กระบวนวิธีพื้นที่ผิวตอบสนอง เครื่องมือประสิทธิภาพสูงสำหรับงานวิจัยทางชีวภาพ

Response Surface Methodology, A Powerful Tool in Biological Research

Received: 7 ธ.ค. 2566
Revised: 19 ธ.ค. 2566
Accepted: 22 ธ.ค. 2566

นันทวุฒิ นิยมวงษ์[1] ,กันยา อนุกูลธนากร[2], สุภาวรรณ วงค์คำจันทร์[3] และ อาวีพร ปานทอง[4]
Nanthavut Niyomvong[1], Kanya Anukulthanakorn [2], Suphawan Vongkamjan[3] and Aweeporn Panthong[4]

บทคัดย่อ

งานวิจัยทางชีวภาพนั้น มีแง่มุมในการศึกษาที่หลากหลาย ทั้งงานที่มีการออกแบบการทดลอง (Experiment Design) งานสำรวจข้อมูล (Surveys Research) หรืองานประเภทอื่น ๆ ที่เกี่ยวข้องกับทั้งพืช สัตว์ และจุลินทรีย์ ซึ่งแต่ละสิ่งมีชีวิตก็มีลักษณะเฉพาะและความต้องการทางกายภาพที่แตกต่างกันออกไป โดยเฉพาะงานที่มีการออกแบบการทดลอง ต้องระบุตัวแปรต่าง ๆ ที่ใช้ในการศึกษา จากความหลากหลายในคุณลักษณะของสิ่งมีชีวิตแต่ละชนิด ทำให้มีตัวแปรที่ศึกษาจำนวนมาก ไม่ว่าจะเป็น ความต้องการต่าง ๆ ของสิ่งมีชีวิต (Need) อาทิ ปริมาณอาหาร น้ำ แร่ธาตุต่าง ๆ หรือแม้กระทั่งอุณหภูมิที่เหมาะสม การออกแบบการทดลองต้องมุ่งศึกษาปัจจัยสำคัญที่มีผลต่อการทดลอง ตลอดจนต้องศึกษาตัวแปรที่ต้องการด้วยกระบวนการทางสถิติอย่างเข้มงวด อย่างไรก็ตามสิ่งมีชีวิตต่าง ๆ มีรูปแบบทางกายภาพ ชีวภาพ และเคมีที่สลับซับซ้อน การควบคุมตัวแปรทีละตัวขณะทำการศึกษาอาจทำให้ผลการทดลองคลาดเคลื่อนได้ง่ายเนื่องจากในความเป็นจริงแล้วกิจกรรมต่าง ๆ ของสิ่งมีชีวิตนั้นเกิดขึ้นและดำเนินไปพร้อมๆ กันในหลาย ๆ ตัวแปร ดังนั้นเพื่อให้ผลการศึกษาเกิดความเที่ยงตรงและแม่นยำมากที่สุด จึงต้องศึกษาตัวแปรทั้งหมดที่มีความสำคัญต่องานวิจัยไปพร้อมๆ กัน เพื่อให้ผลการทดลองมีค่าเชิงตัวเลขที่เข้าใกล้ความเป็นจริงมากที่สุด

บทความนี้ กล่าวถึงแนวทางการใช้ประโยชน์จากกระบวนวิธีพื้นที่ผิวตอบสนองในบทบาทของเครื่องมือประสิทธิภาพสูงสำหรับวิเคราะห์และคาดการณ์ (Predict) ผลการทดลองต่าง ๆ ที่มีแนวโน้มเกิดขึ้นในงานวิจัยทางชีวภาพ และเป็นการรวบรวมการใช้กระบวนวิธีพื้นที่ผิวตอบสนองจากหลายรูปแบบที่ผ่านมา ซึ่งเป็นการวิธีการคาดการณ์ผลโดยอาศัยความรู้ทางคณิตศาสตร์และสถิติทำให้สามารถลดต้นทุนในการจัดกระทำจริงกับตัวแปรจำนวนมากพร้อม ๆ กัน เกิดการคาดการณ์ถึงผลลัพธ์ของการทดลองที่มีแนวโน้มที่น่าเชื่อถือ ซึ่งสามารถใช้เป็นแนวทางในการวิจัยทางชีววิทยาให้เกิดการสร้าง

[1] *รองศาสตราจารย์ ศูนย์วิทยาศาสตร์ คณะวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยี มหาวิทยาลัยราชภัฏนครสวรรค์*
[2] *ผู้ช่วยศาสตราจารย์ สาขาวิชาชีววิทยาและเทคโนโลยีชีวภาพ คณะวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยี มหาวิทยาลัยราชภัฏนครสวรรค์*
[3] *รองศาสตราจารย์ สาขาวิชาชีววิทยาและเทคโนโลยีชีวภาพ คณะวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยี มหาวิทยาลัยราชภัฏนครสวรรค์*
[4] *ผู้ช่วยศาสตราจารย์ สาขาวิชาคณิตศาสตร์และสถิติ คณะวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยี มหาวิทยาลัยราชภัฏนครสวรรค์*
[1] *Associate Professor, Science center, Faculty of science and technology, Nakhon Sawan Rajabhat University*
[2] *Assistant Professor, Department of Biology and Biotechnology, Faculty of science and technology, Nakhon Sawan Rajabhat University*
[3] *Associate Professor, Department of Biology and Biotechnology, Faculty of science and technology, Nakhon Sawan Rajabhat University*
[4] *Assistant Professor, Department of Mathematics and Statistics, Faculty of science and technology, Nakhon Sawan Rajabhat University*
**Corresponding Author Email: aweeporn.p@nsru.ac.th*

องค์ความรู้ใหม่ในการศึกษาพารามิเตอร์อื่น ๆ ของงานวิจัยทางชีวภาพที่ประหยัดค่าใช้จ่ายลงและมีข้อความรู้ที่น่าสนใจ มีความน่าเชื่อถือ เป็นประโยชน์ต่อวงการวิจัยทางชีวภาพต่อไป

คำสำคัญ : กระบวนวิธีพื้นที่ผิวตอบสนอง, งานวิจัยทางชีวภาพ, เครื่องมือประสิทธิภาพสูง

Abstract

Biological research encompasses diverse study perspectives, including experiment design, data surveys and various investigations involving plants, animals, and microorganisms. Every living organism has unique traits and different physical needs. In experiments with designed methodologies, especially those involving experimental design, there are many variables to consider. These include the diverse needs of living organisms, such as nutritional requirements, water and minerals. Sometimes experimental design needs to focus on crucial factors that impact the experiment, and statistical methods are employed to study the variables intensively. However, living organisms exhibit complex physical, biological, and chemical patterns. Controlling variables one at a time during a study may lead to potential deviations in results due to the interconnected activities of various factors. For the experimental results to be as accurate and precise as possible, it is crucial to investigate all relevant variables concurrently.

This article discusses utilizing statistical methods, particularly Response Surface Design (RSM), as powerful tools for analyzing and predicting experimental results in various trends observed in biological research. It compiles the applications of Response Surface Design (RSM) from various perspectives, incorporating mathematical and statistical knowledge to reduce costs in analyzing multiple variables simultaneously. This approach aids in predicting experimental results reliably. It guides future biological research, facilitating the creation of cost-effective and insightful studies that contribute to advancing knowledge in the field.

Keywords : Response Surface Methodology, Biological Research, A Powerful Tool

ความสำคัญของกระบวนวิธีพื้นที่ผิวตอบสนอง

งานวิจัยทางชีววิทยาที่มีการศึกษาตัวแปรเพียงตัวเดียวหรือตัวแปรที่ไม่มีความสลับซับซ้อนมากเกินไป หรือเป็นตัวแปรที่สามารถควบคุมได้ง่าย มักไม่เกิดปัญหาระหว่างการวิจัยมากนัก และสามารถให้การตอบสนองเชิงผลลัพธ์ที่เรียบง่ายและมีความคลาดเคลื่อนได้น้อย อย่างไรก็ตามในสถานการณ์จริงหลาย ๆ ครั้งนักวิจัยพบว่ามีความจำเป็นต้องศึกษาหลายตัวแปรพร้อมกัน ในสถานการณ์เดียวกัน ดังนั้นความสัมพันธ์ระหว่างตัวแปรและการตอบสนองที่เกิดขึ้นควรประมวลผลแบบ “Empirical” ซึ่งอาศัยวิธีการรวบรวมข้อมูลที่สามารถสังเกตได้และกำหนดกระบวนการที่สามารถทำซ้ำ (Repeatable) เพื่อสร้างผลลัพธ์ที่สามารถยืนยันได้ในเชิงสถิติ นักคณิตศาสตร์จึงออกแบบวิธีการศึกษาแบบกระบวนวิธีพื้นที่ผิวตอบสนอง (Response Surface Methodology - RSM) ขึ้น วิธีนี้ถูกเสนอครั้งแรกโดย Box และ Wilson (Box & Wilson, 1951) เป็นเทคนิคทางคณิตศาสตร์และสถิติที่มีวัตถุประสงค์เพื่อวิเคราะห์ปัญหาโดยใช้แบบจำลองที่น่าเชื่อถือ โดยมีวัตถุประสงค์เพื่อประเมินความแปรปรวนในการทดลองอย่างน่าเชื่อถือ (Pure Error) และประกันความเหมาะสมระหว่างแบบจำลองที่ใช้ (Proposed Model) กับข้อมูลจากการทดลองโดยการทดสอบความแม่นยำของสมการถดถอย เช่น R^2 , R^2 (Adjusted) ที่

สำคัญที่สุดคือเพื่อทำนายผลการทดลองให้เป็นไปอย่างแม่นยำที่สุด ซึ่งกระบวนการดังกล่าวทำให้เกิดข้อได้เปรียบหลายประการ อาทิ มีประสิทธิภาพสูงต่อต้นทุนทางเศรษฐกิจ ลดเวลาในการทดสอบหรือทดลอง รวมทั้งลดปัญหาด้านข้อจำกัดทางปฏิบัติอื่น ๆ

กระบวนวิธีพื้นที่ผิวตอบสนองถูกนำมาใช้อย่างกว้างขวาง โดยเฉพาะการทดลองในอุตสาหกรรม ที่ต้องมีการทดลองขนาดเล็กในระดับห้องปฏิบัติการ ก่อนถูกนำไปขยายขนาดของการทดลอง เพื่อคาดการณ์ผลการศึกษาที่เกิดขึ้น โดยไม่ต้องลงทุนกับทดลองในชุดทดลองทั้งหมดที่ออกแบบไว้

หลักการของกระบวนวิธีพื้นที่ผิวตอบสนอง

หลักการของกระบวนวิธีพื้นที่ผิวตอบสนองนั้น Box และ Wilson แนะนำให้ใช้แบบจำลองพหุนามระดับสองหรือ Second-degree Polynomial Model กับชุดการทดลองที่สร้างขึ้น (Treatment) ซึ่งง่ายต่อการประมาณค่าและการใช้งาน ถึงแม้ว่าข้อมูลอื่น ๆ เกี่ยวกับกระบวนการจะมีน้อยก็ตาม (Draper, 1992) กระบวนวิธีพื้นที่ผิวตอบสนองสามารถใช้เพื่อหาค่าสูงสุดของการทดลองเช่น ปริมาณการผลิตของสารต่าง ๆ ที่เกิดขึ้น เมื่อเกิดการปรับปรุงระดับของตัวแปร (Karmoker et al, 2019) และจากงานวิจัยจำนวนมาก พบว่าการตอบสนองระหว่างตัวแปรกับกระบวนการที่ใช้มีค่าผลลัพธ์ที่แม่นยำและเชื่อถือได้ (Asadi & Zilouei, 2017) โดยวิธีดังกล่าวใช้การทดลองแฟคทอเรียล (Factorial Experiment) หรือการออกแบบแฟคทอเรียลเป็นส่วน (Fractional Factorial Design) วิธีนี้เพียงพอที่จะกำหนดว่าตัวแปรที่ทำนายหรือคาดการณ์ว่าตัวแปรใดจะมีผลต่อตัวแปรตอบสนองที่ผู้ศึกษาน่าสนใจ เมื่อถูกสงสัยว่าเพียงตัวแปรทำนายที่มีความสำคัญเท่านั้น จากนั้นใช้การออกแบบที่ซับซ้อนมากขึ้นเข้ามาจัดกระทำต่อ เช่นการออกแบบคอมโพสิทกลาง (Central Composite Design) สามารถนำมาใช้เพื่อประมาณแบบจำลองพหุนามระดับสอง ซึ่งยังคงเป็นเพียงการประมาณค่าผลลัพธ์เท่านั้น อย่างไรก็ตามแบบจำลองระดับสองสามารถใช้ในการปรับค่าที่เหมาะสม (Optimize) ทั้งในค่าเพิ่มสูงสุด (Maximize) ค่าต่ำสุด (Minimize) หรือค่าเฉพาะต่าง ๆ (Specific Target) ที่ผู้ศึกษาสนใจ นอกจากนี้ยังสามารถใช้การออกแบบทางสถิติแบบอื่นศึกษาต่อตามความเหมาะสมของแต่ละงาน เช่น การออกแบบบ็อกซ์-เบห์นเคน (Box-Behnken Design) (Ferreira et al, 2007) หรือการออกแบบแพลกเกตต์-เบอร์แมน (Plackett-Burman design) (Plackett & Burman, 1946) เป็นต้น ซึ่งในบทความนี้จะเน้นเฉพาะวิธีการศึกษาด้วยการออกแบบคอมโพสิทกลางเป็นหลัก เนื่องจากมีกระบวนการที่ง่าย แม่นยำและมีแนวโน้มถูกใช้ในงานทางชีวภาพมากขึ้นเรื่อยๆ

ตัวอย่างงานวิจัยทางชีววิทยาที่ใช้กระบวนวิธีพื้นที่ผิวตอบสนอง

ตัวอย่างงานวิจัยทางชีวภาพที่ใช้กระบวนวิธีพื้นที่ผิวตอบสนองที่ถูกนำมาใช้ในงานวิจัยสาขาเกษตรกรรมและชีววิทยา มีดังนี้

ในปี 2019 Taiwo และคณะได้วิจัยเกี่ยวกับผลผลิตทางการเกษตรในประเทศไนจีเรีย โดยสำรวจผลจากการใช้ปุ๋ยไนโตรเจน (Nitrogen) ฟอสฟอรัส (Phosphorus) และ โพแทสเซียม (Potassium - N.P.K) ต่อผลผลิตของมันสำปะหลังที่ปลูกบนพื้นที่ขาดความอุดมสมบูรณ์ โดยใช้กระบวนวิธีพื้นที่ผิวตอบสนองและการออกแบบคอมโพสิทกลาง โดยได้กำหนด 3 ปัจจัยที่มีผลต่อการเจริญของต้นมันสำปะหลัง ผ่านแบบจำลองพหุนามระดับสอง พบว่าเงื่อนไขใช้ปุ๋ยที่ดีที่สุดสำหรับผลผลิตมันสำปะหลังคือธาตุไนโตรเจนเท่ากับ 63.95 กิโลกรัมต่อไร่ ฟอสฟอรัส 154.35 กิโลกรัมต่อไร่ และโพแทสเซียม 45.56 กิโลกรัมต่อไร่ โดยการพล็อตกราฟ 3 มิติที่ได้จากแบบจำลองภายใต้เงื่อนไขนี้ พบว่าได้ผลผลิตมันสำปะหลังสูงสุดคือ 29.90 กิโลกรัมต่อไร่ ค่า Coefficient of Determination (R^2) และ Adjusted R^2 มีค่าเท่ากับ 0.9240 และ 0.8556 ตามลำดับ แสดงให้เห็นว่าผลการทดลองมีความสอดคล้องดีกับค่าที่ทำนายจากการวิเคราะห์ผลของการวิเคราะห์ความแปรปรวน การศึกษานี้แสดงให้

เห็นว่ากระบวนวิธีพื้นที่ผิวตอบสนองร่วมกับการออกแบบคอมโพสิทกลาง สามารถใช้ในการปรับปรุงผลผลิตของมันสำปะหลังได้อย่างมีประสิทธิภาพ ทำได้ง่าย ประหยัดต้นทุน และประหยัดเวลา

มีรายงานวิจัยในประเทศไทยเกี่ยวกับการใช้กระบวนวิธีพื้นที่ผิวตอบสนองด้านเกษตรกรรมเช่นกัน เช่นงานของ (ถนัดกิจ ศรีโชค, 2020) ได้ศึกษาพารามิเตอร์การทำงานที่ดีที่สุดของการไถด้วยจานไถ ให้ใช้ปริมาณน้ำมันเชื้อเพลิงที่น้อยที่สุดเพื่อไถเตรียมดินสำหรับปลูกอ้อย โดยใช้กระบวนวิธีพื้นที่ผิวตอบสนองเพื่อหาพารามิเตอร์ที่เหมาะสม และประยุกต์ร่วมกับการใช้ผลต่าง RSM-MDE เพื่อหาพารามิเตอร์ที่เหมาะสม ผลการทดลองพบว่าวิธีการ RSM-MDE สามารถปรับปรุงพารามิเตอร์ที่ดีที่สุดได้แก่ มุมดิสก์ของจานไถ 42 องศา มุมเอียง 20.25 องศา ความลึกตัด 10 เซนติเมตร และความเร็ว 2.53 กิโลเมตรต่อชั่วโมง และใช้ปริมาณเชื้อเพลิงเพียง 1.269 ลิตร มีผลทำให้ภาคเกษตรกรรมสามารถใช้เป็นแบบเพื่อลดการใช้ปริมาณน้ำมันเชื้อเพลิง

ในปี 2020 Zabaruddin และคณะได้ศึกษาปฏิกิริยาทรานสเอสเตอริฟิเคชันแบบต่อเนื่องของน้ำมันปาล์มที่ปรับปรุงโดยการใช้เส้นใยจากต้นเคนัฟ (*Hibiscus cannabinus* L.) ที่เหนี่ยวนำด้วยรังสีที่ (Radiation-Induced Kenaf Denoted) ในฐานะเป็นตัวแลกเปลี่ยนประจุบวก (Anion Exchange Kenaf Catalyst) ในถังหมักแบบ Packed-bed Reactor การใช้การออกแบบแบบฟูลแฟคทอเรียล (Full Factorial Design) และกระบวนวิธีพื้นที่ผิวตอบสนองร่วมกับการออกแบบคอมโพสิทกลาง เพื่อวิเคราะห์ผลกระทบของตัวแปรต่างๆ เช่น ความสูงของ Packed Bed อัตราส่วนของน้ำมัน เอทานอล และอัตราการผลิตกรดไขมัน (Fatty Acid Ethyl Ester; FAEE) โดยพารามิเตอร์สามข้อนี้ เป็นส่วนสำคัญที่ทำให้การผลิตเป็นไปอย่างมีประสิทธิภาพ ผลการศึกษาพบว่าค่าที่ทำนายและค่าจริงของอัตราการผลิตกรดไขมันมีค่าเท่ากับ 97.29% และ 96.87%, ตามลำดับ ซึ่งมีความแม่นยำสูงพอที่จะประยุกต์ในระดับอุตสาหกรรมได้ (Zabaruddin et al, 2020)

ในปีต่อมา Askari และคณะในปี 2021 ได้ศึกษาประเมินประสิทธิภาพของกระบวนวิธีพื้นที่ผิวตอบสนอง เพื่อคาดการณ์ถึงประสิทธิภาพในการไถของแทรกเตอร์โดยเน้นอุปกรณ์สองชิ้นที่ลากโดยรถไถคือ คราดพาราพลาว (Paraplow) และคราดซับซอยเลอร์ (Subsoiler) ว่ามีผลต่อพารามิเตอร์ที่ศึกษา ได้แก่ การลื่นไถ (Slippage) แรงของดรอว์บาร์ (Drawbar Power) และประสิทธิภาพในการไถ (Traction Efficiency) หรือไม่ พบว่าตัวแปรทั้งหมดมีผลต่อการเปลี่ยนแปลงของการลื่นไถ แรงของดรอว์บาร์ และประสิทธิภาพในการไถ หากเพิ่มขึ้นในความเร็วและความลึกทำให้การลื่นไถเพิ่มขึ้นและประสิทธิภาพในการไถลดลงตามลำดับ (Askari et al, 2021)

งานวิจัยด้านจุลชีววิทยาและเทคโนโลยีชีวภาพก็มีการใช้กระบวนวิธีพื้นที่ผิวตอบสนองเช่นกัน ในปี 2022 Niyomvong และคณะ ได้ออกแบบการทดลองเพื่อผลิตสารต้านราจาก *Streptomyces samsunensis* ไอโซเลท RB-4 ที่เพิ่งค้นพบ โดยศึกษาการยับยั้งต่อราก่อโรคในข้าว *Rhizoctonia solani* ใช้กระบวนวิธีพื้นที่ผิวตอบสนองเพื่อหาจุดที่สมดุลของส่วนประกอบระหว่างยีสต์สกัด (Yeast extract) มอลต์สกัด (Malt extract) และกลูโคส (Glucose) ที่มีผลต่อกิจกรรมผลิตสารต้านราของ *S. samsunensis* RB-4 พบว่าความเข้มข้นที่เหมาะสมของธาตุอาหารที่สามารถผลิตสารต้านราที่ดีที่สุดมีปริมาณยีสต์สกัด เท่ากับ 3.62 กรัมต่อลิตร มอลต์สกัด เท่ากับ 18.9 กรัมต่อลิตร และกลูโคส เท่ากับ 6.74 กรัมต่อลิตร พบว่าโซนการยับยั้งรามีความกว้างของรัศมีเท่ากับ 15 มิลลิเมตร (คิดเป็นการยับยั้งที่ 60%) เป็นไปตามค่าที่ทำนายไว้คือ 14.17 มิลลิเมตร การวิจัยนี้พิสูจน์ได้ว่ากระบวนวิธีพื้นที่ผิวตอบสนอง สามารถเป็นเครื่องมือที่เหมาะสมและเชื่อถือได้ในงานวิจัยเพื่อ Optimize สารออกฤทธิ์ทางชีวภาพ

นอกจากงานทางชีวภาพ ในปัจจุบันพบว่าแนวโน้มการใช้ประโยชน์จากกระบวนวิธีพื้นที่ผิวตอบสนองยังประยุกต์กับงานในหลายศาสตร์ที่เป็นเทคโนโลยีขั้นสูง มีรายงานเกี่ยวกับการสังเคราะห์อนุภาคนาโน (Nanoparticles) ที่มีการ Imprint ด้วยนิกเกิลและเหล็ก (Ni,F) ลงไปในโครงสร้างของ TiO_2 ด้วยวิธี Sol–gel ซึ่งอนุภาคนาโนนี้มีคุณสมบัติที่แสดงกิจกรรมทาง Photocatalytic ในทั้งแสงแดดและแสงที่สร้างขึ้นเพื่อย่อยสลาย Bisoprolol จากการที่ลักษณะของ Nanoparticles มีความแตกต่างกัน ทำให้สามารถวัดด้วยเทคนิคหรือเครื่องมือต่าง ๆ เช่น XRD, FE-SEM, TEM, FT-IR, DRS, EDX และ BET-BJH

พบว่าตัวแปรต่าง ๆ มีผลให้กิจกรรม Photocatalytic มีความแตกต่างกัน จึงนำพารามิเตอร์ต่าง ๆ ไปศึกษาด้วยกระบวนวิธีพื้นที่ผิวตอบสนอง โดยทำนายเงื่อนไขสำหรับประสิทธิภาพในการย่อยสลายที่สูงที่สุด ที่ 72.5% ของค่า Desirability function ที่เท่ากับ 1.0 คือ pH เท่ากับ 5.9 มวลของ Photocatalyst เท่ากับ 83.42 มิลลิกรัม ความเข้มข้นของ Bisoprolol เท่ากับ 16.2 มิลลิกรัมต่อลิตรและ Irradiation time เท่ากับ 137 นาที (Asadbeigi et al, 2023)

การนำกระบวนวิธีพื้นที่ผิวตอบสนองไปประยุกต์ใช้ในงานทางชีววิทยา

หัวข้อนี้ จะแสดงการใช้กระบวนวิธีพื้นที่ผิวตอบสนองในงานวิจัยทางชีววิทยา เพื่อให้เห็นการใช้งานในสภาพจริงอย่างเป็นรูปธรรม จะยกตัวอย่างจากการศึกษาสภาวะที่เหมาะสมในการผลิตสารควบคุมการเจริญของราโรคพืชโดยวิธีทางสถิติของ Niyomvong และคณะที่ได้กล่าวมาข้างต้น โดยอธิบายกระบวนการออกแบบเพื่อศึกษาการดังนี้

1. กำหนดเป้าหมายการศึกษาปัจจัยที่มีผลต่องานให้จัดเจน ในที่นี้คือการผลิตสารควบคุมการเจริญของราโรคพืช โดยกำหนดราก่อโรคพืชคือ *R. solani* เพื่อหาความสัมพันธ์ระหว่างโซนการยับยั้งจากการผลิตสารควบคุมราโรคพืช (Inhibition Zone) กับกลุ่มของปัจจัยที่ศึกษา

2. พิจารณางานที่ทำว่ามีพารามิเตอร์สำคัญกี่ตัว ในที่นี้คือ 3 พารามิเตอร์ จากนั้นออกแบบการทดลองแบบการออกแบบคอมโพสิทกลางที่มี 3 ปัจจัย ประกอบด้วยส่วนสำคัญ 3 ส่วน คือ จำนวนจุดของ Factorial Point มีจำนวนเท่ากับ 2^3 โดยแต่ละปัจจัยทั้งหมด 3 ปัจจัย จะทำการทดลอง 2 ระดับ ซึ่งใช้สัญลักษณ์ -1 แทนระดับต่ำ และ +1 แทนระดับสูง ดังนั้นการทดลองสำหรับ Factorial Point สามารถเขียนสัญลักษณ์ได้ดังนี้

$$(X_1, X_2, X_3) = (\pm1, \pm1, \pm1)$$

จำนวนจุดของ center point (n_o) จะต้องมีการทำซ้ำมากกว่า 1 ครั้ง เพื่อคำนวณหา Pure Error ในการวิเคราะห์การทดสอบความเหมาะสมของรูปแบบ การทดลองสำหรับ Center Point สามารถเขียนสัญลักษณ์ได้ดังนี้

$$(X_1, X_2, X_3) = (0, 0, 0)$$

จำนวนจุดของ star point มีจำนวนเท่ากับ 2(3) โดยแต่ละจุดห่างจาก Center Point ด้วยระยะเท่ากันคือระยะ α โดย $\alpha = \sqrt[4]{2^k}$ เมื่อศึกษา 3 ปัจจัยจึงมีค่า α เท่ากับ ±1.68 การทดลอง สำหรับ Star Point สามารถเขียนสัญลักษณ์ได้ดังนี้

$$(X_1, X_2, X_3) = (\pm1.68, \pm1.68, \pm1.68)$$

สามารถออกแบบจำนวนชุดการทดลองได้จาก $2^k + 2k + n_o$ เมื่อ k คือ จำนวนตัวแปรที่ต้องการศึกษาและ n_o คือ จำนวนซ้ำการทดลองที่จุดศูนย์กลาง (Center Point) ดังนั้นเมื่อศึกษา 3 ปัจจัย จึงเท่ากับ $2^3 + 2(3) + 6$ สามารถออกแบบการทดลองทั้งหมด 20 การทดลอง ซึ่งแต่ละการทดลองทำซ้ำ 3 ครั้ง โดยแบ่งปัจจัยออกเป็น 5 ระดับ ($-\alpha$, -1, 0, +1, $+\alpha$) ดังแสดงในตารางที่ 1

การกำหนดค่าของระดับแต่ละปัจจัยสามารถกำหนดได้จากสูตร

$$x_i = \frac{X_i - X_0}{\delta X}$$

x_i คือ code ของระดับปัจจัย

X_i คือ ค่าระดับที่แท้จริงของปัจจัย (True Level)

X_0 คือค่าเฉลี่ยของระดับปัจจัย (Average)

δX คือค่าช่วงกลางของระดับปัจจัย (Center Point) คิดจาก (ค่าสูงสุด- ค่าต่ำสุด)/2

ซึ่งสามารถออกแบบการทดลองได้ทั้งหมด 20 การทดลอง ดังแสดงในตารางที่ 2 โดยทำการทดลองในระดับกลางจำนวน 3 ซ้ำ

ตารางที่ 1 การกำหนดระดับของแต่ละปัจจัยที่ศึกษาโดยวางแผนการทดลองแบบคอมโพสิทกลางสำหรับโซนการยับยั้งจากการผลิตสารควบคุมการเจริญของราโรคพืช *R. solani* โดยสูตรมาตรฐานของพารามิเตอร์ของธาตุอาหารของ Yeast Extract-Malt Extract Agar ปกติ ได้แก่ ยีสต์สกัด 4 กรัม มอลต์สกัด 10 กรัม และ กลูโคส 4 กรัม

Variable code	Variables	Levels				
		$-\alpha$	-1	0	+1	$+\alpha$
X_1	Yeast extract (g/L)	0.64	2	4	6	7.36
X_2	Malt extract (g/L)	11.59	15	20	25	28.41
X_3	Glucose (g/L)	2.64	4	6	8	9.36

ตารางที่ 2 แบบการทดลองสำหรับระยะการยับยั้ง (Clear Zone) จากการผลิตสารควบคุมการเจริญของราโรคพืช โดยวิธีการออกแบบคอมโพสิทกลาง

Run no.	X_1	X_2	X_3
1	-1	-1	-1
2	-1	-1	+1
3	-1	+1	-1
4	-1	+1	+1
5	+1	-1	-1
6	+1	-1	+1
7	+1	+1	-1
8	+1	+1	+1
9	$-\alpha$	0	0
10	$+\alpha$	0	0
11	0	$-\alpha$	0
12	0	$+\alpha$	0
13	0	0	$-\alpha$
14	0	0	$+\alpha$
15	0	0	-0
16	0	0	0
17	0	0	0
18	0	0	0
19	0	0	0
20	0	0	0

จากการออกแบบในข้างต้น สามารถศึกษาการผลิตสารควบคุมการเจริญของราโรคพืชตามแบบการทดลองที่ได้ออกแบบไว้ทั้ง 20 ทดลอง

3. ดำเนินการทดลองเปรียบเทียบทั้ง 20 ชุด นำมาทดสอบเปรียบเทียบความสามารถในการยับยั้งการเจริญของราโรคพืชจริงในห้องปฏิบัติการ ด้วยวิธี Agar Diffusion Method ในห้องปฏิบัติ (หากเป็นงานวิจัยอื่น ๆ ก็ใช้วิธีที่เหมาะสมในแต่ละงาน) โดยเก็บตัวอย่าง และนำผลการทดลองที่ได้ไปวิเคราะห์ค่าทางสถิติโดยใช้การหาสมการการถดถอยเชิงพหุคูณเพื่อหาความสัมพันธ์ระหว่างโซนการยับยั้งจากการผลิตสารควบคุมการเจริญของราโรคพืชและปัจจัยที่นำมาศึกษาโดยใช้โปรแกรม Design Expert (Version 7.0)

4. ตรวจสอบความเหมาะสมของแบบจำลองโดยทดสอบการแจกแจงแบบปกติ และทดสอบความคงที่ของความแปรปรวนของความคลาดเคลื่อน และนำแบบจำลองที่ได้ไปทำนายค่าของปัจจัยที่เหมาะสมต่อการผลิตสารควบคุมการเจริญของราโรคพืชโดยใช้การหาพื้นผิวตอบสนอง

5. หลังจากการทดลองซ้ำ 3 ครั้งนำผลการทดลองที่ได้ไปวิเคราะห์การถดถอยเชิงพหุคูณเพื่อประเมินผลของปัจจัยที่ศึกษาต่อการผลิตสารควบคุมการเจริญของราโรคพืช ให้สร้างตารางเพื่อหาค่าสถิติ F เพื่อชี้ให้เห็นว่าปัจจัยที่ศึกษามีผลต่อการผลิตสารควบคุมการเจริญของราโรคพืชอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติที่ระดับ .05 จากนั้นดำเนินการประมาณค่าสัมประสิทธิ์การถดถอยพหุคูณของการผลิตสารควบคุมการเจริญของราโรคพืช *R. solani* โดยพิจารณาจากค่า p-value น้อยกว่าระดับนัยสำคัญที่ .05 และพิจารณาค่าอิทธิพลของตัวแปรปัจจัยต่างๆที่มีผลต่อการผลิตสารออกฤทธิ์ทางชีวภาพ โดยมีสมมติฐานการวิจัยตัวแปรที่มีอิทธิพลต่อการผลิตสาร เช่น พจน์ของ Glucose พจน์กำลังสองของ Yeast extract หรือพจน์กำลังสองของ Malt extract เป็นต้น

6. ตรวจสอบความเหมาะสมของสมการการถดถอย ผ่านการทดสอบการแจกแจงแบบปกติของการผลิตสารต้านราโรคพืช โดยวิธี Normal Probability Plot หากพบว่าลักษณะของจุดบนกราฟส่วนใหญ่มีการกระจายตัวในแนวเส้นตรง (Linear) สามารถสรุปว่าความคลาดเคลื่อนมีการแจกแจงปกติและเป็นไปตามข้อตกลงเบื้องต้นของการวิเคราะห์การถดถอย จึงนำไปเข้ากระบวนการต่อไป

7. นำตัวแปรทั้ง 3 ปัจจัยที่มีผลต่อการผลิตสารควบคุมการเจริญของราโรคพืช ได้แก่ Yeast extract Malt extract และ Glucose มาสร้างกราฟภาพพื้นผิวตอบสนองชนิด 3 มิติ โดยกราฟจะแสดงถึงอิทธิพลของแต่ละตัวแปร และปฏิสัมพันธ์ระหว่างตัวแปรต่อการผลิตสารควบคุมการเจริญของราโรคพืช ซึ่งผลการทดลองจะแสดงว่าสามารถให้โซนการยับยั้งจากการผลิตสารควบคุมการเจริญของราโรคพืชสูงสุดได้หรือไม่ โดยผู้วิจัยต้องพิจารณาภาพพื้นผิวตอบสนองของพารามิเตอร์ที่มีนัยยะต่อการผลิตสารออกฤทธิ์ทางชีวภาพ จากการวิเคราะห์พื้นผิวตอบสนองทั้งหมด สามารถเลือกสภาวะที่เหมาะสมที่สุดในการนำมาทำการทดลองจริงอีกครั้งเพื่อยืนยันผลการทดลอง และทดสอบความแม่นยำของสมการ โดยการสุ่มเลือกสิ่งทดลองจากแผนการทดลอง CCD จำนวน 6 จุด มาทดลองซ้ำอีกครั้ง เพื่อทำนายการผลิตสารควบคุมการเจริญของราโรคพืช จะได้ค่าจากการทำนาย (Prediction) เปรียบเทียบกับค่าจริง (Actual) ในที่สุด

สรุปผลการวิจัย

กระบวนการวิธีพื้นที่ผิวตอบสนองเป็นเครื่องมือทางสถิติและคณิตศาสตร์ชิ้นหนึ่งที่ใช้ในการวิเคราะห์และคาดการณ์ผลลัพธ์ของการทดลองหรือกระบวนการที่ศึกษาได้อย่างมีประสิทธิภาพ มุ่งเน้นการวิเคราะห์ด้วยสมการที่สามารถอธิบายความสัมพันธ์ระหว่างตัวแปรต้น (Factors) และตัวแปรตาม (Response) ในกระบวนการนี้นักวิจัยจะทดลองเปลี่ยนแปลงตัวแปรต้นที่สำคัญ เช่น เงื่อนไขการทำงาน สารต่าง ๆ หรือส่วนประกอบที่อยู่ในการทดลอง และวัดผลลัพธ์ที่เกิดขึ้นด้วยการทดลองจริง วิธีพื้นที่ผิวตอบสนองจะช่วยในการคาดการณ์ผลลัพธ์ในเงื่อนไขที่ไม่ได้ทดลอง เพื่อเปรียบเทียบกับชุดที่ทดลอง โดยจำเป็นต้องใช้กระบวนการออกแบบคอมโพสิทกลาง เพื่อทำให้กระบวนการทดลองมีประสิทธิภาพมากขึ้น นอกจากนี้การ

วิเคราะห์ผลลัพธ์ทางสถิติจะช่วยในการหาเงื่อนไขที่ทำให้ผลลัพธ์มีประสิทธิภาพสูงสุดหรือต่ำที่สุดได้ ช่วยลดความยุ่งยากในการทดลองและช่วยให้การเข้าใจความสัมพันธ์ระหว่างตัวแปรต้นและตัวแปรตามในกระบวนการหรือการทดลองทางวิทยาศาสตร์

กล่าวได้ว่ากระบวนการวิธีพื้นที่ผิวตอบสนองเป็นเครื่องมือทางสถิติและคณิตศาสตร์ชิ้นหนึ่งที่สามารถประยุกต์ใช้สำหรับการวิจัยและพัฒนาในหลายด้านต่างๆ เพื่อค้นหาความสัมพันธ์ระหว่างตัวแปรในรูปแบบผลตอบสนอง ทำให้สามารถทดลองและวิเคราะห์ปัญหาต่าง ๆ ได้อย่างมีประสิทธิภาพมากขึ้น อาทิด้านการเกษตร กระบวนวิธีพื้นที่ผิวตอบสนองสามารถช่วยในการปรับปรุงกระบวนการเพาะปลูกหรือการให้ปุ๋ยในลักษณะที่ทำให้ผลผลิตมีประสิทธิภาพมากที่สุด ในอุตสาหกรรมอาหาร นักวิจัยสามารถใช้กระบวนวิธีพื้นที่ผิวตอบสนองเพื่อปรับปรุงสูตรอาหารหรือกระบวนการผลิตเพื่อให้ได้ผลิตภัณฑ์ที่มีคุณภาพ ความคงตัวหรือรสชาติที่ดีที่สุด ในเชิงวิศวกรรมสามารถนำมาใช้ในการปรับปรุงกระบวนการผลิตของเครื่องจักร การทำงานของเครื่องยนต์ หรือการออกแบบผลิตภัณฑ์ในลักษณะที่ลดการสูญเสียและเพิ่มประสิทธิภาพของระบบ สรุปได้ว่ากระบวนวิธีพื้นที่ผิวตอบสนองเป็นเครื่องมือที่แม่นยำสามารถใช้กับงานที่หลากหลาย ไม่ว่าจะเป็นในด้านเทคโนโลยีเกษตรกรรมและ อุตสาหกรรม รวมทั้งกระบวนการเชิงวิศวกรรมต่าง ๆ

เอกสารอ้างอิง

ถนัดกิจ ศรีโชค. (2563). *วิธีพื้นผิวตอบสนองร่วมกับวิวัฒนาการโดยใช้ผลต่างแบบดัดแปลงเพื่อหาค่าการใช้พลังงานที่ดีที่สุดในการเตรียมดินของรถแทรคเตอร์.* ดุษฎีนิพนธ์ ปรัชญาดุษฎีบัณฑิต สาขาวิชาวิศวกรรมอุตสาหการ. อุบลราชธานี: มหาวิทยาลัยอุบลราชธานี.

Asadbeigi, N., Givianrad, M. H., Aberoomand Azar, P. and Saber-Tehrani, M. (2023). Optimization by central composite design (CCD)-response surface methodology (RSM) of the highly selective molecularly imprinted Ni and F co-doped TiO_2 photocatalyst for photocatalytic degradation of bisoprolol. New Journal of Chemistry. 37: 17346-17358.

Asadi, Nooshin and Zilouei, Hamid. (2017). Optimization of organosolv pretreatment of rice straw for enhanced biohydrogen production using Enterobacter aerogenes. Bioresource Technology. 227(2017): 335–344.

Askari, M., Abbaspour-Gilandeh, Y., Taghinezhad, E., El Shal, A.M., Hegazy, R. and Okasha, M. (2021). Applying the Response Surface Methodology (RSM) Approach to Predict the Tractive Performance of an Agricultural Tractor during Semi-Deep Tillage. Agriculture. 11(1043): 1-14.

Box, G.E.P. and Wilson, K.B. (1951). On the Experimental Attainment of Optimum Conditions. Journal of the Royal Statistical Society Series B. 13(1): 1-45.

Draper, N.R. (1992). Introduction to Box and Wilson (1951) On the Experimental Attainment of Optimum Conditions. In S. Kotz & N.L. Johnson (Eds.), *Breakthroughs in Statistics*. Springer Series in Statistics. New York: Springer.

Ferreira, S.L.C., Bruns, R.E., Ferreira, H.S., Matos, G.D., David, J.M., Brandão, G.C., da Silva, E.G.P., Portugal, L.A., dos Reis, P.S., Souza, A.S. and dos Santos, W.N.L. (2007). Box-Behnken design: An alternative for the optimization of analytical methods. Analytica Chimica Acta. 597(2): 179-186.

I. Taiwo, A., A. Agboluaje, S. A. and Lamidi, W. (2019). Application of response surface method (RSM) and central composite design (CCD) for optimization of cassava yield. Interdisciplinary Research Review. 14(6): 62-69.

Karmoker, J.R., Hasan, I., Ahmed, N., Saifuddin, M. and Reza, M.S. (2019). Development and Optimization of Acyclovir Loaded Mucoadhesive Microspheres by Box – Behnken Design. Dhaka University Journal of Pharmaceutical Sciences. 18(1): 1-12.

Plackett, R.L. and Burman, J.P. (1946). The Design of Optimum Multifactorial Experiments. Biometrika. 33(4): 305-325.

Zabaruddin, N.H., Abdullah, L.C., Mohamed, N.H. and Choong, T.S.Y. (2020). Optimization Using Response Surface Methodology (RSM) for Biodiesel Synthesis Catalyzed by Radiation-Induced Kenaf Catalyst in Packed-Bed Reactor. Processes. 8(1289): 1-18.