

ปีที่ 23 ฉบับที่ 3 [2567] Vol.23, No.3 [2024]

กันยายน - ธันวาคม 2567

ISSN 2822-1451 [Print]

ISSN 2822-1508 [Online]



36 ปี คณะวิทยาศาสตร์ประยุกต์
มหาวิทยาลัยเทคโนโลยีพระจอมเกล้าพระนครเหนือ



Approved by TCI during
2020-2024



ศูนย์ดัชนีการอ้างอิงวารสารไทย
Thai Journal Citation Index Centre

Advisory Board

from King Mongkut's University of Technology North Bangkok, Thailand

Professor Dr. Saowanit Sukparungsee

Professor Dr. Vilai Rungsardthong

Associate Professor Dr. Surapun Yimman

Associate Professor Dr. Pianpool Kamoljitprapa

Associate Professor Dr. Kitti Bodhipadma

Editor-in-Chief

from King Mongkut's University of Technology North Bangkok, Thailand

Associate Professor Narumol Kreua-ongarjnukool

Editor

from King Mongkut's University of Technology North Bangkok, Thailand

Associate Professor Dr. Nonchanutt Chudpooti

Associate Professor Dr. Sekson Sirisubtawee

Co-Editor

from King Mongkut's University of Technology North Bangkok, Thailand

Professor Dr. Yupaporn Areepong

Associate Professor Dr. Anuchit Jitpattanakul

Assistant Professor Dr. Chatchawan Singhapol

Dr. Wannarak Nopcharoenkul

Editorial Team

from King Mongkut's University of Technology North Bangkok, Thailand

Associate Professor Dr. Orathai Polsen

Associate Professor Dr. Suvimol Phanyaem

Associate Professor Dr. Walaiporn Prissanaroon Ouajai

Associate Professor Dr. Tanapat Anusas-amornkul

Assistant Professor Dr. Anusara Srisrual

Assistant Professor Dr. Theerawut Phusantisampan

Assistant Professor Dr. Jintawat Tanamatayarat

Assistant Professor Dr. Sukanya Thepwatee

Assistant Professor Dr. Thidarat Wangkham

Assistant Professor Dr. Saowapa Thumsing Niyomthai

Editorial Board

Professor Dr. Paul Pigram

La Trobe University, Australia

Professor Dr. Melvin Pascall

The Ohio State University, USA

Prof. Dr. Andrea De Gaetano

Óbuda University, Budapest, Hungary and CNR-IASI Rome and CNR-IRIB Palermo, Italy

Assoc.Prof. Dr. Nutapong Somjit

University of Leeds, United Kingdom

Dr. Nutsuda Sumonsiri

Teesside University, United Kingdom

Professor Dr. Sergey Meleshko

Suranaree University of Technology, Thailand

Editorial Board (cont.)

Emeritus Professor Dr. Yongwimon Lenbury

Mahidol University, Thailand

Professor Dr. Sutthisak Phongthanapanich

King Mongkut's University of Technology North Bangkok, Thailand

Professor Dr. Anuvat Sirivat

Chulalongkorn University, Thailand

Prof. Dr. Supa Hannongbua

Kasetsart University, Thailand

Associate Professor Dr. Yaowadee Temtanapat

Thammasat University, Thailand

Associate Professor Dr. Khongsak Srikaeo

Pibulsongkram Rajabhat University, Thailand

Associate Professor Dr. Weeradej Meeinkuirt

Mahidol University, Thailand

Associate Professor Dr. Wararit Panichkitkosolkul

Thammasat University, Thailand

Associate Professor Dr. Montip Tiensuwan

Mahidol University, Thailand

Associate Professor Dr. Piyapatr Busababodhin

Maharakham University, Thailand

Associate Professor Dr. Wantida Chaiyana

Chiang Mai University, Thailand

Assoc.Prof. Dr. Pranee Phinyocheep

Mahidol University, Thailand

Assistant Professor Dr. Kwan Arayathanitkul

Mahidol University, Thailand

Assistant Professor Dr. Narumon Emarat

Mahidol University, Thailand

Assistant Professor Dr. Kitiporn Plaimas

Chulalongkorn University, Thailand

Assistant Professor Dr. Chatchai Khunboa

Khon Kaen University, Thailand

Assistant Professor Dr. Julaluk Khemacheewakul

Chiang Mai University, Thailand

Assistant Professor Dr. Jutarat Iewkittayakorn

Prince of Songkla University, Thailand

Assistant Professor Dr. Yanisa Laoong-u-thai

Burapha University, Thailand

Assistant Professor Dr. Sararat Mahasaranon

Naresuan University, Thailand

Dr. Worawut Srisukkhram

Chiang Mai University, Thailand

Management Staff

from King Mongkut's University of Technology North Bangkok, Thailand

Miss Wilawan Sae-jeng

Miss Kitsiya Chuchuaysuan

JOURNAL POLICY

Journal of Applied Science and Emerging Technology (JASET) is an academic journal published Triannually by the Faculty of Applied Science, King Mongkut's University of Technology North Bangkok. The JASET publishes papers in four types: (1) original research articles in Thai or English, (2) academic articles in Thai or English, (3) review articles in Thai or English, and (4) editorial corner/invitation articles in English, encompassing all areas of applied science and technology. The journal will not accept articles, which have been published or are being considered for publication by another journal, nor should papers published here be submitted to other journals.

"Journal of Applied Science and Emerging Technology does not have policy to collect publication fee"

"Journal of Applied Science and Emerging Technology published both as hard-copies [ISSN 2822-1451 (Print)] and electronic journal [ISSN 2822-1508 (Online)] available on ThaiJO system"

Scope of the Journal

To publish academic, research and review articles covering all areas of both basic and applied science and technology including pure and applied mathematics, statistics, chemistry and applied chemistry, physics and industrial physics, environmental science and technology, biotechnology, agro-industrial and food technology, medical science and applications, health and beauty technology, computer and informatic science and materials science

Peer Review Process

Each article must be double blind peer reviewed by at least 3 reviewers from the related field.

Human and Animal Ethics in Research

The authors are requested for the appropriate disclosures and declarations if their research involves human participants and animals having an impact on their right, prestige, safety, and health. Hence, they must receive approval from the appropriate ethics committees for research involving humans and/or animals and submit the evidence of approval with the manuscript. Starting from May, 1st 2022)

Language

Both Thai and English

Publication Frequency

Once every four months (Triannual)

First Issue: January to April

Second Issue: May to August

Third Issue: September to December

Remarks

Authors have to be responsible for any legal effects that may occur due to their opinions expressed in the articles.

Website for submissions: www.tci-thaijo.org/index.php/JASCI

Contact: jaset@sci.kmutnb.ac.th

Copyright©2024 by Faculty of Applied Science, King Mongkut's University of Technology North Bangkok. All rights reserved.

No part of this publication may be reproduced stored or transmitted in any material form or by any methods including electronic, mechanical, photocopying, recording or otherwise without the prior written permission of the publisher, except in accordance with the provisions of the Copyright Design and Patents Act 1988.

TABLE OF CONTENT

Editorial Corner (invitation article)

Advanced 3D-Printing Technologies for Transformative Radio Frequency and Optical Devices

Nonchanutt Chudpooti, Nutapong Somjit* and Prayoot Akkaraekthalin.....e900004

Research Articles

Determining the Distinctiveness of Learners with Outlier Detection Ensembles

Wilawan Inchamnan*, Jesada Kajomrit and Warapom Jirapanthong.....e257236

Evaluation of the effects of processing on physicochemical properties of the freshly extracted crude groundnut oil

Funmilayo Patricia Afolabia, Olamide Racheal Ogundelea, Rofiat Oyebisi Rajia, Mutalib Adeniran Aderogbaa,
and Olumuyiwa Sunday Faladea*.....e254181

Evaluation of Various Starches as Binders and Properties for Ya-Hom Thepphachit Tablet

การประเมินแป้งต่างชนิดที่เป็นสารช่วยยึดเกาะ และคุณสมบัติของยาหอมเทพจิตรในรูปแบบยาเม็ด

Khemika Kieng Na Fah Manok* and Sirikran Winyupan.....e254093

The relationship and impact of pH, ORP, and elemental contents on arsenic remediation by *Cyperus papyrus* (L.)
under submerged soil conditionsความสัมพันธ์และผลกระทบของพีเอช ศักยภาพการเกิดออกซิเดชัน – รีดักชันและปริมาณของธาตุต่อการบำบัดสารหนู
โดยกกอียิปต์ในสภาพดินน้ำขังJomjun Nateewattana*, Siripen Trichaiyapom, Maliwan Saeouy, Sompom Choonluchanon
and Prasak Thavornnyutikarn.....e252686

Influence of Fruit Juices and Optimum of Ammonium Sulfate on the Bacterial Cellulose Production

อิทธิพลของชนิดน้ำผลไม้และสารแอมโมเนียมซัลเฟตที่เหมาะสมต่อการผลิตวันสวรรค์

Jirawut Permpool, Pramuan Saithong and Warangkhan Riansut*.....e246814

Self-checkout system using vision-based object detection and subcategory recognition

การประมวลผลภาพสำหรับระบบชำระเงินด้วยตนเอง โดยใช้การตรวจจับวัตถุและการรู้จำหมวดหมู่ย่อย

Nicharee Dumrongsak and Thitirat Siriborvornratanakul.....e248785

Advanced 3D-Printing Technologies for Transformative Radio Frequency and Optical Devices

Nonchanutt Chudpooti¹, Nutapong Somjit^{2,3,4,*}, Prayoot Akkaraekthalin⁵

¹Department of Industrial Physics and Medical Instrumentation, Faculty of Applied Science, King Mongkut's University of Technology North Bangkok, Bangkok 10800, Thailand

²School of Electronic and Electrical Engineering, University of Leeds, LS2 9JT Leeds, U.K.

³Department of Mathematical and Information Sciences, Shaoxing University, Shaoxing 312000, China

⁴Division of Micro and Nanosystems (MST), KTH Royal Institute of Technology, SE-100 44 Stockholm, Sweden

⁵Department of Electrical and Computer Engineering, Faculty of Engineering, King Mongkut's University of Technology North Bangkok, Bangkok 10800, Thailand

*Corresponding Author: n.somjit@leeds.ac.uk

Additive manufacturing technology has garnered significant attention in modern three-dimensional (3D) fabrication processes due to its rapid prototyping capabilities. It is particularly appealing because of its compatibility with a wide range of dielectric and metallic materials, enabling the creation of design prototypes for nearly any 3D structure. Recently, its ability to precisely manufacture functional devices with microscale features and high repeatability has made it even more attractive (Min, 2016; Otter and Lucyszyn, 2017; Zhang et al., 2017; Xin and Liang, 2017). This makes it highly suitable for fabricating functional mm-wave and THz components, such as dielectric lens antennas (Vorobyov et al., 2017; Yi et al., 2016; Furlan et al., 2016), waveguides (Li et al., 2017; Hong et al., 2018; Hong et al., 2018), sensors (Li et al., 2017), and filters/splitters (Kaur et al., 2015; Pandey et al., 2013; Hernandez-Serrano et al., 2017; Wu et al., 2008; Busch et al., 2014), facilitating the development of cost-effective and complex THz systems.

3D printing methods commonly employed in mm-wave and THz technologies can be categorized into five main types: (1) fused deposition modeling (FDM), (2) selective laser sintering (SLS), (3) stereolithographic apparatus (SLA), (4) digital-light-processing (DLP), and (5) polymer jetting (PJ). Among these, the FDM

technique offers the lowest printing resolution and exhibits high surface roughness compared to other additive manufacturing processes. These limitations restrict its applicability to frequencies below 400 GHz (Hernandez-Serrano et al., 2017), as the relatively large structure sizes and high surface roughness contribute to excessive propagation losses at higher frequencies. Thermoplastic materials, typically available in filament forms, are used to produce 3D structures by selectively depositing melted filament material along predefined paths. The layer heights of FDM printing typically range from 50 to 500 μm , with a minimum achievable single-layer width of approximately 100 μm^2 . These dimensions are primarily influenced by the nozzle size and the viscosity of the melted filament material. The best surface roughness attainable using FDM is around 35 μm (Alsoufi et al., 2017).

The SLS technique employs a high-intensity laser beam to sinter polymeric powder material layer-by-layer, offering superior printing resolutions between 20 and 80 μm , depending on the microparticle sizes of the powder material. Despite achieving low surface roughness of about 6 μm (Sachdeva et al., 2013), SLS suffers from material shrinkage of approximately 3–5%. Additionally, the limited availability of microparticle powders compatible with this process

(Schmid et al., 2015; Gross et al., 2014) constrains its use in mm-wave and THz applications.

SLA and DLP techniques utilize either a laser beam or ultraviolet (UV) light, respectively, to selectively cure resin-based photopolymers, forming 3D structures with resolutions determined by the spot size used for patterning. These methods deliver excellent surface roughness of less than 10 μm and are capable of achieving resolutions of 40–250 μm in structure width and 25 μm in structure height for SLA (Udroiu and Mihail, 2009). The DLP technique (ASIGA: PICO2 HD) achieves even finer resolutions of 27 μm in width and 1 μm in height, making it one of the most accurate techniques for mm-wave and THz applications. This range covers most THz frequencies between 100 GHz and 1.0 THz. However, despite the availability of numerous photopolymers, comprehensive data regarding the electromagnetic and optical properties of these materials is scarce and fragmented, often covering only limited frequency points or narrow frequency bands (Furlan et al., 2016; Li et al., 2017; Hong et al., 2018).

PJ technology provides exceptional printing accuracy and resolution by employing a process similar to inkjet printing. It uses printhead nozzles to deposit liquid photopolymers onto a build platform, where the materials are simultaneously photocured and patterned using UV light. This technique can achieve resolutions of approximately 14 μm in structure height and 23 μm in structure width. Additionally, PJ offers surface roughness values below 10 μm (Kechagias and Maropoulos, 2015; Kampker et al., 2017). Consequently, it is regarded as one of the most preferred methods for mm-wave and THz applications. However, similar to other techniques, PJ materials lack comprehensive electromagnetic and optical property data at THz frequencies, limiting their applicability in such systems.

Summary: Additive manufacturing has emerged as a transformative tool in radio frequency (RF) and optical applications, leveraging its precision and versatility to enable the design and fabrication of advanced components. In RF applications, 3D printing has been

utilized to produce antennas, waveguides, filters, and resonators that support high-frequency operations, including mm-wave and THz ranges. These components benefit from the rapid prototyping and high structural accuracy provided by techniques such as SLA, DLP, and PJ, which ensure low losses and high performance. Furthermore, the ability to tailor geometries and material properties facilitates the design of custom RF devices that meet stringent performance criteria.

In optics, additive manufacturing allows for the creation of intricate lenses, photonic crystals, and optical waveguides. The high resolution and smooth surface finishes achieved through processes like SLA and PJ make them ideal for fabricating micro-optics and freeform optical elements. Additionally, advancements in photopolymer materials and post-processing techniques continue to improve optical performance, enabling integration into sensing, imaging, and communication systems.

The convergence of 3D printing with RF and optical technologies opens new avenues for designing multifunctional systems, including integrated RF-optical devices and hybrid platforms. This integration supports emerging applications in wireless communications, biomedical sensing, and terahertz imaging, where complex geometries and precision fabrication are critical. As additive manufacturing technologies advance, innovations such as multi-material printing, gradient-index designs, and metamaterial structures are becoming viable solutions. These enhancements not only enable better performance but also open possibilities for tunable and reconfigurable components. Emerging approaches like direct-write printing and nanoscale 3D fabrication are pushing the boundaries of miniaturization and performance optimization, enabling rapid development cycles for next-generation devices and systems.

Moreover, recent breakthroughs in bioprinting and hybrid printing technologies have expanded the capabilities of additive manufacturing. Hybrid approaches combining traditional techniques with additive manufacturing have led to the creation of

complex, multifunctional structures for biomedical and photonic applications. In RF systems, innovations such as flexible and conformal antennas have been developed, allowing seamless integration into wearable devices and non-planar surfaces. Additionally, advanced photopolymer formulations are being tailored for optical and electromagnetic performance, ensuring compatibility with evolving communication standards and sensing technologies.

Future advancements are expected to include AI-driven design processes, automated optimization algorithms, and integration with simulation tools, further enhancing the precision and efficiency of 3D-printed structures. These developments will drive the adoption of additive manufacturing across industries, enabling smarter, more compact, and highly functional devices for next-generation wireless, optical, and sensing technologies.

REFERENCES

- Alsoufi, M. S., & Elsayed, A. E. (2017). How surface roughness performance of printed parts manufactured by desktop FDM 3D printer with PLA+ is influenced by measuring direction. *American Journal of Mechanical Engineering*, 5(5), 211–222.
- Busch, S. F., Weidenbach, M., Fey, M., Schäfer, F., Probst, T., & Koch, M. (2014). Optical properties of 3D printable plastics in the THz regime and their application for 3D printed THz optics. *Journal of Infrared, Millimeter, and Terahertz Waves*, 35, 993–997.
- Fernandes, C. A., Lima, E. B., & Costa, J. R. (2014). Dielectric lens antennas. In *Handbook of Antenna Technologies* (pp. 1–54). Lisbon: University of Lisbon.
- Furlan, W. D., et al. (2016). 3D printed diffractive terahertz lenses. *Optics Letters*, 41(8), 1748–1751.
- Gross, B. C., Erkal, J. L., Lockwood, S. Y., Chen, C., & Spence, D. M. (2014). Evaluation of 3D printing and its potential impact on biotechnology and the chemical sciences. *Analytical Chemistry*, 86(7), 3240–3253.
- Hernandez-Serrano, A. I., & Castro-Camus, E. (2017). Quasi-Wollaston-prism for terahertz frequencies fabricated by 3D printing. *Journal of Infrared, Millimeter, and Terahertz Waves*, 38, 567–573.
- Hong, B., Chudpooti, N., Akkaraekthalin, P., Somjit, N., Cunningham, J., & Robertson, I. (2018). Investigation of electromagnetic mode transition and filtering of an asymptotically single-mode hollow THz Bragg fibre. *Journal of Physics D: Applied Physics*, 51(30), 305101.
- Hong, B., et al. (2018). Low-loss asymptotically single-mode THz Bragg fiber fabricated by digital light processing rapid prototyping. *IEEE Transactions on Terahertz Science and Technology*, 8(1), 90–99.
- Kampker, A., Kreisköther, K., & Reinders, C. (2017). Material and parameter analysis of the PolyJet process for mold making using design of experiments. *International Journal of Chemical, Molecular, Nuclear, Materials, and Metallurgical Engineering*, 11(3), 242–249.
- Kaur, A., Myers, J. C., Ghazali, M. I. M., Byford, J., & Chahal, P. (2015, May). Affordable terahertz components using 3D printing. *Proceedings of the IEEE 65th Electronic Components and Technology Conference (ECTC)*, 2071–2076.
- Kechagias, J. D., & Maropoulos, S. (2015). An investigation of sloped surface roughness of direct Poly-Jet 3D printing. In *Proceedings of the International Conference on Recent Advances in Mechanical, Mechatronics, Civil, Chemical, and Industrial Engineering* (pp. 150–153).
- Li, J., Nallappan, K., Guerboukha, H., & Skorobogatiy, M. (2017). 3D printed hollow core terahertz Bragg waveguides with defect layers for surface sensing applications. *Optics Express*, 25(4), 4126–4144.
- Min, L. (2016). *Novel materials, fabrication techniques and algorithms for microwave and THz components, systems and applications* (Doctoral dissertation, University of Arizona).
- Otter, W. J., & Lucyszyn, S. (2017). Hybrid 3-D-printing technology for tunable THz applications. *Proceedings of the IEEE*, 105(4), 756–767.
- Pandey, S., Gupta, B., & Nahata, A. (2013). Terahertz plasmonic waveguides created via 3D printing. *Optics Express*, 21(21), 24422–24430.
- Sachdeva, A., Singh, S., & Sharma, V. S. (2013). Investigating surface roughness of parts produced by SLS process. *International Journal of Advanced Manufacturing Technology*, 64, 1505–1516.
- Schmid, M., Amado, A., & Wegener, K. (2015). Polymer powders for selective laser sintering (SLS). *AIP Conference Proceedings*, 1664, 160009.
- Udroiu, R., & Mihail, L. A. (2009). Experimental determination of surface roughness of parts obtained by rapid prototyping. In *Proceedings of the 8th WSEAS International Conference on Circuits, Systems, Electronics, Control & Signal Processing* (pp. 283–286). Puerto De La Cruz, Spain.
- Vorobyov, A., Farserotu, J. R., & Decotignie, J.-D. (2017). 3D printed antennas for Mm-wave sensing applications. *Proceedings of the 11th International Symposium on Medical Information and Communication Technology (ISMICT)*, 23–26.
- Wu, Z., Kinast, J., Gehm, M. E., & Xin, H. (2008). Rapid and inexpensive fabrication of terahertz electromagnetic bandgap structures. *Optics Express*, 16(21), 16442–16451.
- Xin, H., & Liang, M. (2017). 3-D-printed microwave and THz devices using polymer jetting techniques. *Proceedings of the IEEE*, 105(4), 737–755.
- Yi, H., Qu, S.-W., Ng, K.-B., Chan, C. H., & Bai, X. (2016). 3-D printed millimeter-wave and terahertz lenses with fixed and frequency scanned beam. *IEEE Transactions on Antennas and Propagation*, 64(2), 442–449.
- Zhang, B., Chen, W., Wu, Y., Ding, K., & Li, R. (2017). Review of 3D printed millimeter-wave and terahertz passive devices. *International Journal of Antennas and Propagation*, 2017.

Determining the Distinctiveness of Learners with Outlier Detection Ensembles

Wilawan Inchamnan^{1*}, Jesada Kajomrit², Waraporn Jirapanthong³

College of Creative Design & Entertainment Technology, Dhurakij Pundit University Thailand

wilawan.inn@dpu.ac.th¹, jesada.kaj@dpu.ac.th², waraporn.jir@dpu.ac.th³

ABSTRACT

Gamification is the application of game design principles and elements to non-game contexts. It has been increasingly used to engage and motivate learners. A clear understanding of learners' characteristics is a key success of gamification. Understanding the distinctiveness of the learners' behaviors enables gamification design to encompass all types of participants. This paper then proposes a methodology to assist gamification design in identifying distinctive individual learners within a group. The proposed methodology adopts ensembles of outlier detection techniques to examine how much individual learners differ quantitatively from the group, and utilizes decision tree classifiers to identify the factors contributing to the distinctiveness. The outcomes of these methods are presented in the if-then rules, which assist the interpretability of the discovered insights. This method enables educators and gamification designers to personalize gamified learning environments by focusing on unique learner characteristics.

KEYWORDS: Outliers Detection, Ensembles Method, Decision Trees, Learner Distinctiveness, Gamification Design

*Corresponding Author: Wilawan.inn@dpu.ac.th

Received: 21/06/2024; Revised: 10/10/2024; Accepted: 10/10/2024

1. INTRODUCTION

Gamification is the process of applying game design principles, mechanics, and elements to non-game contexts. The objectives of gamification are to engage users, encourage participation, and motivate desired behaviors (Inchamnan, 2023). Essentially, it involves using elements commonly found in games, such as points, badges, leaderboards, challenges, and rewards, to make activities outside of games more enjoyable and engaging.

Gamification research is a vibrant field with ongoing studies, exploring various aspects of gameful design, motivation, and behavior change. One significant focus is on integrating gamification elements into education in order to enhance learner engagement and opportunities within educational settings. This approach involves understanding how elements like points, badges, and leaderboards can influence behavior and mindset. Objective is aim to improve instructional activities and foster better learning outcomes (Inchamnan, & Chomsuan, 2021).

The history of integrating game elements into daily life has evolved into modern gamification practices. The studies explore its evolution, motivational effects, productivity enhancements, and impacts on learning methodologies (Sharma & Sharma, 2023). Furthermore, gamification research aims to bridge the gap between gamification design and human motivation. It also offers valuable insights for researchers and practitioners in the field of information technology design (Tang & Zhang, 2019).

Presently, data analytics has become an important issue in several areas, and gamification is no exception. Combining gamification with data analytics allows organizations not only to create engaging experiences but also to gather valuable data on user interactions, preferences, and performance. For example, a company might use gamification techniques in its employee training program and then use data analytics to assess which modules are most effective based on employee engagement and learning outcomes (Greene, 2023). On the other hand, data analytics enables gamification designers to understand their

learners in advance and design personalized content (Stone et. al., 2015).

The integration of gamification with data analytics can be accomplished for several purposes (Poolsawas & Niranatlamphong, 2017), for examples, behavior tracking, performance evaluation, personalization, iterative improvement and predictive analytics. Personalization is interesting point for our study. It could be satisfied to all learners if the contents in the gamification math to everybody. To accomplish this mission, gamification designers have to understand the distinctiveness of the learners.

If we define the distinctiveness as the measure of learner's uniqueness, it could be hypothesized that most learners exhibit common behaviors, while some learner deviate from the norm. In the area of data analytics, there is one type of analysis named outlier detection that tries to identify data points or observations that deviate significantly from the rest of the dataset (Chandola et. al., 2009). These outliers may indicate anomalies or unique patterns within the data. Imagine that if some deviated learners in the class are similar to the unique patterns, it would be very challenging to design gamification content to serve those learners. However, we have to find those unique learners first. The purpose of this paper is to present an interpretable approach to apply outlier detection technique to discover the distinctiveness of learners.

The rest of the paper is organized as follows. Section 2 provides some outlier detection methods used in this study. The information of gamification data is briefly discussed in section 3. Section 4 proposes our methodology, while the experimental results and analysis are discussed in the section 5. Finally, section 6 is the conclusion.

2. SELECTED OUTLIER DETECTION TECHNIQUES

Outlier detection is a data analysis technique aimed at identifying observations or data points that deviate significantly from the majority of the data. These deviations, known as outliers, can signal anomalies, errors, or rare occurrences within the

dataset. Over recent decades, a variety of techniques have been developed for outlier detection, including classification methods, clustering methods, k-nearest neighbor methods, and statistical methods. Additionally, these techniques can be categorized into supervised, semi-supervised, and unsupervised methods.

In practice, one of the recommended libraries for outlier detection is PyOD (Han et. al., 2022). PyOD is a versatile Python library for detecting outliers in multivariate data. It offers more than fifty algorithms that have been successfully used in numerous academic research studies and commercial products. In this study, the authors initially adopted thirteen unsupervised algorithms in the proposed method. However, this does not imply that the proposed method is limited to these algorithms for outlier detection. The adopted algorithms are summarized as follows.

- Principal Component Analysis (PCA) (Shyu et. al., 2003) is a linear dimensionality reduction using singular value decomposition of the data to project it to a lower dimensional space. When used for outlier detection, it projects the data to the lower dimensional space and then uses the reconstruction errors as the anomaly scores.
- One-Class Support Vector Machine (OCSVM) (Schölkopf et. al., 1999) maximizes the margin between the origin and the normal samples, and defines the decision boundary as the hyperplane that determines the margin.
- Local Outlier Factor (LOF) (Breunig et. al., 2000) measures the local deviation of the density of a given sample with respect to its neighbors. It is local in that the anomaly score depends on how isolated the object is with respect to the surrounding neighborhood.
- Clustering Based Local Outlier Factor (CBLOF) (He et. al., 2003) calculates the anomaly score by first assigning samples to clusters, and then using the distance among clusters as anomaly scores.
- Connectivity-Based Outlier Factor (COF) (Tang et. al., 2002) uses the ratio of the average chaining distance of data points and the average chaining

distance of k -th nearest neighbor of the data point, as the anomaly score for observations.

- Histogram- Based Outlier Detection (HBOS) (Goldstein & Dengel, 2012) assumes feature independence and calculates the degree of outlyingness by building histograms.
- K-Nearest Neighbors (KNN) (Ramaswamy et. al., 2000) views the anomaly score of the input instance as the distance to its k -th nearest neighbor. Subspace Outlier Detection (SOD) (Kriegel et. al., 2009) aims to detect outliers in varying subspaces of high-dimensional feature space.
- Copula Based Outlier Detector (COPOD) (Li et. al., 2020) is a hyperparameter-free, highly interpretable outlier detection algorithm based on empirical copula models.
- Empirical-Cumulative-distribution-based Outlier Detection (ECOD) (Li et. al., 2022) is a hyperparameter-free, highly interpretable outlier detection algorithm based on empirical cumulative distribution function (ECDF). Basically, it uses ECDF to estimate the density of each feature independently, and assumes that outliers locate the tails of the distribution.
- Gaussian Mixture Model (GMM) (Zong et. al., 2018) is a probabilistic model used for clustering and density estimation tasks. It is a parametric model that represents the probability distribution of a dataset as a weighted sum of several Gaussian distributions.
- Lightweight on-line detector of anomalies (LODA) (Pevný, 2016) is an ensemble method and is particularly useful in domains where a large number of samples need to be processed in real-time or in domains where the data stream is subject to concept drift and the detector needs to be updated online.
- Isolation Forest (IForest) (Liu et. al., 2008) observations by randomly selecting a feature and then randomly selecting a split value between the maximum and minimum values of the selected feature.

As this paper does not focus extensively on outlier detection algorithms, a brief overview of selected algorithms is just provided. For readers interested in a deeper exploration of this topic, the authors recommend consulting references (Chandola et. al., 2009), (Aggarwal, 2017), and (Mehrotra et. al., 2017) for more details.

Outlier detection algorithms mentioned above have their own advantages. The different techniques could lead to differences in detection outcomes. Thus, the goal is to combine these advantages to increase detection confidence. Ensemble techniques are not a new concept; they have been successfully used in various application domains (Mehrotra et. al., 2014). In the current study, we use an ensemble technique to detect distinctive behaviors of learners in the gamification domain. Such a problem is essentially equivalent to outlier detection.

As our dataset do not have label, the proposed methodology then falls in the unsupervised analysis. It is difficult to apply supervised classification algorithms directly to find the outliers. However, using ensemble of unsupervised algorithms can enhance prediction confidence by focusing on students whose behaviors qualitatively deviate from the group norm, signaling potential risks or opportunities for intervention (Novoseltseva, 2022).

3. GAMIFICATION DATASET

This study gathered data from a survey completed by 93 students in the class. The dataset includes information about the students (No.1 – 4) and their answers to 20 questions (No. 5 – 24). Table 1 provides a summary of the dataset details. Table 2 exhibits the possible values of category data. Table 3 shows statistics of the dataset.

Table 1 Question in gamification dataset

No	Feature	Data type	Name
1	Sex	Category (2 values)	sex
2	Age	Numeric [17, 33]	age
3	GPA	Numeric	gpa

		[0.00, 4.00]	
4	Faculty	Category (5 values)	faculty
5	What type of game do the students like to play the most?	Category (9 values)	game
6	Can students reflect their experiences, interests, and familiar perspectives while studying in the classroom?	Ordinal [1, 5] 1 = Poor , 5 = Excellent	q1
7	Do students observe or participate in unfamiliar things? Are they exposed to new situations or content they haven't encountered before?	Ordinal [1, 5] 1 = Poor , 5 = Excellent	q2
8	Can students identify, think, discuss, and collaborate with others on the content of the lesson?	Ordinal [1, 5] 1 = Poor , 5 = Excellent	q3
9	Do students understand the content according to the step-by-step theory taught?	Ordinal [1, 5] 1 = Poor , 5 = Excellent	q4
10	Can students analyze case studies assigned by the instructor?	Ordinal [1, 5] 1 = Poor , 5 = Excellent	q5
11	Do students understand their own and others' perspectives, interests, and motivations?	Ordinal [1, 5] 1 = Poor , 5 = Excellent	q6
12	Can students apply newly acquired knowledge in real-life situations at present?	Ordinal [1, 5] 1 = Poor , 5 = Excellent	q7
13	Can students design innovations, create new things, or transmit their own learning?	Ordinal [1, 5] 1 = Poor , 5 = Excellent	q8
14	Do students understand the rules of teaching and learning?	Ordinal [1, 5] 1 = Poor , 5 = Excellent	q9
15	Do students understand the objectives of each learning session?	Ordinal [1, 5] 1 = Poor , 5 = Excellent	q10

16	Each time scoring in the room, Do students feel like coming to study and feel rewarded?	Ordinal [1, 5] 1 = Poor , 5 = Excellent	q11
17	Do students prefer teachers to provide current challenging case studies?	Ordinal [1, 5] 1 = Poor , 5 = Excellent	q12
18	Do students enjoy competing both inside and outside the classroom and strive to be the best in the classroom?	Ordinal [1, 5] 1 = Poor , 5 = Excellent	q13
19	Are the classroom activities fun and appropriate?	Ordinal [1, 5] 1 = Poor , 5 = Excellent	q14
20	Do the students prefer learning online more than in the classroom?	Ordinal [1, 5] 1 = Poor , 5 = Excellent	q15
21	Do instructors prefer setting deadlines for assignments, and if exceeded, do they deduct points?	Ordinal [1, 5] 1 = Poor , 5 = Excellent	q16
22	Do students like working in groups or not?	Ordinal [1, 5] 1 = Poor , 5 = Excellent	q17
23	What type of game character the students are the most?	Category (4 values)	q18
24	What personal type awareness of students?	Category (5 values)	q19

Table 2 Possible values of the category data

No.	Possible Values
1	(1) Male (2) (2) Female
4	(1) Information Technology (2) Tourism and Hospitality (3) Business Management (4) Integrative Medicine (5) Communication Arts
5	(1) Role-playing (2) Shooting (3) Fighting (4) Adventure

	(5) Strategy (6) Simulation (7) Puzzle (8) Sport (9) Not playing
23	(1) Explorer: I enjoy learning to gain knowledge in new things continuously. (2) Killer: I like to be number 1 or at least at the beginner level in the classroom. (3) Achiever: I like to follow the teacher's instructions thoroughly according to the guidelines provided by the teacher. (4) Socializer: I like to be a part of my friends in the classroom because it feels fun.
24	(1) I don't like competition and be afraid of making mistakes. (2) I focus on practical implementation to see a clear picture. (3) I am a confident person who emphasizes interaction. (4) I prefer working alone and don't enjoy socializing. (5) Other

Table 3 Statistics of the Dataset

No	Statistics
1	(1) = 27, (2) = 66
2	Range = [17, 33], Average = 21.5
3	Range = [0.00, 4.00], Average = 3.36
4	(1) = 14, (2) = 1, (3) = 12, (4) = 65, (5) = 1
5	(1) = 7, (2) = 24, (3) = 8, (4) = 6, (5) = 4, (6) = 7, (7) = 7, (8) = 4, (9) = 26
6	(1) = 0, (2) = 4, (3) = 24, (4) = 40, (5) = 25
7	(1) = 0, (2) = 3, (3) = 28, (4) = 41, (5) = 21
8	(1) = 0, (2) = 2, (3) = 16, (4) = 42, (5) = 33
9	(1) = 0, (2) = 1, (3) = 28, (4) = 35, (5) = 29
10	(1) = 0, (2) = 2, (3) = 26, (4) = 43, (5) = 22
11	(1) = 0, (2) = 1, (3) = 30, (4) = 36, (5) = 26
12	(1) = 1, (2) = 0, (3) = 29, (4) = 38, (5) = 25
13	(1) = 1, (2) = 2, (3) = 38, (4) = 26, (5) = 26
14	(1) = 0, (2) = 0, (3) = 16, (4) = 31, (5) = 46
15	(1) = 1, (2) = 1, (3) = 26, (4) = 29, (5) = 36
16	(1) = 5, (2) = 7, (3) = 29, (4) = 32, (5) = 20
17	(1) = 2, (2) = 5, (3) = 29, (4) = 34, (5) = 23
18	(1) = 20, (2) = 14, (3) = 36, (4) = 10, (5) = 13
19	(1) = 0, (2) = 10, (3) = 27, (4) = 32, (5) = 24
20	(1) = 18, (2) = 14, (3) = 33, (4) = 10, (5) = 18
21	(1) = 6, (2) = 5, (3) = 32, (4) = 23, (5) = 27
22	(1) = 19, (2) = 5, (3) = 40, (4) = 15, (5) = 14
23	(1) = 60, (2) = 4, (3) = 14, (4) = 15
24	(1) = 26, (2) = 34, (3) = 17, (4) = 5, (5) = 13

4. PROPOSED METHODOLOGY

The proposed methodology is shown in the Figure 1. The methodology consists of five steps, details as follows:

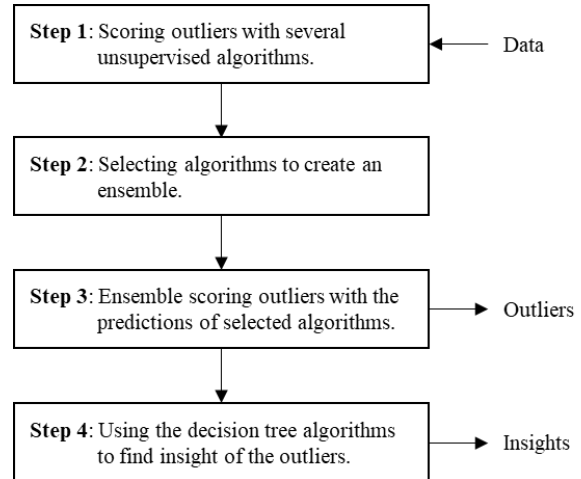


Figure 1 The proposed methodology

Step 1: Scoring outliers with various selected algorithms. In this step, many algorithms are applied to the data in order to assign outlier scores to the data points. It is, of course, evident that the choice of algorithms results in differing scoring outcomes. The scoring outcome of each algorithm is normalized within a range between 0 and 1. The methodology does not limit the number of algorithms. In our experiment, however, we utilize thirteen algorithms provided in the PyOD library (Han et. al., 2022) mentioned in the section 2 of this paper. The source of the algorithms can be found in (Zhao, 2024).

Step 2: Selecting algorithms to create an ensemble. In this step, a subset of algorithms is chosen from all available options. The outlier scores generated by each algorithm in step 1 are sorted from 0 to 1. The sorted outlier scores (y-axis) are plotted against the number of data points (x-axis). To select the algorithms, we observe at 90% of the total number of data points. At this juncture, the chosen algorithms should encompass all outlier scores ranging from the minimum to the maximum scores.

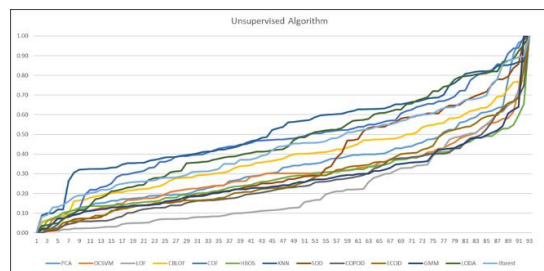
Step 3: Scoring outliers with the predictions of algorithms. It is assumed that data points are identified as outliers if they fall within the top 10% of data points with the highest outlier scores. Through various algorithms, certain data points may be labeled as normal (label = 0) by some algorithms and as outliers (label = 1) by others. Therefore, the ensemble score is defined

as the sum of all selected algorithms (label). For example, if three out of five algorithms predict a data point as an outlier, then the ensemble score is 3.

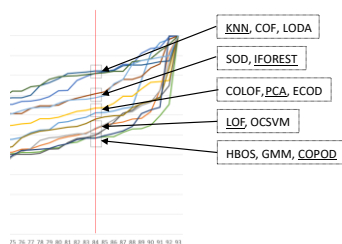
Step 4: Utilizing the decision tree algorithm to investigate insights. Once the ensemble score has been assigned to the data points, it can be used as the label for supervised learning. The ensemble label reflects the distinctive level of the data points. The higher the distinctive level, the further the distance from normal behaviors. Supervised machine learning techniques such as decision trees can be employed to identify the causes of distinctiveness. To clearly illustrate the proposed methodology, the gamification data will be processed through all steps mentioned above.

5. EXPERIMENTAL RESULTS

According to the step 1, the data are preprocessed into the machine learning-suitable format. Numeric features "age" and "gpa" as well as ordinal features "q1" to "q17," are normalized using min-max scaling to a range of 0 to 1. Categorical features "sex", "game", "faculty", "q18", and "q19" are encoded using the one-hot method. Therefore, the final number of features is 45. Next, the preprocessed dataset is applied with thirteen unsupervised outlier detection algorithms, that is, PCA, OCSVM, LOF, CBLOF, COF, HBOS, KNN, SOD, COPOD, ECOD, GMM, LODA, and, IForest.



(a)



(b)

Figure 2 (a) The plot of thirteen normalized outlier scores, and (b) Selected algorithms at most 10 percent datapoints

According to step 2, the outlier scores of each algorithm are sorted from minimum to maximum. Then they are normalized to a range of 0 to 1 for comparison. Figure 2 shows the plot of those outlier scores. The x-axis represents the data points, and the y-axis represents the normalized scores. One can observe that due to differences in algorithms, variations in scoring occur. Some data points are detected as outliers by one algorithm but as normal by other algorithms.

To select the algorithms, we observe at 90% of the total number of data points, in this case, at 84 on the x-axis. At this juncture, we select five algorithms that encompass the entire outlier scores range (see Figure 2). The selected algorithms are KNN, IForest, PCA, LOF, and COPOD. The selection is rather arbitrary, thus other ones may select difference set of algorithms. According to step 3, the data points belonging to the top 10 percent of the highest outlier scores are predicted as outliers (class 1 or score = 1); otherwise, they are predicted as normal (class 0 or score = 0). Therefore, if we sum the scores from the selected algorithms, each data point may have a score ranging from 0 to 5. This is referred to as the ensemble score. A score of 0 means that no algorithm predicts the data point as an outlier (extremely normal), whereas a score of 5 means that every algorithm predicts the data point as an outlier (extremely outlier). In our experiment, the number of data points are in Table 4.

Table 4 The numbers of data in ensemble scores.

Score	Number of data point	Percent of data point
0	67	72.04%
1	12	12.90%
2	7	7.52%
3	4	4.30%
4	2	2.15%
5	1	1.07%
sum	93	100%

We can use this score as the distinguishing level for students. 67 students in level 0 are considered normal students. This largest group of students can be utilized to design gamification for general purposes. The next groups consist of 12 and 7 students in levels 1 and 2, respectively, who differ from the normal students and

can be grouped together for specific purposes. Finally, 4 and 2 students in levels 3 and 4 are distinctive students who may serve very specific purposes in gamification design. 1 student in level 5 may represent noise in the data.

According to step 4, We label the data with score derived in the step 3 and utilize the Decision Tree classification algorithm to generate decision tree diagram for analysis. The experiment generates decision tree with three criteria including gain ratio (Figure 3), information gain (Figure 4), and gini index (Figure 5) to cooperative analysis. The experiment set parameter depth of tree equal to 5 for interpretable and visualizable purposes.

According to the Figure 3, it could be observed from the tree that:

- IF GPA less than 0.5 THEN the student data probably is noise data.
- IF GPA greater than 0.5 AND student tend to focus on practical implementation to see a clear picture THEN student tend to have high distinctiveness from normal student. And if that student prefers a fighting game, he/she have relative higher distinctiveness.

According to the Figure 4, it could be observed from the tree that:

- IF student tend to focus on practical implementation to see a clear picture AND student like fighting game THEN student tend to have high distinctiveness from normal
- IF student is not a good in apply newly acquired knowledge in real-life situations at present AND the student prefers shooting game THEN the student tend to have high distinctiveness from others.

According to the Figure 5, it could be observed from the tree that:

- IF student tend to focus on practical implementation to see a clear picture AND student like fighting game THEN student tend to have high distinctiveness from normal

From the three models, a common pattern that leads to high distinctiveness is in the second selection “student

who tends to focus on practical implementation to see a clear picture” AND “student who prefers fighting game” of the questions named “q19” and “game”, respectively. This insight enables gamification designer to have more information to analyze high distinctives students from this analysis.

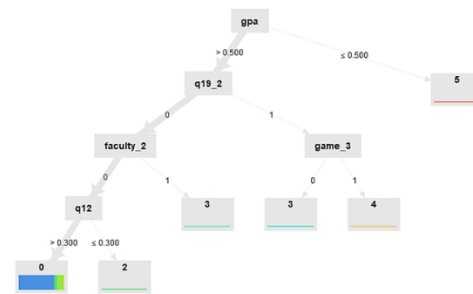


Figure 3. The decision tree modeled with gain ratio criterion

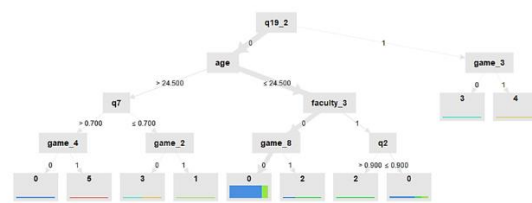


Figure 4. The decision tree model with information gain criterion

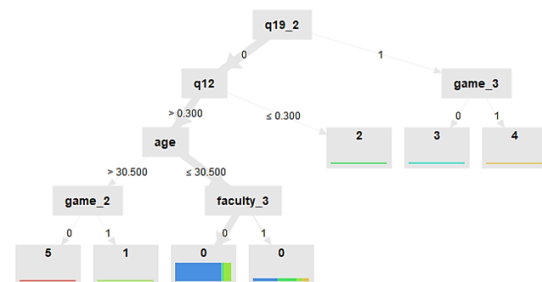


Figure 5 The decision tree modeled with gini index criterion

Understanding learners' behaviors can significantly enhance gamification design. The proposed method offers an alternative approach for discerning learners' distinctiveness through If-Then rules. However, this paper represents preliminary research and provides only a conceptual framework for key takeaways. Future research should involve a larger sample size to strengthen the study's validity. Additionally, as game technology evolves, new game types, such as soul-like

games, have been defined, along with new gamer classifications, exemplified by the 9 Quantic gamer types (Greene, 2024). Furthermore, the exploration of new data analytics methods for gamification design remains an ongoing area of investigation.

6. CONCLUSION

Understanding the characteristics of learners makes gamification design more attractive and effective. Data analytics enables gamification designers to better understand learners. This study proposes an approach to data analytics named outlier detection to discover the distinctiveness of learners. The study defines distinctiveness as the learners' characteristics that are far from the norm of the group. The proposed method consists of using an ensemble of outlier detection algorithms to score the distinctiveness of the learners and using decision tree algorithms to extract decision rules of distinctiveness. The study exemplifies the proposed method with data collected from one class and shows how to discover insights from the data. However, machine learning has limitations in addressing imbalanced datasets. Some research proposes a framework that combines outlier detection and feature reduction to improve model performance, highlighting the importance of outliers in identifying rare or distinctive instances, which ultimately enhances classification accuracy (Lusito et. al., 2024). The outcomes of the methodology are expressed in the form of IF-THEN rules, which are easily interpretable by humans. Gamification analysts can utilize the extracted insights to tailor their instructional strategies more effectively to specific learner groups. In our study, students who exhibit a preference for fighting games and focus on practical implementation to gain a clearer understanding were identified as distinctive learners. This observation raises questions for gamification analysts, particularly regarding the underlying reasons for these preferences, which may warrant further

experimentation. Future research should aim to gather additional data to reinforce our findings. The integration of gamification design with outlier detection remains an intriguing area of study.

Outlier detection doesn't inherently judge whether the distinctiveness is positive or negative. It simply identifies students whose behaviors, preferences, or performances differ from the majority. The interpretation of this distinctiveness, for example, good or bad learners, depends on the context in which these outliers are analyzed. For example, a student with a unique learning style that differs from the typical approach may require personalized learning strategies that could enhance their performance, which would be beneficial once addressed (Novoseltseva, 2022).

REFERENCES

- Aggarwal, C. C. (2017). *Outlier analysis*, 2nd ed., Bangkok, Thailand: Fophring Chamkat. pp.113-140.
- Breunig, M. M., Kriegel, H. P., Ng, R. T., & Sander, J. (2000). LOF: identifying density-based local outliers. In *Proceedings of the 2000 ACM SIGMOD international conference on Management of data* (pp. 93-104).
- Chandola, V., Banerjee, A., & Kumar, V. (2009). Anomaly detection: A survey, *ACM computing surveys*, 41(3).
- Goldstein, M., & Dengel, A. (2012). Histogram-based outlier score (hbos): A fast unsupervised anomaly detection algorithm. *KI-2012: Poster and Demo Track of the 35th German Conference on Artificial Intelligence (KI-2012)* (pp. 59-63).
- Greene, K. (2023). Big Data and Gamification: How to Play It Smart. Retrieved January, 2023, from <https://emfluence.com/blog/big-data-and-gamification-how-to-play-it-smart>
- Greene, K. (2024). The 9 Quantic Gamer Types, 2024, from <https://quanticfoundry.com/gamer-types/>
- Han, S., Hu, X., Huang, H., Jiang, M., & Zhao, Y. (2022). Adbench: Anomaly detection benchmark. *Advances in Neural Information Processing Systems, 36th Conference on Neural Information Processing Systems (NeurIPS) Track on Datasets and Benchmarks* (pp. 32142-32159).
- He, Z., Xu, X., & Deng, S. (2003). Discovering cluster-based local outliers. *Pattern recognition letters*, 24(9-10), 1641-1650.
- Inchamnan, W. (2023). Gamification Pedagogy Trigger Design for Creative Experiences in Metaverse Class Room. *Journal of Applied Science and Emerging Technology (JASET)*, 22(2), 251539.
- Inchamnan, W., & Chomsuan, J. (2021). The Gamification Design for Affordances Pedagogy. *Advances in Science, Technology and Engineering Systems Journal*, 6(4), 138-146.

- Kriegel, H. P., Kröger, P., Schubert, E., & Zimek, A. (2009). Outlier detection in axis-parallel subspaces of high dimensional data. In *Advances in Knowledge Discovery and Data Mining: 13th Pacific-Asia Conference, PAKDD 2009 Bangkok, Thailand, April 27-30, 2009 Proceedings 13* (pp. 831-838). Springer Berlin Heidelberg.
- Li, Z., Zhao, Y., Botta, N., Ionescu, C., & Hu, X. (2020). COPOD: copula-based outlier detection. In *2020 IEEE international conference on data mining (ICDM)* (pp. 1118-1123). IEEE.
- Li, Z., Zhao, Y., Hu, X., Botta, N., Ionescu, C., & Chen, G. H. (2022). Ecod: Unsupervised outlier detection using empirical cumulative distribution functions. *IEEE Transactions on Knowledge and Data Engineering*, 35(12), 12181-12193.
- Liu, F. T., Ting, K. M., & Zhou, Z. H. (2008). Isolation forest. In *2008 eighth IEEE international conference on data mining* (pp. 413-422). IEEE.
- Lusito, S., Pugnana, A., & Guidotti, R. (2024). Solving imbalanced learning with outlier detection and features reduction. *Machine Learning*, 113(8), 5273-5330. <https://doi.org/10.1007/s10994-023-06448-0>
- Mehrotra, K. G., Mohan, C. K., Huang, H., Mehrotra, K. G., Mohan, C. K., & Huang, H. (2017). *Anomaly detection*, Springer International Publishing. pp. 21-32.
- Novoseltseva, D. (2022). Outlier Detection as a Tool for Reinforcing Data Analysis and Prediction in Education [Doctoral's thesis]. Université Paul Sabatier-Toulouse III.
- Pevný, T. (2016). Loda: Lightweight on-line detector of anomalies. *Machine Learning*, 102, 275-304.
- Poolsawas, B., & Niranatlamphong, W. (2017). Using a Game Development Platform to Improve Advanced Programming Skills. *Journal of Reviews on Global Economics*, 6, 328-334.
- Ramaswamy, S., Rastogi, R., & Shim, K. (2000). Efficient algorithms for mining outliers from large data sets. In *Proceedings of the 2000 ACM SIGMOD international conference on Management of data* (pp. 427-438).
- Schölkopf, B., Williamson, R. C., Smola, A., Shawe-Taylor, J., & Platt, J. (1999). Support vector method for novelty detection. *Advances in neural information processing systems*, 12.
- Sharma, D., & Sharma, J. (2023, July). Evolution of gamification, its implications, and its statistical impact on the society. In *International Conference on Emerging Trends in Design & Arts* (pp. 8-20).
- Shyu, M. L., Chen, S. C., Sarinnapakorn, K., & Chang, L. (2003, November). A novel anomaly detection scheme based on principal component classifier. In *Proceedings of the IEEE foundations and new directions of data mining workshop* (pp. 172-179). Piscataway, NJ, USA: IEEE Press..
- Stone, J., Sanyal, J., Castello, C., & New, J. (2015). Gamification and Visualization of Sensor Data Analysis in Research Buildings. *Oak Ridge National Laboratory (ORNL)*.
- Tang, J., & Zhang, P. (2019). Exploring the relationships between gamification and motivational needs in technology design. *International Journal of Crowd Science*, 3(1), 87-103.
- Tang, J., Chen, Z., Fu, A. W. C., & Cheung, D. W. (2002). Enhancing effectiveness of outlier detections for low density patterns. In *Advances in Knowledge Discovery and Data Mining: 6th Pacific-Asia Conference, PAKDD 2002 Taipei, Taiwan, May 6-8, 2002 Proceedings 6* (pp. 535-548). Springer Berlin Heidelberg.
- Zhao, Y. (2024). Welcome to PyOD documentation!. Retrieved January, 2024, from <https://pyod.readthedocs.io/en/latest/>
- Zimek, A., Campello, R. J., & Sander, J. (2014). Ensembles for unsupervised outlier detection: challenges and research questions a position paper. *Acm Sigkdd Explorations Newsletter*, 15(1), 11-22.
- Zong, B., Song, Q., Min, M. R., Cheng, W., Lumezanu, C., Cho, D., & Chen, H. (2018). Deep autoencoding gaussian mixture model for unsupervised anomaly detection. In *International conference on learning representations*.

Evaluation of the effects of processing on physicochemical properties of the freshly extracted crude groundnut oil

Funmilayo Patricia Afolabi^a, Olamide Racheal Ogundele^a, Rofiat Oyeibisi Raji^a, Mutalib Adeniran Aderogba^a, and
Olumuyiwa Sunday Falade^{a*}

^aDepartment of Chemistry, Obafemi Awolowo University, Ile-Ife, Nigeria

ABSTRACT

The industrial processing of groundnut oil involves hydrothermal and chemical treatments that could affect its lipid constituents. The effect of this processing on physicochemical properties of freshly extracted crude groundnut oil was determined. Crude groundnut oil was extracted following the traditional method and half of it was processed as done industrially. Chemical properties [acid value, free fatty acid, peroxide value, saponification value, ester value, iodine value, total phenolic content (TPC), p-Anisidine value, total tocopherol (TT), total antioxidant capacity (TAC) and thiobarbituric acid reactive species (TBARS)] and physical properties (refractive index, surface tension, smoke point, flash point, viscosity and specific gravity) were determined following the AOAC and other standard methods. The results indicated that the processing of the crude groundnut oil, although improved the physical appearance and reduced free fatty acid by 56% consequently, could improve its stability but it also compromised the levels of antioxidant compounds such as tocopherols in the oil that reduced by 16.4%. TAC, an antioxidant parameter also reduced by 92% while TBARS increased by 15.1%. It can be concluded that processing of groundnut oil could either improve its stability or compromise it, therefore, there is a need for the stability study of processed groundnut oil.

KEYWORDS: Groundnut oil, p-anisidine value, Physicochemical, Total tocopherol, Thiobarbituric acid reactive substances

*Corresponding Author: osfalade@oauife.edu.ng, osfalade2014@gmail.com

Received: 19/09/2023; Revised: 27/02/2024; Accepted: 22/12/2024

1. INTRODUCTION

Groundnut, or peanut (*Arachis hypogaea* Linn), commonly called the poor man's nut is one of the most important cash crops in the world (Fletcher and Shi, 2016). It is an important food crop, the third most important source of vegetable protein and the sixth most important oilseed crop (FAOSTAT, 2010). It contributes significantly to the protein in the diets of people in many developing countries (Fletcher and Shi, 2016). It contains 48–50% of oil and 26–28% of protein and is a rich source of dietary fiber, minerals, and vitamins which is evident in its high caloric value (Fletcher and Shi, 2016). Worldwide, groundnut production is principally dedicated to the production of vegetable oil (49%) and the cake obtained as well as whole nuts (41%) are used as human food and also as feed for animals (Fletcher and Shi, 2016).

Groundnut oil is widely consumed domestically and all over the world. It contains more potassium than sodium and it is a good source for calcium, phosphorus and magnesium (Falade et al. 2008). It also contains thiamine, vitamin E, selenium, zinc and arginine (Falade et al. 2008; Hariod, 1990). Diets high in groundnut oil were proven to be as effective as olive oil in preventing of cardiovascular diseases (Hariod, 1990). The report of the US Department of Agriculture released in 2015 showed that the world vegetable oil consumption has increased from 151.68 to 177.16 million metric tons from 2011/2012 to 2015/2016, respectively (USDA/NASS, 2015). The prices released by the World Bank in 2020 for groundnut, coconut, palm kernel, palm oil and soybean oil were declared to be \$1493, \$993, \$955, \$835 and \$874 per metric ton, respectively (World Bank, 2020).

Consequently, adequate protection must be given to vegetable oils reported to be barely enough for the world population that is growing astronomically (Aydar et al. 2016).

Vegetable oils are known to be susceptible to lipid auto-oxidation reaction. This reaction is a degradative free radical chain reaction that causes quality loss in food industries, oxidative stress and its attendant diseases such as diabetes, atherosclerosis and cancer (Sokmen et al. 2004). The free radicals generated in this reaction have also been reported to damage macromolecules such as DNA and the cellular membrane (Rahal et al. 2014).

The processing of crude vegetable oil is important due to the presence of some undesirable components of the oil such as lecithin, gum, protein, gossypol and so on. These components are known to cause sedimentation in vegetable oils, making the oil to be cloudy or outright formation of precipitate, thus, making them unattractive and unsuitable for some uses such as in salad dressing. Some of these unwanted constituents such as gossypol could also be toxic (Aluyor et al. 2009). Processing although makes vegetable oils attractive and improves their usage, it has been reported that it could compromise the shelf-life of the processed oil in some vegetable oils (Achinewhu and Akpapunam, 2005) and improved it in others (Aluyor et al. 2009).

The processing of vegetable oil involves conditions such as heat, steaming, neutralization, decolorization and so on. Some of these conditions are well known to enhance lipid auto-oxidation. As a result of the aforementioned, it has become imperative to examine the effects of processing on the physiochemical properties of groundnut oil with the aim of making recommendations on how to prevent or at least reduce this destructive reaction in groundnut oil.

2. MATERIALS AND METHODS

2.1. Materials

All the reagents used in this study were of analytical grade and were sourced from BDH Chemicals Ltd,

Poole, UK and Sigma Aldrich chemicals Co., St Louis, Mo, USA.

Groundnut was purchased from New Market, Ile-Ife, Osun State, Nigeria.

2.2. Extraction of groundnut oil

The extraction of the groundnut oil was done following the traditional method. The groundnut seeds (17.69 kg) were roasted in a big pan with firewood as the source of fire for 30 minutes. The roasted groundnut seeds were immediately bagged in air tight sack bags for 24 hours. The roasted groundnut seeds were then de-hulled (removal of seed coat) manually and handpicked to separate nuts of good quality from the bad ones. The good nuts were pulverized using a locally fabricated mill (Lawood Metals, Osogbo, Osun State, Nigeria). Water (1000 mL) was added to the groundnut paste obtained and the mixture was kneaded manually. The oil content was oozed out during the process of kneading. The crude groundnut oil (5.2 L) obtained was scooped out and stored in the dark inside an amber bottle prior to further analysis. Half of the crude groundnut oil (2.6 L) was processed according to the methods described by AOAC, (2005). The processing involves four stages which are, degumming using acetic anhydride, neutralization to remove free fatty acid using KOH, bleaching which was done by heating the groundnut oil with Fuller's earth followed by vacuum filtration using Whatman No. 1 filter paper and finally the steaming of the oil to eliminate volatile organic compounds were carried out in this order (AOAC, 2005).

2.3. Determination of chemical parameters in the oil samples

The moisture content of the oil samples was determined using AOAC method (AOAC, 1990). Sample (2.0 g) was weighed in triplicate into a pre-weighed crucible and then dried in an oven at 105 °C until a constant weight was obtained after cooling. The difference in weight of the crucible with sample before and after drying was recorded as weight of moisture. The other chemical parameters (acid, iodine, peroxide, saponification and ester values) were also determined

according to the methods described by Association of Official Analytical Chemists (AOAC, 1990) methods (AOAC 936.16, AOAC, 920.158, AOAC, 965.33 and AOAC, 936.15, respectively). The determination of all these five parameters were based on titrimetric methods. Acid value (AV) was obtained by titrating the sample with standard solution of KOH using phenolphthalein as an indicator. The AV was then calculated from the titer value (AOAC, 1990). Iodine value (IV) was based on redox titration. Oil sample was reacted with KI solution and the unreacted liberated iodine was back titrated with a standard solution of Na₂S₄O₆ and IV later calculated from the titer value (AOAC, 1990). Saponification value (SV) was determined by reacting the oil sample with excess KOH solution and the unreacted KOH was back titrated with standard solution of HCl. The SV was calculated from the titer value (AOAC, 1990). The ester value was obtained as the difference between the saponification value and the acid value (AOAC, 1990).

2.4. Determination of chemical compounds associated with antioxidant property

2.4.1. Determination of total tocopherol content

Total tocopherol (TTC) content of the oil samples was determined spectrophotometrically using the method of Contreras – Guzman and Strong (1982). The tocopherol was extracted with heptane, reacted with batocuproine and absorbance measured at 545nm. The total tocopherol was calculated from the absorbance using the equation developed by Contreras – Guzman and Strong (1982).

2.4.2. Determination of total phenolic content

Total phenol content (TPC) was extracted from the crude and processed oils and determined as described earlier (Falade et al. 2008). The total phenol content was standardized against gallic acid and expressed as mg/kg gallic acid equivalent (GAE). The linearity range of the gallic acid standard was 0–40 mg/L GAE (R² = 0.9795).

2.4.3. Determination of Thiobarbituric acid reactive substance (TBARS)

This parameter was determined by the spectrophotometric method (Lee and Ahn, 2003). The TBARS was standardized using 1, 1, 3, 3-tetraethoxy propane (TEP) and expressed as mg malonaldehyde (MDA) kg⁻¹ oil. The linear range for this assay was between 0 – 2.0 μM TEP (R² = 0.998).

2.4.4. Determination of p-anisidine value

The p-Anisidine value (p-AV) was determined spectrophotometrically using the IUPAC method (Paquot, 1979). Oil samples (0.2g) was weighed in triplicate into 10 mL standard flask, dissolved with isooctane and made up to mark with the same solvent to give test solution A. A portion (5.0 mL) of the test solution A was placed in a test tube and 1.0 mL of freshly prepared p-anisidine reagent (0.025 g of p-anisidine dissolved with acetic acid and then made up to the mark in the 10 mL standard flask with acetic acid) was added to give test solution B. The test solution B was shaken thoroughly and was incubated in the dark for 10 min. A reference solution was prepared by mixing 5.0 mL isooctane with 1.0 mL of p-anisidine reagent; the mixture was shaken thoroughly and incubated in the dark for 10 min. The absorbance of the test solution A was measured at 350 nm with UV spectrophotometer using isooctane as the blank while the absorbance of test solution B was measured using reference solution as the blank. The p-anisidine value was calculated from the expression given in equation 3.1 below:

$$p - AnV = \frac{25 \times (1.2 A_1 - A_2)}{M} \quad \text{Equation 3.1}$$

Where A₁ = absorbance of test solution B at 350 nm

A₂ = absorbance of test solution A at 350 nm

M = mass of the oil sample in grams.

2.4.5. Determination of total antioxidant capacity (TAC)

The TAC of the oil samples was carried out according to the spectrophotometric method described by Prieto et al. (1999). The method is based on the reduction of

Molybdenum (VI) to Molybdenum (V) by the sample and the subsequent formation of green phosphate/molybdenum (V) complex in acidic medium which was then determined spectrophotometrically.

2.5. Determination of physical parameters

2.5.1. Determination refractive index

The refractive index of the oil samples was determined by AOAC method (AOAC, 1990). The refractive index of the oil samples was determined at room temperature using portable refractometer (PAL-3, Atago, Japan). The refractometer was charged by opening the double prism and then a few drops of the oil sample were poured on the prisms. The prisms were closed firmly by tightening the screw head. The instrument was allowed to stand for a few minutes before reading so that the temperature of the oil sample and the instrument would be the same.

2.5.2. Determination of surface tension

The surface tension was done by counting the number of drops (n) formed by equal volumes of oil sample and water using vertically held pipette (AOAC, 1990).

2.5.3. Determination of smoke point

Smoke point was determined according to the method reported earlier (Hoffmann, 1986). The temperature at which smoke started coming out from the oil sample was recorded as the smoke point.

2.5.4. Determination of flash point

The flash point was taken as the temperature when the vapor from the oil was ignited by the naked flame.

2.5.5. Determination of viscosity

The viscosity measurement was performed using a viscometer (AOAC, 1990) and it was determined at various temperatures (30, 50, 70, 90 and 100 °C). The time of flow of the oil sample under gravity through the capillary of the viscometer was also measured at a known temperature and the viscosity calculated as reported by AOAC (1990).

2.5.6. Determination of specific gravity (SG)

The specific gravity (SG) of the oil samples was also determined by AOAC method (AOAC, 1990). It was

measured by using a clean and dry density bottle. The measurement was based on the ratio of the weight of the oil sample to the weight of the equivalent volume of water.

2.6. Statistical analysis

The results of this study were expressed as mean and standard deviation of triplicate analysis. Data were subjected to one-way analysis of variance using GraphPad InStat software (GraphPad software, Inc., San Diego, CA) to estimate the levels of significant difference by performing *unpaired t-test*, and were considered significant at $P \leq 0.05$. Pearson correlation coefficient was also used to determine the correlation between peroxide value (PV) and each of the antioxidant parameters (TP, p-AV, TT, TAC and TBARS) and considered significant at $P \leq 0.05$.

3. RESULTS AND DISCUSSION

3.1. Chemical properties of groundnut oil

The chemical properties of the oil samples were investigated to know the effects of processing conditions on the shelf life of the oil samples obtained.

3.1.1. Moisture content

Moisture content of plant-based food plays an important role in its shelf-life because moisture (as water activity, a_w) enhances some chemical reactions such as Millard reaction – a reaction between protein and reducing sugars as well as auto-oxidation in lipids.

The moisture content of the crude and processed oil samples is presented in Table 1. The values were 7.31 ± 0.2 and $1.63 \pm 0.2\%$, respectively, which are significantly different ($p \leq 0.05$). It has been reported earlier that a very high or low moisture contents may compromise the quality of groundnut oils (Oyem, 2010). Zehra et al. (2018) reported a decrease in the oxidation of their flavored olive oil with decrease in water activity. The same observation was reported by Oyem (2010) who observed a progressive decrease in the formation of free fatty acids with decrease in water activity of crude palm oil stored for 21 days.

3.1.2. Acid value (AV) and free fatty acids (FFAs) content

The AV indicates the amounts of free fatty acid (FFA) that is present in a vegetable oil. It also provides information on extent to which triacylglycerol in oil has been hydrolyzed by endogenous lipase and other actions such as light and heat. The amount of free fatty acids present is a measure of the quality and stability of the oil (Farhan et al. 2013). It is well known that FFAs are more susceptible to lipid oxidation leading to rancidity and production of off-odor. The determination of AV is used as a general indication of the edibility of the oils and stability to rancidity. The mean acid value (mg KOH/g oil) and %FFA are presented in Table 1. The AV was observed to decrease significantly ($p \leq 0.05$) from 3.36 ± 0.23 mg KOH/g oil for crude groundnut oil to 1.49 ± 0.13 mg KOH/g oil after processing which represented 55.7% decrease. The %FFA value of $1.69 \pm 0.12\%$ obtained for crude groundnut oil in this study was significantly higher ($p \leq 0.05$) than the value $0.98 \pm 0.03\%$ reported for crude groundnut oil by Nkafamiya et al. (2010), 0.4 % reported earlier for groundnut oil (Falade et al. 2008) and 0.48 % obtained also for groundnut (Obioma and Banigo, 2021). The higher value obtained in this study compared with what was reported earlier in our laboratory could be attributed to the water used for the extraction of the oil (traditional method) as against n-hexane, a non-polar solvent used in Falade et al. (2008). Water is well known to aid the hydrolysis of lipids leading to the release of their constituent fatty acids. Thus, processing of the oil obtained could improve the shelf life as well as the quality of the groundnut oil.

3.1.3. Peroxide Value

Peroxide value (PV) is a primary oxidation product of lipid oxidation formed from the decomposition of hydro-peroxide. These compounds could react with heme proteins or low molecular weight metals to produce free radicals (Kilic and Richards, 2003) implicated in the etiology of some terminal diseases such as cancer and diabetes (Aderogba et al. 2006).

The results of PV are presented in Table 1. The values were 2.00 ± 0.01 Meq/Kg oil and 10.00 ± 0.01 Meq/Kg oil for crude and processed oils, respectively, which was observed to be significantly higher ($p \leq 0.05$) than the crude oil.

Table 1 Chemical Properties of Crude and Processed Groundnut Oil

TParameter	Crude Oil	Processed Oil
Moisture Content (%)	7.31 ± 0.2^b	1.63 ± 0.2^a
Acid Value	3.36 ± 0.23^b	1.49 ± 0.13^a
Free Fatty Acid (%)	1.69 ± 0.12^b	0.75 ± 0.07^a
Peroxide values of (meq / kg oil)	2.00 ± 0.01^a	10.0 ± 0.01^b
Saponification value (mg KOH/g)	266.94 ± 0.12^b	207.14 ± 0.25^a
Ester value (mg KOH/g)	263.58 ± 0.25^b	205.65 ± 0.12^a
Iodine value (I_2 g/100 g oil)	89.63 ± 2.89^a	103.21 ± 2.93^b
Total Phenol (mg GAE/g)	3.09 ± 0.04^a	3.83 ± 0.05^b
p-Anisidine	1.65 ± 0.03^a	11.29 ± 0.23^b
Total Tocopherol (mg of α -tocopherol/kg)	35.02 ± 1.13^b	29.26 ± 0.92^a
Total Antioxidant Capacity (mg AAE/g)	1.315 ± 0.015^b	0.101 ± 0.012^a
Thiobarbituric acid reactive species (mg / kg)	1.325 ± 0.021^a	1.525 ± 0.021^b

Results are means of triplicate determination $\pm$ standard deviation.

Data in the same row followed by the same superscript letters are not significantly different at the 5% probability level.

GAE, KOH and AAE are Gallic Acid Equivalent, Potassium Hydroxide and Ascorbic Acid Equivalent respectively.

The PV value from this study was marginally lower compare with 10.9 ± 1.3 Meq/Kg oil obtained in our previous work (Falade et. al. 2008) and another report with (10.60 ± 2.27 Meq/Kg oil) for noni seed oil (Jahurul et al. 2022). On the other hand, desert date kernel oil was reported with lower PV value compared with this study (Aremu et al. 2022). The variation in the levels of this parameter across laboratories could be attributed to the extraction conditions, the climatic conditions under which the plants were cultivated as well as the age of the seeds before analysis. The processing of the groundnut oil was also observed to cause 400% increase in the PV value. The bench mark for PV is 5.0 Meq/Kg oil (Rudan-Tasic and Klofutar, 1999). The processed oil was higher therefore, it may be necessary to use natural antioxidant compound to prevent the increase of this parameter because of oxidation reaction.

3.1.4. Saponification value (SV)

Saponification Value is an index of average molecular mass of fatty acid present in the oil sample (Oyekunle and Omode, 2008). High saponification values indicate that the fatty acids present in the oils have a high number of carbon atoms. The higher the SV, the higher the fatty acid chain length and the more suitable the oil is for soap making (Oyekunle and Omode, 2008). The results for the SV for both crude and processed groundnut oil are presented in Table 1. The Saponification Value of the oil decreased significantly ($p \leq 0.05$) from 266.94 ± 0.12 mg KOH/g for the crude groundnut oil to 207.14 ± 0.25 mg KOH/g after refining. This represents 22.3% reduction in SV due to processing. The reduction in SV is expected because during the neutralization step of the processing, free fatty acids in the oil were converted to soap using KOH and the soap stock removed, thus, the reduction in this parameter for the processed oil. The values obtained in this study were higher than the range of 188.00 – 193.25 mg of KOH/g earlier reported for groundnut oils obtained from two varieties of groundnuts (Farhan et al. 2013) and 162.40 ± 0.07 mg KOH/g reported for desert date kernel oil (Aremu et al. 2022) but compared well with 221.50 ± 0.21 – 220.20 ± 0.20 mg KOH/g reported by Nkafamiya et al. (2010) for different species of groundnut oils.

3.1.5. Ester value (EV)

The ester value is the difference between the saponification value and acid value. The EV is also presented in Table 1. The EV of the oil decreased significantly ($p \leq 0.05$) from 263.58 ± 0.25 to 205.65 ± 0.12 mg KOH/g after refining, representing 22% reduction. The value was higher than 184.15 ± 2.02 mg KOH/g and 206.86 ± 0.79 mg KOH/g reported for sunflower and tithonian oils, respectively (Otemuyiwa et al. 2020). The reduction in ester value as a result of the processing could be due to the hydrolysis of some of the intact triacylglycerols by the KOH used during the neutralization step of the processing leading to the production of soap which was removed from the oil at the neutralization step.

3.1.6. Iodine value (IV)

This parameter is used for the estimation of the degree of unsaturation of vegetable oils. Oils with high IV are preferred from nutrition and health viewpoints because it indicates that the oils are rich in polyunsaturated fatty acids (PUFA). For example, oils that are rich in PUFA have been reported to reduce heart diseases that are associated with cholesterol (Yuan et al. 2004). IV is also used to measure the extent of lipid auto-oxidation. The IV is presented in Table 1. The values were 89.63 ± 2.89 I2g/100g and 103.21 ± 2.93 I2g/100g for crude and processed oils, respectively. The IV obtained in this study for groundnut was lower than 109.3 ± 8.3 I2g/100g reported earlier for groundnut (Falade et al. 2008) but higher than 5.52 ± 0.05 I2g/100g reported for desert date oil (Aremu et al. 2022). The 15.1% increase in IV as a result of processing of groundnut oil in this study could be attributed to the removal of some of the constituents of the oil such as lecithin during the degumming stage which is expected to concentrate the remaining constituents of the oil left such as IV. This shows that the processing of groundnut oil will be beneficial from health and nutrition viewpoints.

3.1.7. Determination of antioxidant parameters the oil samples

3.1.7.1. Total tocopherol value

Tocopherol is the most important lipid-soluble antioxidant; it protects membranes from oxidation by reacting with lipid radicals produced in the lipid peroxidation chain reaction (Traber and Atkinson, 2007). This prevents the propagation reaction from continuing by removing the free radical intermediate. The total tocopherol values in the oil samples are presented in Table 1. The value for the processed oil (29.26 ± 0.92 mg of α -tocopherol/kg) was significantly lower ($p \leq 0.05$) than 35.02 ± 1.13 mg of α -tocopherol/kg obtained for the crude oil. The value of total tocopherol was lower than 43.4 mg/kg reported earlier for groundnut oil by Falade et al. (2008) and also below the range of 42 mg/kg and 2680 mg/kg reported for coconut oil and wheat germ

oil, respectively (Schwartz et al. 2008). The inconsistency in the level of this parameter is expected because tocopherols are not stable; they vary with time in the process of carrying out their function of stabilizing vegetable oils. Walker and Slinger (1975) had earlier reported a significant loss of total tocopherols of their processed rapeseed oil which is in agreement with our finding. The effect of processing on the total tocopherol content of groundnut oil was opposite of what was observed with TPC which was observed to increase after processing. It is well known that tocopherols are natural antioxidants; therefore, they are present in vegetable oils to provide vitamin E for human and animal nutrition as well as to defend vegetable oils from lipid oxidation. The role of these compounds in vegetable oil could account for the reduction of total tocopherol of the processed oil. The implication of this is that the processed oil will be more susceptible to lipid oxidation, thus, should be adequately protected with antioxidants.

3.1.7.2 Total phenolic content (TPC)

Phenolic compounds are known to play a significant role in stabilizing lipids against peroxidation (Falade et al. 2015) and inhibiting various types of oxidizing enzymes (Aderogba et al. 2006). The total phenolic content is a measure of phenolic compounds which may contribute to the antioxidant property. Phenolic compounds have been reported to be essential for human nutrition and also for the maintenance of health because they protect organism against several oxidative stress-related diseases such as cardiovascular disease and some cancers (Sharma and Sultana, 2004). The total phenolic content of the oil samples is presented in Table 1. The values were 3.09 ± 0.04 and 3.83 ± 0.05 mg GAE /g for crude and processed oils, respectively. This represents 23.9% increase in the total phenolic after processing. The difference in these values between crude oil and the processed oil was significant ($p \leq 0.05$). The increase in TPC after processing could be due to the concentration of the phenolic compounds by the removal of some of the constituents of the vegetable oil

such as lecithin, gum, proteins and so on during the processing. The value of this parameter was higher than 0.03 mg GAE /g reported earlier for groundnut (Falade et al. 2008) but lower than 48.85 ± 0.28 mg GAE/g reported for noni seed oil (Jahurul et al. 2022). This shows that the processed groundnut oil will be better protected against lipid oxidation, consequently a longer shelf life compared with the crude groundnut oil, but the value of PV for the processed oil was saying something else because it was significantly higher ($p \leq 0.05$) than the crude. A similar observation was reported earlier in our laboratory where the oil of a specie of watermelon seed (Sugar baby) with the highest TPC recorded the highest PV and the specie with the least TPC recorded the least value for PV (Falade and Obuseh, 2014). This shows that other antioxidant compounds such as tocopherol and carotenoid could be contributing significantly to the stabilization of vegetable oil. It was reported earlier that total phenolic content contributes 30% to the stabilization of vegetable oils (Ray et al. 1984).

3.1.7.3. Thiobarbituric acid reactive species (TBARS)

TBARS are secondary products of lipid oxidation. These products are very reactive and are believed to be responsible for the initiation of the oxidation of some macromolecules such as proteins, lipids and DNA leading to ageing and carcinogenesis in human (Shahidi and Wanasundara, 2008). The results of this parameter were 1.325 ± 0.021 and 1.525 ± 0.021 mg/kg for crude and processed oils, respectively. This represents 15% increase in TBARS as a result of the processing of the oil. The implication of these results is that some of the unsaturated fatty acids (PUFA) have been decomposed in to lower chains unsaturated hydrocarbons such as malonaldehyde thereby reducing the nutritional value and health benefits of the vegetable oil.

3.1.7.4 p-Anisidine value

This parameter measures the content of aldehydes (mainly 2-alkenals and 2, 4 -alkadienals) formed from the decomposition of hydroperoxides, products of

lipid auto-oxidation. It actually measures the extent of lipid oxidation.

The values of this parameter were 1.65 ± 0.03 and 11.29 ± 0.23 for crude and processed oils, respectively. This shows that processing of this vegetable oil led to 584% increase in p-anisidine value. The implication of these results is that some of the polyunsaturated fatty acids would have been decomposed, hence compromising the nutritional value and quality of the oil. The value reported here for groundnut oil was higher than 0.86 ± 0.11 reported earlier in our laboratory for crude groundnut oil (Falade et al. 2015). The difference in value could be due to different method used in the earlier study. Hexane (a non-polar solvent) was used for the extraction of the groundnut oil as against the traditional method which involves the use of water, a polar solvent used in this study. Water in term of water activity (a_w) is known to enhance lipid oxidation.

3.1.7.5 Total antioxidant capacity (TAC)

Total antioxidant capacity is a versatile analytical tool for estimating the antioxidant potential of an oil sample. It is the measure of the amount of free radicals scavenged by a test solution (Manach et al. 2004). The total antioxidant capacity of groundnut oil is presented in Table 1. A high TAC value corresponds to high antioxidant capacity. The TAC of the crude groundnut oil 1.315 ± 0.015 mg AAE/g was significantly higher ($p \leq 0.05$) than 0.101 ± 0.012 mg AAE/g for the processed oil. The reduction in the TAC for the processed oil could be due to the effect of processing on the oil. Some of the endogenous antioxidant compounds like α -tocopherol present in rapeseed oil have been reported to be lost during the refining of the oil seed (Walker and Slinger, 1975). Reduction in total tocopherol was also observed in the study.

3.2. Physical properties of groundnut oil

3.2.1. Refractive index

The refractive index of oil has been reported to increase with increase in the number of double bonds (Farhan et al. 2013). Rudan-Tasic and Klofutan (1999) also

observed that a high value of refractive index is an indication of high number of carbon atoms. The refractive index of both crude and processed oil samples are presented in Table 2. The results showed a significant decrease ($p \leq 0.01$) from 1.687 for the crude oil to 1.682 after processing. This shows that the processing of this oil has caused significant reduction in both carbon chain length and number of double bonds. Falade and Obuseh (2014) had earlier reported a linear relationship between refractive index and iodine value. The refractive indices of the samples were higher than 1.464 ± 0.002 earlier reported for groundnut oil (Falade et al. 2008).

3.2.2. Surface tension

Surface tension is the energy required to increase the surface area of a liquid due to its intermolecular forces. The surface tension values for both oil samples are presented in Table 2. The values were 37.84 ± 0.94 and 39.63 ± 0.02 mNm⁻¹ for crude and processed oils, respectively. These values were significantly different ($p \leq 0.05$) from each other. The difference in this parameter between crude and processed oils could be due to the stronger intermolecular forces that might have existed among the molecules of the purified oil over the crude oil which contains impurities that could affect these forces of attraction. It should be noted that low surface tension oil is suitable for use as a releasing agent in baking processes and in making shortenings (Oyekunle and Omode, 2008). This property given above suits crude groundnut oil over processed oil.

3.2.3. Smoke point and flash point

The smoke point is the temperature at which vegetable oil produces smoke. At this point, vegetable oil will give food that is been fried unpleasant taste and odor. The flash point on the other hand is the temperature at which the vapor of the oil ignites. Results of the

Table 2 Physical Properties of Crude and Processed Groundnut Oil

Parameters	Crude oil	Processed oil
Refractive Index	1.687±0.001 ^b	1.682 ±0.001 ^a
Surface Tension (mNm ⁻¹)	37.84±0.94 ^a	39.63±0.02 ^b
Smoke Point (°C)	230.00±2.00 ^b	220.00±1.00 ^a
Flash Point (°C)	300.00±1.00 ^b	280.00± 2.00 ^a
Viscosity (cSt) 30 °C	50.010±0.005 ^b	45.779±0.001 ^a
40 °C	39.641±0.001 ^b	37.312±0.001 ^a
50 °C	31.973±0.004 ^b	25.058±0.004 ^a
60 °C	30.083±0.002 ^b	23.707±0.002 ^a
70 °C	23.344±0.005 ^b	20.375±0.002 ^a
80 °C	18.249±0.008 ^b	13.664±0.005 ^a
Specific Gravity 30 °C	0.912±0.012 ^a	0.911±0.011 ^a
40 °C	0.910±0.010 ^a	0.909±0.011 ^a
50 °C	0.909±0.010 ^a	0.906±0.011 ^a
60 °C	0.904±0.001 ^a	0.903±0.011 ^a
70 °C	0.903±0.011 ^a	0.903±0.011 ^a
80 °C	0.902±0.011 ^a	0.901±0.001 ^a

Results are means of triplicate determination ± standard deviation.

Data in the same row followed by the same superscript letters are not significantly different at the 5% probability level.

smoke and flash points of the crude and processed oils are presented in Table 2. The smoke points for the crude and processed oils were 230±2.00 and 220±1.00°C, respectively. The results showed a significant decrease ($p \leq 0.05$) as a result of processing of the groundnut oil. The 4.3% reduction in smoke point as a result of processing is expected based on the colligative properties of liquid. Impurity is known to raise the boiling point of a liquid, therefore, the removal of the impurities in the oil will account for the reduction in its smoke point. The flash points for crude and processed oils are 300±1.00 and 280±2.00°C, respectively, representing 6.7% reduction. This significant ($p \leq 0.05$) reduction can also be explained using colligative properties of liquid given above because; whatever reduces the boiling point of oil will eventually reduce its flash point. Crude vegetable oils generally have a high FFA content with a corresponding high smoke

point and consequently, a high flash point (Falade et al. 2008). The implication of these results is that processed oil may not be suitable for deep frying; thus, crude groundnut oil will be better for deep frying.

3.2.4. Viscosity

Viscosity of oil is a measure of the oil's resistance to shear. The viscosity values of the oil samples measured at temperatures between 30 and 80 °C are presented in Table 2. The values ranged from 50.010 ± 0.005 to 18.249 ± 0.008 cSt and 45.779 ± 0.001 to 13.664 ± 0.005 cSt for crude and processed oils, respectively. The viscosity of the processed oil was consistently and significantly ($p \leq 0.05$) lower than that of the crude oil at all the temperatures used for this study. This could be attributed to the removal of the impurities in the processed oil. Low viscosity has been reported to be crucial for any vegetable oil to be suitable for use in biodiesel because it will allow a high degree of atomization with short ignition delay as well as easy flow through pipes (Traber and Atkinson, 2007). In order to use this oil for biodiesel, it is important to first process the oil since processing was observed to reduce the viscosity by 8.5% making it to be at par with Olive pomace oil (45.27 cSt) used for making biodiesel (Selaimia et al. 2015).

3.2.5. Specific gravity

The specific gravity of the oil samples at temperatures between 30 and 80 °C is presented in Table 2. The values ranged from 0.912 ± 0.012 to 0.902± 0.011 and 0.911± 0.011 to 0.901 ± 0.001 for crude and processed oils, respectively. Although the values of this parameter reduced consistently with the temperatures used, the reductions were not significant ($p \geq 0.05$). The reduction in specific gravity although not significant could be attributed to the removal of some of the impurities (lecithin, gum, proteins, free fatty acids et cetera) thereby reducing its weight.

4. CONCLUSION

The study reveals that processing of the crude oil could increase peroxide value (to 400%) and significantly decreased acid value (55.7%). Saponification value of

the oil was also observed to decrease significantly ($p \leq 0.05$) after processing, consequently, processing of the oil is not recommended for oil to be used in soap making. However, processing led to 15.1% increase in the iodine value, and 23.9% increase in total phenolic, therefore processed oil is desirable for nutritional and health viewpoints but this cannot be said of total tocopherol which decreased by 16%. In addition, processing of the vegetable oil led to increase in both p-anisidine value and TBARS and decrease in TAC. The processing of this vegetable oil also affected some of the physical parameters such as refractive index, viscosity, smoke and flash points which decreased significantly ($p \leq 0.05$). Likewise, specific gravity decreased marginally but surface tension increased significantly ($p \leq 0.05$).

The processing of the vegetable oil seemed to have both advantages and disadvantages; hence, processing of this oil should be based on what the oil is to be used for. In order to protect the antioxidant compounds in this oil such as tocopherol, it is imperative to defend this oil with antioxidant compounds extracted from medicinal plants. The removal of pro-oxidants (Fe, Cu, Zn and other multiple valence transition metals) using sequestrants such as EDTA could also be helpful. These could form the basis for future study.

ACKNOWLEDGMENT

The authors wish to express their sincere appreciation to Tertiary Education Trust Fund (TETFUND) for the provision of grant [grant number DVC/37/TETFUND/RP/2014/3] to carry out this study.

CONFLICT OF INTEREST

All authors have declared that no competing interests exist.

REFERENCES

- Achinewhu, S. C., & Akpapunam, M. A. (1985). Physical and chemical characteristics of refined vegetable oils from rubber seed (*Hevea brasiliensis*) and bread-fruit (*Artocarpus altilis*). *Plant Foods for Human Nutrition*, 35, 103–107.
- Aderogba, M. A., Ogundaini, A. O., & Eloff, J. N. (2006). Isolation of two flavonoids from *Bauhinia monandra* (Kurz) leaves and their antioxidative effects. *African Journal of Traditional, Complementary and Alternative Medicines*, 3(4), 59–65.
- Aluyor, E. O., Aluyor, P., & Ozigagu, C. E. (2009). Effect of refining on the quality and composition of groundnut oil. *African Journal of Food Science*, 3(8), 201–205.
- Aremu, M. O., Andrew, C., Oko, O. J., Odoh, R., Zando, C., Usman, A., & Akpomie, T. (2022). Comparative studies on the physicochemical characteristics and lipid contents of desert date (*Balanites aegyptiaca* (L.) Del) kernel and pulp oils. *European Journal of Nutrition & Food Safety*, 14(1), 20–30.
- Association of Official Analytical Chemists (AOAC). (2005). *Official Methods of Analysis*, 18th Edition, Association of Official Analytical Chemists, Arlington, VA, USA.
- Association of Official Analytical Chemists (AOAC). (1990). *Official Methods of Analysis 15th Edition*, Association of Official Analytical Chemists, Washington, DC. pp. 955–972.
- Aydar, A. Y., Rodriguez-Martinez, V., & Farkas, B. E. (2016). Determination and modeling of contact angle of Canola oil and olive oil on a PTFE surface at elevated temperatures using air or steam as surrounding media. *LWT-Food Science and Technology*, 65, 304–310.
- Contreras-Guzmán, E. S., & Strong III, F. C. (1982). Determination of tocopherols (vitamin E) by reduction of cupric ion. *Journal of the Association of Official Analytical Chemists*, 65(5), 1215–1221.
- Falade, O. S., Adekunle, A. S., Aderogba, M. A., Atanda, S. O., Harwood, C., & Adewusi, S. R. (2008). Physicochemical properties, total phenol and tocopherol of some Acacia seed oils. *Journal of the Science of Food and Agriculture*, 88(2), 263–268.
- Falade, O. S., Adeyanju, A. A., & Aderogba, M. A. (2015). Stabilization of Groundnut Oil with Natural Antioxidants Extracted from *Bauhinia* Species and *Piliostigma reticulatum*. *Journal of Food Processing and Preservation*, 39(6), 2142–2151.
- Falade, O. S., & Obuseh, V. (2014). Evaluation of physicochemical properties and total phenol contents of watermelon (Rothmas and Sugar baby) seed oils. *Ife Journal of Science*, 16(2), 257–264.
- Cecil, F., Anwar, F., Shahid, S. A., & Ahmad, N. (2013). Comparison of physico-chemical properties between two varieties of peanut (*Arachis hypogaea* L.) seed oil from Pakistan. *Asian J. Chem*, 25(6), 3271–3274.
- Fletcher, S. M., & Shi, Z. (2016). An overview of world peanut markets. *Peanuts*, 267–287.
- Food and Agriculture Organization of the United Nations (FAOSTAT). (2010). *FAOSTAT Statistical Database*.
- Hariod, E. (1990). *Pearson's Analysis of Food*, McMillan Education Ltd., London, pp. 520–521.
- Hoffmann, G. (1986). *Edible oils and fats*, In: Herschdoerfer, S.M. (Ed.), *Quality Control in the Food Industry*. Academic Press, London.
- Jahurul, M. H. A., Jack, C. S. C., Syifa, A. A. B., Shahidul, I., Norazlina, M. R., Shihabul, A., & Zaidul, I. S. M. (2022). Physicochemical and antioxidant properties, total phenolic and nutritional contents of noni (*Morinda citrifolia*) seed and its oil cultivated in Sabah, Malaysia. *Food Chemistry Advances*, 1, 100079.
- Kilic, B., & Richards, M. P. (2003). Lipid oxidation in poultry döner kebab: Pro-oxidative and anti-oxidative factors. *Journal of Food Science*, 68(2), 686–689.

- Lee, E. J., & Ahn, D. U. (2003). Production of volatiles from fatty acids and oils by irradiation. *Journal of food science*, 68(1), 70–75.
- Manach, C., Scalbert, A., Morand, C., Rémésy, C., & Jiménez, L. (2004). Polyphenols: food sources and bioavailability. *The American journal of clinical nutrition*, 79(5), 727–747.
- Nkafamiya, I. I., Maina, H. M., Osemeahon, S. A., & Modibbo, U. U. (2010). Percentage oil yield and physiochemical properties of different groundnut species (*Arachis hypogaea*). *African Journal of Food Science*, 4(7), 418–421.
- Okereke, G. O., & Banigo, E. O. I. (2021). Proximate Composition of Some Selected Legumes and Quality Attributes of Oils Extracted from Soybean, Oil Bean and Groundnut Seeds. *Asian Food Science Journal*, 20(12), 49–60.
- Otemuyiwa, I. O., Adekunle, A. S., Adegbite, J. F., & Falade, O. S. (2020). Comparative study of physicochemical properties of *Tithonia diversifolia* and Sunflower seed oils. *Malaysian Journal of Applied Sciences*, 5(2), 69–77.
- Oyekunle, J. A. O., & Omode, A. A. (2008). Chemical composition and fatty acid profile of the lipid fractions of selected Nigerian indigenous oilseeds. *International Journal of Food Properties*, 11(2), 273–281.
- Oyem, H. H. (2010). Effect of water activity on the free fatty acid value of crude palm oil during storage. *International Journal of Tropical Agriculture and Food Systems*, 4(3), 278–280.
- Paquot, C. (1979). *Standard Methods for the Analysis of Oils, Fats and Derivatives*, 6th Ed., Part 1, Pergamon Press, Oxford. pp. 84 – 88.
- Rahal, A., Kumar, A., Singh, V., Yadav, B., Tiwari, R., Chakraborty, S., & Dhama, K. (2014). Oxidative stress, prooxidants, and antioxidants: the interplay. *BioMed research international*, 2014(1), 761264.
- Ryan III, T. W., Dodge, L. G., & Callahan, T. J. (1984). The effects of vegetable oil properties on injection and combustion in two different diesel engines. *Journal of the American Oil Chemists' Society*, 61(10), 1610–1619.
- Rudan-Tasic, D., & Klofutar, C. (1999). Characteristics of vegetable oils of some Slovene manufacturers. *Acta Chim Slov*, 46(4), 511–521.
- Schwartz, H., Ollilainen, V., Piironen, V., & Lampi, A. M. (2008). Tocopherol, tocotrienol and plant sterol contents of vegetable oils and industrial fats. *Journal of food composition and analysis*, 21(2), 152–161.
- Selaimia, R., Beghiel, A., & Oumeddour, R. (2015). The synthesis of biodiesel from vegetable oil. *Procedia-Social and Behavioral Sciences*, 195, 1633–1638.
- Shahidi, F., & Wanasundara, U. N. (2008). Methods for measuring oxidative stability in edible oils. *Food lipids: Chemistry, nutrition and biotechnology*, 30, 387–388.
- Sharma, S., & Sultana, S. (2004). Effect of Hibiscus rosa sinensis extract on hyperproliferation and oxidative damage caused by benzoyl peroxide and ultraviolet radiations in mouse skin. *Basic & clinical pharmacology & toxicology*, 95(5), 220–225.
- Sokmen, A., Gulluce, M., Akpulat, H. A., Daferera, D., Tepe, B., Polissiou, M., & Sahin, F. (2004). The in vitro antimicrobial and antioxidant activities of the essential oils and methanol extracts of endemic *Thymus spathulifolius*. *Food control*, 15(8), 627–634.
- Traber, M. G., & Atkinson, J. (2007). Vitamin E, antioxidant and nothing more. *Free radical biology and medicine*, 43(1), 4–15.
- United State Department of Agriculture, National Agricultural Statistics Service (USDA/NASS). (2015). United State Government Printing Office, Washington DC.
- Walker, B. L., & Slinger, S. J. (1975). Effect of processing on the tocopherol content of rapeseed oils. *Canadian Institute of Food Science and Technology Journal*, 8(4), 179–180.
- World Bank. (2020). *Commodity Price Data. Economic Policy and Prospects Group Development Economics Vice Presidency*. Washington, D. C.
- Yuan, Y., Hansen, A., & Zhang, Q. (2004). The specific gravity of biodiesel fuels and their blends with diesel fuel.
- Kasimoglu, Z., Tontul, I., Soylu, A., Gulen, K., & Topuz, A. (2018). The oxidative stability of flavoured virgin olive oil: The effect of the water activity of rosemary. *Journal of Food Measurement and Characterization*, 12, 2080–2086.

การประเมินแป้งต่างชนิดที่เป็นสารช่วยยัดเกาะ และคุณสมบัติ ของยาหอมเทพจิตรในรูปแบบยาเม็ด

Evaluation of Various Starches as Binders and Properties for Ya-Hom Thepphachit Tablet

เขมิกา เคียงฟ้า มานอก^{1*} ศิริกาญจน์ วิญญูพันธ์²

Khemika Kieng Na Fah Manok^{1*} Sirikran Winyupan²

¹ภาควิชาการแพทย์แผนไทย คณะวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยี มหาวิทยาลัยราชภัฏบ้านสมเด็จเจ้าพระยา ประเทศไทย

²ภาควิชาเภสัชศาสตร์ คณะเภสัชศาสตร์ มหาวิทยาลัยมหาสารคาม ประเทศไทย

¹Department of Thai Traditional Medicine, Faculty of Science and Technology, Bansomdejchaopraya Rajabhat University Thailand

²Department of Pharmacy, Faculty of Pharmacy, Mahasarakham University Thailand

บทคัดย่อ

ตำรับยาหอมเทพจิตรเป็นยาแผนไทยที่อยู่ในบัญชียาหลักแห่งชาติ (NLEM) ซึ่งเป็นยาผงต้องชงกับน้ำร้อน การพัฒนาให้อยู่ในรูปแบบยาเม็ดมักเกิดปัญหาเกี่ยวกับการไหลของผงยาในการตอกโดยตรง ดังนั้นการเตรียมยาในรูปแบบของแข็งจะนิยมใช้เทคนิคการเตรียมแบบแกรนูล งานวิจัยนี้มีวัตถุประสงค์ในการประเมินแป้งชนิดต่างๆ ที่ใช้เป็นสารช่วยยัดเกาะของยาหอมเทพจิตรในรูปแบบยาเม็ดโดยใช้เทคนิคการเตรียมแกรนูลเปียก โดยศึกษาสมบัติทางกายภาพของผงยาหอมเทพจิตร ได้แก่ การไหล, ความหนาแน่นรวม, ความหนาแน่นจำเพาะที่อุกกกด, ความสามารถในการตอกอัด, Hausner ratio, ความสม่ำเสมอของการผสม, การละลาย, ปริมาณความชื้น เป็นต้น รวมถึงทดสอบฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระของตำรับด้วยวิธี DPPH, ABTS และ FRAP เมื่อแบ่งการสกัดเป็น 3 วิธี คือ การชงด้วยน้ำร้อน, การหมักด้วย 95% เอทานอล และการกระจายตัวในน้ำกระสายยา (ดอกไม้มะลิ) ประเมินคุณภาพเม็ดยาตามมาตรฐาน USP 40 ได้แก่ ความเบี่ยงเบนของน้ำหนักเม็ดยา, ความแข็ง, ความหนา, เส้นผ่านศูนย์กลาง, ความกร่อน และเวลาที่ใช้ในการแตกตัว เมื่อใช้สารช่วยยัดเกาะ 7 ชนิด คือ แป้งมัน, แป้งข้าวเหนียว, แป้งข้าวไรย์สดำ, แป้งข้าวเจ้าโม่น้ำชนิดพิเศษ, แป้งข้าวโพดชนิด Corn flour, Pure corn flour และ Cone starch จากการศึกษาพบว่า ยาหอมเทพจิตรมีค่าการไหลต่ำ ความชื้นค่อนข้างสูง เนื่องจากประกอบด้วยสมุนไพรที่เป็นไฟเบอร์และน้ำมันหอมระเหยทำให้ผงยามีความฟูและชื้น การตอกโดยตรงเป็นไปได้ยากต้องเตรียมในรูปแบบแกรนูลเปียก สารสกัด 95% เอทานอลของตำรับสามารถต้านอนุมูลอิสระสูงที่สุดทั้งวิธี DPPH ($IC_{50} = 27.95 \pm 4.78 \mu\text{g/ml}$), ABTS ($VEAC = 0.42 \pm 0.01 \text{ mM/g}$ และ $TEAC = 0.28 \pm 0.01 \text{ mM/g}$) และ FRAP ($FRAP \text{ value} = 0.72 \pm 0.01 \text{ mM/g}$) จากการประเมินคุณภาพยาเม็ด พบว่า แป้งข้าวโพดชนิด Cone starch เป็นสารช่วยยัดเกาะที่มีประสิทธิภาพดีที่สุด โดยมีความแข็งสูง ($2.82 \pm 0.07 \text{ kp}$) ความกร่อนต่ำ ($0.0550 \pm 0.02 \%$) และการแตกตัวดี ($17.91 \pm 0.12 \text{ min}$) ในขณะที่แป้งข้าวโพดชนิด Pure corn flour และ Corn flour มีประสิทธิภาพรองลงมา ตามลำดับ ขณะที่แป้งข้าวโพดชนิด Pure corn flour ให้ค่าความกร่อน ($0.0081 \pm 0.00 \%$) ต่ำกว่าแป้งข้าวโพดชนิด Corn flour จึงเป็นอีกทางเลือกหนึ่งของสารช่วยยัดเกาะที่สามารถทดแทนการใช้แป้งข้าวโพดชนิด Corn flour สำหรับตำรับยาหอมเทพจิตรชนิดเม็ด เนื่องจากมีคุณภาพของเม็ดยาที่ได้ใกล้เคียงกันและให้ค่าความกร่อนที่ต่ำกว่า

คำสำคัญ: ยาหอมเทพจิตร, ยาเม็ด, สารช่วยยัดเกาะ

ABSTRACT

Ya-Hom Thepphachit formula are Thai traditional medicine listed in the National List of Essential Medicine (NLEM), which was the powder infused with hot water. The development into tablet form often problem about flowability of herbal powder in direct compression. Therefore, solid dosage form the granulation preparation technique is commonly used. The purpose of this research was to the evaluation of various starches as binders of Ya-Hom Thepphachit in tablet formula by using the wet granulation technique. The following physical properties of Thepphachit powders have been studied: flow property, bulk density, tapped density, compressibility, hausner ratio, estimation of mixing uniformity, dissolution, moisture content etc., including the antioxidant activity of formula by DPPH, ABTS and FRAP methods. When, devided the extraction 3 methods: infusion by water, maceration by 95% ethanol and dispersion in kasaiya water from flowers. The tablets were quanlity control evaluate followed by United states pharmacopeia 40 (USP 40) such as weight variation, hardness, thickness, diameter, friability and disintegration time, when various binders 7 types

using: tapioca starch (TS), glutinous rice flour (GRF), dark rye flour (DRF), finest rice flour (FRF), corn flour (CF), pure corn flour (PCF) and corn starch (CS). The study found that the Thepphachit powders has low flow properties, high moisture content because it contains fiber and essential oil of herbs, powder is fluffy and moisture. Thus, the direct compression was difficult and powders prepared in wet granulation. The 95% ethanol extract had the highest antioxidant activity in DPPH assay ($IC_{50} = 27.95 \pm 4.78 \mu\text{g/ml}$), ABTS assay ($VEAC = 0.42 \pm 0.01 \text{ mM/g}$ and $TEAC = 0.28 \pm 0.01 \text{ mM/g}$) and FRAP assay ($FRAP \text{ value} = 0.72 \pm 0.01 \text{ mM/g}$). From evaluating the quality of tablets found that the CS is the best binder by highest hardness ($2.82 \pm 0.07 \text{ kp}$), low friability ($0.0550 \pm 0.02 \%$) and fastest disintegration time ($17.91 \pm 0.12 \text{ min}$). While, PCF and CF were the second most effective, respectively. At the same time, PCF ($0.0081 \pm 0.00 \%$) gave a better friability value than CS. Alternative, PCF is the binder for instead CS for Ya-Hom Thepphachit formula because the quality of PCF is the same as CS tablets and gives a lower friability.

KEYWORDS: Ya-Hom Thepphachit, Tablet, Binders

*Corresponding Author: suchada.ma@bsru.ac.th

Received: 09/09/2023; Revised: 03/03/2024; Accepted: 09/12/2024

1. บทนำ

ยาหอม เป็นยาแผนโบราณที่อยู่คู่กับสังคมไทย มาอย่างยาวนานกว่า 50 ปี มีองค์ประกอบและสัดส่วนของสมุนไพรที่แตกต่างกัน ปัจจุบันความนิยมในการบริโภคเริ่มลดลง เนื่องจากความเชื่อและทัศนคติที่ถูกมองว่าเป็นเรื่องโบราณ ล้าสมัย สรรพคุณในการรักษาไม่ชัดเจน ขาดผลการรับรองทางวิทยาศาสตร์มาสนับสนุน (Matangkasombat, 1973) แต่ยาหอมยังคงมีการใช้งานอย่างแพร่หลายและได้รับความนิยมในกลุ่มของผู้สูงอายุในประเทศไทย เป็นยารักษาอาการใจสั่น เป็นลม วิงเวียนศีรษะ หน้ามืด ตาลาย ท้องอืด ท้องเฟ้อ รู้สึกไม่สบาย เป็นต้น (Chootip et al., 2017; Jariyapongskul et al., 2006) ปัจจุบันนี้มีการพิสูจน์ฤทธิ์ทางชีวภาพของยาหอมทั้งในหลอดทดลองและสัตว์ทดลอง พบว่า มีฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระและมีสารประกอบฟีนอลิกสูง (Channarong et al., 2012) ลดความดันโลหิต (Suvitayavat et al., 2005) ลดการอักเสบและปวดกล้ามเนื้อ และสารคัดหลั่งในกระเพาะอาหาร (Suvitayavat, 2004) เป็นต้น จากการฟื้นฟูการแพทย์แผนไทยรวมถึงการรณรงค์ให้ใช้ยาสมุนไพรมากขึ้น กระทรวงสาธารณสุขได้มีประกาศบัญญัติยาแผนโบราณสามัญประจำบ้านขึ้น ตามประกาศคณะกรรมการพัฒนาระบบยาแห่งชาติ พ.ศ. 2555 ยาหอมมีอยู่ด้วยกัน 4 ชนิด คือ ยาหอมเทพจิตร, ยาหอมนวโกฐ, ยาหอมทิพโอสถ และยาหอมอินทจักร (National Drug System Development Committee, 2012) โดยยาหอมเทพจิตรประกอบด้วยตัวยา 48 ชนิด มีตัวยาหลักคือ ดอกมะลิ ครั้งหนึ่งของน้ำหนักรับและเปลือกส้ม 8 ชนิด เป็นยาหอมชนิดที่นิยมนำมาพัฒนาและจำหน่ายในปัจจุบันมากที่สุด

จากข้อมูลดังกล่าวจะเห็นได้ว่ายาหอมเทพจิตรมีความน่าสนใจที่จะนำไปพัฒนาเป็นผลิตภัณฑ์ที่ง่ายต่อการรับประทานและการพกพาที่สะดวกยิ่งขึ้น เพื่อตอบสนองต่อรูปแบบการใช้ชีวิตในยุคปัจจุบันที่เป็นสังคมการทำงานและเร่งรีบ เนื่องจากรูปแบบเดิมของการใช้ยาหอมเทพจิตรแต่เดิมเป็นรูปแบบผงและวิธีการใช้งานจะต้องชงด้วยน้ำร้อน (Infusion) ดังนั้นในงานวิจัยนี้คณะผู้วิจัยจึงนำตำรายาหอมเทพจิตรมาพัฒนาเป็นผลิตภัณฑ์ในรูปแบบยาเม็ด ซึ่งในทางเภสัชอุตสาหกรรมยาเม็ด แบ่งถูกใช้เป็นสารยึดเกาะ สารเพิ่มปริมาณ และสารช่วยแตกตัว โดยเตรียมที่ความเข้มข้น 5-20% ในการผลิตเม็ดยา (Rowe et al., 2003) ส่วนใหญ่ในอุตสาหกรรมนิยมใช้แป้งข้าวโพด (Corn starch: CS) เป็นสารช่วยยึดเกาะในการขึ้นรูปให้เป็นเม็ด โดยแป้งจะมี 2 ชนิด คือ สตาร์ช (Starch) และฟลาว (Flour) แตกต่างกันว่า Flour มีองค์ประกอบทางเคมีสำคัญได้หลายชนิด ประกอบด้วยคาร์โบไฮเดรตและความชื้น นอกจากนี้ยังมีองค์ประกอบอื่นๆ ทางเคมี เช่น โปรตีน ไขมัน ใยอาหาร ฯ รวมอยู่ด้วยในปริมาณมาก ในขณะที่ Starch จะมีองค์ประกอบสำคัญเพียงแคคาร์โบไฮเดรตและความชื้น ส่วนองค์ประกอบอื่นๆ จะมีปะปนอยู่น้อยมาก (Kaewmaneechai, 2011) แป้งทั้ง 7 ตัวอย่างนั้นเป็นคาร์โบไฮเดรตชนิด โอลิโกแซคคาไรด์ (Homopolysaccharide) ประกอบไปด้วยอะไมโลส (Amylose) ที่เป็นหน่วยย่อยของกลูโคส 200 - 2,000 หน่วย จับกันเป็นเส้นตรงด้วยพันธะ α -1, 4-glycosidic linkage และส่วนของอะไมโลเพคติน (Amylopectin) ที่มีโซ่หลักที่เป็นกลูโคสมากกว่า 10,000 หน่วย จับกันเป็นเส้นตรงด้วยพันธะ α -1, 4-glycosidic linkage โดยในแต่ละ 20 - 30 หน่วยย่อยของกลูโคสจะมีกิ่งก้านสาขาที่จับกันด้วยพันธะ α -1, 6-glycosidic

linkage ปัจจุบันแนวโน้มในการนำแป้งมาศึกษาวิจัยเพื่อใช้ประโยชน์ทางด้านเภสัชกรรมเพิ่มมากขึ้น ได้แก่ การใช้เป็นสารช่วยในตำรับของเภสัชภัณฑ์ โดยทำหน้าที่เป็นสารเพิ่มปริมาณ สารยึดเกาะ สารช่วยแตกตัว สารช่วยชะลอการปลดปล่อยยา สารก่อฟิล์ม เป็นต้น แป้งมันสำปะหลังได้รับความสนใจในการนำมาประยุกต์ใช้ในงานทางเภสัชกรรม เช่นเดียวกับแป้งข้าวเจ้า เพราะมีปริมาณอะไมโลสต่ำกว่า 20% (Defloor et al., 1998) แป้งทั้ง 2 ดังกล่าวมีปริมาณของอะไมโลเพคตินที่ 83% (Swinkles, 1985) จากการศึกษาพบว่า การพองตัว การละลาย และความหนืดของแป้งข้าวเจ้าไม่ดัดนัก จึงมีงานวิจัยทำการดัดแปรด้วยวิธีการใช้ต่างในสภาวะที่มีแอลกอฮอล์ (Modified Rice Starch, MRS) เพื่อปรับคุณสมบัติต่าง ๆ ให้ดีขึ้นเหมาะแก่การนำไปใช้ตั้งตำรับเภสัชภัณฑ์ (Boonwatcharapan et al., 2013) ในขณะที่แป้งมันสำปะหลังมีข้อจำกัดในด้านของการละลายน้ำได้ยากที่อุณหภูมิห้องจึงมีความยุ่งยากในกระบวนการเตรียมสารละลาย ในเรื่องการควบคุมอุณหภูมิและเวลา ในขณะที่แป้งข้าวเหนียวมีส่วนประกอบของอะไมโลเพคตินสูงถึง 99.70 % เมื่อให้ความร้อนจนแป้งสุกจะเกิดเจลชั้นที่มีความหนืดและพองตัวสูงกว่าแป้งที่มีปริมาณอะไมโลเพคตินต่ำกว่า (Laovachirasuwan et al., 2013) ส่วนแป้งข้าวไรย์สืดำได้จากข้าวไรย์ที่เพาะปลูกในรัสเซียและยุโรปตอนเหนือซึ่งมีอากาศหนาวเย็นทั้งปี ใช้สำหรับทำขนมปังเพราะอุดมไปด้วยวิตามินและสารอาหารที่เป็นประโยชน์ ขนมปังที่ทำจากแป้งข้าวไรย์จะมีสีดำเป็นลักษณะพิเศษ (Khotnawang, 2010) ขณะเดียวกันแป้งข้าวโพดนั้นมีปริมาณ อะไมโลสสูงถึง 28 % และอะไมโลเพคตินอยู่ที่ 72 % ถึงแม้ว่าอะไมโลสจะมีคุณสมบัติที่ไม่ละลายน้ำ แต่จะสามารถสร้างพันธะไฮโดรเจนกับโมเลกุลของอะไมโลสที่อยู่ข้างเคียงเป็นสายยาวคู่ขนานคล้ายตาข่าย ทำให้อุ้มน้ำได้น้อยและตกตะกอน (Sriroth et al. 2007) งานวิจัยนี้จึงศึกษาการใช้สารยึดเกาะเป็นแป้งทั้งหมด 7 ชนิด ที่หาได้ง่ายในท้องตลาด คือ แป้งมัน, แป้งข้าวเหนียว, แป้งข้าวไรย์สืดำ, แป้งข้าวเจ้าไม่น้ำชนิดพิเศษ, แป้งข้าวโพดชนิด Corn flour, แป้งข้าวโพดชนิด Pure corn flour และแป้งข้าวโพดชนิด Corn starch ในการตั้งตำรับ โดยมีการแก้ไขปัญหาการตอกรตรงของผงยาหอมเทพจิตรที่ไม่สามารถขึ้นรูปเป็นเม็ดได้เนื่องจากมีอัตราการไหลของผงยาที่ค่อนข้างต่ำด้วยการทำผงยาให้อยู่ในรูปแบบแกรนูลเปียกและเพิ่มสารช่วยไหลด้วย Magnesium stearate นอกจากนี้ยังใช้สารเพิ่มปริมาณเพื่อการตอกรตรงที่มีความสามารถในการตอกรอัดที่สูงด้วย Cellulose microcrystalline และทดสอบ

คุณภาพเม็ดยาจากตำรับยาหอมเทพจิตรที่ใช้สารช่วยยึดเกาะแตกต่างกันตามมาตรฐาน USP 40 (2017) เพื่อเลือกใช้สารยึดเกาะที่เหมาะสมให้ได้ตำรับยาหอมเทพจิตรในรูปแบบยาเม็ดที่มีคุณภาพ และเป็นแนวทางในการพัฒนาผลิตภัณฑ์ ยาหอมเทพจิตรในรูปแบบยาเม็ดที่ออกฤทธิ์เป็นยาได้อย่างสมบูรณ์สำหรับใช้ในการศึกษาทางคลินิกต่อไปในอนาคต

2. วัสดุและวิธีการ

2.1 วัสดุและสารเคมีที่ใช้ในงานวิจัย

ผงยาในตำรับยาหอมเทพจิตร 46 ชนิด, พิมเสน และการบูร จากร้านขายยาเจริญสุขโฮส จังหวัดนครปฐม น้ำดอกไม้มะลิ จากบริษัท ศิริปัญญา จำกัด เมทานอล (methanol; CH_3OH), เอทานอล (ethanol; $\text{C}_2\text{H}_5\text{OH}$), โพแทสเซียมเปอร์ซัลเฟต (potassium persulfate; $\text{K}_2\text{S}_2\text{O}_8$), โซเดียมแอซิเตต (sodium acetate; $\text{C}_2\text{H}_3\text{NaO}_2$), กรดแอซิติก (acetic acid; $\text{C}_2\text{H}_4\text{O}_2$), 2,4,6-ไตรไพริดีล-เอส-ไตรอะซีน (2,4,6-tripyrindyl-s-triazine; TPTZ), กรดไฮโดรคลอริก (hydrochloric acid; HCl), ไอออน(III)คลอไรด์ (iron(III)chloride; FeCl_3), เฟอร์รัสซัลเฟต (ferrous sulfate; FeSO_4), แลคโตส (lactose monohydrate; $\text{C}_{12}\text{H}_{22}\text{O}_{11} \cdot \text{H}_2\text{O}$), นินไฮดริน (ninhydrin; $\text{C}_9\text{H}_6\text{O}_4$), โซเดียมไฮดรอกไซด์ (sodium hydroxide; NaOH), โพแทสเซียมไอโอไดด์ (potassium iodide; KI) และเซลลูโลส (cellulose microcrystalline; $(\text{C}_6\text{H}_{10}\text{O}_5)_n$) A.R. grade จากบริษัท Merck กรดแอสคอร์บิก (ascorbic acid; $\text{C}_6\text{H}_8\text{O}_6$), โซเดียมโพแทสเซียมทาร์เตรต (sodium potassium tartrate; $\text{NaKC}_4\text{H}_4\text{O}_6$) และ ดีพีพีเอช (2,2-diphenyl-1-picrylhydrazyl; DPPH) A.R. grade จากบริษัท Sigma-aldrich เอ บี ที เอ ส (2,2'-azino-bis (3-ethylbenzthiazoline-6-sulphonic acid; ABTS) และ แอลฟา-โทโคฟีรอล (alpha-tocopherol; $\text{C}_{29}\text{H}_{50}\text{O}_2$) A.R. grade จากบริษัท Calbiochem ไอโอดีน (Iodine; I_2) A.R. grade จากบริษัท Ajax finechem คอปเปอร์(II)ซัลเฟต (copper(II)sulphate; $\text{CuSO}_4 \cdot 5\text{H}_2\text{O}$) A.R. grade จากบริษัท Alpha chemika แมกนีเซียม สเตียเรท (magnesium stearate; $\text{Mg}(\text{C}_{18}\text{H}_{35}\text{O}_2)_2$) จากบริษัท สงสวด จำกัด แป้งมัน (tapioca starch) ตรามือที่ 1 จากบริษัท ง่วนสุน แป้งข้าวเหนียว (top quality glutinous rice flour) ตรา new grade จากบริษัท ไทยวาฟูดโปรดักส์ จำกัด (มหาชน) แป้งข้าวไรย์สืดำ (dark rye flour) ตรา stone grind จากบริษัท imported from australia แป้งข้าว

เจ้าโม่แป้งชนิดพิเศษ (finest rice flour) ตราสิงห์ดาว จากบริษัท เส้นไหมเหรีญไทย จำกัด แป้งข้าวโพดชนิด corn flour ตราคนอร์ จากบริษัท ยูนิลีเวอร์ไทย โฮลดิ้งส์ จำกัด แป้งข้าวโพดชนิด pure corn flour ตรา แม็กกาแรต จากบริษัท คอนติเนนตัล ฟู้ด จำกัด แป้งข้าวโพดชนิด corn starch ตรา ไบหยก จากบริษัท บางกอกอินดอร์ ฟู้ด จำกัด

2.2 การเตรียมตำรับยาหอมเทพจิตร

ซึ่งผสมสมุนไพรตามประกาศคณะกรรมการพัฒนาระบบยาแห่งชาติ พ.ศ. 2555 โดยผงยา 366 g ประกอบด้วยสมุนไพรแต่ละชนิดอัตราส่วนดังนี้ ดอกพิบูล, ดอกบุนนาค, ดอกสารภี, เกสรบัวหลวง, ดอกบัวขม, ดอกบัวเผื่อน อย่างละ 4 g ดอกมะลิ 183 g ผิวมะกรูด, ผิวมะนาว, ผิวส้มตรังกานู, ผิวส้มจีน, ผิวส้มโอ, ผิวส้มเขียวหวาน อย่างละ 4 g ผิวส้มซ่า 28 g โกฐสอ, โกฐเขมา, โกฐหัวบัว, โกฐเชียง, โกฐจุฬาลัมพา, โกฐกระดูก, โกฐก้านพร้าว, โกฐพุงปลา, โกฐภูมามังสี อย่างละ 4 g เทียนดำ, เทียนแดง, เทียนขาว, เทียนข้าวเปลือก, เทียนตาตุ๊กแตน, เทียนเขาวาฬ, เทียนสัตตบุษย์, เทียนเกล็ดหอย, เทียนตากบ อย่างละ 4 g ลูกจันทร์, ดอกจันทร์, ลูกกระวาน, ดอกกานพลู, แก่นจันทร์แดง, แก่นจันทร์ขาว, กฤษณา, กระลำพัก, ขอนดอก, เปลือกชะลูด, เปลือกอบเชย, หัวเปราะหอม, รากเผือกหอม อย่างละ 2 g พิมเสน 4 g และการบูร 1 g ทำการผสมผงสมุนไพรแต่ละชนิดในตำรับยาหอมเทพจิตรให้เข้ากันตามอัตราส่วนข้างต้นก่อนนำไปใช้งาน

2.3 การศึกษาสมบัติทางกายภาพของผงยาก่อนการตั้งตำรับ

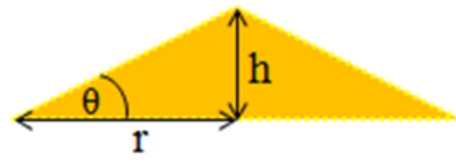
2.3.1 การศึกษาการไหลของผงยา

นำผงยา 100 g ผ่านกรวยที่มีรูเปิดขนาดเส้นผ่าศูนย์กลาง 1 cm โดยกำหนดให้ความสูงของกรวยที่ปล่อยผงยาลงมาห่างจากพื้น 30 เซนติเมตร จากนั้นวัดรัศมีและความสูงของกองผงยา นำมาหาค่า angle of repose (θ) จากสูตร ในสมการที่ 1 ทำการทดลองซ้ำ 3 ครั้ง หาค่าเฉลี่ย โดยค่า angle of repose ที่ได้สามารถบอกการไหลของผงยาได้ดังตารางที่ 1

$$\theta = \tan^{-1} h/r \quad (1)$$

เมื่อ θ = angle of repose
h = ความสูงของกองผงยา

r = รัศมีของกองผงยา



รูปที่ 1 การวัดกองผงยาเพื่อหามุม θ

2.3.2 การศึกษาค่าความหนาแน่นรวม (bulk density)

ตารางที่ 1 สมบัติการไหลของผงยากับค่า angle of repose

Flow property	Angle of repose
Excellent	25-30
Good	31-35
Fair-aid not needed	36-40
Passable-may hang up	41-45
Poor	46-55
Very poor-must agitate, vibrate	56-65
Very, very poor	>66

(Monton et al., 2014)

และค่าความหนาแน่นจำเพาะที่ถูกกดดัน (tapped density) ของผงยาตามวิธี USP 40 (2017)

ทำการหา bulk density และ tapped density ของผงยา ตามวิธี USP 40 (2017) โดยใช้กระบอกตวงขนาด 250 ml บรรจุผงยาสมุนไพรปริมาตร 100 g บันทึกปริมาตรผงยาก่อนการเคาะ หลังจากนั้นทำการเคาะกระบอกตวงจนผงยาอัดแน่นด้วยวิธี manual โดยทำการเคาะกระบอกตวงจำนวน 10 ครั้งเท่ากัน บันทึกปริมาตรผงยาหลังผ่านการเคาะหรือทำให้อัดแน่นแล้ว นำมาคำนวณหา density จากสูตรในสมการที่ 2 และ 3 ทำการทดลองซ้ำ 3 ครั้ง หาค่าเฉลี่ย

$$D_b = M/V_o \quad (2)$$

$$D_t = M/V_f \quad (3)$$

เมื่อ D_b = bulk density (g/ml)
 D_t = tapped density (g/ml)
M = น้ำหนักของผงยา (g)
 V_o = ปริมาตรของผงยาก่อน tap (ml)
 V_f = ปริมาตรของผงยาหลัง tap (ml)

2.4 การศึกษาค่าความสามารถในการตอกอัด (% Compressibility) ของผงยา

จากค่า bulk density และ tapped density ที่ทำซ้ำ 3 ครั้ง นำมาคำนวณหาค่า % Compressibility ได้จากสมการที่ 4 เพื่อหาค่าเฉลี่ย

$$\% \text{ Compressibility} = \frac{\text{Tapped density} - \text{Bulk density}}{\text{Tapped density}} \times 100 \quad (4)$$

2.5 การศึกษาค่า Hausner ratio ของผงยา

การคำนวณ Hausner ratio ที่ทำซ้ำ 3 ครั้ง สามารถคำนวณได้จากสูตรดังสมการที่ 5 เพื่อหาค่าเฉลี่ย

$$\text{Hausner ratio} = \frac{V_o}{V_f} \quad (5)$$

โดยค่า Compressibility และ Hausner ratio ที่คำนวณได้สามารถบอกความสัมพันธ์การไหลของผงยาได้ดังตารางที่ 2

ตารางที่ 2 สมบัติการไหลของผงยากับค่า Compressibility index และ Hausner ratio

Compressibility index	Flow property	Hausner ratio
≤ 10	Excellent	1.00–1.11
11–15	Good	1.12–1.18
16–20	Fair	1.19–1.25
21–25	Passable	1.26–1.34
26–31	Poor	1.35–1.45
32–37	Very poor	1.46–1.59
> 38	Very, Very poor	> 1.60

(Monton et al., 2014)

2.6 การทดสอบความสม่ำเสมอของการผสม

ชั่งผงยาหอมเทพจิตร 100 g นำมากองบนกระดาษ A4 เป็นรูปกรวยคว่ำ จากนั้นสุมตัวอย่างออกมา 5 จุด จุดละ 1 g นำตัวอย่างผงยาไปละลายน้ำและอ่านปริมาตรของน้ำที่ใช้ในการละลายผงยาจนหมด หาค่าเฉลี่ย รายงานแสดงค่าในหน่วยกรัมต่อตัวทำละลาย 1 มิลลิลิตร

2.7 การศึกษาการละลายของผงยา

ชั่งผงยาหอมเทพจิตร 0.1 g ลงในบีกเกอร์ ตวงน้ำกลั่นใส่กระบอกตวง 10 ml ค่อยๆ หยดน้ำลงไป คนให้ผงยาละลายจนหมด อ่านปริมาตรของน้ำที่ใช้ในการละลายจากกระบอกตวง ทำซ้ำ 3 ครั้ง หาค่าเฉลี่ย

2.8 การศึกษาปริมาณความชื้น (% Moisture content) ของผงยา

ชั่งตัวอย่างผงยาหอมเทพจิตร 5 g ใส่ลงในถาดของเครื่องวัดความชื้น (ยี่ห้อ Mettler Toledo รุ่น HB43-S ประเทศสวีเดน) อบที่อุณหภูมิ 80 °C บันทึก % Moisture content ที่อ่านได้จากเครื่อง สำหรับการวิเคราะห์ความชื้นของสมุนไพรตามเกณฑ์มาตรฐานเภสัชตำรับ ได้ระบุว่าสมุนไพรแห้งควรมีปริมาณความชื้นไม่เกินร้อยละ 10 หากวัดปริมาณความชื้นของผงยาสมุนไพรได้เกินร้อยละ 10 ให้นำผงยาสมุนไพรผ่านการอบเพื่อลดปริมาณความชื้นเสียก่อนนำไปใช้ในการตอกยาเม็ด

3. การศึกษาสมบัติการต้านอนุมูลอิสระของสารสกัดยาหอมเทพจิตรในตัวทำละลายแต่ละชนิด

3.1 การเตรียมสารสกัดยาหอมเทพจิตร

ทำการสกัดผงตำรับยาหอมเทพจิตร (สูตรตำรับตามประกาศคณะกรรมการพัฒนาระบบยาแห่งชาติ พ.ศ. 2555) โดยใช้วิธีการสกัด 3 วิธี คือ การชง (Infusion), การหมัก (Maceration) และวิธีการกระจายตัว (Dispersion) ดังนี้

3.1.1 การสกัดด้วยวิธีการชง (Infusion) ซึ่งตำรับยาหอมเทพจิตร 15 g ชงด้วยน้ำร้อนปริมาตร 500 ml คนให้เข้ากัน เป็นเวลา 10 นาที

3.1.2 การสกัดด้วยวิธีการหมัก (Maceration) ซึ่งตำรับยาหอมเทพจิตร 100 g ใส่ลงในถัง หมักด้วย 95% เอทานอลปริมาตร 500 ml ตั้งทิ้งไว้ในที่มืดที่อุณหภูมิห้องเป็นเวลา 3 วัน

3.1.3 การสกัดด้วยวิธีการกระจายตัว (Dispersion) ซึ่งตำรับยาหอมเทพจิตร 15 g ละลายด้วยน้ำกระสายยา (น้ำดอกไม้มะลิ) ปริมาตร 500 ml คนให้เข้ากัน เป็นเวลา 10 นาที

3.1.4 กรองสารละลายทั้งหมดในข้อ 3.1.1 – 3.1.3 ด้วยกระดาษกรอง Whatman No.1 แล้วระเหยตัวทำละลายให้แห้งด้วยเครื่องระเหยแห้งระบบสุญญากาศแบบหมุน (ยี่ห้อ BUCHI รุ่น Rotavapor R-210 ประเทศสวีเดน) เก็บสารสกัดไว้ใช้ในการวิเคราะห์ลำดับถัดไปที่อุณหภูมิ 15 °C คำนวณร้อยละของสารสกัดที่ได้ตามสมการที่ 6

$$\% \text{ ร้อยละของสารสกัด} = \frac{\text{น้ำหนักสารสกัดที่ได้}}{\text{น้ำหนักผงยาเริ่มต้น}} \times 100 \quad (6)$$

3.2 การศึกษาฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระของสารสกัดตำรับยาหอมเทพจิตร

3.2.1 วิธี 2,2-diphenyl-1-picrylhydrazyl radicals (DPPH)

เตรียมสารละลาย DPPH radical เข้มข้น 0.2 mM และตัวอย่างสารสกัดตำรับยาหอมเทพจิตร (stock solution) ที่ความเข้มข้น 10 mg/ml โดยชั่งสารสกัด 0.1 g ละลายใน methanol 10 ml จากนั้นเจือจางสารละลายให้มีความเข้มข้นในช่วง 10 – 1,000 µg/ml ทำปฏิกิริยาโดยปิเปตตัวอย่างสารสกัดแต่ละความเข้มข้น 1 ml เติม DPPH 9 ml ในหลอดทดลอง (ดัดแปลงจาก Manok & Limcharoen, 2015 และ Kim et al., 2022) เขย่าให้เข้ากัน ตั้งทิ้งไว้ในที่มืด 30 นาที นำไปวัดค่าการดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 517 nm ด้วยเครื่อง UV-Visible

spectrophotometer (ยี่ห้อ BECKMAN COULTER, รุ่น DU®720 ประเทศสหรัฐอเมริกา) ทำการทดลองซ้ำ 3 ครั้ง เปรียบเทียบกับสารมาตรฐาน ascorbic acid และ α -tocopherol โดยใช้สารละลาย methanol เป็น blank และ สารละลาย DPPH เป็นตัว control คำนวณ % radical scavenging จากสมการที่ 7 และหาค่า IC_{50} จากผลการทดลองที่ได้

$$\% \text{ radical scavenging} = [1 - (A_{\text{sample}}/A_{\text{control}})] \times 100 \quad (7)$$

เมื่อ A_{sample} คือ ค่า absorbance ที่วัดได้ของสารละลายที่ผสมกับ

DPPH แล้ว

A_{control} คือ ค่า absorbance ที่วัดได้ของ DPPH และตัวทำละลายที่ใช้

3.2.2 วิธี 2,2'-azino-bis(3-ethylbenzothiazoline-6-sulphonic acid) (ABTS)

เตรียมสารละลาย ABTS เข้มข้น 7 mM และ สารละลาย potassium persulfate เข้มข้น 2.45 mM หลังจากนั้นนำสารละลายทั้งสองมาผสมกันในอัตราส่วน 1 : 0.5 ตามลำดับ ตั้งทิ้งไว้ในที่มืดประมาณ 12-16 ชั่วโมง ก่อนนำไปใช้งาน เจือจางสารละลาย ABTS^{•+} ด้วย เอทานอลให้มีค่าการดูดกลืนแสงในช่วง 0.70 ± 0.02 ที่ ความยาวคลื่น 734 nm จากนั้นเตรียมตัวอย่างสารสกัด ตัวยาหอมเทพจิตร (stock solution) ที่ความเข้มข้น 1 mg/ml โดยชั่งสารสกัด 0.01 g ละลายใน ethanol 10 ml ทำปฏิกิริยาโดยปิเปตตัวอย่างสารสกัด 100 μ l แล้วเติม สารละลาย ABTS^{•+} ลงไป 10 ml เขย่าให้เข้ากัน ตั้งทิ้งไว้ 6 นาที นำไปวัดค่าการดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 734 nm (ดัดแปลงจาก Manok & Limcharoen, 2015 และ Re et al., 1999) ด้วยเครื่อง UV-Visible spectrophotometer (ยี่ห้อ BECKMAN COULTER, รุ่น DU®720 ประเทศสหรัฐอเมริกา) ทำการทดลองซ้ำ 3 ครั้ง เปรียบเทียบกับสารมาตรฐาน ascorbic acid (ความเข้มข้น 0.06 – 2.4 mM) และ α -tocopherol (ความเข้มข้น 0.05 – 2 mM) โดยใช้สารละลาย ethanol เป็น blank แสดงค่า ascorbic acid equivalent antioxidant capacity (VEAC) ในหน่วย mM ascorbic acid / g (dried extract) และค่า α -tocopherol equivalent antioxidant capacity (TEAC) ในหน่วย mM α -tocopherol / g (dried extract) ตามลำดับ

3.2.3 วิธี Ferric reducing antioxidant power (FRAP)

เตรียมสารละลาย FRAP reagent จาก (1) 300 mM acetate buffer pH 3.6 (2) 10 mM TPTZ ใน 40 mM HCl และ (3) 20 mM $FeCl_3 \cdot 6H_2O$ นำสารละลาย

ทั้ง 3 มาผสมกันในอัตราส่วน 10 : 1 : 1 ตามลำดับ เตรียมตัวอย่างสารสกัดตัวยาหอมเทพจิตร (stock solution) ที่ความเข้มข้น 0.1 mg/ml โดยชั่งสารสกัด สมุนไพรมา 0.001 g ละลายใน ethanol 10 ml ทำปฏิกิริยาโดยผสมสารละลายดังตารางที่ 3

ตารางที่ 3 ปฏิกิริยาผสมของการทดสอบฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระโดยวิธี FRAP

Parameters	ปฏิกิริยาผสมแต่ละหลอด
A (Test sample)	Sample (conc. 0.1 mg/ml) 1 ml + FRAP reagent 9 ml
B (Blank)	Sample (conc. 0.1 mg/ml) 1 ml + Acetate buffer 9 ml
C (Control)	Ethanol 1 ml + FRAP reagent 9 ml

เขย่าให้เข้ากัน ตั้งทิ้งไว้ 4 นาที นำไปวัดค่าการดูดกลืนแสง ที่ความยาวคลื่น 593 nm (ดัดแปลงจาก Manok & Limcharoen, 2015 และ Benzie & Strain, 1996) ด้วย เครื่อง UV-Visible spectrophotometer (ยี่ห้อ BECKMAN COULTER, รุ่น DU®720 ประเทศสหรัฐอเมริกา) นำค่าที่ได้ไปคำนวณตามสมการที่ 8 และ ทำการทดลองซ้ำ 3 ครั้งเพื่อหาค่าเฉลี่ย

$$\text{Absorbance} = A - B - C \quad (8)$$

นำค่าเฉลี่ย absorbance ที่ได้เปรียบเทียบกับกราฟ มาตรฐาน ferrous sulfate ($FeSO_4$) (ความเข้มข้น 0.06 – 3 mM) คำนวณค่า FRAP value ในหน่วย mM Fe^{2+} / g (dried extract)

4. การศึกษาสมบัติทางชีวเคมีของสารยี้ดเกาะแต่ละชนิด

การตั้งตัวยาเม็ดยาหอมเทพจิตรจะใช้สารยี้ดเกาะแตกต่างกัน 7 ชนิด เพื่อประเมินสมบัติของเม็ดยา โดยสารยี้ดเกาะที่ใช้ ได้แก่ แป้งมัน (Tapioca starch; TS) แป้งข้าวเหนียว (Glutinous rice flour; GRF) แป้งข้าวไรย์สีดำ (Dark rye flour; DRF) แป้งข้าวเจ้าไม่มันชนิดพิเศษ (Finest rice flour; FRF) แป้งข้าวโพดชนิด Corn flour (CF) แป้งข้าวโพดชนิด Pure corn flour (PCF) และแป้งข้าวโพดชนิด Corn starch (CS) ทำการศึกษาสมบัติทางชีวเคมีเบื้องต้นของสารยี้ดเกาะแต่ละชนิด เตรียมสารละลาย 1% โดยชั่งแป้ง 0.5 g ละลายในน้ำร้อน 50 ml คนให้เข้ากัน ใช้น้ำกลั่นเป็นสารละลายควบคุม นำไปทดสอบดังนี้

4.1 การทดสอบสมบัติของคาร์โบไฮเดรตชนิดโพลีแซ็กคาไรด์

ปิเปตสารละลาย 1% ของแป้งทั้ง 7 ชนิด อย่างละ 3 ml ลงในหลอดทดลอง จากนั้นหยดสารละลายไอโอดีน

1 หยด ผสมให้เข้ากัน บันทึกสีที่เกิดขึ้น (ผลบวกสีน้ำเงิน-ม่วง แสดงถึงการเป็นโพลีแซ็กคาไรด์)

4.2 การทดสอบสมบัติทางเคมีของกรดอะมิโน

ปีเปตสารละลาย 1% ของแป้งทั้ง 7 ชนิด อย่างละ 1 ml ลงในหลอด เติมสารละลาย 0.1 M Sodium acetate buffer, pH 5.0 ตามด้วยสารละลาย 0.2% ninhydrin อย่างละ 1 ml เขย่าให้เข้ากัน นำไปต้มในน้ำเดือด 5 นาที บันทึกสีที่เกิดขึ้น (ผลบวกสีม่วง-แดง แสดงถึงมีกรดอะมิโน)

4.3 การทดสอบสมบัติทางเคมีของโปรตีน

ปีเปตสารละลาย 1% ของแป้งทั้ง 7 ชนิด อย่างละ 2 ml ลงในหลอดทดลอง เติมสารละลาย Biuret reagent หลอดละ 2 ml เขย่าให้เข้ากัน ตั้งทิ้งไว้ 30 นาที สังเกตสีที่เกิดขึ้น (ผลบวกสีน้ำเงิน-ม่วง แสดงถึงการเป็นโปรตีน)

5. การตั้งตำรับยาเม็ดจากผงตำรับยาหอมเทพจิตร

การตั้งตำรับยาเม็ดจากผงตำรับยาหอมเทพจิตร จะใช้สารช่วยต่าง ๆ ที่เข้ากันได้กับผงยา มาพัฒนาให้เป็นยาเม็ดที่มีคุณสมบัติที่เหมาะสม โดยใช้อัตราส่วนในการผสมดังตารางที่ 4

ตารางที่ 4 ส่วนประกอบของยาหอมเทพจิตรในรูปแบบยาเม็ดแต่ละตำรับ

ส่วนประกอบ	%	อัตราส่วนที่ใช้ในการตั้งตำรับยาเม็ด (g)						
		w/w	F.1	F.2	F.3	F.4	F.5	F.6
ผงยาหอมเทพจิตร	58.82	88.23	88.23	88.23	88.23	88.23	88.23	88.23
Lactose monohydrate	28.68	43.02	43.02	43.02	43.02	43.02	43.02	43.02
Cellulose microcrystalline	5	7.5	7.5	7.5	7.5	7.5	7.5	7.5
Magnesium stearate	0.5	0.75	0.75	0.75	0.75	0.75	0.75	0.75
TS	7	10.5	-	-	-	-	-	-
GRF	7	-	10.5	-	-	-	-	-
DRF	7	-	-	10.5	-	-	-	-
FRF	7	-	-	-	10.5	-	-	-
CF	7	-	-	-	-	10.5	-	-
PCF	7	-	-	-	-	-	10.5	-
CS	7	-	-	-	-	-	-	10.5

การเตรียมแกรนูลเปียกของตำรับยาเม็ดยาหอมเทพจิตร

1) ชั่งผงยาหอมเทพจิตรตามที่คำนวณ คือ 88.23 g, Lactose monohydrate 43.02 g และ Cellulose microcrystalline (จำนวนครั้งหนึ่งของตำรับ = 3.75 g) ผสมให้เข้ากัน

2) เตรียม starch paste 10% ปริมาณ 105 g ตามวิธีการดังนี้ ชั่งน้ำหนัก beaker เปลา ขนาด 250 ml พร้อมแท่งแก้วคน ชั่งแป้ง 10.5 g ใส่ใน beaker กระจายแป้งในน้ำที่อุณหภูมิห้องประมาณ 10 ml เติมน้ำร้อนที่กำลังเดือด

ประมาณ 90 ml แล้วคนอย่างรวดเร็วและสม่ำเสมอจนได้ starch paste ปรับน้ำหนักให้ได้ 105 g ด้วยน้ำเย็น

3) ค่อยๆ เติม starch paste ที่เย็นลง โดยมีอุณหภูมิประมาณ 70 °C ในส่วนผสมข้อ 1 นวดให้เข้ากันจนได้ damp mass ที่สามารถผ่านแรงได้ตามต้องการ (ถ้ายังไม่ได้ damp mass ให้ค่อยๆ เติมน้ำจนได้ damp mass ที่เหมาะสม)

4) นำ damp mass ที่ได้ไปผ่านร่อนขนาด 12 mesh เกลี่ยให้กระจายบนถาด แล้วนำแกรนูลเปียกไปอบแห้งในตู้อบที่อุณหภูมิ 50 °C เป็นเวลาประมาณ 4 ชั่วโมง

5) นำแกรนูลผ่านร่อนเบอร์ 16 mash แล้วชั่งน้ำหนักของแกรนูลแห้งที่ได้

6) ชั่ง Cellulose microcrystalline จำนวนครึ่งหนึ่งของตำรับที่เหลือ (3.75 g) ผสมให้เข้ากัน จากนั้นเติม Magnesium stearate (0.75 g) ตามปริมาณที่ระบุไว้ในตำรับ

7) นำส่วนผสมที่ได้ไปตอกเป็นเม็ด โดยใช้เครื่องตอกยาเม็ดไฟฟ้าชนิดสากเดี่ยว กำหนดให้น้ำหนักเม็ดยา 250 - 280 mg ความแข็งประมาณ 3 kp

6. การทดสอบคุณภาพเม็ดยาจากตำรับยาหอมเทพจิตร

ทำการประเมินและทดสอบสมบัติทางกายภาพของเม็ดยาตามข้อกำหนดมาตรฐานของ USP 40 (2017) หมวด Dietary Supplements ดังนี้

6.1 ความเบี่ยงเบนของน้ำหนัก (Weight variation) เม็ดยา

สุ่มตัวอย่างยาเม็ดแต่ละตำรับจำนวน 20 เม็ด ทำการชั่งน้ำหนักยาแต่ละเม็ด โดยเครื่องชั่งละเอียด 4 ตำแหน่ง (ยี่ห้อ Mettler toledo, รุ่น Mew classic MF ประเภท สวิตเซอร์แลนด์) บันทึกน้ำหนักที่แน่นอนของยาแต่ละเม็ดในหน่วย mg นับเป็น 1 ชุด ทำการทดสอบซ้ำทั้งหมด 3 ครั้ง คำนวณน้ำหนักเฉลี่ย และค่าเบี่ยงเบนของน้ำหนักยาเม็ดแต่ละชุด ในแต่ละตำรับจากนั้นประเมินผลโดยเทียบน้ำหนักเฉลี่ยที่คำนวณได้เป็นร้อยละ ซึ่งจะผ่านมาตรฐานตามข้อกำหนด USP 40 (2017) เมื่อมียาเม็ดไม่เกิน 2 เม็ดที่มีความเบี่ยงเบนคิดเป็นร้อยละมากกว่าจำนวนร้อยละที่กำหนดให้ดังตารางที่ 5 และจะต้องไม่มีความเบี่ยงเบนคิดเป็นร้อยละมากกว่าสองเท่าของร้อยละที่กำหนดไว้

ตารางที่ 5 ข้อกำหนดค่าความเบี่ยงเบนของน้ำหนักยาเม็ดตามมาตรฐาน USP 40 (2017)

น้ำหนักเฉลี่ยต่อเม็ด (mg)	ร้อยละความแตกต่าง
มากกว่าหรือเท่ากับ 130	10
มากกว่า 130 ถึง 324	7.5
มากกว่า 324	5

6.2 ความแข็ง (Hardness), ความหนา (Thickness) และเส้นผ่านศูนย์กลาง (Diameter) ของเม็ดยา

สุ่มตัวอย่างยาเม็ดมา 10 เม็ด วัดความแข็ง บันทึกผลในหน่วยกิโลปอนด์ (kp) วัดความหนาและเส้นผ่านศูนย์กลาง บันทึกผลในหน่วยมิลลิเมตร (mm) โดยใช้เครื่อง Hardness tester (ยี่ห้อ Pharma test, รุ่น PTB 311 E ประเทศเยอรมนี) นับเป็น 1 ชุด ทำการทดสอบซ้ำทั้งหมด 3 ครั้ง

6.3 ความกร่อน (Friability) ของเม็ดยา

สุ่มตัวอย่างยาเม็ดจำนวน 20 เม็ด บัดพิเศษงที่ติดมากับยาเม็ด ทำการชั่งโดยใช้เครื่องชั่งละเอียด 4 ตำแหน่ง แล้วนำยาเม็ดที่ชั่งแล้วไปเข้าเครื่อง Roche friability (ยี่ห้อ Pharma test, รุ่น PTF 20E ประเทศเยอรมนี) เปิดเครื่องนาน 4 นาที (100 รอบ) เมื่อครบเวลา นำยาเม็ดทั้งหมดมาบัดพิเศษงออกอีกครั้ง นำไปชั่งน้ำหนักยาที่หายไป บันทึกผล ทำซ้ำ 3 ครั้ง นับเป็น 1 ชุด ทำการทดสอบทั้งหมด 3 ชุด เพื่อหาค่าส่วนเบี่ยงเบนเฉลี่ย แล้วคำนวณ % friability ดังสมการที่ 9 โดยตามข้อกำหนด USP 40 (2017) การประเมินผลถ้ามีเม็ดยาแตกถือว่าความกร่อน (% friability) เป็นร้อยละ 100 และยาเม็ดจะผ่านมาตรฐานเมื่อ % friability ไม่เกินร้อยละ 1

$$\% \text{ friability} = \frac{\text{น้ำหนักตั้งต้นของยาเม็ด} - \text{น้ำหนักยาเม็ดหลังทดสอบ}}{\text{น้ำหนักตั้งต้นของยาเม็ด}} \times 100 \quad (6)$$

6.4 เวลาการแตกตัว (Disintegration time) ของยาเม็ด

การหาเวลาในการแตกตัวของยาเม็ดตามเภสัชตำรับ USP 40 (2017) โดยใช้เครื่อง Disintegration apparatus (ยี่ห้อ Pharma test, รุ่น PTZ 18787 ประเทศเยอรมนี) มีขั้นตอนการทดสอบดังนี้

1) สุ่มยาเม็ดจำนวน 6 เม็ดใส่ลงใน basket-rack assembly แล้วจุ่มลงในน้ำกลั่นอุณหภูมิ $37 \pm 2^\circ\text{C}$ โดยเมื่อยก basket-rack assembly ขึ้นสูงสุด ตะแกรงลวดต้องอยู่ต่ำกว่าระดับผิวหน้าของน้ำในภาชนะไม่น้อยกว่า 2.5 cm และเมื่อเคลื่อนลงต่ำสุด ตะแกรงลวดต้องอยู่เหนือก้นภาชนะไม่น้อยกว่า 2.5 cm

2) จับเวลาตั้งแต่ basket-rack assembly จุ่มลงในน้ำกลั่น

3) บันทึกเวลาที่ใช้ในการแตกตัว โดยค่าที่รายงานคิดเป็นค่าเฉลี่ยของยาเม็ด 6 เม็ด โดยยาทั้ง 6 เม็ด จะต้องแตกตัวจนหมดถึงจะบันทึกเวลาที่ใช้ในการแตกตัว เมื่อตัวอย่างเม็ดยาทั้ง 6 เม็ด แตกตัวหมดแล้ว ทำการเปลี่ยนน้ำที่ใช้ทดสอบใหม่ และทดสอบซ้ำในข้อ 1-3 อีกครั้ง

ทำซ้ำทั้งหมด 3 ครั้ง นับเป็น 1 ชุด ทำการทดสอบทั้งหมด 3 ชุด

4) คำนวณค่าเฉลี่ยและส่วนเบี่ยงเบนเฉลี่ยของเวลาในการแตกตัวของยาเม็ด โดยยาเม็ดจะเข้ามาตรฐานตามข้อกำหนดของ USP 40 (2017) หมวด Dietary Supplements เมื่อยาเม็ดแตกตัวหมดภายใน 30 นาที ทั้ง 6 เม็ด หรือถ้ามี 1 หรือ 2 เม็ดแตกตัวไม่หมด ให้ทำเพิ่มอีก 12 เม็ด และจากทั้งหมด 18 เม็ด ต้องมีไม่น้อยกว่า 16 เม็ด ที่แตกตัวหมด

7. การวิเคราะห์ข้อมูลทางสถิติ

การศึกษาสมบัติทางกายภาพของผงยาก่อนการตั้งตัวรับแสดงข้อมูลในรูปแบบของค่าเฉลี่ยและส่วนเบี่ยงเบนมาตรฐานของค่าเฉลี่ย (mean $\pm$ SEM) ส่วนการศึกษาสมบัติการต้านอนุมูลอิสระของสารสกัดยาหอมเทพจิตรในตัวทำละลายแต่ละชนิด รวมถึงการประเมินคุณภาพเม็ดยาของตำรับยาหอมเทพจิตรเมื่อใช้สารยึดเกาะต่างกันแสดงข้อมูลในรูปแบบของค่าเฉลี่ยและส่วนเบี่ยงเบนมาตรฐานของค่าเฉลี่ย (mean $\pm$ SEM) วิเคราะห์ความแตกต่างของข้อมูลโดยใช้ One-way ANOVA และเปรียบเทียบความแตกต่างของข้อมูลโดยใช้ Duncan ที่ระดับนัยสำคัญ $p < 0.05$ ด้วยโปรแกรมวิเคราะห์สถิติสำเร็จรูป SPSS

3. ผลลัพธ์

3.1 ผลการศึกษาสมบัติทางกายภาพของผงยาก่อนการตั้งตัวรับ

จากการทดสอบสมบัติทางกายภาพของผงยาหอมเทพจิตรซึ่งประกอบด้วยตัวยาสุนไพรรสำคัญ 46 ตัวอย่างพบว่า ผงยาหอมเทพจิตรมีค่า angle of repose (θ) เฉลี่ยที่ 42.41 ± 1.86 ซึ่งเป็นช่วง Passable-may hang up ประกอบกับค่าความสามารถในการยึดเกาะ (% Compressibility) และค่า Hausner ratio มีค่าเท่ากับ 36.56 ± 1.10 และ 1.57 ± 0.02 ตามลำดับ แสดงว่าคุณสมบัติของผงยาหอมเทพจิตรอยู่ในเกณฑ์การไหลที่ต่ำถึงต่ำมาก อาจเนื่องมาจากในตำรับประกอบด้วยผงสมุนไพรหลายชนิด เมื่อนำมาผสมรวมกันมีสมุนไพรบางชนิดที่เพิ่มความฝืดหรือแรงเสียดทานในการไหล จึงทำให้ตำรับมีการไหลที่ต่ำ ขณะที่ความสม่ำเสมอของการผสมผงยาอยู่ในระดับดี สามารถละลายน้ำได้ดีที่อุณหภูมิห้อง เมื่อตั้งทิ้งไว้จะเกิดตะกอนนอนก้นสีน้ำตาลเล็กน้อย ดังรูปที่ 2 ค่าเฉลี่ยการละลายต่อผงยาเท่ากับ 0.05 g/ml ในขณะที่ผงยา 5 g มีค่าเฉลี่ยร้อยละความชื้นของผงยา (%)

Moisture content) อยู่ที่ 7.34 ± 0.12 % ซึ่งอยู่ในเกณฑ์ของมาตรฐานเกสรตัวรับที่ระบุไว้ว่าต้องไม่เกินร้อยละ 10



รูปที่ 2 ลักษณะผงยาหอมเทพจิตรและการละลาย

3.2 ผลการศึกษาสมบัติการต้านอนุมูลอิสระของสารสกัดยาหอมเทพจิตรในตัวทำละลายแต่ละชนิด

จากการทดสอบฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระของตำรับยาหอมเทพจิตรด้วยวิธี DPPH, ABTS และ FRAP assay โดยใช้วิธีการสกัดและตัวทำละลายที่แตกต่างกัน พบว่าสารสกัดตำรับยาหอมเทพจิตรที่สกัดโดยวิธีการหมักด้วย 95% เอทานอล มีความสามารถในการต้านอนุมูลอิสระได้สูงที่สุดในทุกวิธีการทดสอบ โดยมีค่า IC_{50} เท่ากับ 27.95 ± 4.78 $\mu\text{g/ml}$ เมื่อทดสอบด้วยวิธี DPPH assay ในขณะที่สารสกัดยาหอมเทพจิตรที่สกัดในทุกวิธีให้การยับยั้งอนุมูลอิสระ DPPH น้อยกว่าสารมาตรฐานกรดแอสคอร์บิกซึ่งมีค่า IC_{50} เท่ากับ 3.89 ± 2.18 $\mu\text{g/ml}$ ขณะเดียวกันค่า VEAC และ TEAC ของสารสกัดตำรับยาหอมเทพจิตรโดยวิธีการหมักด้วย 95% เอทานอลมีค่าเท่ากับ 0.42 ± 0.01 mM ascorbic acid/g และ 0.28 ± 0.01 mM α -tocopherol/g ตามลำดับ เมื่อทดสอบด้วยวิธี ABTS assay และค่า FRAP value เท่ากับ 0.72 ± 0.01 mM Fe^{2+} / g เมื่อทดสอบด้วยวิธี FRAP assay ในขณะเดียวกันตำรับยาหอมเทพจิตรที่สกัดด้วยวิธีการชงด้วยน้ำร้อนและการกระจายตัวในน้ำกระสายยาให้ค่า VEAC และ FRAP value ไม่แตกต่างกันในวิธี ABTS และ FRAP assay ดังตารางที่ 6 โดยที่การสกัดด้วยวิธีการชงด้วยน้ำร้อนตามวิธีโบราณให้ปริมาณร้อยละของสารสกัดสูงที่สุด (85.52 %) ในขณะที่การสกัดด้วยวิธีการหมักด้วย 95% เอทานอลให้ปริมาณร้อยละของสารสกัดน้อยที่สุด (6.19 %)

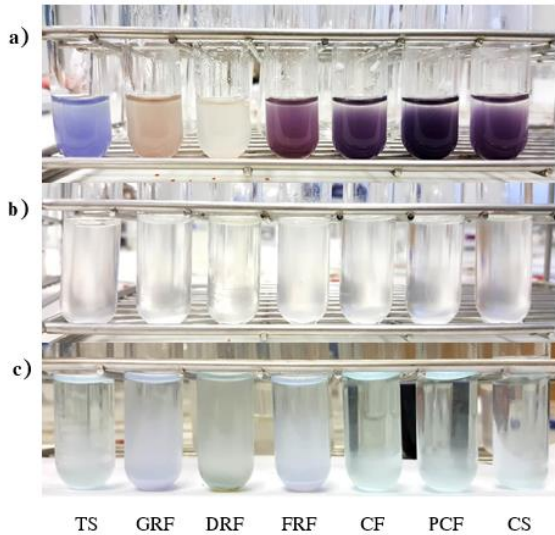
ตารางที่ 6 ผลการทดสอบฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระของตำรับยาหอมเทพจิตรโดยวิธี DPPH, ABTS และ FRAP assay

ผลการทดสอบความสามารถในการต้านอนุมูลอิสระ					
วิธีการสกัด	ร้อยละ	วิธี			
	สารสกัด (%)	DPPH assay	ABTS assay		FRAP assay
		IC ₅₀ (µg/ml)	VEAC (mM/g)	TEAC (mM/g)	FRAP value (mM/g)
การชง	85.52	201.66 ± 19.78 ^b	0.07 ± 0.04 ^b	0.01 ± 0.03 ^b	0.44 ± 0.00 ^b
การหมัก	6.19	27.95 ± 4.78 ^a	0.42 ± 0.01 ^a	0.28 ± 0.01 ^a	0.72 ± 0.01 ^a
การกระจายตัว	34.26	567.66 ± 6.79 ^c	0.05 ± 0.00 ^b	cnd	0.46 ± 0.00 ^b

หมายเหตุ สัญลักษณ์ที่แตกต่างกันในคอลัมน์เดียวกันแสดงถึงความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p < 0.05$) และ cnd คือ can not detected (ไม่สามารถตรวจวิเคราะห์ปริมาณได้)

3.3 ผลการศึกษาสมบัติทางชีวเคมีของสารยี่เกาะแต่ละชนิด

ผลการทดสอบสมบัติของคาร์โบไฮเดรตชนิดโพลีแซ็กคาไรด์ พบว่า สารยี่เกาะทั้ง 7 ชนิด เป็นโพลีแซ็กคาไรด์ชนิดที่มีโครงสร้างสายตรงสามารถม้วนเป็นเกลียวได้ เมื่อหยดไอโอดีนจะเกิดสีม่วงหรือน้ำเงินเข้าไปแทรกตัวภายในเกลียว ในขณะที่แป้ง GRF เป็นโพลีแซ็กคาไรด์ที่มีโครงสร้างสายตรงไม่สามารถม้วนเป็นเกลียวได้ เมื่อหยดไอโอดีนจะเกิดเป็นสีน้ำตาลแกมแดง แป้ง FRF, CF, PCF และ CS ให้ผลเป็นสีม่วงแดงกับไอโอดีน แสดงถึงการแทรกตัวของไอโอดีนในโมเลกุลของอะไมโลเพคติน เมื่อต้มสุกจะมีลักษณะใสและเหนียว ในขณะที่แป้ง TS ให้ผลเป็นสีน้ำเงินกับไอโอดีน จะแสดงถึงการแทรกตัวของไอโอดีนในโมเลกุลของอะไมโลส เมื่อต้มสุกจะมีลักษณะขุ่นเป็นเจล ในขณะที่แป้ง DRF ค่อนข้างที่จะมีไฟเบอร์สูง จึงเห็นสารละลายเป็นสีขาวแต่มีเม็ดสีม่วงอ่อนตกตะกอนที่ก้นหลอดทดลอง แสดงให้เห็นว่ามีส่วนประกอบของคาร์โบไฮเดรตชนิดโพลีแซ็กคาไรด์ในปริมาณที่น้อยกว่าแป้งชนิดอื่นๆ ในขณะเดียวกันผลการทดสอบปฏิกิริยานินไฮดรินไม่มีการเปลี่ยนแปลงแสดงว่าไม่มีแป้งชนิดใดที่มีกรดอะมิโนเจือปน ในขณะที่ผลการทดสอบปฏิกิริยากับไบยูเรต พบว่า มีเพียงแป้ง GRF และแป้ง FRF มีโปรตีนปนเล็กน้อย เนื่องจากสารละลายไบยูเรตจะทำปฏิกิริยากับพันธะเปปไทด์ในโปรตีนเกิดเป็นสารประกอบสีน้ำเงินม่วง ดังรูปที่ 3 และตารางที่ 7



รูปที่ 3 ผลการทดสอบสมบัติทางชีวเคมีของสารช่วยยัดเกาะแต่ละชนิด เมื่อ a) ผลการตรวจสอบโพสแซ็คคาไรด์ด้วยปฏิกิริยาไอโอดีน b) ผลการตรวจสอบหมู่ α -NH₂ ของกรดอะมิโนด้วยปฏิกิริยานินไฮดริน และ c) ผลการตรวจสอบโปรตีนด้วยปฏิกิริยาไบยูเรต

ตารางที่ 7 ผลการทดสอบสมบัติทางชีวเคมีของสารช่วยยัดเกาะทั้ง 7 ชนิด

ชนิดแป้ง	Iodine test	Ninhydrin test	Biuret test
TS	+	-	-
GRF	+	-	+
DRF	+	-	-
FRF	+	-	+
CF	+	-	-
PCF	+	-	-
CS	+	-	-

3.4 ผลการศึกษาการตั้งตำรับและการควบคุมคุณภาพ ยาเม็ดตำรับยาหอมเทพจิตร

ผงยาหอมเทพจิตรส่วนใหญ่ด้วยาสุนไพรรในตำรับเป็นไฟเบอร์ทำให้ผงยามีความฟู ค่าการไหลต่ำ ส่งผลให้เตรียมในรูปแบบการตอกรตรงไม่ได้ ยาไม่ขึ้นรูปเป็นเม็ด จึงต้องเตรียมในรูปแบบของแกรนูล โดยใช้สารช่วยชนิดต่างๆ และสารยัดเกาะเป็นส่วนหนึ่งที่มีผลต่อค่าการไหลของแกรนูลที่ในปัจจุบันนิยมใช้แบ่งในการตอกยาเม็ด จากการตั้งตำรับโดยเตรียมแกรนูลจากแป้งที่พบในท้องตลาดคือ แป้งมัน (TS) แป้งข้าวเหนียว (GRF) แป้งข้าวไรย์สีดำ (DRF) แป้งข้าวเจ้าไม่มันชนิดพิเศษ (FRF) แป้งข้าวโพดชนิด CF แป้งข้าวโพดชนิด PCF และแป้งข้าวโพด

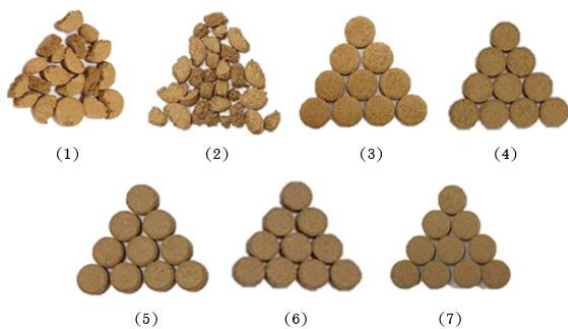
ชนิด CS ทั้งสิ้น 7 ตำรับ พบว่า ความชื้นของแกรนูลแต่ละตำรับมีค่าเฉลี่ยอยู่ในช่วง $6.32 \pm 0.09 - 8.39 \pm 0.13$ % เมื่อนำตำรับทั้งหมดมาตอกเม็ดและทดสอบคุณภาพของยาเม็ดตามมาตรฐาน USP 40 (2017) ได้ผลการศึกษาดังตารางที่ 8 และรูปที่ 4

จากการประเมินคุณภาพเม็ดยาของตำรับยาหอมเทพจิตรตามมาตรฐานข้อกำหนด USP 40 (2017) เมื่อทดสอบซ้ำ 3 ชุด พบว่า ยาเม็ดทั้ง 7 ตำรับ เมื่อใช้ตัวยัดเกาะเป็นแป้งต่างชนิดกันมีค่าน้ำหนักเม็ดยาตามมาตรฐาน USP 40 (2017) โดยมีเม็ดยาไม่เกิน 2 เม็ด ที่มีความเบี่ยงเบนคิดเป็นร้อยละ 7.5 ค่าเฉลี่ยของน้ำหนักเม็ดยาอยู่ในช่วง $253.93 \pm 0.39 - 289.35 \pm 0.73$ mg ในขณะที่ค่าความแข็ง ความหนา และเส้นผ่าศูนย์กลางอยู่ที่ $1.45 \pm 0.04 - 2.82 \pm 0.07$ kp, $3.34 \pm 0.01 - 3.72 \pm 0.01$ mm และ $9.12 \pm 0.00 - 9.18 \pm 0.00$ mm ตามลำดับ ขณะเดียวกันสารยัดเกาะในตำรับที่ 1 และ 2 คือแป้ง TS และ GRF ไม่สามารถวัดค่าความแข็ง ความหนา และเส้นผ่าศูนย์กลางได้จนครบ 10 เม็ด และมีความกร่อนเป็น 100 % เนื่องจากเม็ดยาแตกดังรูปที่ 4 ซึ่งตามมาตรฐาน USP 40 (2017) ยาเม็ดจะผ่านมาตรฐานเมื่อมีความกร่อนไม่เกินร้อยละ 1 ส่วนตำรับ 3 - 7 มีค่าความกร่อนไม่เกินร้อยละ 1 จึงเข้าตามมาตรฐาน USP 40 (2017) โดยตำรับที่ใช้สารยัดเกาะเป็นแป้ง PCF (0.0081 ± 0.00 %) ให้ค่าความกร่อนน้อยที่สุด รองลงมาคือตำรับที่ใช้แป้ง CS (0.0550 ± 0.02 %) และ CF (0.0977 ± 0.02 %) ตามลำดับ โดยทั้ง 3 ตำรับให้ค่าความกร่อนที่ไม่แตกต่างกันทางสถิติ ถึงแม้ว่าตำรับเม็ดยาในแต่ละชุดการทดสอบจะสามารถแตกตัวได้หมดไม่เกิน 30 นาที ซึ่งเข้าตามเกณฑ์มาตรฐาน USP 40 (2017) ทั้ง 7 ตำรับ จะเห็นได้ว่าตำรับที่ 4 - 7 ใช้เวลาในการแตกตัวไม่แตกต่างกัน ที่ค่าเฉลี่ย $17.71 \pm 2.05 - 19.58 \pm 0.02$ นาที จากการประเมินยาหอมเทพจิตรทั้ง 7 ตำรับในรูปแบบยาเม็ดนี้ การใช้สารยัดเกาะเป็นแป้งข้าวโพดชนิด Pure corn flour (PCF) เป็นตำรับที่ดีที่สุดอยู่ในเกณฑ์มาตรฐาน รองลงมาคือ แป้งข้าวโพดชนิด Corn starch (CS) และแป้งข้าวโพดชนิด Corn flour (CF) ตามลำดับ

ตารางที่ 8 ผลการประเมินคุณภาพเม็ดยาของตำรับยาหอมเทพจิตรที่ใช้สารยึดเกาะแตกต่างกัน

ตำรับ	ค่าเฉลี่ย (mean) $\pm$ SEM (n=3)					
	น้ำหนักยาเม็ด (mg)	ความแข็ง (kp)	ความหนา (mm)	เส้นผ่านศูนย์กลาง (mm)	ความกร่อน (%)	เวลาที่ใช้ใน การแตกตัว (min)
1	265.10 $\pm$ 0.33 ^c	cnd	cnd	cnd	100.0000 $\pm$ 0.0000 ^c	9.25 $\pm$ 0.30 ^b
2	257.51 $\pm$ 0.46 ^d	cnd	cnd	cnd	100.0000 $\pm$ 0.0000 ^c	9.72 $\pm$ 0.15 ^b
3	253.93 $\pm$ 0.39 ^c	1.45 $\pm$ 0.04 ^d	3.57 $\pm$ 0.00 ^{ab}	9.12 $\pm$ 0.00 ^a	0.4575 $\pm$ 0.0784 ^b	4.08 $\pm$ 0.13 ^c
4	289.35 $\pm$ 0.73 ^a	1.98 $\pm$ 0.05 ^c	3.72 $\pm$ 0.01 ^a	9.18 $\pm$ 0.00 ^a	0.4655 $\pm$ 0.1424 ^b	19.58 $\pm$ 0.02 ^a
5	270.19 $\pm$ 0.42 ^b	2.41 $\pm$ 0.05 ^b	3.40 $\pm$ 0.00 ^{ab}	9.15 $\pm$ 0.00 ^a	0.0977 $\pm$ 0.0214 ^a	18.15 $\pm$ 0.09 ^a
6	269.77 $\pm$ 1.04 ^b	2.71 $\pm$ 0.04 ^a	3.34 $\pm$ 0.01 ^b	9.16 $\pm$ 0.00 ^a	0.0081 $\pm$ 0.0047 ^a	17.71 $\pm$ 2.05 ^a
7	265.66 $\pm$ 0.10 ^c	2.82 $\pm$ 0.07 ^a	3.40 $\pm$ 0.00 ^{ab}	9.17 $\pm$ 0.00 ^a	0.0550 $\pm$ 0.0202 ^a	17.91 $\pm$ 0.12 ^a

หมายเหตุ สัญลักษณ์ที่แตกต่างกันในคอลัมน์เดียวกันแสดงความต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p < 0.05$) และ cnd คือ can not detected (ไม่สามารถตรวจวิเคราะห์ได้) กรณีที่มีเม็ดยาแตกจะถือว่าค่าความกร่อน (% friability) เป็นร้อยละ 100 และยาเม็ดจะผ่านมาตรฐานเมื่อ % friability ไม่เกินร้อยละ 1



รูปที่ 4 ลักษณะของยาเม็ดของตำรับที่ 1 – 7 หลังจากการวัดค่าความกร่อน เมื่อใช้สารยึดเกาะต่างกัน ดังนี้ (1) TS, (2) GRF, (3) DRF, (4) FRF, (5) CF, (6) PCF และ (7) CS

4. การอภิปราย

จากการศึกษาสมบัติทางกายภาพของผงยาหอมเทพจิตรก่อนการตั้งตำรับ ผงยามีสมบัติการไหลอยู่ในเกณฑ์ที่ต่ำมาก เนื่องมาจากในตำรับประกอบด้วยผงสมุนไพรหลายชนิดทำให้ตำรับมีการไหลที่ต่ำ เพราะส่วนประกอบของตัวยาสุนไพรมีเป็นไฟเบอร์ซึ่งมีลักษณะเป็นเส้นใย ทำให้ผงยาที่มีความฟู ส่งผลต่อการไหลลงเบ้าขณะเข้าเครื่องตอกเม็ด สอดคล้องกับการวิจัยของ (Monton et al, 2014) ได้ศึกษาการไหลของยาสมุนไพรจิตรารมณ์ที่มีส่วนผสมของสมุนไพรประมาณ 40 ชนิดเมื่อผสมสมุนไพรกับสารช่วยในการเตรียมยาเม็ดด้วยวิธีตอกโดยตรง มี angle of repose, compressibility index และ hausner ratio เท่ากับ 44–48 °, 17–22 % และ 1.21–1.28 ตามลำดับ และการเตรียมยาเม็ดด้วยวิธีแกรนูลเปียก มีค่าเท่ากับ 26–27 °, 13 % และ 1.14–1.15 ตามลำดับ (Monton et al, 2014) ซึ่งจะเห็นได้ว่าการเตรียมสมุนไพรในรูปแบบแกรนูลจะทำให้ผงยาจะไหลได้ดี และจากการศึกษาของ Monton et al, (2013) ที่ศึกษาการไหลของผงยาสมุนไพรบิตเตอร์ลิฟ (*Vernonia amygdalina* Delile) โดยปราศจากการเติมสารช่วยใดๆ

พบว่า angle of repose, compressibility index และ hausner ratio เท่ากับ 38.3 °, 31 % และ 1.45 ตามลำดับ ซึ่งบ่งบอกว่าผงยาสมุนไพรนี้มีการไหลที่ไม่ดีนักซึ่งการเติมสารช่วยในการเตรียมยาเม็ดจะช่วยลดปัญหาการไหลที่ไม่ดีของผงยาสมุนไพรได้ (Muazu et al, 2013) อีกทั้งผงยาหอมเทพจิตรมีความชื้นค่อนข้างสูงแต่ยังอยู่ในเกณฑ์มาตรฐานที่กำหนดไว้ ทั้งนี้เป็นผลมาจากสมุนไพรในตำรับมีส่วนประกอบที่เป็นน้ำมันหอมระเหย ด้วยเหตุนี้จึงต้องเตรียมผงยาให้อยู่ในรูปแบบแกรนูลเปียก ในขณะทำการทดสอบความสม่ำเสมอของผงยาอยู่ในเกณฑ์ดี และสามารถละลายกับน้ำได้ดี สอดคล้องกับการศึกษาของนพมาศสุนทรเจริญนนท์ (2554) ที่พบว่าผงยาหอมเทพจิตรตอกอัดเป็นเม็ดได้ยาก เนื่องจากผงยาประกอบด้วยพืชที่มีเส้นใยเซลลูโลสเป็นหลัก ส่วนประกอบรองเป็นแป้งและน้ำมันหอมระเหยซึ่งมีลักษณะยึดหยุ่นสูง โดยธรรมชาติไม่สามารถตอกอัดได้ง่าย ต้องใช้สารช่วยยึดเกาะและสารช่วยตอกในปริมาณสูง เพื่อลดการคลายตัวหลังการตอกอัดเป็นเม็ด เมื่อนำผงยาหอมเทพจิตรสกัดโดยใช้วิธีและตัวทำลายต่างกัน สารสกัดสามารถต้านอนุมูลอิสระได้ โดยที่การสกัดด้วยการแช่เอทานอลร้อยละ 95 มีความสามารถในการต้านอนุมูลอิสระดีที่สุด ทั้งนี้อาจเนื่องมาจากสารสกัดที่เป็นองค์ประกอบสำคัญในการต้านอนุมูลอิสระละลายได้ดีในตัวทำลายที่มีขั้วน้อยกว่าน้ำเล็กน้อย อีกทั้งการสกัดด้วยเอทานอลมีอัตราส่วนปริมาณของตัวทำลายต่อตัวทำลายสูงกว่าในวิธีการสกัดด้วยการชงด้วยน้ำร้อน และการกระจายตัวในน้ำกระสายยา จึงอาจทำให้สารสำคัญของตัวยางานชนิดในตำรับละลายออกมาได้มากกว่า สอดคล้องกับงานวิจัยของ Manok & Limcharoen, 2015 ที่ศึกษาฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระของตัวยาสุนไพรรวม 46 ชนิดในตำรับยาหอมเทพจิตรแล้วพบว่า สารสกัดกานพลู (IC₅₀ = 0.240 ppm) และโสมญี่ปุ่น (IC₅₀ = 5.284 ppm) ใน

ตำรับสามารถต้านอนุมูลอิสระได้สูงที่สุด อีกทั้งสารสกัดจากพลู (1,906.083 ppm) ยังมีปริมาณฟีนอลิกรวมสูงที่สุดด้วย ในขณะที่เมื่อสกัดด้วยวิธีการที่มีความสามารถในการต้านอนุมูลอิสระได้ดีกว่าการกระจายตัวในน้ำกระสายยา (น้ำดอกไม้มเทศ) ทั้งนี้เนื่องมาจากการชงนั้นใช้ความร้อนในขั้นตอนการสกัดจึงทำให้สารที่มีคุณสมบัติในการต้านอนุมูลอิสระที่ทนความร้อนสามารถสกัดออกมาได้ดีกว่าการกระจายตัวด้วยน้ำกระสายยา สอดคล้องกับงานวิจัยของ Niwat (2019) ที่ศึกษาผงใบกล้วยที่สกัดด้วยน้ำในอัตราส่วนการสกัดที่ 1:8 และ 1:10 (w/w) อุณหภูมิ 90 °C เป็นเวลา 30 นาที หลังจากนั้นทำแห้งในรูปแบบผงนำมาพัฒนาในรูปแบบชาชงในปริมาณที่ต่างกัน (2, 4 และ 6 กรัม) และใช้อุณหภูมิในการชงแตกต่างกันที่ 80, 90 และ 100 °C พบว่า สารยับยั้งอนุมูลอิสระ DPPH และ FRAP เพิ่มขึ้นอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p < 0.05$) เมื่อปริมาณของชาผงกล้วยเพิ่มขึ้นและการศึกษานี้ยังแสดงให้เห็นว่าอุณหภูมิของน้ำที่สูงขึ้นส่งผลต่อสารออกฤทธิ์ทางชีวภาพและสารต้านอนุมูลอิสระของชาใบกล้วย ($p < 0.05$) โดยการชงที่อุณหภูมิ 100 °C แสดงการต้านอนุมูลอิสระสูงสุดเมื่อใช้ปริมาณชากล้วย 6 กรัม (อัตราส่วนการสกัดที่ 1:10) ให้ผลการทดสอบด้วยวิธี DPPH และ FRAP สูงที่สุดเท่ากับ $74.65 \pm 0.57 \mu\text{mol Trolox/ml}$ และ $166.18 \pm 2.45 \mu\text{mol ferrous sulfate/ml}$ ตามลำดับ (Niwat, 2019) ดังนั้นวิธีการรับประทานยาหอมเทพจิตรชนิดผงที่ชงด้วยน้ำอุ่นที่ใช้อยู่ในยุคปัจจุบันนั้นจะสามารถต้านอนุมูลอิสระได้เช่นกัน ขณะที่การพิสูจน์สมบัติของสารยึดเกาะทั้ง 7 ชนิด เป็นคาร์โบไฮเดรตชนิดโพลีแซ็กคาไรด์และมีเพียงแป้งข้าวเหนียว (GRF) และแป้งข้าวเจ้าโมโนชนิดพิเศษ (FRF) ที่มีโปรตีนเจือปนเพียงเล็กน้อย โดยแป้งชนิดสตาร์ช (Starch) จะเป็นแป้งที่มีคาร์โบไฮเดรตเป็นส่วนใหญ่มีการสกัดโปรตีนและไขมันออกจึงมีความบริสุทธิ์สูง ส่วนแป้งฟลาว (Flour) บางชนิดยังคงมีองค์ประกอบของโปรตีน ไขมัน เส้นใย และความชื้น มากหรือน้อยขึ้นอยู่กับชนิดของแป้ง (Furukawaka et al., 2006)

การศึกษาคุณสมบัติของสารยึดเกาะในตำรับยาหอมเทพจิตรแบบเม็ดโดยใช้สารช่วยชนิดอื่น ๆ ในอัตราส่วนเท่ากันในตำรับแต่ใช้สารยึดเกาะที่แตกต่างกันพบว่า แป้งที่เหมาะสมการนำมาใช้ในตำรับมากที่สุด มี 2 ชนิด คือ แป้งข้าวโพดชนิด PCF และแป้งข้าวโพดชนิด CS เนื่องจากให้ค่าความแข็ง ความหนา เวลาในการแตกตัวของเม็ดยาไม่แตกต่างกัน มีความกรอบต่ำ โดยที่แป้งข้าวโพดชนิด PCF มีค่าเฉลี่ยน้ำหนักยาเม็ดสูงกว่าแป้ง

ข้าวโพดชนิด CS เพียงเล็กน้อย แต่อยู่ในเกณฑ์มาตรฐานซึ่งสอดคล้องกับการศึกษาของนพมาศ สุนทรเจริญนนท์ (2554) พบว่า การเตรียมแกรนูลเปียกจาก Starch paste เป็นสารยึดเกาะโดยแป้งข้าวโพดชนิด Starch ได้แกรนูลที่มีความสามารถในการไหลดี ตกอัดเป็นยาเม็ดที่มีความแข็งแรงรับได้ มีความกรอบต่ำ แต่จากการพัฒนาตำรับยาหอมเทพจิตรในรูปแบบยาเม็ดจะใช้สารช่วยในการแตกตัวที่แตกต่างกันคือในงานวิจัยนี้จะใช้ Cellulose microcrystalline แต่การศึกษาของนพมาศ สุนทรเจริญนนท์ (2554) ใช้ Croscarmellose sodium ซึ่ง Cellulose microcrystalline ให้ผลเสริม (Additive effect) กับแป้งในการช่วยเรื่องการแตกตัว รวมถึงเพิ่มปริมาณในการตกตรงเนื่องจากมีความสามารถในการตกอัดสูง สารทั้งคู่ใช้เวลาในการแตกตัวอยู่ในเกณฑ์มาตรฐานไม่แตกต่างกัน โดยผลของงานวิจัยนี้พบว่านอกเหนือจากการใช้แป้งข้าวโพดชนิด CS เช่นเดียวกับการศึกษาของนพมาศ สุนทรเจริญนนท์ (Soonthornchareonnon, 2011) แล้วยังมีแป้งข้าวโพดชนิด PCF และ CF ที่อยู่ในเกณฑ์มาตรฐานข้อกำหนด USP 40 (2017) อีกด้วย ในขณะที่เดียวกันพบว่าเม็ดยาที่ใช้สารยึดเกาะเป็นแป้งมัน (TS) และแป้งข้าวเหนียว (GRF) ไม่ได้มาตรฐานเนื่องจากให้ค่าความกรอบร้อยละ 100 ซึ่งตามเกณฑ์มาตรฐานควรมีความกรอบไม่เกินร้อยละ 1 อาจเนื่องมาจากสารยึดเกาะทั้งสองชนิดนี้มีอนุภาคและลักษณะของโมเลกุลที่ไม่เหมาะสมต้องเตรียมที่อุณหภูมิและระยะเวลาที่นาน เพื่อให้มีประสิทธิภาพในการเป็นสารยึดเกาะในเภสัชตำรับ สอดคล้องกับงานวิจัยของจิตรีักษ์ วรพัฒน์ผดุง และคณะ (2012) และงานวิจัยของพรพรรณ เหล่าวิชสุวรรณ และคณะ (Laovachirasuwan et al. 2013) ระบุว่าแป้งทั้งสองชนิดมีข้อจำกัดในการละลายน้ำได้ยากที่อุณหภูมิห้องและไม่ละลายในน้ำเย็น ซึ่งในการทำ Starch paste จากแป้งทั้งสองจะต้องใช้อุณหภูมิที่เหมาะสม และใช้ระยะเวลานานในการเตรียม โดยการเตรียมจะต้องทำให้แป้งสุกจนเป็นสารละลายหนืดใส ไม่ขุ่น ด้วยเหตุนี้จึงต้องทำการตัดแปรแป้งทั้งสองชนิดด้วยวิธีการใช้ต่างในแอลกอฮอล์ (ATS) อีกทั้งยังต้องมีการควบคุมอุณหภูมิและเวลาให้เหมาะสมเพื่อให้ได้ Starch paste ก่อนนำมาใช้ในกระบวนการเตรียมเภสัชภัณฑ์ ในขณะเดียวกันตำรับที่ใช้แป้งข้าวเจ้าโมโนชนิดพิเศษ (FRF) ใช้เวลาในการแตกตัวเป็นไปตามเกณฑ์มาตรฐาน แต่ใช้เวลาในการแตกตัวของเม็ดยานานที่สุด ส่วนตำรับที่ใช้แป้งข้าวไรย์สีดำ (DRF) ใช้เวลาในการแตกตัวน้อยที่สุด แต่ในการแตกตัวนั้นให้ตะกอนของยาเป็นเม็ดแกรนูลไม่ละลาย เป็นสารสีน้ำตาลอ่อน ซึ่งเป็น

การแตกตัวที่ไม่สมบูรณ์ อาจให้การละลายของผงยาที่ต่ำลงเหมือนกันทั้ง 2 ตำรับมีค่าความแข็งค่อนข้างต่ำ จึงทำให้ค่าความกร่อนสูงกว่าแป้งข้าวโพดทั้ง 3 ชนิด ในขณะที่แป้งข้าวไรย์สีดำ (DRF) ให้ค่าเฉลี่ยของน้ำหนักเม็ดยาต่ำที่สุด เมื่อเปรียบเทียบกับตำรับอื่นๆ

จากการประเมินคุณภาพเม็ดยาทั้งหมดพบว่า สารยึดเกาะที่เหมาะสมอยู่ในเกณฑ์มาตรฐานข้อกำหนด USP 40 (2017) เรียงตามลำดับในกลุ่มของแป้งข้าวโพด คือ CS > PCF > CF รองลงมาคือ FRF และ DRF โดยจากการทดสอบสมบัติทางชีวเคมีของแป้ง FRF, CF, PCF และ CS ให้ผลการทดสอบกับไอโอดีนเป็นสีม่วงแดงนั้นแสดงถึงปริมาณของอะไมโลเพกตินที่สูงกว่าอะไมโลส ในขณะที่แป้ง TS มีปริมาณอะไมโลเพกตินต่ำจึงให้สีน้ำเงินกับการทดสอบไอโอดีน และจะเห็นว่าแป้งชนิด Starch เมื่อทดสอบสิ่งเจือปนจะมีความบริสุทธิ์และองค์ประกอบอื่นๆ เจือปนน้อยกว่าแป้งชนิด Flour ซึ่งสิ่งเจือปนเหล่านี้ อาจส่งผลต่อคุณสมบัติของยาเม็ดในการตอก โดยมีแป้ง 2 ชนิด คือ GRF และ FRF ที่พบว่ามีการโปรตีนอยู่เล็กน้อย จากการทดสอบด้วยไบยูเรต อย่างไรก็ตามถึงแม้ว่าแป้งข้าวโพดจะมีร้อยละของอะไมโลเพกตินที่สูงกว่าอะไมโลส แต่เมื่อเปรียบเทียบกับร้อยละของอะไมโลสในแป้งแต่ละชนิดแล้วแป้งข้าวโพดนั้นมีร้อยละของอะไมโลสที่ยังมากกว่าแป้งชนิดอื่นๆ ถึง 27% ขึ้นไป ในขณะที่แป้งชนิดอื่นๆ พบอะไมโลสอยู่ในปริมาณที่ต่ำกว่า 9 ถึง 17% (Swinkles, 1985) เช่น แป้งข้าวเหนียวที่พบอะไมโลสเพียง 1% ปริมาณอะไมโลสที่สูงในเม็ดแป้งจะส่งผลเมื่ออยู่ในน้ำโดยไปสร้างพันธะไฮโดรเจนกับโมเลกุลอะไมโลสที่อยู่ข้างเคียงเป็นสายยาวคู่ขนานคล้ายตาข่าย ดังนั้นโครงสร้างของแป้งข้าวโพดจึงคล้ายกับร่างแห ภายในเม็ดแป้งมีความแข็งแรงมาก ทำให้เม็ดแป้งพองตัวได้น้อยจับกับตัวยาได้ดี (Sriroth & Piyachomkwan, 2007) และจะเห็นได้ว่าการใช้แป้งข้าวโพดให้ผลในเรื่องความกร่อนดีกว่าแป้งชนิดอื่นๆ โดยที่หากมีสิ่งเจือปนน้อยจะยิ่งส่งผลต่อค่าความกร่อนซึ่งจะเห็นได้ว่าแป้ง PCF มีความกร่อนที่น้อยกว่าแป้ง CF ขณะเดียวกันค่าความกร่อนของแป้ง CS แสดงให้เห็นว่าดีกว่าแป้ง CF ทั้งนี้ขึ้นอยู่กับวิธีการเตรียมแป้งแต่ละชนิดอาจมีความแตกต่างกันทั้งในเรื่องอุณหภูมิและระยะเวลาในการเตรียม เนื่องจากโครงสร้างและพันธะทางเคมีของแป้งแต่ละชนิดรวมถึงลักษณะองค์ประกอบทางเคมีที่แตกต่างกันออกไป และยังมีเรื่องของความพองตัว การดูดซับน้ำ การละลาย และความหนืดของแป้ง ซึ่งสามารถนำไปประยุกต์ใช้ประโยชน์ในอุตสาหกรรมทางอาหาร ยา และเภสัชกรรมได้

5. บทสรุป

การพัฒนาผงยาหอมเทพจิตรให้มีรูปแบบการใช้งานที่สะดวกยิ่งขึ้นในรูปแบบยาเม็ด พบว่า ตำรับที่ใช้แป้งข้าวโพดชนิด CS เป็นตำรับที่ดีที่สุดเมื่อเปรียบเทียบกับตำรับอื่นๆ โดยมีค่าเบี่ยงเบนของน้ำหนัก ความแข็ง ความหนา เส้นผ่านศูนย์กลาง ความกร่อน และเวลาในการแตกตัวของเม็ดยา เป็นไปตามเกณฑ์มาตรฐานข้อกำหนด USP 40 (2017) รองลงมาคือ แป้งข้าวโพดชนิด PCF และแป้งข้าวโพดชนิด CF ตามลำดับ ในขณะที่แป้งข้าวโพดชนิด PCF สามารถนำมาพัฒนาศึกษาเพื่อใช้เป็นสารช่วยยึดเกาะในตำรับยาหอมเทพจิตรต่อไปในอนาคตได้ เนื่องจากมีค่าเบี่ยงเบนของน้ำหนักสูงกว่าเพียงเล็กน้อย ใช้เวลาในการแตกตัวใกล้เคียงกัน ให้ค่าความกร่อนที่น้อยกว่า ซึ่งจะมีผลต่อการเคลื่อนย้ายหรือขนส่งตัวยา เหมาะแก่การนำไปพัฒนาใช้ในระดับอุตสาหกรรมและการตลาด ทั้งนี้ยังเป็นแป้งที่หาซื้อได้ง่าย เมื่อเปรียบเทียบราคาต่อกิโลกรัมในท้องตลาดยังพบว่าแป้ง PCF มีราคาที่ถูกกว่าแป้งชนิด CS เล็กน้อย ดังนั้นจึงควรนำไปศึกษาเพิ่มเติมและพัฒนาเป็นสารช่วยยึดเกาะในเภสัชภัณฑ์ระดับอุตสาหกรรมหรือศึกษาในทางคลินิกต่อไปซึ่งอาจจะสามารถนำมาใช้ทดแทนกันได้ในอนาคตในกรณีที่ขาดแคลนแป้งชนิด CS แต่ทั้งนี้ควรศึกษาคุณสมบัติและองค์ประกอบทางเคมีอื่นๆ ของแป้งชนิด PCF เพิ่มเติม และศึกษาในเรื่องการเก็บรักษาความคงตัวในระยะยาวบน Shelf life ในอนาคต

กิตติกรรมประกาศ

การวิจัยในครั้งนี้คณะผู้วิจัยขอขอบคุณ ภาควิชาการแพทย์แผนไทย มหาวิทยาลัยราชภัฏบ้านสมเด็จเจ้าพระยา ที่อำนวยความสะดวกในด้านเครื่องมือและอุปกรณ์ต่างๆ สำหรับใช้ในงานวิจัยที่ทำให้การวิจัยสำเร็จบรรลุผลไปด้วยดี

เอกสารอ้างอิง

- Benzie, I. F., & Strain, J. J. (1996). The ferric reducing ability of plasma (FRAP) as a measure of "antioxidant power": the FRAP assay. *Analytical biochemistry*, 239(1), 70-76.
- Boonwatharapan, Y., Sutthiparinyanont, S. and Chitropas, P. (2012). A Feasibility Study of Alcoholic-Alkaline Treated Rice Starch for Disintegrant in Tablet. *KKU Res J (GS)*, 13(3), 68-77.
- Channarong, S., Jutiviboonsuk, A., & Korsanan, S. (2012). Total reducing antioxidant capacity of Thai herbal aromatic powder (Ya-Hom) measured by FRAP Assay. *Thai Pharmaceutical and Health Science Journal*, 7(3), 111-114.
- Chootip, K., Chaiyakunapruk, N., Soonthornchareonnon, N., Scholfield, C. N., & Fuangchan, A. (2017). Efficacy and safety of "Yahom" as a

- traditional Thai herbal therapy: a systematic review. *Journal of ethnopharmacology*, 196, 110–123. <http://dx.doi.org/10.1016/j.jep.2016.12.002>
- Defloor, I., Dehing, I., & Delcour, J. A. (1998). Physico-chemical properties of cassava starch. *Starch - Stärke*, 50(2–3), 58–64.
- Furukawa, S., Tanaka, K., Masumura, T., Ogihara, Y., Kiyokawa, Y., & Wakai, Y. (2006). Influence of rice proteins on eating quality of cooked rice and on aroma and flavor of sake. *Cereal chemistry*, 83(4), 439–446.
- Jariyapongskul, A., Pathumraj, S., & Niimi, H. (2006). Effects of Yahom on the regional cerebral blood flow in rat using fluorescence videomicroscopy. *Clinical hemorheology and microcirculation*, 34(1–2), 139–144.
- Kaewmaneechai, A. (2011). “Starch” and “Flour”. *3M Food Safety*, 26(1), 1–3.
- Khotnawang, S. (2010). *The Russian black bread and the Russians since the past to the present (C. 9–21)* [Bachelor’s thesis]. Thammasat University. (in Thai)
- Kim, C. H., Hwang, B. S., Hwang, Y., Oh, Y. T., & Jeong, J. W. (2022). Evaluation of antioxidant and antiinflammatory activity of ethanolic extracts of *Polygonum senticosum* in lipopolysaccharide-induced RAW 264.7 macrophages. *Journal of Laboratory Medicine*, 46(1), 51–59.
- Laovachirasawan, P., Srijesdaruk, V., Chitropas, P., Otsuka, M. & Peerapattana, J. (2013). The Study of Modified Glutinous Rice Starch as a Filler-Binder for Direct Compression Tablets. in *Proc. The 5th Annual Northeast Pharmacy Research Conference of 2013 “Pharmacy Profession: Moving Forward to ASEAN Harmonization” Faculty of Pharmaceutical Sciences, Khon Kaen University, Thailand, February 16–17, 2013*, pp. 100–103.
- Manok, S., & Limcharoen, P. (2015). Investigating antioxidant activity by DPPH, ABTS and FRAP assay and total phenolic compounds of herbal extracts in Ya-Hom Thepphachit. *Advanced Science*, 15(1), 106–117.
- Matangkasombat, O. (1973). Study on the cardiovascular effect of Ya-hom (a Thai folk medicine). *Mahidol University Annual Research Abstract*, 67.
- Monton, C. H. A. O. W. A. L. I. T., Saingam, W. O. R. A. W. A. N., Suksaeree, J., & Sakunpak, A. P. I. R. A. K. (2014). Formulation development and physical properties study of Thai traditional herbal tablets: original Jit-Tra-Rom recipe. *Int J Pharm Pharm Sci*, 6(4), 611–614.
- Muazu, J., Abdulwoliyu, A., & Mohammed, G. T. (2013). Design, formulation and evaluation of bitter leaf tablets. *Int. J. Pharm. Sci. Res*, 4, 1789–1795.
- National Drug System Development Committee. (2012). National List of Essential Medicines (Issue 2) B.E. 2012, dated 21 August 2012, Announced in the Royal Gazette dated 23 January 2013.
- Niwat, C. (2019). Effects of infusion conditions on bioactive compounds and antioxidant activities of banaba herbal tea. *Asia Pacific Journal of Science and Technology*, 24(4), 1–7.
- Re, R., Pellegrini, N., Proteggente, A., Pannala, A., Yang, M., & Rice-Evans, C. (1999). Antioxidant activity applying an improved ABTS radical cation decolorization assay. *Free radical biology and medicine*, 26(9–10), 1231–1237.
- Rowe, C. R., Sheskey, P.J. and Weller, P.J. (2003). *Handbook of pharmaceutical excipients*. 4th ed., London: Pharmaceutical Press.
- Rungravi Tamsiririrkul. (2013). *How to choose Ya-Hom?*. Retrieved August from URL <http://www.pharmacy.mahidol.ac.th/thai/knowledgeinfo.php?id=103>.
- Sriroth, K. & Piyachomkwan, K. (2007). *Dough technology*. 4th ed., Bangkok: Kasetsart University.
- Suvitayavat, W., Kodchawongs, J., Thirawarapan, S. S., & Bunyaphrathatsara, N. (2004). Effects of Ya-hom on the gastric secretion in rats. *Journal of ethnopharmacology*, 94(2–3), 331–338. <http://doi:10.1016/j.jep.2004.06.003>
- Suvitayavat, W., Tunglert, S., Thirawarapan, S. S., & Bunyaphrathatsara, N. (2005). Effects of Ya-hom on blood pressure in rats. *Journal of ethnopharmacology*, 97(3), 503–508. <http://doi:10.1016/j.jep.2004.12.004>
- Soonthornchareonnon, N., et al. (2011). Research and Development of Medicinal Formulas from Herbs in the National List of Essential Medicines. 1st ed., Department of Foreign Trade Ministry of Commerce: Nonthanuri, 75–89.
- Swinkels, J. J. M. (1985). Composition and properties of commercial native starches. *Starch - Stärke*, 37(1), 1–5.
- The United States Pharmacopeial Convention. (2017). *The United States Pharmacopeia : USP 40: The National Formulary 33*. 1st ed. Rockville, Md.: United States Pharmacopeial Convention.

ความสัมพันธ์และผลกระทบของพีเอช ศักยภาพการเกิดออกซิเดชัน – รีดักชันและ ปริมาณของธาตุต่อการบำบัดสารหนู โดยกกอียิปต์ในสภาพดินน้ำขัง

The relationship and impact of pH, ORP, and elemental contents on arsenic remediation by *Cyperus papyrus* (L.) under submerged soil conditions

จอมจันทร นทีวัฒนา^{1*}, ศิริเพ็ญ ตริยไชยาพร², มะลิวัลย์ แซ่อู่^{3,4}, สมพร ชุนห์ลือชานนท์³
และประศักดิ์ ถาวรยุติกการณ⁵

Jomjun Nateewattana^{1*}, Siripen Trichaiyaporn², Maliwan Saecouy^{3,4}, Somporn Choonluchanon³
and Prasak Thavornyutikarn⁵

¹ สหสาขาวิชาการจัดการสิ่งแวดล้อม (นานาชาติ) จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย เขตปทุมวัน กรุงเทพมหานคร 10330 ประเทศไทย

² ภาควิชาชีววิทยา คณะวิทยาศาสตร์ มหาวิทยาลัยเชียงใหม่ อำเภอเมือง จังหวัดเชียงใหม่ 50200 ประเทศไทย

³ ภาควิชาปฐพีศาสตร์และอนุรักษศาสตร์ คณะเกษตรศาสตร์ มหาวิทยาลัยเชียงใหม่ อำเภอเมือง จังหวัดเชียงใหม่ 50200 ประเทศไทย

⁴ โครงการจัดตั้งวิทยาเขตอำนาจเจริญ มหาวิทยาลัยมหิดล อำเภอเมือง จังหวัดอำนาจเจริญ 37000 ประเทศไทย

⁵ ภาควิชาเคมี คณะวิทยาศาสตร์ มหาวิทยาลัยเชียงใหม่ อำเภอเมือง จังหวัดเชียงใหม่ 50200 ประเทศไทย

¹ Interdepartment of Environmental Management (International), Chulalongkorn university, Bangkok, 10330 Thailand

² Department of Biology, Science Faculty, Chiangmai University, Chiangmai province, 50200 Thailand

³ Department of Soil Science and Conservation, Agriculture Faculty, Chiangmai University, Chiangmai province, 50200. Thailand

⁴ Mahidol University Amnatcharoen Campus, Amnatcharoen province, 37000 Thailand

⁵ Department of Chemistry, Science Faculty, Chiangmai University, Chiangmai province, 50200 Thailand

บทคัดย่อ

การบำบัดสารหนูในพื้นที่ชุ่มน้ำมีความสำคัญอย่างยิ่งต่อระบบนิเวศ วิธีพืชบำบัดมีประสิทธิภาพและเป็นมิตรต่อสิ่งแวดล้อม อียิปต์สามารถดูดสะสมสารหนูจากดินมาสะสมในปริมาณมาก วัตถุประสงค์การศึกษาเพื่อศึกษาความสัมพันธ์และผลกระทบของพีเอช ศักยภาพการเกิดออกซิเดชัน-รีดักชัน และปริมาณของฟอสฟอรัสที่เป็นประโยชน์ เหล็กที่สกัดได้ อะลูมิเนียมที่แลกเปลี่ยนได้ แคลเซียมที่แลกเปลี่ยนได้ และแมกนีเซียมที่แลกเปลี่ยนได้ต่อการบำบัดสารหนูโดยกกอียิปต์ในสภาพดินน้ำขัง งานวิจัยนี้เป็นแบบแฟคทอเรียล 3 × 4 แผนการทดลองแบบสุ่มสมบูรณ์ (CRD) ศึกษา 2 ปัจจัยได้แก่ ชนิดของสารหนูประกอบด้วย อาร์เซนไนต์และอาร์เซนเต และจำนวนวันที่เพาะปลูกได้แก่ 15, 30, 45 และ 60 วัน ผลการเปรียบเทียบค่าเฉลี่ยโดยใช้สถิติ วิธีดีเอ็มอาร์ที (DMRT) พบว่า ค่าเฉลี่ยศักยภาพการเกิดออกซิเดชัน-รีดักชัน ปริมาณสารหนูที่กกอียิปต์ดูดสะสม แคลเซียมที่แลกเปลี่ยนได้ และเหล็กที่สกัดได้ มีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญในแต่ละชุดดิน (P-value < 0.01) ค่าเฉลี่ยพีเอชและแมกนีเซียมที่แลกเปลี่ยนได้มีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญระหว่างชุดดินที่ใส่อาร์เซนไนต์และอาร์เซนเตกับดินชุดควบคุม (P-value < 0.01 และ 0.05) ค่าเฉลี่ยฟอสฟอรัสที่เป็นประโยชน์และอะลูมิเนียมที่แลกเปลี่ยนได้ไม่มีความแตกต่างในดินทั้ง 3 ชุดอย่างมีนัยสำคัญ ผลการเปลี่ยนแปลงในแต่ละชุดดินในระยะเวลาเพาะปลูก 60 วันพบว่า พีเอช ศักยภาพการเกิดออกซิเดชัน-รีดักชัน ฟอสฟอรัสที่เป็นประโยชน์ เหล็กที่สกัดได้ อะลูมิเนียมที่แลกเปลี่ยนได้ แคลเซียมที่แลกเปลี่ยนได้ และแมกนีเซียมที่แลกเปลี่ยนได้ มีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญในแต่ละเวลาของการเพาะปลูก (P-value < 0.01) ผลการเปรียบเทียบระหว่างดินทั้ง 3 ชุดในแต่ละเวลาเพาะปลูกพบว่า ศักยภาพการเกิดออกซิเดชัน-รีดักชัน ปริมาณสารหนูที่กกอียิปต์ดูดสะสม เหล็กที่สกัดได้ อะลูมิเนียมที่แลกเปลี่ยนได้ แคลเซียมที่แลกเปลี่ยนได้ และแมกนีเซียมที่แลกเปลี่ยนได้ แตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทุกช่วงเวลาเพาะปลูก (P-value < 0.01) พีเอชไม่แตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญในวันที่ 15 และฟอสฟอรัสที่เป็นประโยชน์แตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญในวันที่ 15 และ 30 (P-value < 0.01 และ 0.05) การวิเคราะห์การถดถอยพหุคูณแสดงว่า ปัจจัยที่มีผลร่วมใช้พยากรณ์ปริมาณการดูดสะสมสารหนูทั้งหมดของกกอียิปต์ได้แก่ ชนิดของสารหนู ศักยภาพการเกิดออกซิเดชัน-รีดักชัน พีเอช และวันที่เพาะปลูก โดยสามารถร่วมกันพยากรณ์ได้ร้อยละ 85.2 สมการทำนายการดูดสะสมสารหนูทั้งหมดของกกอียิปต์เท่ากับ $-339.542 + 20.249$ (ชนิดของสารหนู) $- 0.322$ (ศักยภาพการเกิดออกซิเดชัน-รีดักชัน) $+ 52.681$ (พีเอช) $- 0.987$ (วันที่เพาะปลูก)

คำสำคัญ: สารหนู, อาร์เซนไนต์, อาร์เซนเต, กกอียิปต์, ดินน้ำขัง

ABSTRACT

Arsenic remediation in wetlands is very important to the ecosystem. Phytoremediation efficiency is high and environment-friendly. *Cyperus papyrus* (L.) can highly selective accumulation arsenic from soil in large quantities. This objective study aimed to investigate variation of pH, redox potential, available phosphorus, extractable iron, exchangeable aluminum, exchangeable calcium and exchangeable magnesium for arsenic remediation in submerged soil by *C. papyrus* (L.). Experimental design was a 3×4 factorial design in a completely randomized experiment (CRD) included two factors. The first factor was the arsenic speciation consisting of arsenite and arsenate. The second factor was the cultivation periods of *C. papyrus* (L.) including 15, 30, 45 and 60 days. The result indicated that the mean comparison using DMRT of redox potential, total arsenic accumulation of *C. papyrus* (L.), exchangeable calcium and extractable iron were significantly different among all soil treatment groups (P -value < 0.01). The pH mean and exchangeable magnesium content were significantly different between arsenite and arsenate treated soil with control soil (P -value < 0.01 and 0.05). The amounts of available phosphorus and exchangeable aluminum were not significantly different among all soil types. The variation in group of three soil types during cultivation period 60 days showed that pH, redox potential, available phosphorus, extractable iron, exchangeable aluminum, exchangeable calcium and exchangeable magnesium were statistically significant (P -value < 0.01). The results of comparison among three treatment soils at each cultivating period demonstrated that redox potential, total arsenic accumulation, extractable iron, exchangeable aluminum, exchangeable calcium and exchangeable magnesium were significantly different among all cultivation periods (P -value < 0.01). pH was no significant difference on 15 days and available phosphorus was significant difference on 15 and 30 days (P -value < 0.01 and 0.05). Multiple regression analysis indicated that predictive factors of total arsenic accumulation of *C. papyrus* (L.) were arsenic speciation, redox potential, pH, and cultivation period. The model explained 85.2% in the regression model. The regression model was $-339.542 + 20.249$ (arsenic speciation) $- 0.322$ (Eh) $+ 52.681$ (pH) $- 0.987$ (cultivating day).

KEYWORDS: Total Arsenic, Arsenite, Arsenate, *Cyperus papyrus* (L.), Submerged Soil

*Corresponding Author: jomjun_102@hotmail.com

Received: 18/05/2023; Revised: 18/02/2024; Accepted: 12/12/2024

1. บทนำ

สารหนู (Arsenic, As) มีพิษร้ายแรงส่งผลกระทบต่อสุขภาพและสิ่งแวดล้อม การเกิดพิษแบ่งเป็นแบบเรื้อรังและเฉียบพลัน มนุษย์รับสารหนูจากน้ำและอาหารที่ปนเปื้อน ร่วมกับการสัมผัสสิ่งปนเปื้อนที่มาจากธรรมชาติโดยการฟุ้งของหินและแร่ธาตุต่างๆ กระจายสู่สิ่งแวดล้อม การปนเปื้อนมีสาเหตุมาจากกิจกรรมของมนุษย์เป็นหลัก ซึ่งเป็นปัญหารุนแรงในหลายประเทศ การบำบัดทางเคมีและกายภาพมีข้อจำกัด เนื่องจากรูปแบบการทิ้งสิ่งปนเปื้อนสารหนูและรูปแบบการกระจายไปในสิ่งแวดล้อม โดยเฉพาะในพื้นที่ชุ่มน้ำ สารหนูอนินทรีย์พบมาก ร้อยละ 90 ในสิ่งแวดล้อม โดยแบ่งเป็นชนิดหลักคือ อาร์เซไนต์ [Arsenite, As(III)] และอาร์เซเนต [Arsenate, As(V)] สารหนูแต่ละชนิดมีร่อยทางการเคลื่อนย้าย (fates) และพฤติกรรมทางเคมีในสิ่งแวดล้อมแตกต่างกัน เช่น พฤติกรรมการดูดและคายสารหนูในดิน การเปลี่ยนแปลงสถานะส่งผลต่อลักษณะความเป็นพิษของสารหนู บ่งชี้ถึงความเสี่ยงต่อการดูดสะสมของพืชและการกระจายสู่ห่วงโซ่อาหาร ความเข้มข้นของสารหนูแต่ละชนิดจึงขึ้นกับกระบวนการเปลี่ยนรูปและกระบวนการดูดและคายในดิน

ซึ่งทั้ง 2 กระบวนการนี้มีปฏิสัมพันธ์กันและดำเนินการร่วมกันจนกระทั่งเข้าสู่สมดุล (Zeng et al., 2011) นอกจากนี้ปฏิกิริยาดกตะกอนและการละลายของสารหนูก็มีส่วนเกี่ยวข้องกับปริมาณสารหนูในดิน ซึ่งทั้งหมดเกี่ยวข้องกับปัจจัยความเป็นกรด-ด่าง (pH) และศักยภาพการเกิดออกซิเดชัน-รีดักชัน (Eh) ซึ่งพบว่า อาร์เซเนตเป็นรูปเด่นที่พบในสภาวะออกซิเดชัน จะเกิดการดูดสะสมรวมกับสารประกอบหลากหลายชนิดของอะลูมิเนียมออกไซด์ (Aluminium oxide) และไอเอิร์นออกไซด์ (Iron oxide) อย่างแข็งแรง ปริมาณสารหนูในดินลดลง ขณะที่อาร์เซไนต์เป็นรูปเด่นในสภาวะรีดักชัน อาร์เซไนต์มีความสามารถในการละลายต่ำกว่าอาร์เซไนต์ และอาร์เซไนต์มีการดูดซับน้อย ทำให้ปริมาณสารหนูในดินสูงขึ้น องค์ประกอบของธาตุต่างๆ ในดินมีอิทธิพลอย่างมากต่อปริมาณสารหนูซึ่งประกอบด้วยเหล็ก อะลูมิเนียม แคลเซียม แมกนีเซียม และฟอสฟอรัส (Claes et al., 2013)

ฟอสฟอรัส (Phosphorus, P) เป็นธาตุที่มีผลกระทบต่อปริมาณสารหนูในดิน รูปหลักที่พบได้แก่ ฟอสเฟต (Phosphate, PO_4^{3-}) ซึ่งมีลักษณะทางเคมีคล้าย

อาร์เซนิต จึงเกิดการแข่งขันกันก่อพันธะในตำแหน่งเดียวกันในดิน นอกจากนี้ฟอสเฟตสามารถละลายน้ำได้ดี และยังสัมพันธ์กับความเข้มข้นของเหล็กในดิน โดยการเพิ่มการละลายแบบรีดักชันของไอเอิร์นออกไซด์ไฮดรอกไซด์ (Fe oxy-hydroxide) ชนิดต่าง ๆ ที่เป็นตัวดูดซับที่แข็งแรงของ สารหนู ทำให้ฟอสเฟตและอาร์เซนิตละลายออกมาเพิ่มขึ้น (Bolan et al., 2013) การเพิ่มธาตุอาหารในดินเป็นสาเหตุการแข่งขันระหว่างธาตุ การใส่ปุ๋ยกระทบต่อปริมาณสารหนูในดิน ปริมาณฟอสฟอรัสและชนิดของพืชส่งผลต่อการสะสมสารหนูของพืช ซึ่งลักษณะการเกิดพิษและการแข่งขันจะขึ้นกับชนิดของพืช แคลเซียมมีปริมาณแตกต่างกันตามชนิดของดิน ตามธรรมชาติแคลเซียมพบได้ 4 รูป โดยรูปที่เป็นแคลเซียมในสารละลายดินเป็นรูปที่มีประโยชน์ต่อพืช เพราะพืชสามารถนำไปใช้ได้ ทั้งนี้แคลเซียมสามารถเปลี่ยนรูปไปมาระหว่างกันได้ (Signes-Pastor et al., 2007) สารหนูไม่เกิดการเคลื่อนย้ายในดินจากการก่อตัวของตะกอนแคลเซียม - สารหนู (Ca - As precipitates) โดยจะตกตะกอนเป็นแคลเซียมอาร์เซนิต [Calcium arsenite, CaHAsO_3] และแคลเซียมอาร์เซนเตต [Calcium arsenate, $\text{Ca}_3(\text{AsO}_4)_2$] เมื่ออยู่ในสภาวะที่พีเอชสูง การตกตะกอนเหล่านี้จะลดการชะสารหนูในดิน (Deok et al., 2004) ปริมาณสารหนูสูงเมื่อพีเอชเป็นด่าง เนื่องจากการแข่งขันก่อพันธะบนพื้นผิวกับไฮดรอกซิลไอออน (Hydroxide ion, OH^-) ทำให้ปริมาณสารหนูถูกคายออกมา แม้ว่าจะเกิดการตกตะกอนร่วมกับแคลเซียมและแมกนีเซียม ณ พีเอชสูง ส่งผลต่อการลดปริมาณสารหนูลดลงควบคู่กัน (Amita et al., 1999) ขณะที่พีเอชเป็นกรด ปริมาณสารหนูเพิ่มขึ้นได้ เนื่องจาก อาร์เซนิตเป็นตัวเพิ่มโปรตอน ทำให้เกิดการคายสารหนูออกมา (Claes et al., 2013) แมกนีเซียมในดินจะมีอิทธิพลต่อไอออนประจุบวกในดิน (Shree, 2018) แมกนีเซียมเกิดการก่อตัวกับสารหนูเป็นรูปที่ไม่ละลายโดยการตกตะกอนเป็นแมกนีเซียมอาร์เซนิต [Magnesium arsenite, $\text{Mg}(\text{HAsO}_3)$] และแมกนีเซียมอาร์เซนเตต [Magnesium arsenate, $\text{Mg}(\text{HAsO}_4)$] และเกิดการตกตะกอนร่วมโดยเกิดการดูดซับบนผิวตะกอนแมกนีเซียมไฮดรอกไซด์ [Magnesium hydroxide, $\text{Mg}(\text{OH})_2$] แยกจากสารละลายดิน โดยประสิทธิภาพในการตกตะกอนและการดูดซับ อาร์เซนิต

น้อยกว่าอาร์เซนิต เมื่อพีเอชน้อยกว่า 7.5 (Ghosh et al., 2003)

อะลูมิเนียมและไอเอิร์นออกไซด์ไฮดรอกไซด์ (Al and Fe oxy-hydroxide) มีความสำคัญในการดูดซับสารหนูในดินและตะกอนดิน ควบคุมปฏิกิริยาดูดและคายของอาร์เซนิต ซึ่งมีประจุพื้นผิวเป็นลบเช่น H_2AsO_4^- หรือ HAsO_4^{2-} เมื่อพีเอชต่ำสารหนูถูกคายออกมามากขึ้นสำหรับอาร์เซนิตซึ่งปรากฏเป็นรูปที่ไม่มีประจุเช่น H_3AsO_3 สามารถละลายได้มากกว่าและมีการดูดซับน้อยกว่าในรูปอาร์เซนิต ความเข้มข้นสารหนูซึ่งถูกละลายจึงขึ้นกับการรีดักชัน ซึ่งก่อให้เกิดอาร์เซนิตที่มีพิษมากกว่าอาร์เซนิต ชนิด องค์ประกอบ และหมู่ฟังก์ชันของแร่เหล็กและอะลูมิเนียมมีผลกระทบแบบแข่งขันต่อการดูดซับสารหนู ตามปกติอัตราการคายต่ำกว่าอัตราการดูดซับ เนื่องจากการดูดซับเป็นการก่อพันธะแบบไม่ย้อนกลับ การปลดปล่อยจึงลดลงพร้อมกับเพิ่มการคงค้าง สารหนูแพร่ได้ช้าในเนื้อดิน นอกจากนี้ยังมีการตกตะกอนสารหนูในเฟสของแข็งและการจับกับโลหะจำพวกลิแกนด์และคีเลตก่อให้เกิดสารประกอบเชิงซ้อนกับไอออนโลหะ (Complexing reaction) โดยการคงค้างจะขึ้นกับเวลา (Ghosh et al., 2003) การเกิดออกซิเดชัน - รีดักชันของเหล็กมีผลกระทบต่อการเคลื่อนตัวของสารหนู ความเข้มข้นสารหนูจะสูงขึ้นจากการละลายแบบรีดักทีฟ (reductive) ของไฮดรรัสไอเอิร์นออกไซด์ (Hydrous Fe oxide) แล้วปลดปล่อยสารหนูที่ถูกดูดซับหรือก่อพันธะทำให้เกิดการเคลื่อนตัวของสารหนูในตะกอนดิน โดยการปลดปล่อยอาร์เซนิตและอาร์เซนิต ซึ่งอาร์เซนิตถูกดูดซับแข็งแรงน้อยกว่าอาร์เซนิต (Masscheleyn et al., 1991)

การศึกษางานวิจัยนี้มีความสำคัญมาก เนื่องจากการใช้พืชบำบัดเป็นวิธีที่มีลักษณะพิเศษคือ พืชสามารถสะสมสารพิษได้อย่างต่อเนื่องและสามารถเปลี่ยนรูปสารหนูที่มีความเป็นพิษสูงคืออาร์เซนิตให้มีความเป็นพิษลดลงกลายเป็นอาร์เซนิตในต้นพืช รวมทั้งเป็นแนวป้องกันสารพิษแพร่กระจายตามธรรมชาติ อีกทั้งการเก็บสะสมในพืชลดการแพร่กระจายสารพิษในวงกว้างต่างจากวิธีทางเคมีและกายภาพหลายวิธี การจัดการในขั้นตอนสุดท้ายเป็นมิตรต่อสิ่งแวดล้อมมากกว่า การปนเปื้อนสารหนูในประเทศประสบปัญหารุนแรงในหลายพื้นที่ สารหนูถูกจัดเป็นธาตุที่พิษสูงสุด จึงเป็นความจำเป็นที่จะต้องทำ

การบำบัดแก้ไข เพื่อลดการเข้าสู่ห่วงโซ่อาหาร เช่น เหมือง ถ่านหิน อุตสาหกรรมต่างๆ ที่ใช้สารหนู การใช้สารเคมีทางการเกษตร การหาพืชน้ำที่ลักษณะเป็นพืชโผล่พ้นน้ำ (emerged plant) มีความสำคัญต่อการบำบัดในพื้นที่ชุ่มน้ำบริเวณใกล้แหล่งมลพิษ พืชวงศ์กกเป็นพืชที่มีหลายสายพันธุ์ มีความทนทาน ชีวมวลสูง และดูดสะสมสารหนูได้ดี จึงมีการนำมาศึกษาในครั้งนี้ ในประเทศไทยมีนักวิจัยที่ได้นำพืชหลายชนิดมาทำการบำบัดสารหนูเช่น ฤๅษี พุทธรักษา บอน ธรรมรักษา และคล้าน้ำ (Ekkasit et al., 2002) ในต่างประเทศได้มีการศึกษาอย่างกว้างขวางโดยพบว่า เฟิร์นเป็นพืชที่สะสมสารหนูแบบไฮเปอร์แอคคิวมูเลเตอร์ (hyperaccumulator) และมีการศึกษาเปลี่ยนรูปสารหนูจากอาร์เซนไนต์เป็นอาร์เซนเนต เพื่อลดความเป็นพิษลง (Rahman et al., 2008) ธาตุต่างๆ ที่นำมาศึกษาผลกระทบครั้งนี้เป็นธาตุหลักที่มีผลกระทบต่อกระบวนการดูดสะสมสารหนูของพืชโดยตรง และพบมากในสิ่งแวดล้อม การศึกษามากมายพบว่า ฟอสฟอรัสในรูปฟอสเฟตมีลักษณะทางเคมีคล้ายอาร์เซนเนต จึงมีลักษณะแข่งขันกันโดยตรง สำหรับเหล็ก อะลูมิเนียม แคลเซียม และแมกนีเซียมมีผลต่อการดูดและคายสารหนูจากดินเนื่องจากธาตุเหล่านี้ ทำให้สารหนูไม่เคลื่อนย้ายจากดินสู่พืช ซึ่งมีหลายปัจจัยที่เกี่ยวข้องและมีการศึกษาผลกระทบของธาตุเหล่านี้อย่างกว้างขวาง อย่างไรก็ตามธาตุอื่นๆ ที่มีผลกระทบระดับรองลงมาจะได้ทำการศึกษาต่อไปในอนาคต สำหรับการศึกษาในรายงานนี้เป็นการศึกษาระยะที่สอง โดยระยะแรกได้ทำการศึกษากายภาพของกอกอียิปต์ในการดูดสะสมสารหนูอนินทรีย์ชนิดอาร์เซนไนต์และอาร์เซนเนตในดินน้ำขังพบว่า ปัจจัยที่มีผลต่อการสะสมสารหนูทั้งหมดของกอกอียิปต์คือ ชนิดของสารหนู และจำนวนวันที่เพาะปลูก กอกอียิปต์สะสมสารหนูทั้งหมดจากดินที่ใส่อาร์เซนเนตมากกว่าดินที่ใส่อาร์เซนไนต์ วันที่สะสมสูงสุดคือวันที่ 30 ของการเพาะปลูก รากเป็นส่วนที่มีการสะสมสูงสุด โดยพืชมีการเคลื่อนย้ายสารหนูไปสะสมในส่วนเหนือดิน และอาร์เซนไนต์มีผลต่อการลดลงของน้ำหนักรากของกอกอียิปต์มากกว่าอาร์เซนเนต (Jomjun et al., 2018) วัตถุประสงค์ในการศึกษาค้างนี้เพื่อศึกษาความสัมพันธ์และผลกระทบของพืชเอนก คักยภาพการเกิดออกซิเดชัน-รีดักชันและปริมาณของฟอสฟอรัสที่เป็นประโยชน์ เหล็กที่สกัดได้ อะลูมิเนียมที่แลกเปลี่ยนได้

แคลเซียมที่แลกเปลี่ยนได้ และแมกนีเซียมที่แลกเปลี่ยนได้ ต่อการบำบัดสารหนูโดยกอกอียิปต์ในสภาพดินน้ำขัง

2. วัสดุ อุปกรณ์ และวิธีการทดลอง

2.1 การเตรียมตัวอย่าง

ดินตัวอย่างเตรียมจากดินนาจากอำเภอดง จังหวัดเชียงใหม่ นำมาตากลมให้แห้ง บดและร่อนผ่านตะแกรงขนาด 2 มิลลิเมตร กอกอียิปต์ใช้ตัวอย่างจากแหล่งน้ำธรรมชาติในพื้นที่อำเภอดง จังหวัดเชียงใหม่ ทำการวิเคราะห์สารหนูในดินและพืชตัวอย่างก่อนทดลองรูปแบบการทดลองเป็นแบบแฟคทอเรียล 3×4 ในแบบแผนการทดลองแบบสุ่มสมบูรณ์ (Completely randomized design) เนื่องจากการศึกษาอิทธิพลร่วม (interaction) ระหว่างปัจจัย โดยประกอบด้วย 2 ปัจจัยที่ทำการศึกษาคือ ดินที่ใส่สารหนูอนินทรีย์ชนิดอาร์เซนไนต์ [As(III)] และอาร์เซนเนต [As(V)] และดินชุดควบคุม และจำนวนวันที่เพาะปลูกได้แก่ 15, 30, 45 และ 60 วัน ทดลองจำนวน 3 ซ้ำ โดยใช้โซเดียมอาร์เซนไนต์ (Sodium arsenite, NaAsO_2) และไดโซเดียมไฮโดรเจนอาร์เซนเนต (Disodium hydrogen arsenate heptahydrate, $\text{Na}_2\text{HAsO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$) ที่ความเข้มข้น 175 mg kg^{-1} นำมาคลุกเคล้ากับดินจำนวน 5 กิโลกรัมต่อกระถาง กระถางมีขนาด 12×12 นิ้ว ทำการเพาะปลูกตามแผนการทดลองเมื่อครบกำหนดเวลาเพาะปลูกแต่ละครั้ง นำพืชมาล้างให้สะอาด ชั่งน้ำหนัก แล้วจึงนำไปอบให้แห้งจนน้ำหนักคงที่ นำมาบด เก็บตัวอย่างเพื่อวิเคราะห์ ตัวอย่างดินทำการเก็บที่ระดับต่ำกว่าผิวดิน 15 เซนติเมตร นำไปอบจนแห้ง บดและร่อนผ่านตะแกรง 2 มิลลิเมตร เก็บในถุงพลาสติกแห้งสนิท เพื่อนำมาวิเคราะห์ต่อไป

2.2 การวิเคราะห์ตัวอย่าง

การวิเคราะห์ความเป็นกรดต่าง (pH) และศักยภาพการเกิดออกซิเดชัน - รีดักชัน (Eh) ใช้เครื่องมือตรวจวัดในพื้นที่ (in situ) ได้แก่ pH meter; Takemura รุ่น DM-13 และ Eh meter; Hanna รุ่น HI-98331 การวิเคราะห์ฟอสฟอรัสที่เป็นประโยชน์ (Available P: Pav) ใช้วิธี Bray II สกัดดินด้วยสารสกัดกรดไฮโดรคลอริก (Hydrochloric acid, HCl) 0.1 N และแอมโมเนียมฟลูออไรด์ (Ammonium fluoride, NH_4F) 0.03 N ตรวจวัดหาความเข้มข้นของฟอสฟอรัสด้วยวิธีโมลิบดีนัมบลู (Molybdenum blue) (Abdul et al., 2001) การวิเคราะห์แคลเซียมและแมกนีเซียมที่แลกเปลี่ยนได้ (Exchangeable Ca และ Mg, Caex และ Mgex) ใช้วิธีอะตอมมิกแอบซอร์พชัน สเปกโตรมิเตอร์

(Atomic Absorption Spectrometer, AAS) สกัดดินด้วย แอมโมเนียมอะซิเตต (Ammonium acetate, $\text{NH}_4\text{CH}_3\text{CO}_2$) และแลนทานัม (Lanthanum) 0.2% วิเคราะห์ด้วยเครื่องมือวัดเชิงแสง (Flame photometer) ความยาวคลื่นที่ตรวจวัดของแคลเซียมและแมกนีเซียมเท่ากับ 422.7 nm และ 285.2 nm (Abdul et al., 2001)

การวิเคราะห์อะลูมิเนียมที่แลกเปลี่ยนได้ (Exchangeable Al, Alex) ด้วยวิธีสเปกโตรมิเตอร์ (Spectrometer) สกัดดินโดยใช้พอลิเอทิลีน (Polyethylene, $\text{CH}_2=\text{CH}_2$) และแอมโมเนียมคลอไรด์ (Ammonium chloride, NH_4Cl) ทำปฏิกิริยากับ 1% ของ 8-ไฮดรอกซีควิโนลีน (8-Hydroxyquinoline, $\text{C}_{18}\text{H}_{13}\text{CuN}_2\text{O}$) และไฮดรอกซีลามีน ไฮโดรคลอไรด์ (Hydroxylamine hydrochlorid, $\text{NH}_2\text{OH}.\text{HCl}$) ร่วมกับ โซเดียมอะซิเตต (Sodium acetate, NaOAc) ใน สารละลาย ฟีนานทรีน (Phenanthroline, $\text{C}_{12}\text{H}_8\text{N}_2$) 0.2% ตรวจวัดที่ 395 nm (Abdul et al., 2001) การวิเคราะห์เหล็กที่สกัดได้ (Extractable Fe: Feext) ด้วยวิธี ดีทีพีเอ (DTPA) โดยการสกัดดินด้วยสารละลายดีทีพีเอ (DTPA) 0.005 M ซึ่งประกอบด้วยสารละลายดีทีพีเอ (DTPA) 0.005 M, แคลเซียมคลอไรด์ (Calcium chloride, CaCl_2) 0.005 M และไตรเอทานอลามีน (Triethanolamine, TEA) 0.1 M ณ พีเอช 7.30 วัด ปริมาณด้วยเครื่องอะตอมมิกแอบซอร์พชัน สเปกโตรมิเตอร์ (Atomic Absorption Spectrometer, AAS) (Abdul et al., 2001) การวิเคราะห์ปริมาณสารหนู ทั้งหมด (Total As) ด้วยวิธีอะตอมมิกแอบซอร์พชัน สเปกโตรมิเตอร์ - ไฮไดรด์ (Atomic Absorption Spectrometer hydride, AAS - hydride) สกัดโดย โพแทสเซียมไอโอไดด์ (Potassium iodide, KI) 10% ตรวจวัดที่ 193.7 nm (America Water Work Association Water Environment Federation, 1998)

2.3 การวิเคราะห์สถิติ

วิเคราะห์โดยใช้โปรแกรมสำเร็จรูป SPSS ดังนั้น ค่าเฉลี่ย (mean) การเปรียบเทียบค่าเฉลี่ยโดยวิธี Duncan's Multiple Range Test (DMRT) สหสัมพันธ์ เพียร์สัน (Pearson correlation) และการถดถอยพหุคูณ แบบขั้นตอน (Stepwise Multiple Regression Analysis) (Stevens, 1992) ดังนี้

สมการสหสัมพันธ์เพียร์สันแสดงในสมการที่ 1

$$r = \frac{\sum(x - \bar{x})(y - \bar{y})}{\sqrt{\sum(x - \bar{x})^2 \sum(y - \bar{y})^2}} \dots\dots (1)$$

โดย r แทน สัมประสิทธิ์สหสัมพันธ์ของข้อมูล

ตัวแปร X และ Y จะมีค่าอยู่ระหว่าง -1 ถึง 1

ถ้า $r = 1$ หมายความว่า ตัวแปร X และ Y มีความสัมพันธ์เชิงบวกแบบตามกันโดยสมบูรณ์

ถ้า $r = 0$ หมายความว่า ตัวแปร X และ Y ไม่มีความสัมพันธ์เชิงเส้นตรง

ถ้า $r = -1$ หมายความว่า ตัวแปร X และ Y มีความสัมพันธ์เชิงลบกันโดยสมบูรณ์

สมการการถดถอยพหุคูณแสดงในสมการที่ 2

$$Y = b_0 + b_1X_1 + b_2X_2 + b_iX_i \dots + b_nX_n \dots (2)$$

โดย i = จำนวนตัวอย่างเท่ากับ n, Y = ตัวแปรตาม, X = ตัวแปรต้น, b_0 = ค่าคงที่, b_p = ค่า slope coefficients จากนั้นพิจารณาสัมประสิทธิ์การพยากรณ์ (coefficient of determinant, R) ซึ่งเป็นดัชนีที่บอกถึงร้อยละของการเปลี่ยนแปลงในตัวแปรตามที่มีผลมาจากตัวแปรอิสระทุกตัว โดยจะใช้ค่า $\text{Adj } R^2$ เป็นสัมประสิทธิ์การตัดสินใจว่า ตัวแปรอิสระสามารถอธิบายความผันแปรของตัวแปรตามได้ร้อยละเท่าไร การเขียนรูปแบบของสมการถดถอยจากค่าสัมประสิทธิ์ที่ได้จากตารางค่าสัมประสิทธิ์ (Table of coefficients)

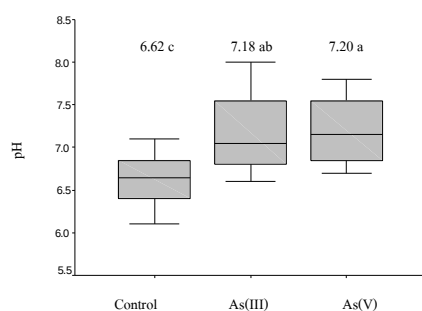
3. ผลการทดลองและอภิปรายผล

3.1 ข้อมูลทั่วไป ค่าสถิติพื้นฐานและการประมาณค่าเฉลี่ยของปัจจัยแต่ละปัจจัย

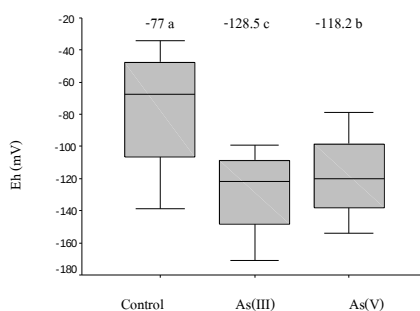
จากรูปที่ 1 พบว่า ดินชุดควบคุมมีพีเอชต่ำกว่าดินชุดที่ใส่อาร์เซนไนต์และอาร์เซนเต ค่าเฉลี่ยพีเอชเรียงตามลำดับดังนี้ ดินที่ใส่อาร์เซนเต > ดินที่ใส่อาร์เซนไนต์ > ดินชุดควบคุม มีค่าเฉลี่ย 7.20, 7.18 และ 6.63 ดินที่ใส่อาร์เซนไนต์มีค่าการกระจายข้อมูลสูงที่สุด เมื่อเปรียบเทียบค่าเฉลี่ยโดยวิธีดีเอ็มอาร์ที (DMRT) พบว่า ดินชุดที่ใส่อาร์เซนไนต์และอาร์เซนเต อยู่ในกลุ่มเดียวกันและแตกต่างจากดินชุดควบคุมอย่างมีนัยสำคัญ ($P\text{-value} < 0.01$) ดินน้ำซังตามปกติค่าพีเอชจะเข้าใกล้ 7 จากรูปที่ 3 การเปลี่ยนแปลงของพีเอชระหว่าง 0 ถึง 60 วันของดินแต่ละ

ชุดได้แก่ ดินชุดควบคุม ดินที่ใส่อาร์เซนไนต์และอาร์เซนเนต มีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญ ($P\text{-value} < 0.01$) การเปลี่ยนแปลงของพีเอชระหว่างวันที่ 0 ถึง 60 เมื่อเปรียบเทียบแต่ละเวลาเพาะปลูกคือ 0, 15, 30, 45, 60 วัน ระหว่างดินทั้ง 3 ชุดพบว่า มีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญ ($P\text{-value} < 0.01$) ในวันที่ 45 และ 60 ขณะที่ในวันที่ 15 พีเอชของดินทั้ง 3 ชุด ไม่มีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญ ($P\text{-value} = 0.079$) แนวโน้มการเปลี่ยนแปลงพีเอชของดินชุดควบคุมใน 60 วันของการ

เพาะปลูก พบว่า พีเอชเพิ่มขึ้นจนถึงวันที่ 60 มีค่าเท่ากับ 7 เนื่องจากเป็นดินน้ำขัง ซึ่งดินชุดควบคุมมีพีเอชเท่ากับ 7 แต่ดินที่ใส่อาร์เซนไนต์และอาร์เซนเนต มีค่าพีเอชมากกว่า 7 โดยดินที่ใส่อาร์เซนไนต์ พบว่า พีเอชค่อยๆ เพิ่มขึ้นจาก 6.5 ในวันที่ 0 เป็น 7.9 ในวันที่ 60 ของการเพาะปลูก ขณะที่ดินที่ใส่อาร์เซนเนต พีเอชค่อยๆ เพิ่มขึ้นจาก 6.7 ในวันที่ 0 จนมีค่าเท่ากับ 7.7 ในวันที่ 60 ของการเพาะปลูก โดยพบว่า แนวโน้มพีเอชของดินที่ใส่อาร์เซนไนต์สูงกว่าดินที่ใส่อาร์เซนเนต เมื่อผ่านไป 45 วัน



รูปที่ 1 พีเอชของดิน

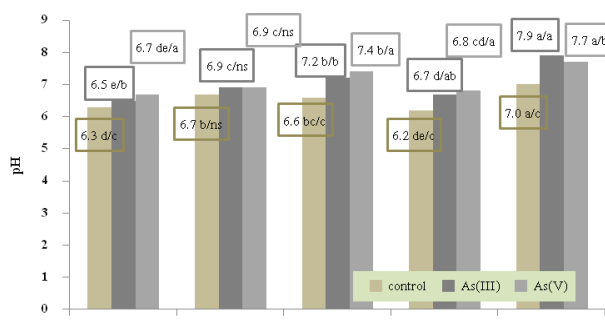


รูปที่ 2 ศักยภาพการเกิดออกซิเดชัน-รีดักชันของดิน (mV)

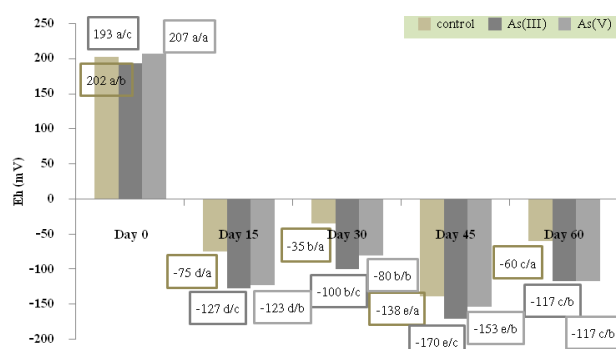
หมายเหตุ: ตัวอักษรภาษาอังกฤษแสดงความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ

จากรูปที่ 2 ตามธรรมชาติดินน้ำขังค่าศักยภาพการเกิดออกซิเดชัน-รีดักชันอยู่ในสภาวะรีดักชัน เมื่อเปรียบเทียบค่าเฉลี่ยพบว่า ดินชุดควบคุม > ดินที่ใส่อาร์เซนเนต > ดินที่ใส่อาร์เซนไนต์ มีค่าเฉลี่ยเท่ากับ -77, -118.2 และ -128.5 mV ตามลำดับ ศักยภาพการเกิดออกซิเดชัน-รีดักชันของดินชุดควบคุมมีการกระจายข้อมูลมากที่สุด เมื่อเปรียบเทียบค่าเฉลี่ยโดยวิธีดีเอ็มอาร์ที (DMRT) พบว่า ดินทุกชุดมีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญ ($P\text{-value} < 0.01$) จากรูปที่ 4 การเปลี่ยนแปลงของศักยภาพการเกิดออกซิเดชัน-รีดักชันระหว่าง 0 ถึง 60 วันของดินแต่ละชุดได้แก่ ดินชุดควบคุม ดินที่ใส่อาร์เซนไนต์และอาร์เซนเนต มีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญ ($P\text{-value} < 0.01$) การเปลี่ยนแปลงของศักยภาพการเกิดออกซิเดชัน-รีดักชันระหว่างวันที่ 0 ถึง 60 เมื่อเปรียบเทียบแต่ละเวลาเพาะปลูกคือ 0, 15, 30, 45, 60 วัน ระหว่างดินทั้ง 3 ชุด พบว่า มีความแตกต่าง

อย่างมีนัยสำคัญ ($P\text{-value} < 0.01$) แนวโน้มการเปลี่ยนแปลงศักยภาพการเกิดออกซิเดชัน-รีดักชันของดินเนื่องจากเป็นดินน้ำขังศักยภาพการเกิดออกซิเดชัน-รีดักชันเป็นบวกในวันที่ 0 เมื่อเริ่มขังน้ำจึงมีสภาวะรีดักชันเพิ่มขึ้นพบว่า ศักยภาพการเกิดออกซิเดชัน-รีดักชันจะมีค่าเป็นลบ ดินชุดควบคุมศักยภาพการเกิดออกซิเดชัน-รีดักชันอยู่ในช่วง 202 ถึง -138 mV ซึ่งสูงกว่าดินชุดที่ใส่อาร์เซนไนต์และอาร์เซนเนต ดินที่ใส่อาร์เซนไนต์พบว่า มีค่าเป็นบวกในวันที่ 0 แล้วเริ่มเกิดสภาวะรีดักชัน ดินมีค่าศักยภาพการเกิดออกซิเดชัน-รีดักชันติดลบและมีค่าเป็นลบต่ำกว่าดินชุดอื่นๆ โดยมีค่าระหว่าง 193 ถึง -170 mV ขณะที่ดินที่ใส่อาร์เซนเนตพบว่า มีค่าเป็นบวกในวันที่ 0 แล้วจึงเกิดสภาวะรีดักชัน โดยดินมีค่าศักยภาพการเกิดออกซิเดชัน-รีดักชันติดลบ แต่มีค่าศักยภาพการเกิดออกซิเดชัน-รีดักชันสูงกว่าดินใส่อาร์เซนไนต์ แต่น้อยกว่าดินชุดควบคุม



รูปที่ 3 พีเอชเปลี่ยนแปลงตามเวลาเพาะปลูก

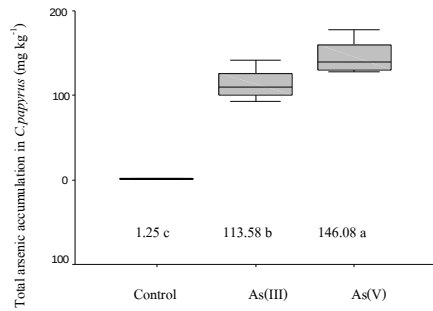
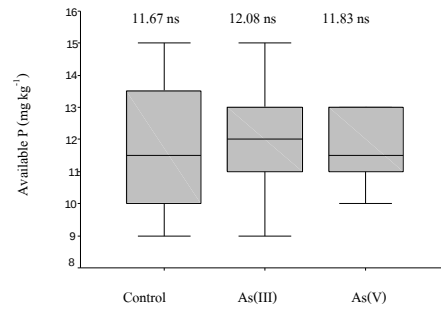


รูปที่ 4 ศักยภาพการเกิดออกซิเดชัน-รีดักชัน (mV) เปลี่ยนแปลงตามเวลาเพาะปลูก

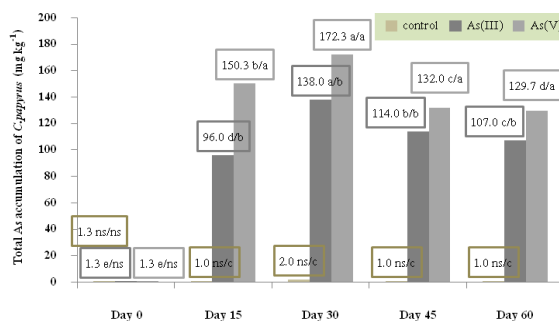
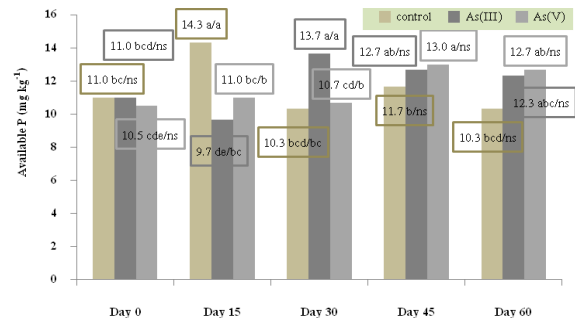
หมายเหตุ: ตัวอักษรภาษาอังกฤษแสดงแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ตัวอักษรด้านหน้าแสดงแตกต่างระหว่าง 0 – 60 วันของดินแต่ละชุดได้แก่ ดินชุดควบคุม ดินที่ใส่อาร์เซนิตและอาร์เซไนต์ ตัวอักษรด้านหลังแสดงแตกต่างระหว่าง 0 – 60 วัน เมื่อเปรียบเทียบแต่ละเวลาเพาะปลูกคือ 0, 15, 30, 45, 60 วันระหว่างดินทั้ง 3 ชุด

ปัจจัยของพีเอชและศักยภาพการเกิดออกซิเดชัน-รีดักชันมีผลกระทบต่อปริมาณสารหนูในดิน (Signes-Pastor et al., 2007) ปริมาณสารหนูจะเพิ่มขึ้นเมื่อพีเอชสูงขึ้น เนื่องจากเกิดการแย่งพื้นที่ก่อกวนกับไฮดรอกซิลไอออน (hydroxyl ions; OH^-) ขณะที่พีเอชสูงขึ้น สารหนูเกิดการตกตะกอนร่วมกับแคลเซียม แมกนีเซียม หรือซัลเฟต (SO_4^{2-}) จึงนำไปสู่การลดปริมาณสารหนูลงบางส่วน และเมื่อพีเอชต่ำมาก อาจเพิ่มปริมาณสารหนูได้เช่นกัน เนื่องจากอาร์เซไนต์จะกลายเป็นตัวเพิ่มโปรตอนกับอะตอมหรือโมเลกุล (protonation) ดังนั้นเมื่อพีเอชน้อยกว่า 2.5 จะนำไปสู่การเคลื่อนย้ายที่สูงขึ้น (Amita et al., 1999; Claes et al., 2013) ขณะเดียวกันเมื่อพีเอชต่ำ สารหนูจะถูกดูดซับพร้อมกับอะลูมิเนียมออกไซด์ (Al oxides) และไอเอิร์นออกไซด์ (Fe oxides) อย่างแข็งแรงเช่นกัน อาร์เซไนต์เป็นรูปเด่นเมื่อพีเอช > 3 สำหรับอาร์เซไนต์เป็นรูปเด่นเมื่อพีเอช < 9 ประจุรวมของสารประกอบอาร์เซไนต์เท่ากับศูนย์ เมื่อพีเอชอยู่ระหว่าง 6 – 9 สารหนูชนิดอาร์เซไนต์มีพิษมากกว่าอาร์เซไนต์ (Petrusevski et al., 2007) โดยทั่วไปเมื่อศักยภาพการเกิดออกซิเดชัน-

รีดักชันสูง อาร์เซไนต์จะเป็นลักษณะเด่น ขณะที่ศักยภาพการเกิดออกซิเดชัน-รีดักชันต่ำเกิดการก่อตัวของอาร์เซไนต์ที่มีการดูดซับน้อยกว่า นำไปสู่ปริมาณในสิ่งแวดล้อมที่สูงกว่า (Claes et al., 2013) ดังนั้นค่าศักยภาพการเกิดออกซิเดชัน-รีดักชันที่เสถียรของสารหนูในรูปอาร์เซไนต์และอาร์เซไนต์จึงขึ้นกับพีเอชและศักยภาพการเกิดออกซิเดชัน-รีดักชันในสิ่งแวดล้อม เมื่อพีเอชต่ำอาร์เซไนต์เป็นรูปที่เสถียร ณ ศักยภาพการเกิดออกซิเดชัน-รีดักชันระหว่าง 0 และ 500 mV ขณะที่อาร์เซไนต์มีความเสถียร เมื่อศักยภาพการเกิดออกซิเดชัน-รีดักชันสูงกว่า 500 mV เมื่อพีเอชเพิ่มขึ้น อาร์เซไนต์มีความเสถียรเพียงชนิดเดียว (Niagu et al., 2007; Ravenscroft et al., 2009) สารหนูละลายได้น้อยภายใต้สภาพรีดิวซ์ปานกลาง ศักยภาพการเกิดออกซิเดชัน-รีดักชัน 0 – 150 mV (Emil et al., 2006) เมื่อเกิดการเปลี่ยนแปลงรีด็อกซ์จะเกิดการเปลี่ยนรูปสารหนูจาก +500 mV ณ ผิวดินจนถึง -300 mV ณ บริเวณใต้ดิน กระบวนการชะสารหนูสู่น้ำท่าและน้ำใต้ดิน รวมทั้งการสะสมของพีช (Gambrell and Patrick, 1989)

รูปที่ 5 การสะสมสารหนูทั้งหมดของกอกอียิปต์ (mg.kg⁻¹)รูปที่ 6 ฟอสฟอรัสที่เป็นประโยชน์ (mg.kg⁻¹)

หมายเหตุ: ตัวอักษรภาษาอังกฤษแสดงความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ

รูปที่ 7 การสะสมสารหนูของกอกอียิปต์ (mg kg⁻¹)
เปลี่ยนแปลงตามเวลาเพาะปลูกรูปที่ 8 ฟอสฟอรัสที่เป็นประโยชน์ (mg kg⁻¹) เปลี่ยนแปลงตามเวลา
เพาะปลูก

หมายเหตุ: ตัวอักษรภาษาอังกฤษแสดงความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ตัวอักษรด้านหน้าแสดงความแตกต่างระหว่าง 0 – 60 วันของดินแต่ละชุด ได้แก่ ดินชุดควบคุม ดินที่ใส่อาร์เซนไนต์และอาร์เซเนต ตัวอักษรด้านหลังแสดงความแตกต่างระหว่าง 0 – 60 วัน เมื่อเปรียบเทียบแต่ละเวลาเพาะปลูกคือ 0, 15, 30, 45, 60 วันระหว่างดินทั้ง 3 ชุด

จากรูปที่ 5 ปริมาณการสะสมสารหนูทั้งหมด (Total arsenic) ที่กอกอียิปต์ดูดสะสมพบว่า ดินที่ใส่อาร์เซนไนต์มีการสะสมมากกว่าดินที่ใส่อาร์เซนไนต์ โดยมีค่าเฉลี่ยเท่ากับ 146.08 และ 113.58 mg kg⁻¹ เมื่อเปรียบเทียบค่าเฉลี่ยโดยวิธีดีเอ็มอาร์ที (DMRT) พบว่า มีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญในทุกชุดดิน (P-value < 0.01) จากรูปที่ 7 การเปลี่ยนแปลงปริมาณสารหนูทั้งหมดที่กอกอียิปต์ดูดสะสมระหว่าง 0 ถึง 60 วันของดินแต่ละชุด ได้แก่ ดินชุดควบคุม ดินที่ใส่อาร์เซนไนต์และอาร์เซเนต พบว่า ชุดควบคุมไม่มีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญ (P-value = 0.400) แต่ดินที่ใส่อาร์เซนไนต์และอาร์เซเนต มีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญ (P-value < 0.01) การเปลี่ยนแปลงของปริมาณสารหนูทั้งหมดที่กอกอียิปต์ดูดสะสมระหว่างวันที่ 0 ถึง 60 เมื่อเปรียบเทียบแต่ละเวลาเพาะปลูก 0, 15, 30, 45, 60 วัน ระหว่างดินทั้ง 3 ชุด พบว่า มีความแตกต่างวันที่ 15 ถึง 60 วันเพาะปลูกอย่าง

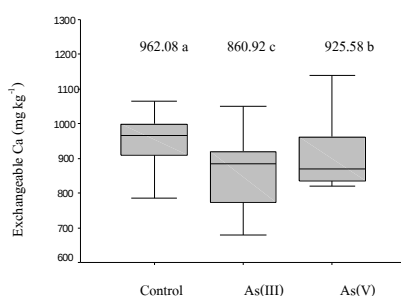
มีนัยสำคัญ (P-value < 0.01) แนวโน้มการเปลี่ยนแปลงของดินชุดควบคุมไม่มีการเปลี่ยนแปลง สำหรับดินที่ใส่อาร์เซนไนต์และอาร์เซเนต ตรวจพบสูงสุดในวันที่ 30 ของการเพาะปลูกแล้วค่อยๆ ลดลง การศึกษาการดูดสะสมสารหนูทั้งหมดโดยกอกอียิปต์สามารถศึกษาผลการวิจัยระยะแรกโดยละเอียดจากวารสารงานวิจัยที่ได้เผยแพร่ไป (Jomjun et al., 2018)

จากรูปที่ 6 ปริมาณฟอสฟอรัสที่เป็นประโยชน์ (Available P, P_{av}) เมื่อเรียงลำดับค่าเฉลี่ยพบว่า ดินที่ใส่อาร์เซนไนต์ > ดินที่ใส่อาร์เซเนต > ชุดควบคุม มีค่าเฉลี่ยเท่ากับ 12.08, 11.83 และ 11.67 mg kg⁻¹ โดยดินชุดควบคุมมีการกระจายข้อมูลมากที่สุด เมื่อเปรียบเทียบค่าเฉลี่ยโดยวิธีดีเอ็มอาร์ที (DMRT) พบว่า ดินทั้ง 3 ชุด ไม่มีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ (P-value = 0.882) จากรูปที่ 8 การเปลี่ยนแปลง P_{av} ระหว่าง 0 ถึง

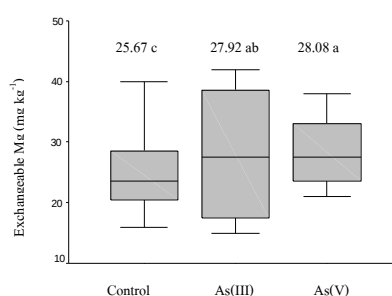
60 วันของดินแต่ละชุดได้แก่ ดินชุดควบคุม ดินที่ใส่อาร์เซนไนต์และอาร์เซนเต พบว่า ดินชุดควบคุมและดินที่ใส่อาร์เซนไนต์มีค่าแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญ (P -value < 0.01) ดินที่ใส่อาร์เซนเตมีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญ (P -value < 0.05) การเปลี่ยนแปลงปริมาณ P_{av} ระหว่างวันที่ 0 ถึง 60 เมื่อเปรียบเทียบแต่ละเวลาเพาะปลูก 0, 15, 30, 45, 60 วัน ระหว่างดินทั้ง 3 ชุดพบว่า มีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญของดินในวันที่ 15 และ 30 โดยมี P -value < 0.01 และ 0.05 ตามลำดับ แนวโน้มการเปลี่ยนแปลงปริมาณ P_{av} ของดินชุดควบคุมอยู่ระหว่าง $10.33 - 14.33 \text{ mg kg}^{-1}$ โดยวันที่ 15 มีปริมาณ P_{av} สูงสุด ดินที่ใส่อาร์เซนไนต์พบว่า ปริมาณ P_{av} อยู่ระหว่าง $9.67 - 13.67 \text{ mg kg}^{-1}$ โดยพบสูงสุดในวันที่ 30 ของการเพาะปลูก และดินที่ใส่อาร์เซนเตพบว่า ปริมาณ P_{av} อยู่ระหว่าง $10.50 - 13.00 \text{ mg kg}^{-1}$ โดยปริมาณ P_{av} สูงสุดในวันที่ 45 ของการเพาะปลูก และปริมาณ P_{av} ของดินที่ใส่อาร์เซนไนต์และอาร์เซนเต มีความใกล้เคียงกัน

ฟอสฟอรัสเป็นธาตุหลักในการเติบโตของพืช ฟอสฟอรัสในรูปฟอสเฟต (PO_4^{3-}) มีลักษณะทางเคมีคล้าย อาร์เซนเต ฟอสฟอรัสว่องไวมากต่อการขนส่งและการแลกเปลี่ยนในโครงสร้างดินมากกว่าอาร์เซนเต ดังนั้น ทั้ง 2 ธาตุจึงแทนที่กันได้ในปฏิกิริยาเคมีเช่น การตกตะกอน การละลาย การดูดซับ การขับออก และการแข่งขันการดูดซับในพืช (Senn et al., 2018) ฟอสฟอรัสจึงมีอิทธิพลต่อการจัดหาอาร์เซนเตในสิ่งแวดล้อม โดยอาร์เซนไนต์สามารถเปลี่ยนรูปไปเป็นอาร์เซนเตในสภาพออกซิเดชัน แต่ฟอสฟอรัสไม่เปลี่ยนแปลงโดยปฏิกิริยารีดอกซ์ (Sanz et al., 2007) การเพิ่มฟอสเฟตลงในดินพบว่า อาร์เซนเตถูกดูดซับในดินลดลง เนื่องจากการ

แข่งขันกันในการกักพันธะ แต่จะไม่เกี่ยวข้องกับอาร์เซนไนต์ (Bolan et al., 2013) หากฟอสฟอรัสและสารหนูมีความเข้มข้นเท่ากัน สารหนูจะถูกสะสมในพืชมากกว่า เพราะสารหนูมีขนาดเล็กกว่า และสารหนูมีการดูดสะสมในดินต่ำกว่าฟอสฟอรัส (Zou et al., 2009) คุณสมบัติของดิน ลักษณะเนื้อดิน ชนิดและปริมาณแร่ธาตุในดิน และปัจจัยสิ่งแวดล้อมส่งผลต่อความสามารถในการจัดหาของดิน การเคลื่อนย้าย และปฏิกิริยาระหว่างสารหนูกับฟอสฟอรัสส่งผลต่อการดูดสะสมของพืช (Bissen and Frimmel, 2003) พีเอช และ ศักยภาพการเกิดออกซิเดชัน-รีดักชันเป็นปัจจัยที่มีบทบาทสูง (Kubicki, 2005) ความเป็นพิษของสารหนูกับพืชขึ้นกับสัดส่วนของสารหนูต่อฟอสฟอรัสมากกว่าความเข้มข้นสารหนูทั้งหมด (Lu et al., 2010) สารหนูเกี่ยวข้องกับกระบวนการเคลื่อนย้ายจากปฏิกิริยากรด-เบส การเกิดสารประกอบเชิงซ้อน (complexation) การตกตะกอน (precipitation) และสมดุลรีดอกซ์ (redox equilibrium) ปฏิกิริยาเหล่านี้แสดงความสามารถในการแผ่ขยายสารหนูสู่ธรรมชาติ (Signes-Pastor et al., 2007) การเพิ่มปุ๋ยฟอสฟอรัสในพื้นที่ที่มีฟอสฟอรัสและสารหนูพบว่า สารหนูละลายได้สูงขึ้น (Emil et al., 2006) โดยมีสมมุติฐานกลไกการปลดปล่อยสารหนูจากดินไปสู่ น้ำใต้ดิน ได้แก่ 1. สมมุติฐานออกซิเดชัน (oxidation) คือ การออกซิเดชันของอาร์เซนไคแบริ่งไพไรต์ [$\text{As bearing pyrite, Fe(S, As)}_2$] ปริมาณมากถูกถอนออกจากน้ำใต้ดิน แล้วปล่อยสู่บรรยากาศ 2. สมมุติฐานรีดักชัน (reduction) คือ การรีดักชันของสารหนูที่มีไอเอิร์นออกไซด์ไฮดรอกไซด์ ($\text{Fe - oxyhydroxides}$) และแมงกานีสออกไซด์ไฮดรอกไซด์ ($\text{Mn - oxyhydroxides}$) 3. การเพิ่มปุ๋ยฟอสเฟตในดินเพื่อไปแข่งขันกับสารหนูในการดูดซับ (Emil et al., 2006)

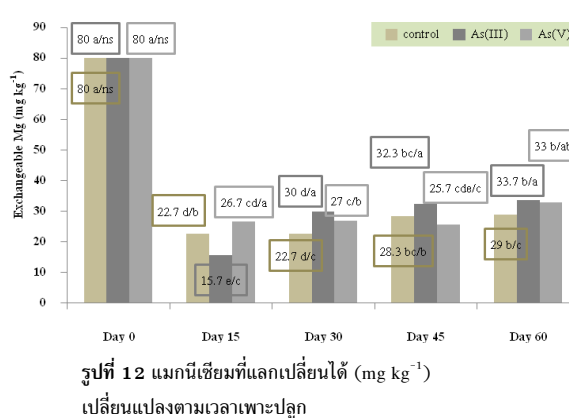
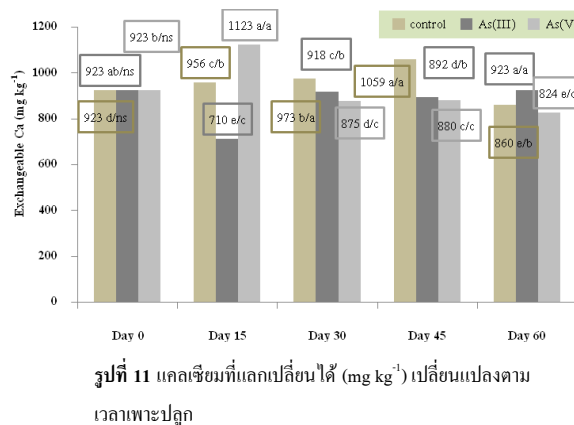


รูปที่ 9 แคลเซียมที่แลกเปลี่ยนได้ในดิน (mg.kg^{-1})



รูปที่ 10 แมงกานีสที่แลกเปลี่ยนได้ในดิน (mg.kg^{-1})

หมายเหตุ: ตัวอักษรภาษาอังกฤษแสดงความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ



หมายเหตุ: ตัวอักษรภาษาอังกฤษแสดงความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ตัวอักษรด้านหน้าแสดงความแตกต่างระหว่าง 0 – 60 วันของดินแต่ละชุดได้แก่ ดินชุดควบคุม ดินที่ใส่อาร์เซนิตและอาร์เซเนต ตัวอักษรด้านหลังแสดงความแตกต่างระหว่าง 0 – 60 วัน เมื่อเปรียบเทียบแต่ละเวลาเพาะปลูกคือ 0, 15, 30, 45, 60 วันระหว่างดินทั้ง 3 ชุด

จากรูปที่ 9 แคลเซียมที่แลกเปลี่ยนได้ (Exchangeable Ca, Ca_{ex}) เมื่อเรียงลำดับค่าเฉลี่ยในแต่ละชุดดินพบว่า ดินชุดควบคุม > ดินที่ใส่อาร์เซนิต > ดินที่ใส่อาร์เซไนต์ มีค่าเฉลี่ยเท่ากับ 962.08, 925.58 และ 860.92 mg kg^{-1} โดยดินชุดที่ใส่อาร์เซไนต์มีการกระจายข้อมูลมากที่สุด เมื่อเปรียบเทียบค่าเฉลี่ยโดยวิธีวิธีดีเอ็มอาร์ที (DMRT) พบว่า ดินทุกชุดมีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญ ($P\text{-value} < 0.01$) จากรูปที่ 11 การเปลี่ยนแปลงปริมาณ Ca_{ex} ระหว่าง 0 ถึง 60 วันของดินแต่ละชุดได้แก่ ดินชุดควบคุม ดินที่ใส่อาร์เซนิตและอาร์เซเนต มีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญ ($P\text{-value} < 0.01$) การเปลี่ยนแปลงปริมาณ Ca_{ex} ระหว่างวันที่ 0 ถึง 60 เมื่อเปรียบเทียบแต่ละเวลาเพาะปลูก 0, 15, 30, 45, 60 วันระหว่างดินทั้ง 3 ชุด พบว่า มีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญ ($P\text{-value} < 0.01$) ในวันที่ 15 ถึง 60 วันของการเพาะปลูก แนวโน้มการเปลี่ยนแปลงปริมาณ Ca_{ex} ของดินชุดควบคุมเพิ่มขึ้นจากวันที่ 0 ถึง 45 แล้วลดลงในวันที่ 60 สำหรับดินใส่อาร์เซนิตปริมาณ Ca_{ex} ระหว่าง 0 ถึง 15 วัน ลดลงต่ำสุดเท่ากับ 710.33 mg kg^{-1} แล้วจึงเพิ่มขึ้นอยู่ในระดับใกล้เคียงกัน โดยมีค่าอยู่ระหว่าง 710.33 – 923.33 mg kg^{-1} ดินที่ใส่อาร์เซนิตกลับมีแนวโน้มเพิ่มขึ้นระหว่างวันที่ 0 ถึง 15 ปริมาณ Ca_{ex} มีค่าสูงสุดที่ 1,123.33 mg kg^{-1} แล้วจึงลดลงและอยู่ในระดับใกล้เคียงกัน โดยมีค่าอยู่ระหว่าง 824.33 – 1,123.33 mg kg^{-1} เมื่อเปรียบเทียบปริมาณ Ca_{ex} ในดินที่ใส่อาร์เซไนต์มีค่ามากกว่าดินที่ใส่ อาร์เซนิตในเวลาเพาะปลูก 30 – 60 วัน

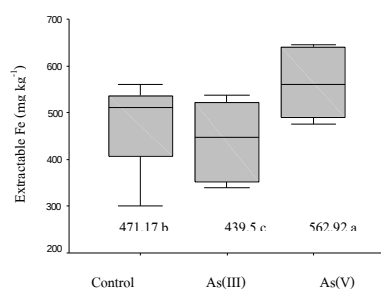
แคลเซียมไม่ใช่ธาตุอาหารจำเป็นต่อพืช (Thor, 2019) แต่ช่วยในกิจกรรมการเจริญเติบโตของพืชอย่างสำคัญ เช่นเกี่ยวข้องกับการรักษาสมดุลการดูดสะสมไอออนประจุบวกในรากพืช กระบวนการเมแทบอลิซึมและเกี่ยวข้องกับการสร้างโครงสร้างต่าง ๆ ของพืช (Mahajan et al., 2008) แคลเซียมลดความเครียดจากโลหะพิษโดยลดการสะสมโลหะ (Thor, 2019) แคลเซียมความเป็นพิษของสารหนูและลดการเคลื่อนย้ายสารหนูในดินและน้ำ มีการใช้แคลเซียมเปอร์ออกไซด์ (Calcium Peroxide; CaO_2) และแคลเซียมคลอไรด์ (Calcium chloride; CaCl_2) ลดการดูดสะสมสารหนูของพืชอย่างมีประสิทธิภาพ (Fuessle and Taylor, 2004) เมื่อมีแคลเซียมปรากฏพร้อมกับฟอสฟอรัสและสารหนูจะก่อตัวเป็นสารประกอบเชิงซ้อนระหว่างแคลเซียม – ฟอสฟอรัส – สารหนู (Ca-P-As) ลดการเคลื่อนย้ายของธาตุทั้ง 3 ในดิน (Szegedi et al., 2010) อีกทั้งยังพบสารประกอบแคลเซียมร่วมกับกากแร่อาร์เซนิก ซึ่งสัมพันธ์กับเหล็กและแคลเซียมในกากแร่ (Signes-Pastor et al., 2007)

จากรูปที่ 10 แมกนีเซียมที่แลกเปลี่ยนได้ (Exchangeable Mg, Mg_{ex}) เมื่อเรียงลำดับค่าเฉลี่ยพบว่า ดินที่ใส่อาร์เซนิต > ดินที่ใส่อาร์เซไนต์ > ดินชุดควบคุม โดยมีค่าเฉลี่ยเท่ากับ 28.08, 27.92 และ 25.67 mg kg^{-1} ตามลำดับดินที่ใส่อาร์เซไนต์มีการกระจายข้อมูลมากที่สุด เมื่อเปรียบเทียบค่าเฉลี่ยโดยวิธีวิธีดีเอ็มอาร์ที (DMRT) พบว่า ดินที่ใส่สารหนูทั้งสองชนิดมีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญกับดินชุดควบคุม ($P\text{-value} <$

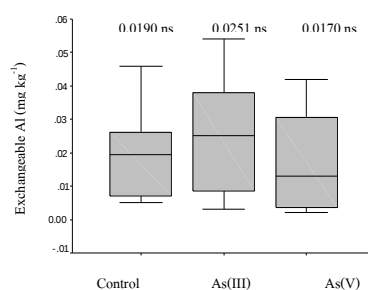
0.05) จากรูปที่ 12 การเปลี่ยนแปลงปริมาณ Mg_{ex} ระหว่าง 0 ถึง 60 วันของดินแต่ละชุดได้แก่ ดินชุดควบคุม ดินที่ใส่อาร์เซนิตและอาร์เซเนต มีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญ (P -value < 0.01) การเปลี่ยนแปลงปริมาณ Mg_{ex} ระหว่างวันที่ 0 ถึง 60 เมื่อเปรียบเทียบแต่ละเวลา เพาะปลูก 0, 15, 30, 45, 60 วัน ระหว่างดินทั้ง 3 ชุด พบว่า มีความแตกต่างกันในวันที่ 15 ถึง 60 วันของการเพาะปลูกอย่างมีนัยสำคัญ (P -value < 0.01) แนวโน้มการเปลี่ยนแปลงปริมาณ Mg_{ex} พบว่า มีค่าสูงสุดในวันที่ 0 ของการเพาะปลูกเท่ากับ 80.00 mg แล้วจึงลดลงในทุกชุดดินอย่างมีนัยสำคัญ (P -value < 0.01) ปริมาณ Mg_{ex} ของดินชุดควบคุมลดลงต่ำสุดในวันที่ 15 และ 30 เท่ากับ 22.67 mg kg⁻¹ แล้วจึงเพิ่มขึ้นในวันที่ 45 และ 60 โดยมีค่าอยู่ระหว่าง 22.67 – 80.00 mg kg⁻¹ ดินที่ใส่อาร์เซนิตมีปริมาณ Mg_{ex} มีค่าสูงสุดวันที่ 0 ซึ่งเริ่มมีการซังน้ำ และมีค่าต่ำสุดในวันที่ 15 เท่ากับ 15.67 mg kg⁻¹ แล้วจึงเพิ่มขึ้นอย่างต่อเนื่องในวันที่ 30 ถึง 60 ของการเพาะปลูก โดยมีค่าสูงสุดในวันที่ 60 คือ 33.67 mg kg⁻¹ ดินที่ใส่อาร์เซเนต ปริมาณ Mg_{ex} มีแนวโน้มคล้ายดินที่ใส่อาร์เซนิต โดยมีค่าสูงสุดในวันที่ 0 ของการเพาะปลูก แล้วลดลงต่ำสุดในวันที่ 15 มีค่า 26.67 mg kg⁻¹ โดยหลังจากนั้นมีแนวโน้ม เพิ่มขึ้นโดยมีค่าสูงสุดในวันที่ 60 คือ 33.00 mg kg⁻¹

แมกนีเซียมมีประสิทธิภาพในการดูดซับสารหนูอย่างกว้างขวาง นำมาผลิตเป็นตัวดูดซับ โดยปัจจุบันมีการนำอะลูมิเนียมและแมกนีเซียมมาผลิตเป็นตัวดูดซับซึ่งมี

ประสิทธิภาพมากกว่าอะลูมิเนียมหรือแมกนีเซียมอย่างเดียว ตัวอย่างคอมโพสิตของอะลูมิเนียม-แมกนีเซียมออกไซด์ (Al – Mg oxide composite) มีความสามารถในการเลือกสูง มีประสิทธิภาพในการดูดซับอาร์เซนิตและอาร์เซเนตผลิตสังเคราะห์ขึ้นมาง่าย สามารถดูดซับสารหนูในช่วงกว้าง (Wei et al., 2016) กลไกการดูดซับสารหนูเกี่ยวข้องกับการก่อตัวของกลุ่ม ไฮดรอกซิล (OH^- group) (Amita et al., 1999) แมกนีเซียมไฮดรอกไซด์ [Magnesium hydroxide; $Mg(OH)_2$] สามารถเคลื่อนย้ายสารหนูโดยการตกตะกอนอย่างมีประสิทธิภาพที่พีเอชประมาณ 7 แต่แมกนีเซียมมีประสิทธิภาพในการเคลื่อนย้ายสารหนูน้อยกว่าเหล็ก ปริมาณที่เคลื่อนย้ายน้อยกว่าและใช้เวลานานกว่า แมกนีเซียมและแคลเซียมจะเคลื่อนย้ายสารหนูเพิ่มขึ้นในสารละลายดินในสภาวะดินน้ำซัง โดยทำปฏิกิริยาการเคลื่อนย้ายด้วยวิธีทำให้สารหนูไม่ละลายได้แก่ การตกตะกอนร่วมกับการดูดซับบนพื้นผิวตะกอน เรียกว่า การตกตะกอนร่วม โดยสารหนูและแมกนีเซียมตกตะกอนร่วมกันเป็นสารประกอบแมกนีเซียมอาร์เซเนต [Magnesium arsenate, $Mg(HAsO_4)$] และแมกนีเซียมอาร์เซไนต์ [Magnesium arsenite, $Mg(HAsO_3)$] และสารหนูดูดซับบนตะกอนของแมกนีเซียมไฮดรอกไซด์ [Magnesium hydroxide, $Mg(OH)_2$] (Ghosh et al., 2003) กระบวนการเคลื่อนย้ายเกิดขึ้นได้ดีเมื่อพีเอช < 7 การเคลื่อนย้ายอาร์เซเนตมีประสิทธิภาพมากกว่าอาร์เซนิต ณ พีเอช < 7.5 (Islam and Islam, 1973)

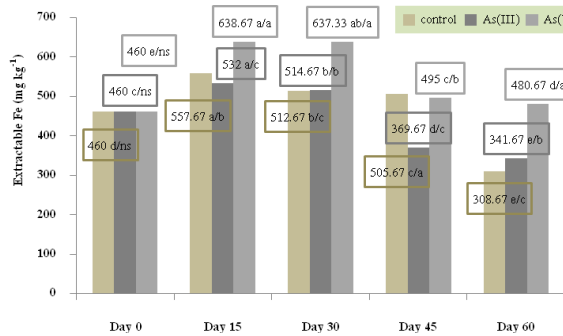


รูปที่ 13 เหล็กที่สกัดได้ในดิน (mg.kg⁻¹)

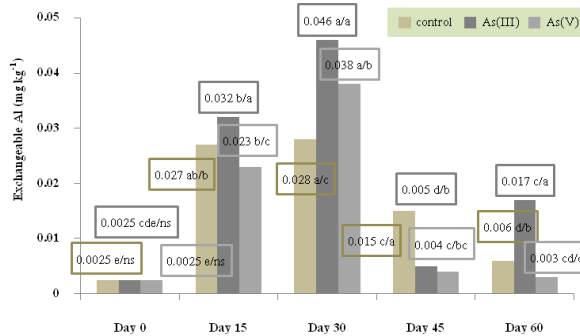


รูปที่ 14 อะลูมิเนียมที่แลกเปลี่ยนได้ในดิน (mg.kg⁻¹)

หมายเหตุ: ตัวอักษรภาษาอังกฤษแสดงความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญ



รูปที่ 15 เหล็กที่สกัดได้ (mg.kg^{-1}) เปลี่ยนแปลงตามเวลาเพาะปลูก



รูปที่ 16 อะลูมิเนียมที่แลกเปลี่ยนได้ (mg.kg^{-1}) เปลี่ยนแปลงตามเวลาเพาะปลูก

หมายเหตุ: ตัวอักษรภาษาอังกฤษแสดงความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ตัวอักษรด้านหน้าแสดงความแตกต่างระหว่าง 0 – 60 วันของดินแต่ละชุดได้แก่ ดินชุดควบคุม ดินที่ใส่อาร์เซนไนต์และอาร์เซนเนต ตัวอักษรด้านหลังแสดงความแตกต่างระหว่าง 0 – 60 วัน เมื่อเปรียบเทียบแต่ละเวลาเพาะปลูกคือ 0, 15, 30, 45, 60 วันระหว่างดินทั้ง 3 ชุด

จากรูปที่ 13 เมื่อเรียงลำดับค่าเฉลี่ยปริมาณเหล็กที่สกัดได้ (Extractable Fe , Fe_{ext}) พบว่า ดินที่ใส่อาร์เซนเนต > ดินชุดควบคุม > ดินที่ใส่อาร์เซนไนต์ มีค่าเฉลี่ยเท่ากับ 562.92, 471.17 และ 439.50 mg kg^{-1} ตามลำดับ ดินชุดควบคุมมีการกระจายข้อมูลมากที่สุด การเปรียบเทียบค่าเฉลี่ยจากวิธีวิธีเอ็มอาร์ที (DMRT) พบว่า ดินทุกชุดมีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญ ($P\text{-value} < 0.01$) จากรูปที่ 15 การเปลี่ยนแปลงปริมาณ Fe_{ext} ระหว่าง 0 ถึง 60 วันของดินแต่ละชุดได้แก่ ดินชุดควบคุม ดินที่ใส่อาร์เซนไนต์และอาร์เซนเนต มีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญ ($P\text{-value} < 0.01$) การเปลี่ยนแปลงปริมาณ Fe_{ext} ระหว่างวันที่ 0 ถึง 60 เมื่อเปรียบเทียบแต่ละเวลาเพาะปลูก 0, 15, 30, 45, 60 วัน ระหว่างดินทั้ง 3 ชุด มีความแตกต่างกันระหว่างกลุ่มในวันที่ 15 ถึง 60 วันของการเพาะปลูกอย่างมีนัยสำคัญ ($P\text{-value} < 0.01$) ดินชุดควบคุมมีแนวโน้มการเปลี่ยนแปลงปริมาณ Fe_{ext} เพิ่มขึ้นจากวันที่ 0 มีค่าสูงสุดในวันที่ 15 เท่ากับ 557.67 mg kg^{-1} จึงลดลงอย่างต่อเนื่องจากวันที่ 30 จนถึงวันที่ 60 เท่ากับ 308.67 mg kg^{-1} ดินที่ใส่อาร์เซนไนต์มีแนวโน้มคล้ายดินชุดควบคุมคือ ปริมาณ Fe_{ext} เพิ่มขึ้นสูงสุดจากวันที่ 0 ถึง 15 มีค่า 532.00 mg kg^{-1} แล้วจึงลดลงอย่างต่อเนื่อง โดยมีค่าต่ำสุดในวันที่ 60 ของการเพาะปลูกเท่ากับ 341.67 mg kg^{-1} ดินที่ใส่อาร์เซนเนตมีแนวโน้มคล้ายดินทั้ง 2 ชุดคือ ปริมาณ Fe_{ext} มีค่าเพิ่มขึ้นเป็นค่าสูงสุดในวันที่ 15 มีค่า 638.67 mg kg^{-1} และลดลงเล็กน้อยในวันที่ 30 จากนั้นจึงลดลงอย่างมากในวันที่ 45 และ 60 ซึ่งวันที่ 60 มีค่าต่ำสุดเท่ากับ 480.67 mg kg^{-1}

การเคลื่อนย้ายและการละลายของสารหนูในสารละลายดินสัมพันธ์อย่างใกล้ชิดกับการปรากฏและพฤติกรรมของเหล็กในดิน โดยสารหนูจะตกตะกอนร่วมกับเหล็กและไม่เคลื่อนย้าย โดยเกิดเป็นรูปที่ไม่ละลายคือ ไฮดรตไอเอิร์นออกไซด์ (Hydrated Fe oxide) สารหนูและเหล็กละลายน้ำน้อยถูกพบเมื่อค่าศักย์ภาพการเกิดออกซิเดชัน-รีดักชันน้อยกว่า 50 mV โดยจุดนี้เหล็กและสารหนูจะถูกรีดิวซ์โดยเปลี่ยนเวเลนซ์จากประจุบวก 5 ไปเป็นประจุบวก 3 ความเข้มข้นสูงสุดที่สารหนูและเหล็กละลายได้คือ -50 และ -150 mV สารหนูจะละลายลดลงที่ -200 mV เพราะบทบาทของซัลไฟด์และอาร์เซนไนต์ โดยสารหนูสามารถเข้าทำปฏิกิริยากับซัลไฟด์ เกิดสารประกอบที่ไม่ละลายน้ำ และไม่เกี่ยวข้องกับเหล็กอีก (Signes-Pastor et al., 2007) อิทธิพลของศักย์ภาพการเกิดออกซิเดชัน-รีดักชันต่อการละลายสารหนูในดินได้รับอิทธิพลจาก 1. การรีดักชันของอาร์เซนเนตไปเป็นอาร์เซนไนต์ โดยปฏิกิริยาการคาย 2. การละลายของไฮดรตไอเอิร์นออกไซด์ (Fe-oxyhydroxides) และปลดปล่อยตะกอนร่วม (co-precipitated Arsenate) 3. การเข้ากันได้ของสารหนูและซัลเฟอร์ โดยการก่อตัวที่มีประสิทธิภาพของแร่ธาตุอาร์เซนไคซัลไฟด์ (As sulfide) ที่ไม่ละลาย (Signes-Pastor et al., 2007) เหล็กดูดซับอาร์เซนเนตมากกว่าฟอสฟอรัส (Violante and Pigna, 2002) ความเข้มข้นสารหนูในดินสัมพันธ์กับเหล็ก อะลูมิเนียม แมงกานีส แร่ดินเหนียว แร่ ออกซีแอนไอออน (Mineral oxyanions) และ สารอินทรีย์ในดิน (Goh and Lim, 2005) ปัจจัยพีเอชและศักย์ภาพการเกิดออกซิเดชัน-

รีดักชันส่งผลทำให้เกิดการตกตะกอนไฮดรอกไซด์ (Fe-hydroxides) เช่น เกอไทต์ (Goethite) และเฟอร์ริคไฮไดรต์ (Ferrihydrite) ซึ่งพบได้ทั่วไปในดินมีอิทธิพลต่อพฤติกรรมการเคลื่อนย้ายสารหนู (Jain et al., 1999) การตกตะกอนของแร่เหล็กในเฟสแร่ ธาตุฟอสเฟตที่พื้นผิวประจุเป็นบวก ส่งผลให้การดูดซับสารหนูเพิ่มขึ้น ดังนั้นปฏิกิริยานี้จึงขึ้นกับพีเอชอย่างมากกับสารหนูที่มีประจุลบ (anionic) เช่น HAsO_4^{2-} และ HAsO_3^{2-} (Lombi et al., 2000) โดยจะดูดซับสูงกว่า เมื่อพีเอชอยู่ระหว่าง 4 – 7 โดยพีเอชที่เหมาะสมคือ 4 ภายใต้เงื่อนไขการลดการเพิ่มโปรตอนของผิวแร่ส่งเสริมการดูดซับอาร์เซเนตที่ประจุเป็นลบ อาร์เซเนตก่อพันธะอย่างแข็งแรงกับแร่เฟอร์ริกออกไซด์ (Fe(III)oxide) ภายใต้เงื่อนไขออกซิไดซ์อย่างสมบูรณ์ โดยเกิดการแข่งขันระหว่างอาร์เซเนตและฟอสเฟต ในสภาพรีดิวซ์หรือน้ำท่วมขังนำไปสู่การละลายของไฮดรอกไซด์ออกไซด์ (Fe oxides) ส่งผลให้เกิดการปลดปล่อยอาร์เซไนต์ อาร์เซเนต เฟอร์รัสอาร์เซเนต (Fe(II) Arsenate) ดูดซับเกิดขึ้นระหว่างพีเอช 7 – 10 โดยพีเอชเหมาะสมคือ 7 เงื่อนไขไร้อากาศน้ำท่วมทำให้เกิดการคายฟอสเฟตเข้ากันได้อย่างแข็งแรงกับพื้นผิวไฮดรอกไซด์ออกไซด์ (Fe hydroxides) มากกว่าสารหนูจึงแทนที่ในพื้นผิวเหล็กและคายสารหนูออกมา การดูดซับอาร์เซเนตเพิ่มขึ้นสวนทางกับการลดพีเอช โดยอาร์เซเนตดูดซับไฮดรอกไซด์ออกไซด์ (Fe oxides) มากกว่าอาร์เซไนต์ อาร์เซไนต์มีประจุเป็นกลางจึงเคลื่อนย้ายได้มากกว่าในช่วงพีเอชกว้างกว่า (Bose and Sharma, 2002)

จากรูปที่ 14 อะลูมิเนียมที่แลกเปลี่ยนได้ (Exchangeable Al, Al_{ex}) เมื่อเรียงลำดับค่าเฉลี่ยพบว่า ดินที่ใส่อาร์เซไนต์ > ดินชุดควบคุม > ดินที่ใส่อาร์เซเนต โดยมีค่าเฉลี่ยเท่ากับ 0.0251, 0.0190 และ 0.0170 mg kg^{-1} ตามลำดับ โดยดินที่ใส่อาร์เซไนต์มีการกระจายข้อมูลมากที่สุด การเปรียบเทียบค่าเฉลี่ยโดยวิธีดีเอ็มอาร์ที (DMRT) พบว่า ดินทั้ง 3 ชุดไม่มีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($P\text{-value} = 0.493$) จากรูปที่ 16 Al_{ex} เป็นรูปที่พบน้อยในดินแต่เป็นรูปที่พืชนำไปใช้ประโยชน์ การเปลี่ยนแปลงปริมาณ Al_{ex} ระหว่าง 0 ถึง 60 วันของดินแต่ละชุดได้แก่ ดินชุดควบคุม ดินที่ใส่อาร์เซไนต์และอาร์เซเนต มีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญ ($P\text{-value} <$

0.01) การเปลี่ยนแปลงปริมาณ Al_{ex} ระหว่างวันที่ 0 ถึง 60 เปรียบเทียบแต่ละเวลาเพาะปลูก 0, 15, 30, 45, 60 วัน ระหว่างดินทั้ง 3 ชุดพบว่า มีความแตกต่างระหว่างทั้ง 3 กลุ่มในวันที่ 15 ถึง 60 ของการเพาะปลูกอย่างมีนัยสำคัญ ($P\text{-value} < 0.01$) แนวโน้มการเปลี่ยนแปลงปริมาณ Al_{ex} ของดินชุดควบคุม มีแนวโน้มเพิ่มขึ้นจากวันที่ 0 ถึง 30 มีค่าสูงสุดในวันที่ 30 เท่ากับ 0.028 mg kg^{-1} และลดลงอย่างต่อเนื่องในวันที่ 45 และ 60 ดินที่ใส่อาร์เซไนต์ ปริมาณ Al_{ex} เพิ่มขึ้นจากวันที่ 0 ถึง 30 มีค่าสูงสุดคือ 0.046 mg kg^{-1} แล้วจึงลดลงในวันที่ 45 และ 60 ดินใส่อาร์เซเนตปริมาณ Al_{ex} ค่อยๆ เพิ่มขึ้นจากวันที่ 0 ถึง 30 มีค่าสูงสุดคือ 0.038 mg kg^{-1} แล้วจึงลดลงในวันที่ 45 และ 60 ดินที่ใส่อาร์เซไนต์มีปริมาณ Al_{ex} มากกว่าดินที่ใส่อาร์เซเนต

การดูดซับมากที่สุดของอาร์เซเนตบนอะลูมิเนียมไฮดรอกไซด์อสัณฐาน (Amorphous Al hydroxides) เกิดขึ้นเมื่อพีเอช 4 – 4.5 (Anderson et al., 1976) อะลูมิเนียมช่วยควบคุมการเคลื่อนที่ของสารหนูในดินและน้ำ โดยใช้เคลื่อนย้ายสารพิษในสิ่งแวดล้อม สารหนูในสภาพออกซิไดซ์ดูดซับอย่างแข็งแรงกับอะลูมิเนียมออกไซด์ไฮดรอกไซด์และออกไซด์ [Al(oxyhydr)oxide] โดยขึ้นกับความแข็งแรงของไอออน (ionic strength) ซึ่งการคายสารหนูจะมีน้อยในสภาพพีเอชเป็นกลางถึงเป็นด่าง แต่จะมีการคายสารหนูมากในสภาพเป็นกรดอ่อน (Tingying and Jeffrey, 2018) อย่างไรก็ตามสารหนูไม่คงค้างอย่างแข็งแรงโดยแร่อะลูมินัส (Aluminous) แต่มีความเข้ากันได้สูงกับผิวแร่ต่างๆ ที่มีเหล็กโดยเฉพาะไฮดรอกไซด์ออกไซด์และออกไซด์ [Fe(hydr)oxides] พีเอชมีผลกระทบต่อการดูดซับอย่างแข็งแรงของสารหนูบนดิน และแร่ที่ประจุสามารถแปรผันได้ อาร์เซเนตถูกดูดซับมากกว่าบนไฮดรอกไซด์ออกไซด์ (Fe oxides) มากกว่าอะลูมิเนียมออกไซด์ (Al oxides) ขณะที่อาร์เซไนต์ถูกดูดซับง่ายกว่า ธาตุฟอสเฟตสูง เพราะอาร์เซไนต์ก่อตัวเป็นกรดอ่อน จึงสัมพันธ์กับสิ่งแวดล้อมที่เป็นด่าง นอกจากนี้ยังมีการแข่งขันการเข้ากันได้ระหว่างฟอสเฟตและอาร์เซเนต ซึ่งอาร์เซเนตเข้ากันได้น้อยกว่ากับอะลูมิเนียมออกไซด์ (Al oxides) (Massimo et al., 2015) ดินเป็นกรดพีเอช < 5 เพิ่มการจัดหาสารหนูในดินและเพิ่มความเป็นพิษต่อ

พืช โดยเมื่อสารหนูก่อพันธะกับธาตุอื่นได้แก่ สารประกอบเหล็กและอะลูมิเนียมที่มีออกซิเจนจะละลายได้มากขึ้น อะลูมิเนียมมีความสามารถในการดูดซับสารหนูอย่างกว้างขวาง นิยมนำมาใช้บำบัดน้ำปนเปื้อนสารหนู การดูดซับสารหนูสัมพันธ์กับปริมาณอะลูมิเนียมออกไซด์ (Al oxides) โดยเกี่ยวข้องกับความแข็งแรงของไอออนนอกเหนือจากพีเอช ศักยภาพการเกิดออกซิเดชัน-รีดักชัน และไอออนเชิงซ้อน (complex ion) ในดินบนพื้นผิวอะลูมิเนียมออกไซด์ (Al oxides) และไอเอิร์นออกไซด์ (Fe oxides) โดยสารหนูถูกดึงดูดอย่างแรงจากประสิทธิภาพของแร่ออกไซด์ (oxidic minerals) ที่ปรากฏในดินเช่น กลุ่มอะลูมิเนียมไฮดรอกไซด์ (Al – OH group) ในแร่เคโอลิไนต์ (Kaolinite) (Ghosh et al., 2003)

3.2 การวิเคราะห์สหสัมพันธ์เพียร์สันและการวิเคราะห์การถดถอยพหุคูณของปัจจัยที่ส่งผลต่อการดูดสะสมสารหนูทั้งหมด (Total arsenic) ของกกอียิปต์

ตารางที่ 1 แสดงผลการวิเคราะห์สหสัมพันธ์เพียร์สัน

Correlations	Total arsenic	day	speciation	pH	Eh	Fe	Ca	Mg	P	Al
Total arsenic	1									
day	0.331*	1								
speciation	0.713**	0.000	1							
pH	0.647**	0.548**	0.404**	1						
Eh	-0.601**	-0.710**	-0.105	-0.400**	1					
Extractable Fe	0.335*	-0.444**	0.330*	-0.102	-0.106	1				
Exchangeable Ca	-0.145	-0.123	-0.111	-0.255	0.034	0.233	1			
Exchangeable Mg	-0.447**	-0.567**	0.036	-0.318*	0.905**	-0.231	0.096	1		
Available P	0.214	0.263	0.034	0.199	-0.343*	-0.013	0.166	-0.184	1	
Exchangeable Al	0.353*	-0.069	-0.043	0.252	-0.369*	0.547**	0.054	-0.519**	0.078	1

หมายเหตุ: ** มีระดับนัยสำคัญทางสถิติที่ระดับ 0.01 และ * มีระดับนัยสำคัญทางสถิติที่ระดับ 0.05

จากตารางที่ 1 การทดสอบสหสัมพันธ์เพียร์สันระหว่างปัจจัยที่เกี่ยวข้องกับการดูดสะสมสารหนูทั้งหมดของกกอียิปต์ได้แก่ จำนวนวันที่เพาะปลูก ชนิดสารหนู พีเอช Fe_{ext} และ Al_{ex} มีความสัมพันธ์เชิงบวกอย่างมีนัยสำคัญ โดยตัวแปรทั้ง 5 มีค่าสัมประสิทธิ์สหสัมพันธ์เพียร์สัน (r) เท่ากับ 0.331*, 0.713**, 0.647**, 0.335* และ 0.353* (P-value < 0.01** และ 0.05*) ตามลำดับ ศักยภาพการเกิดออกซิเดชัน-รีดักชันและ Mg_{ex} มีความสัมพันธ์เชิงลบอย่างมีนัยสำคัญ มีค่าสัมประสิทธิ์สหสัมพันธ์เพียร์สัน (r) เท่ากับ -0.601** และ -0.447** (P-value < 0.01) แสดงในตารางที่ 1 เมื่อพิจารณาเกณฑ์ของ Stevens (1992) กล่าวว่าความสัมพันธ์ระหว่างตัวแปรอิสระมีค่าน้อยกว่า 0.80 ซึ่งหมายถึง ตัวแปรไม่เกิดปัญหาความสัมพันธ์มีค่าสูงหรือไม่เป็นอิสระต่อกัน (multicollinearity) จึงนำมาพยากรณ์ที่ดีสามารถนำไปวิเคราะห์ถดถอยพหุคูณต่อไป

ตารางที่ 2 แสดงผลการวิเคราะห์ถดถอยพหุคูณ (n = 36)

Variable	b	SE	β	t	P – value	VIF
(Constant)	-339.542	70.623		-4.808	0.000	
Arsenic speciation	20.249	2.724	0.498	7.434	0.000	1.338
Eh	-0.322	0.043	-0.626	-7.504	0.000	2.072
pH	52.681	11.314	0.369	4.656	0.000	1.870
Day	-0.987	0.298	-0.316	-3.313	0.002	2.702

หมายเหตุ: $R = 0.930$, $R^2 = 0.866$, $R^2 \text{ adj} = 0.852$, $f = 10.978$, $P\text{-value} = 0.002$, Durbin – Watson = 0.738

ตารางที่ 2 แสดงผลการวิเคราะห์ถดถอยพหุคูณ ตัวแปรเกณฑ์คือ ปริมาณสารหนูทั้งหมดที่กักอียิปต์ดูดสะสมไว้ ปัจจัยตัวแปรอิสระที่มีผลต่อการดูดสะสมสารหนูทั้งหมดได้แก่ ชนิดของสารหนู พีเอช ศักยภาพการเกิดออกซิเดชัน-รีดักชัน และวันที่เพาะปลูก เมื่อตรวจสอบปัญหาความสัมพันธ์ของตัวแปรอิสระมีค่าสูงหรือไม่เป็นอิสระต่อกัน (multicollinearity) จากข้อกำหนดค่า Variance inflation factor (VIF) ต้องมีค่าไม่เกิน 10 ที่แสดงว่า ตัวแปรอิสระมีความสัมพันธ์กัน โดยจากการศึกษาพบว่า ค่า VIF มีค่าอยู่ระหว่าง 1.338 – 2.702 จึงไม่เกิดปัญหาดังกล่าวขึ้น ปัจจัยที่มีผลต่อการดูดสะสมสารหนูทั้งหมดของกอกอียิปต์สามารถร่วมกันพยากรณ์ได้ร้อยละ 85.2 โดยมีค่า $R^2 \text{ adj}$ เท่ากับ 0.852 เมื่อนำตัวแปรพยากรณ์ทั้งหมดมาเขียนสมการได้ดังนี้ ค่าการสะสมสารหนูทั้งหมดของกอกอียิปต์ = $-339.542 + 20.249$ (ชนิดของสารหนู) – 0.322 (ศักยภาพการเกิดออกซิเดชัน-รีดักชัน) + 52.681 (พีเอช) – 0.987 (วันที่เพาะปลูก) จากสมการพบว่า อาร์เซไนต์และอาร์เซเนตมีแนวโน้มที่จะถูกสะสมอยู่ในดินมากกว่าถูกดูดสะสมโดยพืช พิจารณาจากค่าคงที่ของสมการ (constant value) เท่ากับ -339.542 ชนิดของสารหนูและพีเอชมีผลเชิงบวก กล่าวคือ อาร์เซเนตถูกดูดสะสมโดยกอกอียิปต์มากกว่าอาร์เซไนต์ และหากพีเอชเพิ่มขึ้นจะส่งเสริมการดูดสะสมสารหนูทั้งหมดของกอกอียิปต์ ศักยภาพการเกิดออกซิเดชัน-รีดักชันมีผลเชิงลบต่อการดูดสะสมสารหนูทั้งหมดของกอกอียิปต์ หากลดลงจะส่งเสริมการดูดสะสม

สารหนูทั้งหมดของพืช วันที่เพาะปลูกที่มีการสะสมสูงสุดคือวันที่ 30 ของการเพาะปลูก แล้วจะลดลงเมื่อเวลาเพาะปลูกเพิ่มขึ้น จากสมการสามารถร่วมพยากรณ์ได้ร้อยละ 85.2 จึงมีความน่าเชื่อถือระดับดีคือ เกินกว่าร้อยละ 70 Stevens (1992)

4. สรุปผลการทดลอง

การบำบัดสารหนูในสภาพดินน้ำขังโดยกอกอียิปต์พบว่า กอกอียิปต์มีการสะสมสารหนูทั้งหมดได้มากโดยมีการสะสมอาร์เซเนตมากกว่าอาร์เซไนต์ และมีการสะสมสูงกว่า 100 mg kg^{-1} จึงเป็นพืชไฮเปอร์แอคคิวมูเลเตอร์ของสารหนู โดยมีการสะสมมากที่สุดในวันที่ 30 ของการเพาะปลูก พีเอชขณะทำการบำบัดมีการเปลี่ยนแปลงเข้าสู่ความเป็นกลาง เนื่องจากเป็นสภาพดินน้ำขัง โดยพีเอชของดินที่อาร์เซไนต์และอาร์เซเนตสูงกว่าดินชุดควบคุม ศักยภาพการเกิดออกซิเดชัน-รีดักชันมีการเปลี่ยนแปลงจากสภาพออกซิเดชันกลายเป็นรีดักชัน เนื่องจากสภาพดินน้ำขัง โดยศักยภาพการเกิดออกซิเดชัน-รีดักชันของดินที่ใส่อาร์เซเนตและอาร์เซไนต์มีสภาพรีดักชันต่ำกว่าดินชุดควบคุม P_{av} มีความใกล้เคียงกันในดินชุดควบคุมและชุดที่ใส่สารหนูโดยค่าเฉลี่ยไม่มีการเปลี่ยนแปลงอย่างมีนัยสำคัญ เนื่องจากการหาในรูป P_{av} ซึ่งพืชนำไปใช้ในการเจริญเติบโตปริมาณ Ca_{ex} ในดินที่ใส่อาร์เซไนต์มีปริมาณลดลงมากที่สุด เนื่องจากแคลเซียมสามารถก่อพันธะกับอาร์เซไนต์ในทุกความเข้มข้นโดยทันที ดินที่ใส่อาร์เซไนต์จึงมีปริมาณแคลเซียมต่ำกว่าดินที่ใส่อาร์เซเนตสำหรับปริมาณ Mg_{ex} ในดินที่ใส่อาร์เซไนต์และอาร์เซเนตมีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญกับดินชุดควบคุม โดย

ในดินทั้ง 3 ชุด มีปริมาณ Mg_{ex} ลดลงอย่างมากทุกชุดดิน ในวันที่ 15 ถึง 60 ของการเพาะปลูก โดยเมื่อเริ่มขังน้ำมีการลดลงมากที่สุดในวันที่ 15 ทุกชุดดินแล้วค่อยๆ เพิ่มขึ้น เนื่องจาก Mg_{ex} เปลี่ยนไปอยู่ในรูปสารละลายในดินปริมาณ Fe_{ext} มีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญในทุกชุดดิน โดยในวันที่ 15 มีการเพิ่มขึ้นมากที่สุด แล้วลดลงจนต่ำสุดในวันที่ 60 ในทุกชุดดิน การละลายของเหล็กและการทำปฏิกิริยากับสารหนูขึ้นกับพีเอชและศักยภาพการเกิดออกซิเดชัน-รีดักชันอย่างมาก จากการทดลองพบว่า Fe_{ext} ในดินที่ใส่อาร์เซนเดมากกว่าดินที่ใส่อาร์เซนไนต์ในทุกช่วงเวลาเพาะปลูก เมื่อพีเอชค่อยๆ เพิ่มขึ้นเข้าสู่ 7 เหล็กดูดซับอาร์เซนไนต์และอาร์เซนเดเพิ่มขึ้น ปริมาณเหล็กจึงลดลงเป็นรูปสารประกอบที่ไม่สามารถตรวจพบ เมื่อพีเอชสูง 7 – 10 อาร์เซนไนต์จะดูดซับได้ดีกว่า เมื่อศักยภาพการเกิดออกซิเดชัน-รีดักชันลดลง สารหนูและเหล็กจะละลายน้ำน้อยลงเกิดการตกตะกอนร่วมและไม่เคลื่อนย้าย โดยเกิดเป็นรูปที่ไม่ละลายคือ ไฮเดรตไอเอิร์นออกไซด์ (Hydrated Fe oxide) และปริมาณ Al_{ex} ไม่มีความแตกต่างของค่าเฉลี่ยทุกชุดดิน โดยแนวโน้มปริมาณ Al_{ex} มีการเพิ่มขึ้นสูงสุดในวันที่ 30 แล้วค่อยๆ ลดต่ำลง ดินที่ใส่อาร์เซนไนต์มีปริมาณ Al_{ex} มากกว่าดินที่ใส่อาร์เซนเด Al_{ex} พบในปริมาณต่ำ เนื่องจากเป็น การตรวจวัดในรูป Al_{ex} ที่พืชนำไปใช้ประโยชน์ได้ เมื่อพีเอชเพิ่มขึ้น ปริมาณอะลูมิเนียมจะลดลง เนื่องจากเกิดปฏิกิริยาการตกตะกอนร่วมแบบไอโซมอร์ฟิก (isomorphic coprecipitation) กับแคลเซียม แมกนีเซียม และธาตุประจุบวกสอง อื่นๆ จากผลการทดสอบ สหสัมพันธ์เพียร์สันพบว่า จำนวนวันที่เพาะปลูก ชนิดสาร หนู พีเอช Fe_{ext} และ Al_{ex} มีสหสัมพันธ์เชิงบวกอย่างมีนัยสำคัญต่อการดูดสะสมสารหนูทั้งหมดของกกอียิปต์ แต่ ศักยภาพการเกิดออกซิเดชัน-รีดักชันมีและ Mg_{ex} มีสหสัมพันธ์เชิงลบอย่างมีนัยสำคัญต่อการดูดสะสมสารหนูทั้งหมดของกกอียิปต์ เมื่อพิจารณาารวมทุกปัจจัยโดยใช้ การถดถอยพหุคูณพบว่า สารหนูชนิดอาร์เซนเดกกอียิปต์ มีการสะสมมากกว่าอาร์เซนไนต์ และเมื่อพีเอชเพิ่มขึ้นจะ ส่งเสริมการดูดสะสมสารหนูทั้งหมดของกกอียิปต์ ขณะที่ ศักยภาพการเกิดออกซิเดชัน-รีดักชันหากลดลงจะ ส่งเสริมการดูดสะสมสารหนูทั้งหมดของกกอียิปต์ให้เพิ่มขึ้น โดยกกอียิปต์จะสะสมสูงสุดในวันที่ 30 เมื่อเวลาผ่านไป การสะสมจะลดลง จากผลการศึกษาในครั้งนี้ควรมีการ

ส่งเสริมให้น้ำพืชเหื่อนน้ำ (emerged plant) เช่น กกอียิปต์ มาใช้ในการบำบัดสารหนูในพื้นที่ขังน้ำ เพราะมีความเหมาะสม เนื่องจากการสะสมสารหนูในปริมาณมากถือเป็นพืชไฮเปอร์แอคคิวมูเลเตอร์ อีกทั้งมีชีวมวลสูงทนทาน แพร่กระจายง่าย มีความสวยงาม เป็นแนวกั้นตามธรรมชาติ และควรมีแผนในการกำจัดในขั้นสุดท้ายอย่างเป็นระบบ เช่น การฝังกลบแบบปลอดภัย การค้นหาพืชน้ำหลากหลายสายพันธุ์ที่มีความจำเป็นมาก นอกจากเป็นวิธีบำบัดที่มีประสิทธิภาพและเป็นมิตรต่อสิ่งแวดล้อมแล้ว ยังเป็นการศึกษาถึงผลกระทบที่มีต่อพืชในบริเวณที่ปนเปื้อน รวมทั้งผลกระทบต่อสิ่งมีชีวิต สิ่งแวดล้อม และห่วงโซ่อาหารโดยรอบ การทราบถึงอันตรายและผลกระทบจะนำมาสู่ความปลอดภัยและการเฝ้าระวังอย่างเหมาะสมในอนาคตจะได้ทำการศึกษาพืชชนิดอื่นที่มีความสำคัญและพบได้ในพื้นที่ขังน้ำของไทย เพื่อเป็นประโยชน์ในการจัดการสิ่งแวดล้อมที่ปนเปื้อนสารหนูต่อไป

5. กิตติกรรมประกาศ

การวิจัยในครั้งนี้ได้รับทุนสนับสนุนจากหลักสูตร สาขาการจัดการสิ่งแวดล้อม (นานาชาติ) จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย และบัณฑิตวิทยาลัยแห่งจุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย โดยเป็นส่วนหนึ่งของวิทยานิพนธ์ดุษฎีบัณฑิต และขอขอบคุณความอนุเคราะห์จากคณะวิทยาศาสตร์ และคณะเกษตรศาสตร์ มหาวิทยาลัยเชียงใหม่ที่ให้การสนับสนุนการสถานที่สารเคมี อุปกรณ์ และสิ่งอำนวยความสะดวกทุกอย่าง เพื่อทำการทดลองจนสำเร็จด้วยดี และผู้ที่เกี่ยวข้องทุกฝ่ายที่ร่วมในงานวิจัยครั้งนี้เป็นอย่างดี

6. เอกสารอ้างอิง

- Abdul, R., John, R., & George, E. (2001). *Soil and plant laboratory manual*, 2nd ed., Islamabad, Pakistan: National Agricultural Research Center.
- Amita, J., Klaus, P. R., & Richard, H. L. (1999). Arsenite and arsenate adsorption on ferrihydrite: Surface charge reduction and net OH⁻-release stoichiometry. *Environmental Science & Technology*, 33(8), 1179–1184. <https://doi.org/10.1021/es980722e>

- Anderson, M. A., Ferguson, J. F., & Gavis, J. (1976). Arsenate adsorption on amorphous aluminum hydroxide. *Journal of Colloid and Interface Science*, 54(3), 391–399. [https://doi.org/10.1016/0021-9797\(76\)90318-0](https://doi.org/10.1016/0021-9797(76)90318-0)
- American Water Work Association Water Environment Federation. (1998). *Standard Methods for the Examination of Water and Wastewater*, 20th ed., New York, United states: American Public Health Association.
- Bissen, M., & Frimmel, F.H. (2003). Arsenic-A review. Part I: Occurrence, toxicity, speciation, mobility. *Acta hydrochim. Hydrobiol*, 31(1), 9–18. <https://doi.org/10.1002/ahch.200390025>
- Bolan, N., Mahimairaja, S., Kunhikrishnan, A., & Choppala, G. (2013). Phosphorus-arsenic interactions in variable-charge soils in relation to arsenic mobility and bioavailability. *Science of the Total Environment*, 463, 1154–1162. <https://doi.org/10.1016/j.scitotenv.2013.04.016>
- Bose, P., & Sharma, A. (2002). Role of iron in controlling speciation and mobilization of arsenic in subsurface environment. *Water Research*, 36, 4916–4926. [https://doi.org/10.1016/S0043-1354\(02\)00203-8](https://doi.org/10.1016/S0043-1354(02)00203-8)
- Claes, B., Roger, H., Ingmar, P., & Maria, G. (2013). Plants influence on arsenic availability and speciation in the rhizosphere, roots and shoots of three different vegetables. *Environmental Pollution*, 184, 540–546. <https://doi.org/10.1016/j.envpol.2013.10.003>
- Deok, H. M., Dimitris, D., & Nektaria, M. (2004). Arsenic immobilization by calcium - arsenic precipitates in lime treated soils. *Science of the Total Environment*, 330, 171–185. <https://doi.org/10.1016/j.scitotenv.2004.03.016>
- Ekkasit, A., Pornsawan, V., Kasem, C., and Patana, A. (2002). *Selection of the emergent plants suitable for removal of arsenic from arsenic contaminated water* [Master's thesis]. Mahidol University. (in Thai)
- Emil, A. C., Tiberiu, F., Michaela, P., Ioan, M., Bela, A., & Cecilia, R. (2006). Distribution study of inorganic arsenic (III) and (V) species in soil and their mobility in the area of Baia-Mare, Romania. *Chemical Speciation and Bioavailability*, 18(1), 11–25. <https://doi.org/10.3184/095422906782146294>
- Fuessle, R. W., & Taylor, M. A. (2004). Stabilization of arsenite wastes with prior oxidation. *Journal of Environmental Engineering*, 130(9), 1063–1066. [https://doi.org/10.1061/\(ASCE\)0733-9372\(2004\)130:9\(1063\)](https://doi.org/10.1061/(ASCE)0733-9372(2004)130:9(1063))
- Gambrell, R. P., & Patrick Jr, W. H. (1989). Cu, Zn, and Cd availability in a sludge-amended soil under controlled pH and redox potential conditions. In *Inorganic contaminants in the vadose zone (pp. 89–106)*. Berlin, Heidelberg: Springer Berlin Heidelberg. https://doi.10.1007/978-3-642-74451-8_7
- Ghosh, B., Das, M. C., Gangopadhyay, A. K., Das, T. B., Singh, K., Lal, S., Mitra, S., Ansari, S. H., Goswami, T. K., Chakraborty, S. K., & Banerjee, N. N. (2003). Removal of arsenic from water by coagulation treatment using iron and magnesium salt. *Indian Journal of Chemical Technology*, 10, 87–95. <http://nopr.niscpr.res.in/handle/123456789/22705>
- Goh, K. H., & Lim, T. T. (2005). Arsenic fractionation in a fine soil fraction and influence of various anions on its mobility in the subsurface environment. *Applied geochemistry*, 20(2), 229–239. <https://doi.org/10.1016/j.apgeochem.2004.08.004>

- Islam, A., & Islam, W. (1973). Chemistry of submerged soils and growth and yield of rice. *Plant and soil*, 39, 555 – 565. <https://doi.10.1007/BF00264174>
- Jain, A., Raven, K. P., & Loeppert, R. H. (1999). Arsenite and arsenate adsorption on ferrihydrite: surface charge reduction and net OH-release stoichiometry. *Environmental Science & Technology*, 33(8), 1179–1184. <https://doi.org/10.1021/es980722e>
- Jomjun, N., Siripen, T., Jintapat, N., Maliwan, S., Prasak, T., and Somporn, C. (2018). Potential of *Cyperus papyrus* (L.) for Inorganic Arsenic Accumulation in Cases of Arsenite and Arsenate in Submerged Soil. *Journal of Science Ladkrabang*, 27(1), 1–17. <https://www.thaiscience.info/Journals/Article/JOSL/10990044.pdf>. (in Thai)
- Kubicki, J. D. (2005). Comparison of As(III) and As(V) complexation onto Al- and Fe-hydroxides. *Advances in Arsenic Research*, 915, 104–117. <https://doi.10.1021/bk-2005-0915.ch008>
- Lombi, E., Sletten, R. S. & Wenzel, W. W. (2000). Sequentially extracted arsenic from different size fractions of contaminated soils. *Water, Air, & Soil Pollution*, 124, 319–332. <https://doi.10.1023/A:1005230628958>
- Lu, Y., Dong, F., Deacon, C., Chen, H. j., Raab, A., & Meharg, A. A. (2010). Arsenic accumulation and phosphorus status in two rice (*Oryza sativa* L.) cultivars surveyed from fields in South China. *Environmental Pollution*, 158(5), 1536–1541. <https://doi.10.1016/j.envpol.2009.12.022>
- Mahajan, S., Pandey, G. K., & Tuteja, N. (2008). Calcium- and salt-stress signaling in plants: Shedding light on SOS pathway. *Archives of Biochemistry and Biophysics*, 471(2), 146–158. <https://doi.org/10.1016/j.jabb.2008.01.010>
- Masscheleyn, P. H., Dlaune, R. D., & Patrick, J. R. (1991). Effect of redox potential and pH on arsenic speciation and solubility in a contaminated soil. *Science of the Total Environment*, 25(8), 1414–1419. <https://doi.org/10.1021/es00020a008>
- Massimo, P., Antonio, G. C., Lucia, C., Alessia, S., & Violante, A. (2015). Arsenic in the Soil Environment: Mobility and Phytoavailability. *Environmental Engineering Science*. 32(7), 551–563. <https://doi.org/10.1089/ees.2015.0018>
- Nriagu, J. O., Bhattacharya, P., Mukherjee, A. B., Bundschuh, J., Zevenhoven, R., & Loeppert, R. H. (2007). Arsenic in soil and groundwater: an overview. *Trace Metals and other Contaminants in the Environment*, 9, 3–60. [https://doi.org/10.1016/S1875-1121\(06\)09001-8](https://doi.org/10.1016/S1875-1121(06)09001-8)
- Petrusevski, B., Sharma, S., Schippers, J. C., & Shordt, K. (2007). *Arsenic in Drinking Water, Thematic Overview*. Oxford, United Kingdom: IRC International Water and Sanitation Centre.
- Rahman, M. A., Hasegawa, H., Ueda, K., Maki, T., & Rahman, M. M. (2008). Arsenic uptake by aquatic macrophyte *Spirodela polyrhiza* L.: Interactions with phosphate and iron. *Journal of Hazardous Materials*, 160(2–3), 356–361. <https://doi.org/10.1016/j.jhazmat.2008.03.022>
- Ravenscroft, P., Brammer, H., & Richards, K. (2009). *Arsenic Pollution*, New Jersey, United States: John Wiley & Sons.
- Sanz, E., Munoz-Olivas, R., Camara, C., Sengupta, M. K., & Ahamed, S. (2007). Arsenic speciation in rice, straw, soil, hair and nails samples from the arsenic-affected areas of

- Middle and Lower Ganga plain. *Journal of Environmental Science and Health*, 42(12), 1695–1705. <https://doi.10.1080/10934520701564178>
- Senn, A. C., Hug, S. J., Kaegi, R., Hering, J. G., & Voegelin, A. (2018). Arsenate co-precipitation with Fe(II) oxidation products and retention or release during precipitate aging. *Water Research*, 131, 334–345. <https://doi.org/10.1016/j.watres.2017.12.038>
- Signes-Pastor, A., Burló, F., Mitra, K., & Carbonell-Barrachina, A. A. (2007). Arsenic biogeochemistry as affected by phosphorus fertilizer addition, redox potential and pH in a west Bengal (India) soil. *Geoderma*, 137, 504–510. <https://doi.org/10.1016/j.geoderma.2006.10.012>
- Shree, J. D. (2018). *Calcium (Ca): Forms, Sources and Behavior/Soil*. Retrieved March 10, 2023, from <http://www.soilmanagementindia.com>.
- Stevens, J. (1992). *Applied multivariate statistics for the social sciences*, 2nd ed., New Jersey, United States: Lawrence Erlbaum Associate, Inc.
- Szegedi, K., Vetterlein, D., & Jahn, R. (2010). Modelling rhizosphere transport in the presence of goethite, including competitive uptake of phosphate and arsenate. *Plant and Soil*, 330(1), 481–501. <https://doi.10.1007/s11104-009-0221-9>
- Tingying, X. & Jeffrey, G. C. (2018). Effects of Ionic Strength on Arsenate Adsorption at Aluminum Hydroxide–Water Interfaces. *Soil system*. 2(1), 1 – 13. <https://doi.org/10.3390/soils2010001>
- Thor, K. (2019). Calcium–Nutrient and messenger. *Frontiers in Plant Science*, 10, 440. <https://doi.10.3389/fpls.2019.00440>
- Violante, A., & Pigna, M. (200). Competitive sorption of arsenate and phosphate on different clay minerals and soils. *Soil Science Society of America Journal*, 66, 1788–1796. <https://doi.10.2136/sssaj2002.1788>
- Wei, L., Dehong, C., Fang, X., Jeannie, Z. Y. T., Pei-Pei, H., Wei-Guo, S., Natalita, M. N., & Rachel, A. C. (2016). Extremely high arsenic removal capacity for mesoporous aluminium magnesium oxide composites. *Environmental Science: Nano*, 3(1), 94–106. <https://doi.10.1039/C5EN00171D>
- Zeng, X., He, Q., Bai, L., Li, L., & Su, S. (2011). The arsenic speciation transformation in artificially arsenic-contaminated fluvo-aquic soil (Beijing, China). *Plant, Soil and Environment*, 57(3), 108–114. <https://doi.10.17221/198/2010-PSE>
- Zou, Q., Liu, F., & Yang, J. H. (2009). Adsorption-desorption and competitive adsorption of arsenic and phosphorus in purple soil. *Journal of Applied Ecology*, 20(6), 1383–1389. <http://www.cjae.net/EN/abstract/abstract2339.shtml>

อิทธิพลของชนิดน้ำผลไม้และสารแอมโมเนียมซัลเฟตที่เหมาะสม ต่อการผลิตวันสวรรค

Influence of Fruit Juices and Optimum of Ammonium Sulfate on the Bacterial Cellulose Production

จิรวุฒิ เพิ่มพูล¹ ประมวล ทราทอง² วรางคณา เรียนสุทธิ^{3*}

Jirawut Permpool¹ Pramuan Saithong² Warangkha Riansut^{3*}

¹สาขาวิชาชีววิทยา คณะวิทยาศาสตร์และนวัตกรรมดิจิทัล มหาวิทยาลัยทักษิณ อำเภอป่าพะยอม จังหวัดพัทลุง ประเทศไทย

²ฝ่ายจุลชีววิทยาประยุกต์ สถาบันคั้นคว่ำและพัฒนาผลิตภัณฑ์อาหาร มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์ เขตจตุจักร กรุงเทพมหานคร ประเทศไทย

³สาขาวิชาคณิตศาสตร์และสถิติ คณะวิทยาศาสตร์และนวัตกรรมดิจิทัล มหาวิทยาลัยทักษิณ อำเภอป่าพะยอม จังหวัดพัทลุง ประเทศไทย

¹Department of Biology, Faculty of Science and Digital Innovation, Thaksin University, Pa Phayom, Phattalung, Thailand

²Department of Applied Microbiology, Institute of Food Research and Product Development, Kasetsart University, Chatuchak, Bangkok, Thailand

³Department of Mathematics and Statistics, Faculty of Science and Digital Innovation, Thaksin University, Pa Phayom, Phattalung, Thailand

บทคัดย่อ

วันสวรรคเป็นผลผลิตที่ได้จากการสังเคราะห์เซลลูโลสออกมาภายนอกเซลล์ ผลิตได้จากแบคทีเรีย งานวิจัยนี้มีวัตถุประสงค์เพื่อศึกษาอิทธิพลของชนิดน้ำผลไม้และปริมาณสารแอมโมเนียมซัลเฟตที่เหมาะสมต่อการผลิตวันสวรรคจากแบคทีเรียสายพันธุ์ *Acetobacter xylinum* วางแผนการทดลองแบบ 2×3 แฟกทอเรียลชนิดสุ่มสมบูรณ์ จำนวน 5 ซ้ำ โดยผันแปรชนิดน้ำผลไม้ 2 ชนิด ได้แก่ น้ำมะพร้าวและน้ำสับปะรด และสารแอมโมเนียมซัลเฟตที่ความเข้มข้น 3 ระดับ ได้แก่ ร้อยละ 0.25, 0.50 และ 0.75 เก็บข้อมูลน้ำหนักเปียกและความหนาของแผ่นวันสวรรค ผลการศึกษพบว่า อิทธิพลหลักของชนิดน้ำผลไม้และปริมาณสารแอมโมเนียมซัลเฟตต่อน้ำหนักเปียกและความหนาของแผ่นวันสวรรคแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญ ($p < 0.05$) โดยไม่มีอิทธิพลร่วมกันระหว่างชนิดน้ำผลไม้และปริมาณสารแอมโมเนียมซัลเฟตต่อน้ำหนักเปียกและความหนาของแผ่นวันสวรรค กรรมวิธีที่ให้ค่าเฉลี่ยของน้ำหนักเปียกและความหนาสูงที่สุด คือ น้ำมะพร้าว (น้ำหนักเปียก 37.67 ± 1.94 กรัม ความหนา 2.74 ± 0.18 เซนติเมตร) และระดับความเข้มข้นของสารแอมโมเนียมซัลเฟตร้อยละ 0.25 หรือ 0.50 (น้ำหนักเปียก 29.68 ± 9.46 และ 30.00 ± 9.08 กรัม ตามลำดับ ความหนา 2.15 ± 0.73 และ 2.18 ± 0.71 เซนติเมตร ตามลำดับ)

คำสำคัญ: วันสวรรค, อะซิโตแบคเตอร์ ไซลีนัม, น้ำมะพร้าว, น้ำสับปะรด, แอมโมเนียมซัลเฟต

ABSTRACT

Bacterial cellulose is a product obtained from the synthesis of cellulose outside the cell, produced by bacteria. The purpose of this research is to study the influence of fruit juices and the optimum of ammonium sulfate on bacterial cellulose production from *Acetobacter xylinum*. The experiments were conducted by a 2×3 factorial experiment using a completely randomized design with five replications. There were two types of fruit juice, including coconut water and pineapple juice. Three levels of ammonium sulfate were used at 0.25%, 0.50% and 0.75%. Wet weight and thickness of bacterial cellulose sheet were collected. The results showed that there was a significant difference ($p < 0.05$) between the main effects of fruit juices and the amount of ammonium sulfate on the wet weight and thickness of bacterial cellulose. However, there was no interaction effect between them. The treatments that gave the highest average of wet weight and thickness were coconut water (wet weight 37.67 ± 1.94 g., thickness 2.74 ± 0.18 cm.) and the concentration levels 0.25% or 0.50% of ammonium sulfate (wet weight 29.68 ± 9.46 and 30.00 ± 9.08 g. respectively, thickness 2.15 ± 0.73 and 2.18 ± 0.71 cm. respectively)

KEYWORDS: bacterial cellulose, *Acetobacter xylinum*, coconut water, pineapple juice, ammonium sulfate

*Corresponding Author: warang27@gmail.com

Received: 22/11/2021; Revised: 06/07/2023; Accepted: 09/07/2024

1. บทนำ

วุ้นสวรรค์ (Bacterial cellulose) เป็นผลผลิตที่ได้จากการสังเคราะห์เซลลูโลสออกมาภายนอกเซลล์ (Exopolysaccharide) ซึ่งผลิตได้จากแบคทีเรียหลายชนิด เช่น *Gluconacetobacter* (ชื่อเดิมคือ *Acetobacter*), *Agrobacterium*, *Aerobacter*, *Achromobacter*, *Azotobacter*, *Rhizobium*, *Sarcina* และ *Salmonella* (Shoda & Sugano, 2005) แบคทีเรียที่มีการศึกษามากที่สุดคือ *Acetobacter xylinum* (*A. xylinum*) โดยมีการนำไปใช้เป็นแบคทีเรียต้นแบบสำหรับการเรียนการสอนเรื่องแบคทีเรียที่มีความสามารถในการผลิตแผ่นเซลลูโลส เนื่องจาก *A. xylinum* สามารถผลิตได้จากวัตถุดิบที่หลากหลาย เช่น น้ำมะพร้าว น้ำลำไย กากน้ำตาล แก้วมังกร และน้ำสับปะรด เป็นต้น (Bielecki et al., 2005) ซึ่งได้รับการรายงานการนำ *A. xylinum* มาใช้ในการผลิตแผ่นเซลลูโลสครั้งแรกโดย Brown (1886)

A. xylinum เป็นแบคทีเรียผลิตกรดอะซิติก (Acetic acid bacteria) แกรมลบ มีทั้งรูปร่างแบบกลมและแบบแท่ง อยู่แยกเป็นเซลล์เดี่ยวหรือเรียงต่อกันเป็นสาย ต้องการอากาศในการเจริญ โดยเจริญได้ดีที่อุณหภูมิ 25 – 30 องศาเซลเซียส มีค่าความเป็นกรดต่าง 3 – 7 ใช้กลูโคสเป็นแหล่งคาร์บอนในการเจริญและสังเคราะห์เซลลูโลสออกมาภายนอกเซลล์ เมื่อเลี้ยงในอาหารเหลวหรือวัตถุดิบที่มีน้ำตาลจะผลิตกรดอะซิติกและชั้นวุ้นสีขาวหรือแผ่นเซลลูโลสลอยบนผิวหน้าอาหาร เรียกว่า Nata ทั้งนี้สีของแผ่นเซลลูโลสมีความแตกต่างกันไปขึ้นอยู่กับวัตถุดิบตั้งต้นที่นำมาใช้ในการหมัก หากใช้วัตถุดิบในการหมักต่างชนิดกันจะมีชื่อเรียกแตกต่างกันไป เช่น เมื่อใช้น้ำมะพร้าว เรียกว่า Nata de coco และถ้าใช้น้ำสับปะรด เรียกว่า Nata de pina เป็นต้น (Sutanto, 2012) โครงสร้างพื้นฐานของแผ่นเซลลูโลสคือ ไมโครไฟบริล (Microfibrils) ที่เชื้อ *A. xylinum* สร้างขึ้นประกอบด้วยสายพอลิเมอร์ขนาดเล็กที่มีหน่วยย่อยเป็นน้ำตาลกลูโคสเชื่อมต่อกันด้วยพันธะเบต้า 1, 4 ไกลโคซิดิก (β -1, 4-glycosidic bond) การสังเกตด้วยกล้องจุลทรรศน์อิเล็กตรอนแสดงให้เห็นว่าเซลลูโลสที่ผลิตโดย *A. xylinum* จะมองเห็นเป็นเส้นใยที่มีเส้นสายซ้อนทับกันมากมาย (Mühlethaler, 1949; Ul-Islam et al., 2012)

สารแอมโมเนียมซัลเฟต (Ammonium sulfate) มีสูตรทางเคมีคือ $(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4$ โดยมีการศึกษาเกี่ยวกับการเติมสารแอมโมเนียมซัลเฟตในกระบวนการผลิตวุ้นสวรรค์เพื่อให้ *A. xylinum* ใช้เป็นแหล่งไนโตรเจนในกระบวนการผลิตเซลลูโลสได้อย่างมีประสิทธิภาพ เช่น Jagannath et al. (2008) ได้ศึกษาการผลิตวุ้นสวรรค์จากน้ำมะพร้าว โดยเติมสารแอมโมเนียมซัลเฟตร้อยละ 0.25, 0.50 และ 0.75 ร่วมกับการเติมน้ำตาลซูโครสในช่วงร้อยละ 5 – 15 ปรับค่าความเป็นกรดต่างในช่วง 3.5 – 4.5 ผลการศึกษาพบว่า สารแอมโมเนียมซัลเฟตร้อยละ 0.50 ปริมาณน้ำตาลซูโครสร้อยละ 10 และค่าความเป็นกรดต่างที่ 4.0 ทำให้แผ่นวุ้นสวรรค์มีความหนา น้ำหนักเปียกและความจุน้ำสูงที่สุด Li et al. (2013) ได้ศึกษาการผลิตวุ้นสวรรค์จากน้ำมะพร้าว โดยเติมสารแอมโมเนียมซัลเฟตร้อยละ 0.00, 0.15, 0.30, 0.45, 0.60 และ 0.75 ใช้เชื้อ *Gluconacetobacter xylinus* Y15 ผลการศึกษาพบว่า เชื้อ *G. xylinus* Y15 เจริญได้ดีเมื่อมีการเติมสารแอมโมเนียมซัลเฟตร้อยละ 0.30 และ 0.45 และเจริญได้น้อยเมื่อมีการเติมสารแอมโมเนียมซัลเฟตร้อยละ 0.60 และ 0.75 Margaretty et al. (2020) ได้ศึกษาการผลิตวุ้นสวรรค์จากน้ำมะพร้าว โดยเติมสารแอมโมเนียมซัลเฟตร้อยละ 0.30, 0.40 และ 0.50 ใช้เวลาในการหมัก 15 วัน ที่อุณหภูมิห้องและไม่ให้มีการเคลื่อนย้ายตลอดระยะเวลาของการหมัก ผลการศึกษาพบว่า สารแอมโมเนียมซัลเฟตร้อยละ 0.50 ทำให้แผ่นวุ้นสวรรค์มีความหนา ปริมาณเส้นใย และร้อยละของผลผลิตสูงที่สุด และ Rojsuntornkitti et al. (2020) ได้ศึกษาการผลิตวุ้นสวรรค์จากน้ำสับปะรด โดยเติมสารแอมโมเนียมซัลเฟตร้อยละ 0.30, 0.40 และ 0.50 ผลการศึกษาพบว่า สารแอมโมเนียมซัลเฟตร้อยละ 0.50 ให้ความหนาและผลผลิตของวุ้นสวรรค์สูงที่สุด

ปัจจุบันวุ้นสวรรค์ได้รับความสนใจในอุตสาหกรรมอาหาร เนื่องจากข้อมูลด้านโภชนาการพบว่า เซลลูโลสที่ผลิตได้จากแบคทีเรียไม่สามารถย่อยได้ในลำไส้ของมนุษย์ ทั้งยังมีปริมาณเส้นใยอาหารสูง จึงเหมาะแก่ผู้บริโภคที่ต้องการควบคุมน้ำหนัก (Chawla et al., 2009) นอกจากนี้ยังมีการนำวุ้นสวรรค์ไปใช้ในอุตสาหกรรมยา เครื่องสำอาง สิ่งทอ และสารก่อเจล (Sutherland, 1998) การผลิตวุ้นสวรรค์นิยมผลิตจาก

วัตถุดิบน้ำมะพร้าวแก่ จึงเรียกอีกชื่อว่า วุ้นมะพร้าว (Nata de coco) มากกว่าการเรียกว่าวุ้นสวรรค์ โดยน้ำมะพร้าวที่นิยมนำมาผลิตเป็นวุ้นสวรรค์มักได้น้ำมะพร้าวแก่ที่เหลือจากการผลิตน้ำกะทิหรือการผลิตน้ำมันมะพร้าวสกัดเย็น ซึ่งส่วนใหญ่จะทิ้งเนื่องจากนำมาใช้ประโยชน์ได้ยาก การนำมาผลิตวุ้นสวรรค์จึงเป็นการเพิ่มมูลค่าน้ำมะพร้าวเหลือทิ้งได้ อย่างไรก็ตาม การผลิตวุ้นสวรรค์ยังสามารถใช้วัตถุดิบที่เป็นผลผลิตทางการเกษตรอื่น ๆ ที่ต้องการนำมาเพิ่มมูลค่าได้ เช่น สับปะรดและแก้วมังกรพันธุ์เนื้อสีแดง เป็นต้น (Sutanto, 2012; Dejsungkranont, 2018; Rojsuntomkitti et al., 2020) โดยเฉพาะสับปะรด (*Ananas comosus* (L.) Merr.) นับว่าเป็นพืชเศรษฐกิจที่สำคัญชนิดหนึ่งของประเทศไทย เนื่องจากประเทศไทยมีการส่งออกสับปะรดและผลิตภัณฑ์ที่ได้จากสับปะรดเป็นลำดับต้น ๆ ของโลก โดยในปี พ.ศ. 2562 ประเทศไทยมีมูลค่าการส่งออกสับปะรดสดหรือแช่เย็นจนแข็งสูงที่สุด มีมูลค่ามากถึง 78,509,087 บาท (Office of Agricultural Economics, 2021) แต่ยังมีสับปะรดที่ไม่ได้ขนาด ด้อยคุณภาพ เนื่องจากถูกเลืกกินไป สุกเกินไป อีกทั้งบางฤดูกาลยังมีปริมาณสับปะรดมากเกินไปจนล้นตลาด ทำให้ขายไม่ได้ราคา การนำน้ำสับปะรดมาใช้เป็นวัตถุดิบในการผลิตวุ้นสวรรค์ ทำให้มีการใช้วัตถุดิบที่มีราคาตกต่ำหรือเหลือทิ้งมาเพิ่มมูลค่าและแก้ปัญหาน้ำมะพร้าวแก่ขาดตลาดได้อีกด้วย

จากการศึกษาที่ผ่านมาพบว่า ยังไม่เคยมีการศึกษาผลของน้ำมะพร้าวและน้ำสับปะรด พร้อมกับการศึกษาระดับของสารแอมโมเนียมซัลเฟตที่เหมาะสมระหว่างความเข้มข้นร้อยละ 0.25, 0.50 และ 0.75 รวมถึงศึกษาอิทธิพลร่วมของชนิดน้ำผลไม้และปริมาณสารแอมโมเนียมซัลเฟตที่เหมาะสมต่อการผลิตวุ้นสวรรค์ โดยศึกษาว่าปัจจัยใดที่ส่งผลให้น้ำหนักเปียกและความหนาของแผ่นวุ้นสวรรค์มีคุณภาพสูงที่สุด จึงเป็นที่มาของการศึกษารังนี้เพื่อเป็นประโยชน์แก่ผู้ผลิตวุ้นสวรรค์สำหรับการจำหน่ายได้ทราบถึงปัจจัยที่เหมาะสมในการผลิตวุ้นสวรรค์ที่มีคุณภาพต่อไป

2. วัสดุและวิธีการ

การศึกษาอิทธิพลของชนิดน้ำผลไม้และปริมาณสารแอมโมเนียมซัลเฟตที่เหมาะสมต่อการผลิตวุ้นสวรรค์ ดำเนินการวิจัย ณ ฝ่ายจุลชีววิทยาประยุกต์ สถาบันคันควัวและพัฒนาผลิตภัณฑ์อาหาร มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์ ระหว่างวันที่ 23 กันยายน พ.ศ. 2564 – 3 ตุลาคม พ.ศ.

2564 วางแผนการทดลองแบบ 2×3 แฟกทอเรียลชนิดสุ่มสมบูรณ์ (2×3 Factorial in completely randomized design) จำนวน 5 ซ้ำ ซึ่งมีปัจจัยในการหมักเพื่อผลิตวุ้นสวรรค์ดังนี้

ปัจจัยที่ 1 ชนิดน้ำผลไม้ในการผลิตวุ้นสวรรค์ 2 ชนิด คือ น้ำมะพร้าวและน้ำสับปะรด

ปัจจัยที่ 2 สารแอมโมเนียมซัลเฟตที่ความเข้มข้น 3 ระดับ คือ ร้อยละ 0.25, 0.50 และ 0.75 ของปริมาณส่วนผสมระหว่างน้ำผลไม้ 135 มิลลิลิตร และกลัเชื้อ 15 มิลลิลิตร รวม 150 มิลลิลิตร ซึ่งคิดเป็น 0.375, 0.750 และ 1.125 กรัม

ขั้นตอนการทดลอง

1. เตรียมกลัเชื้อ (Starter culture) สำหรับการผลิตวุ้นสวรรค์ โดยนำน้ำมะพร้าวแก่ปริมาตร 450 มิลลิลิตร เติมน้ำตาลซูโครสร้อยละ 5.0 สารแอมโมเนียมซัลเฟตร้อยละ 0.5 กรดกลูเซอิก (Glacial acetic acid) ร้อยละ 1.0 เพื่อปรับค่าความเป็นกรดต่างให้อยู่ในช่วง 4.0 – 4.5 นำเข้าหม้อนึ่งความดันไอน้ำ (Autoclave) สำหรับฆ่าเชื้อที่อุณหภูมิ 115 องศาเซลเซียส แรงดันไอน้ำ 15 ปอนด์ต่อตารางนิ้ว ใช้ระยะเวลา 15 นาที เมื่อเสร็จแล้วนำมายางจนวนหายร้อนประมาณ 1 ชั่วโมง เติมห้วเชื้อ *A. xylinum* ร้อยละ 10 บ่มที่อุณหภูมิห้อง 5 วัน แบ่งส่วนใส่ออกเป็นชุด ๆ ละ 15 มิลลิลิตร จำนวน 30 ชุด ใส่ในหลอดทดลองที่ผ่านการฆ่าเชื้อเรียบร้อยแล้วเพื่อนำมาใช้เป็นกลัเชื้อในการศึกษาต่อไป

2. เตรียมขวดแก้วขนาดบรรจุ 200 มิลลิลิตร สูง 15 เซนติเมตร เส้นผ่านศูนย์กลางก้นขวด 4.9 เซนติเมตร เส้นผ่านศูนย์กลางปากขวด 4.6 เซนติเมตร จำนวน 30 ขวด พร้อมทั้งติดหมายเลข 1 – 30 เพื่อใช้ในการสุ่มหน่วยทดลองให้ได้รับปัจจัยในการหมักเพื่อผลิตวุ้นสวรรค์

3. เตรียมน้ำผลไม้เข้มข้น 2 ชนิด ได้แก่ น้ำมะพร้าวและน้ำสับปะรด โดยปรับค่าของแข็งที่ละลายได้ (Total soluble solids) ด้วยเครื่องวัดความหวาน (Refractometer) ให้มีค่า 12 องศาบริกซ์ สำหรับน้ำมะพร้าวจะปรับค่าด้วยน้ำตาลซูโครส และน้ำสับปะรดจะเจือจางด้วยน้ำสะอาด จากนั้นปรับค่าความเป็นกรดต่างให้อยู่ในช่วง 4.0 – 4.5 โดยใช้กรดกลูเซอิก ร้อยละ 1.0 สำหรับน้ำมะพร้าว และร้อยละ 0.2 สำหรับน้ำสับปะรด เพื่อให้ได้น้ำผลไม้ชนิดละ 2,025 มิลลิลิตร

4. แบ่งน้ำผลไม้ทั้ง 2 ชนิดลงในขวดแก้วชนิดละ 15 ขวด ปริมาตรขวดละ 135 มิลลิลิตร เพื่อเติมสารแอมโมเนียมซัลเฟตที่ความเข้มข้น 3 ระดับ ได้แก่ ร้อยละ 0.25, 0.50 และ 0.75 ตามลำดับการสุ่ม ดังตารางที่ 1

ปิดปากขวดด้วยผ้าขาวบางประกบกัน 2 ชั้น มัดปากขวดด้วยหนังยางและปิดปากขวดทับอีกครั้งด้วยอะลูมิเนียมฟอยล์ นำเข้าหม้อนึ่งความดันไอสําหรับฆ่าเชื้อที่อุณหภูมิ 115 องศาเซลเซียส แรงดันไอน้ำ 15 ปอนด์ต่อตารางนิ้ว ใช้ระยะเวลาหนึ่ง 15 นาที เมื่อเสร็จแล้วนำมาวางจนหายร้อนประมาณ 1 ชั่วโมง

5. เติมหาล้าเชื้อในข้อ 1 ลงในขวดที่มีน้ำผลไม้และสารแอมโมเนียมซัลเฟตเรียบร้อยแล้ว

6. ปิดปากขวดด้วยผ้าขาวบางประกบ 2 ชั้น และมัดปากขวดด้วยหนังยาง หมักที่อุณหภูมิห้องเป็นเวลา 10 วัน โดยห้ามเคลื่อนย้ายตลอดระยะเวลาของการหมัก (Siripanporn et al., 2001)

ตารางที่ 1 ลำดับการสุ่มหน่วยทดลองที่ได้รับปัจจัยในการหมักเพื่อผลิตวุ้นสวรรค์

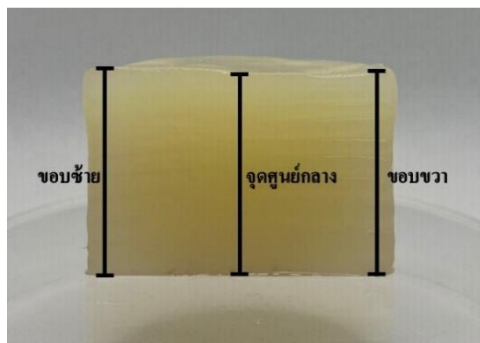
ชนิดน้ำผลไม้	สารแอมโมเนียมซัลเฟต		
	ร้อยละ 0.25	ร้อยละ 0.50	ร้อยละ 0.75
น้ำมะพร้าว	9, 27, 15, 12, 28	8, 29, 2, 19, 25	11, 17, 26, 3, 14
น้ำสับปะรด	20, 5, 22, 23, 4	10, 18, 24, 16, 21	13, 6, 1, 30, 7

การเก็บข้อมูล

เก็บข้อมูลวันที่ 10 ของการหมักวุ้นสวรรค์ คือวันที่ 3 ตุลาคม พ.ศ. 2564 เวลา 14.00 น. โดยเก็บข้อมูลน้ำหนักเปียกและความหนาของแผ่นวุ้นสวรรค์ ดังวิธีการต่อไปนี้

1. น้ำหนักเปียกของแผ่นวุ้นสวรรค์ (กรัม) เก็บข้อมูลโดยใช้ตะขอกเกี่ยวเฉพาะแผ่นวุ้นสวรรค์ที่มีลักษณะทรงกลมออกจากขวด จากนั้นนำแผ่นวุ้นสวรรค์วางบนกระดาษเพื่อซับน้ำจนผิวแห้งก่อนนำไปชั่งน้ำหนักด้วยเครื่องชั่ง 2 ตำแหน่ง

2. ความหนาของแผ่นวุ้นสวรรค์ (เซนติเมตร) เก็บข้อมูลโดยการนำแผ่นวุ้นสวรรค์มาตัดผ่ากลางจะได้รูปครึ่งทรงกลม จากนั้นใช้ไม้บรรทัดวัดความหนาทั้งหมด 3 จุด คือ จุดศูนย์กลาง ขอบซ้าย และขอบขวา ดังรูปที่ 2 แล้วหาค่าเฉลี่ย (Boonpan et al., 2013)



รูปที่ 2 วิธีการวัดความหนาของแผ่นวุ้นสวรรค์

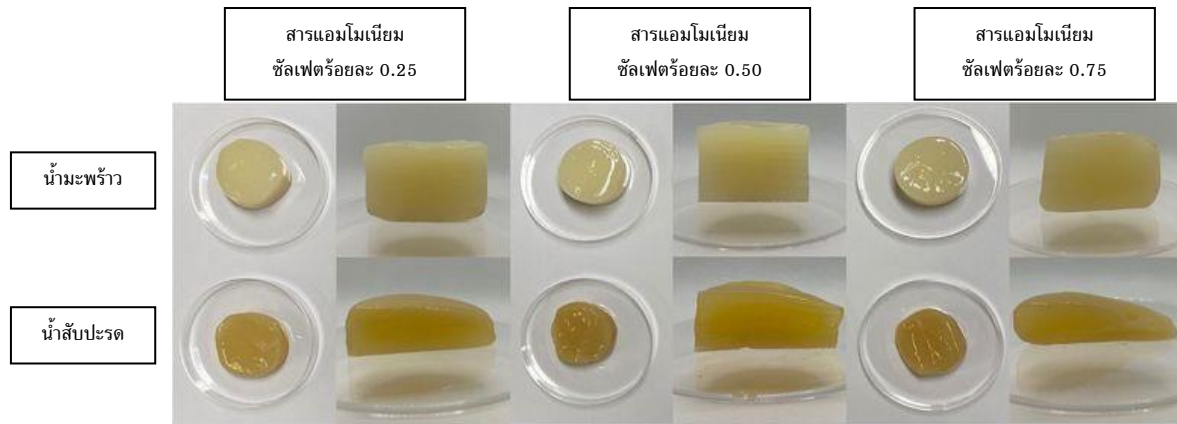
การวิเคราะห์ข้อมูล

นำข้อมูลน้ำหนักเปียกและความหนาของแผ่นวุ้นสวรรค์มาวิเคราะห์ข้อมูลที่ระดับนัยสำคัญ 0.05 โดยการวิเคราะห์ความแปรปรวน (Analysis of variance:

ANOVA) แบบแฟกทอเรียลชนิดสุ่มสมบูรณ์ที่มี 2 ปัจจัย พิจารณาการมีนัยสำคัญของปัจจัยหลักทั้ง 2 ปัจจัย คือ ชนิดน้ำผลไม้และปริมาณสารแอมโมเนียมซัลเฟตที่ใช้ในการผลิตวุ้นสวรรค์ หากพบว่ามีความนัยสำคัญจะทำการเปรียบเทียบค่าเฉลี่ยด้วยการทดสอบการเปรียบเทียบพหุคูณ (Multiple Comparisons Test) โดยวิธีการทดสอบของตุคีย์ (Tukey's Test) ซึ่งถ้าอิทธิพลร่วมมีความแตกต่างทางสถิติ จะเปรียบเทียบค่าเฉลี่ยด้วยการทดสอบการเปรียบเทียบพหุคูณเฉพาะอิทธิพลร่วมเท่านั้น แต่ถ้าอิทธิพลร่วมไม่มีความแตกต่างทางสถิติ จะเปรียบเทียบค่าเฉลี่ยด้วยการทดสอบการเปรียบเทียบพหุคูณของปัจจัยหลักที่มีความแตกต่างทางสถิติ และนำความคลาดเคลื่อนที่ได้จากการวิเคราะห์ความแปรปรวนตรวจสอบข้อสมมุติ (Assumptions) ของการวิเคราะห์ความแปรปรวน ได้แก่ ตรวจสอบการแจกแจงปกติด้วยการทดสอบชาฟิโร-วิลค์ (Shapiro-Wilk test: S-W) และตรวจสอบความเท่ากันของความแปรปรวนด้วยการทดสอบของเลวินภายใต้การใช้อนุฐาน (Levene's test based on median) (Riansut, 2016)

3. ผลการทดลอง

การหมักแผ่นวุ้นสวรรค์ด้วยน้ำมะพร้าวและน้ำสับปะรดจากเชื้อ *A. xylinum* ที่เติมสารแอมโมเนียมซัลเฟตร้อยละ 0.25, 0.50 และ 0.75 พบว่า การหมักด้วยน้ำมะพร้าวทำให้ลักษณะภายนอกของผิวหน้าเรียบ มีรูปทรงสวยงาม และแผ่นวุ้นสวรรค์หนากว่าการหมักด้วยน้ำสับปะรด ดังรูปที่ 3



รูปที่ 3 ลักษณะของแผ่นวุ้นสวรรค์

ผลการศึกษาอิทธิพลของชนิดน้ำผลไม้และปริมาณสารแอมโมเนียมซัลเฟตที่เหมาะสมต่อการผลิตวุ้นสวรรค์แสดงข้อมูลน้ำหนักเปียกและความหนาของแผ่นวุ้นสวรรค์ดังนี้

3.1 น้ำหนักเปียกของแผ่นวุ้นสวรรค์

ผลการศึกษาพบว่า ชนิดน้ำผลไม้ที่แตกต่างกันมีอิทธิพลต่อน้ำหนักเปียกเฉลี่ยของแผ่นวุ้นสวรรค์อย่างมีนัยสำคัญที่ระดับ 0.05 โดยการหมักวุ้นสวรรค์ด้วยน้ำมะพร้าวส่งผลให้น้ำหนักเปียกเฉลี่ยสูงกว่าการหมักวุ้นสวรรค์ด้วยน้ำสับปะรด 17.91 กรัม ปริมาณสารแอมโมเนียมซัลเฟตที่แตกต่างกันมีอิทธิพลต่อน้ำหนักเปียกเฉลี่ยของแผ่นวุ้นสวรรค์อย่างมีนัยสำคัญที่ระดับ 0.05 เมื่อเปรียบเทียบน้ำหนักเปียกเฉลี่ยของแผ่นวุ้นสวรรค์ด้วยการทดสอบของตูกีย์ พบว่า สารแอมโมเนียมซัลเฟตร้อยละ 0.50 และร้อยละ 0.25 เป็นกลุ่มของกรรมวิธีที่ส่งผลให้น้ำหนักเปียกเฉลี่ยของแผ่นวุ้นสวรรค์สูงที่สุด (30.00 และ 29.68 กรัม ตามลำดับ) ขณะที่สารแอมโมเนียมซัลเฟตร้อยละ 0.75 ให้น้ำหนักเปียกเฉลี่ยของแผ่นวุ้นสวรรค์ต่ำที่สุด คือ 26.47 กรัม อย่างไรก็ตาม

ผลการศึกษาครั้งนี้พบว่า ไม่มีอิทธิพลร่วมระหว่างชนิดน้ำผลไม้และปริมาณสารแอมโมเนียมซัลเฟตต่อน้ำหนักเปียกเฉลี่ยของแผ่นวุ้นสวรรค์ เมื่อนำความคลาดเคลื่อนที่ได้จากการวิเคราะห์ความแปรปรวนมาตรวจสอบข้อสมมุติพบว่า ความคลาดเคลื่อนของน้ำหนักเปียกของแผ่นวุ้นสวรรค์เมื่อใช้น้ำผลไม้ทั้ง 2 ชนิด มีการแจกแจงปกติและมีความแปรปรวนเท่ากัน (S-W statistic = 0.95, p-value = 0.46, S-W statistic = 0.94, p-value = 0.33 และ Levene statistic = 0.01, p-value = 0.93) และความคลาดเคลื่อนของน้ำหนักเปียกของแผ่นวุ้นสวรรค์เมื่อใช้ปริมาณสารแอมโมเนียมซัลเฟตที่แตกต่างกัน 3 ระดับ มีการแจกแจงปกติและมีความแปรปรวนเท่ากัน (S-W statistic = 0.90, p-value = 0.22, S-W statistic = 0.92, p-value = 0.32, S-W statistic = 0.93, p-value = 0.43 และ Levene statistic = 1.59, p-value = 0.22) จากผลการตรวจสอบข้อสมมุติของการวิเคราะห์ความแปรปรวน พบว่า ข้อสมมุติเป็นจริง ทำให้ผลการวิเคราะห์ความแปรปรวนที่ได้ในตารางที่ 3 มีความถูกต้องน่าเชื่อถือ

ตารางที่ 2 น้ำหนักเปียกของแผ่นวุ้นสวรรค์ (กรัม)

ชนิดน้ำผลไม้	สารแอมโมเนียมซัลเฟต		
	ร้อยละ 0.25	ร้อยละ 0.50	ร้อยละ 0.75
น้ำมะพร้าว	38.00, 39.32, 39.06, 39.94, 36.58	37.65, 38.02, 40.50, 39.55, 36.85	34.81, 36.99, 34.35, 38.66, 34.78
ค่าเฉลี่ย	38.58	38.51	35.92
ส่วนเบี่ยงเบนมาตรฐาน	1.319	1.481	1.85
น้ำสับปะรด	19.01, 21.08, 21.85, 21.66, 20.27	21.59, 20.10, 23.82, 21.20, 20.74	19.49, 19.41, 16.59, 12.85, 16.76
ค่าเฉลี่ย	20.77	21.49	17.02
ส่วนเบี่ยงเบนมาตรฐาน	1.16	1.42	2.71

ตารางที่ 3 ผลการวิเคราะห์ความแปรปรวนของน้ำหนักเปียกของแผ่นวุ้นสวรรค์และการเปรียบเทียบพหุคูณด้วยการทดสอบของดุกี

ปัจจัย	น้ำหนักเปียก (กรัม) (ค่าเฉลี่ย $\pm$ S.D.)	F
ชนิดน้ำผลไม้	น้ำมะพร้าว	37.67 ^a $\pm$ 1.94
	น้ำสับปะรด	19.76 ^b $\pm$ 2.68
สารแอมโมเนียมซัลเฟต	ร้อยละ 0.25	29.68 ^a $\pm$ 9.46
	ร้อยละ 0.50	30.00 ^a $\pm$ 9.08
	ร้อยละ 0.75	26.47 ^b $\pm$ 10.20
อิทธิพลร่วม		0.74

* แทนการมีนัยสำคัญที่ระดับ 0.05

ค่าเฉลี่ยที่มีตัวอักษรต่างกันแสดงถึงการมีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญที่ระดับ 0.05 เมื่อเปรียบเทียบด้วยการทดสอบของดุกี

3.2 ความหนาของแผ่นวุ้นสวรรค์

ผลการศึกษาพบว่า ชนิดน้ำผลไม้ที่แตกต่างกันมีอิทธิพลต่อความหนาเฉลี่ยของแผ่นวุ้นสวรรค์อย่างมีนัยสำคัญที่ระดับ 0.05 โดยการหมักวุ้นสวรรค์ด้วยน้ำมะพร้าวส่งผลให้ความหนาเฉลี่ยสูงกว่าการหมักวุ้นสวรรค์ด้วยน้ำสับปะรด 1.35 เซนติเมตร ปริมาณสารแอมโมเนียมซัลเฟตที่แตกต่างกันมีอิทธิพลต่อความหนาเฉลี่ยของแผ่นวุ้นสวรรค์อย่างมีนัยสำคัญที่ระดับ 0.05 เมื่อเปรียบเทียบความหนาเฉลี่ยของแผ่นวุ้นสวรรค์ด้วยการทดสอบของดุกี พบว่า สารแอมโมเนียมซัลเฟตร้อยละ 0.50 และร้อยละ 0.25 เป็นกลุ่มของกรรมวิธีที่ส่งผลให้ความหนาเฉลี่ยของแผ่นวุ้นสวรรค์สูงที่สุด (2.18 และ 2.15 เซนติเมตร ตามลำดับ) ขณะที่สารแอมโมเนียมซัลเฟตร้อยละ 0.75 ให้ความหนาเฉลี่ยของแผ่นวุ้นสวรรค์ต่ำที่สุด คือ 1.87 เซนติเมตร อย่างไรก็ตาม ผลการศึกษานี้พบว่า ไม่มีอิทธิพลร่วมระหว่างชนิดน้ำผลไม้และปริมาณสารแอมโมเนียมซัลเฟตต่อความหนาเฉลี่ยของ

แผ่นวุ้นสวรรค์ เมื่อนำความคลาดเคลื่อนที่ได้จากการวิเคราะห์ความแปรปรวนมาตรวจสอบข้อสมมุติ พบว่า ความคลาดเคลื่อนของความหนาของแผ่นวุ้นสวรรค์เมื่อใช้น้ำผลไม้ทั้ง 2 ชนิด มีการแจกแจงปกติและมีความแปรปรวนเท่ากัน (S-W statistic = 0.97, p-value = 0.83, S-W statistic = 0.95, p-value = 0.51 และ Levene statistic = 0.51, p-value = 0.48) และความคลาดเคลื่อนของความหนาของแผ่นวุ้นสวรรค์เมื่อใช้ปริมาณสารแอมโมเนียมซัลเฟตที่แตกต่างกัน 3 ระดับ มีการแจกแจงปกติและมีความแปรปรวนเท่ากัน (S-W statistic = 0.94, p-value = 0.52, S-W statistic = 0.94, p-value = 0.50, S-W statistic = 0.86, p-value = 0.08 และ Levene statistic = 0.13, p-value = 0.88) จากผลการตรวจสอบข้อสมมุติของการวิเคราะห์ความแปรปรวนพบว่า ข้อสมมุติเป็นจริง ทำให้ผลการวิเคราะห์ความแปรปรวนที่ได้ในตารางที่ 5 มีความถูกต้อง น่าเชื่อถือ

ตารางที่ 4 ค่าเฉลี่ยความหนาของแผ่นวุ้นสวรรค์จากการวัดจุดศูนย์กลาง ขอบซ้าย และขอบขวา (เซนติเมตร)

ชนิดน้ำผลไม้	สารแอมโมเนียมซัลเฟต		
	ร้อยละ 0.25	ร้อยละ 0.50	ร้อยละ 0.75
น้ำมะพร้าว	2.63, 2.93, 2.83, 2.87, 2.87	2.77, 3.07, 2.83, 2.90, 2.57	2.57, 2.77, 2.57, 2.53, 2.43
ค่าเฉลี่ย	2.83	2.83	2.57
ส่วนเบี่ยงเบนมาตรฐาน	0.12	0.18	0.12
น้ำสับปะรด	1.20, 1.60, 1.70, 1.53, 1.37	1.47, 1.37, 1.77, 1.47, 1.53	1.17, 1.43, 1.07, 1.03, 1.13
ค่าเฉลี่ย	1.48	1.52	1.17
ส่วนเบี่ยงเบนมาตรฐาน	0.20	0.15	0.16

ตารางที่ 5 ผลการวิเคราะห์ความแปรปรวนของความหนา (เซนติเมตร) ของแผ่นวุ้นสวรรค์ และการเปรียบเทียบพหุคูณด้วยการทดสอบของดุกี

ปัจจัย	ความหนา (เซนติเมตร) (ค่าเฉลี่ย $\pm$ S.D.)	F
ชนิดน้ำผลไม้	น้ำมะพร้าว	2.74 ^a $\pm$ 0.18
	น้ำสับปะรด	1.39 ^b $\pm$ 0.23
สารแอมโมเนียมซัลเฟต	ร้อยละ 0.25	2.15 ^a $\pm$ 0.73
	ร้อยละ 0.50	2.18 ^a $\pm$ 0.71
	ร้อยละ 0.75	1.87 ^b $\pm$ 0.75
อิทธิพลร่วม		0.27

* แทนการมีนัยสำคัญที่ระดับ 0.05

ค่าเฉลี่ยที่มีตัวอักษรต่างกันแสดงถึงการมีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญที่ระดับ 0.05 เมื่อเปรียบเทียบด้วยการทดสอบของดุกี

4. การอภิปราย

น้ำหนักเปียกและความหนาแสดงถึงคุณภาพของแผ่นเซลลูโลสหรือแผ่นวุ้นสวรรค์ที่ได้จากการที่เชื้อ *A. xylinum* สามารถใช้วัตถุดิบตั้งต้นที่นำมาหมักร่วมกับการปรับสภาวะได้อย่างมีประสิทธิภาพ หมายความว่า ค่าของน้ำหนักเปียกและความหนาที่มากแสดงถึงการหมักที่ได้ผลดี ซึ่งผลการศึกษานี้พบว่า การใช้น้ำมะพร้าวในการผลิตวุ้นสวรรค์ทำให้ค่าเฉลี่ยของน้ำหนักเปียกและความหนาของแผ่นวุ้นสวรรค์สูงกว่าการใช้ น้ำสับปะรด และยังทำให้แผ่นวุ้นสวรรค์มีผิวหน้าเรียบ รูปทรงสวยงามกว่า ขณะที่การใช้ น้ำสับปะรดในการผลิตวุ้นสวรรค์จะได้แผ่นวุ้นที่มีรูปทรงบิดเบี้ยว ถ้านำไปใช้จะต้องมีการตัดส่วนที่บิดเบี้ยวออกให้เป็นรูปทรงลูกบาทก่อน จึงเป็นการสิ้นเปลือง และเสียเวลา สาเหตุที่น้ำมะพร้าวมีประสิทธิภาพในการหมักดีกว่า น้ำสับปะรดอาจเนื่องมาจากแบคทีเรียใช้แหล่งคาร์บอนในการผลิตแผ่นวุ้นสวรรค์ได้แก่ น้ำตาลชนิดต่าง ๆ เช่น กลูโคส ฟรุคโตส มอลโทส ไซโลส เป็นต้น โดยน้ำมะพร้าวมีน้ำตาลกลูโคสเป็นหลัก ต่างจากน้ำสับปะรดที่มีน้ำตาลฟรุคโตสเป็นหลัก ซึ่งแผ่นวุ้นสวรรค์ประกอบด้วยสายพอลิเมอร์ขนาดเล็กที่มีหน่วยย่อยเป็นน้ำตาลกลูโคสเชื่อมต่อกัน จึงเป็นผลให้แบคทีเรียใช้แหล่งคาร์บอนในน้ำมะพร้าวได้อย่างมีประสิทธิภาพมากกว่าในน้ำสับปะรด (Coban & Biyik, 2011) ส่งผลให้แผ่นวุ้นสวรรค์ที่ผลิตจากน้ำมะพร้าวมีน้ำหนักเปียกและความหนาสูงกว่าการใช้ น้ำสับปะรด การศึกษาครั้งนี้ยังพบว่า สารแอมโมเนียมซัลเฟตร้อยละ 0.25 และ 0.50 ส่งผลให้ค่าเฉลี่ยของน้ำหนักเปียกและความหนาของแผ่นวุ้นสวรรค์สูงกว่าการใช้สารแอมโมเนียมซัลเฟตร้อยละ 0.75 สาเหตุที่เป็นเช่นนี้อาจเนื่องมาจาก การเติมสารแอมโมเนียมซัลเฟตในปริมาณที่มากเกินไปจะส่งผลให้เซลล์มีการนำไปใช้ในการเจริญมากกว่าการสร้างผลิตภัณฑ์หรือแผ่นวุ้นสวรรค์ การศึกษาครั้งนี้สอดคล้องกับ Jagannath et al. (2008), Margaretty et al. (2020) และ Rojsuntornkitti et al. (2020) ที่พบว่า สารแอมโมเนียมซัลเฟตร้อยละ 0.50 ให้แผ่นวุ้นสวรรค์มีประสิทธิภาพสูงสุด และสอดคล้องกับการศึกษาของ Li et al. (2013) ที่พบว่า เชื้อ *G. xylinus* Y15 เจริญได้ดีเมื่อมีการเติมสารแอมโมเนียมซัลเฟตร้อยละ 0.30 และ 0.45 และเจริญได้น้อยเมื่อมีการเติมสารแอมโมเนียมซัลเฟตร้อยละ 0.60 และ 0.75

5. บทสรุป

ชนิดน้ำผลไม้ส่งผลให้น้ำหนักเปียกและความหนาของแผ่นวุ้นสวรรค์มีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญที่ระดับ 0.05 โดยการผลิตวุ้นสวรรค์ด้วยน้ำมะพร้าวให้ผลน้ำหนักเปียกและความหนาของแผ่นวุ้นสวรรค์สูงกว่าการใช้ น้ำสับปะรด และยังทำให้ได้แผ่นวุ้นสวรรค์ที่มีผิวหน้าเรียบ รวมถึงรูปทรงสวยงามกว่า ปริมาณสารแอมโมเนียมซัลเฟตส่งผลให้น้ำหนักเปียกและความหนาของแผ่นวุ้นสวรรค์มีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญที่ระดับ 0.05 โดยการผลิตวุ้นสวรรค์ด้วยสารแอมโมเนียมซัลเฟตร้อยละ 0.25 และ 0.50 ให้ผลน้ำหนักเปียกและความหนาของแผ่นวุ้นสวรรค์สูงกว่าการใช้สารแอมโมเนียมซัลเฟตร้อยละ 0.75 ดังนั้นน้ำผลไม้ที่แนะนำให้ใช้ในการผลิตวุ้นสวรรค์ คือ น้ำมะพร้าว และสารแอมโมเนียมซัลเฟตระดับที่แนะนำ คือ ความเข้มข้นร้อยละ 0.25 หรือ 0.50 เพราะจะทำให้ได้วุ้นสวรรค์ที่มีค่าเฉลี่ยของน้ำหนักเปียกและความหนาสูงสุด การศึกษาครั้งต่อไป ควรมีการวิเคราะห์แผ่นวุ้นด้านอื่น ๆ นอกเหนือจากน้ำหนักเปียกและความหนา เช่น องค์ประกอบทางเคมี การวัดสี การประเมินทางประสาทสัมผัส เพื่อให้ได้ข้อมูลลักษณะแผ่นวุ้นที่ครอบคลุมมากยิ่งขึ้น รวมถึงควรศึกษาเปรียบเทียบผลของการนำน้ำผลไม้ชนิดอื่น ๆ เช่น น้ำลำไย ในระดับความเข้มข้นต่าง ๆ ของสารแอมโมเนียมซัลเฟตมาผลิตวุ้นสวรรค์

เอกสารอ้างอิง

- Bielecki, S., Krystynowicz, A., Turkiewicz, M. & Kalinowska H. (2005). *Bacterial cellulose. Polysaccharides and polyamides in the food industry: properties, production, and patents.* pp. 31–84. Wiley-VCH Verlag GMBH & Co. Kga Publisher.
- Boonpan, A., Pongswat, S. & Khampha, C. (2013). A study on the optimum condition for nata production from molasses. *In the 48th Kasetsart University Annual Conference, 3–5 March, 2010,* (pp. 547–554). Bangkok: Faculty of Agricultural, Kasetsart University.
- Brown, A. J. (1886). An acetic ferment which forms cellulose. *Scientific American supplement*, 21(545), 8701–8702.
- Chawla, P. R., Bajaj, I. B., Survase, S. A., & Singhal, R. S. (2009). Microbial cellulose: fermentative production and applications. *Food Technology Biotechnology*, 47(2), 107–124.
- Coban, E. P., & Biyik, H. (2011). Effect of various carbon and nitrogen sources on cellulose synthesis by *Acetobacter lovaniensis* HBB5. *African Journal of Biotechnology*, 10(27), 5346–5354.
- Dejsungrakranton, M. (2018). A study on the optimum condition for bacterial cellulose production from red dragon fruit (*Hylocereus polyrhizus* (Weber) Britton & Rose) using response surface methodology. *Khon Kaen Agriculture Journal*, 46(2), 213–226.

- Jagannath, A., Kalaiselvan, A., Manjunatha, S. S., Raju, P. S. & Bawa, A. S. (2008). The effect of pH, sucrose and ammonium sulphate concentrations on the production of bacterial cellulose (*Nata-de-coco*) by *Acetobacter xylinum*. *World Journal of Microbiology & Biotechnology*, 24(11), 2593–2599.
- Li, L., Liu, S. & Li, C. (2013). Effect of coconut water on the growth of *Gluconacetobacter xylinus* Y15. *Advanced Materials Research*, 9(781–784), 1736–1740.
- Margarety, E., Dewi, E., Kalsum, L., Ningsih, A. S. & Amin J. M. (2020). Effect of sugar, ammonium sulfate and magnesium sulfate as supplementary nutrients in coconut water fermented by *Acetobacter xylinum* to produce biocellulose membranes. *Atlantis Highlights in Engineering*, 4(7), 89–94.
- Mühlethaler, K. (1949). The structure of bacterial cellulose. *Biochimica et Biophysica Acta*, 3(1), 527–535.
- Office of Agricultural Economics. (2021). *Export statistics of fresh or frozen pineapple from 2011 to 2021*. Retrieved October 15, 2021, from http://impexp.oae.go.th/service/export.php?S_YEAR=2554&E_YEAR=2564&PRODUCT_GROUP=5252&PRODUCT_ID=5001&wf_search=&WF_SEARCH=Y#export.
- Riansut, W. (2016). *Experimental Designs*. Songkhla: Thaksin University Book Center.
- Rojsuntornkitti, K., Jittrepotch, N., Kongbangkerd, T., Phanumong, P., Thongchuang, M. & Kraboun K. (2020). Effect of $(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4$ on some qualities of Nata de pina produced by *Acetobacter xylinum*. *Food and Environment Safety Journal*, 19(1), 92–97.
- Shoda, M. & Sugano, Y. (2005). Recent advances in bacterial cellulose production. *Biotechnology and Bioprocess Engineering*, 10(1), 1–8.
- Siripanporn, J., Tammarate, P., Stonsaovapak, S., Saiyudthong, S., Vachanavinich, K., Maleehuan, S., Tammarate, S. & Dinh-Ngoc-Loan (2001). Factors effecting on bacterial cellulose production from coconut milk. *Food Journal (Thailand)*, 31(3), 166–173.
- Sutanto, A. (2012). Pineapple liquid waste as Nata de pina raw material. *MAKARA Journal of Technology*, 16(1), 63–67.
- Sutherland, I. W. (1998). Novel and established applications of microbial polysaccharides. *Trends in Biotechnology*, 16(1), 41–46.
- Ul-Islam, M., Khan, T. & Park, J. K. (2012). Water holding and release properties of bacterial cellulose obtained by in situ and ex situ modification. *Carbohydrate Polymers*, 88(2), 596–603.

การประมวลผลภาพสำหรับระบบชำระเงินด้วยตนเอง โดยใช้การตรวจจับวัตถุ และการรู้จำหมวดหมู่ย่อย

Self-checkout system using vision-based object detection and subcategory recognition

ณิชารีย์ ดำรงศักดิ์¹ และ จูติรัตน์ ศิริบรรณรัตน์กุล^{1*}

Nicharee Dumrongsak¹ and Thitirat Siriborvornratanakul^{1*}

¹คณะสถิติประยุกต์ สถาบันบัณฑิตพัฒนบริหารศาสตร์ 148 ถนนเสรีไทย แขวงคลองจั่น เขตบางกะปิ กรุงเทพมหานคร ประเทศไทย

¹Graduate School of Applied Statistics, National Institute of Development Administration (NIDA), 148 SeriThai Rd., Khlong Chan, Bang Kapi, Bangkok Thailand

บทคัดย่อ

การศึกษานี้มีวัตถุประสงค์เพื่อศึกษาและพัฒนากรอบแนวคิดสำหรับระบบชำระเงินด้วยตนเอง ที่สามารถตรวจจับและบันทึกสินค้าทั้งหมดได้โดยอาศัยภาพจากกล้องที่ติดตั้งไว้ ณ จุดชำระเงิน ด้วยการนำแบบจำลองการเรียนรู้เชิงลึกมาใช้ในการตรวจจับสินค้า ร่วมกับเทคนิคของคอมพิวเตอร์วิทัศน์ที่มีความแม่นยำ สามารถแยกแยะสินค้าที่มีลักษณะคล้ายคลึงกัน หรือกลุ่มสินค้าที่มีหมวดหมู่ย่อย (sub category) และมีความยืดหยุ่นในการรองรับสินค้าใหม่ได้โดยไม่ต้องทำการฝึกสอนแบบจำลองใหม่ ด้วยกลไกการสกัดคุณลักษณะเฉพาะ และการจับคู่คุณลักษณะกับภาพอ้างอิง ผู้วิจัยได้ทำการออกแบบกรอบแนวคิดโดยใช้แบบจำลอง YOLO ในการตรวจจับและระบุรูปทรงบรรจุภัณฑ์ของสินค้า พร้อมกำหนดตำแหน่งขอบเขต (Bounding boxes) ของสินค้าที่ตรวจพบในภาพ แล้วนำภาพในขอบเขตของสินค้าที่ตรวจพบไประบุลักษณะเฉพาะของภาพ (feature point) ด้วยอัลกอริทึม SIFT, ORB และ BRISK และจับคู่ (feature matching) กับภาพต้นแบบของสินค้าเพื่อทำนายชนิดของสินค้า จากการทดลองใช้กรอบแนวคิดนี้บนชุดข้อมูลของสินค้าอุปโภคบริโภคในประเทศไทยที่ผู้วิจัยเก็บข้อมูลมาพบว่า กรอบแนวคิดนี้สามารถนำมาใช้ในการตรวจจับและบันทึกสินค้าในระบบชำระเงินด้วยตนเองได้ โดยแบบจำลอง YOLO สามารถทำนายรูปทรงและระบุตำแหน่งของสินค้าด้วยค่า mAP เฉลี่ยอยู่ที่ 0.727 และอัลกอริทึมสำหรับระบุลักษณะเฉพาะของภาพสินค้าที่ดีที่สุดคือ SIFT โดยมีความแม่นยำในการทำนายชนิดของสินค้าถูกต้อง 82.96% กล่าวโดยสรุป จากการทดลองของงานวิจัยนี้ พบว่า การนำเทคนิคการสกัดคุณลักษณะเฉพาะ และการจับคู่คุณลักษณะกับภาพอ้างอิงอย่าง SIFT สามารถช่วยเพิ่มประสิทธิภาพของแบบจำลอง YOLO ได้ เนื่องจาก SIFT ช่วยให้สามารถทำนายชนิดของสินค้าได้แม่นยำ แม้ว่าการระบุขอบเขตของสินค้านั้นจะไม่ครอบคลุมพื้นที่ทั้งหมดในภาพของตัวสินค้าก็ตาม แต่ข้อจำกัดที่พบจากการทดลอง คือ การระบุลักษณะเฉพาะของภาพด้วยอัลกอริทึม SIFT และจับคู่กับภาพต้นแบบของสินค้านั้น จะมีความถูกต้องในการทำนายต่ำ เมื่อทำนายสินค้าที่มีลักษณะเป็นรูปทรงขวด ซึ่งคาดว่าเป็นผลจากปัจจัยเรื่องของแสง และเงาที่สะท้อนจากขวด ดังนั้น ควรมีการควบคุมสิ่งแวดล้อมบริเวณจุดชำระเงิน เพื่อให้ภาพสินค้าที่จะนำไปประมวลผลมีความคมชัด ไม่มีสิ่งกีดขวาง และปราศจากแสง และเงารบกวน

คำสำคัญ: ระบบชำระเงินด้วยตนเอง, แบบจำลองการเรียนรู้เชิงลึก, สินค้าที่มีหมวดหมู่ย่อย, ลักษณะเฉพาะของภาพ

ABSTRACT

The purpose of this research was to study and develop a conceptual framework for self-checkout systems to use only cameras at the checkout station to detect goods from customers. This framework is designed to use deep learning models and computer vision to classify similar products or identify sub-category products with similar appearances but different sizes. The framework is flexible to use with no retraining whenever a new product or package is introduced by using feature point extraction and feature point matching. The researcher uses the YOLO model to detect and identify the shape of the products and also defines the bounding boxes in the detected image, and then defines the feature point of the product using feature point algorithms (e.g. SIFT, ORB, and BRISK) and feature matching with reference images. The results from the experiment on the Thai products dataset that was collected by the researcher found that this framework can be applied to effectively detect and recognize retail products in a self-checkout system. The YOLO model can predict the shape and position of the product with an average mAP of 0.727, and the best feature point algorithm for product classification from this experiment is SIFT, which has an accuracy of 82.96%. In summary, SIFT can improve the accuracy of YOLO. Because of SIFT, the system can accurately predict the product class, although the YOLO bounding box does not cover an

entire region occupied by a product. However, this experiment has a limitation because SIFT has low accuracy when predicting products in bottle shape. This is expected to be a result of the light and shadows reflected from the bottles. Therefore, the environment at the checkout area should be controlled. The product images should be clear, have no obstructions, and be free from disturbing light and shadows.

KEYWORDS: Self-checkout system, Deep learning, Sub category, Feature point

*Corresponding Author: thitirat@as.nida.ac.th

Received: 14/06/2023; Revised: 29/02/2024; Accepted: 19/06/2024

1. บทนำ

ร้านค้าปลีก (retail store) เป็นแหล่งจำหน่ายสินค้าอุปโภคบริโภคในชีวิตประจำวันของประชาชนทุกเพศทุกวัย ในประเทศไทยมีร้านค้าปลีกอยู่หลากหลายรูปแบบแยกตามขนาดของร้านและประเภทสินค้าที่วางจำหน่ายแตกต่างกัน เพื่อรองรับผู้บริโภคกลุ่มต่างๆ อาทิเช่น ซูเปอร์มาร์เก็ต เป็นร้านค้าปลีกขนาดใหญ่ที่เน้นสินค้าประเภทอาหารและของใช้จำเป็นในครัวเรือน ส่วนร้านสะดวกซื้อ จะมีขนาดของร้านที่เล็ก เน้นขายสินค้าอุปโภคบริโภคที่ใช้ในชีวิตประจำวัน เป็นต้น ดังนั้น ร้านค้าปลีกแต่ละประเภทจึงให้ประสบการณ์ในการเดินเลือกซื้อสินค้าที่แตกต่างกัน แต่เมื่อพิจารณาถึงกระบวนการชำระสินค้าในร้านค้าปลีกทุกประเภทพบว่าผู้บริโภคจะต้องนำสินค้ามาชำระเงินที่เคาน์เตอร์คิดเงิน และจะมีพนักงานบันทึกสินค้าที่ละชิ้น เพื่อคำนวณค่าสินค้าทั้งหมดพร้อมรับชำระเงิน ทว่าในสถานการณ์ที่มีผู้มาใช้บริการมาก กระบวนการดังกล่าวจะกลายเป็นจุดคอขวดที่สร้างระยะเวลาในการรอคิวให้กับผู้บริโภค หากร้านค้ามีจำนวนเคาน์เตอร์คิดเงินและพนักงานรองรับไม่เพียงพอ ซึ่งการให้บริการที่ล่าช้านี้ส่งผลต่อการตัดสินใจใช้บริการร้านค้าปลีก (Chaiyasoonthorn & Suksa-ngiam, 2011) จึงเป็นที่มาให้ระบบชำระเงินด้วยตนเอง (self-checkout system) ถูกพัฒนาขึ้นเพื่อนำมาใช้แก้ปัญหาข้างต้น และเป็นการปรับปรุงประสบการณ์ของผู้บริโภคให้สอดคล้องกับวิถีชีวิตของผู้คนในยุคสมัยใหม่ ที่สามารถเรียนรู้การใช้งานเทคโนโลยีต่างๆ ด้วยตนเองได้มากยิ่งขึ้น

ระบบชำระเงินด้วยตนเอง (self-checkout system) เป็นระบบที่พัฒนาขึ้นมาเพื่อให้ผู้บริโภคสามารถทำการบันทึกสินค้าด้วยตนเองและระบบจะทำการคำนวณค่าสินค้าทั้งหมดพร้อมรับชำระเงิน โดยที่ไม่จำเป็นต้องมีพนักงานมาประจำเครื่องเพื่อทำการให้ ซึ่งปัจจุบันในยุคที่เทคโนโลยีมีความก้าวหน้ามาก ระบบชำระเงินด้วย

ตนเองได้ถูกนิยมนำมาพัฒนาด้วยการเรียนรู้เชิงลึก (deep learning) สำหรับใช้ในการตรวจจับสินค้า (object detection) ซึ่งการใช้การเรียนรู้เชิงลึก จะช่วยให้ระบบสามารถตรวจจับและบันทึกสินค้าทั้งหมดได้เองโดยอาศัยภาพจากกล้องที่ติดตั้งไว้ ผู้บริโภคเพียงนำสินค้าทั้งหมดมาวางในพื้นที่ที่กำหนด และระบบประมวลผลแล้วชำระเงิน ดังนั้น วิธีนี้จึงเป็นวิธีที่สะดวกสบายต่อผู้บริโภค และสามารถช่วยลดเวลาในการทำรายการได้อีกด้วย

จากการศึกษางานวิจัยที่เกี่ยวข้องกับการตรวจจับสินค้าด้วยการเรียนรู้เชิงลึก พบว่า มีงานวิจัยในต่างประเทศมากมายที่ใช้แบบจำลองของการเรียนรู้เชิงลึกแตกต่างกัน แต่แบบจำลองที่ให้ประสิทธิภาพดีในปัจจุบัน จำเป็นที่จะต้องเรียนรู้ใหม่ทุกครั้งเมื่อมีสินค้าชนิดใหม่เข้ามา จึงกลายเป็นปัญหาสำคัญเมื่อนำมาใช้ในธุรกิจค้าปลีกที่มักเกิดสินค้าใหม่หรือเปลี่ยนแปลงรวดเร็วของผลิตภัณฑ์แทบทุกวัน ซึ่งการรวบรวมข้อมูลของสินค้าใหม่และการเรียนรู้ของแบบจำลองในแต่ละครั้งจะต้องใช้เวลานาน ก่อให้เกิดปัญหาเรื่องความยืดหยุ่นในการนำไปใช้งานจริง (Wei et al., 2020) นอกจากนี้การใช้แบบจำลองของการเรียนรู้เชิงลึกในการตรวจจับสินค้า มักพบปัญหาเรื่องของการแยกแยะสินค้าที่มีลักษณะคล้ายคลึงกัน หรือกลุ่มสินค้าที่มีหมวดหมู่ย่อย (sub category) เช่น สินค้ายี่ห้อเดียวกัน แต่มีรสชาติแตกต่างกัน หรือมีขนาดแตกต่างกัน ซึ่งสินค้ากลุ่มนี้จะมีรูปลักษณ์และรายละเอียดของผลิตภัณฑ์ที่แตกต่างกันเพียงเล็กน้อยจนทำให้แบบจำลองทำนายสินค้าผิดพลาดไปรวมถึงเรื่องของสินค้าที่มีความใกล้เคียงกันและการวางทับซ้อนกันของสินค้า มักจะเป็นปัญหาสำหรับการใช้แบบจำลองของการเรียนรู้เชิงลึกในการตรวจจับสินค้าในปัจจุบัน (Hsia et al., 2022) ดังนั้นจากปัญหาของการนำแบบจำลองการเรียนรู้เชิงลึกมาใช้ในการตรวจจับสินค้าของระบบชำระเงินด้วยตนเองที่กล่าวมาข้างต้นนี้ทำให้ผู้วิจัยมีความสนใจที่จะ

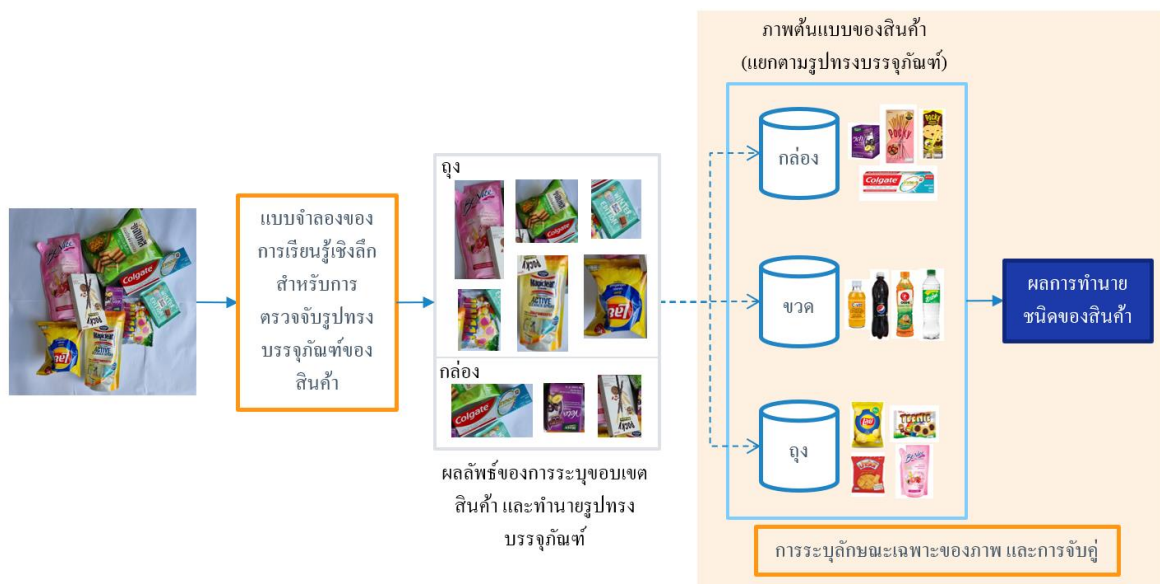
ทำการค้นคว้าวิจัยถึงความเป็นไปได้ในการพัฒนารอบแนวคิดที่จะสามารถแก้ปัญหาดังกล่าว โดยอาศัยการผสมผสานของแบบจำลองการเรียนรู้เชิงลึกที่มีความรวดเร็วในการตรวจจับ ร่วมกับเทคนิคของคอมพิวเตอร์วิทัศน์ที่มีความแม่นยำในการแยกแยะสินค้ามีลักษณะคล้ายคลึงกัน และมีความยืดหยุ่นในการรองรับสินค้าใหม่ได้โดยไม่ต้องทำการฝึกสอนแบบจำลองใหม่ทุกครั้งที่มีการเพิ่มสินค้าใหม่

วัตถุประสงค์และวิธีการทดลอง

1. กรอบแนวคิด

งานวิจัยนี้ได้แรงบันดาลใจในการสร้างกรอบแนวคิดมาจากการสังเกตรูปทรงบรรจุภัณฑ์ของสินค้าที่ขายในร้านค้าปลีก ผู้วิจัยได้เล็งเห็นว่าสินค้าส่วนใหญ่มีกรูปร่างของบรรจุภัณฑ์ที่ใกล้เคียงกัน อีกทั้งบรรจุภัณฑ์ยัง

เป็นส่วนใหญ่ที่ไม่ได้ถูกเปลี่ยนแปลงบ่อยนัก เมื่อเทียบกับผลผลิตของผลิตภัณฑ์ โดยสามารถจัดแบ่งเป็นกลุ่มของรูปทรงได้ อาทิเช่น ขวด กล่อง กระป๋อง ถุง ด้วย เป็นต้น ผู้วิจัยจึงอาศัยแบบจำลองของการเรียนรู้เชิงลึกในการคัดแยกสินค้าทั้งหมดจากรูปทรงบรรจุภัณฑ์ เพื่อกำหนดพื้นที่ที่สนใจ (region of interest : ROI) ที่คาดว่าจะเป็นบริเวณของสินค้าแต่ละชิ้น จากนั้น ในการจำแนกและจดจำเพื่อบันทึกสินค้าแต่ละชิ้น จะอาศัยเทคนิคของการระบุลักษณะเฉพาะของภาพ (feature point) และการจับคู่ (feature matching) ในการเปรียบเทียบบริเวณของสินค้าแต่ละชิ้นที่ได้จากแบบจำลองที่กล่าวมาข้างต้น เทียบกับภาพต้นแบบของสินค้า ที่จะเป็นภาพที่แสดงผลผลิตของผลิตภัณฑ์ โดยภาพต้นแบบจะมาจากฐานข้อมูลสินค้าที่เก็บภาพของสินค้าทุกชิ้นที่ขายในร้านค้าปลีก โดยแบ่งแยกตามกลุ่มของรูปทรงบรรจุภัณฑ์ เพื่อให้่ายต่อการนำมาเปรียบเทียบ ดังนั้น กรอบแนวคิดนี้จึงมีภาพรวมของการทำงานดังในรูปที่ 1



รูปที่ 1 ภาพกรอบแนวคิดของงานวิจัย

2. การเตรียมข้อมูล

ในการฝึกสอนแบบจำลองของการเรียนรู้เชิงลึกเพื่อให้สามารถคัดแยกสินค้าจากรูปทรงบรรจุภัณฑ์ได้ จะต้องใช้ชุดข้อมูลรูปภาพสินค้าที่จัดชำระเงิน งานวิจัยนี้จึงเลือกใช้ชุดข้อมูล RPC dataset (Wei et al., 2019) ซึ่งเป็นชุดข้อมูลสำหรับสนับสนุนงานวิจัยเกี่ยวกับการตรวจจับและการรับรู้สินค้าในจุดชำระเงิน ซึ่งประกอบด้วยภาพทั้งหมด 83,739 ภาพ จากสินค้าทั้งหมด 200 ชนิด (class) โดยเป็นภาพของสินค้าแต่ละชนิดแบบ 360 องศา จำนวน 53,739 และเป็นภาพถ่ายสินค้าที่จัดชำระเงิน

30,000 ภาพ ซึ่งภาพถ่ายสินค้าที่จัดชำระเงินของชุดข้อมูลนี้ได้จำลองตามสถานการณ์การชำระเงินอย่างสมจริง สินค้าจะถูกสุ่มเลือกมาวางรวมกันอย่างอิสระ มีความยุ่งเหยิง และซับซ้อน ผู้วิจัยได้นำสินค้าทั้งหมดของ RPC dataset มาจัดกลุ่มตามรูปทรงของบรรจุภัณฑ์ สามารถแบ่งออกมาได้ทั้งหมด 6 กลุ่ม ได้แก่ ถุง กล่อง ขวด กระป๋อง ถ้วย และรูปทรงที่ไม่มีรูปแบบ เมื่อพิจารณาจำนวนสินค้าในแต่ละกลุ่มพบว่า สินค้าที่มีรูปทรงของบรรจุภัณฑ์เป็นถุงมีจำนวนมากที่สุด ในชุดข้อมูลนี้ รองลงมาคือกล่องและขวดตามลำดับ ดังแสดงในรูปที่ 2 โดยสัดส่วนของ 3

อันดับแรกคิดเป็นสัดส่วนจะครอบคลุมถึง 76% ของชุดข้อมูลนี้ ดังนั้น ผู้วิจัยจึงเลือกรูปทรงบรรจุภัณฑ์ที่เป็นถุง กล่อง และขวด สำหรับการทดสอบสมมติฐานเบื้องต้นใน

การทำแบบจำลองของการเรียนรู้เชิงลึก เพื่อคัดแยกสินค้าจากรูปทรงบรรจุภัณฑ์

รูปทรงของบรรจุภัณฑ์	จำนวนสินค้า	จำนวน annotations	ตัวอย่างสินค้า
ถุง	75	113,893	
กล่อง	55	78,746	
ขวด	22	32,075	
กระป๋อง	23	31,916	
รูปทรงที่ไม่มีรูปแบบ	15	21,561	
ถ้วย	10	16,142	
จำนวนรวม	200	294,333	

รูปที่ 2 จำนวนของสินค้าใน RPC dataset ที่จัดกลุ่มตามรูปทรงบรรจุภัณฑ์ และตัวอย่างสินค้าในแต่ละกลุ่ม

3. การเก็บข้อมูลสำหรับทดสอบ

เพื่อให้แบบจำลองของการเรียนรู้เชิงลึกมีความยืดหยุ่นกับชุดข้อมูลที่หลากหลาย สามารถประยุกต์ (generalize) กับสินค้าที่ไม่เคยเห็นได้ดี ผู้วิจัยจึงได้ทำการสร้างชุดข้อมูลจากสินค้าอุปโภคบริโภคในประเทศไทยจำนวน 61 ชนิด (TH-products dataset) โดยแบ่งเป็นสินค้าที่มีบรรจุภัณฑ์รูปทรงถุง จำนวน 22 ชนิด สินค้าที่มีบรรจุภัณฑ์รูปทรงกล่อง จำนวน 17 ชนิด และสินค้าที่มีบรรจุภัณฑ์รูปทรงขวด จำนวน 22 ชนิด ซึ่งจากสินค้าทั้งหมดจะมี 39 ชนิด ที่เป็นสินค้าประเภทหมวดหมู่ย่อย ชุดข้อมูลนี้จะประกอบด้วยภาพต้นแบบของแต่ละสินค้า ซึ่งเป็นภาพจากอินเทอร์เน็ต หรือภาพเรนเดอร์ (render) ของสินค้า มีอย่างน้อย 1-3 ภาพต่อชนิด และกำหนดชื่อของภาพด้วยหมายเลข class ของสินค้า เพื่อใช้อ้างอิงในตอนทำนายผลจากการระบุลักษณะเฉพาะของภาพ และการจับคู่ โดยภาพต้นแบบทั้งหมดในชุดข้อมูลนี้มีจำนวน 95 ภาพ แสดงดังรูปที่ 3 และมีภาพถ่ายสินค้าที่จุดขายเงินจำนวน 120 ภาพ โดยถ่ายด้วยกล้องมือถือ Samsung

galaxy S21 ultra ความละเอียด 108 MP จากหลังของภาพถ่ายสินค้าที่จุดขายเงินจะเป็นกระดาษสีขาว ขนาด 45x45 เซนติเมตร เพื่อให้สินค้าแยกจากฉากหลังอย่างชัดเจน แต่ละภาพจะสุ่มเลือกสินค้า 2-11 ชิ้น และจัดวางอย่างเป็นอิสระ ส่วนการจัดเก็บข้อมูลของสินค้าประเภทหมวดหมู่ย่อย สินค้าจะถูกบันทึกเป็นคนละ class กัน เช่น เลย์ร็อค มี 3 ขนาด จะแยกเป็น 3 class ดังแสดงในรูปที่ 4



รูปที่ 3 ภาพต้นแบบของทุกสินค้าใน TH-products dataset

Class	สินค้า	ภาพต้นแบบ
0	Lays Classic Potato Salt 73g.	
1	Lays Rock Potato Salt 73g.	
2	Lays Rock Potato Salt 48g.	
3	Lays Rock Potato Salt 27g.	

รูปที่ 4 ตัวอย่างการเก็บข้อมูลของสินค้าประเภทหมวดหมู่ย่อย

4. แบบจำลองของการเรียนรู้เชิงลึกสำหรับการตรวจจับรูปทรงบรรจุภัณฑ์ของสินค้า

จากการศึกษางานวิจัยที่เกี่ยวข้องกับระบบชำระเงินด้วยตนเองพบว่าแบบจำลองของการเรียนรู้เชิงลึกที่นิยมนำมาใช้ในการตรวจจับสินค้า และจดจำประเภทของสินค้า พร้อมระบุตำแหน่งขอบเขต (Bounding boxes) ของสินค้าที่ตรวจพบในภาพ คือ แบบจำลอง YOLO เนื่องจากเป็นแบบจำลองที่มีจุดเด่นในเรื่องของความเร็วในการตรวจจับสินค้าเมื่อเทียบกับแบบจำลองอื่นๆ (Liu et al., 2021; James et al., 2021; Shoman et al., 2022) ซึ่งสาเหตุที่ทำให้ YOLO ตรวจจับได้เร็วนั้นคือ YOLO มีหลักการทำงานแบบ 1 ขั้นตอน (one-stage object detector) ซึ่งสามารถทำนายขอบเขตและคำนวณความน่าจะเป็นของชนิดสินค้าได้ภายในขั้นตอนการประมวลผลเดียวกัน (Redmon et al., 2016) ผู้วิจัยจึงเลือกใช้แบบจำลอง YOLO ในการตรวจจับและระบุรูปทรงบรรจุภัณฑ์ของสินค้า ซึ่งปัจจุบัน YOLO ได้ถูกพัฒนาถึงเวอร์ชันที่ 5 แล้ว (YOLOv5) จุดเด่นของ YOLOv5 คือสามารถใช้งานด้วย PyTorch และมีความเร็วในการประมวลผลที่รวดเร็วขึ้น ซึ่งยังคงประสิทธิภาพที่ใกล้เคียงกับ YOLO v4 ผู้วิจัยจึงเลือกใช้แบบจำลอง YOLOv5 โดยนำแบบจำลองมาจาก <https://github.com/ultralytics/yolov5> และผู้วิจัยเลือกทำการฝึกสอนแบบจำลอง YOLOv5 ขนาด medium (YOLOv5m) เนื่องจากมีสัดส่วนของความเร็วในการประมวลผลเทียบกับความถูกต้องอยู่ในระดับกลางเมื่อเทียบจากขนาดทั้งหมด ซึ่งผู้วิจัยคิดว่าเป็นขนาดที่เหมาะสมกับงานวิจัยนี้ ที่ต้องการความสมดุลในเรื่องของความเร็วและความถูกต้อง ผู้วิจัยจึงได้นำแบบจำลอง YOLOv5m มาฝึกสอนด้วยข้อมูล RPC ที่จัดเตรียมไว้สำหรับบรรจุภัณฑ์รูปทรงถุง กล่อง และขวด โดยแบ่งชุด

ข้อมูลออกเป็นสัดส่วน 70-15-15 เพื่อฝึกสอน และทดสอบ แล้วทำการฝึกสอนทั้งแบบจำลอง (ไม่มีการ freezing layer) โดยใช้ทรัพยากรของ Google Colaboratory ในการฝึกสอนแบบจำลองทั้งหมด ผู้วิจัยได้ใช้ pretrained weights บน COCO dataset ที่ทางผู้พัฒนา YOLO จัดเตรียมไว้ และทำการย่อขนาดภาพก่อนเริ่มฝึกสอนเป็นขนาด 512x512 pixel พร้อมทั้งกำหนดรายละเอียดในการฝึกสอนด้วย $lr = 0.01$, $weight_decay = 0.0005$ และใช้ optimizer SGD จากนั้นทำการฝึกสอนทุกเลเยอร์ของแบบจำลองด้วยจำนวน 16 batch 120 epochs

การวัดผลของแบบจำลองจะใช้ตัวชี้วัด 3 ค่า ได้แก่ precision, recall และ mAP@.5 ซึ่งคำนวณตามหลักการของตัวชี้วัดประสิทธิภาพสำหรับแบบจำลองการตรวจจับวัตถุ (Padilla et al., 2020) โดยผลลัพธ์ที่ได้จากการฝึกสอนแบบจำลอง YOLOv5m ดังแสดงในตารางที่ 1 จะพบว่า ผลลัพธ์บนข้อมูลชุดทดสอบมีค่าความแม่นยำในการทำนายรูปทรง และระบุตำแหน่งของสินค้าด้วยค่า mAP เฉลี่ยอยู่ที่ 0.995 โดยเมื่อพิจารณาค่า precision ที่บ่งบอกถึงความแม่นยำของแบบจำลองในการทำนายรูปทรง จะพบว่า แบบจำลองนี้ มีความแม่นยำในการทำนายรูปทรงกล่อง และถุง มากกว่ารูปทรงขวด ส่วนค่า recall ที่แสดงถึงความสามารถในการตรวจจับ พบว่าแบบจำลองนี้สามารถทำได้ดีกับทั้ง 3 รูปทรง อย่างไรก็ตาม ในส่วนของผลลัพธ์ที่มีค่าเบี่ยงเบนมาตรฐานเท่ากับศูนย์นั้น แสดงให้เห็นว่าผลลัพธ์ของแบบจำลองที่ได้ทำการฝึกสอนจำนวน 3 รอบ ให้ผลลัพธ์ที่แตกต่างกันน้อยมาก และมีค่าความแม่นยำสูง เป็นผลมาจากการที่ข้อมูลในชุดทดสอบเป็นข้อมูลสินค้าใน distribution เดียวกันกับข้อมูลชุดฝึกสอน และมีสินค้าอยู่เพียง 200 ชนิด จึงทำให้แบบจำลองสามารถเรียนรู้สินค้าได้อย่างครบถ้วน

ตารางที่ 1 ผลลัพธ์จากการทำนายรูปทรงบรรจุภัณฑ์ และระบุตำแหน่งของสินค้า บน RPC dataset ชุดทดสอบ โดยฝึกสอนแบบจำลอง 3 รอบ (ด้วย parameter เดียวกัน) แล้วนำมาคำนวณค่าเฉลี่ยและค่าเบี่ยงเบนมาตรฐาน

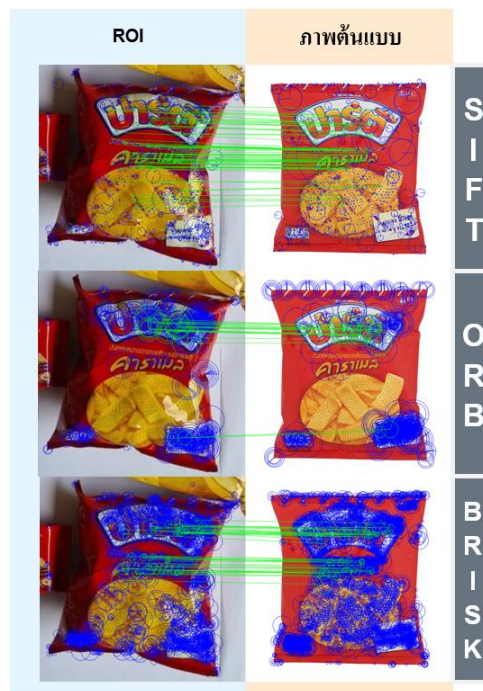
Class	Precision	Recall	mAP@.5
กล่อง	1.000 ± 0.001	0.997 ± 0.001	0.995 ± 0.000
ขวด	0.998 ± 0.001	0.999 ± 0.001	0.995 ± 0.000
ถุง	1.000 ± 0.000	0.998 ± 0.002	0.995 ± 0.000
เฉลี่ย	0.999 ± 0.001	0.998 ± 0.000	0.995 ± 0.000

5. การระบุลักษณะเฉพาะของภาพ และการจับคู่

ด้วยวิวัฒนาการของเทคโนโลยีทำให้งานวิจัยในด้านคอมพิวเตอร์วิทัศน์ถูกพัฒนาอย่างต่อเนื่อง อัลกอริทึมในการระบุลักษณะเฉพาะของภาพก็เป็นหนึ่งในชิ้นงานสำคัญที่ผู้วิจัยให้ความสำคัญ เนื่องจากสามารถนำมาใช้ประโยชน์ในงานประมวลผลภาพได้หลากหลาย อัลกอริทึมที่โด่งดัง และเป็นที่ยอมรับแรกถูกพัฒนาและเสนอโดย Lowe ในปี 1999 ได้นำเสนออัลกอริทึม Scale Invariant Feature Transform algorithm (SIFT) (Lowe, 1999) ซึ่งคุณสมบัติเด่นของ SIFT คือ การระบุลักษณะเฉพาะของภาพ โดยไม่ขึ้นกับขนาด หรือทิศทางของวัตถุในภาพ ทำให้สามารถนำไปใช้งานได้สะดวก และมีความแม่นยำ สืบเนื่องมาจากหลักการในการทำ Keypoint Detection ของ SIFT นั้น จะสร้าง Scale-Space ของภาพด้วยการทำ Gaussian Blur กับภาพต้นแบบหลายๆ ครั้ง และหาความแตกต่างระหว่างภาพ Gaussian Blur ที่อยู่ใกล้ติดกันด้วย Difference of Gaussian (DoG) สิ่งนี้ช่วยให้ SIFT สามารถค้นหาคุณสมบัติของภาพโดยไม่ขึ้นกับขนาดของภาพได้ จากนั้นทำ Keypoint Localization เพื่อคัดกรองจำนวน feature point ที่ได้ ด้วยการปรับแต่งตำแหน่งของจุดสำคัญที่เป็นไปได้ และกำจัด keypoint ที่ไม่จำเป็นออกไป ถัดมาในปี 2011 ได้มีอัลกอริทึมที่พัฒนาและเสนอขึ้นมาเพื่อปรับปรุงในเรื่องของความเร็วการประมวลผล โดยอัลกอริทึมแรกถูกเสนอโดย Rublee และคณะ คือ ORB (Rublee et al., 2011) ซึ่ง ORB เป็นการพัฒนาโดยผสมผสานระหว่าง FAST keypoint detector กับ BRIEF descriptor เข้าด้วยกัน และ

อีกอัลกอริทึม คือ BRISK (Leutenegger et al., 2011) ที่ถูกเสนอโดย Leutenegger และคณะ โดยจุดเด่นของ BRISK คือความเร็ว และมีต้นทุนในการคำนวณที่ต่ำกว่า SIFT ซึ่งทั้ง 2 อัลกอริทึมมีหลักการในการทำ Keypoint Detection ด้วยการใช้ FAST detector ในการหาจุดสำคัญของภาพ เพื่อระบุจุดที่อาจจะเป็นมุมและขอบ จากการเปลี่ยนแปลงของความเข้มของพิกเซลโดยรอบ

ในงานวิจัยนี้ผู้วิจัยได้เลือกอัลกอริทึม SIFT, ORB และ BRISK ในการนำมาระบุลักษณะเฉพาะของภาพสินค้าและภาพต้นแบบ แล้วนำลักษณะเฉพาะที่ได้จากทั้ง 2 ภาพมาทำการจับคู่ด้วยวิธี FLANN based Matcher (FLANN) วิธีการดังกล่าวจะอาศัยหลักการ Approximate Nearest Neighbors ทำให้มีความรวดเร็วในการประมวลผล โดยในการจับคู่และทำนายผล ผู้วิจัยจะพิจารณาจำนวนคู่ของจุดที่มีลักษณะเฉพาะตรงกัน โดยจะทำนายผล class ของสินค้า จากภาพต้นแบบที่มีจำนวนคู่ของจุดที่มีลักษณะเฉพาะตรงกันเป็นจำนวนมากที่สุด และใช้ชื่อไฟล์ของภาพต้นแบบอ้างอิงหมายเลข class ในการทำนายผล การระบุลักษณะเฉพาะของภาพในแต่ละอัลกอริทึม และการจับคู่ของจุดด้วยวิธี FLANN แสดงดังในรูปที่ 5



รูปที่ 5 การระบุลักษณะเฉพาะ (วงกลมสีน้ำเงิน) ของภาพในแต่ละอัลกอริทึม และการจับคู่ด้วยวิธี FLANN (เส้นสีเขียว)

ในส่วนของการพิจารณาความถูกต้องของการระบุลักษณะเฉพาะของภาพ และการจับคู่ ผู้วิจัยจะพิจารณาจากการทำนาย class ของสินค้า และวัดผลจากการคำนวณค่าความถูกต้อง (Classification Accuracy)

6. ผลการทดลอง

งานวิจัยนี้แบ่งการทดลองออกเป็น 3 ขั้นตอน ได้แก่ 1) การทดลองแบบจำลองของการเรียนรู้เชิงลึกสำหรับการตรวจจับรูปทรงบรรจุภัณฑ์ของสินค้า 2) การทดลองอัลกอริทึมสำหรับระบุลักษณะเฉพาะของภาพสินค้า และการจับคู่ภาพต้นแบบกับภาพสินค้าที่จุดชำระเงิน 3) การทำงานร่วมกันของการตรวจจับรูปทรงบรรจุภัณฑ์ และการระบุลักษณะเฉพาะของภาพ พร้อมการจับคู่โดยการทดลองทั้งหมดจะทดสอบด้วยชุดข้อมูล TH-products dataset

ผลจากการใช้แบบจำลอง YOLOv5m ที่ฝึกสอนด้วย RPC dataset เมื่อนำมาทดสอบบนชุดข้อมูลใหม่ ที่ไม่เคยเห็นมาก่อน ผลลัพธ์ที่ได้พบว่าความแม่นยำในการทำนายรูปทรงและระบุตำแหน่งของสินค้าลดลง ค่า mAP เฉลี่ยอยู่ที่ 0.759 ดังแสดงในตารางที่ 2 รูปทรงที่ทำนายผิดพลาดมากที่สุด คือ บรรจุภัณฑ์รูปทรงถุง รองลงมาคือกล่อง และขวด ตามลำดับ แต่ถ้าพิจารณาค่า recall ที่แสดงถึงความสามารถในการตรวจจับ จะพบว่าแบบจำลองนี้สามารถตรวจจับรูปทรงขวดได้เพียง 66% ของชุดข้อมูล นอกจากนี้ จากผลการทดลองผู้วิจัยคิดว่าสาเหตุที่ค่า mAP ลดลงนั้น เกิดจากการฝึกสอนแบบจำลองด้วยชุดข้อมูลที่ยังครอบคลุมรูปทรงบรรจุภัณฑ์ของสินค้าไม่มากพอ ทำให้เมื่อนำแบบจำลองดังกล่าวมาใช้บนชุดข้อมูลใหม่ที่มีรูปทรงบรรจุภัณฑ์แตกต่างจากชุดข้อมูลฝึกสอนจึงทำนายผิดพลาดไป การแก้ไขสามารถทำได้โดยการเพิ่มรูปทรงของบรรจุภัณฑ์ในแต่ละ class บนชุดข้อมูลฝึกสอนให้มีความหลากหลายมากขึ้น

ตารางที่ 2 ผลลัพธ์จากการทำนายรูปทรงบรรจุภัณฑ์และระบุตำแหน่งของสินค้าบน TH-products dataset โดยฝึกสอนแบบจำลอง 3 รอบ (ด้วย parameter เดียวกัน) แล้วนำมาคำนวณค่าเฉลี่ยและค่าเบี่ยงเบนมาตรฐาน

Class	Precision	Recall	mAP@.5
กล่อง	0.792 ± 0.071	0.577 ± 0.182	0.695 ± 0.100
ขวด	0.950 ± 0.018	0.642 ± 0.047	0.797 ± 0.033
ถุง	0.708 ± 0.178	0.646 ± 0.095	0.688 ± 0.077
เฉลี่ย	0.817 ± 0.078	0.622 ± 0.102	0.727 ± 0.054

ถัดมาในส่วนของการทดลองการทดลอง อัลกอริทึมสำหรับระบุลักษณะเฉพาะของภาพสินค้าและการจับคู่ภาพต้นแบบกับภาพสินค้าที่จุดชำระเงิน ผู้วิจัยทำการทดลองโดยกำหนดให้ข้อมูลที่ได้จากแบบจำลองของการเรียนรู้เชิงลึกถูกต้องสมบูรณ์ 100% ผลจากการทดลองใช้อัลกอริทึมที่แตกต่างกันในการระบุลักษณะเฉพาะของภาพสินค้าและภาพต้นแบบ แล้วนำมาจับคู่เพื่อทำนายชนิดของสินค้า โดยวัดผลด้วยค่าความถูกต้อง (classification accuracy) ที่คำนวณมาจากสัดส่วนของจำนวนผลลัพธ์ที่ทำนายถูกต้องเทียบกับจำนวนของการทำนายทั้งหมด แล้วนำมาคิดเป็นเปอร์เซ็นต์ ซึ่งผลการทดลองดังแสดงในตารางที่ 3 พบว่า การใช้ SIFT ให้ความแม่นยำในการทำนายชนิดของสินค้าถูกต้องสูงสุดถึง

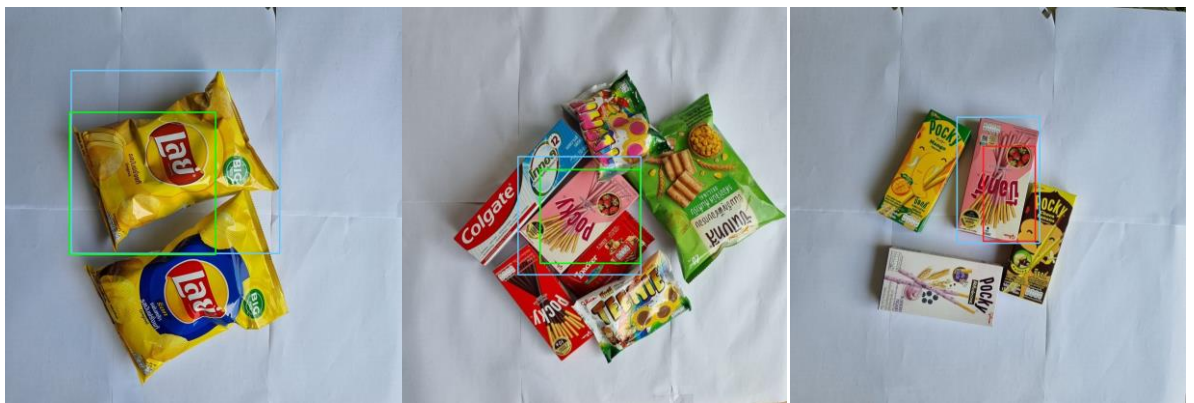
82.96% รองลงมาคือ BRISK 72.91% และ ORB 57.41% ตามลำดับ การที่ SIFT สามารถทำนายได้แม่นยำที่สุด เนื่องจากคุณสมบัติของ SIFT สามารถรองรับการระบุคุณลักษณะของภาพได้โดยไม่ขึ้นกับขนาด หรือทิศทางของสินค้า ในขณะที่ BRISK และ ORB สามารถทำนายสินค้านามบัตรรูปทรงกล่องได้แม่นยำที่สุด เนื่องจากการระบุคุณลักษณะของภาพของสองอัลกอริทึมนี้จะเน้นตรงจุดที่เป็นมุมและขอบ นอกจากนี้ จากผลการทดลองยังชี้ให้เห็นว่ารูปทรงที่มีค่าความถูกต้องในการทำนายต่ำทั้ง 3 อัลกอริทึม คือรูปทรงขวด อย่างไรก็ตามในภาพรวมของทั้ง 3 รูปทรง การใช้ SIFT ก็ยังคงให้ค่าความถูกต้องอยู่ในเกณฑ์ที่ดีและยอมรับได้ ผู้วิจัยจึงเลือก SIFT เพื่อนำไปทดลองต่อในการทดลองที่ 3

ตารางที่ 3 ผลลัพธ์ค่าความถูกต้อง (classification accuracy) จากการใช้อัลกอริทึมต่างๆ ในการระบุลักษณะเฉพาะของภาพสินค้า และการจับคู่ บน TH-products dataset

รูปทรง	SIFT	ORB	BRISK
กล่อง	96.09%	77.65%	92.18%
ขวด	69.18%	42.77%	42.14%
ถุง	82.33%	52.21%	78.71%
เฉลี่ย	82.96%	57.41%	72.91%

การทดลองสุดท้ายผู้วิจัยได้นำผลลัพธ์ที่ได้จากการทดลองที่ 1 ซึ่งระบุรูปทรงของสินค้า และตำแหน่งขอบเขต (Bounding boxes) ของสินค้าแต่ละชิ้นที่มีอยู่ในภาพจุดชำระเงิน นำมาส่งต่อเป็นข้อมูลให้กับการระบุลักษณะเฉพาะของภาพสินค้าด้วย SIFT โดยไม่มีการคัดกรองผลลัพธ์ของตำแหน่งขอบเขตที่ได้จากแบบจำลอง YOLO ส่งผลให้ถ้าหากผลลัพธ์ในการทดลองที่ 1 มีการระบุขอบเขตของสินค้าผิดพลาดไป ผลการทำนาย class ของสินค้าด้วย SIFT ก็จะมีผิดพลาดด้วยเช่นกัน ดังนั้นผู้วิจัยจึงพิจารณาผลลัพธ์ 2 แบบ ได้แก่ การพิจารณาค่าความถูกต้องในการทำนายชนิดของสินค้า จากค่า mAP ที่ $IOU > 50\%$ และแบบที่สองคือการพิจารณาเฉพาะค่าความ

ถูกต้องในการทำนายชนิดของสินค้า (ไม่สนใจค่า IOU) ผลลัพธ์ในส่วนแรก queพิจารณาจากค่า mAP จะอยู่ที่ 44.73% ซึ่งเมื่อดูจากผลลัพธ์ที่ได้จะพบว่าผลการทดลองนี้ มีความแม่นยำในการระบุขอบเขตของสินค้าได้ปานกลาง และการทำนายชนิดของสินค้านั้นอยู่ในเกณฑ์ที่ต่ำ แต่หากพิจารณาเฉพาะการทำนาย class ของสินค้าจะพบว่า SIFT ทำนายออกมามีค่าความถูกต้องเพิ่มขึ้น อยู่ที่ 51.44% ผลลัพธ์ดังแสดงในตารางที่ 4 นั้นแสดงให้เห็นว่า SIFT สามารถทำนายและให้ผลลัพธ์ที่ถูกต้องได้ถึงแม้ว่าการระบุขอบเขตของสินค้านั้นจะครอบคลุมพื้นที่ไม่เต็มสินค้า ดังแสดงตัวอย่างในรูปที่ 6



รูปที่ 6 ภาพตัวอย่างของผลลัพธ์ที่ทำนายถูก แม้การระบุขอบเขตของสินค้าจะครอบคลุมพื้นที่ไม่เต็มสินค้า โดยกรอบสีฟ้า หมายถึง พื้นที่ของสินค้าทั้งหมด กรอบสีเขียว หมายถึง ผลลัพธ์ที่ทำนายถูกและครอบคลุมพื้นที่สินค้าเกิน 50% และกรอบสีแดง หมายถึง ผลลัพธ์ที่ทำนายถูกและครอบคลุมพื้นที่ไม่ถึง 50% ของสินค้า

ตารางที่ 4 ผลลัพธ์ค่าความถูกต้อง (classification accuracy) จากการพิจารณาการทำนายชนิดของสินค้าด้วย SIFT โดยไม่สนใจค่า IOU

รูปทรง	ค่าความถูกต้องในการทำนายชนิดของสินค้า (ไม่สนใจค่า IOU)
กล่อง	51.79%
ขวด	38.30%
ถุง	64.25%
เฉลี่ย	51.44%

ในแง่ของเวลาการประมวลผลและตรวจจับสินค้าจากภาพที่จุดชำระเงิน ที่มีขนาด 512x512 pixel พบว่าความเร็วในการประมวลผลและตรวจจับเฉลี่ยอยู่ที่ 39 วินาทีต่อรูป ซึ่งความเร็วจะขึ้นอยู่กับจำนวนของสินค้าที่วางอยู่ในจุดชำระเงิน ยิ่งมีจำนวนสินค้ามากก็จะใช้เวลามาก เมื่อพิจารณาเวลาในการประมวลผลของแต่ละส่วนแยกกัน จะพบว่า ส่วนแรกที่ใช้แบบจำลอง YOLO ในการระบุรูปทรงของสินค้า และตำแหน่งขอบเขต (Bounding boxes) ของสินค้าแต่ละชิ้นที่มีอยู่ในภาพจุดชำระเงิน จะใช้เวลาเฉลี่ยอยู่ที่ 0.015 วินาที และในส่วนที่สองการระบุลักษณะเฉพาะของภาพสินค้าด้วย SIFT นั้น จะใช้เวลาเฉลี่ยอยู่ที่ 0.375 วินาที ทั้งนี้ เวลาในส่วนที่สองนั้นจะขึ้นอยู่กับจำนวนภาพต้นแบบที่มีอยู่ในฐานข้อมูลด้วย ยิ่งมีจำนวนมากก็จะใช้เวลาในการประมวลผล class ของสินค้านาน

7. สรุปผลการทดลอง

จากผลการทดลองทั้งหมดที่กล่าวมาข้างต้นสามารถสรุปได้ว่ากรอบแนวคิดที่ผู้วิจัยพัฒนาโดยอาศัยการผสมผสานของแบบจำลองการเรียนรู้เชิงลึกที่มีความรวดเร็วในการตรวจจับ ซึ่งผู้วิจัยเลือกใช้แบบจำลอง YOLOv5 มาผสมผสานร่วมกับเทคนิคของคอมพิวเตอร์วิทัศน์อย่าง SIFT ในการระบุลักษณะเฉพาะของภาพสินค้าสามารถนำมาใช้ในการตรวจจับและบันทึกสินค้าในระบบชำระเงินด้วยตนเองได้ โดยข้อดีของกรอบแนวคิดนี้ คือความยืดหยุ่นในการรองรับสินค้าชนิดใหม่ที่เพิ่มขึ้นมาหรือสินค้าเดิมที่มีการเปลี่ยนแปลงลวดลายบรรจุภัณฑ์ กรอบแนวคิดนี้จะสามารถทำงานต่อเนื่องได้ทันที เพียงแค่เพิ่มภาพต้นแบบของสินค้าใหม่เข้ามาในฐานข้อมูล ไม่จำเป็นต้องทำการฝึกสอนแบบจำลองใหม่ทุกครั้ง ซึ่งผู้วิจัยเสนอแนะให้เก็บภาพต้นแบบอย่างน้อย 2 ภาพต่อชนิดของสินค้า เพื่อให้ครอบคลุมทั้งด้านหน้าและด้านหลังของบรรจุภัณฑ์สินค้า นอกจากนี้กรอบแนวคิดนี้ยังสามารถรองรับสินค้าประเภทหมวดหมู่ย่อยได้ ทั้งกลุ่มที่มีลวดลายใกล้เคียงกัน และกลุ่มที่มีลวดลายเหมือนกันแต่ขนาดแตกต่างกัน

ในส่วนของการใช้อัลกอริทึม SIFT สำหรับระบุลักษณะเฉพาะของภาพสินค้า และการจับคู่ งานวิจัยนี้พบว่า วิธีการดังกล่าวสามารถช่วยเพิ่มประสิทธิภาพของ

แบบจำลอง YOLO ได้ เนื่องจากการทำ Keypoint Detection ของ SIFT นั้น สร้าง Scale-Space ของภาพด้วยการทำ Gaussian Blur กับภาพต้นแบบหลายๆครั้ง และหาความแตกต่างระหว่างภาพ Gaussian Blur ที่อยู่ในลำดับติดกันด้วย Difference of Gaussian (DoG) จึงช่วยให้ SIFT สามารถค้นหาคุณสมบัติของภาพโดยไม่ขึ้นกับขนาดและทิศทางของภาพได้ และยังคงมีความแม่นยำในการทำนายชนิดของสินค้า แม้ว่าการระบุขอบเขตของสินค้านั้นจะไม่ครอบคลุมพื้นที่ทั้งหมดในภาพของตัวสินค้า อย่างไรก็ตามข้อจำกัดที่ผู้วิจัยพบจากการทดลองคือ การควบคุมสิ่งแวดล้อมบริเวณจุดชำระเงิน เนื่องจากภาพที่จะสามารถนำไปประมวลผลได้นั้น ควรที่จะต้องมีความคมชัด ไม่มีสิ่งกีดขวาง และปราศจากแสงและเงารบกวน นอกจากนี้ จากผลการทดลองแสดงให้เห็นว่าสินค้ากลุ่มรูปทรงขวดนั้นมีผลลัพธ์ในการทำนายที่ไม่ดีนักเนื่องจากแบบจำลอง YOLO ที่ผู้วิจัยฝึกสอนมาไม่สามารถตรวจจับรูปทรงขวดได้ดีนัก จึงส่งผลให้สินค้ารูปทรงขวดไม่ถูกระบุรูปทรงของสินค้า และตำแหน่งขอบเขต เพื่อส่งต่อมาประมวลผลการระบุลักษณะเฉพาะของภาพสินค้า และการจับคู่ แล้วทำนาย class ของสินค้า ดังนั้น วิธีการแก้ไขคือควรปรับจูนแบบจำลองให้มีความแม่นยำมากขึ้นก่อน เพื่อให้แบบจำลองสามารถตรวจจับสินค้าในจุดชำระเงินได้อย่างครบถ้วน

อย่างไรก็ตามงานวิจัยนี้ยังมีจุดที่สามารถปรับปรุงและพัฒนาประสิทธิภาพของกรอบแนวคิดที่นำเสนอได้ โดยปรับเปลี่ยนในส่วน of แบบจำลองการเรียนรู้เชิงลึก ไปใช้แบบจำลองในกลุ่ม Segmentation แทนการใช้ Object detection เพื่อให้สามารถระบุขอบเขตของสินค้าได้ตรงตามความเป็นจริง และไม่ติดสินค้าอื่นๆที่ใกล้เคียงกัน ทำให้การนำบริเวณดังกล่าวไปทำนายชนิดของสินค้ามีความแม่นยำมากยิ่งขึ้น นอกจากนี้ ยังสามารถต่อยอดงานวิจัยนี้ได้ด้วยการคัดเลือกอัลกอริทึมสำหรับระบุลักษณะเฉพาะของภาพสินค้า และการจับคู่ ที่มีประสิทธิภาพมากกว่าการใช้ SIFT และ FLANN ทั้งในด้านความเร็ว และความแม่นยำ เพื่อเพิ่มประสิทธิภาพของกรอบแนวคิดนี้ ทั้งนี้ในส่วนของการประเมินประโยชน์และความคุ้มค่าของระบบสำหรับการนำไปประยุกต์ใช้จริงนั้น การนำระบบไปทำการทดลองในร้านค้าที่สินค้ามีการใช้การสแกนบาร์โค้ดอยู่เดิมแล้วเปรียบเทียบกับร้านค้าที่

สินค้าไม่มีการใช้บาร์โค้ด จะช่วยให้ผู้วิจัยสามารถเปรียบเทียบความคุ้มค่าและคุณประโยชน์ของระบบลักษณะนี้ในบริบทที่แตกต่างกันได้ดียิ่งขึ้น

เอกสารอ้างอิง

- Chaiyasoonthorn, W., & Suksa-ngiam, W. (2011). Factors influencing store patronage: A study of modern retailers in Bangkok Thailand. *International Journal of Trade, Economics and Finance*, 2(6), 520. (in Thai)
- Hsia, C. H., Chang, T. H. W., Chiang, C. Y., & Chan, H. T. (2022). Mask R-CNN with new data augmentation features for smart detection of retail products. *Applied Sciences*, 12(6), 2902.
- James, N., Antony, N. T., Shaji, S. P., Baby, S., & Annakutty, J. (2021). Automated Checkout for Stores: A Computer Vision Approach. *Revista GEINTEC-Gestao Inovacao e Tecnologias*, 11(3), 1830-1841.
- Leutenegger, S., Chli, M., & Siegwart, R. Y. (2011, November). BRISK: Binary robust invariant scalable keypoints. In *2011 International conference on computer vision*. pp. 2548-2555.
- Liu, H., Li, Y., & Liu, D. (2021, July). Object detection and recognition system based on computer vision analysis. In *Journal of Physics: Conference Series* (Vol. 1976, No. 1, p. 012024). IOP Publishing.
- Lowe, D. G. (1999). Object recognition from local scale-invariant features. In *Proceedings of the seventh IEEE international conference on computer vision*. pp. 1150-1157.
- Padilla, R., Netto, S. L., & Da Silva, E. A. (2020). A survey on performance metrics for object-detection algorithms. In *2020 international conference on systems, signals and image processing (IWSSIP)*. pp. 237-242.
- Redmon, J., Divvala, S., Girshick, R., & Farhadi, A. (2016). You only look once: Unified, real-time object detection. In *Proceedings of the IEEE conference on computer vision and pattern recognition*. pp. 779-788.
- Rublee, E., Rabaud, V., Konolige, K., & Bradski, G. (2011, November). ORB: An efficient alternative to SIFT or SURF. In *2011 International conference on computer vision*. pp. 2564-2571.
- Shoman, M., Aboah, A., Morehead, A., Duan, Y., Daud, A., & Adu-Gyamfi, Y. (2022). A Region-Based Deep Learning Approach to Automated Retail Checkout. *arXiv preprint arXiv:2204.08584*.
- Wei, X. S., Cui, Q., Yang, L., Wang, P., & Liu, L. (2019). RPC: A large-scale retail product checkout dataset. *arXiv preprint arXiv:1901.07249*.
- Wei, Y., Tran, S., Xu, S., Kang, B., & Springer, M. (2020). Deep learning for retail product recognition: Challenges and techniques. *Computational intelligence and neuroscience*, 2020(1), 8875910.