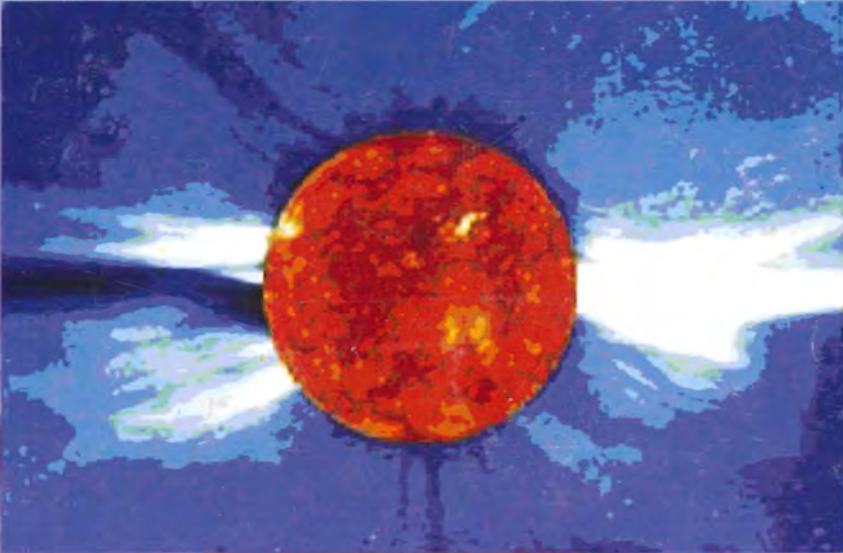


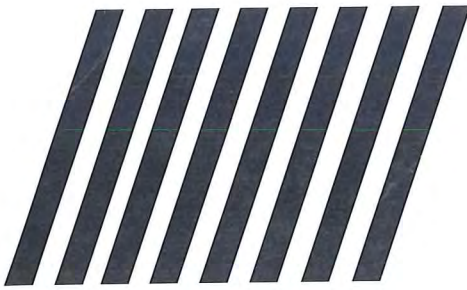


วิทยาศาสตร์มข.

KKU SCIENCE JOURNAL

ปีที่ 36 ฉบับที่ 1 (ม.ค. - มี.ค. 51) Vol.36 No. 1 (Jan.- Mar. 08)





วารสาร
วิทยาศาสตร์ปูช
ISSN 0125 - 2364
KKU SCIENCE JOURNAL

เจ้าของ

คณะวิทยาศาสตร์ มหาวิทยาลัยขอนแก่น

สำนักงาน

คณะวิทยาศาสตร์ ตึก 6 มหาวิทยาลัยขอนแก่น

อ.เมือง จ.ขอนแก่น 400002

โทรศัพท์ 0-4320-2372 โทรสาร 0-4320-2371

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

ที่ปรึกษา

คณะบดีคณะวิทยาศาสตร์
(ละออศรี เสนาะเมือง)
รองคณบดีฝ่ายวิชาการ
(เอกพรรณ สวัสดิ์จีตัง)

บรรณาธิการ

นฤมล แสงประดับ

กองบรรณาธิการ

กิตติกร นาคประสิทธิ์	งานนิช อาจอินทร์
ชุตินา หาญจวนิช	ประเสริฐ แข่งขัน
สมปอง ธรรมศิริรักษ์	สมเดช กนกเมธากุล
สุพรรณิ อึ้งปัญสดวงค์	เสาวนิต ทองพิมพ์
อัคราภรณ์ ภักดี	ธรรมพิเชษฐ แผงโยธา
สุภาพร พิมพ์วารี	

ฝ่ายศิลป์และภาพ

กิเลน ดิณนรเศรษฐ์
สุชาติ เทพภูเขียว

ฝ่ายเหรียญกษาปณ์

บุญคุ้ม เหลือล้ำ

ฝ่ายจัดการและ

เลขานุการ

สุกัลยาณี ทองปัน
สมศักดิ์ อุ้นจันทิ

**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 36 ฉบับที่ 1

Volume 36 Number 1

บรรณาธิการแถลง

บทความปริทัศน์

- สูตรค่าสัมประสิทธิ์แอลฟา
Coefficient Alpha Formula
อำนาจ มณีศรีวงศ์กุล..... 1
- บทบาทของอินเตอร์ลิวคิน-10
ในโรคซิสเต็มมิก ลูปัส อิริธมาโทซัส
The Role of Interleukin-10 in Systemic Lupus
Erythematosus
มารุต ตั้งวัฒนาธุลีพร ภูริชญา สมภาร..... 7
- การวิเคราะห์สปีชีส์โลหะหนักที่ปนเปื้อนในตัวอย่าง
อาหารและเครื่องดื่ม และตัวอย่างจากสิ่งแวดล้อม
Speciation Analysis of Heavy Metals Contaminated
in Foods and Drinks, and from Environmental
Samples
ศักดิ์สิทธิ์ จันทร์ไทย..... 16

งานวิจัย

- การจำแนกสมาชิกนิพจน์ สมาชิกที่หาตัวผกผันได้
และสมาชิกปกติในริง $M_2(\mathbb{Z}_9)$
Characterization of Idempotent, Invertible and
Regular Elements in Ring $M_2(\mathbb{Z}_9)$
สมจิต โชติชัยสถิตย์
ธัญญารัตน์ กุ่มแพง..... 29

วิทยาศาสตร์ มข.

KKU SCIENCE JOURNAL

ปีที่ 36 ฉบับที่ 1

Volume 36 Number 1

งานวิจัย

- ❑ फिल्ดของเมทริกซ์ปาสกาล
Field of Pascal Matrices
ปรัชญากร ฮดมาลี
อัมพร อนันต์พินิจวัฒนา.....

❑ HYPERIDENTITIES IN $(xx)(yx) \approx xy$
GRAPH ALGEBRAS OF TYPE (2,0)
Siriporn Bassadorn
Tiang Poomsa-ard.....

❑ การใช้ลำดับนิวคลีโอไทด์ของยีน 16S rRNA
ในการระบุชนิดของแบคทีเรียที่แยกจากโรนันางฟ้า
The Use of 16S rRNA Gene Sequences
in Identification of Bacteria Isolated
from Fairy shrimps
หนูเดือน เมืองแสน
จิตติพร สุวรรณาลัย.....

❑ การจำลองสเปกตรัมพลังงานของอนุภาคพลังงานสูง
จากเหตุการณ์พายุสุริยะวันที่ 22 มิถุนายน ค.ศ. 2000
Simulation of Energy Spectra of Energetic Particles
from Solar Storm Event on June 22, 2000
ชาญเรืองฤทธิ์ จันทร์นอก.....

37

47

59

67



Publisher

Faculty of Science, Khon Kaen University,
 Thailand.

Office

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

Objectives

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

Publishing frequency

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

Number 1 January - March

Number 2 April - June

Number 3 July - September

Number 4 October - December

Advisory Committee Dean, Faculty of Science
 (La-Orsri Sanoamuang)
 Associate Dean for Academic Affairs
 (Ekaphan Swatsitang)

Editor

Narumon Sangpradub

Editorial Board

Kittikorn Nakpasit
 Ngamnij Arch-int
 Chutima Hanjavanit
 Prasert Kaengkan
 Sompong Thammasirirak
 Somdej Kanokmedhakul
 Supunnee Ungpansattawong
 Soawanit Tongpim
 Adcharaporn Pagdee
 Thampichet Pangyotha
 Suphaporn Phimwapi

Artists

Kilen Tinnoraset
 Suchart Thepphukhieo

Treasurer

Boonkoom Lualon

Managing Staff and Secretary

Suphaluk Tongpun
 Somsak Unjantee

**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 แดสง

สวัสดีค่ะ ท่านผู้อ่านที่รักและเคารพทุกท่าน

สวัสดีปีใหม่ พ.ศ. 2551 ค่ะ เริ่มเล่มที่ 1 ประกอบด้วยบทความทางคณิตศาสตร์ และสถิติ
หลายเรื่อง คิดว่าคงถูกใจท่านที่ชอบด้านนั้นะคะ พายุสุริยะ และเรื่องอื่นๆ ภายในเล่มก็น่าสนใจมาก
ขอเชิญชวนท่านผู้อ่านและท่านผู้สนใจทุกท่านส่งบทความมาแลกเปลี่ยนความรู้กันอย่างต่อเนื่องค่ะ

สวัสดีค่ะ

บรรณาธิการวารสารวิทยาศาสตร์ มช.



สูตรค่าสัมประสิทธิ์แอลฟา

Coefficient Alpha Formula

อำนาจ มณีศรีวงศ์กุล¹

บทนำ

ในรายงานการวิจัยที่เป็นการสำรวจด้วยตัวอย่าง เรามักพบการนำเสนอค่าสัมประสิทธิ์แอลฟา หรือ อัลฟาของครอนบาค (Cronbach's alpha) จะเห็นว่า ผู้วิจัยมักนำเสนอสูตรค่าสัมประสิทธิ์แอลฟาแตกต่างกัน แต่ละสูตรมักจะอธิบายความหมายเพียงสั้นๆ บางทอมก็มีชื่อเรียกแตกต่างกันและไม่ระบุว่ามีความเท่าเทียมกัน

บทความนี้จะแสดงวิธีการทางคณิตศาสตร์ให้เห็นว่า สูตรที่นำเสนอมีค่าเท่ากัน อีกทั้งเสนอแนะชื่อที่ควรเรียก และเมื่อไรควรจะใช้สูตรใด

สูตรค่าสัมประสิทธิ์แอลฟา

เพื่อช่วยต่อการอธิบาย ขอแสดงผังข้อมูลที่จะคำนวณค่าสัมประสิทธิ์แอลฟา เป็นดังนี้

หน่วยที่	ข้อคำถาม 1	ข้อคำถาม 2	...	ข้อคำถาม k	...	ข้อคำถาม p	รวมแถว
1	X_{11}	X_{12}	...	X_{1k}	...	X_{1p}	$X_{1.}$
2	X_{21}	X_{22}	...	X_{2k}	...	X_{2p}	$X_{2.}$
.	.	.	.	.	.	.	.
.	.	.	.	.	.	.	.
.	.	.	.	.	.	.	.
j	X_{j1}	X_{j2}	...	X_{jk}	...	X_{jp}	$X_{j.}$
.	.	.	.	.	.	.	.
.	.	.	.	.	.	.	.
.	.	.	.	.	.	.	.
n	X_{n1}	X_{n2}	...	X_{nk}	...	X_{np}	$X_{n.}$
รวมสดมภ์	$X_{.1}$	$X_{.2}$	...	$X_{.k}$	...	$X_{.p}$	$X_{..}$

¹ ภาควิชาสถิติ คณะวิทยาศาสตร์ มหาวิทยาลัยขอนแก่น อ.เมือง จ.ขอนแก่น 40002

โดยที่ X_{jk} = ค่าหรือคะแนนครั้งที่ j ของข้อคำถาม k , $k = 1, 2, \dots, p$ และ $j = 1, 2, \dots, n$
สูตรคำนวณค่าสัมประสิทธิ์แอลฟาที่ใช้นำเสนออันมีดังนี้

ก. สูตรที่ปรากฏอยู่ในหนังสือทั่วไปจะเขียนอยู่ในรูป

$$\alpha = \frac{p}{p-1} \left[1 - \frac{\sum S_i^2}{S_T^2} \right] \quad \dots (1)$$

ในที่นี้ p = จำนวนข้อคำถาม

S_i^2 (หรือเขียนแทนด้วย S_{ii})

= ความแปรปรวน (variance) ของคะแนนของข้อคำถาม i

$$= \frac{1}{n-1} \sum_{j=1}^n (X_{ji} - \bar{X}_i)^2, i = 1, 2, \dots, p$$

โดยที่ n = เป็นขนาดของตัวอย่าง หรือจำนวนผู้ตอบข้อคำถาม

$\bar{X}_i$ = ค่าเฉลี่ยของคะแนนของข้อคำถาม i

$$= \frac{1}{n} \sum_{j=1}^n X_{ji}, i = 1, 2, \dots, p$$

S_T^2 เป็นเทอมที่เข้าใจยากที่สุด หนังสือส่วนมากไม่ระบุว่ามันค่าเท่ากับเท่าไร และเรียกชื่อต่างๆ กัน เช่น บุญธรรม กิจปริดาภิสุทธิ (2547) เรียกว่า ความแปรปรวนของคะแนนรวม พวงรัตน์ ทวีรัตน์ (2543) เรียกว่า คะแนนความแปรปรวนทั้งฉบับ เพ็ญแข แสงแก้ว (2541) เรียกว่า ค่าความแปรปรวนของคะแนนจากข้อคำถามทุกข้อ สุชาติ ประสิทธิ์รัฐสินธุ์ (2546) เรียกว่า ค่าความผันแปรทั้งหมด อานนท์ สักดิ์วรวิญญ์ (2548) เรียกว่า ความแปรปรวนของคะแนนแบบทดสอบทั้งฉบับ และ สุวิมล ติรกานันท์ (2550) เรียกว่า ความแปรปรวนของคะแนนรวมของผู้ตอบทั้งหมด อันที่จริงแล้ว S_T^2 เขียนได้ 2 รูปแบบ ดังนี้

$$S_T^2 = \frac{1}{n-1} \sum_{j=1}^n (X_j - \frac{1}{n} \sum_{j=1}^n X_j)^2 \quad \dots (2)$$

หรือ

$$S_T^2 = \sum_{i=1}^p S_{ii} + 2 \sum_{i=1}^p \sum_{k=1}^p S_{ik}$$

โดยที่ $i \neq k$ และ $i < k \quad \dots (3)$

โดยที่ S_{ik} = ความแปรปรวนร่วมเกี่ยว (covariance) (ราชบัณฑิตยสถาน, 2540) ของข้อคำถาม i และ k

$$= \frac{1}{n-1} \sum_{j=1}^n (X_{ji} - \bar{X}_i)(X_{jk} - \bar{X}_k), i, k = 1, 2, \dots, p$$

จะเห็นว่า เมื่อ $i = k$ ความแปรปรวนร่วมเกี่ยว ก็คือ ความแปรปรวน และ $S_{ik} = S_{ki}$

ตัวอย่างเช่น ถ้ามีข้อคำถาม 3 ข้อ ($p = 3$) จะได้เมทริกซ์ความแปรปรวน - ความแปรปรวนร่วมเกี่ยว (variance-covariance matrix) S ดังนี้

$$S = \begin{bmatrix} S_{11} & S_{12} & S_{13} \\ S_{21} & S_{22} & S_{23} \\ S_{31} & S_{32} & S_{33} \end{bmatrix}$$

$$\text{ดังนั้น } S_T^2 = S_{11} + S_{22} + S_{33} + 2(S_{12} + S_{13} + S_{23})$$

ทั้งนี้เพราะ $S_{ik} = S_{ki}$ เมื่อ $i \neq k$

เมื่อพิจารณาการเรียกชื่อของ S_T^2 ข้างต้น จะเห็นว่าน่าจะหมายถึง S_T^2 ในสูตร (2) มากกว่าสูตร (3) และหากไม่แสดงผังของข้อมูลก็ยากที่จะเข้าใจ ในบรรดาชื่อดังกล่าวข้างต้น ผู้เขียนเห็นว่า เพ็ญแข แสงแก้ว (2541) และ สุวิมล ติรกานันท์ (2550) เรียกได้ตรงความหมายที่สุด อย่างไรก็ตาม เราอาจเรียก S_T^2 ในสูตร (2) อีกอย่างหนึ่งว่า ความแปรปรวนของคะแนนรวมของข้อคำถาม ก็ได้ ซึ่งเรียกต่างจากของ เพ็ญแข แสงแก้ว (2541) เพียงเล็กน้อย และ S_T^2 ในสูตร (3) ควรเรียกว่า ผลรวมของความแปรปรวนและความแปรปรวนร่วมเกี่ยวของคะแนนของข้อคำถาม

สูตร (2) เหมาะสำหรับผู้ไม่มีความรู้เรื่องความแปรปรวน
รวมเกี่ยว ในความเห็นของผู้เขียนเรียกชื่อในสูตร (3)
จะให้ความหมายเชิงสถิติสมบูรณ์ที่สุด

ข. สูตรคำนวณที่ใช้ในโปรแกรม SPSS
(Norusis, 1993) เสนอสูตร α ในรูป

$$\alpha = \frac{p \overline{\text{cov}} / \overline{\text{var}}}{1 + (p - 1) \overline{\text{cov}} / \overline{\text{var}}} \quad \dots (4)$$

โดยที่ $\overline{\text{cov}}$ = ค่าเฉลี่ยของความแปรปรวนรวมเกี่ยว
ของข้อคำถาม

$$\overline{\text{cov}} = \frac{2 \sum \sum S_{ik}}{p(p-1)}, i, k = 1, 2, \dots, p; i \neq k \text{ และ } i < k$$

$\overline{\text{var}}$ = ค่าเฉลี่ยของความแปรปรวนของคะแนน
ของข้อคำถาม

$$\text{นั่นคือ } \overline{\text{var}} = \frac{\sum S_i^2}{p} \quad \text{หรือ } \overline{\text{var}} = \frac{\sum S_{ii}}{p}$$

และเมื่อแปลงค่า X_{jk} แต่ละข้อคำถามให้อยู่ในรูปคะแนน
มาตรฐาน จะได้

$$\alpha = \frac{p \bar{r}}{1 + (p - 1) \bar{r}} \quad \dots (5)$$

โดยที่ $\bar{r}$ = ค่าเฉลี่ยของสัมประสิทธิ์สหสัมพันธ์
(correlation coefficient) ของข้อคำถาม

$$\bar{r} = \frac{2 \sum \sum r_{ik}}{p(p-1)}, i, k = 1, 2, \dots, p; i \neq k \text{ และ } i < k$$

โดยที่ r_{ik} = สัมประสิทธิ์สหสัมพันธ์ของข้อคำถาม
i และ k

$$= r \frac{1}{n-1} \sum_{j=1}^n (X_{ji} - \bar{X}_i)(X_{jk} - \bar{X}_k) / \sqrt{S_{ii}} \sqrt{S_{kk}}, i, k = 1, 2, \dots, p$$

ค. ในบทความของ อานนท์ สักคิ่ววิญญ์
(2548) เสนอสูตร α ในรูป

$$\alpha = \frac{p}{p-1} \left[1 - \frac{\sum \sum S_{ij}}{S_T^2} \right] \quad \dots (6)$$

ซึ่งตรงกับสูตรที่ (5) ในบทความของ อานนท์
สักคิ่ววิญญ์ (2548)

โดยที่ S_{ij} = ความแปรปรวนรวมเกี่ยวของ
ข้อคำถาม i และ j

เมื่อพิจารณาสูตร (6) เทียบกับสูตร (1) จะ
เห็นว่าต่างกันเฉพาะตัวเศษ คือ $\sum \sum S_{ij}$ กับ $\sum S_i^2$
จึงเป็นไปได้ที่สูตร (1) กับสูตร (6) จะมีค่าเท่ากัน
ในทางคณิตศาสตร์ ผู้เขียนเข้าใจว่าน่าจะมีข้อผิดพลาด
ในการนำเสนอ

S_T^2 ในที่นี้จะแสดงวิธีการทางคณิตศาสตร์
ให้เห็นว่า ในสูตร (2) และ (3) มีค่าเท่ากัน จากนั้นจะ
แสดงให้เห็นว่าสูตร (1) และสูตร (4) มีค่าเท่ากันด้วย
เช่นกัน เพื่อความสะดวกและประหยัดเนื้อที่จึงขอแสดง
เฉพาะในกรณีที่ $p = 2$

$$\text{จาก (2) พิจารณา } \sum_{j=1}^n (X_j - \frac{1}{n} \sum_{j=1}^n X_j)^2$$

เราสามารถเขียน

$$\begin{aligned}
 & \sum_{j=1}^n (X_{j1} - \frac{1}{n} \sum_{j=1}^n X_{j1})^2 \\
 &= \sum_{j=1}^n [(X_{j1} + X_{j2}) - \frac{1}{n} \sum_{j=1}^n (X_{j1} + X_{j2})]^2 \\
 &= \sum_{j=1}^n [(X_{j1} + X_{j2}) - \frac{1}{n} (\sum_{j=1}^n X_{j1} + \sum_{j=1}^n X_{j2})]^2 \\
 &= \sum_{j=1}^n [(X_{j1} + X_{j2}) - (\bar{X}_1 + \bar{X}_2)]^2 \\
 &= \sum_{j=1}^n [(X_{j1} + X_{j2})^2 - 2(\bar{X}_1 + \bar{X}_2)(X_{j1} + X_{j2}) + (\bar{X}_1 + \bar{X}_2)^2] \\
 &= \sum_{j=1}^n X_{j1}^2 + 2 \sum_{j=1}^n X_{j1} X_{j2} + \sum_{j=1}^n X_{j2}^2 - 2(\bar{X}_1 + \bar{X}_2) \sum_{j=1}^n X_{j1} \\
 &\quad - 2(\bar{X}_1 + \bar{X}_2) \sum_{j=1}^n X_{j2} + n \bar{X}_1^2 + 2n \bar{X}_1 \bar{X}_2 + n \bar{X}_2^2 \\
 &= \sum_{j=1}^n X_{j1}^2 + 2 \sum_{j=1}^n X_{j1} X_{j2} + \sum_{j=1}^n X_{j2}^2 - 2n \bar{X}_1 (\bar{X}_1 + \bar{X}_2) \\
 &\quad - 2n \bar{X}_2 (\bar{X}_1 + \bar{X}_2) + n \bar{X}_1^2 + 2n \bar{X}_1 \bar{X}_2 + n \bar{X}_2^2 \\
 &= \sum_{j=1}^n X_{j1}^2 + 2 \sum_{j=1}^n X_{j1} X_{j2} + \sum_{j=1}^n X_{j2}^2 - n \bar{X}_1^2 - 2n \bar{X}_1 \bar{X}_2 - n \bar{X}_2^2 \quad \dots (7)
 \end{aligned}$$

สำหรับ S_T^2 ในสูตร (3) กรณีที่ $p = 2$ คือ

$$\begin{aligned}
 S_T^2 &= S_{11} + S_{22} + 2S_{12} \\
 &= \frac{1}{n-1} \sum_{j=1}^n (X_{j1} - \bar{X}_1)^2 + \frac{1}{n-1} \sum_{j=1}^n (X_{j2} - \bar{X}_2)^2 \\
 &\quad + 2 \frac{1}{n-1} \sum_{j=1}^n (X_{j1} - \bar{X}_1)(X_{j2} - \bar{X}_2) \\
 &= \frac{1}{n-1} \left[\sum_{j=1}^n (X_{j1} - \bar{X}_1)^2 + \sum_{j=1}^n (X_{j2} - \bar{X}_2)^2 + 2 \sum_{j=1}^n (X_{j1} - \bar{X}_1)(X_{j2} - \bar{X}_2) \right]
 \end{aligned}$$

นั่นคือ จะต้องแสดงว่า

$$\sum_{j=1}^n (X_{j1} - \bar{X}_1)^2 + \sum_{j=1}^n (X_{j2} - \bar{X}_2)^2 + 2 \sum_{j=1}^n (X_{j1} - \bar{X}_1)(X_{j2} - \bar{X}_2) \quad \text{เท่ากับ (7)}$$

โดยการกระจายทุกเทอมข้างต้น เราสามารถเขียน

$$\begin{aligned} & \sum_{j=1}^n (X_{j1} - \bar{X}_1)^2 + \sum_{j=1}^n (X_{j2} - \bar{X}_2)^2 + 2 \sum_{j=1}^n (X_{j1} - \bar{X}_1)(X_{j2} - \bar{X}_2) \\ &= \sum_{j=1}^n X_{j1}^2 - n \bar{X}_1^2 + \sum_{j=1}^n X_{j2}^2 - n \bar{X}_2^2 + 2 \sum_{j=1}^n X_{j1} X_{j2} - 2n \bar{X}_1 \bar{X}_2 \end{aligned}$$

ซึ่งเท่ากับสมการ (7) ดังนั้น S_T^2 ในสูตร (2) และ (3) มีค่าเท่ากัน

ต่อไปจะแสดงว่า ค่าสัมประสิทธิ์แอลฟาในสูตร (1) และ (4) มีค่าเท่ากัน จาก (3) เรามี

$$S_T^2 = \sum_{i=1}^p S_{ii} + 2 \sum_{i=1}^p \sum_{k=1}^p S_{ik}$$

$$= \frac{p}{p-1} \left[1 - \frac{\overline{\text{var}}}{\overline{\text{var}} + (p-1)\overline{\text{cov}}} \right]$$

$$= \frac{p}{p-1} \left[\frac{(p-1)\overline{\text{cov}}}{\overline{\text{var}} + (p-1)\overline{\text{cov}}} \right]$$

$$= \frac{p}{p-1} \left[\frac{(p-1)\overline{\text{cov}/\text{var}}}{1 + (p-1)\overline{\text{cov}/\text{var}}} \right]$$

$$= \frac{p \overline{\text{cov}/\text{var}}}{1 + (p-1)\overline{\text{cov}/\text{var}}}$$

ถ้า $p \neq 0$ จะได้

$$\begin{aligned} \frac{1}{p} S_T^2 &= \frac{1}{p} \sum_{i=1}^p S_{ii} + \frac{2}{p} \sum_{i=1}^p \sum_{k=1}^p S_{ik} \\ &= \overline{\text{var}} + (p-1) \overline{\text{cov}} \end{aligned}$$

ดังนั้น สัมประสิทธิ์แอลฟาในสูตร (1) และ (4) มีค่าเท่ากัน

จาก (1) เรามี $\alpha = \frac{p}{p-1} \left[1 - \frac{\sum_{i=1}^p S_{ii}^2}{S_T^2} \right]$ ค่าสัมประสิทธิ์แอลฟาในสูตร (5) เป็นการแปลงค่า X_{jk} แต่ละข้อคำถามให้อยู่ในรูปคะแนนมาตรฐาน นั่นคือ

ถ้า $p \neq 0$ เราสามารถเขียน

$$\alpha = \frac{p}{p-1} \left[1 - \frac{\frac{1}{p} \sum_{i=1}^p S_{ii}^2}{\frac{1}{p} S_T^2} \right]$$

$$Z_{jk} = \frac{X_{jk} - \bar{X}_k}{\sqrt{S_{kk}}}$$

ซึ่งในกรณีนี้ คะแนนเฉลี่ยและความแปรปรวนแต่ละข้อคำถามจะเท่ากับ 0 และ 1 ตามลำดับ จะได้ $\overline{\text{var}} = 1$

เรามี

$$r_{ik} = \left[\frac{1}{n-1} \sum_{j=1}^n (X_{ji} - \bar{X}_i)(X_{jk} - \bar{X}_k) \right] / \sqrt{S_{ii}} \sqrt{S_{kk}}, i, k = 1, 2, \dots, p$$

$$= \frac{1}{n-1} \sum_{j=1}^n \frac{(X_{ji} - \bar{X}_i)}{\sqrt{S_{ii}}} \frac{(X_{jk} - \bar{X}_k)}{\sqrt{S_{kk}}}$$

$$= \frac{1}{n-1} \sum_{j=1}^n Z_{ji} Z_{jk}$$

= ความแปรปรวนร่วมเกี่ยวของข้อคำถาม
i และ k เมื่ออยู่ในรูปคะแนนมาตรฐาน

ดังนั้น เมื่อแปลงค่า X_{jk} แต่ละข้อคำถาม
ให้อยู่ในรูปคะแนนมาตรฐาน เราสามารถเขียน
 $\text{cov} = \bar{r}$
แทนค่าลงใน (4) จะได้ (5) คือ

$$= \frac{\bar{r}}{1 + (p-1)\bar{r}}$$

อย่างไรก็ตาม ในรายงานการวิจัยหรือบทความ
วิจัยโดยมากแล้วจะนำเสนอค่าสัมประสิทธิ์แอลฟา
จากสูตร (1) หรือ (4) ไม่นิยมเสนอค่าสัมประสิทธิ์
แอลฟาที่ได้จากสมการ (5) (Hatcher & Stepanski,
1994)

สรุป

ในหนังสือทั่วไปมักนำเสนอสูตรค่าสัมประ-
สิทธิ์แอลฟาตามสูตร (1) ในขณะที่โปรแกรมสำเร็จรูป
SPSS ซึ่งใช้แพร่หลายในประเทศ เสนอสูตร (4)
บทความนี้ได้แสดงให้เห็นว่าสูตรทั้งสองมีค่าเท่ากัน
ค่าของ S_T^2 ในสูตร (2) เหมาะสำหรับใช้อธิบายให้แก่
ผู้ที่ไม่มีความรู้เรื่องความแปรปรวนร่วมเกี่ยว ซึ่ง
หากไม่แสดงผังข้อมูลประกอบก็ยากที่จะเข้าใจ ค่า
สัมประสิทธิ์แอลฟาในสูตร (4) ก็คำนวณมาจาก S_T^2
ในสูตร (3) ในความเห็นของผู้เขียน S_T^2 ในสูตร (3)
จะให้ความหมายสมบูรณ์ที่สุดในเชิงสถิติ สำหรับค่า
สัมประสิทธิ์แอลฟาในสูตร (5) ซึ่งได้จากการแปลง
ค่าคะแนนในแต่ละข้อคำถามให้อยู่ในรูปคะแนน
มาตรฐานนั้นจะไม่นิยมนำเสนอในรายงานการวิจัย

เอกสารอ้างอิง

- บุญธรรม กิจปรีดาภิรัช. (2547). ระเบียบวิธีการวิจัย
ทางสังคมศาสตร์. พิมพ์ครั้งที่ 8. กรุงเทพฯ:
จามจุรีโปรดักท์. 266.
- เพ็ญแข แสงแก้ว. (2541). การวิจัยทางสังคมศาสตร์.
ภาควิชาคณิตศาสตร์และสถิติ คณะวิทยา-
ศาสตร์และเทคโนโลยี มหาวิทยาลัยธรรม-
ศาสตร์ [ม.ป.พ.]. 116.
- พวงรัตน์ ทวีรัตน์. (2543). วิจัยทางพฤติกรรมศาสตร์
และสังคมศาสตร์. ฉบับปรับปรุงใหม่ล่าสุด
พิมพ์ครั้งที่ 8. กรุงเทพฯ: [ม.ป.พ.]. 125.
- ราชบัณฑิตยสถาน. (2540). ศัพท์คณิตศาสตร์ ฉบับ
ราชบัณฑิตยสถาน. พิมพ์ครั้งที่ 7. กรุงเทพฯ:
โรงพิมพ์มหาจุฬาลงกรณราชวิทยาลัย. 33.
- สุชาติ ประสิทธิ์รัฐสินธุ์. (2546). ระเบียบวิธีการวิจัย
ทางสังคมศาสตร์. พิมพ์ครั้งที่ 12. กรุงเทพฯ:
เฟื่องฟ้าพรินต์. 260.
- สุวิมล ตรีภานันท์. (2550). การสร้างเครื่องมือวัดตัวแปร
ในการวิจัยทางสังคมศาสตร์: แนวทางสู่การ
ปฏิบัติ. กรุงเทพฯ: โรงพิมพ์แห่งจุฬาลงกรณ์
มหาวิทยาลัย. 175.
- อานนท์ สักดิ์วรวิญญ์. (2548). ค่าสัมประสิทธิ์แอลฟา:
สาระสำคัญและปัญหาในการใช้. วารสาร
พัฒนบริหารศาสตร์, 45 (1), 93-124.
- Hatcher, L. and Stepanski, E. J. (1994). A Step-by-
Step Approach to Using the SAS. System
for the Univariate and Multivariate Statis-
tics. Cary, NC: SAS. Institute Inc. 512.
- Norusis, M. J. (1993). SPSS Professional Statistics
6.1. Chicago: SPSS Inc. 148.

บทบาทของอินเตอร์ลิวคิน-10 ในโรคซิสเต็มมิก ลูปัส อิริธิมาทอซีส

The Role of Interleukin-10 in Systemic Lupus Erythematosus

มารุต ตั้งวัฒนาชูลีพร ^{1*} และภุริชญา สมภาร ²

Marut Tangwattanachuleeporn ^{1*} and Poorichaya Somparn ²

บทนำ

โรคซิสเต็มมิก ลูปัส อิริธิมาทอซีส (Systemic Lupus Erythematosus) หรือเรียกอย่างย่อ ๆ ว่า โรคเอส แอล อี (SLE) หรือเรียกอย่างง่าย ๆ ว่า โรคลูปัส โรคนี้จัดเป็นโรคภูมิต้านเนื้อเยื่อตนเองชนิดหนึ่งที่มีการดำเนินโรคแบบเรื้อรัง โดยผู้ป่วยมักจะมีภาวะผิดปกติของการทำงานของอวัยวะหลายระบบพร้อมๆ กัน ทั้งนี้เนื่องจากความผิดปกติของภูมิคุ้มกันของผู้ป่วยเอง ที่ทำให้เกิดการอักเสบต่ออวัยวะต่างๆ การศึกษาทั้งในหนูและมนุษย์แสดงให้เห็นว่า 1) การผิดปกติไปของการควบคุมการตอบสนองทางภูมิคุ้มกัน 2) ความผิดปกติของการกำจัดเซลล์ที่ตายด้วยกระบวนการ apoptosis และ 3) ความผิดปกติของการกำจัด immune complex มีส่วนเกี่ยวข้องกับการเกิดโรค SLE แต่สาเหตุที่แท้จริงของการเกิดโรคนี้ยังไม่เป็นที่ทราบแน่ชัด ในบทความนี้จะมุ่งเน้นถึงความสำคัญของไซโตไคน์ที่มีชื่อว่า อินเตอร์ลิวคินสิบ (interleukin-10 หรือ IL-10) กับโรค SLE เนื่องจากรายงานการวิจัยตั้งแต่อดีตจนถึงปัจจุบันสนับสนุนว่า IL-10 มีความเกี่ยวข้องกับโรค SLE

ความชุกและความรุนแรงของโรค SLE

โรค SLE สามารถพบผู้ป่วยได้ทั่วโลกและเกือบทุกช่วงอายุ แต่จะพบมากเป็นพิเศษในช่วงวัยเจริญพันธุ์ สามารถเกิดได้กับทุกเพศแต่มักเกิดกับผู้หญิงมากกว่าผู้ชาย โดยมีอัตราส่วนระหว่างผู้หญิงต่อผู้ชายคือ 8:1 ความชุกของโรค SLE โดยประมาณจะอยู่ที่ 1 ใน 2000 คน ในประชากรประเทศสหรัฐอเมริกา ส่วนความชุกของประชากรไทยนั้นยังไม่มีการศึกษาวิจัยที่แน่นอน แต่คาดว่าน่าจะมีค่าความชุกที่สูงกว่าเมื่อเทียบกับประชากรของสหรัฐอเมริกา ความชุกของโรค SLE จะแตกต่างกันไปโดยขึ้นกับกลุ่มของเชื้อชาติ โดยประชากรกลุ่ม non-Caucasian จะมีความชุกของโรคที่สูงกว่าประชากรกลุ่ม Caucasian (Tsao, 2003) เมื่อเปรียบเทียบความแตกต่างทางด้านเชื้อชาติ พบว่าอัตราการตายด้วยโรค SLE ในผู้ป่วยผิวดำ ผิวกุหลาบ และผิวขาวจะตายในอัตราส่วน 8.4, 6.8 และ 2.8 ต่อล้านคน ตามลำดับ (สุรพงศ์ อำพันวงษ์, 2549)

ในช่วง 30 ปีที่ผ่านมา อัตราการอยู่รอดของผู้ป่วยโรค SLE ดีขึ้นมาก จากประมาณร้อยละ 16 ที่จะอยู่ได้เกิน 3 ปี ในช่วงปี พ.ศ. 2493-2498 มาเป็น

¹ ภาควิชาวิทยาศาสตร์การแพทย์ คณะวิทยาศาสตร์ มหาวิทยาลัยบูรพา จ.ชลบุรี 20131

² สหสาขาวิชาชีวเวชศาสตร์ บัณฑิตวิทยาลัย จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย กรุงเทพมหานคร 10330

¹ Department of Medical Science, Faculty of Science, Burapha University, Thailand. 20131

² Inter-Department Program of Biomedical Sciences, Graduate School, Chulalongkorn University, Thailand. 10330

* Corresponding author E-mail: marutt@buu.ac.th

ร้อยละ 40 หลังจากที่มีการนำยาสเตียรอยด์มาใช้รักษาโรคในช่วงปี พ.ศ. 2499-2505 และเป็นร้อยละ 87 ในช่วงปี พ.ศ. 2506-2516 จากการที่มียาปฏิชีวนะช่วยลดความดันและประสิทธิภาพในการดูแลผู้ป่วยไตวายจากการสำรวจโดย Reveille และคณะ ในปี พ.ศ. 2533 พบว่า ผู้ป่วยโรค SLE มีชีวิตยืนยาวยิ่งขึ้น คือ ร้อยละ 89 จะอยู่ได้เกิน 5 ปี และพบว่าอาการตามระบบที่ทำให้ผู้ป่วยมีอัตราการเสียชีวิตที่สูง ได้แก่ อาการทางไตทางระบบประสาท จำนวนเกล็ดเลือดต่ำ อาการซีดและความดันโลหิตสูง การติดเชื้อเป็นปัจจัยเสี่ยงที่สำคัญอีกปัจจัยหนึ่งที่ทำให้อัตราการอยู่รอดของผู้ป่วยโรค SLE ลดน้อยลง (สุรพงศ์ อัมพวันวงษ์, 2549)

โรค SLE เป็นโรคที่แสดงอาการทางคลินิกได้หลายอาการโดยแตกต่างกันไปในแต่ละบุคคล และเกิดขึ้นได้กับอวัยวะต่าง ๆ เกือบทุกระบบของร่างกาย แต่จะมีอาการบางอย่างที่พบได้บ่อยกว่าอาการอื่น ๆ

จึงได้มีการรวบรวมอาการเหล่านี้ตั้งขึ้นเป็นเกณฑ์ในการวินิจฉัยที่เรียก American Rheumatism Association (ARA) criteria เพื่อใช้เป็นเกณฑ์ในการวินิจฉัยโรคได้อย่างรวดเร็วและถูกต้องแม่นยำยิ่งขึ้น (Tan et al., 1982) ดังแสดงในตารางที่ 1 ถ้ามีความผิดปกติตามเกณฑ์ตั้งแต่ 4 ข้อขึ้นไป ผู้ป่วยนั้นจะมีโอกาสเป็นโรค SLE ถึงร้อยละ 96 โดยอาการทางคลินิกและการเปลี่ยนแปลงในเลือดดังกล่าวไม่จำเป็นต้องเกิดขึ้นพร้อมกัน การดำเนินของโรค SLE จะเป็นไปแบบเรื้อรังที่มีการดำเนินโรคที่ไม่แน่นอน โดยอาการอาจดีขึ้นหรือทรุดลงสลับกันไป ความรุนแรงของโรคอาจเล็กน้อยหรือเป็นมากจนเสียชีวิต ความอยู่รอดของผู้ป่วยขึ้นอยู่กับว่ามีอาการของอวัยวะระบบใดเข้ามาเกี่ยวข้อง ยังไม่มีรายงานการวิจัยใดที่จะชี้บ่งชี้ได้อย่างแน่ชัดว่าผู้ป่วยรายใดจะมีอาการของระบบใดและโรคจะกำเริบขึ้นเมื่อใด

ตารางที่ 1 เกณฑ์ที่ใช้ในการคัดแยกผู้ป่วยโรค SLE

เกณฑ์	อาการและการตรวจทางห้องปฏิบัติการ
1. Malar rash	การมีผื่นที่บริเวณโหนกแก้มของใบหน้า บางครั้งเรียกลักษณะนี้ว่า ผื่นรูปผีเสื้อ (butterfly rash)
2. Discoid rash	การมีผื่นเป็นวงบริเวณผิวหนัง
3. Photosensitivity	การมีผื่นที่ผิวหนังที่เกิดจากการแพ้แสง
4. Oral ulcers	การมีแผลที่ปากหรือบริเวณจมูกและคอหอย (nasopharyngeal)
5. Arthritis	ภาวะข้อต่ออักเสบและบวม
6. Serositis	ภาวะเยื่อหุ้มปอดอักเสบ หรือเยื่อหุ้มหัวใจอักเสบ
7. Renal disorder	การมีความผิดปกติของไต เช่น การมีโปรตีนรั่วออกมาทางปัสสาวะมากกว่าวันละ 0.5 กรัมต่อวัน ปัสสาวะเป็นเลือด มีการอักเสบและการมีภาวะไตวาย
8. Neurological disorder	การมีความผิดปกติ ของระบบประสาท เช่น มีอาการชัก อาการทางจิต ได้แก่ คลุ้มคลั่งสติเฟื่องเฟื่อง
9. Hematological disorder	การมีความผิดปกติของระบบเลือด เช่น ภาวะโลหิตจางที่เกิดจากการแตกตัวของเม็ดเลือดแดง (hemolytic anemia) เม็ดเลือดขาวและเกล็ดเลือดต่ำ
10. Immunological disorder	การมีความผิดปกติของระบบภูมิคุ้มกัน เช่น ตรวจพบ Anti-DNA antibody, พบ Anti-Sm antibody, พบ anti-phospholipid antibodies หรือตรวจพบผลบวกปลอม (false positive) สำหรับการทดสอบการติดเชื้อซิฟิลิส
11. Antinuclear antibody	ตรวจพบ antinuclear antibody (ANA) โดยใช้วิธี Immunofluorescence หรือ equivalent assay

ปัจจัยที่เกี่ยวข้องกับการเกิดโรค SLE

ปัจจัยที่มีส่วนเกี่ยวข้องกับการเกิดโรค SLE มีมากมายหลายประการ แต่สามารถจัดแบ่งออกเป็นกลุ่มใหญ่ ๆ ได้สองปัจจัย คือ 1. ปัจจัยทางสิ่งแวดล้อม (environmental factor) (Wandstrat and Wakeland, 2001) ได้แก่ แสงแดดหรือแสงอัลตราไวโอเลต ความเครียด การพักผ่อนไม่เพียงพอ ภาวะติดเชื้อบางชนิด เช่น การติดเชื้อไวรัส human polyomavirus BK (Van Ghelue et al., 2003) ฮอร์โมน เช่น estrogen และ oral contraceptives (Julkunen, 1991) และยาหรือสารเคมีบางชนิด เช่น aromatic organic solvents และ trichloroethylene (Czirjak and Kumanovics, 2002) 2. ปัจจัยทางพันธุกรรม (genetic factor) ในปัจจุบันเป็นที่ยอมรับกันว่า เป็นปัจจัยหลักที่มีผลต่อการเกิดโรคและความรุนแรงของโรค ได้มีรายงานการวิจัยที่สนับสนุนว่า ปัจจัยทางพันธุกรรมมีส่วนสำคัญในการทำให้เกิดโรค คือ การศึกษาในฝาแฝดไปใบเดียวกัน (monozygotic twins) พบว่า มีอัตราการเกิดโรคพร้อมกัน (concordance rate) สูงถึงร้อยละ 24-57 ขณะที่แฝดไปคนละใบ (dizygotic twins) และพี่น้องพ่อแม่เดียวกัน (non-twin siblings) มีค่าอัตราการเกิดโรคพร้อมกันน้อยกว่าถึง 10 เท่า คือร้อยละ 2-5 (Wandstrat and Wakeland, 2001)

มีการศึกษาหา susceptibility regions ของโครโมโซมที่เกี่ยวข้องกับการเกิดโรค SLE ในมนุษย์ และหนูหลายรายงาน การศึกษาทางด้านพันธุกรรมในหนู NZM 2410 ซึ่งเป็น mouse model ของโรค SLE พบว่า มี SLE - susceptibility genomic interval อยู่ 4 ตำแหน่ง คือ *Sle 1* (อยู่บนโครโมโซมที่ 1), *Sle 2* (อยู่บนโครโมโซมที่ 4), *Sle 3* (อยู่บนโครโมโซมที่ 7) และ *Sle 4* (อยู่บนโครโมโซมที่ 17) เมื่อสร้างหนูโดยที่ให้หนูแต่ละตัวมี SLE - susceptibility gene เพียง 1 gene เท่านั้น พบว่า ไม่มีหนูตัวใดเลยที่ตายด้วยอาการกรวยไตอักเสบ (glomerulonephritis) แต่ถ้าวางสร้างหนูให้มี SLE - susceptibility gene มากกว่า 1 gene โดยมี *Sle 1* ร่วมอยู่ด้วย จะทำให้หนูตายด้วย

อาการกรวยไตอักเสบ จากผลที่ได้ทำให้สรุปได้ว่า โรค SLE เป็นโรคที่จะต้องอาศัยความผิดปกติของยีนมากกว่าหนึ่งยีนในการทำให้เกิดโรค (Morel et al., 2001)

การศึกษาปัจจัยทางพันธุกรรมในมนุษย์ โดยใช้วิธีการศึกษาแบบ whole genome analysis ซึ่งใช้ genetic markers จำนวนมากซึ่งเป็นตัวแทนของยีนจากบริเวณต่าง ๆ ในทุกโครโมโซม โดยศึกษารูปแบบการ ถ่ายทอดของ genetic markers เหล่านี้ในครอบครัว หรือพี่น้องของผู้ป่วยโรค SLE พบว่า มี susceptibility loci อย่างน้อยแปดตำแหน่ง คือ 1q23, 1q25-31, 1q41-42, 2q35-37, 4p16-15.2, 6p11-21, 12p24 และ 16q12 (Wakeland et al., 2001; Shen and Tsao, 2004 and Hirankarn et al., 2006) นอกจากการค้นหาตำแหน่งของยีนแล้ว ยังมีการค้นคว้าวิจัยอีกจำนวนมากโดยการค้นหา candidate genes ที่มีหน้าที่เกี่ยวข้องกับกลไกการเกิดโรค เช่น poly(ADP-ribose) polymerase gene (PARP) ซึ่งเป็นยีนที่เกี่ยวข้องกับการซ่อมแซม DNA เมื่อมี damage และเกี่ยวข้องกับการขบวนการ apoptosis Mannose-binding protein gene ก็เป็นอีกหนึ่งของ candidate genes ซึ่งโปรตีนที่สร้างจากยีนนี้จะมีโครงสร้างและหน้าที่คล้ายกับ C1q ซึ่งเกี่ยวข้องกับการเกิดและการมีอยู่ของ immune complex IL-6 gene เป็นไซโตไคน์ที่มีบทบาทเกี่ยวกับ B-cell maturation และการสร้าง IgG นอกจากยีนที่ได้กล่าวมาพอสังเขปแล้ว ยังมี candidate genes อีกหลายตัว เช่น tumor necrosis factor (TNF)-alpha gene และ Fc receptor genes เป็นต้น (Ahmad and Bruce, 2001) อย่างไรก็ตาม เนื่องจากยีนที่เป็นสาเหตุของโรคมีมากกว่าหนึ่งยีนและในผู้ป่วยแต่ละคนอาจมียีนที่เป็นสาเหตุแตกต่างกัน จึงเป็นข้อจำกัดที่สำคัญในการวิจัยปัจจุบันที่ยังไม่มีปริมาณผู้ป่วยที่ศึกษาที่มีอำนาจทางสถิติเพียงพอต่อการศึกษา multiple gene effect นอกจากนี้ นักวิจัยยังไม่ทราบอย่างแน่ชัดว่า จะเลือกกลุ่มผู้ป่วย SLE ที่มีความผิดปกติของยีนเหมือนกันได้อย่างไร แนวโน้มการวิจัยในอนาคต คือ การศึกษาแบบ multi-center เพื่อเพิ่มจำนวนตัวอย่างให้มีอำนาจทางสถิติเพียงพอ

พร้อมจัดกลุ่มผู้ป่วยที่มีอาการแสดงใกล้เคียงกันเข้าด้วยกันในการวิเคราะห์ผลมากยิ่งขึ้น

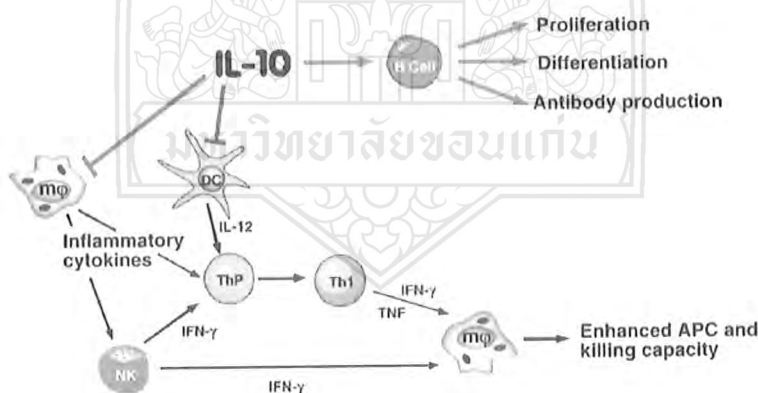
อินเตอร์ลิวคินสิบ (interleukin-10 หรือ IL-10)

IL-10 gene อยู่บนโครโมโซมที่ 1 บริเวณแขนข้างยาวของโครโมโซมที่ตำแหน่ง 1q31-32 ไชโตไคน์ชนิดนี้ถูกสร้างและหลั่งจากเม็ดเลือดขาวชนิด T- lymphocyte, B-lymphocyte, Macrophage และ Mast cell

IL-10 เป็นไซโตไคน์ที่มีหน้าที่ได้หลากหลาย (pleiotropic effects) โดยสามารถควบคุมการตอบสนองของระบบภูมิคุ้มกัน (Immunoregulation) และยับยั้งการอักเสบ (anti-inflammation) ถูกจัดเป็น Th-2 cytokines ซึ่งสามารถลดการทำงานของ Th-1 cytokines ได้ สามารถลดการแสดงออกของ interferon (IFN)-gamma ได้ นอกจากนี้ ยังสามารถยับยั้งการทำงานของ activated macrophage โดยลดการแสดงออกของ MHC class II และ co-stimulatory molecule ชนิด B7 ซึ่งเกี่ยวข้องกับการเปลี่ยน na_ve macrophage ไปเป็น activated macrophage นอกจากนี้ยังมีคุณสมบัติในการต้านฤทธิ์ของ pro-inflammatory cytokine เช่น TNF-

alpha, IFN-gamma, IL-1, IL-6, IL-8 และ IL-12 แต่ในทางตรงกันข้าม IL-10 มีความเกี่ยวข้องกับการอยู่รอด (survival) การเจริญเพิ่มจำนวน (proliferation) การเปลี่ยนแปลงรูปร่าง (differentiation) ของ B cell สามารถกระตุ้นการผลิตและหลั่งของ antibody และเกี่ยวข้องกับการ isotype switching ของการสร้าง antibody ชนิด IgG1, IgG3 และ IgA นอกจากนี้ ยังมีบทบาทส่งเสริมการสร้าง nitric oxide จาก macrophage (Ishida et al., 1994; de Waal Malefyt et al., 1991; Beebe et al., 2002)

จากคุณสมบัติของ IL-10 ที่มีบทบาทสำคัญในการต้านการอักเสบ (ดังแสดงในรูปที่ 1) จึงมีหลักฐานทางวิทยาศาสตร์ทั้งที่ได้จากการทดลองในหลอดทดลอง (*in vitro*) และในสิ่งมีชีวิต (*in vivo*) แสดงให้เห็นว่าสามารถนำ IL-10 มาใช้ประโยชน์ในด้านการรักษาโรคต่าง ๆ ได้มากมาย เช่น โลหิตเป็นพิษ (sepsis), ภาวะการมี endotoxin ในกระแสเลือด (endotoxemia), การอักเสบของตับอ่อน ตับ ม้ามตา และแหวัดตา, ภาวะการบาดเจ็บของปอด สมอง และไขสันหลัง (Beebe et al., 2002)



รูปที่ 1 บทบาทของ IL-10 ต่อการตอบสนองทางภูมิคุ้มกัน 1.) กระตุ้นการทำงานของ B cells ให้มีการแบ่งตัวเพิ่มจำนวน เปลี่ยนแปลงรูปร่าง สร้างและหลั่ง antibody 2.) ยับยั้งการทำงานของ macrophages และ dendritic cells โดยลดการสร้าง inflammatory cytokines เช่น IL-12, IFN-gamma และ TNF-alpha ส่งผลให้เกิดการตอบสนองแบบ cell-mediated immune response ไม่ดีเท่าที่ควร ทั้งนี้เพื่อไม่ให้ร่างกายเกิดการตอบสนองทางภูมิคุ้มกันมากเกินไป (Beebe et al., 2002)

ความสำคัญของ IL-10 ในโรค SLE

ในปัจจุบันนี้การเกิดโรคและการดำเนินของโรค SLE ยังไม่เป็นที่ทราบแน่ชัด แต่มีสมมติฐานที่กล่าวว่า บทบาทของ IL-10 เกี่ยวข้องกับการเกิดโรคและการดำเนินของโรค SLE การได้มาของสมมติฐานนี้เนื่องจากมีหลักฐานทางวิทยาศาสตร์มากมายที่สนับสนุนการศึกษาในหนูทดลอง โดยใช้หนู NZB/W ซึ่งเป็นหนูที่มีแนวโน้มการเกิดโรค SLE อยู่แล้ว (SLE prone mice) สามารถตรวจพบ autoantibodies ต่อ double stranded DNA (anti-dsDNA) และพบอาการกรวยไตอักเสบ (glomerulonephritis) ร่วมด้วย แต่เมื่อนำหนูเหล่านี้มารักษาด้วย monoclonal antibody ต่อ IL-10 (anti-IL-10 antibody) พบว่า สามารถลดอัตราการตายของหนูลงได้ร้อยละ 10 - 80 และเมื่อนำหนูที่รอดชีวิตมาตรวจวัดค่าต่าง ๆ ที่บ่งชี้ว่ามีอาการของโรค SLE พบว่า ระดับของ anti-dsDNA การมีโปรตีนที่รั่วออกมาในปัสสาวะ การพบรอยโรคบน glomerulus ของไตอยู่ในระดับที่ลดลงทั้งสิ้น จากนั้นนำหนูที่มีอาการดีขึ้นจากการให้ monoclonal antibody ต่อ IL-10 แล้วนำมาให้ IL-10 ต่ออีก 4 สัปดาห์ ผลที่ได้พบว่า หนูเหล่านี้มีการพัฒนาของโรคเป็น autoimmune diseases (Ishida et al., 1994) (Beebe et al., 2002) จากรายงานการวิจัยหลายรายงานสนับสนุนว่า ระดับการแสดงออกของโปรตีนและ mRNA ที่เพิ่มมากขึ้นเกี่ยวข้องกับพยาธิกำเนิดของโรค SLE โดยส่งผลต่อการกระตุ้นการทำงานของ B cells ให้เพิ่มมากขึ้น เช่น รายงานของ Llorente และคณะ พบว่า peripheral blood mononuclear cells (PBMC) ของผู้ป่วยโรค SLE 34 จาก 37 คน สามารถตรวจพบผลบวกของ IL-10 transcription โดยใช้วิธี RT-PCR แต่ในคนสุขภาพปกติสามารถตรวจพบได้เพียงแค่ 1 จาก 34 คนเท่านั้น (Llorente et al., 1993) การศึกษาระดับ IL-10 ใน serum ของ Park และคณะ พบว่า ระดับของ IL-10 ของผู้ป่วยที่อยู่ในระยะกำเริบของโรคจะสูงกว่าคนปกติถึง 9 เท่า และระดับการเพิ่มขึ้นของ IL-10 นี้ สัมพันธ์กับความรุนแรงของโรค โดยประเมินจากค่า SLEDAI (SLE

disease activity index) score ที่สูงขึ้น เมื่อทำการรักษาผู้ป่วยเป็นเวลา 4 สัปดาห์ พบว่า SLEDAI score ของผู้ป่วยลดลงสอดคล้องกับระดับของ IL-10 ที่ลดลงด้วย (Park et al., 1998)

จากตัวอย่างการศึกษาวิจัยที่กล่าวไว้ข้างต้นชี้ให้เห็นว่าระดับของ IL-10 ที่สูงขึ้นมีความสัมพันธ์กับโรค SLE ความรู้ในปัจจุบันเชื่อว่าการแสดงออกของไซโตไคน์ในปริมาณมากหรือน้อยในแต่ละบุคคลขึ้นกับความหลากหลาย (polymorphisms) ของยีนที่ควบคุมการสร้างไซโตไคน์ ความหลากหลายของยีน ได้แก่ minisatellite, microsatellite และที่นิยมใช้เป็น genetic marker มากที่สุดในปัจจุบัน ก็คือ single nucleotide polymorphisms (SNPs) หรือ สนิป เป็นลำดับเบสของ DNA ที่มี variation เพียงหนึ่งตำแหน่งสามารถพบได้เป็นปกติทั่วไปใน DNA พบ SNP ได้ทุกๆ 100-300 เบส SNP สามารถพบได้ในทุก ๆ ส่วนของยีน เช่น coding regions, introns, promoter regions, 3'UTR และ 5'UTR บริเวณที่เกี่ยวข้องกับระดับการแสดงออกของยีนที่สำคัญก็คือ บริเวณ promoter ของยีน ดังนั้นหากมีการเปลี่ยนแปลงไปของเบสบริเวณ promoter ก็อาจจะส่งผลต่อการจับของ transcription factors ได้ เช่น nuclear factor (NF)-(B ในท้ายที่สุดจะส่งผลต่อระดับการแสดงออกของโปรตีน (Holmes et al., 2003; Wjst, 2004)

จากเหตุผลข้างต้นจึงมีนักวิจัยบางกลุ่มพยายามค้นหาว่า polymorphisms บริเวณใดของยีนที่มีส่วนเกี่ยวข้องกับระดับการแสดงออกของยีน รายงานการวิจัยหลาย ๆ รายงานแสดงให้เห็นความสัมพันธ์ระหว่าง IL-10 promoter polymorphisms กับการเกิดโรคและความรุนแรงของโรค SLE เช่น CA-repeat microsatellites ที่ตำแหน่ง IL-10.G มีความสัมพันธ์กับการเกิดโรค SLE ในประชากร Scottish, Mexican-American และ Italian (Eskdale et al., 1997; Mehrian et al., 1998; D'Alfonso et al., 2000) แต่ microsatellites ที่ตำแหน่งนี้ไม่มีความสัมพันธ์กับการเกิดโรคในประชากร Mexican, Swedish หรือ Taiwanese (Ou et al., 1998;

Johansson et al., 2000) แม้ว่าผลการศึกษาในประชากร Taiwanese พบว่า IL-10.G ไม่มีความสัมพันธ์กับการเกิดโรค SLE แต่พบว่า ที่ตำแหน่ง IL-10.G มีความสัมพันธ์กับการเกิดภาวะไตล้มเหลวอย่างเฉียบพลัน อย่างไรก็ตาม ผลของความสัมพันธ์นี้ไม่เป็นที่น่าสนใจของกลุ่มนักวิทยาศาสตร์มากนัก เพราะว่าเป็นการศึกษาของกลุ่มประชากรกลุ่มเล็ก ๆ ในส่วนของ polymorphisms ที่เป็นแบบ SNP ที่นักวิจัยนิยมนำมาศึกษามีอยู่ 3 ตำแหน่ง ได้แก่ -1082 (G/A), -819 (C/T) และ -592 (C/A) แต่ผลการศึกษาที่ได้ยังมีความขัดแย้งกันอยู่ เช่นเดียวกับใน microsatellites ที่ตำแหน่ง IL-10.G กล่าวคือ ในชาว British Caucasians ที่มี GCC haplotype จะมีความสัมพันธ์กับการพบ anti-Ro autoantibodies (antibody ต่อ extractable nuclear antigen) (Crawley et al., 1999b) ในชาวจีน ที่มี ATA haplotype จะมีความสัมพันธ์เกี่ยวกับพยาธิสภาพที่ไต (Mok et al., 1998) แต่ ATA haplotype นี้ไม่มีความสัมพันธ์เกี่ยวกับพยาธิสภาพที่ไตในชาว Dutch (Rood et al., 1999) หรือ British (Crawley et al., 1999b) การศึกษาในประชากรไทยโดย Hirankarn และคณะ พบว่า ผู้ที่มี ACC haplotype จะเสี่ยงต่อการเกิดโรค SLE มากกว่า ผู้ที่ไม่มี haplotype นี้ 1.47 เท่า นอกจากนี้ยังพบว่า ผู้ป่วยที่มี GCC haplotype จะมีโอกาสเสี่ยงต่อการเกิดพยาธิสภาพที่ไตมากกว่าผู้ที่ไม่มี haplotype นี้ถึง 6.54 เท่า (Hirankarn et al., 2006) จากการศึกษาความสัมพันธ์ระหว่าง haplotype กับระดับการแสดงออกของ IL-10 พบว่า GCC, ACC และ ATA สัมพันธ์กับระดับการแสดงออกที่มาก ปานกลาง และน้อย ตามลำดับ (Crawley et al., 1999a; Edwards-Smith et al., 1999; Koss et al., 2000; Kurreeman et al., 2004; Turner et al., 1997; Eskdale et al., 1999) สิ่งที่น่าสนใจจากข้อมูลของประชากรไทย คือ GCC haplotype มีความสัมพันธ์กับพยาธิสภาพที่ไต น่าจะเป็นผลมาจาก IL-10 promoter polymorphisms ที่เป็นแบบ GCC สามารถมีการแสดงออกของ IL-10 ได้ในระดับที่สูง อาจจะส่งผลกระตุ้น abnormal B cells จากนั้น B cells จะ

เกิดการสร้าง autoantibodies ออกมาในปริมาณมาก ก่อให้เกิดเป็น immune complex ขึ้น ในท้ายที่สุดจะไปสะสมที่ไตส่งผลให้เกิดพยาธิสภาพที่ไตตามมา

สรุป

IL-10 เป็นไซโตไคน์ที่เกี่ยวข้องกับการควบคุมการตอบสนองของระบบภูมิคุ้มกัน ดังนั้น หากสมดุลของ IL-10 สูญเสียไปไม่ว่าจะเกิดจากสาเหตุใด อาจนำไปสู่การเกิดโรคต่าง ๆ ได้ เช่น การเกิดโรค SLE เกิดจากการมีระดับของ IL-10 ที่มากเกินไป จะไปส่งผลต่อการทำงานของ B-cells ให้มีการผลิตและหลั่ง antibodies ในปริมาณที่มากขึ้น และหาก antibodies ที่สร้างขึ้นมาเป็น antibodies ต่อ autoantigens ผลก็คือจะเกิด immune-complexes ไปเกาะยังอวัยวะต่าง ๆ ของร่างกาย ซึ่งจะนำไปสู่การทำลายอวัยวะต่าง ๆ ที่ร่างกายที่มี immune-complexes ไปเกาะ แต่ในทางกลับกัน หากมีปริมาณของ IL-10 ที่น้อยเกินไป ก็จะทำให้เกิดการตอบสนองของระบบภูมิคุ้มกันที่มากเกินไป อาจส่งผลให้ร่างกายเกิดภาวะช็อค ซึ่งหากเกิดรุนแรงอาจถึงขั้นเสียชีวิตได้ ดังนั้น การศึกษาหาวิธีบริหารระดับของ IL-10 (IL-10 administration) ให้อยู่ในภาวะสมดุลเพื่อรักษาระดับการตอบสนองแบบ Th1 และ Th2 ให้อยู่ในระดับที่สมดุลจึงเป็นสิ่งจำเป็น เพราะไม่เพียงแต่จะใช้ในการรักษาโรค SLE ได้เท่านั้น ยังสามารถประยุกต์ใช้ในการรักษาโรคอื่น ๆ ได้อีก เช่น โรคติดเชื้อ โรคภูมิคุ้มกันตนเอง เป็นต้น

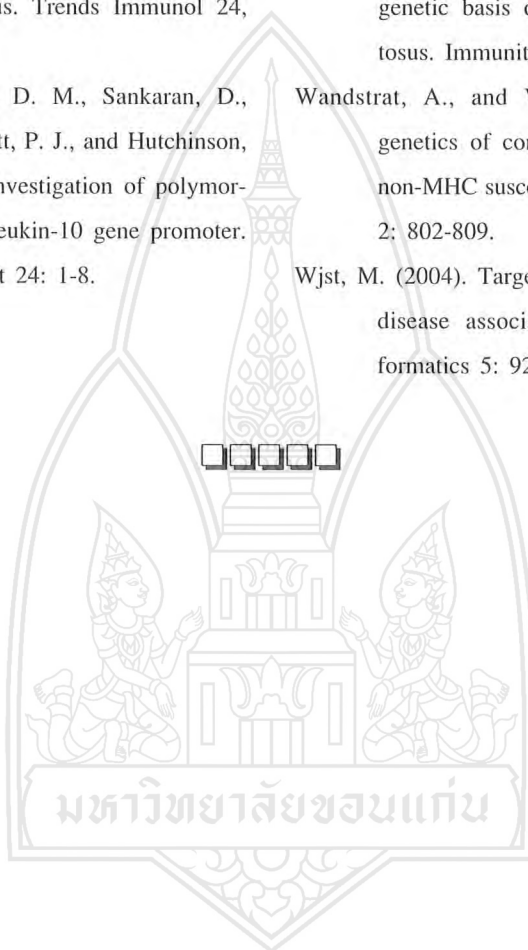
เอกสารอ้างอิง

- สุรพงศ์ อำพันวงษ์. (2549). ความก้าวหน้าในการวินิจฉัยโรคเอส แอล อี (ออนไลน์). 2002 (เข้าถึงเมื่อ 18 พ.ค. 2549). เข้าถึงได้จาก : URL: http://www.elib-online.com/doctors45/skin_sle001.html
- Ahmad, Y. A., and Bruce, I. N. (2001). Genetic epidemiology: systemic lupus erythematosus. *Arthritis Res* 3: 331-336.

- Beebe, A. M., Cua, D. J., and de Waal Malefyt, R. (2002). The role of interleukin-10 in autoimmune disease: systemic lupus erythematosus (SLE) and multiple sclerosis (MS). *Cytokine Growth Factor Rev* 13: 403-412.
- Crawley, E., Kay, R., Sillibourne, J., Patel, P., Hutchinson, I., and Woo, P. (1999a). Polymorphic haplotypes of the interleukin-10 5' flanking region determine variable interleukin-10 transcription and are associated with particular phenotypes of juvenile rheumatoid arthritis. *Arthritis Rheum* 42: 1101-1108.
- Crawley, E., Woo, P., and Isenberg, D. A. (1999b). Single nucleotide polymorphic haplotypes of the interleukin-10 5' flanking region are not associated with renal disease or serology in Caucasian patients with systemic lupus erythematosus. *Arthritis Rheum* 42: 2017-2018.
- Czirjak, L., and Kumanovics, G. (2002). Exposure to solvents in female patients with scleroderma. *Clin Rheumatol* 21: 114-118.
- D'Alfonso, S., Rampi, M., Bocchio, D., Colombo, G., Scorza-Smeraldi, R., and Momigliano-Richardi, P. (2000). Systemic lupus erythematosus candidate genes in the Italian population: evidence for a significant association with interleukin-10. *Arthritis Rheum* 43:120-128.
- de Waal Malefyt, R., Abrams, J., Bennett, B., Figdor, C. G., and de Vries, J. E. (1991). Interleukin 10(IL-10) inhibits cytokine synthesis by human monocytes: an autoregulatory role of IL-10 produced by monocytes. *J Exp Med* 174:1209-1220.
- Edwards-Smith, C. J., Jonsson, J. R., Purdie, D. M., Bansal, A., Shorthouse, C., and Powell, E. E. (1999). Interleukin-10 promoter polymorphism predicts initial response of chronic hepatitis C to interferon alfa. *Hepatology* 30: 526-530.
- Eskdale, J., Keijsers, V., Huizinga, T., and Gallagher, G. (1999). Microsatellite alleles and single nucleotide polymorphisms (SNP) combine to form four major haplotype families at the human interleukin-10 (IL-10) locus. *Genes Immun* 1:151-155.
- Eskdale, J., Wordsworth, P., Bowman, S., Field, M., and Gallagher, G. (1997). Association between polymorphisms at the human IL-10 locus and systemic lupus erythematosus. *Tissue Antigens* 49: 635-639.
- Hirankarn, N., Wongpiyabovorn, J., Hanvivatvong, O., Netsawang, J., Akkasilpa, S., Wongchinsri, J., Hanvivadhanakul, P., Korkit, W., and Avihingsanon, Y. (2006). The synergistic effect of FC gamma receptor IIa and interleukin-10 genes on the risk to develop systemic lupus erythematosus in Thai population. *Tissue Antigens* 68: 399-406.
- Holmes, C. L., Russell, J. A., and Walley, K. R. (2003). Genetic polymorphisms in sepsis and septic shock: role in prognosis and potential for therapy. *Chest* 124: 1103-1115.
- Ishida, H., Muchamuel, T., Sakaguchi, S., Andrade, S., Menon, S., and Howard, M. (1994). Continuous administration of anti-interleukin 10 antibodies delays onset of autoimmunity in NZB/W F1 mice. *J Exp Med* 179: 305-310.

- Johansson, C., Castillejo-Lopez, C., Johanneson, B., Svenungsson, E., Gunnarsson, I., Frostegard, J., Sturfelt, G., Truedsson, L., Lofstrom, B., Alcocer-Varela, J., et al. (2000). Association analysis with microsatellite and SNP markers does not support the involvement of BCL-2 in systemic lupus erythematosus in Mexican and Swedish patients and their families. *Genes Immun* 1: 380-385.
- Julkunen, H. A. (1991). Oral contraceptives in systemic lupus erythematosus: side-effects and influence on the activity of SLE. *Scand J Rheumatol* 20: 427-433.
- Koss, K., Satsangi, J., Fanning, G. C., Welsh, K. I., and Jewell, D. P. (2000). Cytokine (TNF alpha, LT alpha and IL-10) polymorphisms in inflammatory bowel diseases and normal controls: differential effects on production and allele frequencies. *Genes Immun* 1: 185-190.
- Kurreeman, F. A., Schonkeren, J. J., Heijmans, B. T., Toes, R. E., and Huizinga, T. W. (2004). Transcription of the IL10 gene reveals allele-specific regulation at the mRNA level. *Hum Mol Genet* 13: 1755-1762.
- Llorente, L., Richaud-Patin, Y., Wijdenes, J., Alcocer-Varela, J., Maillot, M. C., Durand-Gasselin, I., Fourrier, B. M., Galanaud, P., and Emilie, D. (1993). Spontaneous production of interleukin-10 by B lymphocytes and monocytes in systemic lupus erythematosus. *Eur Cytokine Netw* 4: 421-427.
- Mehrian, R., Quismorio, F. P., Jr., Strassmann, G., Stimmler, M. M., Horwitz, D. A., Kitridou, R. C., Gauderman, W. J., Morrison, J., Brautbar, C., and Jacob, C. O. (1998). Synergistic effect between IL-10 and bcl-2 genotypes in determining susceptibility to systemic lupus erythematosus. *Arthritis Rheum* 41: 596-602.
- Mok, C. C., Lanchbury, J. S., Chan, D. W., and Lau, C. S. (1998). Interleukin-10 promoter polymorphisms in Southern Chinese patients with systemic lupus erythematosus. *Arthritis Rheum* 41: 1090-1095.
- Morel, L., Blenman, K. R., Croker, B. P., and Wakeland, E. K. (2001). The major murine systemic lupus erythematosus susceptibility locus, Sle1, is a cluster of functionally related genes. *Proc Natl Acad Sci U S A* 98: 1787-1792.
- Ou, T. T., Tsai, W. C., Chen, C. J., Chang, J. G., Yen, J. H., Wang, W. S., Lin, C. H., Tsai, J. J., and Liu, H. W. (1998). Genetic analysis of interleukin-10 promoter region in patients with systemic lupus erythematosus in Taiwan. *Kaohsiung J Med Sci* 14: 599-606.
- Park, Y. B., Lee, S. K., Kim, D. S., Lee, J., Lee, C. H., and Song, C. H. (1998). Elevated interleukin-10 levels correlated with disease activity in systemic lupus erythematosus. *Clin Exp Rheumatol* 16: 283-288.
- Rood, M. J., Keijsers, V., van der Linden, M. W., Tong, T. Q., Borggreve, S. E., Verweij, C. L., Breedveld, F. C., and Huizinga, T. W. (1999). Neuropsychiatric systemic lupus erythematosus is associated with imbalance in interleukin 10 promoter haplotypes. *Ann Rheum Dis* 58: 85-89.
- Shen, N., and Tsao, B. P. (2004). Current advances in the human lupus genetics. *Curr Rheumatol Rep* 6: 391-398.

- Tan, E. M., Cohen, A. S., Fries, J. F., Masi, A. T., McShane, D. J., Rothfield, N. F., Schaller, J. G., Talal, N., and Winchester, R. J. (1982). The 1982 revised criteria for the classification of systemic lupus erythematosus. *Arthritis Rheum* 25: 1271-1277.
- Tsao, B. P. (2003). The genetics of human systemic lupus erythematosus. *Trends Immunol* 24, 595-602.
- Turner, D. M., Williams, D. M., Sankaran, D., Lazarus, M., Sinnott, P. J., and Hutchinson, I. V. (1997). An investigation of polymorphism in the interleukin-10 gene promoter. *Eur J Immunogenet* 24: 1-8.
- Van Ghelue, M., Moens, U., Bendiksen, S., and Rekvig, O. P. (2003). Autoimmunity to nucleosomes related to viral infection: a focus on hapten-carrier complex formation. *J Autoimmun* 20: 171-182.
- Wakeland, E. K., Liu, K., Graham, R. R., and Behrens, T. W. (2001). Delineating the genetic basis of systemic lupus erythematosus. *Immunity* 15: 397-408.
- Wandstrat, A., and Wakeland, E. (2001). The genetics of complex autoimmune diseases: non-MHC susceptibility genes. *Nat Immunol* 2: 802-809.
- Wjst, M. (2004). Target SNP selection in complex disease association studies. *BMC Bioinformatics* 5: 92.



การวิเคราะห์สปีชีส์โลหะหนักที่ปนเปื้อนในตัวอย่างอาหาร และเครื่องดื่ม และตัวอย่างจากสิ่งแวดล้อม

Speciation Analysis of Heavy Metals Contaminated in Foods and Drinks, and from Environmental Samples

ศักดิ์สิทธิ์ จันทน์ไทย ^{1*}

บทนำ

การหาชนิดหรือจำแนกสปีชีส์ (speciation) ในที่นี้หมายถึง การบ่งชี้เอกลักษณ์เฉพาะตัวของธาตุใดธาตุหนึ่ง โดยทั่วไปแล้ว จะเป็นธาตุที่มีเลขออกซิเดชันหลายค่า หรืออยู่ในรูปสารประกอบต่างชนิดกัน เช่น สารปรอทที่ปนเปื้อนในเนื้อปลาอาจพบอยู่ในรูปสารอินทรีย์และอนินทรีย์ก็ได้ หรืออีกนัยหนึ่งคำว่า สปีชีส์ของโลหะนั้น อาจหมายรวมถึง การวิเคราะห์โลหะชนิดต่าง ๆ ในตัวอย่างเดียวกัน ธาตุที่อยู่ในสารประกอบต่างกันอาจแสดงความเป็นพิษได้ต่างกัน และมีการถ่ายโอนมวลหมุนเวียนอยู่ในสภาพแวดล้อมได้แตกต่างกันด้วย ทั้งนี้เพราะความเป็นพิษของโลหะหนักที่พบในสิ่งมีชีวิตนั้นมีความสัมพันธ์ใกล้ชิดกับสปีชีส์ทางเคมีของโลหะในสารละลาย ด้วยเหตุนี้ จึงควรจำแนกสปีชีส์และหาปริมาณของโลหะแต่ละชนิดที่พบในสารตัวอย่างทั้งหลายให้ชัดเจนยิ่งขึ้น

สปีชีส์ของโลหะหนักบางชนิดที่อาจปนเปื้อนในอาหาร เครื่องดื่ม และสิ่งแวดล้อมนั้น มีบทบาทสำคัญมากขึ้นในปัจจุบัน ทั้งนี้เนื่องจากสมดุลทางธรรมชาติของระบบนิเวศในบางแห่งเปลี่ยนแปลงไป

ด้วยปัจจัยมหาพหุขั้นรุนแรงที่หลีกเลี่ยงไม่ได้หลายประการ เช่น ภัยพิบัติ (Tsunami) น้ำท่วมฉับพลัน ไฟไหม้ป่า หรือแผ่นดินไหว โคลนถล่ม หิมะละลาย เป็นต้น มลพิษในสิ่งแวดล้อมทั้งทางกายภาพและชีวภาพซึ่งเกิดขึ้นได้ง่าย ก็ส่งผลกระทบต่อภาวะสมดุลของสิ่งมีชีวิตทั้งพืชและสัตว์ได้ทันทีเช่นเดียวกัน อย่างไรก็ตาม ในเบื้องหลังของสาเหตุสืบเนื่องซึ่งเป็นปัญหาสุขภาพที่อาจเกี่ยวข้องกับโดยตรงกับวัฏจักร หรือกลไกการเร่งปฏิกิริยาของชีวโมเลกุล เนื่องจากพวกโลหะทั้งหลาย แม้ว่าจะไม่ใช่สาเหตุหลักแต่ก็มีอิทธิพลโดยอ้อม

หลักการและเทคนิคการวิเคราะห์

ในด้านเคมีวิเคราะห์แล้วการหาปริมาณสปีชีส์ของธาตุใด ๆ ส่วนแต่เกี่ยวข้องกับเทคนิคและเครื่องมือสมัยใหม่และราคาแพง อย่างไรก็ตาม วิธีดังกล่าวยังคงอาศัยหลักการและเทคนิคเบื้องต้นที่ต้องพิจารณาร่วมกันอยู่หลายขั้นตอน ดังนี้

1. การสุ่มตัวอย่างและเก็บรักษาสารตัวอย่างนี้เป็นจุดอ่อนประเด็นแรกในกระบวนการวิเคราะห์ ใน

¹ ภาควิชาเคมี คณะวิทยาศาสตร์ มหาวิทยาลัยขอนแก่น อ.เมือง จ.ขอนแก่น 40002

* Corresponding author E-mail: sakcha2@kku.ac.th

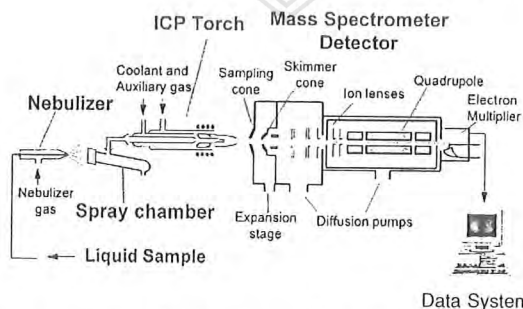
การวิเคราะห์สปีชีส์นั้น การนำสารตัวอย่างออกจากสภาพแวดล้อมทางธรรมชาติ อาจเหนี่ยวนำให้เกิดการเปลี่ยนแปลงทางกายภาพและทางเคมี จนกระทั่งส่งผลกระทบต่อ การเปลี่ยนแปลงสปีชีส์ของสารนั้นได้

2. การเตรียมตัวอย่างเพื่อวิเคราะห์ อาจใช้เทคนิคการสกัดด้วยเฟสของเหลว หรือเฟสของแข็ง เพื่อเลือกสรรหรือเพิ่มความเข้มข้นของโลหะและโลหะอินทรีย์ (organometallic species) จากน้ำธรรมชาติ หรือสกัดด้วยของไหลวิกฤตยิ่งยวด (supercritical fluid) เพื่อแยกโลหะอินทรีย์ออกจากตะกอนและฝุ่นละอองในชุมชนเมือง เป็นต้น

3. การวิเคราะห์เชิงเครื่องมือ ในกรณีที่ต้องการแยกและตรวจวัดสปีชีส์ต่างๆ ที่ระเหยง่ายอาจใช้เทคนิคแก๊สโครมาโทกราฟี (gas chromatography, GC) ซึ่งต่อคู่ควบกับคลื่น ไมโครเวฟที่เหนี่ยวนำให้อะตอมคายแสงจากพลาสมา (microwave induced plasma - optical emission spectrometry, MIP-OES) หรือใช้ร่วมกับอะตอมมิกแอบซอร์พชันสเปกโตรเมทรี (atomic absorption spectrometry, AAS) ปัจจุบันนิยมใช้เทคนิคอินดักทีฟลีคัปเปิลพลาสมา-แมสสเปกโตรเมทรี (inductively coupled plasma - mass spectrometry, ICP-MS) หรือใช้เทคนิคไอออนโครมาโทกราฟี (ion - chromatography, IC) มาต่อคู่ควบกับ ICP-MS กลายเป็นเทคนิค IC-ICP-MS กันอย่างแพร่หลาย (B'Hymer et al., 2000) แสดงถึงศักยภาพในการประยุกต์ใช้วิธีแยกสารทางโครมาโทกราฟีด้วยกลไกต่าง ๆ และตรวจวัดด้วย ICP-MS

ในการศึกษาสปีชีส์ของโลหะหนักต่าง ๆ นั้น มีเหตุจูงใจที่ว่าปริมาณโลหะทั้งหมดที่ตรวจพบในตัวอย่างอาหารและเครื่องดื่ม หรือตัวอย่างจากสิ่งแวดล้อมทั้งหลาย มิได้เป็นเกณฑ์ตัดสินบ่งชี้และประเมินสถานภาพทางพิษวิทยาและชีวเคมีได้อย่างครบถ้วนสมบูรณ์แต่อย่างใด ทั้งนี้ยังต้องศึกษารายละเอียดเพิ่มเติมเกี่ยวกับการเกิดพันธะและเลขออกซิเดชันของโลหะเหล่านั้นอีกด้วย เมื่อไม่นานมานี้มีการพัฒนาเทคนิคการวิเคราะห์สปีชีส์ของโลหะอินทรีย์หลายอย่าง ส่วนใหญ่แล้วเป็นวิธีทางโครมาโทกราฟี หรือ อิเล็กโตรฟอเรซิสร่วมกับเครื่องตรวจวัดชนิดของธาตุหรือเลือกสรรความจำเพาะมวลของธาตุที่เกี่ยวข้อง ที่เรียกว่า เทคนิคคัปปลิง (coupling techniques) ซึ่งอาจมีหลายรูปแบบขึ้นกับการประกบคู่ระหว่างวิธีแยกทางเคมีและตรวจวัดทางสเปกโตรสโกปี เพื่อใช้วิเคราะห์สปีชีส์ของสารที่สนใจได้อย่างถูกต้อง แม่นยำ และรวดเร็ว

ในบรรดาเครื่องมือวิเคราะห์ที่มีจำหน่ายอยู่ทั่วไปนั้น ปัจจุบันยังมีข้อจำกัดอยู่เนื่องจากมีบางเทคนิคที่ต่อคู่ควบกันได้ เช่น LC-MS, LC-MS/MS, LC-ICP-MS, LC-ICP-OES, CE-MS และ GC-MS หรือ GC-AES เป็นต้น อย่างไรก็ตาม จะเห็นว่า มีการใช้เทคนิคร่วมกันได้ระดับหนึ่ง แต่ยังไม่มีความเหมาะสมใดที่ออกแบบเพื่อวิเคราะห์สปีชีส์ของโลหะอินทรีย์หรือโลหะอนินทรีย์ชนิดต่าง ๆ ได้พร้อมกัน และให้ความจำเพาะเจาะจงสูงแต่อย่างใด ทั้งนี้ขึ้นอยู่กับความพร้อมในห้องปฏิบัติการของกลุ่มวิจัยแต่ละแห่งที่จะประยุกต์ใช้ใช้งาน รูปที่ 1 แสดงแผนภาพเครื่องตรวจวัด ICP-MS ซึ่งใช้ได้ทั้งแบบตรวจวัดโดยตรงและตรวจวัดคู่ควบ



รูปที่ 1 แผนภาพแสดงการจัดส่วนประกอบเครื่อง ICP-MS (B'Hymer et al., 2000)

Rosenkranz and Bettmer (2000) ได้เสนอหลักการเบื้องต้นและการประยุกต์ใช้เทคนิค MIP-OES เพื่อศึกษาสปีชีส์ของปรอท ตะกั่ว เซเลเนียม ดีบุก สารหนู และเจอมันเนียม จากนั้นยังสามารถใช้ต่อคู่ควบกับเทคนิคอื่นได้อีกหลายระบบ เช่น LC-MIP-OES, SFC-MIP-OES, GC-MIP-OES, CZE-MIP-OES หรือแม้แต่เทคนิคออตโนมิตรุ่นใหม่ อย่างเช่น MCGC-MIP-OES เป็นต้น นอกจากนี้ การใช้แคปิลลารีแก๊สโครมาโทกราฟี (capillary GC) ต่อคู่ควบกับ ICP-MS สามารถเพิ่มประสิทธิภาพของการวิเคราะห์ โดยเฉพาะอย่างยิ่ง การหาสปีชีส์ที่เป็นสารอนุพันธ์อินทรีย์ (organic derivatives) ของปรอทหรือดีบุกในช่วง 0.5-12.0 ng/L หรือต่ำมากถึงระดับ fg (femtogram) อย่างไรก็ดี ในการพัฒนาเทคนิคการวิเคราะห์สปีชีส์นั้น อาจมีขีดจำกัดอยู่บ้าง หากพบว่า มีการสลายตัวของสารอินทรีย์แทรกซ้อนและยังไม่สามารถบ่งชี้เอกลักษณ์ของสารนั้นได้ ด้วยเหตุนี้จึงจำเป็นต้องวิเคราะห์เทียบกับเทคนิคอื่นด้วยโดยใช้สารมาตรฐานอ้างอิง

สปีชีส์ของโลหะหนักบางชนิดและการประยุกต์

ในการศึกษาสปีชีส์ของธาตุที่มีปริมาณน้อย ๆ ทางด้านเคมีที่เกี่ยวข้องกับชีวิตประจำวัน เริ่มมีบทบาทสำคัญมากขึ้นอย่างต่อเนื่อง ทั้งนี้เพราะมีการสำรวจและเฝ้าระวังการปนเปื้อนของโลหะต่าง ๆ ซึ่งมีศักยภาพของความเป็นพิษสูงต่อมวลมนุษย์ โดยเฉพาะอย่างยิ่ง การปนเปื้อนลงในอาหารและสารชีวภาพทางสิ่งแวดล้อม จึงควรหาปริมาณที่มีอยู่ดั้งเดิมและความละเอียดถูกต้องในการตรวจวัดธาตุที่มีทั้งปริมาณน้อยและน้อยมากที่สะสมอยู่ในร่างกายมนุษย์ อีกทั้งยังเป็นแรงผลักดันให้มีการพัฒนานวัตกรรมของเทคนิคการวิเคราะห์ใหม่ อยู่เสมอในแวดวงวิทยาศาสตร์ ด้วยเหตุนี้ จึงต้องศึกษาในรายละเอียดถึงกลไกต่าง ๆ ของการหมุนเวียนโลหะหนักบางชนิด ซึ่งมีบทบาทสำคัญต่อสิ่งมีชีวิตทั่วไปที่ต้องเผชิญกับความซับซ้อนของสภาพแวดล้อมเหล่านั้น อย่างไรก็ดีตาม สปีชีส์ของโลหะหนักที่เป็นพิษนั้นส่วนใหญ่แล้วจะมีเลขออกซิเดชัน 2 ค่า หรืออยู่ในสาร

ประกอบหลายอย่าง ธาตุบางชนิดมีความเป็นพิษมากเพียงค่าเดียว ธาตุบางชนิดก็เป็นพิษได้ทั้งคู่ เป็นต้น ตารางที่ 1 แสดงถึงศักยภาพในการประยุกต์เทคนิคคู่ควบที่ใช้วิธีแยกทางโครมาโทกราฟีด้วยกลไกต่าง ๆ และตรวจวัดด้วยเครื่อง ICP-MS (B' Hymer et al., 2000) จะเห็นว่า สามารถประยุกต์ใช้วิเคราะห์ปริมาณของโลหะหนัก เช่น As, Cr, Fe, Hg, Pb, Se, Sn, V ได้ผลเป็นที่น่าพอใจระดับหนึ่ง แต่ก็ยังไม่สามารถระบุถึงสปีชีส์ต่างๆ ของสารเหล่านั้นได้อย่างครบถ้วน ด้วยเหตุนี้จึงควรตระหนักถึงความสำคัญในการศึกษารายละเอียดเกี่ยวกับการพัฒนาเทคนิคการวิเคราะห์สปีชีส์ของโลหะหนักทั้งหลายในตัวอย่างดังกล่าว

ในบทความนี้ได้เสนอข้อมูลเปรียบเทียบโดยเน้นรายละเอียดเกี่ยวกับสปีชีส์หลัก ๆ ของโลหะหนักบางชนิด (ตารางที่ 2 และ 3) และเทคนิคการวิเคราะห์ที่ให้ทั้งความไวสูง ความจำเพาะเจาะจง ความถูกต้องแม่นยำ สะดวกและรวดเร็วเป็นสำคัญ ดังนี้

ปรอท (Mercury, Hg) การศึกษาพฤติกรรมของปรอทในสิ่งแวดล้อมถือว่าเป็นประเด็นสำคัญที่ต้องคำนึงถึงเป็นกรณีพิเศษ ทั้งนี้เนื่องจากการแพร่กระจายไปตามที่ต่างๆ ในสิ่งแวดล้อม (Johansson, 1996) โดยธรรมชาติแล้วปรอทจะเปลี่ยนรูปทางเคมีได้หลายรูปแบบด้วยกัน เช่น โลหะปรอท (Hg^0), ปรอทอินทรีย์ (Hg^{2+}), CH_3H^+ , $(CH_3)_2Hg$ และสปีชีส์ของปรอทอินทรีย์อื่น ๆ (Tseng et al., 1998)

ถ้าต้องการวิเคราะห์สปีชีส์ปรอทในตัวอย่างเลือด เนื้อปลา น้ำธรรมชาติ หรือ ตะกอนดินโดยเทคนิค GC ควรเลือกวิธีเตรียมตัวอย่างให้เหมาะสม รวมถึงขั้นตอนการสกัดด้วยตัวทำละลายอินทรีย์ผ่านสารเชิงซ้อน diethyldithiocarbamate (DDTC) ที่ pH ~ 7 แล้วเปลี่ยนเป็นสารอนุพันธ์โดยใช้ Grignard reagents วิธีนี้สามารถหาปริมาณ CH_3Hg และปรอทอินทรีย์ได้พร้อมๆ กัน ซึ่งเป็นสปีชีส์หลักที่พบมากที่สุด ในสิ่งแวดล้อม

ตารางที่ 1 การวิเคราะห์โลหะหนักบางชนิดโดยเทคนิคการแยกร่วมกับการตรวจวัด ICP-MS

Element	Sample type	Separation technique	Limits of detection
As	Chicken tissue Club soda Dogfish muscle (RM DORM-1) Urine samples (incl.SRM 2670) Urine, human (SRM 2670) Water samples Wine	RPHPLC IE(anion)HPLC IPRPPLC & IE(anion)HPLC IE(anion)HPLC M HPLC IPRPPLC IE(anion)HPLC	25 Bng/g in solid sample 0.16-0.60 ng for various species 50-300 pg of As 36-96 pg 90-300 pg for various species 11-51 pg/mL 0.16-0.60 ng for various species
Cr	(-ketonate chromium cpds. Geoporphyrins from oil shales Urine, human (SRM 2670)	SFC RPHPLC IE(anion)HPLC & IE(cation)HPLC	0.9-3 pg not reported 3 pg for various species
Fe	Geoporphyrins from oil shales	RPHPLC	Not reported
Hg	Contact lens solution Dogfish muscle (RMDORM-1) Tuna (albacore, NBSRM-50) Urine, human (incl.SRM 2670) Wastewater reference solution	RPHPLC RPHPLC RPHPLC IPRPPLC RPHPLC	20 ng/mL of Hg (as thimerosal) 70-160 pg of Hg (as methyl Hg) 16 ng/mL of Hg (as methyl Hg) 7-18 pg of Hg 70-160 pg of Hg(as inorganic Hg)
Pb	Blood Fuel (SRM 1637) Fuel (NISTSRM 2715) Urine, human (incl. SRM 2670) water	SECHPLC Capillary GC IPRPPLC SFC IPRPPLC IPRPPLC	0.15 ng/mL 0.7 pg/sec for various species 0.14-3.9 ng of Pb 0.5-3 pg for tetrabutyllead & 10-100 pg for tributyllead 0.2 pg of Pb 0.14-3.9 ng of Pb
Se	Cooked cod Serum, human (No.311089) Urine, human Urine, human (SRM 2670) Yeast, enriched	IE(anion)HPLC IPRPPLC IPRPPLC IPRPPLC IPRPPLC	0.008 mg/kg in dry solid <1 ng/mL for various species <1 ng/mL for various species 22-74 pg Se <1 ng/mL for various species
Sn	Harbor sediment Harbor sediment (CRMPACS-1) Harbor water samples Sediments Water	Capillary GC IPRPPLC IPRPPLC Capillary GC Capillary GC Capillary GC	3.0-6.5 pg/sec for organotin cpds. 2.8-16 pg Sn for variuos species 2.8-16 pg Sn for variuos species 15-35 fg of Sn 0.1-1.0 pg for organotin cpds. 3.0-6.5 /sec for organotin cpds.
V	Geoporphyrins from oil shales Urine, human (SRM 2670)	RPHPLC IE(anion)HPLC & IE(cation)HPLC	Not reported 0.024-0.114 ng

อักษรย่อ : CE, capillary electrophoresis; CRM, certified reference material; GC, gas chromatography; IEHPLC, ion-exchange high-performance liquid chromatography; IPRPHPLC, ion-pairing reversed-phase HPLC; MHPLC, micellar HPLC; RM, reference material; RPHPLC, reversed-phase HPLC; SEC HPLC, size-exclusion HPLC; SFC, supercritical fluid chromatography; SRM, standard reference material. ดัดแปลงจาก B'Hymer et al. (2000)

Wang et al. (1998) ใช้ 2,3-dimercapto-propane-1-sulfonate (DMPS) เป็นลิแกนด์ทำให้เกิดสารเชิงซ้อนกับปรอททั้งหมดซึ่งอาจอยู่ในรูป Hg^{2+} และหรือ CH_3Hg^+ ในตัวอย่างน้ำดื่มและอากาศแล้วตรวจวัดด้วย GFAAS โดยให้ Hg -DMPS ผ่านคาร์ทริดจ์ (cartridge) Sep-Pak C_{18} สองอันต่อกันเพื่อเพิ่มความเข้มข้นก่อนแล้วชะด้วยเมทานอล วิธีนี้ให้ขีดจำกัดต่ำสุดของการตรวจวัด 0.053 $\mu\text{g/L}$ มีความถูกต้อง 97.4-99.3% เมื่อตรวจสอบด้วยน้ำมาตรฐานที่เตรียมขึ้นจากธรรมชาติ นอกจากนี้ยังสามารถประยุกต์ใช้หา CH_3Hg^+ ในอากาศได้ต่ำถึง 1.3 ng อีกด้วย

เมื่อเร็ว ๆ นี้ Sartini et al. (2003) ได้วิเคราะห์ปรอททั้งหมดในน้ำจากแม่น้ำโดยการฉีดเม็ดเรซิน (bead injection) กล่าวคือ จะทำให้เม็ดเรซินนั้นแขวนลอยอยู่ในวิธีการไหลโดยที่เม็ดเรซิน (Chelex 100) จะเข้าไปบรรจุอยู่ในโพลีเอทิลีนเป็นคอลัมน์เล็ก ๆ อยู่ในช่องแสงผ่าน เมื่อผ่านปริมาตรตัวอย่างเข้าไปจะทำให้ไอออนปรอทถูกเหนี่ยวนำไว้บนผิวของเม็ดเรซินนั้น จากนั้นเมื่อผ่านสารเคมีที่ทำให้เกิดสีเข้าไป เช่น สีของสารเชิงซ้อน Hg -dithizone บนผิวของเม็ดเรซินก่อนจึงสามารถตรวจวัดได้ แล้วจึงกำจัดเม็ดเรซินที่ใช้แล้วทิ้งไป ปล่อยให้ระบบพร้อมรับตัวอย่างต่อไปได้อีกเรื่อย ๆ เทคนิคนี้ใช้ตรวจวัดได้จำนวนมากถึง 20 ครั้งต่อชั่วโมง ให้ค่าต่ำสุดของการตรวจวัด 0.9 (g/L) มีความแม่นยำ < 9% และให้ปริมาณสารคืนกลับในช่วง 91.2-109%

Garrido et al. (2004) ได้ติดตั้งระบบในขั้นตอนการสกัดแบบ cloud-point และช่วยเพิ่มความเข้มข้นได้เข้ากับโพลีวินิลแอลกอฮอล์เพื่อตรวจวัด Hg^{2+} ที่มีปริมาณน้อย ๆ ในตัวอย่างน้ำธรรมชาติ โดยให้ปรอทเกิดสารเชิงซ้อนกับ dithizone เช่นกัน มีการใช้คอลัมน์ซึ่งบรรจุสารเคมีที่เป็นของแข็ง (solid reagent) เพื่อใช้เตรียมสารแบบออนไลน์โดยมี 5%(v/v) Triton X-100 เป็นตัวทำละลาย ในการสกัดและเพิ่มความเข้มข้นด้วยวิธีนี้ เลือกใช้ Triton X-100 เป็นตัวสกัดต่อเนื่องจนกระทั่งได้สารเชิงซ้อนนั้นเต็มที่แล้วโดยกักไว้ใน

คอลัมน์เล็ก ๆ ที่บรรจุสารเคมี จากนั้นใช้น้ำร้อนชะสารเชิงซ้อนออกมาตรวจวัดที่ 500 nm เทคนิคนี้สามารถตรวจวัดได้มากถึง 30 ครั้งต่อชั่วโมงและให้ขีดจำกัดต่ำสุดได้ถึง 0.014 $\mu\text{g/L}$

Sanchez et al. (2000) ได้ทำการเพิ่มความเข้มข้นของสปีชีส์ปรอทในตัวอย่างน้ำด้วยวิธีสกัดผ่านเฟสของแข็งแล้วแยกโดยใช้ reverse phase HPLC ในขั้นตอนการสกัดนั้นใช้วิธีตรง dithizone ไว้บนคาร์ทริดจ์ของ reverse phase C_{18} ก่อนอีกด้วย ซึ่งเสถียรอยู่ได้นานถึงสองสัปดาห์ ส่วนขั้นตอนการแยกสารประกอบของปรอทอินทรีย์ด้วย HPLC นั้นสามารถแยก CH_3Hg^+ , $\text{C}_6\text{H}_5\text{Hg}^+$ และ Hg^{2+} ออกจากกันภายใน 10 นาที และสามารถเพิ่มความเข้มข้นได้สูงถึง 200 เท่า Mondal and Das (2003) ได้พัฒนาเรซินที่เติมหมู่ฟังก์ชัน 1,2-bis(o-aminophenylthio)ethane ซึ่งมีความจำเพาะมากกับปรอทเข้าไป เพื่อทำหน้าที่เฟสของแข็งในการเพิ่มความเข้มข้นและหาปริมาณสปีชีส์ปรอททั้งในรูป Hg^{2+} และ CH_3Hg^+ ในระดับ $\mu\text{g/L}$ ในตัวอย่างน้ำธรรมชาติด้วยเทคนิค cold vapor AAS วิธีนี้ให้ค่าต่ำสุดของการตรวจวัดได้ 0.09 (g/L)

ตะกั่ว (Lead, Pb) เมื่อก่อนปัญหามลพิษทางสิ่งแวดล้อมที่เกิดจากตะกั่วนี้มาจากสาเหตุหลัก คือ การใช้สารประกอบ tetraalkyllead (R_4Pb) ซึ่งเป็นสารที่ช่วยป้องกันเครื่องยนต์ติดขัด (antiknock additives) ในน้ำมัน (Johansson, 1996) โดยพบว่า สารจำพวก tri- (R_3Pb) และ dialkyllead (R_2Pb) มีความเสถียรค่อนข้างสูงในสิ่งแวดล้อม สปีชีส์ของตะกั่วอินทรีย์ (organoleads) นั้นมีหลากหลายชนิด เช่น tetramethyllead, $(\text{CH}_3)_4\text{Pb}$; trimethylethyllead, $(\text{CH}_3)_3\text{Pb}$; dimethyldiethyllead, $(\text{CH}_3)_2(\text{C}_2\text{H}_5)_2\text{Pb}$; methyltriethyllead, $(\text{CH}_3)(\text{C}_2\text{H}_5)_3\text{Pb}$; tetraethyllead, $(\text{C}_2\text{H}_5)_4\text{Pb}$; trimethyllead ion, $(\text{CH}_3)_3\text{Pb}^+$; dimethylethyllead ion, $(\text{CH}_3)_2(\text{C}_2\text{H}_5)_2\text{Pb}^+$; methyldiethyllead ion, $(\text{CH}_3)(\text{C}_2\text{H}_5)_3\text{Pb}^+$; triethyllead ion, $(\text{C}_2\text{H}_5)_3\text{Pb}^+$; dimethyllead ion, $(\text{CH}_3)_2\text{Pb}^+$; methylethyllead ion, $(\text{CH}_3)(\text{C}_2\text{H}_5)_2\text{Pb}^+$; diethyllead ion, $(\text{C}_2\text{H}_5)_2\text{Pb}^+$ และตะกั่วอินทรีย์ (Pb^{2+})

อย่างไรก็ตาม ถ้าต้องการตรวจวัดสปีชีส์ตะกั่ว ในตัวอย่างชีวภาพและสิ่งแวดล้อมก็ควรเตรียมตัวอย่าง ให้เหมาะสม โดยขจัดสิ่งเจือปนอื่นออกไปก่อน แล้ว จึงสกัดตะกั่วเข้าสู่ตัวทำละลายอินทรีย์ หรือถ้าหากเป็น พวกเกลือไอออนิกของตะกั่วอัลคิล ควรเลือกใช้วิธี ทำให้เกิดสารเชิงซ้อนกับ DDTC หรือ dithizone จากนั้นจึงทำเป็นสารอนุพันธ์กับ Grignard reagents แล้ว แยกสารเหล่านี้โดยใช้ GC และตรวจวัดด้วย QFAAS, MIP-AES หรือ MS เป็นต้น

สารหนู (Arsenic, As) Hsieh et al. (1999) ได้วิเคราะห์ As^{3+} และ As^{5+} ในตัวอย่างน้ำดื่ม และ As^{3+} ในสถานะไอออนอยู่ในอากาศด้วยเทคนิค GFAAS โดยใช้ 2,3-dimercaptopropane-1-sulfonate (DMPS) เป็นตัวทำให้เกิดสารเชิงซ้อน จากนั้นผ่านสารเชิงซ้อนนี้ ลงในคาร์ทริดจ์ Sep-Pak C₁₈ สองอันต่อกัน โดยที่ As^{5+} จะไม่ถูกกักไว้แล้วจะคาร์ทริดจ์แต่ละอันด้วยเอทานอล แล้วเติม Ni^{2+} ลงในส่วนที่ชะได้ก่อนใส่ลงในถ้วยกราไฟต์ (graphite cuvette) ส่วน As^{3+} นำมารีดิวซ์เป็น As^{3+} ก่อนด้วย L-cysteine แล้วจึงหาความเข้มข้น As^{3+} โดยการหักลบ As^{3+} ออกจากปริมาณทั้งหมดของส่วนผสม ระหว่าง As^{3+} กับ As^{5+}

Smichowski et al. (2000) ได้วิเคราะห์ As^{3+} และ As^{5+} ในน้ำธรรมชาติเช่นกันโดยใช้เยื่อไฮสแตเป็น ตัวดูดซับ As^{3+} ในสภาพที่มี As^{5+} ซึ่งต้องศึกษาพารามิเตอร์ ต่าง ๆ ที่มีผลกระทบต่อ การดูดซับ เช่น ตัวกลางของ ปฏิริยาและ pH ปริมาณมวลชีวภาพ ความเข้มข้น ของโลหะที่สนใจและเวลาในการดูดซับ เป็นต้น ในการหาสภาวะที่เหมาะสมเมื่อใช้ไฮสแตดูดซับ As^{3+} อยู่ นั้น As^{5+} ยังคงอยู่ในสารละลาย พบว่า สามารถเพิ่มความเข้มข้น As^{3+} ได้ถึง 7 เท่าเมื่อใช้น้ำตัวอย่าง 35 mL วิธี นี้ให้ขีดต่ำสุดของการตรวจวัด 0.1 และ 0.5 ng/mL สำหรับ As^{3+} และ As^{5+} ตามลำดับ และให้ปริมาณ สารคืนกลับในช่วง 92-106%

Caruso et al. (2001) ได้ประเมินผลสัมฤทธิ์ ของเทคนิคการสกัดสปีชีส์ของ As จากตัวอย่างผล แอบเปิ้ลแช่แข็งแล้วตรวจวัด As แต่ละสปีชีส์ด้วย

HPLC-ICP-MS การสกัดด้วยตัวทำละลายร่วมกับการ เขย่าผ่านคลื่นเหนือเสียง (sonication) โดยใช้ทั้ง สารละลายและที่ผสมกับตัวทำละลายต่างชนิดกัน แล้ว หาปริมาณ As ทั้งหมดโดย ICP-MS นอกจากจะใช้ วิธีสกัดดังกล่าวแล้วยังเปรียบเทียบผลการวิเคราะห์กับการเตรียมตัวอย่างโดยวิธีย่อยด้วยไมโครเวฟ (micro-wave) จากนั้นจึงหาสปีชีส์ของ As ที่สกัดได้โดย HPLC-ICP-MS ส่วนใหญ่จะพบสปีชีส์หลัก ๆ เพียง 3 ชนิด คือ อาร์ซีนไนท์ (arsenite) อาร์ซีนเนต (arsenate) และกรดไดเมทิลอาร์ซีนิก (dimethyl arsenic acid) พบว่า ในแอปเปิ้ลแช่แข็งจะมี As ทั้งหมดอยู่ในช่วง 8.2-80.9 $\mu\text{g/L}$ ค่อน้ำหนักแห้ง ซึ่งคิดเป็น As อนินทรีย์ ประมาณ 73-90% Ellwood and Maher (2003) ได้ ทำการสกัดสปีชีส์ As ด้วยกรด 0.5 M H_3PO_4 และ 0.1 M Hydroxylamine HCl จากตะกอนท้องทะเลแล้วทำ การแยกและตรวจวัดด้วย HPLC-ICP-MS ซึ่งพบความ แปรปรวนในการศึกษาสปีชีส์เหล่านี้ เมื่อสุ่มเก็บตัวอย่าง ตะกอนไว้วิเคราะห์ในสภาวะแตกต่างกัน

Yalcin and Le (2001) ได้วิเคราะห์สปีชีส์ As ทั้งที่อยู่ในรูปสารอินทรีย์และอนินทรีย์โดยวิธีสกัดด้วย เฟสของแข็งเช่นกัน และตรวจวัดด้วย FI-HG-AFS และ FI-HG-AAS พบว่า ได้ขีดจำกัดต่ำสุดของการตรวจวัด 0.05 $\mu\text{g/L}$ ในน้ำดื่มโดยวิธี HG-AFS นอกจากนี้ Martinez et al. (2001) ได้วิเคราะห์ As ทั้งหมด และ As อนินทรีย์ในตัวอย่างเบียร์โดย FI-HG-AFS ซึ่งก็ พบว่า เบียร์ที่จำหน่ายในท้องตลาดนั้นมี As ทั้งหมด อยู่ในช่วง 1.01-12.89 ($\mu\text{g/L}$ ต่อมา Shi et al. (2003) ได้หาปริมาณ As^{3+} และ As^{5+} ในดินโดยวิธีสกัดที่ละ ขั้นตอน คือ เริ่มจากใช้น้ำ แล้วใช้สารละลาย 0.6 M KH_2PO_4 จากนั้นก็ใช้ 1%(v/v) HCl และใช้ 1%(v/v) NaOH ตามลำดับ ร่วมกับวิธีตรวจวัดด้วย HG-AFS Balaji and Matsunaga (2002) ได้ศึกษาลักษณะการ ดูดซับ As^{3+} และ As^{5+} โดยใช้ TiO_2 ปนอยู่ในเรซิน Amberlite XAD-7 พบว่า ตัวดูดซับโลหะชนิดนี้สามารถ ดูดซับ As^{3+} ได้ดีกว่า As^{5+} ในเรื่องความเร็วและความจุ ของการดูดซับ Almela et al. (2002) ได้ตรวจวิเคราะห์

As ทั้งหมด และ As อนินทรีย์ รวมทั้งโลหะหนักอื่น ๆ ในผลิตภัณฑ์สำหรับจำนวน 18 ชนิด Chanthai et al. (2007) ได้ตรวจวัด As^{3+} และ As^{5+} รวมทั้งปริมาณ As ทั้งหมดในตัวอย่างไวน์ผลไม้ไทยและสุรากลั่น โดยใช้เทคนิค continuous flow HG-AAS พบว่ามี As^{5+} ในปริมาณน้อย ๆ ตกค้างในตัวอย่างไวน์เป็นส่วนใหญ่ และพบ As^{3+} ตกค้างในสุรากลั่นเป็นบางตัวอย่างเท่านั้น

เหล็ก (Iron, Fe) Tawari and Schwedt (1997) ใช้เทคนิค SPE ร่วมกับ FAAS วิเคราะห์สปีชีส์ของ Fe^{2+} และ Fe^{3+} โดยทำให้เกิดสารเชิงซ้อนกับ 1,10-phenanthroline (Phen) และ ferron (8-hydroxy-7-iodoquinoline-5-sulfonic acid) ตามลำดับ จากนั้นให้ผ่านสารเชิงซ้อนตัวแรกลงในเฟสแบบที่ไม่มีตัวเชื่อมและสารเชิงซ้อนอีกตัวลงในเฟสชนิดที่แลกเปลี่ยนแอนไอออน แล้วชะสารแต่ละตัวเข้าสู่ FAAS โดยตรง ในกรณีที่วิเคราะห์สารโดยทางอ้อมนั้น ให้ตรวจวัด Fe^{2+} -Phen ที่ไหลผ่านเฟสที่แลกเปลี่ยนไอออนโดยไม่ถูกดูดซับไว้ แล้วหาปริมาณ Fe^{3+} จากการคำนวณความแตกต่างระหว่างเหล็กทั้งหมดกับ Fe^{2+} ทั้งนี้ได้ประยุกต์ใช้วิเคราะห์สปีชีส์เหล็กในตัวอย่างไวน์ เช่น ในไวน์ชนิดหนึ่งมีเหล็กทั้งหมด 2.96 mg/L แต่เมื่อวิเคราะห์ในรูป Fe^{2+} และ Fe^{3+} จะได้ 0.79 และ 1.82 mg/L ตามลำดับ Kuwabara et al. (1999) ได้พัฒนาวิธีใหม่เกี่ยวกับการวัดศักย์ไฟฟ้าขณะไทเทรตต่อเนื่องเพื่อหาปริมาณ Fe^{2+} และ Fe^{3+} ด้วย Co^{2+} ในสภาพที่มี Phen และประยุกต์ใช้หาองค์ประกอบของ Fe^{2+} และ Fe^{3+} ในแร่เหล็ก Ugo et al. (2002) ก็ใช้วิธีโพเทนชิโอเมตรีและโวลแทมเมตรี ซึ่งใช้ไอโอโนเมอร์เคลือบผิวอิเล็กโทรดสำหรับแลกเปลี่ยนไอออน เพื่อวิเคราะห์ Fe^{2+} และ Fe^{3+} ได้เช่นกัน

นอกจากนี้การใช้เชื้อ *Aspergillus niger* ซึ่งตรึงไว้บนเซปอลไลท์ (sepiolite) ทำหน้าที่เป็นวัสดุดูดซับโดยการเพิ่มความเข้มข้นของ Fe^{2+} เพื่อแยก Fe^{2+} ออกจาก Fe^{3+} ในตัวอย่างน้ำ แล้วตรวจวัดด้วย FAAS (Bag et al., 2001) Chen and Naidu (2004) ได้แยกสปีชีส์ Fe^{2+} และ Fe^{3+} โดยทำให้เกิดสารเชิงซ้อนกับ 2,6-PCDA ในคอลัมน์แยกของ CE และสามารถเพิ่ม

ความไวในการตรวจวัด เมื่อใช้วิธีนิตสารแบบ LVSS ซึ่งสามารถเพิ่มความเข้มข้นของ $Fe[PCDA]_2^{2-}$ และ $Fe[PDCA]_2^-$ ในขณะที่ไหลต่อเนื่อง

พลวง (Antimony, Sb) Hou and Narasaki (1998) ได้วิเคราะห์ Sb^{3+} และ Sb^{5+} โดยเทคนิค HG-ICP-AES ก่อนอื่นได้หาปริมาณ Sb ทั้งหมดในสารละลาย 0.1 M HCl หลังจากรีดิวซ์ Sb^{5+} ด้วยสารละลาย 1%(w/v) KI ขณะที่ Sb^{3+} หาได้จากสารละลาย 0.1 M กรดซิตริก pH 5.5 แล้วผลิตแก๊สไฮโดรด์ของแต่ละสปีชีส์ผ่านชุดผสมสารและแยกแก๊สเข้าสู่ปลาวลาสมาได้อย่างต่อเนื่อง Zheng et al. (2000) ได้ศึกษาสปีชีส์ของพลวง (Sb^{3+} และ Sb^{5+}) ในตัวอย่างจากสิ่งแวดล้อม เช่น น้ำประปา สารละลายที่ได้จากการสกัดฝุ่นละอองในอากาศโดยใช้ HPLC-ICP-MS พบว่า กราฟมาตรฐานมีช่วงเส้นตรงค่อนข้างกว้าง (1.0-100 $\mu\text{g/L}$)

ดีบุก (Tin, Sn) Han et al. (1995) ใช้เทคนิค CE วิเคราะห์สปีชีส์สารประกอบอินทรีย์ของดีบุก (organotins) โดยศึกษาอิทธิพลของ cetyltrimethylammonium bromide (CTAB) ต่อประสิทธิภาพในการแยก dimethyltin (DMT), dibutyltin (DBT) และ tributyltin (TBT) ภายในเวลา 6 นาที Yoshinaga et al. (1998) ได้รายงานผลการวิเคราะห์สปีชีส์ของดีบุกอินทรีย์ในวัสดุอ้างอิง เพื่อใช้เป็นมาตรฐานตรวจสอบตะกอนจากพื้นผิวใต้ท้องทะเล ซึ่งประกอบด้วย TBT 0.19 ± 0.03 mg/kg dry wt, triphenyltin (TPT) 0.008 mg/kg dry wt และดีบุกทั้งหมด 10.7 ± 1.4 mg/kg dry wt

วานาเดียม (Vanadium, V) Himeno et al. (1998) ใช้โวลแทมเมตรีวิเคราะห์สปีชีส์ของวานาเดียมในรูปสารเชิงซ้อน $[VMO_{12}O_{40}]^{3-}$ คือเฉพาะ V^{5+} เท่านั้นที่ทำปฏิกิริยากับ Mo^{6+} แล้วเกิดสารเชิงซ้อนนี้ได้ จากนั้นจึงออกซิไดซ์ V^{4+} ไปเป็น V^{5+} ในส่วนผสมของ V^{5+} กับ V^{4+} แล้วหาความเข้มข้นของวานาเดียมทั้งหมด วิธีนี้อาจถูกรบกวนจากพวก oxoanions ที่หลาย เช่น PO_4^{3-} , AsO_4^{3-} , SiO_4^{4-} , GeO_4^{4-} Nukatsuka et al. (2002) ได้วิเคราะห์ V^{4+} และ V^{5+} โดยวิธีสกัดผ่านเฟสของแข็งที่มีความจำเพาะกับวานาเดียมสปีชีส์แล้วฉีดเข้าเครื่อง

ETAAS โดยตรง กล่าวคือ เลือกใช้ Chromazurol B และ N-cinnamoly-N-2,3-xylylhydroxylamine ทำให้เกิดสารเชิงซ้อนกับ V^{4+} และ V^{5+} ตามลำดับ โดยให้สารเชิงซ้อนเหล่านี้แขวนลอยอยู่ในเรซินแบบแลกเปลี่ยนแอนไอออน นอกจากนี้ ยังได้วิเคราะห์วานาเดียมทั้งหมดอีกด้วยโดยการรีดิวซ์ V^{5+} ด้วยกรดแอสคอร์บิก (ascorbic acid) พร้อมทั้งประยุกต์ใช้ศึกษาการเปลี่ยนแปลงเลขออกซิเดชันของวานาเดียมในระหว่างการเก็บรักษาตัวอย่างน้ำทะเลที่ปรับสภาพกรดไว้แล้วอีกด้วย

เซเลเนียม (Selenium, Se) ความเป็นพิษและธรรมชาติที่สำคัญของเซเลเนียมในสิ่งแวดล้อม ขึ้นอยู่กับความเข้มข้นและรูปแบบทางเคมีที่พบนั้นด้วย (Pyrzynska, 1998) ในน้ำธรรมชาติจะพบเซเลเนียมอนินทรีย์ละลายอยู่ในรูปเซเลไนด์ (Se^{2-}) คอลลอยด์ของเซเลเนียม (Se^0) เซเลไนด์ (Se^{4-}) และเซเลเนต (Se^{6-}) ส่วนเซเลเนียมอนินทรีย์ที่ระเหยง่ายอาจพบอยู่ในจุลินทรีย์อากาศ หรือในแหล่งน้ำตามสภาพแวดล้อมทั่วไป ซึ่งเป็นพวกเมทิลเซเลไนด์ (methylselenides), $(CH_3)_2Se$ และกรดอะมิโนของเซเลเนียม (selenoamino acids) โดยเน้นถึงเทคนิคการวิเคราะห์เซเลเนียมแต่ละสปีชีส์ Sanz-Medel and Blanco-Gonzalez (2002) ได้ศึกษาสปีชีส์ของกรดอะมิโนที่เป็นอนุพันธ์ของเซเลเนียมและยังมีสมบัติโครโมอิกด้วย โดยอาศัย HPLC-ICP-MS หรือ GC-ICP-MS เป็นหลัก

โครเมียม (Chromium, Cr) Grudpan et al. (1999) ได้วิเคราะห์ Cr^{6+} และ Cr^{3+} โดยใช้เทคนิค FIA ร่วมกับการสกัดสารเชิงซ้อนที่ได้จากปฏิกิริยาระหว่าง Cr^{6+} กับ 1,5-diphenylcarbazide ผ่านเฟสของแข็งที่บรรจุ C_{18} ในวาล์วคอลัมน์สั้น ๆ ส่วน Cr^{3+} จะถูกออกซิไดซ์ในระบบที่ไหลต่อเนื่องไปเป็น Cr^{6+} โดยใช้ Ce^{4+} จนกระทั่งได้โครเมียมทั้งหมดแล้วหา Cr^{3+} ได้จากผลต่าง ทั้งนี้เทคนิคการสกัดสารผ่านคอลัมน์ลักษณะนี้จะช่วยแยกสารเหล่านี้ออกจากกันได้ก่อนในระดับหนึ่ง และยังช่วยเพิ่มความเข้มข้นอีกด้วย

Qian et al. (2001) ได้พัฒนาวิธีใหม่สำหรับศึกษาสปีชีส์ของโครเมียมโดยใช้โคโคซาน

ด้วยกลไกการแยกและเพิ่มความเข้มข้นแล้วตรวจวัดด้วย GFAAS พบว่า โคโคซานสามารถดูดซับ Cr^{6+} และ Cr^{3+} ได้ 98% และ 20% ที่ pH 3 ตามลำดับ แล้วใช้ 0.1M NaOH เลือกชะเฉพาะ Cr^{6+} ออกมา ส่วน Cr^{3+} ก็หาได้จากผลต่างของโครเมียมทั้งหมดในทำนองเดียวกัน Borai et al. (2002) ได้ศึกษาสปีชีส์ Cr^{6+} ในตัวอย่างฝุ่นละอองในอากาศ โดยวิธีเลือกสกัดและไอออนโครมาโทกราฟีเมื่อชะ Cr^{6+} ออกจากคอลัมน์โดยทำให้เกิดสารเชิงซ้อนกับ pyridine-2,6-dicarboxylic acid แล้วทำอนุพันธ์ภายหลังด้วย 1,5 diphenyl carbohydrazide เพื่อตรวจวัดที่ 520 nm Vonderheide et al. (2004) ใช้เทคนิคคีเลตไอออนโครมาโทกราฟีสมรรถนะสูง (high performance chelate-ion chromatography, HPCIC) แยก Cr^{3+} และ Cr^{6+} บนคอลัมน์แลกเปลี่ยนแอนไอออนโดยใช้ HNO_3 pH 1.5 และ 6 mM 2,6-pyridinedicarboxylic acid เป็นเฟสเคลื่อนที่ แล้วตรวจวัดด้วย ICP-MS วิธีนี้ให้ขีดจำกัดต่ำสุดของการตรวจวัด 0.3 และ 0.8 $\mu g/L$ สำหรับ Cr^{3+} และ Cr^{6+} ตามลำดับ

มังกานีส (Manganese, Mn) Zhang et al. (1998) ใช้วิธีไอโอโดเมทรีเพื่อวิเคราะห์ปริมาณ Mn^{2+} , Mn^{7+} , Cr^{3+} และ Cr^{6+} ได้พร้อม ๆ กัน และเปรียบเทียบกับผลการวิเคราะห์กับเทคนิค AAS ซึ่งวิธีทั้งสองใช้เวลาวิเคราะห์นานเท่า ๆ กัน (25-30 นาที) วิธีไอโอโดเมทรีที่พัฒนาขึ้นใหม่นี้แม้ว่าจะเป็นเทคนิคการไทเทรตแบบธรรมดา แต่ให้ขีดจำกัดต่ำสุดของการตรวจวัดได้ต่ำมากหรือมีความไวสูงกว่าการฟอสฟอเมตฐานให้ช่วงเส้นตรงกว้างกว่า และมีความแม่นยำสูงกว่าด้วย นอกจากนี้ Qian et al. (2001) ได้พัฒนาวิธีใหม่โดยใช้โคโคซานประเภทที่เชื่อมยึดโครงร่าง (cross-linked chitosan) ไว้แล้วมาประยุกต์ใช้แยกและเพิ่มความเข้มข้นของ Mn^{7+}/Mn^{2+} แล้วตรวจวัดด้วย FAAS พบว่า โคโคซานชนิดนี้สามารถดูดซับ Mn^{7+} ได้สูงถึง 98% ที่ pH 3 ขณะที่ Mn^{2+} จะไม่ถูกดูดซับไว้เลย แต่หาปริมาณได้จากมังกานีสทั้งหมดที่มีอยู่ในน้ำตัวอย่างหลังจากเปลี่ยนรูป Mn^{2+} ไปเป็น Mn^{7+} แล้ว

ตารางที่ 2 การวิเคราะห์สปีชีส์และขีดจำกัดต่ำสุดการตรวจวัดปรอท ตะกั่ว สารหนู เหล็ก และพลวง

Elemental species	Sample type	Analytical/Separation technique	Detection	Limits of detection	Reference
Hg(II), methyl Hg	Environmental matrices	D-HG-CT-GC-QFAAS	AAS	0.5, 3.0 and 0.1 ng/L for sediments, bio. tissues and aq. samples, respectively	Tseng et al. (1998)
Pb(II) and various species of organoleads	Snow, wine, rain water, road dust, urban dust, peat samples, gasoline	EDTA/DDTC cpx., solvent extraction, purge and trap	Not reported.	Not reported in this reference	Modified from Rosenkranz and Bettmer (2000)
As(III), As(V)	Drinking water and As(III) vapor in air	As(III)-DMPS cpx.	GFAAS	0.11 µg/L for As(III) and 0.15 µg/L for As(V)	Hsieh et al. (1999)
Fe(II), Fe(III)	Water samples	On-column complexation using 2,6-PDCA and LVSS	CE	0.10 µM for Fe(II) and 0.05 µM for Fe(III)	Chen and Naidu (2004)
Sb(III),Sb(V)	Environmental samples (airborne particulates)	IE(anion)HPLC	ICP-MS	10 and 30 pg / 100 µL sample for Sb(V) and Sb(III)	Zheng et al. (2000)

อักษรย่อ : AAS, atomic absorption spectrometry; D-HG-CT-GC-QFAAS, Derivatization-hydride generation-cryogenic trapping-gas chromatography-quartz furnace AAS; EDTA/DDTC, ethylene diammine tetraacetic acid / diethyldithiocarbamate; DMPS, 2,3-dimercaptopropane-1-sulfonate; 2,6-PDCA, 2,6-pyridinedicarboxylic acid; LVSS, large-volume sample stacking; CE, capillary electrophoresis; IE(anion)HPLC, anion-exchange HPLC; ICP-MS, inductively coupled plasma-mass spectrometry

ตารางที่ 3 การวิเคราะห์สปีชีส์และขีดจำกัดต่ำสุดการตรวจวัดตะกั่ว วานาเดียม เซเลเนียม โครเมียม และมังกานีส

Elemental species	Sample type	Analytical/Separation technique	Detection	Limits of detection	Reference
Dimethyltin, dibutyltin, tributyltin, Total Sn	Marine sediment certified reference material, environmental sample	GC-ECD, GC-FPD, GC-MS, HPLC-ICP-MS, INAA, HG-AAS, ET-AAS, FI-ICP-MS, ID-ICP-MS, CE	ECD, FPD, MS, ICP-MS, AAS, INAA, UV	1.3-11.2 mg/L	Han et al. (1995); Yoshinaga et al. (1998)
V(IV),V(V)	Natural water	V(V)-CXA cpx. and solid-phase extraction	ET-AAS	0.02 ng/mL for 40 mL sample	Nukatsuka et al. (2002)
Se(-II), Se(0), Se(IV),Se(VI)	Environmental analysis	FI-HG-AAS and various methods	FAAS, ICP-MS	10, 1 and 0.1 ng of Se for FAAS, GFAAS and ICP-MS, respectively	Pyrzynska (1998)
Cr(III),Cr(VI)	Industrial waste water Environmental water	FIA Separation and precon. on chitosan	LED GFAAS	0.02 µg/mL for Cr(VI) 0.0468 µg/L for Cr(VI)	Grudpan et al. (1999) Xue et al.(2000)
Mn(II),Mn(VII)	Tape water and Lake water	Separation and precon. on CCTS	FAAS	1.98 µg/L for Mn(VII)	Qian et al. (2001)

อักษรย่อ : AAS, atomic absorption spectrometry; D-HG-CT-GC-QFAAS, Derivatization-hydride generation-cryogenic trapping-gas chromatography-quartz furnace AAS; EDTA/DDTC, ethylene diammine tetraacetic acid / diethyldithiocarbamate; DMPS, 2,3-dimercaptopropane-1-sulfonate; 2,6-PDCA, 2,6-pyridinedicarboxylic acid; LVSS, large-volume sample stacking; CE, capillary electrophoresis; IE(anion)HPLC, anion-exchange HPLC; ICP-MS, inductively coupled plasma-mass spectrometry

บทสรุป

ปัจจุบันนี้การวิเคราะห์ธาตุต่างชนิดกันหลายๆ ธาตุหรือธาตุชนิดเดียวกันแต่มีหลายรูปแบบในตัวอย่างใด ๆ ทั้งในเชิงคุณภาพและปริมาณได้รับความสนใจและพัฒนาก้าวหน้าไปอย่างรวดเร็ว มีเพียงแต่จะพิจารณาว่าในตัวอย่างนั้นจะมีธาตุใดเป็นองค์ประกอบหลัก หรือองค์ประกอบรอง ชนิดของแต่ละองค์ประกอบ ปริมาณของแต่ละชนิด หรือมีการเลือกใช้เทคนิคการวิเคราะห์แบบใดจึงจะให้ความจำเพาะสูง มีความไวสูงสุด สะดวกรวดเร็ว และให้ความถูกต้องและแม่นยำด้วย ทั้งนี้ นักเคมีวิเคราะห์ได้ตระหนักอยู่เสมอว่า จะสามารถตรวจวัดสารได้ในระดับต่ำกว่า pg หรือ fg ซึ่งผ่านเลขระดับ ng ไปแล้ว

จะเห็นว่า ในการศึกษาสปีชีส์ของโลหะหนักข้างต้นนี้ ทำให้ทราบรายละเอียดของการจำแนกธาตุได้ค่อนข้างละเอียดชัดเจน รวมถึงแนวโน้มของกระบวนการไหลเวียน หรือวัฏจักรของพวกโลหะหนักทั้งหลายที่มีศักยภาพของความเป็นพิษต่อสิ่งมีชีวิตและสิ่งแวดล้อม ในการหาสปีชีส์ของโลหะดังกล่าวโดยใช้เทคนิคกลุ่มเป็นส่วนใหญ่นั้น สามารถตรวจวัดได้ค่อนข้างจำเพาะเจาะจงและให้ความไวสูงในการตรวจวัด อย่างไรก็ตาม มีการพัฒนาเทคนิคการวิเคราะห์และประยุกต์ใช้เครื่องมือสมัยใหม่อยู่อย่างจำกัด (Rosenkranz et al., 1999; Rosenkranz and Bettmer, 2000) ส่วนใหญ่แล้วเป็นการตรวจวิเคราะห์ตัวอย่างน้ำเสีย หรือตัวอย่างจากสิ่งแวดล้อมเทียบกับสารมาตรฐานอ้างอิง หากจะพิจารณาถึงแนวโน้มในการศึกษาสปีชีส์ของโลหะใดก็ตาม อาจต้องคำนึงถึงวิธีการเพิ่มความเข้มข้นและการสุ่มเก็บและรักษาตัวอย่างควบคู่ไปด้วย ทั้งนี้ความสัมพันธ์ระหว่างปริมาณของสปีชีส์ต่าง ๆ กับปริมาณทั้งหมดที่วิเคราะห์ได้นั้นควรมีค่าสหสัมพันธ์สูง ด้วยเหตุนี้ ในขั้นตอนเตรียมตัวอย่างก่อนการวิเคราะห์สปีชีส์ ถือว่าเป็นปัจจัยสำคัญที่ต้องหาสภาวะที่เหมาะสมก่อนที่จะนำสารละลายนั้นไปตรวจวิเคราะห์ด้วยเทคนิคอื่นต่อไป โดยเฉพาะอย่างยิ่ง สารอินทรีย์ของโลหะหนักมีโอกาสดูดซับได้หลายชนิด

นอกจากนี้ โลหะหนักทั้งหลายยังสามารถเกิดพันธะได้กับสารชีวโมเลกุลที่มีขนาดใหญ่ เช่น โปรตีน คาร์โบไฮเดรต เป็นต้น ฉะนั้น การจำแนกสปีชีส์ของโลหะจึงมิได้จำกัดอยู่เฉพาะในรูปโลหะอินทรีย์ และโลหะ อินทรีย์ที่มีโครงสร้างโมเลกุลง่าย ๆ เท่านั้น

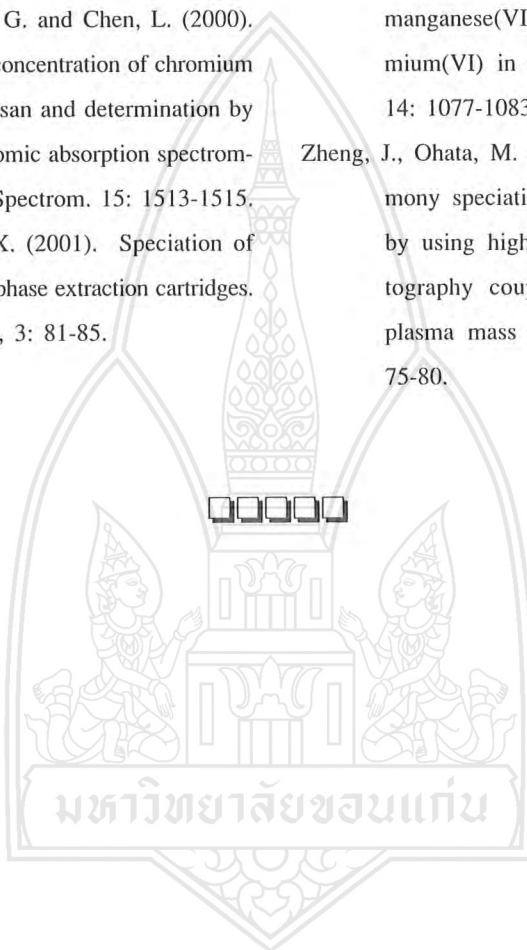
เอกสารอ้างอิง

- Almela, C., Algola, S., Benito, V., Clemente, M.J., Devesa, V., Suner, M.A., Velez, D. and Montoro, R. (2002). Heavy metal, total arsenic, and inorganic arsenic contents of algae food products. *J. Agric. Food Chem.* 50: 918-923.
- Bag, H., Turker, A.R., Tunceli, A. and Lale, M. (2001). Determination of Fe(II) and Fe(III) in water by flame atomic absorption spectrophotometry after their separation with *Aspergillus niger* immobilized on sepiolite. *Anal. Sci.* 17: 901-904.
- Balaji, T. and Matsunaga, H. (2002). Adsorption characteristics of As(III) and As(V) with titanium dioxide loaded Amberlite XAD-7 resin. *Anal. Sci.* 18: 1345-1349.
- Borai, E.H., El-Sofany, E.A. and Abdel-Halim, A.S. (2002). Speciation of hexavalent chromium in atmospheric particulate samples by selective extraction and ion chromatographic determination. *Trends Anal. Chem.* 21(11): 741-745.
- Caruso, J.A., Heitkemper, D.T. and BHymer, C.B. (2001). An evaluation of extraction techniques for arsenic species from freeze-dried apple samples. *Analyste.* 126: 136-140.
- Chanthai, S., Suwamat, N., Ruangviriyachai, C. And Danvirutai, P. (2007). Speciation analysis of arsenic (III), arsenic (V) and total arsenic

- by continuous flow HG-AAS in Thai fruit wines and distilled spirits. *ASEAN Food J.* 14(3): 181-196.
- Chen, Z.L. and Naidu, R. (2004). On-column complexation capillary electrophoretic separation of Fe^{2+} and Fe^{3+} using 2,6-pyridinedicarboxylic acid coupled with large-volume sample stacking. *J.Chromatog. A.* 1023: 151-157.
- Ellwood, M.J. and Maher, W.A. (2003). Measurement of arsenic species in marine sediments by high-performance liquid chromatography-inductively coupled plasma mass spectrometry. *Anal. Chim. Acta.* 477: 279-291.
- Garrido, M., Di Nezio, M.S., Lista, A.G., Palomeque, M. and Fernandez Band, B.S. (2004). Cloud-point extraction/preconcentration on-line flow injection method for mercury determination. *Anal. Chim. Acta.* 502: 173-177.
- Grudphan, K., Worakijcharoenchai, N., Tue-Ngeun, O., Sooksamitti, P. and Jakmunee, J. (1999). Flow injection spectrophotometry for speciation of Cr(VI) an Cr(III) using diphenylcarbazide and solid phase extraction with C18 in-valve mini-column. *ScienceAsia.* 25: 99-106.
- Han, F., Fasching, J.L. and Brown, P.R. (1995). Speciation of organotin compounds by capillary electrophoresis using indirect ultraviolet absorbance detection. *J. Chromatog. B.* 669: 103-112.
- Himeno, S., Kusuyama, K., Hashimoto, M. and Ishio, N. (1998). Voltammetric determination of vanadium(V) and vanadium(IV) through the formation of a 12-molybdovanadate(V) complex. *Anal. Sci.* 14: 681-685.
- Hou, H.-B. and Narasaki, H. (1998). Differential determination of antimony(III) and antimony (V) by inductively coupled plasma atomic emission spectrometry with hydride generation. *Anal. Sci.* 14: 1161-1164.
- Hsieh, C.-J., Yen, C.-H. and Kuo, M.-S. (1999). Determination of trace amounts of arsenic(III) and arsenic(V) in drinking water and arsenic(III) vapor in air by graphite-furnace atomic absorption spectrophotometry using 2,3-dimercaptopropane-1-sulfonate as a complexing agent. *Anal. Sci.* 15: 669-673.
- Hymer, C., Brisbin, J.A., Sutton, K. L. and Caruso, J.A. (2000). New approaches for elemental speciation using plasma mass spectrometry. *American Lab.*, February: 17-39.
- Johansson, M. (1996). Speciation of lead. <http://www.anachem.umu.se/aas/mercury.htm>
- Kuwabara, M., Katsumata, H., Teshima, N., Kurihara, M. and Kawashima, T. (1999). Successive potentiometric titration of iron(II) and iron(III) with cobalt(II) in the presence of 1,10-phenanthroline. *Anal. Sci.* 15: 657-660.
- Martinez, A., Morales-Rubio, A. Cervera, M.L. and de la Guardia, M. (2001). Atomic fluorescence determination of total and inorganic arsenic species in beer. *J. Ana . At . Spectrom.* 16: 762-766.
- Mondal, B.C. and Das, A.K. (2003). Determination of mercury species with a resin functionalized with a 1,2-bis(o-aminophenylthio)ethane moiety. *Anal. Chim. Acta.* 477: 73-80.
- Nukatsuka, I., Shimizu, Y. and Ohzeki, K. (2002). Determination of V(IV) and V(V) by electrothermal atomic absorption spectrometry following selective solid-phase extraction and

- the study on the change in the oxidation state of vanadium species in seawater during the sample storage. *Anal. Sci.* 18: 1009-1014.
- Pyrzynska, K. (1998). Speciation of selenium compounds. *Anal. Sci.* 14: 479-483.
- Qian, A.X.S., He, G.H.F. and Han, X.F. (2001). Speciation and preconcentration of Mn^{VII}/Mn^{II} speciation on crosslinked chitosan and determination by flame atomic absorption spectrometry. *Analyst.* 126: 239-241.
- Rosenkranz, B., Quevauviller, P. and Bettmer, J. (1999). Development of an automated speciation analyzer. *American lab.* October: 17-24.
- Rosenkranz, B. and Bettmer, J. (2000). Microwave-induced plasma-optical emission spectrometry - fundamental aspects and applications in metal speciation analysis. *Trends Anal. Chem.* 19, (2+3): 138-156.
- Sanz-Medel, A. and Blanco-Gonzalez, E. (2002). Chiral trace-element speciation in biological samples: present importance and application to speciation for seleno-amino acids. *Trends Anal. Chem.* 21, (11): 709-716.
- Sanchez, D.M., Martin, R., Morante, R., Martin, J. and Munuera, M.L. (2000). Preconcentration speciation method for mercury compounds in water samples using solid phase extraction followed by reverse phase high performance liquid chromatography. *Talanta.* 52: 671-679.
- Sartini, R.P., Vidotti, E.C. and Oliveira, C.C. (2003). Bead-injection determination of total mercury in river water samples. *Anal. Sci.* 19: 1653-1657.
- Shi, J.-B., Tang, Z.-Y., Jin, Z.-X., Chi, Q., He, B. and Jiang, G.-B. (2003). Determination of As(III) and As(V) in soils using sequential extraction combined with flow injection hydride generation atomic fluorescence detection. *Anal. Chim. Acta.* 477: 139-147.
- Smichowski, P., Marrero, J., Ledesma, A., Polla, Griselda and Batistoni, D.A. (2000). Speciation of As(III) and As(V) in aqueous solutions using baker's yeast and hydride generation inductively coupled plasma atomic emission spectrometric determination. *J. Anal. At. Spectrom.* 15: 1493-1497.
- Tawali, A.B. and Schwedt, G. (1997). Combination of solid phase extraction and atomic absorption spectrometry for differentiated analysis of labile iron (II) and iron (III) species. *Fres. J. Anal. Chem.* 357: 50-57.
- Tseng, C.M., de Diego, A., Pinaly, H., Amouroux, D. and Donard, O.F.X. (1998). Cryofocusing coupled to atomic absorption spectrometry for rapid and simple mercury speciation in environmental matrices. *J. Anal. At. Spectrom.*, August, 13: 755-764.
- Ugo, P., Moretto, L.M., Boni, A. D., Scopece, P. and Mazzocchin G.A. (2002). Iron(II) and iron(III) determination by potentiometry and ion-exchange voltammetry at ionomer-coated electrodes. *Anal. Chim. Acta.* 474: 147-160.
- Vonderheide, A.P., Meija, J., Tepperman, K., Puga, A., Pinhas, A.R., States, J.C. and Caruso, J.A. (2004). Retention of Cr(III) by high-performance chelation ion chromatography interfaced to inductively-coupled plasma mass spectrometric detection with collision cell. *J. Chromatog. A.* 1024: 129-137.

- Wang, H.-C., Hwang, Y.-C., Hsieh, C.-J. and Kuo, M.-S. (1998). Determination of total mercury in drinking water and of methylmercury in air by graphite-furnace atomic absorption spectrophotometry using 2,3-dimercaptopropane-1-sulfonate as a complexing agent. *Anal. Sci.* 14: 983-986.
- Xue, A., Qian, S., Huang, G. and Chen, L. (2000). Separation and preconcentration of chromium speciation on chitosan and determination by graphite furnace atomic absorption spectrometry. *J. Anal. At. Spectrom.* 15: 1513-1515.
- Yalcin, S. and Chris Le, X. (2001). Speciation of arsenic using solid phase extraction cartridges. *J. Environ. Monit.*, 3: 81-85.
- Yoshinaga, J., Kon, H., Horiguchi, T. and Morita, M. (1998). Marine sediment certified reference material for tin speciation. *Anal. Sci.* 14: 1121-1125.
- Zhang, M., Zhan, G. and Chen, Z. (1998). Iodometric amplification method for the determinations of microgram amounts of manganese(II), manganese(VII), chromium(III) and chromium(VI) in aqueous solution. *Anal. Sci.* 14: 1077-1083.
- Zheng, J., Ohata, M. and Furuta, N. (2000). Antimony speciation in environmental samples by using high-performance liquid chromatography coupled to inductively coupled plasma mass spectrometry. *Anal. Sci.* 16: 75-80.



การจำแนกสมาชิกนิพผล สมาชิกที่หาตัวผกผันได้ และสมาชิกปกติในริง $M_2(\mathbb{Z}_9)$ Characterization of Idempotent, Invertible and Regular Elements in Ring $M_2(\mathbb{Z}_9)$

สมจิต โชติชัยสถิตย์¹ และ ธัญญารัตน์ จูมแพง¹

บทคัดย่อ

งานวิจัยนี้จะใช้ตัวกำหนดช่วยในการจำแนกสมาชิกในริง $M_2(\mathbb{Z}_9)$ เราพบว่า สมาชิกในริง $M_2(\mathbb{Z}_9)$ จะสามารถหาตัวผกผันได้ ก็ต่อเมื่อ สมาชิกตัวนั้นมีตัวกำหนดเท่ากับ 1,2,4,5,7,8 ดังนั้น สมาชิกที่มีตัวกำหนดเท่ากับ 1,2,4,5,7,8 จะเป็นสมาชิกปกติด้วย ส่วนสมาชิกที่มีตัวกำหนดเท่ากับ 3 หรือ 6 ไม่เป็นสมาชิกปกติ และทุกสมาชิกนิพผลของ $M_2(\mathbb{Z}_9)$ จะมีตัวกำหนดเท่ากับ 0 หรือ 1 ซึ่งสมาชิกนิพผลที่มีตัวกำหนดเท่ากับ 1 จะมีเพียงสมาชิกเดียว คือ สมาชิกเอกลักษณ์ ส่วนสมาชิกนิพผลและสมาชิกปกติที่มีตัวกำหนดเท่ากับ 0 จะใช้ทฤษฎีต่อไปนี้ในการจำแนก

ทฤษฎีบท ให้ $A = \begin{bmatrix} a & b \\ c & d \end{bmatrix} \in M_2(\mathbb{Z}_9)$ ที่ A ไม่เป็นสมาชิกศูนย์ และ $\det A = 0$ จะได้ว่า

1. A เป็นสมาชิกนิพผล ก็ต่อเมื่อ A สอดคล้องเงื่อนไขต่อไปนี้
 1. $b \cdot c = 0$ และ $a, d \in \{0, 1\}$, $a \neq d$
 2. $b \cdot c = 3$ และ $a, d \in \{3, 7\}$, $a \neq d$
 3. $b \cdot c = 6$ และ $a, d \in \{4, 6\}$, $a \neq d$
 4. $b \cdot c = 7$ และ $a = d = 5$
 5. $b \cdot c = 7$ และ $a, d \in \{2, 8\}$, $a \neq d$
2. A ไม่เป็นสมาชิกปกติ ก็ต่อเมื่อ $\{a, b, c, d\} \subseteq \{0, 3, 6\}$

Abstract

In this research, we use determinant to categorize the elements of ring $M_2(\mathbb{Z}_9)$. We find that elements of ring $M_2(\mathbb{Z}_9)$ are invertible if only if the element have determinant equal to 1, 2, 4, 5, 7 or 8. So these elements are regular elements. Elements with determinant equaling to 3 or 6 are not regular elements. All idempotent elements have determinant equal to 0 or 1 and the only idempotent element has determinant equaling to 1 is an identity element. In case of idempotent elements and regular elements with determinant equal to 0, we use the

¹ ภาควิชาคณิตศาสตร์ คณะวิทยาศาสตร์ มหาวิทยาลัยขอนแก่น อ.เมือง จ.ขอนแก่น 40002

following theorem to categorize the elements.

Theorem Let $A = \begin{bmatrix} a & b \\ c & d \end{bmatrix} \in M_2(\mathbb{Z}_9)$, A be a non-zero element and $\det A = 0$. Then

1. A is an idempotent element if and only if A satisfies one of the following conditions
 1. $b \cdot c = 0$ and $a, d \in \{0, 1\}$, $a \neq d$
 2. $b \cdot c = 3$ and $a, d \in \{3, 7\}$, $a \neq d$
 3. $b \cdot c = 6$ and $a, d \in \{4, 6\}$, $a \neq d$
 4. $b \cdot c = 7$ and $a = d = 5$
 5. $b \cdot c = 7$ and $a, d \in \{2, 8\}$, $a \neq d$
2. A is not a regular element if and only if $\{a, b, c, d\} \subseteq \{0, 3, 6\}$

1. บทนำ

ให้ R เป็นริงที่มีเอกลักษณ์ จะเรียก $a \in R$ ว่า สมาชิกนิพผล (idempotent element) ถ้า $a^2 = a$ จะเรียก $a \in R$ ว่า สมาชิกที่หาตัวผกผันได้ (invertible element) ถ้ามี $b \in R$ ที่ทำให้ $ab = 1 = ba$ จะเรียก $a \in R$ ว่าสมาชิกปกติ ถ้ามี $s \in R$ ที่ทำให้ $a = asa$ และจะเรียกริง R ว่า ริงปกติ (regular ring) ถ้าทุกสมาชิกของริงเป็นสมาชิกปกติ

เราจะแทนเซตของเมทริกซ์จัตุรัสขนาด n ที่มีสมาชิกอยู่ในริง R ด้วย $M_n(R)$ นั่นคือ

$$M_n(R) = \{[a_{ij}]_{n \times n} \mid a_{ij} \in R\}$$

ภายใต้การบวกและการคูณเมทริกซ์ จะได้ว่า $M_n(R)$ เป็นริงที่มีเอกลักษณ์ และ R เป็นริงปกติ ก็ต่อเมื่อ $M_n(R)$ เป็นริงปกติ

ถ้า n เป็นจำนวนเต็มบวก จะใช้สัญลักษณ์ $\mathbb{Z}_n$ แทนเซตของจำนวนเต็มมอดุโล n จะได้ว่า $\mathbb{Z}_p$ เป็นฟิลด์ (field) ก็ต่อเมื่อ p เป็นจำนวนเฉพาะ เนื่องจากฟิลด์เป็นริงปกติ ดังนั้น $M_2(\mathbb{Z}_p)$ เป็นริงปกติ เนื่องจาก $\mathbb{Z}_9$ ไม่เป็นริงปกติ ดังนั้น $M_2(\mathbb{Z}_9)$ ไม่เป็นริงปกติ งานวิจัยนี้ต้องการศึกษาสมาชิกของ $M_2(\mathbb{Z}_9)$ ว่าสมาชิกตัวใดบ้างที่มีสมบัติเป็นสมาชิกปกติ สมบัตินิพผล รวมไปถึงสมบัติการหาตัวผกผันได้

ข้อตกลง

1. เราจะแทนสมาชิกของ $\mathbb{Z}_9$ ด้วย $0, 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8$
2. เราจะแทนตัวกำหนด(determinant) ของ $A = \begin{bmatrix} a & b \\ c & d \end{bmatrix} \in M_2(\mathbb{Z}_9)$ ด้วย $\det A$ ซึ่ง $\det A = ad - bc$

เนื่องจากสมาชิกใน $\mathbb{Z}_9$ มีเพียง 9 ตัวเท่านั้น เราจึงสามารถคำนวณได้โดยตรงว่า

1. สมาชิกที่หาตัวผกผันได้ของ $\mathbb{Z}_9$ คือ $1, 2, 4, 5, 7, 8$
2. สมาชิกนิพผลของ $\mathbb{Z}_9$ คือ $0, 1$ เท่านั้น

ในการพิสูจน์สมบัติต่าง ๆ ของ $M_2(\mathbb{Z}_9)$ เราจะใช้สมบัติที่สำคัญของตัวกำหนดของเมทริกซ์ ซึ่งกล่าวว่า ถ้า A และ B เป็นเมทริกซ์ แล้ว $\det(AB) = (\det A)(\det B)$ ช่วยในการพิสูจน์

2. สมาชิกที่หาตัวผกผันได้

ในหัวข้อนี้จะศึกษาสมบัติของสมาชิกใน $M_2(\mathbb{Z}_9)$ ที่หาตัวผกผันได้

ทฤษฎีบท 1. ให้ $A = \begin{bmatrix} a & b \\ c & d \end{bmatrix} \in M_2(\mathbb{Z}_9)$ แล้ว A หาตัวผกผันได้ก็ต่อเมื่อ $\det A \in \{1, 2, 4, 5, 7, 8\}$

ในกรณีที่ A หาตัวผกผันได้ $A^{-1} = k \begin{bmatrix} (\det A)d & -(\det A)b \\ -(\det A)c & (\det A)a \end{bmatrix}$ โดยที่ $k = \begin{cases} 1 & \text{ถ้า } \det A \in \{1, 8\} \\ 7 & \text{ถ้า } \det A \in \{2, 7\} \\ 4 & \text{ถ้า } \det A \in \{4, 5\} \end{cases}$

พิสูจน์. ให้ $A = \begin{bmatrix} a & b \\ c & d \end{bmatrix} \in M_2(\mathbb{Z}_9)$

($\Rightarrow$) สมมติ A เป็นสมาชิกที่หาตัวผกผันได้ นั่นคือ $AB = I_2$ บาง $B \in M_2(\mathbb{Z}_9)$

เพราะฉะนั้น $(\det A)(\det B) = \det(AB) = \det I_2 = 1$ นั่นคือ $\det A$ เป็นสมาชิกที่หาตัวผกผันได้ของ $\mathbb{Z}_9$ ดังนั้น จะได้ $\det A \in \{1, 2, 4, 5, 7, 8\}$

($\Leftarrow$) สมมติ $\det A \in \{1, 2, 4, 5, 7, 8\}$ เลือก $B = k \begin{bmatrix} (\det A)d & -(\det A)b \\ -(\det A)c & (\det A)a \end{bmatrix}$

จะได้ $AB = I_2 = BA$ นั่นคือ A หาตัวผกผันได้ และตัวผกผันของ A คือ B □

สรุป จากการคำนวณโดยตรงจะพบว่า สมาชิกใน $M_2(\mathbb{Z}_9)$ มีทั้งหมด 6561 ตัว

สมาชิกที่มีตัวกำหนดเป็น 0 มี 945 ตัว สมาชิกที่มีตัวกำหนดเป็น 1 มี 648 ตัว

สมาชิกที่มีตัวกำหนดเป็น 2 มี 648 ตัว สมาชิกที่มีตัวกำหนดเป็น 3 มี 864 ตัว

สมาชิกที่มีตัวกำหนดเป็น 4 มี 648 ตัว สมาชิกที่มีตัวกำหนดเป็น 5 มี 648 ตัว

สมาชิกที่มีตัวกำหนดเป็น 6 มี 864 ตัว สมาชิกที่มีตัวกำหนดเป็น 7 มี 648 ตัว

สมาชิกที่มีตัวกำหนดเป็น 8 มี 648 ตัว

ดังนั้น สมาชิกที่หาตัวผกผันได้มีทั้งหมด 3888 ตัว และสมาชิกที่ไม่มีตัวผกผัน 2673 ตัว

3. สมาชิกนิพผลของ $M_2(\mathbb{Z}_9)$

ในหัวข้อนี้จะศึกษาสมบัติของสมาชิกใน $M_2(\mathbb{Z}_9)$ ที่เป็นสมาชิกนิพผล

ทฤษฎีบทประกอบ 1. ให้ A เป็นสมาชิกนิพผลของ $M_2(\mathbb{Z}_9)$ แล้ว $\det A = 0$ หรือ $\det A = 1$

พิสูจน์. ให้ A เป็นสมาชิกนิพผลของ $M_2(\mathbb{Z}_9)$ ดังนั้น $A \cdot A = A$ จากสมบัติของตัวกำหนดจะได้ $(\det A)^2 = \det A$ นั่นคือ $\det A$ เป็นสมาชิกนิพผลของ $\mathbb{Z}_9$ เพราะฉะนั้น จะได้ $\det A = 0$ หรือ $\det A = 1$ □

ทุกสมาชิกของ $M_2(\mathbb{Z}_9)$ ที่มีค่าตัวกำหนดเท่ากับ 1 เป็นสมาชิกที่หาตัวผกผันได้ ดังนั้น สมาชิกนิพผลที่มีค่าของตัวกำหนดเท่ากับ 1 จะเป็นสมาชิกที่หาตัวผกผันได้ เราสามารถแสดงได้โดยง่ายว่า สมาชิกนิพผลที่มีค่าตัวกำหนดเท่ากับ 1 จะเพียงตัวเดียวเท่านั้นคือ I_2 ต่อไปเราจะพิจารณาเฉพาะกรณีที่ ค่าของตัวกำหนดของสมาชิกนิพผลมีค่าเท่ากับ 0

ทฤษฎีบท 2. ให้ $A = \begin{bmatrix} a & b \\ c & d \end{bmatrix} \in M_2(\mathbb{Z}_9)$ ที่ A ไม่เป็นสมาชิกศูนย์ และ $\det A = 0$

A เป็นสมาชิกนิพผล ก็ต่อเมื่อ A สอดคล้องกับเงื่อนไขข้อใดข้อหนึ่งต่อไปนี้

1. $b \cdot c = 0$ และ $a, d \in \{0, 1\}$, $a \neq d$
2. $b \cdot c = 3$ และ $a, d \in \{3, 7\}$, $a \neq d$
3. $b \cdot c = 6$ และ $a, d \in \{4, 6\}$, $a \neq d$
4. $b \cdot c = 7$ และ $a = d = 5$
5. $b \cdot c = 7$ และ $a, d \in \{2, 8\}$, $a \neq d$

พิสูจน์. ($\Rightarrow$) ให้ A เป็นสมาชิกนิพผล ที่ A ไม่เป็นสมาชิกศูนย์ และ $\det A = 0$

นั่นคือ $A \cdot A = A$ ดังนั้น $\begin{bmatrix} a & b \\ c & d \end{bmatrix} \cdot \begin{bmatrix} a & b \\ c & d \end{bmatrix} = \begin{bmatrix} a & b \\ c & d \end{bmatrix}$

จะได้ว่า $\begin{bmatrix} aa+bc & ab+bd \\ ac+cd & dd+bc \end{bmatrix} = \begin{bmatrix} a & b \\ c & d \end{bmatrix}$ เพราะฉะนั้นจะได้สมการต่อไปนี้

$$aa + bc = a \quad \dots(1)$$

$$ab + bd = b \quad \dots(2)$$

$$ac + cd = c \quad \dots(3)$$

$$bc + dd = d \quad \dots(4)$$

จาก $\det A = 0$ จะได้

$$ad - bc = 0 \quad \dots(5)$$

จากสมการ (1) และ (4) จะได้

$$a - aa = bc = d - dd \quad \dots(6)$$

เนื่องจาก $a \in \mathbb{Z}_9$ และ $bc = a - a^2$ จะได้ว่า ค่า bc ที่เป็นไปได้คือ 0, 3, 6, 7 ดังนั้น เราพิจารณา bc เป็น 4 กรณีดังนี้

กรณีที่ 1 $bc = 0$ จากสมการ (5) และ (6) จะได้ $ad = 0$, $a^2 = a$ และ $d^2 = d$ ดังนั้น $a, d \in \{0, 1\}$ ในกรณีที่ $a = d = 0$ จากสมการ (2) และ (3) จะได้ว่า $b = c = 0$ นั่นคือ A เป็นสมาชิกศูนย์ เกิดการขัดแย้งกับ A ไม่เป็นสมาชิกศูนย์ และถ้า $a = d = 1$ จะได้ว่า $ad = 1$ เกิดการขัดแย้งกับ $ad = 0$ ดังนั้น $a \neq d$ นั่นคือ A สอดคล้องกับเงื่อนไขที่ 1

กรณีที่ 2 $bc = 3$ จากสมการ (5) และ (6) จะได้ $ad = 3$, $a^2 + 3 = a$ และ $d^2 + 3 = d$ ดังนั้น $a, d \in \{3, 7\}$ จาก $ad = 3$ จะได้ $a \neq d$ นั่นคือ A สอดคล้องกับเงื่อนไขที่ 2

กรณีที่ 3 $bc = 6$ จากสมการ (5) และ (6) จะได้ $ad = 6$, $a^2 + 6 = a$ และ $d^2 + 6 = d$ ดังนั้น $a, d \in \{4, 6\}$ จาก $ad = 6$ จะได้ $a \neq d$ นั่นคือ A สอดคล้องกับเงื่อนไขที่ 3

กรณีที่ 4 $bc = 7$ จากสมการ (5) และ (6) จะได้ $ad = 7$, $a^2 + 7 = a$ และ $d^2 + 7 = d$ ดังนั้น $a, d \in \{2, 5, 8\}$ แยกเป็นสองกรณีได้ดังนี้

กรณี $a = d = 5$ นั่นคือ A สอดคล้องกับเงื่อนไขที่ 4

กรณี $a, d \in \{2, 8\}$ จะได้ $a \neq d$ นั่นคือ A สอดคล้องกับเงื่อนไขที่ 5

($\Leftrightarrow$) ให้ A สอดคล้องกับเงื่อนไขข้อใดข้อหนึ่งในข้อที่ 1 - 5 จะได้ว่า $a^2 + bc = a, d^2 + bc = d$, $a + d = 1$ และ

$$A \cdot A = \begin{bmatrix} a & b \\ c & d \end{bmatrix} \begin{bmatrix} a & b \\ c & d \end{bmatrix} = \begin{bmatrix} a^2 + bc & b(a + d) \\ c(a + d) & d^2 + bc \end{bmatrix} = \begin{bmatrix} a & b \\ c & d \end{bmatrix} = A$$

ไม่ว่ากรณีใดจะเห็นว่า A เป็นสมาชิกนิจผล □

จากทฤษฎีบทนี้เราสามารถหาสมาชิกนิจผลของ $M_2(\mathbb{Z}_9)$ ที่ไม่เป็นสมาชิกศูนย์และ $\det A = 0$ ได้ดังนี้

1. สมาชิกของ $M_2(\mathbb{Z}_9)$ ที่สอดคล้องกับเงื่อนไขข้อที่ 1 มี 42 ตัว
2. สมาชิกของ $M_2(\mathbb{Z}_9)$ ที่สอดคล้องกับเงื่อนไขข้อที่ 2 มี 24 ตัว
3. สมาชิกของ $M_2(\mathbb{Z}_9)$ ที่สอดคล้องกับเงื่อนไขข้อที่ 3 มี 24 ตัว
4. สมาชิกของ $M_2(\mathbb{Z}_9)$ ที่สอดคล้องกับเงื่อนไขข้อที่ 4 มี 6 ตัว
5. สมาชิกของ $M_2(\mathbb{Z}_9)$ ที่สอดคล้องกับเงื่อนไขข้อที่ 5 มี 12 ตัว

ดังนั้น สมาชิกนิจผลของ $M_2(\mathbb{Z}_9)$ ที่จำแนกตามทฤษฎีบทนี้มีทั้งหมด 108 ตัว เมื่อรวมกับสมาชิกศูนย์และสมาชิกเอกลักษณ์ เราสามารถสรุปได้ว่าสมาชิกนิจผลของ $M_2(\mathbb{Z}_9)$ มีทั้งหมด 110 ตัว

4. สมาชิกปกติ

เราทราบว่าสมาชิกที่หาตัวผกผันได้เป็นสมาชิกปกติ จากทฤษฎีบท 1 จะได้ว่าทุกสมาชิกที่มีตัวกำหนดเป็น 1,2,4,5,7,8 เป็นสมาชิกปกติ ดังนั้น เราจึงเหลือการพิจารณาเพียงกรณีที่ตัวกำหนดมีค่าเป็น 0,3,6 เท่านั้น ในกรณีที่ตัวกำหนดของสมาชิก มีค่าเป็น 3 หรือ 6 เราจะได้ว่า สมาชิกนั้นไม่เป็นสมาชิกปกติ ดังทฤษฎีบทต่อไปนี้

ทฤษฎีบท 3. ให้ A เป็นสมาชิกใดๆ ใน $M_2(\mathbb{Z}_9)$ ที่มี $\det A \in \{3, 6\}$ แล้ว A ไม่เป็นสมาชิกปกติ

พิสูจน์. ให้ A เป็นสมาชิกใดๆ ใน $M_2(\mathbb{Z}_9)$ ที่มี $\det A \in \{3, 6\}$

สมมติให้ A เป็นสมาชิกปกติ ดังนั้น $A = ASA$ บาง $S \in M_2(\mathbb{Z}_9)$ เพราะฉะนั้น

$$\det A = \det(ASA) = \det A \cdot \det S \cdot \det A = 0$$

ขัดแย้งกับ $\det A \in \{3, 6\}$ นั่นคือ ที่สมมติไว้ว่า A เป็นสมาชิกปกติไม่จริง ดังนั้น A ไม่เป็นสมาชิกปกติ □

ต่อไปเราจะเหลือการพิจารณาเพียงกรณีที่ตัวกำหนดของสมาชิกมีค่าเท่ากับ 0 ซึ่งสามารถพิจารณาได้จากทฤษฎีบทต่อไปนี้

ทฤษฎีบท 4. ให้ $A = \begin{bmatrix} a & b \\ c & d \end{bmatrix} \in M_2(\mathbb{Z}_9)$ ที่ A ไม่เป็นสมาชิกศูนย์ และ $\det A = 0$ จะได้ว่า

A ไม่เป็นสมาชิกปกติ ก็ต่อเมื่อ $\{a, b, c, d\} \subseteq \{0, 3, 6\}$

พิสูจน์. ให้ $A = \begin{bmatrix} a & b \\ c & d \end{bmatrix} \in M_2(\mathbb{Z}_9)$ ที่ A ไม่เป็นสมาชิกศูนย์ และ $\det A = 0$

นั่นคือ $ad - bc = 0$ จะได้ว่า $ad = bc$

($\Rightarrow$) จะแสดงว่า ถ้า A ไม่เป็นสมาชิกปกติ แล้ว $\{a, b, c, d\} \subseteq \{0, 3, 6\}$

เราจะพิสูจน์ข้อความนี้โดยใช้การพิสูจน์แบบ ประพจน์แย้งกลับที่(contrapositive)

นั่นคือจะแสดงว่า ถ้า $\{a, b, c, d\} \not\subseteq \{0, 3, 6\}$ แล้ว A เป็นสมาชิกปกติ

นั่นคือ เราจะเริ่มที่สมมติให้ $\{a, b, c, d\} \not\subseteq \{0, 3, 6\}$

ดังนั้นเราสามารถแบ่งออกได้เป็น 4 กรณี ดังต่อไปนี้

กรณีที่ 1 $a \notin \{0, 3, 6\}$ นั่นคือ $a \in \{1, 2, 4, 5, 7, 8\}$

กรณีย่อย 1.1 $a \in \{1, 8\}$ จะได้ $a^2 = 1$ และ $d = bca$ เลือก $S = \begin{bmatrix} a & 0 \\ 0 & 0 \end{bmatrix}$

กรณีย่อย 1.2 $a \in \{2, 7\}$ จะได้ $a^2 = 4$ และ $d = 7bca$ เลือก $S = \begin{bmatrix} 7a & 0 \\ 0 & 0 \end{bmatrix}$

กรณีย่อย 1.3 $a \in \{4, 5\}$ จะได้ $a^2 = 7$ และ $d = 4bca$ เลือก $S = \begin{bmatrix} 4a & 0 \\ 0 & 0 \end{bmatrix}$

กรณีที่ 2 $b \notin \{0, 3, 6\}$ นั่นคือ $b \in \{1, 2, 4, 5, 7, 8\}$

กรณีย่อย 2.1 $b \in \{1, 8\}$ จะได้ $b^2 = 1$ และ $c = abd$ เลือก $S = \begin{bmatrix} 0 & 0 \\ b & 0 \end{bmatrix}$

กรณีย่อย 2.2 $b \in \{2, 7\}$ จะได้ $b^2 = 4$ และ $c = 7abd$ เลือก $S = \begin{bmatrix} 0 & 0 \\ 7b & 0 \end{bmatrix}$

กรณีย่อย 2.3 $b \in \{4, 5\}$ จะได้ $b^2 = 7$ และ $c = 4abd$ เลือก $S = \begin{bmatrix} 0 & 0 \\ 4b & 0 \end{bmatrix}$

กรณีที่ 3 $c \notin \{0, 3, 6\}$ นั่นคือ $c \in \{1, 2, 4, 5, 7, 8\}$

กรณีย่อย 3.1 $c \in \{1, 8\}$ จะได้ $c^2 = 1$ และ $b = acd$ เลือก $S = \begin{bmatrix} 0 & c \\ 0 & 0 \end{bmatrix}$

กรณีย่อย 3.2 $c \in \{2, 7\}$ จะได้ $c^2 = 4$ และ $b = 7acd$ เลือก $S = \begin{bmatrix} 0 & 7c \\ 0 & 0 \end{bmatrix}$

กรณีย่อย 3.3 $c \in \{4, 5\}$ จะได้ $c^2 = 7$ และ $b = 4acd$ เลือก $S = \begin{bmatrix} 0 & 4c \\ 0 & 0 \end{bmatrix}$

กรณีที่ 4 $d \notin \{0, 3, 6\}$ นั่นคือ $d \in \{1, 2, 4, 5, 7, 8\}$

กรณีย่อย 4.1 $d \in \{1, 8\}$ จะได้ $d^2 = 1$ และ $a = bcd$ เลือก $S = \begin{bmatrix} 0 & 0 \\ 0 & d \end{bmatrix}$

กรณีย่อย 4.2 $d \in \{2, 7\}$ จะได้ $d^2 = 4$ และ $a = 7bcd$ เลือก $S = \begin{bmatrix} 0 & 0 \\ 0 & 7d \end{bmatrix}$

กรณีย่อย 4.3 $d \in \{4, 5\}$ จะได้ $d^2 = 7$ และ $a = 4bcd$ เลือก $S = \begin{bmatrix} 0 & 0 \\ 0 & 4d \end{bmatrix}$

จากทั้ง 4 กรณี จะเห็นว่า S เป็นสมาชิกใน $M_2(\mathbb{Z}_9)$ และ $A = ASA$

จะได้ว่า A เป็นสมาชิกปกติ นั่นคือ เราสามารถสรุปได้ว่า ถ้า $\{a, b, c, d\} \not\subseteq \{0, 3, 6\}$ แล้ว A เป็นสมาชิกปกติ ซึ่งสมมูลกับ ถ้า A ไม่เป็นสมาชิกปกติแล้ว $\{a, b, c, d\} \subseteq \{0, 3, 6\}$

($\Leftarrow$) สมมติให้ $\{a, b, c, d\} \subseteq \{0, 3, 6\}$ จะแสดงว่า A ไม่เป็นสมาชิกปกติ

ให้ $S = \begin{bmatrix} w & x \\ y & z \end{bmatrix}$ เป็นสมาชิกใดๆ ใน $M_2(\mathbb{Z}_9)$

พิจารณา

$$\begin{aligned} ASA &= \begin{bmatrix} a & b \\ c & d \end{bmatrix} \begin{bmatrix} w & x \\ y & z \end{bmatrix} \begin{bmatrix} a & b \\ c & d \end{bmatrix} \\ &= \begin{bmatrix} aw + by & ax + bz \\ cw + dy & cx + dz \end{bmatrix} \begin{bmatrix} a & b \\ c & d \end{bmatrix} \\ &= \begin{bmatrix} a(aw + by) + c(ax + bz) & b(aw + by) + d(ax + bz) \\ a(cw + dy) + c(cx + dz) & b(cw + dy) + d(cx + dz) \end{bmatrix} \\ &= \begin{bmatrix} aaw + aby + cax + cbz & baw + bby + dax + dbz \\ acw + ady + ccx + cdz & bcw + bdy + dcx + ddz \end{bmatrix} \\ &= \begin{bmatrix} 0 & 0 \\ 0 & 0 \end{bmatrix} \end{aligned}$$

จาก A ไม่เป็นสมาชิกศูนย์ ดังนั้น จะเห็นว่าไม่มีสมาชิกใดของ $M_2(\mathbb{Z}_9)$ ที่ทำให้ $ASA = A$ ได้ ดังนั้น A ไม่เป็นสมาชิกปกติ □

จากทฤษฎีนี้จะได้ว่าสมาชิกที่ไม่เป็นสมาชิกปกติใน $M_2(\mathbb{Z}_9)$ ที่ตัวกำหนดมีค่าเท่ากับ 0 มีอยู่ทั้งหมด 80 ตัว ดังนั้น เราสามารถสรุปได้ว่าสมาชิกปกติของ $M_2(\mathbb{Z}_9)$ มีทั้งหมดเท่ากับ $3888 + 945 - 80 = 4753$ ตัว

5. บทสรุป

ในการศึกษาสมบัติของสมาชิกใน $M_2(\mathbb{Z}_9)$ โดยใช้ตัวกำหนดช่วยจำแนก เราพบว่า

1. ถ้า $\det A$ เป็น 1, 2, 4, 5, 7, 8 จะได้ว่า A เป็นสมาชิกที่หาตัวผกผันได้ ดังนั้น A เป็นสมาชิกปกติ และยังได้อีกว่า A ไม่เป็นสมาชิกนิจผล ยกเว้น I_2
 2. ถ้า $\det A$ เป็น 0, 3, 6 จะได้ว่า A เป็นสมาชิกที่หาตัวผกผันไม่ได้
 3. ถ้า $\det A$ เป็น 3, 6 จะได้ว่า A ไม่เป็นสมาชิกนิจผล และไม่เป็นสมาชิกปกติ
- ในการพิจารณาสมบัติของสมาชิกนิจผลที่ $\det A$ เป็น 0 จะมีทฤษฎีบทต่อไปนี้ช่วยในการจำแนก

ทฤษฎีบท. ให้ $A = \begin{bmatrix} a & b \\ c & d \end{bmatrix} \in M_2(\mathbb{Z}_9)$ ที่ A ไม่เป็นสมาชิกศูนย์ และ $\det A = 0$

A เป็นสมาชิกนิจผล ก็ต่อเมื่อ A สอดคล้องกับเงื่อนไขข้อใดข้อหนึ่งต่อไปนี้

1. $b \cdot c = 0$ และ $a, d \in \{0, 1\}, \quad a \neq d$
2. $b \cdot c = 3$ และ $a, d \in \{3, 7\}, \quad a \neq d$
3. $b \cdot c = 6$ และ $a, d \in \{4, 6\}, \quad a \neq d$
4. $b \cdot c = 7$ และ $a = d = 5$
5. $b \cdot c = 7$ และ $a, d \in \{2, 8\}, \quad a \neq d$

ในการพิจารณาสมบัติของสมาชิกปกติที่ $\det A$ เป็น 0 จะมีทฤษฎีบทต่อไปนี้ช่วยในการจำแนก

ทฤษฎีบท. ให้ $A = \begin{bmatrix} a & b \\ c & d \end{bmatrix} \in M_2(\mathbb{Z}_9)$ ที่ A ไม่เป็นสมาชิกศูนย์ และ $\det A = 0$

A ไม่เป็นสมาชิกปกติ ก็ต่อเมื่อ $\{a, b, c, d\} \subseteq \{0, 3, 6\}$

เอกสารอ้างอิง

ณรงค์ ปั่นนิ่ม. (2536). พีชคณิตระดับมหาวิทยาลัย. สุวีริยาสาส์น กรุงเทพฯ

Goodeal, K.R. (1979). Von Negular Rings. Pitman Publishing Limited, London.

Rowen, L.H. (1991). Ring Theory, Student edition, Bar-Ilan University, Ramat-Gan, Israel.

Whitelaw, T.A. (1995). Introduction to Abstract Algebra. 3 ed., Blackie Academic & Professional, London.

ฟิลด์ของเมทริกซ์ปาสกาล

Field of Pascal Matrices

ปริญญากร ชดมาลี¹ อัมพร อนันต์พินิจวัฒนา^{1*}

บทคัดย่อ

ในงานวิจัยฉบับนี้ ได้ศึกษาสมบัติการเป็นฟิลด์ของเมทริกซ์ปาสกาล (Pascal Matrix) ภายใต้การดำเนินการคูณ $(\otimes)$ ของเมทริกซ์และการดำเนินการ $\otimes$ เมื่อ $\otimes$ เป็นการดำเนินการของเมทริกซ์ ซึ่งนิยามดังนี้ $p_n[x] \otimes p_n[y] = (p_n[x] \odot p_n[y]) \odot \Psi_n$ สำหรับทุก ๆ $p_n[x], p_n[y] \in P_n$ โดยที่ $x, y \in \mathbb{R}$, P_n คือเมทริกซ์ปาสกาลและ $\odot$ เป็นผลคูณ Hadamard

คำสำคัญ: เมทริกซ์ รูปสามเหลี่ยมปาสกาล กรุป รিংและฟิลด์

Abstract

In this project, we study properties of field of Pascal Matrices on multiplication operation and $\otimes$ operation, defined by $p_n[x] \otimes p_n[y] = (p_n[x] \odot p_n[y]) \odot \Psi_n$, for all $p_n[x], p_n[y] \in P_n$, $x, y \in \mathbb{R}$, P_n is the Pascal Matrix and $\odot$ is Hadamard Product.

Key word : Matrix, Pascal triangle, group, ring and field

¹ภาควิชาคณิตศาสตร์ คณะวิทยาศาสตร์ มหาวิทยาลัยมหาสารคาม ต.ขามเรียง อ.กันทรวิชัย จ.มหาสารคาม 44150

Department of Mathematics, Faculty of Science, Mahasarakham University, Maha Sarakham, Thailand, 44150

* corresponding author E-mail : amporn1221@yahoo.ac.th

บทนำ

สามเหลี่ยมปาสกาลเป็นที่รู้จักกันอย่างแพร่หลายในสาขาวิชาคณิตศาสตร์และสาขาอื่นๆ และมีคนนำสามเหลี่ยมปาสกาลมาสร้างเป็นเมทริกซ์ เรียกว่า เมทริกซ์ปาสกาล (Pascal Matrices) ซึ่งเป็นเรื่องที่น่าสนใจที่จะศึกษาสมบัติของเมทริกซ์ปาสกาลในระบบพีชคณิต

จากการศึกษาบทความเรื่อง Pascal' Matrices พบว่าเมทริกซ์ปาสกาลมีสมบัติบางประการที่น่าสนใจ จึงทำการศึกษาพบว่าเซตของเมทริกซ์ปาสกาลเป็นอาบีเลียนกรุปภายใต้การคูณ $\bullet$ และยังพบว่าเซตของเมทริกซ์ปาสกาลเป็นริงภายใต้การคูณ $\bullet$ และการดำเนินการ $\otimes$ และ เซตของเมทริกซ์ปาสกาลเป็นฟิลด์ ภายใต้การคูณและการดำเนินการ $\otimes$ อีกด้วย

จุดมุ่งหมายของการศึกษาค้นคว้า

เพื่อศึกษาสมบัติของการเป็นฟิลด์ในเซตของเมทริกซ์ปาสกาลภายใต้การดำเนินการคูณของเมทริกซ์และการดำเนินการ $\otimes$

สมมติฐานของการศึกษาค้นคว้า

เมื่อกำหนดให้ P_n เป็นเซตของเมทริกซ์ปาสกาล ขนาด $n \times n$ เมื่อ n เป็นจำนวนเต็มบวก และ $n \geq 2$ โดยที่ $P_n = \{p_n[x] \mid x \in \mathbb{R}\}$ และ ให้ $\bullet$ เป็นการดำเนินการคูณเมทริกซ์ และ $\otimes$ เป็นการดำเนินการของเมทริกซ์ ซึ่งนิยามดังนี้ $p_n[x] \otimes p_n[y] = (p_n[x] \odot p_n[y]) \odot \Psi_n$ สำหรับทุก ๆ $p_n[x], p_n[y] \in P_n$ โดยที่ $x, y \in \mathbb{R}$ และ $\odot$ เป็นผลคูณ Hadamard แล้วจะได้ว่า $(P_n, \bullet, \otimes)$ เป็นฟิลด์

สัญลักษณ์และบทนิยามศัพท์เฉพาะ

1. $\mathbb{R}$ หมายถึง เซตของจำนวนจริง
2. $\mathbb{Z}^+$ หมายถึง เซตของจำนวนเต็มบวก
3. P_n หมายถึง เซตของเมทริกซ์ปาสกาลขนาด $n \times n$ เมื่อ n เป็นจำนวนเต็มบวก และ $n \geq 2$
4. $p_n[x]$ หมายถึง เมทริกซ์ปาสกาลของ x ขนาด $n \times n$ เมื่อ n เป็นจำนวนเต็มบวก และ $x \in \mathbb{R}$
5. Ψ_n หมายถึง เมทริกซ์สามเหลี่ยมล่างขนาด $n \times n$ เมื่อ n เป็นจำนวนเต็มบวก
6. $\bullet$ หมายถึง การดำเนินการคูณของเมทริกซ์
7. $\odot$ หมายถึง ผลคูณ Hadamard

ความรู้พื้นฐาน

บทนิยาม 1 สำหรับเมทริกซ์ $A = [a_{ij}]_{m \times n}$ และ $B = [b_{ij}]_{m \times n}$ เมื่อ m และ n เป็นจำนวนเต็มบวก ผลคูณ Hadamard (Hadamard Product) ของเมทริกซ์ A และ B เขียนแทนด้วย $A \odot B$ นิยามโดย

$$A \odot B = [a_{ij} b_{ij}]_{m \times n} \quad (\text{Schoott, 2005})$$

บทนิยาม 2 กำหนดให้ $n, k \in \mathbb{Z}^+ \cup \{0\}$

$$\binom{n}{k} = \begin{cases} \frac{n!}{(n-k)!k!} & \text{เมื่อ } n \geq k \\ 0 & \text{อื่นๆ} \end{cases} \quad (\text{ศิริลักษณ์ เจริญจิตต์พรชัย, 2537})$$

บทนิยาม 3 $p_n[x]$ หมายถึง เมทริกซ์ปาสกาลของ x ขนาด $n \times n$ เมื่อ n เป็นจำนวนเต็มบวกและ เกิดจากการนำ n แถวของสามเหลี่ยมปาสกาลมาเขียนในรูปเมทริกซ์ โดยบทนิยามดังนี้

$$p_n[x] = \begin{cases} \binom{i-1}{j-1} x^{i-j} & \text{เมื่อ } i \geq j \\ 0 & \text{อื่นๆ} \end{cases} \quad (\text{Call, 1993})$$

ทฤษฎีบท 1 สำหรับทุกๆ $x, y \in \mathbb{R}$ เมื่อ n เป็นจำนวนเต็มบวก และ $n \geq 2$ จะได้ว่า

$$p_n[x] \bullet p_n[y] = p_n[x+y] \quad (\text{Call, 1993})$$

ผลการดำเนินงาน

บทนิยาม 4 ให้ P_n เป็นเซตของเมทริกซ์ปาสกาล ขนาด $n \times n$ เมื่อ n เป็นจำนวนเต็มบวก และ $n \geq 2$ ซึ่งนิยามดังนี้

$$P_n = \{p_n[x] \mid x \in \mathbb{R}\}$$

ทฤษฎีบท 2 $(P_n, \bullet)$ เป็นอาบีเลียนกรุป

พิสูจน์ ให้ $p_n[a], p_n[b], p_n[c] \in P_n$ โดยที่ $a, b, c \in \mathbb{R}$

1) โดยทฤษฎีบท 1 จะได้ว่า $p_n[a] \bullet p_n[b] = p_n[a+b]$

จากการที่ $a+b \in \mathbb{R}$

$$p_n[a+b] \in P_n$$

ดังนั้น $(P_n, \bullet)$ มีสมบัติปิด

$$\begin{aligned}
 2) \text{ พิจารณา } (p_n[a] \bullet p_n[b]) \bullet p_n[c] &= p_n[a+b] \bullet p_n[c] \\
 &= p_n[(a+b)+c] \\
 &= p_n[a+(b+c)] \\
 &= p_n[a] \bullet p_n[b+c] \\
 &= p_n[a] \bullet (p_n[b] \bullet p_n[c])
 \end{aligned}$$

$$\text{ดังนั้น } (p_n[a] \bullet p_n[b]) \bullet p_n[c] = p_n[a] \bullet (p_n[b] \bullet p_n[c])$$

นั่นคือ $(P_n, \bullet)$ มีสมบัติเปลี่ยนกลุ่ม

$$\begin{aligned}
 3) \text{ มี } p_n[0] \in P_n \text{ โดยที่ } 0 \in \mathbb{R} \\
 \text{สำหรับทุกๆ } p_n[a] \in P_n \text{ โดยที่ } a \in \mathbb{R} \\
 \text{จะได้ว่า } p_n[a] \bullet p_n[0] = p_n[a+0] = p_n[a] \\
 p_n[0] \bullet p_n[a] = p_n[0+a] = p_n[a] \\
 \text{ดังนั้น } p_n[a] \bullet p_n[0] = p_n[a] = p_n[0] \bullet p_n[a] \\
 \text{นั่นคือ } p_n[0] \text{ เป็นเอกลักษณ์ใน } (P_n, \bullet)
 \end{aligned}$$

$$\begin{aligned}
 4) \text{ เนื่องจาก } p_n[a] \in P_n \text{ โดยที่ } a \in \mathbb{R} \\
 \text{จะมี } p_n[-a] \in P_n \text{ โดยที่ } -a \in \mathbb{R} \\
 \text{ซึ่งทำให้ } p_n[a] \bullet p_n[-a] = p_n[a+(-a)] = p_n[0] \\
 p_n[-a] \bullet p_n[a] = p_n[(-a)+a] = p_n[0] \\
 \text{ดังนั้น } p_n[a] \bullet p_n[-a] = p_n[0] = p_n[-a] \bullet p_n[a] \\
 \text{นั่นคือ } p_n[-a] \text{ เป็นตัวผกผันของ } p_n[a] \text{ ใน } (P_n, \bullet)
 \end{aligned}$$

$$\begin{aligned}
 5) \text{ พิจารณา } p_n[a] \bullet p_n[b] &= p_n[a+b] \quad (\text{โดยทฤษฎีบท 1}) \\
 &= p_n[b+a] \\
 &= p_n[b] \bullet p_n[a]
 \end{aligned}$$

ดังนั้น $(P_n, \bullet)$ มีสมบัติสลับที่

จาก 1) ถึง 4) สรุปได้ว่า $(P_n, \bullet)$ เป็นกรุป

จาก 1) ถึง 5) สรุปได้ว่า $(P_n, \bullet)$ เป็นอาบีเลียนกรุป

#

บทนิยาม 5 ให้เมทริกซ์ $\Psi_n = [\psi_{ij}]_{n \times n}$ เมื่อ n เป็นจำนวนเต็มบวก และ $n \geq 2$ ซึ่งบทนิยามดังนี้

$$\psi_{ij} = \begin{cases} \binom{i-1}{j-1}^{-1} & \text{เมื่อ } i \geq j \\ 0 & \text{อื่นๆ} \end{cases}$$

หรือ $\Psi_n = \begin{bmatrix} 1 & 0 & 0 & 0 & \dots & 0 \\ 1 & 1 & 0 & 0 & \dots & 0 \\ 1 & 1/2 & 1 & 0 & \dots & 0 \\ 1 & 1/3 & 1/3 & 1 & \dots & 0 \\ \vdots & \vdots & \vdots & \vdots & \ddots & \vdots \\ 1 & \binom{n-1}{1}^{-1} & \binom{n-1}{2}^{-1} & \binom{n-1}{3}^{-1} & \dots & 1 \end{bmatrix}$

ตัวอย่างที่ 1 $\Psi_3 = \begin{bmatrix} 1 & 0 & 0 \\ 1 & 1 & 0 \\ 1 & 1/2 & 1 \end{bmatrix}$, $\Psi_4 = \begin{bmatrix} 1 & 0 & 0 & 0 \\ 1 & 1 & 0 & 0 \\ 1 & 1/2 & 1 & 0 \\ 1 & 1/3 & 1/3 & 1 \end{bmatrix}$, $\Psi_5 = \begin{bmatrix} 1 & 0 & 0 & 0 & 0 \\ 1 & 1 & 0 & 0 & 0 \\ 1 & 1/2 & 1 & 0 & 0 \\ 1 & 1/3 & 1/3 & 1 & 0 \\ 1 & 1/4 & 1/6 & 1/4 & 1 \end{bmatrix}$

บทนิยาม 6 ให้ $\otimes$ เป็นการดำเนินการของเมทริกซ์ขนาด $n \times n$ เมื่อ n เป็นจำนวนเต็มบวก และ $n \geq 2$ ซึ่งนิยามดังนี้

$$p_n[x] \otimes p_n[y] = (p_n[x] \odot p_n[y]) \odot \Psi_n$$

เมื่อ $\odot$ เป็นผลคูณ Hadamard และ สำหรับทุก ๆ $p_n[x], p_n[y] \in P_n$ โดยที่ $x, y \in \mathbb{R}$

ตัวอย่างที่ 2 จงหาผลลัพธ์ของ $p_4[2] \otimes p_4[3]$

วิธีทำ $p_4[2] \otimes p_4[3] = (p_4[2] \odot p_4[3]) \odot \Psi_4$ (โดยบทนิยาม 6)

$$= \left(\begin{bmatrix} 1 & 0 & 0 & 0 \\ 2 & 1 & 0 & 0 \\ 4 & 4 & 1 & 0 \\ 8 & 12 & 6 & 1 \end{bmatrix} \odot \begin{bmatrix} 1 & 0 & 0 & 0 \\ 3 & 1 & 0 & 0 \\ 9 & 6 & 1 & 0 \\ 27 & 27 & 9 & 1 \end{bmatrix} \right) \odot \begin{bmatrix} 1 & 0 & 0 & 0 \\ 1 & 1 & 0 & 0 \\ 1 & 1/2 & 1 & 0 \\ 1 & 1/3 & 1/3 & 1 \end{bmatrix}$$

$$\begin{aligned}
&= \begin{bmatrix} 1 & 0 & 0 & 0 \\ 6 & 1 & 0 & 0 \\ 36 & 24 & 1 & 0 \\ 216 & 324 & 54 & 1 \end{bmatrix} \odot \begin{bmatrix} 1 & 0 & 0 & 0 \\ 1 & 1 & 0 & 0 \\ 1 & 1/2 & 1 & 0 \\ 1 & 1/3 & 1/3 & 1 \end{bmatrix} \\
&= \begin{bmatrix} 1 & 0 & 0 & 0 \\ 6 & 1 & 0 & 0 \\ 36 & 12 & 1 & 0 \\ 216 & 108 & 18 & 1 \end{bmatrix} \quad \#
\end{aligned}$$

ตัวอย่างที่ 3 จงหาผลลัพธ์ของ $p_4[-2] \otimes p_4[3]$

วิธีทำ $p_4[-2] \otimes p_4[3] = (p_4[-2] \odot p_4[3]) \odot \Psi_4$ (โดยบทนิยาม 6)

$$\begin{aligned}
&= \left(\begin{bmatrix} 1 & 0 & 0 & 0 \\ -2 & 1 & 0 & 0 \\ 4 & -4 & 1 & 0 \\ -8 & 12 & -8 & 1 \end{bmatrix} \odot \begin{bmatrix} 1 & 0 & 0 & 0 \\ 3 & 1 & 0 & 0 \\ 9 & 6 & 1 & 0 \\ 27 & 27 & 9 & 1 \end{bmatrix} \right) \odot \begin{bmatrix} 1 & 0 & 0 & 0 \\ 1 & 1 & 0 & 0 \\ 1 & 1/2 & 1 & 0 \\ 1 & 1/3 & 1/3 & 1 \end{bmatrix} \\
&= \begin{bmatrix} 1 & 0 & 0 & 0 \\ -6 & 1 & 0 & 0 \\ 36 & -24 & 1 & 0 \\ -216 & 324 & -54 & 1 \end{bmatrix} \odot \begin{bmatrix} 1 & 0 & 0 & 0 \\ 1 & 1 & 0 & 0 \\ 1 & 1/2 & 1 & 0 \\ 1 & 1/3 & 1/3 & 1 \end{bmatrix} \\
&= \begin{bmatrix} 1 & 0 & 0 & 0 \\ -6 & 1 & 0 & 0 \\ 36 & -12 & 1 & 0 \\ -216 & 108 & -18 & 1 \end{bmatrix} \quad \#
\end{aligned}$$

ทฤษฎีบท 3 สำหรับทุก ๆ $x, y \in \mathbb{R}$ เมื่อ n เป็นจำนวนเต็มบวก และ $n \geq 2$ จะได้ว่า

$$p_n[x] \otimes p_n[y] = p_n[xy]$$

โดยที่ $p_n[x], p_n[y] \in P_n$

พิสูจน์ ต้องการแสดงว่า $p_n[x] \otimes p_n[y] = p_n[xy]$ สำหรับทุก ๆ จำนวนเต็มบวก n

พิจารณาบทนิยาม 6 จะได้ว่า

$$p_n[x] \otimes p_n[y] = (p_n[x] \odot p_n[y]) \odot \Psi_n = \begin{cases} \binom{i-1}{j-1} (xy)^{i-j} & \text{เมื่อ } i \geq j \\ 0 & \text{อื่นๆ} \end{cases}$$

และ โดยบทนิยาม 3 จะได้ว่า

$$p_n[xy] = \begin{cases} \binom{i-1}{j-1}(xy)^{i-j} & \text{เมื่อ } i \geq j \\ 0 & \text{อื่นๆ} \end{cases}$$

ดังนั้น สำหรับทุกๆ จำนวนเต็มบวก n จะได้ว่า $p_n[x] \otimes p_n[y] = p_n[xy]$ #

ตัวอย่างที่ 4 จงแสดงว่า $p_4[2] \otimes p_4[3] = p_4[6]$

วิธีทำ เนื่องจาก $p_4[2] \otimes p_4[3] =$

$\begin{bmatrix} 1 & 0 & 0 & 0 \\ 6 & 1 & 0 & 0 \\ 36 & 12 & 1 & 0 \\ 216 & 108 & 18 & 1 \end{bmatrix}$	(โดยตัวอย่างที่ 2)
$=$	$\begin{bmatrix} 1 & 0 & 0 & 0 \\ 6 \cdot 1 & 1 & 0 & 0 \\ 6^2 \cdot 1 & 6 \cdot 2 & 1 & 0 \\ 6^3 \cdot 1 & 6^2 \cdot 3 & 6 \cdot 3 & 1 \end{bmatrix}$
$= p_4[6]$	#

ทฤษฎีบท 4 $(P_n, \bullet, \otimes)$ เป็นริง

พิสูจน์ ให้ $p_n[a], p_n[b], p_n[c] \in P_n$ โดยที่ $a, b, c \in \mathbb{R}$

$R_1)$ โดยทฤษฎีบท 2 จะได้ว่า $(P_n, \bullet)$ เป็นอาบีเลียนกรุป

$R_2)$ พิจารณา โดยทฤษฎีบท 3

จะได้ว่า $p_n[a] \otimes p_n[b] = p_n[ab]$

จากการที่ $ab \in \mathbb{R}$

$p_n[ab] \in P_n$

ดังนั้น $(P_n, \otimes)$ มีสมบัติปิด

$$\begin{aligned}
 R_3) \text{ พิจารณา } (p_n[a] \otimes p_n[b]) \otimes p_n[c] &= p_n[ab] \otimes p_n[c] \\
 &= p_n[(ab)c] \\
 &= p_n[a(bc)] \\
 &= p_n[a] \otimes p_n[bc] \\
 &= p_n[a] \otimes (p_n[b] \otimes p_n[c])
 \end{aligned}$$

$$\text{ดังนั้น } (p_n[a] \otimes p_n[b]) \otimes p_n[c] = p_n[a] \otimes (p_n[b] \otimes p_n[c])$$

นั่นคือ $(P_n, \otimes)$ มีสมบัติเปลี่ยนหมู่

$$\begin{aligned}
 R_4) \text{ พิจารณา } p_n[a] \otimes (p_n[b] \bullet p_n[c]) &= p_n[a] \otimes p_n[b+c] \\
 &= p_n[a(b+c)] \\
 &= p_n[ab+ac] \\
 &= p_n[ab] \bullet p_n[ac] \\
 &= (p_n[a] \otimes p_n[b]) \bullet (p_n[a] \otimes p_n[c])
 \end{aligned}$$

$$\text{ดังนั้น } p_n[a] \otimes (p_n[b] \bullet p_n[c]) = (p_n[a] \otimes p_n[b]) \bullet (p_n[a] \otimes p_n[c])$$

$$\begin{aligned}
 R_5) \text{ พิจารณา } (p_n[b] \bullet p_n[c]) \otimes p_n[a] &= p_n[b+c] \otimes p_n[a] \\
 &= p_n[(b+c)a] \\
 &= p_n[ba+ca] \\
 &= p_n[ba] \bullet p_n[ca] \\
 &= (p_n[b] \otimes p_n[a]) \bullet (p_n[c] \otimes p_n[a])
 \end{aligned}$$

$$\text{ดังนั้น } (p_n[b] \bullet p_n[c]) \otimes p_n[a] = (p_n[b] \otimes p_n[a]) \bullet (p_n[c] \otimes p_n[a])$$

จาก R_1 ถึง R_5 จะได้ว่า $(P_n, \bullet, \otimes)$ เป็นริง

#

ทฤษฎีบท 5 $(P_n, \bullet, \otimes)$ เป็นริงสลับที่

พิสูจน์ เนื่องจาก $(P_n, \bullet, \otimes)$ เป็นริง (โดยทฤษฎีบท 4)

ให้ $p_n[x], p_n[y] \in P_n$ โดยที่ $x, y \in \mathbb{R}$

$$\text{จะได้ว่า } p_n[x] \otimes p_n[y] = p_n[xy] = p_n[yx] = p_n[y] \otimes p_n[x]$$

ดังนั้น $(P_n, \otimes)$ มีสมบัติสลับที่

นั่นคือ $(P_n, \bullet, \otimes)$ เป็นริงสลับที่

#

ทฤษฎีบท 6 $(P_n, \bullet, \otimes)$ เป็นฟิลด์

พิสูจน์ กำหนดให้ $(P_n, \bullet, \otimes)$ เป็นริง

1) เนื่องจาก $p_n[1] \in P_n$ โดยที่ $1 \in \mathbb{R}$

สำหรับทุกๆ $p_n[a] \in P_n$ โดยที่ $a \in \mathbb{R}$

จะได้ว่า $p_n[a] \otimes p_n[1] = p_n[a1] = p_n[a] = p_n[1a] = p_n[1] \otimes p_n[a]$

ดังนั้น $p_n[1]$ เป็นเอกลักษณ์ใน $(P_n, \otimes)$

2) ให้ $p_n[a] \in P_n - \{p_n[0]\}$ โดยที่ $a \in \mathbb{R} - \{0\}$

จะมี $p_n\left[\frac{1}{a}\right] \in P_n - \{p_n[0]\}$ โดยที่ $\frac{1}{a} \in \mathbb{R} - \{0\}$

ซึ่งทำให้ $p_n[a] \otimes p_n\left[\frac{1}{a}\right] = p_n\left[a \cdot \frac{1}{a}\right] = p_n[1]$

$p_n\left[\frac{1}{a}\right] \otimes p_n[a] = p_n\left[\frac{1}{a} \cdot a\right] = p_n[1]$

ดังนั้น $p_n[a] \otimes p_n\left[\frac{1}{a}\right] = p_n[1] = p_n\left[\frac{1}{a}\right] \otimes p_n[a]$

นั่นคือ $p_n\left[\frac{1}{a}\right]$ เป็นตัวผกผันของ $p_n[a]$ ใน $(P_n - \{p_n[0]\}, \otimes)$

3) โดย ทฤษฎีบท 5 จะได้ว่า $(P_n, \bullet, \otimes)$ เป็นริงสลับที่

ดังนั้น $(P_n, \otimes)$ มีสมบัติสลับที่

จาก 1) ถึง 3) จะได้ว่า $(P_n, \bullet, \otimes)$ เป็นฟิลด์ #

สรุปผลการศึกษาและเสนอแนะ

1. สำหรับทุกๆ $x, y \in \mathbb{R}$ เมื่อ n เป็นจำนวนเต็มบวก และ $n \geq 2$ จะได้ว่า

$$p_n[x] \otimes p_n[y] = p_n[xy]$$

2. เมื่อกำหนดให้ P_n เป็นเซตของเมทริกซ์ปาสกาล โดยที่ $P_n = \{p_n[x] \mid x \in \mathbb{R}\}$

จะได้ว่า $(P_n, \bullet, \otimes)$ เป็นฟิลด์

สำหรับผู้สนใจที่จะศึกษาเรื่องฟิลด์ของเมทริกซ์ปาสกาล อาจจะสามารถดำเนินการอื่นที่นอกเหนือจากการดำเนินการ $\otimes$ และการดำเนินการคูณ $\bullet$ หรืออาจจะศึกษาสมบัติอื่นในระบบพีชคณิตก็ได้

เอกสารอ้างอิง

ศิริลักษณ์ เจริญจิตต์พรชัย. (2537). เอกสารประกอบการสอน วิชา สถิติคณิตศาสตร์ 1. มหาสารคาม : ภาควิชา คณิตศาสตร์ คณะวิทยาศาสตร์ มหาวิทยาลัยมหาสารคาม.

Call, G.S. and Velleman, D.J. (1993). Pascal' Matrices, The American Mathematical Monthly: 100(4): 372-376.

Schott, J.R. (2005). Matrix Analysis for Statistics, 2nd edition , John Wiley & Sons.



HYPERIDENTITIES IN $(xx)(yx) \approx xy$ GRAPH ALGEBRAS OF TYPE (2,0)

Siriporn Bassadorn^{1*} and Tiang Poomsa-ard¹

Abstract

Graph algebras establish a connection between directed graphs without multiple edges and special universal algebras of type (2,0). We say that a graph G satisfies an identity $s \approx t$ if the corresponding graph algebras $\underline{A}(G)$ satisfies $s \approx t$. A graph $G = (V, E)$ is called an $(xx)(yx) \approx xy$ graph if the graph algebras $\underline{A}(G)$ satisfies the equation $(xx)(yx) \approx xy$. An identity $s \approx t$ of term s and t of any type τ is called a hyperidentity of an algebra $\underline{A}$ if whenever the operation symbols occurring in s and t are replaced by any term operations of $\underline{A}$ of the appropriate arity, the resulting identities hold in $\underline{A}$.

In this paper we characterize $(xx)(yx) \approx xy$ graph algebras, identities and hyperidentities in $(xx)(yx) \approx xy$ graph algebras.

Keywords: identities, hyperidentities, term, normal form term, binary algebra, graph algebra, $(xx)(yx) \approx xy$ graph algebra.

1 Introduction

An identity $s \approx t$ of terms s, t of any type τ is called a hyperidentity of an algebra $\underline{A}$ if whenever the operation symbols occurring in s and t are replaced by any term operations of $\underline{A}$ of the appropriate arity, the resulting identities hold in $\underline{A}$. Hyperidentities can be defined more precisely using the concept of a hypersubstitution.

We fix a type $\tau = (n_i)_{i \in I}, n_i > 0$ for all $i \in I$, and operation symbols $(f_i)_{i \in I}$, where f_i is n_i -ary. Let $W_\tau(X)$ be the set of all terms of type τ over some fixed alphabet X , and let $\text{Alg}(\tau)$ be the class of all algebras of type τ . Then a mapping

$$\sigma : \{f_i \mid i \in I\} \rightarrow W_\tau(X)$$

which assigns to every n_i -ary operation symbol f_i an n_i -ary term will be called a *hypersubstitution* of type τ (for short, a hypersubstitution).

¹ Mathematics Program, Faculty of Science, Udonthani Rajabhat University, Udonthani 41000, Thailand.

*Corresponding author E-mail: bsiripon@udru.ac.th

By $\hat{\sigma}$ we denote the extension of hypersubstitution σ to a mapping $\hat{\sigma}: \mathcal{W}_r(X) \rightarrow \mathcal{W}_r(X)$.

The term is defined inductively by

- (i) $\hat{\sigma}[x] = x$ for any variable x in the alphabet X , and
- (ii) $\hat{\sigma}[f_i(t_1, \dots, t_n)] = \sigma(f_i)^{\mathcal{W}_r(X)}(\hat{\sigma}[t_1], \dots, \hat{\sigma}[t_n])$.

Here $\sigma(f_i)^{\mathcal{W}_r(X)}$ on the right hand side of (ii) is the operation induced by $\sigma(f_i)$ on the term algebra with the universe $\mathcal{W}_r(X)$.

Graph algebras have been invented in (Pöschel, 1989) to obtain examples of non-finitely based finite algebras. To recall this concept, let $G = (V, E)$ be a (directed) graph with the vertex set V and the set of edges $E \subseteq V \times V$. Define the graph algebra $\underline{A}(G)$ corresponding to G with the underlying set $V \cup \{\infty\}$, where ∞ is a symbol outside V , and with two basic operations, namely a nullary operation pointing to ∞ and a binary one denoted by juxtaposition, given for $u, v \in V \cup \{\infty\}$ by

$$uv = \begin{cases} u, & \text{if } (u, v) \in E, \\ \infty, & \text{otherwise.} \end{cases}$$

Graph identities were characterized in (Kiss, et al., 1990) by using the rooted graph of a term t , where the vertices correspond to the variables occurring in t . Since on a graph algebra we have one nullary and one binary operation, $\sigma(f)$ in this case is a binary term in $\mathcal{W}_r(X)$, i.e. a term built up from variables of a two-element alphabet and binary operation symbol f corresponding to the binary operation of the graph algebra.

Pöschel (1989) has shown that any term over the class of all graph algebras can be uniquely represented by a normal form term and that there is algorithm to construct the normal form term to every given term t .

Denecke and Poomsa-ard (1997) characterized the graph hyperidentities by using normal form graph hypersubstitutions.

Poomsa-ard (2000) characterized associative graph hyperidentities by using normal form graph hypersubstitutions.

Poomsa-ard et al. (2004) characterized idempotent graph hyperidentities by using normal form graph hypersubstitutions.

Poomsa-ard et al. (2005) characterized transitive graph hyperidentities by using normal form graph hypersubstitutions.

We say that a graph $G = (V, E)$ is called $(xx)(yx) \approx xy$ graph if the corresponding graph $\underline{A}(G)$ satisfied the equation $(xx)(yx) \approx xy$.

In this paper we characterize $(xx)(yx) \approx xy$ graph algebras, identities and hyperidentities in $(xx)(yx) \approx xy$ graph algebras.

2 $(xx)(yx) \approx xy$ graph algebras.

We begin with more precise definition of terms of the type of graph algebras.

Definition 2.1 The set $W_r(X)$ of all terms over the alphabet

$$X = \{x_1, x_2, x_3, \dots\}$$

is defined inductively as follows:

- (i) Every variable x_i , $i=1,2,3,\dots$, and ∞ are terms;
- (ii) if t_1 and t_2 are terms, then $f(t_1, t_2)$ is a term; instead of $f(t_1, t_2)$ we will write $t_1 t_2$, for short;
- (iii) $W_r(X)$ is the set of all terms which can be obtain from (i) and (ii) in finitely many steps.

Terms built up from the two - element set $X_2 = \{x_1, x_2\}$ of variables are thus binary terms. We denote the set of all binary terms by $W_r(X_2)$. The leftmost variable of a term t is denoted by $L(t)$ and rightmost variable of a term t is denoted by $R(t)$. A term, in which the symbol ∞ occurs is called a *trivial term*.

Definition 2.2 A graph $G = (V, E)$ is called $(xx)(yx) \approx xy$ graph if the corresponding graph $\underline{A}(G)$ satisfied the equation $(xx)(yx) \approx xy$.

Definition 2.3 To each non-trivial term t of type $\tau = (2, 0)$ one can define a directed graph $G(t) = (V(t), E(t))$, where the vertex set $V(t)$ is the set $\text{var}(t)$ of all variables occurring in t , and where the edge set $E(t)$ is defined inductively by

$E(t) = \emptyset$ if t is a variable and $E(t_1 t_2) = E(t_1) \cup E(t_2) \cup \{(L(t_1), L(t_2))\}$, when $t = t_1 t_2$ is a compound term and $L(t_1), L(t_2)$ are the leftmost variables in t_1 and t_2 , respectively.

$L(t)$ is called the root of the graph $G(t)$, and the pair $(G(t), L(t))$ is the *rooted graph* corresponding to t . Formally, to every trivial term t we assign the empty graph $\emptyset$.

Definition 2.4 We say that a graph $G = (V, E)$ satisfies an identity $s \approx t$ if the corresponding graph algebra $\underline{A}(G)$ satisfies $s \approx t$ (i.e. we have $s = t$ for every assignment $V(s) \cup V(t) \rightarrow V \cup \{\infty\}$), and in this case, we write $G \models s \approx t$.

Definition 2.5 Let $G = (V, E)$ and $G' = (V', E')$ be graphs. A homomorphism h from G into G' is a mapping $h: V \rightarrow V'$ carrying edges to edges, that is, for which $(u, v) \in E$ implies $(f(u), f(v)) \in E'$.

In Kiss et al. (1990), it was proved:

Proposition 2.1 Let s and t be non-trivial terms from $W_t(X)$ with variables $V(s) = V(t) = \{x_0, x_1, \dots, x_n\}$ and $L(s) = L(t)$. Then a graph $G = (V, E)$ satisfies $s \approx t$ if and only if the graph algebra $\underline{A}(G)$ has the following property:

A mapping $h: V(s) \rightarrow V$ is a homomorphism from $G(s)$ into G if and only if it is a homomorphism from $G(t)$ into G .

Proposition 2.1 gives a method to check whether a graph $G = (V, E)$ satisfies the equation $s \approx t$. Hence, we can check whether a graph $G = (V, E)$ has an $(xx)(yx) \approx xy$ graph algebra.

Proposition 2.2 Let $G = (V, E)$ be a graph. Then G has $(xx)(yx) \approx xy$ graph algebra if and only if for any $a, b \in V$ if $(a, b) \in E$ then $(a, a), (b, a) \in E$.

Proof. Suppose $G = (V, E)$ has an $(xx)(yx) \approx xy$ graph algebra. Let $a, b \in V$ and $(a, b) \in E$. Let s and t be non-trivial terms such that $s = (xx)(yx)$ and $t = xy$. Let $h: V(t) \rightarrow V$ be a function such that $h(x) = a$ and $h(y) = b$. We see that h is homomorphism from $G(t)$ into G . Since G has $(xx)(yx) \approx xy$ graph algebra. By Proposition 2.1, we have h is homomorphism from $G(s)$ into G . Since $(x, x), (y, x) \in E(s)$ so we get $(h(x), h(x)), (h(y), h(x)) = (a, a), (b, a) \in E$.

Conversely, assume $G = (V, E)$ is a graph such that for any $a, b \in V$, if $(a, b) \in E$, then $(a, a), (b, a) \in E$. Let s and t be non-trivial terms such that $s = (xx)(yx)$ and $t = xy$. Clearly that, if $h: V(s) \rightarrow V$ is a homomorphism from $G(s)$ into G , then it is a homomorphism from $G(t)$ into G . Suppose that $h: V(t) \rightarrow V$ is a homomorphism from $G(t)$ into G . Since $(x, y) \in E(t)$, so we have $(h(x), h(y)) \in E$. By assumption, we get $(h(x), h(x)), (h(y), h(x)) \in E$. Hence h is homomorphism from $G(s)$ into G . By Proposition 2.1, we get that $\underline{A}(G)$ satisfies $s \approx t$. $\square$

From Proposition 2.2 we see that graphs which have $(xx)(yx) \approx xy$ graph algebras are the following graphs:



and all graphs such that each component of every subgraph induced by at most two vertices is one of these graphs.

3 Identities in $(xx)(yx) \approx xy$ graph algebras

Graph identities were characterized in Kiss et al. (1990) by the following proposition:

Proposition 3.1 *A non-trivial equation $s \approx t$ is an identity in the class of all graph algebras if and only if either both terms s and t are trivial or none of them is trivial, $G(s)=G(t)$ and $L(s)=L(t)$.*

Further it was proved.

Proposition 3.2 *Let $G=(V,E)$ be a graph and let $h:X \rightarrow V \cup \{\infty\}$ be an evaluation of the variables such that $h(\infty) = \infty$. Consider the canonical extension of h to the set of all terms. Then there holds: if t is a trivial term then $h(t) = \infty$. Otherwise, if $h: G(t) \rightarrow G$ is a homomorphism of graphs, then $h(t) = h(L(t))$, and if h is not a homomorphism of graphs, then $h(t) = \infty$.*

In Poomsa-ard (2000), the following lemma was proved:

Lemma 3.1 *Let $G=(V,E)$ be a graph, let t be a term and let $h:X \rightarrow V \cup \{\infty\}$*

be an evaluation of the variables. Then:

(i) *If h is a homomorphism from $G(t)$ into G with the property that the subgraph of G induced by $h(V(t))$ is complete, then $h(t) = h(L(t))$.*

(ii) *If h is a homomorphism from $G(t)$ into G with the property that the subgraph of G induced by $h(V(t))$ is disconnected, then $h(t) = \infty$.*

Now we apply our results to characterize all identities in the class of all $(xx)(yx) \approx xy$ graph algebras. Clearly, if s and t are trivial, then $s \approx t$ is an identity in the class of all $(xx)(yx) \approx xy$ graph algebras and $x \approx x$ ($x \in X$) is an identity in the class of all $(xx)(yx) \approx xy$ graph algebras too. So we consider the case that s and t are non-trivial and different from variables. Then all identities in the class of all $(xx)(yx) \approx xy$ graph algebras are characterized by the following theorem:

Theorem 3.1 *Let s and t be non-trivial terms. Then $s \approx t$ is an identity in the class of all $(xx)(yx) \approx xy$ graph algebras if and only if the following conditions are satisfied:*

- (i) $L(s) = L(t)$,
- (ii) $V(s) = V(t)$,
- (iii) if $|V(s)| = 1$ then $(x, x) \in E(s)$ if and only if $(x, x) \in E(t)$,
- (iv) if $|V(s)| \geq 2$ then for any $x, y \in V(s)$ which $x \neq y$, $(x, y) \in E(s)$ or $(y, x) \in E(s)$ if and only if $(x, y) \in E(t)$ or $(y, x) \in E(t)$.

Proof. Let s and t be non-trivial terms and suppose that $s \approx t$ is an identity in the class of all $(xx)(yx) \approx xy$ graph algebras. Since the any complete graph has an $(xx)(yx) \approx xy$ graph algebra, it follows that $L(s) = L(t)$ and $V(s) = V(t)$.

Let $|V(s)| = 1$ and suppose that, $x \in V(s)$ such that $(x, x) \in E(s)$ but $(x, x) \notin E(t)$. Consider the graph $G = (V, E)$ such that $V = \{0\}$, $E = \emptyset$. By Proposition 2.2, we see that G has an $(xx)(yx) \approx xy$ graph algebra. Let $h: V(s) \rightarrow V$ be the restriction of an evaluation of the variables such that $h(x) = 0$. We see that $h(s) = \infty$ and $h(t) = h(L(t)) = 0$. Hence $\underline{A}(G)$ does not satisfies $s \approx t$.

Let $|V(s)| \geq 2$ and suppose that there exist $x, y \in V(s)$ which $x \neq y$ such that $(x, y) \in E(s)$ or $(y, x) \in E(s)$ but $(x, y) \notin E(t)$ and $(y, x) \notin E(t)$. Consider the graph $G = (V, E)$ such that $V = \{0, 1, 2\}$, $E = \{(0, 0), (0, 1), (1, 0), (1, 1), (1, 2), (2, 1), (2, 2)\}$. By Proposition 2.2, we get G has an $(xx)(yx) \approx xy$ graph algebras. Let $h: V(t) \rightarrow V$ be the restriction of an evaluation of the variables such that $h(x) = 0$, $h(y) = 2$, and $h(z) = 1$ for all other $z \in V(s)$, we see that $h(s) = \infty$ and $h(t) = h(L(t))$. Hence $\underline{A}(G)$ does not satisfies $s \approx t$. By the same way, if $(x, y) \in E(t)$ or $(y, x) \in E(t)$ but $(x, y) \notin E(s)$ and $(y, x) \notin E(s)$, then we can prove that $\underline{A}(G)$ does not satisfies $s \approx t$.

Conversely, suppose that s and t are non-trivial terms satisfying (i), (ii), (iii) and (iv). Let $G = (V, E)$ has an $(xx)(yx) \approx xy$ graph algebra. Let $h: V(s) \rightarrow V$ be the restriction of the variables. Suppose that h is a homomorphism from $G(s)$ into G and let $(x, y) \in E(t)$.

(1) If $x = y$ then $(x, x) \in E(t)$. We consider in two cases:

Case I. $|V(s)| = 1$, by (iii) we have $(x, x) \in E(s)$. Hence $(h(x), h(x)) \in E$.

Case II. $|V(s)| \geq 2$, we have $z \in V(s)$ which $z \neq x$ such that $(x, z) \in E(s)$ or $(z, x) \in E(s)$, since h is a homomorphism from $G(s)$ into G , so we get $(h(x), h(z)) \in E$ or $(h(z), h(x)) \in E$. Since G has an $(xx)(yx) \approx xy$ graph algebra, hence $(h(x), h(x)) \in E$.

(2) If $x \neq y$, then by (iv), we have $(x, y) \in E(s)$ or $(y, x) \in E(s)$. Since h is a homomorphism from $G(s)$ into G , we get $(h(x), h(y)) \in E$ or $(h(y), h(x)) \in E$. Since G has an $(xx)(yx) \approx xy$ graph algebra, we get $(h(x), h(y)) \in E$.

Therefore h is a homomorphism from $G(t)$ into G . By the same way, if h is a homomorphism from $G(t)$ into G , then we can prove that it is a homomorphism from $G(s)$ into G . Hence by Proposition 2.1, we get $\underline{A}(G)$ satisfies $s \approx t$. $\square$

4 Hyperidentities in $(xx)(yx) \approx xy$ graph algebras

Let $X\Gamma A$ be the class of all $(xx)(yx) \approx xy$ graph algebras and let $Id\ X\Gamma A$ be the set of all identities satisfied in $X\Gamma A$. Now we want to make precise the concept of a hypersubstitution for graph algebras.

Definition 4.1 A mapping $\sigma: \{f, \infty\} \rightarrow W_r(X_2)$, where f is the operation symbol corresponding to the binary operation of a graph algebra is called *graph hypersubstitution* if $\sigma(\infty) = \infty$ and $\sigma(f) = s \in W_r(X_2)$. The graph hypersubstitution with $\sigma(f) = s$ is denoted by σ_s .

Definition 4.2 An identity $s \approx t$ is an $(xx)(yx) \approx xy$ *graph hyperidentity* if and only if for all graph hypersubstitutions σ , the equations $\hat{\sigma}[s] \approx \hat{\sigma}[t]$ are identities in $X\Gamma A$.

If we want to check that an identity $s \approx t$ is a hyperidentity in $X\Gamma A$ we can restrict ourselves to a (small) subset of $Hyp\Gamma$ - the set of all graph hypersubstitutions.

In Plonka (1994), the following relation between hypersubstitutions was defined:

Definition 4.3 Two graph hypersubstitutions σ_1, σ_2 are called *XGA-equivalent* if and only if $\sigma_1[f] \approx \sigma_2[f]$ is an identity in XGA. In this case we write $\sigma_1 \sqsubseteq \text{XGA} \sigma_2$.

In Denecke and Reichel (1995) (see also Plonka (1995)), the following lemma was proved:

Lemma 4.1 If $\hat{\sigma}_1[s] \approx \hat{\sigma}_1[t] \in \text{Id XGA}$ and $\sigma_1 \sqsubseteq \text{XGA} \sigma_2$ then $\hat{\sigma}_2[s] \approx \hat{\sigma}_2[t] \in \text{Id XGA}$.

Therefore, it is enough to consider the quotient set $\text{Hyp}\Gamma / \sqsubseteq \text{XGA}$.

In Pöschel (1989), it was shown that any non-trivial term t over the class of graph algebras has a uniquely determined normal form term $NF(t)$ and there is an algorithm to construct the normal form term to a given term t . Now, we want to describe how to construct the normal form term. Let t be a non-trivial term. The *normal form term* of t is the term $NF(t)$ constructed by the following algorithm:

- (i) Construct $G(t) = (V(t), E(t))$.
- (ii) Construct for every $x \in V(t)$ the list $l_x = (x_{i_1}, x_{i_2}, \dots, x_{i_{k(x)}})$ of all out-neighbors (i.e. $((x, x_{i_j}) \in E(t), 1 \leq j \leq k(x))$ ordered by increasing indices $i_1 \leq \dots \leq i_{k(x)}$ and let s_x be the term $((\dots((xx_{i_1})x_{i_2})\dots)x_{i_{k(x)}})$.
- (iii) Starting with $x := L(t)$, $Z := V(t)$, $s := L(t)$, choose the variable $x_i \in Z \cap V(s)$ with the least index i , substitute the first occurrence of x_i by the term s_{x_i} , denote the resulting term again by s and put $Z := Z \setminus \{x_i\}$. While $Z \neq \emptyset$ continue this procedure. The resulting term is the normal form $NF(t)$.

The algorithm stops after a finite number of steps, since $G(t)$ is a rooted graph. Without the difficulties one shows $G(NF(t)) = G(t)$, $L(NF(t)) = L(t)$.

In Denecke and Poomsa-ard (1997), the following definition was given:

Definition 4.4 The graph hypersubstitution $\sigma_{NF(t)}$, is called *normal form graph hypersubstitution*. Here $NF(t)$ is the normal form of the binary term t .

Since for any binary term t , the rooted graph of t and $NF(t)$ are the same, we have $t \approx NF(t) \in \text{Id XGA}$. Then for any graph hypersubstitution σ_t with $\sigma_t(f) = t \in W_r(X_2)$, one obtains $\sigma_t \sim_{\text{XGA}} \sigma_{NF(t)}$.

In Denecke and Poomsa-ard (1997), all rooted graphs with at most two vertices were considered. Then we formed the corresponding binary terms and used the algorithm to construct normal form terms. The result is given in the following table.

normal form term	graph hypers	normal form term	graph hypers
x_1x_2	σ_0	x_1	σ_1
x_2	σ_2	x_1x_1	σ_3
x_2x_2	σ_4	x_2x_1	σ_5
$(x_1x_1)x_2$	σ_6	$(x_2x_1)x_2$	σ_7
$x_1(x_2x_2)$	σ_8	$x_2(x_1x_1)$	σ_9
$(x_1x_1)(x_2x_2)$	σ_{10}	$(x_2(x_1x_1))x_2$	σ_{11}
$x_1(x_2x_1)$	σ_{12}	$x_2(x_1x_2)$	σ_{13}
$(x_1x_1)(x_2x_1)$	σ_{14}	$x_2((x_1x_1)x_2)$	σ_{15}
$x_1((x_2x_1)x_2)$	σ_{16}	$(x_2(x_1x_2))x_2$	σ_{17}
$(x_1x_1)((x_2x_1)x_2)$	σ_{18}	$(x_2((x_1x_1)x_2))x_2$	σ_{19}

By Theorem 3.1, we have the following relations:

- (i) $\sigma_0 \sim_{XGA} \sigma_6 \sim_{XGA} \sigma_8 \sim_{XGA} \sigma_{10} \sim_{XGA} \sigma_{12} \sim_{XGA} \sigma_{14} \sim_{XGA} \sigma_{16} \sim_{XGA} \sigma_{18}$,
- (ii) $\sigma_5 \sim_{XGA} \sigma_7 \sim_{XGA} \sigma_9 \sim_{XGA} \sigma_{11} \sim_{XGA} \sigma_{13} \sim_{XGA} \sigma_{15} \sim_{XGA} \sigma_{17} \sim_{XGA} \sigma_{19}$.

Let M_{XGA} be the set of all normal form graph hypersubstitution in XGA . Then we get,

$$M_{XGA} = \{\sigma_0, \sigma_1, \sigma_2, \sigma_3, \sigma_4, \sigma_5\}$$

We defined the product of two normal form graph hypersubstitutions in M_{XGA} as follows.

Definition 4.5 The product $\sigma_{1N} \circ_N \sigma_{2N}$ of two normal form graph hypersubstitutions is defined by $(\sigma_{1N} \circ_N \sigma_{2N})(f) = NF(\hat{\sigma}_{1N}[\sigma_{2N}(f)])$.

The following table gives the multiplication of elements in M_{XGA} .

σN	σ_0	σ_1	σ_2	σ_3	σ_4	σ_5
σ_0	σ_0	σ_1	σ_2	σ_3	σ_4	σ_5
σ_1	σ_1	σ_1	σ_2	σ_1	σ_2	σ_2
σ_2	σ_2	σ_1	σ_2	σ_1	σ_2	σ_1
σ_3	σ_3	σ_1	σ_2	σ_3	σ_4	σ_4
σ_4	σ_4	σ_1	σ_2	σ_3	σ_4	σ_3
σ_5	σ_5	σ_1	σ_2	σ_3	σ_4	σ_0

In Denecke and Poomsa-ard (1997), the concept of a leftmost normal form graph hypersubstitution was defined.

Definition 4.6 A graph hypersubstitution σ is called *leftmost* hypersubstitution if $L(\sigma(f)) = x_1$.

The set $M_{L(XGA)}$ of all leftmost normal form graph hypersubstitution in M_{XGA} contains exactly the following elements;

$$M_{L(XGA)} = \{\sigma_0, \sigma_1, \sigma_3\}.$$

In Plonka (1994), the concept of a proper hypersubstitution of a class of algebras was introduced.

Definition 4.7 A hypersubstitution σ is called proper with respect to a class K of algebras if $\hat{\sigma}[s] \approx \hat{\sigma}[t] \in IdK$ for all $s \approx t \in IdK$.

A graph hypersubstitution with the property that $\sigma(f)$ contains both variables x_1 and x_2 called *regular*. It is easy to check that the set of all regular graph hypersubstitutions forms a groupoid M_{reg} .

We want to prove that $\{\sigma_0\}$ is the set of all proper graph hypersubstitutions with respect to XGA .

Theorem 4.1 $\{\sigma_0\}$ is the of all proper graph hypersubstitution with respect to the class XGA of $(xx)(yx) \approx xy$ graph algebras.

Proof. For any $\sigma \notin \{\sigma_0\}$, we give an identity $s \approx t$ in XGA such that $\hat{\sigma}[s] \approx \hat{\sigma}[t] \notin IdXGA$. Clearly, if s and t are trivial terms with different

leftmost and rightmost, $\hat{\sigma}_1[s] \approx \hat{\sigma}_1[t] \notin IdX\Gamma A$, $\hat{\sigma}_3[s] \approx \hat{\sigma}_3[t] \notin IdX\Gamma A$ and $\hat{\sigma}_2[s] \approx \hat{\sigma}_2[t] \notin IdX\Gamma A$, $\hat{\sigma}_4[s] \approx \hat{\sigma}_4[t] \notin IdX\Gamma A$

Let $s = x_1(x_2x_1), t = x_1((x_2x_1)x_2)$. By theorem 3.1, we get $s \approx t \in IdX\Gamma A$. If $\sigma \in \{\sigma_5\}$, then $L(\sigma(f)) = x_2$. We see that $L(\hat{\sigma}[s]) = x_1$ and $L(\hat{\sigma}[t]) = x_2$ for $\sigma \in \{\sigma_5\}$. Thus $\hat{\sigma}[s] \approx \hat{\sigma}[t] \notin IdX\Gamma A$. $\square$

Now we apply our results to characterize all hyperidentities in the class of all $(xx)(yx) \approx xy$ graph algebras. Clearly, if s and t are trivial terms, then $s \approx t$ is a hyperidentity in $X\Gamma A$ if and only if they have the same leftmost and the same rightmost and $x \approx x, x \in X$ is a hyperidentity in $X\Gamma A$ too. So we consider the case that s and t are non-trivial and different from variables.

In Denecke and Poomsa-ard (1997), the concept of a *dual term* s^d of the non-trivial term s was defined in the following way:

If $s = x \in X$, then $s^d = x$, if $s = t_1t_2$, then $s^d = t_2^dt_1^d$. The dual term s^d can be obtained by application of the graph hypersubstitution σ_5 , $\hat{\sigma}_5[s] = s^d$.

Theorem 4.2 *An identity $s \approx t$ in $X\Gamma A$, where s and t are non-trivial and $s \neq x, t \neq x$, is a hyperidentity in $X\Gamma A$ if and only if the dual equation $s^d \approx t^d$ is also an identity in $X\Gamma A$.*

Proof. If $s \approx t$ is a hyperidentity in $X\Gamma A$, then $\hat{\sigma}_5[s] \approx \hat{\sigma}_5[t]$ is an identity in $X\Gamma A$, i.e., $s^d \approx t^d$ is an identity in $X\Gamma A$. Conversely, assume that $s \approx t$ is an identity in $X\Gamma A$ and that $s^d \approx t^d$ is an identity in $X\Gamma A$ too. We have to prove that $\approx$ is closed under all graph hypersubstitutions from $M_{X\Gamma A}$.

If $\sigma \in \{\sigma_0\}$ then σ is a proper and we get that $\hat{\sigma}[s] \approx \hat{\sigma}[t] \in IdX\Gamma A$. By assumption, $\hat{\sigma}_5[s] = s^d \approx t^d = \hat{\sigma}_5[t]$ is an identity in $X\Gamma A$.

For $\sigma_1, \sigma_2, \sigma_3$ and σ_4 we have $\hat{\sigma}_1[s] = L(s) = L(t) = \hat{\sigma}_1[t]$, $\hat{\sigma}_2[s] = L(s^d) = L(t^d) = \hat{\sigma}_2[t]$, $\hat{\sigma}_3[s] = L(s)L(s) = L(t)L(t) = \hat{\sigma}_3[t]$ and $\hat{\sigma}_4[s] = L(s^d)L(s^d) = L(t^d)L(t^d) = \hat{\sigma}_4[t]$. $\square$

References

- Denecke, K. and Poomsa-ard, P. (1995). Hyperidentities in graph algebras, *Contributions to General Algebras and Applications in Discrete Mathematics*, Potdam. pp. 59-68.
- Denecke, K. and Reichel, M. (1995). Monoids of Hypersubstitutions and M-solid varieties, *Contributions to General Algebras*, Wien. pp. 117-125.
- Kiss, E.W., Pöschel, R. and P. Pröhle, P. (1990). Subvarieties of varieties generated by graph algebras. *Acta. Sci. Math.* 54: 57-75.
- Plonka, J. (1995). Hyperidentities in some of varieties in: *General algebra and Discrete Mathematics*, ed. by K. Denecke and O. Luders, Lemgo. pp.195-213.
- Plonka, J. (1994). Proper and inner hypersubstitutions of varieties. in: *Proceedings of the International Conference: Summer School on General Algebra and Ordered Sets*. Palacky University Olomouce. pp.106-115.
- Poomsa-ard, T. (2000). Hyperidentities in associative graph algebras. *Discusiones Mathematicae General Algebra and Applications* 20:169-182.
- Poomsa-ard, T., Wetweera-pong, J. and Samartkoon, C. (2004). Hyperidentities in idempotent graph algebras. *Thai Journal of Mathematics* 2 (1): 173-182.
- Poomsa-ard, T., Wetweera-pong, J. and Samartkoon, C. (2005). Hyperidentities in transitive graph algebras. *Discussion Mathematicae General Algebra and Applications* 25:23-37
- Pöschel, R. (1989). The equational logic for graph algebras. *Zeitschr.f.math. Logik and Grundlagen d. Math.* Bd. 35,S: 273-282.
- Pöschel, R. (1990). Graph algebras and graph varieties. *Algebra Universalis* 27: 559-577.
- Shallon, C.R. 1979. Non-finitely based finite algebras derived from lattices. [Ph.D. Dissertation], Los Angeles, University of California.

การใช้ลำดับนิวคลีโอไทด์ของยีน 16S rRNA ในการระบุชนิดของแบคทีเรียที่แยกจากไร่น้ำนางฟ้า

The Use of 16S rRNA Gene Sequences in Identification of Bacteria Isolated from Fairy shrimps

หนูเดือน เมืองแสน¹ จิตติพร สุวรรณาลัย²

บทคัดย่อ

การวิจัยนี้มีวัตถุประสงค์หลักเพื่อจะระบุชนิดของแบคทีเรียที่แยกจากไร่น้ำนางฟ้าที่เป็นโรคจุดดำด้วยการตรวจสอบดีเอ็นเอโดยใช้ลำดับนิวคลีโอไทด์ของยีน 16S rRNA ผลการศึกษาพบว่า การใช้ลำดับนิวคลีโอไทด์ของยีน 16S rRNA และฐานข้อมูลทางชีวภาพ BIBI สามารถระบุชนิดของแบคทีเรียในระดับสปีชีส์ได้ทั้งหมด 9 ไอโซเลต คิดเป็น 100% โดยทั้ง 9 ไอโซเลตเป็นสมาชิกเชื้อแบคทีเรียในสปีชีส์ของ *Aeromonas hydrophila*, *Enterobacter cloacae*, *Klebsiella pneumoniae* และ *Empedobacter brevis* ผลการตรวจสอบอุณหภูมิและความเป็นกรด-ด่างต่อการเจริญของเชื้อแบคทีเรีย พบว่า เชื้อแบคทีเรียจำนวน 4 ไอโซเลตสามารถเจริญได้ดีที่อุณหภูมิ 20-35 องศาเซลเซียส และความเป็นกรด-ด่าง 6.0-9.0 ยกเว้นเชื้อ *Empedobacter brevis* เจริญได้ดีที่อุณหภูมิ 25-30 องศาเซลเซียส และความเป็นกรด-ด่าง 6.0-7.0 งานวิจัยนี้สามารถแสดงให้เห็นได้ว่า การใช้ลำดับนิวคลีโอไทด์ของยีน 16S rRNA สามารถยืนยันผลการระบุชนิดของแบคทีเรียโดยวิธีทางชีวเคมี

Abstract

The objective of this research was to identify bacteria isolated from fairy shrimps with black disease by the use of 16S rRNA gene sequences. The results showed that all 9 isolates used in this study (100%) could be identified into the species levels. These isolates belong to species of *Aeromonas hydrophila*, *Enterobacter cloacae*, *Klebsiella pneumoniae* and *Empedobacter brevis*. Considering the growth conditions, four tested isolates showed good growth with temperature range of 20-35°C and pH 6.0-9.0 except *Empedobacter brevis*, which showed good growth with temperature range of 25-30°C and pH 6.0-7.0. In conclusion, we can confirm the bacteria species by using 16S rRNA gene sequences as previously reported by using biochemical test.

คำสำคัญ : แบคทีเรีย, โรคจุดดำ, ไร่น้ำนางฟ้า, ยีน 16S rRNA

Keywords: Bacteria, Black disease, Fairy shrimp, 16S rRNA gene

¹ ศูนย์วิจัยอนุกรมวิธานประยุกต์ ภาควิชาชีววิทยา คณะวิทยาศาสตร์ มหาวิทยาลัยขอนแก่น จ.ขอนแก่น 40002

² ภาควิชาชีววิทยา คณะวิทยาศาสตร์ มหาวิทยาลัยขอนแก่น จ.ขอนแก่น 40002

บทนำ

โรคจุดดำ (black disease) เป็นโรคที่พบในไร่น้ำนางฟ้า มีลักษณะเป็นปุ่มปมสีดำตามร่างกายและส่งผลให้ไร่น้ำนางฟ้าตายในเวลารวดเร็ว ซึ่งก่อให้เกิดผลเสียต่ออุตสาหกรรมการเพาะเลี้ยงไร่น้ำนางฟ้าในเชิงพาณิชย์ ในรายงานพบ โดยหนูเดือน เมืองแสน และคณะ (2549) ได้แยกและจำแนกเชื้อแบคทีเรียออกจากไร่น้ำนางฟ้าที่เป็นโรคจุดดำ โดยอาศัยลักษณะทางสัณฐานวิทยาของโคโลนีแบคทีเรียและการตรวจสอบด้วยวิธีทางชีวเคมี สามารถแยกและจำแนกแบคทีเรียที่เกี่ยวข้องได้ 4 กลุ่มหลัก คือ *Aeromonas* spp., *Klebsiella pneumoniae*, *Enterobacter* spp. และ *Chryseobacterium* spp. แต่ยังไม่สามารถระบุชนิดของแบคทีเรียทั้งหมดได้ถึงระดับสปีชีส์ ดังนั้น การวิจัยในครั้งนี้จึงมีวัตถุประสงค์หลักที่จะระบุชนิดของแบคทีเรียเหล่านี้ด้วยวิธีการตรวจสอบดีเอ็นเอ โดยใช้ลำดับนิวคลีโอไทด์ของยีน 16S rRNA

ยีน 16S rRNA เป็นเครื่องหมายดีเอ็นเอที่ดีในการใช้ศึกษาวิวัฒนาการและความสัมพันธ์ระหว่างสิ่งมีชีวิต เพราะเป็นโมเลกุลที่พบในทุกสิ่งมีชีวิต มีหน้าที่ที่แน่นอนในสิ่งมีชีวิตโดยมีการผลิตโปรตีนชนิดเคมเสมอเพื่อความอยู่รอดของสิ่งมีชีวิตนั้นๆ มีการกระจายตัวของโมเลกุลนี้อย่างกว้างขวาง พบได้ทั่วไป และมีลำดับเบสที่มีการอนุรักษ์ปานกลาง นิยมนำมาใช้ในการจำแนกชนิดของแบคทีเรีย เพราะยีน 16S rRNA เป็นยีนที่มีเพียงชุดเดียวในจีโนมของแบคทีเรีย พบในแบคทีเรียทุกชนิด มีขนาดประมาณ 1500 - 1600 เบส และมีความแตกต่างมากพอที่จะนำมาใช้ในการระบุชนิดของเชื้อแบคทีเรียในระดับสปีชีส์ ซึ่งความสัมพันธ์ระหว่างแบคทีเรียจะขึ้นอยู่กับความคล้ายกัน (similarity) ของลำดับเบสของยีน 16S rRNA การนำลำดับนิวคลีโอไทด์มาใช้ในการระบุชนิดของแบคทีเรียชนิดก่อโรคหรือที่แยกได้จากทางการแพทย์ และสิ่งแวดล้อมมีประสิทธิภาพสูงและประสบความสำเร็จมาแล้ว โดยนักวิจัยหลายกลุ่ม (Weisburg et al., 1991; Drancourt et al., 2000; Petti et al., 2005)

การวิจัยในครั้งนี้จึงมีวัตถุประสงค์ที่จะระบุชนิดของแบคทีเรียที่แยกจากไร่น้ำนางฟ้าเป็นโรคจุดดำในระดับสปีชีส์ เพื่อใช้เป็นข้อมูลพื้นฐานนำไปสู่การเข้าใจกลไกการก่อโรคและหาวิธีการป้องกันรักษาและสามารถเพาะเลี้ยงไร่น้ำนางฟ้าที่มีคุณภาพดีต่อไปในอนาคต

วิธีการทดลอง

สายพันธุ์เชื้อแบคทีเรีย

เตรียมเชื้อแบคทีเรียสายพันธุ์บริสุทธิ์ 4 กลุ่ม ซึ่งเก็บในอาหารเหลว Tryptic Soy Broth (TSB) และ 15% glycerol อุณหภูมิ -80 องศาเซลเซียส จำนวน 9 ไอโซเลต ดังนี้ *Klebsiella* spp. (BTL13, BTL26) *Enterobacter* spp. (BTL4, BTL7) *Aeromonas* spp. (BTL5, BTL15, BTL25) และ *Chryseobacterium* spp. (BTL28, BTL33) โดยเลี้ยงเชื้อในอาหารเหลว TSB ในเครื่องบ่มเขย่าที่อุณหภูมิ 35 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 24 ชั่วโมง

การสกัดดีเอ็นเอ การทำปฏิกิริยาพีซีอาร์ (PCR) และการทำดีเอ็นเอให้บริสุทธิ์

สกัดดีเอ็นเอจากแบคทีเรีย โดยใช้ Genomic DNA Isolation Kit (Bio-Rad, USA) จากนั้นคำนวณหาความเข้มข้นของดีเอ็นเอที่สกัดได้ ส่วนประกอบในการทำปฏิกิริยาพีซีอาร์ปริมาตร 25 μ l ประกอบด้วย 1x PCR buffer, 0.2 mM $MgCl_2$, 0.2 mM dNTP, 0.2 μ M Primer, 1 U DNA Polymerase และ 10-50 ng Template DNA ไพรเมอร์ที่ใช้ คือ Forward primer (FD₃)- 5' AGAGTTTGATCCTGGCTCAG 3' และ Reverse primer (rP₃)- 5' ACGGCTACCTGTTACGACTT 3' (ดัดแปลงจาก Weisburg et al., 1991) โดยมีโปรแกรมปฏิกิริยาพีซีอาร์ที่ใช้ ดังนี้ initial denature ที่ 95 องศาเซลเซียส (3 นาที) denature ที่ 95 องศาเซลเซียส (1 นาที) annealing ที่ 42 องศาเซลเซียส (30-60 วินาที) extension ที่ 72 องศาเซลเซียส (2 นาที) จำนวน 35 รอบ ต่อด้วยขั้นตอน extension 72 องศาเซลเซียส (10 นาที) ตรวจสอบผลการสังเคราะห์ดีเอ็นเอบนอะกาโรสเจลด้วยวิธีเจลอิลิกโทรโฟเรซิส

เทียบกับ 1 kb DNA marker จากนั้นตัดแถบดีเอ็นเอที่มีขนาด 1500 bp ออกจากเจลและทำดีเอ็นเอให้บริสุทธิ์ด้วย GF-1 Gel DNA Recovery Kit (Europa Bioproducts)

การวิเคราะห์หาลำดับนิวคลีโอไทด์และระบุชนิดของแบคทีเรีย

ส่งผลผลิตดีเอ็นเอขนาด 1500 คู่เบส ที่ผ่านการทำให้บริสุทธิ์แล้วตรวจหาลำดับนิวคลีโอไทด์ที่ห้องปฏิบัติการ BSU (BIOTEC, ปทุมธานี) ตรวจวิเคราะห์หาลำดับนิวคลีโอไทด์ที่ได้เปรียบเทียบกับฐานข้อมูลทางชีวภาพ BIBI (Bio Informatic Bacteria Identification) เพื่อระบุชนิดของแบคทีเรียในระดับสปีชีส์ และวิเคราะห์ความสัมพันธ์ทางวิวัฒนาการด้วยวิธี neighbour joining method (Devulder et al., 2003)

ทดสอบการเจริญเติบโตของแบคทีเรียในอาหารเลี้ยงเชื้อที่อุณหภูมิต่างๆ

เลือกตัวแทนเชื้อแบคทีเรียสายพันธุ์บริสุทธิ์ในแต่ละกลุ่ม ดังนี้ BTL4, BTL5, BTL25, BTL26, BTL33 นำโคโลนีเดี่ยวบริสุทธิ์มาเลี้ยงในอาหารเหลว TSB ด้วยการบ่มที่อุณหภูมิ 25 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 24 ชั่วโมง ปรับความเข้มข้นของแบคทีเรียให้เท่ากับสารละลายมาตรฐาน McFarland 0.5 เตรียมอาหารเลี้ยงเชื้อ TSB แบ่งใส่หลอดทดลอง หลอดละ 4.9 ml ใส่เชื้อแบคทีเรียที่ปรับค่ามาตรฐานแล้วลงในหลอดอาหารเลี้ยงเชื้อ TSB หลอดละ 0.1 ml นำไปบ่มที่อุณหภูมิ 20, 25, 30, 35 และ 40 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 24 ชั่วโมง ทำการทดลอง 3 ซ้ำ ด้วยเทคนิคปลอดเชื้อ นำไปวัดค่าการดูดกลืนแสงที่เปลี่ยนแปลงไป โดยเครื่องสเปกโตรโฟโตมิเตอร์ (Spectrometer-20) ที่ความยาวคลื่น 600 นาโนเมตร

ทดสอบการเจริญเติบโตของแบคทีเรียในอาหารเลี้ยงเชื้อที่ความเป็นกรด-ด่างต่างกัน

นำโคโลนีเดี่ยวตัวแทนเชื้อแบคทีเรียสายพันธุ์บริสุทธิ์ในแต่ละกลุ่มมาเลี้ยงในอาหารเหลว TSB และ

บ่มที่อุณหภูมิ 25 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 24 ชั่วโมง ปรับความเข้มข้นของแบคทีเรียให้เท่ากับสารละลายมาตรฐาน McFarland 0.5 เตรียมอาหารเลี้ยงเชื้อ TSB ปลอดเชื้อและปรับค่าความเป็นกรด-ด่างให้เท่ากับ 6, 7, 8, 9 และ 10 แบ่งใส่หลอดทดลอง หลอดละ 4.9 ml ใส่เชื้อแบคทีเรียที่ปรับค่ามาตรฐานลงในหลอดอาหารเลี้ยงเชื้อ TSB หลอดละ 0.1 ml นำไปบ่มที่อุณหภูมิ 25 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 24 ชั่วโมง ทำการทดลอง 3 ซ้ำ ด้วยเทคนิคปลอดเชื้อ นำไปวัดค่าการดูดกลืนแสงที่เปลี่ยนแปลงไป

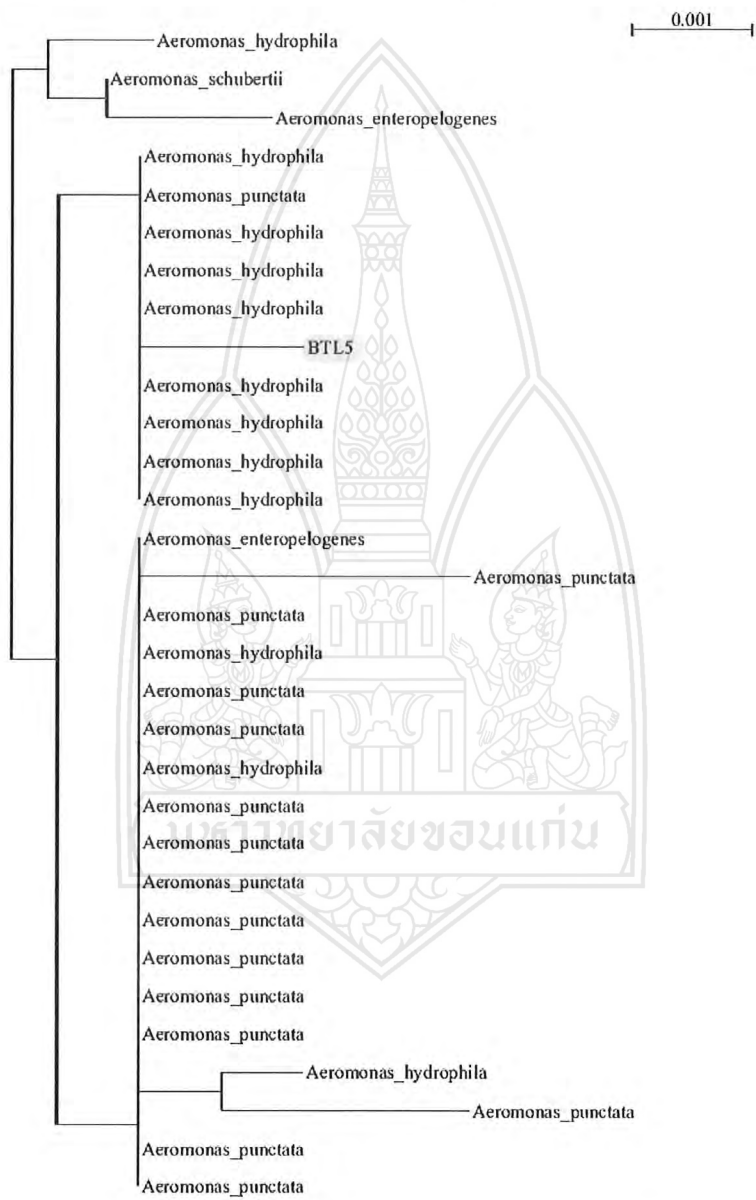
ผลการศึกษา

การระบุชนิดของแบคทีเรียโดยยีน 16S rRNA

ดีเอ็นเอที่สกัดได้จากเชื้อแบคทีเรีย 9 ไอโซเลต ถูกนำมาแยกในอะกาโรสเจลความเข้มข้น 0.8% และคำนวณหาความเข้มข้นของดีเอ็นเอด้วยวิธีวัดการเรืองแสงร่วมกับเอธิเดียมโบรไมด์ (EtBr) ได้ความเข้มข้นของดีเอ็นเออยู่ในช่วง 100- 200 ng/ μ l เมื่อทำการเพิ่มปริมาณดีเอ็นเอในส่วนที่ยีน 16S rRNA ของเชื้อแบคทีเรียทั้ง 9 ไอโซเลต โดยปฏิกิริยาพีซีอาร์ ได้ผลผลิตพีซีอาร์ขนาด 1500 bp (รูปที่ 1) เมื่อทำการตรวจวิเคราะห์ดีเอ็นเอเพื่อหาลำดับนิวคลีโอไทด์ ได้ขนาดระหว่าง 387-1000 คู่เบส เฉพาะดีเอ็นเอที่มีขนาดความยาวมากกว่า 500 คู่เบส ถูกนำมาวิเคราะห์ หากขนาดของดีเอ็นเอที่ได้จากการตรวจวิเคราะห์หาลำดับเบสมีขนาดสั้นกว่า 500 bp จะมีกรณีตรวจหาลำดับเบสซ้ำอีก จากนั้นทำการเปรียบเทียบลำดับเบสที่ได้กับฐานข้อมูลทางชีวภาพ BIBI ซึ่งเป็นฐานข้อมูลที่ได้ทำการรวบรวมลำดับเบสของยีน 16S rRNA ของแบคทีเรียที่พบทั่วโลกไว้มากที่สุด ได้ข้อมูลสายสัมพันธ์ทางวิวัฒนาการของเชื้อแบคทีเรียทั้งหมด (ดังตัวอย่างการวิเคราะห์ BTL5 ในรูปที่ 2) ซึ่งสามารถระบุชนิดของแบคทีเรียทั้ง 9 ไอโซเลตในระดับสปีชีส์ได้ ดังตารางที่ 1



รูปที่ 1 ขนาดของแถบดีเอ็นเอที่ได้จากปฏิกิริยาพีซีอาร์หลังการทำดีเอ็นเอให้บริสุทธิ์เทียบกับดีเอ็นเอมาตรฐาน โดยช่องที่ 1-9 =BTL5, BTL13, BTL15, BTL25, BTL4, BTL7, BTL26, BTL28 และ BTL33



รูปที่ 2 ตัวอย่างแสดงสายสัมพันธ์ทางวิวัฒนาการของเชื้อแบคทีเรีย BTL5 มีความใกล้เคียงกับ *Aeromonas hydrophila* จากการวิเคราะห์โดยฐานข้อมูล BIBI

ตารางที่ 1 เปรียบเทียบการระบุชนิดของแบคทีเรียโดยวิธีทดสอบทางชีวเคมีและวิธีการวิเคราะห์ลำดับเบสของยีน 16S rRNA โดยใช้ฐานข้อมูลทางชีวภาพ BIBI

เชื้อแบคทีเรีย	ทดสอบทางชีวเคมี	ยีน 16S rRNA โดยใช้ฐานข้อมูลทางชีวภาพ BIBI
BTL4, BTL7	<i>Enterobacter</i> sp.	<i>Enterobacter cloacae</i>
BTL 5	<i>Aeromonas</i> sp.	<i>Aeromonas hydrophila</i>
BTL13, BTL26	<i>Klebsiella pneumoniae</i>	<i>Klebsiella pneumoniae</i>
BTL15, BTL25	<i>Aeromonas sobria</i>	<i>Aeromonas hydrophila</i>
BTL28, BTL33	<i>Chryseobacterium</i> sp.	<i>Empedobacter brevis</i>

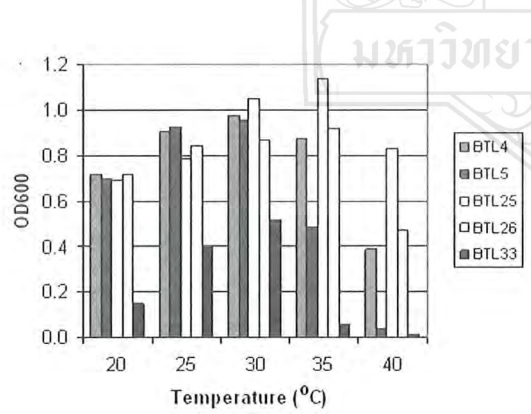
ผลของอุณหภูมิและความเป็นกรด-ด่างต่อการเจริญของเชื้อแบคทีเรีย

จากการทดสอบเชื้อแบคทีเรียจำนวน 5 ไอโซเลต (BTL4, BTL5, BTL13, BTL25, BTL26) ซึ่งเป็นตัวแทนของแบคทีเรีย 4 กลุ่ม พบว่า แบคทีเรีย 4 ไอโซเลตสามารถเจริญได้ที่อุณหภูมิ 20 - 35 องศาเซลเซียส มีเพียงหนึ่งไอโซเลต (BTL33) เจริญได้น้อย แต่ก็เจริญได้ดีสุดที่อุณหภูมิ 25-30 องศาเซลเซียส ส่วนที่อุณหภูมิอื่นๆ สามารถเจริญเติบโตได้เพียงเล็กน้อยถึงไม่สามารถเจริญเติบโตได้เลย (รูปที่ 3) ผลการตรวจสอบความเป็นกรด-ด่างต่อการเจริญของเชื้อพบว่า เชื้อแบคทีเรีย 4 ไอโซเลต สามารถเจริญได้ดี

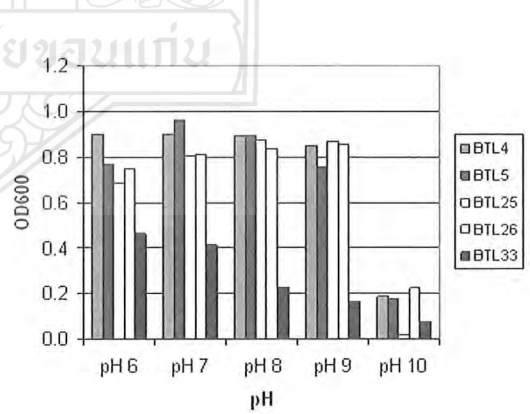
ที่ความเป็นกรด-ด่างระหว่าง 6.0-9.0 มีเพียงหนึ่งไอโซเลต (BTL33) ที่เจริญได้น้อย แต่ก็เจริญได้ดีสุดที่ความเป็นกรด-ด่าง เท่ากับ 6.0-7.0 ส่วนที่ค่าความเป็นกรด-ด่างอื่นๆ สามารถเจริญเติบโตได้เพียงเล็กน้อยเท่านั้น (รูปที่ 4)

สรุปและวิจารณ์ผล

จากการวิจัยได้ผลผลิตดีเอ็นเอจากปฏิกิริยาพีซีอาร์ของยีน 16S rRNA ขนาด 1500 bp ของเชื้อแบคทีเรีย 9 ไอโซเลต การตรวจวิเคราะห์หาลำดับนิวคลีโอไทด์ได้ขนาด 387-1000 bp การระบุชนิดของเชื้อแบคทีเรียโดยเปรียบเทียบกับฐานข้อมูลทางชีวภาพ



รูปที่ 3 แสดงการเจริญของแบคทีเรียในอาหารเลี้ยงเชื้อที่อุณหภูมิต่างๆ



รูปที่ 4 แสดงการเจริญของแบคทีเรียในอาหารเลี้ยงเชื้อที่ความเป็นกรด-ด่างต่างๆ

BIBI ซึ่งเป็นเครื่องมือบนเว็บที่รวมเอา (1) การค้นข้อมูลจากฐานข้อมูล NCBI (Blast Search; blastn) เพื่อหาเปอร์เซ็นต์ความเหมือน (2) การเทียบเรียงลำดับนิวคลีโอไทด์ด้วยโปรแกรม Clustal W และ (3) การวิเคราะห์ความสัมพันธ์ทางวิวัฒนาการด้วยวิธี neighbour joining method (Devulder et al., 2003) การนำเครื่องมือต่างๆ เหล่านี้มารวมกันช่วยให้การระบุชนิดของแบคทีเรียทำได้ง่าย รวดเร็ว และสามารถทำได้บนเว็บ ทำให้สามารถระบุชนิดของแบคทีเรียในระดับสปีชีส์ได้ทั้งหมด 9 ไอโซเลต (100 %) อยู่ใน 4 กลุ่มคือ *Aeromonas hydrophila*, *Enterobacter cloacae*, *Klebsiella pneumoniae* และ *Empedobacter brevis* แสดงให้เห็นว่า การใช้ลำดับนิวคลีโอไทด์ของยีน 16S rRNA มีประสิทธิภาพสูงในการระบุชนิดของแบคทีเรียที่แยกจากไร่น้ำนางฟ้าที่เป็นโรค เมื่อเปรียบเทียบกับ การตรวจสอบชนิดของแบคทีเรียโดยใช้วิธีการทางชีวเคมีเพียงอย่างเดียว

การวิเคราะห์ชนิดของแบคทีเรียในระดับสปีชีส์โดยใช้ฐานข้อมูล BIBI ได้ถูกนำมาใช้ในการระบุชนิดของแบคทีเรียที่มีประสิทธิภาพสูงมาแล้ว โดยคณะวิจัยหลายกลุ่ม (Clarridge, 2004; Mignard and Flandrosis, 2006) การตรวจวิเคราะห์โดยใช้ลำดับนิวคลีโอไทด์ของยีน 16S rRNA ในครั้งนี้ สามารถระบุกลุ่มแบคทีเรียให้ผลสอดคล้องกับผลงานวิจัยในรายงานก่อนหน้านี้ (หนูเดือน เมืองแสน และคณะ, 2549) ยกเว้น เชื้อแบคทีเรีย 2 ไอโซเลต (BTL28 และ BTL33) ที่พบว่าเป็น *Empedobacter brevis* ซึ่งแตกต่างจากผลที่ได้จากการทดสอบทางชีวเคมีที่เคยพบว่าอยู่ในกลุ่ม *Chryseobacterium* ทั้งนี้อาจเป็นเพราะว่าเชื้อทั้งสองกลุ่มมีความใกล้เคียงกันมากและเคยถูกจัดอยู่ในกลุ่มเดียวกันมาก่อน คือ *Flavobacteria* (Vandamme et al., 1994) ดังนั้น การทดสอบทางชีวเคมีอย่างเดียวยังทำให้การระบุกลุ่มแบคทีเรียในระดับจีสเป็นไปได้ยาก ส่วนเชื้อ BTL15 และ BTL25 พบว่าเป็น *A. hydrophila* ในขณะที่ผลทดสอบทางเคมีโดยใช้ระบบ API20NE พบว่าเป็น *A. sobria* (ความ

เชื่อมั่น 99.2%) อาจเป็นไปได้ว่า เชื้อในกลุ่ม *Aeromonas* มีความหลากหลายและข้อมูลในระดับดีเอ็นเอของเชื้อแบคทีเรียกลุ่มนี้ที่แยกได้ในประเทศไทยยังมีน้อย ดังนั้น การระบุชนิดแบคทีเรียในระดับสปีชีส์ต้องอาศัยข้อมูลอื่นๆ เพิ่มเติม เช่น อาศัยแอนติบอดีที่จำเพาะกับเชื้อสปีชีส์นั้นๆ

จากผลการตรวจวิเคราะห์โดยใช้ลำดับเบสของยีน 16S rRNA ในครั้งนี้ พบว่า ผลการศึกษาสอดคล้องกับงานวิจัยที่ Dierckens et al. (1998) ได้รายงานเกี่ยวกับกลุ่มของแบคทีเรียที่แยกจากไร่น้ำในประเทศเบลเยียมไว้ก่อนหน้านี้ การใช้ยีน 16S rRNA ในการระบุชนิดแบคทีเรียมีประสิทธิภาพสูง ลำดับนิวคลีโอไทด์ขนาดประมาณ 500 bp สามารถระบุชนิดแบคทีเรียได้ถูกต้องมาแล้ว Fontana et al. (2005) ใช้ลำดับนิวคลีโอไทด์ของยีน 16S rRNA ขนาด 500 bp ระบุชนิดแบคทีเรียที่ศึกษาได้ทั้งหมด ในขณะที่ Lau et al. (2006) สามารถใช้ยีน 16S rRNA ขนาดเท่ากันระบุชนิดของแบคทีเรียได้ 13 จาก 20 ไอโซเลต (65%) และก็พบว่า วิธีนี้มีประสิทธิภาพดีกว่าวิธีอื่น นอกจากนี้ Mignard and Flandrosis (2006) พบว่า ขนาดของนิวคลีโอไทด์ 440 bp ของยีน 16S rRNA สามารถนำมาใช้ระบุชนิดแบคทีเรียในระดับสปีชีส์ได้ 586 ไอโซเลตจาก 683 ไอโซเลต (83.1%) ระบุแบคทีเรียได้ในระดับจีส 108 ไอโซเลต (15.8%) และ 7 ไอโซเลต (1%) ที่ไม่สามารถระบุได้ ทั้งนี้อาจเนื่องจากไม่มีข้อมูลลำดับนิวคลีโอไทด์ของแบคทีเรีย

ส่วนการทดสอบผลของอุณหภูมิและความเป็นกรด-ด่างของการเจริญของแบคทีเรีย จำนวน 5 ไอโซเลต พบว่า เชื้อแบคทีเรียที่นำมาทดสอบ 4 ไอโซเลต ซึ่งเป็นสมาชิกของเชื้อในกลุ่มของ *Aeromonas hydrophila*, *Enterobacter cloacae*, และ *Klebsiella pneumoniae* สามารถเจริญได้ที่อุณหภูมิ 20-35 องศาเซลเซียส และความเป็นกรด-ด่าง 6.0-9.0 อย่างไรก็ตาม มีเพียง *Empedobacter brevis* เท่านั้นที่เจริญได้ตั้งแต่ที่เจริญได้ดีที่อุณหภูมิ 25-30 องศาเซลเซียส และความเป็นกรด-ด่าง 6.0-7.0 ผลการศึกษานี้แสดง

ให้เห็นว่าเชื้อแบคทีเรียแต่ละสปีชีส์มีรูปแบบการเจริญที่
อุณหภูมิและความเป็นกรด-ด่างต่างกัน อาจนำผลที่ได้นี้
มาช่วยในการระบุความแตกต่างของเชื้อแต่ละสปีชีส์ได้
อย่างไรก็ตาม จะเห็นได้ว่าเชื้อที่แยกได้จากไร่นานางฟ้า
ส่วนใหญ่เจริญได้ดีในอุณหภูมิและความเป็นกรด-ด่าง
ค่อนข้างกว้าง โดยสมาชิกของเชื้อในกลุ่มของ *Aero-*
monas hydrophila, *Enterobacter cloacae*, และ
Klebsiella pneumonia มีรูปแบบการเจริญคล้ายกัน
ซึ่งให้เห็นว่าเชื้อแบคทีเรียเหล่านี้สามารถเจริญได้ดีตลอด
ทั้งปี และทนต่อการเปลี่ยนแปลงสภาวะความเป็นกรด-
ด่างได้ดี ซึ่งน่าจะมีความเกี่ยวข้องกับการก่อโรคจุดดำ
และเป็นไปได้ว่าจะพบแบคทีเรียเหล่านี้ในไร่นานางฟ้า
ได้ทุกฤดูกาล การที่พบไร่นานางฟ้าเป็นโรคจุดดำมาก
ในฤดูหนาว ทั้งนี้เนื่องจากเชื้อแบคทีเรียส่วนใหญ่เจริญ
ได้ดีในช่วงอุณหภูมิต่ำ ประกอบกับเป็นช่วงที่ไร่นา
นางฟ้าอ่อนแอ จึงง่ายต่อการเกิดโรคเมื่อเทียบกับใน
ฤดูกาลอื่น งานวิจัยในครั้งนี้สามารถระบุชนิดของ
แบคทีเรียที่แยกจากไร่นานางฟ้าในระดับสปีชีส์ได้
และทราบผลของอุณหภูมิและความเป็นกรด-ด่างต่อ
การเจริญของเชื้อเหล่านี้ การปรับเปลี่ยนอุณหภูมิหรือ
ความเป็นกรด-ด่างของน้ำในการเพาะเลี้ยงไร่นานางฟ้า
อาจไม่ใช่วิธีที่ดีที่สุดในการควบคุมการก่อโรคและการ
แพร่กระจาย ดังนั้น อาจใช้วิธีอื่น เช่น ยาปฏิชีวนะ
หรือพืชสมุนไพรที่มีฤทธิ์ในการยับยั้งเชื้อแบคทีเรีย
เพื่อเพิ่มผลผลิตในการเพาะเลี้ยงไร่นาให้ได้ปริมาณมาก
และมีคุณภาพดี

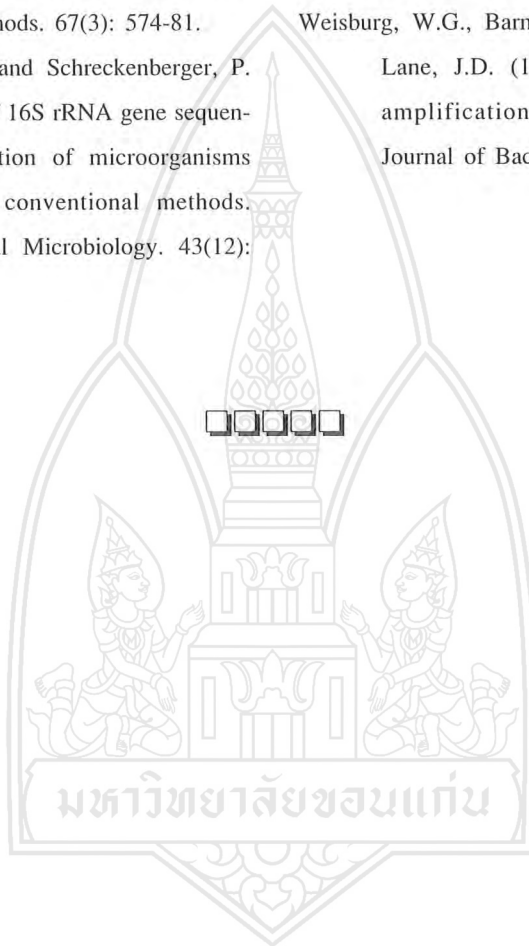
กิตติกรรมประกาศ

ส่วนหนึ่งของผลงานวิจัยนี้ได้รับการสนับสนุน
จากทุน IRPUS ประจำปี 2549 รหัสโครงการ
R14903016 ผู้วิจัยขอขอบพระคุณ ศูนย์วิจัยอนุกรมวิธาน
ประยุกต์ ภาควิชาชีววิทยา คณะวิทยาศาสตร์ มหา-
วิทยาลัยขอนแก่น รหัสโครงการ ATRC_R4802 สำหรับ
ทุนสนับสนุนการวิจัยบางส่วนในครั้งนี้

เอกสารอ้างอิง

- หนูเดือน เมืองแสน, สุวรรณมา เนียมสนธิ และ สุรศักดิ์
ศิริพรอดุลศิลป์. (2549). โรคจุดดำของไร่นา
นางฟ้าและแบคทีเรียที่เกี่ยวข้อง. วารสารวิจัย
มข. 11(1): 39-45.
- Clarridge III, J.E. (2004). Impact of 16S rRNA gene
sequence analysis for identification of
bacteria on clinical microbiology and infec-
tious disease. *Clinical Microbiology Review*.
17: 840-862.
- Drancourt, M., Bollet, C., Carliz, A., Martelin, R.,
Gayral, J.P. and Raoult, D. (2000). 16S
Ribosomal DNA sequence analysis of a large
collection of environmental and clinical
unidentifiable bacterial isolates. *Journal of*
Clinical Microbiology. 38(10): 3623-3630.
- Devulder, G., Perriere, G., Baty, F. and Flandrois,
J.P. (2003). BIBI, a Bioinformatics Bacterial
Identification Tool. *Journal of Clinical*
Microbiology. 41(4): 1785-1787.
- Dierckens, K.R., Vandenbergh, J., Beladjal, L., Huys,
G., Mertens, J. and Swings, J. (1998). *Aero-*
monas hydrophila causes 'black disease'
in fairy shrimps (Anostraca; Crustacea).
Journal of Fish Diseases. 21(2): 113-119.
- Fontana, C., Favaro, M., Pelliccioni, M., Pistoia,
E.S. and Favalli, C. (2005). Use of the
microseq 500 16S rRNA gene-based
sequencing for identification of bacterial
isolates that commercial automated systems
failed to identify correctly. *Journal of*
Clinical Microbiology. 43(2): 615-619.
- Lau, S.K., Ng, K.H., Woo, P.C., Yip, K.T., Fung,
A.M., Woo, G.K., Chan, K.M., Que, T.L.
and Yuen, K.Y. (2006). Usefulness of the
MicroSeq 500 16S rDNA bacterial identifi-

- cation system for identification of anaerobic Gram positive bacilli isolated from blood cultures. *Journal of Clinical Pathology*. 59(2): 219-222.
- Mignard, S., and Flandrois, J.P. (2006). 16S rRNA sequencing in routine bacterial identification: a 30-month experiment. *Journal of Microbiology Methods*. 67(3): 574-81.
- Petti, C.A., Polage, C.R. and Schreckenberger, P. (2005). The role of 16S rRNA gene sequencing in identification of microorganisms misidentified by conventional methods. *Journal of Clinical Microbiology*. 43(12): 6123-6125.
- Vandamme, P., Bernardet, J.F., Segers, P., Kersters, K. and Holmes, B. (1994). New perspectives in the classification of the flavobacteria: description of *Chryseobacterium* gen. nov., *Bergeyella* gen. nov., and *Empedobacter* nom. rev. *International Journal Systematic Bacteriology*. 44:827-831.
- Weisburg, W.G., Barns, S.M., Pelletier, D.A. and Lane, J.D. (1991). 16S ribosomal DNA amplification for phylogenetic study. *Journal of Bacteriology*. 173(2): 697-703.



การจำลองสเปกตรัมพลังงานของอนุภาคพลังงานสูง จากเหตุการณ์พายุสุริยะวันที่ 22 มิถุนายน ค.ศ. 2000

Simulation of Energy Spectra of Energetic Particles from Solar Storm Event on June 22, 2000

ชาญเรืองฤทธิ์ จันทน์นอก ¹

บทคัดย่อ

การคำนวณเชิงตัวเลขในการจำลองการเร่งอนุภาคที่คลื่นกระแทกที่ขึ้นกับเวลา เพื่ออธิบายลักษณะของสเปกตรัมพลังงานของอนุภาคพลังงานสูงในเหตุการณ์พายุสุริยะที่มีคลื่นกระแทกในตัวกลางระหว่างดาวเคราะห์ โดยเราพิจารณาเหตุการณ์พายุสุริยะวันที่ 22 มิถุนายน ค.ศ. 2000 ซึ่งเป็นเหตุการณ์ในช่วงดวงอาทิตย์มีรอบวัฏจักรสูงสุด ผลการจำลองที่ได้สามารถใช้ในการเทียบเคียงคุณภาพกับสเปกตรัมพลังงานของอนุภาคพลังงานสูงของไอออน ^4He และ Fe ที่การวัดโดยเครื่องมือ Ultra-Low-Energy Isotope Spectrometer (ULEIS) บนยานอวกาศ ACE ในช่วงการเกิดเหตุการณ์พายุสุริยะ

Abstract

A numerical method for simulation of the finite time shock acceleration was used for describing energy spectra of energetic particles from solar storm events at interplanetary shocks. We consider in solar storm events on June 22, 2000 (in the solar maximum cycle). This simulation can qualitative fit the energy spectra of ^4He and Fe ions of solar energetic particles measured by the Ultra-Low-Energy Isotope Spectrometer (ULEIS) on board the Advanced Composition Explorer (ACE) spacecraft during solar storm events.

บทนำ

ดวงอาทิตย์เป็นแหล่งกำเนิดพลังงานที่สำคัญต่อโลก โดยทุกๆ วินาที มีการเกิดการแผ่รังสีให้พลังงานจากดวงอาทิตย์ในระดับ 3.854×10^{26} จูล (Lang, 2001) และทุกวินาทีที่มีการปลดปล่อยอนุภาคจากดวงอาทิตย์ออกมา โดยการปะทุ (flare) ที่ผิว

ดวงอาทิตย์ ซึ่งมีค่าพลังงาน 0.1 MeV - 100 MeV (Kallenrode, 2001) โดยอนุภาคที่ปลดปล่อยจากดวงอาทิตย์เหล่านี้ประกอบไปด้วย อิเล็กตรอน โปรตอน ไอออนของธาตุหนัก เช่น ฮีเลียม ออกซิเจน คาร์บอน และเหล็ก เป็นต้น แต่ในเหตุการณ์การปะทุอย่างรุนแรงที่ดวงอาทิตย์ มีอนุภาคที่ปลดปล่อยจากดวงอาทิตย์มี

¹ ภาควิชาฟิสิกส์ คณะวิทยาศาสตร์ มหาวิทยาลัยอุบลราชธานี จ.อุบลราชธานี 34190

ระดับพลังงานสูงถึง 30000 MeV (Tylka, 2001) โดยในช่วงที่ดวงอาทิตย์มีช่วงสูงสุด (solar maximum) จะเกิดเหตุการณ์การปะทุรุนแรงที่ดวงอาทิตย์ได้หลายครั้ง จากเหตุการณ์การเกิดพายุสุริยะ ในรอบวัฏจักรที่ 23 (cycle 23) ซึ่งเกิดขึ้นในช่วงปี ค.ศ. 1999 - 2000 นั้น เป็นช่วงที่มีรอบวัฏจักรที่ดวงอาทิตย์เกิดช่วงสูงสุดครั้งล่าสุด จากสังเกตเหตุการณ์การปะทุรุนแรงที่ดวงอาทิตย์ โดยเครื่องวัด LASCO บนยานอวกาศ SOHO พบว่า ในเหตุการณ์เกิดพายุสุริยะ จะมีการปล่อยก้อนมวลในชั้นโคโรนา (coronal mass ejection, CME)

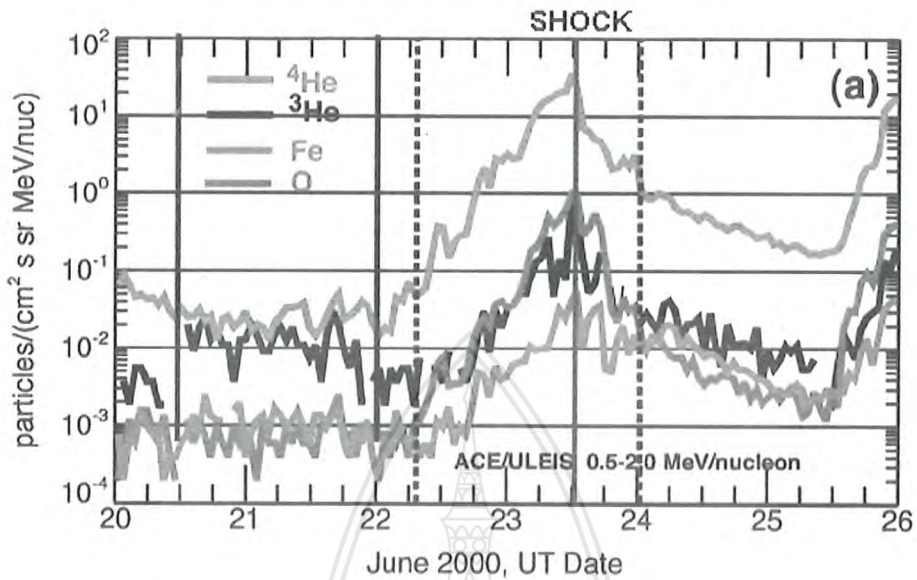
ดังรูปที่ 1 การปลดปล่อยก้อนมวลจากโคโรนาครั้งหนึ่งๆ จะมีการพาค้อนสารที่มีมวลมากกว่าพื้นผิวดันออกมาด้วยอัตราเร็ว 100 ถึง 2,000 กิโลเมตรต่อวินาที (Manchester et al., 2005) ในขณะที่ลมสุริยะ (solar wind) ซึ่งไหลออกมาจากดวงอาทิตย์มีความเร็ว 400 ถึง 800 กิโลเมตรต่อวินาที ดังนั้น เมื่อก้อนมวลจากโคโรนาเคลื่อนที่เร็วกว่าลมสุริยะจึงทำให้เกิดคลื่นกระแทก (shock) ในตัวกลางของอวกาศขึ้นภายในอวกาศตัวกลางระหว่างดาวเคราะห์ (interstellar medium)



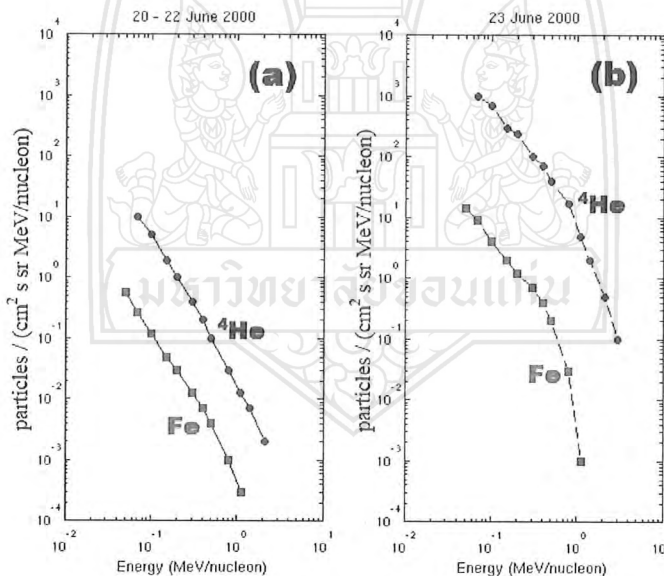
รูปที่ 1 เหตุการณ์พายุสุริยะที่มีการปล่อยก้อนมวลในชั้นโคโรนาของดวงอาทิตย์

จากการวัดอนุภาคพลังงานสูงจากดวงอาทิตย์ ในช่วงพลังงาน 0.5 - 2.0 MeV/nucleon โดยเครื่องตรวจวัดอนุภาค ULEIS (Mason et al., 1997) บนยานอวกาศ ACE (ยานอวกาศนี้อยู่ห่างจากดวงอาทิตย์ 1.485×10^8 กิโลเมตร หรือ 0.95 หน่วยดาราศาสตร์) ในเหตุการณ์เกิดพายุสุริยะรุนแรงในวันที่ 20 - 26 มิถุนายน ค.ศ. 2000 (Desai et al., 2003) พบว่า เมื่อคลื่นกระแทกเคลื่อนที่มาถึงยานอวกาศที่ตรวจวัดทำให้อนุภาคจากดวงอาทิตย์มีจำนวนเพิ่มขึ้นในวันที่ 22 มิถุนายน ค.ศ. 2000 (เวลา 00.00) และมีค่าเพิ่มขึ้นเรื่อยๆจนมีค่าสูงสุด วันที่ 23 มิถุนายน ค.ศ. 2000 (เวลา 12.00) ดังรูปที่ 2

เมื่อพิจารณาจำนวนอนุภาคของ ฮีเลียม (^4He) ซึ่งมีปริมาณมากที่สุด และเหล็ก (Fe) ซึ่งมีค่านิวคลีออนสูงสุด ในแต่ละค่าพลังงานต่างๆในช่วง 0.05 ถึง 3.0 MeV/nucleon ในรูปที่ 3 จะเห็นได้ว่า สเปกตรัมพลังงานของอนุภาคก่อนถูกเร่งโดยคลื่นกระแทกเป็นลักษณะตามกฎยกกำลัง (power law) (รูปที่ 3(a)) ตามความสัมพันธ์ $E^{-\gamma}$ โดย E คือ พลังงานจลน์ของอนุภาค และ γ คือ ค่าคงที่ (spectral index) ซึ่งเห็นได้ว่า อนุภาคพลังงานต่ำมีจำนวนมาก และอนุภาคพลังงานสูงๆ มีจำนวนน้อย และเมื่ออนุภาคถูกเร่งโดยคลื่นกระแทกในเวลาต่อมาในช่วงเวลา 54 ชั่วโมง (รูปที่ 3(b)) พบจำนวนอนุภาคในแต่ละพลังงานจะเพิ่มขึ้น แต่ว่าลักษณะไม่เป็นตามกฎยกกำลัง (แต่จะมีการโค้งลงที่พลังงาน 0.5 - 0.9 MeV/nucleon)



รูปที่ 2 ผลการตรวจวัดจำนวนอนุภาคพลังงานสูงจากดวงอาทิตย์ (ในช่วงพลังงาน 0.5 -2.0 MeV/nucleon) ในเหตุการณ์พายุสุริยะ ในช่วงวันที่ 20-26 มิถุนายน ค.ศ. 2000 จากเครื่องวัด ULEIS จะเห็นได้ว่า เมื่อคลื่นกระแทกเคลื่อนที่มาถึงยานอวกาศที่ตรวจวัดในวันที่ 23 มิถุนายน เวลา 12:00 อนุภาค He, O และ Fe ที่วัดได้มีจำนวนเพิ่มขึ้นประมาณ 200 - 1000 เท่า (Desai et al., 2003)



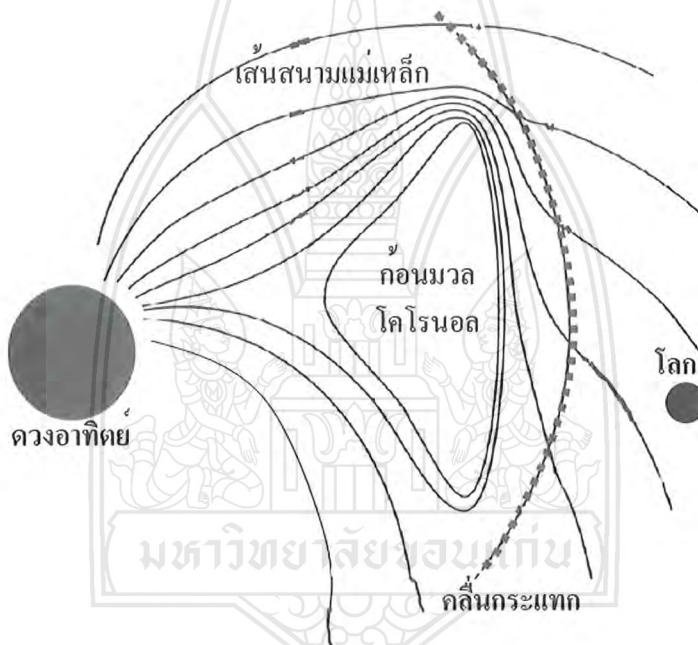
รูปที่ 3 สเปกตรัมของอนุภาค ฮีเลียม (^4He) และ เหล็ก (Fe) ที่ได้จากการวัดในแต่ละช่วงพลังงาน ในวันที่ 20 -22 มิถุนายน ค.ศ. 2000 (a) ก่อนการเกิดคลื่นกระแทก และในวันที่ 23 มิถุนายน ค.ศ. 2000 (b) เมื่อมีการเกิดคลื่นกระแทก (ข้อมูลจาก Desai et al., 2003)

ในงานวิจัยนี้ ผู้วิจัยต้องการอธิบายผลที่เกิดจากการเร่งอนุภาคที่ได้จากสเปกตรัมของอนุภาคฮีเลียม (^4He) และ เหล็ก (Fe) ในรูปที่ 3 (b) ของเหตุการณ์พายุสุริยะวันที่ 23 มิถุนายน ค.ศ. 2000 โดยใช้แบบจำลองการเร่งอนุภาคที่คลื่นกระแทกที่ขึ้นกับเวลา (Channok et al., 2005) ซึ่งสามารถใช้ได้ในเหตุการณ์พายุสุริยะที่รู้ช่วงเวลาในการเคลื่อนที่ของคลื่นกระแทกมายังเครื่องวัดบนยานอวกาศ

ทฤษฎี

การเร่งอนุภาคจากดวงอาทิตย์เกิดการเคลื่อนที่ของคลื่นกระแทก ได้ถูกพัฒนามาจากแนวคิดของ Fermi (1954)

Kymaskii (1977) Bell (1978) Drury (1983) ในกลไกการเร่งอนุภาคแบบฟุ้ง (diffusive shock acceleration) ซึ่งใช้อธิบายการเร่งอนุภาคที่คลื่นกระแทกของรังสีคอสมิกในอวกาศ โดยการเร่งอนุภาคจากดวงอาทิตย์ที่คลื่นกระแทกนั้นส่วนใหญ่เกิดจากเหตุการณ์ปล่อยก้อนมวลจากดวงอาทิตย์ (ดูรูปที่ 1) ทำให้เกิดความไม่ต่อเนื่องของตัวกลางของสนามแม่เหล็กในอวกาศขึ้น ซึ่งความไม่ต่อเนื่องนี้คือ คลื่นกระแทก ดังรูปที่ 4 โดยคลื่นกระแทกนี้จะเคลื่อนที่ออกมาจากชั้นโคโรนาของดวงอาทิตย์ มายังโลกในเวลา 2 - 4 วัน ขึ้นกับความรุนแรงในเหตุการณ์พายุสุริยะ



รูปที่ 4 แสดงการเกิดขึ้นกระแทกเนื่องจากเหตุการณ์ปล่อยก้อนมวลจากดวงอาทิตย์

เมื่อพิจารณาอนุภาคที่มีประจุที่ถูกอยู่ในตัวกลางระหว่างดวงอาทิตย์กับโลก จะมีการเคลื่อนที่ไปกับสนามแม่เหล็กของดวงอาทิตย์ในตัวกลางระหว่างดาวเคราะห์ (interplanetary magnetic field) โดยที่สนามแม่เหล็กมีความเรียบอย่างมาก ซึ่งอนุภาคเมื่อมีการเคลื่อนที่ตามสนามแม่เหล็กที่ผ่านคลื่นกระแทกที่มี

ความไม่ต่อเนื่องของความเร็ว และทิศทาง มีผลทำให้อนุภาคเคลื่อนที่ฟุ้งกลับไปกลับมาผ่านคลื่นกระแทกได้เป็นจำนวนหลายครั้ง โดย 1 รอบ (ดูรูปที่ 5) ที่อนุภาคเคลื่อนที่ผ่านคลื่นกระแทกจะมีค่าโมเมนตัมของอนุภาคเพิ่มขึ้น (Drury 1983, Channok et al., 2005) คือ

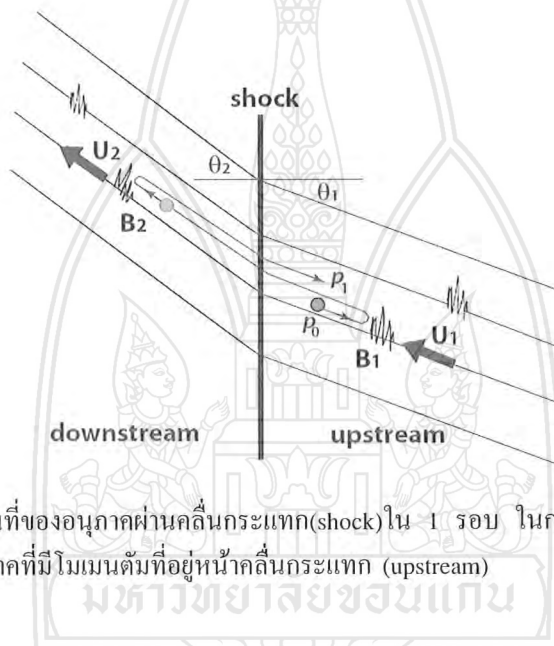
$$p = \left(1 + \frac{4}{3} \frac{u_1 \cos \theta_1 - u_2 \cos \theta_2}{v_0 \cos \theta_1} \right) p_0 \quad (1)$$

โดยที่ P_0 คือ โมเมนตัมของอนุภาคก่อนเคลื่อนที่ผ่านคลื่นกระแทก p คือ โมเมนตัมของอนุภาคหลังจากการเคลื่อนที่ผ่านคลื่นกระแทก 1 รอบ u_1 ความเร็วของลมสุริยะหน้าคลื่นกระแทก u_2 คือ ความเร็วของลมสุริยะหลังคลื่นกระแทก θ_1 มุมของทิศทางสนามแม่เหล็กหน้าคลื่นกระแทก θ_2 คือ มุมของทิศทางสนามแม่เหล็กด้านหลังคลื่นกระแทก v_0 คือ ความเร็วของอนุภาคก่อนเคลื่อนที่ผ่านคลื่นกระแทก

เมื่อพิจารณาอนุภาคเคลื่อนที่ผ่านคลื่นกระแทกจำนวน n ครั้ง โมเมนตัมของอนุภาคเพิ่มขึ้นจะเป็น

$$P_n \approx \prod_{i=0}^{n-1} \left(1 + \frac{4}{3} \frac{u_1 \cos \theta_1 - u_2 \cos \theta_2}{v_i \cos \theta_1} \right) p_0 \quad (2)$$

โดยที่ P_n คือ โมเมนตัมของอนุภาคที่เคลื่อนที่ผ่านคลื่นกระแทก n ครั้ง และ v_i คือ ความเร็วของอนุภาคที่เคลื่อนที่ผ่านคลื่นกระแทกครั้งที่ i



รูปที่ 5 แสดงการเคลื่อนที่ของอนุภาคผ่านคลื่นกระแทก(shock)ใน 1 รอบ ในกรอบอ้างอิงของคลื่นกระแทก โดยเริ่มต้นอนุภาคที่มีโมเมนตัมที่อยู่หน้าคลื่นกระแทก (upstream)

จะเห็นได้ว่า พลังงาน (คำนวณได้จากโมเมนตัม) ของอนุภาคจากดวงอาทิตย์สามารถเพิ่มขึ้นได้เมื่อมันเคลื่อนที่ผ่านคลื่นกระแทก โดยเมื่ออนุภาคมีการเคลื่อนที่ข้ามคลื่นกระแทกจำนวนหลายๆ ครั้ง ยิ่งทำให้พลังงานของอนุภาคมีค่าเพิ่มขึ้นได้มาก จากรูปที่ 3(b) จะเห็นได้ว่า จำนวนอนุภาคในแต่ละค่าพลังงานมีค่าสูงขึ้นมากกว่า 50 เท่า เมื่อเทียบกับรูปที่ 3(a) ซึ่งเป็นผลจากอนุภาคหลายๆ ตัว เคลื่อนที่ข้ามคลื่นกระแทกจำนวนหลายๆ ครั้ง

ในการเร่งอนุภาคในตัวกลางระหว่างดวงอาทิตย์มายังโลกนั้น เกิดขึ้นในช่วงเวลา 2 - 4 วัน (ซึ่งถือว่าใช้เวลาสั้นมากเมื่อเทียบกับการเร่งอนุภาคของรังสีคอสมิกนอกกระบบสุริยะ) ดังนั้น พลังงานที่ถูกเร่งโดยคลื่นกระแทกในตัวกลางระหว่างดาวเคราะห์จึงไม่สามารถเร่งให้มีพลังงานสูงกว่า 1 MeV/nucleon ได้ จึงเห็นการ cut-off ที่ช่วงพลังงานดังกล่าว โดย Channok et al. 2005) ได้เสนอว่าค่าพลังงาน cut-off (E_c) ที่เกิดขึ้นจะขึ้นกับเวลาที่ถูกเร่ง (t) มีความสัมพันธ์ คือ

$$\frac{E_C}{A} \propto \left(\frac{Q}{A}\right)^{2\alpha/(\alpha+1)} t^{2/(\alpha+1)} \quad (3)$$

$$\varepsilon_n = \left[\frac{v_n \cos \theta_1}{4u_2} \left(1 + \frac{u_1}{v_n \cos \theta_1} \right)^2 - 1 \right]^{-1} r_n \quad (6)$$

โดยที่ E_C/A คือ พลังงานพลังงานที่ cut-off ต่อ
นิวคลีออน

Q คือ สถานะประจุของอนุภาค

A คือ จำนวนนิวคลีออนของอนุภาค

t คือ เวลาที่อนุภาคถูกเร่งที่คลื่นกระแทก

α คือ ค่าคงที่

โดยที่ v_n คือ ความเร็วของอนุภาคที่เมื่อผ่านคลื่น
กระแทก n ครั้ง (คำนวณได้จากสมการ 2), u_1 ความเร็ว
ของลมสุริยะหน้าคลื่นกระแทก u_2 คือ ความเร็วของ
ลมสุริยะหลังคลื่นกระแทก, θ_1 มุมของทิศทางสนาม
แม่เหล็กหน้าคลื่นกระแทก, θ_2 คือ มุมของทิศทางสนาม
แม่เหล็กด้านหลังคลื่นกระแทก, B_1/B_2 คือ อัตราส่วน
ความเข้มของสนามแม่เหล็กด้านหน้าคลื่นกระแทกกับ
ด้านหลังคลื่นกระแทก (ซึ่งตัวแปรดังกล่าวนี้ได้จาก
การวัดโดยเครื่องมือวัดบนยานอวกาศ ACE)

การจำลองและขั้นตอนการจำลอง

ผู้วิจัยใช้แบบจำลองการเร่งอนุภาคที่คลื่น
กระแทกที่ขึ้นกับเวลา (Channok et al. 2005) โดยใช้
สมการเชิงอนุพันธ์ในการคำนวณการเปลี่ยนแปลง
จำนวนอนุภาคต่อเวลา สำหรับการเร่งอนุภาคในแต่ละ
ครั้ง (n) รอบคลื่นกระแทก ตามสมการ

$$\frac{dN(E_n, t)}{dt} = I_n - (r_n - \varepsilon_n)N(E_n, t) + r_{n-1}N(E_{n-1}, t) \quad (4)$$

สำหรับตัวแปรที่มีผลต่อการเร่งอนุภาคที่คลื่น
กระแทกในสมการที่ (4) คือ ค่าสัมประสิทธิ์การฟุ้ง
ในตัวกลางระหว่างดาวเคราะห์ ซึ่งพิจารณาทั้งด้านหน้า
คลื่นกระแทก และด้านหลังหน้าคลื่นกระแทก คือ

โดยที่ $N(E, t)$ คือ จำนวนอนุภาคที่มีค่าพลังงาน E ที่
เวลา t ใดๆ

E_n คือ พลังงานของอนุภาคที่เคลื่อนที่
ผ่านคลื่นกระแทกจำนวน n ครั้ง
(คำนวณจากสมการ 2)

I_n คือ การอัตราการไหลของอนุภาคเข้า
มาหาคลื่นกระแทก (พิจารณาใน
กรอบอ้างอิงของคลื่นกระแทก)

r_n คือ อัตราการการเร่งของอนุภาคที่คลื่น
กระแทกที่พลังงาน E_n

ε_n คือ อัตราการเคลื่อนที่ของอนุภาคออก
ไปจากบริเวณคลื่นกระแทก ที่
พลังงาน E_n

โดยตัวแปร r_n และ ε_n ในสมการที่ (4) คือ

$$r_n = \left[\frac{4}{v_n} \left(\frac{\kappa_1 \sec \theta_1}{u_1} \right) + (1 - \sqrt{1 - (B_1/B_2)}) \frac{\kappa_2 \sec \theta_2}{u_2} \right]^{-1} \quad (5)$$

$$\kappa_{1n} = \frac{v_n \lambda}{3} \cos^2 \theta_1 \quad (7)$$

$$\kappa_{2n} = \frac{v_n \lambda \cos^3 \theta_2}{3 \cos \theta_1} \quad (8)$$

โดยที่ κ_{1n} คือ สัมประสิทธิ์การฟุ้งด้านหน้าคลื่นกระแทก
ของอนุภาคความเร็ว v_n , κ_{1n} คือ สัมประสิทธิ์การฟุ้ง
ด้านหลังคลื่นกระแทกของอนุภาคความเร็ว v_n และ λ
คือ ระยะอิสระเฉลี่ยของอนุภาคในตัวกลางระหว่าง
ดาวเคราะห์ โดยค่า λ เป็นค่าที่เราจะคำนวณได้จาก
การจำลองเพื่อฟิตข้อมูลจากการวัดสเปกตรัมของ
พลังงาน

ขั้นตอนการจำลองมีดังนี้ คือ

1. ใช้ข้อมูลการวัดโดยเครื่องมือวัด ULEIS
ในวันที่ 20-22 มิถุนายน ค.ศ. 2000 (ก่อนเกิดคลื่น
กระแทก) ตามรูปที่ 3(a) เพื่อใช้เป็นค่าเริ่มต้นในการ
จำลอง โดยเราใช้ข้อมูลจำนวนอนุภาคแต่ละค่าพลังงาน

E ที่เวลาเริ่มต้น t_0 ในฟังก์ชัน $N(E, t_0)$ สำหรับอนุภาคไอออน ^4He และ Fe

2. วิเคราะห์ช่วงเวลาที่เกิดขึ้นกระแทกจากเวลา t_0 เคลื่อนที่ถึงเครื่องวัด ULEIS ตามรูปที่ 1 (Desai et al. 2003) ซึ่งใช้เวลา 54 ชั่วโมง

3. พิจารณาตัวแปรที่ได้จากการวัดตรวจโดยเครื่องมือวัด ULEIS ในวันที่ 20 -24 มิถุนายน ค.ศ. 2000 (Desai et al. 2003; Desai et al. 2004) เพื่อใช้คำนวณในขั้นตอนที่ 4 คือ

u_1	217 km/s
u_2	87 km/s
ψ_1	66 degree
ψ_2	78 degree
B_1 / B_2	2.4

4. คำนวณค่า r_n อัตราการการเร่งที่คลื่นกระแทก และอัตราการเคลื่อนที่ของอนุภาคออกไปจากคลื่นกระแทก $\mathcal{E}_n$ สมการที่ (5) และ (6) โดย r_n และ $\mathcal{E}_n$ โดยใช้การคำนวณเราพิจารณาถึงระดับพลังงานของอนุภาคที่เคลื่อนที่ผ่านคลื่นกระแทก จำนวน $n = 200$ ครั้ง ใช้ความเร็วเริ่มต้นของอนุภาค 200 km/s

5. คำนวณเทอม I_n ที่ใช้ในสมการที่ (4) โดยให้ $I_n = \mathcal{E}_n N(E, t_0)$

6. ทำการคำนวณผลเชิงตัวเลขในสมการที่ (4) เพื่อหาค่า $N(E, t)$ ที่เวลา $t = 54$ ชั่วโมง โดยใช้วิธีการรุงเง-กุตตา ลำดับที่ 4 (4th order Runge-Kutta) ในการคำนวณเชิงตัวเลข (วิธีการรุงเง-กุตตา ลำดับที่ 4 เป็นวิธีการเชิงตัวเลขที่ใช้สำหรับการแก้ปัญหาสมการเชิงอนุพันธ์ที่รู้ค่าเงื่อนไขเริ่มต้น ซึ่งมีค่าความผิดพลาดน้อยเมื่อเทียบกับวิธีการอยเลอร์ โดยค่าความผิดพลาดของวิธีรุงเง-กุตตา ขึ้นกับ $(\Delta t)^4$ โดยที่ คือช่วงของขั้นเวลา (time step) ที่ใช้ในการจำลอง โดยใช้ค่า $\Delta t = 0.0001$ ชั่วโมง ในการคำนวณ

7. เปรียบเทียบผลที่ได้จากการจำลอง และจากผลการวัดจากเครื่องวัด ULEIS โดยทำการปรับ

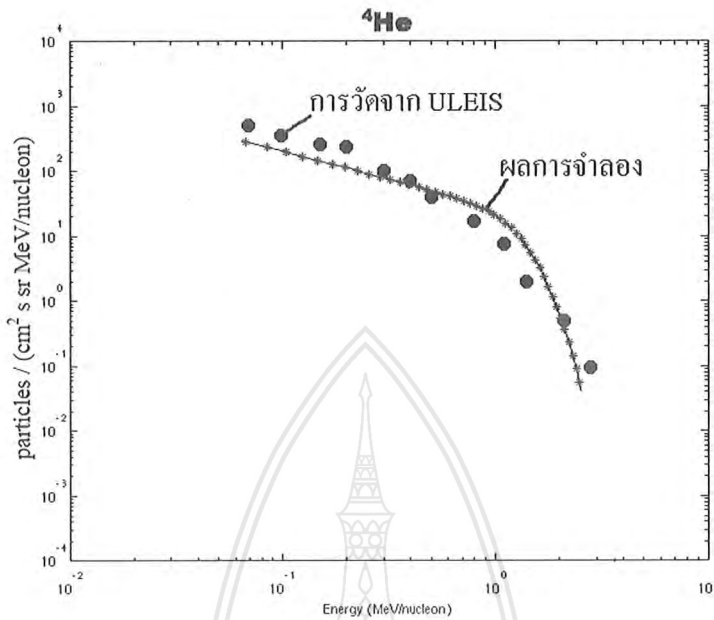
ค่าระยะอิสระเฉลี่ย (λ) ของอนุภาคในตัวกลางระหว่างดาวเคราะห์ที่ให้ผลการจำลองที่ดีที่สุด

ผลการจำลอง

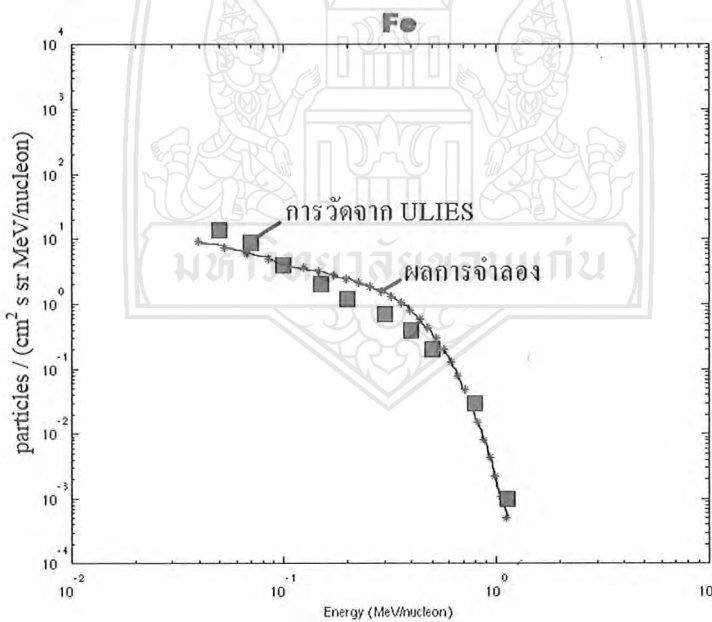
จากการจำลองสเปกตรัมของจำนวนอนุภาคในแต่ละค่าพลังงาน ที่เกิดขึ้นจากการเร่งที่คลื่นกระแทกในเหตุการณ์พายุสุริยะวันที่ 23 มิถุนายน ค.ศ. 2000 สำหรับอนุภาค ^4He และ Fe ได้ผลดังรูปที่ 6 และรูปที่ 7 โดยจะเห็นการโค้งลง (cut-off) ที่ระดับพลังงาน 1 MeV/nucleon สำหรับ ^4He และ 0.4 MeV/nucleon สำหรับ Fe จะเห็นได้ว่า Fe มีค่า E_c น้อยกว่า ^4He เนื่องจาก Fe มีจำนวนนิวคลีออนมากกว่า ซึ่งเกิดขึ้นเนื่องจากการเร่งอนุภาคที่เวลาจำกัดตามสมการที่ (3) ผลที่ได้จากการจำลองใช้ค่าระยะอิสระเฉลี่ยของอนุภาคในตัวกลางระหว่างดาวเคราะห์ $\lambda = 0.01$ AU ซึ่งเป็นค่าที่ได้ฟิตข้อมูลจากการวัดได้ดีที่สุด โดยค่าระยะอิสระเฉลี่ยของอนุภาคในตัวกลางระหว่างดาวเคราะห์ในเหตุการณ์พายุสุริยะรุนแรงจะค่าในช่วง 0.001 - 0.01 AU (Forman, 1981; Ng et al., 1999) แต่ในช่วงปกติ (ที่ไม่มีการเกิดเหตุการณ์พายุสุริยะ) ค่าระยะอิสระเฉลี่ยของอนุภาคในตัวกลางระหว่างดาวเคราะห์จะอยู่ในช่วง 0.08 - 0.30 AU (Palmer, 1982)

สรุปผล

สามารถประยุกต์ใช้แบบจำลองการเร่งอนุภาคที่คลื่นกระแทกที่ขึ้นกับเวลา (Channok et al., 2005) สำหรับการจำลองเหตุการณ์พายุสุริยะ ในวันที่ 22 มิถุนายน ค.ศ. 2000 ซึ่งมีผลที่สอดคล้องกับการวัดของโดยเครื่องวัด ULEIS บนยานอวกาศ ACE (Desai et al., 2003; Desai et al., 2004) โดยค่าระยะอิสระเฉลี่ยของอนุภาคในตัวกลางระหว่างดาวเคราะห์ในเหตุการณ์พายุสุริยะที่ได้จากการจำลอง= 0.01 AU อยู่ในช่วงที่สอดคล้องกับค่าระยะอิสระเฉลี่ยของอนุภาคในตัวกลางระหว่างดาวเคราะห์ในเหตุการณ์พายุสุริยะ และผลการจำลองยังสามารถฟิตการการโค้งลง (cut-off) ของพลังงานที่ต่างกันของ ^4He และ Fe ได้



รูปที่ 6 สเปกตรัมของอนุภาคไอออน ${}^4\text{He}$ ที่ได้จากจำลอง และการวัดจากเครื่อง ULEIS บนยานอวกาศในเหตุการณ์พายุสุริยะ 23 มิถุนายน ค.ศ. 2000



รูปที่ 7 สเปกตรัมของอนุภาคไอออน Fe ที่ได้จากจำลอง และการวัดจากเครื่อง ULIES บนยานอวกาศในเหตุการณ์พายุสุริยะ 23 มิถุนายน ค.ศ. 2000

กิตติกรรมประกาศ

ขอขอบคุณ มูลนิธิโทรเพื่อการพัฒนาวิทยาศาสตร์ ประเทศไทย ที่ให้ทุนสนับสนุนงานวิจัยนี้

เอกสารอ้างอิง

- Bell, A.R. (1978). The acceleration of cosmic rays in shock fronts I. *Monthly Notices of Royal Astronomical Society*. 182: 147-156.
- Channok, C., Ruffolo, D., Desai, M.I. and Mason, G.M. (2005). Finite time shock acceleration of energetic storm particles *Astrophysical Journal* 633, L53-L56.
- Desai, M.I., Mason, G.M., Dwyer, J.R., Mazur, J.E., Gold, R.E., Krimigis, S.M., Smith, C.W. and Skoug, R.M. (2003). Evidence for a suprathermal seed population of heavy ions accelerated by interplanetary shocks near 1 AU. *Astrophysical Journal* 588: 1149-1162.
- Desai, M.I., Mason, G.M., Wiedenbeck, M.E., Cohen, C.M., Mazur, J.E., Dwyer, J.R., Gold, R.E., Krimigis, S.M., Hu, Q., Smith, C.W. and Skoug, R.M. (2004). Spectral properties of heavy ions associated with the passage of interplanetary shocks at 1 AU. *Astrophysical Journal* 611: 1156-1174.
- Drury, L. (1983). An introduction to the theory of diffusive shock acceleration of energetic particles in tenuous plasmas. *Reports on Progress in Physics* 46: 973-1027.
- Fermi, E. (1954). Galactic magnetic fields and the origin of cosmic ray radiation. *Astrophysical Journal* 119: 1-6.
- Forman, M.A. (1981). Acceleration theory for 5-40 keV ions at interplanetary shock. *Advances in Space Research* 1: 97-100.
- Kallenrode, M. (2001). *Space Physics*. Heidelberg: Springer-Verlag
- Krymskii, G.F. (1977). A regular mechanism for the acceleration of charged particles on the front of a shock wave. *Soviet Physics Doklady* 22: 327-328.
- Lang, K.M. (2001). *The Cambridge encyclopedia of the Sun*. Cambridge: Cambridge Press.
- Manchester, W.B., Gombosi, T.I., De Zeeuw, D.L., Sokolov, I.V., Roussev, I.I., Powell, K.G., Kóta, J., Tóth, G. and Zurbuchen, T.H. (2005). Coronal mass ejection shock and sheath structures relevant to particle acceleration. *Astrophysical Journal* 622: 1225-1239.
- Mason, G.M., Gold, R.E., Krimigis, S.M., Mazur, J.E., Andrews, G.B., Daley, K.A., Dwyer, J.R., Heuerman, K.F., James, T.L., Kennedy, M.J., Lefevre, T., Malcolm, H., Tossman, B. and Walpole, P.H. (1998). The Ultra Low Energy Isotope Spectrometer (ULEIS) for the ACE spacecraft. *Space Science Review* 86: 409-448.
- Ng, C.K., Reames, D.V. and Tylka, A.J. (1999). Effect of proton-amplified waves on the evolution of solar energetic particle composition in gradual events. *Geophysical Research Letters* 26: 2145-2148.
- Palmer, I.D. (1982). Transport coefficient of low-energy cosmic rays in interplanetary space. *Reviews of Geophysics and Space Physics* 20: 335-351.
- Tylka, A.J. (2001). New insights on solar energetic particles from Wind and ACE. *Journal of Geophysical Research* 106: 25333-25352.

ข้อแนะนำในการเขียนบทความลงวารสารวิทยาศาสตร์ มข.

ประเภทของเรื่องที่จะตีพิมพ์

1. รายงานผลการวิจัยและค้นคว้าหรือการสำรวจที่ยังไม่เคยตีพิมพ์ในวารสารหรือหนังสืออื่นมาก่อน
2. บทความปริทัศน์ ได้แก่ งานเขียนที่รวบรวมหรือเรียบเรียงจากเอกสารหรือหนังสือต่าง ๆ เพื่อเผยแพร่และฟื้นฟูงานด้านวิชาการระดับต่าง ๆ
3. บทความแสดงข้อคิดเห็นหรือข้อเสนอแนะที่เป็นประโยชน์ในด้านวิชาการ เรื่องแปล ข่าววิชาการย่อความจากงานวิจัยหรือหนังสือใหม่ที่น่าสนใจ

รูปแบบของการเขียนและเตรียมต้นฉบับ

1. ต้นฉบับ ต้องเป็นตัวพิมพ์ Angsana New
 - 1.1 ชื่อเรื่อง ขนาดตัวอักษร 20 ตัวเข้ม ตำแหน่งตรงกลาง มีทั้งชื่อภาษาไทยและภาษาอังกฤษ
 - 1.2 ชื่อผู้เขียน ขนาดตัวอักษร 16 เอน ตำแหน่งขวาสุด และใส่หมายเลขไว้ท้ายนามสกุล เพื่อการระบุที่อยู่ด้านล่าง
 - 1.3 หัวข้อใหญ่ในแต่ละส่วน ขนาดตัวอักษร 16 ตัวเข้ม ตำแหน่งซ้ายสุด ยกเว้น บทคัดย่อ และ Abstract อยู่ตรงกลาง หัวข้อย่อยตามความเหมาะสม
 - 1.4 เนื้อความ ขนาดตัวอักษร 14
 - 1.5 คำว่า รูปที่ x และตารางที่ x ขนาดตัวอักษร 14 ตัวเข้ม ส่วนข้อความบรรยายต่อท้ายตัวปกติ
 - 1.6 ที่อยู่ ขนาดอักษร 12
 - 1.7 ช่องว่างระหว่างบรรทัดตามมาตรฐาน
 - 1.8 พิมพ์ลงในกระดาษขาว A4 (โรเนียวสัน) โดยใช้กระดาษหน้าเดียว ความยาวไม่เกิน 10 หน้า ส่งต้นฉบับ 2 ชุด (ไม่ต้องส่งแผ่นดิสก์ หรือแผ่นซีดีในขั้นตอนนี้ เมื่อได้รับแจ้งว่าได้ลงพิมพ์แล้ว ผู้เขียนส่งฉบับแก้ไข 1 ชุด พร้อมแผ่นดิสก์ หรือแผ่นซีดี)
2. ต้นฉบับ จะถูกพิจารณาโดยกองบรรณาธิการ และจะตอบรับการได้รับบทความโดยไม่ส่งต้นฉบับคืน ผู้เขียนควรจะอัดสำเนาเก็บไว้เป็นหลักฐานของตัวเอง 1 ฉบับ
3. ต้นฉบับ จะต้องมีความถูกต้องทั้งในด้านเนื้อหา และการใช้ภาษา รวมทั้งมีความสมบูรณ์ในรูปแบบพร้อมที่จะนำลงตีพิมพ์ได้
4. ชื่อเรื่อง ให้ใช้ภาษาไทยหรือภาษาอังกฤษ ไม่ยาวเกินไป และหลีกเลี่ยงการใช้คำย่อโดยไม่จำเป็น
5. ชื่อผู้เขียน เขียนชื่อภาษาไทยหรือภาษาอังกฤษพร้อมทั้งบอกสถานที่ทำงานให้ชัดเจน
6. เนื้อเรื่อง ใช้ได้ทั้งภาษาไทยล้วนและภาษาอังกฤษล้วน ถ้าใช้ภาษาไทย ภาษาอังกฤษที่ใช้ปนกับภาษาไทยนั้นให้พยายามแปลเป็นไทยเท่าที่จะทำได้ และให้เขียนคำเดิมกำกับในวงเล็บ การทับศัพท์ภาษาอังกฤษตลอดทั้งการเขียนตัวสะกด การันต์ ในภาษาไทยให้ใช้ตามแบบราชบัณฑิตยสถาน

ข้อแนะนำในการเขียนบทความลงวารสารวิทยาศาสตร์ มข.

7. ในกรณีของบทความวิจัย ต้องมีบทคัดย่อทั้งภาษาไทยและภาษาอังกฤษ และแบ่งเนื้อหาของบทความเป็นบทนำ วิธีดำเนินงาน ผลการวิเคราะห์ บทสรุปและวิจารณ์

8. เชิงอรรถ (footnote) ใช้เฉพาะที่จำเป็นเพื่อขยายหรือให้รายละเอียดเพิ่มเติมแก่ใจความเฉพาะตอนในบทความ

9. ตารางและภาพประกอบ คำบรรยายประกอบตารางหรือภาพประกอบควรจะสั้นและชัดเจน ถ้าเป็นภาพถ่ายให้ใช้ภาพขาว-ดำ ขนาดโปสการ์ด ภาพเขียนลายเส้นควรเขียนด้วยหมึกดำ ภาพที่เขียนต้องชัดเจนและมีขนาดที่เหมาะสม

10. เอกสารอ้างอิง หรือบรรณานุกรม แนะนำให้เขียนตามแบบที่ทางวารสารกำหนด

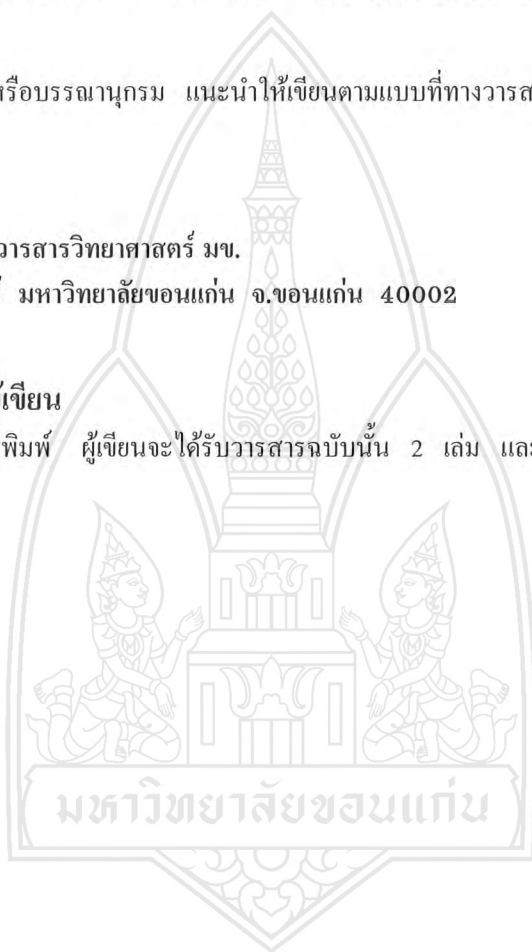
ส่งต้นฉบับมาที่

กองบรรณาธิการวารสารวิทยาศาสตร์ มข.

คณะวิทยาศาสตร์ มหาวิทยาลัยขอนแก่น จ.ขอนแก่น 40002

อนันันทนาการสำหรับผู้เขียน

เรื่องที่ได้รับการตีพิมพ์ ผู้เขียนจะได้รับวารสารฉบับนั้น 2 เล่ม และสำเนาพิมพ์อีก 15 ชุด



ตัวอย่าง

การวิเคราะห์ปริมาณน้ำมันและกรดไขมันของจิ้งหรีดทองลาย (*Gryllus* sp.) ที่เลี้ยงเพื่อการค้า

บรรจง เชื้อเมืองพาน¹ วิรัช ว่องพัฒนานกุล² และ ปวีณา พงษ์คนตรี^{1*}

บทคัดย่อ

XX
XX

บทนำ

XX
XX
XX

วิธีการ

XX
XX
XX

รูปที่ 1 XXXXXXXXXXXXXXXXXXXXXXXXXXXXXXX

ตารางที่ 1 XXXXXXXXXXXXXXXXXXXXXXXXXXXXXXX

¹ ภาควิชาชีวเคมี คณะวิทยาศาสตร์ มหาวิทยาลัยขอนแก่น จ.ขอนแก่น 40002

² ภาควิชาเคมี คณะวิทยาศาสตร์ มหาวิทยาลัยขอนแก่น จ.ขอนแก่น 40002

* corresponding author, E-mail

การเขียนเอกสารอ้างอิงในวารสารวิทยาศาสตร์ มข.

เอกสารอ้างอิง (Reference) หมายถึง เอกสารหรือส่วนหนึ่งของเอกสารที่อ้างอิงถึงหรือแปลมาโดยตรง การเขียนเอกสารอ้างอิงในเนื้อหานั้น ให้ใช้ระบบชื่อและปี เช่น Williams (2001) รายงานว่า... หรือ... (Williams, 2001) การเขียนเอกสารอ้างอิงในตอนท้ายบทความนั้น ให้ใส่เฉพาะเล่มที่มีการอ้างอิงไว้แล้ว ในเนื้อหาเท่านั้น หากอ้างอิงจากเล่มภาษาไทย ต้องเขียนทั้งชื่อและนามสกุล

บรรณานุกรม (Bibliography) หมายถึง เอกสารที่ใช้อ้างอิงในลักษณะที่สรุปเป็นหลักการหรือทฤษฎีโดยมิได้อ้างอิงหรือแปลมาโดยตรง

การเขียนเอกสารอ้างอิง หรือบรรณานุกรม มีแนวทางการเขียนดังนี้

1. หนังสือ

ก. ภาษาไทย

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

ข. ภาษาอังกฤษ

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

2. เอกสารราชการ

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

3. วารสาร

ก. ภาษาไทย

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

ข. ภาษาอังกฤษ

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

หมายเหตุ

- 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

