

เครื่องปฏิกรณ์ชีวภาพชนิดต่างๆ

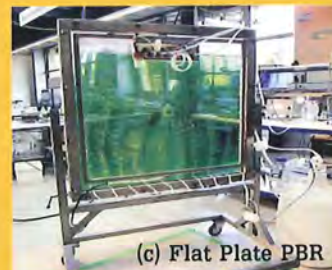
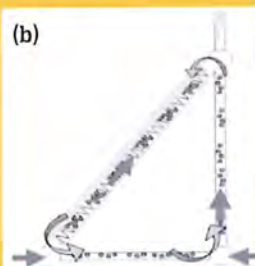
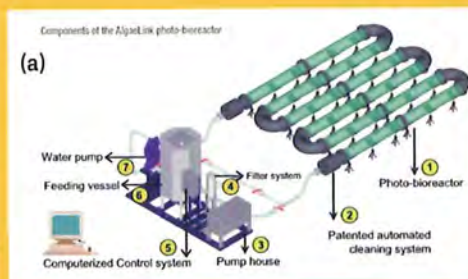
(a) : Tubular PBR

(b) : Column PBR (air lift reactor):

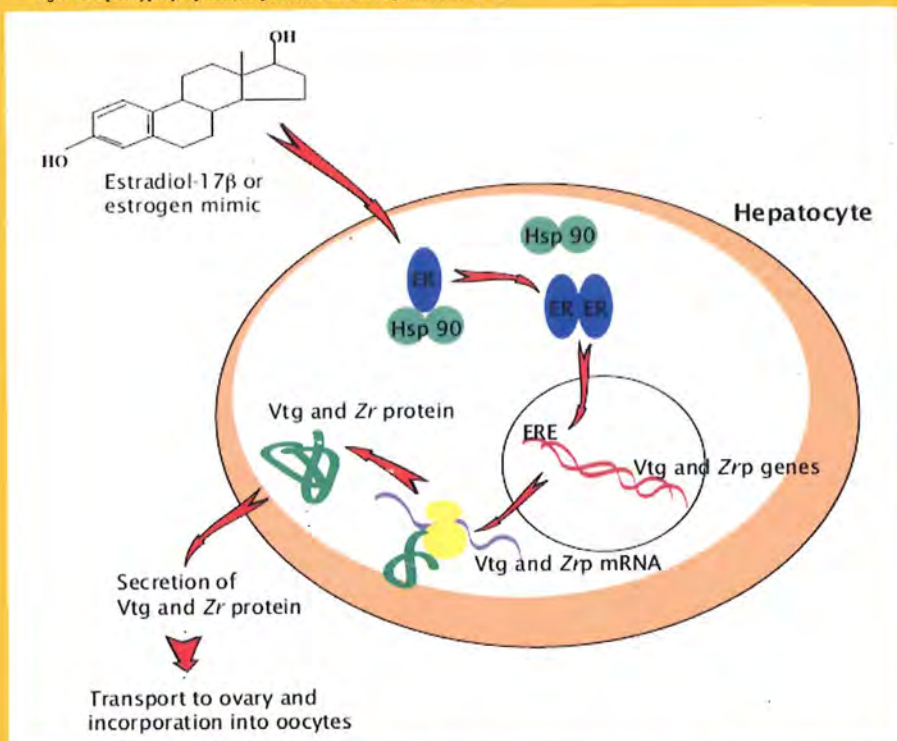
triangle airlift reactor ของ GreenFuels

s 3D Matrix Algae Growth Engineering,

Red Hawk Power Plant, Arizona, USA (50)



(ที่มา <http://www.oilgae.com/ref/glos/photobioreactor.html>, <http://bioconceptslife.com>, Schenk et al., 2008, <http://www.oilgae.com/algae/cult/pbr/typ/flp/flphtml>, http://www.kit.edu/english/66_604.php)



การชักนำการสังเคราะห์ไวเทลโลเจนิน (Vtg) และโปรตีนโซนาเรเดอตา (Zrp) ในเซลล์ตับ

(ที่มา: Arukwe and Goksoyr, 2003)



KKU SCIENCE JOURNAL

วารสารวิทยาศาสตร์ มข.

ปีที่ 39 ฉบับที่ 3 (ก.ค. - ก.ย. 54) Vol. 39 No. 3 (July - Sep. 2011)

ISSN 0125 - 2364

บรรณาธิการแสดง

บทความ

- เทคนิค Denaturing Gradient Gel Electrophoresis :
หลักการ และการประยุกต์ใช้ทางจุลชีววิทยา
สิ่งแวดล้อม
Denaturing Gradient Gel Electrophoresis :
Principle and Application in Environmental
Microbiology
ดวงหทัย สิงห์คะ
วสุ ปฐมอารีย์..... 321
- จากสาหร่ายขนาดเล็กสู่เชื้อเพลิงชีวภาพ :
โอกาสและความท้าทาย
From Microalgae to Biofuel: Opportunities
and Challenges
รัตนภรณ์ สีสิงห์..... 334
- เครื่องหมายโมเลกุลสำหรับการปรับปรุงพันธุ์พืช
Molecular Markers for Plant Breeding
สรพงศ์ เบญจศรี..... 350
- ยีนที่สร้างไวเทลโลจีนิและโปรตีนโซนาริเดียตาในปลา:
ตัวชี้วัดทางชีวภาพของสารรบกวนฮอร์โมนเอสโตรเจน
(e-EDCs) ปนเปื้อนในแหล่งน้ำ
Vitellogenin and Zona Radiata Protein Genes in
Fish: Biomarkers of Estrogenic Endocrine
Disrupting Compounds (e-EDCs) Contamination
in Aquatic Environment
ธนากร แสงสง่า
ชุตานุกาญจน์..... 364



KKU SCIENCE JOURNAL

วารสารวิทยาศาสตร์ มข.

ปีที่ 39 ฉบับที่ 3 (ก.ค. - ก.ย. 54) Vol. 39 No. 3 (July - Sep. 2011)

ISSN 0125 - 2364

บทความ

- ☐ ผลของโลหะหนักต่อสัตว์หน้าดินจำพวกหอย

Effect of Heavy Metals on Mollusk

ลำไย ธีรรัตน์พันธุ์.....

375
- ☐ Cataclysmic Variables

Amornrat Aungwerojwit.....

387
- ☐ การใช้นิวเคลียร์แมกเนติกเรโซแนนซ์สเปกโทรสโกปี

เพื่อติดตามการเคลื่อนที่ของน้ำในระบบอาหาร

Use of Nuclear Magnetic Resonance

Spectroscopy for Monitoring Water Mobility

in Food Systems

ธนจันทร์ มหาวนิช.....

409
- ☐ การระบายสีเส้นเชื่อมในกราฟ

Edge-Coloring in Graphs

เกียรติสุดา นาคประสิทธิ์.....

421

มหาวิทยาลัยขอนแก่น



KKU SCIENCE JOURNAL

วารสารวิทยาศาสตร์ มข.

ปีที่ 39 ฉบับที่ 3 (ก.ค. - ก.ย. 54) Vol. 39 No. 3 (July - Sep. 2011)

ISSN 0125 - 2364

งานวิจัย

- ❑ เรณูวิทยาของพรรณไม้ปลูกในมหาวิทยาลัยราชภัฏยะลา ประเทศไทย
Palynology of Cultivated Plant Species at Yala Rajabhat University, Thailand
Isma-ae Chelong..... 433

- ❑ ความสัมพันธ์ระหว่างอัตราการปล่อยก๊าซมีเทนกับลักษณะสัณฐานของข้าวพันธุ์ชัยนาท 1 และพันธุ์สกลนคร
Relationship between Methane Emission Rate and Morphological Characteristics of Chainat 1 and Sakol Nakon Rice Varieties
พัชรี แสนจันทร์
มหาวิทยาลัยเทคโนโลยีพระจอมเกล้าธนบุรี
วรรณวิภา แก้วประดิษฐ์
เกริก ปั่นเหน่งเพชร..... 447

- ❑ การปลูกอนุภาคนาโนซิงค์ออกไซด์บนผ้าฝ้ายที่ปรับปรุงด้วยพอลิไสตรีนซัลโฟนิคแอซิดและสมบัติการป้องกันรังสียูวี
Growth of ZnO nanoparticles on poly 4-styrenesulfonic acid modified cotton fabrics and UV protection property
ยุวันดา เอี่ยมเผ่าจีน
ปทุมมา ศิริพันธุ์โนน..... 459



KKU SCIENCE JOURNAL

วารสารวิทยาศาสตร์ มข.

ปีที่ 39 ฉบับที่ 3 (ก.ค. - ก.ย. 54) Vol. 39 No. 3 (July - Sep, 2011)

ISSN 0125 - 2364

งานวิจัย

- ❑ ผลของการเสริมไส้เดือนดินในอาหารต่อการเจริญเติบโตและอัตราการรอดของลูกกุ้งก้ามกราม

Effect of Supplementation of Earthworm into Diets on Growth and Survival Rates of the Giant Freshwater Prawn Juveniles

นพคุณ ภักดีณรงค์
อาถิติ จันทร์ถิระติกุล.....

466

- ❑ การศึกษาโครงสร้างของ $Ba_{1-x}La_xTiO_3$ โดยใช้วิธี Rietveld refinement

Structural Studies of $Ba_{1-x}La_xTiO_3$ Using the Rietveld Refinement Method

อ่อนลณี กมลอินทร์
วันวิสา พัฒนศิริวิศ
สุธรรม ศรีหล่มสัก
นงลักษณ์ มีทอง.....

475

- ❑ การประมาณเรขาคณิตแบบจุดโดยฟังก์ชัน w

A Pointwise Geometric Approximation by w-Functions

พิม มะสิงาม
คณินทร์ ชีรภาพ โอฟาร.....

490



ISSN 0125 - 2364

Publisher

Faculty of Science, Khon Kaen University,
Thailand.

Office

Faculty of Science, Building 6, Khon Kaen
University, Khon Kaen Thailand, 40002
Tel. 0-4320-2372 Fax 0-4320-2371

Objectives

1. To promote dissemination of knowledge
in all fields of science.
2. To publish research results of faculty,
researchers and students.
3. To be a medium for the exchange of
knowledge and ideas among faculty,
researchers and students of Khon Kaen
University and other institutions.

Publishing frequency

KKU Science Journal is a quarterly
journal. Each volume consists of 4 numbers.

Number 1 January - March

Number 2 April - June

Number 3 July - September

Number 4 October - December

Advisory Committee

Dean, Faculty of Science, Khon Kaen University
(Assist. Prof. Dr. Kiat Sangaroon)

Act for Editor

Assoc. Prof. Dr. Sakda Daduang Khon Kaen University

Editorial Board

Prof. Dr. M.R. Jisnuson Svasti	Mahidol University
Prof. Dr. Supot Hannongbua	Chulalongkorn University
Prof. Dr. Chidchanok Lursinsap	Chulalongkorn University
Prof. Dr. Sukit Limpijumnong	Suranaree University
	of Technology
Prof. Dr. Arun Puttanothai	Khon Kaen University
Assoc. Prof. Dr. Chutima Hanjavanit	Khon Kaen University
Assoc. Prof. Dr. Sartra Wongthanavasu	Khon Kaen University
Assoc. Prof. Dr. Supalax Srijaranai	Khon Kaen University
Assoc. Prof. Dr. Somdej Kanokmedhakul	Khon Kaen University
Assoc. Prof. Dr. Sujitra Youngme	Khon Kaen University
Assoc. Prof. Kitti Akamphon	Khon Kaen University
Assoc. Prof. Supunnee Ungpansattawong	Khon Kaen University
Assoc. Prof. Amnuay Maneesriwongkul	Khon Kaen University
Assist. Prof. Dr. Kittikorn Nakprasit	Khon Kaen University
Assist. Prof. Dr. Ngamnit Art-In	Khon Kaen University
Assist. Prof. Dr. Wilailak Siripornadulsil	Khon Kaen University
Assist. Prof. Dr. Sriprajak Kongsuk	Khon Kaen University
Assist. Prof. Dr. Adcharaporn Pagdee	Khon Kaen University
Dr. Kanlaya Kong-ngern	Khon Kaen University
Dr. Keatsuda Nakprasit	Khon Kaen University
Dr. Nonglak Meethong	Khon Kaen University
Dr. Pornpimol Jieranaipreeprem	Khon Kaen University
Dr. Polson Mahakhan	Khon Kaen University
Dr. Rina Pattaramanon	Khon Kaen University
Dr. Wijarn Sodsiri	Khon Kaen University

Artists

Mr.Kilen Tinnoraset Khon Kaen University

Managing Staff and Secretary

Miss Suphaporn Phimwapi	Khon Kaen University
Miss Phikun Ratphonsan	Khon Kaen University
Miss Jiraporn Pimphumee	Khon Kaen University
Miss Jaroonluk Suporn	Khon Kaen University
Mr.Saksit Suwan	Khon Kaen University

**“ With the Financial Support
of the Commission on
Higher Education ”**

The views and opinions expressed in this journal are those of the author(s), and do not necessarily reflect the views and opinions of the editorial board.

บรรณาธิการ **แฉ**

เรียน ท่านผู้อ่านที่เคารพทุกท่าน

ฉบับนี้เป็นฉบับที่สามของปี 54 นี้ อยู่ในช่วงที่มีภาวะมหาอุทกภัยในหลายพื้นที่ ทางกองบรรณาธิการและทีมงานวารสารวิทยาศาสตร์ มข. ก็ขอเป็นกำลังใจให้กับทุกท่าน ขอให้ท่านรอดปลอดภัยจากภัยธรรมชาติอันนี้ไปให้จงได้นะครับ ส่วนวารสารของเราก็พร้อมรับงานวิจัยที่เกี่ยวข้องกับเรื่องน้ำ ไม่ว่าจะเป็นเรื่องการจัดการเรื่องทรัพยากรน้ำ น้ำในด้านสิ่งแวดล้อม หรือเนื้อหาใดๆ ที่จะยังประโยชน์ต่อการจัดการกับปัญหาเรื่องน้ำในอนาคต

สำหรับเนื้อหาในเล่มนี้แม้จะยังไม่มีเรื่องน้ำในด้านอุปโลกบริโภค อันเป็นประเด็นร้อน แต่ก็มีเรื่องของติดตามน้ำในเรื่องเทคโนโลยีอาหาร เป็นการติดตามน้ำในปริมาณน้อยที่น่าสนใจยิ่ง ส่วนเนื้อหาอื่นๆ ทั้งทางด้านชีวภาพและกายภาพ ก็ยังเข้มข้นเช่นเดิมครับ ซึ่งก็หวังอย่างยิ่งดังเช่นทุกเล่มว่า เนื้อหาเหล่านี้จะเป็นที่สนใจ และได้ถูกนำไปใช้ประโยชน์ รวมทั้งยังถูกนำไปใช้อ้างอิงในงานเขียนของท่านผู้อ่านด้วย

ในท้ายนี้ก็ขอประชาสัมพันธ์ในส่วนของการประชุมวิชาการนานาชาติ วิทยาศาสตร์และเทคโนโลยีเพื่อการพัฒนาที่ยั่งยืนของอนุภูมิภาคลุ่มน้ำโขง ครั้งที่ 4 (The 4th International Conference on Science and Technology for Sustainable Development of the Greater Mekong Sub-region) หรือเรียกย่อ ๆ ว่า STGMS ครั้งที่ 4 ระหว่างวันที่ 23-24 มกราคม 2555 ณ โรงแรมพูลแมน จังหวัดขอนแก่น ซึ่งทางคณะวิทยาศาสตร์ มหาวิทยาลัยขอนแก่น ได้รับความกรุณาจากการเข้าร่วมงานของนักวิจัยหลากหลายสาขา ทั้งในและต่างประเทศ จนประสบความสำเร็จจากการจัดงานมาแล้ว 3 ครั้ง ครั้งนี้เป็นครั้งที่ 4 จึงขอเรียนเชิญชวนอาจารย์ นักวิจัยและนักศึกษา รวมไปถึงบุคคลที่สนใจ ร่วมส่งผลงานวิจัยเข้าร่วมงานดังกล่าว รายละเอียดสามารถศึกษาเพิ่มเติมได้ที่ <http://www.sc.kku.ac.th/stgms2012> โดยผลงานที่มีเนื้อหาครบถ้วนสมบูรณ์จะได้รับการตีพิมพ์ในวารสารวิทยาศาสตร์ มข. (ฉบับพิเศษ) ประจำปี 2555 ด้วยครับ

ขอบคุณครับ

รศ.ดร.ศักดิ์ ดาดวง

รองคณบดีฝ่ายวิจัยและวิเทศสัมพันธ์
คณะวิทยาศาสตร์ มหาวิทยาลัยขอนแก่น
รักษาการบรรณาธิการ



เทคนิค Denaturing Gradient Gel Electrophoresis : หลักการ และการประยุกต์ใช้ทางจุลชีววิทยาสิ่งแวดล้อม Denaturing Gradient Gel Electrophoresis : Principle and Application in Environmental Microbiology

ดวงหทัย สิงห์กะ¹ และ วสุ ปฐมอารีย์^{1*}

บทนำ

ในปัจจุบันการติดตาม ตรวจสอบ และการวิเคราะห์ความหลากหลายของจุลินทรีย์ในธรรมชาติ ได้เข้ามามีบทบาทสำคัญอย่างมากในงานวิจัยด้านต่างๆ ทั้งด้านการแพทย์ อาหาร และการเกษตร ซึ่งวิธีการศึกษาที่ใช้กันอยู่ทั่วไปตั้งแต่ในอดีตจนถึงปัจจุบันนั้น ต้องอาศัยการเพาะเลี้ยงจุลินทรีย์บนอาหารเลี้ยงเชื้อ (culturing method) ตรวจสอบการใช้สารอาหารของจุลินทรีย์โดยวิธีชีวเคมี (biochemical test) ตลอดจนการดูลักษณะรูปร่างจากกล้องจุลทรรศน์ (direct microscopic examination) อย่างไรก็ตามวิธีการเหล่านี้มีข้อจำกัด เนื่องจากไม่สามารถเพาะเลี้ยงจุลินทรีย์ได้ทุกชนิดบนอาหารเลี้ยงเชื้อ โดยพบว่าจุลินทรีย์ที่สามารถเพาะเลี้ยงได้นั้นมีปริมาณเพียงร้อยละ 0.1-1 ของจุลินทรีย์ทั้งหมด อาจเนื่องมาจากการขาดความเข้าใจในสภาวะที่แท้จริงที่จุลินทรีย์เจริญเติบโตในธรรมชาติ นอกจากนี้จุลินทรีย์บางกลุ่ม เช่น Endosymbiotic bacteria จำเป็นต้องอาศัยสิ่งมีชีวิตชนิดอื่นในการเจริญเติบโต จากเหตุผลดังกล่าวทำให้

ทั้งจำนวน และชนิดของจุลินทรีย์ที่ตรวจพบนั้นคลาดเคลื่อนและต่ำกว่าความเป็นจริง อีกทั้งยังต้องใช้ระยะเวลาในการเพาะเลี้ยงที่ค่อนข้างยาวนาน ทำให้เทคนิคนี้ไม่สามารถรองรับการตรวจสอบหรือติดตามกลุ่มจุลินทรีย์ที่ต้องการคำตอบอย่างรวดเร็วได้ ดังนั้นเพื่อแก้ปัญหาอันเนื่องมาจากข้อจำกัดในการเพาะเลี้ยงจุลินทรีย์ เทคนิคทางอณูวิทยา (molecular methods) จึงเข้ามามีบทบาทอย่างมาก ในปัจจุบันเทคนิคลายพิมพ์ดีเอ็นเอ (DNA fingerprinting) ได้ถูกนำมาใช้ในการวิเคราะห์ความหลากหลายของจุลินทรีย์ในธรรมชาติกันอย่างแพร่หลาย โดยเทคนิค Denaturing Gradient Gel Electrophoresis (DGGE) เป็นวิธีหนึ่งที่ได้รับคามนิยมในการนำมาใช้เพื่อวิเคราะห์ความหลากหลายของจุลินทรีย์ เนื่องจากความรวดเร็ว และไม่ยุ่งยาก อีกทั้งเป็นที่ยอมรับว่ามีประสิทธิภาพสูง บทความนี้ได้อธิบายถึงหลักการ และการนำเทคนิค DGGE ไปประยุกต์ใช้ในงานด้านจุลชีววิทยาสิ่งแวดล้อม รวมถึงข้อจำกัดของเทคนิคนี้ในการนำไปใช้วิเคราะห์ความหลากหลายของจุลินทรีย์ในสิ่งแวดล้อม

¹ ภาควิชาชีววิทยา คณะวิทยาศาสตร์ มหาวิทยาลัยเชียงใหม่ อ.เมือง จ.เชียงใหม่ 50200

* Corresponding Author, E-mail : wasu@chiangmai.ac.th

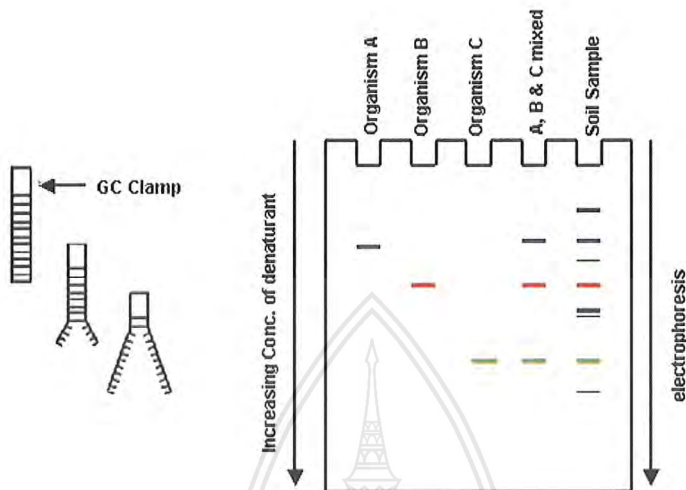
ความเป็นมาของเทคนิค DGGE

เทคนิค DGGE ถูกนำมาใช้ครั้งแรกในปี ค.ศ. 1979 โดย Fischer and Lerman เพื่อตรวจสอบการเปลี่ยนแปลงของลำดับเบสที่พบในชิ้นส่วนดีเอ็นเอ และในปี 1985 Myers et al. ได้ใช้เทคนิคนี้ในการตรวจสอบการเปลี่ยนแปลงชนิดของเบสหนึ่งตำแหน่ง (single base substitution) ในยีนบีตาโกลบิน (β -globin) ของผู้ป่วยโรคปีศาจโลหิตซีเมีย (β -thalassemia) ต่อมา Mulyer et al. (1993) ได้เริ่มนำเทคนิคนี้ไปประยุกต์ใช้ในการวิเคราะห์ประชากรจุลินทรีย์ในระบบนิเวศ โดยเริ่มจากการศึกษาในบริเวณที่มีความหลากหลายของจุลินทรีย์ต่ำ เช่น ใต้ทะเลลึกที่มีอุณหภูมิสูง (Mulyer et al., 1995) และ บริเวณน้ำพุร้อน (Ferris et al., 1996) ต่อมาเทคนิค DGGE ก็ได้รับความนิยมอย่างแพร่หลายในห้องปฏิบัติการในการศึกษาจุลินทรีย์ในสิ่งแวดล้อมต่าง ๆ เช่น ดิน (Nakatsu et al., 2000) น้ำทะเล (Díez et al., 2001) อาหาร (Cocolin et al., 2001) ระบบทางเดินอาหาร (Zoetendal et al., 2002) ตัวอย่างทางการแพทย์ (Donskey et al., 2003) และระบบบำบัดน้ำเสีย (Lee et al., 2008) เป็นต้น

หลักการของเทคนิค DGGE

DGGE เป็นเทคนิคที่ใช้แยกความแตกต่างของชิ้นส่วนดีเอ็นเอด้วยกระแสไฟฟ้าในแนวดิ่งบนตัวกลางที่เป็นเจลโพลีอะคริลาไมด์ โดยสามารถแยกชิ้นส่วนดีเอ็นเอสายคู่ที่มีลำดับเบสต่างกันได้แม้ว่าความยาวของสายดีเอ็นเอจะเท่ากัน เทคนิคนี้จะใช้แยกดีเอ็นเอที่มีขนาดสั้นๆ ประมาณ 200-500 คู่เบส โดยอาศัยความแตกต่างของสารที่มีคุณสมบัติในการแยกสายดีเอ็นเอ หรือทำให้ดีเอ็นเอเสียสภาพ (denaturant) ซึ่งเป็นส่วนผสมของสารยูเรีย และฟอร์มาไมด์ที่มีสัดส่วนความเข้มข้นของสารไล่เรียงอย่างต่อเนื่อง (gradient) จากส่วนบนของเจลซึ่งมีความเข้มข้นน้อยไปยังส่วนล่างของเจลซึ่งมีความเข้มข้นมาก ร่วมกับการใช้อุณหภูมิสูงในช่วง 55-65 องศาเซลเซียส (ส่วนใหญ่มักใช้อุณหภูมิ 60 องศาเซลเซียส) ในการทำลายพันธะไฮโดรเจนระหว่างคู่เบส โมเลกุลดีเอ็นเอจะเกิดการคลายเกลียว

แยกเป็นสายเดี่ยวที่ตำแหน่งต่างๆกันบนเจล เนื่องจากความแตกต่างของปริมาณเบสกวีนินและไซโตซีน (GC content) ที่มีในดีเอ็นเอแต่ละโมเลกุล ทำให้อุณหภูมิการหลอมเหลวของสายดีเอ็นเอแตกต่างกัน (melting temperature : T_m) ดีเอ็นเอที่มีปริมาณเบสกวีนิน และไซโตซีนสูง จะแยกสายบริเวณที่สารทำให้ดีเอ็นเอเสียสภาพมีความเข้มข้นสูง เนื่องจากจับกันด้วยพันธะไฮโดรเจน 3 พันธะ ส่วนดีเอ็นเอที่มีปริมาณเบสอะดีนีน (A) และไทมีน (T) สูง จะแยกสายบริเวณที่มีความเข้มข้นของสารน้อยกว่า เนื่องจากจับกันด้วยพันธะไฮโดรเจน 2 พันธะ นอกจากนี้ยังมีการเพิ่มเบสกวีนิน และไซโตซีน ประมาณ 30-50 นิวคลีโอไทด์ที่ปลาย 5' ของฟอร์เวิร์ดไพรเมอร์ที่ใช้ในการเพิ่มปริมาณดีเอ็นเอ เรียกว่า GC-clamp ซึ่งเป็นโครงสร้างที่มีอุณหภูมิการหลอมเหลวสูง (high melting domain) และยึดจับกันอย่างเหนียวแน่นช่วยป้องกันไม่ให้ดีเอ็นเอสายคู่แยกออกจากกันเป็นสายเดี่ยวอย่างสมบูรณ์เมื่อเคลื่อนที่บนเจล (Mulyer and Smalla, 1998) หากไม่มีการเติมโครงสร้างดังกล่าวเข้าไปในโมเลกุลดีเอ็นเอ จะทำให้ดีเอ็นเอสายคู่แยกออกจากกันเป็นสายเดี่ยวอย่างสมบูรณ์ และเคลื่อนที่หลุดออกจากเจลได้ เมื่อนำชิ้นดีเอ็นเอมาวิ่งผ่านวุ้นภายใต้กระแสไฟฟ้า บริเวณจุดที่ส่วนผสมระหว่างยูเรีย และฟอร์มาไมด์เท่ากับ T_m ของดีเอ็นเอเส้นนั้น โมเลกุลดีเอ็นเอจะเริ่มคลายเกลียวเป็นสายเดี่ยวทีละส่วน ซึ่งส่วนที่เป็นสายเดี่ยวนี้อจะไปขัดขวางการเคลื่อนที่ทำให้การเคลื่อนที่ของดีเอ็นเอช้าลง และเมื่อดีเอ็นเอสายคู่แยกออกเป็นสายเดี่ยวหมดทั้งเส้นการเคลื่อนที่ก็จะหยุดลง (Peters and Robinson, 2005) ทำให้สามารถมองเห็นแถบดีเอ็นเอที่ปรากฏบนเจลต่างกัน โดยแถบดีเอ็นเอที่ปรากฏจะอยู่ในรูปที่เป็นสายคู่เพียงบางส่วน นั่นคือ ดีเอ็นเอจะมีทั้งส่วนที่เป็นสายคู่และสายเดี่ยวอยู่ในโมเลกุลเดียวกัน โดยส่วนที่เป็นสายเดี่ยว ได้แก่ ชิ้นดีเอ็นเอที่ตรวจสอบ ส่วนที่คงสภาพเป็นสายคู่ ไม่ถูกแยก คือ บริเวณ GC-clamp ลักษณะการเคลื่อนที่ของดีเอ็นเอบนเจลโพลีอะคริลาไมด์ด้วยเทคนิค DGGE แสดงในรูปที่ 1



รูปที่ 1 การเคลื่อนที่ของดีเอ็นเอในเจลโพลีอะคริลาไมด์ จากตัวอย่างเปรียบเทียบกับดีเอ็นเอจากเชื้อบริสุทธิ์ในการทำ DGGE (Hovda, 2007)

ขั้นตอนการศึกษาจุลินทรีย์ในสิ่งแวดล้อมโดยใช้เทคนิค DGGE ประกอบด้วย 5 ขั้นตอน ได้แก่

1. การเก็บตัวอย่าง (sampling)

การเก็บและรักษาตัวอย่างเป็นปัจจัยสำคัญประการหนึ่งที่มีผลต่อการวิเคราะห์ข้อมูลตัวอย่างที่เก็บมาวิเคราะห์ต้องเป็นตัวแทนที่แท้จริงของตัวอย่างนั้นๆ นั่นคือ ตัวอย่างที่เก็บมาควรมีลักษณะ และคุณสมบัติเหมือนสภาพจริงมากที่สุด ดังนั้นการเก็บตัวอย่างจึงควรกระทำด้วยความระมัดระวัง และมีความถูกต้องเพื่อให้ตัวอย่างดังกล่าวเป็นตัวอย่างที่สามารถสะท้อนสถานะที่แท้จริงในระบบนิเวศนั้นๆ Rochelle et al. (1994) พบว่า การเก็บตัวอย่างในสถานะต่างๆ เช่น มีอากาศ ไม่มีอากาศ หรือการนำตัวอย่างเก็บแช่แข็ง มีผลกระทบต่อชนิดจุลินทรีย์ที่พบ เช่น การเก็บตัวอย่างตะกอนในสภาพที่มีอากาศ แล้วเก็บต่อที่ไม่มีอากาศเป็นเวลา 24 ชั่วโมง ก่อนการแช่แข็ง พบเชื้อ beta และ gamma *Proteobacteria* ในขณะที่ตะกอนอีกชุดหนึ่งเก็บในสภาพไม่มีอากาศและแช่แข็งทันทีภายในเวลา 2 ชั่วโมง พบ alpha, beta, gamma *Proteobacteria* และแบคทีเรียแกรมบวก

2. การสกัดดีเอ็นเอ (DNA extraction)

วิธีการสกัดดีเอ็นเอแต่ละวิธีจะให้คุณภาพและปริมาณของดีเอ็นเอแตกต่างกัน การเลือกวิธีที่เหมาะสมในการสกัดจึงนับว่ามีความสำคัญ การเลือกใช้วิธีการใดก็ขึ้นอยู่กับชนิดของตัวอย่างที่ต้องการสกัด โดยปัจจัยที่ควรพิจารณา คือ ทำให้เซลล์แตกได้มาก, มีสารที่ไม่ต้องการปนเปื้อนน้อย เช่น humic acid, ได้ปริมาณดีเอ็นเอมาก และทำให้ดีเอ็นเอไม่ถูกทำลาย (shear) น้อย ส่วนปัจจัยอื่นๆ ที่พิจารณาเพิ่มเติม คือ ปริมาณของตัวอย่างที่ใช้ในการสกัดแต่ละครั้ง ระยะเวลา และค่าใช้จ่าย (Nakatsu, 2007) เมื่อสกัดดีเอ็นเอออกมาได้แล้วเราสามารถเก็บดีเอ็นเอเอาไว้ได้ช่วงระยะเวลาหนึ่งโดยทั่วไปสามารถเก็บได้ทั้งแบบแห้ง หรือในรูปละลายในสารละลายบางชนิด ซึ่งทั้ง 2 วิธีดังกล่าวจะต้องเก็บดีเอ็นเอไว้ที่อุณหภูมิต่ำมากๆ เช่น -20 องศาเซลเซียส หรือ -80 องศาเซลเซียส เพื่อรักษาสภาพของดีเอ็นเอก่อนนำไปใช้ในการตรวจสอบลายพิมพ์ดีเอ็นเอต่อไป

3. การเพิ่มปริมาณดีเอ็นเอด้วยเทคนิคพหิซาร์ (Polymerase Chain Reaction : PCR)

การทำพีซีอาร์มีวัตถุประสงค์เพื่อเพิ่มปริมาณยีนที่ต้องการด้วยไพรเมอร์ที่มีความจำเพาะโดยขึ้นดิเอ็นที่ต้องการอาจเป็นยีน ribosomal RNA (rDNA) หรือเป็นยีนที่ทำหน้าที่จำเพาะ (functional gene) ก็ได้ ในแบคทีเรียนิยมเพิ่มปริมาณยีน 16S rRNA เนื่องจากพบในแบคทีเรียทุกชนิด และมีบางช่วงของยีนที่เหมือนกัน (conserved region) ในส่วนนี้จะนำไปใช้ในการออกแบบไพรเมอร์ เพื่อใช้ในการเพิ่มปริมาณดีเอ็นเอ ในขณะที่เดียวกันก็มีบริเวณที่แตกต่างกันในแบคทีเรียแต่ละชนิด (variable region) จึงสามารถนำมาใช้จำแนกความแตกต่างของแบคทีเรียแต่ละชนิดได้ ส่วนในพลาซมิดจะใช้ 18S rDNA หรือ 26S rDNA (Ercolini, 2004) โดยไพรเมอร์ที่ใช้มีทั้งที่สามารถเพิ่มปริมาณยีนได้ในแบคทีเรียทุกชนิด (universal primer) หรือเพิ่มปริมาณยีนเฉพาะกลุ่มที่สนใจ (specific primer) เช่น cyanobacteria (Boutte et al., 2006), methanogen (Shin et al., 2008), endophytic actinomycetes (Nimnoi et al., 2010) จีแนส *Bacillus* (Garbeva et al., 2003) และ จีแนส *Pseudomonas* (Bergsma-Vlami et al., 2005) เป็นต้น ทั้งนี้คุณภาพของการวิเคราะห์ DGGE ยังขึ้นอยู่กับคุณภาพของผลผลิตพีซีอาร์ (PCR product) โดยสถานะในการทำพีซีอาร์ต้องเหมาะสม เพื่อป้องกันการเกิดผลผลิตที่ไม่ต้องการ เนื่องจากจะไปรบกวนการวิเคราะห์ ดังนั้นควรตรวจสอบความบริสุทธิ์ของผลผลิตพีซีอาร์ด้วยอะกาโรสเจลทุกครั้ง ก่อนนำไปวิเคราะห์ด้วย DGGE นอกจากนี้ผลผลิตพีซีอาร์ที่ได้ต้องมีขนาดเหมาะสม และมีปริมาณเพียงพอ โดยปริมาณที่เหมาะสมควรอยู่ระหว่าง 300-500 นาโนกรัม (Green, 2005)

สำหรับการออกแบบไพรเมอร์ที่ใช้ในขั้นตอนการทำพีซีอาร์มีหลักการเหมือนกับการออกแบบไพรเมอร์ทั่วไป แต่ต้องมีการเพิ่มส่วน GC-clamp ที่ปลาย 5' ของฟอร์เวิร์ดไพรเมอร์ที่ใช้ในการเพิ่มปริมาณดีเอ็นเอ ซึ่งสามารถทำได้โดยเพิ่มเบสกวีนีน และไซโตซีน ประมาณ 30-50 นิวคลีโอไทด์ที่บริเวณดังกล่าวในขั้นตอนการสังเคราะห์ไพรเมอร์ ในการ

ออกแบบไพรเมอร์สำหรับเทคนิค DGGE อาจใช้โปรแกรมคอมพิวเตอร์ช่วยในการออกแบบ โดยผู้ออกแบบจะต้องใส่ข้อมูลลำดับเบสที่ได้จากฐานข้อมูล และข้อกำหนดของไพรเมอร์ที่ต้องการ เช่น มี GC-clamp หรืออุณหภูมิการหลอมเหลวของไพรเมอร์ โปรแกรมคอมพิวเตอร์จะแสดงส่วนที่เป็น melting domain ของลำดับเบสแต่ละเส้น ผู้ออกแบบสามารถเลือกตำแหน่งจำเพาะของปลาย 3' และปลาย 5' ที่ต้องการ เพื่อให้ครอบคลุมส่วนที่เป็น melting domain ของลำดับเบสทั้งหมด โปรแกรมคอมพิวเตอร์จะออกแบบตามข้อกำหนดนั้น ตัวอย่างโปรแกรมคอมพิวเตอร์ที่ใช้ช่วยในการออกแบบไพรเมอร์ เช่น Primo melt 3.4 และ Melt 94 เป็นต้น

4. การแยกสายคู่ของขึ้นดิเอ็นด้วยเทคนิค DGGE

การวิเคราะห์ด้วยเทคนิค DGGE จะต้องใช้สารตัวกลาง (supporting medium) ช่วยในการตรึงดีเอ็นเอให้อยู่กับที่โดยสารตัวกลางที่ใช้ในการวิเคราะห์ DGGE ได้แก่ โพลีอะคริลาไมด์ การใช้จะเตรียมสารตัวกลางในรูปของแผ่นเจล (cast gel) ในแนวตั้ง โดยความเข้มข้นของเจลที่เหมาะสมจะขึ้นอยู่กับขนาดของขึ้นดิเอ็นที่ต้องการตรวจสอบ (ตารางที่ 1) ในการเตรียมเจลจะต้องใช้สารเคมีที่เรียกว่า denaturing solution หรือ denaturant ซึ่งมีคุณสมบัติทำให้ดีเอ็นเอเสียสภาพ โดยทั่วไปจะเตรียมที่ความเข้มข้นร้อยละ 0 และร้อยละ 100 เป็นสารละลายมาตรฐานเข้มข้น (stock solution) ไว้ โดยที่ความเข้มข้นร้อยละ 0 ประกอบด้วย 40 % อะคริลาไมด์/บิสอะคริลาไมด์, TAE บัฟเฟอร์ (Tris-acetate EDTA, pH 8.0) และน้ำดีไอออไนซ์ ส่วนที่ความเข้มข้น ร้อยละ 100 ประกอบด้วย ยูเรีย 7 โมลาร์ ฟอร์มาไมด์ ร้อยละ 40 และสารเคมีอื่นๆ เช่นเดียวกับความเข้มข้น ร้อยละ 0 ทั้งนี้สัดส่วนและปริมาณสารเคมีสำหรับเตรียมที่ความเข้มข้น ร้อยละ 0 และร้อยละ 100 จะแตกต่างกันขึ้นอยู่กับความเข้มข้นของเจลที่ใช้ สำหรับสารที่ทำให้ดีเอ็นเอเสียสภาพใน ความเข้มข้นน้อยกว่าร้อยละ 100 จะใช้อะคริลาไมด์,

TAE บัฟเฟอร์ และน้ำดีไอออนในปริมาณเท่ากับ ความเข้มข้นร้อยละ 100 แต่ปรับปริมาตรของยูเรีย และฟอร์มาไมด์โดยคิดเทียบจากร้อยละ 100 เจล โพลีอะคริลาไมด์ เกิดขึ้นโดยปฏิกิริยาการเชื่อมต่อกะคริลาไมด์โมโนเมอร์ให้เป็นสายยาว และมีการเชื่อมต่อกะหว่างสาย (cross-linking) โดย *N, N'*-methylene bisacrylamide ปฏิกิริยาการเชื่อมต่อกะจะถูกกระตุ้นด้วย

อนุมูลอิสระของ ammonium persulfate (APS) ในสถานะที่มี *N, N, N', N'*-tetramethylethylenediamine (TEMED) เจลโพลีอะคริลาไมด์มีลักษณะเป็นรูพรุนเหมือนอะกาโรสเจล ขนาดของรูพรุนขึ้นอยู่กับความเข้มข้นรวมของโมโนเมอร์ (total monomer concentration : %T) คือ ทั้ง อะคริลาไมด์ และ บริสอะคริลาไมด์ ในสัดส่วนที่คงที่

ตารางที่ 1 ความเข้มข้นของอะคริลาไมด์เจลที่เหมาะสมต่อช่วงขนาดดีเอ็นเอต่างๆ

ความเข้มข้นของอะคริลาไมด์เจล (ร้อยละ)	ช่วงขนาดของดีเอ็นเอที่ต้องการแยก (คู่เบส)
6	300-1000
8	200-400
10	100-300

ก่อนการวิเคราะห์ดีเอ็นเอควรตรวจสอบหาเกรเดียนที่มีความเหมาะสมต่อชนิดของเชื้อที่ศึกษา ก่อน โดยเริ่มจากการใช้เกรเดียนช่วงกว้าง เช่น ใช้สารที่ทำให้ ดีเอ็นเอเสียสภาพที่ความเข้มข้นร้อยละ 0-100 หรือ ร้อยละ 20-80 เพื่อให้แน่ใจว่าดีเอ็นเอทุกชิ้นถูกแยกสาย นอกจากนี้ระยะเวลา และความต่างศักย์ (volt) ที่ใช้ ก็มีผลต่อการแยกของดีเอ็นเอ เพื่อให้ดีเอ็นเอแต่ละชิ้น แยกออกจากกันได้ดีที่สุด ควรใช้ความต่างศักย์สูง และ ระยะเวลาสั้น เนื่องจากระยะเวลาที่ยาวนานจะทำให้ สารที่ทำให้ดีเอ็นเอเสียสภาพเกิดความไม่เสถียร และ ทำให้ดีเอ็นเอแยกออกจากกันได้ไม่ดี (Sigler et al., 2004) ความต่างศักย์ที่ใช้ควรอยู่ระหว่าง 50 - 250 โวลต์ ซึ่งระยะเวลาโดยทั่วไปจะอยู่ระหว่าง 3 - 17 ชั่วโมง

โดยความต่างศักย์ที่แน่นอนจะขึ้นอยู่กับหลายปัจจัย ได้แก่ ขนาดของชิ้นดีเอ็นเอ ความเข้มข้นของบัฟเฟอร์ ระยะเวลาที่ดีเอ็นเอวิ่ง และความเข้มข้นของเจล นอกจากนี้บัฟเฟอร์ที่ใช้ก็มีผลต่อการแยกของชิ้นดีเอ็นเอ การใช้บัฟเฟอร์เก่าจะทำให้ประสิทธิภาพในการแยกสายดีเอ็นเอลดลง จึงควรเปลี่ยนบัฟเฟอร์ใหม่ทุกครั้ง ในการทำ DGGE โดยทั่วไปบัฟเฟอร์ที่นิยมใช้ คือ 0.5X TAE และ 1X TAE บัฟเฟอร์ (Green, 2005) ปัจจุบันเครื่องมือที่ใช้ในการวิเคราะห์ DGGE ที่วางจำหน่าย มีอยู่หลายยี่ห้อ ได้แก่ Bio-Rad (Hercules, USA) (รูปที่ 2), INGENY (Leiden, The Netherlands) และ C.B.S. Scientific (Del Mar, USA)



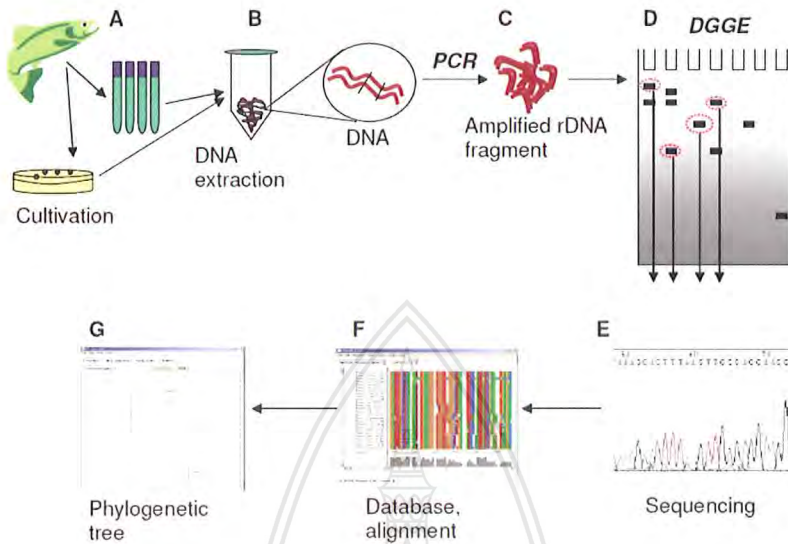
รูปที่ 2 ชุด DCode System ที่ใช้ในการวิเคราะห์ DGGE ของบริษัท Bio-Rad

5. การวิเคราะห์ข้อมูล (Data analysis)

หลังจากชั้นดีเอ็นเอถูกแยกด้วยเทคนิค DGGE แล้ว จะต้องมีการย้อมดีเอ็นเอด้วยสารเรืองแสง (fluorescence dye) เพื่อตรวจสอบรูปแบบของแถบดีเอ็นเอที่ปรากฏบนเจล สารที่ใช้ในการย้อมดีเอ็นเอบน DGGE เจลมีหลายชนิด ได้แก่ SYBR Green, SYBR Gold, silver staining และ ethidium bromide (EtBr) จากการทดสอบความไวต่อเครื่องกำเนิดแสงยูวี (ultraviolet transilluminators) พบลำดับความไวต่อแสงดังนี้ SYBR Gold > silver staining > SYBR Green > ethidium bromide (Nakatsu, 2007) โดยพบว่าการใช้สีย้อมกลุ่ม SYBR dyes และ ethidium bromide มีความยุ่งยากน้อยกว่าการใช้ silver staining อย่างไรก็ตามการใช้ ethidium bromide ยังมีข้อควรระวัง เนื่องจากเป็นสารก่อมะเร็งนอกจากนี้สีย้อมอีกชนิดหนึ่งที่นิยมใช้ คือ GelStar เนื่องจากมีความไวมากกว่า ethidium bromide ราคาไม่สูงมาก และไม่เป็นพิษ (Green, 2005)

แถบดีเอ็นเอแต่ละแถบที่ปรากฏจะหมายถึง จุลินทรีย์แต่ละชนิด (species) เทคนิคนี้สามารถตรวจนับ จุลินทรีย์ที่มีปริมาณอยู่ในช่วง 103-108 cfu/ml (Liu et al., 2010) ดังนั้นแถบดีเอ็นเอที่ปรากฏจึงแสดงถึง จุลินทรีย์ที่เป็นกลุ่มเด่นเท่านั้น ไม่ใช่ จุลินทรีย์ทั้งหมด ที่มีในตัวอย่าง การปรากฏและการหายไปของแถบ ดีเอ็นเอบนเจลของแต่ละตัวอย่างที่นำมาวิเคราะห์ สามารถบ่งบอกถึงความสัมพันธ์ของจุลินทรีย์ในชุมชน

(community) ได้ โดยการสร้าง binary matrix ซึ่งข้อมูล จะได้มาจากการที่ผู้ทดลองพิจารณาแถบดีเอ็นเอบน เจลเปรียบเทียบทีละ 2 ตัวอย่าง แล้วนำมาให้คะแนน และคำนวณค่าดัชนีความคล้าย เช่น Sorensen's index of similarity (Nakatsu et al., 2000) จากนั้นข้อมูล ดังกล่าวจะถูกนำมาวิเคราะห์ทางสถิติด้วยวิธีต่างๆ เช่น การวิเคราะห์จัดกลุ่ม (cluster analysis) โดยวิธี unweight pair group method with arithmetic means (UPGMA) แล้วแสดงผลลัพธ์ในรูปแบบภูมิความสัมพันธ์ (dendrogram) หรือการวิเคราะห์หลายตัวแปร (multivariate analysis) เช่น principal components analysis (PCA) อีกทางเลือกหนึ่งคือการใช้โปรแกรมสำเร็จรูปที่บริษัท ออกแบบขึ้น เข้ามาช่วยวิเคราะห์ความสัมพันธ์ เช่น Bionumerics (Applied Maths, Sint-Martens-Latem, Belgium) และ Fingerprinting II Informatix (Bio-Rad, Hercules, USA) (Nakatsu, 2007) อย่างไรก็ตามการ วิเคราะห์ข้อมูลแต่ละครั้งขึ้นอยู่กับการศึกษาและ ตัดสินใจของผู้ทดลอง ในการทดลองเดียวกัน ผู้ทดลอง แต่ละคนอาจแปลผลวิเคราะห์แตกต่างกัน ดังนั้น จึงอาจเกิดความคลาดเคลื่อนในการวิเคราะห์ข้อมูลได้ นอกจากนี้ยังสามารถตัดหรือสกัดแถบดีเอ็นเอที่สนใจ ออกจากเจลไปวิเคราะห์หาลำดับเบส และนำไป เปรียบเทียบกับลำดับเบสของจุลินทรีย์ที่ทราบชนิด แล้วในฐานข้อมูลเพื่อตรวจสอบชนิด สำหรับขั้นตอน การวิเคราะห์จุลินทรีย์จากตัวอย่างโดยใช้เทคนิค DGGE สามารถสรุปได้ดังแสดงในรูปที่ 3



รูปที่ 3 ขั้นตอนการวิเคราะห์จุลินทรีย์จากตัวอย่างโดยใช้เทคนิค DGGE (Hovda, 2007)

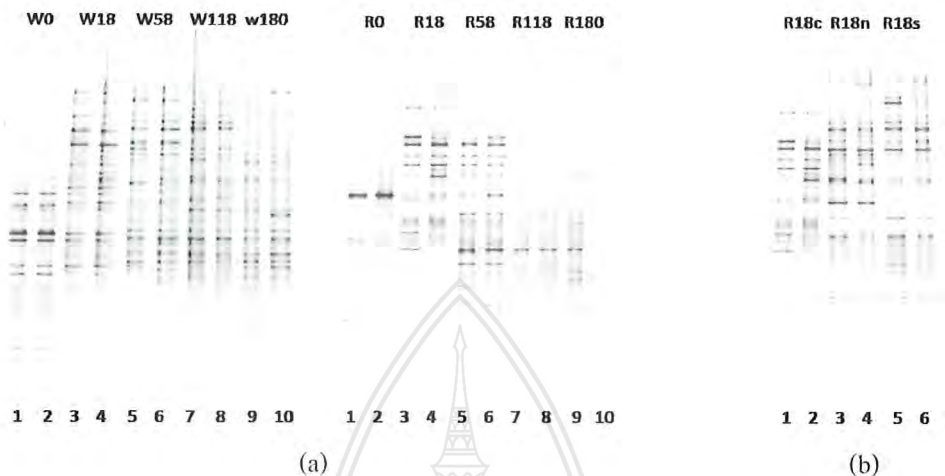
การประยุกต์ใช้เทคนิค DGGE ในงานด้าน จุลชีววิทยาสิ่งแวดล้อม

1. การศึกษาความหลากหลายของจุลินทรีย์

เทคนิค DGGE ได้นำมาใช้ในการศึกษาประชากรจุลินทรีย์ในชุมชน และใช้ในการวิเคราะห์ความหลากหลายของจุลินทรีย์ในระบบนิเวศต่างๆ ทำให้ทราบว่าในแต่ละระบบนิเวศมีความหลากหลายของจุลินทรีย์แตกต่างกันมากน้อยอย่างไร ประชากรกลุ่มใดเป็นกลุ่มเด่น และยังใช้ในการเปรียบเทียบความสัมพันธ์ระหว่างสังคมจุลินทรีย์ในระบบนิเวศนั้นกับระบบนิเวศอื่นๆ เช่น งานวิจัยของ Dilly et al. (2004) ได้ใช้เทคนิค DGGE ในการศึกษาความหลากหลายของแบคทีเรียในกระบวนการย่อยสลายซากพืชในดิน โดยได้ทำการเปรียบเทียบเศษซากพืช 2 ชนิด คือ หญ้าข้าวไร และฟางข้าวสาลี ที่ระยะเวลาการย่อยสลาย 0 18 58 118 และ 180 วัน พบว่า ความหลากหลายของแบคทีเรียมากขึ้นตามระยะเวลาการย่อยสลาย

เนื่องจากพบจำนวนแถบดีเอ็นเอเพิ่มขึ้นจาก 28 แถบ เป็น 40 แถบ ในการย่อยสลายหญ้าข้าวไร และพบจำนวนแถบดีเอ็นเอเพิ่มขึ้นจาก 36 แถบ เป็น 52 แถบ ในการย่อยสลายฟางข้าวสาลี (รูปที่ 4 a) นอกจากนี้ยังได้เปรียบเทียบความหลากหลายของแบคทีเรียในการย่อยสลายซากพืชชนิดเดียวกันในดินบริเวณต่างๆ พบว่าดินแต่ละบริเวณมีความหลากหลายของแบคทีเรียแตกต่างกัน เนื่องจากมีจำนวนแถบดีเอ็นเอต่างกัน (รูปที่ 4 b) ซึ่งให้เห็นว่าสภาพภูมิอากาศ พืชพันธุ์ และจุลินทรีย์ในท้องถิ่นนั้นมีผลกระทบต่อการย่อยสลายเศษซากพืชดังกล่าว

นอกจากนี้หากต้องการวิเคราะห์แถบดีเอ็นเอที่สนใจว่าเป็นจุลินทรีย์ชนิดใดก็สามารถทำได้ โดยตัดแถบดีเอ็นเอที่สนใจออกจากเจล แล้วนำสารละลายดีเอ็นเอมาเพิ่มปริมาณซ้ำโดยใช้ไพรเมอร์คู่เดิมที่ใช้ในขั้นตอนการทำพีซีอาร์แต่ไม่ต้องเติม GC-clamp จากนั้นจึงนำไปทำให้บริสุทธิ์ และวิเคราะห์หาลำดับเบสต่อไป



- รูปที่ 4 (a) รูปแบบแถบดีเอ็นเอของแบคทีเรียวันที่ 0 18 58 118 และ 180 ในกระบวนการย่อยสลายฟางข้าวสาลี (W0 W18 W58 W118 และ W180 ตามลำดับ) และในกระบวนการย่อยสลายหญ้าข้าวไร (R0 R18 R58 R118 และ R180 ตามลำดับ) (ทำการทดลอง 2 ซ้ำ)
- (b) รูปแบบแถบดีเอ็นเอของแบคทีเรียในวันที่ 18 ของกระบวนการย่อยสลายหญ้าข้าวไร เปรียบเทียบกันระหว่างบริเวณตอนกลาง ตอนเหนือ และตอนใต้ของประเทศเยอรมัน (R18c R18n และ R18s ตามลำดับ) (ทำการทดลอง 2 ซ้ำ) (ดัดแปลงจาก Dilly et al., 2004)

2. การติดตามการเปลี่ยนแปลงของจุลินทรีย์

การติดตามการเปลี่ยนแปลงจุลินทรีย์ในสภาวะต่างๆ ต้องทำการวิเคราะห์ตัวอย่างเป็นจำนวนมาก เทคนิค DGGE จึงได้ถูกนำมาใช้ เนื่องจากความรวดเร็ว และไม่ยุ่งยาก (Lee et al., 2008) แถบดีเอ็นเอที่เกิดขึ้นจะนำมาเปรียบเทียบกับพลวัต (dynamic) ของประชากรจุลินทรีย์ว่ามีกี่ชนิด และชนิดใดเป็นชนิดเด่นในแต่ละช่วงเวลาการทดลอง

3. การคัดเลือกเชื้อจุลินทรีย์

Teske et al. (1996) ได้ใช้เทคนิค DGGE ในการวิเคราะห์หาเชื้อแบคทีเรียที่เจริญแบบ coculture โดยการบ่งชี้ชนิดแบคทีเรียจากแถบดีเอ็นเอ เมื่อทราบชนิดของแบคทีเรียแล้วจึงออกแบบสภาวะให้มีความเหมาะสมในการแยกเชื้อชนิดนั้นๆ เช่น การแยกเชื้อ *Desulfovibrio* และ *Arcobacter* นอกจากนี้ Brinkhoff and Muyzer (1997) ยังได้ทำการคัดเลือกเชื้อ

Thiomicrospira จากแหล่งต่างๆ โดยออกแบบโพรบ (probe) ที่มีความจำเพาะกับเชื้อชนิดนี้ แล้วนำไปไฮบริไดซ์ (hybridize) กับ DGGE เจล ทำให้เราทราบว่าเชื้อดังกล่าวเจริญที่บริเวณใดบ้าง แล้วจึงทำการแยกเชื้อ เทคนิค DGGE ยังนำไปใช้ในการจัดกลุ่มเชื้อจุลินทรีย์ที่แยกได้ โดยดูจากรูปแบบของแถบดีเอ็นเอที่ปรากฏบน DGGE เจล ถ้ามีรูปแบบที่เหมือนกันก็จัดเป็นกลุ่มเดียวกัน จากนั้นจึงเลือกตัวแทนของแต่ละกลุ่มมาหาลำดับเบสเพื่อระบุชนิดต่อไป วิธีนี้ถือว่าเป็นวิธีที่ง่ายและประหยัดเวลาในการคัดเลือกเชื้อที่แยกได้ในปริมาณมากๆ (Muyzer and Smalla, 1998)

4. การคัดเลือกโคลนใน clone library

เมื่อยีน 16S rRNA ของแบคทีเรียถูกเพิ่มจำนวน และโคลนเข้าสู่เวกเตอร์ (vector) ที่เหมาะสมแล้ว ชิ้นดีเอ็นเอที่โคลน (insert) จะถูกเพิ่มปริมาณด้วยไพรเมอร์ที่จำเพาะ และนำมาวิเคราะห์ด้วยเทคนิค

DGGE วิธีนี้จะช่วยในการจัดกลุ่มของโคลน โดยโคลนที่มีตำแหน่งเดียวกันบน DGGE เจลก็จะถูกจัดกลุ่มไว้ด้วยกัน จากนั้นจึงเลือกตัวแทนของแต่ละกลุ่มมาหาลำดับเบสเพื่อระบุชนิดต่อไป อย่างไรก็ตามแถบดีเอ็นเอที่มีตำแหน่งตรงกันอาจเป็นข้อค้นลະชนกก็ได้ (Liang et al., 2008)

5. ตรวจสอบ microheterogeneity ของ rRNA encoding gene

ในแบคทีเรียบางชนิดพบว่ามีความหลากหลายของ rRNA operon หลายชุด (copy) ตัวอย่างเช่น *Clostridium paradoxum* มียีน 16S rRNA มากถึง 15 ชุด หรือใน *Escherichia coli* มี 7 ชุด (Klappenbach et al., 2000) ทำให้เมื่อนำเชื้อแบคทีเรียบริสุทธิ์ (pure culture) มาวิเคราะห์ด้วยเทคนิค DGGE จึงพบแถบดีเอ็นเอมากกว่า 1 แถบ การใช้เทคนิค DGGE ในการศึกษา microheterogeneity ของ rRNA จะช่วยให้เราทราบถึง rRNA operon ที่มีแตกต่างกันในจุลินทรีย์แต่ละชนิด การปรากฏแถบดีเอ็นเอมากกว่า 1 แถบ อาจทำให้เราประเมินความหลากหลายของจุลินทรีย์สูงกว่าความเป็นจริง และทำให้การวิเคราะห์ข้อมูลเกิดความคลาดเคลื่อนได้

6. การเปรียบเทียบวิธีการสกัดดีเอ็นเอ

เทคนิค DGGE สามารถใช้ในการเปรียบเทียบวิธีการที่เหมาะสมในการสกัดดีเอ็นเอ โดยประเมินจากจำนวนแถบดีเอ็นเอที่ปรากฏบนเจล de Liphay et al. (2004) ได้เปรียบเทียบวิธีการสกัดดีเอ็นเอจากตัวอย่างดินในขั้นตอนการทำให้เซลล์แตก 3 วิธี คือ sonication, freezing-thawing และ bead beating พบว่าแต่ละวิธีมีจำนวนแถบดีเอ็นเอแตกต่างกัน แสดงถึงรูปแบบชุมชนที่ต่างกัน และพบว่าการใช้ bead beating ในขั้นตอนการทำให้เซลล์แตกมีความเหมาะสมมากที่สุด

7. การเปรียบเทียบประชากรจุลินทรีย์ที่แอคทิฟ กับจุลินทรีย์ทั้งหมดในสิ่งแวดล้อม

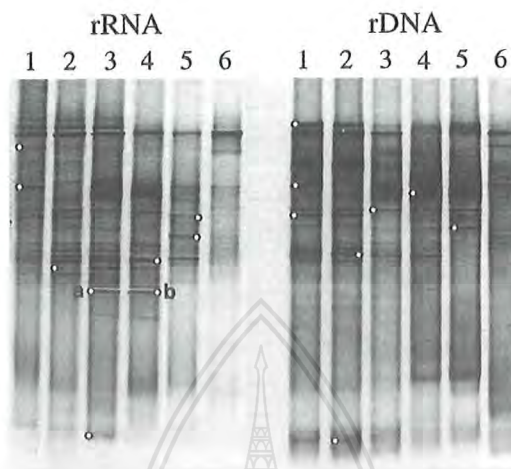
การศึกษาจุลินทรีย์ที่แอคทิฟ เปรียบเทียบกับจุลินทรีย์ทั้งหมดในสิ่งแวดล้อมหนึ่ง จะดูที่อาร์เอ็นเอและดีเอ็นเอเปรียบเทียบกัน ในจุลินทรีย์ที่แอคทิฟจะมีการแสดงออกของยีนทำงาน (functional gene) โดยการตรวจสอบจะพบว่าการสังเคราะห์อาร์เอ็นเอเข้ารหัส (mRNA) ของยีนเป้าหมายนั้น จึงสามารถที่จะสังเคราะห์ดีเอ็นเอคู่สม (cDNA) จากอาร์เอ็นเอเข้ารหัสนั้นได้ การศึกษานี้สามารถทำได้โดยการสังเคราะห์ดีเอ็นเอคู่สมจากอาร์เอ็นเอด้วยเอนไซม์รีเวอร์สทรานสคริปเทส (reverse transcriptase) แล้วนำมาเปรียบเทียบกับกลุ่มประชากรจุลินทรีย์ที่ได้จากการสกัดดีเอ็นเอโดยตรงจากตัวอย่างเพื่อสะท้อนให้เห็นถึงโครงสร้างและหน้าที่ของจุลินทรีย์ที่พบในสิ่งแวดล้อมนั้น (Nakatsu, 2007) (รูปที่ 5)

ข้อจำกัดของเทคนิค DGGE

เทคนิค DGGE นับว่าเป็นเทคนิคที่มีประโยชน์มากในการวิเคราะห์ความหลากหลายของจุลินทรีย์ในธรรมชาติ เนื่องจากเป็นวิธีที่ง่าย, รวดเร็ว และราคาไม่แพง (Muyzer and Smalla, 1998) อย่างไรก็ตามเทคนิคนี้ยังมีข้อจำกัด ซึ่งพอสรุปได้ดังนี้

1. ในขั้นตอนการสกัดดีเอ็นเอ ไม่สามารถสกัดดีเอ็นเอออกจากจุลินทรีย์ทุกชนิดในตัวอย่างนั้นได้ เนื่องจากองค์ประกอบของผนังเซลล์ที่แตกต่างกัน (von Wintzingerode et al., 1997) ดังนั้นวิธีการสกัดดีเอ็นเอเพียง 1 วิธีเพื่อให้ได้ดีเอ็นเอของจุลินทรีย์ทุกชนิดที่อยู่ในตัวอย่างจึงเป็นเรื่องที่ทำได้ยาก

2. ในขั้นตอนการเพิ่มปริมาณดีเอ็นเอ ไพรเมอร์จะมีความสามารถในการจับกับดีเอ็นเอของเชื้อแต่ละชนิดได้ไม่เท่ากัน (preferential amplification) (Suzuki and Giovannoni, 1996) ส่งผลให้ผลผลิตพีซีอาร์ของเชื้อบางชนิดอาจสูญหายไป นอกจากนี้ไพรเมอร์ที่เลือกใช้อาจไม่จำเพาะกับแบคทีเรียทุกชนิดตรงจุดนี้อาจแก้ไขโดยการออกแบบไพรเมอร์ให้ครอบคลุมทั้งกลุ่มจุลินทรีย์ที่ศึกษา



รูปที่ 5 รูปแบบ DGGE เปรียบเทียบระหว่างดีเอ็นเอ และอาร์เอ็นเอของแบคทีเรียจากตัวอย่างตะกอน (Teske et al., 1996)

3. แพลตดีเอ็นเอ 1 แพลต อาจประกอบไปด้วยชิ้นดีเอ็นเอจากเชื้อหลายชนิดก็ได้ เนื่องจากดีเอ็นเอดังกล่าวมีอุณหภูมิการหลอมเหลวเท่ากัน จึงทำให้เคลื่อนที่มายังตำแหน่งเดียวกัน และไม่สามารถออกจากกันได้ ปัญหานี้แก้ไขได้โดยตัดแถบดีเอ็นเอนั้นออกไปเพิ่มปริมาณซ้ำ และทำการโคลนเข้าสู่เวกเตอร์ที่เหมาะสม (Sekiguchi et al., 2001)

4. จุลินทรีย์บางชนิดมี rRNA operon จำนวนหลายชุด ทำให้แสดงแถบดีเอ็นเอหลายแถบ ส่งผลให้การประเมินความหลากหลายของจุลินทรีย์สูงเกินกว่าความเป็นจริง

5. เทคนิค DGGE จะตรวจพบเฉพาะประชากรที่เป็นกลุ่มเด่น ไม่ได้ตรวจพบเชื้อทุกชนิด ดังนั้นผลที่ได้จึงอาจไม่ครอบคลุม การใช้ไพรเมอร์ที่มีความจำเพาะกับแต่ละกลุ่มเข้ามาร่วมด้วย จะช่วยให้สามารถตรวจพบเชื้อที่มีปริมาณน้อยได้ (Shin et al., 2008)

6. เทคนิค DGGE สามารถตรวจพบโมเลกุลแบบ heteroduplex คือ โมเลกุลดีเอ็นเอที่จับกันอย่างไม่ถูกต้อง ซึ่งเกิดขึ้นในขั้นตอน annealing ของการเพิ่มปริมาณดีเอ็นเอ โดยโมเลกุลดังกล่าวจะประกอบด้วยดีเอ็นเอของเชื้อ 2 ชนิดมาจับกัน โมเลกุลที่เป็น

heteroduplex มักจะมีอุณหภูมิการหลอมเหลวต่ำกว่าโมเลกุลที่เป็น homoduplex (Siqueira and Rosado, 2005)

7. การวิเคราะห์ DGGE ในระบบนิเวศที่มีความซับซ้อน เช่น ดินซึ่งมีจุลินทรีย์มากมายหลายชนิด แพลตดีเอ็นเอที่แยกได้มักจะ ไม่ชัดเจน (Nakatsu et al., 2000)

สรุปและข้อเสนอแนะ

เทคนิค DGGE ถือว่าเป็นวิธีที่สะดวก รวดเร็ว และไม่ยุ่งยาก สามารถศึกษาจุลินทรีย์ในตัวอย่างได้โดยตรง เป็นการลดปัญหาจุลินทรีย์ที่ไม่สามารถเพาะเลี้ยงบนอาหารในห้องปฏิบัติการได้ สามารถนำไปประยุกต์ใช้ในการวิเคราะห์ หรือตรวจสอบความหลากหลายของประชากรจุลินทรีย์ที่มีอยู่ในธรรมชาติ ซึ่งทำให้นักวิจัยเข้าใจสังคม และชนิดของจุลินทรีย์ว่าเป็นอย่างไรร อีกทั้งยังสามารถคัดเลือกแถบดีเอ็นเอที่สนใจไปทำการวิเคราะห์ลำดับเบสเพื่อศึกษาในรายละเอียดเชิงลึกต่อไปได้ ถึงแม้เทคนิค DGGE จะยังมีข้อจำกัดอยู่มาก แต่ข้อจำกัดดังกล่าวก็เป็นที่ยอมรับในผู้ที่ใช้เทคนิคนี้ อย่างไรก็ตามการใช้เทคนิค DGGE ร่วมกับการใช้เทคนิคอื่นผสมผสานกัน เช่น

การใช้เทคนิค DGGE ร่วมกับ Fluorescent In Situ Hybridization (FISH) หรือ Real-time PCR จะทำให้ประสิทธิภาพในการตรวจสอบจุลินทรีย์ในธรรมชาติมีความสมบูรณ์ น่าเชื่อถือ และมีความแม่นยำมากขึ้น

เอกสารอ้างอิง

- Bergsma-Vlami, M., Prins, M. E., Staats, M. and Raaijmakers, J. M. (2005). Assessment of genotypic diversity of antibiotic producing *Pseudomonas* species in the rhizosphere by denaturing gradient gel electrophoresis. *Applied and Environmental Microbiology*. 71: 993-1003.
- Boutte, C., Grubisic, S., Balthasart, P. and Wilmotte, A. (2006). Testing of primers for the study of cyanobacterial molecular diversity by DGGE. *Journal of Microbiological Methods*. 65: 542-550.
- Brinkhoff, T. and Muyzer, G. (1997). Increased species diversity and extended habitat range of sulfur-oxidizing *Thiomicrospira* spp. *Applied and Environmental Microbiology*. 63: 3789-3796.
- Cocolin, L., Manzano, M., Cantoni, C. and Comi, G. (2001). Denaturing Gradient Gel Electrophoresis analysis of the 16S rRNA gene V1 region to monitor dynamic changes in the bacterial population during fermentation of Italian sausages. *Applied and Environmental Microbiology*. 67: 5113-5121.
- de Liphay, J. R., Enzinger, C., Johnsen, K., Aamand, J. and Sørensen, S. J. (2004). Impact of DNA extraction method on bacterial community composition measured by denaturing gradient gel electrophoresis. *Soil Biology and Biochemistry*. 36: 1607-1614.
- Díez, B., Pedrós-Alió, C., Marsh, T. L. and Massana, R. (2001). Application of Denaturing Gradient Gel Electrophoresis DGGE) to study the diversity of marine picoeukaryotic assemblages and comparison of DGGE with other molecular techniques. *Applied and Environmental Microbiology*. 67: 2942-2951.
- Dilly, O., Bloem, J., Vos, A. and Munch, J. C. (2004). Bacterial diversity in agricultural soils during litter decomposition. *Applied and Environmental Microbiology*. 70: 468-474.
- Donskey, C. J., Hujer, A. M., Das, S. M., Pultz, N. J., Bonomo, R. A. and Rice, L. B. (2003). Use of denaturing gradient gel electrophoresis for analysis of the stool microbiota of hospitalized patients. *Journal of Microbiological Methods*. 54: 249-256.
- Ercolini, D. (2004). PCR-DGGE fingerprinting: novel strategies for detection of microbes in food. *Journal of Microbiological Methods*. 56: 297-314.
- Ferris, M. J., Muyzer, G. and Ward, D. M. (1996). Denaturing gradient gel electrophoresis profile of 16S rRNA-defined populations inhabiting a hot spring microbial mat community. *Applied and Environmental Microbiology*. 62: 340-346.
- Fischer, S. G. and Lerman, L. S. (1979). Length-independent separation of DNA restriction fragments in two-dimensional gel electrophoresis. *Cell*. 16: 191-200.
- Garbeva, P., van Veen, J. A. and van Elsas, J. D. (2003). Predominant *Bacillus* spp. In

- agricultural soil under different management regimes detected via PCR-DGGE. *Microbial Ecology*. 45: 302-316.
- Green, S. J. (2005). Don't panic a guide to denaturing gradient gel electrophoresis. [online]. Available: <http://www.bio.vu.nl/geomicrob/protocols/DGGE/DGGEhelpV1.pdf> [2008, Nov.15].
- Hovda, M. B. (2007). Application of PCR and DGGE to characterise the microflora of farmed fish. Ph.D. thesis, University of Bergen.
- Klappenbach, J. A., Dunbar, J. M. and Schmidt, T. M. (2000). rRNA operon copy number reflects ecological strategies of bacteria. *Applied and Environmental Microbiology*. 66: 1328-1333.
- Lee, C., Kim, J., Shin, S. G. and Hwang, S. (2008). Monitoring bacterial and archaeal community shifts in a mesophilic anaerobic batch reactor treating a high-strength organic wastewater. *FEMS Microbiology Ecology*. 65: 544-554.
- Liang, Z., Drijber, R. A., Lee, D. J., Dwiekat, I. M., Harris, S. D. and Wedin, D. A. (2008). A DGGE-cloning method to characterize arbuscular mycorrhizal community structure in soil. *Soil Biology and Biochemistry*. 40: 956-966.
- Liu, C., Yang, J. L., Wu, G., Zhang, S., Li, Z. X. and Guo, J. B. (2010). Estimation of dominant microbial population sizes in the anaerobic granular sludge of a full-scale UASB treating streptomycin wastewater by PCR-DGGE. *World Journal of Microbiology and Biotechnology*. 26: 375-379.
- Muyzer, G., de Waal, E. C. and Uitterlinden, A. G. (1993). Profiling of complex microbial population by denaturing gradient gel electrophoresis analysis of polymerase chain reaction-amplified genes coding for 16S rRNA. *Applied and Environmental Microbiology*. 59: 695-700.
- Muyzer, G., Teske, A., Wirsén, C. O. and Jannasch, H. W. (1995). Phylogenetic relations of *Thiomicrospira* species and their identification in deep-sea hydrothermal vent samples by denaturing gradient gel electrophoresis of 16S rDNA fragments. *Archives of Microbiology*. 164: 165-172.
- Muyzer, G. and Smalla, K. (1998). Application of denaturing gradient gel electrophoresis (DGGE) and temperature gradient gel electrophoresis (TGGE) in microbial ecology. *Antonie van Leeuwenhoek*. 73: 127-141.
- Myers, R. M., Fischer, S. G., Lerman, L.S. and Maniatis, T. 1985. Nearly all single base substitutions in DNA fragments joined to a GC-clamp can be detected by denaturing gel electrophoresis. *Nucleic Acids Research*. 13: 3131-3145.
- Nakatsu, C. H., Torsvik, V. and Øvreås, L. (2000). Soil community analysis using DGGE of 16S rDNA polymerase chain reaction products. *Soil Science Society of America Journal*. 64: 1382-1388.
- Nakatsu, C. H. (2007). Soil microbial community analysis using denaturing gradient gel electrophoresis. *Soil Science Society of America Journal*. 71: 562-571.

- Nimnoi, P., Pongsilp, N. and Lumyong, S. (2010). Endophytic actinomycetes isolated from *Aquilaria crassna* Pierre ex Lec and screening of plant growth promoters production. *World Journal of Microbiology and Biotechnology*. 26: 193-203.
- Peters, H. and Robinson, P. N. (2005). Temperature and denaturing gradient gel electrophoresis. in G. Patrinos and W. Ansorge, *Molecular Diagnostics* (pp.83-90), Burlington : Academic Press.
- Rochelle, P. A., Cragg, B. A., Fry, J. C., Parkes, R. J. and Weightman, A. J. (1994). Effect of sample handling on estimation on bacterial diversity in marine sediments by 16S rRNA gene sequence analysis. *FEMS Microbiology Ecology*. 15: 15-226.
- Sekiguchi, H., Tomioka, N., Nakahara, T. and Uchiyama, H. (2001). A single band does not always represent single bacterial strains in denaturing gradient gel electrophoresis analysis. *Biotechnology Letters*. 23: 1205-1208.
- Shin, S. G., Lee, C., Hwang, K., Ahn, J. and Hwang, S. (2008). Use of order-specific primers to investigate the methanogenic diversity in acetate enrichment system. *Journal of Industrial Microbiology and Biotechnology*. 35: 1345-1352.
- Sigler, W. V., Miniaci, C. and Zeyer, J. (2004). Electrophoresis time impacts the denaturing gradient gel electrophoresis based assessment of bacterial community structure. *Journal of Microbiological Methods*. 57: 17-22.
- Siqueira, J. F. and Rosado, A. S. (2005). Application of Denaturing Gradient Gel Electrophoresis (DGGE) to the analysis of endodontic infections. *Journal of Endodontics*. 31: 775-782.
- Suzuki, M. T. and Giovannoni, S. J. (1996). Bias caused by template annealing in the amplification of mixtures of 16S rRNA genes by PCR. *Applied and Environmental Microbiology*. 62: 625-630.
- Teske, A., Sigalevich, P., Cohen, Y. and Muyzer, G. (1996). Molecular identification of bacteria from a coculture by denaturing gradient gel electrophoresis of 16S ribosomal DNA fragments as a tool for isolation in pure cultures. *Applied and Environmental Microbiology*. 62: 4210-4215.
- von Wintzingerode, F., Gobel, U. B. and Stackebrandt, E. (1997). Determination of microbial diversity in environmental samples: pitfalls of PCR-based rRNA analysis. *FEMS Microbiology Ecology*. 21: 213-229.
- Zoetendal, E. G., Wright, A. V., Vilpponen-Salmela, T., Ben-Amor, K., Akkermans, A. D. L. and de Vos, W. M. (2002). Mucosa-associated bacteria in the human gastrointestinal tract are uniformly distributed along the colon and differ from the community recovered from feces. *Applied and Environmental Microbiology*. 68: 3401-3407.



จากสาหร่ายขนาดเล็กสู่เชื้อเพลิงชีวภาพ :

โอกาสและความท้าทาย

From Microalgae to Biofuel: Opportunities and Challenges

รัตนภรณ์ ลีสิงห์¹

บทนำ

การเพิ่มขึ้นอย่างต่อเนื่องของความต้องการใช้เชื้อเพลิงของทุกภูมิภาคทั่วโลก รวมทั้งผลกระทบของก๊าซเรือนกระจก (green house gases, GHG) โดยเฉพาะก๊าซคาร์บอนไดออกไซด์ (CO_2) ที่เกิดจากการใช้เชื้อเพลิงปิโตรเลียมต่อสภาวะแวดล้อมเป็นแรงผลักดันให้นักวิจัยแสวงหาแหล่งพลังงานทดแทนอื่นๆ โดยมุ่งไปที่เชื้อเพลิงชีวภาพจากชีวมวล (biomass) ซึ่งเชื้อเพลิงชีวภาพหากเปรียบเทียบกับอัตราต่อหน่วยกับเชื้อเพลิงชนิดอื่นพบว่าให้ปริมาณก๊าซคาร์บอนไดออกไซด์หรือก๊าซพิษน้อยกว่า สาหร่ายขนาดเล็กเป็นชีวมวลชนิดหนึ่งซึ่งได้รับความสนใจในการใช้ผลิตเชื้อเพลิงชีวภาพเนื่องจากข้อได้เปรียบคือเจริญเร็ว ให้ผลผลิตเซลล์และน้ำมันต่อพื้นที่สูงเมื่อเทียบกับพืชพลังงานอื่นๆ รวมถึงเพาะเลี้ยงในพื้นที่ที่ปลูกพืชไม่ได้ทำให้ไม่แย่งพื้นที่เพาะปลูกกับพืชอาหารหรือพืชพลังงานอื่น เชื้อเพลิงชีวภาพที่ผลิตจากสาหร่ายขนาดเล็กมีทั้งไบโอดีเซล (biodiesel) ไบโอเอทานอล (bioethanol) ไบโอไฮโดรเจน (biohydrogen) มีเทนหรือไบโอมิเทน

(biomethane) น้ำมันชีวภาพ (bio-oil) (Chisti, 2007; Brennan and Owende, 2010)

ศักยภาพของสาหร่ายขนาดเล็กในการผลิตเชื้อเพลิงชีวภาพ

เชื้อเพลิงชีวภาพ (biofuel) คือ เชื้อเพลิงที่ได้จากชีวมวล หรือสารที่ได้จากพืชและสัตว์ โดยสาหร่ายก็เป็นพลังงานชีวภาพรูปแบบหนึ่งเนื่องจากเกิดขึ้นโดยกลไกธรรมชาติผ่านกระบวนการสังเคราะห์แสง ซึ่งจะเปลี่ยนพลังงานแสงให้เป็นพลังงานสะสมในรูปของสารอินทรีย์หรือชีวมวล เมื่อนำชีวมวลมาผ่านกระบวนการที่เหมาะสมจะได้เชื้อเพลิงชีวภาพรูปแบบต่างๆ สาหร่ายพบทั่วไปในธรรมชาติทั้งในดินและน้ำ เจริญด้วยการสังเคราะห์แสง มีทั้งสาหร่ายขนาดใหญ่ (macroalgae) และสาหร่ายขนาดเล็ก (microalgae) ตั้งแต่เซลล์เดียว (unicellular) ถึงหลายเซลล์ (multicellular) เซลล์สาหร่ายประกอบด้วยคาร์โบไฮเดรต โปรตีน ลิพิดหรือน้ำมัน เมื่อผ่านกระบวนการแปรรูปที่เหมาะสมจะได้เชื้อเพลิงชีวภาพเช่นเดียวกับชีวมวล

¹ ภาควิชาจุลชีววิทยา คณะวิทยาศาสตร์ มหาวิทยาลัยขอนแก่น อ.เมือง จ.ขอนแก่น 40002

อื่นๆ (Chisti, 2007; Singh and Gu., 2010; Brennan and Owende, 2010) สาหร่ายขนาดเล็กมีมากกว่า 25,000 สายพันธุ์ แต่มีเพียงไม่กี่สายพันธุ์ที่นำมาใช้ประโยชน์ เช่น *Chlorella*, *Spirulina*, *Dunaliella*, *Haematococcus* (Raja et al., 2008)

ข้อดีของการใช้สาหร่ายขนาดเล็กเพื่อผลิตเชื้อเพลิงชีวภาพมีดังนี้ 1) เพาะเลี้ยงได้ตลอดปีไม่ขึ้นกับฤดูกาลทำให้ผลผลิตในแต่ละปีสูงเมื่อเทียบกับพืชพลังงานอื่นๆ 2) ใช้น้ำในปริมาณต่ำกว่าพืชพลังงานและเพาะเลี้ยงได้ในน้ำเสียและบนที่ดินที่เพาะปลูกพืชไม่ได้ 3) เจริญเร็วและหลายสายพันธุ์ให้ปริมาณลิปิดสูงถึงร้อยละ 20-50 โดยน้ำหนักเซลล์แห้งและปรับปรุงสายพันธุ์ได้ 4) การผลิตเซลล์สำหรับลด CO₂ ในอากาศได้โดยสาหร่าย 1 กิโลกรัมใช้ CO₂ ไปประมาณ 1.83 กิโลกรัม 5) ใช้ไนโตรเจนและฟอสฟอรัสที่มีในน้ำเสียเป็นสารอาหารซึ่งเป็นทั้งการผลิตเชื้อเพลิงและบำบัดน้ำเสีย 6) ให้สารมูลค่าเพิ่มอื่นๆ เช่น รังควัตถุ สารต้านอนุมูลอิสระ โปรตีนและกากเซลล์ซึ่งนำไปผลิตเอทานอลหรือมีเทนได้ (Brennan and Owende, 2010)

เทคโนโลยีการผลิตเซลล์สาหร่ายขนาดเล็ก

เทคโนโลยีการเพาะเลี้ยงเพื่อผลิตเซลล์สาหร่ายในระดับใหญ่ประกอบด้วย การเพาะเลี้ยงแบบสังเคราะห์แสง (photoautotrophic cultivation) การเพาะเลี้ยงแบบเฮเทโรโทรฟิก (heterotrophic cultivation) การเพาะเลี้ยงแบบผสม (mixotrophic cultivation) และการเพาะเลี้ยงแบบโฟโตเฮเทโรโทรฟิก (photo-heterotrophic cultivation) ดังรายละเอียดต่อไปนี้

1. การเพาะเลี้ยงแบบสังเคราะห์แสง สาหร่ายใช้แสงเป็นแหล่งพลังงานและ CO₂ เป็นแหล่งคาร์บอนเพื่อการสังเคราะห์แสงได้ออกซิเจนและไฮโดรเจน โดยออกซิเจนละลายน้ำ (dissolved oxygen, DO) ที่มีปริมาณสูงจะมีผลทำลายเซลล์ สาหร่ายขนาดเล็กสามารถตรึง CO₂ จาก 3 แหล่ง คือ อากาศ ไอเสียอุตสาหกรรม (flue gas) และคาร์บอเนต (soluble carbonate) วิธีนี้ใช้ผลิตเซลล์สาหร่ายเพื่อใช้ใน

อุตสาหกรรมอาหารและยา เช่น โปรตีน สารต้านอนุมูลอิสระ รังควัตถุ เป็นต้น (Borowitzka, 1999) ระบบเพาะเลี้ยงที่ใช้ขึ้นกับสายพันธุ์สาหร่าย สภาพภูมิอากาศ ราคาที่ดินและน้ำ (ตารางที่ 1)

1.1 ระบบเพาะเลี้ยงแบบบ่อเปิด (open pond production systems) บ่อเปิดแบบรางคู่ (raceway pond) เป็นระบบที่ได้รับความนิยมสูงโดยปกติบ่อทำจากคอนกรีตหรือดินอัดแน่นคลุมด้วยพลาสติกขาวความลึก 0.2 - 0.5 เมตร (รูปที่ 1) การไหลเวียนของของเหลวโดยใช้ใบพัด (paddle wheel) เพื่อเพิ่มการผสมผสานและป้องกันเซลล์ตกตะกอน และติดตั้งระบบเติม CO₂ ให้เพียงพอต่อการเจริญ บ่อเปิดแบบรางคู่เริ่มดำเนินงานตั้งแต่ ค.ศ. 1950 จึงมีข้อมูลความพร้อมทั้งเทคนิคสร้างบ่อและการเพาะเลี้ยง ตัวอย่างการเพาะเลี้ยงในอุตสาหกรรม เช่น การเพาะเลี้ยง *Spirulina* และ *Dunaliella* ซึ่งมีกำลังการผลิตประมาณ 5000 ตัน/ปี และ 1200 ตัน/ปี ตามลำดับ (Spolaore et al., 2006)

1.2 ระบบเพาะเลี้ยงแบบปิดในเครื่องปฏิกรณ์ชีวภาพแบบแสง (closed photobioreactor (PBR) systems) ระบบนี้สามารถลดข้อด้อยของการเพาะเลี้ยงแบบบ่อเปิดได้ เช่น ลดการปนเปื้อนจากจุลินทรีย์อื่นๆ ตัวอย่างเครื่องปฏิกรณ์ชีวภาพแบบแสง เช่น เครื่องปฏิกรณ์ชีวภาพแบบแสงชนิดท่อ (tubular photobioreactor, tubular PBR) เครื่องปฏิกรณ์ชีวภาพแบบแสงชนิดแผ่นเรียบ (flat plate photobioreactor, flat plate PBR) และแบบคอลัมน์ (column photobioreactor, column PBR) (รูปที่ 2) ระบบนี้ให้ผลผลิตมวลเซลล์สูงทำให้ต้นทุนการผลิตต่อหน่วยลดลงและใช้ได้กับสาหร่ายหลายสายพันธุ์ (ตารางที่ 1)

1.2.1 Tubular PBR ตัวเครื่องประกอบด้วยท่อที่ทำจากพลาสติกใสหรือแก้วซึ่งแสงส่องผ่านได้ดี ขนาดเส้นผ่าศูนย์กลาง 10 เซนติเมตรหรือเล็กกว่า ท่อมีทั้งชนิดวางตามแนวนอนและแนวตั้งหรือแบบเอียง (inclined) หรือแบบเกลียว (helix) การไหลเวียนของอาหารเลี้ยงเชื้อโดยใช้ปั๊มแรงกล (mechanical pump) หรือแบบอากาศยก (airlift pump)

ซึ่งทำการผสมผสาน เกิดการแลกเปลี่ยน CO_2 และออกซิเจน และป้องกันเซลล์ตกตะกอน (Chisti, 2007)

1.2.2 Flat plate PBR ตัวเครื่องเป็นแผ่นเรียบทำจากวัสดุโปร่งแสงมีพื้นที่รับแสงสูงและมีความหนาไม่มากจึงทำให้สสารย่อยเจริญเร็ว การผสมผสานเกิดจากการพ่นอากาศในเครื่อง ระบบนี้เหมาะต่อการเพาะเลี้ยงสาหร่ายเนื่องจากมีการสะสมของออกซิเจนละลายน้ำต่ำและประสิทธิภาพการสังเคราะห์แสงสูงเมื่อเทียบกับ Tubular PBR (Sierra et al., 2008)

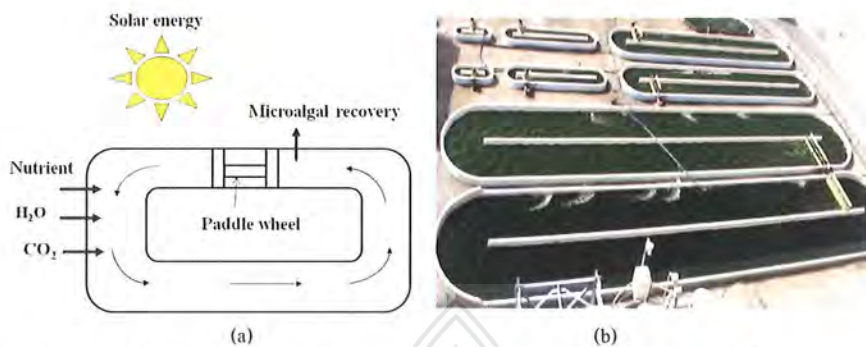
1.2.3 Column PBR ตัวเครื่องเป็นคอลัมน์ทรงสูงเรียงในแนวตั้งหรือเอียง มีการให้อากาศจากด้านล่างคอลัมน์และให้แสงผ่านผิวคอลัมน์ โปร่งแสงระบบนี้ให้ผลการกวนผสม อัตราการถ่ายเท

มวลสารและการควบคุมสภาวะการเพาะเลี้ยงที่มีประสิทธิภาพสูง ขนาดกะทัดรัดและดำเนินงานง่าย (ตารางที่ 1) ผลการดำเนินงานดีกว่า Tubular PBR

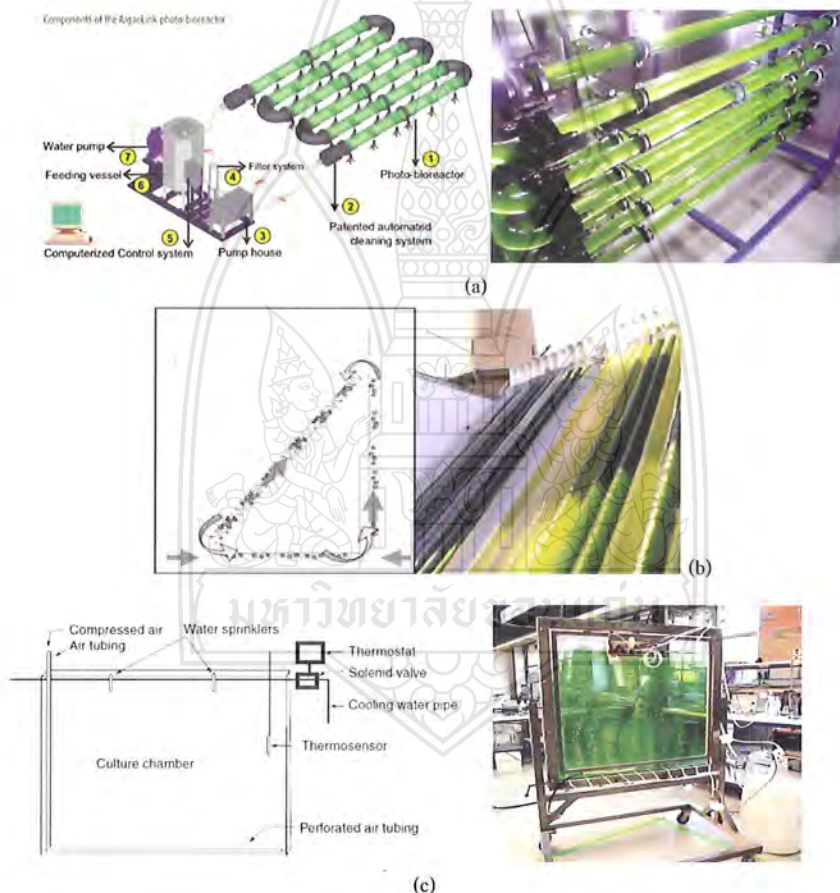
1.3 ระบบการเพาะเลี้ยงแบบผสม (hybrid production systems) เป็นการเพาะเลี้ยงสาหร่ายทั้งในระบบปิดและระบบบ่อเปิด ขั้นแรกเพาะเลี้ยงในเครื่องปฏิกรณ์ชีวภาพแบบแสงเพื่อให้เซลล์สาหร่ายเจริญเพิ่มจำนวนอย่างต่อเนื่อง ขั้นตอนต่อมาเพาะเลี้ยงในบ่อเปิดในสภาวะจำกัดสารอาหารเพื่อกระตุ้นในเซลล์ผลิตสารที่ต้องการเช่น น้ำมัน รงควัตถุต่างๆ Fabregas et al. (2001) รายงานการใช้ระบบนี้เพาะเลี้ยงสาหร่ายขนาดเล็ก *Haematococcus pluvialis* สำหรับผลิตน้ำมันและรงควัตถุแอสทาแซนทิน

ตารางที่ 1 ข้อดีและข้อจำกัดของการเพาะเลี้ยงสาหร่ายด้วยระบบบ่อเปิดแบบรางคู่และระบบปิดในเครื่องปฏิกรณ์ชีวภาพแบบต่างๆ (Ugwu et al., 2008; Brennen and Owende, 2010)

ระบบการเพาะเลี้ยง	ข้อดี	ข้อจำกัด
ระบบบ่อเปิดแบบรางคู่ (raceway pond)	ต้นทุนต่ำ ง่ายต่อการทำความสะอาด ใช้พื้นที่ที่ไม่สามารถปลูกพืชได้ ใช้พลังงานต่ำ บำรุงรักษาง่าย เหมาะต่อการเพาะเลี้ยงเพื่อผลิตเซลล์	ให้ผลผลิตมวลเซลล์ต่ำ ต้องการพื้นที่สูง สาหร่ายบางสายพันธุ์เท่านั้นที่เจริญได้ การผสมผสาน การใช้แสงและ CO_2 ต่ำ ปนเปื้อนจากจุลินทรีย์อื่นง่าย
Tubular PBR	พื้นที่รับแสงสูง ราคาต้นทุนต่ำ เหมาะต่อการเพาะเลี้ยงกลางแจ้ง ให้ผลผลิตมวลเซลล์สูง	สาหร่ายเจริญเกาะติดผนังท่อ ต้องการพื้นที่มากในการติดตั้งเครื่อง มีความแตกต่างของระดับ pH, DO และ CO_2 ตามความยาวของท่อ
Flat plate PBR	ให้ผลผลิตมวลเซลล์สูง การสะสมออกซิเจนต่ำ พื้นที่รับแสงสูงและแสงผ่านได้ดี เหมาะต่อการเพาะเลี้ยงกลางแจ้ง	ต้องการอุปกรณ์จำนวนมากเพื่อขยายขนาด เพาะเลี้ยงให้ใหญ่ขึ้น ขาดต่อการควบคุมอุณหภูมิ มีการเจริญเกาะติดผนังเครื่อง
Column PBR	ขนาดกะทัดรัด การถ่ายเทมวลสูง ใช้พลังงานต่ำ การผสมผสานดีเกิดแรงเลื่อนต่ำ ขยายขนาดเพาะเลี้ยงได้ดี	ราคาสูงเมื่อเปรียบเทียบกับแบบบ่อเปิด เมื่อขยายขนาดเพาะเลี้ยงพื้นที่รับแสงลดลง การสร้างค่าน้ำขุ่นยาก



รูปที่ 1 ระบบการเพาะเลี้ยงสาหร่ายแบบบ่อเปิดแบบรางคู่; (a) แสดงการไหลเวียนของน้ำและอาหารเลี้ยงเชื้อ โดยใช้ใบพัด (ดัดแปลงจาก Chisti, 2007); (b) การเพาะเลี้ยงสาหร่ายในบ่อเปิดแบบรางคู่ (www.ext.vt.edu)



รูปที่ 2 เครื่องปฏิกรณ์ชีวภาพแบบแสงชนิดต่างๆ ; (a): Tubular PBR, (b): Column PBR (air lift reactor): “triangle airlift reactor” ของ GreenFuels’s 3D Matrix Algae Growth Engineering, Red Hawk Power Plant, Arizona, USA (50); (c): Flat Plate PBR (ที่มาจาก <http://www.oilgae.com/ref/glos/photobioreactor.html>, <http://bioconceptsllc.com>, Schenk et al., 2008, <http://www.oilgae.com/algae/cult/pbr/typ/flp/flp.html>, http://www.kit.edu/english/55_604.php)

2. การเพาะเลี้ยงแบบเฮเทอโรโทรฟิก สำหรับขนาดเล็กบางสายพันธุ์สามารถเจริญแบบเฮเทอโรโทรฟิกได้โดยใช้สารอินทรีย์เป็นทั้งแหล่งพลังงานและแหล่งคาร์บอนภายใต้สภาวะไม่มีแสง เช่น สำหรับ *Chlorella protothecoides* เจริญเร็วกว่าการสังเคราะห์แสงถึง 4 เท่า (Miao and Wu, 2004) การเพาะเลี้ยงทำในเครื่องปฏิกรณ์ชีวภาพแบบถังกวน (stirred tank bioreactor) หรือถังหมัก (fermenter) ทั่วไป ระบบนี้ไม่ใช้แสงจึงทำให้มีความเป็นไปได้ในการขยายขนาดการเพาะเลี้ยงเนื่องจากใช้ถังขนาดเล็กกว่าการเพาะเลี้ยงแบบสังเคราะห์แสง (ตารางที่ 2) ควบคุมการเจริญของสาหร่ายได้ดีและต้นทุนเก็บเกี่ยวต่ำเนื่องจากให้ผลผลิตมวลเซลล์ต่อพื้นที่สูง (ตารางที่ 3) ตัวอย่างการเพาะเลี้ยง เช่น การผลิต Docosahexaenoic acid (DHA) จากสาหร่าย *Cryptocodinium cohnii* (De Swaaf et al., 2003) การเพาะเลี้ยง *Chlorella* sp. KKU-S2 เพื่อผลิตน้ำมันสาหร่ายสำหรับผลิตไบโอดีเซล (Leesing and Nontaso, 2010)

3. การเพาะเลี้ยงแบบผสมหรือมิกโซโทรฟิก (mixotrophic cultivation) การเพาะเลี้ยงแบบนี้ใช้สารอินทรีย์และสารอนินทรีย์ (CO_2) เป็นแหล่งคาร์บอน ส่วนแหล่งพลังงานได้จากแสงและสารอินทรีย์ (ตารางที่ 2) การเพาะเลี้ยงแบบนี้สาหร่ายเจริญได้ทั้งแบบใช้แสงและไม่ใช้แสงเป็นแหล่งพลังงานเมื่อใช้สารอินทรีย์เป็นแหล่งคาร์บอนผ่านกระบวนการหายใจจะได้ CO_2 และสาหร่ายตรึง CO_2 กลับไปใช้เพื่อสังเคราะห์แสงได้ (Mata et al., 2010) โดยทั่วไปอัตราการเจริญของ

สาหร่ายที่เพาะเลี้ยงแบบนี้จะสูงกว่าแบบสังเคราะห์แสงแต่ต่ำกว่าแบบเฮเทอโรโทรฟิก (ตารางที่ 3) Chojnacka and Noworata (2004) พบว่าเมื่อเพาะเลี้ยง *Spirulina* sp. แบบมิกโซโทรฟิก อัตราการเจริญสูงกว่าแบบสังเคราะห์แสงและแบบเฮเทอโรโทรฟิก

4. การเพาะเลี้ยงแบบโฟโตเฮเทอโรโทรฟิก (photoheterotrophic cultivation) การเพาะเลี้ยงแบบนี้เกิดเมื่อสาหร่ายใช้แสงเป็นแหล่งพลังงานและใช้สารอินทรีย์เป็นแหล่งคาร์บอน ความแตกต่างของการเพาะเลี้ยงแบบโฟโตเฮเทอโรโทรฟิกและแบบมิกโซโทรฟิก คือ แบบแรกต้องการแสง ส่วนแบบที่สองมีแสงหรือไม่ก็ได้ (Chojnacka and Marquez-Rocha, 2004) การเพาะเลี้ยงสาหร่ายแบบนี้มีการใช้น้อยเนื่องจากปัญหาการปนเปื้อนและเครื่องมือราคาสูง จากข้อมูลที่กล่าวมาจะเห็นว่าสาหร่ายขนาดเล็กบางสายพันธุ์ที่เจริญได้ในสภาวะเฮเทอโรโทรฟิกจะเจริญได้ดีและให้ปริมาณเซลล์และลิปิดสูงเมื่อเพาะเลี้ยงแบบเฮเทอโรโทรฟิก แต่เกิดการปนเปื้อนง่ายและการใช้สารอินทรีย์คาร์บอนทำให้ต้นทุนสูงจึงต้องใช้แหล่งคาร์บอนราคาถูก เช่น ของเหลือทิ้งจากอุตสาหกรรมเกษตร เป็นต้น ปัจจุบันการเพาะเลี้ยงสาหร่ายแบบสังเคราะห์แสงมีมากที่สุดโดยมุ่งใช้ CO_2 จากโรงงานอุตสาหกรรม (flue gas) เพื่อผลิตเชื้อเพลิงชีวภาพและลดการปล่อยก๊าซเรือนกระจก ส่วนข้อมูลวิจัยการเพาะเลี้ยงแบบมิกโซโทรฟิกและโฟโตเฮเทอโรโทรฟิกมีน้อยอาจมาจากต้นทุนสูง

ตารางที่ 2 เปรียบเทียบความแตกต่างของการเพาะเลี้ยงสาหร่ายภายใต้สภาวะต่าง ๆ (Chen et al., 2011)

สภาวะการเพาะเลี้ยง	แหล่งพลังงาน	แหล่งคาร์บอน	ปริมาณเซลล์	ระบบเพาะเลี้ยง	ราคา	อุปสรรคการขยายขนาดผลิต
Photoautotrophic cultivation	แสง	สารอินทรีย์ (CO ₂)	ต่ำ	บ่อเปิด ปฏิกรณ์ชีวภาพ แบบแสง	ต่ำ	ปริมาณมวลเซลล์ต่ำ ต้นทุนสูง ควบคุม การระเหยน้ำยาก
Heterotrophic cultivation	สารอินทรีย์	สารอินทรีย์	สูง	ถึงหมักทั่วไป	ปานกลาง	การปนเปื้อน สารอาหารราคาสูง
Mixotrophic cultivation	แสงและ สารอินทรีย์	สารอินทรีย์ และอินทรีย์	ปาน กลาง	ปฏิกรณ์ชีวภาพ แบบแสง	สูง	การปนเปื้อน เครื่องมือและ สารอาหารราคาสูง
Photoheterotrophic cultivation	แสง	สารอินทรีย์	ปาน กลาง	ปฏิกรณ์ชีวภาพ แบบแสง	สูง	การปนเปื้อน เครื่องมือและ สารอาหารราคาสูง

ตารางที่ 3 เปรียบเทียบผลผลิตมวลเซลล์ ปริมาณลิปิดของสาหร่ายขนาดเล็กบางสายพันธุ์ภายใต้การเพาะเลี้ยงแบบต่างๆ

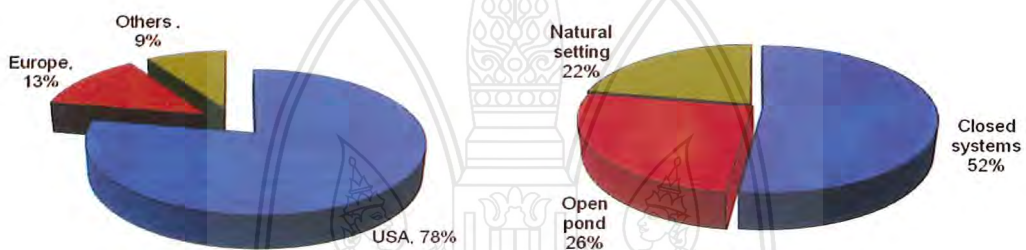
สาหร่ายขนาดเล็ก	สภาวะเพาะเลี้ยง	ผลผลิตมวลเซลล์ (กรัม/ลิตร/วัน)	ปริมาณลิปิด (%น้ำหนักแห้ง)	อ้างอิง
<i>Chlorella</i> sp. KKU-S2	PC ¹	0.17	27.3	Leesing and Nontaso (2008)
<i>Botryococcus braunii</i>	PC	0.03	20.8	Yoo et al. (2010)
<i>Isochrysis</i> sp. F&M-M37	PC	0.14	27.4	Rodolfi et al. (2009)
<i>Chlorella</i> sp. KKU-S2	HC ²	6.26	47.0	Leesing and Nontaso (2010)
<i>Chlorella protothecoides</i>	HC	4.0-4.4	43.0-46.0	Cheng et al. (2009)
<i>Chlorella protothecoides</i>	HC	2.2-7.4	50.3-57.8	Xiong et al. (2008)
<i>Chlorella vulgaris</i>	MC ³	0.09-0.25	21.0-34.0	Liang et al. (2009)
<i>Scenedesmus obliquus</i>	MC	0.10-0.51	6.6-11.8	Mandal and Mallick (2009)

¹ PC: Photoautotrophic cultivation, ² HC: Heterotrophic cultivation, ³ MC: Mixotrophic cultivation

การเพาะเลี้ยงสาหร่ายตามภูมิภาคต่างๆ ทั่วโลก

Piccolo (2009) รายงานสถานการณ์การพัฒนาการผลิตน้ำมันจากสาหร่ายขนาดเล็กเพื่อใช้ผลิตเชื้อเพลิงชีวภาพของสหภาพยุโรป (EU) โดย UK Carbon Trust ลงทุน 26 ล้านดอลลาร์เพื่อผลิตสาหร่าย โดยวางแผนตั้งโรงงานเพาะเลี้ยงสาหร่ายในแอฟริกาเหนือ และในปี ค.ศ. 2009 ให้ทุนวิจัย 8 ล้านดอลลาร์แก่โครงการ Algae Biofuel Challenge (ABC) ซึ่งโครงการ ABC ดำเนินงาน 2 ระยะ คือ ระยะที่ 1 มีเป้าหมายพัฒนาการวิจัยและศึกษาพื้นฐาน ส่วนระยะที่ 2 มีเป้าหมายเพื่อผลิตน้ำมันสาหร่ายในระดับใหญ่ รัฐบาลประเทศสกอตแลนด์ให้เงินสนับสนุน 6 ล้านยูโรแก่โครงการ BioMara เพื่อวิจัยและพัฒนาการ

เพาะเลี้ยงสาหร่ายทะเล (seaweed) ให้เจริญเร็วและมีปริมาณมวลเซลล์สูง บริษัท Aurantia ของประเทศสเปนและบริษัท Green Fuel Tech of Massachusetts ของประเทศสหรัฐอเมริการ่วมมือกันผลิตน้ำมันสาหร่ายในปี 2007 ด้วยทุนจำนวน 92 ล้านดอลลาร์ และมีเป้าหมายตั้งโรงงานในพื้นที่ 100 เฮกตาร์เพื่อผลิตเซลล์สาหร่าย 25,000 ตัน/ปี โดยใช้ CO₂ จากโรงงานผลิตปูนซีเมนต์ที่ตั้งอยู่ใกล้เคียงกันที่เมือง Jerez ในประเทศสเปน ข้อมูลการพัฒนาการผลิตเชื้อเพลิงชีวภาพจากสาหร่ายส่วนใหญ่จะอยู่ที่สหรัฐอเมริกา (รูปที่ 3) สำหรับตัวอย่างบริษัทที่ผลิตสาหร่ายในภูมิภาคต่างๆ ของโลกแสดงดังตารางที่ 4 (Singh and Gu, 2010)



รูปที่ 3 ร้อยละของบริษัทที่ผลิตเชื้อเพลิงชีวภาพจากสาหร่ายของภูมิภาคต่างๆ ของโลก (a) และเทคโนโลยีที่ใช้ในการผลิตเชื้อเพลิงชีวภาพจากสาหร่าย (b) (ดัดแปลงจาก Singh and Gu, 2010)

มหาวิทยาลัยขอนแก่น

ตารางที่ 4 บริษัทผู้เพาะเลี้ยงและผลิตเซลล์สาหร่ายตามภูมิภาคต่างๆ ทั่วโลก (Singh and Gu, 2010)

บริษัท	ภูมิภาค	รายละเอียด
การเพาะเลี้ยงด้วยระบบบ่อเปิด		
LiveFuels, Menlo Park California	USA	ผลิต green crude oil จากสาหร่ายเพื่อเป็นพลังงานสำรองสำหรับโรงกลั่น มีเป้าหมายผลิต bio-crude-oil ภายในปี 2010
OriginOil Inc., Los-Angeles, California	USA	ผลิตเชื้อเพลิงชีวภาพในรูปของ bio-oil เพื่อเข้าโรงกลั่นเช่นเดียวกับน้ำมันดิบปิโตรเลียม เป้าหมายเพื่อกลั่นน้ำมันสาหร่ายเป็นดีเซล เบนซิน น้ำมันเครื่องบิน (jet oil) พลาสติกและตัวทำละลายอื่นๆ
PetroSun, Scottsdale, Arizona	USA	เป้าหมายผลิตน้ำมันสาหร่าย 4.4 ล้านแกลลอน/ปี และเซลล์สาหร่าย 110 ล้านดอลลาร์/ปี พัฒนาการผลิตน้ำมันเครื่องบินจากสาหร่าย (algae-to-jet)
Nestle Oil, Helsinki	European	ผลิตไบโอดีเซลจากน้ำมันพืชและน้ำมันจากสาหร่าย 170,000 ตัน/ปี

บริษัท	ภูมิภาค	รายละเอียด
การเพาะเลี้ยงตามธรรมชาติ (natural setting)		
Aquaflow Binomics, New Zealand	New Zealand	เป้าหมายผลิตเชื้อเพลิงชีวภาพจากสาหร่ายที่เก็บจากบ่อบำบัดน้ำเสียและจากแหล่งน้ำที่สารอาหารสูง
Biofuel Systems, Spain	European	เป้าหมายผลิตไบโอปิโตรเลียม (bio-petroleum) จากสาหร่ายขนาดเล็กในพื้นที่จำกัดและต้นทุนต่ำ
การเพาะเลี้ยงในระบบปิด (closed systems)		
GreenFuel Technologies, Cambridge, Massachusetts	USA	ผลิตสาหร่ายโดยนำ CO ₂ จากโรงงานผลิตกระแสไฟฟ้ากลับมาใช้ใหม่ เป้าหมายผลิตสาหร่ายในพื้นที่ 1 เอเคอร์เพื่อผลิตน้ำมันเครื่องบินให้ได้ 7,000 แกลลอน เอทานอล 5,000 แกลลอน โพรตีน 1,000 ตัน สารอื่นๆ 200 ปอนด์และแรงควัตถุ 20 ปอนด์
Solazyme, Inc., San Francisco	USA	ผลิตน้ำมันจากสาหร่ายขนาดเล็กแบบเฮโทรโทรฟิกเพื่อใช้เป็นเชื้อเพลิงและสารอื่นๆ เป็นต้นแบบผลิตไบโอดีเซลจากสาหร่ายชื่อ “Solodiesel”
Algeneol Biofuels, Fort Meyers, Florida	USA	พัฒนาระบบเพาะเลี้ยงสาหร่ายโดยใช้น้ำทะเล เป้าหมายผลิตเอทานอลจากเซลล์ 100 ล้านแกลลอน/ปี ในปี 2009 และ 1 ล้านแกลลอนในปี 2012
Sapphire Energy, San Diego	USA	ก่อตั้งปี 2007 เริ่มต้นผลิตเชื้อเพลิงชีวภาพโดยการปรับปรุงสายพันธุ์สาหร่ายสีน้ำเงินแกมเขียวที่ผลิตและปล่อยน้ำมันออกนอกเซลล์ เพื่อลดขั้นตอนการสกัดน้ำมันออกจากเซลล์
Inventure Chemical Technology, Seattle	USA	บริษัททำงานภายใต้ลิขสิทธิ์การผลิตน้ำมันเครื่องบินจากสาหร่าย (algae-to-jet fuel)
Solix Biofuels, Fort Collins, Colorado	USA	ผลิตเชื้อเพลิงชีวภาพจากสาหร่ายขนาดเล็ก เป้าหมายตั้งโรงงานใกล้ New Belgian Brewery โดยใช้ CO ₂ จากการผลิตเบียร์มาเพาะเลี้ยง
Aurora Biofuels	USA	ใช้สาหร่ายที่ปรับปรุงสายพันธุ์เพื่อผลิตไบโอดีเซลภายใต้ลิขสิทธิ์ที่พัฒนาโดย University of California, Berklay
Cellena, Hawaii	USA	เป็นความร่วมมือระหว่าง HR Biopetroleum และ Shell Oil เพื่อผลิตเชื้อเพลิงชีวภาพจากสาหร่าย

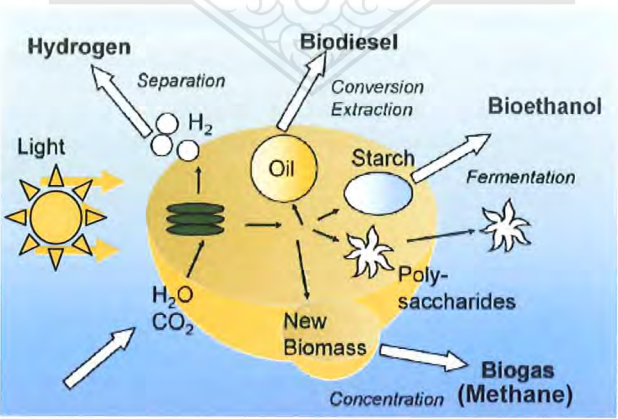
เทคโนโลยีการผลิตเชื้อเพลิงชีวภาพจากสาหร่าย

เซลล์สาหร่ายมีองค์ประกอบหลักเป็นโปรตีน คาร์โบไฮเดรต ลิพิดและสารมูลค่าสูงอื่นๆ เช่น สีรงควัตถุ (pigment) สารต้านอนุมูลอิสระ (anti-oxidant) กรดไขมันและวิตามิน เป็นต้น ปริมาณโปรตีนและ คาร์โบไฮเดรตจะแปรผันขึ้นกับสายพันธุ์ของสาหร่าย บางสายพันธุ์มีสูงถึงร้อยละ 50 โดยน้ำหนักเซลล์แห้ง (ตารางที่ 5) โดยองค์ประกอบเหล่านี้นำมาผลิตเชื้อเพลิง

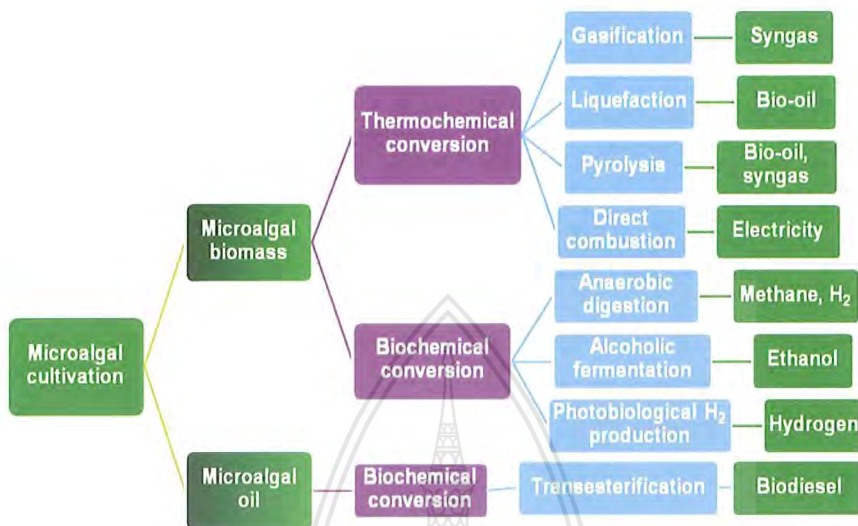
ชีวภาพได้ เชื้อเพลิงชีวภาพที่ผลิตจากสาหร่าย เช่น ไบโอดีเซล ไบโอเอทานอล ไบโอดีไฮโดรเจน ไบโอมีเทน (รูปที่ 4) เทคโนโลยีการผลิตเชื้อเพลิงจากสาหร่ายมีทั้งจากเซลล์และน้ำมันสาหร่ายโดยแบ่งเป็นวิธีแปรรูปทางชีวเคมี (biochemical conversion) และทางเคมี (thermochemical conversion) (รูปที่ 5) ขึ้นกับชนิด ปริมาณและองค์ประกอบของเซลล์ รูปแบบหรือชนิดของเชื้อเพลิงที่ต้องการและความคุ้มค่าทางเศรษฐศาสตร์

ตารางที่ 5 ปริมาณโปรตีน คาร์โบไฮเดรตและลิพิดของสาหร่ายขนาดเล็ก (% น้ำหนักแห้ง) (Becker, 1994)

สาหร่ายขนาดเล็ก	โปรตีน	คาร์โบไฮเดรต	ลิพิด
<i>Scenedesmus obliquus</i>	50-56	10-17	12-14
<i>Scenedesmus dimorphus</i>	8-18	21-52	16-40
<i>Chlorella vulgaris</i>	51-58	12-17	14-22
<i>Chlorella pyrenoidosa</i>	57	26	2
<i>Euglena gracilis</i>	39-61	14-18	14-20
<i>Spirulina platensis</i>	52	8-14	4-9
<i>Spirulina maxima</i>	28-39	13-16	6-7
<i>Anabaena cylindrical</i>	43-56	25-30	4-7
<i>Dunaliella salina</i>	57	32	6
<i>Porphyridium cruentum</i>	28-45	40-57	9-14
<i>Synechococcus</i> sp.	46-63	15	11



รูปที่ 4 วิธีการผลิตเชื้อเพลิงชีวภาพจากสาหร่ายขนาดเล็ก (Posten and Schaub, 2009)



รูปที่ 5 กระบวนการผลิตเชื้อเพลิงชีวภาพจากสาหร่ายขนาดเล็ก (ดัดแปลงจาก Tsukahara and Sawayama, 2005)

วิธีการแปรรูปทางเคมี (thermochemical conversion)

วิธีนี้ใช้อุณหภูมิสูงในการแปรรูปประกอบด้วยการเปลี่ยนเป็นแก๊ส (gasification) การเปลี่ยนเป็นของเหลว (thermochemical liquefaction) ไพโรไลซิส (pyrolysis) และการเผาไหม้โดยตรง (direct combustion) โดยใช้เซลล์สาหร่ายเป็นวัตถุดิบ

Gasification เป็นการทำปฏิกิริยาออกซิเดชันบางส่วน (partial oxidation) ของเซลล์สาหร่ายที่อุณหภูมิสูงได้แก๊สผสมที่ใช้ในการเผาไหม้ (800-1000 องศาเซลเซียส) หรือ synthetic gas (syngas) ประกอบด้วย CO₂, H₂, CO, N, CH₄ (Clark and Deswarte, 2008) Hirano et al. (1998) วิจัยการแปรรูปเซลล์สาหร่าย *Spirulina* sp. ที่ 850-1000 องศาเซลเซียสได้แก๊สที่นำมาผลิตเมทานอล โดยที่ 1000 องศาเซลเซียสได้ผลผลิตเมทานอล (theoretical yield) 0.64 กรัมเมทานอล/กรัมสาหร่าย

Thermochemical liquefaction คือกระบวนการเปลี่ยนเซลล์สาหร่ายเปื่อยไปเป็นเชื้อเพลิงเหลวหรือน้ำมันชีวภาพ (bio-oil) (Patil et al., 2008)

ที่อุณหภูมิต่ำ (300-350 องศาเซลเซียส) ความดัน 5-20 เมกะพาสคาล โดยมีไฮโดรเจนเป็นตัวเร่งปฏิกิริยา เครื่องมือที่ใช้ในการผลิตเชื้อเพลิงโดยวิธีนี้มีราคาสูง ข้อดีคือสามารถเปลี่ยนเซลล์เปื่อยไปเป็นเชื้อเพลิงหรือพลังงานได้ Dote et al. (1994) เปลี่ยนเซลล์ *Botryococcus braunii* ได้น้ำมันสุญญะ 64 ของน้ำหนักเซลล์ และมีค่าความร้อนสูงสุด (HHV) 45.9 เมกกะจูล/กิโลกรัม Minowa et al. (1995) รายงานการผลิตน้ำมันชีวภาพจากสาหร่าย *Dunaliella tertiolecta* ที่ 300 องศาเซลเซียส ได้น้ำมันสุญญะ 42 ของน้ำหนักเซลล์และให้ค่าความร้อนสูงสุด 34.9 เมกกะจูล/กิโลกรัม

Pyrolysis คือกระบวนการเปลี่ยนมวลเซลล์ไปเป็นน้ำมันชีวภาพ (bio-oil) และถ่านที่อุณหภูมิ 350-700 องศาเซลเซียส ในสภาวะไม่มีอากาศ เทคนิคนี้มีศักยภาพสูงในการขยายขนาดผลิตเชื้อเพลิงชีวภาพเพื่อทดแทนเชื้อเพลิงเหลวจากปิโตรเลียมการผลิตน้ำมันชีวภาพจากสาหร่าย *C. protothecoides* ที่เพาะเลี้ยงแบบเฮเทอโรโทรฟิกด้วยวิธี fast pyrolysis ที่ 400 องศาเซลเซียส ได้น้ำมันสุญญะ 57.9 ของน้ำหนักเซลล์และค่าความร้อน 41 กิโลจูล/กิโลกรัม ส่วนสาหร่ายที่เพาะเลี้ยงแบบสังเคราะห์แสงได้น้ำมันสุญญะ 16.6 ของน้ำหนัก

เซลล์และค่าความร้อน 30 กิโลจูล/กิโลกรัม (Miao and Wu, 2004) ค่าความร้อนจากการเผาไหม้น้ำมันชีวภาพจากสาหร่ายกับปีโตรเลียมมีค่าประมาณ 29-45.9 กิโลจูล/กิโลกรัม และ 42 กิโลจูล/กิโลกรัม ตามลำดับ (Brennan and Owende, 2010)

Direct combustion การเผาไหม้โดยตรงในสถานะมีอากาศสามารถเปลี่ยนเซลล์สาหร่ายไปเป็นแก๊สซึ่งปกติใช้ในเตาเผา หม้อต้มหรือเครื่องทำไอน้ำร้อนที่อุณหภูมิสูงกว่า 800 องศาเซลเซียส วิธีการนี้เหมาะกับเซลล์ที่มีความชื้นต่ำกว่า ร้อยละ 50 โดยน้ำหนักเซลล์แห้ง (McKendry, 2002)

การแปรรูปทางชีวเคมี (Biochemical conversion)

การผลิตเชื้อเพลิงชีวภาพจากสาหร่ายขนาดเล็กด้วยการแปรรูปทางชีวเคมีประกอบด้วย การผลิตไบโอมีเทน ผ่านการย่อยสลายในสภาพไร้อากาศ (anaerobic digestion) การผลิตไบโอเอทานอลผ่านหมักแอลกอฮอล์ (alcoholic fermentation) และการผลิตไบโอไฮโดรเจนด้วยการสังเคราะห์แสง (photobiological hydrogen production) รวมทั้งการผลิตไบโอดีเซลจากน้ำมันสาหร่ายผ่านทรานส์เอสเทอริฟิเคชัน (transesterification) (Brennan and Owende, 2010)

ไบโอดีเซล (Biodiesel) ไบโอดีเซลหรือโมโนอัลคิลเอสเทอร์ (mono-alkyl ester) เป็นเชื้อเพลิงดีเซลที่ผลิตจากน้ำมันไตรกลีเซอไรด์ผ่านกระบวนการทรานส์เอสเทอริฟิเคชันโดยเติมแอลกอฮอล์ส่วนใหญ่ใช้เมทานอล และมีกรด ค้างหรือเอนไซม์ไลเปสเป็นตัวเร่งปฏิกิริยาเพื่อเปลี่ยนน้ำมันให้เป็นไบโอดีเซลในรูปเมทิลเอสเทอร์ของกรดไขมัน (fatty acid methyl ester: FAME) และมีกลีเซอรอลเป็นผลพลอยได้ ตัวอย่างการวิจัยเพื่อผลิตไบโอดีเซลจากสาหร่าย เช่น ไบโอดีเซลจากน้ำมันสาหร่ายสีเขียว *C. protothecoides* ที่เพาะเลี้ยงแบบเฮเทโรโทรฟิกมีสมบัติใกล้เคียงกับน้ำมันดีเซลและไบโอดีเซลตามมาตรฐานของ ASTM biodiesel standard โดยมีค่าความร้อน 41 เมกกะจูล/กิโลกรัม (Xu et al, 2006) การผลิตไบโอดีเซลจาก

น้ำมันสาหร่าย *C. protothecoides* เมื่อใช้เอนไซม์ไลเปสเป็นตัวเร่งปฏิกิริยาได้ไบโอดีเซลสูงร้อยละ 98 (Xiong et al., 2008) สาหร่ายขนาดเล็ก *Chlorella* sp. KCU-S2 เมื่อเพาะเลี้ยงแบบเฮเทโรโทรฟิกได้น้ำมันที่เป็นไตรกลีเซอไรด์ โดยมีกรดปาล์มติก (C16:0) กรดโอเลอิก (C18:1) กรดสเตียริก (C18:0) กรดลิโนเลอิก (C18:2) เช่นเดียวกับที่พบในน้ำมันพืชและใช้ผลิตไบโอดีเซลได้ (Leising and Nontaso, 2010)

Anaerobic digestion (AD) เป็นการย่อยสลายสารอินทรีย์ในสภาพไร้อากาศเพื่อเปลี่ยนสารอินทรีย์เป็นแก๊สชีวภาพหรือไบโอมีเทน คือ มีเทน (CH_4) และ CO_2 และไฮโดรเจนซัลไฟด์ (H_2S) การย่อยสลายมี 3 ขั้นตอนคือ ไฮโดรไลซิส (hydrolysis) การหมัก (fermentation) และการผลิตมีเทน (methanogenesis) การไฮโดรไลซิสเปลี่ยนสารอินทรีย์โมเลกุลใหญ่เป็นสารโมเลกุลเดี่ยวจากนั้นสารโมเลกุลเดี่ยวถูกเปลี่ยนเป็นกรดไขมัน (volatile fatty acids, VFA) โดยแบคทีเรีย (fermentative bacteria) และ VFA ถูกเปลี่ยนเป็นอะซิเตท (acetate) แก๊สไฮโดรเจน (H_2) และ CO_2 สุดท้ายแบคทีเรียเมทาโนเจน (methanogens) เปลี่ยน acetate, H_2 และ CO_2 เป็นมีเทน (ร้อยละ 60-70) และได้ CO_2 (ร้อยละ 30-40) (Cantrell et al., 2008) มีเทนที่ผลิตได้ใช้เป็นเชื้อเพลิงความร้อนหรือผลิตกระแสไฟฟ้า และของเหลือทิ้งจากการผลิตมีเทนนำไปผลิตปุ๋ยหมักได้ สาหร่ายขนาดเล็กเป็นวัตถุดิบที่มีศักยภาพในการผลิตมีเทนเนื่องจากเซลล์ไม่มีลิกนินและมีเซลล์ulos ปริมาณต่ำซึ่งทำให้ระบบผลิตมีความคงตัวสูง (Vergara-Fernandez et al., 2008) Mussnug et al. (2010) รายงานการผลิตไบโอมีเทนจากสาหร่ายขนาดเล็ก *Chlamydomonas reinhardtii*, *Chlorella kessleri*, *Dunaliella salina*, *Euglena gracilis* และ *Scenedesmus obliquus* ได้ปริมาณมีเทน ร้อยละ 66 65 64 67 และร้อยละ 62 ตามลำดับ

Alcoholic fermentation การหมักเอทานอลโดยยีสต์ทำหน้าที่เปลี่ยนคาร์โบไฮเดรตเป็นเอทานอลภายใต้สภาวะไม่มีอากาศ (anaerobic condition) ซึ่ง

การหมักกลูโคส 1 กิโลกรัม ได้เอทานอล 0.51 กิโลกรัม และ CO_2 0.49 กิโลกรัม ปัจจุบันไบโอเอทานอลผลิตจากอ้อย ข้าวโพดและมันสำปะหลังซึ่งเป็นพืชอาหาร (McKendry, 2002) เมื่อเร็วๆ นี้ ความสนใจมุ่งใช้เซลล์สาหร่ายเป็นวัตถุดิบเนื่องจากสาหร่ายขนาดเล็กมีคาร์โบไฮเดรตในปริมาณสูง สาหร่ายขนาดเล็ก เช่น *C. vulgaris* เหมาะต่อการใช้เป็นวัตถุดิบเพื่อผลิตเอทานอลเนื่องจากมีแป้งสูง (ร้อยละ 37 โดยน้ำหนักแห้ง) และสามารถเปลี่ยนเป็นเอทานอลได้ถึงร้อยละ 65 (Hirano et al., 1997) Harun et al. (2010) รายงานการผลิตไบโอเอทานอลจากเซลล์สาหร่ายขนาดเล็ก *Chlorococum* sp. ได้เอทานอลร้อยละ 38 โดยน้ำหนักแห้ง Ueda et al. (1996) จดสิทธิบัตรการผลิตเอทานอลจากเซลล์สาหร่ายด้วยกระบวนการ “Two-stage microalgal fermentation process” ขั้นตอนแรกเป็นการหมักเซลล์สาหร่ายในสภาพไม่มีแสงได้เอทานอลและทำให้เอทานอลบริสุทธิ์เพื่อใช้เป็นเชื้อเพลิง ส่วน CO_2 ที่เกิดขึ้นนำกลับไปใช้เพาะเลี้ยงสาหร่าย ขั้นตอนต่อมาผลิตไบโอมีเทนจากกากเซลล์สาหร่ายที่ได้จากขั้นตอนแรก

Photobiological hydrogen production H_2

เป็นเชื้อเพลิงสะอาดและมีประสิทธิภาพสูง (Clark and Deswarte, 2008) การใช้ไฮโดรเจนเป็นเชื้อเพลิงนั้นจะไม่ปล่อย CO_2 ออกสู่บรรยากาศซึ่งสามารถลดภาวะเรือนกระจกได้ดีโดยการประชุมว่าด้วยการเปลี่ยนแปลงสภาพภูมิอากาศที่โคเปนเฮเกน ประเทศเดนมาร์ก เมื่อปี ค.ศ. 2009 (The 2009 Copenhagen Climate Conference) มีจุดหมายให้ลดการปล่อย CO_2 ลงร้อยละ 25-40 ในปี ค.ศ. 2020 และร้อยละ 80 ในปี ค.ศ. 2050 ดังนั้นเชื้อเพลิงไฮโดรเจนจึงได้รับการส่งเสริมให้มีการผลิตและใช้ สาหร่าย *C. reinhardtii*, *Nostoc* และ *Synechocystis* PCC6803 มีศักยภาพสูงในการผลิตไฮโดรเจนผ่านการสังเคราะห์แสง (Lindberg et al., 2004; Ananyev et al., 2008) การสังเคราะห์แสงของสาหร่ายขนาดเล็กจะเปลี่ยนน้ำให้เป็นออกซิเจนและไฮโดรเจนไอออน (H^+) จากนั้นไฮโดรเจนไอออน

เปลี่ยนเป็นไฮโดรเจนโดยเอนไซม์ไฮโดรจีเนส (hydrogenase) ภายใต้สภาวะไม่มีอากาศ (Cantrell et al., 2008)

อนาคตของเชื้อเพลิงชีวภาพจากสาหร่ายขนาดเล็ก

เชื้อเพลิงชีวภาพจากสาหร่ายขนาดเล็กได้รับความสนใจมากในปัจจุบันโดยมีบริษัทต่างๆ ประมาณ 150 แห่งได้ก่อตั้งขึ้นมาในภูมิภาคต่างๆ ของโลกโดยเฉพาะในยุโรปและอเมริกาได้เริ่มโครงการผลิตเชื้อเพลิงชีวภาพจากสาหร่าย เช่น บริษัท BP Amoco plc ให้ทุน 10 ล้านดอลลาร์แก่โครงการวิจัยสาหร่ายของ Martex Biosciences Corp. บริษัท Dow Chemical Co. และ Algenol Biofuels Inc. ร่วมมือกันตั้งโรงงานผลิตไบโอเอทานอลจากสาหร่ายขนาดเล็ก รัฐบาลสหรัฐอเมริกา ภายใต้หน่วยงาน “The US Department of Energy” เสนอแผนการผลิตเชื้อเพลิงชีวภาพจากสาหร่ายภายใต้โครงการ “National Algal Biofuels Technology Roadmap”

ประเทศไทยมีการวิจัยเพื่อผลิตเชื้อเพลิงชีวภาพจากสาหร่ายตามหน่วยงานต่างๆ เช่น มหาวิทยาลัยขอนแก่นวิจัยเพื่อผลิตน้ำมันสาหร่าย *Chlorella* sp. KKU-S2 และสายพันธุ์อื่นๆ เพื่อใช้ผลิตไบโอดีเซล บริษัท ปตท. เคมิคัล จำกัด เพาะเลี้ยงสาหร่ายใน Tubular PBR เพื่อเป็นต้นแบบผลิตไบโอดีเซล กรมพัฒนาพลังงานทดแทนและอนุรักษ์พลังงาน กระทรวงพลังงานร่วมกับสำนักพัฒนาบัณฑิตศึกษาและวิจัยด้านวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยี สำนักงานคณะกรรมการการอุดมศึกษาจัดตั้งโปรแกรมวิจัยเชื้อเพลิงชีวภาพเชิงบูรณาการเพื่อพัฒนาเชื้อเพลิงชีวภาพ 4 ชนิดคือ ไบโอเอทานอลไบโอดีเซลจากสาหร่ายทะเล ก๊าซชีวภาพและน้ำมันชีวภาพ

ปัจจุบันต้นทุนการผลิตเชื้อเพลิงชีวภาพจากสาหร่ายอยู่ที่ 50 ปอนด์/ลิตร ซึ่งเป็นอุปสรรคต่อการผลิตเชิงพาณิชย์ ดังนั้นจึงต้องพัฒนาการเพาะเลี้ยงที่ต้นทุนต่ำ เช่น เพาะเลี้ยงในน้ำเสีย (Ahrens and Sander,

2010) ใช้ CO₂ จากโรงงานอุตสาหกรรมโดยเฉพาะ โรงงานผลิตกระแสไฟฟ้าในการเพาะเลี้ยงนอกจาก เป็นการเปลี่ยนของเสียเป็นเชื้อเพลิงแล้วยังลดผลกระทบต่องสิ่งแวดล้อม นอกจากนั้นสายพันธุ์ สาหร่ายต้องผลิตเชื้อเพลิงชีวภาพและสารมูลค่าเพิ่มอื่นๆ รายงานของ Algae 2020 (Will, 2009) ได้เสนอ 5 ประเด็นหลักแห่งความสำเร็จในการผลิตเชื้อเพลิงชีวภาพจากสาหร่ายเชิงพาณิชย์ประกอบด้วย สาหร่าย ต้องมีน้ำมันสูง “fatter” เจริญเร็ว “faster” ราคาดีมีงานถูก “cheaper” ง่ายต่อการจัดการ “easier” และ สุดท้ายมีส่วนแบ่งการตลาดที่คุ้มค่าต่อการลงทุน “fractionation marketing”

บทสรุป

จากข้อมูลที่กล่าวมารวมทั้งความหลากหลาย สายพันธุ์ของสาหร่ายขนาดเล็กจะเห็นว่าอนาคตการผลิต เชื้อเพลิงชีวภาพจากสาหร่ายขนาดเล็กมีทั้งโอกาสและความท้าทายที่รออยู่ข้างหน้า ทั้งนี้ต้องมีองค์ความรู้ และการพัฒนาเทคโนโลยีที่เหมาะสมทั้งต่อการผลิต และความพร้อมทางเศรษฐกิจเพื่อให้การผลิตเชื้อเพลิงชีวภาพจากสาหร่ายในเชิงพาณิชย์เกิดขึ้นจริงและใช้ ประโยชน์อย่างยั่งยืน

กิตติกรรมประกาศ

บทความนี้ได้รับทุนสนับสนุนบางส่วนจาก ทุนอุดหนุนการวิจัยทั่วไป มหาวิทยาลัยขอนแก่น

เอกสารอ้างอิง

- Ahrens, T. and Sander, H. (2010). Microalgae in waste water treatment: green gold from sludge? *Bioforum Europe* 14: 16-18.
- Ananyev, G., Carrieri, D. and Dismukes, G.C. (2008). Optimization of metabolic capacity and flux through environmental cues to maximize hydrogen production by the cyanobacterium “*Arthrospira (Spirulina) maxima*”. *Appl. Environ. Microbiol.* 74: 6102-6113.
- Becker, E. W. (1994). Oil production. In: Baddiley, et al., editors. *Microalgae: biotechnology and microbiology*. Cambridge University Press.
- Brennan, L. and Owende, P. (2010). Biofuels from microalgae-A review of technologies for production, processing, and extractions of biofuels and co-products. *Renew. Sustain. Energy Rev.* 14: 557-577.
- Borowitzka, M. A. (1999). Commercial production of microalgae: ponds, tanks, tubes and fermenters. *J. Biotechnol.* 70: 313-21.
- Cantrell, K.B., Ducey, T., Ro, K.S. and Hunt, P.G. (2008). Livestock waste-to-bioenergy generation opportunities. *Bioresour. Technol.* 99: 7941-7953.
- Chen, C. H., Kuei-Ling Yeh, K-L., Aisyah, R., Lee, D-J. and Chang, J-S. (2011). Cultivation, photobioreactor design and harvesting of microalgae for biodiesel production: A critical review. *Bioresour. Technol.* 102: 71-81.
- Chisti, Y. (2007) Biodiesel from microalgae. *Biotechnol. Adv.* 25: 294-306.
- Chojnacka, K. and Noworata, A. (2004). Evaluation of *Spirulina* sp. Growth in photoautotrophic, heterotrophic and mixotrophic cultures. *Enzyme Microb. Technol.* 34: 461-465.
- Cheng, Y., Zhou, W. G., Gao, C. F., Lan, K., Gao, Y. and Wu, Q. Y. (2009). Biodiesel production from Jerusalem artichoke (*Helianthus Tuberosus* L.) tuber by heterotrophic microalgae *Chlorella protothecoides*. *J. Chem. Technol. Biotechnol.* 84: 777-781.

- Clark, J. and Deswarte, F. (2008). Introduction to chemicals from biomass. In: Stevens CV, editor. Wiley series in renewable resources. John Wiley & Sons.
- De Swaaf, M. E., Sijtsma, L. and Pronk, J. C. (2003). High-cell-density fed-batch cultivation of the docosaheaxaenoic acid producing marine alga *Cryptocodinium cohnii*. Biotechnol. Bioeng. 81: 666-672.
- Dote, Y., Sawayama, S., Inoue, S., Minowa, T. and Yokoyama, S-Y. (1994). Recovery of liquid fuel from hydrocarbon-rich microalgae by thermochemical liquefaction. Fuel. 73: 1855-1857.
- Fabregas, J., Otero, A., Maseda, A. and Dominguez, A. (2001). Two-stage cultures for the production of astaxanthin from *Haematococcus pluvialis*. J. Biotechnol. 89: 65-71.
- Harun, R., Danquah, M. K. and Forde Gareth, M. (2010). Microalgal biomass as a fermentation feedstock for bioethanol production. J. Chem. Technol. Biotechnol. 85: 199-203.
- Hirano, A., Hon-Nami, K., Kunito, S., Hada, M. and Ogushi, Y. (1998). Temperature effect on continuous gasification of microalgal biomass: theoretical yield of methanol production and its energy balance. Catalysis Today. 45: 399-404.
- Hirano, A., Ueda, R., Hirayama, S. and Ogushi, Y. (1997). CO₂ fixation and ethanol production with microalgal photosynthesis and intracellular anaerobic fermentation. Energy. 22: 137-42.
- Leesing, R. and Nontaso, N. (2008). Isolation and cultivation of oleaginous green microalgae for lipid production. "The Second International Conference on Science and Technology for Sustainable Development of the Greater Mekong Sub-region (STGMS)" October, 2-3, 2008, Hanoi, Vietnam.
- Leesing, R. and Nontaso, N. (2010). Microalgal oil production by green microalgae under heterotrophic cultivation. KKU Res. J. 15 (9): 787-793.
- Liang, Y. N., Sarkany, N. and Cui, Y. (2009). Biomass and lipid productivities of *Chlorella vulgaris* under autotrophic, heterotrophic and mixotrophic growth conditions. Biotechnol. Lett. 31: 1043-1049.
- Lindberg, P., Lindblad, P. and Cournac, L. (2004). Gas exchange in the filamentous cyanobacterium *Nostoc punctiforme* strain ATCC 29133 and Its hydrogenase-deficient mutant strain NHM5. Appl. Environ. Microbiol. 70: 2137-2145.
- Mandal, S., and Mallick, N. (2009). Microalga *Scenedesmus obliquus* as a potential source for biodiesel production. Appl. Microbiol. Biotechnol. 84: 281-291.
- Mata, T. M., Martins, A. A. and Caetano, N. S. (2010). Microalgae for biodiesel production and other applications: a review. Renew. Sustain. Energy Rev. 14: 217-232.
- McKendry, P. (2002). Energy production from biomass (part 2): conversion technologies. Bioresour. Technol. 83: 47-54.
- Miao, X. and Wu, Q. (2004). High yield bio-oil production from fast pyrolysis by metabolic controlling of *Chlorella protothecoides*. J. Biotechnol. 110: 85-93.

- Minowa, T., Yokoyama, S-Y., Kishimoto, M. and Okakura, T. (1995). Oil production from algal cells of *Dunaliella tertiolecta* by direct thermochemical liquefaction. *Fuel*. 74: 1735-1738.
- Mussgnug, J. H., Klassen, V., Schluter, A. and Kruse, O. (2010). Microalgae as substrates for fermentative biogas production in a combined biorefinery concept. *J. Biotechnol.* 150: 51-56.
- Patil, V., Tran, K. Q. and Giselsrad, H. R. (2008). Towards sustainable production of biofuels from microalgae. *Inter. J. Mol. Sciences*. 9: 1188-1195.
- Piccolo, A. (2009). Algae oil production and its potential in the Mediterranean region 1st EMUNI Research Souk 2009 (EMUNI ReS 2009). The Euro-Mediterranean Student Research Multi-conference Unity and Diversity of Euro-Mediterranean Identities, 9 June 2009.
- Posten, C. and Schaub, G. (2009). Microalgae and terrestrial biomass as source for fuels-A process view. *J. Biotechnol.* 142: 64-69
- Raja, R., Hemaiswarya, S., Kumar, N.A., Sridhar, S. and Rengasamy, R. (2008). A perspective on the biotechnological potential of microalgae. *Crit. Rev. Microbiol.* 34: 77-88.
- Rodolfi, L., Zittelli, G.C., Bassi, N., Padovani, G., Biondi, N., Bonini, G. and Tredici, M.R. (2009). Microalgae for oil: strain selection, induction of lipid synthesis and outdoor mass cultivation in a low-cost photobioreactor. *Biotechnol. Bioeng.* 102: 100-112.
- Schenk, P. M., Thomas-Hall, S. R., Stephens, E., Marx, U. C., Mussgnug, J. H., Posten, C., Kruse, O. and Hankamer, B. (2008) Second generation biofuels: high-efficiency microalgae for biodiesel production. *Bioenerg. Res.* 1: 20-43.
- Sierra, E., Acin, F. G., Fernandez, J. M., Garcia, J. L., Gonzalez, C. and Molina, E. (2008). Characterization of a flat plate photobioreactor for the production of microalgae. *Chem. Eng. J.* 138: 136-47.
- Singh, J. and Gu, S. (2010). Commercialization potential of microalgae for biofuels production. *Renew. Sustain. Energy Rev.* 14: 2596-2610.
- Spolaore, P., Joannis-Cassan, C., Duran, E. and Isambert, A. (2006). Review: commercial applications of microalgae. *J. Biosci. Bioeng.* 101: 87-96.
- Tsukahara, K. and Sawayama, S. (2005). Liquid fuel production using microalgae. *J. The Japan Petroleum Institute*. 48: 251-259.
- Ueda, R., Hirayama, S., Sugata, K. and Nakayama, H. (1996). Process for the production of ethanol from microalgae. U.S. Patent 5,578,472.
- Ugwu, C. U., Aoyagi, H. and Uchiyama, H. (2008). Photobioreactors for mass cultivation of algae. *Bioresour. Technol.* 99: 4021-4028.
- Vergara-Fernandez, A., Vargas, G., Alarcon, N. and Velasco, A. (2008). Evaluation of marine algae as a source of biogas in a two-stage anaerobic reactor system. *Biomass Bioenergy*. 32: 338-344.
- Will, T. (2009). *Algae 2020: advanced biofuel markets and commercialization outlook*, 1st ed. 460 pp.

Xiong, W., Li, X. F., Xiang, J. Y. and Wu, Q. Y. (2008). High-density fermentation of microalga *Chlorella protothecoides* in bioreactor for microbio-diesel production. Appl. Microbiol. Biotechnol. 78: 29-36.

Xu, H., Miao, X. and Wu, Q. (2006). High quality biodiesel production from a microalga

Chlorella protothecoides by heterotrophic growth in fermenters. J. Biotechnol. 126: 499-507.

Yoo, C., Jun, S. Y., Lee, J. Y., Ahn, C. Y. and Oh, H. M. (2010). Selection of microalgae for lipid production under high levels carbon dioxide. Bioresour. Technol. 101: 71-74.





เครื่องหมายโมเลกุลสำหรับการปรับปรุงพันธุ์พืช

Molecular Markers for Plant Breeding

สรพงศ์ เบญจศรี^{1*}

บทนำ

การตรวจสอบพันธุกรรมของพันธุ์พืชที่มีประสิทธิภาพสูงในปัจจุบันคงหนีไม่พ้นการใช้เครื่องหมายโมเลกุล (Molecular markers) หรือเครื่องหมายดีเอ็นเอ (DNA markers) ซึ่งเครื่องหมายโมเลกุลเป็นวิธีการหรือเทคนิคที่เข้ามามีบทบาทสำคัญทางด้านการเกษตร โดยเฉพาะอย่างยิ่งการปรับปรุงพันธุ์ เนื่องจากในอดีตการปรับปรุงพันธุ์พืชประสบปัญหาการแบ่งกลุ่ม หรือการจำแนกกลุ่มต่างๆ ของสิ่งมีชีวิตซึ่งทำได้ยากโดยเฉพาะพืชซึ่งเป็นสิ่งมีชีวิตที่มีลักษณะคล้ายกัน การจำแนกพืชในอดีตอาศัยความแตกต่างทางรูปร่างลักษณะพื้นฐาน (morphological markers) (สุริพร เกตุงาม, 2546) เช่น ความสูงต้น ลักษณะทรงพุ่ม ขนาดใบ รูปร่างของเมล็ด ความยาวผล สีดอก หรือลักษณะสีผล (varietal identification) เป็นตัวแยกความแตกต่าง (ธีระ เอกสมทราเมษฐ์ และ วัชรินทร์ ชื่นสุวรรณ, 2543; สรพงศ์ เบญจศรี, 2552) แต่ความแตกต่างเหล่านี้ไม่เพียงพอที่จะแยกความแตกต่างของพืชได้อย่างถูกต้องและแน่นอน เนื่องจากลักษณะที่ปรากฏอาจขึ้นอยู่กับระยะเวลาการเจริญเติบโต ซึ่งต้องอยู่ในช่วงที่เหมาะสมจึงจะสามารถจำแนกความแตกต่างได้ เช่น ลักษณะสีต้นกล้า ลักษณะสีดอก

ลักษณะสีผล และลักษณะผลผลิต เป็นต้น (สุรินทร์ ปิยะโชคณากุล, 2549) นอกจากนี้การแสดงออกของอีกหลายลักษณะเปลี่ยนแปลงไปตามสภาพแวดล้อม (จิรสิทธิ์ นวลศรี, 2548) ฉะนั้นงานปรับปรุงพันธุ์พืชซึ่งถือเป็นหัวใจสำคัญในการสร้างพืชพันธุ์ใหม่ให้ได้ผลผลิตสูง และเป็นที่ต้องการของเกษตรกร จึงมีความจำเป็นอย่างยิ่งต้องใช้เครื่องมือที่มีความแม่นยำในการคัดเลือกและแยกความแตกต่างของลักษณะเหล่านั้น จึงทำให้เครื่องหมายโมเลกุลหรือเครื่องหมายดีเอ็นเอเข้ามามีบทบาทและเพิ่มความสำคัญมากขึ้น เพราะเป็นการคัดเลือกและจำแนกพืชจากจีโนไทป์ (genotype) โดยตรง จึงทำให้มีความแม่นยำสูง (สุริพร เกตุงาม, 2546) โดยเครื่องหมายโมเลกุลมีหลายประเภทแตกต่างกันไป

ประเภทของเครื่องหมายโมเลกุลหรือเครื่องหมายดีเอ็นเอ

เครื่องหมายดีเอ็นเอ สามารถแบ่งออกเป็น 2 ประเภทใหญ่ๆ คือ

1. Hybridization-based marker เป็นเครื่องหมายดีเอ็นเอ ซึ่งพัฒนาขึ้นโดยอาศัยหลักการเข้าคู่ของลำดับเบสดีเอ็นเอที่เป็นคู่สมกันระหว่างดีเอ็นเอ

¹ หน่วยงานวิจัยพืชเขตร้อนในภาคใต้ สาขาวิชาเทคโนโลยีการเกษตร คณะเทคโนโลยีและการพัฒนาชุมชน มหาวิทยาลัยทักษิณ วิทยาเขตพัทลุง จ.พัทลุง 93110

* Corresponding Author, E-mail : sorapong@tsu.ac.th

ตรวจสอบ (probe) กับดีเอ็นเอที่ต้องการตรวจสอบ โดยใช้เทคนิคไฮบริดเซชัน (hybridization) ตัวอย่างเครื่องหมายโมเลกุลชนิดนี้ ได้แก่ เครื่องหมายอาร์เอฟแอลพี (RFLP marker) (Tanksley et al., 1989; McCouch and Tanksley, 1991; Kochert, 1994)

2. PCR-based marker เป็นเครื่องหมายโมเลกุลดีเอ็นเอที่พัฒนาขึ้นโดยอาศัยหลักการเพิ่มปริมาณดีเอ็นเอโดยปฏิกิริยาลูกโซ่จำลองตัวดีเอ็นเอหรือเทคนิคพหิซาร์ (Polymerase chain reaction (PCR) technique) ตัวอย่างเครื่องหมายดีเอ็นเอที่นิยมใช้ในงานปรับปรุงพันธุ์พืช ได้แก่ เครื่องหมายเอเอฟแอลพี (AFLP marker) (Vos et al., 1995) เครื่องหมายไมโครแซทเทลไลท์ (Microsatellite) หรือเอสเอสอาร์ (SSR marker) (Brown et al., 1996) และเครื่องหมายอาร์เอฟดี (RAPD marker) (William et al., 1990) เป็นต้น

ความก้าวหน้าของเครื่องหมายโมเลกุลในการปรับปรุงพันธุ์พืช

จากสถานการณ์ปัจจุบันที่นักวิทยาศาสตร์ประสบความสำเร็จในการนำเครื่องหมายโมเลกุลมาใช้ในการจำแนก หรือตรวจสอบลักษณะต่างๆ ของสิ่งมีชีวิตในระดับดีเอ็นเอได้ ทำให้วิทยาศาสตร์ทางด้านนี้มีการพัฒนาอย่างต่อเนื่องและรวดเร็ว (สมปอง เตะโต, 2532) โดยในระยะแรกของการใช้เครื่องหมายโมเลกุลเป็นการตรวจสอบในระดับโปรตีน คือ การใช้ไอโซไซม์ (isozyme) แต่การใช้ไอโซไซม์มีข้อจำกัดหลายอย่าง เช่น อิทธิพลจากสภาพแวดล้อม หรือขึ้นอยู่กับระยะการเจริญเติบโตของพืช ทำให้ไม่สามารถแยกความแตกต่างได้ หรือแยกความแตกต่างได้น้อย (Degani et al., 2001; Claros et al., 2002) ต่อมามีการพัฒนาเทคนิคขึ้นใหม่ คือเทคนิคอาร์เอฟแอลพี (RFLP: Restriction Fragment Length Polymorphism) พัฒนาโดย Botstein et al. (1980) ซึ่งเป็นเทคนิคแรกที่เป็นเครื่องหมายโมเลกุลในระดับดีเอ็นเอ โดยอาศัยหลักการของความแตกต่างในลำดับเบสที่ถูกตัดด้วย

เอนไซม์ตัดจำเพาะ (restriction enzyme) ความแตกต่างของลำดับเบสเป็นคุณสมบัติทั่วไปที่พบในสิ่งมีชีวิตที่มีจีโนมต่างกัน (Tanksley et al., 1989) อย่างไรก็ตามเทคนิคนี้มีข้อเสีย คือต้องใช้ดีเอ็นเอต้นแบบจำนวนมาก และดีเอ็นเอต้องมีคุณภาพดี อีกทั้งมีขั้นตอนยุ่งยากและค่าใช้จ่ายสูง (Kuandun et al., 2000) จึงทำให้นักวิทยาศาสตร์พยายามหาเทคนิคใหม่ๆ เช่น เทคนิคอาร์เอฟดี (RAPD : Random Amplified Polymorphic DNA) (Williams et al., 1990) เทคนิคเอสเอสอาร์ (SSR : Single Sequence Repeat) (Hearne et al., 1992) เทคนิคเอเอฟแอลพี (AFLP : Amplified Fragment Length Polymorphism) (Vos et al., 1995) และปัจจุบันพบว่ามีการคิดค้นและใช้เครื่องหมายโมเลกุลในระดับดีเอ็นเอหลายเทคนิค (ตารางที่ 1) ซึ่งแต่ละเทคนิคมีวิธีการและวัตถุประสงค์แตกต่างกัน เช่น ใช้เพื่อศึกษาความหลากหลายทางพันธุกรรมของพืช (gene variation) การทำแผนที่ยีน (gene mapping) การหาตำแหน่งของยีน (gene tagging) หรือใช้เป็นเครื่องหมายในการคัดเลือกลักษณะสำคัญต่างๆ (marker - assisted selection) ไม่ว่าจะเป็นการหาฮีนที่ต้านทานโรค ยีนต้านทานแมลง หรือยีนที่มีความสัมพันธ์กับลักษณะผลผลิตสูง เป็นต้น (Byrne and Richardson, 2005) โดยเฉพาะเทคนิคอาร์เอฟดี และเทคนิคเอสเอสอาร์มีการใช้กันอย่างแพร่หลาย

เครื่องหมายโมเลกุลกับการใช้ประโยชน์ในการปรับปรุงพันธุ์พืช

1. เครื่องหมายโมเลกุลแบบอาร์เอฟดีหรือเทคนิคอาร์เอฟดี

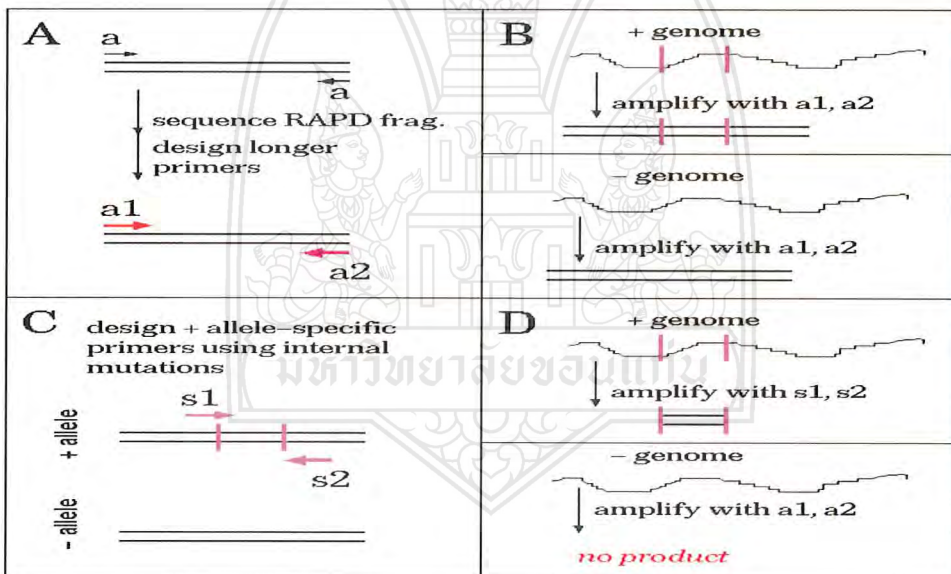
เครื่องหมายโมเลกุลแบบอาร์เอฟดีหรือเทคนิคอาร์เอฟดีเป็นเทคนิคที่พัฒนาขึ้นโดย Williams et al. (1990) ซึ่งอาศัยหลักการเพิ่มขยายชิ้นส่วนของดีเอ็นเอโดยการทำพหิซาร์ ใช้ไพรเมอร์สายสั้นๆ ประมาณ 8 - 10 เบส เพียงชนิดเดียว มีลำดับเบสแบบสุ่ม และเป้าหมายการจับของไพรเมอร์ คือบริเวณที่มีลำดับเบสเป็นคู่สมกัน โดยไม่คำนึงถึงทิศทางของไพรเมอร์ที่

ตารางที่ 1 เครื่องหมายโมเลกุลในปัจจุบัน (ที่มา: Gupta et al., 2002)

เทคนิค	ชื่อเต็ม	ผู้คิดค้นเทคนิค
AFLP	Amplified Fragment Length Polymorphism	Vos et al. (1995)
AMP – PCR	Anchored Microsatellite Primed PCR	Wolff et al. (1995)
AP – PCR	Arbitrarily Primed PCR	Welsh and McClelland (1990)
ASA	Allele – Specific Amplification	Wu et al. (1989)
ASSR	Anchored Simple Sequence Repeat	Wu et al. (1994)
CAPS	Cleaved Amplification Polymorphic Sequence	Akopyanz et al. (1992)
DALP	Direct Amplification of Length Polymorphism	Desmarais et al. (1998)
DFLP	DNA Fragment Length Polymorphism	Hongtrakul et al. (1998)
dRAMP	Digested RAMP	Becker and Heun (1995)
IFLP	Intron Fragment Length Polymorphism	Hongtrakul et al. (1998)
IM – PCR	Inter – Microsatellite PCR	Zietkiewicz et al. (1994)
IRAP	Inter – Retrotransposon Amplified Polymorphism	Kalendar et al. (1999)
ISA	Inter – SSR Amplification	Zietkiewicz et al. (1994)
ISSR	Inter – Simple Sequence Repeats	Zietkiewicz et al. (1994)
MAAP	Multiple Arbitrary Amplicon Profiling	Caetano – Annolles (1994)
MP – PCR	Microsatellite – Primed PCR	Meyer et al. (1993)
RAHM	Randomly Amplified Hybridizing Microsatellites	Cifarelli et al. (1995)
RAMPO	Randomly Amplified Microsatellite Polymorphism	Richardson et al. (1995)
RAPD	Random Amplified Polymorphic DNA	Williams et al. (1990)
RBIP	Retrotransposon – Based Insertion Polymorphism	Flavell et al. (1998)
REMAP	Retrotransposon – Microsatellite Polymorphism	Kalendar et al. (1999)
SCAR	Sequence Characterised Amplified regions	Paran and Michelmore (1993)
SNP	Single Nucleotide Polymorphism	Landegren et al. (1988)
SPAR	Single primer Amplification Reactions	Gupta et al. (1994)
S – SAP	Sequence – Specific Amplification Polymorphism	Waugh et al. (1997)
SSCP	Single Strand Conformation polymorphism	Hayashi (1992)
SSR	Single Sequence Repeat	Hearne et al. (1992)
STMS	Sequence – Tagged Microsatellite Site	Beckmann and Soller (1990)
STR	Short Tandem Repeat	Edwards et al. (1991)
STS	Sequence – Tagged – Site	Olson et al. (1989)
VNTR	Variable Number of Tandem Repeats	Nakamura et al. (1987)

จับกับดีเอ็นเอต้นแบบและไม่จำเพาะกับยีนใดๆ แยกขนาดของดีเอ็นเอที่ได้ด้วยการทำอิเล็กโทรโฟรีซิสบนอะกาโรสเจล ย้อมแถบดีเอ็นเอด้วยเอธิเดียมโบรไมด์ และเกิดแถบดีเอ็นเอ ซึ่งเป็นผลมาจากไพรเมอร์เข้าไปจับได้หลายตำแหน่ง ถ้าไพรเมอร์เข้าไปจับดีเอ็นเอ 2 บริเวณที่อยู่ใกล้กันมาก โดยจับกับดีเอ็นเอคนละสาย ในทิศทางเข้าหากันจะสามารถเพิ่มปริมาณดีเอ็นเอในช่วงนั้นได้ (รูปที่ 1) แต่หากไพรเมอร์จับดีเอ็นเอสายเดียวในทิศทางเดียวกันหรือจับกับดีเอ็นเอคนละสาย แต่ทิศทางแยกออกจากกัน หรือจับได้สองสายห่างไกลกันมากแม้ทิศทางเข้าหากันก็ไม่สามารถเกิดผลผลิตได้ (กุลยา สุวรรณรัตน์, 2550) เทคนิคอาร์เอฟดีมีข้อดีคือเป็นวิธีที่ง่าย ไม่ยุ่งยาก ผลการตรวจสอบมีความรวดเร็ว มีโพลิเมอร์ฟิซิงสูง ให้ข้อมูลมาก ใช้ปริมาณดีเอ็นเอน้อยเพียง 25 - 100 นาโนกรัมต่อปฏิกิริยา

(Winter and Kahl, 1995) อย่างไรก็ตามเทคนิคอาร์เอฟดีมีข้อเสียในการทดลองซ้ำ เนื่องจากเทคนิคนี้มีความไวต่อการเปลี่ยนแปลงสภาวะต่างๆ สูง จึงต้องควบคุมสภาวะต่างๆ ให้คงที่ และนอกจากนี้เทคนิคอาร์เอฟดียังแสดงการข่มแบบข่มสมบูรณ์ (complete dominance) ทำให้ไม่สามารถแยกความแตกต่างระหว่างลักษณะยีนเด่นพันธุ์แท้ (homozygous dominance) และพันธุ์ทาง (heterozygous) ได้ (Cipriani et al., 1996) อย่างไรก็ตามเครื่องหมายโมเลกุลแบบอาร์เอฟดีมีประสิทธิภาพสำหรับการศึกษาลักษณะความแตกต่าง (polymorphism) และสามารถใช้ในการจำแนกลักษณะต่างๆ ได้อย่างรวดเร็ว โดยมีการนำเครื่องหมายโมเลกุลแบบอาร์เอฟดีมาใช้อย่างแพร่หลายในด้าน ดังนี้



รูปที่ 1 การสุ่ม และการจับของไพรเมอร์ที่มีลำดับเบสเป็นคู่สมกันแบบไม่จำเพาะกับยีน (ที่มา : Mailer et al., 1994)

การศึกษาความหลากหลายและความใกล้ชิดทางพันธุกรรมของพืช

มีการใช้เครื่องหมายโมเลกุลแบบอาร์เอพีดีเพื่อศึกษาความหลากหลายและความใกล้ชิดทางพันธุกรรมของพืชในหลายชนิดไม่ว่าจะเป็นพืชผัก พืชสวน หรือพืชไร่ เช่น Joshi and Nguyen (1993) ศึกษาความสัมพันธ์ทางพันธุกรรมโดยใช้เครื่องหมายโมเลกุลแบบอาร์เอพีดีในข้าวสาลี (*Triticum aestivum* L.) ซึ่งมีจำนวนโครโมโซม 6 ชุด โดยใช้ตัวอย่างข้าวสาลี 15 ตัวอย่าง ทดสอบกับไพรเมอร์ 40 ไพรเมอร์ พบว่าให้แถบดีเอ็นเอที่มีความแตกต่างกัน 71 แถบ และเมื่อตรวจสอบจากเดนโดรแกรม สามารถระบุความสัมพันธ์ทางพันธุกรรมในจีโนมไทป์ของข้าวสาลีเหล่านี้ได้ Link et al. (1995) ศึกษาความแตกต่างทางพันธุกรรมของถั่วปากอ้า (*Vicia faba* L.) ที่มีแหล่งพันธุกรรมในยุโรป 2 ชนิด คือชนิดเมล็ดเล็กและเมล็ดใหญ่ และในแถบเมดิเตอร์เรเนียน 1 ชนิด โดยใช้ไพรเมอร์ 59 ไพรเมอร์ พบว่ามี 35 ไพรเมอร์ ให้แถบดีเอ็นเอที่มีความแตกต่างกัน เฉลี่ย 8.3 แถบ ต่อไพรเมอร์ Lashermes et al. (1996) ศึกษาความหลากหลายทางพันธุกรรมของกาแฟที่เก็บรวบรวมจากแหล่งต่างๆ ในทวีปอเมริกาใต้และทวีปแอฟริกา พบว่ากาแฟในประเทศเอธิโอเปียมีความหลากหลายทางพันธุกรรมสูงที่สุด สายชล วันมวก (2547) ศึกษาความแปรปรวนทางพันธุกรรมของประชากรปาล์มน้ำมัน (*Elaeis guineensis* Jacq.) 3 พันธุ์ คือ ดุรา เทเนอร่า และฟิลิเฟอร์ จำนวน 151 ต้น และทดสอบด้วยไพรเมอร์ 160 ไพรเมอร์ พบว่ามีเพียง 7 ไพรเมอร์ ประกอบด้วยไพรเมอร์ OPB - 08, OPR - 11, OPT - 06, OPT - 19, OPAB - 01, OPAB - 09 และ OPAB - 14 ให้แถบดีเอ็นเอที่ชัดเจน จากการวิเคราะห์ผลสามารถแบ่งกลุ่มปาล์มน้ำมันได้ 3 กลุ่ม และเมื่อพิจารณาค่าดัชนีความใกล้ชิดทางพันธุกรรมของปาล์มน้ำมันทั้ง 3 พันธุ์ที่ทำการศึกษาและพบว่าปาล์มน้ำมันที่ปลูกในแถบภาคใต้ของประเทศไทยมีความแปรปรวนพันธุกรรมค่อนข้างน้อย Cunha et al. (2004) ศึกษา

ความหลากหลายทางพันธุกรรมของถั่วแขก (*Phaseolus vulgaris* L.) พบว่าสามารถจัดกลุ่มความใกล้ชิดทางพันธุกรรมได้ 6 กลุ่ม ช่วยให้นักปรับปรุงพันธุ์สามารถคัดเลือกพ่อแม่ที่ใช้ในการผสมข้ามได้ รัฐพร พรหมแก้ว (2549) ใช้เทคนิคอาร์เอพีดีศึกษาความหลากหลายทางพันธุกรรมของตาลโตนด โดยใช้ไพรเมอร์ 200 ไพรเมอร์ พบว่ามี 8 ไพรเมอร์ ประกอบด้วยไพรเมอร์ OPB - 05, OPB - 17, OPC - 02, OPD - 02, OPP - 08, OPT - 08, OPZ - 03 และ PBC - 10 ให้แถบดีเอ็นเอชัดเจนและมีความแตกต่างกันในตัวอย่างที่ทดสอบ อย่างไรก็ตามเมื่อนำไพรเมอร์ดังกล่าวมาทดสอบ พบว่าไม่มีแถบใดเลยที่มีความจำเพาะเจาะจงต่อกลุ่มประชากร Choi et al. (2006) สามารถจัดกลุ่มความสัมพันธ์ทางพันธุกรรมของกล้วยไม้สกุล *Cymbidium* 21 ชนิด ได้ 2 กลุ่ม ตามลักษณะนิเวศวิทยาของพืช คือ กลุ่มที่อาศัยในเขตอบอุ่น (temperate zone) และกลุ่มที่อาศัยในเขตกึ่งอบอุ่นถึงร้อน (subtropical temperate zone) นอกจากนี้ พบว่ากล้วยไม้แต่ละกลุ่มมีความสัมพันธ์กับลักษณะทางสัณฐานวิทยา ลักษณะทางกายภาพ และสภาพแวดล้อมอีกด้วย Sarutayophat et al. (2007) ศึกษาลักษณะและความสัมพันธ์ทางพันธุกรรมในถั่วฝักยาวและถั่วพุ่ม 37 พันธุ์ โดยใช้ลักษณะทางสัณฐานและเครื่องหมายโมเลกุลแบบอาร์เอพีดี จำนวน 120 ไพรเมอร์ พบว่ามีไพรเมอร์ให้ผลชัดเจน 5 ไพรเมอร์ ประกอบด้วยไพรเมอร์ OPC - 06, OPR - 12, OPZ - 03, OPZ - 08 และ OPZ - 13 เมื่อศึกษาความใกล้ชิดทางพันธุกรรมในกลุ่มถั่วฝักยาวและกลุ่มถั่วพุ่มทั้ง 37 พันธุ์ พบว่าสามารถแยกความแตกต่างระหว่างกลุ่มถั่วฝักยาวและถั่วพุ่มได้อย่างชัดเจน โดยมีค่าดัชนีความใกล้ชิดทางพันธุกรรมในกลุ่มถั่วฝักยาวและถั่วพุ่มเท่ากับ 0.515 - 1.000 และ 0.548 - 1.000 ตามลำดับ กรกช นาคคณอง (2550) ศึกษาความสัมพันธ์และความใกล้ชิดทางพันธุกรรมของยางพาราพันธุ์ดั้งเดิมและยางพันธุ์แนะนำ จำนวน 87 ต้น โดยใช้ไพรเมอร์ 192 ไพรเมอร์ พบว่ามี 8 ไพรเมอร์ คือไพรเมอร์ OPB - 17, OPN - 16, OPR - 2,

OPR - 11, OPZ - 04, OPAD - 01, OPAD - 10 และ OPAD - 12 สามารถใช้ตรวจสอบความหลากหลายทางพันธุกรรมของยางพาราได้ นฤมล ธนานันต์ และคณะ (2550) ทำการศึกษาความหลากหลายทางพันธุกรรมของบัวหลวงปีทาในจังหวัดปทุมธานี จำนวน 15 ตัวอย่าง ด้วยเทคนิคอาร์เอพีดี จำนวน 72 ไพรเมอร์ พบว่า 70 ไพรเมอร์ หรือคิดเป็นร้อยละ 97.22 สามารถเพิ่มปริมาณดีเอ็นเอได้ และพบแถบดีเอ็นเอ 173 แถบ ขนาดประมาณ 350 - 3,200 คู่เบส ซึ่งทำให้เกิดรูปแบบดีเอ็นเอเฉพาะของบัวหลวงปีทาแต่ละตัวอย่าง อมรรัตน์ บุญสิน และคณะ (2550) ศึกษาความแปรผันทางพันธุกรรมของโทะ 33 ต้น ในจังหวัดชุมพร โดยใช้ไพรเมอร์ 90 ไพรเมอร์ พบว่ามี 68 ไพรเมอร์ สามารถเพิ่มปริมาณดีเอ็นเอได้และมี 7 ไพรเมอร์ ประกอบด้วย ไพรเมอร์ OPAA - 17, OPAC - 05, OPAC - 09, OPAD - 10, OPAE - 14, OPC - 05 และ OPE - 11 ให้แถบดีเอ็นเอคมชัด และไพรเมอร์ OPAC - 05 น่าจะมีความใกล้เคียงกับลักษณะของกลีบดอก Suwannarat and Nualsri (2008) ทำการทดสอบเบื้องต้นเพื่อหาไพรเมอร์ที่สามารถแยกความแตกต่างของแถบดีเอ็นเอระหว่างพืชสกุล *Parkia* 4 ชนิด คือ สะตอ (*Parkia speciosa* Hassk.) เพรียง (*Parkia timoriana* Merr.) ลูกคิง (*Parkia sumatrana* Miq.) และ ค้อนก๊อง (*Parkia leiophylla* Kurz.) โดยทดสอบกับไพรเมอร์ขนาด 10 เบส จำนวน 180 ไพรเมอร์ พบว่ามีไพรเมอร์ที่ให้ผลชัดเจนที่สุด จำนวน 8 ไพรเมอร์ ได้แก่ ไพรเมอร์ OPB - 04, OPB - 17, OPB - 18, OPC - 02, OPR - 01, OPR - 02 , OPT - 01 และ OPAB - 03 อย่างไรก็ตามไม่มีไพรเมอร์ใดที่สามารถแยกความแตกต่างระหว่างกลุ่มประชากรทั้ง 4 กลุ่มได้ ยกเว้นไพรเมอร์ OPAB - 03 ขนาด 450 คู่เบส และไพรเมอร์ OPR - 02 ขนาด 880 คู่เบส ที่พบเฉพาะในลูกคิงและค้อนก๊อง ตามลำดับ

การจำแนกพันธุ์พืช

การใช้เครื่องหมายโมเลกุลแบบอาร์เอพีดี นอกเหนือจากศึกษาความหลากหลายและความใกล้ชิดทางพันธุกรรมของพืชยังมีการใช้ในการจำแนกพืชชนิดต่างๆ เช่น ชีระชัย ธนานันท์ และ นฤมล ธนานันต์ (2543) ทำการศึกษาและจำแนกพันธุ์พริก (*Capsicum* spp.) ในประเทศไทย โดยเก็บตัวอย่างพริก จำนวน 14 พันธุ์ มาตรวจสอบดีเอ็นเอโดยเครื่องหมายอาร์เอพีดี กับไพรเมอร์จำนวน 72 ไพรเมอร์ พบว่ามี 70 ไพรเมอร์ สามารถเพิ่มปริมาณดีเอ็นเอได้ หรือคิดเป็นร้อยละ 97 จากนั้นเลือกไพรเมอร์ 20 ไพรเมอร์ ที่สามารถเพิ่มปริมาณดีเอ็นเอได้อย่างชัดเจนมาตรวจสอบกับดีเอ็นเอของพริกทั้งหมด พบว่าสามารถแยกความแตกต่างระหว่างพันธุ์ได้ โดยไพรเมอร์บางชนิดให้แถบดีเอ็นเอที่จำเพาะกับพันธุ์ใดพันธุ์หนึ่ง ซึ่งสามารถจำแนกพริกทั้ง 14 พันธุ์ ได้ด้วยไพรเมอร์เพียงชนิดเดียว Cotes et al. (2001) ใช้เทคนิคอาร์เอพีดีในการจำแนกพันธุ์มะกอก (*Olea europaea* L.) จำนวน 40 พันธุ์ที่เก็บจากเมืองวาเลนเซีย ประเทศสเปน โดยใช้ไพรเมอร์จำนวน 46 ไพรเมอร์ พบว่ามีเพียง 18 ไพรเมอร์ สามารถให้แถบดีเอ็นเอที่มีขนาดโมเลกุลแตกต่างกัน และจากการวิเคราะห์ผล พบว่าสายพันธุ์มะกอกมีความใกล้เคียงกันมากและสามารถแบ่งได้ 2 กลุ่มคือกลุ่มที่ได้จากเมืองวาเลนเซีย และกลุ่มที่ได้บริเวณรอบนอก สุริพร เกตุงาม และ อัมพร คำเหล็ก (2550) ใช้เทคนิคอาร์เอพีดีเพื่อจำแนกสายพันธุ์งา โดยคัดเลือกไพรเมอร์ 29 ไพรเมอร์ พบว่า 18 ไพรเมอร์ สามารถให้แถบดีเอ็นเอที่ชัดเจน และสามารถใช้เป็นเครื่องหมายโมเลกุลดีเอ็นเอในการจำแนกพันธุ์งาได้ ธนาวิ คำชู และคณะ (2550) ตรวจสอบลายพิมพ์ดีเอ็นเอ และการกระจายตัวของสำเนา 35 พันธุ์ โดยใช้ 216 ไพรเมอร์ พบว่า 15 ไพรเมอร์ให้แถบดีเอ็นเอที่คมชัดและมีอัตราให้ค่า genetic similarity พบว่าสามารถแบ่งกลุ่มสำเนาออกเป็น 3 กลุ่ม

การแยกความแตกต่างของลูกผสม ตรวจสอบความเป็นพันธุ์ และการจำแนกเพศ

นอกเหนือจากข้างต้นอาร์เอฟดียังสามารถใช้ประโยชน์ในการแยกความแตกต่างได้ เช่น Mandolino et al. (1999) ใช้เทคนิคอาร์เอฟดีจำแนกป่าน (*Cannabis sativa* L.) ต้นเพศผู้และเพศเมีย พบว่าไพรมอร์ OPA - 08 ให้แถบดีเอ็นเอที่จำเพาะขนาด 400 คู่เบส เฉพาะต้นเพศผู้เท่านั้น Badenes et al. (2000) ศึกษาเครื่องหมายอาร์เอฟดีที่มีความสัมพันธ์กับลักษณะเกสรเพศผู้เป็นหมัน (male sterility) และการผสมตัวเองไม่ติด (self - incompatibility) ใน apricot พบว่า ไพรมอร์ OPM - 04, OPY - 15 และ OPV - 10 ให้แถบดีเอ็นเอขนาด 950, 950 และ 1,300 คู่เบส ตามลำดับ ในต้นที่มีเกสรเพศผู้สมบูรณ์ แต่ไม่พบในต้นที่มีเกสรเพศผู้เป็นหมัน และพบว่าไพรมอร์ OPP - 10 ขนาด 1,200 คู่เบส และ OPB - 11 ขนาด 550 คู่เบส ในต้นที่มีลักษณะผสมตัวเองไม่ติด Parasnis et al. (2000) ใช้เทคนิคอาร์เอฟดีในการจำแนกมะละกอ (*Carica papaya*) จำนวน 3 พันธุ์ คือ พันธุ์ COII พันธุ์ Pusa - Giant และ พันธุ์ Washington พบว่าสามารถจำแนกมะละกอเพศผู้และเพศเมีย โดยใช้ไพรมอร์ OPF - 02 ซึ่งให้แถบดีเอ็นเอที่จำเพาะขนาด 831 คู่เบส ในต้นเพศผู้เท่านั้น Lemos et al. (2002) ใช้เทคนิคอาร์เอฟดีจำแนกมะละกอเพศเมีย และมะละกอดั้นกระเทยได้ โดยใช้ไพรมอร์ BC210 สุดาธิบดี สกฤต และคณะ (2550) ตรวจสอบลูกผสมข้ามชนิดของถั่วอาหารสัตว์ระหว่าง *Centrosema pascuorum* cv. Cavalcade กับ *Centrosema pubescens* และ *Centrosema macrocarpum* ด้วยเทคนิคอาร์เอฟดีโดยใช้ 8 ไพรมอร์ พบว่ามีเพียง 4 ไพรมอร์ คือ ไพรมอร์ OPA - 02, OPA - 07, OPA - 09 และ OPA - 18 สามารถเพิ่มปริมาณดีเอ็นเอของถั่วลูกผสมเซนโตรซีมาได้

การปรับปรุงพันธุ์พืชต้านทานโรคและแมลง

Mayer et al. (1997) รายงานความสำเร็จในการสร้าง RAPD marker เพื่อใช้ตรวจสอบยีน

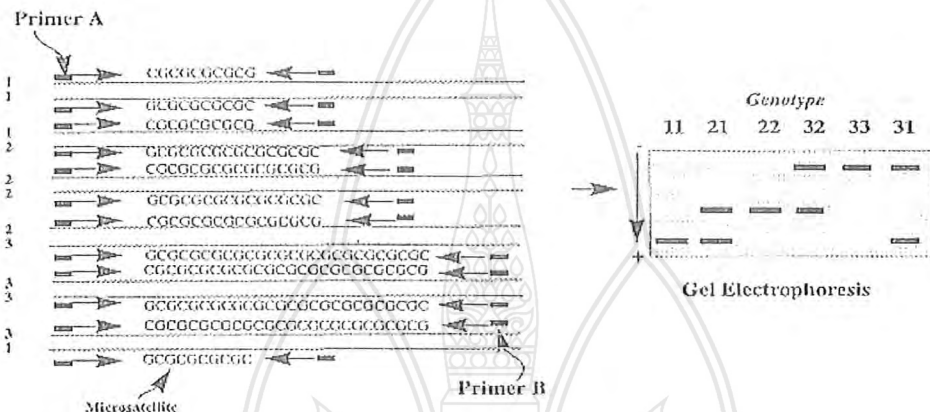
ต้านทานโรค Fusarium wilt ซึ่งเกิดจากเชื้อ *Fusarium oxysporum* ใน chickpea (*Cicer arietinum*) Young and Kelly (1997) พบว่ามียีนหลัก 3 ตำแหน่งควบคุมลักษณะต้านทานโรค antracnose ซึ่งเกิดจากเชื้อ *Colletotrichum lindemuthianum* ในถั่วแขกเชื่อมติดกับ RAPD marker Jeon et al. (1999) ใช้เครื่องหมายโมเลกุลแบบอาร์เอฟดีในการคัดเลือกลักษณะต้านทานเพลี้ยกระโดดสีน้ำตาลในข้าว จากการใช้ไพรมอร์ 140 ไพรมอร์ พบว่าไพรมอร์ OPD - 07 สามารถแยกความแตกต่างระหว่างลักษณะต้านทานและลักษณะอ่อนแอได้ สุทธิชัย สุสร และคณะ (2547) พบว่าไพรมอร์ OPO - 11 สามารถแยกความแตกต่างระหว่างถั่วลิสงพันธุ์ Nc Ac 17090 ซึ่งต้านทานต่อโรคราสนิมกับพันธุ์ มข.1 และไทนาน 9 ซึ่งอ่อนแอต่อโรคราสนิมได้ Namayanja et al. (2006) ประสบความสำเร็จในการสร้าง RAPD marker เพื่อใช้ตรวจสอบ และแยกยีนต้านทานโรค angular leaf spot ซึ่งเกิดจากเชื้อ *Phaeoisariopsis griseola* Sacc. ได้โดยไพรมอร์ OPE - 04 ขนาด 700 คู่เบส

2. เครื่องหมายโมเลกุลแบบเอสเอสอาร์หรือเทคนิคเอสเอสอาร์ (SSR : Simple Sequence Repeat)

เครื่องหมายโมเลกุลแบบเอสเอสอาร์ หรือ ไมโครแซทเทลไลต์เป็นเครื่องหมายโมเลกุลชนิดหนึ่งที่ยอมรับในปัจจุบัน โดยอาศัยหลักการกระจายตัวของเบสซ้ำที่มีในสิ่งมีชีวิตลักษณะที่สำคัญของเบสซ้ำเหล่านี้คือการมีลำดับเบสจำเพาะอยู่บริเวณหัวท้ายของเบสซ้ำซึ่งเบสจำเพาะเหล่านี้สามารถนำมาใช้สร้างเป็น primer ขนาด 20 เบส หรือมากกว่าเพื่อใช้ขยายปริมาณเบสซ้ำในตำแหน่งที่ต้องการ โดยใช้หลักการของ PCR ผลผลิตของการทำ PCR นั้นจะนำไปแยกขนาดโดยใช้โพลีอะครีลาไมด์เจลอิเล็กโทรโฟเรซิส (รูปที่ 2) ซึ่งความแตกต่างของแต่ละต้นในประชากรนั้นเกิดจากความแตกต่างของจำนวนเบสซ้ำในแต่ละต้น คุณสมบัติสำคัญของเครื่องหมายโมเลกุลชนิดนี้คือความจำเพาะเจาะจงของตำแหน่งโมเลกุลเครื่องหมาย

บนจีโนมและจำนวนของ allelic form ที่สามารถตรวจสอบได้ นอกจากนี้เครื่องหมายโมเลกุลชนิดนี้ยังเป็นการแสดงออกของแบบข่มร่วม (co - dominance) จึงสามารถตรวจสอบ heterozygous ได้ (สุรินทร์ปิยะโชคณากุล, 2549) อย่างไรก็ตามการพัฒนาเครื่องหมายโมเลกุลแบบเอสเอสอาร์มีวิธีการยุ่งยากและเสียค่าใช้จ่ายสูง แต่หลังจากพัฒนาเครื่องหมายแบบเอสเอสอาร์ได้แล้วสามารถนำไปใช้ได้ง่าย

เนื่องจากเครื่องหมายดีเอ็นเอเพิ่มปริมาณโดยพีซีอาร์ จึงใช้ดีเอ็นเอต้นแบบจำนวนน้อย และชิ้นส่วนดีเอ็นเอที่ต้องการขนาดเล็ก ไม่จำเป็นต้องใช้ดีเอ็นเอต้นแบบที่มีคุณภาพดีมากนัก ผลการตรวจสอบมีความแม่นยำสูง สามารถนำไปใช้หองปฏิบัติการได้ก็มีโพลิมอร์ฟิซึมสูง เนื่องจากเกิดการเปลี่ยนแปลงชุดซ้ำได้ง่าย จึงมีการนำเครื่องหมายโมเลกุลแบบเอสเอสอาร์มาใช้หลายรูปแบบ เช่น



รูปที่ 2 การจับเป้าหมายของไพรเมอร์ที่มีลำดับเบสเป็นคู่สมกัน (ที่มา : Fristensky, 2007)

การศึกษาความหลากหลายและความใกล้ชิดทางพันธุกรรมของพืช

การใช้เครื่องหมายโมเลกุลแบบเอสเอสอาร์สามารถศึกษาความหลากหลายทางพันธุกรรมของพืชได้เช่นเดียวกับเทคนิคอาร์เอฟดี เช่น Li et al. (2001) ได้ใช้เครื่องหมายโมเลกุลแบบเอสเอสอาร์ศึกษาความหลากหลายทางพันธุกรรมของถั่วพุ่ม จำนวน 90 พันธุ์ โดยใช้ไพรเมอร์จำนวน 46 ไพรเมอร์ ประกอบด้วย 128 อัลลิล พบว่า 31 ไพรเมอร์ หรือร้อยละ 67 ให้แถบดีเอ็นเอมีความแตกต่างกัน และมี 27 ไพรเมอร์ ให้แถบดีเอ็นเอมีความแตกต่างและชัดเจน โดยมีแถบดีเอ็นเอเฉลี่ย 4.7 แถบต่อไพรเมอร์ Phansak et al. (2005) ศึกษาความหลากหลายทางพันธุกรรมของถั่วฝักยาว 15 พันธุ์ และถั่วในสกุล *Vigna* 6 ชนิด ประกอบด้วย Cowpea, Mungbean, Blackgram, Rice bean, Adzuki

bean และ Moth bean พบว่าเมื่อทดสอบโดยไพรเมอร์ 27 ไพรเมอร์ มีแถบดีเอ็นเอชัดเจนจำนวน 16 ไพรเมอร์ และแถบดีเอ็นเอเฉลี่ย 3.4 แถบต่อไพรเมอร์ และเมื่อตรวจสอบความใกล้ชิดทางพันธุกรรมระหว่างกลุ่มถั่วฝักยาว 15 สายพันธุ์ พบว่าสามารถแบ่งถั่วออกเป็น 3 กลุ่ม ส่วนผลการศึกษาความสัมพันธ์ทางพันธุกรรมระหว่างกลุ่มถั่วฝักยาวและถั่วสกุล *Vigna* 6 ชนิด พบว่ามีความใกล้ชิดทางพันธุกรรมระหว่าง 0.00 - 0.93

การจำแนกพันธุ์พืช

He et al. (2005) ใช้เครื่องหมายโมเลกุลแบบเอสเอสอาร์จำแนกชนิดของถั่วลิสง 48 พันธุ์ตามความแตกต่างของลักษณะทางพฤกษศาสตร์ 6 ชนิด ประกอบด้วย *A. hypogaea*, *A. hirsute*, *A. fastigiata*, *A. peruviana*, *A. aequatorian* และ *A. vulgaris* พบว่า

8 ไพรเมอร์ให้แถบดีเอ็นเอที่จำเพาะในแต่ละพันธุ์ คือ ไพรเมอร์ PM15, PM32, PM188, PM375, PM402, PM297, PM478 และไพรเมอร์ PM588 ตามลำดับ

การคัดเลือกลักษณะที่ต้องการ

นักวิทยาศาสตร์ประสบความสำเร็จในการใช้เครื่องหมายโมเลกุลแบบเอสเอสอาร์ในการคัดเลือกลักษณะต่างๆที่ต้องการของพืชหลายชนิด เช่น Che et al. (2003) ทำการศึกษาหาตำแหน่งของยีนต้านทานโรคกาบใบแห้งในข้าว โดยผสมข้าว 2 พันธุ์ คือ พันธุ์ 4011 (ต้านทานโรคกาบใบแห้ง) กับพันธุ์ Xiangzaoxian19 (อ่อนแอต่อโรคกาบใบแห้ง) เพื่อสร้างลูกผสมชั่วที่ 2 และตรวจสอบโดยใช้เครื่องหมายอาร์เอฟดี (OPN - 162000), เอเอฟแอลพี (E - AT: M-CAC120, E - A T: M - CTA230) และเอสเอสอาร์ (RM164320, RM39300) พบว่าลักษณะดังกล่าวมีการควบคุมแบบข่มโดยยีน *Rsb1* และอยู่บนโครโมโซมคู่ที่ 5 ของข้าว มีระยะห่างระหว่างยีน *Rsb1* เท่ากับ 1.6 cM, 1.6 cM, 9.9 cM, 15.2 cM และ 1.6 cM ตามลำดับ Changchao et al. (2006) ใช้เทคนิคเอสเอสอาร์ศึกษาเครื่องหมายดีเอ็นเอที่มีความสัมพันธ์กับลักษณะความต้านทานเพลี้ยกระโดดสีน้ำตาลซึ่งควบคุมด้วยยีน *Bph9* โดยทำการผสมข้ามข้าว 2 พันธุ์ คือ พันธุ์ Kaharamana ซึ่งต้านทานเพลี้ยกระโดดสีน้ำตาล และพันธุ์ 02428 ซึ่งอ่อนแอต่อเพลี้ยกระโดดสีน้ำตาล สร้างลูกผสมชั่วที่ 2 เพื่อหาเครื่องหมายโมเลกุลที่มีความสัมพันธ์กับยีน *Bph9* พบว่าไพรเมอร์ RM463 และ RM534 มีความสัมพันธ์กับยีนที่ควบคุมการต้านทานเพลี้ยกระโดดสีน้ำตาล โดยอยู่บนโครโมโซมคู่ที่ 12 และมีระยะห่าง 6.8 cM และ 9.7 cM ตามลำดับ และนอกเหนือจากที่กล่าวมาแล้วข้างต้น พบว่ายังมีการใช้เครื่องหมายโมเลกุลแบบอาร์เอฟแอลพี ไอเอสเอสอาร์ หรือเครื่องหมายโมเลกุลแบบอื่นๆ

สรุป

เครื่องหมายโมเลกุลนับวันจะเพิ่มความสำคัญในงานปรับปรุงพันธุ์พืชมากขึ้น เนื่องมาจากประสิทธิภาพในการแยกความแตกต่างในระดับโมเลกุลดีเอ็นเอทำให้คัดเลือกสายพันธุ์พืชที่ต้องการได้อย่างแม่นยำ นอกจากนี้เครื่องหมายดีเอ็นเอช่วยให้นักปรับปรุงพันธุ์พืชเข้าใจถึงโครงสร้างและการจัดเรียงตัวของดีเอ็นเอในจีโนมพืช ตลอดจนการทำงานของยีนต่างๆ ได้อย่างลึกซึ้ง ตลอดจนแผนที่ยีนที่สร้างขึ้นจากเครื่องหมายดีเอ็นเอจะเป็นเครื่องมือสำคัญที่ช่วยให้นักปรับปรุงพันธุ์พืชทราบถึงจำนวน ตำแหน่ง และอิทธิพลของยีนที่มีความสำคัญทางเศรษฐกิจ ซึ่งสามารถใช้เป็นแนวทางในการรวบรวมยีนดีเด่นเหล่านั้น มาสร้างพืชพันธุ์ใหม่ที่มีลักษณะที่ต้องการได้อย่างรวดเร็ว อย่างไรก็ตามมิได้หมายความว่าเครื่องหมายโมเลกุลแบบอาร์เอฟดี เอสเอสอาร์ หรือเครื่องหมายโมเลกุลแบบอื่นๆ จะเข้ามาแทนที่การปรับปรุงพันธุ์แบบดั้งเดิม (conventional plant breeding) ได้ แต่เครื่องหมายโมเลกุลเป็นเครื่องมือชนิดหนึ่งของนักปรับปรุงพันธุ์พืชที่สามารถนำมาใช้เพื่อช่วยกระบวนการปรับปรุงพันธุ์พืชให้เป็นไปอย่างมีประสิทธิภาพ รวดเร็ว ถูกต้องและแม่นยำ ดังนั้นนักปรับปรุงพันธุ์พืช (plant breeding) ควรมีความรู้ความเข้าใจในข้อดีและข้อจำกัด ตลอดจนคุณลักษณะเฉพาะของเครื่องหมายดีเอ็นเอแต่ละชนิด ทั้งนี้เพื่อเป็นข้อมูลในการตัดสินใจเลือกเครื่องหมายดีเอ็นเอมาใช้ในการปรับปรุงพันธุ์พืชได้อย่างถูกต้องและเหมาะสม

กิตติกรรมประกาศ

บทความนี้ได้รับการสนับสนุนบางส่วนจากหน่วยวิจัยพืชเขตร้อนในภาคใต้ (ประเทศไทย) และสถาบันวิจัยและพัฒนา มหาวิทยาลัยทักษิณ

เอกสารอ้างอิง

- กรกช นาคคอง. 2550. การวิเคราะห์พันธุกรรมของยางพารา (*Hevea brasiliensis* Muell Arg.) พันธุ์ดั้งเดิมและพันธุ์แนะนำโดยใช้เครื่องหมายอาร์เอพีดีและไมโครแซทเทลไลต์. วิทยานิพนธ์วิทยาศาสตร์มหาบัณฑิต สาขาวิชาพืชศาสตร์ มหาวิทยาลัยสงขลานครินทร์.
- กุลยา สุวรรณรัตน์. 2550. ความแปรปรวนทางพันธุกรรมของสะตอ (*Parkia speciosa* Hassk.) และความสัมพันธ์ของพืชสกุล *Pakia* โดยใช้เทคนิคอาร์เอพีดี (Random Amplified Polymorphic DNA, RAPD). วิทยานิพนธ์วิทยาศาสตร์มหาบัณฑิต สาขาวิชาพืชศาสตร์ มหาวิทยาลัยสงขลานครินทร์.
- จรัสศรี นวลศรี. 2548. เอกสารคำสอนการปรับปรุงพันธุ์พืชสวน. สงขลา : ภาควิชาพืชศาสตร์ คณะทรัพยากรธรรมชาติ มหาวิทยาลัยสงขลานครินทร์.
- ชนาวดี คำชู, นิตยศรี แสงเดือน และวิภา หงส์ตระกูล. 2550. การศึกษาลายพิมพ์ดีเอ็นเอในสบู่ดำโดยใช้เทคนิคอาร์เอพีดี (Random Amplified Polymorphic DNA). การประชุมวิชาการพันธุศาสตร์แห่งชาติ ครั้งที่ 15 เรื่อง พันธุศาสตร์กับการพัฒนาประเทศตามแนวทางเศรษฐกิจพอเพียง วันที่ 23 - 25 พฤษภาคม 2550 ณ โรงแรมบีพีสมิหลาบีชสงขลา อ.เมือง จ.สงขลา. หน้า 134 - 138.
- ธีระชัย ชนानันท์ และ นฤมล ชนานันต์. 2543. เทคนิคอาร์เอพีดีกับการจำแนกพันธุ์พริก. วารสารวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยี. 8(1) : 6 - 10.
- ธีระ เอกสมทราเมษฐ์ และ วัชรินทร์ ชื่นสุวรรณ. 2543. เอกสารคำสอนหลักการปรับปรุงพันธุ์พืช. สงขลา: ภาควิชาพืชศาสตร์ คณะทรัพยากรธรรมชาติ มหาวิทยาลัยสงขลานครินทร์.

นฤมล ชนานันต์, สุนันท์ สุดใจ และ ธีระชัย ชนานันต์.

2550. ความหลากหลายทางพันธุกรรมของบัวหลวงปีทมาในจังหวัดปทุมธานี. การประชุมวิชาการพันธุศาสตร์แห่งชาติ ครั้งที่ 15 เรื่อง พันธุศาสตร์กับการพัฒนาประเทศตามแนวทางเศรษฐกิจพอเพียง วันที่ 23 - 25 พฤษภาคม 2550 ณ โรงแรมบีพีสมิหลาบีชสงขลา อ.เมือง จ.สงขลา. หน้า 124 - 128.
- รัฐพร พรหมแก้ว. 2549. การศึกษาความสัมพันธ์ทางพันธุกรรมในกลุ่มประชากรตาลโตนด (*Borassus flabellifer* Linn.) โดยใช้เทคนิค RAPD (Randomly Amplified Polymorphic DNA) และ ISSR (Inter Simple Sequence Repeat). วิทยานิพนธ์วิทยาศาสตร์มหาบัณฑิต สาขาวิชาพืชศาสตร์ มหาวิทยาลัยสงขลานครินทร์.
- สมปอง เตชะโต. 2532. เทคโนโลยีชีวภาพของพืชปลูก. สงขลา : ภาควิชาพืชศาสตร์ คณะทรัพยากรธรรมชาติ มหาวิทยาลัยสงขลานครินทร์. 284 หน้า.
- สรพงค์ เบญจศรี. 2552. การถ่ายทอดลักษณะทางพันธุกรรมของการต้านทานเพลี้ยอ่อนถั่ว (*Aphis craccivora* Koch) และการศึกษาเบื้องต้นเพื่อหาเครื่องหมายดีเอ็นเอที่มีความสัมพันธ์ใกล้ชิดกับยีนต้านทานเพลี้ยอ่อนถั่วในถั่วฝักยาวและถั่วพุ่ม. วิทยานิพนธ์ปรัชญาดุษฎีบัณฑิต สาขาวิชาพืชศาสตร์ มหาวิทยาลัยสงขลานครินทร์.
- สายชล จันมาก. 2547. การศึกษาความแปรปรวนทางพันธุกรรมของแหล่งเชื้อพันธุ์ปาล์มน้ำมัน (*Elaeis guineensis* Jacq.) โดยเทคนิคอาร์เอพีดี (Random Amplified Polymorphic DNA). วิทยานิพนธ์วิทยาศาสตร์มหาบัณฑิต สาขาวิชาพืชศาสตร์ มหาวิทยาลัยสงขลานครินทร์.
- สุดารัตน์ สกลกู, อเนก โตภาคงาม, สุชีลา เตชะวงศ์เสถียร, ชุตินพงศ์ อรรคแสง และ

- สุนทวิทย์ บุนนาค. 2550. การตรวจลูกผสมข้ามชนิดของถั่วอาหารสัตว์ระหว่าง *Centrosema pascuorum* cv. Cavalcade กับ *Centrosema pubescens* และ *Centrosema macrocarpum* ด้วยเทคนิค RAPD. วารสารแก่นเกษตร. 35 (2) : 159 - 169.
- สุนทวิทย์ สุรสร, สุวิทย์ เลหาศิริวงศ์, ปรีชา ประเทพา และโสภณ วงศ์แก้ว. 2547. การใช้เครื่องหมายดีเอ็นเอตรวจสอบถั่วลิสงลูกผสมในงานปรับปรุงพันธุ์ด้านทนต่อโรคราสนิม. วารสารสงขลานครินทร์. 26 (2) : 139 - 152.
- สุนรินทร์ ปิยะโชคณากุล. 2549. เอกสารประกอบการฝึกอบรมเชิงปฏิบัติการ เรื่อง การวิเคราะห์ความหลากหลายทางพันธุกรรมโดยใช้เครื่องหมายดีเอ็นเอ. กรุงเทพมหานคร: ภาควิชาพันธุศาสตร์ คณะวิทยาศาสตร์ มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์.
- สุริพร เกตุงาม. 2546. เครื่องหมายดีเอ็นเอในงานปรับปรุงพันธุ์พืช. วารสารวิชาการมหาวิทยาลัยอุบลราชธานี 5 (2) : 37 - 58.
- สุริพร เกตุงาม และ อัมพร คำเหล็ก. 2550. อาร์เอฟดี-พีซีอาร์ที่เหมาะสมในการจำแนกสายพันธุ์งา. วารสารแก่นเกษตร. 35 (พิเศษ) : 158 - 169.
- อมรรัตน์ บุญสิน, จารูวรรณ จันทร์ประดิษฐ์, จารุญศรีชัยชนะ และ อรุณรัศมี วัฒนพานนท์. 2550. ความแปรผันทางพันธุกรรมของโทะในจังหวัดชุมพรโดยใช้เทคนิคอาร์เอฟดี. การประชุมวิชาการพันธุศาสตร์แห่งชาติ ครั้งที่ 15 เรื่อง พันธุศาสตร์กับการพัฒนาประเทศตามแนวทางเศรษฐกิจพอเพียง วันที่ 23 - 25 พฤษภาคม 2550 ณ โรงแรมบีพีสมิทธาณีสงขลา อ.เมือง จ.สงขลา. หน้า 129 - 133.
- Badenes, M. L., Hurtado, M. A., Sanz, F., Archelos, D. M., Burgos, L., Egea, J. and Lacer, G. (2000). Searching for molecular markers linked to male sterility and self - compatibility in apricot. *Plant Breeding*. 119 (2) : 157 - 160.
- Botstein, D., White, R. L., Skolnick, M. and Davis, R. W. (1980). Construction of a genetic linkage map in man using restriction fragment length polymorphisms. *American Journal of Human Genetics*. 32 (3) : 314 - 331.
- Brown, S. M., Szewc-McFadden, A. K. and Kresovich, S. (1996). Development and application of simple sequence repeat (SSR) loci for plant genome analysis. In *Methods of Plant Genome Analysis : Their Merits and Pitfalls*. (ed. Jauhar, P. P.). Boca raton, U.S.A. CRS Press. pp. 147-159.
- Byrne, P. and Richardson, K. (2005). Marker Assisted Selection. [online] available <http://croptech.nology.unl.edu/viewLesson.cgi?LessonID> (accessed on 24/8/2006).
- Changchao, S., Huqu, Z., Chunming, W., Lihing, S. and Jianmin, W. (2006). SSR mapping of brown planthopper resistance gene *Bph9* in Kaharamana, an indica rice (*Oryza sativa* L.). *Acta Genetica Sinica*. 33(3) : 262 - 268.
- Che, K., Zhan, Q., Xing, Q., Wang, Z., Jin, D., He, D. and Wang, B. (2003). Tagging and mapping of rice sheath blight resistant gene. *Theoretical and Applied Genetics*. 106 (2) : 293 - 297.
- Choi, S.H., Kim, M. J., Lee, J. S. and Ryu K. H. (2006). Genetic diversity and phylogenetic relationships among and within species of oriental cymbidiums based on RAPD analysis. *Scientia Horticulturae*. 108 (1) : 79 - 85.

- Cipriani, G., Bella, R. and Testolin, R. (1996). Screening RAPD primer for molecular taxonomy and cultivar fingerprint in the genus *Actinidia*. *Euphytica*. 90 (2) : 169 - 174.
- Claros, M. G., Crespillo, R. M., Aguilar, L. and Canovas, F. M. (2002). DNA fingerprinting and classification of geographically related genotypes of olive tree (*Olea europaea* L.). *Euphytica*. 116 (2) : 131 - 142.
- Cotes, F. S., Paz, B. S., Iniguez, A. and Liacer, G. (2001). Molecular characterization of olive cultivars using RAPD markers. *Journal of the American Society for Horticultural Science*. 126 (1) : 7 - 12.
- Cunha, C., Hintz, T. and Griffiths, P. (2004). Genetic diversity of snap bean cultivars determined using Randomly Amplified Polymorphic DNA (RAPD) markers. *HortScience*. 39 (3) : 481 - 484.
- Degani, C., Rowland, L. J., Saunders, J. A., Hokanson, S. C., Ogden, E. L., Goldhirsh, A. J. and Galletta, G. J. (2001). A comparison of genetic relationship measures in strawberry (*Fragaria x ananassa* Duch.) based on AFLPs, RAPDs, and pedigree data. *Euphytica*. 117 (1) : 1 - 12.
- Fristensky, B. (2007). Plant Molecular Genetics. Department of Plant Science (accessed on 13/1/2010).
- Gupta, P. K., Varshney, R. K. and Prasad, M. (2002). Molecular markers : principles and methodology. In *Molecular Techniques in Crop Improvement* (eds. Jain, S. M., Brar, D. S. and Ahloowalia, B. S.) Dordrecht : Kluwer Academic Publishers. pp. 9 - 54.
- He, G., Meng, R., Gao, H., Guo, B., Gao, G., Newman, M., Pittman, R. and Prakash, C. S. (2005). Simple sequence repeat markers for botanical varieties of cultivated peanut (*Arachis hypogaea* L.). *Euphytica*. 142 (1 - 2) : 131 - 136.
- Hearne C. M., Ghosh, S. and Todd, J. A. (1992). Microsatellites for linkage analysis of genetic traits. *Trends in Ecology and Evolution*. 8 (8) : 288 - 294.
- Jeon, Y. H., Ahn, S. N., Choi, H. C., Hahn, T. R. and Moon, H. P. (1999). Identification of a RAPD marker linked to a brown planthopper resistance gene in rice. *Euphytica*. 107 (1) : 23 - 28.
- Joshi, C. P. and Nguyen, H. T. (1993). RAPD (Random Amplified Polymorphic DNA) analysis based intervarietal genetic relationships among hexaploid wheats. *Plant Science*. 93 (1 - 2) : 95 - 103.
- Kochert, G. (1994). RFLP technology. In *DNA Based Markers in Plants*. (eds. Phillips, R. L. and Vasil, I. K.) Dordrecht. The Netherlands. Kluwer Academic Publishers. pp. 8 - 38.
- Kuandun, S. S., Zhyvoloup, A. and Park, Y. G. (2000). Evaluation of genetic diversity among elite tea (*Camellia sinensis* var. *sinensis*) accessions using RAPD markers. *Euphytica*. 155 (1) : 7 - 16.
- Lashermes, P., Trouslot, P., Anthony, F., Combes, M. C. and Charrier, A. (1996). Genetic diversity for RAPD marker between cultivated and wild accessions of *Coffea arabica*. *Euphytica*. 87 (1) : 59 - 64.
- Lemos, E. G. M., Silva, C. L. S. P. and Zaidan, H. A. (2002). Identification of sex in *Carica*

- papaya* L. using RAPD markers. *Euphytica*. 127 (2) : 179 - 184.
- Li, C. D., Fatokun, C. A., Benjamin, U., Singh, B. B. and Scoles, G. J. (2001). Determining genetic similarities and relationships among cowpea breeding lines and cultivars by microsatellite markers. *Crop Science*. 41 (1) : 189 - 197.
- Link, W., Dixkens, C., M. Singh, M. and Schwall, M. (1995). Genetic diversity in European and Mediterranean faba bean germplasm revealed by RAPD markers. *Theoretical and Applied Genetics*. 90 (1) : 27 - 32.
- Mandolino, G., Carboni, A., Forapani, S., Faeti, V. and Ranalli, P. (1999). Identification of DNA markers linked to the male sex in dioecious hemp (*Cannabis sativa* L.). *Theoretical and Applied Genetics*. 98 (1) : 86 - 92.
- Mailer, R. J., Scarth, R. and Fristensky, B. (1994). Cultivar identification of oilseed rape, *Brassica napus*, by high performance liquid chromatography (HPLC) and randomly amplified polymorphic DNA (RAPD). *Theoretical and Applied Genetics*. 87 : 697 - 704.
- Mayer, M. S., Tellu, A., Simson, C. J., Kumar, S. J., Kaiser, W. J., Kraft, J. M. and Meuhlbauer, F. J. (1997). Development of a DNA marker for *Fusarium* resistance in chickpea. *Crop Science*. 37 (5) : 1625 - 1629.
- McCouch, S., and Tanksley, S. D. (1991). Development and use of restriction fragment length polymorphisms in rice breeding and genetic. *In Rice Biotechnology*. (eds. Khush, G. S. and Toenniessen, G. H.). Wallingford. Oxon, UK. CAB International. pp. 109 - 133.
- Namayanja, A., Buruchara, R., Mahuku, G., Rubaihayo, P., Kimani, P., Mayanja, S. and Eyedu, H. (2006). Inheritance of resistance to angular leaf spot in common bean and validation of the utility of resistance linked markers for marker assisted selection outside the mapping population. *Euphytica*. 151 (3) : 361 - 369.
- Parasnis, A. S., Gupta, V. S., Tamhankar, S. A. and Ranjekar, P. K. (2000). A highly reliable sex agnostic PCR assay for mass screening of papaya seedlings. *Molecular Breeding*. 6 (3) : 337 - 344.
- Phansak, P., Taylor, P. W. J. and Mongkolporn, O. (2005). Genetic diversity in yardlong bean (*Vigna unguiculata* ssp. *sesquipedalis*) and related *Vigna* species using sequence tagged microsatellite site analysis. *Scientia Horticulturae*. 106 (2) : 137 - 146.
- Tanksley, S. D., Young, N. D., Paterson A. H. and Bonierbale, M. W. (1989). RFLP mapping in plant breeding: New tools for an old science. *Nature Biotechnology*. 7 (2) : 257 - 264.
- Sarutayophat, T., Nualsri, C. Santipracha, Q. and Saereprasert, V. (2007). Characterization and genetic relatedness among 37 yardlong bean and cowpea accessions based on morphological characters and RAPD analysis. *Songklanakarin Journal of Science and Technology*. 29 (3) : 591 - 600.
- Suwannarat, K. and Nualsri, C. (2008). Genetic relationships between 4 *Parkia* spp. and variation in *Parkia speciosa* Hassk. based on random amplified polymorphic DNA

- (RAPD) markers. Songklanakarin Journal of Science and Technology. 30 (4) : 433 - 440.
- Vos, P., Hogers, R., Bleeker, M. Reijans, M., Van de Lee, T., Hornes, M., Frijters, A., Pot, J., Peleman, J., Kuiper, M. and Zebeau, M. (1995). AFLP: A new technique for DNA fingerprintings. Nucleic Acids Research. 23 (21) : 4407 - 4414.
- Williams, J. G. K., Kubelik, R. A., Livak, K. J., Rafalski, J. A. and Tingey, S. V. (1990). DNA polymorphisms amplified by arbitrary primers are useful as genetic markers. Nucleic Acids Research. 18 (22) : 6531 - 6535.
- Winter, P. and Kahl, G. (1995). Molecular marker technologies for plant improvement. World Journal of Microbiology & Biotechnology. 11 (4) : 438 - 448.
- Young, R. A. and Kelly, J. D. (1997). RAPD markers linked to three major anthracnose resistance genes in common bean. Crop Science. 37 (3) : 940 - 946.





ยีนที่สร้างไวเทลโลจีนินและโปรตีนโซนารเรดิเอต้าในปลา: ตัวชี้วัดทางชีวภาพของสารรบกวนฮอร์โมนเอสโตรเจน (e-EDCs) ปนเปื้อนในแหล่งน้ำ

Vitellogenin and Zona Radiata Protein Genes in Fish: Biomarkers of Estrogenic Endocrine Disrupting Compounds (e-EDCs) Contamination in Aquatic Environment

ธนากร แสงสง่า¹ และ ชูตา บุญภักดี^{1,2}

บทนำ

ในปัจจุบัน หลายประเทศพบว่าสารรบกวนฮอร์โมนเอสโตรเจน (estrogenic endocrine disrupting compounds; e-EDCs) มีการปนเปื้อนอยู่ในแหล่งน้ำเพิ่มมากขึ้น สารเหล่านี้อาจจะไม่ใช่ฮอร์โมนเอสโตรเจนที่มีชีวิตสังเคราะห์ขึ้นในร่างกาย (endogenous estrogen) แต่เป็นสารที่ปนเปื้อนอยู่ในสิ่งแวดล้อมแล้วสามารถเลียนแบบการทำงานของฮอร์โมนเอสโตรเจน (estrogen mimic) ที่สังเคราะห์ขึ้นภายในร่างกาย ฮอร์โมนเอสโตรเจนนั้นมีบทบาทสำคัญต่อการพัฒนาของระบบสืบพันธุ์ของสัตว์มีกระดูกสันหลัง การปนเปื้อนของสารรบกวนฮอร์โมนเอสโตรเจนในสิ่งแวดล้อมจึงกลายเป็นปัญหาใหญ่ที่หลายประเทศให้ความสนใจ เพราะการปนเปื้อนของสารดังกล่าวก่อให้เกิดความผิดปกติและการเบี่ยงเบนการทำงาน

ของอวัยวะเพศ โดยเฉพาะที่เกิดกับสัตว์น้ำ เช่น ปลา ซึ่งเป็นสัตว์มีกระดูกสันหลังกลุ่มใหญ่ที่อาศัยอยู่ในแหล่งน้ำ จึงได้รับผลกระทบจากการปนเปื้อนของสารดังกล่าวโดยตรง (Toft and Baatrup, 2001; Vetillard and Bailhache, 2005, 2006) สารเหล่านี้นอกจากจะก่อให้เกิดความผิดปกติต่อการพัฒนาของอวัยวะสืบพันธุ์ เช่น เปลี่ยนจากเพศผู้เป็นเพศเมียแล้ว ยังอาจส่งผลกระทบต่อถึงลูกปลาที่จะมีอัตราการรอดลดลง ทำให้มีการเปลี่ยนแปลงโครงสร้างในระดับประชากรของปลาและสิ่งมีชีวิตที่อาศัยอยู่ในสิ่งแวดล้อมนั้นได้ (Scholz and Mayer, 2008)

สารรบกวนฮอร์โมนเอสโตรเจนสามารถจับกับตัวรับสัญญาณเอสโตรเจน (estrogen receptor; ER) ภายในเซลล์และชักนำการแสดงออกของยีนที่สร้างไวเทลโลจีนิน (vitellogenin; Vtg) และโปรตีน

¹ โครงการบัณฑิตศึกษา สาขาวิชาวิทยาศาสตร์สิ่งแวดล้อม คณะวิทยาศาสตร์ มหาวิทยาลัยบูรพา จ.ชลบุรี 20130

² ภาควิชาชีววิทยา คณะวิทยาศาสตร์ มหาวิทยาลัยบูรพา จ.ชลบุรี 20130

โซนารเรดิเอต้า (zona radiata protein; Zrp) ในปัจจุบันจึงมีการประยุกต์ใช้ขึ้นดังกล่าวเป็นตัวชี้วัดทางชีวภาพ (biomarker) บ่งบอกการปนเปื้อนของสารมลพิษที่สามารถวิเคราะห์ได้โดยใช้สิ่งมีชีวิต (Yu et al., 2006) เพื่อเข้าใจกลไกการทำงานของยีน ผลกระทบของสารต่อสิ่งมีชีวิตที่สามารถนำไปใช้ประเมินสถานการณ์การปนเปื้อนและการประเมินความเสี่ยงต่อความปลอดภัยของสิ่งมีชีวิตในสิ่งแวดล้อมในบริเวณที่มีการปนเปื้อนของสารรบกวนฮอร์โมนเอสโตรเจน รวมทั้งประเมินความเสียหายทางด้านระบบนิเวศได้ ในบทความนี้จะกล่าวถึงสารรบกวนฮอร์โมนเอสโตรเจนที่ปนเปื้อนในแหล่งน้ำ ที่มีผลชักนำการสร้างไวเทลโลจินินและโปรตีนโซนารเรดิเอต้าในกลุ่มของปลา และการประยุกต์ใช้เป็นตัวบ่งชี้ทางชีวภาพ บ่งบอกถึงการปนเปื้อนของสารรบกวนฮอร์โมนเอสโตรเจนในแหล่งน้ำ

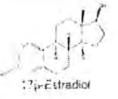
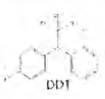
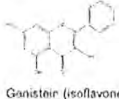
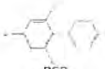
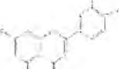
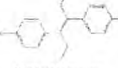
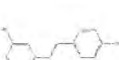
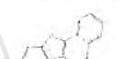
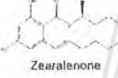
การแพร่กระจายของสารรบกวนฮอร์โมนเอสโตรเจนในแหล่งน้ำ

ผลจากการที่มีจำนวนประชากรเพิ่มมากขึ้น มีการพัฒนาอุตสาหกรรม และเกิดสังคมเมืองมากขึ้น กลายเป็นสาเหตุหลักที่ก่อให้เกิดปัญหามลพิษต่างๆ ติดตามมา เช่น ของเสียจากแหล่งชุมชนที่มีสารคัดหลั่งจากร่างกายซึ่งเป็นสารในกลุ่มสเตอรอยด์ฮอร์โมน รวมถึงโรงงานอุตสาหกรรมผลิตพลาสติกบางชนิดและน้ำทิ้งจากโรงงานบำบัดน้ำเสีย (sewage treatment plants; STPs) เป็นแหล่งหลักที่มีการปลดปล่อยสารรบกวนฮอร์โมนเอสโตรเจนลงสู่แหล่งน้ำ (Ying et al., 2002) นอกจากนี้การปนเปื้อนของสารรบกวนฮอร์โมนเอสโตรเจนยังมาจากแหล่งเพาะเลี้ยงสัตว์น้ำ ฟาร์มปศุสัตว์ น้ำชะจากการทำเกษตรกรรมที่มีการใช้ปุ๋ยและสารเคมีที่ไหลลงสู่แหล่งน้ำธรรมชาติ (Orlando et al., 2004) ซึ่งอาจรวมตัวกับดินตะกอนและคงตัวอยู่ในสิ่งแวดล้อม มีการสะสมอยู่ในสิ่งมีชีวิตและเพิ่มมากขึ้นตามลำดับขั้นบริโภค (Fossi et al., 2002)

สารรบกวนฮอร์โมนเป็นสารแปลกปลอมในสิ่งแวดล้อมที่รบกวนการทำงานของฮอร์โมนภายในร่างกายที่อาจกระตุ้นหรือยับยั้งการทำงานของฮอร์โมน เอสโตรเจนหรือฮอร์โมนอื่น ๆ ซึ่งกลไกการรบกวนในระดับโมเลกุลสามารถเกิดขึ้นได้ 4 แบบ คือ 1) เลียนแบบฮอร์โมนภายในร่างกาย 2) ขัดขวางการทำงานของฮอร์โมนโดยแย่งจับกับตัวรับ 3) เปลี่ยนแปลงการสร้างและทำลายฮอร์โมน และ 4) เปลี่ยนแปลงหน้าที่ที่ตัวรับภายในเซลล์ (Goksoyr et al., 2003)

มีรายงานของนักวิชาการหลายท่านทำการตรวจวัดปริมาณสารรบกวนฮอร์โมนเอสโตรเจนที่ปนเปื้อนอยู่ในสิ่งแวดล้อม ตัวอย่าง เช่น Baronti et al. (2000) เก็บตัวอย่างน้ำในรัศมี 1 กิโลเมตรก่อนถึงปากแม่น้ำ Tiber ประเทศอิตาลี พบการปนเปื้อนของสาร estriol (E_3), 17β -estradiol (E_2), estrone (E_1) และ esthynylestradiol (EE_2) ที่ระดับความเข้มข้น 0.33, 0.11, 1.5 และ 0.04 นาโนกรัมต่อลิตร ตามลำดับ ในขณะที่ Zhang et al. (2009) ตรวจพบปริมาณของ E_1 , E_2 , EE_2 , diethylstilbestrol (DES), nonylphenol (NP), octylphenol (OP) และ bisphenol A (BPA) ในบริเวณอ่าว Xiamen ประเทศจีน มีความเข้มข้นรวม 49.20-1,230.69 นาโนกรัมต่อกรัมน้ำหนักแห้งของตัวอย่างดินตะกอน และ 102.33-4,376.60 นาโนกรัมต่อลิตรของน้ำในดิน ผลการศึกษาของนักวิจัยอีกหลายท่านยืนยันว่าสารรบกวนฮอร์โมนเอสโตรเจนหลายชนิดที่ปนเปื้อนอยู่ในสิ่งแวดล้อมแม้จะมีโครงสร้างทางเคมีแตกต่างกัน (รูปที่ 1) แต่สามารถจับกับตัวรับสัญญาณของเอสโตรเจนแล้วออกฤทธิ์คล้ายกับฮอร์โมนเอสโตรเจนที่สร้างขึ้นภายในร่างกายได้ (McLachlan, 2001; Fossi et al., 2002)

ฮอร์โมนเอสโตรเจนอาจถูกย่อยสลายด้วยกระบวนการทางชีวภาพ (biodegradation) ได้ ขึ้นอยู่กับปัจจัยต่าง ๆ ที่สำคัญ เช่น nitrifying bacteria, sludge retention time การเติมอากาศ และอุณหภูมิ (Kuster et al., 2004) จากการศึกษาของ Johnson and Sumpter (2001) พบว่า E_2 จะถูกย่อยสลายได้เร็วกว่า EE_2 และ

Steroids	Pollutants	Plant Products
 17β-Estradiol	 DDT	 Genistein (isoflavone)
Pharmaceuticals	 PCB	 Luteolin (flavone)
 Diethylstilbestrol	 Bisphenol A	 Resveratrol (stilbene)
 Ethinyl Estradiol	 Nonylphenol	 Coumestrol (coumarin)
Fungal Products	 Kepone	
 Zearalenone		

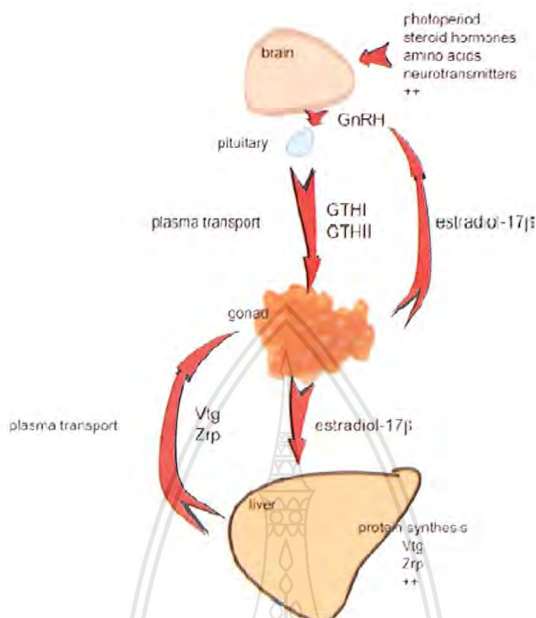
รูปที่ 1 โครงสร้างของสารรบกวนฮอร์โมนเอสโตรเจนบางชนิด (ที่มา: McLachlan, 2001)

E_1 ซึ่งเป็นเอสโตรเจนสังเคราะห์ นอกจากนี้ EE_2 และ E_1 ยังสามารถคงตัวอยู่ในระบบ activated sludge ได้นานกว่า E_2 กระบวนการย่อยสลายทางชีวภาพของ E_2 และอนุพันธ์ เช่น EE_2 ที่ปนเปื้อนในตัวอย่างน้ำพบว่าจุลินทรีย์มีความสามารถเปลี่ยน E_2 ให้เป็น E_1 ได้โดยมีค่าครึ่งชีวิต 0.2-9 วัน ภายใต้อุณหภูมิ 20 องศาเซลเซียส (Jurgens et al., 2002) และถึงแม้ว่า EE_2 จะคงตัวอยู่ในสิ่งแวดล้อมได้นานกว่า E_2 แต่ทั้ง EE_2 และ E_2 นั้นสลายตัวได้ด้วยแสง (photodegradation) โดยมีค่าครึ่งชีวิตนาน 10 วันภายใต้สภาวะอุดมคติ (ideal condition) (Matozzo et al., 2008)

โปรตีนโอโอจินิกในปลา

การควบคุมการเจริญและความสมบูรณ์ของไข่ในกลุ่มปลาและสัตว์มีกระดูกสันหลังอื่น ๆ ถูกควบคุมด้วยฮอร์โมนโกนาโดโทรปินและสเตอรอยด์ฮอร์โมน รวมทั้งสภาพแวดล้อมของแหล่งอาศัย เช่น อุณหภูมิและช่วงแสงที่แหล่งอาศัยได้รับ (Elliott

et al., 1984) โดยสมองส่วนไฮโปทาลามัสจะหลั่งโกนาโดโทรปินรีลีสซิงฮอร์โมน (gonadotropin releasing hormone) ศูนย์กลางการควบคุมการหลั่งฮอร์โมนไปกระตุ้นให้ต่อมใต้สมองส่วนหน้าหลั่งฮอร์โมนโกนาโดโทรปิน วัน และ ทู (gonadotropin I and II) ซึ่งเปรียบเทียบกับฮอร์โมนฟอลลิเคิลสติมูเลตติงฮอร์โมน (follicle stimulating hormone; FSH) และลูทีไนซิงฮอร์โมน (luteinizing hormone; LH) ในมนุษย์ ตามลำดับ โดยโกนาโดโทรปิน วัน มีหน้าที่เกี่ยวกับกระบวนการสร้างไข่แดง (vitellogenesis) และการสร้างโปรตีนห่อหุ้มเซลล์ไข่ (zonagenesis) ส่วนโกนาโดโทรปิน ทู ทำหน้าที่ควบคุมการสมบูรณ์ (maturation) และการตกไข่ (ovulation) กระบวนการสร้างเซลล์สืบพันธุ์และฮอร์โมนเพศ ซึ่งการหลั่งโกนาโดโทรปินรีลีสซิงฮอร์โมนจะถูกควบคุมด้วยฮอร์โมนเอสโตรเจนและเทสโทสเตอโรน (รูปที่ 2) (Arukwe and Goksoyr, 2003)



รูปที่ 2 การสังเคราะห์ไวเทลโลจินิน (Vtg) และโปรตีนไข่น้ำเรดิเอต้า (Zrp) ในเซลล์ตับ โดยผ่านการควบคุมของ hypothalamus-pituitary-gonadal-liver (HPGL) axis (ที่มา: Arukwe and Goksoyr, 2003)

E_2 เป็นฮอร์โมนเอสโตรเจนหลักที่พบมากในปลา การหลั่งฮอร์โมนดังกล่าวเกิดจากการทำงานร่วมกันของเซลล์ ทีคาและเซลล์แกรนูโลซา (two-cell model) โดยฮอร์โมนโกนาโดโทรปินที่หลั่งมาจากต่อมใต้สมองจะกระตุ้นเซลล์ทีคา (theca cell) ให้หลั่งฮอร์โมนเทสโทสเตอโรน จากนั้นฮอร์โมนเทสโทสเตอโรนจะถูกลำเลียงไปยังเซลล์แกรนูโลซา (granulosa cell) ที่อยู่ติดกันและถูกเปลี่ยนเป็น E_2 โดยการควบคุมการทำงานของเอนไซม์ไซโตโครม พี 450 อะโรมาเตส (cytochrom P450 aromatase; CYP19) ที่อยู่ในเซลล์แกรนูโลซา (Kagawa et al., 1982) จากนั้น E_2 จะกระตุ้นเซลล์ตับให้สังเคราะห์ไวเทลโลจินินและโปรตีนไข่น้ำเรดิเอต้า (Celius et al., 2000; Yu et al., 2006)

ไวเทลโลจินิน

ไวเทลโลจินินเป็นโปรตีนโอล์ค (egg yolk protein) ที่พบเฉพาะในเพศเมีย เป็นไลโปฟอสโฟ

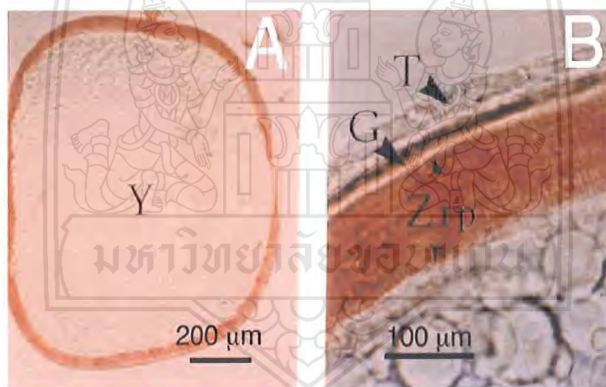
ไกลโคโปรตีน การสะสมโปรตีนโอล์คมีความสำคัญในกระบวนการสืบพันธุ์ของสัตว์มีกระดูกสันหลังกลุ่มโออิวพาร์ส (oviparous) กระบวนการสังเคราะห์ไวเทลโลจินินในปลาถูกควบคุมโดยฮอร์โมน E_2 ซึ่งจะเป็นตัวกระตุ้นให้ตับสังเคราะห์โปรตีนไวเทลโลจินิน จากนั้นไวเทลโลจินินจะถูกลำเลียงออกจากตับผ่านกระแสเลือดไปสะสมบริเวณเซลล์ไข่ (รูปที่ 3) ซึ่งที่เซลล์ไข่จะมีกระบวนการเปลี่ยนแปลงโปรตีนโอล์ค ซึ่งจัดได้เป็น 2 กลุ่ม คือ ไลโปไวเทลลิน (lipovitellin) และฟอสไวติน (phosvitin) ซึ่งเก็บสะสมไว้เป็นแหล่งอาหารสำรองของปลาวัยอ่อนเพื่อใช้ในการเจริญเติบโตจนกระทั่งถึงระยะสุดท้ายของการพัฒนาการสร้างเซลล์ไข่ ฉะนั้นระยะที่สะสมอาหารเซลล์ไข่จึงมีการเจริญเติบโต โดยมีขนาดใหญ่ขึ้นเรื่อย ๆ เนื่องจากปริมาณไวเทลโลจินินที่เก็บสะสมไว้มิเพิ่มมากขึ้น (Arukwe and Goksoyr, 2003) การศึกษาระดับโปรตีนไวเทลโลจินินในปลาสมของปลาหลายชนิดพบว่า มีความแตกต่างกันตามพัฒนาการ

ของอวัยวะสืบพันธุ์ในรอบปี (Elliott et al., 1984) นอกจากนี้ระดับไวเทลโลจินินในปลาสมานั้นยังสามารถนำมาใช้ในการแยกเพศของปลาได้ ซึ่งถ้าเป็นปลาเพศผู้ จะมีปริมาณโปรตีนไวเทลโลจินินต่ำหรือไม่พบเลย (Knoebel et al., 2004; Yu et al., 2006)

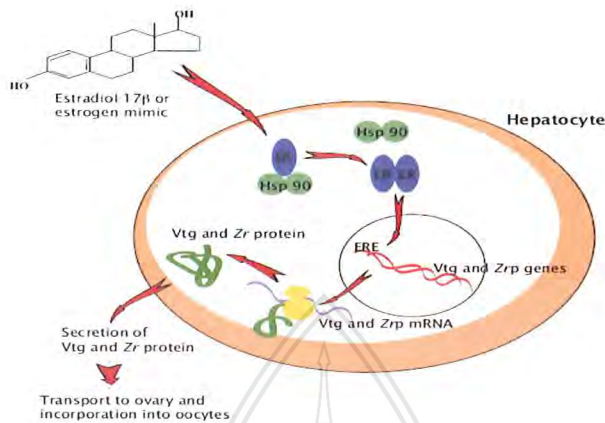
โปรตีนโซน่าเรติเอด้า

โปรตีนโซน่าเรติเอด้าเป็นไกลโคโปรตีนที่ห่อหุ้มเซลล์ไข่ (eggshell protein) มีบทบาทสำคัญในกระบวนการสืบพันธุ์และการพัฒนาของเซลล์สืบพันธุ์ของปลาเพศเมีย โดยเป็นบริเวณที่สัมผัสระหว่างไข่กับสเปิร์ม และเอ็มบริโอกับสิ่งแวดล้อม (รูปที่ 3) เมื่อเซลล์ไข่ได้รับการปฏิสนธิจะเกิดกระบวนการแข็งตัวของโปรตีนที่ห่อหุ้มเซลล์ไข่เพื่อป้องกันการผสมของไข่กับสเปิร์มหลายตัว (polyspermy) ในบริเวณไมโครไพล์ (micropyle) และป้องกันอันตรายจากสิ่งแวดล้อมภายนอก และช่วยในการแลกเปลี่ยนแก๊ส โปรตีนชนิดนี้

มีชื่อเรียกแตกต่างกันไปในสิ่งมีชีวิตแต่ละชนิด เช่น โปรตีนโซน่าเรติเอด้า (Zrp) ที่พบในปลา ประกอบด้วย α -Zrp, β -Zrp และ γ -Zrp (Arukwe et al., 1997) หรืออาจเรียกว่า คอริโอจินิน (Choriogenin; Chg) ประกอบด้วย Chg L และ Chg H (Yu et al., 2006) เป็นต้น การสังเคราะห์โปรตีนโซน่าเรติเอด้าถูกควบคุมโดยฮอร์โมน E₂ เช่นเดียวกันกับการสร้างไวเทลโลจินิน คือเกิดขึ้นที่เซลล์ตับ เช่น ในปลาเรนโบว์เทราต์ (*Oncorhynchus mykiss*) (Arukwe et al., 2002) ปลาแซลมอน (*Salmo salar*) (Arukwe et al., 2000) ปลาข้าวสาร (*Oryzias javanicus*) (Yu et al., 2006) และปลา sheepshead minnows (*Cyprinodon variegatus*) (Knoebel et al., 2004) แต่อย่างไรก็ตาม ยังพบว่ามี การสังเคราะห์โปรตีนโซน่าเรติเอด้าเกิดขึ้นที่เซลล์ไข่ด้วย เช่น ในปลาไน (*Cyprinus carpio*) (Chang et al., 1996) และปลา pipefish (*Syngnathus scovelli*) (Begovac et al., 1989) เป็นต้น



รูปที่ 3 ตำแหน่งการสะสมโปรตีนโยลต์ (Y) และโปรตีนโซน่าเรติเอด้า (Zrp) ของปลา cod (*Gadus morhua*) (ที่มา: Arukwe and Goksoyr, 2003)



รูปที่ 4 การชักนำการสังเคราะห์ไวเทลโลจิโนน (Vtg) และโปรตีนโซน่าเรดิเอต้า (Zrp) ในเซลล์ตับ (ที่มา: Arukwe and Goksoyr, 2003)

การใช้ยีนที่สร้างไวเทลโลจิโนนและโปรตีนโซน่าเรดิเอต้าเป็นตัวบ่งชี้ทางชีวภาพ

มีรายงานการใช้ยีนที่สร้างไวเทลโลจิโนนและโปรตีนโซน่าเรดิเอต้าเป็นตัวบ่งชี้ทางชีวภาพของการปนเปื้อนของสารรบกวนการทำงานของฮอร์โมนเอสโตรเจนในแหล่งน้ำ โดยปลาซึ่งเป็นสัตว์มีกระดูกสันหลังกลุ่มใหญ่ที่อาศัยอยู่ในแหล่งน้ำจะเป็นสิ่งมีชีวิตที่มีความเสี่ยงที่จะได้รับผลกระทบเป็นลำดับแรกก่อนที่จะส่งผลกระทบต่อมนุษย์ โดยปลาที่นิยมนำมาศึกษาได้แก่ ปลาหมอสี (*Danio rerio*) ปลาข้าวสาร (*Oryzias latipes*) ปลาหางนกยูง (*Gasterosteus aculeatus*) และปลา fathead minnow (*Pimephales promelas*) เนื่องจากมีขนาดเล็กเหมาะกับการเลี้ยงในห้องทดลอง มีวงจรชีวิตสั้นจึงเหมาะสมสำหรับศึกษาถึงโครงสร้างของประชากรในรุ่นถัดไป และปัจจุบันมีข้อมูลในระดับดีเอ็นเอจำนวนมาก (Scholz and Mayer, 2008)

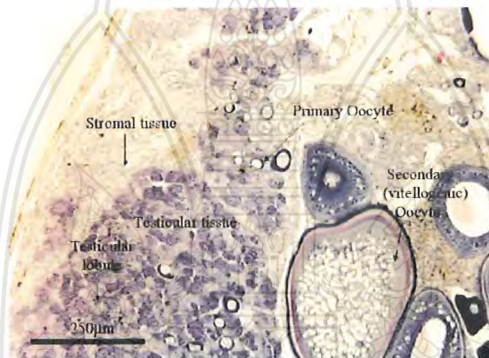
ในสภาวะปกติ ระดับการแสดงออกของยีนสร้างไวเทลโลจิโนนและโปรตีนโซน่าเรดิเอต้าในปลาเพศผู้และปลาวัยอ่อนนั้นจะไม่มีหรือมีปริมาณน้อยมาก ดังนั้นการชักนำให้มีการแสดงออกของยีนไวเทลโลจิโนนและโปรตีนโซน่าเรดิเอต้าที่ตรวจวัดได้ในปลาเพศผู้หรือปลาวัยอ่อนจึงนิยมนำมาใช้เป็นตัวบ่งชี้ทางชีวภาพ บ่ง

บอกว่ามีการปนเปื้อนของสารรบกวนการทำงานของฮอร์โมนเอสโตรเจนหลายชนิด เช่น α -zearalenol (α -zea), E_2 , NP, α,p' -DDT, γ -hexachlorocyclohexane (γ -HCH), BPA และ polychlorinated biphenyls (PCB) เป็นต้น (Arukwe et al., 2000; Celius et al., 2000) ซึ่งสารที่มีคุณสมบัติเลียนแบบฮอร์โมนเอสโตรเจนนี้จะเข้าจับกับตัวรับสัญญาณเอสโตรเจน (ER) ที่จับอยู่กับ heat shock protein 90 (hsp90) จากนั้น hsp90 จะถูก dimerization แล้ว hormone-receptor complex จะเคลื่อนที่เข้าสู่นิวเคลียส ไปจับกับ estrogen responsive element (ERE) มีผลชักนำการแสดงออกของยีนไวเทลโลจิโนนและโปรตีนโซน่าเรดิเอต้าในระดับเอ็มอาร์เอ็นเอ (mRNA) เพิ่มขึ้น (รูปที่ 4) (Arukwe and Goksoyr, 2003) นอกจากนี้อาจส่งผลต่อการเปลี่ยนแปลงเมทาบอลิซึมอื่นๆ ร่วมด้วยในขณะที่มีการสังเคราะห์ไวเทลโลจิโนน เช่น น้ำหนักตับและพลาสมาโปรตีนเพิ่มมากขึ้น มีการสะสมไขมัน การลดลงของปริมาณไกลโคเจน อาร์เอ็นเอ แคลเซียม แมกนีเซียม และฟอสโฟโปรตีน เป็นต้น ซึ่งพารามิเตอร์เหล่านี้สามารถใช้เป็นตัวบ่งชี้การเพิ่มขึ้นหรือลดลงของระดับโปรตีนไวเทลโลจิโนนในพลาสมาได้ (Bjornsson et al., 1986)

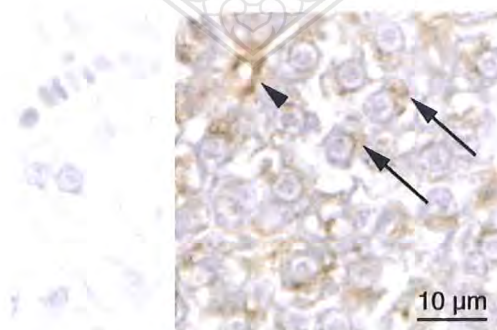
ผลของสารรบกวนฮอร์โมนเอสโตรเจนต่อระดับการสร้างโปรตีนโอโอจินิน

เนื่องจากฮอร์โมน E_2 เป็นฮอร์โมนเพศเมียที่สร้างขึ้นตามธรรมชาติมีหน้าที่กระตุ้นให้ตัวสร้างไวเทลโลจินิน และโปรตีนโซนาเรดิเอด้า นอกจากนี้ E_2 ที่สังเคราะห์ขึ้นภายในร่างกายแล้ว พบว่าสารที่เลียนแบบการทำงานของฮอร์โมนเอสโตรเจนจะเข้าไปรบกวนสรีรวิทยาของระบบสืบพันธุ์โดยเฉพาะปลาซึ่งอาศัยอยู่ในแหล่งน้ำและสัมผัสกับสารเคมีโดยตรงผ่านช่องเหงือกหรือปนเปื้อนอยู่กับอาหาร เมื่อปลาได้รับสัมผัสจะมีผลกระทบต่อการทำงานของระบบต่อมไร้ท่อ การควบคุมการทำงานของยีนและการตอบสนองทางสรีรวิทยาของระบบสืบพันธุ์ เช่น เกิดลักษณะ

ของเพศเมียปรากฏอยู่ในเพศผู้ นั่นคือ มีการพัฒนาของอวัยวะสืบพันธุ์ทั้งเพศผู้และเพศเมียพร้อมกัน (intersex) (รูปที่ 5) (Sun and Tsai, 2009) หรือมีการสร้างไวเทลโลจินินเพิ่มมากขึ้น ตัวอย่างเช่น ผลจากการศึกษาดำเนินงานของโปรตีนไวเทลโลจินินด้วยเทคนิคทาง Immunohistochemistry ในปลาม้าลายเพศผู้ที่ได้รับ E_2 ที่ความเข้มข้น 1 นาโนโมลาร์ พบว่ามีการสังเคราะห์โปรตีนไวเทลโลจินินเกิดขึ้นที่เซลล์ตับ (รูปที่ 6) และเมื่อทดสอบค่า Lowest Observed Effect Concentration (LOEC) ของ E_2 ที่ชักนำให้มีการสร้างไวเทลโลจินินในปลาม้าลายและปลาข้าวสาร (*O. latipes*) พบว่ามีค่าเท่ากับ 1 และ 0.1 ไมโครกรัมต่อลิตร ตามลำดับ (Tong et al., 2004)



รูปที่ 5 ลักษณะเนื้อเยื่อวิทยาของอวัยวะสืบพันธุ์ของปลา gudgeon (*Gobio gobio*) เมื่อได้รับ E_2 จะมีการพัฒนาทั้ง testicular tissue ของเพศผู้ร่วมกับ primary oocyte และ secondary oocyte ของเพศเมีย (ที่มา: Arukwe and Goksoyr, 2003)



รูปที่ 6 Immunohistochemistry ของโปรตีนไวเทลโลจินินที่เนื้อเยื่อตับ (ลูกศรชี้) ของปลาม้าลาย (*Danio rerio*) เพศผู้ที่ได้รับ E_2 ความเข้มข้น 1 นาโนโมลาร์ (รูปขวา) เปรียบเทียบกับปลาเพศผู้ที่ไม่ได้รับ E_2 (รูปซ้าย) (ที่มา: Van der Ven et al., 2003)

นอกจากนี้ยังมีรายงานการศึกษาในระดับการแสดงผลออกของยีน ดังเช่นเมื่อให้ปลาแซลมอนได้รับ NP และ Oil refinery treatment plant (ORTP) พบว่าการเปลี่ยนแปลงระดับการแสดงออกของยีนที่สังเคราะห์โปรตีนโซนาเรดิอิดาชนิด α -Zrp, β -Zrp, γ -Zrp และไวเทลโลจินิน โดยพบว่าชนิด β -Zrp ตอบสนองได้ดีกว่าชนิด α -Zrp, γ -Zrp และไวเทลโลจินินเนื่องจากโปรตีนโซนาเรดิอิดาที่ตำแหน่ง β จะถูกสังเคราะห์ขึ้นเป็นอันดับแรกในกระบวนการสังเคราะห์โปรตีนห่อหุ้มเซลล์ไข่ (zonagenesis) (Arukwe et al., 1997, 2000) และจากการที่ปลาเรนโบว์เทราต์ (*O. mykiss*) ได้รับสัมผัสกับ E_2 และ α -zea พบว่าสามารถชักนำการสังเคราะห์ยีนที่สังเคราะห์โปรตีนโซนาเรดิอิดาและไวเทลโลจินินได้ แต่โปรตีนโซนาเรดิอิดามีการตอบสนองต่อ E_2 และ α -zea ที่ระดับความเข้มข้นต่ำได้ดีกว่าไวเทลโลจินินทั้งในตับและในพลาสมา (Celius et al., 2000)

Yu et al. (2006) เปรียบเทียบระดับการแสดงออกของยีนคอร์ไอจินิน (Chg) หรือโปรตีนโซนาเรดิอิดาในปลาข้าวสาลี *O. javanicus* เพศผู้ โดยเลี้ยงปลาในน้ำที่มีสารละลาย E_2 ความเข้มข้น 1.5 10 และ 100 นาโนกรัมต่อลิตรเป็นเวลานาน 7 วัน พบว่าปลาเพศผู้ที่ได้รับ E_2 สามารถชักนำระดับการแสดงออกของยีนคอร์ไอจินิน H ที่ตับให้เพิ่มขึ้น ในขณะที่คอร์ไอจินิน L จะมีระดับการแสดงออกของยีนเพิ่มขึ้นทั้งที่ตับและรังไข่ และระดับการแสดงออกของยีน คอร์ไอจินิน H มีมากกว่าคอร์ไอจินิน L แต่ผลการวิจัยของ Lee et al. (2002) ที่ศึกษาในปลาข้าวสาลี *O. latipes* พบว่า คอร์ไอจินิน L จะมีความไวมากสามารถชักนำได้ดีกว่าคอร์ไอจินิน H ผลการทดสอบค่า LOEC ของ E_2 ที่มีผลต่อการชักนำระดับการแสดงออกของคอร์ไอจินิน H ในระดับเอ็มอาร์เอ็นเอที่เนื้อเยื่อตับของปลาข้าวสาลี *O. javanicus* พบว่ามีค่าเท่ากับ 1 นาโนกรัมต่อลิตร (Yu et al., 2006) และ

ระดับความเข้มข้นของ BPA ที่มีผลต่อการชักนำไวเทลโลจินินและโปรตีนโซนาเรดิอิดามีค่าอยู่ระหว่าง 5 ถึง 25 มิลลิกรัมต่อกิโลกรัม (น้ำหนักปลา) (Arukwe et al., 2000)

อย่างไรก็ตาม การที่สิ่งมีชีวิตได้รับสัมผัสกับสารรบกวนฮอร์โมนเอสโตรเจนเพียงชนิดเดียวอาจจะมีผลต่อระดับระดับการแสดงออกของยีนได้แตกต่างจากการที่ได้รับสารเคมีหลายชนิดพร้อมกัน เช่น เมื่อทดสอบในปลาบูดา (*Gobius niger*) ให้ได้รับสัมผัสกับ E_2 เพียงชนิดเดียว พบว่าจะสังเคราะห์ไวเทลโลจินินได้มากกว่าเมื่อได้รับสัมผัสกับ NP ร่วมกับ b-naphthoflavone (bNF) หรือ E_2 ร่วมกับ bNF (Maradonna and Carnevali, 2007) เช่นเดียวกับการทดสอบกับปลาเรนโบว์เทราต์ที่พบว่า เมื่อปลาได้รับ E_2 เพียงชนิดเดียว จะสามารถชักนำให้มีการแสดงออกของยีนไวเทลโลจินินได้ดีกว่าการได้รับสัมผัส NP และ E_2 ร่วมกับ tamoxifen (Vetillard and Bailhache, 2006) หรือผลการศึกษาในปลาแซลมอนที่ได้รับ NP ร่วมกับ o,p'-DDT หรือ BPA หรือ PCB มีผลชักนำระดับการแสดงออกของยีนเพิ่มขึ้น แต่เมื่อให้ปลาแซลมอนได้รับ NP ร่วมกับ γ -HCH กลับพบว่าเกิดการยับยั้งการแสดงออกของยีนสังเคราะห์ไวเทลโลจินินและโปรตีนโซนาเรดิอิดา (Arukwe et al. 2000) นอกจากนี้ยังพบว่าสารในกลุ่มโลหะหนัก เช่น แคดเมียม สามารถยับยั้งการทำงานของ E_2 โดยลดระดับการแสดงออกของยีนไวเทลโลจินินที่เซลล์ตับ (Vetillard and Bailhache, 2005) อย่างไรก็ตาม ระดับการสังเคราะห์โปรตีนไวเทลโลจินินในพลาสมาของปลา พบว่า มีความแปรผันมากขึ้นอยู่กับชนิดของปลานั้น ๆ (Arukwe and Goksoyr, 2003) เช่น ในปลา sheepshead minnows (*C. variegatus*) จะมีการสังเคราะห์ไวเทลโลจินินเพิ่มมากขึ้นถึง 1,100 พิโคกรัม หากว่าปลาชนิดนี้ได้รับ E_2 ที่ความเข้มข้น 182 นาโนกรัมต่อลิตร ติดต่อกันเป็นเวลานาน 8 วัน (Knoebel et al., 2004) เป็นต้น

สรุป

การชักนำให้มีการแสดงออกของไวเทลโลจีนินและโปรตีนโซนารเดียในระดับ mRNA ในปลาที่มีการศึกษากันอย่างแพร่หลายทั้งในห้องทดลองและสถานที่จริง เพื่อใช้เป็นตัวบ่งชี้ทางชีวภาพที่มีศักยภาพ (potential biomarker) มีความจำเพาะและมีความไวต่อการรบกวนฮอร์โมนเอสโตรเจน ระดับการแสดงออกของยีนทั้งสองจึงเหมาะสมสำหรับใช้ตรวจสอบ ติดตามการปนเปื้อนกับสารรบกวนฮอร์โมนเอสโตรเจนในแหล่งน้ำโดยใช้ปลาเป็นตัวติดตามที่มีชีวิต นอกจากนี้ยังทราบผลกระทบของสารรบกวนฮอร์โมนเอสโตรเจนต่อสิ่งมีชีวิตที่อาศัยอยู่ในแหล่งน้ำนั้น สามารถคาดการณ์ถึงการเปลี่ยนแปลงสรีรวิทยาของระบบสืบพันธุ์ของสิ่งมีชีวิตที่อาศัยอยู่ในแหล่งน้ำนั้น เช่น การเกิดลักษณะของเพศเมียร่วมในเพศผู้ที่จะเกิดผลกระทบต่อโครงสร้างของประชากร สัดส่วนเพศของปลาที่อาจทำให้เสียความสมดุลของระบบนิเวศในอนาคได้

เอกสารอ้างอิง

- Arukwe, A., Celius, T., Walther, T. and Goksoyr, A. (2000). Effects of xenoestrogen treatment on zona radiata protein and vitellogenin expression in Atlantic salmon (*Salmo salar*). *Aquatic Toxicology*. 49: 159-170.
- Arukwe, A. and Goksoyr, A. (2003). Eggshell and egg yolk proteins in fish: hepatic proteins for the next generation: oogenetic, population, and evolutionary implications of endocrine disruption. *Comparative Hepatology*. 2: 1-21.
- Arukwe, A., Knudsen, F. R. and Goksoyr, A. (1997). Fish zona radiata (eggshell) protein: a sensitive biomarker for environmental estrogens. *Environmental Health Perspectives*. 105: 418-422.
- Arukwe, A., Kullman, S. W., Berg, K., Goksoyr, A. and Hinton, D. E. (2002). Molecular cloning of rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*) eggshell zona radiata protein complementary DNA: mRNA expression in 17 β -estradiol- and nonylphenol-treated fish. *Comparative Biochemistry and Physiology Part B*. 132: 315-326.
- Baronti, C., Curini, R., D'Ascenzo, G., Corcia, A. D., Gentili, A. and Samperi, R. (2000). Monitoring natural and synthetic estrogens at activated sludge sewage treatment plants and in a receiving river water. *Environmental Science & Technology*. 34: 5059-5066.
- Begovac, P. C. and Wallace, R. A. (1989). Major vitelline envelope protein in pipefish oocytes originate within the follicle and are associated with the Z3 layer. *Journal of Experimental Zoology*. 254: 56-73.
- Bjornsson, B. T., Haux, C., Forlin, L. and Deftos, L. J. (1986). The involvement of calcitonin in the reproductive physiology of the rainbow trout. *Journal of Endocrinology*. 108: 17-23.
- Celius, T., Matthews, J. B., Giesy, J. P. and Zacharewski, T. R. (2000). Quantification of rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*) zona radiata and vitellogenin mRNA levels using real-time PCR after in vivo treatment with estradiol-17 β or α -zearalenol. *Journal of Steroid Biochemistry and Molecular Biology*. 75: 109-119.
- Chang, Y. S., Wang, S. C., Tsao, C. C. and Huang, F. L. (1996). Molecular cloning, structural

- analysis, and expression of carp ZP3 gene. *Molecular Reproduction and Development*. 44: 195-304.
- Elliott, J. A. K., Bromage, N. R. and Springate, J. R. C. (1984). Changes in reproductive function of three strains of rainbow trout exposed to constant and seasonally-changing light cycles. *Aquaculture*. 43: 23-34.
- Fossi, M. C., Casini, S., Marsili, L., Neri, G., Mori, G., Ancora, S., Moscatelli, A., Ausili, A. and Notarbartolo-di-Sciara, G. (2002). Biomarkers for endocrine disruptors in three species of Mediterranean large pelagic fish. *Marine Environmental Research*. 54: 667-671.
- Goksoyr, A., Arukwe, A., Larsson, J., Cajaraville, M. P., Haucer, L., Nilson, B. M., Lowe, D. and Mattiessen, P. (2003). Molecular/cellular processes and the impact on reproduction. In A. J. Lawrence and K. L. Hemingway (Eds.), *Effect of Pollution on Fish*. Oxford: Blackwell Science, pp. 179-220.
- Johnson, A. C. and Sumpter, J. P. (2001). Removal of endocrine disrupting chemicals in activated sludge treatment works. *Environmental Science and Technology*. 35: 4697-4703.
- Jurgens, M. D., Holthaus, K. I., Johnson, A. C., Smith, J. L., Hetheridge, M. and Williams, R. J. (2002). The potential for estradiol and ethinylestradiol degradation in English rivers. *Environmental Toxicology and Chemistry*. 21: 480-488.
- Kagawa, H., Young, G., Adachi, S. and Nagahama, Y. (1982). Estradiol-17 β production in amago salmon (*Oncorhynchus rhodurus*) ovarian follicles: role of the thecal and granulosa cells. *General and Comparative Endocrinology*. 47: 440-448.
- Knoebel, I., Hemmer, M. J., Denslow, N. D. (2004). Induction of zona radiata and vitellogenin gene in estradiol and nonylphenol exposed male sheepshead minnows (*Cyprinodon variegatus*). *Marine Environmental Research*. 58: 547-551.
- Kuster, M., Lopes de Alda, M. J. and Barcelo, D. (2004). Analysis and distribution of estrogen and progestogens in sewage sludge, soils and sediments. *Trend in Analytical Chemistry*. 23: 790-798.
- Lee, C., Na, J. G., Lee, K-K. and Park, K. (2002). Choriogenin mRNA induction in male medaka, *Oryzias latipes* as a biomarker of endocrine disruption. *Aquatic Toxicology*. 61: 233-241.
- Maradonna, F. and Carnevali, O. (2007). Vitellogenin, zona radiata protein, cathepsin D and heat shock protein 70 as biomarkers of response to xenobiotics. *Biomarkers*. 12: 240-255.
- Matozzo, V., Gagne, F., Marin, M. G., Ricciardi, F. and Blaise, C. (2008). Vitellogenin as a biomarker of exposure to estrogenic compounds in aquatic invertebrates: a review. *Environment International*. 34: 531-545.
- McLachlan, J. A. (2001). Environmental signaling: what embryos and evolution teach us about endocrine disrupting chemicals. *Endocrine Review*. 22: 319-341.
- Orlando, E. F., Kolok, A. S., Binzick, G. A., Gates, J. L., Horton, M. K., Lambright, C. S., Gray,

- L. E., Soto, A. M. and Guillette, L. J. (2004). Endocrine-disrupting effects of cattle feedlot effluent on an aquatic sentinel species, the fathead minnow. *Environmental Health Perspectives*. 112: 353-358.
- Scholz, S. and Mayer, I. (2008). Molecular biomarkers of endocrine disruption in small model fish. *Molecular and cellular Endocrinology*. 293: 57-70.
- Sun, P. L. and Tsai, S-S. (2009). Intersex tilapia (*Oreochromis* spp.) from a contaminated river in Taiwan: a case study. *Toxins*. 1: 14-24.
- Toft, G. and Baatrup, E. (2001). Sexual characteristics are altered by 4-tert-octylphenol and 17 β -estradiol in the adult male guppy (*Poecilia reticulata*). *Ecotoxicological and Environmental Safety*. 48. 76-84.
- Tong, Y., Shan, T., Poh, Y. K., Yan, T., Wang, H., Lam, S. H. and Gong, Z. (2004). Molecular cloning of zebrafish and medaka vitellogenin genes and comparison of their expression in response to 17 β -estradiol. *Gene*. 328: 25-36.
- Van der Ven, L. T. M., Holbech, H., Fenske, M., Van den Brandhop, E-J., Gielis-Propert, F. K. and Wester, P. W. (2003). Vitellogenin expression in zebrafish *Danio rerio*: evaluation by histochemistry, immunohistochemistry, and in situ mRNA hybridisation. *Aquatic Toxicology*. 65: 1-11.
- Vetillard, A. and Bailhache, T. (2005). Cadmium: an endocrine disrupter that affects gene expression in the liver and brain of juvenile rainbow trout. *Biology of Reproduction*. 72: 119-126.
- Vetillard, A. and Bailhache, T. (2006). Effects of 4-n-nonylphenol and tamoxifen on salmon gonadotropin-releasing hormone, estrogen receptor, and vitellogenin gene expression in juvenile rainbow trout. *Toxicological Sciences*. 92: 537-544.
- Ying, G-G., Kookana, R. S. and Ru, Y-J. (2002). Occurrence and fate of hormone steroids in the environment. *Environment International*. 28: 545-551.
- Yu, R. M. K., Wong, M. M. L., Kong, R. Y. C., Wu, R. S. S. and Cheng, S. H. (2006). Induction of hepatic choriogenin mRNA expression in male marine medaka: a highly sensitive biomarker for environmental estrogens. *Aquatic Toxicology*. 77: 348-358.
- Zhang, X., Li, Q., Li, G., Wang, Z. and Yan, C. (2009). Levels of estrogenic compounds in Xiamen Bay sediment, China. *Marine Pollution Bulletin*. 58: 1210-1216.





ผลของโลหะหนักต่อสัตว์หน้าดินจำพวกหอย

Effect of Heavy Metals on Mollusk

ลำไย ธีรรัตน์พันธุ์¹

บทนำ

ปัญหาสิ่งแวดล้อมในปัจจุบันนับวันจะทวีความรุนแรงขึ้นเรื่อยๆ โดยสาเหตุเกิดจากการเจริญเติบโตทางเศรษฐกิจ การใช้ความรู้ทางวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยีเพื่อเพิ่มผลผลิตให้สอดคล้องกับการเพิ่มของประชากรทั้งการใช้สารเคมีเพื่อเพิ่มผลผลิตทางเกษตร การเพิ่มจำนวนของโรงงานอุตสาหกรรม และกระจายไปสู่ส่วนภูมิภาคต่าง ๆ ทำให้เกิดปัญหาตามมา มลพิษอันเกิดจากสารเคมีที่ปล่อยออกมาจากกระบวนการผลิตลงสู่สิ่งแวดล้อม ทำให้มีการปล่อยของเสียออกสู่สิ่งแวดล้อมจนเกินขีดความสามารถของธรรมชาติที่จะย่อยสลายได้ ส่งผลให้เกิดปัญหาด้านสิ่งแวดล้อมที่มีความรุนแรง และยากต่อการแก้ไข การรั่วไหลปนเปื้อนของโลหะหนักในแหล่งน้ำเป็นปัญหาที่มีความสำคัญประการหนึ่งเนื่องจากโลหะหนักส่วนใหญ่เป็นธาตุที่อยู่ในกลุ่มโลหะทรานสิชัน ซึ่งเป็นพิษต่อสิ่งมีชีวิต โลหะหนักเป็นสารที่คงตัว ไม่สามารถสลายตัวได้ในกระบวนการธรรมชาติ จึงมีบางส่วนตกตะกอนสะสมอยู่ในดิน และดินตะกอนที่อยู่ในระบบนิเวศแหล่งน้ำ รวมถึงสามารถสะสมในเนื้อเยื่อของสิ่งมีชีวิต โดยเฉพาะสัตว์ที่อาศัยอยู่อย่างถาวรในบริเวณนั้นๆ ด้วย การสะสมโลหะหนักดังกล่าวจะมี

แนวโน้มเพิ่มสูงขึ้นตามลำดับขั้นของห่วงโซ่อาหาร (bioaccumulation in trophic level) และหากมีปริมาณมาก ก็จะทำให้เกิดอันตรายต่อสัตว์น้ำนั้นๆ ตลอดจนผู้น้ำสัตว์นั้นๆ ไปเป็นอาหารด้วย

หอยเป็นสัตว์ไม่มีกระดูกสันหลังที่จัดอยู่ในไฟลัมมอลลัสคา (phylum mollusca) (Barnes, 1986) และมีวงจรชีวิตส่วนใหญ่อาศัยอยู่บริเวณตะกอนดิน ซึ่งเป็นแหล่งสะสมของโลหะหนักได้เป็นอย่างดี สัตว์ในไฟลัมนี้มักมีเปลือกแข็งห่อหุ้มร่างกายเพื่อป้องกันอันตราย และป้องกันสภาพแวดล้อมที่อาจเปลี่ยนแปลงไปในทางที่ไม่เหมาะสมสำหรับการดำรงชีวิต ร่างกายของหอยโดยทั่วไปแบ่งออกเป็น 4 ส่วนด้วยกันคือ ส่วนหัว ส่วนเท้า ส่วนอวัยวะภายใน (visceral mass) และแมนเทิล (mantle) จากลักษณะการมีเปลือกแข็งห่อหุ้มร่างกายเพื่อป้องกันอันตรายทำให้หอยเป็นกลุ่มสิ่งมีชีวิตที่มีช่วงความทน (tolerant range) ต่อมลพิษในระบบนิเวศแหล่งน้ำค่อนข้างกว้าง และมีคุณสมบัติที่สามารถสะสมสารพิษและของเสียบางประเภทไว้ในเนื้อเยื่อได้ดี ด้วยเหตุนี้จึงทำให้สามารถพบเห็นหอยทั้งหอยฝาเดียว (gastropod) และหอยสองฝา (bivalve) ได้ตามท่อระบายน้ำและแหล่งน้ำเสียทั่วไปอีกทั้งหอยยังเป็นอาหารที่นิยมของมนุษย์ด้วย ดังนั้นหากหอยที่

¹ ภาควิชาวิทยาศาสตร์สิ่งแวดล้อม คณะวิทยาศาสตร์ มหาวิทยาลัยขอนแก่น อ.เมือง จ.ขอนแก่น 40002

อาศัยอยู่ในแหล่งน้ำที่ได้รับโลหะหนัก สิ่งมีชีวิตชนิดนี้ ก็ย่อมได้รับผลของความเป็นพิษของโลหะหนักในแหล่งน้ำด้วย

บทความนี้จะกล่าวถึงผลของโลหะหนัก ต่อสัตว์หน้าดินจำพวกหอยที่อาศัยอยู่ในระบบนิเวศแหล่งน้ำ โดยเริ่มจากการละลายของแร่ธาตุในระบบนิเวศแหล่งน้ำ แหล่งที่มาและชนิดของโลหะหนักที่ทำให้เกิดมลภาวะเป็นพิษสูงในแหล่งที่อยู่อาศัยของสัตว์หน้าดินจำพวกหอย รวมถึงผลของโลหะหนักที่เกิดขึ้นในระดับเซลล์ของสัตว์หน้าดินจำพวกหอย

การละลายของแร่ธาตุในระบบนิเวศแหล่งน้ำ

เนื่องจากหอยเป็นสัตว์หน้าดินที่อาศัยอยู่บริเวณตะกอนดินในระบบนิเวศแหล่งน้ำ ดังนั้นจึงควรทำความรู้จักว่าแร่ธาตุที่ละลายอยู่ในระบบนิเวศแหล่งน้ำมีที่ไปที่มาอย่างไร เพราะแร่ธาตุที่ละลายอยู่ในน้ำนั้นจะตกตะกอนสะสมอยู่ในตะกอนดินซึ่งเป็นแหล่งที่อยู่อาศัยของหอยด้วยเช่นกัน ทั้งนี้เนื่องจากการที่น้ำมีคุณสมบัติพิเศษในการที่จะทำให้สารต่างๆ อยู่ในรูปของสารละลาย พร้อมทั้งมีส่วนร่วมในปฏิกิริยาทางเคมีด้วย

สารเคมีที่ละลายอยู่ในระบบนิเวศแหล่งน้ำ อาจจะได้มาจากดิน อากาศ และจากเมแทบอลิซึมของสิ่งมีชีวิต แม้แต่น้ำฝนนอกจากจะมีแร่ธาตุต่างๆ ปนอยู่ด้วยเล็กน้อยแล้ว ก็ยังมีก๊าซต่าง ๆ อีกด้วย สิ่งมีชีวิตที่อาศัยอยู่ในระบบนิเวศแหล่งน้ำได้ใช้พวกแร่ธาตุต่าง ๆ เหล่านี้เองในการดำรงชีวิต และการเจริญเติบโต สารบางประเภทถ้ามีปริมาณเหมาะสมก็จะทำให้สิ่งมีชีวิตเจริญเติบโตได้ดี แต่ถ้ามีปริมาณมากหรือน้อยเกินไปจะทำให้สิ่งมีชีวิตบางชนิดอาจทนอาศัยไม่ได้หรือหยุดชะงักการเจริญเติบโต และมีสารบางประเภทถ้าหากมีปรากฏในระบบนิเวศแหล่งน้ำก็อาจมีอันตรายต่อสิ่งมีชีวิตได้เช่นเดียวกัน ดังตัวอย่างการปนเปื้อนของโลหะหนักในระบบนิเวศแหล่งน้ำในปัจจุบัน ซึ่งมีรายงานการศึกษาของ Sawyer et al. (2003) พบว่าแบคทีเรียต้องการ โคบอลต์ ทองแดง แมงกานีส

โมลิบดีนัม แวนาเดียม และสังกะสีในปริมาณที่เหมาะสมต่อการเจริญเติบโต อย่างไรก็ตามปริมาณโลหะหนักที่มากเกินไปจะสร้างสิ่งแวดล้อมที่เป็นพิษต่อจุลินทรีย์เหล่านี้ ส่งผลให้ไม่สามารถดำรงชีวิตอยู่ได้จากตัวอย่างนี้จะเห็นได้ว่าโลหะหนักดังกล่าวมีผลเสียต่อจุลินทรีย์ ดังนั้นหอยซึ่งเป็นสิ่งมีชีวิตที่อาศัยอยู่บริเวณพื้นตะกอนในระบบนิเวศแหล่งน้ำที่มีการปนเปื้อนของโลหะหนักก็อาจจะได้รับพิษจากโลหะหนักด้วยเช่นกัน

ระบบนิเวศแหล่งน้ำได้รับมลสารจากหลายแหล่งกำเนิด มลสารหลายชนิดรวมถึงโลหะหนัก ความเป็นพิษต่อสิ่งมีชีวิตในระบบนิเวศแหล่งน้ำ และเป็นสาเหตุให้สิ่งมีชีวิตเหล่านั้นตาย (Krenkle, 1975) สัตว์หน้าดินจำพวกหอยจึงกลายเป็นสิ่งมีชีวิตที่ใช้เป็นดัชนีชี้วัด (bioindicator) และตรวจสอบสภาพแวดล้อม (biomonitoring) ในระบบนิเวศแหล่งน้ำ เนื่องจากสัตว์หน้าดินจำพวกหอยมีความอุดมสมบูรณ์ทั้งในระบบนิเวศบกและระบบนิเวศแหล่งน้ำซึ่งทำให้ง่ายต่อการเก็บตัวอย่าง และการที่สัตว์หน้าดินจำพวกหอยมีความทนต่อมลสารและมีการสะสมมลสารในตัวเอง โดยเฉพาะอย่างยิ่งโลหะหนัก ตัวอย่างเช่น สัตว์หน้าดินจำพวกหอยที่อาศัยอยู่ในทะเลสามารถที่จะสะสมโลหะหนักและเป็นสิ่งมีชีวิตที่ใช้ในการติดตามตรวจสอบการปนเปื้อนของโลหะหนักได้เป็นอย่างดี (Wang et al., 2005) ยิ่งไปกว่านั้นการสะสมของโลหะหนักในหอยสองฝาและหอยฝาเดียวซึ่งเป็นสิ่งมีชีวิตที่มีความอุดมสมบูรณ์ในบริเวณชายฝั่งทะเลและมีบทบาทที่สำคัญในการเป็นสิ่งมีชีวิตที่ใช้ในการติดตามตรวจสอบการปนเปื้อนของโลหะหนัก (Serincano, 2000)

แหล่งแพร่กระจายของโลหะหนักสู่แหล่งที่อยู่อาศัยของหอย

ปัจจุบันมีการใช้โลหะหนักเป็นจำนวนมากทั้งในภาคเกษตร และอุตสาหกรรม ในด้านอุตสาหกรรมจะใช้โลหะหนักในการผลิตพลาสติก พีวีซี สี ถ่านไฟฉาย สำหรับทางด้านการเกษตรจะใช้โลหะ

หนักเป็นส่วนผสมของยาฆ่าแมลงและปุ๋ย ขณะเดียวกันทางการแพทย์ก็จะใช้โลหะหนักเป็นส่วนผสมของยา อุปกรณ์ทางการแพทย์และเครื่องสำอาง นอกจากนี้โลหะหนักอาจมาจากเครื่องใช้ในครัวเรือน ดังนั้นแหล่งแพร่กระจายของโลหะหนักสู่แหล่งที่อยู่อาศัยของหอยจึงน่าจะมาจากสาเหตุการปนเปื้อนลงสู่แหล่งน้ำธรรมชาติ กระบวนการผลิต วัตถุดิบ และสารเคมีที่ถูกปล่อยเป็นของเสียออกมาจากโรงงานอุตสาหกรรมประเภทต่าง ๆ เช่น โรงงานผลิตแบตเตอรี่ อุตสาหกรรมเหมืองแร่ (Allan, 1997) ซึ่งน้ำที่เหลือทิ้งจากกระบวนการผลิตของอุตสาหกรรมเหล่านี้มักจะปนเปื้อนด้วยโลหะหนักบางประเภทที่หากถูกปล่อยสู่แหล่งน้ำธรรมชาติหรือภายนอกโรงงานโดยไม่มีการ

บำบัด ก็จะสร้างผลเสียต่อสิ่งแวดล้อมอย่างร้ายแรง และมีผลกระทบต่อคุณภาพชีวิตของคนที่อาศัยอยู่ในบริเวณนั้น ซึ่งมีความเสี่ยงต่อการนำโลหะหนักเข้าสู่ร่างกายผ่านทาง การบริโภคอาหาร หรือดื่มน้ำที่มีสารเหล่านี้ปนเปื้อนอยู่ โดยเฉพาะชุมชนที่อาศัยอยู่ในบริเวณโรงงานที่ขาดจิตสำนึก ซึ่งมักจะลักลอบเทของเสียลงดินหรือลงสู่แหล่งน้ำ หรือทำการกำจัดกากของเสียอย่างผิดวิธี ทั้งนี้เนื่องจากการลดรายจ่าย โลหะหนักบางชนิดสามารถให้ทั้งคุณและโทษต่อสิ่งมีชีวิต ขึ้นกับชนิดของสิ่งมีชีวิตและปริมาณที่ได้รับเข้าไป ตัวอย่างลักษณะของที่ตั้งโรงงานที่เสี่ยงต่อการปนเปื้อนของโลหะหนักสู่สิ่งแวดล้อมดังแสดงในรูปที่ 1



รูปที่ 1 ลักษณะที่ตั้งโรงงานที่เสี่ยงต่อการปนเปื้อนของโลหะหนักสู่สิ่งแวดล้อม

ชนิดของโลหะหนักที่ทำให้เกิดมลภาวะเป็นพิษสูงในแหล่งที่อยู่อาศัยของหอย

ชนิดของโลหะหนักที่ทำให้แหล่งที่อยู่อาศัยของหอยมีมลภาวะเป็นพิษสูง คือปรอท ตะกั่ว และแคดเมียม โดยรายละเอียดความเป็นพิษของโลหะหนักแต่ละชนิดมีดังต่อไปนี้

ปรอท (Mercury)

ปรอทเป็นโลหะหนักในลำดับที่ 3 ของสารพิษจำนวน 20 อันดับแรกที่ประกาศโดย The Agency for Toxic Substances and Disease Registry (ATSDR) ได้จัดอันดับไว้ ว่ามักพบปนเปื้อนอยู่ในอากาศ น้ำ และดิน เป็นส่วนใหญ่ (Britt, 2009) สาเหตุมาจากการเผาไหม้เชื้อเพลิง การเผาขยะ ขยะผลิตภัณฑ์ที่ใช้ตามบ้านเรือน และโรงงานอุตสาหกรรมที่ใช้สารปรอท

เป็นวัตถุดิบ เช่น โรงงานผลิตเชื้อกระดาษ โรงงานผลิตพลาสติก โรงงานผลิตเภสัชภัณฑ์หรือโรงงานไฟฟ้า ที่ใช้ถ่านหิน นอกจากนี้พบสารปรอทได้ในเครื่องสำอางและอาหาร โดยเฉพาะอาหารทะเลพบมากในสัตว์ทะเลตัวใหญ่ เช่น ฉลาม ทูน่า โลมา วาฬ เนื่องจากมีช่วงชีวิตที่ยืนยาวและกินปลาเล็กเป็นอาหาร จึงมีโอกาสสะสมสารปรอทอยู่ในตัวค่อนข้างมาก ซึ่งจะเรียกกระบวนการนี้ว่า Biomagnifications ดังนั้นความเชื่อที่ว่าหูลามเป็นอาหารมีคุณค่าก็ไม่ได้หมายความว่า จะเป็นเช่นนั้นเสมอไป ซึ่งการปนเปื้อนของสารปรอทจากแหล่งน้ำธรรมชาติมีสาเหตุมาจากโรงงานอุตสาหกรรมมักปล่อยสารปรอทย่อยออกมาปนน้ำทิ้งของโรงงานนั่นเอง

ปรอท เป็นโลหะหนักที่เป็นของเหลวระเหยเป็นไอได้ง่ายในภาวะปกติ ไอปรอทเป็นพิษต่อมนุษย์มาก โดยอาการเป็นพิษมี 2 ลักษณะคือ พิษเฉียบพลัน เกิดจากการได้รับสารปรอทครั้งเดียวปริมาณมาก และพิษเรื้อรัง เกิดจากการได้รับสารปรอทสะสมทีละน้อยเป็นระยะเวลานาน อวัยวะเป้าหมายหลักที่ปรอทเข้าไปทำปฏิกิริยา คือ สมองและไต ปรอทที่อยู่ในรูปสารประกอบอินทรีย์ มีความเป็นพิษสูงที่สุด เพราะร่างกายสามารถดูดซึมในทางเดินอาหารได้ถึงร้อยละ 95 - 98 และขับออกมาในรูปของเสียได้น้อยมาก ตัวอย่างเช่นในพืชน้ำจืดจะได้รับผลจากปรอทที่อยู่ในน้ำที่ระดับความเข้มข้นประมาณ 1 มิลลิกรัมต่อลิตร ส่วนสิ่งมีชีวิตในแหล่งน้ำโดยทั่วไปในระยะตัวอ่อนจะมีความไวต่อปรอทมากกว่า (WHO, 1991) แววดาทองระอา และสมพงษ์ ดุลยจินดาขบพร (2530) ได้ทำการศึกษาผลของปรอทต่อสิ่งมีชีวิต โดยศึกษาผลของปรอทและแคดเมียมที่มีต่อการตายของลูกปูจากพบว่า ปรอทมีพิษต่อลูกปูจากมากกว่าแคดเมียม 26.15 เท่า ระดับความเข้มข้นที่ปลอดภัยของปรอทและแคดเมียมต่อลูกปูจากมีค่าอยู่ระหว่าง 0.78-1.95 และ 20.4-51.0 ส่วนในพันล้านส่วน ตามลำดับ นอกจากนี้ระดับความเป็นพิษของปรอทจะมีผลจากอุณหภูมิ ความเค็ม การละลายของออกซิเจน และความ

กระด้างของน้ำในระบบนิเวศแหล่งน้ำนั้นๆ ดังตัวอย่างการศึกษาของ Verlecar et al. (2007) ศึกษาพบว่าอุณหภูมิมีผลต่อการสะสมของปรอทในหอยชนิด *Perna viridis* นอกจากนี้ยังมีการศึกษาของ Gagnaire et al. (2004) พบว่าปรอทมีผลโดยตรงต่อการทำงานของระบบภูมิคุ้มกันในหอยนางรม

เหตุการณ์ที่เกี่ยวข้องกับสารปรอทครั้งรุนแรงมากที่สุดคือ ที่เมืองมินามาตะ ประเทศญี่ปุ่น เมื่อปี พ.ศ. 2496 ทำให้เกิด “โรคมินามาตะ” สาเหตุมาจากการบริโภคน้ำที่จับมาจากอ่าวมินามาตะซึ่งปนเปื้อนสารปรอททำให้ผู้ป่วยจำนวนมากมีอาการทางระบบประสาทส่วนกลาง และเด็กมีอาการทางสมอง จากเหตุการณ์เหล่านี้แสดงให้เห็นถึงการปนเปื้อนของโลหะหนักมีผลกระทบโดยตรงต่อผู้บริโภคในห่วงโซ่อาหาร โดยสารอินทรีย์ปรอทที่มีผลต่อระบบสิ่งมีชีวิตจะอยู่ในรูป MeHg (Methylmercury) ซึ่งจะละลายในเลือดและมีผลต่อสมอง (Weil et al., 2005) ความเป็นพิษของปรอทที่มีต่อสิ่งมีชีวิตในระบบนิเวศแหล่งน้ำมีการศึกษากันอย่างกว้างขวาง ดังการศึกษาของ Boening (2000), Morel et al. (1998), Goyer and Clarkson (2001) และ National Academy of Sciences (NAS, 2000)

ตะกั่ว (Lead)

ตะกั่วเป็นโลหะหนักในลำดับที่ 2 ของสารพิษจำนวน 20 อันดับแรกที่ประกาศโดย The Agency for Toxic Substances and Disease Registry (ATSDR) ได้จัดอันดับไว้ ปัจจุบันอุตสาหกรรมมีการใช้ตะกั่วเป็นวัตถุดิบเป็นจำนวนมาก ในทุกๆ ปีมีการใช้ตะกั่วในกระบวนการผลิตประมาณ 2.5 ล้านตันทั่วโลก ซึ่งส่วนใหญ่ใช้ในแบตเตอรี่ การหุ้มสายเคเบิล และกระสุน นอกจากนี้ยังพบในเม็ดสี พลาสติกพีวีซี ดินสอ และยาฆ่าแมลง (Britt, 2009) จึงมีการปลดปล่อยตะกั่วในรูปของสารมลพิษออกสู่สภาวะแวดล้อม ทำให้มีการปนเปื้อนของตะกั่วทั้งในดิน แหล่งน้ำ และอากาศ ตะกั่วสามารถเข้าสู่ร่างกายได้ 3 ทาง คือ ทางอาหาร

ทางการหายใจ และทางผิวหนัง อวัยวะเป้าหมายหลักที่ตะกั่วเข้าไปทำปฏิกิริยา คือ กระดูก สมอง และต่อมไทรอยด์ นอกจากนี้ ตะกั่วยังมีผลต่อดับ หัวใจ และเส้นเลือด ภาวะเจริญพันธุ์ โครโมโซม และเป็นสารชักนำให้เกิดโรคมะเร็งรวมทั้งความพิการแต่กำเนิด

สำหรับมนุษย์มีโอกาสดำรับสารตะกั่วโดยตรงจากการบริโภคอาหาร น้ำดื่ม หรือหายใจเอาสารตะกั่วเจือปนเข้าไป กลุ่มผู้เสี่ยงต่อการเกิดโรคพิษตะกั่ว ได้แก่ คนงานที่ทำเหมืองตะกั่ว โรงงานผลิตแบตเตอรี่ โรงงานผลิตชิ้นส่วนอิเล็กทรอนิกส์และคอมพิวเตอร์ โรงงานผลิตสี โรงงานผลิตสารพิษกำจัดศัตรูพืช และคนที่อาศัยอยู่ใกล้บริเวณโรงงานหลอมตะกั่วหรือใกล้โรงงานที่มีการใช้สารตะกั่วเป็นวัตถุดิบ ตำรวจจราจร และคนที่อยู่ในบริเวณที่มีการจราจรหนาแน่นเป็นเวลานาน เด็กอาจได้รับสารตะกั่วจากการหยิบสิ่งที่มีสารตะกั่วปนเปื้อนเข้าปาก หรือรับจากนมแม่ที่มีสารตะกั่ว แม้แต่ทารกในครรภ์ก็สามารถรับสารตะกั่วจากการคาได้ทางสายสะดือ สารตะกั่วมีพิษมากโดยเฉพาะเด็ก ซึ่งอาจมีผลทำให้สมองพิการ ส่วนผู้ใหญ่อาจมีผลต่อระบบทางเดินอาหาร และระบบประสาท สำหรับอันตรายโดยทั่วไปนั้นทำให้เม็ดเลือดแดงอายุสั้นลง ทำให้เป็นโรคโลหิตจาง และเป็นอันตรายต่อระบบประสาท ไต ทางเดินอาหาร ตับ และหัวใจ

ความเป็นพิษของตะกั่วมีผลต่อพืชน้ำใน ระดับที่อาจจะพบทั่วไปในสิ่งแวดล้อม ซึ่งตะกั่วมีความเป็นพิษแบบเฉียบพลันต่อสัตว์ไม่มีกระดูกสันหลังในระบบนิเวศแหล่งน้ำที่ระดับความเข้มข้น 0.1- 40 มิลลิกรัมต่อลิตรในแหล่งน้ำจืด และ 2.5-500 มิลลิกรัมต่อลิตรในน้ำทะเล (WHO, 1989) ดังการศึกษาการเปลี่ยนแปลงของสังคมสัตว์หน้าดินขนาดใหญ่ในบริเวณแหล่งน้ำใกล้เหมืองแร่ที่กำลังดำเนินการและเหมืองแร่ร้าง พบว่าชนิดของสัตว์หน้าดินในบริเวณดังกล่าวลดลงจำนวนลง (Humphrey and Lister, 2004; Lister and Humphrey, 2005) นอกจากนี้ยังมีการศึกษาของ Reinhold et al. (1999) พบว่า การ

ปนเปื้อนของตะกั่วในแหล่งน้ำส่งผลกระทบต่อสัตว์ไม่มีกระดูกสันหลังขนาดใหญ่โดยทำให้สังคมสิ่งมีชีวิตดังกล่าวลดลง

แคดเมียม (Cadmium)

แคดเมียมเป็นโลหะหนักในลำดับที่ 7 ของสารพิษจำนวน 20 อันดับแรกที่ประกาศโดย The Agency for Toxic Substances and Disease Registry (ATSDR) ได้จัดอันดับไว้ (Britt, 2009) แคดเมียมเป็นธาตุที่มีอยู่น้อยในสภาพตามธรรมชาติ แต่เป็นธาตุที่มีความเป็นพิษมากที่สุดตัวหนึ่งของโลหะหนักที่ปนเปื้อนในสิ่งแวดล้อม (UNEP, 1978; Nriagu, 1980) โดยทั่วไปจะพบแคดเมียมในระดับความเข้มข้นไม่เกิน 1 ส่วนในล้านส่วน แคดเมียมที่ปนเปื้อนอยู่ในสภาวะแวดล้อมจากอุตสาหกรรมหลายประเภท อาจเข้าสู่ร่างกายมนุษย์ได้ คือ ทางอากาศโดยการหายใจ ทางอาหาร น้ำ เมื่อได้รับเนื่องจากการสูดดมหรือการหายใจเอาควัน ที่มีแคดเมียมปนเปื้อนเข้าไปเล็กน้อยจะมีอาการแบบเฉียบพลันอย่างอ่อนที่เกิดขึ้นคือ คอแห้ง ระคายคอ แน่นหน้าอก ปวดศีรษะ เมื่อได้รับมากขึ้นจะมีอาการหายใจไม่ออก ไอไม่หยุด ถ้ายังคงสูดหายใจเข้าไปอีกก็อาจตายได้ ยิ่งไปกว่านั้นแคดเมียมมีความเป็นพิษที่สูงมากต่อมนุษย์ สัตว์ และพืช แม้ว่า จะได้รับในปริมาณเพียงเล็กน้อยก็ตาม (Benavides et al., 2005) ส่วนอาการที่เกิดจากการกินอาหารหรือน้ำที่มีแคดเมียมเจือปน คือ อาเจียนและท้องร่วง การได้รับพิษเรื้อรังที่เรียกว่า โรคอิไต - อิไต ทำให้ผู้ได้รับพิษได้รับความเจ็บปวดทรมานมาก เพราะเกิดอาการกระดูกและไตพิการ แคดเมียมที่เข้าสู่ร่างกายจะทำความเสียหายต่อระบบต่างๆ ภายในร่างกายได้แก่ ไต กระดูก ปอด ตับ หัวใจและการทำงานของเอนไซม์ สำหรับความเป็นพิษของแคดเมียมที่มีต่อสภาพแวดล้อม เช่นการศึกษาของ Sriyaraj and Shutes (2001) พบว่ามีการปนเปื้อนของแคดเมียมในแหล่งน้ำบางแห่งในประเทศอังกฤษ จนทำให้คุณภาพน้ำต่ำลงและทำให้องค์ประกอบทางชีวภาพลดลงด้วย และความเป็นพิษ

ของแคดเมียมที่มีต่อสัตว์หน้าดินจำพวกหอย ดังเช่น ตัวอย่างการศึกษาของ Bebianno and Langston (1998) ทำการศึกษาพิษของแคดเมียมต่อเนื้อเยื่อของหอย ฝาดิยวชนิด *Littorina littorea* พบว่าแคดเมียมมีผล ต่อเหงือกและไตของหอย ยิ่งไปกว่านั้น Ivanina et al. (2008) ได้ทำการศึกษาความไวของแคดเมียม ต่อเซลล์ไมโทคอนเดรียใน หอยแมลงภู่นิคม *Crassostrea virginica* พบว่าแคดเมียมมีผลไปลด กิจกรรมของไมโทคอนเดรียในเซลล์

ความเป็นพิษของโลหะหนักที่เกิดกับสิ่งมีชีวิต โดยทั่วไป

ความเป็นพิษของโลหะหนักแต่ละชนิดจะเห็นว่ามีความรุนแรงมาก หากได้รับในปริมาณที่สูงก็จะยิ่งเป็นอันตรายต่อสิ่งมีชีวิตในระบบห่วงโซ่อาหาร ดังนั้นจึงสามารถที่จะบอกได้ว่าความเป็นพิษของโลหะหนักที่เกิดขึ้นกับสิ่งมีชีวิตโดยทั่วไปก็ว่าจะมีความเป็นพิษเหมือนกับที่มนุษย์ได้รับ โดยความเป็นพิษของโลหะหนักจะมีผลต่อระบบต่างๆ ของร่างกาย และจะมีผลไปรบกวนการทำงานของระบบเอนไซม์ของเซลล์ หลังจากนั้นจะจับยึดกับเยื่อหุ้มเซลล์ทำให้การควบคุม การลำเลียงของสารต่างๆ ของเยื่อหุ้มเซลล์ผิดปกติไป โลหะหนักบางชนิดมีผลต่อสมบัติทางด้านโครงสร้าง หรือเคมีไฟฟ้าของเซลล์สิ่งมีชีวิต ความเป็นพิษของโลหะหนัก ขึ้นอยู่กับรูปแบบทางเคมีของสารประกอบของโลหะหนักแต่ละชนิด และเส้นทางที่ร่างกายของสิ่งมีชีวิตได้รับเข้าไป เช่น ทางระบบหายใจ ระบบทางเดินอาหาร ผิวหนังของสิ่งมีชีวิตในระบบนิเวศแหล่งน้ำนั้นๆ โดยผลของความเป็นพิษของโลหะหนักในสิ่งมีชีวิตเกิดจากกลไกระดับเซลล์ 5 แบบ คือ

1. ทำให้เซลล์ตาย
2. เปลี่ยนแปลงโครงสร้างและการทำงานของเซลล์
3. เป็นตัวชักนำให้เกิดมะเร็ง
4. เป็นตัวทำให้เกิดความผิดปกติทางพันธุกรรม

5. ทำความเสียหายต่อโครโมโซม ซึ่งเป็นปัจจัยทางพันธุกรรม

การศึกษาวิจัยเกี่ยวกับโลหะหนัก

ปัจจุบันการศึกษาเกี่ยวกับโลหะหนักจะมีการศึกษาคุณภาพน้ำควบคู่ไปด้วยซึ่งได้มีหลายหน่วยงานที่ดำเนินการศึกษาดังกล่าว เช่น สำนักจัดการคุณภาพน้ำ กรมควบคุมมลพิษ กระทรวงทรัพยากรธรรมชาติและสิ่งแวดล้อม ส่วนการศึกษาวิจัยเกี่ยวกับการปนเปื้อนของโลหะหนักในแหล่งที่อยู่อาศัยของหอยมีทั้งการศึกษาในประเทศและต่างประเทศอีกมากมาย เช่น Katarzyna (1997) พบการสะสมของแคดเมียม ตะกั่ว และทองแดงในห่วงโซ่อาหารของระบบนิเวศแหล่งน้ำ Moore and Ramamoorthy (1984) ทำการศึกษาระบบเฝ้าระวังปริมาณโลหะหนักในธรรมชาติ

นอกจากจะมีการศึกษาการปนเปื้อนของโลหะหนักในน้ำและตะกอนดินดังกล่าวแล้ว ยังมีงานวิจัยอีกจำนวนมากที่พยายามตรวจวัดปริมาณโลหะหนักในสิ่งมีชีวิต ทั้งพืชและสัตว์ประเภทต่างๆ โดยส่วนใหญ่ได้ทำการศึกษาด้วยเทคนิค Atomic Absorption Spectroscopy (AAS) เช่น Relon (1996) ศึกษาปริมาณปรอทในปลาบางชนิดในประเทศฟิลิปปินส์ นอกจากนี้ Katarzyna (1997) ได้ศึกษาการสะสมของ แคดเมียม ตะกั่ว และทองแดง ในพืช น้ำ ปลา กุ้ง ปลา กุ้ง สัตว์ในระบบนิเวศทะเลสาบ และมีการศึกษาปริมาณการสะสมของโลหะหนักหลายชนิดในเนื้อเยื่อส่วนต่างๆ ของหอยน้ำจืด เช่น Le Pennec and Le Pennec (2001) และ Sud et al. (2001) เป็นต้น จากตัวอย่างงานวิจัยเหล่านี้แสดงให้เห็นว่าการศึกษาการปนเปื้อนของโลหะหนักเริ่มต้นศึกษาในระบบสิ่งแวดล้อมไปจนถึงการสะสมในสิ่งมีชีวิตที่อาศัยอยู่ในระบบนิเวศหรือระบบสิ่งแวดล้อม

ผลของโลหะหนักต่อกลุ่มสัตว์หน้าดิน

จำพวกหอย

หอย เป็นสัตว์อีกกลุ่มหนึ่งที่น่าสนใจในการศึกษาการสะสมของสารพิษในแหล่งน้ำ เช่น สารกำจัดศัตรูพืช และโลหะหนัก เป็นต้น ด้วยเหตุที่หอยจัดเป็นสัตว์หน้าดิน (benthos) และอาศัยอยู่ตามพื้นตะกอนของแหล่งน้ำ โดยเฉพาะในบริเวณที่มีสิ่งปนเปื้อนและมีสารอินทรีย์ปริมาณมาก ประกอบกับหอยเป็นสัตว์ที่มีความทนต่อสารอินทรีย์ และสารอนินทรีย์สูง มีความสามารถในการสะสมสารพิษในเนื้อเยื่อได้ดี เนื่องจากเป็นสัตว์ที่อาศัยอยู่กับที่ เคลื่อนที่ช้า และที่สำคัญคือหอยยังเป็นที่นิยมนำมาเป็นอาหารอีกด้วย หอยจึงเป็นสัตว์หน้าดินที่มีการศึกษาเกี่ยวกับการสะสมของสารพิษต่างๆ กันอย่างมาก จากผลดังกล่าวสามารถที่จะระบุได้ว่า หอยเป็นดัชนีทางชีวภาพที่บ่งชี้ถึงการปนเปื้อนของโลหะหนักในแหล่งน้ำได้ดีกว่าสัตว์น้ำชนิดอื่นที่เคลื่อนที่ได้

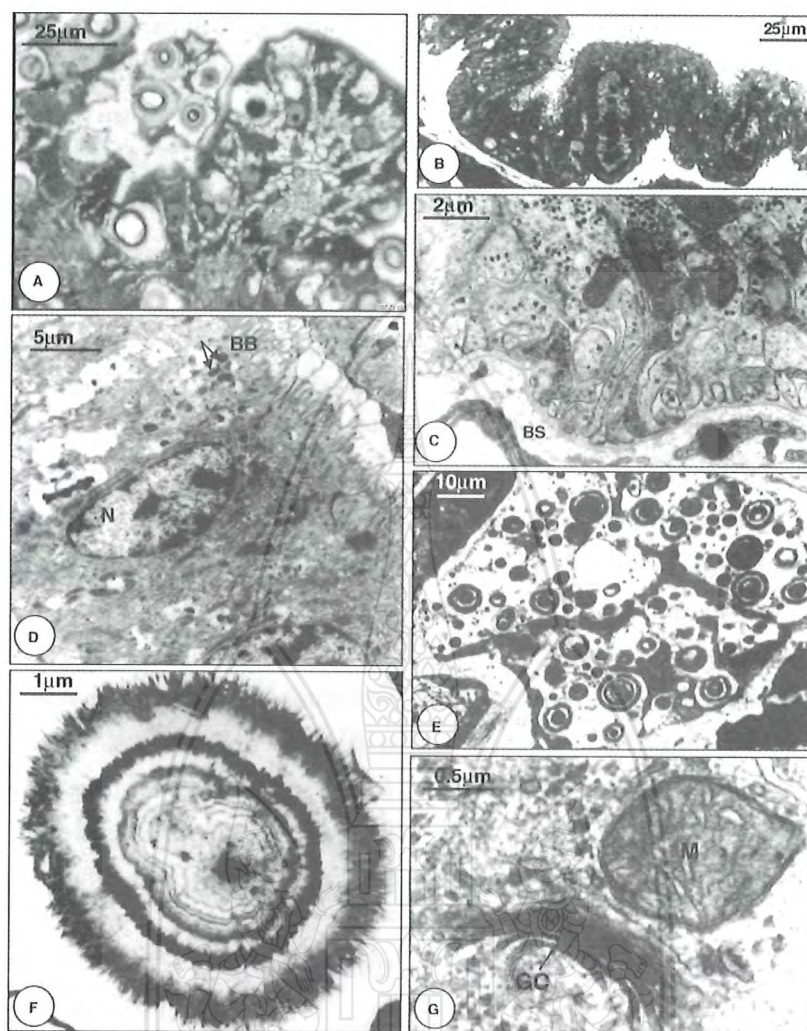
ผลของความเป็นพิษของโลหะหนักที่มีต่อสัตว์หน้าดินจำพวกหอย พบว่ามีผลในระดับเซลล์ ดังตัวอย่างการศึกษาของ ลาโย นิรดินพันธุ์ และชิตชล ผลารักษ์ (2551) ทำการศึกษาคุณภาพน้ำและปริมาณโลหะหนักในตะกอนดินและหอยกินได้ที่บึงโจด จังหวัดขอนแก่น พบว่าการสะสมของโลหะหนักในเนื้อเยื่อหอยมีปริมาณสูงกว่าในตะกอนดิน แสดงให้เห็นว่าสัตว์หน้าดินจำพวกหอยที่อาศัยอยู่ในบริเวณที่ได้รับการปนเปื้อนของโลหะหนักจะมีความเสี่ยงสูงต่อการได้รับโลหะหนัก นอกจากนี้ Chelomin et al. (1995) ทำการศึกษาการเหนี่ยวนำของแคดเมียมโดยใช้โลหะหนัก (ทองแดง สังกะสีและเหล็ก) ที่มีความจำเป็นต่อการเจริญเติบโตของหอยสเกลลอป ช่วยเหนี่ยวนำแคดเมียมเข้าไปในเนื้อเยื่อหอย พบว่าปริมาณความเข้มข้นของแคดเมียมในเนื้อเยื่อหอยสูงมากในอวัยวะของหอย โดยพบสูงมากในไต หัวใจ และอวัยวะสืบพันธุ์ ตามลำดับ ซึ่งแสดงให้เห็นว่าแคดเมียมมีการสะสมในเซลล์ไโดหอยมากกว่าอวัยวะส่วนอื่น อาจเนื่องจากไโดหอยเป็นอวัยวะที่ช่วยในการขับของเสีย

ออกจากร่างกาย ยิ่งกว่านั้น Desouky (2006) ได้ทำการศึกษาผลของแคดเมียมที่มีต่อเซลล์ไโดของหอย โดยเลี้ยงหอยเป็นเวลา 30 วันในน้ำที่มีแคดเมียมปนเปื้อนอยู่ซึ่งพบว่า เมื่อเซลล์ไโดได้รับแคดเมียมในระดับหนึ่งจะมีผลทำให้ไมโทคอนเดรียของเซลล์ไโดหอยโตขึ้นผิดปกติดังแสดงในรูปที่ 2 ซึ่งจะทำให้มีผลต่อการทำงานของไโดหอย

นอกจากนี้ Neeratanaphan (2009) ทำการศึกษาผลของโลหะหนักที่มีต่อเซลล์ไโดหอยในสภาพธรรมชาติ โดยศึกษาหอยในแหล่งน้ำที่ได้รับน้ำทิ้งจากโรงงานอุตสาหกรรมและแหล่งน้ำที่ไม่ได้รับน้ำทิ้งจากโรงงานอุตสาหกรรม พบว่าปริมาณของโลหะหนักที่สะสมอยู่ในเนื้อเยื่อหอยสูงกว่าในตะกอนดิน โดยพบโลหะหนักที่สะสมในเนื้อเยื่อหอย คือ แคดเมียม 0.14 - 0.24 มิลลิกรัมต่อกิโลกรัม ตะกั่ว 0.48 - 2.88 มิลลิกรัมต่อกิโลกรัม และปรอท 0.29 - 0.37 มิลลิกรัมต่อกิโลกรัม เมื่อศึกษาในระดับเซลล์ไโดหอย พบว่าลักษณะของไมโทคอนเดรียในเซลล์ไโดหอยมีลักษณะที่ผิดปกติ ผลการศึกษาครั้งนี้สอดคล้องกับผลการศึกษาของ Desouky (2006) ดังแสดงในรูปที่ 3

บทสรุป

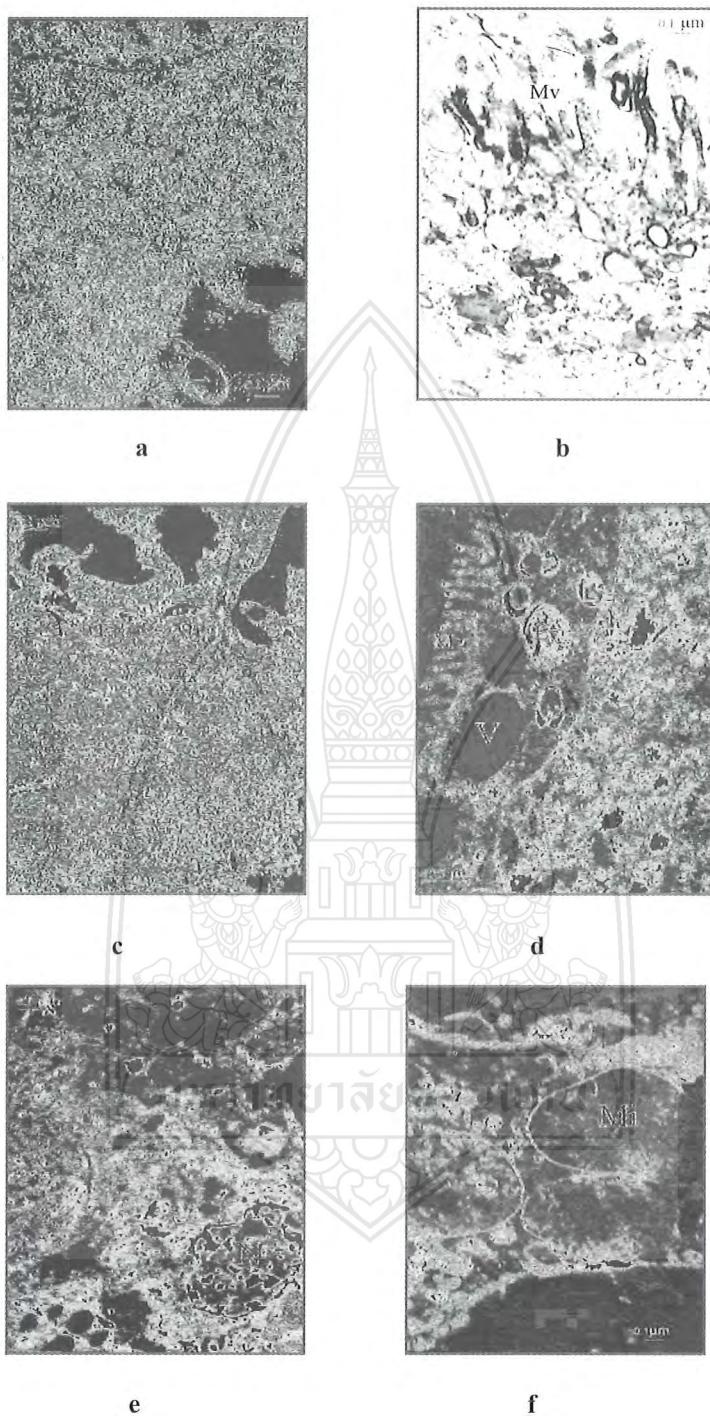
โลหะหนักมีแหล่งแพร่กระจายส่วนใหญ่มาจากการเกษตรและอุตสาหกรรม รวมถึงจากชุมชนหรือครัวเรือน โดยความเป็นพิษที่เกิดขึ้นจะเริ่มขึ้นจากการที่โลหะหนักละลายอยู่ในน้ำ และสะสมอยู่ในตะกอนดิน ซึ่งการศึกษาโดยส่วนใหญ่จะพบโลหะหนักในตะกอนดินมากที่สุดเนื่องจากโลหะหนักตกทับถม และเกาะกับตะกอนดินได้เป็นอย่างดี สิ่งมีชีวิตชนิดที่กินเศษซากเป็นอาหาร และมีวงจรชีวิตส่วนใหญ่อาศัยอยู่บริเวณตะกอนดินในระบบนิเวศแหล่งน้ำจะได้รับโลหะหนักก่อนสิ่งมีชีวิตอื่น หลังจากนั้นโลหะหนักจะถูกถ่ายทอดไปในระบบห่วงโซ่อาหารและส่งต่อมาสู่มนุษย์ในที่สุด เช่นเดียวกับสัตว์หน้าดินจำพวกหอยซึ่งมีวงจรชีวิตส่วนใหญ่อาศัยอยู่บริเวณตะกอนดินและมีการเคลื่อนที่ช้า จึงมีโอกาสได้รับพิษ



รูปที่ 2 ลักษณะของเซลล์ไคโอดอมอนดาที่ได้รับแคดเมียม ภาพ A-C เป็นลักษณะปกติของเซลล์ไคโอดอมอนดา ภาพ D-G เป็นลักษณะความผิดปกติของเซลล์ไคโอดอมอนดาหลังจากได้รับแคดเมียม ภาพ G แสดงให้เห็นถึงลักษณะความผิดปกติที่แคดเมียมมีผลทำให้ไมโทคอนเดรียโตผิดปกติ (Desouky, 2006)

จากโลหะหนักที่สะสมอยู่ในตะกอนดินสูง การศึกษาในปัจจุบันชี้ให้เห็นว่าในร่างกายหอยที่อาศัยในแหล่งน้ำที่มีโลหะหนักปนเปื้อนจะมีปริมาณโลหะหนักสะสมอยู่

สูงมาก โดยที่ความเป็นพิษของโลหะหนักเหล่านั้นจะแสดงความเป็นพิษต่อหอยในระดับเซลล์มากกว่าระดับโครงสร้างภายนอก



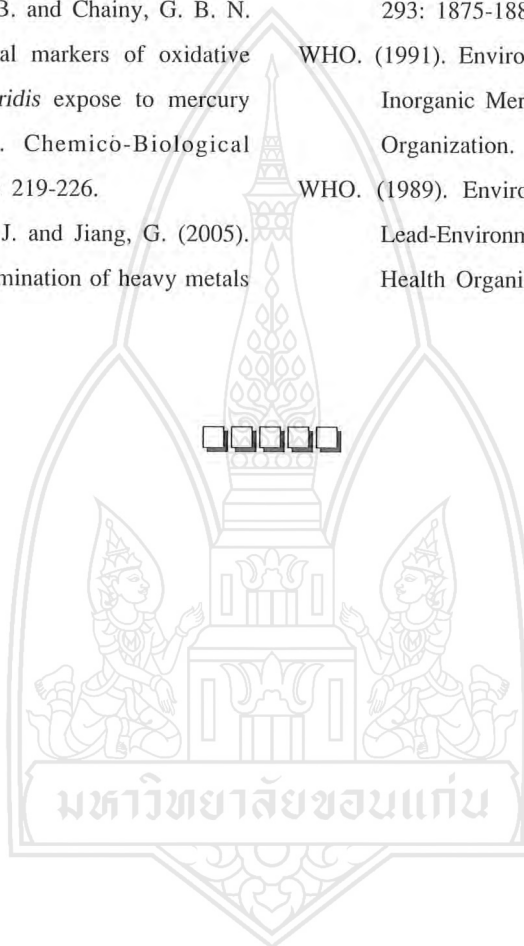
รูปที่ 3 ลักษณะของเซลล์ไคทอยที่ได้รับโลหะหนัก ภาพ (a), (b), (c) แสดงให้เห็นลักษณะเซลล์ไคทอยจากแหล่งน้ำที่ไม่ได้รับน้ำทิ้งจากโรงงาน และภาพ (d), (e), (f) แสดงให้เห็นลักษณะของเซลล์ไคทอยจากแหล่งน้ำที่ได้รับน้ำทิ้งจากโรงงาน (ER= Endoplasmic Reticulum, Ly= Lysosomes, Mv= Microvilli, Mi= Mitochondria, N= Nucleus, V= Vacuole) (Neeratanaphan, 2009)

เอกสารอ้างอิง

- แววตา ทองระอา และ สมพงษ์ ดุลยจินดาบพร. (2530). ผลของปรอทและแคดเมียมที่มีต่อการตายของลูกปูจาก *Varuna litterata* (Fabricius). สถาบันวิทยาศาสตร์ทางทะเล มหาวิทยาลัยศรีนครินทรวิโรฒ วิทยาเขต บางแสน.
- ลำไย ณีรัตนพันธุ์ และจิตชล ผลารักษ์. (2551). คุณภาพน้ำและปริมาณโลหะหนักในตะกอนดินและหอยกินได้ที่บึงโจด จังหวัดขอนแก่น. วารสารวิจัย มข. ปีที่ 13 (ฉบับที่ 2): 197-207.
- Allan, R. (1997). Mining and metals in the environment. *J. Geochem. Explor.* 58: 95-100.
- Barnes, R. D. (1986). *Invertebrate Zoology*. Gettysburg College, Pennsylvania, Harcourt Brace Jovanovich College Publishers, USA.
- Bebianno, M. J. and Langston, W. J. (1998). Cadmium and metallothionein turnover in different tissues of the gastropod *Littorina littorea*. *Talanta*. 46: 301-313.
- Benavides, M. P., Gallego, S. M., and Tomaro, M. L. (2005). Cadmium toxicity in plants. *Braz. Journal of Plant Physiology*. 17: 21-34.
- Boening, D. W. (2000). Ecological effects, transport and fate of mercury; a general review. *Chemosphere*. 40: 1335-1351.
- Britt E. Erickson. (2009). An Obscure Agency Under Fire. *Chemical & Engineering News* 87 (13): 27. <http://pubs.acs.org/isubscribe/journals/cen/87/i13/html/8713gov2.html>.
- Chelomin, V. P., Bobkova, E. A., Lukyanova, O. N. and Chekmasova N. M. (1995). Cadmium-induced alterations in essential trace element homeostasis in the tissues of scallop *Mizuhopecten yessoensis*. *Comparative Biochemistry and Physiology Part C*. 110(3): 329-335.
- Desouky, M. M. A. (2006). Tissue distribution and subcellular localization of trace metals in the pond sail *Lymnaea stagnalis* with special reference to the role of lysosomal granules in metal sequestration. *Aquatic Toxicology*. 77: 143-152.
- Gagnaire, B., Thomas-Guyon, H. and Renault, T. (2004). In vitro effects of cadmium and mercury on Pacific oyster, *Crassostrea gigas* (Thunberg), haemocytes. *Fish & Shellfish Immunology*. 16: 501-512.
- Goyer, R. A. and Clarkson, T. W. (2001). Toxic effects of Metals. In: Klaussen CD, editor. Casarett and Dull's toxicology: the basic science of poisons. New York: McGraw-Hill. 811-867.
- Humphrey, S. and Lister, K. B. (2004). Biological assessment Study: Indian Creek and Courtois Creek, Washington County, 2001-2002. Missouri Department of Natural Resources. Jefferson City. MO.
- Ivanina, A. V., Habinek, E. and Sokolova I. M. (2008). Differential sensitivity to cadmium of key mitochondrial enzymes in the eastern oyster, *Crassostrea virginica* Gmelin (Bivalvia: Ostreidae). *Comparative Biochemistry and Physiology Part C*. 148: 72-79.
- Katarzyna, L. (1997). The Accumulation of Cd, Pb and Cu in the Aquatic Food Chains in Three Lakes Differing in the Trophic Condition. *Verh. Internat. Verein. Limnol.* 26: 517-519.

- Krenkle, P. A. (1975). Heavy Metal in the Aquatic Environment. Proceedings of the International Conference held in Nashville, Tennessee, December 1973, p. 352.
- Neeratanaphan, L. (2009). Accumulation and Toxicity of Heavy Metals on Edible Mollusks from Bueng Jode Wetland in Khon Kaen Province. PhD. Thesis in Environmental Science, Chiang Mai University, Thailand. 146 p.
- Le Pennec G. and Le Pennec M. (2001). Acinar Promary Cell Culture from the Digestive Gland of *Pecten maximus* (L.): an Original Model for Ecotoxicological Purposes. Journal of Experimental Marine Biology and Ecology. 256: 171-187.
- Lister, K. B. and Humphrey, S. (2005). Biological assessment and fine sediment study: Big River (lower): Irondale to Washington State Park, St Francois, Washington and Jefferson Counties, Missouri. Missouri Department of Natural Resources, Jefferson City, MO.
- Moore J. W. and Ramamoorthy R. (1984). Heavy Metals in Natural Waters Applied Monitoring and Impact. New York: USA. Assess. Verlag New York Inc.
- Morel, F. M. M., Kraepiel, A. M. L. and Amoyt, M. (1998). The chemical cycle and bioaccumulation of mercury. Ann. Rev. Ecol. Syst. 29: 543-566.
- National Academy of Sciences (NAS). (2000). Toxicological Effects of Methylmercury. Washington D.C., 2000. Online. Available HTTP: <<http://nap.edu/book/0309071402/html>> (accessed 1 June 2007).
- Nriagu, J. O. (1980). Production, uses and properties of cadmium. In: Nriagu, J.O. (Ed.), Cadmium in the Environmental. Part I. New York: Ecological Cycling. John Wiley and Sons. 35-70.
- Reinhold-Dudok van Hell, H.C. and Den Besten, P.J. (1999). The relation between macroinvertebrate assemblages in the Rhine Meuse delta (The Netherlands) and sediment quality. Aquatic Ecosystem Health and Management. 2 (1): 19-38.
- Relon, M. L. (1996). Total Mercury of Selected Fish Species from Laguna De Bay. Department of Science, De La Salle University, Philippines.
- Sawyer, C., McCarty, P. and Parkin, G. (2003). Chemistry for environmental engineering and science. 5th ed., McGrawhill, Singapore.
- Sericano, J. L. (2000). The Mussel Watch approach and its applicability to global chemical contamination monitoring programmers. In: Conti ME, Botre F, editors. The control of marine pollution: current status and future trends. Int J. Environmental Pollution, vol. 13 (1-6). Milton Keynes, UK: Interscience Enterprises Ltd: 340-350.
- Sriyaraj, K. and Shutes, R. B. E. (2001). An assessment of the impact of motorway runoff on a pond, wetland and stream. Environmental International. 26: 433-439.
- Sud D., Doumenc D., Lopez E. and Milet C. (2001). Role of Water-Soluble Matrix Fraction, Extracted from the Nacre of *Pinctada maxima*, in the Regulation of Cell Activity in Abalone Mantle Cell Culture (*Haliotis tuberculata*). Tissue&Cell. 33(2): 154-160.

- United States Environmental Protection Agency (UNEP). (1978). Reviews of the environmental effects of pollutants: IV. Cadmium. US Environmental Protection Agency. ONRL/EIS-106. EPA-600/1-78-026.
- Verlecar, X. N., Jena, K. B. and Chainy, G. B. N. (2007). Biochemical markers of oxidative stress in *Perna viridis* expose to mercury and temperature. Chemicò-Biological Interactions. 167: 219-226.
- Wang, Y., Liang, L., Shi, J. and Jiang, G. (2005). Study on the contamination of heavy metals and their correlation in mollusks collected from coastal sites along Chinese Bohai Sea. Environmental International. 31: 1103-1113.
- Weil, M., Bressler, J., Parsons, P., Bolla, K., Glass, T. and Schwartz, B. (2005). Blood mercury levels and neurobehavior function. JAMA. 293: 1875-1882.
- WHO. (1991). Environmental Health Criteria 118: Inorganic Mercury. Geneva, World Health Organization.
- WHO. (1989). Environmental Health Criteria 85: Lead-Environmental Aspects, Geneva, World Health Organization.





Cataclysmic Variables

Amornrat Aungwerojwit^{1,2}

Abstract

Cataclysmic variables are close binary stars in which a low-mass main sequence star is transferring material to a white dwarf companion. Over the past decades, a large number of CVs have been identified for an improved understanding of CV evolution. In this paper, we review properties of CVs and their subclasses from observational point of view. The standard paradigm of CV evolution built on disrupted magnetic braking is also summarised. We finally present recent period distribution of the observed CVs and point out major mismatched features to the standard model predictions which may result from observational selection effects.

1. Introduction

The majority of stars in the Universe are born in binaries, and a substantial fraction of these will interact at some point in their lives (Iben, 1991). The interactions between the two stars and mass exchange between them have a significant impact on their evolution. The different combinations of the two stellar components in such binaries result in the most exotic objects in the Galaxy e.g. galactic black-hole candidates, low-mass X-ray binaries, millisecond pulsars, cataclysmic variables (CVs), and double degenerate systems. Among them, CVs are most easily accessible to observation as they are numerous and relatively nearby. Due to their interacting nature, CVs, then, are the best places to investigate the nature of accretion discs which are a common phenomenon occurring throughout the Universe. From a cosmological point of view, CVs are of extraordinary interest as they are closely related to Type Ia supernovae (SN Ia), which are thought to be the violent explosions of accreting white dwarfs driven over the Chandrasekhar mass limit. Given that the ground-shaking discovery of “dark energy” is based on the interpretation of SN Ia as standard candles, it is of utmost importance that all effort is made to arrive at a complete understanding of SN Ia progenitors.

¹ Department of Physics, Faculty of Science, Naresuan University, Phitsanulok, 65000, Thailand.

² Thep Centre, CHE, 328 Si Auythaya Road, Bangkok, 10400, Thailand.

Despite its enormous importance, our understanding of CV evolution is still rather fragmentary reflected by a number of alternatives/modifications to the standard model proposed over the past two decades (e.g. Livio and Pringle, 1994; King and Kolb, 1995; Kolb et al., 1998; Patterson, 1998; Clemens et al., 1998; McCormick and Frank, 1998; Schenker et al., 1998; Kolb and Baraffe, 1999; Spruit and Taam, 2001; Taam and Spruit, 2001; Kolb et al., 2001; King et al., 2002; King and Schenker, 2002; Schenker and King, 2002; Andronov et al., 2003; Barker and Kolb, 2003; Taam et al., 2003; Ivanova and Taam, 2004; Willems et al., 2005; Matthews et al., 2006). In this paper, we present the nature of CVs and their subtypes in Section 2 and Section 3, respectively. Their evolutionary picture is presented in Section 4. We finally discuss the observed CV population and selection effect found in their period distribution in Section 5.

2. The nature of cataclysmic variables

2.1 Stellar components

CVs are semi-detached close binary systems comprising an accreting white dwarf, and a late-type main-sequence donor. Their orbital periods typically range between ~ 80 min and ~ 10 h, with only a few systems belonging to shorter or longer periods. An entire system could easily fit inside a star as large as our Sun. The accretion rates encountered in CVs are typically in the range 10^{-11} - $10^{-8} M_{\odot} \text{yr}^{-1}$ (e.g. Howell et al., 2001). The strength of the magnetic field of the white dwarf plays an important role in governing the accreting matter. If the magnetic field is weak, mass transfer takes place via an accretion disc, with a luminosity enhancement at the outer edge of the disc, or a “bright spot” (Figure 1a). In contrast, if the magnetic field is strong enough to suppress the formation of the disc, the accretion stream flows along the magnetic field lines from the donor star to the poles of the white dwarf (Figure 1b). For moderate magnetic field strengths, the transferred material may form a partial disc that inner part is disrupted into accretion columns.

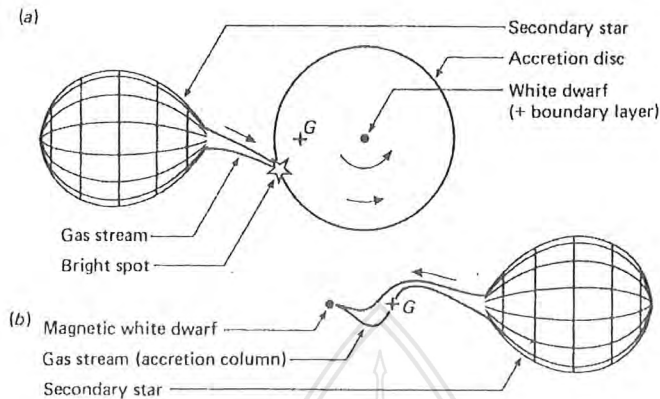


Figure 1. Schematic view of the components in (a) a weak or non-magnetic CV and (b) a strong magnetic CV.

The stars rotate around the centre of mass of the system (G). Reproduced from Pringle and Wade (1985).

2.2 Roche Geometry

The geometry of the stellar components in CVs is defined by equipotential surfaces where the total potential is given by the sum of the gravitational potential of each star and the rotational potential of the system. The shape and dimension of these equipotential surfaces depend only on the mass ratio of the system, $q = M_2 / M_1$ where M_1 is mass of the primary star and M_2 is mass of the secondary star, and the binary separation, a , respectively. For stars of small radii, the equipotential surfaces remain spherical, and are distorted for larger radii. If the radii are sufficiently large, the equipotential surfaces of the two stars will cross each other at Lagrangian points. Figure 2 illustrates the cross section of Roche geometry of a binary system for $q = 0.2$ with five Lagrangian points L_1 to L_5 ¹. The two surfaces touching at L_1 , or the inner Lagrangian point, are called Roche lobes. The Roche lobe defines maximum volume of the star that its matter can occupy under its own gravity. For detached systems, the stars are well inside their Roche lobes, and there is no mass exchange between them. In CVs, however, the system is in semi-detached i.e., the low-mass secondary overfills its Roche lobe and transfers material to the white dwarf primary through L_1 . If the two stars overfill their Roche lobes, or being in contact, the system will be surrounded by a common envelope, and mass-loss occurs at outer Lagrangian point, L_2 and at higher potential L_3 . For CVs, once mass transfer occurs, an immediate consequence of the Roche-lobe filling is that the donor star is tidally locked to the orbital period of the system, i.e. $P_{spin} = P_{orb}$. The radius of the secondary star is defined by the volume radius of the Roche lobe, $R_{L(2)}$, according to Eggleton (1983)'s approximation:

¹Only L_1 - L_3 have physical interpretation in this context.

$$\frac{R_{L(2)}}{a} = \frac{0.49q^{2/3}}{0.6q^{2/3} + \ln(1 + q^{1/3})} \quad (1)$$

The separation, a , between the centre of mass of the binary can be determined from Kepler's third law:

$$P_{orb}^2 = \frac{4\pi^2 a^3}{G(M_1 + M_2)} \quad (2)$$

The mean density of the Roche-lobe-filling secondary then becomes

$$\bar{\rho} = 107 P_{orb}^2 \text{ gcm}^{-3}, \quad (3)$$

where P_{orb} is expressed in hour. This implies that CVs with $1 \text{ h} \leq P_{orb} \leq 10 \text{ h}$ will contain low-mass main-sequence companions with $\rho \sim 1\text{-}100 \text{ gcm}^{-3}$.

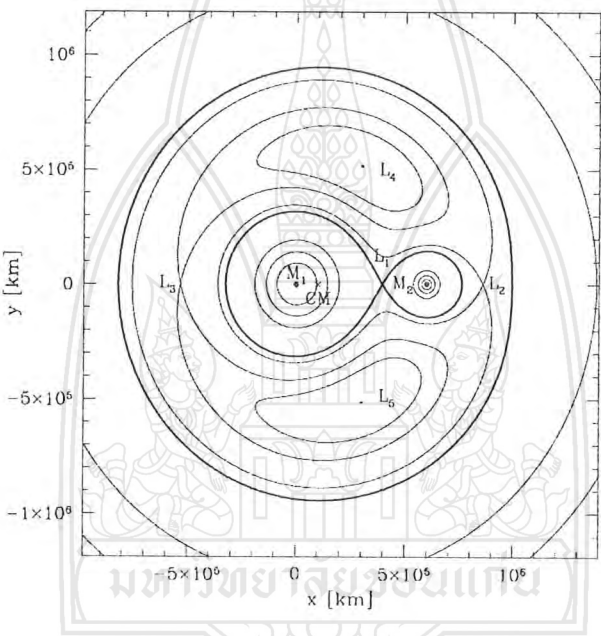


Figure 2. A cross section in the orbital plane of a schematic Roche geometry represents the Lagrangian points $L_1 - L_5$ for a close binary system of $q = 0.2$. The Roche lobes of the two stars are drawn in bold. Provided by B. Gänsicke.

2.3 Spectroscopic properties of CVs

In the past, the majority of CVs were identified because of their photometric variability suggesting by their name in particular dwarf novae and classical novae (see Section 3 for CV subtypes). As scientific and technological improvements, CVs are now considered in terms of their intrinsic properties that are related to their spectroscopic characteristics. The spectrum of a CV consists of three main stellar components i.e.,

the absorption from the white dwarf and the secondary star, as well as the superposition of the emission from accretion disc/stream as shown in Figure 3, with the relative strength of these three components varying dramatically between different types of CVs.

• The white dwarf spectrum

Most white dwarfs in CVs have temperatures higher than 12000 K (Sion, 1999; Gänsicke, 2000). They, therefore, emit the maximum radiation at short wavelengths, particularly in ultraviolet band. The white dwarf spectra are characterised by a continuum with flux rising steeply in the blue, together with broad hydrogen absorption lines. The width of the lines results from pressure broadening due to high gravity in the white dwarf atmosphere.

• The secondary star spectrum

As the donor stars in CVs are low-mass main sequence objects with temperatures of ~ 3000 K, their maximum radiation is mainly emitted at red and infrared wavelengths. At such low temperatures, molecules are formed and therefore the spectrum of the donor star is dominated by broad absorption bands, with the most noticeable being titanium oxide (TiO).

• The accretion disc spectrum

The main contribution to the luminosity in most CVs comes from the accretion disc. The temperature of the disc varies in the range ~ 3000 -100000 K from outer edge to inner region, heating up by the release of gravitational potential energy. A rough approximation of the disc spectrum can be obtained by a sum of blackbody spectra of the appropriate temperature for each annulus which produces an overall flatter spectrum than that of the white dwarf.

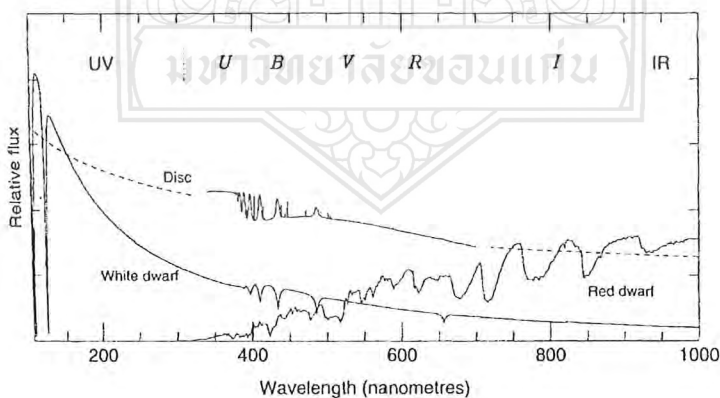


Figure 3. Schematic spectra of stellar components of a CV; a hot white dwarf, a cooler donor star, and a hot disc. Reproduced from Hellier (2001).

Typically, spectra of most CVs are characterised by disc emission in which the continuum reaches a maximum in the ultraviolet and falls monotonically towards longer wavelengths, with the superimposition of prominent emission/absorption lines from low-ionisation states such as hydrogen (Paschen, Balmer, and Lyman series), helium (He I), calcium (Ca II), iron (Fe II), and oxygen (O I). Higher ionisation lines of He II and the Bowen fluorescence feature at $\lambda 4640\text{--}4660$, caused by ionized carbon (C III) and nitrogen (N III), can be detected in the systems that have high mass-accretion rates such as novalike variables and magnetic CVs. Figure 4 shows examples of spectra of various CVs; HS 0506+7725, a confirmed novalike variable, HS 1340+1524, a dwarf nova in which the emission lines of the optically thin disc during quiescence turn into shallow absorption features of optically thick disc due to much greater ionisation of material during an outburst, HS 0139+0559, a UX UMa-type novalike variable or Z Cam-type dwarf nova candidate; its spectrum is characterised by optically thick-disc absorptions of a high mass-transfer rate seen at a moderately low inclination, 1RXS J070407.9+262501, a confirmed intermediate polar, showing a strong He II 4686 emission with a comparable strength to H β , HS 2214+2845, a dwarf nova that reveals a prominent feature of an M type secondary donor in the red part of the spectrum, and SDSS 1339+4847, a short-period CV close to the observed period minimum that contains a white dwarf displaying non-radial pulsations; its spectrum is dominated by the white dwarf showing broad absorption features around the Balmer lines, suggesting a very low mass-transfer rate of the system.

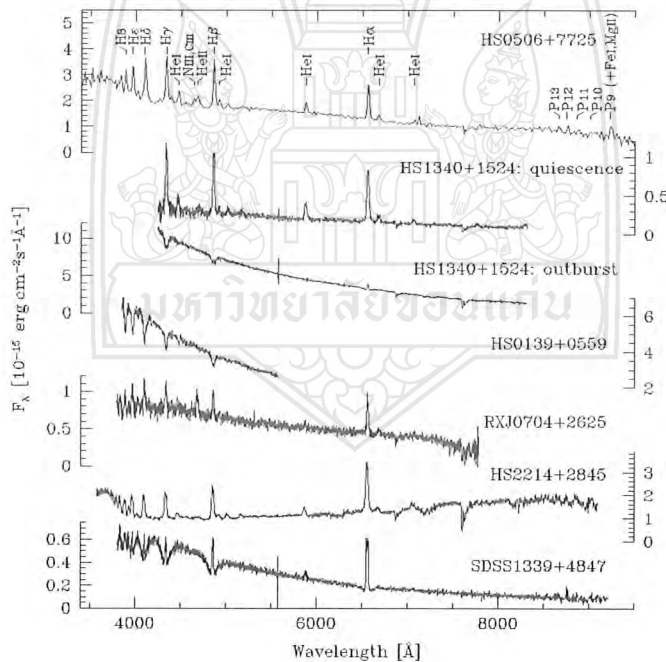


Figure 4. Sample spectra of various CVs. Modified from Aungwerojwit et al. (2005 and 2006): HS 0139+0559, 0506+7725, HS 1340+1524, HS 2214+2845, Gänsicke et al. (2005): RXJ0704+2625, Gänsicke et al. (2006): SDSS 1339+4847.

3. CV classification

In general, CVs are divided into two main types i.e., non-magnetic ($B < 1$ MG) and magnetic CVs ($B \sim 1\text{--}200$ MG) as already mentioned in Section 2. Dividing CVs into different types according to their physical properties such as their orbital periods, mass-transfer rates, and magnetic field strengths of the accreting white dwarfs is likely to create subsamples with different observable properties e.g. different orbital period distributions (see e.g. Figure 6). The major classes of CVs are outlined below.

(a) Classical novae

Classical novae are the brightest manifestations of mass transfer onto the white dwarfs in CVs. During classical nova explosions, the brightness of the systems may increase by 6–19 magnitudes, lasting from weeks to years. These powerful outbursts are caused by a thermonuclear runaway of hydrogen-rich material accumulated on the surface of the white dwarf accreting at a rate lower than $10^{-9} M_{\odot} \text{ yr}^{-1}$ (Cassisi et al., 1998). The accreted layer grows until it gets sufficiently hot and dense to ignite hydrogen burning, which turns into an explosive reaction that blows off the layer. An estimate of the recurrence time of a classical nova is in the order of $\sim 10^3\text{--}10^4$ yr (Patterson, 1984; Downes, 1986). Ritter and Kolb (2003, Edition 7.12 of January 2010) lists $\sim 11\%$ as classical novae; their orbital periods span the range 1.4 h to more than 16 h, with most of them found between 3 h and 5 h (see e.g. Diaz and Bruch, 1997; Warner, 2002).

(b) Dwarf novae

Dwarf novae are non-magnetic CVs and represent the largest CV subclass i.e., $\sim 52\%$ of all known CVs. Most of them are found below the 2-3 h period gap (see Section 5 for details on the observed period distribution) with low accretion rates (see Section 4). Dwarf novae are observed undergoing regular outbursts, during which they brighten by 2–5 magnitudes, lasting from days to weeks. The recurrence times of the outbursts range from weeks to years. The commonly accepted cause of dwarf nova outbursts is a thermal instability in the accretion disc which occurs around the ionisation temperature of hydrogen (e.g. Cannizzo et al., 1986; Osaki, 1996). Dwarf novae are subdivided into three distinct subclasses based on their observed outburst properties: U Gem, Z Cam, and SU UMa types.

- The U Gem-type dwarf novae have regular outbursts which do not show standstills or superhumps that are characteristics of Z Cam and SU UMa stars, respectively (see e.g. U Gem's light curve in Figure 5). All U Gem-type dwarf novae are found above the period gap.

- The Z Cam-type dwarf novae are characterised by rapid outbursts interspersed with more or less constant brightness at an intermediate level between outburst maxima and minima, the so-called standstills. The standstills are ~ 0.7 mag fainter than the maximum brightness, and they last from ten days to years (see e.g. Z Cam's light curve in Figure 5). It has been suggested that Z Cam stars are on the borderline between novalike

variables and dwarf novae (Smak, 1983) with a mass-transfer rate fluctuating about the critical value that switches them from one behaviour to the other (e.g. Schreiber et al., 2002). All Z Cam stars lie above the period gap.

- The SU UMa-type dwarf novae undergo occasional superoutbursts in addition to normal outbursts. Superoutbursts occur less frequently than normal outbursts, but they are brighter (~ 0.7 mag) and last longer (~ 5 times). During a superoutburst, a modulation of the light curve appears near superoutburst maximum, called a superhump, which is caused by the deformation of the disc by tides from the donor star (Whitehurst, 1988; Hirose and Osaki, 1990; Lubow, 1991; see Figure 5 for light curves of a SU UMa-type dwarf nova, HS 0417+7445, showing double-hump structure during quiescence and superhump structure during a superoutburst). In general, the superhump period is a few percent longer than the orbital period. Most of the recurrence times of superoutbursts are around a few hundred days. Some systems such as ER UMa and WZ Sge stars, however, have extremely short and long recurrence times, respectively. ER UMa stars undergo superoutbursts every 20–50 days, interleaved by a rapid succession of normal outbursts occurring every few days while WZ Sge stars have infrequent superoutbursts of every few years to decades, and usually do not undergo normal outbursts. GW Lib is a well known member of WZ Sge-subtype dwarf novae which shows very infrequent and extremely large amplitude outbursts; there are only two superoutbursts have been detected i.e., in 1983 (Duerbeck, 1987) and recently in April 2007. Typically, all SU UMa stars have orbital periods below 2 h (see Aungwerojwit et al., 2006 for a comprehensive discussion on the orbital period distribution of all known dwarf novae).

(c) Novalike variables

This group belongs to the non-eruptive CVs and it contains $\sim 13\%$ of all known CVs. They are characterised by a roughly steady brightness due to a high rate of mass transfer which exceeds the critical rate for disc instabilities. As a consequence, the systems are stuck in a “permanent outburst”, called a high state. Novalike variables are subdivided into the following distinct subclasses according to their spectroscopic and photometric properties.

- UX UMa stars have persistent broad Balmer absorption line spectra, typical of optically thick discs seen at relatively low inclination. Figure 5 presents light curves of HS 0139+0559 and HS 0642+5049 which were identified as UX UMa-type novalike variables or as Z Cam-type dwarf novae. These two systems have similar thick disc spectra but their light curves and radial velocity curves are dramatically different; HS 0139+0559 shows clean quasi-sinusoidal radial velocity variations but no orbital photometric variation while HS 0642+5049 exhibits a large orbital brightness variation with no sign of radial velocity variations.

- RW Tri stars display pure emission line spectra (albeit occasionally with sharp absorption cores) and they are thought to have higher inclinations than UX UMa-type systems.

- VY Scl stars spend most of their time in a bright state and abruptly drop by more than one magnitude into faint states, which last from weeks to years (an example light curve of a VY Scl star, HS 0506+7725, during a bright state which exhibits short-timescale flickering is illustrated in Figure 5). During the low states, they may spectroscopically appear like quiescent dwarf novae but do not show dwarf nova outbursts. The cause of the faint state is thought to be due to the temporary cessation of mass transfer from the secondary star. Aungwerojwit et al. 2005 pointed out that VY Scl stars appear almost entirely just above the period gap in the range 3–4 h.

- SW Sex stars were proposed by Thorstensen et al. (1991) to be a distinct subclass of novalike variables. The SW Sex stars are preferentially found at $3 \text{ h} < P_{\text{orb}} < 4 \text{ h}$ and are often, but not always, eclipsing systems (for non-eclipsing systems see e.g. Rodríguez-Gil et al., 2007). These systems share a number of peculiar characteristics which cannot easily be explained by the steady-state optically thick accretion disc model: (a) they have unusual V-shaped eclipse profiles (in case of high inclination systems; see e.g. HS 0455+8315's light curve in Figure 5); (b) their optical spectra are characterised by single-peaked emission lines that display central absorption dips at particular phases; (c) their spectra contain strong He II $\lambda 4686$ emission lines; (d) their radial velocity curves derived from their emission lines reveal substantial phase lags relative to their photometric ephemerides. SW Sex stars represent nearly 40% of the total novalike/classical nova population (Rodríguez-Gil et al., 2007). Specifically, they represent half of the total population of novalike variables in the 3–4 h orbital period range (Rodríguez-Gil et al., 2005, 2007; Aungwerojwit et al., 2005). Almost all novalike variables are found above the 2–3 h period gap with higher accretion rate than dwarf novae. However, a number of dwarf novae and novalike variables are found in overlapping period ranges, implying that mass-transfer rates can vary significantly between different systems for the same orbital period.

(d) Magnetic CVs

About 20% of all known CVs are magnetic systems. CVs in this class contain magnetic white dwarfs with intermediate to strong magnetic fields, $B \sim 1\text{--}200 \text{ MG}$, that affect or control the interaction between the white dwarf and the material accreted from the Roche-lobe filling companion. They are further divided into two different subclasses according to the strength of the magnetic field of the white dwarf.

- Polars, or AM Her stars contain white dwarfs with magnetic field strengths of $10 \text{ MG} < B < 200 \text{ MG}$. In these systems, the accreted material cannot form a disc around the white dwarf. Instead, the white dwarf takes control of the flow of gas, forcing it to follow the magnetic-field lines towards one or both poles of the (presumed) dipolar magnetic field. The accretion flow passes through a shock standing above the surface of the white dwarf, turning polars into intense X-ray sources. The strong magnetic fields of the white dwarfs in polars interact with the weaker fields of the secondary star, resulting in a synchronous rotation of the white dwarf spin

and the orbital motion of the system, or $P_{\text{spin}} = P_{\text{orb}}$ (see Figure 5 for a polar's light curve, SDSS 0854+3905, showing an extremely modulation of cyclotron beam being eclipsed by the white dwarf). The orbital periods of the known polars are found in the range between ~ 80 min and a few hours with a preference for systems below the 2-3 h period gap.

• Intermediate polars (IPs), or DQ Her stars, have weaker magnetic fields, $1 \text{ MG} < B < 10 \text{ MG}$, that generally are not strong enough to entirely suppress the formation of a disc. In this case, a partial disc may form which is truncated in the middle by the magnetic field of the white dwarf. IPs typically have high mass-transfer rates, which produce harder X-ray spectra than generally observed in polars. Because of their weaker fields, the white dwarfs in IPs are not synchronised with the orbit of the system, and in many systems the white dwarf rotates with spin period $P_{\text{spin}} \sim 0.1 P_{\text{orb}}$ (Patterson, 1994). Typically, the IP nature of a system is confirmed by the detection of coherent variability on the spin period and/or the beat period between the spin and the orbital periods (see Figure 5 for a light curve of an IP, 1RXS J180340.0+401214, revealing large-amplitude pulsations with a spin period of ~ 25 min). There are ~ 30 confirmed IPs, and their orbital periods are concentrated above the 2-3 h period gap (Norton et al. 2004; Gänsicke et al. 2005; Aungwerojwit et al., 2010 in prep.).

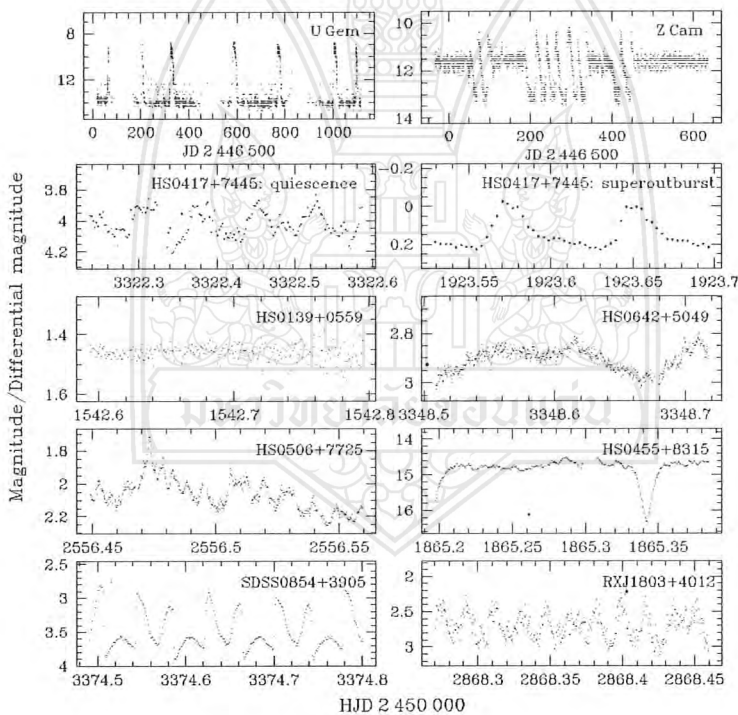


Figure 5. Sample light curves of various CVs: data compilation by the AAVSO (U Gem and Z Cam), and modified from Aungwerojwit et al. (2005 and 2006): HS 0417+7445, HS 0139+0559, HS 0642+5049, HS 0506+7725, Rodríguez-Gil et al. (2007): HS 0455+8315, Gänsicke et al. (2005): RXJ1803+4012, Dhillon et al. (2008): SDSS 0845+3905.

4 The evolution of CVs

4.1 Pre-Cataclysmic variable evolution

CVs are thought to be descended from post common envelope binaries (PCEBs). These systems have originated from wide binaries that lost substantial angular momentum through a common envelope phase (Paczynski, 1976; Iben and Livio, 1993; Iben and Tutukov, 1993). The initial stellar components of these PCEBs consist of an intermediate-mass main-sequence star of $\sim 1\text{--}10 M_{\odot}$, the primary star, and a low-mass companion of $\sim 1 M_{\odot}$, the secondary star, with an orbital period of the order of years. Once the more massive star evolves off the main sequence, it eventually fills its Roche lobe and transfers material to the less massive component. Since the more massive Roche-lobe-filling star is nearer to the centre of mass of the system, its lost mass is then moved further away from the centre of mass onto its companion, which results in an increased angular momentum of the transferred material. In order to conserve the angular momentum, the separation decreases, and consequently, the size of the Roche lobe decreases according to Equation 1. The mass transfer from the more massive star to the lower mass companion is dynamically unstable and violent. As a result of the high mass-transfer rate, which may reach $0.1 M_{\odot}\text{yr}^{-1}$ (Webbink, 1979), the secondary star is driven out of its thermal equilibrium and fills its Roche lobe. An envelope of gas forms around the two stars, leading the system into the common envelope (CE) phase. Friction between the common envelope and the stellar components causes the two components transferring angular momentum to the envelope while they spiral inwards. As a consequence, the binary separation decreases from $\sim 100 R_{\odot}$, to $\sim 1 R_{\odot}$, within 10^3 yr. If the energy deposited in the envelope exceeds its binding energy, the common envelope will be ejected. The system may appear as a binary central star of a planetary nebula comprising a hot subdwarf/white dwarf and a low-mass main-sequence companion, e.g. MT Ser (Green et al., 1984), UU Sge (Pollacco and Bell, 1993), Abell 65, KV Vel (Hilditch et al., 1996). When the planetary nebula has been dispersed, the hot primary will gradually cool down and evolve into a white dwarf, allowing the system to be observed as a short-period white dwarf/main-sequence detached binary with an orbital period of a few hours/days e.g. HS 1857+5144 (Aungwerojwit et al., 2007), SDSS 011009.09+132616.1, SDSS 030308.35+005444.1, SDSS 143547.87+ 373338.5, SDSS 154846.00+405728.8 (Pyrzas et al., 2009). The system will evolve into a CV configuration when angular momentum loss takes place by means of magnetic braking and/or gravitational radiation, which decreases the binary separation enough to bring the secondary star into contact with its Roche lobe. The typical time to evolve into a CV configuration is ~ 2 Gyr (Schreiber and Gänsicke, 2003).

4.2 Disrupted magnetic braking

Unlike pre-CV phase, material in CVs is transferred from the low-mass main-sequence star to the more massive accretor, or the white dwarf. In this case, the low-mass star is further away from the centre of

mass. Transferred material, then, ends up closer to the centre of mass. This causes the transferred material to lose angular momentum, and as a result, the separation increases to conserve the overall angular momentum; the size of the Roche lobe then increases, leading the secondary star to detach from its Roche Lobe, and consequently mass transfer ceases. Mass transfer in CVs can only be sustained either by an expansion of the secondary star due to nuclear evolution, or by shrinking of the Roche lobe as a result of orbital angular momentum loss. Nuclear evolution, however, cannot explain most CVs, since they contain secondary stars of less than a solar mass which cannot evolve significantly during the age of the Universe.

Disrupted magnetic braking was proposed as a standard model of CV evolution with the primary aim to explain the lack of systems in the 2–3 h period range, or the *period gap* in Figure 5 (e.g. Rappaport et al., 1983; Spruit and Ritter, 1983; Paczynski and Sienkiewicz, 1983; Patterson, 1984). The essential idea is that CVs evolve towards shorter periods because of angular momentum loss by two main mechanisms i.e., magnetic braking (e.g. Verbunt and Zwaan, 1981) governed by the stellar wind and the stellar magnetic field of the rapidly rotating secondary star, and gravitational radiation (Kraft et al., 1962) resulting from the repetitive orbit of the system. The dominant agent depends on the orbital period of the system.

At $P_{orb} > 3$ h, the Roche lobe-filling stars still have a radiative core. The relatively high mass loss rate of $\sim 10^{-9}$ – $10^{-8} M_{\odot} \text{yr}^{-1}$ is driven by magnetic braking. Such high mass-transfer rate drives the secondary star out of its thermal equilibrium and slightly expands. At $P_{orb} = 3$ h, the secondary star becomes fully convective (at ~ 0.2 – $0.3 M_{\odot}$), causing magnetic braking either to cease totally or to dramatically decrease. As a consequence, the angular momentum loss rate decreases, and therefore, the mass transfer rate decreases. The lower mass-transfer rate allows the secondary star to shrink towards its main-sequence radius and ultimately to lose contact with its Roche lobe. The mass transfer then completely stops, resulting in the onset of the period gap; the CVs become detached systems that are too inconspicuous to be detected. Gravitational radiation causes these systems to continue to evolve towards shorter periods. When the Roche lobe shrinks enough to make again contact with the secondary star at $P_{orb} = 2$ h, the mass transfer resumes. The mass transfer at $P_{orb} < 2$ h is driven only by the less efficient mechanism of gravitational radiation with lower mass-transfer rates of 10^{-11} – $10^{-10} M_{\odot} \text{yr}^{-1}$. Such low mass-transfer rates drive the evolution of the short period systems on much longer timescale than in the case of magnetic braking. Typical evolution timescales for CVs that evolve from $P_{orb} \sim 10$ h to $P_{orb} \sim 3$ h are $\sim 10^8$ yr, and $\sim 10^9$ yr to evolve through the period gap. Kolb and Stehle (1996) determined the age structure of a model population of Galactic CVs and found that the systems above the period gap comprise young systems that typically formed less than 1.5×10^9 yr ago, whereas the systems below the period gap have a typical age of 3 – 4×10^9 yr.

At $P_{orb} < 2$ h, the orbital separation and mass of the donor star decrease; the mass loss timescale increases, but the thermal timescale increases much faster. When the mass loss timescale becomes shorter than the thermal timescale, the secondary star will not be able to shrink rapidly enough and it will therefore become oversized for its mass. When the mass of the secondary star becomes so low ($< 0.08 M_{\odot}$) that hydrogen fusion terminates, the secondary star evolves towards a degenerate state and starts behaving like a white dwarf: its radius increases when its mass decreases. As a consequence, CVs reach their predicted minimum period at $P_{min} \sim 65$ min (Kolb and Ritter, 1992; Howell et al., 1997; Kolb and Baraffe, 1999) where the mass transfer timescale is about equal to the thermal timescale within $\sim 10^9$ yr and evolve back to longer periods. The mass transfer drops dramatically to $\sim 10^{-12} M_{\odot} \text{yr}^{-1}$ while CVs evolve back from the minimum period to $P_{orb} \sim 2$ h within $\sim 10^{10}$ yr (e.g. Howell et al., 1997). The binaries then become too faint to be detected. Ultimately, the mass of the secondary star is reduced to that of a Jupiter-like object orbiting a white dwarf. WZ Sge is a well known candidate for the system that has evolved through the period minimum, or a period bouncer with an orbital period of 81.6 min and an estimated mass of the donor star of $\sim 0.06 M_{\odot}$ (Smak, 1993; Patterson et al., 2002).

5. The observed CV population

5.1 The orbital period distribution of CVs

Figure 6 presents the orbital period distribution of different classes of 820 known CVs from Ritter and Kolb (2003, Edition 7.12 of January 2010). It is clearly seen that the distributions of the individual subclasses are markedly different in particular that of non-magnetic CVs and magnetic CVs. A number of distinctive features in the entire set of the distribution (Top panel) are underlined as follows.

(a) The number of systems dwindles at long periods. This results from the requirement that $q = m_2 / m_1 \leq 1$ in order to avoid rapid and catastrophic mass transfer. Since the white dwarf must be less than the Chandrasekhar limit of $1.4 M_{\odot}$, this leads a limit in the orbital period of CVs to around 12 h.

(b) There is a dearth of systems in the 2–3 h period gap that could be explained by cessation of mass transfer (see Section 4).

(c) There is a sharp cut-off at $P_{orb} \sim 80$ min.

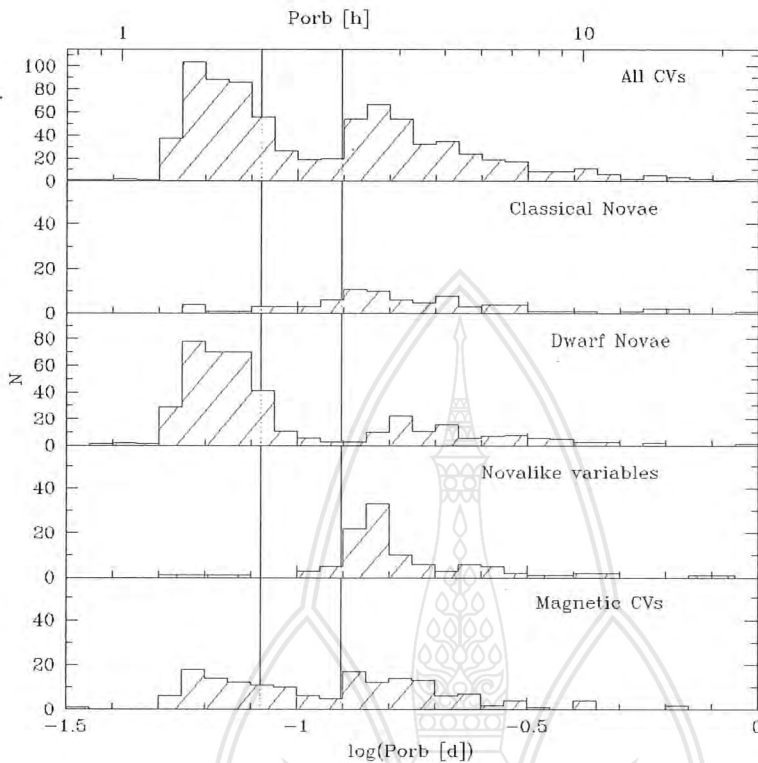


Figure 6. *Top panel:* orbital period distribution of 820 known CVs from Ritter and Kolb (2003, Edition 7.12 of January 2010). The vertical lines present the 2–3 h conventional “period gap”. *Bottom four panels:* those are illustrated again according to their classes.

5.2 The observational selection effects in the known population of CVs

The disrupted magnetic braking successfully explains the period gap found in the observed CV period distribution. A number of other predictions made by this model, however, are in strong disagreement with the observations. Population synthesis studies estimate a large space density of galactic CVs in the range 10^{-5} – 10^{-4} pc^{-3} (Ritter and Burkert, 1986; de Kool, 1992; Politano, 1996) whereas the number derived from observations is 10^{-6} – 10^{-5} pc^{-3} (e.g. Ringwald, 1996; Araujo-Betancor et al., 2005b; Aungwerojwit et al., 2006; Pretorius et al., 2007; Ak et al., 2008). Population synthesis models show that $\sim 99\%$ of the entire CVs are below the period gap, and 70% of these are minimum period bouncers (e.g. Kolb, 1993; Howell et al., 1997). However, the similar number of CVs is observed above and below the period gap. The theory also predicts a significant accumulation of systems near the period minimum at $P_{\min} \sim 65$ min while the observed period distribution shows a sharp cut-off at ~ 80 min (e.g. Ritter and Kolb, 2003; Knigge, 2006; Gänsicke et al., 2009).

A possible cause of these discrepancies is observational selection effects (e.g. Downes, 1986; Ringwald, 1996; Gänsicke, 2005) as CVs in the period distribution in Figure 6 are discovered by one of the these criteria: variability, X-ray emission, blue colour, and emission lines. Gänsicke (2005) divided CVs in the Ritter and Kolb distribution according to their method of discovery and found that 86% of CVs discovered due to their variability are dwarf/classical novae, 57% of CVs discovered via X-ray observations are magnetic CVs, 43% of CVs identified due to their blue colour are nova-likes and those that were detected spectroscopically, seemed to show no preference to a particular sub-type. The author also provides a useful summary of key surveys that have significant impact for CV study e.g. Palomar-Green Survey (PG), Edinburgh-Cape Blue Object Survey (EC), ROSAT/SPC Survey, Hamburg Quasar Survey (HQS), Sloan Digital Sky Survey (SDSS), 2dF Quasar Survey (2QZ).

To date, a few surveys have exploited the promise of discovering CVs via emission lines in order to construct unbiased CV samples e.g. the HQS (Gänsicke et al. 2002; Aungwerojwit et al. 2006), the SDSS (Szkody et al., 2002c, 2003a, 2004, 2005, 2006, 2007a 2009), Calán-Tololo Survey (Tappert et al., 2004), the INT Photometric H α Survey of the Northern Galactic Plane (IPHAS; Witham et al., 2006, 2007), the AAO/UKST SuperCosmos H α Survey (SHS; Parker et al., 2005; Pretorius and Knigge, 2008a, 2008b). Among them, SDSS provides the largest and deepest CV sample. Recently, Gänsicke et al. (2009) discussed the properties of 126 CVs identified from SDSS spectroscopy. Interestingly, the orbital period distribution of SDSS CVs reveals a significant accumulation of systems in the orbital period range 80-86 min which dramatically differs from that of previously known samples e.g. HQS sample (see Aungwerojwit et al., 2006). The authors identified this feature as the 'period minimum spike' predicted by CV population models, and found that the majority population in this spike is characterised by very low accretion activity in which their optical spectra are dominated by the white dwarf with no discernable from the donor star (see e.g. spectrum of SDSS 1339+4847 in Figure 4). The authors also show that the depth of SDSS is the key criterion in finding such short-period systems.

Although SDSS seems to provide a large number of systems below the period gap, the appearance of the 'period minimum spike' still does not match that of the model estimates of $P_{min} \sim 65$ min. However, before drawing any solid conclusion on the SDSS sample, the orbital periods of the remaining ~ 130 CVs must be derived. In addition, it is worth to note that a successful CV evolution theory must be able to explain all features found in the period distributions of CV subtypes in Figure 6 after remove all observational selection effects.

References

- Ak, T., Bilir, S., Ak, S. and Eker, Z. (2008). Spatial distribution and galactic model parameters of cataclysmic variables. *New Astronomy*. 13(3): 133-143.
- Andronov, N., Pinsonneault, M. and Sills, A. (2003). Cataclysmic Variables: An Empirical Angular Momentum Loss Prescription from Open Cluster Data. *Astrophysical Journal*. 582(1): 358-368.
- Araujo-Betancor, S., Gänsicke, B. T., Hagen, H.-J., Marsh, T. R., Harlaftis, E. T., Thorstensen, J., Fried, R. E., Schmeer, P., Engels, D. (2005). HS 2331+3905: The cataclysmic variable that has it all. *Astronomy and Astrophysics*. 430: 629-642.
- Aungwerojwit, A., Gänsicke, B. T., Rodríguez-Gil, P., Hagen, H.-J., Harlaftis, E. T., Papadimitriou, C., Lehto, H., Araujo-Betancor, S., Heber, U., Fried, R. E., Engels, D., Katajainen, S. (2005). HS 0139+0559, HS 0229+8016, HS 0506+7725, and HS 0642+5049: four new long-period cataclysmic variables. *Astronomy and Astrophysics*. 443(3): 995-1005.
- Aungwerojwit, A., Gänsicke, B. T., Rodríguez-Gil, P., Hagen, H.-J., Araujo-Betancor, S., Baernbantner, O., Engels, D., Fried, R. E., Harlaftis, E. T., Mislis, D., Nogami, D., Schmeer, P., Schwarz, R., Staude, A., Torres, M. A. P. (2006). Dwarf novae in the Hamburg quasar survey: rarer than expected. *Astronomy and Astrophysics*. 455(2): 659-672.
- Aungwerojwit, A., Gänsicke, B. T., Rodríguez-Gil, P., Hagen, H.-J., Giannakis, O., Papadimitriou, C., Allende Prieto, C., Engels, D. (2007). HS 1857+5144: a hot and young pre-cataclysmic variable. *Astronomy and Astrophysics*. 469(1): 297-305.
- Barker, J. and Kolb, U. (2003). The minimum period problem in cataclysmic variables. *Monthly Notices of the Royal Astronomical Society*. 340: 623-631.
- Cannizzo, J. K., Wheeler, J. C. and Polidan, R. S. (1986). Dwarf nova burst asymmetry and the physics of accretion disks. *Astrophysical Journal*. 301: 634-640.
- Cassisi, S., Iben, I. J. and Tornambe, A. (1998). Hydrogen-accreting Carbon-Oxygen White Dwarfs. *Astrophysical Journal*. 496: 376.
- Clemens, J. C., Reid, I. N., Gizis, J. E. and O'Brien, M. S. (1998). The Lower Main Sequence and the Orbital Period Distribution of Cataclysmic Variable Stars. *Astrophysical Journal*. 496: 352.
- de Kool, M. (1992). Statistics of cataclysmic variable formation. *Astronomy and Astrophysics*. 261(1): 188-202.
- Diaz, M. P. and Bruch, A. (1997). The orbital period distribution of novae. *Astronomy and Astrophysics*. 322: 807-816.
- Downes, R. A. (1986). The space density of classical novae. *Astrophysical Journal*. 307: 170, 171, 173-177.
- Duerbeck, H. W. and Seitter, W. C. (1987). A survey of nova remnants. *Astrophysics and Space Science*. 131(1-2): 467-473.
- Eggleton, P. P. (1983). Approximations to the radii of Roche lobes. *Astrophysical Journal*. 268: 368-369.

- Gänsicke, B. T., Marsh, T. R., Edge, A., Rodríguez-Gil, P., Steeghs, D., Araujo-Betancor, S., Harlaftis, E., Giannakis, O., Pyrzas, S., Morales-Rueda, L., Aungwerojwit, A. (2005). Cataclysmic variables from a ROSAT/2MASS selection - I. Four new intermediate polars. *Monthly Notices of the Royal Astronomical Society*. 361(1): 141-154.
- Gänsicke, B. T. (2000). Evolution of White Dwarfs in Cataclysmic Variables. *Reviews of Modern Astronomy*. 13: 151.
- Gänsicke, B. T. (2005). Observational population studies of cataclysmic variables - The golden era of surveys. in *The Astrophysics of Cataclysmic Variables and Related Objects*, ed. J.-M. Hameury and J.-P. Lasota. ASP conference series 330: 3-16.
- Gänsicke, B. T., Rodríguez-Gil, P., Marsh, T. R., de Martino, D., Nestoras, J., Szkody, P., Aungwerojwit, A., Barros, S. C. C., Dillon, M., Araujo-Betancor, S., Arévalo, M. J., Casares, J., Groot, P. J., Kolb, U., Lázaro, C., Hakala, P., Martínez-Pais, I. G., Nelemans, G., Roelofs, G., Schreiber, M. R., van den Besselaar, E., Zurita, C. (2006). A ZZCeti white dwarf in SDSSJ133941.11+484727.5. *Monthly Notices of the Royal Astronomical Society*. 365(3): 969-976.
- Gänsicke, B. T., Dillon, M., Southworth, J., Thorstensen, J. R., Rodríguez-Gil, P., Aungwerojwit, A., Marsh, T. R., Szkody, P., Barros, S. C. C., Casares, J., de Martino, D., Groot, P. J., Hakala, P., Kolb, U., Littlefair, S. P., Martínez-Pais, I. G., Nelemans, G., Schreiber, M. R. (2009). SDSS unveils a population of intrinsically faint cataclysmic variables at the minimum orbital period. *Monthly Notices of the Royal Astronomical Society*. 397(4): 2170-2188.
- Gänsicke, B. T., Hagen, H.-J. and Engels, D. (2002). Properties of a spectroscopically selected CV sample. in *The Physics of Cataclysmic Variables and Related Objects*, ASP conference proceedings Vol. 261: 190.
- Green, R. F., Liebert, J. and Wesemael, F. (1984). The close binary central star of the planetary nebula Abell 41 - A helium-rich subdwarf primary. *Astrophysical Journal*. 280: 177-180.
- Green, R. F., Ferguson, D. H., Liebert, J., and Schmidt, M. (1982). Cataclysmic variable candidates from the Palomar Green survey. *Publications of the Astronomical Society of the Pacific*. 94: 560-564.
- Hellier, C. (2001). *Cataclysmic Variable Stars: How and why they vary*. Cornwall: Springer-Praxis. 33
- Hilditch, R. W., Harries, T. J. and Hill, G. (1996). On the reflection effect in three sdOB binary stars. *Monthly Notices of the Royal Astronomical Society*. 279(4): 1380 - 1392.
- Hirose, M. and Osaki, Y. (1990). Hydrodynamic simulations of accretion disks in cataclysmic variables - Superhump phenomenon in SU UMa stars. *Publications of Astronomical Society of Japan*. 42(1): 135-163.
- Howell, S. B., Nelson, L. A., and Rappaport, S. (2001). An Exploration of the Paradigm for the 2-3 Hour Period Gap in Cataclysmic Variables. *Astrophysical Journal*. 550(2): 897-918.

- Howell, S. B., Rappaport, S. and Politano, M. (1997). On the existence of low-luminosity cataclysmic variables beyond the orbital period minimum. *Monthly Notices of the Royal Astronomical Society*. 287(4): 929-936.
- Iben, I. J. (1991). Single and binary star evolution. *Astrophysical Journal Supplement Series*. (76): 55-114.
- Iben, I. J. and Livio, M. (1993). Common envelopes in binary star evolution. *Publications of Astronomical Society of the Pacific*. 105(694): 1373-1406.
- Iben, I. J. and Tutukov, A. V. (1993). Formation and Evolution of Binary Planetary Nebula Nuclei and Related Objects. *Astrophysical Journal*. 418: 343.
- Ivanova, N. and Taam, R. E. (2004). Thermal Timescale Mass Transfer and the Evolution of White Dwarf Binaries. *Astrophysical Journal*. 601(2): 1058-1066.
- King, A. R. and Kolb, U. (1995). Consequential angular momentum loss and the period gap of cataclysmic variables. *Astrophysical Journal*. 439(1): 330-336.
- King, A. R. and Schenker, K. (2002). A new evolutionary picture for CVs and LMXBs. in *The Physics of Cataclysmic Variables and Related Objects*, ed. B. T. Gänsicke, K. Beuermann, and K. Reinsch. ASP conference series 261: 233-241.
- King, A. R., Schenker, K., and Hameury, J. M. (2002). Blunting the spike: the cataclysmic variable minimum period. *Monthly Notices of the Royal Astronomical Society*. 335(3): 513-516.
- Knigge, C. (2006). The donor stars of cataclysmic variables. *Monthly Notices of the Royal Astronomical Society*. 373(2): 484-502.
- Kolb, U. (1993). A model for the intrinsic population of cataclysmic variables. *Astronomy and Astrophysics*. 271: 149.
- Kolb, U. and Baraffe, I. (1999). Brown dwarfs and the cataclysmic variable period minimum. *Monthly Notices of the Royal Astronomical Society*. 309(4): 1034-1042.
- Kolb, U., King, A. R. and Baraffe, I. (2001). Mass estimates in short-period compact binaries. *Monthly Notices of the Royal Astronomical Society*. 321(3): 544-548.
- Kolb, U., King, A. R. and Ritter, H. (1998). The cataclysmic variable period gap: still there. *Monthly Notices of the Royal Astronomical Society*. 298(2): L29-133.
- Kolb, U. and Ritter, H. (1992). Advantages and Limitations of the Bipolytrope Model for Computing the Secular Evolution of Cataclysmic Binaries. *Astronomy and Astrophysics*. 254: 213.
- Kolb, U. and Stehle, R. (1996). The age of cataclysmic variables. *Monthly Notices of the Royal Astronomical Society*. 282(4): 1454-1460.
- Kraft, R. P., Mathews, J. and Greenstein, J. L. (1962). Binary Stars among Cataclysmic Variables. II. Nova WZ Sagittae: a Possible Radiator of Gravitational Waves. *Astrophysical Journal*. 136: 312-315.
- Livio, M. and Pringle, J. E. (1994). Star spots and the period gap in cataclysmic variables. *Astrophysical Journal*. 427(2): 956-960.

- Lubow, S. H. (1991). Simulations of tidally driven eccentric instabilities with application to superhumps. *Astrophysical Journal*. 381: 268-277.
- Matthews, O. M., Wheatley, P. J., Wynn, G. A. and Truss, M. R. (2006). Propeller-activated resonances and the fate of short-period cataclysmic variables. *Monthly Notices of the Royal Astronomical Society*. 372(4): 1593-1601.
- McCormick, P. and Frank, J. (1998). Evolutionary Effects of Irradiation in Cataclysmic Variables. *Astrophysical Journal*. 500: 923.
- Norton, A. J., Wynn, G. A. and Somerscales, R. V. (2004). The Spin Periods and Magnetic Moments of White Dwarfs in Magnetic Cataclysmic Variables. *Astrophysical Journal*. 614(1): 349-357.
- Osaki, Y. (1996). Dwarf-Nova Outbursts. *Publications of Astronomical Society of the Pacific*. 108: 39.
- Paczynski, B. (1976). Common Envelope Binaries. in *IAU Symposium No. 73: Structure and Evolution of Close Binary Systems*, ed. P. Eggleton, S. Mitton, and J. Whelan (Dordrecht: D. Reidel): 75-80.
- Paczynski, B. and Sienkiewicz, R. (1983). The minimum period and the gap in periods of cataclysmic binaries. *Astrophysical Journal*. 268: 825-831.
- Parker, Q. A., Philipps, S., Pierce, M. J., Hartley, M., Hambly, N. C., Read, M. A., MacGillivray, H. T., Tritton, S. B., Cass, C. P., Cannon, R. D., Cohen, M., Drew, J. E., Frew, D. J., Hopewell, E., Mader, S., Malin, D. F., Masheder, M. R. W., Morgan, D. H., Morris, R. A. H., Russeil, D., Russell, K. S., Walker, R. N. F.. (2005). The AAO/UKST SuperCOSMOS H_α survey. *Monthly Notices of the Royal Astronomical Society*. 362(2): 689-710.
- Patterson, J. (1984). The evolution of cataclysmic and low-mass X-ray binaries. *Astrophysical Journal Supplement Series*. 54: 443-493.
- Patterson, J. (1994). The DQ Herculis stars. *Publications of Astronomical Society of the Pacific*. 106: 209-238.
- Patterson, J. (1998). Late Evolution of Cataclysmic Variables. *Publications of Astronomical Society of the Pacific*. 110: 1132-1147.
- Patterson, J., Masi, G., Richmond, M. W., Martin, B., Beshore, E., Skillman, D. R., Kemp, J., Vanmunster, T., Rea, R., Allen, W., Davis, S., Davis, T., Henden, A. A., Starkey, D., Foote, J., Oksanen, A., Cook, L. M., Fried, R. E., Husar, D., Novak, R., Campbell, T., Robertson, J., Krajci, T., Pavlenko, E., Mirabal, N., Niarchos, P. G., Brettman, O., Walker, S. (2002). The 2001 Superoutburst of WZ Sagittae. *Publications of Astronomical Society of the Pacific*. 114(797): 721-747.
- Politano, M. (1996). Theoretical Statistics of Zero-Age Cataclysmic Variables. *Astrophysical Journal*. 465: 338.
- Pollacco, D. L. and Bell, S. A. (1993). New light on UU Sagittae. *Monthly Notices of the Royal Astronomical Society*. 262(2): 377-391.
- Pretorius, M. L. and Knigge, C. (2008a). An H α -selected sample of cataclysmic variables - I. Observations of newly discovered systems. *Monthly Notices of the Royal Astronomical Society*. 385(3): 1471-1484.

- Pretorius, M. L. and Knigge, C. (2008b). An $H\alpha$ -selected sample of cataclysmic variables - II. Implications for CV evolution. *Monthly Notices of the Royal Astronomical Society*. 385(3): 1485-1493.
- Pretorius, M. L., Knigge, C., O'Donoghue, D., Henry, J. P., Gioia, I. M. and Mullis, C. R. (2007). The space density of cataclysmic variables: constraints from the ROSAT North Ecliptic Pole survey. *Monthly Notices of the Royal Astronomical Society*. 382(3): 1279-1288.
- Pringle, J. E. and Wade, R. A. (1985). Book-Review - Interacting Binary Stars. *Astronomy Express*. 1: 159.
- Pyrzas, S., Gänsicke, B. T., Marsh, T. R., Aungwerojwit, A., Rebassa-Mansergas, A., Rodríguez-Gil, P., Southworth, J., Schreiber, M. R., Nebot Gomez-Moran, A., Koester, D. (2009). Post-common-envelope binaries from SDSS - V. Four eclipsing white dwarf main-sequence binaries. *Monthly Notices of the Royal Astronomical Society*. 394(2): 978-994.
- Rappaport, S., Joss, P. C. and Verbunt, F. (1983). A new technique for calculations of binary stellar evolution, with application to magnetic braking. *Astrophysical Journal*. 275: 713-731.
- Ringwald, F. A. (1996). Population studies of cataclysmic variables. in *Cataclysmic Variables and Related Objects*, ed. A. Evans and J. H. Wood, IAU colloquium No. 158 (Dordrecht: Kluwer): 89-92.
- Ritter, H. and Burkert, A. (1986). The mass spectrum of the white dwarfs in cataclysmic binaries. *Astronomy and Astrophysics*. 158 (1-2): 161-173.
- Ritter, H. and Kolb, U. (2003). Catalogue of cataclysmic binaries, low-mass X-ray binaries and related objects (Seventh edition). *Astronomy and Astrophysics*. 404: 301-303.
- Rodríguez-Gil, P., Gänsicke, B. T., Hagen, H.-J., Marsh, T. R., Harlaftis, E. T., Kitsionas, S., Engels, D. (2005). Detection of the white dwarf and the secondary star in the new SU UMa dwarf nova HS 2219+1824. *Astronomy and Astrophysics*. 431: 269-277.
- Rodríguez-Gil, P., Schmidtobreick, L. and Gänsicke, B. T. (2007). Spectroscopic search for new SW Sextantis stars in the 3-4 h orbital period range - I. *Monthly Notices of the Royal Astronomical Society*. 374(4): 1359-1376.
- Schenker, K. and King, A. R. (2002). A new evolutionary picture for CVs and LMXBs. II. The impact of thermal-timescale mass transfer. in *The Physics of Cataclysmic Variables and Related Objects*, ed. B. T. Gänsicke, K. Beuermann, and K. Reinsch (ASP conference Series 261): 242-251.
- Schenker, K., Kolb, U. and Ritter, H. (1998). Properties of discontinuous and nova-amplified mass transfer in cataclysmic variables. *Monthly Notices of the Royal Astronomical Society*. 297(2): 633-647.
- Schreiber, M. R. and Gänsicke, B. T. (2003). The age, life expectancy, and space density of Post Common Envelope Binaries. *Astronomy and Astrophysics*. 406: 305-321.
- Schreiber, M. R., Gänsicke, B. T. and Mattei, J. A. (2002). RX And: An intermediate between

- Z Cam and VY Scl stars. *Astronomy and Astrophysics*. 384: L6-L9.
- Sion, E. M. (1999). White Dwarfs in Cataclysmic Variables. *Publications of Astronomical Society of the Pacific*. 111(759): 532-555.
- Smak, J. (1983). On the nature of dwarf novae. *Astrophysical Journal*. 272: 234-237.
- Smak, J. (1993). WZ SGE as a dwarf nova. *Acta Astronomica*. 43(2): 101-119.
- Spruit, H. C. and Ritter, H. (1983). Stellar activity and the period gap in cataclysmic variables. *Astronomy and Astrophysics*. 124(2): 267-272.
- Spruit, H. C. and Taam, R. E. (2001). Circumbinary Disks and Cataclysmic Variable Evolution. *Astrophysical Journal*. 548(2): 900-907.
- Szkody, P., Anderson, S. F., Agüeros, M., Covarrubias, R., Bentz, M., Hawley, S., Margon, B., Voges, W., Henden, A., Knapp, G. R., Vanden Berk, D. E., Rest, A., Miknaitis, G., Magnier, E., Brinkmann, J., Csabai, I., Harvanek, M., Hindsley, R., Hennessy, G., Ivezić, Z., Kleinman, S. J., Lamb, D. Q., Long, D., Newman, P. R., Neilsen, E. H., Nichol, R. C., Nitta, A., Schneider, D. P., Snedden, S. A., York, D. G. (2002). Cataclysmic Variables from The Sloan Digital Sky Survey. I. The First Results. *Astronomical Journal*. 123(1): 430-442.
- Szkody, P., Fraser, O., Silvestri, N., Henden, A., Anderson, S. F., Frith, J., Lawton, B., Owens, E., Raymond, S., Schmidt, G., Wolfe, M., Bochanski, J., Covey, K., Harris, H., Hawley, S., Knapp, G. R., Margon, B., Voges, W., Walkowicz, L., Brinkmann, J., Lamb, D. Q. (2003). Cataclysmic Variables from the Sloan Digital Sky Survey. II. The Second Year. *Astronomical Journal*. 126(3): 1499-1514.
- Szkody, P., Henden, A., Fraser, O., Silvestri, N., Bochanski, J., Wolfe, M. A., Agüeros, M., Warner, B., Woudt, P., Trampusch, J., Homer, L., Schmidt, G., Knapp, G. R., Anderson, S. F., Covey, K., Harris, H., Hawley, S., Schneider, D. P., Voges, W., Brinkmann, J. (2004). Cataclysmic Variables from the Sloan Digital Sky Survey. III. The Third Year. *Astronomical Journal*. 128(4): 1882-1893.
- Szkody, P., Henden, A., Agüeros, M., Anderson, S. F., Bochanski, J. J., Knapp, G. R., Mannikko, L., Mukadam, A., Silvestri, N. M., Schmidt, G. D., Stephanik, B., Watson, T. K., West, A. A., Winget, D., Wolfe, M. A., Barentine, J. C., Brinkmann, J., Brewington, H. J., Downes, R. A., Harvanek, M., Kleinman, S. J., Krzesinski, J., Long, D., Neilsen, E. H., Nitta, A., Schneider, D. P., Snedden, S. A., Voges, W. (2006). Cataclysmic Variables from Sloan Digital Sky Survey. V. The Fifth Year (2004). *Astronomical Journal*. 131(2): 973-983.
- Szkody, P., Henden, A., Fraser, O. J., Silvestri, N. M., Schmidt, G. D., Bochanski, J. J., Wolfe, M. A., Agüeros, M., Anderson, S. F., Mannikko, L., Downes, R. A., Schneider, D. P., Brinkmann, J. (2005). Cataclysmic Variables from Sloan Digital Sky Survey. IV. The Fourth Year (2003). *Astronomical Journal*. 129(5): 2386-2399.
- Szkody, P., Henden, A., Mannikko, L., Mukadam, A., Schmidt, G. D., Bochanski, J. J., Agüeros, M., Anderson, S. F., Silvestri, N. M., Dahab,

- W. E., Oguri, M., Schneider, D. P., Shin, M.-S., Strauss, M. A., Knapp, G. R., West, A. A. (2007). Cataclysmic Variables from Sloan Digital Sky Survey. VI. The Sixth Year (2005). *Astronomical Journal*. 134(1): 185-194.
- Szkody, P., Anderson, S. F., Hayden, M., Kronberg, M., McGurk, R., Riecken, T., Schmidt, G. D., West, A. A., Gänsicke, B. T., Nebot Gomez-Moran, A., Schneider, D. P., Schreiber, M. R., Schwöpe, A. D. (2009). Cataclysmic Variables from SDSS. VII. The Seventh Year (2006). *Astronomical Journal*. 137(4): 4011-4019.
- Taam, R. E., Sandquist, E. L. and Dubus, G. (2003). Cataclysmic Variable Evolution with Circumbinary Disks. *Astrophysical Journal*. 592(2): 1124-1136.
- Taam, R. E. and Spruit, H. C. (2001). The Evolution of Cataclysmic Variable Binary Systems with Circumbinary Disks. *Astrophysical Journal*. 561(1): 329-336.
- Tappert, C., Augusteijn, T. and Maza, J. (2004). Cataclysmic variables from the Calán-Tololo Survey - I. Photometric periods. *Monthly Notices of the Royal Astronomical Society*. 354(2): 321-331.
- Thorstensen, J. R., Davis, M. K. and Ringwald, F. A. (1991). A spectroscopic study of the eclipsing cataclysmic binary star PG0818 + 513 - A puzzling novalike variable. *Astrophysical Journal*. 102: 683-687.
- Verbunt, F. and Zwaan, C. (1981). Magnetic braking in low-mass X-ray binaries. *Astronomy and Astrophysics*. 100(2): L7-L9.
- Warner, B. (2002). General Properties of Quiescent Novae. in *American Institute of Physics Conference Series*, Vol. 637: 3-15.
- Webbink, R. F. (1979). The formation of the white dwarfs in close binary systems. in *IAU colloquium No. 53: White Dwarfs and Variable Degenerate Stars*, 426-447.
- Whitehurst, R. (1988). Numerical simulations of accretion disks. I - Superhumps - A tidal phenomenon of accretion disks. *Monthly Notices of the Royal Astronomical Society*. 232: 35-51.
- Willems, B., Kolb, U., Sandquist, E. L., Taam, R. E. and Dubus, G. (2005). Angular Momentum Losses and the Orbital Period Distribution of Cataclysmic Variables below the Period Gap: Effects of Circumbinary Disks. *Astrophysical Journal*. 635(2): 1263-1280.
- Witham, A. R., Knigge, C., Gänsicke, B. T., Aungwerojwit, A., Corradi, R. L. M., Drew, J. E., Greimel, R., Groot, P. J., Morales-Rueda, L., Rodriguez-Flores, E. R., Rodriguez-Gil, P., Steeghs, D. (2006). The properties of cataclysmic variables in photometric H α surveys. *Monthly Notices of the Royal Astronomical Society*. 369(2): 581-597.
- Witham, A. R., Knigge, C., Aungwerojwit, A., Drew, J. E., Gänsicke, B. T., Greimel, R., Groot, P. J., Roelofs, G. H. A., Steeghs, D., Woudt, P. A. (2007). Newly discovered cataclysmic variables from the INT/WFC photometric H α survey of the northern Galactic plane. *Monthly Notices of the Royal Astronomical Society*. 382(3): 1158-1168.





การใช้นิวเคลียร์แมกเนติกเรโซแนนซ์สเปกโทรสโกปี เพื่อติดตามการเคลื่อนที่ของน้ำในระบบอาหาร

Use of Nuclear Magnetic Resonance Spectroscopy for Monitoring Water Mobility in Food Systems

ธนจันทร์ มหาวนิช

บทนำ

อาหารโดยทั่วไปมีน้ำเป็นองค์ประกอบหลัก โดยน้ำในอาหารมีบทบาทสำคัญทั้งเชิงปริมาณและเชิงหน้าที่ นอกจากนี้ยังมีอิทธิพลต่อการเปลี่ยนแปลงต่างๆ ทั้งด้านเคมีและชีวเคมี รวมถึงมีผลต่อสมบัติทางกายภาพของอาหารด้วย การเปลี่ยนแปลงต่างๆ ที่เกิดขึ้นในอาหารมิได้สัมพันธ์กับปริมาณน้ำ (moisture content) โดยตรง หากแต่สัมพันธ์กับความอิสระในการเข้าร่วมปฏิกิริยาของน้ำ (water availability) หรือความสามารถในการเคลื่อนที่ของน้ำ (water mobility) น้ำในระบบอาหารสามารถจำแนกได้เป็นน้ำอิสระ (free water) และน้ำที่จับอยู่กับองค์ประกอบอื่นในอาหาร (bound water) ซึ่งน้ำทั้งสองประเภทนี้มีผลต่อการเปลี่ยนแปลงในอาหารที่แตกต่างกัน โดยน้ำอิสระหรือน้ำที่จับอยู่กับองค์ประกอบอื่นอย่างไม่แข็งแรงสามารถเข้าร่วมในปฏิกิริยาต่างๆ ได้ดีกว่าน้ำที่จับอยู่กับองค์ประกอบอื่นอย่างแข็งแรง

นิวเคลียร์แมกเนติกเรโซแนนซ์สเปกโทรสโกปีหรือเอ็นเอ็มอาร์สเปกโทรสโกปี (nuclear magnetic resonance spectroscopy, NMR spectroscopy) เป็นการติดตามการเกิดเรโซแนนซ์ของนิวเคลียสที่มีสมบัติแม่เหล็ก (magnetic nucleus) ที่อยู่ภายใต้อิทธิพลของสนามแม่เหล็กภายนอก ข้อดีของเทคนิคนี้คือเป็นวิธีที่ไม่ทำลายตัวอย่าง ตัวอย่างที่ศึกษาโดยนิวเคลียร์แมกเนติกเรโซแนนซ์แล้วสามารถนำไปใช้ศึกษาโดยวิธีอื่นๆ ได้ต่อไป เทคนิคนิวเคลียร์แมกเนติกเรโซแนนซ์นอกจากจะมีการนำมาใช้เพื่อระบุโครงสร้างทางเคมีของสารต่างๆ อย่างกว้างขวางแล้ว ยังสามารถใช้เพื่อศึกษาการเคลื่อนที่ของน้ำและสารต่างๆ โดยการติดตามการผ่อนคลาย (relaxation) ทางนิวเคลียร์แมกเนติกเรโซแนนซ์ได้ด้วย

¹ ภาควิชาเทคโนโลยีทางอาหาร คณะวิทยาศาสตร์ จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย ถนนพญาไท แขวงวังใหม่ เขตปทุมวัน กรุงเทพฯ 10330

หลักการของนิวเคลียร์แมกเนติกเรโซแนนซ์สเปกโทรสโกปี

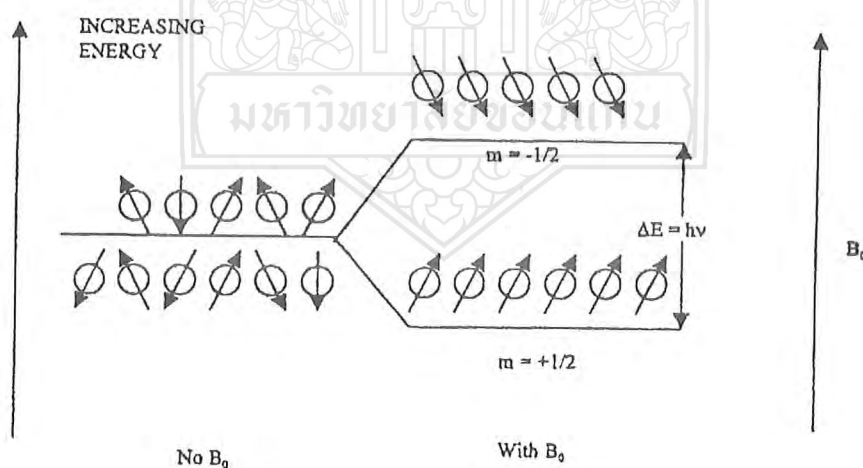
หลักการของนิวเคลียร์แมกเนติกเรโซแนนซ์สเปกโทรสโกปี คือการติดตามการดูดกลืนพลังงานโดยนิวเคลียสที่มีสมบัติแม่เหล็กที่อยู่ภายใต้อิทธิพลของสนามแม่เหล็กภายนอก (B_0) นิวเคลียสที่มีสมบัติแม่เหล็กคือนิวเคลียสที่มีจำนวนโปรตอนหรือนิวตรอนเป็นเลขคี่ ซึ่งนิวเคลียสเหล่านี้มีเลขควอนตัมสปิน (spin quantum number) ที่ไม่เท่ากับศูนย์และสามารถเกิดอันตรกิริยากับสนามแม่เหล็กภายนอกได้ ตัวอย่างของนิวเคลียสที่มีสมบัติแม่เหล็ก ได้แก่ ^1H , ^2H , ^3H , ^{13}C , ^{14}N , ^{15}N , ^{17}O , ^{19}F , ^{23}Na และ ^{39}K

นิวเคลียสที่มีสมบัติแม่เหล็กมีพฤติกรรมคล้ายแท่งแม่เหล็กเล็กๆ โดยสนามแม่เหล็กที่ล้อมรอบนิวเคลียสแต่ละตัวเรียกว่า โมเมนต์แม่เหล็ก (magnetic moment) ซึ่งเป็นปริมาณเวกเตอร์ รูปที่ 1 แสดงการจัดเรียงตัวของนิวเคลียสที่มีสมบัติแม่เหล็กในกรณีที่ไม่มีและมีสนามแม่เหล็กภายนอก เมื่อไม่มีสนามแม่เหล็กภายนอก โมเมนต์แม่เหล็กเหล่านี้จะการจัดเรียงตัวแบบสุ่ม (random orientation) ส่งผลให้ความเป็นแม่เหล็กโดยรวม (net magnetization) มีค่าเท่ากับศูนย์ เมื่อมีสนามแม่เหล็กภายนอก โมเมนต์แม่เหล็กเหล่านี้จะจัดเรียงตัวโดยมีทิศทางไปทางเดียวกัน (aligned orientation) หรือตรงกันข้าม (opposed orientation) กับสนามแม่เหล็กภายนอก โดยนิวเคลียสที่มีทิศทางของโมเมนต์แม่เหล็กไปทางเดียวกันกับสนามแม่เหล็กภายนอกอยู่ในระดับพลังงานที่ต่ำกว่า ในขณะที่นิวเคลียสที่มีทิศทางของโมเมนต์แม่เหล็กตรงกันข้ามกับสนามแม่เหล็กภายนอกอยู่ในระดับพลังงานที่สูงกว่า ความต่างของพลังงาน (ΔE) ของนิวเคลียสที่อยู่ในระดับพลังงานที่ต่างกันเป็นไปตามความสัมพันธ์ของบอร์ (Bohr relationship) ดังสมการที่ 1

$$\Delta E = h \nu$$

(สมการที่ 1)

เมื่อ h คือค่าคงที่ของพลังก์ (Planck's constant) ซึ่งเท่ากับ $6.63 \times 10^{-34} \text{ J s}$ และ ν คือความถี่ของการเกิดเรโซแนนซ์ในหน่วย เฮิร์ต (หรือ s^{-1})



รูปที่ 1 แผนภาพแสดงการจัดเรียงตัวของนิวเคลียสที่มีสมบัติแม่เหล็กซึ่งมีเลขควอนตัมสปินเท่ากับ $1/2$ ในกรณีที่ไม่มีและมีสนามแม่เหล็กภายนอก (B_0) (ดัดแปลงจาก: Schmidt and Lai, 1991)

เมื่อมีสนามแม่เหล็กภายนอกนิวเคลียสที่มีสมบัติแม่เหล็กจะมีการหมุนสายแบบวงกลมรอบแกน z คล้ายกับการหมุนของลูกข่าง (รูปที่ 2) ซึ่งเรียกว่าการหมุนแบบลาร์เมอร์ (Larmor precession) ความถี่ของการหมุนนี้เป็นไปตามความสัมพันธ์ของลาร์เมอร์ (Larmor relationship) ตามสมการที่ 2

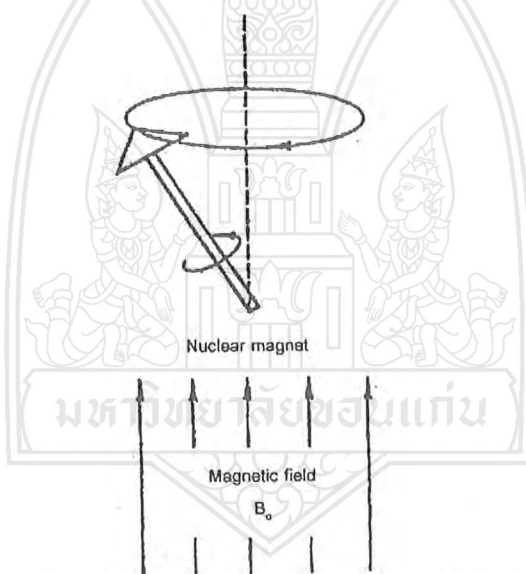
$$\omega = 2\pi \nu = \gamma B_0 \quad (\text{สมการที่ 2})$$

เมื่อ ω คือความถี่ของลาร์เมอร์ในหน่วย rad s^{-1} และ ν คือความถี่ของการหมุนในหน่วย เฮิร์ต ในขณะ γ คืออัตราส่วนไจโรแมกเนติก (gyromagnetic ratio) ซึ่งเป็นค่าเฉพาะของแต่ละนิวเคลียสในหน่วย $\text{rad T}^{-1} \text{s}^{-1}$ และ B_0 คือความเข้ม (magnetic field strength) ของสนามแม่เหล็กภายนอกในหน่วย Tesla (T)

ที่สภาวะสมดุลของความร้อน จำนวนสัมพัทธ์ของนิวเคลียสในแต่ละระดับพลังงานเป็นไปตามกฎการกระจายของโบลทซ์มานน์ (Boltzmann distribution law) ดังสมการที่ 3

$$N_\alpha/N_\beta = \exp(\Delta E/kT) \quad (\text{สมการที่ 3})$$

เมื่อ N_α และ N_β คือจำนวนนิวเคลียสในระดับพลังงานต่ำและระดับพลังงานสูงตามลำดับ T คืออุณหภูมิสัมบูรณ์ และ k คือค่าคงที่ของโบลทซ์มานน์ซึ่งเท่ากับ $1.38 \times 10^{-23} \text{ J K}^{-1}$ โดยที่สภาวะสมดุลของความร้อน นิวเคลียสในระดับพลังงานต่ำจะมีจำนวนมากกว่านิวเคลียสในระดับพลังงานสูง

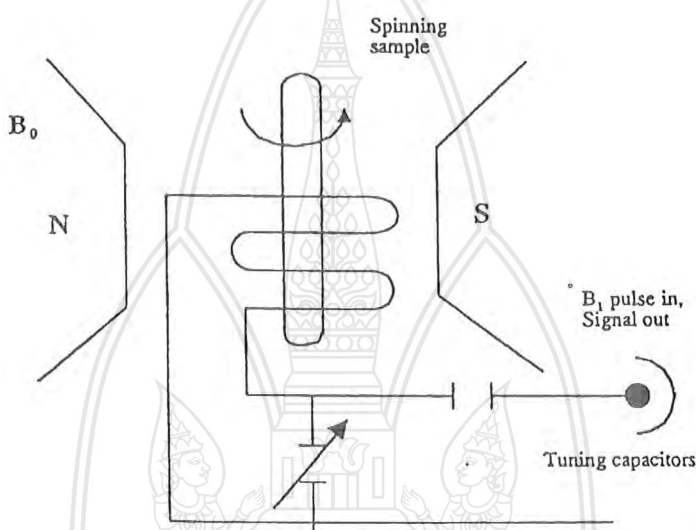


รูปที่ 2 การหมุนสายของนิวเคลียสที่มีสมบัติแม่เหล็กเมื่ออยู่ในสนามแม่เหล็ก (ที่มา: Kemp, 1986)

เมื่อมีการให้พลังงานในช่วงความถี่ของคลื่นวิทยุ (radiofrequency energy, B_1) แก่นิวเคลียสเหล่านี้ จะเกิดการเปลี่ยนแปลงของนิวเคลียสในระดับพลังงานทั้งสอง การเปลี่ยนแปลงนี้จะเกิดขึ้นต่อเมื่อความถี่ดังกล่าว ตรงกับ ΔE ของระดับพลังงานพอดี จากการที่นิวเคลียสในระดับพลังงานต่ำมีจำนวนมากกว่าจึงสามารถติดตามการดูดกลืนพลังงานในช่วงความถี่ของคลื่นวิทยุได้ เมื่อนิวเคลียสในระดับพลังงานต่างๆ มีจำนวนเท่ากันจะไม่มี การดูดกลืนพลังงานในช่วงความถี่ของคลื่นวิทยุอีกต่อไปเรียกปรากฏการณ์นี้ว่าระบบเกิดการอิ่มตัว (saturation)

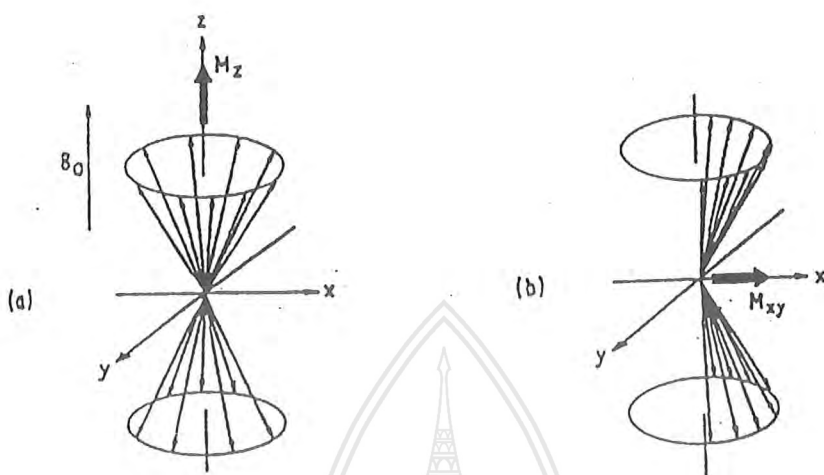
การผ่อนคลายทางนิวเคลียร์แมกเนติกเรโซแนนซ์ (Nuclear Magnetic Resonance Relaxations)

รูปที่ 3 แสดงแผนภาพของนิวเคลียร์แมกเนติกเรโซแนนซ์สเปกโตรมิเตอร์ โดยหลอดตัวอย่างจะถูกบรรจุไว้ในอุปกรณ์ตรวจวัด (probe) ซึ่งอยู่ในสนามแม่เหล็กภายนอก (B_0) ที่มีขนาดคงที่ มีผลทำให้เกิดการจัดเรียงตัวของนิวเคลียสที่มีสมบัติแม่เหล็กในระดับพลังงานต่างๆ โดยทั่วไปเครื่องสเปกโตรมิเตอร์มักมีการหมุนหลอดตัวอย่างรอบแกนตั้ง (แกน z) เพื่อให้นิวเคลียสได้รับสนามแม่เหล็กภายนอกอย่างสม่ำเสมอในระนาบ xy สนามแม่เหล็กที่ผลิตโดยคลื่นแม่เหล็กไฟฟ้าในช่วงความถี่ของคลื่นวิทยุจะถูกส่งเข้าไปในทิศทางตั้งฉากกับสนามแม่เหล็กภายนอกกล่าวคือในทิศทางของระนาบ xy โดยมีความถี่เท่ากับความถี่ของการเกิดเรโซแนนซ์ของนิวเคลียส



รูปที่ 3 แผนภาพของนิวเคลียร์แมกเนติกเรโซแนนซ์สเปกโตรมิเตอร์ (ดัดแปลงจาก: Kemp, 1986)

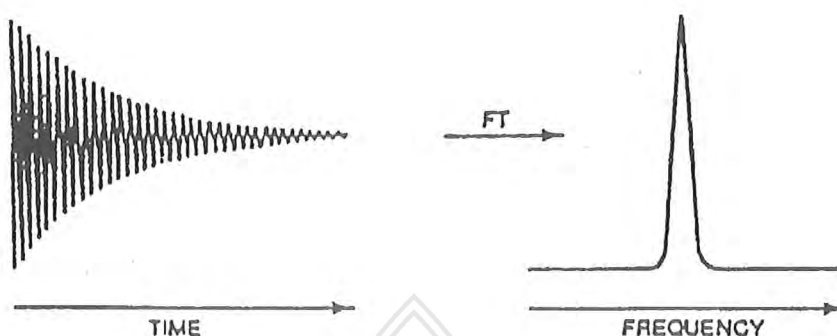
ตามที่กล่าวแล้วว่า เมื่อนิวเคลียสที่มีสมบัติแม่เหล็กอยู่ในสนามแม่เหล็กภายนอก (B_0) จะเกิดการจัดเรียงตัวอยู่ในระดับพลังงานต่างๆ และเนื่องจากนิวเคลียสที่อยู่ในระดับพลังงานต่ำมีจำนวนมากกว่าจึงเกิดความเป็นแม่เหล็กโดยรวมตามแกน z (M_z) ที่มีทิศทางไปทางเดียวกับสนามแม่เหล็กภายนอก (M_z) (รูปที่ 4a) และเนื่องจากนิวเคลียสที่มีสมบัติแม่เหล็กมีการหมุนรอบแกน z จึงทำให้ความเป็นแม่เหล็กโดยรวมในระนาบ xy มีค่าเท่ากับศูนย์ เมื่อให้สนามแม่เหล็กซึ่งเกิดจากคลื่นแม่เหล็กไฟฟ้าในช่วงความถี่ของคลื่นวิทยุ (B_1) เข้าไป (รูปที่ 4b) นิวเคลียสในระดับพลังงานต่ำจะเกิดการกลับตัว (spin flipping) ไปอยู่ในระดับพลังงานสูง นอกจากนี้ยังทำให้เกิดการรวมกลุ่มของโมเมนต์แม่เหล็ก (phase coherence) ในทิศทางของแกน x เป็นผลให้ความเป็นแม่เหล็กโดยรวมปรากฏขึ้นในระนาบ xy เรียก M_{xy} ซึ่งสามารถตรวจติดตามได้ด้วยอุปกรณ์รับสัญญาณ (detection coil) ซึ่งอยู่ในระนาบ xy



รูปที่ 4 (a) เมื่อนิวเคลียสที่มีสมบัติแม่เหล็กอยู่ในสนามแม่เหล็กภายนอก (B_0) จะเกิดความเป็นแม่เหล็กโดยรวมตามแกน z (M_z) (b) เมื่อให้สนามแม่เหล็กที่ผลิตโดยคลื่นแม่เหล็กไฟฟ้าในช่วงความถี่ของคลื่นวิทยุ (B_1) จะทำให้เกิดการกลับของนิวเคลียส (spin flipping) และการรวมกลุ่มของโมเมนต์แม่เหล็ก (phase coherence) ทำให้เกิดความเป็นโดยรวมในระนาบ xy (M_{xy}) (ที่มา: Campbell and Dwek, 1984)

เมื่อหยุดการให้สนามแม่เหล็ก B_1 ระบบจะเกิดการผ่อนคลาย (relaxation) และกลับคืนสู่ภาวะสมดุล (รูปที่ 4a) ซึ่งเป็นการสูญเสียการจัดเรียงตัวของนิวเคลียสอันเป็นผลมาจากการให้สนามแม่เหล็ก B_1 ปรากฏการณ์นี้เรียกว่า dephasing เวกเตอร์แม่เหล็กจะกลับมาหมุนรอบแกน z ใหม่ การหายไปของเวกเตอร์แม่เหล็กในระนาบ xy จะทำให้เกิดกระแสไฟฟ้าซึ่งสามารถตรวจวัดได้โดยอุปกรณ์รับสัญญาณซึ่งมีตำแหน่งอยู่ในระนาบ xy ผลที่ได้คือพล็อตของความเข้มสัญญาณที่เปลี่ยนแปลงตามเวลาซึ่งเรียกว่า Free Induction Decay (FID) (รูปที่ 5) ซึ่งโดยทั่วไปมักแปลง FID โดยใช้ฟูเรียร์ทรานสฟอร์มเมชัน (fourier transformation) ให้อยู่ในรูปพล็อตของความเข้มสัญญาณที่สัมพันธ์กับความถี่

การผ่อนคลายทางนิวเคลียร์แมกเนติกเรโซแนนซ์มีสองประการได้แก่ การผ่อนคลายแบบสปิน-แลตทิซ หรือการผ่อนคลายตามยาว (spin-lattice or longitudinal relaxation) และการผ่อนคลายแบบสปิน-สปินหรือการผ่อนคลายตามขวาง (spin-spin or transverse relaxation) การผ่อนคลายแบบสปิน-แลตทิซคือการที่นิวเคลียสที่มีสมบัติแม่เหล็กสูญเสียพลังงานให้แก่สิ่งแวดล้อมและสัมพันธ์กับการกลับคืนมาของ M_z เวลาของการผ่อนคลายแบบสปิน-แลตทิซ (spin-lattice or longitudinal relaxation time) ใช้สัญลักษณ์แทนว่า T_1 ในขณะที่การผ่อนคลายแบบสปิน-สปินเป็นการแลกเปลี่ยนพลังงานระหว่างนิวเคลียสทำให้ไม่มีการสูญเสียพลังงานโดยรวมของระบบ การผ่อนคลายแบบนี้สัมพันธ์กับการหายไปของ M_{xy} เวลาของการผ่อนคลายแบบสปิน-สปิน (spin-spin or transverse relaxation time) ใช้สัญลักษณ์แทนว่า T_2



รูปที่ 5 ฟูเรียทรานสฟอร์มเมชัน (FT) แปลงพล็อตของความเข้มสัญญาณที่เปลี่ยนแปลงตามเวลาให้อยู่ในรูปของความเข้มสัญญาณที่สัมพันธ์กับความถี่ (ที่มา: Schmidt and Lai, 1991)

T_1 และ T_2 สามารถวัดได้โดยใช้รูปแบบของการให้พลังงาน (pulse sequence) ในช่วงความถี่ของคลื่นวิทยุแบบหลายขั้นตอน (multipulse sequence) (Derome, 1987) ตัวอย่างเช่น T_1 สามารถวัดได้โดยใช้วิธี Inversion Recovery (Berliner and Reuben, 1980; Kemp, 1986) และ T_2 สามารถวัดได้โดยใช้ Carr-Purcell-Meiboom-Gill (CPMG) multipulse sequence (Derome, 1987) รายละเอียดของ multipulse sequence รูปแบบต่างๆ สามารถพบได้ในตำราเกี่ยวกับนิวเคลียร์แมกเนติกเรโซแนนซ์สเปกโทรสโกปี เช่น Campbell and Dwek (1984); Kemp (1986) และ Bakhmutov (2005)

นอกจากการใช้ multipulse sequence แล้ว T_2 ยังสามารถคำนวณได้จากความกว้างของพีกเรโซแนนซ์ที่ความสูงครึ่งหนึ่งของพีก (width at half-height, $\Delta\nu_{1/2}$) โดยใช้สมการที่ 4 (Dwek, 1973)

$$T_2 = 1/\pi\Delta\nu_{1/2} \quad (\text{สมการที่ 4})$$

T_2 ที่ได้จากความกว้างของพีกเรโซแนนซ์ที่ความสูงครึ่งหนึ่งของพีกนี้อาจใช้สัญลักษณ์แทนว่า T_2^* โดยทั่วไป T_2^* อาจมีค่าสูงกว่าหรือเท่ากับ T_2 ที่ได้จากการวัดโดยใช้ multipulse sequence เนื่องจาก T_2^* นอกจากจะขึ้นกับการผ่อนคลายแบบสปิน-สปินแล้ว ยังอาจมีผลมาจากความไม่สม่ำเสมอของสนามแม่เหล็กด้วย (Derome, 1987) อย่างไรก็ตามเพื่อความสะดวกบางครั้ง T_2^* อาจรายงานโดยละเครื่องหมายดอกจันไว้ การผ่อนคลายทางนิวเคลียร์แมกเนติกเรโซแนนซ์นอกจากจะรายงานในรูปเวลาแล้วยังสามารถรายงานในรูปอัตราการผ่อนคลาย (relaxation rate) โดยอัตราการผ่อนคลายเป็นส่วนกลับของเวลาการผ่อนคลาย ($R = 1/T$)

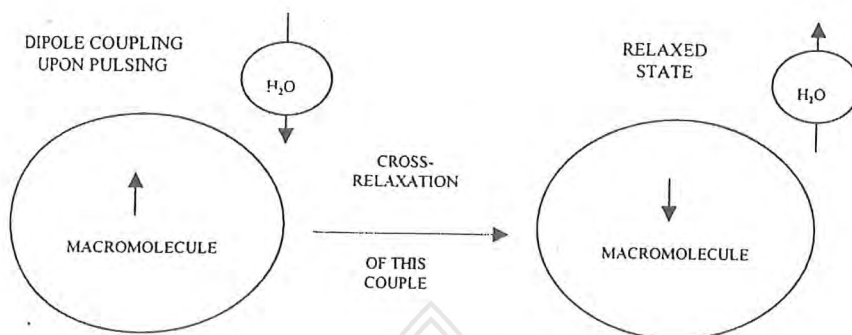
การศึกษาการเคลื่อนที่ของน้ำโดยใช้เทคนิคนิวเคลียร์แมกเนติกเรโซแนนซ์

นิวเคลียร์แมกเนติกเรโซแนนซ์เป็นเทคนิคที่มีประสิทธิภาพสูงซึ่งสามารถใช้เพื่อศึกษาการเคลื่อนที่ของน้ำในระบบอาหาร โดยใช้เวลาหรืออัตราการผ่อนคลายทางนิวเคลียร์แมกเนติกเรโซแนนซ์เป็นดัชนีบ่งบอกถึงความสามารถในการเคลื่อนที่ของน้ำ ค่า T_1 และ T_2 ที่สูง (หรือ R_1 และ R_2 ที่ต่ำ) แสดงถึงความสามารถในการเคลื่อนที่ของน้ำที่สูง โดยในการกลับคืนสู่ภาวะสมดุลของนิวเคลียสแม่เหล็กหลังจากหยุดให้สนามแม่เหล็ก B_1 นิวเคลียสแม่เหล็กของน้ำอิสระหรือน้ำที่จับอยู่กับองค์ประกอบอื่นอย่างไม่แข็งแรงจะสามารถส่งถ่ายพลังงานไป

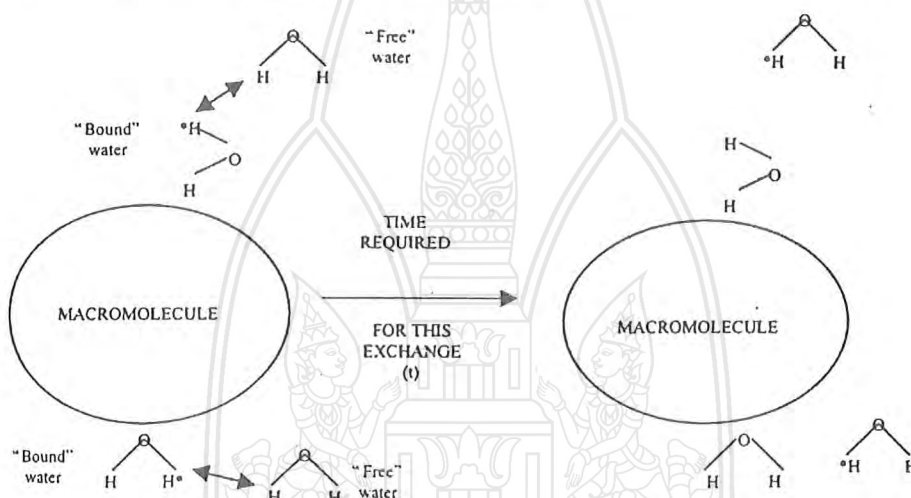
ยังโมเลกุลข้างเคียงได้ช้ากว่านิวเคลียสแม่เหล็กของน้ำที่จับอยู่กับองค์ประกอบอื่นอย่างแข็งแรง ทำให้เวลาการผ่อนคลายมีค่าสูงกว่าหรืออัตราการผ่อนคลายมีค่าต่ำกว่า

การติดตามการเคลื่อนที่ของน้ำโดยใช้เทคนิคนิวเคลียร์แมกเนติกเรโซแนนซ์สามารถศึกษาได้โดยใช้นิวเคลียสของน้ำสี่ตัว ได้แก่ ^1H (โปรตอน) ^2H (ดิวทีเรียม) ^3H (โทรเทียม) และ ^{17}O (ออกซิเจน-17) เนื่องจากนิวเคลียสทั้งสี่ตัวนี้มีสมบัติแม่เหล็ก ส่วน ^{16}O (ออกซิเจน-16) ไม่มีสมบัติแม่เหล็กจึงไม่สามารถติดตามได้โดยเทคนิคทางนิวเคลียร์แมกเนติกเรโซแนนซ์

การศึกษาโมเลกุลน้ำโดยใช้เทคนิคนิวเคลียร์แมกเนติกเรโซแนนซ์ส่วนใหญ่มักติดตามนิวเคลียส ^1H ซึ่งสามารถทำได้ง่ายเนื่องจากมีปริมาณมากในธรรมชาติ โดยปริมาณที่พบในธรรมชาติของ ^1H , ^2H , ^3H และ ^{17}O เท่ากับร้อยละ 99.98 0.015 0 และ 0.037 ตามลำดับ (Kemp, 1986) อย่างไรก็ตามการติดตาม ^1H ยังมีปัญหาที่เกี่ยวข้องบางประการ ในระบบของน้ำบริสุทธิ์การผ่อนคลายของ ^1H เป็นผลมาจากอันตรกิริยาไดโพล-ไดโพลภายในโมเลกุล (Abragam, 1961) แต่ในระบบที่ประกอบด้วยสารอื่น จะมีกลไกอีกสองประการที่มีผลต่อการผ่อนคลายของ ^1H ได้แก่ cross-relaxation และ chemical exchange (รูปที่ 6 และ 7) กระบวนการ cross-relaxation (รูปที่ 6) เกิดขึ้นเนื่องจากการควบคู่ (coupling) ของไดโพลโมเมนต์ของโปรตอนในโมเลกุลน้ำกับไดโพลโมเมนต์ของโปรตอนในโมเลกุลอื่น เป็นผลให้เกิดการส่งถ่ายความเป็นแม่เหล็กจากโปรตอนในโมเลกุลน้ำไปยังโปรตอนในโมเลกุลอื่น (Edzes and Samulski, 1978; Lankhorst and Leyte, 1984; Piculell and Halle, 1986a) กระบวนการ cross-relaxation นี้ทำให้เวลาหรืออัตราการผ่อนคลายของโปรตอนที่เกิดควบคู่มีค่าเท่ากัน สำหรับ chemical exchange (รูปที่ 7) เป็นการแลกเปลี่ยนโปรตอนของน้ำอิสระกับโปรตอนของน้ำที่จับอยู่กับโมเลกุลอื่น (Koenig et al., 1975; Kalk and Berendsen, 1976; Sykes et al., 1978; Bryant and Shirley, 1980) มีปัจจัยหลายประการที่มีอิทธิพลต่อ chemical exchange ได้แก่ (1) อัตราของการแลกเปลี่ยนระหว่างโปรตอนต่างๆ (2) จำนวนของโมเลกุลน้ำและโมเลกุลอื่น (3) จำนวนของโปรตอนในโมเลกุลต่างๆ และ (4) เวลาหรืออัตราการผ่อนคลายของโปรตอนในโมเลกุลต่างๆ (Kemp, 1986) ในกรณีที่ในระบบมีน้ำอยู่สองประเภทคือน้ำอิสระและน้ำที่จับอยู่กับโมเลกุลอื่น หาก chemical exchange ของโปรตอนในโมเลกุลน้ำเกิดขึ้นในอัตราสูงกว่าความถี่ที่ใช้ในการศึกษาทางนิวเคลียร์แมกเนติกเรโซแนนซ์ เวลาหรืออัตราการผ่อนคลายจะเป็นค่าเฉลี่ยของโปรตอนในโมเลกุลน้ำทั้งสองประเภท ในขณะที่หาก chemical exchange ของโปรตอนในโมเลกุลน้ำเกิดขึ้นในอัตราต่ำกว่าความถี่ที่ใช้ในการศึกษา นิวเคลียร์แมกเนติกเรโซแนนซ์ จะสามารถวัดเวลาหรืออัตราการผ่อนคลายของโปรตอนทั้งสองชนิด และในสเปกตรัมจะปรากฏพีคขึ้นสองพีค



รูปที่ 6 แผนภาพแสดงการเกิด cross-relaxation ลูกศรแสดงไดโพลโมเมนต์ของโปรตอนของสารโมเลกุลใหญ่และโมเลกุลน้ำ โดยโปรตอนของโมเลกุลน้ำส่งถ่ายความเป็นแม่เหล็กไปยังโปรตอนของสารโมเลกุลใหญ่ที่เกิดการควบคู่กัน (ที่มา: Richardson and Steinberg, 1987)



รูปที่ 7 แผนภาพแสดงการเกิด chemical exchange ระหว่างโมเลกุลน้ำ โดยเป็นการแลกเปลี่ยนเชิงกายภาพระหว่างโปรตอนของโมเลกุลน้ำอิสระ (H) กับ โปรตอนของโมเลกุลน้ำที่จับอยู่กับสาร โมเลกุลใหญ่ (H*) (ที่มา: Richardson and Steinberg, 1987)

ปัญหาที่กล่าวมาข้างต้นสามารถกำจัดได้โดยการใช้นิวเคลียสที่เป็นควอดรูโพล (นิวเคลียสที่มีเลขควอนตัมสปินมากกว่า 1/2) ซึ่งในกรณีของน้ำได้แก่ ^2H และ ^{17}O การผ่อนคลายของนิวเคลียสเหล่านี้จะถูกกำหนดโดยกลไกควอดรูโพล และไม่มีอิทธิพลจาก cross-relaxation ของไดโพล อย่างไรก็ตามการผ่อนคลายของ ^2H ยังมีอิทธิพลจาก chemical exchange (Piculell and Halle, 1986a, b) ในขณะที่การผ่อนคลายของ ^{17}O ไม่มีผลจาก chemical exchange ยกเว้นในช่วงของพีเอชแคบๆ ในช่วงเป็นกลาง (Richardson, 1989) chemical exchange ที่เกิดขึ้นนี้เป็นผลมาจากการควบคู่ของนิวเคลียส ^1H กับ ^{17}O (Glaser, 1972) เป็นที่น่าสังเกตว่า chemical exchange มีอิทธิพลต่อ T_2 เท่านั้น โดยไม่มีอิทธิพลต่อ T_1 (Glaser, 1972; Hall and Karlstrom, 1983a, b) เพื่อศึกษาผลของ proton exchange broadening (PEB) ของ ^{17}O NMR นั้น Richardson (1989) วัด ^{17}O NMR R_2 โดยคำนวณจาก

$\Delta\nu_{1/2}$ ของ H_2O และสารละลายสตาร์ชข้าวโพดใน H_2O เข้มข้นร้อยละ 40 โดยน้ำหนัก พบว่าสำหรับทั้งสองระบบ PEB เกิดขึ้นสูงสุดในช่วงพีเอชเป็นกลาง (5.5-8.5) นอกจากนี้ผู้วิจัยยังศึกษาการใช้ D_2O เป็นตัวทำละลาย รวมทั้งการทำ decoupling ของโปรตอนเพื่อลดหรือกำจัด PEB สำหรับระบบทั้งสอง พบว่าการใช้ D_2O สามารถช่วยลด PEB ลงได้อย่างมีนัยสำคัญ อย่างไรก็ตามผู้วิจัยรายงานว่ายังคงมีการเพิ่มขึ้นของ R_2 ในช่วงพีเอชเป็นกลาง ส่วนการใช้ proton decoupling สามารถกำจัด PEB ได้อย่างมีประสิทธิภาพ ดังนั้นการใช้ ^1H -decoupled ^{17}O NMR จึงเป็นวิธีที่แนะนำสำหรับการศึกษาการเคลื่อนที่ของน้ำ

การศึกษาการเคลื่อนที่ของน้ำในระบบอาหารต่างๆ

เนื่องจากนิวเคลียร์แมกเนติกเรโซแนนซ์เป็นเทคนิคที่มีประสิทธิภาพสูงซึ่งสามารถศึกษาได้ในระดับโมเลกุล จึงมีการนำมาใช้ศึกษาการเคลื่อนที่ของน้ำในระบบอาหารทั้งที่เป็นของเหลว ของกึ่งแข็ง (semi-solid) และของแข็งกันอย่างแพร่หลาย ตัวอย่างเช่น

Tait et al. (1972) ศึกษาการเคลื่อนที่ของน้ำในระบบสารละลายกลูโคส ไรโบส และแมนโนส โดยใช้ ^{17}O NMR ในการศึกษาผู้วิจัยปรับค่าพีเอชของสารละลายน้ำตาลให้มีค่าเท่ากับ 3.5 เพื่อกำจัดผลของ PEB และรายงานว่าในช่วงอุณหภูมิ 0-80 องศาเซลเซียส R_2^* ของน้ำในสารละลายน้ำตาลเข้มข้น 2.8 โมลาร์มีค่าสูงกว่าน้ำบริสุทธิ์ แสดงว่าน้ำในสารละลายน้ำตาลมีการเคลื่อนที่ที่ต่ำกว่าน้ำบริสุทธิ์ และที่ความเข้มข้นเท่ากันน้ำในสารละลายน้ำตาลเฮกโซสมิมีค่า R_2^* สูงกว่าน้ำในสารละลายน้ำตาลเพนโทส นอกจากนี้ยังรายงานค่า R_2^* ของน้ำในสารละลายน้ำตาลมีค่าเพิ่มขึ้น (การเคลื่อนที่ของน้ำลดลง) เมื่อความเข้มข้นของสารละลายเพิ่มขึ้น

Padua (1989) ศึกษาการเคลื่อนที่ของน้ำในสารละลายน้ำตาลสี่ชนิด ได้แก่ แลกโทส ฟรุคโทส กลูโคส และซูโครส โดยใช้ ^1H NMR และรายงานค่า $\log$ ของ R_1 มีความสัมพันธ์เชิงเส้นตรงกับความเข้มข้นของสารละลายน้ำตาลทั้งสี่ชนิด นอกจากนี้ผู้วิจัยยังพบที่มีความสัมพันธ์เชิงเส้นตรงระหว่างค่า $\log$ ของความหนืดและความเข้มข้นของสารละลายน้ำตาลทั้งสี่ชนิด และมีค่าความชันของกราฟใกล้เคียงกับกราฟระหว่าง $\log$ ของ R_1 และความเข้มข้น ผู้วิจัยจึงได้สรุปว่าความหนืดของสารละลายน้ำตาลขึ้นอยู่กับ การเคลื่อนที่ของโมเลกุลน้ำ

Lai and Schmidt (1990) ติดตามการเคลื่อนที่ของน้ำในสารละลายแลกโทสที่ความเข้มข้นต่างๆ โดยใช้ ^1H -decoupled ^{17}O NMR ผู้วิจัยรายงานว่าในช่วงความเข้มข้น 10-25 กรัมแลกโทสต่อน้ำ 100 กรัม ค่า R_2^* เพิ่มขึ้นโดยมีความสัมพันธ์กับความเข้มข้นในเชิงเส้นตรง แต่เมื่อความเข้มข้นของแลกโทสสูงกว่า 25 กรัมต่อน้ำ 100 กรัม R_2^* มีค่าเพิ่มสูงขึ้นอย่างรวดเร็วและไม่สัมพันธ์กับความเข้มข้นในเชิงเส้นตรง ผู้วิจัยให้สมมติฐานว่าการที่การเคลื่อนที่ของน้ำที่ลดลง (R_2^* เพิ่มขึ้น) เมื่อความเข้มข้นเพิ่มสูงขึ้นเป็นผลมาจากการเกิดพันธะไฮโดรเจนระหว่างโมเลกุลน้ำกับแลกโทส และระหว่างโมเลกุลแลกโทสด้วยกันเอง

Choi and Kerr (2003) ศึกษาปริมาณและการเคลื่อนที่ของน้ำในสารแขวนลอยของสตาร์ชข้าวสาลีที่มีวอเตอร์เอกทิวิตีเท่ากับ 0-0.93 และรายงานวปริมาณความชื้นที่ได้จากการวิเคราะห์โดยใช้ ^1H NMR มีความสัมพันธ์กับปริมาณความชื้นที่วิเคราะห์ด้วยวิธีกราวิเมตริก ($R^2 = 0.99$) นอกจากนี้ยังพบว่า T_2 ของโมเลกุลน้ำมีค่าเพิ่มขึ้นเมื่อวอเตอร์เอกทิวิตีของสารแขวนลอยสตาร์ชเพิ่มขึ้น โดยมีความสัมพันธ์เชิงเส้นตรงในช่วงวอเตอร์

เอกวิติเท่ากับ 0-0.69 ผู้วิจัยเสนอว่า ^1H NMR สามารถใช้เพื่อวิเคราะห์ปริมาณความชื้นและศึกษาการเคลื่อนที่ของโมเลกุลน้ำได้ในช่วงความชื้นต่ำ

Pitombo and Lima (2003) ใช้ ^1H NMR ศึกษาการเคลื่อนที่ของน้ำในเนื้อปลา Pintado (*Pseudoplatystoma corruscans*) ซึ่งเป็นปลาน้ำจืดของบราซิล และรายงานว่านิวเคลียร์แมกเนติกเรโซแนนซ์เป็นเทคนิคที่มีประสิทธิภาพสูงที่สามารถใช้เพื่อติดตามการเคลื่อนที่ของน้ำในระบบที่ไม่เป็นเนื้อเดียวกัน โดยในตัวอย่างปลาดังกล่าวพบโปรตอนของน้ำสามกลุ่มที่มีอัตราการผ่อนคลายทางนิวเคลียร์แมกเนติกเรโซแนนซ์ที่ต่างกัน ซึ่งแสดงถึงการเคลื่อนที่หรือความเป็นอิสระที่ต่างกันของน้ำทั้งสามกลุ่มนี้

Mahawanich and Schmidt (2004) ศึกษาการเคลื่อนที่ของน้ำในสารละลายซูโครส ฟรุกโตส และกลูโคส โดยใช้ ^1H -decoupled ^{17}O NMR พบว่าการเคลื่อนที่แบบหมุน (rotational mobility) ของน้ำที่ศึกษาโดยใช้ค่า R_1 , R_2 และ R_2^* สัมพันธ์กับความหนืดของสารละลายแต่ไม่มีความสัมพันธ์กับระดับของรสหวาน อย่างไรก็ตามผู้วิจัยรายงานว่าระดับของรสหวานมีความสัมพันธ์กับค่าสัมประสิทธิ์การแพร่ของน้ำ (self-diffusion coefficient) ที่ติดตามโดยใช้เทคนิคทางนิวเคลียร์แมกเนติกเรโซแนนซ์

Salomonsen et al. (2007) ศึกษาการเคลื่อนที่ของน้ำในเครื่องดื่มจากนมที่มีความเป็นกรด (acidified milk drink) โดยใช้ ^1H NMR และรายงานว่านิวเคลียร์แมกเนติกเรโซแนนซ์สามารถใช้เพื่อทำนายความเสถียรต่อการแยกตัวของเครื่องดื่มชนิดนี้ได้ โดยตัวอย่างเครื่องดื่มที่มีความเสถียรต่ำ (ตัวอย่างที่เติมเพกทินเข้มข้นร้อยละ 0 และ 0.1) มีช่วงการกระจายของค่า T_2 ที่กว้างกว่าตัวอย่างเครื่องดื่มที่มีความเสถียรสูง (ตัวอย่างที่เติมเพกทินเข้มข้นร้อยละ 0.3 และ 0.5) นอกจากนี้ผู้วิจัยยังพบว่าการเคลื่อนที่ของน้ำมีค่าลดลงเมื่อความเข้มข้นของเพกทินและของแข็งที่ไม่รวมไขมัน (milk solids non fat) เพิ่มขึ้น

Korsrilabut et al. (2010) และ Sritongtae et al. (in press) ศึกษาการเคลื่อนที่ของน้ำในแคนดาลูปแช่เย็นอบแห้งโดยใช้เทคนิคนิวเคลียร์แมกเนติกเรโซแนนซ์ โดย Korsrilabut et al. (2010) ทดแทนซูโครสในสารละลายออสโมติกด้วยน้ำตาลอินเวิร์ต ในขณะที่ Sritongtae et al. (2010) ทดแทนซูโครสในสารละลายออสโมติกด้วยซอร์บิทอลหรือกลีเซอรอล พบว่าการทดแทนซูโครสด้วยน้ำตาลอินเวิร์ตหรือพอลิออลมีผลให้ ^1H NMR T_1 ของโมเลกุลน้ำในแคนดาลูปแช่เย็นอบแห้งมีค่าลดลง ผู้วิจัยเสนอว่าการเคลื่อนที่ของน้ำที่ลดลงนี้เป็นผลมาจากสมบัติที่ขอบน้ำของน้ำตาลอินเวิร์ตและพอลิออล ทำให้สามารถจับโมเลกุลน้ำได้อย่างแข็งแรง

บทสรุป

นิวเคลียร์แมกเนติกเรโซแนนซ์สเปกโทรสโกปีเป็นเทคนิคที่มีประสิทธิภาพสูงซึ่งสามารถใช้ศึกษาการเคลื่อนที่ของน้ำหรือความสามารถในการเข้าร่วมปฏิกิริยาของน้ำในระบบอาหาร โดยการติดตามนิวเคลียสที่มีสมบัติแม่เหล็กของโมเลกุลน้ำ ได้แก่ ^1H , ^2H , ^3H และ ^{17}O ข้อดีของนิวเคลียร์แมกเนติกเรโซแนนซ์สเปกโทรสโกปีคือเป็นเทคนิคที่ไม่ทำลายตัวอย่างและศึกษาได้ในระดับโมเลกุล โดยสามารถใช้ได้กับตัวอย่างที่เป็นของเหลวของแข็ง และของแข็ง ทั้งในอาหารที่เป็นเนื้อเดียวกันและอาหารที่ไม่เป็นเนื้อเดียวกัน ที่ผ่านการใช้นิวเคลียร์แมกเนติกเรโซแนนซ์สเปกโทรสโกปีเพื่อศึกษาการเคลื่อนที่ของน้ำในระบบอาหารส่วนใหญ่ยังคงจำกัดอยู่ใน

ระดับของการวิจัย ทั้งนี้เนื่องมาจากความซับซ้อนของเทคนิคและราคาของเครื่องมือ อย่างไรก็ตามจากการพัฒนาอย่างต่อเนื่องจึงมีความเป็นไปได้ที่เทคนิคด้านนิวเคลียร์แมกเนติกเรโซแนนซ์สเปกโทรสโกปีจะมีความซับซ้อนน้อยลงและเครื่องมือมีราคาที่ต่ำลงและสามารถนำมาใช้ในอุตสาหกรรมอาหารได้ในอนาคตอันใกล้

เอกสารอ้างอิง

- Abragam, A. (1961). *The Principles of Nuclear Magnetism*. Oxford: Clarendon Press.
- Bakhmutov, V. I. (2005). *Practical Nuclear Magnetic Resonance Relaxation for Chemists*. West Sussex: John Wiley & Sons.
- Berliner, L. J. and Reuben, J. (1980). *Biological Magnetic Resonance*. New York: Plenum Press.
- Bryant, R. G. and Shirley, W. M. (1980). Dynamic deductions from nuclear magnetic resonance relaxation measurements at the water-protein interface. *Biophys. J.* 32(1): 3-16.
- Campbell, I. D. and Dwek, R. A. (1984). *Biological Spectroscopy*. Menlo Park: Benjamin/Cummings.
- Choi, S. G. and Kerr, W. L. (2003). Effects of chemical modification of wheat starch on molecular mobility as studied by pulsed ^1H NMR. *LWT*. 36(1): 105-112.
- Derome, A. E. (1987). *Modern NMR Techniques for Chemistry Research*. New York: Pergamon Press.
- Dwek, R. A. (1973). Nuclear Magnetic Resonance (N.M.R.) in Biochemistry. Oxford: Plenum Press.
- Edzes, H. T. and Samulski, E. T. (1978). The measurement of cross-relaxation effects in the proton NMR spin-lattice relaxation of water in biological systems: Hydrated collagen and muscle. *J. Magn. Reson.* 31(2): 207-229.
- Glaser, J. A. (1972). Nuclear magnetic resonance studies on water and ice. In F. Franks (ed.), *Water: A Comprehensive Treatise*, Vol. 1, New York: Plenum Press. pp. 215-225.
- Halle, B. and Karlstrom, G. (1983a). Prototropic charge migration in water. Part 1. Rate constants in light and heavy water and in salt solution from oxygen-17 spin relaxation. *J. Chem. Soc., Faraday Trans. 2.* 79(7): 1031-1046.
- Halle, B. and Karlstrom, G. (1983b). Prototropic charge migration in water. Part 2. Interpretation of nuclear magnetic resonance and conductivity data in terms of model mechanisms. *J. Chem. Soc., Faraday Trans. 2.* 79(7): 1047-1073.
- Kalk, A. and Berendsen, H. J. C. (1976). Proton magnetic relaxation and spin diffusion in proteins. *J. Magn. Reson.* 24(3): 343-366.
- Kemp, W. (1986). *NMR in Chemistry: A Multinuclear Introduction*. London: MacMillan.
- Koenig, S. H., Hallenga, K. and Shporer, M. (1975). Protein-water interaction studied by solvent ^1H , ^2H and ^{17}O magnetic relaxation. *Proc. Nat. Acad. Sci. USA.* 72(7): 2667-2671.
- Korsrilabut, J., Borompichaichartkul, C. and Duangmal, K. (2010). Effect of invert sugar on the drying kinetics and water mobility of osmosed-air dried cantaloupe. *Int. J. Food Sci. Tech.* 45(7): 1524-1531.

- Lai, H. S. and Schmidt, S. J. (1990). Water mobility and crystallization action of lactose-water systems by oxygen-17 and carbon-13 NMR. *J. Food Sci.* 55(5): 1435-1440.
- Lankhorst, D. and Leyte, J. C. (1984). NMR relaxation study of hydrogen exchange in solutions of polyelectrolytes. *Macromolecules.* 17(1): 93-100.
- Mahawanich, T. and Schmidt, S. J. (2004). Molecular mobility and the perceived sweetness of sucrose, fructose, and glucose solutions. *Food Chemistry.* 84(2): 169-179.
- Padua, G. W. 1989. Water states associated with skim milk components quantitated by NMR. Ph. D. thesis. University of Illinois at Urbana-Champaign, Urbana, IL.
- Piculell, L. and Halle, B. (1986a). Water spin relaxation in colloidal systems. Part 1. ^{17}O and ^2H relaxation in dispersions of colloidal silica. *J. Chem. Soc., Faraday Trans. 1.* 82(2): 387-399.
- Piculell, L. and Halle, B. (1986b). Water spin relaxation in colloidal systems. Part 2. ^{17}O and ^2H relaxation in protein solutions. *J. Chem. Soc., Faraday Trans. 1.* 82(2): 401-414.
- Pitombo, R. N. M. and Lima, G. A. M. R. (2003). Nuclear magnetic resonance and water activity in measuring the water mobility in Pintado (*Pseudoplatystoma corruscans*) fish. *J. Food Eng.* 58(1): 59-66.
- Richardson, S. J. (1989). Contribution of protein exchange to the oxygen-17 nuclear magnetic resonance transverse relaxation rate in water and starch-water systems. *Cereal Chem.* 66(3): 244-246.
- Richardson, S. J. and Steinberg, M. P. (1987). Applications of nuclear magnetic resonance. In L. B. Rockland and L. R. Beuchat (eds.), *Water Activity: Theory and Applications to Food.* New York: Marcel Dekker. pp. 235-285.
- Salomonsen, T., Sejersen, M. T., Viereck, N., Ipsen, R. and Engelsen, S. B. (2007). Water mobility in acidified milk drinks studied by low-field ^1H NMR. *Int. Dairy J.* 17(4): 294-301.
- Schmidt, S. J. and Lai, H. (1991). Use of NMR and MRI to study water relations in foods. In H. Levine and L. Slade (eds.), *Water Relationships in Food.* New York: Plenum Press. pp. 405-452.
- Sritongtae, B., Mahawanich, T. and Duangmal, K. Drying of osmosed cantaloupe: Effect of polyols on drying and water mobility. *Drying Tech.* (in press).
- Sykes, B. D., Hull, W. E. and Snyder, G. H. (1978). Experimental evidence for the role of cross-relaxation in proton nuclear magnetic resonance spin lattice relaxation time measurements in proteins. *Biophys. J.* 21(2): 137-146.
- Tait, M. J., Suggett, A., Franks, F., Ablett, S. and Quickenden, P. A. (1972). Hydration of monosaccharides: A study by dielectric and nuclear magnetic relaxation. *J. Solution Chem.* 1(2): 131-151.





การระบายสีเส้นเชื่อมในกราฟ Edge-Coloring in Graphs

เกียรติสุดา นาคประสิทธิ์¹

บทนำ

ในบทความนี้ เราศึกษากราฟ $G = (V, E)$ ซึ่งมีจุดยอดเป็นจำนวนจำกัด ไม่มีจุดยอดเอกเทศ และไม่มีวงวน กำหนดให้ฟังก์ชัน $f: V \rightarrow \mathbb{N}$ และ $g: V \rightarrow \mathbb{N} \cup \{0\}$ ซึ่ง $g(v) \leq f(v)$ สำหรับทุก $v \in V$ เมื่อ $\mathbb{N}$ คือเซตของจำนวนเต็มบวก การระบายสีเส้นเชื่อมของกราฟ G คือ การระบายสีกับเส้นเชื่อมทุกเส้นของ G โดยที่แต่ละสีปรากฏที่จุดยอดแต่ละจุดได้อย่างมากที่สุดเพียงหนึ่งครั้ง ส่วนการระบายสีเส้นเชื่อมที่มีความเป็นไปได้ทั่วไปได้แก่ การระบายสีแบบ (g, f) ซึ่งเป็นการระบายสีเส้นเชื่อมของ G โดยที่สีแต่ละสีปรากฏที่จุดยอด v แต่ละจุดอย่างน้อย $g(v)$ ครั้งและอย่างมาก $f(v)$ ครั้ง ดังนั้นการระบายสีเส้นเชื่อมคือการระบายสีแบบ (g, f) เมื่อ $g(v)=0$ และ $f(v)=1$ สำหรับทุก $v \in V$ ถ้า $g(v)=0$ สำหรับทุก $v \in V$ แล้วเราเรียกการระบายสีแบบ (g, f) ว่าการระบายสีแบบ f และเนื่องจากถ้า $f(v) \geq d(v)$ สำหรับทุก $v \in V$ แล้วสีแต่ละสีย่อมปรากฏที่จุดยอด v ได้อย่างมาก $f(v)$ ครั้ง ดังนั้นเราจะเรียกการระบายสีแบบ (g, f) ซึ่งแต่ละสีปรากฏที่จุดยอด v แต่ละจุดอย่างน้อย $g(v)$ ครั้งว่าการระบายสีปกคลุมเส้นเชื่อมแบบ g ซึ่งเห็นได้ชัดว่าการระบายสีปกคลุมเส้นเชื่อมแบบ g เป็นกรณีเฉพาะของการระบายสีแบบ (g, f)

เนื่องจากถ้ากำหนดให้มีจุดยอด v บางจุดซึ่ง $g(v) > 0$ แล้วกราฟ G อาจไม่มีการระบายสีแบบ (g, f) ดังนั้นการมีอยู่ของการระบายสีแบบ (g, f) ของกราฟ G ที่กำหนดให้จึงเป็นปัญหาที่ได้รับความสนใจทำการศึกษา นอกจากนี้ ถ้ากราฟ G มีการระบายสีแบบ (g, f) แล้ว ปัญหาถัดมาคือการหาจำนวนสีที่น้อยที่สุดและมากที่สุดในการระบายสีแบบ (g, f) ซึ่งเรียกว่า (g, f) -รงค์ดัชนี และขอบเขตบนของ (g, f) -รงค์ดัชนี ของกราฟ G ซึ่งสามารถนำไปประยุกต์ใช้ในหลากหลายสาขา เช่น การออกแบบเครือข่าย การแก้ปัญหาการส่งไฟล์ข้อมูลในเครือข่ายคอมพิวเตอร์ เป็นต้น (ผู้สนใจสามารถศึกษาเพิ่มเติมได้จาก Nakano et al., 1993; 1998)

¹ ภาควิชาคณิตศาสตร์ คณะวิทยาศาสตร์ มหาวิทยาลัยขอนแก่น อ.เมือง จ.ขอนแก่น 40002

บทนิยามเกี่ยวกับกราฟ และ การระบายสีเส้นเชื่อมในกราฟ

“กราฟ” เป็นโครงสร้างทางคณิตศาสตร์ที่ประกอบด้วยจุดยอดและเส้นเชื่อม กราฟสามารถนำไปประยุกต์ใช้ในการสร้างแบบจำลองและแก้ปัญหาในสาขาต่าง ๆ มากมาย เช่น วิทยาศาสตร์ วิศวกรรมศาสตร์ จิตวิทยา สังคมศาสตร์ เป็นต้น โดยกำหนดให้จุดยอดแทนสิ่งที่เราสนใจ และเส้นเชื่อมแทนความสัมพันธ์ของสิ่งเหล่านั้น ตัวอย่างเช่น ในแบบจำลองเครือข่ายคอมพิวเตอร์ เราสามารถแปลงไปสู่ปัญหาในกราฟ โดยให้จุดยอดแทนเครื่องคอมพิวเตอร์ และเส้นเชื่อมระหว่างจุดยอดสองจุดแทนสายเชื่อมต่อระหว่างคอมพิวเตอร์สองเครื่องที่สมนัยกับจุดยอดดังกล่าว เป็นต้น

ในหัวข้อนี้ เราจะให้บทนิยามเบื้องต้นเกี่ยวกับกราฟ และการระบายสีเส้นเชื่อมในกราฟ รวมถึงผลลัพธ์และทฤษฎีบทที่เกี่ยวข้องกับการระบายสีจุดยอดและการระบายสีเส้นเชื่อมในกราฟ

บทนิยาม 2.1 กราฟ (graph) คือ คู่อันดับ $G = (V, E)$ เมื่อ V คือ เซตของจุดยอด (vertices) ที่มีสมาชิกจำนวนจำกัด และ E คือ เซตของเส้นเชื่อม (edges) ซึ่งเส้นเชื่อมแต่ละเส้นประกอบด้วยจุดยอด 2 จุด (อนุญาตให้ซ้ำกันได้) ซึ่งเรียกว่าจุดปลาย (endpoints) เราเขียนแทนเส้นเชื่อมซึ่งมีจุดปลายคือจุดยอด u และ v ด้วย $\{u, v\}$

อันดับ (order) ของกราฟ G , เขียนแทนด้วย n , คือ จำนวนสมาชิกของเซต V นั่นคือ $n = |V|$

ขนาด (size) ของกราฟ G , เขียนแทนด้วย m , คือ จำนวนสมาชิกของเซต E นั่นคือ $m = |E|$

เรากล่าวจุดยอด $u, v \in V$ ประชิดกัน (adjacent) ถ้า $\{u, v\} \in E$ และไม่ประชิดกัน (nonadjacent) ถ้า $\{u, v\} \notin E$

และเรากล่าวเส้นเชื่อม $e, f \in E$ ประชิดกัน ถ้า $e \cap f \neq \emptyset$ และไม่ประชิดกัน ถ้า $e \cap f = \emptyset$

ถ้า $e = \{u, v\} \in E$ แล้วเรากล่าวจุดยอด u (และ v) ติดกับ (incident) เส้นเชื่อม e

เราเรียกเส้นเชื่อม 2 เส้นขึ้นไปที่เชื่อมจุดยอดคู่เดียวกันว่าเส้นเชื่อมซ้อน (multiple edges) และเรียกเส้นเชื่อมที่จุดปลายทั้งสองเป็นจุดยอดเดียวกันว่าวงวน (loop)

จุดยอดเอกเทศ (isolated vertex) คือ จุดยอดในกราฟที่ไม่ติดกับเส้นเชื่อมใดเลย

เราเรียกกราฟ G ว่ากราฟเชิงเดียว (simple graph) ถ้า G ไม่มีเส้นเชื่อมซ้อนและไม่มียาววน นอกจากนี้เราเรียก G ว่ากราฟหลายเชิง (multigraph)

บทนิยาม 2.2 ระดับชั้น (degree) ของจุดยอด v ในกราฟ G , เขียนแทนด้วย $d_G(v)$ หรือ $d(v)$, คือ จำนวนเส้นเชื่อมที่ไม่ใช่ยาววนซึ่งเชื่อมติดกับจุดยอด v บวกสองเท่าของจำนวนวงวนที่มี v เป็นจุดปลายในกราฟ G และกำหนดให้ $\Delta(G)$ และ $\delta(G)$ แทนค่าสูงสุดและค่าต่ำสุดของระดับชั้นของจุดยอดในกราฟ G ตามลำดับ

สำหรับจุดยอด $u, v \in V(G)$ เราให้ $E(uv)$ แทนจำนวนเส้นเชื่อมที่เชื่อมจุดยอด u และจุดยอด v ภาวะซ้ำ (multiplicity) ของเส้นเชื่อม uv , เขียนแทนด้วย $\mu(uv)$, คือ ขนาดของเซต $E(uv)$ นั่นคือ $\mu(uv) = |E(uv)|$ และให้ $\mu(v) = \{\mu(uv) : u \in V\}$ และ $\mu(G) = \max\{\mu(v) : v \in V\}$ แทน ภาวะซ้ำของจุดยอด v และภาวะซ้ำของกราฟ G ตามลำดับ

บทนิยาม 2.3 การระบายสีจุดยอด (vertex-coloring) ของกราฟ $G=(V, E)$ คือ ฟังก์ชัน $C: V \rightarrow \mathbb{N}$ ซึ่งจุดยอด $u, v \in V$ ใด ๆ ที่ประชิดกันจะได้รับสีแตกต่างกัน นั่นคือ $\{u, v\} \in E \Rightarrow C(u) \neq C(v)$ และเรียกฟังก์ชัน C ว่า ฟังก์ชันการระบายสี (coloring function) เราเรียกกราฟ G ซึ่งมีการระบายสีจุดยอดด้วยสี k สี ว่าสามารถระบายสีด้วย k สี (k -colorable) ซึ่งในกรณีนี้ฟังก์ชันการระบายสีจะทำให้เกิดการแบ่งกันเซต $V(G)$ เป็นเซตย่อยอิสระ $V_1, V_2, \dots, V_k$ ซึ่ง $V_i \cap V_j = \emptyset$ สำหรับ $i \neq j$ และ $V_1 \cup V_2 \cup \dots \cup V_k = V$ และเรียกจำนวน k ที่น้อยที่สุดซึ่งกราฟ G สามารถระบายสีด้วย k สีได้ว่ารงคเลข (chromatic number) ของกราฟ G , เขียนแทนด้วย $\chi(G)$ และเรียกการระบายสีจุดยอดซึ่งใช้สี k สีซึ่ง $k = \chi(G)$ ว่าการระบายสีที่เหมาะสมที่สุด (optimal)

บทนิยาม 2.4 การระบายสีเส้นเชื่อม (edge-coloring) ของกราฟ $G=(V, E)$ คือ ฟังก์ชัน $C: E \rightarrow \mathbb{N}$ ซึ่งเส้นเชื่อม $e, f \in E$ ใด ๆ ที่ประชิดกันจะได้รับสีแตกต่างกัน นั่นคือ $(e \neq f) \wedge (e \cap f \neq \emptyset) \Rightarrow C(e) \neq C(f)$ และเรียกฟังก์ชัน C ว่าฟังก์ชันการระบายสีเส้นเชื่อม (edge-coloring function)

กำหนดให้ $i_c(v)$ แทนจำนวนเส้นเชื่อมของ G ซึ่งเชื่อมติดกับจุดยอด v และได้รับสีที่ i จากฟังก์ชันการระบายสีเส้นเชื่อม C และเพื่อให้ง่ายขึ้น เราเขียน $i(v) = i_c(v)$ และให้ $E(i)$ แทน เซตของเส้นเชื่อมซึ่งได้รับสีที่ i จากการระบายสีเส้นเชื่อม C

บทนิยาม 2.5 เราเรียกกราฟ G ซึ่งมีการระบายสีเส้นเชื่อมด้วยสี k สี ว่าสามารถระบายสีเส้นเชื่อมด้วย k สี (k -edge-coloring) และเรียกจำนวน k ที่น้อยที่สุดซึ่งกราฟ G สามารถระบายสีเส้นเชื่อมด้วย k สีได้ว่ารงคดัชนี (chromatic index) ของกราฟ G , เขียนแทนด้วย $\chi'(G)$ และเรียกการระบายสีเส้นเชื่อมด้วยสี k สีซึ่ง $k = \chi'(G)$ ว่าการระบายสีเส้นเชื่อมที่เหมาะสมที่สุด (optimal)

บทนิยาม 2.6 กราฟเส้น (line graph) ของกราฟ G , เขียนแทนด้วย $L(G)$, คือ กราฟซึ่งจุดยอดแต่ละจุดคือเส้นเชื่อมของกราฟ G และจุดยอดสองจุดใด ๆ ประชิดกันก็ต่อเมื่อเส้นเชื่อมที่สอดคล้องกับจุดยอดนั้นของกราฟ G ประชิดกัน

เนื่องจาก $\chi'(G) = \chi(L(G))$ ดังนั้น การหาการระบายสีเส้นเชื่อมที่เหมาะสมที่สุดของกราฟ G สามารถทำได้โดยหาการระบายสีที่เหมาะสมที่สุดของกราฟเส้นของ G

ทฤษฎีบทต่อไปนี้จะเกี่ยวข้องกับค่าขอบเขตบนของ $\chi'(G)$ ในกราฟหลายเชิง G ใด ๆ ได้แก่ ทฤษฎีบทของ Vizing (Vizing's Theorem) และทฤษฎีบทของ Gupta (Gupta's Theorem) (ซึ่งได้มาโดยอิสระกัน) และทฤษฎีบทของ Shannon (Shannon's Theorem)

ทฤษฎีบท 2.7 [ทฤษฎีบทของ Vizing และทฤษฎีบทของ Gupta]

กราฟหลายเชิง G ใด ๆ มีค่า $\chi'(G) \leq \Delta(G) + \mu(G)$

ทฤษฎีบท 2.8 [ทฤษฎีบทของ Shannon] กราฟหลายเชิง G ใด ๆ มีค่า $\chi'(G) \leq \frac{3}{2} \cdot \Delta(G)$

เมื่อ G เป็นกราฟเชิงเดียว นั่นคือ $\mu(G)=1$ เราได้ทฤษฎีบทของ Vizing สำหรับกราฟเชิงเดียว คือ

ทฤษฎีบท 2.9 [ทฤษฎีบทของ Vizing] กำหนดให้ G เป็นกราฟเชิงเดียว เราได้ว่า $\Delta(G) \leq \chi'(G) \leq \Delta(G) + 1$

จากทฤษฎีบท 2.9 เราได้ว่าค่า rang คณิตของกราฟเชิงเดียวถูกกำหนดโดยค่าสูงสุดของระดับชั้นและสามารถให้ค่าได้เพียงหนึ่งในสองค่าคือ $\Delta(G)$ หรือ $\Delta(G) + 1$ ดังนั้น เราสามารถจำแนกกราฟเชิงเดียวออกเป็นสองประเภท โดยกราฟเชิงเดียว G เป็นสมาชิกของคลาส 1 (class 1) ถ้า $\chi'(G) = \Delta(G)$ และเป็นสมาชิกของคลาส 2 (class 2) ถ้า $\chi'(G) = \Delta(G) + 1$

จากงานวิจัยทั้งทางทฤษฎีและทางคอมพิวเตอร์ทำให้ทราบว่าจำนวนกราฟที่มีจุดยอดจำนวน n จุดซึ่งเป็นสมาชิกของคลาส 2 มีจำนวนน้อยกว่าจำนวนกราฟซึ่งเป็นสมาชิกของคลาส 1 ตัวอย่างของกราฟซึ่งเป็นสมาชิกในคลาส 1 ได้แก่ กราฟสองส่วน กราฟแบบบริบูรณ์ที่มีจุดยอดเป็นจำนวนคู่ ($K_{2k}, k \geq 1$) กราฟล้อ (W_n) ส่วนตัวอย่างของกราฟซึ่งเป็นสมาชิกในคลาส 2 ได้แก่ กราฟวงที่มีจุดยอดเป็นจำนวนคี่ ($C_{2k+1}, k \geq 1$) กราฟแบบบริบูรณ์ที่มีจุดยอดเป็นจำนวนคี่ ($K_{2k+1}, k \geq 1$) และ กราฟเชื่อมโยงที่ไม่มีสะพานซึ่งมี $\chi'(G) = 4$

บทนิยาม 2.10 การระบายสีเส้นเชื่อมแบบ k -เท่าเทียม (k -equitable edge-coloring) ในกราฟหลายเชิง G คือ การระบายสีเส้นเชื่อม C ซึ่ง $|i(v) - j(v)| \leq 1$ สำหรับ $1 \leq i < j \leq k$ และทุก $v \in V(G)$

การระบายสีแบบ (g, f) ((g, f) -coloring)

ในหัวข้อนี้ เรานำเสนอบทนิยามและผลการศึกษาที่เกี่ยวข้องกับการระบายสีแบบ (g, f)

บทนิยาม 3.1 กำหนดให้ G เป็นกราฟ ฟังก์ชัน $f: V \rightarrow \mathbb{N}$ และ $g: V \rightarrow \mathbb{N} \cup \{0\}$ ซึ่ง $g(v) \leq f(v)$ สำหรับทุก $v \in V$ เมื่อ $\mathbb{N}$ คือ เซตของจำนวนเต็มบวก

การระบายสีแบบ (g, f) ((g, f) -coloring) คือ การระบายสีเส้นเชื่อมของ G ซึ่งสีแต่ละสีปรากฏที่จุดยอด v อย่างน้อย $g(v)$ ครั้งและอย่างมาก $f(v)$ ครั้ง เราเรียกจำนวนสีที่มีค่าน้อยที่สุดซึ่ง G มีการระบายสีแบบ (g, f) ว่า (g, f) -rang คณิต ((g, f) -chromatic index) ของ G , เขียนแทนด้วย $\chi'_{gf}(G)$, และเรียกจำนวนสีที่มีค่ามากที่สุดซึ่ง G มีการระบายสีแบบ (g, f) ว่าขอบเขตบนของ (g, f) -rang คณิต (upper (g, f) -chromatic index) ของ G , เขียนแทนด้วย $\overline{\chi'_{gf}}(G)$

ตัวประกอบ (g, f) ((g, f) -factor) ของ G คือ กราฟย่อยแผ่ทั่ว H ของกราฟ G ซึ่ง $g(v) \leq d_H(v) \leq f(v)$ สำหรับทุก $v \in V(G)$ และเราเรียก G ว่ากราฟ (g, f) ((g, f) -graph) ถ้ากราฟ G เป็นตัวประกอบ (g, f) ของตัวเอง

ในกรณีที่ $g(v) = 0$ สำหรับทุก $v \in V(G)$ เราเรียกการระบายสีแบบ (g, f) ว่าการระบายสีแบบ f (f -coloring) และเรียกจำนวนสีที่มีค่าน้อยที่สุดที่ G มีการระบายสีแบบ f ว่า f -rang คณิต (f -chromatic index) ของ G , เขียนแทนด้วย $\chi'_f(G)$ [สังเกตว่า ถ้า $f(v) = 1$ สำหรับทุก $v \in V(G)$ แล้วการระบายสีแบบ f ก็คือการระบายสีเส้นเชื่อม นั่นเอง] และถ้าเส้นเชื่อมซ้อนได้รับสีที่แตกต่างกัน เราเรียกการระบายสีแบบ f ว่าการระบายสีแบบ f ขั้นกว่า (super f -coloring) และเรียกจำนวนสีที่มีค่าน้อยที่สุดซึ่ง G มีการระบายสีแบบ f ขั้นกว่าว่า f -rang คณิตขั้นกว่า (super f -chromatic index) ของ G , เขียนแทนด้วย $\chi''_f(G)$

ในกรณีที่ $f(v) \geq d(v)$ สำหรับทุก $v \in V$ เราเรียกการระบายสีแบบ (g, f) ว่าการระบายสีปกคลุมเส้นเชื่อมแบบ g (g -edge cover coloring) และเรียกจำนวนสีที่มากที่สุดซึ่ง G มีการระบายสีปกคลุมเส้นเชื่อมแบบ g ว่า g -รงคดัชนีปกคลุม (g -edge cover chromatic index) ของ G , เขียนแทนด้วย $\chi'_{gc}(G)$ และถ้าเส้นเชื่อมช้อนได้รับสีที่แตกต่างกัน เราเรียกการระบายสีปกคลุมเส้นเชื่อมแบบ g ว่าการระบายสีปกคลุมเส้นเชื่อมแบบ g ขั้นกว่า (super g -edge cover coloring) และเรียกจำนวนสีที่มากที่สุดซึ่ง G มีการระบายสีปกคลุมเส้นเชื่อมแบบ g ขั้นกว่าว่า g -รงคดัชนีปกคลุมขั้นกว่า (super g -edge cover chromatic index) ของ G , เขียนแทนด้วย $\chi''_{gc}(G)$

และถ้า $g(v)=1$ สำหรับทุก $v \in V(G)$ เราเรียกการระบายสีปกคลุมเส้นเชื่อมแบบ g ขั้นกว่าว่าการระบายสีปกคลุมเส้นเชื่อมขั้นกว่า (super edge cover coloring) และเรียกจำนวนสีที่มากที่สุดซึ่ง G มีการระบายสีปกคลุมเส้นเชื่อมขั้นกว่าว่ารงคดัชนีปกคลุมขั้นกว่า (super edge cover chromatic index), เขียนแทนด้วย $\chi''_c(G)$

ถ้าในการระบายสีปกคลุมเส้นเชื่อมแบบ g มี $g(v)=1$ สำหรับทุก $v \in V$ แล้วเราเรียกการระบายสีปกคลุมเส้นเชื่อมแบบ g ว่าการระบายสีปกคลุมเส้นเชื่อม (edge cover coloring) และเรียกจำนวนสีที่มากที่สุด ซึ่ง G มีการระบายสีปกคลุมเส้นเชื่อมว่ารงคดัชนีปกคลุม (edge cover chromatic index) ของ G , เขียนแทนด้วย $\chi'_c(G)$

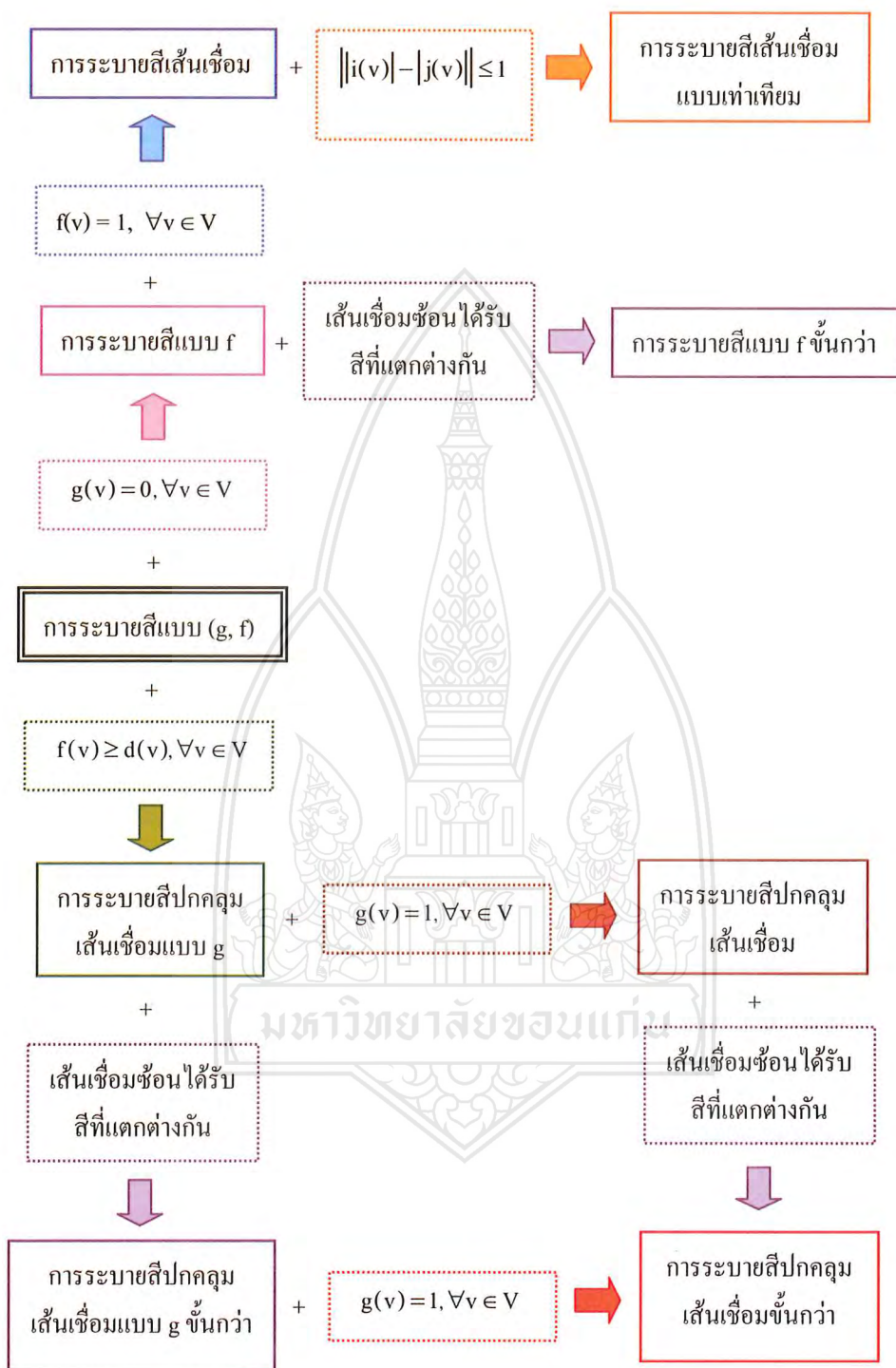
ข้อตกลงเรื่องสัญลักษณ์

$d_f(v) := \left\lceil d_G(v) / f(v) \right\rceil$	แทน	f -ระดับขั้น (f-degree) ของจุดยอด v
$\Delta_f(G) := \max \{d_f(v) : v \in V\}$	แทน	ค่าสูงสุดของ f -ระดับขั้นของ G
$d_g(v) := \left\lfloor d_G(v) / g(v) \right\rfloor$	แทน	g -ระดับขั้น (g-degree) ของจุดยอด v เมื่อ $g(v) > 0$
$\delta_g(G) := \min \{d_g(v) : v \in V\}$	แทน	ค่าต่ำสุดของ g -ระดับขั้นของ G เมื่อ $g(v) > 0$

จากบทนิยาม 3.1 เราสามารถแสดงความสัมพันธ์ของการระบายสีเส้นเชื่อมแบบต่าง ๆ ได้ดังแผนผังใน

รูปที่ 1

มหาวิทยาลัยขอนแก่น



รูปที่ 1 แผนผังแสดงความสัมพันธ์ของการระบายสีเส้นเชื่อมแบบต่างๆ

ทฤษฎีบทต่อไปนี้อาจพิสูจน์ได้โดยตรงจากนิยามของ $\chi'_r(G)$, $\chi'_{gr}(G)$, $\overline{\chi'_{gr}}(G)$ และ $\chi'_{gc}(G)$

ทฤษฎีบท 3.2 [Xu et al. (2008A)] กำหนดให้ $G=(V, E)$ เป็นกราฟ ฟังก์ชัน $f: V \rightarrow \mathbb{N}$ และ $g: V \rightarrow \mathbb{N} \cup \{0\}$ ซึ่ง $g(v) \leq f(v)$ สำหรับทุก $v \in V$

ถ้า G มีการระบายสีแบบ (g, f) แล้ว $\chi'_r(G) \leq \chi'_{gr}(G) \leq \overline{\chi'_{gr}}(G) \leq \chi'_{gc}(G)$

ทฤษฎีบท 3.3 [de. Werra (1971)] กำหนดให้ G เป็นกราฟสองส่วน แล้ว G มีการระบายสีแบบ (g, f) ก็ต่อเมื่อ มีจำนวนเต็มบวก m ซึ่ง G มีการระบายสีแบบ (mg, mf)

ในปี ค.ศ. 2008 Xu และคณะ (Xu et al., 2008A) ได้ศึกษาเงื่อนไขจำเป็นและเพียงพอของการมีการระบายสีแบบ (g, f) ในกราฟสองส่วน ได้ผลลัพธ์ดังทฤษฎีบทต่อไปนี้

ทฤษฎีบท 3.4 Xu et al. (2008A) กำหนดให้ G เป็นกราฟสองส่วน แล้ว G มีการระบายสีแบบ (g, f) ก็ต่อเมื่อ $\Delta_r(G) \leq \delta_g(G)$ ยิ่งไปกว่านั้น ถ้า G มีการระบายสีแบบ (g, f) แล้ว $\chi'_r(G) = \Delta_r(G)$ และ $\overline{\chi'_{gr}}(G) = \delta_g(G)$

นอกจากนั้น ใน [Xu et al. (2008A)] ยังได้ศึกษาเงื่อนไขเพียงพอสำหรับการมีการระบายสีแบบ (g, f) ในกราฟใด ๆ ด้วย ซึ่งได้ผลลัพธ์ที่น่าสนใจ ดังนี้

ทฤษฎีบท 3.5 [Xu et al. (2008A)] กำหนดให้ G เป็นกราฟซึ่ง $\chi'_r(G) \leq \chi'_{gc}(G)$

1. ถ้า G มีการระบายสีแบบเท่าเทียมด้วยสี $\chi'_r(G)$ สี แล้ว G มีการระบายสีแบบ (g, f) และ

$$\chi'_{gr}(G) = \chi'_r(G)$$

2. ถ้า G มีการระบายสีแบบเท่าเทียมด้วยสี $\chi'_{gc}(G)$ สี แล้ว G มีการระบายสีแบบ (g, f) และ

$$\overline{\chi'_{gr}}(G) = \chi'_{gc}(G)$$

3. ถ้ามีจำนวนเต็มบวก k ซึ่ง $\chi'_r(G) \leq k \leq \chi'_{gc}(G)$ และสอดคล้องเงื่อนไขใดเงื่อนไขหนึ่งต่อไปนี้

$$(i) \quad d(v) \geq k(g(v)+1)-1 \text{ สำหรับทุก } v \in V(G)$$

$$(ii) \quad d(v) \leq k(f(v)-1)+1 \text{ สำหรับทุก } v \in V(G)$$

แล้ว G มีการระบายสีแบบ (g, f)

ในปี ค.ศ. 2005 Xu (Xu, 2005) ศึกษาการระบายสีแบบ (g, f) และได้ผลลัพธ์ที่น่าสนใจดังนี้

ทฤษฎีบท 3.6 [Xu (2005)] ให้ G เป็นกราฟ ถ้า $g(v)$ และ $f(v)$ มีค่าเป็นจำนวนคู่บวกสำหรับทุก $v \in V(G)$ และ $\delta_g(G) \geq \Delta_r(G)$ แล้ว $\chi'_r(G) = \Delta_r(G)$ และ $\overline{\chi'_{gr}}(G) = \delta_g(G)$

ทฤษฎีบท 3.7 [Xu (2005)] ให้ G เป็นกราฟและ m เป็นจำนวนเต็มบวก

- (1) ถ้า $g(v)$ มีค่าเป็นจำนวนคู่บวกสำหรับทุก $v \in V(G)$ และ G เป็นกราฟ $(mg, mf - m + 1)$

$$\text{แล้ว } \overline{\chi'_{gr}}(G) = \delta_g(G)$$

(2) ถ้า $f(v)$ มีค่าเป็นจำนวนคู่บวกสำหรับทุก $v \in V(G)$ และ G เป็นกราฟ $(mg + m - 1, mf)$

$$\text{แล้ว } \chi'_{gf}(G) = \Delta_f(G)$$

ทฤษฎีบท 3.8 [Xu (2005)] ให้ G เป็นกราฟเชิงเดียว ถ้า $\chi'_f(G) = \max \left\{ \lceil (d(v)+1)/f(v) \rceil : v \in V(G) \right\}$,

$$\chi'_{gc}(G) = \min \left\{ \lfloor (d(v)-1)/g(v) \rfloor : v \in V(G) \right\} \text{ และ } \chi'_{gc}(G) \geq \chi'_f(G)$$

แล้ว G มีการระบายสีแบบ (g, f) และ $\chi'_{gf}(G) = \chi'_f(G)$, $\overline{\chi'_{gf}(G)} = \chi'_{gc}(G)$

ในปี ค.ศ.1986 Hakimi และคณะ (Hakimi et al., 1986) ศึกษาการระบายสีแบบ f และได้ผลลัพธ์ต่อไปนี้

ทฤษฎีบท 3.9 [Hakimi et al. (1986)]

1. $\Delta_f(G) \leq \chi'_f(G) \leq \max \left\{ \lceil (d(v) + \mu(v))/f(v) \rceil : v \in V(G) \right\}$ สำหรับกราฟ G ใด ๆ
2. $\Delta_f(G) \leq \chi'_f(G) \leq \max \left\{ \lceil (d(v) + 1)/f(v) \rceil : v \in V(G) \right\} \leq \Delta_f(G) + 1$ สำหรับกราฟเชิงเดียว G ใด ๆ

เราสามารถจำแนกกราฟออกเป็นสองประเภท โดยกราฟ G เป็นคลาส 1 แบบ f (f -class 1) ถ้า $\chi'_f(G) = \Delta_f(G)$ และเป็นคลาส 2 แบบ f (f -class 2) สำหรับกรณีที่เหลือ นอกจากนี้เรากล่าวว่ากราฟเชิงเดียว G เป็นกราฟวิกฤตแบบ f (f -critical graph) ถ้า G เป็นคลาส 2 แบบ f และ $\chi'_f(G - e) < \chi'_f(G)$ สำหรับทุกเส้นเชื่อม e เนื่องจากกราฟวิกฤตแบบ f มีบทบาทสำคัญในการศึกษาการระบายสีแบบ f จึงมีผู้ศึกษาเกี่ยวกับสมบัติของกราฟวิกฤตแบบ f โดยผู้สนใจสามารถศึกษาเพิ่มเติมจาก (Zhang 2007; Liu et al., 2007)

ต่อไปนี้เป็นปัญหาที่เกี่ยวข้องกับการระบายสีแบบ f ซึ่งยังไม่มีผลการศึกษาที่สมบูรณ์และน่าสนใจสำหรับการศึกษาเพิ่มเติม

ปัญหา 3.1 เงื่อนไขจำเป็นและเพียงพอสำหรับกราฟที่เป็นคลาส 1 แบบ f (หรือ คลาส 2 แบบ f)

ปัญหา 3.2 การระบายสีแบบ f ในกราฟเชิงระนาบ

ปัญหา 3.3 ค่าขอบเขตของจำนวนเส้นเชื่อมในกราฟ G ซึ่งเป็นกราฟวิกฤตแบบ f , โดยเฉพาะอย่างยิ่งในกรณีที่ $\Delta_f(G)$ มีขนาดเล็ก

ในปี ค.ศ. 2010 Liu และคณะ (Liu et al., 2010) ได้นำเสนอข้อคาดการณ์ที่เกี่ยวข้องกับการระบายสีแบบ f ขั้นกว่า (ซึ่งมีความเป็นไปได้มากกว่าการระบายสีแบบ f) ไว้ดังนี้

ข้อคาดการณ์ 3.1 ให้ G เป็นกราฟ ถ้า $1 \leq f(v) \leq \lfloor (d(v) - \mu(v))/\mu(G) \rfloor$ สำหรับทุก $v \in V(G)$

$$\text{แล้ว } \chi''_f(G) \leq \max \left\{ \lceil (d(v) + \mu(v))/f(v) \rceil : v \in V(G) \right\}$$

ข้อคาดการณ์ 3.2 ถ้า $\chi''_f(G)$ หาค่าได้และ $d(v) \pmod{f(v)} \geq \mu(v)$ สำหรับทุก $v \in V(G)$ แล้ว

$$\chi''_f(G) = \chi'_f(G)$$

ข้อคาดการณ์ 3.3 ให้ G เป็นกราฟ จะได้ว่า G มีการระบายสีแบบ r ขั้นกว่า ก็ต่อเมื่อ $\chi'_r(G) \geq \mu(G)$

ยิ่งไปกว่านั้น ถ้า G มีการระบายสีแบบ r ขั้นกว่า แล้ว $\chi''_r(G) = \chi'_r(G)$

ในปี ค.ศ. 1974 Gupta (Gupta, 1974) ศึกษาค่าขอบเขตของ $\chi'_c(G)$ ในกราฟหลายเชิง ได้ผลลัพธ์ดังนี้

ทฤษฎีบท 3.10 [Gupta (1974)] (Gupta's Theorem) สำหรับกราฟ G ใด ๆ แล้ว

$$\min\{d(v) - \mu(v) : v \in V\} \leq \chi'_c(G) \leq \delta(G)$$

ต่อมาในปี ค.ศ. 2004 Song และคณะ (Song et al., 2004) ได้ศึกษาการระบายสีปกคลุมเส้นเชื่อมแบบ g และมีผลการศึกษาซึ่งเกี่ยวข้องกับค่า $\chi'_{gc}(G)$ และค่าขอบเขตล่างของ $\chi'_{gc}(G)$ สำหรับกราฟ G บางชนิด ดังนี้

ทฤษฎีบท 3.11 Song et al. (2004) ให้ G เป็นกราฟสองส่วน แล้ว $\chi'_{gc}(G) = \delta_g(G)$

ยิ่งไปกว่านั้น ถ้า $\chi'_{gc}(G) = k \geq 2$ แล้ว G มีการระบายสีปกคลุมเส้นเชื่อมแบบ g คือ C ซึ่ง

$$\|E(i) - E(j)\| \leq 1 \text{ สำหรับทุก } i, j \in \{1, 2, \dots, k\} \text{ และ } |i_c(v) - j_c(v)| \leq 1 \text{ สำหรับทุก } v \in V(G) \text{ และ } i, j \in \{1, 2, \dots, k\}$$

ทฤษฎีบท 3.12 [Song et al. (2004)] สำหรับกราฟ G ซึ่ง $g(v)$ มีค่าเป็นจำนวนคู่บวกสำหรับทุก $v \in V(G)$

เราได้ว่า $\chi'_{gc}(G) = \delta_g(G)$

ทฤษฎีบท 3.13 [Song et al. (2004)] สำหรับกราฟ G ซึ่ง $1 \leq g(v) \leq d(v)$ สำหรับทุก $v \in V(G)$

เราได้ว่า $\chi'_{gc}(G) \geq \min\left\{\left\lfloor \frac{d(v) - \mu(v)}{g(v)} \right\rfloor : v \in V\right\}$

ทฤษฎีบท 3.14 [Xu et al. (2008B)] ให้ G เป็นกราฟ ซึ่ง $1 \leq g(v) \leq d(v)$ สำหรับทุก $v \in V(G)$ และ $1 \leq \delta'_g \leq 4$

แล้ว $\chi'_{gc}(G) \geq \delta'_g$ เมื่อ $\delta'_g = \min\left\{\left\lfloor \frac{d(v) - 1}{g(v)} \right\rfloor : v \in V\right\}$

เราสามารถจำแนกกราฟออกเป็นสองประเภท โดยกราฟ G เป็นคลาส 1 แบบ gc (gc -class 1) เมื่อ $\chi'_{gc}(G) = \delta'_g$ และเป็นคลาส 2 แบบ gc (gc -class 2) สำหรับกรณีที่เหลือ นอกจากนี้เรากล่าวว่ากราฟเชิงเดียว G เป็นกราฟวิกฤตแบบ gc (gc -critical graph) ถ้า G เป็นคลาส 2 แบบ gc และ $\chi'_{gc}(G + e) > \chi'_{gc}(G)$ สำหรับทุกเส้นเชื่อม $e \notin E(G)$

สำหรับผู้สนใจสามารถศึกษาเพิ่มเติมเกี่ยวกับการระบายสีปกคลุมเส้นเชื่อมแบบ g ได้จาก (Xu et al., 2007B; 2008B) และต่อไปนี้เป็นปัญหาที่เกี่ยวข้องกับการระบายสีปกคลุมเส้นเชื่อมแบบ g ซึ่งยังไม่มีการศึกษาที่สมบูรณ์และน่าสนใจสำหรับการศึกษาเพิ่มเติม

ปัญหา 3.4 เงื่อนไขจำเป็นและเพียงพอสำหรับกราฟที่เป็นคลาส 1 แบบ gc (หรือ คลาส 2 แบบ gc)

ปัญหา 3.5 สมบัติของกราฟวิกฤตแบบ gc

ในปี 1994 Hilton และคณะ (Hilton et al., 1994) ศึกษาการระบายสีเส้นเชื่อมแบบเท่าเทียมในกราฟเชิงเดียวซึ่งมีผลการศึกษาหลัก ดังต่อไปนี้

ทฤษฎีบท 3.15 [Hilton et al. (1994)] กำหนดให้ G เป็นกราฟเชิงเดียว และ $k \geq 2$

ถ้า k หาร $d(v)$ ไม่ลงตัวสำหรับทุก $v \in V(G)$ แล้ว G สามารถระบายสีเส้นเชื่อมแบบเท่าเทียมด้วยสี k สีได้

ถ้า $k = \Delta(G) + 1$ แล้วทฤษฎีบท 3.15 คือ ทฤษฎีบทของ Vizing สำหรับกราฟเชิงเดียว (Vizing, 1964) และถ้า $k = \delta(G) - 1$ แล้วทฤษฎีบท 3.15 คือ ทฤษฎีบทของ Gupta สำหรับกราฟเชิงเดียว (Gupta, 1974)

ในปี ค.ศ. 2007 Xu และคณะ (Xu et al., 2007A) ได้ศึกษาการระบายสีเส้นเชื่อมแบบเท่าเทียมในกราฟหลายเชิง และได้ผลลัพธ์ที่น่าสนใจดังนี้

ทฤษฎีบท 3.16 [Xu et al. (2007A)] กำหนดให้ G เป็นกราฟ และ $k \geq 2$

ถ้า $\mu(G) \leq d(v) \pmod k \leq k - \mu(v)$ สำหรับทุก $v \in V(G)$ แล้ว G สามารถระบายสีเส้นเชื่อมแบบเท่าเทียมด้วยสี k สีได้

ทฤษฎีบท 3.16 เป็นกรณีทั่วไปของทฤษฎีบท 3.15 ยิ่งไปกว่านั้น ถ้า $k = \Delta(G) + \delta(G)$ แล้ว $r(v) = d(v)$ ดังนั้น $r(v) \geq \mu(v)$ และ $k - r(v) \geq \mu(v)$ สำหรับทุก $v \in V(G)$ โดยทฤษฎีบท 3.16 G สามารถระบายสีเส้นเชื่อมแบบเท่าเทียมด้วยสี k สีได้ นั่นคือ ทฤษฎีบท 3.16 สามารถลดรูปเป็นทฤษฎีบทของ Vizing สำหรับกราฟหลายเชิง (Vizing, 1964) ได้

เนื่องจากกราฟ G มีการระบายสีเส้นเชื่อมแบบ k -เท่าเทียม ก็ต่อเมื่อ มีฟังก์ชัน $f: V \rightarrow \mathbb{N}$ ซึ่ง G มีการระบายสีแบบ $(f-1, f)$ ด้วยสี k สี ดังนั้น การระบายสีเส้นเชื่อมแบบเท่าเทียมจึงมีความสัมพันธ์ใกล้ชิดกับการระบายสีแบบ f หรือการระบายสีปกคลุมเส้นเชื่อมแบบ g

ต่อไปนี้เป็นปัญหาที่เกี่ยวข้องกับการระบายสีแบบ (g, f) ซึ่งน่าสนใจศึกษาเพิ่มเติม

ปัญหา 3.6 เงื่อนไขจำเป็นและเพียงพอสำหรับกราฟ G ซึ่ง $\chi'_{gc}(G) \geq \chi'_f(G)$ ที่ทำให้ G มีการระบายสีแบบ (g, f)

ปัญหา 3.7 ถ้า G มีการระบายสีแบบ (g, f) แล้วข้อความ $\chi'_{gf}(G) = \chi'_f(G)$ และ $\overline{\chi'_{gf}}(G) = \chi'_{gc}(G)$ เป็นจริงหรือไม่?

ปัญหา 3.8 ศึกษาความสัมพันธ์ระหว่างการระบายสีเส้นเชื่อมแบบเท่าเทียมกับการระบายสีแบบ (g, f)

เพื่อให้่ายต่อการอ้างอิง เราสรุปค่ากราฟพารามิเตอร์ และตำแหน่งของจำนวนสีที่ทำให้เกิดค่าพารามิเตอร์ในการระบายสีเส้นเชื่อมแบบต่าง ๆ ไว้ในตารางที่ 1

ตารางที่ 1 ค่ากราฟพารามิเตอร์ที่สอดคล้องกับการระบายสีเส้นเชื่อมและตำแหน่งในการเกิดค่ากราฟพารามิเตอร์

ลำดับที่	รูปแบบการระบายสี	สัญลักษณ์ของกราฟพารามิเตอร์	ตำแหน่งของจำนวนสีที่ใช้ ในรูปแบบการระบายสีที่ เกิดค่ากราฟพารามิเตอร์
1	การระบายสีแบบ (g, f) ($0 \leq g(v) \leq f(v), \forall v \in V$)	$\chi'_{gf}(G) := (g, f)$ -รงคดัชนี $\overline{\chi'_{gf}}(G) :=$ ขอบเขตบนของ (g, f)- รงคดัชนี	สีที่น้อยที่สุด สีที่มากที่สุด
2	การระบายสีปกคลุมเส้นเชื่อม แบบ g ($f(v) \geq d(v), \forall v \in V$)	$\chi'_{gc}(G) := g$ -รงคดัชนีปกคลุม	สีที่มากที่สุด
3	การระบายสีปกคลุมเส้นเชื่อม แบบ g ขั้นกว่า	$\chi''_{gc}(G) := g$ -รงคดัชนีปกคลุมขั้นกว่า	สีที่มากที่สุด
4	การระบายสีปกคลุมเส้นเชื่อม ($g(v)=1, f(v) \geq d(v), \forall v \in V$)	$\chi'_c(G) :=$ รงคดัชนีปกคลุม	สีที่มากที่สุด
5	การระบายสีปกคลุมเส้นเชื่อม ขั้นกว่า	$\chi''_c(G) :=$ รงคดัชนีปกคลุมขั้นกว่า	สีที่มากที่สุด
6	การระบายสีแบบ f ($g(v)=0, \forall v \in V$)	$\chi'_f(G) := f$ -รงคดัชนี	สีที่น้อยที่สุด
7	การระบายสีแบบ f ขั้นกว่า	$\chi''_f(G) := f$ -รงคดัชนีขั้นกว่า	สีที่น้อยที่สุด
8	การระบายสีเส้นเชื่อม ($g(v)=0, f(v)=1, \forall v \in V$)	$\chi'(G) :=$ รงคดัชนี	สีที่น้อยที่สุด

เอกสารอ้างอิง

- de. Werra, D. (1971). Equitable colorations of graphs. *Rev. Franais Informat. Recherche Operationnelle*. R-3: 3-8.
- Gupta, R. P. (1974). On decompositions of a multigraph into spanning subgraphs. *Bull. Amer. Math. Soc.* 80: 500-502.
- Hakimi, S. L. and Kariv, O. (1896). A generalization of edge-coloring in graphs. *J. Graph Theory*. 10: 139-154.
- Hilton, A. J. and de.Werra, D. (1994). A sufficient condition for equitable edge-coloring of simple graphs. *Discrete Math.* 128: 179-201.
- Liu, G., Hou, J., and Cai, J. (2007). Some results about f-critical graphs. *Networks* 50(3): 197-202.
- Liu, G. and Hou, J. (2010). The method of coloring in graphs and its application. *J. Syst. Sci. Complex.* 23: 951-960.
- Nakano, S. and Nishizeki, T. (1993). Scheduling file transfers under port and channel constrains. *Int. J. Found. Comput. Sci.* 4(2): 425-431.
- Nakano, S. and Nishizeki, T. (1998). On the f-coloring of multigraphs. *IEEE Trans. Circuit Syst.* 35(3): 345-353.
- Song, H. and Liu, G. (2004). Some properties of edge cover critical graphs. *Advances in Math.* 33: 96-102.
- Vizing, V.G. (1964). On an estimate of the chromatics class of a p-graph (Russian). *Diskret. Analiz.* 3: 25-30.
- Xu, C. (2005). Some topics on edge colouring problems. Post-doctor Report of Shandong University.
- Xu, C. and Liu, G. (2007A). On equitable edge-coloring in multigraphs. *Acta Math. Sinica, Chinese Series.* 50(4): 955-960.
- Xu, C. and Liu, G. (2007B). Some topics on edge-coloring. *LNCS.* 4381(3): 101-108.
- Xu, C. and Liu, G. (2008A). A Note on the (g, f)-coloring. *J. Appl. Math. Comp.* 28: 199-205.
- Xu, C. and Liu, G. (2008B). A Note on edge covered chromatic index of multigraphs. *Discrete Math.* 308: 6564-6568.
- Zhang, X. (2007). f-edge colorings and equitable edge-colorings of graphs, Ph.D. Thesis, Shandong University.





เรณูวิทยาของพรรณไม้ปลูกในมหาวิทยาลัยราชภัฏยะลา ประเทศไทย

Palynology of Cultivated Plant Species at Yala Rajabhat University, Thailand

Isma-ae Chelong¹

บทคัดย่อ

ศึกษาเรณูของพรรณไม้ที่ปลูกในมหาวิทยาลัยราชภัฏยะลา จังหวัดยะลา ระหว่างเดือนมกราคมถึงเดือนธันวาคม พ.ศ. 2551 โดยพิจารณารูปร่างพื้นฐานของเรณูของพืช 20 ชนิด จาก 14 วงศ์ ภายใต้กล้องจุลทรรศน์แบบใช้แสงและกล้องจุลทรรศน์อิเล็กตรอนแบบส่องกราด พบว่า โดยทั่วไปเรณูเป็นแบบ monad เรณูมีรูปร่างที่แตกต่างกัน ซึ่งโดยทั่วไปมีรูปร่างแบบ spheroidal ได้แก่ ขนุน ชม ตะลิงปลิง พุดซ้อน ขบาดอกชมพู ขบาดอกแดง อินทนิลน้ำ ป๊อป ลั่นทมขาว ลิ้นจี่ราช ชมพุ่มะเหมี่ยว ทองอุไร บานเช้าสีเหลือง จันทน์กะพ้อ และโมก อย่างไรก็ตาม เรณูของบานบุรีเหลือง เฟื่องฟ้า กุหลาบ เข็มแดง พยับหมอก มีรูปร่างแบบ prolate และพลับพลึงดินเป็ด รูปร่างแบบ oblate เรณูส่วนใหญ่มีขั้วแบบ isopolar และส่วนมากเรณูมีสมมาตรแบบ radial ขณะที่พลับพลึงดินเป็ดมีสมมาตรแบบ bilateral และเรณูส่วนใหญ่ส่วนของ tectum มีลวดลายแบบ reticulate นอกจากนี้ เรณูยังมีลวดลายแบบ granulate, echinate และ psilate ด้วย

Abstract

This study on the palynology of cultivated plant species at Yala Rajabhat University, Yala province, Thailand from January to November 2008. The pollen morphology of 20 species belonging to 14 families has been examined by light (LM) and scanning electron microscopy (SEM). Generally pollen grains occur in monad. The shapes of pollen grains are different. Pollen grains are spheroidal in *Adenium obesum* Roem. & Schult., *Averrhoa bilimbi* L., *Ervatamia coronaria* (Jacq.) Stapf, *Hibiscus rosa-sinensis* L. (Pink), *Hibiscus*

¹ Lecturer, Biology Major, Science Department, Science Technology and Agriculture Faculty, Yala Rajabhat University, Yala 95000

* corresponding author, E-mail: ismaair.j@hotmail.com

rosa-sinensis L.(Red), *Lagerstroemia speciosa* Pers., *Millingtonia hortensis* L.f., *Plumeria alba* L., *Sansevieria trifasciata* Hort. ex Prain, *Syzygium malaccense* (L.) Merr. & L.M.Perry, *Tecoma stans* (L.) Griseb., *Turnera ulmifolia* L., *Vatica diospyroides* Symington and *Wrightia pubescens* Blume. However, Pollen grains of *Allamanda cathartica* L., *Bougainvillea spectabilis* Willd., *Cassia fistula* L., *Ixora lobbii* Loudon and *Plumbago auriculata* Lam. are prolate while pollen grains of *Hymenocallis littoralis* Salisb. is oblate. Polarity of most pollen grains is isopolar and has radial symmetry, whereas bilateral symmetry is found in *H. littoralis* Salisb. Tectum generally is reticulate, in addition granulate, echinate and psilate are also found.

คำสำคัญ: เรณูวิทยา เรณู SEM อาชีโพลีซิส

Keywords: Palynology, Pollen, SEM, Acetolys

Introduction

Palynology is the study of pollen grains produced by seed plants (angiosperm and gymnosperm) and spores produced by pteridophytes, bryophyte, algae and fungi (Moore et al., 1991). Palynology serves as a tool for reconstruction of past vegetation and environment. It can also be applied to taxonomy, genetics, evolutionary studies, honey study, forensic science, allergy studies, tracing vegetation history in a individual and communities correlation, and climate change studies. Pollen biology has directed to use in agriculture, horticulture, forestry, plant breeding and biotechnology. According to Perveen (2003) conducted the palynological and taxonomic studies of family Euphorbiaceae. Pollen of family Euphorbiaceae were found to spheroidal in polar view and elliptic to acinate in equatorial view and the pollen of family Malvaceae are large, spheroidal and spiny. Pollen of family Verbinaceae were found monad type and tricolporate and the pollen of family Asteraceae are spheroidal, echinate (Zafar et al., 2006 ; Mbagwu et al., 2009). Edeoga and Ikem (2002) also showed that *Boerhavia coccinea* is

characterized by tricolpate pollen grains while *B. erecta* and *B. diffusa* have a colpate pollen grains. The variation in shape, aperture, polar unit, symmetry and difference in wall sculpture of pollen grains has been used by many authors in the delimitation of various taxa (Agwu and Uwakwe, 1992 ; Agwu and Osibe, 2006 ; Edeoga et al., 1996 ; Lezine and Edoth, 1991 ; Angeles, 1992 ; Mbagwu and Edeoga, 2006).

In the present investigation the pollen morphology studies of the 20 cultivated plant species at Yala Rajabhat University, Thailand. The selected species are *Adenium obesum* Roem. & Schult., *Allamanda cathartica* L., *Averrhoa bilimbi* L., *Bougainvillea spectabilis* Willd., *Cassia fistula* L., *Ervatamia coronaria* (Jacq.) Stapf, *Hibiscus rosa-sinensis* L.(Pink), *Hibiscus rosa-sinensis* L.(Red), *Hymenocallis littoralis* Salisb., *Ixora lobbii* Loudon, *Lagerstroemia speciosa* Pers., *Millingtonia hortensis* L.f., *Plumbago auriculata* Lam., *Plumeria alba* L., *Sansevieria trifasciata* Hort. ex Prain, *Syzygium malaccense* (L.) Merr. & L.M.Perry, *Tecoma stans* (L.) Griseb., *Turnera ulmifolia* L., *Vatica diospyroides* Symington and *Wrightia pubescens* Blume.

Material and Methods

Pollen grains of 20 species were collected at Yala Rajabhat University, Thailand from January to November 2008.

Method Pollen Morphology

The pollen grains were prepared for light microscopy (LM) and scanning electron microscopy (SEM) by the standard method, described by Erdtman (1952). For LM, the pollen grains were mounted in unstained glycerin jelly and observations were made with a ALPHATECH Model AT 123 microscope fitted with camera, under (E40, 0.65) and using 10x eyepiece. For SEM, the acetolysed samples were attached to aluminium stubs. After sputter coating with gold, pollen grains were examined and photographed under SEM (Jeol microscope JSM-T200) at 15 kV. The measurements are based on 15-20 readings from each specimen. Polar axis (P), equatorial diameter (E) and tectum texture were measured. The terminology used is in accordance with Erdtman (1960) ; Faegri and Iversen (1964) ; Kremp (1965) ; Walker and Doyle (1975).

Results

Pollen morphology

Pollen morphology of these species varies among different plants species and according were described

Pollen morphological descriptions

Adenium obesum Roem. & Schult. (Figures. 1 A,B)

Family : Apocynaceae

P/E ratio : 1.09

Size : Polar axis (P) 85.40(86.40)87.40 μm and equatorial diameter (E) 78.70(79.50)80.30 μm .

Morphology : Spheroidal, periporate, isopolar, radial symmetry and tectum psilate.

Allamanda cathartica L. (Figures. 2 A, B)

Family : Apocynaceae

P/E ratio : 1.61

Size : Polar axis (P) 134.40(138.30)142.20 μm and equatorial diameter (E) 85.80(85.90)86.00 μm .

Morphology : Prolate, tricolporate, isopolar, radial symmetry and tectum granulate.

Averrhoa bilimbi L. (Figures. 3 A, B)

Family : Oxalidaceae

P/E ratio : 1.22

Size : Polar axis (P) 62.50(64.75)67.00 μm and equatorial diameter (E) 52.60(52.95)53.30 μm .

Morphology : Spheroidal, triporate, isopolar, radial symmetry and tectum reticulate.

Bougainvillea spectabilis Willd. (Figures. 4 A, B)

Family : Nyctaginaceae

P/E ratio : 1.55

Size : Polar axis (P) 59.30(61.45)63.60 μm and equatorial diameter (E) 37.90(39.55)41.20 μm .

Morphology : Prolate, pantoporate, isopolar, radial symmetry and tectum reticulate.

Cassia fistula L. (Figures. 5 A, B)

Family : Caesalpiniaceae

P/E ratio : 1.46

Size : Polar axis (P) 75.30(76.70)78.10 μm and equatorial diameter (E) 52.20(52.50)52.80 μm .

Morphology : Prolate, tricolporate, isopolar, radial symmetry and tectum granulate.

***Ervatamia coronaria* (Jacq.) Stapf (Figures. 6 A, B)**

Family : Apocynaceae

P/E ratio : 1.04

Size : Polar axis (P) 116.30(116.60)116.90 μm and equatorial diameter (E) 111.00(111.90)112.80 μm .

Morphology : Spheroidal, periporate, isopolar, radial symmetry and tectum granulate.

***Hibiscus rosa-sinensis* L.(Pink) (Figures. 7 A, B)**

Family : Mavalceae

P/E ratio : 1.00

Size : Polar axis (P) 118.00(119.20)120.40 μm and equatorial diameter (E) 118.00(119.20)120.40 μm .

Morphology : Spheroidal, polypantoporate, echinate, apolar, radial symmetry and tectum granulate.

***Hibiscus rosa-sinensis* L.(Red) (Figures. 8 A, B)**

Family : Mavalceae

P/E ratio : 1.00

Size : Polar axis (P) 162.70(164.35)166.00 μm and equatorial diameter (E) 162.70(164.35)166.00 μm .

Morphology : Spheroidal, polypantoporate, echinate, apolar, radial symmetry and tectum granulate.

***Hymenocallis littoralis* Salisb. (Figures. 9 A, B)**

Family : Amaryllidaceae

P/E ratio : 0.63

Size : Polar axis (P) 176.90(178.20)179.50 μm and equatorial diameter (E) 282.70(283.25)283.80 μm .

Morphology : Oblate, triporate, heteropolar, Bilateral and tectum reticulate.

***Ixora lobbii* Loudon (Figures. 10 A, B)**

Family : Rubiaceae

P/E ratio : 1.05

Size : Polar axis (P) 64.80(65.80)66.80 μm and equatorial diameter (E) 62.10(62.85)63.60 μm .

Morphology : Prolate, syncolpate, isopolar, radial symmetry and tectum granulate.

***Lagerstroemia speciosa* Pers. (Figures. 11 A, B)**

Family : Lythraceae

P/E ratio : 1.02

Size : Polar axis (P) 78.73(79.80)80.86 μm and equatorial diameter (E) 77.50(77.95)78.40 μm .

Morphology : Spheroidal, periporate, isopolar, radial symmetry and tectum granulate.

***Millingtonia hortensis* L.f. (Figures. 12 A, B)**

Family : Bignoniaceae

P/E ratio : 1.55

Size : Polar axis (P) 85.80(86.30)86.80 μm and equatorial diameter (E) 54.10(55.65)57.20 μm .

Morphology : Spheroidal, tricolpate, isopolar, bilateral symmetry and tectum granulate.

***Plumbago auriculata* Lam. (Figures. 13 A, B)**

Family : Plumbaginaceae

P/E ratio : 1.98

Size : Polar axis (P) 151.00(152.25)153.50 μm and equatorial diameter (E) 72.90(76.75)80.60 μm .

Morphology : Prolate, colpate, isopolar, radial symmetry and tectum granulate.

***Plumeria alba* L. (Figures. 14 A, B)**

Family : Apocynaceae

P/E ratio : 1.18

Size : Polar axis (P) 76.20(78.10)80.00 μm and equatorial diameter (E) 65.70(66.25)66.80 μm .

Morphology : Spheroidal, tricolpate, isopolar, radial symmetry and tectum granulate.

***Sansevieria trifasciata* Hort. ex Prain (Figures. 15 A, B)**

Family : Dracaenaceae

P/E ratio : 1.08

Size : Polar axis (P) 142.00(142.90)143.80 μm and equatorial diameter (E) 131.90(132.50)133.10 μm .

Morphology : Spheroidal, tricolpate, isopolar, radial symmetry and tectum granulate.

***Syzygium malaccense* (L.) Merr. & L.M.Perry (Figures. 16 A, B)**

Family : Myrtaceae

P/E ratio : 0.83

Size : Polar axis (P) 37.40(38.50)39.60 μm and equatorial diameter (E) 46.30(46.45)46.60 μm .

Morphology : Spheroidal, tricolpate, isopolar, radial symmetry and tectum granulate.

***Tecoma stans* (L.) Griseb. (Figures. 17 A, B)**

Family : Bignoniaceae

P/E ratio : 1.06

Size : Polar axis (P) 60.23(61.28)62.32 μm and equatorial diameter (E) 56.30(57.60)58.90 μm .

Morphology : Spheroidal, tricolpate, isopolar, radial symmetry and tectum granulate.

***Turnera ulmifolia* L. (Figures. 18 A, B, C)**

Family : Turneraceae

P/E ratio : 1.07

Size : Polar axis (P) 164.30(166.85)169.40 μm and equatorial diameter (E) 152.00(153.55)155.10 μm .

Morphology : Spheroidal, syncolpate, isopolar, radial symmetry and tectum reticulate.

***Vatica diospyroides* Symington (Figures. 19 A, B)**

Family : Dipterocarpaceae

P/E ratio : 0.99

Size : Polar axis (P) 64.50(65.25)66.00 μm and equatorial diameter (E) 65.89(65.90)66.00 μm .

Morphology : Spheroidal, triporate, isopolar, radial symmetry and tectum granulate.

***Wrightia pubescens* Blume (Figures. 20 A, B)**

Family : Apocynaceae

P/E ratio : 0.95

Size : Polar axis (P) 82.30(82.75)83.20 μm and equatorial diameter (E) 85.00(86.90)88.80 μm .

Morphology : Spheroidal, triporate, isopolar, radial symmetry and tectum granulate.

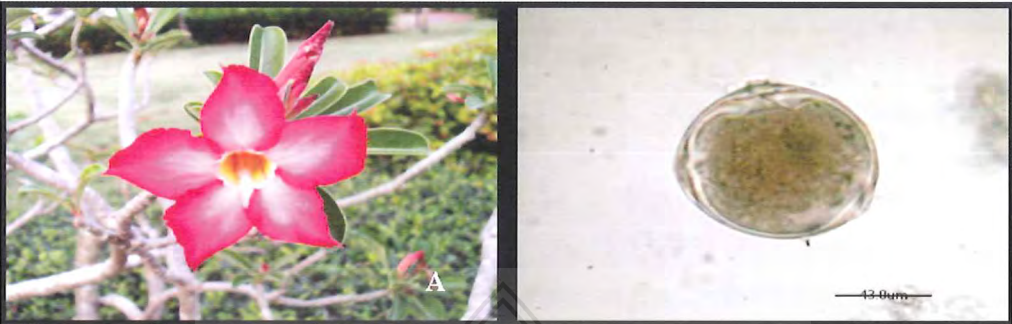


Figure 1. Floral morphology (A) and light micrograph of *Adenium obesum* Roem. & Schult. : B - Polar view (Bar=43.0μm)



Figure 2. Floral morphology (A) and light micrograph of *Allamanda cathartica* L. : B - Polar view (Bar=37.0 μm)

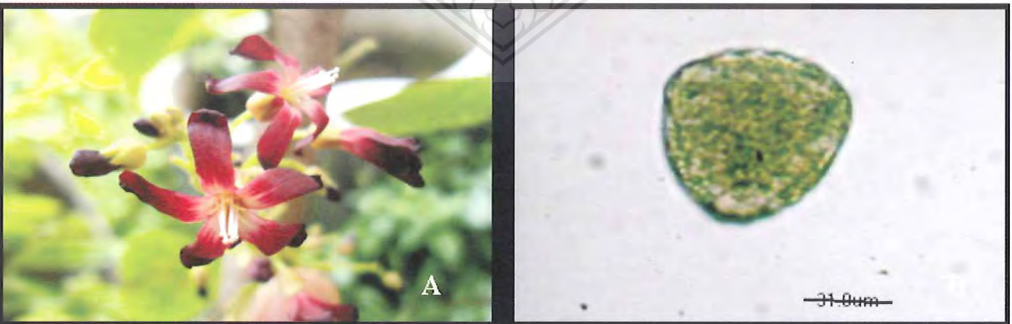


Figure 3. Floral morphology (A) and light micrograph of *Averrhoa bilimbi* L. : B - Polar view (Bar=31.0 μm)



Figure 4. Floral morphology (A) and light micrograph of *Bougainvillea spectabilis* Willd. : B - Polar view (Bar=33.6 μ m)



Figure 5. Floral morphology (A) and light micrograph of *Cassia fistula* L. : B - Polar view (Bar=43.5 μ m)



Figure 6. Floral morphology (A) and light micrograph of *Ervatamia coronaria* (Jacq.) Stapf : B- Polar view (Bar=35.2 μ m)

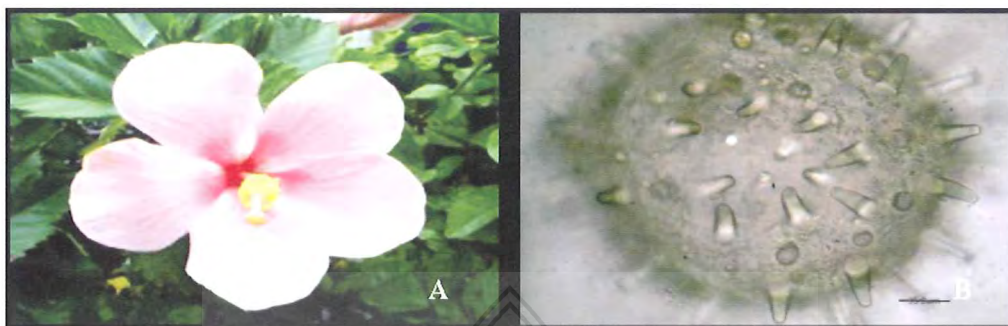


Figure 7. Floral morphology (A) and light micrograph of *Hibiscus rosa-sinensis* L. (Pink) : B- Polar view (Bar=35.2 μm)



Figure 8. Floral morphology (A) and light micrograph of *Hibiscus rosa-sinensis* L. (Red) : B- Polar view (Bar=31.5 μm)



Figure 9. Floral morphology (A) and light micrograph of *Hymenocallis littoralis* Salisb. : B- Polar view (Bar=42.5 μm)

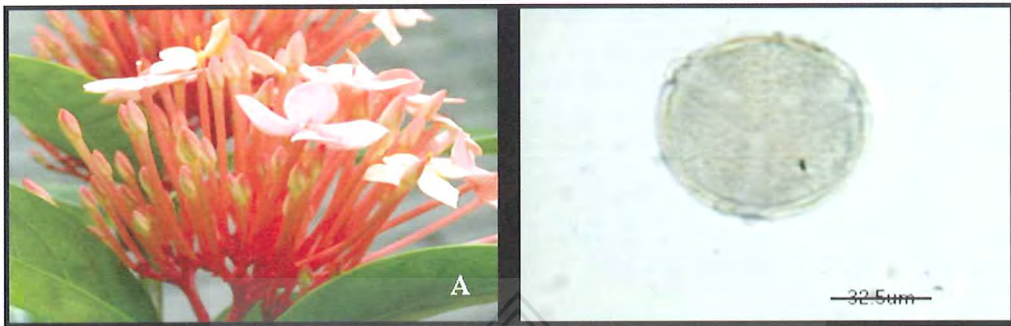


Figure 10. Floral morphology (A) and light micrograph of *Ixora lobbii* Loudon : B- Polar view (Bar= 32.5 μm)



Figure 11. Floral morphology (A) and light micrograph of *Lagerstroemia speciosa* Pers. : B- Polar view (Bar=36.7 μm)



Figure 12. Floral morphology (A) and light micrograph of *Millingtonia hortensis* L.f. : B- Polar view (Bar=38.8 μm)



Figure 13. Floral morphology (A) and light micrograph of *Plumbago auriculata* Lam. : B- Polar view (Bar=31.5 μ m)

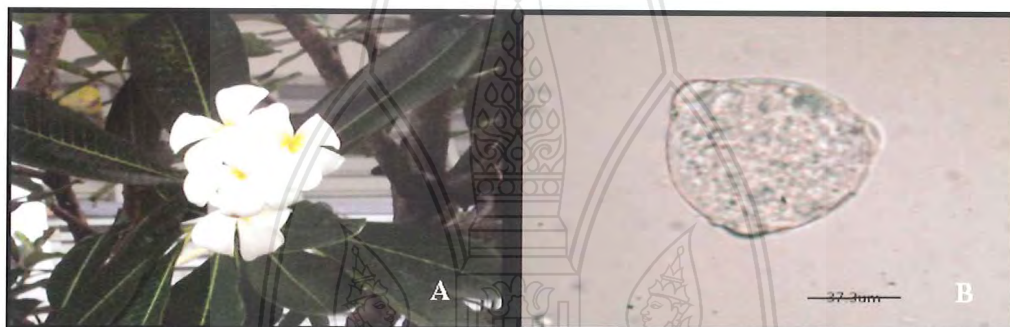


Figure 14. Floral morphology (A) and light micrograph of *Plumeria alba* L. : B- Polar view (Bar=37.3 μ m)



Figure 15. Floral morphology (A) and light micrograph of *Sansevieria trifasciata* Hort. ex Prain : B- Polar view (Bar=31.5 μ m)



Figure 16. Floral morphology (A) and light micrograph of *Syzygium malaccense* (L.) Merr. & L.M.Perry : B- Polar view (Bar=32.0 μ m)

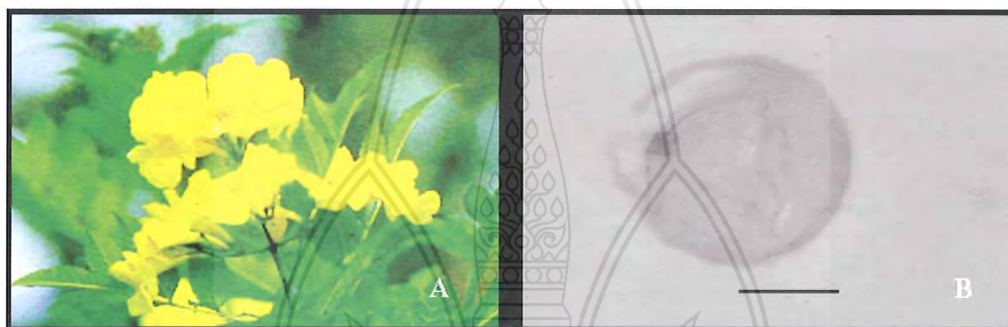


Figure 17. Floral morphology (A) and light micrograph of *Tecoma stans* (L.) Griseb. : B- Polar view (Bar=32.5 μ m)

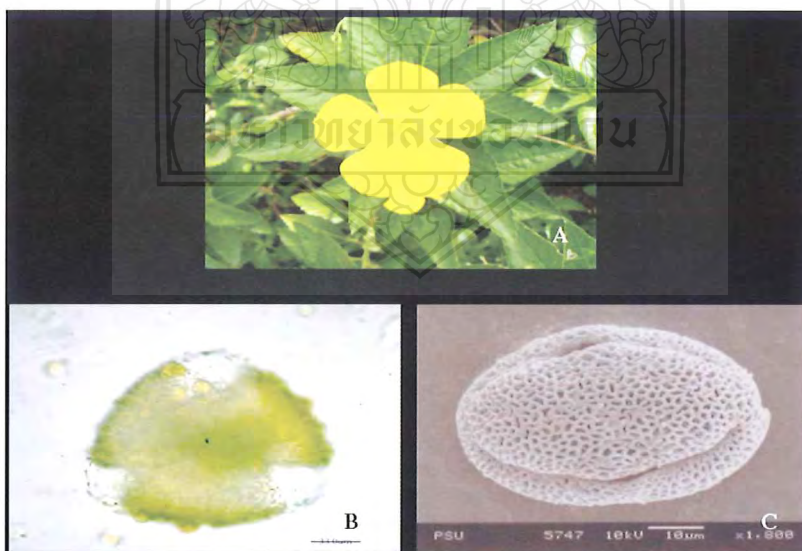


Figure 18. Floral morphology (A), light micrograph and scanning electron micrograph of *Turnera ulmifolia* L. : B- Polar view (Bar=33.0 μ m) C- Equatorial view (Bar=10.0 μ m)

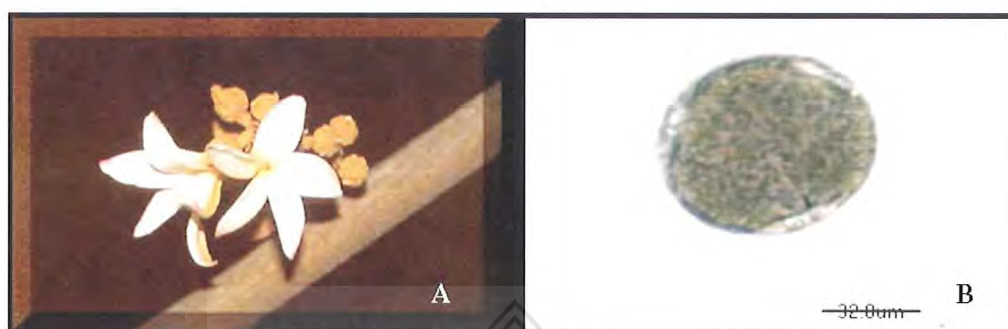


Figure 19. Floral morphology (A) and light micrograph of *Vatica diospyroides* Symington. : B- Polar view (Bar=32.0 μm)

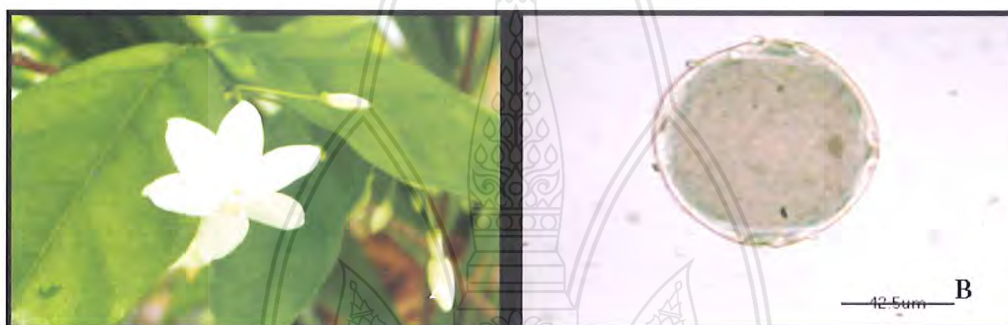


Figure 20. Floral morphology (A) and light micrograph of *Wrightia pubescens* Blume : B- Polar view (Bar=42.5 μm)

Discussion and Conclusions

The palynomorphological study of the 20 cultivated plant species at Yala Rajabhat University, Thailand investigated is different and similar. Generally pollen grains are spheroidal in *Adenium obesum* Balf., *Averrhoa bilimbi* Linn., *Ervatamia coronaria* Stapf, *Hibiscus rosa-sinensis* Linn.(Pink), *Hibiscus rosa-sinensis* Linn.(Red), *Lagerstroemia speciosa* Pers., *Millingtonia hortensis* Linn. f., *Plumeria alba* Linn., *Sansevieria trifasciata* Prain, *Syzygium malaccensis* Linn., *Tecoma stans* HBK., *Turnera ulmifolia* Linn., *Vatica diospyroides* Syming. and *Wrightia pubescens* R. Br. The circular nature of

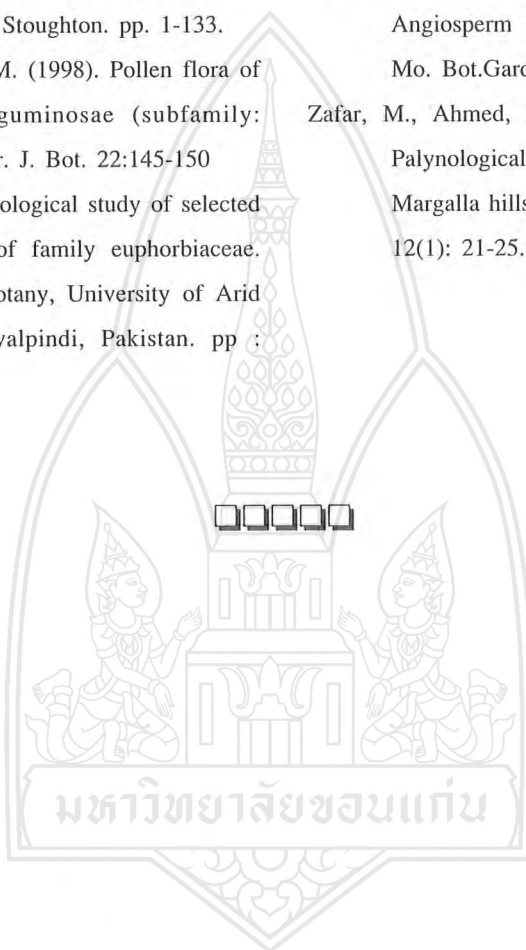
the pollen grains are related to structural adaptation for effective pollination by insects (Gimenes, 1991 ; Edeoga et al., 1996 ; Mbagwu and Edeoga, 2006). But, in *Allemanda cathartica* Linn., *Bougainvillea spectabilis* Willd., *Cassia agnes* Brenan, *Ixora lobbii* Loud. and *Plumbago auriculata* Lam. prolate shape of pollen grains are found and pollen grains are rarely oblate., the species where the pollen grains are longer than wide this is attributed as a structural adaptation for effective dispersal by wind. (Gimenes, 1991 ; Edeoga et al., 1996 ; Mbagwu and Edeoga, 2006). All species are free or monad pollen type. The pollen grains type of flowering plants is monad,

expected in Mimosaceae family species i.e. *Pakia* sp. and *Acacia* sp. (Perveen and Kaiser, 1998). Polarity mostly is isopolar and rarely is apolar and heteropolar. Aftab and Perveen (2006) studied pollen morphology in Karachi and found that pollen grains are isopolar i.e. *Mangifera indica* L., *Plumeria acutifolia* Poir., *Millingtonia hortensis* L.f., *Cassia fistula* L. and *Psidium guajava* L. However, we found that the pollen grains are apolar in *Hibiscus rosa-sinensis* Linn.(Pink) and *Hibiscus rosa-sinensis* Linn.(Red). This is also supported by Bibi et al. (2008) that the pollen morphology in the family Malvaceae is apolar and radial symmetry. Generally pollen grains are radial symmetry but in the species *Hymenocallis littoralis* Salisb. bilateral symmetry pollen grains are found. These results agree to that of Erdtman (1952).

References

- Aftab, R. and Perveen, A. (2006). A palynological study of some cultivated trees from Karachi. Pak. J. Bot. 38(1): 15-28.
- Agwu, C.O.C. and Osibe, E.E. (2006). Airborne palynomorphs of Nsukka during the months of February-April, 1990. Nig. J. Bot. 5: 177-185.
- Agwu, C.O.C. and Uwakwe, G.O. (1992). Melissopalynological studies of honey from Abia and Imo States of Nigeria. Nig. J. Bot. 5: 85-91.
- Angeles, G. (1992). The periderm of flooded and non flodded *Ludwigia octovalvis* (Onagraceae). IAWA-BULL. 13: 195-200.
- Bibi, N., Hussain, M. and Aktar, N. (2008). Palynological study of some cultivated species of genus *Hibiscus* from North West Frontier Province (N.W.F.P.) Pakistan. Pak. J. Bot. 40(4): 1561-1569.
- Edeoga, H.O. and Ikem, I.C. (2002). Structural morphology of the pollen grains in three Nigerian Species of *Boerhavia* L. New Bot. 29: 89-95.
- Edeoga, H.O., Ogbebor, N.O. and Amayo, A.O. (1996). Pollen morphology of some Nigerian species of *Aneilema* R. Br. and *Ludwigia* L. New Bot. 23: 223-231.
- Erdtman, G. (1952). Pollen morphology and plant taxonomy: (Angiosperms. An introduction to Palynology- I) Almqvist and Wiksell, Stockholm. pp. 1- 539.
- Erdtman, G. (1960). The acetolysis method. Svensk Bot. Tidskr. 54: 561-564.
- Faegri, K. and Iverson., J. (1964). Text Book of Pollen Analysis. 3rd revised edition by Faegri, K. Munksgaard, Copenhagen, and Denmark. pp. 1-295.
- Gimenes, M. (1991). Some morphological adaptations in Bees (*Hymenoptera*, *Ludwigia elegans*, *Onagraceae*). Rev Brasil Entommol. 35: 413- 422.
- Kremp, G.O.W. (1965). Morphologic Encyclopaedia of Palynology. Tucson: The University of Arizona Press. pp. 1-263.
- Lezine, A.M. and Ectorh, T.M. (1991). Mordern Pollen deposition in West African Sudanian environments. Rev. Palebot. Palyn. 67:41-58.
- Mbagwu, F. N., Chime, E.G. and Unamba, C.I.N. (2009). Palynological studies on five species of Asteraceae. African Journal of Biotechnology. 8 (7):1222-1225.

- Mbagwu, F.N. and Edeoga, H.O. (2006). Palynological studies on some Nigerian species of *Vigna savi*. J. Biol. Sci. 6(6): 1122-1125.
- Moore, P.D., Wedd, J.A. and Collinson, M.E. (1991). An Illustrated Guide to Pollen Analysis 2nd Edn, Hodder and Stoughton. pp. 1-133.
- Perveen, A. and Qaiser, M. (1998). Pollen flora of Pakistan-XI Leguminosae (subfamily: Mimosoideae.). Tr. J. Bot. 22:145-150
- Perveen, N. (2003). Palynological study of selected medicinal plant of family euphorbiaceae. Department of Botany, University of Arid Agriculture, Rawalpindi, Pakistan. pp : 23-25.
- Perveen, N. and Qaiser, M. (1997). Palynological survey of flora of Pakistan. In: Proceeding of *Int. Symp. On Plant Life of S. West Asia and Central Asia*. (Eds.): Ozturk, M. Secunen, O. and Gork, G. pp. 795-835.
- Walker, J.W. and Doyle, J.A. (1975). The basis of Angiosperm phylogeny: Palynology. Ann. Mo. Bot.Gard. 62: 666- 732.
- Zafar, M., Ahmed, M. and Khan, M.A. (2006). Palynological studies of Verbenaceae from Margalla hills, Islamabad, Pak. J. Plant Sci. 12(1): 21-25.





ความสัมพันธ์ระหว่างอัตราการปล่อยก๊าซมีเทน กับลักษณะสัณฐานของข้าวพันธุ์ชัยนาท 1 และพันธุ์สกลนคร

Relationship between Methane Emission Rate and Morphological Characteristics of Chainat 1 and Sakol Nakon Rice Varieties

พัชรีย์ แสนจันทร์^{1*} มัชฌิมา เจียจันติก¹ วรณวิภา แก้วประดิษฐ์¹ และ เกริก ปั่นเหน่งเพ็ชร¹

บทคัดย่อ

สัณฐานของข้าวสันนิษฐานว่ามีส่วนเกี่ยวข้องกับการปล่อยก๊าซมีเทนสู่บรรยากาศ การศึกษานี้มีวัตถุประสงค์เพื่อศึกษาความสัมพันธ์ระหว่างอัตราการปลดปล่อยก๊าซมีเทนกับลักษณะสัณฐานของต้นข้าวและรากข้าวพันธุ์ชัยนาท 1 และพันธุ์สกลนคร ปลูกลำข้าวอายุ 20 วัน 5 ต้นต่อจับต่อกระถาง ขังน้ำตลอดฤดูปลูก ทำการเก็บตัวอย่างก๊าซมีเทนจากกระถางที่ปลูกข้าวทั้งสองพันธุ์ทุกสัปดาห์ วัดปริมาณสารคัดหลั่ง ความยาวราก พื้นที่ผิวของราก ปริมาตรราก ความสูงของต้นข้าว เส้นผ่านศูนย์กลางของลำต้น จำนวนหน่อ น้ำหนักแห้งต้นและราก ปริมาตรช่องว่างในรากและในลำต้นส่วนที่ติดราก (culm) ตัวอย่างข้างต้นเก็บและวัดที่ระยะต้นกล้า แดกกอ ออกดอก สุกแก่ และเก็บเกี่ยว ขณะเดียวกันในการวัดอัตราการปลดปล่อยก๊าซมีเทน และปริมาณสารคัดหลั่งได้คำนวณบนฐานต่อกรัมน้ำหนักแห้งลำต้น และบนฐานต่อกรัมน้ำหนักแห้งราก ผลการศึกษาพบว่าข้าวพันธุ์สกลนครปล่อยก๊าซมีเทนมากกว่าข้าวพันธุ์ชัยนาท 1 อัตราการปล่อยก๊าซมีเทนสู่บรรยากาศของข้าวพันธุ์ชัยนาท 1 และพันธุ์สกลนครขึ้นอยู่กับปริมาตรช่องว่างใน culm น้ำหนักแห้งลำต้น จำนวนหน่อต่อกอ อย่างไรก็ตามเส้นผ่านศูนย์กลางลำต้นสดมีผลต่อการปล่อยก๊าซมีเทนน้อย ส่วนความสูงของลำต้นมีความสัมพันธ์กับอัตราการปล่อยก๊าซมีเทนในเชิงลบ อัตราการปล่อยก๊าซมีเทนสู่บรรยากาศของข้าวพันธุ์ชัยนาท 1 และพันธุ์สกลนครมีความสัมพันธ์สูงกับปริมาณสารคัดหลั่ง ในทางตรงกันข้ามความยาวรากของข้าวทั้งสองพันธุ์ พื้นที่ผิวราก และปริมาตรราก มีความสัมพันธ์กันอย่างสูงในเชิงลบกับอัตราการปล่อยก๊าซมีเทน เป็นไปได้ว่ารากข้าวถึงแม้ว่าจะปล่อยสารคัดหลั่งซึ่งเป็นสารอาหารให้แก่จุลินทรีย์ดินที่ผลิตก๊าซมีเทน แต่ขณะเดียวกันรากข้าวยังทำหน้าที่ปลดปล่อยก๊าซออกซิเจนชักนำให้เกิดกระบวนการมีเทนออกซิเดชัน และส่งผลให้ลดอัตราการปล่อยก๊าซมีเทนจากดินสู่บรรยากาศ ในขณะที่ปริมาตรช่องว่างในราก และน้ำหนักแห้งรากของข้าวทั้งสองพันธุ์มีอิทธิพลต่ออัตราการปล่อยก๊าซมีเทนน้อยในเชิงบวก

1 ภาควิชาพืชศาสตร์และทรัพยากรการเกษตร สาขาทรัพยากรที่ดินและสิ่งแวดล้อม คณะเกษตรศาสตร์ มหาวิทยาลัยขอนแก่น จ.ขอนแก่น 40002

* Corresponding Author, E-mail: patsae1@kku.ac.th

Abstract

Rice mediated methane emission is documented to be affected by its morphological features. The objective of this study was to verify relationship between methane emission rate and morphological features of shoot and root of Chainat 1 and Sakon Nakhon rice varieties. Twenty days old seedlings were transplanted, 5 plants per hill per pot with flooding through the growing period. Gas was sampled from the rice pots every week for methane concentration. Root exudates, root length, root surface, root volume, shoot height, shoot diameter, number of tiller, shoot and root dry weight, space volume of root and culm were measured at the growth stages of seedling, tillering, flowering, ripening and harvesting. Calculation of methane emission rates and amount of exudates was based on dry weight of shoot and root. The result indicated that Sakol Nakhon rice variety released more methane into atmosphere than Chainat 1. Rice-mediated-methane emission to atmosphere of Chainat 1 and Sakol Nakhon remarkably depended on space volume in culm, shoot dried weight and tiller numbers. However, fresh shoot diameter slightly affected methane emission, but the height of shoot had negative correlation with methane emission. Methane emission rate to atmosphere of Chainat 1 and Sakon Nakhon rice varieties had high correlation with the amount of exudates. In contrast, root length of the two rice varieties, root surface area and root volume displayed negative correlation with methane emission rates. Although the roots of rice secreted exudates that served as substrate for methanogens, the rice roots were expected to release oxygen which in turn induced the process of methane oxidation. All experiments resulted in reduction of the quantity of methane emission from the soil into the atmosphere. The root space volume of Chainat 1 and Sakol Nakhon and root dried weight had slight effect on the methane emission rate.

คำสำคัญ: มีเทน พันธุ์ข้าว สัณฐาน ชัยนาท 1 สกลนคร

Key words : methane, rice variety, morphological feature

บทนำ

นาข้าวถูกระบุว่าเป็นแหล่งสำคัญแหล่งหนึ่งของกิจกรรมมนุษย์ที่มีการปล่อยก๊าซมีเทนสู่บรรยากาศ (IPCC, 1996) ทั่วโลกปลดปล่อยก๊าซมีเทนจากนาข้าวประมาณ 10-26 เทระกรัมต่อปี (Matthews et al., 2000) หรือร้อยละ 10-13 ของก๊าซมีเทนทั้งหมดในบรรยากาศ (Crutzen and Lelieveld, 2001) กระบวนการเกิดก๊าซมีเทน (methanogenesis) ในดินนาเกิดจากกิจกรรมของจุลินทรีย์ดินกลุ่มที่ผลิตมีเทน (methanogens) โดยจุลินทรีย์เหล่านี้จะย่อยสลายอินทรีย์วัตถุในดินในสภาพน้ำขังที่ขาดออกซิเจนให้เป็นก๊าซมีเทน ก๊าซ

มีเทนที่เกิดขึ้นนี้จะละลายแทรกตัวอยู่ในเนื้อดิน และแพร่เข้าสู่ในผนังเซลล์ของราก เปลี่ยนรูปเป็นก๊าซ (gasify) ที่คอร์เท็กซ์ในราก (root cortex) และถูกปล่อยออกตรงรูเล็ก ๆ (micropores) ที่อยู่ใต้กาบใบ (leaf sheaths) ออกสู่บรรยากาศ (Nouchi et al., 1990) จะเห็นว่าแหล่งเริ่มต้นของการเกิดและผลิตก๊าซมีเทนในนาข้าวอยู่ที่บริเวณรากข้าว (rice rhizosphere) นั่นเอง ซึ่งเป็นบริเวณที่อยู่อาศัยของจุลินทรีย์ชนิดต่างๆ กอปรกับมีสารอาหารที่ถูกปล่อยออกจากรากข้าวในรูปของสารคัดหลั่ง (exudate) ที่ประกอบด้วยน้ำตาลกลูโคส (glucose) และกรดอินทรีย์ (organic acid)

(Kerdchoechuen, 2005) จึงเป็นแหล่งของสารประกอบคาร์บอนอินทรีย์และเป็นสารอาหารอย่างดีให้กับจุลินทรีย์กลุ่มที่ผลิตก๊าซมีเทน (Melting, 1992) จึงกล่าวได้ว่าต้นข้าวเป็นปัจจัยสำคัญในการปลดปล่อยก๊าซมีเทนออกสู่บรรยากาศ

นอกจากนี้ลักษณะสัณฐานของต้นข้าวเป็นปัจจัยหนึ่งที่สำคัญต่อการผลิตและปลดปล่อยก๊าซมีเทน ได้แก่ ปริมาตรช่องอากาศ (aerenchyma) ภายในรากและลำต้น ขนาดและปริมาตรของท่อลำเลียง ซึ่งจะมีขนาดใหญ่ขึ้นตามอายุของต้นข้าว ทำให้ต้นข้าวมีความสามารถในการขนส่งก๊าซมีเทนมากขึ้นตามระยะการเจริญเติบโต ลักษณะการแตกกอ ทรงกอ และขนาดลำต้น รวมถึงอายุของต้นข้าว ข้าวพันธุ์หนึ่งมีการเจริญเติบโตที่นานกว่าและมีระยะเวลาการปล่อยก๊าซมีเทนมากขึ้น (นิวติ เจริญศิลป์และคณะ, 2542) โดยการปลดปล่อยก๊าซมีเทนจากนาข้าวสู่บรรยากาศนี้ร้อยละ 90 ถูกปลดปล่อยออกมาจากต้นข้าว (Nouchi et al., 1990) ลักษณะสัณฐานของพันธุ์ข้าวไทยที่อาจเกี่ยวข้องกับการปล่อยก๊าซมีเทนสู่บรรยากาศยังศึกษาได้น้อยมากและขาดข้อมูลพื้นฐาน การศึกษาครั้งนี้มีวัตถุประสงค์เพื่อศึกษาความสัมพันธ์ระหว่างอัตราการปลดปล่อยก๊าซมีเทนกับลักษณะสัณฐานของต้นข้าวที่อยู่เหนือดินและลักษณะสัณฐานของรากข้าวพันธุ์ชัยนาท 1 และพันธุ์สกลนคร

วิธีการทดลอง

เก็บดินในแปลงนาเกษตรกรที่บ้านหนองน้ำเกลี้ยง ตำบลสำราญ อำเภอเมือง จังหวัดขอนแก่น ที่ความลึก 0-15 ซม. ตากดินให้แห้ง (air dried) ร่อนผ่านตะแกรงร่อนขนาด 2 มม. คลุกดิน 3 กก. กับปุ๋ยสูตร 16-16-8 ปริมาณ 0.3656 กรัม (อัตรา 25 กก.ต่อไร่) เทใส่กระถางพลาสติกใสขนาดกว้าง 15.3 ซม. ยาว 15.3 ซม. สูง 24 ซม. ชั่งน้ำให้ระดับน้ำอยู่ที่ผิวดิน ทิ้งไว้ 1 คืนก่อนปลูก ปักคาลำข้าวพันธุ์ชัยนาท 1 และพันธุ์สกลนครที่อายุ 20 วัน 5 ต้นต่อจ๊อบต่อกระถาง ชั่งน้ำตลอดฤดูปลูก ทำการเก็บตัวอย่างก๊าซมีเทนจาก

กระถางที่ปลูกข้าวทั้งสองพันธุ์ทุกสัปดาห์ด้วยวิธี closed chamber (IRRI, 1996) วิเคราะห์ก๊าซมีเทนด้วยเครื่อง gas chromatograph (Shimadzu GC-14B) เพื่อหาอัตราการปลดปล่อยก๊าซมีเทน (methane emission rate, MER) ขณะเดียวกันทำการเก็บสารคัดหลั่ง โดยนำต้นข้าวออกจากกระถาง แล้วล้างดินออกจากรากต้นข้าวอย่างระมัดระวังด้วยน้ำปราศจากประจุนำดินข้าวที่ล้างสะอาดแล้วแช่รากลงในสารละลาย 0.01 M CaSO_4 150 มล. ปล่อยให้สารคัดหลั่งออกจากรากนาน 2 ชั่วโมง แล้ววิเคราะห์หาปริมาณคาร์บอนในสารคัดหลั่งด้วยวิธี wet-digestion (Aulakh et al., 2001) ขณะเดียวกันทำการเก็บข้อมูลทางสัณฐานของรากข้าว ได้แก่ ความยาวราก พื้นที่ผิวของราก และปริมาตรราก โดยใช้เครื่องสแกนราก ยี่ห้อ EPSON รุ่น Perfection V750 และคำนวณด้วยโปรแกรม WinRHIZO 2004a ส่วนสัณฐานของลำต้น ได้แก่ ความสูงของต้นข้าว เส้นผ่านศูนย์กลางของลำต้นสด จำนวนหน่อตอก และน้ำหนักแห้งของลำต้นและรากโดยวิธี ash-free dry weight และปริมาตรช่องว่างในรากและในลำต้นส่วนที่อยู่ใต้ราก (culm) โดยวิธี pycnometer (Curran et al., 1996) ข้อมูลสารคัดหลั่งและสัณฐานของข้าวข้างต้นถูกเก็บที่ระยะต้นกล้า ระยะแตกกอ ระยะออกดอก ระยะสุกแก่ และระยะเก็บเกี่ยว และวิเคราะห์ความแปรปรวนทางสถิติ (analysis of variance) ของข้อมูลทุกตัวแปรตามแผนการทดลอง CRD และมีการเปรียบเทียบค่าเฉลี่ยของตัวแปรทดลองโดยวิธี F-test ด้วยโปรแกรมสำเร็จรูป MSTAT-C v.1.42 และวิเคราะห์ความสัมพันธ์ระหว่างตัวแปร โดยหาสัมประสิทธิ์สหสัมพันธ์ด้วยโปรแกรม Sigma Plot 2000

ผลการทดลองและวิจารณ์

1. อัตราการปล่อยก๊าซมีเทนและสัณฐานของต้นข้าวและรากของข้าวพันธุ์ชัยนาท 1 และพันธุ์สกลนคร

1.1 อัตราการปลดปล่อยก๊าซมีเทน

ในการวิเคราะห์การปล่อยก๊าซมีเทนจากต้นข้าว นั้น ลักษณะของต้นข้าวไม่จำเป็นที่

เหนือดินและส่วนที่อยู่ใต้ดินล้วนมีอิทธิพลต่อการปล่อยก๊าซมีเทนในดินผ่านต้นข้าวสู่บรรยากาศ (Wassman et al., 1998; Nouchi et al., 1990) ดังนั้นจึงวิเคราะห์อัตราการปล่อยก๊าซมีเทน 2 หน่วย คือ ค่อน้ำหนักแห้งของลำต้น และค่อน้ำหนักแห้งของราก ผลการทดลองพบว่าตลอดฤดูปลูกข้าวพันธุ์สกลนครปล่อยก๊าซมีเทนมากกว่าข้าวพันธุ์ชัยนาท 1 โดยเฉพาะอย่างยิ่งในระยะแตกกอที่มีอัตราการปล่อยก๊าซมีเทนสูงสุด (ตารางที่ 1) ทั้งนี้ก่อนต้นข้าวแตกกอได้ผ่านการย้ายปลูมาแล้วทำให้ aerenchyma ระหว่าง

ใบกับลำต้นต่อเนื่องกัน ส่วนระยะสุกแก่ข้าวพันธุ์สกลนครมีอัตราการปล่อยก๊าซมีเทน (0.51 มิลลิกรัมคาร์บอนต่อกรัมลำต้นต่อวัน) มากกว่าของพันธุ์ชัยนาท 1 (0.14 มิลลิกรัมคาร์บอนต่อกรัมลำต้นต่อวัน) อย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ (ตารางที่ 1 ก) ทำนองเดียวกันกับระยะเก็บเกี่ยวข้าวพันธุ์สกลนครมีอัตราการปล่อยก๊าซมีเทนมากกว่าของพันธุ์ชัยนาท 1 (0.07 และ 0.04 มิลลิกรัมคาร์บอนต่อกรัมรากต่อวัน) อย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ (ตารางที่ 1 ข)

ตารางที่ 1 อัตราการปล่อยก๊าซมีเทนที่ระยะการเจริญเติบโตต่างๆ ของข้าวพันธุ์ชัยนาท 1^{1/} และพันธุ์สกลนคร^{1/}

พันธุ์ข้าว	ระยะต้นกล้า	ระยะแตกกอ	ระยะออกดอก	ระยะสุกแก่	ระยะเก็บเกี่ยว
	0 วันหลังย้ายปลูก	34 วันหลังย้ายปลูก	75 วันหลังย้ายปลูก	97 วันหลังย้ายปลูก	116 วันหลังย้ายปลูก
(ก) อัตราการปล่อยก๊าซมีเทน (มิลลิกรัมคาร์บอนต่อกรัมลำต้นต่อวัน) ^{2/}					
ชัยนาท 1	-	1.43	0.07	0.14	0.005
สกลนคร	-	2.22	0.17	0.51	0.007
Mean	-	1.83	0.12	0.33	0.006
F-test	-	ns	ns	*	*
C.V. (%)	-	33.6	56.8	68.8	30.4
(ข) อัตราการปล่อยก๊าซมีเทน (มิลลิกรัมคาร์บอนต่อกรัมรากต่อวัน) ^{2/}					
ชัยนาท 1	-	6.54	0.10	0.13	0.04
สกลนคร	-	3.19	0.40	0.43	0.07
Mean	-	4.87	0.25	0.28	0.06
F-test	-	*	ns	ns	**
C.V. (%)	-	41.8	66.4	63.8	40.7

^{1/} ย้ายปลูกเมื่อต้นกล้าอายุ 20 วัน โดยปลูก 5 ต้นต่อกระทง ^{2/} n = 4 กระทง * = มีความแตกต่างกันทางสถิติ $P \leq 0.05$ ** = มีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ $P \leq 0.01$, ns = ไม่มีความแตกต่างกันทางสถิติ

1.2 ปริมาตรช่องว่างใน culm เส้นผ่านศูนย์กลางของลำต้น น้ำหนักแห้งของต้นข้าว ความสูงลำต้น จำนวนหน่อตอก และสัดส่วนของน้ำหนักแห้งลำต้นต่อราก

โดยทั่วไปปริมาตรช่องว่างใน culm มีปริมาตรมากที่สุดที่ระยะแตกกอมีค่าเฉลี่ยเท่ากับ 11.69 (ตารางที่ 2 ก) ปริมาตรช่องว่างใน culm ที่ระยะสุกแก่ของข้าวพันธุ์ชัยนาท 1 และสกลนคร (6.05 และ 7.40 % ตามลำดับ) มีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ เส้นผ่านศูนย์กลางของลำต้นข้าวเพิ่มขึ้นตลอดฤดูปลูก และสูงที่สุดที่ระยะสุกแก่มีค่าเฉลี่ยเท่ากับ 0.74 เซนติเมตรต่อลำต้น (ตารางที่ 2 ข) ข้าวพันธุ์สกลนครมีขนาดเส้นผ่าศูนย์กลางของลำต้นตลอดระยะการเจริญพันธุ์ใหญ่กว่าของพันธุ์ชัยนาท 1 อย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ น้ำหนักแห้งของต้นข้าวเพิ่มขึ้นจนถึงระยะออกดอก

(ตารางที่ 2 ค) โดยที่น้ำหนักแห้งของข้าวทั้ง 2 พันธุ์ในระยะกล้าถึงระยะสุกแก่แตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ขณะที่ข้าวพันธุ์ชัยนาท 1 มีน้ำหนักแห้งในระยะแตกกอ 3.22 กรัมตอกมากกว่าของพันธุ์สกลนคร 2.30 กรัมตอก อย่างมีนัยสำคัญยิ่งทางสถิติ ความสูงของข้าวพันธุ์สกลนครมากกว่าของพันธุ์ชัยนาท 1 ตลอดฤดูปลูกอย่างมีนัยสำคัญยิ่งทางสถิติ (ตารางที่ 2 ง) จำนวนหน่อตอกมีค่าสูงที่สุดที่ระยะออกดอก (ตารางที่ 2 จ) โดยที่ของข้าวพันธุ์ชัยนาท 1 มี 25 หน่อตอก และมากกว่าของพันธุ์สกลนครซึ่งมี 18 หน่อตอก อย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ สัดส่วนของน้ำหนักแห้งต้นข้าวต่อรากที่ระยะแตกกอของข้าวทั้ง 2 พันธุ์แตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ (ตารางที่ 2 ฉ)

ตารางที่ 2 ลักษณะสัณฐานของต้นข้าวส่วนที่อยู่เหนือดินที่ระยะการเจริญเติบโตต่างๆ ของข้าว 2 พันธุ์^{1/}

พันธุ์ข้าว	ระยะต้นกล้า	ระยะแตกกอ	ระยะออกดอก	ระยะสุกแก่	ระยะเก็บเกี่ยว
	0 วันหลังย้ายปลูก	34 วันหลังย้ายปลูก	75 วันหลังย้ายปลูก	97 วันหลังย้ายปลูก	116 วันหลังย้าย
(ก) ปริมาตรช่องว่างใน culm (%) ^{2/}					
ชัยนาท 1	-	11.68	6.48	6.05	0.89
สกลนคร	-	11.69	8.70	7.40	0.82
Mean	-	11.69	7.59	6.95	0.86
F-test	-	ns	ns	*	ns
C.V. (%)	-	37.2	25.1	20.3	56.2
(ข) เส้นผ่านศูนย์กลางของลำต้น (เซนติเมตรต่อลำต้น) ^{2/}					
ชัยนาท 1	-	0.47	0.64	0.71	0.61
สกลนคร	-	0.48	0.67	0.77	0.71
Mean	-	0.48	0.66	0.74	0.66
F-test	-	ns	*	*	*
C.V. (%)	-	17.5	7.8	6.4	9.9
(ค) น้ำหนักแห้งของต้นข้าว (กรัมตอก) ^{2/}					
ชัยนาท 1	0.16	3.22	44.04	42.72	17.70
สกลนคร	0.30	2.30	40.42	52.05	14.00

ตารางที่ 2 ลักษณะสัณฐานของต้นข้าวส่วนที่อยู่เหนือดินที่ระยะการเจริญเติบโตต่างๆ ของข้าว 2 พันธุ์^{1/} (ต่อ)

พันธุ์ข้าว	ระยะต้นกล้า	ระยะแตกกอ	ระยะออกดอก	ระยะสุกแก่	ระยะเก็บเกี่ยว
	0 วันหลังย้ายปลูก	34 วันหลังย้ายปลูก	75 วันหลังย้ายปลูก	97 วันหลังย้ายปลูก	116 วันหลังย้าย
(ก) ปริมาตรช่องว่างใน culm (%) ^{2/}					
Mean	0.23	2.76	42.23	47.39	15.85
F-test	**	**	ns	*	ns
C.V. (%)	12.3	4.4	10.2	9.6	15.4
(ง) ความสูง (เซนติเมตรต่อกอ) ^{2/}					
ชัยนาท 1	20.7	69.2	101.3	108.9	106.5
สกลนคร	27.9	93.6	128.7	136.8	135.6
Mean	24.3	81.4	115.0	122.9	121.1
F-test	**	**	**	**	**
C.V. (%)	4.0	5.0	2.3	4.1	3.7
(จ) จำนวนหน่อ (หน่อต่อกอ) ^{2/}					
ชัยนาท 1	5	15	25	20	19
สกลนคร	5	13	18	17	16
Mean	5	14	22	19	18
F-test	-	**	**	*	*
C.V. (%)	-	9.9	5.4	9.1	7.4
(ฉ) สัดส่วนของน้ำหนักแห้งลำต้นต่อราก ^{2/}					
ชัยนาท 1	3.88	3.63	2.39	0.80	0.94
สกลนคร	2.60	3.55	1.77	0.95	0.80
Mean	3.24	3.59	2.08	0.88	0.87
F-test	ns	ns	*	ns	ns
C.V. (%)	23.3	14.5	14.5	15.5	16.2

^{1/} ย้ายปลูกเมื่อต้นกล้าอายุ 20 วัน โดยปลูก 5 ต้นต่อกอต่อกระถาง, ^{2/} n = 4 ข้ำ (กระถาง), * = มีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ $P \leq 0.05$, ** = มีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญยิ่งทางสถิติ $P \leq 0.01$, ns = ไม่มีควาแตกต่างกันทางสถิติ

1.3 ปริมาณสารคัดหลั่งจากราก และ ลักษณะพื้นฐานของราก

ในการวิเคราะห์ปริมาณสารคัดหลั่งจากรากข้าวนั้น ลักษณะของต้นข้าวไม่ว่าจะเป็นส่วนที่อยู่เหนือดินและส่วนที่อยู่ใต้ดินล้วนมีอิทธิพลต่อปริมาณการปล่อยก๊าซมีเทนจากต้นข้าวสู่บรรยากาศทั้งสิ้น (Wassman et al., 1998) ดังนั้นจึงวิเคราะห์ปริมาณสารคัดหลั่ง 2 หน่วย คือ ปริมาณสารคัดหลั่งต่อ *กรัมลำต้น* และต่อ *กรัมราก* สารคัดหลั่งของพันธุ์ชยันนาท 1 ที่ระยะต้นกล้า (79.35 มิลลิกรัมคาร์บอนต่อ *กรัมลำต้น*) มากกว่าของพันธุ์สกลนคร (44.44 มิลลิกรัมคาร์บอนต่อ *กรัมลำต้น*) อย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ (ตารางที่ 3 ก) แต่สารคัดหลั่งที่ระยะสุกแก่ของข้าวพันธุ์สกลนคร (0.72 มิลลิกรัมคาร์บอนต่อ *กรัมลำต้น*) มากกว่าของพันธุ์ชยันนาท 1 (0.44 มิลลิกรัมคาร์บอนต่อ *กรัมลำต้น*) อย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ในทำนองเดียวกันสารคัดหลั่งที่ระยะสุกแก่ของข้าวพันธุ์สกลนคร (0.57 มิลลิกรัมคาร์บอนต่อ *กรัมราก*) มากกว่าของพันธุ์ชยันนาท 1 (0.39 มิลลิกรัมคาร์บอนต่อ *กรัมราก*) อย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ (ตารางที่ 3 ข) เมื่อนำรากข้าวทั้งสองพันธุ์มาศึกษาความยาว โดยทั่วไปพบว่าความยาวรากเพิ่มขึ้นตามอายุข้าวจนถึงระยะสุกแก่และลดลงในระยะเก็บเกี่ยว นอกจากนั้นความยาวรากของข้าวทั้ง 2 พันธุ์ยังแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ (ตารางที่ 3 ค) Yoshida and Hasegawa (1982) รายงานว่าการเจริญเติบโตของรากข้าวจะสูงที่สุดที่ระยะออกดอก และการแตกแขนงของระบบรากจะเกิดขึ้นต่อเนื่องจนถึงระยะสุกแก่ (ripening) (Kawata and Soejima, 1974) ในระหว่างการทดลองมีตักดินในใบข้าวซึ่ง ณ 34 วันหลังย้ายปลูกการเจริญเติบโตของต้นข้าวยังไม่ฟื้น จึงอาจทำให้ข้อมูลพื้นฐานของส่วนที่อยู่เหนือดินและใต้ดินที่ 34 วันหลังย้ายปลูกได้รับผลกระทบบ้าง

ในขณะที่พื้นที่ที่ผิวราก (ตารางที่ 3 ง) ที่ระยะแตกกอมีค่าต่ำที่สุด คาดว่าได้รับผลกระทบจากการที่ตักดินในใบข้าว แต่โดยทั่วไปพื้นที่ผิวรากสดของข้าวพันธุ์ชยันนาท 1 ที่ระยะออกดอกและระยะเก็บเกี่ยวมากกว่าของข้าวพันธุ์สกลนครอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ปริมาตรรากที่ระยะออกดอกและระยะสุกแก่ของข้าวพันธุ์ชยันนาท 1 (10.29 และ 8.91 ลูกบาศก์เซนติเมตรต่อ *กรัมราก*) มากกว่าของพันธุ์สกลนคร (8.54 และ 6.92 ลูกบาศก์เซนติเมตรต่อ *กรัมราก*) อย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ (ตารางที่ 3 จ) Singh et al. (1999) ได้ทดลองวัดปริมาตรรากข้าว 3 พันธุ์ (Heera, Dhal Heera และ Narendra-118) และพบว่าในต้นที่ *ไม่ได้รับปุ๋ย* มีปริมาตรรากที่ระยะการเจริญเติบโตสูงที่สุดอยู่ในช่วง 8.1-11.1 ลูกบาศก์เซนติเมตรต่อ *กรัมราก* ในขณะที่ต้นที่ *ได้รับปุ๋ย* มีปริมาตรรากที่ระยะการเจริญเติบโตสูงที่สุดอยู่ในช่วง 10.3-11.0 ลูกบาศก์เซนติเมตรต่อ *กรัมราก* จะเห็นว่าค่าปริมาตรรากอยู่ในช่วงเดียวกันกับการทดลองนี้

ปริมาตรช่องว่างในรากของพันธุ์สกลนคร (ร้อยละ 20.51) มากกว่าของพันธุ์ชยันนาท 1 (ร้อยละ 14.90) โดยเฉพาะที่ระยะสุกแก่ (ตารางที่ 3 ฉ) Colmer (2003) ได้ทำการทดลองเลี้ยงต้นข้าว 12 พันธุ์ในสารละลายที่ไม่มีออกซิเจน (deoxynated) นาน 35 วัน แล้ววัดปริมาตรช่องว่างในราก พบว่าอยู่ในช่วงร้อยละ 28-40 ส่วนน้ำหนักแห้งของรากข้าวพันธุ์สกลนครมากกว่าพันธุ์ชยันนาท 1 อย่างมีนัยสำคัญทางสถิติที่ระยะต้นกล้าและระยะแตกกอ (ตารางที่ 3 ช) แต่รากพันธุ์สกลนครที่ระยะออกดอกและสุกแก่ (16.92 และ 16.64 กรัมต่อน้ำหนักแห้งของพันธุ์ชยันนาท 1 (27.34 และ 19.49 กรัมต่อน้ำหนักแห้ง) อย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ Ali et al. (2008) พบว่าที่ระยะเก็บเกี่ยวข้าวพันธุ์ Dongibeo มีน้ำหนักแห้งรากอยู่ในช่วง 45-50 กรัมต่อน้ำหนักแห้งของราก ซึ่งคล้ายกับของการศึกษาครั้งนี้ที่พบว่าน้ำหนักแห้งรากที่ระยะเก็บเกี่ยวมีค่า 55.10 - 55.56 กรัมต่อน้ำหนักแห้ง

ตารางที่ 3 ปริมาณสารคัดหลั่ง และลักษณะสัณฐานของรากข้าวพันธุ์ชัยนาท 1^{1/}และพันธุ์สกลนคร^{1/}

พันธุ์ข้าว	ระยะต้นกล้า ^{1/} 0 วันหลังย้ายปลูก	ระยะแตกกอ 34 วันหลังย้ายปลูก	ระยะออกดอก 75 วันหลังย้ายปลูก	ระยะสุกแก่ 97 วันหลังย้ายปลูก	ระยะเก็บเกี่ยว 116 วันหลังย้าย
(ก) สารคัดหลั่ง (มิลลิกรัมคาร์บอนต่อกรัมลำต้น) ^{2/}					
ชัยนาท 1	79.35	1.12	0.17	0.44	0.10
สกลนคร	44.44	1.11	0.28	0.72	0.14
Mean	61.90	1.12	0.23	0.58	0.12
F-test	**	ns	ns	*	ns
C.V. (%)	16.9	16.7	34.1	35.6	24.7
(ข) สารคัดหลั่ง (มิลลิกรัมคาร์บอนต่อกรัมราก) ^{2/}					
ชัยนาท 1	207.77	3.96	0.30	0.39	0.08
สกลนคร	169.11	4.00	0.66	0.57	0.13
Mean	188.44	3.98	0.48	0.48	0.11
F-test	ns	ns	ns	*	ns
C.V. (%)	22.9	15.7	44.9	34.6	25.6
(ค) ความยาวราก (เซนติเมตรต่อกอ) ^{2/}					
ชัยนาท 1	1,461	402	95,890	161,530	48,706
สกลนคร	1,107	2,893	92,655	119,212	47,763
Mean	1,284	1,648	94,273	140,371	48,235
F-test	**	**	**	**	ns
C.V. (%)	19.4	16.2	11.8	9.5	23.0
(ง) พื้นที่ผิวราก (ตารางเซนติเมตรต่อกรัมราก) ^{2/}					
ชัยนาท 1	638.30	81.82	976.73	896.20	1,031.68
สกลนคร	895.35	159.96	734.73	702.45	836.36
Mean	766.83	120.89	855.73	799.33	934.02
F-test	ns	**	*	ns	**
C.V. (%)	37.02	12.0	15.3	15.5	6.0
(จ) ปริมาตรราก (ลูกบาศก์เซนติเมตรต่อกรัมราก) ^{2/}					
ชัยนาท 1	3.75	0.85	10.29	8.91	10.31
สกลนคร	5.88	1.33	8.54	6.92	9.11
Mean	4.82	1.09	9.42	7.92	9.71
F-test	ns	ns	*	*	ns
C.V. (%)	37.50	46.2	14.1	13.9	8.8

ตารางที่ 3 ปริมาณสารคัดหลั่ง และลักษณะพื้นฐานของรากข้าวพันธุ์ชัยนาท^{1/} และพันธุ์สกลนคร^{1/} (ต่อ)

พันธุ์ข้าว	ระยะต้นกล้า ^{1/} 0 วันหลังย้ายปลูก	ระยะแตกกอ 34 วันหลังย้ายปลูก	ระยะออกดอก 75 วันหลังย้ายปลูก	ระยะสุกแก่ 97 วันหลังย้ายปลูก	ระยะเก็บเกี่ยว 116 วันหลังย้าย
(ก) สารคัดหลั่ง (มิลลิกรัมคาร์บอนต่อกรัมลำต้น) ^{2/}					
(ข) ปริมาตรช่องว่างในราก (%) ^{2/}					
ชัยนาท 1	-	23.58	16.20	14.90	28.79
สกลนคร	-	15.08	20.40	20.51	39.30
Mean	-	19.33	18.30	17.71	34.05
F-test	-	ns	ns	*	ns
C.V. (%)	-	55.5	36.5	55.7	40.3
(ข) น้ำหนักแห้งราก (กรัมต่อนอก) ^{2/}					
ชัยนาท 1	0.06	0.88	27.34	19.49	55.56
สกลนคร	0.08	1.75	16.92	16.64	55.10
Mean	0.07	1.32	22.13	18.07	55.33
F-test	*	**	*	*	ns
C.V. (%)	35.7	13.5	30.5	11.5	15.5

^{1/} ย้ายปลูกเมื่อต้นกล้าอายุ 20 วัน โดยปลูก 5 ต้นต่อนอกต่อกระถาง, ^{2/} n = 4 ซ้ำ (กระถาง),

* มีความแตกต่างกันทางสถิติ $P \leq 0.05$ ** = มีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญยิ่งทางสถิติ $P \leq 0.01$ ns = ไม่มีความแตกต่างกันทางสถิติ

2. ความสัมพันธ์ระหว่างอัตราการปล่อยก๊าซมีเทนกับลักษณะพื้นฐานของข้าวพันธุ์ชัยนาท 1 และพันธุ์สกลนคร

2.1 ความสัมพันธ์ระหว่างอัตราการปล่อยก๊าซมีเทนกับลักษณะพื้นฐานของต้นข้าวส่วนที่อยู่เหนือดิน

อัตราการปล่อยก๊าซมีเทนของข้าวพันธุ์ชัยนาท 1 และพันธุ์สกลนครมีความสัมพันธ์กับลักษณะพื้นฐานของส่วนที่อยู่เหนือดินในเชิงบวก ได้แก่ ปริมาตรช่องว่างใน culm เส้นผ่านศูนย์กลาง น้ำหนักแห้งของดิน และจำนวนหน่อต่อนอกอย่างมีนัยสำคัญยิ่งทางสถิติ (ตารางที่ 4 ก) กล่าวคือเมื่อต้นข้าวมีการเจริญเติบโตดี อัตราการปลดปล่อยก๊าซมีเทนจะสูงขึ้น

ด้วย อนุมาณได้ว่าต้นข้าว (ส่วนที่อยู่เหนือดิน) มีส่วนเกี่ยวข้องกับทางผ่านของก๊าซมีเทนจากดินสู่บรรยากาศ อย่างไรก็ตามเส้นผ่านศูนย์กลางลำต้นมีผลต่อการปล่อยก๊าซมีเทนน้อย ส่วนความสูงของลำต้นมีความสัมพันธ์กับอัตราการปล่อยก๊าซมีเทนในเชิงลบ ซึ่งต่างจากข้อมูลของสิรินทรเทพ เต่าประยูร และคณะ (2545) ที่พบว่าความสูงของต้นข้าวที่เพิ่มขึ้นมีความสัมพันธ์กับปริมาณการปล่อยก๊าซมีเทน ($R^2 > 0.7$) งานทดลองของ Neue et al. (1994) พบว่าข้าวพันธุ์พื้นเมืองปล่อยก๊าซมีเทนสูงกว่าข้าวพันธุ์ผสมถึงร้อยละ 30 เนื่องจากข้าวพันธุ์พื้นเมืองมีจำนวนหน่อมากกว่าและมีระบบรากที่ยาวกว่า

2.2 ความสัมพันธ์ระหว่างอัตราการปล่อยก๊าซมีเทนกับสารคัดหลั่งและลักษณะสัณฐานของรากข้าว

อัตราการปล่อยก๊าซมีเทนของข้าวพันธุ์ชัยนาท 1 และพันธุ์สกลนครแปรตามปริมาณสารคัดหลั่ง (มิลลิกรัมคาร์บอนต่อกรัมลำต้น) (0.876**และ 0.885**) และสารคัดหลั่ง (มิลลิกรัมคาร์บอนต่อกรัมราก) (0.938** และ 0.973**) (ตารางที่ 4 ข) ในทางตรงกันข้ามความยาวรากของข้าวพันธุ์ชัยนาท 1 และพันธุ์สกลนครมีความสัมพันธ์กันอย่างสูงในเชิงลบกับอัตราการปล่อยก๊าซมีเทน (-0.638**และ -0.695**) เช่นเดียวกับพื้นที่ผิวราก (-0.931** และ -0.891**) และปริมาตรราก (-0.925**และ -0.970**) แสดงว่า

รากข้าวแม้ว่าจะปล่อยสารคัดหลั่งซึ่งเป็นสารอาหารของจุลินทรีย์ที่ผลิตก๊าซมีเทน แต่ขณะเดียวกันรากข้าวยังทำหน้าที่ปลดปล่อยออกซิเจนชักนำให้เกิดกระบวนการมีเทนออกซิเดชัน (CH₄ oxidation) และส่งผลให้ลดการปล่อยก๊าซมีเทนสู่บรรยากาศ Wassmann and Aulakh (2000) กล่าวว่าความสามารถในการเกิดกระบวนการมีเทนออกซิเดชันขึ้นอยู่กับการขนส่งออกซิเจนผ่านช่องอากาศ (aerenchyma) สู่ดิน ช่องอากาศในขณะเดียวกันก็ทำหน้าที่เป็นช่องทางการปล่อยก๊าซมีเทนจากดินสู่บรรยากาศ แต่อย่างไรก็ตามในการทดลองนี้พบว่าปริมาตรช่องว่างในรากและน้ำหนักแห้งมีอิทธิพลต่ออัตราการปล่อยก๊าซมีเทนน้อยในเชิงบวก

ตารางที่ 4 สัมประสิทธิ์สหสัมพันธ์ระหว่างอัตราการปล่อยก๊าซมีเทน กับสัณฐานของต้นข้าวส่วนที่อยู่เหนือดิน สัณฐานของต้นข้าวส่วนที่อยู่ใต้ดิน และสารคัดหลั่งของข้าวพันธุ์ชัยนาท 1 และพันธุ์สกลนคร

พารามิเตอร์	พันธุ์ข้าว	
	ชัยนาท 1	สกลนคร
(ก) ลักษณะสัณฐานของต้นข้าวที่อยู่เหนือดิน		
ปริมาตรช่องว่างใน culm (n=16)	0.640**	0.812*
เส้นผ่านศูนย์กลางของลำต้น (n=16)	0.138*	0.167**
น้ำหนักแห้งของต้น (n=16)	0.837**	0.970**
จำนวนหน่อตอกอ (n=16)	0.857**	0.702**
ความสูงของต้น (n=16)	-0.695**	-0.110
(ข) สารคัดหลั่ง และลักษณะสัณฐานของรากข้าว		
สารคัดหลั่ง (มิลลิกรัมคาร์บอนต่อกรัมลำต้น) (n=16)	0.876**	0.885**
สารคัดหลั่ง (มิลลิกรัมคาร์บอนต่อกรัมราก) (n=16)	0.938**	0.973**
ความยาวราก (n=16)	-0.638**	-0.695**
พื้นที่ผิวราก (n=15, 16)	-0.931**	-0.891**
ปริมาตรราก (n=15, 16)	-0.925**	-0.970**
ปริมาตรช่องว่างในราก (n=11, 16)	0.205	0.396*
น้ำหนักแห้งราก (n=16)	0.110**	0.217*

* มีความสัมพันธ์กันทางสถิติ P≤0.05, ** มีความสัมพันธ์อย่างยิ่งทางสถิติ P≤0.01

สรุปผลการทดลอง

ข้าวพันธุ์สกกลนครมีอัตราการปล่อยก๊าซมีเทนสูงกว่าข้าวพันธุ์ชัยนาท 1 อัตราการปล่อยก๊าซมีเทนของข้าวทั้ง 2 พันธุ์แปรตามลักษณะสัณฐานของต้นข้าว ปริมาตรช่องว่างใน culm เส้นผ่านศูนย์กลางลำต้น น้ำหนักแห้งของต้น จำนวนหน่อ และปริมาณสารคัดหลั่งอย่างมีนัยสำคัญยิ่งทางสถิติ แต่ผกผันกับความสูงของลำต้น ความยาวราก พื้นที่ผิวราก และปริมาตรราก ส่วนปริมาตรรากและน้ำหนักแห้งรากกับอัตราการปล่อยก๊าซมีเทนของข้าวทั้ง 2 พันธุ์มีความสัมพันธ์ในเชิงบวกเพียงกันเล็กน้อย

กิตติกรรมประกาศ

งานวิจัยนี้ได้รับการสนับสนุนจาก โครงการส่งเสริมการวิจัยในอุดมศึกษาและการพัฒนา มหาวิทยาลัยวิจัยแห่งชาติ สำนักงานคณะกรรมการอุดมศึกษา โครงการกลุ่มวิจัยค้นหาปัญหาในภาคตะวันออกเฉียงเหนือ กองทุน 40 ปี มหาวิทยาลัยขอนแก่น และบัณฑิตวิทยาลัย มหาวิทยาลัยขอนแก่น

เอกสารอ้างอิง

นิวัติ เจริญศิลป์ ชัยณูชา บุคคาบุญ พิสิฐ พรหมนารถ ลัดดาวัลย์ กรรณนุช และประโยชน์ เจริญธรรม. (2542). โครงการวิจัยการปลดปล่อยก๊าซมีเทนจากนาข้าว. ใน: การประชุมวิชาการข้าวและธัญพืชเมืองหนาว ประจำปี 2542 3-5 มีนาคม 2542. โรงแรมคุ้มสุพรรณ จ. สุพรรณบุรี.

สิรินทรเทพ เต๋อประยูร อรพิน เกิดชูชื่น และวันทนา ตั้งเปรมศรี. (2545). โครงการ “การศึกษาปัจจัยและความสัมพันธ์ของปัจจัยที่มีผลต่อการปลดปล่อยก๊าซมีเทนจากนาข้าว” รายงานวิจัยฉบับสมบูรณ์. คณะพลังงานและวัสดุ มหาวิทยาลัยเทคโนโลยีพระจอมเกล้าธนบุรี. กรุงเทพฯ. 84 หน้า.

Ali, M. A., Lee, C. H. and Kim, P. J. (2008). Effect of silicate fertilizer on reducing methane emission during rice cultivation. *Biol Fertil Soil*. 44: 597-604.

Aulakh, M. S., Wassmann, R., Bueno C. and Rennenberg, H. (2001). Impact of root exudates of different cultivars and plant developmental stages of rice (*Oryza sativa* L.) on methane production in a paddy soil. *Plant Soil*. 230: 77-86.

Colmer, T. D. (2003). Aerenchyma and an inducible barrier to radial oxygen loss facilitate root aeration in upland, paddy and deep-water rice (*Oryza sativa* L.). *Annals of Botany*. 91: 301-309.

Crutzen, P. J. and Lelieveld, J. (2001). Human impacts on atmospheric chemistry. *Annual Review of Earth and Planetary Sciences*. 29: 17-45.

Curran, M., James, P. and W. G. Allaway. (1996). The measurement of gas spaces in the roots of aquatic plants - Archimedes revisited. *Aquatic Botany*. 54: 255-261.

IPCC. (1996). Climate change: The Science of Climate Change. Intergovernmental Panel on Climate Change (IPCC). Cambridge, United Kingdom: Cambridge University Press.

IRRI. (1996). Measurement of Methane Emissions from Rice Fields, Principles and Operation of GC Techniques, Soil and Water science Division and Training Center (SWSD). 1-13.

Kawata, S. and Soejima, M. (1974). On superficial root formation in rice plants. *Proc. Crop Sci. Soc. Jpn*. 43: 354-374.

- Kerdchoechuen, O. (2005). Methane emission in four rice varieties as related to sugars and organic acids of roots and root exudates and biomass yield. *Agriculture, Ecosystems and Environment*. 108(2): 155-163.
- Matthews, R.B., Wassmann, R., Buendia, L.V. and Knox, J.W. (2000). Using a crop/soil simulation model and GIS techniques to assess methane emissions from rice fields in Asia. II. Model validation and sensitivity analysis. *Nutrient Cycling in Agroecosystems*. 58: 161-177.
- Melting, F.B. (1992). *Soil Microbial Ecology Application in Agricultural and Environmental Management*. Marce Dekker Inc US. pp 27-44.
- Neue, H.U., Wassmann, R., Lantin, R.S., Alberto, M.C.R, Aduna, J.B. and International Rice Research Institue. (1994). Methane emission from rice fields. *International Rice Research Notes*. 19(3): 31-34.
- Nouchi, I., Mariko, S. and Aoki, K. (1990). Mechanism of methane transport from the rhizosphere through rice plants. *Plant Physiol*. 94: 59-66.
- Singh, S., Singh, J.S. and Kashyap, A.K. (1999). Methane consumption by soils of dry land rice agriculture: influence of varieties and N-fertilization. *Chemosphere*. 38(1): 175-189.
- Wassman, R., Moya, T.B. and Lantin, R.S. (1998). Rice and global change. In: Dowling, N.G., Greenfield, S.M., Fischer, K.S. (eds). *Sustainability of rice in the global food system*. Pacific Basin Study Center and International Rice Research Institute, Manila, Philippines. 205-224.
- Wassmann, R. and Aulakh, M.S. (2000). The role of rice plants in regulating mechanisms of methane emissions. *Biol. Fertil. Soils*. 31: 20-29.
- Yoshida, S. and Hasegawa, S. (1982). The rice root system: its development and function. In *Drought resistant in crop with emphasis on rice*. pp. 97-114. International Rice Research Institute, Manila, Philippines.



การปลูกอนุภาคนาโนซิงค์ออกไซด์บนผ้าฝ้าย
ที่ปรับปรุงด้วยพอลิสไตรีนซัลโฟนิคแอซิดและสมบัติ
การป้องกันรังสียูวี

Growth of ZnO nanoparticles on poly 4-styrenesulfonic
acid modified cotton fabrics and UV protection property

ยุวันดา เอี่ยมเผ่าจีน¹ และ ปุณณมา ศิริพันธ์โนน^{1,2*}

บทคัดย่อ

งานวิจัยนี้ศึกษาการปลูกอนุภาคนาโนซิงค์ออกไซด์บนผ้าฝ้ายโดยใช้พอลิสไตรีนซัลโฟนิคแอซิดพอลิอิลเล็กโตรไลต์ (PSS) โดยเริ่มจากนำผ้าฝ้ายมาปรับปรุงพื้นผิวด้วยสารละลาย 3-Chloro-2-hydroxypropyl trimethylammonium chloride (CHTAC) เพื่อให้มีประจุบวก จากนั้นนำผ้าฝ้ายที่มีประจุบวกมาแช่ในสารละลาย PSS เป็นเวลา 5 นาที แล้วแช่ในสารละลาย $\text{Zn}(\text{NO}_3)_2 \cdot 6\text{H}_2\text{O}$ เป็นเวลา 5 15 หรือ 30 นาที จากนั้นนำผ้าฝ้ายที่ผ่านการเคลือบผิวแล้วมาทำปฏิกิริยาไฮโดรเทอร์มอลในสารละลาย NH_4OH ที่อุณหภูมิ 90 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 24 ชั่วโมง ก่อให้เกิดอนุภาคนาโนซิงค์ออกไซด์ตรงอยู่บนผ้าฝ้าย ผ้าฝ้ายก่อนและหลังการปลูกอนุภาคนาโนซิงค์ออกไซด์จะนำไปตรวจพิสูจน์เอกลักษณ์ด้วยเทคนิค SEM และ XRF พบว่าเมื่อเพิ่มเวลาในการแช่สารละลาย $\text{Zn}(\text{NO}_3)_2 \cdot 6\text{H}_2\text{O}$ จะทำให้ได้ปริมาณซิงค์ออกไซด์เพิ่มขึ้น สมบัติการป้องกันรังสียูวีของผ้าฝ้ายจะถูกทดสอบตามมาตรฐาน AATCC 183-2004 พบว่าผ้าฝ้ายที่มีปริมาณซิงค์ออกไซด์ตรงอยู่บนพื้นผิวในปริมาณที่มากกว่าจะให้สมบัติในการป้องกันรังสียูวีที่สูงกว่า

Abstract

This research studied on growth of ZnO nanoparticles on poly 4-styrenesulfonic acid modified cotton fabrics. Firstly, the cotton fabrics were cationized with 3-chloro-2-hydroxypropyl trimethylammonium chloride (CHTAC). The cationized cotton fabrics were sequential soaked into the PSS solution for 5 min and

¹ สาขาวิชาเคมี คณะวิทยาศาสตร์ สถาบันเทคโนโลยีพระจอมเกล้าเจ้าคุณทหารลาดกระบัง ถ.ฉลองกรุง กทม. 10520

² วิทยาลัยนาโนเทคโนโลยีพระจอมเกล้าลาดกระบัง สถาบันเทคโนโลยีพระจอมเกล้าเจ้าคุณทหารลาดกระบัง ถ.ฉลองกรุง กทม. 10520

* Corresponding Author, E-mail : kspunnam@kmitl.ac.th

$\text{Zn}(\text{NO}_3)_2 \cdot 6\text{H}_2\text{O}$ solution for 5, 15 or 30 min. The treated cotton fabrics were hydrothermal reacted in NH_4OH solution at 90°C for 24 hours, resulting in the growth of ZnO nanoparticles on the cotton fabrics. The cotton fabrics before and after the growth of ZnO nanoparticles were characterized by SEM and XRF. The amount of ZnO increased with an increase of the soaking time in the $\text{Zn}(\text{NO}_3)_2 \cdot 6\text{H}_2\text{O}$ solution. UV protection property of cotton fabrics was tested according to the AATCC 183-2004 standard method. The higher ZnO immobilized on the cotton fabrics, the higher UV protection factor was obtained.

คำสำคัญ : อนุภาคนาโนซิงค์ออกไซด์ ผ้าฝ้าย พอลิอิเล็กโทรไลต์

Keywords : ZnO nanoparticles, Cotton fabrics, Polyelectrolytes

บทนำ

ผ้าฝ้ายเป็นผ้าทอจากเส้นใยธรรมชาติซึ่งมีเนื้อผ้าสวมใส่สบาย นุ่มเนียน ย้อมติดสีได้ง่าย และสามารถย่อยสลายได้ แต่ผ้าฝ้ายก็มีข้อด้อยหลายประการ เช่น ถิ่นตัวได้ด่างและยับง่ายมาก ไม่ทนทานต่อแสงแดด เมื่ออยู่ในที่อับชื้นจะขึ้นราได้ง่าย เป็นต้น (Marjory, 1992) จากข้อด้อยดังกล่าวจึงมีงานวิจัยจำนวนมากสนใจที่จะปรับปรุงคุณภาพผ้าฝ้ายด้วยสารเคมีประเภทต่างๆ เพื่อให้ผ้าฝ้ายมีสมบัติที่ดีขึ้น โดยสารเคมีที่ใช้ส่วนใหญ่จะเป็นสารอินทรีย์ เช่น Poly (N-vinyl-2-pyrrolidone) (Fahmy et al., 2009) ไคโตซาน และ Monochloro triazinyl- β -cyclodextrin (Abdel-Halim et al., 2010) เป็นต้น นอกจากนี้ยังมีการใช้สารอนินทรีย์ในการปรับปรุงผ้าฝ้ายด้วย เช่น อนุภาคนาโนซิลเวอร์ (Ilic et al., 2009) อนุภาคนาโนซิลิกา (Bae et al., 2009) ไทเทเนียมไดออกไซด์ (Wu et al., 2009) เป็นต้น

ในงานวิจัยนี้ได้เลือกทำการปรับปรุงพื้นผิวเส้นใยผ้าฝ้ายด้วยอนุภาคนาโนซิงค์ออกไซด์ (Zinc oxide nanoparticles) เพื่อให้ผ้าฝ้ายมีสมบัติที่ดีขึ้น เนื่องจากอนุภาคนาโนซิงค์ออกไซด์ มีสมบัติเด่นในการดูดกลืนรังสีในช่วงยูวีเกือบทั้งหมด (Wang, 2004) ซึ่งปัจจุบันรังสียูวีก่อให้เกิดปัญหาสุขภาพผิวมากมาย เช่น ทำให้เกิดความผิดปกติของสีผิว เช่น ฝ้า กระ ทำให้ผิวไหม้เกรียม ทำให้ภูมิคุ้มกันที่ผิวลดลง เกิดการแพ้แดด ทำให้ผิวมีริ้วรอยเหี่ยวย่นแก่ก่อนวัยและทำให้เกิดมะเร็ง

ผิวหนัง เราจึงต้องมีการพัฒนาผลิตภัณฑ์สิ่งทอให้มีสมบัติในการป้องกันรังสียูวี เพื่อปกป้องผิวหนังของเราจากอันตรายของรังสียูวี นอกจากนี้อนุภาคนาโนซิงค์ออกไซด์ยังมีสมบัติอื่นๆ เช่น มีความสามารถในการต้านทานเชื้อแบคทีเรียที่ก่อให้เกิดกลิ่นเหม็นและก่อให้เกิดโรคต่างๆ (Wang, 2004) ซึ่งผ้าที่มีการปลูกอนุภาคนาโนซิงค์ออกไซด์ไว้บนพื้นผิวจะสามารถนำไปประยุกต์ใช้ในการผลิตผลิตภัณฑ์ประเภทต่างๆ ได้ เช่น เสื้อผ้ากันกัฬ้า ผ้าที่ใช้ในงานทางด้านทางการแพทย์ เป็นต้น อย่างไรก็ตามการเคลือบอนุภาคนาโนซิงค์ออกไซด์ซึ่งเป็นสารอนินทรีย์ลงบนพื้นผิวผ้าฝ้ายโดยตรงอาจมีการยึดติดที่ไม่ดีนัก อาจเกิดการหลุดร่อนของอนุภาคนาโนซิงค์ออกไซด์ทำให้ประสิทธิภาพลดลงเมื่อใช้ไปเป็นระยะเวลานาน

ดังนั้นในงานวิจัยนี้จึงได้พัฒนาการปลูกอนุภาคนาโนซิงค์ออกไซด์บนพื้นผิวผ้าฝ้าย โดยใช้ Poly(4-styrenesulfonic acid) ซึ่งเป็นพอลิเมอร์จำพวกพอลิอิเล็กโทรไลต์ (Polyelectrolyte) ที่มีหน่วยย่อยประกอบด้วยหมู่ฟังก์ชันที่มีประจุหรือแตกตัวเป็นประจุได้ (Hara, 1993) มาช่วยในการตรึงอนุภาคนาโนซิงค์ออกไซด์บนผ้าฝ้าย เพื่อพัฒนาให้เกิดการยึดติดที่ดียิ่งขึ้น นอกจากนี้ได้ศึกษาผลของระยะเวลาในการปรับปรุงพื้นผิวผ้าฝ้ายด้วยสารละลาย $\text{Zn}(\text{NO}_3)_2 \cdot 6\text{H}_2\text{O}$ ต่อการก่อก้อนอนุภาคนาโนซิงค์ออกไซด์และสมบัติของผ้าฝ้ายที่ได้

วิธีการวิจัย

วัสดุและสารเคมีในการวิจัย

ผ้าฝ้ายร้อยตะ 100 ทอลายขัด (Plain weave) จากห้างหุ้นส่วนจำกัด ช่วนฮั่ว 3-chloro-2-hydroxypropyl trimethylammonium chloride, CHTAC บริษัท ALDRICH เกรดวิเคราะห์ Sodium hydroxide, NaOH บริษัท LABSCAN เกรดวิเคราะห์ Acetic acid, CH₃COOH บริษัท LABSCAN เกรดวิเคราะห์ Poly(4-styrenesulfonic acid) solution, PSS บริษัท ALDRICH M_w ~75,000 เกรดวิเคราะห์ Zinc nitrate hexahydrate, Zn(NO₃)₂·6H₂O บริษัท CARLO ERBA เกรดวิเคราะห์ Ammonium hydroxide, NH₄OH บริษัท LAB-SCAN เกรดวิเคราะห์

การทำผ้าฝ้ายให้มีประจุบวก

นำผ้าฝ้าย (4 x 4 cm²) แช่ในสารละลายผสมระหว่าง CHTAC เข้มข้น 50 กรัม/ลิตร กับ NaOH เข้มข้น 18 กรัม/ลิตร ที่อุณหภูมิห้องปั่นกวนอย่างช้าๆ เป็นระยะเวลา 24 ชั่วโมง แล้วนำผ้าฝ้ายที่ผ่านการทำปฏิกิริยาแล้วมาล้างด้วยน้ำปราศจากไอออนและสะเทินด้วยกรด CH₃COOH เจือจาง จากนั้นนำไปล้างด้วยน้ำปราศจากไอออนจนกระทั่งมีค่าพีเอชเป็นกลาง

การปลูกอนุภาคนาโนซิงค์ออกไซด์บนผ้าฝ้าย

นำผ้าฝ้ายที่ทำให้มีประจุบวกแล้วมาจุ่มเคลือบผิวในสารละลาย PSS ซึ่งเป็นพอลิอิเล็กโทรไลต์ชนิดลบ ความเข้มข้น 0.1 โมลาร์ เป็นเวลา 5 นาที จากนั้นนำไปจุ่มล้างในน้ำปราศจากไอออน แล้วนำไปจุ่มในสารละลาย Zn(NO₃)₂·6H₂O เข้มข้น 0.5 โมลาร์

เป็นเวลา 5 15 หรือ 30 นาที แล้วจุ่มล้างในน้ำปราศจากไอออนอีกครั้ง จากนั้นนำตัวอย่างผ้าฝ้ายที่ผ่านการเคลือบผิวแล้วไปแช่ในสารละลาย NH₄OH เข้มข้น 0.5 โมลาร์ แล้วนำไปทำปฏิกิริยาไฮโดรเทอร์มอลที่อุณหภูมิ 90 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 24 ชั่วโมง ผ้าฝ้ายตัวอย่างที่ทำปฏิกิริยาแล้วจะถูกนำไปล้างด้วยน้ำกลั่นในเครื่องอัลตราโซนิกเป็นเวลา 5 นาที ตากให้แห้ง จากนั้นนำไปตรวจวิเคราะห์ด้วยเทคนิคต่างๆ ต่อไป

การตรวจพิสูจน์เอกลักษณ์

นำผ้าฝ้ายก่อนและหลังการปลูกอนุภาคนาโนซิงค์ออกไซด์ มาตรวจพิสูจน์เอกลักษณ์ด้วยกล้องจุลทรรศน์อิเล็กตรอนแบบส่องกราด (Scanning electron microscope, SEM) บริษัท JEOL รุ่น JSM-5410LV และเครื่องวัดการคายรังสีเอ็กซ์ (X-ray fluorescence spectrometer, XRF) บริษัท Bruker AG รุ่น SRS 3400

การทดสอบสมบัติการป้องกันรังสียูวี

นำผ้าฝ้ายก่อนและหลังการปลูกอนุภาคนาโนซิงค์ออกไซด์ มาตรวจวิเคราะห์ค่าเปอร์เซ็นต์การทะลุผ่านของรังสียูวี (%T) ในช่วงความยาวคลื่น 280 ถึง 400 นาโนเมตร ด้วยเครื่องยูวีวิสิเบิลสเปกโตรโฟโตมิเตอร์ (UV-visible spectrophotometer) บริษัท PG Instrument รุ่น T60 ตามมาตรฐาน AATCC 183-2004 โดยทำซ้ำตัวอย่างละ 3 ครั้ง ที่ตำแหน่งต่างๆ กัน แล้วนำมาคำนวณหาค่า Ultraviolet Protection Factor (UPF) ตามสมการที่ (1)

$$UPF = \frac{\sum_{280\text{ nm}}^{400\text{ nm}} E_{\lambda} \times S_{\lambda} \times \Delta\lambda}{\sum_{280\text{ nm}}^{400\text{ nm}} E_{\lambda} \times S_{\lambda} \times T_{\lambda} \times \Delta\lambda}$$

..... สมการที่ (1)

โดย E_λ = relative erythral spectral effectiveness
 S_λ = solar spectral irradiance ($\text{Wm}^{-2} \text{nm}^{-1}$)
 T_λ = ค่าการทะลุผ่านเฉลี่ยที่ตรวจวัดได้จาก
 ชิ้นผ้าตัวอย่างที่ความยาวคลื่นหนึ่งๆ
 λ = ความยาวคลื่น (nm)

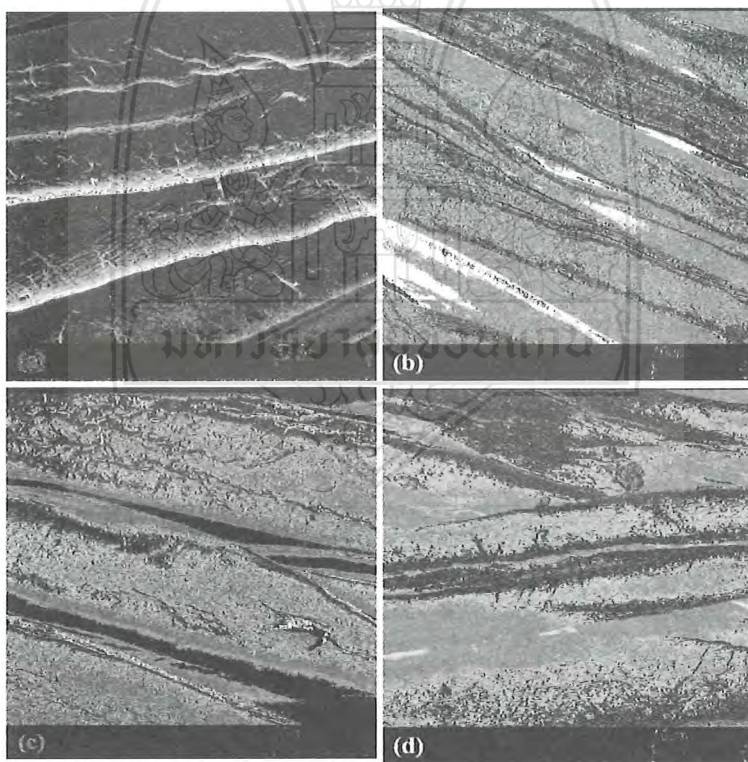
ผลการวิจัยและการอภิปรายผล

การตรวจพิสูจน์เอกลักษณ์

รูปที่ 1 แสดงลักษณะสัณฐานวิทยาที่พื้นผิวจากเทคนิค SEM ของชิ้นผ้าฝ้ายตัวอย่างที่ผ่านการปรับปรุงพื้นผิวให้มีประจุบวกและผ้าฝ้ายตัวอย่างภายหลังการปลูกอนุภาคนาโนซิงค์ออกไซด์ที่สภาวะต่างๆ (กำลังขยาย 1000 เท่า) จากรูปที่ 1(a) พบว่าพื้นผิวของผ้าฝ้ายที่ผ่านการปรับปรุงพื้นผิวให้มีประจุบวกด้วย CHTAC มีลักษณะขรุขระเป็นลอนคลื่น เมื่อนำผ้าฝ้ายที่มีพื้นผิวเป็นประจุบวกไปแช่ในสารละลาย

PSS เป็นระยะเวลา 5 นาที และสารละลาย $\text{Zn}(\text{NO}_3)_2 \cdot 6\text{H}_2\text{O}$ เป็นระยะเวลา 5 นาที แล้วนำไปทำปฏิกิริยาไฮโดรเทอร์มอล (C-Zn5) จะพบการก่อตัวของอนุภาคซิงค์ออกไซด์ขนาดเล็กระดับนาโนบนพื้นผิวของผ้าฝ้ายตัวอย่าง ดังแสดงในรูปที่ 1(b) อย่างไรก็ตามอนุภาคที่ก่อตัวขึ้นใหม่มักยังมีปริมาณน้อยและมีขนาดเล็กมาก จึงสังเกตเห็นได้ยาก

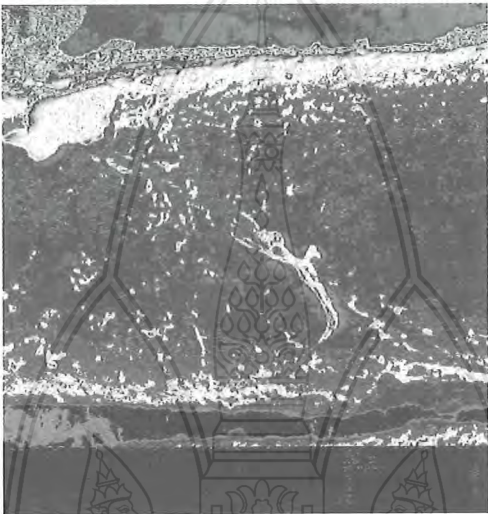
เมื่อเพิ่มระยะเวลาการแช่ผ้าฝ้ายในสารละลาย $\text{Zn}(\text{NO}_3)_2 \cdot 6\text{H}_2\text{O}$ เป็น 15 นาที (C-Zn15) และ 30 นาที (C-Zn30) แล้วนำไปทำปฏิกิริยาไฮโดรเทอร์มอล จะพบว่าอนุภาคซิงค์ออกไซด์ที่ก่อตัวขึ้นปกคลุมพื้นผิวผ้าฝ้ายในปริมาณมากขึ้นจนสามารถสังเกตเห็นชัดเจน ดังแสดงในรูปที่ 1(c) และ 1(d) ตามลำดับ ซึ่งในตัวอย่าง C-Zn30 จะเห็นอนุภาคซิงค์ออกไซด์กระจายตัวปกคลุมทั่วพื้นผิวผ้าฝ้ายตัวอย่าง



รูปที่ 1 ภาพ SEM ของผ้าฝ้ายที่ผ่านการปรับปรุงพื้นผิวด้วย CHTAC (a) และผ้าฝ้ายที่ปลูกอนุภาคนาโนซิงค์ออกไซด์ โดยผ่านการแช่ในสารละลาย $\text{Zn}(\text{NO}_3)_2 \cdot 6\text{H}_2\text{O}$ เป็นเวลา 5 นาที (b) 15 นาที (c) และ 30 นาที (d)

รูปที่ 2 แสดงภาพ SEM ของพื้นผิวตัวอย่าง C-Zn30 ที่กำลังขยาย 10,000 เท่า ซึ่งจะเห็นได้ว่าอนุภาคนาโนซิงค์ออกไซด์ที่เกิดขึ้นบางส่วนฝังตัวอยู่พื้นผิวเส้นใย และบางส่วนก่อตัวขึ้นมาจากพื้นผิวเส้นใย ลักษณะสัณฐานวิทยาดังกล่าวเป็นผลเนื่องมาจากพื้นผิวเส้นใยที่มีประจุบวกเนื่องจาก CHTAC จะถูกเคลือบด้วยชั้นฟิล์มบางของสารพอลิอิเล็กโทรไลต์ PSS ซึ่งมี

ประจุเป็นลบ ดังนั้นเมื่อนำผ้าฝ้ายไปแช่ในสารละลาย $\text{Zn}(\text{NO}_3)_2 \cdot 6\text{H}_2\text{O}$ ไอออนของ Zn^{2+} จึงเข้าไปเกาะบนชั้น PSS เมื่อนำไปทำปฏิกิริยาไฮโดรเทอร์มอล จึงเกิดการก่อตัวของอนุภาคนาโนซิงค์ออกไซด์ขึ้นจากไอออนของ Zn^{2+} เป็นผลให้สามารถเรียงอนุภาคนาโนซิงค์ออกไซด์บนพื้นผิวได้อย่างมีประสิทธิภาพ



รูปที่ 2 ภาพ SEM ที่กำลังขยาย 10,000 เท่าของผ้าฝ้ายที่ปลูกอนุภาคนาโนซิงค์ออกไซด์ โดยผ่านการแช่ในสารละลาย $\text{Zn}(\text{NO}_3)_2 \cdot 6\text{H}_2\text{O}$ เป็นเวลา 30 นาที (C-Zn30)

ตารางที่ 1 ผลการวิเคราะห์องค์ประกอบทางเคมีของผ้าฝ้ายหลังปลูกอนุภาคนาโนซิงค์ออกไซด์ด้วยเทคนิค XRF *

ตัวอย่าง	ระยะเวลา เวลาแช่ Zn^{2+} (นาที)	องค์ประกอบทาง เคมี (wt%)		อัตราส่วนโดยโมล Zn/S
		ZnO	SO_3	
C-Zn5	5	0.00	100.00	0.00
C-Zn15	15	15.83	84.17	0.19
C-Zn30	30	19.85	80.15	0.25

* XRF ที่ใช้สามารถวิเคราะห์ธาตุตัวอย่างได้ในช่วง Na – U

เมื่อนำผ้าฝ้ายตัวอย่างภายหลังการปลูกอนุภาคนาโนซิงค์ออกไซด์ที่สภาวะต่างๆ ไปวิเคราะห์หาองค์ประกอบทางเคมีด้วยเทคนิค XRF ได้ผลดังแสดงในตารางที่ 1 จากผลการวิเคราะห์พบว่า ผ้าฝ้ายตัวอย่างที่ผ่านการแช่สารละลาย $\text{Zn}(\text{NO}_3)_2 \cdot 6\text{H}_2\text{O}$ เป็นระยะเวลา 5 นาที (C-Zn5) มีองค์ประกอบเคมีหลักที่สามารถตรวจวิเคราะห์ได้คือ SO_3 ซึ่งเป็นองค์ประกอบที่มาจากสารฟอสฟอริกไตรไฮไดรต์ PSS โดยไม่พบองค์ประกอบของ ZnO ถึงแม้ว่าจะพบการก่อตัวของอนุภาคนาโนขนาดเล็กในเทคนิค SEM จากผลดังกล่าวแสดงว่าปริมาณของ ZnO ที่เกิดขึ้นในตัวอย่าง C-Zn5 มีปริมาณน้อยมาก แต่เมื่อเพิ่มระยะเวลาในการแช่สารละลาย $\text{Zn}(\text{NO}_3)_2 \cdot 6\text{H}_2\text{O}$ เป็นระยะเวลา 15 และ 30 นาที จะพบองค์ประกอบของ ZnO ที่มากขึ้น และเมื่อทำการเปรียบเทียบอัตราส่วนโดยโมลของ Zn/S ก็จะมีค่าเพิ่มขึ้น จากผลดังกล่าวแสดงว่า เมื่อเพิ่มระยะเวลาในการแช่สารละลาย $\text{Zn}(\text{NO}_3)_2 \cdot 6\text{H}_2\text{O}$ โอออน

ของ Zn^{2+} จะเข้าไปเกาะบนชั้น PSS ได้เพิ่มขึ้น เมื่อนำไปทำปฏิกิริยาไฮโดรเทอร์มอล จึงเกิดการก่อตัวของอนุภาคนาโนซิงค์ออกไซด์ได้มากขึ้น

สมบัติการป้องกันรังสียูวี

ตารางที่ 2 แสดงค่า UPF ของผ้าฝ้ายและผ้าฝ้ายที่ปลูกอนุภาคนาโนซิงค์ออกไซด์ โดยผ่านการแช่ในสารละลาย $\text{Zn}(\text{NO}_3)_2 \cdot 6\text{H}_2\text{O}$ เป็นเวลา 5 15 และ 30 นาที จากผลการวิเคราะห์พบว่าผ้าฝ้ายมีค่า UPF เท่ากับ 21 ซึ่งจัดอยู่ในเกณฑ์ดี (Gouda et al., 2010) แต่ชิ้นงานผ้าฝ้ายที่ปลูกอนุภาคนาโนซิงค์ออกไซด์จะมีค่า UPF ที่สูงกว่าผ้าฝ้าย และมีค่าอยู่ในช่วง 25 - 39 ซึ่งจัดอยู่ในเกณฑ์ดีมาก (Gouda et al., 2010) โดยเมื่อเพิ่มระยะเวลาในการแช่สารละลาย $\text{Zn}(\text{NO}_3)_2 \cdot 6\text{H}_2\text{O}$ จะได้ผ้าตัวอย่างที่มีปริมาณอนุภาคนาโนซิงค์ออกไซด์บนพื้นผิวมากขึ้น ทำให้มีความสามารถในการป้องกันรังสียูวีที่ดีขึ้น จึงได้ค่า UPF สูงขึ้น

ตารางที่ 2 ค่า UPF ของผ้าฝ้ายและผ้าฝ้ายที่ปลูกอนุภาคนาโนซิงค์ออกไซด์ โดยผ่านการแช่ในสารละลาย $\text{Zn}(\text{NO}_3)_2 \cdot 6\text{H}_2\text{O}$ เป็นเวลา 5 นาที 15 นาที และ 30 นาที

ตัวอย่าง	UPF	Protection Category *
Cotton	21	Good
C-Zn5	27	Very Good
C-Zn15	29	Very Good
C-Zn30	31	Very Good

* (Gouda et al., 2010)

สรุปผลการวิจัย

ผ้าฝ้ายที่เคลือบผิวด้วยพอลิไธรีนซัลโฟนิค แอซิดจะมีพื้นผิวเป็นประจุลบ เมื่อนำไปแช่ในสารละลาย $Zn(NO_3)_2 \cdot 6H_2O$ ก่อให้เกิดการยึดจับระหว่างไอออนของ Zn^{2+} กับประจุลบบนพื้นผิวผ้าฝ้าย ซึ่งปริมาณไอออนของ Zn^{2+} จะเพิ่มขึ้นเมื่อเพิ่มเวลาในการแช่ เมื่อนำผ้าฝ้ายดังกล่าวไปทำปฏิกิริยาไฮโดรเทอร์มอลจะเกิดเป็นอนุภาคนาโนซิงค์ออกไซด์ยึดติดอยู่บนพื้นผิวผ้าฝ้าย เป็นผลให้ผ้าฝ้ายมีสมบัติในการป้องกันรังสียูวีที่ดียิ่งขึ้น

กิตติกรรมประกาศ

ขอขอบคุณวิทยาลัยนาโนเทคโนโลยีพระจอมเกล้าลาดกระบังที่เอื้อเฟื้อเครื่องมือในการตรวจวิเคราะห์ชิ้นผ้าตัวอย่าง

เอกสารอ้างอิง

- Marjory, L. J., Peyton, H., Anne, C. and Darlene, K. (1992). Joseph's Introductory Textile Science. Fort Worth : Harcourt Brace College Publishers.
- Fahmy, H. M., Abo-Shosha, M. H. and Ibrahim, N. A. (2009). Finishing of cotton fabrics with poly (N-vinyl-2-pyrrolidone) to improve their performance and antibacterial properties. Carbohydrate Polymers. 77: 845-850.
- Abdel-Halim, E. S., Abdel-Mohdy, F. A., Al-Deyab, S. S. and El-Newehy, M. H. (2010). Chitosan and monochlorotriazinyl- β -cyclodextrin finishes improve antistatic properties of cotton/polyester blend and polyester fabrics. Carbohydrate Polymers. 82: 202-208.
- Ilic, V., Šaponjic, Z., Vodnik, V., Potkonjak, B., Jovancic, P., Nedeljkovic, J. and Radetic, M. (2009). The influence of silver content on antimicrobial activity and color of cotton fabrics functionalized with Ag nanoparticles. Carbohydrate Polymers. 78: 564-569.
- Bae, G. Y., Min, B. G. Jeong, Y. G., Lee, S. C., Jang, J. H. and Koo, G. H. (2009). Superhydrophobicity of cotton fabrics treated with silicananoparticles and water-repellent agent. Journal of Colloid and Interface Science. 337: 170-175.
- Wu, D., Long, M., Zhou, J., Cai, W., Zhu, X., Chen, C. and Wu, Y. (2009). Synthesis and characterization of self-cleaning cotton fabrics modified by TiO_2 through a facile approach. Surface & Coatings Technology. 203: 3728-3733.
- Wang, Z. L. (2004). Zinc oxide nanostructures: growth, properties and Applications. Journal of Physics : Condensed Matter. 16 : R829-R858.
- Hara, M. (1993). Polyelectrolytes : Science and Technology. New York : Marcel Dekker.
- Gouda, M. and Keshk, S. M. A. S. (2010). Evaluation of multifunctional properties of cotton fabric based on metal/chitosan film. Carbohydrate Polymers. 80: 504-512.





ผลของการเสริมไส้เดือนดินในอาหารต่อการเจริญเติบโต และอัตราการรอดของลูกกุ้งก้ามกราม

Effect of Supplementation of Earthworm into Diets on Growth and Survival Rates of the Giant Freshwater Prawn Juveniles

นพคุณ ภักดิ์ณรงค์^{1,3*} และ อาณัติ จันทร์ธิระติกุล²

บทคัดย่อ

งานวิจัยครั้งนี้มีจุดมุ่งหมายเพื่อศึกษาผลของการเลี้ยงกุ้งก้ามกรามระยะวัยรุ่นด้วยสูตรอาหารเสริมไส้เดือนดินต่ออัตราการเจริญเติบโตจำเพาะ อัตราการรอดตาย อัตราการแลกเนื้อ และปริมาณโปรตีนรวมของสูตรอาหารต่างๆ ภายใต้การควบคุมคุณภาพน้ำที่เลี้ยงด้วยสูตรอาหาร 5 สูตร คือ สูตร 1) อาหารสำเร็จรูปกุ้งก้ามกรามขนาดเล็ก สูตร 2) อาหารกุ้งก้ามกรามเล็กผสมไส้เดือนดินแห้งป่นร้อยละ 20 สูตร 3) อาหารกุ้งก้ามกรามเล็กผสมไส้เดือนดินแห้งป่นร้อยละ 30 สูตร 4) อาหารกุ้งก้ามกรามเล็กผสมไส้เดือนดินแห้งป่นร้อยละ 40 และ สูตร 5) อาหารกุ้งก้ามกรามเล็กผสมไส้เดือนดินแห้งป่น ร้อยละ 50 เป็นระยะเวลา 8 สัปดาห์ พบว่ากุ้งก้ามกรามวัยรุ่นที่เลี้ยงด้วยสูตร 3 มีอัตราการเจริญเติบโตจำเพาะเท่ากับร้อยละ 5.12 ± 0.02 อัตราการแลกเนื้อดีที่สุดเท่ากับ 1.3 ± 0.2 เมื่อเปรียบเทียบกับสูตรอาหารควบคุมอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p < 0.05$) โดยมีปริมาณร้อยละโปรตีนรวมเท่ากับ 41.2 ± 0.3 และพบว่าอัตราการรอดตายเมื่อเลี้ยงด้วยสูตรอาหารทั้ง 5 สูตร ไม่มีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ คุณภาพน้ำตลอดการทดลองมีค่ากรด-เบส เท่ากับ 8 - 9 มีอุณหภูมิเท่ากับ 18 - 26 องศาเซลเซียส ค่าออกซิเจนละลายในน้ำ เท่ากับ 5 - 9 มิลลิกรัมต่อลิตร ค่าไนโตรเจนและแอมโมเนีย อยู่ในระดับที่ไม่เป็นอันตรายต่อกุ้ง จากผลการทดลองดังกล่าวจึงสรุปได้ว่า สูตรอาหารกุ้งก้ามกรามเล็กผสมไส้เดือนดินแห้งป่นร้อยละ 30 เหมาะสมสำหรับนำมาเลี้ยงกุ้งก้ามกรามวัยรุ่นมากที่สุด การวิจัยครั้งนี้จึงพบว่าไส้เดือนดินมีโปรตีนสูงมีผลต่ออัตราการเจริญเติบโตของลูกกุ้งก้ามกราม โดยเฉพาะ อัตราการแลกเนื้อของกุ้งก้ามกรามระยะวัยรุ่น

¹ ภาควิชาชีววิทยา คณะวิทยาศาสตร์ อ.กันทรวิชัย มหาวิทยาลัยมหาสารคาม 44150

² คณะสัตวแพทยศาสตร์และสัตวศาสตร์ อ.เมือง มหาวิทยาลัยมหาสารคาม 44000

³ หน่วยปฏิบัติการวิจัยกุ้งน้ำจืดมหาวิทยาลัยมหาสารคาม มหาวิทยาลัยมหาสารคาม 44150

* Corresponding Author, E-mail: noppakun241@yahoo.com

Abstract

The present study aimed to study the effects of different feeding patterns on juveniles to investigate growth rate, specific growth rate, and conversion ratio in giant freshwater prawn (*Macrobrachium rosenbergii* de Man) after being fed with different supplements of earthworm powder. The prawns under quality controlled conditions were divided into 5 groups. Each group was fed for 8 weeks with 1) pellet diet as a control, 2) pellet diet supplemented with 20 % earthworm powder, 3) pellet diet supplemented with 30 % earthworm powder, 4) pellet diet supplemented with 40 % earthworm powder, and 5) pellet diet supplemented with 50 % earthworm powder. The results showed that the prawns fed with the pellet diet supplemented with 30 % earthworm powder had the highest growth rate, specific growth rate was $5.12 \pm 0.02\%$ and feed conversion rate was 1.3 ± 0.2 and were significantly different ($p < 0.05$) from the control. Total protein was $41.2 \pm 0.3\%$. There were no differences between the survival rates of the juvenile prawns fed with different diets. Water quality during the experiments was monitored: pH 8 - 9, Temperature 18 - 26 °C, DO 5 - 9 mg/l and nitrite and ammonia levels were not toxic to aquatic animals. From this finding it may be concluded that the giant freshwater prawn small size diet supplemented with 30% earthworm powder is the most suitable for feeding juvenile giant freshwater prawns.

คำสำคัญ: กุ้งก้ามกราม ไส้เดือนดิน อัตราการเจริญเติบโตจำเพาะ อัตราการแลกเนื้อ อัตราอดตาย เปอร์เซ็นต์โปรตีนรวม

Keywords: Giant Freshwater Prawn; *Macrobrachium rosenbergii*, Earthworm, Specific Growth Rate, Feed Conversion Rate, Survival Rate, Percentage of Total Protein

บทนำ

ในระยะเวลาที่ผ่านมา ธุรกิจการเลี้ยงสัตว์น้ำของไทยได้เจริญก้าวหน้าไปอย่างรวดเร็ว ทั้งนี้ก็เพราะว่าเกษตรกรได้มองเห็นความสำคัญของการเลี้ยงสัตว์น้ำ นอกจากจะช่วยให้เพิ่มปริมาณสัตว์น้ำได้ตามต้องการแล้ว การเลี้ยงสัตว์น้ำยังเป็นอาชีพที่นำรายได้มาให้ผู้เลี้ยงเป็นอย่างดี (กองส่งเสริมการประมง กรมประมง, 2544) กุ้งก้ามกรามเป็นกุ้งน้ำจืดที่ขนาดใหญ่ที่สุด มีชื่อสามัญคือ Giant Freshwater Prawn และชื่อวิทยาศาสตร์คือ *Macrobrachium rosenbergii* (de Man) เป็นสัตว์น้ำที่มีคุณค่าทางเศรษฐกิจ ราคาแพง เนื้อรสชาติดี และปัจจุบันกุ้งก้ามกรามนับเป็นสัตว์น้ำประเภทหนึ่งที่ประชาชนนิยมบริโภค (บรรจงเทียนสงัรศรี, 2535) นอกจากนี้ยังสามารถส่งออกได้

จำหน่ายยังต่างประเทศจนรายได้กลับเข้ามาปีละหลายพันล้านบาท (แดงด้อย มาลี, 2540) ความจำเป็นและความต้องการบริโภคที่กระจายอยู่ทั่วไปยังคงมีปริมาณสูงขึ้นการนำกุ้งก้ามกรามมาเลี้ยงในการค้าขายย่อมมีการแข่งขันกันทางการตลาดไม่ว่าจะเป็นด้านปริมาณ ด้านคุณภาพของตัวกุ้ง ด้านทุน รวมทั้งผลกำไรที่จะได้รับกลับคืน ดังนั้นจึงควรหาวิธีการที่จะทำให้ผลผลิตที่ได้คุ้มค่ากับการลงทุนที่เสียไป ซึ่งในการเจริญเติบโตของกุ้งก้ามกรามขึ้นอยู่กับปัจจัยหลายประการ ทั้งเรื่องของพันธุ์กุ้งที่ต้องนำเข้าจากต่างประเทศ เนื่องจากพ่อแม่รุ่นถัดมาเกิดการผสมพันธุ์ในรุ่นเดียวกันทำให้ขนาดของตัวกุ้งเล็กลงเรื่อยๆ การเจริญเติบโตไม่เท่ากันขนาดของกุ้งในบ่อไม่สม่ำเสมอเป็นต้น การเลี้ยงกุ้งจึงนับว่าเป็นธุรกิจที่ค่อนข้างเสี่ยงต่อการขาดทุน จึง

เป็นเรื่องยากสำหรับการพัฒนาการเลี้ยงกุ้งก้ามกรามให้ได้ผลผลิตสูง ปัจจัยหนึ่งที่สำคัญในการเลี้ยงกุ้งให้ประสบความสำเร็จก็คือ ปัจจัยทางด้านอาหาร อาหารต้องมีคุณค่าทางโภชนาการสูงเพียงพอต่อการเจริญเติบโต อาหารนั้นมักจะประกอบด้วยโปรตีนเป็นส่วนใหญ่ (Claudia et al., 2005) โปรตีนถือได้ว่าเป็นปัจจัยจำกัด (Limiting factor) ต่อการเจริญเติบโตของกุ้งก้ามกราม กุ้งก้ามกรามต้องการอาหารที่มีระดับโปรตีนสูงกว่าปลาตามปกติแล้วอาหารที่ใช้เลี้ยงกุ้งก้ามกรามโดยทั่วไปควรมีโปรตีนอยู่ระหว่างร้อยละ 30-40 โดยปริมาณความต้องการโปรตีนจะขึ้นอยู่กับความต้องการของช่วงระยะการเจริญเติบโตของกุ้งด้วยโดยที่แต่ละช่วงชีวิตนั้นมีความต้องการโปรตีนที่แตกต่างกัน (บุญชัยกิจสมุทรโรจน์, 2539) โดยเฉพาะกุ้งเล็กควรให้อาหารที่มีโปรตีนสูงกว่าร้อยละ 30 ด้วยเหตุผลดังกล่าวนี้จึงได้มีการศึกษาทดลองนำโปรตีนจากสัตว์ที่มีโปรตีนสูงมาผสมเป็นสูตรอาหาร เนื่องจากอาหารสำเร็จรูปกุ้งก้ามกรามมีราคาค่อนข้างแพง แต่ไส้เดือนดินเพาะเลี้ยงง่าย ราคาถูก ไส้เดือนดินแห้งป่นมีโปรตีนถึงกว่าร้อยละ 60 และยังเป็นโปรตีนคุณภาพดี ไส้เดือนดิน *Pheretima peguana* มีโปรตีนร้อยละ 60-70 ไขมันร้อยละ 7-10 คาร์โบไฮเดรตร้อยละ 8-20 แร่ธาตุร้อยละ 2-3 และพลังงานรวม 4000 กิโลแคลอรีต่อกิโลกรัม (ชิตินันท์ ขวัญสด, 2546) ซึ่งเหมาะสมที่จะนำมาเป็นอาหารสัตว์ เพราะไส้เดือนดินมีปริมาณกรดอะมิโนที่จำเป็น (essential amino acid) เช่น ไลซีน ลูซีน เมทไธโอนีน เฟนิลอะลานีน ทรีโอนีน และกรดอะมิโนกลุ่มซัลเฟอร์อยู่มาก (Yoshida and Hoshii, 1978; Mekada et al., 1979; Taboga, 1980) และมีวิตามิน เช่น ไนอาซิน (niacin) ไรโบฟลาวิน (riboflavin) และวิตามินบี 12 ซึ่งจำเป็นสำหรับอาหารสัตว์ รวมทั้งยังอุดมไปด้วยกรดไขมันไม่อิ่มตัวเชิงซ้อน เช่น กรดลิโนเลอิก (linoleic acid) กรดอะราชิโดนิก (arachidonic acid) (Edwards et al., 1985) ดังนั้นผู้วิจัยจึงสนใจนำไส้เดือนดินมาเป็นแหล่งอาหารเสริมในการทำการวิจัย เพื่อจะได้เป็น

แนวทางในการปรับปรุงสูตรอาหารที่จะช่วยเพิ่มอัตราการเจริญเติบโตของกุ้งก้ามกรามให้มีขนาดใหญ่และมีผลผลิตที่ดีขึ้นและช่วยลดต้นทุนการผลิต ในการวิจัยครั้งนี้ได้ศึกษาและเปรียบเทียบอัตราการเจริญเติบโต อัตราการรอดตาย อัตราการแลกเนื้อ และเพื่อหาอัตราที่เหมาะสมของอาหารเสริมไส้เดือนดิน เพื่อนำมาใช้เลี้ยงกุ้งก้ามกราม และตรวจสอบผลการให้อาหารเสริมไส้เดือนดินต่อคุณภาพน้ำทางกายภาพและเคมีบางประการและตรวจสอบปริมาณโปรตีนรวมของสูตรอาหารแต่ละสูตร

วิธีการดำเนินงาน

การเตรียมกุ้งก้ามกราม

ลูกกุ้งก้ามกรามจำนวน 600 ตัว อายุประมาณ 1 เดือนหลังจากการคว่ำ น้ำหนักเริ่มต้น 0.5-0.6 มิลลิกรัม จากศูนย์วิจัยและพัฒนาประมงน้ำจืดจังหวัดมหาสารคาม โดยพักลูกกุ้งไว้ในบ่อเป็นเวลา 2 วัน เพื่อเป็นการปรับสภาพกุ้งก่อนทำการทดลอง ให้อาหารเม็ดสำเร็จรูปกุ้งก้ามกรามเล็กและให้อากาศตลอดเวลา ทำการเปลี่ยนน้ำทุกๆ สัปดาห์

การเตรียมบ่อ

เตรียมบ่อซีเมนต์ที่มีขนาด 0.95 x 0.95 x 0.50 เมตร จำนวน 15 บ่อ ทำการฆ่าเชื้อโรค และตากบ่อไว้ 1 สัปดาห์ ใส่แฉะบรรจุไข่ไก่ พลาสติก จำนวน 4 ถาด วางในลักษณะเฉียงทำมุม 45 องศา แล้วนำก้อนหินทับไว้ไม่ให้ลาดไชลอยน้ำ เพื่อเป็นที่สำหรับซ่อนตัวของกุ้งแทนการใช้ตาข่าย

การวางแผนการทดลอง

วางแผนการทดลองแบบสุ่มสมบรูณ์ (completely randomize design, CRD) แบ่งกุ้งก้ามกรามออกเป็น 5 กลุ่มๆ ละ 3 ซ้ำๆ ละ 40 ทำการสุ่มลูกกุ้งก้ามกรามให้มีความยาวเฉลี่ย 0.5-0.7 เซนติเมตร น้ำหนักเฉลี่ยต่อตัว 0.5 - 0.6 มิลลิกรัม แล้วแยกไปเลี้ยงในบ่อซีเมนต์จำนวน 15 บ่อ บ่อละ 40 ตัว ให้อากาศตลอดเวลา ระยะเวลาทดลองทั้งสิ้น 8 สัปดาห์

การเตรียมสูตรอาหารและการให้อาหาร

ให้อาหารเม็ดสำเร็จรูปกึ่งก้ามกรามชนิดเม็ดจมน้ำที่มีระดับโปรตีน 35 เปอร์เซ็นต์ มาปั้นด้วยเครื่องปั้นอาหารจนละเอียดเป็นผง การเตรียมไส้เดือนดิน *Pheretima posthuma* โดยซื้อจากคุณฉวี อนุรักษ์กุลตลาดเขาวราช กรุงเทพมหานคร แล้วนำไส้เดือนดินมาทำการผ่าลำตัว ตากแดดจนแห้งสนิท นำมาตัดให้เป็นชิ้นเล็กๆ และนำมาปั้นให้ละเอียด หลังจากนั้นนำส่วนผสมทั้งสองมาเตรียมเป็นสูตรอาหารที่แตกต่างกัน 5 สูตรอาหาร ดังนี้คือ สูตร 1 อาหารเม็ดสำเร็จรูปสำหรับกึ่งก้ามกราม (ชุดควบคุม) สูตร 2 อาหารเม็ดสำเร็จรูปกึ่งก้ามกรามบดละเอียดร้อยละ 80 ผสมกับไส้เดือนดินป่นร้อยละ 20 สูตร 3 อาหารเม็ดสำเร็จรูปกึ่งก้ามกรามบดละเอียดร้อยละ 70 ผสมกับไส้เดือนดินป่นร้อยละ 30 สูตร 4 อาหารเม็ดสำเร็จรูปกึ่งก้ามกรามบดละเอียดร้อยละ 60 ผสมกับไส้เดือนดินป่นร้อยละ 40 และ สูตร 5 อาหารเม็ดสำเร็จรูปกึ่งก้ามกรามบดละเอียดร้อยละ 50 ผสมกับไส้เดือนดินป่นร้อยละ 50

หลังจากผสมอาหารเม็ดสำเร็จรูปกึ่งก้ามกรามบดละเอียดกับไส้เดือนดินแห้งป่นแล้วจึงนำส่วนผสม

ที่ได้คลุกเคล้าให้เป็นเนื้อเดียวกัน แล้วจึงนำไปอัดเม็ดแล้วฝังลงจนเม็ดอาหารแห้งสนิท เก็บไว้ในที่ไม่มี ความชื้นและไม่ให้โดนแสงแดด นำสูตรอาหารทั้ง 5 สูตรและไส้เดือนดินแห้งไปวิเคราะห์หาปริมาณโปรตีนรวมโดยวิธี Macro-Kjeldahl Method

การให้อาหาร ให้อาหาร 2 จุด บนถาดอาหารที่ทำด้วยผ้าฝ้ายขนาด 15 x15 เซนติเมตร และทำการเก็บอาหารที่เหลือในถาดทุกวัน ให้อาหารวันละ 4 ครั้ง คือเวลา 06.30 10.30 15.30 และ 20.30 นาฬิกา อาหารที่ให้ในแต่ละวันจะให้อัตราร้อยละ 10 ของน้ำหนักตัวกุ้ง

การบันทึกข้อมูลและวิเคราะห์คุณภาพน้ำ

สุ่มกุ้งในแต่ละบ่อๆ ละ 10 ตัว ขึ้นมาชั่งน้ำหนักและวัดความยาวทุกๆ สัปดาห์ เพื่อหาค่าอัตราการเจริญจำเพาะ (specific growth rate, SGR) และทำการปรับเปอร์เซ็นต์อาหาร เปลี่ยนน้ำทุกสัปดาห์ และนับจำนวนกุ้งที่เหลือทุกสัปดาห์จนสิ้นสุดการทดลอง ทำการคำนวณเปอร์เซ็นต์อัตราการเจริญเติบโตจำเพาะ อัตราการรอดตาย และอัตราการเปลี่ยนอาหารเป็นเนื้อ ดังนี้

1. เปอร์เซ็นต์อัตราการเจริญเติบโตจำเพาะ หรือ Specific Growth Rate (%/day) ใช้สูตรของ Goolish and Adelman

$$\text{Specific Growth Rate (\%/day)} = 100 \times \frac{(\ln \text{ น้ำหนักสุดท้าย} - \ln \text{ น้ำหนักเริ่มต้น})}{\text{จำนวนเวลา (วัน) ที่ทำการทดลอง}}$$

2. อัตราการรอดตาย (เปอร์เซ็นต์) ใช้สูตร

$$\text{อัตราการรอดตาย} = \frac{\text{จำนวนกุ้งที่เหลือรอด}}{\text{จำนวนที่เริ่มทดลอง}} \times 100$$

3. อัตราการเปลี่ยนอาหารเป็นเนื้อ ใช้สูตร

$$\text{อัตราการแลกเนื้อ} = \frac{\text{น้ำหนักอาหารทั้งหมดที่ให้} - \text{น้ำหนักอาหารที่เหลือ}}{\text{น้ำหนักรวมที่เพิ่มขึ้นของกุ้ง}}$$

ตรวจวัดคุณภาพน้ำด้วยเครื่องตรวจวัดคุณภาพน้ำ บริษัท Hanna Instruments: Model HI 98311 ได้แก่ ค่าออกซิเจนที่ละลายในน้ำ อุณหภูมิ ค่าความเป็นกรดเบส วัดปริมาณไนโตรเจน และแอมโมเนีย ด้วยชุดวิเคราะห์คุณภาพน้ำโดย บริษัท ปอมป้า เทรดดิ้ง จำกัด ประเทศไทย ในช่วงเวลาก่อนเปลี่ยนถ่ายน้ำเวลา 16.00 น.

การวิเคราะห์ข้อมูล

นำข้อมูลที่ได้จากการบันทึกทั้งหมดไปคำนวณค่าทางสถิติพื้นฐาน ได้แก่ ค่าเฉลี่ย (mean) ค่าความคลาดเคลื่อน ค่าเบี่ยงเบนมาตรฐาน และเปรียบเทียบค่าในแต่ละกลุ่มด้วยการวิเคราะห์แบบ ANOVA ในโปรแกรม SPSS for Windows Version 13 และเปรียบเทียบความแตกต่างของค่าเฉลี่ยของ

ค่าสังเกตจากแต่ละสูตรอาหารโดยใช้ Duncann New Multiple Range Test การนำเสนอข้อมูลในรูปของตาราง โดยแสดงค่าเฉลี่ยและค่าคลาดเคลื่อน ($\text{mean} \pm \text{S.E.M}$) และค่าความแตกต่างที่มีนัยสำคัญทางสถิติที่ $P < 0.05$ หรือที่ระดับความเชื่อมั่นร้อยละ 95

ผลการวิเคราะห์

คุณภาพน้ำ

คุณภาพน้ำที่ใช้เลี้ยงกุ้งในการทดลองตลอดระยะเป็นการทดลองเวลา 8 สัปดาห์ พบว่า มีค่ากรดเบส (pH) อยู่ที่ 8 - 9 อุณหภูมิอยู่ที่ 18 - 26 องศาเซลเซียส ค่าออกซิเจนละลายในน้ำ (DO) อยู่ที่ 5 - 9 มิลลิกรัม/ลิตร ค่าไนโตรเจนเท่ากับ 0-1.0 มิลลิกรัม/ลิตร และค่าแอมโมเนียไม่สามารถตรวจวัดได้ (ตารางที่ 1)

ตารางที่ 1 คุณภาพน้ำที่ใช้เลี้ยงกุ้งก้ามกราม (บรรจง เทียนสงรัสมิ, 2535) และน้ำที่ใช้ในการทดลอง

ค่าที่วัด	คุณสมบัติของน้ำที่ใช้เลี้ยงกุ้ง	คุณภาพน้ำในบ่อเลี้ยง (ทุก ๆ 15 วัน)				
		เริ่มต้น	วันที่ 15	วันที่ 30	วันที่ 45	วันที่ 60
pH	7.5-8.9	8.0	8.0-9.0	8.0-8.5	8.0-8.5	8.0-8.5
อุณหภูมิ (°C)	23-28	25-26	25-26	24-26	23-24	18-20
DO (mg/l)	> 3	5-8	6-8	6-7.5	6-9	6-7
ไนโตรเจน (mg/l)	<6-12	0	0	1.0	1.0	1.0
แอมโมเนีย (mg/l)	< 0.1	Nil	Nil	Nil	Nil	Nil

อัตราการเจริญเติบโตจำเพาะ (ร้อยละ/วัน)

พบว่าลูกกุ้งก้ามกรามระยะวัยรุ่นที่เลี้ยงด้วยสูตร 3 มีอัตราการเจริญเติบโตจำเพาะเฉลี่ยสูงที่สุดคือ 5.12 ± 0.02 รองลงมาคือ ลูกกุ้งก้ามกรามระยะวัยรุ่นที่เลี้ยงด้วยสูตร 4 5 2 และสูตร 1 (ชุดควบคุม) โดยมีอัตราการเจริญเติบโตจำเพาะเฉลี่ยคือ 4.95 ± 0.08 ,

4.93 ± 0.11 , 4.84 ± 0.02 , และ 4.73 ± 0.06 ตามลำดับ เมื่อเปรียบเทียบอัตราการเจริญเติบโตจำเพาะของลูกกุ้งก้ามกรามระยะวัยรุ่นที่เลี้ยงด้วยสูตร 3 กับสูตรอาหารชุดควบคุม (สูตร 1) และสูตร 2 มีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p < 0.05$) แต่จะไม่มีมีความแตกต่างสูตร 4 และ 5 อย่างมีนัยสำคัญ (ตารางที่ 2)

ตารางที่ 2 อัตราการเจริญเติบโตจำเพาะ (ร้อยละ/วัน) อัตราการแลกเนื้อ ปริมาณเปอร์เซ็นต์โปรตีนรวมของสูตรอาหารต่างกัน 5 สูตร วิเคราะห์โดยวิธี Macro-Kjeldahl method (ค่าเฉลี่ย $\pm$ SE)

สูตรอาหาร	น้ำหนักเริ่มต้น (มิลลิกรัม)	น้ำหนักสิ้นสุดการ ทดลอง (มิลลิกรัม)	อัตราการ เจริญเติบโตจำเพาะ (ร้อยละ / วัน)	อัตราการแลก เนื้อ	โปรตีนรวมใน อาหารทดลอง (ร้อยละ)
สูตร 1	0.5	238.8 $\pm$ 0.03 ^a	4.7 $\pm$ 0.07 ^a	2.17 $\pm$ 0.12 ^b	35.8 $\pm$ 0.2 ^a
สูตร 2	0.5	290.6 $\pm$ 0.02 ^a	4.9 $\pm$ 0.02 ^a	1.68 $\pm$ 0.17 ^{ab}	39.1 $\pm$ 0.5 ^b
สูตร 3	0.5	412.1 $\pm$ 0.02 ^b	5.1 $\pm$ 0.02 ^b	1.29 $\pm$ 0.19 ^a	41.2 $\pm$ 0.3 ^{bc}
สูตร 4	0.5	330.7 $\pm$ 0.03 ^{ab}	4.9 $\pm$ 0.08 ^{ab}	2.14 $\pm$ 0.20 ^b	42.1 $\pm$ 0.6 ^c
สูตร 5	0.5	330.4 $\pm$ 0.04 ^{ab}	4.9 $\pm$ 0.11 ^{ab}	2.12 $\pm$ 0.09 ^b	43.4 $\pm$ 0.5 ^c
ไส้เดือนดินแห้งป่น	-	-	-	-	50.6 $\pm$ 1.4 ^d

ค่าเฉลี่ยที่กำกับด้วยตัวอักษรที่แตกต่างกัน (a, b, c, ...) ในแนวนั่ง แสดงว่ามีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติที่ระดับความเชื่อมั่นร้อยละ 95 ($p < 0.05$)

อัตราการแลกเนื้อ

เมื่อเสร็จสิ้นการทดลอง 8 สัปดาห์ ลูกกุ้งก้ามกรามระยะวัยรุ่นที่เลี้ยงด้วยสูตร 3 มีอัตราการแลกเนื้อเฉลี่ยคือ 1.29 $\pm$ 0.19 รองลงมาคือลูกกุ้งก้ามกรามระยะวัยรุ่นที่เลี้ยงด้วยสูตร 2 5 4 และสูตรควบคุม ตามลำดับ โดยมีอัตราการแลกเนื้อเท่ากับ 1.67 $\pm$ 0.17, 2.12 $\pm$ 0.09, 2.10 $\pm$ 0.19, 2.17 $\pm$ 0.12 ตามลำดับ เมื่อเปรียบเทียบอัตราการแลกเนื้อของลูกกุ้งก้ามกรามระยะวัยรุ่นที่เลี้ยงด้วยสูตร 3 กับชุดควบคุม พบว่ามีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p < 0.05$) แต่จะไม่มีแตกต่างกับสูตร 2 อย่างมีนัยสำคัญ (ตารางที่ 2)

ร้อยละโปรตีนรวม

โปรตีนรวมในไส้เดือนดินแห้งมีปริมาณร้อยละโปรตีนรวมเท่ากับ 50.57 $\pm$ 1.38 เมื่อนำสูตรอาหารทั้ง 5 สูตร คือ สูตรอาหารควบคุม สูตร 2 สูตร 3 สูตร 4 และสูตร 5 พบว่าเมื่อนำมาวิเคราะห์หาปริมาณ

โปรตีนเฉลี่ยในสูตร 5 มีปริมาณร้อยละโปรตีนรวมสูงสุดเท่ากับ 43.4 $\pm$ 0.5 รองลงมาคือ สูตร 4 มีปริมาณร้อยละโปรตีนรวมเฉลี่ยเท่ากับ 42.1 $\pm$ 0.6 ส่วนปริมาณร้อยละโปรตีนรวมเฉลี่ยในสูตรอาหารควบคุมมีปริมาณโปรตีนเฉลี่ยต่ำสุดเท่ากับ 35.8 $\pm$ 0.2 และมีปริมาณร้อยละโปรตีนรวมเฉลี่ยแตกต่างจากสูตร 2 3 4 และ 5 อย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ (ตารางที่ 2)

อัตราการรอดตาย

เมื่อสิ้นสุดการทดลองพบว่าลูกกุ้งก้ามกรามระยะวัยรุ่นที่เลี้ยงด้วยสูตร 2 มีอัตราการรอดตายสูงสุดคือร้อยละ 63.3 $\pm$ 9.4 รองลงมาคือ สูตร 3 เท่ากับร้อยละ 43.3 $\pm$ 15.9 ส่วนลูกกุ้งก้ามกรามระยะวัยรุ่นที่เลี้ยงด้วยสูตร 4 มีอัตราการรอดตายต่ำที่สุดคือร้อยละ 34.2 $\pm$ 7.1 เมื่อเปรียบเทียบอัตราการรอดตายของลูกกุ้งก้ามกรามระยะวัยรุ่นที่เลี้ยงด้วยสูตร 2 3 4 5 และสูตรอาหารชุดควบคุม พบว่าไม่มีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ (ตารางที่ 3)

ตารางที่ 3 อัตราการรอดตายของลูกกุ้งก้ามกรามที่เลี้ยงด้วยสูตรอาหารต่างกัน 5 สูตร เป็นระยะเวลา 8 สัปดาห์

สูตรอาหาร	อัตราการรอดตาย (ร้อยละ)
สูตร 1	37.5±2.5
สูตร 2	63.3±9.4
สูตร 3	43.3±15.9
สูตร 4	34.2±7.1
สูตร 5	38.2±3.2

บทสรุปและวิจารณ์

เมื่อสิ้นสุดการทดลองได้เปรียบเทียบอัตราการเจริญเติบโตเฉพาะของลูกกุ้งก้ามกรามระยะวัยรุ่นที่เลี้ยงด้วยอาหารทั้ง 5 สูตร จากผลการทดลองแสดงว่าสูตร 3 มีผลทำให้อัตราการเจริญเติบโตเฉพาะสูงที่สุดคือ 5.12 ± 0.02 เมื่อเทียบกับชุดควบคุม โดยที่อัตราการเจริญเติบโตเฉพาะจะแปรผันกับน้ำหนักที่เพิ่มขึ้น คือถ้ามีน้ำหนักที่เพิ่มขึ้น อัตราการเจริญเติบโตเฉพาะจะมากด้วย ซึ่งคล้ายกับรายงานการเลี้ยงกุ้งน้ำจืดพวก Crayfish (*Procambarus Ilamasi*) ระยะวัยรุ่น โดยให้อาหารที่มีปริมาณโปรตีน(ร้อยละ 10 20 และ 30) และไขมัน (ร้อยละ 6 และ 12) ที่ต่างกัน ผลการทดลองพบว่าสูตรอาหารที่เหมาะสมต่อการเจริญเติบโตของ Crayfish คือมีอัตราการเจริญเติบโตเฉพาะสูงที่สุด คือสูตรอาหารมีปริมาณโปรตีนร้อยละ 20 ไขมัน ร้อยละ 12 จะมีอัตราการเจริญเติบโตเฉพาะสูงที่สุด (Claudia et al., 2005) มีรายงานว่าไส้เดือนดินจะถูกนำมาใช้เป็นอาหารสัตว์น้ำ เช่น เป็นเหยื่อตกปลา และถูกนำมาเลี้ยงลูกปลาแซลมอล ผลการทดลองพบว่าลูกปลาแซลมอลที่กินไส้เดือนดินจะมีการเจริญเติบโตดีกว่าปลาแซลมอลที่กินตัวไหม ตัววัว และกุ้ง (Akiyama et al., 1984) และปลาเทราท์ที่กินไส้เดือนดินชนิด *Allolobophra longa* และ *Lumbricus terrestris* มีการเจริญเติบโตดีกว่าปลาเทราท์ที่กินอาหารสำเร็จรูป (Tacon et al., 1983) แสดงให้เห็นว่าไส้เดือนดินมีผลต่อการเจริญเติบโตต่อสัตว์น้ำและจาก

การทดลองนี้เมื่อทดสอบกับลูกกุ้งก้ามกรามก็ให้ผลไปในทิศทางเดียวกัน

อัตราการแลกเนื้อของลูกกุ้งก้ามกรามระยะวัยรุ่นที่เลี้ยงด้วยอาหารทั้ง 5 สูตร พบว่าสูตร 3 มีอัตราการแลกเนื้อดีที่สุดคือ 1.29 ± 0.19 คือ มีค่าคำนวณต่ำที่สุด เมื่อเปรียบเทียบกับอัตราการเจริญเติบโตของสูตร 3 สูตร 4 และสูตร 5 ไม่แตกต่างกัน และอัตราแลกเนื้อสูตร 3 ไม่แตกต่างจากสูตร 2 ผลการทดลองพบว่าระดับโปรตีนในอาหารเพิ่มขึ้นแต่การเจริญเติบโตจึงลดลง อาจเนื่องจากโปรตีนเกินความต้องการของกุ้งหรือโปรตีนจากไส้เดือนมีคุณภาพต่ำหรือมีกรดอะมิโนไม่สมดุล (ยงยุทธ ธิญญพรพานิชย์, 2521) ซึ่งอาหารที่กุ้งกินเข้าไปจะเปลี่ยนมาเป็นเนื้อและพลังงานซึ่งใช้ในกระบวนการเมตาบอลิซึม และในกิจกรรมต่างๆของลูกกุ้งก้ามกรามระยะวัยรุ่นในการเจริญเติบโต การลอกคราบ การผสมพันธุ์ ซึ่งมีผลใกล้เคียงกับการทดลองของ นกคณ จินดาพันธ์ และคณะ (2547) ทดลองเลี้ยงลูกกุ้งก้ามกรามที่คว่ำแล้ว อายุ 25 วัน มานุบาลในบ่อซีเมนต์ขนาด 50 ตารางเมตร ให้ไข่กุ้งและไรแดงโดยใช้เครื่องเติมอากาศแบบกังหันใบพัดเป็นเวลา 24 สัปดาห์ โดยเปรียบเทียบการเลี้ยงแบบเดิมอากาศและไม่เติมอากาศใช้เครื่องเติมอากาศแบบกังหันใบพัด เลี้ยงแบบเดิมอากาศมีอัตราการแลกเนื้อเท่ากับ 2.23 ± 0.48 อัตราการรอดตายของกุ้งก้ามกรามวัยรุ่นเมื่อเลี้ยงด้วยสูตรอาหารทั้ง 5 สูตรพบว่าไม่มีความแตกต่างกันทางสถิติ ($p < 0.05$) จากการทดลอง

ครั้งนี้พบว่าเนื่องจากภายในบ่อเลี้ยงนำปลาใส่ไข่ไปมาใส่ไว้เพื่อให้เป็นที่หลบซ่อนตัวของกุ้งก้ามกรามวัยรุ่น ขณะที่ลอกคราบทุกบ่อ นอกจากนี้ยังทำการเปลี่ยนถ่ายน้ำทุกๆ สัปดาห์ และเก็บอาหารที่เหลือจากการกินกลับคืนทุกวัน ทำให้น้ำมีโอกาสน่าเสียน้อยจึงไม่มีความเป็นพิษของน้ำต่อกุ้งก้ามกรามวัยรุ่น จากผลการทดลองจึงสรุปได้ว่าอัตราการรอดตายในการเลี้ยงกุ้งก้ามกรามวัยรุ่นหากใช้สูตรอาหารที่มีไส้เดือนดินเป็นส่วนผสมจะให้ผลที่ไม่แตกต่างกับการใช้อาหารเม็ดสำเร็จรูปกุ้งก้ามกรามเลี้ยง และแสดงให้เห็นว่าอาหารผสมไส้เดือนดินไม่ทำให้เกิดพิษต่อลูกกุ้งก้ามกรามระยะวัยรุ่น แต่อย่างไรก็ตามจากผลการทดลองในการหาอัตราการรอดตายในกุ้งก้ามกรามวัยรุ่นส่วนใหญ่จะมีอัตราการรอดตายไม่ถึงร้อยละ 50 อาจมาจากหลายสาเหตุ เช่น ประสบปัญหาการกินกันเองซึ่งเป็นพฤติกรรมตามธรรมชาติของกุ้งก้ามกราม ทำให้มีอัตราการตายต่ำ อีกสาเหตุหนึ่งก็อาจขนาดบ่อทดลองมีขนาดเล็ก การปล่อยกุ้งก้ามกรามวัยรุ่นในอัตราที่หนาแน่น 40 ตัว/บ่อ ซึ่งเป็นอัตราการปล่อยที่มีความหนาแน่นไม่เหมาะสมกับพื้นที่ (สมบูรณ์ อนันตลาโภชัย, 2523) Smith and Sanditer (1975) กล่าวว่า การอนุบาลลูกกุ้งก้ามกรามด้วยความหนาแน่นมาก กุ้งก้ามกรามมักมีพฤติกรรมดุร้ายและกินกันเอง โดยเฉพาะระหว่างการลอกคราบและหลังการลอกคราบจึงควรมีวัสดุใส่ในบ่อให้กุ้งได้หลบซ่อนตัว เพื่อควบคุมหรือลดพฤติกรรมดุร้ายและกินกันเองซึ่งสอดคล้องกับการทดลองนี้ และจากการทดลองของ พงศ์เทพ และมารุต (2547) ทดลองอนุบาลลูกกุ้งก้ามกรามอายุ 30-60 วัน ด้วยอัตราความหนาแน่น 10, 20 และ 30 ตัว/ลิตร ในบ่อซีเมนต์กลมขนาดเส้นผ่าศูนย์กลาง 2 เมตร โดยให้อาหารสำเร็จรูป พบว่าอัตราการเจริญเติบโตไม่แตกต่างกัน และมีอัตราการรอดตายร้อยละ 35.50 23.95 และร้อยละ 19.48 ตามลำดับ ซึ่งแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p < 0.05$) สังเกตได้ว่าถ้าปล่อยลูกกุ้งในอัตราที่

หนาแน่นมากมีผลทำให้อัตราการรอดตายลดลง แต่จากผลการทดลองครั้งนี้อัตราการปล่อยลูกกุ้งต่อบ่อใช้อัตราที่เท่ากันคือ 40 ตัวต่อบ่อ อัตราการรอดตายไม่มีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ แสดงว่าอาหารที่ผสมไส้เดือนดินไม่มีผลต่ออัตราการรอดตายคุณสมบัติของน้ำบางประการจากการทดลองเลี้ยงในครั้งนี้อยู่ในเกณฑ์ที่ปกติ มีค่าความเป็นกรด-เบส อยู่ระหว่าง 8-9 ค่าปริมาณออกซิเจนที่ละลายในน้ำอยู่ระหว่าง 5-9 มิลลิกรัม/ลิตร ค่าแอมโมเนียอยู่ที่ 0 มิลลิกรัม/ลิตร ค่าไนโตรที่อยู่ที่ 0-1.0 มิลลิกรัม/ลิตร ซึ่งค่าที่เหมาะสมอยู่ที่ความเข้มข้นน้อยกว่า 6 มิลลิกรัม/ลิตร แสดงว่าค่าไนโตรที่อยู่ที่ปริมาณยอมรับได้ ส่วนอุณหภูมิของน้ำอยู่ระหว่าง 18-26 องศาเซลเซียส ซึ่งมีต่ำกว่าค่ามาตรฐาน (บรรจง เทียนสงรัสมิ, 2535) เพราะอยู่ในช่วงฤดูหนาว แต่ค่าคุณสมบัติของน้ำอื่นๆ อยู่ในเกณฑ์คุณภาพน้ำมาตรฐาน และตรวจไม่พบแอมโมเนียด้วยชุดตรวจคุณภาพน้ำสำเร็จรูป แสดงว่าคุณภาพน้ำเหมาะกับการเพาะเลี้ยงกุ้งก้ามกราม คุณภาพน้ำที่ตรวจวัดได้ค่อนข้างดีซึ่งวิเคราะห์โดยใช้ชุดตรวจวัดสำเร็จรูปจะให้ค่าประมาณความแม่นยำอาจจะต่ำ ดังนั้นจึงทำให้คุณภาพน้ำค่อนข้างดี

ข้อเสนอแนะ

จากที่เคยมีการนำตาข่ายมาเป็นที่หลบซ่อนให้ลูกกุ้งก้ามกราม ในการทดลองในครั้งนี้ได้ดัดแปลงอุปกรณ์ที่ใช้เป็นหลบซ่อนให้กุ้งโดยนำแผงไข่พลาสติกใส่ในบ่อเลี้ยงลงไปด้วย และพบว่าสามารถใช้แทนตาข่ายได้

กิตติกรรมประกาศ

ขอขอบคุณ สุธิวัลย์ สุธรรมแจ่ม และคุณไพฑูรย์ ภูคาม ผู้ช่วยวิจัย งานวิจัยนี้ได้รับทุนสนับสนุนงานวิจัยงบประมาณเงินรายได้ประจำปี 2549 คณะวิทยาศาสตร์ มหาวิทยาลัยมหาสารคาม

เอกสารอ้างอิง

- กองส่งเสริมการประมง กรมประมง. (2544). การเลี้ยงกิ้งก่ามกราคม [เอกสารเผยแพร่]. กรุงเทพฯ. กระทรวงเกษตรและสหกรณ์: โรงพิมพ์ชุมนุมสหกรณ์การเกษตรแห่งประเทศไทย.
- แดงด้อย มาลี. (2540). การเลี้ยงกิ้งก่ามกราคม. กรุงเทพฯ: ต้นอ้อ แกรมมี จำกัด. หน้า 53.
- ธิดินันท์ ขวัญสด. (2546). การบำบัดมูลไก่โดยใช้ไส้เดือนพันธุ์ *Lumbricus rubellus* และ *Eudrilus Eugeniae*. การประชุมทางวิชาการของมหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์ ครั้งที่ 41: สาขาสัตว สาขาสัตวแพทยศาสตร์. หน้า 3-7.
- นพดล จินดาพันธ์ และอัญชลี ดันติกุล. (2547). การเลี้ยงกิ้งก่ามกราคมโดยใช้เครื่องเติมอากาศแบบกังหันใบพัด. เอกสารวิชาการสำนักวิจัยและพัฒนาประมงน้ำจืด. ฉบับที่ 67. กรุงเทพฯ: กรมประมง. หน้า 19.
- บุญชัย กิจสัมฤทธิ์โรจน์. (2530) อาหารกิ้ง อาหารปลา. กรุงเทพฯ: สหมิตรหอฟ้าหต. หน้า 27.
- บรรจง เทียนสงรัสมิ. (2535) หลักการเลี้ยงกิ้งก่ามกราคม. กรุงเทพฯ: ที.พี.พรินท์จำกัด. หน้า 1 - 60.
- ขงยุทธ ภิญโญพรพานิชย์. (2521). การหาปริมาณและคุณภาพของโปรตีนในส่วนต่างๆ ของตัวปูและน้ำมันตัวปู. กรุงเทพฯ: ปรินญาการศึกษา มหาวิทยาลัย คณะศึกษาศาสตร์ มหาวิทยาลัยศรีนครินทรวิโรฒ. หน้า 20-21.
- สมบุญรณ์ อนันตลาโภชัย. (2523). ผลของความหนาแน่นของลูกกิ้งก่ามกราคม *Macrobrachium rosenbergii* (de Man) ที่เลี้ยงในบ่อดินแบบพื้นบ้านต่อการเติบโตและผลผลิต. [วิทยานิพนธ์ชื่อปริญญาวิทยาศาสตรมหาบัณฑิต สาขาวิชาวิทยาศาสตร์ทางทะเล]. กรุงเทพฯ: บัณฑิตวิทยาลัย จุฬาลงกรณ์ มหาวิทยาลัย. หน้า 11.
- Akiyama, T., Murai, T., Hirasawa, Y. and Nose, T. (1984). Supplementation of various meals to fishmeal diet for chum salmon fry. Fish Nutrition Division, National Research Institute of Aquaculture, Tamaki, Mie, Japan. pp. 217-222.
- Claudia, C. O. Miguel Angel, O.-N. and Miguel, R.-S. (2005). Effect of the protein-lipids ratio on growth and maturation of the crayfish *Procambarus (Austrocambarus) ilamasi*. Aquaculture. (250): 692- 699.
- Edwards, C.A. (1985). Production of feed protein from animal waste by earthworms. Phil. Trans. Roy.Soc. London. 299-307.
- Mekada, H., N. Hayashi, H. Yokota, and J. Olcomura (1979). Performance of growing and laying chicken fed diets containing earthworms. Jpn. Poult. Sci. (16): 293-297.
- Smith, T.I.J., and Sandifer, P.A. (1975). Increased production of tank-reared *Macrobrachium rosenbergii* through use of artificial substrates. Proceedings of the World Mariculture Society. (6): 55-66.
- Taboga, L. (1980). The nutritrional value of earthworms for chickens. Brit. Poult. Sci. (21): 405-410.
- Tacon, A.G. J, Stafford, E.A. and Edwards, C.A. (1983). A preliminary investigation of the nutritive value of three terrestrial lumbricid worms for rainbow trout. Institute of Aquaculture, University of Stirling, Stirling, FK9 4LA, Great Britain.
- Yoshida, M. and Hoshii, H. (1978). Nutritional value of earthworms for poultry feed. Jpn. Poult. Sci. 15(6): 308-311.



การศึกษาโครงสร้างของ $\text{Ba}_{1-x}\text{La}_x\text{TiO}_3$ โดยใช้วิธี Rietveld refinement

Structural Studies of $\text{Ba}_{1-x}\text{La}_x\text{TiO}_3$ Using the Rietveld Refinement Method

อ่อนลมี กมลอินทร์¹ วันวิสา พัฒนศิริวิศ² สุธรรม ศรีหล่มสัก¹ และ นงลักษณ์ มีทอง^{3*}

บทคัดย่อ

แบเรียมไททานเต (BaTiO_3) เป็นสารประกอบเซรามิกที่สามารถนำไปใช้อย่างกว้างขวางในทางอิเล็กทรอนิกส์ เช่น ใช้ทำเป็น actuator ตัวเก็บประจุ (capacitor) ตัวตรวจแก๊ส (gas sensor) และตัวทำความร้อน PTCR (positive temperature coefficient resistance) heating element ที่อุณหภูมิห้องแบเรียมไททานเตบริสุทธิ์ไม่มีสมบัติทาง PTCR ดังนั้นจึงต้องเติมสารเจือบางชนิดเพื่อทำให้เกิดสมบัติ PTCR เช่น เติม La ไอออน เข้าไปแทนที่ใน Ba ไอออน ใน BaTiO_3 นอกจากนี้มีการพบว่าสามารถเติม Mn ไอออน ตามเข้าไปใน BaTiO_3 ที่เติม La ไอออน ($\text{Ba}_{1-x}\text{La}_x\text{TiO}_3$) เพื่อเสริมให้แสดงสมบัติ PTCR ที่เด่นชัดขึ้น

งานวิจัยนี้ได้ศึกษาการเปลี่ยนแปลงโครงสร้างผลึกของ $\text{Ba}_{1-x}\text{La}_x\text{TiO}_3$ ($0.0 \leq x \leq 0.2$) ซึ่งสังเคราะห์โดยใช้วิธี Polymeric precursor และเผาที่ 1000 องศาเซลเซียส และศึกษาโครงสร้างของ $\text{Ba}_{1-x}\text{La}_x\text{TiO}_3$ ที่มีการเติม Mn ไอออนเพิ่ม และเผาที่ 1300 องศาเซลเซียส โดยวิเคราะห์ผลโดยใช้เทคนิค X-ray diffraction และ Rietveld refinement ผลการศึกษาพบว่า $\text{Ba}_{1-x}\text{La}_x\text{TiO}_3$ ที่เผาที่ 1000 องศาเซลเซียส มีความเป็นเพระโกนัลลดลง (อัตราส่วนของค่าคงที่แลตทิซ c/a ลดลง) หรือมีความเป็นลูกบาศก์มากขึ้น เมื่อ x มีค่ามากขึ้น และสำหรับ $\text{Ba}_{1-x}\text{La}_x\text{TiO}_3$ ที่เติม Mn ไอออน แล้วเผาที่ 1300 องศาเซลเซียส มีความเป็นเพระโกนัลลดลง เมื่อ x เพิ่มขึ้น จาก 0.0 ถึง 0.10 แต่เมื่อ x มากกว่า 0.10 ความเป็นเพระโกนัลจะเพิ่มขึ้น (อัตราส่วนของค่าคงที่แลตทิซ c/a เพิ่มขึ้น) พร้อมกับการเกิดวิฤภาคแปลกปลอมขึ้น ผลจากการทดลองส่วนนี้ยืนยันด้วยภาพถ่ายจุลทรรศน์อิเล็กตรอนแบบส่องกราด (SEM) ด้วย

¹ สำนักวิชาวิศวกรรมศาสตร์ สาขาวิชาวิศวกรรมเซรามิก มหาวิทยาลัยเทคโนโลยีสุรนารี อ.เมือง จ.นครราชสีมา 30000

² สถาบันวิจัยแสงซินโครตรอน (องค์การมหาชน) อ.เมือง จ.นครราชสีมา 30000

³ ภาควิชาฟิสิกส์ คณะวิทยาศาสตร์ มหาวิทยาลัยขอนแก่น อ.เมือง จ.ขอนแก่น 40002

* Corresponding Author, E-mail: nonmee@kku.ac.th

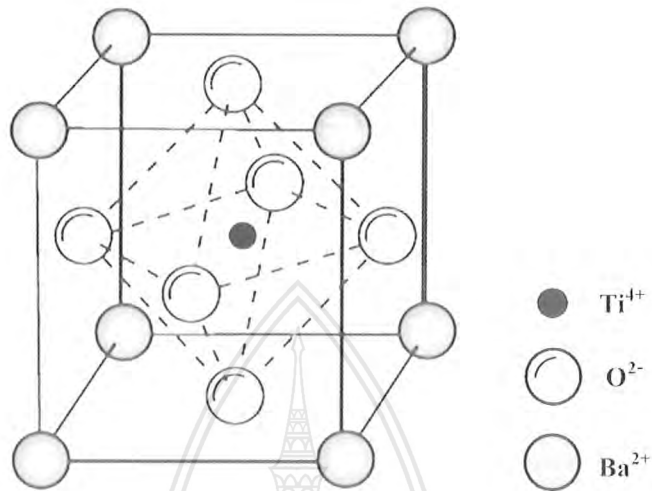
Abstract

Barium titanate (BaTiO_3) is a ceramic compound, which is used widely in electronic applications such as actuator, capacitor, gas sensor, and PTCR heating element. However, at room temperature pure BaTiO_3 has no PTCR property; therefore, it is necessary to dope the compound with cation such as La ion to initiate its PTCR property. Moreover, it is found that Mn ion can be added to the La substituted BaTiO_3 (i.e. $\text{Ba}_{1-x}\text{La}_x\text{TiO}_3$) to accelerate its PTCR property.

This research studied the effect of La doping on the structural parameters of La-substituted BaTiO_3 samples (i.e. $\text{Ba}_{1-x}\text{La}_x\text{TiO}_3$ where $0.0 \leq x \leq 0.2$) prepared by the Polymeric precursor method and calcined at 1000°C . The effect of adding Mn ions on the structure of the $\text{Ba}_{1-x}\text{La}_x\text{TiO}_3$ samples sintered at 1300°C was also evaluated. The samples were studied using X-ray diffraction (XRD) and scanning electron microscopy (SEM). The structural parameters were obtained using X-ray diffraction and the Rietveld refinement technique. XRD results of the $\text{Ba}_{1-x}\text{La}_x\text{TiO}_3$ samples show no impurity, and refinements reveal that as x increases the ratio of c/a lattice constants decreases, making the structure becomes less tetragonal (or more cubic-like). For the Mn ions added $\text{Ba}_{1-x}\text{La}_x\text{TiO}_3$ samples sintered at 1300°C , the ratio of c/a lattice constants decreases when $0.0 \leq x \leq 0.10$, but increases when x is higher than 0.10. For these latter samples, XRD and SEM images also show an evidence of an impurity phase.

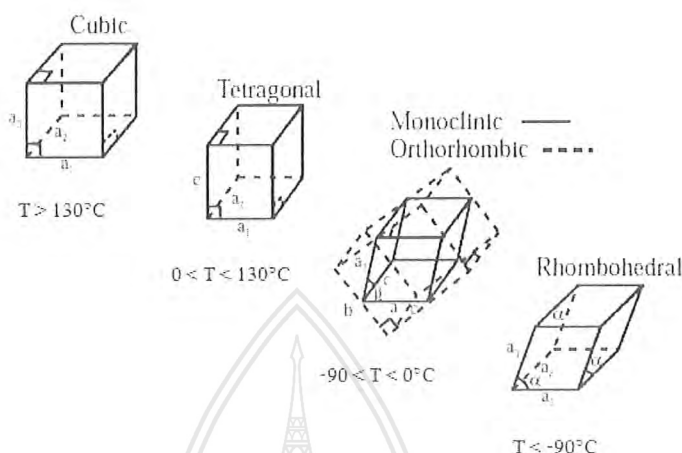
บทนำ

แบเรียมไททานเนต (BaTiO_3 : barium titanate) เป็นสารประกอบเฟอร์โรอิเล็กทริก (ferroelectric) ที่มีการศึกษามากที่สุด ถูกค้นพบครั้งแรกในปีคริสต์ศักราช 1943 โดยนักวิทยาศาสตร์จากสหรัฐอเมริกา ญี่ปุ่น และรัสเซีย แบเรียมไททานเนตที่เติมสารเจือปนวัสดุอิเล็กทรอนิกส์เซรามิกที่มีการนำไปใช้กันอย่างแพร่หลาย เช่น ใช้ทำตัวเก็บประจุไฟฟ้า (capacitor) ตัวตรวจแก๊ส (gas sensor) และตัวทำความร้อน (PTCR: positive temperature coefficient resistor) ผู้สนใจสามารถศึกษาเพิ่มเติมเกี่ยวกับการนำแบเรียมไททานเนตไปทำตัวนำความร้อนจากเอกสารอ้างอิง (สุธรรม ศรีหล่มสัก, 2554) แบเรียมไททานเนตบริสุทธิ์มีโครงสร้างผลึกแบบ perovskite ซึ่งเป็นโครงสร้างที่พบมากในสารประกอบที่มีสูตรทางเคมีแบบ ABO_3 ดังรูปที่ 1 มีอุณหภูมิคูรี (curie temperature) 130°C องศาเซลเซียส ที่อุณหภูมิสูงกว่าอุณหภูมิคูรี แบเรียมไททานเนตจะมีโครงสร้างเป็นลูกบาศก์ (cubic) ที่อุณหภูมিরะหว่าง 130 ถึง 0°C องศาเซลเซียส จะมีโครงสร้างเป็นทรงแท่ง (tetragonal) ที่อุณหภูมিরะหว่าง 0 ถึง -90°C องศาเซลเซียสจะมีโครงสร้างเป็นออร์โธโรมบิก (orthorhombic) และที่อุณหภูมิต่ำกว่า -90°C องศาเซลเซียส จะมีโครงสร้างเป็นรอมโบฮีดรัล (rhombohedral) ดังรูปที่ 2



รูปที่ 1 โครงสร้างผลึกของแบเรียมไททานเตเซรามิก (Phanichphant and Heimann, 2004)

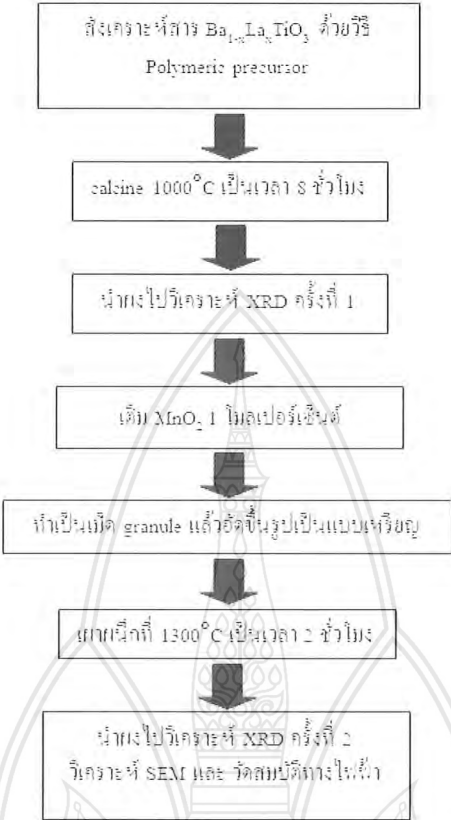
เป็นที่ทราบกันว่าการเติมสารเจือประเภท donor เช่น La ไอออน เข้าไปในสารประกอบแบเรียมไททานเต จะทำให้แบเรียมไททานเตแสดงสมบัติ PTCR ซึ่งมีความต้านทานไฟฟ้าเพิ่มขึ้นหลายพันเท่าอย่างทันทีทันใด เมื่อได้รับความร้อนขึ้นไปที่อุณหภูมิคูรี มีแบบจำลองหลาย ๆ แบบจำลองที่อธิบายว่า การเติม donor ไอออน ทำให้ BaTiO_3 แสดงสมบัติ PTCR ได้อย่างไร (Heywang, 1961; Daniels et al., 1978; Jonker, 1964) แต่ยังเป็นที่ยังสงสัยกันว่า การเติมธาตุทรานซิชัน เช่น Mn หรือ Fe ไอออน เข้าไปใน BaTiO_3 ที่เติม donor แล้ว จะทำให้ donor doped BaTiO_3 แสดงสมบัติ PTCR มากยิ่งขึ้นได้อย่างไร ถึงแม้ว่านักวิทยาศาสตร์บางกลุ่มอธิบายสาเหตุของเรื่องนี้แต่ก็ยังไม่สามารถอธิบายได้ชัดเจนเท่าที่ควร (Ueoka, 1974) การศึกษาการเปลี่ยนแปลงโครงสร้างของ BaTiO_3 ที่ถูกแทนที่ด้วย La ไอออน ทั้งที่เติมและไม่ได้เติม Mn ไอออน อาจช่วยให้ข้อมูลที่เป็นประโยชน์เกี่ยวกับเรื่องนี้ได้ ที่ผ่านมามีการศึกษาผลของการเติม La ไอออน และ Mn ไอออน ต่อโครงสร้าง BaTiO_3 ดังนี้ Aparna et al. (2001) ได้ศึกษาการเติมสารเจือ La ไอออน ในสารประกอบแบเรียมไททานเต พบว่าการแทนที่ La ไอออน ไปใน BaTiO_3 จะทำให้โครงสร้างของเทอร์โกโนลมีหน่วยเซลล์เล็กลง ค่าคงที่ไดอิเล็กทริก (dielectric constant) และอุณหภูมิคูรีเพิ่มขึ้น Om et al. (2007) ได้ศึกษาผลการเติม La และ Mn ไอออน เข้าไปใน $\text{Ba}_{1-x}\text{La}_x\text{Ti}_{1-x}\text{Mn}_x\text{O}_3$ ที่สังเคราะห์ด้วยวิธีการเกิดปฏิกิริยาของแข็ง (solid state reaction) พบว่าที่ $x = 0.05$ สารประกอบจะมีโครงสร้างที่อุณหภูมิห้องเป็นเทอร์โกโนล แต่ถ้า $x = 0.1$ สารประกอบจะมีโครงสร้างเป็นลูกบาศก์ นอกจากนี้ยังพบว่าอุณหภูมิคูรีจะลดลงเมื่อเติม La และ Mn ไอออน เพิ่มขึ้น



รูปที่ 2 การเปลี่ยนแปลงผลึกโครงสร้างของแบเรียมไททานเตบริสทุทที่อุณหภูมิต่าง ๆ (Kay and Voudan, 1949)

Kamon-in et al. (2009) ศึกษาผลของการเติม La ไอออน ไปแทนที่ Ba ไอออน ใน $\text{Ba}_{1-x}\text{La}_x\text{TiO}_3$ ที่สังเคราะห์ด้วยวิธีการเกิดปฏิกิริยาของของแข็ง แล้ววิเคราะห์ด้วยเทคนิค X-ray absorption spectroscopy (XAS) พบว่าเกิดการเปลี่ยนแปลงโครงสร้างที่ตำแหน่งของอะตอมไทเทเนียม แต่ไม่เกิดการเปลี่ยนแปลงที่ตำแหน่งของอะตอมแบเรียม

งานวิจัยนี้ได้ศึกษาโครงสร้างของ BaTiO_3 ซึ่งแทนที่ Ba ไอออน ด้วย La ไอออน ได้เป็น $\text{Ba}_{1-x}\text{La}_x\text{TiO}_3$ ($0.0 \leq x \leq 0.2$) ทั้งที่เติมและไม่เติมไอออนของ Mn (ในรูปของ MnO_2) 1 โมลเปอร์เซ็นต์ โดยใช้เทคนิคการถ่ายภาพด้วยกล้องจุลทรรศน์อิเล็กตรอนแบบส่องกราด (Scanning electron microscopy, SEM) การเลี้ยวเบนของรังสีเอกซ์ (X-ray diffraction, XRD) และการวิเคราะห์โครงสร้างด้วยวิธี Rietveld refinement เพื่อหาการเปลี่ยนแปลงโครงสร้างจากการเติมสารเจือในแบเรียมไทเทเนตที่สังเคราะห์โดยวิธี Polymeric precursor ผลที่ได้รับจะทำให้เข้าใจการเปลี่ยนแปลงโครงสร้างของ BaTiO_3 ที่เติมสารเจือ La และ Mn ไอออนมากขึ้น



รูปที่ 3 ขั้นตอนและวิธีการดำเนินการทดลอง

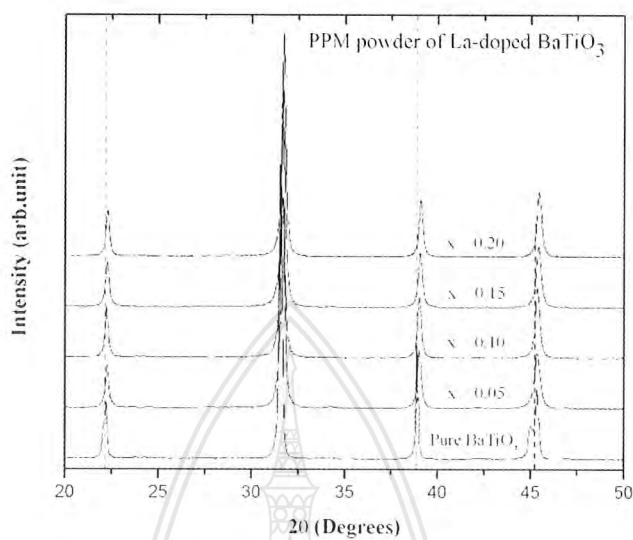
ตารางที่ 1 สูตรส่วนผสมของแบเรียมไททานตที่เติมสารเจือ La³⁺ โดยวิธี Polymeric precursor

สารเคมี	สูตรส่วนผสม Ba _{1-x} La _x TiO ₃				
	x = 0.00	x = 0.05	x = 0.10	x = 0.15	x = 0.20
Ti(OC ₄ H ₉) ₄ (กรัม)	17.0175	17.0175	17.0175	17.0175	17.0175
Ethylene glycol (กรัม)	62.0700	62.0700	62.0700	62.0700	62.0700
Citric acid (กรัม)	48.0300	48.0300	48.0300	48.0300	48.0300
น้ำ (กรัม)	12.0075	12.0075	12.0075	12.0075	12.0075
แบเรียมคาร์บอเนต (กรัม)	9.8670	9.3737	8.8803	8.3869	7.8936
แลนทานัมออกไซด์ (กรัม)	-	0.4073	0.8146	1.2218	1.6291
Nitric acid (มิลลิลิตร)	1.50	1.50	1.50	1.50	1.50
น้ำ (มิลลิลิตร)	-	50	50	50	50

วิธีดำเนินงาน

รูปที่ 3 แสดงลำดับการดำเนินการทดลอง และตารางที่ 1 แสดงสูตรส่วนผสมของแบเรียมไททานตที่เติมสารเจือ La^{3+} หรือ $\text{Ba}_{1-x}\text{La}_x\text{TiO}_3$ ($0.0 \leq x \leq 0.2$) โดยวิธี Polymeric precursor ที่ปรับปรุงมาจากงานวิจัยของ Mao et al. (2007) ขั้นแรก ผสมสารละลายไทเทเนียมบิวทอกไซด์ ($\text{Ti}(\text{OC}_4\text{H}_9)_4$) กับเอทิลีนไกลคอล (Ethylene glycol) ให้เป็นเนื้อเดียวกันที่อุณหภูมิ 80 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 10 นาที จนได้สารละลายสีเหลืองใส เติมผงกรดซัลฟิวริกกับน้ำที่ถูกล้างด้วยน้ำไอออน (deionized) และผสมต่อที่อุณหภูมิ 80 องศาเซลเซียสเป็นเวลา 30 นาที จนผงกรดซัลฟิวริกทำปฏิกิริยากับเอทิลีนไกลคอลจนหมด ได้สารละลายสีเหลืองใส โดยอัตราส่วนระหว่างเอทิลีนไกลคอลกับผงกรดซัลฟิวริก เป็น 4 ต่อ 1 (เอทิลีนไกลคอล 1 โมล ต่อ ผงกรดซัลฟิวริก 0.25 โมล) ขั้นที่สองเตรียมผสมกรดไนตริกความเข้มข้นร้อยละ 65 โดยน้ำหนัก ปริมาณ 1.5 มิลลิลิตรกับแลนทานัมออกไซด์ในน้ำ 50 มิลลิลิตรที่อุณหภูมิ 80 องศาเซลเซียส จะได้สารละลายแลนทานัมไนเตรด แล้วเติมแบเรียมคาร์บอเนตกับสารละลายแลนทานัมไนเตรดที่เตรียมได้ลงในสารละลายที่เตรียมได้ในขั้นแรก การเติมกรดไนตริกความเข้มข้นร้อยละ 65 โดยน้ำหนัก จะช่วยให้การสลายพันธะของคาร์บอเนตและไนโตรเจนที่มีในแบเรียมคาร์บอเนตและสารละลายแลนทานัมไนเตรดเกิดได้เร็วขึ้น จึงทำให้สลายตัวได้ง่ายและทำปฏิกิริยากันได้อย่างสมบูรณ์ (Mao et al., 2007) หลังจากนั้นคนผสมต่อที่อุณหภูมิ 80 องศาเซลเซียสเป็นเวลา 30 นาที จะได้สารละลายสีเหลืองใสอีกครั้ง แล้วปล่อยให้ของผสมที่ได้เย็นตัวลงที่อุณหภูมิห้อง แล้วปรับค่า pH ให้ได้ 7 โดยใช้สารละลายแอมโมเนียมไฮดรอกไซด์ ในระหว่างการปรับ pH จะสังเกตเห็นว่าสารละลายเปลี่ยนเป็นสีขาวขุ่น (gel) และจะกลับมามีสีเหลืองใสเหมือนเดิมเมื่อ pH เท่ากับ 7 หลังจากปรับ pH แล้วนำกลับไปคนผสมต่อที่อุณหภูมิ 80 องศาเซลเซียสเป็นเวลา 30 นาที เพื่อให้สารละลายเข้ากันดี จากนั้นเพิ่มอุณหภูมิเป็น 140 องศาเซลเซียสและคนผสมต่อไปอีกจนกระทั่งสารละลายสีเหลืองเปลี่ยนเป็นสารเหนียวสีชมพูอ่อน น้ำตาลอ่อน และ ดำ ตามลำดับ แล้วนำสารละลายเหนียวสีดำไปอบในเตาอบที่อุณหภูมิ 250 องศาเซลเซียสเป็นเวลา 1 ชั่วโมงจะได้สารสีดาออกมา จากนั้นนำสารสีดาไปบดให้เป็นผง แล้วนำไปเผาให้ความร้อนที่อุณหภูมิ 1000 องศาเซลเซียสเป็นเวลา 8 ชั่วโมง ในบรรยากาศปกติ โดยใช้อัตราการให้ความร้อน (heating rate) และการเย็นตัว (cooling rate) เท่ากับ 5 องศาเซลเซียสต่อ นาที จะได้สารประกอบของ BaTiO_3 ที่ donor-doped ด้วย La^{3+} ไอออน ในรูปของผง $\text{Ba}_{1-x}\text{La}_x\text{TiO}_3$

จากนั้นนำสารตัวอย่างที่สังเคราะห์ได้ ไปกระตุ้นให้เกิดพฤติกรรม PTCR มากขึ้นด้วยการเติมสารเจือไอออนของ Mn โดยการทำปฏิกิริยากับแมงกานีสไดออกไซด์ (MnO_2) ความเข้มข้น 1 โมลเปอร์เซ็นต์ แล้วบดผสมในไอโซโพรพิลแอลกอฮอล์ (isopropanol) เป็นเวลา 18 ชั่วโมง และต้มไล่ไอโซโพรพิลแอลกอฮอล์ออกจากนั้นทำเป็นเม็ดเล็ก ๆ (granule) โดยร่อนผ่านตะแกรงขนาด 100 เมช แล้วอัดเป็นชิ้นตัวอย่างแบบเหรียญ (pellet) ขนาดเส้นผ่านศูนย์กลาง 16 มิลลิเมตร สูง 2 มิลลิเมตร ด้วยเครื่องอัดไฮดรอลิกโดยใช้แรงอัด 180 MPa แล้วนำตัวอย่างแบบเหรียญไปเผาผืนที่อุณหภูมิ 1300 องศาเซลเซียสเป็นเวลา 2 ชั่วโมง ในบรรยากาศปกติ จะได้ตัวอย่างเซรามิกแบบเหรียญของ $\text{Ba}_{1-x}\text{La}_x\text{TiO}_3 + 0.01 \text{ MnO}_2$ ที่เผาผืนแล้ว



รูปที่ 4 กราฟเอกซเรย์ดิฟแฟรคชันในช่วง 2θ ที่ 20-50° ของ Ba_{1-x}La_xTiO₃ (0.0 ≤ x ≤ 0.2) ที่สังเคราะห์โดยวิธี Polymeric precursor และเผาที่ 1000 องศาเซลเซียส ขึ้นไฟ 8 ชั่วโมง

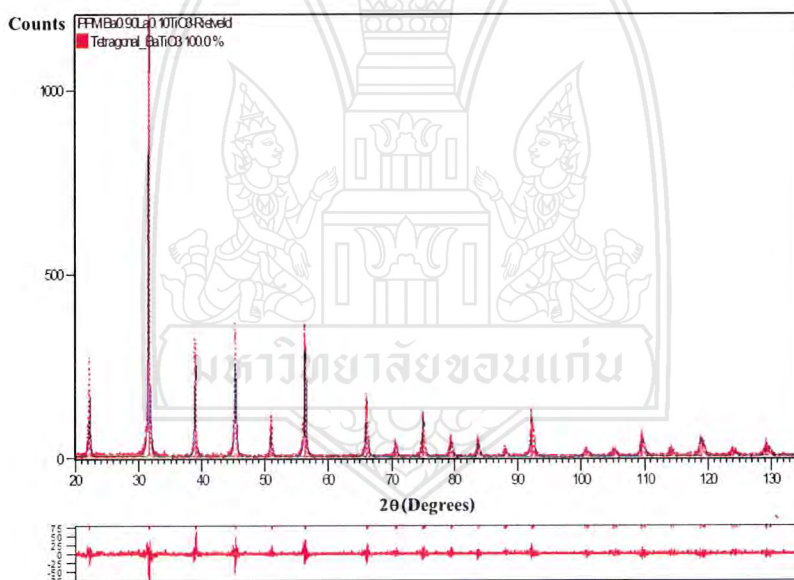
ตารางที่ 2 ผลการวิเคราะห์โครงสร้างของ Ba_{1-x}La_xTiO₃ ด้วยเทคนิค Rietveld refinement

Lattice parameter	Pure BaTiO ₃	สูตรส่วนผสม Ba _{1-x} La _x TiO ₃			
		x = 0.05	x = 0.10	x = 0.15	x = 0.20
a (Å)	3.9990	4.0001	3.9962	3.9942	3.9902
b (Å)	3.9990	4.0001	3.9962	3.9942	3.9902
c (Å)	4.0279	4.0135	4.0022	4.0004	3.9957
c/a (Å)	1.0072	1.0033	1.0015	1.0016	1.0014
density (g/cm ³)	6.01	6.03	6.06	6.07	6.09
Volume (10 ⁶ pm ³)	64.41	64.22	63.91	63.82	63.62
Crystallite Size (Å)	1257.8	492.2	512.1	421.2	463.2
R _{exp} (24.65*)	24.41	24.69	24.83	24.59	24.75
R _{wp} (26.12*)	26.50	26.80	25.76	25.81	25.74
GOF (1.12*)	1.18	1.18	1.08	1.10	1.08

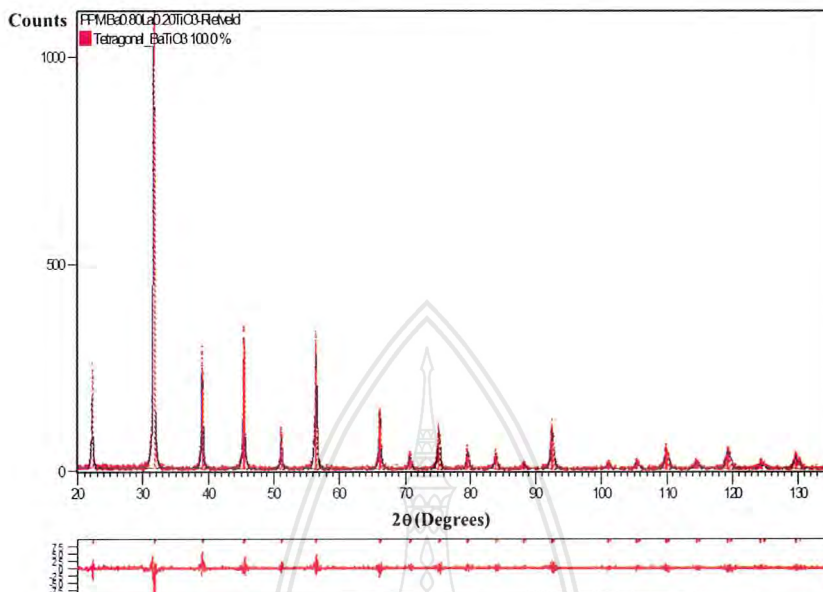
* ค่าเฉลี่ยที่หาจากทุกตัวอย่าง

รูปที่ 4-6 และตารางที่ 2 แสดงผลจากการวิเคราะห์เฟสด้วย XRD และ Rietveld refinement ของผงตัวอย่าง $\text{Ba}_{1-x}\text{La}_x\text{TiO}_3$ ($0.0 \leq x \leq 0.2$) และผลจากการวิเคราะห์ตัวอย่างแบบเหรียญของ $\text{Ba}_{1-x}\text{La}_x\text{TiO}_3$ ที่เจือด้วย Mn ไอออน ได้ผลดังแสดงในรูปที่ 7-9 และตารางที่ 3 การวิเคราะห์ตัวอย่างด้วยเทคนิคการเลี้ยวเบนรังสีเอกซ์ (XRD) ทำโดยใช้เครื่อง X-ray diffractometer ยี่ห้อ Bruker รุ่น D5005 แบ่งการวิเคราะห์ออกเป็น 2 ส่วน คือ 1) การวิเคราะห์เฟส โดยสแกนตั้งแต่มุม 2θ ที่ 20° ถึง 80° ใช้ช่วงสแกน (scan step) เท่ากับ 0.02° ความเร็ว (scan speed) เท่ากับ 0.4 วินาทีต่อช่วงสแกน และใช้ซอฟต์แวร์ Diffrac^{plus} EVA ในการวิเคราะห์ชนิดของเฟสที่ปรากฏ และ 2) การวิเคราะห์โครงสร้างละเอียด โดยสแกนตั้งแต่มุม 2θ ที่ 20° ถึง 135° ใช้ช่วงสแกนเท่ากับ 0.01° ความเร็วเท่ากับ 4 วินาทีต่อช่วง (รวมระยะเวลาราว 13 ชั่วโมงต่อตัวอย่าง) และใช้ซอฟต์แวร์ PANalytical X'Pert Plus (ลิขสิทธิ์จากมหาวิทยาลัยขอนแก่น) ในการวิเคราะห์เพื่อหาค่าคงที่แลตทิซ และหาขนาดของผลึก (crystallite size) โดยใช้เทคนิค Reitveld refinement สำหรับการหาขนาดของผลึกจะใช้ NIST Silicon 640c เป็นตัวมาตรฐาน (external standard)

การวิเคราะห์โครงสร้างจุลภาคของ $\text{Ba}_{1-x}\text{La}_x\text{TiO}_3 + 0.01 \text{ MnO}_2$ ที่ $x = 0.1$ และ 0.2 ใช้กล้องจุลทรรศน์อิเล็กตรอนแบบส่องกราด (SEM) ยี่ห้อ JEOL เพื่อเปรียบเทียบและยืนยันผลการทดลองของ XRD



รูปที่ 5 กราฟแสดงการวิเคราะห์ด้วยวิธี Rietveld refinement ของ $\text{Ba}_{0.90}\text{La}_{0.10}\text{TiO}_3$ ที่สังเคราะห์โดยวิธี Polymeric precursor และเผาที่ 1000 องศาเซลเซียส ขึ้นไฟ 8 ชั่วโมง เส้นทึบแสดงข้อมูลจากการวัดด้วยเทคนิค XRD เส้นประแสดง ข้อมูลที่ได้จากการวิเคราะห์โดยใช้แบบจำลองโครงสร้างของ BaTiO_3 และเส้นทึบในกรอบเล็กด้านล่างแสดงความแตกต่าง (residual) ระหว่างข้อมูลจากการวัดและการใช้แบบจำลอง

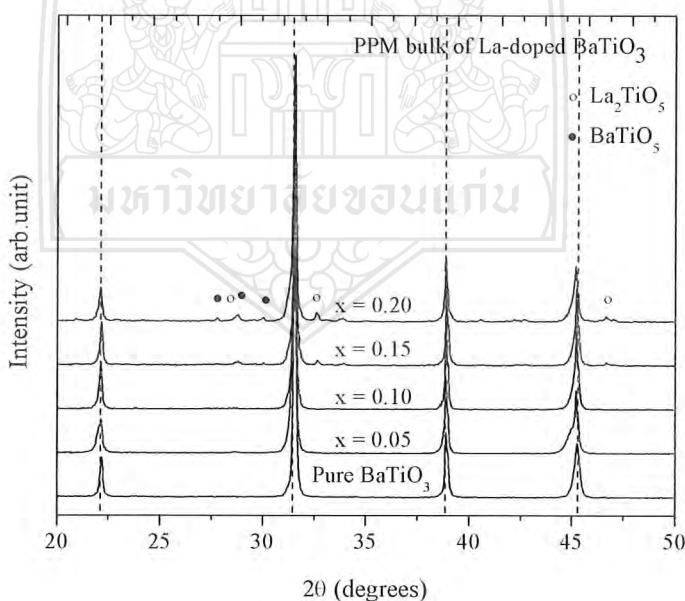


รูปที่ 6 กราฟแสดงการวิเคราะห์ด้วยวิธี Rietveld refinement ของ $\text{Ba}_{0.80}\text{La}_{0.20}\text{TiO}_3$ ที่สังเคราะห์โดยวิธี Polymeric precursor และเผาที่ 1000 องศาเซลเซียส ขึ้นไฟ 8 ชั่วโมง เส้นทึบแสดงข้อมูลจากการวัดด้วยเทคนิค XRD เส้นประแสดงข้อมูลที่ได้จากการวิเคราะห์โดยใช้แบบจำลองโครงสร้างของ BaTiO_3 และเส้นทึบในกรอบเล็กด้านล่างแสดงความแตกต่าง (residual) ระหว่างข้อมูลจากการวัดและการใช้แบบจำลอง

ผลการทดลองและการวิเคราะห์

รูปที่ 4 เป็นกราฟ XRD ของ $\text{Ba}_{1-x}\text{La}_x\text{TiO}_3$ ($0.0 \leq x \leq 0.2$) ที่สังเคราะห์ด้วยวิธี Polymeric precursor จากรูปจะเห็นได้ว่าไม่มี peak ใหม่เกิดขึ้น แสดงว่า La ไอออน ที่เติมเข้าไปสามารถแทนที่ในโครงสร้างของ BaTiO_3 ได้หมด จึงไม่พบวิฤภาคแปลกปลอม แต่เกิดการเลื่อนตำแหน่งของพีคไปที่ 2θ มากขึ้น แสดงว่าระยะห่างระหว่างระนาบ (d-spacing) ของผลึกมีค่าลดลง (เพราะจากสมการของ Bragg ที่ว่า $n\lambda = 2d \sin\theta$ โดยที่ค่า n และ λ เป็นค่าคงที่ ถ้าหากระยะห่างระหว่างระนาบของผลึกมีค่าลดลง จะทำให้ค่า $\sin\theta$ มีค่าเพิ่มขึ้น เนื่องจาก θ จะอยู่ในช่วง 0 ถึง 90 องศา ดังนั้น $\sin\theta$ แปรผันตรงตาม θ จากสมการของ Bragg จะได้ว่าถ้าระยะห่างระหว่างระนาบของผลึกมีค่าลดลง θ จะมีค่าเพิ่มขึ้น ซึ่งจากการทดลองพบว่ามุม 2θ ของทุกพีคเลื่อนตำแหน่งไปที่ 2θ เพิ่มขึ้น) ต่อมา นำข้อมูล XRD ไปวิเคราะห์ด้วยวิธี Rietveld refinement โดยกำหนดให้โครงสร้างของแบเรียมไททานเตเป็นเทตระโกนัลอยู่ใน space group $P4mm$ (99) ได้ผลแสดงดังรูปที่ 5 และ 6 และตารางที่ 2 จากตาราง จะเห็นว่าการแทนที่ La ไอออน เข้าไปใน $\text{Ba}_{1-x}\text{La}_x\text{TiO}_3$ มากขึ้นจะทำให้เกิดการบิดตัว (distortion) ของเทตระโกนัล โดยค่าคงที่แลตทิซในแกน c ลดลง ซึ่งสอดคล้องกับงานวิจัยของ Aparna et al. (2001) เมื่อวิเคราะห์ความเป็นเทตระโกนัลโดยใช้อัตราส่วนค่าคงที่แลตทิซระหว่างแกน c กับแกน a (c/a ratio) จะพบว่า การแทนที่ Ba ไอออน ด้วย La ไอออน ใน BaTiO_3 ช่วง 0 - 10 โมลเปอร์เซ็นต์ จะทำให้หน่วยเซลล์มีความเป็นเทตระโกนัลลดลง ซึ่งสอดคล้องกับ Zhao Xinle et al. (2006) แต่ต่อมาเมื่อแทนที่ Ba ไอออน ด้วย La ไอออน ในปริมาณมากขึ้น ในช่วง

10 – 20 โมลเปอร์เซ็นต์ แทนจะไม่มีผลต่อความเป็นเพระโกนัลของผลึกที่เปลี่ยนไปเลย สาเหตุที่การแทนที่ Ba ไอออน ด้วย La ไอออน แล้วทำให้หน่วยเซลล์มีขนาดลดลง อาจจะเป็นเพราะว่า La ไอออน ที่มีเลขโคออร์ดิเนชันเท่ากับ 12 มีรัศมีไอออนิกเท่ากับ 1.36 อังสตรอม Ba ไอออน ที่มีเลขโคออร์ดิเนชันเท่ากับ 12 มีรัศมีไอออนิกเท่ากับ 1.61 อังสตรอม และ O ไอออน ที่มีเลขโคออร์ดิเนชันเท่ากับ 8 มีรัศมีไอออนิกเท่ากับ 1.38 อังสตรอม จะเห็นว่า La ไอออน มีรัศมีไอออนิกใกล้เคียงกับ O ไอออน มากกว่า Ba ไอออน ดังนั้นเมื่อ La ไอออน จับกับ O ไอออน จึงทำให้หน่วยเซลล์มีความหนาแน่นลดลงมากกว่า Ba ไอออน จับกับ O ไอออน ดังนั้นการเติม La ไอออน เข้าไปแทนที่ Ba ไอออน จึงทำให้ความเป็นเพระโกนัลของแบเรียมไททานตลดลง นอกจากนั้นการลดลงของหน่วยเซลล์ยังสอดคล้องกับผลที่ว่าระนาบของผลึกจะลดลงด้วยเมื่อเติม La ไอออน เพิ่มขึ้น จากตารางที่ 2 จะเห็นว่า BaTiO_3 บริสุทธิ์ (pure BaTiO_3) มีขนาดผลึกประมาณ 1.3 ไมโครเมตร และ $\text{Ba}_{1-x}\text{La}_x\text{TiO}_3$ มีขนาดผลึก (crystallite size) ลดลงเมื่อมีการเติม La ไอออน โดยมีขนาดผลึกเฉลี่ย 400 – 500 นาโนเมตร อนึ่งในการวิเคราะห์ด้วย Rietveld refinement นี้มีค่า R_{wp} เฉลี่ย = 26.12, R_{exp} เฉลี่ย = 24.65 และ ค่า Goodness of fit (GOF) เฉลี่ย = 1.12 โดยค่า R_{wp} เป็นค่าทางสถิติ (residual) ที่แสดงถึงคุณภาพในการวิเคราะห์ข้อมูล ค่า R_{exp} เป็นค่าที่แสดงถึงคุณภาพของข้อมูลที่วัดได้ ส่วนค่า GOF แสดงถึงคุณภาพของการฟิตโดยเป็นการเปรียบเทียบค่า R_{exp} กับ R_{wp} โดยที่ค่า GOF = 1.0 จะเป็นค่าที่ดีที่สุดที่สามารถจะฟิตได้ จากตารางที่ 2 จะเห็นว่าข้อมูลมีค่า R_{exp} ที่ค่อนข้างสูง (บ่งบอกถึงคุณภาพของข้อมูล ซึ่งค่า R_{exp} จะขึ้นอยู่กับคุณภาพของเครื่อง Diffractometer เป็นหลัก) แต่เนื่องจากใช้เวลาในการสแกนนานถึง 13 ชั่วโมง ซึ่งเป็นค่าที่ดีที่สุดเท่าที่เครื่องมือจะสามารถทำได้ และได้ค่า GOF จากการฟิตข้อมูลมีค่าที่ใกล้เคียงกับ 1.0 และไม่เกิน 2.50 จึงเป็นค่าที่น่าจะยอมรับได้



รูปที่ 7 กราฟเอกซเรย์ดิฟแฟรคชันในช่วง 2θ ที่ $20-50^\circ$ ของ $\text{Ba}_{1-x}\text{La}_x\text{TiO}_3 + 0.01 \text{ MnO}_2$ ที่สังเคราะห์โดยวิธี Polymeric precursor หลังจากอัดเม็ดและเผาผนึกที่ 1300 องศาเซลเซียสขึ้นไฟ 2 ชั่วโมง

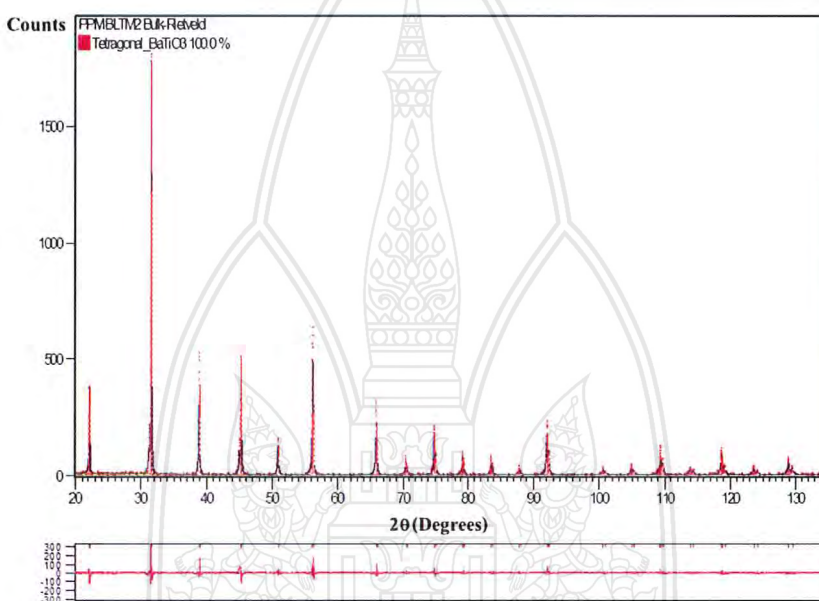
ตารางที่ 3 ผลการวิเคราะห์ $\text{Ba}_{1-x}\text{La}_x\text{TiO}_3 + 0.01 \text{ MnO}_2$ ด้วยเทคนิค Rietveld refinement

Lattice parameter	Pure BaTiO_3	สูตรส่วนผสม $\text{Ba}_{1-x}\text{La}_x\text{TiO}_3 + 0.01 \text{ mole of MnO}_2$			
		x = 0.05	x = 0.10	x = 0.15	x = 0.20
a (Å)	3.9992	4.0049	4.0022	4.0049	4.0056
b (Å)	3.9992	4.0049	4.0022	4.0049	4.0056
c (Å)	4.0153	4.0106	4.0036	4.0080	4.0114
c/a (Å)	1.0040	1.0014	1.0003	1.0007	1.0015
density (g/cm^3)	6.03	6.02	6.04	6.02	6.02
Volume (10^6 pm^3)	64.22	64.33	64.13	64.29	64.36
Crystallite Size (Å)	1690.0	602.9	1266.9	1252.7	845.1
R_{exp} (24.55*)	25.91	23.91	24.43	24.42	24.06
R_{wp} (31.78*)	27.16	35.08	30.58	31.26	34.84
GOF (1.71*)	1.10	2.15	1.57	1.64	2.10

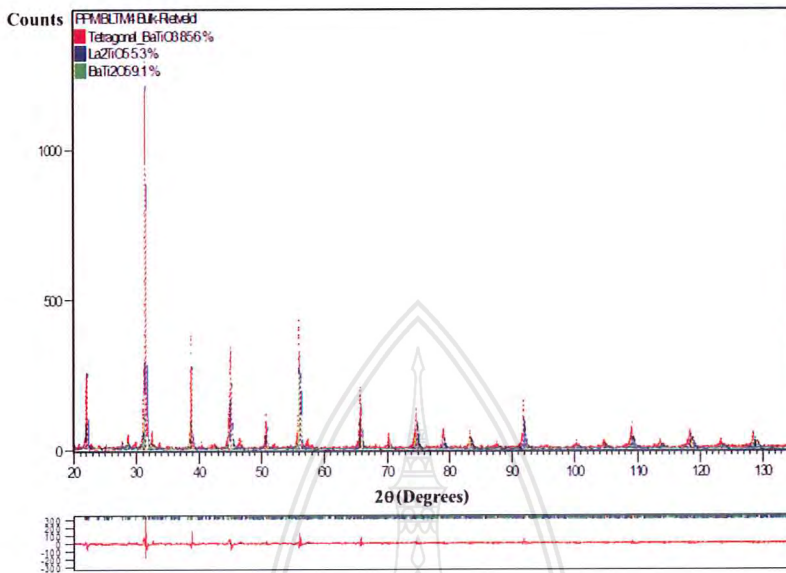
* ค่าเฉลี่ยที่หาจากทุกตัวอย่าง

รูปที่ 7 แสดงกราฟ XRD ของ BaTiO_3 ที่แทนที่ Ba ไอออน ด้วย La ไอออน ให้เป็น $\text{Ba}_{1-x}\text{La}_x\text{TiO}_3$ แล้วจากนั้นก็เติม MnO_2 0.01 โมล เข้าไป นำไปเผาผนึกที่ 1300 องศาเซลเซียส จากรูปจะเห็นได้ว่า สารประกอบที่ x มีค่ามากกว่า 0.1 จะเกิด peak ใหม่ขึ้นมา เมื่อวิเคราะห์ด้วย Diffrac^{plus} EVA ก็พบว่า เป็นฟลักซ์ที่เกิดขึ้นใหม่เป็นฟลักซ์ของ La_2TiO_5 และ BaTi_2O_7 แสดงว่า La ไอออน ที่เติมเข้าไปแทนที่ Ba ไอออน ใน BaTiO_3 ไม่สามารถเข้าไปแทนที่ Ba ไอออน ในโครงสร้างของ BaTiO_3 ได้เกินกว่า 10 โมลเปอร์เซ็นต์ เมื่อนำข้อมูล XRD ของ $\text{Ba}_{0.90}\text{La}_{0.10}\text{TiO}_3$ ที่เติม MnO_2 0.01 โมล ไปวิเคราะห์ด้วยเทคนิค Rietveld refinement โดยใช้แบบจำลองโครงสร้างของแบเรียมไททานเตเป็นเทระโกนัลอยู่ใน space group $P4mm$ (99) จะได้กราฟดังรูปที่ 8 และตารางที่ 3 เมื่อนำข้อมูล XRD ของ $\text{Ba}_{0.90}\text{La}_{0.10}\text{TiO}_3$ ที่เติม MnO_2 0.01 โมล ไปวิเคราะห์ด้วยเทคนิค Rietveld refinement โดยใช้แบบจำลองโครงสร้างของแบเรียมไททานเตเป็นเทระโกนัลอยู่ใน space group $P4mm$ (99) และทำการวิเคราะห์เฟสของอนุภาคแปลกปลอมรวมด้วยจะได้กราฟดังรูปที่ 9 และ ตารางที่ 3 จากการวิเคราะห์ปริมาณเฟสของสารแปลกปลอมนี้พบว่า มีสารแปลกปลอมของ La_2TiO_5 ประมาณ 5 เปอร์เซ็นต์ และ BaTi_2O_7 ประมาณ 9 เปอร์เซ็นต์ นอกจากนี้ ข้อมูลจากตารางที่ 3 แสดงให้เห็นว่าการเติมสารเจือ La และ Mn ไอออน ในแบเรียมไททานเต ในช่วงแรกผลึกจะมีความเป็นเทระโกนัลลดลงอย่างเห็นได้ชัดเจน เมื่อปริมาณการเติมสารเจือ La ไอออน เพิ่มขึ้นจาก 0 ถึง 10 โมลเปอร์เซ็นต์ แต่ภายหลังเมื่อเพิ่ม La ไอออน เข้าไปมากขึ้นอีกจะมีวัฏภาคแปลกปลอมเกิดขึ้น และโครงสร้างมีอัตราส่วนของค่าคงที่แลตทิซ c/a เพิ่มขึ้น (หรือมีความเป็นเทระโกนัลจะเพิ่มขึ้นนั่นเอง) เมื่อวิเคราะห์ขนาดของผลึก พบว่าขนาดผลึกของ BaTiO_3 บริสุทธิ์ มีขนาด 1.7 ไมโครเมตร ซึ่งใหญ่กว่าขนาดผลึกที่เผาที่อุณหภูมิ 1000 องศาเซลเซียส (ตารางที่ 2) เนื่องจากการเกิดการโตของเกรน (grain growth) เพราะถูกเผาที่

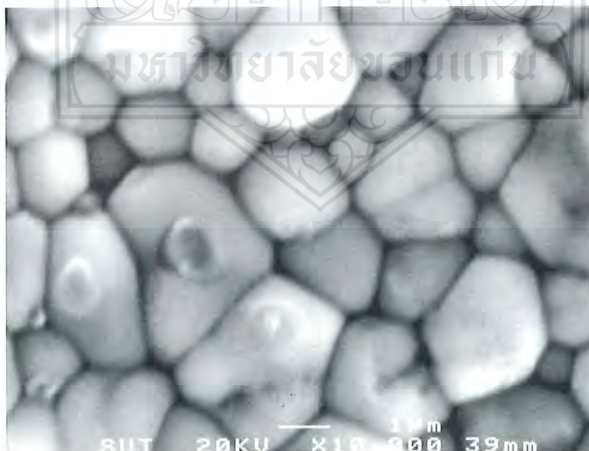
อุณหภูมิที่สูง เมื่อมีการเติม La ไอออน ขนาดผลึกจะมีแนวโน้มลดลง คือมีขนาดราว 600 นาโนเมตร ถึง 1.3 ไมโครเมตร ทั้งนี้ในการวิเคราะห์ด้วย Rietveld analysis ในส่วนนี้มี R_{wp} เฉลี่ย = 31.78, R_{exp} เฉลี่ย = 24.55 โดยค่า R_{wp} ส่วน Goodness of fit เฉลี่ย = 1.71 ซึ่งดีพอที่ยอมรับในการฟิตข้อมูล ผลการทดลองในส่วนนี้ได้ผลสอดคล้องกันดีกับผลการวิเคราะห์โครงสร้างด้วย SEM ดังรูปที่ 10 และ 11 เพราะว่าจากภาพ SEM จะเห็นว่า $Ba_{0.9}La_{0.1}TiO_3 + 0.01 MnO_2$ ไม่มีผลึกของอนุภาคแปลกปลอมเลย ขณะที่ภาพ SEM ของ $Ba_{0.8}La_{0.2}TiO_3 + 0.01 MnO_2$ มีผลึกของอนุภาคแปลกปลอมชัดเจน นอกจากนี้จะเห็นว่า $Ba_{1-x}La_xTiO_3 + 0.01 MnO_2$ ในภาพ SEM ทั้งสองมีเกรนขนาดเฉลี่ยประมาณ 1 ถึง 2 ไมโครเมตร



รูปที่ 8 กราฟแสดงการวิเคราะห์ด้วยวิธี Rietveld refinement ของ $Ba_{0.90}La_{0.10}TiO_3$ ที่สังเคราะห์โดยวิธี Polymeric precursor หลังจากอัดเม็ดและเผาที่ 1300 องศาเซลเซียสในไฟ 2 ชั่วโมง เส้นทึบแสดงข้อมูลจากการวัดด้วยเทคนิค XRD เส้นประแสดงข้อมูลที่ได้จากการวิเคราะห์โดยใช้แบบจำลองโครงสร้างของ $BaTiO_3$ และเส้นทึบในกรอบเล็กด้านล่าง แสดงความแตกต่าง (residual) ระหว่างข้อมูลจากการวัดและการใช้แบบจำลอง



รูปที่ 9 กราฟแสดงการวิเคราะห์ด้วยวิธี Rietveld refinement ของ $\text{Ba}_{0.80}\text{La}_{0.20}\text{TiO}_3$ ที่สังเคราะห์โดยวิธี Polymeric precursor หลังจากอัดเม็ดและเผาที่ 1300 องศาเซลเซียส ขึ้นไฟ 2 ชั่วโมง เส้นสีน้ำเงินแสดงข้อมูลจากการวัดด้วยเทคนิค XRD เส้นสีแดงแสดงข้อมูลที่ได้จากการวิเคราะห์โดยใช้แบบจำลองโครงสร้างของ BaTiO_3 เส้นสีเขียวแสดงข้อมูลที่ได้จากการวิเคราะห์โดยใช้แบบจำลองโครงสร้างของ La_2TiO_5 เส้นประสีเทาแสดงข้อมูลที่ได้จากการวิเคราะห์โดยใช้แบบจำลองโครงสร้างของ BaTi_2O_5 และเส้นสีแดงในกรอบด้านล่างแสดงความแตกต่าง (residual) ระหว่างข้อมูลจากการวัดและการใช้แบบจำลอง การวิเคราะห์ปริมาณเฟสพบปริมาณของ BaTiO_3 คิดเป็นประมาณ 86 เปอร์เซ็นต์ ของ La_2TiO_5 ประมาณ 5 เปอร์เซ็นต์ และ BaTi_2O_5 ประมาณ 9 เปอร์เซ็นต์



รูปที่ 10 โครงสร้างจุลภาคของ $\text{Ba}_{0.90}\text{La}_{0.10}\text{TiO}_3 + 0.01 \text{MnO}_2$ ที่สังเคราะห์ด้วยวิธี Polymeric precursor และเผาที่อุณหภูมิ 1300 องศาเซลเซียสเป็นเวลา 2 ชั่วโมง ในบรรยากาศปกติ



รูปที่ 11 โครงสร้างจุลภาคของ $\text{Ba}_{0.80}\text{La}_{0.20}\text{TiO}_3 + 0.01 \text{ MnO}_2$ สังเคราะห์ด้วยวิธี Polymeric precursor เผาที่อุณหภูมิ 1300 องศาเซลเซียสเป็นเวลา 2 ชั่วโมง ในบรรยากาศปกติ แสดงให้เห็นอนุภาคแปลกปลอมอย่างชัดเจน โดย อนุภาค แปลกปลอมนี้ เมื่อวิเคราะห์ด้วยเทคนิค XRD พบว่าเป็น $\text{La}_2\text{Ti}_2\text{O}_5$ และ BaTi_2O_5

บทสรุปและวิจารณ์

การแทนที่ Ba ไอออน ด้วย La ไอออน ทำให้โครงสร้างของ BaTiO_3 ที่เผาที่ 1000 องศาเซลเซียส เปลี่ยนไป กล่าวคือ เมื่อเติมสารเจือ La ไอออน ในช่วง $0.0 < x < 0.1$ จะทำให้หน่วยเซลล์เกิดการบิดรูป (distortion) และมีความเป็นเพระโกนัลลดลง ซึ่งสามารถดูได้จากอัตราส่วนของค่าคงที่แลตทิซ c/a ที่ลดลง แต่ถ้าแทนที่ด้วย La ไอออน มากกว่านี้จะไม่ผลต่อการเปลี่ยนแปลงความเป็นเพระโกนัล และ La ไอออน สามารถเข้าไปแทนที่ Ba ไอออน ในโครงสร้างของ BaTiO_3 ได้ถึง 20 โมลเปอร์เซ็นต์ โดยไม่เกิดวัฏภาคแปลกปลอม อย่างไรก็ตาม สำหรับ $\text{Ba}_{1-x}\text{La}_x\text{TiO}_3$ ที่เติม Mn ไอออน 1 โมลเปอร์เซ็นต์ แล้วนำไปเผาที่ 1300 องศาเซลเซียส พบว่าจะเกิดวัฏภาคแปลกปลอม เมื่อ x มีค่ามากกว่า 0.1 โมล นอกจากนี้ยังพบว่าสารประกอบข้างต้นที่มี $0.10 < x < 0.20$ มีขนาดผลึกที่ใหญ่ขึ้น และมีขนาดเกรนเฉลี่ยประมาณ 1 – 2 ไมโครเมตร ผลการทดลองดังกล่าวสามารถยืนยันได้ตามภาพถ่ายจากกล้องจุลทรรศน์อิเล็กตรอน

กิตติกรรมประกาศ

งานวิจัยนี้ได้รับทุนสนับสนุนจากสถาบันวิจัยแสงซินโครตรอน (องค์การมหาชน)

เอกสารอ้างอิง

- สุธรรม ศรีหล่มสัก. (2554). ตัวทำความร้อน PTCR- BaTiO_3 . วารสารวิทยาศาสตร์ มข. 39(1): 71-79.
- อ่อนลมี กมลอินทร์. (2552). การศึกษาการเติมสารเจือใน PTCR BaTiO_3 โดยใช้เทคนิคสเปกโทรสโกปีการดูดกลืนรังสีเอกซ์. วิทยานิพนธ์ปริญญาโทบริหารธุรกิจ สาขาวิชาวิศวกรรมเซรามิก สำนักวิชาวิศวกรรมศาสตร์ มหาวิทยาลัยเทคโนโลยีสุรนารี.
- Aparna, M., Bhimasankaram, T., Suryanarayana, S., Prasad, G., and Kumar, G. (2001). Effect of lanthanum doping on electrical and electromechanical properties of $\text{Ba}_{1-x}\text{La}_x\text{TiO}_3$. Bulletin of Materials Science. 24(5): 497 - 504.
- Daniels, J., Hardtl, K.H., and Wernicke, R. (1978). The PTC effect of barium titanate. Philips Technical Review. 38(3): 73 - 82.
- Heywang, W. (1961). Barium titanate as a semiconductor with blocking layers. Solid State Electro. 3(1): 51 - 58.
- Jonker, G.H. (1964). Some aspects of semiconducting barium titanate. Solid-State Electronics. 7(12): 895 - 903.
- Kamon-in. O., Pattanasiriwisawa. W., Yangthaisong. A., and Srilomsak. S. (2009). Structural Studies of $\text{Ba}_{1-x}\text{La}_x\text{TiO}_3$ using X-ray Absorption Near-edge Spectroscopy. Journal of Physics: Conference Series. 190: 012082.
- Kay, H.F., and Vousden, P. (1949). XCV. Symmetry changes in barium titanate at low temperatures and their relation to its ferroelectric properties. Philosophical Magazine Series 7. 40(309): 1019 - 1040.
- Mao, C., Dong, X., and Zeng, T. (2007). Synthesis and characterization of nanocrystalline barium strontium titanate powders prepared by citrate precursor method. Materials Letters. 61(8-9): 1633 - 1636.
- Phanichphant, S., and Heimann, R.B. (2004). Hydrothermal synthesis of submicron to nano-sized ferroelectric powders: properties and characterization. CMU. Journal. 3(2): 113 -132.
- Ueoka, H., and Yodogawa, M. (1974). Ceramic manufacturing technology for the high performance PTC Thermistor. Manufacturing Technology, IEEE Transactions. 32(2): 77 - 82.
- Xinle, Z., Zhimei, M., Zuojiang, X., and Guang, C. (2006). Preparation and characterization on nano-sized barium titanate powder doped with lanthanum by sol-gel process. Journal of Rare Earths. 24(1, Supplement 1): 82 - 85.





การประมาณเรขาคณิตแบบจุดโดยฟังก์ชัน w A Pointwise Geometric Approximation by w -Functions

พิม มะลิงาม¹ และ คณินทร์ ชีรภาพโอพาร^{1*}

บทคัดย่อ

ในงานวิจัยนี้เราใช้วิธีของสไตน์และฟังก์ชัน w เพื่อหาผลลัพธ์ของการประมาณการแจกแจงของตัวแปรสุ่มที่มีค่าจำนวนเต็มไม่เป็นลบด้วยการแจกแจงเรขาคณิต ผลลัพธ์ของการประมาณดังกล่าวอยู่ในรูปของเมตริกแบบจุดระหว่างการแจกแจงของตัวแปรสุ่มที่มีค่าจำนวนเต็มไม่เป็นลบและการแจกแจงเรขาคณิต พร้อมด้วยขอบเขตบนแบบไม่เอกรูป นอกจากนี้เราได้แสดงการประยุกต์ของผลลัพธ์ที่เกี่ยวข้องกับการแจกแจงเรขาคณิตบีตา การแจกแจงโพลยา และการแจกแจงปัวซอง

Abstract

In this paper, we use Stein's method and w -functions to determine a result of geometric approximation to the distribution of a non-negative integer-valued random variable, in terms of the point metric between the distribution of a non-negative integer-valued random variable and the geometric distribution together with its non-uniform upper bound. Furthermore, we illustrate some applications of the obtained result concerning the beta-geometric, Pólya and Poisson distributions.

ความสำคัญ : การประมาณเรขาคณิต ขอบเขตแบบไม่เอกรูป เมตริกแบบจุด วิธีของสไตน์ ฟังก์ชัน w

Keywords: Geometric approximation, Non-uniform bound, Point metric, Stein's method, w -functions.

¹ ภาควิชาคณิตศาสตร์ คณะวิทยาศาสตร์ มหาวิทยาลัยบูรพา ชลบุรี 20131

* Corresponding Author, Email : kanint@buu.ac.th

บทนำ

การแจกแจงเรขาคณิต (geometric distribution) เป็นการแจกแจงวิฤตที่มีการศึกษาและนำไปประยุกต์ใช้ในหลาย ๆ ด้าน การแจกแจงนี้เป็นกรณีพิเศษของการแจกแจงทวินามนิเสธ (negative binomial distribution) หรือ การแจกแจงปาสคาล (Pascal distribution) นั่นคือ ถ้า $n \in \mathbb{N}$ และ $0 < p < 1$ เป็นพารามิเตอร์ของการแจกแจงทวินามนิเสธแล้วเราจะเรียกการแจกแจงทวินามนิเสธที่มี $n=1$ ว่าการแจกแจงเรขาคณิตที่มีพารามิเตอร์ p ซึ่งอาจหมายถึง การแจกแจงของจำนวนความล้มเหลว (failure) ก่อนเกิดความสำเร็จ (success) ครั้งแรกในลำดับของการทดลองย่อยแบร์นูลลีที่เป็นอิสระต่อกัน (independent Bernoulli trials) โดยความสำเร็จและความล้มเหลวที่เกิดขึ้นในแต่ละการทดลองย่อยมีความน่าจะเป็นเท่ากับ p และ $q=1-p$ ตามลำดับ ให้ Y เป็นตัวแปรสุ่มเรขาคณิตที่มีพารามิเตอร์ p แล้วฟังก์ชันการแจกแจงความน่าจะเป็นของ Y สามารถเขียนได้ดังนี้

$$p_Y(y) = pq^y \text{ เมื่อ } y=0,1,\dots \quad (1)$$

โดยที่ค่าคาดหวังและความแปรปรวนของ Y คือ $E(Y) = \frac{q}{p}$ และ $Var(Y) = \frac{q}{p^2}$ ตามลำดับ

การประมาณการแจกแจงของตัวแปรสุ่มด้วยการแจกแจงเรขาคณิตโดยใช้วิธีของสไตน์ (Stein's method) เป็น การประยุกต์ของการแจกแจงเรขาคณิตแบบหนึ่งที่ทำให้เกิดผลลัพธ์ที่เป็นประโยชน์ในศาสตร์ทางด้านความน่าจะเป็นและสถิติ ซึ่งเป็นหัวข้อที่เราต้องการศึกษาในงานวิจัยครั้งนี้ งานวิจัยแรกของการประมาณการแจกแจงของตัวแปรสุ่มด้วยการแจกแจงเรขาคณิตโดยใช้วิธีของสไตน์นำเสนอโดย Barbour and Grübel (1995) เป็นงานวิจัยเกี่ยวกับปัญหาการค้นหาลมบวกแรกของลำดับจำนวนเต็มบวกแบบสุ่มด้วยการกำหนดตัวหาร (divisor) Peköz (1996) ได้ใช้วิธีของ สไตน์หาขอบเขตบนแบบเอกรูป (uniform upper bound) สำหรับการวัดความคลาดเคลื่อนในการประมาณเรขาคณิต (geometric approximation) ของตัวแปรสุ่มที่ใช้จำนวนความล้มเหลวก่อนเกิดความสำเร็จครั้งแรกในลำดับของการทดลองย่อยแบร์นูลลีที่ไม่เป็นอิสระต่อกัน (dependent Bernoulli trials) Brown and Phillips (1999) ใช้การแจกแจงเรขาคณิตไปประมาณการแจกแจงของผลรวมของตัวแปรสุ่มแบร์นูลลีโดยวิธีของสไตน์ แล้วนำผลลัพธ์ที่ได้ไปประยุกต์หาขอบเขตบนแบบเอกรูปของการประมาณการแจกแจงโพลยา (Pólya distribution) ในเวลาต่อมา Phillips and Weinberg (2000) ใช้วิธีของสไตน์หาขอบเขตบนแบบไม่เอกรูป (non-uniform upper bound) สำหรับประมาณการแจกแจงของผลรวมของตัวแปรสุ่มแบร์นูลลีด้วยการปรับขอบเขตบนของ Brown and Phillips (1999) ให้ดีขึ้น Teerapabolarn (2008) ได้ใช้วิธีของสไตน์และฟังก์ชัน w (functions- w) หาขอบเขตบนแบบเอกรูปของการประมาณการแจกแจงโพลยา ซึ่งดีกว่าขอบเขตบนของ Brown and Phillips (1999) และ Phillips and Weinberg (2000) และงานวิจัยล่าสุดของการประมาณเรขาคณิตคือ งานวิจัยของ Teerapabolarn (2011) เป็นการใช่วิธีของสไตน์และฟังก์ชัน w เพื่อหาขอบเขตบนแบบเอกรูปและไม่เอกรูปของการประมาณการแจกแจงของตัวแปรสุ่มที่มีค่าจำนวนเต็มไม่เป็นลบ (non-negative integer-valued random variable) ด้วยการแจกแจงเรขาคณิต อย่างไรก็ตามขอบเขตบนที่ได้กล่าวถึงทั้งหมดเป็นขอบเขตบนสำหรับระยะห่างของความแตกต่างรวม (total variation distance) และขอบเขตบนสำหรับผลต่างระหว่างฟังก์ชันการแจกแจงสะสม ในการศึกษาครั้งนี้เราจะใช้วิธีของสไตน์และฟังก์ชัน w เพื่อหาผลลัพธ์ของการประมาณการแจกแจง

ของตัวแปรสุ่มที่มีค่าจำนวนเต็มไม่เป็นลบด้วยการแจกแจงเรขาคณิต โดยแสดงอยู่ในรูปของเมตริกแบบจุด (point metric) ระหว่างฟังก์ชันการแจกแจงความน่าจะเป็นสองฟังก์ชันพร้อมด้วยขอบเขตบนแบบไม่เอกรูป

ให้ X เป็นตัวแปรสุ่มที่มีค่าจำนวนเต็มไม่เป็นลบ โดยมีฟังก์ชันการแจกแจงความน่าจะเป็น $p_X(x) > 0$ สำหรับทุก $x \in S(x)$ เมื่อ $S(x)$ คือเซตค้ำจุน (support) ของ X และให้ μ และ $\sigma^2 (0 < \sigma^2 < \infty)$ เป็นค่าคาดหวังและความแปรปรวนของ X ตามลำดับ เป็นที่ทราบกันว่าการแจกแจงของตัวแปรสุ่ม X สามารถประมาณได้ด้วยการแจกแจงวิศุตนาการแจกแจง เมื่อมีการกำหนดพารามิเตอร์ของการแจกแจงให้มีความสอดคล้องกันภายใต้เงื่อนไขที่เหมาะสม และด้วยเหตุผลดังกล่าวนี้เราอาจประมาณการแจกแจงของตัวแปรสุ่ม X ได้ด้วยการแจกแจงเรขาคณิตถ้าหากว่าการแจกแจงของตัวแปรสุ่ม X เข้าใกล้การแจกแจงเรขาคณิต (ภายใต้เงื่อนไขที่เหมาะสม) มากกว่าการแจกแจงอื่น ๆ ซึ่งจากการศึกษาเราทราบว่ามีการวิจัยบางส่วนเกี่ยวข้องกับการประมาณการแจกแจงของตัวแปรสุ่ม X ด้วยการแจกแจงเรขาคณิต เริ่มต้นด้วยงานวิจัยของ Brown and Phillips (1999) ซึ่งได้ใช้วิธีของสไตน์นำเสนอผลลัพธ์ของการประมาณเรขาคณิตสำหรับผลรวมของตัวแปรสุ่มแบร์นูลลี m ตัว คือ $X = \sum_{j=1}^m X_j$ ที่อยู่ในรูปของระยะห่างของความแตกต่างรวมพร้อมด้วยขอบเขตบนแบบเอกรูปดังนี้

$$\sup_{A \subseteq \mathbb{N} \cup \{0\}} |L(X)\{A\} - G\{A\}| \leq (2-p) \sum_{j=1}^m E(X_j) E \left| X + Z - X_j^* \right| \quad (2)$$

เมื่อ $L(X)\{A\} = \sum_{x \in A} p_X(x)$, $G\{A\} = \sum_{x \in A} pq^x$, $E(X) = \frac{q}{p}$, Z เป็นตัวแปรสุ่มเรขาคณิตที่มีพารามิเตอร์ p และเป็นอิสระจากตัวแปรสุ่ม X และ X_j^* เป็นตัวแปรสุ่มที่มีการแจกแจงเหมือนกับตัวแปรสุ่ม $X - X_j$ บนเงื่อนไข $X_j = 1$ ในเวลาต่อมา Phillips and Weinberg (2000) ได้ปรับปรุงขอบเขตบนแบบเอกรูปของ (2) โดยใช้วิธีของสไตน์และได้ผลลัพธ์ที่ดีกว่าดังนี้

$$\sup_{A \subseteq \mathbb{N} \cup \{0\}} |L(X)\{A\} - G\{A\}| \leq (2-p) \sum_{j=1}^m E(X_j) E \left| \frac{X + Z - X_j^*}{X_j^* + 1} \right| \quad (3)$$

เราจะเห็นว่าขอบเขตบนในอสมการ (2) และ (3) สามารถใช้วัดความคลาดเคลื่อนระหว่างการแจกแจงของตัวแปรสุ่ม $X = \sum_{j=1}^m X_j$ และการแจกแจงเรขาคณิตเท่านั้น ซึ่งอาจจะไม่ง่ายในการนำไปประยุกต์ใช้ในกรณีที่ X เป็นตัวแปรสุ่มที่มีค่าจำนวนเต็มไม่เป็นลบในลักษณะอื่น ๆ ได้ ในกรณีนี้ Teerapabolarn (2011) ได้ใช้วิธีของสไตน์และฟังก์ชัน w ที่สัมพันธ์กับตัวแปรสุ่ม X นำเสนอผลลัพธ์ของการประมาณเรขาคณิตสำหรับการแจกแจงตัวแปรสุ่มที่มีค่าจำนวนเต็มไม่เป็นลบ X ดังนี้

$$\sup_{A \subseteq \mathbb{N} \cup \{0\}} |L(X)\{A\} - G\{A\}| \leq \sum_{k \in S(x) \setminus \{0\}} \frac{|(k+1)q - p\sigma^2 w(k)| p_X(k)}{k} + \left| \frac{q}{p} - \mu \right| [1 - p_X(0)q] \quad (4)$$

และสำหรับ $A = \{0, \dots, x_0\}$ โดยที่ $x_0 \in \mathbb{N} \cup \{0\}$ ผลลัพธ์ที่ได้อยู่ในรูปของผลต่างระหว่างฟังก์ชันการแจกแจงสะสมของตัวแปรสุ่ม X และตัวแปรสุ่มเรขาคณิตพร้อมด้วยขอบเขตบนทั้งแบบเอกรูปและไม่เอกรูปดังอสมการต่อไปนี้

$$|F(0) - G(0)| \leq \sum_{k \in S(x) \setminus \{0\}} \left| \frac{q - \frac{p\sigma^2 w(k)}{k(k+1)}}{k} \right| p_X(k) + |q - p\mu| \left\{ p_X(0) + \sum_{k \in S(x) \setminus \{0\}} \frac{p_X(k)}{k} \right\} \quad (5)$$

และเมื่อ $x_0 > 0$ จะได้

$$|F(x_0) - G(x_0)| \leq \sum_{k \in S(x)} \left| q - \frac{p\sigma^2 w(k)}{k+1} \right| p_X(k) + \left| \frac{q}{p} - \mu \right| \sum_{k \in S(x) \setminus \{0\}} \frac{p_X(k)}{k} \quad (6)$$

และในกรณีที่ $0 < q < 1/2$ จะได้ผลลัพธ์ที่มีขอบเขตบนแบบไม่เอกรูปเป็นดังนี้

$$|F(x_0) - G(x_0)| \leq \frac{1}{x_0 + 1} \left\{ \sum_{k \in S(x)} \left| (k+1)q - p\sigma^2 w(k) \right| p_X(k) + \left| \frac{q}{p} - \mu \right| [1 - p_X(0)] \right\} \quad (7)$$

โดยที่ $F(x_0) = \sum_{k=0}^{x_0} p_X(k)$ และ $G(x_0) = \sum_{k=0}^{x_0} pq^k$ คือ ฟังก์ชันการแจกแจงสะสมของตัวแปรสุ่ม X และตัวแปรสุ่มเรขาคณิตตามลำดับ

ให้ $A = \{x_0\}$ โดยที่ $x_0 \in \mathbb{N} \cup \{0\}$ และให้ $G(x_0) = pq^{x_0}$ เป็นฟังก์ชันการแจกแจงความน่าจะเป็นของตัวแปรสุ่ม เรขาคณิตที่ x_0 แล้วผลลัพธ์ในอสมการ (4) ที่อยู่ในรูปของเมตริกแบบจุดระหว่างฟังก์ชันการแจกแจงความน่าจะเป็นของตัวแปรสุ่ม X และตัวแปรสุ่มเรขาคณิตพร้อมด้วยขอบเขตบนแบบเอกรูปเป็นดังนี้

$$|p_X(x_0) - G(x_0)| \leq \sum_{k \in S(x) \setminus \{0\}} \frac{\left| (k+1)q - p\sigma^2 w(k) \right| p_X(k)}{k} + \left| \frac{q}{p} - \mu \right| [1 - p_X(0)q] \quad (8)$$

เราจะสังเกตได้ว่าขอบเขตบนทางด้านขวามือของอสมการ (8) ไม่มีการเปลี่ยนแปลงสำหรับทุกค่าของ $x_0 \in \mathbb{N} \cup \{0\}$ ซึ่งอาจทำให้การประมาณการแจกแจงข้างต้นไม่สอดคล้องกับค่าของ x_0 ที่เปลี่ยนไป แต่ถ้าขอบเขตบนทางด้านขวามือของอสมการ (8) สามารถเปลี่ยนแปลงไปตามค่าของ x_0 ในลักษณะที่ทำให้การประมาณการแจกแจงมีความถูกต้องมากขึ้นก็จะเป็นผลดีมากกว่า ในงานวิจัยนี้เราต้องการประมาณการแจกแจงของตัวแปรสุ่ม X ด้วยการแจกแจงเรขาคณิตในรูปแบบเช่นเดียวกับอสมการ (8) แต่ขอบเขตบนของการประมาณจะอยู่ในรูปแบบไม่เอกรูป ดังนั้นวัตถุประสงค์ของการวิจัยนี้ คือ หาขอบเขตบนไม่เอกรูปบนเมตริกแบบจุดระหว่างการแจกแจงของตัวแปรสุ่ม X และการแจกแจงเรขาคณิตที่มีพารามิเตอร์ p

วิธีดำเนินการวิจัย

ในการดำเนินการหาผลลัพธ์หลักที่อยู่ในรูปแบบที่คล้ายกับอสมการ (8) เราจะดำเนินการหาโดยใช้วิธีของสไตน์สำหรับการแจกแจงเรขาคณิตพร้อมด้วยฟังก์ชัน w ที่สัมพันธ์กับตัวแปรสุ่ม X เช่นเดียวกับในงานวิจัยของ Teerapabolarn (2011) ซึ่งเราควรเริ่มต้นด้วยการกำหนดรูปแบบของฟังก์ชัน w พร้อมด้วยสมบัติที่สำคัญของฟังก์ชัน w แล้วจึงสร้างบทตั้งที่จำเป็นสำหรับการพิสูจน์ทฤษฎีบทหลักต่อไป

ฟังก์ชัน w

Cacoullos and Papathanasiou (1989) ได้นิยามฟังก์ชัน w ที่สัมพันธ์กับตัวแปรสุ่มที่มีค่าจำนวนเต็มไม่เป็นลบ X ในรูปของความสัมพันธ์ดังนี้

$$w(x)p_X(x) = \frac{1}{\sigma^2} \sum_{i=0}^x (\mu - i)p_X(i), \quad x \in S(x) \quad (9)$$

และ Majsnierowska (1998) ได้ปรับรูปแบบความสัมพันธ์ในสมการ (9) ให้อยู่ในรูปของความสัมพันธ์เวียนเกิดดังนี้

$$w(x) = \frac{1}{\sigma^2} \left\{ \mu + \frac{\sigma^2 w(x-1)p_X(x-1)}{p_X(x)} - x \right\}, \quad x \in S(x) \setminus \{0\} \quad (10)$$

โดยที่ $w(0) = \frac{\mu}{\sigma^2}$ และ $p_X(x) > 0$ สำหรับทุก $x \in S(x)$

รูปแบบความสัมพันธ์ต่อไปนี้เป็นสมบัติที่สำคัญของฟังก์ชัน w สำหรับการหาผลลัพธ์หลักซึ่ง Cacoullos and Papathanasiou (1989) ได้กำหนดไว้ดังนี้

ถ้าตัวแปรสุ่มที่มีค่าจำนวนเต็มไม่เป็นลบ X มี $p_X(x) > 0$ สำหรับทุก $x \in S(x)$ และมีความแปรปรวน $0 < \sigma^2 < \infty$ แล้ว

$$E[(X - \mu)g(X)] = \sigma^2 E[w(X)\Delta g(X)] \quad (11)$$

สำหรับฟังก์ชัน $g: \mathbb{N} \cup \{0\} \rightarrow \mathbb{N}$ ซึ่งทำให้ $E|w(X)\Delta g(X)| < \infty$ โดยที่ $\Delta g(X) = g(X+1) - g(X)$ และเราจะสังเกตได้ว่า $E[w(X)] = 1$ (โดยกำหนด $g(x) = x$)

วิธีของสไตน์สำหรับการแจกแจงเรขาคณิต

วิธีของสไตน์ได้เริ่มต้นนำเสนอครั้งแรกโดย Stein (1972) ซึ่งใช้ในการประมาณการแจกแจงของผลรวมของตัวแปรสุ่มที่มีความสัมพันธ์กัน (dependent random variables) ด้วยการแจกแจงปกติ (normal distribution) ต่อมา Chen (1975) ได้ปรับและพัฒนาวิธีของสไตน์แบบเดิมมาสู่การประมาณการแจกแจงของผลรวมของตัวแปรสุ่มแบร์นูลลีที่สัมพันธ์กัน (dependent Bernoulli random variables) ด้วยการแจกแจงปัวซอง (Poisson distribution) และวิธีของสไตน์สำหรับการแจกแจงเรขาคณิต Brown and Phillips (1999) ได้สร้างสมการของสไตน์สำหรับการแจกแจงเรขาคณิตที่มีพารามิเตอร์ $p = 1 - q \in (0, 1)$ (เมื่อกำหนดฟังก์ชัน h) เป็นดังนี้

$$h(x) - G_p(h) = q(1+x)g(x+1) - xg(x) \quad (12)$$

โดยที่ $G_p(h) = \sum_{k=0}^{\infty} pq^k h(k)$ และ g และ h เป็นฟังก์ชันค่าจริงที่มีขอบเขตที่นิยามบน $\mathbb{N} \cup \{0\}$

สำหรับ $A \subseteq \mathbb{N} \cup \{0\}$ ให้ $h_A: \mathbb{N} \cup \{0\} \rightarrow \mathbb{N}$ เป็นฟังก์ชันที่กำหนดโดย

$$h_A(x) = \begin{cases} 1, & x \in A \\ 0, & x \notin A \end{cases} \quad (13)$$

และสำหรับ $x_0 \in \mathbb{N} \cup \{0\}$ ให้ $A = \{x_0\}$ และ $C_x = \{0, \dots, x\}$ ดังนั้นโดย Brown and Phillips (1999) และ Teerapabolarn (2011) เราสามารถเขียนผลเฉลย $g_{x_0} = g_{\{x_0\}}$ ของสมการ (12) ได้ดังนี้

$$g_{x_0}(x) = \begin{cases} -\frac{1}{xpq^x} G_p(h_{x_0}) G_p(h_{C_{x-1}}) & , 1 \leq x \leq x_0 \\ \frac{1}{xpq^x} G_p(h_{x_0}) G_p(1 - h_{C_{x-1}}) & , x > x_0 \\ 0 & , x = 0 \end{cases} \quad (14)$$

ต่อไปเราจะสร้างบทตั้งที่แสดงสมบัติที่สำคัญของฟังก์ชัน g_{x_0} เพื่อที่จะนำไปใช้ในการพิสูจน์ทฤษฎีบทซึ่งเป็นผลลัพธ์หลักของงานวิจัยในครั้งนี้

บทตั้ง 1. ให้ $x_0 \in \mathbb{N} \cup \{0\}$ และ $x \in \mathbb{N}$ แล้วเราจะได้ว่า

- (1) g_{x_0} เป็นฟังก์ชันที่น้อยกว่าศูนย์และเป็นฟังก์ชันลดสำหรับทุก $x \leq x_0$
- (2) g_{x_0} เป็นฟังก์ชันที่มากกว่าศูนย์และเป็นฟังก์ชันลดสำหรับทุก $x > x_0$

พิสูจน์ (1) จากสมการ (14) เราจะเห็นได้ชัดว่า g_{x_0} เป็นฟังก์ชันที่น้อยกว่าศูนย์สำหรับทุก $x \leq x_0$ ต่อไปเราจะแสดงว่า g_{x_0} เป็นฟังก์ชันลดสำหรับทุก $x \leq x_0$ นั่นคือเราต้องแสดง $g_{x_0}(x+1) - g_{x_0}(x) < 0$ เมื่อ $x+1 \leq x_0$ ซึ่งจากสมการ (14) เราจะได้ว่า

$$\begin{aligned} g_{x_0}(x+1) - g_{x_0}(x) &= -\frac{1}{(x+1)pq^{x+1}} G_p(h_{x_0}) G_p(h_{C_x}) + \frac{1}{xpq^x} G_p(h_{x_0}) G_p(h_{C_{x-1}}) \\ &= -\frac{pq^{x_0}}{pq^x} \left[\frac{1}{(x+1)q} \sum_{j=0}^x pq^j - \frac{1}{x} \sum_{k=0}^{x-1} pq^k \right] \\ &= -\frac{pq^{x_0}}{q^{x+1}x(x+1)} \left[x \sum_{j=0}^x q^j - (x+1) \sum_{k=0}^{x-1} q^{k+1} \right] \\ &= -\frac{pq^{x_0}}{q^{x+1}x(x+1)} \left[x \sum_{j=0}^x q^j - (x+1) \sum_{k=1}^x q^k \right] \\ &= -\frac{pq^{x_0}}{q^{x+1}x(x+1)} \left[x - \sum_{k=1}^x q^k \right] \\ &< 0 \end{aligned}$$

ดังนั้นเราจะได้ว่า g_{x_0} เป็นฟังก์ชันที่น้อยกว่าศูนย์และเป็นฟังก์ชันลดสำหรับทุก $x \leq x_0$ ตามที่ต้องการ

(2) จากสมการ (14) เราจะเห็นได้ชัดว่า g_{x_0} เป็นฟังก์ชันที่มากกว่าศูนย์สำหรับทุก $x > x_0$ ต่อไปเราจะแสดงว่า g_{x_0} เป็นฟังก์ชันลดสำหรับทุก $x > x_0$ นั่นคือ เราต้องแสดง $g_{x_0}(x+1) - g_{x_0}(x) < 0$ เมื่อ $x+1 \leq x_0$ ซึ่งจากสมการ (14) เราจะได้ว่า

$$\begin{aligned} g_{x_0}(x+1) - g_{x_0}(x) &= \frac{1}{(x+1)pq^{x+1}} G_p(h_{x_0})G_p(1-h_{C_x}) - \frac{1}{xpq^x} G_p(h_{x_0})G_p(1-h_{C_{x-1}}) \\ &= \frac{pq^{x_0}}{pq^x} \left[\frac{1}{(x+1)q} \sum_{k=x+1}^{\infty} pq^k - \frac{1}{x} \sum_{j=x}^{\infty} pq^j \right] \\ &= \frac{q^{x_0}}{x(x+1)q^x} \left[x \sum_{k=x}^{\infty} pq^k - (x+1) \sum_{j=x}^{\infty} pq^j \right] \\ &= -\frac{q^{x_0}}{x(x+1)} \left[\sum_{j=x}^{\infty} pq^{j-x} \right] \\ &= -\frac{q^{x_0}}{x(x+1)} \\ &< 0 \end{aligned}$$

ดังนั้นเราจะได้ว่า g_{x_0} เป็นฟังก์ชันที่มากกว่าศูนย์และเป็นฟังก์ชันลดสำหรับทุก $x > x_0$ ตามที่ต้องการ $\square$

บทตั้ง 2. สำหรับ $x_0, x \in \mathbb{N}$ ให้ $\Delta g_{x_0}(x) = g_{x_0}(x+1) - g_{x_0}(x)$ แล้วสมการต่อไปนี้เป็นจริง

$$|g_{x_0}(x)| \leq \min \left\{ \frac{1}{x_0}, \frac{1}{x} \right\} \quad (17)$$

และ

$$|\Delta g_{x_0}(x)| \leq \min \left\{ \frac{1}{x_0}, \frac{1}{x} \right\} \quad (18)$$

พิสูจน์ 1. เราจะพิสูจน์ว่า $|g_{x_0}(x)| \leq \frac{1}{x_0}$ และ $|\Delta g_{x_0}(x)| \leq \frac{1}{x_0}$

โดยบทตั้ง 1 g_{x_0} เป็นฟังก์ชันที่น้อยกว่าศูนย์และเป็นฟังก์ชันลดสำหรับทุก $x \in \{1, \dots, x_0\}$ และ g_{x_0} เป็นฟังก์ชันที่มากกว่าศูนย์ และเป็นฟังก์ชันลดสำหรับ $x \in \{x_0+1, x_0+2, \dots\}$ ดังนั้น เราจะได้ว่า $|g_{x_0}(x)| \leq g_{x_0}(x_0+1) - g_{x_0}(x_0)$ และ $|\Delta g_{x_0}(x)| \leq g_{x_0}(x_0+1) - g_{x_0}(x_0)$ และจากสมการ (14) เราจะได้ว่า

$$\begin{aligned} g_{x_0}(x_0+1) - g_{x_0}(x_0) &= \frac{1}{(x_0+1)pq^{x_0+1}} G_p(h_{x_0})G_p(1-h_{C_{x_0}}) + \frac{1}{x_0pq^{x_0}} G_p(h_{x_0})G_p(h_{C_{x_0-1}}) \\ &= \frac{1}{x_0+1} \sum_{j=x_0+1}^{\infty} pq^{j-1} + \frac{1}{x_0} \sum_{j=0}^{x_0-1} pq^j \\ &= \frac{1}{x_0(x_0+1)} \left[x_0 \sum_{j=x_0}^{\infty} pq^j + (x_0+1) \sum_{j=0}^{x_0-1} pq^j \right] \end{aligned}$$

$$\begin{aligned}
 &= \frac{1}{x_0(x_0+1)} \left[x_0 + \sum_{j=0}^{x_0-1} pq^j \right] \\
 &\leq \frac{1}{x_0}
 \end{aligned} \tag{19}$$

ซึ่งทำให้ได้ว่า $|g_{x_0}(x)| \leq \frac{1}{x_0}$ และ $|\Delta g_{x_0}(x)| \leq \frac{1}{x_0}$

2. เราจะพิสูจน์ว่า $|g_{x_0}(x)| \leq \frac{1}{x}$ และ $|\Delta g_{x_0}(x)| \leq \frac{1}{x}$

จากสมการ (14) สำหรับ $x \leq x_0$ เราจะได้ $|g_{x_0}(x)| = \frac{1}{xpq^x} G_p(h_{x_0}) G_p(h_{C_{x-1}}) \leq \frac{G_p(h_{C_{x-1}})}{x} \leq \frac{1}{x}$ และ

สำหรับ $x > x_0$ เราได้ $|g_{x_0}(x)| = \frac{1}{xpq^x} G_p(h_{x_0}) G_p(1-h_{C_{x-1}}) = \frac{q^{x_0}}{x} \sum_{j=x}^{\infty} pq^{j-x} \leq \frac{1}{x}$ เพราะฉะนั้น $|g_{x_0}(x)| \leq \frac{1}{x}$

โดยบทตั้ง 1 เมื่อ $x \neq x_0$ เราจะได้ว่า $|\Delta g_{x_0}(x)| \leq \frac{1}{x}$ และเราจะได้ $|\Delta g_{x_0}(x)| = \Delta g_x(x) \leq \frac{1}{x}$ เมื่อ $x = x_0$

(โดยแทนค่า x_0 ด้วย x ในสมการ (19)) เพราะฉะนั้น $|\Delta g_{x_0}(x)| \leq \frac{1}{x}$

ดังนั้นจากการพิสูจน์ทั้งสองกรณีเราจะได้ว่าสมการ (17) และ (18) เป็นจริง $\square$

ผลการวิจัย

ผลการวิจัยที่เราต้องการ คือ ผลลัพธ์ของการประมาณการแจกแจงของตัวแปรสุ่มที่มีค่าจำนวนเต็มไม่เป็นลบ ด้วยการแจกแจงเรขาคณิต ในรูปของเมตริกแบบจุดระหว่างการแจกแจงทั้งสองพร้อมด้วยขอบเขตบนแบบไม่เอกรูป และทฤษฎีบทต่อไปนี้ เป็นผลลัพธ์ของการประมาณดังกล่าว

ทฤษฎีบท 1. ให้ X เป็นตัวแปรสุ่มที่มีค่าจำนวนเต็มไม่เป็นลบดังที่ได้นิยามมาแล้วข้างต้น และมี $w(X)$ เป็นฟังก์ชัน w ที่สมนัยกับตัวแปรสุ่ม X แล้วสมการต่อไปนี้ เป็นจริง

(1) สำหรับ $x_0 = 0$

$$|p_X(0) - G(0)| \leq \sum_{x \in S(x) \setminus \{0\}} \left| \frac{q}{x} - \frac{p\sigma^2 w(x)}{x(x+1)} \right| p_X(x) + |q - p\mu| \left\{ p_X(0) + \sum_{x \in S(x) \setminus \{0\}} \frac{p_X(x)}{x} \right\} \tag{20}$$

ถ้า $\mu = \frac{q}{p}$ แล้วจะได้ว่า

$$|p_X(0) - G(0)| \leq \sum_{x \in S(x) \setminus \{0\}} \left| \frac{q}{x} - \frac{p\sigma^2 w(x)}{x(x+1)} \right| p_X(x) \tag{21}$$

(2) สำหรับ $x_0 \in \mathbb{N}$

$$\begin{aligned} |p_X(x_0) - G(x_0)| &\leq \sum_{x \in S(x) \setminus \{0\}} \min\left\{\frac{1}{x_0}, \frac{1}{x}\right\} |(x+1)q - p\sigma^2 w(x)| p_X(x) \\ &\quad + |q - p\mu| \left\{ p_X(0) + \sum_{x \in S(x) \setminus \{0\}} \min\left\{\frac{1}{x_0}, \frac{1}{x}\right\} p_X(x) \right\} \end{aligned} \quad (22)$$

ถ้า $\mu = \frac{q}{p}$ แล้วจะได้ว่า

$$|p_X(x_0) - G(x_0)| \leq \sum_{x \in S(x) \setminus \{0\}} \min\left\{\frac{1}{x_0}, \frac{1}{x}\right\} |(x+1)q - p\sigma^2 w(x)| p_X(x) \quad (23)$$

พิสูจน์ (1) ได้มาจากทฤษฎีบท 2.2 ของ Teerapabolarn (2011)

(2) จากสมการสโตกซ์ (12) เมื่อแทน h ด้วย h_{x_0} ($x_0 \in \mathbb{N}$) และ x ด้วย X แล้วหาค่าคาดหวังตลอดสมการเราจะได้ว่า

$$\begin{aligned} p_X(x_0) - G(x_0) &= E[q(1+X)g_{x_0}(X+1) - Xg_{x_0}(X)] \\ &= E[qg_{x_0}(X+1) + qXg_{x_0}(X+1) - Xg_{x_0}(X)] \\ &= E[qg_{x_0}(X+1) + qX\Delta g_{x_0}(X) - pXg_{x_0}(X)] \\ &= qE[g_{x_0}(X+1)] + qE[X\Delta g_{x_0}(X)] - pE[Xg_{x_0}(X)] \\ &= qE[g_{x_0}(X+1)] + qE[X\Delta g_{x_0}(X)] - p\{E[(X-\mu)g_{x_0}(X)] + \mu E[g_{x_0}(X)]\} \\ &= qE[\Delta g_{x_0}(X)] + qE[X\Delta g_{x_0}(X)] + (q-p\mu)E[g_{x_0}(X)] - pE[(X-\mu)g_{x_0}(X)] \end{aligned}$$

โดยที่ g_{x_0} เป็นฟังก์ชันในสมการ (14)

เนื่องจาก $E[w(X)] = 1$ และโดยบทตั้ง 2 เราจะได้ว่า $E[w(X)\Delta g_{x_0}(X)] < \infty$ ดังนั้นโดยสมการ (11) เราจะได้ว่า

$$\begin{aligned} |p_X(x_0) - G(x_0)| &= |qE[\Delta g_{x_0}(X)] + qE[X\Delta g_{x_0}(X)] + (q-p\mu)E[g_{x_0}(X)] - p\sigma^2 E[w(X)\Delta g_{x_0}(X)]| \\ &\leq E\left[|(1+X)q - p\sigma^2 w(X)| |\Delta g_{x_0}(X)|\right] + |q-p\mu| E[g_{x_0}(X)] \\ &= \sum_{x \in S(x)} |(1+x)q - p\sigma^2 w(x)| |\Delta g_{x_0}(x)| p_X(x) + |q-p\mu| \sum_{x \in S(x)} |g_{x_0}(x)| p_X(x) \end{aligned}$$

เพราะฉะนั้น โดยใช้บทตั้ง 2 เราจะได้ผลลัพธ์ตามที่ต้องการ □

การประยุกต์

เราจะนำผลลัพธ์ที่ได้ในทฤษฎีบท 1 ไปประยุกต์ใช้กับการประมาณการแจกแจงของตัวแปรสุ่มที่มีค่าจำนวนเต็มไม่เป็นลบด้วยการแจกแจงเรขาคณิต ซึ่งการแจกแจงของตัวแปรสุ่มที่มีค่าจำนวนเต็มไม่เป็นลบที่เราจะนำมาประมาณนั้น ได้แก่ การแจกแจงเรขาคณิตบีตา การแจกแจงโพลยา และการแจกแจงปัวซอง ดังนี้

การแจกแจงเรขาคณิตบีตา (beta-geometric distribution)

ในกรณีที่พารามิเตอร์ p ของการแจกแจงเรขาคณิตมีการแจกแจงบีตาที่มี $\alpha > 0$ และ $\beta > 0$ เป็นพารามิเตอร์ เราจะเรียกการแจกแจงแบบนี้ว่า การแจกแจงเรขาคณิตบีตา ที่มีพารามิเตอร์ α และ β นั่นคือ การแจกแจงเรขาคณิตแบบปรกติทั่วไป p จะมีค่าคงตัวในแต่ละการทดลองย่อยเบอร์นูลลี แต่ในการแจกแจงเรขาคณิตบีตา p จะมีค่าเปลี่ยนแปลงในแต่ละการทดลองย่อยเบอร์นูลลี ให้ X เป็นตัวแปรสุ่มเรขาคณิตบีตาที่มีฟังก์ชันการแจกแจงความน่าจะเป็นดังนี้

$$p_X(x) = \frac{\alpha\Gamma(\beta+x)\Gamma(\alpha+\beta)}{\Gamma(\beta)\Gamma(\alpha+\beta+x+1)} \quad \text{เมื่อ } x=0,1,\dots$$

โดยมีค่าเฉลี่ยและความแปรปรวนของ X เป็น $\mu = \frac{\beta}{\alpha-1}$ และ $\sigma^2 = \frac{\alpha\beta(\alpha+\beta-1)}{(\alpha-2)(\alpha-1)^2}$ และโดยใช้ความสัมพันธ์เวียนเกิดในสมการ (10) เราจะได้ $w(x) = \frac{(x+1)(\beta+x)}{(\alpha-1)\sigma^2}$ เมื่อ $x=0,1,\dots$ คือ ฟังก์ชัน w ที่มีความสัมพันธ์กับตัวแปรสุ่มเรขาคณิตบีตา และบทแทรกต่อไปนี้จะแสดงผลของการประยุกต์ใช้ผลลัพธ์ในทฤษฎีบท 1

บทแทรก 1. ให้ $\mathcal{B}G(x_0)$ เป็นฟังก์ชันการแจกแจงความน่าจะเป็นของตัวแปรสุ่มเรขาคณิตบีตาที่มีพารามิเตอร์ α และ β ที่ $x_0 \in \mathbb{N} \cup \{0\}$ ถ้า $p = \frac{\alpha-1}{\alpha+\beta-1}$ และ $\alpha > 2$ แล้วเราจะได้ว่า

$$|\mathcal{B}G(x_0) - G(x_0)| \leq \begin{cases} \frac{\beta}{(\alpha+\beta-1)(\alpha+\beta)} & , x_0 = 0 \\ \frac{\beta}{\alpha-1} \min \left\{ \frac{2\alpha+\beta-1}{(\alpha+\beta-1)(\alpha+\beta)}, \frac{2}{(\alpha-2)x_0} \right\} & , x_0 > 0 \end{cases} \quad (24)$$

พิจารณาผลลัพธ์ในสมการ (24) เราจะเห็นว่าฟังก์ชันการแจกแจงความน่าจะเป็นของตัวแปรสุ่มเรขาคณิตสามารถประมาณฟังก์ชันการแจกแจงความน่าจะเป็นของตัวแปรสุ่มเรขาคณิตบีตาได้ดีเมื่อ α มีค่ามาก และ β มีค่าน้อย

การแจกแจงโพลยา

สมมติว่ากล่องขนาดใหญ่ใบหนึ่งบรรจุลูกบอลสีแดง r ลูก และลูกบอลสีดำ $N-r$ ลูก สุ่มหยิบลูกบอลขึ้นมาหนึ่งลูกแล้วใส่กลับคืนลงในกล่องพร้อมด้วยลูกบอลสีแดงเท่ากับที่สุ่มได้อีกหนึ่งลูก สุ่มหยิบลูกบอลในลักษณะนี้เป็นจำนวน m ครั้ง ให้ X เป็นจำนวนครั้งที่สุ่มได้ลูกบอลสีแดง ดังนั้น X มีการแจกแจงโพลยา และในกรณีพิเศษที่ $r=1$ ฟังก์ชันการแจกแจงความน่าจะเป็นของ X เป็นดังนี้

$$p_X(x) = \frac{\binom{N+m-x-2}{m-x}}{\binom{N+m-1}{m}} \quad \text{เมื่อ } x=0,1,\dots,m$$

ค่าเฉลี่ยและความแปรปรวนของ X ในกรณีนี้ คือ $\mu = \frac{m}{N}$ และ $\sigma^2 = \frac{m(N+m)(N-1)}{(N+1)N^2}$ ตามลำดับ และโดยใช้ความสัมพันธ์เวียนเกิดในสมการ (10) เราจะได้ $w(x) = \frac{(x+1)(m-x)}{N\sigma^2}$ เมื่อ $x=0,1,\dots,m$ คือ ฟังก์ชัน w ที่มีความสัมพันธ์กับตัวแปรสุ่มโพลยา

บทแทรก 2. ให้ $\varphi_Y(x_0)$ เป็นฟังก์ชันการแจกแจงความน่าจะเป็นของตัวแปรสุ่มโพลยาที่มีพารามิเตอร์ N และ m ที่ $x_0 \in \mathbb{N} \cup \{0\}$ ถ้า $p = \frac{N}{N+m}$ แล้วเราจะได้ว่า

$$|\varphi_Y(x_0) - G(x_0)| \leq \begin{cases} \frac{m}{(N+m-1)(N+m)}, & x_0 = 0 \\ \frac{m}{N} \min \left\{ \frac{2N+m-1}{(N+m-1)(N+m)}, \frac{2}{(N+1)x_0} \right\}, & x_0 > 0 \end{cases} \quad (25)$$

จากผลลัพธ์ในสมการ (25) ฟังก์ชันการแจกแจงความน่าจะเป็นของตัวแปรสุ่มเรคาคลิตสามารถประมาณฟังก์ชันการแจกแจงความน่าจะเป็นของตัวแปรสุ่มโพลยาได้ดีเมื่อ N มีค่ามากและ m มีค่าน้อย

การแจกแจงปัวซอง

เป็นที่ทราบกันดีว่าการแจกแจงวิชุดหลายการแจกแจงสามารถประมาณได้ด้วยการแจกแจงปัวซอง เช่น การแจกแจงทวินาม (binomial distribution) การแจกแจงไฮเพอร์จีโอเมตริก (hypergeometric distribution) และการแจกแจงทวินามนิเสธ เป็นต้น ในหัวข้อนี้เราต้องการศึกษาการประมาณในลักษณะตรงข้าม นั่นคือ เราจะใช้การแจกแจงเรคาคลิตประมาณการแจกแจงปัวซอง ให้ X เป็นตัวแปรสุ่มปัวซองที่มีค่าเฉลี่ยหรือพารามิเตอร์ λ ซึ่งมีฟังก์ชันการแจกแจงความน่าจะเป็นดังนี้

$$p_X(x) = \frac{e^{-\lambda} \lambda^x}{x!} \quad \text{เมื่อ } x=0,1,\dots$$

ค่าเฉลี่ยและความแปรปรวนของ X มีค่าเท่ากัน คือ λ และโดยใช้ความสัมพันธ์เวียนเกิดในสมการ (10) เราจะได้ $w(x)=1$ สำหรับทุก $x \in \mathbb{N} \cup \{0\}$ คือ ฟังก์ชัน w ที่มีความสัมพันธ์ตัวแปรสุ่มปัวซอง

บทแทรก 3. ให้ $\varphi(x_0)$ เป็นฟังก์ชันการแจกแจงความน่าจะเป็นของตัวแปรสุ่มปัวซองที่มีพารามิเตอร์ λ ที่ $x_0 \in \mathbb{N} \cup \{0\}$ ถ้า $p = \frac{1}{1+\lambda}$ แล้วเราจะได้ว่า

$$|\varphi(x_0) - G(x_0)| \leq \begin{cases} \frac{1 - e^{-\lambda}(1 + \lambda)}{1 + \lambda}, & x_0 = 0 \\ \frac{\lambda}{1 + \lambda} \min \left\{ 1 - e^{-\lambda}, \frac{\lambda}{x_0} \right\}, & x_0 > 0 \end{cases} \quad (26)$$

เราจะเห็นได้ว่าฟังก์ชันการแจกแจงความน่าจะเป็นของตัวแปรสุ่มปัวซองสามารถประมาณได้ด้วยฟังก์ชันการแจกแจงความน่าจะเป็นของตัวแปรสุ่มเรคาณิตเมื่อ λ มีค่าน้อย โดยเฉพาะอย่างยิ่งในกรณีที่ $\lambda < 1$ เราอาจใช้การแจกแจงเรคาณิตประมาณการแจกแจงที่เกี่ยวข้องอื่น ๆ โดยการประมาณผ่านการแจกแจงปัวซอง

สรุปผลการวิจัย

การศึกษครั้งนี้เราได้ใช้วิธีของสไตน์และฟังก์ชัน w หาผลลัพธ์ของการประมาณการแจกแจงของตัวแปรสุ่มที่มีค่าจำนวนเต็มไม่เป็นลบด้วยการแจกแจงเรคาณิตที่อยู่ในรูปของเมตริกแบบจุด (ผลต่างระหว่างฟังก์ชันการแจกแจงความน่าจะเป็น) พร้อมด้วยขอบเขตบนแบบไม่เอกรูป ซึ่งผลลัพธ์ดังกล่าวได้ปรับปรุงให้ดีขึ้นกว่าเดิมจากผลลัพธ์ที่เคยมีการศึกษามาก่อน นั่นคือ เราได้สร้างขอบเขตบนซึ่งเป็นตัววัดความถูกต้องของการประมาณให้มีความเหมาะสมมากขึ้นและสามารถเปลี่ยนแปลงไปตามค่าของ x_0 ต่าง ๆ กัน ดังนั้นขอบเขตบนแบบไม่เอกรูปสำหรับการประมาณเรคาณิตแบบจุดที่เราได้สร้างขึ้นมา สามารถใช้เป็นตัววัดความถูกต้องของการประมาณอีกแบบหนึ่งที่ดีกว่าเดิมและมีความเหมาะสมมากขึ้น ซึ่งทำให้เร้าตัดสินใจได้ดีขึ้นว่าจะยอมรับหรือปฏิเสธผลลัพธ์ของการประมาณการแจกแจงด้วยการแจกแจงเรคาณิต

เอกสารอ้างอิง

- Phillips, M. J., and Weinberg, G. V. (2000). Non-uniform bounds for geometric approximation. *Statist. Probab. Lett.* 49: 305-311.
- Barbour, A. D., and Grübel, R. (1995). The first divisible sum. *J. Theo. Probab.* 8: 39-47.
- Brown, T. C., and Phillips, M. J. (1999). Negative binomial approximation with Stein's method. *Meth. Comp. Appl. Probab.* 1: 407-421.
- Stein, C. M. (1972). A bound for the error in normal approximation to the distribution of a sum of dependent random variables. *Proc. Sixth Berkeley Sympos. Math. Statist. Probab.* 3: 583-602.
- Cacoullos, T., and Papathanasiou, V. (1989). Characterization of distributions by variance bounds. *Statist. Probab. Lett.* 7: 351-356.
- Teerapabolarn, K. (2008). On the geometric approximation to the P_{λ} distribution. *Int. Math. Forum.* 3: 1359-1362.
- Chen, L. H. Y. (1975). Poisson approximation for dependent trials. *Ann. Probab.* 3: 534-545.
- Teerapabolarn, K. (2011). Non uniform bounds on geometric approximation via Stein's method and w -functions. *Comm. Statist. Theory Meth.* 40: 145-158.
- Majsnerowska, M. (1998). A note on Poisson approximation by w -functions. *Appl. Math.* 25: 387-392.
- Peköz, E. (1996). Stein's method for geometric approximation. *J. Appl. Probab.* 33: 707-713.



การเปรียบเทียบวิธีการประมาณค่าข้อมูลสูญหาย สำหรับข้อมูลตัวแปรพหุ

A Comparison of Missing Data Estimation Methods for Multivariate Data

นำทิพย์ พนมไทย^{1*} บุญอ้อม โคมที¹ ประสิทธิ์ พยัคฆพงษ์¹

บทคัดย่อ

การวิจัยนี้มีวัตถุประสงค์เพื่อเปรียบเทียบวิธีการประมาณค่าข้อมูลสูญหายสำหรับข้อมูลตัวแปรพหุ 2 วิธี คือ Expectation Maximization Algorithm (EM) และ Regularized Expectation Maximization Algorithm (REM) เกณฑ์ที่ใช้ในการเปรียบเทียบคือ ค่าความคลาดเคลื่อนกำลังสองเฉลี่ย (MSE) ถ้าวิธีการประมาณค่าสูญหายวิธีใดให้ค่า MSE ต่ำสุด แสดงว่าวิธีนั้นมีประสิทธิภาพดีกว่า โดยข้อมูลที่ใช้ในการศึกษารั้งนี้ผู้วิจัยได้จำลองข้อมูล ด้วยเทคนิค มอนติคาร์โล จำแนกสถานการณ์โดยกำหนดจำนวนตัวแปรอิสระ (X) เป็น 3, 4, 5, 7 และตัวแปรตาม (Y) เป็น 2 และ 3 ขนาด ตัวอย่าง (n) เป็น 50 และ 100 และกำหนดให้ระดับความสัมพันธ์ระหว่างตัวแปรอิสระระดับสูง ($\rho = 0.7 - 0.9$) ตัวแปรตามมีข้อมูลสูญหายแบบสุ่ม (missing at random, MAR) ที่ระดับการสูญหาย ร้อยละ 10 20 และ 30 ดังนั้น ข้อมูลที่จำลองตามสถานการณ์ต่าง ๆ มีจำนวนทั้งสิ้น 48 สถานการณ์ โดยทำซ้ำแต่ละสถานการณ์จำนวน 1,000 ครั้ง ผลการศึกษาพบว่า กรณีจำนวนตัวแปรอิสระไม่มาก ($X = 3, 4$) ทุกขนาดตัวอย่าง ($n = 50, 100$) ที่ทุกระดับการสูญหาย วิธี EM เหมาะสมกว่าวิธี REM ส่วนกรณีที่จำนวนตัวแปรอิสระเพิ่มขึ้น ($X = 5, 7$) วิธี REM เป็นวิธีที่เหมาะสมกว่าวิธี EM ยกเว้นกรณีที่ตัวแปรอิสระเท่ากับ 5 ขนาดตัวอย่างเท่ากับ 100 ที่ทุกระดับการสูญหาย และกรณีตัวแปรอิสระเท่ากับ 7 ขนาดตัวอย่างเท่ากับ 50 และเปอร์เซ็นต์การสูญหายเท่ากับ 10

¹ ภาควิชาสถิติ คณะวิทยาศาสตร์ มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์ บางเขน กรุงเทพฯ 10900

* Corresponding Author, E-mail : chompoojaa2552@hotmail.com

Abstract

The purpose of this research is to compare missing data estimation methods for multivariate data between Expectation Maximization Algorithm (EM) and Regularized Expectation Maximization Algorithm (REM). The criterion of comparison is the mean squares error (MSE). The lower MSE indicates the higher effective estimation method. The datasets used in this study were simulated by the Monte Carlo technique. The comparisons were done under the conditions of independent variables (X) are 3, 4, 5, 7 and dependent variables (Y) are 2 and 3 ; sample sizes (n) are 50 and 100 with the high levels of correlations among independent variables ($\rho = 0.7 - 0.9$). The dependent variables were assigned to be missing at random (MAR) by 10%, 20% and 30% of missing data rates. These gave rise to a total of 48 possible situations with repeated 1,000 times under each situation. The results showed that in cases of 3, 4 independent variables, $n = 50, 100$, EM is better than REM for all levels of missing data rates. For 5, 7 independent variables, REM is better than EM, except for $X=5, n=100$ and all levels of missing data rates and for $X=7, n=50$ and 10% missing data rates.

คำสำคัญ : ข้อมูลสูญหาย วิธีการประมาณค่า อีเอ็มอัลกอริทึม เรกูลาไรซ์อีเอ็มอัลกอริทึม ความคลาดเคลื่อน กำลังสองเฉลี่ย

Key words : Missing data , Estimation method, Expectation Maximization Algorithm, Regularized Expectation Maximization Algorithm, Mean square error

บทนำ

การวิเคราะห์ข้อมูลในทางสถิติ อาจจำแนกวิธีการวิเคราะห์ตามจำนวนตัวแปรที่ศึกษาเป็น 2 ประเภทใหญ่ ๆ ด้วยกัน คือ การวิเคราะห์ทางสถิติที่ระดับตัวแปรเดียว (univariate statistical analysis) และการวิเคราะห์ทางสถิติระดับตัวแปรพหุ (multivariate statistical analysis) ซึ่งการวิเคราะห์ระดับตัวแปรพหุนั้น เป็นการเก็บรวบรวมข้อมูลที่ได้จากหน่วยตัวอย่างเดียวกัน ในทางปฏิบัติตัวแปรเหล่านั้นอาจมีความสัมพันธ์กันมากกว่า 2 ตัวแปร เช่น การศึกษาพฤติกรรมในหลาย ๆ ด้านกับข้อมูลส่วนบุคคล เช่น เพศ รายได้ อายุ และทัศนคติบางเรื่อง ที่ส่งผลต่อพฤติกรรม หรือด้านการแพทย์ เช่น การศึกษาโรคหัวใจกับอายุ น้ำหนัก ปริมาณคอเรสเตอรอล การเป็นเบาหวาน ความดัน และกรรมพันธุ์ จะพบว่า ตัวแปรเหล่านั้นทุกตัวอาจมีความสัมพันธ์กัน

ในการวิเคราะห์ข้อมูลระดับตัวแปรพหุ เมื่อพบว่าข้อมูลของตัวแปรบางค่าสูญหาย อาจส่งผลกระทบต่อขั้นตอนการวิเคราะห์ กล่าวคือ เมื่อพบว่าหน่วยวิเคราะห์ใดมีข้อมูลสูญหายไปแม้เพียงตัวเดียว ผู้ศึกษาอาจจะตัดหน่วยนั้นทิ้งทั้งหน่วย โดยไม่สนใจว่าจะยังมีตัวแปรตัวอื่นอีกมากที่มีข้อมูลครบถ้วนหรือไม่ (Heeringa, 2000) ซึ่งทำให้กลุ่มตัวอย่างมีขนาดน้อยลงและส่งผลต่ออำนาจการทดสอบและการประมาณค่าพารามิเตอร์มีความเอนเอียง (Roth, 1994) อีกทั้งการสรุปผลที่ได้จากกลุ่มตัวอย่างโดยอ้างอิงไปยังประชากรจะเกิดความคลาดเคลื่อนสูง

และสิ่งที่สำคัญคือทำให้สูญเสียรายละเอียดบางอย่างไปซึ่งอาจจะมีผลกระทบต่อผลสรุปของการวิเคราะห์นั้น ๆ (วารุณี ตรีบำรุงศักดิ์, 2538)

วิธีการจัดการข้อมูลสูญหายมีหลายวิธี เช่น การตัดทิ้ง (ignoring and discarding data) การแทนค่า (imputation) การนิยามโมเดล (model-based procedures) เป็นต้น ความแตกต่างของวิธีต่าง ๆ จะน้อยลงเมื่อขนาดของกลุ่มตัวอย่างมากขึ้น จำนวนข้อมูลสูญหายน้อยลง ตัวแปรที่มีข้อมูลสูญหายน้อย และความสัมพันธ์ระหว่างตัวแปรน้อยลง Schafer (1997) กล่าวว่า ถ้ามีจำนวนข้อมูลสูญหายน้อย กล่าวคือประมาณร้อยละ 5 ของจำนวนข้อมูลทั้งหมด การตัดหน่วยตัวอย่างออกไปจะไม่มีความหมายไร่นัก แต่ถ้าข้อมูลมีการสูญหายมากขึ้น การตัดข้อมูลออกจะทำให้ข้อมูลชุดนั้นไม่มีประสิทธิภาพ นั่นคือข้อมูลที่เหลืออยู่จะไม่เป็นตัวแทนที่ดีของประชากร Roth (1994) พบว่า การเลือกวิธีการจัดการข้อมูลสูญหายจะมีความสำคัญเมื่อจำนวนข้อมูลสูญหายอยู่ระหว่างร้อยละ 15-20 และจะมีความสำคัญมากที่สุดเมื่อจำนวนข้อมูลสูญหายมีมากขึ้นคือประมาณร้อยละ 30-40

จากเหตุผลดังกล่าวข้างต้นผู้วิจัยจึงสนใจที่จะศึกษาและเปรียบเทียบประสิทธิภาพของวิธีประมาณค่าสูญหายในชุดข้อมูลตัวแปรพหุ 2 วิธี ได้แก่ วิธีประมาณค่าสูญหายแบบ Expectation Maximization Algorithm (EM) และแบบ Regularized Expectation Maximization Algorithm (REM) ที่ตัวแปรอิสระมีความสัมพันธ์กันสูง ($p = 0.7 - 0.9$) ในสถานการณ์ต่าง ๆ ที่มีจำนวนตัวแปรตัวแปรอิสระ (X) เป็น 3 4 5 7 และตัวแปรตาม (Y) เป็น 2 และ 3 ขนาดตัวอย่าง (n) เป็น 50 และ 100 เมื่อตัวแปร Y มีการสูญหายแบบสุ่ม (Missing at Random, MAR) ที่ระดับการสูญหายร้อยละ 10 20 และ 30

วิธีการวิจัย

ในการศึกษาครั้งนี้ผู้วิจัยสนใจวิธีการประมาณค่าข้อมูลสูญหาย 2 วิธี คือ

2.1 Expectation Maximization Algorithm (EM)

วิธีนี้เป็นวิธีการหาค่าประมาณของค่าเฉลี่ยและความแปรปรวน โดยอาศัยกระบวนการวนซ้ำ (iterative procedure) ระหว่าง 2 ขั้นตอน คือ Expectation (E) และ Maximization (M) โดยมีข้อสมมติเบื้องต้น ดังนี้

1. ข้อมูลที่ใช้ต้องมีการแจกแจงแบบปกติพหุ (multivariate normal distribution)
2. การสูญหายของข้อมูลเป็นแบบ Missing at Random (MAR)

Little and Rubin (2002) ได้ประยุกต์วิธี EM โดยการประมาณค่าสูญหายด้วยการวิเคราะห์การถดถอยเชิงเส้นพหุ มีขั้นตอนดังนี้

1. จัดข้อมูลให้อยู่ในรูป

$$\begin{bmatrix} y_1 \\ y_2 \end{bmatrix}_{n \times 1} = \begin{bmatrix} X_1 \\ X_2 \end{bmatrix}_{n \times (p+1)} \beta + \varepsilon$$

เมื่อ y_1 คือ เวกเตอร์ของตัวแปรตามที่ไม่สูญหายขนาด $r \times 1$

y_2 คือ เวกเตอร์ของตัวแปรตามที่สูญหายขนาด $(n-r) \times 1$

X_1 คือ เมทริกซ์ของตัวแปรอิสระขนาด $r \times (p+1)$ เมื่อชุดข้อมูลของตัวแปรตามไม่สูญหาย

X_2 คือ เมทริกซ์ของตัวแปรอิสระขนาด $(n-r) \times (p+1)$ เมื่อชุดข้อมูลของตัวแปรตามสูญหาย

2. ประมาณค่าสัมประสิทธิ์การถดถอยเริ่มต้น β^0 โดยวิธี Ordinary Least Squares (OLS) จากชุดข้อมูลที่ตัวแปรตามไม่สูญหาย ดังนี้

$$\beta^0 = (X_1'X_1)^{-1}X_1'y_1$$

3. คำนวณ Expectation Step (E- Step) ในกระบวนการวนซ้ำรอบที่ 1 เพื่อประมาณค่าที่สูญหาย ดังนี้

$$E(y_i|X, y_1, \beta^0) = \begin{cases} y_i & ; i = 1, 2, \dots, r \\ X_2\beta^0 & ; i = r+1, r+2, \dots, n \end{cases}$$

4. แทนค่าข้อมูลสูญหายจากค่าที่ประมาณได้ใน E- Step แล้วคำนวณหาค่าประมาณของสัมประสิทธิ์การถดถอยใหม่ (β^1) โดยวิธี OLS ในขั้นนี้เรียกว่า Maximization step (M- Step) ในกระบวนการวนซ้ำรอบที่ 1

$$\beta^1 = (X_1'X_1)^{-1}X_1'y^1$$

เมื่อ y คือ เวกเตอร์รวมของตัวแปรตามที่ไม่สูญหายขนาด $r \times 1$ และค่าประมาณของตัวแปรตามขนาด $(n-r) \times 1$ ที่ได้จากการประมาณใน E-Step

5. คำนวณค่าสัมบูรณ์ของผลต่างระหว่างค่าสัมประสิทธิ์การถดถอยเริ่มต้น (β^0) กับค่าสัมประสิทธิ์การถดถอยรอบที่ 1 (β^1) เขียนแทนด้วย $|\beta^0 - \beta^1|$

6. จากข้อ 5 ค่าสัมบูรณ์ของผลต่างระหว่างค่าสัมประสิทธิ์การถดถอยเริ่มต้น (β^0) กับค่าสัมประสิทธิ์การถดถอยรอบที่ 1 (β^1) ทุกค่า ต้องมีค่ามากกว่าหรือเท่ากับ δ เขียนแทนด้วย $|\beta^0 - \beta^1| \geq \delta$ เมื่อ δ คือ เลขจำนวนจริงบวกที่ใช้ในการกำหนดความละเอียดของการคำนวณที่ผู้ศึกษาสามารถยอมรับได้โดยถ้าเงื่อนไข $|\beta^0 - \beta^1| \geq \delta$ เป็นจริงให้ทำขั้นตอนต่อไป ในทางตรงกันข้ามจะได้ค่าประมาณค่าสูญหายด้วย E-Step รอบที่ 1

หมายเหตุ สำหรับค่า δ นั้น ผู้ใช้ควรกำหนดให้เหมาะสมกับมาตรวัดของข้อมูลนั้น ๆ เช่น ถ้าข้อมูลที่มีระดับของมาตรวัดสูงเป็นกิโลเมตร อาจจะกำหนดค่า δ ไม่ละเอียดมากนัก โดยอาจใช้เท่ากับ 0.05 กิโลเมตรหรือ 0.01 กิโลเมตร ตามความเหมาะสมของค่าประมาณที่ยอมรับได้ ส่วนข้อมูลที่มีมาตรวัดเป็นเซนติเมตร ควรกำหนดค่า δ ให้ละเอียดเพิ่มขึ้น เช่น อาจเท่ากับ 0.0001 เซนติเมตร เป็นต้น

7. คำนวณ E- Step ในกระบวนการวนซ้ำรอบที่ k ; $k = 2, 3, \dots$

$$E(y_i|X, y_1, \beta^{k-1}) = \begin{cases} y_i & ; i = 1, 2, \dots, r \\ X_2\beta^{k-1} & ; i = r+1, r+2, \dots, n \end{cases}$$

8. คำนวณ M- Step ในกระบวนการวนซ้ำรอบที่ k ; $k = 2, 3, \dots$

$$\beta^k = (X_1'X_1)^{-1}X_1'y^k$$

9. คำนวณค่าสัมบูรณ์ของผลต่างระหว่างค่าสัมประสิทธิ์การถดถอยรอบที่ $k-1$ (β^{k-1}) กับค่าสัมประสิทธิ์การถดถอยรอบที่ k (β^k) หรือ $|\beta^{k-1} - \beta^k|$

10. ถ้าค่าสัมประสิทธิ์การถดถอยทุกค่าในขั้นตอนที่ 9 มากกว่า δ ให้กลับไปทำซ้ำขั้นที่ 7 ถึง 9 แต่ถ้าน้อยกว่า δ จะได้ค่าประมาณค่าที่สูญหายด้วย E-Step รอบสุดท้าย คือ $E(y_i|X, y, \beta^k)$ ซึ่งจะเป็นตัวประมาณภาวะน่าจะเป็นสูงสุด

2.2 Regularized Expectation Maximization Algorithm (REM)

Hoerl and Kennard (1970) ได้ทำการศึกษาและพัฒนาวิธีการประมาณค่าสัมประสิทธิ์การถดถอยเชิงเส้นพหุคูณที่ช่วยในการแก้ปัญหาการมีตัวแปรอิสระเกิดปัญหาภาวะร่วมเส้นตรง (multicollinearity) โดยไม่ต้องตัดตัวแปรอิสระออกจากตัวแบบ วิธีการนี้จะให้ค่าเฉลี่ยความคลาดเคลื่อนกำลังสองต่ำกว่าวิธี OLS โดยมีหลักการ คือ พยายามลดค่าเฉลี่ยของค่าความคลาดเคลื่อนกำลังสองของการประมาณ β ให้น้อยลงโดยวิธีรีดจ์เรสชัน (ridge regression, RR) ดังนี้

$$\hat{\beta}_{RR} = (X'X + cI)^{-1} X'Y, \text{ โดยที่ } c \text{ เป็นค่าคงที่ใด ๆ ที่ } c \geq 0, I \text{ เป็น เมทริกซ์เอกลักษณ์}$$

ในการประมาณค่าสัมประสิทธิ์การถดถอยพหุคูณด้วยวิธีรีดจ์เรสชันจะต้องเลือกค่า c ที่เหมาะสม ซึ่งจะให้ค่า MSE ต่ำเมื่อ $c_m = \frac{\sigma^2}{\beta_m' \beta_m}$ ซึ่งค่า c_m เกิดจากวิธีการคำนวณที่วนซ้ำรอบที่ m , เมื่อ $m = 1, 2, 3, \dots$ เมื่อต้องการค่า c เพียงค่าเดียว จึงหาค่า c จากค่าเฉลี่ยฮาร์โมนิก (harmonic mean) ของ c_m โดยที่

$$\frac{1}{c} = \frac{\sum (1/c_m)}{p} = \frac{\sum (\beta_m^2 / \sigma^2)}{p} = \frac{\sum \hat{\beta}_m^2}{p \sigma^2} \text{ จะได้ว่า } c = \frac{p \sigma^2}{\hat{\beta}' \hat{\beta}}$$

โดยที่ p คือ จำนวนตัวแปรอิสระ

$\hat{\beta}$ คือ เวกเตอร์ค่าประมาณสัมประสิทธิ์การถดถอยพหุคูณ โดยวิธี OLS

σ^2 คือ ค่าประมาณของความแปรปรวนโดยวิธี OLS

ซึ่งได้มีการแสดงให้เห็นว่าค่า MSE ของวิธีรีดจ์เรสชันลดลงจากวิธี OLS อย่างมีนัยสำคัญ

Schneider (2001) ได้ศึกษาวิธี REM Algorithm ซึ่งพัฒนาจาก EM Algorithm ประกอบด้วยขั้นตอนเหมือนกับ EM Algorithm ยกเว้นว่าในแต่ละรอบที่มีการวนซ้ำเพื่อหาค่าประมาณพารามิเตอร์ $\hat{\beta}^k = (X'X_1)^{-1} X'Y^k$ จะถูกประมาณด้วย $\hat{\beta}_{RR}^k = (X'X_1 + cI)^{-1} X'Y^k$

เนื่องจาก Schneider พบว่า การประมาณค่าสัมประสิทธิ์การถดถอยโดยวิธี OLS ด้วย $\hat{\beta}^k = (X'X_1)^{-1} X'Y^k$ สำหรับข้อมูลที่มีปัญหาภาวะร่วมเชิงเส้นตรง จะทำให้ค่าความคลาดเคลื่อนสูงขึ้น ดังนั้นจึงเลือกใช้การประมาณค่าสัมประสิทธิ์การถดถอยโดยวิธีรีดจ์เรสชัน นั่นคือ $\hat{\beta}_{RR}^k = (X'X_1 + cI)^{-1} X'Y^k$ ซึ่งทำให้มีความคลาดเคลื่อนน้อยกว่า

เกณฑ์ที่ใช้เปรียบเทียบ

งานวิจัยนี้ได้ทำการเปรียบเทียบประสิทธิภาพของวิธีการประมาณค่าสูญหายโดยพิจารณาจากค่า MSE ซึ่งวิธีการประมาณค่าสูญหายวิธีใดให้ค่า MSE ต่ำสุดแสดงว่าวิธีนั้นมีประสิทธิภาพดีกว่า สามารถคำนวณได้ดังนี้

$$MSE = \frac{1}{1,000} \sum_{j=1}^{1,000} \left(\frac{\sum_{i=1}^n (Y_{ij} - \hat{Y}_{ij})^2}{n} \right)$$

- เมื่อ n คือ จำนวนข้อมูลที่มีการสูญหาย
- $\hat{Y}_{ij}$ คือ ค่าประมาณของข้อมูลสูญหาย
- Y_{ij} คือ ค่าจริงของข้อมูล
- j คือ จำนวนรอบของการทำซ้ำ $j=1, 2, \dots, 1,000$

ผลการวิจัย

สำหรับผลการศึกษาค้างนี้ผู้วิจัยจะแบ่งเป็น 4 กรณีดังนี้

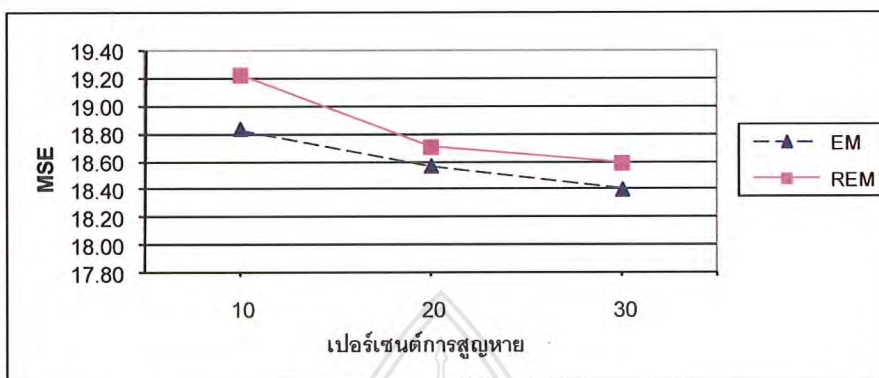
- 1. กรณีตัวแปรอิสระ 3 ตัว และตัวแปรตาม 2 ตัว

จากตารางที่ 1 และรูปที่ 1 สำหรับขนาดตัวอย่างเท่ากับ 50 ที่ทุกระดับการสูญหายของข้อมูล พบว่า วิธี EM ให้ค่า MSE ต่ำกว่าวิธี REM และเมื่อเปอร์เซ็นต์การสูญหายเพิ่มขึ้น ค่า MSE ของทั้ง 2 วิธีมีแนวโน้มลดลง สำหรับขนาดตัวอย่างเท่ากับ 100 ที่ทุกระดับการสูญหาย พบว่าวิธี REM ให้ค่า MSE ต่ำกว่าวิธี EM และเมื่อเปอร์เซ็นต์การสูญหายเพิ่มขึ้น ค่า MSE ของทั้ง 2 วิธี มีแนวโน้มเพิ่มขึ้น

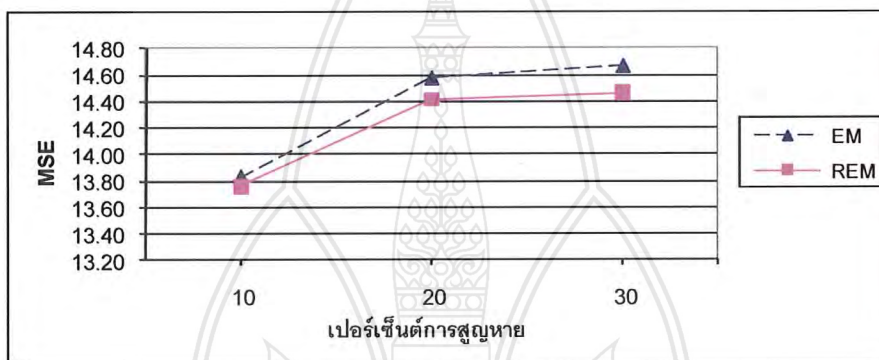
ตารางที่ 1 แสดงค่า MSE ของวิธีการประมาณค่าสูญหาย EM และ REM เมื่อมีตัวแปรอิสระ 3 ตัวและ ตัวแปรตาม 2 ตัว n = 50 และ 100

ขนาดตัวอย่าง	เปอร์เซ็นต์การสูญหาย	ค่า MSE	
		EM	REM
50	10	18.8324*	19.2234
	20	18.5694*	18.7039
	30	18.4017*	18.5894
100	10	13.8281	13.7582*
	20	14.5771	14.4136*
	30	14.6683	14.4644*

หมายเหตุ * ค่า MSE ที่มีค่าต่ำสุด



(ก) ขนาดตัวอย่างเท่ากับ 50



(ข) ขนาดตัวอย่างเท่ากับ 100

รูปที่ 1 แสดงค่า MSE ของวิธีการประมาณค่าสูญหาย EM และ REM เมื่อมีตัวแปรอิสระ 3 ตัวและ ตัวแปรตาม 2 ตัว $n = 50$ และ 100 จำแนกตามขนาดตัวอย่าง

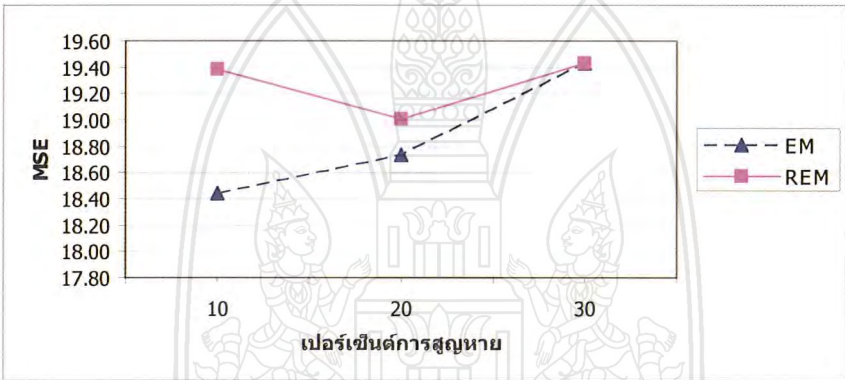
2. กรณีตัวแปรอิสระ 4 ตัว และตัวแปรตาม 2 ตัว

จากตารางที่ 2 และรูปที่ 2 สำหรับขนาดตัวอย่างเท่ากับ 50 ที่ทุกระดับการสูญหาย พบว่า วิธี EM ให้ค่า MSE ต่ำกว่าวิธี REM สำหรับขนาดตัวอย่างเท่ากับ 100 ที่ทุกระดับการสูญหาย พบว่า วิธี REM ให้ค่า MSE ต่ำกว่าวิธี EM และเมื่อเปอร์เซ็นต์การสูญหายเพิ่มขึ้น ค่า MSE ของทั้ง 2 วิธีมีแนวโน้มเพิ่มขึ้น

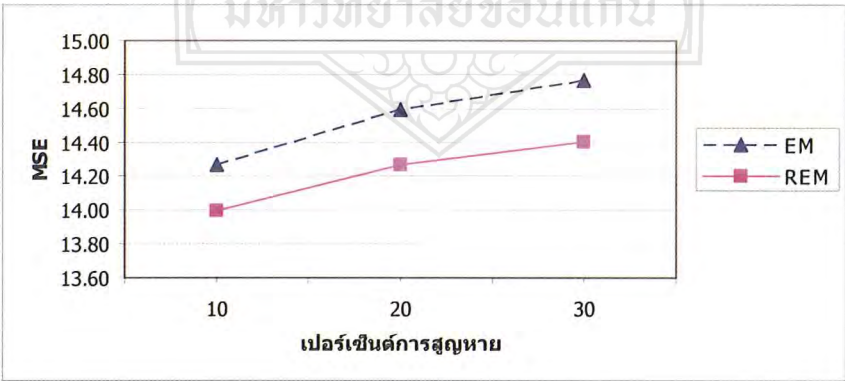
ตารางที่ 2 แสดงค่า MSE ของวิธีการประมาณค่าสูญหาย EM และ REM เมื่อมีตัวแปรอิสระ 4 ตัวและตัวแปรตาม 2 ตัว n = 50 และ 100

ขนาดตัวอย่าง	เปอร์เซ็นต์การสูญหาย	ค่า MSE	
		EM	REM
50	10	18.4424*	19.3831
	20	18.7327*	19.0086
	30	19.4335*	19.4341
100	10	14.2687	13.9948*
	20	14.5933	14.2700*
	30	14.7682	14.4047*

หมายเหตุ * ค่า MSE ที่มีค่าต่ำสุด



(ก) ขนาดตัวอย่างเท่ากับ 50



(ข) ขนาดตัวอย่างเท่ากับ 100

รูปที่ 2 แสดงค่า MSE ของวิธีการประมาณค่าสูญหาย EM และ REM เมื่อมีตัวแปรอิสระ 4 ตัวและ ตัวแปรตาม 2 ตัว n = 50 และ 100 จำแนกตามขนาดตัวอย่าง

3. กรณีตัวแปรอิสระ 5 ตัว และตัวแปรตาม 3 ตัว

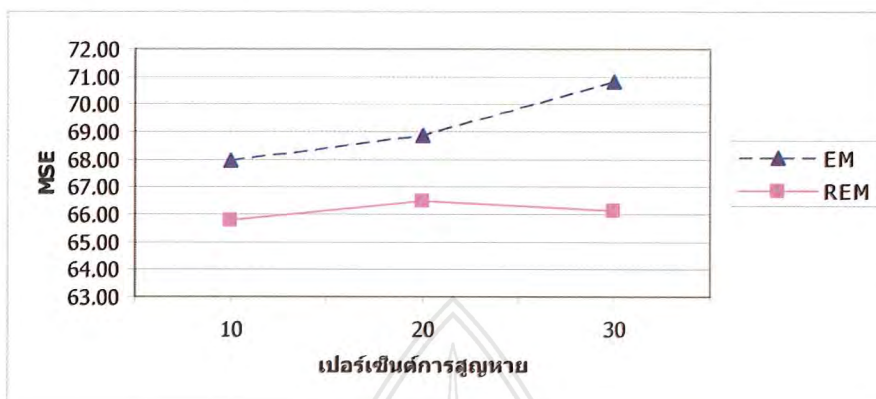
จากตารางที่ 3 และรูปที่ 3 สำหรับขนาดตัวอย่างเท่ากับ 50 ที่ทุกระดับการสูญหายของข้อมูล พบว่า วิธี REM ให้ค่า MSE ต่ำกว่าวิธี EM และเมื่อเปอร์เซ็นต์การสูญหายเพิ่มขึ้น ค่า MSE ของทั้ง 2 วิธีมีแนวโน้มเพิ่มขึ้น สำหรับขนาดตัวอย่างเท่ากับ 100 เมื่อเปอร์เซ็นต์การสูญหายเท่ากับ 10 และ 20 พบว่า วิธี EM ให้ค่า MSE ต่ำกว่าวิธี REM และเมื่อเปอร์เซ็นต์การสูญหายเพิ่มขึ้น ค่า MSE ของวิธี REM มีแนวโน้มลดลง

ตารางที่ 3 แสดงค่า MSE ของวิธีการประมาณค่าสูญหาย EM และ REM เมื่อมีตัวแปรอิสระ 5 ตัวและ ตัวแปรตาม 3 ตัว $n = 50$ และ 100

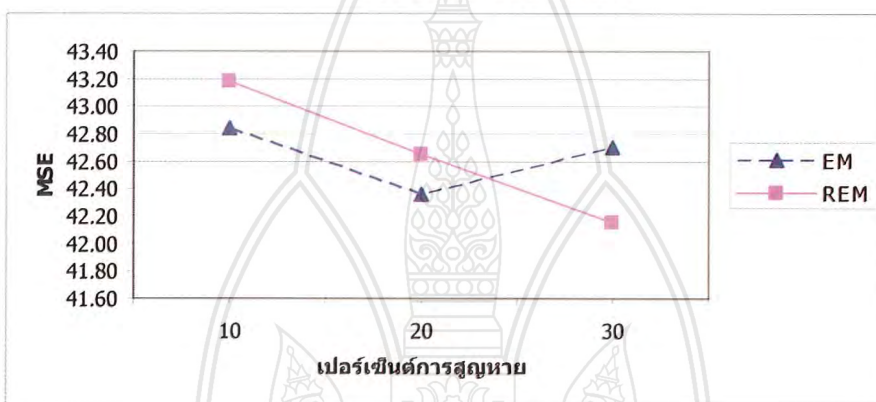
ขนาดตัวอย่าง	เปอร์เซ็นต์การสูญหาย	ค่า MSE	
		EM	REM
50	10	67.9531	65.8019*
	20	68.8602	66.4719*
	30	70.8009	66.1381*
100	10	42.8445*	43.1814
	20	42.3615*	42.6551
	30	42.7057	42.1616*

หมายเหตุ * ค่า MSE ที่มีค่าต่ำสุด

มหาวิทยาลัยขอนแก่น



(ก) ขนาดตัวอย่างเท่ากับ 50



(ข) ขนาดตัวอย่างเท่ากับ 100

รูปที่ 3 แสดงค่า MSE ของวิธีการประมาณค่าสูญหาย EM และ REM เมื่อมีตัวแปรอิสระ 5 ตัวและ ตัวแปรตาม 3 ตัว $n = 50$ และ 100 จำแนกตามขนาดตัวอย่าง

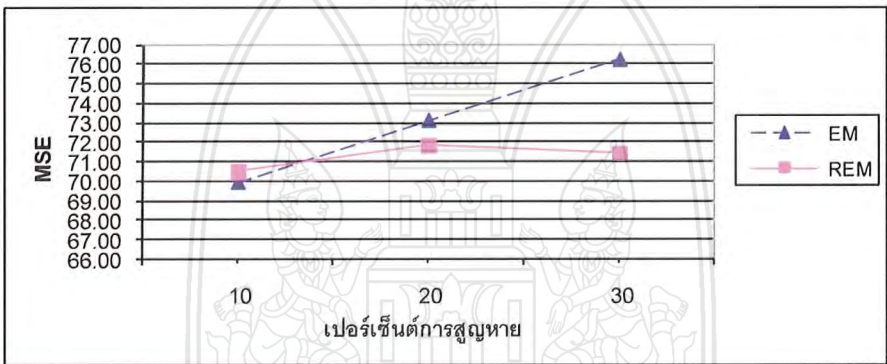
4. กรณีตัวแปรอิสระ 7 ตัว และตัวแปรตาม 3 ตัว

จากตารางที่ 4 และรูปที่ 4 สำหรับขนาดตัวอย่างเท่ากับ 50 เมื่อเปอร์เซ็นต์การสุ่มหายเท่ากับ 10 พบว่าวิธี EM ให้ค่า MSE ต่ำกว่าวิธี REM และเมื่อเปอร์เซ็นต์การสุ่มหายเพิ่มขึ้น วิธี REM ให้ค่า MSE ต่ำกว่าวิธี EM และมีแนวโน้มเพิ่มขึ้น สำหรับขนาดตัวอย่างเท่ากับ 100 ที่ทุกระดับการสุ่มหายของข้อมูล พบว่า วิธี REM ให้ค่า MSE ต่ำกว่าวิธี EM และเมื่อเปอร์เซ็นต์การสุ่มหายเพิ่มขึ้น ค่า MSE ของทั้ง 2 วิธีมีแนวโน้มเพิ่มขึ้น

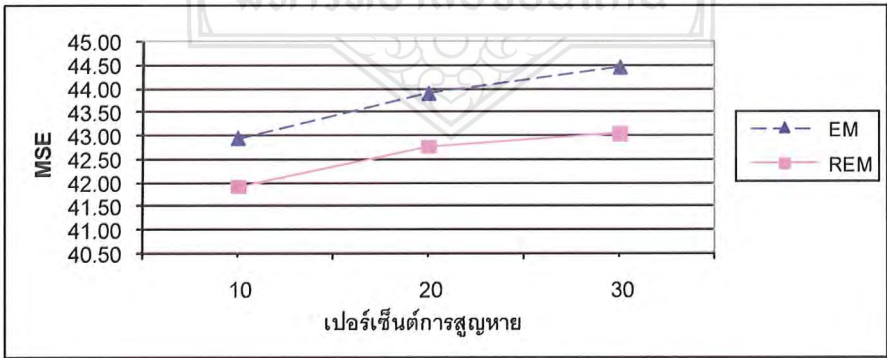
ตารางที่ 4 แสดงค่า MSE ของวิธีการประมาณค่าสูญหาย EM และ REM เมื่อมีตัวแปรอิสระ 7 ตัวและ ตัวแปรตาม 3 ตัว n = 50 และ 100

ขนาดตัวอย่าง	เปอร์เซ็นต์การสูญหาย	ค่า MSE	
		EM	REM
50	10	69.9140*	70.4695
	20	73.0969	71.8094*
	30	76.2210	71.4269*
100	10	42.9180	41.8997*
	20	43.8865	42.7422*
	30	44.4505	43.0289*

หมายเหตุ * ค่า MSE ที่มีค่าต่ำสุด



(ก) ขนาดตัวอย่างเท่ากับ 50



(ข) ขนาดตัวอย่างเท่ากับ 100

รูปที่ 4 แสดงค่า MSE ของวิธีการประมาณค่าสูญหาย EM และ REM เมื่อมีตัวแปรอิสระ 7 ตัวและ ตัวแปรตาม 3 ตัว n = 50 และ 100 จำแนกตามขนาดตัวอย่าง

สรุปผลการวิจัย

สรุปวิธีที่เหมาะสมสำหรับการประมาณค่าข้อมูลสูญหายแต่ละสถานการณ์ โดยพิจารณาค่า MSE ที่มีค่าต่ำสุดและการคำนวณที่ไม่ซับซ้อน แสดงในตารางที่ 5

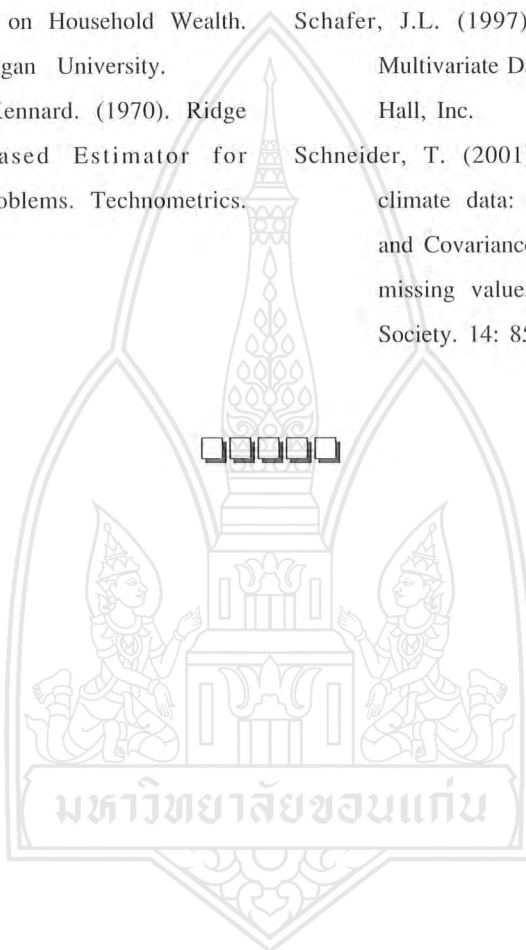
ตารางที่ 5 แสดงวิธีที่เหมาะสมที่สุดในแต่ละสถานการณ์ของการประมาณค่าสูญหาย สำหรับข้อมูลตัวแปรพหุกรณีตัวแปรอิสระมีความสัมพันธ์กันสูง

รูปแบบชุดข้อมูล			ขนาดตัวอย่าง	
จำนวนตัวแปรอิสระ	จำนวนตัวแปรตาม	เปอร์เซ็นต์การสูญหาย	50	100
(X)	(Y)			
3	2	10	EM	EM
		20	EM	EM
		30	EM	EM
4	2	10	EM	EM
		20	EM	EM
		30	EM	EM
5	3	10	REM	EM
		20	REM	EM
		30	REM	EM
7	3	10	EM	REM
		20	REM	REM
		30	REM	REM

จากตารางแสดงให้เห็นว่าวิธีการประมาณค่าข้อมูลสูญหายสำหรับข้อมูลตัวแปรพหุ ทั้ง 2 วิธี คือ EM และ REM นั้นมีความเหมาะสมในสถานการณ์ต่าง ๆ ที่แตกต่างกัน ผู้วิจัยพบว่า การคำนวณวิธี REM มีความซับซ้อนกว่า วิธี EM และในบางสถานการณ์ให้ค่า MSE ใกล้เคียงกัน ($|MSE_{EM} - MSE_{REM}| \leq 1$) จึงเลือกใช้ วิธี EM ซึ่งคำนวณง่ายกว่า ดังนั้น กรณีจำนวนตัวแปรอิสระไม่มาก ($X= 3, 4$) ทุกขนาดตัวอย่าง ($n=50, 100$) ที่ทุกระดับการสูญหาย วิธี EM เหมาะสมกว่าวิธี REM ส่วนกรณีที่จำนวนตัวแปรอิสระเพิ่มขึ้น ($X=5, 7$) วิธี REM เป็นวิธีที่มีเหมาะสมกว่าวิธี EM ยกเว้นกรณีที่ตัวแปรอิสระเท่ากับ 5 ขนาดตัวอย่างเท่ากับ 100 ที่ทุกระดับการสูญหาย และกรณีที่ตัวแปรอิสระเท่ากับ 7 ขนาดตัวอย่างเท่ากับ 50 และเปอร์เซ็นต์การสูญหายเท่ากับ 10

เอกสารอ้างอิง

- วารุณี ตริบำรุงศักดิ์. (2538). การพยากรณ์ด้วยวิธีการถดถอยเชิงเส้นพหุเมื่อตัวแปรตามมีค่าสูญหาย. วิทยานิพนธ์ปริญญาโท. จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย.
- Heeringa, S. (2000). Multivariate Imputation of Coarsened Survey on Household Wealth. Ph.D. thesis. Michigan University.
- Hoerl, A.E. and R.W. Kennard. (1970). Ridge Regression: Biased Estimator for Nonorthogonal Problems. *Technometrics*. 12(1): 55-67.
- Little, R.J.A. and D.B. Rubin. (2002). *Statistical Analysis with Missing Data*. New York: John Wiley and Sons, Inc.
- Roth, P.L. (1994). Missing Data: A Conceptual Review for Applied Psychologists. *Personnel Psychology*. 47: 537-560.
- Schafer, J.L. (1997). *Analysis of Incomplete Multivariate Data*. London. 1: Chapman and Hall, Inc.
- Schneider, T. (2001). Analysis of incomplete climate data: Estimation of mean values and Covariance matrices and imputation of missing values. *American Meteorological Society*. 14: 853-871.





การหาช่วงเวลาที่เหมาะสมสำหรับการเก็บเกี่ยวทะลายน้ำมัน ปาล์ม (Elaeis guineensis Jacq.) ด้วยเทคนิคทางฟิสิกส์

Indicating of the Optimal Harvesting Time for Oil Palm Fruit-clusters (Elaeis guineensis Jacq.) Using Physics Technique

สุปราณี วุ่นศรี¹ ธวัช ชิดตระการ¹ ไตรภพ ผ่องสุวรรณ¹ ภัทร อัยรักษ์¹
สมศักดิ์ คงแสง² และ พวงทิพย์ แก้วทับทิม³

บทคัดย่อ

เพื่อกำหนดหาช่วงเวลาที่เหมาะสมสำหรับเก็บเกี่ยวทะลายน้ำมันนั้นได้อาศัยเทคนิคการวิเคราะห์สเปกตรัมจากภาพถ่ายสีของผลปาล์มน้ำมันซึ่งถ่ายด้วยกล้องดิจิทัล โดยใช้แผ่นกรองแสงสีแดง และสีเขียว แล้วนำภาพถ่ายมาทำการวิเคราะห์หาความเข้มสเปกตรัมของแสงสีแดง สีเขียว และสีน้ำเงิน ด้วยโปรแกรม Color Analysis Oil Palm (CAOP) เปรียบเทียบกับปริมาณน้ำมันจริงของผลปาล์มน้ำมันดังกล่าว ผลจากการศึกษาพบว่า สเปกตรัมของแสงสีแดงของภาพถ่ายที่ใช้แผ่นกรองแสงสีแดง (RR) มีความสอดคล้องกับปริมาณน้ำมันในผลปาล์มทดลองมากที่สุด เมื่อเปรียบเทียบกับสเปกตรัมสีเขียว และสเปกตรัมสีน้ำเงิน ดังนั้นงานวิจัยนี้สามารถกำหนดดัชนีที่เหมาะสมในการกำหนดหาช่วงเวลาที่เหมาะสมสำหรับการเก็บเกี่ยวทะลายน้ำมันเมื่อระดับความเข้มของสเปกตรัมแสงสีแดง (RR) ของผลปาล์มมีค่าเท่ากับ 126 และมีปริมาณน้ำมันในผลปาล์มมากกว่า 10% ขึ้นไป ซึ่งจากการใช้เทคนิคและเกณฑ์การวัดพบว่าสามารถแยกแยะความแก่อ่อนของผลปาล์มน้ำมันได้ระดับความน่าเชื่อถือร้อยละ 74.40

Abstract

To determine the appropriate harvesting time of Oil Palm Fruit-clusters, the spectral reflectance of ripening Fruit-clusters was investigated from images taken by a digital camera using red and green filters. The images were analyzed by measuring the changes in the three basic colors i.e. red, green and blue, using

¹ ภาควิชาฟิสิกส์ คณะวิทยาศาสตร์ มหาวิทยาลัยสงขลานครินทร์ อ. หาดใหญ่ จ. สงขลา 90112

² ภาควิชาวิทยาการคอมพิวเตอร์ คณะวิทยาศาสตร์ มหาวิทยาลัยสงขลานครินทร์ อ. หาดใหญ่ จ. สงขลา 90112

³ ภาควิชาฟิสิกส์ คณะวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยี มหาวิทยาลัยสงขลานครินทร์ อ.เมือง จ.ปัตตานี 94000

a specially developed Color Analysis Oil Palm program (CAOP), and compared with their existing Palm Oil inside the fruit. The result showed that the Red light reflectance using the Red filter (RR) was selected as an indicator because of their correlation with the Palm Oil inside the fruit. The figure 126 of Red color level (RR) is use as an indicator while oil palm content of 10% also use as the another indicator for determining the Oil palm ripening. Under the guideline and technique as indicating above, the results show that the level of confidence for predicting the correct harvesting time of Oil Palm Fruit-clusters (*Elaeis guineensis* Jacq.) is 74.40 .

คำสำคัญ :

Keywords : Oil Palm Fruit-clusters (*Elaeis guineensis* Jacq.), indicator, harvesting, spectral, spectral reflectance, optimal harvesting

บทนำ

ปาล์มน้ำมันมีชื่อทางวิทยาศาสตร์ว่า *Elaeis guineensis* Jacq. เป็นพืชตระกูลปาล์ม ปัจจุบันจัดว่าเป็นพืชเศรษฐกิจอย่างหนึ่งของประเทศไทย มีความสามารถเจริญเติบโตได้ในเกือบทุกสภาพดินฟ้าอากาศ แต่การที่จะให้เจริญเติบโตแล้วมีผลผลิตสูง สามารถส่งผลในเชิงเศรษฐกิจได้นั้นจำเป็นอย่างยิ่งที่จะต้องมีการดูแลเอาใจใส่อย่างใกล้ชิด นับตั้งแต่การเลือกพันธุ์ ปาล์ม การปลูก การใส่ปุ๋ย รวมทั้งขั้นตอนการเก็บเกี่ยวผลผลิตด้วย

การดูแลรักษาและการจัดการสวนปาล์มน้ำมันในช่วง 10 ปีแรกหลังจากปลูกจะเป็นช่วงที่มีความสำคัญต่อผลผลิตทะลายปาล์มสด (Fresh Fruit Bunch : FFB) เพราะผลผลิตจะเพิ่มขึ้นเรื่อยๆ ในช่วงอายุ 4-10 ปี ผลผลิตจะเพิ่มขึ้นอย่างรวดเร็ว และหลังจากช่วงอายุมากกว่า 10 ปี ผลผลิตจะเริ่มลดลงตามอายุ (ธีระ เอกสมทราเมษฐ์ และคณะ, 2546)

น้ำมันปาล์มที่ได้จากผลปาล์มมาจาก 2 ส่วน คือ ส่วนเปลือกผล (Mesocarp) เรียกว่า น้ำมันปาล์ม (Palm oil) กับอีกส่วนได้จากเนื้อในกะลา (Kernel) ของผลปาล์มน้ำมัน เรียกว่า น้ำมันจากเนื้อใน (Palm Kernel oil) คิดเป็นสัดส่วน 10 : 1 (ศักดิ์ศิลป์ โชติกุล และคณะ, 2541) โดยน้ำมันปาล์ม 2 ส่วนนี้มี ส่วนประกอบ และคุณภาพที่แตกต่างกัน

การสุกของผลปาล์มน้ำมันเริ่มตั้งแต่การผสมเกสรให้เกิดดอกปาล์มแล้ว ดอกปาล์มที่ได้รับการผสมเกสรแล้วก็จะเจริญเติบโตไปเรื่อยๆ จนถึงเวลาประมาณ 5 เดือนครึ่ง ถึง 6 เดือน (ศักดิ์ศิลป์ โชติกุล และคณะ, 2541) ซึ่งในการกำหนดเวลาการตัดเก็บทะลายปาล์มสดตามความต้องการของตลาดที่ผ่านมา ชาวสวนปาล์มจะสังเกตการณ์การร่วงของผลปาล์ม น้ำมันจำนวน 3 - 4 ผลต่อทะลาย (กลุ่มเกษตรสัญจร, 2543) หรือผลปาล์มร่วง 10 ผล (Omar et al., 2003) หรือผลปาล์มน้ำมันร่วงต่อทะลายประมาณร้อยละ 10 - 50 (Shariff et al., 2000) จากการพิจารณาเกณฑ์ในการตัดทะลายปาล์มด้วยวิธีต่างๆ ดังกล่าวยังมีความแตกต่างกันมากส่งผลให้ทะลายปาล์มสดที่ตัด อาจจะไม่มีความเหมาะสมที่ตลาดต้องการได้ ดังนั้นเพื่อให้การตัดเก็บทะลายปาล์มสดมีคุณภาพ หลักการทางฟิสิกส์ด้วยการตรวจวัดปริมาณสเปกตรัมของสีผิวที่กระเจิงจากผลปาล์มด้วยกล้องดิจิทัลที่มีแผ่นกรองแสงสีแดงและสีเขียวเป็นองค์ประกอบด้วย ซึ่งความเข้มของสเปกตรัมสีผิวของเปลือกผลปาล์มที่เปลี่ยนแปลง จะทำให้ความเข้มของสเปกตรัมสีแดง สีเขียว และสีน้ำเงิน มีการเปลี่ยนแปลงตามไปด้วย และพบว่ามี ความสัมพันธ์กับปริมาณน้ำมันที่ถูกสะสมในผลปาล์ม น้ำมันด้วย (Omar และคณะ, 2003) ซึ่งสอดคล้องกับการศึกษาของ Shariff et al. (2000) หรือ Tan et al.

(1996) ซึ่งได้รายงานการเปลี่ยนแปลงปริมาณน้ำมันของผลปาล์มกับคลอโรฟิลล์ (สเปกตรัมสีเขียว) ของผลปาล์มสุกโดยหาปริมาณน้ำมันของผลปาล์มน้ำมันอยู่ต่างๆ พร้อมกับหาปริมาณของคลอโรฟิลล์ พบว่าปาล์มน้ำมันสุกจะมีคลอโรฟิลล์สูงกว่าปาล์มน้ำมันไม่สุก และ Sittichareonchai et al. (1995) ศึกษาวิธีการตัดเก็บปาล์มน้ำมันสุกด้วยหุ่นยนต์ โดยหุ่นยนต์จะมีกล้องเก็บภาพทะเลาะปาล์มพร้อมทั้งออกแบบระบบควบคุมการวัดความเข้มแสงจากธรรมชาติแล้วนำภาพนั้นมาวิเคราะห์ปริมาณของสีแดง เขียวและน้ำเงิน เพื่อดูความสุกของทะเลาะปาล์ม พร้อมทั้งออกแบบระบบควบคุมหุ่นยนต์ในการพิจารณาตำแหน่งทะเลาะปาล์มน้ำมัน พบว่า หุ่นยนต์สามารถวิเคราะห์สีทะเลาะปาล์มน้ำมันที่สอดคล้องกับความสุกของทะเลาะปาล์มน้ำมัน ส่วน Ismail et al. (2000) ได้รายงานคุณสมบัติทางแสงเพื่อพัฒนาเครื่องจักรเพื่อใช้ในการเก็บเกี่ยวทะเลาะปาล์มสด โดยอาศัยคุณสมบัติทางวิศวกรรมการเกษตรเพื่อออกแบบวิธีการเก็บเกี่ยว ซึ่งในการพัฒนาระบบการทำงานของเครื่องจักรจะใช้สีของถ่ายภาพมาวิเคราะห์เพื่อแยกลักษณะการสุกของทะเลาะปาล์ม แล้วโปรแกรมจะส่งสัญญาณไปควบคุมการทำงานของแขนเครื่องจักรในการเก็บเกี่ยวต่อไป

จากงานวิจัยที่ผ่านมา (สุปราณี วุ่นศรี และคณะ, 2548) ได้ศึกษาปริมาณสเปกตรัมสีผิวของผลปาล์มจากภาพถ่ายของผลปาล์มน้ำมันเพื่อหาช่วงเวลาเก็บเกี่ยวที่เหมาะสม ซึ่งในการถ่ายภาพของผลปาล์มน้ำมันมีการควบคุมแสงด้วยกล่องควบคุมแสง (control light box) และใช้แสงจากหลอดฟลูออเรสเซนต์แบบกลมเป็นแหล่งจ่ายไฟแล้วนำภาพถ่ายผลปาล์มน้ำมันมาวิเคราะห์หาปริมาณสเปกตรัมสีผิวผลปาล์มพิจารณาความสอดคล้องกับปริมาณน้ำมันของผลปาล์ม

น้ำมัน แต่เนื่องจากวิธีการถ่ายภาพยังมีความไม่สะดวกต่อการวิเคราะห์ความเข้มของสเปกตรัมที่กระเจิงจากผิวของผลปาล์ม เพราะจะต้องใช้กล่องแสง เพื่อควบคุมความเข้มแสงเพื่อให้แน่ใจว่ามีเงื่อนไขที่เหมือนกันตลอดการทดลอง สำหรับผลงานตีพิมพ์นี้ต้องการนำเสนอวิธีการเก็บข้อมูลที่สะดวกขึ้น ด้วยการใช้แผ่นกรองแสง หรือฟิลเตอร์ แทนการใช้กล่องแสงเพื่อนำมาเป็นแนวทางในการศึกษาหาช่วงเวลาที่เหมาะสมในการเก็บเกี่ยวทะเลาะปาล์มสดที่มีคุณภาพตามความต้องการของโรงงานอุตสาหกรรม ช่วยเพิ่มรายได้แก่ชาวสวนปาล์ม

วิธีการวิจัย

ทำการทดลองที่ อ.ควนธานี จ.ตรัง ตั้งแต่เม.ย. 2552 ถึง ก.พ. 2553 ดินปาล์มน้ำมันมีอายุ 5-7 ปี ออกแบบการเก็บข้อมูลเป็น 2 ประเด็นคือ 1) ค่าร้อยละของน้ำมัน และ 2) ความเข้มสเปกตรัมสีผิวของผลปาล์มน้ำมัน

1. ร้อยละของน้ำมันในผลปาล์มน้ำมัน

ในการหาปริมาณน้ำมันเริ่มจากการอบผลปาล์มที่ 150 องศาเซลเซียส 4 ชั่วโมง จากนั้นนำมาบิบน้ำมันด้วยเครื่องมือ (รูปที่ 1) แล้วคำนวณหาปริมาณร้อยละของน้ำมัน จากสมการ (Tan et al., 1996)

$$\% \text{ oil} = \frac{W_{\text{oil}}}{W_{\text{after}}} \times 100 \quad \dots\dots\dots(1)$$

เมื่อ W_{oil} น้ำหนักน้ำมันปาล์มหลังการบิบน้ำมันจากผลปาล์ม

W_{after} น้ำหนักของผลปาล์มหลังอบแห้ง



รูปที่ 1 เครื่องมือบีบผลปาล์มน้ำมัน



รูปที่ 2 บริเวณผลปาล์มน้ำมันที่สุ่มเป็นกลุ่มตัวอย่าง (ในสี่เหลี่ยม)

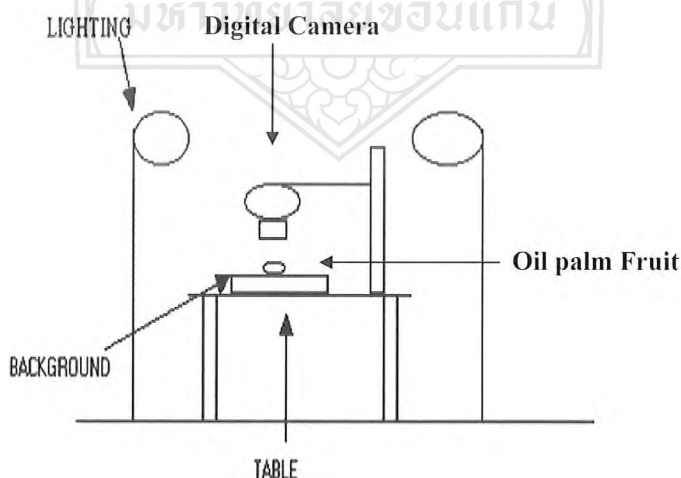
2. ศึกษาสเปกตรัมสีผิวของผลปาล์มน้ำมัน

ทำการสุ่มเลือกผลปาล์มที่ได้สัดส่วนมาตรฐานจากหลายทะลาย โดยเลือกผลจากกลางทะลายก่อนมาทางท้ายเล็กน้อย (รูปที่ 2) สำหรับเป็นตัวแทนของผลปาล์มน้ำมันในทะลายนั้นๆ จำนวน 500 ผล

2.1 การถ่ายภาพผลปาล์มน้ำมัน

จัดอุปกรณ์สำหรับการถ่ายภาพผลปาล์มน้ำมัน (รูปที่ 3) เลือกผลปาล์มน้ำมันที่รูปทรงได้มาตรฐาน อยู่ในตำแหน่งที่ได้รับแสงเท่าๆ กัน ทำการ

ถ่ายภาพผลปาล์มน้ำมันด้วยกล้องดิจิทัล (Canon รุ่น EOS D1000) ไม่เปิดแฟลช ตั้งค่าความละเอียดของภาพสูงสุด (10M = 3888 x 2592 พิกเซล) โดยใช้แผ่นกรองแสงสีแดงเป็นตัวกรองแสง (Kenco ของ Canon) ซึ่งการใช้แผ่นกรองแสงไม่ต้องทำการทดลองในห้องมืด หรือใช้กล่องควบคุมความเข้มแสง จะทำการถ่ายภาพ 3 ครั้ง จากนั้นเปลี่ยนมาเป็นการใช้แผ่นกรองแสงสีเขียวจะได้ภาพถ่าย (รูปที่ 4)



รูปที่ 3 ชุดอุปกรณ์การถ่ายภาพผลปาล์มน้ำมัน (image acquisition setting)



(a)



(b)

รูปที่ 4 (a) สีผิวผลปาล์มน้ำมันเมื่อใช้แผ่นกรองแสงสีแดง

รูปที่ 4 (b) สีผิวของผลปาล์มน้ำมันเมื่อใช้แผ่นกรองแสงสีเขียว

2.2 การวิเคราะห์ภาพถ่ายของสีผิวผลปาล์ม น้ำมัน

นำภาพถ่ายผลปาล์มน้ำมันมาวิเคราะห์สี
โดยใช้โปรแกรม Color Analysis Oil Palm (CAOP)
โดยเริ่มต้นจากการกำหนดตำแหน่งพื้นที่วิเคราะห์บนผิว
ผลปาล์มน้ำมันในแต่ละผลจะเลือกพื้นที่ผิวส่วนที่ไม่ทับ
ผลอื่นเนื่องจากมีสีผิวจางกว่าปกติ จะได้พื้นที่ผิวสำหรับ
วิเคราะห์ 3 วง หรือ 58630 พิกเซล ซึ่งจะใช้เป็น
ตัวแทนของผลปาล์มน้ำมันนั้นๆ (รูปที่ 5) การวิเคราะห์
นี้ไม่ต้องเวลาตกแต่งภาพด้วยโปรแกรม Photoshop

และสามารถวิเคราะห์ภาพได้เลย เมื่อกำหนดตำแหน่ง
พื้นที่แล้ว ทำการวิเคราะห์สีในแต่ละพิกเซลของวงเล็กๆ
ที่กำหนดไว้ โปรแกรมจะอ่านค่า สีแดง(R) สีเขียว(G)
และสีน้ำเงิน (B) ของแต่ละพิกเซลในพื้นที่นั้น จาก
นั้นรวมค่าสีทั้งสามจากพิกเซลทั้งหมดของพื้นที่วิเคราะห์
ซึ่งจะใช้ค่าสีเหล่านี้เป็นตัวแทนของสี R, G, B ของสี
ผิวผลปาล์มน้ำมัน ทำการวิเคราะห์เดียวกันนี้ทั้งจาก
ภาพถ่ายด้วยกล้องดิจิทัลโดยใช้แผ่นกรองแสงสีแดง
และสีเขียว



รูปที่ 5 การวิเคราะห์สีผิวผลปาล์มของโปรแกรม CAOP

ผลการทดลองและวิเคราะห์ผลการทดลอง

ในการศึกษาหาช่วงเวลาเก็บเกี่ยวผลปาล์ม น้ำมันที่เหมาะสมจะใช้ผลปาล์มน้ำมัน 2 กลุ่ม คือ กลุ่มที่สามารถแยกแยะความแก่อ่อนของผลปาล์มน้ำมันได้ ถูกต้องร้อยละ 100 มีจำนวน 17 ผล ซึ่งจะใช้เป็น กลุ่ม มาตรฐาน และอีกกลุ่มเป็นกลุ่มตัวอย่างมีจำนวน 500 ผล

1. ผลการศึกษาร้อยละของน้ำมันจากผลปาล์มน้ำมัน

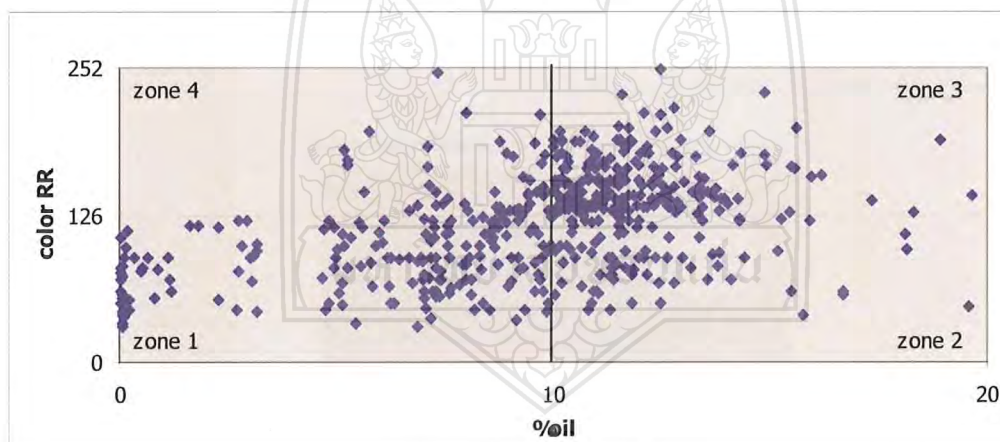
ผลการศึกษาหาค่าร้อยละของน้ำมันที่สัมพันธ์กับความแก่อ่อนของผลปาล์มน้ำมันกลุ่ม มีค่าจุดเริ่มเปลี่ยน (threshold value) อยู่ที่ ร้อยละ 10 (ตารางที่ 1) ซึ่งถ้าชาวสวนตัดทะลายปาล์มก่อนจะได้ทะลายยังไม่เต็มที่ หรือถ้าตัดหลังจากนี้จะส่งผลให้ทะลายปาล์มสุกเกินไปไม่เหมาะสำหรับการขนส่ง

ผลจากการวิเคราะห์หาค่าร้อยละของน้ำมันในผลปาล์มน้ำมันเทียบกับค่าความเข้มของภาพถ่ายโดย

การใช้แผ่นกรองแสงสีแดงจะได้ความเข้มของสเปกตรัมแสงสีแดง (RR^*) สีเขียว (RG^*) และสีน้ำเงิน (RB^*) รวมทั้งข้อมูลความเข้มของสเปกตรัมที่ผ่านแผ่นกรองแสงสีเขียวของแสงสีแดง (GR^*) สีเขียว (GG^*) และสีน้ำเงิน (GB^*) (รูปที่ 7) จากตัวอย่างผลปาล์มน้ำมัน 500 ผล

2. ผลการศึกษาสเปกตรัมสีผิวของผลปาล์มน้ำมัน

ผลการวิเคราะห์สเปกตรัมสีผิวจากภาพถ่ายผลปาล์ม น้ำมัน ในกลุ่มมาตรฐานโดยใช้แผ่นกรองแสงสีแดง และแผ่นกรองแสงสีเขียวเป็นฟิล์มกรองแสง (ตารางที่ 1) พบว่า สเปกตรัมสีแดงจากการใช้แผ่นกรองแสงสีแดง เป็นฟิล์มกรองแสง (RR) สามารถใช้เป็นดัชนีได้ดีที่สุดโดยที่มีค่าจุดเริ่มเปลี่ยนของค่า RR อยู่ที่ระดับ 126 เป็นจุดเริ่มเปลี่ยน (threshold) ของการสุกที่เหมาะสมกับการตัดเก็บทะลายปาล์มสดที่มีคุณภาพสูง



รูปที่ 6 ผลการทดสอบแยกแยะความแก่อ่อนของผลปาล์มน้ำมันเป็น 4 กลุ่ม คือ กลุ่มที่ 1 เป็นผลปาล์มน้ำมันตัดไม่ได้ กลุ่มที่ 2 เป็นผลปาล์มน้ำมันที่อยู่ในกลุ่มคลาดเคลื่อน (error) เพราะค่า RR ไม่สอดคล้องกับค่าร้อยละของน้ำมัน กลุ่มที่ 3 เป็นผลปาล์มน้ำมันที่เหมาะสมสำหรับการตัดเก็บทะลายปาล์มน้ำมัน กลุ่มที่ 4 เป็นผลปาล์มน้ำมันที่อยู่ในกลุ่มคลาดเคลื่อนเช่นเดียวกับกลุ่มที่ 2 เพราะค่า RR ไม่สอดคล้องกับค่าร้อยละของน้ำมัน

ตารางที่ 1 ค่าร้อยละของน้ำมันกับระดับสเปกตรัมสีผิว (RR) ของผลปาล์มน้ำมันที่แก่สามารถตัดได้ 100%

No	Red color level by using red filter (RR)	%Oil
1	130	10.11
2	143	11.73
3	122	11.56
4	136	11.04
5	120	10.92
6	121	11.59
7	122	10.47
8	126	11.75
9	125	10.55
10	128	10.23
11	124	10.49
12	126	10.62
13	120	10.20
14	133	10.33
15	122	10.21
16	131	10.25
17	123	11.02
เฉลี่ย	126	10.77

จากการเปรียบเทียบกับร้อยละของน้ำมันที่หาได้จากวิธีของ Tan et al., (1996) กับค่าสเปกตรัมสีผิวของผลปาล์มน้ำมันสีแดงโดยใช้ฟิล์มกรองแสงสีแดง แล้วนำค่าที่ได้ทั้งสองค่านี้ไปวาดกราฟลงในกราฟความสัมพันธ์ระหว่างสเปกตรัมสีผิวของปาล์มน้ำมัน กับร้อยละของน้ำมัน (รูปที่ 6) ซึ่งสามารถแยกผลปาล์มน้ำมันออกเป็น 4 กลุ่ม คือ กลุ่ม 1 ผลปาล์มน้ำมันมีปริมาณสเปกตรัมสีแดง ต่ำกว่า 126 และค่าร้อยละของน้ำมันต่ำกว่า 10 แสดงว่า ปาล์มน้ำมันผลนี้ เป็นผลปาล์มน้ำมันอ่อน ไม่สามารถตัดขายได้ ซึ่งมีจำนวน 161 ผล คิดเป็นร้อยละ 32.2 กลุ่มที่ 2 ผลปาล์มน้ำมันมีปริมาณสเปกตรัมสีแดง ต่ำกว่า 126 และปริมาณร้อยละของน้ำมันสูงกว่า 10 แสดงว่า การแยกแยะผิดพลาดเช่นกัน เนื่องจากการแยกแยะด้วย

ค่าของสเปกตรัมสีผิว ตัดสินว่าเป็นผลปาล์มน้ำมันอ่อน แต่ความจริงแล้วเป็นผลปาล์มน้ำมันแก่เพราะมีค่าร้อยละของน้ำมันมากกว่า 10 ซึ่งมีจำนวน 47 ผล คิดเป็นร้อยละ 16.2 กลุ่มที่ 3 ผลปาล์มน้ำมันมีปริมาณสเปกตรัมสีแดง สูงกว่า 126 และปริมาณร้อยละของน้ำมันสูงกว่า 10 แสดงว่า ปาล์มน้ำมันผลนั้นแก่สามารถตัดขายได้ ซึ่งมีจำนวน 211 ผล คิดเป็นร้อยละ 42.2 และกลุ่มที่ 4 ผลปาล์มน้ำมันมีปริมาณสเปกตรัมสีแดง สูงกว่า 126 และปริมาณร้อยละของน้ำมันต่ำกว่า 10 แสดงว่า การแยกแยะผิดพลาด เนื่องจากการแยกแยะด้วยค่าสเปกตรัมสีผิว ตัดสินว่าเป็นผลปาล์มน้ำมันแก่ แต่ความจริงแล้วเป็นผลปาล์มน้ำมันอ่อนเพราะมีค่าร้อยละของน้ำมันน้อยกว่า 10 ซึ่งมีจำนวน 81 ผล คิดเป็นร้อยละ 9.4

ตารางที่ 2 ตัวอย่างค่าร้อยละของน้ำมันเทียบกับระดับสีผิวของผลปาล์มน้ำมัน จำนวน 30 ตัวอย่างที่อยู่ในโซน 1 - 4 ตามระบุในรูปที่ 6

No.	Green Filter			Red Filter			%Oil
	GR*	GG*	GB*	RR*	RG*	RB*	
1	5	8	1	140	3	3	9.46
2	6	14	2	143	5	4	11.72
3	3	8	1	122	2	2	9.78
4	3	16	2	116	2	2	11.04
5	6	9	2	119	3	3	8.92
6	12	12	1	111	2	2	11.58
7	4	9	1	117	2	2	10.46
8	5	17	2	126	3	3	8.74
9	6	10	2	115	2	2	9.55
10	5	12	1	139	4	3	9.12
11	5	7	1	124	3	3	11.48
12	6	6	2	146	4	3	9.61
13	7	10	2	115	3	3	11.91
14	7	8	1	143	4	3	10.33
15	5	9	2	134	3	3	11.91
16	6	7	2	131	3	3	10.25
17	7	7	1	171	5	4	10.34
18	9	14	2	189	6	5	10.51
19	3	9	1	95	2	2	10.64
20	2	8	1	45	1	2	10.81
21	4	10	1	61	1	3	10.94
22	5	11	1	102	2	2	10.97
23	3	10	1	59	1	2	11.01
24	3	6	2	68	1	2	11.07
25	6	7	2	152	4	4	11.24
26	13	10	2	174	5	4	11.29
27	5	12	2	74	2	2	11.32
28	3	10	1	89	2	2	11.36
29	4	11	2	154	4	4	11.37
30	5	9	1	84	1	2	11.47

(RR* , RG* , RB* เป็นปริมาณสเปกตรัมสีแดง สีเขียว และสีน้ำเงิน ที่ผ่านแผ่นกรองแสงสีแดง
GR* , GG* , GB* เป็นปริมาณสเปกตรัมสีแดง สีเขียว และสีน้ำเงิน ที่ผ่านแผ่นกรองแสงสีเขียว)

สรุปผลการทดลอง

การศึกษาหาระยะเก็บเกี่ยวที่เหมาะสมของ
ทะลายปาล์มน้ำมัน โดยวิเคราะห์สเปกตรัมสีแดง สีเขียว
และสีน้ำเงิน ของผิวผลปาล์มน้ำมันจากการถ่ายภาพ
ด้วยกล้องดิจิทัล ใช้แผ่นกรองแสงสีแดง และสีเขียว
เป็นฟิล์มกรองแสง พบว่า สเปกตรัมสีแดงจากการใช้
แผ่นกรองแสงสีแดงสามารถใช้เป็นดัชนีบอกระยะ
เก็บเกี่ยวทะลายปาล์มน้ำมันได้ดีที่สุด เนื่องจากมีความ

สอดคล้องกับปริมาณเปอร์เซ็นต์น้ำมันมากที่สุด
ผลจากการศึกษาสรุปได้ว่าในการเก็บเกี่ยว
ทะลายปาล์มน้ำมันอาศัยปริมาณสเปกตรัมสีแดง (RR)
เป็น 126 มีความสอดคล้องกับค่าร้อยละของน้ำมันที่ 10
เป็นดัชนีในการเก็บเกี่ยวทะลายปาล์มน้ำมันที่มีคุณภาพ
เหมาะสำหรับการตัดเก็บทะลายปาล์มน้ำมัน สามารถ
แยกแยะความแก่อ่อนของผลปาล์มน้ำมัน ได้ถูกต้อง
74.40% ดังแสดงในตารางที่ 3 และตารางที่ 4

ตารางที่ 3 ตารางแสดงค่าความแม่นยำของการทดสอบแยกแยะผลปาล์มน้ำมันด้วยสเปกตรัมสีผิว (RR) และ
ร้อยละของน้ำมัน (%Oil)

A mount of Oil Palm Fruit	Divide with %oil	Divide with color	Result of correct	
			A mount of ripe and unripe	total
500	Ripe 292	Ripe 211	72.26%	74.40%
	Unripe 208	Unripe 161	77.40%	

ตารางที่ 4 แนวทางการพิจารณาผลของการวิเคราะห์ความเข้มสเปกตรัมของสีผิวผลปาล์มเทียบกับปริมาณน้ำมัน
ในผลปาล์มตามเกณฑ์ข้อเสนอของ Tan et al. (1996)

ปริมาณน้ำมัน ปริมาณสี	%Oil < 10	%Oil < 10
RR < 126	Zone 1 : Good determination (Compile with guideline)	Zone 2 : Poor determination (Not compile with guideline)
RR > 126	Zone 3 : Good determination (Compile with guideline)	Zone 4 : Poor determination

เอกสารอ้างอิง

- กลุ่มเกษตรสัญจร. 2543. ปาล์มน้ำมัน. สำนักพิมพ์
ฐานเกษตรกรรม ปากเกร็ด นนทบุรี. (สำเนา)
- ธนิดา เจริญสุข, นายปิ่นพงษ์ คงชนะ. 2543. การ
วิเคราะห์สีของเปลือกผลปาล์มน้ำมันเพื่อหา
ช่วงเวลาที่เหมาะสมในการเก็บเกี่ยวด้วยกล้อง
CCD. ภาควิชาฟิสิกส์ คณะวิทยาศาสตร์
มหาวิทยาลัยสงขลานครินทร์ วิทยาเขต
หาดใหญ่.
- ธีระ เอกสมทราเมษฐ์, ชัยรัตน์ นิลนนท์, ธีระพงศ์
จันทร์นิยม, ประกิจ ทองคำ และ วรณา
เลี้ยววาริณ. 2546. คู่มือปาล์มน้ำมันและการ
จัดการสวน. คณะทรัพยากรธรรมชาติ
มหาวิทยาลัยสงขลานครินทร์ วิทยาเขต
หาดใหญ่ : 20 - 23.
- ศักดิ์ศิลป์ โชติกุล, วินาภรณ์ ภูริรัตน์ และ กิจจารักษ์
วงษ์ภูกลาง. 2541. ปาล์มน้ำมัน. กองส่งเสริม
พืชไร่นา กรมส่งเสริมการเกษตร : 38 - 52.
- สุปราณี วุ่นศรี, ธวัช ชิตตระกูล, ไตรภพ ผ่องสุวรรณ
และ สมศักดิ์ คงแสง. 2548. การวิเคราะห์
สเปกตรัมสีผิวผลปาล์มเพื่อหาช่วงเวลา
เก็บเกี่ยวที่เหมาะสม. ภาควิชาฟิสิกส์ คณะ
วิทยาศาสตร์ มหาวิทยาลัยสงขลานครินทร์.
- Ismail, W.I.W., Bardaie, M.Z., and Hamid, A.M.A.
2000. Optical Properties for Mechanical
Harvesting of Oil Palm FFB. Faculty of
Engineering University Putra Malaysia.
Malaysia.
- Omar, I., Khalid. M.A., Harun, M.H. and Wahid,
M.B. 2003. colour meter for measuring fruit
ripeness. Malaysia Palm Oil Board.
Malaysia.
- Shariff, R., Adnan, N. A., Mispan, R., Mansor, S.,
Halim, R. and Goyal, R. 2000. Correlation
between oil content and DN values.
Department of Biological and Agricultural
Engineering. University Putra Malaysia.
Malaysia.
- Sittichareonchai, A., Khaorapapong, T. and
Limsilatoratana, S. 1995. Oil palm harvesting
Robot Automatic Manipulator Control.
Computer Engineering. Prince of songkla
University.
- Tan, Y.A., Chaong, C.L. and Low, K.S. 1996. Crude
palm oil characteristics and chlorophyll
content. Palm Oil Research, Institute of
Malaysia (PORIM). Malaysia.

มหาวิทยาลัยขอนแก่น



ข้อแนะนำในการเขียนบทความลงวารสารวิทยาศาสตร์ มข.

ประเภทของเรื่องที่จะตีพิมพ์

1. รายงานผลการวิจัยและค้นคว้าหรือการสำรวจที่ยังไม่เคยตีพิมพ์ในวารสารหรือหนังสืออื่นมาก่อน
2. บทความปริทัศน์ ได้แก่ งานเขียนที่รวบรวมหรือเรียบเรียงจากเอกสารหรือหนังสือต่าง ๆ เพื่อเผยแพร่และฟื้นฟูงานด้านวิชาการระดับต่าง ๆ
3. บทความแสดงข้อคิดเห็นหรือข้อเสนอแนะที่เป็นประโยชน์ในด้านวิชาการ เรื่องแปล ข่าววิชาการย่อความจากงานวิจัยหรือหนังสือใหม่ที่น่าสนใจ

รูปแบบของการเขียนและเตรียมต้นฉบับ

1. ต้นฉบับ ต้องเป็นตัวพิมพ์ Angsana New
 - 1.1 ชื่อเรื่อง ขนาดตัวอักษร 20 ตัวเข้ม ตำแหน่งตรงกลาง มีทั้งชื่อภาษาไทยและภาษาอังกฤษ
 - 1.2 ชื่อผู้เขียน ขนาดตัวอักษร 16 เอน ตำแหน่งขวาสุด และใส่หมายเลขไว้ท้ายนามสกุล เพื่อการระบุที่อยู่ด้านล่าง
 - 1.3 หัวข้อใหญ่ในแต่ละส่วน ขนาดตัวอักษร 16 ตัวเข้ม ตำแหน่งซ้ายสุด ยกเว้น บทคัดย่อ และ Abstract อยู่ตรงกลาง หัวข้อย่อยตามความเหมาะสม
 - 1.4 เนื้อความ ขนาดตัวอักษร 14
 - 1.5 คำว่า รูปที่ x และตารางที่ x ขนาดตัวอักษร 14 ตัวเข้ม ส่วนข้อความบรรยายต่อท้ายตัวปกติ
 - 1.6 ที่อยู่ ขนาดอักษร 12
 - 1.7 ช่องว่างระหว่างบรรทัดตามมาตรฐาน
 - 1.8 พิมพ์ลงในกระดาษขาว A4 (โรเนียวสัน) โดยใช้กระดาษหน้าเดียว ความยาวไม่เกิน 10 หน้า ส่งต้นฉบับ 2 ชุด (ไม่ต้องส่งแผ่นดิสก์ หรือแผ่นซีดีในขั้นตอนนี้ เมื่อได้รับแจ้งว่าได้ลงพิมพ์แล้ว ผู้เขียนส่งฉบับแก้ไข 1 ชุด พร้อมแผ่นดิสก์ หรือแผ่นซีดี)
2. ต้นฉบับ จะถูกพิจารณาโดยกองบรรณาธิการ และจะตอบรับการได้รับบทความโดยไม่ส่งต้นฉบับคืน ผู้เขียนควรจะอัดสำเนาเก็บไว้เป็นหลักฐานของตัวเอง 1 ฉบับ
3. ต้นฉบับ จะต้องมีความถูกต้องทั้งในด้านเนื้อหา และการใช้ภาษา รวมทั้งมีความสมบูรณ์ในรูปแบบพร้อมที่จะนำลงตีพิมพ์ได้
4. ชื่อเรื่อง ให้ใช้ภาษาไทยหรือภาษาอังกฤษ ไม่ยาวเกินไป และหลีกเลี่ยงการใช้คำย่อโดยไม่จำเป็น
5. ชื่อผู้เขียน เขียนชื่อภาษาไทยหรือภาษาอังกฤษพร้อมทั้งบอกสถานที่ทำงานให้ชัดเจน
6. เนื้อเรื่อง ใช้ได้ทั้งภาษาไทยล้วนและภาษาอังกฤษล้วน ถ้าใช้ภาษาไทย ภาษาอังกฤษที่ใช้ปนกับภาษาไทยนั้นให้พยายามแปลเป็นไทยเท่าที่จะทำได้ และให้เขียนคำเดิมกำกับในวงเล็บ การทับศัพท์ภาษาอังกฤษตลอดทั้งการเขียนตัวสะกด การันต์ ในภาษาไทยให้ใช้ตามแบบราชบัณฑิตยสถาน

ข้อแนะนำในการเขียนบทความลงวารสารวิทยาศาสตร์ มข.

7. ในกรณีของบทความวิจัย ต้องมีบทคัดย่อทั้งภาษาไทยและภาษาอังกฤษ และแบ่งเนื้อหาของบทความเป็นบทนำ วิธีดำเนินงาน ผลการวิเคราะห์ บทสรุปและวิจารณ์

8. เชิงอรรถ (footnote) ใช้เฉพาะที่จำเป็นเพื่อขยายหรือให้รายละเอียดเพิ่มเติมแก่ใจความเฉพาะตอนในบทความ

9. ตารางและภาพประกอบ คำบรรยายประกอบตารางหรือภาพประกอบควรจะสั้นและชัดเจน ถ้าเป็นภาพถ่ายให้ใช้ภาพขาว-ดำ ขนาดโปสเตอร์ ภาพเขียนลายเส้นควรเขียนด้วยหมึกดำ ภาพที่เขียนต้องชัดเจน และมีขนาดที่เหมาะสม

10. เอกสารอ้างอิง หรือบรรณานุกรม แนะนำให้เขียนตามแบบที่ทางวารสารกำหนด

11. หากไม่ปฏิบัติตามข้อแนะนำในการเขียนบทความ บทความของท่านอาจไม่ได้รับการตีพิมพ์ หรือตีพิมพ์ล่าช้า

ส่งต้นฉบับมาที่

กองบรรณาธิการวารสารวิทยาศาสตร์ มข.

คณะวิทยาศาสตร์ มหาวิทยาลัยขอนแก่น จ.ขอนแก่น 40002

E-mail: kku_scijournal@kku.ac.th

อนินันท์นาการสำหรับผู้เขียน

เรื่องที่ได้รับการตีพิมพ์ ผู้เขียนจะได้รับวารสารฉบับนั้น 1 เล่ม

มหาวิทยาลัยขอนแก่น

ตัวอย่าง

การวิเคราะห์ปริมาณน้ำมันและกรดไขมันของจิ้งหรีดทองลาย (*Gryllus* sp.)
ที่เลี้ยงเพื่อการค้า

บรรจง เชื้อเมืองพาน¹ วิรัช ว่องพัฒนากุล² และ ปวีณา พงษ์คนตรี^{1*}

บทคัดย่อ

[illegible]

บทนำ

[illegible]

วิธีการ

[illegible][illegible]

ตารางที่ 1 xxxxxxxxxxxxxxxxxxxxxxxxxxxxxxxx

¹ ภาควิชาชีวเคมี คณะวิทยาศาสตร์ มหาวิทยาลัยขอนแก่น จ.ขอนแก่น 40002

² ภาควิชาเคมี คณะวิทยาศาสตร์ มหาวิทยาลัยขอนแก่น จ.ขอนแก่น 40002

* Corresponding Author, E-mail:

การเขียนเอกสารอ้างอิงในวารสารวิทยาศาสตร์ มข.

เอกสารอ้างอิง (Reference) หมายถึง เอกสารหรือส่วนหนึ่งของเอกสารที่อ้างอิงถึงหรือแปลมาโดยตรง การเขียนเอกสารอ้างอิงในเนื้อหานั้น ให้ใช้ระบบชื่อและปี เช่น Williams (2001) รายงานว่า... หรือ... (Williams, 2001) การเขียนเอกสารอ้างอิงในตอนท้ายบทความนั้น ให้ใส่เฉพาะเล่มที่มีการอ้างอิงไว้แล้วในเนื้อหาเท่านั้น หากอ้างอิงจากเล่มภาษาไทย ต้องเขียนทั้งชื่อและนามสกุล

บรรณานุกรม (Bibliography) หมายถึง เอกสารที่ใช้อ้างอิงในลักษณะที่สรุปเป็นหลักการหรือทฤษฎีโดยมิได้อ้างอิงหรือแปลมาโดยตรง

การเขียนเอกสารอ้างอิง หรือบรรณานุกรม มีแนวทางการเขียนดังนี้

1. หนังสือ

ก. ภาษาไทย

ชื่อตัว นามสกุลของผู้แต่ง. (เลขปี พ.ศ.) ชื่อหนังสือ. (เล่มที่). (พิมพ์ครั้งที่). เมืองที่พิมพ์: โรงพิมพ์ หรือสำนักพิมพ์. เลขหน้าเริ่มต้น-เลขหน้าสุดท้ายที่อ้างอิง.

ข. ภาษาอังกฤษ

ชื่อสกุล, อักษรย่อชื่อต้น, อักษรย่อชื่อรอง. (เลขปี ค.ศ.). ชื่อหนังสือ. (เล่มที่). (พิมพ์ครั้งที่). เมืองที่พิมพ์: โรงพิมพ์หรือสำนักพิมพ์. เลขหน้าเริ่มต้น-เลขหน้าสุดท้ายที่อ้างอิง.

2. เอกสารราชการ

ชื่อหน่วยราชการ. (เลขปี พ.ศ. หรือ ค.ศ.). ชื่อเรื่อง. ชื่อหนังสือ. เมืองที่พิมพ์: โรงพิมพ์ หรือสำนักพิมพ์.

3. วารสาร

ก. ภาษาไทย

ชื่อตัว นามสกุลของผู้แต่ง. (เลขปี พ.ศ.). ชื่อบทความ. ชื่อวารสาร. เล่มที่ (ฉบับที่): เลขหน้าเริ่มต้น-เลขหน้าสุดท้าย.

ข. ภาษาอังกฤษ

ชื่อสกุล, อักษรย่อชื่อต้น, อักษรย่อชื่อรอง. (เลขปี ค.ศ.). ชื่อบทความ. ชื่อวารสาร. เล่มที่ (ฉบับที่): เลขหน้าเริ่มต้น-เลขหน้าสุดท้าย.

หมายเหตุ

1. กรณีที่เป็นเอกสารอ้างอิงจากแหล่งอื่น ๆ นอกเหนือจากที่กำหนดข้างต้น เช่น จุลสาร หนังสือพิมพ์ ฯลฯ ให้ยึดหลักการเขียนตามแบบข้างต้นโดยอนุโลม
2. กรณีที่มีผู้เขียน 2 คน ให้เขียนตามแบบของผู้เขียนคนแรก แต่ให้เติมคำว่า “และ” หรือ “and” หน้าชื่อสุดท้ายในกรณีของภาษาไทย หรือภาษาอังกฤษตามลำดับ
3. กรณีที่มีผู้เขียนมากกว่า 2 คนขึ้นไป ให้ใส่เฉพาะผู้แต่งชื่อแรกและใส่คำว่า “และคณะ” หรือ “et al.” ในกรณีของภาษาไทย หรือภาษาอังกฤษตามลำดับ (เฉพาะในเนื้อหาเท่านั้น)
4. ถ้าเอกสารที่ถูกอ้างอิงอยู่ในระหว่างตีพิมพ์ ให้บอกรายละเอียดมากที่สุดและใช้คำว่า “ระหว่างตีพิมพ์” หรือ “in press” ในกรณีของภาษาไทย หรือภาษาอังกฤษตามลำดับ โดยวงเล็บต่อท้ายเอกสารอ้างอิงนั้น

ใบสั่งลงโฆษณา ในวารสารวิทยาศาสตร์ มข.

เขียนที่.....

วันที่.....

เรียน บรรณาธิการวารสารวิทยาศาสตร์ มข.

ข้าพเจ้า.....ตำแหน่ง.....

เป็นตัวแทนของ (บริษัท/ห้างร้าน/องค์กร).....

ที่อยู่.....โทรศัพท์.....

โทรสาร..... มีความประสงค์จะลงโฆษณาในวารสารวิทยาศาสตร์ มข.

ดังรายการต่อไปนี้

ในฉบับ (สี)

☐ เต็มหน้า

☐ ครึ่งหน้า

โดยข้าพเจ้าขอให้ลงโฆษณา จำนวน.....ฉบับ นับตั้งแต่ฉบับแรก ที่จะพิมพ์ในครั้งต่อไป
หลังจากที่ท่านได้รับหนังสือฉบับนี้แล้ว

พร้อมกันนี้ ข้าพเจ้าได้ส่งต้นฉบับเพื่อลงโฆษณา (แผ่น CD ข้อมูล) และเงินค่าโฆษณาเป็นรณาคดี
ในนาม คุณสุภาพร พิมพ์วิปี สังกัด ปท. มหาวิทยาลัยขอนแก่น จังหวัดขอนแก่น 40002 เป็น
จำนวนเงิน.....บาท (.....)

ลงนาม.....

(.....)

อัตราค่าโฆษณาในวารสารวิทยาศาสตร์ มข.

		ลง 1 ฉบับ (บาท)	ลง 4 ฉบับ (บาท)
ในฉบับ (สี)	เต็มหน้า	1,000	3,600
	ครึ่งหน้า	500	1,800

ใบสมัครเป็นสมาชิก วารสารวิทยาศาสตร์ มข.

เขียนที่.....

วันที่.....

เรียน บรรณาธิการวารสารวิทยาศาสตร์ มข.

ข้าพเจ้า.....

ที่อยู่.....รหัสไปรษณีย์.....

โทรศัพท์.....โทรสาร..... มีความประสงค์จะสมัคร

สมาชิก “วารสารวิทยาศาสตร์ มข.” ตั้งแต่วันที่.....ปีที่.....ถึงฉบับที่.....

ปีที่..... รวมทั้งสิ้น.....ฉบับ

พร้อมกันนี้ ข้าพเจ้าได้ส่งเงินค่าสมัครสมาชิก เป็นธนาคติ ในนาม คุณสุภาพร
พิมพ์วารี ส่งจ่าย ปท. มหาวิทยาลัยขอนแก่น จังหวัดขอนแก่น 40002 เป็นจำนวนเงิน
.....บาท (.....)

ลงนาม.....

(.....)

มหาวิทยาลัยขอนแก่น

กำหนดออกของวารสารวิทยาศาสตร์ มข. และอัตราค่าสมัครสมาชิก

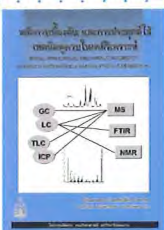
ปีละ 4 ฉบับ เป็นจำนวนเงิน 200 บาท

- ❖ ฉบับที่ 1 มกราคม - มีนาคม
- ❖ ฉบับที่ 2 เมษายน - มิถุนายน
- ❖ ฉบับที่ 3 กรกฎาคม - กันยายน
- ❖ ฉบับที่ 4 ตุลาคม - ธันวาคม

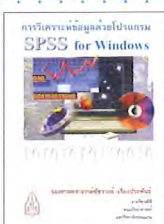
หนังสือในโครงการผลิตตำรา คณะวิทยาศาสตร์ มหาวิทยาลัยขอนแก่น



สถิติพื้นฐาน
พร้อมตัวอย่างการวิเคราะห์ด้วยโปรแกรม
MINITAB SPSS และ SAS
รองศาสตราจารย์ชัชวาลย์ เรืองประพันธ์
พิมพ์ครั้งที่ 5 2543 • 510 หน้า
ISBN 974-675-666-4
ราคา 200 บาท



**หลักการเบื้องต้นและการประยุกต์ใช้
เทคนิคคิวคอบในเคมีวิเคราะห์**
ผู้ช่วยศาสตราจารย์ ดร. ทักดิสิทธิ์ จันทน์ไทย
2543 • 202 หน้า
ISBN 974-678-333-2
ราคา 150 บาท



**การวิเคราะห์ข้อมูลด้วยโปรแกรม
SPSS for Windows**
รองศาสตราจารย์ชัชวาลย์ เรืองประพันธ์
2544 • 620 หน้า
ISBN 974-654-608-2
ราคา 300 บาท



การวิเคราะห์ฟังก์ชันคลื่นชั้นแนะนำ
รองศาสตราจารย์ ดร. สุพจน์ ไชยวงศ์
2547 • 344 หน้า
ISBN 974-367-958-8
ราคา 200 บาท



**สเปกโทรสโกปี ในการพิสูจน์
โครงสร้างของสารอินทรีย์**
รองศาสตราจารย์ ดร. สมเดช กนกมธากุล
2547 • 238 หน้า
ISBN 974-435-348-1
ราคา 180 บาท



แมงป่องช้าง
ผู้ช่วยศาสตราจารย์ ดร. ตักดา ดาแดง
นางสาวนันทวัน เอื้อวงศ์กุล
2547 • 64 หน้า
ISBN 974-435-571-9
ราคา 160 บาท



สมการเชิงอนุพันธ์สามัญ
Ordinary Differential Equations
รองศาสตราจารย์ ดร. สุพจน์ ไชยวงศ์
2550 • 470 หน้า
ISBN 978-974-7707-55-7
ราคา 240 บาท



เคมีเฮเทอโรไซคลิกแอโรแมติก
Aromatic Heterocyclic Chemistry
ผู้ช่วยศาสตราจารย์ ดร. วิวัฒน์ หาญจนวงศ์
2550 • 122 หน้า
ISBN 978-974-7707-71-7
ราคา 90 บาท



หลักการของพันธุวิศวกรรมในโพรคาริโอต
Principles of Genetic Engineering in Prokaryote
รองศาสตราจารย์ ดร. นิสนัด สัตยาภัย
2551 • 164 หน้า
ISBN 978-974-10-2673-9
ราคา 120 บาท



**พอลิเมอร์และชีวโมเลกุลในสารประกอบ
อินทรีย์**
ผู้ช่วยศาสตราจารย์ ดร. พัดนา ชีรพรชัยสิทธิ์
2553 • 112 หน้า
ISBN 978-616-7183-57-2
ราคา 80 บาท



เคมีอินทรีย์เบื้องต้น
รองศาสตราจารย์ ดร. ขวัญใจ กนกมธากุล
2553 • 317 หน้า
ISBN 978-616-7183-75-6
ราคา 240 บาท



อนุกรมวิธานระดับโมเลกุลของพืช
รองศาสตราจารย์ ดร. อรุณรัตน์ ฉวีราช
2553 • 172 หน้า
ISBN 978-616-7183-76-3
ราคา 160 บาท



เคมีโคออร์ดิเนชันของ คอปเปอร์
รองศาสตราจารย์ ดร. สุจิตรา ยังมี
2553 • 260 หน้า
ISBN 978-616-223-007-3
ราคา 200 บาท



จลนพลศาสตร์เคมี
ผู้ช่วยศาสตราจารย์ ดร. ทิพาภรณ์ ศรีชัยรัตน์
2554 • 110 หน้า
ISBN 978-616-223-086-8
ราคา 90 บาท

ท่านที่สนใจหนังสือในโครงการผลิตตำรา ติดต่อสั่งซื้อได้ที่... รองศาสตราจารย์ชัชวาลย์ เรืองประพันธ์

คณะวิทยาศาสตร์ มหาวิทยาลัยขอนแก่น จ.ขอนแก่น 40002 โทรศัพท์/โทรสาร 0 4320-2375 E-mail: chatchav@kku.ac.th



