectively).

Figure 2 shows an example of cell aggregation of the microalgae *Dunaliella salina* induced by the applied electrical current. The microalgae are small single cells distributed throughout the culture medium, e.g., in Figure 2(a). These microalgae cells behave like suspension since they have negative charged surface (Vandamme et al., 2013). After an application of electrical current, e.g., 4 A for 5 min shown in Figure 1(b), the single cells were induced to form larger clusters, e.g., in Figure 2(b) and Figure 2(c). The cell clusters were much larger than the individual single cells. Since larger particles can easier to be lifted by bubbles so that the microalgae harvesting is facilitated by such the electrically induced cell aggregation, as reported earlier for other microalgae cells, e.g., *Chlorella Sp.* (Zhou et al., 2016) and *Scenedesmus acuminatus* (Bleeke et al., 2015).

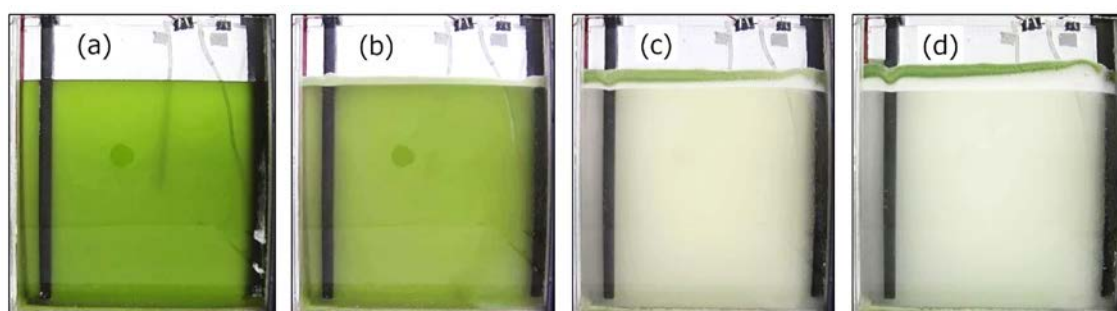


Figure 1. Microalgae harvesting using an electro-flotation. Sequential images (a) – (d) illustrate the experimental results at 0, 5, 10 and 15 min, respectively. A stainless steel cathode (4 cm × 28 cm × 0.1 cm in dimensions, cathode I) was laid in the bottom and a couple of vertical graphite anodes (anode I) was set at 1 cm above it. The applied current was 4 A.

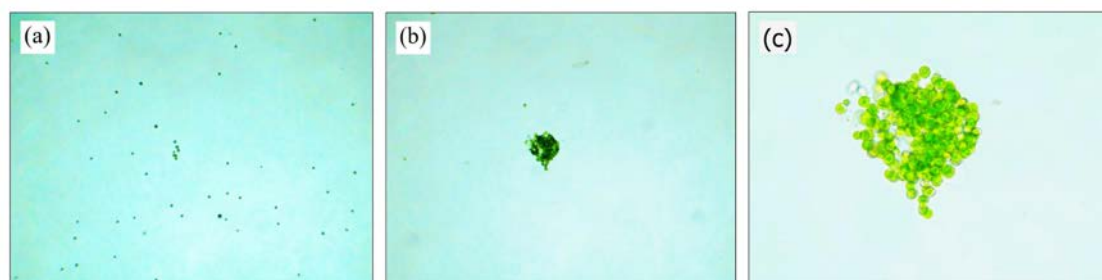


Figure 2. Images of microalgae *Dunaliella salina* under microscope: (a) a 10x image of single cells that stayed separately in the culture medium, (b) a 10x image and (c) a 40x image of a large cluster of the cells induced by an applied electrical current.

Figure 3 shows the harvesting efficiency obtained from the setup with four different cathodes. In these experiments, the anode I, a couple of vertical graphite plates at 1 cm above the cathode (as shown in Figure 1), was used and the applied electrical current was 4 A. All cathodes gave similar curves of the harvesting efficiency. At the beginning, the harvesting efficiency increased very fast. At 10 min, the harvesting efficiency reached about 80% for

cathode IV (made from graphite) while other three cathodes gave a higher efficient of about 87%. For longer times, the harvesting efficiency still increased but with slower rate: at 20 min, the harvesting efficiency from all cathodes reached similar values of 89% and 97% at 15 and 20 min after the application of electrical current. Thus, in the initial phase of 10 min, the graphite cathode gives a lower harvesting efficiency than the stainless steel cathodes while all cathodes provide similar efficiency after 15 min.

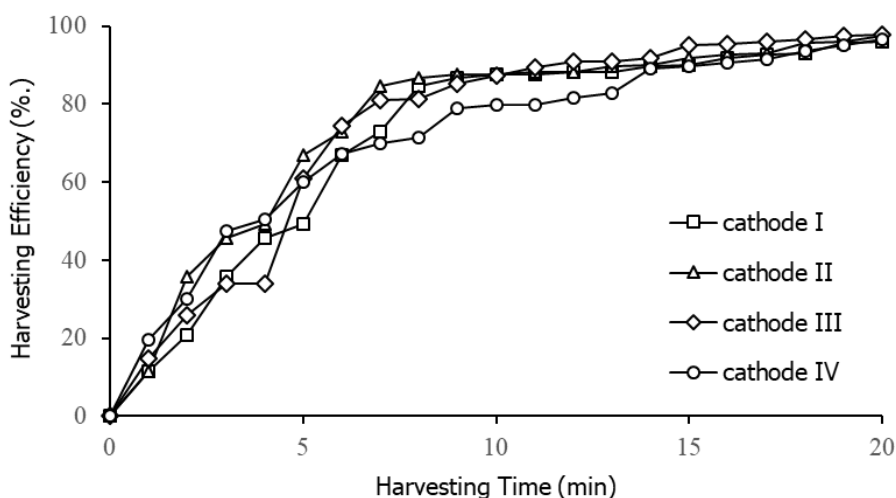


Figure 3. Efficiency of the harvesting using different cathodes; cathode I: a stainless steel plate (4 cm × 28 cm × 0.1 cm), cathode II: a stainless steel plate (2 cm × 28 cm × 0.1 cm), cathode III: a perforated stainless steel plate (4 cm × 28 cm × 0.1 cm, 3-mm round holes and 40% open area), and cathode IV: a graphite plate (4 cm × 28 cm × 1 cm). A couple of vertical graphite plates was placed 1 cm (Anode I) above the cathode.

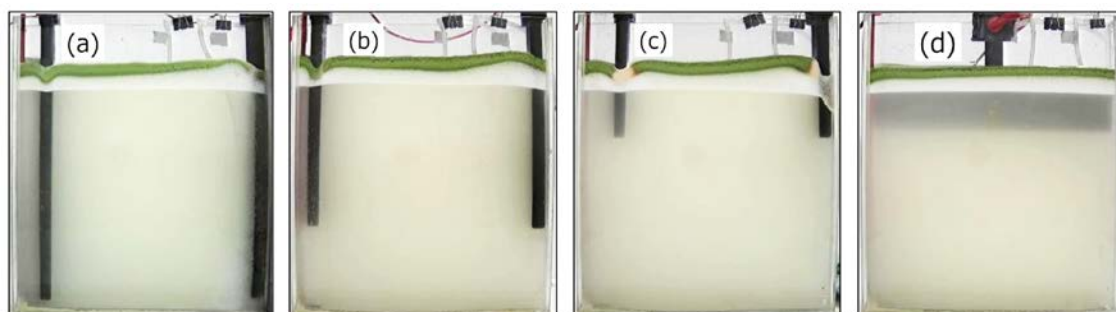


Figure 4. Microalgae harvesting with different anode configurations. A stainless steel cathode (4 cm × 28 cm × 0.1 cm in dimensions, cathode I) was laid in the bottom. (a) – (c) A couple of graphite anodes was set vertically at the left and the right with a distance of 1 cm (anode I), 10 cm (anode II), and 20 cm (anode III) above the cathode I. (d) A graphite anode was set horizontally with a distance of 20 cm (anode IV) above the cathode I. The images were taken at 15 min after electrical current application.

Microalgae harvesting by using four different configurations of graphite anodes was studied in cooperation with cathode I. As shown in Figure 4, when most of the cells were harvested, i.e., when the harvesting efficiency was more than 80%, typical foam layers composed of a green layer of concentrated microalgae lying above a white layer of small bubbles occurred in all cases. Note that for the cases of a couple of vertical graphite plates in Figures. 4(a) – 4(c), the foam layers close to the anodes were thicker than those at other positions while for the case of horizontal graphite plate, the foam was distributed evenly through the length of the reactor. This comes from the fact that the bubbles produced from the vertical graphite plates moved up nearby the plates but the horizontal plate generated the bubbles those raised evenly throughout the length of the plate.

The harvesting efficiency from experiments using four different anode configurations (see Figure 4) are shown in Figure 5. Similar to the results in Figure 3, after the application of electrical current was started, the harvesting efficiency grew up very fast and exceeded 80% within 10 min for all anode configurations. Then, it increased slowly. After 6 min, the harvesting efficiency of anode IV was higher than the others while that of anode III was the lowest. However, all curves reached similar values of 96-98% at 20 min.

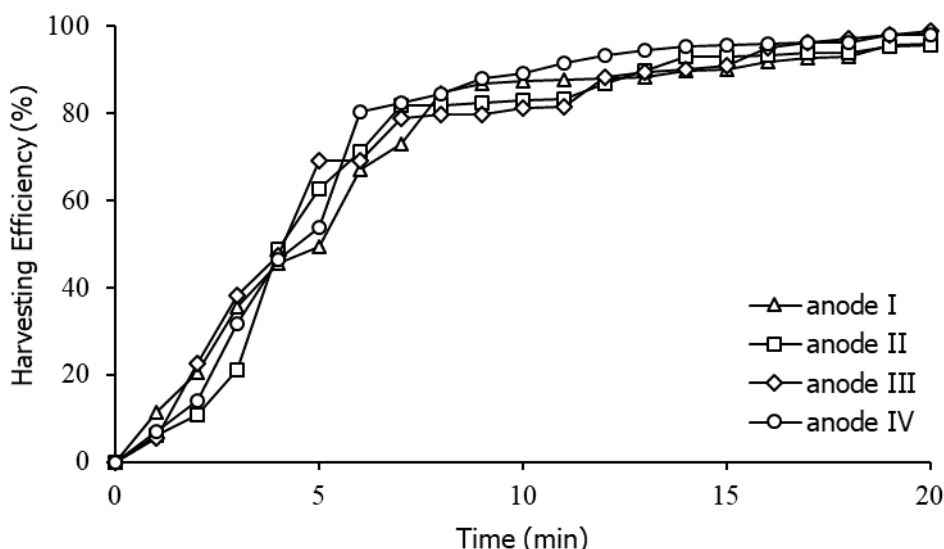


Figure 5. Efficiency of the harvesting using different configurations of the anodes. The curves labeled anode I, anode II, anode III, and anode IV were obtained from experiments using the setups in Figures 4(a) – 4(d), respectively.

Figure 6 shows the harvesting efficiency from experiments using different applied electrical current. The electrodes were set as in Figure 1. It can be seen clearly from the graphs that the higher electrical current results in the higher harvesting efficiency at all time of the experiments. Similar to the previous results in Figure 3 and Figure 5, the typical graph shape in which a fast increment of the harvesting efficiency was followed by a slower grow up. The first interval of such fast increment depends on the applied current: For 2, 4, and 8A, the harvesting efficiency reaches 77.4%, 84.7%, and 91% at 10, 8, and 5 min, respectively. The very strong current provided 100% of harvesting efficiency at 13 min while the cases of 2 and 4 A, the harvesting efficiency reaches 92.4% and 96.0% at 20 min. These present effect of electrical

current on the harvesting agree to the study using other microalgae *Chlorella vulgaris* and *Phaeodactylum tricornutum* where the electrodes made from aluminum and iron (Vandamme et al., 2011).

The energy consumption of the electro-flotation harvesting are summarized in Table 1. It was calculated from the harvesting time of 15 min where in most of the experiments the harvesting efficiency was at least 90%, except for the lowest current of 2A with the harvesting efficiency of 82.8%. For the setups with anode I and the applied current 4 A, all cathode I-IV gave very similar energy consumption values of around 1.0 – 1.1 kWh m⁻³ (see setups 1-4 in Table 1). In contrast, the graphite anode configuration strongly affected energy consumption: an enlargement of the cathode-anode spacing from 1 to 20 cm resulted in an increment of both the voltage (from 4.1 to 7.0 V) and the energy consumption from 1.03 to 1.75 kWh m⁻³ in setups using cathode I and the current 4 A (setups 1, 5-7). Note that the setups 1-7, where the applied current was fixed at 4 A, provided similar harvesting efficiencies around 90-96%. For a given set of electrodes, both the harvesting efficiency and the energy consumption clearly increased with the applied electrical current. By comparing setups 1, 8, and 9, the increasing of the applied electrical current from 2 to 8 A caused a raise of the harvesting efficiency from 83% to 99%, however, the energy consumption increased from 0.41 to 1.63 kWh m⁻³.

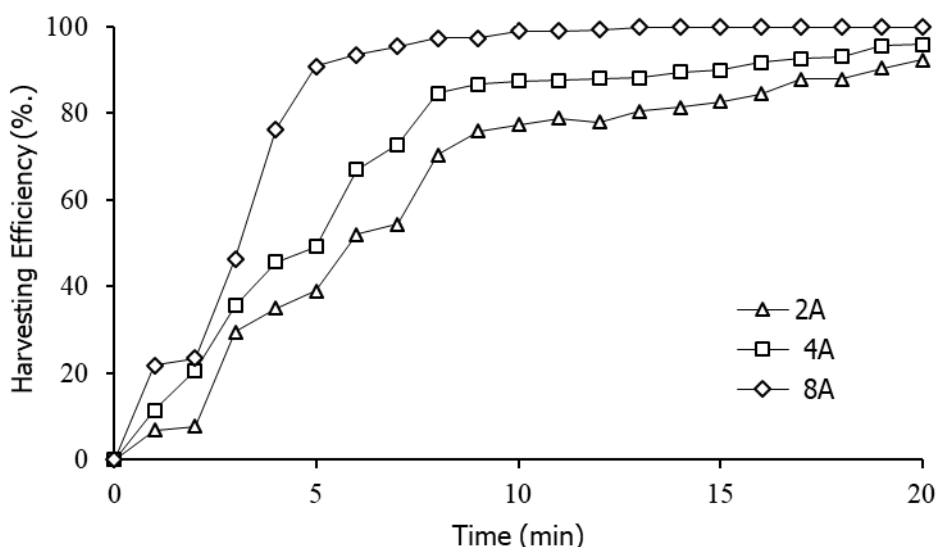


Figure 6. Effect of the applied electrical current on the harvesting efficiency. The setup composed of cathode I and anode I, as shown in Figure 1, were used.

Although the results show that the setups using different cathodes give approximately similar harvesting efficiency and consume similar energy, a stainless steel plate is more suitable to be used as the cathode as the following reasons. A graphite plate is fragile so it is prone to be broken during operation. It is difficult to produce a graphite plate thinner than 1 cm so it results in a relatively high production cost of a graphite plate, in comparison to, e.g., a stainless steel plate with the same area size. Finally, in comparison to other cheap metals, stainless steel is robust against corrosion caused by the culture medium of *Dunaliella salina* which contains high concentration of NaCl and other chemicals.

The setups with different anode settings provided a similar harvesting efficiency but the energy consumption increased when the anode was set farer from the cathode. These results agree to previous reports where both the cathode and the anode are made from the same materials: graphite (Zhu et al., 2016) or stainless steel (Gheraout et al. 2015). For a given distance from the cathode, the orientation of the anode, i.e., vertical or horizontal setup, does not affect the harvesting process. Furthermore, the top surface of the reactor should be leaved widely opened to facilitate the collection of the foam of concentrated microalgae cells (foam layers in Figure 1 and Figure 4) during the application of electrical current. Therefore, vertical graphite plates setting close to the stainless steel cathode and near the walls of the reactor are appropriate to be used as the anode.

Table 1. Energy consumption and harvesting efficiency of different setups at 15 min.

setup	electrodes	space (cm)	current (A)	voltage (V)	harvesting efficiency (%)	energy consumption (kWh m ⁻³)
1	cathode I, anode I	1	4.0	4.1	90.00	1.03
2	cathode II, anode I	1	4.0	4.1	91.83	1.03
3	cathode III, anode I	1	4.0	4.2	95.03	1.05
4	cathode IV, anode I	1	4.0	4.3	89.76	1.08
5	cathode I, anode II	10	4.0	5.6	93.12	1.40
6	cathode I, anode III	20	4.0	7.0	90.88	1.75
7	cathode I, anode IV	20	4.0	7.0	95.76	1.75
8	cathode I, anode I	1	2.0	3.3	82.8	0.41
9	cathode I, anode I	1	8.0	4.9	99.00 ^a	1.63 ^a

^a The results were obtained at 10 min.

To demonstrate the microalgae harvesting in a commercial scale, the microalgae *Dunaliella salina* was cultivated with outdoor conditions in a raceway tanks as in Figure 7(a). We enlarge the electrodes composed of a stainless steel cathode plate lying in the bottom of the reactor and four graphite anode plates setting vertical above the cathode and near the two opposite walls. The microalgae harvesting volume was scaled up 50 times of the laboratory scale so that the reactor was enlarged from 5 cm × 30 cm × 35 cm (as in Figure 1) to 70 cm × 100 cm × 50 cm. The scale up was mainly done in the width direction from 5 cm to 100 cm (20 times). To increase the stability of the large reactor, the length was extended from 30 cm to 70 cm (about 2.33 times). The height of the reactor was increased from 35 cm to 50 cm and the height of the culture medium in the reactor was set to about 30 cm so that the culture medium were about 200 L.

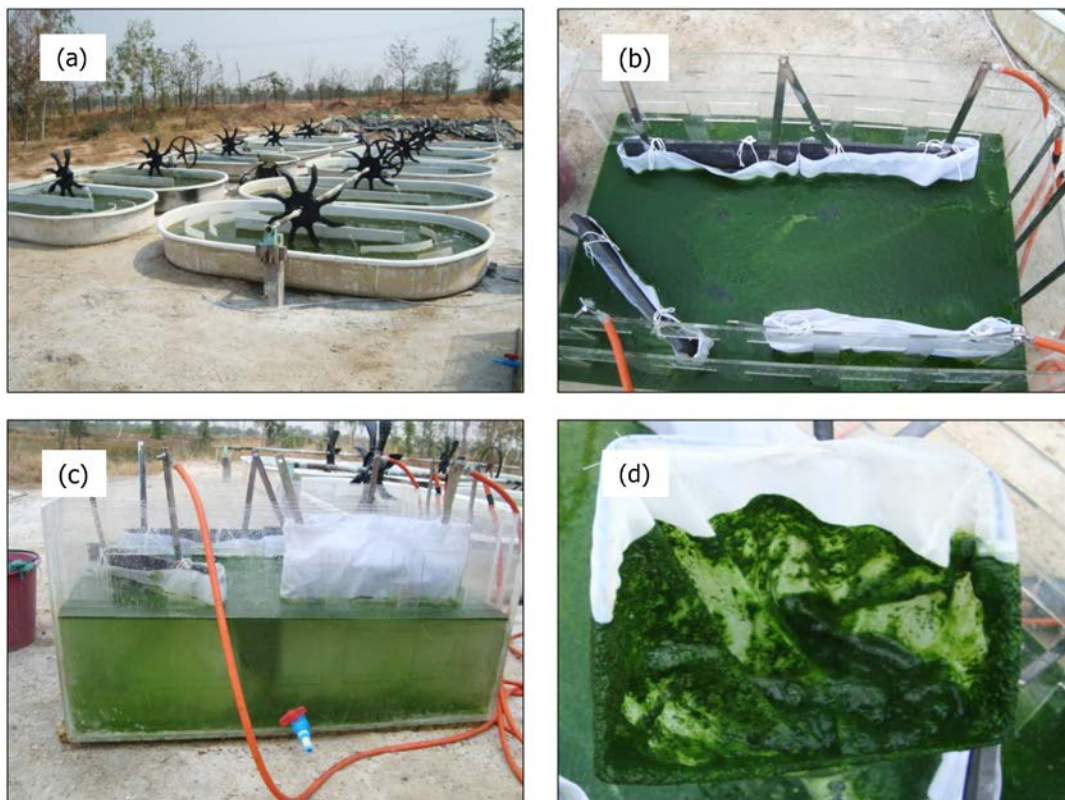


Figure 7. The microalgae harvesting in a commercial scale using a combination of electrode types. (a) The microalgae *Dunaliella salina* was cultured with outdoor conditions in raceway tanks. (b) During the harvesting, the cells were lifted at the top surface while (c) the medium below was clear. (d) The concentrated microalgae at the top surface was collected by using a colander.

Conclusion

We have presented an investigation of electro-flotation microalgae harvesting using different electrodes. When an electrical current was applied, the single-cell microalgae *Dunaliella salina* were induced to form larger clusters those subsequently were lifted by small bubbles to the top surface as a foam layer. While a graphite plate was used as the anode, all cathodes (stainless steel plate, perforated stainless steel plate and graphite plate) gave a similar harvesting efficiency as well as energy consumption. For a given electrical current, the energy consumption was reduced by setting the graphite anode close to the cathode while the harvesting efficiency was not altered. For a given setup of electrodes, an increasing of electrical current resulted in a reduction of the harvesting time and also an increment of the final harvesting efficiency; however, more energy was consumed. Finally, a large scale harvesting using a combination of graphite anode and stainless steel cathode, while metal released from the anode was avoided, was demonstrated for the microalgae *Dunaliella salina* cultured with outdoor conditions in a salt production company located in Nakhon Ratchasima, Thailand.

Acknowledgements

The authors would like to thank the Faculty of Science, the Research and Development Institute (KURDI), the Center for Advanced Studies of Industrial Technology, and the Graduate School, Kasetsart University; and Agricultural Research Development Agency (Public Organization) for financial support.

References

- Baierle, F., John, D. K., Souza, M. P., Bjerk, T. R., Moraes, M. S. A., Hoeltz, M. et al. (2015). Biomass from microalgae separation by electroflotation with iron and aluminium spiral electrodes. *Chemical Engineering Journal*, 267, 274-281. <https://doi.org/10.1016/j.cej.2015.01.031>
- Barros, A. L., Gonçalves, A. L., Manuel, S. & Pires, J. C. M. (2015). Harvesting techniques applied to microalgae: A review. *Renewable and Sustainable Energy Reviews*, 41, 1489-1500. <https://doi.org/10.1016/j.rser.2014.09.037>
- Bleeke, F., Quante, G., Winckelmann, D. & Klock, G. (2015). Effect of voltage and electrode material on electroflocculation of *Scenedesmus acuminatus*. *Bioresources and Bioprocessing*, 2, 36. <https://doi.org/10.1186/s40643-015-0064-6>
- Christenson, L. & Sims, R. (2011). Production and harvesting of microalgae for wastewater treatment, biofuels, and bioproducts. *Biotechnology Advances*, 29, 686-702. <https://doi.org/10.1016/j.biotechadv.2011.05.015>
- Coward, T., Lee, J. G. M. & Caldwell, G. S. (2014). The effect of bubble size on the efficiency and economics of harvesting microalgae by foam flotation. *Journal of Applied Phycology*, 27, 733-742. <https://doi.org/10.1007/s10811-014-0384-5>
- Dassey, A. J. & Theegala, C. S. (2013). Harvesting economics and strategies using centrifugation for cost effective separation of microalgae cells for biodiesel applications. *Bioresource Technology*, 128, 241-245. <https://doi.org/10.1016/j.biortech.2012.10.061>
- Dassey, A. J. & Theegala, C. S. (2014). Reducing electrocoagulation harvesting costs for practical microalgal biodiesel production. *Environmental Technology*, 35, 691-697. <https://doi.org/10.1080/09593330.2013.842602>
- Gao, S., Yang, J., Tian, J., Ma, F., Tu, G. & Du, M. (2010). Electro-coagulation-flotation process for algae removal. *Journal of Hazardous Materials*, 177, 336-343. <https://doi.org/10.1016/j.jhazmat.2009.12.037>
- Ghernaout, D., Benblidia, C. & Khemici, F. (2015). Microalgae removal from Ghrib Dam (Ain Defla, Algeria) water by electroflotation using stainless steel electrodes. *Desalination and Water Treatment*, 54, 12. <https://doi.org/10.1080/19443994.2014.907749>
- Kim, J., Ryu, B. G., Kim, B. K., Han, J. I. & Yang, J. W. (2012). Continuous microalgae recovery using electrolysis with polarity exchange. *Bioresource Technology*, 111, 268-275. <https://doi.org/10.1016/j.biortech.2014.04.096>
- Lamers, P. P., Janssen, M., De Vos, R. C. H., Bino, R. J. & Wijffels, R. H. (2008). Exploring and exploiting carotenoid accumulation in *Dunaliella salina* for cell-factory applications. *Trends in Biotechnology*, 26, 631-638. <https://doi.org/10.1016/j.tibtech.2008.07.002>
- Lee, A. K., Lewis, D. M., Ashman, P. J. (2013). Harvesting of marine microalgae by electroflocculation: The energetics, plant design, and economics. *Applied Energy*, 108, 45-53. <https://doi.org/10.1016/j.apenergy.2013.03.003>

- Marrone, B.L., Lacey, R.E., Anderson, D.B., Bonner, J., Coons, J., Dale, T. et al. (2017). Review of the harvesting and extraction program within the National Alliance for Advanced Biofuels and Bioproducts. *Algae Research*, 33, 470-485. <http://dx.doi.org/10.1016/j.algal.2017.07.015>
- Misra, R., Guldhe, A., Singh, P., Rawat, I. & Bux, F., (2014). Electrochemical harvesting process for microalgae by using nonsacrificial carbon electrode: A sustainable approach for biodiesel production. *Chemical Engineering Journal*, 255, 327-333. <https://doi.org/10.1016/j.cej.2014.06.010>
- Ryu, B. G., Kim, J., Han, J. I., Kim, K., Kim, D., Seo, B. K. et al. (2018). Evaluation of an electro-flotation-oxidation process for harvesting bio-flocculated algal biomass and simultaneous treatment of residual pollutants in coke wastewater following an algae-bacterial process. *Algal Research*, 31, 497-505. <https://doi.org/10.1016/j.algal.2017.06.012>
- Shuman, T. R., Mason, G., Marsolek, M. D., Lin, Y., Reeve, D. & Schacht, A. (2015). An ultra-low energy method for rapidly pre-concentrating microalgae. *Bioresource Technology*, 158, 217-224. <https://doi.org/10.1016/j.biortech.2014.02.033>
- Vandamme, D., Pontes, S. C. V., Goiris, K., Foubert, I. & Pinoy, L. J. J. (2011). Evaluation of electro-coagulation-flocculation for harvesting marine and freshwater microalgae. *Biotechnology and Bioengineering*, 108, 2320-2329. <https://doi.org/10.1002/bit.23199>
- Vandamme D., Foubert I. & Muylaert K. (2013). Flocculation as a low-cost method for harvesting microalgae for bulk biomass production. *Trends in Biotechnology*, 31, 233-239. <https://doi.org/10.1016/j.tibtech.2012.12.005>
- Wu, Z., Dejitsakdi, W., Kemanee, P., Ma, C., Arirob, W., Sathasivam, R. & Juntawong, N. (2017), Outdoor cultivation of *Dunaliella salina* KU 11 using brine and saline lake water with raceway ponds in northeastern Thailand. *Biotechnology and Applied Biochemistry*, 64(6), 938-943. <https://doi.org/10.1002/bab.1537>
- Xu, L., Wang, F., Li, H. Z., Hu, Z. M., Guo, C. & Liu, C. Z. (2010). Development of an efficient electroflocculation technology integrated with dispersed-air flotation for harvesting microalgae. *Chemical Technology and Biotechnology*, 85(11), 1504-1507. <https://doi.org/10.1002/jctb.2457>
- Zenouzi, A, Ghobadian, B., Hejazi M. & Rahnemoon, P. (2013). Harvesting of microalga *Dunaliella salina* using electroflocculation. *Agricultural Science and Technology*, 15, 879-888. <http://hdl.handle.net/123456789/4389>
- Zhou, W., Cheng, W., Chen, L., Wang, J. & Wang, H. (2016). Electro-flotation of *Chlorella* sp. assisted with flocculation by chitosan. *Algae Research*, 18, 7-14. <https://doi.org/10.1016/j.algal.2016.05.029>
- Zhu, Y. H. & Jiang J. G. (2008). Continuous cultivation of *Dunaliella salina* in photobioreactor for the production of β -carotene. *European Food Research and Technology*, 227(3), 953-959. <https://doi.org/10.1007/s00217-007-0789-3>

Research Article

Light microscopic evidence of spermatogenesis of firefly, *Pyrocoelia tonkinensis* Olivier, 1886 (Coleoptera: Lampyridae)

Sinlapachai Senarat^{1,*}, Lamai Thongboon², Jes Kettratad¹,
Wannee Jiraungkoorskul³, Narit Thaochan⁴, Theerakamol Pengsakul⁵,
Pisit Poolprasert⁶, Chamnan Para⁷ and Paradorn Dokchan⁸

¹Department of Marine Science, Faculty of Science, Chulalongkorn University, Bangkok 10330, Thailand

²Department of Biology, Faculty of Science, Prince of Songkla University, Songkhla 90112, Thailand

³Department of Pathobiology, Faculty of Science, Mahidol University, Bangkok 10400, Thailand

⁴Department of Pest Management, Faculty of Natural Resources, Prince of Songkla University, Songkhla 90112, Thailand

⁵Faculty of Medical Technology, Prince of Songkla University, Songkhla 90110, Thailand

⁶Program of Biology, Faculty of Science and Technology, Pibulsongkram Rajabhat University, Phitsanulok 65000, Thailand

⁷Department of Western Languages and Linguistics, Faculty of Humanities and Social Sciences, Mahasarakham University, Mahasarakham 44150, Thailand

⁸Environmental Entomology Research and Development Center, Kasetsart University, Kamphaengsaen Campus, Nakhonpathom 73140, Thailand

*E-mail: Senarat.S@hotmail.com

Received: 07/09/2018; Revised: 18/12/2018; Accepted: 21/01/2019

Abstract

The description of the firefly reproductive structure is relatively under-researched. Therefore, we initially observed the differentiating stages of spermatogenesis in the adult male firefly, *Pyrocoelia tonkinensis*, which could be the very first report in Thailand. All firefly specimens gathered from Nakhon Si Thammarat province, Thailand, were processed using the standard histological technique. It was divulged that a pair of testicular structure with several sperm tubules was seen. The stage of spermatogonia within testis follicle could be divided into three main zones, namely zone I (growth), zone II (maturation), and zone III (transformation). In this process, each zone contained the differentiating stages of spermatogenesis, which was classified into six stages based on size differences and the histological organization (especially in the chromatin organization) including spermatogonia, primary spermatocytes, secondary spermatocyte, spermatids with two sub-steps, and spermatozoa. The detailed information about male *P. tonkinensis* reproduction could generate not only a baseline data to be better known but also contribute to the future works regarding ultrastructure and physiology of the reproductive system. This would then be supportive of the conservation and management of the firefly in Thailand.

Keywords: firefly, histology, reproduction, sperm cell, Thailand

Introduction

Several investigations concerning the reproductive system of arthropod species have been exclusively observed because it is fundamental for ecology and physiology as well as the

species conservation. Then, this information has been used in various documents, such as in the biological control and the outbreak of insect pests. Regarding previous studies, they speculated that the structure and ultrastructure of the reproductive insects were a complex process of cellular development and morphological changes (Gerber et al., 1971; Karakaya et al., 2012; Özyurt et al., 2013). The histology of the insect reproductive system was composed of two distinct parts including gonadal tissue and reproductive duct (Drecktrah, 1966; Özyurt et al., 2013). The similar pattern had been reported in dock bug, *Coreus marginatus* (Hemiptera: Coreidae) (Karakaya et al., 2012), shield bug, *Graphosoma lineatum* (Hemiptera: Pentatomidae) (Özyurt et al., 2013), and common emigrant, *Catopsilia pomona* (Lepidoptera: Pieridae) (Tongjeen et al., 2014); however, the knowledge of a basic structure of the reproduction in firefly is currently limited in Thailand and still has wide rooms for the further investigation.

Fireflies, also knowns as lightning bugs or glow-worms, are one of the beetles belonging to the family Lampyridae (order Coleoptera). They are considered being beneficial beetles in which their larvae can act as natural enemies for suppressing slugs and snails in natural or agricultural systems (Mckenna & Farrell, 2009; Branham, 2010). Despite their ecological importance, the reproductive biology regarding microscopic structure has been left unexplored. As part of on-going research on the reproductive system of Thai insect groups, the adult male firefly, *Pyrocoelia tonkinensis* Olivier, 1886, one of the most critical lampyrids, their reproductive structure were chosen to study. This firefly is endemic to Southern Asia including Thailand (Jeng et al., 1999). In this regard, a quest for a description of the spermatogenesis of *P. tonkinensis* was initiated using the histological technique. The outcomes of this project could provide the in-depth understandings on the male reproductive structure for the purpose to support the reproductive cycle and management of the firefly in Thailand.

Materials and methods

Ten adult male *Pyrocoelia tonkinensis* fireflies with body length of 1.50 ± 1.91 cm (mean $\pm$ S.D.) were observed during breeding season from the rubber plantation during the rainy season (October to December 2016) at Chawang District, Nakhon Si Thammarat Province, Thailand ($8^{\circ}28'10''$ N, $99^{\circ}29'45''$ E). They were euthanized by rapid cooling shock (Wilson et al., 2009) and fresh specimens were fixed with Davidson's fixative solution (~ 48 hr) for histological technique (Dietrich & Krieger, 2009).

According to a standard histological technique, the abdominal segments of *P. tonkinensis* were to be detached and processed (Presnell & Schreibman, 1997; Suvarna et al., 2013), embedded in paraffin, sectioned at 4 μ m thickness, and finally stained with Harris's haematoxylin and eosin (H&E) (Presnell & Schreibman, 1997; Suvarna et al., 2013). After staining, a structure of the testicular structure and spermatogenesis of *P. tonkinensis* were investigated and photographed with a digital light microscope (Leica TE750-Ua, Boston Industries, Inc., USA). Each stage of the spermatogenesis was performed with 50 randomized cell per slide under Leica light microscope (40X) by a standard program LAS version 4.9.

Results and discussion

Several investigations of the gonadal structure in the insect have previously reported (Bahadur, 1975; Bairati, 1968; Ferreira et al., 2004; Wheeler and Krutzsch, 1992); however, the records of histological observations showed that the study on reproductive histology of firefly is rarely known (Demary, 2005; South et al., 2008). Therefore, this study was conducted to continuously observe the increased information on firefly reproduction under light microscopy.

All samples from our study showed that all insects were histologically considered to be a sexually mature testis because the testis of male *P. tonkinensis* was composed of several sperm tubules in the abdominal region (Figure 1A) where the mature sperms were stored (Figure 1B). It was similar to those observed in other insect groups (Adams, 2001; Freitas et al., 2010; Karakaya et al., 2012). The histological examination of the sperm tubule was enclosed by a thin layer of connective tissue (Figure 1C).

Based on the differential stage of male germ cell within the sperm tubule, it could be categorized into vitellarium and germarium (Figure 1D). At the overall histology of sperm tube, only spermatogonia frequency distribution was easily distinguished and produced within the vitellarium at the outer rim of the tubule near the adipose tissue (Figures 1C-1D). After the vitellarium region, the presence of the germarium continuously occurred and was classified into three sub-zones: growth, maturation, and transformation (Figure 1D). This feature was relatively similar to some insects (Tongjeen et al., 2014; Özyurt et al., 2014).

The observation on the growth zone indicated that it usually contained only spermatocytes (Figure 1D & 2A) whereas an apparent formation of the maturation zone consisted of the spermatids under two meiotic divisions (Figure 2B). Shreds of evidence yielded that the transformation zone finally located in the sperm tubule and usually presented in the spermatozoa (Figure 2B). This feature echoed the findings of the previous studies of predatory stink bug, *Podisus nigrispinus* (Lemos et al., 2005) and Italian striped bug, *Graphosoma lineatum* (Özyurt et al., 2013).

In this current study, a detailed information of the spermatogenic stages of *P. tonkinensis* in the sperm tubules was classified into six successive stages according to size differences and histological organizations, especially the chromatin organizations including spermatogonium, primary spermatocyte, secondary spermatocyte, spermatid with two sub-steps and spermatozoon, as similarly related to some invertebrates such as three different *Tentyria* (İzzetoglu & Gülmez, 2018) and giant river prawn, *Macrobrachium rosenbergii* (Sagi et al., 1988; Polijaroen, 2010).

Spermatogonium

The spermatogonium had a very largest size (12.87 ± 0.98 μm in diameters) and appeared as a round shape (Figure 1C). A large centrally nucleus was stained as basophilic characterizes whereas the cytoplasm was mostly thin and had a basophilic stain (Figure 1F), which was similar to that of other spermatogonia in *Drosophila melanogaster* (Cooper, 1950; Hardy et al., 1979).

Primary spermatocyte

The primary spermatocyte was developed from spermatogonia by mitotic division. It appeared in the spermatocyst and formed as an oval or spherical shape with an average cell diameter 10.56 ± 0.65 μm (Figure 2C). A prominent basophilic nucleolus, containing patchy heterochromatin, appeared (Figure 2C).

Secondary spermatocyte

According to the first meiotic division from primary spermatocyte, the formation of heterochromatin of the secondary spermatocyte was found increasing (Figure 1C). It remained in spermatocyst (Figure 2C). The size of this stage was about 5.98 ± 0.56 μm in diameter (Figure 2C). This indicated a decrease of the cell size when compared to previous stages.

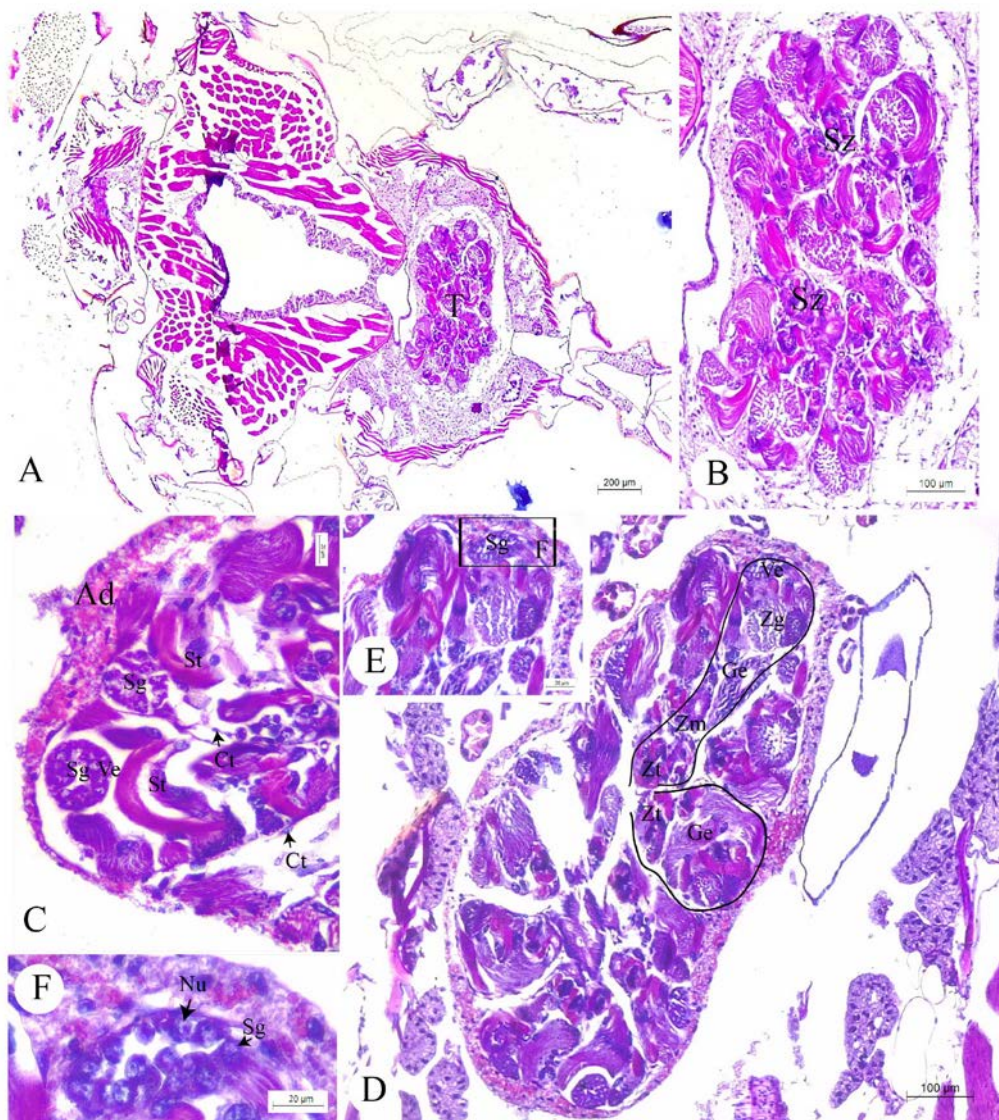


Figure 1. The light photomicrograph of the testicular maturation of *Pyrocoelia tonkinensis*. A-B: Localization of the testis (T) containing in the sperm (Sz) within sperm tube. C: sperm tube was enclosed with the connective tissue (Ct). D: Two vitellarium (Ve) and germarium (Ge) of the sperm tubule was classified, which germarium could be divided into three main zones, zone of growth (Zg), zone of maturation (Zm) and zone of transformation (Zt). E-F: Spermatogonia (Sg) was observed in the vitellarium. Note: Ad = adipose tissue.

Spermatid

The prominence of the spermatid could be divided into two sub-steps (early and late spermatids as shown in Figures 2D & 2E). Early spermatid showed that the nucleus enlarged in size, but it had a smaller size than the secondary spermatocytes, approximately $4.45 \pm 0.98 \mu\text{m}$

in diameter (Figure 1D). A strong heterochromatin condensation of this stage was centrally distinguished (Figure 1D). Afterwards, it transformed into the late spermatid. This stage completely condensed the heterochromatin and was in the beginning to produce the tail (Figure 2E).

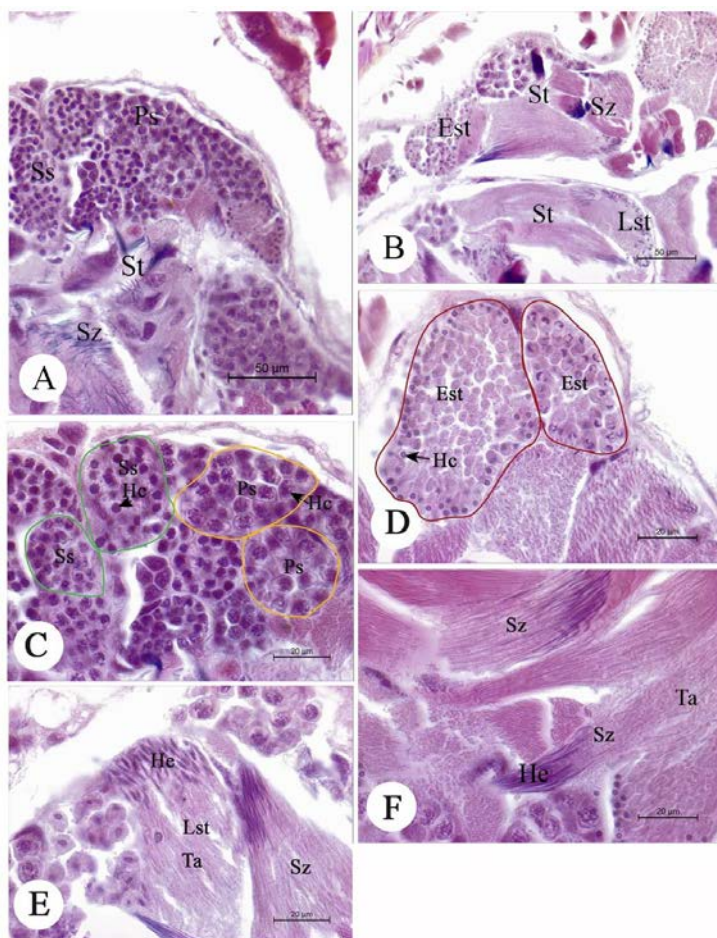


Figure 2. The light photomicrograph of the spermatogenesis in *Pyrocoelia tonkinensis*. A-B. Differencing stages of spermatogenesis [such as primary spermatocyte (Ps), secondary spermatocyte (Ss), early spermatid (Est), late spermatid (Lst) and spermatozoa (Sz)] within the sperm tubules (St). C. Primary spermatocytes (Ps) and secondary spermatocytes (Ss). D. Early spermatids. E. Late spermatid. F. Spermatozoa. Hc = heterochromatin, He = head, Ta = tail.

Spermatozoa

During the spermatozoon process, the mature spermatozoon was the last one of spermatogenesis, which was formed in two distinct regions: 1) a packed head (quite close to the elongated shape and thin (about 15-20 μm): 2) a tail region (flagellum) in the sperm tubule (Figure 2F).

Consequently, the spermatozoa migrated into the vasa efferentia (Figure 3). The structure of the vasa efferentia was located in the middle area of the testicular parenchyma (Figure 3A), which it was surrounded by simple cuboidal epithelium (Figure 3B). They were separated into individual spermatozoa (Figure 3B), as similar seen in *G. lineatum* (Özyurt et al., 2013)

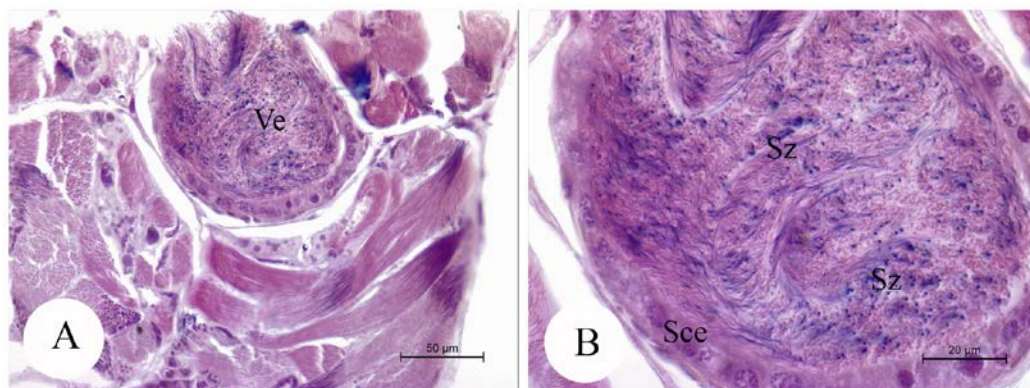


Figure 3. The light photomicrograph of the occurrence of spermatozoa in the vasa efferent (Ve) in *Pyrocoelia tonkinensis*. Note: Sce = simple cuboidal epithelium.

Conclusion

Our research indicated that the male reproduction system had a testicular structure with several sperm tubules, as likely seen in other insects. The accuracy of information from this research could provide the background knowledge of *P. tonkinensis* reproduction, which would lead to insights for further in-depth studies such on the ultrastructure and physiology of the reproductive system. Hopefully, this currently would then construct greater understandings to support the conservation and management of the firefly in Thailand.

Acknowledgements

The authors are deeply thankful to Microtechnique laboratory, the Department of Biology, Faculty of Science, Prince of Songkla University. Also, we would like to give special thanks to Dr. Angoon Lewvanich for a tremendous guidance to this research.

References

- Adams T. S. (2001). Morphology of the internal reproductive system of the male and female two-spotted stink bug, *perillus bioculatus* (F.) (Heteroptera: pentatomidae) and the transfer of products during mating. *Invertebrate Reproduction & Development*, 39, 45-53. <https://doi.org/10.1080/07924259.2001.9652466>
- Bahadur J. (1975). Histology of the male reproductive organs of a bug, *halys dentata* F. (hemiptera, pentatomidae). *Zool Pooloniae*, 24, 311-318.
- Bairati A. (1968). Structure and ultrastructure of the male reproductive system in *Drosophila melanogaster*: 2. The genital duct and accessory glands. *Monitore zoologico italiano*, 2, 105-182.

- Branham, M. A. (2010). Lampyridae. In R.G. Beutel & R. A. B. Leschen, (eds.) *Handbuch der Zoologie, Band IV Arthropoda: Insecta, Teilband 39, Evolution and Systematics* pp. 141-147. Berlin: Walter de Gruyter.
- Cooper, K. W. (1950) Normal spermatogenesis in *Drosophila*. In M. Demerec (Ed.), *The Biology of Drosophila* pp. 1-61. New York: John Wiley and Sons.
- Demary, K. C. (2005). Sperm storage and viability in *Photinus* fireflies. *Journal of Physiology*, 7, 837-841. <https://doi.org/10.1016/j.jinsphys.2005.04.001>
- Dietrich, D. & Krieger, H. O. (2009). *Histological Analysis of Endocrine Disruptive Effects in Small Laboratory Fish*. New Jersey: John Wiley & Sons.
- Drecktrah, H. G. (1966). *Morphology and histology of the internal reproductive systems of the European corn borer Ostrinia nubilalis* (Hübner) (Ph.D. thesis) Major of Entomology, Iowa State University of Science and Technology, Ames, Iowa.
- Ferreira, A., Abdalla, F. C., Kerr, W. E., & Cruz-Landim, C. (2004). Comparative anatomy of the male reproductive internal organs of 51 species of bees. *Neotropical Entomology*, 33, 569-576. <https://doi.org/10.1590/S1519-566X2004000500005>
- Freitas, S. P. C., Goncalves, T. C. M., Serrao, J. E., Costa, J. & Santos-Mallet, J. R. (2010). Male reproductive system structure and accessory glands ultrastructure of two species of *triatoma* (hemiptera, reduviidae, triatominae). *Micron*, 41, 518-525. <https://doi.org/10.1016/j.micron.2010.01.00>
- Gerber, G. H., Church, N. S. & Rempel, J. G. (1971). The anatomy, histology, and physiology of the reproductive systems of *Lytta nuttalli* Say (Coleoptera: Meloidae): The internal genitalia. *Canadian Journal of Zoology*, 49, 523-533. <https://doi.org/10.1139/z71-080>.
- Hardy, R. W., Tokuyasu, K. T., Lindsley, D. L. & Garavito, M. (1979). The germinal proliferation center in the testis of *Drosophila melanogaster*. *Journal of Ultrastructural Research*, 69, 180-90.
- İzzetoglu, G. T. & Gülmez, M. (2018). Macroscopic and histological structures of testes in three different *Tentyria* species. *KSU Journal of Natural Sciences*, 21(3), 433-437. <https://doi.org/10.18016/ksudobil.358556>
- Jeng, M. L., Lai, J., Yang, P. S. & Sato, M. (1999). On the validity of the generic name *Pyrocoelia* Gorham (Coleoptera, Lampyridae, Lampyrinae), with a review of Taiwanese species. *Japanese Journal of Systematic Entomology*, 5, 347-362.
- Karakaya, G., Özyurt, N., Candan, S. & Suludere, Z. (2012). Structure of the male reproductive system in *Coreus marginatus* (L.) (Hemiptera: Coreidae). *Turkish Journal of Entomology*, 36, 193-202.
- Lemos, W. P., Ramalho, F. S., Serrao, J. E. & Zanuncio, J. C. (2005). Morphology of female reproductive tract of the predator *Podisus nigrispinus* (Dallas) (Heteroptera: Pentatomidae) fed on different diets. *Brazilian Archives of Biology and Technology*, 48, 129-138. <http://dx.doi.org/10.1590/S1516-89132005000100017>.
- McKenna, D. D. & Farrell, B. D. (2009). Beetles (Coleoptera). In S. B. Hedges & S. Kumar (Eds.), *The Timetree of Life* pp. 278-289. Oxford: Oxford University Press.
- Özyurt, N., Candan, S., Suludere, Z. & Amutkan, D. (2013). Morphology and histology of the male reproductive system in *Graphosoma lineatum* (Heteroptera: Pentatomidae) based on optical and scanning electron microscopy. *Journal of Entomology and Zoology Studies*, 1, 40-46. <http://dx.doi.org/10.1016/j.micron.2012.04.017>.
- Özyurt, N., Candan, S. & Suludere, Z. (2014). Structure of the male reproductive system and spermatogenesis of *Codophila varia* (Fabricius, 1787) (Heteroptera: Pentatomidae) by light and scanning electron microscopy. *Journal of the Entomological Research Society*, 16(1), 101-110.

- Polijaroen, J. (2010). *Spermatogenesis and spermiogenesis in the giant freshwater prawn, Macrobrachium rosenbergii* (Ph.D. thesis) Faculty of Science, Mahidol University, Bangkok.
- Presnell, J. K. & Schreibman, M. P. (1997). *Humason's Animal Tissue Techniques* (5th ed.). USA: Johns Hopkins University Press.
- Sagi, A., Milner, Y. & Cohen, D. (1988). Spermatogenesis and sperm storage in the testes of the behaviorally distinctive male morphotypes of *Macrobrachium rosenbergii* (Decapoda, Palaemonidae). *Biological Bulletin*, 174, 330-336. <https://doi.org/10.2307/1541958>.
- South, A., Sota, T., Abe, N., Yuma, M. & Lewis, S.M. (2008). The production and transfer of spermatophore in three Asian species of *Luciola fireflies*. *Journal of Insect Physiology*, 54, 861-866. <http://dx.doi.org/10.1016/j.jinsphys.2008.03.008>.
- Suvarna, K. S., Layton, C. & Bancroft, J. D. (2013). *Bancroft's Theory and Practice of Histological Techniques* (7th ed.). Canada: Elsevier.
- Tongjeen, P., Kinrot, S., Poolprasert, P., Yenchum, W., Senarat, S. & Chantarasawat, N. (2014). Histology and histochemistry of *Catopsilia pomona* (Fabricius, 1758) reproductive system. *Thammasat Journal of Science and Technology*, 22, 23-33.
- Wilson, J. M., Bunte, R. M. & Carty, A. J. (2009). Evaluation of rapid cooling and tricaine methanesulfonate (MS222) as methods of euthanasia in zebrafish (*Danio rerio*). *American Association for Laboratory Animal Science*, 48, 785-789. <http://dx.doi.org/10.1038/506419a>.
- Wheeler, D. E. & Krutzsch, P. H. (1992). Internal reproductive system in adult males of the genus *Camponotus* (Hymenoptera, Formicidae, Formicinae). *Journal of Morphology*, 211, 307-317. <http://dx.doi.org/10.1002/jmor.1052110308>

Research Article

The analysis of genomewide SNP data using nonparametric and kernel machine regression

Pianpool Kirdwichai^{1*} and Mohamed Fazil Baksh²

¹Department of Applied Statistics, Faculty of Applied Science,
King Mongkut's University of Technology North Bangkok, 1518 Pracharat 1 Road, Bangsue, Bangkok 10800, Thailand

²Department of Mathematics and Statistics, School of Mathematical and Physical Sciences, University of Reading,
Mathematics Building, Whiteknights, Reading, RG6 6AX, UK

*E-mail: pianpool.k@sci.kmutnb.ac.th

Received: 21/11/2018; Revised: 14/02/2019; Accepted: 26/02/2019

Abstract

This paper illustrates novel use of nonparametric regression in the challenging problem of reliably identifying true association patterns in high dimensional data without the cost, inherent in existing methods, of increasing the false positives. The proposed nonparametric association test (NPAT) treats p-values from multiple hypothesis tests as summaries of association that preserves the correlation in the data and capitalises on this correlation to increase power while minimising false discoveries, relative to existing methods. Distributional results are used to support estimation of the tuning parameter and significance thresholds for NPAT. The method is applied to the WTCCC study of Crohn's disease and results compared with a sequence kernel association test (SKAT) that conversely uses nonparametric regression techniques to group sets of explanatory variables, prior to association testing. Results show that NPAT is efficient, computationally tractable and produces findings comparable with Bonferroni correction while SKAT misses a strong association signal in the data.

Keywords: correlation structure, genomewide, multiple testing, nonparametric regression

Introduction

A key challenge in the statistical analysis of high dimensional datasets with a small number of individuals studied relative to the number of explanatory variables is the so called "curse of dimensionality" (Bellman, 2003). Although multiple hypothesis test procedures provide a solution and are computationally feasible with stable algorithms, the associated lack of power can mitigate against their usage in, for example, genomic studies where small effect sizes are the norm. This paper addresses this lack of power by novel use of nonparametric regression in multiple hypothesis tests of data from a genomewide association study (GWAS). GWAS is an approach which involves rapidly scanning a large number of SNP markers across the genome to find genetic variations associated with a particular disease or condition. A single nucleotide polymorphism, or SNP, is a variation at a single position in a DNA sequence among individuals.

Permutation tests control the error rate in multiple hypothesis test procedures by comparing each observed test statistic with an empirical distribution constructed from the observed data. In the "exact" test, this distribution is based on each possible data permutation while in the Monte Carlo test, the distribution is based only on a randomly selected subset of

permutations. Benefits of a permutation test are that no assumptions regarding the null distribution of the test statistic are required and the data's correlation structure is potentially inherently accounted for in the empirical distribution. However, while resampling is suitable for smaller studies, substantial computational effort is still required in high-dimensional studies despite effort, (see for example Dudbridge & Gusnanto, 2008), to reduce this burden.

Bonferroni correction α/m , where m is the number of hypothesis tests conducted, is the most basic method for controlling the type I error α in multiple hypothesis tests but it is well known to be conservative when the independence assumption between tests do not hold. Furthermore, due to the large number of tests in a GWAS, there is no gain in efficiency from using traditional modifications such as Šidák (1967) and Holm, Hochberg and Rom procedures (Olejnik et al., 1997). Risch & Merikangas (1996) recommended that Bonferroni correction should be modified to $\alpha = \alpha \times 10^{-6}$. This ad-hoc recommendation, which has been claimed (Johnson et al., 2010) to be the standard in GWAS, is based on an estimated 10^5 genes in the human genome (now accepted as an overestimation) and 10 independent tests for each gene.

Cheverud (2001) proposed that the eigenvalues of the correlation matrix for observed SNPs in the GWAS be used to estimate the effective number of independent tests M_{eff} . This number then replaces m in the Bonferroni correction. However, Cheverud's method is still overly conservative when there is high LD among SNPs (Li & Ji, 2005). Nyholt (2004) suggested a modification of the Cheverud's approach to improve the adjustment by excluding all SNPs in perfect LD except one, but this was still found to be overly conservative. Li & Ji (2005) proposed a method based on partitioning each eigenvalue into integral and fractional components. They argue that each integer represents identical tests and should be counted as one in M_{eff} . On the other hand, the fractional part represents a partially correlated test that should be counted as a number between 0 and 1. The authors only present results on a small number of SNPs (< 15 for each gene) and did not clarify how to perform the method in large datasets. (Gao et al., 2010) proposed a principal components approach, which they call SimpleM, based on use of clusters or small subsets of SNPs, in an attempt to filter out the correlation among tests. M_{eff} is derived from the number of principal components that explains a certain percentage of the variability in the data. In practice, this percentage is subjectively determined by the researcher. Gao et al. (2010) evaluated their approach with a related approach (Moskvina & Schmidt, 2008) that estimates the number of independent SNPs using pairwise linkage disequilibrium (LD) directly. Using two real GWAS datasets, they found that the simpleM approach gave the best approximation (the smallest distance) to the thresholds obtained using permutation whereas the method by Moskvina gave more conservative estimates and Bonferroni gave the most conservative results. The authors further claim that the simpleM approach greatly reduced the computer time and resources required.

As in the above independent number of tests approach, multi-marker methods attempt to alleviate the multiple testing burden by pooling information within the observed dataset. A commonly employed technique is to aggregate the effects of markers within a known genomic region and then testing for joint association with the disease. Classic aggregation approaches include combining the p-values from single hypothesis tests (Fisher, 1932) and assessing the smallest p-value within the set of m values (Tippett, 1931). In situations where the statistical tests are not independent, Fisher's method tend to be anti-conservative while Tippett's method has well-controlled type I error rate but has been shown to have low power to identify multiple genes with small effects (Dai et al., 2012). Modifications of Fisher's method proposed for genomewide studies, based on use of only a subset of the p-values in calculating the test statistic, include the threshold truncated product (Zaykin et al., 2007), the rank truncated product (Dudbridge & Koeleman, 2003) and the adaptive rank truncated product (Yu et al.,

2009) methods. The difference between the threshold and rank truncated methods is that the test statistic in the former is calculated using only those p-values smaller than some pre-specified threshold while in the latter it is calculated using a pre-specified quantity of the smallest p-values. For dependent single SNP tests, the overall significance level is obtained by a permutation method. The adaptive rank truncated method extends the rank truncated method by first calculating test statistics for a pre-specified range of possible truncation points in the ordered set of all p-values from the single SNP tests. These test statistics may then be compared with the relevant distributions and the p-value for the global hypothesis test is then the smallest among the set of p-values obtained.

An obvious limitation of the above modifications of Fisher's method is the need to pre-specify truncation points or thresholds, the choice of which can be somewhat arbitrary for genomewide studies and can affect the power to detect true associations (Chen et al., 2013). To avoid the threshold selection problem, Chen et al. (2013) proposed a sequential method for rejecting the global null hypothesis based on the cumulative product of the ordered p-values. More specifically, p-values from the single SNP tests are first ordered from smallest to largest and a sequence of test statistics are constructed. The first element of this sequence is the smallest p-value, the second element is the product of the first element and second smallest p-value, the third element of the sequence is the product of its second element and the third smallest p-value, and so on. The distributions of these test statistics are obtained using a permutation procedure and the thresholds for declaring significance are determined numerically. The authors present simulation results suggesting that the type I error rate will be close to the nominal value and that the power of the test procedure is comparable to the above modifications of Fisher's method.

Alternatively, Wu et al. (2010) proposed grouping SNPs based on prior biological knowledge of their proximity to genes or haplotype blocks and evaluating the joint effects of each group. The authors argue that grouping in these so-called SNP sets permits the borrowing of information from correlated SNPs and increases the power to detect individual SNP effects. A logistic kernel-machine regression model is used to allow for modelling of epistatic and nonlinear effects. Proposed kernels include a measure of the number of alleles shared by a pair of individuals in the study and can be viewed as providing measures of genetic similarity between two individuals in the study. The authors propose use of the score statistic in testing association between SNP set and disease. The null distribution of this statistic is a complex mixture of χ^2 distributions which the authors approximate by a scaled χ^2 distribution. The scale parameter and degrees of freedom of this approximate distribution are estimated using the method of moments (see Wu et al., 2010, for details). Simulation results presented by the authors suggest that the type I error rate of their sequence kernel association test (SKAT) is protected and that SKAT has greater power than Bonferroni-corrected single SNP tests. This semiparametric method for modelling the joint effect of markers was proposed by Liu et al. (2007) while theory underpinning the approach utilised by the authors can be found in Hastie et al. (2009).

This paper illustrates novel use of nonparametric kernel regression for interpreting results from single SNP tests by capitalising on the location and correlation of SNPs to reliably identify true disease-gene associations and, at the same time, reduces the number of false positives. The proposed nonparametric association test (NPAT) avoids the aforementioned computational and other issues associated with existing methods and is premised on the fact that the majority of SNPs in a GWAS cannot be associated with the disease of interest and hence the collection of p-values from single SNP tests will mainly comprise of non-significant results, or noise, possibly interspersed with true signals of disease-gene association. Then the

challenge is to distinguish these rare signals from the noise. Framed in this context, the problem is similar to other application areas requiring signal cleaning such as microarray experiments where nonparametric regression is frequently used to remove systematic biases arising from the technology used to obtain the data, (see for example Lee, 2004, for details). Results of the method applied to The Wellcome Trust Case-Control (2007) study of Crohn's disease is compared with results from SKAT and multiple testing with Bonferroni correction.

Materials and methods

The general nonparametric regression model with one predictor variable may be written as

$$u_i = b(x_i) + \varepsilon_i, \quad (1)$$

where u_i and x_i are the i^{th} response and predictor, respectively, $i = 1, \dots, m$ and $b(\cdot)$ is an arbitrary function of x . In this paper u_i is the $-\log_{10}$ transformation of the p-value p_i from the association test of the i^{th} SNP while x_i marks the position of this SNP. As in linear regression, it is standard to assume that $\varepsilon_i \sim \text{IID}(0, \sigma^2)$. Unlike linear regression, the function $b(\cdot)$ is not specified in advance via a set of parameters and hence fitting the model involves estimating $b(\cdot)$ directly, rather than via parameter estimation. Most methods implicitly assume that $b(\cdot)$ is a smooth, continuous function and thus nonparametric regression may be viewed as nonlinear regression, but without explicitly stating the form of the function to be fitted.

Nadaraya (1964) and Watson (1964) proposed to estimate $b(\cdot)$ as a locally weighted average of the responses u_i , $i = 1, \dots, m$ by using

$$\hat{b}(x) = \frac{\sum_{i=1}^m w(x, x_i) u_i}{\sum_{i=1}^m w(x, x_i)}, \quad (2)$$

where the assigned weights $w(x, x_i) = K(\frac{x - x_i}{h})/h$ are determined by a kernel function K and the size of the weights are determined by the smoothing parameter h . Common kernels are usually functions of the distance between SNPs with the property that SNPs in close proximity to the i^{th} SNP contribute more to the fitted value $\hat{u}_i$ than SNPs further away. The normal kernel with weights

$$w(x, x_i) = \frac{e^{-\frac{1}{2}(\frac{x - x_i}{h})^2}}{\sum_{i=1}^m e^{-\frac{1}{2}(\frac{x - x_i}{h})^2}} \quad (3)$$

is used in this paper.

The value of the smoothing parameter h is very important when fitting a nonparametric regression model as too large a value results in oversmoothing and potential loss in information while too small a value leads to insufficient accounting of the noise in the data. Existing methods (Wand & Jones, 1995; Härdle, 1990) for finding the optimal value for h are computationally expensive to implement in large datasets and additionally, the guiding principle underlying commonly used cross-validation methods is optimisation of the predictive power of the fitted regression curve, which is not the objective in this paper. Rather, of interest is identification of sections of the fitted curve that are highly unlikely to confirm to any of the possible patterns under the global null hypothesis of no association between disease and gene.

This is achievable by finding the smoothing parameter that produces a good estimate of the noise by allowing for the correlation in the data. In this light, it is proposed to select a smoothing parameter satisfying the condition that the average squared residuals from the fitted model equals the difference estimate (von Neumann, 1941) of the variance σ^2 defined as

$$s_d^2 = \frac{1}{2m} \sum_{i=1}^{m-1} (u_{i+1} - u_i)^2. \quad (4)$$

This method is justifiable on the basis that

$$E(s_d^2) \approx \frac{1}{(\ln 10)^2} (1 - \sum_{i=1}^{m-1} r_{i,i+1}^2), \quad (5)$$

and so s_d^2 is adjusted for the correlation of adjacent SNPs in the data. Indeed s_d^2 is expected to be a slight underestimate of the true noise which is appropriate for the stated objective of finding local structures in the data. Furthermore, there is precedence for use of a differencing approach (see for example Hart, 1991) in methodology for estimating the smoothing parameter in kernel regression problems.

In order to prove equation (5) above, first note that the distribution of the random variable $U = -\log_{10}(p)$ is exponential with rate parameter $\lambda = \ln(10)$ and furthermore that $Cor(U_i, U_{i'})$, $i \neq i'$ is approximately equal to the correlation $r_{i,i'}^2$ between the j^{th} and $(i')^{\text{th}}$ SNPs. (This result is proved in a forthcoming manuscript). Assuming $b(x_{i+1}) \approx b(x_i)$ gives s_d^2 as approximately $\frac{1}{2m} \sum_{i=1}^{m-1} (\varepsilon_{i+1} - \varepsilon_i)^2$ which, by expanding the square and summing, becomes $(MSR) - \frac{1}{m} \sum_{i=1}^{m-1} \varepsilon_{i+1} \varepsilon_i$, where $MSR = \frac{1}{m} \sum_{i=1}^{m-1} \varepsilon_i^2$. Taking expectations

$$E(s_d^2) \approx E(MSR) - \frac{1}{m} \sum_{i=1}^{m-1} E(\varepsilon_i \varepsilon_{i+1}). \quad (6)$$

Equation (5) follows by noting that from the distribution of U , $E(MSR) = \frac{1}{\ln(10)^2}$, and by definition of covariance, the assumption $E(\varepsilon_i) = 0$ and using the property that covariances are preserved under linear transformations, $E(\varepsilon_i \varepsilon_{i+1}) \approx \frac{r_{i,i+1}^2}{\ln(10)^2}$

Evidence for disease-gene association is likely to be provided by SNPs that are correlated with the disease causing gene(s) and pooling this evidence should increase the chance of finding true associations while spurious associations are less likely to be supported. In other words, utilising the correlation structure in the data is likely to improve both true positive (TP) and false positive (FP) rates of the test procedure. The kernel in equation (2) assumes that that physical proximity is a good proxy for correlation. This is a reasonable assumption for genomic data. In addition, NPAT identifies regions of the genome that show significance with the disease which is relevant as there is no guarantee that disease pre-disposing SNPs will be studied in the GWAS. Under the proposed method, significant regions are genomic regions for which the plot of the fitted nonparametric regression curve against basepair position of SNPs lie above some significance threshold.

The fitted value $\hat{U}_i = \sum_{j=1}^m w(x_j, x_i) U_j$ of the nonparametric model is a linear combination of exponential random variables with different rate parameters $w(x_j, x_i) \ln(10)$; $j = 1, \dots, m$ and so follows a hypoexponential or generalized Erlang distribution, ignoring the dependency structure. It follows that a significance threshold that is adjusted for multiple testing and assumes independence of tests is $q_{1-\frac{\alpha}{m}}$ given by

$$\int_{q_{1-\frac{\alpha}{m}}}^{\infty} f(u)du = 1 - \frac{\alpha}{m},$$

where $f(u)$ is the density of the hypoexponential distribution with rates $w(x_j, x_i)\ln(10)$; $j = 1, \dots, m$ and α is the global type I error of the multiple hypothesis test procedure. In situations where evaluation of this threshold is time consuming, the following normal approximation may be used. As the expected value of $\hat{U}_i$ is clearly $1/\ln 10$ while the variance is given by

$$Var(\hat{U}_i) \approx \frac{1}{(\ln 10)^2} \left(\sum_{j=1}^m w(x_j, x_i)^2 + 2 \sum_{j < j'} w(x_j, x_i) w(x_{j'}, x_i) r_{jj'}^2 \right), \quad (7)$$

it follows that an approximate significance threshold is provided by

$$\frac{1}{\ln 10} \left(1 + q_{1-\frac{\alpha}{m}} \sqrt{\sum_{j=1}^m w(x_j, x_i)^2 + 2 \sum_{j < j'} w(x_j, x_i) w(x_{j'}, x_i) r_{jj'}^2} \right), \quad (8)$$

where $q_{1-\frac{\alpha}{m}}$ is the $1 - \frac{\alpha}{m}$ quantile of the standard normal distribution.

Results

Simulation study

In a simulation evaluation of the proposed approach, each of the 1,504 genotypes in the UK Blood Services dataset is first used to construct two haplotypes, to give a total of 3,008 haplotypes. The constructed haplotypes are randomly paired to simulate genotypes of 13,479 SNPs each, and having LD pattern consistent with that of the UK Blood Services Cohort. Next a disease pre-disposing SNP, rs3789038 located at position 4486587bp on Chromosome 16, is selected and used to simulate a total of 3000 diseased individuals and 3000 unaffected individuals based on a log-odds ratio for disease of 0.2. A plot of the LD pattern in the region containing SNP rs3789038 is produced in Figure 1. This data, comprising 6000 randomly generated genotypes of 13,479 SNPs each, is then analysed using the proposed NPAT and SKAT with 5% significance level. Whether a region containing the disease SNP is correctly identified as associated with the disease as well as the number of false positive regions is recorded for both tests. Simulation results of the true positive (TP) and the false positive (FP) detection rates based on 1,500 replications of the above is shown in Table 1. As the results show, the FP rate of NPAT is approximately 10% that of SKAT whereas the TP rates are comparable.

Table 1. The TP and FP rates of NPAT and SKAT with disease SNP rs3789038 and effect size 0.2

Method	TP rate	FP rate
NPAT	0.83	0.00087
SKAT (default)	0.85	0.00939

WTCCC study

The proposed NPAT is illustrated using WTCCC (The Wellcome Trust Case-Control, 2007) genotype data at 13,479 SNPs on Chromosome 16 for 2005 individuals with Crohn's disease and 1,504 controls from UK Blood Services. All analyses were done in R (R Core Team, 2016). The WTCCC study reports evidence for disease-gene association at SNP rs17221417 located on gene NOD2 and cites the significant region 1,250,000 basepairs to either side of rs17221417. The boundaries of this region, which was pointed out to experience high levels of recombination, were chosen to coincide with SNPs for which the $-\log_{10}$ p-values were deemed to have returned to expected levels under no genetic effect.

A manhattan plot of the $-\log_{10}$ p-values for single SNP tests assuming an additive genetic model is provided in Figure 2. Application of NPAT next involves smoothing this plot using the method described in the above section with predictors the SNPs' basepair positions scaled to lie within the interval [0,1]. Using equation (4), the value of $s_d^2 = 0.2873933$ was calculated and the value of the smoothing parameter $h = 1.26635 \times 10^{-7}$ producing mean square residual $\frac{1}{m} \sum_{i=1}^m (u_i - \hat{u}_i)^2$ equal to s_d^2 was found using a simple search algorithm. The fitted curve (solid line) and threshold values (dotted line) provided by equation (8) with type I error $\alpha = 0.05$ are superimposed on the manhattan plot. A group of SNPs will be declared significant if the fitted curve exceeds the threshold.

Grouping the WTCCC SNP data by genes and intragene regions produces a total of 914 groups. For purposes of comparison, these groups were also analysed by applying SKAT with its default linear weighted kernel and the default parameter for the correlation structure kernels. The SKAT p-values (squares) and its Bonferroni threshold (dot-dashed line) based on 914 tests are also plotted in Figure 2, as is a Bonferroni threshold (dashed line) based on the 13,479 single SNP tests with a global type I error $\alpha = 0.05$.

As is evident in Figure 2, NPAT finds two significant regions, the larger of which is 110,000 basepairs wide on gene NOD2, located at around 4.93×10^7 basepairs and contains a cluster of 24 SNPs (rs16948715-rs11076540) that includes SNP rs17221417 at 50,000 basepairs from rs16948715. The second significant region found by NPAT is a cluster of two SNPs (rs4471699, rs11644392) located in the intron (non-coding) region of locus NR_002453.5 and has not been reported in the WTCCC (The Wellcome Trust Case-Control Consortium, 2007) study. SKAT also finds this second region and a cluster of three SNPs (rs16957197, rs13312720, rs868213) in intron regions around 6.71×10^7 basepairs but fails to detect the NOD2 gene (p-value = 0.096). All regions declared as significant by NPAT and SKAT were also found to be significant using Bonferroni multiple testing correction.

Discussion

NPAT isolates regions of the genome that present true signals of disease-gene association by enhancing these signals and simultaneously suppressing the noise generated by the large number of genetic markers that are not associated with the disease. Evidence for this is provided by a simulation evaluation and the results of the analysis of the WTCCC data. Note that there is biological support for a link between NOD2 mutations and Crohn's disease (Philpott et al., 2014; Nabatov, 2015). Unlike existing multi-marker methods which attempt to increase power by aggregating the effects of markers within predetermined genomic regions, NPAT is shown to use the information contained in the data to determine the pooling of the evidence and the form of the fitted curve. Furthermore unlike SKAT, NPAT is less computationally demanding, the association patterns do not depend on pre-selected groupings of SNPs and the actual effect of causal SNPs or SNPs linked to the causal SNPs on disease are readily available.

This latter point is invaluable in quantifying the disease-gene relationship and in the design of follow-up and replication studies.

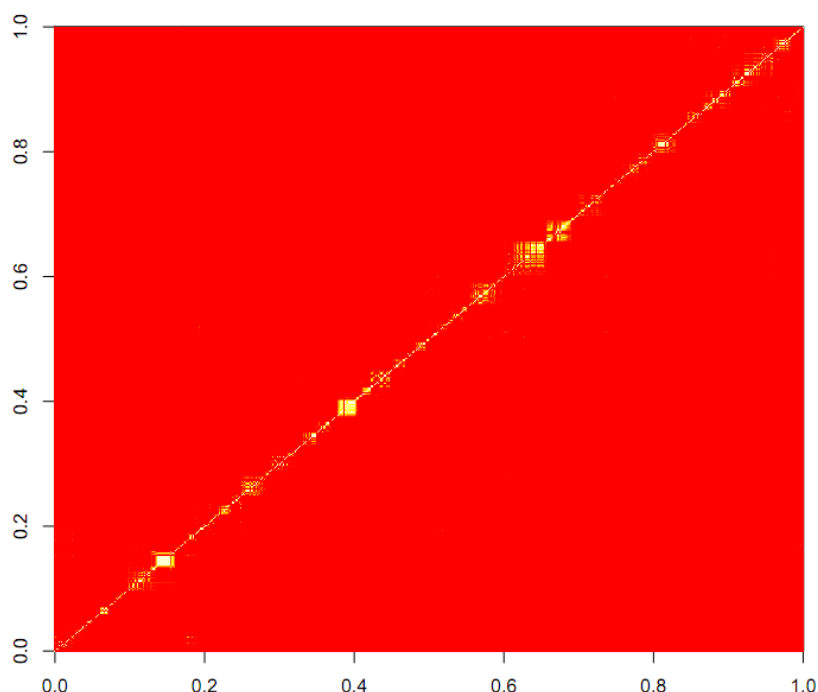


Figure 1. Heat spectrum of pairwise values r^2 for 1,000 SNPs within a region of Chromosome 16 containing SNP rs3789038. The observed pattern of small rectangular blocks are of contiguous SNPs in strong LD.

The non-parametric regression model in this paper was fitted using the Nadaraya-Watson estimator which has been criticised for its tendency to produce a nonlinear relationship when the true relationship is linear and for the property that the fitted value for data points at the boundaries of the dataset are based largely on observations on one side only. In contrast, local linear estimators preserves linearity and has much better properties at the boundary. However, the Nadaraya-Watson estimator is simpler to calculate and, for GWAS data, there is no reasonable expectation that the relationship is linear. Additionally, this estimator is preferable as it is not influenced by outliers as much as local linear estimators. A simulation comparison of methods based on Nadaraya-Watson and local linear estimators for disease SNPs at the edges of the chromosome would nevertheless be interesting. Also of interest is exploring the threshold error rates with the view of developing more computationally efficient improvements that do not require the normality and independence assumptions. Furthermore, it is generally agreed that finding the optimal tuning parameter for any given problem is difficult and, as often happens when using cross validation methods, is also computationally demanding and data specific. Additionally, cross validation methods have been shown to perform poorly when the data are correlated (see Altman, 1990, for example). In contrast, NPAT is easily

implemented via a simple search for the tuning parameter over a range of values but further investigations of the effectiveness of the differencing approach is warranted.

The proposed nonparametric regression approach is a promising alternative to existing methods in terms of improved efficiency and lower false positive rates. Extensions of the method to non-genetic explanatory variables is straightforward as these can simply be included in the single SNP models. Finally, it is hoped that the method can serve as a precursor to the further development of multiple hypothesis testing methods in realm of high-dimensional data analysis.

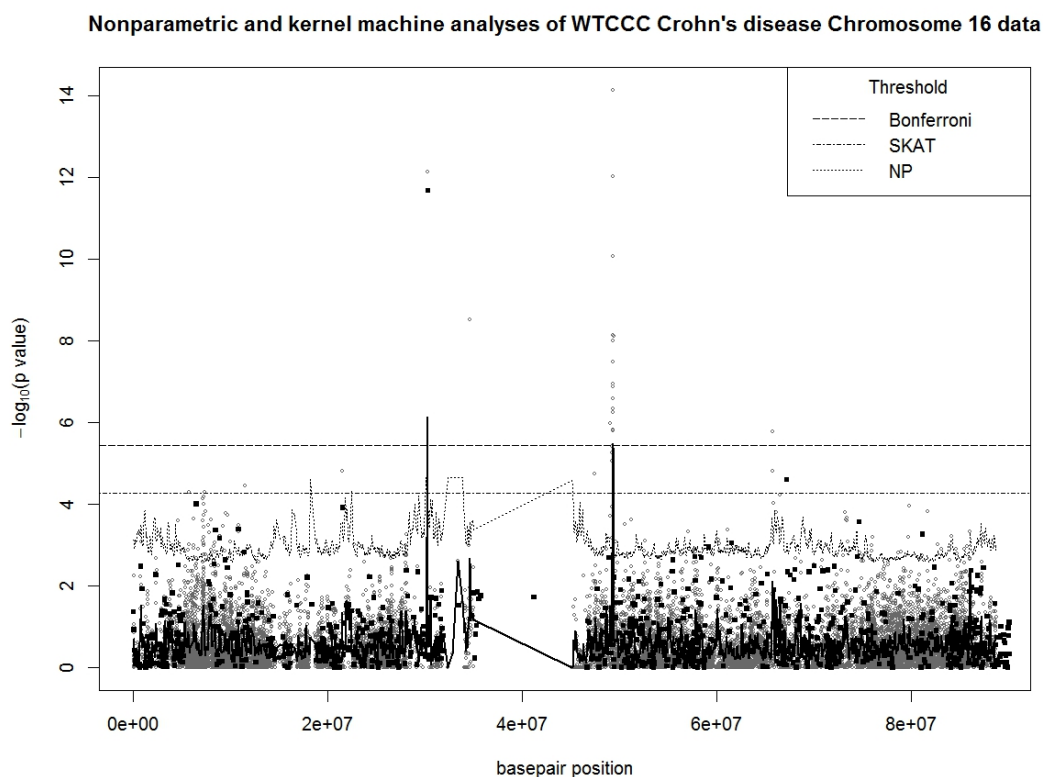


Figure 2. Manhattan plots of p-values from single SNP tests and SKAT p-values (squares) against their median basepair position, along with the fitted nonparametric regression curve (solid line) obtained in the analysis of WTCCC study on Crohn's disease

Acknowledgements

Funding was provided by Faculty of Applied Science, King Mongkut's University of Technology North Bangkok. This support is gratefully acknowledged. This study makes use of data generated by the Wellcome Trust Case-Control Consortium. A full list of the investigators who contributed to the generation of the data is available from www.wtccc.org.uk. Funding for the WTCCC project was provided by the Wellcome Trust under award 076113, 085475 and 090355.

References

- Altman, N. S. (1990). Kernel smoothing of data with correlated errors. *Journal of the American Statistical Association*, 85(411), 749-759.
- Bellman, R. E. (2003). *Dynamic Programming (Dover Books on Computer Science Series)*. New York: Dover Publications.
- Chen, H., Pfeiffer, R. M. & Zhang, S. (2013). A powerful method for combining p-values in genomic studies. *Genetic Epidemiology*, 37(8), 814-819. doi: 10.1002/gepi.21755
- Cheverud, J. M. (2001). A simple correction for multiple comparisons in interval mapping genome scans. *Heredity*, 87, 52-58. doi:10.1046/j.1365-2540.2001.00901
- Dai, H., Charnigo, R., Srivastava, T., Talebizadeh, Z. & Ye, S. Q. (2012). Integrating p-values for genetic and genomic data analysis. *Biometrika and Biostatistics*, 3(7). doi: 10.4172/2155-6180.1000e117
- Dudbridge, F. & Gusnanto, A. (2008). Estimation of significance thresholds for genomewide association scans. *Genetic Epidemiology*, 32(3), 227-234. doi: 10.1002/gepi.20297
- Dudbridge, F. & Koeleman, B. P. C. (2003). Rank truncated product of p values, with application to genomewide association scans. *Genetic Epidemiology*, 25(4), 360-366. doi:10.1002/gepi.10264
- Fisher, R. A. (1932). *Statistical Methods for Research Workers*. London: Oliver and Boyd.
- Gao, X., Becker, L. C., Becker, D. M., Starmer, J. D. & Province, M. A. (2010). Avoiding the high bonferroni penalty in genome-wide association studies. *Genetic Epidemiology*, 34(1), 100-105. doi: 10.1002/gepi.20430
- Härdle, W. (1990). *Applied Nonparametric Regression*. Cambridge: Cambridge University Press.
- Hart, J. D. (1991). Kernel regression estimation with time series errors. *Journal of the Royal Statistical Society*, 53(1), 173-187.
- Hastie, T., Tibshirani, R. & Friedman, J. (2009). *The Elements of Statistical Learning* (2nd ed.). New York: Springer.
- Johnson, R. C., Nelson, G. W., Troyer, J. L., Lautenberger, J. A., Kessing, B. D., Winkler, C. A. et al. (2010). Accounting for multiple comparisons in a genome-wide association study (GWAS). *BioMed Central Genomics*, 11, 6 pp. doi: 10.1186/1471-2164-11-724
- Lee, M. (2004). *Analysis of Microarray Gene Expression Data*. Belgium: Springer-Verlag.
- Li, J. & Ji, L. (2005). Adjust multiple testing in multilocus analyses using the eigenvalues of a correlation matrix. *Heredity*, 95, 221-227. doi: 10.1038/sj.hdy.6800717
- Liu, D., Lin, X. & Ghosh, D. (2007). Semiparametric regression of multidimensional genetic pathway data: Least squares kernel machines and linear mixed models. *Biometrics*, 63(4), 1079-1088. doi: 10.1111/j.1541-0420.2007.00799
- Moskvina, V. & Schmidt, K. M. (2008). On multiple-testing correction in genome-wide association studies. *Genetic Epidemiology*, 32(6), 567-573. doi: 10.1002/gepi.20331
- Nabatov, A. A. (2015). The vesicle-associated function of nod2 as a link between crohns disease and mycobacterial infection. *Gut Pathogens*, 3(1). doi: 10.1186/s13099-015-0049-1
- Nadaraya, E. (1964). On estimation regression. *Theory of Probability and Its Applications*. 9(1), 141-142. <https://doi.org/10.1137/1109020>
- Nyholt, D. R. (2004). A simple correction for multiple testing for single-nucleotide polymorphisms in linkage disequilibrium with each other. *American Journal of Human Genetics*, 74(4), 765-769. doi: 10.1086/383251

- Olejnik, S., Li, J., Supattathum, S. & Huberty, C. J. (1997). Multiple testing and statistical power with modified bonferroni procedures. *Journal of Educational and Behavioral Statistics*, 22(4), 389-406.
- Philpott, D. J., Sorbara, M. T., Robertson, S. J., Croitoru, K. & Girardin, S. E. (2014). Nod proteins: regulators of inflammation in health and disease. *Nature Reviews Immunology*, 14(1), 9-23. doi:10.1038/nri3565
- R Core Team. (2016). R: A Language and Environment for Statistical Computing, R Foundation for Statistical Computing, Vienna, Austria.
- Risch, N. & Merikangas, K. (1996). The future of genetic studies of complex human disease. *Science*, 273(5281), 1516-1517.
- Šidák, Z. (1967). Rectangular confidence regions for the means of multivariate normal distributions. *Journal of the American Statistical Association*, 62(318), 626-633. doi: 10.1080/01621459.1967.10482935
- The Wellcome Trust Case-Control Consortium. (2007). Genome-wide association study of 14,000 cases of seven common disease and 3,000 shared controls. *Nature*, 447(7), 661-678. doi: 10.1038/nature05911
- Tippett, L. H. (1931). *The Methods of Statistics*. London: Williams and Norgate.
- von Neumann, J. (1941). Distribution of the ration of the mean square successive difference to the variance. *Annals of Mathematical Statistics*, 12(4), 153-162. doi: 10.1214/aoms/1177731677
- Wand, M. P. & Jones, M. C. (1995). *Kernel Smoothing*. London: Chapman & Hall/CRC.
- Watson, G. S. (1964), Smooth regression analysis. *Sankhyā: The Indian Journal of Statistics, Series A*, 26(4), 359-372.
- Wu, M. C., Kraft, P., Epstein, M. P., Taylor, D. M., Chanock, S. J., Hunter, D. J. et al. (2010). Powerful snp-set analysis for case-control genome-wide association studies. *American Journal of Human Genetics*, 86(6), 929-942. doi: 10.1016/j.ajhg.2010.05.002
- Yu, K., Li, Q., Bergen, A., Pfeiffer, R. M., Rosenberg, P., Caporaso, N. et al. (2009). Pathway analysis by adaptive combination of p-values. *Genetic Epidemiology*, 33(8), 700-709. doi: 10.1002/gepi.20422
- Zaykin, D. V., Zhivotovsky, L. A. Czika, W., Shao, S. & Wolfinger, R. D. (2007). Combining p-values in large scale genomics experiments. *Pharmaceutical Statistics*, 6(3), 217-226. doi: 10.1002/pst.304

Research Article

Larvicidal effects of *Paederia pilifera* Hook.f. leaf and *Cuscuta reflexa* Roxb. stem extracts against the dengue vector mosquito *Aedes aegypti* Linn.

Keerati Tanruean¹, Tiwtawat Napiroon¹, Sukanya Phusing², John Raymund D. Torres³, Prescilita M. Villanueva³ and Pisit Poolprasert^{2*}

¹Biotechnology Program, Faculty of Science and Technology, Pibulsongkram Rajabhat University, Phitsanulok 65000, Thailand

²Biology Program, Faculty of Science and Technology, Pibulsongkram Rajabhat University, Phitsanulok 65000, Thailand

³Biological and Physical Sciences Department, College of Arts and Sciences, Don Mariano Marcos Memorial State University, Agoo, La Union 2504, Philippines

*E-mail: poolprasert_p@psru.ac.th

Received: 29/10/2018; Revised: 18/04/2019; Accepted: 22/04/2019

Abstract

Aedes aegypti is the carrier of dengue hemorrhagic fever that remains an important public health issue in various tropical countries, especially Thailand. The use of synthetic pesticides increases the mosquito resistance and leads to change the mosquito behavior. Recently, plant extracts and their products have become increasingly popular for use as alternative natural agents in mosquito control. Hence, this research aimed to investigate the efficacy of the parasitic plant extracts from *Paederia pilifera* and *Cuscuta reflexa* for killing the early 3rd stage-larvae of *Ae. aegypti*. Both dry plants were separately extracted by maceration with 95% ethanol for 72 h, then filtered and evaporated using vacuum evaporator until dryness. The mosquito larvicidal activity was evaluated after 24 h exposure at different concentrations [0 (control), 25, 50, 100, 200, 400 and 800 ppm]. The results revealed that the *C. reflexa* extract gave the higher effectiveness to eliminate mosquito larvae than the *P. pilifera* extract with LC₅₀ and LC₉₀ of 80.55 and 297.94 ppm, respectively. Therefore, current investigation suggests that these plants extracts can be applied as alternative sources of mosquito larvicides. Further studies are needed for identification of the active compounds that can be used in broad spectrum for controlling mosquitoes and also for the determination of the mode of action of these compounds.

Keywords: *Aedes aegypti*, *Paederia pilifera*, *Cuscuta reflexa*, maceration, insecticidal activity

Introduction

Aedes aegypti (Diptera: Culicidae) is more likely to spread viruses like dengue, chikungunya, Zika, etc., which are serious problems in several tropical and subtropical countries. Sub-consequently, morbidity and mortality have been widely documented each year worldwide (Guzman & Kouri, 2002; El-Maghraby et al., 2012; Mohankumar et al., 2016). *Aedes* mosquitoes usually breed in household man-made water-storage container and preferentially feed indoors, especially in the morning times and in the late afternoon (Christophers, 1960;

Ponlawat & Harrington, 2005). Recently, a vaccine against dengue fever has been registered in the Thailand. However, it cannot be used for everyone because there are still some limitations in the prevention of the disease. Mosquito control is crucial in order to suppress proliferation of vector mosquitoes and to enhance quality of environment and public health. Herein, the prevention and control of mosquito-borne diseases relied on their eradication through two main measures larviciding and using synthetic chemical insecticides (Polsomboon et al., 2008; Thongpoon & Poolprasert, 2015). Nonetheless, controlling mosquitoes has led to other serious problems due to the unselective applications of chemical pesticides. Those insecticides are not only harmful to human being and other organisms in the environment but also are hardly degradable and spreading toxic effects. Besides, overuse of these insecticides for controlling *Aedes* mosquitoes, like other insects, may enter into the food web and may develop resistance, a capacity to survive contact with an insecticide (Ghosh, 1991; Govindarajan, 2010; Ghosh et al., 2012).

During that period, the utilization of natural products such as phytochemicals derived from plant sources for mosquito control has become popular. Some plant-derived insecticides including Chrysanthemum, Pyrethrum, Derris, Quassia, Nicotine, Hellebore, Anabasin, Azadirachtin, d-limonene, camphor and Turpentine have been extensively used in several countries. In the recent years, less than 2,000 recorded plant species especially in the families of Asteraceae, Cladophoraceae, Labiatae, Miliaceae, Oocystaceae, Rutaceae and Solanaceae, that produce numerous chemical factors and metabolites of value have been previously documented in pest insect control program (Shaan et al., 2005). These botanical insecticides can act as insect growth regulators, oviposition attractants, repellents as well as larvicides. They can also play a vital role in the interruption of the transmission of mosquito-borne illnesses at the individual as well as at the level of community. Moreover, a multitude of their active ingredients with distinguish modes of action which lessen the chance of resistance in mosquito population is included (Sharma et al., 2006; Ghosh et al., 2012; Govindarajan et al., 2012).

Cuscuta reflexa, a parasitic giant dodder belonging to the family Convolvulaceae, is one of the commonly used in functional food and medicinal tonics. This parasitic plant is mainly confined to tropical Asia and had a wide host spectrum (Kaiser et al., 2015). Moreover, it is also used to prevent abortion as well as aging in clinical treatment and often in alcoholic beverages as nutrient (Anjum et al., 2013). This plant can grow on host by rapping itself around and absorb nutrient through the vascular system (Vaughn, 2003), which the organic substances from host plants are transported to *Cuscuta* plants via phloem connections (Ashwani et al., 2012). *Cuscuta reflexa* is one of the major distributed *Cuscuta* plant in Thailand. Many prior research studies have indicated that the stem of *C. reflexa* possessed antibacterial, antiviral, anticancer and antioxidant activities (Pal, 2006; Al-Fatimi et al., 2007; Perveen et al., 2013; Tanruean et al., 2017a, b).

Paederia pilifera is commonly known as sewer vine (family Rubiaceae) because of the strong fetid odor when it is crushed. This vine climbing plant is widely distributed throughout India and Southeast Asia (Saenphet et al., 2014; Nie et al., 2013). In this regard, the treatment of gastrointestinal disorders including diarrhea, gastritis, food poisoning, dyspepsia, jaundice and hyperbilirubinemia have been extensively applied as herbal pharmacopoeias (Sukkho, 2008). Additionally, some previous studies concerning antioxidant activities have also been documented. Recently, Saenphet et al. (2004) examined its gastroprotective effects and antioxidant activities based on scientific testes. It could be said that these plants are futile for villagers. Also, they grow so quickly and spread so they are very commonly seen in the areas.

As mentioned above, they were rich in secondary metabolites and appeared to have effective as many biological properties from prior studies; however, no such researches in terms of mosquito larvicidal properties of these plant extracts has been documented. Thus, we attempted to evaluate the ethanolic extracts from *P. pilifera* and *C. reflexa* as insecticides against *Ae. aegypti* larvae in this current study. These precursory findings obtained could be applied as alternative sources and developed as ecofriendly larvicides in mosquito control program.

Materials and methods

Mosquito rearing

A laboratory reared colony of *Aedes aegypti* larvae was used for the larvicidal activity. The early 3rd instar larvae of F1 laboratory-reared *Ae. aegypti* were established in the insectarium of the Office of Disease Prevention and Control 2, Phitsanulok, Thailand and maintained under controlled insectary condition at $28 \pm 2^\circ\text{C}$, 72 - 80% relative humidity, with a constant photoperiod of 12 h light: 12 h dark. *Aedes* mosquito was used as a test species because of its easy collection as well as expedience in rearing and maintaining the life cycle. Its sensitivity to larvicides makes *Ae. aegypti* larvae a good indicator of biocidal activity.

Plant materials

Fresh *Paederia pilifera* leaves and *Cuscuta reflexa* stems were collected from the riversides of Hua Suea sub-district, Maetha district, Lampang province, Thailand between June to December 2016. Plant specimens including *P. pilifera* (PSRU-Rubi-001) and *C. reflexa* (PSRU-Conv-001) were morphological identified by comparison with the main herbarium database of the Botanical Garden Organization, related literatures (Puff et al., 2005; Staples, 2010) and confirmed by specialist.

Plant extraction

Each plant material was cleaned in water and dried at 50°C in hot air oven for 72 h; powder was made using an electric mixer. About 100 g of the powder were soaked in 500 ml of 95% ethanol as solvent at room temperature for 72 h. The fluids were then filtered using Whatman No. 1 filter paper. The crude plant extracts were evaporated to dryness in a rotary vacuum evaporator. One gram of the plant residue was dissolved in 100 mL of ethanol (stock solution) and considered as 1% stock solution. From this stock solution, different concentrations were prepared ranging from 25, 50, 100, 200, 400, and 800 ppm, respectively.

Larvicidal bioassay

The larval bioefficacy of the crude extracts was assessed by the procedure of World Health Organization (WHO) with some modifications (WHO, 1996; Thongpoon & Poolprasert, 2015). Twenty five healthy, early 3rd instar larvae of *Aedes aegypti* were placed into each 250 ml capacity plastic bowls containing 100 ml of each plant extract of desired concentration adjusted in water along with controls with ethanol at the same concentration as used for dissolution and preparation of extracts and water. Trials were conducted with a series of five different concentrations ranging from 25 to 800 ppm (25, 50, 100, 200, 400, and 800), each with four replicates of 25 *Aedes* mosquito larvae, with a final total number of 100 larvae. The larvae exposed to water with 2% ethanol served as control. All the experiments were carried out at room temperature of $27 \pm 2^\circ\text{C}$ and relative humidity of 75-85%. Larval food was given for the test larvae. The larval mortality at different concentrations and in the control was counted after 24 h exposure.

Statistical analysis

The mortality data were subjected to log probit regression analysis (Finney, 1971) for calculation the median lethal concentrations (LC₅₀) and 90% lethal concentration (LC₉₀) and 95% confidence (fiducial) limits. The percentage of larval mortality was computed and when control mortality ranged from 5-20% it was corrected using formula of Abbott (1925). To determine the difference in larval mortality between concentrations, ANOVA followed by *Tukey's HSD* tests were performed by using SPSS for windows version 16.0 (SPSS Inc., Cary, NC, US). Results were expressed in terms of mean $\pm$ SD. A value of $p < 0.05$ was also considered to be statistically significant.

Results and discussion

The consequence of the various treatments of the ethanolic extracts of *Paederia pilifera* and *Cuscuta reflexa* on the F1 larval progeny of *Aedes aegypti* was observed. The deleterious effect for both plant extract treatments on the F1 larval progeny of *Ae. aegypti* resulted in larval mortality with LC₅₀ (95% CI; lower-upper) and LC₉₀ (95% CI; lower-upper) values of 281.96 ppm (176.51-552.90 ppm) and 1542.69 ppm (718.77-9832.76 ppm) for *P. pilifera* with slope of 5.827, while *C. reflexa* ethanolic extract treatments gave 80.55 ppm (70.43-91.59 ppm) and 297.74 ppm (245.79-372.17 ppm) for LC₅₀ (95% CI; lower-upper) and LC₉₀ (95% CI; lower-upper), respectively, and a slope of 28.102. The analysis suggests that having the lowest LC₅₀ and LC₉₀ values (80.55 and 297.94 ppm), the ethanolic extract from *C. reflexa* exhibits higher toxicity (Table 1).

Table 1. Larvicidal activity of ethanolic extracts of *P. pilifera* and *C. reflexa* against 3rd instar larvae of *Ae. aegypti*. Means with the same letter were not significantly different.

Conc. (ppm)	% Mortality (Mean $\pm$ SD)	
	<i>Paederia pilifera</i>	<i>Cuscuta reflexa</i>
Control	0.00 (0.00 $\pm$ 0.00 ^d)	0.00 (0.00 $\pm$ 0.00 ^d)
25	5.00 (1.25 $\pm$ 1.50 ^d)	17.00 (4.25 $\pm$ 2.22 ^{cd})
50	13.00 (3.25 $\pm$ 1.71 ^{cd})	27.00 (6.75 $\pm$ 2.36 ^c)
100	22.00 (5.50 $\pm$ 2.52 ^{cd})	56.00 (14.00 $\pm$ 2.58 ^b)
200	30.00 (7.50 $\pm$ 3.42 ^{bc})	82.00 (20.5 $\pm$ 2.65 ^a)
400	51.00 (12.75 $\pm$ 4.99 ^b)	94.00 (23.5 $\pm$ 1.73 ^a)
800	90.00 (22.50 $\pm$ 1.00 ^a)	100.00 (25.00 $\pm$ 0.00 ^a)
LC ₅₀ (ppm) (95% CI)	281.96 (176.51 - 552.90)	80.55 (70.43 - 91.59)
LC ₉₀ (ppm) (95% CI)	1,542.69 (718.77 - 9,832.76)	297.74 (245.79 - 372.17)
F-test	35.17*	102.18*
Tukey _{0.05}	6.09	4.53
C.V. (%)	35.14	14.64
Regression#	Y = 5.827X + 0.108	Y = 28.102X + 0.114
r	0.992	0.824
R ²	0.984	0.679

= Regression equation (Y): plant extract concentration (X) at 24 hours

r = Correlation Coefficient of mosquito larvae mortality and plant extract concentration

R² = Regression Coefficient

* = Significant difference ($p < 0.05$)

95% CI = the confidence interval for a group of data for 95% confidence level (lower-upper)

In this regard, no larval mortality was exhibited in the untreated groups; however, it was found that the concentration dependent larval mortalities were substantial in both extract treated groups. Increasing concentrations from 25 to 800 ppm were evident (Table 1). The highest mortality percentage of larval mosquito tested with *P. pilifera* extract was 90% whereas 100% larval mosquito mortality could be observed when they are tested with *C. reflexa* extract at 800 ppm. Based on the analysis of variance (ANOVA) F-test, there was a significant difference in means between the concentration groups ($p < 0.05$). Although, the larvicidal activity slightly rose with increased dosage in all trials, differences between means using the *Tukey's HSD* tests were also considered significant at the 95% level of confidence. The results indicated that means with the same letter were not significantly different as demonstrated in Table 1.

Generally, several previous researches have been reported that the susceptibility of *Ae. aegypti* larvae to a graded series of plant extract under the laboratory conditions was dose dependent and mortality increased when exposed to higher concentrations (Kaushik & Saini, 2008; 2009). In addition, the toxic effect of these plant extracts were presumably on the neuromuscular system resulting in unnatural behavior of the treated larval mosquitoes including lifelessness, uneasiness and coiling motion that was consistent with many former observations such as the researches of Polsomboon et al. (2008); Kaushik & Saini (2008; 2009); Kumar et al. (2010); Ghosh et al. (2012) and Thongpoon & Poolprasert (2015). The biological properties of these plant extracts might be due to numerous chemical compositions including, phenolics, terpenoids, flavonoids and alkaloids. Such constituents might jointly or independently contribute to produce toxic activity against the mosquito species (Gohil et al., 2010; Kamaraj et al., 2011; Mohankumar et al., 2016). The present endeavor is of great medical importance. It could be useful in controlling a major vector of viral diseases like dengue fever, dengue hemorrhagic fever, Chikungunya fever and Zika virus which are serious health problems in Thailand and other developing countries (Guzman & Kouri, 2002; Jansen et al., 2008). Thus, the larvicidal property of both extracts from *P. pilifera* and *C. reflexa* against *Ae. aegypti* could be explored further through studies on its chemical composition, mode of action and adulticidal property. Moreover, other aspects like finding the most effective concentration for application, evaluating the response of different strains (field or laboratory) and larval progeny of mosquitoes, maturity of the plant material, as well as method and solvent used during extraction should be further deliberated in the follow up studies. With all these, there is a greater chance of developing a new mosquito larvicide types from plant extracts for implantation in Integrated Mosquito Management (IMM) program. Also, other biological properties of *P. pilifera* and *C. reflexa* like arthropod control particularly controlling dengue and other mosquito-borne diseases can be elucidated.

Conclusion

Evaluation of the biological property of the ethanolic extracts of *Paederia pilifera* leaf and *Cuscuta reflexa* stem displayed a promising larvicidal effect against *Ae. aegypti*. The 24-hour exposure of *Ae. aegypti* larvae on the plant extracts resulted into a substantial larvicidal property with a LC_{50} and LC_{90} of 281.96 and 1542.69 ppm for *P. pilifera* and 80.55 and 297.74 ppm for *C. reflexa*, respectively. Furthermore, considering the mortality rate of mosquito larvae, 800 ppm showed the highest insecticidal efficacy in which a 90% mortality for *P. pilifera* and 100% mortality for *C. reflexa* was observed. Consequently, it is concluded that the two plant extracts could be are potential natural agents for controlling or preventing the growth of *Aedes* mosquito larvae under the laboratory condition. There are no available reports on the toxicity of *P. pilifera* and *C. reflexa* against mosquito larvae, therefore, this is considered as the first report

in this time. Meanwhile, findings could be further deliberated to elucidate the characterization to control mosquito vectors instead of using synthetic insecticides. In addition, results presented here will pave way for further evaluation of the efficacy of the extracts by considering the specific bioactive present and the most appropriate procedure to prepare the extracts to attain the best yield and quality of the natural products from both plants.

Acknowledgements

This research work was partly financially supported by the Research and Development Institute of Pibulsongkram Rajabhat University, Phitsanulok, Thailand. The authors would like to thank the Office of Disease Prevention and Control 2, Phitsanulok for providing mosquito larvae in this study. Appreciation is also extended to Ms. Nutnaree Panprom, a senior student, for her assistance in the laboratory experiment.

References

- Abbott, M. S. (1925). A method of computing effectiveness of an insecticide. *Journal of Economic Entomology*, 18, 265-267.
- Al-Fatimi, M., Wurster, M., Schroder, G. & Lindequist, U. (2007). Antioxidant, antimicrobial and cytotoxic activities of selected medicinal plants from Yemen. *The Journal of Ethnopharmacology*, 111, 657-666. doi: 10.1016/j.jep.2007.01.018.
- Anjum, F., Bukhari, S. A., Shahid, M., Anwar, S., Afzal, M. & Akhter, N. (2013). Comparative evaluation of antioxidant potential of parasitic plant collected from different hosts. *Journal of Food Processing and Technology*, 4, 1-6. doi: 10.4172/2157-7110.1000228.
- Ashwani, K., Sapna, R., Somya, S. & Niketa. (2012). Recent review on plant molecular biology, phytophysiology, phytochemistry and ethnopharmacology of *Cuscuta reflexa* Roxb. A wonderful parasitic plant. *International Research Journal of Pharmacy*, 3, 30-38.
- Christophers, S. R. (1960). *Aedes aegypti. The yellow fever mosquito. Its life history, bionomics and structure*. London: Cambridge University Press.
- El-Maghraby, S., Nawwar, G. A., Bakr, R. F., Helmy, N. & Kamel, O.M. (2012). Toxicological studies for some agricultural waste extracts on mosquito larvae and experimental animals. *Asian Pacific Journal of Tropical Biomedicine*, 2(7), 558-563.
- Finney, D. J. (1971). *Probit Analysis* (3rd ed.). London: Cambridge University Press.
- Ghosh, G. K. (1991). *Biopesticide and Integrated Pest Management*. New Delhi: A.P.H. Publishing Corporation.
- Ghosh, A., Chowdhury, N. & Chandra, G. (2012). Plant extracts as potential mosquito larvicides. *The Indian Journal of Medical Research*, 135(5), 581-598.
- Gohil, M. V., Agrawal, S. K., Saxena, A. K., Garg, D., Gopimohan, C. & Bhutani, K. K. (2010). Synthesis, biological evaluation and molecular docking of aryl hydrazines and hydrazides for anticancer activity. *Indian Journal of Experimental Biology*, 48, 265-268.
- Govindarajan, M. (2010). Chemical composition and larvicidal activity of leaf essential oil from *Clausena anisata* (Willd.) Hook. f. ex Benth (Rutaceae) against three mosquito species. *Asian Pacific Journal of Tropical Medicine*, 3, 874-877. [https://doi.org/10.1016/S1995-7645\(10\)60210-6](https://doi.org/10.1016/S1995-7645(10)60210-6).
- Govindarajan, M., Sivakumar, R., Amsath, A. & Niraimathi, S. (2012). Larvicidal efficacy of botanical extracts against two important vector mosquitoes. *European Review for Medical and Pharmacological Sciences*, 16(3), 386-392.

- Guzman, M. G. & Kouri, G. (2002). Dengue: an update. *Lancet Infectious Diseases*, 2, 33-42.
- Jansen, C. C., Webb, C. E., Northill, J. A., Ritchie, S. A., Russell, R. C. & Van Den Hurk, A. F. (2008). Vector competence of Australian mosquito species for a North American strain of West Nile virus. *Vector Borne and Zoonotic Diseases*, 8(6), 805-812. <https://doi.org/10.1089/vbz.2008.0037>.
- Kaiser, B., Vogg, G., Fürst, U. B. & Albert, M. (2015). Parasitic plants of the genus *Cuscuta* and their interaction with susceptible and resistant host plants. *Frontiers in Plant Science*, 6(45), 1-9. <https://doi.org/10.3389/fpls.2015.00045>.
- Kamaraj, C., Bagavan, A., Elango, G., Zahir, A. A., Rajakumar, G., Marimuthu, S. et al. (2011). Larvicidal activity of medicinal plant extracts against *Anopheles subpictus* & *Culex tritaeniorhynchus*. *The Indian Journal of Medical Research*, 134(1), 101-106.
- Kaushik, R. & Saini, P. (2008). Larvicidal activity of stem extract of *Cuscuta reflexa* (Family: Bignoniaceae) against *Anopheles stephensi*, *Culex quinquefasciatus* and *Aedes aegypti*. *Journal of Vector Borne Diseases*, 45, 66-69.
- Kaushik, R. and Saini, P. (2008). Larvicidal activity of leaf extract of *Millingtonia hortensis* (Family: Bignoniaceae) against *Anopheles stephensi*, *Culex quinquefasciatus* and *Aedes aegypti*. *Journal of Vector Borne Diseases*, 45, 66-69.
- Kaushik, R. & Saini, P. (2009). Screening of some semi-arid region plants for larvicidal activity against *Aedes aegypti* mosquitoes. *Journal of Vector Borne Diseases*, 46, 244-246.
- Kumar, S., Warikoo, R. & Wahab, N. (2010). Larvicidal potential of ethanolic extracts of dried fruits of three species of peppercorns against different instars of an indian strain of dengue fever mosquito, *Aedes aegypti* L. (Diptera: Culicidae). *Parasitology Research*, 107(4), 901-907. doi: 10.1007/s00436-010-1948-1.
- Mohankumar, T. K., Shivanna, K. S. & Achuttan, V. V. (2016). Screening of methanolic plant extracts against larvae of *Aedes aegypti* and *Anopheles stephensi* in Mysore. *Journal of Arthropod-Borne Diseases*, 10(3), 303-314.
- Nie, Z.-L., Deng, T., Meng, Y., Sun, H. & Wen, J. (2013). Post-Boreotropical dispersals explain the pantropical disjunction in *Paederia* (Rubiaceae). *Annals of Botany*, 111, 873-886. doi: 10.1093/aob/mct053.
- Pal, D. K., Mandal, M., Senthilkumar, G. P. & Padhiari, A. (2006). Antibacterial activity of *Cuscuta reflexa* stem and *Corchorus olitorius* seed. *Fitoterapia*, 77, 589-591. doi: 10.1016/j.fitote.2006.06.015.
- Perveen, S., Bukhari, I. H., Ain, Q. U., Kousar, S. & Rehman, J. (2013). Antimicrobial, antioxidant and minerals evaluation of *Cuscuta europea* and *Cuscuta reflexa* collected from difference hosts and exploring their role as functional attribute. *Journal of Pharmaceutical and Applied Sciences*, 3, 43-49.
- Ponlawat, A. & Harrington, L. C. (2005). Blood feeding patterns of *Aedes aegypti* and *Aedes albopictus* in Thailand. *Journal of Medical Entomology*, 42, 844-849.
- Polsomboon, S., Poolprasert, P., Bangs, M. J., Suwanakerd, W., Grieco, J. P., Achee, N. et al. (2008). Effects of physiological conditioning on behavioral avoidance by using a single age group of *Aedes aegypti* exposed to deltamethrin and DDT. *Journal of Medical Entomology*, 45(2), 251-259.
- Puff, C., Chayamarit, K. & Chamchumroon, V. (2005). *Rubiaceae of Thailand: A pictorial guide to indigenous and cultivated genera*. Bangkok, Thailand: The Forest Herbarium, National Park, Wildlife and Plant Conservation Department.
- Saenphet, K., Saenphet, S. & Jirakittirat, K. (2004). Gastroprotective effects and antioxidant activities of *Paederia pilifera* Hook.f. Root extract. *Chiang Mai Journal of Science*, 41(5.1), 1121-1131.

- Shaalán, E. A.-S., Canyon, D., Younes, M. W. F., Abdel-Wahab, H. & Mansour, A. H. (2005). A review of botanical phytochemicals with mosquitocidal potential. *Environment International*, 3, 1149-1166. doi: 10.1016/j.envint.2005.03.003.
- Sharma, P., Mohan, L. & Srivastava, C. N. (2006). Impact analysis of neem kernel extracts on the development profile of *Anopheles stephensi*. *Journal of Asia-Pacific Entomology*, 9, 11-17. [https://doi.org/10.1016/S1226-8615\(08\)60270-8](https://doi.org/10.1016/S1226-8615(08)60270-8).
- Staples, G. (2010). Convolvulaceae. *Flora of Thailand*. 10(3), 378-382.
- Sukkho, T., (2008). *A survey of medicinal plants used by Karen people at Ban Chan and Chaem Luang Sub-districts, Mae Chaem District, Chiang Mai Province* (M.S. thesis), Department of biology, Faculty of Science, Chiang Mai University, Thailand. (in Thai)
- Tanruean, K., Kaewnarin, K., Suwannarach, N. & Lumyong, S. (2017a). Comparative evaluation of phytochemicals, and antidiabetic and antioxidant activities of *Cuscuta reflexa* grown on different hosts in northern Thailand. *Natural Product Communications*, 12(1), 51-54. <https://doi.org/10.1080/14786419.2017.1392955>.
- Tanruean, K., Poolprasert, P., Kumla, J., Suwannarach, N. & Lumyong, S. (2017b). Bioactive compounds content and their biological properties of acetone extract of *Cuscuta reflexa* Roxb. grown on various host plants, *Natural Product Research*, 3, 1-4. doi: 10.1080/14786419.2017.1392955.
- Thongpoon C. & Poolprasert, P. (2015). Phytochemical screening and larvicidal activity of *Millingtonia hortensis* L.f. flower extract against *Aedes aegypti* Linn. *Kasetsart Journal (Natural Science)*, 49(4), 597-605.
- Vaughn, K. C. (2003). Dodder hyphae invade the host: a structure and immunocytochemical characterization. *Protoplasma*, 220, 189-200. doi: 10.1007/s00709-002-0038-3.
- WHO. (1996). *Report of the WHO Informal Consultation on the "Evaluation on the Testing of Insecticides"*. Geneva: WHO Pesticides Evaluation Scheme, Division of Control of Tropical Diseases.

Research Article

Bayesian parameters estimation of the negative binomial - two parameter weighted exponential distribution with application in biological data

Pralongpol Prasongporn¹ and Winai Bodhisuwan^{1*}

¹Department of Statistics, Faculty of Science, Kasetsart University, Chatuchak, Bangkok 10900, Thailand

*E-mail: fsciwnb@ku.ac.th

Received: 07/01/2019; Revised: 22/02/2019; Accepted: 06/03/2019

Abstract

The purpose of this paper is to report the results of fitting three biologically significant statistical models, Poisson, negative binomial (NB) and negative binomial-two parameter weighted exponential (NB-TWE) distributions, to biological data. The results of fitting the different distributions are compared by using the K-S Test and Cramer-von Mises Test. We found that the data follows the highest value base on a NB-TWE distribution, which implies that the NB-TWE distribution is the best fit for these data sets. Therefore, the NB-TWE distribution is the best choice for biological data that has an overdispersion problem, and are heavy-tailed with positive skewness.

Keywords: count data, negative binomial distribution, mixed distribution, overdispersion, corn borer larvae data, pyrausta nubilalis

Introduction

Biology is the natural science that studies life and living organisms. Often, biological data come in the form of counts from many fields such as bacteriology (Neyman, 1939), zoology (Fisher, 1941), entomology (Taylor, 1961) and infectious diseases (Lloyd-Smith, 2007). Regression analysis can be applied for these data, but sometimes it may not be the most appropriate for count data. A Poisson distribution is usually applied for count data modeling, and is a good model if variance and mean are equal. Many count data, especially biological data, often exhibit overdispersion, where the variance is larger than the mean. Hence a Poisson distribution is not an appropriate model. In the literature, the negative binomial (NB) distribution, which is a mixture of the Poisson and Gamma distributions, is employed as a functional form (Greenwood & Yule, 1920). It will relax the overdispersion restriction of the Poisson distribution and lead to one of the popular alternative distributions for overdispersed count data (Rainer, 2000).

In 1953, Bliss fitted the NB distribution to biological data and found that the NB distribution was the appropriate probability distribution for fitting the biological data when the variance is significantly larger than the mean, which suggests that the NB distribution is the most widely adaptable and generally useful of those that have been proposed (Bliss & Fisher, 1953). White and Bennetts modeled bird counts by using a negative binomial distribution in 1996 (White & Bennetts, 1996), whereas Alexander et al. used the negative binomial distribution with a spatial model of parasitism in 2000 (Alexander et al., 2000).

Since the mid 1980s, mixture of distributions have been widely used for modeling observed situations whose a variety of characteristics. Several studies have shown that mixed Poisson and mixed NB distributions provide a better fit compared to the Poisson and NB distributions for count data modelling. Some examples of these distributions include the Poisson-inverse Gaussian (Klugman et al., 2008), beta-negative binomial (Wang, 2011), negative binomial-beta exponential (Pudprommarat et al., 2012) and negative binomial-generalized exponential distribution (Aryuyuen & Bodhisuwan, 2013). The results of related works show the mixed Poisson and mixed NB distribution can be competitive to the Poisson and NB distributions.

In 2017, Prasongporn and Bodhisuwan (2017) introduced a new distribution: the negative binomial-two parameter weighted exponential (NB-TWE) distribution. This new distribution is heavy-tailed with positive skewness. The NB-TWE provided a better fit than the Poisson, and negative binomial distribution for overdispersion data model.

In this paper, Bayesian parameters estimation of NB-TWE is employed, and applied to biological data. The rest of paper is organized as follows. In methods, the NB-TWE and its special cases are introduced. In addition, the Bayesian approach for NB-TWE and the application with real data set are given in results and discussion and some conclusion remarks are presented in the last section.

Methods

Negative Binomial–Two Parameter Weighted Exponential (NB-TWE) Distribution

First, we present the NB distribution and some of its properties.

Let X be distributed as negative binomial with parameters n and p ; its probability mass function (pmf) is

$$f(x) = \binom{r+x-1}{x} p^r (1-p)^x, x=0,1,2,\dots, \text{ where } r > 0 \text{ and } 0 < p < 1. \quad (1)$$

The first two moments about zero and the factorial moments of the NB distribution, respectively, are given by

$$\begin{aligned} E(X) &= \frac{r(1-p)}{p}, \\ E(X^2) &= \frac{r(1-p)[1+r(1-p)]}{p^2}, \\ \mu_{[k]}(X) &= E[X(X-1)\cdots(X-k+1)] \\ &= \frac{\Gamma(r+k)(1-p)^k}{\Gamma(r)p^k}, k=1,2,\dots, \end{aligned}$$

where $\Gamma(t) = \int_0^\infty x^{t-1} \exp(-x) dx$ is the so-called gamma function.

Next, we introduce the NB-TWE distribution, which is gained by mixing the NB distribution with the TWE (two parameter weighted exponential) distribution. The NB and TWE distributions can be used as alternative distributions to model lifetime data. However, a limitation of these distributions occurs when the sample skewness measure for data lies outside its skewness function range. The NB-TWE distribution has a wider range of skewness than the NB and TWE distributions. The flexibility of the NB-TWE distribution and increased range of skewness are able to fit and capture features in real data sets much better than Poisson, NB and TWE distributions.

Definition 1. The pmf of the NB-TWE distribution is

$$h(x) = \binom{r+x-1}{x} \sum_{j=0}^x \binom{x}{j} (-1)^j \times \left[\frac{(1+\alpha)(1+\beta)(1+\alpha+\beta) \left(2 \left(1 + \frac{r+j}{\lambda} \right) + \alpha + \beta \right)}{\left(1 + \frac{r+j}{\lambda} \right) \left(1 + \alpha + \frac{r+j}{\lambda} \right) \left(1 + \beta + \frac{r+j}{\lambda} \right) \left(1 + \alpha + \beta + \frac{r+j}{\lambda} \right) (2 + \alpha + \beta)} \right] \quad (2)$$

where $x = 0, 1, 2, \dots$ and parameters λ, r, α and $\beta > 0$. (see more detail of proof in (Prasongporn, 2017))

The behavior of the NB-TWE distribution for different parameter values and some of its properties and their graphs are displayed in the following corollaries. Moreover, the shapes of the NB-TWE distribution for different parameter values are illustrated in Figure 1. It confirms that the NB-TWE distribution is positively skewed and heavy-tailed.

Next, we will present some related distributions and moments of the NB-TWE distribution.

Some related distributions

The expansion of the NB-TWE distribution is introduced in this section. We present special cases of the NB-TWE distribution. (see more detail of proofs in (Prasongporn, 2017))

Corollary 1. If $\lambda = 1$, and $\alpha, \beta \rightarrow \infty$, the NB-TWE distribution then reduces to the negative binomial-exponential distribution (NB-E) with the pmf

$$h(x) = \binom{r+x-1}{x} \sum_{j=0}^x \binom{x}{j} (-1)^j \frac{1}{1+r+j}, \quad x = 0, 1, 2, \dots \quad (3)$$

Corollary 2. If $\lambda = 1$, and $\alpha, \beta \rightarrow 0$, the NB-TWE distribution then reduces to the negative binomial-gamma distribution (NB-gamma) with the pmf

$$h(x) = \binom{r+x-1}{x} \sum_{j=0}^x \binom{x}{j} (-1)^j \frac{1}{(1+r+j)^3}, \quad x = 0, 1, 2, \dots \quad (4)$$

Corollary 3. If $\lambda=1$, and $\lim_{\alpha \rightarrow \infty} h(x)$, then the NB-TWE distribution reduces to the negative binomial-weighted exponential distribution (NB-WE) with the pmf

$$h(x) = \binom{r+x-1}{x} \sum_{j=0}^x \binom{x}{j} (-1)^j \left(1 + \frac{r+j}{1+\beta}\right)^{-1} \frac{1}{1+r+j}, \quad x = 0, 1, 2, \dots \quad (5)$$

Corollary 4. If $\lambda=1$, and $\lim_{\beta \rightarrow \infty} h(x)$, then the NB-TWE distribution reduces to the negative binomial-weighted exponential distribution (NB-WE) with the pmf

$$h(x) = \binom{r+x-1}{x} \sum_{j=0}^x \binom{x}{j} (-1)^j \left(1 + \frac{r+j}{1+\alpha}\right)^{-1} \frac{1}{1+r+j}, \quad x = 0, 1, 2, \dots \quad (6)$$

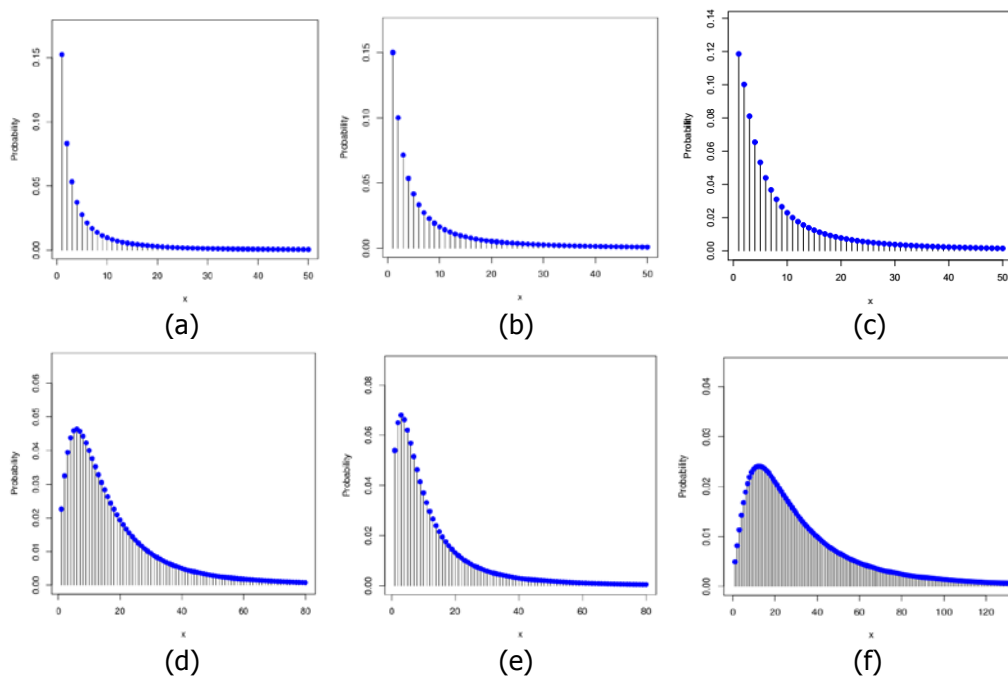


Figure 1. Plots of the NB-TWE distribution with some specified parameter values

parameter (a) is $r=0.5$, $\lambda=1$, $\alpha=1$, $\beta=1$

parameter (b) is $r=1$, $\lambda=1$, $\alpha=1$, $\beta=1$

parameter (c) is $r=5$, $\lambda=2$, $\alpha=2$, $\beta=2$

parameter (d) is $r=10$, $\lambda=2$, $\alpha=2$, $\beta=2$

parameter (e) is $r=25$, $\lambda=3$, $\alpha=2$, $\beta=2$

parameter (f) is $r=50$, $\lambda=3$, $\alpha=2$, $\beta=2$

The factorial moment

The factorial moment of order k of X If $X \sim \text{NB-TWE}(r, \lambda, \alpha, \beta)$, is given by

$$\mu_{[k]}(X) = \frac{\Gamma(r+k)}{\Gamma(r)} \sum_{j=0}^k \binom{k}{j} (-1)^j \times \left[\frac{(1+\alpha)(1+\beta)(1+\alpha+\beta) \left(2 \left(1 + \frac{r+j}{\lambda} \right) + \alpha + \beta \right)}{\left(1 + \frac{r+j}{\lambda} \right) \left(1 + \alpha + \frac{r+j}{\lambda} \right) \left(1 + \beta + \frac{r+j}{\lambda} \right) \left(1 + \alpha + \beta + \frac{r+j}{\lambda} \right) (2 + \alpha + \beta)} \right]$$

where r, λ, α and $\beta > 0$. (7)

Next, Bayseian parameters distribution of the NB-TWE will be presented, including prior distribution, joint density and the posterior distribution of $r, \lambda, \alpha, \beta$.

Results and discussion

Bayseian Parameters Estimation Distribution

The parameters of NB-TWE distribution can also be estimated using Bayesian approach, which considers parameters as random variables that are characterized by a prior distribution. Due to parameters in NB-TWE distribution over than zero, the gamma distribution is an appropriate to the parameter space, so we select the gamma distribution as a prior distribution $r, \lambda, \alpha, \beta$ as shown

$$r \sim \text{Gamma}(a_r, b_r), \text{ which pdf } \pi(r) = \frac{b_r^{a_r}}{\Gamma(a_r)} r^{a_r-1} e^{-b_r r}, a_r, b_r > 0,$$

$$\lambda \sim \text{Gamma}(a_\lambda, b_\lambda), \text{ which pdf } \pi(\lambda) = \frac{b_\lambda^{a_\lambda}}{\Gamma(a_\lambda)} \lambda^{a_\lambda-1} e^{-b_\lambda \lambda}, a_\lambda, b_\lambda > 0,$$

$$\alpha \sim \text{Gamma}(a_\alpha, b_\alpha), \text{ which pdf } \pi(\alpha) = \frac{b_\alpha^{a_\alpha}}{\Gamma(a_\alpha)} \alpha^{a_\alpha-1} e^{-b_\alpha \alpha}, a_\alpha, b_\alpha > 0,$$

$$\beta \sim \text{Gamma}(a_\beta, b_\beta), \text{ which pdf } \pi(\beta) = \frac{b_\beta^{a_\beta}}{\Gamma(a_\beta)} \beta^{a_\beta-1} e^{-b_\beta \beta}, a_\beta, b_\beta > 0$$

According to the likelihood function parameter of NB-TWE distribution as

$$\mathcal{L}(r, \lambda, \alpha, \beta) = \prod_{i=1}^n \binom{r+x_i-1}{x_i} \sum_{j=0}^k \binom{x_i}{j} (-1)^j \times \left[\frac{(1+\alpha)(1+\beta)(1+\alpha+\beta) \left(2 \left(1 + \frac{r+j}{\lambda} \right) + \alpha + \beta \right)}{\left(1 + \frac{r+j}{\lambda} \right) \left(1 + \alpha + \frac{r+j}{\lambda} \right) \left(1 + \beta + \frac{r+j}{\lambda} \right) \left(1 + \alpha + \beta + \frac{r+j}{\lambda} \right) (2 + \alpha + \beta)} \right]$$

The joint density of the NB-TWE was expressed as follows

$$f(y_1, y_2, \dots, y_n, r, \lambda, \alpha, \beta) = \prod_{i=1}^n \binom{r+x_i-1}{x_i} \sum_{j=0}^k \binom{x_i}{j} (-1)^j$$

$$\times \left[\frac{(1+\alpha)(1+\beta)(1+\alpha+\beta) \left(2 \left(1 + \frac{r+j}{\lambda} \right) + \alpha + \beta \right)}{\left(1 + \frac{r+j}{\lambda} \right) \left(1 + \alpha + \frac{r+j}{\lambda} \right) \left(1 + \beta + \frac{r+j}{\lambda} \right) \left(1 + \alpha + \beta + \frac{r+j}{\lambda} \right) (2 + \alpha + \beta)} \right] \\ \times \frac{b_r^{a_r}}{\Gamma(a_r)} r^{a_r-1} e^{-b_r r} \times \frac{b_\lambda^{a_\lambda}}{\Gamma(a_\lambda)} \lambda^{a_\lambda-1} e^{-b_\lambda \lambda} \times \frac{b_\alpha^{a_\alpha}}{\Gamma(a_\alpha)} \alpha^{a_\alpha-1} e^{-b_\alpha \alpha} \times \frac{b_\beta^{a_\beta}}{\Gamma(a_\beta)} \beta^{a_\beta-1} e^{-b_\beta \beta} \quad (8)$$

and the posterior distribution of $r, \lambda, \alpha, \beta$ was

$$\pi(r, \lambda, \alpha, \beta | y_1, y_2, \dots, y_n) = \frac{f(y_1, y_2, \dots, y_n, r, \lambda, \alpha, \beta)}{\int_0^\infty \int_0^\infty \int_0^\infty \int_0^\infty f(y_1, y_2, \dots, y_n, r, \lambda, \alpha, \beta) dr d\lambda d\alpha d\beta} \quad (9)$$

Therefore, the Bayesian estimator of $r, \lambda, \alpha, \beta$ under a squared error loss function can be achieved from expectation of posterior distribution were

$$\hat{r}_{Bayes} = E(r | y_1, y_2, \dots, y_n) = \int_0^\infty \int_0^\infty \int_0^\infty \int_0^\infty r \pi(r, \lambda, \alpha, \beta | y_1, y_2, \dots, y_n) dr d\lambda d\alpha d\beta$$

$$\hat{\lambda}_{Bayes} = E(\lambda | y_1, y_2, \dots, y_n) = \int_0^\infty \int_0^\infty \int_0^\infty \int_0^\infty \lambda \pi(r, \lambda, \alpha, \beta | y_1, y_2, \dots, y_n) dr d\lambda d\alpha d\beta$$

$$\hat{\alpha}_{Bayes} = E(\alpha | y_1, y_2, \dots, y_n) = \int_0^\infty \int_0^\infty \int_0^\infty \int_0^\infty \alpha \pi(r, \lambda, \alpha, \beta | y_1, y_2, \dots, y_n) dr d\lambda d\alpha d\beta$$

$$\hat{\beta}_{Bayes} = E(\beta | y_1, y_2, \dots, y_n) = \int_0^\infty \int_0^\infty \int_0^\infty \int_0^\infty \beta \pi(r, \lambda, \alpha, \beta | y_1, y_2, \dots, y_n) dr d\lambda d\alpha d\beta$$

We can obtain estimated parameters $r, \lambda, \alpha, \beta$ by using the LaplacesDemon function in LaplacesDemon package in R program. In the next section, we will illustrate the application with a real data set with Metropolis-within-Gibbs algorithm, by R Program.

Application study

In studying its use, the NB-TWE distribution is applied to biological data sets and compared with a Poisson and NB distribution. The first three data sets are the European corn-borer data, which were presented in McGuire et al. (1957). The first data set provides information on the number of European corn-borers per plant with groups 0, 1, 2, 3, 4 and 5 having counts of 188, 83, 36, 14, 2 and 1. The second data set has counts of 907, 275, 88, 23, 3. The third data set is the distribution of *Pyrausta nubilalis* in 1937 by Beall (1940), with the

number of insects in groups 0, 1, 2, 3, 4, and 5 having counts of 33, 12, 6, 3, 1 and 1. The results for fitting the distribution are shown in Tables 1 to 3.

Table 1. Goodness of fit test for the Poisson, NB and NB-TWE distributions when fitting European corn-borer data

Number of borers per plant X group 1	Observed frequency	Expected value by fitting distribution		
		Poisson	NB	NB-TWE
0	188	164.32	163.73	194.19
1	83	111.56	107.23	79.49
2	36	37.87	39.39	29.86
3	14	8.57	10.70	11.69
4	2	1.45	2.39	4.82
5	1	0.20	0.47	2.09
Parameters estimates		$\hat{\lambda} = 0.6789$	$\hat{r} = 8.2054$ $\hat{p} = 0.9202$	$\hat{r} = 8.0329$ $\hat{\lambda} = 14.7193$ $\hat{\alpha} = 9.6251$ $\hat{\beta} = 9.7089$
Deviance		726.4856	719.4940	718.3184
K-S Test (p-value)		0.0731 (0.0627)	0.0749 (0.0527)	0.0191 (0.9998)
Cramer-von Mises-W2 (p-value)		0.7642 (0.0107)	0.7629 (0.0108)	0.0622 (0.5549)
Cramer-von Mises-A2 (p-value)		3.4351 (0.0123)	3.1092 (0.0178)	0.4000 (0.5439)

The number of borers per plant X group 1 shows that NB-TWE distribution gives the smallest value of K-S test (p-value is 0.9998) and Cramer-von Mises A2 test (p-value is 0.5439).

Table 2 shows that the NB-TWE distribution gives the smallest value of the K-S test (p-value is 1), and Cramer-von Mises A2 test (p-value is 0.5061).

The number of insects X in Table 3 shows that the NB-TWE distribution gives the smallest value of the K-S test (p-value is 1), and Cramer-von Mises A2 test (p-value is 0.9025).

The number of borers per plant X group 1-2 column, and number of insects X column in Table 3 are from the data sets that have an overdispersion problem, and are heavy-tailed with positively skewness. The results of fitting the different distributions are compared by using the K-S Test and Cramer-von Mises Test, we found that the data follows the NB-TWE distribution with the largest p-value and gives the smallest value of K-S Test and Cramer-von Mises Test. It also suggests that the NB-TWE distribution is the best fit for these data sets. Therefore, the NB-TWE distribution can be considered as an alternative model for count data that have an overdispersion problem and are heavy-tailed with positive skewness.

Table 2. Goodness of fit test for the Poisson, NB and NB-TWE distribution when fitting European corn-borer data.

Number of borers per plant X group 2	Observed frequency	Expected value by fitting distribution		
		Poisson	NB	NB-TWE
0	907	854.11	883.45	918.05
1	275	356.15	308.50	268.35
2	88	74.25	80.40	75.33
3	23	10.32	18.58	22.71
4	3	1.08	4.02	7.39
Parameters estimates		$\hat{\lambda} = 0.4143$	$\hat{r} = 2.0446$ $\hat{p} = 0.8277$	$\hat{r} = 6.2350$ $\hat{\lambda} = 18.1648$ $\hat{\alpha} = 9.2200$ $\hat{\beta} = 9.5190$
Deviance		2235.8843	2205.6814	2210.3294
K-S Test (p-value)		0.0408 (0.0267)	0.0182 (0.7856)	0.0085 (1.0000)
Cramer-von Mises-W2 (p-value)		1.1156 (0.0013)	0.2087 (0.1635)	0.0526 (0.5153)
Cramer-von Mises-A2 (p-value)		6.7564 (0.0039)	1.0785 (0.1831)	0.3862 (0.5061)

Table 3. Goodness of fit test for the poisson, NB and NB-TWE distribution when fitting *Pyrausta nubilalis* data.

Number of insects X	Observed frequency	Expected value by fitting distribution		
		Poisson	NB	NB-TWE
0	33	22.25	23.88	31.07
1	12	20.54	19.13	14.17
2	6	9.48	8.79	5.91
3	3	2.91	3.04	2.55
4	1	0.67	0.88	1.16
5	1	0.12	0.22	0.55
Parameters estimates		$\hat{\lambda} = 0.9228$	$\hat{r} = 7.1675$ $\hat{p} = 0.8868$	$\hat{r} = 7.9328$ $\hat{\lambda} = 12.1495$ $\hat{\alpha} = 10.1997$ $\hat{\beta} = 10.2329$
Deviance		145.9365	140.5059	135.2861
K-S Test (p-value)		0.1919 (0.0324)	0.1629 (0.1024)	0.0345 (1.0000)
Cramer-von Mises-W2 (p-value)		0.8152 (0.0076)	0.5900 (0.0256)	0.0289 (0.8030)
Cramer-von Mises-A2 (p-value)		3.5561 (0.0116)	2.4875 (0.0389)	0.1121 (0.9025)

Conclusion

The negative binomial-two parameter weighted exponential (NB-TWE) is a discrete distribution that is obtained by mixing the NB distribution with the TWE distribution. This new distribution is heavy-tailed and is positively skewed. By fitting results, it shows that the NB-TWE distribution gives the smallest value of K-S Test and Cramer-von Mises Test.

From analyzing biological data for which the variance is significantly larger than the mean, and the data are heavy-tailed, we show the NB-TWE distribution provides a better fit than the Poisson and NB distributions. Consequently, the NB-TWE distribution is the best choice for biological data that have an overdispersion problem and are heavy-tailed and positively skewed.

Acknowledgements

The authors would like to thank Department of Statistics, Faculty of Science, Kasetsart University and the anonymous reviewers for their valuable suggestions.

References

- Alexander, N., Moyeed, R. & Stander, J. (2000). Spatial modeling of individual-level parasite counts using the negative binomial distribution. *Biostatistics*, 1(4), 453-463. doi: 0.1093/biostatistics/1.4.453
- Aryuyuen, S. & Bodhisuwan, W. (2013). The negative binomial-generalized exponential (NB-GE) distribution. *Applied Mathematical Sciences*, 7(22), 1093-1105. doi: 0.12988/ams.2013.13099
- Beall, G. (1940). The fit and significance of contagious distributions when applied to observations on larval insects. *Ecology*, 21(4), 460-474. doi: 10.2307/1930285
- Bliss, C. I. & Fisher, R. A. (1953). Fitting the negative binomial distribution to biological data and note on the efficient fitting of the negative binomial. *Biometrics*, 9(2), 176-200. doi: 10.2307/3001850
- Fisher, R. A. (1941). The negative binomial distribution. *Annals of Eugenics*, 11(1), 182-187. <https://doi.org/10.1111/j.1469-1809.1941.tb02284.x>
- Greenwood, M. & Yule, G.U. (1920). An inquiry into the nature of frequency distributions representative of multiple happenings with particular reference to the occurrence of multiple attacks of disease or of repeated accidents. *Journal of the Royal statistical society*, 83(2), 255-279. doi : 10.2307/2341080
- Klugman, S. A., Panjer, H. H. & Willmot, G. E. (2008). *Loss Models: From Data to Decisions* (3rd ed.). New York: Wiley Inter Science.
- Lloyd-Smith J. D. (2007). Maximum likelihood estimation of the negative binomial dispersion parameter for highly overdispersed data, with applications to infectious diseases. *PLoS One*, 2, 1-8. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0000180>
- McGuire, J., Brindley, U. & Bancroft, T. A. (1957). The distribution of European corn-borer larvae *pyrausta* in field corn. *Biometrics*, 13(1), 65-78. doi: 10.2307/3001903
- Neyman, J. (1939). On a new class of contagious distribution, applicable in entomology and bacteriology. *Annals of Mathematical Statistics*, 10(1), 35-37. doi: 10.1214/aoms/1177732245
- Prasongporn, P. & Bodhisuwan, W. (2017). *Negative Binomial - Two Parameter Weighted Exponential (NB-TWE) Distribution*. pp. 160-165. In the 5th Annual International Conference on Operations Research and Statistics, 6-7 March 2017, Singapore.
- Pudprommarat, C., Bodhisuwan, W. & Zeephongsekul, P. (2012). A new mixed negative binomial distribution. *Journal of Applied Sciences*, 12(17), 1853-1858. doi: 10.3923/jas.2012.1853.1858

Rainer, W. (2000). *Econometric Analysis of Count Data* (3rd ed.). Berlin: Springer - Verlag.

Taylor, L. R. (1961). Aggregation variance and the mean. *Nature*, 189, 732-735.

Wang, Z. (2011). One mixed negative binomial distribution with application. *Journal of Statistical Planning and Inference*, 141(3), 1153-1160.

White, G. C. & Bennetts, R. E. (1996). Analysis of frequency count data using the negative binomial distribution. *Ecology*, 77(8), 2549-2557. doi: 10.2307/2265753

Research Article

การพยากรณ์ความผันผวนของดัชนี SET ด้วยตัวแบบโครงข่ายประสาทเทียม-GARCH

Forecasting volatility of SET with artificial neural network-GARCH models

วิชิต คลังภูเขียว^{1*}, พฤต ธนรัช² และ ปิยภัทร บุษบาบดินทร์¹

Wichit Khangphukhiao^{1*}, Preut Thanarat² and Piyapatr Busababadin¹

¹หน่วยวิจัยสถิติและสถิติประยุกต์ ภาควิชาคณิตศาสตร์ คณะวิทยาศาสตร์ มหาวิทยาลัยมหาสารคาม อำเภอกันทรวิชัย จังหวัดมหาสารคาม 44150

²ภาควิชาสื่อภูมิทัศน์ คณะวิทยาการสารสนเทศ มหาวิทยาลัยมหาสารคาม อำเภอกันทรวิชัย จังหวัดมหาสารคาม 44150

¹Statistics and Applied Statistics Research Unit, Department of Mathematics, Faculty of Science, Mahasarakham University, Kantarawichai, Mahasarakham 44150, Thailand

²Department of New Media, Faculty of Informatics, Mahasarakham University, Kantarawichai, Mahasarakham 44150, Thailand

*E-mail: wichit.k@msu.ac.th

Received: 26/08/2018; Revised: 25/12/2018; Accepted: 22/01/2019

บทคัดย่อ

งานวิจัยนี้มีวัตถุประสงค์เพื่อเปรียบเทียบประสิทธิภาพของตัวแบบ ANN-GARCH และ ANN-EGARCH ซึ่งเป็นการนำตัวแบบ GARCH รวมในวิธีโครงข่ายประสาทเทียม (ANN) เป็นแบบจำลองไฮบริดจ์ในการพยากรณ์ความผันผวนดัชนีตลาดหลักทรัพย์แห่งประเทศไทย (SET) ผลจากการศึกษาแสดงให้เห็นว่า ANN-GARCH และ ANN-EGARCH มีความแม่นยำสูง โดยใช้ค่ารากที่สองของค่าเฉลี่ยค่าความคลาดเคลื่อนกำลังสอง (RMSE) และเปอร์เซ็นต์ความคลาดเคลื่อนสัมบูรณ์เฉลี่ย (MAPE) เป็นเกณฑ์ในการวัดความแม่นยำ ทั้งนี้การมีตัวแปรที่สำคัญในตัวแบบ ตัวแบบอธิบายผลพยากรณ์ความผันผวนได้อย่างแม่นยำ

คำสำคัญ: การพยากรณ์ความผันผวน, leverage effect, ความแปรปรวนไม่คงที่, Levenberg-Marquardt backpropagation

Abstract

This research aimed to compare the effectiveness of two forecasting models, ANN-GARCH and ANN-EGARCH. The two hybrid models were formed by a combination of Generalized Auto Regressive Conditional Heteroskedasticity (GARCH) and Artificial Neural Network (ANN) models, used to forecast the volatility of the Stock Exchange of Thailand index (SET). The results showed that both of the ANN-GARCH and ANN-EGARCH forecasts were highly accurate, measured by root mean square error (RMSE) and mean absolute percentage error (MAPE) values. With key variables included, the models accurately described volatility forecasts.

Keywords: volatility forecast, leverage effect, heteroskedasticity, Levenberg-Marquardt backpropagation

บทนำ

ดัชนีราคาหุ้นตลาดหลักทรัพย์แห่งประเทศไทย (stock exchange of Thailand: SET) เป็นดัชนีที่สะท้อนการเคลื่อนไหวของราคาหลักทรัพย์ทั้งหมด (composite index) คำนวณจากหุ้นสามัญจดทะเบียนทุกตัวในตลาดหลักทรัพย์แห่งประเทศไทย ซึ่งการเปลี่ยนแปลงของดัชนี SET สามารถสะท้อนให้เห็นถึงลักษณะของตลาดการลงทุนในอนาคต รวมทั้งมูลค่าการปรับตัวของหุ้นขนาดใหญ่ที่ส่งผลต่ออัตราเติบโตเศรษฐกิจ ผลผลิตมวลรวมของประเทศ (GDP) และสามารถประเมินโอกาสการขยายตัวเศรษฐกิจในประเทศ

ในการสร้างตัวแบบเพื่อคาดการณ์ความผันผวนจากข้อมูลทางเศรษฐกิจ และข้อมูลทางการเงิน มักพบปัญหาความแปรปรวนของความคลาดเคลื่อนไม่คงที่ (heteroskedasticity) ส่งผลให้ความคลาดเคลื่อนค่อนข้างสูง ผลของความคลาดเคลื่อนทำให้เกิดความสูญเสียทางเศรษฐกิจ สำหรับผู้ใช้ตัวแบบที่มีข้อบกพร่องและส่งผลต่อความผิดพลาดการตัดสินใจลงทุน ดังนั้นจึงมีการศึกษาพัฒนาปรับปรุงวิธีการสร้างตัวแบบ เพื่อลดความเสี่ยงและความคลาดเคลื่อนอย่างต่อเนื่อง จากการศึกษาที่ผ่านมา Sónia (2015) และ Wei et al. (2010) ได้นำเสนอตัวแบบกลุ่มของ GARCH ในการพยากรณ์ความผันผวนราคาทองคำในตลาดโลก ซึ่งสามารถอธิบายความผันผวนในระยะสั้นได้ดี จากการศึกษาของ Suebpongsakorn & Wisagarn (2016) พบว่า Exponential GARCH (EGARCH) มีความแม่นยำมากกว่า GARCH สำหรับการคาดการณ์อัตราแลกเปลี่ยนเงินบาทต่อดอลลาร์สหรัฐ แต่เนื่องจากความผันผวนเกิดจากอิทธิพลของตัวแปรปัจจัยในทางเศรษฐกิจ ที่เป็นตัวกำหนดความผันผวนในอนาคต ซึ่งมีนักวิจัย อาทิ Kristjanpoller & Marcel (2016), Lu et al. (2016), Kristjanpoller et al. (2014) และ Khashei et al. (2009) ได้ทำการศึกษาตัวแบบที่สามารถรวมตัวแปรสำคัญในการอธิบายความผันผวน โดยการประยุกต์วิธีโครงข่ายประสาทเทียม (artificial neural networks: ANN) รวมกับตัวแบบ GARCH เป็นตัวแบบไฮบริดจ์คือ ANN-GARCH ที่ให้ความแม่นยำในการพยากรณ์ และวิธี ANN เป็นอีกหนึ่งวิธีที่เหมาะสมสำหรับข้อมูลขนาดใหญ่ (Lin, 2015) ดังนั้น เพื่อ

แสดงให้เห็นถึงผลความแม่นยำ ในการศึกษาครั้งนี้ จึงมีวัตถุประสงค์เพื่อเปรียบเทียบความแม่นยำของตัวแบบ ANN-GARCH กับ ANN-EGARCH โดยใช้ข้อมูลดัชนี SET เป็นกรณีศึกษา ทั้งนี้ได้มีทฤษฎีที่เกี่ยวข้องดังต่อไปนี้

1. ตัวแบบ Generalized autoregressive conditional heteroskedasticity (GARCH)

การสร้างตัวแบบ GARCH ในการศึกษานี้ทำการประมาณสมการค่าเฉลี่ยแบบมีเงื่อนไข (conditional mean equation) ด้วย autoregressive moving average คือ ARMA(1,1) ดังสมการที่ (1) ตัวแบบ GARCH ถูกเสนอ โดย Bollerslev (1986) และได้พัฒนามาจากตัวแบบ ARCH จาก Engle (1982) ซึ่งเป็นการนำความแปรปรวนในระยะสั้นที่ผ่านมา ใส่เข้าไปในตัวแบบ ARCH เป็นตัวแบบ GARCH(q,p) โดย p แทนลำดับของ ε_{t-i}^2 และ q แทนลำดับของ σ_{t-j}^2 ในสมการความแปรปรวนแสดงดังสมการที่ (2) ซึ่งถูกใช้เป็นตัวแบบพื้นฐานในการสร้างตัวแบบไฮบริดจ์

$$r_t = c + \phi_1 r_{t-1} + \theta_1 \varepsilon_{t-1} + \varepsilon_t \quad (1)$$

$$\sigma_t^2 = \omega + \sum_{i=1}^p \alpha_i \varepsilon_{t-i}^2 + \sum_{j=1}^q \beta_j \sigma_{t-j}^2 \quad (2)$$

โดยที่ ϕ_1 และ θ_1 เป็นค่าพารามิเตอร์ และ ε_t เป็นตัวแปรสุ่มคลาดเคลื่อนมีค่าเฉลี่ยเป็น 0 ความแปรปรวนเป็น σ^2 ค่าพารามิเตอร์ของ GARCH คือ $\omega > 0, \alpha_i \geq 0, i = 1, \dots, q, \beta_j > 0, j = 1, \dots, p$

2. ตัวแบบ Exponential GARCH (EGARCH)

ตัวแบบ EGARCH ตามการศึกษาของ Suebpongsakorn & Wisagarn (2016) ซึ่งเป็นตัวแบบที่แสดงผลกระทบเมื่อเกิดเหตุการณ์ไม่คาดฝัน (shock) ด้านบวกและด้านลบส่งผลต่อความแปรปรวนในระยะสั้นไม่เท่ากัน (leverage effect) กำหนดให้ $z_t = \frac{\varepsilon_t}{\sigma_t}$ โดย $E(z_t) = 0$ และ $E\{|z_t| - E(|z_t|)\} = 0$ กำหนดให้ฟังก์ชัน $g(z_t)$ แสดง leverage effect ดังสมการ (3)

$$g(z_t) = \lambda z_t + \omega \{|z_t| - E(|z_t|)\} \quad (3)$$

โดยที่ z_t คือ ผลของเหตุการณ์ไม่คาดฝันด้านบวกหรือลบที่ส่งผลต่อ $g(z)$ ไม่เท่ากัน (asymmetry effect) และ $|z_t| - E(|z_t|)$ คือ ผลของเหตุการณ์ไม่คาดฝันในทางบวกหรือลบ ที่ส่งผลต่อ $g(z)$ เท่ากัน (symmetry effect) โดย λ และ ω คือค่าพารามิเตอร์ ฟังก์ชัน $g(z)$ แสดงดังนี้

$$\ln(\sigma_t^2) = \gamma_0 + \sum_{i=1}^p \theta_i + \ln(\sigma_{t-1}^2) + \sum_{i=1}^q \gamma_i \omega \left| \frac{\varepsilon_{t-i}}{\sigma_{t-i}} \right| + \sum_{k=1}^r \gamma_k \lambda \frac{\varepsilon_{t-k}}{\sigma_{t-k}} \quad (4)$$

โดยที่ $\gamma_1 = 1$ ทำการทดสอบผลของ leverage effect โดยทดสอบความมีนัยสำคัญของค่าพารามิเตอร์ λ ในสมการที่ (4)

3. โครงข่ายประสาทเทียม (artificial neural networks: ANN)

วิธีโครงข่ายประสาทเทียมถูกนำไปใช้ในการพยากรณ์ ซึ่งเป็นวิธีที่ให้ประสิทธิภาพและมีความแม่นยำในการพยากรณ์ มีนักวิจัย Qiu et al. (2016) และ Wang & Wu (2012) ได้นำวิธี ANN ใช้ในการคาดการณ์ข้อมูลผลตอบแทนดัชนีหุ้นในกลุ่มพลังงาน ซึ่งวิธี ANN สามารถเรียนรู้จากตัวอย่างและทำให้เป็นรูปทั่วไป (generalize) ด้วยกฎการเรียนรู้ (learning rule) ทำให้สามารถจำแนกรูปแบบข้อมูลนำเข้า (input) แบบใหม่ที่ไม่รู้จักมาก่อนได้ ในการประยุกต์ใช้ ANN ในการทำนาย จำเป็นต้องกำหนดฟังก์ชันถ่ายโอน (activation function) ซึ่งสามารถแสดงผลลัพธ์ในชั้นซ่อนของโครงข่าย ดังสมการ (5) ชั้นผลลัพธ์ (output) ของโครงข่าย แสดงดังสมการที่ (6)

$$a_j = g \sum_{i=0}^d w_{ji}^{(1)} x_i \quad (5)$$

$$o_i = f \sum_{j=0}^m w_{ij}^{(2)} g \left(\sum_{i=0}^d w_{ji}^{(1)} x_i \right) \quad (6)$$

เมื่อกำหนดให้ w_{ji} แทนค่าน้ำหนักของเส้นเชื่อมจากชั้นข้อมูลนำเข้าและ a_j แทน ผลลัพธ์ในชั้นซ่อน w_{kj} แทนค่าน้ำหนักของเส้นเชื่อมจากชั้นซ่อน g แทนฟังก์ชันถ่ายโอนในชั้นซ่อน f แทนฟังก์ชันถ่ายโอนในชั้นผลลัพธ์ ในการศึกษาครั้งนี้สถาปัตยกรรมของโครงข่าย (network architecture) มีรูปแบบของการไหลแบบไปข้างหน้า (feed forward network) ใช้ levenberg-marquardt backpropagation ทำการปรับค่าพารามิเตอร์เพื่อให้ค่าความคลาดเคลื่อนเข้าสู่จุดต่ำสุด (Srikaew, 2009) ในการศึกษาครั้งนี้ใช้ค่าคลาดเคลื่อนกำลังสองเฉลี่ย (mean squared error: MSE) แสดงความเหมาะสมของโครงข่ายในขั้นตอนการฝึกการเรียนรู้ (Zhang et al., 1998)

4. ตัวแบบ ANN-GARCH

ในการสร้างตัวแบบ ANN-GARCH(q,p,s) ในการพยากรณ์ความผันผวน ตามสมการที่ (7) เป็นไปตาม Donaldson & Kamstra (1997) เป็นการรวมกันระหว่างวิธีโครงข่ายประสาทเทียมกับตัวแบบ GARCH(q,p) และ s คือจำนวนนิเวศในชั้นซ่อน ซึ่งแสดงรายละเอียดในสมการที่ (7)-(10) ดังนี้

$$\sigma_t^2 = C + \sum_{i=1}^p \alpha_i \varepsilon_{t-i}^2 + \sum_{j=1}^q \beta_j \sigma_{t-j}^2 + \sum_{h=1}^s \xi_h \psi(Z_t \lambda_h) \quad (7)$$

$$\psi(Z_t \lambda_h) = \left[1 + \exp \left(\lambda_{h,d,w} + \sum_{d=1}^1 \left[\sum_{w=1}^m \lambda_{h,d,w} Z_{t-d}^w \right] \right) \right]^{-1} \quad (8)$$

$$Z_{t-d} = \frac{[\varepsilon_{t-d} - E(\varepsilon)]}{\sqrt{E(\varepsilon^2)}} \quad (9)$$

$$\left(\frac{1}{2} \right) \lambda_{h,d,w} \sim \text{uniform}[-1, +1] \quad (10)$$

โดยที่ $\psi(Z_t \lambda_h)$ แสดงในสมการ (8) คือฟังก์ชันถ่ายโอนในรูปของฟังก์ชันซิกมอยด์แบบลอการิทึม (log-sigmoid function) จาก $y = 1/(1 + \exp(-x))$ และ $\xi = w$ คือค่าน้ำหนัก $\psi = g$ คือเป็นฟังก์ชันซิกมอยด์แบบลอการิทึม $Z_t \lambda_h = x_i$ เป็นตัวแปรนำเข้า สมการที่ (9) เป็นการแปลงค่ามาตรฐานของ ε เมื่อมีค่าสูงเกินกว่าปกติในข้อมูลนำเข้า แต่ละโหนด และ λ_h คือข้อมูลทุกค่าที่ใช้จะถูกแปลงตามสมการ (10)

5. ตัวแบบ ANN-EGARCH

ตัวแบบ ANN-EGARCH(q,p,s) ตามสมการที่ (11) จะถูกใช้ในการพยากรณ์ความผันผวน ตามการศึกษาของ Melike & Özgür (2009) ได้อธิบายถึงแบบจำลอง GARCH ที่เพิ่มเข้าไปใน ANN ในการคาดการณ์ผลตอบแทนตลาดหลักทรัพย์ในอิสตันบูลมีความสมมาตร และมีประสิทธิภาพในการพยากรณ์ในลักษณะไม่เป็นเชิงเส้นได้ดี แสดงดังในสมการที่ (11)-(14) นี้

$$\log \sigma_t^2 = \alpha + \sum_{i=1}^p \beta_i \log \sigma_{t-i}^2 + \sum_{j=1}^q \gamma_j g(z_{t-j}) + \sum_{h=1}^s \xi_h \psi(Z_t \lambda_h) \quad (11)$$

$$\psi(Z_t \lambda_h) = \left[1 + \exp \left(\lambda_{h,d,w} + \sum_{d=1}^1 \left[\sum_{w=1}^m \lambda_{h,d,w} Z_{t-d}^w \right] \right) \right]^{-1} \quad (12)$$

$$Z_{t-d} = \frac{[\varepsilon_{t-d} - E(\varepsilon)]}{\sqrt{E(\varepsilon^2)}} \quad (13)$$

$$\left(\frac{1}{2} \right) \lambda_{h,d,w} \sim \text{uniform}[-1, +1] \quad (14)$$

กำหนดให้ $z_t = \varepsilon_t / \sigma_t$ คือ ผลกระทบของเหตุการณ์ไม่คาดฝันที่ส่งกระทบต่อฟังก์ชัน $g(z_t)$ ในทางบวกหรือทางลบ

วิธีการทดลอง

1. ข้อมูล

ข้อมูลที่ใช้ในการศึกษาเป็นข้อมูลอนุกรมเวลาดัชนีตลาดหลักทรัพย์แห่งประเทศไทย (SET) จากเว็บไซต์ตลาดหลักทรัพย์แห่งประเทศไทย (www.set.or.th) เป็นข้อมูลอนุกรมเวลารายวัน ตั้งแต่วันที่ 5 มกราคม 2547 ถึง 31 สิงหาคม 2559 จำนวน 3092 ค่า จากรูปที่ 1 แสดงให้เห็นว่า SET มีแนวโน้มและการเปลี่ยนแปลงของข้อมูลขึ้นลงอยู่ตลอดเวลาอย่างรวดเร็ว ลักษณะเคลื่อนไหวของข้อมูลไม่คงที่หรือไม่นิ่ง (non-stationary) เมื่อทำการแปลงข้อมูลให้อยู่ในรูปผลตอบแทนแบบลอการิทึม โดยใช้ logarithm return ซึ่งมีสมการคำนวณดังนี้ $r_t = \log P_t - \log P_{t-1}$ เมื่อ $t = 1, 2, \dots, T$ โดยที่ r_t เป็นผลตอบแทนแบบลอการิทึม P_t เป็นข้อมูลในปัจจุบันและ P_{t-1} เป็นข้อมูลย้อนหลังไปหนึ่งหน่วยเวลา แสดงให้เห็นว่าข้อมูลคงที่ (รูปที่ 2)

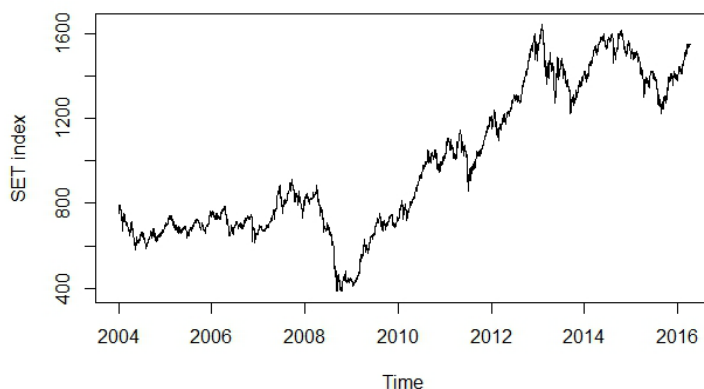
2. วิธีดำเนินการศึกษา

ในการศึกษาครั้งนี้ในขั้นตอนแรก ทำการประมาณหาตัวแบบ GARCH(q,p) และ EGARCH(q,p) ที่มีความเหมาะสมกับข้อมูลเพื่อใช้ในการสร้าง ANN-GARCH(q,p,s) และ ANN-EGARCH(q,p,s) แล้วเปรียบเทียบความแม่นยำโดยใช้เกณฑ์ ค่ารากของค่าคลาดเคลื่อนกำลังสองเฉลี่ย (root mean square error: RMSE) ดังสมการ (15) และค่าเปอร์เซ็นต์ค่าคลาดเคลื่อนสัมบูรณ์เฉลี่ย (mean absolute percentage error: MAPE) ดังสมการ (16) ในการทดสอบประสิทธิภาพและความแม่นยำของตัวแบบ เมื่อค่า $MAPE \leq 10\%$ นั่นคือ ค่าพยากรณ์ที่ได้จากตัวแบบมีความแม่นยำสูงมาก (Khangphukhieo et al., 2017)

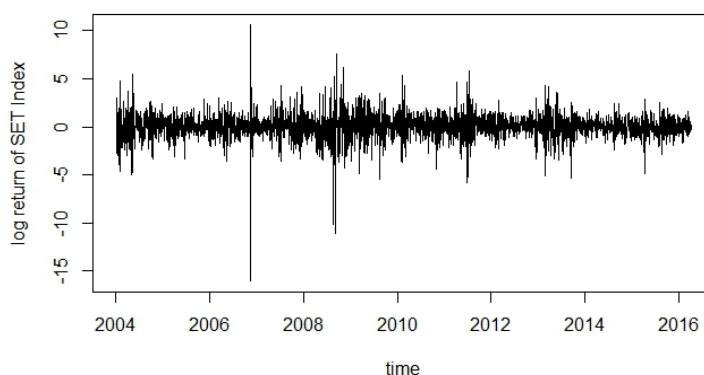
$$RMSE = \sqrt{\frac{1}{n} \sum_{t=1}^n (\hat{r}_t - r_t)^2} \quad (15)$$

$$MAPE = \frac{1}{n} \sum_{t=1}^n \left| \frac{\hat{r}_t - r_t}{r_t} \right| \times 100 \quad (16)$$

โดยกำหนดให้ r_t เป็นค่าจริงของข้อมูลผลตอบแทนแบบลอการิทึม ณ เวลา t และ $\hat{r}_t$ เป็นค่าพยากรณ์ จากตัวแบบ และ n เป็นจำนวนของข้อมูล



รูปที่ 1. ลักษณะการเปลี่ยนอนุกรมเวลา SET index



รูปที่ 2. ผลตอบแทนแบบลอการิทึมของ SET index

ในการสร้างตัวแบบ มีตัวแปรอิสระจำนวน 6 ตัวแปร ซึ่งเป็นตัวแปรที่มีขนาดความสัมพันธ์สูงกับ SET มีค่าสหสัมพันธ์อยู่ระหว่าง 0.747-0.939 แสดงดังตารางที่ 1 เป็นดัชนีตลาดหลักทรัพย์ในต่างประเทศ ได้แก่ Dow Jones Index (DJIA), Nasdag New York (Nasdag), Financial Times London (FTL), KLSE Composite Malaysia (KLSE), PSE Composite Philippines (PSE) และ KSE Composite South Korea (KSE) จากตารางที่ 1 ยังแสดงให้เห็นว่าตัวแปรอิสระมีความสัมพันธ์กันสูง ซึ่งเกิดปัญหา multicollinearity เมื่อพิจารณาจากค่าแฟคเตอร์ความแปรปรวนขยายตัว (variance inflation factor: VIF) แต่การเกิดปัญหานี้ไม่ส่งผลต่อการทำงานของวิธี ANN เนื่องจากการกำหนดความสัมพันธ์ระหว่าง รูปแบบข้อมูลนำเข้ากับข้อมูลผลลัพธ์ ซึ่งเรียนรู้จากข้อมูลที่มีอยู่ จึงมีประสิทธิภาพในการคำนวณและจดจำในกรณีที่มีจำนวนข้อมูลมาก (Mahipan, 2012) โดยตัวแปรอิสระเหล่านี้ถูกใช้เป็นข้อมูลนำเข้าในการสร้างตัวแบบ ANN-GARCH และ ANN-EGARCH

ตารางที่ 1. ค่าสหสัมพันธ์ของ SET และตัวแปรอิสระ

Variables	DJIA	Nasdag	FTL	KLSE	PSE	KSE	VIF
SET	0.8818	0.8892	0.7465	0.8960	0.9394	0.7631	
DJIA	-	0.9643	0.8376	0.7953	0.8816	0.6764	27.3520
Nasdag		-	0.7499	0.7991	0.9046	0.6742	22.3600
FTL			-	0.7452	0.7394	0.7404	5.5690
KLSE				-	0.9015	0.8866	9.7610
PSE					-	0.7845	10.7670

ผลการทดลอง

ผลการวิเคราะห์ค่าสถิติพรรณนาจากตารางที่ 2 แสดงค่าสถิติของ Log return ของ SET มีค่าเฉลี่ย 0.0217 มีค่าต่ำสุดเท่ากับ -16.0600 ค่าสูงสุด 10.5800 มีค่าความโด่งเท่ากับ 13.6029 แสดงให้เห็นว่ามีความโด่งสูงผิดปกติ มีค่าความเบ้เท่ากับ -0.9113 แสดงให้เห็นว่าเบ้ซ้าย และตัวแปรอิสระ มีค่าเฉลี่ยอยู่ระหว่าง 0.0131 - 0.0535 มีค่าต่ำสุดอยู่ระหว่าง -229.9972 ถึง -34.838 ค่าสูงสุด 36.5323 - 230.7088 จากค่าความโด่งยังแสดงให้เห็นว่าตัวแปรอิสระมีความโด่งสูงผิดปกติ และแสดงให้เห็นว่าเบ้ซ้ายจำนวน 2 ตัวแปร และเบ้ขวาจำนวน 4 ตัวแปร เมื่อทำการทดสอบความนิ่งด้วยสถิติ augmented dickey-fuller test (ADF) พบว่าทุกตัวแปรในการศึกษาครั้งนี้มีความนิ่ง จากการทดสอบการแจกแจงแบบปกติด้วยสถิติทดสอบ jarque-bera (JB test) แสดงให้เห็นว่าทุกตัวแปรไม่มีการแจกแจงแบบปกติ

ตารางที่ 2. สถิติพรรณนาผลตอบแทนแบบลอการิทึมของ SET และตัวแปรอิสระ

Variables	Minimum	Maximum	Mean	Skewness	Kurtosis	JB test (Sig.)	ADF
Log return SET	-16.0600	10.5800	0.0217	-0.9113	13.6029	< 0.0001	-9.1323
DJIA	-229.9972	230.7088	0.0180	0.0403	447.7576	< 0.0001	-12.3590
Nasdag	-70.6853	65.0164	0.0302	-0.0503	26.5677	< 0.0001	-19.7160
FTL	-34.8384	36.5323	0.0131	0.3357	48.0016	< 0.0001	-16.7610
KLSE	-51.9773	50.2394	0.0173	-0.0169	25.3970	< 0.0001	-21.9260
PSE	-102.9983	104.1932	0.0535	0.0177	19.1727	< 0.0001	-22.5870
KSE	-71.8634	74.1830	0.0292	0.1419	50.7293	< 0.0001	-20.2220

หมายเหตุ: สถิติทดสอบ jarque-bera ที่ได้เทียบกับค่าวิกฤต chi-square องศาความเป็นอิสระเท่ากับ 2 ภายใต้อสมมติฐานการทดสอบคือ ข้อมูลอนุกรมเวลาไม่มีการแจกแจงแบบปกติ

จากการกำหนดสมการค่าเฉลี่ย (mean equation) ด้วย ARMA(1,1) และทำการทดสอบนำข้อมูลความคลาดเคลื่อนกำลังสองจากตัวแบบ ARMA(1,1) ด้วยสถิติ Ljung-box Q พบว่ามีอิทธิพลของ ARCH นั้น แสดงให้เห็นว่าข้อมูลอนุกรมเวลามีอิทธิพลของ ARCH ตามตารางที่ 3 จากการทดสอบค่ามาตรฐานของค่าคลาดเคลื่อน และค่ามาตรฐานของค่าคลาดเคลื่อนกำลังสอง ด้วยสถิติทดสอบ Ljung-box (Q-statistics) พบว่าไม่มีความสัมพันธ์กันในตัวแบบ ดังนั้น ตัวแบบที่ทำการประมาณขึ้นมีความเหมาะสม สามารถนำตัวแบบ GARCH และ EGARCH ไปใช้กับอนุกรมเวลาของดัชนี SET ได้ ในการเลือกตัวแบบ GARCH และ EGARCH เพื่อใช้ในการสร้างตัวแบบไฮบริดจ์ ใช้เกณฑ์ข้อสนเทศของอาไคเค (akaike information criterion: AIC) เมื่อพบว่าตัวแบบมีความเหมาะสมมากกว่าหนึ่งตัวแบบ จากตารางที่ 3 แสดงให้เห็นว่าค่า AIC มีค่าแตกต่างกันเล็กน้อย ซึ่งในการศึกษาครั้งนี้ได้เลือก GARCH(1,1) และ EGARCH(2,2) ที่มีค่า AIC น้อยที่สุดเพื่อใช้ในการสร้างตัวแบบไฮบริดจ์ต่อไป

ตารางที่ 3. ผลการทดสอบความเหมาะสมของตัวแบบ GARCH(q,p) และตัวแบบ EGARCH(q,p)

Models	Standardized residual		Standardized residual squared		AIC
	Q-statistics	Sig.	Q-statistics	Sig.	
GARCH(1,1)	5.7600	0.6442	0.3439	0.9996	3.1525
GARCH(1,2)	5.9180	0.5412	0.2816	0.9993	3.1531
GARCH(2,1)	5.7580	0.6457	0.3238	0.9990	3.1532
GARCH(2,2)	11.8500	0.2084	0.3394	1.0000	3.1537
EGARCH(1,1)	6.0205	0.4731	0.1508	1.0000	3.1152
EGARCH(1,2)	6.5544	0.1773	0.2858	1.0000	3.1152
EGARCH(2,1)	8.7656	0.2472	0.2775	1.0000	3.1114
EGARCH(2,2)	6.7004	0.1245	0.5968	1.0000	3.1020

ผลจากตารางที่ 4 แสดงการประมาณค่าพารามิเตอร์ของสมการความแปรปรวน จากตัวแบบ GARCH(1,1) GARCH(1,2) EGARCH(2,1) และ EGARCH(2,2) จากการทดสอบค่าพารามิเตอร์ของตัวแบบ GARCH(1,2) พบว่าค่าพารามิเตอร์ β_2 ไม่มีนัยสำคัญทางสถิติ ดังนั้นตัวแบบ GARCH(1,2) จึงมีลำดับ q และ p เป็น GARCH(1,1) เมื่อทดสอบค่าพารามิเตอร์ตัวแบบ EGARCH(2,2) พบว่าค่าพารามิเตอร์ β_1 ไม่มีนัยสำคัญทางสถิติ และพบว่าเหตุการณ์ไม่คาดฝันในอดีตทั้งทางบวกและทางลบมีผลต่อ SET แต่ค่าพารามิเตอร์ในตัวแบบ EGARCH(2,1) มีนัยสำคัญทางสถิติ และพบว่าเหตุการณ์ไม่คาดฝันในอดีตทั้งทางบวกมีผลต่อ SET ดังนั้นผู้วิจัยจึงนำตัวแบบ GARCH(1,1) และ EGARCH(2,1) ใช้เป็นตัวแบบพื้นฐานในการสร้างตัวแบบ ANN-GARCH และ ANN-EGARCH ต่อไป

ตารางที่ 4. ผลการประมาณค่าพารามิเตอร์ของตัวแบบ GARCH(q,p) และตัวแบบ EGARCH(q,p)

Parameters	GARCH(1,1)	GARCH(1,2)	EGARCH(2,2)	EGARCH(2,1)
ω	6.7404**	5.8140**	5.0409**	4.6984**
α_1	7.9228**	6.0119**	-10.6084**	-8.1515**
α_2	-	-	-2.5985**	3.6302**
β_1	42.5694**	5.5729**	-0.1144	101.0257**
β_2	-	0.3030	59.5946**	-
γ_1	-	-	7.0166**	4.3353**
γ_2	-	-	8.1265**	0.9784

หมายเหตุ : ** หมายถึงมีนัยสำคัญที่ระดับนัยสำคัญ 0.01

ในการสร้างตัวแบบ ANN-GARCH และ ANN-EGARCH ตัวแปรอิสระทุกตัวถูกใช้เป็นตัวแปรนำเข้าพร้อมกัน โดยใช้โครงข่ายที่มีจำนวน 1 ชั้นซ่อน และใช้ข้อมูล 90% แรกของข้อมูลในการศึกษาเพื่อฝึก (training) และทดสอบ (test) โครงข่าย จากนั้นใช้ข้อมูลที่เหลือ 10% เพื่อเปรียบเทียบผลการพยากรณ์ที่ได้จากโครงข่าย และทำการปรับจำนวนของนิวรอนในชั้นซ่อน จาก 1 ถึง 30 นิวรอน จำนวนรอบในการฝึกการเรียนรู้สูงสุด 1,000 รอบ ค่า MSE ในการฝึกการเรียนรู้ของโครงข่ายเท่ากับ 0.0000 อัตราการเรียนรู้ (learning rate) เท่ากับ 0.0001

ตารางที่ 5. ประสิทธิภาพของตัวแบบ ANN-GARCH(q,p,s) และตัวแบบ ANN-EGARCH(q,p,s)

Neural (s)	Training models						Testing models			
	ANN-GARCH			ANN-EGARCH			ANN-GARCH		ANN-EGARCH	
	Epoch	Time	MSE	Epoch	Time	MSE	RMSE	MAPE	RMSE	MAPE
5	102	2.01	0.0015	126	2.18	0.0012	0.0338	4.2450	0.0291	3.7330
10	113	2.10	0.0012	164	3.14	0.0011	0.0321	4.2156	0.0262	3.3987
15	134	2.33	0.0010	163	3.03	0.0010	0.0312	3.9718	0.0325	3.8315
20	125	2.25	0.0009	105	2.02	0.0009	0.0318	4.1514	0.0369	4.7333
25	181	3.33	0.0008	135	2.37	0.0009	0.0272	3.4726	0.0287	3.6988
30	131	1.06	0.0009	152	2.56	0.0008	0.0288	3.6366	0.0354	3.9694

ผลจากตารางที่ 5 พบว่าในขั้นตอนการฝึกตัวแบบ ANN-GARCH(1,1,s) มีค่า MSE อยู่ระหว่าง 0.0008-0.0015 โดยมีจำนวนรอบของการเรียนรู้อยู่ระหว่าง 102 - 181 รอบ ระยะเวลาในการเรียนรู้ของโครงข่าย 1.06 - 3.33

นาที่ และตัวแบบ ANN-EGARCH(2,2,s) มีค่า MSE อยู่ระหว่าง 0.0008-0.0011 โดยมีจำนวนรอบของการเรียนรู้อยู่ระหว่าง 105 - 164 รอบ ระยะเวลาในการเรียนรู้ของโครงข่ายอยู่ระหว่าง 2.02 - 3.14 นาที่ เมื่อใช้ข้อมูล 10% ในการทดสอบความแม่นยำของตัวแบบ โดยใช้ค่า RMSE และค่า MAPE พบว่าเมื่อเพิ่มจำนวนนิวรอนในชั้นซ่อนสูงสุด 30 นิวรอน ตัวแบบ ANN-GARCH(1,1,s) มีค่า RMSE อยู่ระหว่าง 0.0272 - 0.0338 และค่า MAPE อยู่ระหว่าง 3.4726-4.2450 แสดงให้เห็นว่าค่าพยากรณ์ที่ได้จาก ANN-GARCH(1,1,s) มีความแม่นยำสูง และตัวแบบ ANN-EGARCH(2,2,s) พบว่ามีค่า RMSE อยู่ระหว่าง 0.0262 - 0.0369 และค่า MAPE อยู่ระหว่าง 3.3987 - 4.7333 แสดงให้เห็นว่าค่าพยากรณ์ที่ได้จาก ANN-EGARCH(2,2,s) มีความแม่นยำสูงเช่นเดียวกัน

วิจารณ์และสรุปผลการทดลอง

ผลจากการศึกษาครั้งนี้ได้นำเสนอผลการเปรียบเทียบประสิทธิภาพความแม่นยำตัวแบบ ANN-GARCH กับ ANN-EGARCH ในการพยากรณ์ความผันผวนของดัชนี SET โดยใช้เกณฑ์ในการวัดประสิทธิภาพความแม่นยำด้วยค่า RMSE และ MAPE พบว่าทั้ง 2 ตัวแบบมีความแม่นยำในการพยากรณ์สูง และตัวแบบ ANN-EGARCH(2,2,10) ให้ผลความแม่นยำในการพยากรณ์สูงกว่าตัวแบบ ANN-GARCH(1,1,25) เล็กน้อย อย่างไรก็ตาม ANN-GARCH(1,1,25) มีจำนวนนิวรอนในโครงข่ายมากกว่า ANN-EGARCH(2,2,10) ซึ่งอาจทำให้ระยะเวลาการฝึกการเรียนรู้ของโครงข่ายเพิ่มขึ้น ซึ่งสอดคล้องกับงานวิจัยของ Lu et al. (2016) เป็นผลจากข้อมูลที่ใช้ในการสร้างตัวแบบ มี leverage effect นั่นคือ เมื่อเกิดเหตุการณ์ไม่คาดฝันด้านลบหรือด้านบวก ส่งผลต่อดัชนีในตลาดหลักทรัพย์ไม่เท่ากัน ซึ่งตัวแบบ EGARCH สามารถอธิบายข้อมูลอนุกรมเวลาที่มี leverage effect ได้ดี และผลจากการศึกษายังแสดงให้เห็นว่าตัวแบบ ANN-GARCH และ ANN-EGARCH เป็นอีกหนึ่งวิธีที่สามารถรวมตัวแปรที่มีความสัมพันธ์สูง ในการพยากรณ์ความผันผวนที่มีความแม่นยำ และตัวแบบที่ได้มีความยืดหยุ่นสูง แม้ข้อมูลไม่เป็นเชิงเส้นและมีขนาดใหญ่ ซึ่งข้อจำกัดในการใช้ ANN คือการเพิ่มข้อมูลนำเข้ามากเกินไป ทำให้โครงข่ายใช้เวลานานในขั้นตอนการเรียนรู้ ดังนั้น การเพิ่มจำนวนของข้อมูลนำเข้า ควรคำนึงถึงความสำคัญในการอธิบายผลลัพธ์ และความจำเป็นในการใช้งานของนักวิจัย ข้อเสนอแนะในการศึกษาในครั้งต่อไปคือการประยุกต์ใช้ตัวแบบในกลุ่มของ GARCH ยังมีตัวแบบอื่นที่มีประสิทธิภาพ ซึ่งขึ้นอยู่กับลักษณะของข้อมูลและวัตถุประสงค์ของผู้ใช้

กิตติกรรมประกาศ

คณะผู้วิจัยขอขอบคุณภาควิชาคณิตศาสตร์ คณะวิทยาศาสตร์ มหาวิทยาลัยมหาสารคาม ที่ให้อาคารและห้องปฏิบัติการคอมพิวเตอร์ในการประมวลผลข้อมูล และขอขอบพระคุณ รองศาสตราจารย์ ดร.บงอร กุมพล ที่ให้คำแนะนำในการทำงานวิจัยครั้งนี้

เอกสารอ้างอิง

- Bollerslev, T. (1986). Generalized autoregressive conditional heteroskedasticity. *Journal of Econometrics*, 31(3), 307-327. [https://doi.org/10.1016/0304-4076\(86\)90063-1](https://doi.org/10.1016/0304-4076(86)90063-1)
- Donaldson, R. G. & Kamstra, M. (1997). An artificial neural network-GARCH model for international stock return volatility. *Journal of Empirical Finance*, 4(1), 17-46. [https://doi.org/10.1016/S0927-5398\(96\)00011-4](https://doi.org/10.1016/S0927-5398(96)00011-4)
- Engle, R. F. (1982). Autoregressive conditional heteroscedasticity with estimates of the variance of United Kingdom inflation. *Econometrica*, 50(4), 987-1007. <https://doi.org/10.2307/1912773>
- Khangphukhieo, W., Busababadhin, P. & Kumphon, B. (2017). Forecasting volatility of gold price with artificial neural networks. *Burapha Science Journal*, 20(1), 125-134. (in Thai)
- Khashei, M., Bijari, M. & Ardali G. A. R. (2009). Improvement of auto-regressive integrated moving average models using fuzzy logic and artificial neural networks (ANNs). *Neurocomputing*, 72(4-6), 956-967. <https://doi.org/10.1016/j.neucom.2008.04.017>
- Kristjanpoller, W., Fadic, A. & Marcel, C. M. (2014). Volatility forecasting using hybrid neural network model. *Expert Systems with Applications*, 41(5), 2437-2442. <https://doi.org/10.1016/j.eswa.2013.09.043>
- Kristjanpoller, W. & Marcel, C. M. (2016). Forecasting volatility of oil price using an artificial neural network-GARCH model. *Expert Systems with Applications*, 65, 233-241. <https://doi.org/10.1016/j.eswa.2016.08.045>
- Lin, C. (2015). *Build prediction models for gold prices based on back-propagation neural network*. pp. 155-158. In The 2015 Internal Conference on Modelling, Simulation and Applied Mathematics, 23-24 August 2015, Phuket, Thailand.
- Lu, X., Que, D. & Cao, G. (2016). Volatility forecast based on the hybrid artificial neural network and GARCH-type models. *Procedia Computer Science*, 91, 1044-1049. <https://doi.org/10.1016/j.procs.2016.07.145>
- Mahipan, K. (2012). *The unemployment rate forecasting in Thailand* (M.Sc. thesis) Department of Mathematics, Faculty of Science, Mahasarakham University, Mahasarakham. (in Thai)
- Melike, B. & Özgür, Ö. E. (2009). Improving forecasts of GARCH family models with the artificial neural networks: An application to the daily returns in Istanbul stock exchange. *Expert Systems with Applications*, 36, 7355-7362. <https://doi.org/10.1016/j.eswa.2008.09.051>

- Qiu, M., Song, Y. & Akagi, F. (2016). Application of artificial neural network for the prediction of stock market returns: The case of the Japanese stock market. *Chaos, Solitons & Fractals*, 85, 1-7. <https://doi.org/10.1016/j.chaos.2016.01.004>
- Srikaew, A. (2009). *Computational Intelligence*. Bangkok: Charansnitwong Co., Ltd. (in Thai)
- Sónia, R. B. (2015). Forecasting volatility in gold returns under the GARCH, IGARCH and FIGARCH frameworks: New evidence. *Physica A: Statistical Mechanics and its Applications*, 38(4), 355-364.
- Suebpongsakorn, A. & Wisagarn, S. (2016). Comparing the Accuracy of forecasting Methods for the B/\$ Exchange Rate between ARIMA-GARCH and ARIMA-EGARCH models. *University of the Thai Chamber of Commerce Journal Humanities and Social Sciences*, 32(2), 121-135. (in Thai)
- Wang, Y. & Wu, C. (2012). Forecasting energy market volatility using GARCH models: Can multivariate models beat univariate models?. *Energy Economics*, 34, 2167-2181. <https://doi.org/10.1016/j.eneco.2012.03.010>
- Wei, Y., Wang, Y. & Huang, D. (2010). Forecasting crude oil market volatility: Further evidence using GARCH-class models. *Energy Economics*, 32, 1477-1484. <https://doi.org/10.1016/j.eneco.2010.07.009>
- Zhang, G., Patuwo, B. E. & Michael, Y. Hu. (1998). Forecasting with artificial neural networks: The state of the art. *International Journal of Forecasting*, 14, 35-62. [https://doi.org/10.1016/S0169-2070\(97\)00044-7](https://doi.org/10.1016/S0169-2070(97)00044-7)

Research Article

การศึกษาประสิทธิภาพของแบคทีเรียตรึงไนโตรเจนอิสระที่แยก จากดินรอบรากข้าวในการผลิตออกซินและจิบเบอเรลลิน

Study on the efficiency of free-living nitrogen fixing bacteria isolated from rice rhizospheresoil on auxin and giberellin production

จตุพร บุญณาดากุล^{1*}, สิริภรณ์ ชื่นบาล², ชื่นบาล ศรีกาญจนา คล้ายเรือง³, อ๋าทอง³
และ พันธุ์พล สินธูยา⁴

Chatuporn Boonnadukul^{1*}, Siraporn Cheunbarn², Tapan Cheunbarn², Srikanjana Klayraung¹,
Supatida Aumtong³ and Panlop Sintuya⁴

¹สาขาวิชาเทคโนโลยีชีวภาพ คณะวิทยาศาสตร์ มหาวิทยาลัยแม่โจ้ อำเภอสันทราย จังหวัดเชียงใหม่ 50290

²สาขาวิชาเทคโนโลยีสิ่งแวดล้อม คณะวิทยาศาสตร์ มหาวิทยาลัยแม่โจ้ อำเภอสันทราย จังหวัดเชียงใหม่ 50290

³สาขาวิชาปฐพีศาสตร์ คณะผลิตกรรมการเกษตร มหาวิทยาลัยแม่โจ้ อำเภอสันทราย จังหวัดเชียงใหม่ 50290

⁴สถาบันบริการตรวจสอบคุณภาพและมาตรฐานผลิตภัณฑ์ มหาวิทยาลัยแม่โจ้ อำเภอสันทราย จังหวัดเชียงใหม่ 50290

¹Program in Biotechnology, Faculty of Science, Maejo University, San Sai, Chiang Mai 50290, Thailand

²Program in Environmental Technology, Faculty of Science, Maejo University, San Sai, Chiang Mai 50290, Thailand

³Program in Soil Science, Faculty of Science, Maejo University, San Sai, Chiang Mai 50290, Thailand

⁴Institute of Product Quality and Standardization, Maejo University, San Sai, Chiang Mai 50290, Thailand

*E-mail: boonnadukul@gmail.com

Received: 27/08/2018; Revised: 25/01/2019; Accepted: 06/02/2019

บทคัดย่อ

งานวิจัยนี้มีวัตถุประสงค์เพื่อศึกษาประสิทธิภาพของแบคทีเรียตรึงไนโตรเจนอิสระที่แยกจากดินรอบรากข้าวในการผลิตออกซินและจิบเบอเรลลิน เก็บตัวอย่างดินบริเวณรอบรากข้าวจากพื้นที่แตกต่างกัน แยกที่เรียที่แยกได้นับปริมาณโคโลนีด้วยวิธี plate count ผลการแยกแบคทีเรียจากตัวอย่างดินแปลงปลูกข้าวอินทรีย์ 183 ไอโซเลท ปริมาณโคโลนี 1.6×10^6 - 2.0×10^7 cfu/g และได้จากตัวอย่างดินของแปลงปลูกข้าวเคมี 127 ไอโซเลท ปริมาณโคโลนี

1.2×10^3 - 1.9×10^5 cfu/g ทดสอบการตรึงไนโตรเจนด้วยวิธี bromothymol blue reagent indicator และการคัดเลือกแบคทีเรียตรึงไนโตรเจนอิสระพบ 26 ไอโซเลท ทดสอบการผลิตออกซินของแบคทีเรียตรึงไนโตรเจนที่คัดเลือกได้โดยใช้ทริปโตเฟนเป็นสารตั้งต้นและวิเคราะห์ปริมาณของออกซินโดยวิธี Salkowski coloring reagent ผลการทดสอบพบแบคทีเรีย 6 ไอโซเลทที่ผลิตออกซินได้มากที่สุดโดยใช้ทริปโตเฟนความเข้มข้น 1,000 $\mu\text{g/mL}$ และไอโซเลท PY7-6 ผลิตออกซินมากที่สุด 23.9 mg/L ในส่วนไอโซเลทอื่นได้แก่ LP8-1, CR1-2, CM12-4, PY7-5 และ CM5-2 ผลิตออกซินได้ 7.0 -22.3 mg/L การทดสอบการผลิตจิบเบอเรลลินและวิเคราะห์ปริมาณจิบเบอเรลลินโดย HPLC พบว่ามี 2 ไอโซเลทได้แก่ CM12-4 และ LP8-1 ซึ่งสามารถผลิตจิบเบอเรลลินได้ 13.74 และ 3.94 mg/L ตามลำดับ การจำแนกชนิดของแบคทีเรียจากการวิเคราะห์ลำดับของยีน 16S rRNA บ่งชี้ว่ามี 4 สายพันธุ์ได้แก่ CM12-4 (*Pantoea agglomerans*), LP8-1 (*Stenotrophomonas maltophilia*), PY7-5 (*Bacillus cereus*) และ PY7-6, CR1-2 และ CM5-2 (*Pseudomonas nitroreducens*) สรุปได้ว่า *Pseudomonas nitroreducens* (PY7-6) ที่ได้จากการศึกษานี้เป็นแบคทีเรียตรึงไนโตรเจนอิสระที่ดีที่สุด ซึ่งมีประสิทธิภาพในการผลิตไนโตรเจนและออกซินเพื่อศึกษาและพัฒนาใช้เป็นปุ๋ยชีวภาพได้ต่อไป

คำสำคัญ: แบคทีเรียตรึงไนโตรเจนอิสระ, ออกซิน, จิบเบอเรลลิน, ดินรอบรากข้าว

Abstract

This research aimed to study the efficiency of free-living nitrogen fixing bacteria isolated from the samples of rice rhizosphere soil on auxin and gibberellin production. The samples of the rhizosphere soil were collected from different areas. The amount of colony of isolated bacteria was counted by using plate count method. The result revealed that 183 isolated bacteria were obtained from soil samples of the organic rice fields, the amount of colony at 1.6×10^6 - 2.0×10^7 cfu/g and the 127 isolated bacteria were obtained from soil samples of the chemical rice fields, the amount of colony at 1.2×10^3 - 1.9×10^5 cfu/g. Nitrogen fixation was tested by using bromothymol blue reagent indicator method and selecting of free-living nitrogen fixing bacteria was found of 26 isolates. Auxin production test of the selected nitrogen fixing bacteria was conducted by using tryptophan as an initial substance and the amount of auxin was analyzed by using Salkowski coloring reagent method. The result showed that 6 isolates produced the most auxin by using tryptophan concentrations of 1,000 $\mu\text{g/mL}$ and the isolate PY7-6 produced the most auxin of 23.9 mg/L, while the rest, LP8-1, CR1-2, CM12-4, PY7-5 and CM5-2, produced auxin from 7.0 to 22.3 mg/L. Gibberellin production test and gibberellin content analysis by HPLC revealed that 2 isolates: CM12-4 and LP8-1 could produced gibberellin at 13.74 and 3.94 mg/L, respectively. Classification of bacteria from sequence analysis of the 16S rRNA gene indicated that there were 4

species: CM12-4 (*Pantoea agglomerans*), LP8-1 (*Stenotrophomonas maltophilia*), PY7-5 (*Bacillus cereus*) and PY7-6, CR1-2 and CM5-2 (*Pseudomonas nitroreducens*). In conclusion, *Pseudomonas nitroreducens* (PY7-6) was the best free-living nitrogen fixing bacteria from this study which had the efficiency to produce nitrogen and auxin for further study and develop as biofertilizer.

Keywords: free- living nitrogen fixing bacteria, auxin, gibberellin, rice rhizospheresoil

บทนำ

แบคทีเรียที่อาศัยอยู่บริเวณรอบรากพืช (rhizosphere) มีความสัมพันธ์กับการเจริญของพืชและความอุดมสมบูรณ์ของดิน แบคทีเรียกลุ่ม PGPR (plant growth promoting rhizobacteria) เป็นแบคทีเรียที่อาศัยบริเวณรอบรากพืช ซึ่งกลไกระหว่างแบคทีเรียกับพืชเกิดขึ้นอย่างสลับซับซ้อนและพึ่งพาอาศัยซึ่งกันและกัน ไม่เพียงแต่ความสัมพันธ์ที่เกิดขึ้นระหว่างแบคทีเรียกับพืชเท่านั้น ยังรวมถึงความสัมพันธ์ของปัจจัยที่เกี่ยวข้องทั้งจากสิ่งที่มีและไม่มีชีวิตซึ่งเกิดขึ้นบริเวณรอบรากพืช (Dutta & Podile, 2010) เนื่องจากดินเขตรอบรากพืชเป็นบริเวณที่รากพืชแตกออกเพื่อดูดซับธาตุอาหาร และรากพืชสามารถดูดซับธาตุอาหารนำไปใช้ได้อย่างมีประสิทธิภาพโดยมีจุลินทรีย์กลุ่ม PGPR ช่วยแปรสภาพธาตุอาหารให้อยู่ในรูปที่เป็นประโยชน์ (Van Overbeek & Van Elsas, 2008)

จุลินทรีย์บางสายพันธุ์มีความสามารถในการตรึงไนโตรเจนจากบรรยากาศ ซึ่งเป็นจุลินทรีย์ที่ดำรงชีวิตเป็นอิสระ (non-symbiosis nitrogen fixing bacteria) และสามารถผลิตฮอร์โมนซึ่งเป็นสารกระตุ้นการเจริญของพืช ดังเช่น กรดอินโดลแอซิดิก (indole acetic acid: IAA) และกรดจิบเบอเรลลิก (GA_3) เป็นต้น (Laskar & Sharma, 2013) จุลินทรีย์ใช้กลไกหลายอย่างเพื่อช่วยส่งเสริมการเจริญของพืชโดยเฉพาะจุลินทรีย์กลุ่มที่อาศัยบริเวณรอบรากพืช (rhizosphere) ที่สามารถตรึงไนโตรเจนจากอากาศและเปลี่ยนให้อยู่ในรูปของสารประกอบอินทรีย์ในโตรเจน ได้แก่ แอมโมเนียมไอออน (NH_4^+) และไนเตรด (NO_3^-) ที่พืชสามารถดูดซับใช้เพื่อการเจริญได้ (Hayat et al., 2010; Khan, 2005) แบคทีเรียหลายชนิดที่สามารถสังเคราะห์กรดอินโดลแอซิดิกได้ดังเช่น *Azotobacter chroococcum* เป็นแบคทีเรียตรึงไนโตรเจนที่สามารถผลิตสารประกอบฮอร์โมนพืช และละลายฟอสเฟต (Abdel-Aziz et al., 2014)

ธาตุไนโตรเจนเป็นธาตุอาหารหลักที่มีความสำคัญสำหรับการเจริญของพืช โดยเฉพาะข้าวเป็นพืชที่ต้องการธาตุไนโตรเจนในปริมาณสูงเพื่อสร้างผลผลิต เมื่อดันข้าวได้รับไนโตรเจนอย่างเพียงพอจะทำให้มีการเจริญดี ใบมีสีเขียว ทำให้ต้นข้าวสูง แตกกอได้มาก และมีจำนวนเมล็ดข้าวต่อรวงมาก ทำให้ได้ผลผลิตสูง นอกจากนี้ฮอร์โมนพืชที่มีในโตรเจนเป็นองค์ประกอบได้แก่ ออกซิน จิบเบอเรลลิน และไซโทไคนินมีบทบาทในการกระตุ้นการแบ่งของเซลล์ เร่งการขยายขนาดของเซลล์ ควบคุมการแตกของราก ป้องกันการร่วงของใบ ช่วยในการงอกของเมล็ด ส่งเสริมการสร้างโปรตีน และการเคลื่อนย้ายธาตุอาหาร (Taiz & Zeiger, 2006) จากการศึกษาแบคทีเรีย

Azospirillum lipoferum strain RSWT1 และ *Pseudomonas* strain Ky1 ช่วยส่งเสริมการเจริญเติบโตของข้าว JP5 และเพิ่มผลผลิตข้าวได้ร้อยละ 18 และ 13.8 ตามลำดับ (Bashir et al., 2013)

การใช้ปุ๋ยชีวภาพหรือจุลินทรีย์เป็นอีกแนวทางหนึ่งที่น่าสนใจอย่างกว้างขวาง ที่ช่วยลดต้นทุนการผลิตข้าว และการลดผลกระทบต่อสิ่งแวดล้อมระบบนิเวศเกษตร ประโยชน์จากแบคทีเรียบางชนิดที่สามารถตรึงไนโตรเจนจากชั้นบรรยากาศ ซึ่งประกอบด้วยไนโตรเจนที่อยู่ในรูปของแก๊สไนโตรเจนมีมากถึงร้อยละ 78 แบคทีเรียกลุ่มตรึงไนโตรเจนจึงใช้เป็นปุ๋ยชีวภาพได้ รวมทั้งการผลิตฮอร์โมนพืชสังเคราะห์ ออกซิน จิบเบอเรลลิน และไซโทไคนิน เป็นต้น ซึ่งพืชได้รับประโยชน์จากฮอร์โมนในการกระตุ้นการงอกของเมล็ด การเจริญของราก และทำให้พืชดูดซับอาหารในดินได้มากยิ่งขึ้น (Khan et al., 2016; Phookkasem et al., 2011) ถึงแม้ว่าจะเป็นที่ยอมรับกันดีถึงผลการศึกษาแบคทีเรียกลุ่ม PGPR ที่เกิดประโยชน์ต่อการส่งเสริมการเจริญของพืชแต่กลไกการทำงานในระดับโมเลกุลของฮอร์โมนก็ยังไม่เป็นที่ทราบได้ชัดเจน (Babalola, 2010)

จึงเห็นได้ว่าแบคทีเรียตรึงไนโตรเจนอิสระพบได้หลากหลายชนิดที่อาศัยอยู่บริเวณรอบรากพืชมีคุณสมบัติแตกต่างกันสามารถนำมาประยุกต์ใช้เป็นปุ๋ยชีวภาพเพื่อส่งเสริมการเจริญของข้าวได้ การใช้ปุ๋ยชีวภาพประกอบด้วยจุลินทรีย์ที่มีชีวิต ซึ่งสามารถตรึงไนโตรเจนในอากาศได้ และสามารถเปลี่ยนธาตุอาหารให้อยู่ในรูปที่พืชนำไปใช้ประโยชน์ โดยผ่านกระบวนการทางชีวภาพ (Dhevendaran et al., 2013) ผู้วิจัยจึงมีวัตถุประสงค์เพื่อศึกษาแบคทีเรียตรึงไนโตรเจนอิสระที่แยกได้จากดินรอบรากข้าวที่มีประสิทธิภาพในการผลิตกรดอินโดลแอซิดิก (ซึ่งต่อไปนี้จะเรียกกรดอินโดลแอซิดิกโดยใช้ชื่อของกลุ่มฮอร์โมนแทนว่า “ออกซิน”) และจิบเบอเรลลิน และจำแนกสายพันธุ์แบคทีเรียที่คัดเลือกได้ เพื่อค้นหาแบคทีเรียที่มีศักยภาพเหมาะสมในการศึกษาและพัฒนาเป็นปุ๋ยชีวภาพส่งเสริมการเจริญของข้าวได้ต่อไป

วิธีการทดลอง

วางแผนการทดลองแบบสุ่มสมบูรณ์ (Completely Randomized Design: CRD) วิเคราะห์ความแตกต่างทางสถิติ (Analysis of Variance: ANOVA) และเปรียบเทียบความแตกต่างระหว่างค่าเฉลี่ยด้วยวิธี Duncan's New Multiple Range Test ($p < 0.05$) โดยมีขั้นตอนการทดลองดังนี้

1. การเก็บตัวอย่างดิน

เก็บตัวอย่างดินบริเวณรอบรากข้าวระดับความลึก 15 เซนติเมตร ซึ่งเป็นระดับชั้นดินที่สำคัญประกอบด้วยอินทรีย์วัตถุ (Pennock et al., 2008) จำนวน 40 ตัวอย่าง ใสในถุงพลาสติกที่ปิดผนึกและติดฉลากโดยกำหนดสถานที่และรหัสตัวอย่างดิน เก็บรักษาในตู้เย็นอุณหภูมิ 4 องศาเซลเซียส โดยเก็บตัวอย่างดินบริเวณแปลงปลูกข้าวจากพื้นที่แตกต่างกัน 4 จังหวัด ได้แก่ เชียงใหม่ เชียงราย พะเยา และลำพูน จากพื้นที่แปลงนาของเกษตรกรที่ทำการปลูกข้าวอย่างต่อเนื่องไม่น้อยกว่า 5 ปี โดยแบ่งพื้นที่ออกเป็น 2 กลุ่ม คือ 1) เก็บตัวอย่างดินจากแปลงปลูกข้าวอินทรีย์ (วิธีการปลูกข้าวในระบบเกษตรอินทรีย์) 2) เก็บตัวอย่างดินจากแปลงปลูกข้าวเคมี (วิธีการปลูกข้าวโดยใช้ปุ๋ยเคมีและสารเคมีกำจัดศัตรูพืช)

2. การแยกเชื้อแบคทีเรีย

นำตัวอย่างดินปริมาณ 10 กรัม ใส่ลงในขวดรูปหมพู่ที่มีน้ำกลั่นปลอดเชื้อ 90 mL นำไปเขย่าที่ 120 รอบต่อนาที นาน 30 นาที ทำการเจือจางเป็นลำดับส่วนแบบ 10 เท่า (10-fold dilution) จนได้ระดับความเจือจาง 10^{-6} จากนั้น นำมาเกลี่ยบนผิวน้ำอาหารวุ้น TSA (tryptic soy agar) ด้วยวิธี spread plate แล้วบ่มเชื้อที่อุณหภูมิ 37 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 24 ชั่วโมง ทำ 3 ซ้ำ แล้วนับปริมาณเชื้อแบคทีเรียด้วยวิธี plate count มีหน่วยเป็น colony forming unit (cfu) คัดเลือกโคโลนีที่เจริญบนอาหารที่มีลักษณะแตกต่างกันโดยใช้ลูปแตะเชื้อมาขีดลาก (streak plate) บนอาหารวุ้น เอียง TSA บนจานอาหารใหม่จนกระทั่งได้เชื้อที่บริสุทธิ์ แล้วจึงเก็บรักษาเชื้อบริสุทธิ์ในหลอดอาหารวุ้นเอียง TSA เมื่อเชื้อเจริญเต็มที่แล้วเก็บไว้ที่ 4 องศาเซลเซียส เพื่อใช้ในการทดลองต่อไป

3. การคัดเลือกแบคทีเรียตรึงไนโตรเจน

นำเชื้อที่แยกได้มาทดสอบ โดยถ่ายเชื้อจากหลอดอาหารวุ้นเอียง TSA ในอาหารเหลวสูตร N-free medium ปริมาตร 3 mL บ่มเชื้อในอุณหภูมิ 37 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 24 ชั่วโมง วัดการเจริญของเชื้อที่ความยาวคลื่นที่ 600 nm โดยใช้ spectrophotometer ปรับให้มีการดูดกลืนแสงเท่ากับ 0.1 ถ่ายเชื้อแต่ละไอโซเลตปริมาตร 0.2 mL ลงในอาหารกึ่งแข็ง (semi-solid media) สูตร N-free bromothymol blue medium ปริมาตร 3 mL แล้วบ่มที่อุณหภูมิ 37 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 7 วัน จากนั้นสังเกตการเปลี่ยนแปลงสีของอินดิเคเตอร์ด้วยวิธี bromothymol blue reagent indicator (Dobereiner et al., 1976) โดยแบคทีเรียที่สามารถตรึงไนโตรเจนได้ สีของอินดิเคเตอร์จะเปลี่ยนจากสีเขียว เป็นสีน้ำเงิน วิเคราะห์ปริมาณไนโตรเจนด้วยวิธี Kjeldahl

4. การทดสอบปริมาณออกซิน

การทดลองที่ 1 นำเชื้อแบคทีเรียตรึงไนโตรเจนที่ได้จากการทดสอบปริมาตร 0.2 mL ใส่ลงในอาหารเหลว TSB บ่มที่อุณหภูมิ 37 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 24 ชั่วโมง วัดค่าการดูดกลืนแสงของสารละลายที่ความยาวคลื่น 600 nm ปรับให้ได้ 0.1 และดูดใส่ในอาหารเหลว TSB ที่เติมทริปโตเฟน (tryptophan) ที่มีความเข้มข้น 600 $\mu\text{g/mL}$ ปริมาตร 5 mL บ่มเป็นเวลา 3 วัน โดยสังเกตการเปลี่ยนแปลงของสี เมื่อแบคทีเรียผลิตออกซินจะเปลี่ยนเป็นสีชมพู เข้ม วิเคราะห์ปริมาณออกซินด้วยวิธี Salkowski colouring reagent (Ahmad et al., 2008; Bharucha et al., 2013) โดยนำตัวอย่างมาปั่นเหวี่ยงที่ความเร็ว 4,000 รอบต่อนาที เป็นเวลา 30 นาที ที่อุณหภูมิ 5 องศาเซลเซียส เก็บสารละลาย ส่วนใสปริมาตร 0.5 mL แล้วเติม reagent ปริมาตร 0.5 mL (FeCl_3 0.5 mol ละลายใน 35% HClO_4) นำไปบ่มที่ อุณหภูมิห้องในที่มืดเป็นเวลานาน 30 นาที วัดค่าการดูดกลืนแสงของสารละลายที่ความยาวคลื่น 535 nm โดย spectrophotometer แล้วนำค่าที่ได้เปรียบเทียบกับกราฟค่ามาตรฐาน

การทดลองที่ 2 ทดสอบการผลิตออกซินโดยใช้ทริปโตเฟน (tryptophan) ที่มีความเข้มข้นแตกต่างกันโดย ถ่ายเชื้อแต่ละไอโซเลตที่สามารถผลิตออกซินได้จากการทดลองที่ 1 ปริมาตร 0.2 mL ใส่ลงในอาหารเหลว TSB บ่ม ที่อุณหภูมิ 37 องศาเซลเซียส เป็นเวลานาน 24 ชั่วโมง และวัดค่าการดูดกลืนแสงของสารละลายความยาวคลื่น 600 nm ปรับให้ได้ 0.1 แล้วดูดใส่อาหารเหลว TSB ที่เติมทริปโตเฟนที่มีความเข้มข้น 0, 200, 400, 600, 800 และ 1,000 $\mu\text{g/mL}$ ปริมาตร 5 mL บ่มเป็นเวลา 3 วัน และวัดปริมาณออกซินด้วยวิธี Salkowski colouring reagent

5. การทดสอบปริมาณจิบเบอเรลลิน

เพาะเลี้ยงเชื้อแบคทีเรียในอาหาร LGLP medium ประกอบด้วย ซูโครส 100 g/L, K_2HPO_4 0.2 g/L, KH_2PO_4 0.6 g/L, $MgSO_4 \cdot 7H_2O$ 0.2 g/L, $CaCl_2 \cdot 2H_2O$ 0.02 g/L, $Na_2MoO_4 \cdot 2H_2O$ 0.002 g/L, $FeCl_3 \cdot 6H_2O$ 0.1 g/L และ Bromothymolblue 0.025 g/L ปรับค่า pH 5.5 บ่มที่อุณหภูมิ 32 องศาเซลเซียส เขย่า 80 rpm เป็นเวลา 5 วัน จากนั้นนำมา sonicate เป็นเวลา 20 นาที ปั่นเหวี่ยง 10,000xg เป็นเวลา 30 นาที ปรับค่า pH 3.0 ด้วย HCl และทำการชะด้วย ethyl acetate อัตราส่วน 1:3 จำนวน 3 รอบ นำส่วนที่รวมกับ ethyl acetate ที่แยกชั้นอยู่ด้านบนมาระเหยด้วย evaporator ที่อุณหภูมิ 45 องศาเซลเซียสและความดัน 240 จนกระทั่ง ethyl acetate ระเหยแล้วจึงชะด้วย methanol แล้ววัดหาปริมาณของจิบเบอเรลลินโดยเครื่อง high performance liquid chromatography (HPLC) (Tang et al., 2011)

6. การจำแนกชนิดเชื้อแบคทีเรียโดยการหาลำดับนิวคลีโอไทด์ของชิ้นส่วน 16S rRNA

สกัดดีเอ็นเอของเชื้อแบคทีเรียด้วยชุดสกัดดีเอ็นเอสำเร็จรูป (protein precipitation solution รหัส A7951, บริษัท Promega Corporation, ประเทศสหรัฐอเมริกา) จากนั้นนำดีเอ็นเอทั้งหมดที่ได้มาเพิ่มปริมาณด้วยเทคนิค PCR (polymerase chain reaction) โดยใช้ primer คือ 27F(5'-AGAGTTTGATCMTGGCTCAG-3') และ 1522R (5'-AAGGAGGTGATCCRCCGCA -3') นำ PCR Product ที่ได้มาตรวจสอบขนาดของดีเอ็นเอภายใต้สนามไฟฟ้าโดยผ่านตัวกลางชนิดวุ้น (agarose gel electrophoresis) จากนั้นนำ PCR product ของชิ้นส่วน 16S rRNA ที่ได้มาทำให้บริสุทธิ์ด้วยชุด GEL/PCR DNA fragments extraction kit (รุ่น 70 bp-20 kb DNA fragments, Cat. Number GMB100, บริษัท Geneaid Biotech Ltd., ประเทศไทย) นำดีเอ็นเอที่บริสุทธิ์มาวิเคราะห์หาลำดับเบสในส่วนของชิ้นส่วน 16S rRNA โดยจัดส่งไปหาลำดับเบสที่บริษัท First BASE Laboratories ประเทศมาเลเซีย แล้วนำลำดับเบสที่ได้ไปเปรียบเทียบกับฐานข้อมูลโดยใช้โปรแกรม BLAST ของ The National Center for Biotechnology Information (NCBI) เพื่อระบุสายพันธุ์ของเชื้อแบคทีเรีย

ผลการทดลอง

1. การแยกเชื้อแบคทีเรีย

ผลการแยกเชื้อแบคทีเรียจากดินรอบรากข้าวได้ 310 ไอโซเลท แยกได้จากแปลงปลูกข้าวอินทรีย์ 183 ไอโซเลท ปริมาณแบคทีเรียมากกว่าแปลงปลูกข้าวเคมี ซึ่งแยกเชื้อได้ 127 ไอโซเลท การนับปริมาณโคโลนีของแบคทีเรียที่แยกได้จากตัวอย่างดินแปลงปลูกข้าวอินทรีย์ มีปริมาณโคโลนีอยู่ระหว่าง 1.6×10^6 - 2.0×10^7 cfu/g และจากตัวอย่างดินแปลงปลูกข้าวเคมี มีปริมาณโคโลนีของแบคทีเรียอยู่ระหว่าง 1.2×10^3 - 1.9×10^5 cfu/g (ตารางที่ 1)

2. การคัดเลือกแบคทีเรียตรึงไนโตรเจน

ผลการคัดเลือกแบคทีเรียตรึงไนโตรเจนได้ 26 ไอโซเลท และมีแบคทีเรีย 6 ไอโซเลท ที่ผลิตไนโตรเจนได้สูง โดยมีไอโซเลท CM2-2 ผลิตไนโตรเจนได้สูงสุด 15.6 mg/L รองลงมา คือ CM5-2 และ PY5-2, LP1-5, CR6-7

และ PY7-6 ผลิตไนโตรเจนได้ 8.4, 7.7 และ 6.3 mg/L ตามลำดับ สำหรับแบคทีเรียไอโซเลทอื่น ผลิตไนโตรเจนได้น้อยกว่า อยู่ระหว่าง 1.4-5.6 mg/L (ตารางที่ 2)

3. การทดสอบปริมาณออกซิน

ผลการทดสอบความสามารถในการผลิตออกซินของแบคทีเรียตรึงไนโตรเจน 26 ไอโซเลท เมื่อใช้ทริปโตเฟนเป็นสารตั้งต้นความเข้มข้น 600 µg/mL แบคทีเรียที่สามารถผลิตออกซินได้มี 6 ไอโซเลท และนำแบคทีเรียที่ได้ มาทดสอบความสามารถในการผลิตออกซินโดยใช้ทริปโตเฟนความเข้มข้นที่แตกต่างกัน คือ 0, 200, 400, 600, 800 และ 1,000 µg/mL พบว่า ปริมาณออกซินเพิ่มมากขึ้นตามความเข้มข้นของทริปโตเฟนที่เพิ่มขึ้น (ตารางที่ 3) และแบคทีเรียทั้ง 6 ไอโซเลท ผลิตออกซินได้มากที่สุดเมื่อใช้ทริปโตเฟนความเข้มข้น 1,000 µg/mL เรียงลำดับจากมากไปหาน้อย ได้แก่ ไอโซเลท PY7-6, LP8-1, CR1-2 และ CM12-4, PY7-5 และ CM5-2 ผลิตออกซินได้ 23.9, 22.3, 8.2-8.5, 7.5 และ 7.0 mg/L ตามลำดับ (รูปที่ 1)

4. การทดสอบปริมาณจิบเบอเรลลิน

ผลการทดสอบความสามารถในการผลิตจิบเบอเรลลินของแบคทีเรียตรึงไนโตรเจน 26 ไอโซเลท พบว่ามี 2 ไอโซเลท คือ CM12-4 และ LP8-1 สามารถผลิตจิบเบอเรลลินได้ 13.74 mg/L และ 3.94 mg/L ตามลำดับ ซึ่งทั้ง 2 ไอโซเลท สามารถผลิตได้ทั้งจิบเบอเรลลินและออกซิน (ตารางที่ 4)

5. การจำแนกชนิดเชื้อแบคทีเรีย โดยการหาลำดับนิวคลีโอไทด์ของชิ้นส่วน 16S rRNA

แบคทีเรียตรึงไนโตรเจนที่สามารถผลิตออกซินและจิบเบอเรลลินได้ พบว่ามี 6 ไอโซเลทจำแนกชนิดของแบคทีเรียพบว่ามี 4 สายพันธุ์ ได้แก่ *Pseudomonas nitroreducens* (PY7-6, CR1-2 และ CM5-2) ซึ่งแบคทีเรียทั้ง 3 ไอโซเลท ผลิตออกซินได้ 23.9, 8.5 และ 7.0 mg/L ตามลำดับ และ *Bacillus cereus* (PY7-5) ผลิตออกซินได้ 7.5 mg/L มี 2 สายพันธุ์ที่ผลิตได้ทั้งออกซินและจิบเบอเรลลินคือ *Stenotrophomonas maltophilia* (LP8-1) ผลิตออกซินและจิบเบอเรลลินได้ 22.3 และ 3.94 mg/L และ *Pantoea agglomerans* (CM12-4) ผลิตออกซินและจิบเบอเรลลินได้ 8.2 และ 13.74 mg/L ตามลำดับ (ตารางที่ 4)

ตารางที่ 1. ปริมาณโคโลนีของแบคทีเรียที่แยกได้จากดินแปลงปลูกข้าวอินทรีย์และแปลงปลูกข้าวเคมี

พื้นที่ปลูกข้าว	ปริมาณโคโลนี (cfu/g)	
	แปลงปลูกข้าวอินทรีย์	แปลงปลูกข้าวเคมี
เชิงใหม่	2.0×10^7	2.3×10^4
พะเยา	1.8×10^6	1.9×10^5
เชิงราย	1.6×10^6	1.3×10^4
ลำพูน	2.3×10^6	1.2×10^3

ตารางที่ 2. ผลการวิเคราะห์ปริมาณไนโตรเจนที่แบคทีเรียผลิตได้

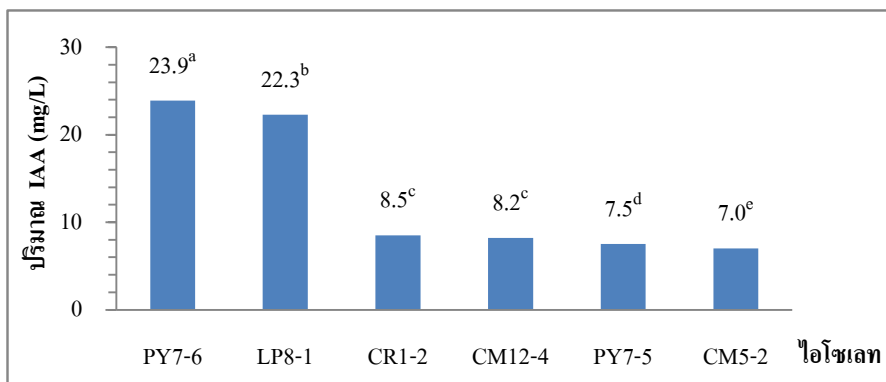
ลำดับ	ไอโซเลท	ไนโตรเจน (mg/L)	ลำดับ	ไอโซเลท	ไนโตรเจน (mg/L)
1	CM2-2	15.6 ^a	14	CM2-3	4.2 ^{ef}
2	CM5-2	8.4 ^b	15	CM12-4	4.2 ^{ef}
3	PY5-2	8.4 ^b	16	LP8-1	4.2 ^{ef}
4	LP1-5	7.7 ^b	17	LP2-5	3.5 ^{fg}
5	CR6-7	6.3 ^c	18	LP4-10	3.5 ^{fg}
6	PY7-6	6.3 ^c	19	CM8-3	2.8 ^{gh}
7	CM11-6	5.6 ^{cd}	20	CM9-3	2.8 ^{gh}
8	CM12-6	5.6 ^{cd}	21	CR10-5	2.8 ^{gh}
9	CR9-4	5.6 ^{cd}	22	PY5-3	2.8 ^{gh}
10	LP7-5	4.9 ^{de}	23	CM11-5	2.1 ^{hi}
11	CR3-1	4.9 ^{de}	24	LP3-9	2.1 ^{hi}
12	CR6-2	4.9 ^{de}	25	CR1-2	1.4 ⁱ
13	PY7-5	4.9 ^{de}	26	CR8-6	1.4 ⁱ
F-test		*	F-test		*

*วิเคราะห์ความแตกต่างทางสถิติ ANOVA (p<0.05)

ตารางที่ 3. ปริมาณออกซิเจนที่แบคทีเรียตรึงไนโตรเจนผลิตได้โดยใช้ทริปโตเฟนที่มีความเข้มข้นแตกต่างกัน

ลำดับ	ไอโซเลท	ปริมาณออกซิเจนตามความเข้มข้นของทริปโตเฟน (mg/L)					
		0	200	400	600	800	1,000 (µg/mL)
1	PY7-6	6.0 ^b	8.6 ^b	10.0 ^a	12.1 ^a	14.9 ^a	23.9 ^a
2	LP8-1	7.5 ^a	9.1 ^a	10.2 ^a	11.6 ^b	14.3 ^b	22.3 ^b
3	CR1-2	5.0 ^c	5.2 ^c	5.5 ^b	6.1 ^c	8.3 ^c	8.5 ^c
4	CM12-4	2.2 ^g	3.3 ^{de}	4.7 ^{cd}	5.8 ^{cd}	6.8 ^d	8.2 ^c
5	PY7-5	2.8 ^f	3.1 ^e	3.0 ^f	4.3 ^e	5.3 ^f	7.5 ^d
6	CM5-2	4.5 ^d	4.9 ^c	5.0 ^c	5.5 ^d	6.0 ^e	7.0 ^c
F-test		*	*	*	*	*	*

*วิเคราะห์ความแตกต่างทางสถิติ ANOVA (p<0.05)



รูปที่ 1. ปริมาณออกซินที่แบคทีเรีย 6 ไอโซเลตผลิตได้มากที่สุดเมื่อใช้ทริปโตเฟนความเข้มข้น 1,000 µg/mL (วิเคราะห์ความแตกต่างทางสถิติ ANOVA, $p < 0.05$)

ตารางที่ 4. การจำแนกชนิดเชื้อแบคทีเรียที่ผลิตอินโดลในโตรเจนที่มีประสิทธิภาพในการผลิตออกซิน และจิบเบอเรลลิน

ลำดับ	ไอโซเลต	ออกซิน (mg/L)	จิบเบอเรลลิน (mg/L)	ผลการจำแนกสายพันธุ์
1	PY7-6	23.9 ^a	-	<i>Pseudomonas nitroreducens</i>
2	LP8-1	22.3 ^b	3.94 ^b	<i>Stenotrophomonas maltophilia</i>
3	CR1-2	8.5 ^c	-	<i>Pseudomonas nitroreducens</i>
4	CM12-4	8.2 ^c	13.74 ^a	<i>Pantoea agglomerans</i>
5	PY7-5	7.5 ^d	-	<i>Bacillus cereus</i>
6	CM5-2	7.0 ^e	-	<i>Pseudomonas nitroreducens</i>

*วิเคราะห์ความแตกต่างทางสถิติ ANOVA ($p < 0.05$)

วิจารณ์ผลการทดลอง

ผลการแยกเชื้อแบคทีเรียที่อาศัยอยู่ในดินบริเวณรอบรากข้าว มีปริมาณโคโลนีของแบคทีเรียที่แยกได้จากตัวอย่างดินแปลงปลูกข้าวอินทรีย์มากกว่าแปลงปลูกข้าวเคมี แสดงถึงความอุดมสมบูรณ์ของดินในแปลงปลูกข้าวอินทรีย์มีมากกว่าดินจากแปลงปลูกข้าวเคมี สอดคล้องกับรายงานของ Melero et al. (2006) จากการศึกษาเปรียบเทียบคุณสมบัติของดินแปลงเกษตรอินทรีย์ ซึ่งพบว่าปริมาณอินทรีย์คาร์บอน ไนโตรเจน ฟอสฟอรัส รวมทั้งชีวมวลของจุลินทรีย์ และกิจกรรมของเอนไซม์ในแปลงอินทรีย์เพิ่มขึ้นมากกว่าแปลงเคมีอย่างมีนัยสำคัญ ผลวิเคราะห์ทางชีวเคมีของดินมีความสัมพันธ์เชิงบวกกับปริมาณอินทรีย์คาร์บอนและปริมาณธาตุอาหารในดินที่ช่วยปรับปรุงให้คุณภาพของดินดีขึ้น

จากการคัดเลือกแบคทีเรียตรึงไนโตรเจนอิสระได้ 26 ไอโซเลท และทดสอบประสิทธิภาพการผลิตออกซิเจนพบว่า แบคทีเรียผลิตออกซิเจนได้มากขึ้นตามความเข้มข้นของทริปโตเฟนที่เพิ่มขึ้นและผลิตออกซิเจนได้มากที่สุดเมื่อใช้ทริปโตเฟนความเข้มข้น 1,000 µg/mL พบแบคทีเรียที่สามารถผลิตออกซิเจนได้มี 6 ไอโซเลท ได้แก่ PY7-6, LP1-8, CR1-2, CM12-4, PY7-5 และ CM5-2 สอดคล้องกับการศึกษาการแยกเชื้อแบคทีเรียกลุ่มตรึงไนโตรเจนได้อย่างอิสระมี 18 ไอโซเลท ที่สามารถผลิตออกซิเจนได้และพบ 3 ไอโซเลท ที่มีประสิทธิภาพในการผลิตออกซิเจนได้สูง โดยแบคทีเรียสามารถผลิตออกซิเจนได้ในอาหารเหลวที่เติมสารตั้งต้นทริปโตเฟน (Saengsanga, 2014) และจากการเพาะเลี้ยงเชื้อแบคทีเรียสกุล *Azotobacter* sp., *Pseudomonas* sp. และ *Bacillus* sp. ในอาหารที่ปราศจากทริปโตเฟนพบว่าไม่มีการผลิตออกซิเจน แต่ถ้าเพิ่มระดับความเข้มข้นของทริปโตเฟนจาก 50 ถึง 500 µg/mL ปริมาณออกซิเจนก็จะเพิ่มมากขึ้น (Ahmad et al., 2008) และจากการศึกษาแยกเชื้อแบคทีเรียจากตัวอย่างดินรอบรากข้าว จำนวน 9 ตัวอย่างจากพื้นที่แตกต่างกันในประเทศอินเดีย สามารถแยกแบคทีเรียได้ 53 ไอโซเลท และมี 6 ไอโซเลท ที่ผลิตออกซิเจนได้อยู่ระหว่าง 0.54-14.05 mg/mL โดยใช้สารตั้งต้นทริปโตเฟนความเข้มข้น 5 µg/mL (Singh & Prasad, 2014) จากรายงานดังกล่าวข้างต้น แตกต่างจากการศึกษานี้ ซึ่งคัดเลือกแบคทีเรียตรึงไนโตรเจนอย่างอิสระได้ *Pseudomonas nitroreducens* (PY7-6) ที่มีประสิทธิภาพผลิตออกซิเจนได้มากกว่า (23.9 mg/L)

งานวิจัยนี้คัดเลือกแบคทีเรียตรึงไนโตรเจนที่มีประสิทธิภาพผลิตออกซิเจนได้มี 6 ไอโซเลท และใน 6 ไอโซเลท มีแบคทีเรียที่สามารถผลิตจิบเบอเรลลินได้ 2 ไอโซเลท จากการจำแนกสายพันธุ์พบว่า เป็นเชื้อแบคทีเรียที่จัดอยู่ในกลุ่มเชื้อก่อโรค มี 3 ชนิด คือ *Bacillus cereus*, *Stenotrophomonas maltophilia* และ *Pantoea agglomerans* ซึ่งอาจเกิดอันตรายต่อคนได้ *S. maltophilia* เป็นเชื้อก่อโรคในคนที่ยากต่อการรักษาดังเช่น เป็นเชื้อสาเหตุของความผิดปกติของโรคปอดบวม การติดเชื้อในระบบทางเดินปัสสาวะ และการติดเชื้อในกระแสเลือด เป็นเชื้อที่ติดต่อยาปฏิชีวนะในวงกว้าง พบได้ทั่วไปในสิ่งแวดล้อม (Chang et al., 2015) *P. agglomerans* เป็นแบคทีเรียที่ให้ทั้งคุณและโทษ เป็นเชื้อก่อโรคในพืชและในคน พบได้ทั้งในพืช ผลิตภัณฑ์จากสัตว์ ในสิ่งแวดล้อม ดิน น้ำ และฝุ่นละอองในอากาศ เกิดประโยชน์ต่อพืชโดยส่งเสริมการเจริญและเป็นปุ๋ยชีวภาพได้ (Dutkiewicz et al., 2015) จากการศึกษาประโยชน์ของ *P. agglomerans* เป็นแบคทีเรียปฏิปักษ์ต่อแบคทีเรียและราที่เป็นเชื้อสาเหตุโรคพืชหลายชนิด ถึงอย่างไรก็ตาม การใช้ประโยชน์ของ *P. agglomerans* เป็นผลิตภัณฑ์ทางการค้าสำหรับควบคุมโรคพืชนั้นยังไม่เป็นที่ยอมรับ เพราะไม่ปลอดภัย และมีโอกาสที่จะเกิดโรคเป็นอันตรายต่อคนได้ (Rezzonico et al., 2009)

Pseudomonas nitroreducens sp. nov. เป็นเชื้อแบคทีเรียสายพันธุ์ใหม่ ค้นพบโดย Lang et al. (2007) ที่แยกเชื้อได้จาก oil brine ซึ่งเป็นแหล่งที่เต็มไปด้วยน้ำมันก๊าด (kerosene) และน้ำมันดิบในประเทศญี่ปุ่น ซึ่งเป็นแหล่งคาร์บอนและพลังงานของจุลินทรีย์ สามารถเจริญได้ใน 5% NaCl ไม่เจริญในอุณหภูมิต่ำ 4 องศาเซลเซียส และอุณหภูมิสูงที่ 41 องศาเซลเซียส ซึ่งแตกต่างจากผลการศึกษาของ Prakash et al. (2007) ที่พบว่า *P. nitroreducens* เจริญได้ที่อุณหภูมิ 4 องศาเซลเซียส อย่างไรก็ตาม ยังไม่พบว่ามีรายงานการศึกษาเกี่ยวกับ *P. nitroreducens* ที่แยกได้จากดินรอบรากข้าว และการศึกษาประสิทธิภาพในการตรึงไนโตรเจนและการผลิตฮอร์โมนออกซิเจนมาก่อน

สรุปผลการทดลอง

การศึกษานี้ผู้วิจัยแยกแบคทีเรียจากดินรอบรากข้าวได้ 310 ไอโซเลท ซึ่งมีปริมาณของแบคทีเรียจากตัวอย่างดินของแปลงปลูกข้าวอินทรีย์มากกว่าแปลงปลูกข้าวเคมี การคัดเลือกแบคทีเรียตรึงไนโตรเจนอิสระพบสายพันธุ์ที่น่าสนใจคือ *Pseudomonas nitroreducens* PY7-6 เป็นแบคทีเรียกลุ่มสายพันธุ์ใหม่ที่มีผู้ศึกษาอยู่น้อย และเป็นแบคทีเรียที่มีประสิทธิภาพผลิตไนโตรเจนได้สูง (6.3 mg/L) และผลิตออกซิเจนได้สูงสุด (23.9 mg/L) สำหรับแบคทีเรียสายพันธุ์อื่นที่พบในการศึกษานี้ จัดเป็นกลุ่มเชื้อก่อโรคได้แก่ *Pantoea agglomerans* ซึ่งเป็นเชื้อก่อโรคได้ในพืช สัตว์ และคน พบได้จากผิวพืช เมล็ดพันธุ์ ผลไม้ และอุจจาระสัตว์หรือคน รวมทั้ง *Bacillus cereus* และ *Stenotrophomonas maltophilia* เป็นเชื้อที่ก่อโรคในคนได้ จึงควรศึกษาอย่างละเอียดหากจะนำไปใช้ประโยชน์ เพราะอาจเป็นอันตราย ดังนั้นผู้วิจัยจึงคัดเลือก *P. nitroreducens* PY7-6 เป็นแบคทีเรียสายพันธุ์ที่ดีที่สุดสำหรับศึกษาต่อไปเพื่อสามารถพัฒนาเป็นปุ๋ยชีวภาพส่งเสริมการเจริญให้แก่ข้าวได้

กิตติกรรมประกาศ

ขอขอบคุณ สาขาเทคโนโลยีชีวภาพ และสาขาเทคโนโลยีสิ่งแวดล้อม คณะวิทยาศาสตร์ สาขาวิชาภูมิศาสตร์ คณะผลิตกรรมการเกษตร มหาวิทยาลัยแม่โจ้ และสถาบันบริการตรวจสอบคุณภาพและมาตรฐานผลิตภัณฑ์ มหาวิทยาลัยแม่โจ้ ที่ให้การสนับสนุนและอำนวยความสะดวกในการทำการทดลองงานวิจัยนี้สำเร็จลงได้ด้วยดี

เอกสารอ้างอิง

- Abdel-Aziez, S. M., Eweda, W. E., Girgis, M. G. Z. & Ghany, B. F. A. (2014). Improving the productivity and quality of black cumin (*Nigella sativa*) by using *Azotobacter* as N_2 biofertilizer. *Annals of Agricultural Sciences*, 59(1), 95-108. <https://doi.org/10.1016/j.aoas.2014.06.014>
- Ahmad, F., Ahmad, I. & Khan, M. S. (2008). Screening of free-living rhizospheric bacteria for their multiple plant growth promoting activities. *Microbiological research*, 163(2), 173-181. <https://doi.org/10.1016/j.micres.2006.04.001>
- Babalola, O. O. (2010). Beneficial bacteria of agricultural importance. *Biotechnology Letters*, 32(11), 1559-1570. <https://doi.org/10.1007/s10529-010-0347-0>
- Bashir, H., Ahmad, J., Bagheri, R., Nauman, M. & Qureshi, M. I. (2013). Limited sulfur resource forces *Arabidopsis thaliana* to shift towards non-sulfur tolerance under cadmium stress. *Environmental and Experimental Botany*, 94, 19-32. <https://doi.org/10.1016/j.envexpbot.2012.05.004>

- Bharucha, U., Patel, K. & Trivedi, U. B. (2013). Optimization of indole acetic acid production by *Pseudomonas putida* UB1 and its effect as plant growth-promoting rhizobacteria on mustard (*Brassica nigra*). *Agricultural Research*, 2(3), 215-221. <https://doi.org/10.1007/s40003-013-0065-7>
- Chang, Y. T., Lin, C. Y., Chen, Y. H. & Hsueh, P. R. (2015). Update on infections caused by *Stenotrophomonas maltophilia* with particular attention to resistance mechanisms and therapeutic options. *Frontiers in microbiology*, 6, 893. <https://doi.org/10.3389/fmicb.2015.00893>
- Dhevendaran, K., Preetha, G. & Hari, B. N. V. (2013). Studies on nitrogen fixing bacteria and their application on the growth of seedling of *Ocimum sanctum*. *Pharmacognosy Journal*, 5(2), 60-65. <https://doi.org/10.1016/j.phcgj.2013.03.003>
- Dobereiner, J., Marriel, I. E. & Nery, M. (1976). Ecological distribution of *Spirillum lipoferum* Beijerinck. *Canadian Journal of Microbiology*, 22(10), 1464-1473. <https://doi.org/10.1139/m76-217>
- Dutkiewicz, J., Mackiewicz, B., Lemieszek, M. K., Golec, M. & Milanowski, J. (2015). Pantoea agglomerans: a marvelous bacterium of evil and good. Part I. Deleterious effects: Dust-borne endotoxins and allergens - focus on cotton dust. *Annals of Agricultural and Environmental Medicine*, 22(4), 576-88. doi: 10.5604/12321966.1185757.
- Dutta, S. & Podile, A. R. (2010). Plant growth promoting rhizobacteria (PGPR): the bugs to debug the root zone. *Critical reviews in microbiology*, 36(3), 232-244. <https://doi.org/10.3109/10408411003766806>
- Hayat, R., Ali, S., Amara, U., Khalid, R. & Ahmed, I. (2010). Soil beneficial bacteria and their role in plant growth promotion: a review. *Annals of Microbiology*, 60(4), 579-598. <https://doi.org/10.1007/s13213-010-0117-1>
- Khan, A. G. (2005). Role of soil microbes in the rhizospheres of plants growing on trace metal contaminated soils in phytoremediation. *Journal of Trace Elements in Medicine and Biology*, 18(4), 355-364. <https://doi.org/10.1016/j.jtemb.2005.02.006>
- Khan, M. M. A., Khatun, A. & Islam, M. T. (2016). Promotion of plant growth by phytohormone producing bacteria. In N. Garg & A. Aeron (Eds.), *Microbes in Action*. pp. 45-76. USA: Nova Science Publishers.
- Lang, E., Griesse, B., Spröer, C., Schumann, P., Steffen, M. & Verbarg, S. (2007). Characterization of 'Pseudomonas azelaica' DSM 9128, leading to emended descriptions of *Pseudomonas citronellolis* Seubert 1960 (Approved Lists 1980) and *Pseudomonas nitroreducens* Iizuka and Komagata 1964 (Approved Lists 1980), including *Pseudomonas multiresinivorans* as its later heterotypic synonym.

- International journal of systematic and evolutionary microbiology*, 57(Pt 4), 878-882. <https://doi.org/10.1099/ij.s.0.64849-0>
- Laskar, F. & Sharma, G. D. (2013). Isolation and characterisation of diazotrophic bacteria from rhizosphere of different rice cultivars of South Assam, India. *Current World Environment*, 8(1), 157-163. <https://doi.org/10.12944/CWE.8.1.20>
- Melero, S., Porras, J. C. R., Herencia, J. F. & Madejon, E. (2006). Chemical and biochemical properties in a siltyloam soil under conventional and organic management. *Soil and Tillage Research*, 90(1-2), 162-170. <https://doi.org/10.1016/j.still.2005.08.016>
- Pennock, D., Yates, T. & Braidek, J. (2008). Soil sampling designs. In M. R. Carter & E. G. Gregorich (Eds.), *Soil Sampling and Methods of Analysis*. (2nd ed.) pp. 1-14. Boca Raton, FL: CRC Press.
- Phookkasem, C., Amkha, S. & Mala, T. (2011). Screening of pure isolates for *Azospirillum* that is efficient in nitrogen fixation, auxin production and phosphate solubilization. *Kamphaengsaen Academic Journal*, 9(2), 1-14. (in Thai)
- Prakash, O., Kumari, K. & Lal, R. (2007). *Pseudomonas delhiensis* sp. nov., from a fly ash dumping site of a thermal power plant. *International Journal of Systematic and Evolutionary Microbiology*, 57(3), 527-531. <https://doi.org/10.1099/ij.s.0.64456-0>
- Rezzonico, F., Smits, T. H., Montesinos, E., Frey, J. E. & Duffy, B. (2009). Genotypic comparison of *Pantoea agglomerans* plant and clinical strains. *BMC microbiology*, 9:204, 18 pp. <https://doi.org/10.1186/1471-2180-9-204>
- Saengsanga, T. (2014). PGPR: The role in promoting and protecting plant under stress conditions. *Thai Science and Technology Journal*, 22(4), 553-570. (in Thai)
- Singh, R. & Prasad, M. P. (2014). Screening for siderophore and ammonia production from rhizosphere isolates of *Oryza sativa*. *World Journal of Pharmaceutical research*. 3(9). 1458-1465.
- Taiz, L. & Zeiger, E. (2006). *Plant Physiology* (4th ed.). Massachusetts: Sinauer Associates Inc. Publishers,
- Tang, Y., Wang, L., Ma, C., Liu, J., Liu, B. & Li, H. (2011). The use of HPLC in determination of endogenous hormones in anthers of bitter melon. *Journal of Life Sciences*, 5, 139-142.
- Van Overbeek, L. & Van Elsas, J. D. (2008). Effects of plant genotype and growth stage on the structure of bacterial communities associated with potato (*Solanum tuberosum* L.). *FEMS microbiology ecology*, 64(2), 283-296. <https://doi.org/10.1111/j.1574-6941.2008.00469.x>

Research Article

การผลิตน้ำส้มสายชูหมักจากซังขนุนและเมล็ดขนุน

Production of vinegar from jackfruit rags and jackfruit seeds

ยุวรัตน์ พงษ์พิสุทธิพงศ์^{1*} และ สาวิตรี วาทยานูปาส²

Yuwarad Photphisutthiphong^{1*} and Savitri Vatanyoopaisarn²

¹หลักสูตรวิทยาศาสตรเทคโนโลยีสิ่งแวดล้อม คณะวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยี มหาวิทยาลัยสวนดุสิต เขตบางพลัด กรุงเทพฯ 10700
²ภาควิชาเทคโนโลยีอุตสาหกรรมเกษตร อาหาร และสิ่งแวดล้อม คณะวิทยาศาสตร์ประยุกต์ มหาวิทยาลัยเทคโนโลยีพระจอมเกล้าพระนครเหนือ เขตบางซื่อ กรุงเทพฯ 10800

¹Program in Environmental Technology, Faculty of Science and Technology, Suan Dusit University, Bang Phlat District, Bangkok 10700, Thailand

²Department of Agro-Industrial, Food, and Environmental Technology, Faculty of Applied Science, King Mongkut's University of Technology North Bangkok, Bangsue, Bangkok 10800, Thailand

*E-mail: muayyai@hotmail.com

Received: 15/01/2019; Revised: 20/03/2019; Accepted: 29/03/2019

บทคัดย่อ

ซังขนุน และเมล็ดขนุนมีคาร์โบไฮเดรตเป็นองค์ประกอบหลักอยู่สูง 19.77 และ 38.26% ตามลำดับ เมื่อย่อยด้วยเอนไซม์จนได้น้ำตาลรีดิวซ์สามารถนำมาใช้เป็นวัตถุดิบในการผลิตน้ำส้มสายชูได้ งานวิจัยนี้ได้ทำการย่อยซังขนุนและเมล็ดขนุนด้วยเอนไซม์ที่มีความเข้มข้นต่าง ๆ พบว่าการย่อยซังขนุนด้วยเอนไซม์เซลลูเลส ความเข้มข้น 0.004% ที่อุณหภูมิ 50 องศาเซลเซียส pH 5.0 เป็นเวลา 240 นาที ให้ปริมาณน้ำตาลรีดิวซ์สูงสุดที่ 6.3 กรัมต่อลิตร ในขณะที่เมล็ดขนุนย่อยด้วยเอนไซม์แอลฟา-แอมิเลส 200 ไมโครลิตร ที่อุณหภูมิ 90 องศาเซลเซียส pH 6.0 เป็นเวลา 180 นาที และย่อยด้วยเอนไซม์กลูโคแอมิเลส 400 ไมโครลิตร ที่อุณหภูมิ 60 องศาเซลเซียส pH 4.5 เป็นเวลา 360 นาที จึงได้น้ำตาลรีดิวซ์สูงสุด ที่ประมาณ 15 กรัมต่อลิตร ปริมาณเมล็ดขนุนที่เหมาะสมในการเกิดน้ำตาลรีดิวซ์สูงสุด คือ 60 กรัมต่อ 100 มิลลิลิตร ได้น้ำตาลรีดิวซ์ 50.276 กรัมต่อลิตร เมื่อนำซังขนุน และเมล็ดขนุนที่ผ่านการย่อยด้วยเอนไซม์ไปหมักด้วยเชื้อ *Saccharomyces cerevisiae* TISTR 5049 ร้อยละ 4 ทำให้ได้ปริมาณเอทานอล 10.4 และ 11.4% ตามลำดับ ต่อมาใช้ *Acetobacter aceti* TISTR 354 ร้อยละ 10 เปลี่ยนเอทานอลที่ได้จากซังขนุนและเมล็ดขนุนให้เป็นกรดแอซิติกใน 7 วัน พบว่าได้กรด 4.5 และ 5.2% ตามลำดับ เมื่อวิเคราะห์คุณสมบัติของน้ำส้มสายชูหมักที่ได้ พบว่ามีปริมาณแคลเซียมและแมกนีเซียมเป็นองค์ประกอบอยู่สูง รวมถึงยังพบวิตามินซีและฤทธิ์การต้าน

อนุมูลอิสระจึงพัฒนาเครื่องดื่มจากน้ำส้มสายชูหมัก ผลการทดสอบคุณภาพทางประสาทสัมผัสพบว่าเครื่องดื่มน้ำผึ้งมีรสชาติ และความชอบโดยรวมสูงที่สุด ส่วนการนำไปพัฒนาเป็นผลิตภัณฑ์อื่น พบว่าน้ำสัลดมีรสชาติ และความชอบโดยรวมสูงที่สุด มากกว่าซอสพริก และพริกน้ำส้ม

คำสำคัญ: น้ำส้มสายชู, ช้างขุน, เมล็ดขนุน

Abstract

Jackfruit rags and jackfruit seeds contain 19.77 and 38.26 % of carbohydrate, respectively. This was the main component which can be enzymatically digested into reducing sugar and used as a raw material for vinegar production. In this research, the jackfruit rags and jackfruit seeds were digested with enzymes at various concentrations. It was found that the digestion of the fibrous material of jackfruit with 0.004% cellulase at 50°C, pH 5.0 for 240 min gave the highest amount of reducing sugar at 6.3 g/l whilst the jackfruit seeds were digested with 200 µl of alpha-amylase at 90°C, pH 6.0 for 180 min and further reacted with 400 µl of glucoamylase at 60°C, pH 4.5 for 360 min provided maximum 15 g/l of reducing sugar. The optimal amount of jackfruit seeds for the highest reducing sugar production was 60 g/100 ml, in which released 50.276 g/l reducing sugar. The enzymatic digested rags and seeds were then fermented with 4% *Saccharomyces cerevisiae* TISTR 5049, the ethanol yield was 10.4 and 11.4%, respectively. Thereafter, 10% *Acetobacter aceti* TISTR 354 was utilized to convert the ethanol to acetic acid. The amount of acetic acid derived from those of jackfruit rags and seeds within 7 days were 4.5 and 5.2%, respectively. The properties of the vinegar fermented from fibrous materials and seeds of jackfruit were analyzed. It was found that calcium and magnesium contents were high. In addition, it contained vitamin C and antioxidant activity. Therefore, a drink from such vinegar was developed. The sensory quality test showed that adding honey had the highest score of the overall acceptance. As for the development of other products, the salad dressing received the most acceptable on the taste and overall likeness when compared to chili sauce and pickled chili.

Keywords: jackfruit rags, jackfruit seed, vinegar

บทนำ

ช้างขุน และเมล็ดขนุนเป็นของเหลือทิ้งจากกระบวนการแปรรูปขนุนอบแห้ง เมื่อกองทิ้งไว้จะมีแมลงวันแมลงหวี่ แมลงสาบ และหนูเข้ามากิน คีย์เขียวเป็นแหล่งรวมของสัตว์นำโรค และส่งกลิ่นเหม็น หากนำไปกำจัดให้ถูกต้องก็จะต้องเสียค่าใช้จ่ายสูง ช้างขุนเป็นสารประกอบอินทรีย์ประเภทพอลิแซ็กคาไรด์ คือมี เซลลูโลส และเฮมิ

เซลลูโลส (Raj & Ranganathan, 2018) ที่สามารถย่อยสลายด้วยเอนไซม์ ได้น้ำตาลรีดิวซ์เป็นผลิตภัณฑ์สุดท้าย ส่วนเมล็ดขนุนประกอบด้วยแป้งประมาณร้อยละ 22 (Ulloa et al., 2017) สามารถย่อยสลายด้วยจุลินทรีย์จนกระทั่งได้น้ำตาลรีดิวซ์เช่นเดียวกัน น้ำตาลรีดิวซ์สามารถนำไปเป็นสารตั้งต้นในการผลิตน้ำส้มสายชูหมักที่อาศัยกระบวนการหมักตามธรรมชาติ น้ำส้มสายชูเป็นผลิตภัณฑ์เติมแต่งรสชาติอาหาร และช่วยถนอมอาหาร รวมทั้งยังมีการบริโภคในรูปแบบของเครื่องดื่มเพื่อสุขภาพ เพื่อช่วยลดค่าดัชนีไกลซีมิก (Leeman et al., 2005) ช่วยลดระดับการเพิ่มขึ้นของน้ำตาลกลูโคส และอินซูลินหลังการรับประทานอาหาร ลดความเสี่ยงต่อการเป็นโรคเบาหวาน (Johnston et al., 2004) ลดระดับคอเลสเตอรอลในเลือดของหนูทดลอง (Fushimi et al., 2006) และมีผลต่อการลดน้ำหนักเนื่องจากช่วยลดความอยากอาหาร (Ostman et al., 2005)

ที่ผ่านมาได้มีการศึกษานำซังขนุนไปผลิตเป็นกระดาดสำหรับงานประดิษฐ์ (Chulacupt, 2012) และเพิ่มใยอาหารในขนมทองม้วน (Chinchai, 1993) ขนมนึ่ง เค้ก และคุกกี้ (Khadtao et al., 2001) เมล็ดขนุนนำมาทดแทนส่วนผสมในวัตถุดิบสำหรับการผลิตขนมหม้อแกง ไข่หงส์ ซาลาเปา ขนมนึ่ง นมถั่วเหลือง และขนมโค (Wong-arun, 2018) อย่างไรก็ตามแม้จะมีงานวิจัยเผยแพร่แต่ผลิตภัณฑ์ยังไม่เป็นที่นิยมแพร่หลาย และไม่มีการนำมาสังขนุนและเมล็ดขนุนมาใช้เป็นวัตถุดิบหลัก หรือพัฒนาต่อยอดในเชิงอุตสาหกรรม ผู้วิจัยจึงนำซังขนุนและเมล็ดขนุนซึ่งเป็นของเหลือทิ้งจากกระบวนการแปรรูปขนุนอบแห้งมาเป็นวัตถุดิบในการผลิตน้ำส้มสายชูหมัก และพัฒนาผลิตภัณฑ์อาหารจากน้ำส้มสายชูหมักให้ตอบสนองความต้องการของผู้บริโภคในยุคปัจจุบัน เพื่อให้เกิดการนำไปใช้ประโยชน์ เพิ่มมูลค่าให้กับของเหลือทิ้ง ลดปัญหาขยะมูลฝอยที่เป็นสาเหตุของปัญหาล้างแวล้อม

วิธีการทดลอง

1. ศึกษาลักษณะทางกายภาพและเคมีของซังขนุน และเมล็ดขนุน

นำซังขนุนมาล้างทำความสะอาด หั่นให้มีขนาดเล็กลง บดละเอียดด้วยเครื่องตีปั่น (stomacher) สุ่มตัวอย่างเพื่อวิเคราะห์ลักษณะทางกายภาพและเคมี ได้แก่ ความชื้น ตามวิธี AOAC (1990) ข้อ 930.15 โปรตีน ตามวิธี AOAC (1990) ข้อ 979.09 ไขมัน ตามวิธี AOAC (1990) ข้อ 920.39 เส้นใย ตามวิธี AOAC (2000) ข้อ 993.19 เถ้า ตามวิธี AOAC (1990) ข้อ 979.05 และคาร์โบไฮเดรตคำนวณจาก 100 หักออกจากผลรวมของเปอร์เซ็นต์ความชื้น โปรตีน ไขมัน เส้นใย และเถ้า วัดค่าความเป็นกรด-เบส ด้วยเครื่อง pH meter (รุ่น Benchtop pH meter ของ Mettler Toledo, Switzerland) และของแข็งที่ละลายได้ทั้งหมด (total soluble solid) ด้วยเครื่อง Hand refractometer (รุ่น N1 ของ ATAGO, Japan) ในหน่วย °Brix

เมล็ดขนุนมาล้างทำความสะอาด ลอกเปลือกสีขาวออก แช่ในสารละลายโซเดียมไฮดรอกไซด์ร้อยละ 5 เป็นเวลา 2 นาที จากนั้นนำไปแช่ในกรดซิตริก ร้อยละ 5 เป็นเวลา 2 นาที ที่อุณหภูมิห้อง เพื่อลอกเยื่อสีน้ำตาล ล้างด้วยน้ำสะอาด หั่นให้มีขนาดความหนา 2-2.5 มิลลิเมตร อบแห้งที่อุณหภูมิ 60 องศาเซลเซียส 24 ชั่วโมง (Noor et al.,

2014) บดด้วยเครื่องบด (blender) ร้อนผ่านตะแกรง 80 เมช บรรจุใส่ถุงพลาสติกปิดแน่น เก็บในตู้เย็นต่ำกว่า 5 องศาเซลเซียส ตุ่มตัวอย่าง เพื่อวิเคราะห์ลักษณะทางกายภาพและเคมีเช่นเดียวกับซังขนุน

2. ศึกษาปริมาณเอนไซม์ในการย่อยซังขนุน และเมล็ดขนุน

2.1 การย่อยซังขนุนด้วยเอนไซม์เซลลูเลส (Acellulase® 1500, Sigma-Aldrich: มีกิจกรรมของเอนไซม์เอนโดกลูคาเนส 2,200-2,800 UCMC ต่อกรัม และกิจกรรมเบต้ากลูโคซิเดส 450-775 UpNPG ต่อกรัม) นำซังขนุนมาล้างทำความสะอาด บดละเอียดด้วยเครื่องตีปั่น (stomacher) น้ำหนัก 1 กรัม เติมเอนไซม์เซลลูเลสความเข้มข้น (v/v) 0.001%, 0.002%, 0.004% และ 0.008% pH 5.0 บ่มในอ่างน้ำควบคุมอุณหภูมิ 50 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 60, 120, 180, 240 และ 300 นาที เมื่อครบเวลาแยกส่วนใสด้วยเครื่องปั่นเหวี่ยงที่ความเร็วรอบ 4,000 รอบต่อนาที นำส่วนใสไปวิเคราะห์ปริมาณน้ำตาลรีดิวซ์โดยวิธี 3,5 Dinitrosalicylic acid (DNS) ของ Miller (1959)

2.2 การศึกษาการย่อยแป้งเมล็ดขนุน ด้วยเอนไซม์ 2 ชนิด คือ แอลฟา-แอมิเลส (α -amylase) และกลูโคแอมิเลส (glucoamylase)

การย่อยเมล็ดขนุนด้วยเอนไซม์แอลฟา-แอมิเลส (Sigma-Aldrich จาก *Bacillus licheniformis* มีกิจกรรมของเอนไซม์ 500 FAU/ml) ชั่งแป้งเมล็ดขนุน 20 กรัม ในขวดรูปชมพู่ขนาด 250 มิลลิลิตร เติมน้ำ 100 มิลลิลิตร (200 กรัมต่อลิตร) ปรับ pH 6.0 ต้มในอ่างน้ำปรับอุณหภูมิ 100 องศาเซลเซียส นาน 15 นาที เติมเอนไซม์แอลฟา-แอมิเลส ที่ 50, 100, 200 และ 400 ไมโครลิตรต่อ 100 มิลลิลิตร เขย่าให้เข้ากัน นำไปให้ความร้อนในอ่างน้ำร้อนอุณหภูมิ 90 องศาเซลเซียส นาน 60, 120, 180 และ 240 นาที (Kongjindamunee, 2013) เมื่อครบเวลา หยุดปฏิกิริยาด้วยการลดอุณหภูมิ 60 องศาเซลเซียส และเติมเอนไซม์กลูโคแอมิเลสที่ 100 ไมโครลิตรต่อ 100 มิลลิลิตร ปรับ pH 4.5 นาน 120 นาที เพื่อให้เกิดน้ำตาลรีดิวซ์ก่อนวัดปริมาณตามวิธี DNS ของ Miller (1959)

การย่อยเมล็ดขนุนด้วยเอนไซม์กลูโคแอมิเลส (Sigma-Aldrich จาก *Aspergillus niger* มีกิจกรรมของเอนไซม์ 260 AGU/ml) นำเมล็ดขนุนที่ผ่านการย่อยด้วยเอนไซม์แอลฟา-แอมิเลส มาปรับ pH ให้เท่ากับ 4.5 เติมเอนไซม์กลูโคแอมิเลส 100, 200, 400 และ 800 ไมโครลิตรต่อ 100 มิลลิลิตร เขย่าให้เข้ากัน ปริมาณเอนไซม์ละ 3 ซ้ำ อุณหภูมิ 60 องศาเซลเซียส นาน 120, 240, 360 และ 480 นาที วัดปริมาณน้ำตาลรีดิวซ์ตามวิธี DNS ของ Miller (1959)

2.3 การศึกษาปริมาณแป้งเมล็ดขนุนที่ให้อัตราการน้ำตาลกลูโคสสูงสุด

ชั่งแป้งเมล็ดขนุน 20, 40, 60 และ 80 กรัม ในขวดรูปชมพู่ขนาด 250 มิลลิลิตร เติมน้ำ 100 มิลลิลิตร ปรับ pH 6.0 ต้มในอ่างน้ำ ปรับอุณหภูมิ 100 องศาเซลเซียส นาน 15 นาที เติมเอนไซม์แอลฟา-แอมิเลส ในปริมาณและเวลาที่เหมาะสมในอ่างน้ำร้อนอุณหภูมิ 90 องศาเซลเซียส เมื่อครบเวลา หยุดปฏิกิริยาด้วยการลดอุณหภูมิ 60 องศาเซลเซียส ปรับ pH 4.5 เติมเอนไซม์กลูโคแอมิเลสในปริมาณและเวลาที่เหมาะสม วัดปริมาณน้ำตาลรีดิวซ์ตามวิธี DNS ของ Miller (1959)

3. ศึกษาปริมาณเชื้อและระยะเวลาที่เหมาะสมในการหมักเอทานอล

เตรียมกล้าเชื้อ *Saccharomyces cerevisiae* TISTR 5049 โดยใช้อาหาร yeast malt extract (YM broth) ปริมาตร 100 มิลลิลิตร ในขวดรูปชมพู่ขนาด 250 มิลลิลิตร ที่ผ่านการฆ่าเชื้อที่ 121 องศาเซลเซียส นาน 15 นาที เมื่อเย็นแล้ว ถ่ายเชื้อ *S. cerevisiae* TISTR 5049 ที่เลี้ยงบน YM slant อายุ 18-24 ชั่วโมง 1 หลูป ลงในอาหาร บ่มที่อุณหภูมิ 30 องศาเซลเซียส เขย่าที่ความเร็วรอบ 180 รอบต่อนาที เป็นเวลา 24 ชั่วโมง ปรับปริมาณเชื้อด้วยน้ำกลั่นที่ผ่านการฆ่าเชื้อแล้ว ให้ได้ OD₆₆₀ เท่ากับ 0.5 (Lapa, 2011)

นำซังขุ่น และเมล็ดขุ่นที่ผ่านการย่อยด้วยเอนไซม์ มาปรับปริมาณของแข็งที่ละลายน้ำได้ ให้เท่ากับ 20 องศาบริกซ์ ด้วยน้ำตาลทรายขาว (sucrose) ให้ความร้อน และปรับค่า pH เท่ากับ 5.0 ด้วยกรดแอซิติก ฆ่าเชื้อที่ 60 องศาเซลเซียส 30 นาที ตั้งทิ้งไว้ในเย็น เติมกล้าเชื้อ *S. cerevisiae* TISTR 5049 ปริมาณ 1%, 2%, 4% และ 8% ของน้ำหมัก บ่มในขวดรูปชมพู่ ปิดปากขวดด้วยจุกยางเจาะรูด้านบนต่อสายยางลงในน้ำ เพื่อไม่ให้อากาศเข้า บ่มที่อุณหภูมิห้อง เป็นเวลา 5 วัน เก็บตัวอย่างวันที่ 1, 2, 3, 4 และ 5 วัดปริมาณเอทานอลโดยใช้ Portable Alcohol Refractometer (รุ่น THE01514 ของ YIERLY, China)

4. ศึกษาปริมาณเชื้อและระยะเวลาที่เหมาะสมในการหมักน้ำส้มสายชู

เตรียมกล้าเชื้อ *Acetobacter aceti* TISTR 354 โดยใช้อาหาร glucose yeast extract (GYE broth) ปริมาตร 100 มิลลิลิตร ในขวดรูปชมพู่ขนาด 250 มิลลิลิตร ที่ผ่านการฆ่าเชื้อที่ 121 องศาเซลเซียส นาน 15 นาที เมื่อเย็นแล้ว ถ่ายเชื้อ *A. aceti* TISTR 354 ที่เลี้ยงบน GYE slant อายุ 24-48 ชั่วโมง 1 หลูป ลงในอาหาร บ่มที่อุณหภูมิ 30 องศาเซลเซียส เขย่าที่ความเร็วรอบ 180 รอบต่อนาที เป็นเวลา 48 ชั่วโมง ปรับปริมาณเชื้อด้วยน้ำที่ผ่านการฆ่าเชื้อแล้ว ให้ได้ OD₅₄₀ เท่ากับ 0.5 (Lapa, 2011)

นำน้ำส่วนใสจากการหมักซังขุ่น และเมล็ดขุ่นที่มีความเข้มข้นของแอลกอฮอล์ ร้อยละ 10 โดยปริมาตร ค่า pH ให้เท่ากับ 5.5 เติมกล้าเชื้อ *A. aceti* TISTR 354 ปริมาตรร้อยละ 2.5, 5.0, 10.0 และ 20.0 โดยปริมาตร (Morakul, 2002) บ่มในขวดรูปชมพู่ ที่อุณหภูมิห้อง เป็นเวลา 11 วัน เก็บตัวอย่างวันที่ 3, 5, 7, 9 และ 11 วัดปริมาณกรดแอซิติกตามวิธีการของ AOAC (2000) ข้อ 986.13

การเก็บน้ำส้มสายชูหมัก ทำโดยนำน้ำส้มสายชูที่ได้มากรองใส่ขวดแก้วที่ผ่านการฆ่าเชื้อ แล้วให้ความร้อนที่ 60 องศาเซลเซียส นาน 30 นาที เพื่อใช้สำหรับพัฒนาเป็นผลิตภัณฑ์ต่อไป

5. การวิเคราะห์คุณสมบัติของน้ำส้มสายชูหมัก

วัดค่าสีด้วยเครื่อง Colorimeter (รุ่น Hunterlab Miniscan EZ4500L ของ Hunterlab, USA.) และส่งวิเคราะห์ปริมาณแก้ว ตรวจฤทธิ์การต้านอนุมูลอิสระโดยวิธี DPPH ปริมาณวิตามินซี ปริมาณแคลเซียม และแมกนีเซียม ที่ห้องปฏิบัติการสถาบันโภชนาการ มหาวิทยาลัยมหิดล

6. การพัฒนาสูตรน้ำส้มสายชูหมักพร้อมดื่มและผลิตภัณฑ์จากน้ำส้มสายชูหมัก

6.1 การพัฒนาสูตรน้ำส้มสายชูหมักพร้อมดื่ม

นำน้ำส้มสายชูหมักจากซังขนุน และเมล็ดขนุนมาปรับปรุงรสชาติให้เป็นเครื่องดื่มด้วยการเติมน้ำผึ้ง น้ำผลไม้ และโซดา แล้วเพิ่มรสชาติด้วยการใส่น้ำแข็งเกล็ด ดังตารางที่ 1

ตารางที่ 1. สูตรน้ำส้มสายชูหมักพร้อมดื่ม

สูตร	ปริมาณส่วนผสม (มิลลิลิตร)						
	น้ำส้มสายชู	น้ำผึ้ง (เวชพงศ์)	น้ำอุ่น	โซดา	น้ำทับทิม 100% (ทิปโก้)	น้ำเสาวรส 50% (คอยคำ)	น้ำเชื่อม (มิตรผล)
1	5	20	50	100			
2	5				100		
3	5					100	10

6.2 การพัฒนาผลิตภัณฑ์น้ำส้มสายชูหมักจากซังขนุน และเมล็ดขนุน ได้แก่ น้ำสลัด พริกน้ำส้ม และซอสพริก มีสูตรดังนี้

6.2.1 น้ำสลัดใส ใช้น้ำส้มสายชู 3 ช้อนโต๊ะ มัสตาร์ด 1 ช้อนโต๊ะ น้ำตาล 1/4 ช้อนชา เกลือ 1/2 ช้อนชา หอมแดงสับละเอียด 1/2 ช้อนชา น้ำมันมะกอก 1/4 ถ้วย พริกไทยดำ 1/4 ช้อนชา และน้ำมันาวสด 1 ช้อนโต๊ะ ผสมทั้งหมดให้เข้ากัน ปั่นละเอียดด้วยเครื่องปั่น

6.2.2 ซอสพริก เตรียมพริกชี้ฟ้า 1/2 กิโลกรัม พริกแห้ง 1 กำมือ น้ำส้มสายชู เกลือ 1 ช้อนโต๊ะ น้ำตาล 3 ถ้วย กระเทียมสดปอกเปลือก 1 หัว น้ำกระเทียมดอง 1 ถ้วย ล้างพริกให้สะอาดสะเด็ดน้ำให้หมดหั่นเป็นท่อนสั้น ๆ ใส่กระเทียมปอกเปลือก พริกแห้ง เติมน้ำส้มสายชูให้ท่วมพริก และน้ำกระเทียมดอง ต้มจนกระเทียมนิ่ม แล้วนำวัตถุดิบทั้งหมดมาใส่เครื่องปั่น ๆ จนเนียนละเอียด และกรองเอากากออก ใส่หม้อต้มจนเดือด ค่อยหรี่ไฟลง ปรับรสด้วยเกลือ พงษ์หร่าน น้ำตาล

6.2.3 พริกน้ำส้ม เตรียมพริกชี้ฟ้าแดง 1 ถ้วยตวง น้ำส้มสายชู 1/2 ถ้วยตวง น้ำตาล 1 ช้อนโต๊ะ เกลือ 1/2 ช้อนชา หั่นพริกเป็นตามขวางหนา 0.3 มิลลิเมตร เติมน้ำส้มสายชู เติมน้ำตาลและเกลือ

6.3 การทดสอบคุณภาพทางประสาทสัมผัส

ทดสอบการยอมรับทางประสาทสัมผัสด้านสี กลิ่น รสชาติ และความชอบรวม โดยวิธี hedonic scaling (Anprung, 2008) ลำดับคะแนนตามความชอบ 1-5 คะแนน 1 หมายถึง ไม่ชอบที่สุด 2 หมายถึง ไม่ชอบ 3 หมายถึง

พอใช้ 4 หมายถึง ชอบ และ 5 หมายถึง ชอบมากที่สุด โดยให้ผู้ทดสอบที่ไม่ผ่านการฝึกฝน จำนวน 30 คน ชิมจากตัวอย่างปริมาตร 10 มิลลิลิตร ที่แบ่งให้ในถ้วยก่อนให้คะแนนในแบบสอบถาม

7. การวิเคราะห์ทางสถิติ

วิเคราะห์ข้อมูลด้วยการหาค่าความแปรปรวน (ANOVA) และเปรียบเทียบค่าเฉลี่ยด้วยวิธี Duncan ที่ระดับความเชื่อมั่นร้อยละ 95 ในการวิเคราะห์ลักษณะทางกายภาพและเคมีของซังขนุน และเมล็ดขนุน และการวัดปริมาณน้ำตาลรีดิวซ์ 3 ซ้ำ ส่วนการทดสอบคุณภาพทางประสาทสัมผัสใช้วิธี Duncan และเปรียบเทียบการยอมรับทางประสาทสัมผัสของน้ำส้มสายชูหมักจากซังและเมล็ดขนุนด้วย unpaired t-test

ผลและวิจารณ์ผลการทดลอง

1. ลักษณะทางกายภาพและเคมีของซังขนุน และเมล็ดขนุน

ผลการวิเคราะห์ค่าความชื้น โปรตีน ไขมัน เส้นใย เถ้า คาร์โบไฮเดรต ค่าความเป็นกรด-เบส และของแข็งที่ละลายได้ทั้งหมด (total soluble solid) ของซังขนุน และเมล็ดขนุนพันธุ์ทองประเสริฐ ได้ผลดังตารางที่ 2

ตารางที่ 2. ลักษณะทางกายภาพและเคมีของซังขนุนและเมล็ดขนุน

ลักษณะทางกายภาพและเคมี	วัตถุดิบ	
	ซังขนุน	เมล็ดขนุน
ความชื้น (%)	76.23 ±0.81	53.68 ±0.39
โปรตีน (%)	1.47 ±0.07	5.21 ±0.03
ไขมัน (%)	0.32 ±0.03	0.22 ±0.01
เส้นใย (%)	1.46 ±0.07	1.35 ±0.03
เถ้า (%)	0.75 ±0.06	1.28 ±0.02
คาร์โบไฮเดรต (%)	19.77 ±0.57	38.26 ±0.41
ค่าความเป็นกรด-เบส	4.75 ±0.1	4.75 ±0.03
ของแข็งที่ละลายได้ทั้งหมด (°Brix)	0.33 ±0.29	0 ±0.0

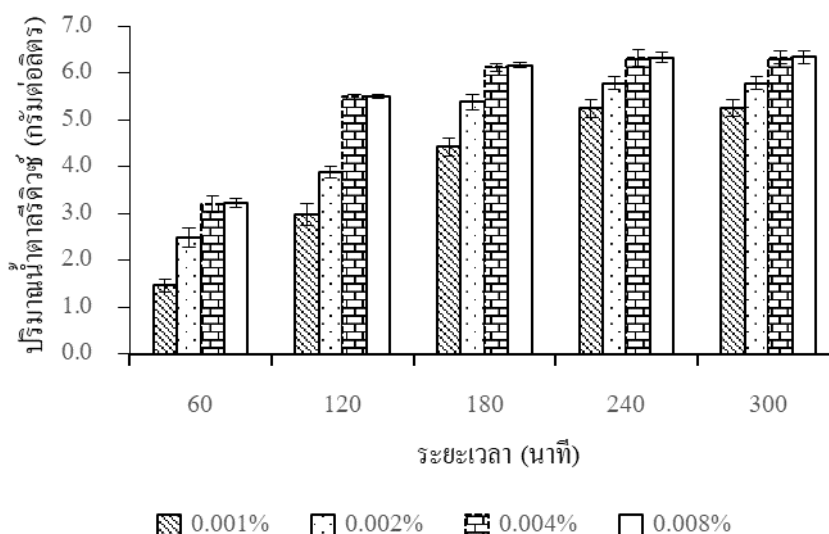
ทั้งซังขนุนและเมล็ดขนุนมีปริมาณของแข็งที่ละลายได้ทั้งหมดปริมาณน้อย คือ ไม่ถึง 0.5 °Brix จึงไม่เหมาะต่อการนำไปเป็นวัตถุดิบตั้งต้นในการผลิตน้ำส้มสายชู แต่ซังขนุน และเมล็ดขนุนมีปริมาณคาร์โบไฮเดรตสูง 19.77% ±0.57 และ 38.26% ±0.41 ตามลำดับ เมื่อย่อยด้วยเอนไซม์ให้ได้น้ำตาลกลูโคส สามารถใช้เป็นแหล่งคาร์บอนสำหรับการเจริญของจุลินทรีย์ในการหมักน้ำส้มสายชู คาร์โบไฮเดรตในเมล็ดขนุนนี้มีค่าใกล้เคียงกับเมล็ดขนุนจากกลุ่มวิจัย SMEs-OTOP มหาวิทยาลัยสงขลานครินทร์ ที่นำมาผลิตเอทานอลมีค่า 36.38% (Lolharat et

al, 2011) ชั่งขนุนพันธุ์ทองประเสริฐในการทดลองนี้มีค่าความชื้น ปริมาณเถ้า และคาร์โบไฮเดรตใกล้เคียงกับพันธุ์ทองสุคใจที่มีค่า 79.33%, 0.79% และ 18.13% ตามลำดับ แต่ปริมาณไขมัน 0.62% สูงกว่าพันธุ์ทองประเสริฐ (Thungchoho, 2012) ส่วนค่า pH 4.75 $\pm$ 0.1 ใกล้เคียงกับชั่งขนุนที่เป็นวัตถุดิบในการผลิตกรดแลกติกที่มีค่า 4.7 $\pm$ 0.02 (Nontha et al., 2016)

2. การย่อยชั่งขนุน และเมล็ดขนุนด้วยเอนไซม์

2.1 ผลการย่อยชั่งขนุนด้วยเอนไซม์เซลลูเลส

เมื่อทดลองย่อยชั่งขนุนปริมาณ 1 กรัม ด้วยเอนไซม์เซลลูเลส 0.001%, 0.002%, 0.004% และ 0.008% เป็นเวลา 60, 120, 180, 240 และ 300 นาที ได้ปริมาณน้ำตาลรีดิวซ์ ดังรูปที่ 1



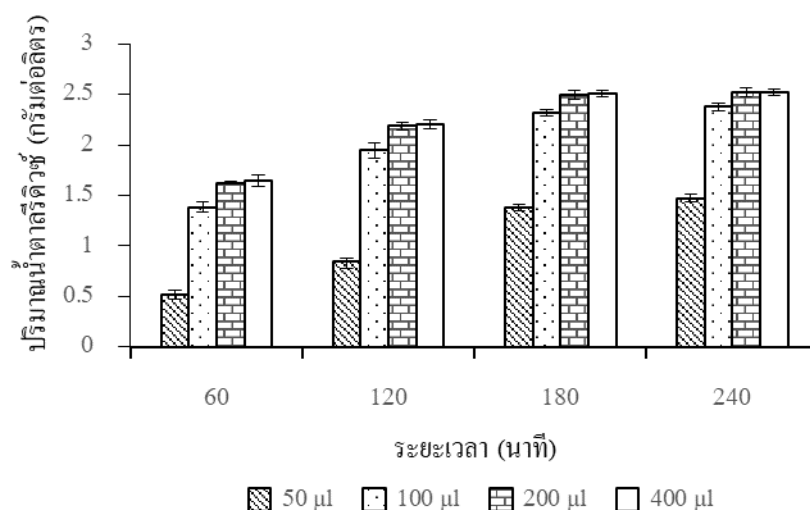
รูปที่ 1. ปริมาณน้ำตาลรีดิวซ์จากการย่อยชั่งขนุนด้วยเอนไซม์เซลลูเลสความเข้มข้น 0.001-0.008%

ความเข้มข้นของเอนไซม์เซลลูเลสที่ให้ปริมาณน้ำตาลรีดิวซ์สูงสุด อย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ (P value < 0.05) คือ 0.004% และเมื่อความเข้มข้นเพิ่มขึ้นกว่านี้ก็ไม่ให้ปริมาณน้ำตาลรีดิวซ์เพิ่มขึ้น ส่วนเวลาในการทำปฏิกิริยาที่เหมาะสมอยู่ที่ 240 นาที ให้ปริมาณน้ำตาลรีดิวซ์อยู่ที่ประมาณ 6.3 กรัมต่อลิตร เอนไซม์เซลลูเลสย่อยของคัพประกอบของผนังเซลล์พืช ซึ่งส่วนใหญ่ประกอบด้วยเซลลูโลส เมื่อผนังเซลล์พืชถูกทำลาย ของเหลวและสารประกอบต่างๆ ภายใน เช่น ของแข็งที่ละลายน้ำ พอลิแซ็กคาไรด์ แทนนิน และโปรตีน ละลายออกมาได้มากขึ้น (Mehrländer et al., 2002) นอกจากนี้ยังส่งผลให้ปริมาณน้ำตาลรีดิวซ์สูงขึ้น เอนไซม์เซลลูเลสได้ถูกใช้ในการสกัดกลิ่นหอมทองเพื่อผลิตไซรัป โดยใช้เอนไซม์เซลลูเลสที่ร้อยละ 0.13 และเอนไซม์เพคตินเอส ร้อยละ 0.06 ของเนื้อกล้วยบด (ปริมาตร/

น้ำหนัก) ให้ปริมาณของแข็งที่ละลายได้สูง 15.7% เมื่อต้มที่ 50 °C นาน 150 นาที (Phanyasawan, 2004) การใช้เอนไซม์เซลลูเลสในงานวิจัยดังกล่าวมีจุดประสงค์ในการผลิตน้ำไซรัปจากกล้วยหอมซึ่งได้มากถึง 75.22% ในขณะที่งานวิจัยนี้เพียงต้องการน้ำตาลรีดิวซ์จึงใช้ปริมาณเอนไซม์เซลลูเลสต่ำกว่าถึง 32.5 เท่าและยังพบว่าการเพิ่มปริมาณมากกว่า 0.004% ไม่ทำให้น้ำตาลรีดิวซ์เพิ่มขึ้น

2.2 ผลการย่อยเมล็ดขนุนด้วยเอนไซม์แอลฟา-แอมิเลส และกลูโคแอมิเลส

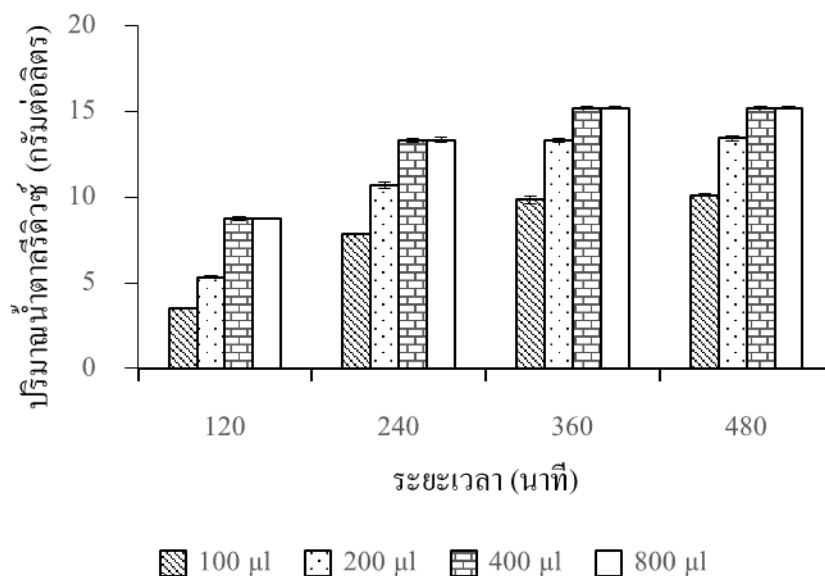
ในการย่อยแป้งเมล็ดขนุน 20 กรัม ด้วยเอนไซม์แอลฟา-แอมิเลส 50, 100, 2000 และ 400 ไมโครลิตรต่อ 100 มิลลิตร เป็นเวลา 60, 120, 180 และ 240 นาที ได้ผลดังรูปที่ 2



รูปที่ 2. ปริมาณน้ำตาลรีดิวซ์จากการย่อยเมล็ดขนุนด้วยเอนไซม์แอลฟา-แอมิเลส ความเข้มข้น 50-400 µl

การเพิ่มความเข้มข้นของเอนไซม์และการเพิ่มระยะเวลาทำให้ปริมาณน้ำตาลรีดิวซ์สูงขึ้น แต่เมื่อความเข้มข้นของเอนไซม์มากกว่า 200 ไมโครลิตร และเวลาในการทำปฏิกิริยาเกินกว่า 180 นาที ปริมาณน้ำตาลรีดิวซ์กลับไม่เพิ่มขึ้น โดยคงอยู่ที่ประมาณ 2.5 กรัมต่อลิตร (P value > 0.05) แอลฟา-แอมิเลสย่อยแป้งให้เป็นโอลิโกแซ็กคาไรด์ มีความจำเป็นต่อการสลายพันธะไกลโคซิดิกชนิดแอลฟา-1,4 (α -1,4) ในลักษณะตัดภายในสายพอลิเมอร์อย่างอิสระได้ผลผลิตเป็นกลูแคน (glucan) และแอลฟาลิมิตเดกซ์ทริน (alpha-limit dextrin) ที่มีหน่วยกลูโคสประมาณ 2-6 หน่วย ซึ่งยังได้น้ำตาลรีดิวซ์น้อย เนื่องจากยังมีโอลิโกแซ็กคาไรด์หลงเหลืออยู่มาก ดังนั้นจึงต้องนำมาย่อยเพิ่มเติมด้วยเอนไซม์กลูโคแอมิเลส (glucoamylase) ที่ย่อยสลายแป้งที่พันธะไกลโคซิดิกชนิดแอลฟา-1,4 (α -1,4) และพันธะไกลโคซิดิกชนิดแอลฟา-1,6 (α -1,6) ผลผลิตที่ได้ส่วนใหญ่เป็นน้ำตาลกลูโคส (Domingues & Peralta, 1993) ผลแสดงในรูปที่ 3 การเพิ่มความเข้มข้นของเอนไซม์กลูโคแอมิเลสและการเพิ่มระยะเวลา ให้ผลไป

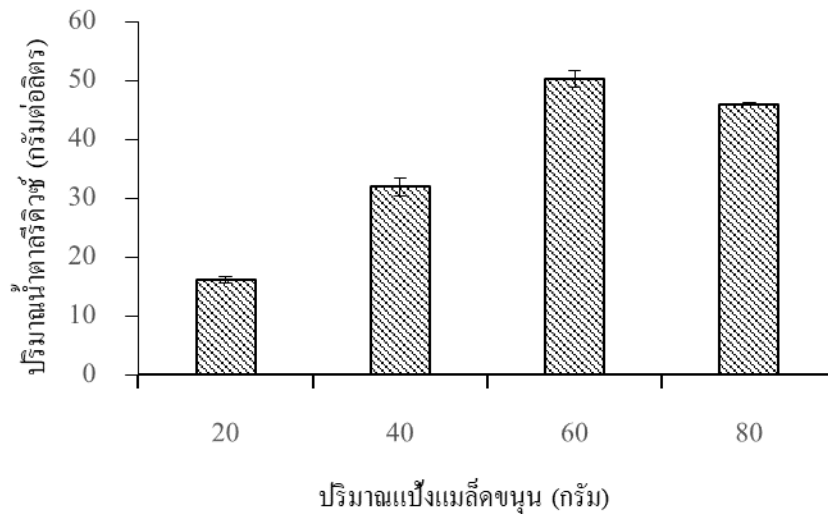
ในทางเดียวกับการใช้เอนไซม์แอลฟา-แอมิเลส โดยค่าที่ให้น้ำตาลรีดิวซ์สูงสุด (15 กรัมต่อลิตร) คือใช้เอนไซม์ 400 ไมโครลิตร ที่เวลา 360 นาที (P value < 0.05)



รูปที่ 3. ปริมาณน้ำตาลรีดิวซ์จากการย่อยเมล็ดขนุนด้วยเอนไซม์กลูโคแอมิเลสความเข้มข้น 100-800 μ l

2.3 การศึกษาปริมาณแป้งเมล็ดขนุนที่ให้ปริมาณน้ำตาลกลูโคสสูงสุด

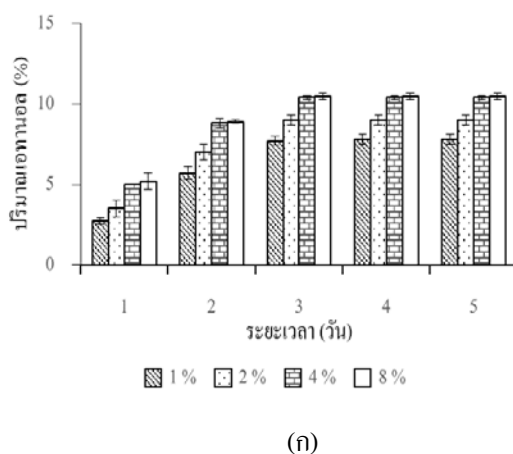
ผลการผันแปรปริมาณแป้งเมล็ดขนุนที่ 20, 40, 60 และ 80 กรัม ก่อนย่อยด้วยเอนไซม์แอลฟา-แอมิเลส ที่ 200 ไมโครลิตร ที่เวลา 180 นาที และกลูโคแอมิเลส 400 ไมโครลิตร ที่เวลา 360 นาที ได้ผลดังรูปที่ 4 ปริมาณแป้งเมล็ดขนุนที่ให้ปริมาณน้ำตาลรีดิวซ์สูงสุด อยู่ที่ 60 กรัมต่อ 100 มิลลิตร ปริมาณน้ำตาลรีดิวซ์อยู่ที่ 50.276 ± 1.418 กรัมต่อลิตร สูงกว่าที่ปริมาณแป้ง 80 กรัมต่อลิตร ทั้งนี้เนื่องจากสารตั้งต้น (แป้ง) มีปริมาณมาก ทำให้เอนไซม์เข้าไปย่อยและทำปฏิกิริยาได้ไม่ทั่วถึง จึงให้ปริมาณน้ำตาลรีดิวซ์น้อยลง กรณีการเพิ่มสารตั้งต้นมากขึ้นแต่ให้ปริมาณน้ำตาลรีดิวซ์คงที่ มีรายงานการใช้เอนไซม์กลุ่มเดียวกันนี้ย่อยแป้งในเปลือกเผือก (Satchapong et al., 2018) นอกจากนี้แป้งเมล็ดขนุนมีปริมาณไขมัน และโปรตีนสูง โอกาสเกิดสารประกอบเชิงซ้อนกับแอมิเลสสูง ซึ่งจะยับยั้งการพองตัวและการละลาย ทำให้เอนไซม์ถูกขัดขวางไม่สามารถเข้าทำปฏิกิริยากับสารตั้งต้นได้ (Thumthanaruk et al., 2012)



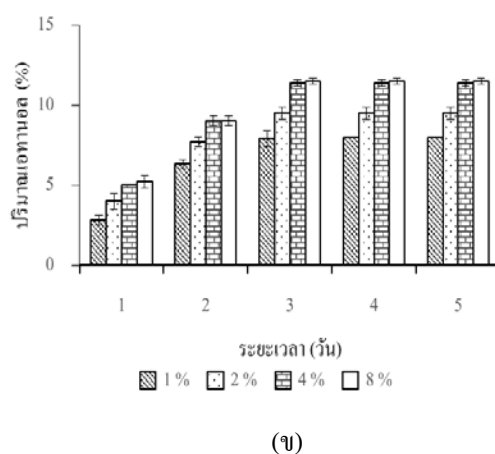
รูปที่ 4. ปริมาณน้ำตาลรีดิวซ์จากการย่อยแป้งเมล็ดขนุนที่ปริมาณต่างกัน

3. การผลิตเอทานอลจากซังขนุนและเมล็ดขนุน

ผลการนำซังขนุนและเมล็ดขนุนที่ผ่านการย่อยด้วยเอนไซม์แอลฟา-แอมิเลสและกลูโคสแอมิเลสมาหมักด้วยเชื้อ *Saccharomyces cerevisiae* TISTR 5049 ปริมาณ 1, 2, 4 และ 8% ของน้ำหมัก ได้ปริมาณเอทานอลดังรูปที่ 5 (ก) และ (ข)



(ก)



(ข)

รูปที่ 5. ปริมาณเอทานอลจากซังขนุน (ก) และเมล็ดขนุน (ข) ที่ปริมาณเชื้อ 1-8%

การหมักน้ำย่อยชงขุ่นและเมล็ดขุ่นด้วย *S. cerevisiae* TISTR 5049 เริ่มต้นร้อยละ 4 ให้ปริมาณเอทานอลสูงสุด ร้อยละ 10.4 และ 11.4 ตามลำดับ ในการผลิตเอทานอลจากแกนข้าวโพดเพื่อให้ผลผลิตเอทานอลสูงสุดจากการใช้ *S. cerevisiae* YSWC 2 ร้อยละ 2 และ Baker's yeast ร้อยละ 8 โดยมวล (Kongjindamunee, 2013) การผลิตไวน์จากเนื้อขุ่นด้วย Baker's yeast ร้อยละ 0.5 (w/v) ให้เอทานอลสูงสุดร้อยละ 12.13 (v/v) (Kumoro et al., 2014) ปริมาณเชื้อเริ่มต้นแตกต่างกันขึ้นกับชนิดของวัตถุดิบและสายพันธุ์ยีสต์ ระยะเวลาการหมักที่ให้ปริมาณเอทานอลสูงสุด และคงที่เป็นวันที่ 3 ของการหมัก แม้เวลาหมักเพิ่มขึ้นเป็น 4-5 วัน แต่ปริมาณเอทานอลเท่าเดิม ในทางทฤษฎีการหมักน้ำตาลให้เป็นเอทานอลแบบไม่ใช้ออกซิเจนด้วยเชื้อ *S. cerevisiae* เมื่อมีปริมาณน้ำตาลเริ่มต้น 20% จะให้ปริมาณเอทานอล 10% ตามมวลโมเลกุลของ $C_6H_{12}O_6$ ที่เปลี่ยนเป็น $2C_2H_5OH + 2CO_2$ หากพิจารณาจากเปอร์เซ็นต์แอลกอฮอล์ที่เกิดขึ้นนี้ จึงนับว่าปฏิกิริยาการหมักเกิดได้ค่อนข้างสมบูรณ์และพบว่าปริมาณของแข็งที่ละลายได้สุดท้ายเป็น 0 °Brix ยีสต์ *S. cerevisiae* ถูกใช้อย่างแพร่หลายในการผลิตแอลกอฮอล์ ในการทำไวน์นิยมใช้น้ำตาลทรายซึ่งไม่ใช่ น้ำตาลรีดิวซ์เป็นสารตั้งต้นในการหมัก งานวิจัยของ Kumkong et al. (2018) ใช้ *S. cerevisiae* TISTR 5019 หมักน้ำมะขามป้อมที่มีการปรับความหวานโดยใช้ น้ำตาลทรายจนได้ 19-22 °Brix พบว่าหมักนาน 2 วัน จะได้เอทานอล 13-14 กรัมต่อลิตร หรือประมาณ 1.35% เมื่อเทียบกับงานวิจัยนี้ที่ใช้น้ำตาลรีดิวซ์ในการหมักจะให้ปริมาณเอทานอลสูงกว่าเมื่อพิจารณาจากเวลาหมัก 2 วันเท่ากัน อย่างไรก็ตามประสิทธิภาพในการหมักของยีสต์อาจถูกขัดขวางจากสารประกอบฟีนอลิกบางชนิดที่อยู่ในมะขามป้อม เช่น tannin รวมทั้งพันธะเอสเทอร์ที่เกิดระหว่าง gallic acid และกลูโคส ที่ถูกกล่าวถึงว่ามีผลต่อการยับยั้งจุลินทรีย์เช่นกัน (Biradar et al., 2008) ซึ่งสารประกอบฟีนอลดังกล่าวไม่มีในเมล็ดและชงขุ่น

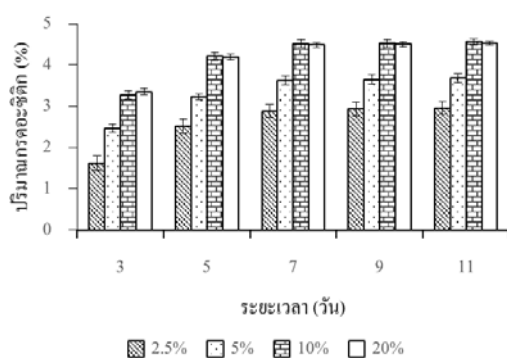
4. การศึกษาการหมักน้ำส้มสายชูจากชงขุ่น และเมล็ดขุ่น

เมื่อนำน้ำส่วนใสจากการหมักชงขุ่น และเมล็ดขุ่น มาหมักด้วยเชื้อ *Acetobacter aceti* TISTR 354 ปริมาตรร้อยละ 2.5, 5.0, 10.0 และ 20.0 โดยปริมาตร เป็นเวลา 11 วัน เก็บตัวอย่างเวลาต่าง ๆ เพื่อวัดปริมาณกรดแอซิก ได้ผลดังรูปที่ 6 (ก) และ (ข) กรดแอซิกเกิดจากการทำงานของแบคทีเรียกรดแอซิก (acetic acid bacteria) ที่เปลี่ยนเอทานอลให้เป็นกรดแอซิก ในสภาวะที่มีอากาศ (Riansa-ngawong, 2015) ปริมาณกรดแอซิกจากการหมักน้ำส้มสายชูขุ่นและเมล็ดขุ่นด้วย *A. aceti* TISTR 354 พบว่าเชื้อเริ่มต้นร้อยละ 10 ให้ปริมาณกรดแอซิกสูงสุด ร้อยละ 4.5 และ 5.2 ตามลำดับ โดยไม่มีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ (P value < 0.05) ตามมาตรฐานน้ำส้มสายชูของสำนักงานมาตรฐานผลิตภัณฑ์อุตสาหกรรม ปี 2552 กำหนดไว้ว่าน้ำส้มสายชูจะต้องมีกรดแอซิกเป็นองค์ประกอบอย่างน้อยร้อยละ 4 ในการทดลองนี้จึงเก็บตัวอย่างได้ในวันที่ 5

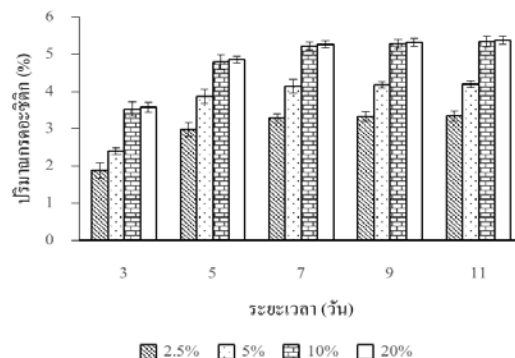
น้ำส้มสายชูหมักจากชงขุ่นและเมล็ดขุ่นนี้มีปริมาณกรดแอซิกมากกว่าการหมักผลไม้อื่นที่เคยมีรายงาน เช่น ทับทิมได้กรดร้อยละ 3.38 ± 0.03 (Ozturk et al., 2015) ถั่วลิสงน้ำว่าสุก ถึงสุกจัดได้กรดร้อยละ 0.91-3.77 (Chanthima et al., 2015) น้ำมะพร้าวได้กรดร้อยละ 4 (Othaman et al., 2014) และมะขามป้อมได้ปริมาณกรดแอซิกร้อยละ 4.11 (Thabloga et al., 2013) แต่น้ำส้มสายชูหมักจากผลไม้ก็ยังมีปริมาณกรดแอซิกน้อยกว่า

น้ำส้มสายชูหมักจากข้าว เช่น น้ำส้มสายชูหมักจากข้าวเหนียวค้ายี่ห้อไรท์พี และลิ้มฟัว ให้ปริมาณกรดแอซิติกร้อยละ 8.15 และ 5.49 ตามลำดับ (Boonsupa et al., 2017) ข้าวเหนียวค้ายี่ห้อไรท์พี ให้ปริมาณกรดแอซิติกร้อยละ 5.48 (Lapa, 2011) และน้ำส้มสายชูหมักจากไวน์ข้าว *Oryza sativa* L. ให้กรดแอซิติกร้อยละ 6.85 (Spinosa et al., 2015) นอกจากชนิดของวัตถุดิบแล้วอาจเกี่ยวข้องกับชนิดและสายพันธุ์แบคทีเรียที่ใช้ในการหมักที่ส่งผลให้ปริมาณและเวลาในการหมักให้ได้กรดแอซิติกแตกต่างกัน Boonsupa et al. (2017) และ Kumkong et al. (2018) ใช้ *Acetobacter pasteurianus* ซึ่งใช้ระยะเวลาหมักนานมากกว่า 10 วัน ส่วน Othaman et al. (2014) ใช้ *A. aceti* เช่นเดียวกับงานวิจัยนี้ เมื่อพิจารณาจากปริมาณผลผลิตที่ได้และระยะเวลาการหมักแล้ว *A. aceti* TISTR 354 เมื่อใส่หัวเชื้อเริ่มต้นในปริมาณที่เหมาะสม (10%) ให้ปริมาณกรดน้ำส้มได้สูงตามมาตรฐานในเวลาเพียง 5 วัน จึงนับว่ามีประสิทธิภาพสูงในการใช้ผลิตกรดดังกล่าว

ผลการวิเคราะห์คุณสมบัติของน้ำส้มสายชูหมักจากซังขนุนและเมล็ดขนุน ได้แก่ ปริมาณกรด ค่าสี ฤทธิ์การต้านอนุมูลอิสระโดยวิธี DPPH ปริมาณวิตามินซี ปริมาณแคลเซียม และแมกนีเซียม แสดงดังตารางที่ 3



(ก)



(ข)

รูปที่ 6. ปริมาณกรดแอซิติกจากซังขนุน (ก) และเมล็ดขนุน (ข) ที่ปริมาณเชื้อ 2.5-20%

Swami et al. (2012) ได้รายงานว่าซังขนุนมีปริมาณแคลเซียมและแมกนีเซียมอยู่ 20-37 และ 27 มิลลิกรัมต่อ 100 กรัม ส่วนเมล็ดขนุนมีปริมาณแคลเซียม และแมกนีเซียมอยู่ 50 และ 54 มิลลิกรัมต่อ 100 กรัม ซึ่งทั้งสองเป็นแร่ธาตุที่มีประโยชน์ต่อสุขภาพ โดยแคลเซียมเพิ่มความแข็งแรงของกระดูก แมกนีเซียมเสริมการดูดซึมแคลเซียมจากผลการวิเคราะห์ (ตารางที่ 2) พบว่าน้ำส้มสายชูหมักจากซังขนุนและเมล็ดขนุนยังคงมีองค์ประกอบแคลเซียมและแมกนีเซียมอยู่สูง โดยมีปริมาณแคลเซียม 35 และ 5 มิลลิกรัมต่อ 100 มิลลิลิตร ตามลำดับ และแมกนีเซียม 5 และ 6 มิลลิกรัมต่อ 100 มิลลิลิตร ตามลำดับ นอกจากนี้ยังพบวิตามินซี และฤทธิ์การต้านอนุมูลอิสระในน้ำส้มสายชูหมักจากเมล็ดขนุนซึ่งเป็นประโยชน์ต่อสุขภาพ

ตารางที่ 3. ผลการวิเคราะห์คุณสมบัติของน้ำส้มสายชูหมักจากซังขนุนและเมล็ดขนุน

คุณสมบัติของน้ำส้มสายชูหมัก	ซังขนุน	เมล็ดขนุน
ปริมาณเถ้า (กรัม)	0.47	0.41
ค่าสี		
L*	30.24 ±0.11	27.47 ±0.11
a*	2.48 ±0.03	0.42 ±0.06
b*	10.16 ±0.07	11.55 ±0.10
การต้านอนุมูลอิสระ (DPPH) (mgAA)	ไม่พบ	11.33
วิตามินซี (มิลลิกรัมต่อ 100 มิลลิลิตร)	ไม่พบ	2
แคลเซียม (มิลลิกรัมต่อ 100 มิลลิลิตร)	38	5
แมกนีเซียม (มิลลิกรัมต่อ 100 มิลลิลิตร)	5	6

5. การพัฒนาสูตรเครื่องดื่มจากน้ำส้มสายชูหมักและผลิตภัณฑ์จากน้ำส้มสายชูหมัก

ผู้วิจัยได้ทดลองพัฒนาผลิตภัณฑ์จากน้ำส้มสายชูหมัก ได้แก่ น้ำส้มสายชูหมักพร้อมดื่ม น้ำสัลด พริกน้ำส้ม และซอสพริก และทดสอบการยอมรับทางประสาทสัมผัส โดยวิธี hedonic scaling ด้านสี กลิ่น รสชาติ และความชอบรวม ได้ผลดังตารางที่ 4 และ 5

ตารางที่ 4. ผลการทดสอบคุณภาพทางประสาทสัมผัสของน้ำส้มสายชูหมักพร้อมดื่ม

คุณลักษณะ	น้ำผึ้ง		น้ำทับทิม		น้ำสาวรส	
	ซังขนุน	เมล็ดขนุน	ซังขนุน	เมล็ดขนุน	ซังขนุน	เมล็ดขนุน
ทางประสาทสัมผัส						
สี ^{ns}	3.17 ±0.63	3.37 ±0.61	3.30 ±0.62	3.53 ±0.65	3.57 ±0.83	3.63 ±0.64
กลิ่น	3.33 ±0.61 ^{abc}	3.40 ±0.69 ^{abc}	2.87 ±0.37 ^c	3.03 ±0.47 ^{bc}	3.47 ±0.65 ^{ab}	3.63 ±0.71 ^a
รสชาติ	4.57 ±1.41 ^a	4.40 ±1.12 ^a	3.20 ±0.54 ^c	3.37 ±0.60 ^{bc}	3.63 ±0.59 ^{bc}	3.77 ±0.68 ^b
ความชอบโดยรวม	4.37 ±1.12 ^a	4.30 ±1.02 ^a	3.03 ±0.66 ^c	3.10 ±0.69 ^{bc}	3.47 ±0.66 ^{bc}	3.77 ±0.77 ^b

a-c: ตัวอักษรที่ต่างกันแถวเดียวกันมีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญ ($p \leq 0.05$), $n = 30$

ns: ไม่แตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญ เมื่อเปรียบเทียบในแถวเดียวกัน ($p \geq 0.05$), $n = 30$

น้ำส้มสายชูหมักจากซังขนุนและเมล็ดขนุนสูตรเติมน้ำผึ้งมีรสชาติและความชอบโดยรวมสูงที่สุด อย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p \leq 0.05$) อยู่ระดับ 4 หมายถึง ชอบ น้ำส้มสายชูหมักจากเมล็ดขนุนสูตรเติมน้ำเสาวรสได้รับการยอมรับด้านกลิ่นมากที่สุด คะแนนอยู่ระดับ 3 หมายถึง พอใช้ ส่วนการยอมรับด้านสี ไม่มีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p \geq 0.05$)

ตารางที่ 5. ผลการทดสอบคุณภาพทางประสาทสัมผัสของผลิตภัณฑ์น้ำส้มสายชูหมัก

คุณลักษณะทางประสาทสัมผัส	น้ำสลดไส		ซอสพริก		พริกน้ำส้ม	
	ซังขนุน	เมล็ดขนุน	ซังขนุน	เมล็ดขนุน	ซังขนุน	เมล็ดขนุน
สี	^{ns} 3.37 ±0.87	3.07 ±0.64	^{ns} 3.40 ±0.52	3.83 ±1.05	^{ns} 1.30 ±0.36	1.43 ±0.41
กลิ่น	^{ns} 3.73 ±0.61	3.83 ±0.68	^{ns} 2.93 ±0.62	3.50 ±0.89	^{ns} 1.90 ±0.25	2.03 ±0.37
รสชาติ	^{ns} 4.10 ±1.00	4.07 ±0.87	^{ns} 3.97 ±0.84	4.13 ±0.90	^{ns} 2.57 ±0.74	2.63 ±0.65
ความชอบโดยรวม	^{ns} 4.50 ±1.24	4.33 ±1.05	^{ns} 3.87 ±0.73	4.00 ±0.81	^{ns} 1.67 ±0.58	1.70 ±0.61

ns: ไม่มีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญ เมื่อเปรียบเทียบผลิตภัณฑ์เดียวกันของซังขนุนและเมล็ดขนุนด้วย t-test, n = 30

ผลิตภัณฑ์น้ำส้มสายชูหมักที่มีความชอบโดยรวมเรียงจากมากไปน้อย คือ น้ำสลดไส ซอสพริก และพริกน้ำส้ม ตามลำดับ โดยน้ำสลดไสจากซังและเมล็ดขนุน และซอสพริกจากเมล็ดขนุนมีคะแนนอยู่ระดับ 4 หมายถึง ชอบ ส่วนพริกน้ำส้มจากซังและเมล็ดขนุนมีสี กลิ่น รสชาติ และความชอบโดยรวมคะแนนอยู่ระดับ 1-2 หมายถึง ไม่ชอบ เนื่องจากผู้ชิมเคยชินกับการใช้พริกน้ำส้มที่ขาวใส ในขณะที่ผลิตภัณฑ์ที่เตรียมได้จากซังขนุนมีสีเหลืองอ่อน ส่วนเมล็ดขนุนมีสีขาว และขุ่น

สรุปผลการทดลอง

ซังขนุน และเมล็ดขนุนสามารถนำมาเป็นวัตถุดิบในการผลิตน้ำส้มสายชูหมักได้ เนื่องจากมีปริมาณคาร์โบไฮเดรตอยู่สูง ในกระบวนการผลิตต้องนำซังขนุนมาข่อยด้วยเอนไซม์เซลลูเลส และเมล็ดขนุนข่อยด้วยเอนไซม์เอนไซม์แอลฟา-แอมิเลสและกลูโคสแอมิเลส แล้วนำมาหมักด้วยเชื้อ *Saccharomyces cerevisiae* TISTR 5049 ที่ปริมาณเชื้อร้อยละ 4 เป็นเวลา 3 วัน ให้เอทานอลประมาณร้อยละ 10 และหมักต่อด้วย *Acetobacter aceti* TISTR 354 ปริมาณเชื้อร้อยละ 10 ที่เวลา 7 วัน ให้ปริมาณกรดแอซิกสูงสุดของซังขนุนและเมล็ดขนุนอยู่ที่ร้อยละ

4.5 และ 5.2 ตามลำดับ น้ำส้มสายชูหมักจากซังขนุน และเมล็ดขนุนมีธาตุอาหารที่เป็นประโยชน์ต่อสุขภาพ ได้แก่ แคลเซียม แมกนีเซียม ฤทธิ์การต้านอนุมูลอิสระและวิตามินซี จึงมีศักยภาพในการพัฒนาเป็นเครื่องดื่มและผลิตภัณฑ์สุขภาพอื่นต่อไป ด้านการผลิตในเชิงการค้าสามารถทำได้เนื่องจากวัตถุดิบ คือ ซังขนุนและเมล็ดขนุนมีตลอดปี แต่การย่อยด้วยเอนไซม์เกรดิวเคราะห์ ซึ่งมีราคาแพงทำให้ต้นทุนสูง ไม่คุ้มค่าต่อการลงทุน อาจต้องใช้เอนไซม์เกรดทางการค้า และจากงานวิจัยนี้ใช้ปริมาณเอนไซม์ไม่เกิน 1 % แต่ให้ผลการย่อยที่สมบูรณ์แทบไม่มีกากเหลือทิ้ง จึงนับว่ามีศักยภาพในการนำไปใช้

กิตติกรรมประกาศ

งานวิจัยนี้ได้รับการสนับสนุนจากเครือข่ายวิจัยเครือข่ายอุดมศึกษาภาคกลางตอนบน ประจำปีงบประมาณ 2561

เอกสารอ้างอิง

- Anprung, P. (2008). *The Principles of Sensory Simulation for Food Analysis* (2nd ed.). Bangkok, Thailand: Chulalongkorn University Printing House. (in Thai)
- AOAC. (1990). *Official Methods of Analysis* (15th ed.). Washington, USA: The Association of official analytical chemists Inc.
- AOAC. (2000). *Official Methods of Analysis* (17th ed.). Washington, USA: The Association of official analytical chemists Inc.
- Biradar, Y. S., Jagatap, S., Khandelwal, K. R. & Singhania, S. S. (2008). Exploring of antimicrobial activity of *Triphala mashi*—an Ayurvedic formulation. *Evidence-Based Complementary and Alternative Medicine*, 5(1), 107-113. doi:10.1093/ecam/nem002
- Boonsupa, W., Thongdonpriang, K. & Kaewmad, P. (2017). Chemical property, antioxidant activity and sensory evaluation of fermented vinegar from 2 type of black glutinous rice. *Science and Technology Nakhon-sawan Rajabhat University Journal*, 9(10), 69-78. (in Thai)
- Chanthima, N., Thaenthong, S. & Srisuworamas, B. (2015). Production and qualification analysis of vinegar from banana. *Science and Technology Nakhon Sawan Rajabhat University Journal*, 7(7) (Suppl.), 57-76. (in Thai)
- Chinchai, S. (1993). *Dried jackfruit fibrous supplementation in Khanhom Tongmuan as the dietary fiber*. (Master thesis) Department of Home Economics, Faculty of Home Economics, Kasetsart University, Bangkok. (in Thai)

- Chulacupt, S. (2012). *Water repellency finishing of paper from jackfruit sepal for handicraft*. (Master thesis) Program of Home Economics Technology, Faculty of Home Economics Technology, Rajamangala University of technology Thanyaburi, Phatumthani. (in Thai)
- Domingues, C. M. & Peralta, R. M. (1993). Production of amylase by soil fungi and partial biochemical characterization of amylase of selected strain (*Aspergillus fumigates* Fresennius). *Canadian Journal of Microbiology*, 39(7), 681-685. <https://doi.org/10.1139/m93-098>
- Fushimi, T., Suruga, K., Oshima Y., Fukiharu, M., Tsukamoto, Y. & Goda, T. (2006). Dietary acetic acid reduces serum cholesterol and triacylglycerols in rats fed a cholesterol-rich diet. *British Journal of Nutrition*, 95(5), 916-924. <https://doi.org/10.1079/BJN20061740>
- Johnston, C., Kim, C. & Buller, A. (2004). Vinegar improves insulin sensitivity to a high carbohydrate meal in subjects with insulin resistance or type 2 diabetes mellitus. *Diabetes Care*, 27(1), 281-282. <https://doi.org/10.2337/diacare.27.1.281>.
- Khadtao, C., Traipinetch, P. & Hwangrak, K. (2001). Fortification of jackfruit sepal powder in bread cake and cookie. *King Mongkut's Agricultural Journal*, 19(1), 17-25.
- Kongjindamunee, W. (2013). *Ethanol production from corncob* (Master thesis) Department of chemical engineering, Faculty of engineering, Prince of Songkla University, Hatyai. (in Thai)
- Kumkong, N., Vatanypoaisarn, S., Banjongsinsiri, P. & Donrong, N. (2018). Development of vinegar drink from fermented Indian gooseberry. *The Journal of KMUTNB*, 28(1), 163-174. (in Thai)
- Kumoro, A. C., Sari, D. R., Pinandita, A. P. P., Retnowati, D. S. & Budiayati, C. S. (2012). Preparation of wine from jackfruit (*Artocarpus heterophyllus* lam) juice using baker yeast: effect of yeast and initial sugar concentrations. *World Applied Sciences Journal*, 16 (9), 1262-1268.
- Lapa, P. (2011). *Development of fermented vinegar from black glutinous brown rice* (Master thesis) Department of product development, Faculty of Agro-Industry, Kasetsart University, Bangkok. (in Thai)
- Leeman, M., Ostman, E. & Bjorck, I. (2005). Vinegar dressing and cold storage of potatoes lowers postprandial glycemic and insulinaemic responses in healthy subjects. *European Journal of Clinical Nutrition*, 59, 1266-1271.
- Lolharat, B., Chongkhong, S. & Chetpattananondh, P. (2011). Comparative study of the jackfruit seed and the prebiotic extracted jackfruit seed for ethanol production. *Agricultural Science Journal*, 42(1) (Suppl.), 675-678. (in Thai)

- Mehrländer, K., Dietrich, H., Sembries, S., Dongowski, G. & Will, F. (2002). Structural characterization of oligosaccharides and polysaccharides from apple juices produced by enzymatic pomace liquefaction. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 50(5), 1230-1236.
- Miller, G. L. (1959). Use of dinitrosalicylic acid reagent for determination of reducing sugar. *Analytical Chemistry*, 31, 426-428. <https://pubs.acs.org/doi/10.1021/ac60147a03>
- Morakul, S. (2002). *Process development in rice wine production* (Master thesis) Department of product development, Faculty of Agro-Industry, Kasetsart University, Bangkok. (in Thai)
- Nontha, S., Ohthong, S. & Shamchoise, N. (2016). Lactic acid production from fruit waste fermentation. *HCU Journal of Health Science*, 20(39), 1-14. (in Thai)
- Noor, F., Rahman, J., Mahomud, S., Akter, S., Talukder, A. I. & Ahmed, M. (2014). Physicochemical properties of flour and extraction of starch from jackfruit seed. *International Journal of Nutrition and Food Sciences*, 3(4), 347-354. doi: 10.11648/j.ijnfs.20140304.27
- Ostman, E., Granfeldt, Y., Persson, L. & Bjorck, I. (2005). Vinegar supplementation lowers glucose and insulin responses and increases satiety after a bread meal in healthy subjects. *European Journal of Clinical Nutrition*, 59(9), 983-988. doi: 10.1038/sj.ejcn.1602197
- Othaman, M. A., Sharifudin, S. A., Mansor, A., Kahar, A. A. & Long, K. (2014). Coconut water vinegar: new alternative with improved processing technique. *Journal of Engineering Science and Technology*, 9(3), 293-302.
- Ozturk, I., Caliskan, O., Tornuk, F., Ozcan, N., Yalcin, H., Baslar, M. et al. (2015). Antioxidant, antimicrobial, mineral, volatile, physicochemical and microbiological characteristics of traditional home-made Turkish vinegars. *LWT–Food Science and Technology*, 63, 144-151. doi: 10.1016/j.lwt. 2015.03.003.
- Phanyasawan, C. (2004). Development of concentrated syrup from banana (*Musa acuminata* ‘Gross Michel’) by using enzyme. (Master thesis) Department of product development, Faculty of Agro-Industry, Kasetsart University, Bangkok. (in Thai)
- Raj, A. A. S. & Ranganathan, T. V. (2018). Characterization of cellulose from jackfruit (*Artocarpus integer*) peel. *Journal of Pharmacy Research*, 12(3), 311-315.
- Riansa-ngawong, W. & Tipkanon, S. (2015). Development of golden rice wine by rice husk. *Khon Kaen Agriculture Journal*, 43(4), 613-622. (in Thai)

- Satchapong, S., Suthisarnsak, A., Theabpoo, O., Sanguanchaipaiwong, V. (2018). Enzymatic hydrolysis of taro peel skin for *Clostridium acetobutylicum* cultivation DSM 792. *Journal of Science Ladkrabang*, 27(1), 55-66. (in Thai)
- Spinosa, W. A., Santos Junior, V., Galvan, D., Fiorio, J. L. & Gomez, R. J. H. C. (2015). Vinegar rice (*Oryza sativa* L.) produced by a submerged fermentation process from alcoholic fermented rice. *Food Science and Technology (Campinas)*, 35(1), 196-201. <http://dx.doi.org/10.1590/1678-457X.6605>.
- Swami, S. B., Thakor, N. J., Haldankar, P. M. & Kalse, S. B. (2012). Jackfruit and its many functional components as related to human health: A review. *Comprehensive Reviews in Food Science and Food Safety*, 11, 565-576. <https://doi.org/10.1111/j.1541-4337.2012.00210>.
- Thabloga, W., Penrum, J. & Yaibua, N. (2013). *Effect of alcohol concentrations and aeration conditions on vitamin c contents and fermented Makhampom vinegar production*, pp. 439-446. In The 51st Kasetsart University Annual Conference: Agricultural Extension and Home Economics, Agro-Industry, 5-6 February 2013, Faculty of Agro-Industry, Department of Food Science and Technology, Kasetsart University, Bangkok, Thailand. (in Thai)
- Thumthanaruk, B., Silapruang, S. & Aeimsard, R. (2012). Glucose syrup produced from jackfruit seed flour and tapioca starch. *Agricultural Science Journal*, 43(2) (Suppl.), 149-152. (in Thai)
- Thungchoho, K. (2012). *Evaluation of the resistance to digestion in simulated upper gut condition* (Master thesis) Department of science in food service and technology, Faculty of science, Prince of Songkla University, Hatyai. (in Thai)
- Ulloa, J.A., Barbosa, M. C. V., Vazquez, J. A. R., Ulloa, P. R., Ramirez, J. C. R., Carrillo, Y. S., & et al. (2017). Production, physico-chemical and functional characterization of a protein isolate from jackfruit (*Artocarpus heterophyllus*) seeds. *CYTA-Journal of Food*, 15(4), 497-507. <https://doi.org/10.1080/19476337.2017.1301554>.
- Wong-arun, W. (2018). Added value of household waste: jackfruit seeds. *WMS Journal of Management*, 7 (special issue), 43-53. (in Thai)

Research Article

การออกแบบแผนภูมิควบคุมผสมค่าเฉลี่ยเคลื่อนที่ถ่วงน้ำหนักแบบ เลขชี้กำลังสองครั้ง-ทูเก้โดยใช้ค่าพิสัยเคลื่อนที่

On designing of double exponentially weighted moving average-Tukey control chart based on moving range

สุพิชชา นุกวิระ¹, เสาวณิต สุขภารังษี^{1*} และ ยุพารณ์ อารีพงษ์¹

Supicha Nukvira¹, Saowanit Sukparungsee^{1*} and Yupaporn Areepong¹

¹ภาควิชาสถิติประยุกต์ คณะวิทยาศาสตร์ประยุกต์ มหาวิทยาลัยเทคโนโลยีพระจอมเกล้าพระนครเหนือ บางซื่อ กรุงเทพฯ 10800

¹Department of Applied Statistics, Faculty of Applied Science, King Mongkut's University of Technology North Bangkok, Bangsue, Bangkok 10800, Thailand

*E-mail: saowanit.s@sci.kmutnb.ac.th

Received: 14/01/2019; Revised: 10/05/2019; Accepted: 21/05/2019

บทคัดย่อ

งานวิจัยนี้มีวัตถุประสงค์เพื่อเสนอแผนภูมิควบคุมผสมค่าเฉลี่ยเคลื่อนที่ถ่วงน้ำหนักแบบเลขชี้กำลังสองครั้ง-ทูเก้ (double exponentially weighted moving average-Tukey control chart: DEWMA-Tukey) โดยใช้ค่าพิสัยเคลื่อนที่เพื่อตรวจจับการเปลี่ยนแปลงความผันแปรของกระบวนการ เมื่อกระบวนการมีลักษณะแบบสมมาตรและไม่สมมาตร และเปรียบเทียบประสิทธิภาพในการตรวจจับการเปลี่ยนแปลงค่าความผันแปรกับแผนภูมิควบคุมของทูเก้ (Tukey's control chart: Tukey) และแผนภูมิควบคุมค่าเฉลี่ยเคลื่อนที่ถ่วงน้ำหนักแบบเลขชี้กำลังสองครั้ง (double exponentially weighted moving average control chart: DEWMA) และแผนภูมิควบคุมผสมค่าเฉลี่ยเคลื่อนที่ถ่วงน้ำหนักแบบเลขชี้กำลังสองครั้ง-ทูเก้ (double exponentially weighted moving average-Tukey control chart: DEWMA-Tukey) เกณฑ์ที่ใช้ในการวัดประสิทธิภาพ คือ ความยาวรันเฉลี่ยเมื่อกระบวนการไม่อยู่ภายใต้การควบคุม (out of control average run length: ARL_0) กำหนดค่าความยาวรันเฉลี่ยเมื่อกระบวนการอยู่ภายใต้การควบคุม (in control average run length: ARL_1) เท่ากับ 370 และ 500 โดยประมาณค่า ARL_1 จากวิธีการจำลองแบบมอนติคาร์โล พบว่า เมื่อ $ARL_0=370$ และค่าการหาค่าพิสัยเคลื่อนที่เท่ากับ 2, 3 และ 10 แผนภูมิควบคุม

DEWMA-Tukey มีประสิทธิภาพในการตรวจจับการเปลี่ยนแปลงในการกระจายของกระบวนการดีกว่าแผนภูมิควบคุม DEWMA และแผนภูมิควบคุมของ Tukey เมื่อกระบวนการมีลักษณะสมมาตรและไม่สมมาตรในทุกะดับการเปลี่ยนแปลงของพารามิเตอร์รูปร่าง

คำสำคัญ: แผนภูมิควบคุมไม่อิงค่าพารามิเตอร์, การกระจาย, ความยาวรันเฉลี่ย, ค่าพิสัยเคลื่อนที่, วิธีการจำลองแบบมอนติคาร์โล

Abstract

The objectives of this research are to present a mixed double exponentially weighted moving average-Tukey's control chart (DEWMA-Tukey) using a moving range to detect process variation, when the process is symmetric and asymmetric, and to compare performance in detecting variation among Tukey's control chart (Tukey), double exponentially weighted moving average control chart (DEWMA), exponentially weighted moving average-Tukey control chart (EWMA-Tukey) and double exponentially weighted moving average-Tukey's control chart (DEWMA-Tukey). Criteria used to determine performance is the out of control average run length (ARL_0) when in control average run length is given to 370 and 500. The numerical results are obtained from the Monte Carlo simulation. It is found that when the $ARL_0=370$ and the width of moving range (MR) is set at 1, 3 and 10. The performance of DEWMA-Tukey is superior to the DEWMA and Tukey control charts for detecting changes in process variation for both of symmetric and asymmetric distribution and all magnitudes of change.

Keywords: nonparametric control chart, dispersion, moving range, average run length, Monte Carlo simulation method

บทนำ

ปัจจุบันการควบคุมคุณภาพของการผลิตใช้กันอย่างแพร่หลายในโรงงานอุตสาหกรรม เนื่องจากในโรงงานอุตสาหกรรมมีจุดประสงค์หลักที่ต้องการทำให้ผลิตภัณฑ์ให้ตรงตามคุณสมบัติที่วางแผนไว้ ทั้งนี้ในกระบวนการผลิตนั้นอาจเกิดความผันแปร ซึ่งความผันแปรของกระบวนการผลิตนั้นแบ่งออกเป็น 2 ประเภท ประเภทที่หนึ่งคือความผันแปรที่ไม่สามารถระบุสาเหตุได้ (chance variation) เป็นความผันแปรที่เกิดขึ้นเล็กน้อยไม่มีความรุนแรง ถือว่าเป็นเรื่องปกติที่สามารถเกิดขึ้นโดยทั่วไป ประเภทที่สองคือ ความผันแปรที่ระบุสาเหตุได้ (assignable variation) เป็นความผันแปรที่สร้างผลกระทบสูง เกิดความรุนแรงต่อกระบวนการผลิต ความผันแปร

ชนิดนี้จำเป็นต้องหาสาเหตุให้ได้ ซึ่งอาจมีสาเหตุมาจาก 4 ปัจจัย คือ เครื่องจักร (machine) วัตถุดิบ (material) คน (man) และวิธีการทำงาน (method) เครื่องมือทางสถิติที่มีความสำคัญในการควบคุมกระบวนการผลิตคือ แผนภูมิควบคุม (control chart) ในปี ค.ศ. 1931 Shewhart ได้เสนอการใช้แผนภูมิควบคุม (Shewhart, 1931) ซึ่งเป็นเครื่องมือที่มีประสิทธิภาพใช้ในการตรวจสอบการเปลี่ยนแปลงของกระบวนการผลิต แบ่งเป็น 2 ประเภท คือแผนภูมิควบคุมที่ใช้กับลักษณะของคุณภาพผลิตภัณฑ์ที่ได้จากการชั่ง ตวง วัด หรือลักษณะข้อมูลเชิงปริมาณ เรียกว่าแผนภูมิควบคุมเชิงผันแปร (control charts for variables) เช่น แผนภูมิควบคุมค่าเฉลี่ย ($\bar{X}$ chart) หรือ แผนภูมิควบคุมพิสัย (R chart) โดยใช้เมื่อขนาดตัวอย่างย่อยขนาดเล็ก ($n < 10$) ซึ่งทั้งสองแผนภูมินิยมใช้คู่กันเสมอ เนื่องจากความผันแปรมีความสำคัญมากกว่าค่าเฉลี่ยของกระบวนการผลิต โดยอาจควบคุมค่าเฉลี่ยตามเป้าหมายได้ แต่เกิดความผันแปรสูง จึงไม่เป็นผลดีกับกระบวนการผลิต และเมื่อขนาดตัวอย่างย่อยมีขนาดใหญ่ ($n \geq 10$) แผนภูมิควบคุมส่วนเบี่ยงเบนมาตรฐาน (S chart) จึงถูกนำมาใช้แทนแผนภูมิควบคุมพิสัย และเมื่อขนาดตัวอย่างย่อยมีค่าเท่ากับหนึ่ง ($n = 1$) จะใช้แผนภูมิควบคุมข้อมูลตัวอย่างเดียว (X chart) และแผนภูมิควบคุมค่าพิสัยเคลื่อนที่ (MR chart) สำหรับแผนภูมิประเภทที่ 2 ใช้กับลักษณะของคุณภาพผลิตภัณฑ์ที่เกิดจากของเสีย รอยตำหนิ รอยขีดข่วน หรือลักษณะข้อมูลเชิงนับ หรือเชิงคุณลักษณะ เช่น ผลิตภัณฑ์เสีย ผลิตภัณฑ์ที่มีรอยตำหนิ เรียกว่า แผนภูมิควบคุมเชิงคุณลักษณะ (control charts for attributes) ได้แก่ แผนภูมิควบคุมสัดส่วนของเสีย (p chart) แผนภูมิควบคุมจำนวนของเสีย (np chart) แผนภูมิควบคุมจำนวนรอยตำหนิหรือข้อบกพร่อง (c chart) และแผนภูมิควบคุมรอยตำหนิหรือข้อบกพร่องต่อหน่วย (u chart) แผนภูมิที่กล่าวมาข้างต้นเหมาะสมกับการเปลี่ยนแปลงขนาดใหญ่ ($\delta \geq 1.5\sigma$) (Montgomery, 2009) และเมื่อขนาดการเปลี่ยนแปลงมีขนาดเล็ก ($\delta < 1.5\sigma$) ได้มีนักวิจัยเสนอแผนภูมิควบคุมต่าง ๆ โดยในปี ค.ศ. 1954 Page เสนอแผนภูมิควบคุมรวมสะสม (cumulative sum control chart: CUSUM) เป็นการรวมสะสมของผลต่างของค่าเฉลี่ยของกระบวนการและค่าเฉลี่ยของค่าสังเกตที่สนใจนำมาพล็อตลงในแผนภูมิควบคุม (Page, 1954) ต่อมาในปี ค.ศ. 1959 Roberts เสนอแผนภูมิควบคุมค่าเฉลี่ยเคลื่อนที่ถ่วงน้ำหนักแบบเลขชี้กำลัง (exponentially weighted moving average: EWMA) ใช้ในการตรวจจับการเปลี่ยนแปลงค่าเฉลี่ยของกระบวนการผลิตโดยให้ความสำคัญกับข้อมูลในอดีต (Roberts, 1959) และในปี ค.ศ. 1994 Butler และ Stefani เสนอแผนภูมิควบคุมค่าเฉลี่ยเคลื่อนที่ถ่วงน้ำหนักแบบเลขชี้กำลังสองครั้ง (double exponentially weighted moving average: DEWMA) (Butler & Stefani, 1994) โดยแผนภูมิควบคุม DEWMA พัฒนามาจากแผนภูมิควบคุม EWMA ได้จากการถ่วงน้ำหนักแบบเลขชี้กำลังสองครั้งหรือการทำซ้ำเป็นครั้งที่สองของแผนภูมิควบคุม EWMA และในปี ค.ศ. 2013 Alkahtani เสนอผลการเปรียบเทียบประสิทธิภาพของแผนภูมิควบคุม DEWMA และแผนภูมิควบคุม EWMA (Alkahtani, 2013) ผลการศึกษาพบว่าแผนภูมิควบคุม DEWMA มีประสิทธิภาพดีกว่าแผนภูมิควบคุม EWMA เมื่อตรวจจับการเปลี่ยนแปลงที่มีขนาดเล็กซึ่งแผนภูมิควบคุมที่นำเสนอไปเบื้องต้นเป็นแผนภูมิที่ต้องอาศัยค่าพารามิเตอร์และต้องทราบลักษณะการแจกแจงของประชากร สำหรับข้อมูลที่ไมทราบการแจกแจงหรือไม่ทราบคุณลักษณะประชากรจึงไม่สามารถใช้แผนภูมิดังกล่าวได้

ดังนั้นแผนภูมิควบคุมไม่อิงค่าพารามิเตอร์ (nonparametric control chart) จึงเป็นแผนภูมิทางเลือกในการตรวจจับการเปลี่ยนแปลงของค่าพารามิเตอร์ของกระบวนการ ซึ่งเป็นแผนภูมิที่ได้รับความนิยมได้แก่ แผนภูมิควบคุมของทูเก้ (Tukey control chart: Tukey) เสนอโดย Alemi ในปี ค.ศ. 2004 โดยแผนภูมิควบคุมของ Tukey ออกแบบเพื่อตรวจสอบเมื่อขนาดตัวอย่างเท่ากับ 1 และเป็นแผนภูมิควบคุมไม่อิงค่าพารามิเตอร์ที่มีความแข็งแกร่งต่อการแจกแจงปกติ และการแจกแจงไม่เป็นปกติ (Alemi, 2004) ในปี ค.ศ. 2012 Sukparungsee ได้เสนอแผนภูมิควบคุมของ Tukey โดยมีขีดจำกัดควบคุมสมมาตรและไม่สมมาตร เมื่อกระบวนการแจกแจงปกติ และการแจกแจงไม่เป็นปกติ ผลการศึกษาพบว่าแผนภูมิควบคุมของ Tukey ที่มีขีดจำกัดควบคุมไม่สมมาตรนั้น มีความแข็งแกร่งต่อการแจกแจงไม่เป็นปกติมากกว่ากรณีที่ใช้ขีดจำกัดควบคุมสมมาตร (Sukparungsee, 2012)

งานวิจัยนี้จึงนำข้อดีของแผนภูมิควบคุมของ Tukey ในประเด็นของการไม่อิงค่าพารามิเตอร์และแผนภูมิควบคุม DEWMA ในประเด็นของการตรวจจับการเปลี่ยนแปลงขนาดเล็กได้ดีมารวมกัน และเสนอแผนภูมิควบคุมผสมใหม่ชื่อว่า “แผนภูมิควบคุมค่าเฉลี่ยเคลื่อนที่ถ่วงน้ำหนักแบบเลขชี้กำลังสองครั้ง-ทูเก้ (double exponentially weighted moving average-Tukey’s control chart: DEWMA-Tukey)” โดยใช้ค่าพิสัยเคลื่อนที่ในการตรวจจับขนาดการเปลี่ยนแปลงพารามิเตอร์รูปร่าง และเปรียบเทียบกับประสิทธิภาพกับแผนภูมิควบคุมของ Tukey แผนภูมิควบคุม DEWMA และแผนภูมิควบคุม DEWMA-Tukey

วิธีการทดลอง

แผนภูมิควบคุมเป็นเครื่องมือที่ใช้ในการควบคุมคุณภาพของกระบวนการผลิต สามารถตรวจจับขนาดการเปลี่ยนแปลงใหญ่ ($\delta \geq 1.5\sigma$) และขนาดการเปลี่ยนแปลงเล็ก ($\delta < 1.5\sigma$) เป็นแผนภูมิควบคุมที่ใช้ค่าพารามิเตอร์ เช่น แผนภูมิควบคุมค่าเฉลี่ย แผนภูมิควบคุมพิสัย เป็นต้น และแผนภูมิควบคุมที่ไม่ใช้ค่าพารามิเตอร์ เช่น แผนภูมิควบคุมของ Tukey สำหรับการแจกแจงที่ใช้ในงานวิจัยนี้ได้แบ่งการศึกษาออกเป็น 2 กรณี คือ การแจกแจงที่มีลักษณะสมมาตร ได้แก่ การแจกแจงลาปลาซ (Laplace distribution) ด้วยพารามิเตอร์ $\beta = 5$ และ $\alpha = 4$ และการแจกแจงที่มีลักษณะไม่สมมาตร ได้แก่ การแจกแจงไวบูล (Weibull distribution) ด้วยพารามิเตอร์ $\beta = 2$ และ $\alpha = 1$ การแจกแจงแกมมา (gamma distribution) ด้วยพารามิเตอร์ $\beta = 4$ และ $\alpha = 2$ และการแจกแจงบีตา (beta distribution) ด้วยพารามิเตอร์ $\beta = 5$ และ $\alpha = 2$ เป็นต้น รวมถึงความยาวรันเฉลี่ยซึ่งใช้เป็นเกณฑ์ในการเปรียบเทียบประสิทธิภาพการตรวจจับการเปลี่ยนในงานวิจัยนี้ โดยแผนภูมิควบคุมใดให้ค่าความยาวรันเฉลี่ยเมื่อกระบวนการไม่อยู่ภายใต้การควบคุม (ARL_1) ต่ำสุด จะถือว่าแผนภูมินั้นมีประสิทธิภาพในการตรวจจับดีที่สุด โดยมีรายละเอียดของ แผนภูมิควบคุม การแจกแจงที่ศึกษา และเกณฑ์การวัดประสิทธิภาพในการตรวจจับการเปลี่ยนแปลง ดังนี้

1. แผนภูมิควบคุมเป็นหนึ่งในเครื่องมือทางสถิติที่ใช้ในการควบคุมคุณภาพของกระบวนการผลิต มีจุดประสงค์หลักในการควบคุมคุณภาพของกระบวนการผลิตเพื่อให้สามารถทราบถึงปัญหาที่เกิดขึ้นกับกระบวนการผลิต และมีการใช้กันอย่างแพร่หลายในการตรวจสอบคุณภาพของกระบวนการผลิต ในงานวิจัยนี้ได้ศึกษาแผนภูมิควบคุมของ Tukey แผนภูมิควบคุม DEWMA และแผนภูมิควบคุม DEWMA-Tukey ซึ่งมีรายละเอียดดังนี้

1.1 แผนภูมิควบคุมของทูเก้ (Tukey's control chart: Tukey) เป็นแผนภูมิควบคุมประเภทที่ไม่อิงค่าพารามิเตอร์ และสามารถใช้กับกระบวนการที่มีลักษณะสมมาตรและไม่สมมาตร มีขีดจำกัดควบคุม ดังนี้

$$UCL = Q_3 + k_1(IQR) \quad (1)$$

และ
$$LCL = Q_1 - k_1(IQR) \quad (2)$$

โดยที่ Q_1 และ Q_3 คือ ค่าควอไทล์ที่ 1 และ 3

IQR คือ ค่าพิสัยควอไทล์ $Q_3 - Q_1$

k_1 คือ ค่าสัมประสิทธิ์ขีดจำกัดควบคุมของแผนภูมิควบคุมของ Tukey ที่สอดคล้องกับค่า $ARL_0 = 370$ และ 500 ได้จากการจำลองด้วยวิธีมอนติคาร์โล

1.2 แผนภูมิควบคุมค่าเฉลี่ยเคลื่อนที่ถ่วงน้ำหนักแบบเลขชี้กำลังสองครั้ง (double exponentially weighted moving average: DEWMA) เสนอโดย Butler & Stefani (1994) กำหนดให้ (Y_i) เป็นตัวสถิติของแผนภูมิควบคุม DEWMA ซึ่งเกิดจากการปรับให้เรียบซ้ำครั้งที่ 2 ของตัวสถิติ EWMA และกำหนดให้สัมประสิทธิ์ถ่วงน้ำหนักของค่าสังเกตในอดีต $\lambda_1 = \lambda_2 = \lambda$ มีค่าอยู่ระหว่าง 0 ถึง 1 ในงานวิจัยนี้กำหนดให้ $\lambda = 0.05$ โดยตัวสถิติของแผนภูมิควบคุม DEWMA แสดงได้ ดังนี้

$$Y_i = \lambda Z_i + (1 - \lambda)Y_{i-1} \quad (3)$$

$$Z_i = \lambda X_i + (1 - \lambda)Z_{i-1} \quad (4)$$

โดยที่ Z_i ในสมการที่ (4) คือ ตัวสถิติของแผนภูมิควบคุม EWMA

และ $E(Y_i) = E(Z_i) = E(X_i) = \mu_0$

$$V(Y_i) = \left[\lambda \frac{1 + (1 - \lambda)^2 - (i^2 + 2i - 1)(1 - \lambda)^{2i} + (2i^2 + 2i - 1)(1 - \lambda)^{2i+2} - i^2(1 - \lambda)^{2i+4}}{(1 - (1 - \lambda)^2)^3} \right] \quad (5)$$

จากสมการที่ (5) เมื่อ $i \rightarrow \infty$ ความแปรปรวนจะได้ดังนี้

$$V(Y) = \frac{\lambda^4(1 + (1 - \lambda)^2)}{(1 - (1 - \lambda)^2)^3} \quad (6)$$

ขีดจำกัดของแผนภูมิควบคุม DEWMA เมื่อ $i \rightarrow \infty$ คือ

$$UCL = \mu_0 + k_2 \sigma \sqrt{\frac{\lambda^4(1 + (1 - \lambda)^2)}{(1 - (1 - \lambda)^2)^3}} \quad (7)$$

และ

$$LCL = \mu_0 - k_2 \sigma \sqrt{\frac{\lambda^4 (1 + (1 - \lambda^2))}{(1 - (1 - \lambda^2)^3)}} \quad (8)$$

โดยที่ k_2 คือ ค่าสัมประสิทธิ์ขีดจำกัดควบคุมของแผนภูมิควบคุม DEWMA ซึ่งสอดคล้องกับค่า $ARL_0 = 370$ และ 500 ได้จากการจำลองด้วยวิธีมอนติคาร์โล

λ คือ สัมประสิทธิ์ตัวถ่วงน้ำหนักของค่าสังเกตในอดีต

1.3 แผนภูมิควบคุมผสมคุมค่าเฉลี่ยเคลื่อนที่ถ่วงน้ำหนักแบบเลขชี้กำลังสองครั้ง-ทูเก้ (double exponentially weighted moving average-Tukey's control chart: DEWMA-Tukey) เป็นการนำแผนภูมิควบคุม DEWMA และแผนภูมิควบคุมของ Tukey มารวมกัน โดยอาศัยค่าสถิติของแผนภูมิควบคุม DEWMA (Supchottharee, 2016) ขีดจำกัดควบคุมของแผนภูมิควบคุม DEWMA-Tukey แสดงดังนี้

$$UCL = Q_3 + k_3 (IQR) \sqrt{\frac{\lambda(2 - 2\lambda + \lambda^2)}{(2 - \lambda)^3}} \quad (9)$$

และ

$$LCL = Q_1 - k_3 (IQR) \sqrt{\frac{\lambda(2 - 2\lambda + \lambda^2)}{(2 - \lambda)^3}} \quad (10)$$

โดยที่ Q_1 และ Q_3 คือ ค่าควอไทล์ที่ 1 และ 3

IQR คือ ค่าพิสัยควอไทล์ $Q_3 - Q_1$

k_3 คือ ค่าสัมประสิทธิ์ขีดจำกัดควบคุมของแผนภูมิควบคุม DEWMA-Tukey ซึ่งสอดคล้องกับค่า $ARL_0 = 370$ และ 500 ได้จากการจำลองด้วยวิธีมอนติคาร์โล

λ คือ สัมประสิทธิ์ถ่วงน้ำหนักของค่าสังเกตในอดีต

2. การแจกแจงที่นำมาศึกษาในงานวิจัยนี้แบ่งออกเป็น 2 ลักษณะ คือ ลักษณะสมมาตร โดยใช้การแจกแจงลาปลาซ และลักษณะไม่สมมาตร โดยใช้การแจกแจงไวบูล การแจกแจงแกมมา และการแจกบีตา โดยมีรายละเอียดดังนี้

2.1 การแจกแจงลาปลาซ หรือการแจกแจงแบบเลขชี้กำลังสองครั้ง (double exponential distribution) ซึ่งมีลักษณะสมมาตรคล้ายกับการแจกแจงปกติ แต่ต่างกันตรงช่วงปลาย โดยการแจกแจงลาปลาซนั้นมีช่วงปลายที่ยาวกว่าการแจกแจงปกติ สามารถนำไปใช้ในการศึกษาอัตราการเติบโตขององค์กรในช่วงเวลาที่สนใจเพื่อประโยชน์ในการวางแผนงานขององค์กร กำหนดค่าพารามิเตอร์ $\beta = 5$ และ $\alpha = 4$

ฟังก์ชันการแจกแจงของความน่าจะเป็น (probability density function: pdf) คือ

$$f(x|\alpha, \beta) = \frac{1}{2\beta} e^{\left(-\frac{|x-\alpha|}{\beta}\right)}, \quad \beta > 0, -\infty < x < \infty \quad (11)$$

โดยค่าเฉลี่ย คือ $E(X) = \alpha$ และความแปรปรวน คือ $Var(X) = 2\beta^2$

2.2 การแจกแจงไวบูล มีลักษณะการแจกแจงไม่สมมาตรซึ่งการแจกแจงไวบูล มีความเกี่ยวข้องและพัฒนาจากการแจกแจงเลขชี้กำลัง การแจกแจงปัวซอง และการแจกแจงแกมมา ซึ่งนิยมใช้ทางวิศวกรรมศาสตร์ในการทดสอบอายุการใช้งานของอุปกรณ์ หรือระบบ มีลักษณะคล้ายการแจกแจงแบบเลขชี้กำลัง และทางด้านคณิตศาสตร์ ประกันภัยนิยมใช้วิเคราะห์ความเชื่อถือได้ (reliability) หรือความเสี่ยง (risk) กำหนดค่าพารามิเตอร์ $\beta = 2$ และ $\alpha = 1$

ฟังก์ชันการแจกแจงของความน่าจะเป็น คือ

$$f(x|\alpha, \beta) = \frac{\beta}{\alpha} \left(\frac{x}{\alpha}\right)^{\beta-1} e^{-\left(\frac{x}{\alpha}\right)^{\beta}}, x \geq 0, \alpha > 0, \beta > 0 \quad (12)$$

โดยค่าเฉลี่ย คือ $E(X) = \alpha \Gamma\left(1 + \frac{1}{\beta}\right)$ และความแปรปรวน คือ $Var(X) = \alpha^2 \left[\Gamma\left(1 + \frac{2}{\beta}\right) - \left(\Gamma\left(1 + \frac{1}{\beta}\right)\right)^2 \right]$

2.3 การแจกแจงแกมมา เป็นการแจกแจงที่เป็นรูปทั่วไปของการแจกแจงแบบเลขชี้กำลังมีค่าเฉลี่ยเท่ากับ $\frac{1}{\lambda}$ โดยที่ $\lambda > 0$ เป็นตัวแปรสุ่มหมายถึงระยะเวลาการคอยจนกระทั่งเหตุการณ์แรกที่น่าสนใจเกิดขึ้น และเมื่อเหตุการณ์ที่สนใจนั้นถูกกำหนดด้วยการแจกแจงปัวซองที่มีค่าเฉลี่ย λ โดยที่ X เป็นตัวแปรสุ่มแทนเวลาที่รอคอยจนกระทั่งเกิดเหตุการณ์ที่สนใจครั้งที่ k เป็นตัวแปรสุ่มของการแจกแจงแกมมาที่พารามิเตอร์ $\alpha = k$, $\beta = \frac{1}{\lambda}$ และเป็นหนึ่งในการแจกแจงที่ใช้ศึกษาเกี่ยวกับระยะเวลาการคอยจนเกิดเหตุการณ์ที่สนใจศึกษา เช่น ระยะเวลาการคอยจนกระทั่งมีลูกค้าเข้ามาใช้บริการตู้ฝากเงิน กำหนดค่าพารามิเตอร์ $\beta = 4$ และ $\alpha = 2$

ฟังก์ชันการแจกแจงของความน่าจะเป็น คือ

$$f(x|\alpha, \beta) = \frac{\beta^{\alpha}}{\Gamma(\alpha)} x^{\alpha-1} e^{-\beta x}, x \geq 0, \alpha > 0, \beta > 0 \quad (13)$$

โดยค่าเฉลี่ย คือ $E(X) = \frac{\alpha}{\beta}$ และความแปรปรวน คือ $Var(X) = \frac{\alpha}{\beta^2}$

2.4 การแจกบีตา เป็นการแจกแจงแบบต่อเนื่องและมีลักษณะการแจกแจงสมมาตรโดยที่ตัวแปรสุ่มต่อเนื่อง X เป็นตัวแปรสุ่มของการแจกแจงบีตาที่พารามิเตอร์ (α, β) และฟังก์ชันการแจกแจงความน่าจะเป็นมีความสัมพันธ์กับฟังก์ชันแกมมา ซึ่งมีพิสัยจำกัด α ถึง β โดยการแจกแจงบีตานี้ ใช้การศึกษาด้านการวิจัยทางการแพทย์ในแขนงต่างๆ กำหนดค่าพารามิเตอร์ $\beta = 5$ และ $\alpha = 2$

ฟังก์ชันการแจกแจงของความน่าจะเป็น คือ

$$f(x|\alpha, \beta) = \frac{\Gamma(\alpha + \beta)}{\Gamma(\alpha)\Gamma(\beta)} x^{\alpha-1} (1-x)^{\beta-1} \quad ; 0 < x < 1 \quad (14)$$

โดยค่าเฉลี่ย $E(X) = \frac{\alpha}{\alpha + \beta}$ และความแปรปรวนคือ $Var(X) = \frac{\alpha\beta}{(\alpha + \beta)^2(\alpha + \beta + 1)}$

3. ความยาวรันเฉลี่ย (average run length) คือ จำนวนค่าสังเกตที่ใช้ตรวจสอบกระบวนการผลิต เมื่อกระบวนการผลิตอยู่ภายใต้การควบคุมก่อนกระบวนการออกนอกขีดจำกัดควบคุมเป็นครั้งแรก ซึ่งค่าความยาวรันเฉลี่ยแบ่งออกเป็น 2 กรณี คือ 1) ความยาวรันเฉลี่ยเมื่อกระบวนการผลิตอยู่ภายใต้การควบคุม แทนด้วย ARL_0 และ 2) ความยาวรันเฉลี่ยเมื่อกระบวนการผลิตไม่อยู่ภายใต้การควบคุม แทนด้วย ARL_1 ซึ่งการหาค่าความยาวรันเฉลี่ยสามารถทำได้หลายวิธี เช่น วิธีสมการปริพันธ์ (integral equation) (Krasin et al., 2012) และวิธีลูกโซ่มาร์คอฟ (Markov chain approach) (Ngamsopasirisakun et al., 2012) วิธีการมาร์ติงเกิล (Martingale) วิธีจากสูตรสำเร็จ (Kaewsrikhaw et al., 2012) และวิธีการจำลองแบบมอนติคาร์โล (Monte Carlo simulation) (Supchotcharee, 2016) เป็นต้น ซึ่งในงานวิจัยนี้ใช้วิธีการจำลองแบบมอนติคาร์โล ใช้ในการหาค่า ARL ซึ่งเป็นวิธีพื้นฐานใช้ในการตรวจสอบความถูกต้องในการหาค่า ARL กำหนดค่าความยาวรันเฉลี่ยภายใต้ขอบเขตการควบคุม (ARL_0) = 370 และ 500 ค่าความยาวรันเฉลี่ยจากวิธีมอนติคาร์โลคำนวณได้ดังนี้

$$ARL = \frac{\sum_{i=1}^M RL_i}{M} \quad (15)$$

และส่วนเบี่ยงเบนมาตรฐานของค่าความยาวรันเฉลี่ย คือ

$$SDRL = \sqrt{\frac{\sum_{i=1}^M (RL_i - ARL)^2}{M - 1}} \quad (16)$$

โดยที่ $SDRL$ คือ ค่าส่วนเบี่ยงเบนมาตรฐานของค่า RL

M คือ จำนวนครั้งการทำซ้ำของการจำลองข้อมูล

RL_i คือ จำนวนตัวอย่างที่ถูกตรวจสอบจนกระทั่งพบว่ามีกระบวนการออกนอกขีดจำกัดในการจำลองข้อมูลครั้งที่ i

ผลและวิจารณ์ผลการทดลอง

ในงานวิจัยนี้เปรียบเทียบประสิทธิภาพของแผนภูมิควบคุม Tukey, DEWMA, DEWMA-Tukey และ EWMA-Tukey สำหรับการแจกแจงไวบูล การแจกแจงแกมมา โดยค่า ARL_0 จากแผนภูมิควบคุม EWMA-Tukey นำมาจากผลการวิจัยของ (Mongkoltawat et al., 2017) สำหรับการแจกแจงบีตา จะเปรียบเทียบประสิทธิภาพของแผนภูมิควบคุม Tukey, DEWMA และ DEWMA-Tukey ในการตรวจจับการเปลี่ยนแปลงของค่าพารามิเตอร์รูปร่าง โดยใช้ค่าพิสัยเคลื่อนที่ เกณฑ์ที่ใช้ในการวัดประสิทธิภาพ คือ ค่า ARL_1 ซึ่งประมาณค่าได้จากวิธีการจำลองแบบมอนติคาร์โล เพื่อหาค่าสัมประสิทธิ์ของขีดจำกัดควบคุม k_1, k_2, k_3 และ k_4 ของแต่ละแผนภูมิควบคุมให้สอดคล้องกับค่าความยาวรันเฉลี่ย (in control average run length: ARL_0) และกำหนดให้จำนวนรอบของการทำซ้ำด้วยการจำลองแบบมอนติคาร์โล 500,000 รอบ และกำหนดค่าความยาวรันเฉลี่ยเมื่อกระบวนการอยู่ภายใต้การควบคุม

เท่ากับ 370 และ 500 และขนาดตัวอย่าง (m) เท่ากับ 3,000 โดยใช้คาบเวลาในการหาค่าพิสัยเคลื่อนที่ (MR) เท่ากับ 2, 3 และ 10 การแจกแจงที่ใช้ในการศึกษาในงานวิจัยแบ่งออกเป็นแจกแจงที่มีลักษณะไม่สมมาตร คือ การแจกแจงไวบูล การแจกแจงแกมมา และการแจกแจงบีตา และการแจกแจงที่มีลักษณะสมมาตร คือ การแจกแจงลาปลาซ โดยมีผลการวิจัยที่แสดงดังตารางที่ 1-8 ดังนี้

ตารางที่ 1. ค่า ARL_s ของแผนภูมิควบคุมของ Tukey, DEWMA, DEWMA-Tukey และ EWMA-Tukey ภายใต้กระบวนการที่มีการแจกแจง Weibull (2,1) และ $ARL_0 = 370$

MR	δ	Tukey	DEWMA	DEWMA-Tukey	EWMA-Tukey
		$k_1 = 4.118$	$k_2 = 19.691$	$k_3 = 0.0239$	$k_4 = 1.488$
2	1	370.0 ± 0.152	370.810 ± 0.431	370.0 ± 0.210	370.97 ± 0.52
	1.2	308.472 ± 0.529	208.919 ± 0.212	128.419 ± 0.034	252.61 ± 0.03
	1.4	259.197 ± 0.394	106.337 ± 0.074	66.217 ± 0.018	229.46 ± 0.01
	1.6	194.367 ± 0.294	74.723 ± 0.038	53.611 ± 0.011	121.09 ± 0.01
	1.8	170.239 ± 0.265	37.881 ± 0.031	19.659 ± 0.008	86.61 ± 0.00
	2	131.015 ± 0.177	24.008 ± 0.012	11.718 ± 0.005	33.77 ± 0.00
	2.5	48.717 ± 0.064	8.811 ± 0.003	2.469 ± 0.002	9.76 ± 0.00
MR	δ	Tukey	DEWMA	DEWMA-Tukey	
		$k_1 = 4.0981$	$k_2 = 13.7101$	$k_3 = 1.193$	
3	1	370.112 ± 0.105	370.611 ± 0.128	370.116 ± 0.531	
	1.2	359.411 ± 0.425	324.750 ± 0.218	293.100 ± 0.114	
	1.4	300.321 ± 0.322	289.516 ± 0.222	201.411 ± 0.235	
	1.6	287.456 ± 0.312	256.439 ± 0.173	109.343 ± 0.112	
	1.8	259.326 ± 0.719	197.390 ± 0.128	80.778 ± 0.192	
	2	200.431 ± 0.417	187.11 ± 0.670	41.921 ± 0.812	
	2.5	189.911 ± 0.123	154.32 ± 0.417	19.432 ± 0.984	

หมายเหตุ : $\pm$ คือ ค่าส่วนเบี่ยงเบนมาตรฐานของค่า ARL_1 และตัวเอียงเป็นค่า ARL_1 ต่ำสุด

ตารางที่ 1. (ต่อ) ค่า ARL_s ของแผนภูมิควบคุมของ Tukey, DEWMA, DEWMA-Tukey และ EWMA-Tukey ภายใต้กระบวนการที่มีการแจกแจง Weibull (2,1) และ $ARL_0 = 370$

MR	δ	Tukey	DEWMA	DEWMA-Tukey
		$k_1 = 2.187$	$k_2 = 14.2091$	$k_3 = 1.0397$
10	1	370.67 ± 0.0138	370.1032 ± 0.018	370.519 ± 0.023
	1.2	333.489 ± 0.261	303.118 ± 0.015	276.965 ± 0.338
	1.4	251.039 ± 0.258	261.449 ± 0.013	230.091 ± 0.335
	1.6	222.618 ± 0.324	243.894 ± 0.0011	179.610 ± 0.324
	1.8	187.518 ± 0.331	194.194 ± 0.009	140.936 ± 0.322
	2	163.194 ± 0.286	177.619 ± 0.007	71.323 ± 0.255
	2.5	134.651 ± 0.301	105.441 ± 0.005	38.551 ± 0.234

หมายเหตุ : $\pm$ คือ ค่าส่วนเบี่ยงเบนมาตรฐานของค่า ARL_1 และตัวเอียงเป็นค่า ARL_1 ต่ำสุด

ตารางที่ 2. ค่า ARL_s ของแผนภูมิควบคุมของ Tukey, DEWMA, DEWMA-Tukey และ EWMA-Tukey ภายใต้กระบวนการที่มีการแจกแจง Gamma (4,2) และ $ARL_0 = 370$

MR	δ	Tukey	DEWMA	DEWMA-Tukey	EWMA-Tukey
		$k_1 = 4.2011$	$k_2 = 12.291$	$k_3 = 3.4619$	$k_4 = 2.38$
2	1	370.016 ± 0.026	370.195 ± 0.193	370.840 ± 0.311	370.94 ± 0.43
	1.2	361.238 ± 0.516	311.915 ± 0.477	240.104 ± 0.402	241.80 ± 0.40
	1.4	229.604 ± 0.333	197.231 ± 0.308	172.229 ± 0.107	199.87 ± 0.29
	1.6	168.446 ± 0.239	145.619 ± 0.248	100.578 ± 0.058	121.56 ± 0.17
	1.8	124.693 ± 0.174	119.933 ± 0.091	47.681 ± 0.042	51.46 ± 0.07
	2	92.597 ± 0.134	69.507 ± 0.084	27.669 ± 0.004	21.39 ± 0.03
	2.5	75.751 ± 0.125	56.819 ± 0.092	6.109 ± 0.004	18.79 ± 0.03

ตารางที่ 2. (ต่อ) ค่า ARL_s ของแผนภูมิควบคุมของ Tukey, DEWMA, DEWMA-Tukey และ EWMA-Tukey ภายใต้กระบวนการที่มีการแจกแจง Gamma (4,2) และ $ARL_0 = 370$

MR	δ	Tukey	DEWMA	DEWMA-Tukey
		$k_1 = 4.2011$	$k_2 = 12.291$	$k_3 = 2.38$
3	1	370.112 ± 0.105	370.611 ± 0.128	370.421 ± 0.531
	1.2	369.121 ± 0.425	352.120 ± 0.218	283.010 ± 0.114
	1.4	321.941 ± 0.422	301.116 ± 0.412	231.361 ± 0.325
	1.6	291.16 ± 0.712	243.332 ± 0.173	193.87 ± 0.152
	1.8	267.196 ± 0.319	201.180 ± 0.128	149.21 ± 0.192
	2	259.411 ± 0.647	177.291 ± 0.130	121.321 ± 0.812
	2.5	201.191 ± 0.513	142.563 ± 0.756	97.112 ± 0.714
MR	δ	Tukey	DEWMA	DEWMA-Tukey
		$k_1 = 2.418$	$k_2 = 15.691$	$k_3 = 0.939$
10	1	370.947 ± 0.251	370.991 ± 0.104	370.146 ± 0.148
	1.2	322.257 ± 0.257	313.081 ± 0.972	228.173 ± 0.142
	1.4	301.411 ± 0.142	297.143 ± 0.927	193.144 ± 0.614
	1.6	284.256 ± 0.253	211.263 ± 0.013	101.641 ± 0.091
	1.8	216.285 ± 0.042	193.863 ± 0.051	81.64 ± 0.082
	2	197.845 ± 0.095	121.732 ± 0.023	63.275 ± 0.032
	2.5	152.91 ± 0.024	93.723 ± 0.0112	48.275 ± 0.092

หมายเหตุ: $\pm$ คือ ค่าส่วนเบี่ยงเบนมาตรฐานของค่า ARL_1 และตัวเอียงเป็นค่า ARL_1 ต่ำสุด

จากตารางที่ 1 เปรียบเทียบค่าความยาวรันเฉลี่ย ARL_1 เมื่อกระบวนการที่มีการแจกแจง Weibull (2,1) และค่า $ARL_0 = 370$ โดยใช้คาบเวลาในการหาค่าพิสัยเคลื่อนที่ $MR = 2, 3$ และ 10 แผนภูมิควบคุมที่นำเสนอใหม่ DEWMA-Tukey มีประสิทธิภาพในการตรวจจับการเปลี่ยนแปลงดีกว่าแผนภูมิควบคุมของ Tukey แผนภูมิควบคุม DEWMA และแผนภูมิควบคุม EWMA-Tukey ในทุกระดับขนาดการเปลี่ยนแปลงของพารามิเตอร์รูปร่าง

ตารางที่ 3. ค่า ARL_s ของแผนภูมิควบคุมของ Tukey, DEWMA และ DEWMA-Tukey ภายใต้กระบวนการที่มีการแจกแจง Beta (5,2) และ $ARL_0 = 370$

MR	δ	Tukey	DEWMA	DEWMA-Tukey
		$k_1 = 6.591$	$k_2 = 19.0023$	$k_3 = 2.1402$
2	1	370.451 ± 0.491	370.327 ± 0.172	370.013 ± 0.045
	1.2	291.544 ± 0.291	275.591 ± 0.284	241.627 ± 0.013
	1.4	250.484 ± 0.212	220.719 ± 0.152	177.511 ± 0.011
	1.6	234.648 ± 0.185	170.944 ± 0.018	76.598 ± 0.009
	1.8	198.449 ± 0.136	135.501 ± 0.038	50.943 ± 0.008
	2	120.994 ± 0.118	107.623 ± 0.006	34.594 ± 0.005
	2.5	98.184 ± 0.109	93.849 ± 0.007	3.189 ± 0.003
MR	δ	Tukey	DEWMA	DEWMA-Tukey
		$k_1 = 3.2116$	$k_2 = 13.901$	$k_3 = 0.3210$
3	1	370.67 ± 0.0138	370.1032 ± 0.018	370.519 ± 0.023
	1.2	333.489 ± 0.261	303.118 ± 0.015	276.965 ± 0.338
	1.4	251.039 ± 0.258	261.449 ± 0.013	130.091 ± 0.335
	1.6	222.618 ± 0.324	243.894 ± 0.0011	79.610 ± 0.324
	1.8	187.518 ± 0.331	194.194 ± 0.009	50.936 ± 0.322
	2	163.194 ± 0.286	177.619 ± 0.007	31.323 ± 0.255
	2.5	134.651 ± 0.301	135.441 ± 0.005	28.551 ± 0.234
MR	δ	Tukey	DEWMA	DEWMA-Tukey
		$k_1 = 0.418$	$k_2 = 10.7091$	$k_3 = 0.939$
10	1	370.947 ± 0.251	370.991 ± 0.104	370.146 ± 0.148
	1.2	322.257 ± 0.257	313.081 ± 0.972	228.173 ± 0.142
	1.4	301.411 ± 0.142	297.143 ± 0.927	193.144 ± 0.614
	1.6	284.256 ± 0.253	211.263 ± 0.013	101.641 ± 0.091
	1.8	216.285 ± 0.042	193.863 ± 0.051	81.64 ± 0.082
	2	197.845 ± 0.095	121.732 ± 0.023	53.275 ± 0.032
	2.5	152.91 ± 0.024	93.723 ± 0.0112	18.275 ± 0.092

หมายเหตุ : $\pm$ คือ ค่าส่วนเบี่ยงเบนมาตรฐานของค่า ARL_s และตัวเอียงเป็นค่า ARL_s ต่ำสุด

ตารางที่ 4. ค่า ARL_s ของแผนภูมิควบคุมของ Tukey, DEWMA, DEWMA-Tukey และ EWMA-Tukey ภายใต้กระบวนการที่มีการแจกแจง Laplace (5,4) และ $ARL_0 = 370$

MR	δ	Tukey	DEWMA	DEWMA-Tukey	EWMA – Tukey
		$k_1 = 4.2011$	$k_2 = 12.291$	$k_3 = 3.4619$	$k_4 = 1.233$
2	1	370.016 ± 0.026	370.195 ± 0.193	370.840 ± 0.311	370.42 ± 0.74
	1.2	361.238 ± 0.516	311.915 ± 0.477	240.104 ± 0.402	229.63 ± 0.27
	1.4	229.604 ± 0.333	197.231 ± 0.308	172.229 ± 0.107	134.63 ± 0.14
	1.6	168.446 ± 0.239	145.619 ± 0.248	100.578 ± 0.058	96.39 ± 0.09
	1.8	124.693 ± 0.174	119.933 ± 0.091	47.681 ± 0.042	76.88 ± 0.07
	2	92.597 ± 0.134	69.507 ± 0.084	27.669 ± 0.004	65.27 ± 0.06
	2.5	75.751 ± 0.125	56.819 ± 0.092	6.109 ± 0.004	49.94 ± 0.04
MR	δ	Tukey	DEWMA	DEWMA-Tukey	
		$k_1 = 2.418$	$k_2 = 11.691$	$k_3 = 4.939$	
3	1	370.127 ± 0.650	370.274 ± 0.023	370.141 ± 0.053	
	1.2	332.861 ± 0.861	263.135 ± 0.321	222.973 ± 0.0521	
	1.4	291.011 ± 0.422	227.159 ± 0.361	183.011 ± 0.331	
	1.6	284.256 ± 0.089	191.271 ± 0.380	127.542 ± 0.0132	
	1.8	203.533 ± 0.043	143.651 ± 0.011	73.521 ± 0.0731	
	2	199.71 ± 0.024	101.413 ± 0.0192	52.612 ± 0.0702	
	2.5	172.74 ± 0.0198	82.431 ± 0.0138	33.136 ± 0.913	
MR	δ	Tukey	DEWMA	DEWMA-Tukey	
		$k_1 = 1.3018$	$k_2 = 14.0811$	$k_3 = 0.51201$	
10	1	370.212 ± 0.192	370.012 ± 0.960	370.165 ± 0.012	
	1.2	354.183 ± 0.123	281.371 ± 0.153	217.181 ± 0.723	
	1.4	300.723 ± 0.192	247.112 ± 0.013	164.175 ± 0.136	
	1.6	271.131 ± 0.021	200.142 ± 0.0272	108.175 ± 0.109	
	1.8	231.186 ± 0.032	171.142 ± 0.001	91.27 ± 0.082	
	2	163.913 ± 0.065	154.123 ± 0.0174	60.164 ± 0.142	
	2.5	146.13 ± 0.0198	100.577 ± 0.058	31.275 ± 0.194	

หมายเหตุ : $\pm$ คือ ค่าส่วนเบี่ยงเบนมาตรฐานของค่า ARL_s และตัวเอียงเป็นค่า ARL_s ต่ำสุด

จากตารางที่ 2 เปรียบเทียบค่าความยาวรันเฉลี่ย ARL_1 เมื่อกระบวนการมีการแจกแจง Gamma (4,2) และค่า $ARL_0 = 370$ โดยใช้คาบเวลาในการหาค่าพิสัยเคลื่อนที่ $MR = 2, 3$ และ 10 แผนภูมิควบคุมที่นำเสนอใหม่ DEWMA-Tukey มีประสิทธิภาพในการตรวจจับการเปลี่ยนแปลงดีกว่าแผนภูมิควบคุมของ Tukey แผนภูมิควบคุม DEWMA และแผนภูมิควบคุม EWMA-Tukey ในทุกระดับขนาดการเปลี่ยนแปลงของพารามิเตอร์รูปร่าง

จากตารางที่ 3 เปรียบเทียบค่าความยาวรันเฉลี่ย ARL_1 เมื่อกระบวนการมีการแจกแจง Beta (5,2) และค่า $ARL_0 = 370$ โดยใช้คาบเวลาในการหาค่าพิสัยเคลื่อนที่ $MR = 2, 3$ และ 10 แผนภูมิควบคุมที่นำเสนอใหม่ DEWMA-Tukey มีประสิทธิภาพในการตรวจจับการเปลี่ยนแปลงดีกว่าแผนภูมิควบคุมของ Tukey และแผนภูมิควบคุม DEWMA ในทุกระดับขนาดการเปลี่ยนแปลงของพารามิเตอร์รูปร่าง

จากตารางที่ 4 เปรียบเทียบค่าความยาวรันเฉลี่ย ARL_1 เมื่อกระบวนการมีการแจกแจง Laplace (5,4) และค่า $ARL_0 = 370$ คาบเวลาในการหาค่าพิสัยเคลื่อนที่ $MR = 2$ ที่ระดับการเปลี่ยนแปลงค่าพารามิเตอร์รูปร่าง $\delta \leq 1.6$ แผนภูมิควบคุม EWMA-Tukey มีประสิทธิภาพในการตรวจจับการเปลี่ยนแปลงดีกว่าแผนภูมิควบคุมของ Tukey และ DEWMA-Tukey และที่ระดับขนาดการเปลี่ยนแปลง $\delta > 1.6$ แผนภูมิควบคุม DEWMA-Tukey มีประสิทธิภาพในการตรวจจับการเปลี่ยนแปลงดีกว่า แผนภูมิควบคุมของ Tukey และ EWMA-Tukey สำหรับกรณีที่ $MR = 3$ และ 10 แผนภูมิควบคุม DEWMA-Tukey มีประสิทธิภาพในการตรวจจับการเปลี่ยนแปลงดีกว่าแผนภูมิควบคุม Tukey และEWMA-Tukey ในทุกระดับขนาดการเปลี่ยนแปลง

ตารางที่ 5. ค่า ARL_1 ของแผนภูมิควบคุมของ Tukey, DEWMA, DEWMA-Tukey และEWMA-Tukey ภายใต้กระบวนการมีการแจกแจง Weibull (2,1) และ $ARL_0 = 500$

MR	δ	Tukey	DEWMA	DEWMA-Tukey	EWMA-Tukey
		$k_1 = 1.119$	$k_2 = 11.271$	$k_3 = 1.3041$	$k_4 = 1.604$
2	1	500.501 $\pm$ 0.013	500.107 $\pm$ 0.032	500.162 $\pm$ 0.452	500.75 $\pm$ 0.76
	1.2	412.649 $\pm$ 0.514	389.911 $\pm$ 0.038	231.988 $\pm$ 0.030	56.67 $\pm$ 0.03
	1.4	364.197 $\pm$ 0.505	332.841 $\pm$ 0.029	156.556 $\pm$ 0.026	30.71 $\pm$ 0.01
	1.6	230.108 $\pm$ 0.458	189.648 $\pm$ 0.026	106.418 $\pm$ 0.022	21.78 $\pm$ 0.01
	1.8	198.455 $\pm$ 0.361	138.493 $\pm$ 0.23	75.458 $\pm$ 0.021	17.08 $\pm$ 0.00
	2	121.664 $\pm$ 0.049	113.237 $\pm$ 0.020	20.807 $\pm$ 0.018	14.13 $\pm$ 0.00
	2.5	106.590 $\pm$ 0.038	79.293 $\pm$ 0.017	11.228 $\pm$ 0.016	9.98 $\pm$ 0.00

ตารางที่ 5. (ต่อ) ค่า ARL_s ของแผนภูมิควบคุมของ Tukey, DEWMA, DEWMA-Tukey และ EWMA-Tukey ภายใต้กระบวนการที่มีการแจกแจง Weibull (2,1) และ $ARL_0 = 500$

MR	δ	Tukey	DEWMA	DEWMA-Tukey
		$k_1 = 1.9811$	$k_2 = 7.32$	$k_3 = 2.108$
3	1	500.647 $\pm$ 0.013	500.436 $\pm$ 0.199	500.169 $\pm$ 0.708
	1.2	475.524 $\pm$ 0.013	410.245 $\pm$ 0.3843	317.279 $\pm$ 0.113
	1.4	448.478 $\pm$ 0.049	327.846 $\pm$ 0.345	218.820 $\pm$ 0.148
	1.6	298.258 $\pm$ 0.027	254.835 $\pm$ 0.324	127.294 $\pm$ 0.019
	1.8	200.142 $\pm$ 0.087	199.345 $\pm$ 0.102	101.992 $\pm$ 0.009
	2	175.257 $\pm$ 0.024	105.36 $\pm$ 0.058	79.247 $\pm$ 0.005
	2.5	95.141 $\pm$ 0.044	62.951 $\pm$ 0.0256	32.187 $\pm$ 0.003
MR	δ	Tukey	DEWMA	DEWMA-Tukey
		$k_1 = 1.0519$	$k_2 = 7.6401$	$k_3 = 2.1109$
10	1	500.192 $\pm$ 0.0321	500.436 $\pm$ 0.512	500.169 $\pm$ 0.009
	1.2	472.241 $\pm$ 0.0021	430.193 $\pm$ 0.591	341.093 $\pm$ 0.031
	1.4	399.431 $\pm$ 0.0128	321.871 $\pm$ 0.013	204.613 $\pm$ 0.0513
	1.6	341.701 $\pm$ 0.0193	291.612 $\pm$ 0.073	151.163 $\pm$ 0.0823
	1.8	290.812 $\pm$ 0.091	220.592 $\pm$ 0.102	100.013 $\pm$ 0.071
	2	263.152 $\pm$ 0.0182	151.136 $\pm$ 0.183	69.138 $\pm$ 0.033
	2.5	191.621 $\pm$ 0.162	90.512 $\pm$ 0.136	36.861 $\pm$ 0.631

หมายเหตุ : $\pm$ คือ ค่าส่วนเบี่ยงเบนมาตรฐานของค่า ARL_s และตัวเอียงเป็นค่า ARL_s ต่ำสุด

จากตารางที่ 5 เปรียบเทียบค่าความยาวรันเฉลี่ย ARL_s เมื่อกระบวนการมีการแจกแจง Weibull (2,1) และค่า $ARL_0 = 500$ โดยใช้คาบเวลาในการหาค่าพิสัยเคลื่อนที่ $MR = 2, 3$ และ 10 แผนภูมิควบคุมที่นำเสนอใหม่ DEWMA-Tukey มีประสิทธิภาพในการตรวจจับการเปลี่ยนแปลงดีกว่าแผนภูมิควบคุมของ Tukey แผนภูมิควบคุม DEWMA และแผนภูมิควบคุม EWMA-Tukey ในทุกระดับขนาดการเปลี่ยนแปลงของพารามิเตอร์รูปร่าง

ตารางที่ 6. ค่า ARL_s ของแผนภูมิควบคุมของ Tukey, DEWMA, DEWMA-Tukey และ EWMA-Tukey ภายใต้กระบวนการที่มีการแจกแจง Gamma (4,2) และ $ARL_0 = 500$

MR	δ	Tukey	DEWMA	DEWMA-Tukey	EWMA-Tukey
		$k_1 = 4.288$	$k_2 = 9.461$	$k_3 = 3.241$	$k_4 = 2.38$
2	1	500.421 $\pm$ 0.355	500.072 $\pm$ 0.316	500.199 $\pm$ 0.147	500.59 $\pm$ 0.29
	1.2	441.058 $\pm$ 0.582	393.507 $\pm$ 0.018	362.210 $\pm$ 0.033	307.09 $\pm$ 0.39
	1.4	410.634 $\pm$ 0.551	324.841 $\pm$ 0.016	297.673 $\pm$ 0.028	265.89 $\pm$ 0.48
	1.6	365.931 $\pm$ 0.539	274.622 $\pm$ 0.011	179.319 $\pm$ 0.026	155.09 $\pm$ 0.36
	1.8	299.414 $\pm$ 0.243	188.519 $\pm$ 0.010	107.917 $\pm$ 0.025	80.71 $\pm$ 0.28
	2	231.282 $\pm$ 0.212	109.594 $\pm$ 0.009	52.769 $\pm$ 0.024	39.56 $\pm$ 0.21
	2.5	190.411 $\pm$ 0.158	86.649 $\pm$ 0.008	10.265 $\pm$ 0.021	5.20 $\pm$ 0.07
MR	δ	Tukey	DEWMA	DEWMA-Tukey	
		$k_1 = 4.1801$	$k_2 = 9.3114$	$k_3 = 3.0015$	
3	1	500.192 $\pm$ 0.631	500.103 $\pm$ 0.931	500.113 $\pm$ 0.971	
	1.2	452.971 $\pm$ 0.623	421.761 $\pm$ 0.117	399.243 $\pm$ 0.138	
	1.4	381.723 $\pm$ 0.0131	324.871 $\pm$ 0.512	281.715 $\pm$ 0.197	
	1.6	349.175 $\pm$ 0.0103	298.162 $\pm$ 0.132	112.863 $\pm$ 0.261	
	1.8	281.753 $\pm$ 0.0173	201.751 $\pm$ 0.923	89.543 $\pm$ 0.026	
	2	149.741 $\pm$ 0.0139	99.615 $\pm$ 0.012	53.761 $\pm$ 0.163	
	2.5	82.735 $\pm$ 0.0153	55.762 $\pm$ 0.016	29.143 $\pm$ 0.099	
MR	δ	Tukey	DEWMA	DEWMA-Tukey	
		$k_1 = 3.7061$	$k_2 = 14.1091$	$k_3 = 2.5019$	
10	1	500.661 $\pm$ 0.366	500.417 $\pm$ 0.709	500.126 $\pm$ 0.204	
	1.2	480.700 $\pm$ 0.359	249.827 $\pm$ 0.365	205.096 $\pm$ 0.204	
	1.4	368.227 $\pm$ 0.345	139.667 $\pm$ 0.208	118.403 $\pm$ 0.232	
	1.6	276.244 $\pm$ 0.324	85.179 $\pm$ 0.129	68.093 $\pm$ 0.042	
	1.8	218.943 $\pm$ 0.309	75.114 $\pm$ 0.037	45.619 $\pm$ 0.094	
	2	179.269 $\pm$ 0.287	57.957 $\pm$ 0.062	24.830 $\pm$ 0.032	
	2.5	136.927 $\pm$ 0.262	49.349 $\pm$ 0.221	10.095 $\pm$ 0.011	

หมายเหตุ : $\pm$ คือ ค่าส่วนเบี่ยงเบนมาตรฐานของค่า ARL_1 และตัวเอียงเป็นค่า ARL_1 ต่ำสุด

ตารางที่ 7. ค่า ARL_0 ของแผนภูมิควบคุมของ Tukey, DEWMA, DEWMA-Tukey และแผนภูมิควบคุม EWMA-Tukey ภายใต้กระบวนการที่มีการแจกแจง Beta (5,4) และ $ARL_0 = 500$

MR	δ	Tukey	DEWMA	DEWMA-Tukey
		$k_1 = 3.936$	$k_2 = 12.0714$	$k_3 = 9.121$
2	1	500.512 $\pm$ 0.421	500.712 $\pm$ 0.019	500.350 $\pm$ 0.018
	1.2	251.846 $\pm$ 0.359	438.191 $\pm$ 0.016	196.051 $\pm$ 0.015
	1.4	172.230 $\pm$ 0.252	387.114 $\pm$ 0.014	151.658 $\pm$ 0.014
	1.6	136.591 $\pm$ 0.194	254.324 $\pm$ 0.012	90.981 $\pm$ 0.012
	1.8	123.681 $\pm$ 0.175	133.231 $\pm$ 0.010	61.954 $\pm$ 0.0011
	2	99.605 $\pm$ 0.142	120.912 $\pm$ 0.008	56.520 $\pm$ 0.009
	2.5	83.227 $\pm$ 0.117	94.681 $\pm$ 0.006	34.631 $\pm$ 0.008
MR	δ	Tukey	DEWMA	DEWMA-Tukey
		$k_1 = 3.029$	$k_2 = 10.318$	$k_3 = 8.295$
3	1	500.250 $\pm$ 0.25	500.325 $\pm$ 0.107	500.925 $\pm$ 0.252
	1.2	380.252 $\pm$ 0.413	379.141 $\pm$ 0.176	341.285 $\pm$ 0.205
	1.4	344.321 $\pm$ 0.925	334.635 $\pm$ 0.853	323.925 $\pm$ 0.202
	1.6	257.100 $\pm$ 0.258	227.129 $\pm$ 0.0148	204.295 $\pm$ 0.205
	1.8	226.099 $\pm$ 0.035	197.915 $\pm$ 0.295	165.325 $\pm$ 0.925
	2	150.105 $\pm$ 0.025	129.253 $\pm$ 0.025	97.120 $\pm$ 0.205
	2.5	116.855 $\pm$ 0.025	102.109 $\pm$ 0.025	83.205 $\pm$ 0.025
MR	δ	Tukey	DEWMA	DEWMA-Tukey
		$k_1 = 1.9109$	$k_2 = 8.942$	$k_3 = 4.301$
10	1	500.017 $\pm$ 0.0137	500.497 $\pm$ 0.173	500.163 $\pm$ 0.015
	1.2	487.112 $\pm$ 0.0116	401.81 $\pm$ 0.109	391.821 $\pm$ 0.137
	1.4	439.185 $\pm$ 0.108	378.16 $\pm$ 0.163	203.818 $\pm$ 0.141
	1.6	387.153 $\pm$ 0.162	298.31 $\pm$ 0.128	189.153 $\pm$ 0.031
	1.8	320.936 $\pm$ 0.132	209.286 $\pm$ 0.092	79.216 $\pm$ 0.014
	2	263.104 $\pm$ 0.193	167.263 $\pm$ 0.017	53.209 $\pm$ 0.153
	2.5	141.186 $\pm$ 0.174	93.752 $\pm$ 0.012	30.175 $\pm$ 0.937

หมายเหตุ : $\pm$ คือ ค่าส่วนเบี่ยงเบนมาตรฐานของค่า ARL_1 และตัวเลขเป็นค่า ARL_1 ต่ำสุด

ตารางที่ 8. ค่า ARL_s ของแผนภูมิควบคุมของ Tukey, DEWMA, DEWMA-Tukey และ EWMA-Tukey ภายใต้กระบวนการที่มีการแจกแจง Laplace (5,4) และ $ARL_0 = 500$

MR	δ	Tukey	DEWMA	DEWMA-Tukey	EWMA-Tukey
		$k_1 = 4.981$	$k_2 = 15.4221$	$k_3 = 1.8921$	$k_4 = 1.341$
2	1	500.001 ± 0.56	500.00 ± 0.479	500.003 ± 0.824	500.98 ± 0.83
	1.2	482.391 ± 0.721	409.615 ± 0.028	386.195 ± 0.162	253.04 ± 0.34
	1.4	426.553 ± 0.708	340.308 ± 0.021	243.597 ± 0.077	145.75 ± 0.17
	1.6	383.497 ± 0.623	301.591 ± 0.017	211.114 ± 0.048	103.22 ± 0.10
	1.8	330.881 ± 0.599	276.482 ± 0.016	178.618 ± 0.039	81.69 ± 0.07
	2	261.591 ± 0.524	226.341 ± 0.014	96.419 ± 0.034	69.07 ± 0.05
	2.5	162.914 ± 0.505	192.648 ± 0.008	21.604 ± 0.029	52.48 ± 0.04
MR	δ	Tukey	DEWMA	DEWMA-Tukey	
		$k_1 = 1.291$	$k_2 = 10.7401$	$k_3 = 3.5191$	
3	1	500.866 ± 0.139	500.233 ± 0.258	500.255 ± 0.532	
	1.2	453.246 ± 0.183	432.519 ± 0.205	402.250 ± 0.205	
	1.4	374.042 ± 0.205	328.858 ± 0.295	256.205 ± 0.258	
	1.6	341.997 ± 0.295	252.276 ± 0.925	160.959 ± 0.255	
	1.8	163.582 ± 0.295	136.259 ± 0.251	111.254 ± 0.157	
	2	127.148 ± 0.250	101.252 ± 0.025	74.825 ± 0.256	
	2.5	91.049 ± 0.029	75.250 ± 0.335	46.295 ± 0.257	
MR	δ	Tukey	DEWMA	DEWMA-Tukey	
		$k_1 = 1.9109$	$k_2 = 8.942$	$k_3 = 4.301$	
10	1	500.017 ± 0.0137	500.497 ± 0.173	500.163 ± 0.015	
	1.2	487.112 ± 0.0116	401.81 ± 0.109	391.821 ± 0.137	
	1.4	439.185 ± 0.108	378.16 ± 0.163	203.818 ± 0.141	
	1.6	387.153 ± 0.162	298.31 ± 0.128	189.153 ± 0.031	
	1.8	320.936 ± 0.132	209.286 ± 0.092	79.216 ± 0.014	
	2	263.104 ± 0.193	167.263 ± 0.017	53.209 ± 0.153	
	2.5	141.186 ± 0.174	93.752 ± 0.012	30.175 ± 0.937	

หมายเหตุ : $\pm$ คือ ค่าส่วนเบี่ยงเบนมาตรฐานของค่า ARL_s และตัวเอียงเป็นค่า ARL_s ต่ำสุด

จากตารางที่ 6 เปรียบเทียบค่าความยาวรันเฉลี่ย ARL_1 เมื่อกระบวนการมีการแจกแจง Gamma (4,2) และค่า $ARL_0 = 500$ โดยใช้คาบเวลาในการหาค่าพิสัยเคลื่อนที่ $MR = 2, 3$ และ 10 แผนภูมิควบคุมที่นำเสนอใหม่ DEWMA-Tukey มีประสิทธิภาพในการตรวจจับการเปลี่ยนแปลงดีกว่าแผนภูมิควบคุมของ Tukey แผนภูมิควบคุม DEWMA และแผนภูมิควบคุม EWMA-Tukey ในทุกระดับขนาดการเปลี่ยนแปลงของพารามิเตอร์รูปร่าง

จากตารางที่ 7 เปรียบเทียบค่าความยาวรันเฉลี่ย ARL_1 เมื่อข้อมูลมีการแจกแจง Beta (5,2) และค่า $ARL_0 = 500$ โดยใช้คาบเวลาในการหาค่าพิสัยเคลื่อนที่ $MR = 2, 3$ และ 10 แผนภูมิควบคุมที่นำเสนอใหม่ DEWMA-Tukey มีประสิทธิภาพในการตรวจจับการเปลี่ยนแปลงดีกว่าแผนภูมิควบคุมของ Tukey และแผนภูมิควบคุม DEWMA ในทุกระดับขนาดการเปลี่ยนแปลงของพารามิเตอร์รูปร่าง

จากตารางที่ 8 เปรียบเทียบค่าความยาวรันเฉลี่ย ARL_1 เมื่อกระบวนการมีการแจกแจง Laplace (5,4) และค่า $ARL_0 = 370$ คาบเวลาในการหาค่าพิสัยเคลื่อนที่ $MR = 2$ ที่ระดับการเปลี่ยนแปลงค่าพารามิเตอร์รูปร่าง $1 \leq \delta \leq 2$ แผนภูมิควบคุม EWMA-Tukey มีประสิทธิภาพในการตรวจจับการเปลี่ยนแปลงดีกว่าแผนภูมิควบคุมของ Tukey และ DEWMA-Tukey และที่ระดับขนาดการเปลี่ยนแปลง $\delta > 2$ แผนภูมิควบคุม DEWMA-Tukey มีประสิทธิภาพในการตรวจจับการเปลี่ยนแปลงดีกว่า แผนภูมิควบคุมของ Tukey และ EWMA-Tukey สำหรับกรณี $MR = 3$ และ 10 แผนภูมิควบคุม DEWMA-Tukey มีประสิทธิภาพในการตรวจจับการเปลี่ยนแปลงดีกว่าแผนภูมิควบคุม Tukey และ EWMA-Tukey ในทุกระดับขนาดการเปลี่ยนแปลง

วิจารณ์ผลการทดลอง

การเปรียบเทียบประสิทธิภาพในการตรวจจับกระบวนการผลิตโดยใช้ค่าพิสัยเคลื่อนที่ เมื่อ $MR = 2$ ระหว่างแผนภูมิควบคุม DEWMA-Tukey กับแผนภูมิควบคุม EWMA-Tukey โดยนำผลการวิจัยบางส่วนมาจาก (Mongkoltawat et al., 2017) เมื่อข้อมูลมีลักษณะการแจกแจงที่มีลักษณะไม่สมมาตร ได้แก่ Weibull (2,1), Gamma (4,2) และ Beta (5,4) และการแจกแจงที่มีลักษณะไม่สมมาตร Laplace (5,4) เมื่อกำหนดให้ $ARL_0 = 370$ และ 500

จากตารางแสดงการเปรียบเทียบประสิทธิภาพในการตรวจจับกระบวนการผลิตโดยใช้ค่าพิสัยเคลื่อนที่ $MR = 2$ เมื่อกำหนดให้ $ARL_0 = 370$ พบว่าแผนภูมิควบคุม DEWMA-Tukey มีประสิทธิภาพในการตรวจจับการเปลี่ยนแปลงการกระจายของกระบวนการได้ดีกว่าแผนภูมิควบคุมของ Tukey แผนภูมิควบคุม DEWMA และแผนภูมิควบคุม EWMA-Tukey เนื่องจากให้ค่า ARL_1 ต่ำสุด เมื่อกระบวนการมีการแจกแจงลักษณะสมมาตรและไม่สมมาตร ในทุกระดับขนาดการเปลี่ยนแปลงพารามิเตอร์รูปร่าง และสำหรับกรณี $ARL_0 = 500$ เมื่อกระบวนการมีลักษณะไม่สมมาตร พบว่าแผนภูมิควบคุม EWMA-Tukey มีประสิทธิภาพในการตรวจจับการเปลี่ยนแปลงการกระจายของกระบวนการได้ดีกว่าแผนภูมิควบคุมของ Tukey แผนภูมิควบคุม DEWMA และแผนภูมิควบคุม DEWMA-Tukey และเมื่อกระบวนการมีการแจกแจงลักษณะสมมาตร แผนภูมิควบคุม DEWMA-Tukey มีประสิทธิภาพในการตรวจจับกระบวนการเปลี่ยนแปลงได้ดีกว่าในทุกระดับการเปลี่ยนแปลง

สรุปผลการทดลอง

จากผลการวิจัย แสดงการเปรียบเทียบแผนภูมิควบคุม DEWMA-Tukey แผนภูมิควบคุม DEWMA และ แผนภูมิควบคุม Tukey สำหรับการแจกแจงที่มีลักษณะสมมาตรและไม่สมมาตร สรุปผลได้ดังนี้ จากตารางที่ 9 และ 10 เมื่อข้อมูลมีลักษณะสมมาตร นั่นคือ ข้อมูลมีการแจกแจง Laplace (5,4) พบว่า เมื่อค่า $MR = 2$ ค่า $ARL_0 = 370$ และที่ระดับการเปลี่ยนแปลงค่าพารามิเตอร์รูปร่าง $1 \leq \delta \leq 1.6$ พบว่าแผนภูมิควบคุม EWMA-Tukey มีประสิทธิภาพในการตรวจจับการเปลี่ยนแปลงดีกว่าแผนภูมิควบคุมที่นำเสนอใหม่ DEWMA-Tukey แต่เมื่อขนาดการเปลี่ยนแปลงพารามิเตอร์รูปร่าง $\delta > 1.6$ แผนภูมิควบคุม DEWMA-Tukey มีประสิทธิภาพในการตรวจจับการเปลี่ยนแปลงดีกว่าแผนภูมิควบคุมอื่น ๆ และเมื่อค่า $ARL_0 = 500$ ที่ระดับการเปลี่ยนแปลงค่าพารามิเตอร์รูปร่าง $1 \leq \delta \leq 2$ พบว่าแผนภูมิควบคุม EWMA-Tukey มีประสิทธิภาพในการตรวจจับการเปลี่ยนแปลงดีกว่าแผนภูมิควบคุมที่นำเสนอใหม่ DEWMA-Tukey แต่เมื่อขนาดการเปลี่ยนแปลงพารามิเตอร์รูปร่าง $\delta > 2$ แผนภูมิควบคุม DEWMA-Tukey มีประสิทธิภาพในการตรวจจับการเปลี่ยนแปลงดีกว่าแผนภูมิควบคุมอื่น ๆ สำหรับข้อมูลมีลักษณะไม่สมมาตรพบว่าแผนภูมิควบคุม DEWMA-Tukey มีประสิทธิภาพในการตรวจจับการเปลี่ยนแปลงการกระจายของกระบวนการเหนือกว่าแผนภูมิควบคุมของ Tukey และ DEWMA ในทุกระดับขนาดการเปลี่ยนแปลงพารามิเตอร์รูปร่าง และทุกกรณีศึกษา

ตารางที่ 9. แผนภูมิควบคุมที่เหมาะสมสำหรับแต่ละการแจกแจง และแต่ละระดับการเปลี่ยนแปลง เมื่อ $ARL_0 = 370$

MR	การแจกแจง	$ARL_0 = 370$	
		$1 \leq \delta \leq 1.6$	$\delta > 1.6$
2	Weibull	DEWMA -Tukey	
	Gamma	DEWMA -Tukey	
	Beta	DEWMA -Tukey	
	Laplace	EWMA -Tukey	DEWMA -Tukey
3	Weibull	DEWMA -Tukey	
	Gamma	DEWMA -Tukey	
	Beta	DEWMA -Tukey	
	Laplace	DEWMA -Tukey	
10	Weibull	DEWMA -Tukey	
	Gamma	DEWMA -Tukey	
	Beta	DEWMA -Tukey	
	Laplace	DEWMA -Tukey	

ตารางที่ 10. แผนภูมิควบคุมที่เหมาะสมสำหรับการแจกแจง และแต่ละระดับการเปลี่ยนแปลง เมื่อ $ARL_0 = 500$

MR	การแจกแจง	$ARL_0 = 500$	
		$1 \leq \delta \leq 2$	$\delta > 2$
2	Weibull	EWMA -Tukey	
	Gamma	EWMA -Tukey	
	Beta	EWMA -Tukey	
	Laplace	EWMA -Tukey	DEWMA -Tukey
3	Weibull	DEWMA -Tukey	
	Gamma	DEWMA -Tukey	
	Beta	DEWMA -Tukey	
	Laplace	DEWMA -Tukey	
10	Weibull	DEWMA -Tukey	
	Gamma	DEWMA -Tukey	
	Beta	DEWMA -Tukey	
	Laplace	DEWMA -Tukey	

เอกสารอ้างอิง

- Alemi, F. (2004). Tukey's control chart. *Quality Management in Healthcare*, 13(4), 216-222. doi: 10.1097/00019514-200410000-00004
- Alkahtani, S. S. (2013). Robustness of DEWMA versus EWMA control charts to non-normal processes. *Journal of Modern Applied Statistical Methods*, 12(1), 148-163. doi: 10.22237/jmasm/1367381820
- Butletr, S. W. & Stefani, J. A. (1994). Supervisory run-to-run control of a polysilicon gate etch using in situ ellipsometry. *IEEE Transaction on Semiconductor Manufacturing*, 7(2), 193-201. doi:10.1109/66.286855
- Kaewsrihaw, P., Areepong, Y. & Sukparungsee, S. (2012). *Average run length of moving average control chart for non-conforming*. pp. 50-54. In the 4th Science Research Conference, 12-13 March 2012, Faculty of Science, Naresuan University.

- Krasin, K., Areepong, Y. & Sukparungsee, S. (2012). *An integral equation approach for evaluation the average run length of lognormal cumulative sum chart*. pp. 44-49. In the 4th Science Research Conference. 12-13 March 2012, Faculty of Science, Naresuan University.
- Mongkoltawat, P., Sukparungsee, S. & Areepong, Y. (2017). Exponentially weighted moving average-Tukey's control charts for moving range and range. *The Journal of KMUTNB.*, 27(4), 843-854. doi: 10.14416/j.kmutnb.2017.11002 (in thai)
- Montgomery, D. C. (2009). *Introduction to Statistical Quality Control* (6th ed.). USA: John Wiley & Sone Inc.
- Ngamsopasirisakun, N., Sukparungsee, S. & Areepong, Y. (2012). *A Markov chain approach for evaluation characteristics of EWMA chart for lognormal observation*. pp. 39-43. In the 4th Science Research Conference. 12-13 March 2012, Faculty of Science, Naresuan University.
- Page, E. S. (1954). Continuous inspection schemes. *Biometrika*, 41(1-2), 100-114. doi:10.1093/biomet/41.1-2.100
- Roberts, S. W. (1959). Control chart tests based on geometric moving average. *Technometric*, 42(1), 239-250. <http://dx.doi.org/10.1080/00401706.1959.10489860>
- Shewhart, W. A. (1931). *Economic Control of Quality of manufactured Product*. New York: D. Van Nostrand company Inc.
- Sukparungsee, S. (2012). Robustness of Tukey's control chart in detecting a changes of parameter of Skew distributions. *International Journal of Applied Physics and Mathematics*, 2(5) 379-382.
- Supchotcharee, K. (2016). *Double exponentially weighted moving average - Tukey's control chart for monitoring of parameter change* (M.S. thesis) Department of Applied Science, King Mongkut's University of Technology North Bangkok, Bangkok (in Thai).

Research Article

ตัวแบบเชิงคณิตศาสตร์ของการแพร่กระจายเชื้อวัณโรคในประเทศไทย ที่มีปัจจัยของการฉีดวัคซีนและการต่อต้านการรักษาด้วยยา

A mathematical model of tuberculosis transmission in Thailand with vaccination and anti-drug treatment

พงษ์สัน ประกฤษศรี^{1*}, อาณิสา ราศรี¹, ชนกานต์ นิธิจิรวัดน์¹ และนริศรา ภารา¹

Pongsan Prakitsri^{1*}, Arnisa Rasri¹, Chanakan Nithijirawat¹ and Naritsara Para¹

¹คณะวิทยาศาสตร์ ศรีราชา มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์ วิทยาเขตศรีราชา อำเภอศรีราชา จังหวัดชลบุรี 20230

¹Faculty of Science at Sriracha, Kasetsart University Sriracha Campus, Sriracha, Chonburi 20230, Thailand

*E-mail: pongsan.pr@ku.th

Received: 23/01/2019; Revised: 29/05/2019; Accepted: 05/06/2019

บทคัดย่อ

วัณโรคเป็นโรคติดต่อที่เกิดจากเชื้อไมโครแบคทีเรียทูปอร์คูโลซิส ซึ่งสามารถติดต่อจากคนสู่คนผ่านทางอากาศโดยการหายใจ ไอ จาม หรืออยู่ร่วมกับผู้ป่วยเป็นเวลานาน ในประเทศไทยนั้นมีปัญหาของการแพร่ระบาดของวัณโรคสูง เนื่องจากในแต่ละปีจำนวนผู้ที่ป่วยเป็นวัณโรค และผู้ที่ป่วยเป็นวัณโรคคือยาเพิ่มสูงขึ้น ผู้วิจัยจึงทำการสร้างตัวแบบเชิงคณิตศาสตร์ของวัณโรคในประเทศไทยที่มีปัจจัยของการฉีดวัคซีนและการต่อต้านการรักษาด้วยยา ซึ่งประกอบด้วย กลุ่มประชากรที่เกี่ยวข้องต่อการติดเชื้อ กลุ่มประชากรที่ฉีดวัคซีน กลุ่มประชากรที่เป็นโรคอยู่ในระยะไม่แสดงอาการ กลุ่มประชากรที่เป็นโรคอยู่ในระยะแสดงอาการ กลุ่มประชากรคือยา และกลุ่มประชากรที่หายจากโรค จากนั้นทำการวิเคราะห์ตัวแบบเชิงคณิตศาสตร์ หาจุดสมดุล หาความมีเสถียรภาพของจุดสมดุลสถานะไร้โรค หาอัตราการแพร่กระจายเชื้อของวัณโรคในประเทศไทยโดยใช้วิธีรันดัดไป และวิเคราะห์ความอ่อนไหวของอัตราการแพร่กระจายเชื้อของวัณโรคในประเทศไทย จากนั้นทำการหาผลเฉลยเชิงตัวเลข โดยใช้วิธีรุ่งเง-คุททา อันดับสี่ แล้วเปรียบเทียบผลเฉลยเชิงตัวเลขกับข้อมูลจริงของผู้ป่วยวัณโรคตั้งแต่ปี พ.ศ. 2557-2560 พบว่ามีค่าคลาดเคลื่อนร้อยละ 9.0868 นอกจากนี้การปรับปรุงผลเฉลยเชิงตัวเลขโดยการประมาณค่าพารามิเตอร์บางค่าด้วยการถดถอยเชิงเส้นอย่างง่ายและการถดถอยเชิงพหุนาม พบว่ามีค่าคลาดเคลื่อนลดลงประมาณร้อยละ 0.3

คำสำคัญ: วัณโรค, จุดสมดุล, อัตราการแพร่กระจายเชื้อ, ความมีเสถียรภาพ

Abstract

Tuberculosis is a contagious disease caused by *Mycobacterium tuberculosis* which can spread from person to person through the air by breathing, coughing and sneezing or staying with the patients for a long time. In Thailand, there is a high tuberculosis problem since each year the number of patients and resistant patients increased. In this research, we constructed a mathematical model of tuberculosis in Thailand with vaccination and anti-drug treatment. The model consisted of susceptible, vaccination, exposed, infected, resistant and recovered. Then, we investigated equilibrium point, the stability of disease-free equilibrium point, a basic reproduction number by using next-generation method and sensitivity analysis on the basic reproduction number. Next, we provided numerical solutions by using Fourth order Runge-Kutta. Subsequently, we compared numerical solutions with patient's data from 2014 to 2017 and found that the error was 9.0868 percent. Furthermore, improving the numerical solution by using simple linear regression and polynomial regression on some parameters made the error decreasing by 0.3 percent.

Keywords: tuberculosis, equilibrium point, basic reproduction number, stability

บทนำ

วัณโรค (tuberculosis) คือโรคติดต่อที่เกิดจากการติดเชื้อแบคทีเรียชนิด *Mycobacterium tuberculosis* ซึ่งสามารถติดต่อจากคนสู่คนผ่านทางอากาศโดยการหายใจ ไอ จาม และมักจะเกิดขึ้นกับผู้ป่วยที่ติดเชื้อเอชไอวี (HIV) และผู้ป่วยที่รักษาด้วยเคมีบำบัด อาการของวัณโรคจะแบ่งออกเป็น 2 ระยะ คือ ระยะแฝง (latent TB) และระยะแสดงอาการ (active TB) ซึ่งสามารถป้องกันการติดเชื้อวัณโรคได้โดยการฉีดวัคซีน BCG แต่วัณโรคยังคงเป็นปัญหาที่สำคัญ เนื่องจากติดอันดับ 1 ใน 10 ของการเสียชีวิตของคนทั่วโลก องค์การอนามัยโลกได้คาดการณ์ในปี พ.ศ. 2560 ว่าจะมีผู้ป่วยทั่วโลกทั้งหมด 10.4 ล้านคน และมีถึง 1.7 ล้านคนที่เสียชีวิตจากวัณโรค ทั้งนี้ประเทศไทยติดอันดับ 1 ใน 14 ประเทศที่พบปัญหาวัณโรคสูง ซึ่งจำนวนของผู้ป่วยวัณโรครายใหม่ในกลุ่ม 14 ประเทศเหล่านี้คิดเป็นร้อยละกว่า 80 ของผู้ป่วยทั่วโลก โดยสถิติผู้ป่วยวัณโรคในประเทศไทยปี พ.ศ. 2559 มีผู้ป่วยรายใหม่และกลับมาเป็นซ้ำ 70,114 คน เสียชีวิตจากวัณโรค 5,659 คน และเป็นผู้ป่วยวัณโรคคือยา 968 คน (Bureau of Tuberculosis, 2018)

จากข้อมูลทางสถิติของ Bureau of Tuberculosis (2018) พบว่าในประเทศไทยนั้น จำนวนผู้ป่วยวัณโรคในแต่ละปีมีแนวโน้มเพิ่มสูงขึ้น ผู้วิจัยจึงมีความสนใจที่จะศึกษาการแพร่กระจายเชื้อของผู้ป่วยวัณโรคในประเทศไทย โดยผู้วิจัยได้ทำการศึกษาตัวแบบ *SIR* และ *SEIR* ซึ่งเป็นตัวแบบเชิงคณิตศาสตร์พื้นฐานของการแพร่กระจาย

เชื้อของโรค ตัวแบบ *SIR* ได้ถูกเผยแพร่ครั้งแรกในปี พ.ศ. 2470 โดย Kermack & McKendrick (1927) ซึ่งแบ่งกลุ่มประชากรออกเป็น 3 กลุ่ม คือ กลุ่มประชากรที่เสี่ยงต่อการติดเชื้อ (susceptible: *S*) กลุ่มประชากรที่ติดเชื้อ (infected: *I*) และกลุ่มประชากรที่หายจากการติดเชื้อ (recovered: *R*) ส่วนตัวแบบ *SEIR* เป็นตัวแบบเชิงคณิตศาสตร์ที่พัฒนามาจากตัวแบบ *SIR* โดยเพิ่มกลุ่มประชากรที่ติดเชื้อในระยะไม่แสดงอาการ (exposed: *E*) จากตัวแบบ *SIR*

นอกจากนี้ผู้วิจัยได้ทำการศึกษาบทความวิจัยที่เกี่ยวข้องกับตัวแบบเชิงคณิตศาสตร์ของการแพร่กระจายเชื้อของวัณโรค ดังนี้ ในปี พ.ศ. 2548 Ssematimba และคณะ ได้สร้างตัวแบบเชิงคณิตศาสตร์สำหรับการแพร่ระบาดของวัณโรคจากความหนาแน่นประชากรของค่ายอพยพในยูกันดา (Ssematimba et al., 2005) พบว่าควรจัดพื้นที่อย่างน้อย 0.25 ตารางกิโลเมตรต่อคน จะช่วยลดอัตราการแพร่ระบาดของวัณโรคได้ ต่อมาในปี พ.ศ. 2557 Makchay และคณะ ได้นำตัวแบบเชิงคณิตศาสตร์สำหรับการแพร่ระบาดของวัณโรคของ Ssematimba และคณะ มาเป็นพื้นฐานในการพัฒนาตัวแบบเชิงคณิตศาสตร์การแพร่ระบาดของวัณโรคของผู้ต้องขังในเรือนจำในประเทศไทย พบว่าพื้นที่ต่อประชากร อัตราการไหลเวียนของอากาศภายในห้องพักของผู้ต้องขัง และความเร็วของการไหลเวียนของอากาศภายในห้องพักของผู้ต้องขัง มีผลต่อการระบาดของวัณโรค (Makchay et al., 2014) ในปี พ.ศ. 2556 Nainggolan และคณะ ได้สร้างตัวแบบเชิงคณิตศาสตร์เกี่ยวกับปัจจัยการกลับมาเป็นซ้ำของผู้ป่วยที่หายจากโรคและผู้ที่ได้รับวัคซีน ซึ่งแบ่งกลุ่มประชากรออกเป็น 5 กลุ่ม โดยเพิ่มกลุ่มประชากรที่ฉีดวัคซีน (vaccination: *V*) จากตัวแบบ *SEIR* เมื่อศึกษาบทความวิจัยทำให้ทราบว่าถ้าเพิ่มอัตราการฉีดวัคซีนในกลุ่มประชากรที่ฉีดวัคซีน จะส่งผลให้อัตราการแพร่กระจายเชื้อลดลง (Nainggolan et al., 2013) ในปี พ.ศ. 2559 Huo & Zou ได้สร้างตัวแบบเชิงคณิตศาสตร์เกี่ยวกับผลกระทบของผู้ป่วยที่รักษาที่บ้านและรักษาที่โรงพยาบาล พบว่าผู้ป่วยที่รักษาที่บ้านมีอิทธิพลต่อการแพร่กระจายเชื้อน้อยกว่าผู้ป่วยที่รักษาที่โรงพยาบาล (Huo & Zou, 2016) และในปี พ.ศ. 2561 Gupta et al. ได้สร้างตัวแบบเชิงคณิตศาสตร์เกี่ยวกับปัจจัยที่มีผลกระทบของผู้ป่วยที่ต่อต้านการรักษาด้วยยา ซึ่งแบ่งกลุ่มประชากรออกเป็น 6 กลุ่ม โดยเพิ่มกลุ่มประชากรที่รักษาด้วยยาแบบปกติ (Resistant to the first line of treatment: R_1) กลุ่มประชากรที่รักษาด้วยยาจากการดื้อยา (Resistant to the second line of treatment: R_2) จากตัวแบบ *SEIR* เมื่อศึกษาบทความวิจัยนี้ทำให้ทราบว่า การต่อต้านการรักษาด้วยยามีผลต่ออัตราการแพร่กระจายเชื้อของวัณโรค (Gupta et al., 2018)

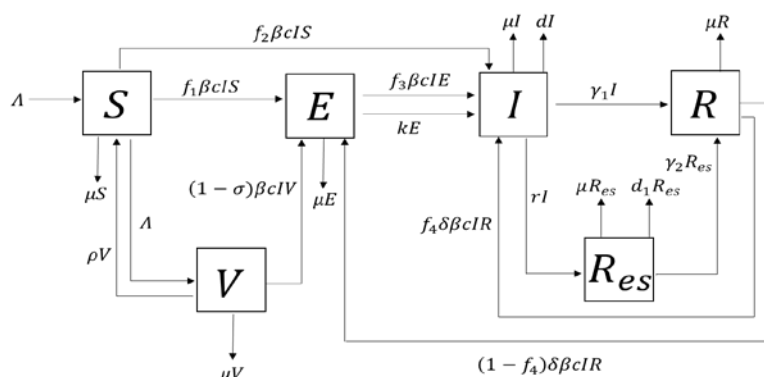
จากการศึกษาตัวแบบ *SIR*, *SEIR* และบทความวิจัยที่เกี่ยวข้องกับตัวแบบเชิงคณิตศาสตร์ของการแพร่กระจายเชื้อวัณโรคที่กล่าวมาข้างต้น ประกอบกับในประเทศไทยมีข้อมูลของการฉีดวัคซีนวัณโรค และข้อมูลของผู้ป่วยที่รักษาด้วยยาจากการดื้อยา ผู้วิจัยจึงได้นำแนวคิดของ Nainggolan et al. และ Gupta et al. มาสร้างตัวแบบเชิงคณิตศาสตร์ของการแพร่กระจายเชื้อวัณโรคในประเทศไทย ที่มีปัจจัยการฉีดวัคซีนและการต่อต้านการรักษาด้วยยาตั้งแต่ปี พ.ศ. 2557-2560 จากนั้นทำการวิเคราะห์ตัวแบบเชิงคณิตศาสตร์ หาจุดสมดุล หาอัตราการแพร่กระจายเชื้อของวัณโรค หาความมีเสถียรภาพของจุดสมดุล และวิเคราะห์ความอ่อนไหวของอัตราการแพร่กระจายเชื้อของ

วันโรคในประเทศไทย นอกจากนี้ผู้วิจัยยังได้ทำการหาผลเฉลยเชิงตัวเลขโดยใช้วิธีรุงเงอ-คุตทา อันดับสี่ (Fourth order Runge-Kutta) พร้อมทั้งเปรียบเทียบผลเฉลยเชิงตัวเลขกับข้อมูลจริง และปรับปรุงผลเฉลยเชิงตัวเลขให้มีความแม่นยำมากยิ่งขึ้น

วิธีการทดลอง

1. การสร้างตัวแบบเชิงคณิตศาสตร์

ผู้วิจัยทำการสร้างตัวแบบเชิงคณิตศาสตร์ของการแพร่กระจายเชื้อวันโรคในประเทศไทย โดยเกิดจากการนำตัวแบบเชิงคณิตศาสตร์ของการแพร่กระจายเชื้อของวันโรคทั้ง 2 ตัวแบบ ของ Nainggolan et al. (2013) และ Gupta et al. (2018) มาเป็นแนวคิดในการสร้างตัวแบบเชิงคณิตศาสตร์ของการแพร่กระจายเชื้อวันโรคในประเทศไทย ที่มีปัจจัยของการฉีดวัคซีนและการต่อต้านการรักษาด้วยยา เนื่องจากการฉีดวัคซีนนั้นเป็นปัจจัยอย่างหนึ่งที่สามารถป้องกันวันโรคได้ โดยเป็นวัคซีนพื้นฐานต้องฉีดให้แก่ทารกแรกเกิดทุกคน ระยะเวลาการป้องกันอยู่ได้ประมาณ 10 ปี และมีประสิทธิภาพในการป้องกันประมาณร้อยละ 80 ผู้ที่เคยได้รับวัคซีนนี้มาแล้วถ้าหากไปฉีดอีกครั้งจะไม่มีผลต่อการป้องกันโรค และอีกปัจจัยหนึ่งที่ประชากรในประเทศไทยมักประสบปัญหานี้คือ การรับประทานยาไม่ถูกวิธีตามที่แพทย์สั่ง จึงทำให้เกิดการดื้อยา ดังนั้นจึงจำแนกประชากรในตัวแบบเชิงคณิตศาสตร์ออกเป็น 6 กลุ่ม ดังนี้ ประชากรที่เสี่ยงต่อการติดเชื้อ (susceptible: S) ประชากรที่ฉีดวัคซีน (vaccination: V) ประชากรที่ติดเชื้อในระยะไม่แสดงอาการ (exposed: E) ประชากรที่ติดเชื้อในระยะแสดงอาการ (infected: I) ประชากรที่ดื้อยา (resistant: R_{es}) และประชากรที่หายจากการติดเชื้อ (recovered: R) ซึ่งจะแสดงดังต่อไปนี้



รูปที่ 1. ตัวแบบเชิงคณิตศาสตร์ของการแพร่กระจายเชื้อวันโรคในประเทศไทยที่มีปัจจัยของการฉีดวัคซีนและการต่อต้านการรักษาด้วยยา

จากรูปที่ 1 สามารถนำมาจัดให้อยู่ในระบบสมการเชิงอนุพันธ์แบบไม่เชิงเส้น ได้ดังนี้

$$\begin{aligned}
 \frac{dS}{dt} &= \rho V - f_1 \beta cIS - f_2 \beta cIS - \mu S \\
 \frac{dV}{dt} &= \Lambda - \rho V - (1 - \sigma) \beta cIV - \mu V \\
 \frac{dE}{dt} &= f_1 \beta cIS + (1 - \sigma) \beta cIV + (1 - f_4) \delta \beta cIR - f_3 \beta cIE - kE - \mu E \\
 \frac{dI}{dt} &= f_2 \beta cIS + f_3 \beta cIE + kE + f_4 \delta \beta cIR - rI - \gamma_1 I - \mu I - dI \\
 \frac{dR_{es}}{dt} &= rI - \mu R_{es} - d_1 R_{es} - \gamma_2 R_{es} \\
 \frac{dR}{dt} &= \gamma_2 R_{es} - f_4 \delta \beta cIR - (1 - f_4) \delta \beta cIR + \gamma_1 I - \mu R
 \end{aligned} \tag{1}$$

โดยที่ $S, V, E, I, R_{es}, R \geq 0$

กำหนดให้

- $S(t)$ แทนจำนวนประชากรที่เสี่ยงต่อการติดเชื้อ ณ เวลา t
- $V(t)$ แทนจำนวนประชากรที่ฉีดวัคซีน ณ เวลา t
- $E(t)$ แทนจำนวนประชากรที่ติดเชื้อในระยะไม่แสดงอาการ ณ เวลา t
- $I(t)$ แทนจำนวนประชากรที่ติดเชื้อในระยะแสดงอาการ ณ เวลา t
- $R_{es}(t)$ แทนจำนวนประชากรที่หาย ณ เวลา t
- $R(t)$ แทนจำนวนประชากรที่หายจากการติดเชื้อ ณ เวลา t

การกำหนดค่าพารามิเตอร์แต่ละตัวสามารถอธิบายได้ดังนี้ สำหรับพารามิเตอร์ β, f_3, δ และ k เป็นพารามิเตอร์ที่ผู้วิจัยไม่มีข้อมูลสำหรับคำนวณพารามิเตอร์ จึงสมมติว่า การเกิดขึ้นของเหตุการณ์ที่ส่งผลต่อพารามิเตอร์เหล่านี้เป็นไปในลักษณะเดียวกันกับงานวิจัยของ Nainggolan et al. (2013) ผู้วิจัยจึงอ้างอิงค่าพารามิเตอร์เหล่านี้มาจากงานวิจัยของ Nainggolan et al. (2013) ส่วนพารามิเตอร์อื่นสามารถคำนวณได้จากข้อมูลจริงของ Strategy and Planning Division (2017), Bureau of Tuberculosis, Thailand (2018), Imsamran et al. (2018), National AIDS Committee (2018) และ National Cancer Institute (2018) กล่าวคือ

Λ เป็นค่าเฉลี่ยของจำนวนการเกิดของประชากรในประเทศไทยตั้งแต่ปี พ.ศ. 2557-2560

μ เป็นค่าเฉลี่ยของจำนวนการเสียชีวิตของประชากรในประเทศไทยต่อประชากรทั้งหมดตั้งแต่ปี พ.ศ. 2557-2560

σ มีค่าพารามิเตอร์เท่ากับ 0.80 เนื่องจากวัคซีนมีประสิทธิภาพประมาณร้อยละ 80

ρ มีค่าพารามิเตอร์เท่ากับ 0.1 เนื่องจากวัคซีนมีระยะเวลาป้องกันประมาณ 10 ปี และเป็นวัคซีนพื้นฐานสำหรับเด็กแรกเกิด จึงสมมติให้ประชากรแรกเกิดได้รับวัคซีนทุกคน ดังนั้นผู้ที่มิภูมิคุ้มกันต่อวันโรคจึงอยู่ในช่วงอายุ 0-9 ปี โดยแต่ละช่วงอายุสมมติให้มีอัตราส่วนที่เท่ากัน เมื่อเวลาผ่านไปประชากรที่ฉีดวัคซีนก็จะกลับมาเป็นประชากรที่เสี่ยงต่อการติดเชื้อด้วยอัตรา 0.1

γ_1 เป็นค่าเฉลี่ยของประชากรที่หายจากการติดเชื้อในระยะแสดงอาการต่อประชากรที่ติดเชื้อในระยะแสดงอาการในประเทศไทยตั้งแต่ปี พ.ศ. 2557-2560

γ_2 เป็นค่าเฉลี่ยของประชากรที่หายจากการติดเชื้อต่อประชากรที่ติดเชื้อในประเทศไทยตั้งแต่ปี พ.ศ. 2557-2560

f_4 เป็นค่าเฉลี่ยของประชากรที่กลับมาเป็นวันโรคซ้ำต่อประชากรที่หายจากการติดเชื้อและหายจากการติดเชื้อในประเทศไทยตั้งแต่ปี พ.ศ. 2557-2560

d เป็นค่าเฉลี่ยของประชากรที่เสียชีวิตจากการติดเชื้อในระยะแสดงอาการต่อประชากรที่ติดเชื้อในระยะแสดงอาการตั้งแต่ปี พ.ศ. 2557-2560

d_1 เป็นค่าเฉลี่ยของประชากรที่เสียชีวิตจากการติดเชื้อต่อประชากรที่ติดเชื้อตั้งแต่ปี พ.ศ. 2557-2560

r เป็นค่าเฉลี่ยของประชากรที่ต่อต้านการรักษาด้วยยาในระยะแสดงอาการต่อประชากรที่ติดเชื้อในระยะแสดงอาการตั้งแต่ปี พ.ศ. 2557-2560

เนื่องจากผู้ที่ติดเชื้อเอชไอวี และผู้ป่วยโรคเอดส์ เป็นกลุ่มประชากรที่มีภูมิคุ้มกันของร่างกายต่ำ ผู้วิจัยจึงสมมติว่าหากประชากรกลุ่มนี้ได้รับเชื้อวันโรค จะพัฒนาเชื้อไปเป็นกลุ่มประชากรที่ติดเชื้อในระยะแสดงอาการ โดยไม่ผ่านการเป็นกลุ่มประชากรที่ติดเชื้อในระยะไม่แสดงอาการ โดยมีวิธีการคำนวณพารามิเตอร์ดังนี้

f_1 เป็นค่าเฉลี่ยของประชากรที่ไม่ได้ติดเชื้อเอชไอวีและไม่ได้เป็นโรคเอดส์ต่อประชากรทั้งหมดในประเทศไทยที่อายุมากกว่า 9 ปี ตั้งแต่ปี พ.ศ. 2557-2560

f_2 เป็นค่าเฉลี่ยของประชากรที่ติดเชื้อเอชไอวีและเป็นโรคเอดส์ต่อประชากรทั้งหมดในประเทศไทยที่อายุมากกว่า 9 ปี ตั้งแต่ปี พ.ศ. 2557-2560

ค่าพารามิเตอร์แต่ละตัวแสดงได้ดังตารางต่อไปนี้

ตารางที่ 1. ค่าพารามิเตอร์ของตัวแบบเชิงคณิตศาสตร์ของการแพร่กระจายเชื้อวันโรค

พารามิเตอร์	ความหมายของพารามิเตอร์	ค่าพารามิเตอร์
Λ	จำนวนการเกิดของประชากร(ต่อปี)	678521
c	อัตราการพบผู้ที่ติดเชื้อ (ต่อปี)	0.000004469
σ	ประสิทธิภาพของวัคซีน	0.8
ρ	อัตราการเสื่อมสภาพของการฉีดวัคซีน (ต่อปี)	0.1

ตารางที่ 1. (ต่อ) ค่าพารามิเตอร์ของตัวแบบเชิงคณิตศาสตร์ของการแพร่กระจายเชื้อวัณโรค

พารามิเตอร์	ความหมายของพารามิเตอร์	ค่าพารามิเตอร์
μ	อัตราการตายธรรมชาติ (ต่อปี)	0.007
β	ความน่าจะเป็นของการแพร่เชื้อ	0.17
f_1	ความน่าจะเป็นของประชากรที่เสี่ยงต่อการติดเชื้อกลายเป็นประชากรที่ติดเชื้อในระยะไม่แสดงอาการ	0.9899
f_2	ความน่าจะเป็นของประชากรที่เสี่ยงต่อการติดเชื้อกลายเป็นประชากรที่ติดเชื้อในระยะแสดงอาการ	0.0101
f_3	ความน่าจะเป็นของประชากรที่ติดเชื้อในระยะไม่แสดงอาการ กลายเป็นประชากรที่ติดเชื้อในระยะแสดงอาการ โดยได้รับเชื้อจากประชากรที่ติดเชื้อในระยะแสดงอาการอีกครั้ง	0.2
f_4	ความน่าจะเป็นของประชากรที่หายจากการติดเชื้อกลายเป็นประชากรที่ติดเชื้อในระยะแสดงอาการ	0.0427
γ_1	อัตราการหายจากการติดเชื้อในระยะแสดงอาการ (ต่อปี)	0.8129
γ_2	อัตราการหายจากการต่อต้านการรักษาด้วยยา (ต่อปี)	0.208
δ	ความน่าจะเป็นของประชากรที่หายจากการติดเชื้อกลับมาเป็นประชากรที่ติดเชื้อ	0.15
d	อัตราการเสียชีวิตที่เกิดจากการติดเชื้อในระยะแสดงอาการ (ต่อปี)	0.0788
d_1	อัตราการเสียชีวิตที่เกิดจากการดื้อยา (ต่อปี)	0.2351
r	อัตราการต่อต้านการรักษาด้วยยา (ต่อปี)	0.005
k	การพัฒนาเชื้อไปเป็นประชากรที่ติดเชื้อในระยะแสดงอาการ โดยธรรมชาติ (ต่อปี)	0.00013

2. การหาอัตราการแพร่กระจายเชื้อ

อัตราการแพร่กระจายเชื้อ (basic reproduction number) เขียนแทนด้วยสัญลักษณ์ R_0 ซึ่งเป็นค่าเฉลี่ยที่ผู้ป่วย 1 คน จะแพร่กระจายเชื้อให้แก่ผู้ที่เสี่ยงต่อการติดเชื้อได้กี่คน ถ้าค่า $R_0 < 1$ แสดงว่า มีแนวโน้มของการแพร่กระจายเชื้อในกลุ่มประชากรลดลง แต่ถ้าค่า $R_0 > 1$ แสดงว่า มีแนวโน้มของการแพร่กระจายเชื้อในกลุ่มประชากรเพิ่มขึ้น ในงานวิจัยนี้จะทำการหาอัตราการแพร่กระจายเชื้อโดยใช้วิธีรุ่นถัดไป (next generation method)

ซึ่งถูกเผยแพร่ครั้งแรกโดย Diekmann et al. (1990) และนำมาเรียบเรียงใหม่โดย Van den Driessche & Watmough (2002) โดยจะเริ่มจากการหาจุดสมดุลสภาวะไร้โรค

กำหนดให้

$$\frac{dS}{dt} = \frac{dV}{dt} = \frac{dE}{dt} = \frac{dI}{dt} = \frac{dR_{es}}{dt} = \frac{dR}{dt} = 0$$

และ $E = I = R = 0$ เมื่อแทนในระบบสมการ (1) จะได้จุดสมดุลสภาวะไร้โรค (E_0) คือ

$$E_0(S^0, V^0, E^0, I^0, R_{es}^0, R^0) = E_0\left(\frac{\Lambda\rho}{\mu(\rho + \mu)}, \frac{\Lambda}{\rho + \mu}, 0, 0, 0, 0\right)$$

นำระบบสมการ (1) มาจัดให้อยู่ในรูปเมทริกซ์ $F(x) - V(x)$ โดยที่ $F(x)$ คือ อัตราการเกิดผู้ที่ติดเชื้อใหม่ในกลุ่มประชากร และ $V(x)$ คือ อัตราการเปลี่ยนแปลงที่ออกจากกลุ่มประชากรไปยังกลุ่มประชากรอื่นลบอัตราการเปลี่ยนแปลงที่เพิ่มเข้ามายังกลุ่มประชากร จะได้

$$F(x) = \begin{bmatrix} 0 \\ 0 \\ f_1\beta cIS + (1-\sigma)\beta cIV + (1-f_4)\delta\beta cIR \\ f_2\beta cIS + f_4\delta\beta cIR \\ 0 \\ 0 \end{bmatrix}$$

$$\text{และ } V(x) = \begin{bmatrix} -\rho V + f_1\beta cIS + f_2\beta cIS + \mu S \\ -\Lambda + \rho V + \mu V + (1-\sigma)\beta cIV \\ f_3\beta cIE + kE + \mu E \\ -f_3\beta cIE - kE + rI + \gamma_1 I + \mu I + dI \\ -rI + \mu R_{es} + d_1 R_{es} + \gamma_2 R_{es} \\ -\gamma_2 R_{es} + f_4\delta\beta cIR + (1-f_4)\delta\beta cIR - \gamma_1 I + \mu R \end{bmatrix}$$

คำนวณเมทริกซ์จาโคเบียนของ $F(x)$ และ $V(x)$ ที่จุดสมดุลสถานะไร้โรค โดยจะพิจารณาเฉพาะกลุ่มประชากรที่ติดเชื้อในระบบ ได้แก่ E, I, R_{es} กำหนดเมทริกซ์ย่อยของเมทริกซ์จาโคเบียนของ $F(x)$ และ $V(x)$ ดังต่อไปนี้

$$F_1 = \left[\frac{\partial F_i(x)}{\partial x_j} (E_0) \right] \text{ และ } V_1 = \left[\frac{\partial V_i(x)}{\partial x_j} (E_0) \right]$$

โดยที่ $F_i(x)$ และ $V_i(x)$ คือแถวที่ i ของเมทริกซ์ $F(x)$ และ $V(x)$ ตามลำดับ เมื่อ $i, j \in \{3, 4, 5\}$ ดังนั้นจะได้เมทริกซ์ F_1 และ V_1 ดังนี้

$$F_1 = \begin{bmatrix} 0 & f_1 \beta c \left[\frac{\Lambda \rho}{\mu(\rho + \mu)} \right] + (1 - \sigma) \beta c \left[\frac{\Lambda}{\rho + \mu} \right] & 0 \\ 0 & f_2 \beta c \left[\frac{\Lambda \rho}{\mu(\rho + \mu)} \right] & 0 \\ 0 & 0 & 0 \end{bmatrix}$$

$$\text{และ } V_1 = \begin{bmatrix} k + \mu & 0 & 0 \\ -k & r + \gamma_1 + d + \mu & 0 \\ 0 & -r & d_1 + \gamma_2 + \mu \end{bmatrix}$$

จากนั้นทำการคำนวณค่าเฉพาะ (eigenvalues) ของเมทริกซ์ $F_1 V_1^{-1}$ จะได้ค่าเฉพาะ 3 ค่า ดังนี้

$$\lambda_1 = 0, \lambda_2 = 0 \text{ และ } \lambda_3 = \frac{\Lambda \beta c [k(\mu(1 - \sigma) + \rho(f_1 + f_2)) + f_2 \rho \mu]}{\mu(k + \mu)(\rho + \mu)(r + \gamma_1 + d + \mu)}$$

เนื่องจากค่าอัตราการแพร่กระจายเชื้อ $R_0 = \max_{i=1,2,3} (|\lambda_i|)$ ดังนั้น

$$R_0 = \frac{\Lambda \beta c [k(\mu(1 - \sigma) + \rho(f_1 + f_2)) + f_2 \rho \mu]}{\mu(k + \mu)(\rho + \mu)(r + \gamma_1 + d + \mu)}$$

สุดท้ายทำการตรวจสอบความมีเสถียรภาพเชิงเส้นกำกับเฉพาะที่ของจุดสมดุลสถานะไร้โรค (E_0)

เนื่องจากระบบสมการ (1) และจุดสมดุลสภาวะไร้โรค (E_0) สอดคล้องกับทฤษฎีบทที่ 2 ของ Van den Driessche & Watmough (2002) จึงสรุปได้ว่าถ้า $R_0 < 1$ แล้ว E_0 จะมีเสถียรภาพเชิงเส้นกำกับเฉพาะที่ (local asymptotically stable) แต่ถ้า $R_0 > 1$ แล้ว E_0 จะไม่มีเสถียรภาพ (unstable)

3. จุดสมดุลสภาวะระบาดเรื้อรัง

ต่อไปจะทำการหาจุดสมดุลสภาวะระบาดเรื้อรัง กำหนดให้

$$\frac{dS}{dt} = \frac{dV}{dt} = \frac{dE}{dt} = \frac{dI}{dt} = \frac{dR_{es}}{dt} = \frac{dR}{dt} = 0$$

และ $E > 0, I > 0, R_{es} > 0$ ในระบบสมการ (1) จะได้จุดสมดุลสภาวะระบาดเรื้อรัง

$E_1(S^*, V^*, E^*, I^*, R_{es}^*, R^*)$ อยู่ในรูปดังต่อไปนี้

$$S^* = \frac{\Lambda \rho}{(\mu + (f_1 + f_2)\beta c I^*)(\rho + \mu + (1 - \sigma)\beta c I^*)}$$

$$V^* = \frac{\Lambda}{\rho + \mu + (1 - \sigma)\beta c I^*}$$

$$E^* = \frac{1}{k + \mu + f_3 \beta c I^*} \left[\frac{\Lambda(1 - \sigma)\beta c I^*}{\rho + \mu + (1 - \sigma)\beta c I^*} + \frac{\Lambda \rho f_1 \beta c I^*}{(\mu + (f_1 + f_2)\beta c I^*)(\rho + \mu + (1 - \sigma)\beta c I^*)} + \frac{(1 - f_4)\delta \beta c I^*}{\mu + \beta c \delta I^*} \left[\gamma_1 I^* + \frac{r \gamma_2 I^*}{d_1 + \gamma_2 + \mu} \right] \right]$$

$$I^* = \frac{k E^*}{r + \gamma_1 + \mu + d - f_2 \beta c S^* - f_3 \beta c E^* - f_4 \delta \beta c R^*}$$

$$R_{es}^* = \frac{r I^*}{d_1 + \gamma_2 + \mu}$$

$$R^* = \frac{\left[\gamma_1 I^* + \frac{r \gamma_2 I^*}{d_1 + \gamma_2 + \mu} \right]}{\mu + \beta c \delta I^*}$$

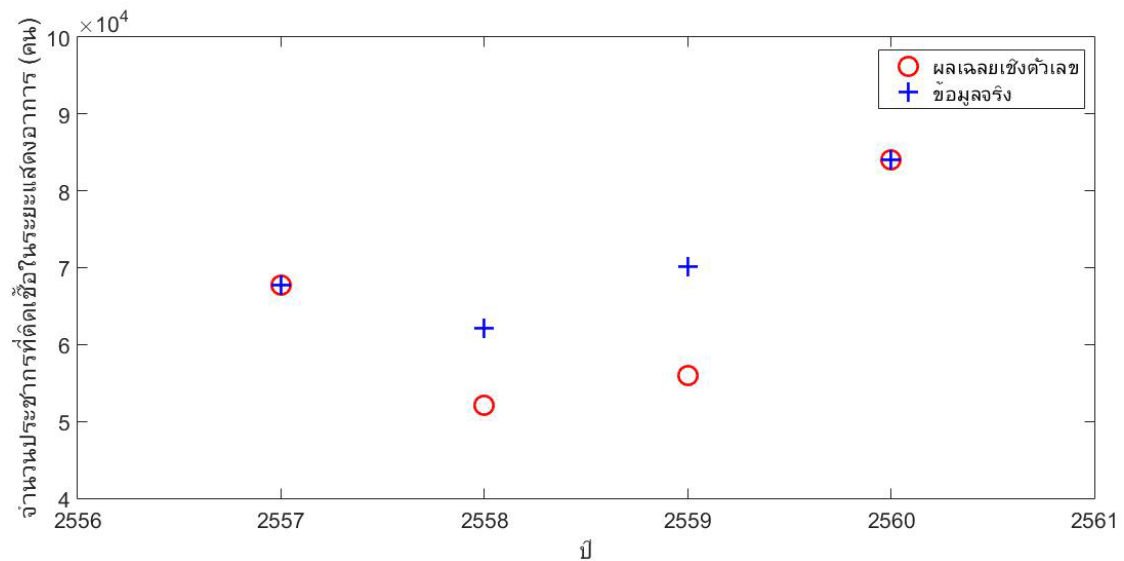
ผลการทดลอง

1. การเปรียบเทียบผลเฉลยเชิงตัวเลขกับข้อมูลผู้ป่วยวัณโรค

ผู้วิจัยทำการเปรียบเทียบผลเฉลยเชิงตัวเลขของตัวแบบเชิงคณิตศาสตร์กับข้อมูลจริง ซึ่งหาผลเฉลยเชิงตัวเลขของตัวแบบเชิงคณิตศาสตร์ด้วยวิธีรุงเง-คุททา อันดับสี่ โดยใช้โปรแกรม MATLAB (version 8.6, release

R2015b+, license number 1115471) ด้วยคำสั่ง ode45 ซึ่งทำการกำหนดค่าเริ่มต้นโดยใช้ข้อมูลจำนวนประชากรในประเทศไทยและจำนวนผู้ป่วยในปี พ.ศ. 2557 จาก Strategy and Planning Division (2017) และ Bureau of Tuberculosis (2018) ตามลำดับ ซึ่งค่าเริ่มต้นของกลุ่มประชากรแต่ละกลุ่มเป็นดังนี้

$$S = 57089513, V = 7675688, E = 67722, I = 67722, R_{es} = 178, R = 54490$$



รูปที่ 2. กราฟแสดงการเปรียบเทียบผลเฉลยเชิงตัวเลขของตัวแบบเชิงคณิตศาสตร์กับข้อมูลจริง

เมื่อทำการหาอัตราการแพร่กระจายเชื้อ พบว่า $R_0 = 2.1632 > 1$ แสดงว่าแนวโน้มการแพร่กระจายเชื้อของวัณโรคจะเพิ่มขึ้นในกลุ่มประชากร ดังนั้นเชื้อโรคงจะระบาดอยู่ในประเทศไทยในปี พ.ศ. 2557-2560 และจากทฤษฎีบทที่ 2 ของ Van den Driessche & Watmough (2002) จะได้ว่า จุดสมดุลสภาวะไร้โรคไม่มีเสถียรภาพเนื่องจาก $R_0 > 1$ จากรูปที่ 2 เมื่อนำผลเฉลยเชิงตัวเลขของตัวแบบเชิงคณิตศาสตร์มาตรวจสอบความแม่นยำกับข้อมูลจริง โดยใช้ค่า MAPE พบว่ามีค่าคลาดเคลื่อนร้อยละ 9.0868

2. วิเคราะห์ความอ่อนไหวของอัตราการแพร่กระจายเชื้อ

ในปี พ.ศ. 2551 Chitnis และคณะ (Chitnis et al., 2008) ได้ทำการวิเคราะห์ความอ่อนไหวของพารามิเตอร์ของอัตราการแพร่กระจายเชื้อของโรคว่าพารามิเตอร์ตัวใดจะส่งผลให้อัตราการแพร่กระจายเชื้อเพิ่มขึ้นหรือลดลง โดยสามารถคำนวณค่าความอ่อนไหวได้จากสูตร ดังนี้

$$\gamma_p^{R_0} = \frac{\partial R_0}{\partial p} \times \frac{p}{R_0} \quad (2)$$

โดยที่ p คือ พารามิเตอร์ของอัตราการแพร่กระจายเชื้อ

เมื่อแทนค่าพารามิเตอร์จากตารางที่ 1 ในสูตรที่กล่าวมาข้างต้นจะได้ค่าความอ่อนไหวของพารามิเตอร์ของอัตราการแพร่กระจายเชื้อแต่ละตัว ได้ดังนี้

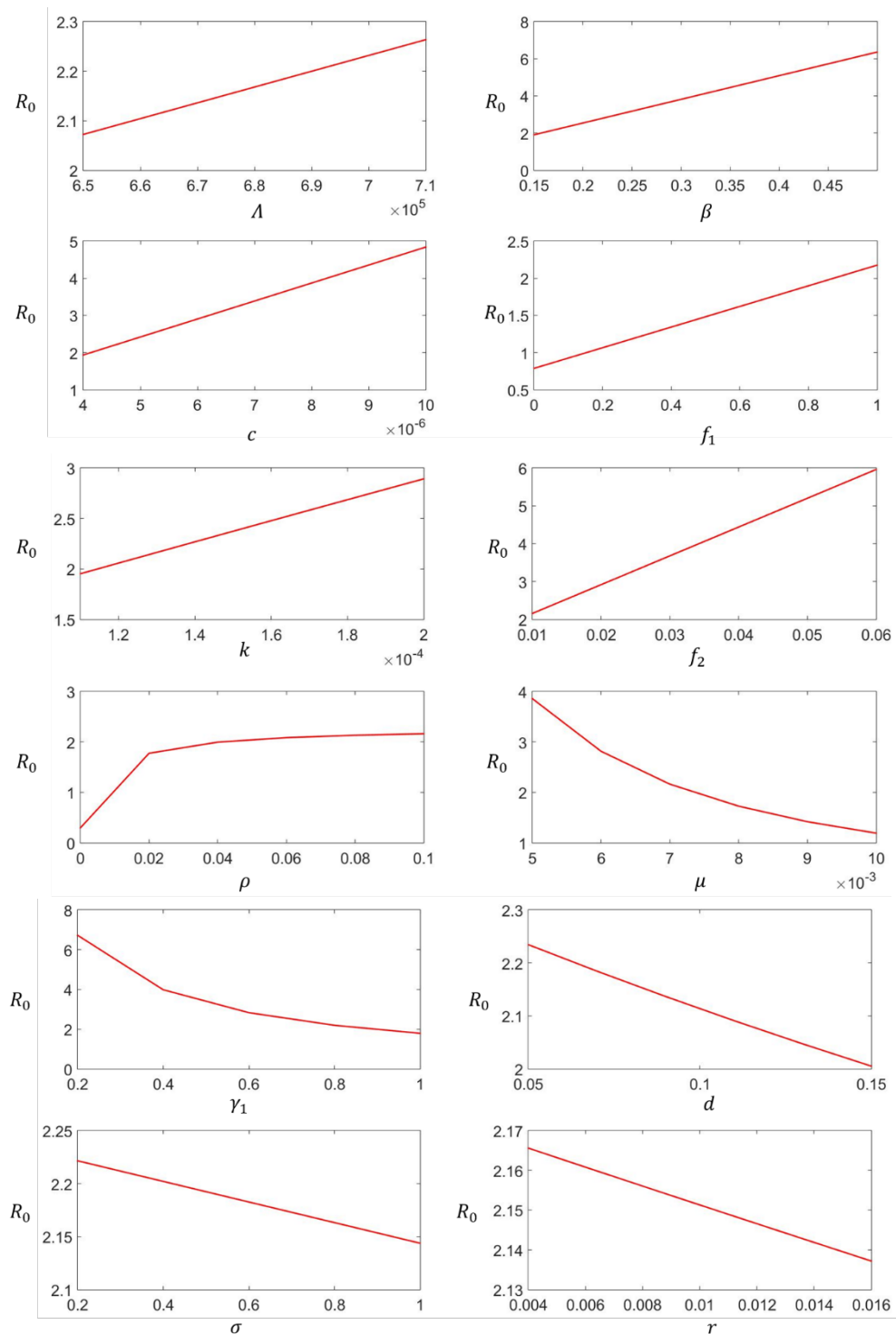
ตารางที่ 2. ค่าความอ่อนไหวของอัตราการแพร่กระจายเชื้อของพารามิเตอร์แต่ละตัว

พารามิเตอร์ (p)	ค่าความอ่อนไหวของอัตราการแพร่กระจายเชื้อ ($\gamma_p^{R_0}$)
Λ	1
β	1
c	1
f_1	0.6354
k	0.6327
f_2	0.3556
ρ	0.0564
μ	-1.6968
γ_1	-0.8995
d	-0.0872
σ	-0.0359
r	-0.0055

จากตารางที่ 2 จะเห็นว่าพารามิเตอร์ที่มีค่าความอ่อนไหวของอัตราการแพร่กระจายเชื้อเป็นบวก ได้แก่ $\Lambda, \beta, c, f_1, k, f_2, \rho$ ส่วนพารามิเตอร์ที่มีค่าความอ่อนไหวของอัตราการแพร่กระจายเชื้อเป็นลบ ได้แก่ $\mu, \gamma_1, d, \sigma, r$ นั่นคือเมื่อเพิ่มค่าพารามิเตอร์ $\Lambda, \beta, c, f_1, k, f_2, \rho$ จะส่งผลให้อัตราการแพร่กระจายเชื้อเพิ่มขึ้น และเมื่อเพิ่มค่าพารามิเตอร์ $\mu, \gamma_1, d, \sigma, r$ จะส่งผลให้อัตราการแพร่กระจายเชื้อลดลง แสดงดังรูปที่ 3

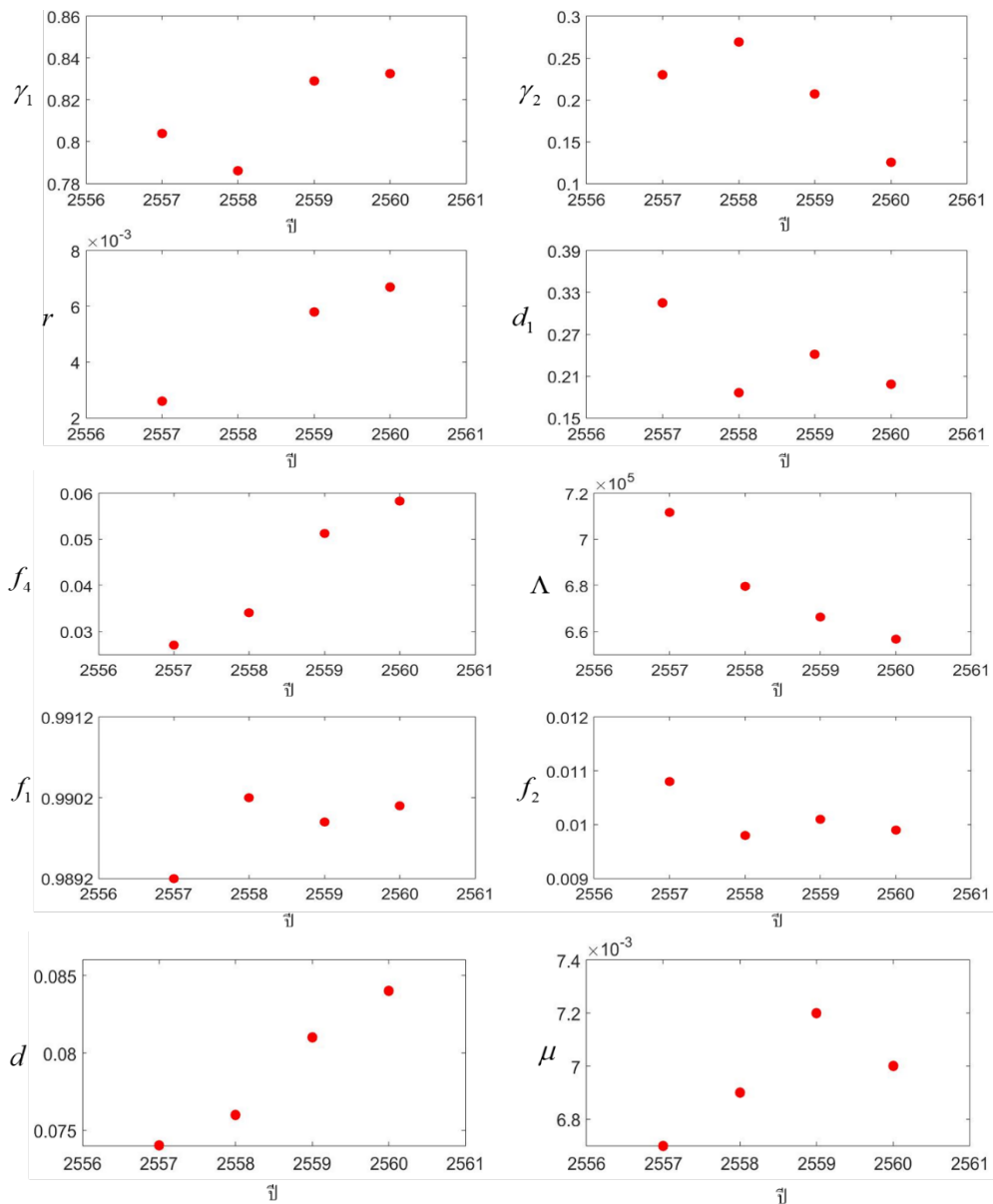
3. การปรับปรุงผลเฉลยเชิงตัวเลขด้วยการถดถอยเชิงเส้นอย่างง่ายและการถดถอยเชิงพหุนาม

จากการกำหนดพารามิเตอร์ของตัวแบบในตารางที่ 1 จะเห็นว่าพารามิเตอร์แต่ละค่าเป็นค่าคงที่ ซึ่งในความเป็นจริงค่าพารามิเตอร์บางค่าอาจไม่เท่ากันในแต่ละปี ในหัวข้อนี้ ผู้วิจัยจึงสนใจที่จะประมาณค่าของพารามิเตอร์ที่ได้จากข้อมูลจริงด้วยการถดถอยเชิงเส้นอย่างง่ายและการถดถอยเชิงพหุนาม



รูปที่ 3. กราฟแสดงอัตราการแพร่กระจายเชื้อ (R_0) เทียบกับค่าพารามิเตอร์แต่ละตัวในตารางที่ 2

พิจารณากราฟข้อมูลจริงของพารามิเตอร์แต่ละตัวที่คำนวณได้ตามหัวข้อ 2 จะสามารถแสดงได้ดังต่อไปนี้



รูปที่ 4. กราฟแสดงข้อมูลจริงของพารามิเตอร์แต่ละตัวตั้งแต่ปี พ.ศ. 2557-2560

จากรูปที่ 4 จะเห็นว่า พารามิเตอร์ γ_1 , γ_2 และ μ มีแนวโน้มเป็นเส้นโค้ง จึงทำการสร้างสมการถดถอยเชิงพหุนาม ด้วยโปรแกรม MATLAB จะได้สมการดังนี้

$$\gamma_1 = 0.807774999999995 - 0.014214999999993t + 0.0054249999999918t^2$$

$$\gamma_2 = 0.151050000000002 + 0.113529999999998t - 0.030249999999995t^2$$

$$\mu = 0.0061499999999998 + 0.000620000000000035t - 0.000100000000000002t^2$$

ส่วนพารามิเตอร์ตัวอื่น ๆ มีแนวโน้มเป็นเส้นตรง จึงทำการสร้างสมการถดถอยเชิงเส้นอย่างง่าย ด้วยโปรแกรม MATLAB จะได้สมการดังนี้

$$\Lambda = 723271 - 17899.9999999999t$$

$$f_1 = 0.98925 + 0.000240000000000129t$$

$$f_2 = 0.01075 - 0.000239999999999998t$$

$$f_4 = 0.0149 + 0.01111t$$

$$r = 0.00175 + 0.00131t$$

$$d = 0.07 + 0.003500000000000001t$$

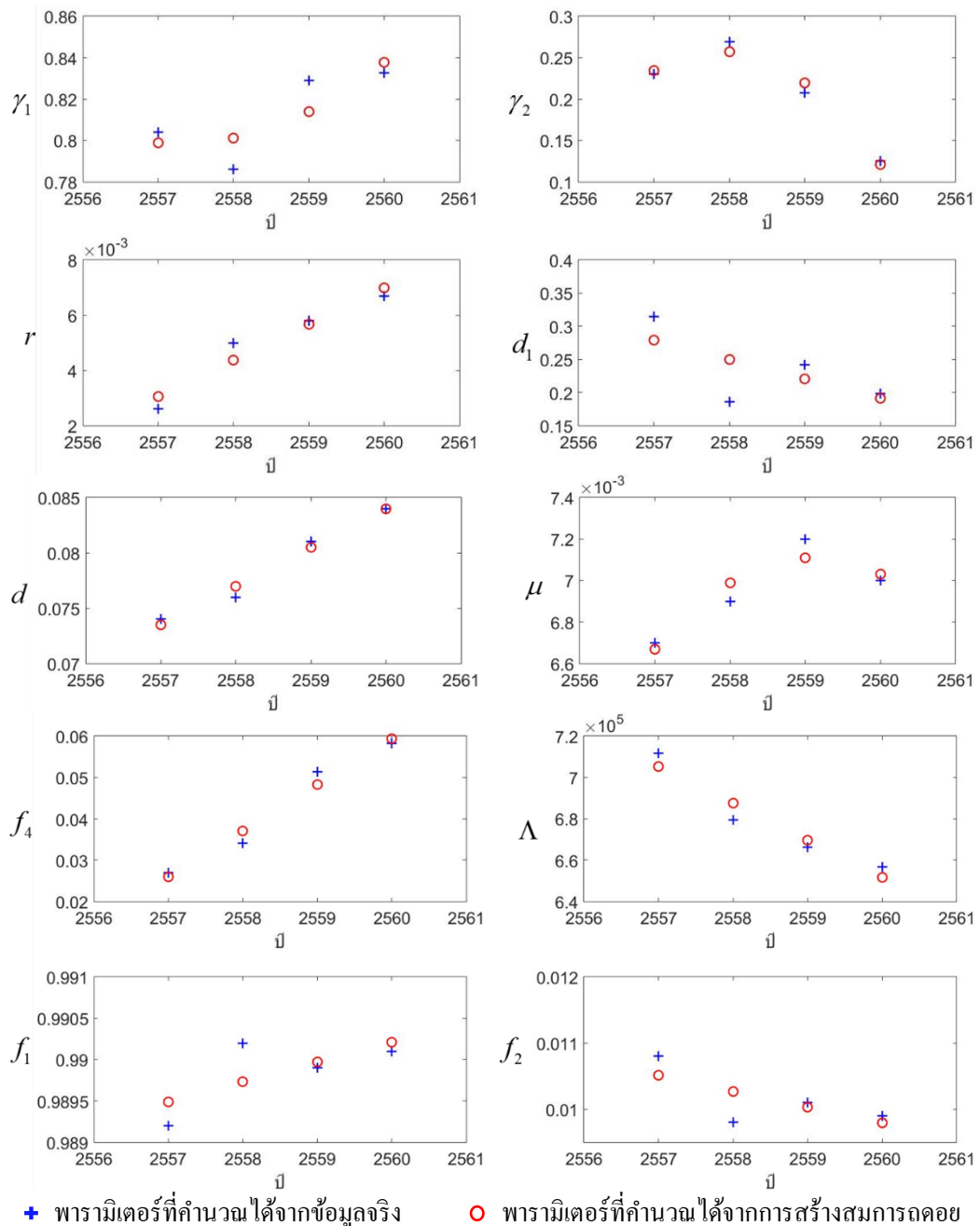
$$d_1 = 0.30825 - 0.02924t$$

เพื่อให้เห็นความสัมพันธ์ระหว่างพารามิเตอร์แต่ละตัวที่คำนวณได้จากข้อมูลจริงกับพารามิเตอร์แต่ละตัวที่ได้จากการสร้างสมการถดถอยเชิงเส้นอย่างง่ายเมื่อเทียบกับเวลา แสดงให้เห็นดังรูปที่ 5

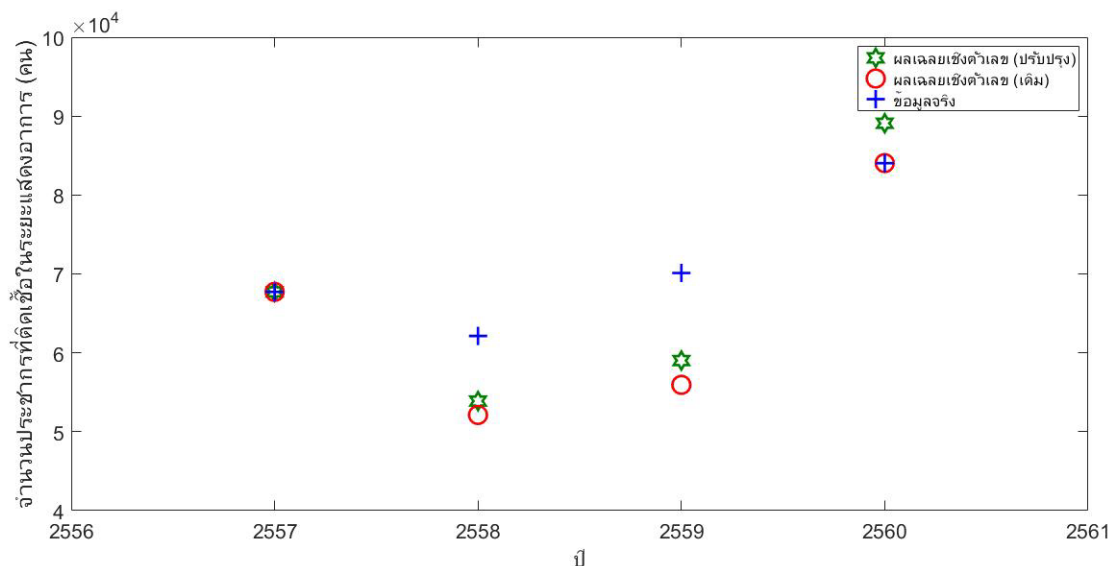
เมื่อนำพารามิเตอร์แต่ละตัวที่ได้จากการประมาณค่าด้วยการถดถอยเชิงเส้นอย่างง่ายและการถดถอยเชิงพหุนามไปแทนในตัวแทนเชิงคณิตศาสตร์แล้วทำการหาผลเฉลยเชิงตัวเลข และเมื่อนำผลเฉลยเชิงตัวเลขของตัวแทนเชิงคณิตศาสตร์มาตรวจสอบความแม่นยำกับข้อมูลจริง โดยใช้ค่า MAPE พบว่าผลเฉลยนั้นมีค่าคลาดเคลื่อนร้อยละ 8.7825 โดยแสดงกราฟการเปรียบเทียบของผลเฉลยเชิงตัวเลขกับข้อมูลจริงได้ดังรูปที่ 6

วิจารณ์และสรุปผลการทดลอง

ผู้วิจัยได้สร้างตัวแทนเชิงคณิตศาสตร์ของการแพร่กระจายเชื้อของวันโรคในประเทศไทยที่มีปัจจัยของการฉีดวัคซีนและการต่อต้านการรักษาด้วยยา ผลการวิจัยพบว่า มีค่าอัตราการแพร่กระจายเชื้อ $R_0 = 2.1632 > 1$ แสดงว่าแนวโน้มการแพร่กระจายเชื้อของวันโรคจะเพิ่มขึ้นในกลุ่มประชากร ดังนั้นเชื้อโรคงจะระบาดอยู่ในประเทศไทยในปี พ.ศ. 2557 ถึง พ.ศ. 2560 และจะได้ว่าจุดสมดุลสภาวะไร้โรคไม่มีเสถียรภาพเนื่องจาก $R_0 > 1$ จากการเปรียบเทียบผลเฉลยเชิงตัวเลขของตัวแทนเชิงคณิตศาสตร์กับข้อมูลจริง มีค่าคลาดเคลื่อนร้อยละ 9.0868 อันเนื่องมาจากพารามิเตอร์ที่นำมาใช้ในการหาผลเฉลยเชิงตัวเลขของตัวแทนเชิงคณิตศาสตร์ไม่ได้เป็นพารามิเตอร์ที่ได้มาจากข้อมูลจริงทั้งหมด และในแต่ละปีมีค่าจริงของพารามิเตอร์แต่ละตัวที่เปลี่ยนแปลงไป จากนั้นเมื่อทำการประมาณค่าพารามิเตอร์บางค่าโดยใช้การถดถอยเชิงเส้นอย่างง่ายและการถดถอยเชิงพหุนาม พบว่ามีค่าคลาดเคลื่อนร้อยละ 8.7825 จะเห็นว่ามีค่าคลาดเคลื่อนน้อยลง ดังนั้นการประมาณค่าพารามิเตอร์ด้วยฟังก์ชันที่ประมาณค่าใกล้เคียงกับข้อมูลจริงจะทำให้ผลเฉลยเชิงตัวเลขมีความแม่นยำมากขึ้น



รูปที่ 5. กราฟแสดงความสัมพันธ์ระหว่างพารามิเตอร์แต่ละตัวที่คำนวณได้จากข้อมูลจริงกับพารามิเตอร์ที่ได้จากการสร้างสมการถดถอยเชิงเส้นอย่างง่ายตั้งแต่ปี พ.ศ. 2557-2560



รูปที่ 6. กราฟแสดงการเปรียบเทียบผลเฉลี่ยเชิงตัวเลขและผลเฉลี่ยเชิงตัวเลขที่ทำการปรับปรุงด้วยการถดถอยเชิงเส้นอย่างง่ายและการถดถอยเชิงพหุนามกับข้อมูลจริง

เมื่อวิเคราะห์ค่าความอ่อนไหวของพารามิเตอร์พบว่า พารามิเตอร์ที่ทำให้อัตราการแพร่กระจายเชื้อเพิ่มขึ้น ได้แก่ $\Lambda, \beta, c, f_1, k, f_2, \rho$ และพารามิเตอร์ที่ทำให้อัตราการแพร่กระจายเชื้อลดลง ได้แก่ $\mu, \gamma_1, d, \sigma, r$ โดยอาจกล่าวสรุปเป็นนโยบายสำหรับป้องกันและควบคุมโรค หากภาครัฐมีนโยบายรณรงค์ให้ผู้ป่วยที่ติดเชื้อ หลีกเลี่ยงการอยู่ในที่ที่มีผู้คนแออัด เช่น การใช้บริการรถเมล์สาธารณะ หรือ งานแสดงคอนเสิร์ต หรืองาน นิทรรศการต่าง ๆ เป็นต้น จะช่วยลดอัตราการแพร่กระจายเชื้อได้ นอกจากนี้ หากภาครัฐคิดค้นงานวิจัยที่สามารถ ลดอัตราเสื่อมสภาพของวัคซีน ที่เดิมวัคซีนมีระยะเวลาในการป้องกันเพียงประมาณ 10 ปี ให้ยาวนานขึ้น พร้อมทั้ง วิจัยการเพิ่มประสิทธิภาพการป้องกันของวัคซีนให้ดีขึ้น จะช่วยให้อัตราการแพร่กระจายเชื้อของวัณโรคลดลงได้

เนื่องจากในประเทศไทยนั้นมีการฉีดวัคซีนสำหรับป้องกันวัณโรค และมีผู้ป่วยที่รักษาด้วยยาจากการติดเชื้อ หากใช้เพียงตัวแบบของ Nainggolan et al. (2013) ซึ่งพิจารณาปัจจัยของการฉีดวัคซีน หรือตัวแบบของ Gupta et al. (2018) ซึ่งพิจารณาปัจจัยของผู้ป่วยที่รักษาด้วยยาจากการติดเชื้อ จะทำให้วิเคราะห์การแพร่กระจายเชื้อวัณโรคใน ประเทศไทยได้ไม่ครอบคลุม แต่ในงานวิจัยนี้ได้นำปัจจัยทั้งสองมาสร้างตัวแบบ ดังนั้นตัวแบบที่ได้จึงมีความ เหมาะสมกับการใช้ในประเทศไทยมากกว่าตัวแบบของ Nainggolan et al. (2013) และ Gupta et al. (2018)

เอกสารอ้างอิง

Bureau of Tuberculosis. (2018). *National Tuberculosis Control Programme Guideline, Thailand 2018*. Bangkok, Thailand: Aksorn Graphic and Design Co., Ltd.

- Chitnis, N., Hyman, J. M. & Cushing, J. M. (2008). Determining important parameters in the spread of malaria. *Bulletin of Mathematical Biology*, 70(5), 8-9. doi: 10.1007/s11538-008-9299-0
- Diekmann, O., Heesterbeek J. A. P. & Metz J. A. J. (1990). On the definition and the computation of basic reproduction ratio R_0 in models for infectious disease in heterogeneous. *Journal of Mathematical Biology*, 28(4), 365-382. <https://doi.org/10.1007/BF00178324>
- Gupta, V. K., Tiwari, S. K., Sharma, S. & Nagar L. (2018). Mathematical model of tuberculosis with drug resistance to the first and second line of treatment. *New Theory Journal*, 18(21), 94-106. <http://www.newtheory.org>
- Huo, H. F. & Zou, M. X. (2016). Modelling effects of treatment at home on tuberculosis transmission dynamics. *Applied Mathematical Modelling*, 40(21-22), 9474-9484. <https://doi.org/10.1016/j.apm.2016.06.029>
- Imsamran, W., Pattatang, A., Supattagorn, P., Chaiwiriabunya, I., Namthaisong, K., Wongsena, M. et al. (2018). *Cancer in Thailand Vol. IX, 2013-2015* (Unpublished Edition). Bangkok, Thailand: National Cancer Institute.
- Kermack, W. O. & McKendrick A. G. (1927). A contribution to the mathematical theory of epidemics. *Proceedings of the Royal Society of London A: Mathematical, Physical and Engineering Sciences*, 115 (772), 700-721. <https://doi.org/10.1098/rspa.1927.0118>
- Makchay, S., Naowarat, S. & Sukree, N. (2014). *Mathematical model for the tuberculosis transmission of prisoners*. pp. 651-661. In the 5th National and International Hatyai Conference, 16 May 2014, Hatyai University and Office of the Higher Education Commission, Songkhla.
- Nainggolan, J., Supian, S., Supriatna, A. K. & Anggriani, N. (2013). Mathematical model of tuberculosis transmission with recurrent infection and vaccination. *Journal of Physics*, 423(1), 1-8. doi:10.1088/1742-6596/423/1/012059
- National AIDS Committee. (2018). *Report on the Progress of Thailand in Preventing and Solving AIDS Problems*. Bangkok, Thailand: NC Concept Co., Ltd.
- National Cancer Institute. (2018). *Hospital-Based Cancer Registry 2017*. Bangkok, Thailand: Pornsub Printing Co., Ltd.

- Ssentimba A., Mugisha J. Y. T. & Luboobi L. S. (2005). Mathematical models for the dynamics of tuberculosis in density-dependent populations: The case of internally displaced peoples' camps (IDPCs) in Uganda. *Journal of Mathematics and Statistics*, 1(3), 217-224. <https://thescipub.com/pdf//10.3844/jmssp..2005.217.224>
- Strategy and Planning Division. (2017). *Public Health Statistics A.D. 2017*. Nonthaburi, Thailand: Strategy and Planning Division, Office of the Permanent Secretary, Ministry of Public Health.
- Van den Driessche, P. & Watmough, J. (2002). Reproduction numbers and sub threshold endemic equilibria for compartmental models of disease transmission. *Mathematical Biosciences*, 180(1-2), 29-48. [https://doi.org/10.1016/S0025-5564\(02\)00108-6](https://doi.org/10.1016/S0025-5564(02)00108-6)

Academic Article

สมการอนุรักษ์ในกลศาสตร์ของไหล

Conservation law governing equations in fluid mechanics

ชาญยุทธ โกลิตะวงษ์

Chanyut Kolitawong

ศูนย์วิจัยพอลิเมอร์ ภาควิชาวิศวกรรมเครื่องกลและการบิน-อวกาศ คณะวิศวกรรมศาสตร์ มหาวิทยาลัยเทคโนโลยีพระจอมเกล้า
พระนครเหนือ บางซื่อ กรุงเทพฯ 10800

Polymer Research Center, Department of Mechanical and Aerospace Engineering, Faculty of Engineering, King Mongkut's
University of Technology North Bangkok, Bangsue, Bangkok 10800, Thailand

E-mail: chanyut.k@eng.kmutnb.ac.th

Received: 18/11/2018; Revised: 27/04/2019; Accepted: 07/05/2019

บทคัดย่อ

บทความนี้ต้องการที่จะนำเสนอมุมมองทางด้านวิทยาศาสตร์กายภาพของสมการการอนุรักษ์ ซึ่งเป็นพื้นฐานในการวิเคราะห์ปัญหาเชิงวิศวกรรม โดยกล่าวถึงที่มาของกฎการอนุรักษ์มวล โมเมนตัม และพลังงานที่ใช้ในกลศาสตร์ของไหล ด้วยมุมมองทางกลศาสตร์ความต่อเนื่อง (continuum mechanics) จากการพิจารณาก่อนของไหลที่ถูกตัดออกไปในระบบแกนและมีการไหลผ่านปริมาตรควบคุม (control volume) ที่เวลา t_0 ใด ๆ โดยในที่นี้เราใช้ระบบแกนที่ติดจากเป็นพิกัดอ้างอิง ด้วยกฎการอนุรักษ์มวลที่กล่าวว่าอัตราการเปลี่ยนแปลงของมวลในปริมาตรควบคุมมีค่าเท่ากับอัตราของมวลที่ไหลเข้าปริมาตรควบคุมลบด้วยอัตราของมวลที่ไหลออกจากปริมาตรควบคุม และในทำนองเดียวกันจากกฎข้อที่ 2 ของนิวตันที่ว่าผลรวมของแรง $\sum \vec{F}$ ที่กระทำกับปริมาตรควบคุมของกลุ่มอนุภาคของไหลที่มีมวล δm ให้เคลื่อนที่ ณ ช่วงเวลา t_0 ใด ๆ จะแปรผันตรงกับความเร่งทำให้เราสามารถสรุปกฎการอนุรักษ์โมเมนตัมได้ ทำนองเดียวกันกฎการอนุรักษ์พลังงานได้จากกฎข้อที่ 1 ของเทอร์โมไดนามิกส์ ที่กล่าวว่าอัตราการเปลี่ยนแปลงของพลังงานในปริมาตรควบคุมจะมีค่าเท่ากับผลรวมของการถ่ายเทความร้อนเนื่องจากการนำความร้อนผ่านพื้นผิวของปริมาตรควบคุมรวมกับงานที่ออกมาจากปริมาตรควบคุมทำให้เราสามารถสรุปออกมาเป็นกฎการอนุรักษ์พลังงานได้

คำสำคัญ: กฎการอนุรักษ์มวล, กฎการอนุรักษ์โมเมนตัม, กฎการอนุรักษ์พลังงาน, ระบบแกนพิกัด

Abstract

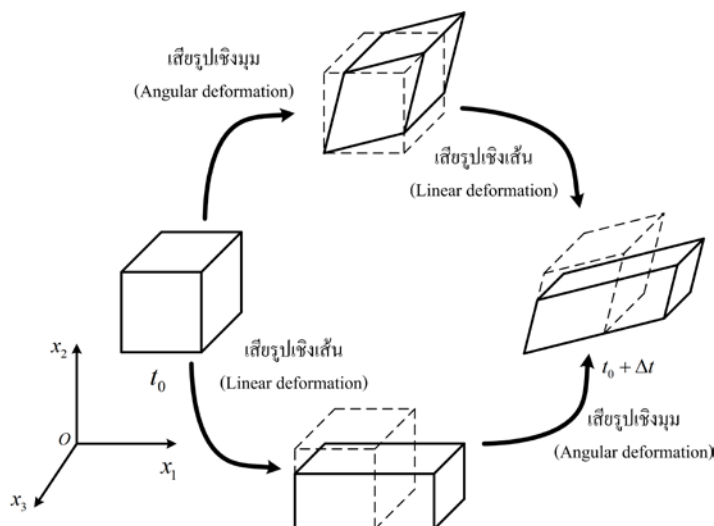
The objective of this article is to show physical perspective interpretation of conservative laws normally used in engineering problems by illustrated how to derive those conservative laws in fluid mechanics; mass, momentum and energy conservation from continuum mechanics perspective. Here, we use Cartesian coordinates to show that, at any time t_0 , mass flowing through a control volume is conserved. By the fact that mass in a system is always constant, we could gain the mass conservation equation in a control volume by proving that the rate of change of mass in the control volume equals to the mass balance between the in- and out-mass fluxes. In the meantime, by the 2nd Newton's law applied at any time t_0 , the total forces $\sum \vec{F}$ acting on a control volume that has its mass δm are proportional to the fluid mass acceleration, we can deduce the momentum conservation equations. Finally, by using the fact, from the 1st law of thermodynamics, that rate of energy changed in a control volume equals to rate of heat combined with rate of work changed in and out of the control volume.

Keywords: conservation of mass, conservation of momentum, conservation of energy, Cartesian coordinates

บทนำ

กฎการอนุรักษ์เกิดจากความเป็นจริงทางธรรมชาติ นักฟิสิกส์ได้เฝ้าสังเกตความเป็นจริงตามธรรมชาติ นั้น ๆ แล้วนำมาตั้งเป็นกฎการอนุรักษ์ทั้งหลาย ยกตัวอย่างความจริงตามธรรมชาติที่ว่ามวล (พลังงาน) จะไม่สูญหายไปไหน แต่อาจจะมีการเปลี่ยนรูปหรือเปลี่ยนสถานะ อันเป็นที่มาของกฎการอนุรักษ์มวล (พลังงาน) ทางฟิสิกส์ หรือความจริงตามธรรมชาติที่กล่าวว่าผลรวมของแรงกระทำต่อวัตถุจะเท่ากับมวลคูณความเร่งของวัตถุ อันเป็นที่มาของกฎข้อที่สองของนิวตัน (Newton's second law) ซึ่งเป็นที่มาของกฎการอนุรักษ์โมเมนตัม (conservation of momentum) เป็นต้น กฎการอนุรักษ์มวล โมเมนตัม และพลังงานซึ่งสามารถเรียกรวม ๆ กันว่าสมการควบคุม (governing equations) ถูกนำมาประยุกต์ใช้ทางวิศวกรรมอย่างกว้างขวาง ด้วยมุมมองทางด้านกลศาสตร์ความต่อเนื่อง (continuum mechanics) เราจะไม่มองสารในระดับอะตอมแต่จะมองสารเป็นกลุ่มก้อนของไหล (fluid element) ที่มีสมบัติที่เป็นฟังก์ชันต่อเนื่องกันไปตลอดทั้งก้อนวัตถุ ดังนั้นเมื่อก้อนของไหลถูกแรงจากภายนอกมากระทำจะทำให้เกิดการเสียรูปเชิงเส้น (linear deformation) การเสียรูปเชิงมุม (angular deformation) ไปพร้อม ๆ กัน ดังแสดงในรูปที่ 1 ซึ่งแสดงก้อนของไหลเกิดการเคลื่อนที่ทำให้ก้อนของไหลมีการเสียรูปเชิงเส้น เช่น การยืดดึง และการเสียรูปเชิงมุม เช่น การบิดเบี้ยวไปพร้อม ๆ กัน โดยก้อนของไหลที่เวลา t_0 ยังไม่มีการเปลี่ยนแปลงรูปร่าง ในขณะที่ก้อนของไหลเดิมที่เวลา $t_0 + \Delta t$ เกิดการเปลี่ยนแปลงรูปร่างไปจากเดิม (Lai et al., 2010) บทความนี้จะไม่รวมถึงกฎการอนุรักษ์ที่ใช้ในฟิสิกส์สมัยใหม่ (modern physics) ที่สามารถใช้งานได้ตั้งแต่ในระดับอนุภาคมูลฐานที่มีขนาดเล็ก เช่น อะตอม นิวตรอน อิเล็กตรอน และอนุภาคฮิกส์ (Higgs) ซึ่งเป็นการพิสูจน์กฎการอนุรักษ์เฉพาะจุด

(local gauge conservative law) (Anco & Bluman, 2002; Kosmann-Schwarzbach, 2011) จนถึงระดับก่อนของไหลในกลศาสตร์ของไหล (traditional fluid mechanics)



รูปที่ 1. แสดงก่อนของไหลเกิดการเสียรูปเชิงเส้น เช่น การยืดดึง และการเสียรูปเชิงมุม เช่น การบิดเบี้ยวไปพร้อม ๆ กัน โดยก่อนของไหลที่เวลา t_0 ยังไม่มีการเปลี่ยนแปลงรูปร่าง ในขณะที่ก่อนของไหลเดิมที่เวลา $t_0 + \Delta t$ เกิดการเปลี่ยนแปลงรูปร่างไปจากเดิม

การประยุกต์ใช้กฎการอนุรักษ์มวล โมเมนตัม และพลังงานในเชิงวิศวกรรมอย่างหลากหลายขึ้นอยู่กับรูปแบบการไหล (type of flow) ว่าเป็นการไหลแบบราบเรียบ (laminar) หรือเป็นการไหลแบบปั่นป่วน (turbulent) และรูปทรงของช่องทางไหล (flow channel) ถ้ารูปทรงของช่องทางไหลเป็นรูปเรขาคณิตง่าย ๆ เช่น ทรงกระบอก (cylinder) ทรงเหลี่ยม (slit) เราสามารถเลือกใช้สมการควบคุม (governing equations) ในระบบแกนพื้นฐานทั่วไป (Bird et al., 1960; Bird et al., 2002) เช่น ระบบแกนพิกัดฉาก (Cartesian coordinates) ระบบแกนทรงกระบอก (cylindrical coordinates) และระบบแกนทรงกลม (spherical coordinates) หรือในระบบแกนพิกัดอื่น ๆ (Moon & Spencer, 1988) เช่น eccentric cylindrical (Gilbert et al., 2017) หรือ bispherical (Gilbert & Giacomini, 2019) โดยในการไหลแบบราบเรียบเราสามารถใช้อนุกรมการไหลแบบคลาน (stoke flows) เพื่อลดรูปสมการควบคุมและสามารถหาคำตอบแม่นยำตรง (exact solutions) หรือคำตอบประมาณค่า (approximate solutions) ได้ แต่การประยุกต์ใช้งานทางวิศวกรรมโดยทั่วไปแล้วช่องทางไหลจะมีรูปทรงที่ซับซ้อน เช่น การไหลของพอลิเมอร์หลอมเหลวในแม่พิมพ์ฉีดพลาสติกหรือยาง (plastics or rubber injection molding) เพื่อผลิตชิ้นส่วนยานยนต์และอิเล็กทรอนิกส์ ซึ่งต้องวิเคราะห์สมการควบคุมเหล่านั้นด้วยการคำนวณเชิงตัวเลข (numerical methods) เป็นต้น

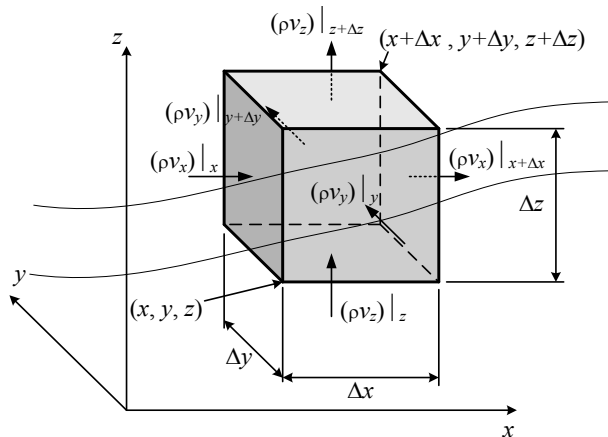
การแก้สมการอนุกรมมวล โมเมนตัม และพลังงานร่วมกับค่าขอบของปัญหา (boundary conditions) เพื่อหาคำตอบสามารถทำได้เมื่อใช้ร่วมกับการตั้งสมมุติฐานในเชิงวิศวกรรมเพื่อหาคำตอบแม่นยำตรง (exact solutions) ซึ่งเป็นคำตอบเชิงวิเคราะห์ (analytical solutions) และคำตอบประมาณค่า (approximate solutions) ซึ่งอาจจะแสดงอยู่ในรูปคำตอบเชิงวิเคราะห์ หรือคำตอบเชิงตัวเลข (numerical methods) ก็ได้ ปัจจุบันการการแก้สมการควบคุม (governing equations) ให้อยู่ในรูปสมการคำตอบที่เป็นฟังก์ชันเชิงเส้นหรือไม่เป็นเชิงเส้นซึ่งเป็นการแก้สมการแบบในรูปของตัวแปร (symbolic solvers) เราสามารถใช้โปรแกรมคอมพิวเตอร์ เช่น Maple และ Mathematica ช่วยแก้สมการได้เป็นอย่างดี ในขณะที่เราสามารถใช้อุปกรณ์คอมพิวเตอร์ช่วยในการคำนวณเชิงตัวเลขเพื่อหาคำตอบของระบบได้ด้วยโปรแกรมคำนวณเชิงตัวเลขสำเร็จรูปที่ใช้ในงานวิศวกรรมพอลิเมอร์หลอมเหลว เช่น PolyFlow หรือ OpenFoam ใช้ในการคำนวณเชิงตัวเลขสำหรับการไหลภายใน (internal flow) หรือใช้โปรแกรม Moldex หรือ Moldflow สำหรับการไหลเข้าแม่พิมพ์ฉีดพลาสติก เป็นต้น สำหรับโปรแกรมที่ประยุกต์ใช้สมการอนุกรมมวล โมเมนตัม และพลังงานในการแก้ปัญหาทางวิศวกรรมของไหลอื่น ๆ ยังมีอีกมากมายแต่จะไม่กล่าวถึงในที่นี้

บทความนี้ต้องการที่จะนำเสนอมุมมองทางด้านวิทยาศาสตร์กายภาพ (physical perspective interpretation) ของสมการการอนุกรมที่นำมาประยุกต์ใช้ในเชิงวิศวกรรมเพื่อนำไปใช้ในการหาคำตอบเชิงวิเคราะห์ (analytical solutions) เช่น คำตอบแม่นยำตรง (exact solutions) และคำตอบประมาณค่า (approximate solutions) ไม่ได้มีวัตถุประสงค์ที่จะวิพากษ์หรือค้นหาทฤษฎีใหม่ด้วยมุมมองทางด้านคณิตศาสตร์ (Ertel & Rossby, 1949; Naz et al., 2008; Cheviakov & Jean, 2015) และถึงแม้ว่าความสามารถของคอมพิวเตอร์ในปัจจุบันทำให้การหาคำตอบเชิงตัวเลข (numerical solutions) มีความสำคัญเพิ่มมากขึ้นและมีการนำไปใช้อย่างแพร่หลาย แต่ความเข้าใจในสมการการอนุกรมก็ยังเป็นหัวใจสำคัญในการตีความหมายของคำตอบที่ได้จากการคำนวณไม่ว่าจะเป็นคำตอบเชิงวิเคราะห์หรือการหาคำตอบเชิงตัวเลข

กฎอนุกรมมวล

ถ้าพิจารณาก้อนของไหล (fluid element) มวล M ไหลในระบบ (system) จากวิธีการแบบลากรางจ์ (Lagrangian approach) จะพบว่ามวลในระบบจะไม่เปลี่ยนแปลงไปตามกาลเวลา (มวลคงที่ทุกขณะ) ซึ่งเป็นหลักการของการอนุกรมมวลแต่อย่างไรก็ตามสมการอนุกรมมวล (conservation of mass) ที่เขียนอยู่ในรูปอนุพันธ์สามารถอธิบายได้ง่ายกว่าด้วยวิธีการแบบออยเลอร์ (Euler approach) โดยการใช้ปริมาตรควบคุม (control volume) แล้วใช้วิธีหาคปริมาตรควบคุมให้เล็กลงจนเป็นจุดด้วยการพิจารณาก้อนของไหลในปริมาตรควบคุมขนาดเล็ก ๆ $\Delta x \Delta y \Delta z$ ที่มีหัวมุมหนึ่งอยู่ที่ตำแหน่ง $P_1(x, y, z)$ ใด ๆ บนระบบแกนที่หยุดนิ่ง (inertia frame) การเคลื่อนที่ของ ๆ ไหลในแนวแกน x พามวลไหลเข้าปริมาตรควบคุมขนาดเล็ก ๆ $\Delta x \Delta y \Delta z$ ผ่านระนาบที่มีหัวมุมหนึ่งอยู่ที่ตำแหน่ง $P_1(x, y, z)$ ด้วยอัตราไหลของมวล $(\rho v_x)|_x \Delta y \Delta z$ และไหลออกปริมาตรควบคุมขนาดเล็ก ๆ

$\Delta x \Delta y \Delta z$ ผ่านระนาบที่มีอีกหัวมุมหนึ่งอยู่ที่ตำแหน่ง $P_2(x + \Delta x, y + \Delta y, z + \Delta z)$ ด้วยอัตราไหลของมวล $(\rho v_x)|_{x+\Delta x} \Delta y \Delta z$ ดังรูปที่ 2



รูปที่ 2. แสดงก้อนของไหลในปริมาตรควบคุมขนาดเล็ก ๆ $\Delta x \Delta y \Delta z$ ที่มีหัวมุมหนึ่งอยู่ที่ตำแหน่ง $P_1(x, y, z)$ ใด ๆ บนระบบแกนที่หยุดนิ่ง (inertia frame) การเคลื่อนที่ของของไหลในแนวแกน x พามวล M ไหลเข้าปริมาตรควบคุมขนาดเล็ก ๆ $\Delta x \Delta y \Delta z$ ผ่านระนาบที่มีหัวมุมหนึ่งอยู่ที่ตำแหน่ง $P_1(x, y, z)$

ในทำนองเดียวกันการเคลื่อนที่ของ ๆ ไหลในแนวแกน y พามวลไหลเข้าปริมาตรควบคุมขนาดเล็ก ๆ $\Delta x \Delta y \Delta z$ ผ่านระนาบที่มีหัวมุมหนึ่งอยู่ที่ตำแหน่ง $P_1(x, y, z)$ ด้วยอัตราไหลของมวล $(\rho v_y)|_y \Delta x \Delta z$ และไหลออกปริมาตรควบคุมขนาดเล็ก ๆ $\Delta x \Delta y \Delta z$ ผ่านระนาบที่มีอีกหัวมุมหนึ่งอยู่ที่ตำแหน่ง $P_2(x + \Delta x, y + \Delta y, z + \Delta z)$ ด้วยอัตราไหลของมวล $(\rho v_y)|_{y+\Delta y} \Delta x \Delta z$ และการเคลื่อนที่ของ ๆ ไหลในแนวแกน z พามวลไหลเข้าปริมาตรควบคุมขนาดเล็ก ๆ $\Delta x \Delta y \Delta z$ ผ่านระนาบที่มีหัวมุมหนึ่งอยู่ที่ตำแหน่ง $P_1(x, y, z)$ ด้วยอัตราไหลของมวล $(\rho v_z)|_z \Delta x \Delta y$ และไหลออกปริมาตรควบคุมขนาดเล็ก ๆ $\Delta x \Delta y \Delta z$ ผ่านระนาบที่มีอีกหัวมุมหนึ่งอยู่ที่ตำแหน่ง $P_2(x + \Delta x, y + \Delta y, z + \Delta z)$ ด้วยอัตราไหลของมวล $(\rho v_z)|_{z+\Delta z} \Delta x \Delta y$ จากกฎการอนุรักษ์มวล ที่กล่าวว่าอัตราการเปลี่ยนแปลงของมวลในปริมาตรควบคุมมีค่าเท่ากับอัตราของมวลที่ไหลเข้าปริมาตรควบคุมลบด้วยอัตราของมวลที่ไหลออกจากปริมาตรควบคุม ดังนั้น

$$\begin{aligned} \frac{\partial}{\partial t}(\rho \Delta x \Delta y \Delta z) = & (\rho v_x|_x - \rho v_x|_{x+\Delta x}) \Delta y \Delta z \\ & + (\rho v_y|_y - \rho v_y|_{y+\Delta y}) \Delta x \Delta z + (\rho v_z|_z - \rho v_z|_{z+\Delta z}) \Delta x \Delta y \end{aligned} \quad (1)$$

หารตลอดด้วย $\Delta x \Delta y \Delta z$ แล้วใส่ลิมิตให้ปริมาตรควบคุมเล็กลงจนเข้าใกล้ศูนย์

$$\lim_{\Delta t \rightarrow 0} \left\{ \frac{\partial \rho}{\partial t} = - \frac{\rho v_x|_{x+\Delta x} - \rho v_x|_x}{\Delta x} - \frac{\rho v_y|_{y+\Delta y} - \rho v_y|_y}{\Delta y} - \frac{\rho v_z|_{z+\Delta z} - \rho v_z|_z}{\Delta z} \right\} \quad (2)$$

จะได้รูปสมการอนุพันธ์ทั่วไปของกฎการอนุรักษ์มวลหรือสมการความต่อเนื่อง (mass conservation or continuity equation)

$$\frac{\partial \rho}{\partial t} + \frac{\partial(\rho v_x)}{\partial x} + \frac{\partial(\rho v_y)}{\partial y} + \frac{\partial(\rho v_z)}{\partial z} = 0 \quad (3)$$

สมการที่ (3) เขียนในรูปสมการเวกเตอร์จะได้

$$\frac{\partial \rho}{\partial t} + \bar{\nabla} \cdot \rho \bar{v} = 0 \quad (4)$$

เมื่อเวกเตอร์ความเร็วของของไหล

$$\bar{v} = v_x \bar{\delta}_x + v_y \bar{\delta}_y + v_z \bar{\delta}_z \quad (5)$$

โดย $\bar{\delta}_x$, $\bar{\delta}_y$ และ $\bar{\delta}_z$ เป็นเวกเตอร์หนึ่งหน่วยที่มีทิศทางไปในแนว x , y และ z ตามลำดับ และเวกเตอร์เกรเดียนต์ในระบบแกนพิกัดฉากคือ

$$\bar{\nabla} = \bar{\delta}_x \frac{\partial}{\partial x} + \bar{\delta}_y \frac{\partial}{\partial y} + \bar{\delta}_z \frac{\partial}{\partial z} \quad (6)$$

เวกเตอร์ความเร็วและเวกเตอร์เกรเดียนต์ในระบบแกนอื่น ๆ สามารถหาได้จากหัวข้อ 3.1 ในเอกสาร Bird et al., 1960 และ Bird et al., 2002 ในที่นี้จะแสดงการลดรูปเฉพาะในระบบแกนพิกัดฉากเท่านั้นซึ่งจากสมการ (4) ถ้าเป็นการไหลคงตัวของของไหล (steady flow of compressible or incompressible fluids) สมการ (4) จะลดรูปเป็น

$$\bar{\nabla} \cdot \rho \bar{v} = 0 \quad (7)$$

นั่นคือ

$$\frac{\partial(\rho v_x)}{\partial x} + \frac{\partial(\rho v_y)}{\partial y} + \frac{\partial(\rho v_z)}{\partial z} = 0 \quad (8)$$

แต่ถ้าเป็นการไหลของของไหลแบบอัดตัวไม่ได้ (steady or unsteady flow of incompressible fluid) สมการ (4) จะลดรูปเป็น

$$\bar{\nabla} \cdot \bar{v} = 0 \quad (9)$$

นั่นคือ

$$\frac{\partial v_x}{\partial x} + \frac{\partial v_y}{\partial y} + \frac{\partial v_z}{\partial z} = 0 \quad (10)$$

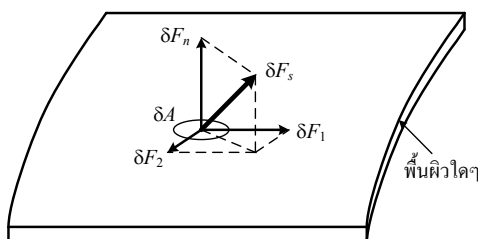
สมการอนุรักษ์มวลสำหรับการไหลแบบอัดตัวไม่ได้นี้จะแสดงถึงการเปลี่ยนแปลงรูปทรงในแนวแกนหนึ่งจะกระทบกับการเปลี่ยนรูปทรงในอีกสองแนวแกนเนื่องจากปริมาตรของก้อนวัตถุจะต้องเท่าเดิมตลอดเวลา หรือเรียกอีกอย่างหนึ่งว่าอัตราการเปลี่ยนแปลงปริมาตรต่อหนึ่งหน่วยปริมาตรคงที่ (volumetric dilatation rate) สำหรับของไหลที่อัดตัวไม่ได้นั่นเอง

กฎอนุรักษ์โมเมนตัม

กฎการอนุรักษ์โมเมนตัมมีที่มาจากกฎการเคลื่อนที่ของนิวตัน (Newton's law of motion) ที่เรารู้จัก ในที่นี้จะกล่าวถึงกฎข้อที่ 2 ของนิวตันที่กล่าวว่าผลรวมของแรงเกิดจากมวลคูณกับความเร่งของวัตถุ ซึ่งจะเป็นที่มาของสมการอนุรักษ์โมเมนตัมในที่สุด โดยก่อนที่จะทราบที่มาที่ไปของสมการอนุรักษ์โมเมนตัม เราจะต้องทำความรู้จักกับวิธีกำหนดแรงบนพื้นผิว และจะต้องรู้จักกับแรงกระทำกับวัตถุหรือกลุ่มอนุภาคของไหล (fluid particle) ซึ่งแบ่งออกเป็นแรงภายใน และแรงภายนอกด้วย

วิธีกำหนดแรงบนพื้นผิว

พิจารณาแรงขนาด δF_s ที่กระทำบนพื้นผิว δA ใด ๆ ออกสู่ภายนอก แรง δF_s สามารถแตกออกเป็นแรงที่ตั้งฉากกับพื้นผิว δA ได้ 1 แรงคือ δF_n และแตกออกเป็นแรงที่ขนานกับพื้นผิว δA ได้อีก 2 แรงคือ δF_1 และ δF_2 ดังรูปที่ 3 (ดูหัวข้อ 6.3 ใน Munson et al., 2002)



รูปที่ 3. แสดงแรงขนาด δF_s ที่กระทำบนพื้นผิว δA ใด ๆ ออกสู่ภายนอก แรง δF_s สามารถแตกออกเป็นแรงที่ตั้งฉากกับพื้นผิว δA ได้ 1 แรงคือ δF_n และแตกออกเป็นแรงที่ขนานกับพื้นผิว δA ได้อีก 2 แรงคือ δF_1 และ δF_2

ดังนั้นความเค้นตั้งฉาก (normal stress, π_n) คือ

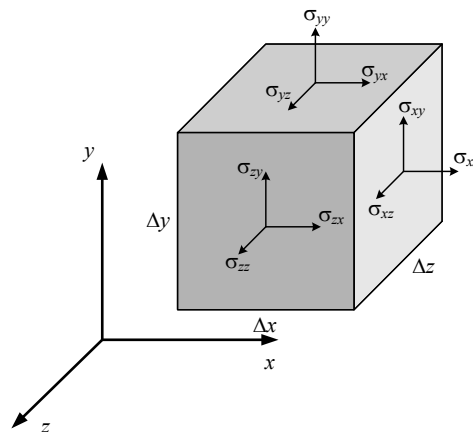
$$\pi_n = \lim_{\delta A \rightarrow 0} \frac{\delta F_n}{\delta A} = \frac{dF_n}{dA} \quad (11)$$

ความเค้นเฉือนในแนวแกนที่ 1 (shearing stresses in 1st direction, π_1) และความเค้นเฉือนในแนวแกนที่ 2 (shearing stresses in 2nd direction, π_2) คือ

$$\pi_1 = \lim_{\delta A \rightarrow 0} \frac{\delta F_1}{\delta A} = \frac{dF_1}{dA} \quad (12)$$

และ

$$\pi_2 = \lim_{\delta A \rightarrow 0} \frac{\delta F_2}{\delta A} = \frac{dF_2}{dA} \quad (13)$$



รูปที่ 4. แสดงความเค้นรวมทั้งเก้า (9) ที่ประกอบกันเป็นเทนเซอร์ความเค้นรวมในทิศทางที่เป็นบวก (+) ซึ่งอยู่บนหน้าตัดด้านบน ด้านขวา และด้านหน้า บนปริมาตรควบคุม ในทางกลับกันความเค้นที่อยู่บนหน้าตัดด้านล่าง ด้านซ้าย และด้านหลังของปริมาตรควบคุมจะมีค่าเป็นลบ (-)

ในการให้สัญลักษณ์ความเค้น (stress notation) นั้นตัวห้อยตัวแรกจะแสดงถึงระนาบที่มีทิศทางตั้งฉากกับตัวห้อยนั้น (ทิศทางของพื้นที่) ตัวห้อยตัวที่สองแสดงถึงทิศทางของความเค้นนั้น ๆ (ทิศทางของแรงที่กระทำบนพื้นที่นั้น ๆ) ยกตัวอย่าง เช่น σ_{xy} คือความเค้นบนระนาบที่ตั้งฉากกับแกน x และมีทิศทางพุ่งไปทางแกน y จากการใช้สัญลักษณ์ความเค้นในลักษณะนี้เราสามารถรวบรวมความเค้นในแต่ละแนวแกนมาเขียนให้อยู่ในรูปเทนเซอร์ความเค้นรวม (total stress tensor, $\underline{\underline{\sigma}}$) ได้ดังนี้

$$\underline{\underline{\sigma}} = \begin{pmatrix} \sigma_{xx} & \sigma_{xy} & \sigma_{xz} \\ \sigma_{yx} & \sigma_{yy} & \sigma_{yz} \\ \sigma_{zx} & \sigma_{zy} & \sigma_{zz} \end{pmatrix} \quad (14)$$

ในที่นี้แรงที่กระทำออกจากพื้นผิวมีค่าเป็นบวกทำให้ความเค้นดึงมีค่าเป็นบวก (+) และความเค้นกดมีค่าเป็นลบ (-) ไปด้วย และในทำนองเดียวกันแรงดันจะมีค่าน้อยกว่าศูนย์ หรือติดลบ (-) ดังแสดงในรูปที่ 4 ดังนั้นในที่นี้ $\underline{\underline{\sigma}}$ เป็น

เทนเซอร์ความเค้นรวมที่เกิดจากกลุ่มอนุภาคของไหลกระทำต่อของไหลภายนอกนั้นเอง ในขณะที่เทนเซอร์ความเค้นรวม (total stress tensor, $\underline{\pi}$) ที่เกิดจากแรงภายนอกกระทำต่อกลุ่มอนุภาคของไหลจะนิยามโดย

$$\underline{\pi} = \begin{pmatrix} \pi_{xx} & \pi_{yx} & \pi_{zx} \\ \pi_{xy} & \pi_{yy} & \pi_{zy} \\ \pi_{xz} & \pi_{yz} & \pi_{zz} \end{pmatrix} \quad (15)$$

เมื่อ $\underline{\pi} = -\underline{\sigma}^T$ ในที่นี้เราจะใช้เทนเซอร์ความเค้นรวม (total stress tensor, $\underline{\pi}$) ในสมการที่ (15) ในการคำนวณต่อไป (ดูหัวข้อ 3.2.1 ใน Morrison, 2001)

แรงภายนอกและแรงภายใน

ในที่นี้แทนวัตถุที่ถูกแรงกระทำเป็นกลุ่มอนุภาคของไหล (forces on the differential element) มี 2 ชนิด ได้แก่ (1) แรงภายนอกหรือแรงที่พื้นผิว (surface forces, $\vec{F}_s$) และ (2) แรงภายใน (body forces, $\vec{F}_b$) แรงภายนอกหรือแรงที่พื้นผิวคือแรงที่กระทำมาจากภายนอกโดยจะกระทำบนพื้นผิวของวัตถุ ซึ่งในที่นี้แทนด้วยกลุ่มอนุภาคของไหล เช่น แรงดัน แรงเฉือน และแรงดึง เป็นต้น ส่วนแรงภายในคือแรงที่เกิดขึ้นภายในกลุ่มอนุภาคของไหล ซึ่งจะกระจายตัวทั่วทั้งกลุ่มอนุภาคของไหล เช่น แรงจากน้ำหนักที่กดทับหรือแรงจากสนามแม่เหล็ก เป็นต้น ดังนั้นแรงที่เกิดขึ้นกับกลุ่มอนุภาคของไหลจะเป็นผลรวมของแรงภายในและแรงที่พื้นผิวนั้นเอง

$$\sum \vec{F} = \sum \vec{F}_b + \sum \vec{F}_s \quad (16)$$

พิจารณากลุ่มอนุภาคของไหลปริมาตรควบคุมขนาดเล็ก ๆ (infinitesimal fluid element) $\Delta x \Delta y \Delta z$ ที่มีหัวมุมหนึ่งอยู่ที่ตำแหน่ง $P_1(x, y, z)$ ในระบบแกนเฉื่อยที่หยุดนิ่ง (inertia frame) ในรูปที่ 5 โดยทั่วไปแล้วความเค้นจะเปลี่ยนแปลงไปตามกระแสน้ำของไหลของ ๆ เหลว ดังนั้นถ้าการไหลในแนวแกน x ของระบบก่อให้เกิดความเค้นตั้งฉาก $\pi_{xx}|_x$ บนพื้นที่ $\Delta y \Delta z$ อันเนื่องมาจากกลุ่มอนุภาคของไหลที่อยู่ติดกัน ในทำนองเดียวกันจะมีความเค้นเฉือน $\pi_{yx}|_y$ บนพื้นที่ $\Delta x \Delta z$ และความเค้นเฉือน $\pi_{zx}|_z$ บนพื้นที่ $\Delta x \Delta y$ ซึ่งเป็นระนาบที่ผ่านตำแหน่ง $P_1(x, y, z)$ และเกิดความเค้นตั้งฉาก $\pi_{xx}|_{x+\Delta x}$ บนพื้นที่ $\Delta y \Delta z$ ความเค้นเฉือน $\pi_{yx}|_{y+\Delta y}$ บนพื้นที่ $\Delta x \Delta z$ และความเค้นเฉือน $\pi_{zx}|_{z+\Delta z}$ บนพื้นที่ $\Delta x \Delta y$ ซึ่งเป็นระนาบที่ผ่านตำแหน่ง $P_2(x + \Delta x, y + \Delta y, z + \Delta z)$ โดยผลรวมของแรงที่เกิดจากความเค้นในทิศทาง x เกิดจากผลรวมของแรงตั้งฉากและแรงเฉือนโดยกำหนดให้แรงที่พุ่งไปในทิศทางบวก (+) ของเส้นจำนวนมีค่าเป็นบวก (+) และแรงที่พุ่งไปในทิศทางลบ (-) ของเส้นจำนวนมีค่าติดลบ (-) โดยแรงเฉือนสามารถหาได้ในทำนองคล้าย ๆ กันนี้ (ดูหน้า 2-7 ของ Bird et al., 1977 หรือดูหน้า 3-11 ของ Bird et al., 1987)

$$\Delta F_{x,s} = - \left(\pi_{xx}|_{x+\Delta x} - \pi_{xx}|_x \right) \Delta y \Delta z - \left(\pi_{yx}|_{y+\Delta y} - \pi_{yx}|_y \right) \Delta x \Delta z - \left(\pi_{zx}|_{z+\Delta z} - \pi_{zx}|_z \right) \Delta x \Delta y \quad (17)$$

หารตลอดสมการ (17) ด้วยปริมาตรของกลุ่มอนุภาคของไหล $\Delta V = \Delta x \Delta y \Delta z$ แล้วใส่ลิมิตให้ ΔV เล็กจนเข้าใกล้ศูนย์ดังนี้

$$\lim_{\Delta V \rightarrow 0} \left\{ \frac{\Delta F_{x,s}}{\Delta V} = - \frac{\pi_{xx}|_{x+\Delta x} - \pi_{xx}|_x}{\Delta x} - \frac{\pi_{yx}|_{y+\Delta y} - \pi_{yx}|_y}{\Delta y} - \frac{\pi_{zx}|_{z+\Delta z} - \pi_{zx}|_z}{\Delta z} \right\} \quad (18)$$

ดังนั้นตามนิยามของการอนุพันธ์สมการที่ (18) ผลรวมของแรงที่เกิดจากความเค้นในทิศทาง x เขียนได้ดังนี้

$$\sum \delta F_{x,s} = \frac{dF_{x,s}}{dV} = - \left(\frac{\partial \pi_{xx}}{\partial x} + \frac{\partial \pi_{yx}}{\partial y} + \frac{\partial \pi_{zx}}{\partial z} \right) \quad (19)$$

ในทำนองเดียวกันแรงที่เกิดจากความเค้นในทิศทาง y เกิดจากการไหลในแนวแกน y ของระบบก่อให้เกิดความเค้นเฉือน $\pi_{xy}|_x$ บนพื้นที่ $\Delta y \Delta z$ ความเค้นตั้งฉาก $\pi_{yy}|_y$ บนพื้นที่ $\Delta x \Delta z$ และความเค้นเฉือน $\pi_{zy}|_z$ บนพื้นที่ $\Delta x \Delta y$ ซึ่งเป็นระนาบที่ผ่านตำแหน่ง $P_1(x, y, z)$ และเกิดความเค้นเฉือน $\pi_{xy}|_{x+\Delta x}$ บนพื้นที่ $\Delta y \Delta z$ ความเค้นตั้งฉาก $\pi_{yy}|_{y+\Delta y}$ บนพื้นที่ $\Delta x \Delta z$ และความเค้นเฉือน $\pi_{zy}|_{z+\Delta z}$ บนพื้นที่ $\Delta x \Delta y$ ซึ่งเป็นระนาบที่ผ่านตำแหน่ง $P_2(x + \Delta x, y + \Delta y, z + \Delta z)$ ผลรวมของแรงที่เกิดจากความเค้นในทิศทาง y คือ

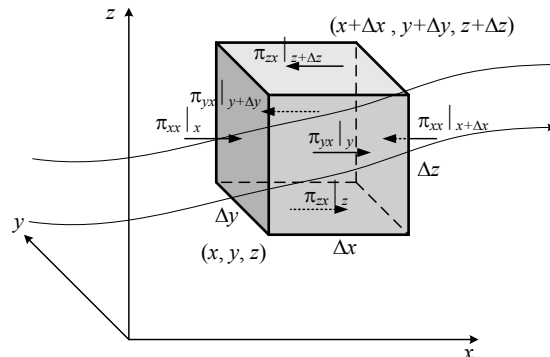
$$\sum \delta F_{y,s} = \frac{dF_{y,s}}{dV} = - \left(\frac{\partial \pi_{xy}}{\partial x} + \frac{\partial \pi_{yy}}{\partial y} + \frac{\partial \pi_{zy}}{\partial z} \right) \quad (20)$$

และแรงที่เกิดจากความเค้นในทิศทาง z เกิดจากการไหลในแนวแกน z ของระบบก่อให้เกิดความเค้นเฉือน $\pi_{xz}|_x$ บนพื้นที่ $\Delta y \Delta z$ ความเค้นเฉือน $\pi_{yz}|_y$ บนพื้นที่ $\Delta x \Delta z$ และความเค้นตั้งฉาก $\pi_{zz}|_z$ บนพื้นที่ $\Delta x \Delta y$ ซึ่งเป็นระนาบที่ผ่านตำแหน่ง $P_1(x, y, z)$ และเกิดความเค้นเฉือน $\pi_{xz}|_{x+\Delta x}$ บนพื้นที่ $\Delta y \Delta z$ ความเค้นเฉือน $\pi_{yz}|_{y+\Delta y}$ บนพื้นที่ $\Delta x \Delta z$ และความเค้นตั้งฉาก $\pi_{zz}|_{z+\Delta z}$ บนพื้นที่ $\Delta x \Delta y$ ซึ่งเป็นระนาบที่ผ่านตำแหน่ง $P_2(x + \Delta x, y + \Delta y, z + \Delta z)$ ผลรวมของแรงที่เกิดจากความเค้นในทิศทาง z คือ

$$\sum \delta F_{z,s} = \frac{dF_{z,s}}{dV} = - \left(\frac{\partial \pi_{xz}}{\partial x} + \frac{\partial \pi_{yz}}{\partial y} + \frac{\partial \pi_{zz}}{\partial z} \right) \quad (21)$$

โดยมีเวกเตอร์ผลรวมแรงบนพื้นผิวของปริมาตรควบคุมต่อหน่วยปริมาตรคือ

$$\sum \delta \vec{F}_s = \sum \delta F_{x,s} \vec{\delta}_x + \sum \delta F_{y,s} \vec{\delta}_y + \sum \delta F_{z,s} \vec{\delta}_z \quad (22)$$



รูปที่ 5. แสดงกลุ่มอนุภาคของไหลในปริมาตรควบคุมขนาดเล็ก ๆ $\Delta x \Delta y \Delta z$ ที่มีหัวมุมหนึ่งอยู่ที่ตำแหน่ง $P_1(x, y, z)$ ใด ๆ บนระบบแกนที่หยุดนิ่ง (inertia frame) ที่มีความเค้นตึงจากและความเค้นเฉือนบนพื้นผิวปริมาตรควบคุมที่เกิดจากโดยการไหลในแนวแกน x , y , และ z

ในที่นี้แรงภายใน $\vec{F}_b$ ที่เราสนใจคือน้ำหนักของกลุ่มอนุภาคของไหลนั่นเอง พิจารณากลุ่มอนุภาคของไหลปริมาตรควบคุมขนาดเล็ก ๆ $\Delta x \Delta y \Delta z$ อยู่ในสนามแรงโน้มถ่วง $\vec{g}$ ดังรูปที่ 6 ดังนั้นผลรวมของแรงภายใน $\vec{F}_b$ ที่เกิดจากน้ำหนักของกลุ่มอนุภาคของไหลคือ (ดูหัวข้อ 6-3 และ 9-6 ใน Cengel & Cimbala, 2006)

$$\sum \vec{F}_b = \vec{F}_{gravity} = \delta m \vec{g} \quad (23)$$

โดย $\vec{g}$ คือเวกเตอร์แรงโน้มถ่วง (gravity vector) โดย

$$\vec{g} = g_x \vec{\delta}_x + g_y \vec{\delta}_y + g_z \vec{\delta}_z \quad (24)$$

และมวลของกลุ่มอนุภาคของไหลคือผลคูณของความหนาแน่นและปริมาตรของกลุ่มอนุภาคของไหล

$$\delta m = \rho \Delta x \Delta y \Delta z \quad (25)$$

ดังนั้นเราสามารถเขียนแรงภายใน $\vec{F}_b$ ในแต่ละแนวแกนได้ดังนี้

$$\sum F_{x,b} = g_x \rho \Delta x \Delta y \Delta z \quad (26)$$

$$\sum F_{y,b} = g_y \rho \Delta x \Delta y \Delta z \quad (27)$$

$$\sum F_{z,b} = g_z \rho \Delta x \Delta y \Delta z \quad (28)$$

หารตลอดสมการที่ (26) – (28) ด้วย $\Delta x \Delta y \Delta z$ จะได้

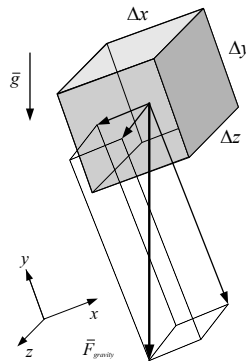
$$\sum \delta F_{x,b} = g_x \rho \quad (29)$$

$$\sum \delta F_{y,b} = g_y \rho \quad (30)$$

$$\sum \delta F_{z,b} = g_z \rho \quad (31)$$

และมีเวกเตอร์ผลรวมของแรงภายในรวมต่อหน่วยปริมาตรที่เขียนในแกน x , y และ z คือ

$$\sum \delta \vec{F}_b = \sum \delta F_{x,b} \vec{\delta}_x + \sum \delta F_{y,b} \vec{\delta}_y + \sum \delta F_{z,b} \vec{\delta}_z \quad (32)$$



รูปที่ 6. กลุ่มอนุภาคของไหลปริมาตรควบคุมขนาดเล็ก ๆ $\Delta x \Delta y \Delta z$ อยู่ในสนามแรงโน้มถ่วง $\vec{g}$

สมการอนุรักษ์โมเมนตัมเชิงเส้น

ในการสังเกตการเคลื่อนที่ของกลุ่มอนุภาคของไหลแบบลากรางจ์ (Lagrangian approach) เราใช้กฎข้อที่ 2 ของนิวตันที่ว่าผลรวมของแรง $\sum \vec{F}$ ที่กระทำกับปริมาตรควบคุมของกลุ่มอนุภาคของไหลที่มีมวล δm ให้เคลื่อนที่ ณ ช่วงเวลา t_0 ใด ๆ จะแปรผันตรงกับความเร่ง

$$\sum \vec{F} = \frac{D}{Dt}(\delta m \vec{v}) \quad (33)$$

เมื่อโอเปอเรเตอร์อนุพันธ์รวม (total or material derivative) นิยามโดย

$$\frac{D(\cdot)}{Dt} = \frac{\partial(\cdot)}{\partial t} + \{\vec{v} \cdot \vec{\nabla}\}(\cdot) \quad (34)$$

เมื่อ $\vec{v}$ คือความเร็วของของไหลแสดงในสมการที่ (5) และ $\vec{\nabla}$ คือเวกเตอร์เกรเดียนต์แสดงในสมการที่ (6) สมการที่ (33) มีความหมายว่าผลรวมของแรง $\sum \vec{F}$ ที่กระทำกับปริมาตรควบคุมของกลุ่มอนุภาคของไหลที่มีมวล δm มีค่าเท่ากับอัตราการเปลี่ยนแปลงโมเมนตัมหรือการเปลี่ยนแปลงโมเมนตัมจะก่อให้เกิดแรงนั้นคือสมการอนุรักษ์โมเมนตัม (conservation of linear momentum) นั่นเอง ถ้าโดยปริมาตรควบคุมของกลุ่มอนุภาคของไหลมีปริมาตร $\Delta V = \Delta x \Delta y \Delta z$ และมีความหนาแน่น ρ ดังนั้น

$$\sum \vec{F} = \frac{D}{Dt}(\rho \Delta x \Delta y \Delta z \vec{v}) \quad (35)$$

หารตลอดด้วยปริมาตรของกลุ่มอนุภาคของไหล $\Delta V = \Delta x \Delta y \Delta z$ จะได้ผลรวมของแรงต่อหน่วยปริมาตร $\sum \delta \vec{F}$

$$\frac{D}{Dt}(\rho \vec{v}) = \sum \delta \vec{F} \quad (36)$$

โดยผลรวมของแรงต่อหน่วยปริมาตรที่กระทำบนปริมาตรควบคุมจะเท่ากับผลรวมของแรงที่พื้นผิวต่อหน่วยปริมาตรรวมกับผลรวมของแรงภายในต่อหน่วยปริมาตรนั้นคือ

$$\sum \delta \vec{F} = \sum \delta \vec{F}_b + \sum \delta \vec{F}_s \quad (37)$$

โดยผลรวมของแรงที่พื้นผิวต่อหน่วยปริมาตร $\sum \delta \vec{F}_s$ แสดงในสมการที่ (22) และผลรวมของแรงภายในต่อหน่วยปริมาตร $\sum \delta \vec{F}_b$ แสดงในสมการที่ (32) แทนค่าเวกเตอร์ความเร็วในสมการที่ (5) และแทนค่าเวกเตอร์ผลรวมของแรงจากสมการที่ (37) ลงในสมการที่ (36) จะได้สมการอนุรักษ์โมเมนตัมเชิงเส้น (conservation of linear momentum or Cauchy's equation) ในแนว x , y และ z ดังนี้

$$\frac{D}{Dt}(\rho v_x) = g_x \rho - \left(\frac{\partial \pi_{xx}}{\partial x} + \frac{\partial \pi_{yx}}{\partial y} + \frac{\partial \pi_{zx}}{\partial z} \right) \quad (38)$$

$$\frac{D}{Dt}(\rho v_y) = g_y \rho - \left(\frac{\partial \pi_{xy}}{\partial x} + \frac{\partial \pi_{yy}}{\partial y} + \frac{\partial \pi_{zy}}{\partial z} \right) \quad (39)$$

$$\frac{D}{Dt}(\rho v_z) = g_z \rho - \left(\frac{\partial \pi_{xz}}{\partial x} + \frac{\partial \pi_{yz}}{\partial y} + \frac{\partial \pi_{zz}}{\partial z} \right) \quad (40)$$

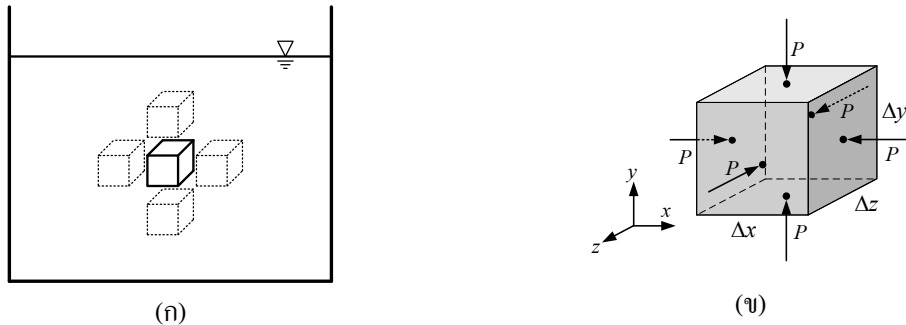
สมการที่ (38) – (40) เป็นสมการอนุรักษ์โมเมนตัมเชิงเส้นที่แสดงในแนวแกน x , y และ z หรือเรียกชื่อตามผู้ที่คิดค้นขึ้นมาคือสมการของคาวชี (Cauchy's equation) สมการของคาวชีนี้มีตัวแปรอยู่ทั้งหมด 12 ตัว นั่นคือความเค้นทั้ง 9 ตัวรวมกับความเร็วในแนวแกน x , y และ z อีก 3 ตัว (v_x, v_y, v_z) แต่สมการอนุรักษ์โมเมนตัมเชิงเส้นมีอยู่แค่ 3 สมการเมื่อรวมกับสมการอนุรักษ์มวลอีก 1 สมการก็ยังไม่สามารถแก้สมการได้

สมการการเคลื่อนที่

ในบทก่อนหน้านี้สมการของคาวชีซึ่งไม่สามารถใช้แก้สมการได้เราจึงจะต้องลดทอนตัวแปรลงให้เหลือแค่ 4 ตัว ซึ่งเราจะเรียกว่าสมการการเคลื่อนที่ (the equation of motion) แต่ก่อนอื่นให้พิจารณาของไหลในบ่อที่ไม่มีการเคลื่อนที่ (fluid at rest) ดังนั้นกลุ่มอนุภาคของไหลจะไม่มีมีความเค้นเฉือนแต่ยังคงมีแรงดันของของไหลในทุกทิศทางที่เกิดจากแรงภายนอกดังรูปที่ 7 โดยแรงดันเหล่านี้เกิดจากน้ำหนักของของเหลวที่ทับถมลงมานั่นเอง ดังนั้นเทนเซอร์ความเค้นรวม (total stress tensor, $\underline{\underline{\pi}}$) สำหรับของไหลไม่มีการเคลื่อนที่ (fluid at rest) จะมีแต่ความเค้นตั้งฉากที่พุ่งเข้าหาปริมาตรควบคุมทุกทิศทางและมีค่าเท่ากับความดัน P

$$\underline{\underline{\pi}} = \begin{pmatrix} \pi_{xx} & \pi_{xy} & \pi_{xz} \\ \pi_{yx} & \pi_{yy} & \pi_{yz} \\ \pi_{zx} & \pi_{zy} & \pi_{zz} \end{pmatrix} = \begin{pmatrix} P & 0 & 0 \\ 0 & P & 0 \\ 0 & 0 & P \end{pmatrix} \quad (41)$$

ดังนั้นค่าเฉลี่ยของความดันสามารถหาได้จากผลรวมของความเค้นตั้งฉากในขณะหนึ่งของไหลหยุดนิ่งนั่นคือ

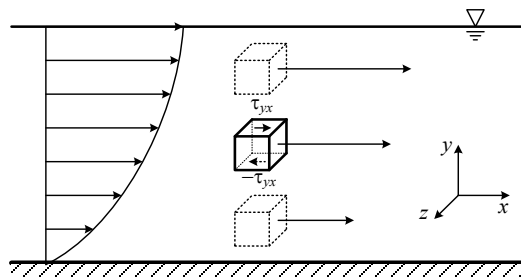


รูปที่ 7. (ก) แสดงของไหลในบ่อที่ไม่มีการเคลื่อนที่ (fluid at rest) และ (ข) ความเค้นตั้งฉากที่พุ่งเข้าหาปริมาตรควบคุมทุกทิศทุกทางและมีค่าเท่ากับความดัน P

$$P = \frac{1}{3}(\pi_{xx} + \pi_{yy} + \pi_{zz}) \quad (42)$$

แต่ถ้าของไหลมีการเคลื่อนที่ (moving fluid) นอกจากกลุ่มของไหลจะถูกกระทำโดยความเค้นเฉือนดังแสดงในรูปที่ 8 แล้วยังมีแรงดันของของไหลในทุกทิศทุกทางอีกด้วย ดังนั้นเทนเซอร์ความเค้นรวม (total stress tensor, $\underline{\underline{\pi}}$) สำหรับของไหลมีการเคลื่อนที่ (moving fluid) จะมีทั้งความเค้นตั้งฉาก (จากแรงดัน) และความเค้นที่เกิดขึ้นขณะกลุ่มอนุภาคของไหลเคลื่อนที่ (จากแรงเสียดทานหรือโมเมนตัม) นั่นคือ

$$\underline{\underline{\pi}} = \begin{pmatrix} \pi_{xx} & \pi_{xy} & \pi_{xz} \\ \pi_{yx} & \pi_{yy} & \pi_{yz} \\ \pi_{zx} & \pi_{zy} & \pi_{zz} \end{pmatrix} = \begin{pmatrix} P & 0 & 0 \\ 0 & P & 0 \\ 0 & 0 & P \end{pmatrix} + \begin{pmatrix} \tau_{xx} & \tau_{xy} & \tau_{xz} \\ \tau_{yx} & \tau_{yy} & \tau_{yz} \\ \tau_{zx} & \tau_{zy} & \tau_{zz} \end{pmatrix} \quad (43)$$



รูปที่ 8. แสดงตัวอย่างของไหลที่มีการเคลื่อนที่ (moving fluid) โดยในที่นี้กลุ่มอนุภาคของไหลจะมีความเค้นเฉือน τ_{yx} ที่พื้นผิวด้านบนเนื่องจากกลุ่มอนุภาคของไหลข้างบน ซึ่งมีความเร็วที่สูงกว่าในทางกลับกันที่พื้นผิวด้านล่าง กลุ่มอนุภาคของไหลจะมีความเค้นเฉือน $-\tau_{yx}$ จากกลุ่มอนุภาคของไหลข้างล่างที่มีความเร็วที่ช้ากว่า

เราเรียกเทอมที่ 2 ทางขวามือของสมการที่ (43) ว่าเทนเซอร์ความเค้นเฉียดทาน หรือเทนเซอร์ความเค้นเฉือน หรือเทนเซอร์โมเมนตัมฟลักซ์ (viscous stress tensor or deviatoric stress tensor or momentum flux tensor, $\underline{\tau}$) โดยความเค้นเฉียดทานเนื่องจากการเคลื่อนที่จะประกอบไปด้วยความเค้นดัดจาก 3 ตัวในแนวทแยงมุม และความเค้นเฉือนอีก 6 ตัวที่เหลือ โดยความเค้นดัดจากทั้ง 3 ตัวนี้อาจจะเกิดจากการที่กลุ่มอนุภาคของไหลข้าง ๆ ปริมาตรควบคุมบีบหรือดึงก็ได้ และความเค้นเฉือนทั้ง 6 ตัวอาจจะเกิดจากการที่กลุ่มอนุภาคของไหลข้าง ๆ ปริมาตรควบคุมเฉียดสีในแนวต่าง ๆ กัน ดังนั้นเราสามารถเขียนสมการ (43) ด้วยสัญลักษณ์เทนเซอร์ได้ดังนี้ (ดูตาราง 1.2.2 ใน Bird et al., 2015)

$$\underline{\pi} = P\underline{\delta} + \underline{\tau} \quad (44)$$

โดยเทนเซอร์เอกลักษณ์ $\underline{\delta}$ นิยามโดย

$$\underline{\delta} = \begin{pmatrix} 1 & 0 & 0 \\ 0 & 1 & 0 \\ 0 & 0 & 1 \end{pmatrix} \quad (45)$$

แทนค่าความเค้นรวมลงในสมการของควอซีสมการที่ (38) – (40) ยกตัวอย่าง เช่น นำค่าความเค้นดัดจาก และความเค้นเฉือนที่กระทำในแนวแกน x จากสมการที่ (43)

$$\pi_{xx} = P + \tau_{xx} \quad (46)$$

$$\pi_{yx} = \tau_{yx} \quad (47)$$

$$\pi_{zx} = \tau_{zx} \quad (48)$$

แทนลงในสมการของควอซีในแนว x สมการที่ (38) จะได้

$$\frac{D}{Dt}(\rho v_x) = g_x \rho - \left(\frac{\partial}{\partial x}(P + \tau_{xx}) + \frac{\partial \tau_{yx}}{\partial y} + \frac{\partial \tau_{zx}}{\partial z} \right) \quad (49)$$

จัดรูปสมการที่ (49) ใหม่จะได้

$$\frac{D}{Dt}(\rho v_x) = g_x \rho - \frac{\partial P}{\partial x} - \left(\frac{\partial \tau_{xx}}{\partial x} + \frac{\partial \tau_{yx}}{\partial y} + \frac{\partial \tau_{zx}}{\partial z} \right) \quad (50)$$

ในทำนองเดียวกันนำค่าความเค้นดัดจากและความเค้นเฉือนที่กระทำในแนวแกน y จากสมการที่ (43) แทนลงในสมการของควอซีในแกน y [สมการที่ (39)] และนำค่าความเค้นดัดจากและความเค้นเฉือนที่กระทำในแนวแกน z จากสมการที่ (43) แทนลงในสมการของควอซีในแกน z [สมการที่ (40)] จะได้

$$\frac{D}{Dt}(\rho v_y) = g_y \rho - \frac{\partial P}{\partial y} - \left(\frac{\partial \tau_{xy}}{\partial x} + \frac{\partial \tau_{yy}}{\partial y} + \frac{\partial \tau_{zy}}{\partial z} \right) \quad (51)$$

และ

$$\frac{D}{Dt}(\rho v_z) = g_z \rho - \frac{\partial P}{\partial z} - \left(\frac{\partial \tau_{xz}}{\partial x} + \frac{\partial \tau_{yz}}{\partial y} + \frac{\partial \tau_{zz}}{\partial z} \right) \quad (52)$$

เขียนสมการการเคลื่อนที่ (50) – (52) ให้อยู่ในรูปเวกเตอร์-เทนเซอร์ ได้คือ

$$\frac{D}{Dt}(\rho \bar{v}) = -\bar{\nabla} P - [\bar{\nabla} \cdot \underline{\underline{\tau}}] + \rho \bar{g} \quad (53)$$

โดยเวกเตอร์ความเร็วและเวกเตอร์แรงเค้นตึงในระบบแกนพิกัดฉากแสดงในสมการที่ (5) และ (6) ส่วนโอเปอเรเตอร์อนุพันธ์รวมแสดงในสมการที่ (34) เมื่อแทนค่าอนุพันธ์รวมลงในสมการที่ (51) ทำให้สมการการเคลื่อนที่ในแนวแกน x เขียนได้ดังนี้

$$\rho \left(\frac{\partial v_x}{\partial t} + v_x \frac{\partial v_x}{\partial x} + v_y \frac{\partial v_x}{\partial y} + v_z \frac{\partial v_x}{\partial z} \right) = - \left[\frac{\partial \tau_{xx}}{\partial x} + \frac{\partial \tau_{yx}}{\partial y} + \frac{\partial \tau_{zx}}{\partial z} \right] - \frac{\partial P}{\partial x} + \rho g_x \quad (54)$$

ในทำนองเดียวกันสมการการเคลื่อนที่ในแนวแกน y

$$\rho \left(\frac{\partial v_y}{\partial t} + v_x \frac{\partial v_y}{\partial x} + v_y \frac{\partial v_y}{\partial y} + v_z \frac{\partial v_y}{\partial z} \right) = - \left[\frac{\partial \tau_{xy}}{\partial x} + \frac{\partial \tau_{yy}}{\partial y} + \frac{\partial \tau_{zy}}{\partial z} \right] - \frac{\partial P}{\partial y} + \rho g_y \quad (55)$$

และสมการการเคลื่อนที่ในแนวแกน z

$$\rho \left(\frac{\partial v_z}{\partial t} + v_x \frac{\partial v_z}{\partial x} + v_y \frac{\partial v_z}{\partial y} + v_z \frac{\partial v_z}{\partial z} \right) = - \left[\frac{\partial \tau_{xz}}{\partial x} + \frac{\partial \tau_{yz}}{\partial y} + \frac{\partial \tau_{zz}}{\partial z} \right] - \frac{\partial P}{\partial z} + \rho g_z \quad (56)$$

ในการไหลที่ไม่สามารถอัดได้ (incompressible) และมีอุณหภูมิคงที่ (isothermal) ของไหลแบบนิวทรอนเนียนจะมีพฤติกรรมการไหลที่ความเค้นเฉือนจะแปรผันตรงกับอัตราความเค้นเฉือน นั่นคือ

$$\underline{\underline{\tau}} = -\mu \underline{\underline{\dot{\gamma}}} \quad (57)$$

เมื่อ μ คือค่าความหนืดนิวทรอนเนียน ซึ่งเป็นค่าคงที่และ $\underline{\underline{\dot{\gamma}}}$ คือเทนเซอร์อัตราการเปลี่ยนแปลงรูปร่างเชิงมุมนิยามโดย

$$\underline{\underline{\dot{\gamma}}} = (\bar{\nabla} \bar{v}) + (\bar{\nabla} \bar{v})^T \quad (58)$$

ดังนั้นจากสมการที่ (57) เทนเซอร์ความเค้นเฉือน $\underline{\underline{\tau}}$ จะเขียนได้ดังนี้

$$\underline{\underline{\tau}} = \begin{pmatrix} \tau_{xx} & \tau_{xy} & \tau_{xz} \\ \tau_{yx} & \tau_{yy} & \tau_{yz} \\ \tau_{zx} & \tau_{zy} & \tau_{zz} \end{pmatrix} = \begin{pmatrix} -2\mu \frac{\partial v_x}{\partial x} & -\mu \left(\frac{\partial v_x}{\partial y} + \frac{\partial v_y}{\partial x} \right) & -\mu \left(\frac{\partial v_x}{\partial z} + \frac{\partial v_z}{\partial x} \right) \\ -\mu \left(\frac{\partial v_y}{\partial x} + \frac{\partial v_x}{\partial y} \right) & -2\mu \frac{\partial v_y}{\partial y} & -\mu \left(\frac{\partial v_y}{\partial z} + \frac{\partial v_z}{\partial y} \right) \\ -\mu \left(\frac{\partial v_z}{\partial x} + \frac{\partial v_x}{\partial z} \right) & -\mu \left(\frac{\partial v_z}{\partial y} + \frac{\partial v_y}{\partial z} \right) & -2\mu \frac{\partial v_z}{\partial z} \end{pmatrix} \quad (59)$$

เมื่อแทนค่า

$$\tau_{xx} = -2\mu \frac{\partial v_x}{\partial x} \quad (60)$$

$$\tau_{yx} = -\mu \left(\frac{\partial v_y}{\partial x} + \frac{\partial v_x}{\partial y} \right) \quad (61)$$

$$\tau_{zx} = -\mu \left(\frac{\partial v_z}{\partial x} + \frac{\partial v_x}{\partial z} \right) \quad (62)$$

ลงในสมการการเคลื่อนที่ (equation of motion) ในแนว x ในสมการที่ (54) และใช้ความสัมพันธ์ของสมการอนุรักษ์มวลสำหรับของไหลที่อัดตัวไม่ได้ในสมการที่ (10) จะได้

$$\rho \left(\frac{\partial v_x}{\partial t} + v_x \frac{\partial v_x}{\partial x} + v_y \frac{\partial v_x}{\partial y} + v_z \frac{\partial v_x}{\partial z} \right) = -\mu \left[\frac{\partial^2 v_x}{\partial x^2} + \frac{\partial^2 v_x}{\partial y^2} + \frac{\partial^2 v_x}{\partial z^2} \right] - \frac{\partial P}{\partial x} + \rho g_x \quad (63)$$

ในทำนองเดียวกันในแนวแกน y และ z จะได้

$$\rho \left(\frac{\partial v_y}{\partial t} + v_x \frac{\partial v_y}{\partial x} + v_y \frac{\partial v_y}{\partial y} + v_z \frac{\partial v_y}{\partial z} \right) = -\mu \left[\frac{\partial^2 v_y}{\partial x^2} + \frac{\partial^2 v_y}{\partial y^2} + \frac{\partial^2 v_y}{\partial z^2} \right] - \frac{\partial P}{\partial y} + \rho g_y \quad (64)$$

และ

$$\rho \left(\frac{\partial v_z}{\partial t} + v_x \frac{\partial v_z}{\partial x} + v_y \frac{\partial v_z}{\partial y} + v_z \frac{\partial v_z}{\partial z} \right) = -\mu \left[\frac{\partial^2 v_z}{\partial x^2} + \frac{\partial^2 v_z}{\partial y^2} + \frac{\partial^2 v_z}{\partial z^2} \right] - \frac{\partial P}{\partial z} + \rho g_z \quad (65)$$

กำหนดให้ลาปลาซโอเปอเรเตอร์ (Laplace operator) ในระบบแกนพิกัดฉากคือ

$$\nabla^2 = \vec{\nabla} \cdot \vec{\nabla} = \frac{\partial^2}{\partial x^2} + \frac{\partial^2}{\partial y^2} + \frac{\partial^2}{\partial z^2} \quad (66)$$

ดังนั้นเขียนสมการที่ (63) - (65) ในรูปเวกเตอร์ได้ว่า

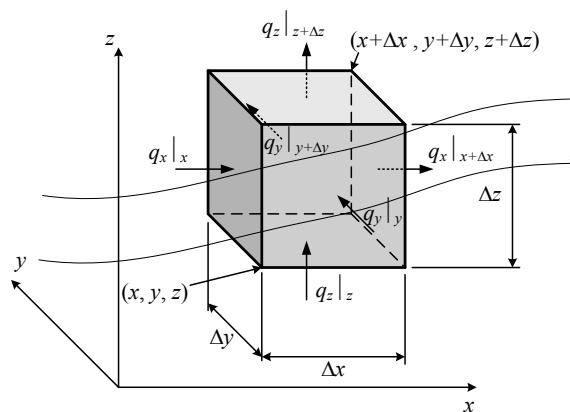
$$\rho \frac{D\vec{v}}{Dt} = -\vec{\nabla}P + \rho \vec{g} - \mu \nabla^2 \vec{v} \quad (67)$$

เราเรียกสมการที่ (67) ว่าสมการนาเวียร์-สโตก (Navier-Stokes equation) ซึ่งใช้แก้ปัญหาการไหลสำหรับของไหลชนิดนิวทรอนโดยมีสมการควบคุมสำหรับของไหลที่อัดตัวไม่ได้ในระบบแกนพิกัดฉากคือสมการอนุรักษ์มวล 1 สมการ [สมการที่ (10)] และมีสมการนาเวียร์-สโตกในแนวแกน x , แนวแกน y , และแนวแกน z อีก 3 สมการ [(63) - (65)] ส่วนตัวแปรทั้ง 4 ตัวที่เป็นสมการคำตอบคือ v_x , v_y , v_z และ P

กฎอนุรักษ์พลังงาน

พิจารณากลุ่มอนุภาคของไหลปริมาตรควบคุมขนาดเล็ก ๆ $\Delta x \Delta y \Delta z$ ที่มีของไหลไหลผ่านด้วยความเร็ว v_x ในแนวแกน x , v_y ในแนวแกน y และ v_z ในแนวแกน z ตามลำดับ (ดูรูปที่ 9) ในกรณีที่ปริมาตรควบคุมนี้ไม่มีการเคลื่อนไหวใด ๆ ที่ก่อให้เกิดการเปลี่ยนแปลงพลังงานจลน์ และพลังงานศักย์ ดังนั้นจากกฎข้อที่ 1 ของ

เทอร์โมไดนามิกส์ ที่กล่าวไว้ว่าอัตราการเปลี่ยนแปลงของพลังงานในปริมาตรควบคุมจะมีค่าเท่ากับผลรวมของการถ่ายเทความร้อนเนื่องจากการนำความร้อนผ่านพื้นผิวของปริมาตรควบคุม บวกกับความร้อนที่เกิดจากงานที่เนื่องมาจากการเสียดสีกันเองของโมเลกุลของของไหล (viscous dissipation) ภายในปริมาตรควบคุม โดยความร้อนที่ไหลเข้าปริมาตรควบคุมมีค่าเป็นบวก (+) และปริมาณความร้อนที่ไหลออกจากปริมาตรควบคุมมีค่าเป็นลบ (-) ดังนั้น (ดูหัวข้อ 5.1.4 ของ Osswald & Hernandez-Ortiz, 2006)



รูปที่ 9. แสดงการถ่ายเทความร้อนของกลุ่มอนุภาคของไหลผ่านปริมาตรควบคุมขนาดเล็ก ๆ $\Delta x \Delta y \Delta z$

$$\rho c_p \frac{DT}{Dt} \Delta x \Delta y \Delta z = (q_x|_x - q_x|_{x+\Delta x}) \Delta y \Delta z + (q_y|_y - q_y|_{y+\Delta y}) \Delta x \Delta z + (q_z|_z - q_z|_{z+\Delta z}) \Delta x \Delta y + \Phi \Delta x \Delta y \Delta z \quad (68)$$

โดยค่าความจุความร้อนที่ความดันคงที่ (heat capacity) c_p อาจจะขึ้นอยู่กับอุณหภูมิ โอเปอเรเตอร์ $\frac{D(\cdot)}{Dt}$ เป็นอนุพันธ์รวมถูกนิยามไว้ในสมการที่ (34) q_x เป็นการนำความร้อนในแนวแกน x ผ่านหน้าตัด $\Delta y \Delta z$ ในขณะที่ q_y เป็นการนำความร้อนในแนวแกน y ผ่านหน้าตัด $\Delta x \Delta z$ และ q_z เป็นการนำความร้อนในแนวแกน z ผ่านหน้าตัด $\Delta x \Delta y$ ตามลำดับ Φ เป็นอัตราการเกิดความร้อนต่อหน่วยปริมาตรที่เกิดจากการเสียดสีกันเองของโมเลกุลของของไหล (viscous dissipation) หาค่าตลอดสมการที่ (68) ด้วย $\Delta x \Delta y \Delta z$ แล้วใส่ลิมิตให้ปริมาตรควบคุมเล็กลงจนเข้าใกล้ศูนย์

$$\lim_{\Delta V \rightarrow 0} \left\{ \rho c_p \frac{DT}{Dt} = -\frac{q_x|_{x+\Delta x} - q_x|_x}{\Delta x} - \frac{q_y|_{y+\Delta y} - q_y|_y}{\Delta y} - \frac{q_z|_{z+\Delta z} - q_z|_z}{\Delta z} + \Phi \right\} \quad (69)$$

จะได้รูปสมการอนุพันธ์ทั่วไปของกฎการอนุรักษ์พลังงาน (conservation of energy) ในระบบแกนพิกัดฉากสำหรับของไหลที่ไม่มีปฏิกิริยาเคมีใด ๆ

$$\rho c_p \frac{DT}{Dt} = -\frac{\partial q_x}{\partial x} - \frac{\partial q_y}{\partial y} - \frac{\partial q_z}{\partial z} + \Phi \quad (70)$$

โดยกฎการนำความร้อนของฟูริเยร์ (Fourier's law of heat conduction) ในระบบแกนพิกัดฉากคือ

$$q_x = -k_x \frac{\partial T}{\partial x}, \quad q_y = -k_y \frac{\partial T}{\partial y}, \quad q_z = -k_z \frac{\partial T}{\partial z} \quad (71), (72), (73)$$

โดย k_x , k_y และ k_z เป็นค่าการนำความร้อน (thermal conductivity) ในแนวแกน x , y และ z ตามลำดับ และในกรณีที่ของไหลมีความเป็นเนื้อเดียวกัน (homogeneous) ค่าการนำความร้อนจะมีค่าคงที่โดย $k_x = k_y = k_z = k$ สมการอนุรักษ์พลังงาน (70) สามารถเขียนได้ดังนี้

$$\rho c_p \frac{DT}{Dt} = k \left(\frac{\partial^2 T}{\partial x^2} + \frac{\partial^2 T}{\partial y^2} + \frac{\partial^2 T}{\partial z^2} \right) + \Phi \quad (74)$$

สมการที่ (74) เขียนในรูปสมการเวกเตอร์จะได้ (Bird et al., 1960 และ Bird et al., 1987)

$$\rho c_p \frac{DT}{Dt} = k \nabla^2 T + \Phi \quad (75)$$

โดย ∇^2 คือลาปลาซโอเปอเรเตอร์ (Laplace operator) แสดงในสมการที่ (66) โดยสมการอนุรักษ์พลังงานในระบบแกนพิกัดฉาก แกนทรงกระบอก และแกนทรงกลมถูกแสดงไว้ในตารางที่ 10.2.2-3 ใน Bird et al., 1960 หรือในหัวข้อ B.9 ใน Bird et al., 2002 และกฎการนำความร้อนของฟูริเยร์ ที่เขียนอยู่ในระบบแกนต่าง ๆ แสดงในตารางที่ 10.2.1 ใน Bird et al., 1960 หรือในหัวข้อ B.2 ใน Bird et al., 2002 และอัตราการเกิดความร้อนต่อหน่วยปริมาตรที่เกิดจากการเสียดสีกันเองของโมเลกุลของของไหล (viscous dissipation) สามารถเขียนอยู่ในระบบแกนพิกัดฉากคือ (Denn, 2008)

$$\begin{aligned} \Phi = -\frac{1}{2} \left(\underline{\underline{\tau}} : \underline{\underline{\dot{\gamma}}} \right) = & -\tau_{xx} \frac{\partial v_x}{\partial x} - \tau_{yy} \frac{\partial v_y}{\partial y} - \tau_{zz} \frac{\partial v_z}{\partial z} - \tau_{xy} \left(\frac{\partial v_x}{\partial y} + \frac{\partial v_y}{\partial x} \right) \\ & - \tau_{xz} \left(\frac{\partial v_x}{\partial z} + \frac{\partial v_z}{\partial x} \right) - \tau_{yz} \left(\frac{\partial v_y}{\partial z} + \frac{\partial v_z}{\partial y} \right) \end{aligned} \quad (76)$$

อัตราการเกิดความร้อนต่อหน่วยปริมาตรที่เกิดจากการเสียดสีกันเองของโมเลกุลของของไหลหาได้จากสมการที่ (76) สามารถเขียนอยู่ในรูปสมการเวกเตอร์ได้คือ

$$\Phi = -\frac{1}{2} \left(\underline{\underline{\tau}} : \underline{\underline{\dot{\gamma}}} \right) \quad (77)$$

โดยเทนเซอร์อัตราความเครียด $\underline{\underline{\dot{\gamma}}}$ ถูกนิยามไว้ในสมการที่ (58) และเทนเซอร์ความเค้นเฉือนทานของของไหลนิว-ทรอนเนียนถูกนิยามไว้ในสมการที่ (59) โดยสมการที่ (77) สามารถเขียนในรูปอินดิเคซ์ได้ดังนี้

$$\Phi = -\frac{1}{2} \sum_{i=1}^3 \sum_{j=1}^3 \tau_{ij} \dot{\gamma}_{ji} \quad (78)$$

ถ้าเป็นของไหลอัดตัวไม่ได้ชนิดนิวทรอนเนียนอัตราการผลิตความร้อนต่อหน่วยปริมาตรที่เกิดจากการเสียดสีกันเองของโมเลกุลของของไหลสามารถเขียนให้อยู่ในรูปของเทนเซอร์อัตราเครียดแบบบิลคอทกับตัวมันเอง ดังนั้น

$$\Phi = \frac{\mu}{2} (\dot{\gamma} : \dot{\gamma}) \quad (79)$$

และเขียนอยู่ในรูปอินดิเคซ์ได้คือ

$$\Phi = \frac{\mu}{2} \sum_{i=1}^3 \sum_{j=1}^3 (\dot{\gamma}_{ij} \dot{\gamma}_{ji}) \quad (80)$$

โดยอัตราการผลิตความร้อนต่อหน่วยปริมาตรที่เกิดจากการเสียดสีกันเองของโมเลกุลของของไหล Φ (viscous dissipation) ในพิกัดทรงกระบอกและพิกัดทรงกลมถูกแสดงไว้ในตารางที่ 3.4.8 ใน Bird et al., 1960 หรือในหัวข้อ B7 ใน Bird et al., 2002

บทสรุป

ด้วยมุมมองทางกลศาสตร์ความต่อเนื่อง (continuum mechanics) การได้มาของกฎการอนุรักษ์ต่าง ๆ จึงต้องเริ่มจากการพิจารณาก้อนของไหลที่ถูกตัดพาไปในระบบแกนและมีการไหลผ่านปริมาตรควบคุม (control volume) ที่เวลา t_0 ใด ๆ โดยในที่นี้แม้ว่าเราจะใช้ระบบแกนพิกัดฉากเป็นพิกัดอ้างอิงในการอธิบายสมการกฎการอนุรักษ์ของไหลเนื่องจากเป็นระบบแกนที่เข้าใจได้ง่าย (intuitive) แต่อย่างไรก็ตามสมการกฎการอนุรักษ์ทั้งหมดได้ถูกเขียนให้อยู่ในรูปสมการเวกเตอร์ ซึ่งไม่ขึ้นอยู่กับระบบแกนพิกัดใด ๆ และสามารถนำไปประยุกต์ใช้งานได้ในทุกระบบแกนขึ้นอยู่กับรูปทรงของช่องทางไหล (flow channel)

โดยสรุปแล้วสมการกฎการอนุรักษ์มวลกล่าวว่าอัตราการเปลี่ยนแปลงของมวลในปริมาตรควบคุมมีค่าเท่ากับอัตราของมวลที่ไหลเข้าปริมาตรควบคุมลบด้วยอัตราของมวลที่ไหลออกจากปริมาตรควบคุมทำให้เราสามารถเขียนสมการอนุรักษ์มวลได้ในสมการที่ (4) ในทำนองเดียวกันจากกฎข้อที่ 2 ของนิวตันที่ว่าผลรวมของแรง $\sum \vec{F}$ ที่กระทำกับปริมาตรควบคุมของกลุ่มอนุภาคของไหลที่มีมวล δm ให้เคลื่อนที่ ณ ช่วงเวลา t_0 ใด ๆ จะแปรผันตรงกับความเร่งทำให้เราสามารถสรุปกฎการอนุรักษ์โมเมนตัมออกมาเป็นสมการที่ (53) ซึ่งเป็นสมการเวกเตอร์ที่ไม่เป็นเชิงเส้น โดยเทอมที่ทำให้สมการนี้ไม่เป็นเชิงเส้นคือเทอมทางซ้ายมือของสมการที่ (53) นั่นเองท้ายสุดกฎการอนุรักษ์พลังงานได้จากกฎข้อที่ 1 ของเทอร์โมไดนามิกส์ ที่กล่าวไว้ว่าอัตราการเปลี่ยนแปลงของพลังงานในปริมาตรควบคุมจะมีค่าเท่ากับผลรวมของการถ่ายเทความร้อนเนื่องจากการนำความร้อนผ่านพื้นผิวของปริมาตรควบคุม บวกกับความร้อนที่เกิดจากงานที่เนื่องมาจากการเสียดสีกันเองของโมเลกุลของของไหล (viscous dissipation) ภายในปริมาตรควบคุม ทำให้เราสามารถสรุปออกมาเป็นสมการอนุรักษ์พลังงานได้ [ดูสมการที่ (75)]

กิตติกรรมประกาศ

ผู้เขียนขอขอบคุณ นายพงศ์เทพ พ่วงทอง นักศึกษาระดับปริญญาเอก ภาควิชาวิศวกรรมเครื่องกลและการบิน-อวกาศ มหาวิทยาลัยเทคโนโลยีพระจอมเกล้าพระนครเหนือ ที่ช่วยอ่านตรวจทานต้นฉบับชุดนี้

เอกสารอ้างอิง

- Anco, S. C. & Bluman, G. (2002). Direct construction method for conservation laws of partial differential equations Part I: Examples of conservation law classifications. *European Journal of Applied Mathematics*, 13, 545-556. doi: 10.1017/S095679250100465X
- Bird, R. B., Armstrong, R. C. & Hassager, O. (1977). *Dynamics of Polymeric Liquids: Volume 1 Fluid Mechanics* (1st ed.). New York, USA: John Wiley and Sons.
- Bird, R. B., Armstrong, R. C. & Hassager, O. (1987). *Dynamics of Polymeric Liquids: Volume 1 Fluid Mechanics* (2nd ed.). New York, USA: John Wiley and Sons.
- Bird, R. B., Stewart, W. E. & Lightfoot, E. N. (1960). *Transport Phenomena*. New York, USA: John Wiley and Sons.
- Bird, R. B., Stewart, W. E. & Lightfoot, E. N. (2002). *Transport Phenomena* (2nd ed.). New York, USA: John Wiley and Sons.
- Bird, R. B., Stewart, W. E., Lightfoot, E. N. & Klingenberg, D. J. (2015). *Introductory Transport Phenomena*. New York, USA: John Wiley and Sons.
- Cengel, Y. A. & Cimbala, J. M. (2006). *Fluid Mechanics, Fundamentals and Applications* (International Edition). New York, USA: McGraw Hill.
- Cheviakov, A. F. & Jean, S. St. (2015). A comparison of conservation law construction approaches for two-dimensional incompressible Mooney-Rivlin hyperelasticity model. *Journal of Mathematical Physics*, 56: 121505. doi: 10.1063/1.4937756
- Denn, M. M. (2008). *Polymer Melt Processing: Foundations in Fluid Mechanics and Heat Transfer*. New York, USA: Cambridge University Press. doi: 10.1017/CBO9780511813177
- Ertel, H. & Rossby, C. G. (1949). A new conservation-theorem of hydrodynamics. *Geofisica Pura e Applicata*, 14: 189. doi: 10.1007/BF01981973
- Gilbert, P. H. & Giacomini, A. J. (2019). Transport phenomena in bispherical coordinates. *Physics of Fluids*, 31: 021208. doi: 10.1063/1.5054581

- Gilbert, P. H., Saengow, C. & Giacomini, A. J. (2017). Transport phenomena in eccentric cylindrical coordinates. *AIChE Journal*, 63(8): 3563-3581. doi: 10.1002/aic.15671
- Kosmann-Schwarzbach, Y. (2011). *The Noether Theorems: Invariance and Conservation Laws in Twentieth Century*. New York, USA: Springer. doi: 10.1007/978-0-387-87868-3
- Lai, W. M., Rubin, D. & Krempf, E. (2010). *Introduction to Continuum Mechanics* (4th ed.). New York, USA: Butterworth-Heinemann.
- Moon, P. & Spencer, D. E. (1988). *Field Theory Handbook* (2nd ed.). New York, USA: Springer-Verlag. doi: 10.1007/978-3-642-83243-7
- Morrison, F. A. (2001). *Understanding Rheology*. New York, USA: Oxford University Press.
- Munson, B. R., Young, D. F. & Okiishi, T. H. (2002). *Fundamentals of Fluid Mechanics* (4th ed.). New York, USA: John Wiley and Sons.
- Naz, R., Mahomed, F. M. & Mason, D. P. (2008). Comparison of different approaches to conservation laws for some partial differential equations in fluid mechanics, *Applied Mathematics and Computation*, 205: 212-230. doi: 10.1016/j.amc.2008.06.042
- Osswald, T. A. & Hernandez-Ortiz, J. P. (2006). *Polymer Processing - Modeling and Simulation*. Munich, Germany: Carl Hanser Verlag GmbH & Co. KG. doi: 10.3139/9783446412866