KKU SCIENCE JOURNAL

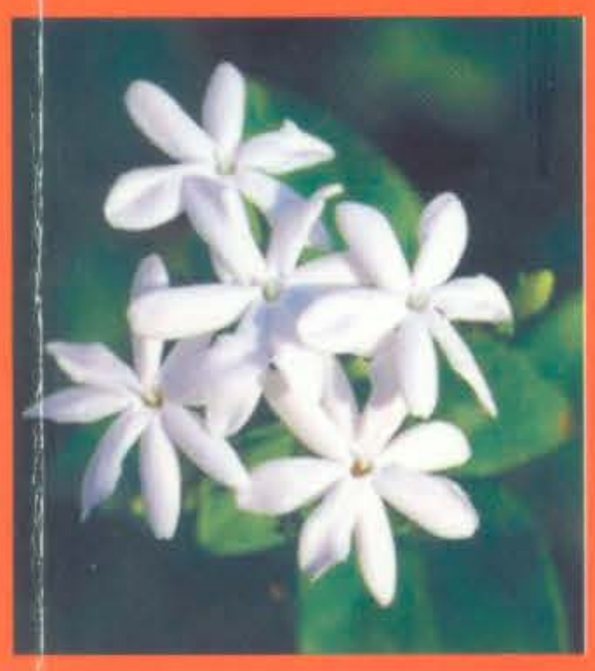
วารสารวิทยาศาสตร์ มข.

ปีที่ 39 ฉบับที่ 2 (เม.ย. - มิ.ย. 2554) Vol. 39 No. 2 (Apr. - Jun. 2011)

ISSN : 0125-2364

มะลิฉัตร

มะลิซ้อน



พุทธชาด

มะลิถอด

มะลิลา

มะลิวัลย์

มุลี

KKU SCIENCE JOURNAL

วารสารวิทยาศาสตร์ มข.

ปีที่ 39 ฉบับที่ 2 (เม.ย. - มิ.ย. 54) Vol. 39 No. 2 (Apr. - Jun. 2011)

ISSN 0125 - 2364

เจ้าของ

คณะวิทยาศาสตร์ มหาวิทยาลัยขอนแก่น

สำนักงาน

คณะวิทยาศาสตร์ ตึก 6 มหาวิทยาลัยขอนแก่น
อ.เมือง จ.ขอนแก่น 40002
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

คณบดีคณะวิทยาศาสตร์ มหาวิทยาลัยขอนแก่น
(ผศ.ดร.เกียรติ แสงอรุณ)

(รักษาการแทน) บรรณาธิการ

รศ.ดร.ศักดา ดาดวง มหาวิทยาลัยขอนแก่น

กองบรรณาธิการ

ศ.ดร.ม.ร.ว.ชิษณุสรร สวัสดิวัตน์ มหาวิทยาลัยมหิดล
ศ.ดร.สุพจน์ หารหนองบัว จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย
ศ.ดร.ชิดชนก เหลือสินทรัพย์ จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย
ศ.ดร.ชูกิจ ลิมปิจำนง มหาวิทยาลัยเทคโนโลยีสุรนารี
ศ.ดร.อารันต์ พัฒโนทัย มหาวิทยาลัยขอนแก่น
รศ.ดร.ชุติมา หาญจวณิช มหาวิทยาลัยขอนแก่น
รศ.ดร.ศาสตรา วงศ์ธนวสุ มหาวิทยาลัยขอนแก่น
รศ.ดร.ศุภลักษณ์ ศรีจารนัย มหาวิทยาลัยขอนแก่น
รศ.ดร.สมเดช กนกเมธากุล มหาวิทยาลัยขอนแก่น
รศ.ดร.สุจิตรา ยังมี มหาวิทยาลัยขอนแก่น
รศ.กิตติ เอกอำพน มหาวิทยาลัยขอนแก่น
รศ.สุพรรณี อึ้งปัญสัตวงศ์ มหาวิทยาลัยขอนแก่น
รศ.อำนวย มณีศรีวงศ์กูล มหาวิทยาลัยขอนแก่น
ผศ.ดร.กิตติกร นาคประสิทธิ์ มหาวิทยาลัยขอนแก่น
ผศ.ดร.งามนิจ อาจอินทร์ มหาวิทยาลัยขอนแก่น
ผศ.ดร.วิไลลักษณ์ ศิริพรอดุลศิลป์ มหาวิทยาลัยขอนแก่น
ผศ.ดร.ศรีประจักร์ ครองสุข มหาวิทยาลัยขอนแก่น
ผศ.ดร.อัจฉราภรณ์ ภักดี มหาวิทยาลัยขอนแก่น
ดร.กัลยา กองเงิน มหาวิทยาลัยขอนแก่น
ดร.เกียรติสุดา นาคประสิทธิ์ มหาวิทยาลัยขอนแก่น
ดร.นงลักษณ์ มีทอง มหาวิทยาลัยขอนแก่น
ดร.พรพิมล เจียระนัยปรีเปรม มหาวิทยาลัยขอนแก่น
ดร.พลสัณห์ มหาขันธ์ มหาวิทยาลัยขอนแก่น
ดร.รินา ภัทรมานนท์ มหาวิทยาลัยขอนแก่น
ดร.วิจารณ์ สดศิริ มหาวิทยาลัยขอนแก่น

ฝ่ายศิลป์และภาพ

นายกิเลน ติณนรเศรษฐ์ มหาวิทยาลัยขอนแก่น

ฝ่ายจัดการและเลขานุการ

นางสาวสุภาพร พิมพ์วาปี มหาวิทยาลัยขอนแก่น
นางสาวพิกุล ราชพลแสน มหาวิทยาลัยขอนแก่น
นางสาวจิราภรณ์ พิมพ์ภูมี มหาวิทยาลัยขอนแก่น
นางสาวจรูญลักษณ์ สุพร มหาวิทยาลัยขอนแก่น
นายศักดิ์สิทธิ์ สุวรรณ์ มหาวิทยาลัยขอนแก่น

"ได้รับทุนอุดหนุนจากสำนักงานคณะกรรมการการอุดมศึกษา"

บทความหรือข้อคิดเห็นใด ๆ ในวารสารนี้เป็นของผู้เขียน ไม่จำเป็นต้องสอดคล้องกับทัศนะของกองบรรณาธิการ

สารบัญ Table of Contents

KKU SCIENCE JOURNAL

วารสารวิทยาศาสตร์ มข.

ปีที่ 39 ฉบับที่ 2 (เม.ย. - มิ.ย. 54) Vol. 39 No. 2 (Apr. - Jun. 2011)

ISSN 0125 - 2364

- 8 SEP 2011

Stang Mongkolsuk Library
Faculty of Science, Mahidol University

บรรณาธิการแถลง

บทความ

❐ เอนไซม์ไซลาเนสเพื่อการผลิตเชื้อเพลิงชีวภาพ
Xylanases for Biofuel Production
ขวัญชัย คูเจริญไพศาล
กนกกร สินมา..... 159

❐ ภาวะเครียดจากออกซิเดชันและระบบต้านการเกิดออกซิเดชันในพืช
Oxidative stress and antioxidative system in plants
นุชนาถ วุฒิประดิษฐกุล..... 172

❐ พืชน้ำ : บทบาทสำคัญกับการบำบัดน้ำเสีย
Aquatic Macrophytes: The Important Roles in Wastewater Treatment
อรุโณทัย จำปีทอง
สุทธาธร ไชยเรืองศรี..... 182

❐ การตรวจสอบลายนิ้วมือแฝงด้วยวิธีทางกายภาพ
The Detection of Latent Fingerprints by Physical Methods
อารีย์ ชูดำ
วรวิทย์ วงศ์นิรามัยกุล..... 193

❐ เส้นใยนาโนในการใช้งานด้านวัสดุโครงสร้างสำหรับเพาะเลี้ยงเซลล์
Nanofibers in Scaffolding Applications
พัชราภรณ์ ฐิติวงศ์เศวต..... 210

สารบัญ Table of Contents

KKU SCIENCE JOURNAL

วารสารวิทยาศาสตร์ มข.

ปีที่ 39 ฉบับที่ 2 (เม.ย. - มิ.ย. 54) Vol. 39 No. 2 (Apr. - Jun. 2011)

ISSN 0125 - 2364

บทความ

❐ ผลของการเจือธาตุต่อสมบัติเทอร์โมอิเล็กทริกส์ของแคลเซียมโคบอลต์ไทต์
Effect of Elemental Doping on the Thermoelectric Properties of Calcium Cobaltite
สุปรีดิ์ พินิจสุนทร..... 219

❐ การพัฒนาเมมเบรนสำหรับเซลล์เชื้อเพลิงแบบพอลิเมอร์อิเล็กโทรไลต์เมมเบรน
Polymer Electrolyte Membrane Fuel Cells: The Membrane Development
สุรางคนา มาตย์วิเศษ..... 232

งานวิจัย

❐ ความหลากหลายของยีสต์ทนร้อนบริเวณอุทยานแห่งชาติภูจองนายอย
Diversity of Thermotolerant Yeasts in Phujong Nayoy National Park
จันทรพร ทองเอกแก้ว
กีรติชัยนันต์ จรรยาเพศ..... 242

KKU SCIENCE JOURNAL

วารสารวิทยาศาสตร์ มข.

ปีที่ 39 ฉบับที่ 2 (เม.ย. - มิ.ย. 54) Vol. 39 No. 2 (Apr. - Jun. 2011)

ISSN 0125 - 2364

งานวิจัย

❐ ผลของยาปฏิชีวนะต่อการเปลี่ยนแปลงของแบคทีเรียทางทะเลและการเคลื่อนที่ของสเปิร์มในน้ำเชื้อปลากะพงขาว (*Lates calcarifer*) ที่เก็บรักษาแบบแช่เย็น

Effect of Antibiotic on the Change of Marine Bacteria and Motility of Spermatozoa in Asian Seabass (*Lates calcarifer*) Semen Preserved under Chilled Storage

สุบัณฑิต นิ่มรัตน์
กนิษฐา ตั้งชั้ว
ไตรมาศ บุญไทย
วีรพงศ์ วุฒิพันธุ์ชัย..... 252

❐ การศึกษาความหลากหลายทางพันธุกรรมของมะลิสกุลจัสมินัมด้วยเทคนิคอาร์เอพีดี

Study the Genetic Diversity in *Jasminum* Using Random Amplified Polymorphic DNA Technique

นฤมล ธนานันต์
อรพรรณ บุญประดิษฐ์
ธีระชัย ธนานันต์..... 263

สารบัญ Table of Contents

KKU SCIENCE JOURNAL
วารสารวิทยาศาสตร์ มข.
ปีที่ 39 ฉบับที่ 2 (เม.ย. - มิ.ย. 54) Vol. 39 No. 2 (Apr. - Jun. 2011)
ISSN 0125 - 2364

งานวิจัย

❐ ผลการแคลไซน์ต่อการดูดซับของตัวเร่งปฏิกิริยา
ในการบำบัดน้ำเสียฟีนอล
Calcination Effect on Adsorption of Catalyst
for Phenolic Wastewater Treatment
พรศิริ ทองเปรม
ประธาน วงศ์ศริเวช..... 270

❐ ผลของสมบัติไพอิโซอิเล็กทริกในวัสดุ PZTs
ต่อการเก็บเกี่ยวพลังงาน
Effect of Piezoelectric Properties of PZTs
on Energy Harvesting
นิธิพจน์ พุทธงชัย
ธนัดชัย กุลวรวานิชพงษ์
พิทักษ์ เหล่ารัตนกุล
สุธรรม ศรีหล่มสัก..... 281

❐ การประยุกต์ใช้ระบบสารสนเทศภูมิศาสตร์ในการ
พัฒนาแหล่งน้ำ กรณีศึกษา ตำบลประณีต อำเภอ
เขาสมิง จังหวัดตราด
Application of Geographic Information System
on Water Resource Development: A Case Study
in Pranit Sub-District, Khao Saming District,
Trad Province
อารดา ซาฟีอี
ธนิตย์ อินทรัตน์..... 299

สารบัญ Table of Contents

KKU SCIENCE JOURNAL

วารสารวิทยาศาสตร์ มข.

ปีที่ 39 ฉบับที่ 2 (เม.ย. - มิ.ย. 54) Vol. 39 No. 2 (Apr. - Jun. 2011)

ISSN 0125 - 2364

งานวิจัย

❐ การประมาณการแจกแจงไฮเพอร์จีออเมตริกนิเสธ
ด้วยการแจกแจงทวินามนิเสธ
Negative Binomial Approximation to
Negative Hypergeometric Distribution
คณินทร์ ธีรภาพโอฬาร..... 311

KKU SCIENCE JOURNAL

วารสารวิทยาศาสตร์ มข.

ปีที่ 39 ฉบับที่ 2 (เม.ย. - มิ.ย. 54) Vol. 39 No. 2 (Apr. - Jun. 2011)

ISSN 0125 - 2364

Publisher

Faculty of Science, Khon Kaen University, Thailand.

Office

Faculty of Science, Building 6, Khon Kaen University. Khon Kaen Thailand, 40002

Tel. 0-4320-2372 Fax 0-4320-2371

Objectives

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

Publishing frequency

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

Number 1 January - March

Number 2 April - June

Number 3 July - September

Number 4 October - December

Advisory Committee

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

Act for Editor

Assoc. Prof. Dr. Sakda Daduang	Khon Kaen University

Editorial Board

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

Artists

Mr.Kilen Tinnoraset	Khon Kaen University

Managing Staff and Secretary

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

" With the Financial Support of the Commission on Higher Education "

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

บรรณาธิการแถลง

เรียน **ท่านผู้อ่านที่เคารพรักทุกท่าน**

ฉบับนี้เป็นฉบับที่สองของปี 54 นี้ ช่วงนี้ก็เข้าหน้าฝน บางแห่งฝนก็ตกแทบทุกวัน ก็ขอให้ท่านได้ระวังสุขภาพด้วยนะครับ

สำหรับเนื้อหาในเล่มนี้ก็มีความเข้มข้นไม่แพ้เล่มอื่นๆ ไม่ว่าจะเป็นเรื่องทางด้านชีวภาพ ทั้งเรื่องเอนไซม์ไซลาเนส เพื่อการย่อยสลายเซลลูโลส แล้วนำผลิตพลังงานชีวภาพ อันเป็นเรื่องพลังงานทดแทน ที่กำลังเป็นเรื่องสุดฮิตของยุคนี้ รวมทั้งเรื่องทางด้านสิ่งแวดล้อม ด้านการใช้พืชน้ำเพื่อการบำบัดน้ำเสีย ช่วยให้สภาวะแวดล้อมของเราดีขึ้นได้ด้วยต้นทุนต่ำ ส่วนเรื่องทางกายภาพ ในเรื่องเทคโนโลยีด้านนาโน ก็ฮิตไม่แพ้เรื่องใดๆ ตอนนี้วัสดุเหล่านี้กำลังวิจัยกันอย่างเข้มข้น เพื่อให้มีวัสดุที่ใช้งานได้ปลอดภัยและมีประสิทธิภาพสูงในการใช้งานทางการแพทย์ และเรื่องอื่นๆ ก็ล้วนน่าสนใจทั้งสิ้น ซึ่งก็หวังเป็นอย่างยิ่งว่า เรื่องเหล่านี้จะโดนใจผู้อ่าน และท่านได้นำไปใช้ประโยชน์นอกจากจะเป็นความรู้แล้ว ท่านอาจนำไปใช้อ้างอิงในงานเขียนของท่านก็ได้ด้วย

ขอบคุณครับ และพบกันใหม่ฉบับหน้า

รศ.ดร.ศักดา ดาดวง
รองคณบดีฝ่ายวิจัยและวิเทศสัมพันธ์
คณะวิทยาศาสตร์ มหาวิทยาลัยขอนแก่น
รักษาการบรรณาธิการ

ว.วิทย. มข. 39(2) 159-171 (2554) KKU Sci. J.39(2) 159-171 (2011)

KKU SCIENCE JOURNAL

เอนไซม์ไซลาเนสเพื่อการผลิตเชื้อเพลิงชีวภาพ

Xylanases for Biofuel Production

ขวัญชัย คูเจริญไพศาล[1] และ กนกกร สินมา[2]*

บทนำ

การเปลี่ยนสารประกอบลิกโนเซลลูโลส (lignocellulosic materials) เพื่อใช้เป็นเชื้อเพลิงชีวภาพ (เอทานอล) กำลังได้รับความสนใจจากทั่วโลกเนื่องจากเป็นการผลิตพลังงานเพื่อการขนส่งแบบไม่มีวันหมดและเป็นมิตรต่อสิ่งแวดล้อม กระบวนการผลิตเอทานอลจากวัสดุเหลือทิ้งทางการเกษตรได้รับความนิยมในหลายประเทศ เช่น สหรัฐอเมริกา บลาซิล และประเทศในกลุ่มสหภาพยุโรป (Balat and Balat, 2009) วัสดุเหลือทิ้งทางการเกษตรที่นิยมนำมาผลิตเอทานอลได้แก่ ซังข้าวโพด ฟางข้าว และกากน้ำตาล เป็นต้น องค์ประกอบหลักของวัสดุเหลือทิ้งทางการเกษตรคือ สารประกอบลิกโนเซลลูโลสซึ่งประกอบด้วย สารโพลีเมอร์ของคาร์โบไฮเดรต (เซลลูโลส และเฮมิเซลลูโลส) และลิกนิน ประกอบขึ้นเป็นโครงสร้างที่ซับซ้อนซึ่งยากต่อการย่อยสลาย โดยเซลลูโลสและเฮมิเซลลูโลสมีอยู่ประมาณ 2 ใน 3 ส่วนของลิกโนเซลลูโลสทั้งหมด และสามารถใช้เป็นสับสเตรทเพื่อการผลิตเอทานอล ปริมาณของเซลลูโลส เฮมิเซลลูโลส และลิกนินที่มีอยู่ในวัสดุเหลือทิ้งแต่ละชนิดจะแตกต่างกันออกไปตามชนิดของพืช เซลลูโลสเป็นองค์ประกอบที่มีมากที่สุดและนิยมใช้อย่างแพร่หลายในการผลิตเชื้อเพลิงชีวภาพ อย่างไรก็ตาม เฮมิเซลลูโลสซึ่งเป็นองค์ประกอบที่พบมากเป็นอันดับสองรองจากเซลลูโลสกำลังได้รับความสนใจเพื่อใช้เป็นวัตถุดิบในการผลิตเชื้อเพลิงชีวภาพ การผลิตเอทานอลจากเซลลูโลสและเฮมิเซลลูโลสมีความแตกต่างกันในแง่ของชนิดของเอนไซม์ที่ใช้ในการย่อยสลาย และผลิตภัณฑ์ที่ได้เป็นน้ำตาลต่างชนิดกัน เอนไซม์ไซลาเนสเป็นเอนไซม์สำคัญซึ่งทำหน้าที่ย่อยสลายไซแลนซึ่งเป็นเฮมิเซลลูโลสชนิดหนึ่งที่เชื่อมต่อระหว่างเซลลูโลสและลิกนินเพื่อเสริมสร้างความแข็งแรงของพืช นอกจากนี้เอนไซม์ไซลาเนสยังนิยมใช้ในอุตสาหกรรมหลายชนิด เช่น การฟอกเยื่อกระดาษเพื่อเพิ่มความขาวและลดการใช้สารเคมีฟอกเยื่อ (Bajpai, 1999) ใช้เป็นสารเสริมอาหารสำหรับสัตว์ปีก (Bedford and Classen, 1992) ใช้ในการผลิตเบเกอรี่เพื่อให้โดว์ (dough) ขึ้นรูปได้ดี (Maat et al., 1992) เป็นต้น

การเปลี่ยนสับสเตรทชนิดนี้โดยจุลินทรีย์สามารถเปลี่ยนได้ทั้งที่เป็นรูปแบบเดี่ยว (monomeric form) และแบบโอลิโกเมอร์ (oligomeric form)

[1] คณะวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยี มหาวิทยาลัยราชภัฏพระนคร กรุงเทพฯ 10220

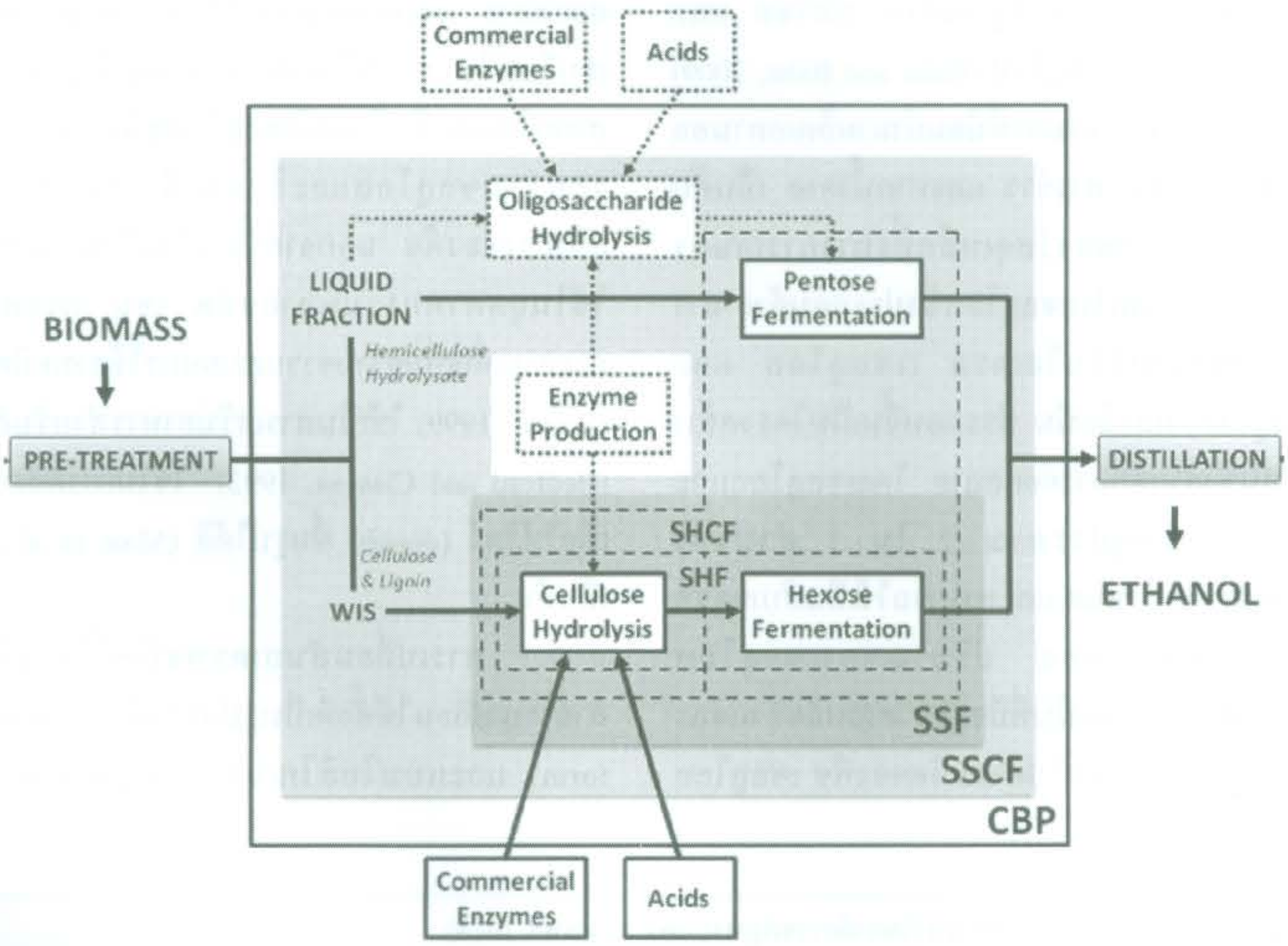
[2] Faculty of Agriculture Shizuoka University, Japan

* Corresponding Author, E-mail: khwanchai@pnru.ac.th

ซึ่งเป็นปัจจัยสำคัญในการเพิ่มอัตราการผลิตเอทานอล ได้แก่ สารประกอบลิกโนเซลลูโลส การใช้กระบวนการย่อยสลาย (hydrolytic technology) แบบต่างๆ และการนำไปผ่านการปรับสภาพเบื้องต้น (pre-treatment) ที่ต่างกันจะมีผลต่อการนำไปใช้ประโยชน์ ในบางสภาวะของการย่อยสลายนั้น น้ำตาลที่ได้จากการย่อยสารประกอบเฮมิเซลลูโลสเกิดการสลายตัว (hydrolysate)ได้เป็นกรดอ่อนและฟูราน (furan) ซึ่งมีผลในการยับยั้งกิจกรรมของจุลินทรีย์ในกระบวนการหมักเอทานอล ขณะเดียวกันลิกนินที่ปลดปล่อยออกมาจากกิจกรรมของเอนไซม์ย่อยสลายเฮมิเซลลูโลสก็มีผลยับยั้งกระบวนการหมักเอทานอล

โครงสร้างของเฮมิเซลลูโลส

เฮมิเซลลูโลสเป็นสารประกอบพอลิแซ็กคาไรด์ที่มีน้ำหนักโมเลกุลสูง โดยพบประมาณร้อยละ 15-35 ในผนังเซลล์พืช ซึ่งประกอบด้วยน้ำตาล เพนโตส (β-D-xylose, α-L-arabinose), น้ำตาลเฮกโซส (β-D-manose, β-D-glucose, α-D-galactose) และ กรดยูโรนิค (α-D-glucuronic, α-D-4-O-methylgalacturonic, α-D-galacturonic acid) นอกจากนี้แล้วยังมีน้ำตาลชนิดอื่นๆ อีก เช่น น้ำตาลแรมโนส (α-L-rhamnose) และน้ำตาลฟูโคส (α-L-fucose) สารพอลิแซ็กคาไรด์ที่มีเฉพาะไซโลสเพียงอย่างเดียว เราเรียกว่าเป็นโฮโมไซแลน (homoxylans) ซึ่งพบเฉพาะในสาหร่ายทะเลสีเขียวและสีแดงเท่านั้น ไซแลนมีประมาณร้อยละ 20-30 ของน้ำหนักแห้ง ในไม้เนื้อแข็งและพืชสมุนไพร ส่วนในพืชตระกูลหญ้าและธัญพืชมีปริมาณไซแลนมากถึงร้อยละ 50 (Ebringerova et al., 2005) ไซแลนประกอบด้วย น้ำตาลไซโลส ประมาณ 200 หน่วย ต่อกันด้วยพันธะ 1,4 ไกลโคซิดิก ไซแลนจากแหล่งต่างๆ เช่น ไม้เนื้อแข็ง ไม้เนื้ออ่อน และพืชตระกูลหญ้า มีโครงสร้างหลักเหมือนกันแต่ต่างกันตรงโซ่ด้านข้าง (Coughlan and Hazlewood, 1993)



รูปที่ 1 ไดอะแกรมขั้นตอนการผลิตเอทานอลจากสารประกอบลิกโนเซลลูโลส (Girio et al., 2010)

กระบวนการผลิตเชื้อเพลิงชีวภาพ (เอทานอล)

เมื่อเร็วๆนี้มีแนวทางเพื่อปรับปรุงและเพิ่มการหมักเอทานอลในต้นทุนต่ำ โดยประกอบด้วย 3 ขั้นตอน คือ การนำสารประกอบเฮมิเซลลูโลสผ่านการปรับสภาพเบื้องต้น (pre-treatment) การย่อยสลายด้วยเอนไซม์จากจุลินทรีย์ และกระบวนการหมักด้วยยีสต์ (รูปที่ 1) (Margeot et al., 2009) นอกจากนี้การใช้จุลินทรีย์ที่ผ่านกระบวนการปรับปรุงพันธุกรรม ไม่ว่าจากการตัดต่อยีนหรือจุลินทรีย์ที่มีวิวัฒนาการตามธรรมชาติก็เป็นปัจจัยสำคัญในการเอาชนะอุปสรรคของการใช้สารประกอบลิกโนเซลลูโลสเพื่อการผลิตเอทานอล

1. การปรับสภาพสารประกอบลิกโนเซลลูโลสเบื้องต้น

ในขั้นตอนแรกของการผลิตเชื้อเพลิงชีวภาพ (เอทานอล) ต้องนำสารประกอบลิกโนเซลลูโลสมาผ่านกระบวนการปรับสภาพเพื่อลดความซับซ้อนของโครงสร้างสารประกอบลิกโนเซลลูโลส ซึ่งทำได้หลายวิธี ได้แก่

การใช้กรด (acid hydrolysis) สามารถแบ่งได้เป็นสองแบบหลักๆ คือ การใช้กรดเข้มข้นที่อุณหภูมิต่ำ และการใช้กรดเจือจางที่อุณหภูมิสูง กรดที่นิยมใช้กัน คือ กรดซัลฟิวริก กรดไฮโดรคลอริก กรดไนทริก และ กรดไตรฟลูออโรอะซิติก ส่วนกรดอ่อนอื่นๆ เช่น กรดฟอสฟอริก และกรดอินทรีย์อื่น ก็มีการใช้บ้างเล็กน้อย ข้อเสียของการปรับสภาพด้วยกรด คือ มีความเป็นพิษและมีฤทธิ์กัดกร่อน (Sivers and Zacchai, 1995)

การใช้น้ำอุณหภูมิสูง (autohydrolysis) โดยหลักๆ จะใช้น้ำร้อน (autohydrolysis) และวิธีระเบิดไอน้ำ (steam explosion) (McMillan, 1994) ซึ่งวัตถุประสงค์ของทั้งสองวิธีก็เพื่อให้ได้สารสกัดเฮมิเซลลูโลสจากสารประกอบลิกโนเซลลูโลส โดยอาศัยไอน้ำร้อนที่ความดันสูงจากนั้นจึงลดระดับความดันให้ต่ำลง ทำให้วัสดุเกิดการระเบิดและสลายโครงสร้างของเฮมิเซลลูโลส อุณหภูมิที่ใช้ คือ 160-260 องศาเซลเซียส ที่ความดัน 0.69-4.83 hPa วิธีนี้ไม่มีการเติมสารเคมีใดๆ ลงในกระบวนการ ดังนั้น จึงเป็นมิตรกับสิ่งแวดล้อม (Sun and Cheng, 2002)

การใช้สารละลายด่าง (Alkaline hydrolysis) โดยทั่วไปนิยมใช้แอมโมเนีย การปรับสภาพด้วยสารละลายด่างมีความสัมพันธ์กับปริมาณของลิกนินที่มีอยู่ในสารประกอบลิกโนเซลลูโลส (Fan et al., 1989, McMillan, 1994) สารละลายด่างทำหน้าที่ละลายลิกนินในโครงสร้างของลิกโนเซลลูโลส นอกจากนี้ยังช่วยให้โครงสร้างของสารประกอบลิกโนเซลลูโลสขยายใหญ่ขึ้นเพื่อเป็นการเพิ่มพื้นที่ผิว ช่วยให้เอนไซม์ในกลุ่มเฮมิเซลลูเลสเข้าย่อยเฮมิเซลลูโลสได้ง่ายขึ้น

การใช้ตัวทำละลายอินทรีย์ (Organic solvent hydrolysis) ตัวทำละลายอินทรีย์ที่นิยมใช้เพื่อลดความซับซ้อนของโครงสร้างสารประกอบลิกโนเซลลูโลส ได้แก่ เอทานอล เมทานอล และอะซิโตน โดยมักจะใช้ร่วมกับการใช้กรดเพื่อวัตถุประสงค์ในการย่อยสลายลิกนินและเฮมิเซลลูโลสในโครงสร้างของลิกโนเซลลูโลส (Zhao et al., 2009)

การใช้สองวิธีข้างต้นร่วมกันก็เป็นที่นิยมอย่างแพร่หลาย เช่น การใช้ กรดที่อุณหภูมิสูง (acid/water/steam) วิธีการนี้สามารถเพิ่มปริมาณน้ำตาลโมเลกุลเดี่ยว และน้ำตาลหลายโมเลกุลจากสารประกอบประเภทลิกโนเซลลูโลสได้เป็นอย่างดี นอกจากนี้การใช้วิธีนี้ยังมีสารอื่น พวกฟูราน (furan) กรดอ่อน (weak acid) และสารประกอบที่เป็นวงแหวน เช่น พวกฟีโนลิก (phenolic) เกิดขึ้นจากการแตกตัวของลิกนิน (lignin) ซึ่งสารประกอบข้างต้นอาจจะมีผลในการยับยั้งกระบวนการหมักทำให้ได้เอทานอลในปริมาณต่ำ ดังนั้น อาจจะต้องมีการกำจัดสารเหล่านี้ออกก่อนที่นำไปใช้ในกระบวนการหมักเอทานอล

2. กระบวนการไฮโดรไลซิสด้วยเอนไซม์ไซลาเนสจากจุลินทรีย์

ในการผลิตเอทานอลจากวัตถุเหลือทิ้งทางการเกษตร การเปลี่ยนสารประกอบลิกโนเซลลูโลสให้เป็นน้ำตาลโมเลกุลเดี่ยวเป็นสิ่งที่จำเป็นซึ่งวิธีที่นำมาใช้ในการย่อยสารพวกพอลิแซ็กคาไรด์ให้ได้น้ำตาล

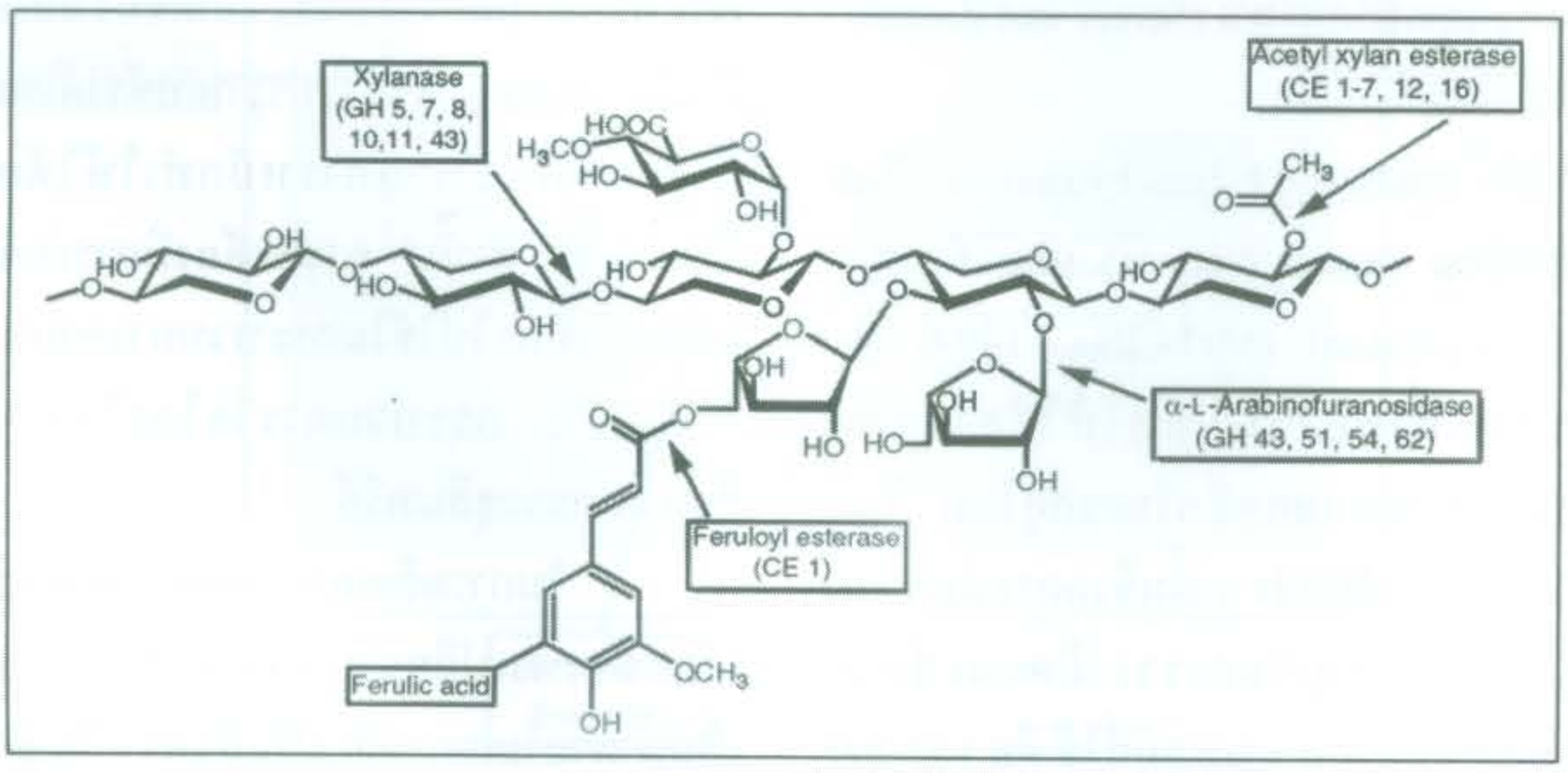
โมเลกุลเดี่ยว คือ การใช้เอนไซม์ย่อยสลายเซลลูโลส (cellulase) และเอนไซม์กลุ่มย่อยสลายเฮมิเซลลูโลส (hemicellulase) (Shallom and Shoham, 2003) การใช้เอนไซม์ในกลุ่มย่อยสลายเฮมิเซลลูโลสนั้น จะเน้นไปที่เอนไซม์ที่ย่อยสลายไซแลน (xylanase) เป็นหลัก

2.1 จุลินทรีย์ที่ผลิตเอนไซม์ไซลาเนส

จุลินทรีย์หลายชนิดทั้งแบคทีเรีย (Gilber and Hazlewood, 1993; Sunna and Antranikian, 1997) เชื้อรา (Sunna and Antranikian, 1997) แอคติโนมัยสีท (Ball and McCarthy, 1989; Beg et al., 2000a) และเชื้อยีสต์ (Liu et al., 1998) มีความสามารถในการผลิตเอนไซม์ไซลาเนส ตัวอย่างของแบคทีเรียที่ผลิตเอนไซม์ไซลาเนส คือ *Bacillus* sp. *Cellulomonas* sp. และ *Thermotoga* sp. เป็นต้น เชื้อแอคติโนมัยสีทที่ผลิตไซลาเนสได้ดี คือ *Streptomyces* sp. และ *Thermomonospora* sp. ส่วนเชื้อรานั้นพบว่า *Thermomyces lanuginosus* เป็นเชื้อราที่ผลิตไซลาเนสมากและทนความร้อนได้สูง (Khucharoenphaisan and Sinma, 2010) นอกจากนี้เชื้อราในสกุลอื่น เช่น *Aspergillus* sp. *Trichoderma* sp. และ *Penicillium* sp. สามารถผลิตไซลาเนสได้เช่นกัน (Beg et al., 2001)

2.2 เอนไซม์ไซลาเนส

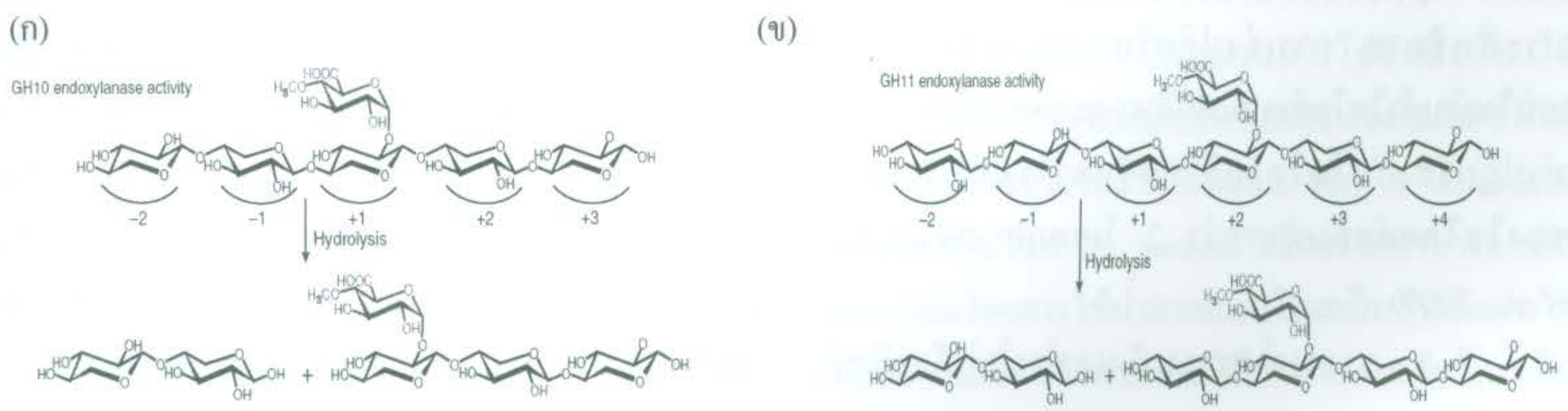
เอนไซม์ไซลาเนส (xylanase) เป็นกลุ่มของเอนไซม์ที่ย่อยสลายโครงสร้างไซแลน ประกอบด้วย เอนไซม์เอนโด เบต้า-1,4 ไซลาเนส ทำหน้าที่ย่อยสลายไซแลนสายหลักแบบสุ่ม แต่การย่อยไซแลนไปเป็นน้ำตาลโมเลกุลเดี่ยว เช่น ไซโลส อะราบิโนส (arabinose) และกรดกลูคูโรนิค (glucoronic acid) ต้องการเอนไซม์หลายชนิดทำงานร่วมกัน (รูปที่ 2) โดยในขั้นแรก เอนไซม์อะซิทิลไซแลนเอสเทอเรส (acetyl xylan esterases) และ เฟอรูลิคแอซิดเอสเทอเรส (ferulic acid esterases) ย่อยโซ่ด้านข้างของไซแลนหรือไซโลโอลิโกแซ็กคาไรด์ทำให้ได้ผลิตภัณฑ์เป็นเฟอรูลิค (ferulic) และ กรดแอซีติก (acetic acid) จากนั้นเอนไซม์อะราบิโนฟูราโนซิเดส (arabinofuranosidases) และกลูคูโรนิเดส (glucuronidases) เข้าย่อยโซ่ด้านข้างได้อะราบิโนส (arabinose) กรดกลูคูโรนิค (glucoronic acid) และสายของไซโลโอลิโกแซ็กคาไรด์ที่ปราศจากโซ่ด้านข้าง จากนั้นเอนไซม์ไซโลซิเดส (xylosidases) ย่อยไซโลโอลิโกแซ็กคาไรด์ได้เป็นโมเลกุลของไซโลส (xylose) (Biely et al., 1992) เอนไซม์ไซลาเนสที่มีความสำคัญในการผลิตเชื้อเพลิงชีวภาพแบ่งออกเป็นสองชนิด คือ เอนไซม์ที่ย่อยสลายภายในโครงสร้างหลักของไซแลนแบบสุ่ม เรียกว่า เอนโดไซลาเนส (endo-1,4-β-xylanase) และเอนไซม์ที่ย่อยสลายโครงสร้างหลักจากปลายด้านนอก เรียกว่า เอกโซไซลาเนส (β-xylosidase)



รูปที่ 2 แผนภาพแสดงการทำหน้าที่ร่วมกันของเอนไซม์ย่อยไซแลน (Dodd and Cann, 2009)

เอนไซม์เอนโด 1,4 เบต้า ไซลาเนส (Endo-1,4-β-Xylanase)

เอนไซม์นี้สลายพันธะไกลโคซิดิกตรงตำแหน่งระหว่างโมเลกุลของน้ำตาลไซโลสในโครงสร้างหลักของไซแลน เอนไซม์ไซลาเนสจัดจำแนกได้เป็น 6 แฟมิลี ตามลำดับการเรียงตัวของกรดอะมิโนโครงสร้าง และกลไกการย่อยสลาย โดยทั้ง 6 แฟมิลีประกอบด้วยแฟมิลี 5, 7, 8, 10, 11 และ 43 (Cantarel et al., 2009) เอนไซม์ชนิดนี้ย่อยสลายสับสเตรทที่เป็นพอลีแซ็กคาไรด์ ระหว่างน้ำตาลตำแหน่งที่ -1 subsite (nonreducing end) และตำแหน่งที่ +1 subsite (reducing end) (Collins et al., 2005; Berrin and Juge, 2008) เอนไซม์เอนโด 1,4 เบต้า ไซลาเนสนี้ประกอบด้วยไซลาเนส แฟมิลี 10 และ 11 เป็นหลัก โดยเอนไซม์ไซลาเนสแฟมิลี 10 ต้องการโพลีเมอร์ของน้ำตาลไซโลสประมาณ 4-5 โมเลกุล จึงสามารถเข้าจับเพื่อทำปฏิกริยาได้ (Derewenda et al., 1994) ขณะที่ไซลาเนสแฟมิลี 11 ต้องการสายโพลีเมอร์ของไซโลสอย่างน้อย 7 โมเลกุลจึงสามารถเข้าทำปฏิกริยาได้ (Bray and Clarke, 1992) และอีกประเด็นที่มีความแตกต่างกันสำหรับไซลาเนส 2 แฟมิลีนี้คือ เอนไซม์ไซลาเนสแฟมิลี 10 ย่อยสายกลูคูโลโนไซแลนบริเวณที่มีกรดเมทธิลกลูคูโลนิก เชื่อมต่อกับโมเลกุลไซโลสตรงตำแหน่ง +1 subsite ขณะที่เอนไซม์ไซลาเนสแฟมิลี 11 ย่อยไซแลนเมื่อกรดเมทธิลกลูคูโลนิก ต่ออยู่ที่ตำแหน่ง +2 (Kolenova et al., 2006) ผลิตภัณฑ์ที่เกิดจากการย่อยอะราบิโนไซแลน (arabinoxylan) ด้วยเอนไซม์ไซลาเนสแฟมิลี 10 มีอะราบิโนสอยู่ที่โมเลกุลของไซโลสตรงตำแหน่งที่ +1 subsite (รูป 3ก) (Vardakou et al., 2008; Kaneko et al., 2004) ขณะที่ผลิตภัณฑ์ที่เกิดจากการย่อยด้วยเอนไซม์ไซลาเนสแฟมิลี 11 มีอะราบิโนสอยู่ที่โมเลกุลของไซโลสตรงตำแหน่งที่ +2 subsite (รูป 3ข) (Maslen et al., 2007; Vardakou et al., 2008) แสดงให้เห็นว่าเอนไซม์ไซลาเนสแฟมิลี 10 สามารถย่อยพันธะของไซโลสได้ใกล้โซ่ด้านข้างมากกว่า เอนไซม์ไซลาเนสแฟมิลี 11 ดังนั้นจึงสามารถอธิบายได้ว่าเหตุใดเอนไซม์ไซลาเนสแฟมิลี 10 จึงย่อยสลายสับสเตรทที่เป็นไซแลนได้ผลิตภัณฑ์ที่สายสั้นกว่าการย่อยด้วยเอนไซม์ไซลาเนสแฟมิลี 11 (Biely et al., 1997) ซึ่งความแตกต่างของความจำเพาะเจาะจงระหว่างเอนไซม์ไซลาเนสและสับสเตรทมีความสำคัญอย่างมากในการนำเอาเอนไซม์ไปประยุกต์ใช้ ที่กล่าวมาทั้งหมดนี้ มีความสำคัญในการสร้างความเข้าใจการทำงานของเอนไซม์ไซลาเนสต่อสับสไตรทในธรรมชาติ และแสดงให้เห็นว่าความรู้จากโครงสร้างไซแลนมีความจำเป็นสำหรับการออกแบบการใช้เอนไซม์หลายๆ ชนิดร่วมกัน



รูปที่ 3 ความแตกต่างของผลิตภัณฑ์ที่ได้จากการย่อยสับสเตรทที่เป็นไซแลนของเอนไซม์เบต้าไซลาเนสแฟมิลี 10 (ก) และ 11 (ข) (Maslen et al., 2007; Dodd and Cann, 2009)

เอนไซม์ไซลาเนสบางชนิดประกอบด้วยหน่วยย่อยที่เป็นโดเมน (domain) ประกอบกันขึ้นและเชื่อมต่อกับคาตาไลติคโดเมน (catalytic domain) หรือคาร์โบไฮเดรตไบน์ดิ้งโดเมน (carbohydrate binding domain, CBD) อยู่ภายในสายพอลิเปปไทด์เดียวกันการมี คาร์โบไฮเดรตไบน์ดิ้งโดเมน สามารถเพิ่มประสิทธิภาพในการจับกันระหว่างโมเลกุลของเอนไซม์และพื้นผิวของสับสเตรทชนิดไม่ละลายน้ำและอาจจะเปลี่ยนโครงสร้างของน้ำตาลโดยการส่งเสริมให้เกิดพันธะไฮโดรเจนระหว่างเอนไซม์และสับสเตรท (Shoseyov et al., 2006) ขณะที่โครงสร้างหลักของไซแลนเป็นน้ำตาลไซโลสเหมือนกัน แต่จะมีความแตกต่างกันขึ้นอยู่กับชนิดของโซ่ด้านข้าง ความแตกต่างของโครงสร้างไซแลนนี่เองเป็นตัวกำหนดความสามารถของคาร์โบไฮเดรตไบน์ดิ้งโดเมนที่จับกับไซแลน

เอนไซม์เบต้าไซโลซิเดส (β-Xylosidase)

เอนไซม์เบต้าไซโลซิเดส เป็นเอนไซม์ที่ทำหน้าที่ย่อยสลายและปลดปล่อยไซโลสโมเลกุลเดี่ยวจากโอลิโกแซ็กคาไรด์จากปลายด้านที่เป็น non reducing end เอนไซม์ชนิดนี้สามารถแบ่งออกเป็นได้ 5 แฟมิลี คือ แฟมิลี 3, 39, 43, 52 และ 54 (Henrissat, 1991) เอนไซม์เบต้า ไซโลซิเดสต้องการสับสเตรทที่ประกอบด้วยไซโลสอย่างน้อย 2 โมเลกุลจึงสามารถเข้าทำปฏิกิริยาย่อยสลายพันธะได้ ในกรณีที่สับสเตรทที่เป็นไซโลโอลิโกแซ็กคาไรด์ที่มีไซโลสมากกว่า 2 โมเลกุล ส่วนที่เหลือจะไม่ถูกเอนไซม์จับโดย ประสิทธิภาพ การเร่งปฏิกริยา (kcat/km) ของเอนไซม์เบต้าไซโลซิเดสแฟมิลี 43 จะลดลง เมื่อเอนไซม์ทำปฏิกริยากับไซโลโอลิโกแซ็กคาไรด์ที่มีโมเลกุลของไซโลสต่อกันมากกว่า 2 โมเลกุล (Wagschal et al., 2009)

3. กระบวนการหมักเอทานอลด้วยยีสต์ (Ethanol fermentation)

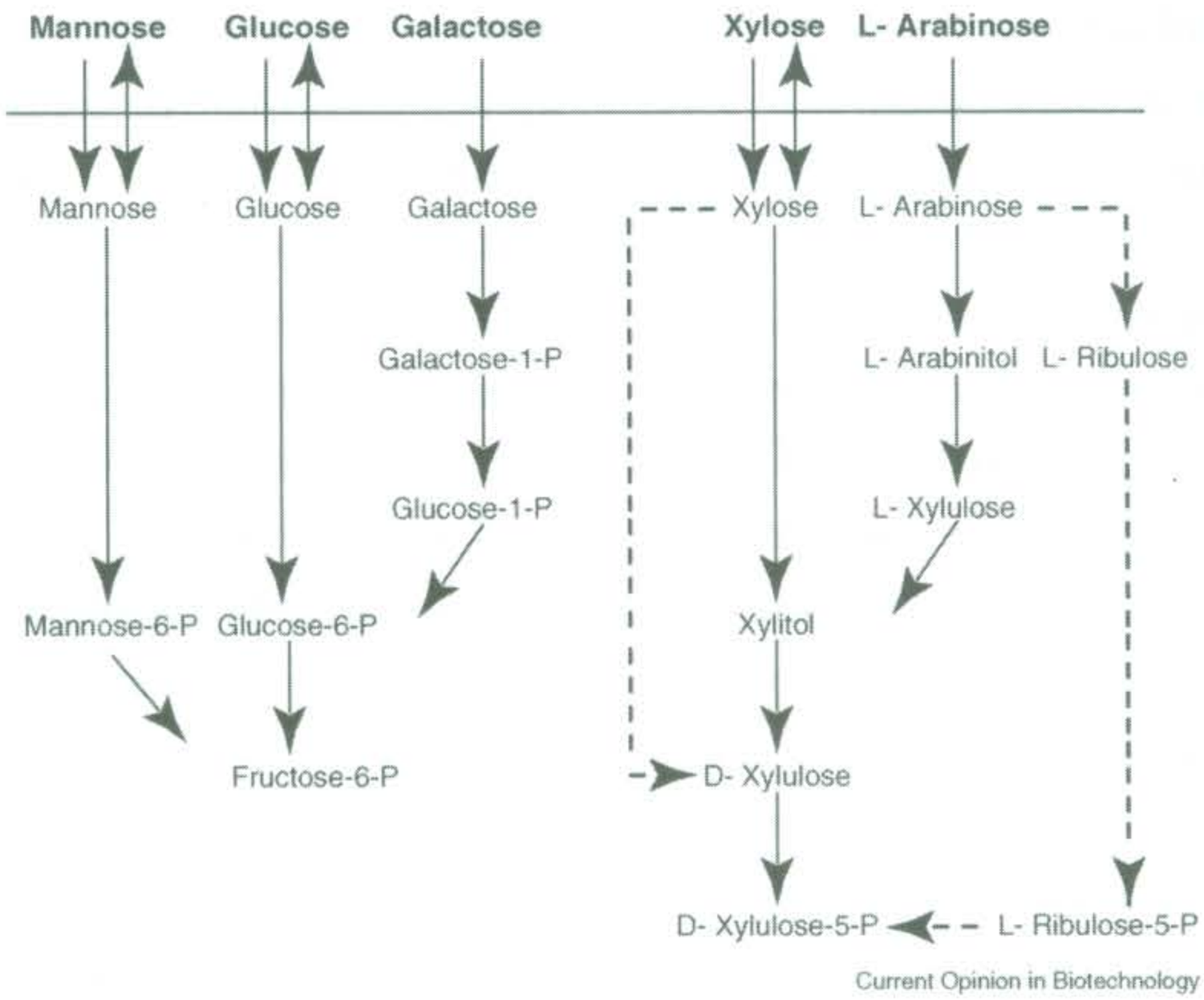
กระบวนการหมักเอทานอลเพื่อให้ได้ปริมาณสูงนั้นขึ้นอยู่กับปริมาณน้ำตาลที่ใช้ในกระบวนการหมัก ซึ่งได้มาจากขั้นตอนการปรับสภาพเบื้องต้น และประสิทธิภาพของกระบวนการหมัก ซึ่งต้องมีสภาวะที่เหมาะสม เช่น อุณหภูมิ ค่าความเป็นกรด-ด่าง (pH) และระยะเวลาการหมักเอทานอล สำหรับการย่อยสลายเฮมิเซลลูโลสเพื่อให้ได้น้ำตาลนั้นส่วนใหญ่อาศัยการทำงานของเอนไซม์ทำให้ได้น้ำตาลเฮกโซส และเพนโตส เช่น กลูโคส ไซโลส แมนโนส กาแลคโตส อะราบิโนส และแรมโนสเป็นผลิตภัณฑ์ จากนั้นน้ำตาลเฮกโซสส่วนใหญ่จะเข้าสู่กระบวนการ phosphorylation (รูปที่ 4) เพื่อให้ได้เป็นน้ำตาลเฮกโซส (hexose-5-P) ก่อนที่จะเข้าสู่วิถี pentose phosphate และวิถี embden-Meyerhof จนได้เอทานอลเป็นผลิตภัณฑ์

สำหรับกระบวนการผลิตเชื้อเพลิงชีวภาพจากโมเลกุลของน้ำตาลไซโลสที่ได้จากการสลายโครงสร้างของไซแลนโดยกิจกรรมของเอนไซม์ไซลาเนสชนิดต่างๆ ดังที่ได้กล่าวไว้ข้างต้น จากนั้นโมเลกุลของไซโลสจะถูกเปลี่ยนเป็นไซลูโลส เข้าสู่กระบวนการหมักโดยยีสต์ ได้เป็น เอทานอล (Screenath and Jeffries, 2000) โดยผ่านวิถี pentose phosphate ไซโลสบางส่วนถูกเปลี่ยนไปเป็นไซลิทอล (xylitol) และสามารถเปลี่ยนกลับมาเป็นไซลูโลสเพื่อเข้าสู่ กระบวนการ pentose phosphate pathway ได้เช่นกัน ปัจจัยที่มีผลต่อประสิทธิภาพการหมักเอทานอล คือ

3.1 เชื้อจุลินทรีย์ที่ใช้ในการหมัก

Saccharomyces cerevisiae เป็นจุลินทรีย์ที่นิยมใช้หมักเอทานอลในระดับอุตสาหกรรม (Olsson and Hagerdal, 1993) โดยทั่วไปแล้วเชื้อ *S. cerevisiae* สามารถเปลี่ยนน้ำตาลเฮกโซลเป็นเอทานอลได้เท่านั้น และนิยมใช้ในผลิตเอทานอลจากสารตั้งต้นจำพวกแป้งและน้ำตาลซูโครสเป็นหลัก (Lin and Tanaka, 2006) ข้อดีของ *S. cerevisiae* คือ หมักเอทานอลได้สูงถึงร้อยละ 18 นอกจากนี้ยังได้รับการรับรองให้เป็นสายพันธุ์ที่มีความปลอดภัยสามารถใช้ผลิตอาหารสำหรับมนุษย์ได้ (generally recognized as safe, GRAS)

Zymomonas mobilis เป็นจุลินทรีย์อีกชนิดที่สามารถใช้น้ำตาลกลูโคสเป็นสับสเตรทเพื่อผลิตเอทานอลได้ในปริมาณที่สูงด้วยเหตุที่ว่าจุลินทรีย์ชนิดนี้



รูปที่ 4 กระบวนการนำน้ำตาลเฮกโซสและเพนโตสเข้าสู่เซลล์ (Vleet and Jeffries, 2009)

ใช้น้ำตาลเพื่อการผลิตเซลล์น้อย ดังนั้นน้ำตาลส่วนใหญ่จึงใช้ในการหมักเอทานอล (Lawford and Rousseau, 1998) *Z. mobilis* นิยมใช้หมักเอทานอลจากสารตั้งต้นจำพวกแป้ง (starch-based ethanol production) ยีสต์สายพันธุ์นี้จะหมักเอทานอลในสภาวะไร้อากาศ ซึ่งอัตราการนำกลูโคสไปใช้ (glucose uptake) และปริมาณเอทานอลที่หมักได้ (ethanol yield) ใกล้เคียงกับค่าที่คำนวณได้ทางทฤษฎี (Doelle et al., 1993, Roger et al., 1979) นอกจากนี้ *Z. mobilis* ยังทนต่อเอทานอลที่ความเข้มข้นสูงได้ดี (สูงสุด 16% v/v) และสามารถปรับปรุงพันธุกรรมได้ง่ายเนื่องจากจีโนม (genome) มีขนาดเล็ก (David et al., 2006)

3.2 การปรับปรุงสายพันธุ์ยีสต์เพื่อการผลิตเอทานอล

ผลิตภัณฑ์ที่ได้จากการสลาย (hydrolysate) สารประกอบลิกโนเซลลูโลสคือน้ำตาลเพนโตส และเฮกโซส ซึ่งจุลินทรีย์ทั้งสองชนิดข้างต้นไม่สามารถนำเพนโตสไปใช้ได้ จึงมีความพยายามอย่างมากในการปรับปรุงพันธุกรรมของ *S. cerevisiae* (Tonn et al., 1997) *Z. mobilis* (Lawford et al., 1997) และแบคทีเรีย *Escherichai coli* (Ingram et al., 1997) ให้สามารถหมักเอทานอลจากน้ำตาลเพนโตสได้ ถึงแม้ว่าการปรับปรุงสายพันธุ์ประสบความสำเร็จแต่ยังคงใช้ในระดับห้องปฏิบัติการเท่านั้นยังไม่มีการใช้ในระดับอุตสาหกรรม

โดยทั่วไปแล้วผลิตภัณฑ์ที่ได้จากการย่อยสลาย (hydrolysate) จากไม้เนื้ออ่อนประกอบด้วยน้ำตาลแมนโนสมากกว่าน้ำตาลไซโลส ดังนั้นจุลินทรีย์ที่นำมาใช้ในกระบวนการไม่จำเป็นต้องใช้ไซโลสได้ดี ในการหมักเอทานอลจากผลิตภัณฑ์ที่ได้จากการย่อยสลายของไม้เนื้ออ่อน เชื้อ *S. cerevisiae* มีความได้เปรียบ *Z. mobilis* เนื่องจากสามารถหมักเอทานอลโดยการใช้น้ำตาลแมนโนสเป็นสับสเตรทได้ นอกจากนี้เชื้อนี้ยังสามารถใช้น้ำตาลกาแลคโตสเป็นสับสเตรทได้อีกด้วย

โดยแท้จริงแล้วสายพันธุ์ของแบคทีเรีย *Escherichia coli* เองได้ถูกปรับปรุงให้สามารถผลิตเอทานอลได้จากน้ำตาลโมเลกุลเดี่ยว เช่น กลูโคส

ไซโลส และอะราบิโนส น้ำตาลเหล่านี้ได้จากการย่อยสลายเซลลูโลสและไซแลน (Nichols et al., 2001) นอกจากนี้ยีสต์ในธรรมชาติ เช่น *Pachysolen tannophilus*, *Pichia stipitis* และ *Candida shehate* ก็สามารถเปลี่ยนไซโลสให้เป็นเอทานอลได้ การนำไปใช้ในเชิงพานิชย์อาจต้องการการปรับปรุงสายพันธุ์จุลินทรีย์ให้เจริญได้เร็วและทนเอทานอลได้มากขึ้น (Saha, 2003) จากความก้าวหน้าทางพันธุวิศวกรรมได้นำไปสู่การดัดแปลงหรือนำเมทาบอลิก พาธเวย์ ที่ทำให้จุลินทรีย์สามารถผลิตเอทานอลจากน้ำตาลเพนโตส โดยเฉพาะไซโลสและอะราบิโนส โดยนำพาธเวย์นี้เข้าสู่เชื้อยีสต์ *S. cerevisiae* และแบคทีเรีย *Z. mobilis* เพื่อให้สามารถใช้สับสเตรทเหล่านั้นได้ ถึงแม้ว่าวิธีการเหล่านี้ไม่ใช่เรื่องง่ายแต่ก็คาดว่าจะประสบผลสำเร็จในอีกไม่ช้า โดยธรรมชาติแล้วเชื้อยีสต์ *S. cerevisiae* มีความสามารถในการนำไซโลสเข้าสู่เซลล์ได้ต่ำ เนื่องจากว่าระบบการขนส่งไซโลสในยีสต์ชนิดนี้มีความจำเพาะต่อน้ำตาลชนิดนี้ต่ำคือได้ 130-880 มิลลิโมลาร์ (Saloheimo et al., 2007) นอกจากนี้ระบบขนส่งในเชื้อ *S. cerevisiae* ไม่มีระบบดูดซึมไซโลสเข้าสู่เซลล์ (Rintala et al., 2008) จึงได้มีการพัฒนาระบบการเหนี่ยวนำน้ำตาลเข้าสู่เซลล์และพัฒนาระบบทางจลศาสตร์โปรตีน (Protein dynamic) ซึ่งทำนายได้ว่าการขนถ่ายไซโลสเข้าสู่เซลล์ยีสต์นั้นจะทำได้มากที่สุดเมื่อความเข้มข้นของน้ำตาลกลูโคสในสภาพแวดล้อมของเซลล์เป็นศูนย์ ด้วยเหตุที่ว่าการมีกลูโคสอยู่จะไปกดดันให้ไปลดความจำเพาะของระบบการขนถ่ายของน้ำตาลเฮกโซส ซึ่งมีผลต่อการนำไซโลสเข้าสู่เซลล์ (Bertilssom et al., 2008) กระบวนการขนถ่ายไซโลสมีผลน้อยต่อการใช้ประโยชน์ไซโลส เมื่อระดับของเอนไซม์ไซโลสรีดักเทส (xylose reductase) มีอยู่อย่างจำกัด อย่างไรก็ตามกระบวนการขนถ่ายไซโลสจะมีผลต่อการใช้ประโยชน์ของไซโลสอย่างมากเมื่อมีเอนไซม์ไซโลสรีดักเทส (xylose reductase) ในเซลล์ในระดับสูง การเพิ่มการขนส่งไซโลสมีผลดีอย่างมากต่อเซลล์ของ *S. cerevisiae* ที่ถูกปรับแต่งกระบวนการนำน้ำตาลเข้าสู่เซลล์ ผ่านทาง over-expression ของเอนไซม์ไซโลส ไอโซเมอเรส (xylose isomerase) (van Maris et al., 2007) และพัฒนาการปรับปรุงสายพันธุ์โดยตัดต่อยีนที่ใช้ในการขนส่งกลูโคส (Sut 1) ของ *Pichia stipitis* ให้แสดงออกใน *S. cerevisiae* เพื่อให้สามารถใช้ประโยชน์จากไซโลสได้ซึ่งพบว่าสามารถผลิตเอทานอลจากไซโลสได้มาก (Katahira et al., 2008) Leandro et al. (2006) ได้ตัดต่อและศึกษายีน glucose/xylose facililator (Gxf1) และ glucose/xylose proton symporter (Gxs1) จากเชื้อ *Candida intermedia* (Leandro et al., 2006) พบว่ากลูโคสสามารถส่งถ่ายได้มากกว่าไซโลสถึง 10 เท่า

3.3 กรรมวิธีการหมักเอทานอลด้วยยีสต์

กระบวนการหมักเอทานอลสามารถทำไปพร้อมกับกระบวนการย่อยสลายสารประกอบลิกโนเซลลูโลสเพื่อให้ได้น้ำตาล เรียกกระบวนการแบบนี้ว่า simultaneous saccharification and fermentation (SSF) เชื้อยีสต์ที่นำมาใช้ในกระบวนการนี้มักต้องมีคุณสมบัติทนความร้อนที่เกิดจากปฏิกริยาการหมักได้ดี (Ballesteros et al., 1991) และสามารถใช้เซลโลไบโอสเป็นสับสเตรทในการหมักเอทานอลได้ (Spindler et al., 1992) ในขณะที่ไม้เนื้อแข็งได้นำมาใช้เป็นสับสเรตทสำหรับการหมักเอทานอล ด้วยกระบวนการ SSF พบว่าให้ผลผลิตของเอทานอลได้ดีใกล้เคียงกับกระบวนการหมักที่แยกกันระหว่างขั้นตอนการย่อยสลายให้ได้น้ำตาลก่อน จากนั้นจึงมีการเติมยีสต์เพื่อให้เกิดการหมักเอทานอล กระบวนการนี้เรียกว่า separate hydrolysis and fermentation (SHF) เอทานอลที่ได้จากกระบวนการหมักต้องผ่านขั้นตอนการกลั่น (distillation) ก่อนการนำไปใช้เป็นเชื้อเพลิงชีวภาพ เชื้อเพลิงชีวภาพที่ใช้เป็นเชื้อเพลิงรถยนต์ในปัจจุบันนิยมใช้เชื้อเพลิงผสมระหว่างเอทานอลร้อยละ 85 และน้ำมันเบนซินร้อยละ 15 เรียกว่า "E85" (Yacobucci and Schnepf, 2007) โดย E85 ได้เริ่มใช้ในประเทศสหรัฐอเมริกาโดยความเห็นชอบของสภา

คองเกรส ส่วนในประเทศไทยเริ่มมีการใช้ E85 เป็นเชื้อเพลิงสำหรับรถยนต์ในปี พ.ศ. 2551 โดยเป็นเอทานอลที่ผลิตจากอ้อยและมันสำปะหลัง

สรุป

จากการตระหนักถึงสภาวะโลกร้อนรวมทั้งความต้องการใช้น้ำมันเชื้อเพลิงซึ่งเป็นทรัพยากรที่มีจำกัด ทำให้ทั่วโลกตื่นตัวต่อการค้นหาแหล่งพลังงานทดแทน เอทานอลจึงถูกนำมาใช้เป็นพลังงานชีวภาพทดแทนการใช้น้ำมันเชื้อเพลิง ข้อดีของการใช้เชื้อเพลิงชีวภาพ คือ เป็นแหล่งพลังงานที่ปลอดภัย ช่วยลดการปลดปล่อยก๊าซเรือนกระจก รวมทั้งเพิ่มอัตราการจ้างงานและสร้างรายได้ ในส่วนของประเทศได้เริ่มมีการใช้เชื้อเพลิงชีวภาพมากขึ้น ซึ่งประเทศไทยเป็นประเทศเกษตรกรรมที่ประชากรส่วนใหญ่ประกอบอาชีพทางการเกษตร ด้วยเหตุนี้จึงมีวัสดุเหลือทิ้งทางการเกษตรเป็นจำนวนมาก วัสดุเหลือทิ้งทางการเกษตรเหล่านี้เป็นวัตถุดิบที่เหมาะสมสำหรับการผลิตเอทานอล การนำเอนไซม์ไซลาเนสมาประยุกต์ใช้อย่างเหมาะสมในกระบวนการย่อยสารประกอบเฮมิเซลลูโลส โดยใช้ความรู้ความเข้าใจเกี่ยวกับโครงสร้างของเฮมิเซลลูโลส ชนิด และกลไกการทำงานของเอนไซม์ เพื่อให้ได้น้ำตาลโมเลกุลเดี่ยวสำหรับการผลิตไบโอเอทานอลเป็นสิ่งที่น่าสนใจ ขณะเดียวกันต้องพัฒนาควบคู่ไปกับการพัฒนาสายพันธุ์ยีสต์ด้วยวิธีต่างๆ ในระดับโมเลกุล เพื่อให้สามารถหมักเอทานอลได้ในปริมาณที่สูง

เอกสารอ้างอิง

Bajpai, P. (1999). Application of enzymes in the pulp and paper industry. Biotechnol. Prog. 15: 147-157.

Balat, M. and Balat, H. (2009). Recent trends in global production and utilization of bio-ethanol fuel. Appl. Energy. 86: 2273-2282.

Ball, A. S. and McCarthy, A. J. (1989). Production and purification of xylanase from actinomycetes. J. Appl. Bacteriol. 66: 439-444.

Ballesteros, I., Ballesteros, M., Cabanas, A., Carrasco, J., Martin, C., Negro, M. J., Saez, F. and Saez, R. (1991). Selection of thermotolerant yeasts for simultaneous saccharification and fermentation (SSF) of cellulose. Appl. Biochem. Biotechnol. 28: 307-315.

Bedford, M. R. and Classen, H. L. (1992). The influence of dietary xylanase on intestinal viscosity and molecular weight distribution of carbohydrates in rye-fed broiler chick. In: Visser J, Beldman G, vanSomeren MAK. Voragen AGJ 9eds) Xylan and Xylanase, Amsterdam: Elsevier. 361-370.

Beg, Q. K., Bhushan, B., Kapoor, M. and Hoondal, G. S. (2000). Production and characterization of thermostable xylanase and pectinase from *Streptomyces* sp. QG-11-3. J. Ind. Microbiol. Biotechnol. 24: 396-402.

Beg, Q. K., Kapoor, M., Mahajan, L. and Hoondal, G. S. (2001). Microbial xylanases and their industrial applications: a review. Appl. Microbiol. Biotechnol. 56: 326-338.

Berrin, J. G. and Juge, N. (2008). Factors affecting xylanase functionality in the degradation of arabinoxylans. Biotech. Lett. 30:1139-1150.

Bertilsson, M., Andersson, J. and Liden, G. (2008). Modeling simultaneous glucose and xylose uptake in *Saccharomyces cerevisiae* from kinetics and gene expression of sugar transporters. Bioprocess Biosyst. Eng. 31: 369-377.

Biely, P., Vrsanska, M. and Kucar, S. (1992). Identification and mode of action of endo (1,4) xylanases, pp. 81-95. *In* J. Visser (ed.). Xylan and Xylanases. Netherland: Elsevier Science Publisher B. V.

Biely, P., Vrsanska, M., Tenkanen, M. and Kluepfel, D. (1997). Endo-beta-1,4-xylanase families: differences in catalytic properties. J. Biotech. 57: 151-166.

Bray, M. R. and Clarke, A. J. (1992). Action pattern of xylo-oligosaccharide hydrolysis by *Schizophyllum commune* xylanase a. European J. Biochem. 204: 191-196.

Cantarel, B. L., Coutinho, P. M., Rancurel, C., Bernard, T., Lombard. V. and Henrissat, B. (2009). The carbohydrate-active enzymes database (Cazy): an expert resource for glycogenomics. Nucleic Acids Research 37 (Database issue), D233-D238.

Collins, T., Gerday, C. and Feller, G. (2005). Xylanases, xylanase families and extremophilic xylanases. FEMS Microb. Reviews 29: 3-23.

Coughlan, M. P. and Hazlewood, G. P. (1993). β-1,4-D-xylan-degrading enzyme systems: biochemistry, molecular biology and applications. Biotechnol. Appl. Biochem. 17: 259-289.

Davis, L., Roger, P., Pearce, J., and Peiris, P. (2006). Evaluation of Zymomonas-based ethanol production from a hydrolysed waste starch stream. Biomass and Bioenergy. 30: 809-814.

Derewenda, U., Swenson, L., Green, R. et al. (1994). Crystal structure, at 2.6-A° resolution, of the *Streptomyces lividans* xylanase a, a member of the F family of beta-1,4-D-glycanases. J. Biol. Chem. 269: 20811-20814.

Dodd, D. and Cann, I. K O. (2009). Enzymatic deconstruction of xylan for biofuel production. GCB. Bioenergy 1: 2-17.

Doelle, H. W., Kirk, J., Crittenden, R., Toh, H. and Doelle, M. (1993). *Zymomonas mobilis*- science and industrial application. Critical Reviews in Biotechnology. 57-98.

Ebringerova, A., Hromadkova, Z. and Heinze, T. (2005). Hemicellulose. Adv. Polym. Sci. 186: 1-67.

Fan, L. T., Gharpuray, M. M., and Lee, Y. H. (1987). Cellulose hydrolysis biotechnology monographs. Berlin: Springer. 57.

Gilbert, H. J. and Hazlewood, G. P. (1993). Bacterial cellulases and xylanase. J. Gen. Microbiol. 139: 187-194.

Girio, F. M., Fonseca, C., Carvalheiro, F., Duarte, L.C., Marques, S. and Bogel-Lukasik, R. (2010). Hemicelluloses for fuel ethanol: A review. Biores. Technol. 101: 4775-4800.

Henrissat, B. (1991). A classification of glycosyl hydrolases based on amino acid sequence similarities. Biochem. J. 280: 309-316.

Ingram, L. O., Lai, X., Moniruzzaman, M., Wood, B. E. and York, S. W. (1997). Fuel ethanol production from lignocellulose using engineered bacteria. In: Saha BH, Woodward J (eds) Fuel and chemicals from biomass. ACS Symposium Series 666, Washington, D.C.: American Chemical Society. 57-73.

Kaneko, S., Ichinose, H., Fujimoto, Z. et al. (2004). Structure and function of a family 10 beta-xylanase chimera of *Streptomyces*

olivaceoviridis E-86 Fxyn and *Cellulomonas fimi* Cex. J. Biol. Chem. 279: 26619-26626.

Katahira, S., Ito, M., Takema, H., Fujita, Y., Tanino, T., Tanaka, T., Fukuda, H. and Kondo, A. (2008). Improvement of ethanol productivity during xylose and glucose co-fermentation by xyloseassimilating *S. cerevisiae* via expression of glucose transporter Sut1. Enzyme Microb. Technol. 43: 115-119.

Khucharoenphaisan K. and Sinma, K. (2010). β-Xylanase from *Thermomyces lanuginosus* and its biobleaching application. Pak. J. Biol. 13(11): 513-526.

Kolenova, K., Vrsanska, M. and Biely, P. (2006). Mode of action of endo beta-1,4-xylanases of families 10 and 11 on acidic xylooligosaccharides. J. Biotech. 121: 338-345.

Lawford, H. G. and Rousseau, J. D. (1998). Improving fermentation performance of recombinant *Zymomonas* sp. in acetic acid-containing media. Appl. Biochem. Biotechnol. 70:161-172.

Lawford, H. G., Rousseau, J. D. and McMillan, J. D. (1997). Optimization of seed production for a simultaneous saccharification cofermentation biomass-to-ethanol process using recombinant *Zymomonas* sp. Appl. Biochem. Biotechnol. 63:269-286.

Leandro, M. J., Gonc, P. and Spencer-Martins, I. (2006). Two glucose/xylose transporter genes from the yeast C*andida intermedia*: first molecular characterization of a yeast xylose-H+ symporter. Biochem. J. 395: 543-549.

Lin, Y., and Tanaka, S. (2006). Ethanol fermentation from biomass resources: current state and prospects. Appl. Microbiol. Biotechnol. 69: 627-642.

Liu, W., Zhu, W., Lu, Y., Kong, Y. and Ma, G. (1998). Production, partial purification and characterization of xylanase from *Trichosporon cutaneum* SL409. Process Biochem. 33: 331-326.

Margeot, A., Hahn-Hagerdal, B., Edlund, M., Slade, R. and Monot, F. (2009). New improvements for lignocellulosic ethanol. Curr. Opin. Biotechnol. 20: 372-380.

Maslen, S. L., Goubet, F., Adam, A., Dupree, P. and Stephens, E. (2007). Structure elucidation of arabinoxylan isomers by normal phase HPLC-MALDI-TOF/TOF-MS/MS. Carbohydrate Research. 342: 724-735.

Matt, J., Roza, M., Verbakel, J., Stam, H., daSilra, M. J. S., Egmond, M. R., Hagemans, M. L. D., vanGarcom, R. F. M., Hessing, J. G. M. vanDerhondel, C.A.M and vanRotterdam, C. (1992). Xylanases and their application in bakery. In: Visser J, Beldman G, vanSomeren MAK. Voragen AGJ 9eds) Xylan and Xylanase, Amsterdam: Elsevier. 349-360.

McMillan, J. D. (1994). Pretreatment of lignocellulosic biomass. In: Himmel, M. E., Baker, J. O., Overend, R. P. (Eds.). Enzymatic conversion of biomass for fuels production. Washington. DC.: American Chemical Society. 292-324.

Nichols, N. N., Dien, B. S. and Bothast, R. J. (2001). Use of catabolite repression mutants for fermentation of sugar mixtures to ethanol. Applied Microb. Biotech. 56: 120-125.

Olsson, L. and Hahn-Hägerdal, B. (1993). Fermentative performance of bacteria and yeasts in lignocellulose hydrolysates. Process Biochem. 28:249-257.

Rintala, E., Wiebe, M. G., Tamminen A., Ruohonen L. and Penttilä M. (2008). Transcription of hexose transporters of *Saccharomyces cerevisiae* is affected by change in oxygen provision. BMC Microbiol. 8:53-64.

Roger, P., Tribe, D. and Lee, J. (1979). Kinetics of alcohol production by *Zymomonas mobilis* at high sugar concentrations. Biotechnol. Lett. 1: 165-170.

Saha, B. C. (2003). Hemicellulose bioconversion. J. Indus. Microb. Biotech. 30: 279-291.

Saloheimo, A., Rauta, J., Stasyk, O. V., Sibirny, A. A., Penttila, M. and Ruohonen, L. (2007). Xylose transport studies with xylose-utilizing *Saccharomyces cerevisiae* strains expressing heterologous and homologous permeases. Appl. Microbiol. Biotechnol. 74: 1041-1052.

Screenath, H. K. and Jeffries, T. W. (2000). Production of ethanol from wood hydrolysate by yeasts. Biores. Technol. 72: 253-260.

Shallom, D. and Shoham, Y. (2003) Microbial hemicellulases. Curr. Opin. Microbiol. 6: 219-228.

Shoseyov, O., Shani, Z. and Levy, I. (2006). Carbohydrate binding modules: biochemical properties and novel applications. Microb. Mol. Biol. Reviews. 70: 283-295.

Sivers, M. V. and Zacchi, G. (1995). A techno-economical comparison of three processes for the production of ethanol from pine. Biores. Technol. 51: 43-52.

Spindler, D. D., Wyman, C. E., Grohmann, K. and Philippidis, G. P. (1992). Evaluation of the cellobiose-fermenting yeast *Brettanomyces custersii* in the simultaneous saccharification and fermentation of cellulose. Biotechnol. Lett. 14: 403-407.

Sun, Y., and Cheng, J. (2002). Hydrolysis of lignocellulosic material for ethanol production: a review. Biores. Technol. 83: 1-11.

Sunna, A. and Antranikian, G. (1997). Xylanolytic enzymes from fungi and bacteria. Crit. Rev. Biotechnol. 17: 39-67.

Tonn, S. T., Philippidis, G. P., Ho, N. W. Y., Chen, Z., Brainard, A., Lumpkin, R. E. and Riley, C. J. (1997). Enhanced cofermentation of glucose and xylose by recombinant *Saccharomyces* yeast strains in batch and continuous operating modes. Appl. Biochem. Biotechnol. 63: 243-255.

van Maris, A. J., Winkler, A. A., Kuyper, M., de Laat, W. T., van Dijken, J. P. and Pronk, J. T. (2007). Development of efficient xylose fermentation in *Saccharomyces cerevisiae*: xylose isomerase as a key component. Adv. Biochem. Eng. Biotechnol. 108: 179-204.

Vardakou, M., Dumon, C., Murray, J. W. et al. (2008). Understanding the structural basis for substrate and inhibitor recognition in eukaryotic GH11 xylanases. J. Molecular Biol. 375: 1293-1305.

Vleet, J. H. V. and Jeffries, T. W. (2009). Yeast metabolic engineering for hemicellulosic ethanol production. Curr. Opin. Biotechnol. 20: 300-306.

Wagschal, K., Heng, C., Lee, C. C. and Wong, D. W. (2009). Biochemical characterization of a novel dual-function arabinofuranosidase/ xylosidase isolated from a compost starter mixture. Applied Microb. Biotech. 81: 855-863.

Yacobucci, B. D. and Schnepf, R. (2007). Ethanol and Biofuels: agriculture, infrastructure, and market constraints related to expanded production. CRS Report, Washington, DC: Congressional research Service, RL33928, March 16.

Zhao, X. B., Cheng, K. K. and Liu, D. H. (2009). Organosolv pretreatment of lignocellulosic biomass for enzymatic hydrolysis. Appl. Microbiol. Biotechnol. 82: 815-827.

❑❑❑❑❑

ว.วิทย. มข. 39(2) 172-181 (2554) KKU Sci. J.39(2) 172-181 (2011)

KKU SCIENCE JOURNAL

ภาวะเครียดจากออกซิเดชันและระบบต้านการเกิดออกซิเดชันในพืช

Oxidative stress and antioxidative system in plants

นุชนาถ วุฒิประดิษฐกุล [1]

บทนำ

มีภาวะต่างๆ มากมายที่ก่อให้เกิดความเครียดต่อสิ่งมีชีวิต ไม่ว่าจะเป็นสาเหตุจากมนุษย์ สารพิษ โรคภัย ภาวะการขาดแคลนสารอาหาร หรือภาวะสิ่งแวดล้อมที่เปลี่ยนแปลงไป เช่น มลภาวะทางอากาศ ความแห้งแล้ง อุณหภูมิ ความเข้มแสง เป็นต้น ซึ่งภาวะเหล่านี้ก่อให้เกิดอนุมูลอิสระในรูปแบบของออกซิเจนที่ไวต่อปฏิกิริยา (reactive oxygen species; ROS) เพิ่มขึ้น โดยเฉพาะอย่างยิ่งในเนื้อเยื่อของพืช ซึ่งในภาวะปกติ ROS สามารถเกิดขึ้นได้ในระหว่างที่เกิดกระบวนการเมแทบอลิซึมต่างๆ (Fridovich, 1995; Alscher et al., 1997) โดยเฉพาะในระบบการส่งผ่านอิเล็กตรอนของกระบวนการสังเคราะห์แสงของสิ่งมีชีวิตที่ใช้ออกซิเจน ก่อให้เกิดอนุมูลออกซิเจนที่ไวต่อปฏิกิริยา เช่น ซิงเกลตออกซิเจน (singlet oxygen; $^1O_2$) และอนุมูลอิสระซูเปอร์ออกไซด์ ($O^{\bullet-}_2$) (Asada, 1994) เป็นต้น ROS เหล่านี้สามารถเกิดปฏิกิริยากับโมเลกุลที่อยู่รอบข้างได้ง่าย ส่งผลให้เกิดการยับยั้งการเจริญเติบโตและปริมาณผลผลิตของพืชลดลง

มีกระบวนการใช้ออกซิเจนมากมายที่พบในสิ่งมีชีวิตที่ก่อให้เกิดอนุมูลอิสระในรูปแบบของออกซิเจนที่ไวต่อปฏิกิริยา โดยเฉพาะอย่างยิ่งกระบวนการที่เกี่ยวข้องกับกระบวนการสังเคราะห์แสง เช่น ปฏิกิริยาที่ใช้ออกซิเจนของเอนไซม์ ribulose-1, 5-bisphosphate carboxylase (Rubisco) แทนคาร์บอนไดออกไซด์ ซึ่งเป็นปฏิกิริยาช่วงแรกของวิถีการหายใจเชิงแสง (photorespiration) หรือการเกิดปฏิกิริยารีดักชันของโมเลกุลออกซิเจนในระบบแสงที่หนึ่ง (PSI) ของลูกโซ่ขนส่งอิเล็กตรอน นอกจากนี้ในส่วนประกอบของระบบแสงที่สอง (PSII) ก็ยังสามารถเปลี่ยนโมเลกุลของออกซิเจนให้เป็นซิงเกลตออกซิเจน ($^1O_2$) ซึ่งมีพลังงานสูงได้ด้วย

อย่างไรก็ตาม ภาวะความเครียดจากการเกิดออกซิเดชัน (oxidative stress) เป็นกระบวนการที่สำคัญที่คอยปรับสมดุลระหว่างการเกิดและการต้านการเกิดออกซิเดชันในพืช ภายใต้ภาวะปกติระบบการต้านการเกิดออกซิเดชันสามารถควบคุมปริมาณ ROS ให้อยู่ในระดับที่ไม่ก่อให้เกิดอันตรายต่อเซลล์ (Asada and

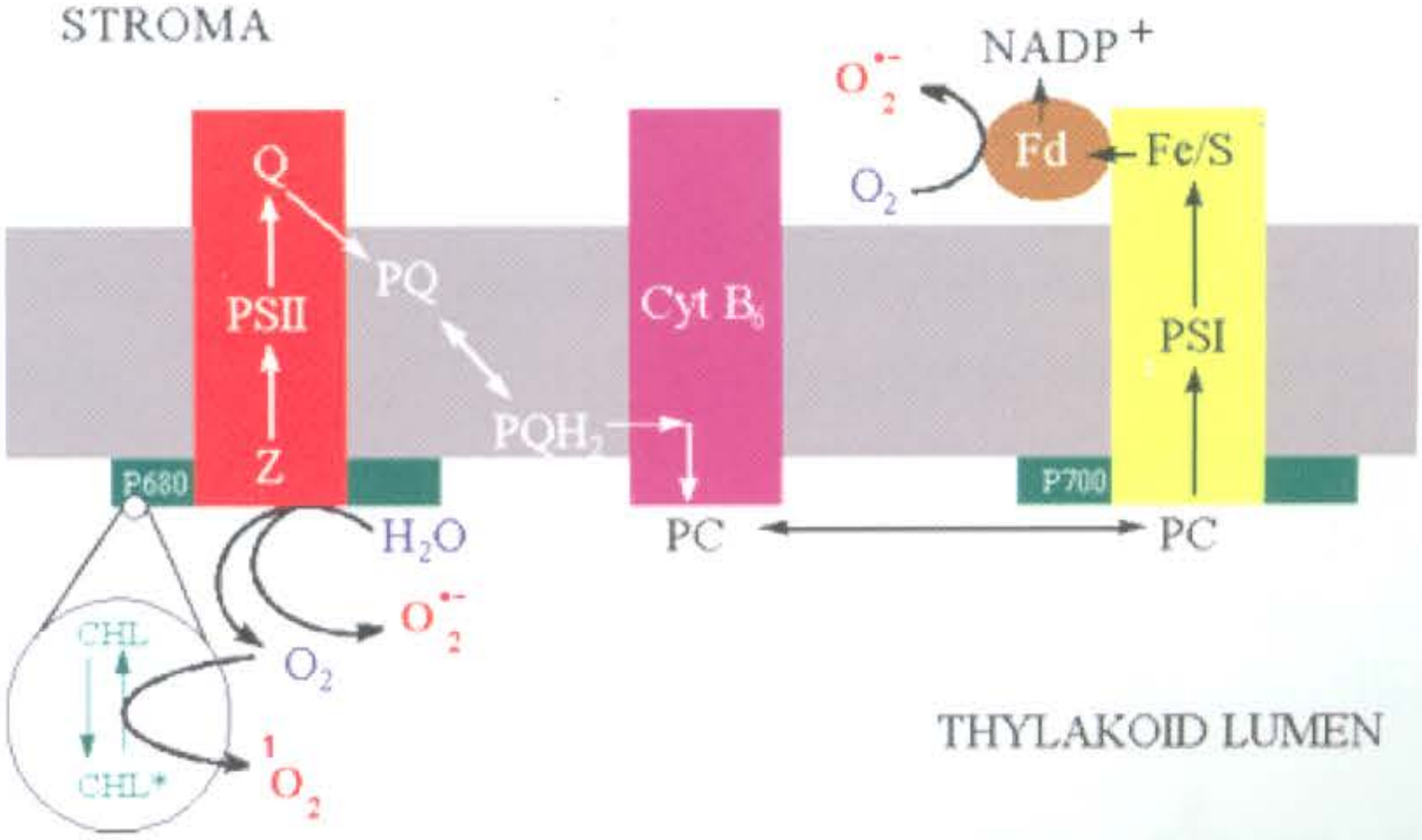
[1] ภาควิชาชีวเคมี คณะวิทยาศาสตร์ จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย เขตปทุมวัน กรุงเทพฯ 10330

E-mail: nuchanat.w@chula.ac.th

Takahashi, 1987) ปัจจัยกระทบทั้งจากธรรมชาติและจากมนุษย์ก่อให้เกิดอนุพันธ์ออกซิเจนที่เป็นพิษที่มีผลต่อการกระตุ้นระบบการต้านการเกิดออกซิเดชันเพิ่มขึ้น (Gressel and Salun 1994) เช่น การสังเคราะห์สารประกอบที่มีมวลโมเลกุลต่ำหรือเอนไซม์บางชนิดที่สามารถต้านการเกิดออกซิเดชัน นอกจากนี้ยังมีการป้องกันโดยอาศัยโปรตีนที่ศูนย์กลางของรงควัตถุในระบบแสง PSII และช่องว่างอะโปพลาสติก (apoplastic space) เพื่อป้องกันความเสียหายอันเกิดจากการเกิดออกซิเดชัน (Castillo and Greppin, 1988; Lwe et al., 1993) อีกด้วย

การเกิด ROS และกลไกการควบคุม

เมื่อน้ำในกระบวนการสังเคราะห์แสงเกิดออกซิเดชัน จะก่อให้เกิดโมเลกุลออกซิเจนที่มีหน้าที่สำคัญ เช่น เป็นตัวรับอิเล็กตรอน (electron acceptor) ดังรูปที่ 1 หรือเป็นตัวกลางสำคัญในกระบวนการหายใจเชิงแสง เพื่อผลิตฟอสโฟไกลโคเลต (phosphoglycolate) เมื่อออกซิเจนรับอิเล็กตรอนเพิ่มมา จะอยู่ในรูปอนุมูลอิสระซูเปอร์ออกไซด์ที่ไม่สามารถใช้ในกระบวนการเมแทบอลิซึมได้ ทั้งยังเป็นพิษ จำเป็นต้องถูกกำจัดโดยระบบการต้านการเกิดออกซิเดชัน ขณะเดียวกันฟอสโฟไกลโคเลตจะถูกเปลี่ยนเป็นฟอสโฟกลีเซอเรต (phosphoglycerate) และเข้าสู่วัฏจักรเคลวิน (Calvin cycle) เพื่อสังเคราะห์สารประกอบคาร์บอนที่สำคัญต่อไป นอกจากเกิดอนุมูลอิสระซูเปอร์ออกไซด์แล้วยังเกิดไฮโดรเจนเปอร์ออกไซด์ (H_2O_2) ที่เป็นพิษจำนวนมากจากการออกซิไดซ์ไกลโคเลต (glycolate) ในเพอร์ออกซิโซม อย่างไรก็ตามไฮโดรเจนเปอร์ออกไซด์ที่เกิดขึ้นสามารถถูกกำจัดโดยเอนไซม์คาทาเลส (catalase) หรือเพอร์ออกซิเดส (peroxidase)



รูปที่ 1 การผลิตอนุมูลอิสระซูเปอร์ออกไซด์และซิงเกลตออกซิเจนในคลอโรพลาสต์ บริเวณรงควัตถุของระบบแสง PSI และ PSII ในคลอโรพลาสต์ (ที่มา : Arora et al., 2002)

การก่อเกิดซิงเกลตออกซิเจน

คลอโรฟิลล์เป็นรงควัตถุที่มีความสำคัญในระบบการส่งถ่ายอิเล็กตรอน จัดเป็นแหล่งกำเนิดแรกที่ก่อให้เกิดซิงเกลตออกซิเจนในภาวะที่คลอโรฟิลล์ถูกกระตุ้นเป็นซิงเกลตคลอโรฟิลล์ (chlorophyll singlet state) เมื่อได้รับพลังงานจากแสง (CHL* ในรูปที่ 1) ซิงเกลตคลอโรฟิลล์จะกลับสู่สถานะปกติ (ground state) โดยการส่งถ่ายอิเล็กตรอนหรือพลังงาน เช่น ปลดปล่อยพลังงานหรือแสงฟลูออเรสเซ็นส์ ทำให้บางครั้งจะถูกเปลี่ยนให้อยู่ในภาวะทริปเลตคลอโรฟิลล์ (triplet chlorophyll state) ที่อาจทำปฏิกิริยากับออกซิเจนผลิตเป็นซิงเกลตออกซิเจนได้ ซึ่งสามารถทำลายหรือทำปฏิกิริยากับชีวโมเลกุล (biomolecule) ต่างๆ ได้ เช่นเดียวกับอนุมูลอิสระไฮดรอกซิล (hydroxyl radical; $OH^{\bullet}$) (Knox and Dodge, 1985; Cadenas, 1989)

การป้องกันการเกิดซิงเกลตออกซิเจนในเยื่อไทลาคอยด์มี 2 วิธี คือ 1. ควบคุมเครื่องมือการรับแสงเพื่อลดทริปเลตคลอโรฟิลล์ 2. อาศัยเควนเชอร์ที่เมมเบรน (membrane bound quencher) ทำให้ลดการเกิดซิงเกลตออกซิเจนและภาวะทริปเลตคลอโรฟิลล์ได้ การป้องกันการเกิดซิงเกลตออกซิเจนทั้ง 2 วิธีนี้สามารถลดช่วงเวลาคงสภาพของซิงเกลตคลอโรฟิลล์ที่ส่งผลต่อการส่งถ่ายอิเล็กตรอนในศูนย์กลางการเกิดปฏิกิริยา ทั้งยังสามารถกระจายอุณหภูมิของพลังงานตื่นตัวที่มีมากเกินพอจากซิงเกลตคลอโรฟิลล์ไปสู่สถานะปกติได้

การผลิตซูเปอร์ออกไซด์ (superoxide)

ส่วนใหญ่ภายใต้ภาวะแวดล้อมที่ควบคุมการส่งถ่ายอิเล็กตรอนระหว่างรงควัตถุของระบบแสง PSI และ PSII นั้น สามารถควบคุมโดยอาศัยตัวรับอิเล็กตรอนในระบบแสง PSI ให้อยู่ในสภาพรีดิวซ์ ทำให้มีพลังงานศักย์เคมีไฟฟ้า (electrochemical potentials) เป็นลบ จึงสามารถส่งถ่ายอิเล็กตรอนไปยังออกซิเจนได้ การส่งถ่ายอิเล็กตรอนจากตัวให้อิเล็กตรอนที่สำคัญไปยังออกซิเจนนั้นก่อให้เกิดอนุมูลอิสระซูเปอร์ออกไซด์จำนวนมาก เช่น เฟอริดอกซิน (ferredoxin) เป็นตัวรับอิเล็กตรอนบนรงควัตถุของระบบแสง PSI หลังจากที่ออกซิเจนรับอิเล็กตรอนแล้วจะอยู่ในรูปอนุมูลอิสระซูเปอร์ออกไซด์ (ปฏิกิริยาที่ 1)

$$2O_2 + 2Fd_{red} \rightarrow 2O^{\bullet-}_2 + 2Fd_{ox} \quad \text{(ปฏิกิริยาที่ 1)}$$

$$2O^{\bullet-}_2 + 2H^+ \rightarrow H_2O_2 + O_2 \quad \text{(ปฏิกิริยาที่ 2)}$$

$$2O^{\bullet-}_2 + 2H^+ \xrightarrow{SOD} H_2O_2 + O_2 \quad \text{(ปฏิกิริยาที่ 3)}$$

การผลิตและการขจัดไฮโดรเจนเปอร์ออกไซด์

ไฮโดรเจนเปอร์ออกไซด์เกิดจากการเปลี่ยนอนุมูลอิสระซูเปอร์ออกไซด์ (ปฏิกิริยาที่ 2) ซึ่งปฏิกิริยานี้จะเกิดได้เร็วขึ้นโดยเอนไซม์ซูเปอร์ออกไซด์ดิสมิวเทส (superoxide dismutase; SOD) (ปฏิกิริยาที่ 3) (Asada et al., 1974) ส่วนไฮโดรเจนเปอร์ออกไซด์ที่เกิดขึ้นจะถูกกำจัดต่อโดยเอนไซม์คาทาเลส (catalase) (ปฏิกิริยาที่ 4) ที่พบในเพอร์ออกซิโซมของเซลล์ใบพืช และเนื่องจากไม่พบเอนไซม์คาทาเลสในคลอโรพลาสต์ ไฮโดรเจนเปอร์ออกไซด์ในบริเวณดังกล่าวจึงถูกกำจัดโดยเอนไซม์เพอร์ออกซิเดส (peroxidase) แทน (ปฏิกิริยาที่ 5) โดยอาศัยตัวให้อิเล็กตรอนในไทลาคอยด์ (Nakano and Asada, 1981; Asada and Badger, 1984) เช่น แอสคอร์เบท (ascorbate) เป็นตัวให้อิเล็กตรอน (Foyer and Halliwell, 1976)

$$2H_2O_2 \xrightarrow{\text{catalase}} 2H_2O + O_2 \quad \text{(ปฏิกิริยาที่ 4)}$$

$$H_2O_2 + \text{ascorbate} \xrightarrow{\text{ascorbate peroxidase}} 2H_2O + \text{mono-dehydro-ascorbate} \quad \text{(ปฏิกิริยาที่ 5)}$$

การเกิดอนุมูลอิสระซูเปอร์ออกไซด์ในไมโตคอนเดรียของพืช

มีการใช้ออกซิเจนในวิถีต่างๆ ที่พบในไมโตคอนเดรีย แล้วก่อให้เกิดอนุมูลอิสระซูเปอร์ออกไซด์ เช่น

1. การใช้ออกซิเจนผ่านไซโตโครมออกซิเดส (cytochrome oxidase) ในไมโตคอนเดรีย เพื่อสังเคราะห์พลังงาน ATP ในภาวะปกติปฏิกิริยาดังกล่าวพบมากกว่าร้อยละ 95

2. การรีดิวซ์ออกซิเจนโดยตรงให้เป็นอนุมูลอิสระซูเปอร์ออกไซด์ในบริเวณฟลาโวโปรตีน (flavoprotein) ของเอนไซม์เอ็นเอดีเฮช ดีไฮโดรจีเนส (NADH dehydrogenase) ของลูกโซ่ขนส่งอิเล็กตรอน

3. การรีดิวซ์ออกซิเจนให้เป็นอนุมูลอิสระซูเปอร์ออกไซด์ในบริเวณยูบิควิโนน-ไซโตโครม (ubiquinone-cytochrome) ของลูกโซ่ขนส่งอิเล็กตรอน (Wood, 1974) เป็นต้น

อนุมูลอิสระไฮดรอกซิล: ตัวออกซิไดซ์ที่ว่องไวที่สุดในเซลล์

ไฮโดรเจนเปอร์ออกไซด์และอนุมูลอิสระซูเปอร์ออกไซด์สามารถก่อให้เกิดอันตรายต่อส่วนประกอบเซลล์ที่สำคัญต่างๆ แต่ไม่อันตรายเท่า ROS ในรูปของอนุมูลอิสระไฮดรอกซิล ที่สามารถก่อให้เกิดปฏิกิริยาเพอร์ออกซิเดชันต่อลิพิด (lipid peroxidation) และส่งผลต่อโปรตีน คาร์โบไฮเดรต ดีเอ็นเอ รวมถึงโมเลกุลต่างๆ ภายในเซลล์

Harbor and Weiss (1934) แสดงการเกิดอนุมูลอิสระไฮดรอกซิล จากปฏิกิริยาของไฮโดรเจนเปอร์ออกไซด์

$$Fe^{2+} + H_2O_2 \rightarrow Fe^{3+} + OH^{\cdot} + OH^{-}$$

อนุมูลอิสระซูเปอร์ออกไซด์รีดิวซ์เฟอริคไอออน (ferric ion; Fe^{3+}) ให้เปลี่ยนกลับเป็นเฟอรัสไอออน (ferrous ion; Fe^{2+}) เพื่อเข้าเริ่มต้นปฏิกิริยาใหม่ได้ดังนี้

$$Fe^{3+} + O^{\cdot-}_2 \rightarrow O_2 + Fe^{2+}$$

ปฏิกิริยารวม: $$H_2O_2 + O^{\cdot-}_2 \xrightarrow{(Fe2+,\ Fe3+)} OH^{\cdot} + OH^{-} + O_2$$

เรียกปฏิกิริยาที่มีสารตั้งต้นเป็นอนุมูลอิสระซูเปอร์ออกไซด์และไฮโดรเจนเปอร์ออกไซด์ที่เร่งด้วยโลหะนี้ว่า ปฏิกิริยาฮาเบอร์-เวสส์ (Harbor-Weiss reaction) อนุมูลอิสระไฮดรอกซิลที่เกิดขึ้นจากปฏิกิริยาเป็นตัวออกซิไดซ์ที่ว่องไวที่สุดในเซลล์ สามารถออกซิไดซ์ชีวโมเลกุลทุกชนิดให้เป็นอนุพันธ์อนุมูลอิสระต่อเนื่องเป็นปฏิกิริยาลูกโซ่ นอกจากนี้คอปเปอร์ไอออน (Cu^{+} หรือ Cu^{2+}) ยังสามารถแทนที่ Fe^{2+} และ Fe^{3+} ในปฏิกิริยาได้ด้วย ที่สำคัญคือเซลล์ไม่มีระบบกำจัด/ทำลายอนุมูลอิสระไฮดรอกซิล

ระบบการต้านการเกิดออกซิเดชัน (Antioxidant systems)

พืชมีกลไกมากมายที่สามารถป้องกันพิษของออกซิเจนที่ไวต่อปฏิกิริยาในรูปแบบต่างๆ ได้อย่างมีประสิทธิภาพทั้งในภาวะปกติและภาวะเครียด ได้แก่ สารมวลโมเลกุลต่ำต้านอนุมูลอิสระ เช่น กรดแอสคอร์บิค (ascorbic acid) กลูตาไธโอน (glutathione) แอลฟา-โทโคเฟอรอล (α-tocopherol) และเอนไซม์ เช่น

ซูเปอร์ออกไซด์ดิสมิวเทส (superoxide dismutase; SOD) คาทาเลส (catalase; CAT) กลูตาไธโอนรีดักเทส (glutathione reductase) แอสคอร์เบทเพอร์ออกซิเดส (ascorbate peroxidase) เป็นต้น ระบบป้องกันในพืชเหล่านี้จะทำหน้าที่มากน้อยแตกต่างกันไปตามชนิดของพืช ความเครียดและกลไกของเนื้อเยื่อนั้นๆ

ซูเปอร์ออกไซด์ดิสมิวเทส (SOD)

SOD จัดอยู่ในกลุ่มเมทัลโลเอนไซม์ (metalloenzymes) เอนไซม์ SOD มี 3 ไอโซไซม์ด้วยกัน คือ แมงกานีส-ซูเปอร์ออกไซด์ดิสมิวเทส (Mn-SOD) คอปเปอร์/ซิงค์-ซูเปอร์ออกไซด์ดิสมิวเทส (Cu/Zn-SOD) และ ไอรอน-ซูเปอร์ออกไซด์ดิสมิวเทส (Fe-SOD) เอนไซม์เหล่านี้พบในส่วนบริเวณต่างๆ ของเซลล์พืช เช่น Mn-SOD มักพบในคลอโรพลาสต์ (Bowler et al., 1989) และเพอร์ออกซิโซม (Sandalio et al., 1987; Corpas et al., 1998; del Rio et al., 1998) ส่วน Cu/Zn-SOD พบในไซโทซอล (Hernandez et al., 2000; Hernandez et al., 1994) คลอโรพลาสต์ (Hernandez et al., 1994; Gomez et al., 1999) และไมโตคอนเดรีย (Hernandez et al., 1994; Hamilton and Heckathorn, 2001) Cu/Zn-SOD คล้ายกับ Fe-SOD ที่ส่วนใหญ่พบในคลอโรพลาสต์ (Gomez et al., 1999) นอกจากนี้ Fe-SOD ยังมีรายงานพบในไซโทซอล (Becana et al., 1986) และเพอร์ออกซิโซม (Salin, 1988; Droillard and Paulin, 1990) อีกด้วย

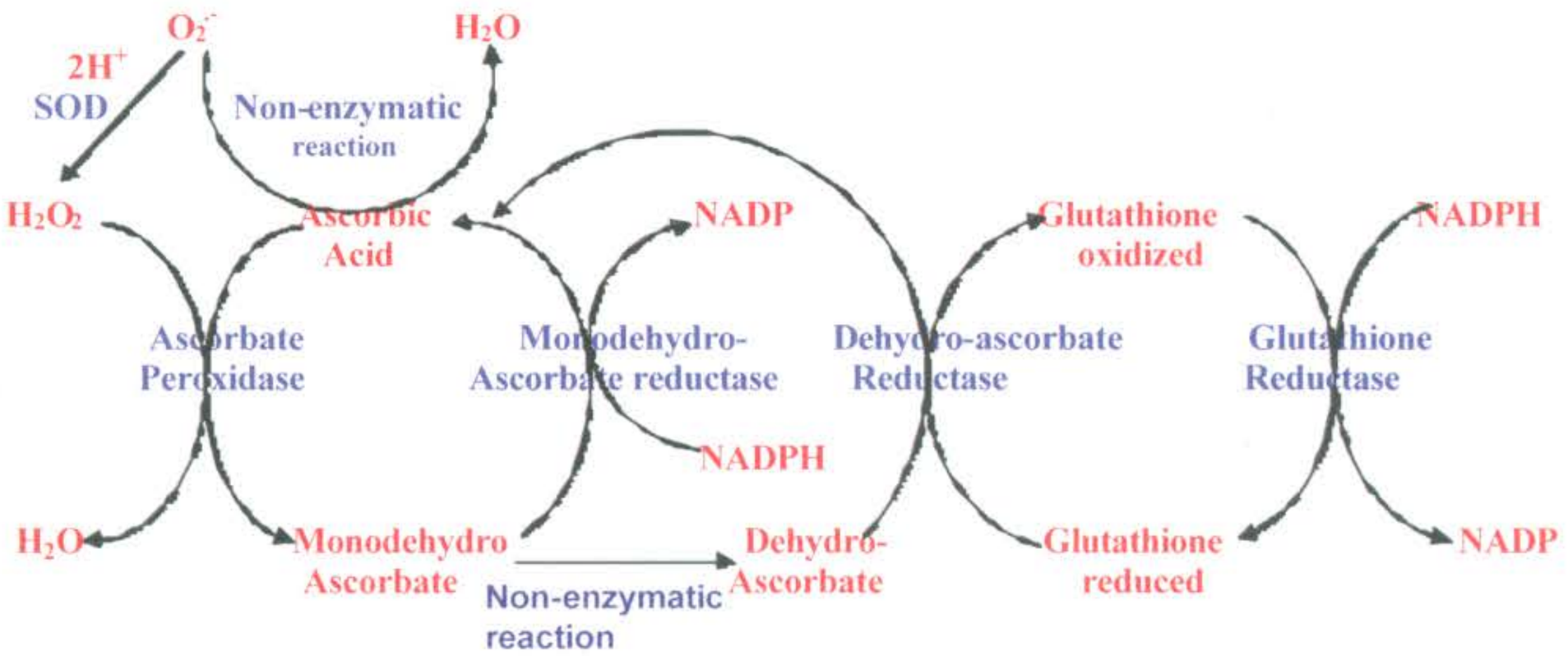
และจากหลายๆ งานวิจัยที่ได้ทำการศึกษาในระดับยีนหรือพืชตัดแต่งพันธุกรรม (transgenic plants) เช่น ทำให้มีการเพิ่มปริมาณ Mn-SOD ในต้นใบยาสูบ (Bowler et al., 1991) พบว่าสามารถลดความเสียหายที่เกิดขึ้นเนื่องจากเมธิลไวโอโลเจน (methyl viologen) ซึ่งจัดเป็นสารปราบวัชพืชที่มีฤทธิ์กระตุ้นการเกิดอนุมูลอิสระซูเปอร์ออกไซด์ต่อเซลล์พืชได้ นอกจากนี้ยังพบความสามารถในการต้านสารมลพิษในอากาศ เช่น โอโซน ซัลเฟอร์ไดออกไซด์ (SO_2) ในต้นป๊อปลาร์ (poplar) และถั่ว (*Phaseouls vulgaris*) ที่สัมพันธ์กับปริมาณระดับ SOD ที่เพิ่มขึ้น (Tanaka and Sugahara, 1980; Lee and Bennett, 1982) เช่นเดียวกับการเพิ่มขึ้นของการต้านความเสียหายจากการเกิดออกซิเดชันอันเนื่องจากแสงในมะเขือเทศสุก (Rabinowitch et al., 1982)

คาทาเลส (CAT)

คาทาเลสเป็นเอนไซม์ที่สำคัญที่ช่วยลดการเกิดไฮโดรเจนเปอร์ออกไซด์จากปฏิกิริยาฮาเบอร์-เวสส์ ร่วมกับ SOD เอนไซม์คาทาเลสถูกพบมากในเพอร์ออกซิโซม ซึ่งเป็นบริเวณที่เต็มไปด้วยปฏิกิริยาที่ผลิตไฮโดรเจนเปอร์ออกไซด์ มีรายงานที่ศึกษาคุณสมบัติในพืชกลายพันธุ์ที่ไม่สามารถผลิตคาทาเลส เช่น ข้าวบาเล่ต์ พบว่าไม่สามารถอยู่รอดได้ในภาวะการหายใจเชิงแสง แต่สามารถเจริญเติบโตได้ดีในภาวะที่มีปริมาณคาร์บอนไดออกไซด์สูงในบรรยากาศ (Kendall et al., 1983) นอกจากนี้ยังมีรายงานในพืชสายพันธุ์กลายที่สามารถผลิตคาทาเลสได้เพิ่มขึ้น อย่างใบยาสูบ *Nicotiana tabacum* สายพันธุ์ Havana ที่พบว่าภาวะการหายใจเชิงแสงลดลงร้อยละ10-20 ซึ่งเป็นผลจากการยับยั้งการเกิดดีคาร์บอกซิเลชัน (decarboxylation) ของแอลฟา-คีโต แอซิค (α-keto acid) โดยไฮโดรเจนเปอร์ออกไซด์ที่อยู่ในเพอร์ออกซิโซมลดลง อันเนื่องจากแอคติวิตีของคาทาเลสที่สูงขึ้นมากกว่าสายพันธุ์ปกติถึงร้อยละ 40 (Zelitch, 1992) ดังนั้นจากข้อมูลดังกล่าวจึงเชื่อว่าการโคลนยีนคาทาเลสใส่เข้าในพืช C3 อาจเป็นทางเลือกหนึ่งเพื่อลดภาวะการหายใจเชิงแสงลงได้

กรดแอสคอร์บิคและแอสคอร์เบทเพอร์ออกซิเดส

กรดแอสคอร์บิคจัดเป็นสารต้านอนุมูลอิสระที่สำคัญ มีรายงานพบกรดแอสคอร์บิคปริมาณสูงในส่วนต่างๆ ของเซลล์ใบ เช่น คลอโรพลาสต์ ไซโทซอล แวคิวโอล และช่องว่างอะโปพลาสติค (apoplastic space) (Foyer et al., 1991; Polle et al., 1990) กรดแอสคอร์บิคในพืชมีหน้าที่สำคัญในการต้านการเกิดออกซิเดชันที่ขั้นตอนการขจัดไฮโดรเจนเปอร์ออกไซด์ (Foyer, 1993)



รูปที่ 2 วิถีอซาดา-ฮอลลีเวลล์ (Asada-Halliwell pathway) ของการขจัดไฮโดรเจนเปอร์ออกไซด์ และการกลับคืนของกรดแอสคอร์บิค (ที่มา: Arora et al., 2002)

แอสคอร์เบทเพอร์ออกซิเดสเป็นเอนไซม์ที่ทำหน้าที่ขจัดไฮโดรเจนเปอร์ออกไซด์ โดยอาศัยแอสคอร์เบทเป็นตัวให้อิเล็กตรอน รายงานส่วนใหญ่พบแอคติวิตีของแอสคอร์เบทเพอร์ออกซิเดสในคลอโรพลาสต์ และ ไซโทซอล (Chen and Asada, 1989) อย่างไรก็ตามยังมีรายงานพบในไมโตคอนเดรียอีกด้วย (Gomez et al., 1999, Anderson et al., 1995) นอกจากนี้ยังพบแอสคอร์เบทเพอร์ออกซิเดสทั้งในส่วนไซโทซอลและส่วนที่จับกับเยื่อไทลาคอยด์ เช่นเดียวกับ SOD โดยทั่วไปอนุมูลอิสระซูเปอร์ออกไซด์ที่เกิดขึ้นที่ผิวของเมมเบรนจะถูกจับและเปลี่ยนให้เป็นไฮโดรเจนเปอร์ออกไซด์ และถูกขจัดต่อโดยแอสคอร์เบทเพอร์ออกซิเดสที่ฝังที่เยื่อไทลาคอยด์ (Neubauer and Schreiber, 1989; Nakano and Asada, 1980; Anderson et al., 1983) จากวิถีอซาดา-ฮอลลีเวลล์ (Asada-Halliwell pathway) ในรูปที่ 2 จะเห็นว่า มีเอนไซม์สองชนิดที่เกี่ยวข้องกับการสังเคราะห์แอสคอร์เบท กลับมาอยู่ในสภาพรีดิวซ์ คือ โมโนดีไฮโดรแอสคอร์เบท รีดักเทส ที่ใช้ NAD(P)H โดยตรง และดีไฮโดร-แอสคอร์เบท รีดักเทส (dehydro-ascorbate reductase) ที่เปลี่ยนดีไฮโดร-แอสคอร์เบทให้เป็นแอสคอร์เบท อย่างไรก็ตามเหตุการณ์นี้ค่อนข้างซับซ้อน เนื่องจากโมโนดีไฮโดร-แอสคอร์เบทเป็นตัวรับอิเล็กตรอนที่มีประสิทธิภาพ (Foyer and Lelandais, 1993; Miyake and Asada, 1992) สามารถถูกรีดิวซ์ให้เป็นแอสคอร์เบทโดยตรงจากการใช้อิเล็กตรอนจากลูกโซ่ขนส่งอิเล็กตรอนในกระบวนการสังเคราะห์แสง ดังปฏิกิริยาข้างล่างนี้

$$4\ \text{Mono-dehydro-ascorbate} + 2H_2O \xrightarrow{\text{light}} 4\ \text{Ascorbate} + O_2$$

มีรายงานเกี่ยวกับแอสคอร์เบทเพอร์ออกซิเดสที่แยกบริสุทธิ์จากใบผักโขม (spinach) (Tanaka et al., 1991) ใบชา (Chen and Asada, 1989) และใบถั่ว (Mittler and Zilinskas, 1991) พบว่าเอนไซม์นี้เป็นฮีม-โปรตีน (heme-protein) ที่มีโครงสร้างปฐมภูมิคล้ายไซโตโครม-ซี เพอร์ออกซิเดส (cytochrome-C peroxidase) จากยีสต์ มากกว่ากอลไอคอลเพอร์ออกซิเดส (guaiacol peroxidase) ของพืช (Asada, 1992) นอกจากนี้

ในต้นป๊อปลาร์ยังพบแอสคอร์เบทเพอร์ออกซิเดสทั้งในส่วนของไซโทซอลและคลอโรพลาสต์ และเมื่อแยกบริสุทธิ์พบว่ามี 2 ไอโซฟอร์ม คือ AsAPOD I ในคลอโรพลาสต์ ส่วน AsAPOD II พบในไซโทซอล

กลูตาไธโอน (GSH) และกลูตาไธโอน รีดักเทส (GR)

กลูตาไธโอนหรือที่เรียกว่า กลูตามิล-ซิสเทนิลไกลซีน (glutamyl cysteinyl glycine) จัดเป็นสารประกอบไทออล (thiol) ที่มีมวลโมเลกุลต่ำส่วนใหญ่พบในพืช ทำหน้าที่ป้องกันหมู่ไทออลของเอนไซม์หรือเป็นตัวรีดิวซ์พันธะไดซัลไฟด์ (disulphide reductant) ที่ส่วนหนึ่งเกิดจากหมู่ไทออล (thiol) ของเอนไซม์ทำปฏิกิริยากัน มีรายงานพบว่ากลูตาไธโอนเป็นตัวรีดิวซ์พันธะไดซัลไฟด์ของโปรตีน (protein disulphide reductant) ที่มีคุณสมบัติลดพิษของยาฆ่าแมลง และควบคุมการแสดงออกของยีนเพื่อตอบสนองต่อภาวะเครียดจากสิ่งแวดล้อมและโรคต่างๆ (Kunert and Foyer, 1993; Dron et al., 1988; Wingate et al., 1988) กลูตาไธโอนยังสามารถทำปฏิกิริยากับซิงเกลตออกซิเจนและอนุมูลอิสระไฮดรอกซิลในพืชบางชนิด เช่น พวกฝักถั่ว (legumes) อีกด้วย นอกจากนี้ยังพบว่ากลูตาไธโอนสามารถสังเคราะห์แอสคอร์เบทขึ้นมาใหม่จากดีไฮโดร-แอสคอร์เบท ผ่านการทำงานของดีไฮโดร-แอสคอร์เบท รีดักเทส โดยกลูตาไธโอนจะถูกออกซิไดซ์เป็นกลูตาไธโอน ไดซัลไฟด์ (glutathione disulphide, GSSG) ส่วนกลูตาไธโอนจะถูกสร้างกลับคืนมาโดยกลูตาไธโอน รีดักเทส (glutathione reductase, GR) โดยอาศัย NADPH เป็นตัวให้อิเล็กตรอน (รูปที่ 2)

มีสาเหตุหลายประการที่ทำให้แอคติวิตีหรือยีนของกลูตาไธโอน รีดักเทส เพิ่มขึ้น เช่น ไฮโดรเจนเปอร์ออกไซด์ โอโซน สารปราบวัชพืช อุณหภูมิ เป็นต้น (Grill et al., 2002) Creissen et al. (1996) ได้รายงานพบกลูตาไธโอน รีดักเทส ในคลอโรพลาสต์และไซโทพลาซึมจากข้าวโพด (Hernandez et al., 2000; Gomez et al., 1999) นอกจากนี้ยังมีรายงานในใบยาสูบ (Nicotiana tabacum) ที่ได้ผ่านการตัดแต่งพันธุกรรมจากการส่งถ่ายยีนกลูตาไธโอน รีดักเทส จากแบคทีเรีย พบว่ามีการเพิ่มแอคติวิตีของเอนไซม์ดังกล่าวเพิ่มขึ้นประมาณ 3 เท่า ทั้งยังต้านความเสียหายจากสารปราบวัชพืชและซัลเฟอร์ไดออกไซด์ภายใต้ภาวะเครียดจากแสงอีกด้วย (Aono et al., 1993)

แอลฟา-โทโคเฟอรอล

พบโทโคเฟอรอลสร้างขึ้นในเฉพาะพืชและสาหร่ายเท่านั้น ในพืชจะพบสารดังกล่าวในทุกส่วน (Janiszowska and Pennock, 1976) โทโคเฟอรอลที่พบมี 4 ไอโซเมอร์ด้วยกัน คือ α β γ และ δ ในเยื่อคลอโรพลาสต์ของพืชชั้นสูงส่วนใหญ่พบแอลฟา-โทโคเฟอรอล ทำหน้าที่ในการป้องกันความเสียหายจากภาวะเครียดได้ดี เช่น ภาวะเครียดจากแสง (Fryer, 1992) แอลฟา-โทโคเฟอรอลจัดเป็นตัวต้านการเกิดออกซิเดชันที่พบในเมมเบรนทำหน้าที่กำจัดซิงเกลตออกซิเจนและไลปิดเพอร์ออกไซด์ (lipid peroxides) ทั้งแอสคอร์เบทและแอลฟา-โทโคเฟอรอลจัดเป็นตัวต้านอนุมูลอิสระที่มีประสิทธิภาพ เนื่องจากมีคุณสมบัติในการให้อิเล็กตรอนที่ไม่ดี (relatively poor electron donors) ทั้งแอสคอร์เบทและแอลฟา-โทโคเฟอรอล จึงสามารถขจัดอนุมูลอิสระไฮดรอกซิลซิงเกลตออกซิเจนและอนุมูลอิสระซูเปอร์ออกไซด์ได้

สรุป

ในภาวะปกติ อนุมูลอิสระและอนุพันธ์ของออกซิเจนที่ไวต่อปฏิกิริยาที่เกิดจากการเกิดปฏิกิริยารีดอกซ์ทางชีวภาพนั้น มีผลหยุดยั้งการทำงานของเอนไซม์ ทำลายส่วนประกอบที่สำคัญของเซลล์ เยื่อเมมเบรน และกระตุ้นการเกิดปฏิกิริยาเพอร์ออกซิเดชันของไขมัน เป็นต้น การเพิ่มขึ้นมากกว่าเดิมของอนุพันธ์ออกซิเจนที่เป็นพิษนั้นเป็นผลจากการเกิดความเครียด เช่น ภาวะแวดล้อมที่เปลี่ยนแปลงไป มนุษย์ โรคภัย สารพิษ เป็นต้น แต่พืชและสิ่งมีชีวิตต่างๆ

ก็มีกลไกมากมายที่ต่อสู้กับปัญหาเหล่านี้ โดยเฉพาะระบบการป้องกันการเกิดออกซิเดชันของพืชที่มีมากมายทั้งระดับโมเลกุลและเอนไซม์ ถึงแม้ลำดับขั้นตอนการเกิดอนุมูลอิสระยังไม่เป็นที่เข้าใจนัก อย่างไรก็ตามเป็นที่แน่ชัดแล้วว่า แอคติวิตีของระบบป้องกันการเกิดออกซิเดชันเป็นสิ่งสำคัญในการลดผลเสียที่เกิดจากการเกิดออกซิเดชัน และเป็นการทำลายอนุมูลอิสระในรูปแบบของออกซิเจนที่ไวต่อปฏิกิริยาที่ถูกผลิตออกมามากเกินพอในกระบวนการเมแทบอลิซึม ส่วนงานในระดับยีนหรือพืชที่ถูกตัดแต่งพันธุกรรมนั้นได้ถูกใช้เป็นเครื่องมือที่แพร่หลายในการเข้าใจกฎการทำงานของเอนไซม์ที่สามารถลดหรือต้านการเกิดออกซิเดชันในภาวะต่างๆ ได้

เอกสารอ้างอิง

Alscher, R. G., Donahue, J. L. and Cramer, C. L. (1997). Physiol. Plant. 100: 224-233.

Anderson, M. D., Prasad, T. K. and Stewart, C. R. (1995). Plant Physiol. 109: 1247-1257.

Anderson, J. W., Foyer, C. H. and Walker, D. A. (1983). Biochim. Biophys. Acta, 724: 69-74.

Aono, M., Kubo, A., Saji, H., Tanaka, K. and Kondo, N. (1993). Plant and Cell Physiol, 34: 129-135.

Arora, A., Sairam, R. K., and Srivastava, G. C. (2002), Curr. Sci. 10: 1227-1238.

Asada, K. (1994). in Causes of Photooxidative Stress and Amelioration of Defence Systems in Plants (eds Foyer, C. H. and Mullineaux, P. M.), Boca Raton, FL: CRC Press. 77-104.

Asada, K. (1992). Physiol. Plant. 85: 235-241.

Asada, K. and Badger, M. R. (1984). Plant Cell Physiol. 25: 1169-1179.

Asada, K., Kiso, K. and Yoshikawa, K., (1974). J. Biol. Chem. 249: 2175-2181.

Asada, K. and Takahashi, M. (1987). in Photoinhibition: Topics in Photosynthesis (eds Kyle, D. J., Osmond, C. B. and Arnten, C. J.), Amsterdam: Elsevier. 9: 227-287.

Becana, M., Aparicio, T. P., Irigoyen, J. J. and Sanchez, D. M., (1986). Ibid. 82: 1169-1171.

Bowler, C., Alliotte, T., De Loose, M., Van Montgu, V. and Inze, D. (1989). EMBO J. 8: 31-38.

Bowler C, Slooten L, Vandenbranden S, De Rycke R, Botterman J, Sybesma C, Van Montagu M, Inzé D. (1991). EMBO J. 10: 1723-1732.

Cadenas, E. (1989). Annu. Rev. Biochem. 58: 79-110.

Castillo, F. J. and Greppin, H. (1988). Environ. Exp. Bot. 26: 231-238.

Chen, G. X. and Asada, K. (1989). Plant Cell Physiol. 30: 987- 998.

Corpas, F. J., Sandalio, L. M., del Rio, L. A. and Trelease, R. N., (1998). New Phytol. 11138: 307-314.

Creissen, G., Reynolds, H., Xue, Y. B. and Mullineaux, P. (1996). Plant J. 8: 167-175.

del Rio, L. A., Pastori, G. M., Palma, J. M., Sandalio, L. M., Sevilla, F., Corpas, F. J., Jiménez, A., Ló pez-Huertas, E., and Hernaández, José A. (1998). Plant Physiol. 116: 1195-1200.

Droillard, M. J. and Paulin, A. (1990). Plant Physiol. 94: 1187- 1192.

Dron, M., Clouse, S. D., Dixon, R. A., Lawton, M. A. and Lamb, C. J., (1988). Proc. Natl. Acad. Sci. USA. 85: 6738-6742.

Fridovich, I., (1995). Annu. Rev. Biochem. 65: 97-112.

Foyer, C. H., (1993). in Antioxidants in Higher Plants (eds Alscher, R. G. and Hess, J. L.), Boca Raton, FL: CRC Press, 31-58.

Foyer, C. H. and Halliwell, B. (1976). Planta. 133: 21-25.

Foyer, C. H. and Lelandais, M., (1993). in Photosynthetic Responses to the Environment (ed. Yamamoto, H. Y.), Am. Soc. Plant Physiologists, Rockville, MD. 8: 88-101.

Foyer, C. H., Lelandais, M., Edwards, E. A. and Mullineaux, P. M. (1991). in Active Oxygen, Oxidative Stress and Plant Metabolism: Current Topics in Plant Physiology (eds Pell, E. and Steffen, K.), Am. Soc. Plant Physiologists, Rockville, MD. 131-144.

Fryer, M. J. (1992). Plant Cell Environ. 15: 381-392.

Gomez, J. M., Hernandez, J. A., Jimenez, A., del Rio, L. A. and Sevilla, F. (1999). Free Rad. Res. Suppl. 31: 11-18.

Gressel, J. and Salun, E., (1994). in Causes of Photooxidative Stress and Amelioration of Defence Systems in Plants (eds Foyer, C. H. and Mullineaux, P. M.), Boca Raton, FL: CRC Press. 237-274.

Grill, D., Tausz, M., and De Kok, L. J. (2002). in The molecular biology and metabolism of glutathione (eds Christine H. Foyer and Graham Noctor), Netherlands: Kluwer Academic Publishers. 2: 27-56.

Gruber, M. Y., Glick, B. R. and Thompson, J. (1990). Ibid. 87: 2608-2612.

Haber, F. and Weiss, J. (1934). Proc. R. Soc. A147: 332.

Hamilton, III, E. W. and Heckathorn, S. A. (2001). Plant Physiol. N. 126: 1266-1274.

Hernandez, J. A., del Rio, L. A. and Sevilla, F. (1994). New Phytol. 126: 37-44.

Hernandez, J. A., Jimenez, A., Mullineaux, P. and Sevilla, F. (2000). Plant Cell Environ. 23: 853-862.

Janiszowska, W. and Pennock, J. F. (1976). Vit. Hor. 34: 77-105.

Kendall, A. C., Keys, A. J., Turner, J. C., Lea, P. J. and Miflin, B. J. (1983). Planta. 159: 505-511.

Knox, J. P. and Dodge, A. D. (1985). Phytochem. 24: 889- 896.

Kunert, K. J. and Foyer, C. H. (1993). in Sulphur Nutrition and Assimilation in Higher Plants: Regulatory, Agricultural and Environmental Aspects (eds De Kok, L. J. et al.), The Hague: SPB Academic Publishers. 139-151.

Lee, E.H. and Bennett,J.H. (1982). Plant Physiol. 69: 1444-1449.

Lwe, M. W. F., Takkahama, U. and Heber, U. (1993). Plant Physiol. 101: 969-976.

Mittler, R. and Zilinskas, B. A. (1991). Plant Physiol. 97: 962.

Miyake, C. and Asada, K. (1992). Plant Cell Physiol. 33: 541- 553.

Nakano, Y. and Asada, K. (1980). Plant Cell Physiol. 21: 1295-1307.

Nakano, Y. and Asada, K. (1981). Plant Physiol. 22: 867-880.

Neubauer, C. and Schreiber, U. (1989). Z. Naturforsch. C. 44: 262-270.

Polle, A., Chakrabarti, K., Schurmann, W. and Rennenberg, H. (1990). Plant Physiol. 94: 312-319.

Rabinowitch, H.D., Sklan, D. and Budowski, P. (1982). Physiol. Plant. 54: 369-374.

Salin, M. L. (1988). Physiol. Plant. 72: 681-689.

Sandalio, L. M., Palma, J. M. and del Rio, L. A. (1987). Plant Sci. 51: 1-8.

Tanaka,K. and Sugahara,K. (1980). Plant Cell Physiol. 21: 601-611.

Tanaka, K., Takeuchi, E., Kubo, A., Sakaki, T., Haraguch, K. and Kawamura, Y. (1991). Arch. Biochem. Biophys. 286: 371- 375.

Tepperman, J. M. and Dunsmuir, P. (1990). Plant Mol. Biol. 14: 501-511.

Wingate, V. P. M., Lawton, M. A. and Lamb, C. J. (1988). Plant Physiol. 87: 206-210.

Wood, P. M. (1974). FEBS Lett. 44: 22-24.

Zelitch, I. (1992). in Trends in Photosynthesis Research (eds Barber, J., Guerrero, M. G. and Medrano, H.), Intercept, Andover, Hampshire. 185-193.

❑❑❑❑❑

ว.วิทย. มข. 39(2) 182-192 (2554) KKU Sci. J.39(2) 182-192 (2011)

พืชน้ำ : บทบาทสำคัญกับการบำบัดน้ำเสีย

Aquatic Macrophytes: The Important Roles in Wastewater Treatment

อรุโณทัย จำปีทอง [1] และ สุทธาธร ไชยเรืองศรี [1]*

บทนำ

น้ำเสียเป็นปัญหาทางสิ่งแวดล้อมประการหนึ่งที่ส่งผลต่อคุณภาพชีวิตของมนุษย์ รวมทั้งพืชและสัตว์ที่อาศัยในแหล่งน้ำนั้นๆ ในประเทศกำลังพัฒนาที่มีจำนวนประชากรสูงอย่างประเทศไทย การปล่อยน้ำเสียจากการบริโภค อุปโภคในกิจกรรมหรือประกอบการต่างๆ ได้แก่ น้ำเสียจากบ้านเรือน น้ำเสียจากพื้นที่เกษตรกรรมหรือฟาร์มเลี้ยงสัตว์เช่น ฟาร์มสุกร ฟาร์มปลา ปริมาณมากลงสู่แม่น้ำ ลำคลอง หรือแหล่งน้ำธรรมชาติอื่นๆ โดยมิได้ผ่านระบบบำบัดอาจนำไปสู่การเปลี่ยนแปลงโครงสร้างของระบบนิเวศของแหล่งน้ำธรรมชาติ และอาจจะก่อให้เกิดปัญหารุนแรงติดตามมา โดยเฉพาะในกรณีที่น้ำที่ปล่อยลงสู่แหล่งน้ำธรรมชาตินั้นมีการปนเปื้อนของสารเคมีที่เป็นอันตรายต่อสิ่งมีชีวิตในแหล่งน้ำนั้น เช่น การปนเปื้อนของย่าฆ่าแมลงหรือสารโลหะหนัก ปัญหาดังกล่าวอาจกระทบต่อการดำรงชีวิตของมนุษย์และสิ่งแวดล้อม โดยเฉพาะบุคคลที่อาศัยและทำมาหากินจากแหล่งน้ำนั้น ๆ

การบำบัดน้ำเสียนั้นมีหลากหลายวิธี โดยส่วนใหญ่มักเป็นระบบที่สร้างขึ้นเพื่อบำบัดน้ำเสียจากชุมชนซึ่งมีค่าก่อสร้างและค่าใช้จ่ายในการดำเนินการสูง การนำพืชน้ำมาใช้บำบัดน้ำเสียเป็นอีกวิธีการหนึ่งที่เน้นพัฒนาคุณภาพน้ำโดยวิธีชีวบำบัด ได้มีการศึกษาวิจัยและประยุกต์ใช้ระบบบึงประดิษฐ์ (constructed wetlands) กันอย่างแพร่หลายในต่างประเทศโดยเฉพาะในทวีปยุโรปและอเมริกาเหนือ ในปัจจุบันระบบดังกล่าวกำลังเป็นที่นิยมมากขึ้นในประเทศไทย ระบบบึงประดิษฐ์มีการคิดค้นและดัดแปลงระบบมาจากสภาพจริงจากธรรมชาติที่พบว่าในแหล่งน้ำธรรมชาติ โดยเฉพาะบึงหรือหนองน้ำขนาดใหญ่ซึ่งเป็นระบบนิเวศน้ำนิ่งและมีความเสี่ยงต่อการเน่าเสียของน้ำมาก เนื่องจากมักเป็นระบบปิดและได้รับน้ำมาจากแหล่งต่างๆ ที่อาจมีการปนเปื้อนของสารอาหารและสารเคมีที่ถูกชะล้างมาจากแหล่งที่อยู่อาศัย พื้นที่เกษตรกรรม และอุตสาหกรรมในปริมาณที่สูง แต่ถ้าน้ำที่เข้าสู่บึงหรือหนองน้ำมีการไหลผ่านพื้นที่ชุ่มน้ำ

[1] ภาควิชาชีววิทยา คณะวิทยาศาสตร์ มหาวิทยาลัยเชียงใหม่ อ.เมือง จ.เชียงใหม่ 50200

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

มาก่อนมักจะมีคุณภาพดี พื้นที่ชุ่มน้ำจึงจัดว่ามีบทบาทและความสำคัญในแง่ของการรักษาสภาพแวดล้อมของแหล่งน้ำทำหน้าที่เสมือนตัวกรองธรรมชาติ โดยมีพืชน้ำเป็นตัวทำหน้าที่หลักในการดักกรองตะกอน ดูดซับสารอาหารหรือสารพิษต่าง ๆ ที่ปนเปื้อนมากับน้ำ อีกทั้งยังเป็นโรงงานผลิตก๊าซออกซิเจนให้แก่แหล่งน้ำและเป็นที่อยู่อาศัยของจุลินทรีย์ที่มีบทบาทต่อการย่อยสลายของสารอินทรีย์อีกด้วย (Brix and Schierup, 1989)

การประยุกต์ใช้พืชน้ำในระบบบึงประดิษฐ์

บึงประดิษฐ์ เป็นพื้นที่ชุ่มน้ำจำลองที่มนุษย์สร้างขึ้นโดยมีการเลียนแบบมาจากพื้นที่ชุ่มน้ำธรรมชาติ (Cronk and Fennessy, 2001) มีจุดประสงค์หลักคือใช้บำบัดน้ำเสียโดยเฉพาะน้ำเสียที่มาจากพื้นที่เกษตรกรรม ฟาร์มปศุสัตว์ หรือแม้แต่โรงงานระดับชุมชนที่มักปล่อยน้ำออกสู่แหล่งน้ำธรรมชาติโดยไม่ได้รับการบำบัด ทั้งนี้ พื้นที่ดังกล่าวมักไม่มีโรงบำบัดน้ำเสียรองรับน้ำที่ปล่อยออกมา (Greenway, 2007) ดังนั้น ปัญหาน้ำเสียจึงเกิดขึ้นควบคู่ไปกับการประกอบการทุกครั้งไป ระบบบึงประดิษฐ์จะมีการคัดเลือกชนิดพืชน้ำมาใช้ในระบบหนึ่งๆ เพียงชนิดเดียว เนื่องจากเป็นการง่ายต่อการจัดการและยังสามารถประเมินประสิทธิภาพของพืชชนิดนั้นๆ ว่าเหมาะสมกับระบบและมีความสามารถที่จะปรับปรุงคุณภาพน้ำได้ดีเพียงใด ในปัจจุบัน พบมีการบำบัดน้ำเสียโดยใช้พืชน้ำหลากหลายชนิดโดยปลูกแบบผสมผสานกันในบึงประดิษฐ์หนึ่งๆ (เบญจนี เครือแก้ว และคณะ, 2545) แต่ระบบดังกล่าวยังจัดว่าไม่เป็นที่นิยมกันนักการบำบัดน้ำเสียในระบบบึงประดิษฐ์แบบใช้พืชเชิงเดี่ยวยังคงเป็นที่นิยมและสามารถประเมินประสิทธิภาพของพืชในการลดปริมาณสารปนเปื้อนได้ดีกว่าการใช้พืชแบบผสม อย่างไรก็ตาม การใช้พืชแบบผสมนั้นส่วนใหญ่จะเป็นในรูปแบบของการบำบัดผ่านระบบพืชชนิดหนึ่งที่ 1 ก่อน แล้วจึงผ่านเข้าสู่ระบบบึงประดิษฐ์ที่มีพืชชนิดที่ 2 และ 3 ตามลำดับต่อไป ดังจะกล่าวต่อไปในหัวข้อการแบ่งประเภทของระบบบึงประดิษฐ์ หรืออาจเป็นการบำบัดโดยมีการผสมผสานรูปแบบของระบบ เช่น การบำบัดน้ำเสียผ่านระบบน้ำไหลแนวดิ่ง และการไหลของน้ำใต้ดินแนวราบ เป็นต้น (ศุวศา กานตวนิชกูร, 2544; เสนีย์ กาญจนวงศ์, 2551) พืชน้ำที่นำมาใช้ในระบบบึงประดิษฐ์สามารถแบ่งตามลักษณะวิสัยของพืช (Brix and Schierup, 1989; Cronk and Fennessy, 2001; Dhote and Dixit, 2009) ได้ดังนี้

1. พืชโผล่พ้นน้ำ (Emergent aquatic macrophytes) จัดเป็นชนิดที่เด่นพบในพื้นที่ชุ่มน้ำทั่วไปที่มีระดับน้ำเหนือดินสูงถึง 150 เซนติเมตร พืชโผล่พ้นน้ำจะมีลำต้นใต้ดินแบบที่เรียกว่า ไรโซม (rhizome) และมีลำต้นเหนือพื้นดิน (aerial stem) ซึ่งอาจมีบางส่วนของต้นดำรงชีวิตอยู่ใต้น้ำหรือที่ชื้นแฉะ แต่มีบางส่วนของต้น เช่น ใบ อยู่เหนือระดับน้ำ เป็นต้น ตัวอย่างพืชโผล่พ้นน้ำที่ถูกนำมาใช้ในระบบบึงประดิษฐ์ เช่น *Scirpus lacustris* (รูปที่ 1a), *Phragmites australis* (รูปที่ 1b), *Typha latifolia* (รูปที่ 1c)

2. พืชใบลอยน้ำ (Floating-leaved aquatic macrophytes) พบทั้งชนิดที่มีรากยึดติดกับพื้นท้องน้ำ เช่น *Nymphaea alba* (รูปที่ 1d), *Potamogeton gramineus* (รูปที่ 1e), *Hydrocotyle vulgaris* (รูปที่ 1f) เป็นต้น และชนิดที่ทั้งต้นลอยน้ำเป็นอิสระ (Free-floating plants) เช่น ผักตบชวา (*Eichhornis crassipes*) (รูปที่ 1g), แหนเล็ก (*Lemna minor*) (รูปที่ 1h) เป็นต้น

3. พืชจมน้ำ (Submerged aquatic macrophytes) เป็นพืชที่ทุกส่วนของต้นอาศัยอยู่ใต้น้ำ เช่น แนน หรือ ดีปลีน้ำ (*Potamogeton crispus*) (รูปที่ 1i), *Littorella uniflora* (รูปที่ 1j) เป็นต้น

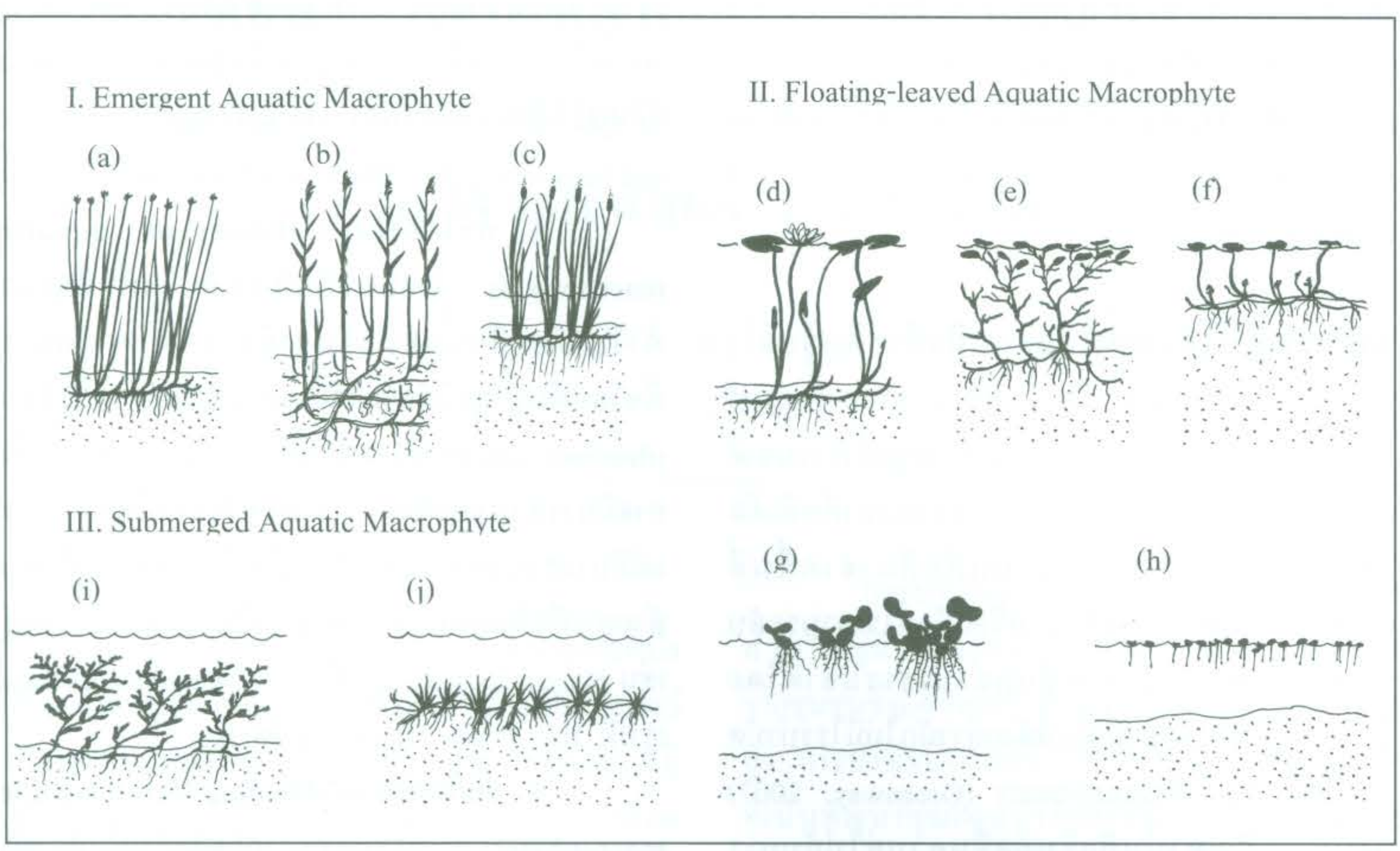
พืชดังกล่าวข้างต้นได้ถูกนำมาใช้บำบัดน้ำเสียในระบบบึงประดิษฐ์แบบต่างๆ โดยสามารถแบ่งประเภทของระบบการบำบัดน้ำเสียตามประเภทของพืชน้ำที่นำมาใช้ได้เป็น 4 แบบ (Brix and Schierup, 1989; Dhote and Dixit, 2009) คือ

1. ระบบบำบัดโดยพืชลอยน้ำ (Floating macrophyte treament systems)

2. ระบบบำบัดโดยพืชจมน้ำ (Submeged macrophyte treatment systems)

3. ระบบบำบัดโดยพืชโผล่พ้นน้ำ (Emergent macrophyte treatment systems)

4. ระบบผสมผสาน (Integrated macrophyte treatment systems)



รูปที่ 1 พืชน้ำแบ่งตามลักษณะวิสัย: I. Emergent aquatic macrophytes (a. *Scirpus lacustris*, b. *Phragmites australis*, c. *Typha latifolia*); II. Floating-leaved aquatic macrophytes (d. *Nymphaea alba*, e. *Potamogeton gramineus*, f. *Hydrocotyle vulgaris*, g. *Eichhornis crassipes*, h. *Lemna minor*); III Submerged aquatic macrophytes (i. *Potamogeton crispus*, j. *Littorella uniflora*) (ที่มา: Brix and Schierup, 1989)

1. ระบบบำบัดโดยพืชโผล่พ้นน้ำ (Emergent macrophyte treatment systems) เป็นระบบที่นิยมใช้กันในประเทศเขตอบอุ่นเช่น ยุโรป อเมริกาเหนือ (Srivastava et al., 2008) เป็นต้น เนื่องจากพืชมีลำต้นใต้ดินที่มีการสะสมอาหารมากและมีช่องว่างกักเก็บอากาศตลอดลำต้น ทำให้พืชสามารถดำรงชีวิตอยู่ได้ตลอดช่วงฤดูหนาว และสามารถแตกกิ่งใหม่ได้เมื่อเข้าสู่ฤดูใบไม้ผลิ ในช่วงฤดูหนาวที่มีหิมะปกคลุมพบว่า เศษซากของส่วนลำต้นเหนือดินที่ทับถมกันสามารถเป็นฉนวนป้องกันความเย็นจากหิมะได้เป็นอย่างดี ทำให้อุณหภูมิใต้ดินไม่ต่ำจนเกินไป ในทางตรงกันข้ามฉนวนธรรมชาติดังกล่าวยังทำให้อุณหภูมิใต้ดินไม่สูงเกินไปในช่วงฤดูร้อน พืชที่นิยมใช้กัน ได้แก่ *Phragmites australis* (รูปที่ 2a, 2b), *Scirpus lacustris* (รูปที่ 2c) สำหรับในประเทศไทย พืชที่นิยมใช้ เช่น กกรังกา (*Cyperus involucratus*), ธูปฤาษี (*Typha angustifolia*) และพืชวงศ์หญ้า เช่น หญ้าขน (*Brachiaria mutica*), หญ้าอะตราตั้ม (*Paspalum atratum*) และหญ้าโกล่า (*Digitaria decumbens*) ซึ่งล้วนเป็นหญ้าอาหารสัตว์ (พันธ์ทิพย์ กล่อมเจ๊ก, 2551; Kantawanichkul et al., 2009)

2. ระบบบำบัดโดยพืชลอยน้ำ (Floating macrophyte treament systems) ในระบบนี้พืชน้ำที่นิยมนำมาใช้ ได้แก่ ผักตบชวา (*Eichhornis crassipes*) จอก (*Pistia stratiotes*) จอกหูหนู (*Salvinia* spp.) และแหน (*Lemna* spp.) (รูปที่ 2d) เป็นระบบที่เหมาะสำหรับประเทศเขตร้อนชื้น (Tropics) หรือกึ่งเขตร้อนชื้น (Subtropics) มักใช้ในการบำบัดน้ำเสียที่ผ่านการบำบัดขั้นต้นมาแล้ว (Srivastava et al., 2008) ในระบบนี้จะเป็นขั้นตอนการนำพืชมาช่วยลดปริมาณไนโตรเจนและฟอสฟอรัส ในพืชบางชนิด เช่น พืชสกุล *Lemna* เมื่อพืชปกคลุมพื้นผิวน้ำอย่างหนาแน่นจะเป็นอุปสรรคต่อการแพร่ของก๊าซโดยเฉพาะออกซิเจนลงสู่น้ำ ส่งผลทำให้แหล่งน้ำนั้นมีปริมาณก๊าซออกซิเจนลดน้อยลง ซึ่งไปส่งเสริมกระบวนการ denitrification ที่เปลี่ยนรูปแบบไนโตรเจนจากไนเตรต (NO_3^-) ไปเป็นก๊าซไนโตรเจน (N_2) เข้าสู่บรรยากาศต่อไป จัดเป็นขั้นตอนการกำจัดไนโตรเจนในระบบที่เกิดขึ้นอย่างสมบูรณ์ นอกจากนี้การปกคลุมพื้นผิวน้ำของพืชสกุลนี้ยังช่วยควบคุมการเพิ่มจำนวนของสาหร่ายสีเขียวซึ่งจัดเป็นอีกปัจจัยสำคัญที่ทำให้เกิดการเน่าเสียของน้ำ พืชที่ใช้ในระบบบำบัดนี้สามารถนำไปใช้เป็นอาหารเลี้ยงสัตว์เช่น สุกร เป็นต้น หรือนำไปทำเป็นปุ๋ยหมักได้

3. ระบบบำบัดโดยพืชจมน้ำ (Submeged macrophyte treatment systems) เป็นระบบที่ไม่เหมาะสำหรับการบำบัดน้ำเสียที่มีการปนเปื้อนของสารอินทรีย์ในปริมาณสูงมาก เนื่องจากการย่อยสลายสารอินทรีย์โดยจุลินทรีย์ในน้ำส่งผลทำให้ปริมาณออกซิเจนในน้ำลดลง ซึ่งอาจนำไปสู่ภาวะไร้ออกซิเจน (anoxic condition) และส่งผลกระทบต่อพืชจมน้ำได้ ในระบบบำบัดที่ใช้พืชจมน้ำนี้ มักใช้พืชจมน้ำที่มีอัตราการเจริญเติบโตที่เร็ว เช่น แนน (*Potamogeton crispus*), *Egeria densa*, *Elodea* spp. สาหร่ายพุงชะโด (*Ceratophyllum demersum*) สาหร่ายหางกระรอก (*Hydrilla verticillata*) (รูปที่ 2e) เป็นต้น พืชเหล่านี้จะเป็นตัวดูดซับก๊าซคาร์บอนไดออกไซด์ (CO_2) และเพิ่มปริมาณก๊าซออกซิเจน (O_2) โดยกระบวนการสังเคราะห์แสง การสังเคราะห์แสงยังมีผลต่อการเปลี่ยนแปลง pH ของน้ำซึ่งไปส่งเสริมการเปลี่ยนรูปแอมโมเนียมให้อยู่ในรูปก๊าซแอมโมเนียที่สามารถระเหยออกจากระบบได้และยังส่งเสริมการตกตะกอนของฟอสฟอรัสอีกด้วย ทำให้ปริมาณไนโตรเจนและฟอสฟอรัสลดลงได้ อย่างไรก็ตาม ในระบบบำบัดนี้ต้องมีการเก็บเกี่ยวพืชก่อนที่พืชนั้นจะตายและเน่าสลายไป เพื่อป้องกันการวกกลับของสารอาหารที่สะสมอยู่ในตัวพืชนั่นเอง โดยส่วนใหญ่พืชที่เก็บเกี่ยวได้สามารถนำไปทำเป็นปุ๋ยหมักเนื่องจากมีไนโตรเจนในปริมาณที่สูง

4. ระบบผสมผสาน (Integrated macrophyte treatment systems) เป็นระบบที่มีการนำเอาหลายๆ ระบบที่กล่าวขั้นต้นมาใช้ประกอบกัน เช่น การบำบัดน้ำเสียด้วยระบบบำบัดโดยพืชโผล่พ้นน้ำ จากนั้นบำบัดต่อเนื่องด้วยระบบบำบัดโดยพืชลอยน้ำและอาจต่อเนื่องด้วยระบบบำบัดโดยพืชจมน้ำ เป็นต้น

บทบาทหน้าที่ของพืชน้ำในระบบบึงประดิษฐ์

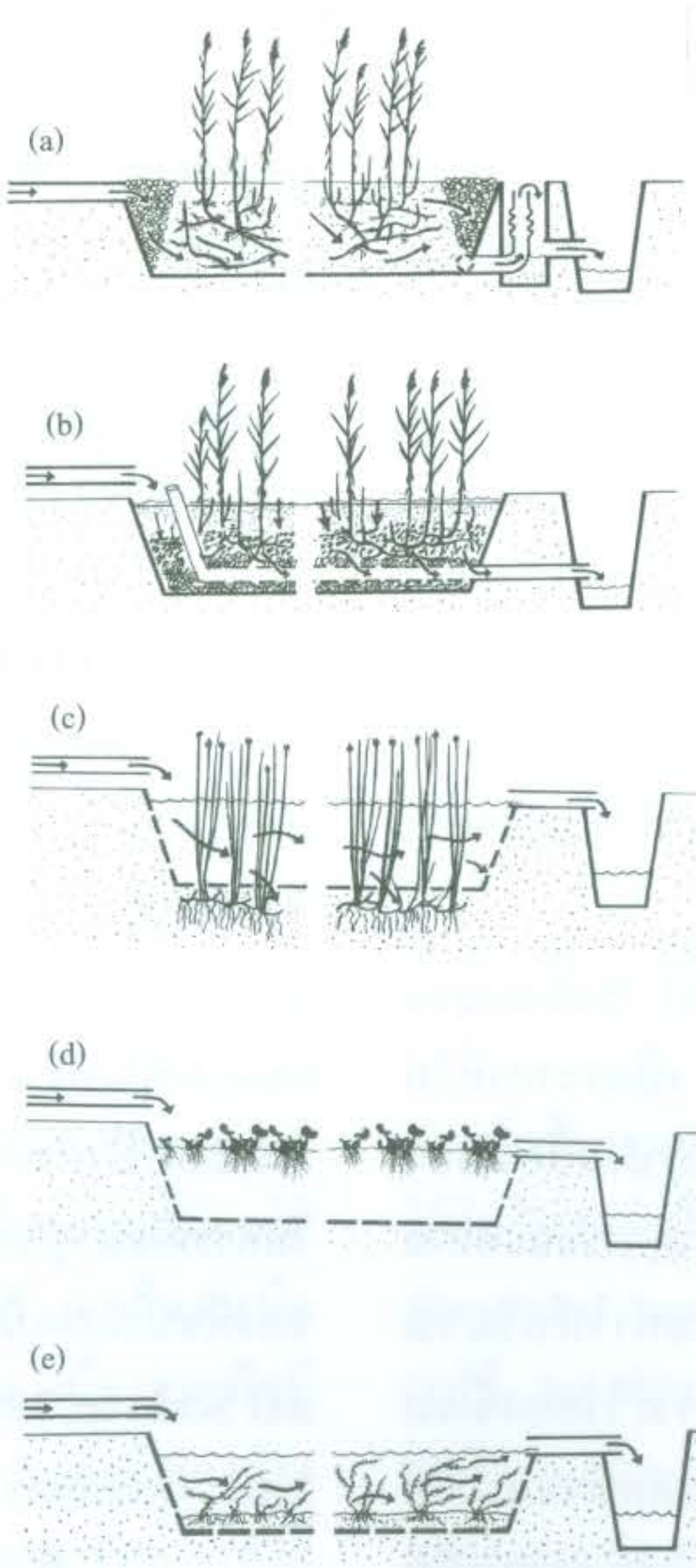
พืชน้ำจัดเป็นองค์ประกอบหนึ่งที่สำคัญในการลดปริมาณสารอาหารที่มีปริมาณสูงในน้ำเสีย เป็นตัวส่งเสริมจุลินทรีย์ให้อยู่ในภาวะที่เอื้อต่อการเปลี่ยนแปลงรูปของสารอินทรีย์หรืออนินทรีย์ต่างๆ อีกทั้งยังเป็นแหล่งเพิ่มปริมาณออกซิเจนแก่แหล่งน้ำอีกด้วย ในระบบบึงประดิษฐ์พืชน้ำจึงมีบทบาทหน้าที่สำคัญในการพัฒนาคุณภาพน้ำ โดยสามารถแบ่งลักษณะหน้าที่ของพืชน้ำออกเป็นข้อๆ ดังรายละเอียดต่อไปนี้ (Brix and Schierup, 1989; Brix, 1997; Cronk and Fennessy, 2001; Greenway, 2007; Dhote and Dixit, 2009)

1. ตัวกรองทางกายภาพ พืชน้ำสามารถลดความเร็วของกระแสน้ำที่ไหลเข้าสู่ระบบ ซึ่งไปส่งเสริมการตกตะกอนสารที่แขวนลอยมากับน้ำ ทำให้น้ำใสขึ้น การลดความเร็วของกระแสน้ำยังมีผลทำให้ระยะเวลาที่อยู่ในระบบของน้ำ (retention time) นานขึ้นอีกด้วย ทำให้พืชมีเวลานานพอที่จะดูดซับสาร

อาหารเข้าไปได้ นอกจากนี้ ในบึงประดิษฐ์ที่ใช้พืชลอยน้ำ เช่น แหน (*Lemna* spp.) การปกคลุมพื้นผิวน้ำของพืชจะไปลดปริมาณแสงที่ส่องลงใต้น้ำ ทำให้สาหร่ายสีเขียวซึ่งเป็นตัวการของน้ำเสียลดปริมาณลงด้วยเช่นกัน

2. เพิ่มความสามารถในการซึมผ่านของน้ำ

ในระบบบึงประดิษฐ์แบบ Sub-Surface Horizontal Water Flow ช่องว่างระหว่างอนุภาคดินหรือวัสดุปลูกถือว่ามีความสำคัญต่อการเคลื่อนที่หรือซึมผ่านของน้ำ ในระบบบึงประดิษฐ์ที่มีการชอนไชของรากพืชและลำต้นใต้ดินจะส่งผลให้อนุภาคดินเรียงตัวกันอย่างหลวมๆ ไม่อัดกันแน่น ทำให้น้ำซึมผ่านได้เป็นอย่างดี เป็นการเพิ่มประสิทธิภาพการดูดธาตุอาหารโดยรากพืชและยังมีผลดีต่อการหมุนเวียนธาตุอาหารต่างๆ โดยจุลินทรีย์ที่อยู่รอบๆ รากและลำต้นใต้ดินนั้นด้วย โดยทั่วไป ในระบบบึงประดิษฐ์ในประเทศแถบยุโรป เช่น ประเทศอังกฤษ ออสเตรียและเดนมาร์ค ที่ใช้ *Phragmites australis* ในระบบบำบัด มักมีค่าการเคลื่อนที่ของน้ำในดินที่คงที่คือ มีค่าระหว่าง 10^{-5} - 10^{-6} เมตรต่อวินาที

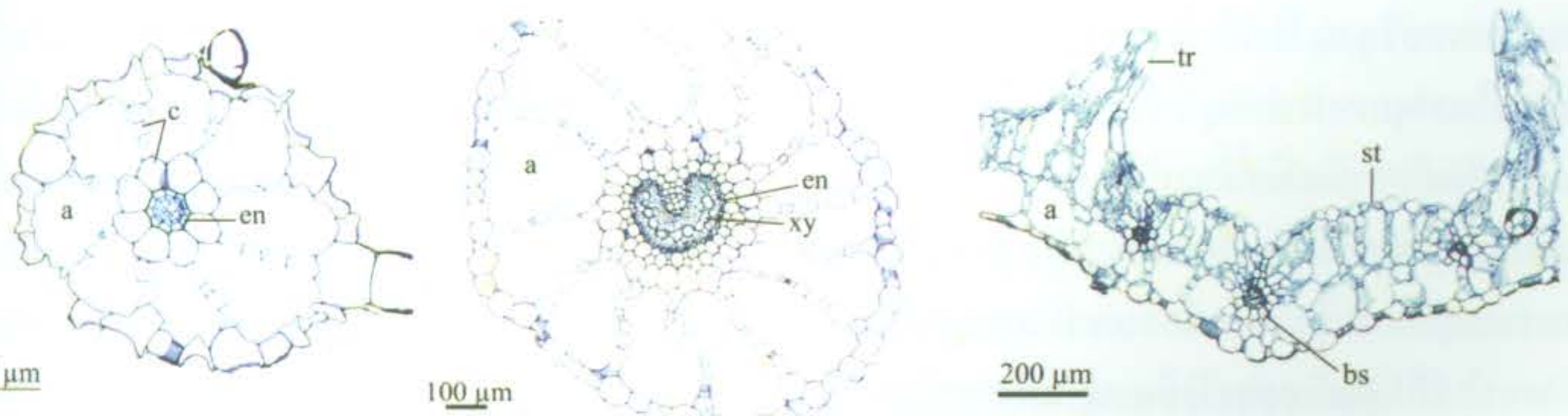


รูปที่ 2 ชนิดของบึงประดิษฐ์ที่ใช้พืชน้ำในการบำบัดแบบต่าง ๆ เช่น การประยุกต์ใช้ *Phragmites aurtralis* ในบึงประดิษฐ์แบบ Sub-Surface Horizontal Water Flow (a) และ Vertical Flow System (b) เป็นต้น ; การประยุกต์ใช้ *Scirpus lacustris* ในบึงประดิษฐ์แบบ Free Water Surface System (c); ระบบบำบัดน้ำเสียโดยใช้ผักตบชวา (*Eichhornis crassipes*) (d) และ *Elodea Canadensis* (e) ในบึงประดิษฐ์แบบ Free Water Surface System (ที่มา: Brix and Schierup, 1989)

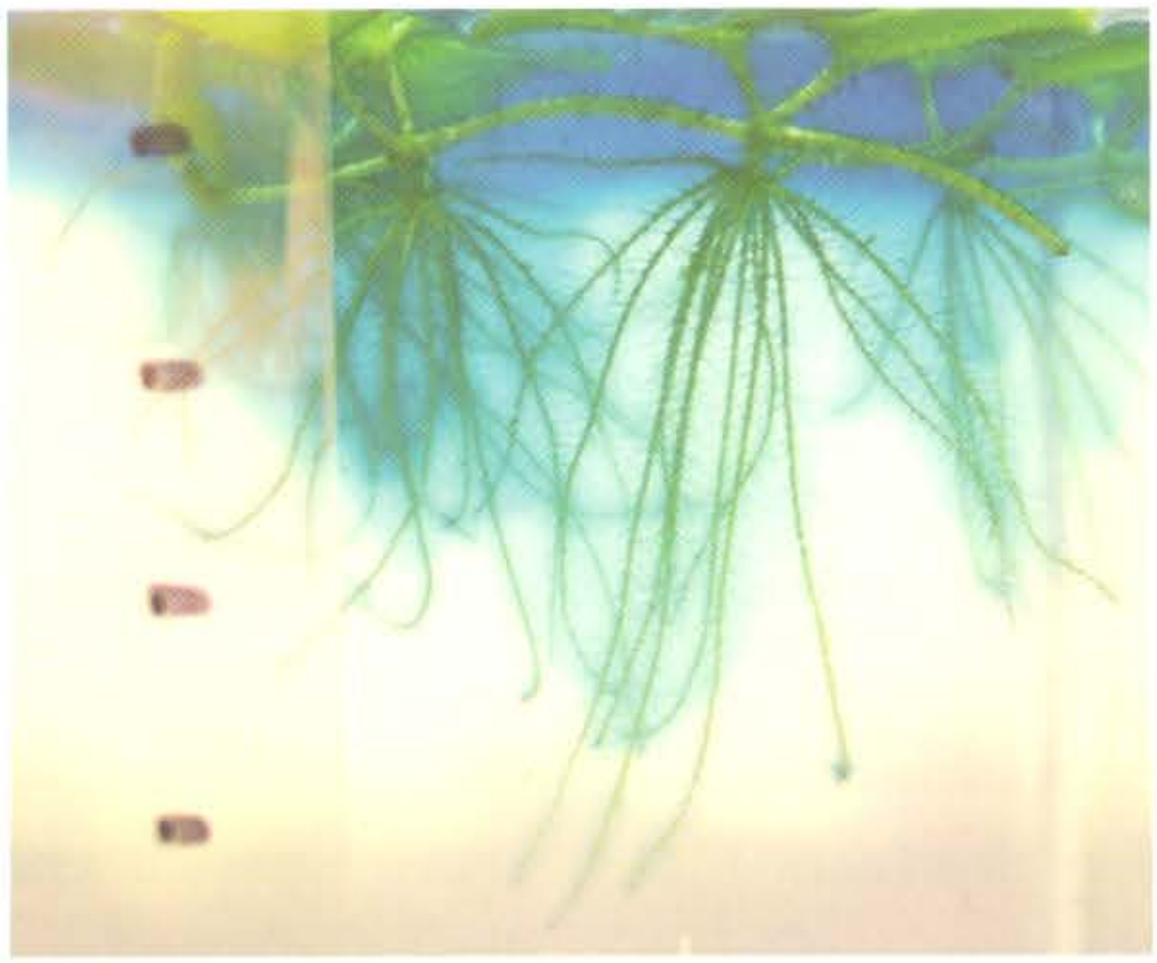
3. พื้นที่ยึดเกาะสำหรับจุลินทรีย์ ส่วนของลำต้นและใบที่จมน้ำของพืชโผล่พ้นน้ำจัดเป็นแหล่งที่อยู่ที่สำคัญของแบคทีเรีย (bacteria) และโปรตัวซัว (protozoa) ที่เจริญก่อตัวเป็นแผ่นฟิล์มบางๆ เคลือบอยู่บนลำต้นหรือใบ ส่วนลำต้นที่อยู่ใต้ดินหรือรากเป็นอีกส่วนหนึ่งที่เป็นแหล่งที่อยู่อาศัยของจุลินทรีย์ในดิน จุลินทรีย์ที่เคลือบอยู่กับส่วนต่างๆ ของพืชเหล่านี้ล้วนมีบทบาทสำคัญต่อการหมุนเวียนธาตุอาหารต่างๆ โดยเฉพาะไนโตรเจนและฟอสฟอรัสที่มักเป็นธาตุอาหารที่ต้องการกำจัดออกจากน้ำเสีย

4. เพิ่มออกซิเจนให้แก่ระบบ รากพืชน้ำจัดเป็นแหล่งผลิตก๊าซออกซิเจนที่สำคัญให้แก่แหล่งน้ำและดินมีผลต่อการเจริญเติบโตของสิ่งมีชีวิตในแหล่งน้ำและสิ่งมีชีวิตที่อาศัยอยู่รอบๆ รากพืช โดยเฉพาะแบคทีเรียที่มีบทบาทต่อการเปลี่ยนรูปสารเคมีในวัฏจักรของสารต่างๆ ในพืชลอยน้ำและพืชโผล่พ้นน้ำออกซิเจนส่วนใหญ่ที่พืชได้รับมักมาจากการแพร่จากบรรยากาศเข้าทางปากใบและลำเลียงไปตามช่องอากาศภายในใบ ลำต้น และลงสู่ราก (รูปที่ 3) ก่อนที่จะถูกปล่อยออกจากรากอีกครั้งหนึ่ง ดังนั้น ในพืชที่มีระบบรากแตกแขนงอย่างหนาแน่น มักมีปริมาณออกซิเจนรอบๆ รากในปริมาณที่สูงกว่าบริเวณที่ไม่มีรากพืช (รูปที่ 4) ซึ่งมีผลดีต่อสิ่งมีชีวิตพวกจุลินทรีย์ที่อาศัยอยู่รอบๆ รากนั้น โดยจะไปกระตุ้นให้เกิดการย่อยสลายสารอินทรีย์เพิ่มขึ้นและส่งเสริมการเจริญของ nitrifying bacteria สำหรับพืชจมน้ำพืชจะช่วยลดปริมาณก๊าซคาร์บอนไดออกไซด์ที่เกิดจากการหายใจของจุลินทรีย์ขณะที่มีการย่อยสลายสารอินทรีย์และเพิ่มปริมาณก๊าซออกซิเจนให้แก่แหล่งน้ำ ดังนั้น พืชจมน้ำจึงเป็นพืชตัวเลือกหนึ่งที่มักใช้ในการบำบัดน้ำเสียที่มีค่า BOD ไม่สูงมากนัก

นอกจากนี้ ระบบรากของพืชน้ำในระบบบึงประดิษฐ์ยังมีการหลั่งสารอื่นอีกที่เป็นผลดีแก่ระบบ เช่น ในพืชสกุล *Schoenoplectus* มีการหลั่งสารแอนตี้ไบโอติค (antibiotics) ออกมาด้วย ซึ่งมีผลไปลดปริมาณแบคทีเรียที่ต้องการกำจัดออกจากน้ำเสียได้แก่ *Coliform bacteria*, *Salmonella* และ *Enterococci* เป็นต้น และยังพบว่ารากของพืชน้ำสามารถหลั่งสารอินทรีย์ต่างๆ เช่น คาร์โบไฮเดรต เป็นต้น ซึ่งจัดเป็นแหล่งอาหารที่สำคัญของแบคทีเรียที่เกี่ยวข้องในกระบวนการ denitrification ซึ่งเป็นกระบวนการที่จำเป็นต่อการลดปริมาณไนเตรตโดยการเปลี่ยนรูปไนเตรตให้เป็นก๊าซไนโตรเจนระเหยออกจากระบบนั่นเอง



รูปที่ 3 โครงสร้างภายในส่วนราก ลำต้น และใบของเฟิร์นใบมะขาม (*Salvinia natans*) แสดงช่องว่างสำหรับกักเก็บอากาศที่รับเข้าทางปากใบและปล่อยออกทางราก (a, air space; bs, bundle sheath; c, cortex; en, endodermis; st, stoma; tr, trichome; xy, xylem) (ที่มา: อรุโณทัย จำปีทอง)



รูปที่ 4 ออกซิเจนที่ถูกปล่อยออกมาจากรากเฟิร์นใบมะขาม (*Salvinia natans*) จากรูปเป็นการทดลองนำพืชมาแช่ในวุ้นที่เติม $Na_2S_2O_4$ ซึ่งเป็นสารที่ทำให้ออกซิเจนหมดไปและมี methylene blue เป็น indicator (Armstrong and Armstrong, 1987) เมื่อเวลาผ่านไป 1 ชั่วโมง พืชซึ่งได้รับออกซิเจนจากบรรยากาศและลำเลียงมาสู่รากโดยผ่านทางช่องอากาศออกซิเจนจะถูกปล่อยออกจากรากสู่วุ้นโดยรอบ ในสภาวะที่มีออกซิเจน methylene blue ที่ผสมอยู่ในวุ้นจะเปลี่ยนจากไม่มีสีมาเป็นสีน้ำเงิน ในขณะที่บริเวณอื่นที่ไม่มีรากพืช วุ้นยังคงไม่มีสีเหมือนเดิม (ที่มา: อรุโณทัย จำปีทอง)

5. ดูดซึมสารอาหาร จัดเป็นหน้าที่หลักของพืชที่ช่วยลดปริมาณสารอาหารที่ปนมากับน้ำเสีย โดยเฉพาะฟอสฟอรัสที่เป็นธาตุอาหารสำคัญที่ไปส่งเสริมการเจริญเติบโตของสาหร่ายและก่อให้เกิดภาวะเสื่อมโทรมของแหล่งน้ำตามมา นอกจากนี้ พืชน้ำยังสามารถลดปริมาณไนโตรเจนได้เป็นอย่างดีอีกด้วย เนื่องจากเป็นธาตุอาหารสำคัญที่พืชใช้ในการเจริญเติบโต ดังนั้นการคัดเลือกชนิดพืชน้ำมาใช้ในระบบบึงประดิษฐ์จึงนิยมเลือกใช้พืชที่มีอัตราการเจริญเติบโตที่สูงและมีการแพร่พันธุ์ที่รวดเร็ว เช่น ผักตบชวา จอกหูหนู จอก หรือ แหน เป็นต้น อย่างไรก็ตาม อัตราการลดสารอาหารที่ปนมากับน้ำเสียในพืชน้ำแต่ละชนิดจะแตกต่างกันไป จากการศึกษาที่ผ่านมาพืชในกลุ่มพืชลอยน้ำอย่างอิสระ (free-floating macrophytes) มักมีอัตราการเจริญเติบโตและอัตราการลดไนโตรเจนที่สูงกว่าพืชโผล่พ้นน้ำ ส่วนข้อมูลในกลุ่มพืชจมน้ำยังมีการศึกษากันน้อยมาก พืชน้ำนอกจากการนำมาช่วยลดปริมาณสารอาหารแล้ว หลังการเก็บเกี่ยวพืชยังสามารถนำไปใช้ทำปุ๋ยอินทรีย์ได้เป็นอย่างดีอีกด้วย หรือในพืชบางชนิด เช่น จอกหูหนู (*Salvinia molesta*) ยังสามารถนำไปทำเป็นอาหารสัตว์ เช่น ใช้เลี้ยงสุกร เนื่องจากพบว่าพืชสกุล *Salvinia* สามารถดูดไนโตรเจนอนินทรีย์โดยเฉพาะแอมโมเนียม (NH_4^+) ได้เป็นอย่างดี เป็นต้น พืชดังกล่าวหลังจากเก็บเกี่ยวแล้วเมื่อนำมาวิเคราะห์สารอาหารพบว่ามีกรดอะมิโนจำเป็นและโปรตีนในปริมาณที่สูง (Leterme, 2009) เช่นเดียวกับพืชน้ำชนิดอื่นๆ ที่นำมาบำบัดน้ำเสียในระบบบึงประดิษฐ์ที่พบว่าในเนื้อเยื่อของพืชเหล่านี้มักมีปริมาณฟอสฟอรัสและไนโตรเจนที่สูงมากขึ้นเมื่อเทียบกับต้นที่เจริญเติบโตอยู่ในแหล่งน้ำธรรมชาติ (ตารางที่ 1) (Greenway, 2007)

ตารางที่ 1 ค่าเฉลี่ย±ค่าเฉลี่ยมาตรฐานปริมาณฟอสฟอรัส (P) และไนโตรเจน (N) (มิลลิกรัม /กรัมน้ำหนักแห้ง) ในเนื้อเยื่อใบหรือลำต้นของพืชที่ถูกนำมาบำบัดน้ำเสียในระบบบึงประดิษฐ์ (treatment) และที่พบในแหล่งน้ำธรรมชาติ (control)

Species	Type	Treatment		Control	
		P	N	P	N
Phragmites australis	E	2.0±0.6	20.4±8.0	1.4±0.6	12.0±7.3
Typha domingensis	E	2.3±1.0	15.8±6.0	1.5±0.9	9.2±6.2
Baumea articulata	E	3.7±1.9	13.1±4.2	2.4±0.7	12.6±2.4
Schoenoplectus validus	E	2.6±1.2	14.6±5.0	0.8±0.5	10.5±5.0
Eleocharis sphacelata	E	2.7±1.1	15.8±4.0	1.3±0.6	11.3±5.6
Ludwigia peploides	FF	5.4±1.8	36.9±10.2	3.1±1.0	27.0±10.2
Persicaria orientalis	E	4.4±1.3	33.2±10.1	1.4±0.6	13.5±3.3
Nymphoides indica	FL	6.6±2.0	25.8±11.0	2.5±0.6	22.1±3.6
Nymphaea gigantea	FL	4.2±2.0	28.0±10.0	2.2±0.5	22.0±8.0
Paspalum distichum	FF	2.8±1.2	12.5±3.0	0.9±0.4	11.0±2.6
Marsilea mutica	FL	8.0±1.6	28.8±3.0	2.2±0.5	14.7±3.4

หมายเหตุ: E, Emergent macrophytes; FF, Free-floating macrophytes; FL, Floating-leaves macrophytes

(ที่มา: Greenway, 2007)

6. ฉนวนธรรมชาติ บึงประดิษฐ์ที่ใช้ในประเทศเขตอบอุ่น (temperate) พืชโผล่พ้นน้ำจัดเป็นพืชที่นิยมนำมาใช้บำบัดน้ำเสียเนื่องจากพืชดังกล่าวมีลำต้นทั้งที่อยู่ใต้ดินและเหนือดิน ลำต้นใต้ดินของพืชเหล่านี้สามารถดำรงชีวิตอยู่ได้ถึงแม้ว่าลำต้นเหนือดินจะเหี่ยวแห้งไปในช่วงฤดูหนาวที่มักมีอากาศหนาวเย็นและถูกปกคลุมไปด้วยหิมะติดต่อกันเป็นระยะเวลายาวนาน ในช่วงเวลาดังกล่าว ส่วนของลำต้นเหนือดินที่เหี่ยวแห้งจะปกคลุมพื้นดินซึ่งจะทำหน้าที่เสมือนเป็นฉนวนกันความเย็นให้แก่พื้นดิน ทำให้ใต้พื้นดินลงไปมีอุณหภูมิไม่เย็นจัด ลำต้นใต้ดินจึงยังคงดำรงชีวิตอยู่ได้โดยอาศัยอาหารที่ส่วนใหญ่สะสมอยู่ในรูปของแป้งและมักมีอัตราการหายใจที่ต่ำลง จนเข้าสู่ฤดูใบไม้ผลิที่อุณหภูมิเพิ่มขึ้น และหิมะละลายไป ลำต้นใต้ดินจะเริ่มมีกิจกรรมมากขึ้นไม่ว่าจะเป็นอัตราการหายใจที่เพิ่มขึ้น การแตกยอดอ่อน และเจริญเป็นส่วนของลำต้นเหนือดินที่มีการแตกตาใบ พืชจะเริ่มสร้างอาหารได้อีกครั้งและเก็บสะสมไว้ที่ลำต้นใต้ดิน นอกจากนี้ พืชยังมีการกักเก็บอากาศไว้ภายในลำต้นอีกด้วยเนื่องจากมีช่องว่างอากาศ (air space) ตลอดทั่วลำต้น พบว่าพืชเหล่านี้เมื่อเข้าสู่ฤดูร้อน การสะสมของเศษซากพืชที่ร่วงหล่นและทับถมกันมากขึ้นยังเป็นฉนวนกันความร้อนแก่พื้นดินอีกเช่นกัน ดังนั้นไม่ว่าจะเข้าสู่ฤดูหนาวที่เย็นจัดหรือฤดูร้อนก็ตาม ฉนวนธรรมชาติที่เกิดจากการทับถมของเศษซากพืชจะช่วยรักษาสภาพของบึงประดิษฐ์ไว้ได้ ทำให้ไม่ต้องเสียเวลาในการรื้อถอนและสร้างระบบใหม่ทุกปี

7. บทบาทหน้าที่อื่นๆ พืชน้ำในระบบบึงประดิษฐ์นอกเหนือจากทำหน้าที่เกี่ยวข้องกับการบำบัดน้ำเสียดังกล่าวข้างต้นแล้ว ยังเป็นระบบนิเวศที่เอื้อต่อสิ่งมีชีวิตอื่นอีกด้วย เช่น เป็นแหล่งอาหาร ที่อยู่อาศัย ที่วางไข่ที่สำคัญของสัตว์นานาชนิด เช่น นก เป็นต้น

ปัจจุบันได้มีการนำเอาพืชที่ให้ดอกสวยงาม เช่น *Iris pseudacorus* มาใช้ในบึงประดิษฐ์ด้วยเพื่อใช้เป็นแหล่งพักผ่อนหย่อนใจของมนุษย์ อย่างในประเทศไทยหลังจากเหตุการณ์สึนามิ ประเทศไทยได้รับความร่วมมือทางด้านวิชาการและทุนจากประเทศเดนมาร์ก มาช่วยพัฒนาและจัดตั้งระบบบึงประดิษฐ์เพื่อบำบัดน้ำเสียที่มาจากชุมชนที่ได้รับผลกระทบจากเหตุการณ์สึนามิ ได้แก่ พื้นที่ชุมชนบ้านพรุเตียว จังหวัดพังงา หมู่เกาะพีพี จังหวัดกระบี่ และเทศบาลเมืองป่าตอง จังหวัดภูเก็ต มีการเลือกใช้พุทธรักษาและธรรมรักษา ซึ่งเป็นพืชที่มีดอกสีสันสวยงามและยังสามารถลดปริมาณฟอสฟอรัสและไนโตรเจนได้เป็นอย่างดี โดยมีการออกแบบบึงประดิษฐ์ให้มีลักษณะเป็นสวนหย่อมเพื่อใช้เป็นแหล่งพักผ่อนหย่อนใจของบุคคลในชุมชนนั้นด้วย (Brix et al. 2007; Konnerup, 2009; Konnerup and Brix, 2010)

บทสรุป

การบำบัดน้ำเสียโดยระบบบึงประดิษฐ์เป็นระบบที่มนุษย์สร้างขึ้นจากการลอกเลียนแบบระบบนิเวศของพื้นที่ชุ่มน้ำธรรมชาติที่อาศัยพืชน้ำเป็นตัวดักกรองตะกอน ดูดซึมสารอาหารหรือสารเคมีอันตรายต่างๆ ที่ปนมากับน้ำเสีย ลดปริมาณเชื้อก่อโรค เช่น *Coliform bacteria* เป็นต้น และยังเพิ่มปริมาณก๊าซออกซิเจนให้กับแหล่งน้ำอีกด้วย นอกจากนี้ ยังจัดเป็นระบบนิเวศที่สมบูรณ์เหมาะแก่การเป็นที่อยู่อาศัย เป็นแหล่งอาหารของสัตว์นานาชนิด รวมทั้งยังสามารถตกแต่งให้เป็นสวนหย่อมด้วยการเลือกใช้พืชน้ำที่ให้ดอกสีสันสวยงามเพื่อใช้เป็นที่พักผ่อนหย่อนใจแก่มนุษย์ ดังสรุปในตารางที่ 2 อย่างไรก็ตาม ควรมีการเลือกใช้พืชน้ำให้เหมาะสมกับระบบบึงประดิษฐ์และประเภทของน้ำเสีย ทั้งนี้เพื่อให้ระบบมีประสิทธิภาพมากที่สุด นอกจากนี้ ลักษณะการเจริญเติบโตและความสามารถของพืชน้ำที่นำมาใช้ในแง่ของการพัฒนาคุณภาพน้ำยังจัดว่ามีการศึกษากันน้อย ดังนั้น การศึกษาเพื่อให้ได้ข้อมูลพื้นฐานของพืชน้ำโดยเฉพาะพืชน้ำในเขตร้อนจึงยังเป็นที่น่าสนใจอยู่มาก ซึ่งคาดว่าสามารถนำไปสู่การพัฒนาระบบบึงประดิษฐ์ในประเทศไทยโดยการดัดแปลงนำพืชเขตร้อนมาใช้ได้อย่างเหมาะสมและมีประสิทธิภาพสูงสุด

ตารางที่ 2 หน้าที่ของพืชน้ำในระบบบึงประดิษฐ์โดยสรุป

ส่วนต่าง ๆ ของพืช (Plant parts)	หน้าที่ในระบบ
1. ส่วนของพืชที่สัมผัสอากาศ (Aerial plant tissue)	• ลดปริมาณแสงที่ผ่านลงสู่ท้องน้ำ ⟶ ลดการเจริญเติบโตของสาหร่ายสีเขียว • เป็นฉนวนกันความเย็นในช่วงฤดูหนาวให้แก่ส่วนลำต้นใต้ดิน • แหล่งสะสมธาตุอาหารต่าง ๆ ในเนื้อเยื่อพืช • แหล่งพักผ่อนหย่อนใจแก่มนุษย์และสัตว์นานาชนิด
2. ส่วนของพืชที่จมอยู่ใต้น้ำ (Plant tissue in water)	• ตัวกรองตะกอนและเศษซากอินทรีย์สารต่าง ๆ • ลดความเร็วของกระแสน้ำ ⟶ เพิ่มอัตราการตกตะกอน • เป็นแหล่งที่อยู่อาศัยของจุลินทรีย์ที่เกี่ยวข้องกับการหมุนเวียนธาตุอาหาร • เพิ่มปริมาณก๊าซออกซิเจนในน้ำ จากกระบวนการสังเคราะห์แสง มีผลดีต่อการย่อยสลายแบบใช้ออกซิเจน • ดูดซึมธาตุอาหารต่าง ๆ ที่ปนมากับน้ำเสีย

ตารางที่ 2 หน้าที่ของพืชน้ำในระบบบึงประดิษฐ์โดยสรุป (ต่อ)

ส่วนต่าง ๆ ของพืช (Plant parts)	หน้าที่ในระบบ
3. ส่วนของรากและลำต้นที่อยู่ใต้ดิน (Roots and rhizomes in sediment)	• ป้องกันการอัดกันแน่นของอนุภาคดิน รักษาอัตราการเคลื่อนที่ของน้ำภายในดิน • ปลดปล่อยก๊าซออกซิเจนจากรากพืช ซึ่งมีผลส่งเสริมการย่อยสลายสารอินทรีย์และ nitrification • ดูดซึมธาตุอาหารต่าง ๆ ที่ปนมากับน้ำเสีย • หลั่งสารแอนตี้ไบโอติค (antibiotics)

(ที่มา: Brix, 1997)

เอกสารอ้างอิง

พันธ์ทิพย์ กล่อมเจ๊ก (2551). การประยุกต์ใช้หญ้าอาหารสัตว์ในการบำบัดน้ำเสียในระบบบึงประดิษฐ์. วารสารวิทยาศาสตร์ มข. 36 (4): 312-326.

เบญจนี เครือแก้ว และคณะ (2545). การคัดเลือกพืชน้ำบางชนิดในท้องท้องถิ่นเพื่อบำบัดน้ำเสียจากเขตเทศบาลเมืองสกลนคร. กลุ่มงานวิจัยการใช้น้ำชลประทาน. กรมชลประทาน. 60 หน้า.

เสนีย์ กาญจนวงศ์ (2551). การบำบัดน้ำเสียอุตสาหกรรมในครัวเรือนผลิตกระดาษสาโดยระบบบึงประดิษฐ์แบบน้ำไหลใต้ผิว. รายงานฉบับสมบูรณ์. สำนักงานพัฒนาวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยีแห่งชาติ เครือข่ายภาคเหนือ. 60 หน้า.

ศุวศา กานตวนิชกูร (2544). การกำจัดไนโตรเจนโดยระบบ Combined Constructed Wetland ในเขตอากาศร้อน. รายงานฉบับสมบูรณ์. สำนักงานคณะกรรมการวิจัยแห่งชาติ. 207 หน้า.

Armstrong, J. and Armstrong, W. (1987). *Phragmites australis* - A preliminary study of soil-oxidizing sites and internal gas transport pathway. New Phytologist. 108: 373-382.

Brix, H. (1997). Do macrophytes play a roles in constructed treatment wetlands? Water Science and Technology. 35 (5): 11-17.

Brix, H., Koottatep, T. and Laugesen, C.H. (2007). Wastewater treatment in tsunami affected areas of Thailand by constructed wetlands. Water Science and Technology. 56 (3): 69-74.

Brix, H. and Schierup, H.-H. (1989). The use of aquatic macrophytes in water-pollution control. Ambio. 18 (2): 100-107.

Cronk, J. K. and Fennessy, M. S. (2001). Wetland plants: biology and ecology, New York: CRC Press. 325-355.

Dhote,S and Dixit, S. (2009). Water quality improvement through macrophytes - a review. Environmental Monitoring and Assessment. 152: 149-153.

Greenway, M. (2007). The role of macrophytes in nutrient removal using constructed wetlands. In: Shree, N. and Rudra, D.T., eds. *Environmetal Bioremidiation Technologies.* New York: 331-351.

Kantawanichkul, S., Kladprasert, S. and Brix, H. (2009). Treatment of high-strength waste-water in tropical vertical flow constructed

wetlands planted with *Typha angustifolia* and *Cyperus involucratus*. Ecological Engineering. 35: 238-247.

Konnerup, D., Koottatep, T. and Brix, H. (2009). Treatment of domestic wastewater in tropical, subsurface flow constructed wetlands planted with *Canna* and *Heliconia*. Ecological Engineering. 35: 248-257.

Konerrup, D. and Brix, H. (2010). Nitrogen nutrient of *Canna indica*: Effects of ammonium versus nitrate on growth, biomass allocation, photosynthesis, nitrate reductase activity and N uptake rate. Aquatic Botany. 92: 142-148.

Leterme et al., (2009). Nutritional value of aquatic ferns (*Azolla filiculoides* Lam. and *Salvinia molesta* Mitchell) in pigs. Animal Feed Science and Technology. 149: 135-148.

Srivastava, J., Gupta, A. and Chandra, H. (2008). Managing water quality with aquatic macrophytes. Reviews in Environmental Science and Biotechnology. 7: 255-266.

❑❑❑❑❑

ว.วิทย. มข. 39(2) 193-209 (2554) KKU Sci. J.39(2) 193-209 (2011)

KKU SCIENCE JOURNAL

การตรวจสอบลายนิ้วมือแฝงด้วยวิธีทางกายภาพ

The Detection of Latent Fingerprints by Physical Methods

อารีย์ ชูดำ [1,2] และ วรวิทย์ วงศ์นิรามัยกุล [2,3]*

บทคัดย่อ

วิธีทางกายภาพเป็นหนึ่งในการตรวจสอบลายนิ้วมือแฝงที่ได้รับความสนใจเป็นอย่างมาก วิธีการนี้อาศัยพื้นฐานของอันตรกิริยาระหว่างองค์ประกอบทางเคมีของลายนิ้วมือและสิ่งที่นำมาใช้ เช่น ผงฝุ่น อนุภาคขนาดนาโน ไอของสารเคมีหรืออื่นๆ โดยองค์ประกอบทางเคมีของรอยประทับลายนิ้วมือไม่เปลี่ยนแปลงสมบัติใดๆ ในขณะสิ่งที่นำมาใช้หรือพื้นผิวเกิดการเปลี่ยนแปลงสมบัติทำให้สามารถตรวจสอบได้ เช่น ฤกรีดิวซ์ทำให้เกิดการเปลี่ยนแปลงสี เกิดโพลิเมอไรเซชันกลายเป็นพอลิเมอร์ยึดเกาะบริเวณลายนิ้วมือ เกิดการกัดกร่อน เป็นต้น จากการรวบรวมงานวิจัยพบว่า การนำนาโนเทคโนโลยีมาใช้ในการพัฒนาอนุภาคขนาดนาโนเพื่อประยุกต์ใช้ในการตรวจสอบลายนิ้วมือแฝงได้รับความสนใจอย่างมาก เนื่องจากอนุภาคขนาดนาโนมีขนาดเล็กกว่าผงฝุ่นซึ่งใช้กันโดยทั่วไปมาก ทำให้การยึดเกาะกับสารเคมีจากรอยประทับลายนิ้วมือดีกว่า ลายนิ้วมือที่ปรากฏจึงมีความคมชัดมากขึ้น โดยมีการวิจัยพัฒนาอนุภาคขนาดนาโนทั้งที่มีและไม่มีการปรับเปลี่ยนหมู่ฟังก์ชัน หากมีการปรับเปลี่ยนหมู่ฟังก์ชันของอนุภาคขนาดนาโน จะทำให้ความไววิเคราะห์เพิ่มขึ้น สามารถตรวจสอบลายนิ้วมือที่มีอายุมากหรือลายนิ้วมือที่ถูกทำลาย เนื่องจากสภาพแวดล้อมได้ ปัจจุบันบางวิธีมีการอธิบายกลไกของการปรากฏของลายนิ้วมือแล้ว ในขณะที่บางวิธียังมีข้อโต้แย้งอยู่ เช่น ปฏิกิริยาโพลิเมอไรเซชันของสารไซยาโนอะคริเลท นอกจากนี้ยังมีการพัฒนาขั้นตอนการตรวจวัดให้สั้นลง เช่น การพัฒนา Single-Metal Deposition เป็นต้น การพิจารณาเลือกใช้วิธีทางกายภาพต้องคำนึงถึงธรรมชาติของพื้นผิว องค์ประกอบทางเคมีของรอยประทับลายนิ้วมือ สิ่งปนเปื้อน ระยะเวลาและอื่นๆ

[1] ภาควิชาวิทยาศาสตร์ประยุกต์ คณะวิทยาคาสตร์ มหาวิทยาลัยสงขลานครินทร์ อ.หาดใหญ่ จ.สงขลา 90112

[2] สถานวิจัยการวิเคราะห์สารปริมาณน้อยและไบโอเซนเซอร์ มหาวิทยาลัยสงขลานครินทร์ อ.หาดใหญ่ จ.สงขลา 90112

[3] คณะเทคโนโลยีและสิ่งแวดล้อม มหาวิทยาลัยสงขลานครินทร์ วิทยาเขตภูเก็ต จ.ภูเก็ต 83120

* Corresponding Author, E-mail: aree.c@psu.ac.th

บทนำ

นักนิติวิทยาศาสตร์เชื่อว่า ทุกครั้งที่มีการกระทำต่อกันจะทิ้งร่องรอยไว้เสมอ ("Every contact leaves a trace") ดังนั้นเมื่อนักนิติวิทยาศาสตร์เข้าตรวจสอบสถานที่เกิดเหตุ จึงต้องตรวจสอบหาร่องรอยที่ผู้กระทำผิดหรือผู้เกี่ยวข้องทิ้งไว้

ลายนิ้วมือเป็นวัตถุพยานที่สำคัญมากสำหรับงานด้านนิติวิทยาศาสตร์ เพราะมีลักษณะเฉพาะของแต่ละบุคคลและไม่เปลี่ยนแปลงตามกาลเวลา จึงสามารถนำไปพิสูจน์เอกลักษณ์ของผู้กระทำผิดและผู้เกี่ยวข้องได้ (Saferstein, 2004; Seah et al., 2005) Galton (1892) ได้ทำการทดลองโดยแบ่งลายนิ้วมือของมนุษย์ออกเป็นส่วนๆ เพื่อหาความน่าจะเป็นที่ลายนิ้วมือของบุคคลจะซ้ำกัน พบว่า โอกาสที่คนสองคนจะมีลายนิ้วมือเหมือนกันมีเพียง 1 ใน 64,000,000,000 เท่านั้น ซึ่งสอดคล้องกับการประมาณการโดยใช้แบบจำลองทางคณิตศาสตร์ ซึ่งพบว่า โอกาสที่คนสองคนจะมีลายนิ้วมือเหมือนกันมีน้อยมาก (Saferstein, 2004) นอกจากนี้การตรวจพบลายนิ้วมืออาจให้ข้อมูลดีเอ็นเอของผู้กระทำผิดซึ่งสามารถใช้เป็นหลักฐานในการยืนยันตัวบุคคลได้หนักแน่นมากขึ้นอีกด้วย (Balogh et al., 2003; Castello et al., 2002; Schulz and Reichert, 2002; Schulz et al., 2004; Van Oorschot and Jones, 1997; Zamir et al., 2000)

ลายนิ้วมือเกิดขึ้นในชั้นเดอมัล พาพิวเลอิ (Dermal papillae) ใต้ผิวหนัง ถูกควบคุมโดยยีนและปัจจัยภายนอกอื่นๆ ถูกพัฒนาขึ้นตั้งแต่เป็นตัวอ่อน (fetus) และจะไม่เปลี่ยนแปลงรูปแบบตลอดชีวิต (Saferstein, 2004) ส่วนประกอบของลายนิ้วมือมี 2 ส่วน ได้แก่ ส่วนที่เป็นสัน (hill หรือ ridge) (ส่วนที่เป็นสีดำในรูปที่ 1a) และส่วนที่เป็นร่อง (grove หรือ valley คือ ส่วนที่เป็นสีขาว ในรูปที่ 1a) ในแต่ละสันของผิวหนังจะมีรูของต่อมเหงื่อเรียงกันเป็นแถว เมื่อนิ้วไปสัมผัสกับบริเวณใด เหงื่อและไขมันที่ถูกขับออกมาพร้อมทั้งสารอื่นๆ ซึ่งถูกขับออกมาจากต่อมไขมัน เนื่องจากการสัมผัสกับพื้นผิว จะติดอยู่กับผิวสัมผัส เกิดรอยประทับของรูปแบบหรือลักษณะเฉพาะตัวของสัน ซึ่งใช้ในการพิสูจน์เอกลักษณ์ของบุคคล

ลักษณะเฉพาะตัวของสัน หรือที่เรียกว่าไมนูเทีย (minutiae) ถูกกำหนดโดยพิจารณาปัจจัยหลายอย่างประกอบกัน เช่น ลักษณะเฉพาะ จำนวน ตำแหน่งและทิศทางของสัน (หรือเส้น) การสิ้นสุดของสัน (ridge ending) สันที่แตกแขนง (bifurcation) สันแบบจุด (dot) เป็นต้น และเมื่อต้องการเปรียบเทียบลายนิ้วมือสองลายนิ้วมือว่าเป็นลายมือจากเจ้าของคนเดียวกันหรือไม่นั้น จำเป็นต้องชี้ให้เห็นลักษณะเฉพาะของลายนิ้วมือว่ามีความเหมือนกันและจะต้องอยู่ในตำแหน่งเดียวกันด้วย การพิสูจน์ในชั้นศาลนั้นผู้เชี่ยวชาญจะต้องมีการชี้แจงรายละเอียดบนลายนิ้วมือแบบจุดต่อจุด (Saferstein, 2004) รูปแบบลายนิ้วมือแบ่งเป็น 3 แบบหลักๆ ได้แก่ ลายก้นหอย (whorl) ลายมัดหวาย (loop) และลายโค้ง (arch) (รูปที่ 1b)

ลายนิ้วมือที่ประทับบนพื้นผิวแบ่งออกเป็น 3 แบบ ได้แก่ ลายนิ้วมือสามมิติ (Indented fingerprint) ลายนิ้วมือที่มองเห็นได้ด้วยตาเปล่า (visible fingerprints) และลายนิ้วมือแฝง (latent fingerprints) โดยลายนิ้วมือสามมิติจะปรากฏในลักษณะสามมิติ มีความกว้าง ความยาวและความลึก เกิดจากการสัมผัสกับวัสดุที่มีลักษณะนิ่มและไม่ยืดหยุ่น (semi-solid substance) เช่น ขี้ผึ้ง ดินเหนียว ปูนกึ่งแห้ง เป็นต้น ในขณะที่ลายนิ้วมือที่มองเห็นได้ด้วยตาเปล่าจะปรากฏให้เห็นชัดเจนโดยไม่จำเป็นจะต้องใช้กระบวนการใดๆ เพิ่มเติม เช่น รอยประทับลายนิ้วมือที่เปื้อนหรือประทับบนฝุ่น เลือด สี โดยปรากฏในลักษณะสองมิติ มีความกว้างและความยาว สำหรับลายนิ้วมือแฝงนั้นเป็นลายนิ้วมือที่มีความสำคัญมากที่สุดเนื่องจากตรวจพบในสถานที่เกิดเหตุบ่อยที่สุดและตรวจสอบได้ยากที่สุดเนื่องจากเป็นลายนิ้วมือที่มองไม่เห็นด้วยตาเปล่าหรือมองเห็นได้ไม่ชัดเจน (Lennard, 2001; Seah et al., 2004; Seah et al., 2005; Smith et al., 1993) จึงจำเป็นจะต้องมีกระบวนการหรืออุปกรณ์เพิ่มเติมเพื่อทำให้ลายนิ้วมือนั้นมองเห็นและตรวจสอบได้

(a)

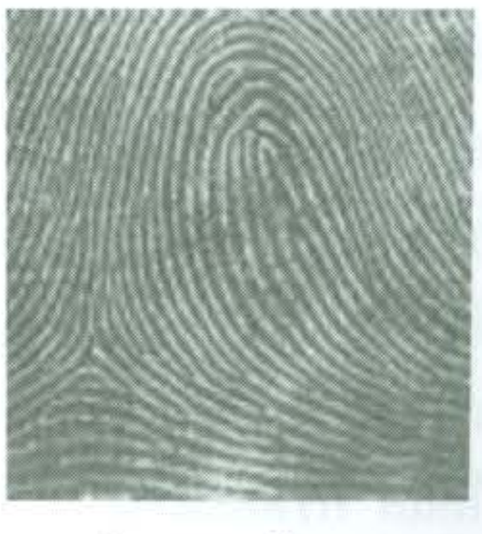
(b)

ลายโค้ง (Arch)

ลายมัดหวาย (Loop)

ลายก้นหอย (Whorl)

ลายโค้งสูงแบบกระโจม (Tented arch)



ลายมัดหวายเอียงขวา (Right loop)

ลายมัดหวายเอียงซ้าย (Left loop)

รูปที่ 1 (a) ลักษณะเฉพาะของสัน (ridge characteristic) (b) รูปแบบของลายนิ้วมือชนิดต่างๆ (ดัดแปลงจาก ปรีชา คำแหง, 2550; Saferstein, 2004)

วิธีการสำหรับตรวจสอบลายนิ้วมือแฝงแบ่งออกเป็น 3 กลุ่ม ได้แก่ วิธีการทางแสง (optical methods) วิธีการทางกายภาพ (physical method) และวิธีทางเคมี (chemical methods) วิธีการเหล่านี้อาจถูกนำมาใช้งานร่วมกันเพื่อเพิ่มประสิทธิภาพของการตรวจวัดให้ได้มากที่สุด โดยวิธีการทางแสงมักเป็นวิธีการแรกที่ถูกนำมาใช้เนื่องจากเป็นวิธีที่ง่าย รวดเร็ว และไม่ทำลายตัวอย่าง หลังจากนั้นจึงอาจจะมีการนำเทคนิคทางกายภาพหรือทางเคมีมาใช้เพื่อเพิ่มรายละเอียดหรือความชัดเจนของลายนิ้วมือที่ถูกตรวจพบ วิธีการเหล่านี้จำเป็นจะต้องนำมาใช้อย่างระมัดระวังตามลำดับก่อนหลังอย่างเป็นระบบ เนื่องจากลายนิ้วมือเป็นวัตถุพยานที่เสียหายได้ง่าย (Lennard, 2001)

บทความนี้ได้รวบรวมงานวิจัยที่เกี่ยวข้องกับการตรวจสอบลายนิ้วมือแฝงโดยใช้วิธีการทางกายภาพเพื่อเป็นประโยชน์ต่อผู้ที่ปฏิบัติงาน และอาจเป็นแนวทางการทำงานวิจัยของผู้สนใจงานวิจัยด้านการตรวจสอบลายนิ้วมือ

การตรวจสอบลายนิ้วมือแฝงด้วยวิธีทางกายภาพ

ปัจจัยพื้นฐาน

เนื่องจากการตรวจสอบลายนิ้วมือแฝงต้องมีกระบวนการทำให้รอยประทับลายนิ้วมือที่มองไม่เห็นด้วยตาเปล่าปรากฏและสามารถตรวจสอบได้ ดังนั้นสิ่งที่สำคัญที่สุดในการตรวจสอบลายนิ้วมือแฝงด้วยวิธีทางกายภาพ คือ ปริมาณและองค์ประกอบทางเคมีของรอยประทับที่จะเกิดอันตรกิริยากับกระบวนการทางกายภาพ จากการศึกษาพบว่า รอยประทับลายนิ้วมือประกอบด้วยน้ำ ร้อยละ 99 และสารเคมีอื่นๆ ร้อยละ 1 (Choi et al., 2008) ได้แก่ กรดอะมิโนอย่างน้อย 12 ชนิด กรดไขมันอย่างน้อย 10 ชนิด (Croxton et al., 2006) สารประกอบกลุ่มโปรตีน ยูเรีย น้ำตาล กรดยูริก กรดแลคติก กลีเซอไรด์ วิตามิน สควาลีน (squalene) เป็นต้น สารเคมีเหล่านี้เป็นของเหลว ใส ไม่มีสี ดังนั้นรอยประทับเหล่านี้จึงไม่สามารถมองด้วยตาเปล่าได้

ปริมาณและองค์ประกอบของสารเคมีเหล่านี้ขึ้นอยู่กับปัจจัยทั้งจากตัวบุคคล เช่น อายุ เพศ การออกกำลังกาย ความเครียด การใช้ยาหรือการลดน้ำหนัก และปัจจัยจากสิ่งแวดล้อม เช่น อุณหภูมิ ความชื้น (Choi et al., 2008) และเกิดการเปลี่ยนแปลงเมื่อเวลาผ่านไป โดยเฉพาะอย่างยิ่งเมื่ออยู่ในสิ่งแวดล้อมที่ไม่เหมาะสม เช่น ถูกแสงแดด หรือมีอุณหภูมิสูง (Archer et al., 2005) นอกจากนี้ธรรมชาติของพื้นผิวที่ลายนิ้วมือประทับอยู่ เช่น รูพรุนและความเรียบของพื้นผิว สิ่งปนเปื้อน ปัจจัยแวดล้อม (พื้นผิวเปียกหรือไม่) ระยะเวลา และอื่นๆ จะส่งผลต่อประสิทธิภาพของการตรวจสอบลายนิ้วมือ

เทคนิคการตรวจสอบด้วยวิธีทางกายภาพ

การตรวจสอบลายนิ้วมือแฝงด้วยวิธีการทางกายภาพ หมายถึง วิธีการที่ทำให้ลายนิ้วมือแฝงปรากฏโดยที่องค์ประกอบทางเคมีของรอยประทับไม่มีการเปลี่ยนแปลงสมบัติใดๆ ลายนิ้วมือแฝงสามารถปรากฏให้เห็นได้เนื่องจากจากอันตรกิริยาระหว่างองค์ประกอบทางเคมีของลายนิ้วมือและสิ่งที่นำมาใช้ เช่น ผงฝุ่น อนุภาคขนาดนาโน ไอของสารเคมีหรืออื่นๆ ทำให้สิ่งเหล่านี้เกิดการเปลี่ยนแปลงสมบัติที่สามารถตรวจสอบได้ง่าย เช่น ถูกรีดิวซ์ทำให้เกิดการเปลี่ยนแปลงสี เกิดพอลิเมอไรเซชันกลายเป็นพอลิเมอร์ยึดเกาะบริเวณลายนิ้วมือ เป็นต้น

วิธีการตรวจสอบลายนิ้วมือทางกายภาพมีหลายวิธี ได้แก่ (1) การใช้ผงฝุ่น (powdering method) ซึ่งปัจจุบันมีการนำอนุภาคขนาดนาโนมาใช้เพื่อช่วยเพิ่มประสิทธิภาพการยึดเกาะ (2) การใช้สารแขวนลอยของอนุภาคขนาดเล็ก (small particle reagents; SPR) (3) การใช้ไอของสารไซยาโนอะคริเลท (cyanoacrylate fuming method; CFM; superglue) (4) การใช้โลหะเกาะกับพื้นผิว (metal deposition; MD) โดยอาจทำภายใต้สภาวะสุญญากาศ (vacuum metal deposition; VMD) การใช้โลหะหลายชนิด (multi-metal deposition) และการใช้โลหะเพียงชนิดเดียว (single-metal deposition)

1. การใช้ผงฝุ่นและอนุภาคขนาดนาโน

วิธีการใช้ผงฝุ่นเป็นวิธีการตรวจสอบทางกายภาพที่นิยมใช้มากที่สุดเนื่องจากเป็นวิธีที่ง่าย ไม่แพง และให้ผลน่าพอใจ โดยต้องการสารเคมีจากรอยประทับอย่างน้อย 500 ถึง 1000 ng (Lennard, 2001) มีหลักการคือผงฝุ่นจะติดกับความชื้นและไขมันจากรอยประทับลายนิ้วมือบริเวณสันในขณะที่บริเวณร่องไม่เกิดการยึดติดของผงฝุ่น ทำให้บริเวณสันของลายนิ้วมือมีสีแตกต่างไปจากพื้นผิวจึงสามารถมองเห็นลายนิ้วมือได้ (Sodhi and Kaur, 2001)

ผงฝุ่นสามารถยึดติดอยู่กับลายนิ้วมือได้เนื่องจากอนุภาคของผงฝุ่นจะเปียกเฉพาะด้านที่สัมผัสกับความชื้นหรือไขมันเท่านั้น ทำให้เกิดการไม่สมดุลของแรงดันภายในอนุภาคของผงฝุ่น นอกจากนี้ยังเกิดจากแรงดึงดูดทางไฟฟ้าสถิตย์ระหว่างอนุภาคและสารเคมีจากรอยประทับอีกด้วย (Sodhi and Kaur, 2001; Thomas, 1978)

การเลือกใช้ผงฝุ่นต้องคำนึงถึงหลายปัจจัย ได้แก่ สีของผงฝุ่นต้องแตกต่างจากพื้นผิวเพื่อให้มองเห็นลายนิ้วมืออย่างชัดเจน องค์ประกอบของผงฝุ่นต้องไม่เกิดอันตรกิริยาทางเคมีและไม่เกิดแรงยึดทางกายภาพที่แข็งแรงกับพื้นผิวจนเกินไป (Sodhi and Kaur, 2001) รวมทั้งขนาดของผงฝุ่นซึ่งจะส่งผลต่อการยึดติดกับพื้นผิว เป็นต้น บางครั้งอาจมีการนำผงฝุ่น 2 ชนิดหรือมากกว่ามาผสมกันเรียกว่า ผงฝุ่นผสม เพื่อให้ได้ผงฝุ่นที่มีสีและการยึดติดเหมาะกับพื้นผิวแต่ละชนิด

ผงฝุ่นมีหลายชนิดแบ่งตามหลักขององค์ประกอบทางเคมีได้ 3 ประเภท ได้แก่ ผงฝุ่นชนิดธรรมดา เช่น ผงฝุ่นขาว (ผงผสมระหว่างสังกะสีออกไซด์กับแป้ง) จะประกอบด้วยพอลิเมอร์ยึดเกาะและผงสี โดยพอลิเมอร์ยึดเกาะ ได้แก่ แป้ง ดินขาว ยางสน และซิลิกาเจล จะทำหน้าที่ยึดติดกับรอยประทับลายนิ้วมือ ในขณะที่ผงสีซึ่งเป็นสารประกอบจำพวกเกลืออนินทรีย์หรือสีอินทรีย์ จะถูกดูดซับอยู่บนพอลิเมอร์ยึดเกาะเพื่อให้ตามนุษย์มองเห็นสี เหล่านี้ได้ สีอินทรีย์จะได้รับความนิยมมากกว่าเนื่องจากมีอันตรายกับผู้ใช้น้อยกว่า บางครั้งผงฝุ่นชนิดนี้จะถูกเคลือบอยู่บนอนุภาคของควอทซ์หรือพลาสติกเพื่อเพิ่มประสิทธิภาพการใช้งาน เช่น ผงฝุ่นดำ ซึ่งประกอบด้วย ออกไซด์ของเหล็ก ควอทซ์ ดินขาว และผงคาร์บอน ซึ่งสามารถใช้งานกับวัสดุพื้นผิวเรียบได้ดีเยี่ยมทั้งในสภาวะที่วัสดุแห้ง เปียกหรือถูกแช่แข็ง ทั้งที่เป็นลายนิ้วมือเก่าและใหม่ (Haque et al., 1989) ผงฝุ่นประเภทที่สอง คือ ผงฝุ่นโลหะ เช่น ผงฝุ่นเงิน ซึ่งประกอบด้วยผงอะลูมิเนียมบดและควอทซ์ผงฝุ่นทอง ประกอบด้วยผงทองแดงบดและควอทซ์ เป็นต้น ผงโลหะมีข้อดี คือ มีอายุการใช้งานนานกว่าผงธรรมดา แต่อาจเป็นพิษกับผู้ใช้ได้ (Sodhi and Kaur, 2001) ประสิทธิภาพของผงฝุ่นชนิดนี้จะขึ้นกับขนาดอนุภาคของโลหะซึ่งควรอยู่ในช่วง 1 ถึง 50 ไมโครเมตร (James et al., 1991a; James et al., 1991b)

ผงฝุ่นประเภทสุดท้าย ได้แก่ ผงฝุ่นลูมิเนสเซนต์ ซึ่งสามารถสะท้อนแสงได้ ทำให้มีข้อดีกว่าผงฝุ่นอื่นๆ คือ เมื่อใช้งานกับพื้นผิวที่มีหลายสีจะให้ความคมชัดมากกว่าและสามารถใช้งานกับรอยประทับที่มีรายละเอียดน้อยได้ ผงฝุ่นชนิดนี้จะประกอบด้วยผงอินทรีย์ที่สามารถสะท้อนแสงได้ ได้แก่ acridine yellow, acridine orange, curmarin 6, rhodamine B, rhodamine 6G, eosin-blue dye, lanthanide complex เป็นต้น นอกจากนี้ปัจจุบันมีการพัฒนาผงฝุ่นที่สามารถเรืองแสงได้ (phosphor powder) ขึ้นมาโดยใช้ europium doped strontium aluminate phosphor ทำให้ไม่จำเป็นต้องมีอุปกรณ์ทางแสงที่พิเศษใดๆ ในการตรวจวัด (Liu et al., 2009)

ปัจจุบันมีการนำอนุภาคขนาดนาโน (ขนาด 1 ถึง 100 นาโนเมตร) ซึ่งมีขนาดเล็กกว่าผงฝุ่นมาใช้ทำให้ประสิทธิภาพในการยึดติดเพิ่มขึ้น (Choi et al., 2006; Sodhi and Kaur, 2001; Wilshire, 1996) (รูปที่ 2) อนุภาคขนาดนาโนที่มีการนำมาใช้งานในการตรวจสอบลายนิ้วมือมากที่สุด คือ อนุภาคขนาดนาโนของทองซึ่งมีความเสถียร ทนต่อการออกซิเดชัน

ได้ดี และอาจมีการปรับเปลี่ยนผิวของอนุภาคขนาดนาโนให้มีสมบัติเฉพาะมากขึ้น เช่น การนำสีเรืองแสงที่สังเคราะห์จาก oleylamine และ perylene dianhydride มาดูดซับบนอนุภาคขนาดนาโนของไททาเนียมไดออกไซด์เพื่อใช้ตรวจสอบลายนิ้วมือแฝง ซึ่งพบว่าผงที่สังเคราะห์ขึ้นจะให้ความเข้มของการเรืองแสงน้อยกว่าผงที่มีใช้อยู่ทั่วไป แต่ให้การตอบสนองของพื้นหลังน้อยกว่า ทำให้ลายนิ้วมือมีความคมชัดมากขึ้น (Choi et al., 2007) หรือการนำไอออนแลนทาไนด์ (Eu^{3+}) มาสร้างสารประกอบเชิงซ้อนกับลิแกนด์ที่สามารถเรืองแสงได้ (fluorescent/ Eu^{3+} metal ions/ sensitizer complex) มาใช้ในการปรับเปลี่ยนสมบัติของเจลนาโนคอมพอสิทของซิลิกอนไดออกไซด์ (SiO_2 nanocomposite xerogel) แล้วบดเป็นผงสำหรับนำไปใช้ในการตรวจสอบลายนิ้วมือแฝง (Liu et al., 2008)

(a) Black powder **(b) Gold nanoparticle**

รูปที่ 2 การตรวจสอบลายนิ้วมือแฝงโดยใช้ (a) ผงฝุ่นดำ (b) อนุภาคขนาดนาโนของทอง จะเห็นได้ว่า การใช้อนุภาคขนาดนาโนซึ่งมีขนาดอนุภาคเล็กกว่าผงฝุ่นดำ ทำให้ลายนิ้วมือแฝงที่ปรากฏคมชัด มีรายละเอียดและความถูกต้องมากขึ้น (Choi et al., 2008; Choi et al., 2006)

2. การใช้สารแขวนลอยของอนุภาคขนาดเล็ก

นอกจากการใช้ผงฝุ่นและอนุภาคขนาดนาโนแล้ว ยังมีการใช้สารแขวนลอยของอนุภาคขนาดเล็กในสารละลายของสารลดแรงตึงผิว (small particle reagents; SPR) ซึ่งนิยมใช้กับพื้นผิวเปียกและพื้นผิวที่ไม่มีรูพรุน โดยอาศัยหลักการของการเกิดอันตรกิริยาระหว่างกรดไขมันจากรอยประทับลายนิ้วมือกับส่วนหางที่ไม่มีขั้ว (hydrophobic tail) ของสารลดแรงตึงผิว ในขณะที่ส่วนหัวของสารลดแรงตึงผิวนี้จะมีขั้ว (hydrophilic head) จึงเกิดอันตรกิริยากับเกลือของโลหะซึ่งมีอนุภาคขนาดเล็ก เกิดตะกอนสีน้ำตาล ขาว หรือดำ ขึ้นอยู่กับชนิดของอนุภาคขนาดเล็ก (Cuce et al., 2004; Jasuja et al., 2008; Polimeni et al., 2004) เช่น อนุภาคของโมลิบดินัมไดซัลไฟด์ยึดเกาะกับกรดไขมันของลายนิ้วมือจึงปรากฏเป็นสีเทา (Haque et al., 1989) อนุภาคออกไซด์ของสังกะสี หรือไททาเนียมไดออกไซด์หรือซิงค์คาร์บอเนตจะยึดเกาะและปรากฏสีขาว (Frank and Almog, 1993; Jones et al., 2010; Polimeni et al., 2004) ในขณะที่หากอนุภาคขนาดเล็กเป็นส่วนผสมของคาร์บอนแบล็ค (carbon black) และคาร์บอน กราไฟท์ (carbon graphite) จะปรากฏเป็นสีดำ (Kolar-Gregoric, 2003) อย่างไรก็ตามการใช้อนุภาคแขวนลอยขนาดเล็กมักเกิดปัญหาของความคมชัดของลายนิ้วมือที่ประทับอยู่บนพื้นผิวที่มีหลากสีหรือรอยประทับที่มีรายละเอียดน้อย ดังนั้นจึงมีการปรับปรุงสมบัติของอนุภาคแขวนลอยขนาดเล็กให้เรืองแสงได้ เช่น อนุภาคของโมลิบดินัมไดซัลไฟด์ (Springer and Bregman, 1995) ซิงค์คาร์บอเนต (Jasuja et al., 2008) อนุภาคขนาดนาโนของซิลิกา (Theaker et al., 2009) ซึ่งถูกแขวนลอย (เพื่อปรับหมู่ฟังก์ชัน) ในสารละลายของ basic yellow 40 หรือ crystal violet หรือ rhodamine 6G ในเอทานอล เป็นต้น หรือ การใช้ quantum dot ซึ่งเป็นผลึกขนาดนาโนกึ่งตัวนำที่สามารถเรืองแสงได้ด้วยตัวเอง เช่น cadmium sulfide quantum dot (CdS QD) (Dilag et al., 2009; Yu-Juan et al., 2008) หรือ cadmium selenium quantum dot (CdSe QD) (Wang et al., 2009) จากการศึกษาพบว่า quantum dot เหล่านี้มีความเข้มของการเรืองแสงสูงกว่าสีเรืองแสง (เช่น rhodamine 6G และอื่นๆ) ถึง 20 เท่า (Jamieson et al., 2007) แต่จะต้องมีการปรับผิวเพื่อให้ยึดเกาะกับรอยประทับของลายนิ้วมือ เช่น ใช้ dioctyl sulfosuccinate (Menzel et al., 2000) dendrimer (Li et al., 2003; Yu-Juan et al., 2008) mercaptoacetic acid (Wang et al., 2009) และ chitosan (Dilag et al., 2009) เป็นต้น

3. การใช้ไอของสารไซยาโนอะคริเลท

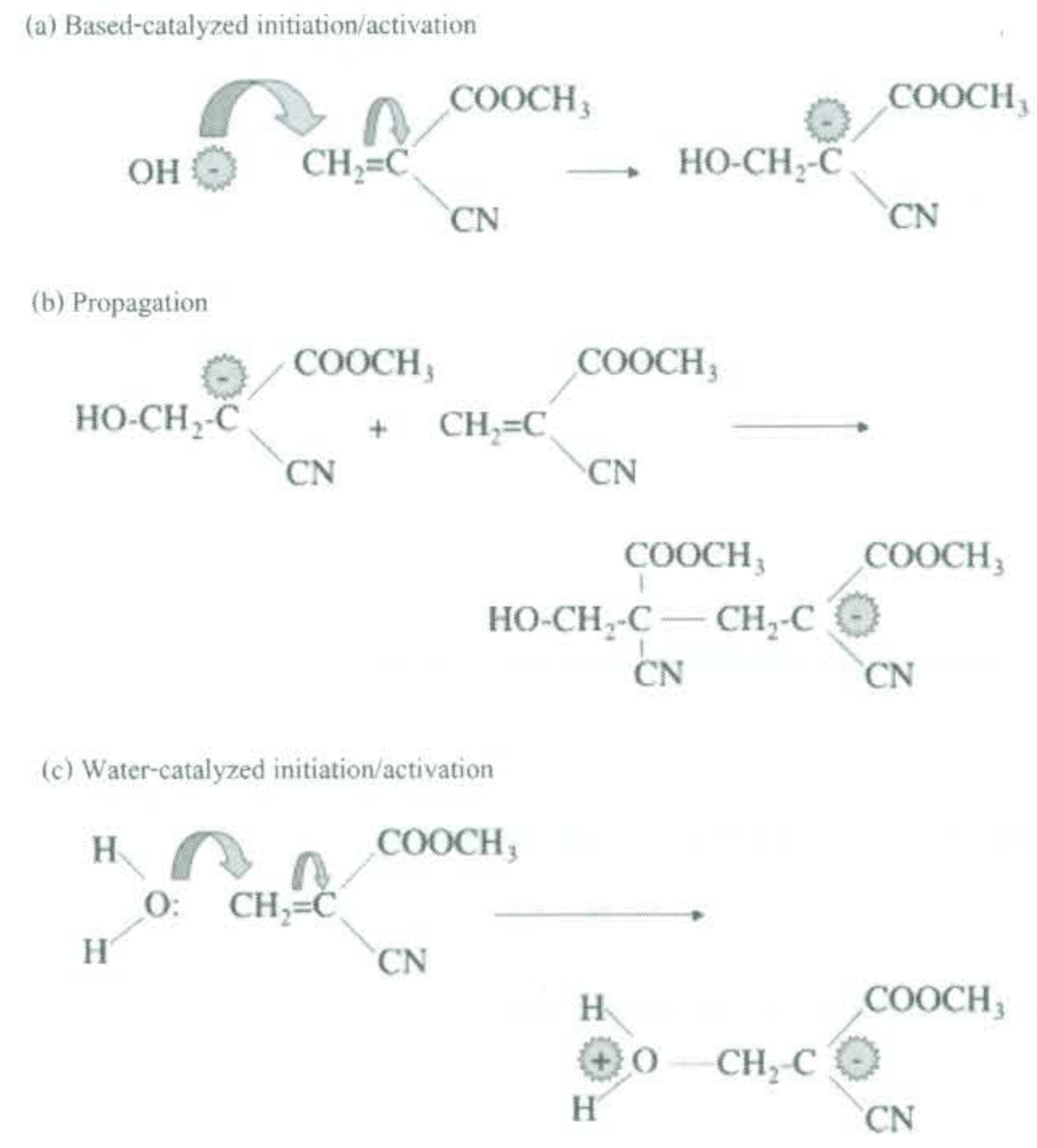
การใช้ไอของสารไซยาโนอะคริเลทอาศัยพื้นฐานของอันตรกิริยาระหว่างไอของสารเมทิลหรือเอทิลไซยาโนอะคริเลทและสารเคมีจากต่อมเหงื่อซึ่งอยู่บนรอยประทับลายนิ้วมือทำให้เกิดการพอลิเมอไรเซชันอย่างรวดเร็วในระบบปิด เกิดเป็นพอลิเมอร์สีขาวเกาะติดอยู่กับบริเวณสันของลายนิ้วมือ แต่จะไม่เกาะบริเวณพื้นผิว (Czekanski et al., 2006; Wargacki et al., 2007; Wargacki et al., 2008) ก่อนหน้านี้เกิดข้อขัดแย้งระหว่างรายงานของนักวิจัย เรื่องกลไกการเกิดพอลิเมอร์สีขาว บางกลุ่มเชื่อว่า เกิดจากสารอินทรีย์ในลายนิ้วมือทำปฏิกิริยากับไอของสารไซยาโนอะคริเลท ในขณะที่บางกลุ่มเชื่อว่า พอลิเมอร์สีขาวนั้นเกิดจากการจับกันระหว่างโปรตีนในลายนิ้วมือเอง (Houck and Siegel, 2006) แต่มีบางกลุ่มคิดว่า น้ำเป็นตัวริเริ่มปฏิกิริยาพอลิเมอไรเซชันของเอทิลไซยาโนอะคริเลท (Edwards and Day, 2004) Czekanski et al. (2006) ตั้งสมมุติฐานว่า สารไฮโดรคาร์บอนกลุ่มอัลเคนน่าจะเป็นส่วนที่ทำให้เกิดพอลิเมอร์ แต่จากการทดลองยังไม่สามารถสรุปผลตามสมมุติฐานได้ แต่ให้ความเห็นว่าการเกิดพอลิเมอร์ไม่ได้เกิดขึ้นแค่เพียงมอนอเมอร์ทำปฏิกิริยากับนิวคลีโอไฟล์ (รูปที่ 3) แต่ต้องมีขั้นตอนทางกายภาพและเคมีซึ่งมีอัตราการเกิดที่เฉพาะ แต่ Wargacki et al. (2007) พบว่า สารเคมีจากต่อมเหงื่อได้แก่ หมู่คาร์บอกซิเลทของโมเลกุลแลคเตตและของ

กรดอะมิโน เช่น อะลานีน เป็นตัวริเริ่มปฏิกิริยาที่แท้จริง โดยทั้งแลคเตตและอะลานีนมีกลไกการเกิดปฏิกิริยาเหมือนกันและพอลิเมอร์ที่ได้มีปริมาณและน้ำหนักของโมเลกุลไม่แตกต่างกัน ปัจจัยที่ส่งผลต่อปริมาณและน้ำหนักของพอลิเมอร์ที่เกิดขึ้น คือ ความเป็นกรด-ด่างของสภาวะที่ใช้ โดยสภาวะที่เป็นกรดจะทำให้พอลิเมอร์ที่เกิดขึ้นมีน้ำหนักโมเลกุลต่ำ แต่ยังสามารถเกิดการโพลิเมอไรเซชันได้ ในขณะที่สภาวะด่างทำให้ทั้งปริมาณมวลรวมและน้ำหนักของโมเลกุลของพอลิเมอร์เพิ่มขึ้น แต่ต้องใช้เวลานาน ทั้งนี้เนื่องจากไอออนของไฮโดรเจนจะเป็นตัวหยุดปฏิกิริยา เมื่อความเป็นด่างของสิ่งแวดล้อมสูง ความเข้มข้นของไฮโดรเจนไอออนต่ำ ทำให้การหยุดปฏิกิริยาเกิดขึ้นน้อย จึงได้พอลิเมอร์ที่มีขนาดใหญ่กว่าและปริมาณมาก ในขณะที่ในสภาวะที่เป็นกรด ปริมาณไฮโดรเจนไอออนมีมาก จึงทำให้ปฏิกิริยาโพลิเมอไรเซชันถูกหยุดทำให้ได้พอลิเมอร์ที่มีน้ำหนักโมเลกุลต่ำ แต่เนื่องจากปริมาณไอของสารเอทิลไซยาโนอะคริเลทยังมีอยู่ การเกิดโพลิเมอไรเซชันเป็นพอลิเมอร์สายใหม่ยังเกิดขึ้นได้ต่อไป แต่หลังจากนั้นก็จะถูกหยุดปฏิกิริยาด้วยไฮโดรเจนไอออนและเกิดปฏิกิริยาแบบเดียวกันต่อไป วิธีนี้ได้รับการยอมรับอย่างมากสำหรับใช้งานบนพื้นผิวที่ไม่มีรูพรุน เช่น โลหะ พลาสติก (Czekanski et al., 2006; Jones et al., 2001a; Jones et al., 2001b; Jones et al., 2001c; Wargacki et al., 2007; Wargacki et al., 2008) โดยมีข้อได้เปรียบกว่าวิธีอื่นๆ ได้แก่ ง่าย ทำได้ที่ความดันบรรยากาศ (Czekanski et al., 2006) แต่พบว่าเมื่อใช้วิธีนี้ตรวจสอบลายนิ้วมือแฝงที่มีอายุมาก (aged fingerprint) จะปรากฏลายนิ้วมือที่มีคุณภาพไม่ดี นั่นคือ เกิดพอลิเมอร์น้อย โดยจากการศึกษาพบว่า การเกิดพอลิเมอร์น้อยไม่ได้มาจากการสูญเสียน้ำของลายนิ้วมือ แต่เกิดจากการสูญเสียน้ำร่วมกับการได้รับแสงและกระแสลม โดยการได้รับแสงและกระแสลมจะทำให้ตัวริเริ่มปฏิกิริยาโพลิเมอไรเซชัน (ได้แก่ แลคเตตและกรดอะมิโน) สลายตัว ทำให้เกิดพอลิเมอร์น้อยลง (Wargacki et al., 2008) แต่สามารถปรับปรุงคุณภาพของลายนิ้วมือให้ดีขึ้น (เพิ่มปริมาณพอลิเมอร์) โดยการเพิ่มไอของแอมโมเนียหรือกรดอะซิติก แต่แอมโมเนียจะเป็นพิษและอาจเป็นตัวรบกวนการตรวจสอบดีเอ็นเอบนลายนิ้วมือได้ ดังนั้นการใช้กรดอะซิติกจะเป็นทางเลือกที่ดีกว่า (Wargacki et al., 2008)

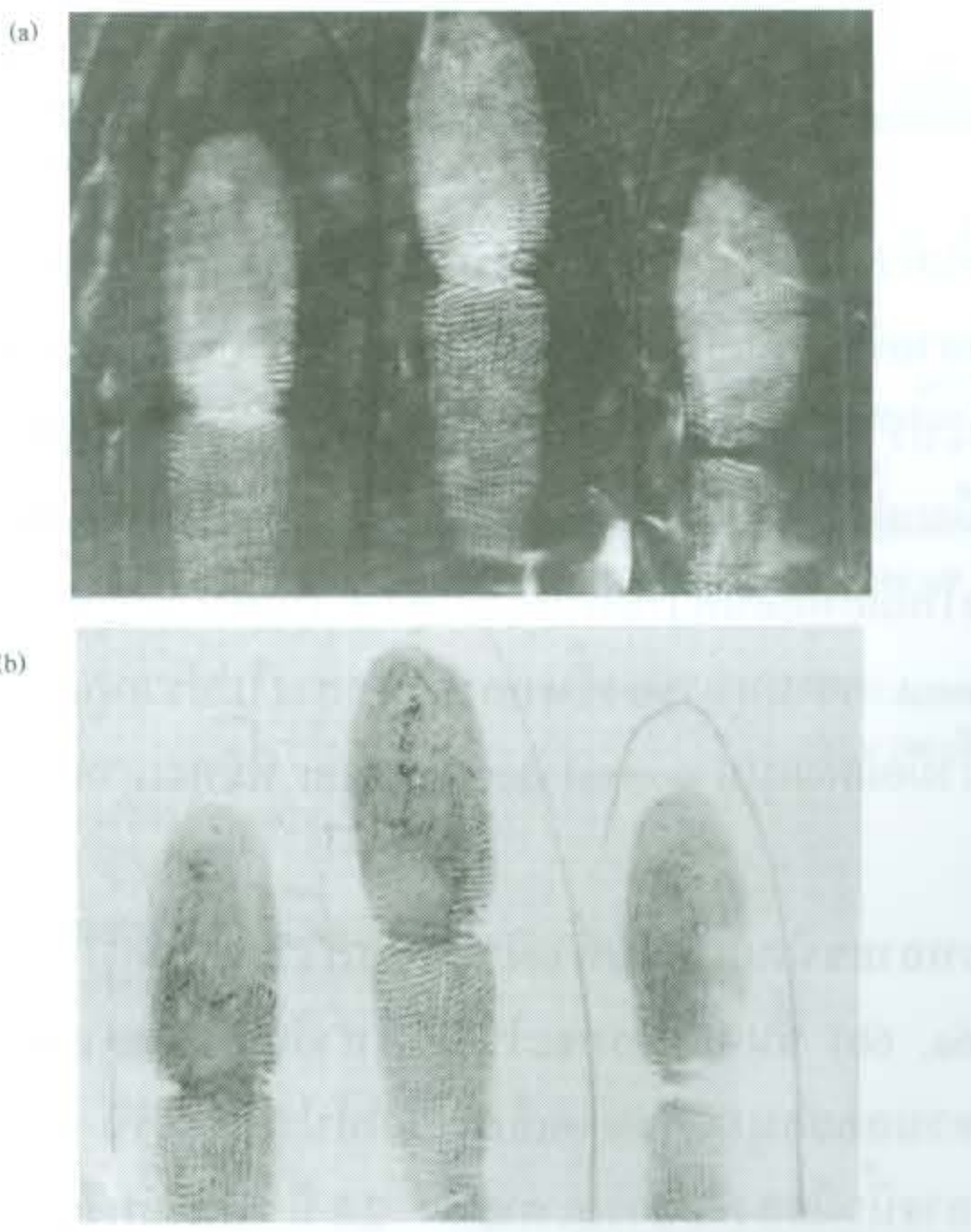
4. การใช้โลหะเกาะกับพื้นผิว

การใช้โลหะเกาะกับพื้นผิวมี 3 วิธี ได้แก่ การใช้โลหะเกาะกับพื้นผิวในสภาวะสุญญากาศ การใช้โลหะหลายชนิดและการใช้โลหะชนิดเดียวเกาะกับพื้นผิว

4.1 การใช้โลหะเกาะกับพื้นผิวในสภาวะสุญญากาศ เป็นอีกวิธีที่ใช้ในการตรวจสอบลายนิ้วมือ วิธีนี้ทองจะถูกทำให้ระเหยภายใต้สภาวะสุญญากาศ (มีอุปกรณ์ขายในเชิงพาณิชย์) ให้ไปเกาะอยู่บนพื้นผิวเป็นชั้นบางๆ รวมทั้งบริเวณที่มีรอยประทับลายนิ้วมือ หลังจากนั้นสังกะสีจะถูกทำให้ระเหยตามมา ทองจะจับกับสังกะสีที่เข้ามา ยกเว้นบริเวณที่มีรอยประทับลายนิ้วมือ เพราะ ณ บริเวณดังกล่าว ด้านนิวคลีเอชันของทอง (gold nucleation sites) จับกับสารเคมีจากรอยประทับลายนิ้วมือไปแล้ว จึงไม่สามารถจับกับสังกะสีได้ (Robinson, 1979) เรียกวิธีนี้ว่า normal development (รูปที่ 4a) แต่ในบางครั้งสังกะสีจะจับกับสันของลายนิ้วมือ โดยไม่เกาะบริเวณร่องและพื้นผิว อาจเนื่องมาจากองค์ประกอบอินทรีย์ของรอยประทับลายนิ้วมือถูกดูดซับโดยพื้นผิว ทำให้เหลือไว้เฉพาะของแข็งที่เป็นอนินทรีย์ ดังนั้นทองจะแทรกในพื้นผิวมากกว่าของแข็งอนินทรีย์ สังกะสีจึงจับกับส่วนของแข็งอนินทรีย์บริเวณสันของลายนิ้วมือ (Kent et al., 1976) ซึ่งเรียกวิธีนี้ว่า reverse development (รูปที่ 4b) นอกจากนี้บางครั้งอาจไม่สามารถตรวจพบลายนิ้วมือได้แม้ว่ามีรอยประทับของลายนิ้วมืออยู่ ทั้งนี้เนื่องจากรูปแบบของการพัฒนาลายนิ้วมือด้วยวิธีนี้ขึ้นอยู่กับปัจจัยหลายอย่าง โดยเฉพาะอย่างยิ่งชนิดของพื้นผิว เช่น ชนิดของพลาสติก สารเติมแต่ง (additives) ใน

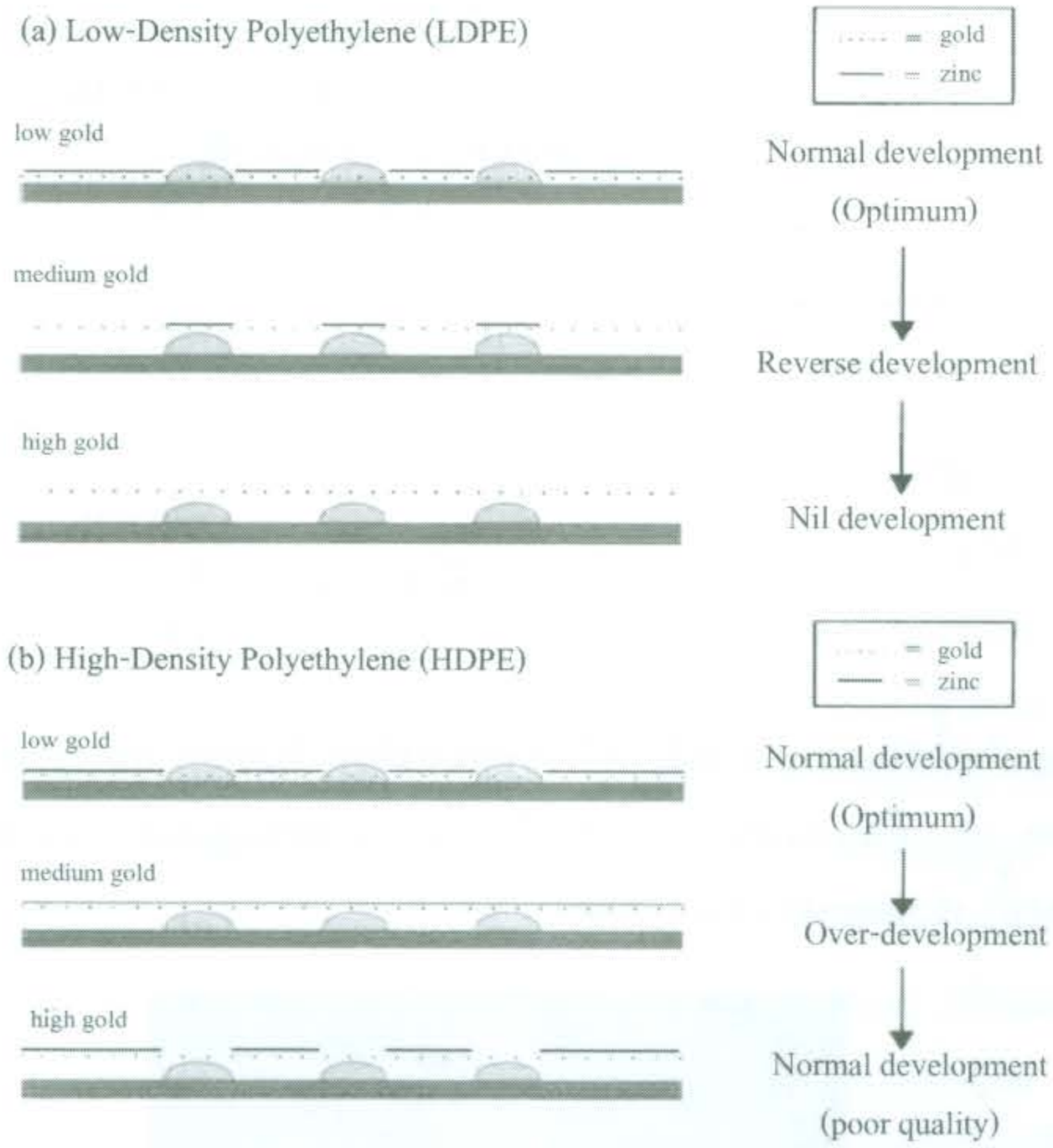


รูปที่ 3 กลไกที่คาดว่าจะเกิดขึ้นในการเกิดโพลิเมอไรเซชันของไซยาโนอะคริเลท (a) มอนอเมอร์ถูกกระตุ้นในสภาวะที่เป็นด่าง (b) เกิดการการแผ่ขยายสายโซ่ (chain propagation) (c) มอนอเมอร์จะถูกกระตุ้นโดยโมเลกุลของน้ำ (Czekanski et al., 2006)



รูปที่ 4 การตรวจสอบลายนิ้วมือแฝงด้วยวิธี Vacuum Metal Deposition (a) normal development (b) reverse development (Jones et al., 2001c)

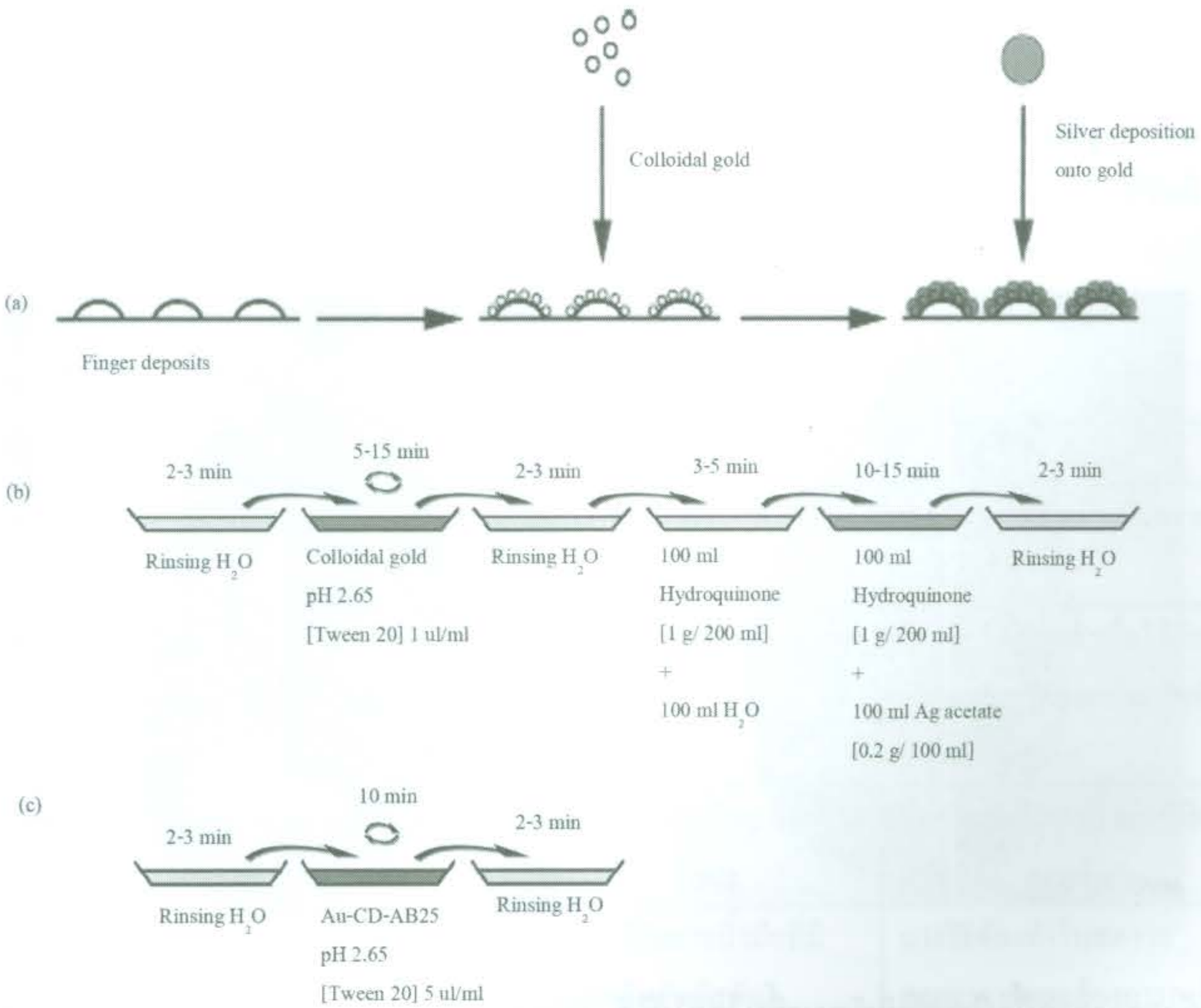
พลาสติก ความหนาและโครงสร้างของชั้นทอง (รูปที่ 5) ดังนั้นจึงมีการแนะนำให้ศึกษาชนิดของพื้นผิวพร้อมทั้งตรวจสอบสารเติมแต่งก่อนการใช้งาน (Jones et al., 2001c) วิธีนี้เหมาะกับการตรวจสอบลายนิ้วมือบนพื้นผิวที่ไม่มีรูพรุน เช่น พลาสติก โดยมีความไวในการวิเคราะห์มากกว่าวิธีการใช้ไอของสารไซยาโนอะคริเลท โดยเฉพาะอย่างยิ่งเมื่อใช้กับลายนิ้วมือที่เก่าแล้วหรือสัมผัสกับสิ่งแวดล้อมที่เปลี่ยนไป (Jones et al., 2001a; Jones et al., 2001b; Jones et al., 2001c; Masters and DeHaan, 1996)



รูปที่ 5 ผลของชนิดของพื้นผิวและความหนาของชั้นทองต่อการพัฒนาลายนิ้วมือแฝงด้วยวิธี Vacuum Metal Deposition (a) พลาสติกโพลีเอทิลลีนความหนาแน่นต่ำที่ความหนาของชั้นทองแตกต่างกัน ความหนาของชั้นทองน้อยจะปรากฏลายนิ้วมือแฝงแบบ normal development ความหนาของชั้นทองปานกลางจะปรากฏลายนิ้วมือแฝงแบบ reverse development ความหนาของชั้นทองมาก จะไม่ปรากฏลายนิ้วมือแฝง (b) พลาสติกโพลีเอทิลลีนความหนาแน่นสูง ความหนาของชั้นทองน้อยปรากฏลายนิ้วมือแฝงแบบ normal development ความหนาของชั้นทองปานกลางไม่ปรากฏลายนิ้วมือแฝง ความหนาของชั้นทองมาก ปรากฏลายนิ้วมือแฝงแบบ normal development ที่มีคุณภาพต่ำ (Jones et al., 2001c)

4.2 การใช้โลหะหลายชนิดเกาะกับพื้นผิว วิธีนี้มี 2 ขั้นตอน (รูปที่ 6a, 6b) ขั้นตอนแรกจะใช้หลักการของการใช้สารแขวนลอยอนุภาคขนาดเล็กโดยจุ่มวัสดุที่มีรอยประทับลายนิ้วมือลงในสารละลายของอนุภาคขนาดนาโนของทอง (ขนาดที่เหมาะสม คือ 14 นาโนเมตร (Schnetz and Margot, 2001)) ซึ่งมีสภาวะความเป็นกรด-ด่างอยู่ในช่วง 2.5 ถึง 2.8 (สำคัญมากเพราะจะส่งผลต่อการพัฒนาลายนิ้วมือแฝงให้ปรากฏ) ในสภาวะความเป็นกรด-ด่างช่วง 2.5 ถึง 2.8 นี้ โปรตีนหรือองค์ประกอบทางเคมีของลายนิ้วมือที่มีกรดไขมันประกอบอยู่จะถูกโปรโตเนต (protonated) จึงอยู่ในรูปประจุบวก ในขณะที่อนุภาคขนาดนาโนของ

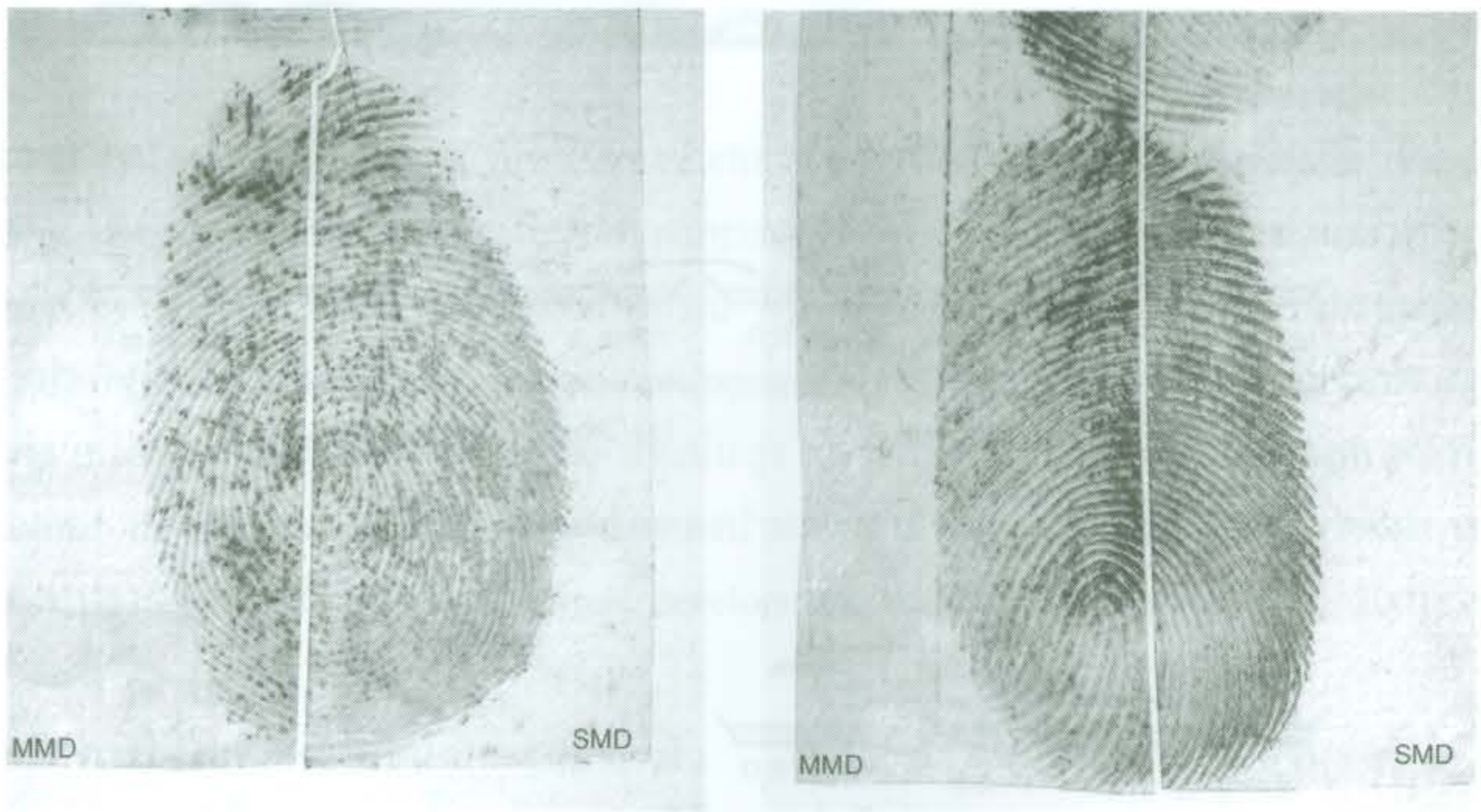
ทองจะอยู่ในรูปประจุลบเนื่องจากการดูดซับไอออนประจุลบของซิเตรท ทำให้อนุภาคขนาดนาโนของทองเกาะติดบนลายนิ้วมือได้เนื่องจากอันตรกิริยาทางไฟฟ้าสถิตย์ (Allman et al., 1992) นอกจากนี้ยังมีแรงดึงดูดเนื่องจากความไม่มีขั้วของอนุภาคขนาดนาโนของทองและโปรตีนอีกด้วย (Baschong and Stierhof, 1998; Cao et al., 2005) ในขั้นตอนนี้จะยังมองเห็นลายนิ้วมือไม่ชัดเจนเนื่องจากอนุภาคขนาดนาโนของทองมีขนาดเล็ก (Becue et al., 2007) จึงต้องมีการใช้ physical developer ซึ่งมีอนุภาคของเงินในรูปของประจุบวก (Ag^+) ผสมอยู่และจะถูกรีดิวซ์ด้วยสารรีดิวซ์ เช่น ไฮโดรควิโนน เป็นโลหะเงิน (Ag^0) เนื่องจากอนุภาคของโลหะเงินมีขนาดใหญ่ ดังนั้นเมื่อโลหะเงินเกาะบนอนุภาคขนาดนาโนของทองซึ่งเกาะติดอยู่กับลายนิ้วมือ ทำให้ลายนิ้วมือแฝงปรากฏเป็นสีเทาจนถึงดำ (Choi et al., 2008; Schnetz and Margot, 2001) แตกต่างจากสีของพื้นผิวและคมชัดมากขึ้น วิธีการนี้ใช้ได้ดีกับพื้นผิวหลากชนิดทั้งที่มีและไม่มีรูพรุน พื้นผิวเปียก มีสีและไม่มีสี บนเทปยึด กระดาษ พลาสติก หรือโลหะ แต่หากเป็นพื้นผิวแห้งวิธีนี้จะมีประสิทธิภาพน้อยกว่าวิธีการใช้ไอของสารไซยาโนอะคริเลทและวิธีทางเคมี นอกจากนี้ยังมีการดัดแปลงวิธีการใช้โลหะหลายชนิด โดยการปรับเปลี่ยนผิวของอนุภาคขนาดนาโนของทองด้วยโมเลกุลของ cyclodextrin ทำให้ไม่จำเป็นต้องใช้ physical developer (รูปที่ 6c) (Becue et al., 2007)



รูปที่ 6 ขั้นตอนของการทำ Multi-Metal Deposition (a) ขั้นตอนการพัฒนาลายนิ้วมือแฝง- (b) สภาวะที่เหมาะสมในการทำ Multi-Metal Deposition (c) ขั้นตอนการทำ Multi-Metal Deposition ที่พัฒนาขึ้นโดยดัดแปลงอนุภาคของทองด้วย cyclodextrin (CD) (Becue et al., 2007; Schnetz and Margot, 2001)

4.3 การใช้โลหะชนิดเดียวเกาะกับพื้นผิว แสดงดังรูปที่ 7 ซึ่งดัดแปลงจากวิธีการใช้โลหะหลายชนิด วิธีนี้ใช้ขั้นตอนการรีดิวซ์ของ hydroxylamine/ gold chloride เพียงขั้นตอนเดียวแทนที่กระบวนการที่มี 2 ขั้นตอนของการใช้โลหะหลายชนิด ซึ่งใช้ hydroquinone/ hydroquinone/ silver acetate โดยเมื่อคอลลอยด์ของทองเกาะบนรอยประทับลายนิ้วมือเช่นเดียวกับขั้นตอนแรกในวิธีการใช้โลหะหลายชนิด แล้วล้างพื้นผิวด้วยน้ำ หลังจากนั้นแช่วัสดุลงในอ่างที่มี hydroxylamine/ gold chloride ขั้นตอนนี้ gold chloride ให้ทองในรูปของประจุบวก (Au^{3+}) ซึ่งจะถูกรีดิวซ์โดยไฮดรอกซีลามีนเป็นโลหะทอง (Au^0) โดยมีคอลลอยด์ของทองที่เกาะอยู่กับรอยประทับลายนิ้วมือในขั้นตอนแรกเป็นตัวเร่ง โลหะทองนี้จะไปเกาะบนชั้นของคอลลอยด์ของทองซึ่งเกาะอยู่กับรอยประทับลายนิ้วมือ เนื่องจากโลหะของทองมีขนาดอนุภาคใหญ่กว่าคอลลอยด์ของทอง ดังนั้นรอยประทับลายนิ้วมือจึงปรากฏให้เห็นชัดขึ้นโดยไม่จำเป็นต้องใช้อนุภาคของเงิน (Stauffer et al., 2007) และสามารถใช้งานในสภาวะความเป็นกรด-ด่าง ตั้งแต่ 2.5 ถึง 5.0 (Gao et al., 2009) ให้ความไวและความจำเพาะเท่ากับวิธีการใช้โลหะหลายชนิด (รูปที่ 8)

รูปที่ 7 ขั้นตอนของการทำ Single-Metal Deposition (Stauffer et al., 2007)



รูปที่ 8 ตัวอย่างลายนิ้วมือแฝงที่พัฒนาขึ้นโดยใช้วิธี Single-Metal Deposition (SMD) (ครึ่งขวา) และ Multi-Metal Deposition (MMD) (ครึ่งซ้าย) ขณะทำการทดลองลายนิ้วมือมีอายุ 3 เดือน (Stauffer et al., 2007)

นอกจากนี้แล้วปัจจุบันมีรายงานวิธีการตรวจสอบลายนิ้วมือแฝงที่อาศัยการกัดกร่อนโลหะของสารเคมีที่รอยประทับลายนิ้วมือ ทำให้ผิวหน้าของโลหะเกิดการเปลี่ยนแปลงสมบัติทางเคมีและกายภาพ ซึ่งสามารถตรวจสอบความต่างศักย์ของผิววัสดุได้ (Bond, 2008a; Bond, 2008b; Bond, 2009; Bond and Heidel, 2009) หรืออาจใช้เครื่องมือ Scanning Kelvin Microprobe ซึ่งวัดความต่างศักย์ระหว่างโพรบกับผิวของโลหะ (Williams and McMurray, 2007) วิธีนี้สามารถใช้ตรวจสอบลายนิ้วมือแฝงบนวัสดุซึ่งเป็นโลหะ เช่น กระสุนปืน กระป๋องน้ำอัดลม เป็นต้น

บทสรุป

การตรวจสอบลายนิ้วมือแฝงด้วยวิธีทางกายภาพอาศัยพื้นฐานของอันตรกิริยาระหว่างองค์ประกอบทางเคมีของลายนิ้วมือและสิ่งที่นำมาใช้ เช่น ผงฝุ่น อนุภาคขนาดนาโน ไอของสารเคมีหรืออื่นๆ โดยองค์ประกอบทางเคมีของรอยประทับลายนิ้วมือจะไม่เกิดการเปลี่ยนแปลงสมบัติใดๆ ในขณะที่สิ่งที่เกิดอันตรกิริยากับรอยประทับลายนิ้วมืออาจเกิดการเปลี่ยนแปลงสมบัติทำให้สามารถตรวจสอบได้ เช่น ถูกรีดิวซ์ทำให้เกิดการเปลี่ยนแปลงสี เกิดโพลิเมอไรเซชันกลายเป็นพอลิเมอร์ยึดเกาะบริเวณลายนิ้วมือ เป็นต้น

ปัจจุบันมีการนำวิธีทางกายภาพที่หลากหลายมาประยุกต์ใช้และได้มีการนำนาโนเทคโนโลยีมาใช้ในการพัฒนาอนุภาคขนาดนาโนทั้งที่มีและไม่มีการปรับเปลี่ยนหมู่ฟังก์ชัน ทำให้อนุภาคที่ใช้ในการยึดเกาะกับสารเคมีจากรอยประทับลายนิ้วมือมีขนาดเล็กกว่าผงฝุ่น การยึดติดจึงดีขึ้น ลายนิ้วมือที่ปรากฏมีความคมชัดมากขึ้น รวมทั้งมีการศึกษากลไกของปฏิกิริยาโพลิเมอไรเซชันของสารไซยาโนอะคริเลท ซึ่งยังคงมีข้อโต้แย้งอยู่หลายประเด็น นอกจากนี้ยังมีการพัฒนาขั้นตอนการตรวจวัดให้สั้นลง เช่น การพัฒนาใช้โลหะชนิดเดียวเกาะกับพื้นผิว เป็นต้น แต่ละวิธีให้ประสิทธิภาพแตกต่างกันขึ้นกับธรรมชาติของพื้นผิว องค์ประกอบทางเคมีของรอยประทับลายนิ้วมือ สิ่งปนเปื้อน ระยะเวลาและอื่นๆ และมีข้อดี ข้อเสียแตกต่างกัน ดังสรุปในตารางที่ 1

ตารางที่ 1 การเปรียบเทียบวิธีการต่างๆ ในการตรวจสอบลายนิ้วมือแฝงด้วยวิธีทางกายภาพ

วิธีการ	พื้นผิว	ข้อดี	ข้อเสีย
การใช้ผงฝุ่นและอนุภาคขนาดนาโน	พื้นผิวเรียบ	ง่าย ไม่แพง ให้ผลน่าพอใจ	ผงฝุ่นบางชนิดเป็นอันตรายต่อผู้ใช้
การใช้สารแขวนลอยของอนุภาคขนาดเล็ก	พื้นผิวเปียก พื้นผิวไม่มีรูพรุน	ง่าย ทำได้ที่ความดันบรรยากาศ	ให้ความคมชัดต่ำเมื่อใช้กับพื้นผิวมีหลากสีหรือรอยประทับที่มีรายละเอียดน้อย
การใช้ไอของสารไซยา-โนอะคริเลท	พื้นผิวที่ไม่มีรูพรุน	ง่าย ทำได้ที่ความดันบรรยากาศ	ไม่เหมาะกับลายนิ้วมือที่มีอายุมาก (aged fingerprint)
การใช้โลหะเกาะกับพื้นผิว	พื้นผิวที่ไม่มีรูพรุน	สามารถใช้กับลายนิ้วมือที่มีอายุมากหรือสัมผัสกับสิ่งแวดล้อมที่เปลี่ยนไป	บางวิธีต้องทำในสภาวะสุญญากาศและต้องการอุปกรณ์เพิ่มเติม บางวิธีไม่เหมาะกับพื้นผิวแห้ง

เอกสารอ้างอิง

ปรีชา คำแหง. (2550). ลายนิ้วมือเราไม่มีใครเหมือน. เข้าถึงได้จาก: http://www.dss.go.th/dssweb/starticles/files/ bla_10_2550_Biometric.pdf .

Allman, D. S., Maggs, S. J., and Pounds, C. A. (1992). The use of colloidal gold/multimetal deposition for the detection of latent prints-a preliminary evaluation. Forensic Science Service Report. 747: 1-24.

Archer, N. E., Charles, Y., Elliott, J. A., and Jickells, S. (2005). Changes in the lipid composition of latent fingerprint residue with time after deposition on a surface. Forensic Science International. 154: 224-239.

Balogh, M. K., Burger, J., Bender, K., Schneider, P. M., and Alt, K. W. (2003). STR genotyping and mtDNA sequencing of latent fingerprint on paper. Forensic Science International. 137(2-3): 188-195.

Baschong, W. and Stierhof, Y. (1998). Preparation, use and enlargement of ultrasmall gold particles in immunoelectron microscopy. Microscopy Research and Technique. 42: 66-79.

Becue, A., Champod, C., and Margot, P. (2007). Use of gold nanoparticles as molecular intermediates for the detection of fingermarks. Forensic Science International. 168(2-3): 169-176.

Bond, J. W. (2008a). The thermodynamics of latent fingerprint corrosion of metal elements and alloys. Journal of Forensic Sciences. 53: 1344-1352.

Bond, J. W. (2008b). Visualization of latent fingerprint corrosion of metallic surfaces. Journal of Forensic Sciences. 53: 812-822.

Bond, J. W. (2009). Visualization of latent fingerprint corrosion of brass. Journal of Forensic Sciences. 54: 1034-1041.

Bond, J. W. and Heidel, C. (2009). Visualization of latent fingerprint corrosion on a discharged brass shell casing. Journal of Forensic Sciences. 54: 892-894.

Cao, R., Villalonga, R., and Fragoso, A. (2005). Toward nanomedicine with a supramolecular approach: A review. Nanobiotechnology. 152 (5): 159-164.

Castello, A., Alvarez, M., and Verdu, F. (2002). A new chemical aid for criminal investigation: Dyes and latent prints. Coloration Technology. 118: 316-318.

Choi, M. J., McDonagh, A. M., Maynard, P. J., Wuhrer, R., Lennard, C., and Roux, C. (2006). Preparation and evaluation of metal nanopowders for the detection of fingermarks on non-porous surfaces. Journal of Forensic Identification. 56(5): 756-768.

Choi, M. J., Smoother, T., Martin, A. A., McDonagh, A. M., Maynard, P. J., Lennard, C., and Roux, C. (2007). Fluorescent TiO2 powders prepared using a new perylene diimide dye: Applications in latent fingermark detection. Forensic Science International. 173(2-3): 154-160.

Choi, M. J., McDonagh, A. M., Maynard, P., and Roux, C. (2008). Metal-containing nanoparticles and nano-structured particles in fingermark detection. Forensic Science International. 179(2-3): 87-97.

Croxton, R. S., Baron, M. G., Butler, D., Kent, T., and Sears, V. G. (2006). Development of a GC-MS method for the simultaneous

analysis of latent fingerprint components. Journal of Forensic Sciences. 51: 1329-1333.

Cuce, P., Polimeni, G., Lazzaro, A. P., and De Fulvio, G. (2004). Small particle reagents technique can help to point out wet latent fingerprints. Forensic Science International. 146 (Supplement 1): S7-S8.

Czekanski, P., Fasola, M., and Allison, J. (2006). A mechanistic model for the superglue fuming of latent fingerprints. Journal of Forensic Sciences. 51: 1323-1328.

Dilag, J., Kobus, H., and Ellis, A. V. (2009). Cadmium sulfide quantum dot/chitosan nanocomposites for latent fingermark detection. Forensic Science International. 187: 97-102.

Edwards, H. and Day, J. (2004). Fourier transform Raman spectroscopic studies of the curing of cyanoacrylate glue. Journal of Raman Spectroscopy. 35: 555-560.

Frank, A. and Almog, J. (1993). Modified SPR for latent fingerprint development on wet and dark objects. Journal of Forensic Identification. 43: 240-244.

Galton, F. (1892). Finger prints. New York: Macmillan.

Gao, D., Li, F., Song, J., Xu, X., Zhang, Q. and Niu, L. (2009).One step to detect the latent fingermarks with gold nanoparticles. Talanta. 80(2): 479-483.

Haque, F., Westland, A. D., Milligan, J., and Kerr, F. M. (1989). A small particle (iron oxide) suspension for detection of latent fingerprints on smooth surfaces. Forensic Science International. 41(1-2): 73-82.

Houck, M. and Siegel, J. (2006). Fundamentals of forensic science. Burlington. MA: Elsevier Academic Press.

James, J. D., Pounds, C. A., Phil, B., and Wilshire, B. (1991a). Flake metal powders for revealing latent fingerprints. Journal of Forensic Sciences. 26: 1368-1375.

James, J. D., Pounds, C. A., and Wilshire, B. (1991b). Production and characterization of flake metal powders for fingerprint detection. Powder Metallurgy. 34: 39-43.

Jamieson, T., Bakhshi, R., Petrova, D., Pocock, R., Imani, M., and Seifalian, A. M. (2007). Biological applications of quantum dots. Biomaterials. 28: 4717-4732.

Jasuja, O. P., Singh, G. D., and Sodhi, G. S. (2008). Small particle reagents: Development of fluorescent variants. Science and Justice. 48(3): 141-145.

Jones, B. J., Reynolds, A. J., Richardson, M., and Sears, V. G. (2010). Nano-scale composition of commercial white powders for development of latent fingerprints on adhesives. Science and Justice. 50: 150-155.

Jones, N., Mansour, D., Stoilovic, M., Lennard, C., and Roux, C. (2001a). The influence of polymer type, print donor and age on the quality of fingerprints developed on plastic substrates using vacuum metal deposition. Forensic Science International. 124(2-3): 167-177.

Jones, N., Stoilovic, M., Lennard, C., and Roux, C. (2001b). Vacuum metal deposition: developing latent fingerprints on polyethylene substrates after the deposition of excess gold. Forensic Science International. 123(1): 5-12.

Jones, N., Stoilovic, M., Lennard, C., and Roux, C. (2001c). Vacuum metal deposition: factors affecting normal and reverse development of latent fingerprints on polyethylene substrates. Forensic Science International. 115(1-2): 73-88.

Kent, T., Thomas, G.L., Reynoldson, T.E., and East, H.W. (1976). A vacuum coating technique for the development of latent fingerprints on polythene. Journal of Forensic Science Society. 16: 93-101.

Kolar-Gregoric, T. (2003). Development of new SPR formulations for processing latent fingerprints. The 3rd European Academy of Forensic Science Meeting, September 22-27 Istanbul. Turkey: Forensic Science International. Elsevier.

Lennard, C. (2001). The detection and enhancement of latent fingerprints. The 13th INTERPOL forensic science symposium. Lyon. France.

Li, Z., Du, Y., Zhang, Z., and Pang, D. (2003). Preparation and characterization of CdS quantum dots chitosan biocomposite. Reactive and Functional Polymers. 55: 35-43.

Liu, L., Gill, S. K., Gao, Y., Hope-Weeks, L. J., and Cheng, K. H. (2008). Exploration of the use of novel SiO_2 nanocomposites doped with fluorescent Eu^{3+}/sensitizer complex for latent fingerprint detection. Forensic Science International. 176(2-3): 163-172.

Liu, L., Zhang, Z., Zhang, L., and Zhai, Y. (2009). The effectiveness of strong afterglow phosphor powder in the detection of fingermarks. Forensic Science International. 183(1-3): 45-49.

Masters, N. and DeHaan, J. (1996). Vacuum metal deposition (VMD) and cyanoacrylate detection of older latent prints. Journal of Forensic Identification. 46(1): 32-45.

Menzel, E., Savoy, S. M., Ulvick, S. J., Cheng, K. H., Murdock, R. H., and Sudduth, M. R. (2000). Photoluminescent semiconductor nanocrystals for fingerprint detection. Journal of Forensic Sciences. 45: 545-551.

Polimeni, G., Feudale Foti, B., Saravo, L., and De Fulvio, G. (2004). A novel approach to identify the presence of fingerprints on wet surfaces. Forensic Science International. 146 (Supplement 1): S45-S46.

Robinson, C. J. (1979). The effects of a glow discharge on the nucleation characteristics of gold on polymer substrates. Thin Solid Films. 57: 285-289.

Saferstein, R. (2004). Fingerprints. Criminalistics: An introduction to forensic science. (8th ed.). New Jersey: Pearson Prentice Hall. 406-429.

Schnetz, B. and Margot, P. (2001). Technical note: Latent fingermarks, colloidal gold and multimetal deposition (MMD): Optimisation of the method. Forensic Science International. 118(1): 21-28.

Schulz, M. M. and Reichert, W. (2002). Archived or directly swabbed latent fingerprints as a DNA source for STR typing. Forensic Science International. 127: 128-130.

Schulz, M. M., Wehner, H. D., Reichert, W., and Graw, M. (2004). Ninhydrin-dyed latent fingerprints as a DNA source in a murder case. Journal of Clinical Forensic Medicine. 11: 202-204.

Seah, L. K., Dinish, U. S., Ong, S. K., Chao, Z. X., and Murukeshan, V. M. (2004). Time-resolved imaging of latent fingerprints with nanosecond resolution. Optics and Laser Technology. 36(5): 371-376.

Seah, L. K., Dinish, U. S., Phang, W. F., Chao, Z. X., and Murukeshan, V. M. (2005). Fluorescence optimisation and lifetime studies of fingerprints treated with magnetic powders. Forensic Science International. 152(2-3): 249-257.

Smith, W. C., Kinney, R. W., and De Partee, D. G. (1993). Latent fingerprints-A forensic approach. Journal of Forensic Identification. 43(6): 563-570.

Sodhi, G. S. and Kaur, J. (2001). Powder method for detecting latent fingerprints: A review. Forensic Science International. 120(3): 172-176.

Springer, E. and Bregman, P. (1995). A fluorescent small particle reagent (SPR). Journal of Forensic Identification. 45: 164-168.

Stauffer, E., Becue, A., Singh, K. V., Thampi, K. R., Champod, C., and Margot, P. (2007). Single-metal deposition (SMD) as a latent fingermark enhancement technique: An alternative to multimetal deposition (MMD). Forensic Science International. 168(1): e5-e9.

Theaker, B. J., Hudson, K. E., and Rowell, F. J. (2009). Doped hydrophobic silica nano- and micro-particles as novel agents for developing latent fingerprints. Forensic Science International. 174: 26-34.

Thomas, G. L. (1978) The physics of fingerprints and their detection. Journal of Physic E: Scientific Instruments. 11: 722-731.

Van Oorschot, R. and Jones, M. (1997). DNA fingerprints from fingerprints. Nature. 387: 767.

Wang, Y. F., Yang, R. Q., Wang, Y. J., Shi, Z. X., and Liu, J. J. (2009) Application of CdSe nanoparticle suspension for developing latent fingermarks on the sticky side of adhesives. Forensic Science International. 185: 96-99.

Wargacki, S. P., Lewis, L. A., and Dadmun, M. D. (2007). Understanding the chemistry of the development of latent fingerprints by superglue fuming. Journal of Forensic Sciences. 52: 1057-1062.

Wargacki, S. P., Lewis, L., and Dadmun, M. D. (2008). Enhancing the quality of aged latent fingerprints developed by superglue fuming: Loss and replenishment of initiator. Journal of Forensic Sciences. 53: 1138-1144.

Williams, G. and McMurray, N. (2007). Latent fingermark visualisation using a scanning Kelvin probe. Forensic Science International. 167(2-3): 102-109.

Wilshire, B. (1996). Advances in fingerprint detection. Endeavour. 208: 12-15.

Yu-Juan, J., Yun-Jun, L., Guo-Ping, L., Jie, L., Yuan-Feng, W., Rui-Qin, Y., and Wen-Ting, L. (2008). Application of photoluminescent CdS/PAMAM nanocomposites in fingerprint detection. Forensic Science International. 179: 34-38.

Zamir, A., Springer, E., and Glattstein, B. (2000). Fingerprints and DNA: STR typing of DNA extracted from adhesive tape after processing for fingerprints. Journal of Forensic Science. 45(3): 687-688.

❑❑❑❑❑

ว.วิทย. มข. 39(2) 210-218 (2554) KKU Sci. J.39(2) 210-218 (2011)

KKU SCIENCE JOURNAL

เส้นใยนาโนในการใช้งานด้านวัสดุโครงสร้างสำหรับเพาะเลี้ยงเซลล์

Nanofibers in Scaffolding Applications

พัชราภรณ์ ฐิติวงศ์เศวต [1]

บทนำ

ในช่วงสองทศวรรษที่ผ่านมา การผลิตเส้นใยด้วยวิธีอิเล็คโตรสปินนิ่ง (electrospinning) หรือการปั่นเส้นใยด้วยไฟฟ้าสถิตเป็นที่รู้จักและมีผู้สนใจวิจัยเป็นจำนวนมาก เนื่องจากสามารถใช้ขึ้นรูปเส้นใยที่มีขนาดเล็กขนาดหลายสิบไมโครเมตรถึงนาโนเมตรได้ (Doshi and Reneker, 1995; Reneker and Yarin, 2008) เส้นใยนาโนที่ได้มีอัตราส่วนพื้นที่ผิวต่อปริมาตรหรือต่อมวลสูงและมีความเป็นรูพรุนสูง ทำให้เป็นที่สนใจในการใช้งานหลายด้าน เช่น ส่วนประกอบในเครื่องมือทางอิเล็คทรอนิกส์และแสง (Norris et al., 2000; Wang et al., 2002) วัสดุเสริมแรงคอมพอสิต (Kim and Reneker, 1999) แผ่นกรอง (Yoon et al., 2006) และการใช้งานด้านการแพทย์ เช่น วัสดุสำหรับระบบนำส่งยา (Taepaiboon et al., 2006) และวัสดุด้านวิศวกรรมเนื้อเยื่อ หรือวัสดุโครงสร้างสำหรับเพาะเลี้ยงเซลล์ (scaffold) (Li, W.J. et al., 2005; Wutticharoenmongkol et al., 2007) สำหรับการศึกษาการใช้เส้นใยนาโนเพื่อเป็นวัสดุโครงสร้างสำหรับเพาะเลี้ยงเซลล์นั้น เป็นการใช้ความรู้ด้านวิศวกรรมเนื้อเยื่อ (tissue engineering) ซึ่งเป็นการนำความรู้ในด้านวิศวกรรมด้านวัสดุและชีววิทยาหรือการแพทย์มาใช้ร่วมกัน เพื่อพัฒนา รักษา หรือซ่อมแซมเนื้อเยื่อที่บาดเจ็บหรือเสียหาย สำหรับเนื้อเยื่อของสิ่งมีชีวิตนั้น แมทริกซ์นอกเซลล์ (extracellular matrix) เป็นส่วนประกอบสำคัญในการเป็นโครงสร้างของเนื้อเยื่อ เป็นที่ว่างสำหรับให้เซลล์ตั้งอยู่ และเป็นที่สะสมสารอาหารและเอนไซม์ต่างๆ ที่มีผลต่อพฤติกรรมและการทำงานของเซลล์ แมทริกซ์นอกเซลล์ประกอบด้วยสารพื้น (ground substance) คือ โปรตีโอไกลแคน (proteoglycan) และเส้นใยโปรตีน เช่น คอลลาเจนและอิลาสติน ซึ่งวางตัวเป็นร่างแหอยู่ในโปรตีโอไกลแคน ร่างแหเส้นใยคอลลาเจนประกอบขึ้นจากเส้นใยขนาดเล็กและมัดเส้นใยขนาดใหญ่ขึ้นตามลำดับขั้น ซึ่งมีขนาดอยู่ในช่วงนาโนเมตร ในขณะที่เซลล์มีขนาดอยู่ในช่วงไมโครเมตร ดังนั้นจึงมีแนวคิดในการออกแบบวัสดุโครงสร้างสำหรับเพาะเลี้ยงเซลล์ในรูปแบบร่างแหเส้นใยขนาดนาโนเมตร ซึ่งเป็นการเลียนแบบโครงสร้าง

[1] ภาควิชาวิศวกรรมเคมี คณะวิศวกรรมศาสตร์ มหาวิทยาลัยธรรมศาสตร์ อ.คลองหลวง จ.ปทุมธานี 12120

E-mail: tpatchar@engr.tu.ac.th

ทางกายภาพของแมทริกซ์นอกเซลล์ เพื่อให้เป็นที่อยู่ของเซลล์ในการเจริญเติบโตจนกว่าเซลล์จะสร้างแมทริกซ์ใหม่ตามธรรมชาติได้ ดังนั้นจึงมีการนำวิธีอิเล็คโตรสปินนิ่งมาใช้ขึ้นรูปเส้นใยนาโนเพื่อใช้เป็นวัสดุโครงสร้างสำหรับเพาะเลี้ยงเซลล์ เนื่องจากเป็นที่ทราบกันดีว่าวิธีอิเล็คโตรสปินนิ่งสามารถผลิตเส้นใยที่มีขนาดเล็กระดับนาโนเมตรได้

หลักการของอิเล็คโตรสปินนิ่ง

หลักการของอิเล็คโตรสปินนิ่ง คือ การใช้แรงทางไฟฟ้าในการทำให้เกิดเส้นใย (Doshi and Reneker, 1995; Reneker and Yarin, 2008) โดยให้สนามไฟฟ้าแก่ของเหลวพอลิเมอร์ที่บรรจุอยู่ในภาชนะที่มีปลายเปิดขนาดเล็ก เพื่อให้หยดของของเหลวพอลิเมอร์ซึ่งอยู่ที่ปลายเปิดถูกฉีดออกมาเป็นเส้นใยและตกลงบนแผ่นรองรับ ของเหลวพอลิเมอร์ดังกล่าวอาจจะเป็นสารละลายพอลิเมอร์หรือพอลิเมอร์หลอมเหลวก็ได้ โดยทั่วไปจะบรรจุของเหลวพอลิเมอร์ในกระบอกฉีดยาและเชื่อมต่อกับเข็มฉีดยาซึ่งเป็นโลหะที่นำไฟฟ้าได้ ของเหลวพอลิเมอร์จะได้รับประจุไฟฟ้าสะสมจากเครื่องกำเนิดศักย์ไฟฟ้าแรงสูงกระแสตรง โดยการเชื่อมต่อปลายขั้วไฟฟ้าเข้ากับปลายเปิดของภาชนะบรรจุของเหลวพอลิเมอร์ โดยอาจจะต่อขั้วบวกหรือขั้วลบเข้ากับของเหลวพอลิเมอร์ก็ได้ และต่อปลายขั้วตรงข้ามเข้ากับแผ่นรองรับเส้นใยซึ่งเป็นวัสดุที่นำไฟฟ้าได้เช่นกัน เมื่อให้ความเข้มสนามไฟฟ้าแก่ของเหลวพอลิเมอร์มากถึงระดับหนึ่งซึ่งเรียกว่าจุดวิกฤติแล้ว แรงผลักระหว่างประจุไฟฟ้าที่สะสมในของเหลวพอลิเมอร์จะมีมากพอที่จะเปลี่ยนหยดของเหลวรูปทรงกลมไปเป็นรูปทรงกรวย หรือเรียกว่ากรวยเทย์เลอร์ (taylor cone) และเมื่อเพิ่มความเข้มสนามไฟฟ้าต่อไป ของเหลวพอลิเมอร์ที่มีประจุสะสมอยู่ก็จะถูกฉีดออกจากปลายรูปกรวยและตกลงบนแผ่นรองรับโดยแรงกระทำจากไฟฟ้าสถิต ในกรณีที่ใช้สารละลายพอลิเมอร์ ตัวทำละลายจะระเหยออกไปจากลำเส้นใย และเส้นใยจะเกิดการแข็งตัวระหว่างที่กำลังเดินทางจากปลายเข็มไปยังแผ่นรองรับส่วนในกรณีที่ใช้พอลิเมอร์หลอมเหลว เส้นใยก็จะเกิดการแข็งตัวระหว่างที่เส้นใยกำลังเดินทางจากปลายเข็มไปยังแผ่นรองรับเช่นกัน เส้นใยที่ได้จะมีลักษณะเป็นเส้นใยชนิดที่ไม่ได้ถักทอ นอกเหนือจากแรงไฟฟ้าสถิตแล้ว กระบวนการดังกล่าวยังเกี่ยวข้องกับแรงผลักคูลอมบิคเนื่องจากประจุชนิดเดียวกันเกิดแรงผลักต่อกันอีกด้วย โดยแรงผลักคูลอมบิคนี้มีผลทำให้เส้นใยมีขนาดเล็กลงขณะที่เส้นใยกำลังเดินทางจากปลายเข็มไปยังแผ่นรองรับ

ลักษณะโครงสร้างของวัสดุสำหรับเพาะเลี้ยงเซลล์ที่ดี

ลักษณะโครงสร้างของวัสดุสำหรับเพาะเลี้ยงเซลล์ที่ดีควรมีคุณสมบัติ 5 ประการต่อไปนี้ (Hutmacher, 2001) คือ ประการแรกมีโครงสร้างในสามมิติและมีขนาดเหมาะสมในการฝังที่เนื้อเยื่อ ประการที่สองมีสมบัติทางกลใกล้เคียงกับเนื้อเยื่อที่ต้องการฝังวัสดุโครงสร้างเนื่องจากต้องรับแรงกระทำจริงตามธรรมชาติของเนื้อเยื่อบริเวณนั้น ประการที่สามควรเป็นวัสดุที่มีคุณสมบัติทางเคมีในการส่งเสริมการยึดเกาะ (attachment) การเจริญเติบโต (proliferation) และการเปลี่ยนแปลงเพื่อทำหน้าที่เฉพาะ (differentiation) ของเซลล์ ประการที่สี่ควรเป็นวัสดุที่ย่อยสลายทางชีวภาพได้ และมีอัตราเร็วในการย่อยสลายที่ใกล้เคียงกับอัตราเร็วในการสร้างเนื้อเยื่อใหม่ และประการสุดท้ายควรเป็นวัสดุที่มีโครงสร้างเป็นรูพรุนชนิดที่เชื่อมต่อกัน (interconnected pores) เพื่อให้สารอาหารและออกซิเจนสามารถส่งต่อถึงกันได้โดยตลอด

การใช้เส้นใยนาโนเป็นวัสดุโครงสร้างสำหรับเพาะเลี้ยงเซลล์

ลักษณะสำคัญของแผ่นเส้นใยนาโนซึ่งเตรียมจากวิธีอิเล็คโตรสปินนิ่งในการใช้งานเป็นวัสดุโครงสร้างสำหรับเพาะเลี้ยงเซลล์ คือ มีโครงสร้างเป็นร่างแหของเส้นใยชนิดที่ไม่ได้ถักทอซึ่งมีความ

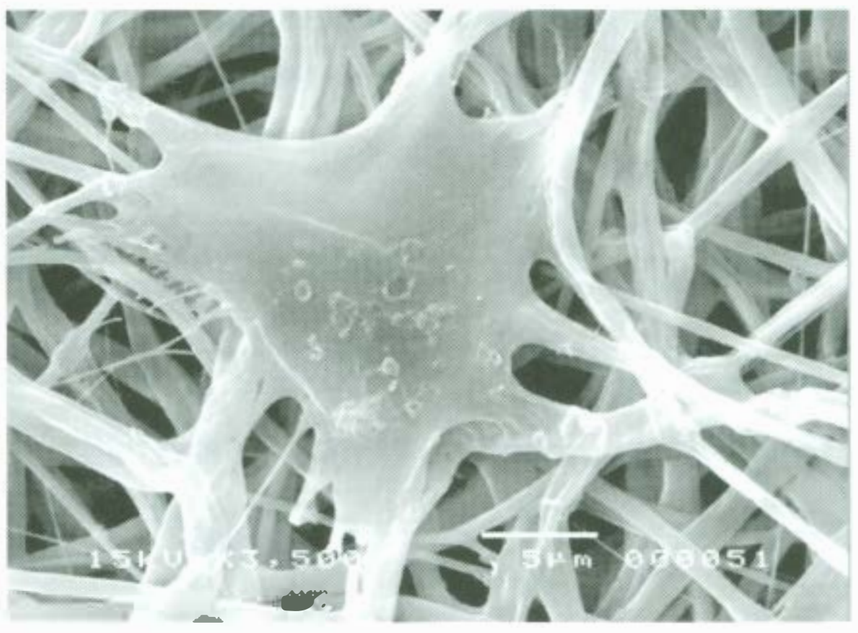
คล้ายคลึงกับโครงสร้างของแมทริกซ์นอกเซลล์ มีอัตราส่วนพื้นที่ผิวต่อปริมาตรหรือต่อมวลสูง ซึ่งช่วยให้เซลล์ยึดเกาะได้ดี มีความเป็นรูพรุนสูงและเป็นรูพรุนชนิดเชื่อมต่อกัน ซึ่งทำให้สารเคมีที่หลั่งจากเซลล์หรือสารอาหารต่างๆ สามารถส่งผ่านถึงกันได้โดยตลอด อีกทั้งวิธีอิเล็คโตรสปินนิ่งยังเป็นวิธีที่สามารถควบคุมขนาดและสัณฐานของเส้นใยตามที่ต้องการได้ง่าย โดยการควบคุมปัจจัยต่างๆ ในการขึ้นรูป เช่น ชนิดของตัวทำละลาย ความเข้มข้นของสารละลาย ความเข้มสนามไฟฟ้า เป็นต้น มีงานวิจัยจำนวนมากได้นำแผ่นเส้นใยอิเล็คโตรสปันมาใช้เป็นวัสดุโครงสร้างสำหรับเพาะเลี้ยงเซลล์ เนื่องจากพบว่าเซลล์สามารถยึดเกาะกับเส้นใยที่มีขนาดเส้นผ่านศูนย์กลางเล็กกว่าขนาดเส้นผ่านศูนย์กลางของเซลล์ได้ดี (Laurencin et al., 1999) และเซลล์สามารถยึดเกาะและเจริญเติบโตบนวัสดุเส้นใยได้ดีกว่าวัสดุที่มีผิวเรียบเช่นแผ่นฟิล์มพอลิเมอร์จากวิธีการหล่อ (Bhattarai et al., 2005; Xu et al., 2004) และจานเพาะเลี้ยงเซลล์ชนิดพอลิสไตรีน (Li, M. et al., 2005) อีกทั้งเซลล์แสดงลักษณะเป็นหนึ่งเดียวกัน (uniformity) มากกว่าเมื่อเพาะเลี้ยงบนวัสดุที่มีโครงสร้างแบบเส้นใย (Bhattarai et al., 2005) ทั้งนี้อาจเนื่องมาจากโครงสร้างแบบเส้นใยมีพื้นที่ผิวมากกว่าสำหรับให้เซลล์ยึดเกาะและเจริญเติบโตได้ดีกว่า

ชนิดของพอลิเมอร์ที่มีการนำมาใช้เป็นวัสดุโครงสร้างสำหรับเพาะเลี้ยงเซลล์สามารถแบ่งออกเป็นสองประเภทโดยจำแนกตามแหล่งที่มา คือ ประเภทพอลิเมอร์ธรรมชาติ เช่น ไคโตซาน (Bhattarai et al., 2005) คอลลาเจน (Li, M. et al., 2005) เจลาติน (Li, M. et al., 2005) และไฟโบรอิน (Min et al., 2004) เป็นต้น และประเภทพอลิเมอร์สังเคราะห์ โดยส่วนใหญ่จะอยู่ในกลุ่มพอลิเอสเทอร์ เช่น พอลิแลคไทด์ (Zong et al., 2005) พอลิไกลโคไลด์ (Telemeco et al., 2005) พอลิคาโปรแลคโตน (Li, W.J. et al., 2005) และพอลิไฮดรอกซีบิวทิเลต (Sombatmankhong et al., 2007) เป็นต้น

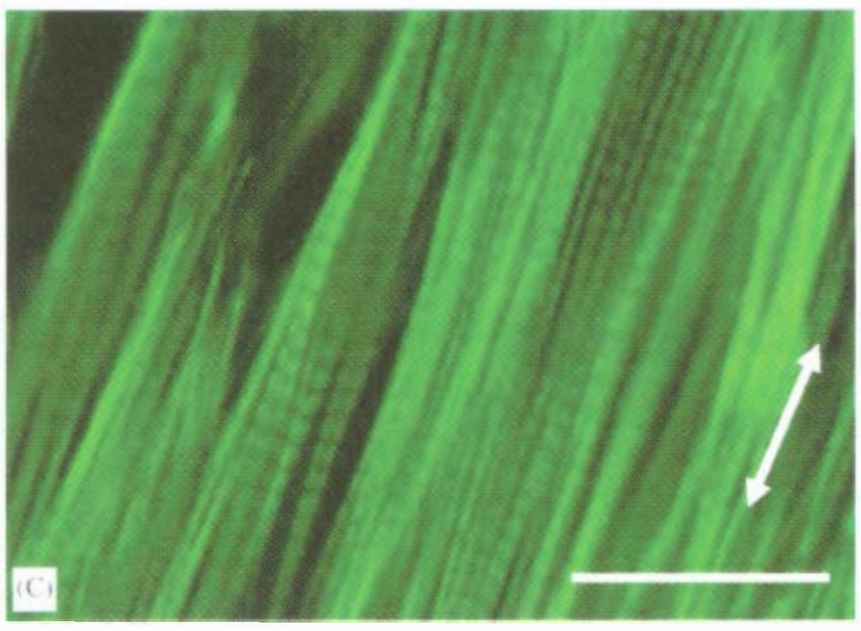
การศึกษาคุณสมบัติในการใช้งานเป็นวัสดุโครงสร้างสำหรับเพาะเลี้ยงเซลล์นั้น อาจศึกษาแบบในหลอดแก้ว (*in vitro*) ในสัตว์ทดลอง (*in vivo*) หรือทั้งสองแบบ โดยทั่วไปจะศึกษาคุณสมบัติการยึดเกาะ การเจริญเติบโต และการเปลี่ยนแปลงเพื่อทำหน้าที่เฉพาะของเซลล์ และสำหรับบางงานวิจัยอาจมีการศึกษาความเป็นพิษต่อเซลล์ (cytotoxicity) ด้วยการศึกษาการยึดเกาะของเซลล์บนวัสดุซึ่งสามารถวัดได้ในเชิงคุณภาพและเชิงปริมาณ การศึกษาเชิงคุณภาพสามารถตรวจสอบด้วยกล้องจุลทรรศน์อิเล็คตรอนแบบส่องกราด (scanning electron microscope) โดยสังเกตการยึดเกาะ การกระจายตัว ลักษณะรูปร่างของเซลล์และปฏิกิริยาทางกายภาพต่อกันระหว่างเซลล์และวัสดุโครงสร้างสำหรับเพาะเลี้ยงเซลล์

Wutticharoenmongkol et al. (2006) รายงานว่าเซลล์ SaOS2 ซึ่งเป็นเซลล์ประเภทออสติโอซาร์โคมา (osteosarcoma) มีรูปร่าง (phenotype) ปกติ เมื่อเพาะเลี้ยงบนวัสดุโครงสร้างสำหรับเพาะเลี้ยงเซลล์แบบแผ่นเส้นใยอิเล็คโตรสปันพอลิคาโปรแลคโตนที่เติมไฮดรอกซีแอปาไทต์ (hydroxyapatite) เป็นเวลา 4 ชั่วโมง และมีฟิโลโปเดีย (filopodia) ที่ยึดเกาะกับแผ่นเส้นใย ดังแสดงในรูปที่ 1 หรืออาจตรวจสอบด้วยกล้องจุลทรรศน์แบบเลเซอร์รวมแสงส่องกราด (confocal laser scanning microscope) รูปที่ 2 แสดงเซลล์คาร์ดิแอคไมโอไซต์ (cardiac myocytes) ที่เพาะเลี้ยงบนเส้นใยอิเล็คโตรสปันพอลิแลกไทด์ จากกล้องจุลทรรศน์แบบเลเซอร์รวมแสงส่องกราด (Zong et al., 2005) และอาจใช้วิธีย้อมสีแล้วตรวจสอบด้วยกล้องฟลูออเรสเซนส์ ดังรูปที่ 3 แสดงเซลล์ฮิวแมนเอ็มบริโอนิคพาลาทอลมีเซนไคม์ (human embryonic palatal mesenchymal: HEPM) ที่เพาะเลี้ยงบนเส้นใยอิเล็คโตรสปันเจลาติน ที่เวลา 48 ชั่วโมง ซึ่งย้อมด้วยนิวคลิไอ - บิสเบนซิไมด์ (nuclei-bisbenzimide) (ติดสีฟ้า) และแอคตินไซโตสเกเลตอน-ฟาลลอยดิน (actin cytoskeleton-phalloidin) (ติดสีแดง) และเส้นใยมีลักษณะเรืองแสงด้วยตัวเอง (autofluorescence) (Li, M.

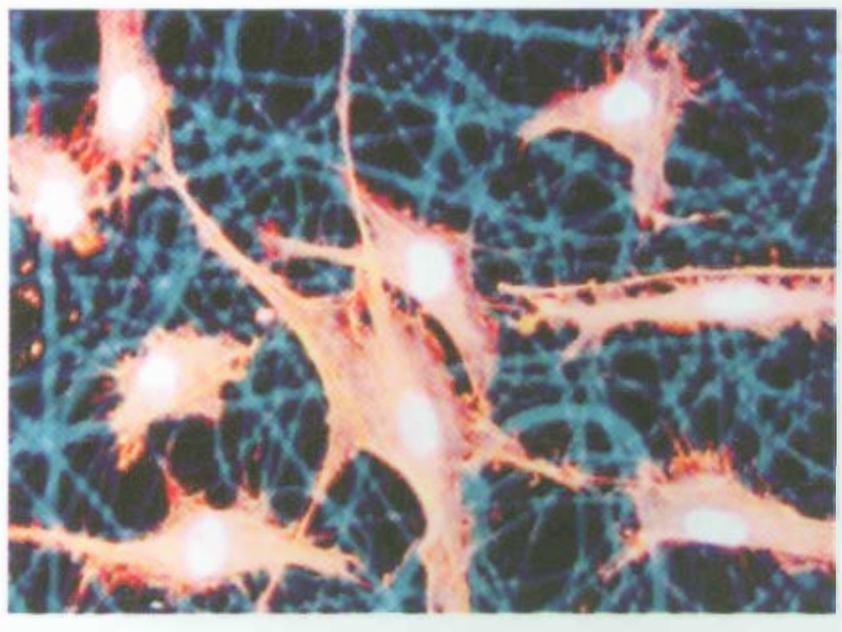
et al., 2005) สำหรับการศึกษาเชิงปริมาณ อาจใช้วิธีเอ็มทีที (MTT assay) (Wutticharoenmongkol et al., 2006) ซึ่งเป็นการบอกระดับความมีชีวิตของเซลล์ เอ็มทีที (3-(4,5-dimethylthiazol-2-yl)-2,5-diphenyl-tetrazolium bromide) เป็นเกลือเตตระโซเลียมชนิดหนึ่ง ซึ่งสามารถเร่งการเกิดปฏิกิริยาได้โดยเอนไซม์ดีไฮโดรจีเนส (dehydrogenase) ซึ่งหลั่งออกจากไมโตคอนเดรียของเซลล์ที่ยังมีชีวิตอยู่ เอ็มทีทีจะเปลี่ยนจากสีเหลืองไปเป็นสีม่วง ระดับความเข้มของสีม่วงซึ่งสามารถตรวจสอบจากสเปกโตรโฟโตมิเตอร์แบบยูวีวิสิเบิล (UV-visible) ใช้บอกจำนวนของเซลล์ที่มีชีวิตได้ การศึกษาการยึดเกาะของเซลล์เชิงปริมาณยังสามารถใช้วิธีวิเคราะห์ดีเอ็นเอแบบฟลูออโรเมทริกซ์ได้อีกด้วย (Badami et al., 2006) โดยใช้หลักการคือจำนวนเซลล์จะแปรผันตรงกับปริมาณดีเอ็นเอ ซึ่งสามารถหาปริมาณดีเอ็นเอได้โดยย้อมสีดีเอ็นเอด้วยสีย้อมเฉพาะ เช่น บิสเบนซิมิดาโซล (bisbenzimidazole) และตรวจวัดด้วยวิธีฟลูออเรสเซนส์



รูปที่ 1 เซลล์ SaOS2 ที่เพาะเลี้ยงบนเส้นใยอิเล็คโตรสปันพอลิคาโปรแลคโตนที่เติมไฮดรอกซีแอปาไทต์ ที่เวลา 4 ชั่วโมงจากกล้องจุลทรรศน์อิเล็คตรอนแบบส่องกราด (Wutticharoenmongkol et al., 2006)



รูปที่ 2 เซลล์คาร์ดิแอคไมโอไซต์ที่เพาะเลี้ยงบนเส้นใยอิเล็คโตรสปันพอลิแลกไทด์ (สเกล = 20 mm) โดยลูกศรแสดงทิศทางของเส้นใยจากกล้องจุลทรรศน์แบบเลเซอร์รวมแสงส่องกราด (Zong et al., 2005)



รูปที่ 3 เซลล์ฮิวแมนเอ็มบริโอนิคพาลาทอลมีเซนไคม์ที่เพาะเลี้ยงบนเส้นใยอิเล็คโตรสปันเจลาติน ที่เวลา 48 ชั่วโมง (กำลังขยาย 400x) ซึ่งย้อมด้วยนิวคลิไอ-บิสเบนซิไมด์ (สีฟ้า) และแอคตินไซโตสเกเลตอน-ฟาลลอยติน (สีแดง) และเส้นใยมีลักษณะเรืองแสงด้วยตัวเอง (Li, M. et al., 2005)

เมื่อศึกษาการยึดเกาะของเซลล์บนวัสดุแล้วจะมีการศึกษาการเจริญเติบโตของเซลล์ต่อไป การเจริญเติบโตของเซลล์หมายถึงการเพิ่มจำนวนประชากรของเซลล์โดยการแบ่งตัวจากหนึ่งเซลล์เป็นสองเซลล์ที่มีลักษณะเหมือนกันทุกประการ ดังนั้นการศึกษาการเจริญเติบโตของเซลล์จึงสามารถวิเคราะห์ในเชิงปริมาณด้วยวิธีเอ็มทีทีและวิธีวิเคราะห์ดีเอ็นเอแบบฟลูออโรเมทริกซ์ และสามารตรวจสอบในเชิงคุณภาพด้วยกล้องจุลทรรศน์อิเล็คตรอนแบบส่องกราดเช่นเดียวกัน

สำหรับการศึกษาความเป็นพิษต่อเซลล์ อาจแบ่งได้เป็นสองประเภท คือ ความเสียหายเชิงกายภาพและเคมี และความเสียหายเชิงเมตาบอลิซึม ความเสียหายเชิงกายภาพและเคมีสามารถศึกษาด้วยการย้อมสีผนังเซลล์ และดูความผิดปกติ เช่น การย้อมด้วยทริปแพนบลู (trypan blue) และนิวทรอลเรด (neutral red) แล้วสังเกตลักษณะของเซลล์จากกล้องจุลทรรศน์ หรืออาจใช้วิธีแอลดีเอช (LDH assay) โดยระดับของแอลดีเอช (lactate dehydrogenase: LDH) จะสูงเมื่อเซลล์มีการบาดเจ็บหรือถูกทำลาย ส่วนความเสียหายเชิงเมตาบอลิซึม สามารถศึกษาด้วยวิธีเอ็มทีทีดังที่ได้กล่าวไว้ข้างต้น โดยการแช่วัสดุที่ต้องการทดสอบในภาชนะที่มีการเลี้ยงเซลล์เป็นระยะเวลาหนึ่งแล้วนำเซลล์ไปทดสอบด้วยวิธีเอ็มทีที หรืออาจนำอาหารเลี้ยงเซลล์ที่ผ่านการแช่วัสดุที่ต้องการทดสอบเป็นระยะเวลาหนึ่งมาใช้เลี้ยงเซลล์ แล้วนำเซลล์ไปทดสอบด้วยวิธีเอ็มทีทีเปรียบเทียบปริมาณหรือระดับความมีชีวิตของเซลล์กับกรณีที่ใช้อาหารเลี้ยงเซลล์ปกติที่ไม่ผ่านการแช่วัสดุ

การอพยพของเซลล์ (cell migration) เป็นอีกประเด็นหนึ่งที่มีการศึกษา โดยตรวจสอบว่าเซลล์มีการเจริญเติบโตและอาศัยอยู่ภายในวัสดุโครงสร้างสำหรับเพาะเลี้ยงเซลล์หรือไม่ หรือมีเซลล์อยู่เพียงผิวนอกของวัสดุเท่านั้น การศึกษาทำได้โดยวิธีฮิสทอลอจิคอล (histological method) นั่นคือทำการเลี้ยงเซลล์บนวัสดุโครงสร้างสำหรับเพาะเลี้ยงเซลล์ในระยะเวลาหนึ่งที่ต้องการ แล้วนำวัสดุมาตัดเป็นชิ้นบางๆ ในภาคตัดขวาง และนำไปย้อมด้วยสีย้อม เช่น ฮีมาทอกซีลิน-อีโอซิน (hematoxylin-and-eosin: H&E) (Stankus et al., 2006) แล้วนำไปตรวจดูด้วยกล้องจุลทรรศน์ หากมีเซลล์อาศัยอยู่บริเวณใดก็จะเห็นสีย้อมติดอยู่ มีงานวิจัยพบว่าการเพาะเลี้ยงเซลล์บนแผ่นเส้นใยอิเล็คโตรสปันมีการอพยพของเซลล์เกิดขึ้นได้หลังจากเพาะเลี้ยงหนึ่งสัปดาห์ (Yoshimoto et al., 2003; Zhang et al., 2005) อย่างไรก็ตามมีงานวิจัยบางส่วนพบว่าเซลล์ส่วนใหญ่อยู่บนผิวของแผ่นเส้นใยอิเล็คโตรสปันเท่านั้น (Vaz et al., 2005)

วัสดุโครงสร้างสำหรับเพาะเลี้ยงเซลล์ที่ดีนั้นนอกจากจะต้องให้เซลล์ยึดเกาะและเจริญเติบโตได้ดีแล้วยังต้องช่วยให้การเปลี่ยนแปลงเพื่อทำหน้าที่เฉพาะ (differentiation) ของเซลล์ดำเนินไปอย่างปกติอีกด้วย การเปลี่ยนแปลงเพื่อทำหน้าที่เฉพาะของเซลล์หมายถึงกระบวนการที่เซลล์ในระยะโตเต็มวัย (mature) จะทำหน้าที่เฉพาะเจาะจงแตกต่างกันไปตามชนิดของเซลล์ เช่น หลั่งโปรตีนเฉพาะของเซลล์ชนิดนั้นๆ การตรวจสอบการเปลี่ยนแปลงเพื่อทำหน้าที่เฉพาะของเซลล์อาจทำได้โดยวิธีรีเวอร์สทรานสคริปชัน-พอลิเมอเรสเชนรีแอคชัน (reverse transcription-polymerase chain reaction: RT-PCR) วิธีเวสเทอร์นบลอท (Western blot) และวิธีนอร์ทเทอร์นบลอท (Northern blot) สำหรับวิธีรีเวอร์สทรานสคริปชัน-พอลิเมอเรสเชนรีแอคชันเป็นการวิเคราะห์เอ็มอาร์เอ็นเอ (messenger ribonucleic acid: mRNA) ในการผลิตโปรตีนชนิดต่างๆของเซลล์ ตัวอย่างเช่นเซลล์กระดูก จะมีการตรวจสอบการสร้างออสติโอเนคติน (osteonectin) ออสติโอพอนติน (osteopontin) และออสติโอแคลซิน (osteocalcin) ทำได้โดยการสกัดอาร์เอ็นเอจากเซลล์และสร้างดีเอ็นเอ (deoxyribonucleic acid: DNA) จากอาร์เอ็นเอด้วยวิธีรีเวอร์สทรานสคริปชัน จากนั้นเพิ่มจำนวนดีเอ็นเอด้วยวิธีพอลิเมอเรสเชนรีแอคชัน จากนั้นนำดีเอ็นเอที่ได้มาแยกองค์ประกอบตามน้ำหนักโมเลกุลด้วยวิธีเจลอิเล็คโตรโฟเรซิส (gel electrophoresis) ซึ่งเป็นวิธีแยกสารโดยการให้

ประจุไฟฟ้าเพื่อให้สารเคลื่อนที่ในตัวกลางชนิดเจลจากขั้วหนึ่งไปยังอีกขั้วหนึ่ง ซึ่งบริเวณที่มีดีเอ็นเอปรากฏอยู่ในเจลจะมีการเรืองแสงภายใต้แสงยูวี ทำให้สามารถสังเกตเห็นได้ว่ามีดีเอ็นเอชนิดที่กำลังศึกษาปรากฏอยู่หรือไม่ และมีปริมาณมากน้อยเพียงใดโดยดูได้จากความเข้มแสงเมื่ออยู่ภายใต้แสงยูวี สำหรับวิธีเวสเทอร์นบลอทนั้นก็เป็นการตรวจสอบปริมาณโปรตีน ทำได้โดยการเก็บตัวอย่างโปรตีนที่ต้องการซึ่งอาจเก็บจากอาหารเพาะเลี้ยงเซลล์ หรืออาจสกัดจากเซลล์ขึ้นอยู่กับชนิดของโปรตีนที่ต้องการศึกษา จากนั้นนำโปรตีนมาแยกองค์ประกอบด้วยวิธีเจลอิเล็คโตรโฟเรซิส จากนั้นถ่ายโปรตีนไปยังเมมเบรนซึ่งอาจเป็นเมมเบรนไนโตรเซลลูโลส (nitrocellulose) หรือเมมเบรนพอลิไวนิลิดีนไดฟลูออไรด์ (polyvinylidene difluoride) เติมแอนติบอดี (antibody) สำหรับโปรตีนที่ต้องการตรวจสอบ และนำไปตรวจสอบด้วยวิธีต่างๆ เช่นแบบสี (colorimetric method) แบบเรืองแสงทางเคมี (chemiluminescense) และแบบรังสี (radioactive) สำหรับเซลล์กระดูก การศึกษาการเปลี่ยนแปลงเพื่อทำหน้าที่เฉพาะของเซลล์กระดูกในระยะท้าย อาจมีการศึกษาการพอกแร่ธาตุ (mineralization) ของเซลล์ การพอกแร่ธาตุคือการที่เซลล์กระดูกมีการสร้างสารประกอบจำพวกแคลเซียมฟอสเฟตขึ้น สามารถตรวจสอบได้โดยการย้อมสีด้วยอลิซารินเรด (alizarin red) โดยบริเวณที่มีการพอกแร่ธาตุจะปรากฏสีแดงขึ้น และความเข้มของสีสามารถบ่งบอกปริมาณการพอกแร่ธาตุได้

นอกจากสมบัติในเชิงชีวภาพแล้ว สมบัติเชิงกายภาพของวัสดุโครงสร้างสำหรับเพาะเลี้ยงเซลล์ก็เป็นสิ่งจำเป็นที่ต้องศึกษา ได้แก่ สมบัติเชิงกลต่างๆ เช่น ความแข็งแรง (strength) และความแข็ง (stiffness) เป็นต้น อัตราการย่อยสลาย ขนาดรูและความเป็นรูพรุนดังที่ได้กล่าวไว้ตอนต้นว่าโครงสร้างของวัสดุที่ดีสำหรับเพาะเลี้ยงเซลล์นั้นควรมีสมบัติเชิงกลใกล้เคียงกับเนื้อเยื่อที่ต้องการฝังวัสดุเนื่องจากต้องรับแรงกระทำจริงตามธรรมชาติของเนื้อเยื่อบริเวณนั้น ต้องมีอัตราเร็วในการย่อยสลายที่ใกล้เคียงกับอัตราเร็วในการสร้างเนื้อเยื่อใหม่ของเนื้อเยื่อชนิดนั้น ส่วนความเป็นรูพรุนและขนาดรูพรุนนั้นมีความสำคัญเกี่ยวกับการอพยพของเซลล์ กล่าวคือ ถ้ามีขนาดรูเล็กเกินไป อาจจะทำให้การอพยพของเซลล์เกิดขึ้นได้ยาก มีงานวิจัยพบว่าวัสดุโครงสร้างสำหรับเพาะเลี้ยงเซลล์กระดูกที่ดีควรมีความเป็นรูพรุนมากกว่าร้อยละ 90 (Hu et al., 2002) และขนาดของรูที่เหมาะสมของวัสดุโครงสร้างสำหรับเซลล์กระดูก คือ 100-350 ไมโครเมตร (Hollinger and Leong, 1996)

ลักษณะพื้นผิว (topography) ของแผ่นเส้นใยนาโนเป็นอีกคุณสมบัติหนึ่งที่มีผลต่อพฤติกรรมของเซลล์ เช่น ขนาดของเส้นใยและการจัดเรียงตัว (alignment) ของเส้นใย มีงานวิจัยพบว่าเซลล์สามารถยึดเกาะบนเส้นใยขนาดนาโนเมตร (80 นาโนเมตร) ได้ดีกว่าบนเส้นใยขนาดไมโครเมตร (11 ไมโครเมตร) (Min et al., 2004) และพบว่าเซลล์สามารถยึดเกาะบนเส้นใยขนาด 0.3 และ 1.2 ไมโครเมตร ได้ดีกว่าเส้นใยขนาด 7 ไมโครเมตร (Kwon et al., 2005) ขนาดของเส้นใยยังมีผลต่อการเปลี่ยนแปลงไปทำหน้าที่เฉพาะของเซลล์ด้วยเช่นกัน Yang et al. (2005) รายงานว่าเซลล์เปลี่ยนแปลงไปทำหน้าที่เฉพาะเมื่อเพาะเลี้ยงบนเส้นใยขนาดนาโนเมตร (700 นาโนเมตร) ได้ดีกว่าบนเส้นใยขนาดไมโครเมตร (3.5 ไมโครเมตร) สำหรับการจัดเรียงตัวของเส้นใยนั้นก็มีผลต่อพฤติกรรมของเซลล์เช่นกัน พบว่าเซลล์คาร์ดิโอไมโอไซต์ (cardiomyocytes: CMs) (Zong et al., 2005) นิวรอลสเต็มเซลล์ (neural stem cells: NSC) (Yang et al., 2005) และเซลล์ฮิวแมนลิกาเมนต์ไฟโบรบลาสต์ (human ligament fibroblast cells: HLF) (Lee et al., 2005) มีรูปร่างเซลล์ยืดยาวออก (elongate) และวางตัวในทิศทางของเส้นใย นอกจากนี้ยังพบว่าเซลล์ฮิวแมนลิกาเมนต์ไฟโบรบลาสต์ที่เพาะเลี้ยงบนแผ่นเส้นใยที่มีการจัดเรียงตัวมีการสังเคราะห์คอลลาเจนมากกว่าเซลล์ที่เพาะเลี้ยงบนเส้นใยที่ไม่มีการจัดเรียงตัว (Lee et al., 2005) ทั้งนี้อาจเนื่องมาจากเซลล์ดังกล่าวที่มีรูปร่างยาวแบบเข็ม

(spindle shape) จะมีการสังเคราะห์คอลลาเจนมากกว่าการเพาะเลี้ยงเซลล์สมูทมัสเซิล (smooth muscle cells: SMC) บนเส้นใยที่มีการจัดเรียงตัวก็แสดงผลในลักษณะเดียวกันกับข้างต้น กล่าวคือเซลล์มีการยึดเกาะอพยพ และมีการสังเคราะห์โปรตีนเฉพาะของเซลล์สมูทมัสเซิล ได้แก่แอคตินและไมโอซินในทิศทางที่เส้นใยจัดเรียงตัว (Xu et al., 2004)

การปรับปรุงคุณสมบัติของเส้นใยอิเล็คโตรสปัน

การปรับปรุงคุณสมบัติของเส้นใยเป็นอีกประเด็นหนึ่งที่มีการศึกษา การเคลือบเส้นใยด้วยคอลลาเจนเป็นวิธีการหนึ่งที่มีผู้นิยมนำมาใช้มาก เนื่องจากคอลลาเจนช่วยให้เซลล์มีการยึดเกาะและเจริญเติบโตได้มากขึ้น (Min et al., 2004) เซลล์มีการกระจายตัว ยึดเกาะ และมีความมีชีวิตมากขึ้นเมื่อเพาะเลี้ยงบนเส้นใยที่มีการเคลือบคอลลาเจน และคอลลาเจนยังช่วยให้เซลล์มีฟีโนไทป์ที่ปกติอีกด้วย (He et al., 2006) สำหรับการปรับปรุงเส้นใยที่ใช้เป็นวัสดุโครงสร้างสำหรับเพาะเลี้ยงเซลล์กระดูก อาจมีการเตรียมเส้นใยในรูปคอมพอสิตกับสารประกอบจำพวกแคลเซียมฟอสเฟต เช่นไฮดรอกซีแอปาไทต์ (Wutticharoenmongkol et al., 2007) หรือแคลเซียมคาร์บอเนต (calcium carbonate) (Fujihara et al., 2005) นอกจากจะเป็นการปรับปรุงสมบัติทางกลแล้ว ยังช่วยปรับปรุงสมบัติทางชีวภาพด้วย เนื่องจากพบว่าแคลเซียมฟอสเฟตและแคลเซียมคาร์บอเนตเป็นสารสื่อเซลล์กระดูก (osteoconductive materials) นั่นคือช่วยให้เซลล์กระดูกมีการเปลี่ยนแปลงไปทำหน้าที่เฉพาะได้ดีขึ้น โดยพบว่าเส้นใยคอมพอสิตพอลิคาโปรแลคโตนที่มีปริมาณแคลเซียมคาร์บอเนตมากกว่าจะทำให้เซลล์มีการพอกแร่ธาตุมากกว่า (Fujihara et al., 2005)

บทสรุป

ปัจจุบันมีงานวิจัยที่ศึกษาการใช้เส้นใยนาโนซึ่งเตรียมจากวิธีอิเล็คโตรสปินนิ่งในงานด้านวัสดุโครงสร้างสำหรับเพาะเลี้ยงเซลล์เป็นจำนวนมาก ซึ่งมีแนวโน้มในการพัฒนาต่อไปได้อีกมาก ทั้งในด้านการปรับปรุงคุณสมบัติทางเคมีของวัสดุ เพื่อให้เซลล์มีการยึดเกาะ การเจริญเติบโต และการเปลี่ยนแปลงเพื่อทำหน้าที่เฉพาะได้ดีขึ้น ด้านการปรับปรุงโครงสร้างทางกายภาพของเส้นใย และด้านการปรับปรุงคุณสมบัติเชิงกลให้เหมาะสมในการใช้งานมากยิ่งขึ้น หากงานวิจัยด้านนี้ได้รับความสนใจศึกษาวิจัยต่อไปและมีการพัฒนาสูงขึ้นไป ความรู้ที่ได้จะเป็นประโยชน์ต่อมนุษย์เป็นอย่างยิ่ง

เอกสารอ้างอิง

Badami, A. S., Kreke, M. R., Thompson, M. S., Riffle, J. S. and Goldstein, A. S. (2006). Effect of fiber diameter on spreading, proliferation, and differentiation of osteoblastic cells on electrospun poly(lactic acid) substrates. Biomaterials. 27: 596-606.

Bhattarai, N., Edmondson, D., Veiseh, O., Matsen, F.A. and Zhang, M. (2005). Electrospun chitosan-based nanofibers and their cellular compatibility. Biomaterials. 26: 6176-6184.

Doshi, J. and Reneker, D. H. (1995). Electrospinning process and applications of electrospun fibers. Journal of Electrostatics. 35: 151-160.

Fujihara, K., Kotaki, M. and Ramakrishna, S. (2005). Guided bone regeneration membrane made of polycaprolactone/calcium carbonate composite nano-fibers. Biomaterials. 26: 4139-4147.

He, W., Ma, Z., Yong, T., Teo, W.E. and Ramakrishna, S. (2005). Fabrication of collagen-coated biodegradable polymer nanofiber mesh and its potential for endothelial cells growth. Biomaterials. 26: 7606-7615.

Hollinger, J. O. and Leong, K. (1996). Poly (alpha-hydroxy acids): carriers for bone morphogenetic proteins. Biomaterials. 17: 187-194.

Hu, Y., Grainger, D. W., Winn, S. R. and Hollinger, J. O. (2002). Fabrication of poly(alpha-hydroxy acid) foam scaffolds using multiple solvent systems. Journal of Biomedical Materials Research. 59: 563-572.

Hutmacher, D. W. (2001). Scaffold design and abrication technologies for engineering tissues--state of the art and future perspectives. Journal of Biomaterials Science - Polymer Edition. 12: 107-124.

Kim, J. S. and Reneker, D. H. (1999). Mechanical properties of composites using ultrafine electrospun fibers. Polymer Composites. 20: 124-131.

Kwon, I. K., Kidoaki, S. and Matsuda, T. (2005). Electrospun nano- to microfiber fabrics made of biodegradable copolyesters:structural characteristics, mechanical properties and cell adhesion potential. Biomaterials. 26: 3929-3939.

Laurencin, C. T., Ambrosio, A. M. A., Borden, M. D. and Cooper, Jr, J. A. (1999). Tissue Engineering: Orthopedic application. Annual Review of Biomedical Engineering. 1: 19-46.

Lee, C. H., Shin, H. J., Cho, I. H., Kang, Y. M., Kim, I. A., Park, K. D. and Shin, J. W. (2005). Nanofiber alignment and direction of mechanical strain affect the ECM production of human ACL fibroblast. Biomaterials. 26: 1261-1270.

Li, M., Mondrinos, M. J., Gandhi, M. R., Ko, F. K., Weiss, A. S. and Lelkes, P. I. (2005). Electrospun protein fibers as matrices for tissue engineering. Biomaterials. 26: 5999-6008.

Li, W. J., Tuli, R., Okafor, C., Derfoul, A., Danielson, K. G., Hall, D. J. and Tuan, R. S. (2005). A three-dimensional nanofibrous scaffold for cartilage tissue engineering using human mesenchymal stem cells. Biomaterials. 26: 599-609.

Min, B. M., Jeong, L., Nam, Y. S., Kim, J. M., Kim, J. Y. and Park, W H. (2004). Formation of silk fibroin Matrices with different texture and its cellular response to normal human keratinocytes. International Journal of Biological Macromolecules. 34: 223-230.

Norris, I. D., Shaker, M. M., Ko, F. K. and MacDiarmid, A. G. (2000). Electrostatic fabrication of ultrafine conducting fibers:polyaniline/polyethylene oxide blends. Synthetic Metals. 114: 109-114.

Reneker, D. H. and Yarin, A. L. (2008). Electrospinning jets and polymer nanofibers. Polymer. 49: 2387-2425.

Sombatmankhong, K., Sanchavanakit, N., Pavasant, P. and Supaphol, P. (2007). Bone scaffolds from electrospun fiber mats of poly (3-hydroxybutyrate), poly(3-hydroxybutyrate-*co*-3-hydroxyvalerate) and their blend. Polymer. 48: 1419-1427.

Stankus, J. J., Guan, J., Fujimoto, K. and Wagner, W. R. (2006). Microintegrating smooth muscle cells into a biodegradable, elastomeric fiber matrix. Biomaterials. 27: 735-744.

Taepaiboon, P., Rungsardthong, U. and Supaphol, P. (2006). Drug-loaded electrospun mats of poly(vinyl alcohol) fibres and their release characteristics of four model drugs. Nanotechnology. 17: 2317-2329.

Telemeco, T. A., Ayres, C., Bowlin, G. L., Wnek, G. E., Boland, E. D., Cohen, N., Baumgarten, C. M., Mathews, J. and Simpson, D. G. (2005). Regulation of cellular infiltration into tissue engineering scaffolds composed of submicron diameter fibrils produced by electrospinning. Acta Biomaterialia. 1: 377-385.

Vaz, C. M., Tuijl, S. V., Bouten, C. V. C. and Baaijens, F. P. T. (2005). Design of scaffolds for blood vessel tissue engineering using a multi-layering electrospinning technique. Acta Biomaterialia. 1: 575-582.

Wang, X., Drew, C., Lee, S. H., Senecal, K. J., Kumar, J. and Samuelson, L. A. (2002). Electrospun Nanofibrous Membranes for Highly Sensitive Optical Sensors. Nano Letters. 2: 1273-1275.

Wutticharoenmongkol, P., Pavasant, P. and Supaphol, P. (2007). Osteoblastic phenotype expression of MC3T3-E1 cultured on electrospun polycaprolactone fiber mats filled with hydroxyapatite nanoparticles. Biomacromolecules. 8: 2602-2610.

Wutticharoenmongkol, P., Sanchavanakit, N., Pavasant, P. and Supaphol, P. (2006). Novel bone scaffolds of electrospun polycaprolactone fibers filled with nanoparticles. Journal of Nanoscience and Nanotechnology. 6: 514-522.

Xu, C. Y., Inai, R., Kotaki, M. and Ramakrishna, S. (2004). Aligned biodegradable nanofibrous structure: a potential scaffold for blood vessel engineering. Biomaterials. 25: 877-886.

Yang, F., Murugan, R., Wang, S. and Ramakrishna, S. (2005). Electrospinning of nano/micro scale poly(L-lactic acid) aligned fibers and their potential in neural tissue engineering. Biomaterials. 26: 2603-2610.

Yoon, K., Kim, K., Wang, X., Fang, D., Hsiao, B. S. and Chu, B. (2006). High flux ultrafiltration membranes based on electrospun nanofibrous PAN scaffolds and chitosan coating. Polymer. 47: 2434-2441.

Yoshimoto, H., Shin, Y.M., Terai, H. and Vacanti, J.P. (2003). A biodegradable nanofiber scaffold by electrospinning and its potential for bone tissue engineering. Biomaterials. 24: 2077-2082.

Zhang, Y., Ouyang, H., Lim, C.T., Ramakrishna, S. and Huang, Z. M. (2005). Electrospinning of gelatin fibers and gelatin/PCL composite fibrous scaffolds. Journal of biomedical materials research. Part B, Applied Biomaterials. 72: 156-165.

Zong, X., Bien, H., Chung, C. Y., Yin, L., Fang, D., Hsiao, B. S., Chu, B. and Entcheva, E. (2005). Electrospun fine-textured scaffolds for heart tissue constructs. Biomaterials. 26: 5330-5338.

❑❑❑❑❑

ว.วิทย. มข. 39(2) 219-231 (2554) KKU Sci. J.39(2) 219-231 (2011)

KKU SCIENCE JOURNAL

ผลของการเจือธาตุต่อสมบัติเทอร์โมอิเล็กทริกส์ของแคลเซียมโคบอลต์ไทต์

Effect of Elemental Doping on the Thermoelectric Properties of Calcium Cobaltite

สุปรีดิ์ พินิจสุนทร [1]

บทนำ

วิกฤตพลังงานขาดแคลนและปัญหามลภาวะต่อสิ่งแวดล้อมเป็นปัญหาใหญ่ในปัจจุบัน อีกทั้งภาวะราคาน้ำมันผันผวน เป็นสาเหตุหลักให้มีการหาแหล่งพลังงานทดแทนอย่างอื่นๆ เพื่อทดแทนน้ำมันเช่น ไบโอดีเซล หรือเอทานอล นอกจากนี้แหล่งพลังงานสะอาดอย่างอื่นๆ จากธรรมชาติก็มีการค้นคว้าวิจัยกันอย่างมาก เช่น พลังงานแสงอาทิตย์ พลังงานลม พลังงานน้ำ พลังงานความร้อน ฯลฯ ในบรรดาพลังงานเหล่านี้ พลังงานความร้อนเป็นแหล่งพลังงานที่น่าสนใจ ไม่ใช่แค่พลังงานความร้อนจากใต้พิภพแต่รวมถึงพลังงานความร้อนที่สูญเสียไปจากเครื่องยนต์ที่ขับเคลื่อนด้วยพลังงานในรูปแบบอื่นๆ ไม่ว่าจะเป็นพลังงานไฟฟ้า (มอเตอร์) พลังงานเคมี (แบตเตอรี่) หรือ พลังงานกลจากการจุดระเบิดของเครื่องยนต์ พลังงานทั้งหลายเหล่านี้ก่อให้เกิดความร้อนที่สูญเปล่า (waste heat) ซึ่งต้องระบายความร้อนออกโดยไม่ก่อให้เกิดประโยชน์ใดๆ ทั้งสิ้น แม้กระทั่งเครื่องยนต์ในอุดมคติก็ยังไม่สามารถทำงานได้ประสิทธิภาพร้อยละ 100 หากแต่ต้องสูญเสียพลังงานในรูปความร้อนทั้งสิ้น ถ้าเราสามารถนำความร้อนที่สูญเปล่านี้กลับมาใช้ใหม่ ก็จะทำให้เกิดการใช้พลังงานอย่างมีประสิทธิภาพมากยิ่งขึ้นและเกิดประโยชน์สูงสุด

วัสดุเทอร์โมอิเล็กทริก (Thermoelectric materials)

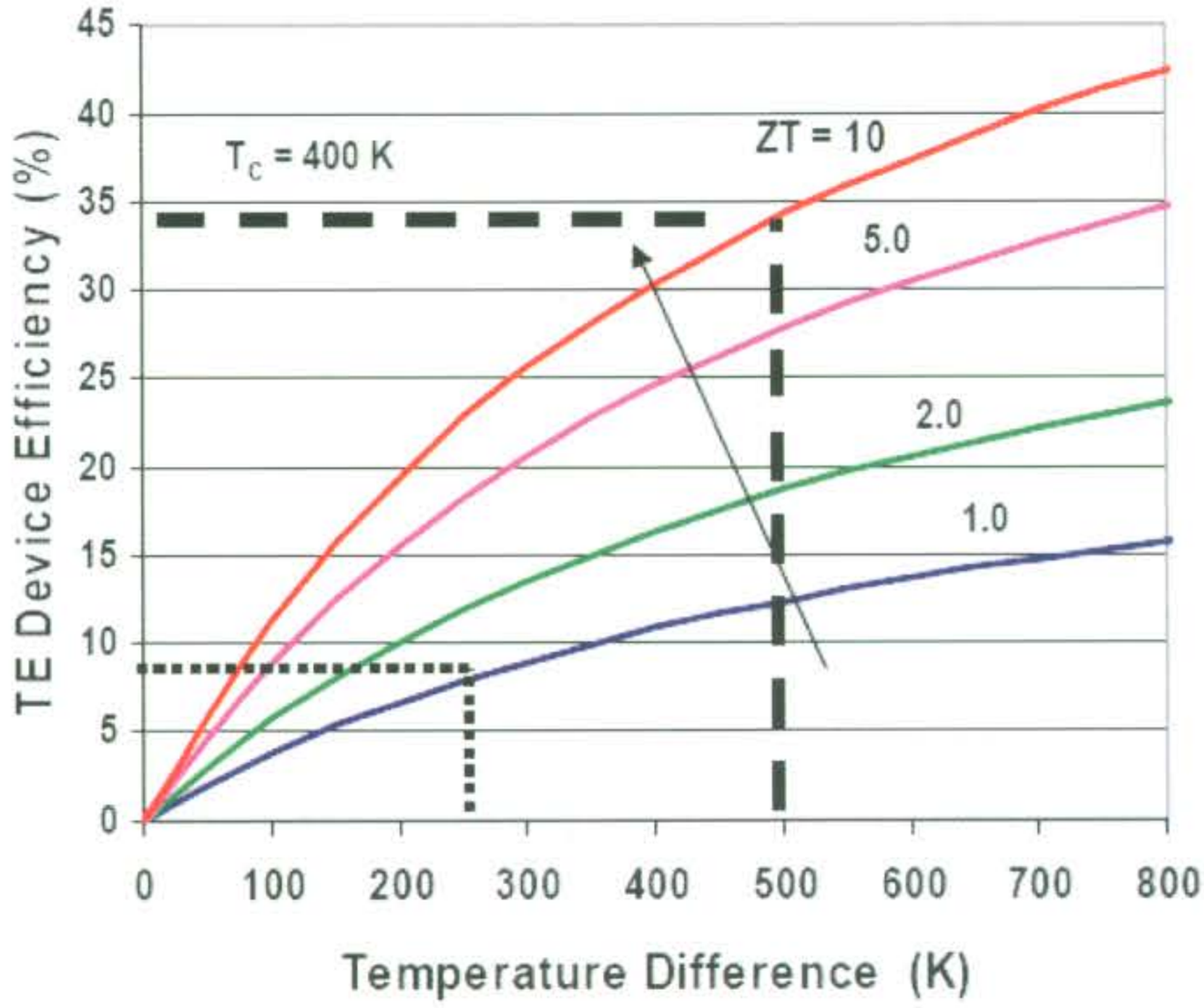
วัสดุเทอร์โมอิเล็กทริก (thermoelectric: TE) เป็นวัสดุที่สามารถเปลี่ยนพลังงานความร้อนให้กลับเป็นพลังงานไฟฟ้าได้ ดังนั้น ด้วยวัสดุนี้ความร้อนที่สูญเปล่าจึงสามารถนำกลับมาแปลงเป็นพลังงานไฟฟ้าและนำกลับ

[1] ภาควิชาฟิสิกส์ คณะวิทยาศาสตร์ มหาวิทยาลัยขอนแก่น อ.เมือง จ.ขอนแก่น 40002

E- mail: psupree@kku.ac.th

มาใช้ได้ใหม่ วัสดุ TE ได้ถูกค้นพบเป็นเวลานานแล้วตั้งแต่ปี 1821 โดย Thomas Johann Seebeck (Rowe, 2006) แต่ก็ยังมีการนำมาใช้เพื่อผันความร้อนเป็นไฟฟ้าน้อยอยู่ สาเหตุหลักก็คือประสิทธิภาพการผันความร้อนเป็นไฟฟ้ายังต่ำอยู่ ประสิทธิภาพของวัสดุ TE ขึ้นกับค่า Figure-of-merit (Z) ของแต่ละวัสดุโดยนิยามไว้ว่า $Z = \frac{S^2}{\rho\kappa}$ โดย S คือ สัมประสิทธิซีเบคส์ (seebeck coefficient) วัดจากค่าความต่างศักย์ที่เกิดขึ้นเมื่อให้อุณหภูมิของสองขั้วของวัสดุแตกต่างกัน 1 เคลวิน ρ คือ สภาพต้านทานไฟฟ้า (electrical resistivity) และ κ คือ สภาพนำความร้อน (thermal conductivity) จากนิยามของค่า Z ถ้าเราต้องการวัสดุที่มีค่า Z สูงเราต้องการวัสดุที่มี S สูง มี ρ และ κ ต่ำ อย่างไรก็ตามสำหรับวัสดุโดยทั่วไป สภาพต้านทานไฟฟ้าจะแปรผกผันกับสภาพนำความร้อน กล่าวคือ วัสดุที่นำไฟฟ้าดีจะนำความร้อนดีด้วย เช่น วัสดุในกลุ่มโลหะ และในทางกลับกันวัสดุที่เป็นฉนวนไฟฟ้าก็จะเป็นฉนวนความร้อนด้วย ทำให้ ρ และ κ ไม่สามารถมีค่าต่ำพร้อมกันได้ ค่า Z จึงมีค่าต่ำในโลหะตัวนำ หรือในวัสดุที่เป็นฉนวนไฟฟ้า แม้กระนั้น ก็ยังมีการค้นพบว่าในวัสดุสารกึ่งตัวนำบางชนิดที่มีโลหะหนักเป็นส่วนประกอบและมีความเข้มข้นของพาหะประมาณ 10^{19}–10^{21} ต่อลูกบาศก์เซนติเมตร (Snyder and Toberer, 2008) มีความสามารถในการปรับค่า ρ และ κ ให้มีค่าน้อยพร้อมๆกันได้ และยังสามารถมีค่า S ที่ค่อนข้างสูง (>100 μ V/K) จึงทำให้มีค่า Z ที่ค่อนข้างสูงได้ วัสดุเหล่านี้ได้แก่ Bi_2Te_3 , PbTe, ฯลฯ

ค่า Figure-of-merit (Z) ของแต่ละวัสดุขึ้นกับอุณหภูมิที่ใช้งาน และยังมีหน่วยเป็นส่วนกลับของเคลวิน (K^{-1}) ทำให้ในงานวิจัยส่วนใหญ่จึงนิยมคูณ Z ด้วยอุณหภูมิเพื่อให้ได้ Figure-of-merit ที่ไม่มีหน่วย (Dimensionless Figure-of-merit) $ZT = \frac{S^2}{\rho\kappa}T$ ค่า ZT สำหรับวัสดุที่ใช้งานในปัจจุบันมีค่า ≥ 1.0 และยังมีความต้องการเพิ่มค่า ZT ของวัสดุ TE ขึ้นไปเรื่อยๆ เพราะประสิทธิภาพของการผันความร้อนเป็นไฟฟ้าขึ้นกับค่า ZT ตามรูปที่ 1 ถ้าสามารถเพิ่มค่า ZT จาก 1.0 เป็น 10 ประสิทธิภาพของวัสดุ TE จะสามารถก้าวกระโดดจากประมาณร้อยละ 12 ไปเป็นร้อยละ 34 ที่อุณหภูมิแตกต่างกัน 500 องศาเคลวิน ได้



รูปที่ 1 ค่าประสิทธิภาพของวัสดุเทอร์โมอิเล็กทริกส์ตามอุณหภูมิที่แตกต่างกัน สำหรับค่า Figure-of-merit ZT จาก 1.0 ถึง 10 (ที่มา: http://edge.rit.edu/content/P07440/public/TEeff.png)

วัสดุเทอร์โมอิเล็กทริกส์ออกไซด์ (Thermoelectric oxide materials)

สารกึ่งตัวนำ Bi_2Te_3 เป็นวัสดุเทอร์โมอิเล็กทริกส์ที่ดีที่สุดที่อุณหภูมิห้องด้วยค่า $ZT \approx 1.0$ แต่วัสดุเหล่านี้จะมีประสิทธิภาพลดลงเมื่ออุณหภูมิสูงขึ้น นอกจากนี้ที่อุณหภูมิสูงมากๆ (หลายร้อยองศาเซลเซียส) วัสดุในกลุ่ม Bi_2Te_3 หรือ PbTe จะเกิดการสลายตัวเกิดเป็นสารพิษขึ้นได้ วัสดุในกุลุ่มนี้จึงไม่เหมาะในการใช้งานที่สิ่งแวดล้อมที่มีอุณหภูมิสูงๆ เช่น การผันความร้อนจากเครื่องยนต์ หรือในโรงงานไฟฟ้า ซึ่งอุณหภูมิอาจสูงถึงหลายร้อยองศา หรือพันองศาเซลเซียส ดังนั้นจึงต้องมีการหาวัสดุชนิดใหม่เพื่อมาทดแทน และพัฒนาให้มีประสิทธิภาพใกล้เคียงกับ Bi_2Te_3 แต่สามารถใช้งานที่อุณหภูมิสูงได้ ในปี 1997 Teraski และคณะได้รายงานว่าวัสดุสารประกอบออกไซด์ของโคบอลต์คือ โซเดียมโคบอลต์ไทต์ ($NaCoO_2$: NCO) สามารถให้ค่า S ได้สูงถึง 100 μV/K และมีค่า ZT ใกล้เคียง 1.0 ที่อุณหภูมิประมาณ 800 เคลวิน (Terasaki et al., 1997) เป็นครั้งแรกที่มีการรายงานเกี่ยวกับวัสดุออกไซด์ ซึ่งที่จริงน่าจะเป็นฉนวนทางไฟฟ้า กลับให้สมบัติ TE ที่สูงใกล้เคียงกับสารกึ่งตัวนำได้ หลังจากการรายงานในครั้งนั้น จึงเริ่มมีนักวิจัยหลายกลุ่มให้ความสนใจและศึกษาวัสดุ TE ออกไซด์กันอย่างจริงจัง

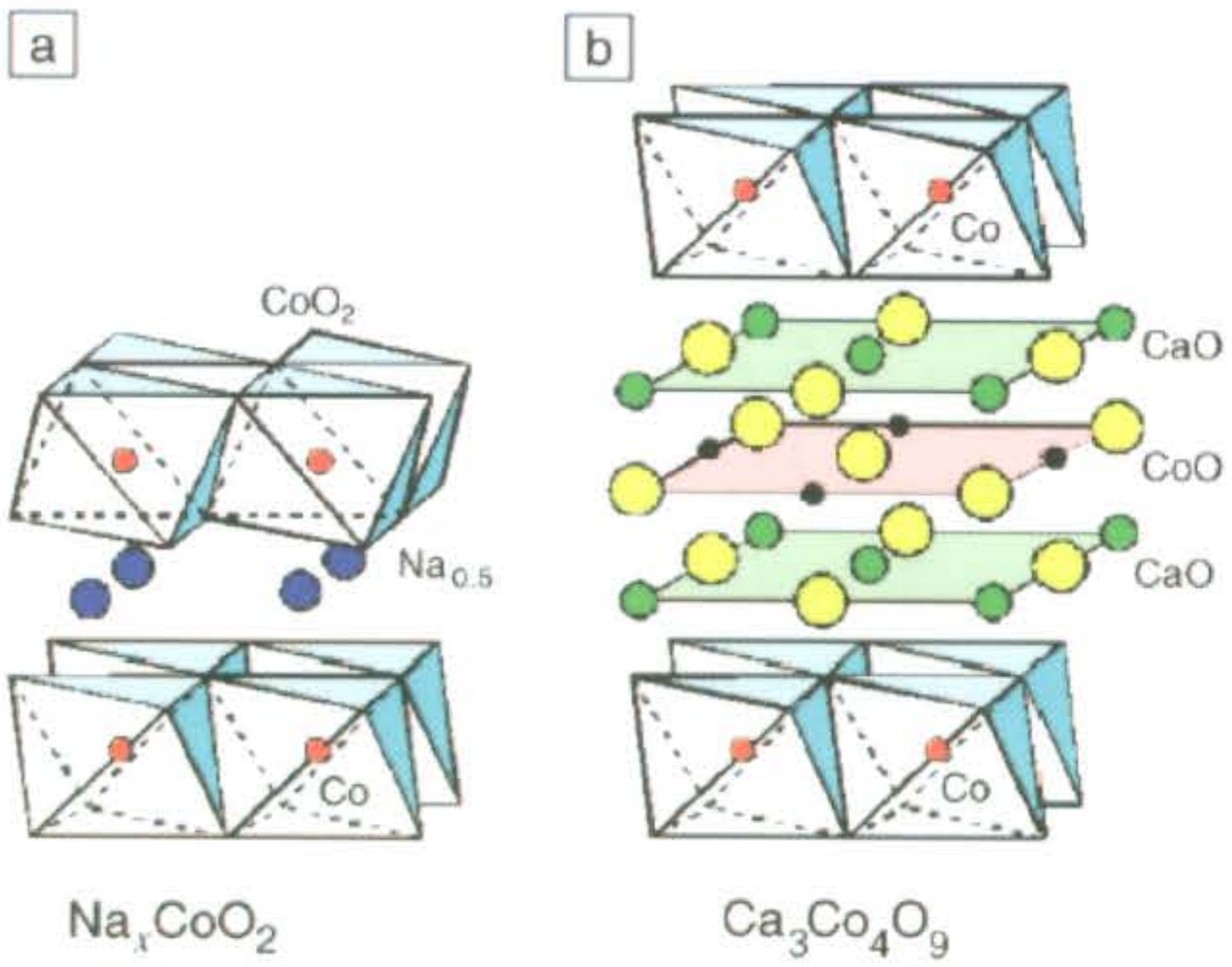
แคลเซียมโคบอลต์ไทต์ (calcium cobaltite)

$NaCoO_2$ (NCO) เป็นวัสดุ TE ที่ดีเนื่องจากมีโครงสร้างแบบเฮกซะโกนอลแบบสองชั้น (รูปที่ 2a) ประกอบไปด้วยชั้นของ CoO_2 ซึ่งทำให้การนำไฟฟ้าและค่าซีเบคส์มีค่าสูง ส่วนชั้นของโซเดียมเป็นฉนวนจึงจำกัดการนำความร้อนของวัสดุ เมื่อรวมสมบัติที่ดีของแต่ละชั้นเข้าด้วยกันทำให้สมบัติ TE โดยรวมมีค่าที่สูง อย่างไรก็ตามถึงแม้ว่าวัสดุ NCO จะเป็นวัสดุ TE ที่ดีที่อุณหภูมิสูง และมีราคาค่อนข้างถูกเมื่อเทียบกับ Bi_2Te_3 แล้ว แต่ก็ยัง

ประสบปัญหาเรื่องความเสถียรเมื่อทิ้งไว้เป็นเวลานานๆ ทั้งนี้เนื่องจากโซเดียม (Na) ในวัสดุจะแยกตัวออกมาเป็นเกลือสีขาวๆอยู่ที่ผิววัสดุ ทำให้โครงสร้างของวัสดุเปลี่ยนไป เมื่อเวลาผ่านไปประสิทธิภาพทาง TE จึงมีค่าลดลง ทางออกของปัญหานี้คือการหาวัสดุโคบอลต์ออกไซด์ตัวอื่นที่มีโครงสร้างใกล้เคียงกัน ซึ่งในปี 2003 Shikano และ Funahashi ได้รายงานว่าวัสดุแคลเซียมโคบอลไทต์ ($Ca_3Co_4O_9$, CCO) แสดงค่า ZT ที่สูงถึง 0.87 ที่อุณหภูมิ 973 เคลวิน (Shikano and Funahashi, 2003) มีประสิทธิภาพใกล้เคียงกับวัสดุ NCO แต่ไม่มีปัญหาเรื่องความเสถียรเนื่องจาก Ca ไม่มีการตกผลึกเป็นเกลือที่ผิว ทำให้แม้ว่าจะทิ้งไว้เป็นเวลานานๆ สมบัติทาง TE ก็ยังไม่เปลี่ยนไป โครงสร้างของ CCO คล้ายกับ NCO คือเป็นโครงสร้างแบบสองชั้นเหมือนกัน ต่างกันตรงที่ NCO เป็นโครงสร้างแบบเฮกซะโกนอล แต่ CCO เป็นโครงสร้างแบบโมโนคลินิกที่มีความบิดเบี้ยวในโครงสร้างด้วย ความบิดเบี้ยวที่เกิดขึ้นนี้จะยิ่งช่วยลดการนำความร้อนของวัสดุเนื่องจากเป็นการเพิ่มการกระเจิงของโฟนอน (phonon scattering) ตามสมการที่ (1)

$$\kappa = \frac{1}{3} C_v^l v l \tag{1}$$

โดย C_v^l , v และ l คือ ความจุความร้อนของโฟนอน, ความเร็วของโฟนอน และ mean free path ของโฟนอน ตามลำดับ นอกจากนั้นในชั้นที่เคยเป็น Na ใน NCO ก็จะถูกแทนที่ด้วย Ca_2CoO_3 ซึ่งมีโครงสร้างแบบ เกลือหิน (rock-salt) ชั้นนี้เป็นฉนวนไฟฟ้า ซึ่งจะจำกัดการเคลื่อนที่ของพาหะให้อยู่ในชั้นของ CoO_2 เท่านั้น



รูปที่ 2 โครงสร้างผลึกของ (a) $NaCoO_2$ (NCO) และ (b) $Ca_3Co_4O_9$ (CCO) ประกอบไปด้วยโครงสร้างย่อยแบบสองชั้น (Koumoto et al., 2006)

ในครั้งแรกที่ Shikano and Funahashi ทำการสังเคราะห์วัสดุ CCO ขึ้นมา วัสดุอยู่ในรูปของผลึกเดี่ยว (single crystal) มีขนาดใหญ่สุดได้เพียง 5×10×0.05 มิลลิเมตร^3 (Shikano and Funahashi, 2003) แม้ว่าวัสดุ CCO ในรูปผลึกเดี่ยวจะมีประสิทธิภาพสูง แต่ด้วยขนาดที่จำกัดทำให้นำไปใช้งานให้เกิดประโยชน์สูงสุดในทางปฏิบัติ

ได้ยาก เพราะในการผลิตพลังงานไฟฟ้าจากความร้อน จำเป็นจะต้องมีวัสดุที่มีขนาดใหญ่เพียงพอเพื่อสามารถรองรับความร้อนได้ในปริมาณมากๆ และการที่จะสังเคราะห์วัสดุผลึกเดี่ยวให้มีขนาดใหญ่สำหรับใช้งานได้ก็แทบจะเป็นไปไม่ได้ในทางปฏิบัติ ดังนั้นทางออกคือการที่จะต้องสังเคราะห์วัสดุให้มีลักษณะเป็นพหุผลึก (polycrstals) เพื่อจะสามารถได้วัสดุปริมาณมากๆ เหมาะสมกับการใช้งานในทางปฏิบัติ อย่างไรก็ตาม เมื่อวัสดุ CCO เปลี่ยนรูปจากผลึกเดี่ยวไปเป็นพหุผลึก ค่า ZT กลับลดลงหลายเท่า โดยค่า ZT สำหรับวัสดุพหุผลึกของ CCO บริสุทธิ์มีค่าสูงสุดประมาณ 0.2 เท่านั้นที่อุณหภูมิ 1050 เคลวิน (Nong et al., 2010) นักวิจัยหลายๆกลุ่มได้มีความพยายามที่จะพัฒนาวัสดุพหุผลึกของ CCO ให้มีค่า ZT ที่สูงขึ้น ด้วยการพยายามปรับปรุงวิธีสังเคราะห์วัสดุซึ่งสามารถทำได้หลายวิธีเช่น วิธีปฏิกิริยาของแข็ง (solid state reaction) (Masset et al., 2000) วิธีปฏิกิริยาทางเคมี (chemical reaction) (Pinitsoontorn et al., 2010) ฯลฯ หรือปรับปรุงวิธีการอัดขึ้นรูปและเผาผนึกจากผงของ CCO ให้เป็นก้อน CCO ที่มีความหนาแน่นสูง โดยวิธีอัดด้วยความร้อน (hot press, HP) (Xu et al., 2002) หรือวิธีเผาผนึกโดยการใช้พลาสมา (spark plasma sintering, SPS) (Liu et al., 2005) นอกจากนั้นยังมีงานวิจัยที่ได้จัดเรียงทิศทางของผลึก CCO ให้ได้ทิศทางที่ต้องการ (texture) โดยใช้การกดอัดเย็น (cold press, CP) ด้วยความดันสูง (Wang et al., 2010b) หรือการบีบอัดร้อน (thermoforging) (Prevel et al., 2005) หรือใช้สนามแม่เหล็กเข้าช่วย (Zhou et al., 2003) วิธีดังกล่าวนี้ช่วยให้วัสดุ CCO มีความหนาแน่นสูงขึ้นเข้าใกล้ความหนาแน่นทางทฤษฎี และมีทิศทางของผลึกในทางเดียว ทำให้ช่วยปรับปรุงสมบัติ TE ให้ดียิ่งขึ้น ในบทความนี้จะไม่ลงรายละเอียดของแต่ละวิธีที่กล่าวมา ผู้ที่สนใจสามารถอ่านเพิ่มเติมได้ตามเอกสารที่อ้างอิง

การปรับปรุงสมบัติเทอร์โมอิเล็กทริกส์ของแคลเซียมโคบอลไทต์

การปรับปรุงสมบัติ TE ของ CCO นอกจากจะทำได้โดยวิธีที่กล่าวมาแล้ว ได้มีความพยายามจากนักวิจัยในหลายกลุ่มรวมทั้งตัวผู้เขียนเอง เพื่อที่จะลดสภาพต้านทานไฟฟ้าและสภาพนำความร้อนไปพร้อมๆ กันโดยการเจือธาตุอื่นๆเข้าไปในโครงสร้าง การเจือธาตุอื่นๆเข้าไปในโครงสร้าง ธาตุบางชนิดในรูปของไอออนจะมีประจุที่แตกต่างกับสารเดิมในโครงสร้าง จึงทำให้เกิดการเปลี่ยนแปลงความหนาแน่นของพาหะขึ้น (ซึ่งในกรณีของ CCO เป็นสารกึ่งตัวนำชนิดพี มีพาหะเป็นโฮล (hole)) ทำให้ ρ เกิดการเปลี่ยนแปลง นอกจากนี้ธาตุที่ถูกเจือเข้าไปอาจทำให้โครงสร้างผลึกบิดเบี้ยวมากขึ้น หรือการเจือธาตุโลหะหนักทำให้การสั่นของโฟนอนทำได้ยากขึ้น สาเหตุเหล่านี้ทำให้ κ ลดลง นอกจากนี้การเจือธาตุอื่นๆ ใน CCO อาจทำให้โครงสร้างอิเล็กทรอนิกส์ของสารเกิดการเปลี่ยนแปลง ไม่ว่าจะเป็นระดับเฟอร์มิ (Fermi level) ความหนาแน่นของสถานะ (density of state, DOS) หรือมวลยังผล (effective mass) ซึ่งจะส่งผลให้ค่า S เปลี่ยนไปด้วย การเจือธาตุอื่นๆเข้าไปในวัสดุ CCO อาจแบ่งออกได้เป็น 3 กลุ่มใหญ่ คือ การเจือเพื่อแทนที่ Ca บางส่วน การเจือเพื่อแทนที่ Co บางส่วน และการเจือเพื่อสร้างสารประกอบคอมโพสิต (composite)

การเจือธาตุเพื่อแทนที่แคลเซียม

การเจือธาตุอื่นๆ เพื่อแทนที่ Ca บางส่วนในวัสดุ CCO พบบ่อยที่สุด โดยในช่วงแรกๆ มีการแทนที่ Ca บางส่วนด้วย Na (Xu et al. 2002) ซึ่งผลก็คือ ρ มีค่าลดลงเนื่องจาก Na^+ มีประจุน้อยกว่า Ca^{2+} ระบบจึงต้องมีจำนวนโฮลมากขึ้น เพื่อที่จะทำให้ประจุไฟฟ้าสมดุล ทำให้นำไฟฟ้าได้ดีขึ้น ส่วนค่า S มีค่าเพิ่มขึ้น ทั้งนี้ Xu et al. (2002) อ้างว่าอาจเป็นผลมาจากการที่สภาพเคลื่อนที่ได้ (mobility, μ) ของพาหะมีค่าเพิ่มขึ้น แต่ค่า κ ก็เพิ่มขึ้นด้วยเพราะไอออนของ Na^+ มีมวลเบากว่า Ca^{2+} ค่า ZT สูงสุดเพิ่มขึ้นจาก 0.12 เมื่อไม่เจือเป็น 0.18 สำหรับ $Ca_{2.5}Na_{0.5}Co_4O_9$ ที่อุณหภูมิ 1000 เคลวิน นอกจากการเติม Na เพียงอย่างเดียว ยังมีการเจือ Nd เพิ่มเข้าไปแทนที่ Ca ด้วย มีสูตรทางเคมีคือ $Ca_{3.0-x-y}Nd_xNa_yCo_4O_9$ (Pei et al., 2008) ผลที่ได้คือ Nd^{3+} ทำให้ความเข้มข้นพาหะลดลง ρ จึงเพิ่มขึ้น แต่ก็ทำให้ S เพิ่มขึ้นด้วย จากเทอมแรกตามสมการของ Mott (Rowe, 2006)

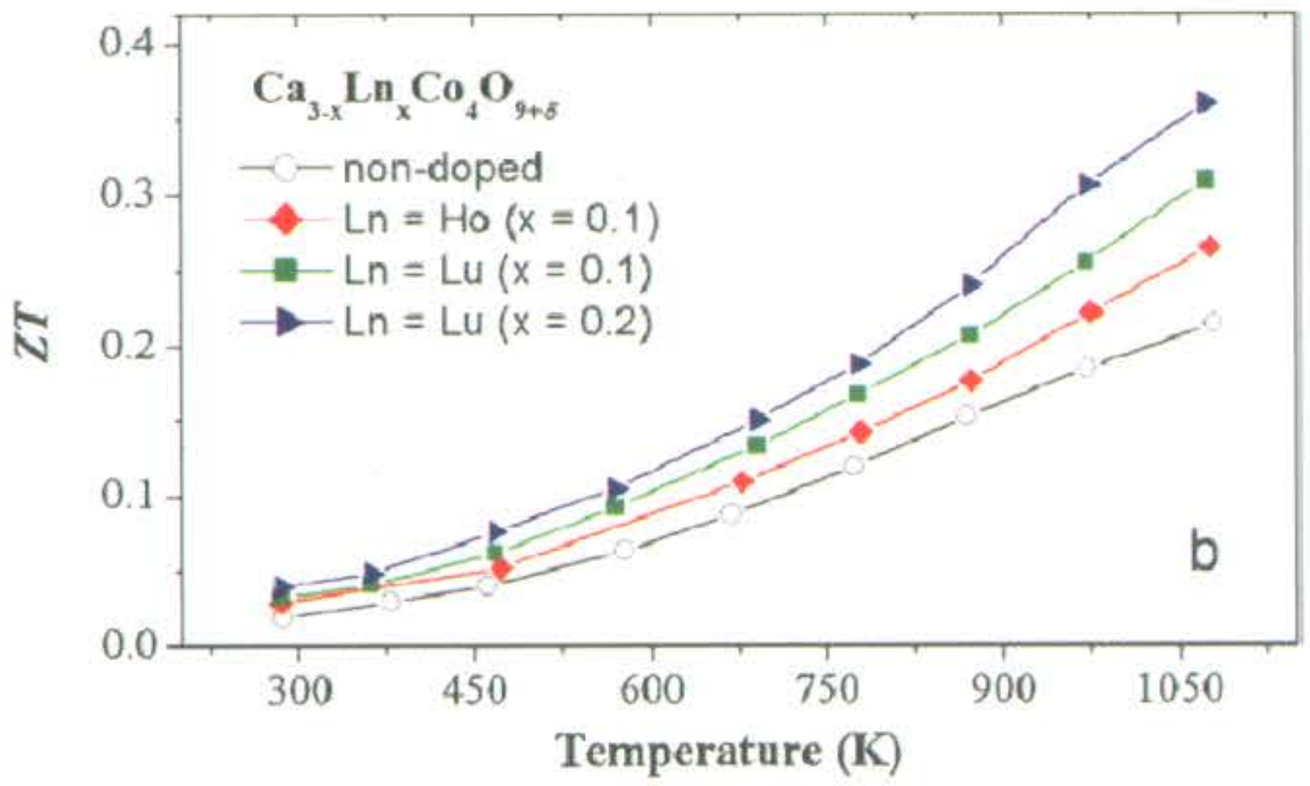
$$S = \frac{c_e}{n} + \frac{\pi^2 k_B^2}{3e}\left(\frac{\partial \ln \mu(\varepsilon)}{\varepsilon}\right)_{\varepsilon=\varepsilon_F} \tag{2}$$

โดย $n, \mu(\varepsilon), c_e, k_B$ คือ ความเข้มข้นของพาหะ, สภาพการเคลื่อนที่ได้ของพาหะสัมพันธ์กับพลังงาน (energy correlated carrier mobility), ความจุความร้อนจำเพาะ และค่าคงที่ของโบลตซ์มานน์ ตามลำดับ ผลการของเจือ Nd^{3+} ยังทำให้ κ มีค่าลดลงเนื่องจาก Nd^{3+} หนักกว่า Ca^{2+} ทำให้ได้ค่า ZT สูงสุดเท่ากับ 0.28 ที่ 1100 เคลวิน ในปี 2007 Prevel และคณะ รายงานว่าการเจือ CCO ที่ตำแหน่ง Ca ด้วยธาตุโลหะหายาก (rare earth, RE) ด้วยอัตราส่วนโมล $Ca_{2.5}(RE)_{0.5}Co_4O_9$ โดย RE คือ Pr, Nd, Eu, Dy และ Nb จะทำให้มีค่า ρ เพิ่มขึ้นเพราะจำนวนพาหะในโครงสร้างลดลง แต่ก็ทำให้ค่า S เพิ่มขึ้นด้วย ซึ่งอธิบายได้จากสมการของ Mott (Prevel et al., 2007) Wang และคณะ ได้รายงานผลคล้ายๆ กันโดยการเจือธาตุโลหะหายากที่ตำแหน่ง Ca แต่อธิบายเพิ่มเติมว่าการที่ S เพิ่มขึ้น อาจไม่ใช่ผลของความเข้มข้นพาหะเพียงอย่างเดียว แต่มีความสัมพันธ์กับรัศมีไอออนของธาตุที่เจือเข้าไปด้วย ซึ่งจะไปมีผลให้ความกว้างของแถบพลังงานและรูปร่างของ DOS เปลี่ยนไป (Wang et al., 2010c) Nong และคณะ ได้ทำการเตรียมวัสดุ CCO และเจือธาตุโลหะหายาก คือ Dy, Er, Ho และ Lu แทนที่ Ca บางส่วน (Nong et al., 2011) และได้สมบัติ TE ที่ดีขึ้น โดยมีค่า ZT สูงถึง 0.35 เมื่อเจือด้วย Lu ที่อัตราส่วนโมล $Ca_{2.8}Lu_{0.2}Co_4O_9$ (รูปที่ 3) ทั้งนี้การที่ได้ค่า ZT สูงเป็นผลมาจากค่า S ที่สูงขึ้น Nong และคณะ อธิบายว่าค่า S ขึ้นกับสูตรของ Heikes

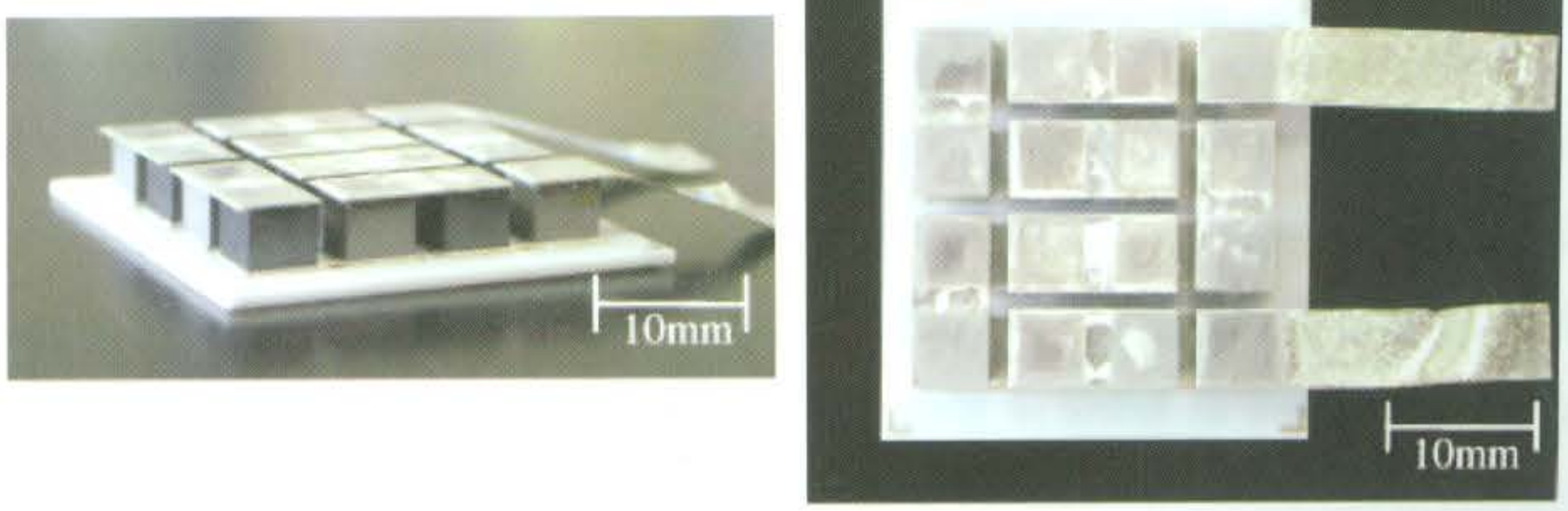
$$S = -\frac{k_B}{e}\ln\left(\frac{g_3}{g_4}\frac{x}{1-x}\right) \tag{3}$$

โดย g_3 และ g_4 คือจำนวนลักษณะที่แตกต่างกันของการจัดเรียงตัวของอิเล็กตรอน (number of configuration) ของ Co^{3+} และ Co^{4+} และ x คือสัดส่วนของ Co^{4+} ที่ตำแหน่งของ Co เมื่อแทนที่ Ca^{2+} ด้วย Lu^{3+} ระบบต้องทำให้ประจุไฟฟ้าอยู่ในภาวะสมดุล ดังนั้นจึงต้องเพิ่มจำนวน Co^{4+} และจากสมการที่ (3) จึงทำให้ค่า S สูงขึ้นเมื่อปริมาณ Lu^{3+} มีมากขึ้น (Nong et al. 2011) การเจือธาตุโลหะหายากยังมีงานวิจัยของ Liu และคณะ

ซึ่งได้ทำการเจือ Gd (Liu et al., 2008) และงานวิจัยของ Xu และคณะ ซึ่งทำการเจือ Yb (Xu et al. 2010a) ผลที่ได้คือการปรับปรุงสมบัติ TE และได้ค่า สูงถึง 0.25 สำหรับ $Ca_{2.7}Gd_{0.3}Co_4O_9$ และ 0.17 สำหรับ $Ca_{2.8}Yb_{0.2}Co_4O_9$ นอกเหนือจากที่กล่าวมาทั้งหมดนี้ Urata และคณะ ได้เจือ Bi ใน CCO และทำการประกอบโมดูล TE เพื่อเปลี่ยนความร้อนเป็นพลังงานไฟฟ้า (Urata et al., 2007) โมดูลประกอบไปด้วย $Ca_{2.7}Bi_{0.3}Co_4O_9$ เป็นขั้วพี และมี $CaMn_{0.98}Mo_{0.02}O_3$ เป็นขั้วเอ็นดังรูปที่ 4 โมดูลสามารถผลิตพลังงานไฟฟ้าได้ความต่างศักย์สูงสุด 1.0 โวลต์ และได้กำลังไฟฟ้าสูงสุด 0.17 วัตต์ ที่อุณหภูมิ 1273 เคลวิน



รูปที่ 3 กราฟระหว่าง *ZT* กับอุณหภูมิ ของ $Ca_{3-x}Ln_xCo_4O_9$ (Nong et al., 2011)



รูปที่ 4 โมดูลเทอร์โมอิเล็กทริกส์ที่ประกอบไปด้วย$Ca_{2.7}Bi_{0.3}Co_4O_9$ เป็นขั้วพี และมี $CaMn_{0.98}Mo_{0.02}O_3$ เป็นขั้วเอ็น (Urata et al., 2007)

การเจือธาตุเพื่อแทนที่โคบอลต์

ในกลุ่มที่สองคือการเจือธาตุอื่นๆ เพื่อแทนที่ Co บางส่วนในวัสดุ CCO ธาตุที่ถูกนำมาแทนที่ส่วนใหญ่ได้แก่โลหะทรานสิชันอื่นๆ เนื่องจากมีขนาดของรัศมีไอออนใกล้เคียงกัน งานวิจัยแรกในกลุ่มนี้คืองานของ Yao และคณะ ที่ทำการเจือ Ni, Fe, Mn และ Cu แทนที่ Co บางส่วน (Yao et al., 2005) เมื่อทำการวัดสมบัติ TE พบว่า

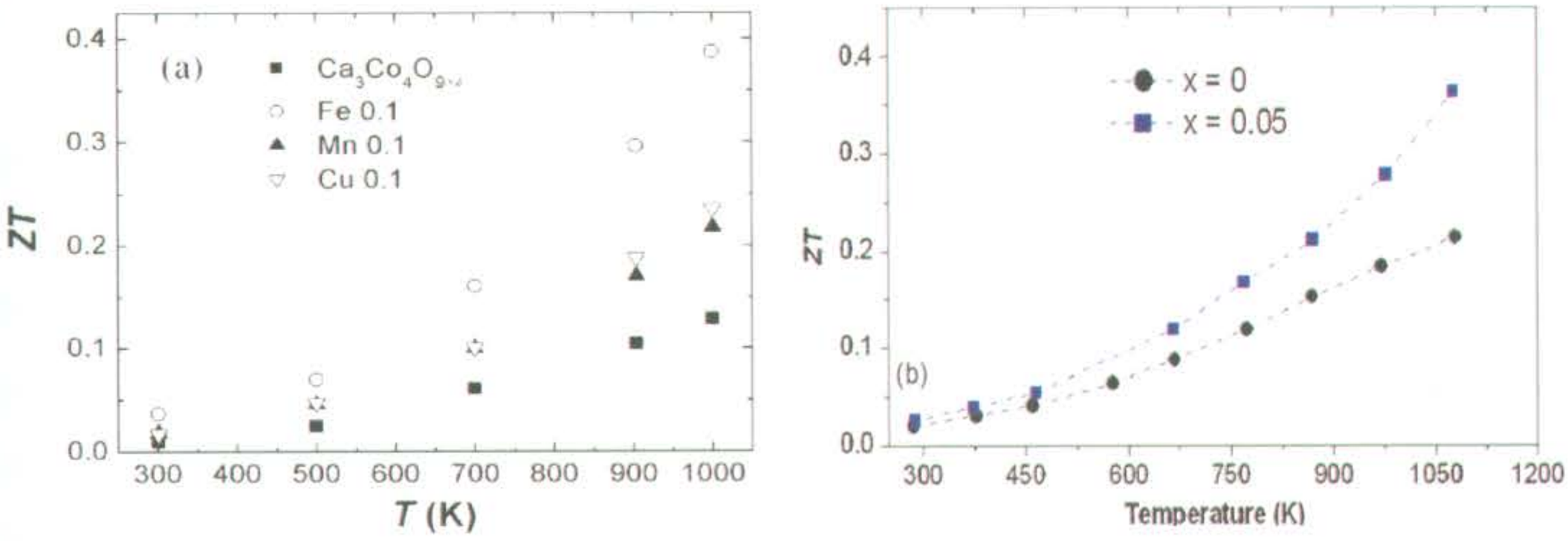
การเปลี่ยนแปลง ρ และ S มีแนวโน้มไปทิศทางเดียวกัน กล่าวคือสำหรับการเจือ Ni, Fe และ Mn ทั้ง ρ และ S มีค่าเพิ่มขึ้นทั้งคู่ แต่สำหรับการเจือ Cu ทั้ง ρ และ S มีค่าลดลง Wang และคณะ ได้ทำการทดลองคล้ายๆ กันและอธิบายผลดังกล่าวไว้ว่า สำหรับการเจือด้วย Fe และ Mn ไอออนของโลหะเข้าไปแทนที่ Co ในชั้นของ CoO_2 เพราะรัศมีของไอออนใกล้เคียงกัน แต่สำหรับกรณีของการเจือด้วย Cu ไอออนของ Cu เข้าไปแทนที่ Co ในชั้น Ca_2CoO_3 (Wang et al., 2010a) ข้อแตกต่างของงานของ (Yao et al. 2005); (Wang et al., 2010a) คือ กรณีของการเจือ Fe Wang และคณะ พบว่าไอออนของ Fe อยู่ในรูป Fe^{2+} หรือ Fe^{3+} ซึ่งมีประจุบวกน้อยกว่าของ Co ที่อยู่ในรูป Co^{3+} หรือ Co^{4+} จึงทำให้เมื่อเจือ Fe ความเข้มข้นของโฮลจะมีค่ามากขึ้น ส่งผลให้ ρ มีค่าลดลง แต่ S ยังมีค่าสูงขึ้นเหมือนเดิม เนื่องจากไอออนของ Fe ไปทำให้โครงสร้างอิเล็กทรอนิกส์และศักย์เคมีลดทอน (reduced chemical potential, ς_F) เปลี่ยนไปและส่งผลให้ S เปลี่ยนไปตามสมการ

$$S = \frac{k_B}{e}\left[\frac{(r+5/2)F_r + 3/2(\varsigma_F)}{(r+3/2)F_r + 1/2(\varsigma_F)}\right] - \varsigma_F \qquad (4)$$

โดย r และ F_r คือพารามิเตอร์การกระเจิง (scattering parameter) และ อินทิกรัลเฟอร์มิ (Fermi integral) Wang และคณะ อ้างว่า แม้ว่า S อาจลดลงเนื่องจากการเพิ่มขึ้นของพาหะตามเทอมแรกของสมการที่ (2) แต่การเพิ่ม S จากการเปลี่ยนโครงสร้างอิเล็กทรอนิกส์ของวัสดุมีผลมากกว่า จึงทำให้เมื่อเจือ Fe เข้าไปได้สมบัติ TE ที่ดีขึ้น ยิ่งไปกว่านั้น ไอออนของ Fe ยังไปลด κ ทำให้ค่า ZT เพิ่มขึ้นจากวัสดุที่ไม่เจือหลายเท่า (Wang et al., 2010a) งานวิจัยชิ้นถัดมาของ Wang และคณะ แสดงค่า ZT ของ CCO ที่เจือด้วย Fe ที่อัตราส่วน $Ca_3Co_{3.9}Fe_{0.1}O_9$ มีค่าสูงถึงเกือบ 0.4 ที่ 1000 เคลวิน (รูปที่ 5ก)นับเป็นค่า ที่สูงที่สุดสำหรับพหุผลึกของ CCO (Wang et al., 2010b) อย่างไรก็ตามถ้าปริมาณของ Fe มากเกิน 0.1 โมลก็อาจทำให้สมบัติ TE แย่ลงได้จากรายงานของ (Liu et al., 2006) นอกจากนั้น Liu และคณะยังได้ใช้เทคนิค X-ray absorption spectroscopy (XAS) เพื่อศึกษาโครงสร้างอิเล็กทรอนิกส์เมื่อเจือ Fe ใน CCO (Liu et al., 2007) พบว่าการเจือเหล็กเข้าไปปริมาณน้อยๆ (≤ 0.15 อัตราส่วนโมล) จะทำให้ความหนาแน่นอิเล็กตรอนของ Co ในออร์บิตัล 3d มีสถานะที่ไม่ถูกจับจอง (unoccupied state) ลดลง แต่จะทำให้ความหนาแน่นอิเล็กตรอนของ O ในออร์บิตัล 2p มีสถานะไม่ถูกจับจองเพิ่มขึ้นซึ่งเป็นส่วนสำคัญที่ทำให้จำนวนโฮลเพิ่มขึ้น และส่งผลให้ ρ ลดลง (Liu et al., 2007) ในงานวิจัยอีกฉบับที่เผยแพร่ Liu และคณะ ยังได้ศึกษาการเจือ Mn แทนที่ Co ด้วยเทคนิค XAS ซึ่งได้ผลสอดคล้องกับงานวิจัยที่เจือด้วย Fe (Chen et al., 2009) ในปี 2010 Xu และคณะ ได้รายงานสมบัติ TE ของ CCO ที่ถูกเจือด้วย Ti แทนที่ Co บางส่วน พบว่าทั้ง ρ และ S มีค่าสูงขึ้น เนื่องจากวาเลนซ์อิเล็กตรอนของ Ti ไอออนมีมากกว่า Co จึงไปลดจำนวนโฮล ส่วนสาเหตุที่ S สูงขึ้น Xu และคณะ เชื่อว่าเป็นสาเหตุจากการที่ความเข้มข้นพาหะลดลงตามสมการของ Mott (Xu et al., 2010b) นอกจากโลหะทรานสิชันแล้ว Nong และคณะ ได้ทำการเจือ Ga แทนที่ Co บางส่วน ทำให้ค่า ρ ลดลงและ S เพิ่มขึ้น (Nong et al., 2010) การเพิ่มขึ้นของ S Nong และคณะ อธิบายว่าค่าการนำไฟฟ้าของ CCO ประกอบไปด้วยสองส่วนคือจากชั้น CoO_2 และชั้น Ca_2CoO_3 ดังนั้นค่า S ของ CCO จึงควรอธิบายได้ตามสมการ

$$S = \frac{\sigma_{Ca_2CoO_3}}{\sigma_{Ca_2CoO_3} + \sigma_{CoO_2}} S_{Ca_2CoO_3} + \frac{\sigma_{CoO_2}}{\sigma_{Ca_2CoO_3} + \sigma_{CoO_2}} S_{CoO_2} \quad (5)$$

โดย σ_{CoO_2} และ $\sigma_{Ca_2CoO_3}$ คือสภาพนำไฟฟ้าของชั้น CoO_2 และชั้น Ca_2CoO_3 ตามลำดับ การแทนที่ Co ด้วย Ga ในชั้น CoO_2 ทำให้ S_{CoO_2} มีค่าเพิ่มขึ้น และยังทำให้การนำไฟฟ้าโดยรวมเพิ่มขึ้นด้วย ในงานวิจัยนี้ Nong และคณะ รายงานค่า ZT สูงถึง 0.35 ที่อุณหภูมิ 1050 เคลวิน (รูป 5ข)



(ก) (ข)

รูปที่ 5 กราฟระหว่าง ZT กับอุณหภูมิของ (ก) $Ca_3M_xCo_{4-x}O_9$ (Wang et al., 2010b) และ (ข) $Ca_3Ga_xCo_{4-x}O_9$ (Nong et al., 2010)

การเจือธาตุเพื่อสร้างสารประกอบคอมโพสิต

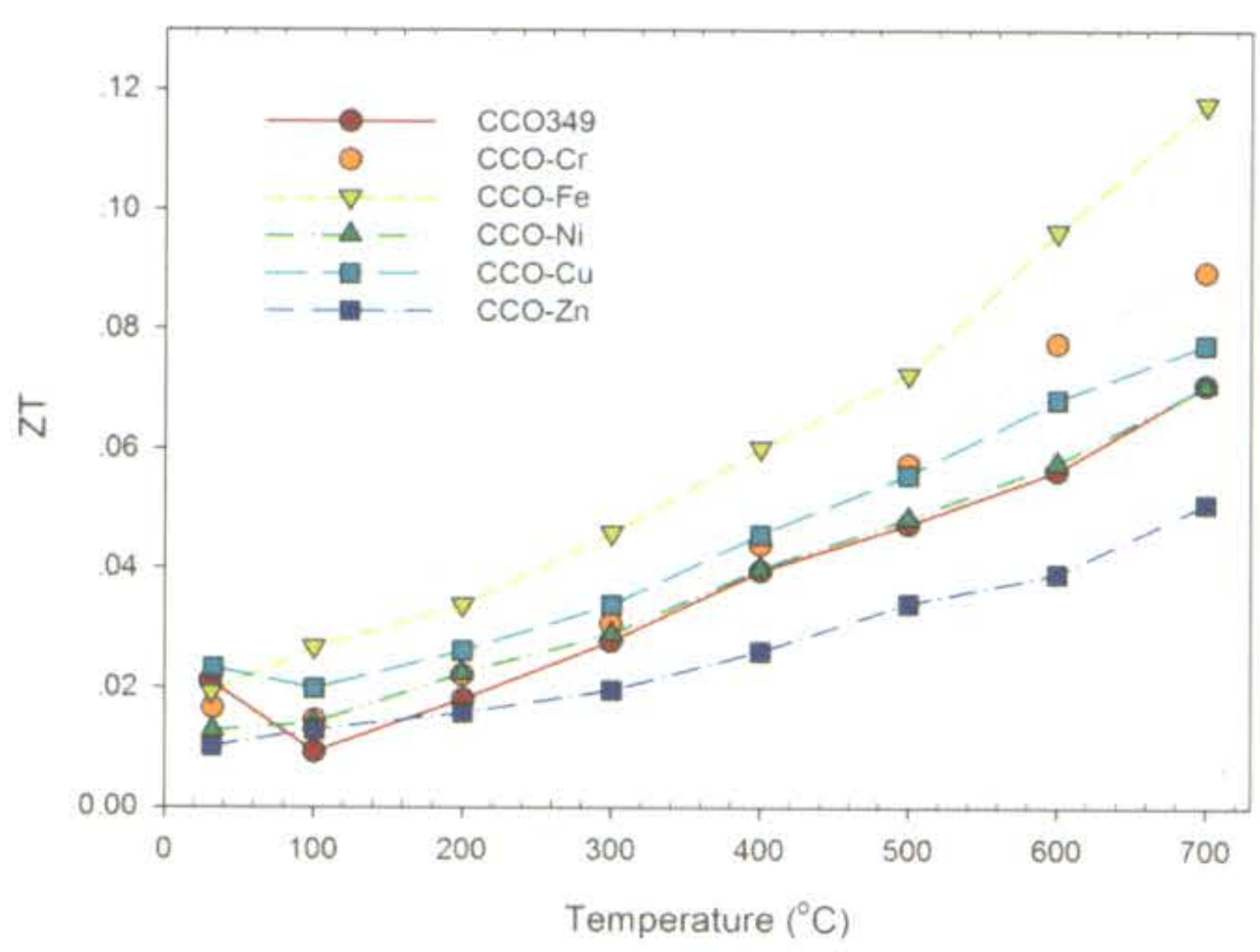
ในกลุ่มสุดท้ายคือการเจือเพื่อสร้างสารประกอบคอมโพสิต ธาตุที่ถูกนำมาเจือได้แก่ Ag ทั้งนี้เนื่องจาก Ag เป็นสารที่นำไฟฟ้าได้ดี จึงถูกนำมาเจือใน CCO เพื่อลด ρ มีรายงานว่าถ้าปริมาณของ Ag ที่เจือไม่มาก Ag จะสามารถอยู่ในโครงสร้างของ CCO และแสดงสมบัติเป็นเฟสเดี่ยว (single phase) แต่ถ้าปริมาณ Ag มากเกิน 20 wt% (Mikami et al., 2005) หรือ 5.0 vol% (Xiang et al., 2008) หรือ 0.4 โมล (Zhang et al., 2009) Ag จะแยกตัวออกมาเป็นเฟสที่สอง (second phase) และวัสดุจะกลายเป็นสารประกอบคอมโพสิต จากการศึกษาสมบัติทาง TE พบว่า ρ จะลดลงตามปริมาณของ Ag ที่เจือ แต่ S ก็จะลดลงตามไปด้วย ทำให้ค่าสมบัติ TE ของวัสดุ CCO ที่เจือ Ag ดีที่สุดเมื่อเจือ Ag ในปริมาณที่เหมาะสม คือประมาณ 10 wt% (Mikami et al., 2005) หรือ 7.5 vol% (Xiang et al., 2008) หรือ 0.3 โมล (Zhang et al., 2009)

สรุป

บทความนี้ได้รวบรวมงานวิจัยที่เกี่ยวข้องกับการปรับปรุงสมบัติ TE ของวัสดุ CCO โดยการเจือธาตุอื่นๆ เข้าไปในโครงสร้าง การเจือแบ่งออกได้เป็น 3 กลุ่มคือการเจือเพื่อแทนที่ตำแหน่ง Ca การเจือเพื่อแทนที่

ตำแหน่ง Co และการเจือเพื่อสร้างสารประกอบคอมโพสิต จากงานวิจัยที่ได้รวบรวมมา การเจือธาตุบางชนิดจะทำให้สมบัติ TE ดีขึ้นได้ ได้แก่ การเจือ Na การเจือธาตุในกลุ่มโลหะหายาก (Pr, Nd, Eu, Gd, Dy, Ho, Er, Yb, Lu) โลหะหนัก (Bi) โลหะทรานสิชัน (Fe, Y, Nb) หรือสารกึ่งตัวนำ (Ga) อย่างไรก็ตามการเจือธาตุบางอย่างอาจไม่ได้ช่วยให้สมบัติ TE ดีขึ้นเนื่องจากไม่สามารถเพิ่มค่า S และลด ρ กับ κ ได้ในเวลาพร้อมๆกันเช่น การเจือ Mn ทำให้ทั้ง ρ และ S มีค่าเพิ่มขึ้น ส่วนการเจือ Cu หรือ Ag ทั้ง ρ และ S กลับมีค่าลดลง ผู้เขียนเองก็ได้ทำการทดลองเจือธาตุโลหะทรานสิชันลงในตำแหน่งของ Co ($Ca_3Co_{3.8}M_{0.2}O_9$) โดย M คือ Cr, Fe, Mn, Cu, Zn ผลที่ได้แสดงดังรูปที่ 6 ค่า ZT ของการเจือด้วย Cr, Fe และ Cu มีค่าสูงขึ้นกว่า CCO ที่ไม่ถูกเจือ การเจือด้วย Ni ค่า ZT แทบจะไม่เปลี่ยนแปลง ส่วนการเจือด้วย Zn ทำให้ค่า ZT ลดลง

ในการที่จะอธิบายว่าทำไมการเจือบางธาตุเข้าไปแล้วสามารถปรับปรุงสมบัติ TE ได้ ยังเป็นที่ถกเถียงกันในทางทฤษฎี ยกตัวอย่างเช่น การจะอธิบายค่า S ของวัสดุ CCO สามารถอธิบายโดยใช้สมการที่ (2) – (5) ซึ่งนักวิจัยแต่ละกลุ่มต่างเลือกเฉพาะทฤษฎีที่สามารถอธิบายผลของตนเองได้ แต่อาจไม่สอดคล้องกับนักวิจัยในกลุ่มอื่น อีกประเด็นที่ยังเป็นที่ถกเถียงก็คือความสามารถในการวัดผล TE ซ้ำ (repeatable result) ว่าต่างกลุ่มวิจัยแม้จะทำการเจือสารเดียวกัน ผลก็อาจต่างกันได้ ดังนั้น ในความคิดของผู้เขียนเห็นว่า ถึงแม้จะมีรายงานวิจัยเรื่องการเจือธาตุเพื่อปรับปรุงสมบัติ TE ของ CCO ออกมามากพอสมควร แต่ก็ยังมีช่องว่างอีกมากสำหรับงานวิจัยอื่นที่เกี่ยวข้อง เพื่อที่จะสามารถเติมชิ้นส่วนที่ขาดหายไปทางทฤษฎีและสามารถอธิบายความไม่สอดคล้องกันของงานวิจัยแต่ละชิ้นได้ ผู้เขียนหวังว่าถ้ามีองค์ความรู้เพิ่มเติมในจุดนี้ เราจะสามารถพัฒนาวัสดุ CCO ให้มีสมบัติ TE ที่ดีขึ้น และมีค่า ZT ใกล้เคียงหรือมากกว่า 1.0 เพื่อสามารถผลิตออกมาใช้งานผลิตพลังงานไฟฟ้าจากความร้อนได้ในทางปฏิบัติ และสามารถนำเอาความร้อนที่สูญเปล่ากลับมาใช้ประโยชน์ได้อย่างคุ้มค่าที่สุด



รูปที่ 6 กราฟระหว่าง ZT กับอุณหภูมิของ $Ca_3Co_{3.8}M_{0.2}O_9$

กิตติกรรมประกาศ

ผู้เขียนขอขอบคุณ สำนักงานกองทุนสนับสนุนการวิจัย (สกว.) และศูนย์วิจัยนาโนเทคโนโลยีบูรณาการมหาวิทยาลัยขอนแก่น สำหรับการสนับสนุนในการเขียนบทความนี้

เอกสารอ้างอิง

Chen, J. L., Liu, Y. S., Liu,C. J., Huang, L. C., Dong, C. L., Chen, S. S. and Chang, C. L. (2009). Effect of Mn doping on the physical properties of misfit-layered $Ca_3Co_4O_{9+delta}$. J. Phys. D: Appl. Phys. 42(13): 135418.

Koumoto, K., Terasaki, I. and Funahashi, R. (2006). Complex oxide materials for potential thermoelectric applications. MRS Bull. 31(3): 206-210.

Liu, C. J., Chen, J. L., Huang, L. C., Lin, Z. R. and Chang, C. L. (2007). X-ray absorption spectroscopy studies of Fe-doped misfit-layered Ca_3Co_4-$xFe_xO_{9+delta}$ (x=0, 0.05, 0.1, and 0.15). J. Appl. Phys. 102(1): 014908.

Liu, C. J., Huang, L. C. and Wang, J. S. (2006). Improvement of the thermoelectric characteristics of Fe-doped misfit-layered Ca_3Co_4-$xFe_xO_{9+delta}$ (x=0, 0.05, 0.1, and 0.2). Appl. Phys. Lett. 89(20): 204102.

Liu, H. Q., Zhao, X. B., Liu, F., Song, Y., Sun, Q., Zhu, T. J. and Wang, F. P. (2008). Effect of Gd-doping on thermoelectric properties of $Ca_3Co_4O_{9+delta}$ ceramics. J Mater Sci. 43(21): 6933-6937.

Liu, Y. H., Lin, Y. H., Shi, Z., Nan, C. W. and Shen, Z. J. (2005). Preparation of $Ca_3Co_4O_9$ and improvement of its thermoelectric properties by spark plasma sintering. J. Am. Ceram. Soc. 88(5): 1337-1340.

Masset, A. C., Michel, C., Maignan, A., Hervieu, M., Toulemonde, O., Studer, F. and Raveau, B. (2000). Misfit-layered cobaltite with an anisotropic giant magnetoresistance: $Ca_3Co_4O_9$. Phys Rev B. 62(1): 166-175.

Mikami, M., Ando, N. and Funahashi, R. (2005). The effect of Ag addition on electrical properties of the thermoelectric compound $Ca_3Co_4O_9$. J. Solid State Chem. 178(7): 2186-2190.

Nong, N. V., Liu ,C.-J. and Ohtaki, M. (2010). Improvement on the high temperature thermoelectric performance of Ga-doped misfit-layered Ca_3Co_4-$xGa_xO_{9+delta}$ (x=0, 0.05, 0.1, and 0.2). J. Alloys Compd. 491: 53-56.

Nong, N. V., Liu, C. J. and Ohtaki, M. (2011). High-temperature thermoelectric properties of late rare earth-doped $Ca_3Co_4O_{9+delta}$. J. Alloys Compd. 509: 977-981.

Pei, J., Chen, G., Lu, D. Q., Liu, P. S. and Zhou, N. (2008). Synthesis and high temperature thermoelectric properties of $Ca_{3.0-x-y}Nd_xNa_yCo_4O_{9+delta}$. Solid State Commun. 146(7-8): 283-286.

Pinitsoontorn, S., Lerssongkram, N., Harnwunggmoung, A., Kurosaki, K. and Yamanaka, S. (2010). Synthesis, mechanical and magnetic properties of transition metals-doped $Ca_3Co_{3.8}M_{0.2}O_9$. J. Alloys Compd. 503(2): 431-435.

Prevel, M., Lemonnier, S., Klein, Y., Hebert, S., Chateigner, D., Ouladdiaf, B. and Noudem,

J. G. (2005). Textured $Ca_3Co_4O_9$ thermoelectric oxides by thermoforging process. J. Appl. Phys. 98(9): 093706.

Prevel, M., Perez, O. and Noudem, J. G. (2007). Bulk textured Ca-2.5(RE)(0.5)Co_4O_9 (RE: Pr, Nd, Eu, Dy and Yb) thermoelectric oxides by sinter-forging. Solid State Sci. 9(3-4): 231-235.

Rowe, D. M., Ed. (2006). Thermoelectrics Handbook: Macro to Nano. Boca Raton, CRC Press.

Shikano, M. and Funahashi, R. (2003). Electrical and thermal properties of single-crystalline $(Ca_2CoO_3)(0.7)CoO_2$ with a $Ca_3Co_4O_9$ structure. Appl. Phys. Lett. 82(12): 1851-1853.

Snyder, G. J. and Toberer, E. S. (2008). Complex thermoelectric materials. Nat Mater 7(2): 105-114.

Terasaki, I., Sasago, Y. and Uchinokura, K. (1997). Large thermopower in a layered oxide $NaCo_2O_4$. Phys Rev B 56(20): R12685-R12687.

Urata, S., Funahashi, R., Mihara, T., Kosuga, A., Sodeoka, S. and Tanaka, T. (2007). Power generation of a p-type $Ca_3Co_4O_{9/n\text{-}type}$ $CaMnO_3$ module. Int J Appl Ceram Tec. 4(6): 535-540.

Wang, Y., Sui, Y., Ren, P., Wang, L., Wang, X. J., Su, W. H. and Fan, H. J. (2010a). Strongly Correlated Properties and Enhanced Thermoelectric Response in $Ca_3CO_{4-x}M_xO_9$ (M = Fe, Mn, and Cu). Chem. Mater. 22(3): 1155-1163.

Wang, Y., Sui, Y., Wang, X., Sui, W. and Liu, X. (2010b). Enhanced high temperature thermoelectric characteristics of transition metals doped $Ca_3Co_4O_{9+delta}$ by cold high-pressure fabrication. J. Appl. Phys. 107: 033708.

Wang, Y., Xu, L. X., Sui, Y., Wang, X. J., Cheng, J. G. and Su, W. H. (2010c). Enhanced electron correlation in rare-earth doped $Ca_3Co_4O_9$. Appl. Phys. Lett. 97(6).

Xiang, P. H., Kinernuchi, Y., Kaga, H. and Watari, K. (2008). Fabrication and thermoelectric properties of $Ca_3Co_4O_{9/Ag}$ composites. J. Alloys Compd. 454(1-2): 364-369.

Xu, G. J., Funahashi, R., Shikano, M., Pu, Q. R. and Liu, B. (2002). High temperature transport properties of $Ca_{3-x}Na_xCo_4O_9$ system. Solid State Commun. 124(3): 73-76.

Xu, J., Wei, C. P. and Jia, K. (2010a). Thermoelectric performance of textured $Ca_{3-x}Yb_xCo_4O_{9-delta}$ ceramics. J. Alloys Compd. 500(2): 227-230.

Xu, L. X., Li, F. and Wang, Y. (2010b). High-temperature transport and thermoelectric properties of $C_{a3}Co_{4-x}Ti_xO_9$. J. Alloys Compd. 501(1): 115-119.

Yao, Q., Wang, D. L., Chen, L. D., Shi, X. and Zhou, M. (2005). Effects of partial substitution of transition metals for cobalt on the high-temperature thermoelectric properties of $Ca_3Co_4O_{9+delta}$. J. Appl. Phys. 97(10): 103905.

Zhang, F. P., Lu, Q. M., Zhang, J. X. and Zhang, X. (2009). Texture and high temperature transport properties of $Ag_xCa_{3-x}Co_4O_9$ (0 <= x <= 0.6) compounds. J. Alloys Compd. 477(1-2): 543-546.

Zhou, Y. Q., Matsubara, I., Horii, S., Takeuchi, T., Funahashi, R., Shikano, M., Shimoyama, J., Kishio, K., Shin, W., Izu, N. and Murayama, N. (2003). Thermoelectric properties of highly grain-aligned and densified Co-based oxide ceramics. J. Appl. Phys. 93(5): 2653-2658.

ว.วิทย. มข. 39(2) 232-241 (2554) KKU Sci. J.39(2) 232-241 (2011)

KKU SCIENCE JOURNAL

การพัฒนาเมมเบรนสำหรับเซลล์เชื้อเพลิงแบบพอลิเมอร์อิเล็กโทรไลต์เมมเบรน
Polymer Electrolyte Membrane Fuel Cells: The Membrane Development

สุรางคนา มาตย์วิเศษ [1]

บทนำ

เซลล์เชื้อเพลิง (fuel cell) เป็นเซลล์ไฟฟ้าเคมีแบบหนึ่งที่แปลงพลังงานเคมีของเชื้อเพลิงไปเป็นกระแสไฟฟ้า ลักษณะเดียวกันกับแบตเตอรี่แต่เซลล์เชื้อเพลิงจะต้องมีการป้อนวัตถุดิบคือเชื้อเพลิงและสารที่เป็นตัวออกซิไดส์อย่างต่อเนื่องในการผลิตกระแสไฟฟ้า ในปัจจุบันเซลล์เชื้อเพลิงได้รับความสนใจเป็นอย่างมากเนื่องจากมีประสิทธิภาพสูงถึงประมาณร้อยละ 50 มีความหนาแน่นของพลังงานมาก (high power density) เคลื่อนย้ายได้สะดวก เสียงไม่ดังและปล่อยแก๊สเรือนกระจกในปริมาณน้อย (Barbir and Yazici, 2008) เซลล์เชื้อเพลิงประกอบด้วย 3 ส่วนหลัก คือ ขั้วแคโทด ขั้วแอโนด และอิเล็กโทรไลต์ ส่วนเชื้อเพลิงที่นิยมใช้คือแก๊สไฮโดรเจน เนื่องจากเมื่อผลิตกระแสไฟฟ้าแล้วจะได้น้ำเป็นผลิตภัณฑ์ซึ่งไม่ส่งผลต่อสิ่งแวดล้อม เซลล์เชื้อเพลิงแบ่งตามประเภทของอิเล็กโทรไลต์ที่ใช้ได้หลายประเภท ดังแสดงในตารางที่ 1

เซลล์เชื้อเพลิงแบบพอลิเมอร์อิเล็กโทรไลต์เมมเบรน (polymer electrolyte membrane fuel cells หรือ PEMFCs) เป็นเซลล์เชื้อเพลิงที่มีพอลิเมอร์ที่มีหมู่กรดเป็นอิเล็กโทรไลต์ มีการป้อนแก๊สไฮโดรเจนที่ขั้วแอโนด และป้อนแก๊สออกซิเจนหรืออากาศที่ขั้วแคโทด เมื่อเปรียบเทียบกับเซลล์เชื้อเพลิงแบบอื่นๆ แล้ว เซลล์เชื้อเพลิงแบบพอลิเมอร์อิเล็กโทรไลต์เมมเบรน มีข้อดี คือ ระบบไม่ซับซ้อน สามารถทำงานได้ที่อุณหภูมิต่ำ ติดเครื่องได้ง่าย และมีปัญหาในการใช้งานน้อย นอกจากนี้ เนื่องจากอิเล็กโทรไลต์ที่ใช้เป็นพอลิเมอร์จึงมีการระเหยน้อย ทำให้มีอายุการใช้งานที่นาน

หลักการทำงาน

หลักการทำงานของ PEMFCs สามารถแยกพิจารณาในแต่ละขั้วไฟฟ้า โดยที่ขั้วแอโนด แก๊สไฮโดรเจนจากแหล่งจ่ายเชื้อเพลิง (supplier) จะเกิด

[1] ภาควิชาเคมี คณะวิทยาศาสตร์ มหาวิทยาลัยขอนแก่น อ.เมือง จ.ขอนแก่น 40002
E-mail: surama@kku.ac.th

ตารางที่ 1 ประเภทของเซลล์เชื้อเพลิง (ที่มา Hickner et al., 2004)

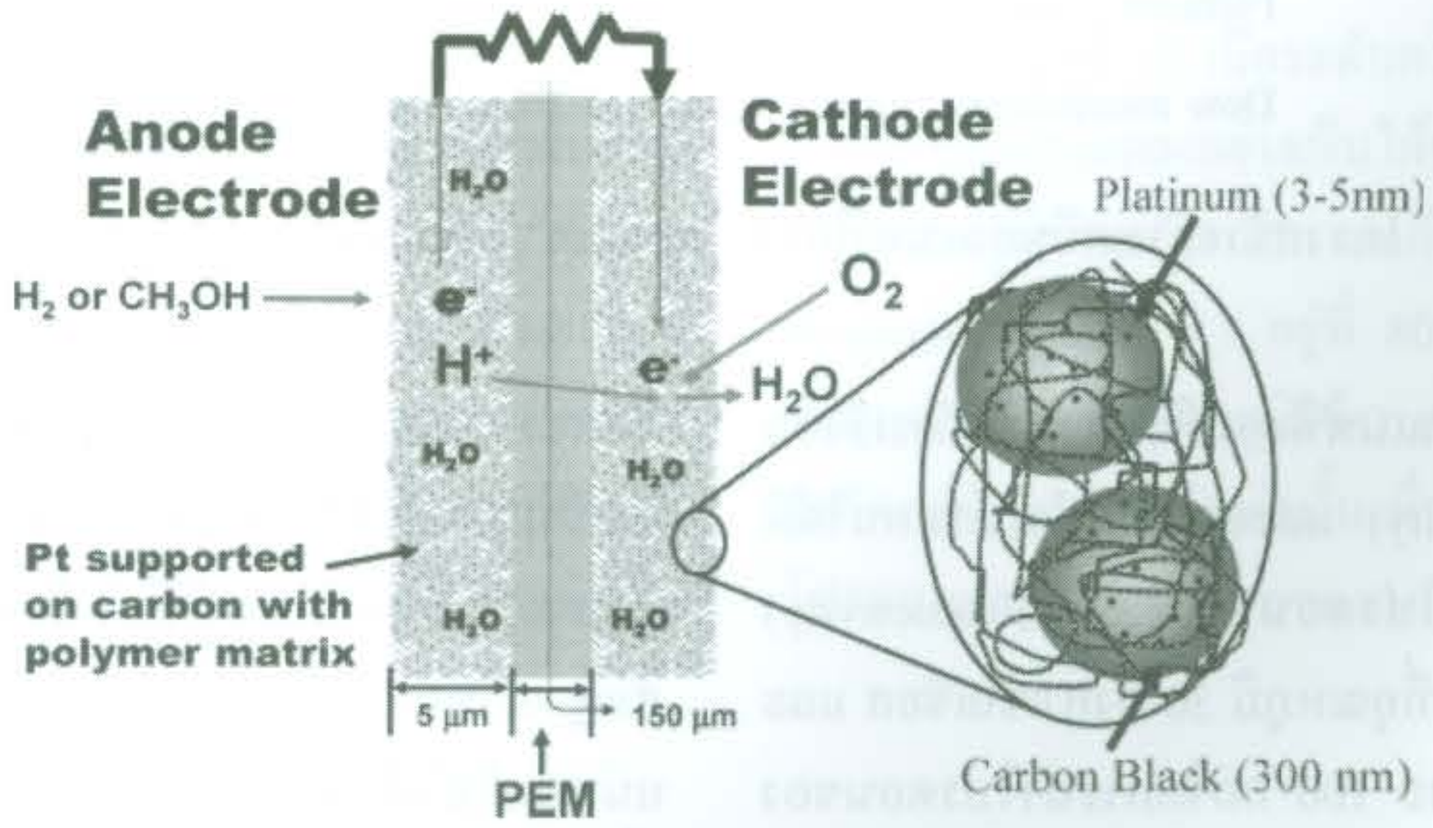
ประเภทของเซลล์เชื้อเพลิง	สารที่ใช้ที่ขั้วแอโนด (Anode feed)	สารที่ใช้ที่ขั้วแคโทด (Cathode feed)	อิเล็กโทรไลต์	อุณหภูมิใช้งาน
เซลล์แอลคาไลน์ Alkaline Fuel Cells (AFC)	ไฮโดรเจน (H_2)	ออกซิเจน (O_2) หรือ อากาศ	สารละลาย KOH	อุณหภูมิห้องถึง 90 °C
เซลล์พอลิเมอร์อิเล็กโทรไลต์เมมเบรน Polymer Electrolyte Membrane Fuel Cells (PEMFC)	ไฮโดรเจน	ออกซิเจน หรือ อากาศ	พอลิเมอร์ที่มีหมู่กรด	อุณหภูมิห้องถึง 90 °C
เซลล์เมทานอล Direct Methanol Fuel Cells (DMFC)	เมทานอล หรือ เมทานอล/น้ำ	ออกซิเจน หรือ อากาศ	พอลิเมอร์ที่มีหมู่กรด	60 ถึง 90 °C
เซลล์กรดฟอสฟอริก Phosphoric Acid Fuel Cells (PAFC)	ไฮโดรเจน	ออกซิเจน หรือ อากาศ	กรดฟอสฟอริก	200 °C
เซลล์คาร์บอเนตหลอม Molten Carbonate Fuel Cells (MCFC)	ไฮโดรเจน หรือ แก๊สธรรมชาติ	ออกซิเจน หรือ อากาศ	Li_2CO_3 หลอม	550 °C
เซลล์ออกไซด์ของแข็ง Solid Oxide Fuel Cells (SOFC)	แก๊สโซลีน หรือ แก๊สธรรมชาติ	ออกซิเจน หรือ อากาศ	Y_2O_3	900 °C

ปฏิกิริยาออกซิเดชันโดยมีตัวเร่งปฏิกิริยา (catalyst) เป็นตัวช่วยให้เกิดปฏิกิริยาได้ดี ได้ผลิตภัณฑ์เป็นโปรตอนและอิเล็กตรอน อิเล็กตรอนที่เกิดจากปฏิกิริยาจะเคลื่อนที่ผ่านวงจรได้กระแสไฟฟ้า ส่วนโปรตอนนั้นจะแพร่ผ่านอิเล็กโทรไลต์แล้วไปรวมตัวกับอิเล็กตรอน และแก๊สออกซิเจนที่ขั้วแคโทดเกิดปฏิกิริยารีดักชันแล้วเกิดน้ำเป็นผลิตภัณฑ์ (รูปที่ 1) ปฏิกิริยาที่เกิดขึ้นที่แต่ละขั้วและปฏิกิริยารวมแสดงได้ดังนี้

แอโนด: $H_2 \longrightarrow 2H^+ + 2e^-$

แคโทด: $1/2O_2 + 2H^+ + 2e^- \longrightarrow H_2O$

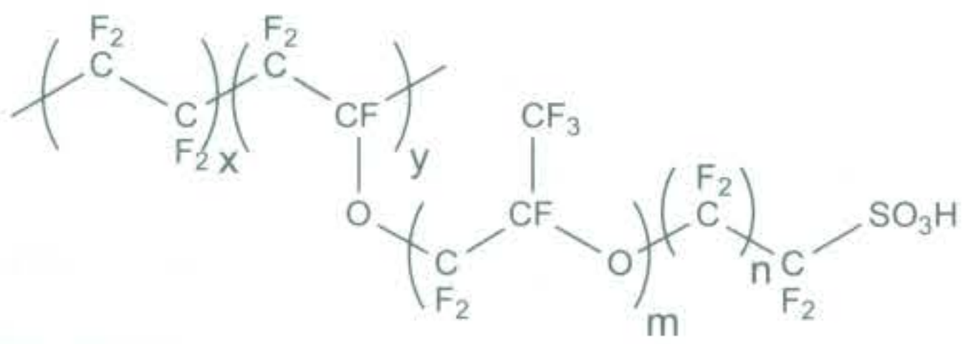
ปฏิกิริยารวม: $H_2 + 1/2O_2 \longrightarrow H_2O$



รูปที่ 1 แผนภาพการทำงานของ PEMFCs (ที่มา: Hickner et al., 2004)

เมมเบรนสำหรับการใช้งานในระบบที่มีน้ำ (Membranes for hydrated system)

เพื่อให้ได้เซลล์เชื้อเพลิงที่มีประสิทธิภาพสูง เมมเบรนที่ใช้ควรมีคุณสมบัตินำพาโปรตอนได้ดี นำอิเล็กตรอนต่ำ สามารถป้องกันการแพร่ของเชื้อเพลิง ตัวออกซิไดส์และน้ำผ่านเมมเบรน ทนกับปฏิกิริยาออกซิเดชัน ทนน้ำ มีสมบัติเชิงกลที่ดี ราคาไม่สูง และสามารถผลิตได้ง่าย ในปัจจุบันพอลิเมอร์เมมเบรนที่ใช้เป็นพอลิเมอร์ที่มีหมู่ซัลโฟเนต พอลิเมอร์ที่ได้รับความสนใจมากที่สุด คือ แนฟฟิออน (Nafion®) ซึ่งถูกคิดค้นโดยบริษัท Dupont ในช่วงปลายทศวรรษที่ 1960 แนฟฟิออนเตรียมได้จากการสังเคราะห์พอลิเมอร์ร่วมแบบอนุมูลอิสระ (free radical initiated copolymerization) ของเตตระฟลูออโรเอทิลีน (tetrafluoroethylene หรือ TFE) และเพอร์ฟลูออโรไวนิลอีเทอร์ (perfluorovinyl ether) ที่มีหมู่ซัลโฟนิลฟลูออไรด์ (sulfonyl fluoride) อยู่ แนฟฟิออนมีอยู่หลายชนิด เช่น 112 115 และ 117 ซึ่งตัวเลขที่ใช้บ่งบอกถึงจำนวนหมู่กรดซัลโฟนิกและความหนาของฟิล์ม ตัวอย่างเช่น แนฟฟิออน 117 คือ ฟิล์มที่มีน้ำหนักของแนฟฟิออนแห้งต่อจำนวนโมลของหมู่กรดซัลโฟนิกเท่ากับ 1100 และมีความหนาเท่ากับ 0.007 นิ้ว ในส่วนของน้ำหนักโมเลกุลของแนฟฟิออน ยังไม่ทราบแน่ชัด เนื่องจากไม่สามารถหาค่าน้ำหนักโมเลกุลของแนฟฟิออนได้ด้วยเทคนิคการหาค่าน้ำหนักโมเลกุลของพอลิเมอร์โดยทั่วไป เช่น เทคนิค gel permeation chromatography (GPC) และ เทคนิคการกระเจิงของแสง (light scattering) อย่างไรก็ตามมีการรายงานว่าค่าน้ำหนักโมเลกุลของแนฟฟิออนอยู่ที่ 10^5-10^6 ดาลตัน นอกจากแนฟฟิออนของ Dupont แล้วบริษัท Asahi Chemical, Asahi Glass และ Dow Chemicals ได้ผลิตเมมเบรนที่มีหมู่เพอร์ฟลูออริเนท (perfluorinated ionomers) ออกมาคล้ายๆ กัน คือ Aciplex®, Flemion® และ Dow membranes ตามลำดับ ซึ่งโครงสร้างทางเคมีได้แสดงในรูปที่ 2



Nafion®: m≥1, n=2, x=5-13.5, y=1000

Aciplex® : m=0-3, n=2-5, x=1.5-14

Flemion® : m=0 or 1, n=1-5

Dow membranes : m=0, n=2, x=3.6-10, y=1000

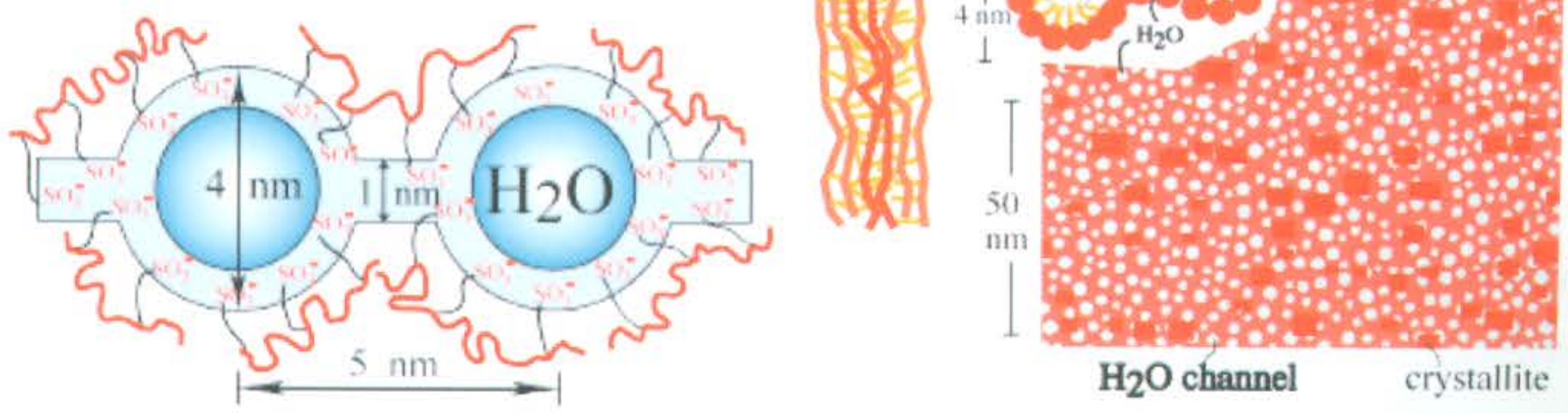
รูปที่ 2 โครงสร้างทางเคมีของแนฟฟิออน, Aciplex®, Flemion® และ Dow membranes

จุดเด่นของแนฟฟิออนคือมีความเสถียรเชิงกล (mechanical stability) และสามารถนำโปรตอนได้ดี โดยมีสภาพการนำโปรตอน (proton conductivity) สูงสุดถึง 0.1 S/cm ที่อุณหภูมิ 30 องศาเซลเซียส และระดับความชื้นร้อยละ 100 กลไกการนำโปรตอนของแนฟฟิออนและของพอลิเมอร์ที่มีหมู่กรดซัลโฟนิกเรียกว่า Vehicular mechanism หรือ Matrix transport ซึ่งเป็นการนำโปรตอนผ่านเมมเบรนโดยอาศัยพาหะ (carrier) โดยส่วนมากใช้น้ำเป็นพาหะ โครงสร้างเชิงสัณฐานวิทยา (morphology) ของแนฟฟิออนยังสรุปแน่นอนไม่ได้ ทั้งนี้เนื่องจากแนฟฟิออนมีโครงสร้างทั้งแบบสุ่ม (random structure) และมีการเรียงตัวในส่วน

ที่เป็นผลึกและไอออนิกของพอลิเมอร์ร่วม (organization of the crystalline and ionic domains of the copolymer) มีความพยายามในการศึกษาสัณฐานวิทยาของแนฟฟิออนด้วยเทคนิคต่างๆ เช่น เทคนิค small-angle X-ray scattering (SAXS), wide-angle X-ray diffraction (WAXD), small-angle neutron scattering (SANS) และ atomic force microscopy (AFM) และมีการเสนอแบบจำลองขึ้นมา แบบจำลองสัณฐานวิทยาของแนฟฟิออนที่เป็นที่ยอมรับมีอยู่ 2 แบบ (รูปที่ 3) คือ

1. Gierke Model (Gierke et al., 1981): กล่าวว่า แนฟฟิออนประกอบด้วยไมเซลล์กลับด้าน (inverted micelles) ที่เกิดจากการรวมตัวของหมู่ซัลโฟเนต โดยไมเซลล์มีการเชื่อมต่อกันโดยช่อง (channel) ที่มีขนาดเส้นผ่าศูนย์กลางขนาด 1 นาโนเมตร

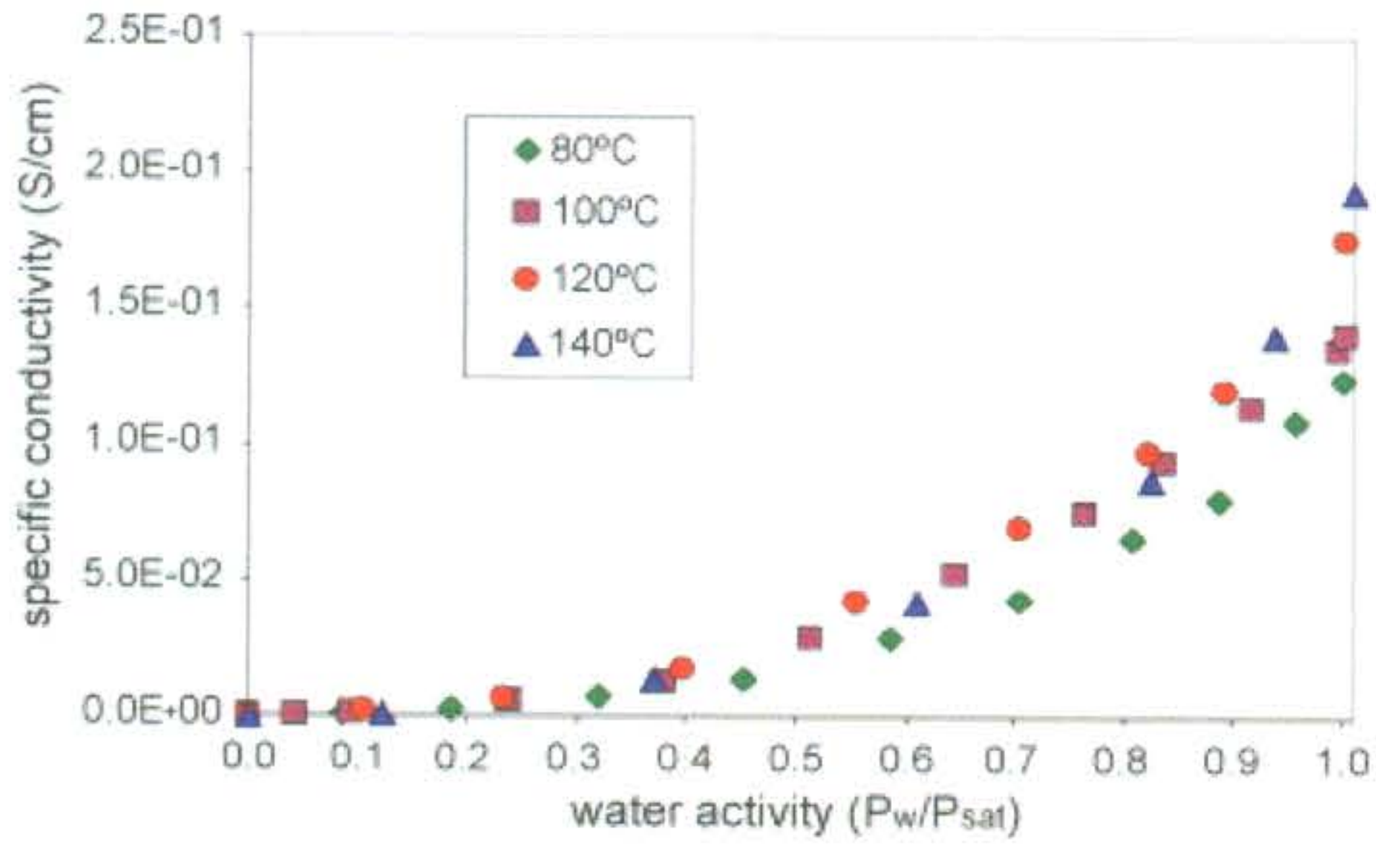
2. Schmidt-Rohr Model (Schmidt-Rohr et al., 2008): เป็นแบบจำลองที่เสนอขึ้นมาใหม่ กล่าวว่า แนฟฟิออนประกอบด้วยท่อลำเลียงน้ำ (water channels) ที่มีขนาดยาวหลายๆ ท่อ โดยท่อลำเลียงน้ำนี้อยู่ขนานกันและรวมตัวกันแบบไมเซลล์กลับด้าน โดยโครงสร้างที่มีหมู่ไอออนิกของแนฟฟิออนอยู่ด้านในและโครงสร้างที่เป็นโซ่หลักที่มีส่วนที่ไม่ชอบน้ำ (hydrophobic) อยู่ด้านนอกของไมเซลล์



รูปที่ 3 แบบจำลองของ Gierke (ซ้าย, ที่มา: Gierke et al., 1981) และของ Schmidt-Rohr (ขวา, ที่มา: Schmidt-Rohr et al., 2008)

เมมเบรนสำหรับการใช้งานที่อุณหภูมิสูง (Membranes for high-operating temperatures)

แม้ว่าแนฟฟิออนจะนำโปรตอนได้ดี ข้อเสียของการนำมาใช้ คือ มอนอเมอร์ที่ใช้ในการสังเคราะห์มีราคาสูง นอกจากนี้ยังมีข้อกังวลเกี่ยวกับเรื่องความปลอดภัยของการใช้ TFE และที่สำคัญที่สุดคือแนฟฟิออนนำโปรตอนได้ดีในสภาวะที่มีน้ำเท่านั้น ดังแสดงในรูปที่ 4 เมื่อระดับความชื้นลดลง สภาพการนำโปรตอนลดลงอย่างเห็นได้ชัด รวมถึงแนฟฟิออนมีค่าอุณหภูมิการเปลี่ยนสภาพแก้ว (glass transition temperature หรือ T_g) อยู่ที่ 80-120 องศาเซลเซียส นั่นหมายความว่า อุณหภูมิใช้งานของเซลล์เชื้อเพลิงถูกจำกัดอยู่ที่อุณหภูมิต่ำเท่านั้นเพื่อรักษาสภาพการนำโปรตอนและสภาพเชิงกลของเมมเบรน



รูปที่ 4 สภาพการนำโปรตอนของแนฟฟิออน 115 ที่ระดับความชื้นต่างๆ โดย Pw คือ ความดันไอของน้ำ (water vapor pressure) และ Psat คือ ความดันไออิ่มตัว (saturated vapor pressure) (ที่มา: Yang et al., 2004)

ในปัจจุบันราคาของเซลล์เชื้อเพลิงแบบพอลิเมอร์อิเล็กโทรไลต์เมมเบรนยังสูงอยู่ เนื่องจากตัวเร่งปฏิกิริยาที่ใช้มีราคาแพง จึงมีการพยายามลดต้นทุนโดยการพัฒนาระบบตัวเร่งปฏิกิริยา นอกจากนี้แล้วแนวทางหนึ่งที่น่าสนใจ คือ การออกแบบพอลิเมอร์อิเล็กโทรไลต์เมมเบรนเพื่อใช้งานที่อุณหภูมิสูง ประโยชน์ของการใช้งานเซลล์เชื้อเพลิงที่อุณหภูมิสูงคือ

1. ลดต้นทุนการผลิต โดยลดปริมาณตัวเร่งปฏิกิริยาที่ใช้ ในกรณีที่ใช้แพลทินัมเป็นตัวเร่งปฏิกิริยาสามารถลดปริมาณจาก 0.8 เป็น 0.1 มิลลิกรัมต่อตารางเซนติเมตร (Shao et al., 2007)

2. เพิ่มประสิทธิภาพของเซลล์เชื้อเพลิงโดยการเพิ่มอัตราเร็วของปฏิกิริยาออกซิเดชันของไฮโดรเจน (hydrogen oxidation reaction) และปฏิกิริยารีดักชันของออกซิเจน (oxygen reduction reaction) (Zhang et al., 2006)

3. แก๊สคาร์บอนมอนอกไซด์ที่ปนมากับแก๊สไฮโดรเจนมีผลทำให้ประสิทธิภาพการทำงานของเซลล์เชื้อเพลิงลดลงเนื่องจากแก๊สคาร์บอนมอนอกไซด์ไปจับกับตัวเร่งปฏิกิริยาซึ่งที่อุณหภูมิสูงการจับของแก๊สคาร์บอนมอนอกไซด์นี้จะลดลง ดังนั้นความทนต่อแก๊สคาร์บอนมอนอกไซด์ (CO tolerance) จึงสูงขึ้น โดยที่อุณหภูมิ 80 องศาเซลเซียส ค่า CO tolerance อยู่ที่ 10-20 ppm ในขณะที่ ที่อุณหภูมิ 200 องศาเซลเซียส ค่า CO tolerance เท่ากับ 30,000 ppm (Li et al., 2003)

4. ช่วยทำให้ระบบถ่ายเทความร้อนและระบบจัดการน้ำของเซลล์เชื้อเพลิงซับซ้อนน้อยลง

ในส่วนของเมมเบรน กระทรวงพลังงานของสหรัฐอเมริกาได้ตั้งเป้าหมายสำหรับพอลิเมอร์อิเล็กโทรไลต์เมมเบรนไว้ว่า เมมเบรนที่ใช้ควรมีราคาต่ำกว่า $40/ตารางเมตร และสามารถนำโปรตอนได้ 0.1 ซีเมนต์/เซนติเมตร ที่ระดับความชื้นร้อยละ 50 และที่อุณหภูมิใช้งาน 120 องศาเซลเซียส (Hickner et al., 2004) ในปัจจุบันสามารถจัดกลุ่มงานวิจัยและพัฒนาเมมเบรนสำหรับการใช้งานที่อุณหภูมิสูงได้ 3 กลุ่ม คือ

1. เมมเบรนของวัสดุเชิงประกอบระดับนาโน (Nanocomposites) (Zhang et al., 2006)

เป็นการปรับปรุงเมมเบรนที่มี perfluorosulfonic acids (PFSAs) ด้วยสารออกไซด์และสารอนินทรีย์ เช่น SiO_2 และ TiO_2 เพื่อเพิ่มความแข็งแรง เพิ่มความทนความร้อนและความสามารถในการรักษาน้ำ (water retain) ที่อุณหภูมิสูง การเตรียมวัสดุเชิงประกอบ

ระดับนาโนทำได้ 2 วิธี คือ โดยการเติมสารออกไซด์และสารอนินทรีย์ลงในสารละลายแนฟฟีออนตามด้วยการขึ้นรูปแผ่นฟิล์มแบบหล่อ (cast) และโดยใช้สารตั้งต้นอนินทรีย์ (inorganic precursors) เช่น tetraethoxysilane (TEOS) และ titanium tetraethylate ในการสังเคราะห์โลหะออกไซด์ผ่านกระบวนการโซล-เจล (sol-gel) ตัวอย่างเมมเบรนของวัสดุเชิงประกอบระดับนาโนได้แสดงไว้ในตารางที่ 2

ตารางที่ 2 สมรรถนะ (performance) ของเมมเบรน PFSA ที่ได้รับการปรับปรุงสมบัติ

เมมเบรน	สภาวะเซลล์เชื้อเพลิง ($T_{แอโนด}/T_{เซลล์}/T_{แคโทด}$/ความดัน)	สมรรถนะ	เอกสารอ้างอิง
Nafion 112	90/100/90 °C, ความดันห้อง, H_2/อากาศ	0.69 V, 400 mA cm^{-2}	Song et al., 2005
Nafion 115/SiO_2(6%)	130/130/130 °C, 3 bar, H_2/ O_2	0.4 V, 1000 mA cm^{-2}	Adjemian et al., 2002
Nafion/TiO_2	-	0.4 V, 300 mA cm^{-2}	Shao et al., 2006
Nafion 115/ZrP	130/130/130 °C, 3 bar, H_2/ O_2	0.45 V, 1000 mA cm^{-2}	Costamagna et al., 2002
Nafion/phosphotungstic acid	90/120/90 °C, 1 bar, H_2/อากาศ	0.6 V, 120 mA cm^{-2}	Ramani et al., 2004

2. พอลิแอโรแมติกพอลิเมอร์ที่มีหมู่ซัลโฟเนต (Sulfonated polyaromatic polymers) และวัสดุเชิงประกอบ (Zhang et al., 2006)

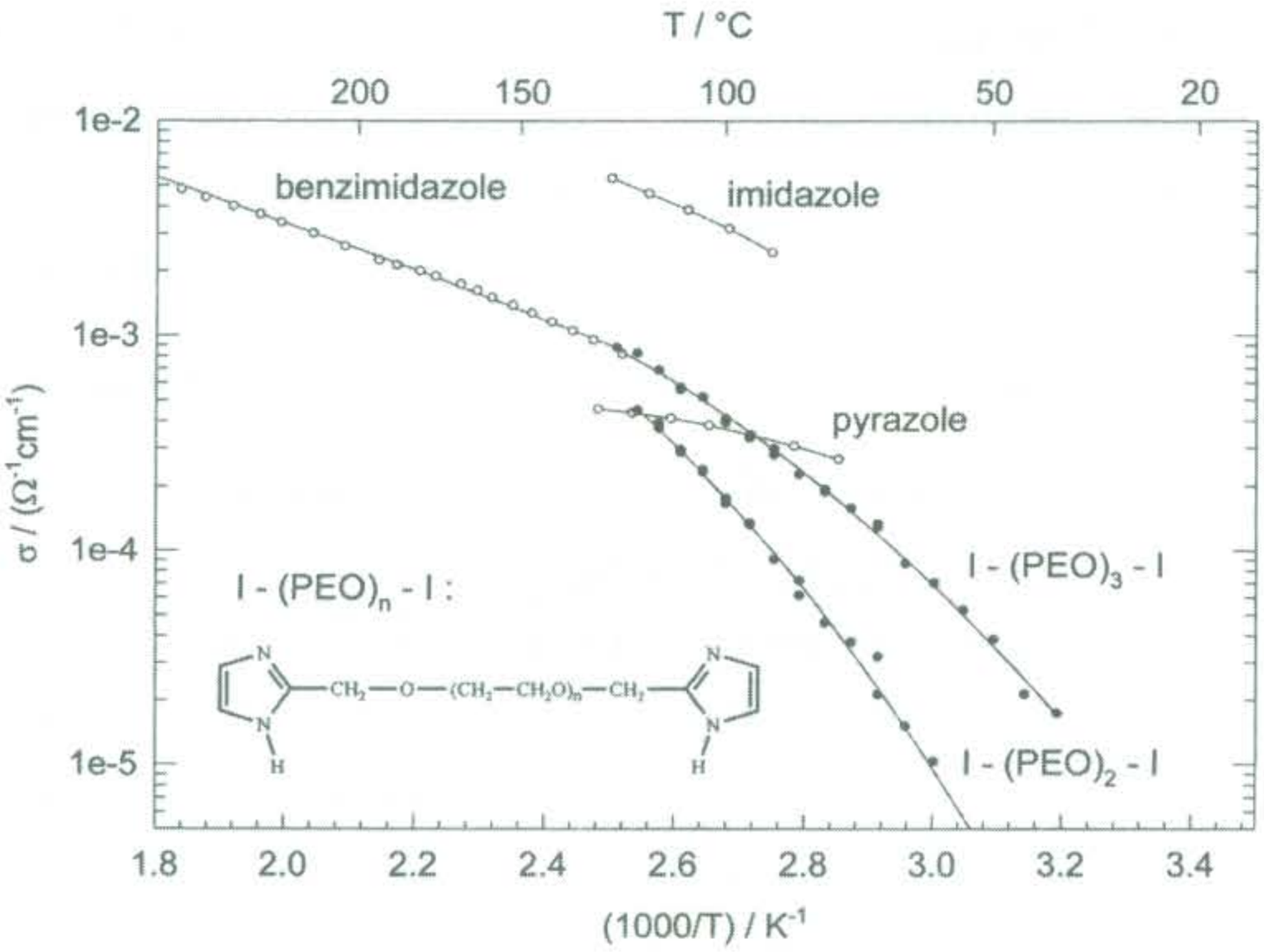
เป็นการปรับปรุงโดยการเติมหมู่ซัลโฟเนตในพอลิเมอร์ที่ทนความร้อนได้ดี เช่น poly(ether ether ketone) หรือ PEEK, polyimides (PI), polysulfones (PSF), polybenzimidazole (PBI) และ poly(p-phenylene) เมมเบรนจากวัสดุเชิงประกอบของพอลิเมอร์เหล่านี้สามารถนำโปรตอนได้ดีที่อุณหภูมิสูง อย่างไรก็ตามเมมเบรนชนิดนี้ยังไม่ได้มีการทดลองใช้จริงกับเซลล์เชื้อเพลิง ตัวอย่างวัสดุเชิงประกอบระหว่างสารอินทรีย์และสารอนินทรีย์ได้แสดงไว้ในตารางที่ 3

ตารางที่ 3 ตัวอย่างวัสดุเชิงประกอบระหว่างสารอินทรีย์และสารอนินทรีย์

สารอินทรีย์	สารอนินทรีย์	สภาพการนำโปรตอน, สภาวะ	เอกสารอ้างอิง
Sulfonated-PEEK	BPO_4	0.5 S/cm, 160 °C, เปียก	Mikhailenko et al., 2001
Sulfonated-PEEK	HPA	0.1 S/cm, >100 °C	Wang et al., 2006
Sulfonated-PSF	Phosphotungstic acid	0.15 S/cm, 130 °C, ความชื้น 100%	Kerres et al., 1998
Sulfonated-PBI	$ZrP + H_3PO_4$	0.09 S/cm, 200 °C, ความชื้น 5%	He et al., 2003

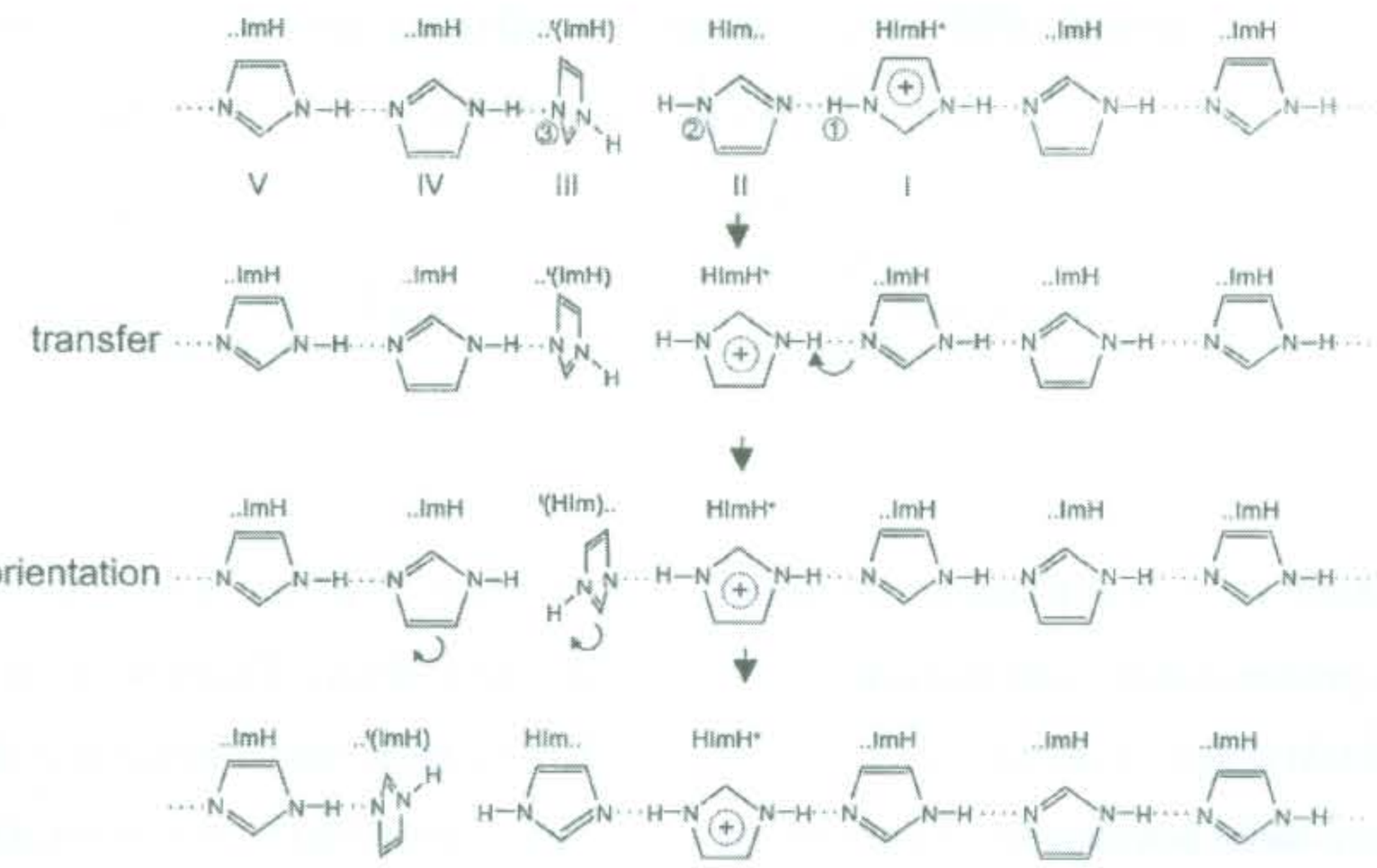
3. พอลิเมอร์นำโปรตอนในภาวะปราศจากน้ำ (Anhydrous proton conducting polymers)

มีการค้นพบว่าสารเฮเทอโรไซเคิลที่มีไนโตรเจน (nitrogen-based heterocycles) ที่มีจุดเดือดสูง เช่น อิมมิดาโซล (imidazole) ไพราโซล (pyrazole) เบนซิมิดาโซล (benzimidazole) และไตรเอโซล (triazole) มีกลไกการนำโปรตอนคล้ายกับน้ำ จากการศึกษาการนำอิมมิดาโซลมาใช้เป็นพาหะแทนน้ำในระบบที่ใช้ PFSAs เป็นเมมเบรน สภาพการนำโปรตอนที่ได้ที่อุณหภูมิ 200 องศาเซลเซียส มีค่าใกล้เคียงกับค่าที่ได้จากระบบที่ใช้น้ำ นอกจากนี้สารเฮเทอโรไซเคิลที่มีไนโตรเจนยังสามารถนำโปรตอนได้เอง (intrinsically proton conduction) ดังแสดงในกราฟระหว่าง 1000/อุณหภูมิ (เคลวิน) และสภาพการนำโปรตอน (รูปที่ 5)



รูปที่ 5 การนำโปรตอนของสารเฮเทอโรไซเคิลต่างๆ (ที่มา: Kreuer, 2001)

อย่างไรก็ตามสารเฮเทอโรไซเคิลเหล่านี้เป็นโมเลกุลขนาดเล็ก มีโอกาสที่จะหลุดออกจากเมมเบรนหลังจากใช้ไปเป็นเวลานานได้ จึงมีการนำหมู่เฮเทอโรไซเคิลไปเชื่อมต่อกับโอลิโกเมอร์ (oligomer) และพอลิเมอร์ซึ่งการเชื่อมต่อนี้ทำให้หมู่เฮเทอโรไซเคิลมีอิสระในการเคลื่อนที่น้อยลงมาก พอลิเมอร์ที่มีหมู่เฮเทอโรไซเคิลที่ประกอบด้วยไนโตรเจน จะนำโปรตอนโดยการสร้างและการทำลายของพันธะไฮโดรเจนระหว่างหมู่เฮเทอโรไซเคิล หรือที่เรียกว่า Grotthuss mechanism หรือ Proton hopping mechanism (รูปที่ 6) ซึ่งต่างกับการนำโปรตอนของพอลิเมอร์ที่มีหมู่กรดซัลโฟนิก



รูปที่ 6 เครือข่ายพันธะไฮโดรเจนของอิมมิดาโซล (ที่มา: Munch et al., 2001)

จากการศึกษาการนำโปรตอนของพอลิเมอร์ เช่น poly(ethylene oxide) (PEO), poly(styrene-*g*-PEO), polyacrylate และ polysiloxane ที่มีหมู่เฮเทอโรไซเคิล พบว่าปัจจัยหลักที่มีผลต่อการนำโปรตอนคือความสามารถในการเคลื่อนที่ของโปรตอน (local mobility) และความหนาแน่นของตัวพาโปรตอน (charge carrier density) นอกจากนี้ยังพบว่าน้ำหนักโมเลกุลของพอลิเมอร์ไม่มีผลต่อการนำโปรตอนในกรณีของ poly(5-vinyltetrazole) (Pu et al., 2008) และเมื่อเปลี่ยนหมู่นำโปรตอน (หมู่เฮเทอโรไซเคิล) (Zhou et al., 2005 และ Woudenberg et al., 2007) สภาพการนำโปรตอนมีการเปลี่ยนแปลง ตัวอย่างของพอลิเมอร์นำโปรตอนในภาวะปราศจากน้ำได้แสดงไว้ในตารางที่ 4

ตารางที่ 4 พอลิเมอร์นำโปรตอนในภาวะปราศจากน้ำ (PEG = poly(ethylene glycol), TFA = trifluoroacetic acid)

พอลิเมอร์	สภาพการนำโปรตอน, สภาวะ	เอกสารอ้างอิง
ABA triblock PEG with pendant benzimidazole	38 μS/cm, 140 °C	Persson et al., 2006
Poly(styrene-*g*-PEO) with pendant benzimidazole	6.6 μS/cm, 160 °C	Persson et al., 2006
Polysiloxane with pendant imidazole	1.5 mS/cm, 160 °C	Scharfenberger et al., 2006
Polyacrylate with pendant triazole	17.5 μS/cm, 200 °C	Martwiset et al., 2009
Polysiloxane with pendant triazole	5 mS/cm, 180 °C (doped ด้วย TFA)	Granados-Focil et al., 2007

การพัฒนาเมมเบรนในปัจจุบัน

ถึงแม้ว่าการใช้งานเซลล์เชื้อเพลิงแบบพอลิเมอร์อิเล็กโทรไลต์เมมเบรนที่อุณหภูมิสูงจะมีข้อดีอยู่มาก แต่ก็มีข้อควรระวังหลายอย่างรวมถึงอัตราการสลายตัวที่เพิ่มขึ้นของเมมเบรนที่อุณหภูมิสูง ซึ่งส่งผลให้อายุการใช้งานของเมมเบรนสั้นลง ข้อกำหนดเกี่ยวกับอายุการใช้งานของเซลล์เชื้อเพลิงสำหรับใช้ในเชิงพาณิชย์มีดังนี้ คือ เซลล์เชื้อเพลิงสำหรับยานพาหนะต้องสามารถใช้งานต่อเนื่องได้อย่างน้อย 5,000 ชั่วโมง และอย่างน้อย 40,000 ชั่วโมง สำหรับเซลล์เชื้อเพลิงแบบไม่เคลื่อนที่ (Ahn et al., 2002) ณ ปัจจุบันอายุการใช้งานของเซลล์เชื้อเพลิงที่อุณหภูมิสูงยังต้องพัฒนาขึ้นไปอีก มีรายงานว่าเมมเบรนที่เตรียมจาก PBI มีอายุการใช้งานต่อเนื่องอยู่ที่ 3,500 ชั่วโมง และ 5,000 ชั่วโมง เมื่อทดสอบที่อุณหภูมิ 120 องศาเซลเซียส และ 150 องศาเซลเซียส ตามลำดับ (Li et al., 2003) อย่างไรก็ตามยังมีข้อสงสัยถึงความน่าเชื่อถือของค่าที่ได้ เนื่องจากการศึกษาอายุการใช้งานของเซลล์เชื้อเพลิงต้องใช้เวลาในการทดสอบนานและมีความซับซ้อนในการวิเคราะห์ การทดสอบการสลายตัวจึงใช้แบบเร่ง หรือ accelerated degradation test (ADT) ซึ่งสภาวะที่ใช้ทดสอบกับสภาวะการใช้งานจริงมีความแตกต่างกันมาก

กิตติกรรมประกาศ

บทความนี้ได้รับทุนสนับสนุนจากศูนย์วิจัยนาโนเทคโนโลยีบูรณาการ มหาวิทยาลัยขอนแก่น

เอกสารอ้างอิง

Adjemian, K. T., Lee, S. J., Srinivasan, S., Benziger, J. and Bocarly, A. B. (2002). Silicon oxide Nafion composite membranes for proton-exchange membrane fuel cell operation at 80-140 °C. J. Electrochem. Soc. 149: A256-A261.

Ahn, S. Y., Shin, S. J., Ha, H. Y., Hong, S. A., Lee, Y. C., Lim, T. W. and Oh, I. H. (2002). Performance and lifetime analysis of the kW-class PEMFC stack. J. Power Sources. 106: 295-303.

Barbir, F. and Yazici, S. (2008). Status and development of PEM fuel cell technology. Int. J. Energy Res. 32: 369-378.

Costamagna, P., Yang, C., Bocarsly, A. B. and Srinivasan, S. (2002). Nafion (R) 115/ zirconium phosphate composite membranes for operation of PEMFCs above 100 °C. Electrochim. Acta. 47: 1023-1033.

Gierke, T. D., Munn, G. E. and Wilson, F. C. (1981). The morphology in Nafion perfluorinated membrane products, as determined by wide-angle and small-angle x-ray studies. J. Polym. Sci., Part B: Polym. Phys. 19 (11): 1687-1704.

Granados-Focil, S., Woudenberg, R. C., Yavuzcetin, O., Tuominen, M. T. and Coughlin, E. B. (2007). Water-free proton-conducting polysiloxanes: A study on the effect of heterocycle structure. Macromolecules. 40: 8708-8713.

He, R. H., Li, Q. F., Xiao, G. and Bjerrum, N. J. (2003). Proton conductivity of phosphoric acid doped polybenzimidazole and its composites with inorganic proton conductors. J. Membr. Sci. 226: 169-184.

Hickner, M. A., Ghassemi, H., Kim, Y. S., Einsla, B. R. and McGrath, J. E. (2004). Alternative polymer systems for proton exchange membranes (PEMs). Chem. Rev. 104 (10): 4587-4612.

Kerres, J., Cui, W., Disson, R. and Neubrand, W. (1998). Development and characterization of crosslinked ionomer membranes based upon sulfinated and sulfonated PSU - crosslinked PSU blend membranes by disproportionation of sulfinic acid groups. J. Membr. Sci. 139: 211-225.

Kreuer, K. D. (2001). On the development of proton conducting polymer membranes for hydrogen and methanol fuel cells. J. Membr. Sci. 181: 29-39.

Li, Q., He, R., Jensen, J. O. and Bjerrum, N. J. (2003). Approaches and recent development of polymer electrolyte membranes for fuel cells operating above 100 °C. Chem. Mater. 15: 4896-4915.

Martwiset, S., Yavuzcetin, O., Thorn, M., Versek, C., Tuominen, M. T. and Coughlin, E. B. (2009). Proton conducting polymers containing 1*H*-1,2,3-triazole moieties. J. Polym. Sci., Part A: Polym. Chem. 47: 188-196.

Mikhailenko, S. D., Zaidi, S. M. J. and Kaliaguine, S. (2001). Sulfonated polyether ether ketone based composite polymer electrolyte membranes. Catal. Today. 67: 225-236.

Munch, W., Kreuer, K. D., Silvestri, W., Maier, J. and Seifert, G. (2001). The diffusion mechanism of an excess proton in imidazole molecule chains: first results of an ab initio molecular dynamics study. Solid State Ionics. 145 (1-4): 437-443.

Persson, J. C. and Jannasch, P. (2006). Block copolymers containing intrinsically proton-conducting blocks tethered with benzimidazole units. Chem. Mater. 18 (13): 3096-3102.

Persson, J. C. and Jannasch, P. (2006). Intrinsically proton-conducting comb-like copolymers with benzimidazole tethered to the side chains. Solid State Ionics. 177 (7-8): 653-658.

Pu, H., Wu, J., Wan, D. and Chang, Z. (2008). Synthesis and anhydrous proton conductivity of poly(5-vinyltetrazole) prepared by free radical polymerization. J. Membr. Sci. 322 (2): 392-399.

Ramani, V., Kunz, H. R. and Fenton, J. M. (2004). Investigation of Nafion (R)/HPA composite membranes for high temperature/low relative humidity PEMFC operation. J. Membr. Sci. 232: 31-34.

Scharfenberger, G., Meyer, W. H., Wegner, G., Schuster, M., Kreuer, K. D. and Maier, J. (2006). Anhydrous polymeric proton conductors based on imidazole functionalized polysiloxane. Fuel Cells. 6 (3-4): 237-250.

Schmidt-Rohr, K. and Chen, Q. (2008). Parallel cylindrical water nanochannels in Nafion fuel-cell membranes. Nature Materials. 7 (1): 75-83.

Shao, Y., Yin, G., Wang, Z. and Gao, Y. (2007). Proton exchange membrane fuel cell from low temperature to high temperature: Material challenges. J. Power Sources 167: 235-242.

Shao, Z.G., Xu, H., Li, M. and Hsing, I. M. (2006). Hybrid Nafion-inorganic oxides membrane doped with heteropolyacids for high temperature operation of proton exchange membrane fuel cell. Solid State Ionics 177: 779-785.

Song, Y., Fenton, J. M., Kunz, H. R., Bonville, L. J. and Williams, M. V. (2005). High-performance PEMFCs at elevated temperatures using Nafion 112 membranes. J. Electrochem. Soc. 152: A539-A544.

Wang, Z, Ni, H. Z., Zhao, C. J., Li, X. F., Fu, T. Z. and Na, H. (2006). Investigation of sulfonated poly(ether ether ketone sulfone)/ heteropolyacid composite membranes for high temperature fuel cell Applications. J. Polym. Sci., Part B: Polym. Phys. 44: 1967-1978.

Woudenberg, R. C., Yavuzcetin, O., Tuominen, M. T. and Coughlin, E. B. (2007). Intrinsically proton conducting polymers and copolymers containing benzimidazole moieties: Glass transition effects. Solid State Ionics. 178: 1135-1141.

Yang, C., Srinivasan, S., Bocarsly, A. B., Tulyani, S. and Benziger, J. B. (2004). A comparison of physical properties and fuel cell performance of Nafion and zirconium phosphate/Nafion composite membranes. J. Membr. Sci. 237: 145-161.

Zhang, J. L., Xie, Z., Zhang, J. J., Tanga, Y. H., Song, C. J., Navessin, T., Shi, Z. Q., Song, D. T., Wang, H. J., Wilkinson, D. P., Liu, Z. S. and Holdcroft, S. (2006). High temperature PEM fuel cells. J. Power Sources. 160: 872-891.

Zhou, Z. Li, S., Zhang, Y., Liu, M. and Li, W. (2005). Promotion of proton conduction in polymer electrolyte membranes by 1*H*-1,2,3-triazole. J. Am. Chem. Soc. 127: 10824-10825.

❑❑❑❑❑

ว.วิทย. มข. 39(2) 242-251 (2554) KKU Sci. J.39(2) 242-251 (2011)

ความหลากหลายของยีสต์ทนร้อนบริเวณอุทยานแห่งชาติภูจองนายอย

Diversity of Thermotolerant Yeasts in Phujong Nayoy National Park

จันทรพร ทองเอกแก้ว[1*] *และ กีรติชัยนันต์ จรรยาเพศ*[1]

บทคัดย่อ

เมื่อนำตัวอย่างดิน ผลไม้ ขุยจากแมลง ดอกไม้ และเห็ด จากอุทยานแห่งชาติภูจองนายอย จังหวัดอุบลราชธานีทั้งหมด 77 ตัวอย่าง มาคัดแยกยีสต์ทนร้อน ในอาหารเหลว yeast extract-maltose (YM) ที่มีร้อยละ 0.01 คลอแรมฟินิคอล และร้อยละ 0.2 โซเดียมโพรพิโอเนต และนำไปบ่มที่อุณหภูมิ 25 40 42 45 47 และ 50 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 48 ชั่วโมง สามารถแยกยีสต์ทนร้อนได้รวม 23 ไอโซเลท สำหรับผลการพิสูจน์ความเหมือนและการจัดจำแนกยีสต์ ด้วยวิธีชีววิทยาโมเลกุลโดยการวิเคราะห์หาลำดับนิวคลีโอไทด์บริเวณ D1/D2 โดเมนของ 26S ไรโบโซมอลดีเอ็นเอ สามารถจำแนกยีสต์ทนร้อน ได้จำนวน 6 สกุล ได้แก่ *Candida, Trichosporon, Blastobotrys, Torulaspora, Pichia* และ *Kodamaea* โดยมีความเหมือนของลำดับนิวคลีโอไทด์เมื่อเทียบกับฐานข้อมูล NCBI อยู่ระหว่าง 99-100%

Abstract

A total of 77 samples of various sources such as soil, fruits, insect frass, flowers and mushroom collected from Phujong nayoy National Park, were used for isolation of thermotolerant yeasts by enrichment technique in yeast extract-maltose (YM) broth containing 0.01% chloramphenicol and 0.2% Na- propionate and incubation at 25, 40, 42, 45, 47 and 50°C for 48 h. Twenty three thermotolerant yeast isolates were obtained and identified on the basis of 26S rDNA (D1/D2) sequence analysis. As the results, the thermotolerant yeasts isolates were belonged to 6 genera, such as *Candida, Trichosporon, Blastobotrys, Torulaspora, Pichia* and *Kodamaea* with 99-100% similarity of their unique nucleotide sequences in the D1/D2 domain of 26S rDNA when compared to those in NCBI database.

คำสำคัญ : ความหลากหลายของยีสต์ การจัดจำแนกยีสต์ ยีสต์ทนร้อน D1/D2 โดเมนของ 26S ไรโบโซมอลดีเอ็นเอ

Keywords : Yeast diversity, Yeast identification, Thermotolerant yeast, D1/D2 domain of 26S rDNA

[1] ภาควิชาวิทยาศาสตร์ชีวภาพ คณะวิทยาศาสตร์ มหาวิทยาลัยอุบลราชธานี อ.วารินชำราบ จ.อุบลราชธานี 34190

* Corresponding Author, E- mail: jantaporn_25@yahoo.com

บทนำ

ยีสต์ทนร้อน (thermotolerant yeast) เป็นยีสต์ที่เจริญเติบโตได้ตั้งแต่อุณหภูมิต่ำกว่า 20 องศาเซลเซียส ถึง 50 องศาเซลเซียส (Maheshwari et al., 2000) เนื่องจากมีรายงานว่ายีสต์ทนร้อนมีคุณสมบัติทนต่ออุณหภูมิสูง สารเคมี สารดีเทอร์เจนท์ (detergents) และผลิตสารที่มีความสามารถในการทนต่อความร้อน เช่น เอนไซม์ต่างๆ (Lasa and Berenguer, 1993; Banat and Marchant, 1995; Haki and Rakshit, 2003) ซึ่งสามารถนำไปประยุกต์ใช้ในอุตสาหกรรมหลายชนิด เช่น อุตสาหกรรมอาหาร เภสัชกรรม การผลิตสารสำหรับทำความสะอาด หรือการผลิตเอธานอล เป็นต้น นอกจากนี้ยีสต์ทนร้อนยังช่วยประหยัดค่าใช้จ่ายทั้งพลังงานและน้ำในการทำระบบหล่อเย็น (cooling system) ในโรงงานอุตสาหกรรมการหมักอันจะนำไปสู่การพัฒนาเชิงพาณิชย์ได้ (Nolan et al., 1994; Banat et al., 1998) และยังมีรายงานการศึกษาการนำยีสต์ทนร้อนมาใช้เป็นเชื้อปฏิปักษ์ในการควบคุมโรคแอนแทรคโนส (anthracnose) ในพริกได้อีกด้วย (Chanchaichaovivat et al., 2007)

ปัจจุบันมีการค้นพบศึกษายีสต์แล้วกว่า 100 สกุล มากกว่า 700 สปีชีส์ แต่จากการประเมินชี้ว่ายีสต์ที่ค้นพบและทำการศึกษาแล้วนั้นมีจำนวนน้อยกว่าร้อยละ 10 ของสปีชีส์ที่มีอยู่ทั้งหมด การค้นพบยีสต์ชนิดใหม่ทั้งหมดในแหล่งต่างๆ ต้องใช้เวลาหลายร้อยปี และการแยกยีสต์โดยการใช้วิธีดั้งเดิมโดยอาศัยลักษณะสัณฐานวิทยา สรีรวิทยา และชีวเคมี เป็นวิธีการที่ใช้แรงงานมาก ใช้เวลานาน ไม่แม่นยำ และขาดความสามารถในการแยกที่ชัดเจน รวมทั้งมักให้ผลการจัดจำแนกที่ผิดพลาดและมีข้อโต้แย้งมาก ความก้าวหน้าของชีววิทยาระดับโมเลกุลทำให้มีความเป็นไปได้ที่จะศึกษาลักษณะของยีสต์ในระดับจีโนม ซึ่งทำให้การจัดจำแนกระดับสปีชีส์และอนุกรมวิธานของยีสต์เกิดขึ้นได้อย่างถูกต้องและรวดเร็ว (Kurtzman, 1994) ตัวอย่างการจัดจำแนกอนุกรมวิธานของยีสต์โดยการใช้เทคนิคทางชีววิทยาระดับโมเลกุล ได้แก่ การศึกษาของ Kurtzman and Robnett (1998) ได้รายงานการจัดจำแนกยีสต์ในกลุ่ม ascomycetous yeasts รวมถึงกลุ่ม *Candida* และกลุ่มที่มีการสืบพันธุ์แบบไม่อาศัยเพศ โดยการวิเคราะห์ลำดับนิวคลีโอไทด์บริเวณ D1/D2 ของ 26S rDNA และ 18S rDNA ส่วน Fell et al. (2002) รายงานสปีชีส์ใหม่ของ *Sporobolomyces* คือ *Sporobolomyces ruberrimus* สปีชีส์นี้แยกจากสปีชีส์อื่นโดยลำดับเบสในบริเวณ D1/D2 และ ITS รวมทั้งสัณฐานวิทยา นอกจากนี้ยังมีการศึกษาของ Daniel and Meyer (2003) ได้ศึกษาความเป็นไปได้ในการใช้ลำดับนิวคลีโอไทด์บริเวณ D1/D2 ของ 26S rDNA และยีนแอคติน เพื่อแยกยีสต์ในกลุ่ม ascomycetous yeasts และยังมีรายงานการจัดจำแนกยีสต์ในผลิตภัณฑ์จากนมโดยใช้วิธีสัณฐานวิทยา ชีวเคมี สรีรวิทยา และชีววิทยาระดับโมเลกุล พบว่าสามารถแยกยีสต์ได้ 513 ไอโซเลท โดยแบ่งเป็น ascomycetous yeasts 460 ไอโซเลท และ basidiomycetous yeasts 53 ไอโซเลท เมื่อทำการจัดจำแนกในระดับโมเลกุลสามารถจัดจำแนกได้ 5 กลุ่ม คือ *Debaryomyces*, *Geotrichum*, *Kluyveromyces* และ *Candida* (Lopandic et al., 2006) เป็นต้น

ดังนั้น ผู้วิจัยจึงได้ทำการศึกษาความหลากหลายและจัดจำแนกยีสต์ทนร้อนบริเวณป่าเบญจพรรณในอุทยานแห่งชาติภูจองนายอย จังหวัดอุบลราชธานีโดยใช้วิธีการหาลำดับเบสบริเวณปลาย 5′ ของ 26S ไรโบโซมอลดีเอ็นเอ ซึ่งเป็นบริเวณที่มีวิวัฒนาการเร็วจึงเป็นบริเวณที่มีความแตกต่างมากในในลำดับเบสของ 26S ไรโบโซมอลดีเอ็นเอ ความแตกต่างบริเวณนี้พอเพียงที่จะแบ่งแยกสปีชีส์ของยีสต์ได้ (Kurtzman and Robnett, 1998) ซึ่งปัจจุบันมีความสำคัญมากในการจัดจำแนก และเป็นวิธีที่นักจัดจำแนกให้การยอมรับกันอย่างแพร่หลาย สำหรับป่าเบญจพรรณในอุทยานแห่งชาติภูจองนายอย มีพันธุ์ไม้จำพวกไม้สัก มะค่า แดง ประดู่ และชิงชัน ขึ้นอยู่หนาแน่นและอุดมสมบูรณ์ ป่าชนิดนี้มีความเหมาะสมต่อการดำรงชีวิตของสัตว์ป่า เพราะไม่รกทึบเกินไป

และมีพืชอาหารมาก จึงดึงดูดนก แมลง และสัตว์กินพืชต่างๆ เข้ามาอาศัย และมีสภาพภูมิอากาศร้อนชื้น จึงเหมาะต่อการศึกษาความหลากหลายของยีสต์ในบริเวณดังกล่าว เพื่อให้ทราบถึงชนิดของยีสต์ในแหล่งธรรมชาตินี้ ทำให้ได้ข้อมูลที่จะแสดงทรัพยากรของประเทศอันจะเกิดประโยชน์ต่อไปในอนาคต

วิธีการทดลอง

การคัดแยกยีสต์ทนร้อน

นำตัวอย่างดิน ผลไม้ ขุยจากแมลง ดอกไม้ และเห็ด จากอุทยานแห่งชาติภูจองนายอย จำนวน 77 ตัวอย่าง มาคัดแยกยีสต์ทนร้อน ในอาหาร yeast extract-maltose broth (YM broth) ที่มีการเติมคลอแรมฟินิคอล (Chloramphenical) และโซเดียมโพรฟีเอต (Sodiumpropionate) ปริมาตร 0.01% (w/v) และ 0.2% (w/v) ตามลำดับ จากนั้นนำไปบ่มที่อุณหภูมิ 25 40 42 45 47 และ 50 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 48 ชั่วโมง นำเชื้อยีสต์ที่เจริญมาทำการ streak บนอาหาร YM agar และทำการ re-streak จนกระทั่งได้เชื้อบริสุทธิ์

การศึกษาลักษณะทางสัณฐานวิทยา

ศึกษาลักษณะรูปร่างของเซลล์ สี ขอบโคโลนี การยกตัวของโคโลนีและการเพิ่มจำนวนภายใต้กล้องจุลทรรศน์แบบธรรมดา

การจัดจำแนกสายพันธุ์ยีสต์

1. การสกัด Genomic DNA ของยีสต์

การสกัด Genomic DNA ของยีสต์ ทำโดยใช้วิธีที่ดัดแปลงจาก Brown Lab ของมหาวิทยาลัย Wisconsin ประเทศสหรัฐอเมริกา ในปี ค.ศ. 1997 โดยการนำยีสต์บริสุทธิ์ที่แยกได้จากตัวอย่างบนอาหาร YM มาทำการแขวนลอยในสารละลายที่มีส่วนผสมของ 1 โมลาร์ sorbital และ 0.1 โมลาร์ EDTA ปริมาตร 300 ไมโครลิตร จากนั้นเติม 10 ไมโครลิตร ของร้อยละ 1 ของ Zymolyase ผสมให้เข้ากัน นำไปบ่มที่อุณหภูมิ 37 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 1 ชั่วโมง จากนั้นเติม TE buffer ปริมาตร 500 ไมโครลิตร และร้อยละ 10 ของ SDS ปริมาตร 50 ไมโครลิตร ผสมให้เข้ากัน นำไปบ่มที่อุณหภูมิ 65-70 องศาเซลเซียส จากนั้นเติมสาร 2.5 โมลาร์ Potassium acetate ปริมาตร 200 ไมโครลิตร แช่ในน้ำแข็ง 1 ชั่วโมง จากนั้นนำไปปั่นเหวี่ยง 13,000 รอบต่อนาที นาน 5 นาที นำส่วนใสมาเติม $CHCl_3$: isoamylalcohol (24:1) ปริมาตร 200 ไมโครลิตร ผสมให้เข้ากัน และนำมาปั่นเหวี่ยง 13,000 รอบต่อนาที นาน 5 นาที เก็บส่วนใสที่อยู่บนชั้นแรกของสารละลายใส่ในหลอดไมโครทิวบ์หลอดใหม่ ทำซ้ำขั้นตอนการสกัดด้วย $CHCl_3$:isoamylalcohol 2-3 ครั้ง จากนั้นนำส่วนใสมาเติม Isopropanol ปริมาตร 0.6% (w/v) และ Sodium acetate 0.1% (w/v) ผสมให้เข้ากันเก็บไว้ที่อุณหภูมิ -20 องศาเซลเซียส นาน 20 นาที จากนั้นนำมาปั่นเหวี่ยง 14,500 รอบต่อนาที นาน 20 นาที ดูดส่วนใสทิ้ง นำตะกอนดีเอ็นเอมาเติมร้อยละ 70 ของ ethanol ปริมาตร 200 ไมโครลิตร และนำไปปั่นเหวี่ยง 14,500 รอบต่อนาที นาน 5 นาที ดูดส่วนใสทิ้ง ล้างหลอดไมโครทิวบ์จนตะกอนดีเอ็นเอแห้ง จากนั้นละลายตะกอนดีเอ็นเอด้วยน้ำกลั่นปลอดเชื้อเก็บไว้ที่ -20 องศาเซลเซียสในระหว่างการรอเพิ่มจำนวนโดยปฏิกิริยาลูกโซ่พอลิเมอเรส (PCR amplification)

2. การเพิ่มจำนวนชิ้นส่วนดีเอ็นเอโดยปฏิกิริยาลูกโซ่พอลิเมอเรส (PCR amplification)

เพิ่มปริมาณชิ้นส่วนดีเอ็นเอบริเวณ D1/D2 โดเมนของ 26S ไรโบโซมอลดีเอ็นเอด้วยเทคนิคการเพิ่มจำนวนโดยปฏิกิริยาลูกโซ่พอลิเมอเรส (PCR amplification) ตามวิธีที่ดัดแปลงจากวิธีของ Kurtzman and Robnett (1998) โดยใช้ forward primer NL-1 (5(-GCATATCAATAAGCGGAGGAAAAG-3′) และ reverse primer NL-4 (5′-GGTCCGTGTTTCAAGACGG-3′) โดยมีสภาวะที่ใช้ในการทำ PCR ดังนี้ 30 รอบของ denaturation 94 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 1 นาที annealing ที่ 52 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 1.30 นาที และ extension ที่ 72 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 2.30 นาที

3. การหาลำดับนิวคลีโอไทด์

นำ PCR product ที่ได้มาทำการแยกขนาดของดีเอ็นเอโดยใช้วิธี Agarose gel electrophoresis เมื่อได้ขนาดที่ถูกต้องแล้วจึงนำ PCR product มาทำให้บริสุทธิ์โดยใช้ Gel/PCR DNA fragment extraction kit (Geneaid Biotech Ltd., Taiwan) และนำไปวิเคราะห์หาลำดับนิวคลีโอไทด์ด้วยเครื่อง automate DNA sequencer (Biodesign Co. Ltd., Thailand)

4. การวิเคราะห์ผล

นำลำดับเบสบริเวณ D1/D2 โดเมนของ 26S ไรโบโซมอลดีเอ็นเอที่ได้จากการวิเคราะห์หาลำดับนิวคลีโอไทด์ มาทำการเปรียบเทียบกับข้อมูลใน NCBI database โดยใช้โปรแกรม Basic Local Alignment Search Tool (http://blast.ncbi.nlm.nih.gov/Blast.cgi) (Kurtzman, 1994)

ผลการทดลอง

1. การคัดแยกยีสต์ทนร้อน

จากการคัดแยกยีสต์ทนร้อนจากตัวอย่างดิน ผลไม้ ขุยแมลง ดอกไม้ และเห็ด จากอุทยานแห่งชาติภูจองนายอยทั้งหมด 77 ตัวอย่าง ในอาหาร YM ที่มีร้อยละ 0.01 คลอแรมฟินิคอล และร้อยละ 0.2 โซเดียมโพรพิโอเนต และนำไปบ่มที่อุณหภูมิ 25 40 42 45 47 และ 50 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 48 ชั่วโมง สามารถแยกยีสต์ทนร้อนเนื่องจากสามารถเจริญเติบโตได้ที่อุณหภูมิตั้งแต่ 25 ถึง 42 องศาเซลเซียส และบางสายพันธุ์เจริญเติบโต ได้ที่อุณหภูมิ 45 องศาเซลเซียส ซึ่งเป็นช่วงอุณหภูมิที่ยีสต์ทนร้อนสามารถเจริญเติบโตได้ จำนวน 22 ไอโซเลท ดังตารางที่ 1 และภาพตัวอย่างยีสต์ที่สามารถเจริญเติบโตที่อุณหภูมิ 25 40 42 45 47 และ 50 องศาเซลเซียส แสดงดังรูปที่ 1

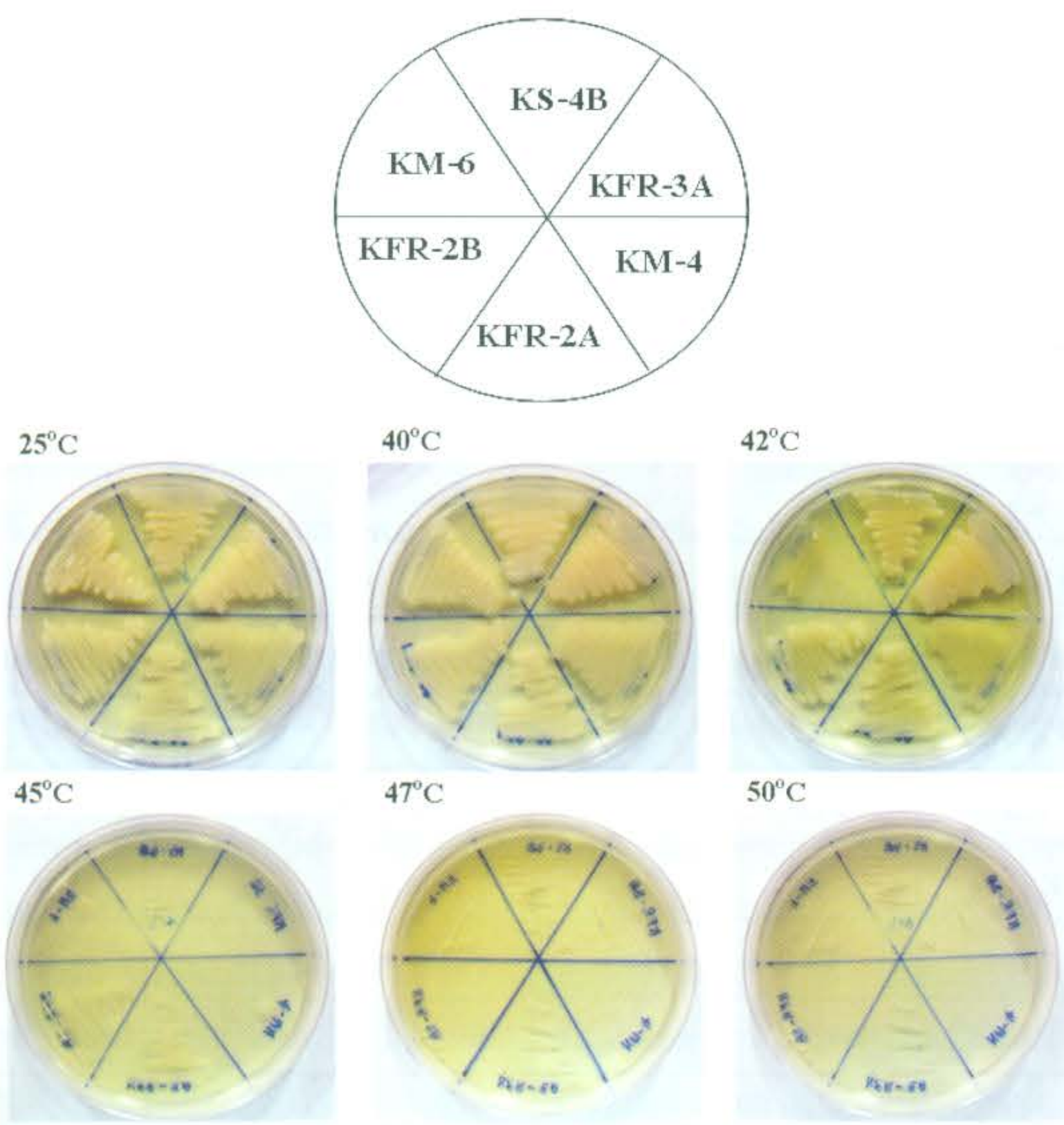
ตารางที่ 1 การเจริญเติบโตของยีสต์ที่คัดแยกได้ที่อุณหภูมิต่างๆ

ลำดับที่	รหัสเชื้อ	อุณหภูมิสำหรับการบ่มเชื้อ (องศาเซลเซียส)					
		25	40	42	45	47	50
1	KM-1B	+++	+++	+++	+	-	-
2	KS-2	+++	+++	+++	+	-	-
3	KM-5	+++	+++	+	-	-	-
4	KS-6	+++	+++	+++	+	-	-
5	KM-3	+++	+++	+++	+	-	-
6	KS-1	+++	+++	+++	+	-	-
7	KB-3	+++	+++	+++	+	-	-
8	KS-3	+++	+++	+++	++	+	-
9	KS-4A	+++	+++	+++	+	-	-
10	KI-1	++	+++	+++	+	-	-
11	KM-2	++	+++	+++	+	-	-
12	KM-6	++	+++	++	-	-	-

ตารางที่ 1 การเจริญเติบโตของยีสต์ที่คัดแยกได้ที่อุณหภูมิต่างๆ (ต่อ)

ลำดับที่	รหัสเชื้อ	อุณหภูมิสำหรับการบ่มเชื้อ (องศาเซลเซียส)					
		25	**40**	**42**	**45**	**47**	**50**
13	KM-12	++	+++	+++	+	-	-
14	KFR-2B	+++	+++	+++	+	-	-
15	KFR-2A	+++	+++	+++	++	+	-
16	KI-3	+++	+++	+++	+	-	-
17	KF-10-1	++	+++	+++	-	-	-
18	KS-4B	++	+++	+++	-	-	-
19	KFR-3B	++	+++	+++	+	-	-
20	KFR-3A	++	+++	+++	-	-	-
21	KFR-1	+++	+++	+++	-	-	-
22	KM-4	+++	+++	+++	-	-	-

หมายเหตุ +++ = เจริญเติบโตอย่างรวดเร็ว, ++ = เจริญเติบโตเร็ว, + = เจริญเติบโตช้า, - = ไม่เจริญเติบโต



รูปที่ 1 ตัวอย่างยีสต์ที่เจริญเติบโตที่อุณหภูมิ 25 40 42 45 47 และ 50 องศาเซลเซียส

สำหรับลักษณะทางสัณฐานวิทยา โดยการตรวจดูลักษณะโคโลนี การยกตัว ขอบโคโลนี และสีของโคโลนีของยีสต์ทนร้อน แสดงดังรูปที่ 2

KM-1B: โคโลนีกลม ยกตัวขึ้น ขอบโค้ง สีครีม

KS-6: โคโลนีกลมเล็ก ขอบโค้ง สีครีม

KB-3: โคโลนีกลม ยกตัวขึ้นนูนตรงกลาง ขอบโค้ง สีครีมอมชมพู

KS-3: โคโลนีกลม ยกตัวขึ้น ขอบโค้ง สีขาว

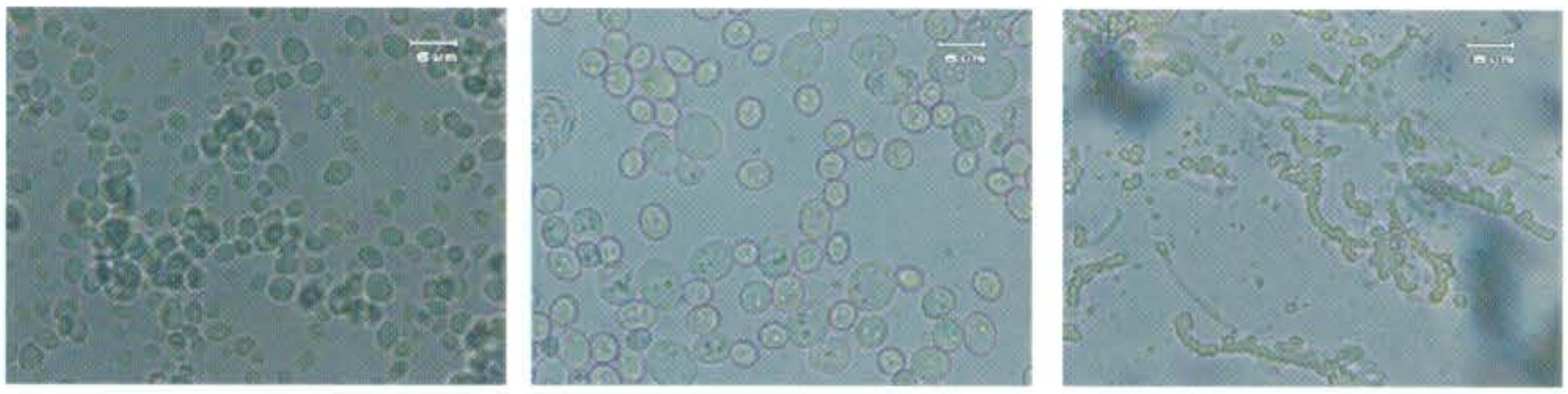
KFR-3A: โคโลนีเป็นวงรี ยกตัวขึ้น ขอบโค้ง สีครีม

KFR-1: โคโลนีมีรอยหยักไม่สม่ำเสมอ ยกตัวขึ้น ขอบหยัก สีครีม

รูปที่ 2 ตัวอย่างลักษณะทางสัณฐานวิทยาของยีสต์ทนร้อนที่คัดแยกได้

2. การจัดจำแนกสายพันธุ์ยีสต์

จากการศึกษาลักษณะของเซลล์ภายใต้กล้องจุลทรรศน์ และการเพิ่มจำนวนดีเอ็นเอโดยปฏิกิริยาลูกโซ่พอลิเมอเรส บริเวณ D1/D2 โดเมนของ 26S ไรโบโซมอลดีเอ็นเอที่มีขนาดประมาณ 500-600 นิวคลีโอไทด์ และนำลำดับนิวคลีโอไทด์ที่ได้มาเปรียบเทียบกับลำดับเบสจากบริเวณเดียวกันกับสายพันธุ์ยีสต์ใน NCBI database ด้วยโปรแกรม BLAST พบว่ายีสต์ทนร้อนที่คัดแยกได้จัดอยู่ในกลุ่ม *Candida* sp. 12 ไอโซเลท *Trichosporon* sp. 4 ไอโซเลท *Blastobotrys* sp. 3 ไอโซเลท *Torulaspora* sp. 1 ไอโซเลท *Pichia* sp. 1 ไอโซเลท และ *Kodamaea* sp. 1 ไอโซเลท แสดงดังรูปที่ 3 และ ดังตารางที่ 2



KM-1B KS-3 KS-4B

KI-1 KM-12 KFR-1

รูปที่ 3 ตัวอย่างลักษณะเซลล์ยีสต์ที่คัดแยกได้ภายใต้กล้องจุลทรรศน์

ตารางที่ 2 การจัดจำแนกสายพันธุ์ยีสต์ทนร้อน

รหัสเชื้อ	**GenBank Accession No. และ % Homology ที่ได้จากการเปรียบเทียบจากฐานข้อมูล**	**สายพันธุ์ยีสต์**
KM-1B KS-2	EU373468.1 (100)	*Candida glabrata* strain L18
KM-5	FM180533.1 (100)	*Kodamaea ohmeri* strain D03-3.4
KS-6	EU293428.1 (99.7)	*Candida tropicalis* strain XM02H
KM-3 KS-1	AB281286.1 (99.3)	*Candida tropicalis* strain N02-2.1
KB-3	AF271086.1 (99.2)	*Candida litsaeae*
KS-3	EU651852.1 (99.3)	*Candida tropicalis* strain HNA-2
KS-4A	EU545756.1 (99.5)	*Candida glabrata* strain QD3.1
KI-1 KM-2 KM-6 KM-12	FJ416596.1 (100)	*Trichosporon mycotoxinivorans* strain R-4272
KFR-2B	AF313362.1 (99.8)	*Candida nivariensis* strain UWOPS 98-110.4
KFR-2A	AF313362.1 (99.0)	*Candida cf. glabrata* UWO(PS)98-110.4

ตารางที่ 2 การจัดจำแนกสายพันธุ์ยีสต์ทนร้อน (ต่อ)

รหัสเชื้อ	GenBank Accession No. และ % Homology ที่ได้จากการเปรียบเทียบจากฐานข้อมูล	สายพันธุ์ยีสต์
KI-3	AB499988.1 (99.5)	*Torulaspora globosa*
KF-10-1 KS-4B KFR-3B	DQ442696.1 (99.5)	*Blastobotrys mokoenaii*
KFR-3A	AY894827.1 (99.7)	*Candida parapsilosis* strain EXOC16
KFR-1	HQ149323.1 (99.6)	*Pichia kudriavzevii* strain 01w29
KM-4	AB437389.1 (99.0)	*Candida rugosa*

สรุปผลการทดลองและวิจารณ์ผลการทดลอง

จากการนำตัวอย่างดิน ผลไม้ ขุยจากแมลง ดอกไม้ และเห็ด จากอุทยานแห่งชาติภูจองนายอย ทั้งหมด 77 ตัวอย่าง มาทำการคัดแยกยีสต์ทนร้อน โดยการนำไปที่อุณหภูมิ 25 40 42 45 47 และ 50 องศาเซลเซียส ซึ่งเป็นช่วงอุณหภูมิที่ยีสต์ทนร้อนสามารถเจริญเติบโตได้ สามารถแยกยีสต์ทนร้อนได้ 22 ไอโซเลท และเมื่อนำมาศึกษาลักษณะทางสัณฐานวิทยาและจัดจำแนกชนิดของยีสต์ทนร้อนโดยการวิเคราะห์หาลำดับนิวคลีโอไทด์บริเวณ D1/D2 โดเมนของ 26S ไรโบโซมอลดีเอ็นเอ ซึ่งเป็นบริเวณที่มีวิวัฒนาการเร็วและมีความแตกต่างมากในลำดับเบสของ 26S ไรโบโซมอลดีเอ็นเอ โดยความแตกต่างบริเวณนี้พอเพียงที่จะแบ่งแยกสปีชีส์ของยีสต์ได้ และให้ความถูกต้องและรวดเร็วกว่าวิธีทางชีวเคมี พบว่ายีสต์ทนร้อนที่คัดแยกได้จัดอยู่ในกลุ่ม *Candida* sp. ร้อยละ 55 (12 ไอโซเลท) *Trichosporon* sp. ร้อยละ 18 (4 ไอโซเลท) *Blastobotrys* sp. ร้อยละ 14 (3 ไอโซเลท) *Torulaspora* sp. ร้อยละ 4 (1 ไอโซเลท) *Pichia* sp. ร้อยละ 4 (1 ไอโซเลท) และ *Kodamaea* sp. ร้อยละ 4 (1 ไอโซเลท) เมื่อเปรียบเทียบกับรายงานการศึกษาการคัดแยกยีสต์จากแหล่งธรรมชาติที่ผ่านมา ได้แก่ การคัดแยกและจัดจำแนกยีสต์ทนร้อนจากใบกล้วย โดย Koedrith et al. (2008) พบยีสต์จำนวน 5 กลุ่ม คือ *Candida* sp., *Kluyveromyces* sp., *Debaryomyces* sp., *Yarrowia* sp. และ *Saccharomyces* sp. และจากการศึกษาความหลากหลายของยีสต์ในเขตรักษาพันธุ์สัตว์ป่าห้วยขาแข้ง โดยศึกษาตัวอย่างใบ ดอก และผลพืชจากป่าเต็งรัง ป่าเบญจพรรณ และป่าดิบแล้ง โดยสาวิตรี ลิ่มทอง และคณะ (2541) พบยีสต์กระจายอยู่ในสกุล *Candida*, *Debaryomyces*, *Pichia*, *Saccharomyce*, *Torulaspora* และ *Williopsis* จะเห็นได้ว่าพืชอาศัย และสภาวะแวดล้อมมีผลต่อแหล่งที่อยู่อาศัยของยีสต์แต่ละชนิด ทั้งนี้เนื่องจากยีสต์และราจัดว่ามีความสำคัญในการเปลี่ยนแปลงสารอินทรีย์ และเมื่อสารอินทรีย์ของแหล่งธรรมชาติเหล่านั้นเปลี่ยนแปลงไป ทำให้จำนวนหรือชนิดของประชากรของจุลินทรีย์รวมทั้งยีสต์และราเปลี่ยนแปลงไปด้วย ผลที่ตามมาคือจุลินทรีย์รวมทั้งยีสต์หลายสปีชีส์หายไป เนื่องจากไม่สามารถปรับตัวให้เข้ากับสิ่งแวดล้อมที่เปลี่ยนแปลงไปได้ ทั้งนี้ชุมชีพของยีสต์ในแหล่งที่อยู่ต่างๆ จะถูกกำหนดโดยองค์ประกอบของธาตุอาหารที่มีอยู่ในแหล่งที่อยู่อาศัยนั้นๆ เช่น ยีสต์สายพันธุ์ *Pichia anomala* ใช้ทั้งไนไตรตและไนไตรต์เป็นแหล่ง

ไนโตรเจนสำหรับการเจริญ ในขณะที่ *Hansenula polymorpha* ไวต่อการเป็นพิษของไนไตรต์ที่พีเอช (pH) 4.5 ซึ่งเป็นพีเอชที่เหมาะสมสำหรับการเจริญของยีสต์ทั่วไป ยีสต์ชนิดนี้จึงใช้เฉพาะไนเตรตเป็นแหล่งไนโตรเจน ส่วน *Debaryomyces hansenii* ไม่สามารถรีดิวซ์ไนเตรตเป็นไนไตรต์แต่สามารถเจริญได้ดีเมื่อมีไนไตรต์เป็นแหล่งไนโตรเจน (สาวิตรี ลิ่มทอง, 2549) จากปัจจัยดังกล่าวการศึกษาความหลากหลายของยีสต์ทนร้อนที่พบในป่าเบญจพรรณบริเวณอุทยานแห่งชาติภูจองนายอย นับว่าเป็นประโยชน์อย่างยิ่งเนื่องจากทำให้ทราบชนิดของยีสต์ทนร้อนในแหล่งธรรมชาตินี้ ซึ่งข้อมูลที่ได้จะเป็นการแสดงทรัพยากรของประเทศและสภาพภูมิอากาศในบริเวณนี้ รวมทั้งยังมีประโยชน์ในแง่ของการอนุรักษ์สายพันธุ์ยีสต์ที่มีอยู่จำนวนน้อย เพื่อเป็นการรักษาฐานทรัพยากรและความสมดุลของระบบนิเวศน์ อีกทั้งยังมีโอกาสที่จะค้นพบยีสต์ที่สามารถนำไปใช้ในการผลิตผลิตภัณฑ์ที่มีคุณค่าทางเศรษฐกิจอันจะเกิดประโยชน์ต่อประเทศในอนาคต และนำไปสู่การพัฒนาองค์ความรู้ด้านความหลากหลายทางชีวภาพ การใช้ประโยชน์จากความหลากหลายทางชีวภาพอย่างยั่งยืน และยังเป็นการสร้างความมั่นคงของฐานทรัพยากรและสิ่งแวดล้อมอีกทางหนึ่งด้วย

กิตติกรรมประกาศ

ขอขอบคุณ คุณอารียา เฝ้าทรัพย์ สำหรับความช่วยเหลือในการเก็บตัวอย่างจากแหล่งต่างๆ การเตรียมสารเคมี และการช่วยเหลือในการทำการทดลองบางส่วน และขอขอบคุณเจ้าหน้าที่ห้องปฏิบัติการ ภาควิชาวิทยาศาสตร์ชีวภาพ คณะวิทยาศาสตร์ มหาวิทยาลัยอุบลราชธานี ในการให้ความสะดวกระหว่างการทำงานวิจัย

เอกสารอ้างอิง

สาวิตรี ลิ่มทอง มณี ตันติรุ่งกิจ และ พูนพิไล สุวรรณฤทธิ์. 2541. การศึกษาความหลากหลายของยีสต์ในเขตรักษาพันธุ์สัตว์ป่าห้วยขาแข้ง สำนักพิมพ์มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์ สถาบันวิจัยและพัฒนาแห่งมหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์ กรุงเทพมหานคร

สาวิตรี ลิ่มทอง. 2549. ยีสต์: ความหลากหลายและเทคโนโลยีชีวภาพ พิมพ์ครั้งที่ 1 สำนักพิมพ์มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์ มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์ กรุงเทพมหานคร

Banat, I. M. and Marchant, R. (1995). Characterization and potential industrial applications of five novel, thermotolerant, fermentative, yeast strains. World J Microbiol Biotechnol. 11: 304-306.

Banat, I. M., Nigam, P., Singh, D., Marchant, R. and McHale, A. (1998). Ethanol production at elevated temperatures and alcohol concentrations: a review. Part I - yeast in general. World J Microbiol Biotechnol. 14: 809-821.

Chanchaichaovivat, A., Ruenwongsa, P., and Panijpan, B. (2007). Screening and identification of yeast strains from fruits and vegetables: Potential for biological control of post harvest chili anthracnose (*Colletotrichum capsici*). Biol Control. 42(3): 326-335.

Daniel, H. M. and Meyer, W. (2003). Evaluation of ribosomal RNA and actin gene sequences for the identification of ascomycetous yeasts. Int J Food Microbiol. 86: 61- 78.

Fell, J. W., Scorzetti, G., Tallman, A. S., Pinel, N. and Yarrow, D. (2002). Recognition of the basidiomycetous yeast *Sporobolomyces reberrimus* sp. nov. as a distinct species

based on molecular and morphological analysis. FEMS Yeast Research. 1: 265-270.

Haki, G. D. and Rakshit, S. K. (2003). Developments in industrially important thermostable enzymes: a review. Bioresour Technol. 89: 17-34.

Koedrith, P., Dubois, E., Scherens, B., Jacobs, E., Boonchird, C. and Messenguy, F. (2008). Identification and characterization of a thermotolerant yeast strain isolated from banana leaves. Science Asia 34: 147-52.

Kurtzman, C. P. (1994). Molecular taxonomy of the yeasts. Yeast (Chichester, England) 10(13): 1727-40.

Kurtzman, P. C. and Robnett, J. C. (1998). Identification and phylogeny of ascomycetous yeasts from analysis of nuclear large subunit (26S) ribosomal DNA partial sequences. Antonie van Leeuwenhoek 73: 331-371.

Lasa, I. and Berenguer, J. (1993). Thermophilic enzymes and their biotechnological potential. Microbiologia 9: 77-89.

Lopandic, K., Zelger, S. and Banszky, L. K. (2006). Identification of yeasts associated with milk products using traditional and molecular techniques. Food Microbiol. 23(4): 341-350.

Maheshwari, R., Bharadwaj, G. and Bhat, M. K. (2000). Thermophilic fungi: their physiology and enzymes. Micro Mol Bio Review. 64(3): 461-488.

Nolan, A. M., Barron, N., Brady, D., McAree, T., Smith, D., McHale, L. and McHale, A. P. (1994). Ethanol production at 45°C by an alginate-immobilized strain of *Kluyveromyces marxianus* following growth on glucose-containing media. Biotechnol Lett. 16: 849-852.

❑❑❑❑❑

ว.วิทย. มข. 39(2) 252-262 (2554) KKU Sci. J.39(2) 252-262 (2011)

KKU SCIENCE JOURNAL

ผลของยาปฏิชีวนะต่อการเปลี่ยนแปลงของแบคทีเรียทางทะเลและการเคลื่อนที่ของสเปิร์มในน้ำเชื้อปลากะพงขาว (*Lates calcarifer*) ที่เก็บรักษาแบบแช่เย็น

Effect of Antibiotic on the Change of Marine Bacteria and Motility of Spermatozoa in Asian Seabass (*Lates calcarifer*) Semen Preserved under Chilled Storage

สุบัณฑิต นิ่มรัตน์[1*], *กนิษฐา ตั้งชั้ว*[2], *ไตรมาศ บุญไทย*[3] และ *วีรพงศ์ วุฒิพันธุ์ชัย*[4]

บทคัดย่อ

ในการศึกษาครั้งนี้เป็นการศึกษาถึงผลการเติมยาปฏิชีวนะ Penicillin-Streptomycin ที่ความเข้มข้นร้อยละ 0.1, 1.0 และ 2.0 ต่ออัตราการเคลื่อนที่ของสเปิร์มในน้ำเชื้อปลากะพงขาว (*Lates calcarifer*) รวมถึงปริมาณและชนิดของแบคทีเรียทางทะเลที่ปนเปื้อนในน้ำเชื้อปลากะพงขาวที่เก็บรักษาแบบแช่เย็น ณ อุณหภูมิ 4±2 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 9 วัน จากการศึกษาพบว่า ชุดการทดลองที่เติมยาปฏิชีวนะ Penicillin-Streptomycin ที่ความเข้มข้นร้อยละ 0.1 เป็นชุดการทดลองที่เหมาะสมที่สุดในการเก็บรักษาน้ำเชื้อปลากะพงขาวแบบแช่เย็น เนื่องจากมีอัตราการเคลื่อนที่ของสเปิร์มเท่ากับชุดควบคุม (15.00±10.00%) โดยชุดการทดลองที่เติมยาปฏิชีวนะ Penicillin-Streptomycin ความเข้มข้นร้อยละ 1.0 และ 2.0 ทำให้อัตราการเคลื่อนที่ของสเปิร์มเท่ากับ 0.00±0.00 % ทั้งนี้ชุดการทดลองที่เติมยาปฏิชีวนะ Penicillin-Streptomycin ความเข้มข้นร้อยละ 0.1 ยังสามารถควบคุมปริมาณแบคทีเรียทางทะเลให้ลดลงเหลือ $1.00\pm0.63\times10^2$ CFU/ml ซึ่งมีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p<0.05$) กับชุดควบคุม ($2.00\pm1.00\times10^2$ CFU/ml) และสามารถกำจัด *Escherichia adecarboxylata, Bacillus firmus, Bacillus licheniformis, Bacillus polymyxa, Staphylococcus aureus* และ *Micrococcus varians* ได้รวดเร็วกว่าชุดควบคุม

[1] ภาควิชาจุลชีววิทยา และโครงการวิทยาศาสตร์สิ่งแวดล้อม คณะวิทยาศาสตร์ มหาวิทยาลัยบูรพา จ.ชลบุรี 20131
[2] ภาควิชาจุลชีววิทยา คณะวิทยาศาสตร์ มหาวิทยาลัยบูรพา จ.ชลบุรี 20131
[3] โครงการวิทยาศาสตร์สิ่งแวดล้อม คณะวิทยาศาสตร์ มหาวิทยาลัยบูรพา จ.ชลบุรี 20131
[4] ภาควิชาวาริชศาสตร์ คณะวิทยาศาสตร์ มหาวิทยาลัยบูรพา จ.ชลบุรี 20131
* Corresponding Author, E-mail: subunti@buu.ac.th

Abstract

The effect of applied Penicillin-Streptomycin (0.1, 1.0 and 2.0%) on Asian seabass (*Lates calcarifer*) spermatozoa motility rate, number and composition of contaminated marine bacteria in Asian seabass (*Lates calcarifer*) semen under chilled storage at 4±2 °C for 9 days of the experiment were studied. Results demonstrated that treatment with the addition of 0.1% penicillin-streptomycin represented the most appropriate technique for chilled storage of Asian seabass semen due to the capability of retaining the highest spermatozoa of Asian seabass with the similar performance to the control (15.00±10.00%). The treatment with 1.0 % and 2.0% Penicillin- Streptomycin demonstrated 0.00±0.00% of spermatozoa motility. The treatment with 0.1 % antibiotics also lowered the marine bacterial populations into $1.00\pm0.63\times10^2$ CFU/ml with significant difference ($p<0.05$), compared to that of the control ($2.00\pm1.00\times10^2$ CFU/ml). Additionally, this technique was able to remove *Escherichia adecarboxylata*, *Bacillus firmus*, *Bacillus licheniformis*, *Bacillus polymyxa*, *Staphylococcus aureus* and *Micrococcus varians* faster than the control.

คำสำคัญ : การแช่เย็น ปลากะพงขาว น้ำเชื้อ ยาปฏิชีวนะ เพนนิซิลลิน สเตรปโตมัยซิน

Keywords : Chilled storage, Asian seabass, Semen, Antibiotic, Penicillin, Streptomycin

บทนำ

ปลากะพงขาวเป็นสัตว์น้ำกร่อยที่สำคัญชนิดหนึ่งที่นิยมบริโภคกันอย่างแพร่หลาย เป็นที่ต้องการของตลาดทั้งในและต่างประเทศ (บุญรัตน์ ประทุมชาติ, 2545) การศึกษาการเก็บรักษาน้ำเชื้อสัตว์น้ำโดยการเก็บแบบแช่เย็นที่อุณหภูมิต่ำในประเทศไทยยังมีน้อยมากและไม่ได้รับการศึกษาอย่างแพร่หลายเท่าที่ควร เนื่องจากในระหว่างการผสมเทียมนั้นผู้เพาะเลี้ยงสัตว์น้ำนิยมที่จะใช้น้ำเชื้อสดมาผสมกับไข่ เพราะเชื่อว่าคุณภาพน้ำเชื้อขณะรีดหรือรวบรวมออกมาใหม่ๆ จะดีกว่าเก็บเอาไว้ระยะหนึ่ง อย่างไรก็ตามในบางครั้งในช่วงปลายฤดูผสมพันธุ์วางไข่ พ่อพันธุ์จะมีปริมาณน้ำเชื้อลดลง ซึ่งสามารถกระตุ้นได้โดยการฉีดฮอร์โมนให้ปลาสร้างน้ำเชื้อ แต่กลับพบว่าแม่พันธุ์มีไข่แก่น้อยมากทำให้การเพาะพันธุ์ปลาไม่ประสบความสำเร็จเท่าที่ควร ทำให้เกิดความยุ่งยากในการจัดการในระหว่างการผสมเทียมในโรงฟักเป็นอย่างมาก (Vuthiphandchai and Zohar, 1999) และการเก็บรักษาน้ำเชื้อในช่วงสั้นเป็นการเก็บรักษาน้ำเชื้อไว้ในตู้เย็นหรือถังน้ำแข็งที่มีอุณหภูมิ 0-4 องศาเซลเซียส โดยการเก็บรักษาน้ำเชื้อในช่วงสั้นสามารถช่วยการผสมเทียมได้ง่ายขึ้น (อุทัย ณ นคร, 2538) อย่างไรก็ตามปัญหาหนึ่งที่อาจเกิดในระหว่างการเก็บน้ำเชื้อแบบแช่เย็น คือ การเจริญของแบคทีเรียที่อาจปนเปื้อนมาในระหว่างขั้นตอนการรวบรวมน้ำเชื้อและปนเปื้อนมาจากผิวลำตัวของสัตว์น้ำ ทำให้การพัฒนาเทคโนโลยีการเก็บรักษาน้ำเชื้อแบบแช่เย็นจึงต้องควบคุมไม่ให้แบคทีเรียเจริญในระหว่างการเก็บรักษาน้ำเชื้อแบบแช่เย็น ซึ่งแบคทีเรียเจริญได้ดีในสภาวะที่มีเลือดหรือสารอาหารอุดมสมบูรณ์ โดยเฉพาะของเหลวที่หล่อเลี้ยงสเปิร์มซึ่งมีธาตุอาหารหลายชนิดที่เอื้อต่อการเจริญของแบคทีเรียจึงต้องศึกษาการควบคุมการเจริญของแบคทีเรียขณะแช่เย็นน้ำเชื้อด้วยการใช้ยาปฏิชีวนะควบคู่กับการแช่เย็น (สุบัณฑิต นิ่มรัตน์ และวีรพงศ์ วุฒิพันธุ์ชัย, 2551)

วิธีดำเนินงาน

1. การเตรียมตัวอย่างน้ำเชื้อ (ดัดแปลงมาจาก Vuthiphandchai et al., 2009a)

คัดเลือกปลากะพงขาวเพศผู้ที่สมบูรณ์เพศ จำนวน 10 ตัว โดยรวบรวมจากฟาร์มเอกชน มาพักเป็นเวลา 1 วัน ณ โรงเพาะเลี้ยงภาควิชาวาริชศาสตร์ มหาวิทยาลัยบูรพา ฉีดฮอร์โมนกระตุ้นการพัฒนาของสเปิร์มในถุงอัณฑะ โดยใช้ฮอร์โมน Luteinzing Hormone Releasing Hormone analogue (LHRHa) อัตรา 20 ไมโครกรัมต่อกิโลกรัมร่วมกับ Domperidone อัตรา 5 มิลลิกรัมต่อกิโลกรัม เพื่อกระตุ้นให้ปลาผลิตน้ำเชื้อ หลังจากฉีดฮอร์โมนประมาณ 10-12 ชั่วโมง ทำความสะอาดบริเวณลำตัวด้วยแอลกอฮอล์ร้อยละ 70 จากนั้นผ่าท้องเพื่อเอาถุงน้ำเชื้อออกมา รีดน้ำเชื้อด้วยผ้าขาวบาง จากนั้นนำน้ำเชื้อจากปลาที่รีดได้ จำนวน 3 ตัวมารวมกัน แล้วนำน้ำเชื้อใส่จานเพาะเชื้อที่ปราศจากเชื้อวางบนน้ำแข็ง นำน้ำเชื้อสดที่ได้ไปเตรียมตัวอย่างน้ำเชื้อแช่เย็น

2. การเตรียมตัวอย่างน้ำเชื้อเพื่อนำมาแช่เย็น (ดัดแปลงมาจาก Nimrat et al., 2006)

เตรียมสารละลาย Ringer's solution (NaCl 7.5 กรัม KCl 0.2 กรัม $CaCl_2.2H_2O$ 0.2 กรัม Glucose 5 กรัม $NaHCO_3$ 0.2 กรัม น้ำกลั่น 1 ลิตร pH 7.9) ที่มีส่วนผสมของยาปฏิชีวนะ Penicillin-Streptomycin ความเข้มข้นสุดท้ายเท่ากับร้อยละ 0.125 1.25 และ 2.50 ตามลำดับ นำสารละลายที่ได้ปริมาตร 2 มิลลิลิตร ใส่ลงใน Tissue culture flask ขนาด 25 มิลลิลิตร (THOMAS Scientific- 229320, นิวเจอร์ซี, สหรัฐอเมริกา) จากนั้นเติมน้ำเชื้อสดปริมาตร 0.5 มิลลิลิตร ผสมให้เข้ากัน ซึ่งจะได้ความเข้มข้นยาปฏิชีวนะเท่ากับร้อยละ 0 0.1 1.0 และ 2.0 ตามลำดับ ทำการทดลองความเข้มข้นละ 3 ซ้ำ เก็บ Tissue culture flask ของตัวอย่างน้ำเชื้อที่ได้ในตู้เย็นอุณหภูมิ 0-4 องศาเซลเซียส นำน้ำเชื้อที่ได้มาศึกษาคุณภาพของน้ำเชื้อโดยดูการเคลื่อนที่ทุก 24 ชั่วโมง และศึกษาปริมาณและชนิดของแบคทีเรียทุก 24 ชั่วโมง เป็นเวลานาน 9 วัน

3. การประเมินอัตราการเคลื่อนที่ของสเปิร์มจากตัวอย่างน้ำเชื้อปลากะพงขาว (Vuthiphandchai and Zohar, 1999)

ใช้เข็มเขี่ยที่สะอาดเขี่ยน้ำเชื้อสดแตะลงบนสไลด์ หยดน้ำทะเลเพื่อกระตุ้นให้สเปิร์มเคลื่อนที่ ปิดด้วยแผ่นกระจกปิดสไลด์ ดูการเคลื่อนที่ภายใต้กล้องจุลทรรศน์ที่กำลังขยาย 400 เท่า ภายในเวลาไม่เกิน 1 นาที

4. การศึกษาปริมาณและชนิดของแบคทีเรียทางทะเล (Marine bacteria) (Arulampalam et al., 1998)

ดำเนินการศึกษาด้วยเทคนิคปราศจากเชื้อ (Aseptic technique) โดยนำน้ำเชื้อแช่เย็นปริมาตร 0.2 มิลลิลิตร เติมลงในสารละลาย 0.85 % Normal saline ปริมาตร 1.8 มิลลิลิตร ทำการเจือจางน้ำเชื้อแบบ Ten-fold dilution นำน้ำเชื้อระดับความเจือจาง Undiluted ถึง 10^{-3} ปริมาตร 0.1 มิลลิลิตร มาเพาะลงบนอาหารเลี้ยงเชื้อ Marine Agar (MA) ด้วยวิธีสเปรดเพลท (Spread plate technique) นำไปบ่มที่อุณหภูมิ 30 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 24-48 ชั่วโมง นับจำนวนโคโลนีแบคทีเรีย (CFU/mL) จัดจำแนกชนิดของแบคทีเรียตามคุณสมบัติทางสัณฐานวิทยาการติดสีแกรมและคุณสมบัติทางชีวเคมี โดยจำแนกแบคทีเรียกลุ่ม Pseudomonaceae ตามวิธีการของ Winn et al. (2006) จำแนกแบคทีเรียกลุ่ม Bacillaceae และ Micrococcaceae ตามวิธีการของ Sneath et al. (1986) จำแนกแบคทีเรียกลุ่ม Enterobacteriaceae ตามวิธีการของ Krieg and Holt (1984) และจำแนกแบคทีเรียกลุ่ม Vibrionaceae ตามวิธีการของ Holt et al. (1994)

5. การวิเคราะห์ทางสถิติ

นำข้อมูลแสดงเป็นค่าเฉลี่ย±ค่าเบี่ยงเบนมาตรฐาน และนำข้อมูลมาวิเคราะห์ความแปรปรวนด้วยวิธี ANOVA และเปรียบเทียบเชิงซ้อนด้วย Duncan's Multiple Range Test (DMRT) ที่ระดับนัยสำคัญ 0.05 โดยใช้โปรแกรม SPSS for Window Version 16.0

ผลการวิเคราะห์

1. การประเมินอัตราการเคลื่อนที่ของสเปิร์มจากตัวอย่างน้ำเชื้อปลากะพงขาว

จากการประเมินอัตราการเคลื่อนที่ของสเปิร์มจากตัวอย่างน้ำเชื้อปลากะพงขาวที่เจือจางด้วยสารละลาย Ringer's solution ในชุดควบคุม (ไม่เติมยาปฏิชีวนะ) และชุดการทดลองที่เติมยาปฏิชีวนะ Penicillin-Streptomycin ที่ความเข้มข้นร้อยละ 0.1 1.0 และ 2.0 ที่เก็บรักษาแบบแช่เย็นที่อุณหภูมิ 4±2 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 9 วัน แล้วนำน้ำเชื้อในแต่ละชุดการทดลองมาตรวจประเมินการเคลื่อนที่ด้วยกล้องจุลทรรศน์ที่กำลังขยาย 400 เท่า ผลการทดลองพบว่าเมื่อแช่เย็นน้ำเชื้อยาวนานขึ้นอัตราการเคลื่อนที่ของสเปิร์มมีแนวโน้มลดลง โดยในวันที่ 9 ของการทดลองน้ำเชื้อในชุดควบคุมและชุดการทดลองที่เติมยาปฏิชีวนะ Penicillin-Streptomycin ร้อยละ 0.1 มีอัตราการเคลื่อนที่ของสเปิร์มลดลงเหลือ 15.00±10.00% ในขณะที่ชุดการทดลองที่เติมยาปฏิชีวนะ Penicillin-Streptomycin ร้อยละ 1.0 และ 2.0 มีอัตราการเคลื่อนที่ของสเปิร์มลดลงเหลือ 0±0.00% ซึ่งมีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p < 0.05$) กับสองชุดการทดลองที่กล่าวมาข้างต้น ดังแสดงในตารางที่ 1

ตารางที่ 1 ผลของยาปฏิชีวนะ Penicillin-Streptomycin (PS) ต่ออัตราการเคลื่อนที่ (ค่าเฉลี่ย±ค่าเบี่ยงเบนมาตรฐาน) ของสเปิร์มปลากะพงขาวที่เก็บรักษาแบบแช่เย็น

ระยะเวลา (วัน)	การเคลื่อนที่ของสเปิร์มน้ำเชื้อปลากะพงขาว (%)			
	ชุดควบคุม	PS 0.1%	PS 1.0%	PS 2.0%
0	$100.00 \pm 0.00^{a,1}$	$100.00 \pm 0.00^{a,1}$	$100.00 \pm 0.00^{a,1}$	$100.00 \pm 0.00^{a,1}$
1	$100.00 \pm 0.00^{a,1}$	$100.00 \pm 0.00^{a,1}$	$100.00 \pm 0.00^{a,1}$	$93.33 \pm 10.33^{a,12}$
2	$90.00 \pm 11.00^{a,1}$	$93.33 \pm 10.33^{a,1}$	$90.00 \pm 11.00^{a,2}$	$83.33 \pm 8.17^{a,2}$
3	$73.33 \pm 10.33^{a,2}$	$70.00 \pm 11.00^{a,2}$	$66.77 \pm 10.33^{a,3}$	$46.67 \pm 10.33^{b,3}$
4	$66.67 \pm 10.33^{a,2}$	$66.67 \pm 10.30^{a,2}$	$60.00 \pm 0.00^{a,3}$	$43.33 \pm 8.16^{b,3}$
5	$53.33 \pm 10.33^{a,3}$	$53.33 \pm 10.30^{a,3}$	$45.00 \pm 10.00^{a,4}$	$26.67 \pm 10.33^{b,4}$
6	$40.00 \pm 0.00^{a,4}$	$43.33 \pm 8.16^{a,34}$	$26.67 \pm 10.33^{b,5}$	$23.33 \pm 8.16^{b,4}$
7	$30.00 \pm 11.00^{ab,4}$	$33.33 \pm 10.30^{a,4}$	$20.00 \pm 0.00^{bc,5}$	$15.00 \pm 10.00^{c,5}$
9	$15.00 \pm 10.00^{a,5}$	$15.00 \pm 10.00^{a,5}$	$0.00 \pm 0.00^{b,6}$	$0.00 \pm 0.00^{b,5}$

หมายเหตุ : ตัวอักษรภาษาอังกฤษที่ต่างกันในแนวนอนแสดงความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p < 0.05$)
ตัวเลขที่ต่างกันในแนวตั้งแสดงความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p < 0.05$)

2. ปริมาณแบคทีเรียทางทะเลที่พบในน้ำเชื้อปลากะพงขาว

จากการศึกษาปริมาณแบคทีเรียทางทะเลที่เจริญบนอาหารเลี้ยงเชื้อ MA จากน้ำเชื้อปลากะพงขาวที่เจือจางด้วยสารละลาย Ringer's solution ในชุดควบคุม (ไม่เติมยาปฏิชีวนะ) และชุดการทดลองที่เติมยาปฏิชีวนะ Penicillin-Streptomycin ที่ความเข้มข้นร้อยละ 0.1 1.0 และ 2.0 และแช่เย็นที่อุณหภูมิ 4±2 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 9 วัน ผลการทดลองพบว่าแช่เย็นน้ำเชื้อปลากะพงขาวเป็นระยะเวลา 9 วัน ปริมาณแบคทีเรียทางทะเลมีแนวโน้มลดลงในทุกชุดการทดลอง โดยชุดควบคุมมีปริมาณลดลงเหลือ $2.00 \pm 1.00 \times 10^2$ CFU/ml ซึ่งแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p < 0.05$) กับชุดการทดลองที่เติมยาปฏิชีวนะ

Penicillin-Streptomycin ที่ความเข้มข้นร้อยละ 0.1 และ 1.0 ที่มีค่าเท่ากับ $1.00\pm0.63 \times 10^2$ และ $0.67\pm0.51 \times 10^2$ CFU/ml ตามลำดับ ส่วนชุดการทดลองที่เติมยาปฏิชีวนะ Penicillin-Streptomycin ที่ความเข้มข้นร้อยละ 2.0 พบว่าไม่พบการปนเปื้อนของแบคทีเรียกลุ่มนี้ตั้งแต่วันที่ 5 ของการทดลอง ดังแสดงในตารางที่ 2

ตารางที่ 2 ผลของยาปฏิชีวนะ Penicillin-Streptomycin ต่อปริมาณแบคทีเรียทางทะเลจากน้ำเชื้อปลากะพงขาวที่เก็บรักษาแบบแช่เย็น

ระยะเวลา (วัน)	ปริมาณแบคทีเรียทางทะเล ($\times 10^2$ CFU/ml)			
	ชุดควบคุม	PS 0.1%	PS 1.0%	PS 2.0%
0	$11.00 \pm 5.54^{a,1}$	$5.33 \pm 2.73^{b,1}$	$1.33 \pm 0.81^{b,12}$	$1.33 \pm 1.03^{b,12}$
1	$10.00 \pm 4.50^{a,1}$	$5.17 \pm 2.13^{b,1}$	$1.17 \pm 1.00^{c,12}$	$1.17 \pm 1.00^{c,12}$
2	$12.00 \pm 1.41^{a,1}$	$1.67 \pm 1.51^{b,2}$	$2.00 \pm 1.26^{b,1}$	$1.67 \pm 2.73^{b,12}$
3	$2.50 \pm 1.51^{a,2}$	$2.17 \pm 1.17^{a,2}$	$1.00 \pm 1.00^{a,12}$	$2.00 \pm 1.26^{a,1}$
4	$2.00 \pm 1.09^{a,2}$	$1.50 \pm 1.40^{ab,2}$	$0.50 \pm 0.54^{b,2}$	$0.33 \pm 0.51^{b,23}$
5	$1.17 \pm 1.50^{ab,2}$	$1.83 \pm 1.00^{a,2}$	$0.50 \pm 0.54^{b,2}$	$0.00 \pm 0.00^{b,3}$
6	$1.50 \pm 0.54^{a,2}$	$1.50 \pm 1.51^{a,2}$	$0.67 \pm 0.81^{ab,2}$	$0.00 \pm 0.00^{b,3}$
7	$2.33 \pm 2.90^{a,2}$	$1.33 \pm 0.81^{ab,2}$	$0.83 \pm 0.75^{ab,2}$	$0.00 \pm 0.00^{b,3}$
9	$2.00 \pm 1.00^{a,2}$	$1.00 \pm 0.63^{b,2}$	$0.67 \pm 0.51^{bc,2}$	$0.00 \pm 0.00^{c,3}$

หมายเหตุ: ตัวอักษรภาษาอังกฤษที่ต่างกันในแนวนอนแสดงความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p < 0.05$)

ตัวเลขที่ต่างกันในแนวตั้งแสดงความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p < 0.05$)

3. ชนิดของแบคทีเรียทางทะเลที่พบในน้ำเชื้อปลากะพงขาว

จากการศึกษาชนิดแบคทีเรียทางทะเลที่แยกได้จากน้ำเชื้อปลากะพงขาวที่เจือจางด้วยสารละลาย Ringer's solution พบว่าแบคทีเรียที่พบในชุดควบคุมได้แก่ *Bordetella trematum, Escherichia adecarboxylata, Proteus vulgaris, Bacillus mycoides, Bacillus firmus, Bacillus polymyxa, Bacillus cereus, Bacillus coagulans, Bacillus pumilus, Bacillus licheniformis, Bacillus subtilis, Bacillus circulans, Staphylococcus aureus* และ *Micrococcus varians* ในชุดการทดลองที่เติมยาปฏิชีวนะ Penicillin-Streptomycin ที่ความเข้มข้นสูงขึ้นนั้นสามารถยับยั้งแบคทีเรียที่ปนเปื้อนในน้ำเชื้อปลากะพงขาวได้ดียิ่งขึ้น อีกทั้งยังพบว่า *Proteus vulgaris, Bacillus mycoides, Bacillus cereus* และ *Bacillus circulans* เป็นแบคทีเรียที่ทนต่อยาปฏิชีวนะ Penicillin-Streptomycin มากที่สุด ดังแสดงในตารางที่ 3

ตารางที่ 3 ชนิดของแบคทีเรียทางทะเลที่แยกได้จากน้ำเชื้อปลากะพงขาวที่เก็บรักษาแบบแช่เย็น (PS = Penicillin- Streptomycin)

ชนิดของแบคทีเรีย	ระยะเวลาที่ทำการแช่เย็นน้ำเชื้อปลากะพงขาว (วัน)																													
	0				1				2				3				4				5				6				9			
	Control	PS 0.1%	PS 1.0%	PS 2.0%	Control	PS 0.1%	PS 1.0%	PS 2.0%	Control	PS 0.1%	PS 1.0%	PS 2.0%	Control	PS 0.1%	PS 1.0%	PS 2.0%	Control	PS 0.1%	PS 1.0%	PS 2.0%	Control	PS 0.1%	PS 1.0%	PS 2.0%	Control	PS 0.1%	PS 1.0%	PS 2.0%	Control	PS 0.1%	PS 1.0%	PS 2.0%
1. *Bordetella trematum*	+	+	-	-	+	+	-	-	+	+	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
2. *Escherichia adecarboxylata*	+	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
3. *Proteus vulgaris*	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	-	+	+	+	-	+	+	+	-	+	+	+	-
4. *Bacillus mycoides*	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	-	+	+	+	-	+	+	+	-	+	+	+	-
5. *Bacillus firmus*	+	-	-	-	+	-	-	-	+	-	-	-	+	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
6. *Bacillus polymyxa*	+	+	+	-	+	+	+	-	+	+	+	-	+	+	+	-	+	+	+	-	+	+	+	-	+	-	-	-	+	-	-	-
7. *Bacillus cereus*	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	-	+	+	+	-	+	+	+	-

หมายเหตุ: + คือ พบเชื้อเจริญ; - คือ ไม่พบเชื้อเจริญ

ตารางที่ 3 ชนิดของแบคทีเรียทางทะเลที่แยกได้จากน้ำเชื้อปลากะพงขาวที่เก็บรักษาแบบแช่เย็น (PS = Penicillin- Streptomycin) (ต่อ)

ชนิดของแบคทีเรีย	ระยะเวลาที่ทำการแช่เย็นน้ำเชื้อปลากะพงขาว (วัน)																															
	0				1				2				3				4				5				6				9			
	Control	PS 0.1%	PS 1.0%	PS 2.0%	Control	PS 0.1%	PS 1.0%	PS 2.0%	Control	PS 0.1%	PS 1.0%	PS 2.0%	Control	PS 0.1%	PS 1.0%	PS 2.0%	Control	PS 0.1%	PS 1.0%	PS 2.0%	Control	PS 0.1%	PS 1.0%	PS 2.0%	Control	PS 0.1%	PS 1.0%	PS 2.0%	Control	PS 0.1%	PS 1.0%	PS 2.0%
8. *Bacillus pumilus*	+	+	+	-	+	+	+	-	+	+	+	-	+	+	+	-	+	+	+	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
9. *Bacillus coagulans*	+	+	-	-	+	+	-	-	+	+	-	-	+	+	-	-	+	+	-	-	+	+	-	-	+	+	-	-	+	+	-	-
10. *Bacillus licheniformis*	+	-	-	-	+	-	-	-	+	-	-	-	+	-	-	-	+	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
11. *Bacillus subtilis*	+	+	-	-	+	+	-	-	+	+	-	-	+	+	-	-	+	+	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
12. *Bacillus circulans*	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	-	+	+	+	-	+	+	+	-
13. *Staphylococcus aureus*	+	+	+	-	+	+	+	-	+	+	+	-	+	+	-	-	+	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
14. *Micrococcus varians*	+	+	-	-	+	+	-	-	+	+	-	-	+	+	-	-	+	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-

หมายเหตุ: + คือ พบเชื้อเจริญ; - คือ ไม่พบเชื้อเจริญ

บทสรุปและวิจารณ์

การเติมยาปฏิชีวนะ Penicillin-Streptomycin ความเข้มข้นร้อยละ 0.1 ไม่มีผลต่อการเคลื่อนที่ของสเปิร์มในน้ำเชื้อปลากะพงขาวที่เก็บรักษาแบบแช่เย็นที่อุณหภูมิ 4±2 องศาเซลเซียส เป็นระยะเวลา 9 วัน โดยมีค่าเท่ากับชุดควบคุม (15.00±10.00%) และไม่มีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p>0.05$) ระหว่างกัน การเติมยาปฏิชีวนะ Penicillin-Streptomycin ความเข้มข้นร้อยละ 0.1 มีประสิทธิภาพในการยับยั้งการเจริญของแบคทีเรียทางทะเลที่พบในน้ำเชื้อปลากะพงขาวได้บางส่วน โดยในวันสุดท้ายของการทดลอง (วันที่ 9) ปริมาณแบคทีเรียทางทะเลมีค่าลดลงเหลือ $0.67\pm0.51 \times 10^2$ CFU/mL ซึ่งไม่มีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p>0.05$) กับชุดควบคุม นอกจากนี้ยังตรวจไม่พบ *E. adecarboxylata*, *B. firmus*, *B. licheniformis*, *B. polymyxa*, *S. aureus* และ *M. varians* ซึ่งแตกต่างกับชุดควบคุมที่จะพบแบคทีเรียชนิดนี้ตลอดระยะเวลาของการเก็บรักษาน้ำเชื้อปลากะพงขาว โดยเฉพาะอย่างยิ่ง *S. aureus* ซึ่งเป็นแบคทีเรียก่อโรคในมนุษย์ได้

จากการศึกษาในครั้งนี้พบว่าการเคลื่อนที่ของสเปิร์มปลากะพงขาวของชุดควบคุมและชุดการทดลองที่เติมยาปฏิชีวนะ Penicillin-Streptomycin ความเข้มข้นร้อยละ 0.1 ในวันแรกมีค่าเท่ากัน คือ 100.00±0.00% แต่เมื่อนำมาแช่เย็นเป็นระยะเวลานานขึ้น พบว่าการเคลื่อนที่ของสเปิร์มทั้งสองชุดการทดลองมีค่าลดลงอย่างต่อเนื่อง โดยในวันสุดท้ายของการทดลอง (วันที่ 9) มีค่าลดลงเหลือ 15.00±10.00% เท่ากัน แสดงให้เห็นว่าการเติมยาปฏิชีวนะ Penicillin-Streptomycin ความเข้มข้นร้อยละ 0.1 ไม่มีผลต่อการเคลื่อนที่ของสเปิร์มปลากะพงขาวที่เก็บรักษาแบบแช่เย็น Vuthiphandchai et al. (2009b) ได้รายงานไว้ว่าการเติมยาปฏิชีวนะ Penicillin-Streptomycin ความเข้มข้นร้อยละ 0.5 สามารถเก็บรักษาน้ำเชื้อปลาดุกอุย (*Clarias macrocephalus*) ได้นาน 10 วัน ซึ่งสูงกว่าการเคลื่อนที่ของน้ำเชื้อปลาดุกอุยในชุดควบคุมที่ไม่เติมยาปฏิชีวนะ

จากการศึกษาในครั้งนี้ยังแสดงให้เห็นว่าเมื่อเพิ่มความเข้มข้นของยาปฏิชีวนะ Penicillin-Streptomycin เท่ากับร้อยละ 1.0 และ 2.0 จะมีผลทำให้การเคลื่อนที่ของสเปิร์มในวันที่ 9 ของการทดลองลดลงเหลือ 0.00±0.00 และ 0.00±0.00% ตามลำดับ ซึ่งแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p<0.05$) กับชุดควบคุมและชุดการทดลองที่เติมยาปฏิชีวนะ Penicillin-Streptomycin ความเข้มข้นร้อยละ 0.1 ซึ่งการเคลื่อนที่ที่ลดลงของสเปิร์มปลากะพงขาวในการศึกษาครั้งนี้อาจเป็นเพราะเมื่อความเข้มข้นของยาปฏิชีวนะ Penicillin-Streptomycin สูงขึ้นจะมีความเป็นพิษต่อสเปิร์ม โดยการศึกษา Syke and Mixner (1951) ได้รายงานว่าเมื่อเพิ่มความเข้มข้นของยาปฏิชีวนะ Penicillin G และ Streptomycin ทำให้การเคลื่อนที่ของสเปิร์มวัวที่เก็บรักษาแบบแช่เย็นลดลง

จากการศึกษาปริมาณและชนิดของแบคทีเรียทางทะเลที่พบในน้ำเชื้อปลากะพงขาว พบว่าปริมาณแบคทีเรียทางทะเลในชุดควบคุมมีค่าเท่ากับ $11.00\pm5.54 \times 10^2$ CFU/ml ซึ่งปริมาณแบคทีเรียทางทะเลที่แยกได้จากน้ำและดินตะกอนในปลากะพงขาวที่เพาะเลี้ยงในประเทศมาเลเซีย มีปริมาณแบคทีเรียทางทะเลอยู่ในช่วง 8.43×10^2-1.23×10^3 CFU/mL และ 8.90×10^2-1.66×10^3 CFU/g (Arulampalam et al., 1998) นอกจากนั้น ปริมาณแบคทีเรียทางทะเลที่ปนเปื้อนในน้ำเชื้อปลากะพงขาวในการศึกษาครั้งนี้มีปริมาณน้อยกว่าปริมาณแบคทีเรียทางทะเลในการศึกษาก่อนหน้านี้ของ Colwell and Liston (1962) อาจเกิดจากสภาวะแวดล้อมที่ปลาอาศัยอยู่มีความแตกต่างกันส่งผลให้การแพร่กระจายของแบคทีเรียแตกต่างกัน

เมื่อจัดจำแนกชนิดของแบคทีเรียทางทะเลที่ปนเปื้อนในน้ำเชื้อปลากะพงขาว พบว่าแบคทีเรียทางทะเลที่พบในชุดควบคุมได้แก่ *B. trematum*, *E. adecarboxylata*, *P. vulgaris*, *B. mycoides*, *B. firmus*, *B. polymyxa*, *B. cereus*, *B. coagulans*, *B. pumilus*, *B. licheniformis*, *B. subtilis*, *B. circulans*, *S. aureus* และ *M. varians* จากการศึกษา Colwell and Liston

(1962) กล่าวว่า แบคทีเรียสกุล *Pseudomonas, Achromobacter, Flavobacterium, Micrococcus, Proteus, Sarcina, Bacillus, Corynebacterium* และ *Serratia* เป็นแบคทีเรียที่พบได้ทั่วไปในปลาทะเลและไม่ก่อโรคในสัตว์น้ำ แต่พบว่า *S. aureus* จัดเป็นแบคทีเรียก่อโรคอาหารเป็นพิษ ซึ่งเป็นผลมาจากการสร้าง Enterotoxins (Klotz et al., 2003) นอกจากนี้ *Bacillus cereus* เป็นสาเหตุทำให้เกิดโรคอาหารเป็นพิษ ซึ่งเกิดจากการสร้างสารพิษ 2 ชนิด คือ Emertic toxin และ Enterotoxins (Granum and Lund, 1997) รวมทั้ง *Bacillus mycoides, B. subtilis, B. licheniformis* และ *B. pumilus* ก่อให้เกิดโรคอาหารเป็นพิษเช่นกัน (Luna et al., 2007; Salkinoja-Salonen et al., 1999) ส่วน *Acinetobacter* เป็นแบคทีเรียที่มีความสำคัญทางการแพทย์โดยทำให้เกิดการติดเชื้อในกระแสโลหิตและมักเป็นเชื้อที่ดื้อต่อยาปฏิชีวนะหลายชนิด (Toraman et al., 2004)

จากการเปรียบเทียบปริมาณของแบคทีเรียทางทะเลที่พบในน้ำเชื้อปลากะพงขาวที่เก็บรักษาที่อุณหภูมิ 4±2 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 9 วัน พบว่าความเข้มข้นของยาปฏิชีวนะมีผลต่อประสิทธิภาพในการยับยั้งแบคทีเรียทางทะเลแตกต่างกัน โดยชุดการทดลองที่เติมยาปฏิชีวนะที่ความเข้มข้นสูงขึ้นจะมีประสิทธิภาพในการลดปริมาณแบคทีเรียกลุ่มนี้ได้ดีกว่าชุดการทดลองที่เติมยาปฏิชีวนะที่ความเข้มข้นต่ำอย่างแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p<0.05$) ถึงแม้ว่าในชุดการทดลองที่เติมยาปฏิชีวนะความเข้มข้นร้อยละ 0.1 จะสามารถลดปริมาณแบคทีเรียทางทะเลได้ไม่มากนัก แต่แบคทีเรียกลุ่มนี้มีแนวโน้มลดลงตลอดระยะเวลาการทดลอง และเมื่อพิจารณาประกอบกับอัตราการเคลื่อนที่ของน้ำเชื้อปลากะพงขาว พบว่าชุดการทดลองที่เติมยาปฏิชีวนะความเข้มข้นร้อยละ 0.1 มีประสิทธิภาพดีที่สุด เนื่องจากสามารถลดปริมาณแบคทีเรียได้และไม่มีผลต่ออัตราการเคลื่อนที่ของน้ำเชื้อปลากะพงขาว ดังนั้นการเติมยาปฏิชีวนะ Penicillin-Streptomycin ที่ความเข้มข้นร้อยละ 0.1 มีส่วนช่วยลดการเจริญของแบคทีเรียได้บางส่วน และมีความเหมาะสมในการนำมาใช้ในการเก็บรักษาน้ำเชื้อปลากะพงขาว โดยการศึกษาของ Nimrat et al. (2005) ได้ทำการเก็บรักษาถุงน้ำเชื้อกุ้งกุลาดำ (*Penaeus monodon*) แบบแช่เย็น รายงานว่าเมื่อเติมยาปฏิชีวนะ Penicillin-Streptomycin ที่ความเข้มข้นร้อยละ 0.1 สามารถยับยั้ง *Bacillus, Staphylococcus* และ *Pseudomonas aeruginosa* ได้ และสามารถเก็บรักษาถุงน้ำเชื้อกุ้งกุลาดำได้เป็นระยะเวลา 42 วัน

ชุดการทดลองที่เติมยาปฏิชีวนะ Penicillin-Streptomycin ที่ความเข้มข้นร้อยละ 2.0 สามารถลดปริมาณแบคทีเรียได้ดีที่สุดเมื่อเปรียบเทียบกับชุดการทดลองที่เติมยาปฏิชีวนะ Penicillin-Streptomycin ที่ความเข้มข้นร้อยละ 0.1 และ 1.0 แต่ความเข้มข้นดังกล่าวส่งผลต่ออัตราการเคลื่อนที่ของน้ำเชื้อปลากะพงขาว เพราะเมื่อความเข้มข้นของยาปฏิชีวนะเพิ่มขึ้นอัตราการเคลื่อนที่ของน้ำเชื้อปลากะพงขาวจะลดลงเนื่องจากความเป็นพิษของยาปฏิชีวนะ ผลการลดลงของแบคทีเรียในชุดที่เติมยาปฏิชีวนะ Penicillin-Streptomycin มีความสอดคล้องกับการทดลองของ Nimrat et al. (2005) ที่ได้เก็บรักษาถุงน้ำเชื้อกุ้งกุลาดำ (*Penaeus monodon*) แบบแช่เย็น โดยเปรียบเทียบประสิทธิภาพของยาปฏิชีวนะ Penicillin-Streptomycin ที่ความเข้มข้นร้อยละ 0.1 1.0 2.0 และ 3.0 และชุดควบคุม พบว่ายาปฏิชีวนะ Penicillin-Streptomycin ที่ความเข้มข้นสูงขึ้นสามารถลดปริมาณแบคทีเรียได้มากกว่าความเข้มข้นต่ำและดีกว่าชุดควบคุมอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p<0.05$)

นอกจากนี้ยังพบว่าการแช่เย็นสามารถกำจัดแบคทีเรียที่ปนเปื้อนในน้ำเชื้อปลากะพงขาว ได้แก่ *E. adecarboxylata, B. firmus, B. trematum, B. pumilus, B. licheniformis, B. subtilis, S. aureus* และ *M. varians* โดยรายงานการทดลองของ Gonzalez-Rodriguez et al. (2002) ทำการแช่เย็นปลาเทร้าท์สายรุ้ง (*Oncorhynchus mykiss*) ที่อุณหภูมิ 0-5 องศาเซลเซียส ยังสามารถกำจัด *S. aureus* ได้ การเก็บรักษาน้ำเชื้อ

ปลากะพงขาวแบบแช่เย็นด้วยการเติมยาปฏิชีวนะ Penicillin-Streptomycin ที่ความเข้มข้นร้อยละ 0.1 มีความเหมาะสมต่อการเก็บรักษาน้ำเชื้อปลากะพงขาว เนื่องจากอัตราการเคลื่อนที่ของน้ำเชื้อปลากะพงขาวในวันที่ 9 วันของการทดลองมีค่าเท่ากับ 15.00±10.00 % ซึ่งไม่แตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติกับชุดควบคุม ($p>0.05$) แสดงให้เห็นว่ายาปฏิชีวนะ Penicillin-Streptomycin ที่ความเข้มข้นร้อยละ 0.1 ไม่เป็นพิษต่อน้ำเชื้อปลากะพงขาว นอกจากนี้การแช่เย็นปลากะพงขาว และสามารถลดปริมาณแบคทีเรียทางทะเลได้ระยะหนึ่ง รวมทั้งยังสามารถกำจัด *S. aureus* ซึ่งเป็นแบคทีเรียก่อโรคในมนุษย์ได้

เอกสารอ้างอิง

บุญรัตน์ ประทุมชาติ. (2545). เอกสารประกอบการสอนวิชาเพาะเลี้ยงชายฝั่ง (309473). ภาควิชาวาริชศาสตร์ คณะวิทยาศาสตร์ มหาวิทยาลัยบูรพา.

สุบัณฑิต นิ่มรัตน์ และ วีรพงศ์ วุฒิพันธุ์ชัย. (2551). การเก็บรักษาถุงน้ำเชื้อกุ้งขาวและน้ำเชื้อปลาดุกอัฟริกันแบบแช่เย็น. รายงานฉบับสมบูรณ์, สาขาวิชาจุลชีววิทยาและสาขาวิชาวาริชศาสตร์, คณะวิทยาศาสตร์, มหาวิทยาลัยบูรพา.

อุทัย ณ นคร. (2538). การเพาะขยายพันธุ์ปลา (พิมพ์ครั้งที่ 4). กรุงเทพฯ: รั้วเขียว.

Arulampalam, P., Yusoff, F. M., Shariff, M., Law, A. T., and Srinivasa Rao, P. S. (1998). Water quality and bacterial populations in a tropical marine cage culture farm. Aquaculture Research. 29: 617-624.

Colwell, R.R., and Liston, J. (1962). Bacterial flora of seven species of fish collected at Rongelap and Eniwetok Atolls. Pacific Science. 16(3): 264-270.

Granum, P. E., and Lund, T. (1997). *Bacillus cereus* and its food poisoning toxins. Federation of European Microbiological Societies [FEMS] Microbiology Letters. 157: 223-228.

Holt, J. G., Krieg, N. R., Sneath, P.H.A., Staley, J. T., and Williams, S. T. (1994). Bergey's manual of determinative bacteriology, volume 2. Baltimore: Williams & Wilkins.

Klotz, M., Opper, S., Heeg, K., and Zimmermann, S. (2003). Detection of *Staphylococcus aureus* Enterotoxins A to D by real-time fluorescence PCR assay. Journal of Clinical Microbiology. 41: 4683-4687.

Krieg, N. R., and Holt, J. G. (1984). Bergey's manual of systematic bacteriology (volume 1). Baltimore: Williams & Wilkins.

Luna, V. A., King, D. S., Gulledge, J., Cannons, A. C., Amuso, P. T., and Cattani, J. (2007). Susceptibility of *Bacillus anthracis, Bacillus cereus, Bacillus mycoides, Bacillus pseudomycoides* and *Bacillus thuringiensis* to 24 antimicrobials using sensititre® automated microbroth dilution and Etest® agar gradient diffusion methods. Journal of Antimicrobial Chemotherapy. 60(3): 555-567.

Gonzalez-Rodriguez, M. N., Sanz, J. J., Santos, J. A., Otero, A., and Garcia-Lopez, M. L. (2002). Numbers and types of microorganisms in vacuum-packed cold-smoked freshwater fish at the retail level. International Journal of Food Microbiology. 77: 161-168.

Nimrat, S., Sangnawakij, T., and Vuthiphandchai, V. (2005). Preservation of black tiger shrimp (*Penaeus monodon*) spermatophores by chilled storage. Journal of the World Aquaculture Society. 36(1): 76-86.

Nimrat, S., Siriboonlamom, S., Zhang, S., Xu, Y., and Vuthiphandchai, V. (2006). Chilled storage of white shrimp (*Litopenaeus vannamei*) spermatophores. Aquaculture. 261: 944-951.

Salkinoja-Salonen, M. S., Vuorio, R., Andersson, M. A., Kampfer, P., Andersson, M. C., Honaanen-Buzalski, T., and Scoging, A. C. (1999). Toxigenic strains of *Bacillus licheniformis* related to food poisoning. Applied and Environmental Microbiology. 65(10): 4637-4645.

Sneath, P. H. A., Mair, N. S., Sharpe, E. M., and Holt, J. G. (1986). Bergey's manual of systematic bacteriology (volume 2). London: Williams & Wilkins.

Sykes, J. G., and Mixner, J. P. (1951). Toxicity to bull spermatozoa of various salts, brands and lots of penicillin, streptomycin, aureomycin and chloromycetin. Journal of Dairy Science. 34(4): 342-346.

Toraman, A. Z., Yakupogullari, Y., and Kizirgil, A. (2004). Detection of metallo β-lactamase production and antibiotic resistance with E-test method in *Pseudomonas, Acinetobacter* and *Klebsiella* strains, in Turkey. Journal of Infection and Chemotherapy. 10(5): 257-263.

Vuthiphandchai, V., and Zohar, Y. (1999). Age-related sperm quality of captive striped bass, *Morone saxtilis*. Journal of the World Aquaculture Society. 30: 65-72.

Vuthiphandchai, V., Chomphuthawach, S., and Nimrat, S. (2009a). Cryopreservation of red snapper (*Lutjanus argentimaculatus*) sperm: Effect of cryoprotectants and cooling rates on sperm motility, sperm viability, and fertilization capacity. Theriogenology. 72: 129-138.

Vuthiphandchai, V., Thadsri, I., and Nimrat, S. (2009b). Chilled storage of walking catfish (*Clarias macrocephalus*) semen. Aquaculture. 296: 58-64.

Winn, W. C., Allen, S. D., Janda, W. M., Koneman, E. W., Procop, G. W., Schreckenberger, P. C., and Wood, G. L. (2006). Koneman's color atlas and textbook of diagnostic microbiology. Philadelphia: Lippincott Williams & Wilkins.

❑❑❑❑❑

ว.วิทย. มข. 39(2) 263-269 (2554) KKU Sci. J.39(2) 263-269 (2011)

KKU SCIENCE JOURNAL

การศึกษาความหลากหลายทางพันธุกรรมของมะลิสกุลจัสมินัมด้วยเทคนิคอาร์เอพีดี

Study the Genetic Diversity in *Jasminum* Using Random Amplified Polymorphic DNA Technique

นฤมล ธนานันต์[1] อรพรรณ บุญประดิษฐ์[2] และ ธีระชัย ธนานันต์[2]*

บทคัดย่อ

การศึกษาความหลากหลายทางพันธุกรรมของมะลิสกุลจัสมินัม 7 พันธุ์ ด้วยเทคนิคอาร์เอพีดี โดยใช้ไพรเมอร์แบบสุ่ม 72 ชนิด พบว่าไพรเมอร์ 62 ชนิด สามารถเพิ่มปริมาณดีเอ็นเอได้ เมื่อคัดเลือกไพรเมอร์ 28 ชนิด ที่ให้ลายพิมพ์ดีเอ็นเออย่างชัดเจนมาวิเคราะห์ความหลากหลายทางพันธุกรรม พบว่าสามารถแยกความแตกต่างระหว่างพันธุ์ได้ด้วยแถบดีเอ็นเอที่จำเพาะกับพันธุ์ นอกจากนั้นยังพบไพรเมอร์ 11 ชนิด ที่สามารถจำแนกมะลิทั้ง 7 พันธุ์ ออกจากกันได้ เมื่อวิเคราะห์ความสัมพันธ์ทางพันธุกรรมโดยใช้โปรแกรม NTSYS สามารถจำแนกได้ 4 กลุ่ม ตามชนิดของมะลิ โดยมีค่าสัมประสิทธิ์ความเหมือนอยู่ระหว่าง 0.25 ถึง 0.75

Abstract

Random amplified polymorphic DNA (RAPD) technique was used to study the genetic diversity among 7 Jasminum cultivars. Seventy-two random primers were screened and 62 primers could be used for DNA amplification. Twenty-eight primers which gave clear amplified products were selected and used to analyze all cultivars. The result showed significant differences among 7 cultivars by using specific fragments for each cultivar. Therefore, 11 primers were able to identify all cultivars while used only one. A dendrogram, which constructed base on polymorphic bands using the NTSYS program, showed genetic similarities among *Jasminum* species and separated to 4 clusters with similarity coefficients ranging 0.25-0.75.

คำสำคัญ: มะลิ อาร์เอพีดี ความหลากหลายทางพันธุกรรม

Keywords: Jasmine, RAPD (Random amplified polymorphic DNA), Genetic diversity

[1] คณะวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยี มหาวิทยาลัยราชภัฏวไลยอลงกรณ์ ในพระบรมราชูปถัมภ์ อ.คลองหลวง จ.ปทุมธานี 13180

[2] ภาควิชาเทคโนโลยีชีวภาพ คณะวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยี มหาวิทยาลัยธรรมศาสตร์ ศูนย์รังสิต อ.คลองหลวง จ.ปทุมธานี 12120

* Corresponding Author, E-mail: thana@tu.ac.th

บทนำ

มะลิเป็นไม้ยืนต้นขนาดเล็กถึงขนาดกลาง จัดอยู่ในวงศ์ (family) Oleaceae สกุล (genus) *Jasminum* ซึ่งพืชสกุลนี้มีกลีบดอกทรงรีปลายป้านซ้อนกันเป็นชั้นและโคนกลีบเชื่อมกันเป็นหลอด มีรูอยู่ตรงกลาง โดยบริเวณโคนหลอดมีกลีบรองลักษณะเป็นแฉกแยกออกเป็นเส้น มีถิ่นกำเนิดอยู่ในเขตร้อนชื้นและกึ่งร้อนชื้น พบประมาณ 200 ชนิด กระจายอยู่ทั้งในยุโรป เอเชีย อเมริกา และแถบแปซิฟิก ในหนังสือ "ชื่อพรรณไม้แห่งประเทศไทย" ระบุว่าประเทศไทยมีมะลิทั้งหมด 40 พันธุ์ ซึ่งแบ่งเป็น 35 ชนิด (species) 7 ชนิดย่อย (subspecies) และ 4 พันธุ์ (varieties) (เต็ม สมิตินันท์, 2544)

มะลิมีดอกสีขาวสวยงามและมีกลิ่นหอม จึงเป็นที่รู้จักกันอย่างแพร่หลาย โดยคนไทยยกย่องให้ดอกมะลิซ้อนเป็นดอกไม้สัญลักษณ์ของวันแม่แห่งชาติ ดอกมะลิสามารถนำมาใช้ประโยชน์ได้หลายอย่าง เช่น เก็บดอกมาร้อยเป็นพวงมาลัย ทำเป็นดอกไม้แห้ง หรือนำมาสกัดทำน้ำมันหอมระเหย นอกจากนี้ส่วนต่างๆ ของมะลิ เช่น ดอกสด ดอกแห้ง ใบสด ต้น และราก ยังสามารถใช้เป็นสมุนไพรได้อีกด้วย (กรมส่งเสริมการเกษตร, 2543)

จากความสำคัญดังกล่าวจึงมีแนวคิดที่จะรวบรวมพันธุ์มะลิในประเทศไทย เพื่อศึกษาความหลากหลายทางพันธุกรรม (genetic diversity) โดยใช้เทคนิคอาร์เอพีดี (RAPD, random amplified polymorphic DNA) ซึ่งเป็นเทคนิคที่สามารถสร้างลายพิมพ์ดีเอ็นเอ (DNA fingerprinting) ได้ด้วยการใช้ไพรเมอร์แบบสุ่ม (random primer) ขนาด 8-12 นิวคลีโอไทด์ (nucleotide) เพิ่มปริมาณดีเอ็นเอด้วยวิธีพีซีอาร์ (PCR, polymerase chain reaction) (Williams et al., 1990) ซึ่งสะดวก รวดเร็ว ใช้ดีเอ็นเอปริมาณน้อย ไม่จำเป็นต้องทราบข้อมูลลำดับดีเอ็นเอ (DNA sequence) และประหยัดค่าใช้จ่ายกว่าเทคนิคเครื่องหมายดีเอ็นเอ (DNA marker) ชนิดอื่น (สุรินทร์ ปิยะโชคณากุล, 2552)

งานวิจัยนี้มีจุดประสงค์เพื่อการศึกษาความหลากหลายทางพันธุกรรมของมะลิสกุลจัสมินัม และตรวจหาเครื่องหมายอาร์เอพีดี (RAPD marker) ที่สามารถจำแนกพันธุ์มะลิ ซึ่งจะเป็นประโยชน์ต่อการคุ้มครองพันธุกรรมและการอนุรักษ์

1. วิธีดำเนินงานวิจัย

1.1 พันธุ์มะลิ

มะลิที่ใช้ในการวิจัยครั้งนี้ มี 7 พันธุ์ (รูปที่ 1) ได้แก่ (1) *J. pubescens* Willd. จำนวน 1 พันธุ์ คือ มะลุลี (2) *J. sambac* Linn. จำนวน 4 พันธุ์ ได้แก่ มะลิลา มะลิถอด มะลิฉัตร และมะลิซ้อน (3) *J. adenophyllum* Wall. จำนวน 1 พันธุ์ คือ มะลิวัลย์ และ (4) *J. auriculatum* Vahl. จำนวน 1 พันธุ์ คือ พุทธชาด (ตารางที่ 1) แต่ละพันธุ์มี 8-13 ตัวอย่าง ซึ่งเก็บรวบรวมจากแหล่งเพาะปลูกและร้านจำหน่ายพันธุ์ไม้ในเขตภาคกลางของประเทศไทย โดยปลูกในกระถางเพื่อเก็บใบอ่อนมาสกัดดีเอ็นเอ

1.2 การสกัดดีเอ็นเอ

สกัดดีเอ็นเอจากใบอ่อนของมะลิด้วยวิธีประยุกต์จาก Agrawal et al. (1992) โดยบดในไนโตรเจนเหลวให้เป็นผงละเอียด แล้วนำผงใบ 2 กรัม บ่มในบัฟเฟอร์สกัด (extraction buffer) [4x CTAB; 4% cethyl trimethyl ammonium bromide (CTAB), 2.8 M NaCl, 40 mM ethylenediamine tetraacetic acid (EDTA) และ 200 mM Tris-HCl pH 8.0] 10 มิลลิลิตร ซึ่งมี 2-mercaptoethanol 20 ไมโครลิตร ที่อุณหภูมิ 60 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 60 นาที เมื่อครบเวลาเติมคลอโรฟอร์ม : ไอโซเอมิลแอลกอฮอล์ (chloroform : isoamyl alcohol = 24:1) 10 มิลลิลิตร ผสมให้เข้ากัน แล้วนำไปหมุนเหวี่ยงที่ 12,000g เป็นเวลา 5 นาที หลังจากนั้นจึงแยกสารละลายใสส่วนบนมาเติม linear polyacrylamide 140 ไมโครลิตร และไอโซโพรพานอล (isopropanol) 7 มิลลิลิตร ผสมให้เข้ากันและนำไปบ่มที่อุณหภูมิ -20 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 30 นาที เมื่อครบเวลานำไปหมุนเหวี่ยงที่

ตารางที่ 1 ชื่อพื้นเมืองและชื่อวิทยาศาสตร์ของมะลิที่ใช้ในการวิจัย

ลำดับที่	ชื่อพื้นเมือง	ชื่อวิทยาศาสตร์
1	มะลุลี	*Jasminum pubescens* Willd.
2	มะลิลา	*Jasminum sambac* Linn.
3	มะลิถอด	*Jasminum sambac* Linn.
4	มะลิฉัตร	*Jasminum sambac* Linn.
5	มะลิซ้อน	*Jasminum sambac* Linn.
6	มะลิวัลย์	*Jasminum adenophyllum* Wall.
7	พุทธชาด	*Jasminum auriculatum* Vahl.

รูปที่ 1 รูปร่างลักษณะของดอกมะลิที่ใช้ในการวิจัย

12,000g เป็นเวลา 15 นาที หลังจากนั้นจึงเทสารละลายทิ้งและล้างตะกอนด้วย washing buffer (10 mM sodium acetate pH 5.2 และ 70% ethanol) ปล่อยให้แห้งและละลายตะกอนใน RNase buffer (10 mM Tris-HCl pH 8.0 และ 15 mM NaCl) 500 ไมโครลิตร เติมเอนไซม์ RNase A (10 มิลลิกรัม/มิลลิลิตร 4 ไมโครลิตร บ่มที่อุณหภูมิ 37 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 30 นาที

เมื่อครบเวลาสกัดด้วยฟีนอล : คลอโรฟอร์ม : ไอโซเอมิลแอลกอฮอล์ (phenol : chloroform : isoamyl alcohol = 25:24:1) 1 ครั้ง และสกัดด้วยคลอโรฟอร์ม : ไอโซเอมิลแอลกอฮอล์ (24:1) อีก 1 ครั้ง หลังจากนั้นจึงย้ายสารละลายใสส่วนบนมาเติม linear polyacrylamide 70 ไมโครลิตร โซเดียมอะซิเตต ความเข้มข้น 3 โมลาร์ (pH 5.2) 50 ไมโครลิตร และไอโซโพรพานอล 600 ไมโครลิตร บ่มที่อุณหภูมิ -20

องศาเซลเซียส เป็นเวลา 30 นาที นำไปหมุนเหวี่ยงที่ 12,000g เป็นเวลา 10 นาที หลังจากนั้นจึงเทสารละลายทิ้งและล้างตะกอนด้วยเอทานอล 70 เปอร์เซ็นต์ แล้วผึ่งตะกอนให้แห้ง แล้วละลายตะกอนด้วย TE buffer (10 mM Tris-HCl pH 8.0 และ 1.0 mM EDTA) ปริมาตร 200-300 ไมโครลิตร

ตรวจสอบปริมาณดีเอ็นเอที่ได้ด้วยวิธีวัดค่าการดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 260 และ 280 นาโนเมตร (nm) และตรวจสอบคุณภาพดีเอ็นเอด้วยเทคนิคอิเล็กโทรโฟรีซิสในเจลอะกาโรส ร้อยละ 0.8 (Sambrook et al., 1989)

1.3 การสร้างลายพิมพ์ดีเอ็นเอด้วยเทคนิคอาร์เอพีดี

มี 2 ขั้นตอน คือ (1) การตรวจหาไพรเมอร์แบบสุ่มที่ตอบสนองต่อปฏิกิริยาพีซีอาร์โดยรวมดีเอ็นเอมะลิทั้ง 7 พันธุ์ เป็นตัวอย่างเดียวกัน และ (2) การวิเคราะห์ความหลากหลายทางพันธุกรรม โดยคัดเลือกไพรเมอร์ 28 ชนิด ที่ให้ลายพิมพ์ดีเอ็นเออย่างชัดเจนมาตรวจสอบกับดีเอ็นเอมะลิแต่ละพันธุ์

โดยเพิ่มปริมาณดีเอ็นเอ 100 นาโนกรัม (ng) ในบัฟเฟอร์ (50 mM KCl, 20 mM Tris-HCl pH 8.4 และ 0.25 mM $MgCl_2$) ซึ่งมีนิวคลีโอไทด์ 4 ชนิด (dATP, dCTP, dGTP และ dTTP) ชนิดละ 200 ไมโครโมลาร์ (μM) ไพรเมอร์แบบสุ่ม 250 นาโนโมลาร์ (nM) และเอนไซม์ *Taq* DNA polymerase (Invitrogen™ life technology, Brazil) 1 ยูนิต (unit) (Wikie et al., 1993) โดยไพรเมอร์แบบสุ่มที่ใช้ 72 ชนิด คือ ไพรเมอร์ 6 ชุด (A2, B2, C2, D2, E2 และ F2) จาก Wako Company (Japan) ซึ่งมีขนาด 12 นิวคลีโอไทด์

ปฏิกิริยาพีซีอาร์มี 3 ขั้นตอน คือ (1) บ่มที่อุณหภูมิ 94 องศาเซลเซียส นาน 3 นาที จำนวน 1 รอบ (2) บ่มที่อุณหภูมิ 94 องศาเซลเซียส นาน 1 นาที อุณหภูมิ 35 องศาเซลเซียส นาน 1 นาที และอุณหภูมิ 72 องศาเซลเซียส นาน 2 นาที จำนวน 40 รอบ และ (3) บ่มที่อุณหภูมิ 72 องศาเซลเซียส นาน 5 นาที จำนวน 1 รอบ (Wikie et al., 1993) แล้วเก็บไว้ที่อุณหภูมิ 4 องศาเซลเซียส ก่อนนำไปตรวจสอบลายพิมพ์ดีเอ็นเอด้วยเทคนิคอิเล็กโทรโฟรีซิสในเจลอะกาโรสร้อยละ 1.5 โดยแต่ละตัวอย่างทำ 3 ซ้ำ เพื่อให้ได้ผลการทดลองที่น่าเชื่อถือยิ่งขึ้น

1.4 การวิเคราะห์ผล

เปรียบเทียบลายพิมพ์ดีเอ็นเอมะลิทั้ง 7 พันธุ์ที่ได้จากเทคนิคอาร์เอพีดี และเปรียบเทียบความเหมือนและความแตกต่างของแถบดีเอ็นเอที่ได้ทั้งหมดแล้ววิเคราะห์ความสัมพันธ์ทางพันธุกรรม (genetic relationship) ด้วยโปรแกรมสำเร็จรูป NTSYS-pc รุ่น 2.0 โดยเลือกวิธีจัดกลุ่มแบบ UPGMA (unweighted pair group method with arithmetic mean) (Rohlf, 2002)

2. ผลการทดลองและวิจารณ์ผลการทดลอง

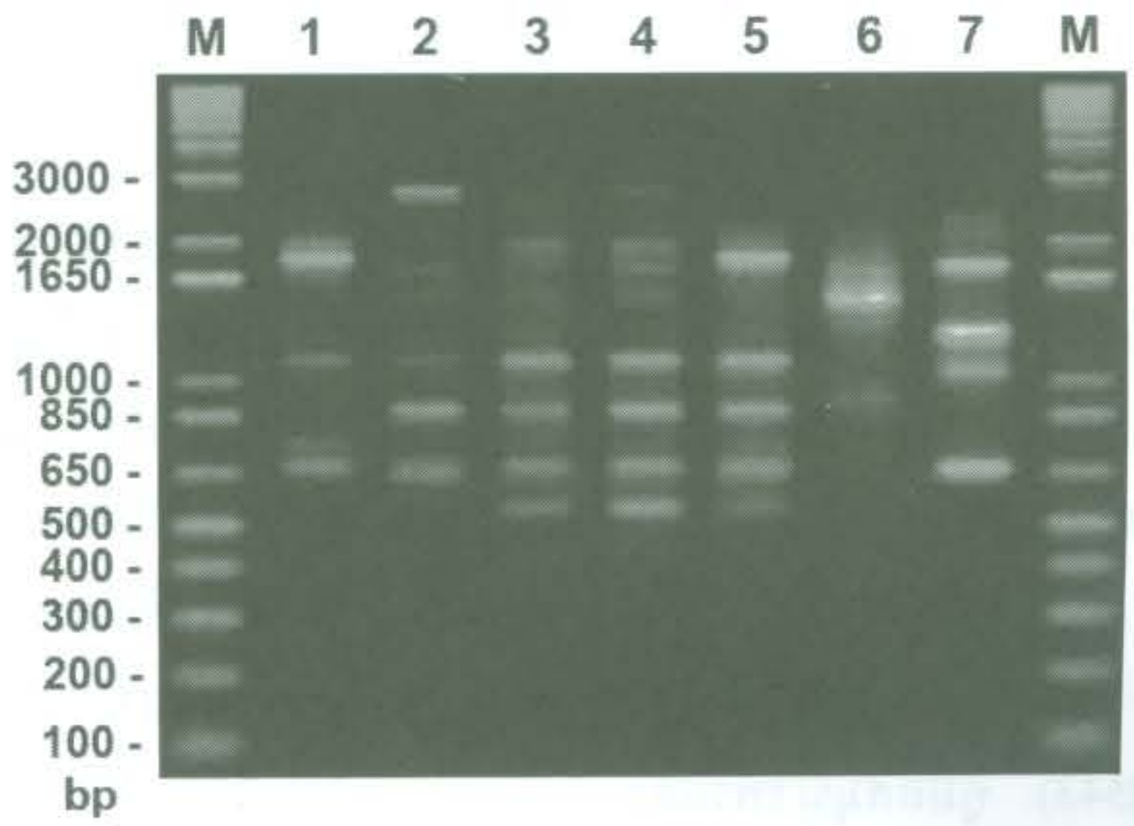
การตรวจหาไพรเมอร์แบบสุ่มที่ตอบสนองต่อปฏิกิริยาพีซีอาร์โดยใช้ไพรเมอร์ 72 ชนิด เพิ่มปริมาณดีเอ็นเอรวมของมะลิด้วยเทคนิคอาร์เอพีดี พบว่าไพรเมอร์ 62 ชนิด หรือคิดเป็นร้อยละ 86.11 สามารถเพิ่มปริมาณดีเอ็นเอได้ หลังจากนั้นจึงคัดเลือกไพรเมอร์ 28 ชนิด ที่เพิ่มปริมาณดีเอ็นเอได้อย่างชัดเจนมาตรวจสอบกับดีเอ็นเอมะลิแต่ละพันธุ์ จำนวน 7 พันธุ์ ได้แก่ มะลุลี มะลิลา มะลิถอด มะลิฉัตร มะลิซ้อน มะลิวัลย์ และพุทธชาด ปรากฏว่าพบแถบดีเอ็นเอรวมทั้งสิ้น 355 แถบ มีขนาดประมาณ 350-3,000 คู่เบส (base pairs) ซึ่งเป็นแถบดีเอ็นเอ็นที่พบเหมือนกันทุกพันธุ์ (monomorphic band) 303 แถบ (ร้อยละ 85.35) และแถบดีเอ็นเอที่พบแตกต่างกันในแต่ละพันธุ์ 52 แถบ (ร้อยละ 14.65) โดยลายพิมพ์ดีเอ็นเอที่ได้จากเทคนิคอาร์เอพีดีมีรูปแบบจำเพาะต่อมะลิแต่ละพันธุ์ (รูปที่ 2) และพบแถบดีเอ็นเอบางแถบที่สามารถใช้เป็นเครื่องหมายอาร์เอพีดีสำหรับจัดจำแนกมะลิ นอกจากนั้นยังพบไพรเมอร์ถึง 11 ชนิด ที่สามารถจำแนกมะลิทั้ง 7 พันธุ์ ออกจากกันได้ ได้แก่ A22 (GCCTGCCTCACG) A28 (ATTTGGATAGGG) A31 (AAGGCGCGAACG) B23 (GGTGCCGGAGCA)

B26 (ATGAGAAAGGAA) D24 (GTGCAATTTGGC) D25 (GTTTTGTCACCG) E23 (AGGTACGCCGCA) E29 (GTTATGCAAGGG) E32 (CAGGAACAGCAA) และ F29 (GCCGCTAATATG)

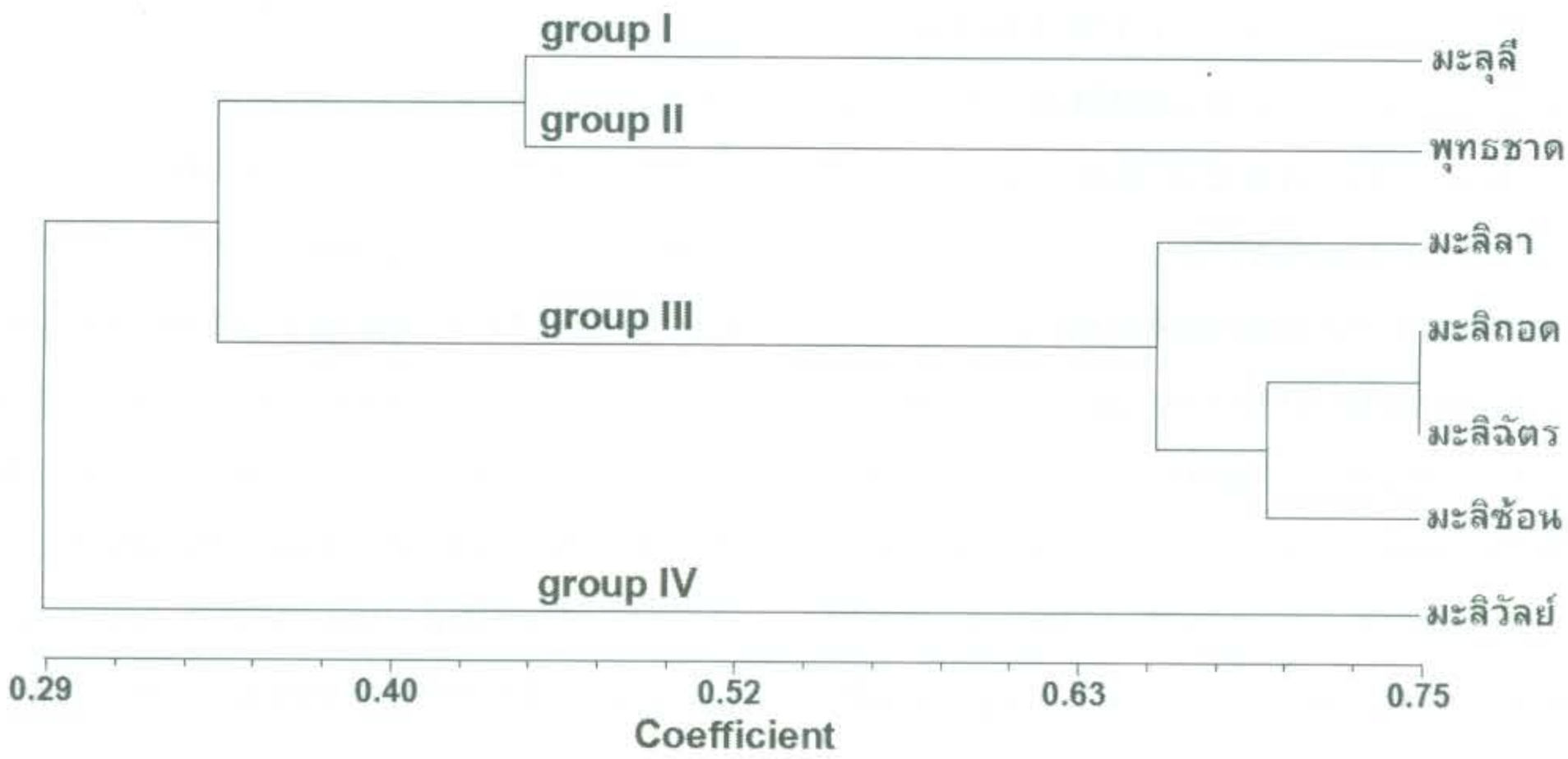
เมื่อวิเคราะห์ลายพิมพ์ดีเอ็นเอที่ได้จากเทคนิคอาร์เอพีดีด้วยโปรแกรม NTSYS-pc รุ่น 2.0 และเลือกวิธีจัดกลุ่มแบบ UPGMA โดยคำนวณค่าสัมประสิทธิ์ความเหมือน (similarity coefficient) และแสดงผลในรูปแผนภูมิความสัมพันธ์ (dendrogram) พบว่ามะลิสกุลจัสมินัมที่ใช้ในการวิจัยครั้งนี้ จำนวน 7 พันธุ์ แบ่งเป็น 4 กลุ่ม ตามชนิดของมะลิ ได้แก่ กลุ่ม I คือ *J. pubescens* (มะลุลี) กลุ่ม II คือ *J. auriculatum* (พุทธชาด) กลุ่ม III คือ *J. sambac* (มะลิลา มะลิถอด มะลิฉัตร และมะลิซ้อน) และกลุ่ม IV คือ *J. adenophyllum* (มะลิวัลย์) (รูปที่ 3) ซึ่งมีค่าสัมประสิทธิ์ความเหมือนอยู่ระหว่าง 0.25 ถึง 0.75 (รูปที่ 4) โดยกลุ่ม III (*J. sambac*) มีค่าสัมประสิทธิ์ความเหมือนภายในกลุ่มเฉลี่ย 0.69 ผลการวิจัยนี้แสดงว่ามะลิสกุลจัสมินัมมีความหลากหลายทางพันธุกรรมสูง โดยแถบดีเอ็นเอที่ให้ความแตกต่างระหว่างพันธุ์สามารถใช้เป็นเครื่องหมายอาร์เอพีดี สำหรับการจำแนกมะลิสกุลจัสมินัม และแถบดีเอ็นเอบางแถบที่จำเพาะต่อพันธุ์สามารถพัฒนาเป็นเครื่องหมายดีเอ็นเอที่จำเพาะต่อพันธุ์มะลิได้ นอกจากนั้นผลการวิจัยยังเป็นข้อมูลพื้นฐานที่สำคัญสำหรับนำไปใช้ประโยชน์ด้านการศึกษาวิจัยและการวางแผนอนุรักษ์ในอนาคต และผลงานวิจัยนี้ยังสนับสนุนศักยภาพของเทคนิคอาร์เอพีดีในการจำแนกพันธุ์พืชต่างๆ ในประเทศไทย โดยสอดคล้องกับบทความวิจัยที่เคยมีรายงาน เช่น ส้มโอ (ธีระชัย ธนานันต์ และ นฤมล ธนานันต์, 2542) พริก (ธีระชัย ธนานันต์ และ นฤมล ธนานันต์, 2543) น้อยหน่า (ธีระชัย ธนานันต์, 2550) และบัวหลวง (นฤมล ธนานันต์ และ มานะ ขาวเมฆ, 2549; นฤมล ธนานันต์ และคณะ, 2550)

3. สรุปผลการทดลอง

การศึกษาความหลากหลายทางพันธุกรรมของมะลิสกุลจัสมินัม จำนวน 7 พันธุ์ ด้วยเทคนิคอาร์เอพีดี พบว่า มะลิมีความหลากหลายทางพันธุกรรมสูง โดยงานวิจัยนี้พบไพรเมอร์ถึง 11 ชนิด ที่สามารถจำแนกมะลิทั้ง 7 พันธุ์ ออกจากกันได้ และเมื่อวิเคราะห์ลายพิมพ์ดีเอ็นเอที่ได้จากเทคนิคอาร์เอพีดีด้วยโปรแกรม NTSYS พบว่าสามารถแบ่งมะลิสกุลจัสมินัมที่ใช้ในการวิจัยครั้งนี้เป็น 4 กลุ่ม ตามชนิดของมะลิ



รูปที่ 2 ลายพิมพ์ดีเอ็นเอที่ได้จากเทคนิคอาร์เอพีดีโดยใช้ไพรเมอร์ A28 [M คือดีเอ็นเอมาตรฐาน 1 Kb Plus DNA Ladder (Invitrogen™ Life Technology, USA), 1-7 คือ มะลุลี มะลิลา มะลิถอด มะลิฉัตร มะลิซ้อน มะลิวัลย์ และพุทธชาด ตามลำดับ]



รูปที่ 3 แผนภูมิความสัมพันธ์ของมะลิที่ได้จากเทคนิคอาร์เอพีดี

มะลุลี	1.00					
มะลิลา	0.38	1.00				
มะลิถอด	0.33	0.62	1.00			
มะลิฉัตร	0.40	0.67	0.75	1.00		
มะลิซ้อน	0.40	0.70	0.66	0.74	1.00	
มะลิวัลย์	0.30	0.28	0.30	0.30	0.29	1.00
พุทธชาด	0.45	0.33	0.28	0.31	0.33	0.25	1.00

มะลุลี มะลิลา มะลิถอด มะลิฉัตร มะลิซ้อน มะลิวัลย์ พุทธชาด

รูปที่ 4 ค่าดัชนีความเหมือนของมะลิที่ได้จากเทคนิคอาร์เอพีดี

กิตติกรรมประกาศ

งานวิจัยนี้บางส่วนได้รับการสนับสนุนจากกลุ่มเมธีวิจัยอาวุโส สกว.-สกอ. (ศาสตราจารย์ ดร.เพทาย เย็นจิตโสมนัส และคณะ)

เอกสารอ้างอิง

กรมส่งเสริมการเกษตร. (2543). คู่มือสมุนไพรและเครื่องเทศ ชุดที่ 3 พืชสมุนไพรน้ำมันหอมระเหย (Essential Oil). กรุงเทพฯ: กระทรวงเกษตรและสหกรณ์. 12-13.

เต็ม สมิตินันท์. (2544). ชื่อพรรณไม้แห่งประเทศไทย. กรุงเทพฯ: บริษัท ประชาชน จำกัด.

ธีระชัย ธนานันต์ และ นฤมล ธนานันต์. (2542). เทคนิคอาร์เอพีดีกับการจำแนกพันธุ์ส้มโอ.การประชุมวิชาการพันธุศาสตร์แห่งชาติ ครั้งที่ 11. นครราชสีมา: มหาวิทยาลัยเทคโนโลยีสุรนารี. 215-219.

ธีระชัย ธนานันต์ และ นฤมล ธนานันต์. (2543). เทคนิคอาร์เอพีดีกับการจำแนกพันธุ์พริก. วารสารวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยี. 8(1): 6-10.

ธีระชัย ธนานันต์. (2550). การจำแนกน้อยหน่าพันธุ์เนื้อและพันธุ์หนังด้วยเครื่องหมายอาร์เอพีดี. วารสารวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยี. 15(1): 9-15.

นฤมล ธนานันต์ และ มานะ ขาวเมฆ. (2549). การจำแนกพันธุ์บัวหลวงด้วยเครื่องหมายอาร์เอพีดี. วารสารวิจัยและพัฒนาวไลยอลงกรณ์ ในพระบรมราชูปถัมภ์. 1(3): 15-23.

นฤมล ธนานันต์ สุนันท์ สุดใจ และ ธีระชัย ธนานันต์. (2550). ความหลากหลายทางพันธุกรรมของบัวหลวงปัทมาในจังหวัดปทุมธานี. การประชุมวิชาการพันธุศาสตร์ ครั้งที่ 15. สงขลา: มหาวิทยาลัยทักษิณ. 124-128.

สุรินทร์ ปิยะโชคณากุล. (2552). เครื่องหมายดีเอ็นเอ : จากพื้นฐานสู่การประยุกต์. กรุงเทพฯ: สำนักพิมพ์มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์.

Agrawal, G. K., Pandey, R. N. and Agrawal, V. P. (1992). Isolation of DNA from *Choerospondias asillaris* leaves. Biotechnology and Biodiversity Letters. 2: 19-24.

Rohlf, F. J. (2002). NTSYSpc Numerical Taxonomy and Multivariate Analysis System. New York: Applied Biostatistics, Inc.

Sambrook, J., Fritsch, E. F. and Maniatis, T. (1989). Melecular Cloning: A Laboratory Manual. 2nd Ed. New York: Cold Spring Harbor Laboratory Press.

Williams, J. G., Kubelik, A. R., Livak, K. J., Rafalski, J. A. and Tingey, S. V. (1990). DNA polymorphisms amplified by arbitrary primers are useful as genetic markers. Nucleic Acids Research. 18: 6531-6535.

Wilkie, S. E., Isaac, P. G. and Slater, R. J. (1993). Random amplified polymorphic DNA (RAPD) marker for genetic analysis in *Allium*. Theoretical and Applied Genetics. 86: 476-504.

❑❑❑❑❑

ว.วิทย. มข. 39(2) 270-280 (2554) KKU Sci. J.39(2) 270-280 (2011)

KKU SCIENCE JOURNAL

ผลการแคลไซน์ต่อการดูดซับของตัวเร่งปฏิกิริยา ในการบำบัดน้ำเสียฟีนอล

Calcination Effect on Adsorption of Catalyst for Phenolic Wastewater Treatment

พรศิริ ทองเปรม[1] และ ประธาน วงศ์ศริเวช[1]*

บทคัดย่อ

งานวิจัยนี้ทำการศึกษาผลของสภาวะการแคลไซน์ที่มีต่อการดูดซับของถ่านกัมมันต์ชนิดเม็ดและตัวเร่งปฏิกิริยาในการบำบัดน้ำเสียฟีนอล ตัวเร่งปฏิกิริยาที่ใช้คือเหล็กออกไซด์ที่เคลือบบนตัวรองรับถ่านกัมมันต์ชนิดเม็ด ปริมาณเหล็กที่เคลือบบนผิวของถ่านกัมมันต์เท่ากับร้อยละ 5 โดยน้ำหนักของถ่านกัมมันต์ ตัวเร่งปฏิกิริยาถูกเตรียมด้วยวิธีการเคลือบฝังแบบแห้ง ทำการศึกษาถึงสองสภาวะการแคลไซน์ ได้แก่ 1) ภายใต้บรรยากาศปกติที่อุณหภูมิ 200 องศาเซลเซียส และ 2) ภายใต้สภาวะการไหลของแก๊สไนโตรเจนที่อุณหภูมิ 500 องศาเซลเซียส ทำการศึกษาประสิทธิภาพการดูดซับฟีนอลของถ่านกัมมันต์และตัวเร่งปฏิกิริยาในปฏิกรณ์ฟลูอิดไดซ์เบด นอกจากนี้ศึกษาผลการใช้ซ้ำของถ่านกัมมันต์และตัวเร่งปฏิกิริยาภายใต้สภาวะการแคลไซน์ที่ต่างกัน ถ่านกัมมันต์ให้ประสิทธิภาพการดูดซับดีที่สุด ในขณะที่ตัวเร่งปฏิกิริยาที่แคลไซน์ภายใต้การไหลของแก๊สไนโตรเจนที่อุณหภูมิ 500 องศาเซลเซียส ดูดซับฟีนอลได้ดีกว่าตัวเร่งปฏิกิริยาที่แคลไซน์ภายใต้บรรยากาศปกติที่อุณหภูมิ 200 องศาเซลเซียส ทั้งนี้เนื่องจากประสิทธิภาพการดูดซับฟีนอลลดลงเมื่อพื้นที่ผิวของตัวเร่งปฏิกิริยาลดลง คุณสมบัติทางกายภาพ คือ พื้นที่ผิวจำเพาะ ปริมาตรและเส้นผ่านศูนย์กลางของรูพรุนของถ่านกัมมันต์และตัวเร่งปฏิกิริยาถูกวัดด้วยเครื่องวัดพื้นที่ผิวเพื่ออธิบายผลการทดลองอีกด้วยประสิทธิภาพการดูดซับฟีนอลลดลงเมื่อทั้งถ่านกัมมันต์และตัวเร่งปฏิกิริยาถูกใช้ซ้ำมากขึ้น การดูดซับสำหรับทุกกรณีของถ่านกัมมันต์และตัวเร่งปฏิกิริยาเป็นไปตามจลนพลศาสตร์อันดับสองเทียม

Abstract

In this research, the effect of calcination condition on the adsorption of granular activated carbon (GAC) and catalyst for phenolic wastewater treatment was studied. The iron oxide deposited on the granular activated carbon (Fe/GAC) was used to be a catalyst. The amount of iron doping onto the surface of GAC

[1] ศูนย์นาโนเทคโนโลยีแห่งชาติ, อุทยานวิทยาศาสตร์ประเทศไทย จ.ปทุมธานี 12120

* Corresponding Author, E-mail : pratarn@nanotec.or.th

was 5 %wt of GAC. The catalyst was prepared by the incipient wetness impregnation method. The two calcination conditions were investigated: 1) under atmospheric pressure at 200°C and 2) under N_2 gas flow at 500°C. The phenol adsorption efficiencies of GAC and catalysts were carried out in the fluidized bed reactor. Moreover, the effect of iteration of GAC and catalysts under different calcination conditions were examined. GAC exhibited the best adsorption efficiency, while the catalyst calcined under N_2 gas flow at 500(C adsorbed phenol better than the catalyst calcined under atmospheric pressure at 200°C. This caused from the adsorption efficiency of phenol reduced by a decreasing of catalyst surface areas. The physical properties: specific surface areas, pore volumes and pore diameters of GAC and catalysts were also measured by using a surface area analyzer for interpreting the experimental results. The adsorption efficiency of phenol decreased with an increasing of iteration of both GAC and catalysts. The adsorption for all cases of GAC and catalysts would follow the pseudo-second order kinetic.

คำสำคัญ : การแคลไซน์ การดูดซับ ตัวเร่งปฏิกิริยา ฟีนอล น้ำเสีย

Keywords : Calcination, Adsorption, Catalyst, Phenol, Wastewater

บทนำ

ฟีนอลและสารประกอบฟีนอลเป็นวัตถุดิบที่สำคัญ ส่วนใหญ่ถูกใช้ในอุตสาหกรรมการผลิตจำพวกปิโตรเคมี ยาฆ่าแมลง ยา และสิ่งทอ น้ำเสียที่เกิดขึ้นจากอุตสาหกรรมเหล่านี้ยังคงเป็นปัญหาที่ร้ายแรง ซึ่งก่อให้เกิดปัญหามลภาวะทางน้ำเนื่องจากสารประกอบฟีนอลแม้เพียงที่ความเข้มข้นต่ำๆ มีความเป็นพิษสูงทั้งต่อสิ่งมีชีวิตและระบบนิเวศ (Britto et al., 2008) (Chaliha and Bhattacharyya, 2008) (Chaliha and Bhattacharyya, 2009) (Yamomoto et al., 2009) ดังนั้นระบบบำบัดที่มีประสิทธิภาพจึงมีความจำเป็นอย่างยิ่งในการบำบัดน้ำเสียให้ได้มาตรฐานก่อนระบายลงสู่แหล่งน้ำธรรมชาติ

เนื่องจากฟีนอลและสารประกอบฟีนอลมีโครงสร้างที่ซับซ้อน การบำบัดน้ำเสียที่มีโครงสร้างดังกล่าวด้วยวิธีทางชีวภาพ อาทิ บ่อเติมอากาศ (aerated lagoon) และ แอกติเวเต็ดสลัดจ์ (activated sludge) ไม่สามารถกระทำได้ การนำเทคโนโลยีเฉพาะทางมาใช้จึงเป็นทางเลือกหนึ่งที่น่าสนใจ เช่น กรรมวิธีโอโซเนชันเชิงเร่งปฏิกิริยา (catalytic ozonation) โดยนำตัวเร่งปฏิกิริยาวิวิธพันธ์ประเภทโลหะออกไซด์ (Faria, 2009) มาใช้ในการเปลี่ยนรูปโมเลกุลของโอโซนเป็นตัวออกซิไดส์ชิงเอเจนต์ที่มีค่าศักย์ออกซิเดชันสูงขึ้น เช่น อนุมูลไฮดรอกซิล ($OH^{\bullet}$) กระบวนการนี้สามารถดำเนินการได้ในสภาวะบรรยากาศปกติและอุณหภูมิห้อง ระยะเวลาที่ใช้ในการกำจัดฟีนอลลดลง ทั้งยังสามารถขยายอายุการใช้งานของตัวดูดซับได้ เนื่องจากโมเลกุลของฟีนอลที่ถูกดูดซับในรูพรุนจะเกิดการย่อยสลายด้วยโมเลกุลของโอโซนและอนุมูลไฮดรอกซิล กลายเป็นโมเลกุลของน้ำและคาร์บอนไดออกไซด์ในที่สุด

การศึกษาผลการดูดซับเบื้องต้นในบทความนี้เป็นการศึกษาสภาวะการเตรียมตัวเร่งปฏิกิริยาที่เหมาะสมเพื่อนำมาใช้ในกรรมวิธีโอโซเนชันเชิงเร่งปฏิกิริยาในขั้นตอนการศึกษาถัดไป ตัวเร่งปฏิกิริยาที่เหมาะสมในการเกิดปฏิกิริยาออกซิเดชันคือตัวเร่งปฏิกิริยาออกไซด์ของโลหะ ในงานวิจัยนี้เลือกโลหะเหล็ก เนื่องจากเป็นโลหะทรานซิชันที่มีประสิทธิภาพและราคาถูกที่สุดเมื่อเทียบกับโลหะทรานซิชันชนิดอื่น แต่เหล็กออกไซด์มีพื้นที่ผิวสำหรับเกิดปฏิกิริยาน้อย ดังนั้นจึงนิยมใช้วิธีเคลือบเหล็กออกไซด์ลงบนตัวรองรับเพื่อกระจายส่วนความว่องไวในการเกิดปฏิกิริยาให้มาก

ที่สุด ซึ่งถ่านกัมมันต์ถือเป็น ตัวรองรับที่เหมาะสม ในการนำมาศึกษา เนื่องจากมีพื้นที่ผิวสูง ขนาดของรูพรุนเหมาะสมกับขนาดโมเลกุลของฟีนอล คุณสมบัติทางกายภาพ เช่น ความแข็ง ความคงทนต่อแรงกระแทกเหมาะสมในการนำมาใช้ในระบบปฏิกรณ์ฟลูอิดไดซ์เบดซึ่งอาจเกิดการกระแทกและการเสียดสีในเบดได้ นอกจากนั้นถ่านกัมมันต์ยังมีราคาถูกเหมาะสำหรับนำมาใช้ในน้ำเสียระดับอุตสาหกรรม

การเตรียมตัวเร่งปฏิกิริยาด้วยวิธีเคลือบฝังแบบแห้ง (incipient wetness impregnation method) ถือเป็นวิธีการที่ง่าย ทำได้โดยการหยดสารละลายที่มีปริมาตรของสารละลายเท่ากับปริมาตรของรูพรุนลงบนตัวรองรับแล้วปล่อยทิ้งไว้ให้สารละลายที่หยดลงไปมีเวลาเพียงพอในการซึมเข้าสู่รูพรุนของตัวรองรับ การกระจายตัวของโลหะ บางส่วนอยู่บริเวณผิวนอก บางส่วนแพร่เข้าสู่รูพรุนของตัวรองรับ วิธีการนี้เหมาะสำหรับกรณีที่ต้องการเตรียมตัวเร่งปฏิกิริยาในปริมาณมาก รวดเร็วและเสียค่าใช้จ่ายน้อย (Pinna, 1998)

การแคลไซน์ (calcination) ถือเป็นขั้นตอนที่สำคัญในการเตรียมตัวเร่งปฏิกิริยา เนื่องจากเป็นขั้นตอนการให้ความร้อนกับตัวเร่งปฏิกิริยาในสภาวะบรรยากาศหรือแก๊สต่างๆ เพื่อเปลี่ยนองค์ประกอบของสารตั้งต้นของโลหะ (Metal precursor) ให้อยู่ในรูปของออกไซด์ ทั้งยังเป็นการเผาสารประกอบบางตัวที่ตกค้างอยู่ให้หมด เช่น น้ำหรือแก๊สคาร์บอนไดออกไซด์ (Pinna, 1998) สภาวะในการแคลไซน์ที่เหมาะสมมีผลต่อประสิทธิภาพในการกำจัดฟีนอลอย่างมาก เนื่องจากสารประกอบที่คงค้างในตัวเร่งปฏิกิริยาอาจส่งผลให้พื้นที่ผิวของตัวรองรับหรือตัวเร่งปฏิกิริยาลดลง

ดังนั้นงานวิจัยนี้จึงทำการศึกษาสภาวะการแคลไซน์ที่เหมาะสมในการเตรียมตัวเร่งปฏิกิริยาเหล็กออกไซด์เพื่อนำตัวเร่งปฏิกิริยาไปประยุกต์ใช้สำหรับการบำบัดน้ำเสียที่มีฟีนอลเป็นองค์ประกอบ โดยเปรียบเทียบลักษณะสมบัติและประสิทธิภาพในการดูดซับฟีนอลระหว่างถ่านกัมมันต์และตัวเร่งปฏิกิริยาเหล็กออกไซด์ที่ผ่านการแคลไซน์

วิธีดำเนินงาน

การดำเนินงานมีทั้งหมด 4 ขั้นตอน คือ

1. การเตรียม การศึกษาลักษณะสมบัติของถ่านกัมมันต์และตัวเร่งปฏิกิริยา

ถ่านกัมมันต์แบบเม็ด (granular activated carbon, GAC) จัดหาจากบริษัท คาร์โบกาญจน์ จำกัด ซึ่งใช้เป็นตัวรองรับของอนุภาคเหล็ก นำมาผ่านการคัดขนาดด้วยเครื่องคัดแยกขนาดโดยอาศัยการสั่น (sieve shaker) เพื่อให้ได้ขนาดอยู่ในช่วง 0.4 ถึง 1.7 มิลลิเมตร นำถ่านกัมมันต์ไปเตรียมพื้นผิว (pretreatment) ด้วยความร้อนที่อุณหภูมิ 200 องศาเซลเซียส นาน 4 ชั่วโมง เตรียมตัวเร่งปฏิกิริยาด้วยวิธีการเคลือบฝังแบบแห้ง โดยใช้สารละลายเฟอร์ริคไนเตรต (ferric nitrate nonahydrate) ความเข้มข้น 8.94×10^{-4} โมล เป็นสารตั้งต้น ด้วยความเข้มข้นนี้จะทำให้มีปริมาณเหล็กที่เคลือบอยู่บนถ่านกัมมันต์เท่ากับร้อยละ 5 โดยน้ำหนักของถ่านกัมมันต์เตรียมตัวเร่งปฏิกิริยาในอ่างน้ำควบคุมอุณหภูมิที่อุณหภูมิ 80 องศาเซลเซียส แล้วนำไปอบในเตาอบที่อุณหภูมิ 100 องศาเซลเซียส นาน 24 ชั่วโมง หลังจากนั้นนำไปแคลไซน์ ภายใต้สภาวะสองสภาวะคือภายใต้บรรยากาศปกติที่อุณหภูมิ 200 องศาเซลเซียส (สภาวะดังกล่าวเป็นสภาวะที่สามารถกำจัดโมเลกุลน้ำและสารประกอบที่ไม่ต้องการออกจากตัวเร่งปฏิกิริยาและเป็นอุณหภูมิก่อนที่ถ่านกัมมันต์จะเกิดการเปลี่ยนสภาพเป็นเถ้า ทั้งยังเป็นอุณหภูมิที่สามารถนำไปประยุกต์ใช้ในการเตรียมตัวเร่งปฏิกิริยาระดับอุตสาหกรรมได้) และภายใต้สภาวะการไหลของแก๊สไนโตรเจนที่อุณหภูมิ 500 องศาเซลเซียส (สภาวะนี้เป็นสภาวะที่เหมาะสมในการกำจัดโมเลกุลน้ำและสารประกอบที่ไม่ต้องการออกจากตัวเร่งปฏิกิริยาและตัวเร่งปฏิกิริยาอยู่ในรูปออกไซด์อย่างสมบูรณ์) อัตราการไหลของแก๊สไนโตรเจน 50 มิลลิลิตรต่อนาที ทั้งสองสภาวะใช้อัตราการเพิ่มอุณหภูมิเท่ากับ 10 องศาเซลเซียสต่อนาที ควบคุมอุณหภูมิที่ 200 และ 500 องศาเซลเซียสให้คงที่เป็นเวลานาน 5 ชั่วโมง ในการศึกษาใช้สัญลักษณ์ในการบ่งชี้วัสดุดังนี้ GAC คือ วัสดุที่เป็นถ่านกัมมันต์ที่ผ่านการเตรียมพื้นผิว 5%Fe/

GAC(200Air) คือตัวเร่งปฏิกิริยาที่ผ่านการแคลไซน์ที่สภาวะบรรยากาศปกติที่อุณหภูมิ 200 องศาเซลเซียส และ5%Fe/GAC(500N_2) คือตัวเร่งปฏิกิริยาที่ผ่านการแคลไซน์ที่สภาวะการไหลของแก๊สไนโตรเจนที่อุณหภูมิ 500 องศาเซลเซียส Fresh แสดงถึงการทดสอบในครั้งแรกโดยใช้เวลาทดสอบนาน 6 ชั่วโมง 1st reused คือการนำถ่านกัมมันต์หรือตัวเร่งปฏิกิริยาที่ผ่านการทดสอบครั้งแรก (fresh) มาทดลองในสารละลายที่เตรียมใหม่โดยใช้สภาวะทดลองเหมือนครั้งแรก 2nd reused คือการนำถ่านกัมมันต์หรือตัวเร่งปฏิกิริยาที่ผ่านการทดสอบครั้งที่สอง (1st reused) มาทดลองในสารละลายที่เตรียมใหม่โดยใช้สภาวะทดลองเหมือนครั้งแรก ในการทดลองทั้งหมดถ่านกัมมันต์และตัวเร่งปฏิกิริยาที่ผ่านการแคลไซน์แล้วจะเก็บในตู้ดูดความชื้นอัตโนมัติก่อนนำไปใช้งาน

ทำการศึกษาคุณลักษณะของถ่านกัมมันต์และตัวเร่งปฏิกิริยาที่ผ่านการแคลไซน์ทั้งสองสภาวะด้วยเครื่องวัดพื้นที่ผิวและความพรุน (ยี่ห้อ BEL JAPAN รุ่น Belsorp-max) ที่อุณหภูมิ -196 องศาเซลเซียส โดยกำจัดแก๊สออกจากตัวอย่างที่อุณหภูมิ 200 องศาเซลเซียส นาน 2 ชั่วโมง ภายใต้สภาวะสุญญากาศก่อนทำการวัด คำนวณพื้นที่ผิวและปริมาตรของรูพรุนด้วยสมการเบต (BET method) พิจารณาค่าการกระจายขนาดของรูพรุน (pore size distribution) ตามวิธีการของเอ็มพีพล็อต (MP-plot method)

2. การศึกษาประสิทธิภาพในการดูดซับฟีนอลด้วยถ่านกัมมันต์และตัวเร่งปฏิกิริยา

ทำการศึกษาการดูดซับฟีนอลในระบบปฏิกรณ์ฟลูอิดไดซ์เบดแบบสามวัฏภาคดังแสดงในรูปที่ 1 ถังปฏิกรณ์ส่วนที่บรรจุถ่านกัมมันต์หรือตัวเร่งปฏิกิริยามีปริมาตร 272 มิลลิลิตร ทำจากวัสดุที่เป็นอะครีลิคซึ่งง่ายต่อการสังเกตการเปลี่ยนแปลงที่เกิดขึ้นในถังปฏิกรณ์ เส้นผ่านศูนย์กลางภายในและความสูงของถังปฏิกรณ์เท่ากับ 40 และ 300 มิลลิเมตร ตามลำดับ เติมสารละลายฟีนอลความเข้มข้นเริ่มต้น 10 มิลลิกรัมต่อลิตร ปริมาตรสารละลาย 6000 มิลลิลิตร ลงในถังเตรียมสารละลายฟีนอล เติมอากาศโดยใช้ปั๊มอากาศและป้อนสารละลายฟีนอลเข้าระบบอย่างต่อเนื่องในทิศไหลขึ้นโดยมีอัตราการไหลคงที่ 2 และ 1 ลิตรต่อนาที ตามลำดับ อัตราส่วนระหว่างน้ำหนักของถ่านกัมมันต์หรือตัวเร่งปฏิกิริยาต่อปริมาตรของสารละลายฟีนอลเท่ากับ 0.83 กรัมต่อลิตร ควบคุมอุณหภูมิของระบบให้คงที่ที่ 30 องศาเซลเซียส เก็บตัวอย่างเพื่อนำมาวิเคราะห์ตามเวลาที่กำหนด ระยะเวลาที่ใช้ทดสอบการดูดซับในแต่ละการทดลองเท่ากับ 6 ชั่วโมง

3. การวิเคราะห์ปริมาณฟีนอลในตัวอย่าง

นำสารละลายตัวอย่างที่เก็บได้มากรองผ่านกระดาษกรองชนิดไนลอนขนาด 0.45 ไมครอน เพื่อแยกของแข็งออกจากตัวอย่างก่อนนำไปวิเคราะห์ตรวจวิเคราะห์เอกลักษณ์และปริมาณของฟีนอลโดยเครื่องโครมาโทกราฟชนิดของเหลวประสิทธิภาพสูง (HPLC ยี่ห้อ Shimadzu รุ่น LC-20A) ด้วยสัญญาณของตัวตรวจวัดชนิดไดโอดอาร์เรย์ (diode array detector) วัดค่าการดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 254 นาโนเมตร คอลัมน์ที่ใช้งาน (stationary phase) เป็นชนิดคาร์บอน 18 (C18, Inertsil ODS-3 อนุภาคมีขนาด 5 ไมครอน บรรจุในคอลัมน์ขนาด 4.6x250 มิลลิเมตร) เฟสเคลื่อนที่ (mobile phase) เป็นสารผสมระหว่างสารละลายกรดซัลฟูริกเข้มข้น 4 มิลลิโมลาร์กับอะซิโตไนไตรล์มีอัตราส่วนโดยปริมาตร 4 ต่อ 1 อัตราการไหลของเฟสเคลื่อนที่ 1.5 มิลลิลิตรต่อนาที

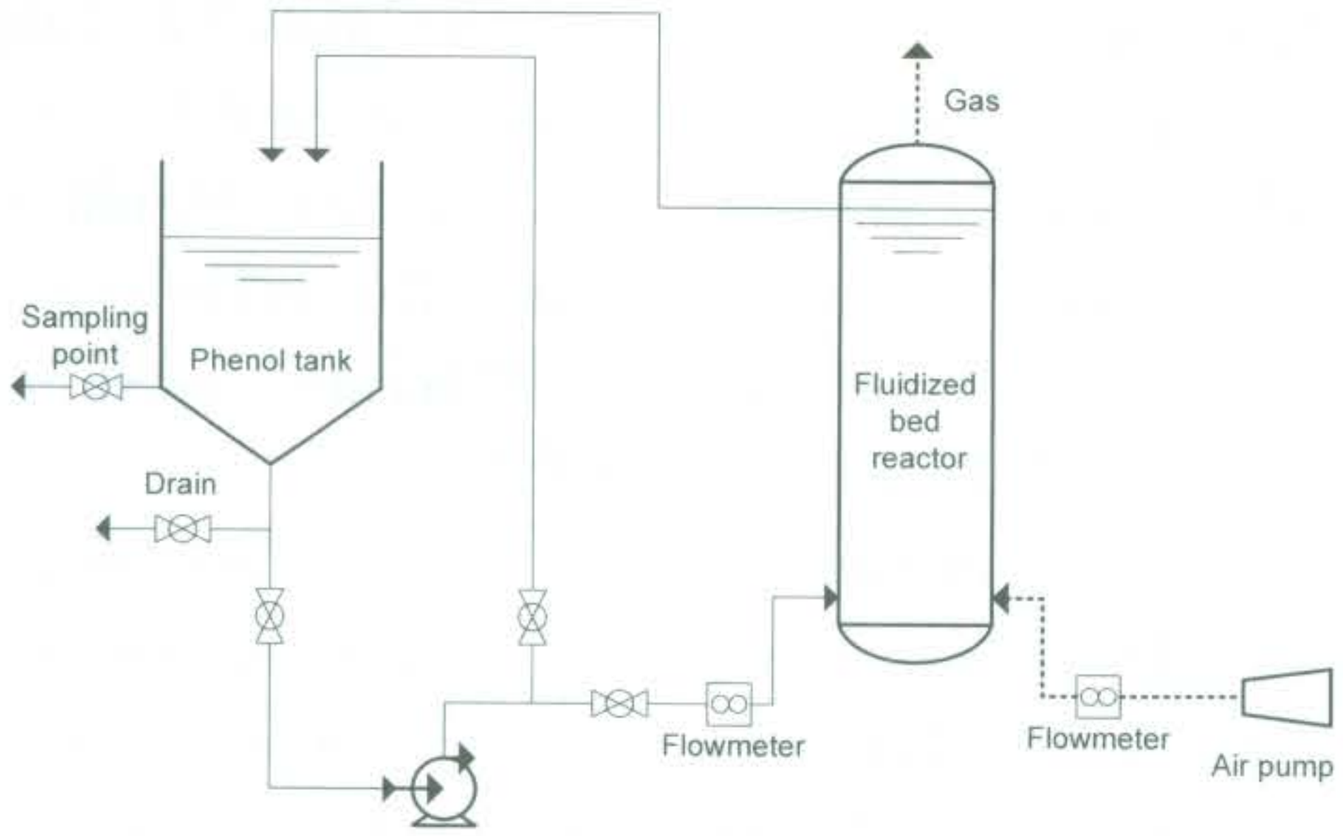
4. การวิเคราะห์ข้อมูล

ทำการวิเคราะห์ข้อมูลการดูดซับ โดยพิจารณาจลนพลศาสตร์การดูดซับอันดับหนึ่งเทียม (pseudo-first order) และอันดับสองเทียม (pseudo-second order) ตามสมการที่ 1 และ 2 ดังนี้

$$\log(q_e - q_t) = \log q_e - \frac{k_1 t}{2.303} \quad (1)$$

$$\frac{t}{q_t} = \frac{1}{k_2 q_e^2} + \frac{t}{q_e} \quad (2)$$

เมื่อ q_e และ q_t คือความสามารถในการดูดซับที่ระยะเวลาสมดุลและที่เวลาใดๆ (มิลลิกรัมของฟีนอลต่อกรัมของตัวดูดซับ) ตามลำดับ t คือเวลาในการทดลอง (นาที) k_1 และ k_2 คือค่าคงที่ของการดูดซับอันดับหนึ่งและอันดับสอง ตามลำดับ



รูปที่ 1 ระบบปฏิกรณ์ฟลูอิดไดซ์เบดแบบสามวัฏภาคในการศึกษาการดูดซับฟีนอล

ผลและการวิเคราะห์ผล

ผลการทดลองมีทั้งหมด 2 ส่วนคือ

1. คุณลักษณะของถ่านกัมมันต์และตัวเร่งปฏิกิริยา

คุณลักษณะของถ่านกัมมันต์และตัวเร่งปฏิกิริยาเหล็กออกไซด์ที่ปริมาณเหล็กไนเตรทเท่ากับร้อยละ 5 โดยน้ำหนัก ที่ผ่านการแคลไซน์ทั้งสองสภาวะแสดงดังตารางที่ 1

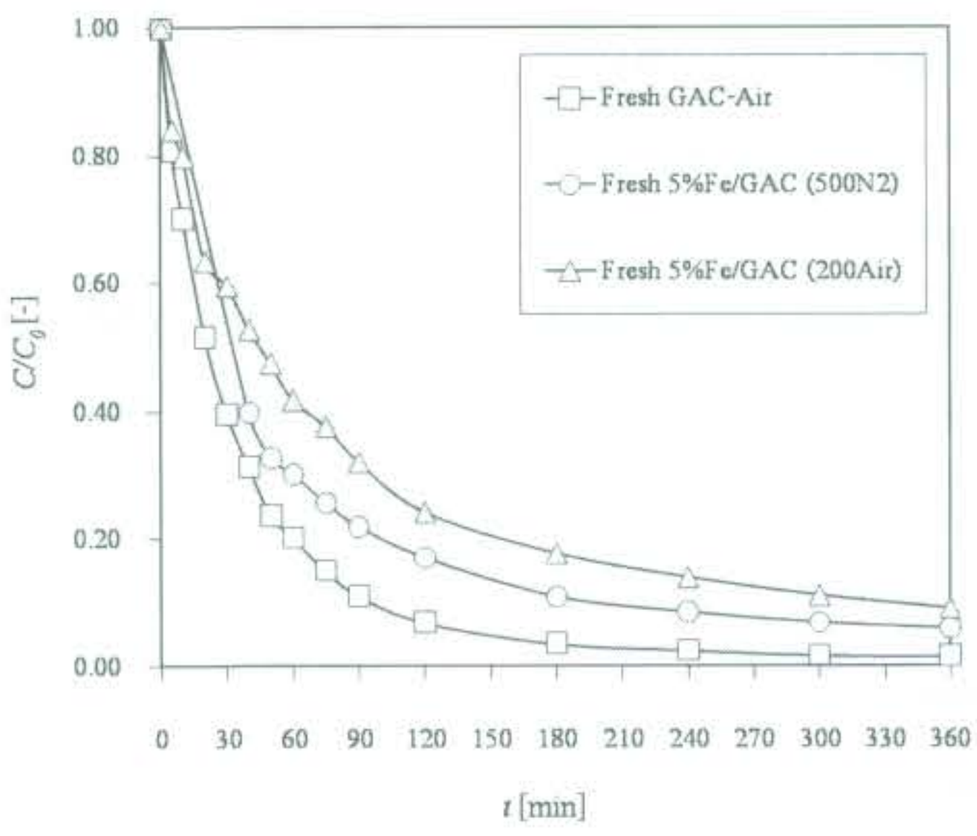
ตารางที่ 1 คุณลักษณะของถ่านกัมมันต์และตัวเร่งปฏิกิริยา

คุณลักษณะ	**ถ่านกัมมันต์**	**ตัวเร่งปฏิกิริยาเหล็กออกไซด์แคลไซน์ภายใต้**	
		สภาวะการไหลของแก๊สไนโตรเจน 500 องศาเซลเซียส	**บรรยากาศปกติ 200 องศาเซลเซียส**
พื้นที่ผิว (ตารางเมตรต่อกรัม)	1154	1081	1067
ขนาดรูพรุน (นาโนเมตร)	0.60	0.70	0.70
ปริมาตรรูพรุน (ลูกบาศก์เซนติเมตรต่อกรัม)	0.49	0.46	0.47

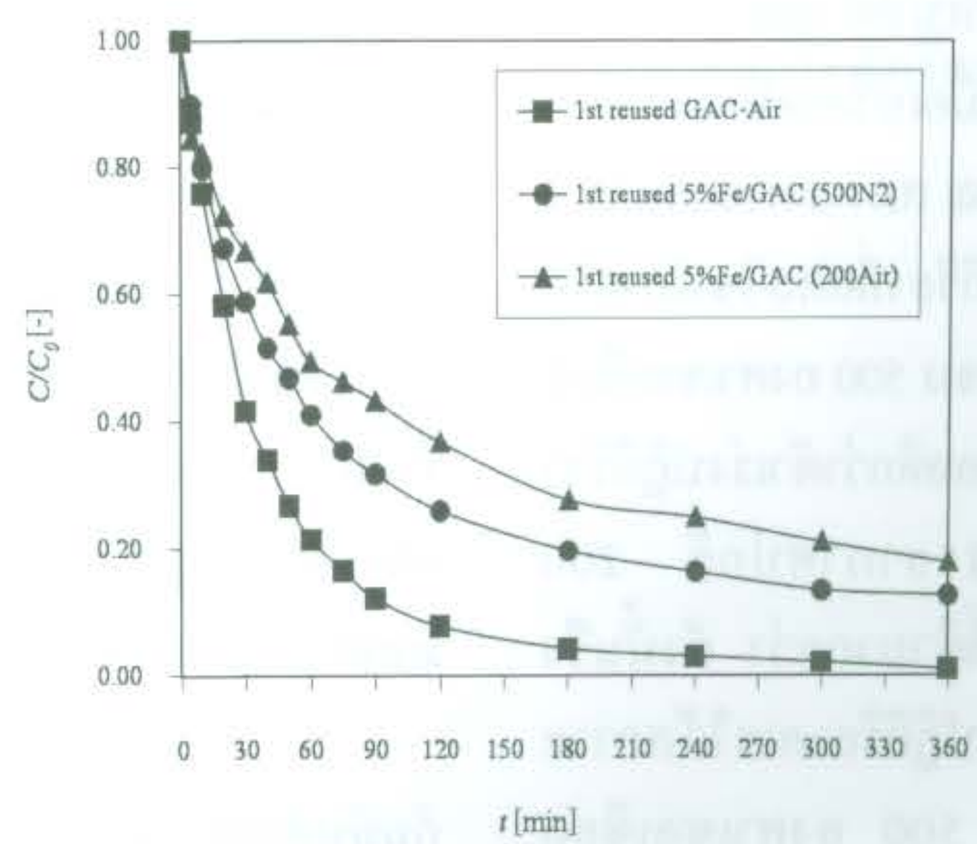
จากการศึกษาพบว่าทั้งถ่านกัมมันต์และตัวเร่งปฏิกิริยามีความเป็นรูพรุนในระดับเล็ก (micropore) ซึ่งมีขนาดรูพรุนน้อยกว่าสองนาโนเมตร จัดเป็นวัสดุดูดซับที่เหมาะสมในการนำมาใช้ดูดซับฟีนอลเนื่องจากโมเลกุลของฟีนอลมีขนาดเล็กในระดับนาโนเมตรเช่นเดียวกัน ถ่านกัมมันต์ หลังจากเคลือบด้วยตัวเร่งปฏิกิริยาเหล็กออกไซด์ที่ปริมาณเหล็กเท่ากับร้อยละ 5 โดยน้ำหนักที่ผ่านการแคลไซน์ภายใต้สภาวะการไหลของแก๊สไนโตรเจน 500 องศาเซลเซียสและภายใต้บรรยากาศปกติ 200 องศาเซลเซียส พบว่ามีพื้นที่ผิวน้อยกว่าถ่านกัมมันต์ประมาณร้อยละ 6.33 และ 7.54 ตามลำดับ และปริมาตรรูพรุนลดลงเช่นกัน เนื่องจากโมเลกุลของเหล็กไปอุดขวางรูพรุน แต่ตัวเร่งปฏิกิริยาที่ผ่านการแคลไซน์ทั้งสองสภาวะมีขนาดของรูพรุนใหญ่กว่าถ่านกัมมันต์เนื่องจากอุณหภูมิที่ใช้ในระหว่างการแคลไซน์ส่งผลให้โครงสร้างของถ่านกัมมันต์ยุบตัวลงทำให้รูพรุนมีขนาดที่ใหญ่ขึ้น

2. ประสิทธิภาพในการดูดซับฟีนอลของถ่านกัมมันต์เปรียบเทียบกับตัวเร่งปฏิกิริยาที่ผ่านการแคลไซน์ที่สภาวะต่างกัน

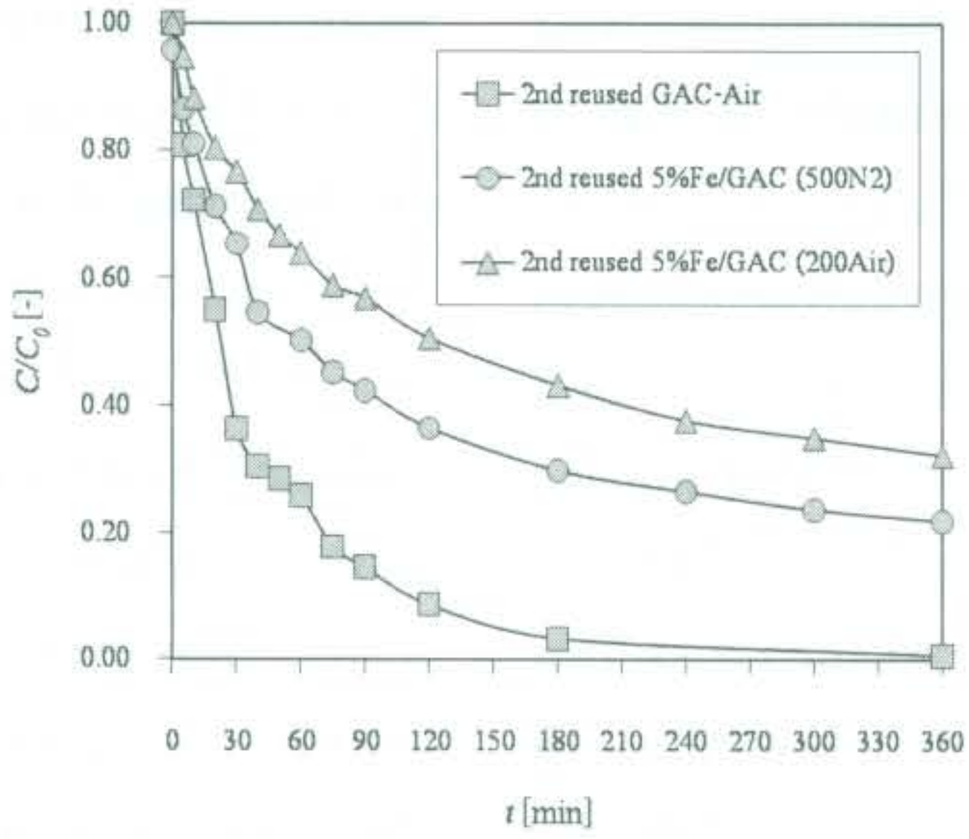
ประสิทธิภาพในการดูดซับฟีนอลที่ความเข้มข้น 10 มิลลิกรัมต่อลิตรในระบบปฏิกรณ์ฟลูอิดไดซ์เบดแบบสามวัฏภาคด้วยการดูดซับโดยใช้ถ่านกัมมันต์และตัวเร่งปฏิกิริยาในการทดลองครั้งที่ 1 2 และ 3 ดังแสดงในรูปที่ 2 ถึง 4 ตามลำดับ



รูปที่ 2 กราฟแสดงความสัมพันธ์ระหว่างความเข้มข้นของฟีนอลกับเวลา ณ การทดสอบในครั้งที่ 1 (fresh)



รูปที่ 3 กราฟแสดงความสัมพันธ์ระหว่างความเข้มข้นของฟีนอลกับเวลา ณ การทดสอบในครั้งที่ 2 (1st reused)

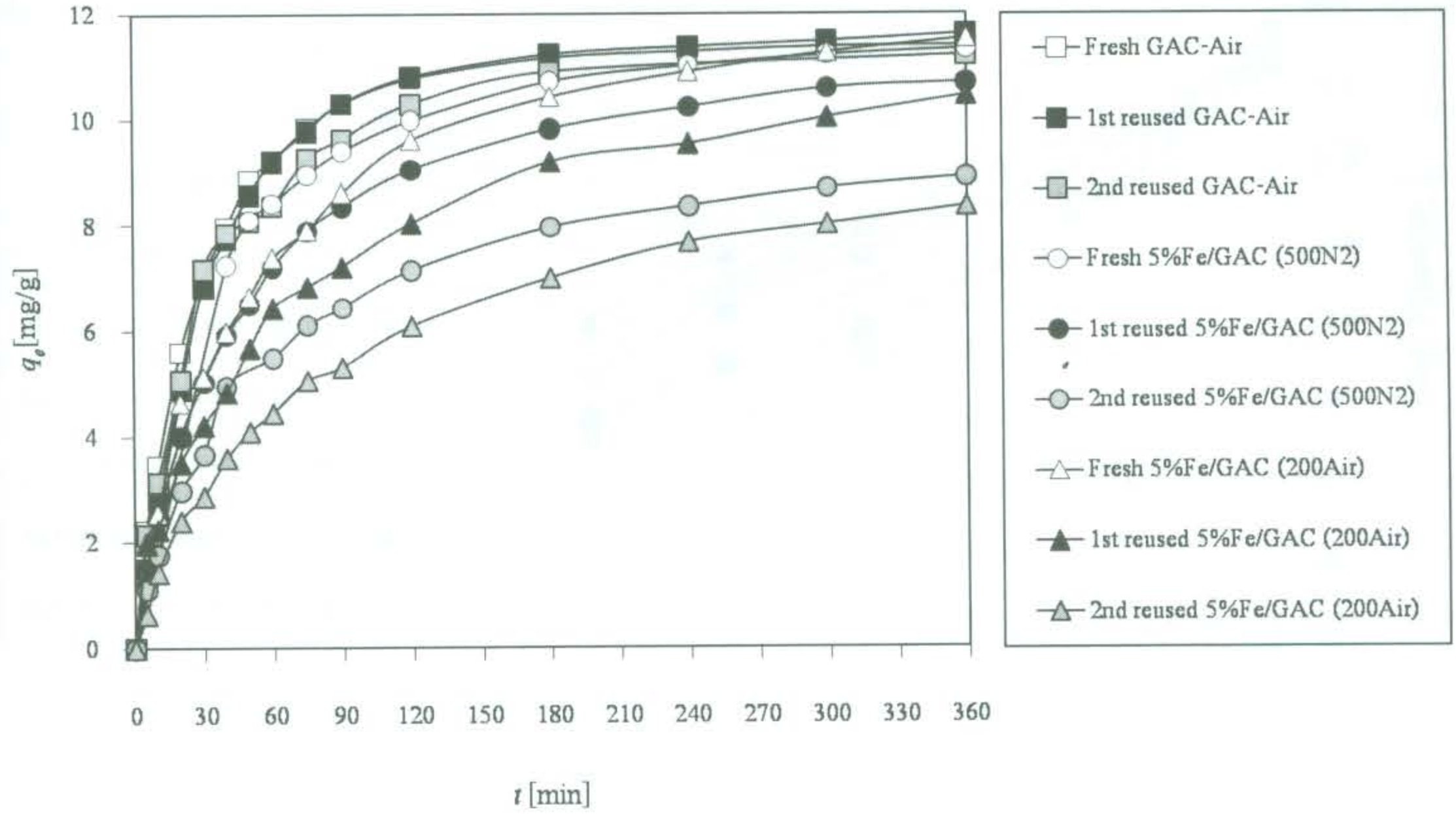


รูปที่ 4 กราฟแสดงความสัมพันธ์ระหว่างความเข้มข้นของฟีนอลกับเวลา ณ การทดสอบในครั้งที่ 3 (2^{nd} reused)

กลไกในการกำจัดฟีนอลเป็นผลโดยตรงจากกระบวนการดูดซับ โมเลกุลของฟีนอลจะเกิดการถ่ายเทมวลจากสารละลายและถูกดูดซับลงบนพื้นผิวและในรูพรุนของถ่านกัมมันต์หรือตัวเร่งปฏิกิริยา จากการศึกษาการกำจัดฟีนอลโดยการดูดซับของถ่านกัมมันต์เปรียบเทียบกับตัวเร่งปฏิกิริยาที่ผ่านการแคลไซน์ภายใต้สภาวะการไหลของแก๊สไนโตรเจน 500 องศาเซลเซียสและตัวเร่งปฏิกิริยาที่ผ่านการแคลไซน์ภายใต้บรรยากาศปกติที่อุณหภูมิ 200 องศาเซลเซียส พบว่าค่าร้อยละการกำจัดฟีนอลในการทดลองครั้งที่ 1 ณ เวลา 360 นาทีมีค่าเท่ากับ 98 และ 94 และ 91 ตามลำดับ ถ่านกัมมันต์ให้ผลการกำจัดฟีนอลได้ดีกว่า แสดงถึงความสามารถในการดูดซับโมเลกุลของฟีนอลได้มากกว่า เนื่องจากถ่านกัมมันต์มีพื้นที่ผิวและปริมาตรรูพรุนมากกว่าตัวเร่งปฏิกิริยา เมื่อเปรียบเทียบผลการดูดซับฟีนอลของตัวเร่งปฏิกิริยา ณ สภาวะการแคลไซน์ทั้ง 2 สภาวะ พบว่าตัวเร่งปฏิกิริยาที่แคลไซน์ภายใต้สภาวะการไหลของแก๊สไนโตรเจน 500 องศาเซลเซียส มีประสิทธิภาพในการดูดซับฟีนอลดีกว่าตัวเร่งปฏิกิริยาที่ผ่านการแคลไซน์ภายใต้บรรยากาศปกติ 200 องศาเซลเซียส เนื่องจากมีพื้นที่ผิวมากกว่า ดังนั้นจึงเลือกสภาวะการแคลไซน์ตัวเร่งปฏิกิริยาภายใต้สภาวะการไหลของแก๊สไนโตรเจน 500 องศาเซลเซียส เนื่องจากเป็นบรรยากาศที่ไม่มีออกซิเจนเพื่อหลีกเลี่ยงการเกิดออกซิเดชันของถ่าน กัมมันต์ ซึ่งเป็นเหตุให้โครงสร้างของถ่านกัมมันต์เสียหายในขั้นตอนการเตรียมตัวเร่งปฏิกิริยาเพื่อนำไปใช้ในการศึกษาต่อไป

การเพิ่มจำนวนครั้งในการใช้ซ้ำทั้งถ่านกัมมันต์และตัวเร่งปฏิกิริยาที่ผ่านการแคลไซน์ทั้งสองสภาวะ ส่งผลให้ประสิทธิภาพการดูดซับฟีนอลลดลงเช่นเดียวกัน พิจารณาจากค่าร้อยละการกำจัดฟีนอลของถ่านกัมมันต์ ณ เวลา 60 นาทีในการทดลองครั้งที่ 1 และ 2 และ 3 เท่ากับร้อยละ 80 และ 79 และ 74 ตามลำดับ ตัวเร่งปฏิกิริยาที่ผ่านการแคลไซน์ภายใต้สภาวะการไหลของแก๊สไนโตรเจน 500 องศาเซลเซียส ณ เวลา 60 นาที ให้ผลการกำจัดคือร้อยละ 70 และ 59 และ 50 ตามลำดับ ในขณะที่ตัวเร่งปฏิกิริยาที่ผ่านการแคลไซน์ภายใต้บรรยากาศปกติที่อุณหภูมิ 200 องศาเซลเซียส ให้ผลการดูดซับคือ ร้อยละ 58 และ 51 และ 36 ตามลำดับ จากค่าร้อยละการดูดซับฟีนอลข้างต้นพบว่า เมื่อมีการใช้ซ้ำมากขึ้น ถ่านกัมมันต์ยังคงมีประสิทธิภาพในการกำจัดฟีนอลดีกว่าตัวเร่งปฏิกิริยาที่ผ่านการแคลไซน์ทั้งสองสภาวะ เป็นผลจากพื้นที่ผิวและปริมาตรรูพรุนในการดูดซับฟีนอลของถ่านกัมมันต์มากกว่าตัวเร่งที่ผ่านการแคลไซน์ทั้งสองสภาวะนั่นเอง

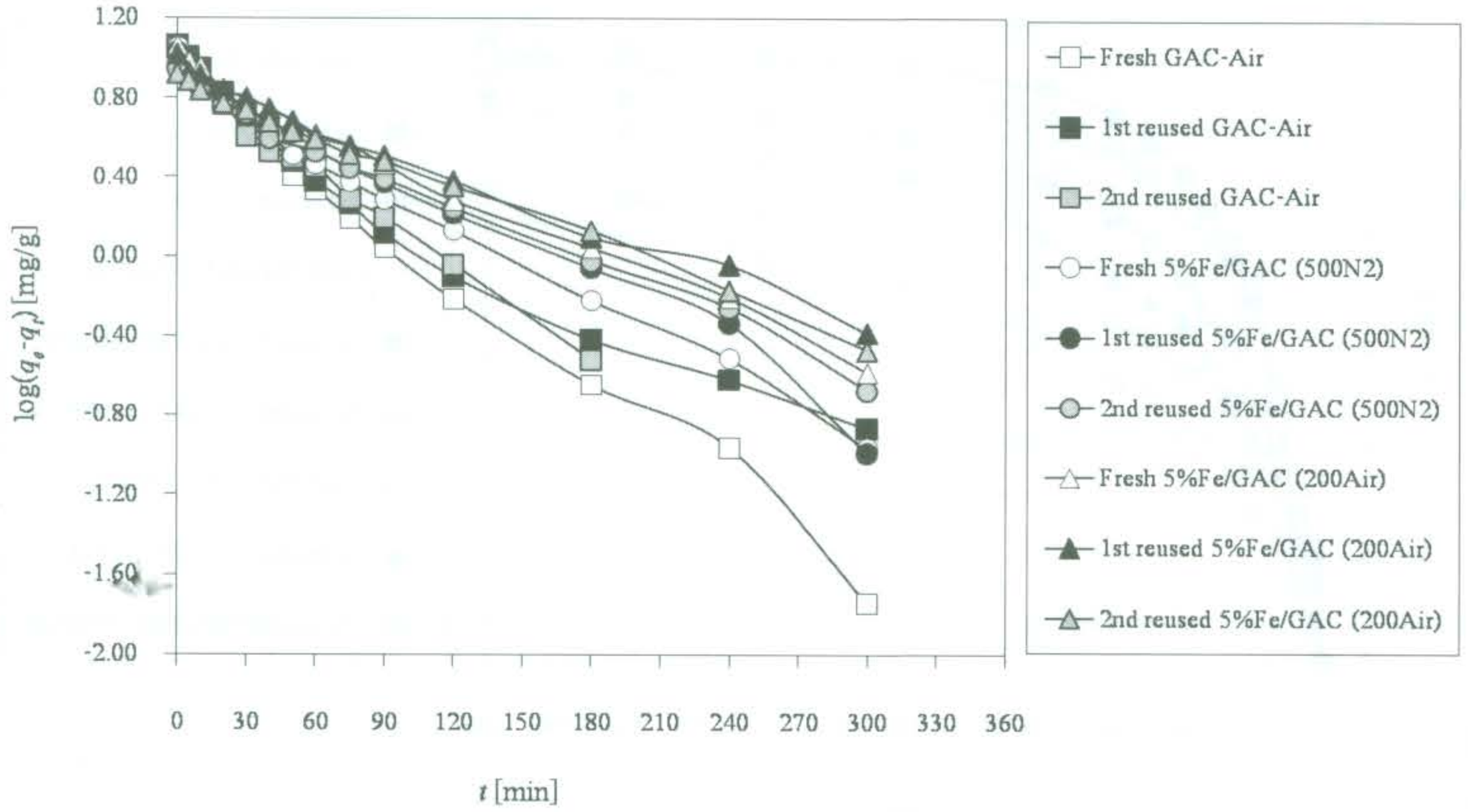
ความสามารถในการดูดซับฟีนอลของถ่านกัมมันต์และตัวเร่งปฏิกิริยาเทียบกับเวลาในการทดลองครั้งที่ 1 2 และ 3 แสดงดังรูปที่ 5



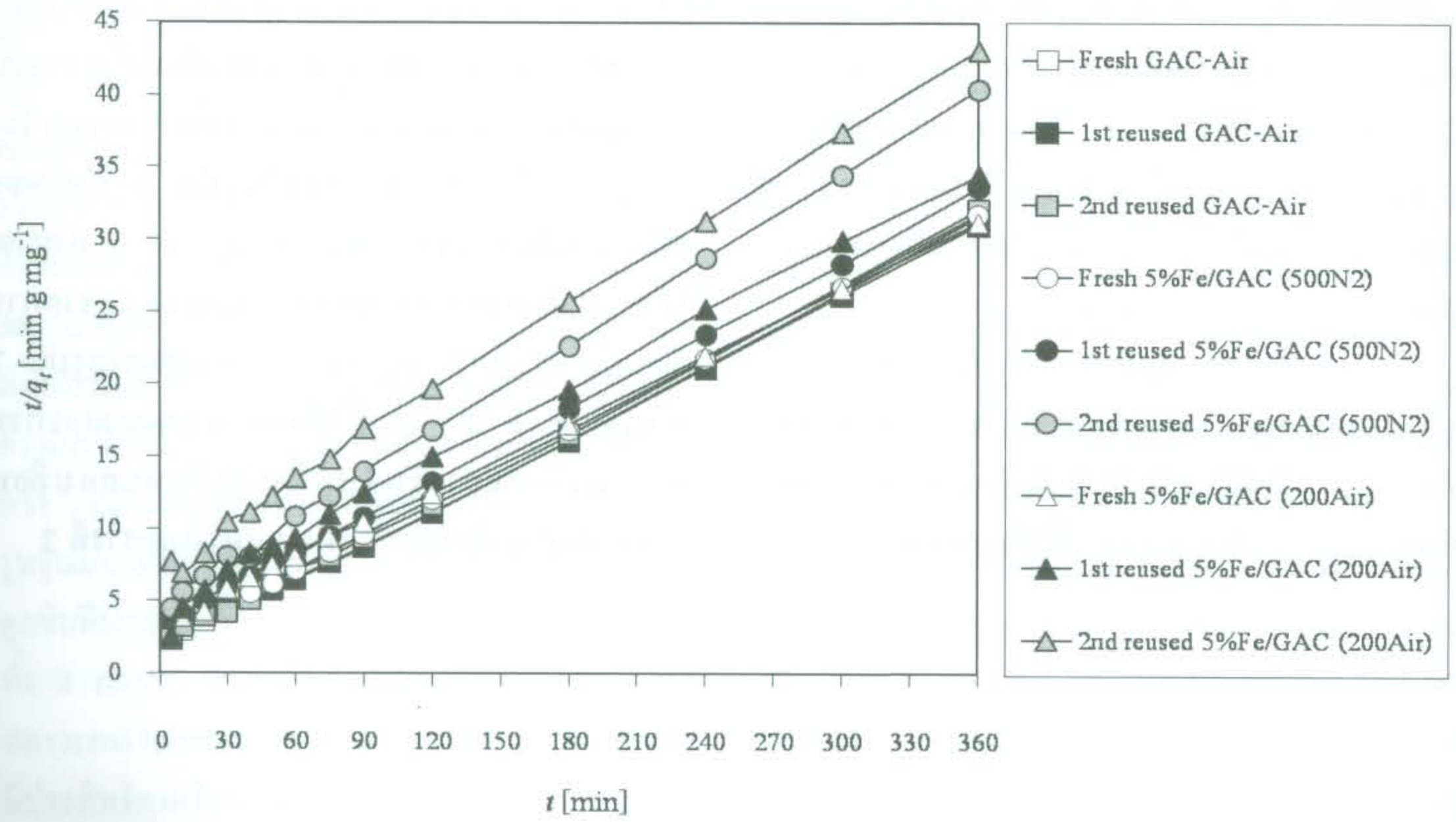
รูปที่ 5 กราฟแสดงความสามารถในการดูดซับฟีนอลของถ่านกัมมันต์และตัวเร่งปฏิกิริยาเทียบกับเวลา

จากรูปพบว่าความสามารถในการดูดซับฟีนอลของถ่านกัมมันต์และตัวเร่งปฏิกิริยาเทียบกับเวลา พบว่าถ่านกัมมันต์ที่ทำการทดลองครั้งแรกให้ผลการดูดซับดีที่สุดเมื่อเทียบกับถ่านกัมมันต์และตัวเร่งปฏิกิริยาในกรณีอื่นๆ และการดูดซับจะเกิดการอิ่มตัวเมื่อเวลาในการทดลองเท่ากับ 360 นาที

กลไกในการดูดซับของถ่านกัมมันต์และตัวเร่งปฏิกิริยาพิจารณาได้โดยใช้แบบจำลองจลนพลศาสตร์ทั้งอันดับหนึ่งเทียมและอันดับสองเทียมเพื่อเปรียบเทียบค่าความสามารถในการดูดซับที่ได้จากการคำนวณและที่ได้จากการทดลอง ในกรณีของสมการอันดับหนึ่งเทียมพบว่า ค่า k_1 และ q_e คำนวณได้จากค่าความชันและจุดตัดแกนแนวตั้งของกราฟที่พล็อตระหว่าง $\log(q_e-q_t)$ กับเวลา ดังแสดงในรูปที่ 6 กรณีของสมการอันดับสองเทียม พบว่าค่า k_2 และ q_e คำนวณได้จากค่าความชันและจุดตัดแกนแนวตั้ง จากการเขียนกราฟระหว่าง t/q_t กับเวลา ดังแสดงในรูปที่ 7 ค่าคงที่ k_1 k_2 ค่า q_e ที่ได้จากการทดลองและการคำนวณจากสมการอันดับหนึ่งและอันดับสองเทียมและค่าสัมประสิทธิ์สหสัมพันธ์แสดงในตารางที่ 2



รูปที่ 6 กราฟแสดงสมการอันดับหนึ่งเทียมในการดูดซับฟีนอลของถ่านกัมมันต์และตัวเร่งปฏิกิริยา



รูปที่ 7 กราฟแสดงสมการอันดับสองเทียมในการดูดซับฟีนอลของถ่านกัมมันต์และตัวเร่งปฏิกิริยา

ตารางที่ 2 ค่าความสามารถในการดูดซับค่าคงที่และค่าสัมประสิทธิ์สหสัมพันธ์ของถ่านกัมมันต์และตัวเร่งปฏิกิริยาที่ได้จากการทดลองและการคำนวณ

ถ่านกัมมันต์หรือตัวเร่งปฏิกิริยา	q_e(ทดลอง)	อันดับหนึ่งเทียม			อันดับสองเทียม		
		q_e(คำนวณ)	k_1	R^2	q_e(คำนวณ)	k_2	R^2
Fresh GAC-Air	11.40	8.38	0.0200	0.9870	12.20	0.0040	0.9992
1st reused GAC-Air	11.61	7.55	0.0150	0.9496	12.06	0.0035	0.9990
2nd reused GAC-Air	11.21	8.97	0.0193	0.9846	12.63	0.0030	0.9977
Fresh 5%Fe/GAC (500N_2)	11.34	7.61	0.0140	0.9848	12.21	0.0031	0.9999
1st reused 5%Fe/GAC (500N_2)	10.70	9.06	0.0140	0.9837	11.96	0.0021	0.9998
2nd reused 5%Fe/GAC (500N_2)	8.90	7.49	0.0117	0.9904	10.02	0.0021	0.9992
Fresh 5%Fe/GAC (200Air)	11.53	9.30	0.0120	0.9915	12.77	0.0019	0.9979
1st reused 5%Fe/GAC (200Air)	10.45	8.48	0.0101	0.9880	11.60	0.0018	0.9948
2nd reused 5%Fe/GAC (200Air)	8.35	7.56	0.0101	0.9959	9.87	0.0014	0.9981

พิจารณาแบบจำลองจลนพลศาสตร์ทั้งอันดับหนึ่งเทียมและอันดับสองเทียม พบว่าค่าสัมประสิทธิ์สหสัมพันธ์ของสมการอันดับสองเทียมมีค่าสูงกว่าสมการอันดับหนึ่งเทียม ทั้งค่าความสามารถในการดูดซับที่ได้จากการคำนวณจากสมการอันดับสองเทียมยังมีค่าใกล้เคียงกับค่าความสามารถในการดูดซับที่ได้จากการทดลองมากกว่าสมการอันดับหนึ่งเทียม แสดงให้เห็นว่ากลไกในการดูดซับฟีนอลของถ่านกัมมันต์และตัวเร่งปฏิกิริยาทั้งสองสภาวะเป็นไปตามสมการอันดับสองเทียม

จากการศึกษาพบว่าถ่านกัมมันต์ที่ใช้ในการดูดซับฟีนอลในครั้งแรกให้ผลการดูดซับดีที่สุด แต่ในระบบบำบัดน้ำเสียอุตสาหกรรมการเปลี่ยนถ่านกัมมันต์ให้เป็นถ่านกัมมันต์ใหม่ทุกครั้งที่เริ่มระบบบำบัดน้ำเสียไม่สามารถกระทำได้ เนื่องจากมีความยุ่งยากในการปฏิบัติงานทั้งยังมีค่าใช้จ่ายเพิ่มขึ้น ดังนั้นระบบบำบัดน้ำเสียฟีนอลที่ใช้แก๊สโอโซนทำปฏิกิริยาโอโซเนชันจึงเป็นทางเลือกหนึ่งเนื่องจากเป็นระบบที่ค่าใช้จ่ายต่ำ การศึกษาระบบบำบัดน้ำเสียฟีนอลโดยใช้ถ่านกัมมันต์ร่วมกับแก๊สโอโซนจะนำเสนอในบทความต่อไป

บทสรุปผลการทดลอง

จากการศึกษาผลของสภาวะการแคลไซน์ที่มีต่อการดูดซับน้ำเสียฟีนอลของตัวเร่งปฏิกิริยาได้ข้อสรุปเพื่อใช้เป็นแนวทางในการศึกษาขั้นตอนต่อไปดังนี้

1. ถ่านกัมมันต์ที่เคลือบด้วยตัวเร่งปฏิกิริยาเหล็กออกไซด์และผ่านการแคลไซน์ภายใต้สภาวะการไหลของแก๊สไนโตรเจน 500 องศาเซลเซียสและภายใต้บรรยากาศปกติ 200 องศาเซลเซียส มีพื้นที่ผิวและปริมาตรรูพรุนน้อยกว่าถ่านกัมมันต์ เนื่องจากโมเลกุลของเหล็กไปอุดขวางรูพรุน

2. ถ่านกัมมันต์มีความสามารถในการดูดซับโมเลกุลของฟีนอลได้มากกว่าตัวเร่งปฏิกิริยาที่ผ่านการแคลไซน์ทั้งสองสภาวะ เนื่องจากถ่านกัมมันต์มีพื้นที่ผิวและปริมาตรรูพรุนมากกว่าตัวเร่งปฏิกิริยา

3. ตัวเร่งปฏิกิริยาที่แคลไซน์ภายใต้สภาวะการไหลของแก๊สไนโตรเจน 500 องศาเซลเซียส มีประสิทธิภาพในการดูดซับฟีนอลดีกว่าตัวเร่งปฏิกิริยาที่ผ่านการแคลไซน์ภายใต้บรรยากาศปกติ 200 องศาเซลเซียส เนื่องจากมีพื้นที่ผิวมากกว่า

4. การแคลไซน์ตัวเร่งปฏิกิริยาภายใต้สภาวะการไหลของแก๊สไนโตรเจนที่อุณหภูมิ 500 องศาเซลเซียส เป็นสภาวะแคลไซน์ที่เหมาะสมในการเตรียมตัวเร่งปฏิกิริยาเพื่อนำไปใช้ในการศึกษาขั้นต่อไป

5. การเพิ่มจำนวนครั้งในการใช้ซ้ำทั้งถ่านกัมมันต์และตัวเร่งปฏิกิริยาที่ผ่านการแคลไซน์ทั้งสองสภาวะ ส่งผลให้ประสิทธิภาพการดูดซับฟีนอลลดลง แต่ถ่านกัมมันต์ยังคงมีประสิทธิภาพในการกำจัดฟีนอลดีกว่าตัวเร่งปฏิกิริยาที่ผ่านการแคลไซน์ทั้งสองสภาวะ

6. กลไกในการดูดซับฟีนอลของถ่านกัมมันต์และตัวเร่งปฏิกิริยาเป็นไปตามสมการอันดับสองเทียม

กิตติกรรมประกาศ

คณะวิจัยขอขอบคุณศูนย์นาโนเทคโนโลยีแห่งชาติ และสำนักงานพัฒนาวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยีแห่งชาติที่ให้ทุนอุดหนุนการวิจัย ทั้งสนับสนุนอุปกรณ์และเครื่องมือในการวิจัย

เอกสารอ้างอิง

Britto, J. M., Oliveira, S. B., Rabelo, D. and Rangel, M. C. (2008). Catalytic wet peroxide oxidation of phenol from industrial wastewater on activated carbon. Catalysis Today. 133-135: 582-587.

Chaliha, S. and Bhattacharyya, K. G. (2008). Wet oxidative method for removal of 2,4,6-trichlorophenol in water using Fe(III), Co(II), Ni(II) supported MCM41 catalysts. Journal of Hazardous Materials. 150: 728-736.

Chaliha, S. and Bhattacharyya, K. G. (2009). Fe(III), Co(II)- and Ni(II)-impregnated MCM41 for wet oxidative destruction of 2,4-dichlorophenol in water. Catalysis Today. 141: 225-233.

Faria, P. C. C., Monteiro, D. C. M., Orfao, J. J. M., and Pereira, M. F. R. (2009). Cerium, manganese and cobalt oxides as catalysts for the ozonation of selected organic compounds. Chemosphere. 74: 818-824.

Pinna, Francesco. (1998). Supported metal catalysts preparation. Catalysis Today. 41: 129-13.

Yamamoto, T., Kim, S., Chaichanawong, J., Apiluck, E. and Ohmori, T. (2009). Removal of aqueous organic pollutants by adsorption-catalytic process using mesoporous carbon beads loaded with metal oxides. Applied Catalysis B: Environmental. 88: 455-461.

❑❑❑❑❑

ว.วิทย. มข. 39(2) 281-298 (2554) KKU Sci. J.39(2) 281-298 (2011)

KKU SCIENCE JOURNAL

ผลของสมบัติไพอิโซอิเล็กทริกในวัสดุ PZTs ต่อการเก็บเกี่ยวพลังงาน

Effect of Piezoelectric Properties of PZTs on Energy Harvesting

นิธิพจน์ พุทธงชัย[1] *ธนัดชัย กุลวรวานิชพงษ์*[2] *พิทักษ์ เหล่ารัตนกุล*[3]
และ สุธรรม ศรีหล่มสัก[1*]

บทคัดย่อ

วัสดุไพอิโซอิเล็กทริกสามารถนำมาใช้ในการเก็บเกี่ยวพลังงานกลจากสิ่งแวดล้อมให้มาอยู่ในรูปของพลังงานไฟฟ้าได้ซึ่งสามารถนำพลังงานที่ได้มาเก็บไว้ในตัวเก็บประจุหรือแบตเตอรี่ เพื่อใช้เป็นแหล่งจ่ายพลังงานให้กับอุปกรณ์อิเล็กทรอนิกส์ที่มีกำลังไฟฟ้าไม่สูงมาก งานวิจัยนี้ได้ศึกษาการเก็บเกี่ยวพลังงานของวัสดุไพอิโซอิเล็กทริก PZT ที่ทำเป็นแทรนส์ดิวเซอร์แบบ bulk เมื่อให้แรงทางกล 100 -500 นิวตัน (N) ความถี่ประมาณ 1 เฮิรตซ์ (Hz) พร้อมทั้งศึกษาวงจรไฟฟ้าที่นำพลังงานที่เก็บเกี่ยวได้ไปใช้

ผลการศึกษาพบว่าขนาดของแรงทางกลที่ให้ ความยาวของเส้นผ่านศูนย์กลางของ PZT อันตรกิริยาของความต้านทานภายนอกกับความยาวของเส้นผ่านศูนย์กลาง มีผลอย่างนัยสำคัญต่อกำลังไฟฟ้าที่เก็บเกี่ยวได้ โดยที่แทรนส์ดิวเซอร์ PZT ซึ่งมีเส้นผ่านศูนย์กลาง 8 มิลลิเมตร ที่ต่อกับความต้านทานภายนอก 25 เมกะโอห์ม (MΩ) สามารถเก็บเกี่ยวพลังงานไฟฟ้าได้ 2.53 ไมโครวัตต์ (μW) เมื่อได้รับแรงทางกล 500 นิวตัน ความถี่ทางกลประมาณ 1 เฮิรตซ์ และพบว่าวงจรเรียงกระแสครึ่งคาบแบบมีตัวกรองมีความเหมาะสมในการเก็บเกี่ยวพลังงาน

[1] สาขาวิชาวิศวกรรมเซรามิก สำนักวิชาวิศวกรรมศาสตร์ มหาวิทยาลัยเทคโนโลยีสุรนารี จ.นครราชสีมา 30000
[2] สาขาวิชาวิศวกรรมไฟฟ้า สำนักวิชาวิศวกรรมศาสตร์ มหาวิทยาลัยเทคโนโลยีสุรนารี จ.นครราชสีมา 30000
[3] ศูนย์เทคโนโลยีโลหะและวัสดุแห่งชาติ อุทยานวิทยาศาสตร์แห่งประเทศไทย จ.ปทุมธานี 12120
[*] Corresponding Author, E-mail address: sutamsri@sut.ac.th

Abstract

Piezoelectric material could be used to harvest mechanical energy from the surroundings and convert it into electrical energy. The acquired energy can then be stored in capacitors or used to charge batteries, which in turns serve as the energy supplies for low voltage electronic equipments. This research studied the energy harvested by bulk shape PZT piezoelectric transducer when a mechanical force of 100 – 500 N with mechanical frequency of about 1 Hz was applied. In addition, this work studied electrical circuits used to utilize the harvested energy.

The results showed that the applied mechanical force, PZT diameter and interaction between load resistance, which is in parallel connected to PZT and PZT diameter, have indicate significant effects on the harvested electrical energy. The 8 mm PZT transducer which is connected to 25 MΩ load resistance can acquire 2.53 μW electrical energy, when 500 N and 1 Hz mechanical force and frequency, respectively, were applied. It has also been found that the half wave rectifier circuit is suitable for utilizing the harvested energy.

คำสำคัญ : ไพอิโซอิเล็กทริก, การเก็บเกี่ยวพลังงาน

Keywords: Piezoelectric, energy harvesting

บทนำ

พลังงานถือเป็นสิ่งสำคัญของโลกและความมั่นคงของประเทศชาติ มีงานวิจัยจำนวนมากพยายามหาวิธีที่เก็บเกี่ยวพลังงานที่เหลือจากการใช้งานหรือยังไม่มีการสำรวจพบ อย่างไรก็ตามงานวิจัยที่ศึกษาก่อนหน้านี้ส่วนใหญ่แล้วมุ่งศึกษาถึงพลังงานจากแสงอาทิตย์ พลังงานลมที่มีการสูญเสียไปโดยเปล่าประโยชน์ในธรรมชาติ แต่ยังมีสิ่งที่น่าสนใจคือ ทำอย่างไรที่จะเก็บเกี่ยวพลังงานกลที่สูญเสียเปล่า เช่น พลังงานจากแรงกระแทกของเท้าจากการเดินหรือวิ่ง พลังงานกลการสั่นของเครื่องยนต์ พลังงานจากน้ำตก พลังงานกลจากการเคลื่อนไหวของร่างกายและอื่น ๆ วัสดุไพอิโซอิเล็กทริกมีความสามารถพิเศษในการเปลี่ยนพลังงานกลเป็นพลังงานไฟฟ้าได้ ดังนั้นจึงนำวัสดุไพอิโซอิเล็กทริกมาเก็บเกี่ยวพลังงานกลที่สูญเสียเปล่าจากสิ่งแวดล้อมให้อยู่ในรูปของพลังงานไฟฟ้า แล้วเก็บไว้ในตัวเก็บประจุหรือแบตเตอรี่แล้วนำไปใช้กับอุปกรณ์อิเล็กทรอนิกส์ที่มีแรงดันไฟฟ้าไม่สูง เช่น โทรศัพท์มือถือ เครื่องเล่น Mp3 MEMS เพราะว่าส่วนใหญ่แล้วอุปกรณ์อิเล็กทรอนิกส์แบบพกพาจำต้องมีแบตเตอรี่ที่สามารถประจุไฟได้

Lead Zirconate Titanate (PZT) เป็นวัสดุไพอิโซอิเล็กทริกที่รู้จักกันมาแล้วหลายปี โดยเฉพาะ PZT ที่มีองค์ประกอบทางเคมีใกล้กับ Morphotropic Phase Boundary (MPB) คือ $Pb(Zr_{0.52}\ Ti_{0.48})O_3$ อย่างไรก็ตาม PZT บริสุทธิ์มีสมบัติทางไฟฟ้าไม่ดี วิธีหนึ่งที่ปรับปรุงสมบัติทางไฟฟ้าของวัสดุ PZT คือการใส่ไอออนแปลกปลอม

เข้าไปแทนที่ไอออนหลักใน PZT ได้เป็น doped PZT ซึ่ง doped PZT ที่ใช้มากในปัจจุบันมีหลายตัว เช่น doped PZT ซึ่งมีชื่อทางการค้าว่า PZT-4 $(Pb_{0.94}\ Sr_{0.06})(Zr_{0.53}\ Ti_{0.47})O_3$ และ PZT-5A $(Pb_{0.988}\ (Ti_{0.48}\ Zr_{0.52})_{0.976}\ Nb_{0.024})O_3$ (Clevite, 1965) การศึกษาเกี่ยวกับการนำ PZT มาเก็บเกี่ยวพลังงานกลเริ่มมีขึ้นในปี 1996 (Starner, 1996; Fletscher, 1996) และมีการพัฒนาขึ้นเรื่อย ๆ (Shenck, 1999; Starner and Paradiso, 2004; Zurkinden, et al. 2007; Chen et al., 2006, 2007; Kim et al., 2005, 2007; Wischke et al., 2007; Sodano et al., 2002, 2004, 2005) ตัวอย่างงานวิจัยที่เกี่ยวข้อง Chen et al. (2007) ศึกษาการกำเนิดพลังงานไฟฟ้าของ PZT เซรามิกแบบแข็งตึง (stiff PZT ceramic) และวงจรสมมูล (equivalent circuit) พบว่าแรงดันไฟฟ้าที่เก็บเกี่ยวได้มีความสัมพันธ์โดยตรงกับแรงกระทำ Wischke et al. (2007) ศึกษาการกำเนิดพลังงานของวัสดุไพอิโซอิเล็กทริกแบบแผ่นที่โค้งงอได้ (piezoelectric disc benders) พบว่าแรงกระทำและการโค้งงอ (deflection) ของแผ่นไพอิโซอิเล็กทริกมีผลต่อแรงดันไฟฟ้าที่เก็บเกี่ยวได้ Sodano et al. (2005) ศึกษาการเก็บเกี่ยวพลังงานจากแท่ง PZT (monolithic PZT) พบว่าสามารถประจุไฟฟ้าใส่แบตเตอรี่ได้ดีขึ้นเมื่อให้ความถี่การสั่นแบบสุ่ม (0-500 Hz) Kim et al. (2005,2007) ศึกษาการเก็บเกี่ยวพลังงานจากแทรนส์ดิวเซอร์ไพอิโซอิเล็กทริกรูปฉาบ (Cymbal piezoelectric transducer) โดยให้แรง 70 นิวตัน ความถี่ 100 เฮิรตซ์ พบว่าสามารถผลิตกำลังไฟฟ้าได้ 52 มิลลิวัตต์ (mW) และพบว่าค่า figure of merit $(d_{31}{}^{*}g_{31})$ มีผลต่อพลังงานไฟฟ้าที่เก็บเกี่ยวได้ นอกจากนี้เขายังพบว่าแทรนส์ดิวเซอร์ (transducer) ที่เรียงซ้อนกันหลาย ๆ ชั้น (multilayer) สามารถเก็บเกี่ยวพลังงานไฟฟ้ามากกว่าแทรนส์ดิวเซอร์แบบชั้นเดียว (single layer) อย่างไรก็ตาม ที่ผ่านมาไม่มีงานวิจัยที่ศึกษาการเก็บเกี่ยวพลังงานกลที่เกิดจากการให้แรงที่มากกว่า 300 N และความถี่ต่ำ ๆ (ประมาณ 1 Hz) และไม่มีการนำเสนอโปรแกรมทางสถิติมาออกแบบและวิเคราะห์ผลการทดลอง งานวิจัยนี้จึงศึกษาการเก็บเกี่ยวพลังงานกลจากวัสดุไพอิโซอิเล็กทริก PZT โดยออกแบบการทดลองและวิเคราะห์ผลการทดลองด้วยโปรแกรมทางสถิติเพื่อตรวจสอบผลของปัจจัยต้น (independent variables) และอันตรกิริยา (interaction) ระหว่างปัจจัยต้นต่อกำลังไฟฟ้าที่ PZT เก็บเกี่ยวได้ นอกจากนี้ยังได้ศึกษาวงจรไฟฟ้าที่ใช้ในการนำพลังงานไฟฟ้าที่เก็บเกี่ยวได้ไปประจุไฟใส่ในตัวเก็บประจุไฟฟ้า แบตเตอรี่หรือนำไปจุดหลอด LED ผลที่จะได้คือจะทำให้ทราบว่าปัจจัยใดและอันตรกิริยาระหว่างปัจจัยใดที่มีผลอย่างนัยสำคัญต่อพลังงานไฟฟ้าที่เก็บเกี่ยวได้ และทราบว่าวงจรไฟฟ้าแบบใดที่เหมาะสมสำหรับนำไปใช้ในการนำพลังงานไฟฟ้าที่วัสดุ PZT เก็บเกี่ยวได้ไปประจุไฟใส่ตัวเก็บประจุไฟฟ้าหรือแบตเตอรี่

วิธีการทดลอง

การเตรียมตัวอย่าง

นำผง PZT ที่มีชื่อการค้าว่า Pz29 จากบริษัท Ferroperm Piezoceramics ประเทศเดนมาร์กมาผสมกับตัวช่วยประสานที่ทำมาจากสารละลายพอลิไวนิลแอลกอฮอล์ (polyvinyl alcohol) และนำไปอัดขึ้นรูปให้เป็นแผ่นกลมแบนด้วยเครื่องอัดไฮดรอลิก (uniaxial hydraulic press) ภายใต้แรงดัน 180 เมกะปาสกาล (MPa) จากนั้นนำตัวอย่างไปเผาไล่ตัวช่วยประสานที่อุณหภูมิ 600 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 2 ชั่วโมงและเผาผนึกที่อุณหภูมิ 1300 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 2 ชั่วโมงในบรรยากาศที่เป็นไอตะกั่ว ตามรายละเอียดที่กล่าวใน Puthongchai et al. (2010)

จากนั้นไปหาค่าความหนาแน่นด้วยวิธีอาร์คิมิดิส (archimedes) ขัดชิ้นงานให้มีความหนา 1.5 มิลลิเมตร ทำขั้วไฟฟ้าที่วัสดุด้วย Dupont 7095 Ag/Pd เผาที่อุณหภูมิ 550 องศาเซลเซียส เหนี่ยวนำขั้วไฟฟ้า (pole) ภายใต้สนามไฟฟ้า 2.5 กิโลโวลต์/มิลลิเมตร ในน้ำมันพืชที่อุณหภูมิ 100 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 10 นาที นำชิ้นตัวอย่างไปวัดและคำนวณสมบัติทางไฟฟ้าของวัสดุดังต่อไปนี้ 1) วัดค่า Piezoelectric charge constant (d_{33}) ด้วยเครื่อง Piezo d_{33} meter (APC 90-2030) 2) วัดค่า planar coupling coefficient (k_p) ด้วยเครื่อง Solartron SI 1260 Impedance /grain phase analyzer แล้วคำนวณ k_p ด้วยซอฟต์แวร์ Z-view™ จากบริษัท Solartron Instrument Ltd. ตามรายละเอียดในบทความของนิธิพจน์ พุทธงชัย, 2553 และ 3) วัดค่าความเก็บประจุที่ความถี่ 1 Hz ด้วยเครื่อง HP 4284A Precision LCR Meter และคำนวณค่าสภาพยอมสัมพัทธ์ (relative permittivity) จากสมการที่ 1

$$K' = \frac{Cd}{\varepsilon_0 A} \quad (1)$$

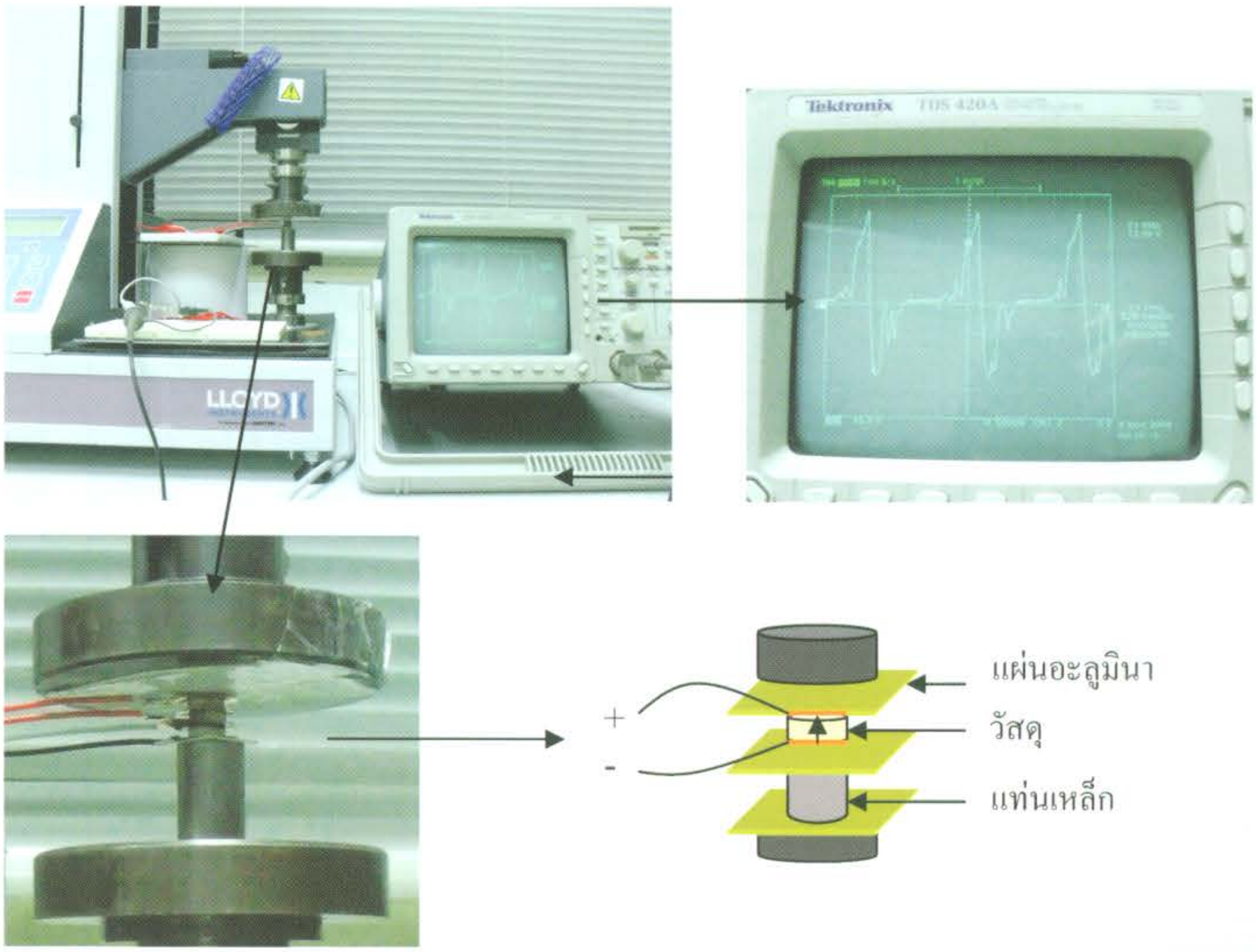
เมื่อ C คือ ความเก็บประจุ (Capacitance) (ฟารัด)

d คือ ความหนาของชิ้นวัสดุ (เมตร)

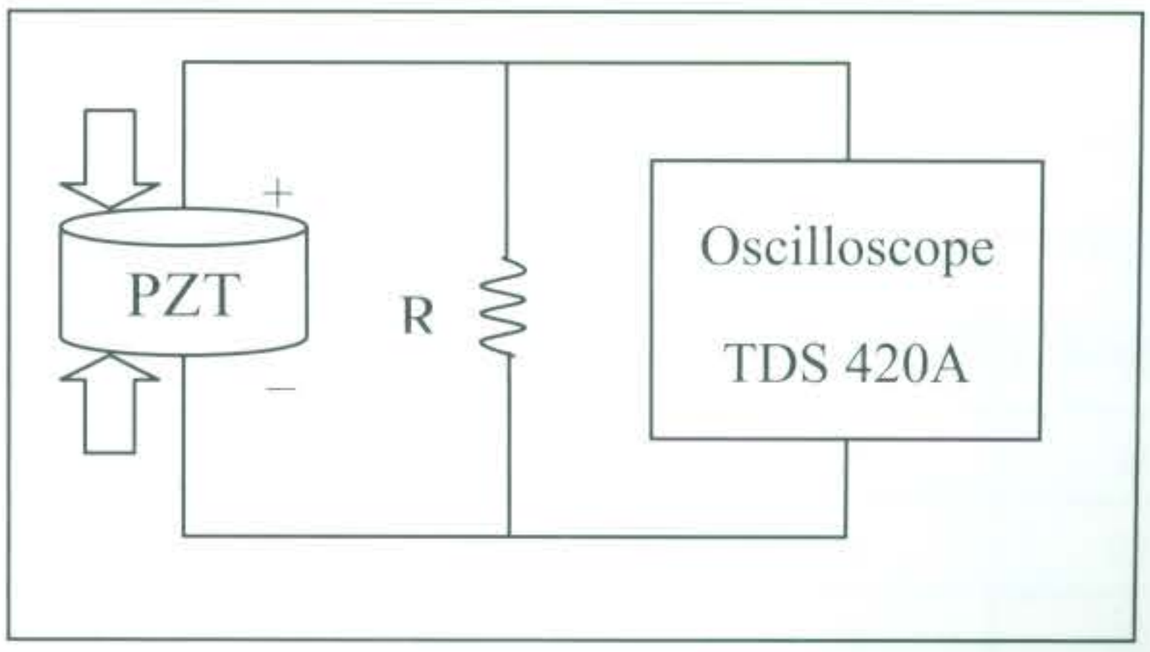
ε_0 คือ ค่าสภาพยอมทางไดอิเล็กทริกของสุญญากาศ 8.85×10^{-12} (ฟารัด/เมตร)

A คือ พื้นที่หน้าตัดของชิ้นวัสดุ หน่วยเป็น (ตารางเมตร)

ติดแผ่นทองแดงหนา 0.1 มิลลิเมตรด้วยกาวอิพ๊อกซี (epoxy) และบัดกรีสายไฟได้เป็นแทรนส์ดิวเซอร์แบบชั้นเดียวที่มีเส้นผ่านศูนย์กลาง 8 13 และ 29 มิลลิเมตร จากนั้นให้แรงกด 100-500 นิวตัน ความถี่ประมาณ 1 เฮิรตซ์ ด้วยเครื่อง LF Plus Universal Test Machine (AMETEK, Inc. รุ่น LF PLUS) บนแทรนส์ดิวเซอร์ต่อกับค่าความต้านทานภายนอกต่าง ๆ แล้ววัดแรงดันไฟฟ้าที่ได้จากแทรนส์ดิวเซอร์ด้วยเครื่อง Tektronix digital oscilloscope (รุ่น TDS 420A) ดังแสดงการติดตั้งชุดอุปกรณ์วัดแรงดันไฟฟ้าและวงจรการวัดแรงดันไฟฟ้าในรูปที่ 1 และ 2 ตามลำดับ

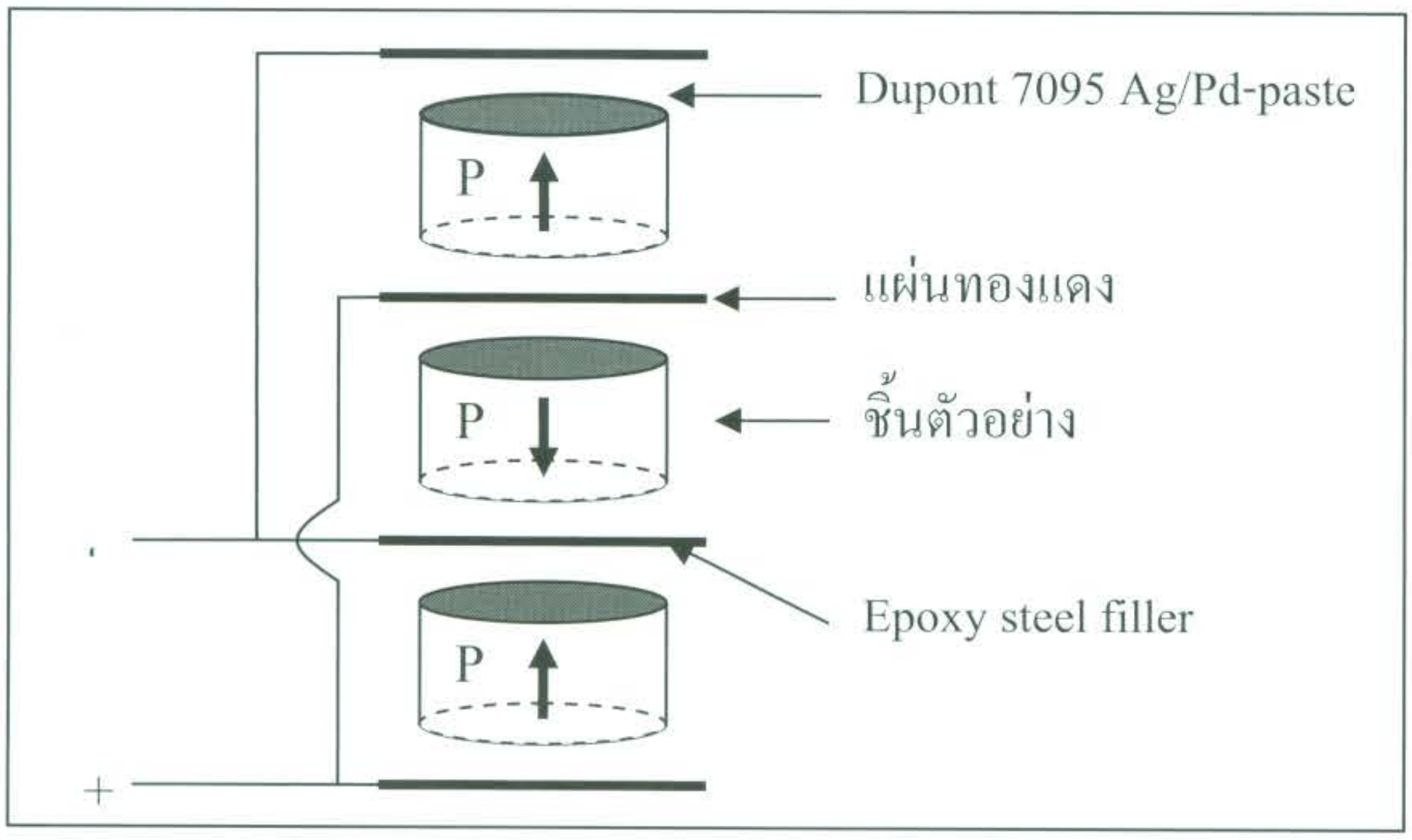


รูปที่ 1 การติดตั้งอุปกรณ์สำหรับวัดแรงดันไฟฟ้า



รูปที่ 2 วงจรไฟฟ้าสำหรับวัดแรงดันไฟฟ้า เมื่อ R คือความต้านทานภายนอก (load resistance) ที่ต่อขนานกับชิ้น PZT

เพื่อให้เห็นข้อแตกต่างของการเก็บไฟฟ้าของแทรนส์ดิวเซอร์แบบชั้นเดียวและแบบหลายชั้นจึงเรียง PZT ซ้อนกันแสดงดังรูปที่ 3 โดยผิวด้านหน้าถูกทาด้วย Dupont 7095 Ag/Pd-paste แล้วประกบ PZT อีกชิ้นโดยหันขั้วไฟฟ้าที่เหมือนกันเข้าหากัน และระหว่างชั้นจะใช้แผ่นตัวนำทองแดงเพื่อทำหน้าที่เชื่อมขั้วไฟฟ้าของ PZT แต่ละอันโดยใช้กาว epoxy เป็นตัวประสาน



รูปที่ 3 การเรียงชิ้น PZT ซ้อนกัน 3 ชั้นในทิศทางเสริมแรงกัน

การออกแบบและวิเคราะห์ผลการทดลองโดยสถิติ (statistical experimental design and analysis)

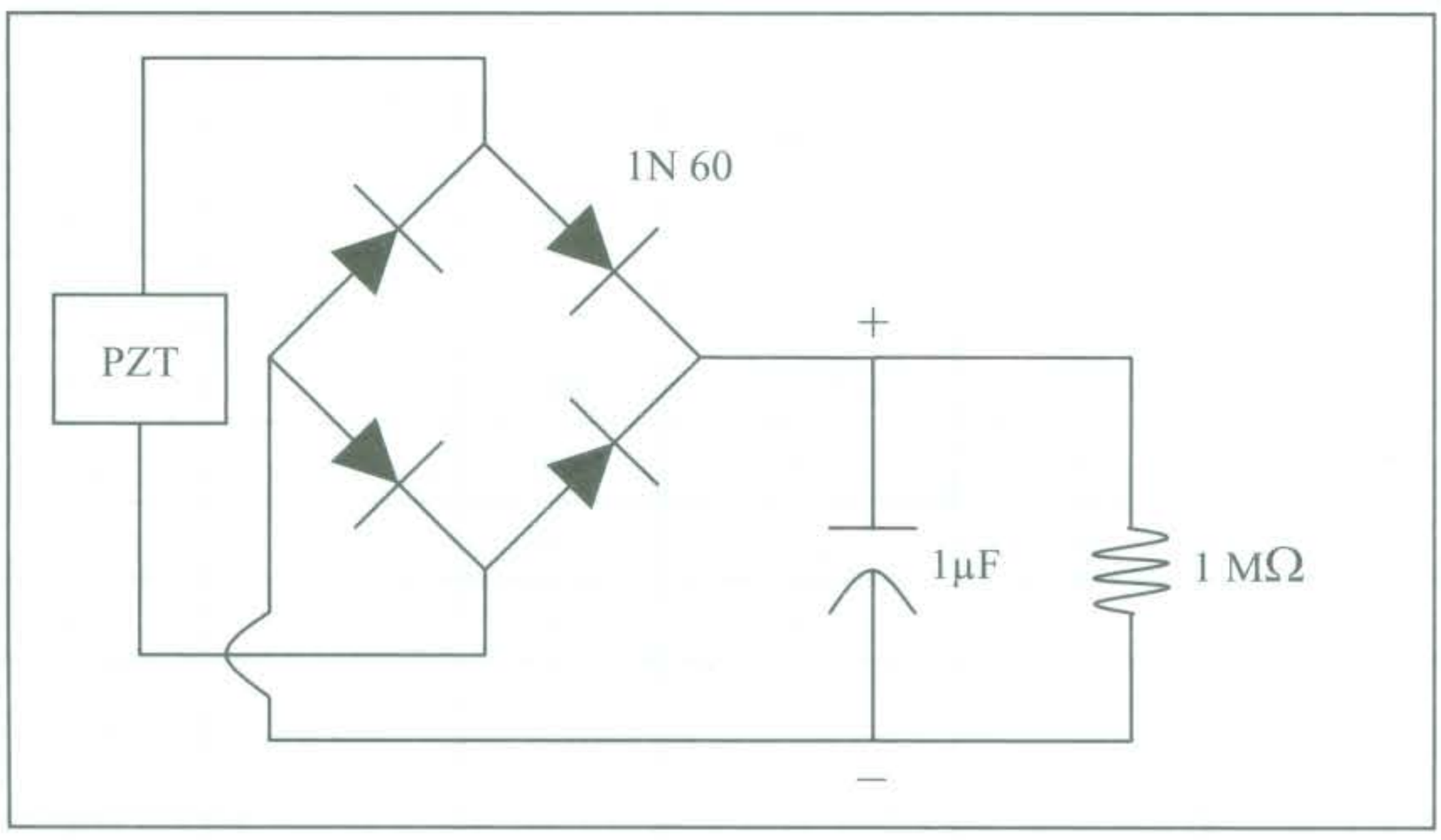
งานวิจัยนี้ศึกษาผลของปัจจัยต้น (independent factors) 3 ปัจจัยได้แก่ แรงภายนอกที่กระทำบนวัสดุ PZT (force) ค่าความต้านทานไฟฟ้าที่ต่อขนานกับวัสดุ PZT (load resistance) และเส้นผ่านศูนย์กลางของชิ้น PZT ต่อปัจจัยตาม (dependent factor) ในที่นี้คือกำลังไฟฟ้าที่เก็บเกี่ยวได้โดยออกแบบและวิเคราะห์ผลการทดลองด้วยซอฟแวร์ Design Expert® version 8.0.2 ของบริษัท State easy Inc. เนื่องจากแรงภายนอกที่กระทำมี 5 ระดับ (levels) คือ 100 200 300 400 และ 500 นิวตัน ความต้านทานไฟฟ้าที่ต่อเข้าไปในวงจรมี 4 ระดับคือ 1 25 50 และ 75 MΩ และ PZTs แทรนส์ดิวเซอร์ที่ทำขึ้นมาใช้มีสามขนาด คือ มีเส้นผ่านศูนย์กลาง 8 13 และ 29 มิลลิเมตร ดังนั้นการทดลองนี้ต้องทำการทดลอง $5\times4\times3 = 60$ ครั้ง (treatments) เก็บตัวอย่าง 1 ตัวอย่าง (replicate) ต่อ 1 treatment ดังนั้นการทดลองนี้จึงทำการทดลองและเก็บข้อมูล 60 treatments ตามแสดงในตารางที่ 1

ตารางที่ 1 ปัจจัยต่าง ๆ ในการทดลองและกำลังไฟฟ้าที่ PZT เก็บเกี่ยวได้จากการทดลองทั้ง 60 treatments

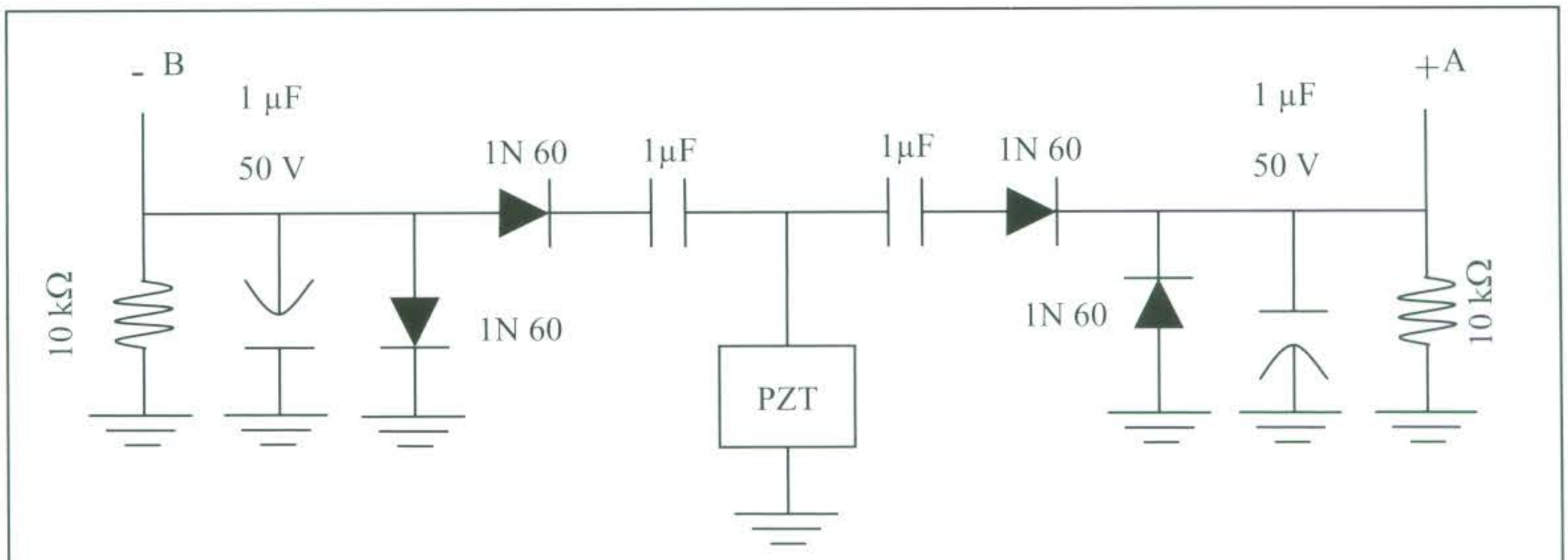
force (N)	load resistance (MΩ)	diameter (mm)	power output (μW)	force (N)	load resistance (MΩ)	diameter (mm)	power output (μW)
100	1	8	0.03	100	50	13	0.06
200	1	8	0.21	200	50	13	0.55
300	1	8	0.33	300	50	13	0.71
400	1	8	0.46	400	50	13	0.97
500	1	8	0.57	500	50	13	1.4
100	25	8	0.29	100	75	13	0.05
200	25	8	1.02	200	75	13	0.43
300	25	8	1.17	300	75	13	0.53
400	25	8	2.04	400	75	13	0.71
500	25	8	2.53	500	75	13	1.02
100	50	8	0.16	100	1	29	0.06
200	50	8	0.56	200	1	29	0.39
300	50	8	0.74	300	1	29	0.55
400	50	8	1.24	400	1	29	0.71
500	50	8	1.6	500	1	29	0.79
100	75	8	0.13	100	25	29	0.1
200	75	8	0.42	200	25	29	0.4
300	75	8	0.53	300	25	29	0.78
400	75	8	0.94	400	25	29	1.02
500	75	8	1.11	500	25	29	1.31
100	1	13	0.22	100	50	29	0.05
200	1	13	0.47	200	50	29	0.24
300	1	13	0.57	300	50	29	0.39
400	1	13	0.76	400	50	29	0.63
500	1	13	1.01	500	50	29	0.75
100	25	13	0.09	100	75	29	0.04
200	25	13	0.95	200	75	29	0.19
300	25	13	1.11	300	75	29	0.29
400	25	13	1.6	400	75	29	0.44
500	25	13	2.49	500	75	29	0.57

นำผลการทดลองที่ได้ไปวิเคราะห์ผลโดยใช้ซอฟต์แวร์ Design Expert® version 8.0.2 ของบริษัท Stat Ease Inc. โดยซอฟต์แวร์ดังกล่าวจะใช้ ANOVA (analysis of variance) วิเคราะห์ว่าปัจจัยต้นหรืออันตรกิริยาระหว่างปัจจัยต้นคู่ใดที่มีผลต่อปัจจัยตามกำลังไฟฟ้าที่เก็บเกี่ยวได้ และนอกจากนี้ซอฟต์แวร์ Design Expert® ยังใช้การวิเคราะห์แบบถดถอย (regress analysis) วิเคราะห์และสร้างสมการแบบจำลองเพื่อทำนายว่ากำลังไฟฟ้าที่เก็บเกี่ยวได้แปรตามปัจจัยต้นและอันตรกิริยาระหว่างปัจจัยต้นอย่างไร พร้อมทั้งเขียนกราฟพื้นผิวตอบสนอง (response surface plot) สำหรับทำนายความสัมพันธ์ระหว่างกำลังไฟฟ้าที่เก็บเกี่ยวได้กับตัวแปรต้นที่มีอันตรกิริยากัน

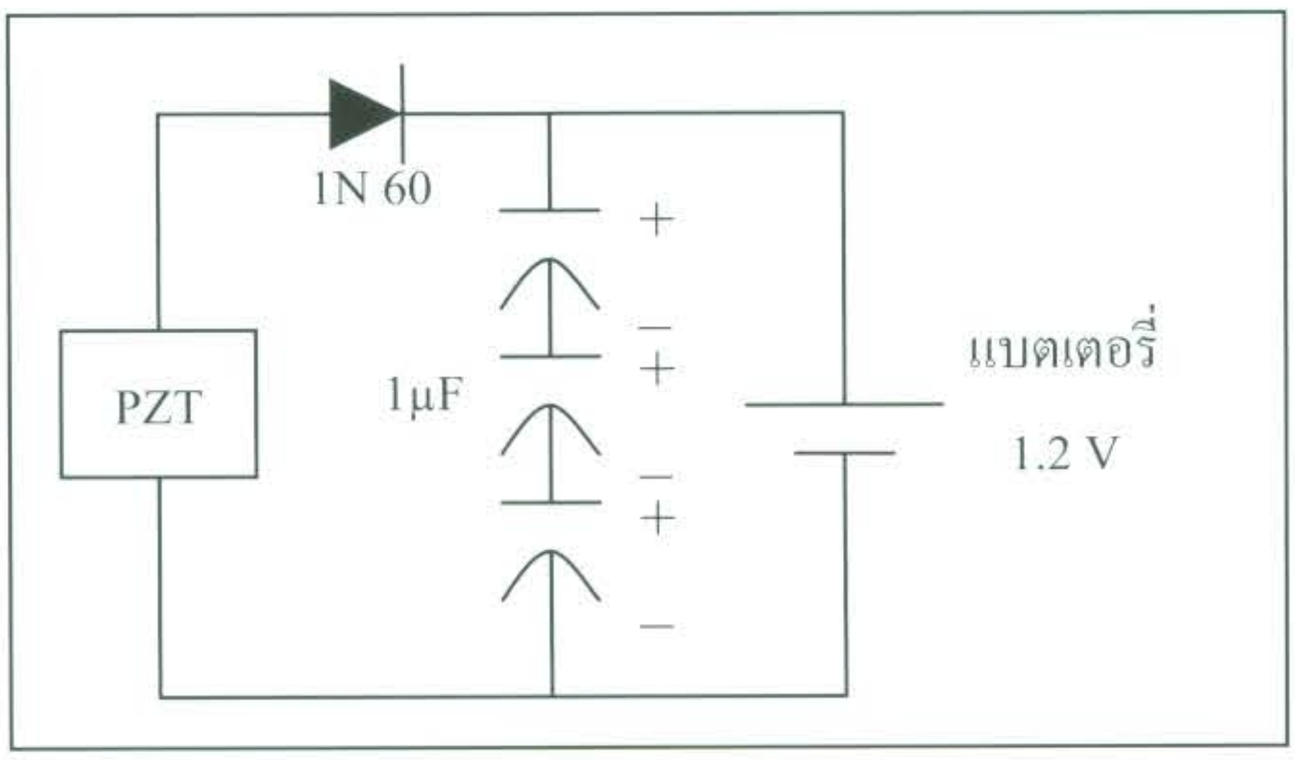
เพื่อแสดงการนำกำลังไฟฟ้าที่ PZT เก็บเกี่ยวได้ไปใช้ งานวิจัยนี้จึงได้ศึกษาวงจรไฟฟ้าชนิดต่าง ๆ ที่นำสัญญาณที่ส่งออกจาก PZT ไปประจุแบตเตอรี่ขนาด 1.2 โวลต์ (V) หรือนำไปประจุไฟในตัวเก็บประจุ (capacitor) หรือนำไปจุดหลอด LED โดยมีวงจรไฟฟ้าที่ศึกษา 3 วงจรคือ (1) วงจรเรียงกระแสเต็มคาบแบบมีตัวกรอง (2) วงจรทวีแรงดันสองเท่าและ (3) วงจรเรียงกระแสครึ่งคาบแบบมีตัวกรอง ดังแสดงในรูปที่ 4-6 ตามลำดับ



รูปที่ 4 วงจรเรียงกระแสเต็มคาบแบบมีตัวกรอง



รูปที่ 5 วงจรทวีแรงดันสองเท่า



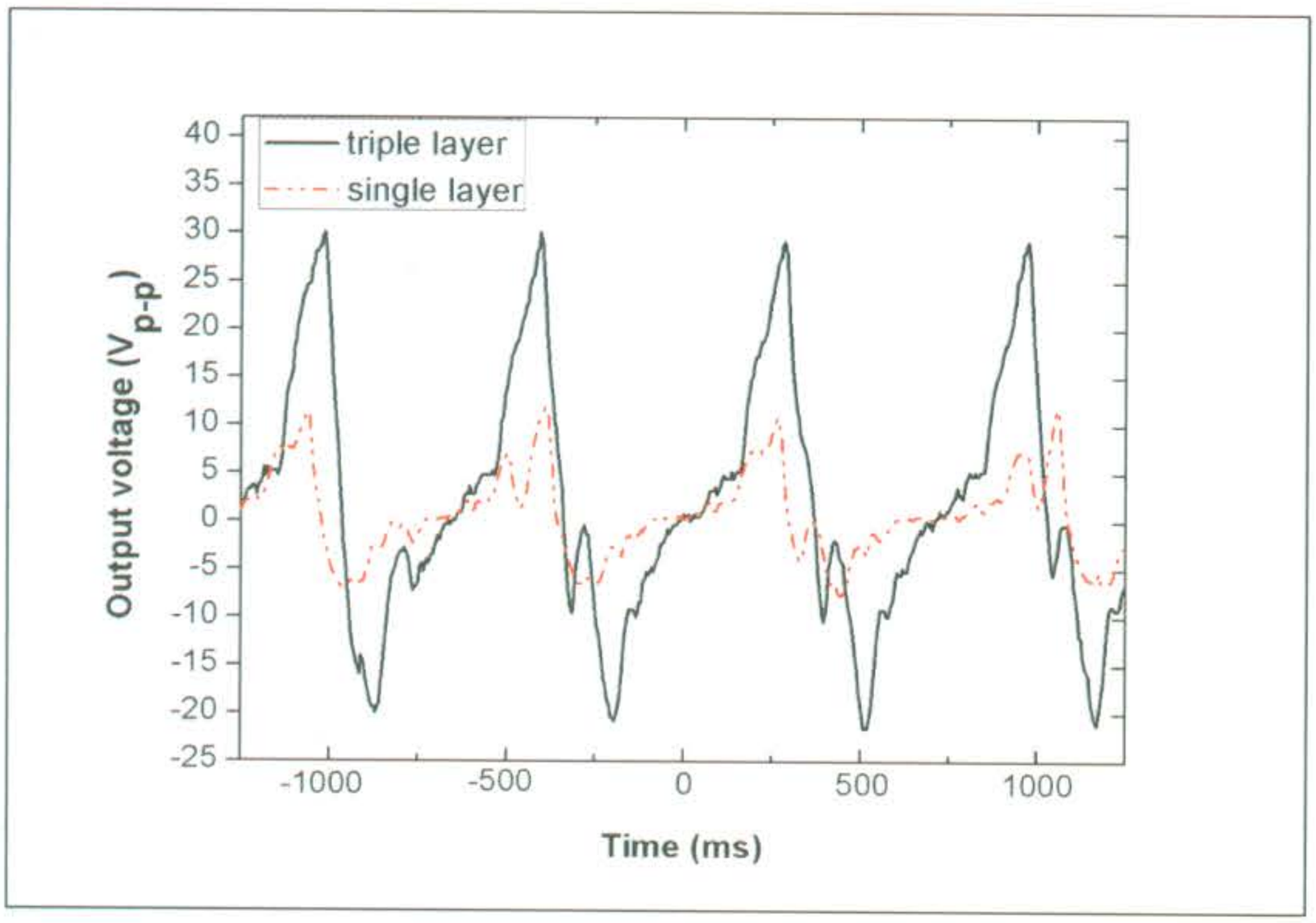
รูปที่ 6 วงจรเรียงกระแสครึ่งคาบแบบมีตัวกรอง

ผลการทดลอง

ตารางที่ 1 แสดงกำลังไฟฟ้าที่เก็บเกี่ยวได้จากแทรนส์ดิวเซอร์ PZT แบบชั้นเดียวที่มีเส้นผ่านศูนย์กลาง 8 13 และ 29 มิลลิเมตร ซึ่งต่อขนานกับความต้านทานภายนอก 1-75 MΩ เมื่อได้รับแรง 100-500 นิวตัน ความถี่ประมาณ 1 เฮิรตซ์ ตารางที่ 2 แสดงสมบัติไพอิโซอิเล็กทริกของแทรนส์ดิวเซอร์ PZT ที่ใช้ในการทดลองนี้ (Putthongchai et al., 2010)

ตารางที่ 2 สมบัติไพอิโซอิเล็กทริกของแทรนส์ดิวเซอร์ที่ทำมาจากผง PZT ที่มีขนาดเส้นผ่านศูนย์กลางต่าง ๆ ที่ใช้ในการทดลองนี้ (Putthongchai et al., 2010)

Properties	**Diameter (mm)**		
	8	13	29
K	1,866	1,980	2,382
k_p	0.52	0.54	0.59
g_{33} (10^3Vm/N)	27.9	28.6	26.4
d_{33} (10^{-12} C/N)	460	500	554
$d_{33}\cdot g_{33}$ ($10^{-12}m^2$/N)	12.8	14.3	14.6

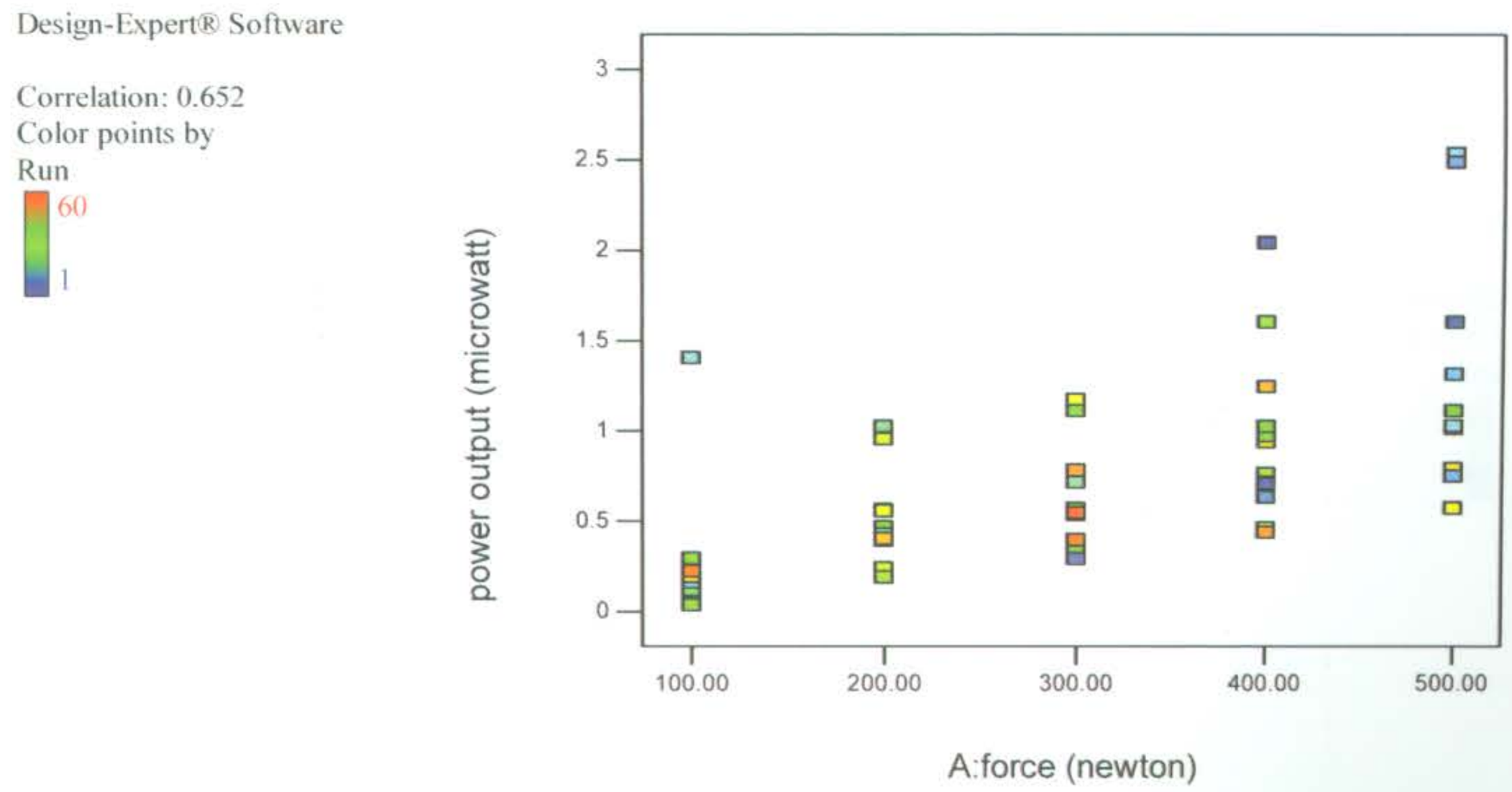


รูปที่ 7 สัญญาณแรงดันไฟฟ้าจากแทรนส์ดิวเซอร์แบบชั้นเดียวและแบบสามชั้นที่มีเส้นผ่านศูนย์กลาง 13 มิลลิเมตร ซึ่งต่อกับความต้านทานภายนอก 25 MΩ เมื่อได้รับแรงทางกล 500 นิวตัน

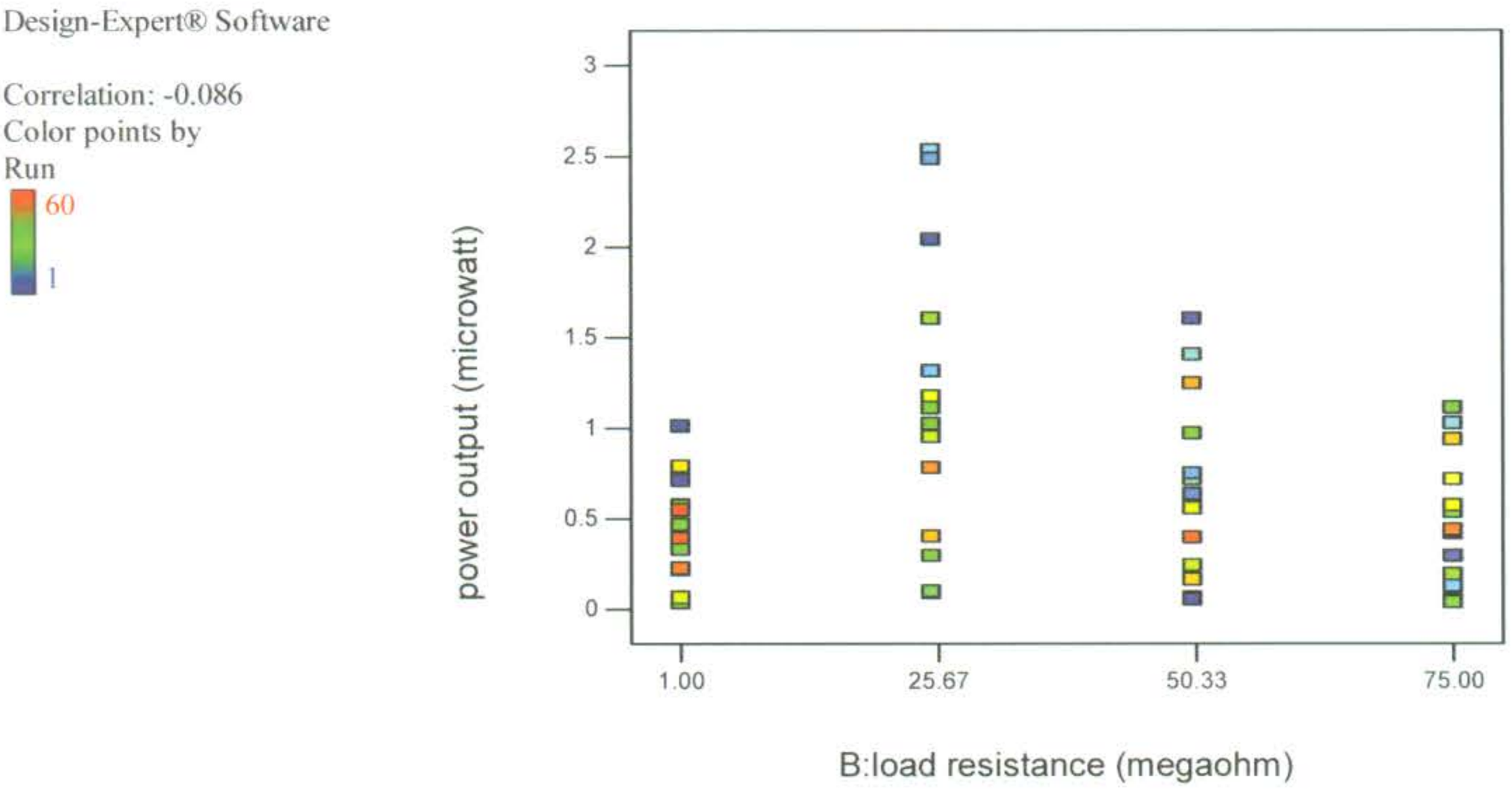
รูปที่ 7 แสดงสัญญาณแรงดันไฟฟ้าของการเก็บเกี่ยวพลังงานของแทรนส์ดิวเซอร์ PZT แบบ 3 ชั้น (triple layer) เทียบกับชั้นเดียว จากรูปจะเห็นว่าแทรนส์ดิวเซอร์ PZT ที่มีเส้นผ่านศูนย์กลาง 13 มิลลิเมตรที่เรียงซ้อนกัน 3 ชั้นสามารถให้แรงดันไฟฟ้าประมาณ 50 Vp-p เมื่อได้รับแรง 500 นิวตัน ความถี่ประมาณ 1 เฮิรตซ์ ขณะที่แทรนส์ดิวเซอร์แบบชั้นเดียวให้แรงดันไฟฟ้าประมาณ 20 Vp-p เมื่อได้รับแรงและความถี่เดียวกัน

ผลวิเคราะห์โดยใช้โปรแกรมเชิงสถิติ

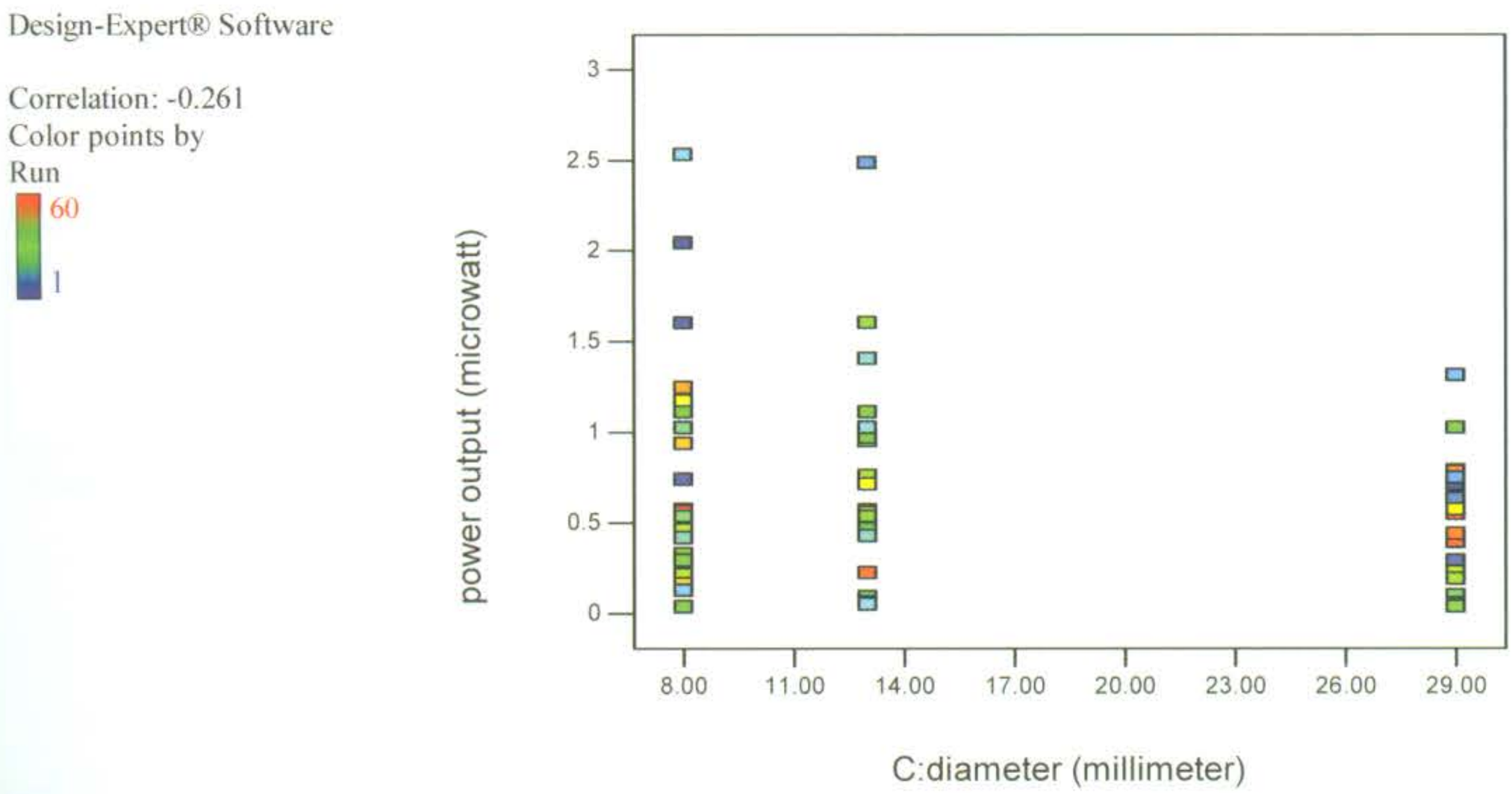
นำข้อมูลกำลังไฟฟ้าที่ผลิตได้ที่ปัจจัยต่าง ๆ ในตารางที่ 1 ไปเขียนกราฟแสดงความสัมพันธ์ระหว่างกำลังไฟฟ้าที่ผลิตได้กับแรงทางกลภายนอกที่กระทำ (force) ความต้านทานภายนอก (load resistance) และขนาดเส้นผ่านศูนย์กลาง (diameter) เมื่อแรงทางกลที่กระทำอยู่ในช่วง 100-500 นิวตัน ความถี่ประมาณ 1 เฮิรตซ์ ได้รูปที่ 8 9 และ 10 ตามลำดับ จากรูปที่ 8 จะเห็นว่ากำลังไฟฟ้าที่ผลิตได้จะเพิ่มขึ้นตามแรงทางกลที่เพิ่มขึ้น ผลการทดลองนี้สอดคล้องกับผลการทดลองของ Kim et al., (2007) ที่พบว่าพลังงานที่ได้จากวัสดุไพอิโซอิเล็กทริกขึ้นกับแรงและความเร่งที่กระทำบนวัสดุไพอิโซอิเล็กทริก (APC International, 2002; Wischke et al., 2007) ทั้งนี้เนื่องจากโพลาไรเซชันของวัสดุไพอิโซอิเล็กทริกมีความสัมพันธ์กับความเค้นอัด (compressive stress) ตามสมการ $P = -dT$ (APC International, 2002) และโพลาไรเซชันมีความสัมพันธ์โดยตรงกับแรงดันไฟฟ้าที่กำเนิดออกมาจาก PZT



รูปที่ 8 ผลของแรงทางกลในช่วง 100-500 นิวตัน ต่อกำลังไฟฟ้าที่ออกมาจาก PZT



รูปที่ 9 ผลของค่าความต้านทานภายนอกต่อกำลังไฟฟ้าที่ออกมาจาก PZT



รูปที่ 10 ผลของขนาดเส้นผ่านศูนย์กลางต่อกำลังไฟฟ้าที่ออกมาจาก PZT

รูปที่ 9 แสดงความสัมพันธ์ระหว่างกำลังไฟฟ้าที่ PZT ผลิตได้กับค่าความต้านทานภายนอกที่ต่อขนานกับ PZT จากกราฟจะเห็นว่าที่ค่าความต้านทานภายนอกต่ำ ๆ กำลังไฟฟ้าที่ผลิตได้มีค่าน้อย แต่เมื่อเพิ่มค่าความต้านทานภายนอกสูงขึ้นกำลังไฟฟ้ามีค่าสูงขึ้นและมีค่ามากที่สุดที่ค่าความต้านทานภายนอกประมาณ 25 MΩ ที่

ความต้านทานมากกว่านี้กำลังไฟฟ้าที่เก็บเกี่ยวได้จะค่อย ๆ มีค่าลดลงซึ่งกำลังไฟฟ้าหาได้จากสมการ $P = V^2/R$ และแรงดันไฟฟ้าที่วัสดุผลิตได้ (V_{load}) ยังขึ้นกับขนาดอัตราส่วนของ R_{load} ต่อความต้านทานรวมของระบบดังสมการในงานวิจัยของ Priya (2005) ดังสมการที่ 2

$$V_{load} = V_{oc}\left|\frac{R_{load}}{R_{load} + \frac{1}{j\omega C} + R_s}\right| \quad (2)$$

เมื่อ V_{load} คือ แรงดันไฟฟ้าที่จ่ายออกมา

V_{oc} คือ แรงดันไฟฟ้าของวัสดุที่ open circuit

R_{load} คือ ความต้านทานภายนอกที่ต่อขนานกับ PZT

R_s คือ ค่าความต้านทานของ PZT

ผลของขนาดเส้นผ่านศูนย์กลางของ PZT ต่อกำลังไฟฟ้าที่เก็บเกี่ยวได้แสดงดังรูปที่ 10 จากรูปจะเห็นว่า PZT ที่มีขนาดเส้นผ่านศูนย์กลาง 8 มิลลิเมตรเก็บเกี่ยวกำลังไฟฟ้ามากกว่า PZT ที่มีขนาดเส้นผ่านศูนย์กลาง 13 และ 29 มิลลิเมตร ตามลำดับ ทั้งนี้เป็นเพราะ PZT ที่มีเส้นผ่านศูนย์กลางเล็กกว่าเมื่อได้รับแรงเท่ากันจะมีความเค้นอัด (compressive stress) มากกว่าและความเค้นอัดแปรผันตรงกับ dielectric displacement ดังสมการที่ 3

$$D = \frac{Q}{A} = dT \quad (3)$$

เมื่อ Q = ประจุไฟฟ้าที่สะสม

A = พื้นที่หน้าตัด (m^2)

T = ความเค้น (stress) (Newton/m^2)

d = piezoelectric strain constants (C/Newton)

D = dielectric displacement (C/m^2)

และ dielectric displacement แปรตามความต่างศักย์ที่ PZT ปล่อยออกมา ดังนั้น PZT ที่มีเส้นผ่านศูนย์กลางเล็กกว่าจึงผลิตแรงดันไฟฟ้าออกมามากกว่าเมื่อถูกกระทำด้วยแรงกลเท่ากัน

นำข้อมูลดิบจากตารางที่ 1 ไปวิเคราะห์ ANOVA ในซอฟต์แวร์ Design expert® ได้ผลวิเคราะห์ดังแสดงในตารางที่ 3 จากตารางที่ 3 จะเห็นได้ว่าแรงที่กระทำบน PZT (A) ความยาวของเส้นผ่านศูนย์กลาง PZT (C) อันตรกิริยาระหว่างความต้านทานภายนอกกับความยาวเส้นผ่านศูนย์กลางของ PZT (BC) แรงที่กระทำบน PZT ยกกำลังสอง (A^2) และค่าความต้านทานภายนอกที่ต่อขนานกับ PZT ยกกำลังสอง (B^2) มี p-value น้อยกว่า 0.05

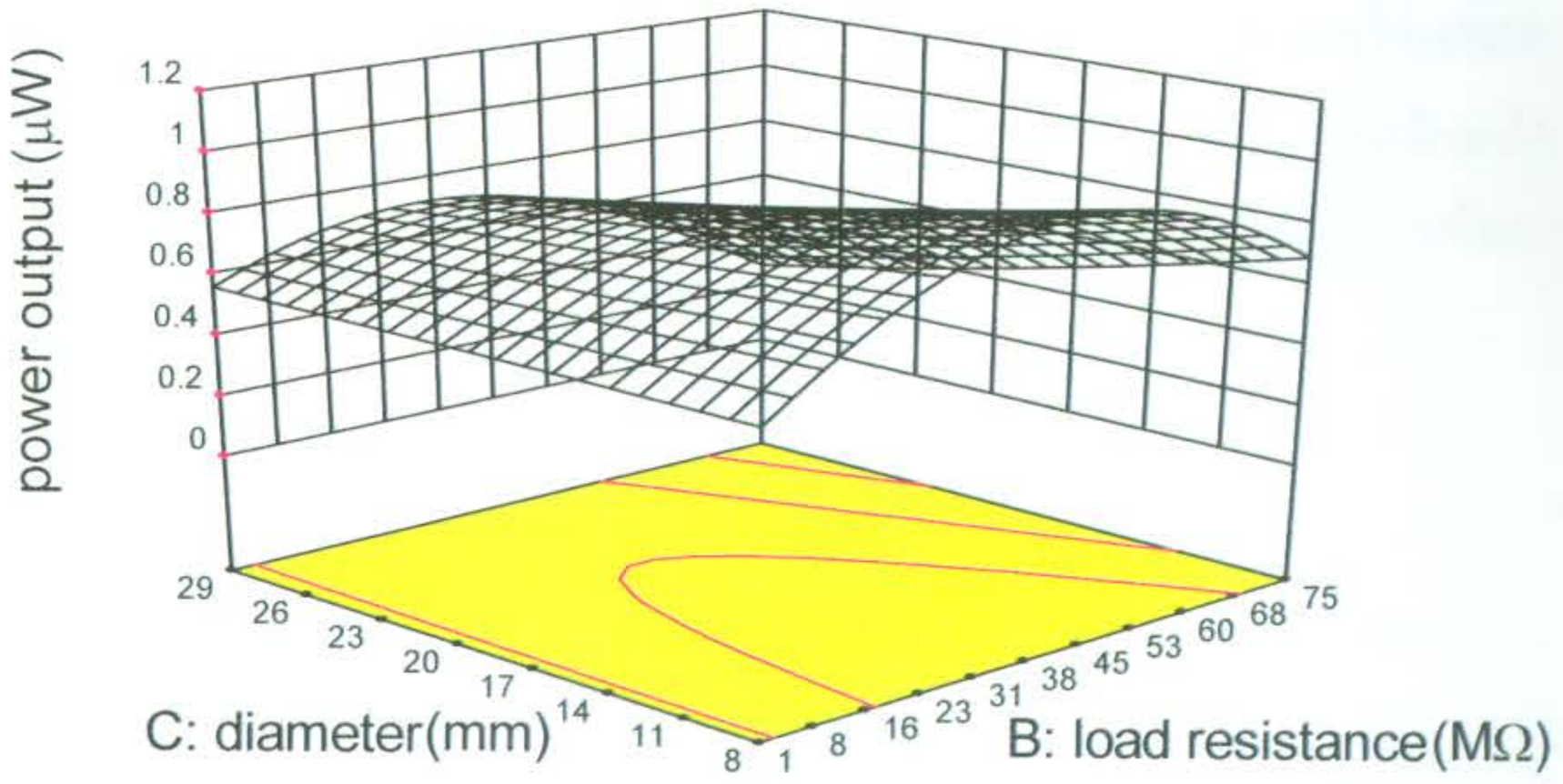
แสดงว่าปัจจัย อันตรกิริยาระหว่างปัจจัยและปัจจัยกำลังสองดังกล่าวมีผลต่อกำลังไฟฟ้าที่วัสดุที่ผลิตได้อย่างมีนัยสำคัญ ส่วนความต้านทานภายนอก (B) มีค่า p-value มากกว่า 0.05 แสดงว่าไม่มีผลอย่างมีนัยสำคัญต่อกำลังไฟฟ้าที่ได้และนอกจากนี้ซอฟต์แวร์ Design Expert® ยังได้ใช้การวิเคราะห์ข้อมูลแบบถดถอย (regression analysis) สร้างสมการแบบจำลองคณิตศาสตร์สำหรับทำนายกำลังไฟฟ้าที่จะผลิตได้ในช่วงที่ทำการทดลองของปัจจัยต้นทั้งสาม สมการที่สร้าง คือ

$$\text{Sqrt (power output)} = (-0.10190) + (3.96093\times10^{-3}) \times A + 0.013547\times B + (2.22631\times10^{-4})\times C$$
$$-(1.95999\times10^{-4})\times B \times C - (3.85658\times10^{-6})\times A^2 - (1.43290E\times10^{-4}) \times B^2$$

เมื่อแรงภายนอกที่กระทำ (A) มีหน่วยเป็นนิวตัน ความต้านทานภานนอก (B) มีหน่วยเป็น MΩ และความยาวของเส้นผ่านศูนย์กลางของ PZT (C) มีหน่วยเป็นมิลลิเมตร (mm)

ตารางที่ 3 ผลการวิเคราะห์ข้อมูลโดยใช้ ANOVA

Source	Sum of Squares	df	Mean Square	F-Value	p-value Prob > F
Model	3.80	6	0.63	46.80	< 0.0001
A-force	2.81	1	2.81	207.61	< 0.0001
B-load resistance	0.04	1	0.04	3.01	0.0888
C-diameter	0.24	1	0.24	17.69	0.0001
BC	0.14	1	0.14	10.33	0.0023
A^2	0.23	1	0.23	16.75	0.0002
B^2	0.41	1	0.41	30.58	< 0.0001
Residual	0.66	49	0.01		
Cor Total	4.46	55			



รูปที่ 11 ความสัมพันธ์ระหว่างกำลังไฟฟ้าที่ PZT เก็บเกี่ยวได้กับค่าความต้านทานภายนอกและเส้นผ่านศูนย์กลางของ PZT เมื่อได้รับแรงทางกล 300 นิวตัน ความถี่ประมาณ 1 เฮิรตซ์

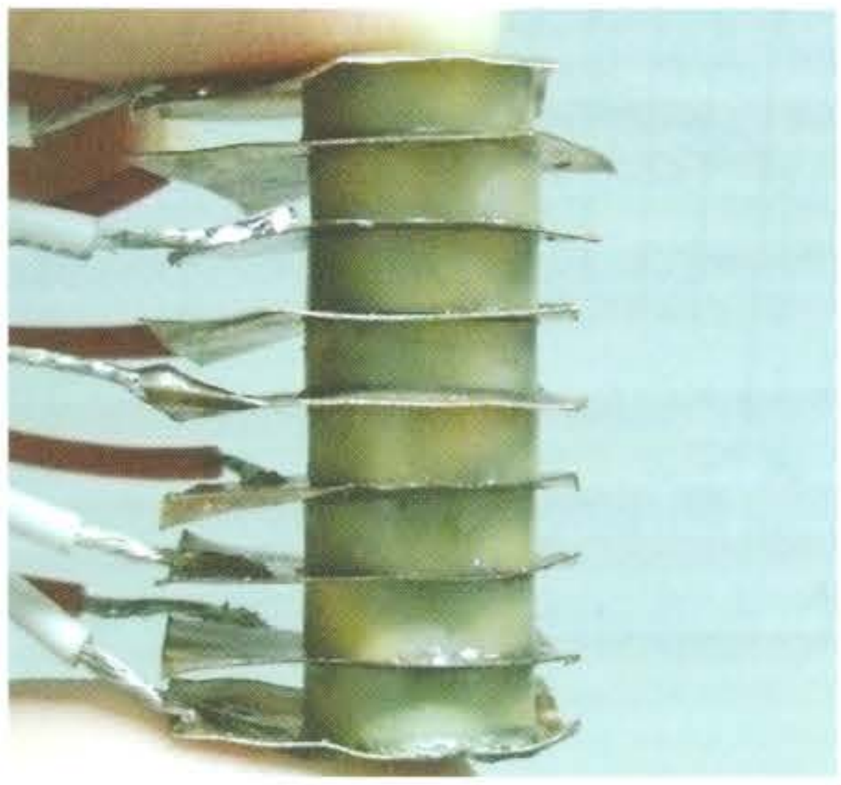
รูปที่ 11 แสดงกราฟพื้นที่ผิวตอบสนอง (response surface) ของกำลังไฟฟ้าที่ PZT เก็บเกี่ยวได้ต่อความต้านทานภายนอกและขนาดเส้นผ่านศูนย์กลางเมื่อออกแรง 300 นิวตัน กระทำบน PZT จะเห็นว่าที่ความต้านทานภายนอกต่ำ ๆ กำลังไฟฟ้าที่ผลิตได้เปลี่ยนไปตามขนาดเส้นผ่านศูนย์กลางของ PZT ไม่มาก แต่ที่ความต้านทานสูงขึ้นกำลังไฟฟ้าที่ผลิตได้จะเพิ่มขึ้นอย่างเห็นได้ชัดเมื่อ PZT มีเส้นผ่านศูนย์กลางลดลง นอกจากนี้ยังจะเห็นได้ว่าแทรนส์ดิวเซอร์ PZT ที่มีเส้นผ่านศูนย์กลาง 8 มิลลิเมตรที่ต่อขนานกับค่าความต้านทานภายนอกประมาณ 30-40 MΩ เก็บเกี่ยวกำลังไฟฟ้าได้สูงสุด

ผลการศึกษาวงจรไฟฟ้าชนิดต่าง ๆ สำหรับนำกำลังไฟฟ้าที่เก็บเกี่ยวได้ไปใช้

เพื่อให้ไฟฟ้าที่ PZT เก็บเกี่ยวได้มีแรงดันมากขึ้นจึงนำ PZT ไปเรียงซ้อนกัน 8 ชิ้นได้เป็นแทรนส์ดิวเซอร์ 8 ชั้น ดังรูปที่ 12 และเพื่อทดสอบการนำกำลังไฟฟ้าที่เก็บเกี่ยวได้ไปใช้จึงนำแทรนส์ดิวเซอร์ในรูปที่ 12 ไปต่อในวงจรสำหรับประจุไฟในแบตเตอรี่ขนาด 1.2 โวลต์ หรือต่อเข้ากับตัวเก็บประจุสำหรับบรรจุไฟในตัวเก็บประจุหรือต่อเข้ากับหลอด LED สำหรับจุดหลอด LED เป็นวงจรต่าง ๆ 3 วงจรได้ผลดังนี้

วงจรเรียงกระกระแสเต็มคาบแบบมีตัวกรองดังรูปที่ 4 เมื่อออกแรงทางกล 800 นิวตัน ความถี่ประมาณ 1 เฮิรตซ์ กระทำบนแทรนส์ดิวเซอร์ พบว่าแรงดันเอาต์พุตมีแอมพลิจูดประมาณ 1.8 โวล์ต ซึ่งยังไม่เพียงพอต่อการประจุแบตเตอรี่ขนาด 1.2 โวลต์ แต่ก็ไม่สามารถเพิ่มแรงทางกลที่กระทำขึ้นไปอีก เนื่องจากหากกระทำด้วยแรงมากกว่านี้อาจจะทำให้ชิ้น PZT แตกได้ ข้อเสียของวงจรเรียงกระแสเต็มคาบแบบมีตัวกรอง คืออุปกรณ์แต่ละชิ้นในวงจรดูดซับพลังงานไฟฟ้าซึ่งจะสังเกตได้ว่าไดโอดในวงจรเรียงกระแสแบบบริดจ์จะทำงานพร้อมกันทีละ

หนึ่งคู่ ไดโอดแต่ละตัวมีแรงดัน Threshold โดยจะต้องป้อนแรงดันให้เกิดระดับ Threshold ก่อน จากนั้นไดโอดจึงจะยอมให้กระแสไฟฟ้าไหลผ่านจากด้านแอโนดไปด้านแคโทด



รูปที่ 12 PZT แทรนส์ดิวเซอร์ขนาดเส้นผ่านศูนย์กลาง 8 มิลลิเมตรที่เรียงซ้อนกัน 8 ชั้นที่ใช้ในการศึกษาวงจรไฟฟ้าชนิดต่าง ๆ สำหรับนำกำลังไฟฟ้าที่เก็บเกี่ยวได้ไปใช้

วงจรทวีแรงดันสองเท่าแสดงดังรูปที่ 5 ผลการทดลองพบว่าเมื่อวัดแรงดันไฟฟ้าด้านเอาต์พุต ด้านบวกและด้านลบเทียบกับจุดกราวด์ พบว่ามีแอมพลิจูดประมาณ 2 Vp (เมื่อออกแรงทางกล 80 นิวตัน กระทำบน PZT) และเมื่อนำแรงดันเอาต์พุตที่ได้นี้ ผ่านวงจรเรียงกระแสแบบบริดจ์อีกครั้ง เพื่อกลับให้เฟสของวงจรมีเพียงด้านบวก พบว่าสัญญาณเอาต์พุตมีแอมพลิจูดประมาณ 1.9 โวลต์ ซึ่งไม่เพียงพอต่อการนำสัญญาณที่ได้ ไปประจุแบตเตอรี่ขนาด 1.2 โวลต์ การที่วงจรนี้มีอุปกรณ์ในวงจรจำนวนมากทำให้ต้องสูญเสียพลังงานมากขึ้น จึงทำให้สัญญาณเอาต์พุตไม่เพียงพอต่อการประจุให้แบตเตอรี่

วงจรเรียงกระแสครึ่งคาบแบบมีตัวกรองแสดงดังรูปที่ 6 ผลการทดลองเมื่อออกแรงทางกล 800 นิวตัน ความถี่ประมาณ 1 เฮิรตซ์ กระทำบน PZT พบว่ามีแรงดันไฟฟ้าตกคร่อมตัวเก็บประจุประมาณ 2.5 โวลต์ มีกระแสไหลในวงจรประมาณ 5-6 ไมโครแอมแปร์ (μA) ซึ่งพลังงานดังกล่าวนั้นสามารถจุดหลอด LED ติด และสามารถประจุแบตเตอรี่ขนาด 1.2 โวลต์ ได้ อย่างไรก็ตามยังต้องใช้เวลาในการประจุแบตเตอรี่นานมาก เพราะกระแสไฟฟ้าที่ได้มีค่าต่ำมากอีกทั้งความถี่ของแรงที่กระทำก็ต่ำด้วยจึงน่าจะมีการพัฒนาวงจรไฟฟ้าต่อไปอีก

สรุปผลการทดลอง

กำลังไฟฟ้าที่แทรนส์ดิวเซอร์ PZT เก็บเกี่ยวได้เมื่อถูกกระทำด้วยแรง 100-500 นิวตัน ความถี่ประมาณ 1 เฮิรตซ์ ขึ้นกับแรงที่กระทำ ความยาวของเส้นผ่านศูนย์กลางของ PZT อันตรกิริยาระหว่างความต้านทานไฟฟ้าที่ต่อขนานกับ PZT และความยาวเส้นผ่านศูนย์กลางของ PZT โดยพบว่า PZT ที่มีเส้นผ่านศูนย์กลางเล็กสามารถเก็บเกี่ยวกำลังไฟฟ้าได้มากกว่า PZT ที่มีเส้นผ่านศูนย์กลางใหญ่และการให้แรงกระทำมากขึ้นจะทำให้ PZT ผลิตกำลังไฟฟ้าได้สูงขึ้น และการต่อความต้านทานภายนอกที่เหมาะกับความต้านทานของ PZT จะทำให้

แทรนซ์ดิวเซอร์ PZT สามารถผลิตกำลังไฟฟ้าได้มาก และพบว่า PZT ที่เรียงซ้อนกันหลายชั้นสามารถให้กำลังไฟฟ้ามากกว่า PZT ชั้นเดียว วงจรเรียงกระแสครึ่งคาบแบบมีตัวกรองมีความสามารถที่จะนำกำลังไฟฟ้าที่เก็บเกี่ยวได้ไปจุดหลอด LED ได้ติดและสามารถนำไปประจุแบตเตอรี่ขนาด 1.2 โวลต์ ได้แต่ยังต้องใช้เวลาในการประจุไฟนานมากเพราะกระแสไฟฟ้าที่ได้มีค่าต่ำและความถี่ของแรงที่กระทำต่ำเกินไป จึงต้องมีการพัฒนาต่อไป

กิตติกรรมประกาศ

งานวิจัยนี้ได้รับทุนสนับสนุนการวิจัยจากสำนักงานนโยบายและแผนพลังงาน กระทรวงพลังงาน

เอกสารอ้างอิง

นิธิพจน์ พุทธงชัย, สุธรรม ศรีหล่มสัก. (2553). การหาค่าแฟกเตอร์การคู่ควบเชิงระนาบของวัสดุไพอิโซอิเล็กทริก. วารสารวิทยาศาสตร์ มหาวิทยาลัยขอนแก่น. 38(2): 271-288.

ปารเมศ ชุติมา. (2545). การออกแบบการทดลองทางวิศวกรรม. พิมพ์ครั้งที่ 1. กรุงเทพฯ: สำนักพิมพ์แห่งจุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย.

APC International, Ltd. (2002). Piezoelectric Ceramics: Principle and Applications. Mackeyville. PA: APC International, Ltd.

Chen, C. Islam, RA. and Priya, S. (2006). Electric energy generator. IEEE Trans Ultrason Ferroelectr Freq Control. 53(3): 656-661.

Chen, H. Jia, C. Zhang, C. Wang, Z. and Liu, C. (2007). Power harvesting with PZT ceramics. IEEE international Symposium on Circuits and Systems. 557-560.

Clevite Corporation. (1965). Piezoelectric technology data for designers. Bedford, OH: The Corporation. 30-34.

Fletscher, R. (1996). Force transduction materials for human- technology interfaces. IBM Systems Journal. 35: 630-638.

Kim, H. Priya, S. Stephanou, H. and Uchino, K. (2007). Consideration of impedance matching techniques for efficient piezoelectric energy harvesting. IEEE Trans Ultrason Ferroelectr Freq Control. 54(9): 1851-1859.

Kim, H. Priya, S. Uchino, K. and Newnham, R. (2005). Piezoelectric energy harvesting under high pre-stress cyclic vibration. J Electroceram. 15(1): 27-34.

Putthongchai, N. Kulworawanichpong, T. Laoratanakul, P. and Srilomsak, S. (2010). Effects of Composition and Diameter of PZT Transducers on Energy Harvesting. Integrated Ferroelectrics Journal. 114(1): 1-11.

Shenck, N. (1999). A demonstration of useful electric energy generation from piezoceramics in a shoe. MS thesis, Massachusetts Institute of Technology.

Sodano, H. Inman, D. and Park, G. (2005). Comparison of piezoelectric energy harvesting devices for recharging batteries. J Intell Mater Syst Struct. 16(10): 799-877.

Sodano, H. Magliula, E. Park, G. and Inman, D. (2002). Electric power generation using piezoelectric devices. Proceedings of 13th

International Conference on Adaptive Structures and Technologies. Berlin, Germany

Sodano, H. Park, G. and Inman, D. (2004). Estimation of electric charge output for piezoelectric energy harvesting. Strain. 40(2): 49-58.

Starner, T. (1996). Human powered wearable computing. IBM systems journal. 35: 618-629.

Starner, T. and Paradiso, J. (2004). Human generated power for mobile electronics: Piguet C ed. Low-Power Electronics Design. Boca Raton, FL: CRC Press. 1-35.

Wischke, M. Goldschmidtboeing, F. and Woias, P. (2007). A low cost generator concept for energy harvesting applications. The 14th International Conference on Solid-State Sensors Actuators and Microsystems. Lyon, France: June 10 -14.

Zurkinden, A. Campanile, F. and Martinelli, L. (2007). Wave energy converter through piezoelectric polymers. Proceedings of the COMSOL Users Conference. Grenoble.

❑❑❑❑❑

ว.วิทย. มข. 39(2) 299-310 (2554) KKU Sci. J.39(2) 299-310 (2011)

KKU SCIENCE JOURNAL

การประยุกต์ใช้ระบบสารสนเทศภูมิศาสตร์ในการพัฒนาแหล่งน้ำ กรณีศึกษา ตำบลประณีต อำเภอเขาสมิง จังหวัดตราด

Application of Geographic Information System on Water Resource Development: A Case Study in Pranit Sub-District, Khao Saming District, Trad Province

อารดา ซาฟีอี[1*] *และ ธนิตย์ อินทรัตน์*[1]

บทคัดย่อ

ตำบลประณีต อำเภอเขาสมิง จังหวัดตราด มีปริมาณน้ำฝนเฉลี่ยประมาณ 2,151-3,750 มิลลิเมตรต่อปี แต่พบว่าประสบกับปัญหาการขาดแคลนน้ำอย่างรุนแรงทั่วทั้งพื้นที่ โดยเฉพาะการขาดแคลนน้ำเพื่อการเกษตรกรรม ซึ่งส่งผลเสียกับการเพาะปลูก การศึกษาในครั้งนี้มีวัตถุประสงค์ เพื่อศึกษาสภาพ และศักยภาพของแต่ละลุ่มน้ำย่อย ศึกษาวิธีการในการพัฒนาแหล่งน้ำที่เหมาะสมกับสถานภาพและศักยภาพของแต่ละลุ่มน้ำย่อย และประเมินพื้นที่ที่ได้รับประโยชน์จากการพัฒนาแหล่งน้ำ

ในการศึกษาได้ทำการแบ่งพื้นที่ลุ่มน้ำย่อยออกเป็น 7 ลุ่มน้ำย่อย เพื่อวิเคราะห์สถานภาพ และศักยภาพของแต่ละลุ่มน้ำย่อย จากปัจจัยต่าง ๆ ได้แก่ ลักษณะภูมิประเทศ เส้นทางน้ำ ที่ตั้งแหล่งน้ำ ลักษณะทางอุทกวิทยา ลักษณะดิน การใช้ประโยชน์ที่ดิน การเกษตร และความต้องการการใช้น้ำ เพื่อวางแผนการวางโครงการพัฒนาแหล่งน้ำ โดยนำระบบสารสนเทศภูมิศาสตร์มาประยุกต์ใช้เป็นเครื่องมือในการวิเคราะห์

ผลการศึกษาพบว่าโครงการพัฒนาแหล่งน้ำที่เหมาะสมกับสถานภาพ และศักยภาพของแต่ละลุ่มน้ำย่อย มีทั้งหมด 26 โครงการ ประกอบด้วย โครงการสร้างฝายน้ำล้น จำนวน 4 โครงการ โครงการขุดสระน้ำสาธารณะประโยชน์ จำนวน 5 โครงการ โครงการวางท่อส่งน้ำดิบเพื่อการเกษตร จำนวน 5 โครงการ และโครงการขุดลอกคลอง จำนวน 12 โครงการซึ่งผลที่ได้จากการศึกษาสามารถนำไปใช้ในการบรรเทาความเดือดร้อนให้แก่ผู้ประกอบอาชีพทางการเกษตร

[1] คณะภูมิสารสนเทศศาสตร์ มหาวิทยาลัยบูรพา จ.ชลบุรี 20131

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

Abstract

Pranit sub-district has an average rainfall approximately 2,151 - 3,750 mm per year, however this area is found to be a severe water shortage area especially in agricultural area. The objectives of this study were to study condition and potential of each subwatersheds, appropriate methodologies in water resource development, and beneficial area assessment from water resource development.

A main watershed was divided into 7 subwatersheds. The condition and potential of subwatershed were analyzed from various factors, for instance topography, stream, water body, hydrology, soil, land use, agriculture, and water demand for planning water resource development project. Geoinformatics was brought as an analysis tool in this study.

The results revealed that there were 26 appropriate water resource development projects consisted of 4 dam construction projects, 5 public pool projects, 5 water piping for agricultural projects, and 12 canal excavation projects. These projects can reduce water shortage and agricultural problem in the study area.

คำสำคัญ : การพัฒนาแหล่งน้ำ ระบบสารสนเทศภูมิศาสตร์ ลุ่มน้ำ

Keywords : Water Resource Development, Geographic Information System, Watershed

บทนำ

การพัฒนาแหล่งน้ำเพื่อการเพาะปลูกหรือการชลประทาน นับว่าเป็นงานที่มีความสำคัญและมีประโยชน์อย่างยิ่งสำหรับประชาชนส่วนใหญ่ของประเทศ ในการช่วยให้เกษตรกรทำการเพาะปลูกได้อย่างสมบูรณ์ตลอดปี โดยเฉพาะพื้นที่การเพาะปลูกนอกเขตชลประทาน ซึ่งต้องอาศัยเพียงน้ำฝนและน้ำจากแหล่งน้ำธรรมชาติเป็นหลัก ทำให้พืชได้รับน้ำไม่สม่ำเสมอตามที่ต้องการ อีกทั้งความผันแปรเนื่องจากฝนตกไม่เพียงพอกับความต้องการ เป็นผลให้ผลผลิตที่ได้รับไม่ดีเท่าที่ควร พระบาทสมเด็จพระเจ้าอยู่หัวทรงให้ความสนพระราชหฤทัยเกี่ยวกับการพัฒนาแหล่งน้ำมากกว่าโครงการพัฒนาอันเนื่องมาจากพระราชดำริประเภทอื่น ทรงให้ความสำคัญในลักษณะ “น้ำคือชีวิต” ดังพระราชดำรัส ณ พระตำหนักจิตรลดารโหฐาน เมื่อวันที่ 17 มีนาคม 2529 มีใจความตอนหนึ่งว่า “หลักสำคัญว่าต้องมีน้ำบริโภค น้ำใช้ น้ำเพื่อการเพาะปลูก เพราะว่าชีวิตอยู่ที่นั่น ถ้ามีน้ำคนอยู่ได้ ถ้าไม่มีน้ำคนอยู่ไม่ได้ ไม่มีไฟฟ้าคนอยู่ได้ แต่ถ้ามีไฟฟ้าไม่มีน้ำคนอยู่ไม่ได้” (สำนักงานคณะกรรมการพิเศษเพื่อประสานงานโครงการอันเนื่องมาจากพระราชดำริ, 2548)

พื้นที่ส่วนใหญ่ของประเทศไทยเป็นพื้นที่ด้านเกษตรกรรม ซึ่งน้ำถือเป็นปัจจัยที่สำคัญในการประกอบอาชีพทางการเกษตร และเนื่องจากในปัจจุบันประเทศไทยเกิดสภาวะวิกฤตเกี่ยวกับน้ำขึ้นอยู่บ่อยครั้ง จากการศึกษาพบว่าในบางปีมีปริมาณน้ำเกินความต้องการและในบางปีมีปริมาณน้ำไม่เพียงพอต่อความต้องการ ทำให้เกิดสภาวะขาดแคลนน้ำซึ่งเป็นเหตุทำให้พืชผลในพื้นที่เพาะปลูกได้รับความเสียหาย

พื้นที่ในเขตภาคตะวันออกของประเทศไทยเป็นอีกหนึ่งในพื้นที่ที่ประสบปัญหาเรื่องน้ำ โดยเฉพาะจังหวัดตราด เกษตรกรชาวสวนผลไม้ในบริเวณพื้นที่อำเภอเขาสมิง กำลังประสบกับปัญหาภัยแล้ง ซึ่งหากไม่ได้รับการแก้ไขโดยเร่งด่วนจะทำให้ผลผลิตทางการเกษตรเสียหายเป็นจำนวนมาก (ผู้จัดการออนไลน์, 2552) การพัฒนาแหล่งน้ำในพื้นที่ที่

ประสบปัญหาเรื่องน้ำจึงเป็นหนทางหนึ่งที่จะช่วยในการแก้ปัญหาและบรรเทาความเดือดร้อน ให้เกษตรกรมีน้ำใช้สำหรับทำการเกษตร ตลอดจนกิจกรรมด้านอื่นได้อย่างเพียงพอตลอดปี

นับตั้งแต่วันที่ 27 มกราคม 2552 เป็นต้นมา รัฐบาลไทยได้กำหนดนโยบายในการจัดทำแผนยุทธศาสตร์การบริหารจัดการแหล่งน้ำของประเทศ รวมไปถึงการพัฒนาระบบสารสนเทศเพื่อการตัดสินใจและการบริหารจัดการทรัพยากรน้ำ ซึ่งเป็นกลยุทธ์ในการเพิ่มน้ำต้นทุนและเพิ่มประสิทธิภาพในการกระจายน้ำให้กับประชากร (สำนักงานคณะกรรมการพัฒนาการเศรษฐกิจและสังคมแห่งชาติ, 2552) โดยพัฒนาแหล่งน้ำให้สอดคล้องกับศักยภาพของพื้นที่ ทั้งในเรื่องความต้องการ และคุณภาพ เพื่อให้เหมาะสมสำหรับทุกกิจกรรม และต้องคำนึงถึงการอนุรักษ์ทรัพยากรธรรมชาติ และสิ่งแวดล้อมที่เกี่ยวข้องในท้องถิ่นเป็นสำคัญ ซึ่งในการพัฒนาแหล่งน้ำมักประสบปัญหาในเรื่องของผลกระทบที่จะเกิดขึ้นโดยตรงต่อประชาชนและพื้นที่ เนื่องจากมีปัจจัยต่างๆ ที่เกี่ยวข้องและต้องนำมาพิจารณารวมไปถึงองค์ประกอบและการเชื่อมโยงของสภาพปัญหาต่างๆ ในพื้นที่

สำหรับแนวทางในการวิเคราะห์ปัญหา หลายหน่วยงานได้มีการนำระบบสารสนเทศภูมิศาสตร์มาประยุกต์ใช้ในการศึกษาหาความเหมาะสมในการพัฒนาแหล่งน้ำ โดยการวิเคราะห์สภาพของพื้นที่ศักยภาพของลุ่มน้ำ และสถานภาพของชุมชนหรือท้องถิ่น เพื่อช่วยให้เห็นข้อเท็จจริงของสภาพปัญหาในพื้นที่ อันจะช่วยให้เกิดการตัดสินใจในเชิงนโยบายและนำไปสู่การปฏิบัติอย่างเป็นรูปธรรมได้อย่างชัดเจน ซึ่งสอดคล้องกับนโยบายขององค์การบริหารส่วนตำบลประณีต อำเภอเขาสมิง จังหวัดตราด ที่กำหนดนโยบายในการพัฒนาลุ่มน้ำเวฬุ ซึ่งเป็นลุ่มน้ำนำร่องในการบริหารจัดการแหล่งน้ำ ดังนั้นการศึกษาในครั้งนี้ จะทำการศึกษาสถานภาพและศักยภาพของลุ่มน้ำย่อยในตำบลประณีต อำเภอเขาสมิง จังหวัดตราด โดยพิจารณากำหนดขอบเขตพื้นที่ลุ่มน้ำย่อย จากลุ่มน้ำหลักเวฬุ เพื่อนำมาวิเคราะห์ถึงวิธีการในการพัฒนาแหล่งน้ำที่เหมาะสมกับสถานภาพและศักยภาพของลุ่มน้ำย่อย ซึ่งผลการศึกษาที่ได้สามารถนำไปใช้ประโยชน์ด้านการวางแผนโครงการในการพัฒนาแหล่งน้ำตามนโยบายขององค์การบริหารส่วนตำบลประณีต อำเภอเขาสมิง จังหวัดตราด ต่อไป

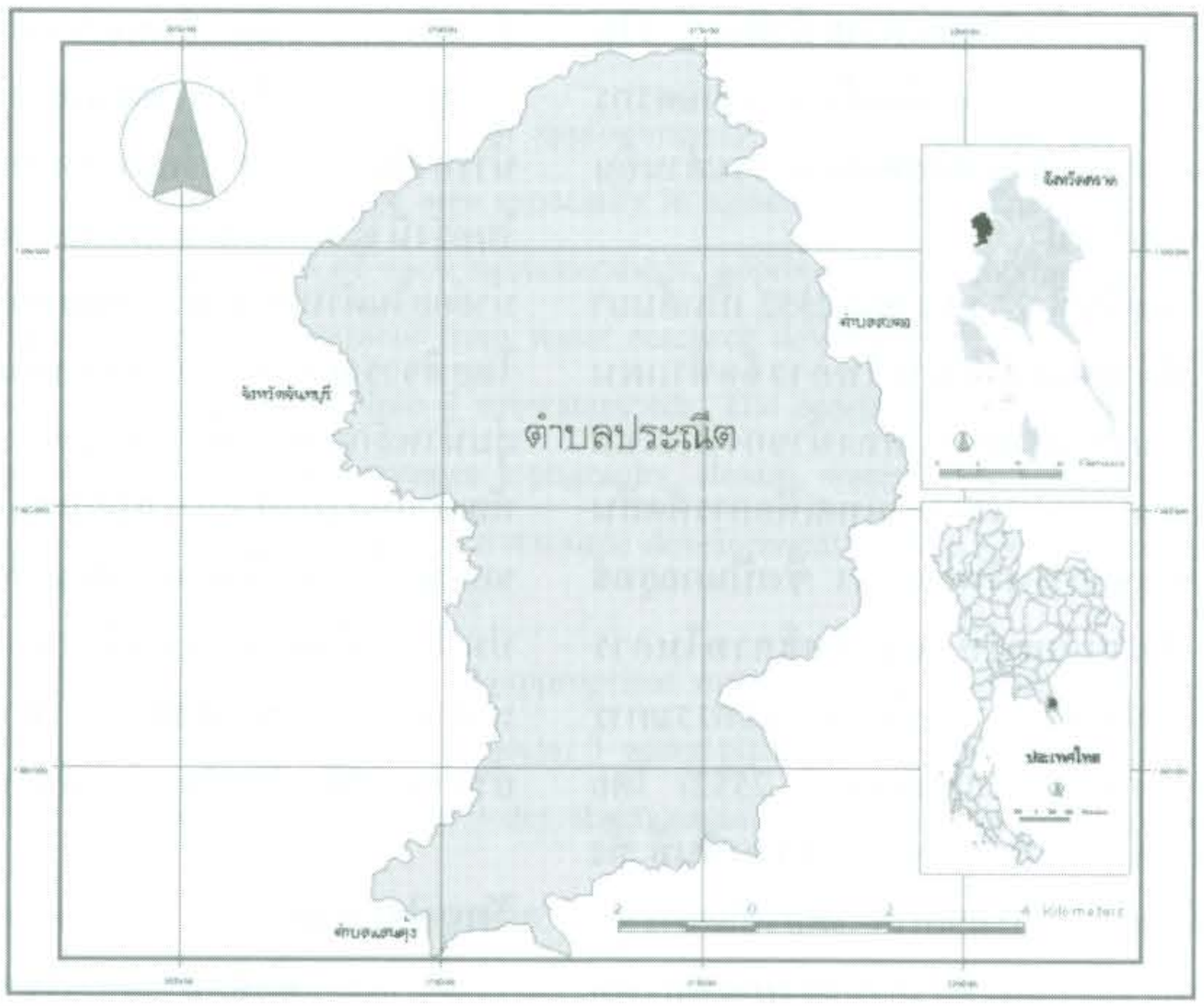
วัตถุประสงค์

1. เพื่อศึกษาวิธีการในการพัฒนาแหล่งน้ำที่เหมาะสมกับสถานภาพ และศักยภาพของแต่ละลุ่มน้ำย่อย รวมทั้งประเมินพื้นที่ที่ได้รับประโยชน์จากการพัฒนาแหล่งนำ

2. เพื่อจัดทำแผนที่แสดงตำแหน่งโครงการในการพัฒนาแหล่งน้ำ บริเวณตำบลประณีต อำเภอเขาสมิง จังหวัดตราด

พื้นที่ศึกษา

ตำบลประณีต อำเภอเขาสมิง จังหวัดตราด ตั้งอยู่ในพื้นที่ลุ่มน้ำชายฝั่งทะเลตะวันออก(ลุ่มน้ำหลัก) ลุ่มน้ำเวฬุ (ลุ่มน้ำสาขาย่อย) มีพื้นที่ทั้งหมด 109.72 ตารางกิโลเมตร คิดเป็น 68,575 ไร่ ห่างจากอำเภอเขาสมิง 25 กิโลเมตร และห่างจากจังหวัดตราด 50 กิโลเมตร มีอาณาเขตติดต่อกับพื้นที่ใกล้เคียง ดังแสดงในรูปที่ 1 ดังนี้



รูปที่ 1 ขอบเขตการปกครองตำบลประณีต และพื้นที่ติดต่อทิศเหนือ ติดต่อกับ ตำบลตกพรม อำเภอขลุง จังหวัดจันทบุรี ทิศใต้ ติดต่อกับ ตำบลแสนตุ้ง อำเภอเขาสมิง จังหวัดตราด ทิศตะวันออก ติดต่อกับ ตำบลสะตอ ตำบลเทพนิมิต อำเภอเขาสมิง จังหวัดตราด ทิศตะวันตก ติดต่อกับ ตำบลบ่อ ตำบลวังสรรพรส อำเภอขลุง จังหวัดจันทบุรี

ลักษณะภูมิประเทศ

สภาพภูมิประเทศส่วนใหญ่เป็นพื้นที่ราบลุ่มสลับเนินเขา มีแม่น้ำลำคลองอยู่โดยทั่วไป พื้นที่ส่วนใหญ่ใช้ในการเกษตรกรรม บางแห่งเป็นพื้นที่ว่างเปล่าที่หลงเหลือจากการทำเหมืองแร่รัตนชาติ มีการวางตัวของพื้นที่ทอดตัวไปทางทิศตะวันตกสู่แม่น้ำเวฬุ โดยทิศเหนือ ทิศตะวันออก และทิศใต้เป็นพื้นที่เนินเขามีร่องน้ำระหว่างเนินเขา ทิศตะวันตกเป็นที่ราบลุ่มริมแม่น้ำเวฬุปริมาณน้ำที่เกิดขึ้นจากฤดูฝนจะไหลผ่านพื้นที่เกษตรกรรม ลงสู่แม่น้ำเวฬุ โดยมีลำคลองที่สำคัญ ได้แก่ คลองสะท้อน คลองเกาะลอ คลองนาแกลง คลองประณีต สภาพดินส่วนใหญ่เป็นดินลูกรัง และดินเหนียวปนทรายริมแม่น้ำ

ลักษณะภูมิอากาศและอุทกวิทยา

มีสภาพอากาศร้อนชื้น อุณหภูมิเฉลี่ย 28 องศาเซลเซียส ตำบลประณีตซึ่งอยู่ในเขตพื้นที่จังหวัดตราด จึงอยู่ภายใต้อิทธิพลของลมมรสุมตะวันตกเฉียงใต้ และลมมรสุมตะวันออกเฉียงเหนือ อิทธิพลของลมมรสุมทั้งสองนี้มีผลต่อสภาพภูมิอากาศของพื้นที่จังหวัดตราดมาก กล่าวคือ ประมาณตั้งแต่เดือนพฤษภาคมถึงตุลาคม ลมมรสุมตะวันตกเฉียงใต้ พัดพาเอาความชื้นในทะเลอันดามันและอ่าวไทยเข้ามาในภาคพื้นทวีป ทำให้เกิดฝนตกหนัก จากนั้นประมาณตั้งแต่เดือนตุลาคม ถึงกุมภาพันธ์ ลมมรสุมตะวันออกเฉียงเหนือ พัดพาเอาความหนาวเย็นและแห้งแล้งจากประเทศจีนเข้ามาในประเทศไทย รวมไปถึงพื้นที่จังหวัดตราด และช่วงต่อของลมมรสุมทั้งสอง คือ ประมาณเดือนกุมภาพันธ์ถึงพฤษภาคม จะเป็นช่วงที่สภาพ

อากาศแปรเปลี่ยนทิศทางของลมพัดไม่แน่นอน อาจมีทั้งพายุฝนฟ้าคะนองในพื้นที่ และบางปีเกิดสภาวะความแห้งแล้งอย่างต่อเนื่อง (โครงการชลประทานตราด, 2547) มีปริมาณน้ำฝนโดยเฉลี่ย 3,750 มิลลิเมตรต่อปี

ข้อมูลและอุปกรณ์ที่ใช้ในการศึกษา

1. ขอบเขตในการศึกษา

1.1 ขอบเขตเชิงพื้นที่ : สภาพทั่วไปของพื้นที่และสภาพปัญหาเรื่องน้ำของประชากรในตำบลประณีต อำเภอเขาสมิง จังหวัดตราด จากองค์การบริหารส่วนตำบลประณีต อำเภอเขาสมิง จังหวัดตราด

1.2 ขอบเขตเชิงเนื้อหา : ความรู้พื้นฐานเพื่อวางโครงการในการพัฒนาแหล่งน้ำ การศึกษาสถานภาพและศักยภาพของลุ่มน้ำ ประเภทและลักษณะโครงการพัฒนาแหล่งน้ำ จากกรมทรัพยากรน้ำ

2. ข้อมูลที่ใช้ในการศึกษา

2.1 แผนที่แสดงลักษณะภูมิประเทศ ลำดับชุด L7018 มาตราส่วน 1: 50,000 ระวางที่ 5433 I และ 5434 II จากกรมแผนที่ทหาร

2.2 แผนที่แสดงขอบเขตลุ่มน้ำย่อย บริเวณตำบลประณีต อำเภอเขาสมิง จังหวัดตราด

2.3 แผนที่แสดงเส้นทางน้ำ และที่ตั้งแหล่งน้ำ บริเวณตำบลประณีต อำเภอเขาสมิง จังหวัดตราด

2.4 แผนที่แสดงการใช้ประโยชน์ที่ดิน บริเวณตำบลประณีต อำเภอเขาสมิง จังหวัดตราด จากกรมพัฒนาที่ดิน

2.5 ภาพข้อมูลดาวเทียมจากโปรแกรมกูเกิ้ล เอิร์ธ (google earth)

2.6 ข้อมูลจากการสำรวจภาคสนามบริเวณพื้นที่ตำบลประณีต อำเภอเขาสมิง จังหวัดตราด

2.7 โปรแกรมระบบสารสนเทศภูมิศาสตร์ ESRI Arc View 3.1 จากคณะภูมิสารสนเทศศาสตร์ มหาวิทยาลัยบูรพา

วิธีดำเนินการศึกษา

1. ศึกษาแนวคิดทฤษฎี งานวิจัย เอกสารหลักฐานจากหน่วยงานราชการและเอกชนที่เกี่ยวข้องกับการพัฒนาแหล่งน้ำ

2. กำหนดขอบเขตพื้นที่ลุ่มน้ำย่อยจากลุ่มน้ำหลักเวฬุ ในพื้นที่ตำบลประณีต อำเภอเขาสมิง จังหวัดตราด ทำการสำรวจภาคสนามร่วมกับองค์การบริหารส่วนตำบลประณีต เพื่อทำการศึกษาสภาพปัญหาเรื่องการขาดแคลนน้ำของประชาชนในพื้นที่

3. ศึกษาลักษณะของโครงการในการพัฒนาแหล่งน้ำในแต่ละลุ่มน้ำย่อย ซึ่งสามารถแบ่งลักษณะโครงการได้ 4 ประเภท ดังนี้ การสร้างฝายน้ำล้น การวางท่อส่งน้ำดิบเพื่อการเกษตร การขุดสระน้ำสาธารณะประโยชน์ และการขุดลอกคลอง

4. ศึกษา และรวบรวมข้อมูลสถานภาพ และศักยภาพของแต่ละลุ่มน้ำย่อย เพื่อจัดทำฐานข้อมูล ซึ่งข้อมูลที่ใช้ในการศึกษา มีดังนี้

4.1 ลักษณะภูมิประเทศ เส้นทางน้ำและที่ตั้งแหล่งน้ำศึกษาจากแผนที่แสดงลักษณะภูมิประเทศ L7018 ระวางที่ 5433 I และ 5434 II ภาพข้อมูลดาวเทียมจากโปรแกรมกูเกิ้ล เอิร์ธ และการสำรวจภาคสนาม เพื่อจัดทำแผนที่แสดงเส้นทางน้ำและที่ตั้งแหล่งน้ำ โดยใช้โปรแกรม Arc View 3.1

4.2 ลักษณะทางอุทกวิทยา

(1) ปริมาณน้ำฝน ได้จากข้อมูลปริมาณน้ำฝนเฉลี่ยของลุ่มน้ำหลักชายฝั่งทะเลตะวันออกจาก 25 ลุ่มน้ำหลักของประเทศไทย โดยอ้างอิงข้อมูลจากกรมทรัพยากรน้ำ

(2) ปริมาณน้ำท่า ได้จากการคำนวณปริมาณน้ำท่ารายปีเฉลี่ยจากปริมาณน้ำฝน จากแบบจำลองของกรมทรัพยากรน้ำ (2547) ดังแสดงในสมการที่ 1 ดังนี้

ปริมาณน้ำท่ารายปี (ลบ.ม.) = 10 x พื้นที่รับน้ำฝน (ตร.กม.) x ปริมาณฝนรายปี (มม.) x เปอร์เซ็นต์ของการเกิดปริมาณน้ำท่าต่อปริมาณน้ำฝนรายปี (1)

(3) ปริมาณน้ำนองสูงสุด ได้จากการศึกษาของปราโมทย์ ไม้กลัด (2525) ซึ่งทำการวิเคราะห์ค่าปริมาณน้ำนองสูงสุด ต่อพื้นที่รับน้ำฝนหนึ่งตารางกิโลเมตร ในรอบปีการเกิดซ้ำ 25 ปีของจังหวัดตราด มีค่าเท่ากับ 6 ลูกบาศก์เมตร ต่อวินาที ดังนั้นปริมาณน้ำนองสูงสุดในรอบ 25 ปี ที่คาดว่าจะไหลตามลำน้ำมายังจุดที่ตั้งโครงการในแต่ละลุ่มน้ำย่อย จะเท่ากับผลคูณของขนาดพื้นที่รับน้ำฝนกับปริมาณน้ำนองสำหรับพื้นที่หนึ่งตารางกิโลเมตรของจังหวัดตราด

4.3 การใช้ประโยชน์ที่ดินและการเกษตร ได้จากการวิเคราะห์แผนที่การใช้ประโยชน์ที่ดินในตำบลประณีต อำเภอเขาสมิง จังหวัดตราด

4.4 ความต้องการใช้น้ำ ศึกษาโดยการคำนวณปริมาณความต้องการใช้น้ำสำหรับพืชสวนและไม้ยืนต้นจากแบบจำลองของกรมทรัพยากรน้ำ (2547) ดังแสดงในสมการที่ 2 ดังนี้

ความต้องการใช้น้ำ = ปริมาณน้ำที่พืชต้องการ x พื้นที่เพาะปลูกทั้งหมด (ไร่) (2)

5. วิเคราะห์ความเหมาะสมของโครงการพัฒนาแหล่งน้ำ จากข้อมูลสถานภาพและศักยภาพของแต่ละลุ่มน้ำย่อยเพื่อวิเคราะห์โครงการที่มีความเป็นไปได้ในการพัฒนาแหล่งน้ำ และจัดทำแผนเพื่อวางโครงการในการพัฒนาแหล่งน้ำที่เหมาะสมกับสถานภาพและศักยภาพของแต่ละลุ่มน้ำย่อย

6. ประเมินพื้นที่ที่ได้รับผลประโยชน์จากการวางโครงการในการพัฒนาแหล่งน้ำ

7. สำรวจภาคสนามบริเวณพื้นที่ที่วางโครงการในแต่ละลุ่มน้ำย่อย เพื่อตรวจสอบสภาพลำน้ำและสรุปผลการศึกษา

8. จัดทำข้อมูลแสดงตำแหน่งที่ตั้งโครงการในการพัฒนาแหล่งน้ำแต่ละประเภทที่ได้ทำการศึกษาเข้าสู่ระบบสารสนเทศภูมิศาสตร์ในรูปแบบของแผนที่ระบบดิจิตอล โดยได้แสดงแผนผังขั้นตอนการศึกษาในรูปที่ 2 ดังนี้

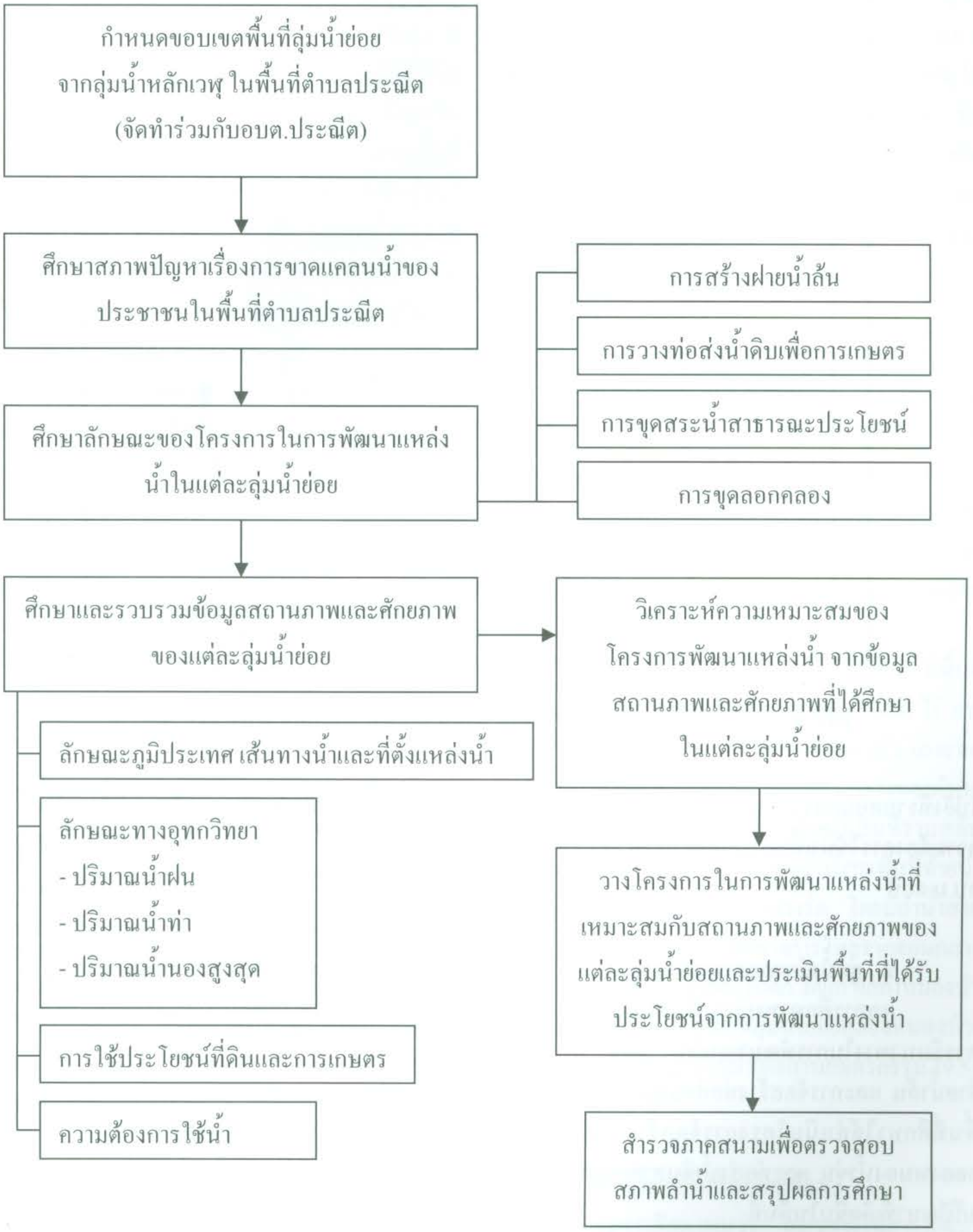
ผลการศึกษา

ผลการกำหนดขอบเขตพื้นที่ลุ่มน้ำย่อย สามารถแบ่งพื้นที่ลุ่มน้ำย่อยออกเป็น 7 ลุ่มน้ำย่อย ได้แก่ 1) ลุ่มน้ำย่อยคลองซอง 2) ลุ่มน้ำย่อยคลองหนองน้ำขุน 3) ลุ่มน้ำย่อยคลองฉุง 4) ลุ่มน้ำย่อยคลองนาแกลง-ทรายขาว 5) ลุ่มน้ำย่อยคลองหนองบัว-เกาะลอ 6) ลุ่มน้ำย่อย คลองสะท้อน และ 7) ลุ่มน้ำย่อยคลองสะตอน้อย ดังแสดงในรูปที่ 3 ดังนี้

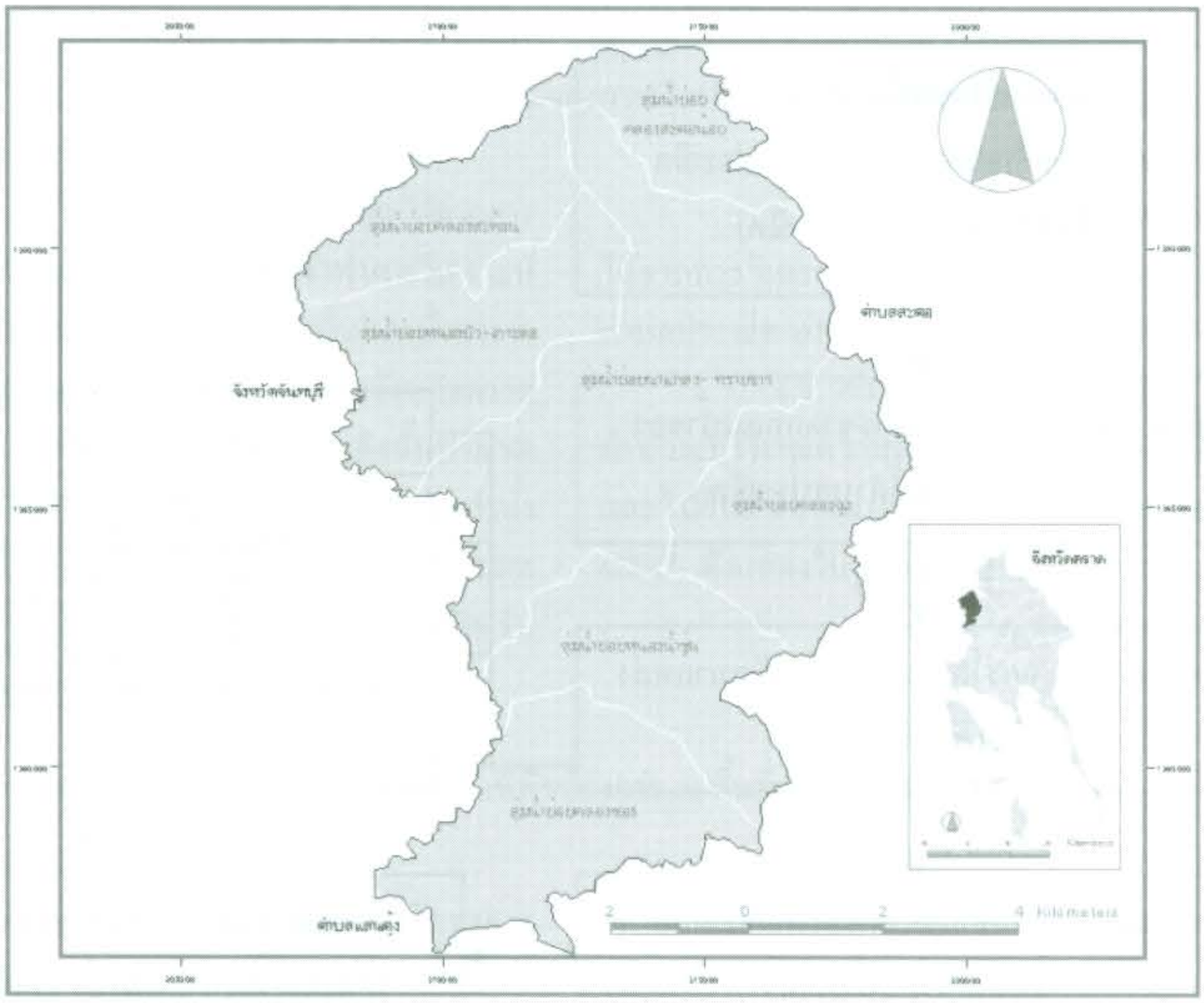
1. ลุ่มน้ำย่อยคลองซอง

ผลการศึกษาพบว่า แนวทางการพัฒนาแหล่งน้ำ ได้แก่ การขุดสระน้ำ และขุดลอกคลอง โดยพบว่าในพื้นที่ศึกษาได้ดำเนินการจัดทำสระน้ำบ้านเสมอราษฎร์ และการขุดคลองบ้านท่าเสมอ

ลุ่มน้ำย่อยคลองซองมีพื้นที่ทั้งหมด 18.4 ตารางกิโลเมตร คิดเป็น 11,500 ไร่ การวางตัวของพื้นที่ลุ่มน้ำย่อยคลองซอง มีลักษณะทอดตัวไปตามแนวจากด้านทิศตะวันออกไปยังทิศตะวันตก พื้นที่ทางทิศตะวันออกส่วนใหญ่เป็นเนินเขา ที่ราบส่วนใหญ่จะอยู่บริเวณตอนกลางของลุ่มน้ำจนถึงทางทิศใต้และทิศตะวันตก โดยมีลำน้ำสายสำคัญในพื้นที่ลุ่มน้ำซึ่งมีทิศทางการไหลจากทิศตะวันออกไปยังตะวันตก ได้แก่ คลองซอง และคลองลำห้วย บริเวณที่สูงชันและภูเขาเป็นเขตที่มีความสูงจากระดับน้ำทะเลตั้งแต่ 60-80 เมตร ครอบคลุมอาณาบริเวณบางส่วนด้านทิศตะวันออกของลุ่มน้ำคลองซอง มักจะทอดตัวจากทิศตะวันออก



รูปที่ 2 แผนผังแสดงขั้นตอนการศึกษา



รูปที่ 3 แผนที่แสดงขอบเขตลุ่มน้ำย่อย ตำบลประณีต อำเภอเขาสมิง จังหวัดตราด

ไปยังที่ราบตอนกลาง ในพื้นที่ลุ่มน้ำย่อยคลองซองมีความต้องการใช้น้ำเพื่อการเกษตรกรรม 11.57 ล้าน ลบ.ม.ต่อปี

2. ลุ่มน้ำย่อยคลองหนองน้ำขุ่น

ผลการศึกษาพบว่า พื้นที่ลุ่มน้ำย่อยแห่งนี้ควรมีแนวทางในการพัฒนาแหล่งน้ำ ได้แก่ การสร้างฝายน้ำล้น และการจัดสร้างท่อส่งน้ำดิบ โดยพบว่าในพื้นที่ศึกษาได้ดำเนินโครงการจัดสร้าง ฝายน้ำล้นคลองหนองน้ำขุ่น และท่อส่งน้ำดิบสายตกณรงค์ เพื่อแก้ปัญหาที่เกิดขึ้นในพื้นที่

ลุ่มน้ำย่อยคลองหนองน้ำขุ่นมีพื้นที่ทั้งหมด 14.24 ตารางกิโลเมตร คิดเป็น 8,900 ไร่ การวางตัวของพื้นที่ลุ่มน้ำย่อยคลองหนองน้ำขุ่นมีลักษณะทอดตัวไปตามแนวจากด้านทิศตะวันออกไปยังตอนกลางของตำบล พื้นที่ส่วนใหญ่เป็นที่ราบสลับเนินเขา ส่วนทางตอนปลายของพื้นที่หรือทางทิศตะวันตกเป็นที่ราบติดกับคลองฉุง โดยมีลำน้ำสายสำคัญในพื้นที่ลุ่มน้ำซึ่งมีทิศทางการไหลจากทิศตะวันออกไปยังตอนกลางของตำบล ได้แก่ คลองหนองน้ำขุ่น คลองตาละวาย และคลองนางวัง ในพื้นที่ลุ่มน้ำย่อยคลองหนองน้ำขุ่นมีความต้องการใช้น้ำเพื่อการเกษตรกรรม 17.02 ล้าน ลบ.ม.ต่อปี

3. ลุ่มน้ำย่อยคลองฉุง

ผลการศึกษาพบว่า ลุ่มน้ำย่อยคลองฉุง ควรมีแนวทางการพัฒนาแหล่งน้ำ ได้แก่ การสร้างฝายน้ำล้น และการขุดลอกคลอง โดยพบว่าในพื้นที่ศึกษาได้ดำเนินโครงการจัดสร้าง ฝายน้ำล้นคลองขี้เหล็ก ขุดลอกคลองขี้เหล็ก ขุดลอกคลองดอนสวน และขุดลอกสระน้ำบ้านนาวง

ลุ่มน้ำย่อยคลองฉุงมีพื้นที่ทั้งหมด 14.4 ตารางกิโลเมตร คิดเป็น 9,000 ไร่ ตั้งอยู่ทางตอนกลางของตำบลประณีต การวางตัวของพื้นที่ลุ่มน้ำย่อยคลองฉุง มีลักษณะทอดตัวไปตามแนวจากด้านทิศตะวันออกไปยังทิศตะวันตก ทางด้านทิศตะวันออกของพื้นที่เป็นที่ราบสลับเนินเขา ลุ่มน้ำย่อยคลองฉุงเป็นลุ่มน้ำสายหลักของตำบลประณีต ซึ่งเป็นจุดรวมน้ำของลุ่มน้ำย่อยนาแกลง-ทรายขาว ลุ่มน้ำย่อยหนองน้ำขุ่น รวมไปถึงลุ่มน้ำย่อยคลองฉุงเองด้วย ซึ่งบางส่วนอยู่ในเขตพื้นที่ตำบลสะตอและตำบลเทพนิมิตร อำเภอเขาสมิง จังหวัดตราด บริเวณตอนกลางและตอนปลายของพื้นที่เป็นที่ราบน้ำท่วมถึง ติดกับแม่น้ำเวฬุ จึงได้รับอิทธิพลจากกระแสน้ำในแม่น้ำเวฬุมีลำน้ำสายสำคัญในพื้นที่ลุ่มน้ำซึ่งมีทิศทางการไหลจากทิศตะวันออกไปยังตะวันตก ได้แก่ คลองวังห้าง คลองขี้เหล็ก คลองดอนสวน-วังลาน คลองไชยคร คลองหนองน้ำขุ่น คลองตาละวาย คลองนางวัง และคลองนาแกลง ในพื้นที่ลุ่มน้ำย่อยคลองฉุงมีความต้องการใช้น้ำเพื่อการเกษตรกรรม 18.84 ล้าน ลบ.ม.ต่อปี

4. ลุ่มน้ำย่อยคลองนาแกลง-ทรายขาว

ผลการศึกษาพบว่า ลุ่มน้ำย่อยคลองนาแกลง-ทรายขาว ควรมีแนวทางในการพัฒนาแหล่งน้ำ โดยการขุดสระน้ำบริเวณพื้นที่ ทำการสร้างท่อส่งน้ำดิบ และดำเนินการขุดลอกคูคลอง โดยพบว่าในพื้นที่ได้ศึกษาได้ดำเนินโครงการสร้างสระน้ำทุ่งนาดาบ ท่อส่งน้ำดิบสายดอนสูง ขุดลอกหนองทรายขาว ขุดลอกหนองหวีด ขุดลอกหนองอิรึม และขุดลอกสระน้ำหนองบัว

ลุ่มน้ำย่อยคลองนาแกลง-ทรายขาวมีพื้นที่ทั้งหมด 31.08 ตารางกิโลเมตร คิดเป็น 19,425 ไร่ การวางตัวของพื้นที่ลุ่มน้ำย่อยคลองนาแกลง-ทรายขาว มีลักษณะทอดตัวไปตามแนวจากด้านทิศเหนือ ทิศตะวันออกไปยังทิศใต้ โดยจุดรวมของน้ำจะอยู่ทางตอนกลางของพื้นที่ ไหลลงคลองนาแกลง และไหลออกสู่คลองฉุง พื้นที่ส่วนใหญ่เป็นที่ราบสลับเนินขนาดเล็ก ในอดีตเคยเป็นพื้นที่สำหรับการทำเหมืองแร่รัตนชาติ จึงทำให้ในปัจจุบันมีหนองน้ำหรือบึงขนาดใหญ่ซึ่งหลงเหลือจากการทำเหมืองแร่รัตนชาติ ส่วนพื้นที่ทางทิศเหนือเป็นที่ราบสลับเนินเขา มีลำน้ำสายสำคัญในพื้นที่ลุ่มน้ำซึ่งมีทิศทางการไหลจากทิศเหนือ ทิศตะวันออกไปยังทิศใต้ ได้แก่ คลองทรายขาว หนองหวีด และคลองนาแกลง ในพื้นที่ลุ่มน้ำย่อยคลองนาแกลง-ทรายขาวมีความต้องการใช้น้ำเพื่อการเกษตรกรรม 35.59 ล้าน ลบ.ม.ต่อปี

5. ลุ่มน้ำย่อยคลองหนองบัว-เกาะลอ

ผลการศึกษาพบว่า ลุ่มน้ำย่อยคลองหนองบัว-เกาะลอ ควรมีแนวทางในการพัฒนาแหล่งน้ำ โดยการขุดสระน้ำ สร้างท่อส่งน้ำดิบ และทำการขุดลอกคูคลอง โดยในพื้นที่ได้ดำเนินโครงการสร้างสระน้ำหนองกก ท่อส่งน้ำดิบสายแสลงอิฐ ท่อส่งน้ำดิบสายดินแดง ขุดลอกคลองหนองบัว ขุดลองคลองเกาะลอ และขุดลอกคลองคุ้งกะปาว

ลุ่มน้ำย่อยคลองหนองบัว-เกาะลอ มีพื้นที่ทั้งหมด 15.12 ตารางกิโลเมตร คิดเป็น 9,450 ไร่ การวางตัวของพื้นที่ลุ่มน้ำย่อยคลองหนองบัว-เกาะลอ มีลักษณะทอดตัวไปตามแนวจากตอนกลางของตำบลมาทางด้านทิศตะวันตก พื้นที่ต้นน้ำเป็นที่ราบสลับเนินเขา ส่วนที่ราบน้ำท่วมถึงจะอยู่บริเวณพื้นที่ท้ายน้ำ ซึ่งติดกับแม่น้ำเวฬุและคลองนางรัด โดยมีลำน้ำสายสำคัญในพื้นที่ลุ่มน้ำซึ่งมีทิศทางการไหลจากตอนกลางของตำบลมาทางด้านทิศตะวันตก ได้แก่ คลองหนองบัว และคลองเกาะลอ ในพื้นที่ลุ่มน้ำย่อยคลองหนองบัว-เกาะลอมีความต้องการใช้น้ำเพื่อการเกษตรกรรม 19.54 ล้าน ลบ.ม. ต่อปี

6. ลุ่มน้ำย่อยคลองสะท้อน

ผลการศึกษาพบว่า แนวทางในการพัฒนาแหล่งน้ำบริเวณลุ่มน้ำย่อยคลองสะท้อน ได้แก่ การสร้างฝายน้ำล้น การขุดสระน้ำ และการขุดลอกคูคลอง โดยในพื้นที่ได้ดำเนินโครงการสร้างฝายน้ำล้นคลองสะท้อน สร้างสระน้ำหลังวัดขุมบ่อทรัพย์ และขุดลอกคลองลำชาย

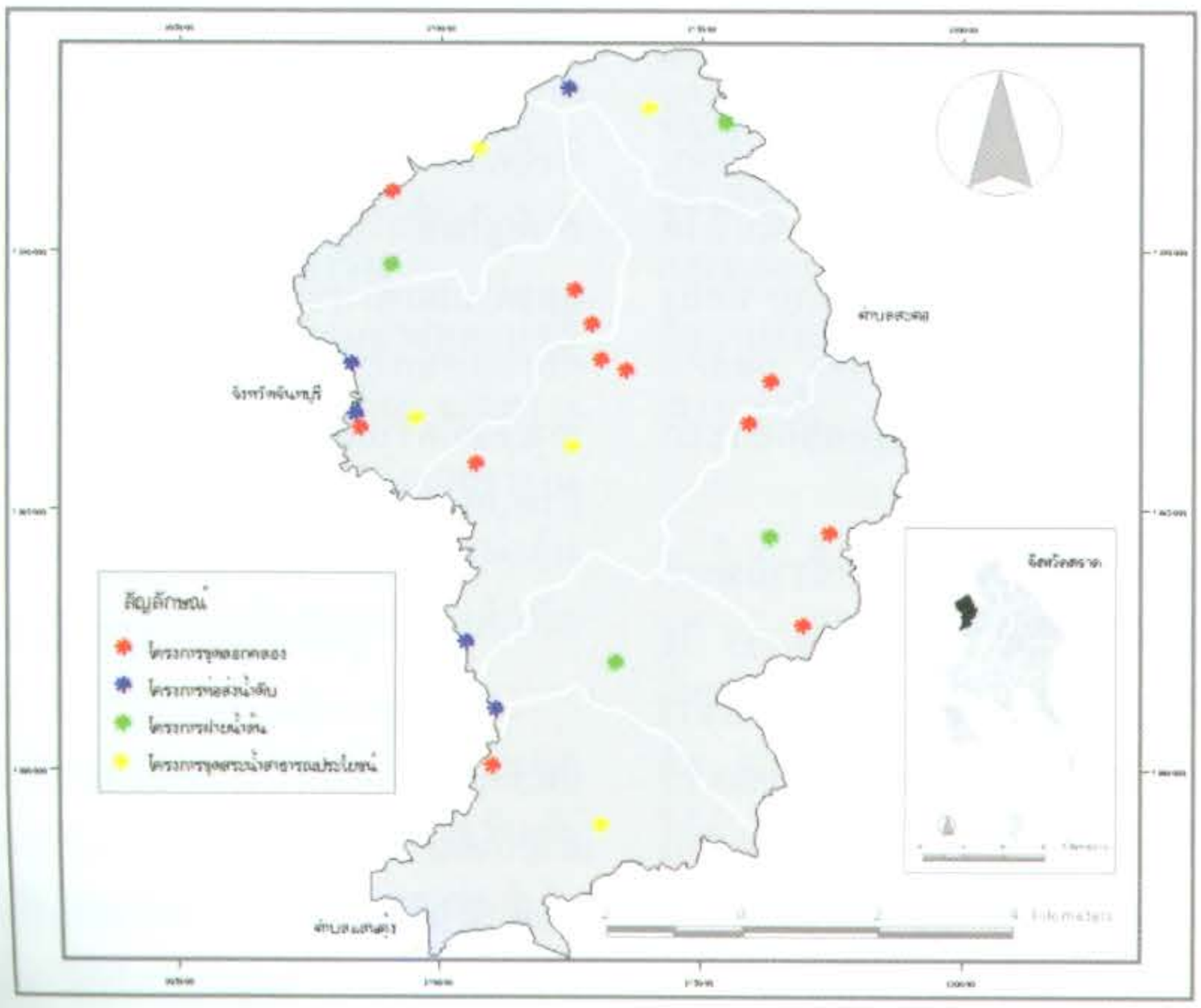
ลุ่มน้ำย่อยคลองสะท้อนมีพื้นที่ทั้งหมด 9.6 ตารางกิโลเมตร คิดเป็น 6,000 ไร่ การวางตัวของพื้นที่ลุ่มน้ำย่อยคลองสะท้อน มีลักษณะทอดตัวไปตามแนวจากด้านทิศเหนือและพื้นที่ตอนกลางไปยังทิศตะวันตกบริเวณตอนปลายของพื้นที่ติดกับแม่น้ำเวฬุเป็นที่ราบน้ำท่วมถึงเนื่องจากได้รับอิทธิพลจากแม่น้ำเวฬุ พื้นที่ส่วนใหญ่ในอดีตเคยผ่านการทำเหมืองแร่รัตนชาติ ลึกประมาณ 2-4 เมตร จึงทำให้ในปัจจุบันพื้นที่ขาดความอุดมสมบูรณ์จากการขุดเปิดหน้าดิน โดยมีลำน้ำสายสำคัญในพื้นที่ลุ่มน้ำซึ่งมีทิศทางการไหลจากด้านทิศเหนือและพื้นที่ตอนกลางไปยังทิศตะวันตก ได้แก่ คลองวังริ คลองลำชาย และคลองสะท้อน ในพื้นที่ลุ่มน้ำย่อยคลองสะท้อนมีความต้องการใช้น้ำเพื่อการเกษตรกรรม 11.82 ล้าน ลบ.ม. ต่อปี

7. ลุ่มน้ำย่อยคลองสะตอน้อย

ผลการศึกษาพบว่า ลุ่มน้ำย่อยคลองสะตอน้อยมีแนวทางในการพัฒนาแหล่งน้ำ ได้แก่ การขุดสระน้ำ การสร้างท่อส่งน้ำดิบ และการสร้างฝายน้ำล้น โดยพบว่าในพื้นที่ศึกษาได้ดำเนินการจัดสร้างสระน้ำหนองอินทนิล การสร้างท่อส่งน้ำดิบสายหนองใหญ่-วัดเขาโต๊ะโม๊ะ และสร้างฝายน้ำล้นคลองสะตอน้อย

ลุ่มน้ำย่อยคลองสะตอน้อยมีพื้นที่ทั้งหมด6.88 ตารางกิโลเมตร คิดเป็น 4,300 ไร่ อยู่ทางทิศตะวันออกเฉียงเหนือของตำบลประณีต การวางตัวของพื้นที่ลุ่มน้ำย่อยคลองสะตอน้อย มีลักษณะทอดตัวไปตามแนวจากด้านทิศเหนือไปยังทิศตะวันออกพื้นที่ส่วนใหญ่เป็นเนินเขาสูง บริเวณทางด้านทิศเหนือของพื้นที่ลุ่มน้ำในอดีตเคยเป็นเป็นพื้นที่สำหรับการทำเหมืองแร่รัตนชาติ มีลำน้ำสายสั้นๆ ขนาดเล็กกระจายอยู่ทั่วพื้นที่และไหลลงสู่คลองสะตอน้อยโดยตรงซึ่งอยู่ทางด้านทิศตะวันออกเฉียงเหนือ บริเวณที่สูงชันและภูเขาเป็นเขตที่มีความสูงจากระดับน้ำทะเลตั้งแต่ 60-80 เมตร ในพื้นที่ลุ่มน้ำย่อยคลองสะตอน้อยมีความต้องการใช้น้ำเพื่อการเกษตรกรรม 8.19 ล้าน ลบ.ม.ต่อปี

จากการวิเคราะห์ศักยภาพของแต่ละลุ่มน้ำย่อย สามารถจัดวางโครงการในการพัฒนาแหล่งน้ำที่เหมาะสมกับสถานภาพ และศักยภาพของแต่ละลุ่มน้ำย่อยดังแสดงในรูปที่ 4 ดังนี้



รูปที่ 4 แผนที่แสดงที่ตั้งโครงการในการพัฒนาแหล่งน้ำ ตำบลประณีต อำเภอเขาสมิง จังหวัดตราด

อภิปราย และสรุปผลการศึกษา

ผลที่ได้จากการศึกษา สามารถช่วยบรรเทาความเดือดร้อนให้กับเกษตรกรบริเวณพื้นที่ศึกษาในด้านการขาดแคลนน้ำ สอดคล้องกับงานวิจัยของภูษิต พรหมเมศร์ (2550) ที่ได้ศึกษาเรื่องการจัดการแหล่งน้ำผิวดินในพื้นที่ลุ่มน้ำจังหวัดตราด และได้เสนอถึงการพัฒนาแหล่งน้ำว่า ควรมองไปที่อัตราการใช้น้ำหน่วยย่อย (ระดับตำบล) ก่อน ตรวจสอบว่าตำบลไหนมีความต้องการใช้น้ำเท่าใด และต้องดูแหล่งน้ำในตำบลนั้นว่าเพียงพอต่อความต้องการหรือไม่เพื่อประเมินพื้นที่ที่ได้รับความเดือดร้อน จากนั้น จึงทำการศึกษาถึงการวางแผนก่อสร้างแหล่งน้ำ ซึ่งเรียกว่าการสร้างแหล่งน้ำโดยยึดการวางแผนแบบใช้ฐานข้อมูลระดับพื้นที่เป็นการกำหนดแนวทางการแก้ปัญหาจากส่วนย่อยมาส่วนรวม และทราบความต้องการน้ำในระดับตำบล ทำให้สามารถกำหนดพื้นที่ที่ต้องการใช้น้ำได้อย่างชัดเจน ซึ่งช่วยบรรเทาปัญหาการขาดแคลนน้ำในพื้นที่และปัญหาน้ำท่วมได้ จากการศึกษาวิจัยพบว่าอำเภอเขาสมิงมีการขาดแคลนน้ำถึงร้อยละ 53.54 ของอำเภอทั้งหมดในจังหวัดตราด ดังนั้นในการศึกษาขั้นตอนต่อไปควรมีการวางโครงการให้ปริมาณน้ำกระจายลงสู่พื้นที่ เช่น การสร้างฝายขนาดเล็ก การขุดสระเก็บน้ำขนาดเล็กในพื้นที่ การก่อสร้างระบบชลประทาน และการขุดลอกแหล่งน้ำ ซึ่งตรงกับนโยบายขององค์การบริหารส่วนตำบลประณีต (องค์การบริหารส่วนตำบลประณีต, 2552) ในการดำเนินการจัดหาน้ำเพื่อการอุปโภคบริโภคและพัฒนาแหล่งน้ำเพื่อการเกษตรอย่างเพียงพอ เป็นการพัฒนาแหล่งน้ำโดยคำนึงถึงความเหมาะสมกับรายรายละเอียดสภาพภูมิประเทศ และต้องเหมาะสมกับสภาพแหล่งน้ำธรรมชาติที่มีแต่ละท้องถิ่น (สำนักงานคณะกรรมการพิเศษเพื่อประสานงานโครงการอันเนื่องมาจากพระราชดำริ, 2548)

ปัญหาเรื่องการขาดแคลนน้ำในปัจจุบันกำลังเข้าสู่สภาวะวิกฤต โดยจะเห็นได้อย่างชัดเจนในช่วงฤดูแล้ง เกษตรกรผู้ได้รับผลกระทบจากปัญหาการขาดแคลนน้ำ ทำให้ผลผลิตทางการเกษตรลดลง และมีคุณภาพต่ำ ส่งผลให้รายได้จากการประกอบอาชีพทางการเกษตรลดลงตามไปด้วย การพัฒนาแหล่งน้ำโดยมองไปที่อัตราการใช้น้ำหน่วยย่อยในระดับตำบลหรือการพัฒนาแหล่งน้ำในระดับพื้นที่ ซึ่งเป็นการมองแนวทางในการแก้ปัญหาจากส่วนย่อยไปหาส่วนรวมอันจะช่วยบรรเทาความเดือดร้อนในเรื่องของการขาดแคลนน้ำให้กับเกษตรกรและสร้างความมั่นคงด้านแหล่งน้ำในพื้นที่ศึกษาได้

ผลที่ได้จากการศึกษา สามารถสรุปผลในด้านความต้องการใช้น้ำเพื่อการเกษตรกรรมของแต่ละลุ่มน้ำย่อย โดยสามารถเรียงลำดับของความต้องการใช้น้ำจากพื้นที่ลุ่มน้ำย่อยที่มีความต้องการใช้น้ำมากสุดไปยังพื้นที่ลุ่มน้ำย่อยที่มีความต้องการใช้น้ำน้อยสุดได้ดังนี้ ลุ่มน้ำย่อยคลองนาแกลง-ทรายขาว 35.59 ล้าน ลบ.ม.ต่อปี ลุ่มน้ำย่อยคลองหนองบัว-เกาะลอ 19.54 ล้าน ลบ.ม.ต่อปี ลุ่มน้ำย่อยคลองฉุง 18.84 ล้าน ลบ.ม.ต่อปี ลุ่มน้ำย่อยคลองหนองน้ำขุ่น 17.02 ล้าน ลบ.ม.ต่อปี ลุ่มน้ำย่อยคลองสะท้อน 11.82 ล้าน ลบ.ม.ต่อปี ลุ่มน้ำย่อยคลองซอง 11.57 ล้าน ลบ.ม.ต่อปี ลุ่มน้ำย่อยคลองสะตอน้อย 8.19 ล้าน ลบ.ม.ต่อปี ซึ่งจากการวิเคราะห์ผลการศึกษาสถานภาพและศักยภาพของแต่ละลุ่มน้ำย่อย ทำให้สามารถวางโครงการที่เหมาะสมในการพัฒนาแหล่งน้ำในแต่ละพื้นที่ลุ่มน้ำย่อยทั้งหมดจำนวน 26 โครงการ ประกอบด้วย โครงการสร้างฝายน้ำล้น จำนวน 4 โครงการ โครงการขุดสระน้ำสาธารณประโยชน์ จำนวน 5 โครงการ โครงการวางท่อส่งน้ำดิบเพื่อการเกษตร จำนวน 5 โครงการ และโครงการขุดลอกคลอง จำนวน 12 โครงการ

กิตติกรรมประกาศ

ขอขอบพระคุณ อาจารย์สุรัตน์ เจียรนัยวิวัฒน์ พร้อมทั้งคณาจารย์คณะภูมิสารสนเทศศาสตร์ มหาวิทยาลัยบูรพา คุณยุทธนา นววงศ์สกุล หัวหน้าส่วนโยธาขององค์การบริหารส่วนตำบลประณีต และเจ้าหน้าที่กรมโยธาธิการและผังเมือง จังหวัดตราด

ที่กรุณาให้คำปรึกษา และแก้ไขสิ่งที่เป็นประโยชน์ต่อการศึกษา ทำให้งานวิจัยสำเร็จลุล่วงด้วยดี

เอกสารอ้างอิง

กรมทรัพยากรน้ำ. (2547). พื้นฐานความรู้ด้านการวางโครงการพัฒนา อนุรักษ์ และฟื้นฟูแหล่งน้ำ. กรุงเทพฯ: สำนักส่งเสริมและประมานมวลชน.

โครงการชลประทานตราด. (2547). โครงการศึกษาเพื่อจัดทำโครงข่ายน้ำจังหวัดตราด. ตราด: กรมชลประทาน กระทรวงเกษตรและสหกรณ์.

ภูษิต พรหมเมศร์. (2550). การจัดการแหล่งน้ำผิวดินในพื้นที่ลุ่มน้ำจังหวัดตราด. วิทยานิพนธ์วิทยาศาสตรมหาบัณฑิต, สาขาวิชาเทคโนโลยีภูมิศาสตร์. บัณฑิตวิทยาลัย : มหาวิทยาลัยบูรพา.

ปราโมทย์ ไม้กลัด. (2525). คู่มืองานเขื่อนดินขนาดเล็กและฝาย. กรุงเทพฯ: สมาคมศิษย์เก่าวิศวกรรมชลประทานในพระบรมราชูปถัมภ์.

ผู้จัดการออนไลน์. (2552). ภัยแล้งเริ่มคุกคามตราดหลายอำเภอเริ่มประสบปัญหาเรื่องน้ำ. วันที่ค้นข้อมูล 20 พฤศจิกายน 2552, เข้าถึงได้จาก http://www.manager.co.th/Local

สำนักงานคณะกรรมการพัฒนาการเศรษฐกิจและสังคมแห่งชาติ. (2552). แผนบริหารราชการแผ่นดิน รัฐบาล นายอภิสิทธิ์ เวชชาชีวะ นายกรัฐมนตรี. วันที่ค้นข้อมูล 22 พฤศจิกายน 2552, เข้าถึงได้จาก http://www.nesdb.go.th/Default.aspx?tabid=354

สำนักงานคณะกรรมการพิเศษเพื่อประสานงานโครงการอันเนื่องมาจากพระราชดำริ. (2548). โครงการอันเนื่องมาจากพระราชดำริ ด้านการพัฒนาแหล่งน้ำ. วันที่ค้นข้อมูล 7 ธันวาคม 2552, เข้าถึงได้จากhttp://www.rdpb.go.th/rdpb/TH/BRANDSITE

องค์การบริหารส่วนตำบลประณีต. (2552). ขอบเขตการปกครองและจำนวนประชากร. ตราด: ทะเบียนราษฎร์ตำบลประณีต.

❑❑❑❑❑

ว.วิทย. มข. 39(2) 311-319 (2554) KKU Sci. J.39(2) 311-319 (2011)

KKU SCIENCE JOURNAL

การประมาณการแจกแจงไฮเพอร์จีออเมตริกนิเสธด้วยการแจกแจงทวินามนิเสธ

Negative Binomial Approximation to Negative Hypergeometric Distribution

คณินทร์ ธีรภาพโอฬาร [1]

บทคัดย่อ

เราใช้วิธีของสไตน์สำหรับการแจกแจงทวินามนิเสธและฟังก์ชัน w ที่สัมพันธ์กับตัวแปรสุ่มไฮเพอร์จีออเมตริกนิเสธ เพื่อหาผลลัพธ์ของการประมาณการแจกแจงไฮเพอร์จีออเมตริกนิเสธด้วยการแจกแจงทวินามนิเสธ ผลลัพธ์ของการประมาณดังกล่าวนำเสนอในรูปของระยะห่างของความแตกต่างรวมของทั้งสองการแจกแจงพร้อมด้วยขอบเขตบน และเราได้ยกตัวอย่างเชิงตัวเลขบางส่วนเพื่อแสดงผลลัพธ์ของการประมาณนี้

Abstract

We use Stein's method for the negative binomial distribution and the w-function associated with the negative hypergeometric random variable to determine a result of the negative binomial approximation to the negative hypergeometric distribution. The result is presented in terms of the total variation distance of the two distributions together with its upper bound and we also give some numerical examples to illustrate the result of this approximation.

คำสำคัญ : การแจกแจงทวินามนิเสธ, การแจกแจงไฮเพอร์จีออเมตริกนิเสธ, การประมาณทวินามนิเสธ, วิธีของสไตน์, ฟังก์ชัน w

Keywords : Negative binomial distribution, Negative hypergeometric distribution, Negative binomial approximation, Stein's method, w-function.

[1] ภาควิชาคณิตศาสตร์ คณะวิทยาศาสตร์ มหาวิทยาลัยบูรพา จ.ชลบุรี 20131

E-mail: kanint@buu.ac.th

บทนำ

ให้ X เป็นตัวแปรสุ่มวิยุต (discrete random variable) ที่มีฟังก์ชันการแจกแจงความน่าจะเป็นดังนี้

$$p_X(k) = P(X = k) = \frac{\binom{r+k-1}{k}\binom{R-r+S-k}{S-k}}{\binom{R+S}{S}},\ k = 0,1,...,S \tag{1}$$

เราเรียกการแจกแจงของตัวแปรสุ่ม X นี้ว่า *การแจกแจงไฮเพอร์จีออเมตริกนิเสธ* (negative hypergeometric distribution) หรือบางครั้งเรียกว่า *การแจกแจงไฮเพอร์จีออเมตริกผกผัน* (inverse hypergeometric distribution) ที่มีพารามิเตอร์ R, S และ r เขียนแทนด้วย $\mathcal{NH}(R,S,r)$ โดยที่ $R, S \in \mathbb{N}$ และ $r \in \{1,...,R\}$ และค่าเฉลี่ยและความแปรปรวนของตัวแปรสุ่ม X คือ $\mu = \frac{rS}{R+1}$ และ $\sigma^2 = \frac{rS(R+S+1)(R-r+1)}{(R+1)^2(R+2)}$ ตามลำดับ การแจกแจงนี้เป็นการแจกแจงวิยุตแบบหนึ่งที่ได้มีการศึกษาในเชิงทฤษฎีและนำไปประยุกต์ใช้ในหลายสาขา ซึ่งได้ปรากฏใน Kaigh and Lachenbruch (1982), Khan (1994); Wang (2000); Wesolowski and Ahsanullah (2001); Cuzick (2001); Obilade (2004); Johnson et al., (2005); Graz (2007) เป็นต้น

พิจารณาฟังก์ชันการแจกแจงความน่าจะเป็นในสมการ (1) เราจะได้ว่า

$$\begin{aligned}
p_X(k) &= \binom{r+k-1}{k}\frac{(R-r+S-k)!}{(R-r)!(S-k)!}\frac{R!S!}{(R+S)!} \\
&= \binom{r+k-1}{k}\frac{[R(R-1)\cdots(R-r+1)][S(S-1)\cdots(S-k+1)]}{(R+S)(R+S-1)\cdots(R+S-r-k+1)} \\
&= \binom{r+k-1}{k}\frac{\left[\frac{(R+1-1)(R+1-2)\cdots(R+1-r)}{(R+S+1)^r}\right]\left[\frac{S(S-1)\cdots(S-k+1)}{(R+S+1)^k}\right]}{\frac{(R+S+1-1)(R+S+1-2)\cdots(R+S+1-r-k)}{(R+S+1)^{r+k}}} \\
&= \binom{r+k-1}{k}\left(\frac{R+1}{R+S+1}\right)^r\left(\frac{S}{R+S+1}\right)^k\frac{\left[\left(1-\frac{1}{R+1}\right)\left(1-\frac{2}{R+1}\right)\cdots\left(1-\frac{r}{R+1}\right)\right]\left[1\left(1-\frac{1}{S}\right)\cdots\left(1-\frac{k-1}{S}\right)\right]}{\left(1-\frac{1}{R+S+1}\right)\left(1-\frac{2}{R+S+1}\right)\cdots\left(1-\frac{r+k}{R+S+1}\right)}
\end{aligned} \tag{2}$$

จากสมการ (2) เราจะเห็นว่าถ้า R และ S มีค่าเข้าใกล้อนันต์ในลักษณะที่ $\frac{S}{R+S+1}$ ลู่เข้าสู่ค่าคงตัว $q = 1-p$ แล้วการแจกแจงไฮเพอร์จีออเมตริกนิเสธจะลู่เข้าสู่การแจกแจงทวินามนิเสธ (negative binomial distribution) ที่มีพารามิเตอร์ r และ p เขียนแทนด้วย $\mathcal{NB}(r,p)$ ซึ่งการลู่เข้าในลักษณะนี้จะมีความคล้ายคลึงกับ

การลู่เข้าของการแจกแจงไฮเพอร์จีออเมตริก (hypergeometric distribution) ไปสู่การแจกแจงทวินาม (binomial distribution) นอกจากการแจกแจงไฮเพอร์จีออเมตริกนิเสธจะลู่เข้าสู่การแจกแจงทวินามนิเสธแล้ว เรายังพบว่าการแจกแจงไฮเพอร์จีออเมตริกนิเสธสามารถลู่เข้าสู่การแจกแจงทวินาม ถ้าหากเงื่อนไขของพารามิเตอร์สำหรับการลู่เข้าของการแจกแจงมีความสอดคล้องกัน ซึ่งการประมาณการแจกแจงไฮเพอร์จีออเมตริกนิเสธด้วยการแจกแจงทวินามสามารถดูได้จากงานวิจัยของกิตติมาและคณินทร์ (2553)

ในงานวิจัยนี้เราต้องการประมาณการแจกแจงไฮเพอร์จีออเมตริกนิเสธด้วยการแจกแจงทวินามนิเสธ และเราได้ใช้ระยะห่างของความแตกต่างรวม (total variation distance) เป็นตัววัดความถูกต้องของการประมาณนี้ แต่ในการคำนวณหาระยะห่างของความแตกต่างรวมระหว่างการแจกแจงของสองการแจกแจงเป็นเรื่องที่ไม่อาจกระทำได้ง่าย ๆ ดังนั้นโดยทั่วไปเราจึงใช้ขอบเขตบน (upper bound) ของระยะห่างของความแตกต่างรวมเป็นตัวประมาณ และเป็นตัววัดความถูกต้องของการประมาณดังกล่าว ระยะห่างของความแตกต่างรวมระหว่างการแจกแจงไฮเพอร์จีออเมตริกนิเสธและการแจกแจงทวินามนิเสธสามารถนิยามได้ดังนี้

$$d_{TV}(\mathcal{NH}(R,S,r),\mathcal{NB}(r,p)) = \sup_{A}\left|\mathcal{NH}(R,S,r)\{A\}-\mathcal{NB}(r,p)\{A\}\right| \tag{3}$$

$$= \sup_{A}\left|\sum_{k\in A} p_X(k)-\sum_{k\in A}\binom{r+k-1}{k}p^r q^k\right|$$

โดยที่ $A\subseteq \mathbb{N}\cup\{0\}$ และ $p_X(k)$ กำหนดเช่นเดียวกับในสมการ (1) และเครื่องมือที่เราต้องการใช้หาขอบเขตบนของ $d_{TV}(\mathcal{NH}(R,S,r),\mathcal{NB}(r,p))$ คือ วิธีของสไตน์ (Stein's method) สำหรับการแจกแจงทวินามนิเสธและฟังก์ชัน w (w-function) ที่สัมพันธ์กับตัวแปรสุ่มไฮเพอร์จีออเมตริกนิเสธ

วิธีดำเนินการวิจัย

การดำเนินการหาผลลัพธ์ในรูปของระยะห่างของความแตกต่างรวมระหว่างการแจกแจงไฮเพอร์จีออเมตริกนิเสธและการแจกแจงทวินามนิเสธหรือ $d_{TV}(\mathcal{NH}(R,S,r),\mathcal{NB}(r,p))$ และขอบเขตบนด้วยวิธีของสไตน์สำหรับการแจกแจงทวินามนิเสธพร้อมด้วยฟังก์ชัน w ที่สัมพันธ์กับตัวแปรสุ่มไฮเพอร์จีออเมตริกนิเสธ เราจะเริ่มต้นด้วยการสร้างบทตั้งที่จำเป็นสำหรับการพิสูจน์ทฤษฎีบทหลักดังต่อไปนี้

ฟังก์ชัน w ที่สัมพันธ์กับตัวแปรสุ่มไฮเพอร์จีออเมตริกนิเสธ

ให้ตัวแปรสุ่มไฮเพอร์จีออเมตริกนิเสธ X มีฟังก์ชันการแจกแจงความน่าจะเป็น $p_X(k)$ ที่กำหนดเช่นเดียวกับในสมการ (1) และ $p_X(k)>0$ สำหรับทุก $k\in\{0,1,...,S\}$ แล้วเราจะได้ฟังก์ชัน w ที่สัมพันธ์กับตัวแปรสุ่ม X ดังบทตั้งต่อไปนี้

บทตั้งที่ 1 *ให้ $w(X)$ เป็นฟังก์ชัน w ที่สัมพันธ์กับตัวแปรสุ่มไฮเพอร์จีออเมตริกนิเสธ X แล้ว*

$$w(k)=\frac{(r+k)(S-k)}{(R+1)\sigma^2},\ k=0,1,...,S \qquad \text{(กิตติมา พฤกภูษณ และคณินทร์ ชีวภาพโอฬาร, 2553)} \qquad (4)$$

โดยที่ $\sigma^2=\dfrac{rS(R+S+1)(R-r+1)}{(R+1)^2(R+2)}$

รูปแบบความสัมพันธ์ต่อไปนี้เป็นคุณสมบัติที่สำคัญของฟังก์ชัน w สำหรับการหาผลลัพธ์หลัก ซึ่ง Cacoullos และ Papathanasiou (1989) ได้กำหนดไว้ดังนี้

ถ้าตัวแปรสุ่มที่มีค่าจำนวนเต็มซึ่งไม่เป็นลบ (non-negative integer-valued random variable) X มี $p_X(k)>0$ สำหรับทุก k ในเซตค้ำจุนของ X (support of X) และความแปรปรวน $0<\sigma^2<\infty$ แล้ว

$$Cov(X,g(X))=\sigma^2E[w(X)\Delta g(X)] \qquad (5)$$

สำหรับฟังก์ชัน $g:\mathbb{N}\cup\{0\}\to\mathbb{R}$ ซึ่งทำให้ $E\left|w(X)\Delta g(X)\right|<\infty$ โดยที่ $\Delta g(x)=g(x+1)-g(x)$ และเราจะสังเกตได้ว่า $E[w(X)]=1$ (เมื่อกำหนด $g(x)=x$) สำหรับทุกตัวแปรสุ่มที่มีค่าจำนวนเต็มซึ่งไม่เป็นลบ X

วิธีของสไตน์สำหรับการแจกแจงทวินามนิเสธ

วิธีของสไตน์ได้เริ่มต้นประมาณปี 1972 โดย Stein (1972) ได้นำเสนอวิธีทั่วไปที่มีประสิทธิภาพในการประมาณการแจกแจงของผลรวมของตัวแปรสุ่มที่มีความสัมพันธ์กัน (dependent random variables) ด้วยการแจกแจงปกติ (normal distribution) ต่อมา Chen (1975) ได้ปรับและพัฒนาวิธีของสไตน์แบบเดิมมาสู่การประมาณการแจกแจงของผลรวมของตัวแปรสุ่มแบร์นูลลีที่มีความสัมพันธ์กัน (dependent Bernoulli random variables) ด้วยการแจกแจงปัวซง (Poisson distribution) นอกจากนี้วิธีของสไตน์ได้มีการปรับและพัฒนาไปสู่การประมาณการแจกแจงในรูปแบบอื่น ๆ อีกหลายการแจกแจง และการประมาณทวินามนิเสธ (negative binomial approximation) ด้วยวิธีของสไตน์เป็นอีกรูปแบบหนึ่งที่ Brown and Phillips (1999) ได้ปรับมาสู่การประมาณผลรวมของตัวแปรสุ่มแบร์นูลลีด้วยการแจกแจงทวินามนิเสธ โดยทั่วไปวิธีของสไตน์จะเริ่มต้นด้วยสมการของสไตน์ (Stein's equation) ของแต่ละการแจกแจงที่สมนัยกัน และสมการของสไตน์สำหรับการแจกแจงทวินามนิเสธที่มีพารามิเตอร์ $r>0$ และ $p\in(0,1)$ (เมื่อกำหนดฟังก์ชัน h) นิยามโดย

$$h(x)-\aleph_{r,p}(h)=(1-p)(r+x)f(x+1)-xf(x) \qquad (6)$$

โดยที่ $\aleph_{r,p}(h)=\sum_{k=0}^{\infty}h(k)\binom{r+k-1}{k}p^rq^k$ และ f และ h คือ ฟังก์ชันค่าจริงที่มีขอบเขตนิยามบน $\mathbb{N}\cup\{0\}$

สำหรับ $A\subseteq\mathbb{N}\cup\{0\}$ ให้ $h_A:\mathbb{N}\cup\{0\}\to\mathbb{R}$ เป็นฟังก์ชันที่นิยามดังนี้

$$h_A(x)=\begin{cases}1\ , x\in A\\ 0\ , x\notin A\end{cases} \tag{7}$$

ให้ $C_x=\{0,...,x\}$ ดังนั้นโดยใช้ผลเฉลยทั่วไปใน Brown and Phillips (1999) เราสามารถเขียนผลเฉลย $f=f_A$ ของสมการ (6) ได้ดังนี้

$$f(x)=\begin{cases}\dfrac{\aleph_{r,p}(h_{A\cap C_{x-1}})-\aleph_{r,p}(h_A)\aleph_{r,p}(h_{C_{x-1}})}{x\binom{r+x-1}{x}p^rq^x}\ , x\geq 1\\ 0\ , x=0\end{cases} \tag{8}$$

ซึ่งในกรณีที่ $x=0$ ผลเฉลย f ของสมการ (6) สามารถหาได้โดยกำหนด $f(0)$ เป็นค่าใด ๆ แต่ในที่นี้เรากำหนด $f(0)=0$ เช่นเดียวกับที่ปรากฏในงานวิจัยของ Brown and Phillips (1999)

จากสมการ (8) เราสามารถสร้างบทตั้งเพื่อช่วยในการพิสูจน์ทฤษฎีบทหลักที่จะกล่าวถึงในหัวข้อต่อไปได้ดังนี้

บทตั้งที่ 2 *ให้* $\Delta f(x)=f(x+1)-f(x)$ *สำหรับ* $A\subseteq\mathbb{N}\cup\{0\}$ *และ* $x\geq 1$ *แล้วจะได้ว่า*

2.1 $$\sup_{A,x}|\Delta f(x)|\leq\frac{1-p^r}{rq}$$ (Brown and Phillips, 1999) (9)

2.2 $$\sup_{A,x}|\Delta f(x)|\leq\frac{1}{x}$$ (Eichelsbacher and Reinert, 2008) (10)

ผลการวิจัย

ผลการวิจัยที่เราต้องการในงานวิจัยนี้ คือ ผลลัพธ์ของการประมาณการแจกแจงไฮเพอร์จีออเมตริกนิเสธด้วยการแจกแจงทวินามนิเสธที่อยู่ในรูปของระยะห่างของความแตกต่างรวมและขอบเขตบน ซึ่งเราสามารถหาได้โดยใช้วิธีของสไตน์สำหรับการแจกแจงทวินามนิเสธและฟังก์ชัน w ที่สัมพันธ์กับตัวแปรสุ่มไฮเพอร์จีออเมตริกนิเสธ และทฤษฎีบทต่อไปนี้เป็นผลลัพธ์ของการประมาณดังกล่าว

ทฤษฎีบทที่ 1 *ให้* X *เป็นตัวแปรสุ่มไฮเพอร์จีออเมตริกนิเสธ ถ้า* $p=\dfrac{R+1}{R+S+1}$ *แล้วเราจะได้ว่า*

$$d_{TV}(\mathcal{NH}(R,S,r),\mathcal{NB}(r,p))\leq\left(1-\left(\frac{R+1}{R+S+1}\right)^r\right)\frac{(r+1)(R+S+1)}{(R+1)(R+2)} \tag{11}$$

พิสูจน์ จากสมการ (6) เมื่อกำหนด $h=h_A$ $(A\subseteq\mathbb{N}\cup\{0\})$ และแทน x ด้วย X แล้วหาค่าคาดหมายตลอดสมการ เราจะได้

$$\begin{aligned}\mathcal{NH}(R,S,r)\{A\}-\mathcal{NB}(r,p)\{A\} &= E\left[(1-p)(r+X)f(X+1)-Xf(X)\right]\\ &= E\left[rqf(X+1)+qX\Delta f(X)-pXf(X)\right]\\ &= rqE[f(X+1)]+qE[X\Delta f(X)]-p\left\{Cov(X,f(X))+\mu E[f(X)]\right\}\\ &= rqE[\Delta f(X)]+qE[X\Delta f(X)]-pCov(X,f(X)) \qquad (12)\end{aligned}$$

โดยที่ f นิยามเช่นเดียวกับสมการ (8) และจากบทตั้งที่ 2 (2.1) เราจะได้

$$E\left|w(X)\Delta f(X)\right| \le E[w(X)]\frac{1-p^r}{rq} < \infty$$

ดังนั้น โดยใช้ (5) และ (3) ทำให้เราสามารถเขียนสมการ (12) ใหม่ได้เป็น

$$\begin{aligned}d_{TV}(\mathcal{NH}(R,S,r),\mathcal{NB}(r,p)) &\le \left|rqE[\Delta f(X)]+qE[X\Delta f(X)]-p\sigma^2E[w(X)\Delta f(X)]\right|\\ &= \left|E\left\{[(r+X)q-p\sigma^2w(X)]\Delta f(X)\right\}\right|\\ &\le E\left[\left|(r+X)q-p\sigma^2w(X)\right|\left|\Delta f(X)\right|\right] \qquad (13)\\ &\le \frac{p(1-p^r)}{rq}E\left|\frac{(r+X)q}{p}-\sigma^2w(X)\right| \qquad (14)\end{aligned}$$

อสมการ (14) ได้มาโดยใช้บทตั้งที่ 2 (2.1) และโดยบทตั้งที่ 1 เราจะได้

$$\begin{aligned}\frac{(r+k)q}{p}-\sigma^2w(k) &= \frac{(r+k)S}{R+1}-\frac{(r+k)(S-k)}{R+1}\\ &= \frac{(r+k)k}{R+1}\\ &\ge 0 \quad \text{สำหรับทุก } k\in\{0,1,...,S\}\end{aligned}$$

ดังนั้น จากอสมการ (14) เราจะได้

$$\begin{aligned}d_{TV}(\mathcal{NH}(R,S,r),\mathcal{NB}(r,p)) &\le \frac{p(1-p^r)}{rq}E\left[\frac{(r+X)q}{p}-\sigma^2w(X)\right]\\ &= \frac{1-p^r}{rq}(\mu-p\sigma^2) \qquad (15)\end{aligned}$$

แทนค่าพารามิเตอร์ทั้งหมดในอสมการ (15) เราจะได้ผลลัพธ์ (11) ตามต้องการ □

ในกรณีที่ $r=1$ เราจะเรียกการแจกแจงทวินามนิเสธว่า*การแจกแจงเรขาคณิต* (geometric distribution) ที่มีพารามิเตอร์ p แทนด้วย $\mathcal{G}(p)$ ดังนั้นในกรณีที่ $r=1$ เราจะประมาณ $\mathcal{NH}(R,S,1)$ ด้วย $\mathcal{G}(p)$ และบทแทรกต่อไปนี้ได้แสดงผลลัพธ์ของการประมาณดังกล่าว

บทแทรกที่ 1 *ถ้า* $r=1$ *และ* $p=\dfrac{R+1}{R+S+1}$ *แล้วจะได้ว่า*

$$d_{TV}(\mathcal{NH}(R,S,1),\mathcal{G}(p)) < \frac{2S}{(R+1)(R+S)} \tag{16}$$

พิสูจน์ จากอสมการ (13) เมื่อแทน $r=1$ เราจะได้ว่า

$$\begin{aligned}
d_{TV}(\mathcal{NH}(R,S,1),\mathcal{G}(p)) &\le E\left[\left|(1+X)q-p\sigma^2 w(X)\right|\left|\Delta f(X)\right|\right] \\
&= \sum_{k=0}^{S}\left|(1+k)q-p\sigma^2 w(k)\right|\left|\Delta f(k)\right| p_X(k) \\
&\le \sum_{k=1}^{S}\left|\frac{(1+k)S}{R+S+1}-\frac{(1+k)(S-k)}{R+S+1}\right|\frac{1}{k}p_X(k) \quad \text{(โดยบทตั้งที่ 1 และบทตั้งที่ 2 (2.2))} \\
&= \frac{1}{R+S+1}\sum_{k=1}^{S}(1+k)p_X(k) \\
&= \frac{1-p_X(0)+\mu}{R+S+1} \\
&= \frac{S(2R+S+1)}{(R+1)(R+S)(R+S+1)} \\
&< \frac{2S}{(R+1)(R+S)}
\end{aligned}$$

□

ข้อสังเกต

จากทฤษฎีบทที่ 1 และบทแทรกที่ 1 เราสังเกตได้ว่าถ้า R และ S ลู่เข้าสู่ค่าอนันต์ในลักษณะที่ว่า $\frac{S}{R}$ เป็นค่าคงตัวและ $\frac{r}{R}$ ลู่เข้าสู่ 0 แล้วจะได้ว่าระยะห่างของความแตกต่างรวม $d_{TV}(\mathcal{NH}(R,S,r),\mathcal{NB}(r,p))$ จะลู่เข้าสู่ 0 หรือผลลัพธ์ในทฤษฎีบทที่ 1 และบทแทรกที่ 1 จะเป็นผลการประมาณที่ดีถ้าหากว่า $\frac{S}{R}$ และ $\frac{r}{R}$ มีค่าน้อยเพียงพอ นั่นคือการแจกแจงไฮเพอร์จีออเมตริกนิเสธจะลู่เข้าสู่การแจกแจงทวินามนิเสธเมื่อ $\frac{S}{R}$ และ $\frac{r}{R}$ มีค่าน้อยเพียงพอ

ตัวอย่างเชิงตัวเลข

ตัวอย่างเชิงตัวเลขในตารางต่อไปนี้ เป็นตัวอย่างบางส่วน เพื่อแสดงว่าการประมาณการแจกแจงไฮเพอร์จีออเมตริกนิเสธด้วยการแจกแจงทวินามนิเสธมีความเหมาะสมหรือไม่ และต้องการแสดงให้เห็นว่าขอบเขตบนสำหรับระยะห่างของความแตกต่างรวมในทฤษฎีบทที่ 1 สามารถวัดความถูกต้องของการประมาณได้อย่างไร อย่างไร

ตารางที่ 1 แสดงค่าตัวอย่างของระยะห่างของความแตกต่างรวม (d_{TV}) ระหว่างการแจกแจงไฮเพอร์จีออเมตริกนิเสธการแจกแจงทวินามนิเสธพร้อมด้วยขอบเขตบน

R	S	r	p	$d_{TV}(\mathcal{NH}(R,S,r),\mathcal{NB}(r,p))$	**ขอบเขตบน**
100	10	1	0.90991	0.00143	0.00180
100	20	5	0.83471	0.01434	0.04192
100	30	10	0.77099	0.02695	0.12949
100	40	15	0.71631	0.04006	0.21752
100	50	20	0.66887	0.05463	0.30771
200	10	1	0.95261	0.00042	0.00047
200	20	5	0.90950	0.00599	0.01233
200	30	10	0.87013	0.01378	0.04701
200	40	15	0.83402	0.01989	0.08873
200	50	20	0.80080	0.02602	0.12829
1000	10	1	0.99011	0.00002	0.00002
1000	20	5	0.98041	0.00050	0.00058
1000	30	10	0.97090	0.00198	0.00289
1000	40	15	0.96158	0.00368	0.00738
1000	50	20	0.95243	0.00562	0.01370

จากตารางที่ 1 เราจะเห็นว่าในกรณีที่ R เป็นค่าคงตัว $d_{TV}(\mathcal{NH}(R,S,r),\mathcal{NB}(r,p))$ และขอบเขตบนจะมีค่าเพิ่มขึ้นเมื่อ S และ r มีค่าเพิ่มขึ้น หรือ $d_{TV}(\mathcal{NH}(R,S,r),\mathcal{NB}(r,p))$ และขอบเขตบนจะมีค่าลดลงและมีค่าเข้าใกล้กันมากขึ้น เมื่อทั้ง $\frac{S}{R}$ และ $\frac{r}{R}$ มีค่าน้อยหรือมีค่าลดลง หรือ p มีค่ามาก (เข้าใกล้ 1) โดยเฉพาะอย่างยิ่งในกรณีที่ $r=1$

สรุปผลการวิจัย

งานวิจัยนี้เราได้ผลลัพธ์ของการประมาณการแจกแจงไฮเพอร์จีออเมตริกนิเสธด้วยการแจกแจงทวินามนิเสธโดยใช้วิธีของสไตน์และฟังก์ชัน w ดังที่ได้กล่าวมาแล้วข้างต้น ซึ่งขอบเขตบนที่เราหามาได้นั้นเป็นตัวประมาณของระยะห่างของความแตกต่างรวมระหว่างการแจกแจงไฮเพอร์จีออเมตริกนิเสธและการแจกแจงทวินามนิเสธ และเป็นหลักเกณฑ์ทั่วไปที่สามารถนำมาใช้ในการวัดความถูกต้องของการประมาณดังกล่าว กล่าวคือ ถ้าขอบเขตบนมีค่าน้อยแสดงว่าการแจกแจงทวินามนิเสธสามารถประมาณการแจกแจงไฮเพอร์จีออเมตริกนิเสธได้ดี หรือแสดงว่าการแจกแจงไฮเพอร์จีออเมตริกนิเสธเข้าใกล้การแจกแจงทวินามนิเสธถ้าขอบเขตบนมีค่าน้อย ในทางกลับกันถ้าขอบเขตบนมีค่ามากแสดงว่าการประมาณการแจกแจงดังกล่าวไม่มีความเหมาะสม และขอบเขตบนดังกล่าวจะมีค่ามากหรือน้อยนั้นจะขึ้นอยู่กับค่าพารามิเตอร์ของการแจกแจงที่มีความสอดคล้องกัน ซึ่งจากผลการวิจัยที่ได้เราพบว่าการประมาณการแจกแจงไฮเพอร์จีออเมตริกนิเสธด้วยการแจกแจงทวินามนิเสธจะมีความเหมาะสมเมื่อ $\frac{S}{R}$ และ $\frac{r}{R}$ มีค่าน้อย (เข้าใกล้ 0) หรือ $p=\frac{R+1}{R+S+1}$ มีค่ามาก (เข้าใกล้ 1)

เอกสารอ้างอิง

กิตติมา พฤกภูษณ และคณินทร์ ธีรภาพโอฬาร. (2553). การประมาณการแจกแจงไฮเพอร์จีออเมตริกนิเสธด้วยการแจกแจงทวินาม. วารสารวิทยาศาสตร์ มข. 38 : 606-616.

Brown, T. C., and Phillips, M. J. (1999). Negative binomial approximation with Stein's method. Meth. Comp. Appl. Probab. 1: 407-421.

Cacoullos, T., and Papathanasiou, V. (1989). Characterization of distributions by variance bounds. Statist. Probab. Lett. 7: 351-356.

Chen, L. H. Y. (1975). Poisson approximation for dependent trials. Ann. Probab. 3: 534-545.

Cuzick, J. (2001). Event-based analysis times for randomised clinical trials. Biometrika. 88: 245-253.

Eichelsbacher, P., and Reinert, G. (2008). Stein's method for discrete Gibbs measures. Ann. Appl. Probab. 18: 1588-1618.

Graz, P. G. (2007). On the systematic and system-based study of grapheme frequencies: a re-analysis of German letter frequencies. Glottometrics. 15: 82-91.

Johnson, N. L., Kotz, S. and Kemp, A. W. (2005). Univariate Discrete Distributions. (3rd edition). New York: Wiley.

Kaigh, W. D., and Lachenbruch, P. A. (1982). A generalized quantile estimator. Comm. Statist. Theory Methods. 11: 2217-2238.

Khan, R. A. (1994). A note on the generating function of a negative hypergeometric distribution. Sankhya. Ser. B. 56: 309-313.

Obilade, T. (2004). A weighted likelihood ratio of two related negative hypergeomeric distributions. Acta Math. Appl. Sinica. 20: 647-654.

Stein, C. M. (1972). A bound for the error in normal approximation to the distribution of a sum of dependent random variables. Proc. Sixth Berkeley Sympos. Math. Statist. Probab. 3: 583-602.

Wang, X. G. (2000). Phase properties of hypergeometric states and negative hypergeometric states. J. Opt. B: Quantum Semiclass. Opt. 2: 29-32.

Wesolowski, J., and Ahsanullah, M. (2001). Linearity of regression for non-adjacent weak records. Statist. Sinica. 11: 39-52.

Stang Mongkolsuk Library Faculty of

ข้อแนะนำในการเขียนบทความลงวารสารวิทยาศาสตร์ มข.

ประเภทของเรื่องที่จะตีพิมพ์

1. รายงานผลการวิจัยและค้นคว้าหรือการสำรวจที่ยังไม่เคยตีพิมพ์ในวารสารหรือหนังสืออื่นมาก่อน

2. บทความปริทัศน์ ได้แก่ งานเขียนที่รวบรวมหรือเรียบเรียงจากเอกสารหรือหนังสือต่าง ๆ เพื่อเผยแพร่และฟื้นฟูงานด้านวิชาการระดับต่าง ๆ

3. บทความแสดงข้อคิดเห็นหรือข้อเสนอแนะที่เป็นประโยชน์ในด้านวิชาการ เรื่องแปล ข่าววิชาการ ย่อความจากงานวิจัยหรือหนังสือใหม่ที่น่าสนใจ

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 ช่องห่างระหว่างบรรทัดตามมาตรฐาน

1.8 พิมพ์ลงในกระดาษขาว A4 (โรเนียวสั้น) 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

11. หากไม่ปฏิบัติตามข้อแนะนำในการเขียนบทความ บทความของท่านอาจไม่ได้รับการตีพิมพ์หรือตีพิมพ์ล่าช้า

ส่งต้นฉบับมาที่

กองบรรณาธิการวารสารวิทยาศาสตร์ มข.
คณะวิทยาศาสตร์ มหาวิทยาลัยขอนแก่น จ.ขอนแก่น 40002
E-mail: kku_scijournal@kku.ac.th

อภินันทนาการสำหรับผู้เขียน

เรื่องที่ได้รับการตีพิมพ์ ผู้เขียนจะได้รับวารสารฉบับนั้น 1 เล่ม

ตัวอย่าง

การวิเคราะห์ปริมาณน้ำมันและกรดไขมันของจิ้งหรีดทองลาย (*Gryllus* sp.) ที่เลี้ยงเพื่อการค้า

บรรจง เชื้อเมืองพาน[1] วิรัช ว่องพัฒนากุล[2] และ ปวีณา พงษ์ดนตรี [1]*

บทคัดย่อ

Xxxx

การเขียนเอกสารอ้างอิงในวารสารวิทยาศาสตร์ มข.

เอกสารอ้างอิง (Reference) หมายถึง เอกสารหรือส่วนหนึ่งของเอกสารที่อ้างอิงถึงหรือแปลมาโดยตรง การเขียนเอกสารอ้างอิงในเนื้อหานั้น ให้ใช้ระบบชื่อและปี เช่น Williams (2001) รายงานว่า... หรือ... (Williams, 2001) การเขียนเอกสารอ้างอิงในตอนท้ายบทความนั้น ให้ใส่เฉพาะเล่มที่มีการอ้างไว้แล้วในเนื้อหาเท่านั้น หากอ้างจากเล่มภาษาไทย ต้องเขียนทั้งชื่อและนามสกุล

บรรณานุกรม (Bibliography) หมายถึง เอกสารที่ใช้อ้างถึงในลักษณะที่สรุปเป็นหลักการหรือทฤษฎีโดยมิได้อ้างอิงหรือแปลมาโดยตรง

การเขียนเอกสารอ้างอิง หรือบรรณานุกรม มีแนวทางการเขียนดังนี้

1. หนังสือ

ก. ภาษาไทย

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

ข. ภาษาอังกฤษ

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

2. เอกสารราชการ

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

3. วารสาร

ก. ภาษาไทย

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

ข. ภาษาอังกฤษ

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

หมายเหตุ

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

พิมพ์ที่ พจก. ขอนแก่นการพิมพ์ โทร. (043) 221938, 220128
64 - 66 ถนนรื่นรมย์ อำเภอเมือง จังหวัดขอนแก่น 2553

E-mail : kk_p902@hotmail.com
E-mail : khonkaenprint@yahoo.com

ใบสั่งลงโฆษณา
ในวารสารวิทยาศาสตร์ มข.

เขียนที่.....

วันที่.....

เรียน บรรณาธิการวารสารวิทยาศาสตร์ มข.

ข้าพเจ้า.....ตำแหน่ง.....

เป็นตัวแทนของ (บริษัท/ห้างร้าน/องค์การ).....

ที่อยู่.....โทรศัพท์.....

โทรสาร..... มีความประสงค์จะลงโฆษณาในวารสารวิทยาศาสตร์ มข.

ดังรายการต่อไปนี้

ในฉบับ (สี)

○ เต็มหน้า

○ ครึ่งหน้า

โดยข้าพเจ้าขอให้ลงโฆษณา จำนวน.....ฉบับ นับตั้งแต่ฉบับแรก ที่จะพิมพ์ในครั้งต่อไป หลังจากที่ท่านได้รับหนังสือฉบับนี้แล้ว

พร้อมกันนี้ ข้าพเจ้าได้ส่งต้นฉบับเพื่อลงโฆษณา (แผ่น CD ข้อมูล) และเงินค่าโฆษณาเป็นธนาณัติในนาม คุณสุภาพร พิมพ์วาปี สั่งจ่าย ปท. มหาวิทยาลัยขอนแก่น จังหวัดขอนแก่น 40002 เป็นจำนวนเงิน.....บาท (.....)

ลงนาม.....

(.....)

อัตราค่าโฆษณาในวารสารวิทยาศาสตร์ มข.

		ลง 1 ฉบับ (บาท)	ลง 4 ฉบับ (บาท)
ในฉบับ (สี)	เต็มหน้า	1,000	3,600
	ครึ่งหน้า	500	1,800

ใบสมัครเป็นสมาชิก
วารสารวิทยาศาสตร์ มข.

เขียนที่.....

วันที่.....

เรียน บรรณาธิการวารสารวิทยาศาสตร์ มข.

ข้าพเจ้า.....

ที่อยู่.....รหัสไปรษณีย์.....

โทรศัพท์.....โทรสาร..... มีความประสงค์จะสมัครสมาชิก “วารสารวิทยาศาสตร์ มข.” ตั้งแต่ฉบับที่.....ปีที่.....ถึงฉบับที่.....ปีที่..... รวมทั้งสิ้น.....ฉบับ

พร้อมกันนี้ ข้าพเจ้าได้ส่งเงินค่าสมัครสมาชิก เป็นธนาณัติ ในนาม คุณสุภาพร พิมพ์วาปี สั่งจ่าย ปท. มหาวิทยาลัยขอนแก่น จังหวัดขอนแก่น 40002 เป็นจำนวนเงิน .....บาท (.....)

ลงนาม.....

(.....)

กำหนดออกของวารสารวิทยาศาสตร์ มข. และอัตราค่าสมัครสมาชิก
ปีละ 4 ฉบับ เป็นจำนวนเงิน 200 บาท

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

หนังสือในโครงการผลิตตำรา คณะวิทยาศาสตร์ มหาวิทยาลัยขอนแก่น

Date Due
(กำหนดคืน)
22 ก.ย. 2554

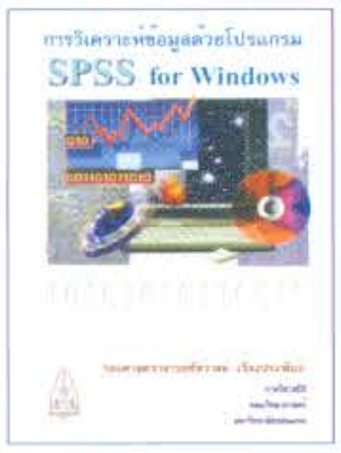
สถิติพื้นฐาน
พร้อมตัวอย่างการวิเคราะห์ด้วยโปรแกรม
MINITAB SPSS และ SAS

รองศาสตราจารย์ชัชวาลย์ เรืองประพันธ์
พิมพ์ครั้งที่ 5 2543 • 510 หน้า
ISBN 974-675-666-4
ราคา 200 บาท

หลักการเบื้องต้นและการประยุกต์ใช้เทคนิคคู่ควบในเคมีวิเคราะห์

ผู้ช่วยศาสตราจารย์ ดร. ศักดิ์สิทธิ์ จันทร์ไทย
2543 • 202 หน้า
ISBN 974-678-333-2
ราคา 150 บาท

ISBN 978-974-10-2673-9
ราคา 120 บาท



การวิเคราะห์ข้อมูลด้วยโปรแกรม SPSS for Windows

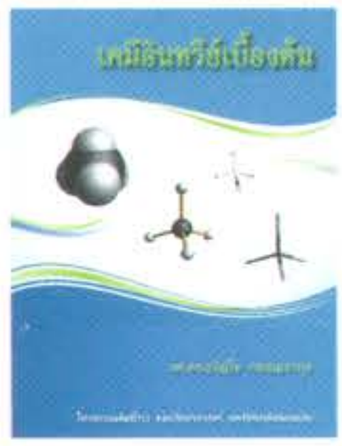
รองศาสตราจารย์ชัชวาลย์ เรืองประพันธ์
2544 • 620 หน้า
ISBN 974-654-608-2
ราคา 300 บาท

พอลิเมอร์และชีวโมเลกุลในสารประกอบอินทรีย์

ผู้ช่วยศาสตราจารย์ ดร. พัฒนา ธีรพรชัยสิทธิ์
2553 • 112 หน้า
ISBN 978-616-7183-57-2
ราคา 80 บาท

การวิเคราะห์ฟังก์ชันนัลขั้นแนะนำ

รองศาสตราจารย์ ดร. สุพจน์ ไวท์ยางกูร
2547 • 344 หน้า
ISBN 974-367-958-8
ราคา 200 บาท



เคมีอินทรีย์เบื้องต้น

รองศาสตราจารย์ ดร. ขวัญใจ กนกเมธากุล
2553 • 317 หน้า
ISBN 978-616-7183-75-6
ราคา 240 บาท

สเปกโทรสโกปี ในการพิสูจน์โครงสร้างของสารอินทรีย์

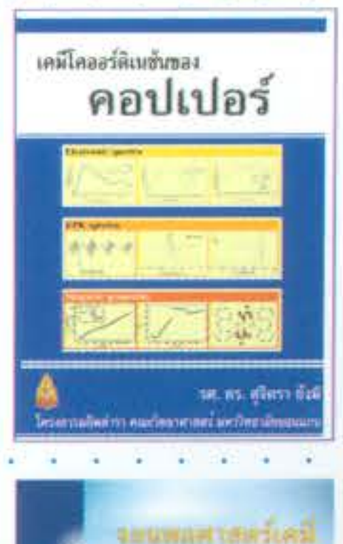
รองศาสตราจารย์ ดร. สมเดช กนกเมธากุล
2547 • 238 หน้า
ISBN 974-435-348-1
ราคา 180 บาท

อนุกรมวิธานระดับโมเลกุลของพืช

รองศาสตราจารย์ ดร. อรุณรัตน์ ฉวีราช
2553 • 172 หน้า
ISBN 978-616-7183-76-3
ราคา 160 บาท

แมงป่องช้าง

ผู้ช่วยศาสตราจารย์ ดร. ศักดา ดาดวง
นางสาวนันทวัน เอื้อวงศ์กูล
2547 • 64 หน้า
ISBN 974-435-571-9
ราคา 160 บาท



เคมีโคออร์ดิเนชันของ คอปเปอร์

รองศาสตราจารย์ ดร. สุจิตรา ยังมี
2553 • 260 หน้า
ISBN 978-616-223-007-3
ราคา 200 บาท

สมการเชิงอนุพันธ์สามัญ Ordinary Differential Equations

รองศาสตราจารย์ ดร. สุพจน์ ไวท์ยางกูร
2550 • 470 หน้า
ISBN 978-974-7707-55-7
ราคา 240 บาท

จลนพลศาสตร์เคมี

ผู้ช่วยศาสตราจารย์ ดร. ทิพาภรณ์ ศรีธัญรัตน์
2554 • 110 หน้า
ISBN 978-616-223-086-8
ราคา 90 บาท

ท่านที่สนใจหนังสือในโครงการผลิตตำรา ติดต่อสั่งซื้อได้ที่... **รองศาสตราจารย์ชัชวาลย์ เรืองประพันธ์**
คณะวิทยาศาสตร์ มหาวิทยาลัยขอนแก่น จ.ขอนแก่น 40002 โทรศัพท์/โทรสาร 0 4320-2375 E-mail: chatchav@kku.ac.th