



วารสาร

วิทยาศาสตร์ชุมชน

KKU SCIENCE JOURNAL

ปีที่ 32 ฉบับที่ 3 (ก.ค. - ก.ย. 47) Vol. 32 No. 3 (Jul. - Sep. '04)

ฉบับพิเศษ

เฉลิมพระเกียรติสมเด็จพระนางเจ้าสิริกิติ์ พระบรมราชินีนาถ
เนื่องในวโรกาสพระราชพิธีมหามงคลเฉลิมพระชนมพรรษาครบ 6 รอบ



วารสาร

ISSN 0125 - 2364

วิทยาศาสตร์ปู. KKU SCIENCE JOURNAL**เจ้าของ**

คณะวิทยาศาสตร์ มหาวิทยาลัยขอนแก่น

สำนักงาน

คณะวิทยาศาสตร์ ตึก 6

มหาวิทยาลัยขอนแก่น

วัตถุประสงค์

1. เพื่อส่งเสริมและเผยแพร่วิทยาการในสาขาวิชาต่าง ๆ ทางด้านวิทยาศาสตร์
2. เพื่อเผยแพร่ผลงานทางด้านการวิจัย และการศึกษา ค้นคว้าของอาจารย์และนักศึกษา
3. เพื่อเป็นสื่อกลางการแลกเปลี่ยนความรู้ และแนวความคิดทางวิชาการระหว่างอาจารย์ นักศึกษา และผู้สนใจ ทั้งภายในและภายนอกสถาบัน

กำหนดออก

ปีละ 4 ฉบับ

ฉบับที่ 1 มกราคม - มีนาคม

ฉบับที่ 2 เมษายน - มิถุนายน

ฉบับที่ 3 กรกฎาคม - กันยายน

ฉบับที่ 4 ตุลาคม - ธันวาคม

ค่าบำรุง ปีละ 75 บาท ขายปลีกเล่มละ 20 บาท

การบอกรับเป็นสมาชิก

แจ้งความจำนงค์เป็นจดหมาย หรือกรอกใบสมัครเป็นสมาชิก พร้อมค่าบำรุงเป็นธนาคัติ หรือเช็คไปรษณีย์ในนามของนางบุญคุ้ม เหลือล้น ฝ่ายจัดการส่งจ่าย ป.ท.มหาวิทยาลัยขอนแก่น จ.ขอนแก่น 40002

ที่ปรึกษาคณบดีคณะวิทยาศาสตร์
รองคณบดีฝ่ายวิชาการ**บรรณาธิการ**

มานิตย์ โนมิตตระกุล

กองบรรณาธิการ

เฉลิม	เรืองวิริยะชัย
สมเดช	กนกเมธากุล
ศักดิ์สิทธิ์	จันทร์ไทย
บำรุง	สมสวัสดิ์
วิทยา	อมรกิจบำรุง
ประนอม	จันทร์ไฉน
นฤมล	แสงประดับ
เสาวนิต	ทองพิมพ์
พิสิฐ	เจริญสุขใจ
เที่ยง	ภูมิสะอาด
อำนาจ	มณีศรีวงศ์กุล
บุญทรัพย์	ไวยำ

ฝ่ายศิลป์และภาพ

กิลิน	ดิฉนรเศรษฐ์
บุญส่ง	กองสุข

ฝ่ายเหรียญกษาปณ์

บุญคุ้ม	เหลือล้น
---------	----------

ฝ่ายจัดการและ

ทัศนีย์	จิตตะกวี
---------	----------

เลขานุการ

สมศักดิ์	อุ้นจันท์
สุคนธ์	กลิ่นพกา

บทความและงานวิจัย
ได้รับการกลั่นกรอง
จากผู้ทรงคุณวุฒิ

บทความหรือข้อคิดเห็นใด ๆ ในวารสารนี้เป็นของผู้เขียน ไม่จำเป็นต้องสอดคล้องกับทัศนะของกองบรรณาธิการ

วิทยาศาสตร์ชุมชน

K K U S C I E N C E J O U R N A L

ปีที่ 32 ฉบับที่ 3

Volume 32 Number 3

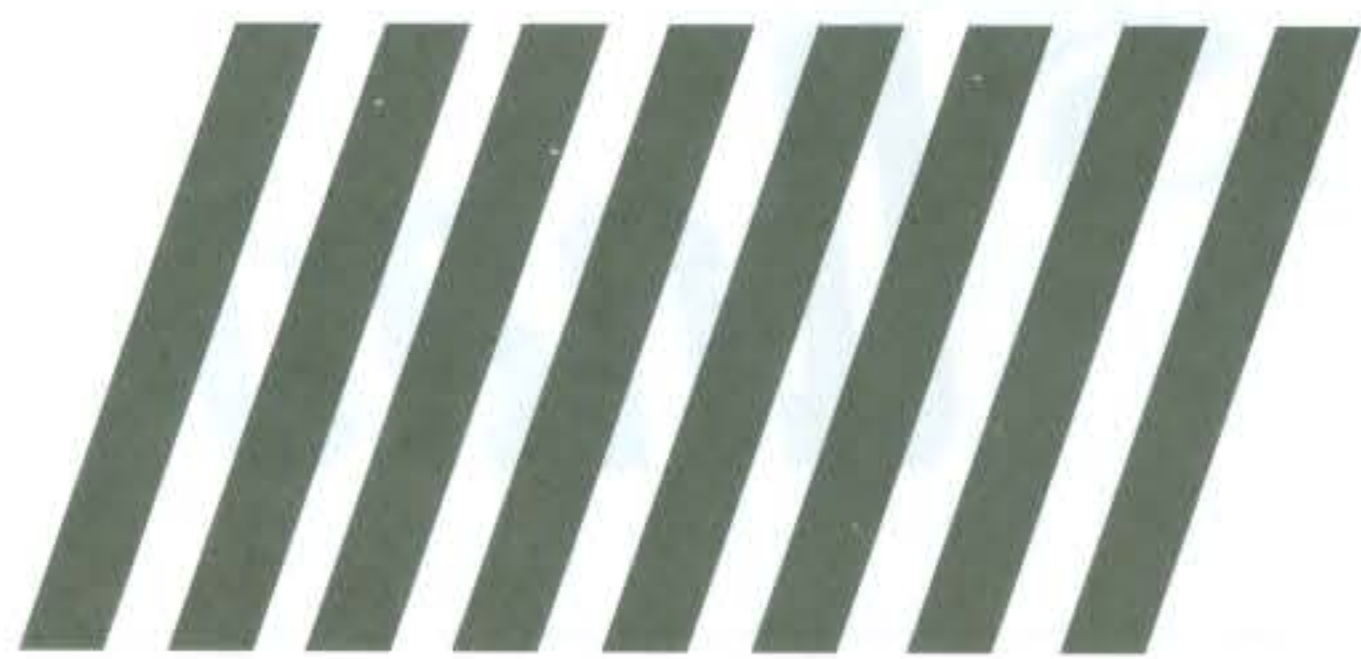
บรรณาธิการแถลง

บทความปริทัศน์

- สมเด็จพระนางเจ้าสิริกิติ์ พระบรมราชินีนาถ
กับการอนุรักษ์ทุ่งดอกไม้อำเภอ
วิเศษชัยชาญ นครพนม..... 127
- Polyketones : Alkene-Carbon Monoxide
Copolymers
Paveena Khansawai..... 131
- กระบวนการผลิตสารประกอบเชิงซ้อน
และเชิงวัตถุ
ปัญญพหล หอระตะ..... 143
- RNA Interference : เครื่องมือในการหาหน้าที่ยีน
และแนวทางใหม่ในการบำบัดรักษาโรค
หนูเห็ดอ่อน เมืองแสน..... 150

บทความวิจัย

- การศึกษาอัตราเร็วของปฏิกิริยาการเติมไฮโดรเจน
ของยางไอโซพรีน ด้วยพาราโทลูอินซัลโฟนิค
ไฮดราไซด์
ชลลดา ฤตวิรุพห์, วิไลรัตน์ เมืองแก้ว
สุมาลี ขอมอินทร์, และตะวัน สุขน้อย..... 158
- การวิเคราะห์สมบัติเชิงความร้อนของสารผสม
อินทรีย์บางชนิด โดยเทคนิค ดิฟเฟอเรนเชียล
สแกนนิ่ง แคลอริเมทรี
ยุทธพล ไตรวงศ์, สาริต ะจีประสี,
ทิพาภรณ์ ศรีชัยญรัตน์ และศักดิ์สิทธิ์ จันทน์ไทย 168
- การเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อของเปราะหอมและองค์ประกอบ
ของน้ำมันหอมระเหย
ธนิญา จันทรสภา, สมพร ประเสริฐส่งสกุล
และวนิดา เขียรกุลประเสริฐ..... 178
- พันธุศาสตร์เซลล์ของนกกางกรอกพันธุ์ขาว
อลงกลด แทนอมทอง, เจนณวัฒน์ วิมลกุล
เรืองวิทย์ บรรจงรัตน์, กฤษณ์ ปิ่นทอง
กฤษฎา บุรณารมย์ และวรพล เองวานิช..... 183



ISSN 0125 - 2364
วิทยาจารย์
KKU SCIENCE JOURNAL

Publisher

Faculty of Science, Khon Kaen University,
Thailand.

Office

Faculty of Science, Building 6, Khon Kaen
University.

Objectives

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

Publishing frequency

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

Number 1 January - March

Number 2 April - June

Number 3 July - September

Number 4 October - December

Subscription rate

75 baht per annum. Single issue price 20 baht.

Membership

Membership request can be made by letter or by completing the membership form, with the fee paid in the form of a postal order or postal cheque sent to Mrs. Boonkoom Lualon, Managing Staff, Khon Kaen University Post Office, Khon Kaen University, Khon Kaen 40002.

Advisory Committee Dean, Faculty of Science
Associate Dean for Academic Affairs

Editor Manit Kosittrakun

Editorial Board

Chalerm	Ruangviriyachai
Somdej	Kanokmedhakul
Saksit	Chanthai
Bamrung	Somsawasdi
Vittaya	Amornkitbamrung
Pranom	Chantaranothai
Narumon	Sangpradub
Soawanit	Tongpim
Pisit	Chareonsudjai
Tiang	Poomsa-ard
Amnuay	Maneesriwongkul
Boonsup	Waikham

Artists

Kilen	Tinnoraset
Boonsong	Koungsook

Treasurer Boonkoom Lualon

Managing Staff Tassanee Jittakhawee

and Secretary Somsak Unjantee
Sukhon Klinpaka

**All articles published in
KKU Science Journal have been
peer reviewed.**

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

บรรณาธิการ **แถลง**

เรียน ท่านสมาชิกวารสารฯ และท่านผู้อ่านที่รัก

วารสารวิทยาศาสตร์ มข. ปีที่ 32 ฉบับที่ 3 (กรกฎาคม - กันยายน 2547) เป็นวารสารฉบับพิเศษเฉลิมพระเกียรติสมเด็จพระนางเจ้าสิริกิติ์ พระบรมราชินีนาถ เนื่องในโอกาสพระราชพิธีมหามงคลเฉลิมพระชนมพรรษาครบ 6 รอบ กองบรรณาธิการฯ ขอขอบคุณ ดร.วีระชัย ณ นคร ที่ได้จัดส่งบทความเรื่อง “สมเด็จพระนางเจ้าสิริกิติ์ พระบรมราชินีนาถ กับการอนุรักษ์ทุ่งดอกไม้ป่า” มาให้คณะผู้จัดทำวารสารฯ ได้ตีพิมพ์

วารสารฯ ฉบับนี้ประกอบด้วยบทความปริทัศน์ 4 เรื่อง และบทความวิจัย 4 เรื่อง ส่วนใหญ่จะเป็นบทความทางด้านชีววิทยาและเคมี แต่ก็ยังมีบทความทางด้านวิทยาการคอมพิวเตอร์สอดแทรกเข้ามาด้วย

บรรณาธิการ



สมเด็จพระนางเจ้าสิริกิติ์ พระบรมราชินีนาถ กับการอนุรักษ์ทุ่งดอกไม้ป่า

วิรัช ณ นคร¹

นับตั้งแต่สมเด็จพระนางเจ้า ฯ พระบรมราชินีนาถ ทรงราชาภิเษกสมรส เป็นคู่พระบารมีของ สมเด็จพระเจ้าอยู่หัว เมื่อวันที่ 28 เมษายน 2493 ได้โดยเสด็จฯ พระบาทสมเด็จพระเจ้าอยู่หัวไปทรงเยี่ยมราษฎร ทุกหนแห่งทั่วทุกเขตแคว้นแดนไทย เพื่อร่วมทรงงานบำบัดทุกข์ บำรุงสุข ให้กับเหล่าอาณาประชาราษฎร จึงทรงได้รับการถ่ายทอดประสบการณ์ต่างๆจากองค์พระบาท สมเด็จพระเจ้าอยู่หัวโดยตรง ทรงให้ความสนพระทัย ในการยกระดับของประชาชนให้มีความกินดีอยู่ดี ด้วยการส่งเสริมงานด้านศิลปาชีพอย่างจริงจัง จนมีผลสัมฤทธิ์ประจักษ์ เช่นในปัจจุบัน อีกทั้งการที่ได้ทอดพระเนตรธรรมชาติที่หลากหลายอุดมสมบูรณ์ ตลอดจนการเปลี่ยนแปลงที่เสื่อมถอยลงด้วยพื้นที่ป่าที่ถูกทำลายลงจนเกินกำลังธรรมชาติจะฟื้นคืน เกิดน้ำป่าไหลท่วมบ่าในหน้าฝนและความแห้งแล้งจนวิกฤติในหน้าแล้ง จึงทรงมีความเข้าใจอย่างลึกซึ้งถึงสายใยแห่งธรรมชาติ และให้ความสนพระทัยเป็นพิเศษกับการฟื้นฟูป่าต้นน้ำลำธาร สัตว์ป่าและพันธุ์พืช เพื่อให้ธรรมชาติได้ฟื้นคืนสู่ความสมดุลและยังประโยชน์ให้แก่มวลมนุษยชาติดั้งเดิม

ทุกปีในช่วงระหว่างเดือนตุลาคมถึงพฤศจิกายน สมเด็จพระนางเจ้า ฯ จะเสด็จฯ แปร

พระราชฐานไปประทับ ณ พระตำหนักภูพานราชนิเวศน์ จังหวัดสกลนคร เพื่อทรงงานในพื้นที่ภาคอีสาน และภาคตะวันออกเฉียงเหนือตอนบน ในช่วงนี้จะเป็นช่วงปลายฤดูฝนและย่างเข้าสู่ฤดูหนาว พื้นที่ส่วนใหญ่ยังคงความอุดมสมบูรณ์ชุ่มชื้นและเขียวชอุ่ม ด้วยความความสนพระทัยในธรรมชาติ เมื่อใดที่ทรงว่างเว้นจากพระราชภารกิจ จะทรงโปรดเสด็จฯ ไปประทับพักผ่อนพระราชอิริยาบถท่ามกลางธรรมชาติและป่าเขาลำเนาไพร ณ บริเวณลานโล่งพื้นที่ใกล้ ๆ พระตำหนักอยู่เสมอ ได้ทรงสังเกตถึงพรรณไม้น้อยๆ ที่ให้ดอกสวยงามสะพรั่งนานาชนิดที่ขึ้นอยู่ตามลานหินน้ำซับ และมีชนิดหนึ่งให้ดอกสีม่วงเข้มสดใส มีความสวยงามมาก จึงได้ทรงพระราชทานนามเป็นนามมงคลให้ว่า คุสิตา และพื้นที่ลานหินแห่งนั้นซึ่งมีต้นคุสิตาขึ้นอยู่เป็นจำนวนมาก จึงได้มีชื่อเรียกขานว่าลานคุสิตา ในปัจจุบัน

ลักษณะระบบนิเวศของทุ่งดอกไม้ในพื้นที่ภาคอีสานนี้ เป็นลักษณะเฉพาะที่มีความเปราะบางมาก ประกอบไปด้วยพืชล้มลุกขนาดเล็กนานาชนิดขึ้นเบียดเสียดกันค่อนข้างแน่น เมื่อออกดอกพร้อมๆ กัน จึงมีสีสันทากหลายคล้ายพรมหลากสี พืชชนิดที่ขึ้นในพื้นที่นี้จะมีความโดดเด่นต่างจากพืชอื่นโดยทั่วไป ในหน้าแล้งพื้นที่โล่งในทุ่งซึ่งมีพื้นล่างเป็นหินทราย

¹ สวนพฤกษศาสตร์สมเด็จพระนางเจ้าสิริกิติ์ อ.แม่ริม จ.เชียงใหม่ 50180

จะอุ้มความร้อนไว้ได้ดี จึงมีความร้อนกว่าพื้นที่ในป่าที่มีร่มเงา ดังนั้นพันธุ์ไม้เล็กๆเหล่านี้จะแห้งตายไป คงเหลือแต่เมล็ดขนาดเล็กจำนวนมากที่คงหล่นฝังอยู่ในพื้นที่และหากไม่มีผลกระทบจากไฟป่าแล้ว ในหน้าฝนเมื่อพื้นที่ชุ่มชื้นดั้งเดิมเหล่านี้พืชน้อยในที่องทุ่งแห่งนี้ก็จะฟื้นคืนสะพรั่งเป็นวัฏจักรของธรรมชาติที่กลับสวยงามขึ้นอีกครั้ง

สมเด็จพระนางเจ้าฯ ทรงโปรดที่จะพักผ่อนพระอริยาบถ เมื่อว่างเว้นจากการทรงงาน ด้วยการชื่นชมกับธรรมชาติ ป่าเขา ลำเนาไพรพสกนิกร และพันธุ์ไม้ป่าต่างๆ เพื่อหาแนวทางในการอนุรักษ์และฟื้นฟูทรัพยากรธรรมชาติเหล่านั้น ทุ่งดอกไม้จัดเป็นทรัพยากรธรรมชาติประเภทหนึ่ง และเป็นเอกลักษณ์มรดกทางธรรมชาติของประเทศ ที่ควรค่าแก่การอนุรักษ์และแหวนหวง ดังนั้นยามใดที่ว่างเว้นจากการทรงงานก็โปรดที่จะเสด็จฯ ไปพักผ่อนพระอริยาบถเยี่ยมชมทุ่งดอกไม้ ซึ่งในภาคตะวันออกเฉียงเหนือตอนบน จะมีทุ่งดอกไม้ใหญ่อยู่แห่งหนึ่ง มีขนาดประมาณถึง 200 ไร่ คือทุ่งดอกไม้ผาแต้ม ในบริเวณอุทยานแห่งชาติผาแต้ม จังหวัดอุบลราชธานี ที่จะโปรดเสด็จฯ ไปทอดพระเนตรทุกปี เมื่อพระองค์ทรงทอดพระเนตรเห็นพันธุ์ไม้แปลก ๆ ที่สวยงามก็จะทรงยิ่งเพิ่มความสนพระราชหฤทัย จะซักถามนักพฤกษศาสตร์ ถึงชนิดพันธุ์ ลักษณะเด่นและความสำคัญของระบบนิเวศ ฯลฯ เพื่อหาแนวทางอนุรักษ์พันธุ์ไม้น้อยในทุ่งดอกไม้เหล่านี้ ให้คงอยู่ตอกทอดถึงอนุชนรุ่นหลังให้ได้เห็นกันสืบไป

พืชน้อยที่ขึ้นอยู่ในพื้นที่ทุ่งดอกไม้เหล่านี้ส่วนใหญ่เกือบทั้งหมดเป็นพืชล้มลุกขนาดเล็กมีอายุปีเดียว เมื่อออกดอกและติดผลแล้วก็จะตายไป เมล็ดจะได้รับการพักตัวในหน้าแล้งช่วงหนึ่งและจะเจริญงอกงามขึ้นดั้งเดิมในฤดูฝนหน้าต่อไป หมุนเวียนอยู่ดังนี้มาช้านาน โดยจะขึ้นอยู่รวมๆ กันเป็นกลุ่มอย่างหนาแน่น ตามบริเวณที่มีพื้นดินที่จะขึ้นยังยึดได้กลายเป็นผืนพรมขนาดใหญ่ ชนิดที่เป็นพืชเด่นส่วนใหญ่จะเป็นพวกพืชกินแมลงในวงศ์สาหร่ายข้าว

เหนียว (Lentibulariaceae) ที่สามารถดักจับแมลงเล็กๆ แล้วย่อยสลายเพื่อเพิ่มธาตุอาหารในโตรเจนให้ตัวเองได้ ดอกไม้น้อยในทุ่งดอกไม้ผาแต้มนี้มี 5 ชนิดที่ได้รับพระราชทานนามไว้ให้ด้วยความไพเราะและสมกับพันธุ์ไม้แต่ละชนิดเป็นอย่างยิ่ง ได้แก่ สรัสจันทระ ทิพเกสร มณีเทวา สร้อยสุวรรณ และดุสิตา นอกจากนี้แล้ว ในทุ่งดอกไม้ ยังมีพันธุ์ไม้ที่สวยงามโดดเด่นขึ้นอยู่อีกหลายชนิด อาทิ หยาดน้ำค้าง จอกบว้าย มณีเทวา กระดุมเงิน กุญ หย้าบัว หย้ารากหอม หย้าหงอนเหืองอก หนวดปลาชุก และเอนอ้าน้อย ฯลฯ

สรัสจันทระ *Burmannia coelestris* D. Don.

วงศ์ BURMANNIACEAE

ไม้ล้มลุกขนาดเล็ก สูง 10-30 ซม. ขึ้นอยู่ตามพื้นที่บริเวณทุ่งหญ้าเปิดที่ชุ่มชื้น ลำต้น เล็กเรียบบอบบาง ใบ เดี่ยว สีเขียวชดชวยาวประมาณ 1-1.5 ซม. ออกเป็นกระจุกที่โคนต้นตามข้อส่วนบนของลำต้นมีใบเกล็ด 2-3 ใบ ดอก สีฟ้าครามสดใสมิ 2-3 ดอกติดอยู่ที่ส่วนปลายช่อดอก ผล ขนาดเล็กมากเป็นชนิดผลแห้งและไม่แตกเมื่อแก่จัด



ทิพเกสร *Utricularia minutissima* Vahl.

วงศ์ LENTIBULARIACEAE

พืชกินแมลง สูง 5-20 ซม. มีลำต้นขนาดเล็กมากอยู่ใต้ดิน ขึ้นอยู่ตามบริเวณที่เปียกและชุ่มชื้น ใบ มีทั้งใบเดี่ยวและที่เปลี่ยนเป็นถุงสำหรับดักจับแมลงน้ำขนาดเล็กเป็นอาหาร ดอก สีชมพูแกมม่วงอ่อนแทงช่อออกจากต้นใต้ดิน ช่อดอกสูงประมาณ 5-20 ซม. มีดอกย่อย 3-10 ดอก ออกเรียงสลับขนาดประมาณ 6-10 มม. กลีบดอกล่าง แฉกแยกออกเป็น 2 ปาก ผล เป็นผลแห้งเมื่อแก่จะแตกออกได้



มณีเทวา *Eriocaulon smitinandii* Moldenke.

วงศ์ ERIOCAULACEAE

ไม้ล้มลุก ขึ้นเป็นกอลักษณะคล้ายหญ้าขนาดเล็ก สูง 8-20 ซม. ขึ้นอยู่ตามบริเวณที่ชุ่มชื้นในลานหิน ใบ เดี่ยวเรียวยาวแหลม เรียงเวียนเป็นวงที่โคนต้น ดอก สีขาวนวล ช่อดอกแทงออกจากซอกใบสูงได้ถึง 30 ซม. ดอกย่อยขนาดเล็กเรียงอัดกันแน่น เป็นหัวค่อนข้างกลมที่ปลายช่อ ผล เป็นผลแห้งชนิดไม่แตก เมื่อแก่จัด



สร้อยสุวรรณา *Utricularia bifida* Linn.

วงศ์ LENTIBULARIACEAE

พืชกินแมลง สูง 5-20 ซม. ลำต้นขนาดเล็กมากอยู่ใต้ดิน ขึ้นอยู่ตามบริเวณที่เปียก ในที่ชุ่มชื้น ใบ เปลี่ยนเป็นถุงสำหรับ ดักจับแมลงน้ำขนาดเล็กกินเป็นอาหาร ดอก สีเหลืองอร่าม แทงช่อออกจากโคนกอ ช่อดอกสูงได้ถึง 20 ซม. มี 3-10 ดอกย่อยขนาด 6-10 มม. ออกเรียงสลับ กลีบดอกแยกออกเป็น 2 ปาก ผล เป็นผลแห้งชนิดแตกได้เมื่อแก่



ดุสิตา *Utricularia delphiniioides* Thor. ex Pell.

วงศ์ LENTIBULARIACEAE

พืชกินแมลง สูง 8-20 ซม. ลำต้นเล็กมากอยู่ใต้ดิน ขึ้นอยู่ตามบริเวณที่เปียกและชุ่มชื้น ใบ มีทั้งเป็นใบเดี่ยว และใบที่เปลี่ยนเป็นถุงสำหรับดักจับแมลงน้ำขนาดเล็กเป็นอาหาร ดอก สีม่วงเข้มสดใส แทงช่อออกจากโคนกอ ช่อดอกสูงประมาณ 5-20 ซม. มีดอกย่อย 3-10 ดอก ขนาดประมาณ 6-10 มม. ออกเรียงสลับกัน กลีบดอกล่างแฉกแยก ออกเป็น 2 ปาก ผล เป็นผลแห้งชนิดแตกเมื่อแก่



หากได้มีการวิเคราะห์กันโดยต่อเนื่องแล้ว ก็จะพบว่าระบบนิเวศส่วนใหญ่ของสังคมพืช ทุ่งดอกไม้ป่าในภาคตะวันออกเฉียงเหนือใกล้เสื่อมสภาพลงหมดแล้ว ด้วยสิ่งแวดล้อมที่เปลี่ยนไป ด้วยอากาศที่แห้งแล้งและร้อนมากขึ้น โดยเฉพาะไฟป่า ซึ่งหากเกิดขึ้นแล้วพื้นที่ทุ่งดอกไม้อันมีหน้าดินเป็นชั้น บางอยู่เพียงเล็กน้อยและเต็มไปด้วยเมล็ดพันธุ์ไม้ ต่างๆ ที่สะสมต่อเนื่อง กันมา ก็จะเสื่อมสลายไป จึงเป็นเรื่องที่น่าวิตกเป็นอย่างยิ่ง

ด้วยสายพระเนตรอันยาวไกล และ พระอัจฉริยภาพอันสูงส่งในองค์สมเด็จพระนางเจ้าฯ พระบรมราชินีนาถ ที่ทรงมีความเข้าใจอย่างลึกซึ้ง ถึงความสัมพันธ์ที่เกี่ยวเนื่องและการดำรงอยู่ที่เกื้อกูล

กันของสรรพสิ่งในธรรมชาติที่อยู่ร่วมเสริมกัน จึงทรงตระหนักว่าทุ่งดอกไม้ป่ากำลังจะสูญสิ้นและ ควรจะต้องมีการอนุรักษ์ให้พื้นดินเป็นพิเศษอย่าง เร่งด่วน จึงทรงเป็นองค์นำจุดประกายความสนใจ ให้เกิดขึ้นในกลุ่มนักวิชาการและเจ้าหน้าที่ที่เกี่ยวข้อง ทำให้เกิดกระแสตื่นตัวในการอนุรักษ์ ทำให้ทุ่ง พรหมไม้ป่าเหล่านี้ได้รับการดูแลทั้งระบบ มีการ ขยายพันธุ์ และจัดการอย่างเหมาะสม และยั่งยืน เพื่อให้แน่ใจได้ว่าทุ่งดอกไม้ป่าเหล่านี้ยังคงอยู่ เป็น สถานที่สำหรับให้คนรุ่นหลังได้ชื่นชมในคุณค่า และความงามของดอกไม้อันเหล่านี้ตลอดไป นับเป็น พระมหากรุณาธิคุณอย่างหาที่สุดมิได้อีกประการหนึ่ง ที่ได้ทรงพระราชทานไว้ให้กับประชาชนชาวไทย

ทุ่งดอกไม้ผาแต้ม

ณ ลานโล่ง กลางป่า ทุ่งผาแต้ม
หลากหลายสี รังสรรค์ขึ้น ชื่นอุรา

สร้อยจันทร์ อ่อนช้อย ลอยล่องฟ้า
ลมโชยมา หนาวเหน็บ เจ็บแปลบใจ
ทิพย์เกสร โอนอ่อนไหว ยามใกล้ค่ำ
ให้ลุ่มหลง วาบหวน งามตรึงตา
มณีเทวา พาชั้น ระรื่นจิต
ดุจเมฆหมอก พรารยับ กระทบใจ
สร้อยสุวรรณ เหลืองอร่าม งามทั่วทุ่ง
เป็นริ้วทอง เรืองรอง ผ่องอารมณ์
ดุสิตา ดุจเทวา มานิรมิต
ให้สุขกาย สุขใจ เมื่อได้ยล

เทพสร้างพรหม ผืนใหญ่ ใต้แผ่นฟ้า
แม่หลับตา ยังหวานซึ้ง ตรึงฤทัย
ทุ่งดอกไม้อันแห่งนี้ ต้องพิทักษ์
เมื่อเที่ยวชม ต้องไม่ย่ำ ข้ำเหล็กกราดู

ผกาแซม แยมสะพรั่ง ทิวทั้งป่า
ดั่งมนตรา ไม่อยาก จะจากไกล

สีเย็นตา ฟ้าคราม งามสดใส
ทุกข์หายคลาย เมื่อได้ชม สมจินดา
สวยเด่นล้ำ ชมพูนุจ ดุจหยาดฟ้า
สวยเกินกว่า ธรรมชาติ ได้วาดไว้
เทพประดิษฐ์ นวลผ่อง ยองโยไส
คล้ายอยู่ใน เมฆา นภาภิรมย์
จรัสรุ่ง ตระการตา พาสุขสม
สุขสมครา สนธยา ใกล้สายัณห์
ได้เพ่งพิศ ม่วงสดใส พาใจฉงน
สวยเสียจน ท่วมท้น สิ้นหัวใจ

หลากหลาย ละลานตา พาหลงไหล
เหมือนอยู่ใน แดนแคว้น แดนวิมาน
ช่วยปกป้อง รักษาไว้ ให้ลูกหลาน
ขอวิมาน นี้อยู่ คู่ปฐพี

จากการตามเสด็จฯ ทุ่งดอกไม้ผาแต้ม ตุลาคม 2525

นายวิระชัย ณ นคร ประพันธ์

Polyketones : Alkene–Carbon Monoxide Copolymers

Paveena Khansawai¹

Introduction

Polyketones are linear copolymers of alkene and carbon monoxide. The first example was reported in 1964 by Mortenson, who prepared random ethene-carbon monoxide and ethene-propene-carbon monoxide copolymers using diethyl peroxide as an initiator. Later, the free radical initiated copolymerisation was described in 1950 by Brubaker using a variety of alkenes such as ethene, propene, 1,3-butadiene, tetrafluoroethylene and vinyl acetate as co-monomers. Since then considerable interest in polyketones has developed for several reasons. Firstly, carbon monoxide is an inexpensive monomer which cannot usually be polymerised to a homopolymer, but can be copolymerised with alkenes. Secondly, polyketones are more photodegradable than the corresponding polyalkenes because the carbonyl groups in the polymer backbone can absorb ultraviolet light and induce scission of the polymer chain. Thirdly, their excellent chemical resistance, physical, mechanical and barrier properties place them in the broad class of materials known as 'engineering thermoplastics' which are widely used in industrial, automotive, appliance and electrical applications. Finally, the reactive carbonyl groups provide the opportunity for modification thus affording access to other classes of functionalised polymers.

Perfectly alternating polyketones of carbon monoxide, ethene and propene have recently been put on the market by Shell under the trade name of Carilon. Also, BP Chemicals is manufacturing polyketones on a pilot-plant scale.

Polyketone Formation

Polyketones can be produced by using free radical initiators, γ -rays or transition metal compounds. The structure of the resulting polymer depends on the method employed. They can be divided into two broad groups: random polyketones containing less than 50 mol% of carbon monoxide (Figure 1) ($x < 0.5$, $y > 0.5$) and alternating polyketones containing 50 mol% of each monomer ($x = y = 0.5$). Early work in this area mainly involved the random copolymers, while in the last 20 years more attention has been paid to the synthesis, properties and reactions of the alternating copolymers.

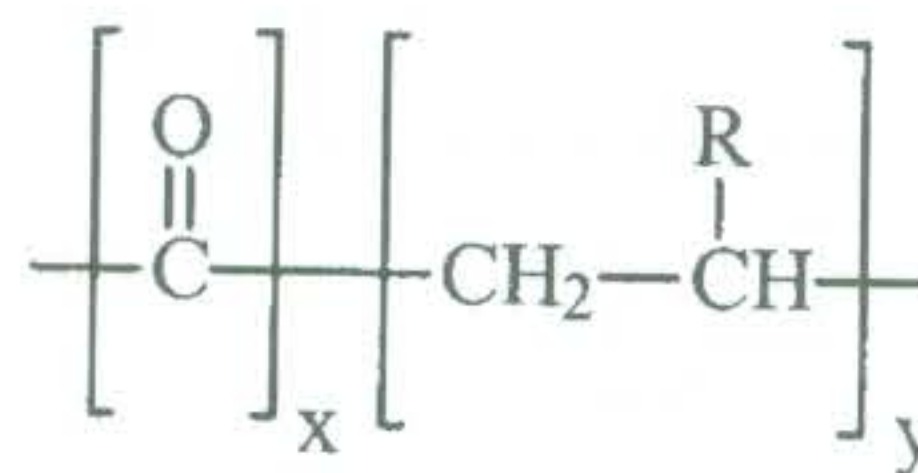


Figure 1 Structure of alkene-carbon monoxide copolymers

¹ Department of Chemistry, Faculty of Science, Khon Kaen University, Khon Kaen 40002

Random alkene-carbon monoxide copolymers

Random polyketones, having a carbon monoxide content less than 50 mol%, have been obtained mainly via free radical polymerisation or, occasionally, initiated by γ -ray irradiation. The process can be carried out in bulk or in an inert solvent such as benzene, cyclohexane or other aliphatic hydrocarbons.

The first random polyketone was prepared by free radical copolymerisation of alkenes (ethene and propene) with carbon monoxide (Mortenson, 1946). In a subsequent paper by Brubaker (1950) a variety of alkenes such as ethene, propene, 1,3-butadiene, vinyl monomers ($\text{CH}_2=\text{CHR}$; $\text{R} = \text{Cl}$, OAc , CN) and tetrafluoroethylene were used. In addition, terpolymers of carbon monoxide, ethene and a second alkene such as propene, isobutylene, butadiene, tetrafluoroethylene and vinyl acetate were also prepared (Figure 2). Various peroxides, hydroperoxides and even oxygen have been used as initiators. In a subsequent paper, Brubaker et al. (1952) described in detail their procedure for the free radical polymerisation of carbon monoxide and ethene. The polymerisations were carried out under high pressure (103 MPa) and at high temperature (120-165°C) using di(*tert*-butyl) peroxide as a typical initiator. Random polyketones with molecular weights of up to 8000 were obtained. The molecular weight and the percentage of carbon monoxide in the copolymer were found to depend on the temperature and pressure used and on the composition of reaction mixture. The carbon monoxide content in the polyketone increased with increasing total pressure and concentration of carbon monoxide in the reaction mixture, but decreased with increasing temperature. By increasing partial pressures, carbon monoxide incorporation

approached the limiting value of 50%. However, in all cases the resultant polyketones had random structures with the carbon monoxide content being always less than 50%.

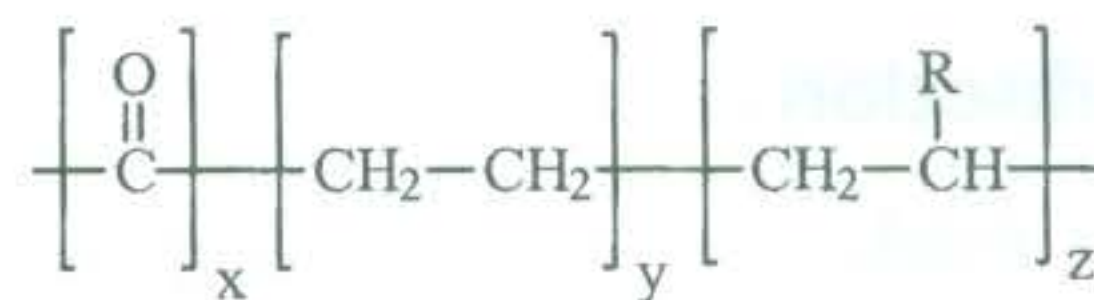


Figure 2 Structure of alkene-carbon monoxide terpolymers

γ -Rays induced copolymerisation of carbon monoxide with ethene was first reported in the 1960s (Colombo et al., 1966; Russo and Murani, 1967). The procedure is similar to that using free radical initiators, but can be carried out at lower temperature (20°C rather than 120-165°C). A copolymer product containing 41 mol% of carbon monoxide with a molecular weight of greater than 20000 was observed.

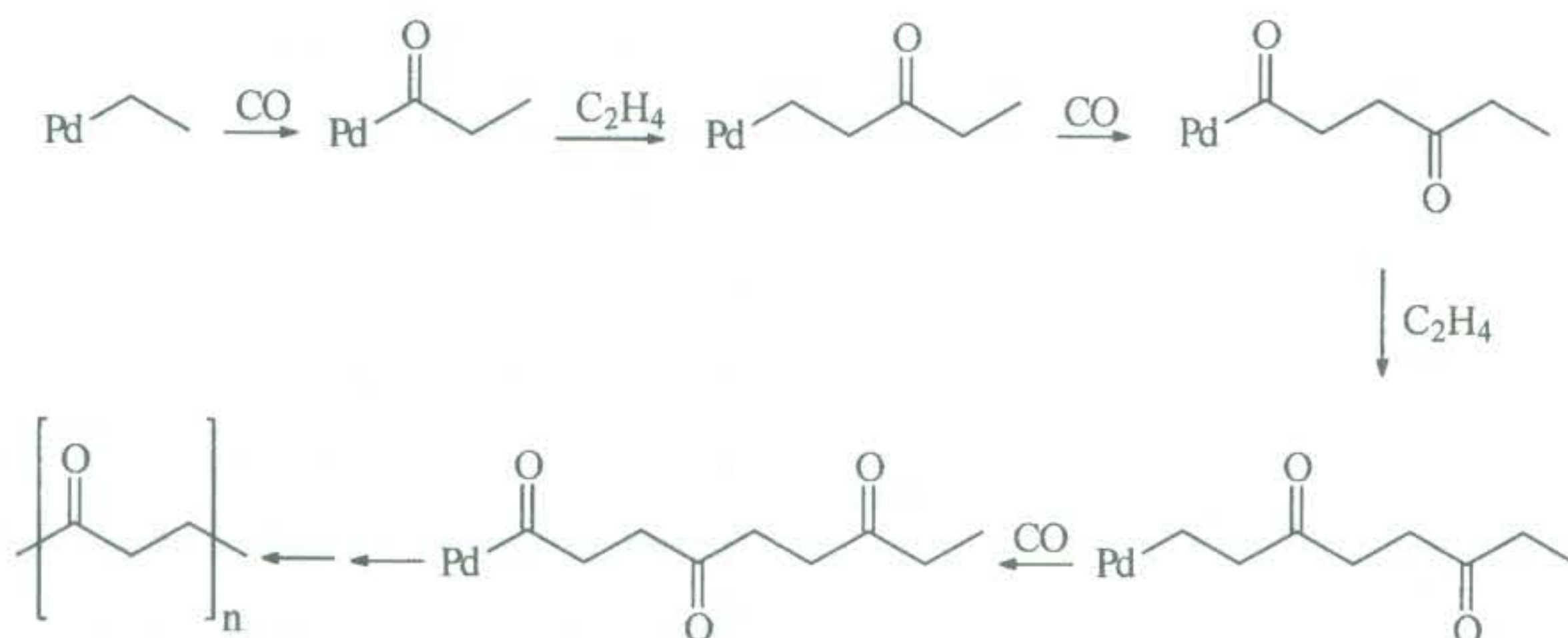
Alternating alkene-carbon monoxide copolymers

The first example of an ethene-carbon monoxide alternating copolymer was reported in 1951 by Reppe and Magin, who used a nickel(II) catalyst in water at 100-200°C and 200 atm. In the 1970s, a number of group VIII transition metal compounds were found to catalyse the copolymerisation of alkenes and carbon monoxide. The original transition metal catalyst systems employed either Ni(II) and Pd(II) cyanides, i.e. $\text{Ni}(\text{CN})_2$, $[\text{Ni}(\text{CN})_4]^{2-}$ /acid (acid = $\text{CF}_3\text{CO}_2\text{H}$, $p\text{-CH}_3\text{C}_6\text{H}_4\text{SO}_3\text{H}$) (Fenton, 1970), $\text{Pd}(\text{CN})_2$ (Fenton, 1978), $\text{Pd}(\text{CN})_2/\text{RCO}_2\text{H}$ ($\text{R} = \text{CHCl}_2$, CH_2Cl , CF_3), $\text{HPd}(\text{CN})_3$ (Nozaki, 1975), or neutral tertiary phosphine complexes of Pd(II) such as $\text{Pd}(\text{PPh}_3)_4$ and $(\text{PPh}_3)_2\text{PdCl}_2$ (Nozaki, 1972).

These catalysts were effective at 100-140 °C and pressures of 5.5-12.4 MPa.

Sen and Lai (1982, 1984) showed that the copolymerisation can be carried out under mild conditions (25 °C and pressure as low as 2 MPa) in non-coordinating solvents such as chloroform and dichloromethane using a series of cationic Pd(II) catalysts, $[\text{Pd}(\text{PPh}_3)_n(\text{CH}_3\text{CN})_{4-n}](\text{BF}_4)_2$ ($n = 1-3$). The resultant polyketones were high melting solids ($>200^\circ\text{C}$) and have a perfectly alternating structure.

The mechanism proposed by Lai and Sen (1984) for the copolymerisation of alkene and carbon monoxide is shown in Scheme 1. It involves the alternate insertions of the alkene and carbon monoxide into a palladium-carbon bond. In the proposed mechanism, the insertion of carbon monoxide into the palladium-alkyl bond is favoured over the insertion of alkene, due to the higher binding ability of carbon monoxide. On the other hand, the insertion of carbon monoxide into palladium-acyl bond has never been observed and insertion of the alkene is favoured.



Scheme 1 Mechanism for the copolymerisation of ethene with carbon monoxide

A great advance in the application of Group VIII-transition metal catalyst systems for the production of perfectly alternating copolymers of carbon monoxide with alkenes was accomplished in the 1980s when Drent (1985) and van Broekhoven (van Broekhoven and Drent, 1987; van Broekhoven et al. 1988) at Shell discovered that the replacement of monodentate ligands by a bidentate ligand, together with the presence of a strong acid, resulted in a significant rate enhancement. The new catalysis systems consist of three components: (1) a palladium salt of a carboxylic acid such as $\text{Pd}(\text{OAc})_2$, (2) a bidentate ligand, $\text{R}^1\text{R}^2\text{MZMR}^3\text{R}^4$ where $\text{M} = \text{P}$,

As or Sb, Z is a divalent organic group containing $\geq 2\text{C}$ in the bridge and $\text{R}^1\text{-R}^4$ are hydrocarbon groups, e.g. $\text{PPh}_3(\text{CH}_2)_3\text{PPh}_3$, and $\text{PPh}_2(\text{CH}_2)_3\text{PPh}_2$, (3) an anion of an organic acid with $\text{pK}_a < 2$, e.g. $p\text{-CH}_3\text{C}_6\text{H}_4\text{SO}_3\text{H}$ and $\text{CF}_3\text{CO}_2\text{H}$. The use of chelating bidentate ligands, especially 1,3-bis(diphenylphosphino)propane accounts for the high copolymerisation rates and long catalytic life times (Drent et al., 1991). A standard high productivity catalyst is typically formed *in situ* by the reaction of Pd(II) salts, i.e. $[\text{Pd}(\text{OAc})_2]$, with a bidentate phosphorus chelating ligand, in the presence of a strong nonhydrohalogenic acid, i.e. *p*-toluenesulfonic

acid or trifluoroacetic acid. The active complexes of such catalysts are bidentate palladium complexes with phosphorus ligands which are believed to have a structure as shown in Figure 3 (Sommazzi and Garbassi, 1997). Buijsingh and Lindhout at Shell (1993) also reported a similar catalysis system, Pd acetate/1,3-bis[bis(2-methoxyphenyl)phosphino]propane/trifluoroacetic acid, for polymerisation of carbon monoxide with ethene.

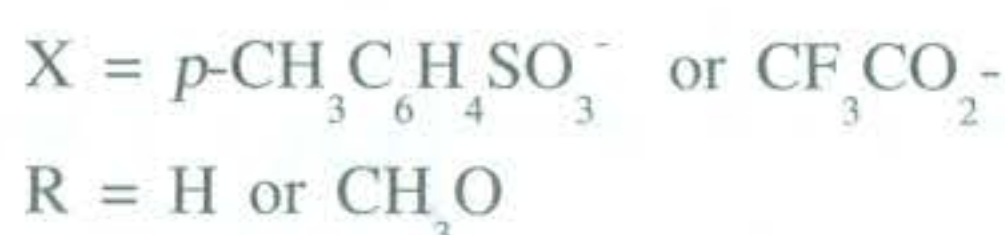
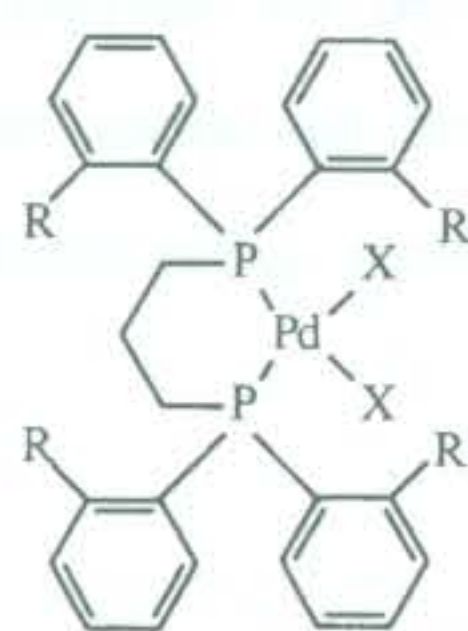


Figure 3 Structure of high productivity Shell type catalyst

In a recent paper, Koid and Barron (1996) reported that the alternating polyketones could be produced under mild conditions (60°C, 100-400 psi) using either (dppp)Pd(OAc)₂ or (dppp)Pd[CO^tBu]Cl in the presence of the *tert*-butyl alumoxane [(*t*-Bu)AlO]₆ as a co-catalyst, [dppp = 1,3-bis(diphenylphosphino)propane]. Terpolymers, [RCHCH₂CO]_m[CH₂CH₂CO]_n, were also prepared using 1-octene or 4-phenyl-1-butene in addition to ethene and carbon monoxide. The maximum level of incorporation of a second olefin is m:n = 1:24 (~4%) and this was attributed to the steric hindrance of the substituted olefin.

Properties and Applications of Polyketones

Polyketones are new thermoplastic materials with interesting properties. Among these are a strong rigidity, high impact strength, good chemical resistance to acids, bases and solvents, as well as high resistance and stability against electrolytic corrosion. Polyketones are therefore considered to be superior in some respects to polyolefins, polyamides and polyacetals (Sommazzi and Garbassi, 1997; Ash, 1995).

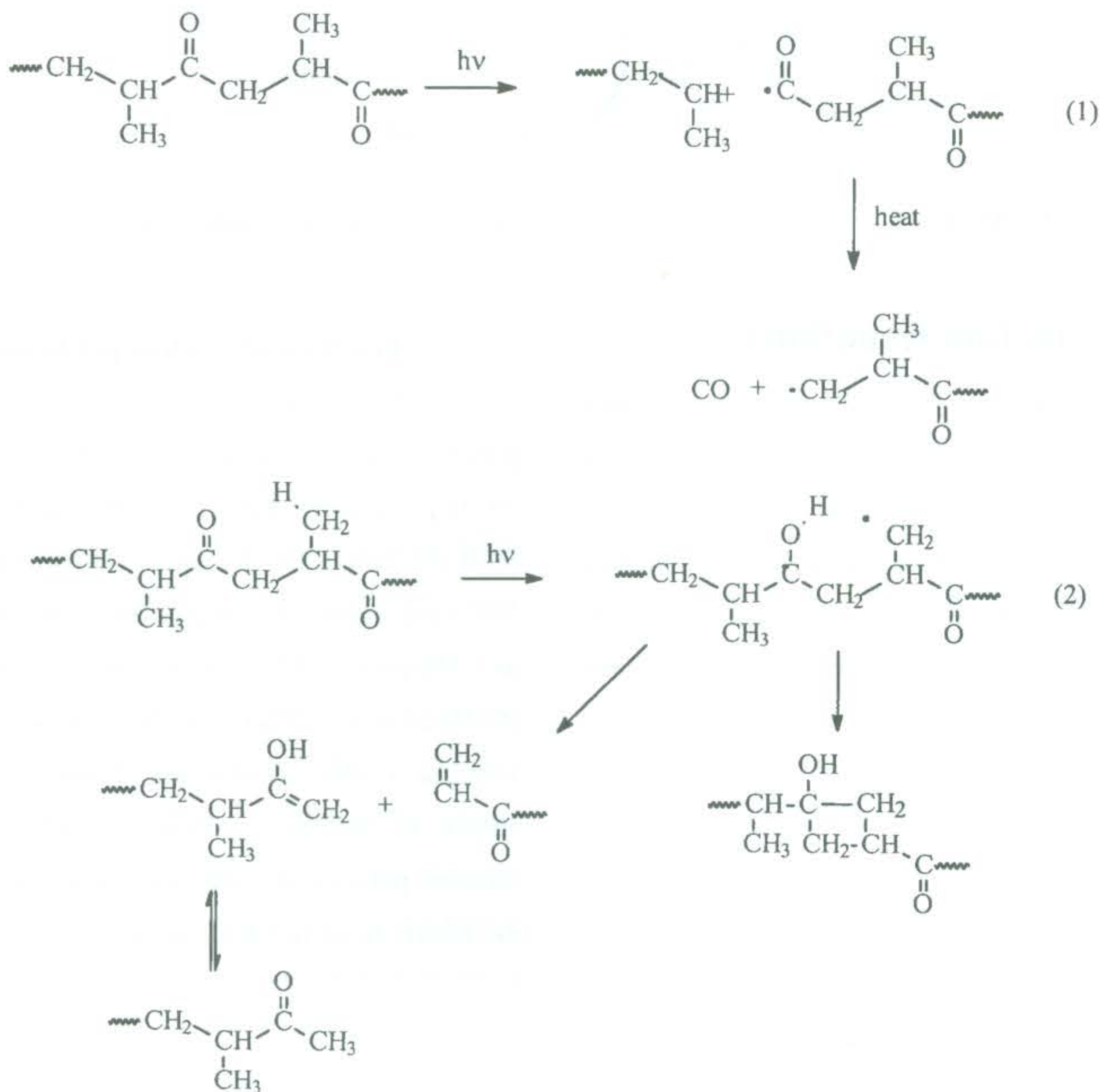
The chemical resistance of polyketones can be attributed to their low solubility in many common organic solvents because of their high crystallinity. They are only soluble in solvents having high polarity and acidity like *m*-cresol, *o*-chlorophenol, hexafluoroisopropanol, and in strong acids such as trifluoroacetic acid. Their excellent barrier properties to hydrocarbons and gases make them attractive for applications which require combined chemical resistance and low permeability, together with high mechanical resilience and abrasion resistance.

Polyketones also have potential in food-packaging applications and are reported to satisfy food-preservation requirements. Their high impact resistance, dimensional stability under heating, compatibility with other polymers used in food packaging, e.g. nylon, polycarbonate, ethylene-vinyl alcohol copolymers, and the barrier properties are similar to those of poly(ethylene terephthalate) (PET), which is widely used for manufacturing bottles for mineral water and carbonated drinks. Their high melting temperature (E-CO copolymer $T_m = 250^\circ\text{C}$) may also lead to

applications in the automotive industry, e.g. parts of vehicles that are in permanent or temporary contact with fuel above room temperature.

Polyketones are more photodegradable than the corresponding polyalkenes because the carbonyl groups in the polymer backbone can absorb ultraviolet light and induce scission of the polymer chain by Norrish type I (1) and type II (2) processes (Scheme 2) (Xu and Chein, 1993; Kuzina et al., 2000). Photolysis of polyketones is reported to result in weight loss, crosslinking and the formation of hydroxide and terminal vinyl groups. At room

temperature, chain cleavage can be induced by UV radiation and follows Norrish type II process with the formation of methyl and vinyl end groups. Since the Norrish type II reaction requires the presence of γ -hydrogens, the alternating polyketones which lack these hydrogens, e.g. ethene-carbon monoxide alternating copolymers, are substantially more stable towards photolysis at room temperature. At elevated temperature, the acyl radicals formed in the reaction (1) are expected to decarbonylate with evolution of carbon monoxide.



Scheme 2 Norrish type I (1) and type II (2) processes

Polyketones, both random and alternating, have two reactive sites, i.e. the α -methylene and carbonyl groups (Figure 4). However, the alternating polyketone has two significant attractions over the random polyketone. Since carbon monoxide cannot be homopolymerised, the alternating polyketone comprises the highest

possible concentration of carbonyl groups in the polymer backbone. Additionally, the carbonyl groups in the alternating polyketones can either react as 1,4-dione units or as isolated ketone groups. In particular, the regular 1,4-dione unit in the alternating polyketone can lead to incorporation of heterocyclic components in the polymer backbone.

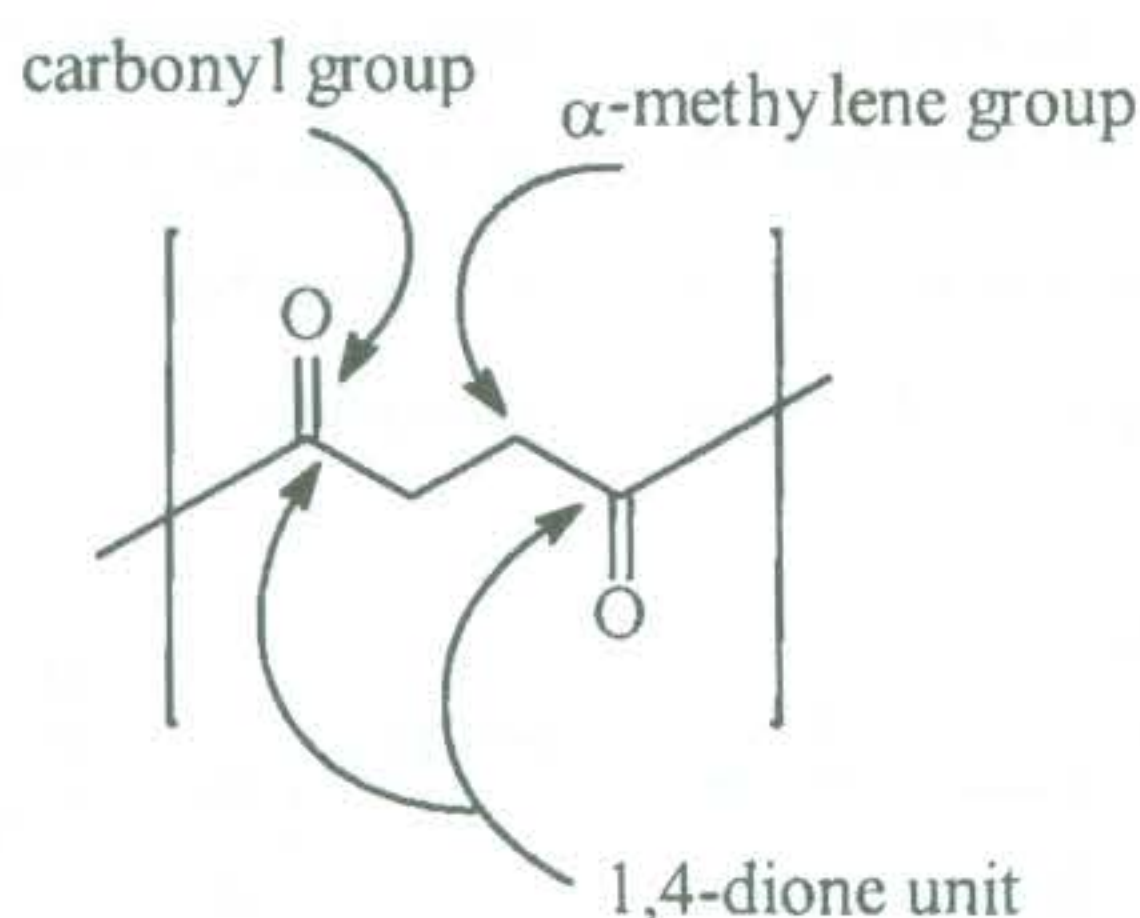


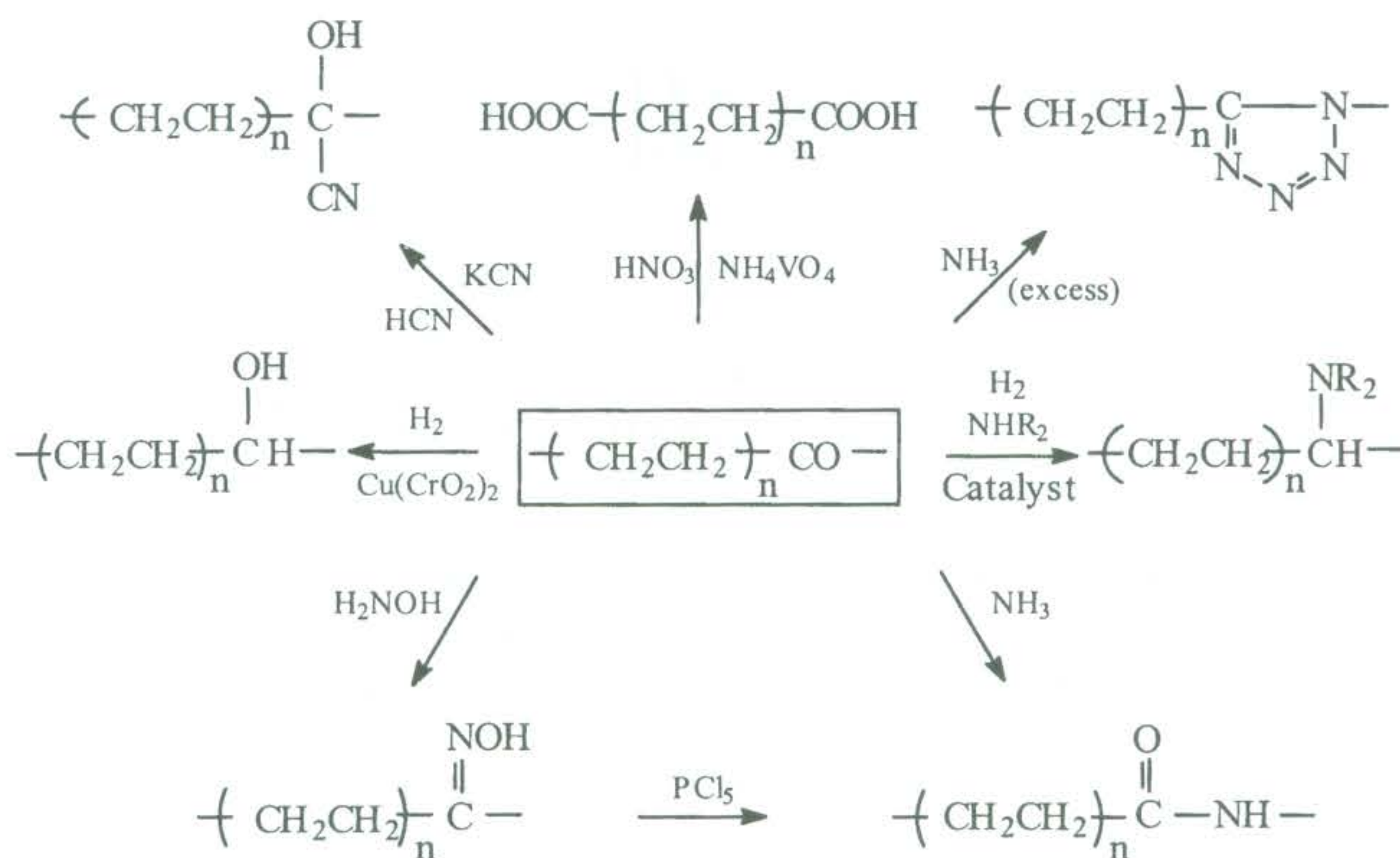
Figure 4. The reactive sites of alternating ethene-carbon monoxide copolymer

Derivatisation Reactions

Because of the reactive carbonyl groups, the polyketones, both random and alternating polyketones, provide excellent starting materials for preparation of other types of functionalised polymers. Historically, early work concentrated on random polyketones, but recently there has been a particular interest in alternating polyketones.

Reactions of random polyketones

More than twenty types of functionalised polymers such as polyalcohol (1) (Morishima et al., 1973), polycyanohydrin (2), polyethylene dicarboxylic acids (3), polyoxime derivative (4) (Brubaker et al., 1952), polyamides (5), tetrazole derivatives (6) (Michel and Murphey, 1961) and poly(primary amine) (7) (Coffman et al., 1954). have been produced starting with the random polyketones. Some of these are shown in Scheme 3. Typical reactions of the random polyketones are associated mainly with the reactivity of isolated carbonyl groups.



Scheme 3 Some reactions of random polyketones

Reactions of alternating polyketones

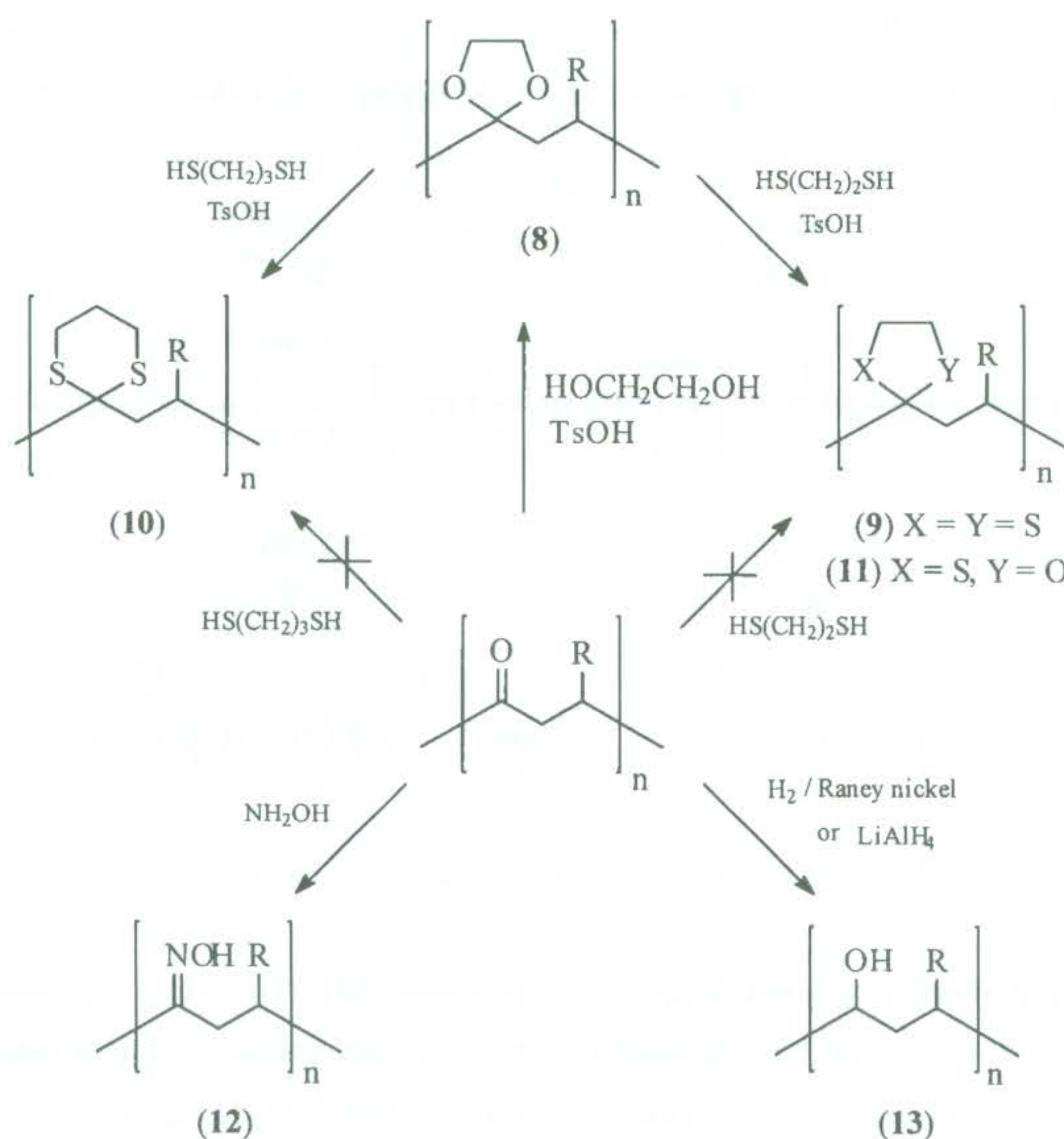
The carbonyl groups in the alternating polyketones can react as isolated carbonyl groups, 1,4-dione units and 1,4,7-trione units. Examples of such reactions are outlined below and in Schemes 4 and 5.

Reactions of the isolated carbonyl groups

Polydioxolane derivatives (8) have been prepared by acid catalysed condensation of alternating ethene-carbon monoxide copolymer (E-CO) and ethene-propene-carbon monoxide terpolymer (EP-CO) with 1,2-diols (Green et al., 1994). These polydioxolane derivatives have also been used as starting materials for preparing dithiolane-, dithiane- and oxathiolane-containing

polymers [(9), (10), (11)] via transketalisation by reacting with ethane-1,2-dithiol, propane-1,3-dithiol and 2-sulfanylethanol, respectively. Because direct condensation of the alternating E-CO copolymer with 1,2-dithiol and 1,3-dithiol is unsatisfactory and the resultant polymers are insoluble, this is attributed to crosslinking.

Polyketoximes (12) have been prepared by oximation of the alternating E-CO and EP-CO copolymers with hydroxylamine under neutral conditions (Lu et al., 1996). The reaction occurred exclusively at the individual carbonyl groups and the resultant polymers exhibited a high conversion of the carbonyl groups to ketoximes. These polyketoximes showed much improved solubility and moderate thermal stability.

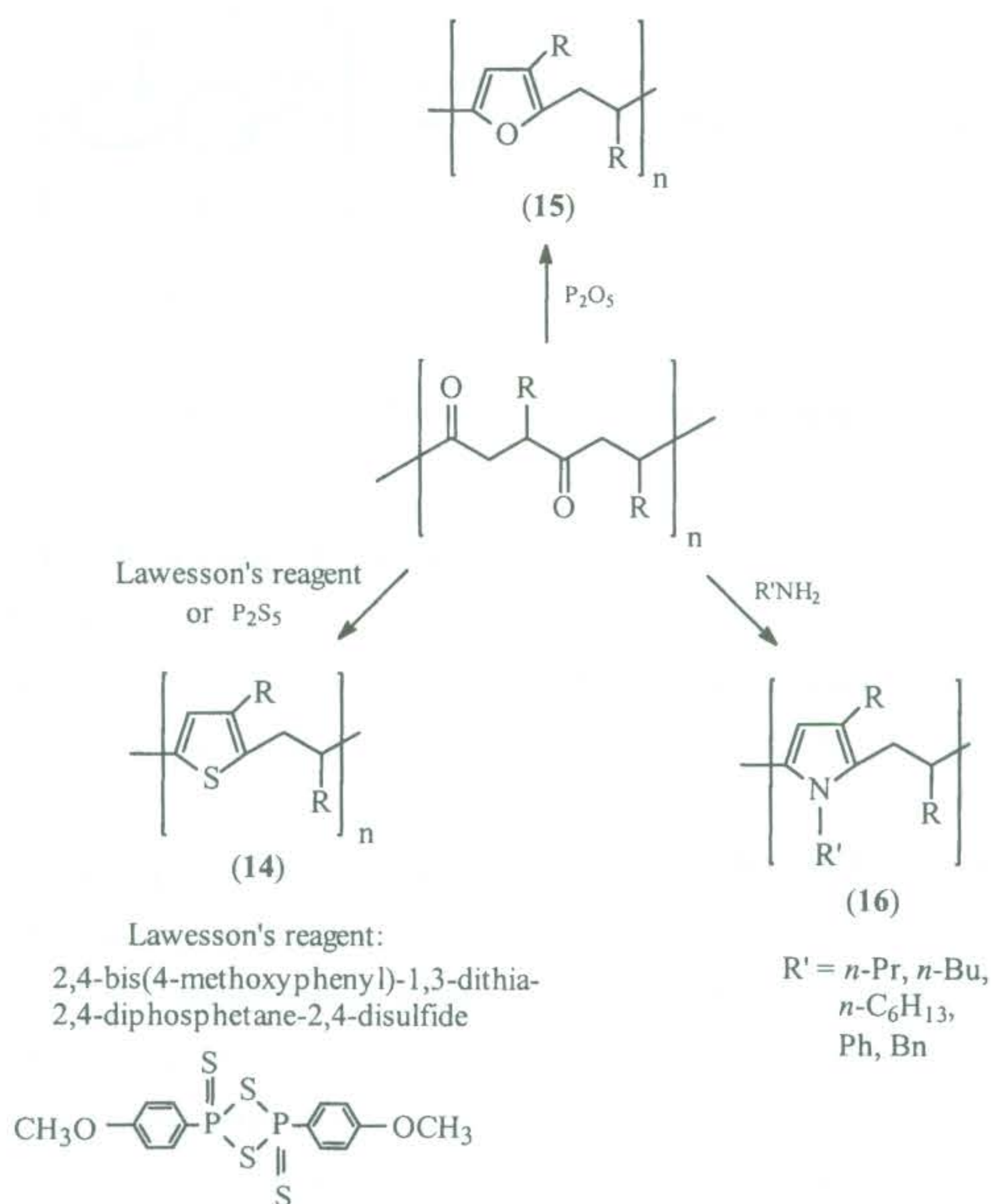


Scheme 4 Some reactions of the isolated carbonyl groups

Polyalcohol derivatives (**13**) have been prepared from the alternating E-CO and P-CO copolymers by catalytic hydrogenation with Raney nickel catalyst or reduction with a metal hydride (XYH_4 where $\text{X} = \text{Li}, \text{Na}$ or K and $\text{Y} = \text{Al}$ or B) (Wong et al., 1989; Lommerts and Sikkema, 2000). The catalytic hydrogenation is carried out by using hydrogen and Raney nickel catalyst in THF at 60°C (Jiang et al., 1994). Under these conditions, 60% of the carbonyl groups were reduced. Furthermore, using a more powerful reducing agent (LiAlH_4 , at room temperature) 85% of the reduction of the carbonyl groups was achieved.

Reactions of 1,4-dione units

Poly(ethylene-2,5-thiophenediyl) derivative (**14**) has been prepared from the alternating E-CO copolymer using Lawesson's reagent or phosphorus pentasulfide (Jiang et al., 1994). About 15-75% of the carbonyl groups were converted to thiophene units.



Scheme 5 Some reactions of 1,4-dione units

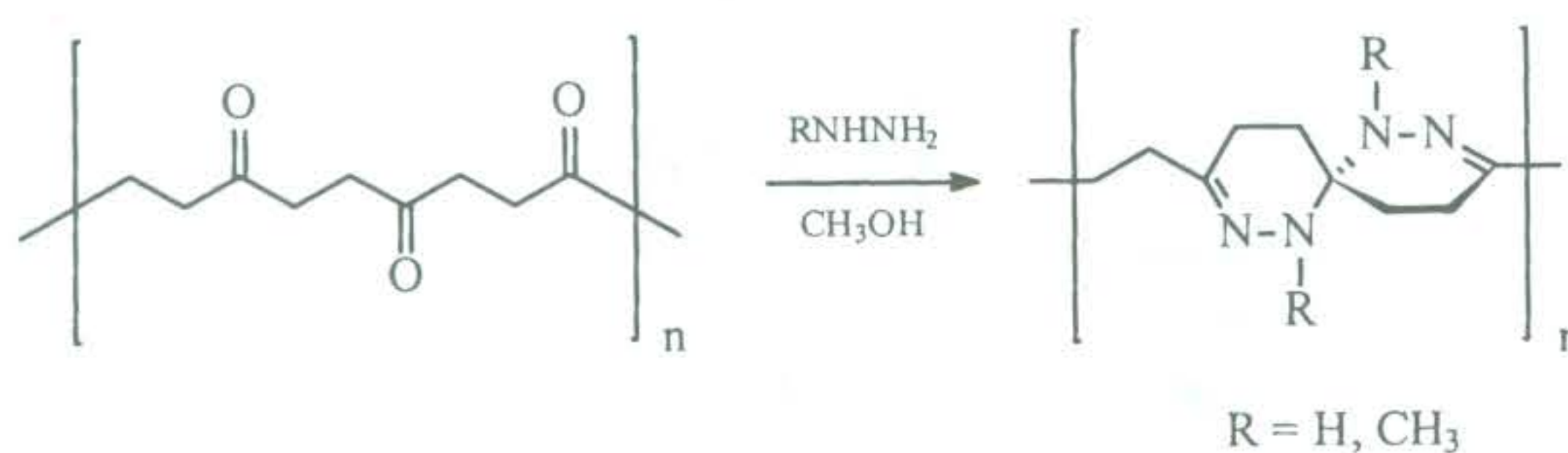
The alternating P-CO copolymer has been modified to poly[propylene-(3-methyl-2,5-furandiyl)] (15) by using phosphorus pentoxide in chlorobenzene under nitrogen atmosphere at 115-135 °C (Jiang et al., 1994). About 70-90% of the carbonyl groups were converted to furan units.

Poly(ethylenepyrrole) derivatives (16) have been produced by condensation of the alternating E-CO, CO-styrene and CO-(*p*-*tert*-butyl)styrene copolymers with primary amines ($R'NH_2$, $R = i\text{-Pr}, t\text{-Bu}, n\text{-C}_6\text{H}_{13}, \text{Ph}, \text{PhCH}_2, p\text{-ClC}_6\text{H}_4, p\text{-MeC}_6\text{H}_4$) upon boiling under an inert atmosphere (Sen et al., 1989; Chen et al., 1989). Typically 86% of the

carbonyl groups were converted to pyrrole units. Poly(ethylenepyrrole) derivatives were found to become electronic conductors upon doping with iodine (Jiang and Sen, 1992)

Reaction of 1,4,7-trione units

A polymer containing a unique spirofused group [1,2,7,8-tetraazaspiro[5.5] undecane] in the backbone has been prepared from the alternating E-CO copolymer by reacting with hydrazines in methanol at 60 °C (Scheme 6) (Sen et al., 1989). Almost 100% of the carbonyl groups reacted. The resultant polymers showed superior solubility when compared with the starting copolymer.



Scheme 6 Reaction of trione unit with hydrazine

References

- Ash, C.E. (1995). Alternating olefin/carbon monoxide polymers: a new family of thermoplastics. *Intern. J. Polymeric Mater.* 30:1-13.
- Brubaker, M.M. (1950). Interpolymers of carbon monoxide. US Pat. 2 495 286/1950. *Chem. Abstr.* 44:4285e.
- Brubaker, M.M., Coffman, D.D. and Hoehn, H.H. (1952). Synthesis and characterization of ethylene/carbon monoxide copolymers, a new class of polyketones. *J. Am. Chem. Soc.* 74:1509-1514.
- Buijsingh, P.D. and Lindhout, I. (1993). Preparation of linear alternating polymers of carbon monoxide with one or more olefinically unsaturated compounds. *Eur. Pat. Appl.* 516 239/1992. *Chem. Abstr.* 118:148254m.
- Chen, J.T., Yeh, Y.S. and Sen, A. (1989). Synthesis and characterization of *N*-substituted poly (ethylenepyrrole): functionalization of ethylene-carbon monoxide alternating copolymers. *J. Chem. Soc. Chem. Commun.* 965-967.
- Coffman, D.D., Hoehn, H.H. and Maynard, J.T. (1954). Reductive amination of ethylene/carbon monoxide polyketones. A new class of polyamines. *J. Am. Chem. Soc.* 76:6394-6399.
- Colombo, P., Kukacka, L.E, Fontana, J., Chapman, R.N. and Steinberg, M. (1966). γ - Radiation-induced copolymerization of ethylene and carbon monoxide. *J. Polym. Sci. [A-1]*. 4:29-57.
- Drent, E. (1985). Polyketones. *Eur. Pat. Appl.* 121 965/1984. *Chem. Abstr.* 102:46423t.
- Drent, E., Broekhoven, J.A.M. and Doyle, M.J. (1991). Efficient palladium catalyst for the copolymerization of carbon monoxide with olefins to produce perfectly alternating polyketones. *J. Organomet. Chem.* 417:235-251.
- Fenton, D.M. (1970). Ethylene-carbon monoxide copolymers. US Pat. 3 530 109/1970. *Chem. Abstr.* 73:110466w.
- Fenton, D.M. (1978). Ethylene-carbon monoxide copolymers. US Pat. 4 076 911/1978. *Chem. Abstr.* 88:153263e.
- Green, A.J., Lucy, A.R, Lu, S.Y. and Paton, R.M. (1994). Functionalisation of alkene-carbon monoxide alternating copolymers via transketalisation reactions. *J. Chem. Soc., Chem. Commun.* 2063-2064.
- Jiang, Z. and Sen, A. (1992). Iodine-doped poly(ethylenepyrrolediy) derivatives: a new class of nonconjugated conducting polymers. *Macromolecules.* 25:880-882.

- Jiang, Z., Sanganeria, S. and Sen, A. (1994). Polymers incorporating backbone thiophene, furan and alcohol functionalities formed through chemical modifications of alternating olefin-carbon monoxide copolymers. *J. Polym. Sci. Polym. Chem. Ed.* 32:841-847.
- Koide, Y. and Barron, A.R. (1996). Polyketone polymers prepared using a palladium/alumoxane catalyst system. *Macromolecules.* 29:1110-1118.
- Kuzina, S.I., Pivoviarov, A.P., Mikhailov, A.I and Belov, G.P. (2000). Free radical and photo-oxidation of an alternating copolymer of ethylene and carbon monoxide. *Eur. Polym. J.* 36:975-980.
- Lai, T.W. and Sen, A. (1984). Palladium(II)-catalyzed copolymerization of carbon monoxide with ethylene. Direct evidence for a single mode of chain growth. *Organometallics.* 3:866-870.
- Lommerts, B.J. and Sikkema, D.J. (2000). Synthesis and structure of a new polyalcohol. 33:7950-7954.
- Lu, S.Y., Paton, R.M., Green, M.J. and Lucy, A.R. (1996). Synthesis and characterization of polyketoximes derived from alkene-carbon monoxide copolymers. *Eur. Polym. J.* 32:1285-1288.
- Michel, R.H. and Murphey, W.A. (1961). Intramolecular rearrangements of polyketones. *J. Polym. Sci.* 55:741-751.
- Morishima, Y., Takizawa, T. and Murahashi, S. Synthesis, (1973). Structure and some properties of a new polyalcohol. *Eur. Polym. J.* 9:669-675.
- Mortenson, C.W. (1946). Reaction products acrylonitrile with macromolecular ketones. US Pat. 2 396 963/1946. *Chem. Abstr.* 4:3937³.
- Nozaki, K. (1972). Copolymers of carbon monoxide and α -olefins. US Pat. 3 689 460/1972. *Chem. Abstr.* 77:152860h.
- Nozaki, K. (1975). Interpolymers of carbon monoxide and ethylenically unsaturated compounds. US Pat. 3 835 123/1974. *Chem. Abstr.* 83:132273q.
- Reppe, W. and Magin, A. (1952). Ketonic bodies. US Pat. 2 577 208/1951. *Chem. Abstr.* 46:6143b.
- Russo, S. and Murani, S. (1967). Ethylene and carbon monoxide copolymerization: distinction between terminal and penultimate models. *J. Polym. Sci. Polym. Lett.* 5:827-834.
- Sen, A. and Lai, T.W. (1982). Novel palladium(II)-catalyzed copolymerization of carbon monoxide with olefins. *J. Am.Chem. Soc.* 104:3520-3522.
- Sen, A., Jiang, Z. and Chen, J.T. (1989). Novel nitrogen-containing heterocyclic polymers derived from the alternating ethylene-carbon monoxide copolymer. *Macromolecules.* 22:2012-2014.
- Sommazzi, A. and Garbassi, F. (1997). Olefin-carbon monoxide copolymers. *Prog. Polym. Sci.* 22:1547-1605.
- van Broekhoven, J.A.M. and Drent, E. (1988). Catalyst compositions. *Eur. Pat Appl.* 235 865/1987. *Chem. Abstr.* 108:76068x.
- van Broekhoven, J.A.M. Drent, E. and Klei, E. (1987). Polymer of carbon monoxide and ethene. *Eur. Pat Appl.* 213 671/1987. *Chem. Abstr.* 107:154935y.

- Wong, P.K., Drent, E., Smaardijk, A.A. and Kramer, A.H. (1989). Preparation of polymeric polyalcohol by reduction of polyketones. Eur. Pat. Appl. 322 976/1989. Chem. Abstr. 111:195667p.
- Xu, F.Y. and Chein, J.C.W. (1993). Photodegradation of (-olefin/carbon monoxide copolymers. Macromolecules. 26:3485-3489.



กระบวนการทัศน์การเขียนโปรแกรมเชิงคำสั่งและเชิงวัตถุ

ปัญญาพล หอระตะ¹

การพัฒนาซอฟต์แวร์ในปัจจุบันเกี่ยวข้องกับภาษาคอมพิวเตอร์(computer languages) หลายภาษา อาทิ ภาษาซี ปาสคาล C++ จาวา Scheme ซึ่งภาษาเหล่านี้ได้รับการพัฒนาขึ้นภายใต้แนวคิด หรือกระบวนการทัศน์ (paradigm) ที่นักออกแบบยึดตามบทความนี้อธิบายการเขียนโปรแกรมสองกระบวนการทัศน์ที่สำคัญต่ออุตสาหกรรมซอฟต์แวร์ ได้แก่ กระบวนการทัศน์การเขียนโปรแกรมเชิงคำสั่ง (imperative programming paradigm) และกระบวนการทัศน์การเขียนโปรแกรมเชิงวัตถุ (object-oriented programming paradigm) พร้อมทั้งเปรียบเทียบให้เห็นข้อดีและข้อเสียของทั้งสองกระบวนการทัศน์

ความหมายของกระบวนการทัศน์

กระบวนการทัศน์ หมายถึงการนำเสนอองค์ความรู้ หรือรูปแบบการอธิบายองค์ความรู้ใดอย่างหนึ่ง หรือวิธีการแก้ปัญหาใดปัญหาหนึ่งอย่างมีแบบแผนที่ชัดเจน สำหรับกระบวนการทัศน์ในการเขียนโปรแกรม หมายถึงแบบแผน แนวคิดในการออกแบบภาษาโปรแกรม นักออกแบบภาษาใช้แบบแผนนั้นในการออกแบบภาษาของตัวเอง เช่น ภาษาซี และ ปาสคาล เป็นภาษาเชิงคำสั่ง ภาษา C++ และจาวา เป็นภาษาเชิงวัตถุ เป็นต้น ดังนั้นการเขียนโปรแกรมจะต้องเขียนให้สอดคล้องกับลักษณะของภาษานั้น ๆ

กระบวนการทัศน์การเขียนโปรแกรมเชิงคำสั่ง

กระบวนการทัศน์การเขียนโปรแกรมเชิงคำสั่งได้รับอิทธิพลมาจากแนวคิดสถาปัตยกรรม

คอมพิวเตอร์ของจอห์นวอนนิวแมน (John von Neumann) ซึ่งมี 2 สิ่งที่สำคัญ คือ หน่วยความจำ (ใช้เก็บคำสั่ง และข้อมูล) และ หน่วยประมวลผล (processor) ที่มีคำสั่งในการเปลี่ยนแปลงค่าต่างๆ ในหน่วยความจำ (Sebesta,1999) ดังนั้นภาษากระบวนการทัศน์เชิงคำสั่งจึงมองหน่วยความจำในลักษณะอุปมาอุปมัยว่าเป็นช่อง (cell) แต่ละช่องมีขนาด 1 ไบต์ หรือกลุ่มของช่องในหน่วยความจำ การอ้างถึงช่อง หรือกลุ่มของช่องหน่วยความจำเหล่านี้อ้างถึงได้ด้วยการใช้ตัวแปร (variables) โดยแทนตัวแปรเป็นกลุ่มของคุณสมบัติที่ประกอบด้วยชื่อตัวแปร ตำแหน่งที่อยู่ของช่องหน่วยความจำ และชนิดข้อมูลที่เก็บในช่องเหล่านั้น ดังนั้นโปรแกรมที่เขียนขึ้นด้วยภาษาเชิงคำสั่งจึงประกอบด้วย ส่วนที่สำคัญคือ ขั้นตอนวิธี (algorithms) และ โครงสร้างข้อมูล (data structure)

โปรแกรม = ขั้นตอนวิธี + โครงสร้างข้อมูล

ขั้นตอนวิธี เป็นกลุ่มของคำสั่งที่ใช้ในการจัดการกับตัวแปร ในขณะที่โครงสร้างข้อมูล หมายถึงกลุ่มของตัวแปรที่จะนำมาผ่านขั้นตอนวิธีแล้วได้ผลลัพธ์ตามที่ควรจะเป็น

การเขียนโปรแกรมในภาษาเชิงคำสั่ง นักเขียนโปรแกรม (programmer) ต้องมองปัญหาในลักษณะกระบวนการงาน (procedure) โดยแต่ละกระบวนการงานจะทำหน้าที่ใดหน้าที่หนึ่งโดยเฉพาะ ดังนั้นการแก้ไขปัญหาก็อาจต้องใช้กระบวนการงานหลายกระบวนการประกอบกัน การแทนกระบวนการแล้วแต่ภาษาเชิงคำสั่ง เช่น ปาสคาล แทนกระบวนการ

¹ ภาควิชาวิทยาการคอมพิวเตอร์ คณะวิทยาศาสตร์ มหาวิทยาลัยขอนแก่น อ.เมือง จ.ขอนแก่น 40002


```

#include <stdio.h>
#define MaxSize 40
struct Stack {
int data[MaxSize];
int top;
};
typedef struct Stack Stack;
void push(Stack * ps, int x);
int pop(Stack * ps, int * x);
int isOverflow(Stack s);
int isEmpty(Stack s);
void main() {
int d=0, t=0;
Stack s;
s.top = -1;
push(&s, 5);
push(&s, 3);
push(&s, 2);
while(! isEmpty(s)) {
t = pop(&s, &d);
if (t== -1)
printf("End\n");
else
printf("%d\n", d);
} /*end while*/
} /*end main */

void push(Stack * ps, int x) {
if( isOverflow(*ps))
printf("Stack Overflow");
else { ps->top++;
ps->data[ps->top] = x;
}
} /* end push */
int pop(Stack * ps, int * x) {
if(ps->top == -1)
return -1;
*x = ps->data[ps->top];
ps->top--;
return 1;
} /* end pop*/
int isEmpty(Stack s) {
return (s.top == -1);
} /* end isEmpty*/
int isOverflow(Stack s) {
return (s.top == MaxSize);
}

```

งานด้วย procedure และ function ส่วนภาษาซีใช้ฟังก์ชันอย่างเดียวก แต่กระบวนการงานจึงประกอบด้วย ข้อมูลนำเข้า (input) กระบวนการแก้ปัญหา (process) และผลลัพธ์ (output) ตัวอย่างโปรแกรมจัดการกับสแต็ก (stack) ซึ่งสแต็กเป็นโครงสร้างข้อมูลที่มีลักษณะการเข้าถึงแบบเข้าทีหลังออกก่อน (last-in-first-out) โดยมีตัวดำเนินการที่สำคัญ คือ push และ pop เพื่อใส่ข้อมูลลงไป และหยิบข้อมูลออกจากสแต็กตามลำดับ เมื่อนำมาเขียนเป็นโปรแกรมด้วยภาษาเชิงคำสั่งภาษาซีแสดงได้รูปที่ 1

จากโปรแกรมในรูปที่ 1 structure Stack ประกอบด้วยกลุ่มข้อมูลที่ประกอบด้วยฟิลด์ข้อมูล (field data) ต่างๆ มาอยู่รวมกันเป็นหน่วยเดียวกัน เรียกว่า ข้อมูลนามธรรม (data abstraction) ในที่นี้คือ Stack ซึ่งประกอบด้วยฟิลด์ data และ top เมื่อต้องการนำไปใช้เพียงแต่ประกาศ เช่น Stack s; มีความหมายว่า s เป็นตัวแปรชนิด Stack ที่สร้างใหม่ เป็นต้น การนำ s ไปใช้อาจประกาศเป็นพารามิเตอร์ของ push และ pop ซึ่งทำให้เขียนโปรแกรมได้ง่ายขึ้นไม่ต้องเสียเวลาประกาศพารามิเตอร์ของ data และ top เพราะบรรจุอยู่ใน s อยู่แล้ว แต่อย่างไรก็ตามข้อมูลนามธรรมยังมีจุดอ่อนตรงที่ไม่อนุญาตให้นักเขียนโปรแกรมกำหนดค่าเริ่มต้นอัตโนมัติได้และไม่สามารถซ่อนสารสนเทศได้ ในตัวอย่างนี้เราไม่สามารถซ่อน data และ top จากภายนอก ดังนั้นจึงไม่สามารถป้องกันการแก้ไขค่าจากที่อื่นได้ (Tucker, 2002) ซึ่งข้อบกพร่องเหล่านี้สามารถแก้ไขได้ในภาษาเชิงวัตถุ

รูปที่ 1 โปรแกรมจัดการสแต็ก ด้วยภาษาเชิงคำสั่งภาษาซี

กระบวนการทัศน์การเขียนโปรแกรมเชิงวัตถุ

กระบวนการทัศน์การเขียนโปรแกรมเชิงวัตถุ เป็นวิธีการเขียนโปรแกรมโดยอิงอยู่กับกระบวนการทัศน์เชิงวัตถุ ซึ่งมีแนวคิดที่สำคัญ ต่อไปนี้

- **เอนแคปซูเลชัน (Encapsulation)** หมายถึงการห่อหุ้ม รวม สถานะ(state) ข้อมูล และวิธีการดำเนินการเข้าเป็นหน่วยเดียวกันเรียกว่า อ็อบเจกต์(object) แต่ละอ็อบเจกต์เป็นสมาชิกของคลาส(class)ใด คลาสหนึ่งเสมอ (Budd, 1996)

- **การสืบทอด (Inheritance)** หมายถึงการสร้างคลาสใหม่จากคลาสที่มีอยู่แล้ว เรียกคลาสใหม่ว่า **คลาสน้อย (sub class)** หรือ **คลาสลูก (client class)** เรียกคลาสที่คลาสอื่นสืบทอดไปว่า **คลาสแม่ (parent class or super class)** แนวคิดนี้สนับสนุนการนำกลับมาใช้ใหม่ (Tucker, 2002)

- **พอลิมอร์ฟิซึม (Polymorphism)** หมายถึงการเขียนโปรแกรมด้วยส่วนเชื่อมโยงเดียวกันสามารถนำไปใช้กับคลาสหลายคลาสที่มาจากคลาสแม่เดียวกันได้ เพื่อลดการเขียนคำสั่ง และทำให้การเปลี่ยนแปลงคำสั่งภายในเมธอดทำได้ง่ายขึ้น (Deitel and Deitel, 2003)

วิธีการเขียนโปรแกรมเชิงวัตถุ สิ่งที่นักเขียนโปรแกรมต้องคิดคือการมองปัญหาเป็นลักษณะหน่วยทางนามธรรม (abstraction) แต่ละหน่วยแทนได้ด้วยคลาส โดยลักษณะของคลาสสามารถแทนได้ดังนี้

คลาส = [{แอตทริบิวต์} + {โปรแกรมย่อย}]

คลาสประกอบด้วยกลุ่มของ **แอตทริบิวต์ (attributes)** ทำหน้าที่เก็บค่าของสถานะต่างๆ ของอ็อบเจกต์ที่เกิดขึ้นในระหว่างประมวลผล โดยแทนแอตทริบิวต์ด้วยตัวแปรหรือตัวอ้างอิง (reference) ไปยังอ็อบเจกต์อื่น **โปรแกรมย่อย** หมายถึง โปรแกรมย่อยที่มีไว้บริการ หรือใช้จัดการกับข้อมูลภายในคลาส เรียก โปรแกรมย่อยนี้ว่า **เมธอด (method)** ด้วยลักษณะของการเอนแคปซูเลชันทำให้กลุ่มของ

แอตทริบิวต์ และกลุ่มของเมธอดรวมกันเป็นหน่วยเดียวกันไปไหนไปด้วยกันได้ แสดงว่าการอ้างถึงแอตทริบิวต์ และเมธอดภายในคลาสเดียวกันสามารถทำได้โดยไม่ต้องส่งผ่านค่าระหว่างพารามิเตอร์ และอาร์กิวเมนต์เหมือนในภาษาเชิงคำสั่ง ทำให้สะดวกในการเขียนโปรแกรมยิ่งขึ้น ดังนั้นในการออกแบบซอฟต์แวร์สิ่งที่นักออกแบบต้องคิด คือ การใช้คลาสแทนสิ่งหนึ่งสิ่งใดในปัญหาที่เราสนใจ ตลอดจนพิจารณาความสัมพันธ์ระหว่างคลาส ตามปกติคลาสแต่ละคลาสอาจทำหน้าที่เป็นได้ทั้ง **ผู้ให้บริการ (server)** และ/หรือ **ผู้รับบริการ (client)** การขอบริการทำได้ด้วยการ **การส่งข่าวสาร (message passing)** ไปยังอ็อบเจกต์ของคลาสผู้ให้บริการ ดังในบรรทัดข้างล่างจากในรูปที่ 2(ข)

s.push(5);

บรรทัดคำสั่งนี้เป็นการส่งข่าวสารไปยังอ็อบเจกต์ที่อ้างถึงด้วย s เพื่อขอใช้บริการเมธอด push โดยส่ง 5 ไปด้วย เมื่ออ็อบเจกต์ที่ s อ้างถึงรับข่าวสารก็จะนำค่า 5 ไปใส่ในสแต็ก

รูปที่ 2(ก) เป็นโปรแกรมภาษาจาวาที่ใช้จัดการกับโครงสร้างข้อมูลแบบสแต็ก โดยแทนสแต็กด้วยคลาส Stack เมื่อต้องการนำคลาสไปใช้นักเขียนโปรแกรมต้องประกาศตัวแปรที่อ้างถึงอ็อบเจกต์ที่เกิดจากคลาสนั้น ในลักษณะนี้คลาสจะทำหน้าที่เสมือนเป็นชนิดข้อมูลประเภทหนึ่งที่เราเรียกว่า **ชนิดข้อมูลนามธรรม (abstract data type)** (Sebesta, 1999) ซึ่งถือว่าไม่ใช่ชนิดข้อมูลธรรมดา เพราะได้รวมเอาข้อมูลและโปรแกรมย่อยเข้าไว้เป็นหน่วยเดียวกันดังในรูปที่ 2(ข) (ในแฟ้ม StackTest.java) Stack ถือว่าเป็นชนิดข้อมูลนามธรรม ดังในคำสั่ง Stack s = new Stack(); ตัวแปร s เป็น ตัวแปรอ้างอิงคำสั่ง new เป็นการสร้างอ็อบเจกต์ในหน่วยความจำฮีฟ (heap) มีโครงสร้างเหมือนกับที่ประกาศไว้ในคลาส Stack แล้วเก็บเลขที่อยู่ของอ็อบเจกต์ไว้ใน s เพื่อให้สามารถอ้างถึงได้


```
//File name: Stack.java
public class Stack{
    public Stack(){ //constructor
        top = -1;
        data = new int[MaxSize];
    }
    public void push(int x){
        if(top < MaxSize-1)
            data[++top] = x;
        else
            System.out.println(
                "Stack Overflow\n");
    } //end push
    public int pop() {
        if (isEmpty()) {
            System.out.println(
                "Stack is empty.");
            return Error;
        }
        return data[top--];
    } //end pop
    public boolean isEmpty(){
        return (top == -1);
    } //end isEmpty
    private final int MaxSize=40;
    private final int Error = -9;
    private int []data;
    private int top;
}; //end class
```

```
//File Name: StackTest.java
class StackTest {
    public static void main(
        String[] args)
    {
        System.out.println(
            "Stack class Testing");
        Stack s= new Stack();
        s.push(5);
        s.push(3);
        s.push(2);
        s.push(1);
        while (! s.isEmpty())
            system.out.println(
                "->" + s.pop());
    } //end main
} //end class
```

(ก) นิยามของคลาส Stack

(ข) แสดงการเรียกใช้ คลาส Stack

รูปที่ 2 คลาส Stack และคลาส Stack Test

การใช้เมธอดหรือการอ้างถึงแอตทริบิวต์ใดๆของคลาสนั้นยังมีระดับการปิดบังว่าสิ่งใดควรให้ผู้รับบริการเห็น หรือใช้ได้บ้าง กลไกอันนี้เรียกว่า **การซ่อนสารสนเทศ** (information hiding) การปิดบังนี้เป็นลักษณะของนามธรรม สิ่งที่ไม่สำคัญต่อผู้ใช้ก็ไม่ต้องให้เห็น ผู้ใช้รู้แค่วิธีติดต่อกับคลาสนั้นก็พอโดยไม่จำเป็นต้องรู้ว่าคลาสนั้นมีรายละเอียดการสร้างอย่างไร การปิดบังนี้จะทำให้มันโน้มน้าวการใช้คลาสของผู้ใช้ชัดเจนขึ้น และลดความยุ่งยากในการออกแบบซอฟต์แวร์ ซึ่งลักษณะการปิดบังนี้ เรียกว่านามธรรม (abstraction) ในการเขียนโปรแกรมภาษาเชิงวัตถุใช้คำสงวน private, protected และ public โดย private ใช้ระบุให้ซ่อนสมาชิก (แอตทริบิวต์และเมธอด) ของคลาสจากภายนอกให้เห็นได้เฉพาะภายในคลาส และสืบทอดให้คลาสลูกไม่ได้ protected

มีความหมายทำนองเดียวกับ private แต่แตกต่างกันตรงที่สืบทอดได้ และคลาสนั้นในแพ็คเกจ (package) เดียวกันสามารถอ้างถึงได้ ส่วนคำสงวน public ใช้ระบุว่าสามารถอ้างถึงสมาชิกนั้นได้จากภายนอก เช่น อ้างถึงเมธอด push จากคลาสนั้น เป็นต้น

ในภาษาเชิงวัตถุสามารถนำกลับมาใช้ใหม่ได้ 2 ลักษณะจำแนกตามความสัมพันธ์ระหว่างคลาส คือ แบบ is-a และ แบบ has-a (Deitel and Deitel, 2003) โดยแบบ is-a ใช้บ่งบอกว่าคลาสนั้นมีความเป็นสากล (generalization) ของคลาสนั้น เช่น พนักงานเป็นบุคคลคนหนึ่ง นักเรียนเป็นบุคคลคนหนึ่ง บุคคลมีความเป็นสากลของพนักงานและนักเรียน แสดงว่าพนักงานและนักเรียนมีส่วนเหมือนกัน หรือส่วนร่วมกัน ได้แก่ ชื่อ สกุล เลขที่บัตรประจำตัว เป็นต้น ดังนั้นเมื่อนำมาเขียนคลาส บุคคลแทนด้วย

คลาส Person พนักงานแทนด้วยคลาส Employee และนักเรียนแทนด้วย คลาส Student โดยกำหนดให้คลาส Employee และ Student สืบทอดจากคลาส Person เขียนเป็นโปรแกรมเชิงวัตถุภาษาจาวาได้ดังในรูปที่ 3

```
public class Person {
    protected string name;
    public string getName()
    {
        return name;
    }
    ...
} //end class
```

```
public class Employee extends Person {
    ...
} //end class
public class Student extends Person {
    ...
} //end class
```

รูปที่ 3 คำสั่งการสืบทอดคลาส Employee และ Student สืบทอดจากคลาส Person

จากรูปที่ 3 คลาส Employee และ Student ได้รับการสืบทอดทั้ง name และเมธอด getName จาก Person โดยไม่ต้องเขียนใหม่สามารถใช้ได้เลย เช่น Employee e=new Employee(); สามารถใช้ e.getName() ได้เลย สำหรับความสัมพันธ์แบบ has-a เป็นความสัมพันธ์ ที่บ่งบอกว่าสิ่งหนึ่งประกอบด้วยอะไรบ้าง เมื่อนำมาเขียนด้วยภาษาเชิงวัตถุสามารถแทนด้วยแอตทริบิวต์ ที่เป็นตัวอ้างอิงที่อ้างอิงไปยังอ็อบเจกต์ของคลาสอื่น หรือคลาสตัวเอง เพื่อบ่งบอกว่าอ็อบเจกต์นั้นเป็น องค์ประกอบของคลาสนั้น เช่น คลาส Account มีคลาส Customer เป็นเจ้าของบัญชี เป็นต้น

```
class Account {
    ...
    private Customer owner; //
    ...
}
```

ในคลาส Account สามารถเรียกใช้เมธอดหรือแอตทริบิวต์ของ Customer ได้ ถือว่าเป็นการนำกลับมาใช้ใหม่รูปแบบหนึ่ง

พอลิมอร์ฟิซึมในภาษาเชิงวัตถุ เช่นใน C++ และจาวามีคลาสนามธรรม (abstract class) ใช้เป็นแบบให้นักออกแบบคลาสคนอื่นๆ สามารถนำไปออกแบบคลาทย่อยโดยต้องนำเอาเมธอดนามธรรมไปเขียนรายละเอียดเอง ทำให้นักออกแบบสามารถกำหนดส่วนเชื่อมโยงเป็นมาตรฐานเดียวกันได้ เช่น

คลาส Animal เป็นคลาสนามธรรม มีเมธอดนามธรรมคือ speak() (เป็นเมธอดมาตรฐานที่คลาสลูกต้องมีเหมือนกันทั้งชื่อเมธอด พารามิเตอร์ และชนิดข้อมูลต้องสอดคล้องกับของคลาสแม่) เมื่อนำคลาส Dog และ Cat ไปสืบทอดจาก Animal นักเขียนโปรแกรมต้องเขียนรายละเอียดของเมธอด speak() ของคลาส Dog และของคลาส Cat ใหม่เป็นแบบฉบับของตัวเอง ดังแสดงคำสั่งพอสังเขปได้ดังนี้

```
public abstract class Animal { //Animal.java
    abstract public void speak();
} //end class
...
public class Dog extends Animal { //Dog.java
    public void speak(){
        System.out.println("hong hong!");
    }
} //end class
...
public class Cat extends Animal { //Cat.java
    public void speak() {
        System.out.println("meaw meaw!");
    }
} //end class
```

เมื่อผู้ใช้นำคลาสไปใช้งานคลาสนามธรรมเป็นคลาสที่ยังไม่สมบูรณ์จึงนำไปสร้างอ็อบเจกต์ไม่ได้แต่อย่างไรก็ตามตัวอ้างอิงของคลาสนามธรรมที่เป็นคลาสแม่สามารถอ้างอิงไปยังอ็อบเจกต์ใดๆ ของคลาสลูกของตัวเองได้ เช่น


```
Animal myPet;
myPet = new Cat();
myPet.speak(); //output "meaw meaw!"
myPet = new Dog();
myPet.speak(); // output "hong hong!"
```

เมื่อเรียกใช้ speak() ผ่าน myPet จะตัดสินใจว่าไปเรียกเมธอดของอ็อบเจกต์ของคลาส Dog หรือ Cat ขึ้นอยู่กับว่าขณะนั้น myPet อ้างอิงไปยังอ็อบ

```
Animal[] myPets = new Animal[2]; //creates an array
myPets[0] = new Dog(); //creates and references to an object of Dog
myPets[1] = new Cat(); //creates and reference to an object of Cat
for(int i=0; i < myPets.length(); i++)
    myPets[i].speak();
```

จากตัวอย่าง myPets[i].speak() เป็นส่วนเชื่อมโยงเดียวแต่ให้ผลลัพธ์ในแต่ละรอบแตกต่างกัน ขึ้นอยู่กับว่าสมาชิกตัวที่ i ของ myPets อ้างอิงอ็อบเจกต์ของคลาสย่อยใด ถ้ามีการเพิ่มคลาสใหม่ เช่น Bird สืบทอดจาก Animal ในส่วน myPets[i].speak() ก็ยังคงเหมือนเดิม และไม่มีผลต่อคลาส Dog และ Cat

การเปรียบเทียบระหว่างกระบวนการ การเขียนโปรแกรมเชิงคำสั่งและ เชิงวัตถุ

ความแตกต่างในเรื่องของการเขียนโปรแกรมทั้งสองแบบมีหลายประเด็น แต่ที่เห็นได้ชัดคือ ในเรื่องของเอนแคปซูเลชัน การสืบทอด และพอลิมอร์ฟิซึม

เอนแคปซูเลชัน

สิ่งนี้เป็นสิ่งสำคัญ ถ้าถามว่าในภาษาเชิงคำสั่งเช่น ภาษาซี มีเอนแคปซูเลชันหรือไม่ ตอบว่ามีอยู่ในรูปของฟังก์ชัน หรือเพิ่มแค่นั้น การมองเห็นตัวแปรระหว่างฟังก์ชันจะทำได้โดยการประกาศให้เป็นตัวแปรส่วนกลาง (global variables) หรือส่งผ่านพารามิเตอร์ แต่การเขียนโปรแกรมเชิงวัตถุไม่จำเป็น

เจกต์ของคลาสย่อยใด ลักษณะการตัดสินใจเรียกเมธอดระหว่างประมวลผลนี้เรียกว่า การผูกแบบพลวัต(dynamic binding) ซึ่งทำให้นักเขียนโปรแกรมไม่ต้องใช้คำสั่ง if เหมือนในภาษาเชิงคำสั่ง เวลาเพิ่มคลาสใหม่ก็ไม่ต้องแก้ไขคำสั่งมาก และไม่มีผลกระทบกับคลาสย่อยอื่น เช่น Hodd ตัวอย่างนี้

ต้องผ่านพารามิเตอร์ เพราะทุกสิ่งทุกอย่างในคลาสเดียวกันมองเห็นกันได้หมดทำให้ง่ายในการเขียน นอกจากนั้นยังมีการปิดบังให้เห็นเฉพาะส่วนที่สำคัญต่อผู้ใช้เท่านั้นจึงทำให้ผู้ใช้ใช้งานง่าย เรียนรู้การใช้คลาสได้เร็วขึ้น

การทำงานแบบอัตโนมัติในตอนเริ่มต้นและสิ้นสุด

ในภาษาเชิงวัตถุเมื่อสร้างอ็อบเจกต์เสร็จแล้วต่อไปจะเรียกเมธอดแรก ที่เรียกว่า คอนสตรัคเตอร์ (constructor) ให้ทำงานโดยอัตโนมัติ เช่น โปรแกรมในรูปที่ 2(ก) ส่วนของคอนสตรัคเตอร์ เป็นเมธอดที่ชื่อเดียวกับคลาส คือ public Stack() { ...} เป็นต้น เมื่อต้องการเลิกใช้อ็อบเจกต์นั้น ก่อนที่จะทำลายอ็อบเจกต์ทั้งจะมีการเรียกใช้เมธอดตัวหนึ่งใน C++ และ C# เรียกว่า ดิสทริกเตอร์ (destructor) ก่อน ซึ่งปกติใช้เพื่อทำอะไรบางอย่าง เช่น คืนหน่วยความจำที่จอง หรือปิดเพิ่มข้อมูล เป็นต้น จะเห็นได้ว่าในภาษาเชิงคำสั่งไม่มีในจุดนี้ นักเขียนโปรแกรมต้องเขียนเอง เช่นใน main ต้องกำหนด top เท่ากับ -1 ในตอนเริ่มต้นจากภายนอกคลาสซึ่งถือว่าอันตรายดังในรูปที่ 1

การนำกลับมาใช้ใหม่

สำหรับภาษาเชิงคำสั่งการนำกลับมาใช้ใหม่

ต้องใช้เพิ่มคลังโปรแกรมนำเข้า เช่น เพิ่ม .h ในภาษาซี เป็นต้น แต่อย่างไรก็ตาม .h ยังไม่สามารถบ่งบอกความสัมพันธ์ระหว่างฟังก์ชันที่บรรจุในนั้นได้แต่ภาษาเชิงวัตถุสามารถนำกลับมาใช้ใหม่ได้ง่ายกว่า ด้วยการใช้การสืบทอดทั้งแบบ is-a และ has-a และยังบอกความสัมพันธ์ระหว่างคลาสได้ด้วย

มาตรฐานส่วนเชื่อมโยง

ในภาษาเชิงคำสั่งไม่มีกลไกอะไรที่จะช่วยให้การออกแบบส่วนเชื่อมโยงเดียวสามารถนำไปใช้กับส่วนอื่นๆ ของคลังโปรแกรมได้ แต่ภาษาเชิงคำสั่งใช้คุณสมบัติพอลิมอร์ฟิซึมในการแก้ปัญหานี้ ผู้ใช้คลาสสามารถใช้ชื่อ เมธอดเดียวกันกับคลาสน้อยต่างๆ ที่มาจากคลาสมแม่เดียวกันได้ ทำให้สะดวกในการจดจำ และง่ายในการออกแบบ และใช้งาน (Tucker, 2002)

ความเร็วในการประมวลผล

โปรแกรมที่เขียนด้วยภาษาเชิงวัตถุจะทำงานได้ช้ากว่าโปรแกรมที่เขียนด้วยภาษาเชิงคำสั่ง เนื่องจากการสร้างอ็อบเจกต์ต้องเก็บข้อมูลของข้อมูลที่ใช้บริหารจัดการกับอ็อบเจกต์มากขึ้น ยังมีการเรียกใช้เมธอดของอ็อบเจกต์อื่นมากเท่าใดก็ยิ่งต้องเสียเวลาในการจัดการกับข้อมูลเหล่านั้นมากขึ้น ในขณะที่โปรแกรมเชิงคำสั่งปริมาณข้อมูลที่ส่งผ่านค่าระหว่างฟังก์ชัน หรือกระบวนการงานมีน้อยส่วนใหญ่พารามิเตอร์ที่รับค่ามักเป็นตัวชี้ หรือตัวแปรท้องถิ่น เพื่อใช้รับค่าเลขที่อยู่ หรือค่าที่จะส่งมาเท่านั้น ดังนั้นเวลาในการคืนการควบคุมไปมาระหว่างกันจึงไม่เสียเวลามากทำให้การทำงานเร็วกว่า

สรุป

จากที่ได้อธิบายมาข้างต้นเป็นภาพรวมกว้างๆ ของสองกระบวนทัศน์ ความจริงยังมีรายละเอียดอีกมากในแต่ละกระบวนทัศน์ โดยเฉพาะอย่างยิ่งกระบวนทัศน์ภาษาเชิงวัตถุ ซึ่งมีรายละเอียดในการวิเคราะห์ และออกแบบ การศึกษาการเขียนคำอธิบายด้วยภาษายูเอ็มแอล (UML) การสร้างคอมโพเนนต์ (component) เอาไว้ใช้งานต่อไป แต่อย่างไรก็ตาม การศึกษากระบวนทัศน์ของภาษาต่างๆ จะทำให้ผู้เรียนเข้าใจธรรมชาติของภาษาคอมพิวเตอร์มากยิ่งขึ้น ซึ่งสามารถนำไปใช้ประโยชน์ในการเลือกใช้เพื่อให้เหมาะสมกับงานต่อไป

เอกสารอ้างอิง

- ปัญญาพล หอระตะ. (2541). แนวความคิดเทคโนโลยีเชิงวัตถุ. วิทยาศาสตร์ มข. 26(4):248-253.
- Budd, T. (1996). An Introduction to Object-Oriented Programming. 2nd ed. Addison-Wesley. p.13-48.
- Deitel, H. M. and Deitel, P. J. (2003). Java: How to Program. 5th ed. New Jersey: Prentice Hall. p.401-501.
- Sebesta, R. W. (1999). Concepts of Programming Languages. 4th ed. Addison-Wesley. p.20-21.
- Sethi, R. (1996). Programming Languages Concepts & Constructs. 2nd ed. Addison-Wesley.
- Tucker, J. (2002). Programming Languages: Principles and Paradigms. New York: McGraw-Hill. p.170-202.

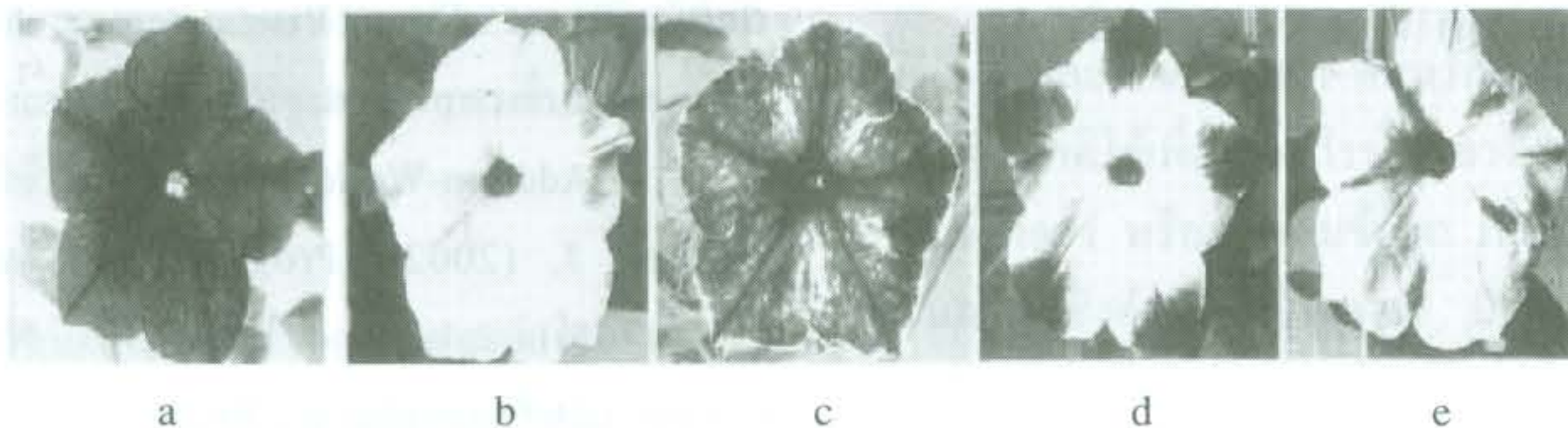
RNA Interference : เครื่องมือในการหาหน้าที่ยีน และแนวทางใหม่ในการบำบัดรักษาโรค

หนูเดือน เมืองแสน¹

บทนำ

RNA interference (RNAi) เป็นกลไกป้องกันตัวเองระดับเซลล์ในการควบคุมการแสดงออกของยีนจากภายนอก (foreign DNA) ของสิ่งมีชีวิตพวกยูแคริโอต (eukaryote) รวมทั้งในมนุษย์ มีการค้นพบ RNAi ครั้งแรกในพืชเนย ขณะที่พยายามจะทำให้ดอกพืชเนยมีสีเข้มขึ้น โดย Jorgensen และคณะ (Napoli et al., 1990) ได้สร้างพืชเนยแปลงพันธุ์โดยการนำยีนชาโคเน ซินเทส (chalcone synthase) ซึ่งเกี่ยวข้องกับการผลิตสารสีแอนโทไซยานินที่ทำให้ดอกพืชเนยมีสีม่วงมาตัดต่อเข้ากับโปรโมเตอร์ของไวรัสของกะหล่ำ คือ 35S CaMV แล้วส่งถ่ายยีนนี้เข้าสู่พืช นักวิจัยกลุ่มนี้พบว่าพืชเนยแปลงพันธุ์ที่ได้มีดอกสีขาวหรือขาวแกมม่วง ไม่มีดอกใดเลยที่ให้สีเข้มกว่ารุ่นพ่อแม่ ทั้งๆ ที่พืชเนยแปลงพันธุ์ที่ได้ควรมีดอกสีม่วงเข้มเพราะมียีนเพิ่ม (รูปที่ 1) Jorgensen เรียกปรากฏการณ์นี้ว่า โคซัพเพรสชัน (co-suppression) เนื่องจากยีนที่ถูกเพิ่มเข้าไปและยีนคู่เหมือนที่มีในพืชถูกยับยั้งการแสดงออก (gene silencing) นั่นก็คือ มี

การสลายของ mRNA ที่จำเพาะต่อยีนชาโคเน ซินเทส ทำให้ได้โปรตีนที่เป็นผลผลิตลดลงหรือไม่มีโปรตีนเลย หลังจากนั้นไม่นาน ก็พบปรากฏการณ์นี้ได้ในเรื่องมีชีวิตอื่นทั่วไป ไม่ว่าจะเป็นพืช รา หรือหนอนตัวกลม (*Caenorhabditis elegans*) คำถามที่เกิดขึ้นก็คือ อะไรที่เป็นสาเหตุทำให้ยีนไม่มีการแสดงออก จากการศึกษพบว่า ทรานสยีนหรือไวรัสบางชนิดสามารถกระตุ้นกระบวนการ RNAi ส่งผลให้เกิดการยับยั้งการแสดงออกของยีน และสามารถแพร่กระจายไปยังเซลล์ข้างเคียงหรือในสิ่งมีชีวิตรุ่นถัดไป ตัวอย่างเช่น เมื่อทำการทาบกิ่งต้นตอของพืชที่ยีนถูกยับยั้งการแสดงออกกับพืชที่ยีนนั้นมีการแสดงออกตามปกติพบว่า พืชปกติเกิดปรากฏการณ์ RNAi แสดงว่ามีโมเลกุลบางอย่างที่เกิดจากการที่ยีนถูกยับยั้งการแสดงออกจากต้นตอสามารถเคลื่อนที่ไปยังต้นที่นำมาทาบกิ่งได้ จากการศึกษในหนอนตัวกลมและแมลงหวี่ ทำให้ทราบว่า โมเลกุลที่เกี่ยวข้องกับการเกิด RNAi ก็คือ อาร์เอ็นเอสายคู่ (Waterhouse and Helliwell, 2003; Hannon, 2003)



รูปที่ 1 การยับยั้งการแสดงออกของยีนชาโคเนซินเทสในดอกของพืชเนยแปลงพันธุ์ (b-e) เทียบกับรุ่นพ่อแม่ (a) (Napoli et al., 1990).

¹ ภาควิชาชีววิทยา คณะวิทยาศาสตร์ มหาวิทยาลัยขอนแก่น อ.เมือง จ. ขอนแก่น 40002

หลักฐานชิ้นแรกๆ ที่ชี้ให้เห็นว่า อาร์เอ็นเอสายคู่ทำให้เกิด RNAi มาจากการศึกษาในหนอนตัวกลม Guo และ Kenphues (1995) ใช้ แอนติเซนส์อาร์เอ็นเอ (antisense RNA) ในการยับยั้งการแสดงออกของยีนพาร์วัน (par-1) เพื่อต้องการหาว่ายีนนี้มีหน้าที่อะไร ผลก็คือ การฉีดแอนติเซนส์อาร์เอ็นเอสามารถยับยั้งการแสดงออกของยีนพาร์วันซึ่งมีผลต่อพัฒนาการ และพบอีกว่าการฉีดเซนส์อาร์เอ็นเอ (sense RNA) ก็ให้ผลเช่นเดียวกัน ต่อมา Fire และคณะ (1998) ได้ฉีดอาร์เอ็นเอสายคู่ซึ่งได้จากการผสมของแอนติเซนส์และเซนส์อาร์เอ็นเอเข้าไปในหนอนตัวกลมเป็นครั้งแรก พบว่าเกิดการระงับการแสดงออกของยีนที่มีประสิทธิภาพสูงกว่าการฉีดอาร์เอ็นเอที่เป็นสายเซนส์ หรือแอนติเซนส์แต่อย่างใด การฉีดเพียงแต่ไม่ก็โมเลกุลของอาร์เอ็นเอสายคู่มีประสิทธิภาพเพียงพอที่จะไปยับยั้งการแสดงออกของยีนคู่เหมือนได้อย่างสมบูรณ์ นอกจากนี้ยังพบด้วยว่า การฉีดอาร์เอ็นเอสายคู่เข้าไปในกระเพาะอาหารของหนอนทำให้การยับยั้งการแสดงออกของยีนนั้น ไม่เฉพาะในหนอนตัวนั้นแต่ยังส่งผลกระทบต่อรุ่นลูกรุ่นแรกที่เกิดขึ้น การเลี้ยงหนอนตัวกลมด้วยแบคทีเรียที่ได้มีการตัดแต่งพันธุวิศวกรรมให้สามารถผลิตอาร์เอ็นเอสายคู่ที่มีลำดับนิวคลีโอไทด์เป็นคู่สมกับยีน *unc-22* ของ *C. elegans* พบว่าหนอนตัวกลมที่มีการเลี้ยงด้วยแบคทีเรียนี้แสดงอาการตัวบิดโค้ง เหมือนกับการขาดยีน *unc-22* และในการวิจัยต่อมาก็พบว่า การจุ่มหนอนตัวกลมในสารละลายที่บรรจุอาร์เอ็นเอสายคู่ก็เพียงพอในการกระตุ้นให้ยีนไม่มีการแสดงออก ผลการทดลองเหล่านี้ได้แสดงให้เห็นถึงศักยภาพของ RNAi ในการหาหน้าที่ของยีนจำนวนมากในสิ่งมีชีวิตชนิดนี้ ในแมลงหวี่สามารถที่จะใช้เข็มขนาดเล็กฉีดอาร์เอ็นเอสายคู่เข้าไปในเอ็มบริโอเพื่อยับยั้งการแสดงออกของยีน หรืออาจใช้เครื่องยิงส่งอาร์เอ็นเอสายคู่ หรือโดยการตัดแต่งพันธุวิศวกรรมแมลงให้มีดีเอ็นเอที่มีโครงสร้างที่สามารถผลิตอาร์เอ็นเอสายคู่ของยีนที่ต้องการจะยับยั้ง

อาร์เอ็นเอสายคู่ยับยั้งการแสดงออกของยีนได้อย่างไร

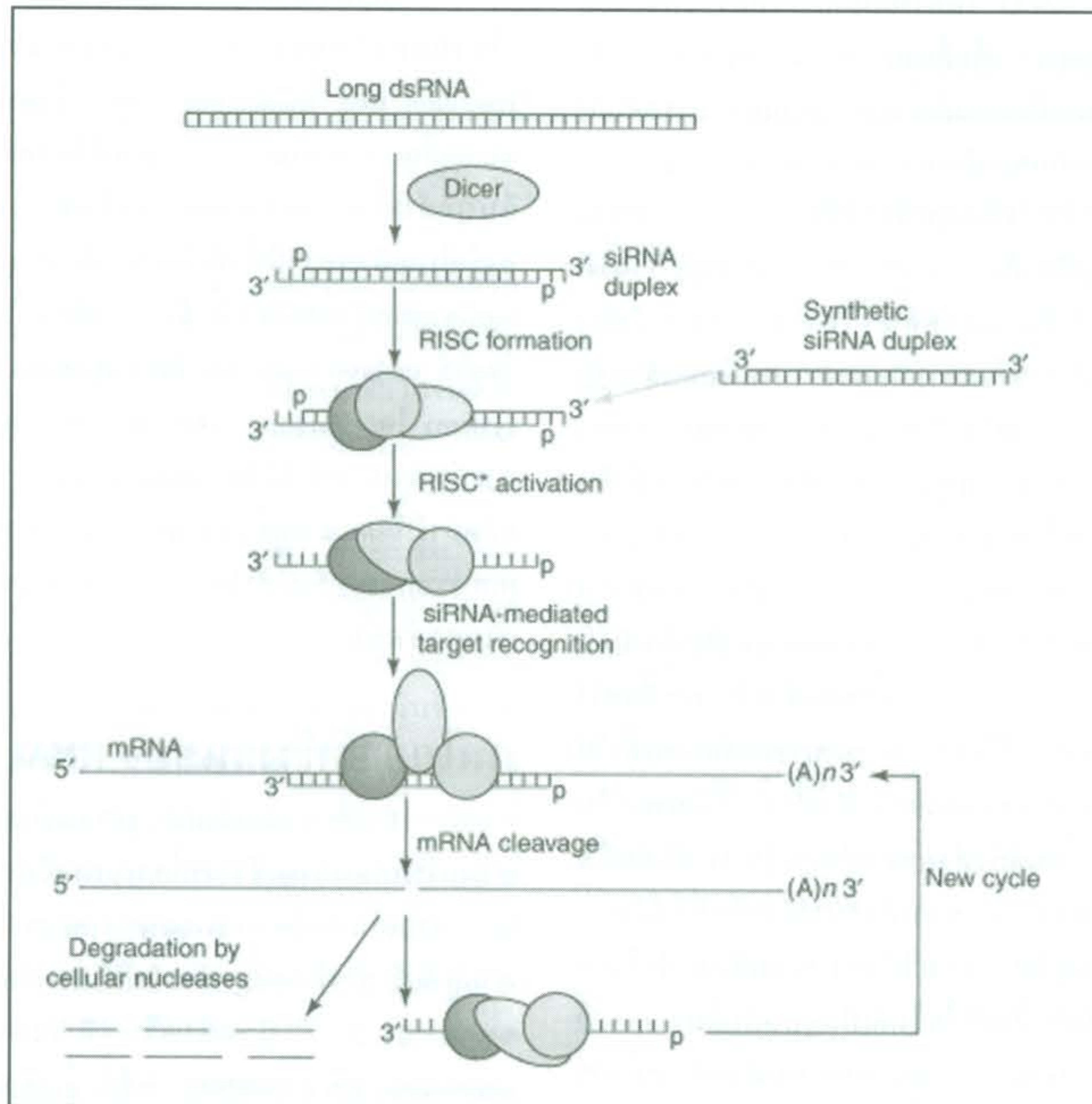
คุณสมบัติที่สำคัญที่เริ่มทำให้มีความเข้าใจเกี่ยวกับกลไกของ RNAi มาจากงานวิจัยของ Hamilton และ Baulcombe (1999) ซึ่งพบว่ามี RNA ขนาดเล็ก (ประมาณ 25 นิวคลีโอไทด์) ในพืชที่ยีนถูกยับยั้งการแสดงออกแต่ไม่พบในพืชปกติ อาร์เอ็นเอดังกล่าวมีทั้งที่เป็นเซนส์และแอนติเซนส์ นอกจากผลการทดลองนี้แล้ว การศึกษาในแมลงหวี่โดยใช้ embryo lysate และในระบบนอกกาย (*in vitro* system) โดย Zamore (2002) พบว่าการฉีดอาร์เอ็นเอสายคู่ขนาดยาวเข้าไปใน embryo lysate ทำให้มีการผลิตอาร์เอ็นเอสายคู่ที่มีขนาด 21-23 นิวคลีโอไทด์ ผลการทดลองครั้งนี้ทำให้กลไกการทำงานของ RNAi เริ่มกระจ่างขึ้น

กลไกการทำงานของ RNAi

การศึกษาทางด้านพันธุศาสตร์และชีวเคมีได้ส่งผลให้เกิดความเข้าใจเกี่ยวกับกลไกการทำงานของ RNAi และมีการเสนอแบบจำลองว่า อาร์เอ็นเอสายคู่ที่เข้าสู่เซลล์จะถูกย่อยให้เป็นอาร์เอ็นเอสั้นๆ ขนาด 21-23 นิวคลีโอไทด์ที่เรียกว่า small interference RNA (siRNA) หรือ guide RNA ซึ่งเกิดมาจากการทำงานของเอนไซม์ไดเซอร์ (Dicer) เอนไซม์นี้อยู่ในกลุ่มเดียวกับ RNase III โดยเป็นพวกไรโบนิวคลีเอส (ribonuclease) ที่จดจำและย่อยอาร์เอ็นเอสายคู่ที่เซลล์ได้รับมาโดยตรงหรือจากทรานสยีนหรือจากไวรัส กระบวนการย่อยสลายทำให้ได้ siRNA และแต่ละสายของ siRNA มีนิวคลีโอไทด์สองตัวติดอยู่ที่ปลาย 3' หลังจากนั้น siRNA ไปจับกับกลุ่มโปรตีนคอมเพล็กซ์ซึ่งเป็นพวกนิวคลีเอส ที่เรียกว่า RNA-induced silencing complex (RISC) ซึ่งตรงนี้จะมีการแยก siRNA จากเส้นคู่ให้เป็นเส้นเดี่ยวและมีผลไปกระตุ้นการทำงานของเอนไซม์ที่อยู่ในกลุ่มโปรตีนคอมเพล็กซ์นี้

แล้วพุ่งเป้าหมายไปที่ mRNA ที่ผลิตขึ้นในเซลล์ที่มีลำดับนิวคลีโอไทด์เหมือนกับ siRNA โดยมีการจับคู่กันของคู่เบส (hybridization) และเกิดการ

ย่อยสลายของ mRNA เพื่อให้ได้สายสั้นๆ ขนาด 12 นิวคลีโอไทด์ (Sioud, 2004) (รูปที่ 2)



รูปที่ 2 รูปแบบจำลองกลไกการทำงานของ RNAi (Sioud, 2004)

RNAi ในการวิเคราะห์หาหน้าที่ของยีน

ในปัจจุบันได้มีการถอดรหัสจีโนมของพืชสัตว์และจุลินทรีย์หลายชนิด เช่น การถอดรหัสพันธุกรรมของมนุษย์ที่เสร็จสิ้นในปี 2545 โดยมีความยาว 3,000 ล้านคู่เบสและมี 35,000 ยีน การถอดรหัสพันธุกรรมของข้าวในปี 2545 มีความยาว 430 ล้านคู่เบสและมี 50,000 ยีน พืชตระกูลมัสตาร์ด ชื่อ *Arabidopsis* มีความยาว 125 ล้านคู่เบสและมี 26,000

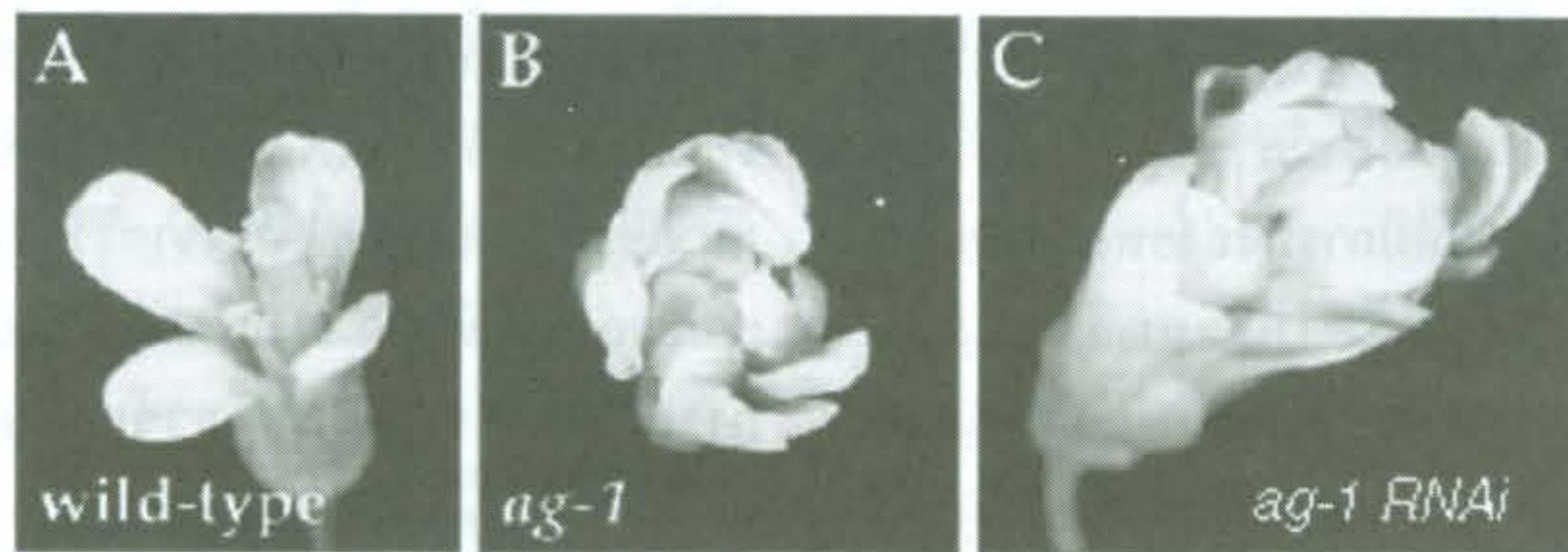
ยีนและมีสิ่งมีชีวิตอีกมากมายที่การถอดรหัสพันธุกรรมกำลังดำเนินอยู่ คำถามที่เกิดขึ้นหลังจากที่มีการถอดรหัสพันธุกรรมเสร็จสิ้นคือยีนที่พบเหล่านี้ทำหน้าที่อะไร RNAi ได้เข้ามามีบทบาทอย่างมากในการช่วยตอบคำถามนี้ ไม่ว่าจะเป็นในพืช หนอน เชื้อรา แมลง หรือแม้แต่ในสัตว์เลี้ยงลูกด้วยนม เนื่องจากมีความสะดวก รวดเร็ว และสามารถตรวจหาหน้าที่ได้ครั้งละหลายยีนในเวลาจำกัด Chang และ Meyerowitz (2000) ได้ตรวจสอบหาหน้าที่ของ

ยีนที่เกี่ยวข้องกับพัฒนาการของดอกไม้ หนึ่งในจำนวนยีนเหล่านี้ได้แก่ยีนอากามัส (Agamous) โดยการสร้างพืชแปลงพันธุ์ที่มีการส่งถ่ายพลาสมิดที่ได้ตัดแต่งพันธุ์วิศวกรรมให้สามารถผลิตแฮร์พินอาร์เอ็นเอ (hairpin RNA) ซึ่งมีโครงสร้างเป็นอาร์เอ็นเอสายคู่แต่ที่ปลายเป็นลูป (loop) แล้วเปรียบเทียบกับฟีโนไทป์ที่ได้ระหว่างการใส่เทคนิค RNAi กับฟีโนไทป์ที่ได้จากการยับยั้งการแสดงออกของยีนโดยวิธีอื่น เช่น การทำมิวเทชัน พบว่าฟีโนไทป์ที่เกิดจากการใส่ Agamous-RNAi มีลักษณะคือ ไม่มีการเจริญของเกสรเพศผู้ (stamen) และคาร์เพล (carpel) แต่มีการเจริญของกลีบเลี้ยงและกลีบดอกซ้อนกันหลายชั้น (รูปที่ 3) เหมือนกับฟีโนไทป์ที่ได้จากวิธีอื่นและเทคนิค RNAi ใช้ได้ผลดีกับอีกหลายยีนที่ถูกทดสอบ

มีการนำไวรัสมาใช้ในการหาหน้าที่ยีนซึ่งอาจเป็นดีเอ็นเอไวรัส (DNA virus) หรืออาร์เอ็นเอไวรัส (RNA virus) ดีเอ็นเอไวรัสเป็นไวรัสที่มีโครงสร้างจีโนมเป็นดีเอ็นเอ ขณะที่อาร์เอ็นเอไวรัสมีโครงสร้างจีโนมเป็นอาร์เอ็นเอ กลุ่มดีเอ็นเอไวรัสที่นำมาใช้ในพืชคือ เจมีโนไวรัส (geminivirus) ซึ่งก่อให้เกิดความเสียหายต่อพืชเศรษฐกิจทั่วโลก สามารถใช้ไวรัสพวอะดีโนไวรัส (adenovirus) หรือเรโทรไวรัส (retrovirus) ในสัตว์ ไวรัสเหล่านี้จำลองตัวเองในนิวเคลียสหรือในไซโทพลาซึมของเซลล์สิ่งมีชีวิต โดยอาศัยโปรตีนหรือเอนไซม์จากตัวให้อาศัย ตัวไวรัสเองมียีนที่จำเป็นในการจำลองดีเอ็นเอหรืออาร์เอ็นเอ เราสามารถนำเอาไวรัสพวกนี้มาใช้ประโยชน์ในการหาหน้าที่ของยีนที่รู้ลำดับนิวคลีโอไทด์แน่นอน โดยการตัดต่อยีนที่ต้องการทราบหน้าที่ให้มีขนาดยาว 100-800 คู่เบส เข้าไปในจีโนมของไวรัสและให้ชิ้นส่วนนี้มีการถอดรหัสภายใต้การทำงานของไวรัสโปรโมเตอร์เพื่อผลิต mRNA ในเซลล์ จากนั้นก็มีการส่งถ่ายไวรัสเข้าไปในเซลล์โดยใช้เครื่องยิง (particle gun bombardment) หรือกระแสไฟฟ้าช่วงสั้นๆ ทำให้เกิดรูรั่วที่เยื่อเซลล์ (electroporation) หรือวิธีอื่นๆ เนื่องจากความเหมือน

กันของลำดับ mRNA ที่ได้จากการถอดรหัสจากไวรัสโปรโมเตอร์ กับ mRNA ที่ผลิตในเซลล์ ทำให้มีการสลายของ mRNA ทั้งที่มาจากไวรัสและที่ผลิตในเซลล์ของสิ่งมีชีวิตชนิดนั้นโดยกลไก RNAi ตัวอย่างเช่น การหาหน้าที่ของยีนที่เกี่ยวข้องกับการสังเคราะห์คลอโรฟิลล์ (magnesium chelatase) โดยการตัดแต่งยีนนี้ขนาด 150 คู่เบสเข้ากับดีเอ็นเอของไวรัส Tomato Golden Mosaic Virus (TGMV) แล้วนำไวรัสลูกผสมนี้เข้าสู่พืชที่มีอายุ 1 เดือนโดยใช้เครื่องยิง หลังจากนั้นสองสัปดาห์ใบพืชมีจุดสีเหลืองเกิดขึ้น จุดดังกล่าวเกิดจากการสูญเสียคลอโรฟิลล์นั่นเอง แล้วจุดสีเหลืองก็เริ่มขยายใหญ่ขึ้นจนในที่สุดใบพืชรวมทั้งส่วนของพืชที่เกิดใหม่ก็มีสีเหลืองหรือขาว เมื่อตรวจสอบหาปริมาณ mRNA ที่จำเพาะสำหรับยีนนี้ พบว่ามีปริมาณลดลง (Peele et al., 2001) การเกิด RNAi โดยการใช้ไวรัสนี้ อาร์เอ็นเอสายคู่ไม่ได้ถูกสร้างโดยตรงแต่ใช้กลไกที่มีในเซลล์ในการเปลี่ยน mRNA ที่ถอดรหัสจากไวรัสเป็นตัวตั้งต้นในการผลิตอาร์เอ็นเอสายคู่โดยการทำงานของเอนไซม์อาร์เอ็นเอโพลีเมอเรส (RNA dependent RNA polymerase, RdRP) แล้วอาร์เอ็นเอสายคู่ที่เกิดขึ้นนี้จะเป็นตัวกระตุ้นกระบวนการ RNAi

นอกจากนี้ยังมีการชักนำให้เกิด RNAi โดยใช้อาร์เอ็นเอสายคู่สั้นๆ หรือ siRNA ซึ่งมีขนาด 19-22 นิวคลีโอไทด์ การผลิต siRNA นี้ทำได้โดยการสังเคราะห์ทางเคมี (chemical synthesis) หรือการถอดรหัสในหลอดทดลอง (*In vitro* transcription) หรือ การย่อยอาร์เอ็นเอเส้นคู่ที่ยาวด้วยเอนไซม์พวกอาร์เอ็นเอส เช่น Dicer จากนั้นนำ siRNA ที่ได้เข้าสู่เซลล์โดยตรง เช่น โดยการฉีด การจุ่มในสารละลายที่บรรจุ siRNA (Zamore, 2002) (รูปที่ 4) หรือการใช้เครื่องยิง พบว่าสามารถใช้ได้กับหนอนตัวกลม เอมบริโอของแมลงหวี่ เซลล์ของสัตว์เลี้ยงลูกด้วยนม แต่ยังไม่สามารถใช้ siRNA กับพืชได้ แสดงให้เห็นถึงกลไกการเกิด RNAi ที่อาจแตกต่างกันระหว่างพืชและสัตว์

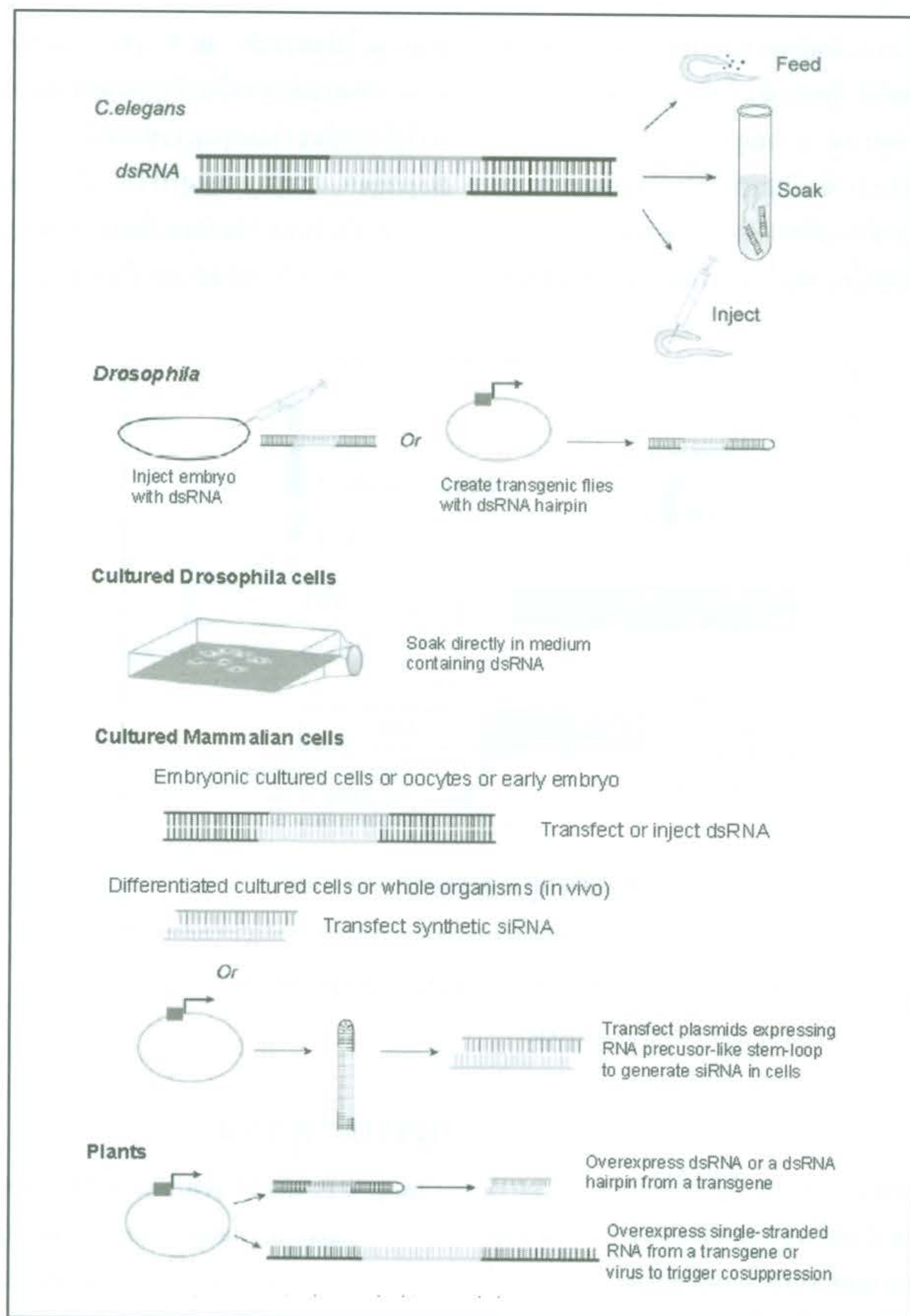


รูปที่ 3 ฟีนไทป์ของยีน Agamous ในดอกของ *Arabidopsis* (A) พืชปกติ, (B) พืชที่ได้จากมิวเทชัน, และ (C) พืชที่ได้จากการใช้เทคนิค RNAi (Chang and Meyerowitz, 2000)

RNAi กับการรักษาโรค

ในการชักนำให้เกิด RNAi ในเซลล์สัตว์เลี้ยงลูกด้วยน้ำนมใช้นิยามใช้ siRNA ซึ่งเป็นอาร์เอ็นเอสายสั้นๆ แต่ไม่นิยมใช้อาร์เอ็นเอเส้นคู่ที่มีความยาว 30 คู่เบสหรือมากกว่า เนื่องจากอาร์เอ็นเอดังกล่าวจะไปชักนำระบบอินเตอร์เฟอรอน (interferon) ให้เกิดขึ้น ทำให้เกิดการสลายของอาร์เอ็นเอที่ไม่จำเพาะ siRNA ที่นำมาใช้นี้ต้องมีความจำเพาะเจาะจงมากต่อลำดับนิวคลีโอไทด์และต้องมีลำดับนิวคลีโอไทด์เหมือนกันกับยีนที่ต้องการจะยับยั้งการแสดงออก จึงจะทำให้เกิดการสลายของอาร์เอ็นเอที่จำเพาะ ดังนั้นเทคนิค RNAi จึงมีความเหมาะสมอย่างมากที่จะนำมาใช้ในการรักษาโรคโดยใช้ยีน (gene therapy) (Hannon, 2003) เช่น การรักษาโรคพันธุกรรมบางชนิดที่เกิดจากมิวเทชันของยีนเพียงหนึ่งคู่เบส ทำให้ได้โปรตีนที่มีลำดับกรดอะมิโนเปลี่ยนไป แล้วทำให้เกิดโรค ซึ่งความผิดปกตินี้อาจ

แก้ไขได้หากมีการใช้ siRNA มายับยั้งการสร้างโปรตีนโดยการสลายของ mRNA สำหรับโปรตีนชนิดนี้ในเซลล์มะเร็งมีการผลิตโปรตีนไซคลินอี (cyclin E) เป็นปริมาณมาก การใช้ siRNA ที่มีลำดับนิวคลีโอไทด์จำเพาะสำหรับยีนไซคลินอี สามารถไปลดระดับการผลิตไซคลินอีในเซลล์มะเร็งและส่งเสริมการตายที่เรียกว่า อะพอพโทซิส (apoptosis) และหยุดการเพิ่มของเซลล์มะเร็ง นอกจากนี้ยังมีความสำเร็จในการยับยั้งการแสดงออกของยีนจากไวรัสเรสไพราทอรี ซินไซตริคอล (respiratory syncytical virus, RSV) ซึ่งเป็นอาร์เอ็นเอไวรัสที่ก่อให้เกิดโรคทางเดินหายใจเฉียบพลันโดยเฉพาะในทารก การใช้ siRNA ทำให้ไวรัสลดจำนวนในเซลล์ที่ติดเชื้อ การศึกษานี้จึงสนับสนุนความเป็นไปได้ในการรักษาโรคที่เกิดจากไวรัสชนิดอื่น เช่น จากเชื้อเอชไอวี (HIV) หรือเชื้อไวรัสที่ก่อให้เกิดโรคหัด (Hannon, 2003)



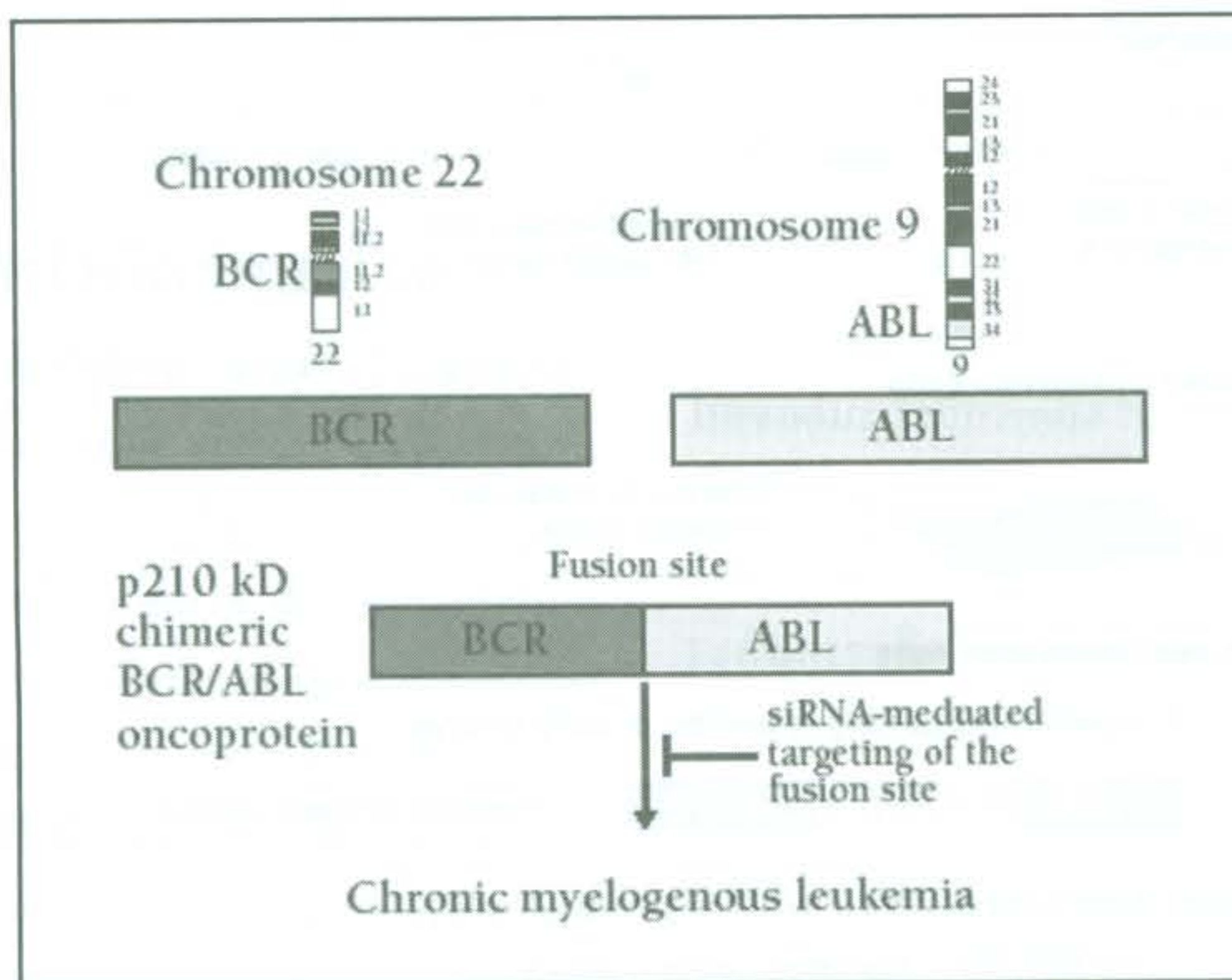
รูปที่ 4 วิธีการในการนำอาร์เอ็นเอสายคู่เข้าสู่เซลล์ของสิ่งมีชีวิตชนิดต่างๆ (Zamore, 2002)

โรคมะเร็งในเม็ดเลือดขาว (leukemia) เป็นโรคที่พบบ่อยในเด็ก สาเหตุหลักเกิดจากการแลกเปลี่ยนชิ้นส่วนของโครโมโซมแขนข้างที่ยาวของโครโมโซมคู่ที่ 9 และคู่ที่ 22 ในคนไข้เรื้อรังและแบบเฉียบพลัน การแลกเปลี่ยนชิ้นส่วนของโครโมโซมนี้ทำให้เกิดการรวมของยีนบีซีอาร์ (BCR)

จากโครโมโซมคู่ที่ 22 และยีนเอบีแอล (ABL) จากโครโมโซมคู่ที่ 9 ได้ยีนลูกผสมที่มีการผลิตโปรตีนลูกผสมบีซีอาร์-เอบีแอล (BCR-ABL) (รูปที่ 5) ซึ่งมีผลต่อการเพิ่มกิจกรรมของเอนไซม์ไทโรซีน ไคเนส (tyrosine kinase) เทียบกับเซลล์ทั่วไปที่มีโปรตีนเอบีแอลในระดับปกติ ทำให้กระบวนการฟอสโฟริเลชัน

(phosphorylation) และการทำงานของโมเลกุลอื่นๆ ที่ตามมาผิดปกติไป โดยปกติแล้วกิจกรรมของเอนไซม์ไทโรซีนไคเนสสามารถถูกยับยั้งโดยสารยับยั้งจำเพาะคือ STI 571 ซึ่งเป็นยาที่ใช้ในปัจจุบัน อย่างไรก็ตาม ได้มีการเปรียบเทียบการใช้ RNAi และ STI 571 ในเซลล์เพาะเลี้ยง พบว่า การรักษาแบบใช้ siRNA

สามารถไปลดระดับ BCR-ABL mRNA และตามด้วยการลดระดับของโปรตีนลูคัสเฟสบีชีอาร์-เอบีแอล ทำให้เซลล์มะเร็งหยุดการขยายตัว (Tuschl and Borkhardt, 2002) จะเห็นว่าการใช้ siRNA อาจมีความสำคัญในคนไข้ที่มีการดื้อยา แต่การรักษาคนไข้ที่เป็นโรคนี้อาจใช้ทั้งสองวิธีร่วมกัน



รูปที่ 5 การแลกเปลี่ยนชิ้นส่วนของโครโมโซมที่เป็นสาเหตุให้เกิดมะเร็งในเม็ดเลือดขาว (Tuschl and Borkhardt, 2002)

สรุป

การศึกษา siRNA ได้ปฏิวัติแนวทางในการวิเคราะห์หาหน้าที่ยีนในระดับจีโนมในสิ่งมีชีวิตหลายชนิด เพราะมีความสะดวกและรวดเร็ว และยังมีแนวโน้มที่จะนำ RNAi มาใช้เป็นเหมือนยาในการบำบัดรักษาโรคในมนุษย์ (therapeutic therapy) ถึงแม้ว่าจะมีการศึกษามากมายเกี่ยวกับประสิทธิภาพการใช้เทคนิค RNAi ในการบำบัดรักษาโรค แต่ก็ยังไม่มีการนำมาทดลองใช้กับมนุษย์จริง คงต้องมีการศึกษาให้มากกว่านี้ ไม่ว่าจะเป็นเรื่องความจำเพาะของ RNAi สำหรับยีนแต่ละชนิดหรือเนื้อเยื่อแต่ละชนิดและความปลอดภัยต่อมนุษย์ การรักษาโรคบนพื้นฐานของการใช้ RNAi อาจเป็นจริงในไม่ช้า

บรรณานุกรม

- Chang, C.F. and Meyerowitz, E.M. (2000). Specific and heritable genetic interference by double-stranded RNA in *Arabidopsis thaliana*. PNAS. 97:4985-4990.
- Fire, A., Xu, S. Montgomery, M.K., Kostas, S.A., Driver, S.E. and Mello, C.C. (1998). Potent and specific genetic interference by double-stranded RNA in *Caenorhabditis elegans*. Nature. 391(6669):806-811.
- Guo, S. and Kemphues, K.J. (1995). par-1, a gene required for establishing polarity in *C. elegans* embryos, encodes a putative

- Ser/Thr kinase that is asymmetrically distributed. *Cell*. 81(4):611-620.
- Hamilton, A.J. and Baulcombe, D.C. (1999). A species of small antisense RNA in posttranscriptional gene silencing in plants. *Science*. 286(5441):950-952.
- Hannon, G. (2003). *RNAi: A Guide to Gene Silencing*. New York: Cold Spring Harbor Laboratory Press.
- Napoli, C.A., Lemieux, C. and Jorgensen, R. (1990). Introduction of a chimeric chalcone synthase gene into petunia results in reversible co-suppression of homologous genes in trans. *Plant Cell*. 2:279-289.
- Peele, C., Jordan, C.V., Muangsan, N., Turnage, M., Egelkrout, E., Eagle, P., Hanley-Bowdoin, L. and Robertson, D. (2001). Silencing of a meristematic gene using geminivirus-derived vectors. *Plant J*. 27:357-366.
- Sioud, M. (2004). Therapeutic siRNA. *Trends in Pharmacological Science*. 25(1):22-28.
- Tuschl, T. and Borkhardt, A. (2002). Small interfering RNAs: a revolution tool for the analysis of gene function and gene therapy. *Molecular Interventions*. 2(3):158-167.
- Waterhouse, P. and Helliwell, C. (2003). Exploring plant genomes by RNA-induced gene silencing. *Nature reviews: Genetics*. 4:29-38.
- Zamore, P. (2002). Ancient pathways programmed by small RNAs. *Science*. 296:1265-1269.



การศึกษาอัตราเร็วของปฏิกิริยาการเติมไฮโดรเจนของยางไอโซพรีน ด้วยพาราโทลูอินซัลโฟนิลไฮดราไซด์

ชลลดา ฤตวิรุพห์¹, วิไลรัตน์ เมืองแก้ว¹, สุมาลี ขอมอินทร์¹ และตะวัน สุขน้อย¹

บทคัดย่อ

โครงการวิจัยนี้ทำการศึกษาปฏิกิริยาการเติมไฮโดรเจนของยางไอโซพรีน โดยใช้พาราโทลูอินซัลโฟนิลไฮดราไซด์ (TSH) เป็นรีเอเจนต์ในตัวทำละลายไซลีน และมีเออร์กานอกซ์ 1010 เป็นสารช่วยป้องกันการเกิดปฏิกิริยาข้างเคียง โดยทำการศึกษาอิทธิพลของเวลาที่ใช้ทำปฏิกิริยาความเข้มข้นของพาราโทลูอินซัลโฟนิลไฮดราไซด์ และอุณหภูมิของปฏิกิริยาที่มีผลต่อเปอร์เซ็นต์การเติมไฮโดรเจน จากการตรวจสอบเปอร์เซ็นต์ การเติมไฮโดรเจนด้วยเทคนิคนิวเคลียร์แมกเนติกเรโซแนนซ์สเปกโทรสโกปี (^1H NMR) พบว่าเปอร์เซ็นต์การเติมไฮโดรเจนเพิ่มขึ้น เมื่อเวลาที่ใช้ทำปฏิกิริยา ความเข้มข้นของพาราโทลูอินซัลโฟนิลไฮดราไซด์ และอุณหภูมิของปฏิกิริยาเพิ่มขึ้น โดยปฏิกิริยาการเติมไฮโดรเจนเกิดได้สมบูรณ์เมื่อเวลาที่ใช้ทำปฏิกิริยามากกว่า 3 ชั่วโมง อัตราส่วนโดยโมลของ $[\text{TSH}]:[\text{C}=\text{C}]$ เท่ากับ 5:1 อุณหภูมิของปฏิกิริยาเป็น 140°C . และสมการอัตราเร็วของปฏิกิริยาการเติมไฮโดรเจนคือ $\text{Rate} = 0.1756 [\text{TSH}]^{0.69}$ โมล/ลิตร-ชม. นอกจากนี้ยังสามารถหาพลังงานก่อกัมมันต์ของการเกิดปฏิกิริยาการเติมไฮโดรเจนของยางไอโซพรีนมีค่าเท่ากับ 53.61 กิโลจูล/โมล จากการตรวจสอบน้ำหนักโมเลกุลของยางไอโซพรีนก่อนและหลังปฏิกิริยาการเติมไฮโดรเจนด้วยเทคนิคเจลเพอเมชันโครมาโทกราฟี (gel permeation chromatography, GPC) พบว่าน้ำหนักโมเลกุลของยางไอโซพรีนหลังปฏิกิริยาการเติมไฮโดรเจนมีค่าลดลง เนื่องจากพาราโทลูอินซัลฟินิกแอซิดซึ่งเป็นผลิตภัณฑ์ร่วมทำให้เกิดการขาดของสายโซ่ของยางไอโซพรีน

Abstract

The hydrogenation of polyisoprene using p-toluenesulfonylhydrazide (TSH) as a reagent in xylene was studied. Irganox 1010 was also used as an antioxidant to diminish a side reaction. The effects of reaction times, concentration of TSH and temperature on the degree of hydrogenation were investigated. The degree of hydrogenation of hydrogenated polyisoprene was determined by a nuclear magnetic resonance spectrometer (^1H NMR). It was found that the degree of hydrogenation increased with reaction times, concentration of TSH and temperature of the reaction. The hydrogenation reaction was completed after 3 hours with $[\text{TSH}]:[\text{C}=\text{C}]$ of 5:1 at 140°C . Rate equation can be expressed as $\text{rate} = 0.1756 [\text{TSH}]^{0.69}$ mol/l-hr. In addition, the activation energy of hydrogenation of polyisoprene is 53.61 kJ/mol. Molecular weight of polyisoprene and hydrogenated polyisoprene were determined by gel permeation chromatography (GPC). It was found that molecular weight of hydrogenated polyisoprene decreased after hydrogenation due to the chain scission activated by co-product, p-toluenesulfinic acid.

¹ ภาควิชาเคมี คณะวิทยาศาสตร์ สถาบันเทคโนโลยีพระจอมเกล้าเจ้าคุณทหารลาดกระบัง กรุงเทพฯ 10520

บทนำ

ปัจจุบันมีพอลิไดอินหลายชนิดที่มีความสำคัญในเชิงการค้า เช่น เอทิลีน-โพรพิลีนไดอิน พอลิเมอร์ (EPDM) พอลิสไตรีนบิวทาไดอิน (SBR) เนื่องจากพอลิเมอร์เหล่านี้มีสมบัติทางฟิสิกส์ตามที่ต้องการ และสามารถทำการปรับปรุงโดยวิธีการทางเคมีได้เนื่องจากมีพันธะคู่อยู่ในสายโซ่ การปรับปรุงทางเคมีของพอลิเมอร์เป็นกระบวนการปรับปรุงหลังการเกิดปฏิกิริยาพอลิเมอไรเซชันแล้ว ซึ่งมีอยู่หลายวิธีด้วยกัน ได้แก่ การเชื่อมโยงของสายโซ่ การเกิดไอโซเมอไรเซชัน (isomerisation) ปฏิกิริยาการปิดวง (cyclization) ปฏิกิริยาการเติมไฮโดรเจน เป็นต้น (ชูลิพร ถนอมศิลป์, 2540)

งานวิจัยนี้ศึกษาปฏิกิริยาการเติมไฮโดรเจนของยางไอโซพรีน เนื่องจากยางไอโซพรีนมีพันธะคู่ที่ไม่อิ่มตัวอยู่ในสายโซ่ เป็นสาเหตุให้สามารถถูกทำลายด้วยความร้อน ออกซิเจนหรือโอโซน และสารเคมีได้ง่าย นอกจากนี้ยางไอโซพรีนที่เกิดปฏิกิริยาการเติมไฮโดรเจนสมบูรณ์จะให้ผลิตภัณฑ์เป็นพอลิเมอร์ร่วมของเอทิลีน-โพรพิลีนแบบสลับ (ethylene-alt-propylene copolymer) ซึ่งสามารถนำไปใช้เป็นสารช่วยผสมของพอลิเมอร์ผสมระหว่างพอลิเอทิลีนและพอลิโพรพิลีนได้ นอกจากนี้กระบวนการผลิตพอลิเมอร์ร่วมของเอทิลีน-โพรพิลีนในปัจจุบันยังมีความยุ่งยากซับซ้อน และให้เปอร์เซ็นต์ผลผลิตในปริมาณน้อย ในงานวิจัยนี้ทำการศึกษาหาสภาวะที่เหมาะสมในการเกิดปฏิกิริยาการเติมไฮโดรเจนของยางไอโซพรีนโดยพาราโทลูอินซัลโฟนิลไฮดราไซด์ (Harwood et al., 1973) เพื่อใช้เวลาในการเกิดปฏิกิริยาสั้น ให้เปอร์เซ็นต์การเติมไฮโดรเจนสมบูรณ์ พร้อมทั้งศึกษาอัตราเร็วของปฏิกิริยาการเติมไฮโดรเจน

ในปี ค.ศ. 1973 Mango และ Lenz ศึกษาปฏิกิริยาการเติมไฮโดรเจนของพอลิบิวทาไดอิน พอลิไอโซพรีน และพอลิไดเมทิลเฮกซะไดอินโดยใช้พาราโทลูอินซัลโฟนิลไฮดราไซด์ พบว่าการเกิดปฏิกิริยาการเติมไฮโดรเจนเกิดขึ้นได้ดีกับพอลิเมอร์

ที่ไม่มีโซ่กิ่ง คือพอลิบิวทาไดอิน พอลิไอโซพรีนเกิดปฏิกิริยาการเติมไฮโดรเจนได้ดีกว่าพอลิไดเมทิลเฮกซะไดอิน

ในปี ค.ศ. 1992 Podesva และคณะ ศึกษาปฏิกิริยาการเติมไฮโดรเจนของพอลิเมอร์ร่วมแบบบล็อกของ สไตรีน/บิวทาไดอิน โดยใช้พาราโทลูอินซัลโฟนิลไฮดราไซด์ และมีการเติมเออร์แกนอกซ์ 1010 พบว่าการเติมเออร์แกนอกซ์ 1010 สามารถช่วยป้องกันการเกิดปฏิกิริยาข้างเคียงได้

วิธีดำเนินงาน

การเตรียมสารตั้งต้นและตัวทำละลาย

ยางไอโซพรีน

ละลายยางไอโซพรีนในโทลูอิน แล้วตกตะกอนในเมทานอล กรองตะกอนที่ได้อบในตู้อบสุญญากาศที่อุณหภูมิห้อง (30°C) เป็นเวลา 24 ชั่วโมง

พาราโทลูอินซัลโฟนิลไฮดราไซด์ (TSH)

ทำ TSH ให้บริสุทธิ์โดยการตกผลึกใหม่ในเอทานอล หลังจากนั้นกรองและอบผลึกที่ได้ในตู้อบสุญญากาศที่อุณหภูมิห้อง เป็นเวลา 24 ชั่วโมง

ไซลีน

ทำการกลั่นไซลีนแล้วเก็บในขวดที่มี Molecular Sieve 13x อยู่

ปฏิกิริยาการเติมไฮโดรเจนของยางไอโซพรีน

ศึกษาอิทธิพลของเวลาที่ใช้ทำปฏิกิริยาที่มีต่อเปอร์เซ็นต์การเติมไฮโดรเจนของยางไอโซพรีน

1. ชั่งยางไอโซพรีน 0.8330 กรัม ละลายในไซลีน 100 มิลลิลิตร ใส่ในขวด 3 คอ แล้วต่อท่อนำก๊าซในโตรเจนลงในขวดเพื่อไล่อากาศออก จากนั้นจึงปิดขวดแล้วพันทับด้วยฟิล์มพาราฟิน แช่ทิ้งไว้ 12 ชั่วโมง

2. เติมเออร์แกนอกซ์ (Irganox 1010) 0.0833 กรัม และพาราโทลูอินซัลโฟนิลไฮดราไซด์ (TSH) 4.56 กรัม (อัตราส่วนโดยโมลของ [TSH]:[C=C] = 2:1) ใส่ลงในขวด 3 คอ ต่อท่อนำก๊าซในโตรเจน เริ่มให้

ความร้อนพร้อมทั้งมีการปั่นกวจนกระทั่งอุณหภูมิเพิ่มขึ้น 140 °ซ. ในระหว่างที่ปฏิกิริยาดำเนินไป 24 ชั่วโมง ทำการเติม TSH อีก 3 ครั้ง ๆ ละ 2.278 กรัม (อัตราส่วนโดยโมลของ [TSH]:[C=C] = 1:1) ทุก ๆ 6 ชั่วโมง

3. หลังจากปฏิกิริยาดำเนินไปครบ 24 ชั่วโมง (สารละลายสีเหลืองอ่อน) นำไปกรองตะกอนทิ้งแล้วนำสารละลายไปแช่ตู้เย็นเป็นเวลา 1 คืน เพื่อให้เกิดการตกตะกอนของพาราโทลูอินซัลฟีนิกแอซิดอย่างสมบูรณ์ (co-product)

4. กรองพาราโทลูอินซัลฟีนิกแอซิดออกแล้วทำการตกตะกอนยางไอโซพรีนในเมทานอลที่มีการปั่นกว (ถ้าสารละลายยังขุ่นอยู่ให้ใส่กรดซัลฟูริกจำนวนเล็กน้อยลงในสารละลาย เพื่อช่วยในการตกตะกอนยางไอโซพรีน)

5. กรองตะกอนยางไอโซพรีนที่ได้ด้วยเครื่องกรองแบบลดความดัน แล้วล้างด้วยเมทานอลหลายๆ ครั้ง แล้วนำไปอบในตู้อบสุญญากาศที่อุณหภูมิห้องเป็นเวลา 24 ชั่วโมง

6. ทำการทดลองซ้ำตามข้อ 1-5 และทำการเปลี่ยนแปลงเวลาที่ใช้ในการทำปฏิกิริยาการเติมไฮโดรเจนเป็น 12, 6, 3, 1 และ 0.5 ชั่วโมง

7. นำผลิตภัณฑ์ที่ได้ไปพิสูจน์เอกลักษณ์ด้วยเทคนิคนิวเคลียร์แมกเนติกเรโซแนนซ์สเปกโทรสโกปี (^1H NMR)

ศึกษาอิทธิพลของความเข้มข้นของพาราโทลูอินซัลฟีนิกแอซิดที่มีผลต่อเปอร์เซ็นต์การเติมไฮโดรเจนของยางไอโซพรีน

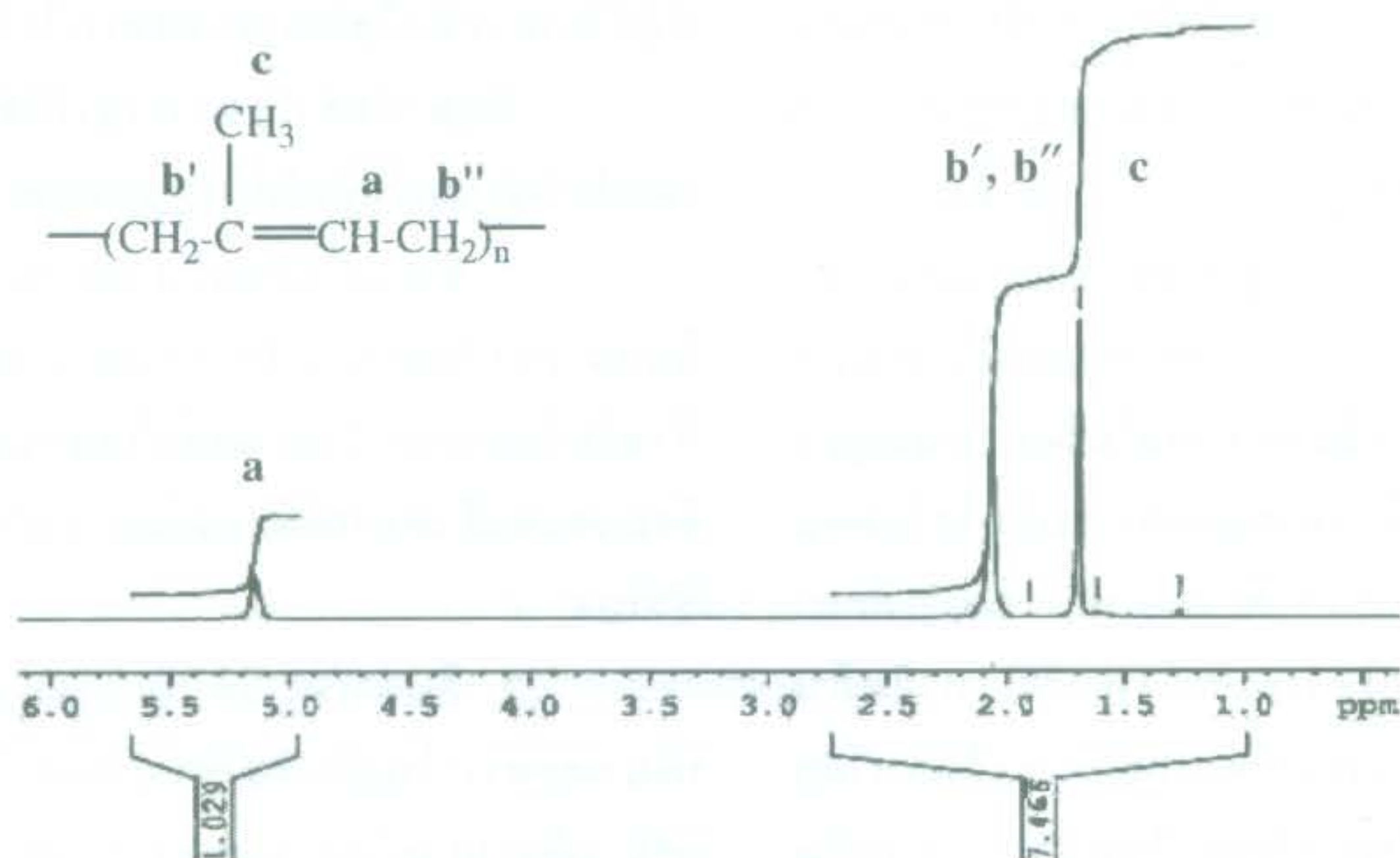
ทำการทดลองเช่นเดียวกับข้อ 1-5 ในตอนศึกษาอิทธิพลของเวลาที่ใช้ทำปฏิกิริยาที่มีต่อเปอร์เซ็นต์การเติมไฮโดรเจนของยางไอโซพรีนข้างต้น แต่เปลี่ยนอัตราส่วนโดยโมลของ [TSH]:[C=C] เป็น 2:1 3:1 และ 5:1 โดยใช้เวลาในการทำปฏิกิริยาเติมไฮโดรเจน 0.5 ชั่วโมง

ศึกษาอิทธิพลของอุณหภูมิที่ใช้ทำปฏิกิริยาที่มีผลต่อเปอร์เซ็นต์การเติมไฮโดรเจนของยางไอโซพรีน

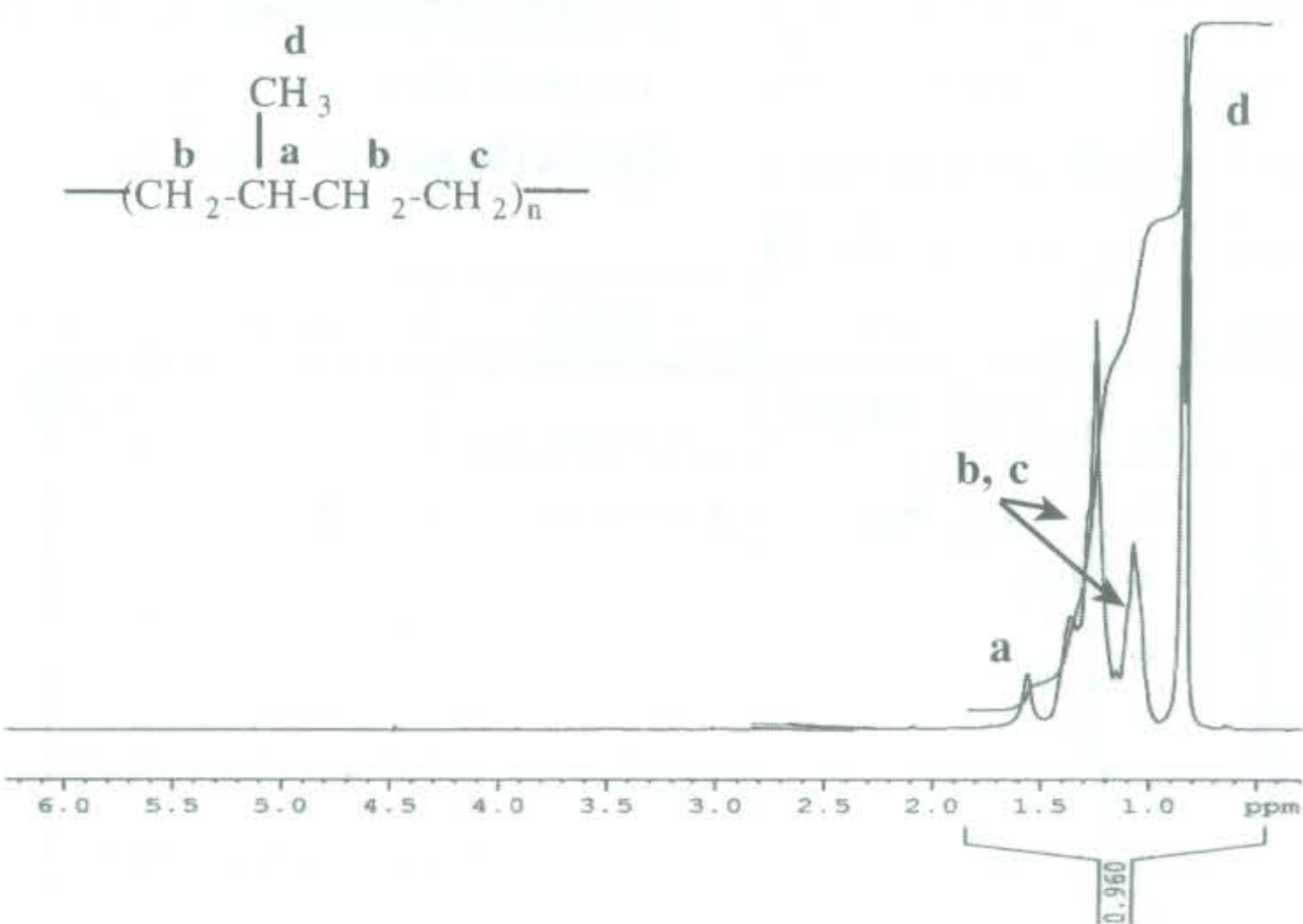
ทำการทดลองเช่นเดียวกับข้อ 1-5 ในตอนศึกษาอิทธิพลของเวลาที่ใช้ทำปฏิกิริยาที่มีต่อเปอร์เซ็นต์การเติมไฮโดรเจนของยางไอโซพรีนข้างต้น แต่เปลี่ยนอุณหภูมิที่ใช้ทำปฏิกิริยาเป็น 120 และ 130 °ซ. ใช้อัตราส่วนโดยโมลของ [TSH]:[C=C] เป็น 3:1 และเวลาในการทำปฏิกิริยาเติมไฮโดรเจน 0.5 ชั่วโมง

ผลการวิเคราะห์และวิจารณ์

โครงสร้างของยางไอโซพรีนก่อนและหลังการเติมไฮโดรเจน (Silverstein et al., 1981)



รูปที่ 1 ^1H NMR สเปกตรัมของยางไอโซพรีนก่อนการเติมไฮโดรเจน



รูปที่ 2 ¹H NMR สเปกตรัมของยางไอโซพรีนหลังการเติมไฮโดรเจนอย่างสมบูรณ์

จากสเปกตรัมรูปที่ 1 พบสัญญาณโปรตอน ที่ 1.6-1.8 ppm เป็นโปรตอนของหมู่เมทิล ที่ 2.0-2.2 ppm เป็นโปรตอนของหมู่เมทิลีน และที่ 5.1-5.2 ppm เป็นโปรตอนของหมู่เมทิลที่ต่ออยู่กับพันธะคู่ และจากผลอินทิเกรชันของจำนวนโปรตอนของพันธะคู่ต่อจำนวนโปรตอนของพันธะคู่มีค่าเท่ากับ 7:1 ซึ่งสอดคล้องกับสูตรโครงสร้างของยางไอโซพรีน และจากสเปกตรัมรูปที่ 2 พบสัญญาณโปรตอนที่ 0.8-1.0 เป็นโปรตอนของหมู่เมทิล ที่ 1.0-1.3 ppm เป็นโปรตอนของหมู่เมทิลีน และที่ 1.4-1.5 ppm

เป็นโปรตอนของหมู่เมทิลของพันธะอิ่มตัว ซึ่งสามารถยืนยันได้ว่าเกิดปฏิกิริยาการเติมไฮโดรเจนของยางไอโซพรีนอย่างสมบูรณ์เนื่องจากไม่พบสัญญาณโปรตอนของหมู่เมทิลที่ต่ออยู่กับพันธะคู่ในช่วง 5.1-5.2 ppm

นอกจากนี้ค่าอินทิเกรชันจากนิวเคลียร์แมกเนติกเรโซแนนซ์สเปกโทรสโกปี (¹H NMR) ยังสามารถนำไปคำนวณเปอร์เซ็นต์การเติมไฮโดรเจน (ซูเกียร์ติและคณะ, 2541) ได้ดังสมการที่ (1)

$$y = 100 - 1000/(x + 3)$$

เมื่อ y = เปอร์เซ็นต์การไฮโดรจีเนชัน
 x = $\frac{\text{ค่าอินทิเกรชันของโปรตอนของพันธะที่อิ่มตัว (chemical shift ~ 0.5-2.3 ppm)}}{\text{ค่าอินทิเกรชันของโปรตอนของพันธะคู่ (chemical shift ~ 5.1 ppm)}}$

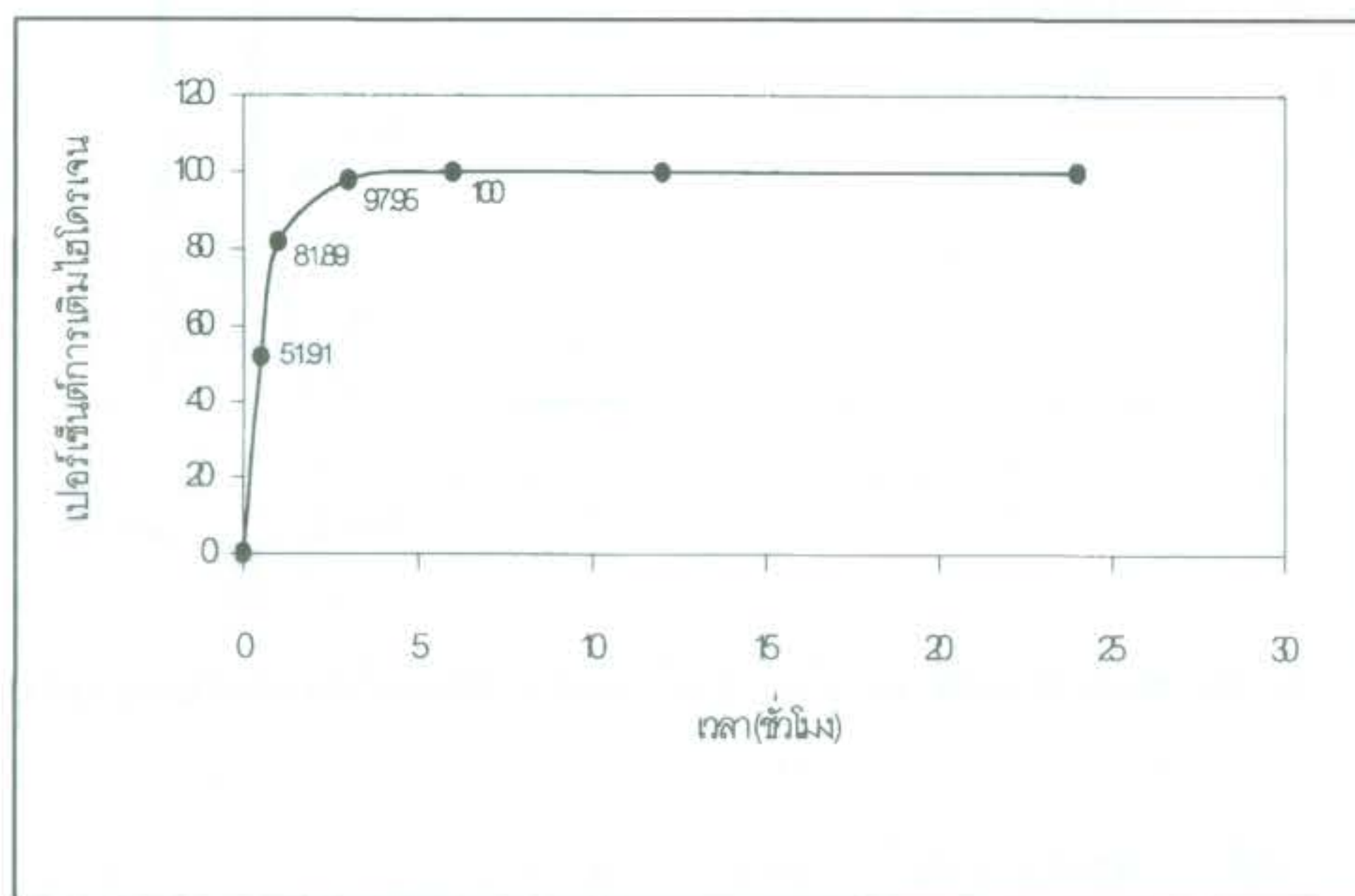
$$(1)$$

อิทธิพลของเวลาที่ใช้ทำปฏิกิริยาที่มีต่อเปอร์เซ็นต์การเติมไฮโดรเจน ของยางไอโซพรีน
จากการทดลองเมื่อใช้เวลาด่าง ๆ (0.5, 1, 3, 6, 12 และ 24 ชั่วโมง) ในการเกิดปฏิกิริยาการเติมไฮโดรเจนของยางไอโซพรีน (รูปที่ 3) พบว่าเปอร์เซ็นต์การเติมไฮโดรเจนมีค่าแปรผันตามเวลาที่ใช้ในการทำปฏิกิริยาการเติมไฮโดรเจนเมื่อใช้เวลา

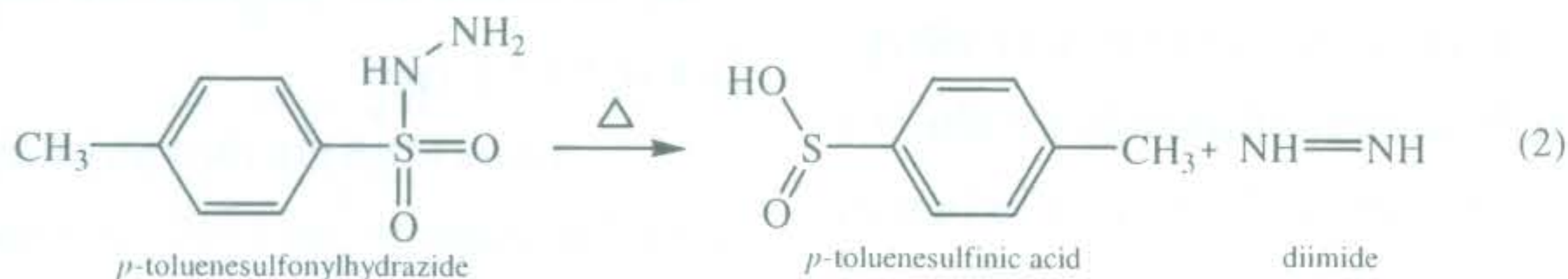
การทำปฏิกิริยาน้อยกว่า 3 ชั่วโมง เนื่องจากปฏิกิริยาดำเนินไปด้วยอัตราเร็วค่าหนึ่งในช่วงเริ่มต้นของปฏิกิริยา TSH สามารถแตกตัวได้ไคโอไมด์ (สมการที่ 2) ในปริมาณน้อย ทำให้มีโอกาสนในการทำปฏิกิริยากับพันธะคู่ของยางไอโซพรีน (สมการที่ 3) ได้น้อย ทำให้ปฏิกิริยาการเติมไฮโดรเจนของยางไอโซพรีนเกิดยังไม่สมบูรณ์ เมื่อใช้เวลาดำเนินการปฏิกิริยามากขึ้น

TSH แตกตัวเป็นไดอิมิดมากขึ้น ทำให้มีโอกาสนในการทำปฏิกิริยากับพันธะคู่ของยางไอโซพรีนมากขึ้นตามลำดับ ทำให้ปฏิกิริยาการเติมไฮโดรเจนของยางไอโซพรีนเกิดได้สมบูรณ์ซึ่งในการทดลองนี้ต้องใช้

เวลาในการทำปฏิกิริยา 3 ชั่วโมงขึ้นไป ขั้นตอนการแตกตัวของ TSH เกิดปฏิกิริยาเป็น 2 ขั้นตอน ดังแสดงในสมการ 2 และ 3



รูปที่ 3 กราฟความสัมพันธ์ระหว่างเปอร์เซ็นต์การเติมไฮโดรเจนของยางไอโซพรีนที่เวลาต่าง ๆ



จากการศึกษาพบว่าเมื่อ TSH แตกตัวให้ไดอิมิดแล้ว ไดอิมิดสามารถเกิดกับพันธะคู่ของยางไอโซพรีนได้อย่างรวดเร็ว ทำให้ไม่สามารถใช้ความเข้มข้นของไดอิมิดเป็นตัวกำหนดอัตราการเกิดปฏิกิริยาได้ ดังนั้นจึงใช้ขั้นตอนการแตกตัวของ TSH เป็นไดอิมิดเป็นขั้นกำหนดอัตราการเกิดปฏิกิริยา (rate determining step) ซึ่งสามารถเขียนสมการอัตราเร็วของปฏิกิริยาเป็นดังนี้

$$\text{Rate} = k [\text{TSH}]^a \quad (4)$$

เมื่อ k คือ ค่าคงที่อัตราเร็วของปฏิกิริยา

เมื่อพิจารณาสมการข้างต้นพบว่าอัตราเร็วของปฏิกิริยาขึ้นกับความเข้มข้นของ TSH จึงได้ทำการศึกษาอิทธิพลของความเข้มข้นของ TSH ที่มีผลต่อเปอร์เซ็นต์การเติมไฮโดรเจน โดยต้องเลือกความเข้มข้นของ TSH ที่มีผลต่อเปอร์เซ็นต์การเติมไฮโดรเจนในช่วงที่มีการเปลี่ยนแปลงเปอร์เซ็นต์การเติมไฮโดรเจนที่มีความสัมพันธ์เป็นเส้นตรงกับเวลาที่ใช้ในการทำปฏิกิริยา ดังนั้นจึงเลือกเวลาในการทำปฏิกิริยาที่ 0.5 ชั่วโมง มาทำการศึกษาอิทธิพลของความเข้มข้นของ TSH ที่มีผลต่อเปอร์เซ็นต์การเติมไฮโดรเจน

อิทธิพลของความเข้มข้น TSH ที่ใช้ทำปฏิกิริยาที่มีต่อเปอร์เซ็นต์การเติม ไฮโดรเจนของยางไอโซพรีน

ตารางที่ 1 ปฏิกิริยาการเติมไฮโดรเจนของยางไอโซพรีนที่ความเข้มข้นของ TSH ต่าง ๆ กัน

Sample No.	[TSH] (โมล/ลิตร)	[TSH]:[C=C]	%HG	Rate (โมล/ชม.-ลิตร)	log [TSH]	log (rate)
1	0.245	2	27.54	0.068	-0.611	-1.167
2	0.368	3	33.59	0.083	-0.434	-1.081
3	0.613	5	51.91	0.128	-0.213	-0.893

หมายเหตุ %HG เปอร์เซ็นต์การเติมไฮโดรเจน

จากผลการทดลองในตารางที่ 1 พบว่าเมื่อความเข้มข้นของ TSH เพิ่มขึ้นทำให้เปอร์เซ็นต์การเติมไฮโดรเจนเพิ่มขึ้น เนื่องจากความเข้มข้นของ TSH ที่เพิ่มขึ้นทำให้มีโอกาสแตกตัวให้ไดอิมิด์เพิ่มขึ้นด้วย ดังนั้นการเกิดปฏิกิริยาระหว่างไดอิมิด์กับพันธะคู่ของยางไอโซพรีนเพิ่มขึ้นด้วย จึงทำให้เปอร์เซ็นต์การเติมไฮโดรเจนเพิ่มขึ้น

โดยทั่วไปค่าของอัตราเร็วปฏิกิริยาแสดงในหน่วยของความเข้มข้น ซึ่งสามารถคำนวณได้ดังนี้ (ปีทมา ลีพหาวงศ์, 2541)

$$\text{Rate (โมล/ชม.-ลิตร)} = \frac{\Delta (\text{ความเข้มข้น})}{t} = \frac{\%HG \times [IR]_i}{t} \quad (5)$$

เมื่อ %HG คือเปอร์เซ็นต์ไฮโดรเจนของยางไอโซพรีน
 $[IR]_i$ คือความเข้มข้นเริ่มต้นของยางไอโซพรีน
 t คือเวลาการทำปฏิกิริยา

จากสมการอัตราเร็วของปฏิกิริยา (สมการที่ 4) เมื่อทำให้เป็นสมการ log สามารถเขียนได้ดังนี้

$$\log (\text{rate}) = \log k + a \log [\text{TSH}] \quad (6)$$

จากผลการทดลองในตารางที่ 1 สามารถนำข้อมูลมาเขียนกราฟความสัมพันธ์ระหว่าง $\log (\text{rate})$ กับ $\log [\text{TSH}]$ ได้กราฟเส้นตรงที่มีความชันเท่ากับอันดับปฏิกิริยาของ [TSH] คือ a และจุดตัดของกราฟเท่ากับ $\log k$ ซึ่งจากกราฟ ได้ความชัน (a) มีค่าเท่ากับ 0.6951 และจุดตัดของกราฟ ($\log k$) มีค่าเท่ากับ -0.7555 ดังนั้นค่า k มีค่าเท่ากับ 0.1756 จึงทำให้เขียนสมการอัตราเร็วของปฏิกิริยาการเติมไฮโดรเจนของยางไอโซพรีนได้ดังนี้

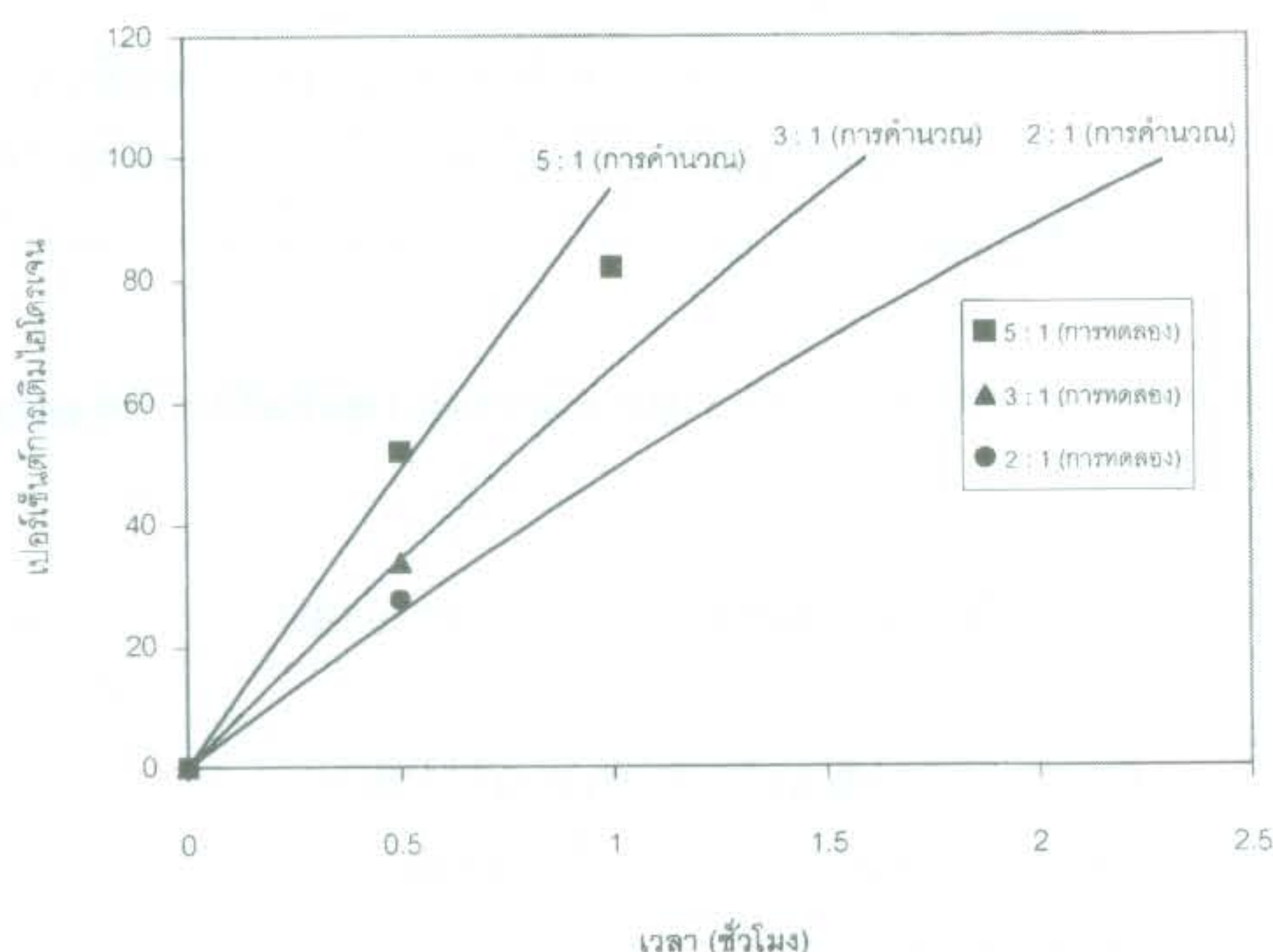
$$\text{Rate} = 0.1756 [\text{TSH}]^{0.69} \quad (7)$$

จากสมการอัตราเร็วของปฏิกิริยาอธิบายได้ว่าไดอิมิด์มีแอกติวิตี (activity) ประมาณ 2/3 ของทั้งหมด (~69 %) ที่สามารถเกิดปฏิกิริยาการเติมไฮโดรเจน ส่วนอีก 1/3 ไม่ได้เกิดปฏิกิริยาการเติมไฮโดรเจน เนื่องจากเกิดปฏิกิริยาข้างเคียง (Poshyachinda and Kanitthanon, 1994) นั่นคือหลังจากที่ TSH สลายตัวให้ไดอิมิด์และ p-toluenesulfinic acid (TSA) แล้ว ไดอิมิด์สามารถทำปฏิกิริยากันเองได้ไฮโดรซันกับก๊าซไนโตรเจน ดังสมการที่ (8)



ดังนั้นอัตราส่วนของ TSH ต่อจำนวนพันธะคู่ ($[\text{TSH}]:[\text{C}=\text{C}]$) ที่ใช้ต้องมีค่ามากกว่า 1:1 เพื่อให้มีปริมาณไดอิมิดมากเพียงพอที่ทำให้ปฏิกิริยาการเติมไฮโดรเจนได้สมบูรณ์ เพราะไดอิมิดที่เกิดขึ้นนั้นไม่ได้เข้าทำปฏิกิริยาทั้งหมด แต่มีบางส่วนที่สามารถเกิดปฏิกิริยาข้างเคียงได้ ทำให้ปริมาณของไดอิมิดที่เข้าทำปฏิกิริยาการเติมไฮโดรเจนมีน้อยกว่าปริมาณที่เติม

จากสมการอัตราเร็วของปฏิกิริยาการเติมไฮโดรเจน (สมการที่ 7) ทำให้สามารถคำนวณหาเปอร์เซ็นต์การเติมไฮโดรเจนในเวลาต่าง ๆ ที่อัตราส่วนโดยโมลของ $[\text{TSH}]:[\text{C}=\text{C}]$ เป็น 5:1 3:1 และ 2:1 แล้วนำค่าที่ได้มาสร้างกราฟความสัมพันธ์ระหว่างเวลาในการทำปฏิกิริยากับเปอร์เซ็นต์การเติมไฮโดรเจนเปรียบเทียบกับเปอร์เซ็นต์การเติมไฮโดรเจนในเวลาต่าง ๆ ที่ได้จากการทดลองที่อัตราส่วนโดยโมลของ $[\text{TSH}]:[\text{C}=\text{C}]$ (ความเข้มข้นของ TSH) 5:1 3:1 และ 2:1 ซึ่งได้ผลดังแสดงในรูปที่ 4



รูปที่ 4 กราฟความสัมพันธ์ระหว่างเปอร์เซ็นต์การเติมไฮโดรเจนกับเวลาที่อัตราส่วนโดยโมลของ $[\text{TSH}]:[\text{C}=\text{C}]$ ต่าง ๆ กัน

จากรูปที่ 4 พบว่าค่าที่ได้จากการทดลองมีแนวโน้มใกล้เคียงกับค่าที่ได้จากการคำนวณสมการที่(7) กล่าวคือเมื่อเวลาและอัตราส่วนโดยโมลของ $[\text{TSH}]:[\text{C}=\text{C}]$ ที่ใช้ทำปฏิกิริยาเพิ่มขึ้น ทำให้เปอร์เซ็นต์การเติมไฮโดรเจนเพิ่มขึ้น และถ้าใช้อัตราส่วนโดยโมลของ $[\text{TSH}]:[\text{C}=\text{C}]$ มากขึ้นทำให้ใช้เวลาในการเกิดปฏิกิริยาการเติมไฮโดรเจนสมบูรณ์ลดลง

อิทธิพลของอุณหภูมิที่ใช้ทำปฏิกิริยา ที่มีต่อเปอร์เซ็นต์การเติมไฮโดรเจน ของยางไอโซพรีน

เมื่อทำปฏิกิริยาการเติมไฮโดรเจนของยางไอโซพรีนที่อุณหภูมิ 120-140 °ซ. แล้วคำนวณหาเปอร์เซ็นต์การเติมไฮโดรเจน พบว่าเปอร์เซ็นต์การเติมไฮโดรเจนของยางไอโซพรีนเพิ่มขึ้น เมื่ออุณหภูมิของปฏิกิริยาเพิ่มขึ้น เนื่องจากเมื่ออุณหภูมิเพิ่มขึ้น ทำให้พลังงานจลน์ของโมเลกุลเพิ่มขึ้น ซึ่งทำให้ความเร็วของโมเลกุลเพิ่มขึ้นด้วย และมีผลทำให้จำนวนครั้งของการชนกันต่อหน่วยเวลาเพิ่มขึ้น เปอร์เซ็นต์การเติมไฮโดรเจนของยางไอโซพรีนจึงเพิ่มขึ้น

ตารางที่ 2 เปรี่เซ็นต์การเติมไฮโดรเจนของยางไอโซพรีนที่อุณหภูมิต่าง ๆ

Sample No.	T (°ซ.)	T (°เคลวิน)	[TSH] (โมล/ลิตร)	%HG	Rate (โมล/ชม.-ลิตร)	k	log k	1/T (°เคลวิน ⁻¹)
1	120	393	0.245	28.42	0.0699	0.1845	-0.734	0.00254
2	130	403	0.245	45.99	0.1131	0.2985	-0.525	0.00248
3	140	413	0.245	61.63	0.1516	0.4001	-0.398	0.00242

จากความสัมพันธ์ระหว่างอัตราเร็วของปฏิกิริยากับอุณหภูมิเป็นไปตามสมการอาร์เรเนียสคือ

$$k = Ae^{-E_a/RT} \tag{9}$$

สมการที่ (9) สามารถทำให้อยู่ในรูปของสมการ log ได้คือ

$$\log k = \log A - E_a/2.303RT \tag{10}$$

จากผลการทดลองในตารางที่ 2 สามารถนำข้อมูลมาเขียนกราฟความสัมพันธ์ระหว่าง log k กับ 1/T ได้กราฟเส้นตรงที่มีความชันเป็น -E_a/2.303R ซึ่งมีค่าเท่ากับ -2800 และเมื่อแทนค่า R = 8.314 จูล/เคลวิน-โมล ได้ E_a ซึ่งคือพลังงานก่อกัมมันต์ของการเกิดปฏิกิริยาการเติมไฮโดรเจนของยางไอโซพรีน มีค่าเท่ากับ 53.61 กิโลจูล/โมล

การหาน้ำหนักโมเลกุลของยางไอโซพรีนก่อนและหลังเกิดปฏิกิริยา การเติมไฮโดรเจน

จากผลการตรวจสอบน้ำหนักโมเลกุลด้วย GPC ของยางไอโซพรีนก่อนและหลังเกิดปฏิกิริยาการเติมไฮโดรเจน (อัตราส่วนโดยโมลของ [TSH]:[C=C] เท่ากับ 5:1 และเวลาการทำปฏิกิริยา 12 ชั่วโมง) ดังแสดงในตารางที่ 3

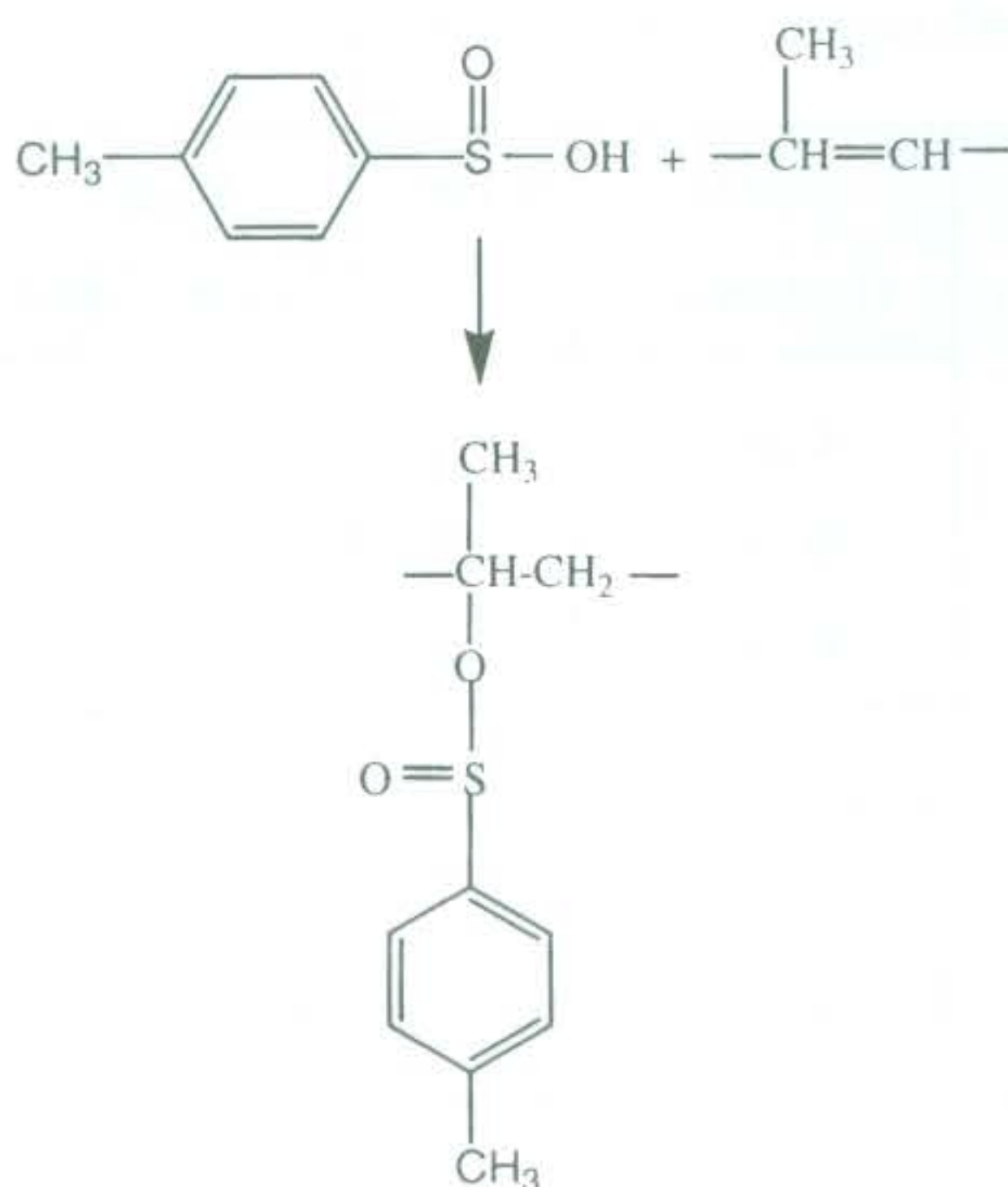
ตารางที่ 3 ผลของน้ำหนักโมเลกุลยางไอโซพรีนก่อนและหลังเกิดปฏิกิริยาการเติมไฮโดรเจน

	Mn	Mw	Mp	Mz	Mv	Polydispersity
IR	67,109	336,160	140,125	954,817	227,131	5
HIR 12h	14,312	156,452	60,527	547,124	79,886	10.93

หมายเหตุ IR คือยางไอโซพรีน HIR 12h คือยางไอโซพรีนหลังเกิดปฏิกิริยาการเติมไฮโดรเจนเป็นเวลา 12 ชั่วโมง

พบว่าน้ำหนักโมเลกุลของยางไอโซพรีนหลังเกิดปฏิกิริยาการเติมไฮโดรเจนมีค่าลดลง และการกระจายน้ำหนักโมเลกุลกว้างขึ้น เนื่องจากเกิดการขาดของสายโซ่ (chain scission) ทำให้โมเลกุลมีขนาดเล็กลง ซึ่งการลดลงของน้ำหนักโมเลกุลเกิด

จากปฏิกิริยาข้างเคียง กล่าวคือ TSA ที่เกิดจากการสลายตัวทางความร้อนของ TSH ซึ่งมีฤทธิ์เป็นกรดสามารถเข้าทำปฏิกิริยากับพันธะคู่ จึงส่งผลให้เกิดการขาดของสายโซ่ ดังรูปที่ 5



รูปที่ 5 การเกิดปฏิกิริยาของ TSA กับพันธะคู่ของยางไอโซพรีน

สรุปผลการทดลอง

จากการศึกษาอิทธิพลของเวลาในปฏิกิริยาการเติมไฮโดรเจนของยางไอโซพรีน ที่อัตราส่วนโดยโมลของ $[TSH]:[C=C]$ เท่ากับ 5:1 พบว่าเกิดปฏิกิริยาการเติมไฮโดรเจนสมบูรณ์เมื่อใช้เวลาในการทำปฏิกิริยามากกว่า 3 ชั่วโมง และจากการศึกษาอิทธิพลของความเข้มข้นของ TSH และอุณหภูมิที่ใช้ในปฏิกิริยาการเติมไฮโดรเจนของยางไอโซพรีน พบว่าเกิดปฏิกิริยาการเติมไฮโดรเจนของยางไอโซพรีนเพิ่มขึ้นเมื่อใช้เวลาและความเข้มข้นของ TSH มากขึ้น นอกจากนั้นจากผลการศึกษาอิทธิพลของความเข้มข้นของ TSH ต่างๆ กันสามารถนำไปสร้างกราฟความสัมพันธ์ของ $\log(\text{rate})$ กับ $\log [TSH]$ ได้ค่าอันดับปฏิกิริยาของ TSH มีค่าเท่ากับ 0.69 และค่า k มีค่าเท่ากับ 0.1756 ซึ่งทำให้สามารถเขียนสมการอัตราอัตราเร็วของปฏิกิริยาการเติมไฮโดรเจนของยางไอโซพรีนได้ว่า $\text{rate} = 0.1756[TSH]^{0.69}$ โมล/ลิตร-ชม. ส่วนการศึกษาอิทธิพลของอุณหภูมิสามารถนำไปสร้างกราฟความสัมพันธ์ของ $\log k$ กับ $1/T$ แล้วนำความชันของกราฟไปคำนวณได้ค่าพลังงานก่อก

กัมมันต์ของการเกิดปฏิกิริยาการเติมไฮโดรเจนของยางไอโซพรีนมีค่าเท่ากับ 53.61 กิโลจูล/โมล และพบว่าน้ำหนักโมเลกุลของยางไอโซพรีนหลังเกิดปฏิกิริยาการเติมไฮโดรเจนมีค่าลดลง เนื่องจาก TSA ที่เกิดจากการสลายตัวของ TSH ทำให้เกิดการขาดของสายโซ่ยางไอโซพรีน

กิตติกรรมประกาศ

ขอขอบคุณคณะวิทยาศาสตร์ สถาบันเทคโนโลยีพระจอมเกล้าเจ้าคุณทหารลาดกระบัง ที่ให้ทุนสนับสนุนการวิจัยครั้งนี้ และขอขอบคุณส่วนอุตสาหกรรมยาง สถาบันยาง กรมวิชาการ เกษตรที่เอื้อเฟื้อยางไอโซพรีน

เอกสารอ้างอิง

ชูลีพร ถนอมศิลป์. (2540). การศึกษาปฏิกิริยาการเติมไฮโดรเจนแบบไม่ใช้ตัวเร่งปฏิกิริยาของโพลีไอโซพรีน. วิทยานิพนธ์ วิทยาศาสตร์ มหาบัณฑิต สาขาวิทยาศาสตร์พอลิเมอร์ มหาวิทยาลัยมหิดล.

- ชูเกียรติ กริธาดำรงเดช, พรพรรณ ปิ่นจันทร์ และ
ภักดี รัตนจันทร์. (2541). การไฮโดรจิเน
ชันยางไอโซพรีนเพื่อใช้เป็นตัวช่วยผสม
ในพอลิเมอร์ผสมระหว่างพอลิเอทิลีน
และพอลิพรอพิลีน. โครงการพิเศษ
หลักสูตรวิทยาศาสตรบัณฑิต ภาควิชาเคมี
คณะวิทยาศาสตร์ สถาบันเทคโนโลยี
พระจอมเกล้าเจ้าคุณทหารลาดกระบัง.
- ปัทมา ลีพหาวงศ์. (2541). ปฏิบัติการเคมีทั่วไป.
ภาควิชาเคมี คณะวิทยาศาสตร์ สถาบัน
เทคโนโลยีพระจอมเกล้าเจ้าคุณทหาร
ลาดกระบัง.
- Harwood, H.J., Russell, D. B., Verthe, J. A. and
Zymonas, J. (1973). Diimide as a reagent
for the hydrogenation of unsaturated
polymer. *Die Makromolekulare
Chemie*.163:1-12.
- Mango, L.A. and Lenz, R.W. (1973). Hydrogenation
of unsaturated polymer with diimide.
Die Makromolekulare Chemie. 163:13-36.
- Podesva J., Spacek, P. and Konak, C. (1992).
Stability of the chain structure of
styrene-isoprene diblock copolymer during
the hydrogenation by diimide. *Journal of
Applied Polymer Science*. 44:527-532.
- Poshyachinda, S. and Kanitthanon, V. (1994). FT
Raman spectroscopic study of the diimide
hydrogenation of cis-polybutadiene: some
evidence of cis-trans isomerisation.
Spectrochimica Acta. 50A (11):2011-2017.
- Silverstein, R.M., Bassler, G.C., Morrill, T.C. (1981).
*Spectrometric Identification of Organic
Compounds*. 4th ed. New York: John Wiley
& Son. p.166-175.



การวิเคราะห์สมบัติเชิงความร้อนของสารผสมอินทรีย์บางชนิด โดยเทคนิค ดิฟเฟอเรนเชียล สแกนนิ่ง แคลอริเมทรี

ยุทธพล ไตรวงศ์¹, สาริต วะจีประสิทธิ์¹,
ทิพาภรณ์ ศรีธัญญรัตน์¹ และ ศักดิ์สิทธิ์ จันทน์ไทย¹

บทคัดย่อ

ได้วิเคราะห์สมบัติเชิงความร้อนของสารผสมอินทรีย์บางชนิด โดยเทคนิคดิฟเฟอเรนเชียล สแกนนิ่ง แคลอริเมทรี (differential scanning calorimetry, DSC) โดยทดลองหาสภาวะที่ เหมาะสมในการเปลี่ยนวัฏภาค และ/หรืออันตรกิริยาเคมีของสารตัวอย่างในสถานะของแข็งภายใต้อิทธิพลของความร้อนในช่วงอุณหภูมิห้อง จนถึง 300 °ซ. จากดีเอสซีเทอร์โมแกรม พบว่า คอเลสเตอรอล (144.9 ± 0.57 °ซ.) ครีมเทียม (199.9 ± 1.23 °ซ.) น้ำตาลทรายขาว (181.8 ± 0.59 °ซ.) และแป้งชนิดต่าง ๆ (191.7 ± 1.48 ถึง 195.9 ± 2.50 °ซ.) แสดงเทอร์โมแกรม แบบดูดความร้อนเพียงพีกเดียวที่อุณหภูมิต่างกัน และให้ค่าเอนทัลปีในช่วง 64.5 ± 2.04 , 109.6 ± 1.24 , 120.3 ± 3.76 และ 182.7 ± 2.20 - 200.0 ± 1.15 จูล/กรัม ตามลำดับ

Abstract

Thermal properties of some organic materials were analyzed by differential scanning calorimetry (DSC). Optimum conditions for recognizing any phase change and/or chemical interaction of a solid sample under the influence of heat from room temperature up to 300°C were obtained. It was found that cholesterol (144.9 ± 0.57 °C), non-dairy cream (199.9 ± 1.23 °C), white refined sugar (181.8 ± 0.59 °C) and different kinds of typical starch (from 191.7 ± 1.48 to 195.9 ± 2.50 °C) exhibited an intrinsic single endothermic peak with various melting temperatures and their enthalpy changes were found to be 64.5 ± 2.04 , 109.6 ± 1.24 , 120.3 ± 3.76 and from 182.7 ± 2.20 to 200.0 ± 1.15 J/g, respectively.

¹ ภาควิชาเคมี คณะวิทยาศาสตร์ มหาวิทยาลัยขอนแก่น อ.เมือง จ.ขอนแก่น 40002

บทนำ

ปัจจุบันนี้ มีการประยุกต์ใช้เทคนิค ดิฟเฟอเรนเชียล สแกนนิ่ง แคลอริเมทรี (differential scanning calorimetry, DSC) เพื่อวิเคราะห์สมบัติเชิงความร้อนของสารตัวอย่างหลายประเภททั้งในเชิงคุณภาพและปริมาณ เช่น พอลิเมอร์ กรดไขมัน กรดอินทรีย์ แล็กโทส และโปรตีน (Chanthai et al., 1996; Akuzawa et al., 1997; Lu and Zograf, 1997; Ritter et al., 2001; Takei et al., 2002) มีการเลือกใช้เทคนิคนี้เพื่อศึกษาความร้อนในการสลายตัวของสาร จลนพลศาสตร์ในปฏิกิริยาของของแข็ง การหาความบริสุทธิ์ของวัสดุ (Yamamoto et al., 1998) และค่าความจุความร้อนของพอลิเมอร์ เป็นต้น

การวิเคราะห์สารเชิงความร้อนเป็นการศึกษาเกี่ยวกับการเปลี่ยนแปลงสมบัติทางกายภาพและ/หรืออันตรกิริยาทางเคมีของสารตัวอย่าง เช่น การเปลี่ยนวัฏภาค (phase change/transition) หรือปฏิกิริยาการสลายตัวของวัสดุสาร (Haines and Wilburn, 1995) ในเบื้องต้นนี้การวิเคราะห์สมบัติเชิงความร้อนของสารอินทรีย์หรืออนินทรีย์ใด ๆ ใช้หาเอนทัลปี (enthalpy change, (H) หรือ ปริมาณความร้อนของระบบได้ เช่น การหลอมเหลว ($\Delta H_{\text{fus}} = \Delta H_{\text{f(l)}} - \Delta H_{\text{f(s)}}$) หรือการกลายเป็นไอ ($\Delta H_{\text{vap}} = \Delta H_{\text{f(g)}} - \Delta H_{\text{f(l)}}$) ของสาร เมื่อ ΔH_{fus} และ ΔH_{vap} คือการเปลี่ยนแปลงเอนทัลปี หรือ ความร้อนของการหลอมเหลว และการกลายเป็นไอ ตามลำดับ $\Delta H_{\text{f(g)}}$, $\Delta H_{\text{f(l)}}$ และ $\Delta H_{\text{f(s)}}$ คือการเปลี่ยนแปลงเอนทัลปีของสารในสถานะก๊าซของเหลว และของแข็ง ตามลำดับ

ในการวิเคราะห์เชิงคุณภาพจะพิจารณาข้อมูลที่ได้จากดีเอสซีเทอร์โมแกรม ซึ่งได้แก่ รูปร่างพีก ตำแหน่งพีก และจำนวนพีกที่เกิดจากการดูดหรือคายความร้อน มีปัจจัยหลายอย่างที่สามารถส่งผลกระทบต่อลักษณะดีเอสซีเทอร์โมแกรม เช่น การเปลี่ยนอัตราการเพิ่มอุณหภูมิ หรือบรรยากาศภายในเตาให้ความร้อน ส่วนในการหาปริมาณสารก็ใช้พื้นที่ใต้พีกเป็นตัวกำหนด ด้วยเหตุนี้ จึงควร

ศึกษาปัจจัยที่มีผลกระทบต่อขนาดของพื้นที่ใต้พีกนั้นด้วย ตัวแปรหลักที่มีอิทธิพลต่อลักษณะของดีเอสซีเทอร์โมแกรมมี 2 ประเภทที่สำคัญ คือ ปัจจัยจากเครื่องมือ ซึ่งได้แก่ อัตราการเพิ่มอุณหภูมิ บรรยากาศของเตาให้ความร้อน ตำแหน่งที่วางสารตัวอย่าง ชนิดและตำแหน่งของคู่วัดความร้อน ความเร็วและการตอบสนองของเครื่องบันทึกสัญญาณ ส่วนปัจจัยหลังคือ ลักษณะจำเพาะของสารตัวอย่าง ซึ่งได้แก่ มวลสาร ขนาดและการจัดเรียงอนุภาค สารที่ใช้เจือจาง ค่าการนำความร้อน (thermal conductivity) ความจุความร้อน (heat capacity) การขยายหรือหดตัวของสาร และ ระดับความเป็นผลึก (degree of crystallinity)

ในการศึกษาครั้งนี้ ได้ทดลองหาสภาวะที่เหมาะสมในการวิเคราะห์สารอินทรีย์ในสถานะของของแข็ง โดยศึกษาปัจจัยที่อาจส่งผลกระทบต่อลักษณะของเทอร์โมแกรม ซึ่งได้แก่ น้ำหนักสารตัวอย่าง อัตราการเพิ่มความร้อน (heating rate) และการไหลของความร้อนเริ่มต้น (initial heat flow) โดยตรวจสอบสมรรถนะของเครื่องดีเอสซี ด้วยสารมาตรฐานกรดเบนโซอิก (benzoic acid) ซึ่งทราบสมบัติเชิงความร้อนแล้ว และประยุกต์ใช้วิเคราะห์สมบัติเชิงความร้อนของตัวอย่างอาหารที่คุ้นเคยกันดีในชีวิตประจำวันทั้งที่เป็นสารประกอบอินทรีย์ หรือของผสมอินทรีย์ เช่น แป้ง น้ำตาล หรือ ไขมัน เป็นต้น

วัสดุอุปกรณ์และวิธีการ

เครื่องมือและอุปกรณ์ ใช้เครื่อง differential scanning calorimeter (Perkin Elmer Pyris 1 DSC) กับคอมพิวเตอร์ (Venturis FX 5166) โปรแกรม PE-Pyris Series - Pyris 1 DSC และ Printer HP, LaserJet 5L ใช้ turbulent chamber (P/N N537-0543) ร่วมกับเครื่องควบคุมน้ำหล่อเย็น (Ultra Julabo F40) เครื่องควบคุมกำลังไฟฟ้า (silicon power supply, SR-313V) อุปกรณ์สำหรับพนักฝ่าภาชนะใส่สาร (pan crimper press, P/N 0219-0048) คีมคีบภาชนะ

(tweezers viola 6-SA) ภาชนะอะลูมิเนียม (aluminium pan, P/N 0219-0041) และเครื่องชั่งไฟฟ้า (Mettler AB 204)

สารเคมีและสารตัวอย่าง

สารมาตรฐานที่ใช้ปรับสมรรถนะการใช้เครื่องดีเอสซี คือกรดเบนโซอิกบริสุทธิ์ (Mettler, T_m 122.1 °ซ., ΔH_{fus} 141.8 จูล/กรัม) สารตัวอย่างที่ใช้ศึกษาได้แก่ คอเลสเตอรอล (cholesterol from lanolin, Fluka, mp.147-150 °ซ., p.a.97%) แป้งมันฝรั่ง (potato starch, Baker analyzed) แป้งข้าวเจ้า (rice starch, Sigma) น้ำตาลทรายขาว (refined sugar) ข้าวสารหอมมะลิ และข้าวสารเหนียวที่มีจำหน่ายทั่วไป ในการเตรียมตัวอย่างน้ำตาลทราย ข้าวหอมมะลิ และข้าวเหนียว ซึ่งเป็นวัสดุของแข็งที่มีขนาดค่อนข้างใหญ่จะนำมาบดให้ละเอียดอย่างสม่ำเสมอโดยใช้ครกบดสารแล้วทำการวิเคราะห์ทันที

การเตรียมสารตัวอย่างและเทคนิคดีเอสซี

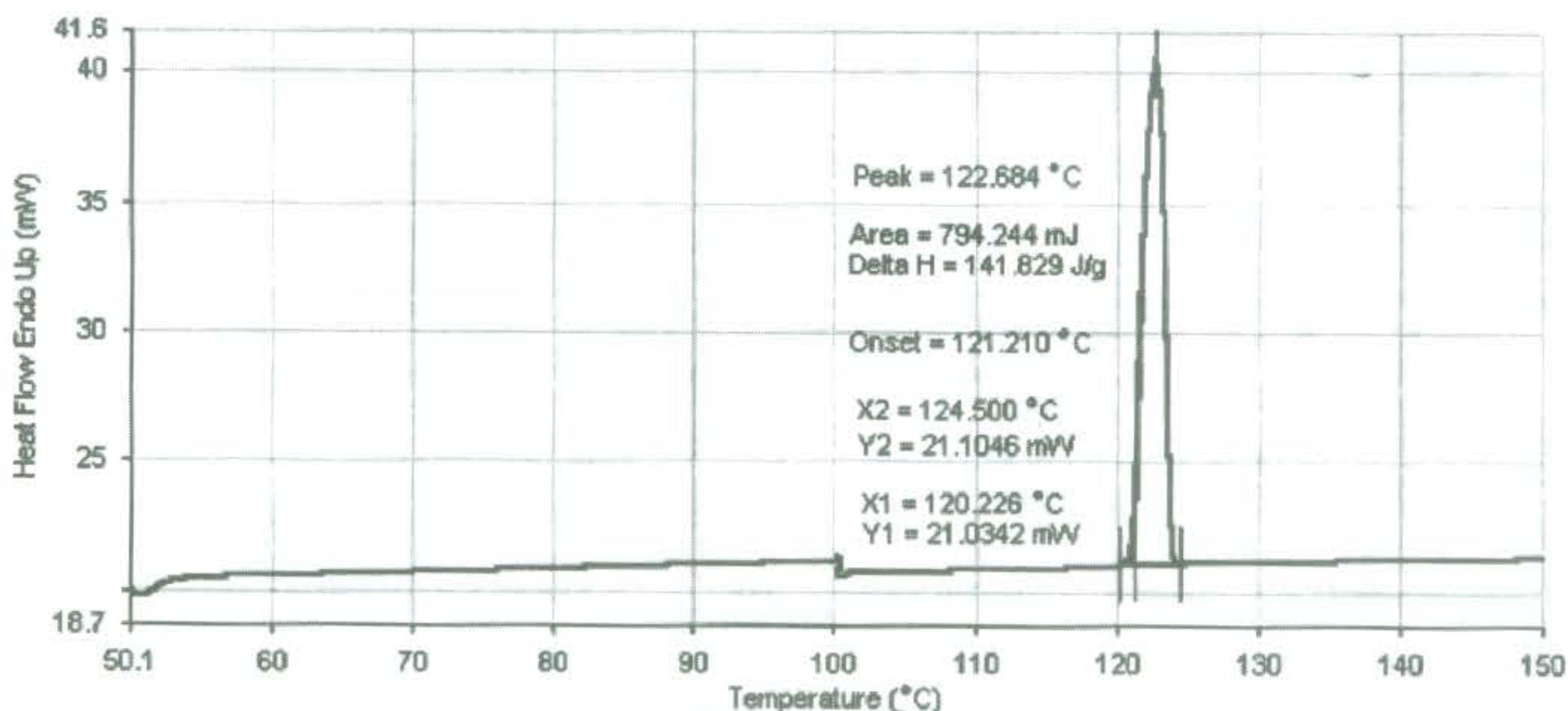
นำสารตัวอย่างที่จะวิเคราะห์ใส่ลงในภาชนะอะลูมิเนียมที่ทราบน้ำหนักแน่นอน โดยเกลี่ยสารตัวอย่างให้กระจายตัวในภาชนะนั้นอย่างสม่ำเสมอ ชั่งน้ำหนักสารตัวอย่างพร้อมฝาภาชนะก่อน แล้วจึงปิดฝาภาชนะและผนึกให้สนิท นำไปชั่งน้ำหนักอีกครั้ง สำหรับภาชนะอ้างอิงนั้นให้ทำในลักษณะเดียวกันแต่ไม่ต้องใส่สารใด ๆ จากนั้น นำภาชนะทั้งสองไปวางลงในตำแหน่งของสารตัวอย่างและสารอ้างอิง ตามลำดับ ภายใต้บรรยากาศก๊าซไนโตรเจน 20 ปอนด์ต่อตารางนิ้ว แล้วจึงสั่งให้เครื่องดีเอสซี

ทำงานตามเงื่อนไขของโปรแกรมที่กำหนดน้ำหนักสารตัวอย่างที่ใช้ อุณหภูมิเริ่มต้นและอุณหภูมิสุดท้าย อัตราการเพิ่มอุณหภูมิ และการไหลของความร้อนเริ่มต้น ซึ่งจะปรากฏ ดีเอสซีเทอร์โมแกรมตามต้องการ โดยใช้ระบบน้ำหล่อเย็น (5 °ซ.) เพื่อระบายความร้อนของเตา ดีเอสซี ในช่วงที่ทำการวิเคราะห์

ผลการทดลอง

การตรวจสอบสมรรถนะของเครื่องดีเอสซี

ในการตรวจสอบสมรรถนะของเครื่องดีเอสซี เลือกใช้กรดเบนโซอิกที่มีความบริสุทธิ์สูงเป็นสารมาตรฐาน รูปที่ 1 แสดงดีเอสซีเทอร์โมแกรมของกรดเบนโซอิก (5.6 มิลลิกรัม) โดยเปรียบเทียบค่า T_m (121.2 °ซ.) และ (ΔH_{fus} 141.83 จูล/กรัม) ที่ได้จากการทดลองครั้งนี้กับค่ามาตรฐานที่กำหนดในช่วงอุณหภูมิ 50 - 150 °ซ. โดยทำซ้ำภายใต้สภาวะการทดลองเดียวกัน คือใช้อัตราการเพิ่มอุณหภูมิ 2.5 °ซ./นาที และการไหลของความร้อนเริ่มต้น 20 มิลลิวัตต์ โดยแสดงข้อมูลของ $T_{m, onset}$ และ $T_{m, peak top}$ ช่วงพิกัดของพื้นที่ใต้พีก พื้นที่ใต้พีก และค่าเอนทัลปี เมื่อเปรียบเทียบจุดที่สารเริ่มหลอมเหลว ($T_{m, onset}$) ของกรดเบนโซอิกกับค่าที่รายงานไว้ (122.4 °ซ.) พบว่า ให้ค่าใกล้เคียงกัน ส่วน ΔH_{fus} ก็ให้ผลสอดคล้องกับที่รายงานไว้ (141.80 จูล/กรัม) เช่นกัน อย่างไรก็ตาม ผลการทดลองทั้งสองซ้ำนั้นอาจเบี่ยงเบนไปบ้างทั้งนี้เนื่องจาก ΔH_{fus} เป็นค่าที่แสดงในหน่วยพลังงานต่อน้ำหนักสารที่ใช้ ซึ่งเป็นสมบัติเฉพาะตัวของสาร หรือ สภาวะที่ใช้ทดลองต่างกันบ้าง เช่น ความละเอียดของน้ำหนักสารตัวอย่างที่ใช้ หรืออัตราการเพิ่มอุณหภูมิ เป็นต้น

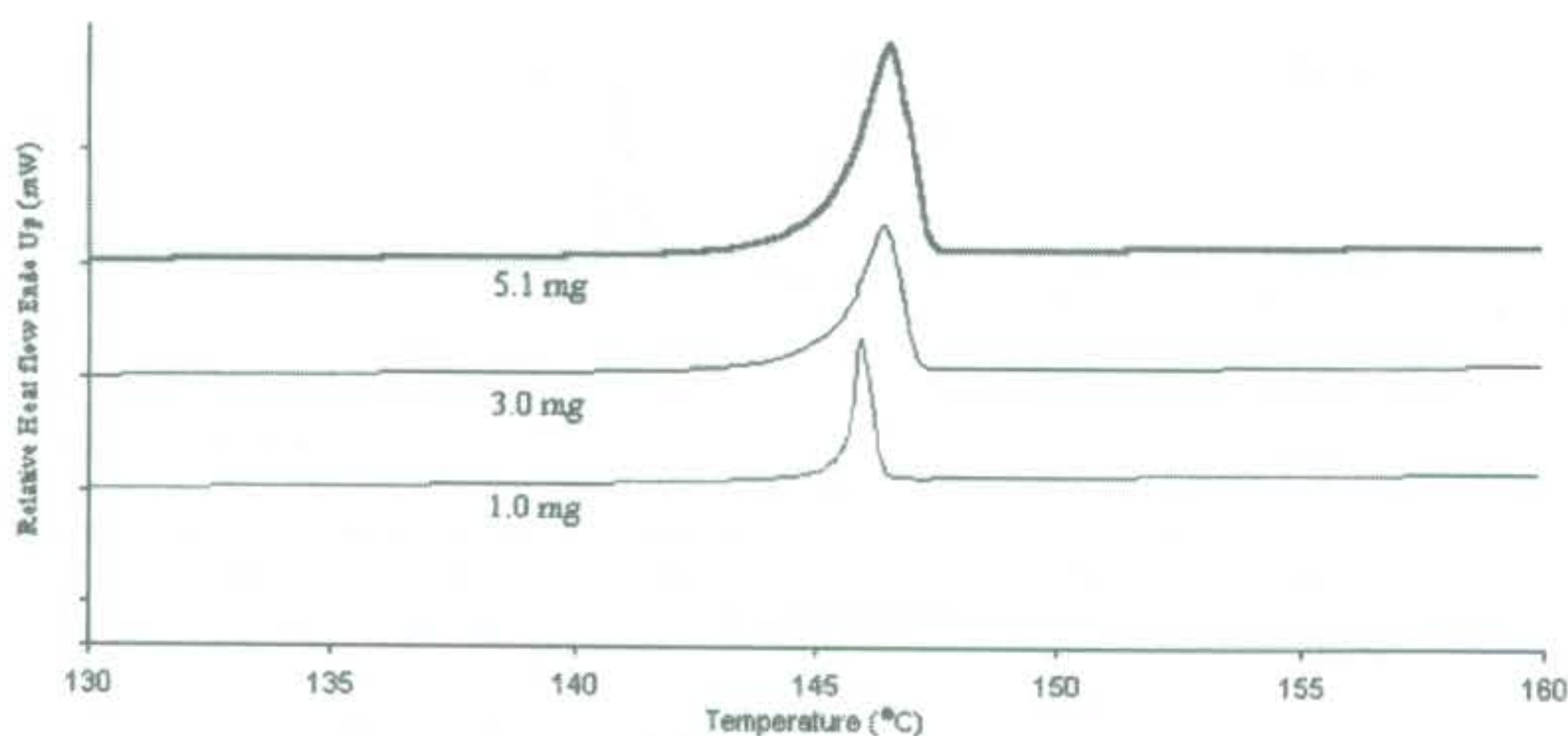


รูปที่ 1 ดีเอสซีเทอร์โมแกรมของกรดเบนโซอิก (5.6 มิลลิกรัม) ในช่วงอุณหภูมิ 50-150 °ซ.

ปัจจัยที่มีผลกระทบต่อดีเอสซีเทอร์โมแกรม

น้ำหนักสารตัวอย่าง จากดีเอสซีเทอร์โมแกรม ในรูปที่ 2 แสดงถึงอิทธิพลของน้ำหนักสารตัวอย่างที่ใช้ โดยเลือกใช้คอเลสเทอรอลเนื่องจากเป็นสารอินทรีย์ที่ค่อนข้างบริสุทธิ์ เมื่อเปลี่ยนแปลงน้ำหนักคอเลสเทอรอลในช่วง 1.0-5.1 มิลลิกรัมที่อัตราการ

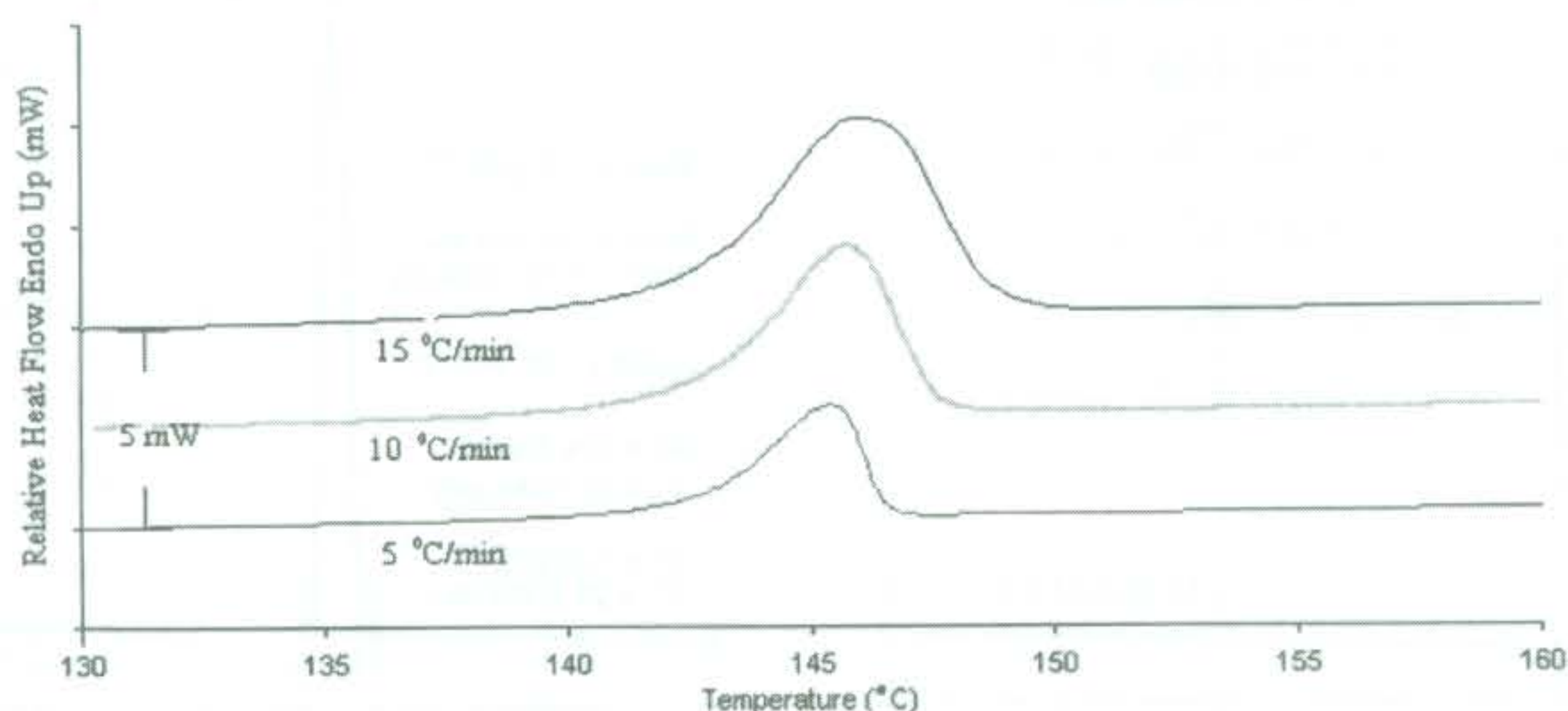
เพิ่มอุณหภูมิ 2.5 °ซ./นาที พบว่า เมื่อเพิ่มน้ำหนักสาร จะไม่มีผลต่อค่า T_m (145.3-145.6 °ซ.) คือให้ตำแหน่งพีกคงเดิม แต่อาจส่งผลกระทบต่อรูปร่างพีก (ความสูงและความกว้างที่ฐานพีก) จึงทำให้ค่า ΔH_{fus} (51.0-77.4 จูล/กรัม) แปรปรวนไปบ้างทั้งนี้อาจเนื่องจากความคลาดเคลื่อนในการกำหนดพื้นที่ใต้พีก



รูปที่ 2 ดีเอสซีเทอร์โมแกรมของคอเลสเทอรอล (1.0, 3.0 และ 5.1 มิลลิกรัม) ที่อัตราการเพิ่มอุณหภูมิ 2.5 °ซ./นาที

อัตราการเพิ่มอุณหภูมิ (Heating rate) จากเทอร์โมแกรมในรูปที่ 3 ซึ่งแสดงถึงอิทธิพลของอัตราการเพิ่มอุณหภูมิต่างกันคือ 5, 10 และ 15 °ซ./นาที เมื่อใช้คอเลสเทอรอลหนัก 3.0 มิลลิกรัม พบว่าเมื่ออัตราการเพิ่มอุณหภูมิสูงขึ้นจะไม่ส่งผลกระทบ

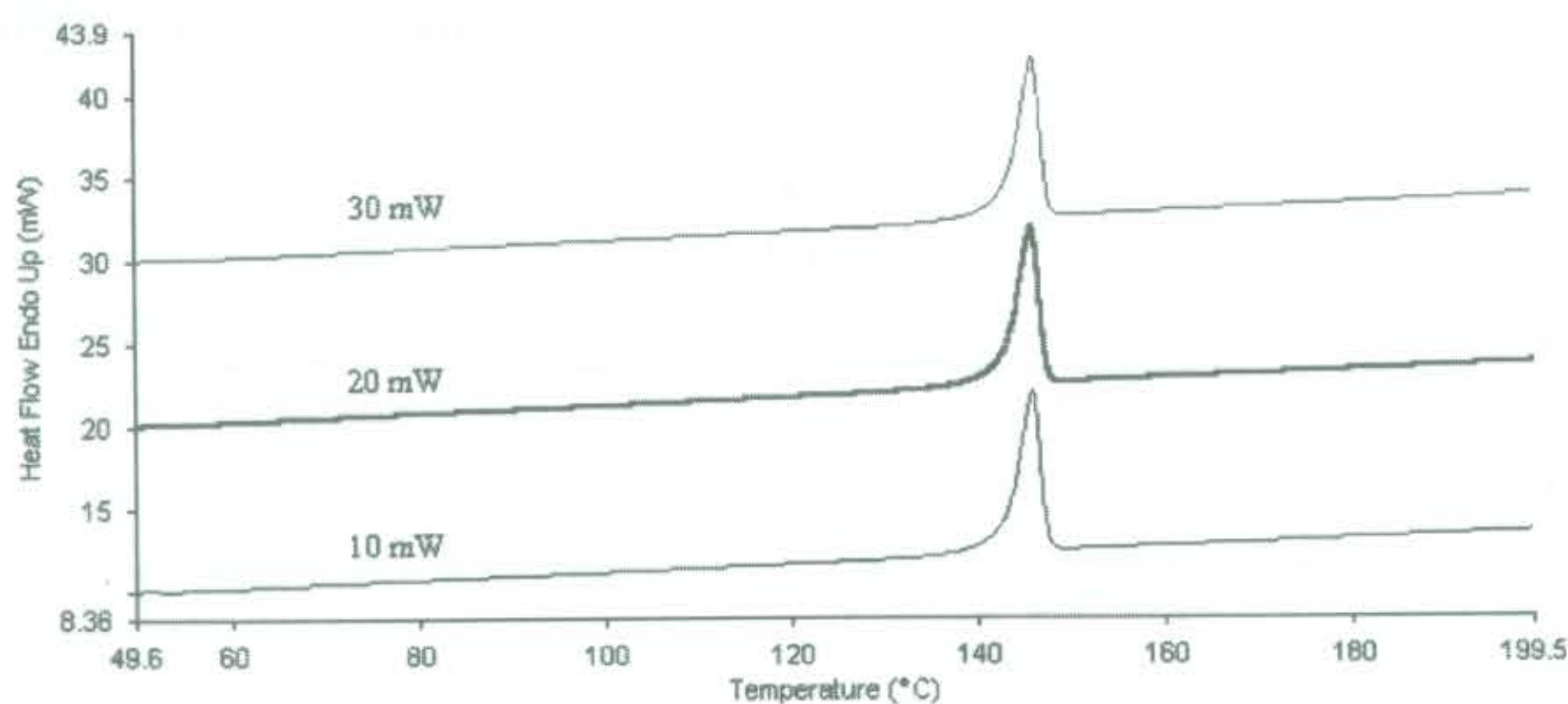
ต่อ T_m (142.6 - 142.9 °ซ.) และค่า ΔH_{fus} (42.5 - 45.7 จูล/กรัม) แต่อาจส่งผลกระทบต่อลักษณะรูปร่างของพีกได้ค่อนข้างมากเมื่อเทียบกับกรณีใช้อัตราการเพิ่มอุณหภูมิ 2.5 °ซ./นาที (รูปที่ 2)



รูปที่ 3 ดีเอสซีเทอร์โมแกรมของคอเลสเตอรอล (3.0 มิลลิกรัม)
เมื่อใช้อัตราการเพิ่มอุณหภูมิที่ 5, 10 และ 15 °ซ./นาที่

การไหลของความร้อนเริ่มต้น (Initial heat flow) จากดีเอสซีเทอร์โมแกรมในรูปที่ 4 จะเห็นว่าเมื่อใช้คอเลสเตอรอลหนัก 3.0 มิลลิกรัมในช่วงอุณหภูมิ 50 - 200 °ซ. ที่อัตราการเพิ่มอุณหภูมิ 10 °ซ./นาที่

โดยเปลี่ยนแปลงการไหลของความร้อนเริ่มต้น 10, 20 และ 30 มิลลิวัตต์ พบว่า ปัจจัยนี้ไม่ส่งผลกระทบต่อค่า T_m (143.0 °ซ.) และ ΔH_{fus} (57.7-58.2 จูล/กรัม) แต่อย่างใด



รูปที่ 4 ดีเอสซีเทอร์โมแกรมของคอเลสเตอรอล (3.0 มิลลิกรัม)
เมื่อใช้การไหลความร้อนเริ่มต้นที่ 10, 20 และ 30 มิลลิวัตต์

การวิเคราะห์ตัวอย่างสารผสมอินทรีย์บางชนิด สารผสมอินทรีย์ในที่นี้หมายถึงสารประกอบอินทรีย์ทั่วไป ซึ่งได้แก่ คอเลสเตอรอล ซูโครสหรือน้ำตาลทราย แป้งข้าว แป้งมันฝรั่ง เป็นต้น และของผสมอินทรีย์ (organic mixtures) ทั้งที่ปรุงแต่งสำเร็จรูป เช่น ครีมเทียม (non-dairy cream) และอาหารธรรมชาติ

ซึ่งได้แก่ ข้าวสารหอมมะลิ ข้าวสารเหนียว จากสถานะการทดลองที่เหมาะสมเมื่อนำน้ำหนักสารตัวอย่างในช่วง 5.0-10.0 มิลลิกรัม อัตราการเพิ่มอุณหภูมิ 10 (ซ./นาที่) และค่าการไหลของความร้อนเริ่มต้นประมาณ 20 มิลลิวัตต์ พบว่า คอเลสเตอรอลซึ่งเป็นสเตียรอยด์ (steroid) ประเภทหนึ่งให้ T_m $144.9 \pm$

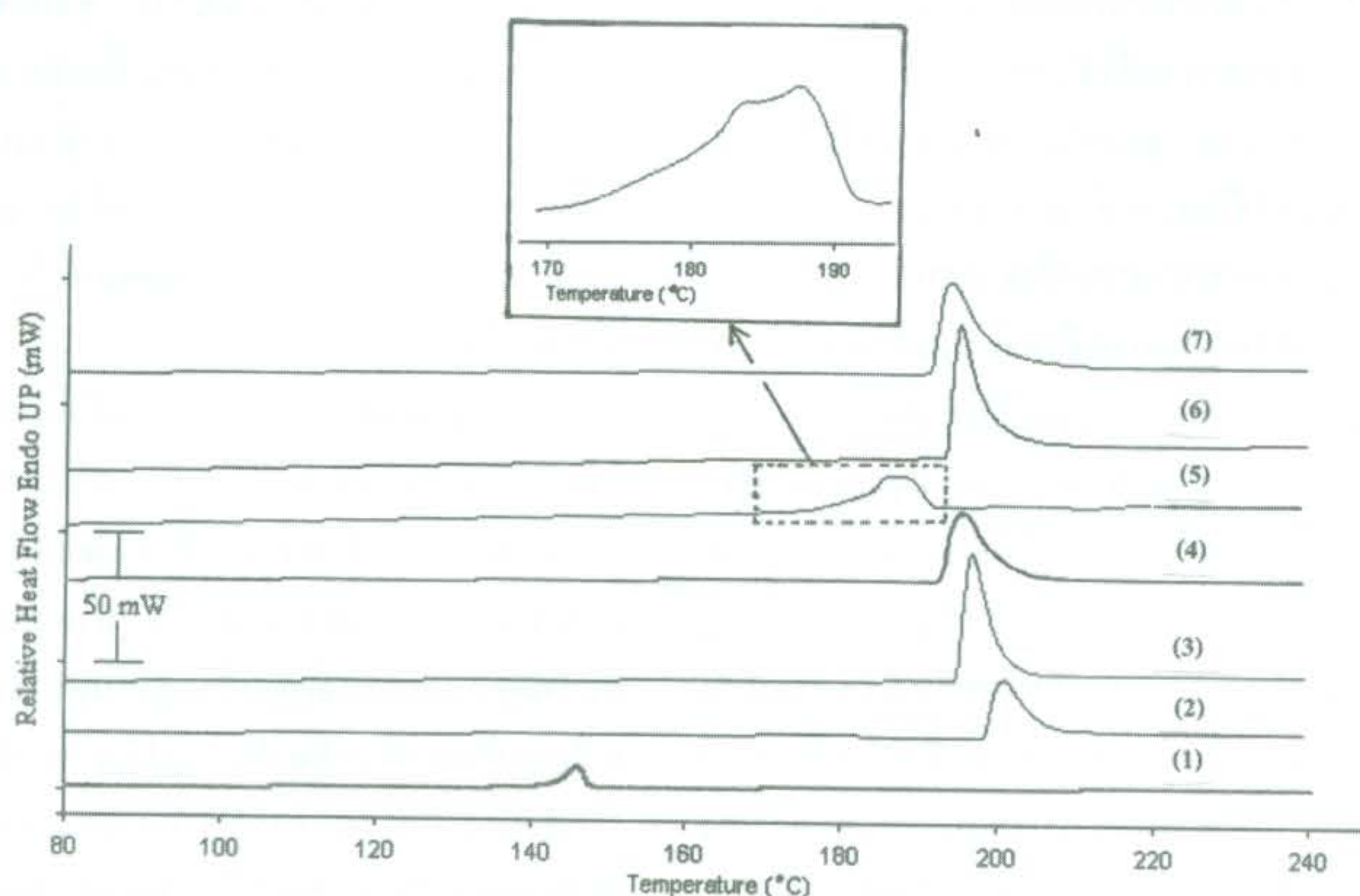
0.57°ซ. (รูปที่ 5) เมื่อเทียบกับค่ามาตรฐาน (148.5°ซ.) ทั้งนี้เนื่องจากสถานะที่ใช้วิเคราะห์ต่างกัน และได้ ΔH_{fus} (64.5 ± 2.04 จูล/กรัม) ค่อนข้างต่ำเมื่อเทียบกับตัวอย่างอื่นที่ใช้วิเคราะห์ (ตารางที่ 1)

ส่วนอาหารจำพวกแป้งจากแหล่งต่าง ๆ พบว่า มีจุดเริ่มเปลี่ยนวิฤภาคซึ่งอาจรวมถึงการเปลี่ยนโครงรูป (conformation) การจัดเรียงตัวของอะไมโลส (amylose) และอะไมโลเพกทิน (amylopectin) หรือการหลอมเหลวใกล้เคียงกันอยู่ในช่วง 191-196 °ซ. และมี ΔH_{fus} อยู่ในช่วง 183 - 201 จูล/กรัม ขึ้นอยู่กับชนิด องค์ประกอบ และความบริสุทธิ์ของแป้งที่ใช้ศึกษา ทั้งนี้ในข้าวสารน่าจะมีแป้งเป็นองค์ประกอบหลัก และสารอาหารประเภทอื่น ๆ รวมทั้งเกลือแร่ปนอยู่ในปริมาณน้อย เช่น ถ้าเป็นแป้งจากข้าวสารเหนียว (ΔH_{fus} 201.1 ± 4.85 จูล/กรัม) อาจใช้ความร้อนในการหลอมเหลวมากกว่าแป้งข้าวสารหอมมะลิ (ΔH_{fus} 190.2 ± 0.65 จูล/กรัม) เพียงเล็กน้อย ทั้งที่ค่า T_m เท่ากัน ขณะที่แป้งมันฝรั่งให้ ΔH_{fus} ใกล้เคียงกับแป้งข้าวเหนียว แต่มีค่า T_m สูงกว่าเล็กน้อย เป็นต้น

ในตัวอย่างครีมเทียมซึ่งเป็นผงสำเร็จรูปที่ค่อนข้างซับซ้อนมากกว่า คือ อาจมีกลูโคสไซรัป (glucose syrup) น้ำมันปาล์ม (palm kernel oil) โซเดียมเคซีเนต (sodium caseinate) เจือสีธรรมชาติหรือแต่งกลิ่นสังเคราะห์ จะเห็นว่า มีกลูโคสและไขมันเป็นส่วนผสมหลักจะให้ T_m ค่อนข้างสูง (199.9 °ซ.) เมื่อเทียบกับแป้งชนิดต่าง ๆ หรือแม้แต่น้ำตาลทรายก็ตาม แต่ให้ ΔH_{fus} ต่ำกว่าและปรากฏพีกแบบดูด

ความร้อนเพียงพีกเดียวเช่นกัน ซึ่งน่าจะเป็นกลไกการหลอมเหลวของสารผสมเนื้อเดียวกันมากกว่า และยังไม่สามารถบ่งชี้ปฏิกิริยาทางกายภาพหรือเคมีระหว่างกลูโคสกับกรดไขมันหรือสารเชิงซ้อนใด ๆ ที่เกี่ยวข้องภายใต้สภาวะการทดลองในช่วงอุณหภูมิดังกล่าวได้

ซูโครส (sucrose) หรือน้ำตาลทรายซึ่งใช้บริโภคในชีวิตประจำวัน เป็นไดแซ็กคาไรด์ (disaccharide) ที่ประกอบด้วย α -D-glucose และ α -D-fructose โดยทั่วไปแล้ว น้ำตาลทรายขาวนั้นถือว่ามีความบริสุทธิ์ค่อนข้างสูง แต่อาจมีสารอินทรีย์หรือเกลือแร่อื่นเจือปนในปริมาณเพียงเล็กน้อย จากดีเอสซีเทอร์โมแกรมปรากฏพีกแบบดูดความร้อนในลักษณะเป็นแถบกว้าง (broad peak) ในช่วงอุณหภูมิตั้งแต่ 180-190 °ซ. และมียอดไหล่พีก 2 ตำแหน่ง (รูปที่ 5 แสดงรูปขยายเพิ่มเติม เมื่อใช้ตัวอย่างน้ำตาลทราย 7.0 มิลลิกรัม) คือที่อุณหภูมิประมาณ 183 และ 187 °ซ. จะเห็นว่า เส้นโค้งเริ่มเปลี่ยนแปลงความชันไปเรื่อย ๆ แต่ก็สามารถกำหนดค่า T_m ได้จากภาวะสมดุลของการหลอมเหลวในช่วงแรก ๆ คล้ายกับพีกที่ได้จากการหลอมเหลวของคอเลสเทอรอล คือจะปรากฏหางพีกในช่วงเริ่มหลอมเหลวจนกระทั่งถึงยอดพีก ก่อนกลับลงสู่เส้นฐาน (baseline) ทันที ซึ่งไม่ปรากฏพีกเดี่ยวที่มีหางพีกเหมือนกับตัวอย่างแป้ง ทั้งนี้อาจเนื่องจากผลของปฏิกิริยาในการเปลี่ยนวิฤภาคที่แยกเฟสกันเด่นชัดขึ้นในโครงผลึกของหน่วยกลูโคสและฟรักโทส



รูปที่ 5 ดีเอสซีเทอร์โมแกรมของสารอินทรีย์และสารตัวอย่างบางชนิด

(1) คอเลสเตอรอล (2) ครีมเทียม (3) แป้งมันฝรั่ง (4) แป้งข้าวเจ้า
(5) น้ำตาลทราย (6) ข้าวสารเหนียวบด และ (7) ข้าวสารหอมมะลิบด
(รูปเล็ก คือส่วนขยายเส้นโค้งของน้ำตาลทราย 7.0 มิลลิกรัม
ด้วยสเกล 1 ซม. : 10 มิลลิวัตต์)

ตารางที่ 1 อุณหภูมิของการหลอมเหลวและค่าเอนทัลปีของสารตัวอย่างอินทรีย์บางชนิด

สารประกอบ/วัตถุดิบ	อุณหภูมิของการหลอมเหลว ^a (°ซ.)	ΔH (จูล/กรัม) ^b
คอเลสเตอรอล	144.9 ± 0.57	64.5 ± 2.04
ครีมเทียม	199.9 ± 1.23	109.6 ± 1.24
น้ำตาลทรายขาว	181.8 ± 0.59	120.3 ± 3.76
แป้งมันฝรั่ง	195.7 ± 1.08	200.0 ± 1.15
แป้งข้าวเจ้า	195.9 ± 2.50	182.7 ± 2.20
ข้าวสารเหนียว ^c	191.8 ± 1.59	201.1 ± 4.85
ข้าวสารหอมมะลิ ^c	191.7 ± 1.48	190.2 ± 0.65

หมายเหตุ a : อุณหภูมิของการหลอมเหลวที่ตำแหน่ง T_m , onset

b : คำนวณจากพื้นที่ใต้พีค

c : บดจากเมล็ดข้าวสาร

สรุปผลและวิจารณ์

จากการศึกษาสมบัติเชิงความร้อนของ คอลเลสเตอร์รอล น้ำตาลทราย แป้งมันฝรั่ง แป้งข้าว และข้าวสารบดทั้ง 2 ชนิด รวมทั้งผงครีมเทียมนั้น ในเบื้องต้นได้ทดลองหาสภาวะที่เหมาะสมในการ วิเคราะห์ตัวอย่างที่เป็นของแข็ง โดยเริ่มตรวจสอบ สมรรถนะการใช้งานของเครื่องดีเอสซีด้วยกรดเบน โซอิกมาตรฐานซึ่งได้ผลตรงตามที่ระบุไว้ จากนั้น จึงใช้สภาวะดังกล่าวมาศึกษาถึงปัจจัยที่อาจมีผล กระทบต่อดีเอสซีเทอร์โมแกรมในช่วงอุณหภูมิ 30-300 °ซ. เท่านั้น โดยวิเคราะห์สารบริสุทธิ์คอลเล สเตอรอล และน้ำตาลทราย (ไม่ได้แสดงผล)

เมื่อประยุกต์ใช้วิเคราะห์สารอินทรีย์และ ของผสมอินทรีย์บางชนิด พบว่า คอลเลสเตอร์รอล และ แป้งสำเร็จรูปรวมทั้งแป้งที่อยู่ในตัวอย่างข้าวสารบด ยกเว้นน้ำตาลทราย แสดงให้เห็นดีเอสซี เทอร์โมแกรม แบบดูดความร้อนเพียงพีกเดียวที่อุณหภูมิสูงกว่า 145°ซ. ขึ้นไปจนถึง ~ 200 °ซ. จากนั้นก็ไม่ปรากฏพีกใด ๆ ซึ่งแสดงถึงพฤติกรรมกลั่นตัวหรือการเปลี่ยนแปลงวัฏภาคที่สำคัญของของแข็งเหล่านี้ ทำให้ทราบเอนทัลปีในการหลอมเหลวของสาร อินทรีย์แต่ละประเภทนั้นด้วย แม้ว่าสารตัวอย่าง ที่ใช้ศึกษานั้นเป็นเพียงของผสม หรือ สารอาหาร ที่ได้จากธรรมชาติซึ่งมี องค์ประกอบหลักบางตัวก็ตาม

ในวัตถุดิบที่สำคัญในอุตสาหกรรมแป้ง เช่น มันสำปะหลัง (85%) ข้าวโพดสำหรับเลี้ยงสัตว์ (75%) ข้าวโพดข้าวเหนียว (33%) ข้าวเหนียวเขี้ยวงู (17%) ข้าวเจ้าหอมมะลิ (95%) และมันฝรั่ง (95%) จะมีแป้ง เป็นองค์ประกอบหลักในปริมาณแตกต่างกัน (Sorin et al., 1994) จากการวิเคราะห์สมบัติเชิงความร้อน โดยเทคนิคดีเอสซีซึ่งปรากฏช่วงของการเกิดเป็นเจล (gelatinization) 2 ช่วง (69.1-83.5 และ 113.3-143.2°ซ.) กล่าวคือ ช่วงแรกน่าจะเป็นการหลอมเหลวหรือ สูญเสียลักษณะความเป็นระเบียบ (order-disorder) ในโครงสร้างของเม็ดแป้ง (starch granule) จากนั้น น่าจะเป็นการแตกตัวของสารประกอบเชิงซ้อน

ระหว่างไขมันกับอะไมโลส (fat-amylose complex) ทั้งนี้มีข้อมูลสอดคล้องกับดีเอสซีเทอร์โมแกรมของน้ำ แป้งข้าวโพด 20% โดยน้ำหนักที่แสดงถึงพีกแบบดูด ความร้อน 2 พีกที่แยกกันค่อนข้างชัดเจน คือมีช่วง อุณหภูมิของการเกิดเจลแล้วตามด้วยการหลอมเหลว ของสารเชิงซ้อนของไขมันกับอะไมโลส (Sichina, 2000) จากการศึกษาถึงลักษณะเฉพาะของความเป็น ผลึกและพฤติกรรมของการเกิดเจลของเม็ดแป้ง พบว่า ปริมาณของอะไมโลสมี อิทธิพลต่ออุณหภูมิหรือ ความร้อนที่ใช้ในการเกิดเจลของแป้งจากข้าวพันธุ์ต่างๆ (Vandeputte et al., 2003) ในการศึกษาสมบัติเชิง ความร้อนของแป้งข้าวโพดกับกรดไขมันชนิดอิ่มตัว และไม่อิ่มตัวทั้งที่อยู่ในรูปสารประกอบเชิงซ้อนกับ อะไมโลสและของผสมธรรมชาติ พบว่า เมื่อวิเคราะห์ อะไมโลส (น้ำหนักโมเลกุลประมาณ 16,000) อย่าง เดียวจะได้พีกแบบดูดความร้อนที่ 151.2 °ซ. เท่านั้น หากนำมาผสมกับพวกกรดไขมันต่างชนิดกัน ก็จะทำให้ พีกลักษณะเดียวกันหลายพีกในช่วงอุณหภูมิต่ำกว่า 180 °ซ. แต่ยุ่งยากซับซ้อนมากกว่า (Akuzawa et al., 1997) นอกจากนี้ยังพบว่า Ca^{2+} ซึ่งเติมลงในแป้ง ข้าวโพดที่มีอะไมโลส (28%) และอะไมโลเพ็กทิน (72%) จะช่วยเพิ่มโครงร่างแหของโซ่พอลิเมอร์ แล้ว ทำให้ค่าการนำความร้อนดีขึ้นอีกด้วย (Fernandez-Munoz et al., 2001)

สารเคลือบผิว (coating wax) ชนิดต่าง ๆ (beewax, candelilla wax, carnauba wax, shellac, paraffins, monotanic acid esters, polyethylene wax oxides) ซึ่งนิยมใช้เคลือบผิวของผลแอปเปิ้ลก็แสดง พีกการหลอมเหลวในช่วง 50.1-107.6 °ซ. และให้ เอนทัลปีอยู่ในช่วง 116 -208 จูล/กรัม (Ritter et al., 2001) ส่วนอาหารจำพวกโปรตีน เช่น แมกกะพ룬 ให้พีกแบบดูดความร้อน 3 พีกซึ่งน่าจะเกี่ยวข้องกับ เฟสทรานซิชันของไมโอซิน (myosin) ซาร์โคพลาสมิก โปรตีน (sarcoplasmic protein) และ/หรือ คอลลาเจน (collagen) และแอ็กทิน (actin) ตามลำดับ ในช่วง 30 - 65 °ซ. เท่านั้น (Nagai et al., 1997) โปรตีน

ไมโอโกลบินจากเนื้อปลาและสัตว์เลี้ยงลูกด้วยนม ก็ให้พิกในลักษณะเดียวกันในช่วง 43.0 - 72.5 °ซ. ทั้งที่เป็นแบบพิกเดี่ยวและพิกคู่ซ้อนกันขึ้นกับความเสถียรของโครงสร้างโปรตีนนั้น ๆ ภายใต้อิทธิพลของความร้อน (Chanthai et al., 1996)

จะเห็นว่า สามารถประยุกต์ใช้เทคนิคดีเอสซีในการวิเคราะห์สมบัติเชิงความร้อนของวัสดุสารได้หลายประเภททั้งที่เป็นวัสดุเนื้อแท้จากธรรมชาติ ซึ่งมีองค์ประกอบซับซ้อน และวิเคราะห์สารในลักษณะต่างกันภายใต้สภาวะการทดลองที่เหมาะสมต่างกัน อาจแสดงผลการเปลี่ยนวัฏภาคบนดีเอสซีเทอร์โมแกรมได้ต่างกันด้วยทั้งนี้ในสารตัวอย่างนั้น ๆ ต้องมีองค์ประกอบหลักในปริมาณสูงพอสมควร และควรใช้เครื่องดีเอสซีที่ให้ความไวสูง ๆ (Dallas et al., 2001) หากต้องการหาความบริสุทธิ์ของสารผสมอินทรีย์ที่มีองค์ประกอบหลายตัวก็ต้องพิจารณาถึงสถานะสมดุลระหว่างของแข็งกับของเหลวจากเฟสไดอะแกรมร่วมกับสมการ van't Hoff แต่อาจมีขีดจำกัดของการวิเคราะห์ที่ปริมาณสิ่งเจือปน (2-10% โดยน้ำหนัก) ในสารตัวอย่างที่จะวิเคราะห์ (Yamamoto et al., 1998; Cruz-Orea et al., 2002) อย่างไรก็ตาม จากผลการวิเคราะห์ครั้งนี้แสดงให้เห็นว่าสารตัวอย่างที่อยู่ในสถานะของแข็งเหล่านั้น ล้วนแต่ต้องการใช้ความร้อนสูงในการหลอมเหลวทั้งนั้น ความชื้น ไขมัน หรือเกลือแร่ที่อาจตกค้างอยู่บ้างในสารตัวอย่าง ยังไม่ใช่ว่าปัจจัยหลักที่จะแสดงอิทธิพลบ่งชี้การเปลี่ยนเฟสหรืออันตรกิริยาใด ๆ ในระบบของแข็งกับน้ำหรือไขมันแต่อย่างใด

เอกสารอ้างอิง

- Akuzawa, S., Sawayama, S. and Kawabata, A. (1997). Thermal properties of corn amylose incorporating or with added free fatty acid. *Biosci. Biotech. Biochem.* 61 (3):487-490.
- Chanthai, S., Ogawa, M., Tamiya, T. and Tsuchiya, T. (1996). Studies on thermal denaturation of fish myoglobins using differential scanning calorimetry, circular dichroism, and tryptophan fluorescence. *Fisheries Science.* 66(6):927-932.
- Cruz-Orea, A., Pitsi, G., Jamee, P. and Thoen, J. (2002). Phase transitions in the starch-water system studied by adiabatic scanning calorimetry. *J. Agric. Food Chem.* 50:1335-1344.
- Dallas, G., Groh, J., Kelly, T. and Danley, R. (2001). A new technology to improve DSC performance. *American Laboratory.* August:26-29.
- Fernandez-Munoz, J.L., Zelaya-Angel, O., Cruz-Orea, A. and Sanchez-Sinecio, F. (2001). Phase transitions in amylose and amylopectin under the influence of $\text{Ca}(\text{OH})_2$ in aqueous solution. *Analytical Sciences.* 17:338-341.
- Haines, P.J. and Wilburn, F.W. (1995). Differential thermal analysis and differential scanning calorimetry. In : Haines, P.S. (ed.). *Thermal Analysis : Principles, Applications and Problems.* Oxford : Blackie Academic & Professional. p.63-122.
- Lu, Q. and Zografi, G. (1997). Properties of citric acid at the glass transition. *J. Pharm. Sci.* 86:1374-1378.
- Nagai, T., Hamada, M., Kai, N., Tanoue, Y. and Nagayama, F. (1997). Differential scanning calorimetry of several jellyfish mesogloea. *Fisheries Science.* 63(3):459-461.
- Ritter, B., Schulte, J., Schulte, E. and Their, H.-P. (2001). Detection of coating waxes on apples by differential scanning calorimetry. *Eur. Food Res. Technol.* 212:603-607.

- Sichina, W.J. (2000). Use of DSC for the characterization of starches. Thermal Analysis Application Note. Perkin Elmer Instruments, U.S.A. www.perkinElmer.com.
- Sornin, S., Bangcharoenpornpong, O. and Chaimanee, P. (1994). Chemical and physical properties of native starches. Extended abstracts in the 20th Congress on Science and Technology of Thailand. Bangkok Convention Center, Central Plaza Hotel. Oct. 19-21, 1994. Bangkok, Thailand. p.194.
- Takei, T., Kurosaki, K., Nishimoto, Y. and Sugitani, Y. (2002). Behavior of bound water in polyethylene oxide studied by DSC and high-frequency spectroscopy. *Analytical Sciences*. 18:681-684.
- Yamamoto, K., Momota, M., Katayama, S. and Narita, K. (1998). Determination of the purity of multi-component organic substances by DSC. *Analytical Sciences*. 14:599-602.
- Vandeputte, G.E., Vermeulen, R., Geeroms, J. and Delcour, J.A. (2003). Rice starches. I. structural aspects provide insight into crystallinity characteristics and gelatinisation behaviour of granular starch. *J. Cereal Science*. 38:43-52.



การเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อของเปราะหอม และองค์ประกอบของน้ำมันหอมระเหย

ธัญญา จันทรสาขา¹, สมพร ประเสริฐส่งสกุล¹
และวนิดา เขียวกุลประเสริฐ¹

บทคัดย่อ

ศึกษาการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อของเปราะหอม (*Kaempferia galanga* L.) และองค์ประกอบของน้ำมันหอมระเหย โดยนำหน่อเปราะหอมมาเลี้ยงบนอาหารสูตร MS (Murashige and Skoog, 1962) ซึ่งมีเบนซิลอะดีนีน (BA) ที่ระดับ 0, 3, 6 และ 9 มิลลิกรัม/ลิตร พบว่า BA ที่ความเข้มข้น 9 มิลลิกรัม/ลิตร ให้จำนวนใบ/ต้น (6.5) จำนวนหน่อ/ต้น (4.3) และความสูง (3.34 เซนติเมตร) เฉลี่ยสูงที่สุดเมื่อเทียบกับ BA ที่ความเข้มข้นอื่น เมื่อนำใบของเปราะหอมที่ได้จากการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อมาสกัดด้วยไอน้ำ และนำไปวิเคราะห์หาองค์ประกอบของน้ำมันหอมระเหยด้วย GC-MS พบสารองค์ประกอบหลักคือ ethyl 3-(4-methoxyphenyl)-2-propenoate (57.96%), methyl hexadecanoate (3.52%), borneol (2.89%) และ methyl octadec-8-enoate (2.53%)

Abstract

Studies were conducted on tissue culture of *Kaempferia galanga* L. and the component of its essential oils. Shoot buds were cultured on Murashige and Skoog (MS) medium supplemented with benzyladenine (BA) at 0, 3, 6 or 9 mg/l. The medium with 9 mg/l BA gave the highest average number of leaves/plant (6.5), shoots/plant (4.3) and shoot length (3.34 cm). GC-MS analysis of the essential oil obtained from water distillation of the leaves derived from tissue culture revealed that it mainly contained ethyl 3-(4-methoxyphenyl)-2-propenoate (57.96%), methyl hexadecanoate (3.52%), borneol (2.89%) and methyl octadec-8-enoate (2.53%).

¹ ภาควิชาวิทยาศาสตร์ คณะวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยี มหาวิทยาลัยสงขลานครินทร์ วิทยาเขตปัตตานี อ.เมือง จ.ปัตตานี 94000

บทนำ

ในปัจจุบันพืชที่มีคุณสมบัติเป็นสมุนไพรได้เป็นที่สนใจเป็นอย่างยิ่งเพราะเชื่อว่ามีผลข้างเคียงต่อร่างกายน้อยกว่ายาแผนปัจจุบัน เปราะหอมเป็นพืชที่อยู่ในกลุ่มพืชสมุนไพรชนิดหนึ่ง มีชื่อวิทยาศาสตร์ว่า *Kaempferia galanga* Linn. อยู่ในวงศ์ Zingiberaceae นอกจากนี้เปราะหอมยังรู้จักในชื่ออื่นว่า ว่านหอม ว่านตีนดิน เนื่องจากมีกลิ่นหอมเฉพาะตัวเป็นพืชล้มลุก มีลำต้นเป็นหัวอยู่ใต้ดิน เรียกว่าเหง้า มีสีเหลืองเข้มตามขอบใบ ใบเป็นใบเดี่ยว แทงขึ้นมาจากเหง้าใต้ดิน 2-3 ใบ วางตัวอยู่ในแนวราบเหนือพื้นดินเล็กน้อย ตัวใบมีขนาดกว้าง 5-10 เซนติเมตร ยาว 7-15 เซนติเมตร ออกดอกรวมกันเป็นช่อตรงกลางระหว่างใบ มีสีขาว แต้มสีม่วง สรรพคุณในการเป็นสมุนไพร คือ บรรเทาอาการคันศีรษะ ป้องกันรังแคได้ นอกจากนี้ยังใช้เป็นเครื่องสำอางในการบำรุงเส้นผม (สถาบันแพทย์แผนไทย กรมการแพทย์, 2546) จากการศึกษาของ Yeoh and Wong (1993) ยังพบว่าใบของเปราะหอมมีโปรตีน กรดอะมิโน น้ำตาล เส้นใย และธาตุอาหารที่สมบูรณ์มาก สารสำคัญในพืชสมุนไพรและฤทธิ์ทางเภสัชวิทยาของสมุนไพรหลายชนิดยังไม่ได้รับการตรวจวิเคราะห์ งานวิจัยนี้จึงทำการศึกษากาการเจริญเติบโตของต้นเปราะหอมด้วยการใช้เทคนิคการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อ เพื่อให้ได้ต้นในปริมาณมากอย่างรวดเร็ว สามารถนำมาใช้ในการสกัดสารได้สะดวก และนำไปศึกษาองค์ประกอบทางเคมีของเปราะหอม

อุปกรณ์และวิธีการ

การเตรียมพืชทดลอง

เตรียมหน่อข้างอ่อนที่แตกออกมาจากเหง้าเดิมของเปราะหอมซึ่งปลูกไว้ในทราย เมื่อเกิดหน่อใหม่ให้นำมาตัดส่วนของหน่อใหม่ด้านข้างล่างเสียดินที่ติดมาออกให้หมด ลอกกาบใบที่หุ้มอยู่ซึ่งมีลักษณะไม่ดีทิ้งไป หลังจากนั้นล้างทำความสะอาดอีกครั้งก่อนนำไปฟอกฆ่าเชื้อต่อไป

วิธีการทดลอง

การเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อเปราะหอม

ฟอกฆ่าเชื้อที่ผิวของหน่อเปราะหอมโดยแช่ในสารละลายคลอริกซ์ ที่มีความเข้มข้น 10 เปอร์เซ็นต์ เป็นเวลานาน 15 นาที แล้วล้างด้วยน้ำกลั่นที่นิ่งฆ่าเชื้อแล้ว 3 ครั้ง โดยทำภายในตู้ปลอดเชื้อ จากนั้นตัดเนื้อเยื่อส่วนปลายยอดมาเลี้ยงบนอาหารสูตร MS (1962) โดยเพาะเลี้ยงที่สภาวะการให้แสง 16 ชั่วโมงต่อวัน ความเข้มแสง 2,000 ลักซ์ อุณหภูมิ 25 ± 2 องศาเซลเซียส เมื่อเพาะเลี้ยงเป็นเวลา 1 เดือน ยอดอ่อนจะแตกออกมา จากนั้นนำต้นที่เกิดขึ้นนี้ไปใช้สำหรับการศึกษาผลของเบนซิลอะดีนีน (BA) ที่มีต่อการเพิ่มจำนวนของเปราะหอม โดยใช้ 4 ระดับ คือ 0, 3, 6 และ 9 มิลลิกรัม/ลิตร วางแผนการทดลองแบบสุ่มสมบูรณ์ (completely randomized design, CRD) ทำการทดลอง 2 ซ้ำ ๆ ละ 15 ตัวอย่าง บันทึกจำนวนใบ จำนวนหน่อ ความสูง น้ำหนักสด วิเคราะห์ข้อมูลโดยใช้ ANOVA และเปรียบเทียบค่าเฉลี่ยโดยวิธี Duncan's multiple range test (DMRT)

การสกัดและวิเคราะห์หาน้ำมันหอมระเหย

นำใบเปราะหอมที่ได้จากการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อที่ตากแห้งและบดแล้ว 150 กรัม ไปสกัดด้วยวิธีการกลั่นด้วยไอน้ำ โดยใส่เปราะหอมลงในขวดรูปชมพู่ (flask) ขนาด 2 ลิตร จากนั้นเติมน้ำกลั่นลงไปครึ่งหนึ่งของขวดรูปชมพู่ จัดขวดรูปชมพู่เข้ากับชุดกลั่นด้วยไอน้ำ โดยรองรับสารด้วย Dean-Stark apparatus ใช้เวลากลั่นประมาณ 3 ชั่วโมง จนได้ปริมาณน้ำมันคงที่ ตั้งทิ้งไว้ให้เย็น แยกน้ำมันหอมระเหยออกจากน้ำ ชั่งปริมาณน้ำมันหอมระเหยที่กลั่นได้ ใส่ในหลอดทดลองขนาดเล็ก (vial) เก็บไว้ที่อุณหภูมิ -20 องศาเซลเซียส จากนั้นนำไปวิเคราะห์หาองค์ประกอบทางเคมี ด้วยเทคนิค chromatography-mass spectrometry (GC-MS) เครื่องมือวิเคราะห์คือ HP-5890 gas chromatography-HP-5972 mass selective detector ของ Hewlett-Packard

สภาวะการวิเคราะห์ : gas chromatography
อุณหภูมิจุดฉีดตัวอย่าง (Inlet temperature) 280 องศาเซลเซียส

อุณหภูมิคอลัมน์ 80-290 องศาเซลเซียส,
7 องศาเซลเซียส/นาที (15 นาที)

ประเภทคอลัมน์ HP-1MS

สภาวะการวิเคราะห์ : mass spectrometer

ประเภท EI (electron ionization)

ผลการทดลอง

การเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อ

เมื่อนำหน่อเปราะหอมมาเพาะเลี้ยงในอาหารสูตร MS ที่มี BA ในความเข้มข้นต่าง ๆ

พบว่า BA มีผลต่อการเจริญเติบโตของเปราะหอม ดังแสดงไว้ในตารางที่ 1 พบว่า อาหารที่ไม่มีการเติม BA และ BA ที่ความเข้มข้น 3 และ 6 มิลลิกรัม/ลิตร ทำให้จำนวนใบ จำนวนหน่อ และความสูง น้อยกว่า สูตรอาหารที่มี BA 9 มิลลิกรัม/ลิตร ซึ่งให้จำนวนใบ (6.5 ใบ/ต้น) จำนวนหน่อ (4.3 หน่อ/ต้น) และความสูง (3.34 เซนติเมตร/ต้น) เพิ่มขึ้นมากที่สุด เปราะหอมซึ่งเลี้ยงในอาหารที่ไม่มี BA มีน้ำหนักสดสูงที่สุด (5.64 กรัม/ต้น) ในขณะที่เปราะหอมซึ่งเลี้ยงใน BA ที่ความเข้มข้น 9 มิลลิกรัม/ลิตร มีน้ำหนักสดรองลงมา และมีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ลักษณะของต้นเปราะหอมที่ได้จากการเพาะเลี้ยงจะมีใบสีเขียว และมีรากจำนวนมาก (รูปที่ 1)

ตารางที่ 1 ผลของ BA ที่ความเข้มข้นต่าง ๆ ต่อการเพิ่มจำนวนของเปราะหอม

BA (มิลลิกรัม/ลิตร)	จำนวนใบ (ใบ/ต้น)	จำนวนหน่อ (หน่อ/ต้น)	ความสูง (เซนติเมตร/ต้น)	น้ำหนักสด (กรัม/ต้น)
0	4.5 ± 0.9^b	3.4 ± 1.1^a	3.28 ± 1.05^a	5.64 ± 2.39^a
3	3.7 ± 1.3^b	3.6 ± 1.3^a	2.78 ± 1.26^{ab}	0.79 ± 0.24^b
6	4.0 ± 1.1^b	4.1 ± 0.8^a	2.38 ± 0.50^b	0.47 ± 0.16^b
9	6.5 ± 1.6^a	4.3 ± 1.1^a	3.34 ± 0.86^a	1.09 ± 0.44^b

หมายเหตุ ค่าเฉลี่ย $\pm$ SE จากการทดลอง 2 ซ้ำ ๆ ละ 15 ตัวอย่าง ตัวเลขในแถวเดียวกันที่กำกับด้วยตัวอักษรที่ต่างกัน มีความแตกต่างทางสถิติอย่างมีนัยสำคัญ ($p < 0.05$) เปรียบเทียบค่าเฉลี่ยของทริทเมนต์โดยใช้ DMRT



รูปที่ 1 ลักษณะของต้นเปราะหอม ซึ่งเลี้ยงในอาหารสูตร MS ที่มี BA ระดับต่าง ๆ อายุ 4 สัปดาห์ หมายเลข 1, 2, 3, และ 4 ใช้ BA 0, 3, 6, และ 9 มิลลิกรัม/ลิตร ตามลำดับ

การวิเคราะห์หาองค์ประกอบของน้ำมันหอมระเหย

เมื่อนำส่วนของใบเปราะหอม 150 กรัม ไปสกัดได้น้ำมันหอมระเหย ซึ่งมีสีเหลืองใส มีกลิ่นหอมฉุน ปริมาณของน้ำมันหอมระเหยที่สกัดได้คิดเป็น 0.45% นำน้ำมันหอมระเหยไปวิเคราะห์ด้วย GC ผลการทดลองจาก GC เมื่อวิเคราะห์

อย่างต่อเนื่องด้วย MS และเปรียบเทียบกับข้อมูลของสารมาตรฐานในฐานข้อมูลของเครื่อง MS พบว่ามีองค์ประกอบทางเคมีแตกต่างกันอย่างน้อย 30 ชนิด (ตารางที่ 2) สารที่เป็นองค์ประกอบหลักคือ ethyl 3-(4-methoxyphenyl)-2-propenoate (57.96%), methyl hexadecanoate (3.52%), borneol (2.89%) และ methyl octadec-8-enoate (2.53%) ตามลำดับ

ตารางที่ 2 สารที่พบในน้ำมันหอมระเหยจากเปราะหอมที่ได้จากการเพาะเลี้ยงในสภาพปลอดเชื้อ เวลาที่สารออกจากคอลัมน์ (retention time, RT) และร้อยละของปริมาณสารทั้งหมด (% of total)

Peak	ชื่อสาร	R.T. (นาที)	ร้อยละของปริมาณสารทั้งหมด (% of total)
1	1,8 - Cineole	3.65	0.16%
2	L-Linalool	4.36	0.15%
3	trans-p-Menth-2-en-1,8-diol	5.25	0.13%
4	Borneol	5.43	2.89%
5	α,α-4-Trimethyl-3-cyclohexene-1-methanol	5.76	0.13%
6	4-Methoxybenzaldehyde	6.43	0.22%
7	trans-Anethole	7.22	0.40%
8	Bornyl acetate	7.39	0.31%
9	Piperitenone	7.51	0.21%
10	Tridecane	11.44	0.05%
11	Naphthalene	11.51	0.30%
12	δ-Cadinene	11.72	0.56 %
13	Elemol	12.04	0.29%
14	Caryophyllene oxide	12.64	0.68%
15	Ethyl 3-(4-methoxyphenyl)-2-propenoate	13.53	5.16%
16	Ethyl 3-(4-methoxyphenyl)-2-propenoate (isomer)	15.43	57.96%
17	Methyl hexadecanoate	18.12	3.52%
18	Hexadecanoic acid	18.64	1.19%
19	Methyl linolelaidate	20.36	0.29%
20	Methyl octadec-8-enoate	20.52	2.53%
21	Tetracosane	24.56	0.18%
22	Triacontane	26.85	0.31%
23	Heptacosane	27.55	0.50%
24	Triacontane (isomer)	29.00	0.77%
25	Nonacosane	30.03	1.15%
26	Triacontane (isomer)	31.07	1.10%
27	Hexatriacontane	32.25	0.92%
28	Dotriacontane	33.60	0.71%
29	Nonacosane (isomer)	35.20	0.42%
30	Nonacosane (isomer)	37.10	0.33%

บทสรุปและวิจารณ์

ผลของ BA ที่มีต่อการเจริญเติบโตของ เปราะหอมในด้านจำนวนใบ ราก หน่อ และน้ำหนักสด พบว่า BA ที่ 9 มิลลิกรัม/ลิตร ให้จำนวนใบ หน่อ และความสูงมากที่สุด เนื่องจาก BA มีผลไปกระตุ้นการแบ่งเซลล์ และกระตุ้นการเกิดตาข้าง ในพืชพวกพืชอาหารสูตร MS ที่เติม BA 5 มิลลิกรัม/ลิตร สามารถเพิ่มปริมาณกิ่งในหลอดทดลองได้ถึง 5.6 ต้น ภายในเวลา 3 สัปดาห์ (สิรินทร์ ไทยรัช, 2532) นอกจากนี้มีรายงานว่า การให้ BA ที่ความเข้มข้นสูง ๆ ในพืช มีผลทำให้การเกิดรากลดลง (Iden et al., 1988; Polisetty et al., 1997) จากการทดลองในอาหารที่มี BA 9 มิลลิกรัม/ลิตร พบว่าจำนวนใบ จำนวนหน่อ และความสูงเฉลี่ยมากที่สุด แต่กลับมีน้ำหนักสดน้อย อาจเป็นไปได้ว่า BA ไปยับยั้งการเกิดราก ทำให้น้ำหนักสดโดยรวมไม่เพิ่มขึ้น เมื่อเทียบกับเปราะหอมซึ่งเลี้ยงในอาหารที่ไม่มี BA ในส่วนของการหาองค์ประกอบของน้ำมันหอมระเหย พบว่าเปราะหอมที่ได้จากการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อมี ethyl 3-(4-methoxyphenyl)-2-propenoate ในปริมาณสูงที่สุด ซึ่งให้ผลแตกต่างจากการศึกษาของจุฑารัตน์ โชติวงศ์พิพัฒน์ (2535) ที่รายงานว่าในเหง้าของเปราะหอมสดที่นำมาอบและตรวจสอบองค์ประกอบทางเคมี ซึ่งมี ethyl-p-methoxycinnamate, ethyl cinnamate, hexadecane, eucalyptol และ carvone

การศึกษาในครั้งนี้สรุปได้ว่า BA มีผลต่อการเจริญเติบโตของต้นเปราะหอมในสภาพปลอดเชื้อในการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อเพื่อเพิ่มปริมาณใบ หน่อ ความสูง และน้ำหนักสด อาหารที่ใช้เลี้ยงซึ่งมี BA ในความเข้มข้น 3, 6 และ 9 มิลลิกรัม/ลิตร มีอิทธิพลต่อการเพิ่มจำนวนหน่อไม่แตกต่างกันแต่ที่ความเข้มข้น 9 มิลลิกรัม/ลิตร จำนวนใบ หน่อ และความสูงมากที่สุด อย่างไรก็ตามเมื่อพิจารณาถึงค่าใช้จ่ายอาจใช้ BA ที่ความเข้มข้นต่ำกว่านี้ ทั้งนี้เพราะจากข้อมูลที่ได้ไม่มีความแตกต่างกันอย่างนัยสำคัญทางสถิติในด้านจำนวนหน่อและความสูง นอกจากนี้สามารถสกัด

น้ำมันหอมระเหยจากเปราะหอมและทราบองค์ประกอบที่สำคัญ

กิตติกรรมประกาศ

ขอขอบคุณแผนกวิชาชีววิทยา แผนกวิชาเคมี ภาควิชาวิทยาศาสตร์ คณะวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยี มหาวิทยาลัยสงขลานครินทร์ วิทยาเขตปัตตานี ที่ได้สนับสนุนอุปกรณ์ในการทำวิจัยครั้งนี้ รวมไปถึงคุณวีระชาติ อนุวัฒน์ ที่มีส่วนช่วยให้งานวิจัยในครั้งนี้สำเร็จด้วยดี

เอกสารอ้างอิง

- จุฑารัตน์ โชติวงศ์พิพัฒน์. (2535). ผลของ 6-benzyladenine และน้ำตาลซูโครสที่มีผลต่อการเกิดของยอดปทุมมา และขมิ้น ในสภาพปลอดเชื้อ. ปัญหาพิเศษปริญญาตรี. มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์ กรุงเทพฯ.
- สถาบันแพทย์แผนไทย กรมการแพทย์. (2546). ไม้ริมรั้ว. <http://news.mweb.co.th/agriculture103363.html> (22 สิงหาคม 2546).
- สิรินทร์ ไทยรัช. (2532). ปัจจัยต่าง ๆ ที่มีผลต่อการเพิ่มปริมาณกิ่งในหลอดทดลอง. วิทยานิพนธ์ ปริญญาโท มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์ กรุงเทพฯ.
- Iden, H., Asahira, T. and Hirano, A. (1988). Micropropagation of ginger. *Acta Hortic.* 230:177-184.
- Murashige, T. and Skoog, F. (1962). A revised medium for rapid growth and bioassays with tobacco tissue cultures. *Physiol Plant.* 15:473-497.
- Polisetty, R., Paul, V., Deveshwar, J.J., Khetarpal, S., Suresh, K. and Chandra, R. (1997). Multiple shoot induction by benzyladenine and complete plant regeneration from seed explants of chickpea (*Cicer arietinum* L.). *Plant Cell Reports.* 16:565-571.
- Yeoh, H. and Wong, P.F.M. (1993). Food value of lesser utilized tropical plants. *Food Chem.* 46:239-241.

พันธุศาสตร์เซลล์ของนกกยางกรอกพันธุ์ขาว

อลงกลด แทนอมทอง¹, เจนณวัฒน์ วิมูลกุล¹,
เรืองวิทย์ บรรจงรัตน์², กฤษณ์ ปิ่นทอง³,
กฤษฎา บุรณารมย์³ และวรพล เองวานิช⁴

บทคัดย่อ

เป็นรายงานครั้งแรกของการศึกษาพันธุศาสตร์เซลล์ในนกกยางกรอกพันธุ์ขาวในประเทศไทย ใช้ตัวอย่างนกกยางกรอกพันธุ์ขาวจำนวน 6 ตัว จากสวนสัตว์เปิดเขาเขียว นำตัวอย่างเลือดนกมาทำการเพาะเลี้ยงเซลล์เม็ดเลือดขาวในอาหารสูตร RPMI 1640 ในสภาพปลอดเชื้อ ที่อุณหภูมิ 41 องศาเซลเซียส เวลา 72 ชั่วโมง ผลการศึกษาพบว่านกกยางกรอกพันธุ์ขาวมีจำนวนโครโมโซม $2n$ เท่ากับ $52\pm$ ประกอบด้วยโครโมโซม 2 ขนาด คือ โครโมโซมขนาดใหญ่มีจำนวน 12 คู่ ประกอบด้วยโครโมโซมชนิดเมทาเซนทริกขนาดใหญ่ 1 คู่ ซับเมทาเซนทริกขนาดใหญ่ 1 คู่ (รวมโครโมโซม Z) เมทาเซนทริกขนาดเล็ก 6 คู่ ซับเมทาเซนทริกขนาดเล็ก 3 คู่ (รวมโครโมโซม W) และโครโมโซมขนาดเล็กมีจำนวน 14 คู่ เป็นจุดขนาดเล็กที่ไม่สามารถแยกชนิดของโครโมโซมได้ นกกยางกรอกพันธุ์ขาวมีการกำหนดเพศระบบ ZW นกเพศผู้มีโครโมโซมเพศเป็น ZZ และนกเพศเมียมีโครโมโซมเพศเป็น ZW โครโมโซม Z จัดเป็นโครโมโซมชนิดซับเมทาเซนทริกขนาดใหญ่ และโครโมโซม W จัดเป็นโครโมโซมชนิดซับเมทาเซนทริกขนาดเล็ก

สูตรการโอไทป์ของนกกยางกรอกพันธุ์ขาวเพศผู้ คือ

$$\begin{aligned}\text{Diploid } (2n) &= 52\pm = L_2^m + L_2^{sm} + S_{12}^m + S_6^{sm} + \text{Microchromosomes}_{28} + \text{ZZ หรือ} \\ &= L_2^m + L_4^{sm} + S_{12}^m + S_6^{sm} + \text{Microchromosomes}_{28}\end{aligned}$$

สูตรการโอไทป์ของนกกยางกรอกพันธุ์ขาวเพศเมีย คือ

$$\begin{aligned}\text{Diploid } (2n) &= 52\pm = L_2^m + L_2^{sm} + S_{12}^m + S_6^{sm} + \text{Microchromosomes}_{28} + \text{ZW หรือ} \\ &= L_2^m + L_3^{sm} + S_{12}^m + S_7^{sm} + \text{Microchromosomes}_{28}\end{aligned}$$

¹ ภาควิชาชีววิทยา คณะวิทยาศาสตร์ มหาวิทยาลัยขอนแก่น อ.เมือง จ.ขอนแก่น 40002

² ภาควิชาพฤกษศาสตร์ คณะวิทยาศาสตร์ จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย กรุงเทพฯ 10300

³ คณะวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยี สถาบันราชภัฏสุรินทร์ อ.เมือง จ.สุรินทร์ 32000

⁴ ภาควิชาเทคโนโลยีการเกษตร คณะเทคโนโลยี มหาวิทยาลัยมหาสารคาม อ.เมือง จ.มหาสารคาม 44000

Abstract

This research was the first cytogenetic study of Javan pond heron (*Ardeola speciosa*) in Thailand. Six specimens of birds were obtained from Khoa Kheow Open Zoo. Blood samples were collected from the birds and lymphocytes of the whole blood were cultured in the RPMI 1640 medium at 41°C for 72 hours. The results showed that the Javan pond heron has the chromosome number of $2n = 52 \pm$. The chromosomes have 2 sizes. Twelve pairs of macrochromosomes were observed. They consisted of a pair of large metacentric chromosomes, a pair of large submetacentric chromosomes including Z chromosome, 6 pairs of small metacentric chromosomes and 3 pairs of small submetacentric chromosomes including W chromosome. Fourteen pairs of microchromosomes were observed as small dots which could not be classified. The sex-determination system of the bird was ZW, in which the ZZ chromosomes were characterized as male and the ZW chromosomes as female. Sex-chromosomes Z and W were classified as large submetacentric and small submetacentric chromosomes, respectively.

The karyotype formula for the male bird is as follows :

$$\begin{aligned} \text{Diploid } (2n) &= 52 \pm = L_2^m + L_2^{sm} + S_{12}^m + S_6^{sm} + \text{Microchromosomes}_{28} + ZZ \text{ or} \\ &= L_2^m + L_4^{sm} + S_{12}^m + S_6^{sm} + \text{Microchromosomes}_{28} \end{aligned}$$

The karyotype formula for the female bird is as follows :

$$\begin{aligned} \text{Diploid } (2n) &= 52 \pm = L_2^m + L_2^{sm} + S_{12}^m + S_6^{sm} + \text{Microchromosomes}_{28} + ZW \text{ or} \\ &= L_2^m + L_3^{sm} + S_{12}^m + S_7^{sm} + \text{Microchromosomes}_{28} \end{aligned}$$

บทนำ

นกยางกรอกพันธุ์ขาวจัดอยู่ใน ไฟลัม Chordata เป็นสัตว์มีกระดูกสันหลัง ชั้น Aves สัตว์จำพวกสัตว์ปีก อันดับ Ciconiiformes วงศ์ Ardeidae สัตว์ปีกจำพวกนกยาง นกแขวก และนกกระสาแดง สกุล *Adeola* นกยาง และชนิด *speciosa* นกในวงศ์นกยางเป็นนกชนิดที่มีขายาว คอยาว ปากยาวแหลม ชอบเดินหาปลา และสัตว์ขนาดเล็ก ที่อยู่ตามริมแหล่งน้ำกินเป็นอาหาร เวลาบินคอจะหดอยู่ที่ไหล่บินไปเรื่อย ๆ ไม่ร่อน ชอบบินเป็นแถวคล้ายรูปตัววี ทำรังด้วยกิ่งไม้ขนาดเล็ก อยู่รวมกันหลายรังบนต้นไม้เดียวกัน นกยางที่มีสีขาวเรียกว่า egret ที่มีสีดำเรียกว่า bittern หากมีสีอื่น ๆ เรียกว่า heron (กำพล มีสวัสดิ์, 2539)

นกยางกรอกที่พบได้บ่อยใกล้กับแหล่งน้ำในประเทศไทยมีอยู่ 2 พันธุ์ ได้แก่ นกยางกรอกพันธุ์ขาว (Javan pond heron; *Ardeola speciosa*) และ นกยางกรอกพันธุ์จีน (Chinese pond heron; *Ardeola bacchus*) นกยางกรอกทั้ง 2 พันธุ์ มีลักษณะภายนอกที่เหมือนกัน คือ มีสีขนนอกฤดูผสมพันธุ์ที่เหมือนกัน ตรงส่วนหัว คอ และไหล่ มีสีน้ำตาลปนเทา และมีสีน้ำตาลอ่อนเป็นทางยาว ส่วนอื่น ๆ ของลำตัวมีสีขาวทั้งหมด จะงอยปากเป็นสีเหลืองตรงปลายเป็นสีดำ เมื่อถึงฤดูกาลผสมพันธุ์ (เดือนมกราคม ถึงมิถุนายน) จึงจะสามารถแยกความแตกต่างของนกทั้ง 2 พันธุ์ได้ชัดเจน โดยที่นกยางกรอกพันธุ์ขาวมีขนที่บริเวณหัว และคอเปลี่ยนเป็นสีเนื้อ ขนที่อกเปลี่ยนเป็นสีน้ำตาลแดง หลังมีขนสีดำ มีขนเปียทางด้านหลัง 2-3 เส้น (กำพล มีสวัสดิ์, 2539) รูปนกยางกรอกพันธุ์ขาว ดังแสดงไว้ในรูปที่ 1



รูปที่ 1 นกยางกรอกพันธุ์ขาว (*Ardeola speciosa*) ในฤดูกาลผสมพันธุ์

ลักษณะโดยทั่วไปของคาริโอไทป์ (karyotype) สัตว์ปีก

ลักษณะที่ 1 คาริโอไทป์ส่วนใหญ่ของสัตว์ปีกจะประกอบไปด้วยโครโมโซมที่มี 2 แบบ คือโครโมโซมขนาดใหญ่ (macrochromosome) และโครโมโซมขนาดเล็ก (microchromosome) เมื่อมองด้วยกล้องจุลทรรศน์จะมีลักษณะเป็นจุดเล็ก ๆ (Halnan, 1989) จากการรายงานของ Bloom et al. (1978) พบว่ามี B locus อยู่บนโครโมโซมขนาดเล็กของไก่เลี้ยง (*Gallus gallus*) แสดงให้เห็นว่าบนโครโมโซมขนาดเล็กมียีนที่ควบคุมการแสดงออก ขนาดของโครโมโซมขนาดใหญ่และขนาดเล็กในสัตว์ปีกบางชนิดจะแตกต่างกันอย่างชัดเจน เช่น ในนกแก้ว (*Agapornis roseicollis*) แต่ในสัตว์ปีกบางชนิดจะค่อย ๆ ลดขนาดลงจากโครโมโซมขนาดใหญ่ไปสู่ขนาดเล็ก เช่น ในนก spine-tailed swift (*Hirundapus cadacautus*) (Halnan, 1989) การเพิ่มโครโมโซม

ขนาดใหญ่ของสัตว์ปีก 1 แท่ง โดยปกติคาดว่าเกิดจากการเชื่อมรวมกัน (fusion) ของโครโมโซมขนาดเล็ก 1.2 ถึง 2.6 แท่ง (Tegelstrom and Rytman, 1981; Christidis, 1983)

ลักษณะที่ 2 คาริโอไทป์ของสัตว์ปีกจะมีจำนวนโครโมโซมดิพลอยด์ (diploid, $2n$) ที่แตกต่างกันมาก จากจำนวนโครโมโซม $2n$ เท่ากับ 40 แท่ง ในนก stone-curlew (*Burhinus oedicimus*) (Bulatova et al., 1971) จนมีจำนวนโครโมโซม $2n$ เท่ากับ 126 แท่ง ในนก hoopoe (*Upupa epops*) (Misra and Srivastava, 1975) แต่ส่วนใหญ่จะมีจำนวนโครโมโซมอยู่ระหว่าง $2n$ เท่ากับ 76-82 แท่ง มีจำนวนโครโมโซมขนาดเล็กตั้งแต่ 8 แท่ง ในนกอันดับ Falconiformes จนมีจำนวนที่มากกว่า 100 แท่ง ในนก azure kingfisher (*Alcedo azureas*) (de Boer, 1976) Halnan (1989) รายงานว่าสัตว์ปีกส่วนใหญ่

จะมีจำนวนโครโมโซม $2n$ เท่ากับ 60-64 แท่ง เป็นโครโมโซมขนาดใหญ่ 12-16 แท่ง และโครโมโซมขนาดเล็ก 60-64 แท่ง

ลักษณะที่ 3 โครโมโซมเพศ (sex-chromosome) ของสัตว์ปีก มีการกำหนดเพศระบบ ZW (เพศเมีย ZW และเพศผู้ ZZ) โครโมโซมเพศของเพศเมียจะมีขนาดที่ไม่เท่ากัน แต่จะเท่ากันในเพศผู้ โครโมโซม Z จะมีขนาดใหญ่กว่าโครโมโซม W ประมาณ 4 เท่า และพบว่าในสัตว์ปีกแต่ละสกุลจะมีขนาดและรูปร่างของโครโมโซม W ที่แตกต่างกัน (Christidis, 1986) พบว่าโครโมโซม Z และ W มีองค์ประกอบของจีโนมประมาณ 7 และ 1.5 % ตามลำดับ (Clinton and Haines, 1999) สามารถที่จะแยกความแตกต่างของโครโมโซมเพศ ได้จากการย้อมสีโครโมโซมด้วยเทคนิค C-banding (Mengden, 1981) โดยประสบความสำเร็จในนกกล้าเหยื่ออันดับ Falconiformes (Belterman and de Boer, 1984) นก larks อันดับ Alaudidae (Bulatova, 1973) และนกหัวขวานอันดับ Piciformes (Shields et al., 1982)

เทคนิคพื้นฐานในการเตรียมโครโมโซมของสัตว์ปีกมี 4 วิธี คือ การเตรียมโครโมโซมจากเซลล์ของรากขน (Sandness, 1954; Krishan et al., 1965) การเพาะเลี้ยงเซลล์เม็ดเลือดขาว (Belterman and de Boer, 1984) การเพาะเลี้ยงเซลล์ไฟโบรบลาสต์ (Rothfels et al., 1963; Thorneycroft, 1966 & 1968; Jovanovic and Atkin, 1969; Stock and Bunch, 1982; Shields, 1983) และจากเนื้อเยื่อไขกระดูกในหลอดทดลอง (Lu, 1969; Christidis, 1985)

จากการตรวจสอบเอกสารพบว่าการศึกษาด้านพันธุศาสตร์เซลล์ของสัตว์ปีก มีรายงานการศึกษาที่น้อยมาก และส่วนใหญ่เป็นรายงานการศึกษาในต่างประเทศ สำหรับการศึกษาด้านพันธุศาสตร์เซลล์ในนกยางกรอกพันธุ์ชวายังไม่มีรายงานการศึกษา

วิธีการดำเนินการศึกษา

การเตรียมโครโมโซม

ใช้ตัวอย่างนกยางกรอกจำนวน 6 ตัว จากสวนสัตว์เปิดเขาเขียว ใช้เข็มเบอร์ 23 เจาะเส้นเลือด vena basilica เก็บเลือด 1-2 มิลลิลิตร ในหลอดสุญญากาศขนาด 10 มิลลิลิตร ภายในบรรจุสารเฮพาริน (heparin) เพื่อป้องกันการแข็งตัวของเลือด นำเลือดนกลมาทำการเพาะเลี้ยงเซลล์เม็ดเลือดขาวชนิด T-lymphocyte วิธีการศึกษาดัดแปลงมาจาก Belterman and de Boer (1984) การเตรียมโครโมโซมแบ่งออกเป็น 2 ช่วง คือ การเพาะเลี้ยงเซลล์เม็ดเลือดขาว และการเก็บเกี่ยวเซลล์

1. การเพาะเลี้ยงเซลล์เม็ดเลือดขาว

1.1 เตรียมอาหารเพาะเลี้ยงเซลล์เม็ดเลือดขาว ประกอบด้วย RPMI 1640 จำนวน 8 มิลลิลิตร fetal calf serum 2 มิลลิลิตร mitogen ชนิด concanavalin A 2% 2 มิลลิลิตร และ penicillin-streptomycin 1% 0.25 มิลลิลิตร

1.2 นำเลือดนกลจำนวน 0.5 มิลลิลิตร หยดลงในขวดที่มีอาหารเพาะเลี้ยง 10 มิลลิลิตร เขย่าให้อาหารเพาะเลี้ยงและเลือดนกลละลายเข้ากัน ปิดฝาขวดหลวม ๆ แล้วนำไปบ่มในตู้บ่มที่อุณหภูมิ 41°C . และมีก๊าซคาร์บอนไดออกไซด์ 5% ทำการเขย่าขวดเพาะเลี้ยงทุกเช้าเย็น

1.3 เมื่อครบ 72 ชั่วโมง ทำการหยดสารละลายโคลชิซิน เขย่าสารละลายโคลชิซินให้เข้า กับเลือด แล้วนำไปบ่มในตู้บ่มต่ออีก 30 นาที จากนั้นทำการเก็บเกี่ยวเซลล์

2. การเก็บเกี่ยวเซลล์

2.1 ทำการย้ายสารละลายเลือดจากขวดเพาะเลี้ยงลงในหลอด graduated centrifuge ขนาด 12 มิลลิลิตร นำมาปั่นเหวี่ยงที่ 1,200 รอบ/นาที เป็นเวลา 10 นาที แล้วดูดส่วนใส (supernatant) ทิ้งให้เหลือเฉพาะตะกอนของเซลล์ที่นอนก้นอยู่ที่หลอด

2.2 ทำให้เซลล์ที่เตรียมได้พองมากกว่าเดิม เพื่อให้โครโมโซมมีการกระจายตัวดีขึ้น โดยการหยด

สารละลาย 0.075 M KCl ซึ่งเป็น hypotonic solution จำนวน 10 มิลลิลิตร ลงในตะกอนเซลล์ ผสมให้เข้ากันโดยใช้เครื่อง vortex mixer แล้วนำไปไว้ในตู้บ่มเป็นเวลา 30 นาที จากนั้นนำมาปั่นเหวี่ยงที่ 1,200 รอบ/นาที เป็นเวลา 10 นาที คูส่วนใสทิ้งไป เหลือไว้เฉพาะตะกอนของเซลล์ที่ก้นหลอด

2.3 ทำการตรึงเซลล์ โดยการเติม fresh cold fixative ที่มีอัตราส่วน methanol : glacial acetic acid ในอัตราส่วน 3 : 1 จำนวน 10 มิลลิลิตร ใช้ vortex mixer เขย่าให้ fixative เข้ากับส่วนของเซลล์ นำไปปั่นเหวี่ยงที่ 1,200 รอบ/นาที เป็นเวลา 10 นาที คู fixative ส่วนที่อยู่ด้านบนทิ้ง

2.4 ทำซ้ำในขั้นตอนที่ 2.3 อีกประมาณ 3-4 ครั้ง จนได้ตะกอนที่ก้นหลอด คูสารละลายส่วนบนทิ้งไปเกือบหมด เหลือไว้เหนือเซลล์เล็กน้อย เติม fixative ลงไปอีก 3-5 หยด แล้วผสมให้เข้ากัน

2.5 ใช้ micropipette คูและหยดสารละลายตะกอนเซลล์ 20 ไมโครลิตร แล้วหยดบนสไลด์ที่แห้งสะอาด ทิ้งสไลด์ให้แห้ง ทำการย้อมสีโครโมโซมแบบดั้งเดิมด้วยสีจิมซาส์ (Giemsa's) 10% ทิ้งไว้นาน 15-20 นาที ล้างสีส่วนเกินออกด้วยน้ำประปา ทิ้งไว้ให้แห้ง

การตรวจสอบโครโมโซม และการจัดคาริโอไทป์

นำสไลด์มาคูด้วยกล้องจุลทรรศน์ เลือกเซลล์ที่มีการแบ่งนิวเคลียสระยะเมทาเฟส (metaphase) ที่มีขนาดของโครโมโซมไม่ยาวหรือสั้นมากเกินไป และมีการกระจายตัวดี ทำการนับจำนวนโครโมโซม

ถ่ายภาพโครโมโซม นำฟิล์มที่ถ่ายมาอัดรูป ทำการจัดคาริโอไทป์ อิดิโอแกรม และสูตรของคาริโอไทป์ เพื่อกำหนดจำนวน ขนาด และชนิดของโครโมโซม ตามรายงานของ กันยารันต์ ไชยสุต (2532) โดยการหาความยาวของแขนโครโมโซมข้างสั้น (length short, Ls) ความยาวของแขนโครโมโซมข้างยาว (length long; Ll) ความยาวของโครโมโซมแต่ละแท่ง (length total, Lt = Ls+Ll) ค่า relative length (RI) และค่า centromeric index (Ci) นำค่า Ls, Ll, Lt, RI และ Ci ของเซลล์ทั้งหมดมาหาค่าเฉลี่ย

ผลการศึกษา

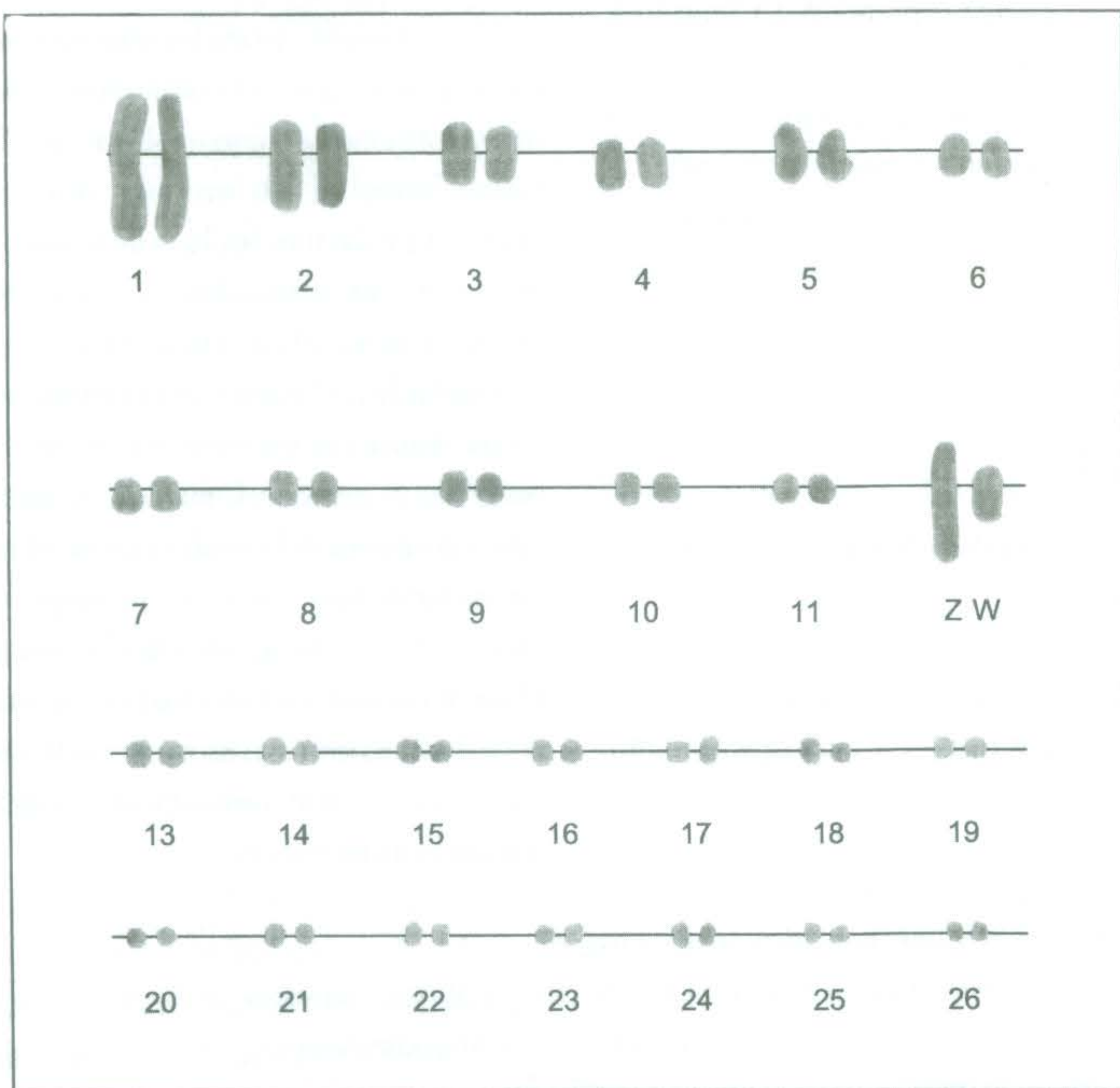
การศึกษาพันธุศาสตร์เซลล์ของนกยางกรอกพันธุ์ชวา ใช้เทคนิคการเพาะเลี้ยงเซลล์เม็ดเลือดขาวในสภาพที่ปลอดเชื้อ ที่อุณหภูมิ 41 °ซ. มีก๊าซคาร์บอนไดออกไซด์ 5% การศึกษา พบว่านกยางกรอกพันธุ์ชวามีจำนวนโครโมโซมดิพลอยด์ (2n) เท่ากับ 52± แท่ง ประกอบด้วยโครโมโซม 2 ขนาด คือ โครโมโซมขนาดใหญ่มีจำนวน 24 แท่ง (12 คู่) ประกอบด้วยโครโมโซมชนิดเมทาเซนตริกขนาดใหญ่ 2 แท่ง ซับเมทาเซนตริกขนาดใหญ่ 2 แท่ง (รวมโครโมโซม Z) เมทาเซนตริกขนาดเล็ก 12 แท่ง และซับเมทาเซนตริกขนาดเล็ก 6 แท่ง (รวมโครโมโซม W) โครโมโซมขนาดเล็ก ได้แก่ โครโมโซมคู่ที่ 13-26 มีจำนวน 28 แท่ง (14 คู่) มีลักษณะเป็นจุดขนาดเล็กที่ไม่สามารถจัดจำแนกชนิดของโครโมโซมได้ คาริโอไทป์ของนกยางกรอกพันธุ์ชวาดังแสดงในรูปที่ 2 และ 3 สามารถเขียนสูตรคาริโอไทป์ของนกยางกรอกพันธุ์ชวาได้ดังนี้

สูตรคาริโอไทป์ของนกยางกรอกพันธุ์ชวาเพศผู้ คือ

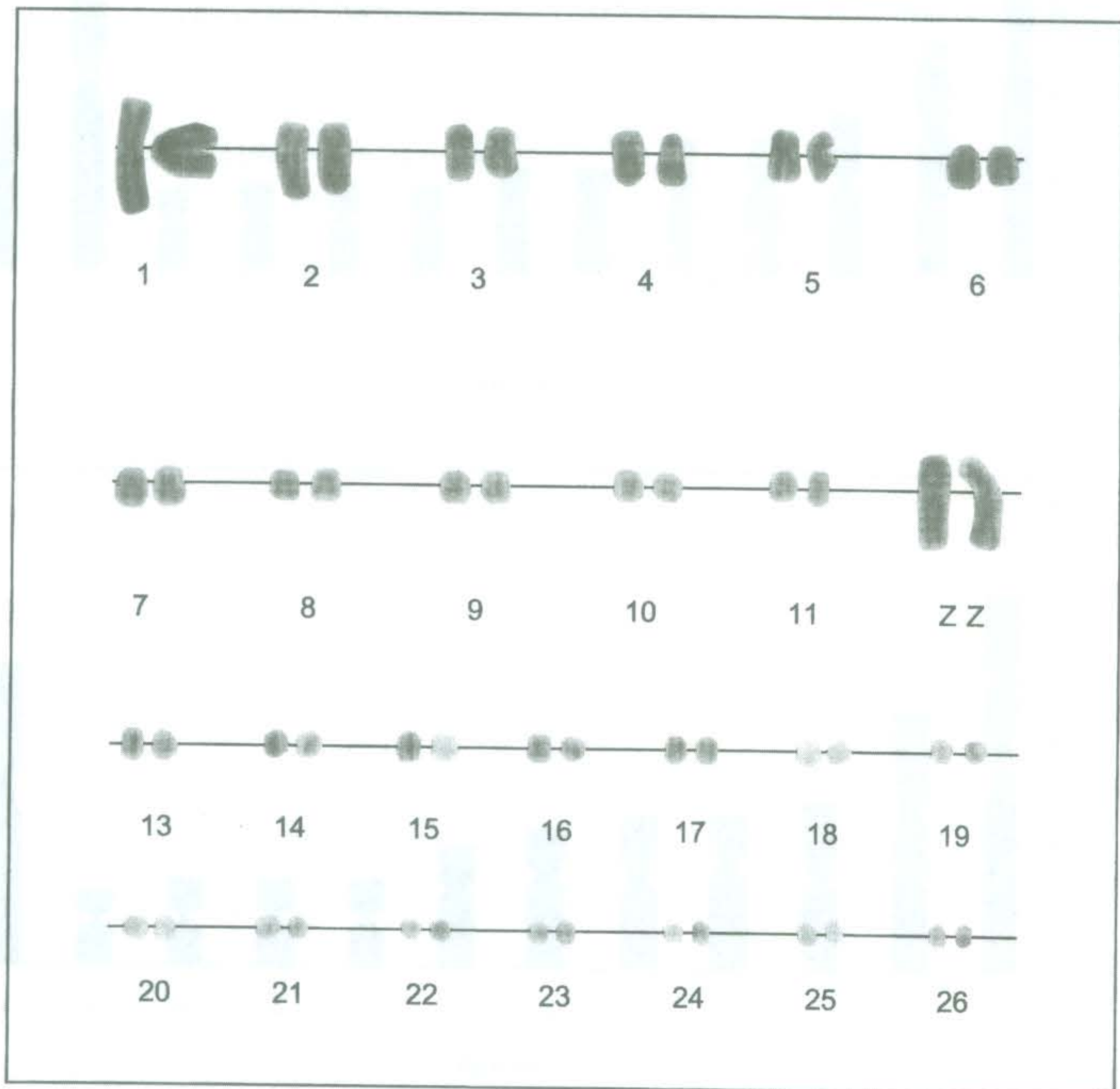
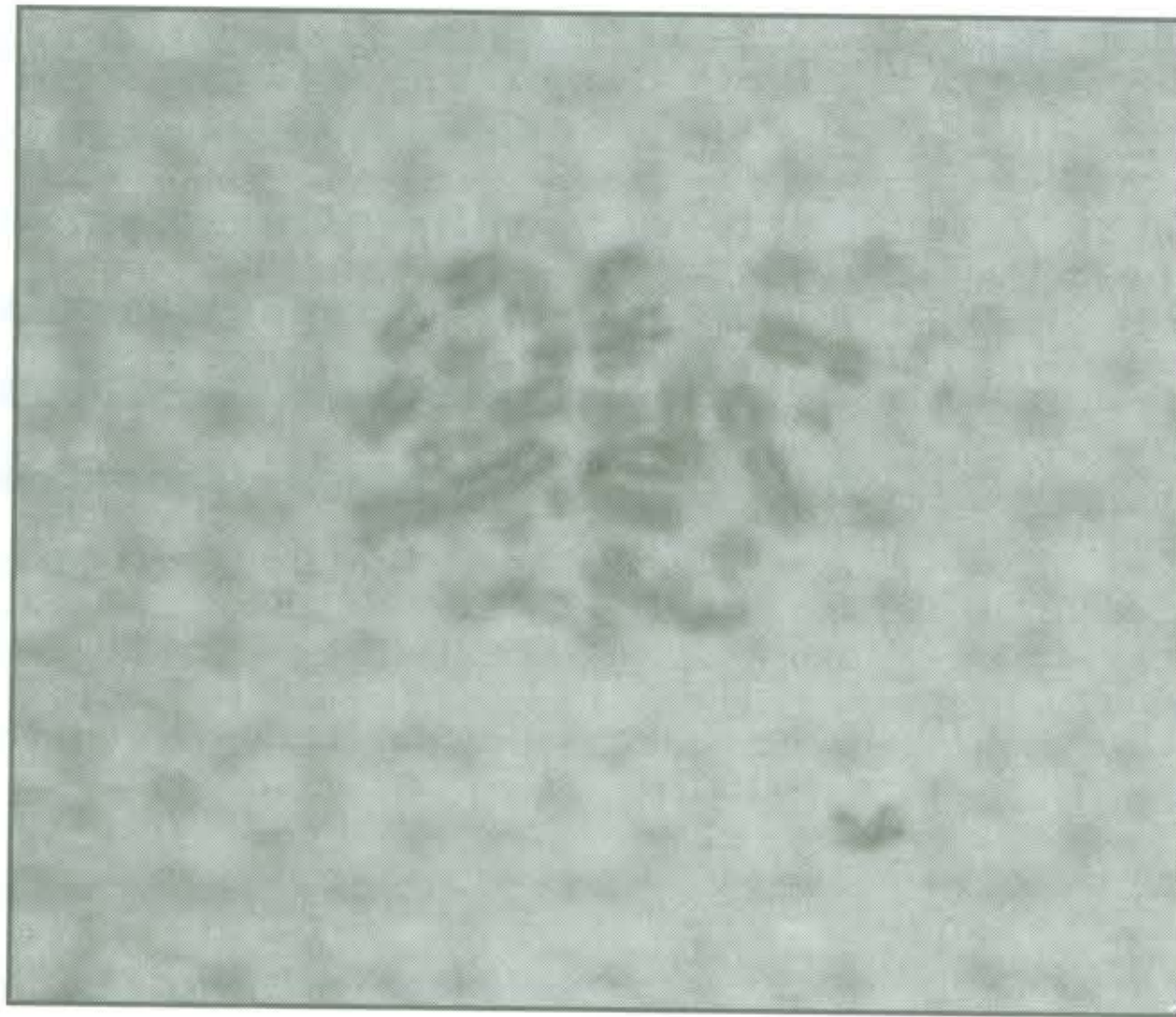
$$\begin{aligned} \text{Diploid (2n)} &= 52\pm = L_2^m + L_2^{sm} + S_{12}^m + S_6^{sm} + \text{Microchromosomes}_{28} + \text{ZZ or} \\ &= L_2^m + L_4^{sm} + S_{12}^m + S_6^{sm} + \text{Microchromosomes}_{28} \end{aligned}$$

สูตรคาริโอไทป์ของนกยางกรอกพันธุ์ชวาเพศเมีย คือ

$$\begin{aligned} \text{Diploid (2n)} &= 52\pm = L_2^m + L_2^{sm} + S_{12}^m + S_6^{sm} + \text{Microchromosomes}_{28} + \text{ZW or} \\ &= L_2^m + L_3^{sm} + S_{12}^m + S_7^{sm} + \text{Microchromosomes}_{28} \end{aligned}$$



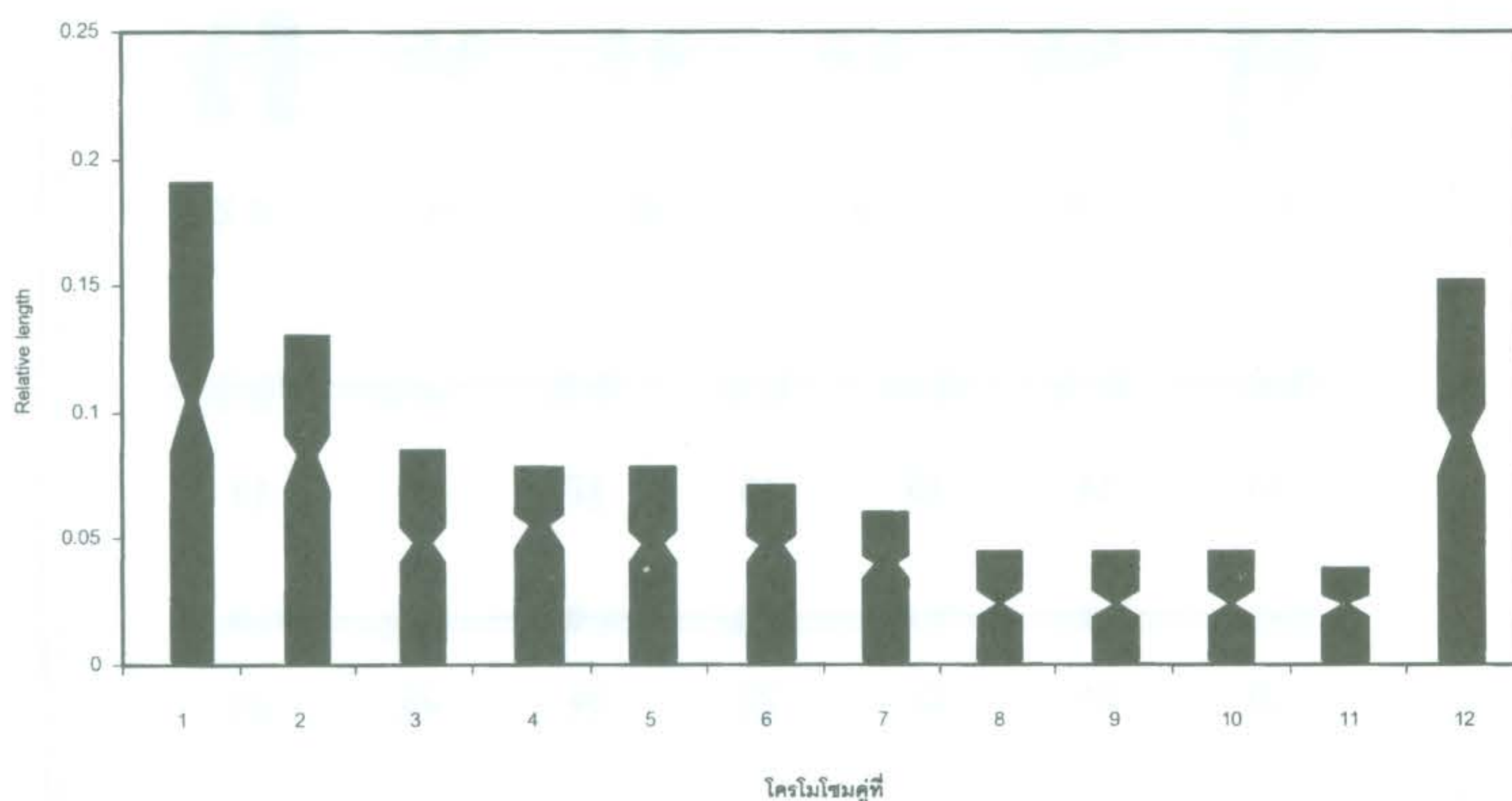
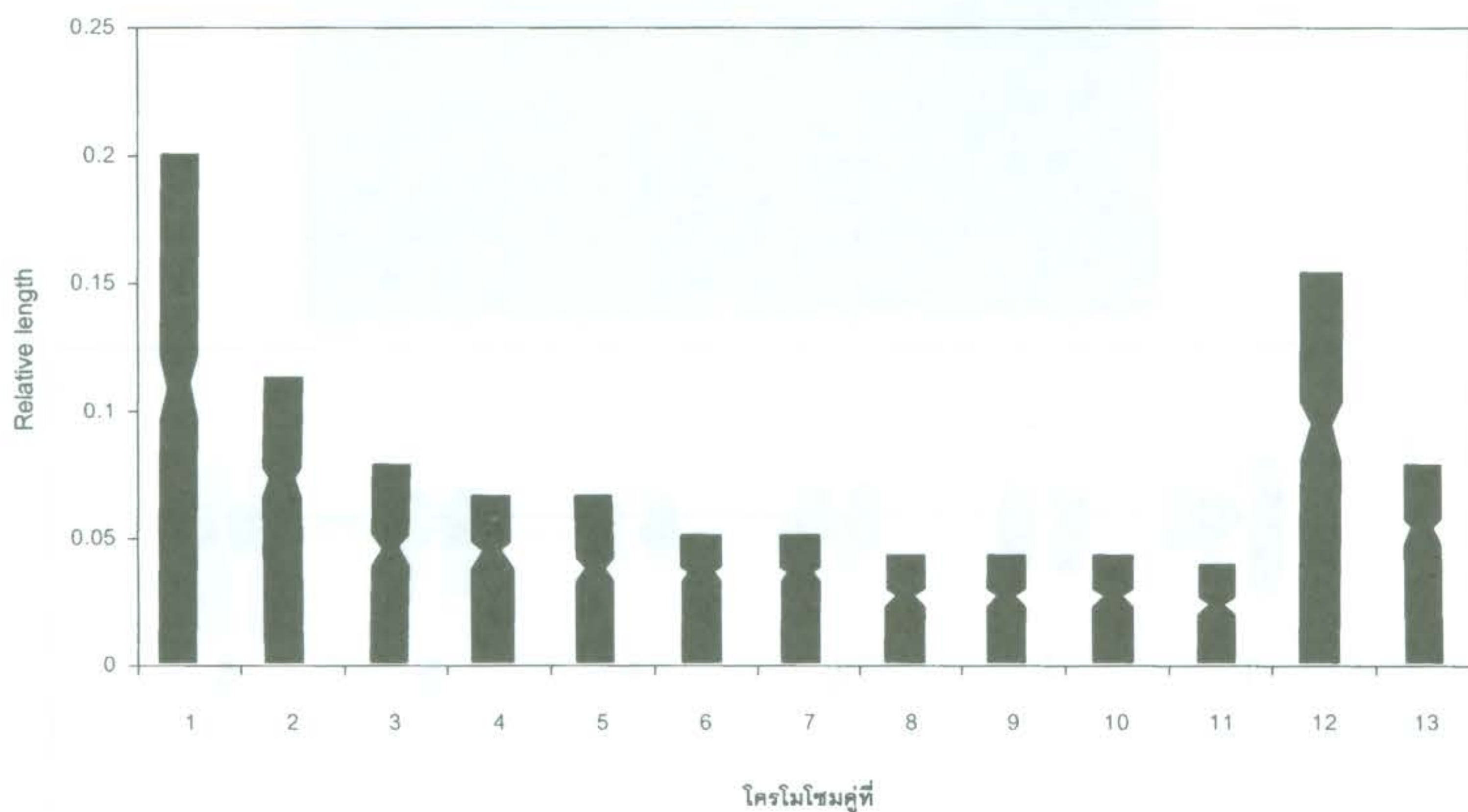
รูปที่ 2 โครโมโซมจากเซลล์ระยะเมทาเฟส และคาริโอไทป์ของนกยางกรอกพันธุ์ชวาเทศเมีย (*Ardeola speciosa*) $2n = 52 \pm$



รูปที่ 3 โครโมโซมจากเซลล์ระยะเมทาเฟส และคาริโอไทป์ของนกยางกรอกพันธุ์ชวา (*Ardeola speciosa*) เพศผู้ $2n = 52 \pm$

นกยางกรอกพันธุ์ขาวมีการกำหนดเพศระบบ ZW โครโมโซม Z มีขนาดใหญ่กว่าโครโมโซม W ประมาณ 2 เท่า โครโมโซม Z จัดเป็นโครโมโซม ชนิดซับเมทาเซนตริกขนาดใหญ่ และโครโมโซม W จัดเป็นโครโมโซมชนิดซับเมทาเซนตริกขนาดเล็ก นกยางกรอกพันธุ์ขาวเพศผู้มีโครโมโซมเพศที่มีขนาด

เท่ากัน (ZZ) สำหรับนกเพศเมียมีโครโมโซมเพศ ที่มีขนาดไม่เท่ากัน (ZW) นอกจากนี้ อิติโอแกรม ของนกยางกรอกพันธุ์ขาว แสดงให้เห็นว่าโครโมโซม ค่อย ๆ ลดขนาดลงจากโครโมโซมขนาดใหญ่ไปสู่ ขนาดเล็ก เช่นเดียวกับนก spine-tailed swift (*Hirundapus cadacautus*) ดังแสดงในรูปที่ 4



รูปที่ 4 อิติโอแกรมของนกยางกรอกพันธุ์ขาว (*Ardeola speciosa*) เพศเมีย (ภาพบน) และเพศผู้ (ภาพล่าง) $2n = 52 \pm$

จากการนำเซลล์ที่อยู่ในระยะเมทาเฟสจำนวน 10 เซลล์ ของนกกางกรอกพันธุ์ชาวเพศเมียและเพศผู้ มาทำการวัดขนาดของโครโมโซมที่มีหน่วยเป็น เซนติเมตร พบว่าโครโมโซมขนาดใหญ่ของนกกางกรอกพันธุ์ชาวเพศเมียมีค่าเฉลี่ยสูงสุดและต่ำสุดของ แขนโครโมโซมข้างยาว (L1) เท่ากับ 1.15 และ 0.20 เซนติเมตร ตามลำดับ ความยาวของแขนโครโมโซมข้างสั้น (Ls) เท่ากับ 0.90 และ 0.16 เซนติเมตร ตามลำดับ ความยาวของโครโมโซมแต่ละคู่ (Lt) เท่ากับ 2.05 และ 0.38 เซนติเมตร ตามลำดับ ค่า relative length (RI) เท่ากับ 0.198 และ 0.036 เซนติเมตร ตามลำดับ และค่า centromeric index (Ci) เท่ากับ 0.666 และ 0.526 เซนติเมตร ตามลำดับ ดังแสดงในตารางที่ 1

นกกางกรอกพันธุ์ชาวเพศผู้มีค่าเฉลี่ยสูงสุด และต่ำสุดของแขนโครโมโซมข้างยาว (L1) เท่ากับ 0.81 และ 0.16 เซนติเมตร ตามลำดับ ความยาวของ แขนโครโมโซมข้างสั้น (Ls) เท่ากับ 0.68 และ 0.13 เซนติเมตร ตามลำดับ ความยาวของโครโมโซมแต่ละ คู่ (Lt) เท่ากับ 1.49 และ 0.29 เซนติเมตร ตามลำดับ ค่า relative length (RI) เท่ากับ 0.190 และ 0.037 เซนติเมตร ตามลำดับ และค่า centromeric index (Ci)

เท่ากับ 0.672 และ 0.529 เซนติเมตร ตามลำดับ ดังแสดงในตารางที่ 2

โครโมโซม Z และ W ของนกกางกรอกพันธุ์ชาวเพศเมียมีค่าเฉลี่ยของแขนโครโมโซมข้างยาว (L1) เท่ากับ 0.96 และ 0.52 เซนติเมตร ตามลำดับ ความยาวของแขนโครโมโซมข้างสั้น (Ls) เท่ากับ 0.61 และ 0.24 เซนติเมตร ตามลำดับ ความยาวของโครโมโซมแต่ละคู่ (Lt) เท่ากับ 1.57 และ 0.76 เซนติเมตร ตามลำดับ ค่า relative length (RI) เท่ากับ 0.151 และ 0.073 เซนติเมตร ตามลำดับ และค่า centromeric index (Ci) เท่ากับ 0.611 และ 0.684 เซนติเมตร ตามลำดับ ดังแสดงในตารางที่ 1

โครโมโซม Z ของนกกางกรอกพันธุ์ชาวเพศผู้มีค่าเฉลี่ยของแขนโครโมโซมข้างยาว (L1) เท่ากับ 0.72 เซนติเมตร ความยาวของแขนโครโมโซมข้างสั้น (Ls) เท่ากับ 0.46 เซนติเมตร ความยาวของโครโมโซมแต่ละคู่ (Lt) เท่ากับ 1.18 เซนติเมตร ค่า relative length (RI) เท่ากับ 0.150 เซนติเมตร และค่า centromeric index (Ci) เท่ากับ 0.610 เซนติเมตร ดังแสดงในตารางที่ 2

ตารางที่ 1 ค่าความยาวเฉลี่ยของแขนโครโมโซมข้างยาว (Ll) ความยาวของแขนโครโมโซมข้างสั้น (Ls) ความยาวของโครโมโซมแต่ละคู่ (Lt) relative length (RI) และ centromeric index (Ci) ของนกยางกรอกพันธุ์ชาวเผดเมียจำนวน 10 เซลล์

คู่โครโมโซม	Ll (ชม.)	Ls (ชม.)	Lt (ชม.)	RI (ชม.)	Ci (ชม.)
1	1.15	0.90	2.05	0.198	0.560
2	0.70	0.46	1.16	0.112	0.603
3	0.44	0.35	0.79	0.076	0.556
4	0.45	0.23	0.68	0.065	0.661
5	0.37	0.30	0.67	0.064	0.552
6	0.32	0.18	0.50	0.048	0.640
7	0.32	0.16	0.48	0.046	0.666
8	0.25	0.20	0.45	0.043	0.555
9	0.24	0.20	0.44	0.042	0.545
10	0.23	0.19	0.42	0.040	0.547
11	0.20	0.18	0.38	0.036	0.526
Z*	0.96	0.61	1.57	0.151	0.611
W*	0.52	0.24	0.76	0.073	0.684
13-26**	-	-	-	-	-

หมายเหตุ * เป็นโครโมโซมเพศ

** เป็นโครโมโซมขนาดเล็ก ไม่สามารถทำการวัดโครโมโซมได้

ตารางที่ 2 ค่าความยาวเฉลี่ยของแขนโครโมโซมข้างยาว (Ll) ความยาวของแขนโครโมโซมข้างสั้น (Ls) ความยาวของโครโมโซมแต่ละคู่ (Lt) relative length (Rl) และcentromeric index (Ci) ของนกยางกรอกพันธุ์ชาวเพศผู้จำนวน 10 เซลล์

คู่โครโมโซม	Ll (ชม.)	Ls (ชม.)	Lt (ชม.)	Rl (ชม.)	Ci (ชม.)
1	0.81	0.68	1.49	0.190	0.543
2	0.64	0.38	1.02	0.130	0.631
3	0.35	0.31	0.66	0.084	0.530
4	0.41	0.21	0.62	0.079	0.661
5	0.36	0.25	0.61	0.078	0.590
6	0.37	0.18	0.55	0.070	0.672
7	0.26	0.16	0.42	0.053	0.619
8	0.18	0.16	0.34	0.043	0.529
9	0.18	0.15	0.33	0.042	0.545
10	0.17	0.14	0.31	0.039	0.548
11	0.16	0.13	0.29	0.037	0.551
Z*	0.72	0.46	1.18	0.150	0.610
13-26**	-	-	-	-	-

หมายเหตุ * เป็นโครโมโซมเพศ
** เป็นโครโมโซมขนาดเล็ก ไม่สามารถทำการวัดโครโมโซมได้

โครโมโซมขนาดใหญ่ที่เป็น macrochromosome ของนกยางกรอกพันธุ์ขาวจำนวน 24 แท่ง (12 คู่) สามารถจัดขนาดของโครโมโซมตามรายงานของ กันยารันต์ ไชยสุต (2532) ได้เป็น 2 ขนาด คือ โครโมโซมขนาดใหญ่ (large chromosome) ซึ่งได้แก่ โครโมโซมคู่ที่ 1, 2 และโครโมโซม Z และ

โครโมโซมขนาดเล็ก (small chromosome) ซึ่ง ได้แก่ โครโมโซมคู่ที่ 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9, 10, 11 และ โครโมโซม W สำหรับโครโมโซมขนาดเล็กที่เป็น microchromosome ไม่สามารถจัดจำแนกชนิดและ ขนาดได้ เนื่องจากมองเห็นเป็นจุดที่มีขนาดเล็กมาก ดังแสดงในตารางที่ 3 และ 4

ตารางที่ 3 ขนาดและชนิดของโครโมโซมนกยางกรอกพันธุ์ขาว (*Ardeola speciosa*) เพศเมีย 2n = 52±

โครโมโซมขนาดใหญ่ (Large chromosome)	โครโมโซมขนาดเล็ก (Small chromosome)	โครโมโซมขนาดเล็ก (Microchromosome)
คู่ที่ 1 เป็นเมทาเซนตริก คู่ที่ 2 เป็นซับเมทาเซนตริก โครโมโซม Z เป็นซับเมทาเซนตริก	คู่ที่ 3 เป็นเมทาเซนตริก คู่ที่ 4 เป็นซับเมทาเซนตริก คู่ที่ 5 เป็นเมทาเซนตริก คู่ที่ 6 เป็นซับเมทาเซนตริก คู่ที่ 7 เป็นซับเมทาเซนตริก คู่ที่ 8 เป็นเมทาเซนตริก คู่ที่ 9 เป็นเมทาเซนตริก คู่ที่ 10 เป็นเมทาเซนตริก คู่ที่ 11 เป็นเมทาเซนตริก โครโมโซม W เป็นซับเมทาเซนตริก	คู่ที่ 13 ถึง 26

ตารางที่ 4 ขนาดและชนิดของโครโมโซมนกยางกรอกพันธุ์ขาว (*Ardeola speciosa*) เพศผู้ 2n = 52±

โครโมโซมขนาดใหญ่ (Large chromosome)	โครโมโซมขนาดเล็ก (Small chromosome)	โครโมโซมขนาดเล็ก (Microchromosome)
คู่ที่ 1 เป็นเมทาเซนตริก คู่ที่ 2 เป็นซับเมทาเซนตริก โครโมโซม Z เป็นซับเมทาเซนตริก	คู่ที่ 3 เป็นเมทาเซนตริก คู่ที่ 4 เป็นซับเมทาเซนตริก คู่ที่ 5 เป็นเมทาเซนตริก คู่ที่ 6 เป็นซับเมทาเซนตริก คู่ที่ 7 เป็นซับเมทาเซนตริก คู่ที่ 8 เป็นเมทาเซนตริก คู่ที่ 9 เป็นเมทาเซนตริก คู่ที่ 10 เป็นเมทาเซนตริก คู่ที่ 11 เป็นเมทาเซนตริก	คู่ที่ 13 ถึง 26

สรุปและวิจารณ์ผลการศึกษา

เป็นรายงานครั้งแรกของการศึกษาพันธุศาสตร์ เซลล์นกกางกรอกพันธุ์ขาว ผลการศึกษาพบว่านกกางกรอกพันธุ์ขาวมีจำนวนโครโมโซม $2n = 52 \pm$ แห่ง สอดคล้องกับรายงานการศึกษาที่พบว่าจำนวนโครโมโซมของสัตว์ปีกมีจำนวนตั้งแต่ $2n = 40$ แห่ง (Bulatova et al., 1971) จนถึง 126 แห่ง (Misra and Srivastava, 1975) โครโมโซมของนกกางกรอกพันธุ์ขาวประกอบด้วยโครโมโซม 2 ขนาด คือ โครโมโซมขนาดใหญ่ซึ่งสามารถจำแนกชนิดได้อย่างชัดเจน และโครโมโซมขนาดเล็กซึ่งมองเห็นเป็นจุดขนาดเล็ก และไม่สามารถที่จะจัดจำแนกชนิดของโครโมโซมได้ สอดคล้องกับรายงานการศึกษาของ Halnan (1989) ที่พบว่าคาร์ิโอไทป์ของสัตว์ปีกส่วนใหญ่จะประกอบไปด้วยโครโมโซมที่มี 2 แบบ คือ โครโมโซมขนาดใหญ่ที่มีขนาดตั้งแต่ 4-8 ไมโครเมตร และโครโมโซมขนาดเล็กปกติมีขนาดที่เล็กกว่า 2 ไมโครเมตร เมื่อมองด้วยกล้องจุลทรรศน์จะมีลักษณะเป็นจุดขนาดเล็ก ในสัตว์ปีกชนิดต่าง ๆ สามารถที่จะเห็นความแตกต่างของโครโมโซมขนาดใหญ่ไปยังโครโมโซมขนาดเล็กได้อย่างชัดเจน

โครโมโซมขนาดใหญ่ของนกกางกรอกพันธุ์ขาวมีจำนวน 24 แห่ง (12 คู่) ซึ่งคล้ายกับ รายงานของ Ohno et al. (1964), Talluri and Vegni (1965) และ Bammi et al. (1966) ในนกกระทาญี่ปุ่น (*Coturnix coturnix japonica*) Stenius et al. (1963), Owen (1965), Shoffner and Krishan (1965), Krishan and Shoffner (1966) และ Shoffner et al. (1966) ในไก่เลี้ยง (*Gallus domesticus*), ไก่ฟ้า chinese ringneck (*Rhasianus colchicus*), ไก่กังว (*Meleagris gallopavo*) Krishan et al. (1965) ใน great horned (*Bubo virginianus*) Mott et al. (1968) ในเป็ด muscovy duck (*Cairina moschata*) Hammar (1970) ในเป็ด mallard (*Anas platyrhynchos*) Bhatnagar (1968) ใน swan goose (*Anser cygnoides*) Hammar (1970) ใน American golden eye (*Bucephala clangula*) Piccinni and Stella

(1970) ใน guinea fowl (*Numida meleagris*) Galton and Bredburg (1966) ในนกพิราบ (*Columba livia domestica*) Hammar (1970) และ Takagi and Sasaki (1974) ใน giant Canadian goose (*Branta canadensis maxima*) Becak et al. (1971) ใน razor-billed curassow (*Mitu mitu*), golden pheasant (*Chrysolophus pictus*), scaled quail (*Coliipepla squamata*), bobwhite quail (*Colinus virginianus*), California quail (*Lophortyx californica*), ring neck dove (*Streptopelia risoria*), mourning dove (*Zenaidura macroura*) Takagi et al. (1972) ในนก rhea (*Rhea omericana*) Shoffner et al. (1973) ใน emperor goose (*Anser canagicus*) Shields (1973) ในนก savannah sparrow (*Passerculus sandwichensis*) Becak et al. (1973) ใน killdeer (*Charadrius vociferus*), raven (*Corvus corax*), Gambell's quail (*Lophortyx gambelli*), mandarin duck (*Aix galericulata*), fulvous tree duck (*Dendocygna bicolor*), pintail duck (*Anas acuta*), commom shoveler (*Anas clypeata*), prairie blue-winged (*Anas discors discors*), gadwall (*Anas strepera*), canvasback (*Aythya valisineria*), lesser scaup (*Aythya affinis*), redhead (*Aythya americana*), commom shelduck (*Tadorna tadorna*) Becak et al. (1975) ใน lesser snow goose (*Anser caerulescens*), blue goose (*Anser caerulescens caerulescens*), Ross's goose (*Anser rossii*), hooded merganser (*Mergus cucullatus*), ruddy duck (*Oxyura jamaicensis jamaicensis*), Egyptian goose (*Alopochen aegyptiacus*), whalehead stork (*Balaeniceps rex*) ที่รายงานว่ามีจำนวนของโครโมโซมขนาดใหญ่เท่ากับ 24 แห่ง (12 คู่)

ผลของการศึกษาในครั้งนี้แตกต่างจากรายงานของ Ohno et al. (1964) ใน canary (*Serinus canarius*) ซึ่งมีจำนวนโครโมโซมขนาดใหญ่เท่ากับ 22 แห่ง (11 คู่) Thorneycroft (1968) ใน white-throated sparrow (*Zonotrichia albicollis*) และ Becak et al.

(1975) ใน white-crowned sparrow (*Zonotrichia leucophrys*) ซึ่งมีจำนวนโครโมโซมขนาดใหญ่เท่ากับ 32 แท่ง (18 คู่)

โครโมโซมขนาดใหญ่ของนกยางกรอกพันธุ์ขาว ได้แก่ โครโมโซมคู่ที่ 1-12 ซึ่งประกอบด้วยโครโมโซมชนิดเมทาเซนตริก และซับเมทาเซนตริกขนาดใหญ่ สอดคล้องกับรายงานการศึกษาของ Ohno et al. (1964), Krishan et al. (1965), Galton and Bredburg (1966), Bhatnagar (1968), Becak et al. (1971), Becak (1973), Shields (1973), Shoffner et al. (1973) และ Becak (1975) ที่รายงานว่าโครโมโซมขนาดใหญ่ของสัตว์ปีกหลายชนิดเป็นโครโมโซมชนิดเมทาเซนตริก และซับเมทาเซนตริก

นกยางกรอกพันธุ์ขาวมีการกำหนดเพศระบบ ZW โครโมโซม Z และ W เป็นโครโมโซมชนิดซับเมทาเซนตริก จากการตรวจสอบเอกสารพบว่าโครโมโซม Z ของสัตว์ปีกมีความหลากหลายชนิดโครโมโซมจากโครโมโซมชนิดเมทาเซนตริก (Stenius et al, 1963; Ohno et al., 1964; Krishan et al., 1965; Owen, 1965; Shoffner and Krishan, 1965; Talluri and Vegni, 1965; Bammi et al., 1966; Galton and Bredburg, 1966; Krishan and Shoffner, 1966; Shoffner et al., 1966 และ Becak et al., 1971, 1973 & 1975) โครโมโซมชนิดซับเมทาเซนตริก (Stenius et al, 1963; Ohno et al., 1964; Krishan and Shoffner, 1966; Bhatnagar, 1968; Hammar, 1970; Piccinni and Stella, 1970; Becak et al., 1971, 1973 & 1975; Shoffner et al., 1973 และ Takagi and Sasaki, 1974) โครโมโซมชนิดอะโครเซนตริก (Mott et al., 1968; Takagi et al., 1972 และ Becak et al., 1973 & 1975) และโครโมโซมชนิด ซับทีโลเซนตริก (Thornycroft, 1966 & 1968; Hammar, 1970; Becak et al., 1971 & 1973 และ Shields, 1973) เช่นเดียวกันกับโครโมโซม W จากโครโมโซมชนิดเมทาเซนตริก (Ohno et al., 1964; Galton and Bredburg, 1966; Hammar, 1970;

Takagi and Sasaki, 1974 และ Becak et al., 1975) โครโมโซมชนิดซับเมทาเซนตริก (Stenius et al., 1963; Ohno et al., 1964; Owen, 1965; Shoffner and Krishan, 1965; Krishan and Shoffner, 1966; Shoffner et al., 1966; Bhatnagar, 1968; Shoffner et al., 1973 และ Becak et al., 1971, 1973 & 1975) โครโมโซมชนิดอะโครเซนตริก (Ohno et al., 1964; Talluri and Vegni, 1965; Hammar, 1966; Bammi et al., 1966; Thornycroft, 1966 & 1968; Mott et al., 1968; Bloom, 1969; Shields, 1973 และ Becak et al., 1971, 1973 & 1975) และโครโมโซมชนิดซับทีโลเซนตริก (Stenius et al., 1965; Ohno et al., 1964; Krishan and Shoffner, 1966; Hammar, 1970; Piccinni and Stella, 1970 และ Becak et al., 1971)

จากการศึกษาพบว่านกยางกรอกพันธุ์ขาวมีโครโมโซม Z ใหญ่กว่าโครโมโซม W ประมาณ 2 เท่า ซึ่งแตกต่างจากรายงานการศึกษาของ Halnan (1989) ที่รายงานว่าโครโมโซม Z ของสัตว์ปีกจะมีขนาดใหญ่กว่าโครโมโซม W ประมาณ 4 เท่า

กิตติกรรมประกาศ

คณะผู้วิจัยขอขอบคุณสวนสัตว์เปิดเขาเขียว อำเภอสัตหีบ จังหวัดชลบุรี ที่ได้อนุญาตให้ทำการเจาะและเก็บเลือดนกยางกรอกพันธุ์ขาวจำนวน 6 ตัว มาทำการศึกษาในครั้งนี้

เอกสารอ้างอิง

- กันยารัตน์ ไซสุต. (2532). เซลล์พันธุศาสตร์อนุกรมวิธานพืชสกุล *Zephyranthes*. ภาควิชาพฤกษศาสตร์ คณะวิทยาศาสตร์ จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย, กรุงเทพฯ.
- กำพล มีสวัสดิ์. (2539). ปักษีวิทยาเบื้องต้น. ภาควิชาชีววิทยา คณะวิทยาศาสตร์ มหาวิทยาลัยสงขลานครินทร์, สงขลา.

- Bammi, R.K., Shoffner, R.N. and Haiden, G.J. (1966). Sex ratio and karyotype in the chicken-coturnix quail hybrid. *Can. J. Genet. Cytol.* 8:533-536.
- Becak, M.L., Becak, W., Roberts, F.L., Shoffner, E.P. (1971). *Chromosome Atlas: Fish, Amphibians, Reptiles and Birds. Volume 1.* New York: Springer-Verlag.
- Becak, M.L., Becak, W., Roberts, F.L., Shoffner, E.P. (1973). *Chromosome Atlas: Fish, Amphibians, Reptiles and Birds. Volume 2.* New York: Springer-Verlag.
- Becak, M.L., Becak, W., Roberts, F.L., Shoffner, E.P. (1975). *Chromosome Atlas: Fish, Amphibians, Reptiles and Birds. Volume 3.* New York: Springer-Verlag.
- Belterman, R.H.R. and de Boer, L.E.N. (1984). A karyological study of 55 species of birds, including karyotype of 39 species new to cytology. *Genetica.* 65:39-82.
- Bhatnagar, M.K. (1968). Mitotic chromosome of white chinese geese. *J. Heredity.* 59:191-195.
- Bloom, S.E., Shalit, P. and Bacon, L.D. (1978). Chromosome localization of nucleolus organizers in the chicken. *Genetics.* 88:513.
- Bulatova, K.S. (1973). Unusually large sex-chromosome in some larks (Aves: Alaudidae). *Mamm. Chrom. Newsl.* 14:150-151.
- Bulatova, M.S., Panov, E.N. and Radjabli, S.I. (1971). Descriptions of karyotypes of some species of bird of the USSR fauna. *Proc. USSR Acad. Sci.* 199:1420-1423.
- Christidis, L. (1983). Extensive chromosomal repatterning in two congeneric species *Pytilia melba* Linn. and *Pytilia phoenicoptera* Swainson (Estrildidae; Aves). *Cytogenet. Cell Genet.* 36:641-648.
- Christidis, L. (1985). A rapid procedure for obtaining chromosome preparations from birds. *Auk.* 102:892-893.
- Christidis, L. (1986). Chromosome evolution within the Estrildidae (Aves) I. The Poephilae. *Genetica.* 71:8197.
- Clinton, M. and Haines, L.C. (1999). An overview of factors influencing sex determination and gonadal development in birds. *CLMS.* 55:876-886.
- de Boer, L.E.N. (1976). The somatic chromosome and complements of 16 species of Falconiformes (Aves) and karyological relationships of the order. *Genetica.* 46:77-113.
- Galton, M. and Bredburg, P.R. (1966). DNA replication pattern of the chromosome of the pigeon (*Columba livia domestica*). *Cytogenetics.* 5:295-306.
- Halnan, C.R.E. (1989). *Cytogenetics of Animals.* Cambrian Printers: St Mary Cray Kent.
- Hammar, B. (1970). The karyotype of thirty-one birds. *Hereditas.* 65:29-58.
- Jovanovic, V. and Atkin, L. (1969). A tissue culture technique for the study of avian chromosome. *Auk.* 86:696-700.
- Krishan, A., Haiden, G.J. and Shoffner, R.N. (1965). Mitotic chromosome and the W-sex chromosome of the great horned owl (*Bubo virginianus*). *Chromosoma.* 17:258-263.
- Krishan, A. and Shoffner, R.N. (1966). Sex chromosome in the domestic fowl (*Gallus domesticus*), turkey (*Meleagris gallopavo*) and the Chinese pheasant (*Phasianus colchicus*). *Cytogenetics.* 5:53-63.

- Lu, M.R. (1969). A widely applicable technique for direct processing of bone marrow for chromosome of vertebrates. *Stain Technol.* 44:155-158.
- Mengden, G.A. (1981). Linear differentiation of the C-band pattern of the W chromosome in snakes and birds. *Chromosoma*. 83:275-287.
- Misra, M. and Srivastava, M.D.L. (1975). Chromosome of two species of Coraciiformes. *The Nucleus*. 18:89-92.
- Mott, C.L., Lockhart, L.H. and Rigdon, R.H. (1968). Chromosomes of the sterile hybrid duck. *Cytogenetics*. 7:403-412.
- Ohno, S., Stenius, C., Christian, L.C., Becak, W. and Becak, M.L. (1964). Chromosomal uniformity in the avian subclass Cavinatae. *Chromosoma (Berl.)*. 15:280-288.
- Owen, J.J.T. (1965). Karyotype studies on *Gallus domesticus*. *Chromosoma (Berl.)*. 16:601-608.
- Piccinni, E. and Stella, M. (1970). Some avian karyotype. *Caryologia*. 23:189-202.
- Rothfels, K., Aspden, M. and Mollison, M. (1963). The W-chromosome of the budgeriga, *Melopsittacus undulatus*. *Chromosoma*. 14:459-467.
- Sandness, K. (1954). A New technique for the study of avian chromosomes. *Science*. 119:508-509.
- Shields, G.F. (1973). Chromosomal polymorphism common to several species of junco (Aves). *Can. J. Genet. Cytol.* 15:461-471.
- Shields, G.F. (1983). Bird chromosome. In: Johnston, R.F. (ed.). *Current Ornithology*. New York: Plenum Press.
- Shields, G.F., Jarrell, G.H. and Redruff, E. (1982). Enlarged sex-chromosome of woodpeckers (Piciformes). *Auk*. 90:767-771.
- Shoffner, R.N. and Krishan, A. (1965). The karyotype of *Gallus domesticus* with evidence for a W-chromosome. *Genetics*. 52:474.
- Shoffner, R.N., Otis, J.S. and Lee, F. (1973). Trisomy and abnormal segregation in Ross's X emberor goose hybrid. *Genetics*. 74:253.
- Shoffner, R.N., Krishan, A., Haiden, G.J., Bammi, R.K. and Otis, J.S. (1966). Avian chromosome methology. *Poultry Sci.* XLVI(2):333-334.
- Stenius, C., Christian, L.C. and Ohno, S. (1963). Comparative cytological study of *Phasianus colchicus*, *Meleagris gallopavo* and *Gallus domesticus*. *Chromosoma (Berl.)*. 13:515-520.
- Stock, A.D. and Bunch, T.D. (1982). The evolutionary implications of chromosome banding pattern homologies in the bird order Galliformes. *Cytogenet. Cell Genet.* 34:136-148.
- Takagi, N. and Sasaki, M. (1974). A phylogenetic study of bird karyotype. *Chromosoma (Berl.)*. 46:91-120.
- Takagi, N., Itoh, M. and Sasaki, M. (1972). Chromosome studies in four species of Ratitae (Aves). *Chromosoma (berl.)*. 36:281-291.
- Talluri, M.V. and Vegni, L. (1965). Fine resolution of the karyogram of the quail *Coturnix coturnix japonica*. *Chromosoma. (Berl.)*. 17:264-272.

- Tegelstrom, H. and Rytman, H. (1981). Chromosome in birds (Aves); evolutionary implication of macro- and microchromosome number and lengths. *Hereditas*. 94:225-233.
- Thornycroft, H.B. (1966). Chromosomal polymorphism in the white-throated sparrow, *Zonotrichia albicollis* (Gmelin.). *Science*. 154:1571-1572.
- Thornycroft, H.B. (1968). A cytogenetic study of the white-throated sparrow, *Zonotrichia albicollis* (Gmelin.). Ph.D. Thesis, University of Toronto.



ข้อแนะนำในการเขียนบทความลงวารสารวิทยาศาสตร์ มข.

ประเภทของเรื่องที่จะตีพิมพ์

1. รายงานผลการวิจัยและค้นคว้าหรือการสำรวจที่ยังไม่เคยตีพิมพ์ในวารสารหรือหนังสืออื่นมาก่อน
2. บทความปริทัศน์ ได้แก่งานเขียนที่รวบรวมหรือเรียบเรียงจากเอกสารหรือหนังสือต่าง ๆ เพื่อเผยแพร่และฟื้นฟูงานด้านวิชาการระดับต่าง ๆ
3. บทความแสดงข้อคิดเห็นหรือข้อเสนอแนะที่เป็นประโยชน์ในด้านวิชาการ เรื่องแปล ข่าววิชาการย่อความจากงานวิจัยหรือหนังสือใหม่ที่น่าสนใจ

รูปแบบของการเขียนและเตรียมต้นฉบับ

1. ต้นฉบับ ต้องเป็นตัวพิมพ์ปกติ มีช่วงห่างระหว่างบรรทัดตามมาตรฐาน พิมพ์ลงในกระดาษขาว A 4 (โรเนียวสั้น) โดยใช้กระดาษหน้าเดียว ความยาวไม่เกิน 10 หน้า ส่งต้นฉบับ 2 ชุด
2. ต้นฉบับ จะถูกพิจารณาโดยกองบรรณาธิการ และจะตอบรับการได้รับบทความโดยไม่ส่งต้นฉบับคืน ผู้เขียนควรจะทำสำเนาเก็บไว้เป็นหลักฐานของตัวเอง 1 ฉบับ
3. ต้นฉบับ จะต้องมีความถูกต้องทั้งในด้านเนื้อหา และการใช้ภาษา รวมทั้งมีความสมบูรณ์ในรูปแบบพร้อมที่จะนำลงตีพิมพ์ได้
4. ชื่อเรื่อง ให้ใช้ภาษาไทยหรือภาษาอังกฤษ ไม่ยาวเกินไป และหลีกเลี่ยงการใช้คำย่อโดยไม่จำเป็น
5. ชื่อผู้เขียน เขียนชื่อภาษาไทยหรือภาษาอังกฤษพร้อมทั้งบอกสถานที่ทำงานให้ชัดเจน
6. เนื้อเรื่อง ใช้ได้ทั้งภาษาไทยล้วนและภาษาอังกฤษล้วน ถ้าใช้ภาษาไทย ภาษาอังกฤษที่ใช้ปนกับภาษาไทยนั้นให้พยายามแปลเป็นไทยเท่าที่จะทำได้ และให้เขียนคำเดิมกำกับในวงเล็บ การทับศัพท์ภาษาอังกฤษ ตลอดทั้งการเขียนตัวสะกด การันต์ ในภาษาไทยให้ใช้ตามแบบราชบัณฑิตยสถาน
7. ในกรณีของบทความวิจัย ต้องมีบทคัดย่อทั้งภาษาไทยและภาษาอังกฤษ และแบ่งเนื้อหาของบทความเป็นบทนำ วิธีดำเนินงาน ผลการวิเคราะห์ บทสรุปและวิจารณ์
8. เชิงอรรถ (footnote) ใช้เฉพาะที่จำเป็นเพื่อขยายหรือให้รายละเอียดเพิ่มเติมแก่ใจความเฉพาะตอนในบทความ
9. ตารางและภาพประกอบ คำบรรยายประกอบตารางหรือภาพประกอบควรจะสั้นและชัดเจน ถ้าเป็นภาพถ่ายให้ใช้ภาพขาว-ดำ ขนาดโปสการ์ด ภาพเขียนลายเส้นควรเขียนด้วยหมึกดำ ภาพที่เขียนต้องชัดเจนและมีขนาดที่เหมาะสม
10. เอกสารอ้างอิง หรือบรรณานุกรม แนะนำให้เขียนตามแบบที่ทางวารสารกำหนด

ส่งต้นฉบับมาที่

กองบรรณาธิการวารสารวิทยาศาสตร์ มข.

คณะวิทยาศาสตร์ มหาวิทยาลัยขอนแก่น 40002

อภินันทนาการสำหรับผู้เขียน

เรื่องที่ได้รับการตีพิมพ์ ผู้เขียนจะได้รับวารสารฉบับนั้น 2 เล่ม และสำเนาพิมพ์อีก 15 ชุด

การเขียนเอกสารอ้างอิงในวารสารวิทยาศาสตร์ มข.

เอกสารอ้างอิง (Reference) หมายถึง เอกสารหรือส่วนหนึ่งของเอกสารที่อ้างอิงถึงหรือแปลมาโดยตรง การเขียนเอกสารอ้างอิงในเนื้อหานี้ ให้ใช้ระบบชื่อและปี เช่น Williams (2001) รายงานว่า... หรือ... (Williams, 2001) การเขียนเอกสารอ้างอิงในตอนท้ายบทความนั้น ให้ใส่เฉพาะเล่มที่มีการอ้างอิงไว้ในเนื้อหาเท่านั้น

บรรณานุกรม (Bibliography) หมายถึง เอกสารที่ใช้อ้างอิงในลักษณะที่สรุปเป็นหลักการหรือทฤษฎีโดยมิได้อ้างอิงหรือแปลมาโดยตรง

การเขียนเอกสารอ้างอิง หรือบรรณานุกรม มีแนวทางการเขียนดังนี้

1. หนังสือ

ก. ภาษาไทย

ชื่อตัว นามสกุลของผู้แต่ง. (เลขปี พ.ศ.) ชื่อหนังสือ. (เล่มที่). (พิมพ์ครั้งที่). เมืองที่พิมพ์ : โรงพิมพ์ หรือสำนักพิมพ์. เลขหน้าเริ่มต้น-เลขหน้าสุดท้ายที่อ้างอิง.

ข. ภาษาอังกฤษ

ชื่อสกุล, อักษรย่อชื่อต้น. อักษรย่อชื่อรอง. (เลขปี ค.ศ.). ชื่อหนังสือ. (เล่มที่). (พิมพ์ครั้งที่). เมืองที่พิมพ์ : โรงพิมพ์หรือสำนักพิมพ์. เลขหน้าเริ่มต้น-เลขหน้าสุดท้ายที่อ้างอิง.

2. เอกสารราชการ

ชื่อหน่วยราชการ. (เลขปี พ.ศ. หรือ ค.ศ.). ชื่อเรื่อง. ชื่อหนังสือ. เมืองที่พิมพ์ : โรงพิมพ์ หรือสำนักพิมพ์.

3. วารสาร

ก. ภาษาไทย

ชื่อตัว นามสกุลของผู้แต่ง. (เลขปี พ.ศ.). ชื่อบทความ. ชื่อวารสาร. เล่มที่ (ฉบับที่) : เลขหน้าเริ่มต้น-เลขหน้าสุดท้าย.

ข. ภาษาอังกฤษ

ชื่อสกุล, อักษรย่อชื่อต้น. อักษรย่อชื่อรอง. (เลขปี ค.ศ.). ชื่อบทความ. ชื่อวารสาร. เล่มที่ (ฉบับที่) : เลขหน้าเริ่มต้น-เลขหน้าสุดท้าย

หมายเหตุ

- กรณีที่เป็นเอกสารอ้างอิงจากแหล่งอื่น ๆ นอกเหนือจากที่กำหนดข้างต้น เช่น จุลสาร หนังสือพิมพ์ ฯลฯ ให้ยึดหลักการเขียนตามแบบข้างต้นโดยอนุโลม
- กรณีที่มีผู้เขียน 2 คน ให้เขียนตามแบบของผู้เขียนคนแรก แต่ให้เติมคำว่า “และ” หรือ “and” หน้าชื่อสุดท้ายในกรณีของภาษาไทย หรือภาษาอังกฤษตามลำดับ
- กรณีที่มีผู้เขียนมากกว่า 2 คนขึ้นไป ให้ใส่เฉพาะผู้แต่งชื่อแรกและใส่คำว่า “และคณะ” หรือ “et al.” ในกรณีของภาษาไทย หรือภาษาอังกฤษตามลำดับ (เฉพาะในเนื้อหาเท่านั้น)
- ถ้าเอกสารที่ถูกอ้างอิงอยู่ในระหว่างตีพิมพ์ ให้บอกรายละเอียดมากที่สุดและใช้คำว่า “ระหว่างตีพิมพ์” หรือ “in press” ในกรณีของภาษาไทย หรือภาษาอังกฤษตามลำดับ โดยวงเล็บต่อท้ายเอกสารอ้างอิงนั้น

หนังสือในโครงการผลิตตำรา คณะวิทยาศาสตร์ มหาวิทยาลัยขอนแก่น

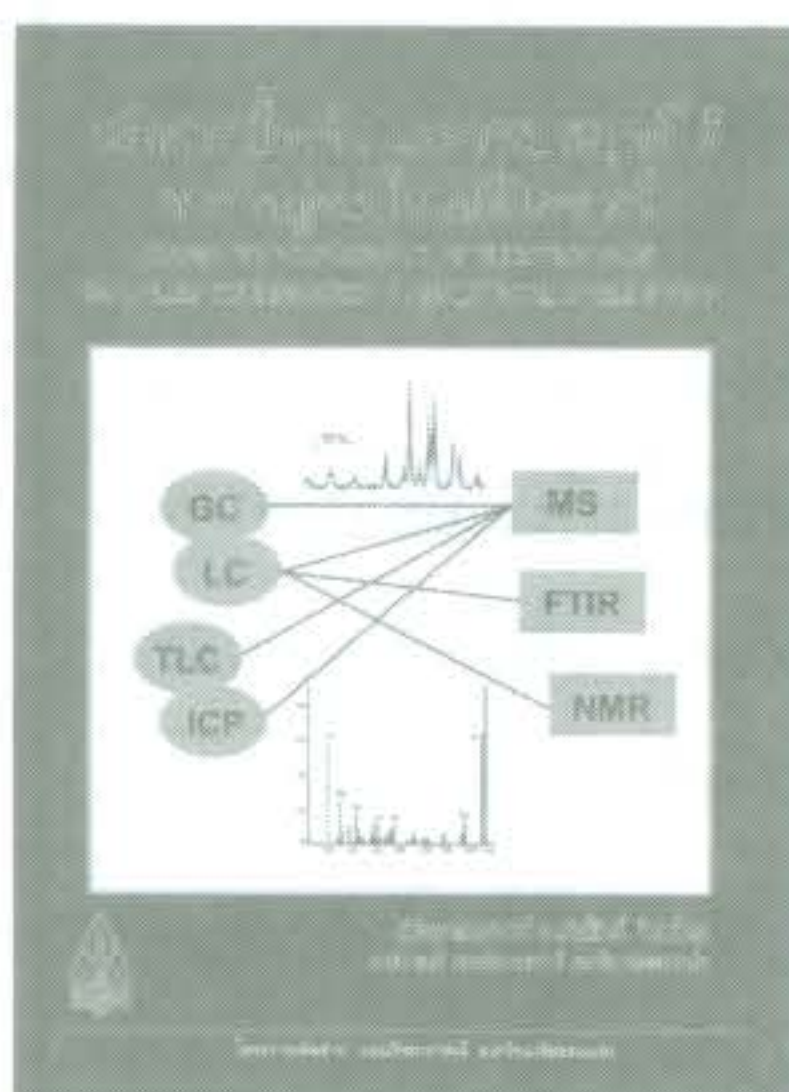
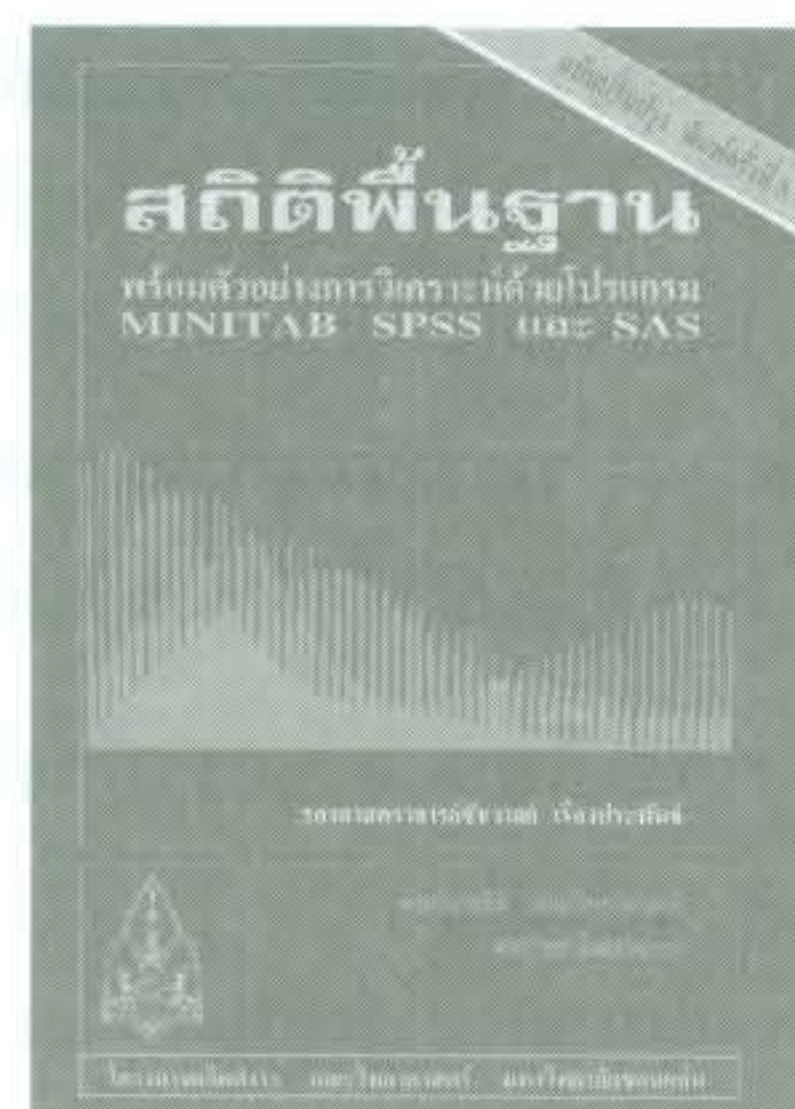
สถิติพื้นฐาน

พร้อมตัวอย่างการวิเคราะห์ด้วยโปรแกรม
MINITAB SPSS และ SAS

รองศาสตราจารย์ชัชวาลย์ เรืองประพันธ์
พิมพ์ครั้งที่ 5 • 2543 • 510 หน้า

ISBN 974-675-666-4

ราคา 180 บาท



หลักการเบื้องต้นและการประยุกต์ ใช้เทคนิคกลุ่มในเคมีวิเคราะห์

ผู้ช่วยศาสตราจารย์ ดร. ศักดิ์สิทธิ์ จันทรไทย
2543 • 202 หน้า

ISBN 974-678-333-2

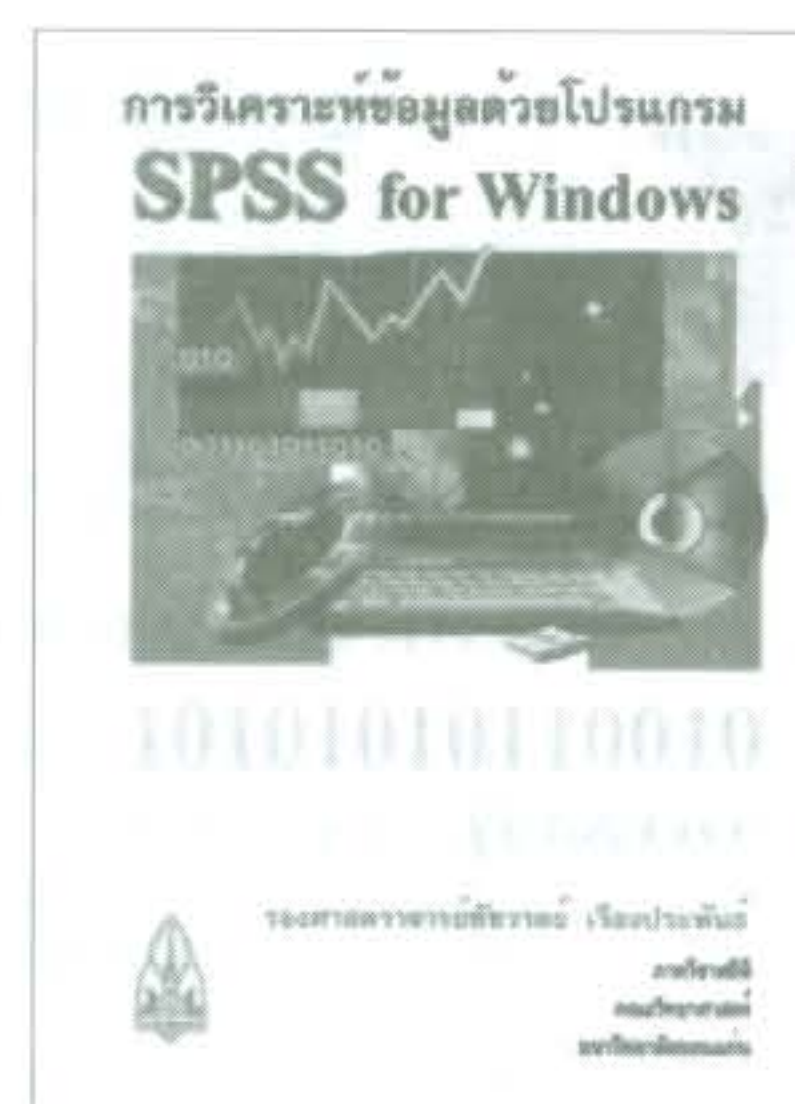
ราคา 150 บาท

การวิเคราะห์ข้อมูลด้วยโปรแกรม SPSS for Windows

รองศาสตราจารย์ชัชวาลย์ เรืองประพันธ์
2544 • 620 หน้า

ISBN 974-654-608-2

ราคา 300 บาท



การวิเคราะห์ฟังก์ชันนัลขั้นต้น

รองศาสตราจารย์ ดร. สุพจน์ ไวทย่างกูร
2547 • 344 หน้า

ISBN 974-367-958-8

ราคา 200 บาท

ใบส่งลงโฆษณา ในวารสารวิทยาศาสตร์ มข.

เขียนที่.....

วันที่.....

เรียน บรรณาธิการวารสารวิทยาศาสตร์ มข.

ข้าพเจ้า.....เป็นตัวแทนของ (บริษัท, ห้างร้าน,
องค์กร).....ที่อยู่.....

.....โทรศัพท์.....โทรสาร.....

มีความประสงค์จะลงโฆษณาในวารสารวิทยาศาสตร์ มข. ดังรายการต่อไปนี้

☐ ปกหลังด้านใน ☐ เต็มหน้า ☐ ครึ่งหน้า

☐ ในฉบับ ☐ เต็มหน้า ☐ ครึ่งหน้า

โดยข้าพเจ้าขอให้ลงโฆษณา จำนวน.....ฉบับ นับตั้งแต่ฉบับแรก ที่จะพิมพ์ใน
ครั้งต่อไปหลังจากที่ท่านได้รับหนังสือนี้แล้ว

พร้อมกับจดหมายฉบับนี้ ข้าพเจ้าได้ส่งต้นฉบับเพื่อลงโฆษณาและเงินค่าโฆษณา
จำนวน.....บาท (.....)

เป็น ☐ ธนาณัติ หรือ ☐ เช็คไปรษณีย์ ในนามของนางบุญคุ้ม เหลือล้น

ส่งจ่าย ป.ท. มหาวิทยาลัยขอนแก่น

ลงนาม.....

ตำแหน่ง.....

อัตราค่าโฆษณาในวารสารวิทยาศาสตร์ มข.

		ลง 1 ฉบับ	ลง 4 ฉบับ
ปกหลัง	ด้านในเต็มหน้า	1,000 บาท	3,600 บาท
	ด้านในครึ่งหน้า	500 บาท	1,800 บาท
ในฉบับ	เต็มหน้า	500 บาท	1,600 บาท
	ครึ่งหน้า	250 บาท	800 บาท

หมายเหตุ ถ้าทางวารสารฯ ไม่สามารถลงตีพิมพ์บนปกหลังได้ วารสารฯ จะตีพิมพ์ลงในฉบับแทน
ในวงเงินเท่ากัน

วารสาร

วิทยาศาสตร์ มข.

K K U S C I E N C E J O U R N A L

วัตถุประสงค์

1. เพื่อส่งเสริมและเผยแพร่วิทยาการในสาขาวิชาต่าง ๆ ทางด้านวิทยาศาสตร์
2. เพื่อเผยแพร่ผลงานด้านวิจัย และการศึกษา ค้นคว้าของอาจารย์และนักศึกษา
3. เพื่อเป็นสื่อกลางการแลกเปลี่ยนความรู้และแนวความคิดทางวิชาการ ระหว่างอาจารย์ นักศึกษาและผู้สนใจ ทั้งภายในและภายนอกสถาบัน

กำหนดออก

ปีละ 4 ฉบับ

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



ใบสมัครเป็นสมาชิก

"วารสารวิทยาศาสตร์ มข."

☐ สมาชิกใหม่

☐ ต่ออายุ

ชื่อ-สกุล.....

ที่อยู่.....

รหัสไปรษณีย์.....หมายเลขสมาชิก.....

ตั้งแต่ฉบับที่.....ปีที่.....ถึงฉบับที่.....ปีที่.....รวม.....ฉบับ

พร้อมนี้ได้ส่งเงินจำนวน.....บาท มาทาง

อัตราค่าบำรุง

☐ ฐานนิติสงฆ์ ป.ท.มข.

1 ปี 4 เล่ม 75 บาท

☐ เช็กไปรษณีย์

2 ปี 8 เล่ม 150 บาท

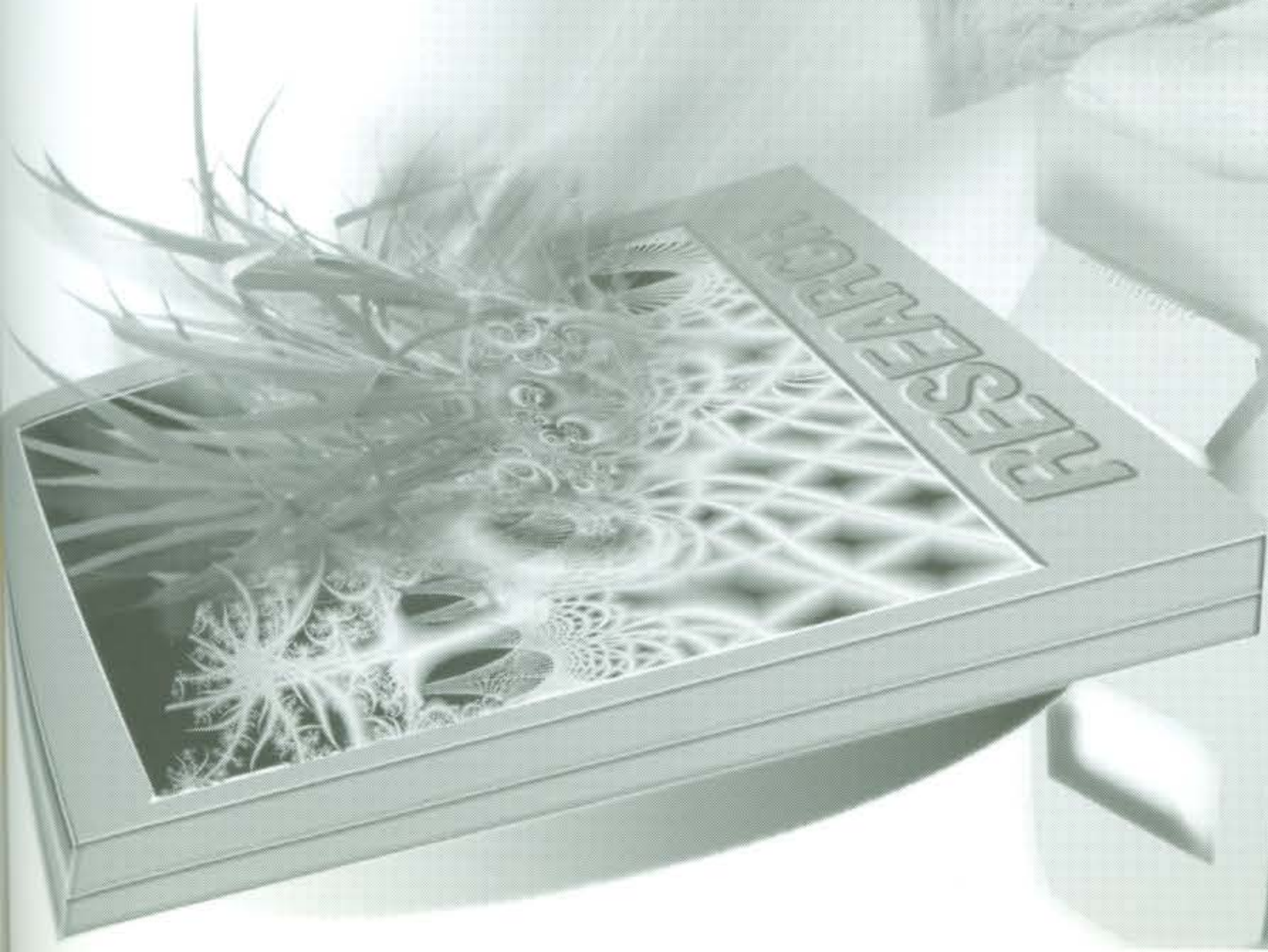
☐ เงินสด

3 ปี 12 เล่ม 200 บาท

ลายเซ็นผู้สมัคร.....

- หมายเหตุ 1. ส่งเงินทางธนาคารหรือเช็คไปรษณีย์ ในนามของ นางบุญคุ้ม เหลือสั้น คณะวิทยาศาสตร์ มหาวิทยาลัยขอนแก่น ส่งจ่าย ป.ท.มหาวิทยาลัยขอนแก่น ขอนแก่น 40002
2. กรณีที่มีการเปลี่ยนแปลงที่อยู่ กรุณาแจ้งให้ทราบล่วงหน้า ไม่น้อยกว่า 1 เดือน ก่อนเดือนสุดท้ายของกำหนดวารสารออก เพื่อความสะดวกในการส่งวารสารให้แก่ท่าน

อย่าคิดทำวิจัย..... ...เพียงเก็บไว้แต่ใบตุง



บริษัท มิตรพลวิจัย พัฒนาอ้อยและน้ำตาล จำกัด 399 หมู่ 1 ต.ชุมแพ-ภูเขียว อ.ภูเขียว จ. ชัยภูมิ 36110
โทร. 0-4488-1151, 0-4488-1189 โทรสาร. 0-4488-1152 E-mail. r&d@mitrphol.com



