



วารสาร

วิทยาศาสตร์ชุมชน

THE JOURNAL OF SCIENCE KHONKAEN UNIVERSITY

ปีที่ 19 ฉบับที่ 2 เมษายน - มิถุนายน 2534



เจ้าของ

คณะวิทยาศาสตร์ มหาวิทยาลัยขอนแก่น
สำนักงาน

ตึก 6 ห้องสมุดคณะวิทยาศาสตร์
มหาวิทยาลัยขอนแก่น

วัตถุประสงค์

1. เพื่อส่งเสริมและเผยแพร่วิทยาการในสาขาวิชาต่าง ๆ ทางด้านวิทยาศาสตร์
2. เพื่อเผยแพร่ผลงานด้านการวิจัย และการศึกษา ค้นคว้าของอาจารย์และนักศึกษา
3. เพื่อเป็นสื่อกลางการแลกเปลี่ยนความรู้ และแนวความคิดทางวิชาการระหว่างอาจารย์ นักศึกษาและผู้สนใจ ทั้งภายในและภายนอกสถาบัน

กำหนดออก ปีละ 4 ฉบับ

- ฉบับที่ 1 มกราคม - มีนาคม
- ฉบับที่ 2 เมษายน - มิถุนายน
- ฉบับที่ 3 กรกฎาคม - กันยายน
- ฉบับที่ 4 ตุลาคม - ธันวาคม

ค่าบำรุง ปีละ 40 บาท ขยกปลีกเล่มละ 12 บาท

การบอกรับเป็นสมาชิก

แจ้งความจำนงเป็นจดหมาย หรือกรอกใบสมัครเป็นสมาชิก พร้อมส่งค่าบำรุงเป็นธนาคัตติ หรือเช็คไปรษณีย์ในนามของนางบุญคุ้ม เหลือลัน ฝ่ายจัดการ ส่งจ่ายป.ท.มหาวิทยาลัยขอนแก่น จ.ขอนแก่น 40002

ที่ปรึกษา

คณบดีคณะวิทยาศาสตร์
รองคณบดีฝ่ายวิชาการ

บรรณาธิการ

สุวิน บุศราคำ

บรรณาธิการผู้ช่วย

กรกช อินทราพิเชฐ

กองบรรณาธิการ

ปฤษฎา กลับอุดม

ขวัญใจ ต้นสุวรรณ

พิสิฏฐ์ เจริญสุดใจ

สุวรรณ เนียมสนิท

สุพล บริพันธ์

วิชุดา ไชยสีวามงคล

สงวน พงศ์กิจวิฑูร

ฝ่ายศิลป์และภาพ

กิเลน ดิฉนรเศรษฐ

ทรงเวทย์ เป้าชัย

ฝ่ายเหรียญกิก

ลักขณา สุขบาง

ฝ่ายจัดการ

บุญคุ้ม เหลือลัน

บุษราภรณ์ หงษ์แก้ว

สนธิ์ วรชินา

สมศักดิ์ อุ่นจันที

พยอม เฉลพลมาตย์



บรรณาธิการ แปล

กองบรรณาธิการของวารสารวิทยาศาสตร์ มข. เป็นทีมงานใหม่ เราเสนอรูปลักษณ์ของวารสารแบบใหม่ โดยมีได้มีความตั้งใจจะสร้างข้อเปรียบเทียบกับทีมงานเดิมหรือรูปลักษณ์เดิมแต่อย่างใดทั้งสิ้นทีมงานและรูปลักษณ์ใหม่นี้เพียงแต่จะให้วารสารวิทยาศาสตร์ มข. มีลักษณะที่ตรงตามความจริงของปัจจุบันให้มากที่สุด 4 ประการ คือ ประหยัดงบประมาณ ไม่เพิ่มอัตรากำลังจากรัฐบาล ซึ่งมีจำนวนอันจำกัด ไม่รบกวนขอค่าโฆษณาใคร และมุ่งแก่นสารทางวิชาการ

หากจะมีการปรับปรุงใด ๆ กองบรรณาธิการไม่ปรารถนาจะทำเพียงฝ่ายเดียว แต่ผู้เผยแพร่ผลงานในวารสารวิทยาศาสตร์ มข. ร่วมมือด้วย เพื่อให้ผลงานของท่านมีคุณค่าและอรรถประโยชน์ต่อผู้อ่านอย่างแท้จริง เราอาจเพิ่มรูปสี่ประกอบให้มากขึ้น ส่งถึงมือผู้อ่านตรงต่อเวลายิ่งขึ้น สำหรับฉบับนี้ เราเปิดโลมออกมาล่าช้ามาก แต่เราจะไม่กล่าวคำขออภัยเพียงเพื่อให้ผ่านพ้นไปทีอย่างง่าย ๆ หรือรำพึงรำพันให้ชวนเห็นใจ หากแต่เราจะตราความผิดพลาดของเราเอาไว้ และแก้ไขให้ผู้อ่านค่อย ๆ คลายใจ แน่อนการติเตียนย่อมเป็นสิทธิของท่านผู้อ่านและตัวบรรณาธิการพร้อมที่จะน้อมรับด้วยความขอบพระคุณ ที่ท่านให้ความสนใจเรา

สุวิน บุศราคำ

การศึกษาและการพัฒนาบุคลากรสาขาฟิสิกส์ *

ดร.วิโรจน์ ตันตราภรณ์ **

Elitism เป็นธรรมชาติของนักฟิสิกส์ส่วนมาก
อันเป็นสาเหตุของปัญหาของแต่ละบุคคล
ของนักฟิสิกส์ส่วนมาก และของสังคมโดยทั่วไป

ท่านอาจารย์และพี่น้องชาววิทยาศาสตร์ที่เคารพ

ผมรู้สึกเป็นเกียรติอย่างสูง ที่สมาคมฟิสิกส์ไทย ได้ให้เกียรติเชิญให้ผมเป็นที่ปรึกษาของสมาคมเมื่อเร็ว ๆ นี้ และได้เชิญให้ผมบรรยายเรื่อง การศึกษาและการพัฒนาบุคลากรสาขาฟิสิกส์ในวันนี้ ที่จริงแล้ว ตามที่ท่าน ดร. วิจิตต์ เส็งหนันท์ (นายกสมาคมฟิสิกส์) บอกผมไว้ ให้ผมเพียงแต่มาร่วมสนทนากับกลุ่มเล็ก ๆ อันประกอบด้วย คณะกรรมการสมาคม และผู้สนใจสนับสนุนสมาคมบางท่าน อย่างไรก็ตาม อาจารย์ปรีชา อมาตยกุล ได้ขอรับรองให้ผมว่า นอกจากจะมาบรรยายในชั้นเป็นกันเองแล้ว ก็อยากจะให้บันทึกเป็นข้อเขียนไว้ด้วย เพื่ออาจเป็นประโยชน์ต่อสังคมชาววิทยาศาสตร์ทั่ว ๆ ไป ที่ไม่ได้มีโอกาสมาฟังข้อคิดเห็น หากมีผู้สนใจจะติดตาม และไม่มีโอกาสมาเข้าประชุมฟังการบรรยายด้วยตนเอง

การที่มาให้ความคิดความเห็น ต่อผู้ที่อยู่ในวงการการทำงานภายในประเทศไทย มาตลอดและทราบถึงปัญหาต่าง ๆ และได้ฝ่าฟันกันมานานแล้วนั้น ผมก็ตกอยู่ในสภาพเดียว

* การบรรยายพิเศษ ก่อนวาระการประชุมใหญ่สามัญประจำปี 2533 ในวันที่ 8 กุมภาพันธ์ 2534
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

** รองผู้อำนวยการ คณะกรรมการพัฒนาวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยี

กันที่มักจะมีฝรั่งผู้เชี่ยวชาญจากเมืองนอกมาอธิบายให้ผมฟังถึงปัญหาต่าง ๆ ในเมืองไทย คือ ผู้ฟังรู้ดีกว่าผู้พูด ผู้ฟังก็ฟังไปแล้วก็ข้ามชั้น ว่าผู้พูดไม่รู้เรื่องราวที่แท้จริงไม่ ผู้ฟังก็ฟังไปอย่างนั้นเอง อย่างสุภาพเมื่อฝรั่งไปแล้วก็วิจารณ์ฝรั่งว่าเขาไม่รู้อะไรแล้วเราก็กำเนินชีวิตของเราไปอย่างเดิม เพราะเรารู้ ชินกับสภาวะและได้ปรับตัวเข้ากับสภาวะได้ และก็คิดว่าได้ทำไปอย่างดีที่สุดแล้ว

ผมจึงต้องขอภัยเอาไว้ก่อน สิ่งใดที่ผมพูดเชื่อช่าออกไป ก็เพราะความเชื่อช่าจริง ๆ จะไปวิพากษ์ วิจารณ์ว่าผมเชอะอะไรทีหลังก็ได้ ผมไม่ว่าอะไร เพราะเข้าใจธรรมชาติของ ปุถุชนดี เราทราบถึงสุภาสิตไทย ๆ ที่ว่าไม้อ่อนดัดง่าย ไม้แก่ดัดไม่ได้ ฉะนั้นผมดู ๆ ในกลุ่ม พวกเราที่มาคุยกัน ก็ต้องจัดว่าเป็นไม้แก่เสียส่วนมาก การเปลี่ยนแปลงก็คงเป็นไปได้ยาก การมาบรรยาย ความเห็น จึงเป็นไปด้วยความตั้งใจอย่างบริสุทธิ์ว่าเป็นความเห็นของตนเอง ใครไม่เห็นด้วยก็แล้วไป และหวังว่าคงจะมีไม้อ่อนอยู่บ้าง ซึ่งเมื่อพวกเราไม้แก่ ต้องล้มหายตายจากกันไป พวกไม้อ่อนจะได้มีการดัดแปลงตามความเห็นความคิดที่เขาไปกลั่นกรองเอาไปใช้ได้ทีหลัง

หัวข้อของการบรรยายในวันนี้ " การศึกษาและการพัฒนาบุคลากรสาขาฟิสิกส์ " แท้จริงแล้วน่าจะต้องแบ่งเป็น 2 หัวข้อ คือการศึกษาฟิสิกส์ และการพัฒนาบุคลากรสาขาฟิสิกส์ พอแยกออกเป็น 2 ข้อ ก็พอจะเห็นประเด็นว่า ข้อแรก การศึกษาฟิสิกส์ คือการจัดการกับพวกไม้อ่อน อ่อนใหม่ ๆ ที่เดียว และข้อที่ 2 การพัฒนาบุคลากรสาขาฟิสิกส์ คือการจัดการกับพวกไม้ที่เป็นไม้แก่เสียส่วนมาก ท่านผู้ฟังคงพอจะคาดความยากง่ายของปัญหา 2 ข้อนี้ได้แล้วว่าข้อไหนจะยากกว่ากัน

ผมไปอยู่อเมริกาเสีย 40 ปีก่อนไปก็อยู่คณะวิทยาศาสตร์จุฬาปีที่ 1 การสอนวิทยาศาสตร์เป็นประเภทอาจารย์เปิดตำราสอนเขียนกระดานให้นักเรียนจดตาม จดทันทีที่เท่าใดแล้ว อธิบายว่าแต่คอยไตร่ตรองว่าอาจารย์สอนว่าอย่างไร สมัยใหม่นี้ นักศึกษาคงมีหนังสือมีตำราเรียนและอาจารย์ก็คงสอนด้วยการอธิบายก็น่าจะดีขึ้น แต่ผมยังไม่มีโอกาสเข้าฟังการสอน จึงมีอาจให้ความเห็นว่าดีไม่ตีแคไหน เขาเป็นว่าเท่าที่จำได้ ตอนที่เรียนในอเมริกาเมื่อประมาณ 40 ปีที่แล้วและจากประสบการณ์ที่ได้มาเห็นนักวิทยาศาสตร์คณาจารย์ไทยทั่วไปในระยะหลังปี ค.ศ. 1981 จะผิดถูกอย่างไร ก็เกิดความเห็นว่า การสอนส่วนมากคงเป็นแบบงูมมือ พยายามตั้งต้นแต่จุดเบื้องต้น อธิบายต่อเนื่องเป็นเรื่องเป็นฉาก แล้วจึงให้บทฝึกหัด เพื่อเป็นตัวอย่างว่าใช้ความรู้ที่เรียนมาแล้ว แก้ปัญหาอย่างไรบ้าง อาจารย์ได้นำลูกศิษย์ เหมือนพรานเจ้าถิ่นพาคนตามผ่านป่าดงได้ ถูกทิศทาง ได้รับความรู้ดี

ปัญหามันเกิดตรงที่ว่า หากไปเจอป่าใหม่ที่ไม่มีพรานนำจะทำอย่างไร ปัญหาประเภทนี้ ไม่ใช่เกิดในระดับมัธยม หรือปริญญาตรี แม้ชั้นการฝึกฝนระดับปริญญาเอก ก็ยังมีอยู่มากในปัจจุบันนี้ ผมเคยเห็นมามาก มี Ph D ที่จบจากมหาวิทยาลัยใหญ่ ที่มีชื่อเสียง และ

ที่มีเครื่องมือเครื่องมือครบ มีทีมงานใหญ่ ผลิต Ph D ได้มากมายชื่อเสียงดี ผลงานดี แต่พอออกจากสถาบันชั้นนำแล้วไปทำงานอยู่ในสถานที่เล็ก สถาบันเล็ก บริษัทเล็ก ที่ต้องฟันฝ่าเป็นพรานเอง มักจะทำไม่ได้ ต้องไปหางานทำในสถาบันใหญ่ ๆ และต้องใช้เวลาอีกนานกว่าจะมีประสบการณ์มากพอที่จะกล้าเป็นนายพรานเอง

ปรากฏการณ์ประเภทนี้ฝรั่งเรียกว่าประเภท Safety in number ซึ่งปกติก็ต้องอาศัยผู้นำบ้างแต่บางกลุ่มใหญ่ก็ไม่ต้องมีผู้นำ ซึ่งเป็นปรากฏการณ์ใหม่ที่เกิดขึ้นในสังคมวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยี นี่ขอออกไปนอกเรื่องบ้างเล็กน้อย คือเรื่องของความเชื่อถือใน ความรู้ใหม่ด้วยระบบพวกมากลากไป หลงทางก็หลงด้วยกัน ตัวอย่างก็คือเรื่อง Greenhouse Effect ในเวลานี้ที่มีการศึกษากันมาก hypothesize กันมาก ตกลงจัดการดำเนินการแก้ไขกัน - เสียแต่เงิน ๆ - ทั้งนี้เพราะว่ามีข้อมูลระยะหลัง ๆ ที่เขาอ้างอิงกันน้อยกว่าในระยะ 20 ปีที่แล้วคือ 1970-1990 เห็นแน่ชัดว่าอุณหภูมิสูงขึ้นอย่างรวดเร็ว ฉะนั้นอีก 50 ปีข้างหน้า จะสูงไปหลายองศา ทำให้น้ำแข็งขั้วโลกละลายหายกันอย่างรวดเร็ว

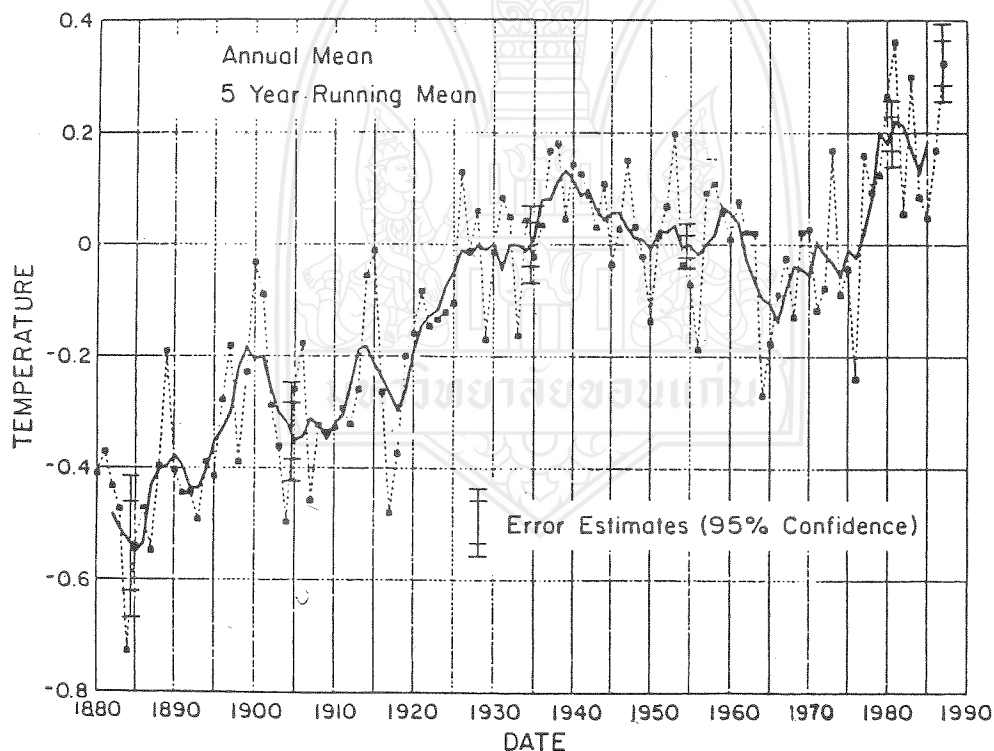


FIGURE 1 Departure of mean global temperatures from their 1951 to 1980 Period mean value for individual years (dots connected with dashed lines) and for 5-year running mean values (solid curve). Error estimates for both individual and running mean values are shown for selected years. Period of record is 1880 through 1987.

ผมจำไม่ได้ว่าตอนทศวรรษ 1960 นั้นมีกลุ่มคล้าย ๆ กันนี้ที่อ้างว่า ในระยะ 20 ปีก่อน เป็นอุณหภูมิลดลงเรื่อย ๆ อย่างเห็นได้ชัด ฉะนั้นพอ 1990 เราคงมีน้ำแข็งมากขึ้น น้ำทะเลต่ำลง อะไร ๆ ต่ออะไรแบบเดียวกันนี้ แต่ในทิศทางตรงข้ามหรือไม่ ก็ไม่ทราบว่ามีใครเป็นนายพรานนำทางใครเป็นพวกเฮไลตามกันเป็นหมู่ความเห็นของผมนั้นเห็นว่านักวิทยาศาสตร์ที่ดีจะต้องใช้ข้อมูลที่มีอยู่ให้หมด หากตัดอะไรทิ้งก็ต้องเข้าใจเหตุผล อีกประการนั้นปรากฏการณ์ที่ไม่ใช่ของง่าย ๆ แจ่ม ๆ ชัดนั้น ไม่ควรจะใช้สมการ เส้นตรงในการคาดคะเนอนาคต เราคิดอย่างนักคณิตศาสตร์ เห็นมีอะไรขึ้น ๆ ลง ๆ เราก็ต้องใช้ Fourier analysis หากเราทำ analysis อย่างนั้น ก็จะเห็นว่าปรากฏการณ์ระบบคลื่น ซึ่งมีช่วงคลื่นเวลาประมาณ 10 ปี ซึ่งก็สมกับปรากฏการณ์ของ Sun Spot Activities ทับกับปรากฏการณ์อื่นซึ่งมีช่วงคลื่นเวลาประมาณ 60 ปี และมีช่วงคลื่นประมาณ 240 ปี และถ้าหากใช้ Fourier fitting ก็จะพบว่า ปี 1990 นั้นเป็นจุดที่ใกล้อุณหภูมิสูงสุดและน่าจะให้การคาดคะเนว่า อุณหภูมิจะลดลงใน 10 ปีข้างหน้าเป็นต้น ซึ่งขัดกับการคาดคะเนที่ชาวอนุรักษ์นิยม ที่เกรงกลัว Greenhouse Effect เมื่อใช้เส้นตรงมา fit กับข้อมูลของ 20 ปีที่แล้ว

ฉะนั้น นักฟิสิกส์หลายคนจึงพยายามอธิบายให้นักอนุรักษ์เข้าใจว่า จำเป็นต้องหาข้อมูลเพิ่มเติมอีกไปอีก 10 ปี ดูว่า Fourier fit หรือ Linear fit จะเป็นการคาดคะเนที่ถูกต้องเสียก่อนที่จะตัดสินใจดำเนินการอย่างไร นักฟิสิกส์พวกนี้ก็มี Prof Dr Frederick Seitz, Dr. Dixie Lee Ray เป็นต้น ผมขออยู่ในกลุ่มพวกนี้ด้วย แต่ขอเรียนว่า เราได้คิดเช่นเดียวกันนี้ โดยไม่ได้ทราบเรื่องมาก่อนเลย

ปัจจุบัน ข้อมูลที่อยู่ใน Publications ทั้งหลายมีมากมาย จนตามไม่ทัน กลั่นกรองไม่ทัน 99.9% ของนักวิทยาศาสตร์ไทย มิได้มีโอกาสทำงานด้านวิจัยด้วยตนเอง โดยเฉพาะอย่างยิ่งด้าน Greenhouse effect ได้แต่รับทราบข้อมูล และวิเคราะห์จากข่าวสารที่ตนอ่านมา ก็คงไม่มีโอกาสคิดเป็นอย่างอื่น เป็นพวกเฮไลตามเขาไปด้วย แต่ถ้าหากมีโอกาสตามหาข้อมูลดิบจริง ๆ และได้วิเคราะห์เอง ก็คงทำ Fourier analysis อย่างผมเช่นเดียวกัน ไม่ทราบว่า มีผู้อ่าน ผู้ฟังกี่ท่าน ที่ได้ทำอย่างที่ผมกล่าวนี้

ในขณะที่เดียวกัน ผมก็สังเกตว่า ไม่ว่าในเมืองไทยหรืออเมริกา ประชากรด้านเทคโนโลยีเริ่มจะมี trend ไปในทางเฮไลตามกันเป็นพวก " It is a widely held belief that..." มักจะถูกใช้เป็นข้ออ้างเพื่อเกลี้ยกล่อมหรือบังคับให้ผู้ฟังเชื่อ แทนที่จะให้ข้อมูลดิบให้ผู้อ่านผู้ฟังวิเคราะห์เอาเองมีหน้าซ้ำการเมืองเพื่อได้รับการเลือกตั้งเป็น journal editor แล้วก็ตั้งพวกของตนเป็น editorial reviewers ทำให้ scientific direction ใหม่ ๆ เป็นไปโดยยาก หากไปขัดกับแนวความคิดของกลุ่มของเขา

ดังนั้น ปัญหาจึงไม่ใช่เกิดเฉพาะในประเทศไทย ที่เรามีนายพรานน้อยลง และมีพวกเฮไลตามเขามากขึ้น แต่สำหรับประเทศไทยต้องจัดว่าเป็นปัญหาใหญ่ ในโลกสากล ถึงแม้ percent ของผู้เป็นพรานมีน้อย แต่จำนวนรวมก็มีมากพอสมควร เมืองไทยเราจำนวนรวมมีน้อย คุณกับเปอร์เซ็นต์น้อยจำนวนพรานจะมีกี่คนก็ไม่ทราบ

การศึกษาฟิสิกส์ และการศึกษาวิทยาศาสตร์โดยทั่วไป สำหรับประเทศที่จำนวนคนน้อย จำเป็นต้องมุ่งไปในด้านที่จะทำให้เกิด " นายพราน " ให้มากที่สุด ระบบการเรียนการสอนแบบจูงมือควรจะทำให้ให้น้อยที่สุดที่จะทำได้ ควรจะดัดแปลงให้เป็นไปในด้านแนะนำ และทำทนายให้ทดลองไต่หาข้อแก้ไขปัญหาด้วยตนเอง

มาตรการในการสอนฝึกอบรมให้มีนิสัยเป็นผู้ไต่หาข้อแก้ไขด้วยตนเองนั้น ก็คือการร่างโจทย์กันอย่างคร่าว ๆ " Outline the forest " ให้เขาเข้าไปในป่า หลีกเลี้ยงต้นไม้ด้วยตนเอง เมื่อหลงทางจึงช่วย หัด navigate ด้วยตนเอง บ่อย ๆ เข้า ก็คงหลงทางน้อยครั้งลง จนจะมีความเชื่อมั่นในตนเอง ว่าจะหาทางทะลุป่าได้

ผมจำได้ว่า สมัยเป็นนักเรียน ผมมีความรำคาญวิธีการสอนแบบจูงมือเป็นอย่างยิ่ง พออาจารย์เริ่ม lecture ว่า " Consider two charged particles colliding in vacuum " ผมก็ถามในใจว่า " Why? " จนกระทั่งบัดนี้ ก็ยังรำคาญพวก Nuclear Physicist ที่ " Consider two charged particles colliding in vacuum " -as the ONLY starting condition for nuclear fusion. ผมอยากจะให้เขาดังใจที่ว่า เราต้องการให้เกิดปฏิกิริยา nuclear fusion เราจะต้อง set up conditions อะไรบ้าง ที่จะให้โอกาสมากที่สุดที่จะเกิดปฏิกิริยานั้นได้จะทำได้หรือไม่ได้มันเป็นเรื่องของความลำบากยากง่าย แต่ธรรมชาติของการตั้งโจทย์ เป็นจุดสำคัญของผู้ที่ก่อให้เกิดความก้าวหน้าทางวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยี ไม่ใช่เพียงเข้าใจคำอธิบายของผู้อื่น

ฉะนั้น การสอนฟิสิกส์ หรือ วิทยาศาสตร์ น่าจะเป็นการตั้งโจทย์จากจุดประสงค์ที่ต้องการแล้วหาหนทางแก้อุปสรรคที่ขวางไม่ได้ถึงจุดประสงค์นั้น ๆ ผู้สอน Atomic Physics ที่ดี จะต้องไม่บอกนักเรียนว่า " Electronic orbits obey the following laws..." เพราะนักเรียนที่ดีเขาจะรู้มันอยู่ในใจว่า " Why? " แล้วจะไม่ตาม lecture อันเกี่ยวกับ laws นั้น ๆ ผมขอฝากไว้ให้เป็นการบ้านต่อผู้สอนฟิสิกส์ทั้งหลาย ให้หาวิธีสอนที่ทำให้นักเรียนเห็นเองว่ามันเป็นอย่างนั้น เพราะอะไร เป็นอย่างอื่นได้ไหม เพราะอะไร ให้เขาคำตอบเอง แล้วก็ให้นักเรียนหาคำตอบเอง จึงจะฝึกตนเป็นนักฟิสิกส์ที่ดี ที่เป็นพรานได้ต่อไป

อาชีพและความสำเร็จของนักวิชาการระดับนายพรานนั้น จะสืบเนื่องมาจากความเคยชินในการตั้งโจทย์ " Outline of the forest " และการ navigate ผ่านต้นไม้ในป่าจนทะลุปรุโปร่งได้ นักวิชาการระดับนายพราน จะไม่อยู่ในป่าเดียว นอกจากจะอยู่สอนหนังสือคือ

เป็นนายพรานประจำป่า แต่จะไปหางานอื่นทำ หาปัญหาอื่นมาตั้งโจทย์มาแก้ไข เขาอาจจะอยู่หนึ่งไม่ได้ ต้องเป็น research scientist หรือต้องออกไปหางานอื่นที่มี challenge ให้เขาทำ เขาจะไม่ค่อยเลื่องงาน งานที่ง่ายก็ทำประเดี๋ยวเสร็จ งานยากก็ทำนานหน่อย บางคนก็กลายเป็นช่างไฟฟ้า บางคนก็สนใจดัดแปลงวัสดุ บางคนอยากเป็นนายบังคับคอมพิวเตอร์ นักวิทยาศาสตร์ หรือนักฟิสิกส์แบบนายพรานนั้น หากเราสรรหามาให้สังคมได้ ประเทศไทยก็คงมีภาพพจน์ต่อนักวิทยาศาสตร์ และนักฟิสิกส์ที่ดีขึ้น ไม่ใช่หวังวางตัวเป็นนักวิทยาศาสตร์ นักฟิสิกส์อยู่เฉย ๆ ไม่ทำงานให้เป็นประโยชน์ให้แก่สังคมมากกว่านี้

แต่เราจะมีนักศึกษาที่จะสามารถรับการฝึกอบรมให้เป็น "นายพราน" ในด้าน ฟิสิกส์ และวิทยาศาสตร์สักกี่คน? นักเรียนที่ผมเรียกว่า Grade A+ stock อาจจะจัดอยู่ใน upper 1 percentile ทุกวันนี้ ประเทศไทยมีเด็กอายุ 17 ปี ปีละ 1 ล้านคน แต่เพียง 10% หรือ ปีละ 1 แสนคน จบ ม.ศ. 6 ฉะนั้น upper percentile ของ 1 แสนคน ก็คือ 1 พันคน ซึ่งก็คงต้องการเข้าโปรแกรมแพทย์กันเสียส่วนมากเหลือตกค้างมาเรียนเป็นนักวิทยาศาสตร์นักฟิสิกส์กันปีละกี่คนผมไม่แน่ใจ พวกนี้กระมังที่อยู่ในโครงการข้างเผือก?

ผมได้สัมภาษณ์คนไทย ท้องถนน; คนใช้, คนขับแท็กซี่, คนทำงานโรงแรม ฯลฯ ถึงระดับการศึกษาของเขา แทบทั้งหมดตอบว่าเรียนมาแค่ ป. 6 เพราะว่ามาจากครอบครัวคนจน ในตำบลที่มีโรงเรียนสอนถึง ป. 6 เท่านั้น พออายุ 12 ขวบ จบ ป. 6 แล้วก็ต้องเลิกเรียนแน่ละเด็ก 12 ขวบไม่สามารถย้ายภูมิลำเนาไปอยู่อำเภอใหญ่ที่เขามีโรงเรียนมัธยมได้ ก็ต้องคอยอยู่กับบ้าน คอยโอกาสมาขายบริการ แล้วแต่บริการไหนจะขายได้ที่ไหน ประเทศไทยจึงต้องมีโสเภณีมาก มีคนที่ไม่ทำงาน "ไหลตาย" ที่สิงคโปร์ ซาอุดีอาระเบีย ฯลฯ มาก 90% ของเด็กไทย ไม่มีโอกาส ที่จะจบ ม.ศ. 6 ไม่มีโอกาสมาลองฝีมือเป็นแพทย์ วิศวกร เศรษฐกร หรือนักวิทยาศาสตร์ได้ ซึ่งได้เป็นแผนของรัฐบาลไทยมานานแล้ว แม้กระทั่งการประกาศแผนการศึกษาในแผนพัฒนาประเทศฉบับที่ 7 เดือน สิงหาคม 2533 รัฐบาลจะให้พยายามขยายระดับการศึกษาภาคบังคับ/ส่งเสริมไปถึง ป. 9 ซึ่งในสายตาของผม ประเทศไปผลิตบุคลากรประเภทขายแรงงาน หญิงบริการได้จำนวนเท่าเดิม โดยมีคุณสมบัติเพิ่มเติมจาก ป. 6 เป็น ป. 9 แต่เนื่องจากเขาเหล่านั้นไม่มีโอกาสมาถึงประตูมหาวิทยาลัย ประเทศไทยก็ยังผลิต บุคลากรระดับ "พราน" ด้านวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยีได้เท่าเดิมคือปีละประมาณ 1 พันคน อุปสรรคในการพัฒนาประเทศก็จะเหมือนเดิมไปหลายชั่วคน

จึงน่าจะเป็นที่กระจ่างแจ้งว่า แผนงานสำคัญของชาติ คือการตั้งเป้าการศึกษาภาคบังคับ/ส่งเสริมให้เด็กได้เรียนถึง ม. 6 เพื่อให้โอกาสแก่เด็กที่จะมาถึงประตูมหาวิทยาลัย และเพื่อประเทศจะมี stock ระดับ "พราน" ประมาณปีละหมื่นคน แทนที่จะเป็นปีละพัน ซึ่ง

จะหมายความว่า ระดับความสามารถของนักศึกษาในมหาวิทยาลัยแทบทุกด้าน รวมทั้งวิชา
ครูด้วย อาจจะสูงขึ้นเกือบสิบเท่า

ท่านผู้อ่าน ผู้ฟัง อาจจะเห็นว่า ผมบรรยายนอกเรื่องไป แท้จริงแล้วผมได้ให้ข้อ
มูลและเหตุผลทางอ้อม ว่าทำไม *คุณภาพ* ของบุคลากรด้านวิทยาศาสตร์ หรือ ฟิสิกส์ไทย จึงดู
ต่ำลงไปเรื่อย ๆ ทั้งนี้ก็เพราะเป็นผลพวงตามกันมาหลายสิบปีแล้ว อาจารย์เก่งน้อยลง ลูก
ศิษย์ก็ยิ่งแย่

ก็มาถึงปัญหาที่สอง คือการพัฒนาบุคลากรสาขาฟิสิกส์ เราจะทำอย่างไรกับไม้
แก่? ก็ได้ยินแล้ว ๆ กันมาว่า แต่ละคนก็นับถอยหลัง ว่าเมื่อไรจะถึงวันเกษียณ จะได้เลิกวิถีชีวิต
อันน่าเบื่อหน่ายเสียที เป็นอาจารย์ฟิสิกส์มานานแล้ว โอกาสฝึกฝนตามชาวโลกเขาก็ไม่มี ตาม
ไม่ทัน ได้แต่อ่าน อ่านรู้เรื่องก็ทำให้มีกิเลส และสงสัยตัวเองว่าไม่มีโอกาสทำงานวิจัยแบบนั้น ๆ
บ้าง นาน ๆ ไปแม้แต่อ่านก็เริ่มไม่รู้เรื่องว่าเขาทำอะไรกัน แล้วก็เลยเลิกอ่านเลิกตามไปเลย

ทางรัฐบาล ผ่านลงมาถึงมหาวิทยาลัย ก็ไม่มีการลงทุนสนับสนุนงานวิจัย ไม่มี
การปรับระดับค่าครองชีพของบุคลากรวิทยาศาสตร์ หรือ ฟิสิกส์ ให้ได้กับความยากของวิชาการ
Feedback loop ต่าง ๆ ก็มีแต่ทางลบ ไม่มีการลงทุนทำวิจัย ไม่มีโอกาสทำวิจัย ไม่มี technical
challenge ไม่มีผลผลิต ไม่มีควมดีความชอบ ไม่มีชื่อเสียง ไม่มีนักเรียน ไม่มีความสำเร็จ
จากคนภายนอก เป็นผลพวงตามกันอยู่ตลอดเวลา

สัญชาตญาณของบุคคลประเภท พรานป่า อย่างที่เรียนให้ทราบ น่าจะตั้งโจทย์
ให้กับตนเองว่า จะมี contribution ที่ไหนได้อย่างไร ทำไมเราจึงจะพยายามเอาพลอยไปให้ไก่กิน
ในเมื่อไก่ต้องการกินข้าวเปลือก? คนที่ผลิตสินค้าก่อนแล้วจึงไปทำ marketing ว่าจะไปขายให้
แก่ใครที่ไหนทีหลังนั้น ก็เป็นผู้ที่ใช้ตนเองในทางที่น่าจะเป็นที่แจ่มแจ้งว่าไม่ได้ผล หากเราทำ
market research รู้ว่ามีความต้องการผลิตภัณฑ์ใด แล้วจึงผลิตสิ่งนั้นมา ก็ย่อมจะมีผู้นิยมใช้
ผลิตภัณฑ์หรือ *บริการ* (ซึ่งเป็นผลิตภัณฑ์ in a sense) ของตน ทำให้ตนได้ค่าตอบแทนทั้งใน
ด้านการเงินและ self-worth ว่าได้ทำประโยชน์

ทีนี้ หากเราเป็นไม้แก่ โดยเฉพาะอย่างยิ่งนักฟิสิกส์ ที่คิดว่าฉันเรียนมาอย่างนี้
ชอบทำแต่อย่างนี้ การไม่มีใคร appreciate ก็แล้วไป ผลก็คือ ไม่มีใคร appreciate จริง ๆ ตน
เองก็รู้สึกว่าง isolated ผิดหวังไปด้วย

ผมไม่ตำหนิ individuals ที่ตกในที่นั่งแบบนี้ เมื่อมาอยู่เมืองไทยนานพอ ผมก็เข้าใจ
สาเหตุส่วนลึก ที่เป็น culture ของคนตะวันออกโดยทั่วไป คือความสำคัญของ "หน้า"
"ความที่เรากลัว" เสียหน้า " ทำให้เราไม่กล้าเรียนอะไรใหม่ ๆ เพราะมันเป็นการ
แสดงความยอมรับว่าเราไม่มีความชำนาญ เรื่องเท่านี้ก็ไม่รู้อะไรทำนองนั้น และโดยมากก็ต้อง

ไปเรียนจากผู้สอนซึ่งเด็กกว่า ฉะนั้น " หน้า " จึงเป็นสิ่งที่กันไม่ให้เราหาความรู้ความชำนาญเพิ่มเติม

นอกจากนี้ ผมก็ได้สังเกตว่า นักวิทยาศาสตร์ หรือ นักฟิสิกส์ไทย ไม่ยอมทำงานร่วมกันนี่ก็อีก เป็นเพราะว่า เกรงว่าตนจะถูกคนที่เก่งกว่า dominate เป็นการเสีย " หน้า " หรือศักดิ์ศรี นี่ก็เป็น negative culture ที่ถ่วงความเจริญของประเทศ เรามักจะเก่งในการหัก " หน้า " หรือขัดกันแต่ไม่เก่งในด้านร่วมมือร่วมงานกัน ต่างคนก็ต่างจะเป็นผู้นำ ไม่มี team spirit ฉะนั้นงานต่าง ๆ ทางวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยี ซึ่งจำเป็นที่ต้องมี critical mass จำนวน 3-4 คนขึ้นไป จึงไม่สามารถดำเนินงานกันได้ ตัวอย่างการไม่ร่วมงานกันในกลุ่มวิศวไฟฟ้า กับ ฟิสิกส์เซมิคอนดักเตอร์ ตัวอย่างไม่ร่วมงานกันในกลุ่มซูเปอร์คอนดักเตอร์ ตัวอย่างผู้ไม่ยอมเข้าสัมมนา ร่วมกัน พูดยตามประสา matrix ก็ว่า cross-term matrix = 0 มีแต่ discrete eigen-states, and forbidden gaps!

ปัญหาของไม้แก็ ดังกล่าว ดัดยาก แต่หากใครยังอยากจะทำตนให้เป็นประโยชน์ต่อประเทศชาติ โดยไม่ยอมสร้าง cross-term matrix กับพวกเดียวกัน ก็ควรออกไปตั้งใจหายนอกกลุ่มนักฟิสิกส์เสียเลย ไปหาดูว่าบ้านเมืองมีความลำบากยากแค้นที่ไหน ที่แต่ละท่านจะช่วยให้ ผมมาอยู่ 2-3 ปี ก็ได้เห็นปัญหาของการศึกษาที่ไม่ต่อเนื่อง ดังที่เรียนให้ทราบ และก็ให้เวลาเกือบ 100% อุทิศเงินส่วนตัวเกือบ 100% เพื่อแก้ไขเปลี่ยนแปลงสถานภาพอันเลวร้ายมานานนี้ หากท่านสนใจช่วยชาติ ด้วยแรง ด้วยเงินของท่าน ไม่ต้องช่วยผมก็ได้ ไปหาจุดยากแค้นของโรงเรียนตามตำบลต่าง ๆ เอง Find bright kids และช่วยให้เขามีโอกาสหนีจากฝ่าครอบประดม 6 ตำบลคนละ 2 คน ก็คงเป็นผลที่จะให้ประเทศไทยเจริญขึ้น เป็นสิ่งที่เราน่าจะทิ้งเอาไว้มให้เกิดผล 25 ปี หลังจากนั้นไปตัวเราเองก็จะได้ผลเป็นการพัฒนาจิตใจ เห็นทุกข์ และเห็นทางดับทุกข์ของตนและผู้อื่นไปด้วยกัน

เหตุของทุกข์ เกิดจาก " หน้า " ที่ตนเริ่มจะไม่แน่ใจว่า แจ๋วจริงหรือเปล่า โดยที่เดิมนึกว่าแจ๋ว Elitism เป็นธรรมชาติของนักฟิสิกส์ส่วนมาก อันเป็นสาเหตุของปัญหาของแต่ละบุคคล ของนักฟิสิกส์ในสวนรวม และของสังคมโดยทั่วไป เมื่อใดตนหักใจได้ จึงจะเป็นผู้หาข่าวให้ไถ่กิน แทนที่จะถือพลอยอยู่จนตาย

ขอขอบคุณทุกท่านที่ได้ให้ความสนใจ และขออภัยหากท่านคิดว่าผมได้ล่วงเกินโดยหาจะมีเจตนาร้ายอย่างไรไม่

อินซูลินปริทัศน์ :

70 ปีของการพัฒนา

สุเทพ ไวยครุฑธา *

วันที่ 11 มกราคม พ.ศ. 2465 ณ โรงพยาบาล Toronto General Hospital ประเทศแคนาดา เด็กชาย Leonard Thompson วัย 14 ปี ผู้ป่วยเบาหวานอาการรุนแรง ที่แม้ว่าจะได้รับการควบคุมอาหารเป็นอย่างดีแล้ว ก็ยังมีระดับน้ำตาลกลูโคสในเลือดสูงถึง 500 มิลลิกรัมเปอร์เซ็นต์ ถ่ายปัสสาวะมากถึงวันละ 3-5 ลิตร และได้รับการคาดหมายว่า จะเสียชีวิตในอีกไม่กี่เดือนข้างหน้า ได้รับการทดลองรักษาด้วยการฉีดอินซูลินที่สกัดจากตับอ่อนเป็นครั้งแรกผลปรากฏว่า ระดับน้ำตาลในเลือดและปริมาณการขับถ่ายกลูโคส ออกทางปัสสาวะลดลง แพทย์ได้ฉีดอินซูลินให้ต่อเนื่องมาอีกทุกวัน อาการของเด็กคนนี้ได้ดีขึ้นมาก เขาแลดูสดใสขึ้น และรู้สึกแข็งแรงขึ้นมาก เหตุการณ์ความสำเร็จในครั้งนี้ เป็นผลงานของ F.G.Banting และ C.H.Best นักวิทยาศาสตร์แห่งห้องทดลอง Macleod ภาควิชาสรีรวิทยา มหาวิทยาลัยโตรอนโต ประเทศแคนาดา ซึ่งสามารถคิดค้นวิธีการสกัดอินซูลินจากตับอ่อนได้ในปี พ.ศ. 2464 และนำมาใช้รักษาเบาหวานได้เป็นผล สำเร็จดังกล่าว เป็นครั้งแรกในประวัติศาสตร์การแพทย์

อินซูลิน เป็นโปรตีนฮอร์โมนขนาดเล็กมีน้ำหนักโมเลกุล 5734 หน่วย ประกอบด้วยกรดอะมิโน 51 ตัวเรียงต่อกันเป็น 2 สาย A และ B ซึ่งเชื่อมต่อกันด้วย disulfide bridge ฮอร์โมนนี้สังเคราะห์ขึ้นโดยกลุ่มเซลล์ที่เรียกว่า เบต้าเซลล์ของ islets of Langerhans ภายในตับอ่อน ทำหน้าที่ควบคุมการใช้และการเก็บสะสม ไบโอมัน และกลูโคส ซึ่งเป็นแหล่งพลังงานที่สำคัญของร่างกาย

ในระยะแรก นับแต่ปี พ.ศ. 2465 เป็นต้นมา การสกัดแยกและการผลิตอินซูลิน ได้มาจากตับอ่อนของโค และสุกร ซึ่งมีโครงสร้างของโมเลกุลที่แตกต่างไปจากอินซูลินมนุษย์ ในบางส่วน รวมทั้งอินซูลินที่ผลิตได้นี้ ยังมีความบริสุทธิ์ไม่สูงมาก ยังผลให้เกิดการแพ้ และเกิดผลข้างเคียงอันไม่พึงประสงค์จากการใช้อินซูลินขึ้นได้เสมอ ในเวลาต่อมา เทคโนโลยี

* อาจารย์ภาควิชาเภสัชกรรม คณะเภสัชศาสตร์ มหาวิทยาลัยขอนแก่น

การผลิตยาอินซูลินได้รับการพัฒนาให้ดีขึ้นเป็นลำดับ จนในปัจจุบัน เรามียาอินซูลินคุณภาพดีในแบบต่าง ๆ ให้เลือกใช้ตามความเหมาะสมต่อผู้ป่วยแต่ละราย เกณฑ์ในการพิจารณาคุณลักษณะของยาเตรียมอินซูลินที่มีใช้ในปัจจุบัน มี 3 ประการหลัก ดังนี้

- ก. ระดับความบริสุทธิ์
- ข. แหล่งที่มาของอินซูลิน
- ค. ความรวดเร็ว และความยาวนานในการออกฤทธิ์

ก. ระดับความบริสุทธิ์ของยาอินซูลิน

ยาอินซูลินที่มีใช้ก่อน ปี พ.ศ. 2516 ยังมีความบริสุทธิ์ไม่สูงนัก มักมีสารอื่นปะปน ได้แก่ สารก่ออาการแพ้, โปรอินซูลิน, อินซูลินส่วนที่ยังเปลี่ยนแปลงไม่สมบูรณ์ รวมทั้งฮอร์โมนอื่น ๆ ที่มีอยู่ในตับอ่อน เชื่อกันว่า สิ่งปนเปื้อนเหล่านี้ เป็นสาเหตุหนึ่งของการเกิดผลอันไม่พึงประสงค์ ได้แก่ การฝ่อของชั้นไขมันใต้ผิวหนังบริเวณที่ฉีด ต่อมาได้มีการพัฒนากรรมวิธี ทำให้อินซูลินบริสุทธิ์ได้ผลิตภัณฑ์ยาอินซูลินที่มีความบริสุทธิ์สูง (purified insulin) 2 ชนิด ชนิดที่ 1 เรียกว่า "Single peak insulin" มีความบริสุทธิ์ 99% ได้จากกรรมวิธีการทำโครมาโตกราฟฟี ด้วย SEPHADEX G50 และชนิดที่ 2 เรียกว่า "Single component insulin" โดยผ่านกรรมวิธีโครมาโตกราฟฟีด้วย ion-exchange ได้อินซูลินมีความบริสุทธิ์สูงมากกว่า 99% อินซูลิน ความบริสุทธิ์สูงนี้ ก่อให้เกิดอาการแพ้ น้อยมาก แต่ผลิตภัณฑ์นี้มีราคาแพงเหมาะสมสำหรับผู้ป่วยที่แพ้อินซูลินชนิดความบริสุทธิ์ธรรมดา

ข. แหล่งที่มาของอินซูลิน

การผลิตอินซูลิน เพื่อใช้เป็นยาสำหรับผู้ป่วยเบาหวาน จนถึงปัจจุบัน แยกตามแหล่งที่มาได้เป็น 3 ประการ ดังนี้

1. อินซูลินโค (Beef หรือ Bovine Insulin) เป็นอินซูลินที่สกัดมาจากตับอ่อนของโคสามารถ นำมาใช้แทนอินซูลินในคนได้ เนื่องจากมีองค์ประกอบ และโครงสร้างใกล้เคียงกับอินซูลินของมนุษย์มาก กล่าวคือ ชนิดของกรดอะมิโน ในจำนวน 51 ตัว ที่เป็นส่วนประกอบของอินซูลินทั้งสองชนิดนี้ มีเพียง 3 ตำแหน่ง เท่านั้น ที่กรดอะมิโนของอินซูลินโค ต่างจากอินซูลินมนุษย์

2. อินซูลินสุกร (Pork หรือ Porcine Insulin) เป็นอินซูลินที่สกัดมาจากตับอ่อนของสุกร มีความใกล้เคียงกับอินซูลินมนุษย์มากกว่าอินซูลินโค กล่าวคือ อินซูลินสุกรต่างจากอินซูลินมนุษย์ ที่กรดอะมิโนเพียงตำแหน่งเดียวเท่านั้น

3. อินซูลินมนุษย์ (Human Insulin) เป็นอินซูลินที่เหมือนกับอินซูลินที่ตับอ่อนของมนุษย์สร้างขึ้นทุกประการ ได้มาจากกรรมวิธีผลิต 2 ลักษณะ ดังนี้

3.1 อินซูลินมนุษย์กึ่งสังเคราะห์ ได้จากการนำอินซูลินสุกรมาสังเคราะห์ทางเคมีเพื่อตัดกรดอะมิโน 1 ตำแหน่ง ที่แตกต่างจากอินซูลินของมนุษย์ออก และต่อกรดอะมิโนตัวที่เหมือนอินซูลินมนุษย์เข้าไปแทนที่ ก็จะได้อินซูลินที่มีองค์ประกอบ และโครงสร้างของโมเลกุลเหมือนอินซูลินมนุษย์ทุกประการ

3.2 อินซูลินมนุษย์จากขบวนการชีวสังเคราะห์ โดยอาศัยเทคโนโลยีด้าน recombinant DNA ซึ่งทำได้หลายแบบ ตัวอย่างที่บริษัทยานิยามใช้ในการผลิตอินซูลินมนุษย์ ได้แก่

3.2.1 ชีวสังเคราะห์สาย A และสาย B ของอินซูลินมนุษย์ในเชื้อแบคทีเรีย *Escherichia coli* แยกกัน จากนั้นสกัดสาย A และสาย B ออกจากเชื้อ *E. coli* นำมาทำให้บริสุทธิ์แล้วจึงนำสาย A และสาย B ที่บริสุทธิ์แล้วนี้มาเชื่อมต่อกันได้โมเลกุลของอินซูลินมนุษย์ที่สมบูรณ์

3.2.2 ชีวสังเคราะห์โปรอินซูลิน (proinsulin) ภายในเชื้อ *E. coli* แล้วแยกโปรอินซูลิน ออกมา นำมาตัด ซี-เปปไทด์ออก ก็จะได้โมเลกุลของอินซูลินมนุษย์

3.2.3 ชีวสังเคราะห์ โดยใช้เชื้อยีสต์ชื่อ *Saccharomyces cerevisiae* ซึ่งจะได้อินซูลิน ที่มีกรดอะมิโนส่วนเกินติดมาด้วย เมื่อใช้วิธีทางเคมีตัดกรดอะมิโนในส่วนเกินออกแล้ว ก็จะได้โมเลกุลของอินซูลินมนุษย์ตามต้องการ

อินซูลินมนุษย์ที่ผลิตออกจำหน่ายเหล่านี้ ก่อให้เกิดอาการแพ้ในผู้ใช้น้อยมาก และกำลังเป็นที่นิยมใช้มากขึ้นเรื่อย ๆ ปัจจุบันใช้กันเป็นส่วนใหญ่แล้ว ในประเทศยุโรป และอเมริกา สาเหตุหนึ่งของความนิยมอย่างแพร่หลายนี้ เนื่องจากบริษัทผู้ผลิตอินซูลินรายใหญ่ ๆ ของโลกได้ลงทุนในการผลิตอินซูลินมนุษย์มากขึ้น และเพิ่มการโฆษณาประชาสัมพันธ์ส่งเสริมการใช้ผลิตภัณฑ์ดังกล่าวนี้ให้มากขึ้นนั่นเอง

ค. ความรวดเร็ว และความยาวนานในการออกฤทธิ์

ความรวดเร็ว และความยาวนานในการออกฤทธิ์ของผลิตภัณฑ์ยาอินซูลิน ที่มีใช้ในปัจจุบันแบ่งออกได้เป็น 3 กลุ่ม ดังนี้

1. อินซูลินที่ออกฤทธิ์รวดเร็ว (Rapid-Onset Insulin) ที่มีใช้ในปัจจุบัน เช่น

1.1 Regular Insulin ยานี้จะเริ่มออกฤทธิ์ได้ภายในเวลาประมาณ 20 นาทีหลังจากฉีดเข้าใต้ผิวหนัง ให้ฤทธิ์สูงสุดภายในเวลาประมาณ 90 ถึง 120 นาทีและจะหมดฤทธิ์ไป

ภายในเวลา 4 ถึง 6 ชั่วโมง อินซูลินชนิดนี้ สามารถฉีดเข้าทางหลอดเลือดดำหรือฉีดเข้ากล้ามเนื้อได้ด้วย การฉีดอินซูลินเข้าหลอดเลือดดำอย่างต่อเนื่อง มักใช้ในกรณีที่ผู้ป่วยอยู่ในสภาวะ ketoacidosis จากเบาหวาน, ผู้ป่วยที่อยู่ระหว่างการคลอด และผู้ป่วยในหน่วยบริบาลผู้ป่วยหนัก

1.2 Semilente Insulin มีลักษณะเป็นสารแขวนตะกอน (suspension) ระหว่างอินซูลินกับธาตุสังกะสี อินซูลินชนิดนี้ดูดซึมเข้าสู่กระแสเลือดได้อย่างรวดเร็วหลังจากฉีดเข้าใต้ผิวหนัง เช่นเดียวกับ regular insulin

2. อินซูลินที่ออกฤทธิ์ปานกลาง (Intermediate-Acting Insulin) ที่มีใช้ในปัจจุบัน เช่น

2.1 Isophane Insulin หรือที่นิยมเรียกว่า "NPH (Neutral Protamine Hagedorn) insulin" เริ่มมีใช้เมื่อประมาณปี พ.ศ. 2483 เป็นส่วนผสมระหว่างอินซูลินกับโปรตีนชนิดหนึ่งชื่อโปรตามีน (protamine) ในสารละลายที่ค่า pH เป็นกลาง โดยมีธาตุสังกะสีและสารฟีนอลปริมาณเล็กน้อย หลังจากฉีดเข้าใต้ผิวหนังแล้วอินซูลินชนิดนี้จะเริ่มออกฤทธิ์ภายในเวลาประมาณ 2 ชั่วโมง มีฤทธิ์สูงสุดในเวลา 8 ถึง 12 ชั่วโมงและมีฤทธิ์อยู่ได้นาน 18 ถึง 24 ชั่วโมง

2.2 Lente Insulin เป็นสารแขวนตะกอนที่เกิดจากปฏิกิริยาระหว่างธาตุสังกะสีกับอินซูลิน ทำให้อินซูลินออกฤทธิ์ได้อย่างช้า ๆ เป็นเวลานาน หลังจากฉีดเข้าใต้ผิวหนังแล้วอินซูลินชนิดนี้จะเริ่มออกฤทธิ์ภายในเวลาประมาณ 1 ถึง 2 ชั่วโมง มีฤทธิ์สูงสุดในเวลา 4 ถึง 8 ชั่วโมง และมีฤทธิ์อยู่ได้นาน 12 ถึง 18 ชั่วโมง อินซูลินชนิดนี้เริ่มมีใช้มาตั้งแต่ประมาณ ปี พ.ศ. 2493

3. อินซูลินที่ออกฤทธิ์ยาวนาน (Prolonged-Acting Insulin) ที่มีใช้ในปัจจุบันเช่น

3.1 Ultralente Insulin เป็นสารแขวนตะกอนที่เป็นผลึกของอินซูลิน รวมกับธาตุสังกะสีในปริมาณมาก ผลึกมีขนาดใหญ่ เมื่อฉีดเข้าใต้ผิวหนังแล้ว จะปลดปล่อยอินซูลินเข้าสู่กระแสเลือดอย่างช้า ๆ เริ่มแสดงฤทธิ์ภายในเวลาประมาณ 4 ถึง 6 ชั่วโมง และคงฤทธิ์อยู่ได้นานประมาณ 36 ชั่วโมง

3.2 PZI หรือ protamine zine เป็นสารแขวนตะกอนที่เกิดจากปฏิกิริยาระหว่างอินซูลินกับโปรตีนโปรตามีน และสารละลายของธาตุสังกะสี ที่มีความเข้มข้นสูงอินซูลินชนิดนี้ออกฤทธิ์ได้ยาวนาน เช่นเดียวกับ ultralente insulin

เป็นที่ยอมรับกันโดยทั่วไปว่า วิธีการที่ดีที่สุดในการฉีดอินซูลินแก่ผู้ป่วยเบาหวานคือการให้ในปริมาณที่เหมือนกับตับอ่อนของคนปกติหลังอินซูลินออกมา กล่าวคือ ในสภาวะปกติที่ยังไม่กินอาหาร ตับอ่อนจะหลั่งอินซูลินออกมาประมาณ 20 ไมโครกรัมต่อชั่วโมง ทำ

ให้มีอินซูลินอยู่ในเลือดในความเข้มข้น ประมาณ 500 พิโคกรัมต่อมิลลิลิตรซึ่งจะสามารถควบคุมน้ำตาลกลูโคสในเลือดให้อยู่ในระดับประมาณ 110 มิลลิกรัมต่อ 100 มิลลิลิตร เมื่อกินอาหารปริมาณอินซูลินจะหลั่งออกมาเพิ่มขึ้น เพื่อนำกลูโคสที่ได้จากอาหาร เข้าสู่เนื้อเยื่อ และเซลล์ต่าง ๆ ของร่างกาย และรักษาระดับกลูโคสในเลือดให้เป็นปกติ ดังนั้น ในผู้ป่วยเบาหวานชนิดที่หนึ่งต้องพึ่งพาอินซูลิน จึงควรฉีดอินซูลินที่ออกฤทธิ์ปานกลาง เช่น NPH หรือ Lente insulin วันละ 2 ครั้ง หรือฉีดอินซูลินที่ออกฤทธิ์ยาวนาน เช่น Ultralente วันละครั้ง ก่อนนอน เพื่อรักษาระดับอินซูลินในสภาวะปกติให้คงที่อยู่เสมอและให้ฉีดอินซูลินที่ออกฤทธิ์รวดเร็วเช่น Regular insulin ก่อนอาหารทุกครั้ง และต้องวัดปริมาณกลูโคสในเลือดอยู่เสมอ เพื่อปรับขนาดของยาอินซูลินที่ฉีดให้เหมาะสม

แนวโน้มการพัฒนาในอนาคต

เนื่องจากการใช้อินซูลินด้วยการฉีดตามวิธีปรกตินั้น ต้องฉีดบ่อยครั้งมาก จึงมีการคิดประดิษฐ์เครื่องฉีดอินซูลินเข้าใต้ผิวหนังอย่างต่อเนื่อง หรือที่เรียกว่า อินซูลินปั๊ม อุปกรณ์ชนิดนี้ประกอบด้วยเข็มขนาดเล็ก แทนไว้ที่ใต้ผิวหนังบริเวณหน้าท้องของผู้ป่วย และยึดไว้ด้วยพลาสติกจากเข็มมีสายต่อไปยังหลอดบรรจุยาอินซูลินชนิด Regular insulin ซึ่งอยู่ในตัวปั๊มขนาดเล็กทำงานด้วยแบตเตอรี่ ปั๊มนี้สามารถ ใส่ไว้ในกระเป๋าเสื้อ หรือยึดไว้กับเข็มขัดของผู้ป่วยได้ ผู้ป่วยสามารถตั้งอัตราเร็วในการปั๊มน้ำยาออกมาได้ อย่างคงที่ ในอัตราที่เหมาะสมได้ ซึ่งตามปกติจะอยู่ประมาณ 1-2 มิลลิลิตรต่อวัน และก่อนมีอาหารทุกครั้ง ผู้ป่วยสามารถสั่งให้ปั๊มขับน้ำยาเพิ่มขึ้นได้ตามต้องการเป็นเวลาหลายนาที และกลับสู่อัตราปกติด้วยวิธีการนี้ผู้ป่วยก็จะมีปริมาณอินซูลินในเลือด ในระดับที่เหมาะสมตลอดเวลา อินซูลินปั๊มยังได้รับการพัฒนาให้มีประสิทธิภาพดีขึ้นเป็นลำดับ คาดว่าในอนาคต อุปกรณ์นี้จะมีขนาดเล็กลงและจะมีอุปกรณ์วัดปริมาณกลูโคสในเลือดทั้งทางตรงและทางอ้อมประกอบอยู่ด้วย อัตราเร็วในการทำงานของปั๊มจะถูกปรับโดยอัตโนมัติตลอดเวลาโดยสัมพันธ์กับปริมาณ กลูโคสในเลือด ซึ่งจะใกล้เคียงกับการควบคุมการหลังอินซูลินจากตับอ่อนมากที่สุด

ยาอินซูลินในปัจจุบัน ยังให้ด้วยการกินเหมือนยาอื่น ๆ ไม่ได้ เนื่องจากอินซูลินถูกทำงานโดยน้ำย่อย ในกระเพาะอาหาร และลำไส้ ต้องให้ด้วยการฉีดเท่านั้น ผู้ป่วยต้องเจ็บตัวจากการต้องฉีดทุกวัน วันละหลาย ๆ ครั้ง ในขณะนี้จึงมีนักวิทยาศาสตร์พยายามศึกษาและพัฒนาายาอินซูลินในรูปแบบพิเศษ ในลักษณะ ต่าง ๆ ที่สามารถให้ด้วยการกินได้ รวมทั้งการทำในรูประบบนำส่งยาเข้าสู่ร่างกาย (drug deliverySystem) ที่ไม่ต้องใช้การฉีด ซึ่งหากเป็นผลสำเร็จผู้ป่วยเบาหวานก็ไม่ต้องเจ็บตัวอีกต่อไป การศึกษาค้นคว้าด้านอื่น ๆ เกี่ยวกับ

อินซูลินที่กำลังดำเนินอยู่ ยังมีอีกหลายอย่าง เช่น การสังเคราะห์สารเสมือนอินซูลิน (monomeric insulin analogues) ที่มีคุณสมบัติในการดูดซึมเข้าสู่กระแสเลือดได้ดีขึ้น และการคิดค้นยาชนิดใหม่ ที่ช่วยให้อินซูลินออกฤทธิ์ในร่างกายได้ดีขึ้น เป็นต้น รวมทั้งการผ่าตัดเปลี่ยนตับอ่อน และการปลูกถ่ายเนื้อเยื่อของตับอ่อนเฉพาะส่วนที่เกี่ยวข้องกับการสร้างอินซูลิน ความพยายามเหล่านี้ ย่อมจะช่วยให้ในอนาคตผู้ป่วยเบาหวาน จะสามารถดำรงชีวิตอยู่ได้อย่างเป็นปกติสุข และมีชีวิตที่ยืนยาว ใกล้เคียงกับคนสุขภาพดีทั่วๆ ไป มากที่สุด



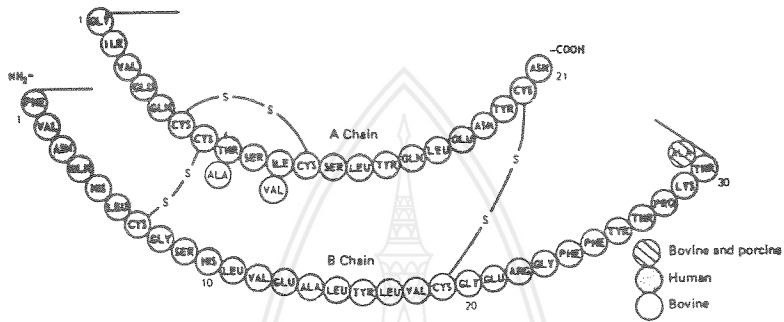
เชิญร่วมการประชุมทางวิชาการวิทยาศาสตร์

และเทคโนโลยีแห่งประเทศไทย

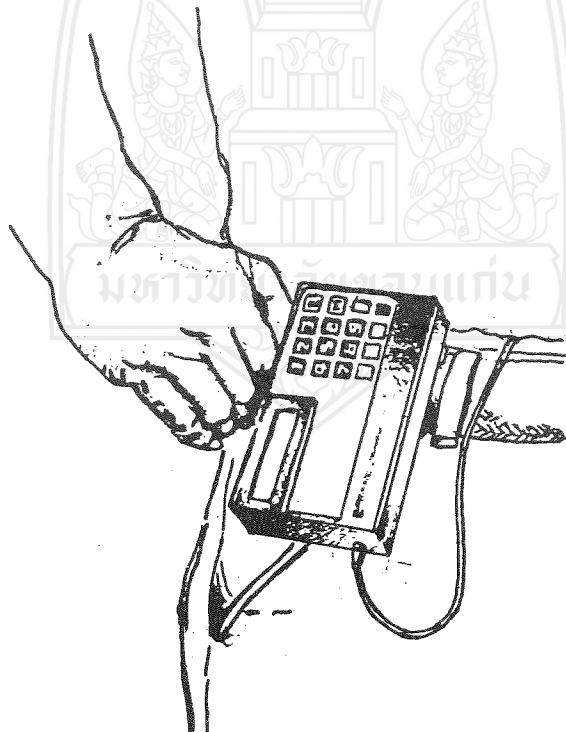
24 - 26 ตุลาคม 2534

คณะวิทยาศาสตร์ มหาวิทยาลัยขอนแก่น

พร้อมชมนิทรรศการ Khon Kaen High Tech '91



รูปที่ 1 แสดงลำดับของกรดอะมิโนที่เป็นส่วนประกอบของอินซูลินมนุษย์ เปรียบเทียบกับ อินซูลินโค และอินซูลินสุกร



รูปที่ 2 แสดงลักษณะของอินซูลินบีม ที่ฉีดอินซูลินให้ผู้ป่วยอย่างต่อเนื่องและพกติดตัวได้สะดวก

บรรณานุกรม

1. Joseph Lerner. (1985) Insulin and Oral hypoglycemic drugs. In : Gilman, A.G., Goodman, L.S., Rall, T.W., Murad, F. (ed.) The Pharmacological Basis of therapeutics. New York : Mac Millan Pub.Co., 1490-1540
2. Marks, J.V.& Skyler, J.S. (1990) Insulin Update. Pharmacy Times, 65(10), 102-110



ไสหลุน (Tsai Lun)

เกิดในมณฑลกุยหยาง เมืองไกวเจา เมื่อ พ.ศ.593 เป็นนักวิทยาศาสตร์คนเดียวที่เป็นชนที่ สร้างผลงานชิ้นสำคัญยิ่งแก่โลก คือ ผลิตกระดาษเป็นคนแรกของโลก โดยใช้เปลือกไม้ ปอ และเศษผ้า หลายศตวรรษต่อมา ความลับในการผลิตกระดาษจึงรั่วไหลไปสู่โลกตะวันตก ผ่านทางเมืองแบกแดดในราวปี พ.ศ.1343 ครั้นสงครามครูเสดระหว่างอาหรับกับฝรั่ง ฝรั่งจึงเรียนรู้การทำกระดาษ

การทำนายโครงสร้างโมเลกุลโดยใช้ทฤษฎีการผลักกัน ของคู่อิเล็กตรอนวงนอก(กพคอวน)

Prediction of Molecular Structure Using Valence-Shell
Electron-Pair Repulsion (VSEPR) Theory

ศิวิน บุศราคำ *

โครงสร้างโมเลกุล หมายถึง ลักษณะการเชื่อมต่อกันของอะตอมต่างๆ จนเกิดรูปร่างทางเรขาคณิต เป็นสาระสำคัญยิ่งในการศึกษาในวิชาเคมี ทั้งนี้เพราะเราเชื่อว่า สมบัติต่างๆของสารประกอบ เช่น การละลาย จุดหลอมเหลว ความว่องไวต่อปฏิกิริยาเคมี ฯลฯ ขึ้นอยู่กับโครงสร้าง ทางเคมีของสารประกอบชนิดนั้น ๆ ดังนั้น ถ้าเราสามารถทำนายลักษณะโครงสร้างโมเลกุลได้ เราจะทำนายสมบัติทางเคมีและสมบัติทางกายภาพของสารประกอบได้ด้วยเหตุนี้เอง นักเคมีจำนวนมากพยายามหาหนทางทำนายโครงสร้างของโมเลกุล โดยอาศัยรูปจำลองทางคณิตศาสตร์และการตรวจสอบ ในห้องปฏิบัติการ แล้วนำผลการศึกษา มาสรุปตั้งเป็นทฤษฎี เพื่อการทำนายโครงสร้างของโมเลกุล ซึ่งมีอยู่หลายทฤษฎีด้วยกัน เช่น ทฤษฎีพันธะวาเลนซ์ (Valence Bond Theory) ทฤษฎีโมเลกุลออร์บิทัล (Molecular Orbital Theory) ในที่นี้จะกล่าวถึง การทำนายโครงสร้างของโมเลกุลต่าง ๆ โดยอาศัยทฤษฎีการผลักกันของคู่อิเล็กตรอนวงนอก ซึ่งในบทความนี้ เพื่อความสะดวก ขอเรียกด้วยสัญลักษณ์อักษรย่อว่า " กพคอวน " อันเป็นทฤษฎีง่าย ๆ แม้ผู้มีความรู้วิชาเคมีระดับเบื้องต้นก็สามารถนำความรู้วิชาเคมีที่มีอยู่ มาประสานกับ ทฤษฎีนี้ เพื่อการทำนายลักษณะโครงสร้างโมเลกุลได้ บทความนี้จะได้อธิบายถึงพัฒนาการของทฤษฎี กพคอวน โดยสังเขป จากนั้นจะได้เสนอ วิธีทำนายโครงสร้างโมเลกุล พร้อมทั้งยกตัวอย่างแสดงขั้นตอนในการทำนายโครงสร้างโมเลกุล ในตอนท้ายจะได้ระบุข้อจำกัดของทฤษฎีนี้ รวมทั้ง แนะนำ วิธีที่ใช้ในการพิสูจน์ทราบโครงสร้างโมเลกุลโดยสังเขปด้วย

พัฒนาการของทฤษฎี กพคอวน

ทฤษฎี กพคอวน (VSEPR Theory) เป็นทฤษฎีที่พัฒนาต่อจากความรู้ 2 สายที่สืบเนื่องกัน คือ (1) หลักเกณฑ์ครบแปด (Octet rule) และ (2) โครงสร้างจุดแทนอิเล็กตรอน (Electronic Dot

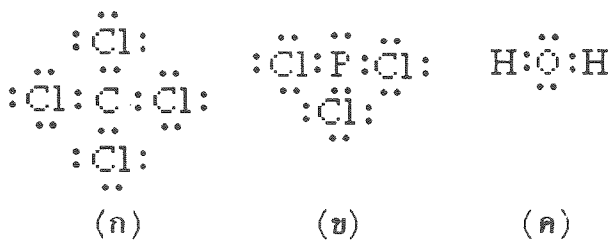
* อาจารย์ภาควิชาเคมี คณะวิทยาศาสตร์ มหาวิทยาลัยขอนแก่น

การทำนายโครงสร้างโมเลกุล วารสารวิทยาศาสตร์ มข. ปีที่ 19 ฉบับที่ 2 เมษายน-มิถุนายน 2534

Structure) ความรู้สายแรก หลักเกณฑ์ครบแปด เป็นผลผลิตจากการศึกษาของปราชญ์ทางเคมีหลายท่านในช่วงกลางของคริสต์ศตวรรษที่ผ่านมา จนถึงต้นคริสต์ศตวรรษปัจจุบัน คือ นับตั้งแต่ เมนเดเลฟ (Mendeleev, 1871), อาเบก (Abegg, 1904), ทอมสัน (Thomson, 1904 และ 1907) ไปจนถึงศาสตราจารย์กิลเบิร์ต นิวตัน ลิวอิส (Gilbert Newton Lewis, 1916)¹ สารของหลักเกณฑ์ครบแปดกล่าวว่า "อะตอมทั้งหลาย จะก่อพันธะเคมีไปจนกว่าอิเล็กตรอนที่อยู่วงนอกสุดมีจำนวนเท่ากับแปด ทั้งนี้ยกเว้นอะตอมของธาตุไฮโดรเจน จะทำปฏิกิริยาเคมีจนกระทั่งอิเล็กตรอน วงนอกสุดครบสอง²" ส่วนความรู้สายที่สอง คือ ทฤษฎีโครงสร้างจุดแทนอิเล็กตรอน เสนอโดยศาสตราจารย์ กิลเบิร์ต นิวตัน ลิวอิส มีสาระโดยย่อว่า อะตอมต่าง ๆ จะเกิดพันธะเคมี แบบโควาเลนต์ (Covalence bond) โดยการใช้อิเล็กตรอนวงนอกที่เป็นคู่ร่วมกัน จนกว่าจะครบจำนวนแปด การแสดงลักษณะของอะตอมต่าง ๆ ได้กำหนดให้ ใช้สัญลักษณ์ชื่อธาตุแทนนิวเคลียสและอิเล็กตรอนวงใน (Kernel electrons) ทั้งหมด ส่วนอิเล็กตรอนวงนอก (Valence electron) ให้ใช้จำนวนจุดแทนจำนวนอิเล็กตรอนวงนอก³ ลักษณะของอิเล็กตรอนวงนอก ของบรรดาธาตุเฟรีเซนเททีฟ ดังแสดงในตารางที่ 1. ในการเขียนสูตรแสดงลักษณะการเชื่อมต่อกัน ด้วยพันธะเคมีสามารถเขียนได้ โดยแสดงจุดแทนอิเล็กตรอนวงนอกของแต่ละอะตอมมาเชื่อมต่อกันด้วยพันธะแบบโควาเลนต์ ดังตัวอย่างใน รูปที่ 1.

ตารางที่ 1. แสดงโครงสร้างจุดของธาตุต่าง ๆ

I	II	III	IV	V	VI	VII	VIII
H•							He•
Li•	•Be•	•B•	•C•	•N•	•O•	•F•	•Ne•
Na•	•Mg•	•Al•	•Si•	•P•	•S•	•Cl•	•Ar•
K•	•Ca•	•Ga•	•Ge•	•As•	•Se•	•Br•	•Kr•
Rb•	•Sr•	•In•	•Sn•	•Sb•	•Te•	•I•	•Xe•
Cs•	•Ba•	•Tl•	•Pb•	•Bi•	•Po•	•At•	•Rn•



โครงสร้างจุด (ก) CCL₄ (ข) PCL₃ (ค) H₂O

รูปร่างของโมเลกุลเกิดขึ้นได้อย่างไร ?

รูปร่างของโมเลกุลในที่นี้หมายถึงการจัดเรียงตัวของอะตอมต่าง ๆ ที่อยู่ห่างกัน ด้วยระยะทางระหว่างอะตอม (interatomic distance) ค่าใดค่าหนึ่ง และมีการทำมุมกัน (bond angle) จนเกิดรูปร่างเรขาคณิต ทฤษฎีทศวรรษก่อนถือว่าเมื่อเอาทรงกลมในจินตนาการมาล้อมรอบโมเลกุล ที่อยู่ในความสนใจ โดยให้จุดศูนย์กลางของทรงกลมนั้นทับบนอะตอมที่เป็นอะตอมศูนย์กลาง ถ้าให้จุดหนึ่งจุด แทนคู่อิเล็กตรอนคู่หนึ่ง ซึ่งอะตอมศูนย์กลางใช้ร่วมกันกับอะตอมอื่น ๆ จุดเหล่านั้นจะเรียงราย อยู่บนผิวทรงกลม เป็นระยะทางและมุมค่าต่าง ๆ ที่ห่างไกลกันมากที่สุดเท่าที่จะเป็นไปได้ ดังรูปที่ 3 ระยะห่างระหว่างอะตอมคู่หนึ่ง ๆ ขึ้นอยู่กับ ลักษณะของพันธะเคมีกล่าวคือ สำหรับอะตอมคู่หนึ่ง ๆ ซึ่งก่อพันธะเคมีด้วยกัน ถ้ามีพันธะเดี่ยว(single bond) ยาวกว่าพันธะสอง(double bond) และพันธะสองยาวกว่าพันธะสาม หรือเขียนโดยย่อว่า



ตารางที่ 2 คาร์ซีมีอะตอมในหน่วยมิโคเมตร

H							He
37							
Li	Be	B	C	N	O	F	Ne
152	111	88	77	70	66	64	-
Na	Mg	Al	Si	P	S	Cl	Ar
186	160	143	177	110	104	99	-
K	Ca	Ga	Ge	As	Se	Br	Kr
231	197	122	122	121	117	114	111
Rb	Sr	In	Sn	Sb	Te	I	Xe
244	215	126	140	141	135	133	130

สำหรับระยะห่างระหว่างอะตอมที่ก่อพันธะเดี่ยวด้วยกันแล้ว ระยะห่างระหว่างอะตอม โดยประมาณ จะมีค่าเท่ากับผลบวกของรัศมีอะตอม เช่น รัศมีอะตอมของธาตุคาร์บอนและธาตุคลอรีนเท่ากับ 99 และ 77 พิโคเมตร ดังนั้น ระยะห่างระหว่างอะตอมทั้งสองเมื่อเชื่อมต่อกันด้วยพันธะเคมีจะเท่ากับ 176 พิโคเมตร ดังนั้นเป็นต้น ส่วนมุมระหว่างพันธะ ตามทฤษฎี VSEPR นี้ให้วัดบนผิวของทรงกลมดังกล่าว ค่าของมุมระหว่างพันธะที่คิดจากทฤษฎี VSEPR นี้ อาจจะแตกต่างไปจากค่าที่วัดได้ในห้องปฏิบัติการอย่างไร อีกสักครู่จะได้กล่าวถึงในขณะนี้ ขอให้ถือว่า มุมระหว่างอิเล็กตรอนคู่โดดเดี่ยว (lone pair or non-bonding pair) ด้วยกัน จะมีค่ามากกว่า มุมระหว่างอิเล็กตรอน คู่โดดเดี่ยวกับอิเล็กตรอนคู่ก่อพันธะ (bonding pair) และมุมระหว่างอิเล็กตรอนคู่โดดเดี่ยวกับอิเล็กตรอน คู่ก่อพันธะจะมีค่ามากกว่ามุมระหว่างอิเล็กตรอนคู่ก่อพันธะกับอิเล็กตรอนคู่ก่อพันธะด้วยกันหรือจะเขียนเป็นสูตร ให้จำได้ง่าย ๆ ว่า

$$\text{คด} - \text{คด} > \text{คด} - \text{คพ} > \text{คพ} - \text{คพ}$$

เมื่อ คด หมายถึงอิเล็กตรอนคู่โดดเดี่ยว, คพ หมายถึง อิเล็กตรอนคู่ก่อพันธะ และขีด (-) หมายถึงพันธะเดี่ยว

วิธีทำนายลักษณะโครงสร้างของโมเลกุลที่มีสูตรเคมี AX_nE_m

เมื่อเข้าใจสาระของทฤษฎี VSEPR เราสามารถนำมาใช้ทำนายลักษณะโครงสร้างของโมเลกุล ซึ่งมีสูตรทั่วไปทางเคมีเขียนได้เป็น AX_nE_m เมื่อ A หมายถึง อะตอมของธาตุซึ่งจะเป็นศูนย์กลางที่อะตอมอื่นจะมาเกาะเกี่ยวด้วยพันธะเคมี ซึ่งเรียกว่า " อะตอมศูนย์กลาง (central atom) " X หมายถึง อะตอมหรือกลุ่มของอะตอม ที่เรียกว่า " ลิแกนด์ (ligand) " และ E หมายถึง อะตอมของธาตุหรือกลุ่มของอะตอมเหมือนกันกับธาตุหรือกลุ่มธาตุ X แต่มีอิเล็กตรอน คู่โดดเดี่ยวอยู่ด้วย n และ m เป็นเลขบวกจำนวนเต็มใด ๆ ที่มีใช้ศูนย์ ทั้งนี้ยกเว้นในกรณีที่อะตอมศูนย์กลางนั้นไม่มีอิเล็กตรอนคู่โดดเดี่ยวเลย m จะมีค่าเท่ากับศูนย์

ขั้นตอนของการทำนายลักษณะโครงสร้างของโมเลกุล แบ่งออกเป็น 3 ขั้นตอนคือ
ขั้นตอนที่ 1. หาค่าผลต่างของค่าอิเล็กโตรเนกาติวิตี (Electronegativity)

ตารางที่ 3 แสดงค่าอิเล็กโตรเนกาติวิตี

H							He
2.1							-
Li	Be	B	C	N	O	F	Ne
1.0	1.5	2.0	2.5	3.0	3.5	4.0	-
Na	Mg	Al	Si	P	S	Cl	Ar
0.9	1.2	1.5	1.8	2.1	2.5	3.0	-
K	Ca	Ga	Ge	As	Se	Br	Kr
0.8	1.0	1.6	1.8	2.0	2.5	2.8	-
Rb	Sr	In	Sn	Sb	Te	I	Xe
0.8	1.0	1.7	1.8	1.9	2.1	2.5	-

เพื่อการพิจารณาว่า พันธะระหว่างอะตอม A กับ อะตอม X เป็นพันธะแบบโคเวเลนต์หรือไม่ ทำได้โดยหาค่าผลต่างของค่าอิเล็กโตรเนกาติวิตีของธาตุ A กับธาตุ X จะต้องมีค่าน้อยกว่า 1.7 อันเป็นลักษณะของพันธะของพันธะแบบโคเวเลนต์ แต่ถ้าผลต่างดังกล่าวมากกว่า 1.7 แล้ว ย่อมถือว่าพันธะระหว่างอะตอม A กับ อะตอม X เป็นพันธะแบบไอออนิก(ionic bond) จะใช้ทฤษฎีนี้ไม่ได้ ความทั้งหมดนี้ ผู้ที่สนใจขอให้ดูในเอกสาร อ้างอิงหมายเลข 5 และ 6

ขั้นตอนที่ 2 การคำนวณเพื่อทำนายลักษณะรูปทรงของโมเลกุล

การคำนวณเพื่อทำนายลักษณะรูปทรงของโมเลกุล ทำได้ตามขั้นตอนย่อย ๆ ดังต่อไปนี้

1. หาผลรวมของจำนวนอิเล็กตรอนวงนอกของโมเลกุล

พิจารณาว่า โมเลกุลที่อยู่ในความสนใจ ประกอบด้วยอะตอมอะไร จำนวนกี่อะตอม จากนั้นพิจารณาว่า แต่ละธาตุมีอิเล็กตรอนวงนอกเท่าใด นำจำนวนอิเล็กตรอนวงนอกทั้งหมดมารวมกัน สมมุติว่า เท่ากับ V

ถ้าโมเลกุลนั้นเป็นไอออนประจุลบ(anion) ให้บวกจำนวนประจุเข้าไปด้วย แต่ถ้าโมเลกุลนั้นเป็นไอออนประจุบวก(cation) ให้นำประจุค่าประจุนั้นไปลบออก ผลรวมของอิเล็กตรอนที่ทำได้ดังนี้ กำหนดให้มีค่าเท่ากับ V

หนึ่ง ถ้าในโมเลกุลนั้นประกอบด้วยอะตอมของธาตุไฮโดรเจนที่ก่อพันธะเคมีกับอะตอมศูนย์กลาง ให้ V มีค่าเท่ากับ $8 + 6h$ เมื่อ h เป็นจำนวนอะตอมของธาตุไฮโดรเจนที่เชื่อมต่อกับอะตอมศูนย์กลาง

2. นำค่า V มาหารด้วย 8 เพื่อแยกพิจารณาเป็น 2 กรณีด้วยกัน คือ

ก. ถ้า $V/8$ เป็นเลขจำนวนเต็ม หมายความว่า มีคู่อิเล็กตรอนที่ก่อพันธะกันเป็นคู่ ๆ โดยจำนวนจำนวนคู่อิเล็กตรอนที่ก่อพันธะมีค่าเท่ากับ n ในสูตร $AX_n E_m$ ซึ่ง จะถือว่า ไม่มี E_m สูตรทั่วไปจึงเขียนได้ใหม่เป็น AX_n จากนั้นจะทำนายได้ว่าโครงสร้างของโมเลกุลจะมีรูปทรงตามตารางที่ 4

ข. ถ้ามีเศษเหลือ เป็น a ซึ่งแสดงถึงจำนวนอิเล็กตรอนโดดเดี่ยวที่มีได้ก่อพันธะเคมี โดย $a/2$ จะเท่ากับ m อันเป็นคู่อิเล็กตรอนคู่โดดเดี่ยวของอะตอมศูนย์กลางที่มีได้ก่อพันธะเคมี จะทำนายได้ว่า รูปทรงเรขาคณิตของโมเลกุล เป็นไปตามตารางที่ 5

ขั้นตอนที่ 3 การเขียนแสดงการเกาะเกี่ยวกันของอะตอมต่าง ๆ

เมื่อเราทราบลักษณะรูปร่างของโมเลกุลตามขั้นตอนที่ 2 แล้วปัญหามีอยู่ว่าเราจะทราบได้อย่างไรว่า อะตอมใดเป็นอะตอมศูนย์กลางที่อะตอมอื่น ๆ จะมาเกาะ และอะตอมอื่น ๆ จะวางตัวในลักษณะใด ความข้อนี้ ให้พิจารณาโดยใช้หลักต่อไปนี้

ก. อะตอมศูนย์กลาง คือ อะตอมที่มีค่าอิเล็กโตรเนกาติวิตีต่ำที่สุดในโมเลกุล ยกเว้นเสียแต่อะตอมของธาตุไฮโดรเจน จะไม่เป็นอะตอมศูนย์กลางเป็นอันขาด

ข. ให้ถือว่าเป็นไปได้ยากที่อะตอมของธาตุชนิดเดียวกันที่มีไม่เป็นอะตอมศูนย์กลางจะก่อพันธะเคมีกันเอง

ค. พยายามให้คู่อิเล็กตรอนวงนอกของอะตอมศูนย์กลาง มีจำนวนครบแปด และให้คู่อิเล็กตรอน เหล่านั้น ใช้อยู่ร่วมกับอะตอมอื่น ๆ ให้ได้มากที่สุดเท่าที่จะทำได้ ในบางกรณี อาจมีการใช้ อิเล็กตรอนมากกว่า 1 คู่เพื่อเชื่อมกันระหว่างอะตอมหนึ่งกับอีกอะตอมหนึ่ง ในกรณีเช่นนี้เรา หมายความว่าถ้าใช้คู่อิเล็กตรอน 2 คู่ระหว่างอะตอมสองอะตอม เรียกว่าเกิดพันธะคู่ (double bond) หรือ ถ้าใช้คู่อิเล็กตรอน 3 คู่ เรียกว่าเกิดพันธะสาม (triple bond)

ต่อไปนี้เป็นตัวอย่างการทำนายลักษณะโครงสร้างของโมเลกุล

ตัวอย่างที่ 1 ของ CCl_4

1. หาค่าผลต่างของอิเล็กโตรเนกาติวิตี

$$C = 2.5, Cl = 3.0$$

ผลต่างเท่ากับ 0.5 แสดงว่า พันธะระหว่าง C กับ Cl เป็นพันธะโควาเลนต์

2. หาผลรวมของอิเล็กตรอนวงนอกทั้งหมดของแต่ละอะตอม

$$C = 4, Cl = 7$$

$$\text{ดังนั้น } V = 4 + 7 + 7 + 7 + 7 = 32$$

3. หาค่า $V/8$

$$32/8 = 4$$

แสดงว่า โมเลกุลนี้มีอิเล็กตรอนคู่ที่ก่อพันธะกัน 4 คู่ รูปทรงเรขาคณิตจะเป็นรูปปริมาตรฐานสามเหลี่ยม (tetrahedron)

4. เนื่องจาก C มีค่าอิเล็กโทรเนกาติวิตีที่น้อยกว่า Cl ดังนั้น C จึงเป็นอะตอมศูนย์กลาง มี Cl 4 อะตอมมาล้อมรอบ

โครงสร้างที่ทำนายได้จึงมีลักษณะเป็น ดังรูปที่ 2 (ก)

ตัวอย่างที่ 2 โครงสร้างของ PCl_3

1. หาค่าผลต่างของอิเล็กโทรเนกาติวิตี

$$P = 2.1, Cl = 3.0$$

ผลต่างเท่ากับ 0.9 แสดงว่า พันธะระหว่าง P กับ Cl เป็นพันธะโควาเลนต์

2. หาผลรวมของอิเล็กตรอนวงนอกทั้งหมดของแต่ละอะตอม

$$P = 5, Cl = 7$$

$$\text{ดังนั้น } V = 5 + 7 + 7 + 7 = 26$$

3. หาค่า $V/8$

$26/8 = 3$ เศษ 2 แสดงว่า รูปทรงเรขาคณิตของโมเลกุลนี้เป็นรูปปริมาตร โดยมีคู่อิเล็กตรอนที่เข้าร่วมกันระหว่าง P กับ Cl จำนวน 3 คู่ และมีอิเล็กตรอนคู่โดดเดี่ยวที่อะตอมศูนย์กลางจำนวน 2 อนุภาคหรือ 1 คู่ รูปร่างของโมเลกุลจึงเป็นดังรูป 2 ข.

ตัวอย่างที่ 3 ทำนายลักษณะรูปทรงของ H_2O

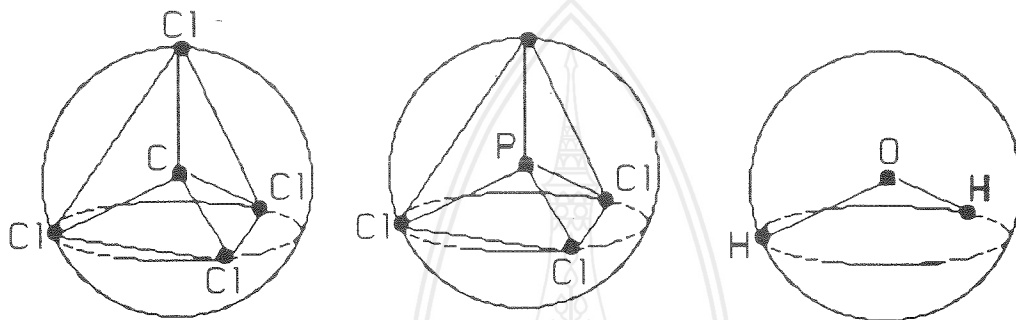
1. หาผลรวมของจำนวนอิเล็กตรอนวงนอกสุดของทั้งโมเลกุลเนื่องจากโมเลกุลนี้ประกอบด้วย อะตอมของธาตุไฮโดรเจนจึงใช้สูตร $V = 8 + 6h$

$$V = 8 + 6 \times 2 = 20$$

2. หา $V/8$

$20/8 = 2$ เศษ 4 แสดงว่ารูปเรขาคณิตของโมเลกุลนี้ เป็นการเดินหักมุม โดยมีคู่

อิเล็กตรอน ใช้ร่วมกันระหว่าง O กับ H จำนวน 2 คู่ และอิเล็กตรอนที่ไม่ก่อพันธะเคมีอยู่ 4 อนุภาค หรือมีอิเล็กตรอนคู่โดดเดี่ยวจำนวน 2 คู่อยู่กับอะตอมศูนย์กลางในที่นี้ คือ อะตอมของธาตุออกซิเจน ดังรูป 2 ค.



แสดงรูปร่างโมเลกุลซึ่งทำนายได้โดยทฤษฎีคอปอวน (ก) Cl_4 (ข) PCl_3 (ค) H_2O

การทำนายค่าความยาวพันธะและมุมระหว่างพันธะ

ทั้งหมดที่กล่าวมาอาจเรียกว่า เป็นการทำนายในเชิงคุณภาพ (qualitative prediction) ซึ่งเป็นการทำนาย แต่เพียงว่า รูปร่างเชิงเรขาคณิตของโมเลกุลเป็นอย่างไร อะตอมต่างๆจัดวางตัวสัมพันธ์กันอย่างไร ชั้นต่อไป เราอาจจะทำนายในเชิงปริมาณ (quantitative prediction) ซึ่งทำได้ 2 กรณี คือ การทำนายความยาวพันธะและการทำนายค่ามุมระหว่างพันธะ

ก. การทำนายค่าความยาวพันธะ

การบอกระยะทางระหว่างอะตอม 2 อะตอมที่เชื่อมต่อกันด้วย พันธะเคมีซึ่งเรียกว่า - ความยาวพันธะ - ในที่นี้เน้นเฉพาะ ที่เป็นพันธะเดี่ยว โดยการหาผลรวมของรัศมีอะตอม โดยใช้ตารางที่ 2 เช่น เราอาจทำนายว่า ความยาวพันธะ H - O ในโครงสร้างของน้ำ เท่ากับ 103 พิโคเมตร หรือ ความยาวพันธะ C - Cl ในโครงสร้างของ CCl_4 เท่ากับ 176 พิโคเมตร ดังนี้ เป็นต้น จริงอยู่ การหาทำนายค่าความยาวพันธะเช่นนี้ อาจไม่ตรงกับค่าที่วัดได้จากการทดลองจริงๆ แต่ก็นับ ว่าใกล้เคียงไม่น้อยเลยทีเดียว สำหรับพันธะคู่และพันธะสามนั้น เราอาจทำนายได้เฉพาะเชิงคุณภาพโดยใช้หลักการ พันธะเดี่ยว > พันธะคู่ > พันธะสาม⁴

ข. การทำนายมุมระหว่างพันธะ

การทำนายมุมระหว่างพันธะ ทำได้โดยการวัดมุมต่าง ๆ ในรูปทรงเรขาคณิตที่เราทำนายได้ เช่นในกรณี CCl_4 มีโครงสร้างของโมเลกุลเป็นรูปปริมาตรฐานสามเหลี่ยม โดยอะตอมของธาตุคาร์บอน อยู่ที่จุดศูนย์กลางของรูป ส่วน Cl ทั้งสี่ อยู่ที่มุมของรูป ย่อมทำนายได้ว่า มุม

Cl - C - Cl เท่ากับ 109.5 องศา ในทำนองเดียวกัน กรณีโครงสร้างของ H_2O ซึ่งเป็นรูปหักมุม โดย O อยู่ในตำแหน่งจุดศูนย์กลางของรูปปริมาตรฐานสามเหลี่ยม และ H อยู่ที่มุมของสามเหลี่ยม ดังนั้น ในทางทฤษฎีจึงทำนายได้ว่า มุม $H - O - H$ จึงกางเท่ากับ 109.5 องศา ในกรณีหลังนี้ หากเทียบกับผลการตรวจวัดจริง ๆ ซึ่งมีค่าเท่ากับ 104.5 องศา ย่อมชี้ให้เห็นว่า ผลการทำนายของเราคลาดเคลื่อนไปบ้าง ความคลาดเคลื่อนในทำนองนี้ ทฤษฎี *VSEPR* เสนอกฎเกณฑ์ให้เราพึงสำเหนียก 3 ประการด้วยกัน คือ

1. มุมระหว่างคู่อิเล็กตรอนโดดเดี่ยวย่อมกว้างกว่ามุมระหว่างคู่อิเล็กตรอนที่ก่อพันธะหรือตามทีกล่าวมาแล้ว $คต-คต > คต - คพ > คพ - คพ$
2. มุมระหว่างพันธะจะแคบลงถ้าอะตอมที่มาเกาะกับอะตอมศูนย์กลางมีค่าอิเล็กโตรเนกาติวิตีมากขึ้น
3. มุมระหว่างพันธะจะแคบลง ถ้าอะตอมศูนย์กลางมีค่าอิเล็กโตรเนกาติวิตีลดลง

กฎเกณฑ์ทั้ง 3 นี้มีประโยชน์มากในการทำนายมุมระหว่างพันธะ เช่น ในกรณีของ H_2O ตามที่เราทำนายไว้ในตอนแรก ควรจะเป็น 109.5 องศา ซึ่งเราจะทำนายต่อไปว่า จะต้องมี ค่าน้อยกว่า 109.5 องศาเป็นแน่ ทั้งนี้เนื่องจากเหตุผลในข้อ 1

ถ้าเรามาศึกษาในกรณีของ OF_2 ซึ่งตามทฤษฎี *VSEPR* ทำนายว่า มีโครงสร้างเหมือนกันกับ H_2O นั้นหมายความว่า มุม $F - O - F$ ตามทฤษฎีควรมีค่า 109.5 องศา แต่โดยอาศัยหลัก เกณฑ์ข้อที่ 2 ข้างบนนี้มาประกอบ พิจารณาได้ว่า เนื่องจาก อิเล็กโตรเนกาติวิตีของ F สูงกว่าอิเล็กโตรเนกาติวิตีของ H ดังนั้น มุม $F - O - F$ จะต้องมิต่ำน้อยกว่า ค่าทางทฤษฎี 109.5 และทำนายต่อไปได้อีกว่า จะต้องมิต่ำน้อยกว่า $H - O - H$ ซึ่งผลจากการตรวจวัดจริง ๆ ก็ยืนยันเช่นนั้น คือ มุม $F - O - F$ มีค่าเท่ากับ 103.2 องศา ในทำนองเดียวกัน ถ้าเป็น SF_2 ซึ่งมีโครงสร้างคล้ายกับ OF_2 แต่เนื่องจาก อิเล็กโตรเนกาติวิตีของ S มีค่าน้อยกว่าของ O ดังนั้น จากกฎเกณฑ์ข้อที่ 3 เราจึงทำนายได้ว่า มุม $F - S - F$ ย่อมน้อยกว่า มุม $F - O - F$ และค่าที่วัดได้ในห้องปฏิบัติการก็ยืนยันเช่นนั้น คือ มุม $F - S - F$ ในโครงสร้างของ SF_2 มีค่าเท่ากับ 98.0 องศา

ทั้งหมดที่กล่าวมานี้ จะเห็นว่าการทำนายค่ามุมระหว่างพันธะนี้ แม้เราไม่สามารถบอกค่าของมุมได้อย่างแน่นอน นอกจากค่าเชิงทฤษฎีที่วัดจากเรขาคณิตจำลอง กระนั้นก็ตาม เราสามารถทำนายค่าของมุมได้ดียิ่งขึ้น เมื่อเปรียบเทียบกับข้อมูลที่ได้จากโครงสร้างของสาร ที่มีโครงสร้างทางเคมีคล้ายคลึงกันกับโครงสร้างที่อยู่ในความสนใจของเรา โดยอาศัยกฎเกณฑ์ข้างบนนี้มาช่วยในการทำนาย

ข้อจำกัดของการทำนายโครงสร้างโมเลกุลด้วยทฤษฎีฟังก์ชันคลื่น


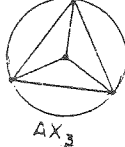
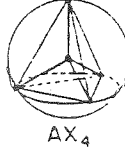


ทฤษฎีฟังก์ชันคลื่นเหมือนกับทฤษฎีทางวิทยาศาสตร์ทั่วไป คือ มีข้อจำกัดบางประการที่ไม่สามารถใช้ได้อย่างครอบคลุม ข้อมจำกัดของทฤษฎีฟังก์ชันคลื่นมีอยู่ 5 ข้อด้วยกัน คือ

1. ทฤษฎีฟังก์ชันคลื่นใช้ได้เฉพาะกับโมเลกุลที่มีพันธะแบบโคเวเลนต์เท่านั้น ไม่สามารถใช้กับ โมเลกุลที่มีพันธะแบบไอออนิกได้ ดังนั้น จะใช้กับโมเลกุล เช่น NaCl, CaCl₂ ไม่ได้
2. ทฤษฎีฟังก์ชันคลื่นตั้งอยู่บนหลักการที่ว่าพันธะเคมีมีลักษณะเป็นพันธะที่อยู่กับที่โดยมีคู่อิเล็กตรอนทั้งที่ก่อพันธะเคมีและไม่ก่อพันธะเคมีอยู่กับที่(localized) ดังนั้น แต่ความจริงแล้วเรายังเชื่อกันว่า พันธะเคมีบางประเภทมิใช่อยู่ในลักษณะที่อยู่กับที่ ดังเช่นเป็นปรากฏการณ์ ที่เรียกว่าการรีโซแนนซ์(Resonance)เช่นในกรณีของโครงสร้างวงแหวนหกเหลี่ยมของเบนซีน เป็นต้น
3. ถ้าลิแกนด์ที่เข้ามาเกาะเกี่ยวกับอะตอมศูนย์กลาง มีขนาดใหญ่มาก ๆ การทำนายโครงสร้าง ย่อมผิดพลาดได้มาก
4. ถ้าอะตอมศูนย์กลางเป็นธาตุในกลุ่มทรานซิชันหรือ มีคู่อิเล็กตรอนอยู่มาก ๆ เช่น 7 หรือ 8 คู่ ลักษณะโครงสร้างที่ทำนายได้อาจผิดพลาดได้มาก
5. ทฤษฎีฟังก์ชันคลื่นใช้ทำนายเฉพาะโมเลกุลที่อยู่เป็นอิสระในสถานะก๊าซเท่านั้น ถ้าเป็นสารนั้น อยู่ในสถานะอื่น การทำนายต้องอยู่บนสมมติฐานที่ว่า โมเลกุลเหล่านั้น ปราศจากแรงกระทำต่อกัน หรือมีแรงกระทำต่อกันและกันน้อยมาก



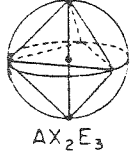
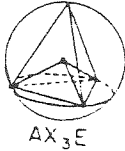
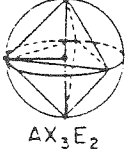
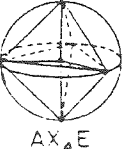

อุปกรณ์ศึกษาโครงสร้างโมเลกุลในห้องปฏิบัติการ

ในห้องปฏิบัติการ การศึกษาโครงสร้างโมเลกุล ทำได้ทั้งการหาข้อมูลในเชิงคุณภาพและเชิงปริมาณ ในเชิงคุณภาพซึ่งเป็นการหาลักษณะการเรียงรายของอะตอมต่าง ๆ นั้น ส่วนใหญ่แล้วศึกษาโดยการ สเปกโทรสโกปี อันเป็นการศึกษาผลกระทบที่เกิดจากโมเลกุลต่าง ๆ เมื่อได้รับการกระตุ้นด้วยพลังงานคลื่นแม่เหล็กไฟฟ้า เช่น รังสีอินฟราเรด เป็นต้น ส่วนการศึกษาในเชิงปริมาณ คือ หาความยาวพันธะหรือหาค่ามุมระหว่างพันธะ จะใช้วิธีการเลี้ยวเบนของคลื่น (diffraction) รังสีเอ็กซ์หรือจากลำนิวตรอน หรือลำอิเล็กตรอน โดยรังสีเอ็กซ์ใช้ได้เฉพาะการศึกษาโครงสร้างของของแข็ง ซึ่งมีโครงสร้างผลึกเท่านั้น ไม่สามารถมาใช้กับของเหลวหรือก๊าซได้ ประกอบกับ การหาตำแหน่งของอะตอมที่มีค่าเลขอะตอม(atomic number)น้อย ๆ เช่น ธาตุไฮโดรเจน ไม่ใคร่ได้ผลดี ในกรณีที่โครงสร้างนั้น เป็นของแข็งมีอะตอมที่มีเลขอะตอมน้อยๆ จึงอาศัย อุปกรณ์ที่เรียกว่า " นิวตรอนดิฟแฟรกโตมิเตอร์ (Neutron diffractometer) " แทน ส่วนโครงสร้างของสาร ที่อยู่ในภาวะก๊าซจะศึกษาได้ต้องอาศัยอุปกรณ์ที่เรียกว่า " อิเล็กตรอนดิฟแฟรกโตมิเตอร์ (Electron diffractometer) " แทน

ตารางที่ 4 แสดงรูปร่างโมเลกุล ซึ่งปราศจากอิเล็กตรอนคู่โดดเดี่ยว AX_n

สูตรทั่วไป	ผลรวม จำนวนอิเล็กตรอนวงนอก	$V/8=n$	รูปร่างโมเลกุล
AX_2	16	2	<p>ปิรามิดสี่เหลี่ยมจัตุรัส (square planar)</p>  <p>AX_2</p>
AX_3	24	3	<p>สามเหลี่ยมในระนาบ (planar triangular)</p>  <p>AX_3</p>
AX_4	32	4	<p>ปิรามิดฐานสามเหลี่ยม (octahedra)</p>  <p>AX_4</p>
AX_5	40	5	<p>สองปิรามิดฐานสามเหลี่ยม (trigonal bipyramidal)</p>  <p>AX_5</p>
AX_6	48	6	<p>ทรงแปดหน้าด้านเท่า (octahedral)</p>  <p>AX_6</p>

ตารางที่ 5 แสดงรูปร่างโมเลกุลที่มีอิเล็กตรอนคู่โดดเดี่ยว $AX_n E_m$

สูตรทั่วไป	ผลรวม จำนวนอิเล็ก ตรอนวงนอก	$V/8=n$	a	m	รูปร่างโมเลกุล
$AX_2 E$	18	2	2	1	เส้นหักมุม (angular)  $AX_2 E$
$AX_2 E_2$	20	2	4	2	เส้นหักมุม (angular)  $AX_2 E_2$
$AX_2 E_3$	22	2	6	3	เส้นตรง (linear)  $AX_2 E_3$
$AX_3 E$	26	3	2	1	พีระมิดฐานสามเหลี่ยม ด้านไม่เท่า (distorted tetrahedra)  $AX_3 E$
$AX_3 E_2$	28	3	4	2	รูปตัว T (T-shape)  $AX_3 E_2$
$AX_4 E$	34	4	2	1	พีระมิดฐานสามเหลี่ยม ด้านไม่เท่า (distorted tetrahedra)  $AX_4 E$
$AX_4 E_2$	36	4	4	2	พีระมิดสี่เหลี่ยมจัตุรัส (square planar)  $AX_4 E_2$

สรุปและข้อเสนอแนะ

ทฤษฎีการผลัดกันของอิเล็กตรอนวงนอกนี้ เป็นทฤษฎีง่ายๆ ที่สามารถใช้ในการทำนายโครงสร้าง โมเลกุลของสารประกอบโควาเลนต์ได้ดีพอสมควร ควรที่จะได้รับการพิจารณาศึกษาให้ กว้างขวางต่อไป บทความนี้ ตั้งใจที่จะเสนอให้นักศึกษาที่เรียนวิชาเคมีเป็นวิชาเอกน่าจะได้ให้ความสนใจเป็นพิเศษ เพราะอาศัยข้อมูลพื้นฐาน จากที่สรุปให้เป็นตารางต่าง ๆ ข้างบนก็ สามารถทำนายโครงสร้างโมเลกุลของสารประกอบใด ส่วนนักศึกษาอื่น ๆ ที่เรียนเคมีเป็นพื้นฐาน ก็ควรที่จะทราบว่า นักวิทยาศาสตร์ทำงานอย่างไร จริงอยู่ ทฤษฎีนี้มีรายละเอียดที่จะนำมากล่าว ได้อีกมาก พอๆกันกับว่า ทฤษฎีนี้ มีข้อที่จะต้องแก้ไข เพิ่มเติมเสริมแต่งให้ดีขึ้นอีกหลายประการ ด้วยกัน บทความนี้ จึงกล่าวเฉพาะขั้นปฐมนิเทศเท่านั้นหวังว่า จะมีผู้ค้นคว้า ให้กว้างขวางมากขึ้น ในลำดับ ต่อๆไป

เอกสารอ้างอิง

1. Jensen,W.K.(1984). " Abegg, Lewis, Langmuir and the Octet Rule " J. of Chemical Education. Vol.61, No.3, p. 191 - 200.
2. Chang, R.(1989) .*Chemistry*, 3rdEd.McGraw-HillPub., Co.,
3. Brown , T.L. & Lemay jr.H.E(1988). *Chemistry:The Central Science*, 4th Ed. Prentice-Hall Intenational Ed. New York.
4. Webster, B.(1990). *Chemical Bonding Theory* , Blackwell Scientific Pulications, London.
- 5.Pauling L.(1960) . *The Nature of The Chemical Bond and the Structure of Molecule and Crystals: An Introduction to Modern Structure Chemistry*, Cornell University Press, New York.
6. Gillespie , R.J. & Hargittai(1991) *The VSEPR Model of Molecular Geometry*, Allyn and Bacon, Boston.
- 7.Al-Mousawl, S.M.(1990). Molecular Shape Prediction and the Lone-Pair Electron on the Central Atom. J. of Chemical Education. Vol.67, No.10, p.861

การแยกให้บริสุทธิ์ และคุณลักษณะบางประการของ Luteinizing hormone / choriogonadotropin receptor ของหนู

Purification and partial characterization of rat ovarian
luteinizing hormone / human choriogonadotropin receptor

กรกช อินทราพิเชฐ¹
และ Jayantha Wimalasena²

Abstract

Rat ovarian luteinizing hormone / human choriogonadotropin receptor was purified to near homogeneity by one-step affinity column chromatography using CNBr-activated Sepharose 4B coupled with highly purified hCG. A chaotic agent, urea (1 M), was used in the column buffer. The purified LH/hCG-R showed high specificity and high binding ability to hCG, binding activity of 2.85 pmol, specific activity of 1425 pmol/mg protein. The binding activity of the receptor was highly recovered, 88% of Triton X-100 soluble receptor extract. That suggests that urea at 1 M does not alter the receptor binding activity to its ligand.

The affinity purified LH/hCG receptor existed as a monomer of M_r 64,000 dalton (non-reduced) or M_r 83,000 dalton (reduced) analyzed by SDS-polyacrylamide gel electrophoresis, silver staining, affinity cross-linking, and autoradiography, suggesting that the receptor contains intramolecular disulphide linkages.

¹ ภาควิชาชีววิทยา คณะวิทยาศาสตร์ มหาวิทยาลัยขอนแก่น

² Department of Physiology and Biophysics,

University of Nebraska Medical Center, Omaha, Nebraska, U.S.A.

บทคัดย่อ

Luteinizing hormone / human choriogonadotropin receptor จากรังไข่ของหนู (rat) ถูกแยกให้บริสุทธิ์อย่างสูงโดย Affinity column chromatography ครั้งเดียว และโดยใช้ CNBr-activated Sepharose 4B ที่มี hCG ยึดติด ในกระบวนการนี้ได้ใช้ บัฟเฟอร์ ที่มี 1 M Urea เป็นส่วนประกอบ LH/hCG-R บริสุทธิ์ แสดงคุณสมบัติในการทำปฏิกิริยาอย่างสูงกับ hCG กล่าวคือมีความเฉพาะเจาะจงต่อ hCG มี binding activity 2.85 pmol มี specific activity 1425 pmol/mg protein และ activity กลับคืน 88% จาก Triton X-100 soluble receptor extract ซึ่งให้เห็นว่า urea ที่ความเข้มข้น 1 M ไม่เปลี่ยนแปลงคุณสมบัติทางชีวเคมีของ LH/hCG-R แต่อย่างใด และวิธีนี้ยังสามารถแยก LH/hCG-R protein ที่บริสุทธิ์ได้ถึง 2 ug /ovary LH/hCG-R แสดงน้ำหนักโมเลกุลปรากฏและสัมพัทธ์ (M_r) 64,000 dalton (non-reduced) หรือ 83,000 dalton (reduced) เมื่อวิเคราะห์ด้วย SDS-polyacrylamide, Silver staining, Affinity cross-linking และ Autoradiography แสดงว่า LH/hCG-R ประกอบด้วยหน่วยเดียวที่มี disulphide linkages ภายในโครงสร้างของโมเลกุล

คำนำ

Luteinizing hormone (LH) และ analogue ของ LH ซึ่งคือ human chorionic gonadotropin (hCG) เป็น glycoprotein hormone ทำงานควบคุมการเติบโตของรังไข่และไข่ (ovary and ovum) โดยทำปฏิกิริยากับ receptor เฉพาะ ที่อยู่ใน plasma membrane ของ ovarian cells แล้ว receptor จึงมีปฏิกิริยากับระบบ adenylate cyclase และ guanosine nucleoside - binding regulatory proteins หรือ G-proteins^{1,2} ภายในเซลล์ และในที่สุดทำให้มีการผลิต cyclic adenosine monophosphate (cAMP) ซึ่งทำหน้าที่เป็น สารสื่อสารที่สอง (second messenger) อันเป็นผลให้เซลล์ทำงานตามการควบคุมของฮอร์โมน กลไกระดับโมเลกุลระหว่าง receptor กับ G-proteins ยังไม่รู้

การแยก Luteinizing hormone receptor (LH-R) ให้บริสุทธิ์ค่อนข้างยาก เพราะ receptor ในรังไข่มีปริมาณน้อยมาก (low abundance) และ ไม่อยู่เสถียรธรรมชาติง่าย (unstable) หรือสูญเสีย receptor binding activity อย่างมากในระหว่างขั้นตอนการทำให้ receptor เป็นของเหลว (solubilization) การแยกให้บริสุทธิ์ (purification) และ การเก็บ^{3,5} การใช้ 20-30% Glycerol^{6,7} สามารถช่วยแก้ปัญหานี้ได้บ้าง LH/hCG-R ของหนู (rat) ถูกแยกให้บริสุทธิ์ด้วยวิธี Affinity chromatography 2 ครั้งต่อเนื่องกัน (two sequential cycles) รายงานว่ามีน้ำหนักโมเลกุลปรากฏและสัมพัทธ์ (apparent, relative molecular weight - M_r) อยู่ระหว่าง M 46,000-92,000⁷⁻¹³ (หน่วยเป็น dalton) ส่วน LH/hCG-R ของหมู (porcine) อยู่ระหว่าง M 45,000-68,000 และ receptor ที่แยกบริสุทธิ์เหล่านั้นมี Hormone binding activity ต่าง ๆ กัน

LH/hCG-R วิเคราะห์โดย Covalent cross - linking ของ hormone-receptor complex รายงานว่ามี M 90,000-100,000¹⁴⁻¹⁶ และเป็นโมเลกุลที่มีหลายหน่วยย่อย (oligomer) ระหว่าง M 32,000-120,000^{17,18} ดังนั้นลักษณะ (characteristics) ของ LH/hCG-R จึงยังแตกต่างกันอยู่ ทั้งนี้แล้วแต่เงื่อนไขและวิธีวิจัยของผู้วิจัยแต่ละกลุ่ม

ในรายงานนี้ผู้วิจัยได้ทำการแยก rat ovarian luteinizing hormone / human choriongonadotropin receptor ให้บริสุทธิ์อย่างสูงโดยวิธี Affinity column chromatography เพียงครั้งเดียว (one step) จาก Triton X-100 soluble receptor extract และ ใช้ hCG เป็น ligand ซึ่งเป็นวิธีที่ได้ปรับปรุงจากเทคนิคเดิมซึ่งเคยเป็น Affinity column chromatography สองครั้ง (two sequential steps) และเป็น การแยก LH/hCG-R ให้บริสุทธิ์โดย Affinity column chromatography ที่ใช้ Urea (1 M) ซึ่งเป็น Chaotropic agent เป็นส่วนประกอบใน บัฟเฟอร์ ที่มี Triton X-100 และ CHAPS ซึ่งเป็น Non-ionic detergent อยู่ด้วย แล้วยังสามารถแยกได้ receptor บริสุทธิ์สูงที่มี Hormon ปริมาณสูงมากอีกด้วย

สัตว์ทดลองและวัสดุอุปกรณ์

หนู (rat) : หนูขาวสายพันธุ์ Sprague-Dawley (Charles River CD strain) เพศเมีย อายุ 23 วัน จาก Charles River Breeding Laboratories, Wilmington, MA, U.S.A.

ฮอร์โมน (hormones) : ฮอร์โมนบริสุทธิ์สูง - hCG (CR 121, CR 125), hFSH (I-3), hTSH (I-6) และ rPRL (I-1) ได้รับความอนุเคราะห์จาก The National Hormone and Pituitary Program, Baltimore, MD. Gestyl (PMSG) ที่ซื้อจาก Diosynth, Chicago, IL. Prngyl (hCG) ที่ซื้อจาก Organon, West Orange, NJ. 17 β -estradiol และ crude hCG ที่ซื้อจาก Sigma Chemical Company, ST. Louise, MO.

Iodination reagents: [²⁵I] sodium iodide, carrier free จาก Amersham, Chicago, IL. Iodo-Bead จาก Pierce, Rockford, IL. Lactoperoxidase (จาก bovine milk) ที่ซื้อจาก Worthington, Freehold, NJ.

Gels : Cyanogen bromide-activated Sepharose 4B และ Concanavalin A-Sepharose 4B จาก Pharmacia, Piscataway, NJ. Sephadex-G 25 และ -G 50 จาก Sigma, ST. Louise, MO.

Electrophoretic reagents : Acrylamide, Bis-acrylamide, Sucrose, Tris-base, SDS, Glycine, TEMED, β -mercaptoethanol และ Silver stain kit จาก Bio-Rad Laboratories, Richmond, CA. Ammonium persulphate, Coomassie brilliant blue R-250, Bromopogenol blue จาก Sigma, ST. Louise, MO. และ Silver standard kit จาก Diversified Biotech, Newton Centre, MA.

Protein assay reagents : Protein assay dye reagent concentrate จาก Bio-Rad Laboratories, Richmond, CA. Aurodye จาก Hoeffer Scientific Instruments, San Francisco, CA.

Chemical อื่น : Glycerol, Polyethylene glycol, MW 8,000, Soybean trypsin inhibitor, Triton X-100, CHAPS, PMSF, EDTA, BSA และ สารเคมีอื่น ๆ ซึ่งเป็น American Chemical Society grade จาก Sigma, ST. Louise, MO. Glutaraldehyde จาก Aldrich Chemical Company, Inc., Milwaukee, WI.

X-ray film : Kodak XAR-5 film จาก Eastman Kodak, Rochester, NY.

วิธีการทดลอง

Superovulation : หนูขาว Sprague-Dawley เพศเมีย อายุ 23 วัน ถูกฉีดได้หนึ่งกำพรวด (Subcutaneous injection) ตามวิธีที่ได้ปรับปรุงจากวิธีของ Richards and Rolfe¹⁹ ด้วย hormones ตามลำดับดังนี้ (1) 2 mg ของ 17 β -estradiol ต่อวัน เป็นเวลา 2 วัน (2) 50 IU ของ Gestyl (PMSG) (3) 65 ชม ต่อมาฉีดด้วย 25 IU ของ Pregnyl (hCG) และ 7 วันต่อมาจึงฆ่าหนูผ่าตัดและแยกรังไข่ (ovary) ออกจากเนื้อเยื่อเกี่ยวพันอย่างรวดเร็ว แล้วแช่แข็งบนถาดซึ่งแช่อยู่ในถัง dry ice-acetone และเก็บรังไข่แช่แข็งที่อุณหภูมิ -70°C จนกว่าต้องการใช้

การเตรียม Membrane และ Soluble Receptor Extract : Luteinizing hormone receptor extract เตรียมตามวิธีที่ได้ปรับปรุงจากวิธีของ Wimalasena⁷ ดังแผนผังที่ 1 และโดยสรุปดังนี้ ตัดรังไข่เป็นชิ้นเล็ก ๆ ใน 10 mM Tris buffer, pH 7.4 ที่ 4°C และมี 25% glycerol, 0.1 mg/ml soybean trypsin inhibitor และ 1 mM PMSF เป็นส่วนประกอบ แล้วบดใน glass/glass homogenizer ในน้ำแข็ง ได้ Homogenate (P_1) บด homogenate นี้ที่ 480 x g, 4°C เวลา 10 นาที แยกส่วนเหลว (supernatant) ออกจากตะกอน (pellet, P_2) บด supernatant อีกครั้งที่ 48,000 x g เวลา 1 ชม กำจัดไขมันที่ลอยเป็นฟองบนส่วนเหลวด้วยก้านสำลี แยก supernatant (P_4) ออกจาก pellet ซึ่งคือ Crude membrane (P_3) สกัด LH-R จาก P_3 ด้วยการบดอย่างน้อย 35 ครั้งใน 0.33 mM Tris, 1% Triton X-100 (w/v), 20% glycerol และ 1.7 mM EDTA, pH 7.4 ความเข้มข้นสุดท้าย) ที่ 4°C แล้วบ่มด้วยการกวนที่ 4°C เวลา 45 นาที จากนั้นทำให้เจือจางลง 10 เท่า ด้วย 10 mM Tris/25% glycerol, pH 7.4 ที่มี 5mM EDTA, pH 7.4 และ 0.1 mg/ml trypsin inhibitor (ความเข้มข้นสุดท้าย) ได้ Extracted membrane (P_5) บด P_5 ที่ 177,000 x g, 4°C เวลา 1.5 ชม ได้ supernatant ซึ่งคือ Soluble receptor extract (S) และ pellet (P_6) วัด (assay) หา LH/hCG-R binding activity ของตัวอย่างทุกชั้น (fraction) โดยวิธี Radioligand-receptor binding assay

Radioligand-receptor binding assay : โดยใช้ ^{125}I -labeled hCG เป็น ligand และ

หยุดปฏิกิริยาใน assay ด้วยการตกตะกอน hCG-receptor complex ด้วยวิธี Double polyethylene glycol (PEG) preprecipitation method ที่ความเข้มข้นสุดท้ายของ PEG ที่ 12 % ดังอธิบายไว้โดย Catt²⁰ แล้ววัด ¹²⁵I รังสีด้วย Automatic gamma counter ส่วนการ assay หา non-specific binding ใช้ unlabeled hCG ปริมาณที่มากเกินไปในการแข่งแย่งกับ ¹²⁵I-labeled hCG และ วัดปริมาณโปรตีนด้วยวิธีของ Bradford²¹

Radioiodination ของ Human choriongonadotropin hormone (hCG) : [¹²⁵I] Iodo-hCG เตรียมโดย Lactoperoxidase method ของ thorell และ Johnsson²² แยกจาก unbound [¹²⁵I] Iodide โดย Gel filtration ด้วยการผ่าน Sephadex-G 25 column ภายหลังรวม fractions ที่เหมาะสมแล้วแยก ¹²⁵I-hCG ให้บริสุทธิ์ด้วยการผ่าน Concanavalin A-Sepharose 4B column ดังอธิบายไว้โดย Indrapichate⁸ รวม fractions ที่เหมาะสม แล้วทำ Dialysis ต้าน PBS (phosphate-buffered saline) ที่ 4°C ข้ามคืน เก็บ ¹²⁵I-hCG เป็นส่วนเล็ก ๆ (aliquot) ที่เหมาะสมแก่การใช้ไว้ที่ -70°C Specific activity ของ ¹²⁵I-hCG วัดหาตามวิธีที่อธิบายไว้โดย Catt²⁰ ได้ค่า Specific activity อยู่ระหว่าง 200,000-300,000 cpm/ng protein

Radioiodination ของ LH/hCG receptor : LH/hCG-R บริสุทธิ์นำมาเตรียม [¹²⁵I] Iodo LH-R ด้วยการใส่ Iodo-Beads ตามวิธีที่อธิบายไว้โดย Pierce's bulletin และแยกจาก unbound [¹²⁵I] Iodide ด้วย Sephadex G-50 column และเก็บ ¹²⁵I-LH/hCG-R เป็น aliquot ขนาดเล็กไว้ที่ -70°C

การเตรียม hCG-affinity Sepharose gel : hCG-affinity Sepharose gel เตรียมโดยการ Coupling hCG, CR 125 (บริสุทธิ์อย่างสูง) เข้ากับ CNBr-activated Sepharose 4B ตามวิธีของ Pharmacia's bulletin และอธิบายไว้โดย Wimalasena⁷ การ coupling ของ hCG เข้ากับ CNBr-activated Sepharose เกิดประมาณ 80-90% สำหรับการใส่ hCG-affinity gel ข้างหลังจากการใช้ครั้งก่อน ต้องล้าง gel อย่างมากดังอธิบายไว้โดย Indrapichate⁸ เพื่อกำจัดโปรตีนที่อาจเหลือตกค้างอยู่ใน gel

Affinity column chromatography : การแยก LH/hCG receptor ให้บริสุทธิ์โดยวิธี Affinity purification ทำโดยใช้ 5-8 ml ของ soluble receptor extract (S) ผสมกับ hCG - Sepharose gel ซึ่งผ่านการกรองล้างแล้ว แล้วบ่มด้วยการสั่นแบบ end-to-end shaking ที่อุณหภูมิห้อง เวลา 6 ชม. จากนั้นเท gel ผสมลงใน glass column (เส้นผ่าศูนย์กลาง 1.5 ซม.) ในตู้เย็นขนาดใหญ่ (chromatographic refrigerator) และทุกกระบวนการต่อจากนี้กระทำที่ 4°C จนเสร็จสิ้น ทั้งนี้เพื่อรักษาสภาพธรรมชาติของ receptor เมื่อ gel ตกตะกอนแล้วปล่อยให้ส่วนของเหลวไหลผ่านออกและเก็บไว้เป็น Flow through fraction และให้เป็น fraction ที่ 1 ล้าง gel ใน column ไม่น้อยกว่า 300 ml ของ Wash buffer ซึ่งประกอบด้วย 10 mM Na-PO₄ buffer, pH 7.4, 1 M NaCl, 0.03 % Triton X-

100 (w/v), 5 mM CHAPS, 1 M Urea และ 25% glycerol และเก็บไว้เป็น fraction ที่ 2 จากนั้นแยก receptor ด้วย Elution buffer ที่มีส่วนประกอบเหมือนกับ Wash buffer แต่ปรับให้เป็น pH 4.0 ด้วย Acetic acid เก็บ Acid-eluted receptor fraction ละประมาณ 6-6.5 ml และทันทีที่ได้แต่ละ fraction ปรับ pH อย่างรวดเร็วขึ้นเป็น pH 7.4 ด้วย 3 M Tris-base, pH 8.4 ทั้งนี้เพื่อรักษาสภาพธรรมชาติของ receptor วัดหา hormone binding activity ของแต่ละ fraction โดย Radioligand-receptor binding²⁰ และหาปริมาณโปรตีน โดยวิธีของ Stoscheck²³ ซึ่งใช้ Aurodye (colloidal gold dye) เก็บ fraction ทั้งหมดไว้ที่ -70°C จนกว่าต้องการใช้ ภายหลังกู้ผลการวัด activity แล้ว รวม Acid-eluted fractions ที่มี LH/hCG - R สูงสุดเข้าด้วยกัน แบ่งตัวอย่างบางส่วนไปศึกษา Displacement equilibrium บางส่วนทำ Dialysis ต้าน 1 mM Tris, pH 7.4 ปริมาณ 200 เท่า ที่ 4°C และเปลี่ยน dialysis buffer หลายครั้ง จากนั้นทำตัวอย่างให้แห้งโดย Lyophilization แล้วจึงทำตัวอย่างให้เป็นของเหลวคั้นด้วย PBS บางส่วนของตัวอย่างขั้นนี้ นำไปทำ Radioiodination ดังกล่าวข้างต้น และทำ SDS-polyacrylamide gel electrophoresis และ Autoradiography

Sodium dodecyl sulphate polyacrylamide gel electrophoresis : SDS-PAGE โดยใช้ชุด Mighty Small II, SE 250 ของ Hoefer และใช้ระบบ Laemmli's system²⁴ ที่ได้ปรับปรุงเล็กน้อยโดยเพิ่ม 2.5 M Sucrose²⁵ ในเนื้อ gel ย้อม gel 2 วิธีคือ (1) Silver staining ตามวิธีของ Merril²⁵ เพื่อวิเคราะห์น้ำหนักโมเลกุลและความบริสุทธิ์ของ LH/hCG - R (2) Coomassie blue staining ดังอธิบายโดย Hoefer's bulletin แล้วทำให้แห้งบนแผ่นกระดาษกรอง 3 MM ของ Whatman เพื่อเก็บเป็นข้อมูลในกรณีวิเคราะห์หา ¹²⁵I-labeled LH/hCG - R ทำ Autoradiography ของ gel ที่ -70°C เวลา 3-7 วัน

Displacement equilibrium study : ใช้ 0-50 ng ของฮอร์โมนที่บริสุทธิ์สูง ซึ่งได้แก่ hCG (CR 121), hFSH (1-3), rTSH (1-2) และ rPRL (1-1) บ่มกับตัวอย่าง affinity purified LH/hCG-R และ ¹²⁵I-hCG ที่อุณหภูมิห้อง ข้ามคั้น แล้วหยุดปฏิกิริยาด้วยการตกตะกอน ¹²⁵I-labeled hormone-receptor complex ด้วย Double PEG precipitation เขียนกราฟของ percent labeled hormone bound ต่อ natural log ของ unlabeled hormones ที่ใช้ใน assay

Covalent cross-linking ของ Radiolabeled hCG กับ LH receptor : เตรียม Radiolabeled hCG receptor complex ไว้ก่อนโดยใช้ ovarian homogenate (P₁) ทำปฏิกิริยากับ ¹²⁵I-hCG แล้วแยก complex ด้วย Double PEG precipitation ละลายตะกอนด้วย 0.2 % Triton X-100 ใน PBS ให้ได้ปริมาณ 100 ul จากนั้นทำ Cross-linking โดยเติม 2.0 mM Glutaraldehyde¹⁶ (ความเข้มข้นสุดท้าย) ใน 200 ul ที่อุณหภูมิห้อง เวลา 1 ชม. หยุดปฏิกิริยาด้วยการเติม 50 mM Tris buffer (ความเข้มข้นสุดท้าย) วิเคราะห์ต่อไปด้วย SDS - PAGE ภายใต้อุณหภูมิ non-reducing

การแยกให้บริสุทธิ์

วารสารวิทยาศาสตร์ มข. ปีที่ 19 ฉบับที่ 2 เมษายน-มิถุนายน

และ autoradiography ที่ -70°C เวลา 10-14 วัน

ผลการทดลอง

Purification ของ LH/hCG receptor :

LH/hCG receptor ของหนู (rat) ถูกแยกให้บริสุทธิ์จาก Triton X-100 extracted membrane ของรังไข่โดยที่ receptor ยังสามารถรักษา Hormone binding activity และ ความคงที่ (stability) ไว้ได้สูงในสารละลาย 10 mM Tris/25 % glycerol, pH 7.4 ที่อุณหภูมิ 4°C เป็นเวลานานถึง 24 ชม. ในการเตรียม extract ของ LH/hCG receptor ได้ใช้ 1 % Triton X-100 (w/v)⁶, 20 % glycerol⁷, 0.33 mM Tris, 1.7 mM EDTA (ความเข้มข้นสุดท้าย) เนื่องจากผลการทดลองขั้นต้นให้ค่า receptor activity สูงสุดในเงื่อนไขและ เก็บ receptor ไว้ได้นานหลายเดือนที่ -70°C ตารางที่ 1 แสดง receptor activity จากตัวอย่างชั้นต่าง ๆ จาก 100 ovaries Triton X-100 สามารถแยก receptor ที่ให้ผล (yield) ของ hCG binding activity สูงสุดถึง 102 % ในชั้น extracted membrane (P_3) และ 83 % ในชั้น soluble receptor extract (S)

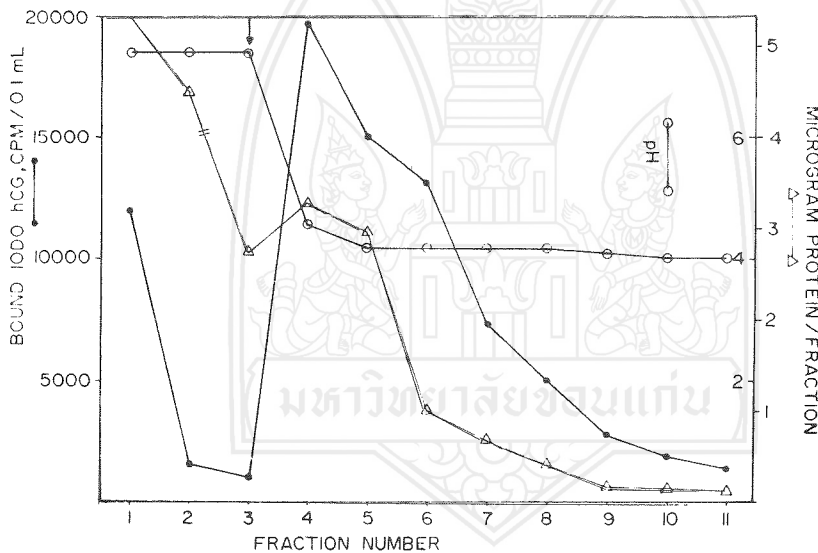
ตารางที่ 1 เปรียบเทียบ LH/hCG receptor binding activity ต่อ [^{125}I] Iodo hCG Homogenate, Membrane และ Soluble extract เตรียมจาก Rat superovulated ovaries โดยวิธีดังใน "Methods" ข้อมูลจาก 100 ovaries

^{125}I -hcg binding ^a				
Preparation	Protein ^b		Specific activity	Yield
	mg	pmol		
Homogenate (P_1)	3.11	3.88	1.25	100
Membranes (P_3)	2.48	3.98	1.60	103 (100)
Soluble extract (S)	1.54	3.24	2.11	83 (81)
				[100]
Purified receptor (C)	0.002	2.85	1425	73 (71)
				[88]

^a วัดจาก Radioligand-receptor binding assay

^b ปริมาณ Protein/ovary (1 ovary หนักประมาณ 0.116 กรัม)

hCG - affinity column chromatography ของ Triton soluble extract เพียงครั้งเดียว (one cycle) สามารถแยก LH/hCG - R ให้บริสุทธิ์ได้เช่นเดียวกับการแยกด้วยวิธีเดียวกันนี้ แต่กระทำต่อเนื่องกันสองรอบ (two sequential cycles) ทั้งนี้โดยชะล้างโปรตีนอื่น ๆ ที่ไม่ทำปฏิกิริยากับ hCG - Sepharose gel ด้วย buffer $\text{Na-PO}_4 / \text{NaCl}$, pH 7.4 ปริมาณมาก (อย่างน้อย 300 ml) ดังอธิบายแล้ว ผลปรากฏว่า receptor เกือบทั้งหมดแยกออกมาใน 3-4 fractions แรก ๆ ที่มี pH ต่ำกว่า pH 4.5 ดังแสดงใน profile ของ hCG binding activity, pH และ ปริมาณโปรตีน ของ LH/hCG - R ในรูปที่ 1 อย่างไรก็ตาม ยังคงมี receptor อีกจำนวนหนึ่ง ประมาณ 11 % ที่ไม่ทำปฏิกิริยากับ hCG-Sepharose gel อาจเป็นเพราะว่า อัตราส่วนของ ตัวอย่าง ต่อ gel ที่ใช้ 1:1.5 ยังไม่เหมาะสม หรือ เวลาในการบ่ม (6 ชม.) น้อยเกินไป



รูปที่ 1 (ดูอธิบายภาพ)

Affinity - purified LH/hCG receptor แสดง Activity 2.85 ± 0.49 pmol ($n=4$), Specific activity 1425 ± 280 pmol/mg protein และได้ผล (yield หรือ recovery) สูงถึง 73 %, 71 % และ 88 % จาก homogenate, Triton extracted membrane และ soluble receptor extract ตามลำดับ

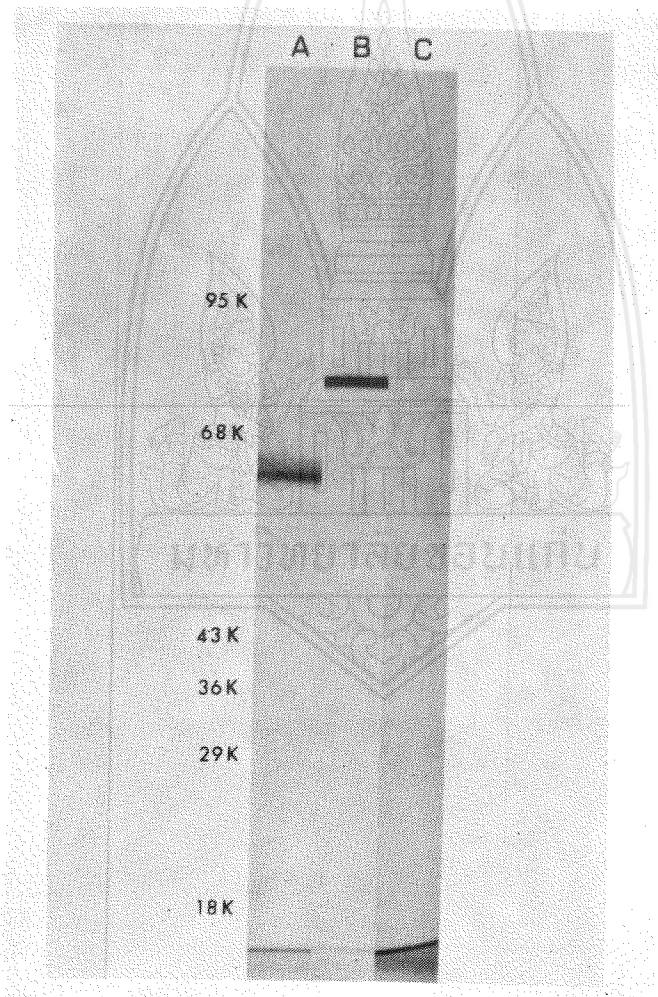
การแยกให้บริสุทธิ์

วารสารวิทยาศาสตร์ มข. ปีที่ 19 ฉบับที่ 2 เมษายน-มิถุนายน

และได้ปริมาณ receptor protein สูงถึง 2 ug/ovary จาก 1.54 mg/ovary ใน soluble extract

Characterization ของ Purified LH/hCG receptor :

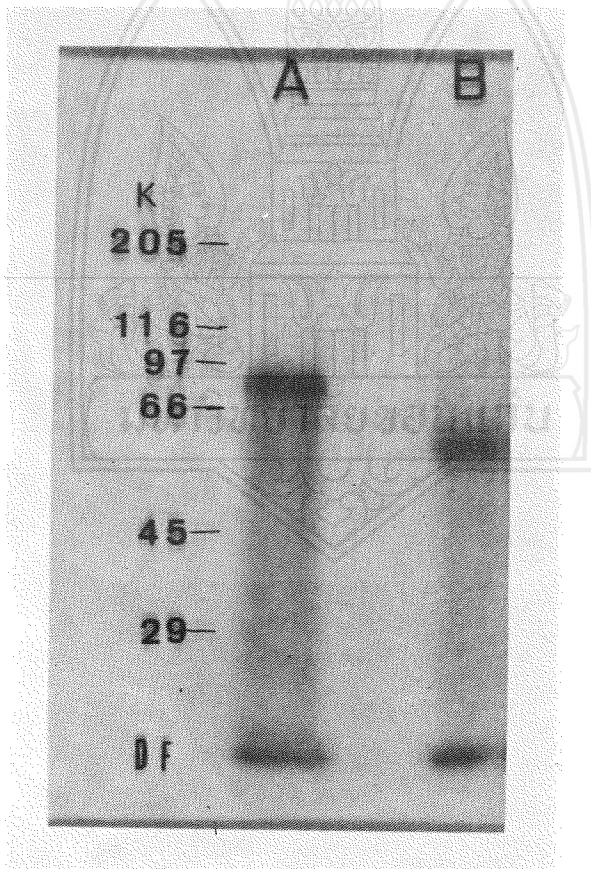
LH/hCG receptor ที่ทำให้บริสุทธิ์ โดย one-step affinity column chromatography มีความบริสุทธิ์สูงมาก (homogeneity) ดังแสดงโดยเมื่อรวมเอา 3 acid eluted fractions ที่มี binding activity สูงสุดไปวิเคราะห์ต่อด้วย SDS-PAGE ภายใต้เงื่อนไข non-reducing และ reducing ด้วย 5 % β -mercaptoethanol เพื่อแยก -S-S- (disulphide) bond ของโปรตีน แล้วย้อมหาแถบโปรตีนด้วย silver staining ซึ่งเป็นเทคนิคย้อมโปรตีนที่มีความไวสูงสุด (รองจาก Radiolabelling) ผลแสดงใน รูปที่ 2



รูปที่ 2 (ดูอธิบายภาพ)

Purified LH/hCG - R ปรากฏเป็น โปรตีนเพียงแถบเดียว มีน้ำหนักโมเลกุล ปรากฏและสัมพันธ์ (apparent, relative molecular weight) M 64,000 ภายใต้เงื่อนไข non-reducing (Lane A) และ M 83,000 ภายใต้เงื่อนไข reducing (Lane B) การ reduction มีผลให้โมเลกุล ของโปรตีนคลายตัวออกจากสภาพธรรมชาติ จึงเคลื่อนที่ช้ากว่าใน gel นั่นคือวิเคราะห์ได้น้ำหนักโมเลกุลสูงกว่า ส่วน Lane C เป็นตัวอย่างควบคุม (control) จาก - ดับ - ที่ผ่านการเตรียม เช่นเดียวกับตัวอย่างทดลองทุกประการ ไม่ปรากฏมีโปรตีนใด ๆ ใน gel แสดงว่า Purification ของ LH/hCG - R โดย hCG - affinity chromatography นี้เหมาะสมดี

เมื่อนำตัวอย่างบางส่วนของ acid eluted receptor มาทำ Radioiodination แล้ว วิเคราะห์ด้วย SDS - PAGE และ Autoradiography ดังผลแสดงในรูปที่ 3 Lane A เป็น 125 I-LH/hCG -R ภายใต้เงื่อนไข reducing มี M 83,000 และ Lane B เป็น 125 I-LH/hCG - R ภายใต้เงื่อนไข non-reducing มี M 64,000

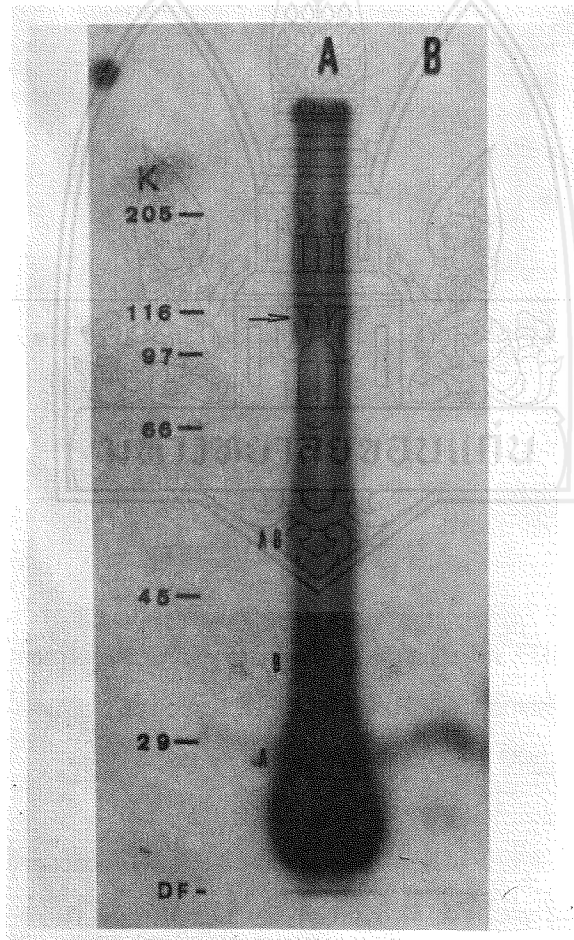


รูปที่ 3 (ดูคำอธิบายภาพ)

การแยกให้บริสุทธิ์

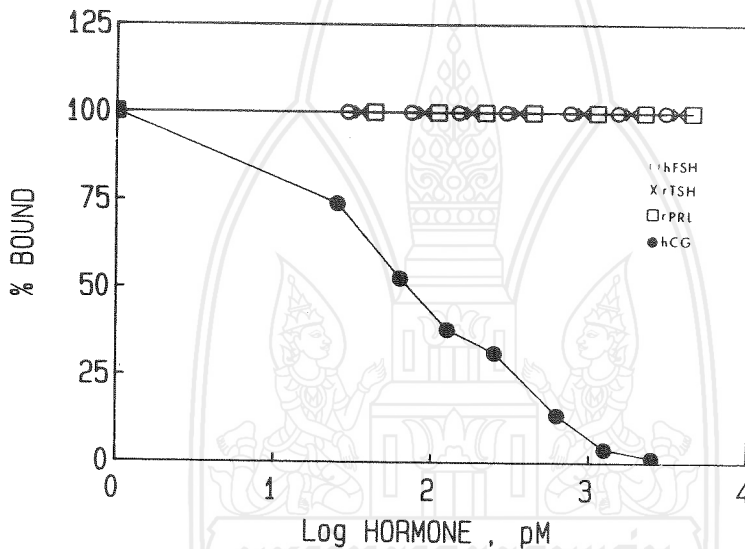
วารสารวิทยาศาสตร์ มข. ปีที่ 19 ฉบับที่ 2 เมษายน-มิถุนายน

Ligand binding activity ของ LH/hCG receptor ที่มีต่อ hCG ก็เป็นการยืนยันการปรากฏมี receptor และ ขนาดโมเลกุลของ receptor ได้อีกวิธีหนึ่ง ในการวิจัยนี้ได้ทำ affinity cross-linkage ระหว่าง LH/hCG receptor จาก ovarian homogenate กับ radioiodinated hCG ในที่มี และ ไม่มี unlabeled hCG อย่างเพียงพอ โดยใช้ Glutaraldehyde ซึ่งเป็น monobifunctional cross-linker ภายหลังจากวิเคราะห์ด้วย SDS-PAGE และ Autoradiography แล้วปรากฏว่า LH/hCG-R มีความเฉพาะเจาะจง (specificity) ต่อ hCG ดังแสดงในรูปที่ 4 Lane A เมื่อไม่มี unlabeled hCG ในปฏิกิริยา ^{125}I -hCG receptor complex ปรากฏที่ M 115,000 ส่วน hCG ที่ M 50,000 hCG ที่ 30,000 และ hCG ที่ 20,000 Lane B เมื่อมี unlabeled hCG (2 ug) ไม่ปรากฏมี ^{125}I -hCG-R complex เกิดขึ้น เมื่อหักน้ำหนักของ hCG ออกแล้วน้ำหนักโมเลกุลของ h-hCG-R จึงเท่ากับ M 65,000 ดังนั้นจึงยืนยันได้ว่า LH/hCG-R ของ rat ovary มีน้ำหนักโมเลกุล M 64,000 ภายใต้อันไซ non-reduction หรือในสภาพธรรมชาติใน ovarian cell membrane



รูปที่ 4 (ดูคำอธิบายภาพ)

Displacement equilibrium ของ hCG ที่มีต่อ purified LH/hCG receptor : ความเฉพาะเจาะจง (specificity) ของ Affinity purified LH/hCG receptor ที่มีต่อ LH/hCG แสดงได้โดยการศึกษา การแทนที่ (displacement binding) ระหว่าง 125 I-hCG กับ unlabeled hCG (CR 121) กับ Anterior pituitary hormones อื่น ๆ คือ hFSH (f-3), rTSH (f-2) และ rPRL (f-1) ดังแสดงในรูปที่ 5 ผลปรากฏว่าไม่มีฮอร์โมนชนิดอื่นใดสามารถแข่งขันกับ 125 I-hCG ในการทำปฏิกิริยากับ LH/hCG-R ได้ นอกจาก unlabeled hCG เป็นการยืนยันว่า Purified LH/hCG-R ของ rat ovary นี้ มีความเฉพาะเจาะจงอย่างแท้จริงต่อ hCG ซึ่งเป็น analogue ของ LH



รูปที่ 5 (ดูคำอธิบายภาพ)

รูปที่ 1 hCG - affinity column chromatography ของ Triton X-100 soluble receptor extract ดังอธิบายใน "Methods" ลูกศรแสดงการเริ่ม Elution ของ column โดยการเปลี่ยนจาก pH 7.4 buffer เพื่อแยก LH/hCG receptor ออกจาก affinity gel

รูปที่ 2 การวิเคราะห์ Affinity purified LH/hCG receptor ด้วย SDS - PAGE โดยเตรียมตัวอย่าง (100 mg/lane) ใน 1% SDS sample buffer ที่มีและไม่มี 5% β -mercaptoethanol ต้มตัวอย่าง 3 นาที ก่อนทำ SDS - PAGE บน 7.5% gel แล้วย้อม gel ด้วย silver nitrate Lane A

เป็น receptor ที่ไม่มี reduction Lane B เป็น receptor ที่มี reduction และ Lane C เป็นตัวอย่างจาก " ตับ " Protein marker จาก Diversified Biotech ได้แก่ Phosphorylase B (95 K), BSA (68 K), Ovalbumin (43 K), Lactate dehydrogenase (36 K) และ Carbonic anhydrase (29 K)

รูปที่ 3 Autoradiograph ของ ^{125}I - labeled purified LH/hCG receptor โดยการวิเคราะห์ด้วย SDS - PAGE (20,000 cpm/lane) Lane A เป็น ^{125}I -receptor ที่มี reduction และ Lane B เป็น ^{125}I -receptor ที่ไม่มี reduction Protein marker จาก Sigma ได้แก่ Myosin (205 K), Phosphorylase B (79 K), BSA (66 K), ovalbumin (45 K) และ Carbonic anhydrase (29 K)

รูปที่ 4 Affinity cross-linkage ของ [^{125}I] Iodo - hCG - receptor complex เตรียมจาก ovarian และ ^{125}I - hCG โดยใช้ Glutaraldehyde เป็น cross oknkir แล้ววิเคราะห์ด้วย SDS - PAGE (50,000 cpm/lane) และ Autoradiography Lane A ตัวอย่าง ^{125}I -hCG-receptor complex (ลูกศรชี้) ในที่ไม่มี unlabeled hCG Lane B เป็น linkage ของ ^{125}I - hCG-receptor complex ในที่มี unlabeled hCG มากเกินพอ Protein marker จาก Sigma เหมือนในรูปที่ 3 A คือ subunit ของ hCG B คือ subunit ของ hCG และ AB คือ hCG โมเลกุล

รูปที่ 5 การศึกษา Displacement equilibrium ระหว่าง ^{125}I -hCG กับ hCG, hFSH, hTSH, และ rPRL ที่มีต่อ Affinity Purified LH/hCG receptor

Pseudopregnant ovaries

Homogenate in 10 mM Tris / 25 % glycerol buffer, pH 7.4,
containing 0.1 mg/ml bean trypsin inhibitor and 1 mM PMSF, on ice

Homogenate (P_1)

480 x g, 4°C, 10 min

Pellet (P_2) Supernatant

48,000 x g, 4°C, 1 hr

* Membrane Pellet (P_3) Supernatant (P_4)

Extraction with 1 % Triton X-100 / 20 % glycerol / 1.7 mM EDTA, pH 7.4,
containing 0.1 mg/ml trypsin inhibitor and 1 mM PMSF, 4°C, 45 min

Dilution with 10 mM Tris / 25 % glycerol / 5 mM EDTA buffer, pH 7.4,
containing 0.1 mg/ml trypsin inhibitor

Extracted Membrane (P_3)

177,000 x g, 4°C, 1.5 hr

Soluble extract (S_5) Pellet (P_5)

แผนผังที่ 1

คำย่อ

LH	-	Luteinizing hormone
hCG	-	Human choriogonadotropin (human chorionic gonadotropin)
hFSH	-	Human follicle stimulaing hormone
hTSH	-	Human thyroid stimulating hormone
rPRL	-	Rat prolactin hormone
PMSG	-	Pregnant mare serum gonadotropin
SDS	-	Sodium dodecyl sulphate
PAGE	-	Polyacrylamide gel electrophoresis
TEMED	-	N,N,N',N'-tetramethylenediamine
Tris	-	Tris(hydroxymethyl) aminomethane
CHAPS-3	-	[(3-cholamidipropy) dimethylammonia]-1-propanesulfonate
PMSF	-	Phenylmethylsulphonyl fluoride
EDTA	-	Ethylenediaminetetraavitic acid
BSA	-	Bovine serum albumin
CNBr	-	Cyanogen bromide
PBS	-	Phosphate buffered saline

วิจารณ์ และสรุป

Rat ovarian LH/hCG receptor ถูกแยกให้บริสุทธิ์โดย one-step affinity column ของ hCG-CNBr-activated Sepharose 4B gel โดยการชะล้างอย่างมาด้วย บัฟเฟอร์ ที่ประกอบด้วย 10mM Na-PO₄, 0.5 M NaCl, 0.03 % Triton X-100 (w/v), 5 mM CHAPS, 1.0 M Urea และ 25 % glycerol, pH 7.4 แล้วแยก receptor ด้วยบัฟเฟอร์ ชนิดเดียวกัน แต่ pH 4.0 เมื่อวัด hormone binding activity ของ Affinity purified receptor โดย standard hormone-receptor binding assay ด้วยการให้ ¹²⁵I-hCG ได้ Activity สูงถึง 2.85 pmol, Specific activity 1425 pmol/mg protein และ Yield (recovery of activity) 73 %, 71 %, และ 88 % เมื่อเทียบกับ ovarian homogenate, Triton X-100 extracted membrane และ soluble extract ตามลำดับ One-step affinity column นี้ยังสามารถแยก purified receptor protein ได้มากกว่า กล่าวคือ ได้โปรตีนสูงถึง 2 ug/ovary เทียบกับวิธีเดิมซึ่งเป็น two sequential affinity columns ที่เคยแยก purified receptor protein ได้เพียง 170 ng/ovary⁸ และ receptor ที่แยกบริสุทธิ์ครั้งนี้ยังรักษา hormone binding activity ไว้ได้สูงเช่นเดียวกัน

Affinity purified LH/hCG receptor มีน้ำหนักโมเลกุล M_r 83,000 (reduced) และ M_r 64,000 (non-reduced) จากการวิเคราะห์ด้วย SDS-PAGE และการยีนยีนด้วย Radioiodination และ affinity [¹²⁵I] iodo-hCG cross-linking ของ receptor ผลการทดลองนี้ สนับสนุนรายงานของคณะผู้วิจัยนี้^{7,8} ที่ได้แยก LH/hCG-R โดย two sequential affinity columns แต่ทำการชะล้าง column ด้วย บัฟเฟอร์ เดียวคือ Wash buffer, pH 7.4 หรือ 2 บัฟเฟอร์ คือ Wash buffer, pH 7.4 และ pH 5.0 ซึ่ง บัฟเฟอร์ นี้ประกอบด้วย 10 mM Na-PO₄, 0.5 M NaCl (หรือ 1.0 M NaCl) 0.1 % Triton X-100 และ 25 % glycerol ก่อนการแยก receptor ด้วย elution buffer, pH 4.0 ที่มีส่วนประกอบเหมือนกัน แสดงว่า LH/hCG-R เป็นโมเลกุลแบบ monomer ซึ่งสอดคล้องกับรายงานการวิเคราะห์หา rat ovarian receptor โดยวิธีคล้ายกันนี้ แต่ใช้ส่วนประกอบของ บัฟเฟอร์ ต่าง ๆ กัน^{10,11,13} วิธี Hormone receptor complex cross - linking^{15,16} และ Ligand blotting^{26,30} นอกจากนี้ยังสอดคล้องกับการวิเคราะห์ LH/hCG - R โดย Recombinant DNA technique ซึ่งมีรายงานว่า receptor protein เป็น monomer ที่ประกอบขึ้นด้วย 669 amino acids (72,000)³¹ และ 674 amino acids (75,000)³²

การที่ reduced LH/hCG - R ปรากฏที่ M_r 83,000 ซึ่งสูงกว่า non - reduced LH/hCG-R ที่มี M_r 64,000 ชี้ให้เห็นว่า receptor protein มี disulphide linkage ดังที่ Sojar³⁰ ได้รายงานไว้ว่า LH/hCG-R มี 6 disulphide bonds และ 2 free cysteine residues

อย่างไรก็ตามมีรายงานว่า Porcine ovarian LH/hCG receptor^{11,33}, rat ovarian LH/hCG-R⁹ และ rat Leydig cell LH receptor¹² มี M_r 60,000-90,000 และเป็น multimeric protein

ความแตกต่างนี้อาจเนื่องจากเทคนิคในการ purification หรือ receptor protein อาจถูกย่อยด้วย protease ในระหว่างการทดลอง

สรุปได้ว่า rat ovarian LH/hCG receptor สามารถถูกแยกให้บริสุทธิ์จาก ovarian cell membrane โดย Solubilization Extraction และ One-step affinity column chromatography ที่มี hCG เป็น ligand ได้บริสุทธิ์สูงเกือบถึง homogeneity Purified LH.hCG receptor แสดงความเฉพาะเจาะจงต่อ hCG เท่านั้น แต่ไม่ทำปฏิกิริยากับ hormone อื่นจาก Pituitary gland และ purified LH/hCG - R มี Binding activity 2.85 pmol, Specific activity 1465 pmol/mg protein ได้ผลของ Activity 88 % จาก soluble receptor extract และได้ Receptor protein 2 ug/ovary ซึ่งสูงถึง 12 เท่าของ purified receptor ที่เตรียมโดย Two-step affinity chromatography (170 ng/orary⁶) และยังเป็น การแสดงว่า Urea ไม่เปลี่ยนแปลง Binding ability ของ purified LH/hCG receptor LH/hCG receptor มีน้ำหนักโมเลกุล M_r 83,000 (reduced) หรือ 64,000 (non - reduced)

เอกสารอ้างอิง

1. Roche, P.C. and R. J. Ryan. The LH / hCG receptor. In " Luteinizing hormone action and receptors ". Ascoli, M., ed., CRC Press, Boca Raton, FL 17-56, 1985.
2. Hunzicker-Dunn, M. and L. Birnbaumer. The involvement of adenylyl cyclase and cyclic AMP - dependent protein kinase in luteinizing hormone actions. In " Luteinizing hormone action and receptors ". Ascoli, M., ed., CRC Press, Boca Raton , FL. 57-134, 1985.
3. Dufau, M.L., E.H. Charreau, and K.J. Catt. Characteristics of a soluble gonadotropin receptor from the rat testis. J. Biol. Chem. 248 : 6973-6982, 1973.
4. Haour, F. and B.B. Saxena. Characterization and solubilization of gonadotropin receptor of bivariate corpus luteum. J. Biol. Chem. 249 : 2195-2205, 1974.
5. Khan, F.S., P. Rathnam, and B.B. Saxena. Purification and properties of human chorionic gonadotropin / lutropin receptor of bovine corpora lutea. Biochem. J. 197 :7-22, 1981.
6. Ascoli, M. An improved method for the solubilization of stable gonadotropin receptors. Endocrinology. 113 : 2129-2134, 1983.
7. Wimalasena, J., P.Moore, J.P. Weibe, J. Abel, J., and T.T. Chen. The porcine LH/hCG receptor : Characterization and purification. J. Biol. Chem. 260 : 10689-10987, 1985.
8. Indrapichate, K. Development and study of biological properties of pure luteinizing hormone

receptor monoclonal antibody. Ph. DF. dissertation. Lehigh University, Pennsylvania, U.S.A. pp 214, 1990.

9. Bruch, R.C., N.R. Thotakura, and O.P. Bahl. The ratorarian lutropin receptor. Purification, hormone binding properties, and subunit composition. *J. Biol. Chem.* 261 : 9450-9460, 1986
10. Kusuda, S. and M.L. Jufau. Puripication and Characterization of the rat ovarian receptor for luteinizing hormone : Structural studies of subunit interaction. *J. Biol.Chem.* 261 : 16161 - 16168,1986.
11. Kusuda, S. and M.L. Dufau. Characterization of ovarian gonadotropin receptor : Monomer and associated form of the receptor. *J. Biol. Chem.* 263 : 3046-3049, 1988.
12. Minegishi, T., S.Kusuda, and M.L. Dufau. Purification and characterization of Leydig cell luteinizing hormone receptor. *J. Biol. Chem.* 262 : 17138 - 17143, 1987.
13. Roche, P.C. and R.J. Ryan. Purification, characterization, and amino - terminal sequence of rat ovarian receptor for luteinizing hormone/human choriogonadotropin. *J. Biol. Chem.* 264 : 4636-4641, 1989.
14. Rebois, R.V., F. Omedeo - Sale, R.O. Braddy, and P.H. Fishman. Covalent crosslinking of human chorionic gonadotropin to its receptor in rat testes. *Proc. Natl. Acad. Sci. U.S.A.* 78 : 2086 - 2089, 1981.
15. Metsikko, M.K. and H.J. Rajaniemi. The hormone binding unit or luteinizing hormone receptor. *Biochem. J.* 208 : 303-316, 1982.
16. Petaja, U., S. Kellokumpu, K. Keinanen, K. Metsikko, and H. Rajaniemi. Covalent cross-linking of radiolabeled human chorionic gonadotropin to rat ovarian luteinizing hormone receptor with glutaraldehyde. *J. Receptor Res.* 7 : 809-827, 1987.
17. Ji, I., B. Y. Yoo, C. Kaltenbach, and T.H. Ji. Structure of the lutropin receptor on granulosa cells : Photoaffinity labelling with the subunit in hormone chorioganadotropin. *J. Biol. Chem.* 256 : 10853-10858, 1981.
18. Zhang, Q.-Y. and K.M.J. Menon. Characterization of rat receptor structure by affiniyty cross-linking. *J. Biol. Chem.* 263 : 1002-1007, 1988.
19. Richards, J.S. and A.I. Rolfes. Hormonal regulation of cyclic AMP binding to specific receptor proteins in rat ovarian follicles : Characterization by photoaffinity labelling. *J. Biol. Chem.* 255 : 5481-5489, 1980.

20. Catt, K.J., J.- K. Ketelslegers, and M.L. Dufau. Receptors for gonadotropin hormones. In *Methods in receptor research, Part I*. Melvin Blecher, ed., Marcel Dekker, Inc., New York. 175-250. 1976.
21. Bradford, M.M. A rapid and sensitive method for the quantitation of microgram quantities of protein utilizing the principle of protein-dye binding. *Anal. Biochem.* 72 : 248-254, 1976.
22. Thorell, J.K. and B.A. Johnsson. Enzymatic iodination of polypeptides with ¹²⁵I to high specific activity. *Biochem. Biophys. Acta.* 251 : 363-369, 1971.
23. Stocheck. C.M. Protein assay sensitive at nanogram levels. *Anal. Biochem.* 160 : 301-305, 1987.
24. Laemmli, U. K. Cleavage of structural proteins during the assembly of the head of bacteriophage T₄. *Nature.* 227 : 680-685, 1970.
25. Merrill, C.R., D. Goldman, and M.L. Van Keuren. Silver staining methods for polyacrylamide gel electrophoresis, *Meth. Enzymol.* 96 : 230-239, 1984.
26. Rajaniemi, H.J., K.P. Keinanen, S. Kellokumpu, and M.K. Metsikko. Structure and membrane topography of the lutropin receptor. *Biochemical Society Transactions*, 619th Meeting, Cambridge, 15 : 55-57, 1987.
27. Keinanen, K.P. and H.J. Rajaniemi. Solubilization of luteinizing hormone receptor from human corpora lutea in a stable form and identification of the hormone - binding unit by ligand blotting. *J. Clin. Endocrinol. Metab.* 67 : 228-23, 1988.
28. Keinanen, K.P., S. Kellokumpu, and H.J. Rajaniemi. Visualization of the rat ovarian lutropin receptor by ligand blotting. *Mol. Cell Endocrinol.* 49 : 33-38, 1987.
29. Keinanen, K.P., S. Kellokumpu, M.K. Metsikko, and H.J. Rajaniemi. Purification and partial characterization of rat ovarian lutropin receptor. *J. Biol. Chem.* 262 : 7920-7926, 1987.
30. Sojar, L.T. and P.P. Bahl. Characterization of rat ovarian lutropin receptor : Role of thiol groups in receptor association. *J. Biol. Chem.* 264 : 2552-2559, 1989.
31. Loosfelt, H., M. Misrahi, M. Atger, R. Salessse, M.T.V. Hai-Luu Thi, A. Jolivet, A. Guiochon-Mantel, S. Sar, C. Jallal, J. Garnier, and E. Milgrom. Cloning and sequencing of porcine LH-hCG receptor cDNA : Variants lacking transmembrane domain. *Science.* 245 : 252-528, 1989.
32. McFarland. K.C., R. Sprengel, H.S. Phillips, M. Kohler, N. Rosembilt, K. Nilokics, K.L. Segaloff, and P.H. Seeburh. Lutropin-choriogo-nadotropin receptor : An unusual membrane of the G

protein-coupled receptor family. Science. 245 : 494-499, 1989.

33. Wimalasena, J., J.H. Abel, Jr., J. P. Weibi, and T.T. Chen. The porcine ovarian luteinizing hormone / human chorionic gonadotropin receptor II : Is the purified receptor an oligomer of identical subunits. J. Biol. Chem. 261 : 9416-9420, 1986.

กิตติกรรมประกาศ

ผู้เขียนขอขอบคุณ คุณกิเลน ดิถนรเศรษฐ์ ที่ได้ให้ความช่วยเหลือในการเตรียมรูปภาพบางรูปของผลการวิจัยในรายงานนี้ และ ขอขอบคุณ รศ.ดร.สมพงษ์ ธรรมถาวร ที่กรุณาอ่านตรวจต้นฉบับ



การคำนวณตำแหน่งของดาวในระบบเส้นขอบฟ้า

พหล จิตติยศรา *

ในระบบเส้นขอบฟ้า (Horizon System) กำหนดตำแหน่งดาวด้วยค่ามุมสูง (Altitude) และค่าอซิมูท (Azimuth) เราสามารถคำนวณตำแหน่งของดาวในระบบเส้นขอบฟ้า ณ วันเวลาหนึ่งได้โดยใช้สมการดังนี้

$$\cos a \sin A = \cos \delta \sin h \quad (1)$$

$$\cos a \cos A = \sin \delta \cos \phi - \cos \delta \cosh \sin \phi \quad (2)$$

$$\sin a = \sin \delta \sin \phi + \cos \delta \cosh \cos \phi \quad (3)$$

$$\text{Local Sidereal Time} = \text{H.A.M.S} + \text{R.A.M.S} = \text{R.A. ของดาว} + h \quad (4)$$

$$\text{L.M.T. (Local Mean Time)} = \text{H.A.M.S} + 12^h \quad (5)$$

จาก (5) สำหรับ สำหรับช่วงเช้า H.A.M.S เป็น - สำหรับช่วงบ่าย H.A.M.S เป็น +

$$\text{U.T. (Universal Time)} = \text{L.M.T} \pm \lambda \quad (6)$$

จาก (6) ค่า - ใช้เมื่อตำแหน่งที่ศึกษาอยู่ทางตะวันออกของกรีนิช และค่า + ใช้เมื่อตำแหน่งที่ศึกษาอยู่ทางตะวันตกของกรีนิช

$$\text{G.H.A.} = \text{L.H.A.} \pm \lambda \quad (7)$$

จาก (7) ค่า - ใช้เมื่อตำแหน่งที่ศึกษาอยู่ทางตะวันออกของกรีนิช และค่า + ใช้เมื่อตำแหน่งที่ศึกษาอยู่ทางตะวันตกของกรีนิช

จากสมการ (1) ถึง (7) : a เป็นมุมสูงของดาว , A เป็นอซิมูทของดาว

R.A. ของดาวหมายถึง (Right ascension) ของดาว

δ หมายถึง Declination ของดาว

h หมายถึง มุมชั่วโมงของดาวมีค่าเป็น - สำหรับช่วงเช้าและมีค่าเป็น + สำหรับช่วงบ่าย

* ผู้ช่วยศาสตราจารย์ ภาควิชาฟิสิกส์ คณะวิทยาศาสตร์ มหาวิทยาลัยขอนแก่น

๑ เป็นละติจูดของผู้สังเกตการณ์มีค่าประมาณ 14 องศาที่ กทม, 16 องศาที่ขอนแก่น, 19 องศาที่จังหวัดเชียงใหม่ เป็นต้น

R.A.M.S. เป็น Right Ascension ของ Mean Sun (ดวงอาทิตย์สมมติ)

H.A.M.S. เป็น Hour Angle (มุมชั่วโมง) ของ Mean Sun

U.T. เป็นเวลาสากล หรือเวลาในประเทศไทย

L.M.T. เป็นเวลาที่ท้องถิ่นที่ทำการสังเกตการณ์

G.H.A. เป็นมุมชั่วโมงของดาวที่หอดูดาวกรีนวิชในประเทศไทย (G ย่อมาจาก Greenwich)

L.H.A. เป็นมุมชั่วโมงของดาว ณ ท้องถิ่นที่ทำการสังเกตการณ์ (L ย่อมาจาก Local)

λ เป็นค่า Longitude ของท้องถิ่นที่ทำการสังเกตการณ์ มีค่า 100°E สำหรับ กทม, 120°E สำหรับ จ.ขอนแก่น และ 150°E สำหรับ จ.อุบลราชธานี เป็นต้น

x เป็นจำนวนวันนับจาก 21 มี.ค. ถึงวันที่ศึกษาดาว

R.A.M.S. มีค่า ประมาณ $4x$ นาที

ตัวอย่างเช่น ถ้าวันที่ต้องการศึกษาดาวเป็นวันที่ 21 เม.ย. x จะมีค่าเท่ากับ 31 วัน

(จาก 21 มี.ค. ถึง 21 เม.ย. มี 31 วัน)

ดังนั้น R.A.M.S. $\approx 4 \times 31$ นาที

≈ 124 นาที

≈ 2 ชม. 4 นาที

เมื่อต้องการศึกษาดาว ณ เวลานั้นตามเวลามาฬิกาในประเทศไทย ต้องเปลี่ยนให้เป็นเวลาที่ท้องถิ่นก่อน (L.M.T) ทั้งนี้ เวลาในประเทศไทยใช้เวลาของ จ.อุบลราชธานี ซึ่งมีลองจิจูด 105°E เช่น ถ้าต้องการศึกษาดาวที่ จ.ขอนแก่น ซึ่งมีลองจิจูด 102°E ทำได้ดังนี้

ลองจิจูด $105^{\circ}\text{E} = 7^{\text{h}} \text{E}$

ลองจิจูด $102^{\circ}\text{E} = 6^{\text{h}} 48^{\text{m}} \text{E}$

เวลาที่ จ.อุบลราชเร็วกว่าเวลาที่ จ.ขอนแก่น 12^{m}

เวลาที่ จ.ขอนแก่น (L.M.T.) = เวลาที่ จ.อุบล (เวลาในประเทศไทย) -12^{m} (9)

จากสมการ(9)จะหา L.M.T. ได้ จากนั้นแทนในสมการ (5) จะหา H.A.M.S. ได้ดังนี้

H.A.M.S. = L.M.T. $- 12^{\text{h}}$ (10)

และแทนในสมการ (6) จะหา U.T. ได้โดยใช้เครื่องหมาย - และแทน λ เท่ากับ 102° หรือ $6^{\text{h}} 48^{\text{m}}$

การคำนวณตำแหน่งของดวงดาว วารสารวิทยาศาสตร์ มข. ปีที่ 19 ฉบับที่ 2 เมษายน-มิถุนายน 2534

เมื่อทราบ R.A. และ δ ของดาวที่ U.T. (Universal Time) หรือ E.P. (Ephemeris Time) ใด ๆ ก็สามารถหา R.A. และ δ ของดาว ณ U.T. ขณะศึกษาดาวที่ขอนแก่นได้

จากนี้แทน R.A. ของดาว, R.A.M.S. [จาก (8)], H.A.M.S. [จาก (10)] ในสมการ (4) จะหา h ได้

แทน ϕ , h และ δ ในสมการ (3) จะหามุมสูง (a) ได้

และแทน h , δ และ a ในสมการ (1) จะหาอิมูธ (A) ได้

เพื่อให้ง่ายต่อการคำนวณ เราจะพิจารณาดำแหน่งของดาวขณะกำลังขึ้น และ ตกขอบฟ้าที่ตำแหน่ง x_1 และ x_2 ดังแสดงในรูปที่ 1

เนื่องจากที่ x_1 และ x_2 ค่า $a = 0$ แทนในสมการ (3) จะได้ $\cosh = -\tan\delta \tan\phi$ พิจารณากรณีที่ดาวมี δ เท่ากับ ϕ เท่ากับ $14^\circ N$ จะได้ $\tan\delta = \tan\phi$ ดังนั้น $\cosh = -\tan^2\phi$ เนื่องจาก $\tan 14^\circ = 0.24933$ ดังนั้น $\tan^2\phi = 0.06217$ และ $\cosh = -0.06217 = \cos(-93.6^\circ)$

ดังนั้น ที่ตำแหน่ง x_1 มีมุมชั่วโมงเท่ากับ -93.6°

ทำนองเดียวกันสามารถพิสูจน์ได้ว่า ที่ตำแหน่ง x_2 มีมุมชั่วโมงเท่ากับ $+93.6^\circ$ ดังนั้น ช่วงที่ดาวอยู่บนท้องฟ้า $= 93.6^\circ + 93.6^\circ = 187.2^\circ$

เนื่องจาก $1^h = 15^\circ$ และ $1^m = 4^s$

หรือช่วงที่ดาวอยู่บนท้องฟ้า $= 12^h 28^m 48^s$

ขณะดาวขึ้นแทน $a = 0$ ในสมการ (1) จะได้

$$\sin A = -\cos\delta \sinh$$

แต่ $\delta = 14^\circ$ และ $h = -93.6^\circ$

$$\begin{aligned} \text{ดังนั้น} \quad \sin A &= (0.97030)(0.099803) = 0.96839 \\ &= \sin 75.6^\circ \end{aligned}$$

นั่นคือ ขณะดาวขึ้น [ที่ตำแหน่ง x_1 ในรูปที่ 1] ดาวจะมีมุมสูงเท่ากับ 0 องศา และมีอิมูธเท่ากับ NCX_1 ซึ่งเท่ากับ $75.6^\circ E$

ในทำนองเดียวกันขณะดาวตก [ที่ตำแหน่ง x_2 ในรูปที่ 1] ดาวจะมีมุมสูงเท่ากับ 0 องศาและมีอิมูธเท่ากับ NCX_2 ซึ่งเท่ากับ $75.6^\circ W$

ขณะเที่ยงวันดาวจะมีตำแหน่งที่ X ซึ่งเป็นจุดเหนือศีรษะพอดี เนื่องจาก

$$X_1CA = X_2CB = (1/2) [12^h 28^m 48^s - 12^h] = 14^m 24^s$$

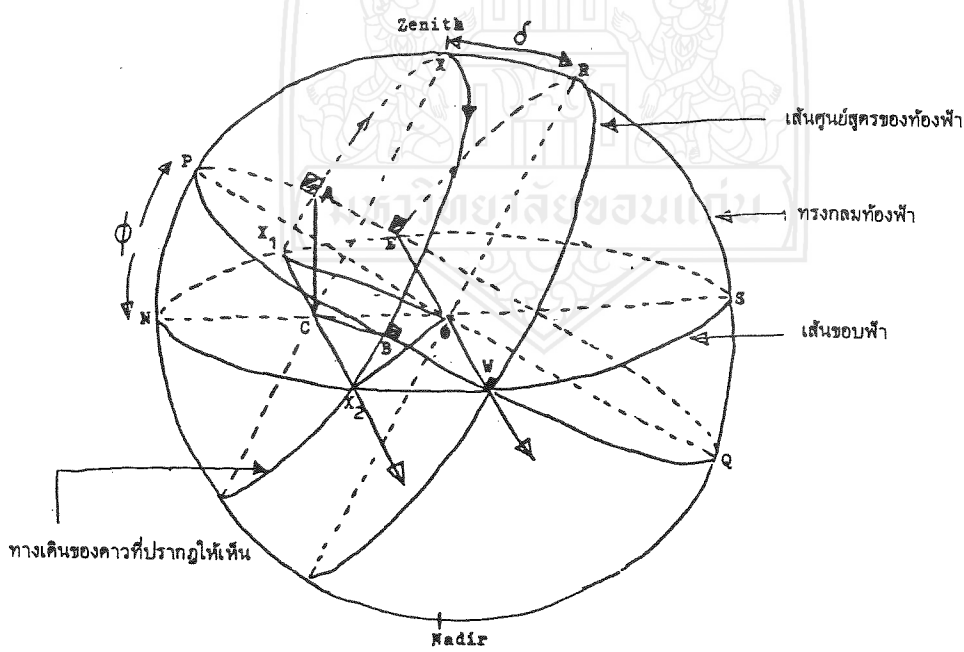
ดังนั้น เวลาดาวขึ้นเท่ากับ $6^h - 14^m 24^s = 5^h 45^m 36^s$

และเวลาดาวขึ้นเท่ากับ $6^h + 14^m 24^s = 6^h 14^m 24^s$

สรุปได้ว่าดาวที่มีเดคลิเนชันเท่ากับละติจูดของ กทม. คือ $14^{\circ}N$ ดาวจะขึ้น ณ เวลาประมาณ ตีห้า สี่สิบห้า นาที กับสามสิบหกวินาที โดยมีมุมสูงเท่ากับ 0 องศา และมีมุมซิมูธเท่ากับ 75.6 องศา ตะวันออก

และดาวจะตก ณ เวลาประมาณ หกโมงเย็น สิบสี่นาที กับยี่สิบสี่ วินาที ได้เช่นกัน เช่น ดาวหาง เป็นต้น ทั้งนี้โดยถือว่าดาวหางไม่มีการเคลื่อนที่เมื่อเทียบกับดาวฤกษ์อื่นทั้งหลาย

สำหรับกรณีของดวงอาทิตย์เรา ถ้าถือว่าดวงอาทิตย์ไม่มีการเคลื่อนที่เมื่อเทียบกับดาวฤกษ์ วันใดที่ดวงอาทิตย์มีเดคลิเนชันเท่ากับละติจูดของผู้สังเกตการณ์ วันนั้นจะร้อนที่สุดสำหรับบริเวณที่อยู่ของผู้สังเกตการณ์นั้น ทั้งนี้เพราะพื้นดินต้องตากแดดนาน และแดดจ้าด้วยเนื่องจากแสงอาทิตย์ส่องลงเกือบตั้งฉากตอนใกล้เที่ยง แต่ทั้งนี้ยังขึ้นกับสภาพของเมฆลมที่จะช่วยพัดพาความร้อนออกไป สภาพของพื้นดินว่าก่อนหน้านีเป็นอย่างไร มีความชื้นมากหรือเปล่า เพราะมีฝนตกมาก่อน หรือสภาพของบรรยากาศว่ามี CO_2 มากกว่าปกติ ซึ่งจะกักเก็บคลื่นความร้อนที่ถูกส่งออกไปจากผิวโลกได้ดีและยังขึ้นกับสมบัติของผิววัสดุก่อสร้างต่างๆ เช่น ติกราม, บ้านช่อง, ถนนหนทาง ฯลฯ ว่าดูดกลืนพลังงานรังสีจากดวงอาทิตย์ และกักเก็บคลื่นความร้อนเป็นอย่างไร



จากรูปที่ 1 : 0 คือ Observer หรือผู้สังเกตการณ์, NOP เป็นมุมสูง (a) ของ P
 X_1 เป็นตำแหน่งของดาวขณะกำลังขึ้นจากขอบฟ้า
 X_2 เป็นตำแหน่งของดาวขณะกำลังตกจากขอบฟ้า
 X เป็นตำแหน่งของดาวขณะอยู่ที่จุดเหนือศีรษะ (Zenith)
 P และ Q เป็นซั้วเหนือและใต้ของทรงกลมท้องฟ้า ตามลำดับ

ตำแหน่ง A และ E มีมุมชั่วโมงเท่ากัน คือ -6 ชั่วโมง

ตำแหน่ง B และ W มีมุมชั่วโมงเท่ากัน คือ 6 ชั่วโมง

NOX_1 = อซิมุสของดาว (A) ขณะดาวขึ้นจากขอบฟ้าภาคตะวันออกเฉียงเหนือ

NOX_2 = อซิมุสของดาว (A) ขณะดาวขึ้นจากขอบฟ้าภาคตะวันตกเฉียงเหนือ

XOR = เดคลิเนชัน (δ) ของดาวซึ่งมุมนี้วัดจากระนาบเส้นศูนย์สูตรของท้องฟ้า

เพราะว่า $NOP + POX$ เท่ากับ $POX + XOR = 90$ องศา

ดังนั้น NOP (ϕ) หรือละติจูดของผู้สังเกตการณ์มีค่าเท่ากับ XOR (δ) หรือเดคลิเนชันของดาว ถ้าอยู่ที่ซั้วเหนือของโลก ดาวที่มีเดคลิเนชันระหว่าง 0 ถึง $90^\circ N$ จะปรากฏเคลื่อนที่หมุนเวียนในทิศตามเข็มนาฬิกา โดยไม่ตกขอบฟ้าเลย เมื่อมองเข้ามาจากทางซั้วเหนือของท้องฟ้า ทั้งนี้จะเห็นดาวได้ในช่วง 6 เดือน ระหว่าง 23 ก.ย. ถึง 21 มี.ค.

ทำนองเดียวกัน ถ้าอยู่ที่ซั้วใต้ของโลก ดาวที่มีเดคลิเนชันระหว่าง 0 ถึง $90^\circ S$ จะปรากฏเคลื่อนที่หมุนเวียนในทิศทวนเข็มนาฬิกา โดยไม่ตกขอบฟ้าเลยเมื่อมองเข้ามาจากทางซั้วใต้ ทั้งนี้จะเห็นดาวได้ในช่วง 6 เดือน ระหว่าง 21 มี.ค. ถึง 23 ก.ย.

ต้องไม่ลืมว่าช่วงที่ไม่มีดวงอาทิตย์อยู่บนท้องฟ้าที่ซั้วเหนือและใต้ของโลกนั้น อาจมีดวงจันทร์อยู่บนท้องฟ้าได้

สำหรับตำแหน่งทั้งหลายซึ่งอยู่บริเวณเส้นศูนย์สูตรของโลกจะเห็นดาวหมดทุกดวงไม่ว่าดาวนั้นจะมีเดคลิเนชันเท่าใด โดยจำนวนชั่วโมงที่ดาวอยู่บนท้องฟ้า นั้น จะเท่ากับจำนวนชั่วโมงที่ดาวอยู่ข้างใต้

จากบทความที่ได้เขียนมาข้างต้นนี้ หากท่านผู้อ่านอยากจะเห็นการเคลื่อนที่ของวัตถุท้องฟ้าต่าง ๆ เช่น ดาว, ดวงอาทิตย์, ดวงจันทร์, ดาวเคราะห์, กลุ่มดาวต่าง ๆ ฯลฯ ติดต่อกันของชมได้ที่ท้องฟ้าจำลอง กรุงเทพฯ เลขที่ 928 ถนนสุขุมวิท กทม. 10110 โทร. 3925952 หรือติดต่อคณบดีคณะวิทยาศาสตร์, มหาวิทยาลัยขอนแก่น 40002 โทร. 241333 ต่อ 1740

เอกสารอ้างอิง

1. ประยูร ร่มโพธิ์. *ดวงดาวและสำรวจอวกาศ*, ดาราศาสตร์สารฉบับพิเศษ: พิมพ์ที่ สหสารการพิมพ์, 2525
2. นิพนธ์ ทรายเพชร. *คู่มือดูดาวปี พ.ศ. 2530* ดาราศาสตร์สารฉบับพิเศษ: พิมพ์ที่ บริษัทสารมวลชน จำกัด, 2530.



เชิญร่วมการประชุมทางวิชาการวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยีแห่งประเทศไทย

ครั้งที่ 17

24 - 26 ตุลาคม 2534 คณะวิทยาศาสตร์ มหาวิทยาลัยขอนแก่น

จัดการประชุม ณ หอประชุมศูนย์วิทยาศาสตร์

หมดเขตลงทะเบียนล่วงหน้า 30 กันยายน 2534

การวิเคราะห์ภาพด้วยคอมพิวเตอร์:
การทำให้ภาพชัดขึ้นด้วยการปรับฮิสโตแกรม
(IMAGE PROCESSING : IMAGE ENHANCEMENT
BY HISTOGRAM - MODIFICATION TECHNIQUES)

จันทร์เพ็ญ ส. โทมัส⁺
Ian Thomas⁺
จิวิธน์ ยังดี^{*}
ธารา มานะงาน
และ สารีข รุจิรวรรณ[#]

บทคัดย่อ

การวิเคราะห์ภาพด้วยคอมพิวเตอร์เป็นศาสตร์ที่แพร่หลายมากขึ้นในปัจจุบัน จากความก้าวหน้าของวิทยาการทางด้านการถ่ายภาพภายใน การถ่ายภาพทางอากาศและการพัฒนาหุ่นยนต์ ฯลฯ ในบทความนี้ได้แสดงวิธีการทำให้ภาพชัดขึ้นโดยการปรับฮิสโตแกรมของระดับความเข้มของภาพ ในที่นี้นำเสนอเฉพาะวิธีการปรับฮิสโตแกรมให้เท่ากันแบบวิเคราะห์เทียบกับทั้งภาพและแบบวิเคราะห์เทียบกับบริเวณจุดใกล้เคียง ซึ่งในกรณีหลังจะสามารถแสดงรายละเอียดย่อย ๆ ที่ทุกบริเวณในภาพได้

Abstract

Image processing is becoming more and more important with the advance in medical imaging, remote sensing and robotic development, etc.. This paper demonstrates one of the methods used for image enhancement by modifying histogram of the intensity levels of the image. The technique used here is called histogram equalization and is used for global and local

+ อาจารย์ ภาควิชาฟิสิกส์ คณะวิทยาศาสตร์ มหาวิทยาลัยขอนแก่น

* นักศึกษาโครงการ พสวท ปี 1 คณะวิทยาศาสตร์ มหาวิทยาลัยขอนแก่น

นักศึกษาโครงการ พสวท ปี 3 คณะวิทยาศาสตร์ มหาวิทยาลัยขอนแก่น

enhancement. In the latter case small details all over the image are shown up.

บทนำ

การถ่ายภาพด้วยเครื่องมือทางอิเล็กทรอนิกส์และคอมพิวเตอร์ (imaging) เริ่มมีบทบาทมากขึ้นในปัจจุบัน โดยเฉพาะในวงการวิทยาศาสตร์ด้านการแพทย์ การสื่อสาร การทหาร การจัดการทรัพยากรธรรมชาติและสิ่งแวดล้อม การอุตสาหกรรม รวมทั้งในวงการอุตสาหกรรม วิธีการถ่ายภูมุนั้นขึ้นกับเครื่องมือและงานที่นำไปใช้ เช่น ในทางการแพทย์ สามารถถ่ายภาพภายในร่างกายได้ โดยใช้เครื่องเอกซเรย์คอมพิวเตอร์ (computed tomography) เครื่องอัลตราซาวด์ (ultrasound) เครื่องMRI (magnetic resonance imaging) ฯลฯ การถ่ายภาพทางอากาศ และจากดาวเทียม ใช้ในงานด้านการทหาร การจัดการทรัพยากรฯ และการอุตสาหกรรม ในทางอุตสาหกรรมที่เน้นระบบผลิตอัตโนมัติ เริ่มมีการนำการถ่ายภาพและวิเคราะห์ภาพไปใช้ในการตรวจสอบสินค้าระหว่างกระบวนการผลิต เพื่อควบคุมคุณภาพสินค้า

ประโยชน์ของการถ่ายภาพด้วยคอมพิวเตอร์คือ ข้อมูลที่ได้จะอยู่ในลักษณะตัวเลขซึ่งสามารถนำมาประมวลผลและวิเคราะห์ได้ เกิดเป็นศาสตร์ใหม่คือ การวิเคราะห์ภาพ (image processing) การวิเคราะห์ภาพแบ่งเป็นสองประเภทใหญ่ ๆ ตามลักษณะของการใช้งานคือ การทำให้ภาพชัดขึ้นเพื่อให้ผู้ดูสามารถอ่านรายละเอียดได้มากขึ้น การวิเคราะห์ภาพเพื่อให้เครื่องมือสามารถอ่านได้ซึ่งเป็นลักษณะของการจดจำรูปแบบ (pattern recognition) ซึ่งขั้นตอนในกรณีหลังจะรวมวิธีการต่างๆ ที่ใช้ในกรณีแรกด้วยในบทความนี้จะกล่าวถึงวิธีการหนึ่งที่จะช่วยให้ภาพชัดขึ้นโดยการปรับฮิสโตแกรมของระดับความเข้มในภาพ วิธีการนี้เหมาะสำหรับภาพถ่ายที่มีลักษณะมืดเกินไปหรือสว่างเกินไปแต่มีรายละเอียดซ่อนอยู่กล่าวคือ ความแตกต่างของระดับความเข้มมีค่าน้อย ในเทคนิคการล้างและอัดรูป รูปถ่ายที่สว่างเกินไปหรือมืดเกินไปสามารถทำให้ชัดขึ้นได้บ้าง โดยการเลือกกระดาษอัดรูปและปรับเวลาในการอัดและล้างรูป แต่วิธีการนี้มีขีดจำกัดเพราะความแตกต่างของระดับความเข้มในรูปยังคงน้อยอยู่เพียงแต่ปรับระดับต่ำสุดหรือสูงสุดของความเข้มในรูปเท่านั้น ไม่สามารถที่จะทำให้ทุกบริเวณในภาพนั้นแสดงรายละเอียดย่อย ๆ ได้ วิเคราะห์ภาพแบบดิจิทัลด้วยความพิวเวอร์จึงมีข้อได้เปรียบกว่า เพราะสามารถนำวิธีการทางคณิตศาสตร์ต่าง ๆ มาขยายความแตกต่างของระดับความเข้มน้อย ๆ ให้มากขึ้นได้ ทำให้มองเห็นรายละเอียดทั่วทั้งภาพหรือรายละเอียดย่อยของทุกๆ บริเวณได้มากขึ้นและสามารถนำข้อมูลมาวิเคราะห์ในเชิงตัวเลขได้ในแง่มุมต่าง ๆ เพื่อให้ได้ประโยชน์มากที่สุด

ทฤษฎี

ในภาพขาวดำระดับความเข้มของภาพที่สามารถแสดงได้มีช่วงจากขาวไปจนถึงดำ โดยในช่วงระหว่างขาวและดำนั้น ความดำจะค่อย ๆ จางลงในลักษณะเป็นแลเงา ช่วงระดับความเข้มนี้เรียกว่า grey scale ในภาพ ๆ หนึ่งนั้นเราสามารถคำนวณหาความหนาแน่นของระดับความเข้มได้ ซึ่งจะให้ค่าของฟังก์ชันความน่าจะเป็นของความหนาแน่นของระดับความเข้มในภาพนั้น ในการคำนวณฟังก์ชันของความหนาแน่นฯจะมีลักษณะไม่ต่อเนื่องกัน (discrete) กราฟของความหนาแน่นฯ นี้ก็ระดับความเข้มเรียกว่าฮิสโตแกรม ซึ่งแสดงถึงลักษณะการกระจายของความถี่ของระดับความเข้มที่มองเห็นของทั้งภาพนั้น ถ้าฮิสโตแกรมของภาพนั้นมีการกระจายค่อนข้างสม่ำเสมอคลุมช่วงระดับความเข้มที่มองเห็นได้คือจากขาวสุดไปดำสุด ภาพนั้นจะมีความชัดเจนสูงตลอดทั้งภาพ คือสามารถเห็นรายละเอียดของภาพได้ดี แต่ถ้าภาพนั้นมีฮิสโตแกรมที่แคบ ภาพนั้นจะดูดำไปหรือขาวไป (มืดไปหรือสว่างไป) ขึ้นกับว่าการกระจายของฮิสโตแกรมอยู่ในช่วงระดับความเข้มที่ใกล้ระดับความเข้มดำหรือขาวในบางกรณี ฮิสโตแกรมอาจมีการกระจายที่เป็นช่วงๆ คือไม่ต่อเนื่องแต่คลุมช่วงระดับความเข้มจากขาวไปดำ ในกรณีนี้ภาพที่ได้จะมีบางส่วนที่สว่างมากหรือบางส่วนที่มืดมาก จนไม่สามารถเห็นรายละเอียดในบริเวณนั้นได้ชัดเจน ดังนั้น ถ้าทราบฮิสโตแกรมของระดับความเข้มของภาพ เราสามารถทำให้ภาพชัดเจนขึ้นโดยการปรับฮิสโตแกรมให้มีรูปแบบตามที่ต้องการได้ ซึ่งแบบและระดับขั้นของความชัดเจนขึ้นกับรูปแบบของฮิสโตแกรมที่ปรับแล้ว

วิธีการปรับฮิสโตแกรมที่นิยมใช้ขึ้นกับลักษณะของภาพต้นฉบับและผลลัพธ์ที่ต้องการ มีสองวิธีหลักคือ การปรับฮิสโตแกรมให้เท่ากัน (Histogram equalization) การปรับแบบระบุลักษณะของฮิสโตแกรม (Direct histogram specification) ทั้งสองวิธีสามารถนำมาใช้ปรับภาพให้ชัดเจนตลอดทั่วทั้งภาพ (global enhancement) หรือใช้ในการดึงรายละเอียดของบริเวณเล็กๆ ทั้งหมดในภาพ (local enhancement) ในบทความนี้จะกล่าวถึงเฉพาะวิธีการปรับฮิสโตแกรมให้เท่ากันทั้งแบบวิเคราะห์เทียบกับทั้งภาพ (global) และแบบวิเคราะห์เทียบกับบริเวณจุดใกล้เคียง (local) วิธีการปรับแบบระบุลักษณะของฮิสโตแกรมนั้น เป็นแบบเฉพาะตัวโดยผู้ใช้ เป็นผู้กำหนดรูปร่างของฮิสโตแกรม

พื้นฐาน [1]

ให้ตัวแปร r แทนระดับความเข้มของจุดภาพ (pixel) ในภาพต้นฉบับ เพื่อความสะดวกในการอธิบาย กำหนดให้ r มีค่าอยู่ในช่วง $0 \leq r \leq 1$ โดยที่ $r = 0$ คือดำสุด และ $r = 1$ คือขาวสุด

ให้ s เป็นระดับความเข้มหลังการปรับโดยที่ $T(r)$ เป็นฟังก์ชันของการแปลง นั่นคือ

$$s = T(r) \quad 0 \leq r \leq 1 \quad (1)$$

กำหนดคุณสมบัติของ $T(r)$ ดังนี้

(ก) $T(r)$ เป็นฟังก์ชันที่มีค่าเดียวและเพิ่มขึ้นอย่างต่อเนื่องในช่วง $0 \leq r \leq 1$

(ข) $0 \leq T(r) \leq 1$ สำหรับ $0 \leq r \leq 1$

ดังนั้น ระดับความเข้มหลังการปรับ คือ ค่า s ยังคงอยู่ในช่วง 0 ถึง 1 และเปลี่ยนแปลงในทางเดียวกับของต้นฉบับ คือยังคงเป็นจากดำไปขาว ฟังก์ชันของการแปลงกลับ $T^{-1}(s)$ จะให้ค่าระดับความเข้มต้นฉบับ r นั่นคือ

$$r = T^{-1}(s) \quad 0 \leq s \leq 1 \quad (2)$$

ซึ่ง $T^{-1}(s)$ จะมีคุณสมบัติตามข้อ (ก) และ (ข) โดยขึ้นกับตัวแปร s

ให้ $p_r(r)$ และ $p_s(s)$ เป็นฟังก์ชันความน่าจะเป็นของความหนาแน่นของระดับความเข้มในภาพต้นฉบับและในภาพหลังการแปลงตามลำดับ ภาพที่มืดไปหรือสว่างไปจะมีฟังก์ชันความหนาแน่นที่ค่อนข้างดำ (มืด) หรือขาว (สว่าง) ดังตัวอย่างในรูปที่ 5 (ก) ดังนั้น ถ้าทราบฟังก์ชัน $p_r(r)$ และ $T(r)$ และ $T^{-1}(s)$ เป็นไปตามเงื่อนไข(ก) แล้ว ฟังก์ชันของความหนาแน่นของระดับความเข้มหลังการแปลงจะเป็น

$$p_s(s) = \left[p_r(r) \frac{dr}{ds} \right]_{r = T^{-1}(s)} \quad (3)$$

วิธีการปรับฮิสโตแกรมให้เท่ากัน

พิจารณาฟังก์ชันของการแปลง

$$s = T(r) = \int_0^r p_r(w) dw \quad 0 \leq r \leq 1 \quad (4)$$

โดยที่ w เป็นตัวแปรของการอินทิเกรต จะเห็นว่าทางขวามือของสมการ (4) คือ การสะสมของความหนาแน่นของระดับความเข้มจาก 0 ไปถึงระดับความเข้ม r ดังนั้น

$$\frac{ds}{dr} = p_r(r) \quad (5)$$

dr

แทนค่าสมการ (5) ใน (3) ให้

$$p_s(s) = \begin{bmatrix} p_r(r) & 1 \\ p_r(r) & r \end{bmatrix} = T^{-1}(s) \quad (6)$$

ซึ่งมีค่าคงที่ในช่วงของค่าของ s และไม่ขึ้นกับฟังก์ชันการแปลงกลับ $T^{-1}(s)$ ดังนั้น จะเห็นว่า ถ้าให้ระดับความเข้มใหม่ของจุดภาพมีค่าเท่ากับค่าสะสมของความหนาแน่นของระดับความเข้มจากต่ำสุดไปจนถึงค่าระดับความเข้มของจุดภาพนั้น ผลลัพธ์ที่ได้จะให้ภาพที่มีค่าความหนาแน่นของระดับความเข้มเท่ากันหมด นั่นคือ ความแตกต่างของระดับความเข้มของจุดภาพได้ถูกขยายขึ้น ทำให้ภาพดูชัดเจขึ้น

รูปที่ 1 (ก) - (ค) แสดงตัวอย่างของวิธีการแปลงที่ให้ความหนาแน่นสม่ำเสมอ

เท่าที่กล่าวมาข้างต้นฟังก์ชันต่าง ๆ ที่พิจารณาเป็นฟังก์ชันต่อเนื่องในการวิเคราะห์ภาพแบบดิจิตอลโดยใช้คอมพิวเตอร์นั้น ค่าระดับความเข้มจะเป็นค่าที่ไม่ต่อเนื่องให้ฟังก์ชันความน่าจะเป็นของความหนาแน่นของระดับความเข้มเป็นฟังก์ชันแบบไม่ต่อเนื่อง กล่าวคือ

$$p_r(r_k) = \frac{n_k}{n} \quad \begin{matrix} 0 \leq r_k \leq 1 \\ k = 0, 1, \dots, L-1 \end{matrix} \quad (7)$$

เมื่อ L เป็นจำนวนของระดับความเข้ม

$p_r(r_k)$ เป็นความน่าจะเป็นหรือความหนาแน่นของระดับความเข้ม r_k

n_k เป็นจำนวนจุดภาพที่มีระดับความเข้ม r_k

n เป็นจำนวนจุดภาพทั้งหมดในภาพ

กราฟของ $p_r(r_k)$ กับ r_k เรียกว่าฮิสโตแกรม และวิธีการปรับให้ได้ฮิสโตแกรมที่สม่ำเสมอเรียกว่าวิธีการปรับฮิสโตแกรมให้เท่ากัน

รูปแบบที่ไม่ต่อเนื่องของสมการ (4) คือ

$$s_k = T(r_k) = \sum_{j=0}^k \frac{n_j}{n}$$

$$= \sum_{j=0}^k p_r(r_j) \quad \begin{array}{l} 0 \leq r_k \leq 1 \\ k = 0, 1, \dots, L-1 \end{array} \quad (8)$$

และการแปลงกลับคือ

$$r_k = T^{-1}(s_k) \quad 0 \leq s_k \leq 1 \quad (9)$$

รูปที่ 2 (ก) - (ค) แสดงตัวอย่างของวิธีการปรับฮิสโตแกรมให้เท่ากัน จะเห็นว่าฮิสโตแกรมหลังจากการปรับ (รูปที่ 2 (ค)) ไม่สม่ำเสมอตลอดช่วงระดับความเข้มเมื่อเทียบกับรูปที่ 1 (ค) ทั้งนี้เป็นเพราะฮิสโตแกรมเป็นเพียงค่าประมาณของฟังก์ชันความน่าจะเป็นของความหนาแน่นฯ ผลของการปรับระดับความเข้มเพื่อให้ได้ความหนาแน่นที่เท่ากันนี้ ให้ฮิสโตแกรมที่มีลักษณะเฉพาะ กล่าวคือ ส่วนที่มีความหนาแน่นสูงจะมีระดับความเข้มอยู่ห่างกันมากกว่าส่วนที่มีความหนาแน่นต่ำ (รูปที่ 2 (ค))

การทำให้ทุกส่วนของภาพชัดเจน (Local enhancement)

วิธีการปรับฮิสโตแกรมที่กล่าวถึงไปแล้วนั้นเป็นการปรับฮิสโตแกรมให้เท่ากันแบบวิเคราะห์เทียบกับทั้งภาพ (global histogram equalization) คือใช้การกระจายของระดับความเข้มของการแปลงระดับความเข้ม ซึ่งเหมาะกับการทำให้ภาพชัดเจนทั่วทั้งภาพเป็นสัดส่วนไป โดยที่รายละเอียดที่ชัดขึ้นส่วนใหญ่เป็นรายละเอียดที่มีระดับความเข้มที่มีค่าความหนาแน่นสูง แต่ในกรณีที่ต้องการรายละเอียดของทุกส่วนเราสามารถใช่วิธีการปรับฮิสโตแกรมให้เท่ากันนี้ โดยพิจารณาทีละส่วนเล็กๆ หรือการปรับฮิสโตแกรมให้เท่ากันแบบวิเคราะห์เทียบกับบริเวณจุดใกล้เคียง (local histogram equalization)

ในการนี้ เราให้นิยาม " บริเวณจุดใกล้เคียง " (neighbourhood) เป็นบริเวณของจุดภาพขนาด $n \times m$ โดยให้จุดตั้งกลางเป็นจุดภาพที่ต้องการปรับค่าระดับความเข้ม แล้วใช้วิธีการปรับฮิสโตแกรมให้เท่ากันโดยพิจารณาการกระจายของระดับความเข้มภายใน " บริเวณ

จุดใกล้เคียง - นั้น ทำเช่นนี้กับทุกจุดภาพโดยการเลื่อน - บริเวณจุดใกล้เคียง - นี้ไปคร่อมทุกจุดภาพ ขนาดของ - บริเวณจุดใกล้เคียง - ที่ใช้ขึ้นกับขนาดของรายละเอียดที่ต้องการทำให้ชัด จึงขึ้นกับลักษณะและขนาดของภาพต้นฉบับนั้น นอกจากนี้ ต้องคำนึงถึงเวลาในการคำนวณด้วย ซึ่งจะนานขึ้นถ้าขนาดของ - บริเวณจุดใกล้เคียง - ที่ใช้ใหญ่ขึ้น

วิธีการและผลการทดสอบ

ในการศึกษาวิธีการปรับภาพให้ชัดเจนโดยการปรับฮิสโตแกรมนี้ ได้พัฒนาโปรแกรมโดยใช้ภาษา Turbo Pascal version 5.0 บนเครื่องไมโครคอมพิวเตอร์ PC compatible ชนิด XT ซึ่งค่อนข้างช้า ระดับความเข้มของแต่ละจุดภาพมีขนาด 8 bit ทำให้สามารถบอกความแตกต่างได้ถึง 256ระดับ จาก 0-255 การแสดงภาพบนจอใช้จอภาพ VGA ซึ่งสามารถแสดงภาพได้สูงสุดถึง 1024 x 768จุดภาพ และแสดงระดับความเข้มขาวดำแบบแลเงาได้ถึง 64 ระดับ แต่สำหรับโปรแกรมที่พัฒนานี้แสดงความแตกต่างของระดับความเข้มเพียง 16 ระดับ และใช้ขนาดจุดภาพสูงสุด 640 x 480 จุดบนจอ VGA ในกรณีที่ใช้จอ monochrome ธรรมดาซึ่งไม่สามารถแสดงระดับความเข้มของภาพในลักษณะแลเงาได้ ระดับความเข้มของภาพแสดงโดยวิธีการที่เรียกว่า halftoning [2] ซึ่งจุดภาพหนึ่งจุดจะแสดงผลเป็นขนาด 3 x 3 จุดบนจอ ระดับความเข้มเปลี่ยนโดยการเปลี่ยนรูปแบบของจุดสว่าง ซึ่งเป็นการเปลี่ยนความหนาแน่นของจุดสว่าง ดังนั้น จึงแสดงระดับความเข้มได้เพียง 10 ระดับสำหรับจุดภาพขนาด 3 x 3 จุดบนจอ นอกจากการแสดงผลบนจอแล้ว ยังสามารถพิมพ์ภาพบนกระดาษโดยใช้เครื่องพิมพ์แบบ dot matrix (Epson FX80) ในการพิมพ์นี้ใช้โปรแกรมที่พัฒนาขึ้นเองในภาคศึกษา [3] จุดภาพหนึ่งจุดจะพิมพ์เป็นขนาด 40 จุดภาพพิมพ์ต่อนิ้ว และใช้วิธี halftoning ในการแสดงความแตกต่างของระดับความเข้มได้ 13 ระดับ

ภาพที่นำมาสาธิตนี้มีต้นฉบับเป็นรูปสี เป็นรูปเด็กผู้หญิงกำลังดมดอกไม้ รูปนี้ถ่ายในตอนเย็นและแสงไม่พอจึงดูค่อนข้างมืดรูปที่ 3 เป็นภาพขาวดำที่ถ่ายจากรูปสีแสดงเพื่อเปรียบเทียบกับภาพขาวดำ (รูปที่ 4 (ก)) ที่ได้จากการ scan จากภาพสีด้วยเครื่อง scanner และพิมพ์บนเครื่องพิมพ์ dot matrix ในรูปที่ 4(ก) จะเห็นว่า ระดับความเข้มนั้นมีจากเกือบดำสุดไปถึงขาว แต่ฮิสโตแกรมจะค่อนข้างดำเป็นส่วนใหญ่ (รูปที่ 5 (ก)) รายละเอียดในรูปเห็นไม่ชัดเมื่อเทียบกับต้นฉบับรูปสีเป็นเพราะในการ scan ภาพ รายละเอียดจะสูญเสียไปบางส่วนเมื่อเปลี่ยนจากสีเป็นขาวดำ และในการอ่านใช้ความละเอียดเพียง 72 จุดต่อนิ้วและในการพิมพ์ภาพแสดงเพียง 13 ระดับ แม้ว่าข้อมูลจะให้ความแตกต่างได้ถึง 256 ระดับ รูปที่ 4 (ข) เป็นภาพที่ได้รับการปรับฮิสโตแกรมให้เท่ากันแบบวิเคราะห์เทียบกับทั้งภาพ จะเห็นว่า ฮิสโตแกรมหลัง

การปรับมีการกระจายที่ค่อนข้างสม่ำเสมอขึ้น (รูปที่ 5 (ข)) บริเวณที่มีความหนาแน่นสูงจะกระจายห่างกัน เพื่อให้แสดงความแตกต่างของระดับความเข้มได้มากขึ้นทำให้ภาพดูชัดขึ้นทั่วทั้งภาพแต่ยังมีหลายบริเวณที่ไม่เห็นรายละเอียดชัดเจนเช่น บริเวณหน้าเด็กและแขนที่จับดอกไม้

รูปที่ 4 (ค) และ (ง) เป็นภาพที่ได้รับการปรับฮิสโตแกรมแบบวิเคราะห์เทียบกับบริเวณจุดใกล้เคียง โดยใช้ · บริเวณจุดใกล้เคียง · ขนาด 21×21 จุด และ 81×81 จุด ตามลำดับ จะเห็นว่ารายละเอียดของภาพทุกบริเวณถูกดึงออกมาให้ชัดขึ้นโดยเฉพาะส่วนที่เป็นเส้นขอบซึ่งมีการเปลี่ยนแปลงของระดับความเข้มอย่างรวดเร็วแต่ในที่นี้ บริเวณขอบของภาพจะถูกตัดทิ้งไปตามขนาดของ · บริเวณจุดใกล้เคียง · ด้วย ในรูปที่ 4 (ค) บริเวณที่มีขนาดประมาณ $1/16$ ของภาพ จะมีความแตกต่างของระดับความเข้มมากทำให้เห็นรายละเอียดได้ชัดเจนขึ้นได้แก่ใบไม้ทางซ้ายของภาพรายละเอียดบนเสื้อและกระโปรง เป็นต้น แต่บริเวณอื่นที่ใหญ่กว่า เช่น ที่หน้าและผมของเด็กดู noisy เกินไป ดังนั้นสำหรับภาพนี้ ถ้าบริเวณรายละเอียดที่สนใจคือบริเวณศีรษะของเด็กอาจใช้ · บริเวณจุดใกล้เคียง · ใหญ่ขึ้น ดังตัวอย่างในรูปที่ 4 (ง) ซึ่งใช้ 81×81 จุด แต่เวลาที่ใช้ในการคำนวณจะมากขึ้นมากและบริเวณขอบของภาพถูกตัดไปมาก (40 จุดทั้งสี่ด้าน) จะเห็นว่า ความแตกต่างของระดับความเข้มตลอดทั้งภาพดูเรียบขึ้นเมื่อเปรียบเทียบกับกรณี 21×21 จุดในรูปที่ 4(ค) และมองเห็นรายละเอียดได้มากกว่ารูป ที่ 4 (ข) โดยเฉพาะบริเวณศีรษะของเด็กและมือที่กำลังจับดอกไม้จะเห็นได้ชัดเจนขึ้น

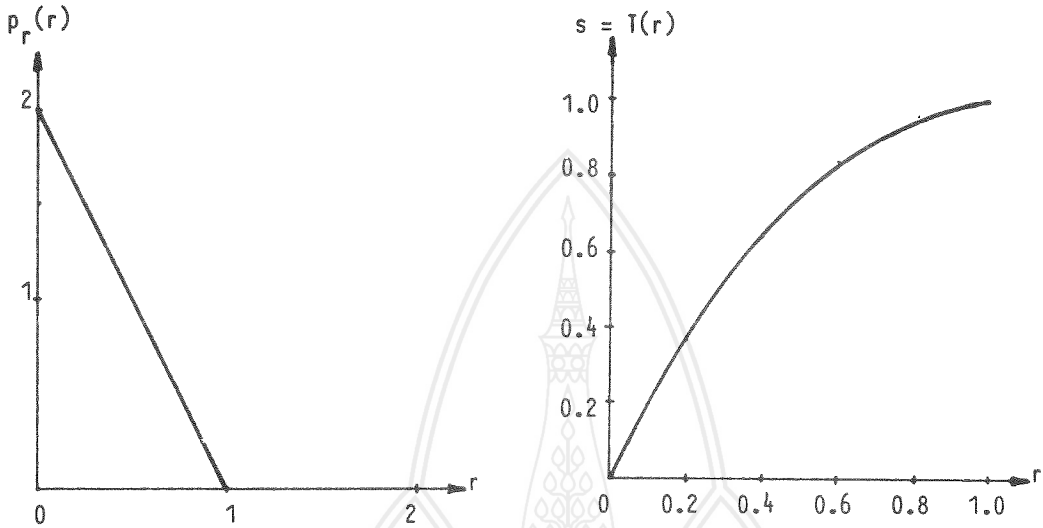
สรุป

ในบทความนี้ ได้แนะนำวิธีการทำให้ภาพชัดขึ้นโดยการปรับฮิสโตแกรมให้เท่ากัน และสถิติโดยใช้ภาพถ่าย จะเห็นว่า วิธีที่จะใช้ขึ้นกับรายละเอียดที่ต้องการเป็นสำคัญ การปรับฮิสโตแกรมแบบวิเคราะห์เทียบกับทั้งภาพ ช่วยทำให้ภาพชัดจนทั่วทั้งภาพ จึงเหมาะกับภาพที่ไม่ชัดเนื่องจากแสงมากไปหรือน้อยไปทั่วทั้งภาพ หรือภาพที่วิสิสโตแกรมของระดับความเข้มรวมกันอยู่เป็นกลุ่มใหญ่ ส่วนการปรับฮิสโตแกรมแบบวิเคราะห์เทียบกับบริเวณจุดใกล้เคียง ระดับความเข้มจากดำสุดไปถึงขาวสุดจะกระจายไปทั่วตลอดทั้งภาพ จึงเหมาะสำหรับงานที่ต้องการรายละเอียดย่อย ๆ ทั่วทั้งภาพ การเลือกขนาดของ · บริเวณจุดใกล้เคียง · ควรคำนึงถึงขนาดของรายละเอียดที่ต้องการทำให้ชัดขึ้น และเวลาที่ใช้ในการคำนวณ รวมทั้งบริเวณขอบของภาพที่อาจต้องเสียไป

ขีดจำกัดหลักของผลที่นำมาแสดงนี้อยู่ที่เครื่องพิมพ์ที่ใช้ซึ่งเป็นชนิด dot matrix ทำให้ไม่สามารถแสดงความแตกต่างของระดับความเข้มได้มากกว่า 13 ระดับสำหรับขนาดจุด

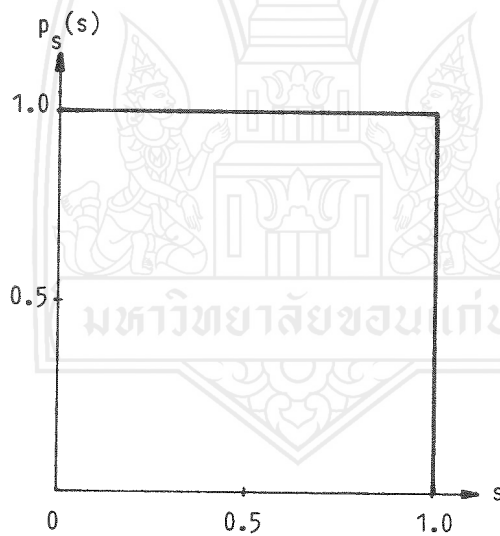
พิมพ์ 40 จุดภาพพิมพ์ต่อนิ้ว นอกจากนี้ รายละเอียดของภาพจะสูญเสียไปบ้างจากการ scan จากภาพสีเป็นภาพขาวดำบวกกับความละเอียดที่ใช้ในการ scan แม้ว่าเครื่อง scanner ที่ใช้สามารถให้ความละเอียดถึง 300 จุดต่อนิ้ว แต่จะให้ภาพที่มีขนาดใหญ่เกินไปสำหรับหน่วยความจำของเครื่องไมโครคอมพิวเตอร์ที่ใช้ในการวิเคราะห์นี้ การแสดงผลโดยใช้เครื่องพิมพ์นั้นปรับปรุงให้ดีขึ้นได้หากใช้เครื่องพิมพ์ชนิดอื่นที่มีความละเอียดของจุดพิมพ์สูงเช่นเครื่องพิมพ์ชนิดเลเซอร์ อย่างไรก็ตาม บทความนี้ได้แสดงให้เห็นว่าเราสามารถทำการวิเคราะห์ภาพได้โดยใช้ระบบคอมพิวเตอร์ที่ไม่แพงนักได้ เช่นใช้เครื่องไมโครคอมพิวเตอร์แบบ XT และเครื่องพิมพ์แบบ dot matrix ซึ่งในปัจจุบันจะมีอยู่ตามหน่วยการศึกษาทั่วไป





(ก)

(ข)



(ค)

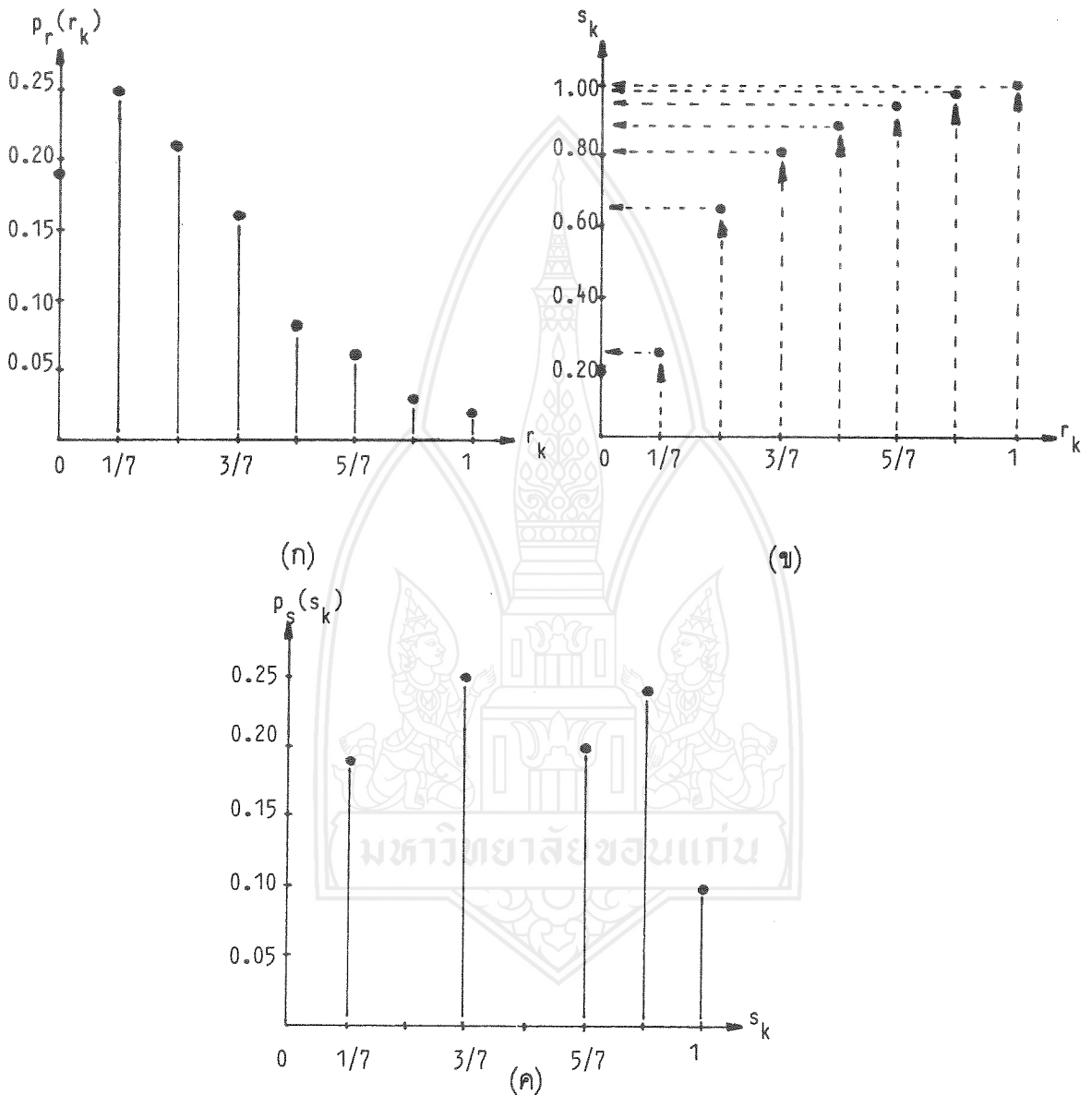
รูปที่ 1

แสดงวิธีการแปลงให้ความหนาแน่นสม่ำเสมอ

(ก) ฟังก์ชันความน่าจะเป็นของความหนาแน่นต้นฉบับ

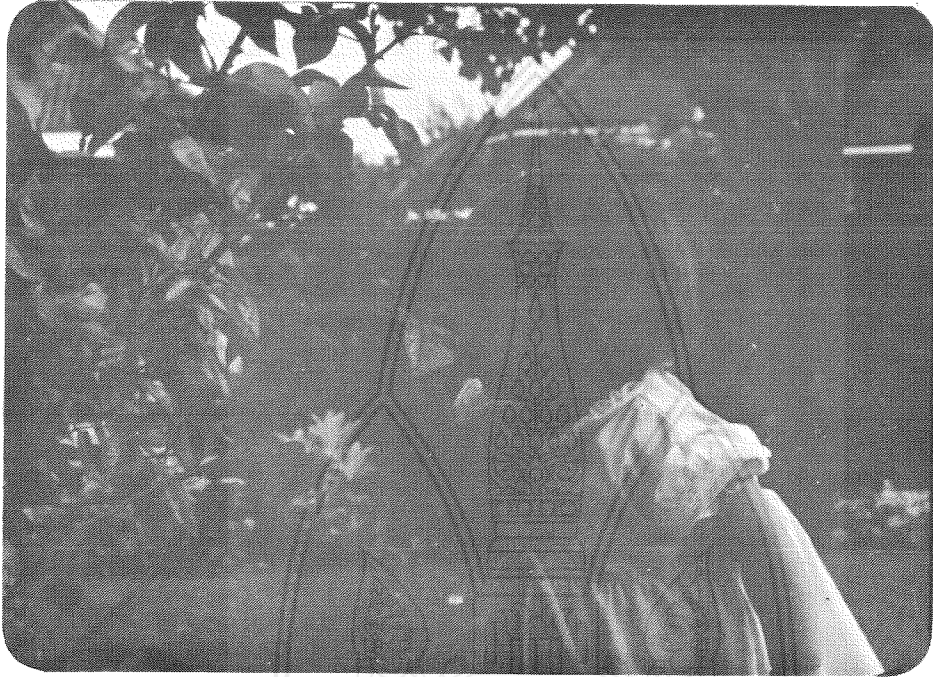
(ข) ฟังก์ชันของการแปลง

(ค) ผลลัพธ์เป็นความหนาแน่นสม่ำเสมอ



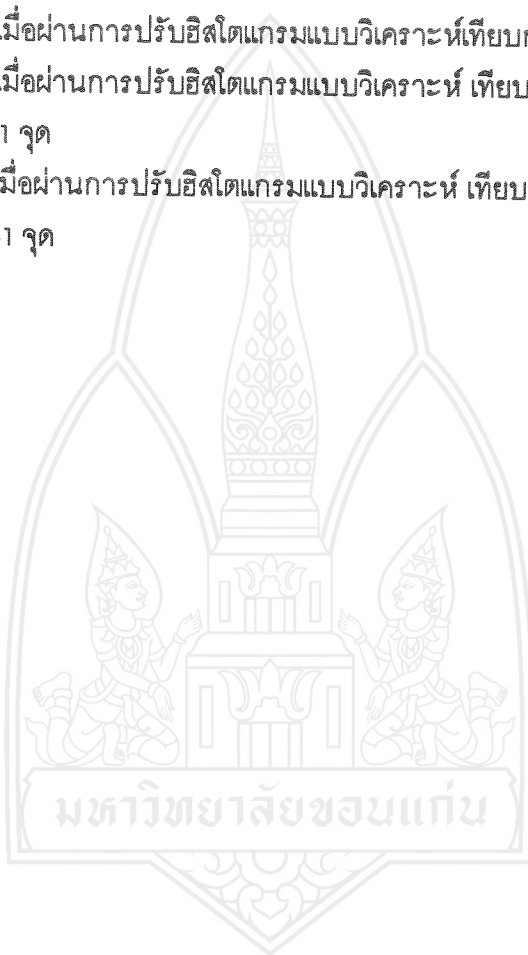
รูปที่ 2 แสดงวิธีการปรับฮิสโตแกรมให้เท่ากัน

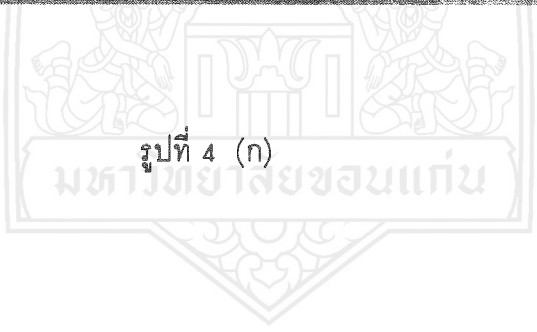
- (ก) ฮิสโตแกรมของภาพต้นฉบับ
- (ข) ฟังก์ชันของการแปลง
- (ค) ฮิสโตแกรมที่ปรับให้เท่ากันหลังการแปลง



รูปที่ 3 รูปवाद้าที่ถ่ายจากรูปสิดันฉบับ แสดงเพื่อเปรียบเทียบ

- รูปที่ 4 แสดงผลของการปรับฮิสโตแกรมให้เท่ากัน ภาพเหล่านี้พิมพ์ด้วยเครื่องพิมพ์แบบ dot matrix ให้ระดับความเข้ม 13 ระดับ
- (ก) ภาพก่อนการปรับฮิสโตแกรม ได้จากการ Scan รูปสีต้นฉบับ โดยใช้ความละเอียด 72 จุดต่อนิ้ว และ 256 ระดับความเข้ม
- (ข) ภาพเมื่อผ่านการปรับฮิสโตแกรมแบบวิเคราะห์เทียบกับทั้งภาพ
- (ค) ภาพเมื่อผ่านการปรับฮิสโตแกรมแบบวิเคราะห์ เทียบกับบริเวณจุดใกล้เคียงขนาดบริเวณ 81×81 จุด
- (ง) ภาพเมื่อผ่านการปรับฮิสโตแกรมแบบวิเคราะห์ เทียบกับบริเวณจุดใกล้เคียง ขนาดบริเวณ 81×81 จุด





รูปที่ 4 (ก)
มหาวิทยาลัยขอนแก่น



รูปที่ 4 (ข)

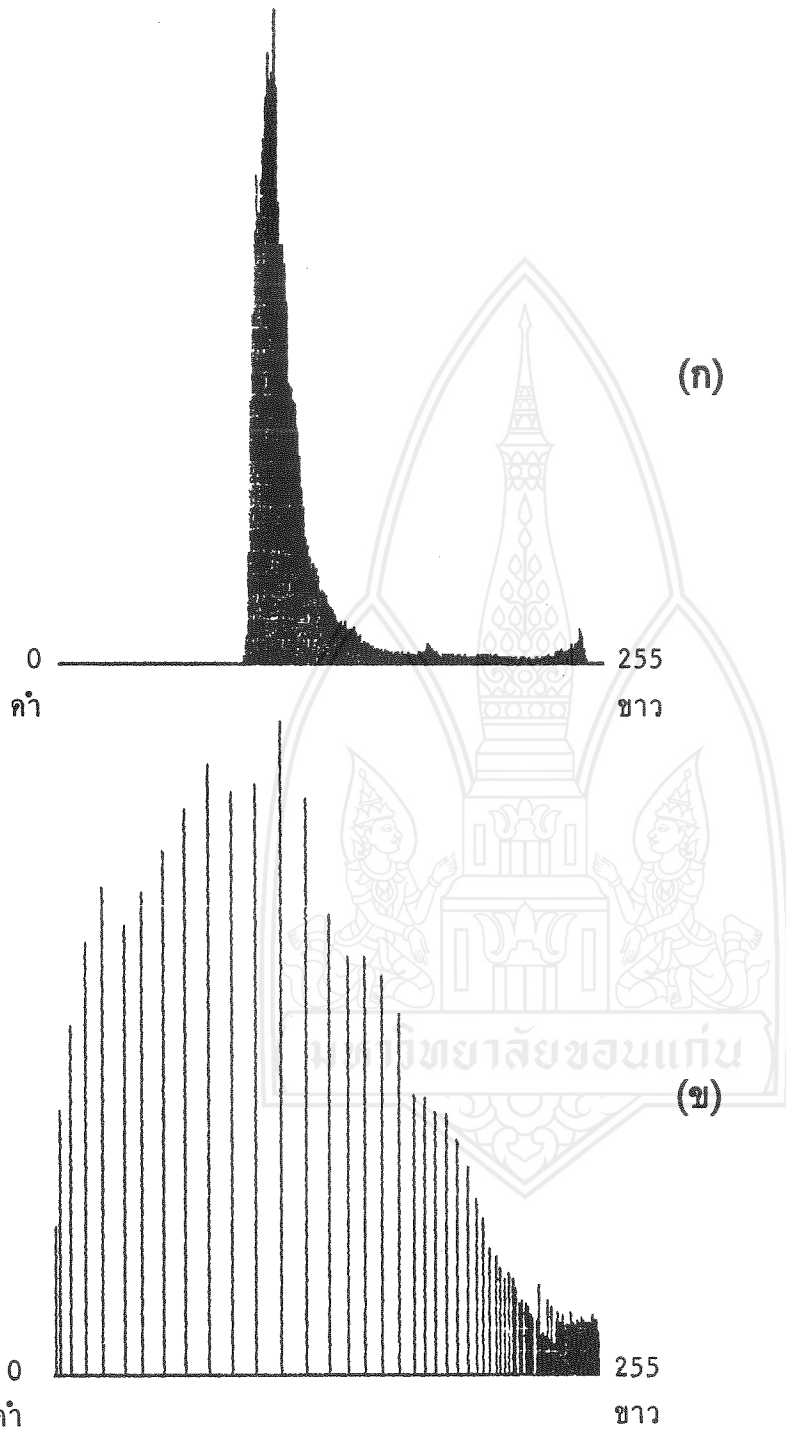
มหาวิทยาลัยขอนแก่น





รูปที่ 4 (ง)

มหาวิทยาลัยขอนแก่น



รูปที่ 5

แสดงฮิสโตแกรมของระดับความเข้ม (0-255 ระดับ)

(ก) ของภาพก่อนการปรับฮิสโตแกรม (รูปที่ 4 (ก))

(ข) ของภาพเมื่อผ่านการปรับแบบวิเคราะห์เทียบทั้งภาพ (รูปที่ 4 (ข))

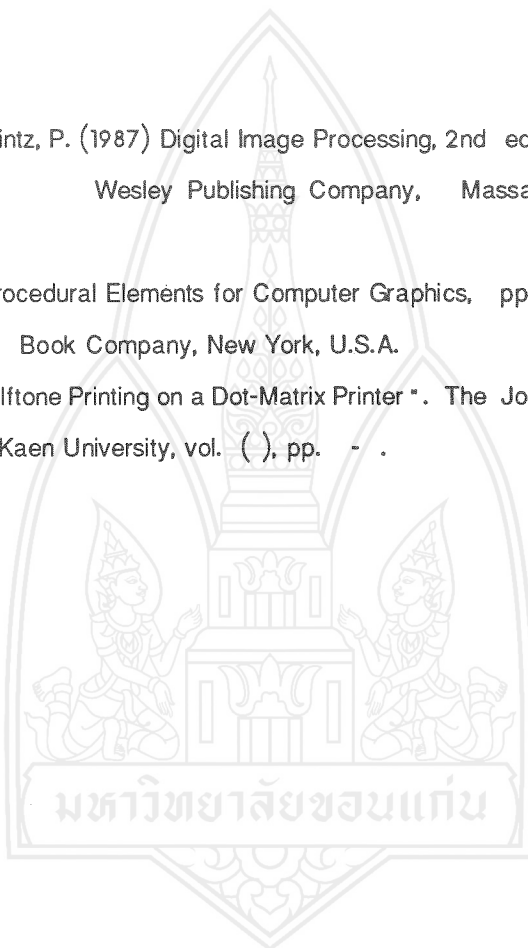
การวิเคราะห์ภาพด้วยคอมพิวเตอร์ฯ วารสารวิทยาศาสตร์ มข. ปีที่ 19 ฉบับที่ 2 เมษายน-มิถุนายน

กิตติกรรมประกาศ

ขอขอบคุณมูลนิธิพลท.ที่ให้ทุนสนับสนุนการพัฒนาระบบวิเคราะห์ภาพ ซึ่งทำให้สามารถจัดหาจอภาพแบบ VGA มาใช้ได้ และศูนย์คอมพิวเตอร์ มหาวิทยาลัยขอนแก่นที่ให้ใช้เครื่อง scanner

เอกสารอ้างอิง

- [1] Gonzalez, R.C. and Wintz, P. (1987) Digital Image Processing, 2nd edition, pp. 144-160, Addison-Wesley Publishing Company, Massachusetts, U.S.A.
- [2] Rogers, D.F. (1985) Procedural Elements for Computer Graphics, pp.102-103, McGraw-Hill Book Company, New York, U.S.A.
- [3] Thomas, I. (1991) "Halftone Printing on a Dot-Matrix Printer". The Journal of Science KhonKaen University, vol. (), pp. - .



Halftone Printing on a Dot-matrix Printer.

*Ian Thomas **

Abstract

Halftone printing has been developed for the EPSON FX printer. Three different resolutions can be accommodated by the programme, 40, 60 and 80 picture dots per inch. While the resolution is not as good as laser printers, it will provide a low-cost teaching aid for image processing. Another advantage is that it provides a cheap way of preparing stencils of pictures for Roneo reproduction.

Introduction

Photographs consist of many colours, but when they are printed in books the printer is able to print them using only four colours: magenta, cyan, yellow and black. A black and white picture, even though it contains different grays, can be printed using only black ink on white paper. The technique which is used to allow the black ink to produce different grays is halftoning. The ink is applied to the paper in dots, with the spacing between the dots kept constant. To make a dark gray area the dots are large, whereas to make a light gray area they are small. Our eye integrates the blackness of the dots with the whiteness of the paper to make a gray. In colour printing the amount of each of the four colours is controlled by the size of the dot of each colour, which the eye blends into one colour.

The halftoning technique was used many years ago in weaving silk pictures. The modern process was invented by Stephen Hargon in 1880. In the halftone printing process the unit of print is the cell, corresponding to one dot in the halftone picture. The size of the

* Physics Department, Faculty of Science, KKU.

cell depends on the quality of the printing. For newspaper pictures there are 50-90 cells per inch, and in books and magazines 100-300 cells per inch [Laing, 1984]. A good quality paper is needed for book and magazine pictures.

The printer makes a halftone image using a screen made of clear plastic with lines cut into it in a grid, at the spacing that he wants for the dot spacing in the printed image. The original picture is photographed through this screen to produce the halftone picture. Another method which can be used is to use an electronic scanner which measures the reflected light intensity at the position in the picture where dots are wanted in the printed picture, and stores the information in a computer data file.

Theory

The information which can be printed per unit area using a dot-matrix printer is limited by the size of the wire in the printhead and so the size of the printed dot. Within the size of the printed dot only one bit of information can be represented - the dot can be printed or not printed. The area of the printer wire in an EPSON FX80 printer is 6.7×10^{-5} sq. in., giving a maximum information density of $1/6.7 \times 10^{-5}$ or 14.85 kbits/sq.in..

The information in a halftone picture is of two types - spatial information and tonal information. The amount of spatial information depends on the resolution of the picture. If there are many cells per square inch the picture has a high resolution. Tonal information is reflected by the number of gray levels in a picture. Our eyes can distinguish about 64 levels of gray. In halftone printing the balance between spatial and tonal information is set by the size of the halftone cell. However, the limit to the spatial and tonal information is the maximum information density printable. In general $(\text{Number of gray levels} - 1) \times \text{cell density} \leq \text{maximum information density}$

This relationship is plotted in Figure 1 for the EPSON FX80 printer. The number of levels is always one more than the number of bits since one bit can represent two levels, black or white, two bits can represent three levels, black, gray or white, etc..

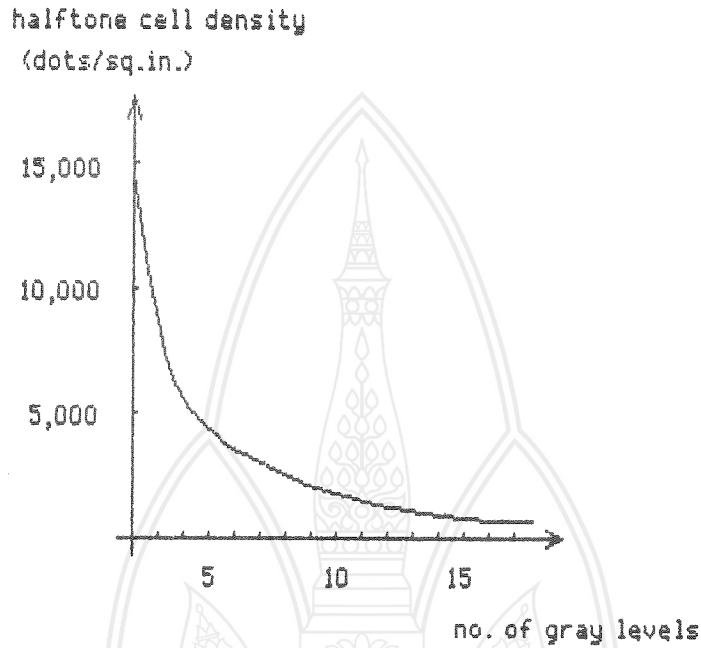


Figure 1. The relationship between halftone cell density and number of gray levels.

Method and Results

The EPSON FX80 printer has three densities of printing; 60 dots per inch, 120 dots per inch and 240 dots per inch [Epson, 1983]. To be able to print different size halftone picture dots, each halftone cell has to include several printer dots. In the 240 dots per inch mode the printer dots actually overlap - there are only 120 separate dots per inch.

The software written can print images stored as binary files at three different resolutions with cell sizes of 6 x 5, 4 x 4 and 3 x 3 overlapping printer dots at 240 dots/sq.in. [Epson, 1983]. Figure 2 shows the same image printed with the three different dot densities. The image contains pixel levels from 0(white) at the centre to 255(black) at the

corners. When these pixel levels are converted to gray levels, they result in the banding seen in Figure 2. This banding could only be removed by having 256 gray levels, which with this printer would require printing only 8 cells per inch.

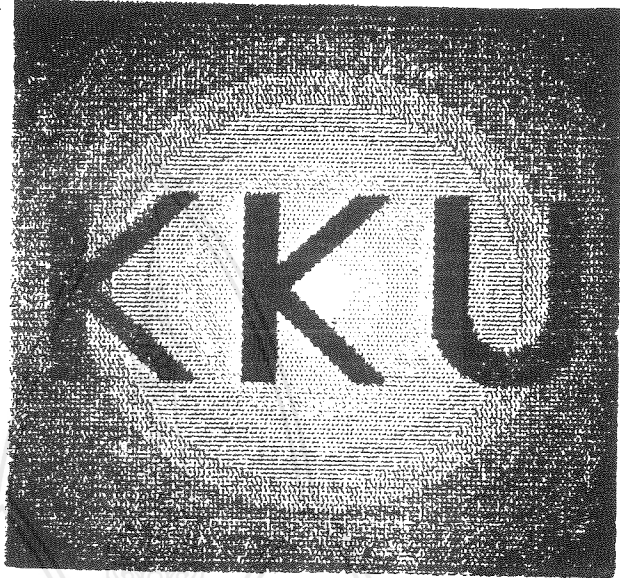
Figure 3 shows the dot patterns, adapted from [Rogers, 1985], used in the three different printing methods, along with the cell positions. Note that in the 40 cells/inch mode the cells do not overlap, whereas in the other two they do. Alternate rows of cells are shifted by different amounts so that cells do not line up in a vertical line, which the eye is very sensitive to. With this offset, cells line up at 45 degree lines.



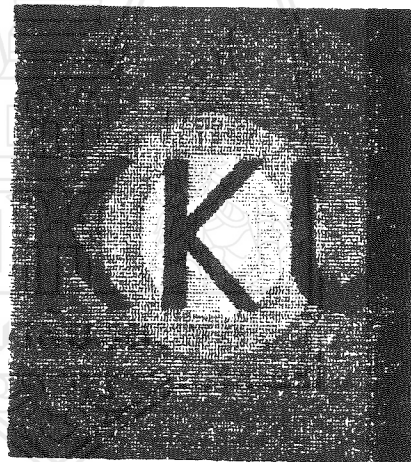
เอราโทสเทเนส (Erathosthenes)

เกิดเมืองไซรินเมื่อ 276 ปีก่อน ค.ศ. เป็นปราชญ์ชาวกรีก บรรณารักษ์ของหอสมุดเล็กซานเดรีย ผู้สามารถคำนวณเส้นผ่าศูนย์กลางของโลกเป็นคนแรก ทำแผนที่โลกได้ละเอียด ทหารู้จักคำนวณเกี่ยวกับจำนวนเฉพะยามชราตาบอดและตรอมใจ จึงสมัครใจอดอาหารจนสิ้นชีวิตเมื่ออายุ 80 ปี

- a) 40 cells/inch and 13 gray levels.
(high tonal information)



- b) 60 cells/inch and 8 gray levels.



- c) 80 cells/inch and 4 gray levels.
(high spatial information)

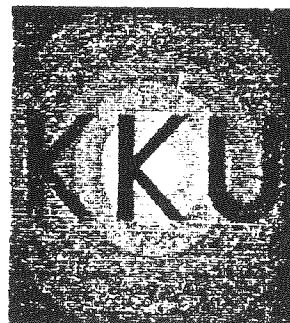
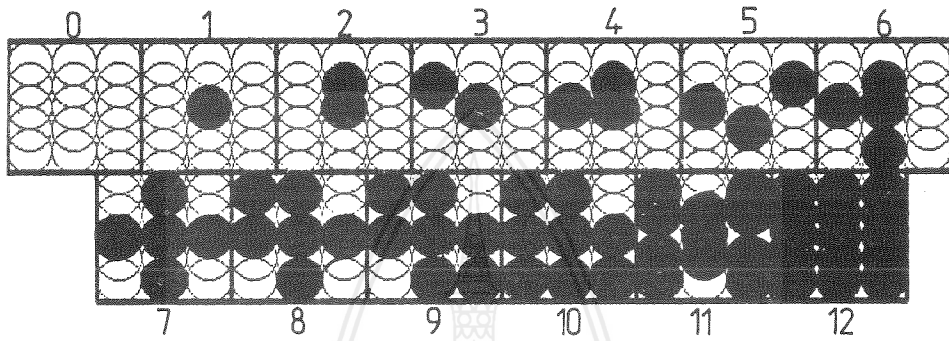
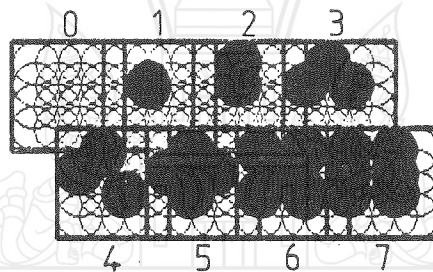


Figure 2. An image of 128x128 pixels printed using the three different halftone printing methods.

- a) 40 cells/inch and 13 gray levels.



- b) 60 cells/inch and 8 gray levels.



- c) 80 cells/inch and 8 gray levels.

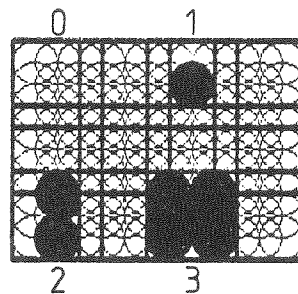


Figure 3. Dot patterns used for cells in the 3 different printing methods, and cell positions.

Conclusion

Software has been written to print images at three different resolutions on a dot matrix printer. The gray levels are not spaced equally; the dot patterns can possibly be adjusted to improve this. It is also possible to have more printing densities than reported here, which may be used for specific tasks. The 40 dots/inch mode is currently being used to print computer generated holograms [Chootin and Thomas, 1991], which are then photoreduced. When printed at 80 dots/inch a picture is approximately the same size as it appears on a VGA screen.

While the resolution is not as good as a laser printer, dot matrix printers are easily available and three or four times cheaper at present. The ability to print images on a dot matrix printer will allow more people to perform image processing.

References

1. Laing, J (ed), " Graphic Design ", Ebury Press, London, 1984.
2. Rogers, D F, "Procedural Elements for Computer Graphics ", McGraw Hill, 1985.
3. " FX Printer Operati on Manual ", Epson, Japan, 1983.
4. Chootin, S and I Thomas, " Computer Generated Holograms ", Journal of Science, KKU, V19:1, Jan-Mar 1991.

พิมพ์ที่ ห้างหุ้นส่วนจำกัด โรงพิมพ์คลังนานาวิทยา

ถนนหน้าเมือง อำเภอเมือง จังหวัดขอนแก่น ๔๐๐๐ โทร. (๐๔๓) ๒๓๖๓๔๔

ข้อแนะนำในการเขียนบทความลง วารสาร " วิทยาศาสตร์ มข. "

ประเภทของเรื่องที่จะตีพิมพ์

1. รายงานผลวิจัยและค้นคว้า หรือการสำรวจที่ยังไม่เคยตีพิมพ์ในวารสารหรือหนังสืออื่นมาก่อน
2. บทความปริทัศน์ ได้แก่งานเขียนที่รวบรวม หรือเรียบเรียงจากเอกสารหรือหนังสือต่าง ๆ เพื่อเผยแพร่และฟื้นฟูงานด้านวิชาการระดับต่าง ๆ
3. บทความแสดงความคิดเห็น หรือข้อเสนอแนะที่เป็นประโยชน์ในด้านวิชาการ เรื่องแปล ข่าววิชาการย่อความจากงานวิจัยค้นคว้าหรือหนังสือใหม่ที่น่าสนใจ

รูปแบบของการเขียนและการเตรียมต้นฉบับ

1. ต้นฉบับ ต้องพิมพ์ด้วยเครื่องพิมพ์ดีด หรือเครื่องคอมพิวเตอร์ มีช่วงห่างระยะบรรทัดตามมาตรฐานพิมพ์ลงในกระดาษขาว A4 (โรเนียวสัน) โดยใช้กระดาษด้านเดียว ความยาวไม่เกิน 10 หน้า ส่งต้นฉบับ 2 ชุด การส่งต้นฉบับพร้อมดิสเก็ต จะได้รับค่าตอบแทนเป็นพิเศษ
2. ต้นฉบับ จะพิจารณาโดยกองบรรณาธิการ และจะตอบรับเท่านั้นโดยไม่ส่งคืน ผู้เขียนควรทำสำเนาเก็บไว้เป็นหลักฐานของตัวเอง 1 ฉบับ
3. ต้นฉบับ ต้องมีความถูกต้องทั้งในด้านเนื้อหา และการใช้ภาษา รวมทั้งมีความสมบูรณ์ในรูปแบบพร้อมที่จะนำลงตีพิมพ์ได้
4. ชื่อเรื่อง ให้ใช้ภาษาไทยหรือภาษาอังกฤษ ไม่ยาวเกินไป และหลีกเลี่ยงการใช้คำย่อโดยไม่จำเป็น
5. ชื่อผู้เขียน เขียนชื่อภาษาไทยหรือภาษาอังกฤษ พร้อมทั้งบอกสถานที่ทำงานให้ชัดเจน
6. เนื้อเรื่อง ใช้ได้ทั้งภาษาไทยล้วน หรือภาษาอังกฤษล้วน ถ้าใช้ภาษาไทย ภาษาอังกฤษที่ใช้ปนกับภาษาไทยนั้น ให้พยายามแปลเป็นไทยเท่าที่จะทำได้ และให้เขียนคำเดิมกำกับในวงเล็บ การทับศัพท์ภาษาอังกฤษตลอดทั้งการเขียนตัวสะกดการันต์ในภาษาไทยให้ใช้ตามแบบราชบัณฑิตยสถาน
7. ในกรณีของบทความวิจัย ต้องมีบทคัดย่อทั้งภาษาไทยและภาษาอังกฤษ และแบ่งเนื้อหาของบทความเป็นบทนำ วิธีดำเนินงาน ผลการวิเคราะห์ บทสรุปและวิจารณ์
8. เชิงอรรถ (footnote) ใช้เฉพาะที่จำเป็น เพื่อขยายหรือให้รายละเอียดเพิ่มเติมแก่ใจความ เฉพาะตอนในบทความ ข้อความที่จำเป็นจะต้องมีเชิงอรรถ ให้ใช้เครื่องหมายดอกจัน (•) กำกับท้าย
9. ตารางและภาพประกอบ คำบรรยายประกอบตาราง หรือภาพประกอบควรจะสั้นและชัดเจน ถ้าจะเป็นภาพถ่าย ให้ใช้ภาพขาว-ดำ ขนาดโปสเตอร์ การถ่ายภาพต้องได้รับความเห็นชอบจากบรรณาธิการก่อนภาพเขียนลายเส้นควรเขียนด้วยหมึกดำ ภาพที่เขียนต้องชัดเจน และมีขนาดที่เหมาะสม
10. เอกสารอ้างอิง หรือบรรณานุกรม เขียนตามแบบสากลนิยม

ส่งต้นฉบับมาที่

กองบรรณาธิการวารสารวิทยาศาสตร์ มข.
คณะวิทยาศาสตร์
มหาวิทยาลัยขอนแก่น

อภิปรายหน้าการสำหรับผู้เขียน

เรื่องที่ได้รับการตีพิมพ์ ผู้เขียนจะได้รับวารสารฉบับนั้น 2 เล่ม และสำเนาพิมพ์อีก 15 ชุด

สารบัญ

การศึกษาและการพัฒนาบุคลากรสาขาฟิสิกส์วิโรจน์ ตันตราภรณ์	65-72
อินซูลินปริทัศน์ : 70 ปีของการพัฒนา สุเทพ ไวยครุฑธา	73-79
การทำนายโครงสร้างโมเลกุลโดยใช้ทฤษฎีการผลึกกัน ของคู่อิเล็กตรอนวงนอก (กผคอวน)สุวิน บุศราคำ	81-94
การแยกให้บริสุทธิ์ และคุณลักษณะบางประการของ Luteinizing hormone/ choriogonadotropin receptor ข้องหนูกรกช อินทราพิเชษฐ และ Jayantha Wimalasena	95-114
การคำนวณตำแหน่งของดาวในระบบเส้นขอบฟ้าพนล จิตติยศรา	115-120
การวิเคราะห์ภาพด้วยคอมพิวเตอร์ : การทำให้ภาพชัดขึ้นด้วยการปรับฮิสโตแกรมจันทร์เพ็ญ ส. ไทมัส, Ian Thomas, วิวัฒน์ ยังดี,ธารา มานะงาน และ สาโรช รุจิวรรณ	121-139
Halftone Printing on a Dot-matrix PrinterIan Thomas	140-145