

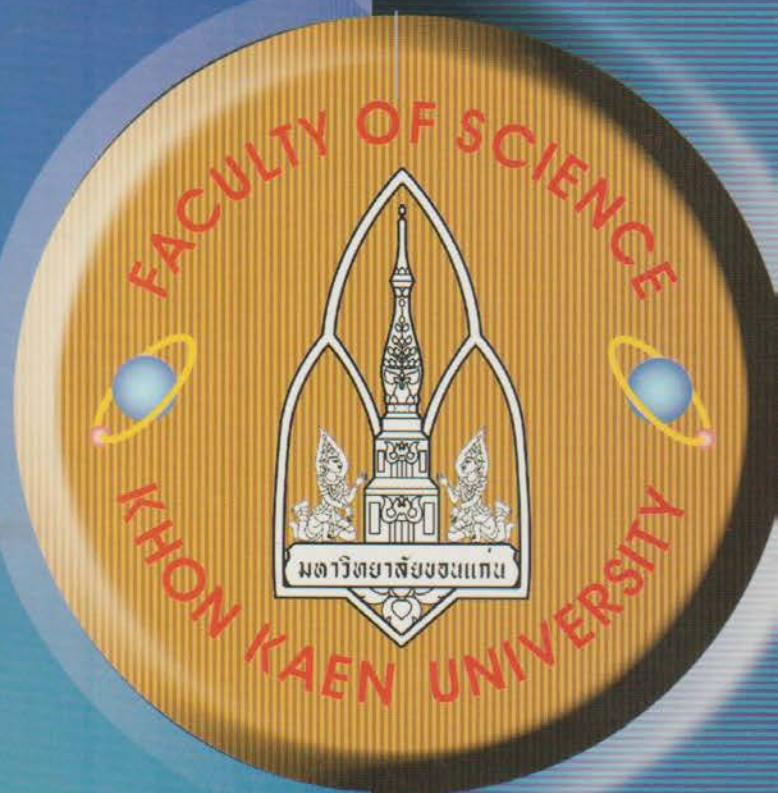


วารสาร

วิทยาศาสตร์มข.

KKU SCIENCE JOURNAL

ปีที่ 33 ฉบับที่ 3-4 (ก.ค.-ธ.ค. 48) Vol.33 No. 3-4 (Jul.-Dec.'05)





๖๖๖๖๖๖

วิทยาศาสตร์ปูช.
KKU SCIENCE JOURNAL

เจ้าของ

คณะวิทยาศาสตร์ มหาวิทยาลัยขอนแก่น

สำนักงาน

คณะวิทยาศาสตร์ ตึก 6 มหาวิทยาลัยขอนแก่น

วัตถุประสงค์

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

กำหนดออก ปีละ 4 ฉบับ

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

ค่าบำรุง ปีละ 75 บาท ข่ายปลีกเล่มละ 20 บาท

การบอกรับเป็นสมาชิก

แจ้งความจำนงค์เป็นจดหมาย หรือกรอกใบสมัครเป็นสมาชิก พร้อมค่าบำรุงเป็นธนาณัติ หรือเช็คไปรษณีย์ ในนามของนางบุญคุ้ม เหลือล้ำ ฝ่ายจัดการ
ส่งจ่าย ป.ท. มหาวิทยาลัยขอนแก่น จ.ขอนแก่น 40002

ที่ปรึกษา

คณบดีคณะวิทยาศาสตร์
รองคณบดีฝ่ายวิชาการ

บรรณาธิการ

นฤมล แสงประดับ

กองบรรณาธิการ

กิตติกร นาคประสิทธิ์
งามนิจ อาจอินทร์
ชุติมา หาญจวนิช
ประเสริฐ แข่งขัน
สมปอง ธรรมศิริรักษ์
สมเดช กนกเมธากุล
สุพรรณิ อึ้งปัญสัศวังศ์
เสาวนิต ทองพิมพ์
อัจฉราภรณ์ ภักดี

ฝ่ายศิลปและภาพ

กิเลน ดิณนรเศรษฐ์
สุชาติ เทพภูเขียว

ฝ่ายเหรียญก

บุญคุ้ม เหลือล้ำ

ฝ่ายจัดการและ เลขานุการ

สุภลักษณ์ ทองปัน
สมศักดิ์ อุ่นจันทิ

บทความและงานวิจัย
ได้รับการกลั่นกรอง
จากผู้ทรงคุณวุฒิ

บทความหรือข้อคิดเห็นใด ๆ ในวารสารนี้เป็นของผู้เขียน ไม่จำเป็นต้องสอดคล้องกับทัศนะของกองบรรณาธิการ

วารสาร

วิทยาศาสตร์ชุมชน

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

ปีที่ 33 ฉบับที่ 3-4

Volume 33 Number 3-4

บรรณาธิการแถลง

บทความ

- ☐ ค่าของลิมิต x^x เมื่อ x เข้าใกล้ศูนย์
มิติรี กระพี้แดง 59
- ☐ "จูบมรณะ" โนเบลสาขาเคมี ปี 2004
พัฒนา ชีรพรชัยสิทธิ์..... 63
- ☐ วิถีชีวิตรังเคราะห์ของไอโซปรินอยด์กับทางเลือกใหม่
สำหรับยาปฏิชีวนะและยารักษามาลาเรีย
ชนกพร เผ่าศิริ..... 70
- ☐ น้ำตาลและสารให้ความหวานที่พบในพืช
วัฒนา พัฒนากุล..... 77

วารสาร

วิทยาศาสตร์ชุมชน

KKU SCIENCE JOURNAL

ปีที่ 33 ฉบับที่ 3-4

Volume 33 Number 3-4

งานวิจัย

- ☐ Microfabric Analysis using Scanning Electron Microscopy as Potential Method for Determining Instability of Weathered Rock Slope
M.F. Irfah, M.R. Shahrill, H. Omar, Azlan A. Aziz, S. Maail and Bujang B.K.H..... 87
- ☐ การวิเคราะห์ตะกั่วและสารหนูในสุราพื้นบ้าน
 ศักดิ์สิทธิ์ จันทน์ไทย นาง อุวงศ์ผา และไพฑูรย์ คำนวิรุทัย..... 98
- ☐ การทดสอบความถูกต้องของการวิเคราะห์กรดเบนโซอิก กรดซอร์บิก กรดซาลิซิลิก และซัคคารินในน้ำส้มเกล็ดหิมะ ด้วยวิธี HPLC/PDA
 วิไล เส และ โสภิน บำเพ็ญทรัพย์..... 105
- ☐ ชนิด และการครอบครองพืชอาศัยของรา วิเอ มายคอร์ไรซา ในบริเวณดินเค็มของจังหวัดอุบลราชธานี
 โสภณ บุญลือ, ชรีดา ปุกหุด และ พูนพิไล สุวรรณฤทธิ์..... 115
- ☐ การถ่ายภาพการสั่นพ้องแม่เหล็กนิวเคลียสของการกระจายแบบ T₂
 วิวัฒน์ อังคี และ พิศาลพงษ์ สาจันทร์..... 128



วิทยาาสตร์
KKU SCIENCE JOURNAL

Publisher

Faculty of Science, Khon Kaen University,
Thailand.

Office

Faculty of Science, Building 6, Khon Kaen
University.

Objectives

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

Publishing frequency

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

Number 1 January - March

Number 2 April - June

Number 3 July - September

Number 4 October - December

Subscription rate

75 baht per annum. Single issue price 20 baht.

Membership

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

Advisory Committee Dean, Faculty of Science

Associate Dean for Academic
Affairs

Editor

Narumon Sangpradub

Editorial Board

Kittikorn Nakpasit

Ngamnij Arch-int

Chutima Hanjavanit

Prasert Kaengkan

Sompong Thammasirirak

Somdej Kanokmedhakul

Supunnee Ungpansattawong

Soawanit Tongpim

Adcharaporn Pagdee

Artists

Kilen Tinnoraset

Suchart Thepphukhieo

Treasurer

Boonkoom Lualon

Manging Staff

Suphaluk Tongpun

And Secretary

Somsak Unjantee

All articles published in

**KKU Science Journal have been
peer reviewed.**

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

บรรณาธิการ

แถลง

สวัสดีค่ะ ท่านสมาชิกวารสารฯ และท่านผู้อ่านทุกท่าน

วารสารวิทยาศาสตร์ มข. ฉบับนี้เป็นเล่มรวมของปีที่ 33 ฉบับที่ 3-4 (กรกฎาคม-ธันวาคม 2548) เนื้อหาประกอบด้วยบทความวิจัย และบทความปริทัศน์รวม 9 เรื่อง แต่ละเรื่องน่าสนใจมาก ไม่ว่าจะเป็นบทความวิจัยที่เกี่ยวข้องกับการบริโภคและสุขภาพ เช่น น้ำส้มเกล็ดหิมะ สุราพื้นบ้านที่อาจมีการปนเปื้อนของสารหนูและตะกั่ว การถ่ายภาพด้วยการสั่นพ้องแม่เหล็กนิวเคลียสซึ่งเป็นเทคนิคที่มีประโยชน์มากในการใช้ประกอบการวินิจฉัยโรคของแพทย์ และเชื้อรา วิ เอ มายคอร์ไรซา ในรากพืชและดิน ในบริเวณดินเค็ม จังหวัดอุบลราชธานี นอกจากนี้ยังมีบทความปริทัศน์ที่พลาดไม่ได้ คือ การค้นพบกระบวนการทำลายโปรตีนโดยยูบิควิติน ซึ่งทำให้นักวิทยาศาสตร์ทางการแพทย์สามท่านได้รับรางวัลโนเบลสาขาเคมี อ่านเรื่องนี้ได้จาก "จูบมรณะ" และพบกับ วิธีชีวสังเคราะห์ของไอโซปรีนอยด์ เรื่องหวานๆ จาก น้ำตาล และสารให้ความหวานที่พบในพืช และท่านที่สนใจคณิตศาสตร์พลิกไปอ่าน ค่าของลิมิต x^x เมื่อ x เข้าใกล้ศูนย์ การวิเคราะห์ Microfabric โดยใช้กล้องจุลทรรศน์อิเล็กตรอน

กองบรรณาธิการฯ ขอเชิญท่านส่งเรื่องมาเผยแพร่และแลกเปลี่ยนความรู้ทางวิทยาศาสตร์ เพื่อจะได้มีเรื่องดีๆ น่าสนใจอ่านกันตลอดปี พบกันใหม่เดือนมีนาคม 2549 ค่ะ

บรรณาธิการ

กองบรรณาธิการวารสารวิทยาศาสตร์ มข. ขอขอบพระคุณท่าน
ผู้ทรงคุณวุฒิที่กรุณาให้เกียรติพิจารณาบทความวิจัยและบทความปริทัศน์เพื่อลง
ในวารสารฉบับปีที่ 33 (ปีพ.ศ. 2548) ดังรายนามต่อไปนี้

ดร.ประเสริฐ แข่งขัน

ผศ.ธีรนนท์ พงษ์กันทราร

ผศ.วรรณดี บัญญัติรัชต

ผศ.ดร.กมลสร ลือไธสง

ผศ.ดร.ประสาธ โพรธิ่มแดง

ผศ.ดร.ประสาร สวัสดิ์ชิตัง

ผศ.ดร.เพชรรัตน์ ธรรมเบญจพล

ผศ.ดร.ศักดา ดาดวง

ผศ.ดร.สมปอง ธรรมศิริรักษ์

ผศ.ดร.เสาวนิต ทองพิมพ์

รศ.ชุติมา คุงูสมุทร

รศ.สุพจน์ ไวทยางกูร

รศ.ดร.นิวัฒน์ เสนาะเมือง

รศ.ดร.สุกัลกษณ์ ศรีจารนัย

รศ.ดร.สมเดช กนกเมธากุล

รศ.ดร.สุนนทิพย์ บุญนาค

รศ.ดร.อำพา เหลืองภิรมย์

บรรณาธิการ

ค่าของลิมิต x^{x^x} เมื่อ x เข้าใกล้ ศูนย์

มิตรี กระพีระแดง'

ในบทความนี้เป็นการหาค่าของลิมิต x^{x^x} เมื่อ x เข้าใกล้ศูนย์ ซึ่งจะต้องใช้ความรู้เกี่ยวกับบทนิยามของลิมิตที่กล่าวว่า $\lim_{x \rightarrow a} f(x) = A$ ฟังก์ชัน $f(x)$ จะเข้าใกล้ A เท่าไรก็ได้เมื่อ x เข้าใกล้ a มากพอ และใช้หลักเกณฑ์โลปีตาล ช่วยในการหาค่าลิมิตซึ่งอยู่ในรูปแบบยังไม่กำหนด ในรูป 0^0 ซึ่งจะหาค่าของลิมิต x^{x^x} เมื่อ x เข้าใกล้ศูนย์ได้

ความรู้พื้นฐาน

บทนิยาม 1 จะกล่าวว่า L เป็นลิมิตของฟังก์ชัน $f(x)$ เมื่อ x เข้าใกล้ a และเขียนแทนด้วย $\lim_{x \rightarrow a} f(x) = L$ ก็ต่อเมื่อ สำหรับทุกจำนวนจริงบวก ε ที่กำหนดให้ จะสามารถหาจำนวนจริงบวก δ ได้ ซึ่งทำให้ $|f(x) - L| < \varepsilon$ ทุกค่า x ในโดเมนของ f ซึ่ง $0 < |x - a| < \delta$

ทฤษฎีบทที่ 1 กำหนดให้ $\lim_{x \rightarrow a} f(x) = M$ และ $\lim_{x \rightarrow a} g(x) = N$ จะได้

$$\lim_{x \rightarrow a} [f(x)g(x)] = \lim_{x \rightarrow a} f(x) \lim_{x \rightarrow a} g(x) = MN$$

ทฤษฎีบทที่ 2 $\ln a^r = r \ln a$ ซึ่ง $a > 0$ และ r เป็นจำนวนตรรกยะ

ทฤษฎีบทที่ 3 1. $\frac{d}{dx} \ln|x| = (\ln|x|)' = \frac{1}{x}; x \neq 0$

$$2. \frac{d}{dx} x^n = n x^{n-1}$$

หลักเกณฑ์โลปีตาล (L, Hospital Rule)

หลักเกณฑ์โลปีตาล เป็นการใช้อนุพันธ์ของฟังก์ชันหาลิมิตของฟังก์ชันซึ่งมีรูปแบบยังไม่กำหนด รูปแบบยังไม่กำหนดที่ใช้ในบทความนี้อยู่ในรูป 0^0

ทฤษฎีบท 4 (หลักเกณฑ์โลปีตาลสำหรับรูปแบบ $\frac{\infty}{\infty}$)

กำหนดให้ f และ g เป็นฟังก์ชันซึ่งมีอนุพันธ์บน $(\alpha, \beta) - \{a\}$ ซึ่ง $a \in (\alpha, \beta)$ โดยที่ $\lim_{x \rightarrow a} f(x) = \infty = \lim_{x \rightarrow a} g(x)$ และ $g'(x) \neq 0$ สำหรับทุก ๆ $x \in (\alpha, \beta) - \{a\}$

(1) ถ้า $\lim_{x \rightarrow a} \frac{f'(x)}{g'(x)} = L$ แล้ว จะได้ว่า $\lim_{x \rightarrow a} \frac{f(x)}{g(x)} = L$

(2) ถ้า $\lim_{x \rightarrow a} \frac{f'(x)}{g'(x)} = \infty$ (หรือ $-\infty$) แล้ว จะได้ว่า $\lim_{x \rightarrow a} \frac{f(x)}{g(x)} = \infty$ (หรือ $-\infty$)

หมายเหตุ ในทฤษฎีบท 4 ถ้าแทน $x \rightarrow a$ เป็น $x \rightarrow a^-$ หรือ $x \rightarrow a^+$ ยังคงได้ข้อความที่เป็นจริง

ทฤษฎีบท 5 กำหนดให้ $y = f(x)$ เป็นฟังก์ชันที่นิยามสำหรับทุก ๆ $x \in [a, b]$ ยกเว้นที่จุด x_0 โดยที่ $a < x_0 < b$ และเรนจ์ของ f บรรจุในช่วง $[c, d]$ ถ้า g ต่อเนื่องที่จุด y_0 โดยที่ $c < y_0 < d$ และ $\lim_{x \rightarrow x_0} f(x) = y_0$ แล้ว

$$\lim_{x \rightarrow x_0} g[f(x)] = g(y_0) \quad \text{หรือ} \quad \lim_{x \rightarrow x_0} g[f(x)] = g \lim_{x \rightarrow x_0} f(x)$$

เนื้อหา

สำหรับจำนวนจริงบวก X ใดๆ กำหนดให้

$$^0X = 1$$

$$^1X = X$$

$$^2X = X^X$$

$$^3X = X^{(X^X)}$$

$$^4X = X^{(X^{(X^X)})}$$

บทนิยาม 2 สำหรับจำนวนจริงบวก X ใดๆ และจำนวนเต็ม n ใดๆ $^nX = X^{((n-1)_X)}$

$$\text{ตัวอย่างเช่น } ^4X = X^{((4-1)_X)} = X^{(^3X)} = X^{(X^{(X^X)})}$$

ทฤษฎีบท 6 สำหรับจำนวนจริงบวก k ใดๆ

$$(1) \lim_{x \rightarrow 0^+} ^{2k}X = 1$$

$$(2) \lim_{x \rightarrow 0^+} ^{2k+1}X = 0$$

พิสูจน์ ใช้วิธีพิสูจน์แบบอุปนัยเชิงคณิตศาสตร์ (mathematical induction)

$$(1) \text{ กำหนดให้ } P(n) : \lim_{x \rightarrow 0^+} x^{2n} = 1$$

$$1. \text{ พิจารณา } P(1) : \lim_{x \rightarrow 0^+} x^{2(1)} = 1$$

$$\text{ดังนั้น } \lim_{x \rightarrow 0^+} x^2 = \lim_{x \rightarrow 0^+} e^{\ln x^2} = \lim_{x \rightarrow 0^+} e^{\ln x^{(2-1)x}} = \lim_{x \rightarrow 0^+} e^{x \ln x} = e^{\lim_{x \rightarrow 0^+} x \ln x}$$

$$\begin{aligned} \text{ซึ่ง } \lim_{x \rightarrow 0^+} x \ln x &= \lim_{x \rightarrow 0^+} \frac{\ln x}{x^{-1}} \quad \left(\text{อยู่ในรูป } \frac{\infty}{\infty} \right) \\ &= \lim_{x \rightarrow 0^+} \frac{(\ln x)'}{(x^{-1})'} \quad (\text{โดยทฤษฎีบท 4}) \\ &= \lim_{x \rightarrow 0^+} (-x) = 0 \end{aligned}$$

$$\text{ดังนั้น } \lim_{x \rightarrow 0^+} x^2 = e^0 = 1 \text{ ทำให้ } P(1) \text{ เป็นจริง}$$

$$2. \text{ สมมติให้ } P(k) \text{ เป็นจริง หรือ } \lim_{x \rightarrow 0^+} x^{2k} = 1 \text{ จะแสดงว่า } P(k+1) \text{ เป็นจริง}$$

$$\text{จาก } \lim_{x \rightarrow 0^+} x^{2k} = 1 \text{ โดยบทนิยามลิมิต ทำให้ได้ว่าสำหรับแต่ละ } x \text{ ที่ } x^{2k} > \frac{1}{2}$$

$$\text{สำหรับ } x \in (0,1) \text{ และ } x^{2k} > \frac{1}{2} \text{ จะได้ } x^{(2k)x} < x^{\frac{1}{2}} \text{ พิจารณา}$$

$$\begin{aligned} \lim_{x \rightarrow 0^+} |x^{(k+1)-1} x \ln x| &= \lim_{x \rightarrow 0^+} |x^{2k+1} x \ln x| = \lim_{x \rightarrow 0^+} |x^{(2k)x} \ln x| \leq \lim_{x \rightarrow 0^+} \left| x^{\frac{1}{2}} \ln x \right| = \lim_{x \rightarrow 0^+} \left| \frac{\ln x}{x^{-\frac{1}{2}}} \right| \quad \left(\text{อยู่ในรูป } \frac{\infty}{\infty} \right) \\ &= \lim_{x \rightarrow 0^+} \left| \frac{(\ln x)'}{(x^{-\frac{1}{2}})'} \right| = \lim_{x \rightarrow 0^+} \left| \frac{x^{-1}}{-\frac{1}{2} x^{-\frac{3}{2}}} \right| = \lim_{x \rightarrow 0^+} 2x^{\frac{1}{2}} = 0 \end{aligned}$$

$$\text{ดังนั้น } \lim_{x \rightarrow 0^+} x^{2(k+1)} = e^0 = 1 \text{ จะได้ } P(k+1) \text{ เป็นจริง}$$

$$\text{จาก 1. และ 2. สรุปได้ว่า สำหรับจำนวนเต็มบวก } k \text{ ใดๆ } \lim_{x \rightarrow 0^+} x^{2k} = 1$$

$$(2) \text{ กำหนดให้ } P(n) : \lim_{x \rightarrow 0^+} x^{2n+1} = 0$$

$$1. \text{ พิจารณา } P(1) : \lim_{x \rightarrow 0^+} x^3 = 0$$

$$\text{พิจารณา } \lim_{x \rightarrow 0^+} x^2 \ln x$$

$$\text{เนื่องจาก } \lim_{x \rightarrow 0^+} x^2 = 1 \text{ เป็นจริง}$$

$$\text{โดยบทนิยามลิมิต ทำให้ได้ว่าสำหรับแต่ละ } x \text{ ที่ } x^2 > \frac{1}{2}$$

จะได้ว่าสำหรับ $x \in (0,1)$ และ $^3x = x^{(2x)} < x^{\frac{1}{2}}$

$$\begin{aligned} \lim_{x \rightarrow 0^+} |^2x \ln x| &\leq \lim_{x \rightarrow 0^+} |x^{\frac{1}{2}} \ln x| = \lim_{x \rightarrow 0^+} \left| \frac{\ln x}{x^{-\frac{1}{2}}} \right| \text{ (อยู่ในรูป } \frac{\infty}{\infty} \text{)} \\ &= \lim_{x \rightarrow 0^+} \left| \frac{(\ln x)'}{(x^{-\frac{1}{2}})'} \right| = \lim_{x \rightarrow 0^+} \left| \frac{x^{-1}}{-\frac{1}{2}x^{\frac{3}{2}}} \right| = \lim_{x \rightarrow 0^+} 2x^{\frac{1}{2}} = 0 \end{aligned}$$

ดังนั้น $P(1)$ เป็นจริง

2. สมมติให้ $P(n)$ เป็นจริง หรือ $\lim_{x \rightarrow 0^+} ^{2(n+1)-1}x = 0$ จะแสดงว่า $P(n+1)$ เป็นจริง

$$\text{พิจารณา } \lim_{x \rightarrow 0^+} ^{2(n+1)-1}x \ln x = \lim_{x \rightarrow 0^+} ^{2n+1}x \ln x$$

$$\text{เนื่องจาก } \lim_{x \rightarrow 0^+} ^{2(n+1)}x = 1 \text{ และ } \lim_{x \rightarrow 0^+} \ln x = -\infty$$

$$\text{ทำให้ } \lim_{x \rightarrow 0^+} ^{2(n+1)-1}x \ln x = \lim_{x \rightarrow 0^+} ^{2k+1}x \ln x = \lim_{x \rightarrow 0^+} ^{2(n+1)}x \left(\lim_{x \rightarrow 0^+} \ln x \right) = 1(-\infty) = -\infty$$

จะได้ $P(n+1)$ เป็นจริง

จาก 1. และ 2. สรุปได้ว่า สำหรับจำนวนเต็มบวก k ใดๆ $\lim_{x \rightarrow 0^+} ^{2k+1}x = 0$ □

บรรณานุกรม

สุมานะ อาจหาญ, มิตรี้ กระพี้แดง และ ขวลิต บุญปก. (2544). คณิตศาสตร์ 1. ภาควิชาคณิตศาสตร์มหาวิทยาลัยมหาสารคาม.

อัมพร อนันต์พินิจวัฒนา (2545). คณิตศาสตร์ 2. ภาควิชาคณิตศาสตร์ มหาวิทยาลัยมหาสารคาม.

J. MARSHAL. LASH . (1996). The limit of $x^{x^{\dots x}}$ as x tends to zero, Mathematics Magazine. 69(3) :207-209.

Stewart, J. (1991). Single Variable Calculus. 2nd ed. Brooks: Cole Publishing Company.

"จูบมรณะ" โนเบลสาขาเคมี ปี 2004

Kiss of Death

พัฒนา ชีรพรชัยสิทธิ์¹

เซลล์มนุษย์ประกอบด้วยโปรตีนชนิดต่างๆ กันกว่าแสนชนิด โปรตีนเหล่านี้ทำหน้าที่สำคัญต่างๆ เพื่อให้ชีวิตดำรงอยู่ได้เช่น เป็นตัวเร่งปฏิกิริยาเคมีในรูปของเอนไซม์ เป็นสารส่งสัญญาณในรูปของฮอร์โมน เป็นตัวดักจับสิ่งแปลกปลอมในระบบภูมิคุ้มกัน รวมทั้งยังเป็นโครงสร้างและโครงร่างของเซลล์ เป็นต้น ในปี ค.ศ. 2004 รางวัลโนเบลสาขาเคมีได้ถูกมอบให้เป็นเกียรติแก่นักวิทยาศาสตร์สาขาการแพทย์สามท่าน คือ Irwin Rose อายุ 78 ปี จากสหรัฐอเมริกา Avram Hershko อายุ 67 ปี และ Aaron Ciechanover อายุ 57 ปี จากประเทศอิสราเอล ซึ่งได้ร่วมกันค้นคว้าเกี่ยวกับกระบวนการทางเคมีที่เซลล์ใช้ควบคุมว่า โปรตีนใดเป็นโปรตีนที่เซลล์ไม่ต้องการ ด้วยการติดตัวส่งสัญญาณคือ ยูบิกิวติน (ubiquitin) ซึ่งเป็นพอลิเปปไทด์ (polypeptide) เช่นเดียวกับโปรตีนอื่นๆ จากนั้นโปรตีนเป้าหมายที่มียูบิกิวตินติดอยู่จะถูกส่งไปทำลายหรือย่อยสลายในระบบโปรตีเอโซม (proteasome) ที่เปรียบเสมือนถังย่อยขยะในเซลล์

การที่นักวิทยาศาสตร์ทั้งสามท่านนี้ได้ค้นพบระบบการคัดเลือกโปรตีนเพื่อทำลายอย่างจำเพาะ ทำให้ง่ายต่อการทำความเข้าใจในระดับโมเลกุลเกี่ยวกับการควบคุมกระบวนการทางชีววิทยาที่สำคัญต่างๆ ของเซลล์ เช่น วงจรของเซลล์ (cell cycle) การคัดลอกแบบ DNA ในการส่งถ่ายรหัสทางพันธุกรรม รวมถึงการควบคุมประสิทธิภาพของ

การสังเคราะห์โปรตีน นอกจากนี้ยังช่วยอธิบายระบบการทำงานของภูมิคุ้มกัน ตลอดจนสาเหตุของการเกิดโรคต่างๆ เช่น มะเร็งและเนื้องอก ซึ่งอาจเกิดจากการที่มีโปรตีนผิดปกติอยู่ในร่างกายได้อีกด้วย

การติดตัวส่งสัญญาณบนโปรตีน เป้าหมาย และการย่อยสลาย โปรตีนต้องใช้พลังงานหรือไม่ ?

การค้นคว้าวิจัยส่วนใหญ่ได้มุ่งเน้นเกี่ยวกับการทำความเข้าใจกระบวนการสร้างโปรตีนที่จำเพาะของเซลล์ ทำให้มีนักวิทยาศาสตร์ได้รับรางวัลโนเบลในแขนงนี้ถึงห้าครั้งด้วยกัน ส่วนกลไกการทำลายโปรตีนของเซลล์กลับถูกมองข้ามไป ถึงแม้จะมีการค้นพบเอนไซม์อีกหลายชนิดที่ช่วยย่อยสลายโปรตีนได้ เช่น ทริปซิน (trypsin) ซึ่งพบในกระเพาะอาหาร ที่ร่างกายใช้ย่อยโปรตีนจากอาหารให้เป็นกรดอะมิโน สำหรับการทำงานของเอนไซม์ย่อยโปรตีนในไลโซโซม (lysosome) ซึ่งเป็นออร์แกเนล (organelle) ของเซลล์ที่ดูดซับโปรตีนแปลกปลอมจากภายนอกเซลล์เข้าไปเพื่อทำการย่อยสลายก็ได้มีการศึกษามานานแล้ว กระบวนการเหล่านี้เป็นที่ทราบแน่ชัดว่าไม่ต้องใช้พลังงาน คำถามต่อมาคือการย่อยโปรตีนในแบบอื่นๆ ต้องใช้พลังงานหรือไม่ ?

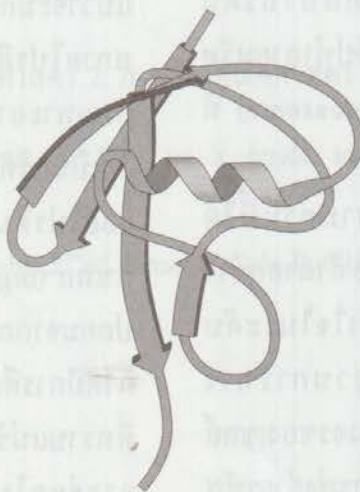
ก่อนปี ค.ศ.1950 เชื่อกันว่าการย่อยสลายโปรตีนต่างๆ ของเซลล์ต้องใช้พลังงาน ซึ่งเป็นจริงเพียงบางส่วนเท่านั้น งานวิจัยที่ได้รับรางวัลโนเบลในปี ค.ศ. 2004 ได้แสดงให้เห็นว่า เฉพาะการย่อยสลายโปรตีนภายในเซลล์เท่านั้นที่ต้องการพลังงาน การย่อยโปรตีนแบบอื่นๆ ไม่จำเป็นต้องใช้พลังงาน Goldberg และผู้ร่วมงานได้เริ่มอธิบายกระบวนการย่อยสลายโปรตีนที่ต้องใช้พลังงานนี้ในปี ค.ศ.1977 โดยแยกสารจากการแตกเซลล์ของเซลล์อ่อนของเม็ดเลือดแดง ซึ่งเป็นตัวเร่งการย่อยสลายโปรตีนที่ผิดปกติในระบบที่ต้องการพลังงานจาก ATP (ATP ย่อมาจาก adenosine triphosphate ซึ่งเป็นแหล่งสะสมพลังงานของเซลล์)

ในช่วงปลายปี ค.ศ.1970 ถึงช่วงต้นปี ค.ศ.1980 Ciechanover Hershko และ Rose ค้นพบว่าการย่อยสลายโปรตีนภายในเซลล์จะเกิดปฏิกิริยาแบบลำดับขั้น (step-wise reaction) ซึ่งต้องใช้พลังงาน เริ่มโดยโปรตีนเป้าหมายถูกติดสัญญาณทำลายด้วยยูบิควิติน ทำให้เซลล์สามารถทำลายเฉพาะโปรตีนที่เซลล์ไม่ต้องการได้อย่างมีประสิทธิภาพ ปฏิกิริยานี้ไม่สามารถย้อนกลับได้เพราะโปรตีนเป้าหมายถูกทำลายไปแล้ว แตกต่างกับ

กระบวนการเปลี่ยนแปลงอื่นๆ ที่เกิดขึ้นกับโปรตีน เช่น ฟอสฟอริเลชัน (phosphorylation) ซึ่งเป็นปฏิกิริยาย้อนกลับ งานวิจัยที่ได้รับรางวัลโนเบลในปี ค.ศ. 2004 เป็นผลงานที่ส่วนใหญ่ทำในขณะที่ Ciechanover และ Hershko ลาเพิ่มพูนจากสถาบันเทคโนโลยีฮาร์วาร์ดประเทศอิสราเอลที่ทั้งคู่ทำงานอยู่ ไปวิจัยร่วมกับ Rose ที่สถาบันมะเร็งในฟิลาเดเฟีย ประเทศสหรัฐอเมริกา

ตัวส่งสัญญาณยูบิควิติน

ยูบิควิตินถูกสกัดได้ตั้งแต่ปี 1975 แต่ได้รับการยืนยันแน่นอนในภายหลังว่าเป็นโมเลกุลที่เซลล์ใช้ทำเครื่องหมายสู่การทำลายบนโปรตีน ยูบิควิตินเป็นพอลิเปปไทด์ที่ประกอบด้วยกรดอะมิโน 76 หน่วย ในระยะแรกๆ พอลิเปปไทด์นี้ถูกสกัดได้จากตับอ่อนของลูกวัวและเชื่อว่ามียูบิควิตินเม็ดเลือดขาวด้วย ต่อมางานวิจัยในระยะหลังได้แสดงให้เห็นว่าพอลิเปปไทด์ชนิดนี้มีอยู่ทั่วไปในเนื้อเยื่อและอวัยวะต่างๆ (Goldstein et al., 1975) จึงให้ชื่อพอลิเปปไทด์นี้ว่า ยูบิควิติน ซึ่งมาจากภาษาละติน *ubique* แปลว่า ทุกหนทุกแห่ง อย่างไรก็ตาม ไม่พบยูบิควิตินในแบคทีเรีย



รูปที่ 1 ยูบิควิติน: พอลิเปปไทด์ที่เซลล์ใช้เป็นเครื่องหมายทำลายสำหรับโปรตีนเป้าหมาย

(รูปจาก <http://nobelprize.org/chemistry/laureates/2004/public.html>)

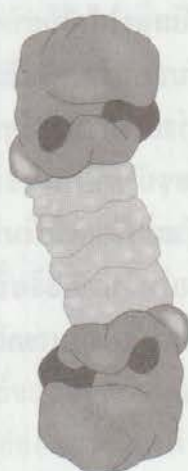
การค้นพบยูบิควิติน

หลังจาก Hershko จบปริญญาเอกในปี ค.ศ.1969 ก็ได้ทำงานวิจัยเกี่ยวกับปฏิกิริยาการทำลายโปรตีนที่ต้องใช้พลังงานโดยทดลองด้วยเซลล์ตับต่อมาในปี ค.ศ. 1977 Hershko ได้หันมาสนใจการแยกสกัดสารจากการแตกเซลล์อ่อนของเม็ดเลือดแดง ซึ่งสารสกัดนี้ส่วนใหญ่ประกอบด้วยอีโมโกบิน ซึ่งมีผลต่อการทดลองเขาจึงพยายามที่จะแยกอีโมโกบินออกโดยใช้เทคนิคโครมาโทกราฟี จากความพยายามนี้ Hershko และ Ciechanover ได้พบว่า สารสกัดที่แยกอีโมโกบินออกไปแล้วนี้ประกอบด้วยสารสองส่วน ซึ่งแต่ละส่วนจะไม่ว่องไวต่อปฏิกิริยา แต่เมื่อนำทั้งสองส่วนมารวมกันจะว่องไวต่อการเกิดปฏิกิริยา และเกิดการย่อยสลายโปรตีนโดยใช้พลังงานจากสลาย ATP ขึ้นทันที ในปี ค.ศ.1978 ทั้งสองได้เสนอผลงานนี้ โดยแสดงถึงความว่องไวในการเกิดการย่อยสลายโปรตีนของส่วนผสมของสารสกัดส่วนที่ 1 ซึ่งเป็นพอลิเปปไทด์ที่ทนความร้อนมีมวลโมเลกุลขนาด 9000 ในชื่อ APF-1 (Ciechanover et al., 1978) ซึ่งต่อมาพิสูจน์ได้ว่า คือ ยูบิควิติน โดย Wilkinson Urban และ Haas ในปี 1980 แต่เหตุสำคัญที่นำไปสู่ความสำเร็จและการพัฒนาของงานวิจัยนี้ถูกเสนอในรายงานสองฉบับของ Ciechanover Hershko และ Rose ซึ่งตีพิมพ์ในปี ค.ศ.1980 โดยฉบับแรก Ciechanover และคณะอธิบายถึง APF-1 ซึ่งในขณะนั้น APF-1 ก็ยังไม่เป็นที่ทราบแน่ชัดว่าทำงานอย่างไร ในรายงานชิ้นนี้สรุปเพียงแต่ว่า APF-1 เกิดพันธะโควาเลนต์ ซึ่งเป็นพันธะที่เสถียรมากกับโปรตีนหลายๆ ชนิด ในสารที่

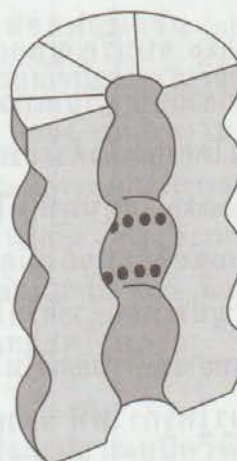
สกัดได้ ส่วนในรายงานฉบับที่สอง Hershko และคณะแสดงให้เห็นว่า APF-1 หลายๆ โมเลกุลสามารถเกิดพันธะกับโปรตีนในโมเลกุลเดียวกันได้ ซึ่งภายหลังเรียกว่าการเกิดพอลิยูบิควิติน (polyubiquitination) ในปัจจุบันเป็นที่ทราบแล้วว่า พอลิยูบิควิตินคือสัญญาณหรือเครื่องหมายที่จะนำโปรตีนนี้ไปสู่การทำลายในโปรตีเอสโซม อุปมากรไกซึ่งยูบิควิตินเข้าจับโปรตีนเป้าหมายเหมือนเป็น "จูบมรณะ" (Kiss of Death)

โปรตีเอสโซม : แหล่งกำจัดโปรตีนของเซลล์

โปรตีเอสโซมคืออะไร? เซลล์มนุษย์มีโปรตีเอสโซมกระจายอยู่ทั้งในนิวเคลียสและไซโตพลาสซึม (cytoplasm) มากกว่า 30,000 ชนิด ซึ่งสามารถที่จะสลายโปรตีนที่เซลล์ไม่ต้องการให้เป็นโปรตีนสายสั้นๆ โปรตีเอสโซมเป็นโมเลกุลเชิงซ้อนรูปทรงกระบอกของเอนไซม์ มีหน้าที่ย่อยสลายโปรตีนที่เซลล์สังเคราะห์ขึ้นแต่ทำหน้าที่ไม่ได้ โดยบริเวณที่เกิดปฏิกิริยาการย่อยสลายจะอยู่ด้านในของโปรตีเอสโซม โปรตีนที่เซลล์ต้องการย่อยสลายจะเข้าถึงบริเวณที่เกิดการย่อยสลายได้ก็ต่อเมื่อโปรตีนนั้นจะต้องมีพอลิยูบิควิตินติดอยู่ เปรียบเสมือนกุญแจที่จะไขเข้าไป เมื่อเข้าไปแล้วโปรตีนเหล่านี้จะถูกย่อยสลาย และถูกปล่อยออกที่ปลายทางอีกด้านหนึ่งในรูปสายโซ่สั้นๆ ของกรดอะมิโน ส่วนยูบิควิตินจะถูกแยกออกมาตั้งแต่ต้นทางและเซลล์จะนำยูบิควิตินนี้กลับไปใช้ใหม่ได้



A



B

รูปที่ 2 (A) แสดงแบบจำลองโปรตีเอโซม

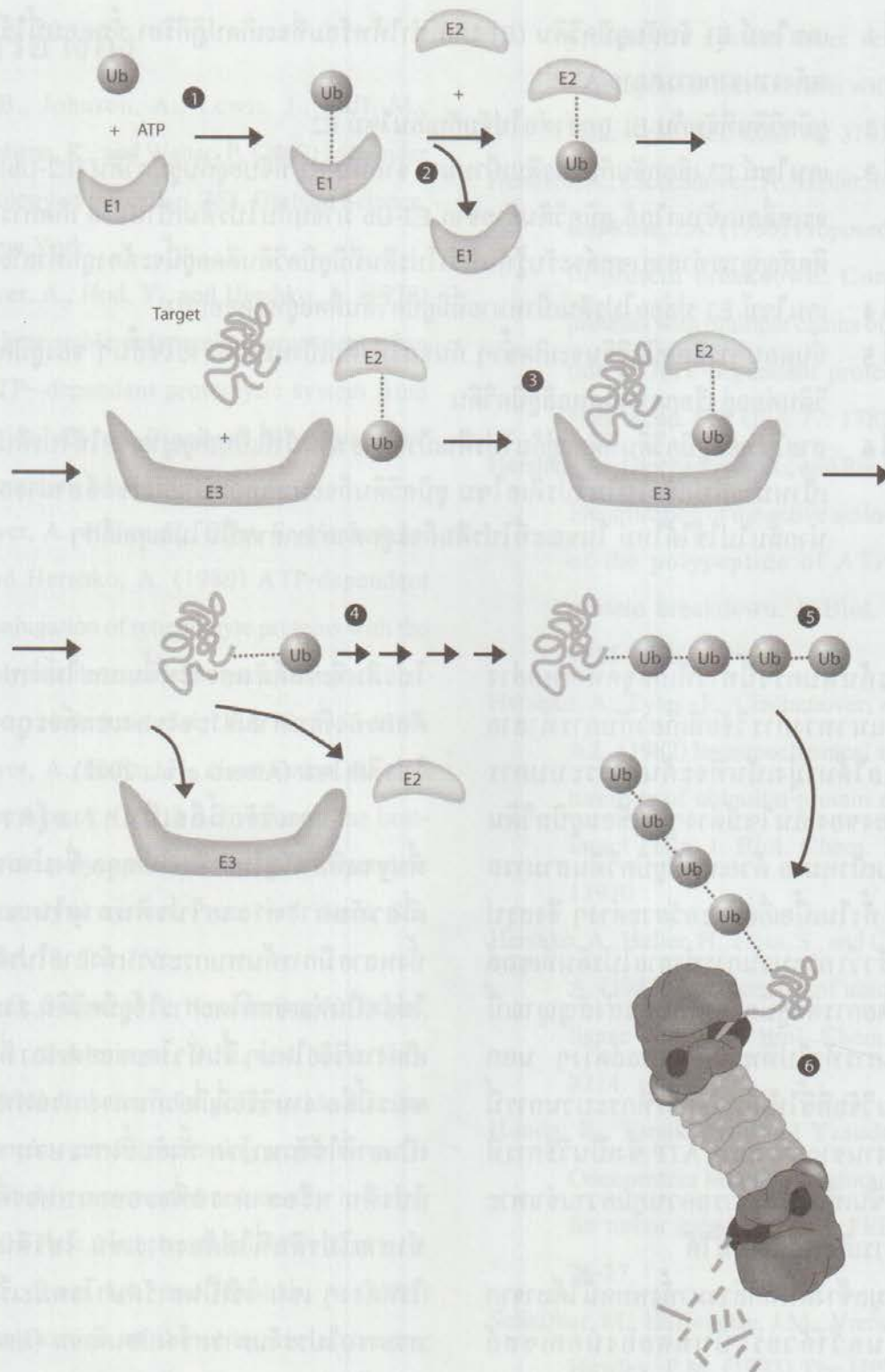
(B) แสดงแบบจำลองโปรตีเอโซมตัดครึ่งตามยาว จุดดำแสดงบริเวณภายในโปรตีเอโซมที่โปรตีนเป้าหมายจะถูกย่อยสลาย

(รูปจาก <http://nobelprize.org/chemistry/laureates/2004/public.html>)

ขั้นตอนการทำลายโปรตีน เป้าหมายโดยใช้ยูบิควิติน

โปรตีเอโซมไม่สามารถคัดเลือกโปรตีนเพื่อทำลายได้อย่างจำเพาะเจาะจง แล้วโปรตีเอโซมทำงานได้อย่างไร เซลล์มีวิธีการอย่างไรจึงจะควบคุมการทำงานของโปรตีเอโซมได้อย่างมีประสิทธิภาพ ในระหว่างปี ค.ศ.1981 ถึง 1983 Ciechanover Herskho และ Rose และทีมงาน ได้ตั้งสมมุติฐานถึง

การทำงานของยูบิควิตินที่เรียกว่า "The Multistep Ubiquitin-tagging Hypothesis" จากการค้นพบเอนไซม์ที่เข้ามาเกี่ยวข้องอีก 3 ตัว โดยให้สัญลักษณ์เป็น E1 E2 และ E3 ในปัจจุบันเป็นที่ทราบกันว่า E1 ของยูคาริโอต มีความแตกต่างกันน้อยมากซึ่งอาจจะมีแค่ 1-2 ชนิด ในขณะที่ E2 มีประมาณ 10 กว่าชนิด และ E3 มีหลายร้อยชนิด โดยชนิดของ E3 จะเป็นตัวกำหนดความจำเพาะว่าโปรตีนใดจะถูกส่งเข้าไปทำลายในโปรตีเอโซม (ดังแสดงในรูป 3)



รูปที่ 3 แสดงขั้นตอนการทำลายโปรตีนเป้าหมายโดยใช้ยูบิควิตินเป็นตัวส่งสัญญาณ

(รูปจาก <http://nobelprize.org/chemistry/laureates/2004/public.html>)

- ขั้นที่ 1 เอนไซม์ E1 จับกับยูบิควิติน (E1-Ub) ทำให้พร้อมที่จะเกิดปฏิกิริยา ขั้นตอนนี้ใช้พลังงานจากการสลาย ATP
- ขั้นที่ 2 ยูบิควิตินที่จับกับ E1 ถูกส่งต่อไปจับกับเอนไซม์ E2
- ขั้นที่ 3 เอนไซม์ E3 เลือกรับกับโปรตีนเป้าหมาย จากนั้น E2 ที่จับอยู่กับยูบิควิติน (E2-Ub) จะเคลื่อนเข้ามาใกล้ ยูบิควิตินย้ายจาก E2-Ub มาจับกับโปรตีนเป้าหมาย เกิดการติดสัญญาณทำลาย เซลล์จะรับรู้ทันทีว่าโปรตีนที่มียูบิควิตินติดอยู่จะต้องถูกทำลาย
- ขั้นที่ 4 เอนไซม์ E3 ปลดปล่อยโปรตีนเป้าหมายที่มียูบิควิตินติดอยู่หลุดออกมา
- ขั้นที่ 5 ขั้นตอนการติดยูบิควิตินจะเกิดซ้ำๆ กันจนโปรตีนเป้าหมายมีสายโซ่สั้นๆ ของยูบิควิตินต่ออยู่ เรียกการเกิดพอลิยูบิควิติน
- ขั้นที่ 6 สายโซ่พอลิยูบิควิตินที่ติดอยู่กับโปรตีนเป้าหมาย ทำหน้าที่เป็นสัญญาณขอให้โปรตีนเป้าหมายผ่านเข้าไปในโปรตีเอสโสม ยูบิควิตินก็จะหลุดออกมาและเซลล์สามารถนำกลับไปใช้ได้ใหม่ ในขณะที่โปรตีนก็จะถูกทำลายกลายเป็นโมเลกุลเล็กๆ

การค้นพบครั้งนี้ทำให้เกิดจุดหักเหอย่างฉับพลันของแนวทางการวิจัยที่เกี่ยวกับการทำลายโปรตีน โดยได้มามุ่งเน้นที่จะค้นคว้าระบบการทำงานต่อเนื่องของเอนไซม์ต่างๆ ที่เชื่อมยูบิควิตินติดกับโปรตีนเป้าหมาย ด้วยเหตุที่ยูบิควิตินสามารถพบได้ทั่วไป ทั้งในเนื้อเยื่อและอวัยวะต่างๆ จึงสรุปได้อย่างรวดเร็วว่า กระบวนการทำลายโปรตีนที่เซลล์ไม่ต้องการ โดยการติดยูบิควิตินเป็นตัวส่งสัญญาณนี้เป็นกระบวนการทั่วไปที่พบได้ในเซลล์ต่างๆ นอกจากนี้ยังมีงานวิจัยที่ชี้ให้เห็นว่า การที่กระบวนการนี้ต้องการพลังงานจากการสลาย ATP ซึ่งเป็นวิธีการที่เซลล์กำหนดขึ้นเพื่อให้สามารถควบคุมความจำเพาะเจาะจงของการเกิดปฏิกิริยานี้ได้

ข้อมูลข้างต้นที่กล่าวมาทั้งหมดนี้ได้มาจากการศึกษาค้นคว้าด้วยระบบทดลองนอกเซลล์ (invitro) คือสกัดสารออกจากเซลล์มาทดสอบ ผลการทดลองชี้ชัดว่าเซลล์มีระบบการทำลายโปรตีนโดยผ่านการติดตัวส่งสัญญาณยูบิควิตินจริง (Hershko et al., 1982) และในปัจจุบันพบว่าระบบการทำลายโปรตีนแบบนี้มีความสำคัญมากเพราะมากกว่า 30 % ของ

โปรตีนที่เซลล์สังเคราะห์ขึ้นและไม่ผ่านระบบการคัดกรองที่เฉพาะเจาะจงของเซลล์จะถูกทำลายในโปรตีเอสโสม (Alberts et al., 2002)

งานวิจัยนี้ถือเป็นความรู้ความเข้าใจพื้นฐานที่สำคัญในระดับโมเลกุล ซึ่งนำมาใช้อธิบายเกี่ยวกับการทำลายโปรตีนภายในเซลล์ชั้นสูงทั้งหลาย มีการค้นพบกระบวนการทำลายโปรตีนต่างๆ ที่ไม่จำเพาะต่อเซลล์โดยการใช้ยูบิควิติน รวมทั้งก่อให้เกิดงานวิจัยใหม่ๆ ขึ้นทั่วโลกตลอดเวลาที่เห็นได้ชัดขณะนี้คือ งานวิจัยเกี่ยวกับทางการแพทย์โดยผลิตเป็นยาที่ใช้รักษาโรค ทั้งยับยั้งกระบวนการทำลายโปรตีน หรือสามารถที่จะออกแบบยาที่จะเข้าไปทำลายโปรตีนที่ไม่ต้องการเช่น โปรตีนทำให้เกิดโรคต่างๆ เช่น ใช้เป็นยารักษาโรคมะเร็งโดยยานี้สามารถไประงับการสร้างแอนติเจน (antigen) ของเซลล์ในร่างกาย การค้นพบกระบวนการทำลายโปรตีนโดยยูบิควิตินนี้ทำให้ Irwin Rose Avram Hershko และ Aaron Ciechanover ได้รับการพิจารณาให้เป็นผู้ได้รับรางวัลโนเบลสาขาสรีรวิทยาหรือการแพทย์ ค.ศ.2004

เอกสารอ้างอิง

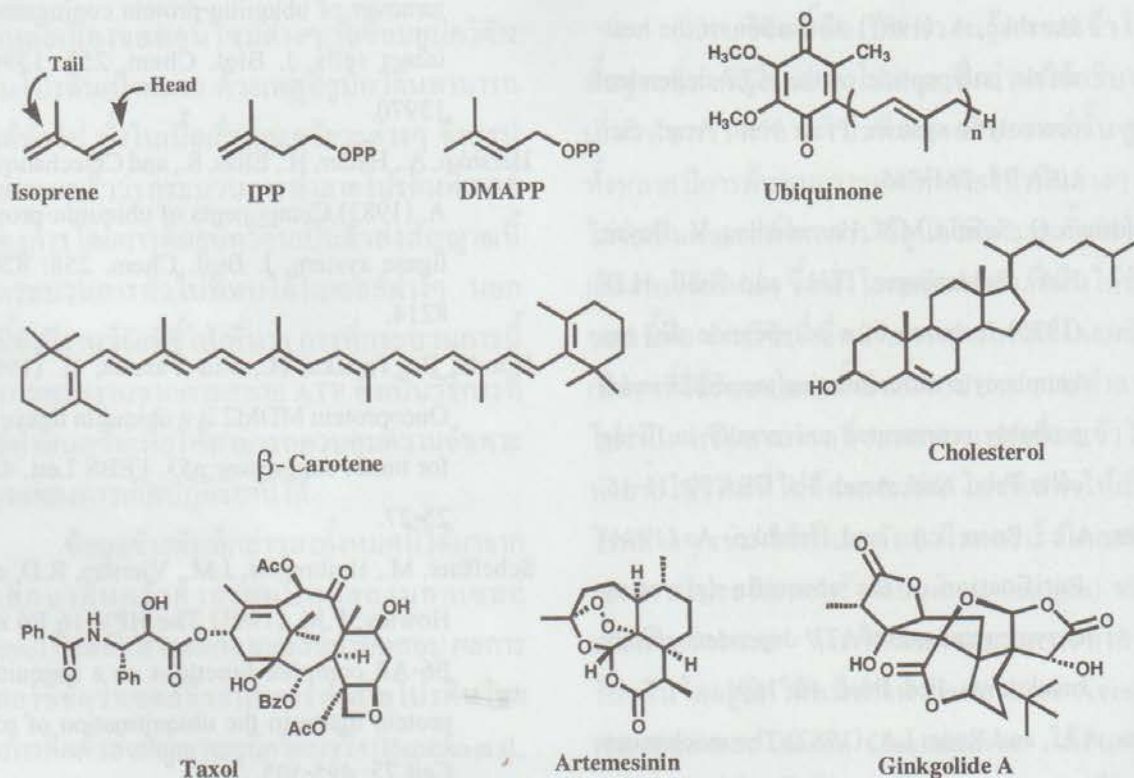
- Alberts, B., Johnson, A., Lewis, J., Raff, M., Roberts, K., and Walter, P. (2002) Molecular biology of the cell, p. 358. Garland Science, New York.
- Ciechanover, A., Hod, Y., and Hershko, A. (1978) A heat-stable polypeptide component of an ATP- dependent proteolytic system from reticulocytes. *Biochem. Biophys. Res. Commun.* 81: 1100-1105.
- Ciechanover, A., Heller, H., Elias, S., Haas, A.L., and Hershko, A. (1980) ATP-dependent conjugation of reticulocyte proteins with the polypeptide required for protein degradation. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* 77: 1365-1368.
- Ciechanover, A., Heller, H., Katz-Etzion, R., and Hershko, A. (1981) Activation of the heat-stable polypeptide of the ATP-dependent proteolytic system. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* 78: 761-765.
- Goldstein, G., Scheid, M.S., Hammerling, V., Boyse, E.A., Schlesinger, D.H., and Niall, H.D. (1975) Isolation of a polypeptide that has lymphocyte-differentiating properties and is probably represented universally in living cells. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* 72: 11-15.
- Haas, A.L., Rose, I.A., and Hershko, A. (1981) Purification of the ubiquitin activating enzyme required for ATP-dependent protein breakdown. *Fed. Proc.* 40: 1691.
- Haas, A.L., and Rose, I.A. (1982) The mechanism of ubiquitin activating enzyme. *J. Biol. Chem.* 257, 10329-10337.
- Hershko, A., Ciechanover, A., and Rose, I.A. (1979) Resolution of the ATP-dependent proteolytic system from reticulocytes: A component that interacts with ATP. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* 76: 3107-3110.
- Hershko, A., Ciechanover, A., Heller, H., Haas, A.L. and Rose, I.A. (1980) Proposed role of ATP in protein breakdown: Conjugation of proteins with multiple chains of the polypeptide of ATP-dependent proteolysis. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* 77: 1783-1786.
- Hershko, A., Ciechanover, A., and Rose, I.A. (1981) Identification of the active amino acid residue of the polypeptide of ATP-dependent protein breakdown. *J. Biol. Chem.* 256: 1525-1528.
- Hershko, A., Eytan, E., Ciechanover, A., and Haas, A.L. (1982) Immunochemical analysis of the turnover of ubiquitin-protein conjugates in intact cells. *J. Biol. Chem.* 257: 13964-13970.
- Hershko, A., Heller, H., Elias, S., and Chiechanover, A. (1983) Components of ubiquitin-protein ligase system. *J. Biol. Chem.* 258: 8206-8214.
- Honda, R., Tanaka, H., and Yasuda, H. (1997) Oncoprotein MDM2 is a ubiquitin ligase E3 for tumor suppressor p53. *FEBS Lett.* 420: 25-27.
- Scheffner, M., Huibregtse, J.M., Vierstra, R.D. and Howley, P.M. (1993) The HPV-16 E6 and E6-AP complex functions as a ubiquitin-protein ligase in the ubiquitination of p53. *Cell* 75: 495-505.
- Wilkinson, K.D., Urban, M.K., and Haas, A.L. (1980) Ubiquitin is the ATP-dependent proteolysis factor I of rabbit reticulocytes. *J. Biol. Chem.* 255: 7529-7532.

วิถีชีวสังเคราะห์ของไอโซพรีนอยด์กับ ทางเลือกใหม่สำหรับยาปฏิชีวนะและยารักษามาลาเลีย

ดร. ชนกพร เผ่าศิริ¹

ไอโซพรีนอยด์ (Isoprenoids) หรือเป็นที่รู้จักในชื่อของเทอร์พีนอยด์หรือเทอร์พีน (Terpenoids or Terpenes) เป็นสารผลิตภัณฑ์ธรรมชาติกลุ่มใหญ่ ปัจจุบันมีการค้นพบไอโซพรีนอยด์มากกว่า 35,000 สารและมีการค้นพบไอโซพรีนอยด์ใหม่ๆ ทุกปี ไอโซพรีนอยด์ทุกตัวมีวิถีชีวสังเคราะห์มาจาก

สารตั้งต้นที่ชื่อไอโซพรีน (Isoprene) ซึ่งมีคาร์บอนจำนวนห้าอะตอมเป็นองค์ประกอบหลักโดยจะเชื่อมต่อกันในลักษณะหัวต่อหาง (head to tail) หรือแบบหัวต่อหัว (head to head) ในธรรมชาติพบว่าสารที่เป็นที่มาของไอโซพรีนคือ isopentenyl diphosphate (IPP) และ dimethylallyl diphosphate (DMAPP)



รูปที่ 1 ตัวอย่างของไอโซพรีนอยด์ในธรรมชาติ

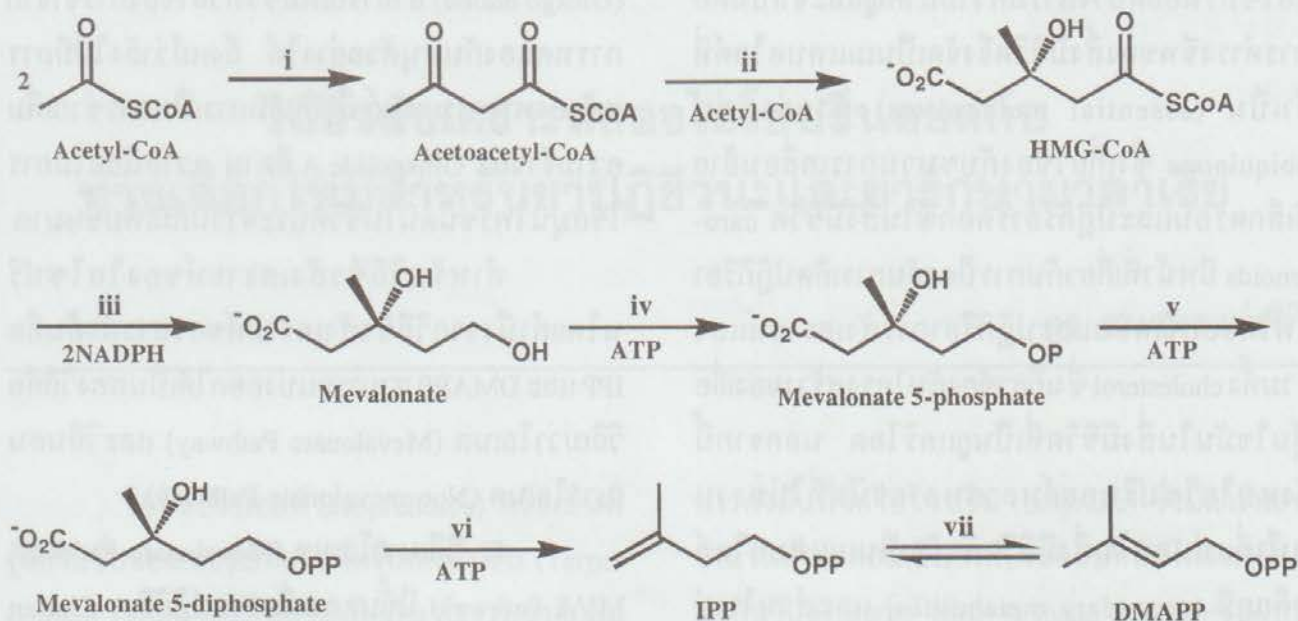
ไอโซพรีนอยด์บางสารมีความสำคัญและจำเป็นต่อการดำรงชีพของสิ่งมีชีวิตจึงจัดเป็นเมแทบอลิไต์ที่จำเป็น (essential metabolites) ตัวอย่างเช่น ubiquinone ซึ่งเกี่ยวข้องกับขบวนการเคลื่อนย้ายอิเล็กตรอนและปฏิกิริยารีดอกซ์ในสิ่งมีชีวิต carotenoids มีหน้าที่เกี่ยวกับการป้องกันการเกิดปฏิกิริยาฟิโตออกซิเดชันและปฏิกิริยาการสังเคราะห์แสง รวมทั้ง cholesterol ซึ่งเกี่ยวข้องกับโครงสร้างของเยื่อหุ้มไขมันในสิ่งมีชีวิตที่เป็นยูแคริโอต นอกจากนี้ยังพบไอโซพรีนอยด์หลากหลายชนิดที่ไม่ทราบหน้าที่แน่นอนในสิ่งมีชีวิตซึ่งจัดเป็นเมแทบอลิไต์ทุติยภูมิ (secondary metabolites) และส่วนใหญ่พบในสิ่งมีชีวิตที่เป็นพืชราและสิ่งมีชีวิตที่อยู่ในท้องทะเลรวมถึงแบคทีเรีย นอกจากนี้ยังสามารถพบไอโซพรีนอยด์ที่เป็นเมแทบอลิไต์ทุติยภูมิได้ในมอสส์ ลิเวอร์เวิร์ต สาหร่ายและไลเคน ไอโซพรีนอยด์บางชนิดเกี่ยวข้องกับขบวนการป้องกันตัวเองหรือใช้ในการติดต่อสื่อสารของสิ่งมีชีวิต เช่น ใช้ในการล่อแมลงเพื่อช่วยในการสืบพันธุ์ของเกสรดอกไม้ เช่น geraniol หรือเป็นฮอร์โมนในการเร่งการเจริญเติบโตของพืช เช่น gibberellins

ถึงแม้ว่าหน้าที่ของไอโซพรีนอยด์บางชนิดในระบบนิเวศยังไม่เป็นที่ทราบแน่ชัด แต่ก็พบว่าสารเหล่านี้สามารถออกฤทธิ์ทางชีวภาพและสามารถนำมาใช้ประโยชน์ในทางการแพทย์ได้เช่น Paclitaxel หรือ Taxol และ Artemisinin ซึ่งเป็นตัวอย่างของเมแทบอลิไต์ทุติยภูมิที่ออกฤทธิ์ในการรักษาโรคมะเร็งและโรคมาลาเรียตามลำดับ นอกจากนี้ยังพบว่า Ginkgolide A ที่สกัดได้จากต้นแปก๊วย

(*Ginkgo biloba*) สามารถเพิ่มช่วงเวลาของการจำจากการทดลองกับหนูตัวอย่างได้ ถึงแม้ว่ายังไม่มีผลการทดลองทางการแพทย์เพื่อยืนยันการเป็นสารช่วยเพิ่มความจำของ Ginkgolide A ก็ตาม ความนิยมในการใช้สมุนไพรชนิดนี้ในชีวิตประจำวันก็มีเพิ่มขึ้นมาก

สำหรับวิถีชีวสังเคราะห์ของไอโซพรีน โดยคำนึงจากวิถีชีวสังเคราะห์ของสารตั้งต้นคือ IPP และ DMAPP สามารถแบ่งออกได้เป็นสองวิถีคือ วิถีเมวาโลเนต (Mevalonate Pathway) และวิถีนอนเมวาโลเนต (Non-mevalonate Pathway)

1. วิถีเมวาโลเนต (Mevalonate Pathway, MVA Pathway) มีขั้นตอนเริ่มจากปฏิกิริยา Claisen condensation ของ acetyl-CoA จำนวนสองโมเลกุล โดยเอนไซม์ acetoacetyl-CoA thiolase ได้เป็น acetoacetyl-CoA จากนั้นเกิดปฏิกิริยา Claisen condensation อีกครั้งหนึ่งกับ โมเลกุลที่สามของ acetyl-CoA ได้เป็น hydroxymethylglutaryl-CoA (HMG-CoA) ในขั้นถัดไปเอนไซม์ HMG-CoA reductase ที่ต้องใช้ NADPH ในการกระตุ้นการรีดิวซ์ HMG-CoA ให้เป็น mevalonate เป็นปฏิกิริยาขั้นที่ควบคุมอัตราเร็ว (rate-limiting step) ของวิถีเมวาโลเนต สำหรับขั้นตอนสุดท้ายพบว่าจะเกิดปฏิกิริยากับ mevalonate เป็นการ phosphorylation สองครั้งตามด้วยปฏิกิริยา decarboxylation โดยมี ATP เป็นตัวช่วยในปฏิกิริยาให้เกิดเป็น IPP ซึ่งจัดได้ว่าเป็นสารตั้งต้นที่เป็นสากลสำหรับผลิตภัณฑ์ทางธรรมชาติที่เป็นไอโซพรีนอยด์ ส่วน DMAPP นั้นเกิดได้จากปฏิกิริยา isomerization ของ IPP ดังแสดงในรูปที่ 2



เอนไซม์: i, acetoacetyl-CoA thiolase; ii, HMG-CoA synthase; iii, HMG-CoA reductase; iv, mevalonate kinase; v, phosphomevalonate kinase; vi, mevalonate 5-diphosphate decarboxylase; vii, IPP isomerase.

รูปที่ 2 วิธีเมวาโลเนต

แม้ว่าวิธีเมวาโลเนตจะเป็นที่ยอมรับมาเป็นเวลานาน แต่ยังมีรายงานการทดลองที่ให้ผลขัดแย้ง โดยพบว่า โมเลกุลของเมวาโลเนตและแอซีเทตที่มีอะตอมของธาตุไอโซโทปไม่สามารถใช้เป็นสารตั้งต้นในการสังเคราะห์ carotenoids และเทอร์ปีนจากพืชหลายชนิด นอกจากนี้ยังพบว่า mevinolin ซึ่งเป็นสารที่ยับยั้งการทำงานของเอนไซม์ HMG-CoA reductase ไม่สามารถยับยั้งวิถีชีวสังเคราะห์ของสารในกลุ่ม sterol และ carotenoids ในพืชอีกด้วย การศึกษาเพิ่มเติมนำไปสู่การค้นพบวิถีชีวสังเคราะห์สำหรับไอโซพรีนที่แตกต่างกันอย่างสิ้นเชิงจากวิธีเมวาโลเนตนี้เรียกว่าวิถี non-mevalonate (Non-mevalonate Pathway)

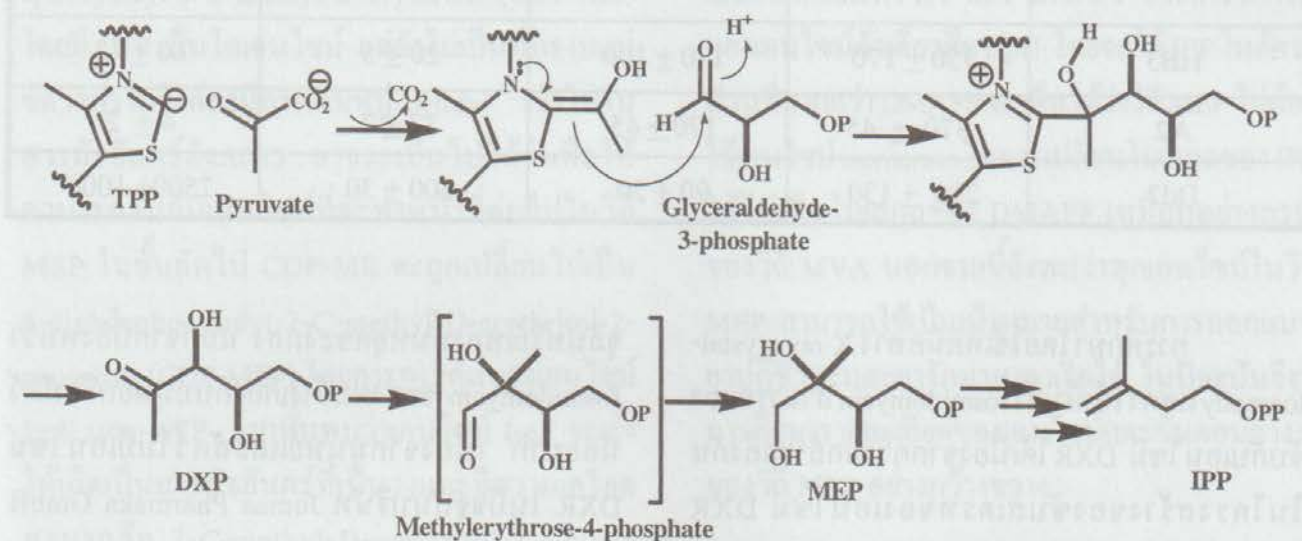
2. วิถี non-mevalonate: วิธีเมทิลอีทรีทอลฟอสเฟต (Non-mevalonate Pathway: Methylerythritol Phosphate Pathway, MEP Pathway)

ในปี ค.ศ. 1993 วิถีชีวสังเคราะห์ของ IPP แบบใหม่ ได้ถูกค้นพบในห้องปฏิบัติการสองแห่งคือ ห้องปฏิบัติการของดร. โรเมอร์ (Dr. Rohmer) และดร. โอริโกนี (Dr. Arigoni) เนื่องจากวิถีชีวสังเคราะห์ดังกล่าวไม่เกี่ยวข้องกับ mevalonate เลยจึงได้มีการเรียกชื่อวิถีชีวสังเคราะห์ดังกล่าวในช่วงแรก ๆ ว่าวิถี non-mevalonate (Non-mevalonate Pathway)

สารตั้งต้นที่ใช้ในวิถี non-mevalonate คือ pyruvate และ glyceraldehyde-3-phosphate ปฏิกริยาการ condensation ของสารทั้งสองเกิดเป็น 1-deoxy-D-xylulose 5-phosphate (DXP) โดยการทำงานของเอนไซม์ที่ชื่อ 1-deoxy-D-xylulose 5-phosphate synthase (DXS) และโคเอนไซม์ TPP พบว่า DXP ไม่ได้เป็นสารมัธยตร์ในการสังเคราะห์ไอโซพรีนอยด์เพียงอย่างเดียวเท่านั้น แต่ DXP ยังเป็นสารมัธยตร์ในการสังเคราะห์ thiamine (vitamin B₁) และ pyridoxal phosphate (vitamin B₆) ในขั้นตอนที่สองของ

ปฏิกิริยาพบว่า DXP ถูกเปลี่ยนให้เป็น 2-C-methyl-D-erythritol 4-phosphate (MEP) โดยการทำงานของเอนไซม์ deoxyxylulose -5-phosphate reductoisomerase (DXR) และ NADPH เนื่องจากว่า MEP ถือ

ได้ว่าเป็นสารมัธยันตร์ตัวแรกที่เกี่ยวข้องกับวิถีเมวาโลเนตเพียงอย่างเดียว ต่อมาจึงมีการเรียกชื่อวิถีสังเคราะห์นี้เป็นวิถี MEP (Methylerythritol Phosphate Pathway, MEP Pathway)



รูปที่ 3 ขั้นตอนแรกและขั้นตอนที่สองในวิถีเมวาโลเนต

การค้นพบและศึกษาวิถี MEP อย่างละเอียดนั้นได้เปิดโอกาสให้ทั้งนักเคมีและผู้ที่เกี่ยวข้องได้ใช้ข้อมูลเหล่านี้ในการเสาะหาสิ่งที่ก่อให้เกิดคุณสมบัติในหลาย ๆ ด้าน โดยเริ่มจากการค้นพบว่าสิ่งมีชีวิตบางชนิดเท่านั้นที่ใช้วิถี MEP ในการสังเคราะห์ไอโซพรีนอยด์ ได้แก่ แบคทีเรีย เช่น *Escherichia coli*, *Synechocystis* sp. PCC6803, *Helicobacter pylori* และ *Salmonella typhimurium* สาหร่ายสีเขียวเช่น *Chlamydomonas reinhardtii* และปรสิตเช่น *Plasmodium falciparum* นอกจากนี้ยังพบว่าสิ่งมีชีวิตบางประเภทสามารถใช้ทั้งวิถี MVA และ MEP ในการสังเคราะห์ไอโซพรีนอยด์ได้แก่ พืชชั้นสูงเช่น *Ginkgo biloba* และ *Mentha x piperita* สาหร่ายสีแดงเช่น *Cyanidium caldarium* แบคทีเรีย

บางประเภทเช่น *Streptomyces* สำหรับในสัตว์ชั้นสูงรวมทั้งคน ในเชื้อราและแบคทีเรียในสกุล *Staphylococcus* จะใช้เฉพาะวิถี MEP ในการสร้างไอโซพรีนอยด์ ดังนั้นจะเห็นได้ว่าสารที่สามารถยับยั้งการทำงานของเอนไซม์ในวิถี MEP จะสามารถใช้เป็นยาในรูปของยามาเชื้อแบคทีเรียบางชนิด รวมถึงการเป็นยามาเชื้อมาลาเรียซึ่งเกิดจากปรสิต *P. falciparum* โดยไม่ส่งผลกระทบต่อคนอีกด้วย

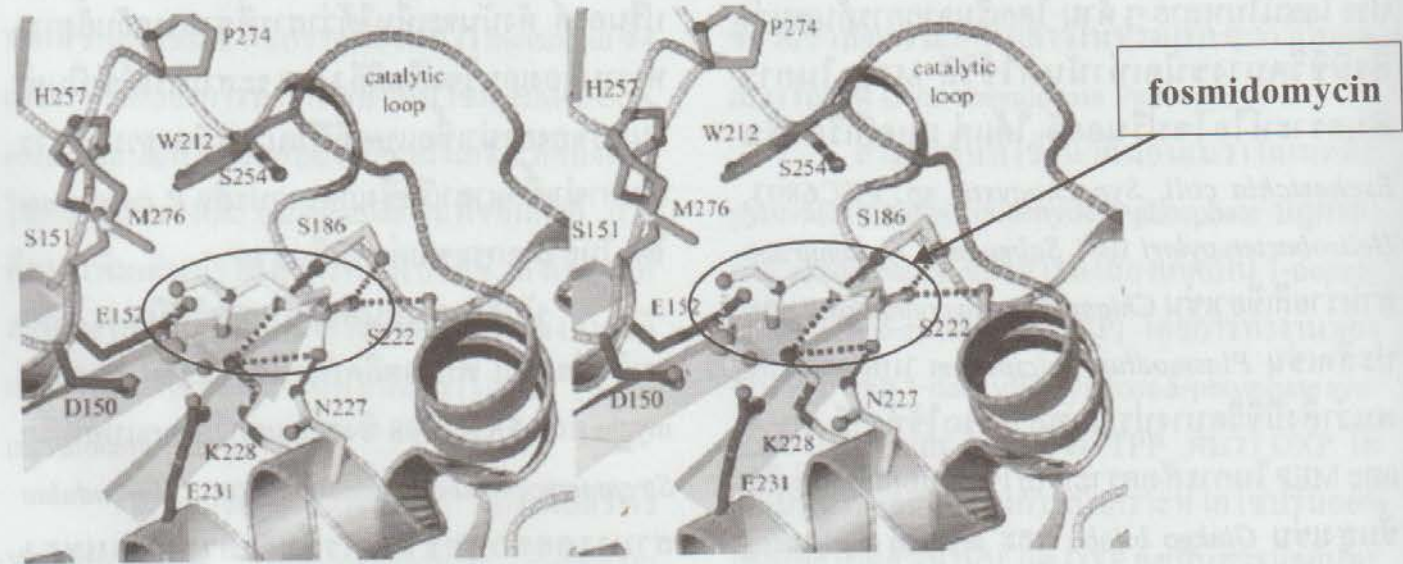
นับจากการค้นพบวิถี MEP ในปี ค.ศ. 1993 จนถึงปัจจุบัน พบว่าผลิตภัณฑ์ธรรมชาติ fosmidomycin และ FR900098 ซึ่งสกัดแยกได้จากแบคทีเรีย *Streptomyces rubellomurinus* และ *S. lavendulae* สามารถออกฤทธิ์ในการยับยั้งการทำงานของเอนไซม์ DXR ในวิถี MEP ได้

ตารางที่ 1 การเปรียบเทียบสภาพไวของสายพันธุ์ *P. falciparum* ต่อ fosmidomycin, FR900098, chloroquine และ pyrimethamine

สายพันธุ์ <i>P. falciparum</i>	IC ₅₀ (nM)			
	Fosmidomycin	FR900098	Chloroquine	Pyrimethamine
HB3	350 ± 170	170 ± 100	20 ± 5	60 ± 42
A2	370 ± 45	170 ± 45	37 ± 7	4 ± 2
Dd2	290 ± 130	90 ± 20	200 ± 30	2500± 1000

การศึกษาโดยใช้เทคนิคทาง X-ray crystallography แสดงให้เห็นว่า fosmidomycin สามารถแย่งจับกับเอนไซม์ DXR ได้เนื่องจากความคล้ายคลึงกัน ในโครงสร้างของซับสเตรทของเอนไซม์ DXR (DXP) กับ fosmidomycin โดยพบว่า fosmidomycin จะจับกับเอนไซม์ได้แน่นกว่า ทำให้เอนไซม์ DXR ไม่สามารถเปลี่ยน DXP ให้ไปเป็น IPP ได้ ดังนั้น ไอโซปรีนอยด์ที่จำเป็นต่อการดำรงชีวิตของแบคทีเรียบางชนิดรวมทั้งปรสิต *P. falciparum* ก็จะไม่ถูกผลิตขึ้น ทำให้วงจรการดำเนินชีวิตของ

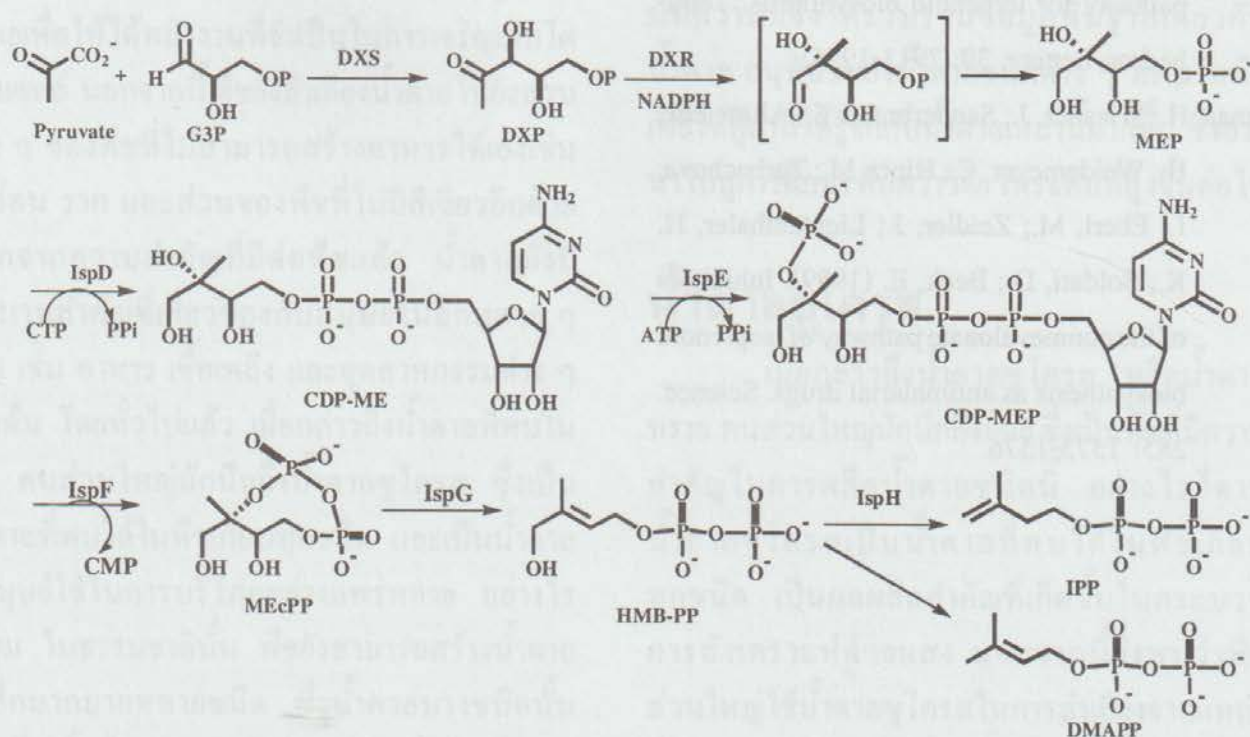
จุลินทรีย์เหล่านั้นหยุดชะงักลง นอกจากนี้ยังพบว่า fosmidomycin จะส่งผลข้างเคียงกับมนุษย์หรือสัตว์น้อยมาก เนื่องจากมนุษย์และสัตว์ไม่มีเอนไซม์ DXR ในปัจจุบันบริษัท Jomaa Pharmaka GmbH ของประเทศเยอรมันนี้พบว่า fosmidomycin สามารถใช้รักษาผู้ป่วยโรคมาลาเรียในประเทศไทยและประเทศกานอนได้ค่อนข้างดี แต่ยังมีการกำเริบของอาการไข้ได้บ้าง การศึกษานี้ยังอยู่ในขั้นทดลองใช้ร่วมกับยาประเภทอื่น



รูปที่ 5 รูปแสดงเอนไซม์ DXR และ Fosmidomycin

จนถึงปัจจุบันการศึกษาวิถี MEP ทำให้ทราบว่ามีขั้นตอนเกี่ยวข้องทั้งหมด 7 ขั้นตอน ดังแสดงในรูปที่ 3 และ 6 โดยเอนไซม์ที่ทำหน้าที่ถัดจากเอนไซม์ DXR คือเอนไซม์ IspD ซึ่งกระตุ้นการเปลี่ยนสารมัธยันตร์ MEP ให้เป็น 4-diphosphocytidyl-2-C-methyl-D-erythritol (CDP-ME) โดยมี CTP เป็นโคเอนไซม์ แต่ยังไม่เป็นที่ทราบแน่ชัดว่าทำไมจึงต้องมีการเติมหมู่ cytidyl เข้าไปในสารมัธยันตร์ดังกล่าว อาจจะเป็นไปได้ว่าเพื่อให้สามารถจับกับเอนไซม์ที่จะทำหน้าที่ต่อไปในวิถี MEP ในขั้นถัดไป CDP-ME จะถูกเปลี่ยนไปเป็น 4-diphosphocytidyl-2-C-methyl-D-erythritol-2-phosphate (CDP-MEP) โดยการกระตุ้นของเอนไซม์ IspE และ ATP จากนั้นพบว่าเอนไซม์ IspF จะเร่งให้เกิดเป็นสารมัธยันตร์ที่เป็นวงและมีความเครียดสูงมากคือ 2-C-methyl-D-erythritol-2,4-cyclo-

diphosphate (MEcPP) ในลำดับถัดไปวงแหวนของสารมัธยันตร์ MEcPP จะถูกเปิดออกให้ได้เป็น (E)-4-hydroxy-3-methylbut-2-enyl (HMB-PP) โดยการทำงานของเอนไซม์ IspG ในขั้นตอนสุดท้ายของวิถี MEP พบว่าสารมัธยันตร์ HMB-PP จะถูกเปลี่ยนให้เป็นทั้ง IPP และ DMAPP โดยการทำงานของเอนไซม์ตัวเดียวกันคือ IspH โดยจะได้ IPP ในอัตราส่วนที่มากกว่า DMAPP จะเห็นได้ว่าวิถี MEP ไม่ต้องใช้เอนไซม์ isomerase ในการเปลี่ยนโมเลกุลของ IPP ให้ไปเป็นโมเลกุลของ DMAPP เหมือนอย่างกรณีของวิถี MVA นอกจากนี้ยังพบว่าทุกเอนไซม์ในวิถี MEP สามารถใช้เป็นเป้าหมายสำหรับการออกแบบยาปฏิชีวนะและยารักษามาลาเรียได้ ในปัจจุบันจึงมีการศึกษารายละเอียดของเอนไซม์และขั้นตอนต่างๆ ของวิถี MEP อย่างกว้างขวาง



รูปที่ 6 ขั้นตอนทั้งหมดของวิถี MEP

กิตติกรรมประกาศ

ขอขอบคุณ รศ. ดร. ขวัญใจ กนกเมธากุล
สำหรับคำแนะนำในการเขียนบทความครั้งนี้

บรรณานุกรม

- Cane, D. E. (1999). *Comprehensive Natural Products Chemistry*. (2). (3). Oxford: Elsevier. 1-13.
- Hoffman, J. R.; Donato, A.; Robbins, S. J. (2004). *Ginkgo biloba* promotes short-term retention of spatial memory in rats. *Pharmacology and Biochemistry Behaviors*. 77: 533-539.
- Kuzuyama, T.; Shimizu, T.; Takahashi, S.; Seto, H. (1998). Fosmidomycin, a specific inhibitor of 1-deoxy-D-xylulose 5-phosphate reductoisomerase in the nonmevalonate pathway for terpenoid biosynthesis. *Tetrahedron Letters*. 39: 7913-1976.
- Jomaa, H.; Wiesner, J.; Sanderbrand, S.; Altincicek, B.; Weidemeyer, C.; Hintz, M.; Turbachova, I.; Eberl, M.; Zeidler, J.; Lichtenthaler, H. K.; Soldati, D.; Beck, E. (1999). Inhibitors of the nonmevalonate pathway of isoprenoid biosynthesis as antimalarial drugs. *Science*. 285: 1573-1576.
- Lell, B.; Ruangweerayut, R.; Wiesner, J.; Missinou, M. A.; Schindler, A.; Baranek, T.; Hintz, M.; Hutchison, D.; Jomaa, H.; Kremsner, P. G. (2003). Fosmidomycin, a novel chemotherapeutic agent for malaria. *Antimicrobial Agents and Chemotherapy*. 47: 735-738.
- Steinbacher, S.; Kaiser, J.; Eisenreich, W.; Huber, R.; Bacher, A.; Rohdich, F. (2003). Structural basis of fosmidomycin action revealed by the complex with 2-C-methyl-D-erythritol-4-phosphate synthase (IspC). Implications for the catalytic mechanism and anti-malaria drug development. *Journal of Biological Chemistry*. 278: 18401-18407.
- Proteau, J. P. (2004). 1-Deoxy-D-xylulose 5-phosphate reductoisomerase: an overview. *Bioorganic Chemistry*. 32: 483-93.

น้ำตาลและสารให้ความหวานที่พบในพืช

วัฒนา พัฒนากุล¹

บทนำ

พืชเป็นสิ่งมีชีวิตที่สามารถใช้พลังงานจากแสง ในการตรึงก๊าซคาร์บอนไดออกไซด์ในอากาศ แล้วเปลี่ยนให้อยู่ในรูปของสารประกอบอินทรีย์ โดยกระบวนการสังเคราะห์ด้วยแสง (photosynthesis) คาร์บอนที่ถูกพืชตรึงด้วยกระบวนการนี้จะถูกเก็บไว้ในรูปของคาร์โบไฮเดรต ซึ่งได้แก่แป้งและน้ำตาล น้ำตาลมีบทบาทสำคัญต่อพืชเป็นอย่างมาก โดยทำหน้าที่เป็นแหล่งพลังงานของเซลล์ ซึ่งจะถูกลำเลียงเพื่อไปใช้พลังงานที่จำเป็นในการเจริญเติบโตของเซลล์ นอกจากนี้ พืชยังลำเลียงน้ำตาลไปยังส่วนต่าง ๆ ของพืชที่ไม่สามารถสร้างอาหารได้เองเช่น ใบอ่อน ราก และส่วนของพืชที่ไม่มีสีเขียวอีกด้วย นอกจากนี้ความสำคัญที่มีต่อพืชแล้ว น้ำตาลยังมีบทบาทสำคัญที่เกี่ยวข้องกับมนุษย์ในอีกหลาย ๆ ด้าน เช่น อาหาร เชื้อเพลิง และอุตสาหกรรมต่าง ๆ เป็นต้น โดยทั่วไปแล้ว เมื่อกล่าวถึงน้ำตาลที่พบในพืช คนส่วนใหญ่มักนึกถึงน้ำตาลซูโครส ซึ่งเป็นน้ำตาลที่พบได้ในพืชเกือบทุกชนิด และเป็นน้ำตาลที่มนุษย์ใช้ในการบริโภคอย่างแพร่หลาย อย่างไรก็ตาม ในธรรมชาตินั้น พืชยังสามารถสร้างน้ำตาลได้อีกมากมายหลายชนิด ซึ่งน้ำตาลบางชนิดนั้นถูกสร้างเมื่อพืชเจริญเติบโตในสถานะที่ไม่เหมาะสม เช่น สถานะขาดน้ำ สถานะที่มีอุณหภูมิต่ำหรือสูงเกินไป เป็นต้น นอกจากนี้ยังพบว่า พืชบางกลุ่มสามารถ

สร้างและสะสมน้ำตาลพิเศษต่าง ๆ เหล่านี้ในสภาวะปกติ โดยมีปริมาณเทียบเท่าหรือสูงกว่าน้ำตาลซูโครส ซึ่งเป็นลักษณะเฉพาะสำหรับพืชในบางกลุ่มที่อาจนำมาใช้เป็นเกณฑ์หนึ่งในการจัดจำแนกพืชชนิดต่าง ๆ ได้ ปัจจุบันการศึกษาเกี่ยวกับน้ำตาลเหล่านี้ยังมีค่อนข้างน้อย ซึ่งทำให้นักวิทยาศาสตร์ยังไม่เข้าใจหน้าที่ ความสำคัญ และกระบวนการต่าง ๆ ที่เกี่ยวกับน้ำตาลเหล่านี้ดีเท่าใดนัก การนำมาประยุกต์ใช้ในด้านอุตสาหกรรมจึงเป็นไปอย่างจำกัด บทความนี้จึงได้รวบรวมข้อมูลพื้นฐานเกี่ยวกับน้ำตาล อนุพันธ์ของน้ำตาลชนิดต่าง ๆ ที่พบในพืช เพื่อให้ผู้อ่านได้รู้จักกับน้ำตาลเหล่านี้มากขึ้น ซึ่งอาจนำไปสู่การศึกษา ค้นคว้าวิจัย ในระดับที่สูงขึ้นต่อไป

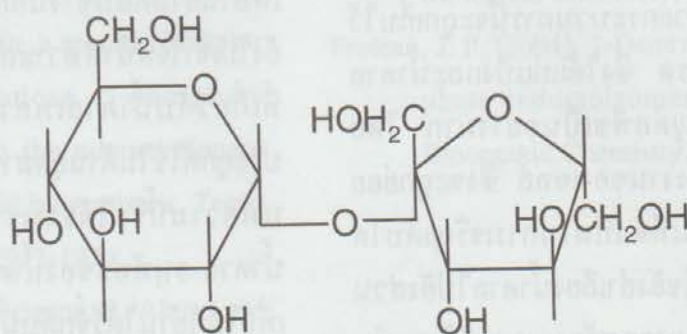
น้ำตาลซูโครส

เมื่อกล่าวถึงน้ำตาลซูโครส หรือน้ำตาลทราย คนส่วนใหญ่มักนึกถึงอ้อย ซึ่งเป็นพืชที่มีความสำคัญในการผลิตน้ำตาลชนิดนี้ อย่างไรก็ตาม น้ำตาลซูโครสเป็นน้ำตาลที่พบได้ในพืชเกือบทุกชนิด เป็นผลผลิตสำคัญที่เกิดขึ้นในกระบวนการสังเคราะห์ด้วยแสง นอกจากนี้ยังพบว่าพืชส่วนใหญ่ใช้น้ำตาลซูโครสในการลำเลียงจากแหล่งที่มีการสร้าง ไปยังส่วนต่าง ๆ ของพืช อาจกล่าวได้ว่าน้ำตาลซูโครสเป็นน้ำตาลที่พบมากและมีความสำคัญที่สุดในพืช

¹ภาควิชาชีววิทยา คณะวิทยาศาสตร์ มหาวิทยาลัยขอนแก่น อ.เมือง จ.ขอนแก่น 40002

ซูโครส (α -D-glucose-1, 2- β -D-fructo furanoside) เป็นน้ำตาลโมเลกุลคู่ (disaccharide) ประกอบด้วยกลูโคสและฟรุคโทส (รูปที่ 1) พืชส่วนใหญ่ลำเลียงน้ำตาลซูโครสในโฟลเอ็ม ดังนั้นจึงมีคำถามที่ว่า ทำไมพืชจึงเลือกที่จะลำเลียงน้ำตาลชนิดนี้ แทนที่จะลำเลียงน้ำตาลกลูโคส ซึ่งสามารถเข้าสู่กระบวนการเมแทบอลิซึมต่าง ๆ ในพืชได้เลย Arnold (1968) อธิบายไว้ว่า การลำเลียงน้ำตาลในพืช นั้นเกิดขึ้นในโฟลเอ็ม ซึ่งประกอบไปด้วยเซลล์ท่อลำเลียงอาหาร (sieve tube member) เซลล์ท่อลำเลียงอาหารนี้เป็นเซลล์ที่มีชีวิต นั่นคือเป็นเซลล์ที่มีไซโทพลาซึม และเอนไซม์ต่าง ๆ อยู่ ภายใน การที่พืชจะลำเลียงน้ำตาลกลูโคสในเซลล์เหล่านี้ ทำให้

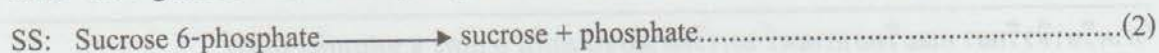
น้ำตาลกลูโคสมีโอกาสที่จะถูกย่อยโดยเซลล์ท่อลำเลียงอาหาร นอกจากนี้ น้ำตาลกลูโคสยังเป็นน้ำตาลรีดิวซ์ (reducing sugar) ซึ่งเป็นน้ำตาลที่มีหมู่อัลดีไฮด์อิสระอยู่ ทำให้สามารถทำปฏิกิริยากับโปรตีนและเอนไซม์ต่าง ๆ ที่อยู่ในเซลล์ท่อลำเลียงอาหาร ในขณะที่น้ำตาลซูโครสเป็นน้ำตาลชนิดไม่รีดิวซ์ (non-reducing sugar) ซึ่งทำให้ไม่เกิดปัญหานี้ และพืชยังสามารถสร้างเอนไซม์ที่ย่อยน้ำตาลซูโครสไว้ที่เซลล์จุดหมายปลายทาง ซึ่งเมื่อน้ำตาลซูโครสถูกลำเลียงมาถึง ก็จะถูกย่อยกลายเป็นน้ำตาลกลูโคสและฟรุคโทส เพื่อเข้าสู่กระบวนการเมแทบอลิซึมต่อไป



รูปที่ 1 โครงสร้างทางเคมีของน้ำตาลซูโครส

พืชมีการสร้างน้ำตาลซูโครสในไซโทพลาซึมของเซลล์ โดยน้ำตาล triose phosphate ซึ่งเป็นน้ำตาลที่มีคาร์บอนจำนวน 3 อะตอมที่ได้จากกระบวนการตรึงก๊าซคาร์บอนไดออกไซด์ จะถูกลำเลียงออกมาจากคลอโรพลาสต์ โดยผ่านโปรตีนลำเลียงที่ชื่อว่า triose-phosphate-phosphate translocator ซึ่งจะลำเลียง triose phosphate ออกจากคลอโรพลาสต์ และลำเลียงหมู่ฟอสเฟตในทิศทางตรงกันข้าม triose phosphate ที่อยู่ในไซโทพลาซึม จะถูกนำมาสร้างเป็นน้ำตาลกลูโคส ซึ่งจะถูกเปลี่ยน

เป็น UDP-glucose โดยเอนไซม์ UDP-glucose pyrophosphorylase ในขณะที่ triose phosphate อีกส่วนหนึ่งจะถูกนำมาสร้างเป็นน้ำตาล fructose-6-phosphate ซึ่งจะรวมตัวกับ UDP-glucose ได้เป็น sucrose 6-phosphate ปฏิกิริยานี้ต้องใช้เอนไซม์ sucrose phosphate synthase (SPS) ดังสมการที่ 1 จากนั้น sucrose 6-phosphate จะถูกเปลี่ยนเป็น sucrose โดยการดึงหมู่ฟอสเฟตออก ด้วยเอนไซม์ sucrose phosphate phosphatase ได้เป็นน้ำตาลซูโครส ดังสมการที่ 2



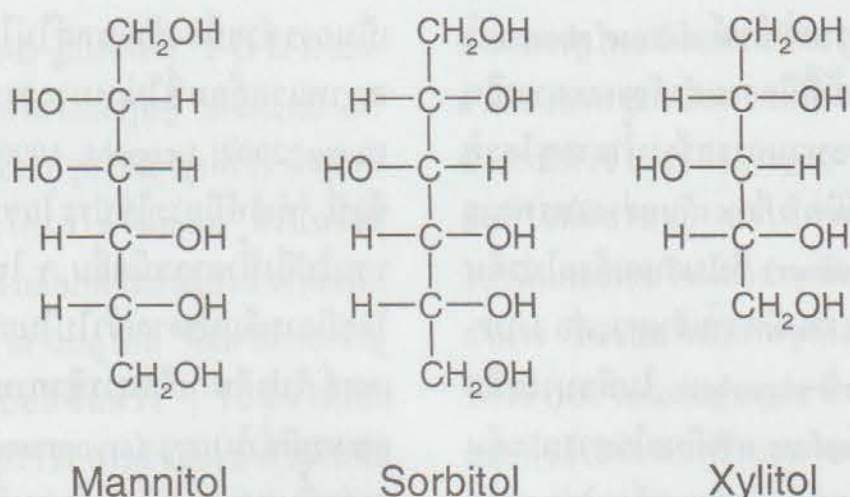
นักวิจัยเชื่อว่าเอนไซม์ sucrose phosphate synthase เป็นเอนไซม์ที่มีความสำคัญและอาจเป็นตำแหน่งที่ควบคุมกระบวนการสร้างน้ำตาลซูโครสในพืช เอนไซม์นี้ได้มีการศึกษากันอย่างแพร่หลายพบว่าเอนไซม์นี้เป็นโปรตีนคู่ (dimer) ที่ประกอบด้วยโปรตีนที่มีขนาด 120-138 KDa มีความจำเพาะต่อ UDP-glucose และ fructose-6-phosphate ในพืชบางชนิดพบว่า glucose-6-phosphate อาจมีผลในการกระตุ้นการทำงานของเอนไซม์นี้ ในขณะที่หมู่ฟอสเฟตมีผลในการยับยั้งการทำงานของเอนไซม์ การทำงานของเอนไซม์ชนิดนี้ถูกควบคุมโดยอัตราส่วนของ glucose-1-phosphate : phosphate ซึ่งถ้าในขณะนั้นมีอัตราส่วนสูงจะกระตุ้นให้เอนไซม์ทำงานมากขึ้น นอกจากนี้ยังพบว่าแสงมีส่วนในการควบคุมการทำงานของเอนไซม์ SPS โดยกระบวนการ protein phosphorylation (Pattanagul et al., 2002)

นอกจากใช้เป็นแหล่งพลังงานสำหรับเซลล์ และลำเลียงไปยังส่วนต่าง ๆ ของพืชแล้ว น้ำตาลซูโครสยังอาจมีบทบาทในการช่วยให้พืชสามารถปรับตัวเข้ากับสภาพแวดล้อมที่ไม่เหมาะสม เช่น ในสภาวะที่มีอุณหภูมิต่ำ พบว่าพืชบางชนิดมีการสะสมน้ำตาลซูโครสในปริมาณที่สูงขึ้น (Sasaki et al., 2001; Castonguay and Nadeau, 1998) ในมันฝรั่งที่เก็บไว้ในที่ที่มีอุณหภูมิต่ำ พบว่ามีกระบวนการเปลี่ยนแปลงให้กลายเป็นน้ำตาลซูโครส ทำให้มันฝรั่งมีความหวานเพิ่มขึ้น (cold-sweetening) (Hill et al., 1996) นอกจากนี้ในสภาวะแห้งแล้ง พืชบางชนิดจะมีการสะสมของน้ำตาลซูโครสเพิ่มขึ้น น้ำตาลซูโครสต่อการปรับตัวของพืชในสภาวะที่ไม่เหมาะสมเหล่านี้ยังไม่ทราบแน่ชัด สันนิษฐานว่าน้ำตาลซูโครสอาจมีส่วนร่วมทำให้รักษาสภาพของเยื่อหุ้มเซลล์ และเยื่อหุ้มออร์แกเนลล์ต่าง ๆ ในขณะที่เดียวกันน้ำตาลซูโครสอาจช่วยป้องกันไซโทพลาซึมของเซลล์จากการตกผลึกของสารที่อยู่ไซโทพลาซึมและป้องกันการเปลี่ยนแปลงโครงสร้างของโปรตีน

เป็นการช่วยป้องกันเซลล์ไม่ให้ได้รับอันตรายจากสภาพแวดล้อมที่ไม่เหมาะสมเหล่านั้น (Stitt and Hurry, 2002; Leopold, 1990) จากคุณสมบัติในข้อนี้ ทำให้มีการใช้ประโยชน์จากน้ำตาลซูโครสรวมไปถึงน้ำตาลชนิดอื่น ๆ ในอุตสาหกรรมต่าง ๆ โดยมีการเติมน้ำตาลเข้าไปในกระบวนการเก็บรักษาเซลล์ โปรตีน หรือสารชีวภาพต่าง ๆ ในสภาพที่มีอุณหภูมิต่ำมาก ๆ (cryopreservation) เพื่อให้สารเหล่านั้นสามารถเก็บได้นานขึ้นโดยไม่เสียสภาพ (Davidson and Sun, 2001)

น้ำตาลแอลกอฮอล์ (Sugar alcohols)

น้ำตาลแอลกอฮอล์ หรือโพลีออล (polyols) เป็นแอลกอฮอล์ที่เกิดจากการรีดิวซ์น้ำตาลที่มีหมู่อัลดีไฮด์ (aldoses) หรือหมู่คีโตน (ketoses) ซึ่งหมู่ฟังก์ชันทั้งสองชนิดจะถูกเปลี่ยนเป็นหมู่ไฮดรอกซิล (hydroxyl group) จึงเป็นที่มาของชื่อน้ำตาลแอลกอฮอล์ อนุพันธ์ของน้ำตาลในกลุ่มนี้มีหลายชนิด ที่เป็นที่คุ้นเคยได้แก่ แมนนิทอล (mannitol) ซอร์บิทอล (sorbitol) รวมไปถึงไซลิทอล (xylitol) (รูปที่ 2) ซึ่งมีการใช้เป็นสารให้ความหวานที่ผสมในอาหารและหมากฝรั่งบางชนิด น้ำตาลแอลกอฮอล์พบได้บ่อยในแบคทีเรียเชื้อราและสาหร่ายบางชนิด นอกจากนี้พืชหลาย ๆ ชนิดยังมีการสร้างน้ำตาลแอลกอฮอล์ในปริมาณสูงใกล้เคียง หรือมากกว่าน้ำตาลซูโครส และมีการลำเลียงไปยังส่วนต่าง ๆ ของพืชอีกด้วย เช่น แมนนิทอล พบในพืชวงศ์ Oleaceae (พืชวงศ์มะกอก) เช่น โอลิฟ, Apiaceae (พืชวงศ์ผักชี) เช่น คื่นช่าย และ Rubiaceae (พืชวงศ์เข็ม) บางชนิด ในขณะที่ซอร์บิทอลสามารถพบได้ในพืชวงศ์ Rosaceae (พืชวงศ์กุหลาบ) ที่เป็นไม้ยืนต้นได้แก่ แอปเปิล แพร์ พลัม พ룬 พืช และแอฟริคอต (Moning, 2000)



รูปที่ 2 โครงสร้างทางเคมีของน้ำตาลแอลกอฮอล์บางชนิด

พืชมีการสร้างน้ำตาลแอลกอฮอล์ในไซโทพลาซึม โดยอาศัยเอนไซม์ในกลุ่ม reductase ในการรีดิวซ์หมู่อัลดีไฮด์หรือหมู่คีโตนในน้ำตาล ให้กลายเป็นหมู่ไฮดรอกซิลเพื่อกลายเป็นน้ำตาลแอลกอฮอล์ โดยเอนไซม์ในกลุ่มนี้มีหลายเอนไซม์ ขึ้นอยู่กับชนิดของน้ำตาล เช่น mannose-6-phosphate reductase ทำการรีดิวซ์น้ำตาลแมนโนสเพื่อเปลี่ยนไปเป็นแมนนิทอล ในขณะที่เอนไซม์ aldose-6-phosphate reductase ทำหน้าที่รีดิวซ์น้ำตาลฟรุกโทสให้กลายเป็นซอร์บิทอล ซึ่งในการทำงานของเอนไซม์รีดักเทสนี้จำเป็นต้องอาศัยพลังงานจาก NADPH

เหตุผลที่พืชบางชนิดมีการสร้างและลำเลียงน้ำตาลแอลกอฮอล์แทนที่จะใช้น้ำตาลซูโครส ยังไม่เป็นที่แน่ชัด อย่างไรก็ตาม นักวิทยาศาสตร์เชื่อว่าน้ำตาลแอลกอฮอล์อาจมีส่วนช่วยให้พืชสามารถดำรงชีวิตอยู่ได้ในสภาพที่ไม่เหมาะสม เช่น สภาพที่มีอุณหภูมิต่ำ สภาพขาดน้ำ และภายใต้ความเค็ม โดยการสะสมของน้ำตาลแอลกอฮอล์ในพืช อาจมีส่วนร่วมในการรักษาสมดุลของน้ำในเซลล์ ทำให้พืชสามารถรักษาความเต่งของเซลล์ไว้ได้ในสภาพที่มีการขาดน้ำ (Hare et al., 1998) มีการทดลองตัดต่อยีนที่มีหน้าที่สร้างน้ำตาลแมนนิทอลเข้าไปสู่พืชที่โดยปกติไม่สามารถสร้างน้ำตาลชนิดนี้ได้ พบว่าพืชได้รับการตัดต่อยีนนี้มีความสามารถในการ

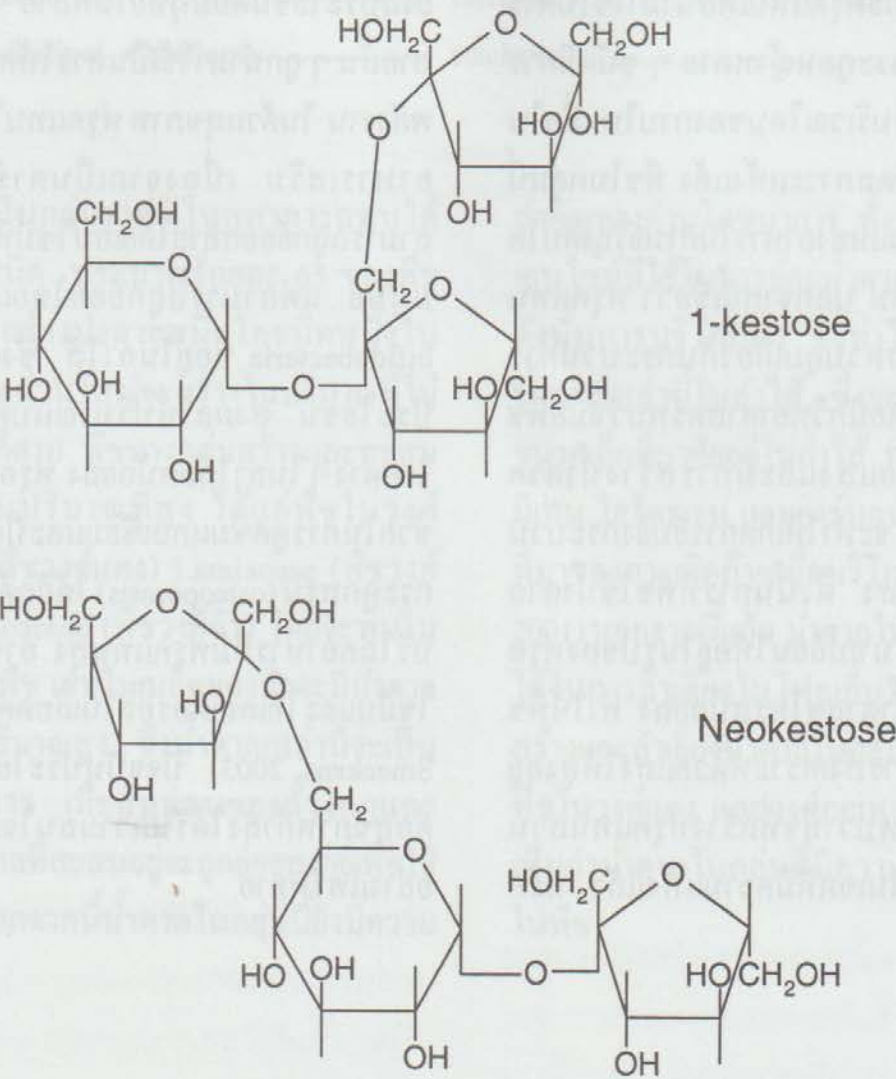
ทนต่อสภาวะขาดน้ำและสภาวะเค็มได้ดีกว่าพืชปกติ (Tarczynski et al., 1993) นอกจากการช่วยรักษาสภาพของน้ำในเซลล์แล้ว การที่พืชสร้างน้ำตาลแอลกอฮอล์ในสภาพที่ไม่เหมาะสมเหล่านี้ อาจมีส่วนช่วยป้องกันไม่ให้เซลล์พืชได้รับอันตรายจากพลังงานแสงที่มากเกินไป โดยปกติในกระบวนการสังเคราะห์ด้วยแสง พืชจะมีการเปลี่ยนพลังงานแสงให้อยู่ในรูปของพลังงานเคมี แล้วใช้พลังงานเคมีในการตรึงก๊าซคาร์บอนไดออกไซด์ที่อยู่ในอากาศ อย่างไรก็ตาม เมื่อพืชอยู่ภายใต้สภาวะขาดน้ำหรือสภาวะเค็ม พืชอาจมีการปิดปากใบเพื่อลดการสูญเสียน้ำ ในภาวะเช่นนี้ พืชมีการใช้พลังงานในการตรึงก๊าซคาร์บอนไดออกไซด์น้อยลง ทำให้กระบวนการถ่ายทอดอิเล็กตรอนในพืชผิดปกติ และทำให้เกิดการสารประกอบออกซิเจนที่ไวต่อการทำปฏิกิริยา (reactive oxygen species) ที่อาจเป็นอันตรายต่อเซลล์ของพืช การที่พืชมีการสร้างน้ำตาลแอลกอฮอล์ซึ่งเป็นกระบวนการที่ต้องใช้พลังงานจำนวนหนึ่ง จึงเป็นกลไกที่ช่วยให้พืชถ่ายเทพลังงานส่วนเกินนี้ออกไป ทำให้กระบวนการถ่ายทอดอิเล็กตรอนในพืชเป็นไปได้อย่างปกติ (Pharr et al., 1995) นอกจากนี้หมู่ไฮดรอกซิลในน้ำตาลแอลกอฮอล์ยังอาจช่วยป้องกันอันตรายที่อาจเกิดขึ้นกับเซลล์ในสภาพที่มีอุณหภูมิต่ำอีกด้วย (Turner et al., 2001)

ประโยชน์ของน้ำตาลแอลกอฮอล์ที่มีต่อมนุษย์มีหลายด้าน มนุษย์ไม่สามารถดูดซึมน้ำตาลแอลกอฮอล์เพื่อนำไปใช้เป็นพลังงานได้ ดังนั้นจึงมีการนำน้ำตาลแอลกอฮอล์หลายชนิดเช่น ซอร์บิทอล มาเป็นสารให้ความหวานทดแทนน้ำตาล ซึ่งใช้บริโภคสำหรับผู้ที่ต้องการควบคุมน้ำหนัก หรือผู้ที่มีปัญหาไม่สามารถบริโภคน้ำตาลได้ นอกจากนี้ยังมีการใช้ไซลิทอล ซึ่งเป็นน้ำตาลแอลกอฮอล์ชนิดหนึ่ง มาผสมในหมากฝรั่งแทนน้ำตาล ทั้งนี้เนื่องจากแบคทีเรียที่อยู่ในช่องปากไม่สามารถย่อยน้ำตาลชนิดนี้ได้ ซึ่งมีผลทำให้ฟันไม่ผุเหมือนกับการเคี้ยวหมากฝรั่งที่มีส่วนผสมของน้ำตาล (Edgar, 1998)

ฟรุคแทน (Fructans)

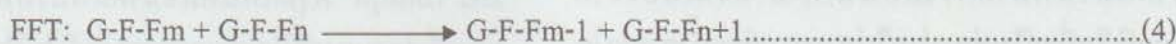
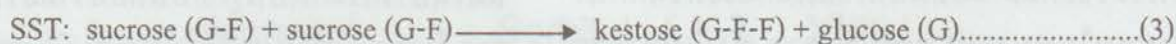
อนุพันธ์ของน้ำตาลอีกกลุ่มหนึ่งที่พบในพืชคือ ฟรุคแทน คาดว่าประมาณร้อยละ 15 ของพืช

ทั้งหมด สามารถการสร้างและสะสมน้ำตาลในกลุ่มนี้ (Vijn and Smeekens, 1999) ฟรุคแทนเป็นน้ำตาลโมเลกุลใหญ่ ซึ่งเป็นสายโพลิเมอร์ของน้ำตาลฟรุคโทสหลาย ๆ โมเลกุลเชื่อมต่อกัน โดยมีน้ำตาลซูโครสหนึ่งโมเลกุลเป็นจุดเริ่มต้นของสายโพลิเมอร์ (รูปที่ 3) ในพืชทั่วไปพบฟรุคแทนเป็นโพลิเมอร์ที่มีจำนวนของน้ำตาลฟรุคโทสประมาณ 30-50 โมเลกุล แต่ในบางครั้งก็พบฟรุคแทนที่มีความยาวมากกว่า 200 โมเลกุล ฟรุคแทนที่มีขนาดสั้นมีรสหวาน ในขณะที่ฟรุคแทนที่มีความยาวมากจะมีไม่มียรส พืชที่พบน้ำตาลในกลุ่มนี้ได้แก่ พืชในกลุ่มธัญพืชเช่น ข้าวบาเลย์ ข้าวสาลีและข้าวโอ๊ต กลุ่มพืชผักเช่น หัวหอม และผักกาด กลุ่มไม้ประดับ เช่น ทิวลิป และทานตะวัน และหญ้าบางชนิด



รูปที่ 3 โครงสร้างฟรุคแทนบางชนิดที่พบในพืช

การสร้างฟรุคแทนในพืชเกิดโดยเอนไซม์สองชนิดทำงานร่วมกันคือ sucrose:sucrose 1-fructosyltransferase (SST) ซึ่งจะทำหน้าที่ย้ายหมู่ฟรุคโทสจากซูโครสโมเลกุลหนึ่ง ไปให้กับซูโครสอีกโมเลกุลหนึ่ง ทำให้กลายเป็นฟรุคแทนสายสั้น ๆ ซึ่งมีฟรุคโทสเกาะอยู่กับน้ำตาลซูโครส (สมการที่ 3) จากนั้นเอนไซม์ fructan:fructan 1-fructosyltransferase



เมื่อ G แทนน้ำตาลกลูโคส F แทนน้ำตาลฟรุคโทส

ฟรุคแทนมีความสำคัญกับพืชในหลาย ๆ ด้าน เช่น ทำหน้าที่เป็นคาร์โบไฮเดรตสะสม เช่น ในหัวหอมและหัวทิวลิปที่มีการสะสมของน้ำตาลชนิดนี้ในปริมาณสูง เมื่อเกิดการงอกของลำต้นและใบ พบว่าจะมีการสลายฟรุคแทนเพื่อนำมาใช้ในการเจริญเติบโต ในพืชตระกูลหญ้าหลาย ๆ ชนิดมีการสะสมน้ำตาลชนิดนี้ที่บริเวณโคนของกาบใบ เมื่อใบหญ้าถูกทำลายหรือเกิดสภาวะแห้งแล้ง พืชในกลุ่มนี้จะใช้ฟรุคแทนเพื่อเป็นแหล่งอาหารในการเจริญเติบโตของใบที่จะเกิดขึ้นใหม่ นอกจากนี้เชื่อว่า ฟรุคแทนอาจมีส่วนช่วยในการควบคุมเกี่ยวกับกระบวนการสร้างน้ำตาลในพืช โดยนักวิทยาศาสตร์พบว่าเมื่อพืชมีการสังเคราะห์ด้วยแสงและมีการสร้างน้ำตาลซูโครสในปริมาณสูง จะทำให้เกิดการยับยั้งกระบวนการสังเคราะห์ด้วยแสง ดังนั้นการที่พืชใช้น้ำตาลซูโครสที่สร้างขึ้นนี้ มาเปลี่ยนให้อยู่ในรูปของฟรุคแทน ทำให้ปริมาณน้ำตาลซูโครสน้อยลง ทำให้พืชสามารถรักษาอัตราการสังเคราะห์ด้วยแสงให้สูงอยู่เสมอได้ นอกจากนี้พบว่าพืชที่สร้างฟรุคแทนส่วนใหญ่เป็นพืชที่ขึ้นอยู่ในเขตที่มีความแห้งแล้ง หรือ

(FFT) จะทำหน้าที่ย้ายหมู่ฟรุคโทสจาก ฟรุคแทนสายหนึ่ง ไปให้กับฟรุคแทนอีกสายหนึ่ง (สมการที่ 4) มีงานวิจัยหลายชิ้นชี้ให้เห็นว่าการสร้างฟรุคแทนในพืชนั้นเกิดขึ้นบริเวณแควคิวโอล (Hensen, 2000) อย่างไรก็ตาม สาเหตุที่พืชสร้างสายฟรุคแทนในความยาวที่แตกต่างกันยังไม่สามารถอธิบายได้

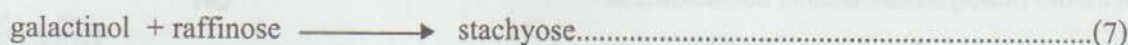
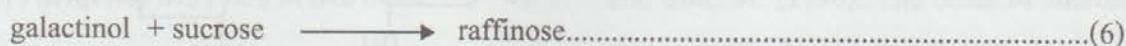
บริเวณที่มีอากาศหนาวเย็น จึงเชื่อว่าฟรุคแทนอาจมีบทบาทให้การช่วยให้พืชสามารถดำรงชีวิตอยู่ได้ในสภาพที่ไม่เหมาะสม

นอกจากความสำคัญต่อพืชแล้ว ฟรุคแทนยังมีประโยชน์ต่อมนุษย์ในหลาย ๆ ด้าน ฟรุคแทนสายสั้น ๆ ถูกนำมาใช้เป็นสารให้ความหวานซึ่งไม่มีพลังงาน ในด้านสุขภาพ ฟรุคแทนได้ถูกนำมาใช้เป็นอาหารเสริม เนื่องจากเป็นคาร์โบไฮเดรตที่ไม่สามารถถูกย่อยสลายโดยเอนไซม์ที่อยู่ในร่างกายของมนุษย์ แต่สามารถถูกย่อยโดยแบคทีเรียในกลุ่ม bifidobacteria ที่อยู่ในลำไส้ ซึ่งเป็นแบคทีเรียที่มีประโยชน์ ส่งผลให้ปริมาณแบคทีเรียที่ทำให้เกิดโรคต่าง ๆ ในลำไส้ลดน้อยลง ฟรุคแทนยังอาจมีส่วนช่วยในการดูดซึมแคลเซียมและป้องกันการเกิดโรคกระดูกพรุน (osteoporosis) ได้อีกด้วย นอกจากนี้การบริโภคอาหารที่มีฟรุคแทนสูง อาจส่งผลให้ปริมาณไขมันและโคเลสเตอรอลในเลือดต่ำลง (Ritsema and Smeekens, 2003) ปัจจุบันประโยชน์ของฟรุคแทนต่อสุขภาพกำลังได้รับความสนใจและศึกษาค้นคว้าอย่างแพร่หลาย

น้ำตาลในกลุ่มราฟฟิโนส (Raffinose family oligosaccharides)

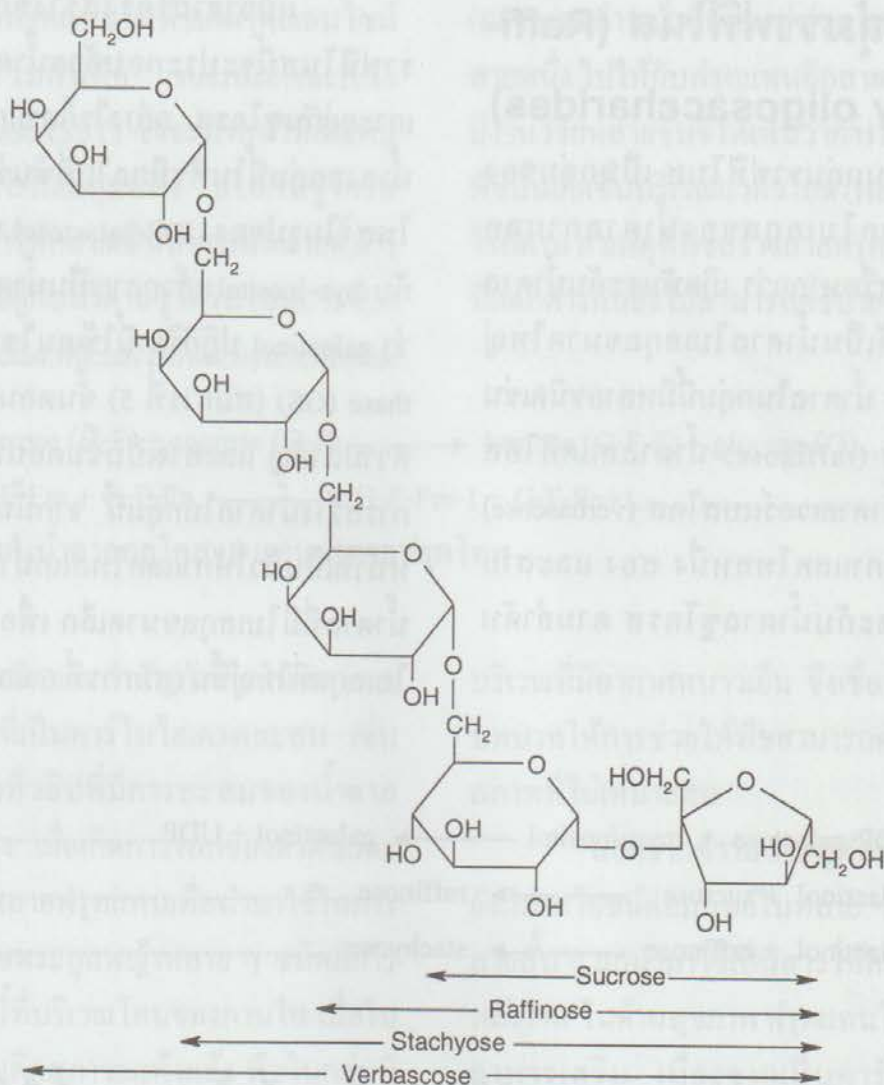
น้ำตาลในกลุ่มราฟฟิโนส เป็นกลุ่มของน้ำตาลเกิดขึ้นจากโมเลกุลของน้ำตาลกาแลคโทสหนึ่งโมเลกุลหรือมากกว่า เกิดพันธะกับน้ำตาลซูโครส ทำให้ได้เป็นน้ำตาลโมเลกุลขนาดใหญ่ (oligosaccharides) น้ำตาลในกลุ่มนี้มีหลายชนิดเช่น น้ำตาลราฟฟิโนส (raffinose) น้ำตาลสแตคิโอส (stachyose) และน้ำตาลเวอร์เบสโคส (verbascose) ซึ่งเกิดจากน้ำตาลกาแลคโทสหนึ่ง สอง และสาม โมเลกุล เกิดพันธะกับน้ำตาลซูโครส ตามลำดับ (รูปที่ 4)

แม้ว่าจากโครงสร้างของน้ำตาลในกลุ่มราฟฟิโนสนี้จะประกอบด้วยน้ำตาลกาแลคโทสที่เกาะอยู่กับซูโครส อย่างไรก็ตามกระบวนการสร้างน้ำตาลกลุ่มนี้ในพืชมีกลไกที่ซับซ้อน โดยกาแลคโทส (ในรูปของ UDP-galactose) จำเป็นต้องรวมตัวกับ myo-inositol แล้วกลายเป็นน้ำตาลแอลกอฮอล์ชื่อ galactinol ปฏิกิริยานี้ใช้เอนไซม์ galactinol synthase (GS) (สมการที่ 5) ขั้นตอนนี้เป็นขั้นตอนที่มีความสำคัญ และอาจเป็นขั้นตอนที่ควบคุมกระบวนการสร้างน้ำตาลในกลุ่มนี้ จากนั้น galactinol จะทำหน้าที่เป็นตัวให้กาแลคโทสแก่น้ำตาลซูโครส หรือน้ำตาลที่มีโมเลกุลขนาดเล็ก เพื่อได้เป็นน้ำตาลที่มีโมเลกุลที่ใหญ่ขึ้น (สมการที่ 6 และ 7)



น้ำตาลในกลุ่มราฟฟิโนสสามารถพบได้ในพืชหลาย ๆ ชนิด ประมาณร้อยละ 65 ของพืชทั้งหมดสามารถสร้างน้ำตาลชนิดใดชนิดหนึ่งในกลุ่มนี้ได้ ซึ่งโดยส่วนใหญ่จะสร้างในปริมาณที่ไม่มากนัก อย่างไรก็ตาม พืชบางกลุ่มสร้างและสะสมน้ำตาลเหล่านี้ในปริมาณที่สูง ได้แก่พืชในวงศ์ Cucurbitaceae (พืชวงศ์แตง) Lamiaceae (พืชวงศ์กะเพรา) และ Fabaceae (พืชวงศ์ถั่ว) โดยจะพบในหลาย ๆ ส่วนของพืช เช่นในเมล็ดของถั่วจะมีน้ำตาลในกลุ่มนี้อยู่ในปริมาณสูง ซึ่งน้ำตาลเหล่านี้จะเป็นแหล่งสะสมอาหาร เมื่อดันอ่อนของถั่วงอกและเจริญเติบโต น้ำตาลที่สะสมอยู่จะถูกย่อยสลายเพื่อใช้เป็นพลังงาน นอกจากนี้น้ำตาลในกลุ่มนี้ยังมีความ

สำคัญทางด้านโภชนาการ ทั้งนี้เนื่องจากมนุษย์ไม่มีเอนไซม์ที่ใช้ในการย่อยน้ำตาลในกลุ่มราฟฟิโนส ดังนั้นการบริโภคถั่ว จึงทำให้เกิดการสะสมของน้ำตาลเหล่านี้ในลำไส้ ซึ่งจะถูกลดโดยสิ่งมีชีวิตขนาดเล็กที่อาศัยอยู่ในลำไส้ ทำให้เกิดก๊าซเช่น ก๊าซมีเทน ไฮโดรเจน และคาร์บอนไดออกไซด์ ซึ่งเป็นที่มาของการเกิดก๊าซเมื่อบริโภคถั่ว (Granito et al., 2001) นอกจากนี้แล้ว น้ำตาลในกลุ่มราฟฟิโนสยังถูกใช้ในการลำเลียงในโพลีเอมในพืช ซึ่งพืชที่มีการสร้างและลำเลียงน้ำตาลในกลุ่มนี้ในปริมาณที่สูงเช่น พืชในวงศ์แตง และวงศ์กะเพรา เป็นต้น แสดงให้เห็นว่าน้ำตาลในกลุ่มนี้มีความสำคัญหลาย ๆ ด้านในพืช



รูปที่ 4 โครงสร้างน้ำตาลในกลุ่มราฟฟิโนส

นอกจากความสำคัญต่อพืชแล้ว น้ำตาลในกลุ่มราฟฟิโนสยังมีความเกี่ยวข้องในด้านอื่น ๆ อีกมาก เช่น ในอุตสาหกรรมการผลิตน้ำตาล พบว่าหากมีน้ำตาลในกลุ่มนี้เจือปน (ซึ่งเกิดขึ้นเองตามธรรมชาติ) แม้ในปริมาณเล็กน้อย จะมีผลทำให้การตกผลึกของน้ำตาลทรายน้อยลง ทั้งนี้เนื่องจากโมเลกุลของน้ำตาลราฟฟิโนส และน้ำตาลซูโครสมีความคล้ายคลึงกันมาก น้ำตาลราฟฟิโนสมีโอกาที่จะเข้าไปแทนที่ในผลึกของน้ำตาลทราย ทำให้อัตราการเกาะตัวของน้ำตาลซูโครสในผลึกน้ำตาลทรายลดลง นอกจากนี้ ในอุตสาหกรรมอาหาร และทางการแพทย์ ยังมีการนำน้ำตาลในกลุ่มนี้มาใช้งาน

โดยใช้เป็นสารตัวช่วยในการแช่แข็ง (cryoprotectant) พบว่าการใส่น้ำตาลเหล่านี้ในโปรตีนหรือเอนไซม์ที่ต้องนำไปแช่ในความเย็น จะช่วยทำให้โปรตีนหรือเอนไซม์คงสภาพได้ดีขึ้น

สรุป

นอกจากน้ำตาลและสารให้ความหวานที่กล่าวมาแล้ว ยังสามารถพบน้ำตาลอีกหลายชนิดในพืช เช่น น้ำตาลทรีฮาโลส (trehalose) น้ำตาลที่มีคาร์บอน 7 อะตอม (7-carbon sugars) ไกลโคไซด์ที่มีไซยาไนด์เป็นองค์ประกอบ (cyanogenic glycosides) กาแลคโทแมนแนน (galactomannans)

อาราบินอส (arabinose) เป็นต้น ซึ่งนอกจากจะมี ความสำคัญต่อพืชแล้ว ยังอาจมีคุณสมบัติต่าง ๆ ที่เป็นประโยชน์ต่อมนุษย์และสามารถนำมาใช้ใน อุตสาหกรรมต่าง ๆ ได้ ปัจจุบันเทคนิคต่าง ๆ ทาง ด้านชีววิทยาระดับโมเลกุลได้มีการพัฒนาไปอย่าง มาก ทำให้การศึกษาระบวนการต่าง ๆ เกี่ยวกับ น้ำตาลและสารให้ความหวานในพืชสามารถทำได้ สะดวกและรวดเร็วขึ้น การศึกษาการแสดงออกของ ยีนที่ควบคุมการสร้างเอนไซม์ในกระบวนการผลิต น้ำตาลเหล่านี้ในพืช ทำให้สามารถเข้าใจหน้าที่และ ความสำคัญของน้ำตาลชนิดต่าง ๆ เหล่านี้ในพืชได้ การศึกษामетаบอลิซึมของน้ำตาลในพืช ชนิดและ ปริมาณของน้ำตาล บทบาทหน้าที่และความสำคัญ ของน้ำตาลเหล่านี้ จะนำมาซึ่งความรู้พื้นฐาน ซึ่งหาก มีการศึกษาอย่างจริงจัง จะทำให้มนุษย์สามารถใช้ ประโยชน์จากความหวานจากธรรมชาติได้มากขึ้น

เอกสารอ้างอิง

- Arnold, W.N. (1968). The selection of sucrose as the translocate of higher plants. *Journal of Theoretical Biology* 21: 13-20.
- Castonguay, Y. and Nadeau, P. (1998). Enzymatic control of soluble carbohydrate accumulation in cold-acclimated crowns of alfalfa. *Crop Science* 38: 1183-1189.
- Davidson, P. and Sun, W.Q. (2001). Effect of sucrose/raffinose mass ratios on the stability of co-lyophilized protein during storage above the T_g . *Pharmaceutical Research* 18: 474-479.
- Edgar, W.M. (1998). Sugar substitutes, chewing gum and dental caries. *British Dental Journal* 184: 29-32.
- Granito, M., Champ, M., David, A., Bonnet, C. and Guerra, M. (2001). Identification of gas-producing components in different varieties of *Phaseolus vulgaris* by *in vitro* fermentation. *Journal of the Science of Food and Agriculture* 81: 543-550.
- Hare, P.D., Cress, W.A. and Staden J.V. (1998). Dissecting the roles of osmolyte accumulation during stress. *Plant, Cell and Environment* 21: 535-553.
- Hensen, C, A. (2000). Enzymology of fructan metabolism in grasses. In: *Carbohydrate Reserves in Plants. Synthesis and Regulation*. New York: Elsevier. p. 269-282.
- Hill, L.M., Reimholz, R., Schroder, R., Nielsen, T.H. and Stitt, M. (1996). The onset of sucrose accumulation in cold-stored potato tubers is caused by an increased rate of sucrose synthesis and coincides with low levels of hexose-phosphates, an activation of sucrose phosphate synthase and the appearance of a new form of amylase. *Plant, Cell and Environment* 19: 1223-1237.
- Leopold, A.C. (1990). Coping with dessication. In: *Stress Responses in Plants: Adaptation and Acclimation Mechanism*. New York: Wiley-Liss. p. 37-56.
- Moning, A. (2000). Sugar alcohols as carbohydrate reserves in some higher plants. In: *Carbohydrate Reserves in Plants. Synthesis and Regulation*. New York: Elsevier. p. 337-358.
- Pattanagul, W., Miranda, E.R. and Madore, M.A. (2002). Carbohydrate synthesis and crop metabolism. In: *Handbook of Plant and Crop Physiology*, 2nd ed. New York: Marcel Dekker. p. 467-484.

- Pharr, D.M., Stoop, J.M.H., Williamson, J.D., Studer, F.M.E. Massel, M.O. and Conkling, M.A.(1995). The dual role of mannitol as osmoprotectant and photoassimilate in celery. *Hortscience* 30: 1182-1188.
- Ritsema, T. and Smeekens, S. (2003). Fructans: beneficial for plants and humans. *Current Opinion in Plant Biology* 6: 223-230.
- Sasaki, H., Ichimura, K., Imada, S. And Yamaki, S. (2001). Sucrose synthase and sucrose phosphate synthase, but not acid invertase, are regulated by cold acclimation and deacclimation in cabbage seedlings. *Journal of Plant Physiology* 158: 847-852.
- Stitt, M. and Hurry, V. (2002). A plant for all seasons: alterations in photosynthetic carbon metabolism during cold acclimation in *Arabidopsis*. *Current Opinion in Plant Biology* 5: 199-206.
- Tarczynski, M.C., Jensen, R.G. and Bohnert, H.J. (1993). Stress protection of transgenic tobacco by production of the osmolyte mannitol. *Science* 259: 508-510.
- Turner, S., Senaratna, T., Touchell, D., Bunn, E., Dixon, K. and Tan, B. (2001). Stereochemical arrangement of hydroxyl groups in sugar and polyalcohol molecules as an important factor in effective cryopreservation. *Plant Science* 160: 489-497.
- Vijn, I. and Smeekens, S. (1999). Fructan: more than a reserve carbohydrate? *Plant Physiology* 120: 351-359.



Microfabric Analysis using Scanning Electron Microscopy as Potential Method for Determining Instability of Weathered Rock Slope

M.F. Irfah¹, M.R. Shahril¹, H. Omar², Azlan A. Aziz³, S. Maail³ and Bujang B.K.H²

Abstract

The instability of weathered rock slope is often caused by the structural discontinuities, groundwater, lithology, weathering, alteration, and climatic conditions. All of these causes may develop changes in microfabric structure of the rocks. This paper presents the overview of Scanning Electron Microscope (SEM) method to capture the changes in microfabric structure of rock to show microcracks that may be the caused for instability of weathered rock slope. SEM was employed to capture images from the surface of rock specimens. The SEM method can then be widely used as a tool to observe microcracks change, a potential factor for instability of weathered rock slope.

Key words: microfabric, scanning electron microscope, instability of weathered rock slope.

Introduction

The scanning electron microscope (SEM) is one of the most versatile instruments available for the examination and analysis of microstructural characteristics of solid objects. The primary reason for the usefulness of SEM is the range of magnification that varies from 10 times to 50,000 times.

Previous research has shown that scanning electron microscope has been a powerful tool in geologic endeavor. In recent years it has been used

to study fracture and microcracks in metals and ceramic (Majumdar, 1972) and is now being applied to these same topics in the study of rocks (Sprunt, 1973).

SEM may have the advantages and disadvantages for the research. The advantages are such as having the ability to examine the specimen under load, did not alter the original of the rock behaviors during specimen preparations, and has a high resolution with sensitivity in detecting cracks.

¹Research Engineer, ²Associate Professor, ³Lecturer

Mountainous Terrain Development Research Center, Faculty of Engineering, Universiti Putra Malaysia, 43400 UPM Serdang, Selangor, Malaysia

As the disadvantages of the SEM are most likely that it did not take into account some of the complications which arise in minerals such as difficulty of obtaining two beams conditions and elastic anisotropy.

The study of changes in fracture and microcracks of rock, a potential factor for the instability of weathered rock slope, is the main concern in this study. There are many causes for the microcracks and fracture including structural discontinuities, groundwater, lithology, weathering, alteration, and climatic conditions. All of these causes may develop changes in microfabric structure, which could not be observed directly but need high magnification tool such as SEM.

The observations of microfabric change are to view microcracks and fractures of weathered rocks in this study. The grade of weathering ranges from grade III to grade V, which is moderately weathered to extremely, weathered. It is hoped that this review can explore the use of SEM as a tool to determine the instability of weathered rock slope.

Basic Principles of SEM

Scanning electron microscope is a microscope that uses electrons rather than light to form an image and to examine objects on a very fine scale. This examination can yield the following information; topography, morphology, composition, and crystallographic information. Topography is the surface features of the sample, morphology is the shape and size of the sample, composition is the elements and compounds of the sample and crystallographic information tells us about the atoms arrangement in the sample.

The scanning electron microscope operates under high vacuum and has an electron gun as a source of electrons. This electron beam is accelerated through a hole in the anode and down the column of the microscope. On passing through the first two condenser lenses, the diameter of the 'virtual source' of electrons is reduced. The third lens focuses the beam on the surface of the object. As the beam hits the specimen, some electrons are reflected (backscattered), while secondary electrons are liberated from the specimen. The reflected electrons are of high energy and travel in straight lines towards an electron collector consisting of a scintillator and light guide, where each electron impact converted into an emission of light. This light is then reconverted into an electrical signal and amplified before being used to modulate the intensity of the 'spot' on the display tube.

The electron beam is in contact with only one point of the specimen at any one time and to build up an image the beam scans across the specimen in synchronization with the display tube. Magnification is thus simply the ratio of the area scanned on the display tube to that scanned on the specimens. The basic concept of SEM is briefly described in the Figure 1. In the figure shown, when the electron beam strikes the sample, it would emit both photon and electron signals.

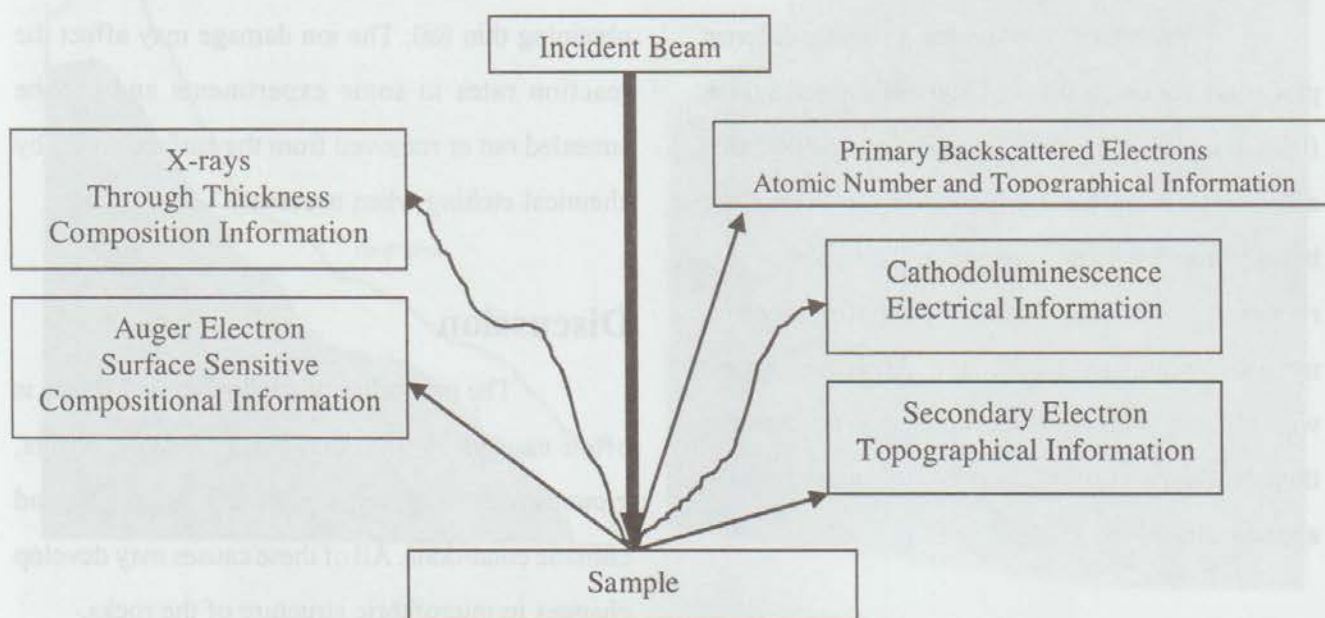


Figure 1 The SEM Setup

Preparations of Electron Transparent Specimens

Electron microscopy and its accessory equipment are being redesigned and developed continuously in order to improve resolution, penetration, and specimen handling facilities. Electron microscopy provides useful information on microstructure and its relationship to physical and chemical properties particularly when defects observed in thin foil specimens can be related directly to microstructural features in bulk and massive samples (Tighe, 1976).

Electron microscope specimens are made either as disks, which fit directly in the specimen holders and are profiled to produce an electron transparent region in the center, or as fracture fragments and cleavage flakes, which are electron-transparent near an edge or across the flake. Disk specimens usually are made to be representatives of the bulk microstructure (Paulus and Reverchon, 1962; Tighe, 1964; Drum, 1965; Barber, 1970).

Disk specimens can be produced so that the electron transparent regions are free of grinding defects and can be prepared from any material by chemical dissolution or ionic bombardment. Fracture fragments can be prepared rapidly from any brittle material but they are more likely to contain defects such as twins and slips bands of dislocations produced by crushing. Thin insulating specimens must be coated with a thin carbon film to prevent charging in the microscope. This carbon layer can be removed by ionic bombardment.

(a) Fragmentation and Cleavage

Fragmentation and cleavage are the simplest and most rapid procedure for preparing electron-transparent specimens. It is to crush small pieces of a mineral and retrieve the thin flakes. The flakes usually form surface parallel to cleavage or parting planes, for example micaceous minerals, such as mica; graphite (Amelinckx, 1964) and hematite cleave readily into flakes with surfaces parallel to basal plane.

Amelinckx (1964) using a slightly different procedure for easily cleaved materials, fixed a thick flake to a glass slide with adhesive or double-sided adhesive tape, and pulled pieces away from the flake by touching it with adhesive tape. This process was repeated until flakes thin enough for electron microscopy adhered to the tape. An adhesive tape was chosen which dissolve readily so that the thinnest flakes were released by soaking the tape in appropriate solvents.

(b) Thin-section Preparation

Petrographic thin sections are excellent starting samples for cutting disk specimens. However, to reach a thickness of 30-50 micrometer the initial selection and preparation stage requires some effort and planning. Polishing sections to 30 micrometer thickness requires considerable skill or semiautomatic polishing machines.

(c) Ionic Bombardment

Ionic bombardment or sputter-etching methods are as essential for preparing thin foils from non-conducting materials as electrochemical methods are for preparing thin foils from metals and conducting materials. Ionic bombardment produces uniquely etched surfaces, which are easily recognized in light and electron micrographs. By slowly rotating the specimen these ridges are smoothed and undulating orange-peel surface is produced. The severity of etching decreases when the angle of incidence is decreased to near grazing angles but etching is never eliminated. The surface etching phenomena and the subsurface ion damage are always present and are accepted as conditions for

obtaining thin foil. The ion damage may affect the reaction rates in some experiments and can be annealed out or removed from the surface layers by chemical etching when necessary.

Discussion

The instability of weathered rock slope is often caused by the structural discontinuities, groundwater, lithology, weathering, alteration, and climatic conditions. All of these causes may develop changes in microfabric structure of the rocks.

Weathered rock slope is described as the rock slope that exposed with different degree of weathering whether by chemical or mechanical agent that change from solid rock to soil. There are six degrees of weathering in engineering classifications. The early stages of weathering are usually represented by discoloration of the rock material which increases from slightly discolor to highly discolor as the degree of weathering increases.

Weathering causes changes in engineering properties, in particular it commonly leads to an increase in bulk and so in porosity with a corresponding reduction in density and strength - these changes are reflected in the amount of discoloration. In other words the engineering properties of a slightly discolored rock may differ notably from those of the same rock, which is highly discolored (Dearman, 1986). Chemical weathering is most effective where the layer is thicker and finer and thus holds water better. Chemical weathering is much less important on the convex slope than on the lower concave slopes, where increasing fineness and impermeability hold water better. The weathering rock would result in changes in microfabric.

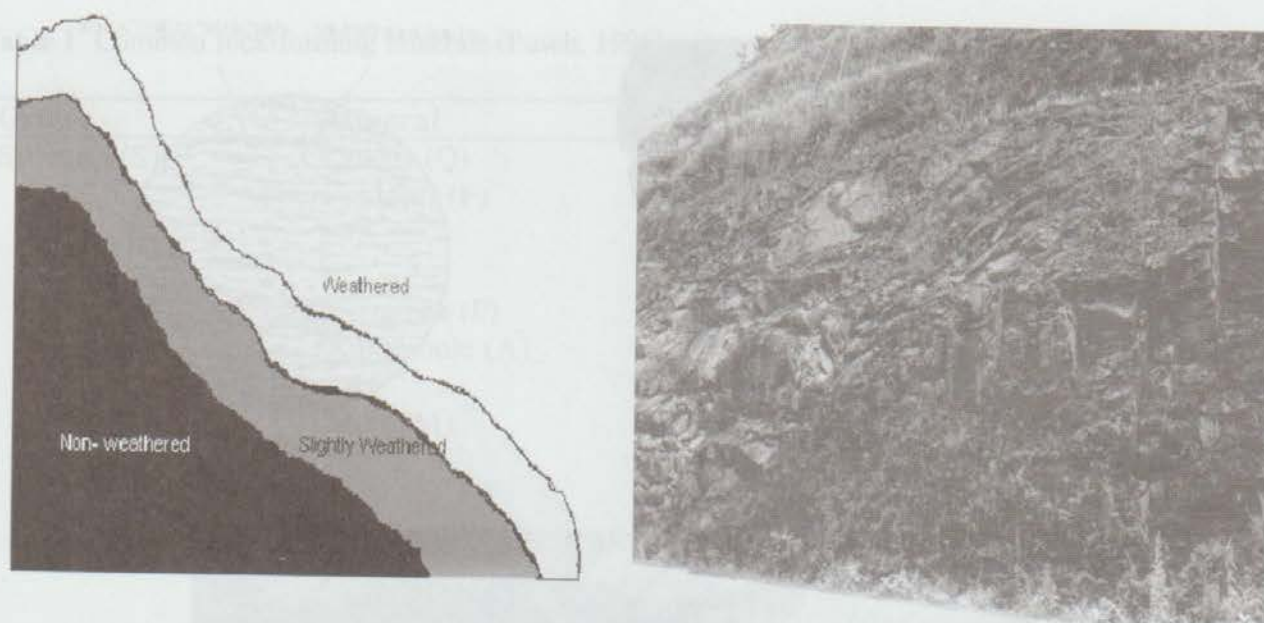


Figure 2 The common zonation of weathered rock slope in Malaysia

Microfabrics contain important information about the physical conditions, the kinematics and the processes of deformation. The analyses of the microfabrics in terms of deformation are determined from the microcracks that can be observed from the scanning electron microscope. Some example on the analysis of microfabric done by Dengler (1976) showing microcracks observed under SEM is shown in figure 3(b). Microcracks are thought to play an important role in the physical behavior of rocks. The physical behavior of rocks would determine whether the weathered rock slopes are stable or not stable. Dengler (1976) has compared the stressed and unstressed samples of rock. In stressed samples there were an increased number of cracks in all samples studied. In quartz, transgranular cracks were common with preferred orientation parallel to the direction of maximum stress. In plagioclase, extensive transgranular

fracturing was also observed. These fractures generally followed cleavage planes, tending to join up in a series of right angle steps traversing a grain. In biotites, the affect of stress varied in samples studied. An optical investigation of the same samples showed some degree of kink banding in all stressed micas, a stress affect which may not be observable on the SEM. The SEM study showed grain boundary cracks in all the micas, frequent opening of cleavage plates and transgranular cracks across the cleavage plates and extensive folding especially in samples tested under confining pressure.

The study of fracture surfaces by SEM yields valuable information about actual shape and size of microcracks in rocks. The study is further explore to be used in stressed weathered rock and clay minerals identifications to study the instability of the rock slope (Jaboyedoff et al., 2004).

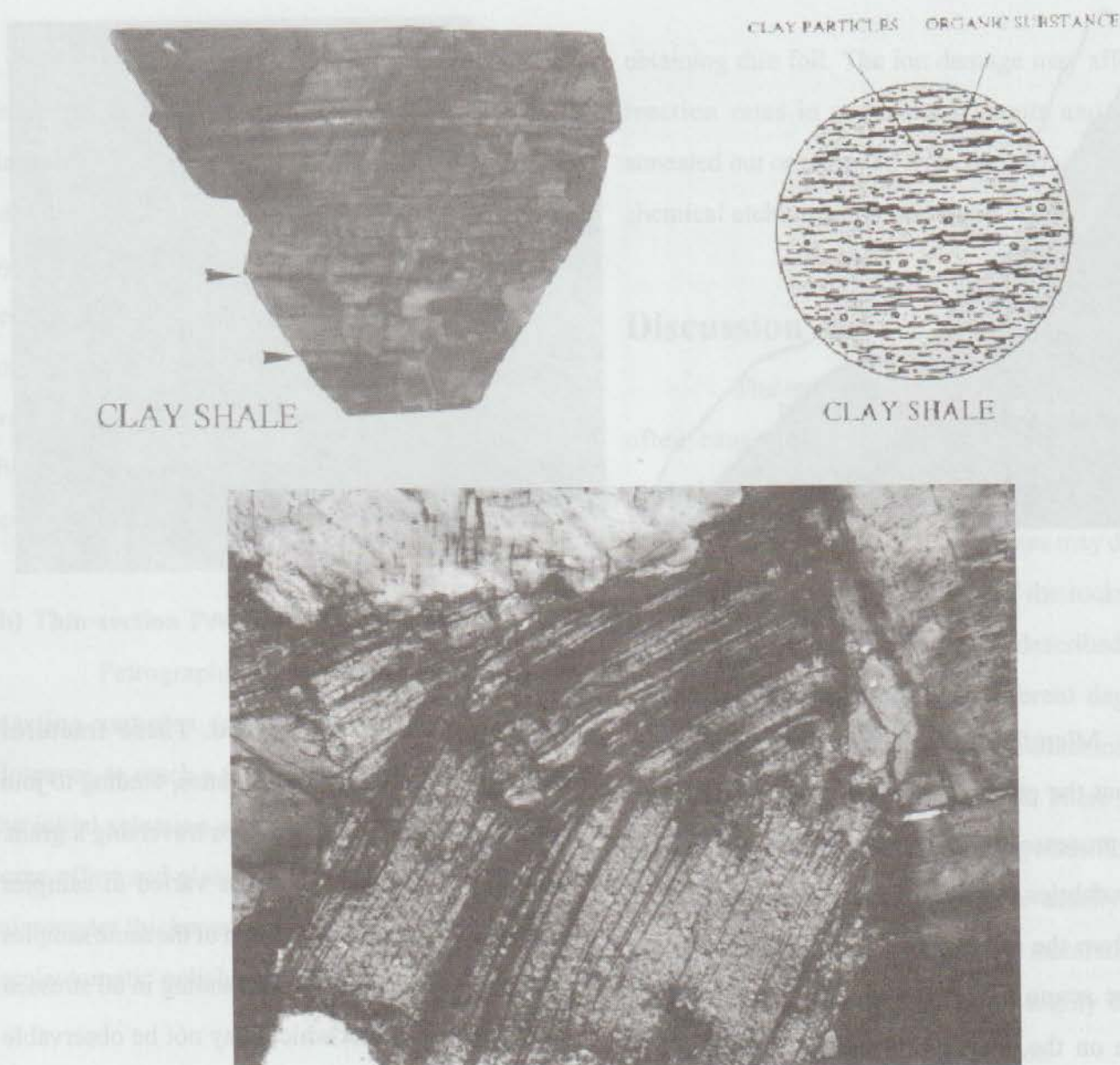


Figure 3 (a) original size of clay shale (b) microfabric of clay shale (Pusch, 1995) (c) microcracks in stressed rock by SEM method showing detail structure of microfabric (Omar, 2002).

The mineral composition of the weathered rock can determine the structural characterization of rock material with the presence of zones of weak minerals such as mica and chlorite bands, for identification of weathering that causes slaking or expansion on exposure to water like in clay mineral, and finally for estimating the wearing of drill bits by determining the richness in quartz of the rock encountered.

The mineral types that may be encountered on the rock forming mineral are divided into six groups which of different chemical composition, crystal lattice type and physical properties as been specified in Table 1.

Table 1 Common rock-forming minerals (Pusch, 1995)

Group	Mineral	Species	Elements
Silicates (S)	Quartz (Q)		Si, O
	Feldspar (F)	Microcline	Si, Al, K, O
		Orthoclase	Si, Al, K, O
		Plagioclase	Si, Al, Na, Ca, O
	Pyroxene (P)		Si, Fe, Mg, O
	Amphibole (A)		Si, Al, Fe, Mg, O, OH
	Mica (M)	Muscovite	Si, Al, K, O, OH
		Biotite	Si, Al, K, Mg, Fe, O, OH
	Epidote (E)		Si, Al, (Fe), Ca, O, OH
	Chlorite (Ch)		Si, Al, Mg, Fe, O, OH
Oxides (O)	Magnetite		Fe, O
	Hematite		Fe, O
Carbonates (C)	Calcite		Ca, O
	Dolomite		Ca, Mg, O
Sulphates (S)	Gypsum		Ca, S, O
	Barite		Ba, S, O
Chlorides (Cl)	Halite		Na, Cl
Elements	Graphite (G)		C

It is also sufficient to recognize quartz, feldspar, micas, chlorite, clay minerals, carbonates, chlorides, Sulphates, and graphite and this can be identified by use of their hardness, luster and color of macroscopic crystals. Table 2 serves as a guide for identification of these minerals.

The hardness is determined with scale starts from 1-10. Diamond is considered as 10 the

hardest species, 7 means that scratching can be made with hard steel, 6 with ordinary steel, 3 with bronze, 2 with nails, while 1 is easily crushed between the finger nails.

After recognizing the rock forming minerals, it is easier to observe the weak zones on the rock specimen. By the color, hardness and luster, the properties of the rock is characterized.

The rock is disintegrated, the original fabric of the rock is completely destroyed, and the matrix is completely replaced by a new material.	Highly Weathered	IV
The rock is disintegrated, the original fabric is preserved, and the matrix is completely replaced by a new material.	Moderately Weathered	V
The rock is disintegrated, and is completely changed to a new material, the original fabric of the rock is completely destroyed.	Residual Soil	VI

Table 2 Characteristic properties of major rock forming minerals (Pusch, 1995)

Mineral	Relative hardness	Color	Luster	Disintegration in water
Quartz (Q)	7	None	Oily	None
Feldspars (F)	6	Red, white	Shiny	None
Micas (M)	1	Black, white	Shiny, transparent	None
Chlorite (Ch)	1	Black, green	Shiny transparent	None
Clay mineral (CM)	-	-	-	Strong
Carbonates (C)	3	White	Shiny transparent	Weak
Chlorides (Cl)	1	White	Shiny transparent	Strong
Sulphate (S)	7	Yellow, white	Metallic	Some
Graphite (G)	1	Grey	Shiny	None

Expected Outcome

The observation on microfabric from this paper is summarized in table 3. The degree of weathering changes the microfabric in terms of the strength and the discoloration of the rock. The microfabric of weathered rock is changed from rock to soil; the strength of the rock is getting weaker. The original fabric of the rock is completely destroyed. The

actual content of mineral in the rock specimen can be determined from thin section preparation and x-ray diffraction method. The sample of rock are taken from grade III and grade V, which is from moderately weathered to extremely weathered. Then the samples are compared between its microfabric structures.

Table 3 Expected Outcome from the Observations (Bell, 1992)

Grade	Degree of Decomposition	Observation on Rock Sample
I	Fresh rock	The rock may show no discoloration, or other effect due to weathering, no loss in strength.
II	Slightly Weathered	The rock may be slightly discolored; intact rock is not noticeably weaker than fresh rock. Over 90% rocks.
III	Moderately Weathered	The rock is discolored, discontinuities may be open, and the intact rock is noticeably weaker. 50% to 90% rock.
IV	Highly Weathered	The rock is discolored, discontinuities may be open, the original fabric of the rock near the discontinuities is altered. Less than 50% rock.
V	Extremely Weathered	The rock is discolored, original fabric is preserved, and the rock mass properties depend in part on the nature of the parent rock.
VI	Residual Soil	The rock is discolored and is completely change to a soil in which original fabric of the rock is completely destroyed.

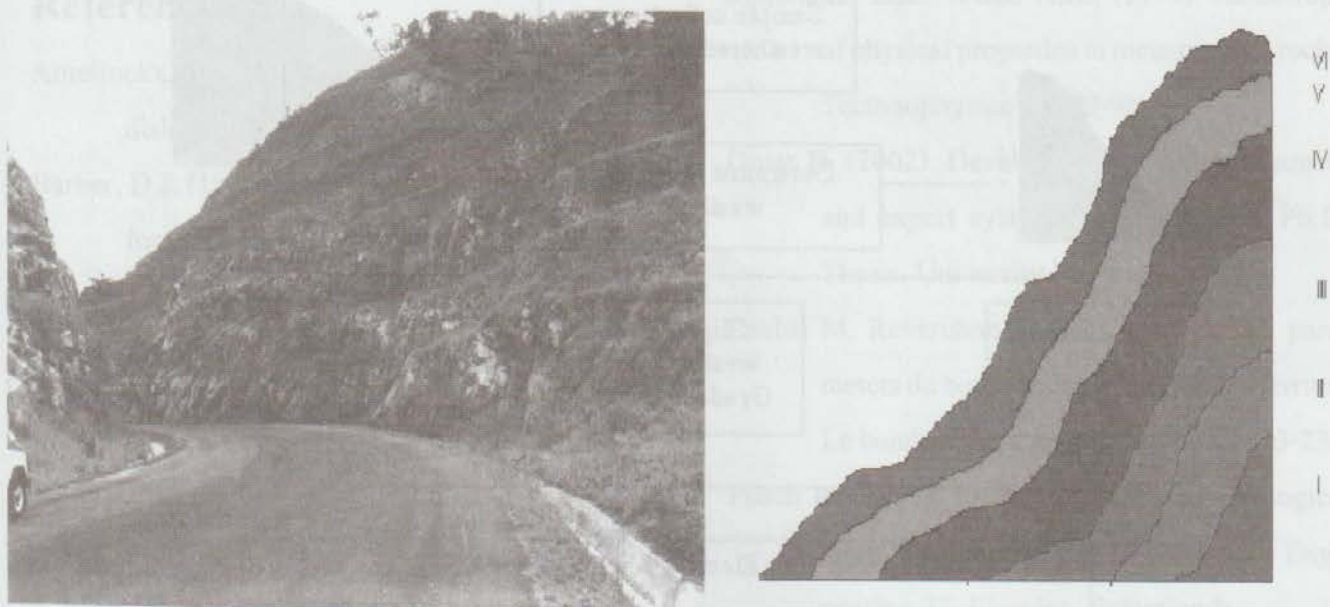


Figure 4 (a) The common weathered rock slope in Malaysia and (b) The degree of weathering according to its grade.

Summary

The instability of weathered rock slope is often caused by the structural discontinuities, groundwater, lithology, weathering, alteration, and climatic conditions. All of these causes may develop changes in microfabric structure of the rocks. This paper presents the overview of scanning electron microscope (SEM) method to capture the changes in microfabric structure of rock to show microcracks that may be the caused for instability of weathered rock slope. The proposed methodology started from data collection to the output from the scanning electron microscope is shown in Figure 6.

The SEM method for sample preparation would make it easier to choose the most suitable method to study fracture in weathered rock. It can be concluded that ion bombardment are the easiest method and produce less damage on the rock sample.

In conclusion, this review would expand the usage of SEM to study the instability of weathered rock slope as a potential method. There is potential to relate the microfabric change in the instability of weathered rock slope. The change in microfabric in terms of strength, the discoloration and the mineral contents are the main objectives for this research.

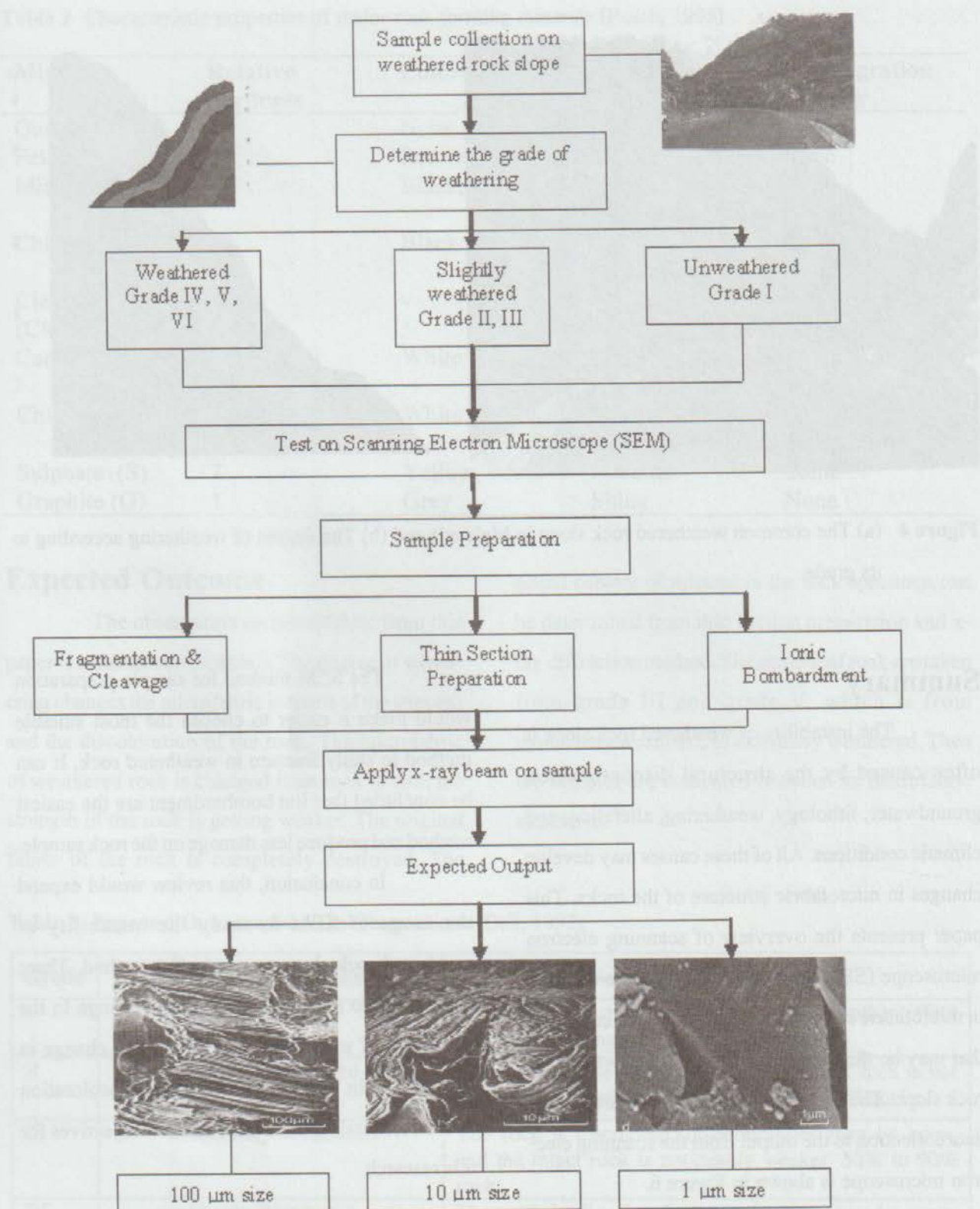


Figure 6 Schematic diagram on the proposed methodology for microfabric analysis using SEM.

References

- Amelinckx, S. (1964). The direct observation of dislocations. New York. Academic Press.
- Barber, D.J. (1970). Thin foils of non-metals made for electron microscopy by sputter-etching. *J. Mat, Sci.* 5, 1-8.
- Bell F.G., (1992). Engineering in Rock Masses. Butterworth Heinemann Ltd. Great Britain
- Dearman, W.R. (1986). State of Weathering: the search for a national approach. In Site Investigation Practice: Assessing BS 5930. Engineering Geology Special Publication No 2. Hawkins. A.B. (ed.). Geology Society. London. 193-198.
- Dengler L. (1976). Microcracks in Crystalline Rocks. Electron Microscopy in Mineralogy. Springer-Verlag Berlin. Germany.
- Drum, C.M. (1965). Electron microscopy of dislocations and other defects in sapphire and in silicon carbide. thinned by sputtering. *Phys. Stat. Sol.* 9. 635-642.
- Jaboyedoff M., Baillifard F., Bardou E., and Girod F.. (2004). The effect of weathering on Alpine rock instability. *Quarterly Journal of Engineering Geology and Hydrogeology.* Geological Society of London. pp 95-103.
- Majumdar, L.R.. Wenk. H.R.. (1974). Anisotropy of physical properties in metamorphic rocks. *Tectonophysics* 23. 79-98.
- Omar H. (2002). Development of risk assessment and expert systems for cut slopes. Ph.D. Thesis. University Putra Malaysia.
- Paulus M, Reverchon F. (1962). Etude des paramètres du bombardment ionique des ferrites. Le bombardment ionique. C.N.R.S. 223-234.
- Pusch R. (1995). Rock Mechanics on Geological Base. Development in Geotechnical Engineering 77. Elsevier. Netherlands.
- Sprunt, E.S. (1973). Scanning electron microscope study of cracks and pores in crystalline rocks. Master's Thesis, Mass Institute of Technology.
- Tighe N.J. (1976). Experimental Techniques. Electron Microscopy in Mineralogy. Springer-Verlag Berlin. Germany.
- Tighe N.J. (1964). Jet-thinning device for preparation of Al₂O₃ electron microscopy specimens *Rev. Sci. Instr.* 35. 520-521.
- Wenk H.R., P.E. Champness, J.M. Christie, J.M. Cowley, A.H. Heuer, G. Thomas, N.J. Tighe. (1976). Electron Microscopy in Mineralogy. Springer-Verlag Berlin Heidelberg. New York.

การวิเคราะห์ตะกั่วและสารหนูในสุราพื้นบ้าน (Analysis of Lead and Arsenic in Local Spirits)

ศักดิ์สิทธิ์ จันทร์ไทย, นาง กุวงศ์ผา และไพบุลย์ ด้านวิรุทย์²

บทคัดย่อ

การตรวจวิเคราะห์และเฝ้าระวังโลหะหนักบางชนิด ซึ่งมีศักยภาพความเป็นพิษตกค้างต่อผู้บริโภค ถือว่าเป็นพันธกิจหลักที่สำคัญต่อการควบคุมคุณภาพอาหารและเครื่องดื่มของสำนักงานมาตรฐานผลิตภัณฑ์อุตสาหกรรม (มอก.) ในปัจจุบัน จากการวิเคราะห์หาตะกั่วและสารหนูในตัวอย่างสุรากลั่นพื้นบ้านโดยวิธีมาตรฐาน เพื่อให้เป็นไปตามเกณฑ์ มอก. 2088-2544 มาตรฐานสุรากลั่น คือมีปริมาณได้ไม่เกิน 0.2 และ 0.1 มิลลิกรัมต่อลิตร สำหรับตะกั่วและสารหนู ตามลำดับ ผลการวิเคราะห์สุรากลั่นพื้นบ้านกว่า 30 ตัวอย่าง พบว่า ในสุราบางตัวอย่างตรวจไม่พบทั้งตะกั่วและสารหนู ทั้งนี้อาจเนื่องจากมีปริมาณโลหะทั้งสองต่ำกว่าขีดต่ำสุดของเครื่องตรวจวัด (ตะกั่ว 1.0 มิลลิกรัมต่อลิตร และสารหนู 0.33 ไมโครกรัมต่อลิตร) อย่างไรก็ตาม ยังมีตะกั่วและสารหนูตกค้างอยู่ในปริมาณน้อย ๆ ในช่วงตั้งแต่ตรวจไม่พบจนถึง 0.223 มิลลิกรัมต่อลิตร และ 6.0 ไมโครกรัมต่อลิตร ตามลำดับ แสดงว่า สุราบางชนิด หรือประมาณ 6% ของตัวอย่างที่นำมาวิเคราะห์ยังมีปริมาณตะกั่วตกค้างอยู่เกินเกณฑ์ จึงมีโอกาสมะสมในร่างกายของผู้ที่ชอบดื่มเป็นประจำได้ง่าย

Abstract

Analysis and monitoring of some heavy metals, which have potentially been toxic for human consumption, are recently main important missions for foods and drinks quality control by Thai Industrial Standards Institute. In this report, trace analysis of lead (Pb) and arsenic (As) residues in locally distilled spirits using standard methods has been conducted in order to certify them underlining with the Regulation Standard No. 2088-2544 (less than 0.2 and 0.1 mg/L for Pb and As, respectively). The results obtained from more than 30 samples revealed that both Pb and As were not detectable in some spirit samples probably due to the metal contents were lower than their detection limit (1.0 mg Pb/L and 0.33 μ g As/L). However, the trace amounts of these toxic metals were ranged from non-detectable to 0.223 mg/L and 6.0 μ g/L for Pb and As, respectively. It is shown that there is only a residual content of Pb, but not As, in some samples or about 6% of the spirits analyzed found higher than that of the acceptable value. Certainly, it has a susceptible risk of its accumulation in heavy drinking person bodies.

¹ภาควิชาเคมี คณะวิทยาศาสตร์ มหาวิทยาลัยขอนแก่น

²ภาควิชาเทคโนโลยีชีวภาพ คณะเทคโนโลยี มหาวิทยาลัยขอนแก่น

บทนำ

สุรากลั่นพื้นบ้าน หรือ เหล้าขาว ถือว่าเป็นผลิตภัณฑ์เด่นอย่างหนึ่งของสินค้าหนึ่งตำบลหนึ่งผลิตภัณฑ์ หรือสินค้า "OTOP" ในปัจจุบันจัดเป็นเครื่องดื่มประเภทที่มีแอลกอฮอล์ปริมาณสูง (>40% โดยปริมาตร หรือ ดีกรี) มีจำหน่ายทั่วไปคู่กับไวน์ผลไม้หรือไวน์พื้นบ้าน ทั้งนี้เพราะสุราพื้นบ้านบางชนิดกลั่นจากกระบวนการหมักไวน์ผลไม้ ทำให้สุรากลั่นเหล่านี้มีกลิ่นรสของวัตถุดิบที่ใช้ผลิต นอกเหนือจากกลิ่นรสของสารอินทรีย์จากการบ่มเหล้าในถังไม้โอ๊กของสุราอื่น ๆ ที่จริงแล้วสุรากลั่นที่มีจำหน่ายอยู่ทั่วไปนั้นเป็นเหล้าขาวธรรมดาที่ผลิตขึ้นจากข้าวเป็นหลัก และกำหนดแรงแอลกอฮอล์ไว้ประมาณ 45-50 ดีกรี (ประดิษฐ์ ครัววัฒนา, 2546) เป็นการผลิตสุรากลั่นที่ได้รับสัมปทานภายใต้การควบคุมของกรมสรรพสามิต ปัจจุบันนี้มีสุรากลั่นที่จำหน่ายได้อย่างเสรีของชุมชน จึงมีการผลิตสุรากลั่นพื้นบ้านกันอย่างหลากหลาย ทั้งนี้ต้องอยู่บนพื้นฐานเดียวกันที่ว่าสุรากลั่นเหล่านั้นได้ผ่านขั้นตอนการผลิตอย่างถูกหลักวิธี และต้องผ่านการรับรองให้จำหน่ายอย่างเสรีตามเกณฑ์มาตรฐาน มอก. 2088-2544 มาตรฐานสุรากลั่น

มหาวิทยาลัยขอนแก่น โดยศูนย์วิจัยการหมักเพื่อเพิ่มมูลค่าผลิตภัณฑ์ทางการเกษตร คณะเทคโนโลยี ร่วมกับภาควิชาเคมี คณะวิทยาศาสตร์ ได้มีข้อตกลงความร่วมมือทางบริการวิชาการกับกรมสรรพสามิตให้เป็นหน่วยงานที่สามารถตรวจวิเคราะห์พารามิเตอร์ต่าง ๆ ของไวน์และสุรากลั่นพร้อมทั้งรับรองผลการวิเคราะห์ให้เป็นไปตามเกณฑ์ มอก. นี้ด้วยด้วยเหตุนี้ จึงได้รวบรวมผลการวิเคราะห์ตะกั่วและสารหนูที่อาจตกค้างอยู่ในสุรากลั่นพื้นบ้านที่ส่งมาวิเคราะห์มากกว่า 30 ตัวอย่าง โดยวิธีมาตรฐานสากล (AOAC, 1995) หรือวิธีมาตรฐานอื่นที่ยอมรับได้ เพื่อใช้เป็นฐานข้อมูลเปรียบเทียบกัน

ระหว่างสุรากลั่นที่มีจำหน่ายอยู่ทั่วไป อีกทั้งยังเป็นโอกาสให้ผู้ที่เกี่ยวข้องทั้งผู้ผลิตจำหน่ายหรือผู้บริโภคได้รับทราบข้อมูลจริง หากยังมีปริมาณโลหะหนักดังกล่าวตกค้างอยู่จะด้วยสาเหตุใดก็ตาม และแม้ว่าจะมีปริมาณต่ำกว่าเกณฑ์มาตรฐาน แต่ถ้ามีการดื่มสุราเป็นประจำแล้ว นอกจากจะมีโอกาสเสี่ยงต่อโรคร้าย ๆ โดยตรงแล้ว ก็อาจส่งผลให้มีสารพิษสะสมอยู่ในร่างกายได้ตลอดเวลา ซึ่งมีเป็นผลดีต่อผู้บริโภคเหล้าขาวแต่อย่างใด

การวิเคราะห์

สารเคมีและการเตรียม

สารละลายมาตรฐานโลหะตะกั่ว (Lead, Pb) และสารหนู (Arsenic, As) เข้มข้น 1000 mg/L มีความบริสุทธิ์ในระดับเกรดสเปกโตรโซล (Spectrosol grade) จากบริษัทคาร์โลเออร์บา (Carlo Erba) เตรียมสารละลายมาตรฐานสำหรับใช้งาน คือ Pb 100 mg/L ปริมาตร 100 mL โดยเจือจางจากสารละลายหลัก (stock solution) ด้วยน้ำปราศจากไอออน และเตรียม As 100 mg/L และ 100 µg/L อย่างละ 100 mL โดยเจือจางเป็นขั้นตอนด้วยกรดไฮโดรคลอริกเข้มข้น 10% โดยปริมาตรในทำนองเดียวกัน

ในการวิเคราะห์ As ให้เตรียมสารละลายพา (carrier solution) โดยใช้กรดไฮโดรคลอริกเข้มข้น 10% โดยปริมาตร และสารรีดิวซ์ (reducing agents) ประกอบด้วย 0.2%w/v NaBH₄ ใน 0.05%w/v NaOH จำนวน 1 ลิตร โดยชั่งโซเดียมโบโรไฮไดรด์ NaBH₄ 2 กรัมละลายน้ำปราศจากไอออนแล้วเติมลงในขวดปรับปริมาตรขนาด 1 ลิตรที่โซเดียมไฮดรอกไซด์ 0.5 กรัมละลายอยู่ในน้ำปราศจากไอออน นอกจากนี้เตรียมสารละลาย 5%w/v โพตัสเซียมไอโอไดด์ (KI) และ 5%w/v กรดแอสคอร์บิก (ascorbic acid) อย่างละ 100 mL โดยปรับปริมาตรด้วยน้ำปราศจากไอออน

เครื่องมือและอุปกรณ์

เครื่องเฟลม อะตอมมิก แอ็บซอร์พชัน สเปกโทรโฟโตมิเตอร์ (Flame Atomic Absorption Spectrophotometer, FAAS) รุ่น AAnalyst 100 - Perkin Elmer และเครื่องฟลูว์อินเจกชัน

ไฮโดรเจนเนอเรชัน (FI-MHS) รุ่น FIAS 100 ที่ต่อเข้าเครื่อง AAS รุ่น AAnalyst 300 - Perkin Elmer ซึ่งใช้ควอร์ตซ์เซลล์ (quartz cell) เป็นแหล่งวัดค่าการดูดกลืนแสงโดยใช้สถานะตรวจวัด ดังนี้

ธาตุ	ความยาวคลื่น (nm)	ความกว้างช่องแสง (nm)	เปลวไฟ / แหล่งความร้อน	เทคนิค
Pb	283.3	0.7	Air-acetylene	FAAS
As	193.7	0.7	Electrothermal (900 °C)	FI-MHS-AAS

การเตรียมตัวอย่างสุรากลั่นและวิธีวิเคราะห์

ในขั้นตอนการเตรียมตัวอย่างสุรากลั่นพื้นบ้านที่นำมาวิเคราะห์นั้น ปกติแล้วสุรากลั่นมีลักษณะใสไม่มีสี กลิ่นฉุนของไออัลกอฮอล์ นำตัวอย่างสุรากลั่น 100 mL มาระเหยอัลกอฮอล์ออกจนเตาให้ความร้อนในตู้ควั่น แล้วละลายด้วยกรดไนตริก 5%v/v จำนวน 5 mL กรองผ่านกระดาษกรอง Whatman เบอร์ 42 ลงในขวดปรับปริมาตรขนาด 50 mL และปรับปริมาตรสุดท้ายด้วย 1%v/v HNO₃ สำหรับวิเคราะห์ตะกั่ว หรือ 10%v/v HCl สำหรับวิเคราะห์สารหนู

จากนั้นให้ปีเปตสุรากลั่นที่กรองแล้ว 20 mL ใส่ในขวดปรับปริมาตรขนาด 25 mL จำนวน 5 ใบ แล้วเติมสารละลายมาตรฐานตะกั่ว 100 mg/L ให้ได้ความเข้มข้นสุดท้ายเป็น 0.0, 1.0, 2.0, 3.0 และ 4.0 mg/L ในขวดปรับปริมาตรทั้ง 5 ใบ ตามลำดับ ปรับปริมาตรสุดท้ายด้วยน้ำปราศจากไอออนและตรวจวัดสัญญาณด้วยเครื่อง AAS โดยควบคุมการวิเคราะห์ผ่านโปรแกรมคอมพิวเตอร์และได้ผลการวิเคราะห์ตะกั่วในตัวอย่างสุรากลั่นตามวิธีหาปริมาณแบบเติมสารมาตรฐาน (standard addition)

ส่วนขั้นตอนการวิเคราะห์ As โดยวิธีไฮโดรเจนเนอเรชันจะผ่านตัวอย่างสุรากลั่นที่กรองแล้วมา

ทำปฏิกิริยากับสารรีดิวซ์ในเครื่องผลิตแก๊สไฮโดรด์ (hydride generator) จากนั้นจึงใช้แก๊สอาร์กอนเป็นตัวพา AsH₃ ไปยังควอร์ตซ์เซลล์ของเครื่อง AAS ต่อไป โดยเตรียมกราฟมาตรฐาน (calibration curve) ของ As เข้มข้น 5, 10, 15 และ 20 µg/L ซึ่งใช้สารละลายมาตรฐาน As 100 µg/L ปริมาตร 5, 10, 15 และ 20 mL ในขวดปรับปริมาตรขนาด 100 mL จากนั้นให้เติม 5% KI และ 5% กรดแอสคอร์บิก อย่างละ 1 mL ลงไป ตั้งทิ้งไว้ 45 นาที แล้วปรับปริมาตรด้วย 10% HCl นำไปตรวจวัดด้วยเทคนิค FI-AAS เช่นกัน และอ่านค่าความเข้มข้นของ As จากกราฟมาตรฐาน โดยโปรแกรมคอมพิวเตอร์

ผลการวิเคราะห์

จากการวิเคราะห์ตัวอย่างสุรากลั่นพื้นบ้านมากกว่า 30 ตัวอย่างในช่วงที่สินค้า OTOP กำลังได้รับความนิยมมากเป็นพิเศษนั้น ตารางที่ 1 แสดงถึงปริมาณตะกั่วและสารหนูเฉพาะที่ตรวจพบเท่านั้น บางตัวอย่างก็พบทั้งตะกั่วและสารหนู บางตัวอย่างก็ตรวจไม่พบจึงไม่ได้รายงานไว้ด้วย จะเห็นว่า โลหะหนักทั้งสองชนิดนี้มีปริมาณแตกต่างกันถึง 1,000 เท่า ทั้งนี้เพราะเทคนิคที่ใช้วิเคราะห์นั้นให้ความไวสูงเป็นพิเศษ กล่าวคือเทคนิคฟลูว์อินเจกชันและ

ไฮโดรเจนเนอเรนซ์ที่ต่อกับเครื่องเฟลมอะตอมมิก แอ็บซอร์พชันสเปกโตรมิเตอร์นั้น สามารถตรวจวัด As ได้ในระดับ $\mu\text{g/L}$ คือพบสารหนูในปริมาณที่น้อยมาก ๆ อยู่ในช่วงกว้างตั้งแต่ตรวจไม่พบจนถึง $5.77 \mu\text{g/L}$ แสดงว่า สุรากลั่นเหล่านี้จึงมีสารหนูตกค้างในปริมาณต่ำกว่า 0.10 mg/L หรือ $100 \mu\text{g/L}$ ซึ่งยังไม่เกินเกณฑ์ มอก. 2088-2544 แต่อย่างใด

ส่วนเทคนิคเฟลมอะตอมมิกแอ็บซอร์พชันสเปกโตรโฟโตเมทรีที่ใช้วัดตะกั่วครั้งนี้ ปกติแล้วเทคนิคนี้จะให้ความไวในการตรวจวัดในระดับ mg/L จะเห็นว่า ส่วนใหญ่แล้วตรวจไม่พบตะกั่วในสุรากลั่นพื้นบ้าน แสดงว่า ตัวอย่างสุราเหล่านั้นอาจมีปริมาณตะกั่วต่ำกว่าขีดจำกัดต่ำสุดที่วัดได้ (detection limit) ของเครื่องมือวิเคราะห์ ในที่นี้คือ 1.0 mg/L ถึงแม้ว่าจะตรวจวิเคราะห์โดยวิธีเดิมสารมาตรฐานลงในตัวอย่างสุรากลั่นด้วยก็ตาม หากต้องการตรวจให้พบซึ่งน่าจะอยู่ในช่วงเดียวกันกับปริมาณ As ก็อาจใช้วิธีเพิ่มความเข้มข้นของตะกั่วขึ้นมาก่อนระดับหนึ่งแล้วจึงนำมาตรวจวัดอีกที ซึ่งในการวิเคราะห์แต่ละครั้งได้ทำการเพิ่มความเข้มข้นของตะกั่วในตัวอย่างสุราขึ้นมาถึง 4 เท่าตัว จึงสามารถวัดค่าการดูดกลืนแสงของตะกั่วและเทียบปริมาณจากเส้นกราฟมาตรฐาน หรือทำการวิเคราะห์โดยวิธีเดิมสารมาตรฐานตะกั่วลงในตัวอย่างสุราก่อนนำมาตรวจวัดก็ได้ผลเช่นเดียวกัน แล้วจึงคำนวณหาปริมาณตะกั่วที่แท้จริงในตัวอย่างเดิมได้ อย่างไรก็ตาม ในบรรดาตัวอย่างสุรากลั่นที่ตรวจพบนั้นจะมีเพียง 2 ตัวอย่างเท่านั้นที่มีปริมาณตะกั่วสูงกว่า 0.20 mg/L นอกนั้นถือว่าผ่านเกณฑ์ มอก. ทั้งนี้ได้รายงานผลการวิเคราะห์ตัวอย่างสุรากลั่นพื้นบ้านโดยรวม (ค่าเฉลี่ยและค่าเบี่ยงเบนมาตรฐานจากข้อมูล 3 ซ้ำ ยกเว้นบางตัวอย่าง ไม่มีค่าเบี่ยงเบนมาตรฐาน) เพื่อใช้เป็นฐานข้อมูลของโลหะหนักบางชนิดเท่านั้น ยังไม่มีข้อมูลที่สามารถจำแนกถึงแหล่งที่มาและวัตถุดิบที่ใช้ผลิตสุราเหล่านี้

เนื่องจากได้ตรวจวิเคราะห์ตัวอย่างไวน์และสุรากลั่นผ่านทางศูนย์วิจัยการหมักเพื่อเพิ่มมูลค่าผลิตภัณฑ์ทางการเกษตร คณะเทคโนโลยีมหาวิทยาลัยขอนแก่น ซึ่งมีความร่วมมือทางวิชาการกับกรมสรรพสามิต จึงมีโปรแกรม Laboratory Correction จากกลุ่มงานวิเคราะห์สินค้าและของกลาง กรมสรรพสามิต เพื่อตรวจสอบมาตรฐานการวิเคราะห์ดังกล่าวด้วย จะเห็นว่า การวิเคราะห์สารปริมาณน้อย ๆ (trace analysis) หรือปริมาณน้อยมาก ๆ (ultra trace) ในระดับ $\mu\text{g/L}$ นั้นอาจมีความเบี่ยงเบนสูงอยู่บ้าง ทั้งนี้ขึ้นกับเทคนิคที่ใช้วิเคราะห์และความจำเพาะหรือความไวของเครื่องตรวจวัดแต่ละประเภทด้วย อย่างไรก็ตาม จากผลการหาปริมาณตะกั่วและสารหนูในตัวอย่างสุราอ้างอิงซึ่งทำการตรวจวัดที่ห้องปฏิบัติการภาควิชาเคมี มหาวิทยาลัยขอนแก่นในขณะนั้น ตรวจพบเฉพาะสารหนูในปริมาณ 0.02 mg/L เท่านั้น ยังตรวจไม่พบตะกั่วแต่อย่างใด ขณะที่ห้องปฏิบัติการแห่งอื่น ๆ สามารถตรวจพบตะกั่วในปริมาณแตกต่างกัน (ตารางที่ 1)

สรุปผลและอภิปราย

ในการวิเคราะห์ตะกั่วและสารหนูในตัวอย่างสุรากลั่นพื้นบ้าน ส่วนใหญ่แล้วได้ผลเป็นที่น่าพอใจ คือทั้งตะกั่ว ($<0.2 \text{ mg Pb/L}$) และสารหนู ($<0.1 \text{ mg As/L}$) มีปริมาณต่ำกว่าเกณฑ์ มอก. 2088-2544 แม้ว่าจะมีสุรากลั่นบางตัวอย่างเท่านั้นที่ไม่ผ่านเกณฑ์นี้ซึ่งก็คงเป็นความรับผิดชอบของผู้ผลิตว่าเห็นควรดำเนินการปรับปรุงหรือไม่ หากไม่ทราบสาเหตุการปนเปื้อนของโลหะหนักในระดับต่ำ ๆ อย่างนี้แล้วยังผลิตเพื่อจำหน่ายกันต่อไปอีก สุรากลั่นจะกลายเป็นแหล่งสะสมพิษโดยอ้อมอย่างหลีกเลี่ยงไม่ได้ ปกติแล้ว ในเครื่องดื่ม เช่น ไวน์ เบียร์ เหล้า หรือ ชา กาแฟ น้ำผลไม้ น้ำอัดลม เป็นต้น จะมีโลหะหนักตกค้างอยู่ปริมาณหนึ่ง (Onianwa et al., 1999) Martinez et al. (2001) ได้วิเคราะห์สปีชีส์ของสารหนู

ตารางที่ 1 ปริมาณของตะกั่วและสารหนูที่ตรวจพบในตัวอย่างสุรากลั่นพื้นบ้านจำนวน 1 ลิตร

ตัวอย่างสุรา	ตะกั่ว (มิลลิกรัม)	สารหนู (ไมโครกรัม)
1	n.d.	0.046 ± 0.002
2	n.d.	0.149 ± 0.032
3	n.d.	0.029 ± 0.009
4	n.d.	0.047 ± 0.012
5	n.d.	0.043 ± 0.013
6	n.d.	0.042 ± 0.010
7	n.d.	0.063 ± 0.023
8	n.d.	0.227 ± 0.018
9	n.d.	0.504 ± 0.042
10	n.d.	0.456 ± 0.045
11	0.149 ± 0.032	n.d.
12	0.223 ± 0.019	1.838 ± 0.040
13	0.473 ± 0.074	n.d.
14	0.043 ± 0.022	n.d.
15	0.143 ± 0.031	n.d.
16	0.111*	2.593*
17	0.076*	0.253 ± 0.028
18	n.d.	0.245*
19	n.d.	0.616 ± 0.041
20	n.d.	5.765*
21	n.d.	0.616 ± 0.041
22	n.d.	0.712 ± 0.215
23	n.d.	0.377 ± 0.038
24	n.d.	0.149 ± 0.058
25	n.d.	0.024*
26	n.d.	0.003*
27	n.d.	0.007*
28**	0.12-0.27 (n.d.)	0.53-130.00 (20)

หมายเหตุ ตัวอย่างสุรากลั่นพื้นบ้านที่รับวิเคราะห์ผ่านศูนย์วิจัยการหมักฯ คณะเทคโนโลยี มหาวิทยาลัยขอนแก่น
n.d. : ตรวจไม่พบในช่วงเส้นตรงของกราฟมาตรฐานที่ใช้วิเคราะห์ หรือต่ำกว่าขีดจำกัดต่ำสุดของเครื่องมือวิเคราะห์
* : ไม่มีค่าเบี่ยงเบนมาตรฐาน เนื่องจากมีตัวอย่างจำกัด
** : ตัวอย่างสุรากลั่นที่ใช้ทำ Laboratory Correction Program ของกรมสรรพสามิตจาก 19 ห้องปฏิบัติการ (10 มิ.ย. 2547) และข้อมูล
ในวงเล็บตรวจวัดที่ห้องปฏิบัติการภาควิชาเคมี มหาวิทยาลัยขอนแก่น

(As³⁺, As⁵⁺) ในตัวอย่างเบียร์ที่จำหน่ายทั่วไป พบว่ามีปริมาณทั้งหมดอยู่ในช่วง 1.01-12.89 ng/mL สำหรับสุราที่กลั่นจากอ้อย (sugar-cane spirits) นั้น มีทองแดงและเหล็กปนอยู่ในช่วง 0.04-7.0 และ 0.01-0.78 mg/L ตามลำดับ นอกเหนือจากที่พบสารอินทรีย์จำพวกฟีนอลอีกหลายชนิด (Bettin et al., 2002) อย่างไรก็ตาม เท่าที่ได้ตรวจวิเคราะห์ Fe, Cu, Pb และ As ในไวน์ผลไม้และสุรากลั่นพื้นบ้านมาบ้างแล้วนั้น พบว่ามีปริมาณ (mg/L) ของ Fe (0.62-4.42), Cu (n.d.-0.68) และ Pb (n.d.-0.30) ในไวน์ผลไม้เป็นส่วนใหญ่ แต่ตรวจไม่พบเฉพาะตะกั่วในสุรากลั่น ส่วน As พบในปริมาณน้อย ๆ เท่านั้นทั้งในตัวอย่างไวน์ผลไม้ (0.26-0.56 g/L) และสุรากลั่น (n.d.-0.83 µg/L) (Suwamat et al., 2003)

อันที่จริงแล้วมีการส่งเสริมอาชีพของชุมชนในลักษณะนี้ในช่วง 4-5 ปีซ้อนหลังทำให้มีผลิตภัณฑ์ไวน์และสุรากลั่นจำหน่ายอย่างเสรีในท้องตลาด หรืองานเทศกาลต่าง ๆ ปัจจุบันนี้ปริมาณที่วางขายลดจำนวนลงค่อนข้างมาก ทั้งนี้เพราะมีปัจจัยหลายอย่าง ที่สำคัญปัญหาหนึ่ง คือผลิตภัณฑ์นั้นไม่ผ่านเกณฑ์มาตรฐานของ มอก. แม้ว่าผู้บริโภคจะยังไม่ประสบปัญหาโดยตรงก็ตาม จึงไม่ควรจำหน่ายอย่างเสรี ส่วนปัจจัยหลักที่น่าจะเป็นต้นเหตุของการปนเปื้อนโลหะหนักนั้น อาจเนื่องจากคุณภาพน้ำวัตถุดิบที่ใช้ การปนเปื้อนจากหม้อกลั่นหรือภาชนะต่าง ๆ ในขั้นตอนการผลิตเป็นต้น อย่างไรก็ตาม หากมีการควบคุมคุณภาพการผลิตให้ได้มาตรฐาน ก็อาจลดปัญหาการปนเปื้อนโลหะหนักเหล่านี้ลงได้

ดังนั้น การยุติหรือห้ามผลิตและจำหน่ายสุราค้ายคุณภาพจะเป็นทางเลือกสุดท้ายมากกว่า ถ้ายังต้องการขับเคลื่อนเศรษฐกิจของชุมชนด้วยสินค้าประเภทนี้ต่อไป แต่มิใช่เพื่อส่งเสริมสุขภาพอนามัยที่ดีของเยาวชนไทยในอนาคต วิถีทางที่คิโนคงต้องให้สื่อทั้งหลายช่วยกันรณรงค์ถึงคุณประโยชน์และโทษอันตรายของสุราอย่างต่อเนื่อง เพื่อเป็นการปลูก

จิตสำนึกที่ดีต่อผู้บริโภคหรือผู้ผลิตและจำหน่ายสิ่งเสพติดทั้งหลายภายใต้นโยบายห้ามจำหน่ายบุหรี่สุราแก่เด็กเยาวชนที่มีอายุต่ำกว่า 18 ปีอีกต่อไป

บรรณานุกรม

- ประดิษฐ์ ภูวณณา. (2546). ไวน์: ศาสตร์และศิลป์ หนังสือชุดความรู้สู่ประชาชน. พิมพ์ครั้งที่ 2 กรุงเทพฯ: สำนักพิมพ์มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์. 167 หน้า.
- ยุพกนิษฐ์ พ่วงวีระกุล. (2546). กระบวนการผลิตสาโทและปัจจัยวิกฤตในแต่ละขั้นตอนของการผลิต. เอกสารประกอบการอบรมเชิงปฏิบัติการ เรื่อง การผลิตและเทคนิคที่แม่นยำในการผลิตและการตรวจวิเคราะห์คุณภาพไวน์ผลไม้และสาโท ครั้งที่ 3 ระหว่างวันที่ 18-20 มิถุนายน 2546 คณะเทคโนโลยีมหาวิทยาลัยขอนแก่น.
- _____. (2547). "มองฝรั่ง...แล้วย้อนดูไทย ธุรกิจเหล้า น้ำเมาก็ต้องมีศาสตร์" จากสกริปพิเศษหน้าหนึ่ง หนังสือพิมพ์เดลินิวส์ ฉบับวันเสาร์ที่ 4 ธันวาคม พ.ศ. 2547 หน้า 3.
- _____. (2547). สำนักงานส่งเสริมวิสาหกิจขนาดกลางและขนาดย่อม. [Online] [Cited on 4 April 2004] Available from : http://www.sme.go.th/websme/lib_cheers.asp.
- AOAC Official Methods of Analysis. (1995)
- Onianwa, P.C., Adetola, I.G., Iwegbue, C.M.A., Ojo, M.F. and Tella, O.O. (1999). Trace heavy metals composition of some Nigerian beverages and food drinks. Food Chemistry. 66: 275-279.
- Martinez, A., Morales-Rubio, A., Cervera, M.L. and de la Guardia, M. (2001). Atomic fluorescence determination of total and inorganic

arsenic species in beer. *J. Anal. At. Spectrom.* 16: 762-766.

Bettin, S.M., Isique, W.D., Franco, D.W., Andersen, M.L., Knudsen, S. and Skibsted, L.H. (2002). Phenols and metals in sugar-cane spirits. Quantitative analysis and effect on radical formation and radical scavenging. *Eur Food Res Technol.* 215:169-175.

Suwamat, N., Phuvongpa, N., Danvirutai, P., Srijaranai, S. and Chanthai, S. (2003). Trace analysis of iron, copper, lead and arsenic in locally produced wines and distilled spirits. Abstracts in the 29th Congress on Science and Technology of Thailand. Golden Jubilee Convention Hall, Khon Kaen University, Khon Kaen, Thailand, Oct. 20-22, pp.105-6.



การทดสอบความถูกต้องของการวิเคราะห์กรดเบนโซอิก กรดซอร์บิก กรดซาลิซิลิก และซัคคารินในน้ำส้มเกล็ดหิมะด้วยวิธี HPLC/PDA

วิไล เส และ โสภิน บำเพ็ญทรัพย์¹

บทคัดย่อ

ศูนย์วิทยาศาสตร์การแพทย์ขอนแก่นได้ศึกษาและทดสอบความถูกต้องของการวิเคราะห์กรดเบนโซอิก กรดซอร์บิก กรดซาลิซิลิกและซัคคารินในน้ำส้มเกล็ดหิมะด้วยวิธี HPLC/PDA พบว่าเป็นวิธีที่เชื่อถือได้วิธีหนึ่ง โดยค่าความเข้มข้นต่ำสุดที่วิเคราะห์ได้ (LOD) ในการวิเคราะห์กรดเบนโซอิก กรดซอร์บิก กรดซาลิซิลิกและซัคคารินเท่ากับ 1.40, 1.80, 2.50, และ 3.15 มิลลิกรัมต่อกิโลกรัมตามลำดับ ค่าขีดจำกัดของการวัดเชิงปริมาณ (LOQ) เท่ากับ 10, 3, 6 และ 10 มิลลิกรัมต่อกิโลกรัมตามลำดับและช่วงความเป็นเส้นตรง (Linearity) ของการวิเคราะห์เท่ากับ 10-75, 3-80, 6-80 และ 10-75 มิลลิกรัมต่อกิโลกรัม ตามลำดับ จากการวิเคราะห์น้ำส้มเกล็ดหิมะจำนวน 109 ตัวอย่างซึ่งส่งตรวจโดยผู้ประกอบการ เพื่อขอขึ้นทะเบียนตำรับอาหารระหว่างเดือนธันวาคม 2546 - สิงหาคม 2547 พบกรดเบนโซอิก กรดซอร์บิกและซัคคารินร้อยละ 7.34, 3.67 และ 0.92 ตามลำดับ มีปริมาณอยู่ในช่วง 10.54 - 42, 3.45 - 27.14 และ 15.94 มิลลิกรัมต่อกิโลกรัมตามลำดับซึ่งอยู่ในเกณฑ์กำหนดตามประกาศกระทรวงสาธารณสุขฉบับที่ 214 (พ.ศ. 2543)

Abstract

A method validation for the determination of benzoic acid, sorbic acid, salicylic acid and saccharin in orange juice using HPLC/PDA was tested by the Regional Medical Science center Khon Kaen. The results showed that the method was reliable. The limits of detection (LOD) for benzoic acid, sorbic acid, salicylic acid and saccharin were 1.40, 1.80, 2.50 and 3.15 mg/kg, respectively. The limits of quantitation (LOQ) for benzoic acid sorbic acid, salicylic acid and saccharin were 10, 3, 6 and 10 mg/kg, respectively. The linearities were 10-75, 3-80, 6-80 and 10-75 mg/kg, respectively. One hundred and nine samples of orange juice from producer that were registered for food certificate during December 2003 to August 2004 were analysed using this method. Benzoic acid, sorbic acid and saccharin were found 7.34, 3.67 and 0.92 %, respectively. The contents of benzoic acid, sorbic acid and saccharin found were 10.54-42, 3.45-27 and 15.94 mg/kg, respectively. It can be concluded that all the analysed sample were conformed to the Ministry of public Health Notification No. 214 (B.E. 2543).

บทนำ

กรดเบนโซอิกและกรดซอร์บิกเป็นวัตถุกันเสียที่นิยมใช้ในอาหารทั่วไปเนื่องจากราคาไม่แพงและสามารถป้องกันการเน่าเสียได้ดี กรดเบนโซอิกมีประสิทธิภาพในการควบคุมยีสต์และราได้ดีค่าความเป็นกรด-ด่าง 2.5-4.0 ร่างกายสามารถแปรสภาพ (metabolize) กรดเบนโซอิกไปเป็น hippuric acid แล้วขับออกจากร่างกายได้ อย่างไรก็ตามความเป็นพิษของกรดเบนโซอิกคือทำให้ระคายเคืองต่อผิวหนังตาและเยื่อเมือก เมื่อได้รับในปริมาณสูงประมาณ 6 กรัมต่อน้ำหนักตัว 1 กิโลกรัมจะมีอาการคลื่นไส้ อาเจียน ปวดท้องและท้องเสีย องค์การอนามัยโลก (WHO) ได้กำหนดปริมาณที่ร่างกายรับได้ต่อวันโดยไม่เป็นอันตราย (Acceptable Daily Intake, ADI) ของกรดเบนโซอิก 0.5 มิลลิกรัมต่อน้ำหนักตัว 1 กิโลกรัมต่อวัน กรดซอร์บิกมีประสิทธิภาพสูงสุดในการควบคุมแบคทีเรียและยีสต์ที่ค่าความเป็นกรด-ด่าง 6.0-6.5 ร่างกายสามารถแปรสภาพกรดซอร์บิกไปเป็นสารที่คล้ายกับกรดไขมันแล้วขับออกจากร่างกายได้ องค์การอนามัยโลก (WHO) ได้กำหนดค่า ADI กรดซอร์บิก 2.5 มิลลิกรัมต่อน้ำหนักตัว 1 กิโลกรัมต่อวัน (สุชาติพิศ วิทย์-ชัยวัฒน์และปยุธา แสงวิรุฬห์, 2541)

ซัคคารินหรือซันทสกร มีลักษณะเป็นผลึกสีขาวมีชื่อทางเคมีว่า ออร์โทเบนโซอิลซัลไฟไมด์ เป็นวัตถุให้ความหวานแทนน้ำตาล ซึ่งมีความหวานมากกว่าน้ำตาลซูโครส 450-550 เท่าทั้งนี้ขึ้นอยู่กับว่าจะใช้ในรูปแบบ ซัคคารินหรือโซเดียมซัคคาริน นิยมใส่ในเครื่องดื่ม ผลไม้ดอง ยาสีฟัน น้ำยาล้างปากเป็นต้น ถ้ารับประทานวันละ 5-25 กรัมอาจทำให้เบื่ออาหาร คลื่นไส้ อาเจียน (กุลยา จันทอรุณ, 2533)

กรดซาลิซิลิก มีฤทธิ์ในการยับยั้งการเจริญเติบโตของเชื้อแบคทีเรียและเชื้อราบางชนิด ในอดีตเคยมีการใช้เป็นยาลดไข้ แก้ปวดและยาลดการอักเสบแต่เนื่องจากพบว่ามีความเป็นพิษต่อร่างกาย

มนุษย์มากจึงเลิกใช้เป็นยารับประทาน ปัจจุบันใช้เป็นส่วนผสมของยาทาแก้โรคผิวหนังบางชนิดและเป็นวัตถุกันเสียในเครื่องสำอาง กระทรวงสาธารณสุขได้ห้ามนำกรดซาลิซิลิกมาใช้ในการอาหารตามประกาศกระทรวงสาธารณสุขฉบับที่ 151 (พ.ศ. 2536)

น้ำส้มเกล็ดหิมะเป็นผลิตภัณฑ์จากน้ำส้มข้นซึ่งเป็นเครื่องดื่มที่ไม่สามารถผ่านความร้อนได้เนื่องจากมีผลทำให้กลิ่นรสเปลี่ยนไปและเกิดการตกตะกอนขึ้น จึงมีผลทำให้เครื่องดื่มปนเปื้อนด้วยจุลินทรีย์ที่หลากหลาย ถ้าต้องการเก็บไว้นานจึงจำเป็นที่จะต้องใช้วัตถุกันเสีย (สำนักงานคณะกรรมการอาหารและยา กระทรวงสาธารณสุข สถาบันวิจัยโภชนาการ มหาวิทยาลัยมหิดล, 2547)

ประกาศกระทรวงสาธารณสุข ฉบับที่ 214 (พ.ศ. 2543) เรื่องเครื่องดื่มในภาชนะบรรจุที่ปิดสนิทเป็นอาหารควบคุมเฉพาะ สำหรับเครื่องดื่มที่ทำจากผลไม้ พืชหรือผักให้ใช้กรดเบนโซอิกหรือกรดซอร์บิกหรือเกลือของกรดทั้งสองชนิดโดยคำนวณเป็นตัวกรดได้รวมกันได้ไม่เกิน 200 มิลลิกรัมต่อเครื่องดื่ม 1 กิโลกรัมส่วนวัตถุให้ความหวานแทนน้ำตาลใช้ได้ตามความเห็นชอบของคณะกรรมการอาหารและยา ในปีงบประมาณ 2547 ผู้บริโภคนิยมดื่มเครื่องดื่มรสหวานกันอย่างแพร่หลาย ผู้ประกอบการจึงผลิตน้ำส้มเกล็ดหิมะเพื่อจำหน่ายและส่งตรวจคุณภาพเพื่อขอขึ้นทะเบียนตำรับอาหารจำนวนมาก แต่การวิเคราะห์กรดเบนโซอิก กรดซอร์บิก กรดซาลิซิลิกและซัคคารินซึ่งเป็นส่วนหนึ่งของการตรวจคุณภาพเพื่อขอขึ้นทะเบียนตำรับอาหารและเครื่องดื่มที่ศูนย์วิทยาศาสตร์การแพทย์ขอนแก่นวิธีเดิมใช้วิธี Spectrophotometer ซึ่งจะตรวจเอกลักษณ์แล้วจึงวิเคราะห์หาปริมาณในรายการที่ตรวจพบ ซึ่งการวิเคราะห์สารดังกล่าวทำได้ครั้งละ 1 ชนิด มีขั้นตอนการเตรียมตัวอย่างที่ยุ่งยากและใช้เวลานานอีกทั้งใช้อิเทอร์ซึ่งเป็นสารเคมีที่เป็นอันตรายต่อสุขภาพของนักวิเคราะห์และสิ่งแวดล้อม ดังนั้นเพื่อแก้ไขปัญหา

ดังกล่าวศูนย์วิทยาศาสตร์ขอนแก่นจึงศึกษาและทดสอบวิธีวิเคราะห์ปริมาณกรดเบนโซอิก กรดซอร์บิก กรดซาลิซิลิกและซัคคารินในน้ำส้มเกล็ดหิมะด้วยวิธี high performance liquid chromatograph/photo diode array detector (HPLC/PDA) โดยคัดแปลงจากวิธีการวิเคราะห์ปริมาณ กรดเบนโซอิก กรดซอร์บิกและซัคคารินในผลไม้แปรรูปของวันทนีย์ ขำเลิศ (2535) และการวิเคราะห์กรดเบนโซอิก กรดซอร์บิก ในอาหารของสุรชาติพิทย์ วิทย์ชัยวุฒิ วงศ์และปุษยา แสงวิรุฬห์ (2541) เพื่อใช้ในการวิเคราะห์คุณภาพน้ำส้มเกล็ดหิมะและเครื่องดื่มน้ำผลไม้ที่ส่งตรวจเพื่อขอขึ้นทะเบียนสำหรับอาหารและเฝ้าระวังตามโครงการคุ้มครองผู้บริโภคของศูนย์วิทยาศาสตร์การแพทย์ขอนแก่นต่อไป

วัตถุดิบและวิธีการ

สารเคมีและสารมาตรฐาน

เมทานอล (AR grade), เมทานอล (HPLC grade), 0.01M แอมโมเนียมอะซิเตตบัฟเฟอร์ (pH 4.5-4.6) สารสกัดอะซิเตตบัฟเฟอร์ (0.01M แอมโมเนียมอะซิเตตบัฟเฟอร์ (pH 4.5-4.6) :เมทานอล (AR grade) 70:30), Carrez (ซังโปดัสเซียมเฮกซาไฮยาโนเฟอเรต 15 กรัม ละลายน้ำกลั่นปรับปริมาตรให้ครบ 100 มิลลิลิตร) Carrez II (ซังซิงค์อะซิเตต 23.0 กรัม ละลายในน้ำกลั่น เติมปรับปริมาตรให้ครบ 100 มิลลิลิตรด้วยน้ำกลั่น) สารมาตรฐานกรดเบนโซอิก กรดซอร์บิก กรดซาลิซิลิกและซัคคารินใช้ชนิด AR grade

เครื่องมือและอุปกรณ์

เครื่อง HPLC ยี่ห้อ Waters รุ่น 2690 เครื่องตรวจวัดชนิด photo diode array ยี่ห้อ Waters รุ่น 996 คอลัมน์ชนิด μ Bondapak C18 10 ไมโครเมตร (3.9 300 มิลลิเมตร) อ่างความถี่สูง (ultrasonic bath) กระดาษกรอง whatman No.1 เมมเบรนทำด้วย

ไนลอนมีรูพรุนขนาด 0.45 ไมโครเมตร กรวยกรองขวด ชมพู่ ขวดปริมาตรขนาด 50 และ 100 มิลลิลิตร

ตัวอย่าง

น้ำส้มเกล็ดหิมะจำนวน 109 ตัวอย่าง ส่งตรวจโดยผู้ประกอบการเพื่อขอขึ้นทะเบียนสำหรับอาหารระหว่างเดือนธันวาคม 2546 ถึง สิงหาคม 2547

วิธีวิเคราะห์

การเตรียมสารมาตรฐาน

เตรียมสารละลายมาตรฐานผสมของกรดเบนโซอิก กรดซอร์บิก กรดซาลิซิลิกและซัคคาริน ความเข้มข้น 1000 มิลลิกรัมต่อลิตร โดยชั่งมาชนิดละประมาณ 0.1000 กรัมจดน้ำหนักที่แน่นอน (ทศนิยม 4 ตำแหน่ง) ละลายด้วยเมทานอล (AR grade) 30 มิลลิลิตรและ 0.01M แอมโมเนียมอะซิเตตบัฟเฟอร์ (pH 4.5-4.6) 70 มิลลิลิตร ปรับปริมาตรให้ครบ 100 มิลลิลิตรด้วยสารสกัดอะซิเตตบัฟเฟอร์ เตรียมสารละลายมาตรฐานผสมความเข้มข้น 20 มิลลิกรัมต่อลิตร โดยเปิดสารละลายมาตรฐานผสมความเข้มข้น 1000 มิลลิกรัม 2 มิลลิลิตรลงในขวดปริมาตรขนาด 100 มิลลิลิตร ปรับปริมาตรให้ถึงขีดด้วยสารสกัดอะซิเตตบัฟเฟอร์ และเตรียมสารละลายมาตรฐานผสมความเข้มข้น 0.80, 2.0, 4.0, 6.0, และ 8.0 มิลลิกรัมต่อลิตร โดยเปิดสารละลายมาตรฐานผสม ความเข้มข้น 20 มิลลิกรัมต่อลิตรปริมาตร 2.0, 5.0, 10.0, 15.0, และ 20.0 มิลลิลิตรลงในขวดปริมาตรขนาด 50 มิลลิลิตรตามลำดับ ปรับปริมาตรให้ถึงขีดด้วยสารสกัดอะซิเตตบัฟเฟอร์กรองด้วยเมมเบรนที่มีรูพรุนขนาด 0.45 ไมโครเมตรจากนั้นฉีดเข้าเครื่อง high performance liquid chromatograph (HPLC)

การวิเคราะห์ด้วย HPLC

สภาวะเครื่อง HPLC: สารละลายเคลื่อนที่เป็นส่วนผสมของ เมทานอล (HPLC grade) และ 0.01M

แอมโมเนียมอะซิเตตบัพเฟอร์ (30:70) อัตราการไหลของสารละลายเคลื่อนที่ 1.00 มิลลิลิตรต่อนาที ปริมาตรที่ฉีด 20 ไมโครลิตร เวลาในการวิเคราะห์ต่อ 1 ตัวอย่าง 18 นาที วัดความยาวคลื่นในช่วง 200 ถึง 300 นาโนเมตร วัดพื้นที่ใต้กราฟที่ความยาวคลื่น 232 นาโนเมตร

การทดสอบประสิทธิภาพวิธี

ความเข้มข้นต่ำสุดที่วิเคราะห์ได้ (LOD) และขีดจำกัดของการวัดเชิงปริมาณ (LOQ) โดยคำนวณจาก regression line ของกราฟมาตรฐานทำตาม (Lough, 1992) ดังนี้

$$S_{y/x} = \left\{ \frac{\sum (Y_i - Y')^2}{n-2} \right\}^{1/2}$$

$$LOD = 3S_{y/x} / b$$

$$LOQ = 10S_{y/x} / b$$

b คือ ความชันของ regression line

Y_i คือ ค่าสัญญาณที่ได้จากการวิเคราะห์จริง

Y' คือ ค่าสัญญาณที่ได้จาก regression line ($Y = bx + c$)

ทดสอบความถูกต้อง ความแม่นยำของขีดจำกัดของการวัดเชิงปริมาณ (LOQ) ที่ได้จากการคำนวณตาม regression line และช่วงการวิเคราะห์ที่เป็นเส้นตรง (Linearity) โดยเติมสารมาตรฐานลงในตัวอย่างให้มีความเข้มข้นประมาณ 3, 6, 10, 20, 40, 60 และ 80 มิลลิกรัมต่อกิโลกรัม วิเคราะห์ในแต่ละระดับความเข้มข้นซ้ำ 7 ครั้ง นำค่าที่ได้มาคำนวณหาค่าเฉลี่ย (mean) ค่าเบี่ยงเบนมาตรฐาน (standard deviation, SD) ค่าเบี่ยงเบนมาตรฐานสัมพัทธ์ (relative standard deviation, %RSD) ค่าร้อยละการได้กลับคืน (% recovery) แล้วพิจารณาค่า LOQ โดยเทียบกับ Predicted Horwitz RSD (ทิพวรรณ นิ่งน้อย, 2543)

และพิจารณา Linearity จาก สัมประสิทธิ์สหสัมพันธ์ (correlation coefficient, R^2) จากกราฟความสัมพันธ์ของความเข้มข้นของสารมาตรฐานที่เดิมกับพื้นที่ใต้กราฟ (peak area) ที่วัดได้

การวิเคราะห์ตัวอย่าง

ขั้นตอนการวิเคราะห์: ชั่งตัวอย่างที่ผสมให้เข้ากันแล้วมาประมาณ 5 กรัม จดน้ำหนักที่แน่นอน (เทคนิค 4 ตำแหน่ง) ใส่ในขวดปริมาตรขนาด 50 มิลลิลิตรเติมสารสกัดอะซิเตตบัพเฟอร์ 10 มิลลิลิตรเติม Carrez I และ Carrez II อย่างละ 1 มิลลิลิตรแล้วปรับปริมาตรให้ครบ 50 มิลลิลิตรด้วยสารสกัดอะซิเตตบัพเฟอร์ เขย่าให้เข้ากัน ตั้งไว้ให้ตกตะกอนประมาณ 15 นาที กรองผ่านกระดาษกรอง what man No.1 แล้วกรองซ้ำด้วยเมมเบรนทำด้วยไนลอนมีรูพรุนขนาด 0.45 ไมโครเมตร แล้ววิเคราะห์ด้วยเครื่อง HPLC ตามสภาวะการทดลองข้างต้น

การคำนวณ

ปริมาณกรดเบนโซอิก กรดซอร์บิก กรดซาลิซิลิกหรือซัคคาริน (มิลลิกรัมต่อกิโลกรัม)

$$= 50 \times C / W$$

เมื่อ C คือความเข้มข้นที่วัดได้จากกราฟมาตรฐาน (ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร)

W คือน้ำหนักของตัวอย่าง (กรัม)

การตรวจยืนยัน (Confirmation method) จะเปรียบเทียบสเปกตรัม (Spectrum) ของสารละลายตัวอย่างและสารละลายมาตรฐาน

ผลการทดลอง

จากการสร้างกราฟมาตรฐานของสารมาตรฐานทั้ง 4 ชนิดตามช่วงความเข้มข้นข้างต้นได้ค่า R^2 อยู่ระหว่าง 0.9990-0.9999 เมื่อนำความเข้มข้นและค่าพื้นที่ใต้กราฟ (peak area) ของกรดเบนโซอิก มาหาความสัมพันธ์ได้เท่ากับ $Y = 65411x - 4113.1$

เมื่อ Y คือ พื้นที่ใต้กราฟ
x คือ ความเข้มข้น (มิลลิกรัมต่อกิโลกรัม)
ถ้า Y' คือ พื้นที่ใต้กราฟที่ระดับความเข้มข้นต่างๆที่คำนวณได้จากสมการข้างต้น
เมื่อนำความสัมพันธ์ที่ได้มาหาค่า (Yi - Y')² ได้ผลดังแสดงในตารางที่ 1

ตารางที่ 1 แสดงค่า (Yi - Y')² ในการวิเคราะห์กรดเบนโซอิก

Conc (µg/ml) (xi)	peak area (Yi)	Y' = 65411x - 4113.1	(Yi - Y') ²
0.8136	49046	49105.29	3515.30
2.034	130040	128932.90	1225727.98
4.069	259447	262044.30	674579.51
6.5088	424247	421634.02	6827680.16
8.136	527012	528070.80	1121057.44

หาค่า LODและ LOQ โดยคำนวณจาก regression line ดังนี้

$$S_{y/x} = \left\{ \frac{\sum (Y_i - Y')^2}{n-2} \right\}^{1/2} = 2303.89$$
$$LOD = 3S_{y/x} / b = 3 \times 2303.89 / 65411 = 0.1057 \text{ มิลลิกรัมต่อลิตร}$$
$$LOQ = 10S_{y/x} / b = 10 \times 2303.89 / 65411 = 0.3522 \text{ มิลลิกรัมต่อลิตร}$$

ในขั้นตอนการวิเคราะห์ข้างต้นจะชั่งตัวอย่างมาประมาณ 5 กรัมแล้วปรับปริมาตรสุดท้ายเป็น 50 มิลลิลิตร ดังนั้นจะได้ค่า LODและ LOQ ในการวิเคราะห์กรดเบนโซอิกเท่ากับ 1.06 และ 3.52 มิลลิกรัมต่อกิโลกรัม ตามลำดับ สำหรับการหาค่า LODและ LOQ ในการวิเคราะห์กรดซอร์บิก กรดซาลิซิลิกและซัคคารินทำในทำนองเดียวกันได้ค่า LOD เท่ากับ 0.7, 1.84 และ 3.23 มิลลิกรัมต่อกิโลกรัม ตามลำดับและ LOQ เท่ากับ 2.32, 6.12 และ 10.77 มิลลิกรัมต่อกิโลกรัม ตามลำดับ ดังแสดงในตารางที่ 2

ตารางที่ 2 แสดงค่า LODและ LOQ ในการวิเคราะห์กรดเบนโซอิก กรดซอร์บิก กรดซาลิซิลิกและซัคคาริน

ชนิดของสาร	สมการความสัมพันธ์	R ²	LOD (mg/Kg)	LOQ (mg/Kg)
กรดเบนโซอิก	Y = 65411x - 4113.1	0.9999	1.06	3.52
กรดซอร์บิก	Y = 84345x - 4777.5	1.0	0.70	2.32
กรดซาลิซิลิก	Y = 33924x + 360.7	0.999	1.84	6.12
ซัคคาริน	Y = 40211x - 5659.5	0.9996	3.23	10.77

ผลการวิเคราะห์ตัวอย่างน้ำส้มเกล็ดหิมะที่เติมสารมาตรฐานกรดเบนโซอิก กรดซอร์บิก กรดซาลิซิลิกและซัคคารินลงในตัวอย่างให้มีความเข้มข้นประมาณ 3-80 มิลลิกรัมต่อกิโลกรัม วิเคราะห์ในแต่ละความเข้มข้นซ้ำ 7 ครั้ง ได้ค่าเบี่ยงเบนมาตรฐานสัมพัทธ์ในการวิเคราะห์กรดเบนโซอิก กรดซอร์บิก กรดซาลิซิลิกและซัคคารินเท่ากับ 0.36-5.99, 0.72-3.25, 1.55-4.03 และ 1.43-5.50 ตามลำดับ ค่าร้อยละการได้กลับคืนเท่ากับ 68.87-107.04, 91.12-102.22, 93.44-101.68 ตามลำดับดังแสดงในตารางที่ 3-6 และโครมาโทแกรมการวิเคราะห์ตัวอย่างน้ำส้มเกล็ดหิมะที่เติมสารมาตรฐานกรดเบนโซอิก กรดซอร์บิก กรดซาลิซิลิกและซัคคารินดังแสดงในรูปที่ 1

เมื่อสร้างกราฟความสัมพันธ์ของความเข้มข้นของสารมาตรฐานที่เติมกับพื้นที่ใต้กราฟ

ของกรดเบนโซอิกที่ความเข้มข้น 10.04-75.54 มิลลิกรัมต่อกิโลกรัม กรดซอร์บิกที่ความเข้มข้น 3.04-79.22 กรดซาลิซิลิกที่ความเข้มข้น 6.22- 80.31 มิลลิกรัมต่อกิโลกรัมและ ซัคคารินที่ความเข้มข้น 10.04-75.54 มิลลิกรัมต่อกิโลกรัม ได้ค่า R^2 0.9991-0.9999 ดังตารางที่ 7

จากการวิเคราะห์น้ำส้มเกล็ดหิมะจำนวน 109 ตัวอย่างที่ส่งตรวจโดยผู้ประกอบการ ปรากฏว่าพบกรดเบนโซอิกจำนวน 8 ตัวอย่าง (คิดเป็น 7.34%) มีปริมาณในช่วง 10.54-42.00 มิลลิกรัมต่อกิโลกรัม กรดซอร์บิกจำนวน 4 ตัวอย่าง (คิดเป็น 3.67%) มีปริมาณอยู่ในช่วง 3.45-27.14 มิลลิกรัมต่อกิโลกรัม ซัคคารินจำนวน 1 ตัวอย่าง (คิดเป็น 0.92 %) ในปริมาณ 15.94 มิลลิกรัมต่อกิโลกรัมและตรวจไม่พบกรดซาลิซิลิก

ตารางที่ 3 แสดงผลการทดสอบประสิทธิภาพวิธีของการวิเคราะห์กรดเบนโซอิก

ปริมาณที่เติม (mg/Kg)	ปริมาณที่วัดได้ (mean±SD), n =7	%RSD	% recovery
3.18	2.19 ± 0.10	4.57	68.87
6.30	4.60 ± 0.11	2.39	73.02
10.04	10.19 ± 0.61	5.99	101.49
19.92	20.74 ± 0.23	1.11	104.12
39.25	41.06 ± 0.46	1.12	104.61
57.75	61.74 ± 0.65	1.05	106.91
75.54	80.86 ± 0.29	0.36	107.04

ตารางที่ 4 แสดงผลการทดสอบประสิทธิภาพวิธีของการวิเคราะห์กรดซอร์บิค

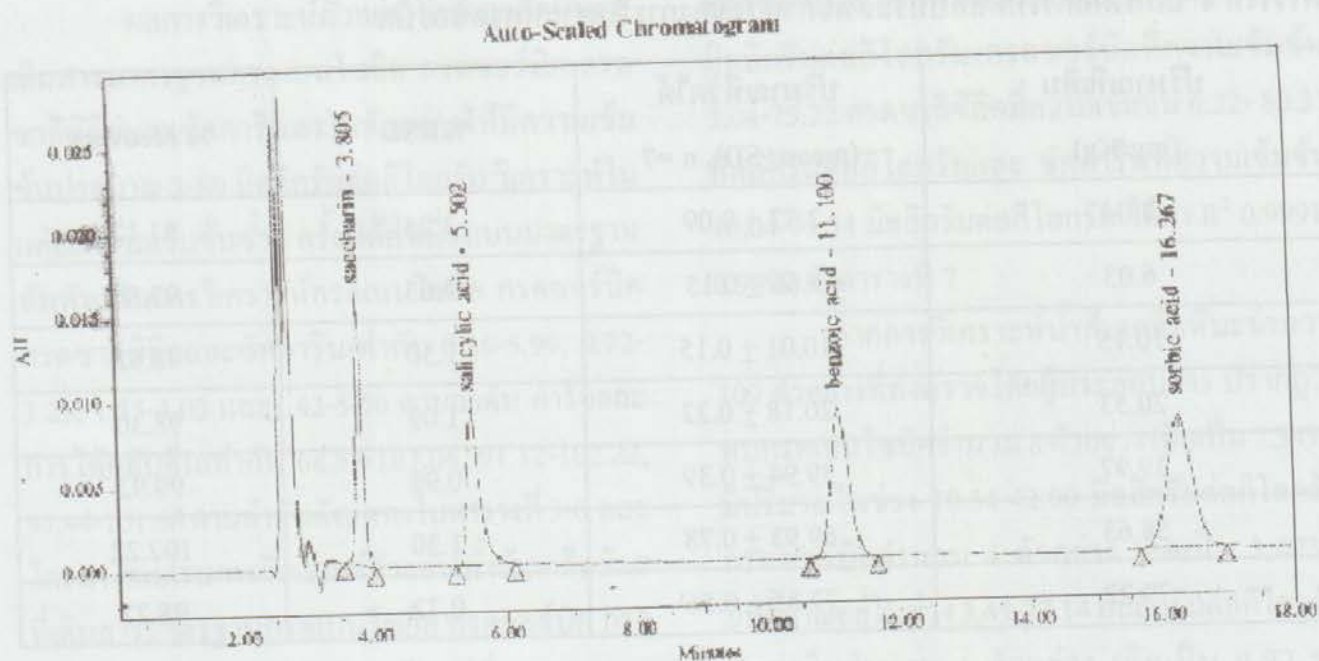
ปริมาณที่เติม (mg/Kg)	ปริมาณที่วัดได้ (mean±SD), n =7	%RSD	% recovery
3.04	2.77 ± 0.09	3.25	91.12
6.03	5.66 ± 0.15	2.65	93.86
10.15	10.01 ± 0.15	1.50	98.62
20.53	20.18 ± 0.22	1.09	98.30
39.97	39.94 ± 0.39	0.98	99.92
58.63	59.93 ± 0.78	1.30	102.22
79.22	77.85 ± 0.56	0.72	98.27

ตารางที่ 5 แสดงผลการทดสอบประสิทธิภาพวิธีของการวิเคราะห์กรดซาลิซิลิก

ปริมาณที่เติม (mg/Kg)	ปริมาณที่วัดได้ (mean±SD), n =7	%RSD	% recovery
6.22	5.95 ± 0.15	2.52	95.66
8.23	7.69 ± 0.31	4.03	93.44
11.81	10.71 ± 0.44	4.11	90.69
20.25	20.59 ± 0.32	1.55	101.68
39.42	39.99 ± 0.83	2.08	101.45
59.43	59.60 ± 1.06	1.78	100.29
80.31	75.66 ± 1.21	1.60	94.21

ตารางที่ 6 แสดงผลการทดสอบประสิทธิภาพวิธีของการวิเคราะห์ซัคคาริน

ปริมาณที่เติม (mg/Kg)	ปริมาณที่วัดได้ (mean±SD), n =7	%RSD	% recovery
6.17	4.02 ± 0.07	1.74	65.15
8.16	5.67 ± 0.09	1.59	69.49
10.04	8.36 ± 0.46	5.50	83.27
19.92	18.09 ± 0.34	1.88	90.81
39.25	38.46 ± 0.55	1.43	97.99
57.75	60.72 ± 1.22	2.01	105.14
75.54	79.34 ± 1.60	2.02	105.03



รูปที่ 1 แสดงโครมาโทแกรมผลการวิเคราะห์ตัวอย่างน้ำส้มเกล็ดหิมะที่เติมสารมาตรฐานกรดเบนโซอิก กรดซอร์บิก กรดซาลิซิลิกและซัคคารินความเข้มข้นประมาณ 20 มิลลิกรัมต่อกิโลกรัม

ตารางที่ 7 แสดงความสัมพันธ์ของปริมาณสารที่เติมกับสัญญาณที่วัดได้

ชนิดของสาร	สมการความสัมพันธ์	R^2
กรดเบนโซอิก	$y = 7075.9x - 8989.8$	0.9999
กรดซอร์บิก	$y = 9824.9x - 5096.6$	0.9997
กรดซาลิซิลิก	$y = 4756.1x - 3350.1$	0.9991
ซัคคาริน	$y = 3717x - 10703$	0.9993

สรุปผลและวิจารณ์

การวิเคราะห์กรดเบนโซอิก กรดซอร์บิก กรดซาลิซิลิกและซัคคารินด้วยวิธี HPLC/PDA ตามรายละเอียดข้างต้น มีค่าความเข้มข้นต่ำสุดที่วิเคราะห์ได้ จากการคำนวณตาม regression line เท่ากับ 1.06 0.70 1.84 และ 3.23 มิลลิกรัมต่อกิโลกรัม ตามลำดับ ค่าร้อยละการได้กลับคืนของกรดเบนโซอิก กรดซอร์บิก กรดซาลิซิลิกและซัคคาริน ที่ระดับความเข้มข้น 10.04, 3.04, 6.22 และ 10.04 มิลลิกรัมต่อกิโลกรัม

ตามลำดับ เท่ากับ 101.49, 91.12, 95.66 และ 83.27 ตามลำดับ ค่าเบี่ยงเบนมาตรฐานสัมพัทธ์เท่ากับร้อยละ 5.99, 3.25, 2.52, และ 5.50 ซึ่งสอดคล้องกับ Predicted Horwitz คือที่ระดับความเข้มข้น 100 ไมโครกรัมต่อกิโลกรัมถึง 100 มิลลิกรัมต่อกิโลกรัม ร้อยละการได้กลับคืนเท่ากับ 80-110 ค่าเบี่ยงเบนมาตรฐานสัมพัทธ์ไม่เกินร้อยละ 10.6 ตามลำดับ (ทิพวรรณ นิ่งน้อย, 2543) ดังนั้นขีดจำกัดของการวัดเชิงปริมาณของกรดเบนโซอิก กรดซอร์บิก กรดซาลิ

ซัลลิกและซัลคาร์บอนเท่ากับ 10, 3, 6 และ 10 มิลลิกรัม ต่อ กิโลกรัมตามลำดับ เมื่อวิเคราะห์กรดเบนโซอิก กรดซอร์บิก กรดซาลิซิลิกและซัลคาร์บอนที่ความเข้มข้น 10.04-75.54, 3.04-79.22, 6.22-80.31 และ 10.04-75.54 มิลลิกรัมต่อ กิโลกรัมโดยมีค่าร้อยละการได้กลับคืนเท่ากับ 101.49-107.04, 91.12-102.22, 95.66-101.68 และ 83.27-105.14 ตามลำดับ ค่าเบี่ยงเบนมาตรฐานสัมพัทธ์เท่ากับร้อยละ 0.36-5.66 และได้ค่า R^2 0.9991-0.9999 ดังตารางที่ 7 ดังนั้นการวิเคราะห์กรดเบนโซอิก กรดซอร์บิก กรดซาลิซิลิกและซัลคาร์บอนด้วยวิธีนี้มีและช่วงความเป็นเส้นตรงของการวิเคราะห์เท่ากับ 10-75, 3-80, 6-80 และ 10-75 มิลลิกรัมต่อ กิโลกรัม จากข้อมูลข้างต้นสรุปได้ว่าการวิเคราะห์กรดเบนโซอิก กรดซอร์บิก กรดซาลิซิลิกและซัลคาร์บอนวิธีนี้เป็นวิธีที่มีความน่าเชื่อถือวิธีหนึ่ง นอกจากนี้ยังเป็นวิธีที่มีขั้นตอนไม่ยุ่งยากซับซ้อน ไม่ใช้อิทธิพลซึ่งทำให้ลดการใช้สารเคมีที่เป็นอันตรายต่อสุขภาพนักวิเคราะห์และสิ่ง แวดล้อมสามารถวิเคราะห์ได้เร็วขึ้นเพราะสามารถตรวจทั้งเอกลักษณ์และปริมาณของสารทั้ง 4 ชนิดได้ในครั้งเดียว ซึ่งวิธีเดิมจะตรวจเอกลักษณ์แล้วจึงวิเคราะห์หาปริมาณในรายการที่ตรวจพบซึ่งตรวจสารดัง กล่าวได้ครั้งละ 1 ชนิด จากการวิเคราะห์น้ำส้มเกล็ดหิมะจำนวน 109 ตัวอย่างที่ส่งตรวจโดยผู้ประกอบการเพื่อขอขึ้นทะเบียนตำรับอาหาร ปรากฏว่าพบกรดเบนโซอิก กรดซอร์บิกและซัลคาร์บอนร้อยละ 7.34, 3.67, 0.92 ซึ่งมีปริมาณในช่วง 10.54-42.00, 3.45-27.14 และ 15.94 มิลลิกรัมต่อ กิโลกรัมตามลำดับและตรวจไม่พบกรดซาลิซิลิก ซึ่งปริมาณสารที่ตรวจพบอยู่ในเกณฑ์กำหนดตามประกาศกระทรวงสาธารณสุขและมีปริมาณค่อนข้างน้อยทั้งนี้อาจเนื่องจากเป็นตัวอย่างที่ส่งตรวจเพื่อขอขึ้นทะเบียนตำรับอาหาร ผู้ประกอบการอาจเกรงว่าจะมีปริมาณเกินเกณฑ์มาตรฐานซึ่งหน่วยงานที่เกี่ยวข้องต้องเฝ้าระวังต่อไป

กิตติกรรมประกาศ

ขอขอบคุณเลขาธิการหญิงลัญจนา ลือประเสริฐ ผู้อำนวยการศูนย์วิทยาศาสตร์การแพทย์ขอนแก่น และคุณน้อย ทองสกุลพานิชย์ ที่สนับสนุนการวิจัยครั้งนี้ ตลอดจนเจ้าหน้าที่งานอาหารกลุ่มคุ้มครองผู้บริโภคด้านสาธารณสุขที่ให้ความร่วมมือเป็นอย่างดี

เอกสารอ้างอิง

- กุลยา จันทอรุณ. (2533). สารเคมีและวัตถุเจือปนอาหาร. ตำราเอกสารวิชาการฉบับที่ 35 ภาควิชาพัฒนาตำรา และเอกสารวิชาการ หน่วยศึกษานิเทศ กรรมการฝึกหัดครู:58
- วันทนีย์ จำเลิศ. (2535). การวิเคราะห์ปริมาณ กรดเบนโซอิก กรดซอร์บิกและซัลคาร์บอนในผลไม้แปรรูป. วารสารกรมวิทยาศาสตร์การแพทย์. 34(1):31-36.
- สุชาติพิทย์ วิทย์ชัยวุฒิวังศ์และปุษยา แสงวิรุพห์. (2541). กรดเบนโซอิกและ กรดซอร์บิกในอาหารส่งออก. วารสารกรมวิทยาศาสตร์การแพทย์. 40(4):461-469.
- ส่วนพัฒนามาตรฐานอาหารและสนับสนุนการค้ากับดูแล กองควบคุมอาหาร สำนักงานคณะกรรมการอาหารและยา. (2545). ประกาศกระทรวงสาธารณสุข (ฉบับที่ 214) พ.ศ. 2543 เรื่อง เครื่องดื่มในภาชนะบรรจุปิดสนิท และ ประกาศกระทรวงสาธารณสุข (ฉบับที่ 151) พ.ศ. 2536 กำหนดให้กรดซาลิซิลิกเป็นวัตถุห้ามใช้ในอาหาร. พระราชบัญญัติอาหาร พ.ศ. 2522 พร้อมกฎกระทรวงและประกาศกระทรวงสาธารณสุข:185-358.
- ทิพวรรณ นิ่งน้อย. (2543). A Guide to Method Validation. กองอาหาร กรมวิทยาศาสตร์การแพทย์:1-7.

ชนิด และการครอบครองพืชอาศัยของรา วิเอ มายคอร์ไรซา ในบริเวณดินเค็มของจังหวัดอุบลราชธานี

Species and Host Colonization of VA Mycorrhizal Fungi in Saline Soil Area of Ubonratchathani Province

โสภณ บุญลือ¹, ชริดา ปุกหุด¹ และ พูนพิไล สุวรรณฤทธิ์²

บทคัดย่อ

ทำการสำรวจพื้นที่ๆ มีรายงานว่าเป็นดินเค็มในเขต อ. เขื่องใน อ. ตระการพืชผล อ. ม่วงสามสิบ และ อ. เมือง จ. อุบลราชธานี โดยเก็บตัวอย่างพืช และดินทั้งสิ้น 71 ตัวอย่าง พบว่า พื้นที่ ๆ ต่างกันจะมีจำนวนสปอร์ทั้งหมดของเชื้อรา วิเอ มายคอร์ไรซา ต่อดิน 1 กรัม และความหนาแน่นของการเข้าอยู่อาศัยในรากพืชของเชื้อราแตกต่างกัน และพบว่าชนิดของพืชอาศัยมีผลต่อความแตกต่างของจำนวนสปอร์ทั้งหมดในดิน ส่วนความเค็มของดินนั้น พบว่าความเค็มของดินไม่ได้มีผลต่อจำนวนสปอร์ของเชื้อราวิเอ มายคอร์ไรซา กล่าวคือยังคงพบสปอร์เชื้อราในปริมาณมาก แม้ว่าความเค็มของดินจะมีปริมาณสูง ซึ่งชี้ให้เห็นว่า เชื้อราแต่ละชนิด มีการปรับตัวของมัน ให้เจริญในสภาพดินเค็มในระดับต่าง ๆ ได้แตกต่างกัน ทำการแยกสปอร์เชื้อรา วิเอ มายคอร์ไรซา จำนวน 81 กลุ่ม โดยอาศัยลักษณะทางสัณฐานวิทยาของสปอร์ แล้วนำไปเพิ่มปริมาณ ด้วยเทคนิคการเพิ่มปริมาณในกระถาง (pot culture technique) โดยใช้ข้าวโพดเป็นพืชอาศัย ผลพบว่าสามารถเพิ่มปริมาณเชื้อราได้ทั้งหมด 37 กลุ่ม และ จัดจำแนกชนิดได้ 19 สปีชีส์ (species) คือ *Acaulospora longula*, *A. mellea*, *A. nicolsonii*, *A. rehmi*, *A. scrobiculata*, *Entrophospora colombiana*, *E. schenckii*, *Gigaspora* sp. No.1, *Gigaspora* sp. No.2, *Gigaspora* sp. No.3, *Glomus ambisporum*, *Gl. dimorphicum*, *Gl. glomerulatum*, *Gl. multicaulis*, *Gl. scintillans*, *Glomus* sp. No.1, *Scutellospora calospora*, *Sc. dipapillosa* และ *Sc. heterogama*.

Abstract

The various areas of saline soil in Ubonratchathani province, such as Amphur Khueangnai, Amphur Tragranpuadpon, Amphur Muangsamsip and Amphur Muang were surveyed. The differences of total spore number per gram of soil and percentage of root colonization of VA mycorrhizal fungi were observed from seventy-one soil samples. In addition, the total spore member was effected by species of host plant. Whereas, the salinity of soil did not effect the spore number. As a result, the spore number was noticeably highly observed although the soil salinity was quite high. This indicates the adaptation of each fungal species to their growth at various salinity. VA mycorrhizal spores of eighty-one groups were isolated using morphological

¹ภาควิชาวิทยาศาสตร์ชีวภาพ คณะวิทยาศาสตร์ มหาวิทยาลัยอุบลราชธานี อ.วารินชำราบ จ.อุบลราชธานี 34190

²ภาควิชาจุลชีววิทยา คณะวิทยาศาสตร์ มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์ จตุจักร กรุงเทพฯ 10900

characteristics and subsequently multiplied by pot culture technique with corn as host plant. The results shown that thirty-seven of fungal groups could be multiplied and identified as nineteen species, namely, *Acaulospora longula*, *A. mellea*, *A. nicolsonii*, *A. rehmi*, *A. scrobiculata*, *Entrophospora colombiana*, *E. schenckii*, *Gigaspora* sp. No.1, *Gigaspora* sp. No.2, *Gigaspora* sp. No.3, *Glomus ambisporum*, *Gl. dimorphicum*, *Gl. glomerulatum*, *Gl. multicaulis*, *Gl. scintillans*, *Glomus* sp. No.1, *Scutellospora calospora*, *Sc. dipapillosa* and *Sc. heterogama*.

บทนำ

เชื้อราวิเอ มายคอร์ไรซาเป็นเชื้อราที่อาศัยอยู่ร่วมกับรากพืช โดยมีความสัมพันธ์แบบเอื้ออำนวย ประโยชน์ซึ่งกันและกัน โดยช่วยเพิ่มความสามารถในการดูดซับธาตุอาหารของพืช โดยเฉพาะอย่างยิ่งธาตุฟอสฟอรัส ซึ่งมักถูกตรึงอยู่ในดินเขตร้อน ในรูปที่ไม่ละลายน้ำ เชื้อรานี้จะเปลี่ยนฟอสฟอรัสที่อยู่ในรูปดังกล่าวให้อยู่ในรูปที่ละลายน้ำได้ เพื่อให้พืชนำไปใช้ (Sieverding, 1991) นอกจากนี้ยังสามารถช่วยให้พืชทนต่อความแห้งแล้ง ความเค็ม (Bethlenfalvay and Linderman, 1992) และช่วยให้พืชต้านทานต่อโรคพืชได้ (Powell and Bagyaraj, 1984)

ภาคตะวันออกเฉียงเหนือของประเทศไทยสามารถพบดินเค็มได้ในบางพื้นที่ ซึ่งมีประมาณ 17.8 ล้านไร่ หรือคิดเป็นร้อยละ 17 ของพื้นที่ โดยสามารถพบพื้นที่ดินเค็มได้ ในจังหวัดนครราชสีมา ขอนแก่น กาฬสินธุ์ มหาสารคาม ชัยภูมิ บุรีรัมย์ สุรินทร์ ศรีสะเกษ ยโสธร อุบลราชธานี สกลนคร หนองคาย อุดรธานี และ นครพนม (พรณี รุ่งแสงจันทร์ และคณะ, 2536) ซึ่งดินเค็มเหล่านี้มีปัญหาดต่อการปลูกพืชมาก โดยทำให้ผลผลิตของพืชลดต่ำลง (Epstien, 1978) แต่เนื่องจากมีรายงานว่าเชื้อราวิเอ มายคอร์ไรซา มีความสามารถในการทำให้พืชทนต่อสภาพดินเค็มได้ โดยพบว่า พืชที่มีเชื้อราวิเอ มายคอร์ไรซาอาศัยอยู่ จะลดปริมาณการดูดดึงปริมาณโซเดียม ในขณะที่ยังคงมีการดูดดึงโพแทสเซียม และฟอสฟอรัสในปริมาณเท่าเดิม (Rozema et al., 1986) Yano-Melo et al. (2003) รายงานว่า เชื้อรา

Acaulospora scrobiculata, *Glomus clarum* และ *Gl. etunicatum* ช่วยส่งเสริมการดูดซับธาตุอาหาร และส่งเสริมการเจริญให้กับต้นกล้วยที่ปลูกในสภาพดินเค็ม สูงกว่ากล้วยที่ไม่ได้ปลูกเชื้อรามายคอร์ไรซา โดยตรวจพบน้ำหนักแห้งของราก ลำต้น และพื้นที่ใบในปริมาณที่สูงกว่า นอกจากนี้ Tian et al. (2004) ทำการทดสอบเปรียบเทียบความสามารถของเชื้อราอาร์บัสคูลาร์ มายคอร์ไรซา ชนิดที่แยกได้จากดินเค็ม และดินไม่เค็ม ต่อการทนเค็มของต้นฝ้าย โดยทำการแยกเชื้อ *Gl. mosseae* จากพื้นที่ดินไม่เค็ม (GM1) และดินเค็ม (GM2) แล้วปลูกลงในฝ้าย ซึ่งมีการใส่เกลือโซเดียมคลอไรด์ (NaCl) ที่ระดับความเข้มข้น 0-3 กรัม/กิโลกรัม พบว่าฝ้ายที่ปลูกเชื้อรามายคอร์ไรซาชนิด GM1 มีมวลชีวภาพ และการดูดซับฟอสฟอรัสสูงกว่าฝ้ายที่ปลูกเชื้อรามายคอร์ไรซาชนิด GM2 ในขณะที่การดูดซับโซเดียม และ คลอไรด์ของฝ้ายที่ปลูกเชื้อชนิด GM2 มีปริมาณสูงกว่าฝ้ายที่ปลูกเชื้อชนิด GM1 แสดงให้เห็นว่ากลไกในการป้องกันพืชจากความเค็มขึ้นอยู่กับประสิทธิภาพของเชื้อรามายคอร์ไรซาแต่ละชนิด

จากรายงานดังกล่าว จะเห็นว่าเชื้อราแต่ละชนิดมีประสิทธิภาพในการส่งเสริมการเจริญของพืชได้แตกต่างกัน ซึ่งการนำเชื้อราวิเอ มายคอร์ไรซาไปใช้ประโยชน์นั้น มีความจำเป็นต้องทราบชนิดของเชื้อราด้วย ดังนั้นการศึกษานี้ของเชื้อราวิเอ มายคอร์ไรซา ในบริเวณดินเค็มในงานวิจัยนี้ จึงมีความจำเป็นอย่างยิ่ง เพื่อใช้เป็นข้อมูลพื้นฐานในการนำเชื้อราวิเอ มายคอร์ไรซานี้ ไปประยุกต์ใช้ในการเพิ่มผลผลิตของพืชที่ปลูกในดินเค็มในอนาคต

อุปกรณ์และวิธีการ

การสำรวจเชื้อรา วิเอ มายคอร์ไรซา ในดินเค็มแหล่งต่าง ๆ

ทำการสำรวจและเก็บตัวอย่างรากพืชและดินที่อยู่บริเวณรอบ ๆ รากพืช ซึ่งเจริญในแหล่งดินเค็ม ของ จ. อุบลราชธานี ได้แก่ อ. ม่วงสามสิบ อ. เขื่อนใน อ. เมือง และ อ. ตระการพืชผล โดยชุดดินรอบ ๆ รากต้นพืชที่เจริญในบริเวณดินเค็มในอำเภอดังกล่าว นำทั้งรากและดินรอบ ๆ รากใส่ในถุงพลาสติกสำหรับเก็บตัวอย่าง และนำมาศึกษาในห้องปฏิบัติการต่อไป

การตรวจนับสปอร์ของเชื้อรา วิเอ มายคอร์ไรซา ในดินเค็มแหล่งต่าง ๆ

นำตัวอย่างดินมาผึ่งให้แห้งที่อุณหภูมิห้องในที่ร่ม บนกระดาษหนังสือพิมพ์ โดยเก็บเศษหิน รากไม้ และเศษพืชต่าง ๆ ออกให้หมด แล้วนำมาบดให้เล็กลง จากนั้นนำมาแยกสปอร์ โดยวิธีซึ่งดัดแปลงจากวิธีปั่นเหวี่ยงด้วยน้ำตาลซูโครส (sucrose centrifuge) ของ Daniels and Skipper (1982) โดยชั่งตัวอย่างดินจำนวน 5 กรัม ใส่หลอดเข็นตริฟุจ ทำให้เป็นสารแขวนลอย (suspension) ด้วยน้ำกลั่น แล้วนำไปหมุนเหวี่ยงด้วยเครื่องหมุนเหวี่ยงแบบ horizontal rotor เป็นเวลา 5 นาที ที่ความเร็ว 4,000 รอบต่อนาที เทของเหลวที่อยู่ส่วนบนทิ้ง โดยหมุนหลอดขณะที่ยกขึ้น แล้วเติมสารละลายน้ำตาลซูโครส ความเข้มข้น 50 เปอร์เซ็นต์ ทำให้เป็นสารแขวนลอยอีกครั้ง แล้วนำไปหมุนเหวี่ยง นาน 1 นาที ที่ความเร็ว 3,000 รอบต่อนาที รินของเหลวส่วนบนซึ่งมีสปอร์อยู่ ลงบนกระดาษกรองที่มีรูขนาด 45 ไมครอน ล้างน้ำตาลออกด้วยน้ำกลั่น ถ่ายสปอร์ลงบนกระดาษกรองที่ขีดเส้นขนานเป็นช่องห่างกัน 0.5 เซนติเมตร วางกระดาษกรองที่มีสปอร์อยู่ ลงบนจานเลี้ยงเชื้อ แล้วนำไปตรวจนับสปอร์ภายใต้กล้องจุลทรรศน์แบบสามมิติ (stereoscopic microscope) แต่ละตัวอย่างนับอย่างน้อย 3 ซ้ำ

การตรวจสอบการเข้าอยู่อาศัยของเชื้อรา วิเอ มายคอร์ไรซา ในรากพืช ที่เจริญในดินเค็มแหล่งต่าง ๆ

นำรากตัวอย่างพืชที่เก็บจากดินเค็มแหล่งต่าง ๆ มาตรวจสอบการเข้าอยู่อาศัยของเชื้อรา วิเอ มายคอร์ไรซา โดยตัดรากแขนงพืชให้สั้นลงแล้วล้างเอาดินออกให้สะอาด นำไปย้อมสีตามวิธีการที่บรรยายไว้โดย Koske and Gemma (1989) จากนั้นทำการวัดเปอร์เซ็นต์ความหนาแน่นของการเข้าอยู่อาศัยในรากพืชตามวิธีของ Trouvelet et al., (1985)

การตรวจวัดค่าความเค็มของดิน

นำตัวอย่างดินเค็มทั้งหมด มาตรวจหาความเค็มของดินโดยใช้เครื่องวัดค่าการนำไฟฟ้า (Electrical conductivity meter) ซึ่งเป็นการวัดค่าการนำไฟฟ้าของสารละลายที่สกัดจากดินขณะอิ่มตัวด้วยน้ำ โดยชั่งตัวอย่างดินจำนวน 5 กรัม ใส่ในบีกเกอร์ ขนาด 50 มิลลิลิตร แล้วเติมน้ำกลั่นให้มีอัตราส่วนดินต่อน้ำเท่ากับ 1 : 5 (w/v) ซึ่งก็คือใช้น้ำกลั่นปริมาตร 25 มิลลิลิตร กวนให้ดินละลายดี โดยใช้แท่งแก้ว ตั้ทิ้งไว้ นาน 30 นาที แล้วจึงนำไปวัดค่าการนำไฟฟ้าของดินโดยเครื่องวัดค่าการนำไฟฟ้าบันทึกผล

การเพิ่มปริมาณสปอร์เชื้อ วิเอ มายคอร์ไรซา

การเตรียมกล้าเชื้อ ทำโดยนำสปอร์ในแต่ละตัวอย่างดิน มาเพิ่มปริมาณในกระถาง (pot culture) โดยแยกสปอร์ด้วยวิธีร่อนดินแบบเปียก (wet sieving and decanting) ของ Gerderman and Nicolson (1963) แล้วล้างฆ่าเชื้อที่ผิวสปอร์ด้วยสารละลาย คลอรามิน-ที (chloramin-T) ความเข้มข้น 2 เปอร์เซ็นต์ นาน 5-10 นาที ล้างด้วยน้ำกลั่นที่ฆ่าเชื้อแล้ว 3 ครั้ง (สาวิตรี อัครชฎ, 2536)

การเตรียมเมล็ดพืช ใช้เมล็ดข้าวโพดเลี้ยงสัตว์พันธุ์สุวรรณ 2 สำหรับการเพิ่มปริมาณสปอร์ โดยล้างฆ่าเชื้อที่ผิวเมล็ดข้าวโพด ด้วยการแช่ในสารละลาย โซเดียม ไฮโปคลอไรท์ (sodium hypochlorite) ความเข้มข้น 10 เปอร์เซ็นต์ เป็นเวลานาน

30 นาที และล้างเมล็ดด้วยน้ำกลั่นที่อบฆ่าเชื้อแล้วอีก 3 ครั้ง

การเตรียมดิน ใช้ดินจากแปลงทดลอง สำนักไร่ฝึก คณะเกษตรศาสตร์ มหาวิทยาลัย อุบลราชธานี ซึ่งมีลักษณะเนื้อดินเป็นดินร่วนปนทราย มี pH 5.62 ประกอบด้วยธาตุฟอสฟอรัสที่เป็นประโยชน์ต่อพืชทันที 2.743 ppm โพแทสเซียมที่แลกเปลี่ยนได้ 36.660 ppm ปริมาณไนโตรเจนทั้งหมด 0.001 เปอร์เซ็นต์ อินทรีย์วัตถุ 1.012 เปอร์เซ็นต์ และค่า EC 6.330 μ S โดยนำดินมาทุบให้เป็นก้อนเล็ก เก็บเศษหิน รากไม้ และเศษพืชต่าง ๆ ออกให้หมด บรรจุดินใส่ถุงพลาสติก แล้วนำไปอบฆ่าเชื้อจุลินทรีย์ ด้วยหม้อนึ่งความดันไอน้ำที่อุณหภูมิ 121 องศาเซลเซียส ความดัน 15 ปอนด์ต่อตารางนิ้ว เป็นเวลานาน 1 ชั่วโมง ทั้งข้างขึ้น แล้วนำไปอบฆ่าเชื้ออีกครั้งที่อุณหภูมิ ความดัน และเวลาเท่าเดิม และบรรจุดินใส่กระถางพลาสติกที่มีขนาดเส้นผ่าศูนย์กลาง 10 นิ้ว ซึ่งฆ่าเชื้อที่ผิว โดยการเช็ดด้วยแอลกอฮอล์ 75 เปอร์เซ็นต์ กระถางละ 4 กิโลกรัม

การปลูกเชื้อรา วิเอ มายคอร์ไรซา นำเมล็ดข้าวโพดที่ฆ่าเชื้อที่ผิวแล้ว ไปปลูกลงในกระถางพลาสติกที่ผ่านการฆ่าเชื้อที่ผิวเช่นเดียวกัน กระถางละ 5 เมล็ด นำสปอร์เชื้อรา วิเอ มายคอร์ไรซาชนิดต่าง ๆ ที่ผ่านการฆ่าเชื้อที่ผิวแล้ว ใส่ลงไปรอบ ๆ เมล็ดข้าวโพด กลบดิน รดด้วยน้ำกรองเมื่อต้นกล้าเจริญเติบโต ได้ 1 สัปดาห์ จึงถอนต้นที่อ่อนแอทิ้งไป เหลือต้นที่แข็งแรง และมีขนาดใหญ่ใกล้เคียงกัน กระถางละ 3 ต้น รดน้ำทุกวัน ทำการปลูกทดลองเป็นเวลา 90 วัน

การตรวจวัดผล การตรวจวัดผล จะทำภายหลังจากข้าวโพดเจริญได้ 90 วัน โดยการตรวจนับจำนวนสปอร์ของเชื้อรา และตรวจวัดการเข้าอยู่อาศัยของเชื้อรา วิเอ มายคอร์ไรซา ในรากพืช

การจำแนกชนิดของเชื้อรา วิเอ มายคอร์ไรซา

นำสปอร์ของเชื้อรา วิเอ มายคอร์ไรซา ที่แยกโดยวิธีร่อนดินแบบเปียก และ ปั่นเหวี่ยงด้วย น้ำตาลซูโครสแล้ว มาวางบนสไลด์ที่หยด lactophenol ไว้ ปิดด้วยกระจกปิดสไลด์ นำไปศึกษารูปร่าง ลักษณะต่างๆ ทั้งภายนอก และ ภายในสปอร์ของเชื้อรา ด้วยกล้องจุลทรรศน์แบบ compound microscope โครงสร้างที่ตรวจสอบได้แก่ สีของสปอร์ สิ่งตกแต่ง ผิวสปอร์ จำนวนชั้นของผนังสปอร์ เส้นใยค้ำจุนสปอร์ (hyphal attachment) และ ปฏิกริยาทางชีวเคมีของสารภายในสปอร์ เป็นต้น นำผลทั้งหมดไปตรวจสอบ และ จำแนกชนิดโดยใช้คู่มือการจำแนกของ Schenck and Perez (1988)

ผลการทดลองและวิจารณ์

การสำรวจเชื้อรา วิ เอ มายคอร์ไรซา บริเวณดินเค็มแหล่งต่างๆ การทดลองเริ่มโดยทำการสำรวจพื้นที่ ๆ มีการรายงานว่าเป็นดินเค็มในเขต อ. เขื่องใน อ. ตระการพืชผล อ. ม่วงสามสิบ และ อ. เมือง จ. อุบลราชธานี โดยเก็บตัวอย่างพืชและดินได้ทั้งสิ้น 71 ตัวอย่าง ซึ่งประกอบด้วย อ. เขื่องใน 16 ตัวอย่าง อ. ตระการพืชผล 37 ตัวอย่าง อ. ม่วงสามสิบ 9 ตัวอย่าง และ อ. เมือง 9 ตัวอย่าง (ตารางที่ 1) แล้วนำรากพืชมาขย้อมสี เพื่อตรวจสอบความหนาแน่นของการเข้าอยู่อาศัยของเชื้อรา วิเอ มายคอร์ไรซาในรากพืช และนับจำนวนสปอร์ทั้งหมดในดิน ผลการทดลองพบว่า พื้นที่ๆ ต่างกันจะมีจำนวนสปอร์ทั้งหมดของ เชื้อรา วิเอ มายคอร์ไรซาต่อดิน 1 กรัม และความหนาแน่นของการเข้าอยู่อาศัยในรากพืชของเชื้อรา แตกต่างกัน โดยในดินตัวอย่างรหัส 4KRR34 ซึ่งเก็บจาก บ.รังแร้ง อ. เขื่องใน ซึ่งมีต้นลำไทรเป็นพืชอาศัย จะมีจำนวนสปอร์มากที่สุด คือ

85.06 สปอร์ต่อดิน 1 กรัม จนกระทั่งพบน้อยที่สุด คือ จำนวน 0.33 สปอร์ต่อดิน 1 กรัม ซึ่งพบในคินรหัส 4TSN16 ที่เก็บจาก บ. เสาธงน้อย อ. ตระการพืชผล และมีมะขามป้อมเป็นพืชอาศัย (ตารางที่ 1.) สำหรับความหนาแน่นของการเข้าอยู่อาศัยของ เชื้อรา วิเอมายคอร์ไรซานั้น พบว่าตัวอย่างดินที่มีจำนวนสปอร์มากไม่จำเป็นต้องมีการเข้าอยู่อาศัยของเชื้อรามาก ในทางตรงกันข้าม ถ้ามีจำนวนสปอร์น้อยก็อาจมีการเข้าอยู่อาศัยมาก เช่น ตัวอย่าง 4TBD4 มีจำนวนสปอร์ และเปอร์เซ็นต์การเข้าอยู่อาศัยในรากพืชของ เชื้อรา เท่ากับ 4.46 และ 74.30 ตามลำดับ ในขณะที่ตัวอย่าง 4KRR34 จะมีจำนวนสปอร์ และเปอร์เซ็นต์การเข้าอยู่อาศัยในรากเป็น 85.06 และ 48.50 ตามลำดับ ทั้งนี้อาจเนื่องจาก เชื้อรา วิเอมายคอร์ไรซา ชอบพืชอาศัยแตกต่างกัน จากรายงานของ Hertrick and Bloom (1986) กล่าวถึงอิทธิพลของพืชอาศัยต่อการสร้างสปอร์และความสามารถในการเข้าสู่รากพืชของ เชื้อรา วิเอมายคอร์ไรซาชนิดของพืชอาศัยเป็นปัจจัยหนึ่งที่มีอิทธิพลต่อการสร้างสปอร์ของเชื้อ *Gl. fasciculatum* แต่ในการสร้างสปอร์ของเชื้อ *Gl. macrocarpum* และ *Gl. mosseae* นั้น ชนิดของพืชอาศัยไม่มีอิทธิพลต่อการสร้างสปอร์ และพบว่าการสร้างสปอร์ไม่มีความสัมพันธ์กับการเข้าสู่รากพืชของ เชื้อรา วิเอมายคอร์ไรซา นอกจากนี้อาจเนื่องมาจากความเป็นกรดเป็นด่างต่างกัน (Clark, 1997) หรือความเค็มของดินที่แตกต่างกัน อย่างไรก็ตาม จากการทดลองพบว่า ความเค็มของดินไม่น่าจะมีผลเกี่ยวข้องกับจำนวนสปอร์มากนัก ทั้งนี้ เมื่อเปรียบเทียบกันระหว่างดินตัวอย่าง 3TSN9 กับ 4TSN16 พบว่า ค่าการนำไฟฟ้าของสารละลายดิน (EC) ไม่แตกต่างกันมากนัก คือ 0.07 กับ 0.03 ds/m ตามลำดับ แต่จำนวนสปอร์แตกต่างกันมาก คือ พบ 47.40 และ 0.33 สปอร์ต่อดิน 1 กรัม ตามลำดับ แต่ในบางตัวอย่างซึ่งมีค่า EC สูง เช่น ดินตัวอย่าง 4KRR34 ซึ่งเก็บจาก บ.รังแร้ง อ. เชื่องใน โดยมีต้นลำไยเป็นพืชอาศัย จะมีจำนวน

สปอร์มากที่สุด คือ 85.06 และมีค่า EC สูงถึง 0.95 ds/m ซึ่งจะมีสปอร์สูงกว่าตัวอย่างดินที่มีค่า EC ใกล้เคียงกัน คือ 0.90 ds/m หรือ มากถึง 2.1 ds/m ตัวอย่างนั้น คือ 4KND2 และ 2MsTY12 ซึ่งเก็บจากบ้านนาคุณ อ. เชื่องใน โดยมีหญ้าปล้องเป็นพืชอาศัย และเก็บจาก บ. หุ่งใหญ่ อ. ม่วงสามสิบ โดยมีหญ้าแพรกเป็นพืชอาศัยตามลำดับ ซึ่งมีจำนวนสปอร์ทั้งหมดต่อดิน 1 กรัม เท่ากับ 16.00 และ 2.46 ตามลำดับ จากผลที่ปรากฏสามารถกล่าวได้ว่า ชนิดของพืชอาศัยมีผลต่อความแตกต่างของจำนวนสปอร์ทั้งหมดในดิน ส่วนความเค็มของดินไม่แปรผกผันต่อจำนวนสปอร์เสมอไป คือ ถ้าดินมีความเค็มมากอาจจะมีจำนวนสปอร์มากหรือน้อยก็ได้ ทั้งนี้อาจเนื่องมาจากเชื้อรา วิเอมายคอร์ไรซา มีการปรับตัวให้เข้ากับความเค็มของดินที่แตกต่างกันได้

นอกจากนี้ผลการทดลองยังพบว่า ค่า EC ของดินที่เก็บมาจากบริเวณใกล้เคียงกันจะมีความแตกต่างกัน เช่น ดินตัวอย่าง 10TBD10 และ 11TBD11 ซึ่งเก็บมาจาก บ. นาคุณ อ. ตระการพืชผล เหมือนกัน มีค่า EC แตกต่างกันมาก คือ 1.00 และ 0.2 ds/m ตามลำดับ ซึ่งอาจเป็นเพราะความสูงต่ำของพื้นที่ๆ เก็บแตกต่างกัน กล่าวคือ ตัวอย่าง 10TBD10 ปลุกข้าวหอมมะลิ ดินจะอยู่ต่ำกว่าและใกล้แม่น้ำมากกว่าตัวอย่าง 11TBD11 ซึ่งจะปลูกต้นกระดังงาในที่ดอน และค่อนข้างแห้ง ซึ่งดินปลูกข้าวหอมมะลิจะอยู่ใกล้กับชั้นหินเกลือที่อยู่ใกล้ดิน มากกว่าดินที่ปลูกต้นกระดังงา และเมื่อน้ำล้นขึ้นมาจากดิน จะพาเกลือขึ้นมาสะสมที่ผิวดินมากกว่า (สมศรี อรุณินท์, 2536) ซึ่งอาจสรุปได้ว่า ความสูงต่ำของพื้นที่มีผลต่อความเค็มของดิน นอกจากนี้ ถ้านำค่าความเค็มที่วัดได้จากการทดลองเปรียบเทียบกับค่าการนำไฟฟ้าของสารละลายดินมาตรฐาน (ไม่แสดงข้อมูล) จะพบว่าความเค็มที่วัดได้ มีค่าค่อนข้างต่ำมาก (ต่ำกว่า 2 ds/m) ผลนี้ชี้ให้เห็นว่า ตัวอย่างดินทั้งหมดนั้นไม่จัดเป็นดินเค็ม และจะไม่มีผลต่อการเจริญเติบโตและผลผลิตของพืช ซึ่งผลการทดลองนี้

ไม่เป็นไปตามผลการรายงานพื้นที่ดินเค็มที่เคยรายงานไว้โดย พรณี รุ่งแสงจันทร์ และคณะ (2536) ซึ่งอาจเนื่องมาจากช่วงของเดือนที่ไปเก็บตัวอย่างเป็นเดือนที่ต่อจากฤดูฝน (เดือนพฤศจิกายน) โดยที่น้ำฝนจะทำให้ความเค็มของดินลดน้อยลงนั่นเอง (สมศรี อรุณินท์, 2536)

การเพิ่มจำนวนสปอร์ และการจัดจำแนกชนิดของเชื้อรา วิเอ มายคอร์ไรซา ทำการแยกกลุ่มสปอร์ ของเชื้อรา วิเอ มายคอร์ไรซา ในแต่ละตัวอย่างดิน โดยอาศัยความแตกต่างของลักษณะสีรูปร่าง และขนาดของสปอร์ เป็นเกณฑ์เบื้องต้น เพื่อนำมาเพิ่มจำนวนในกระถางโดยใช้ข้าวโพดเป็นพืชอาศัย พบว่าสามารถแยกกลุ่มของเชื้อราได้ 81 กลุ่ม และสามารถเพิ่มจำนวนได้เพียง 37 กลุ่มเท่านั้น เมื่อนำสปอร์ที่เพิ่มได้ทั้งหมดนี้มาทำการจัดจำแนกชนิดของเชื้อรา วิเอ มายคอร์ไรซา พบว่าสามารถจัดจำแนกได้ 19 สปีชีส์ (ตารางที่ 2) โดยเชื้อที่สามารถเพิ่มปริมาณสปอร์ได้สูงสุดคือ เชื้อ *E. schenckii* (ภาพที่ 1.) มาจากตัวอย่าง 2MsKD42 ซึ่งมีจำนวนสปอร์เท่ากับ 230 สปอร์ต่อดิน 1 กรัม ส่วน *Glomus* sp. No.1 (ภาพที่ 2) ซึ่งมาจากดินตัวอย่างที่ 3MNK31 พบว่ามีเปอร์เซ็นต์ความหนาแน่นในการเข้าอยู่อาศัยในรากข้าวโพดสูงสุด คือ 81.3 นอกจากนี้ยังพบว่า เชื้อ

Entrophospora colombiana (ภาพที่ 3) เป็นเชื้อราชนิดที่มีการแพร่กระจายในดินเค็มมากที่สุด เช่น พบในดินตัวอย่าง 2KCH6, 1KCH10, 2KRR32, 3MsTY2 และ 7TNSR24 เป็นต้น ในขณะที่เชื้อราบางสปีชีส์ มีการแพร่กระจายน้อยในดินเค็ม โดยพบในบางตัวอย่างดินเท่านั้น เช่น *A. rehmi* (ภาพที่ 4), *Gl. multicaulis* (ภาพที่ 5.) และ *Sc. dipapillosa* (ภาพที่ 6) ซึ่งพบในตัวอย่างดิน 5MsTY40, 2TNP25 และ 2MNH29 ตามลำดับ

สำหรับเชื้อราที่ไม่สามารถเพิ่มปริมาณได้อาจเนื่องมาจากชนิดของพืชอาศัยที่ใช้ สำหรับการเพิ่มปริมาณ ไม่เหมาะสมต่อการเจริญของ เชื้อรา วิเอ มายคอร์ไรซา (Hertrick and Bloom, 1986) เพราะตัวอย่างที่เก็บมา ส่วนใหญ่มาจากรากไม้ยืนต้น เช่น ตัวอย่าง 1TSN14, 5TSN16 และ 16TNSR23 ซึ่งเก็บมาจากต้นสะแบง มะขามป้อม และตะโก ตามลำดับ ซึ่งตัวอย่างเหล่านี้ไม่สามารถเพิ่มจำนวนได้ และอีกเหตุผลหนึ่ง คือ ดินที่นำมาใช้ในการเพิ่มปริมาณสปอร์ของเชื้อราไม่ได้เป็นดินเค็ม ประกอบกับเชื้อที่นำมาเพิ่มปริมาณเป็นเชื้อที่สามารถเจริญได้ดีในดินเค็ม ดังนั้นอาจทำให้ไม่สามารถเพิ่มจำนวนสปอร์ของเชื้อราที่ชอบดินเค็มได้

ตารางที่ 1 ชนิดของพืชอาศัย จำนวนสปอร์ทั้งหมด เปอร์เซ็นต์ความหนาแน่นของการเข้าอยู่อาศัยของเชื้อราวิเอ มายคอร์ไรซา และค่าการนำไฟฟ้าของสารละลายดิน (EC) ในพื้นที่ดินเก็บแหล่งต่างๆ ของ จ. อุบลราชธานี

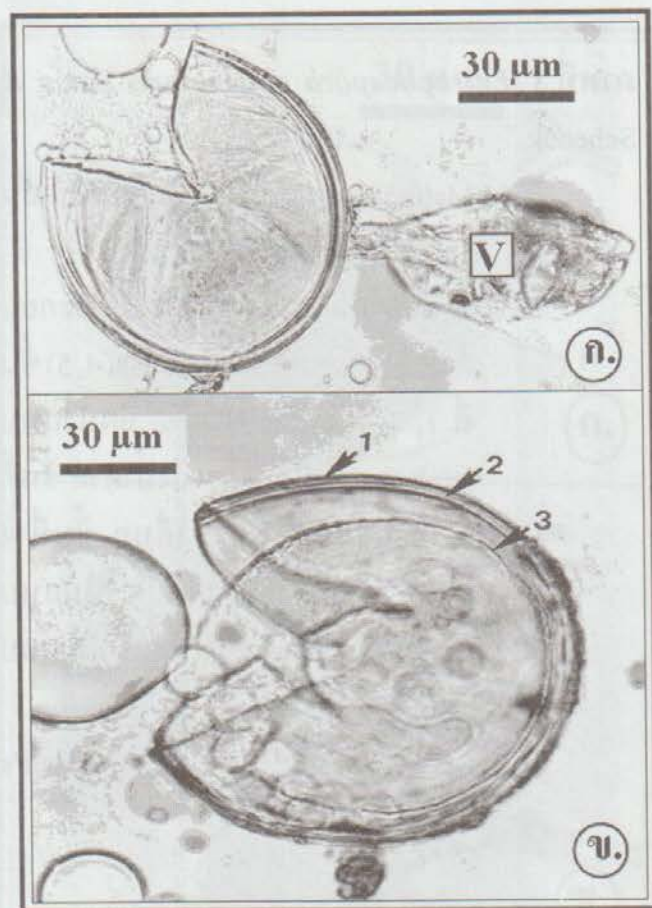
รหัสตัวอย่าง	ชนิดของพืชอาศัย (ชื่อท้องถิ่น)	จำนวนสปอร์ทั้งหมด ต่อดิน 1 กรัม	ความหนาแน่นของการเข้า อยู่อาศัย (%)	EC (ds/m)	รหัสตัวอย่าง	ชนิดของพืชอาศัย (ชื่อท้องถิ่น)	จำนวนสปอร์ทั้งหมด ต่อดิน 1 กรัม	ความหนาแน่นของการเข้า อยู่อาศัย (%)	EC (ds/m)
1TBD1	ดินแกล	2.67	0.30	0.13	6TNP18	ข้าวเหนียว	1.53	1.00	0.05
2TBD2	หญ้าปล้อง	11.20	66.80	0.05	1MNK20	ผักเม็ก	13.60	95	0.05
3TBD3	หญ้าเหวหมู	2.40	3.00	0.70	2MNK12	หญ้าแพรก	7.66	56.67	0.03
4TBD4	ผักชีช้าง	4.46	74.30	0.25	3MNK31	โมยราพ	7.66	82.33	0.03
5TBD5	ต้นหนั่งเพชร	4.00	69.20	0.13	4MNK35	ขี้ดมอ	0.60	95.00	0.04
6TBD6	ถั่วฝักยาว	12.93	34.33	0.04	5MNK39	หว่า	3.60	68.67	0.13
7TBD7	หญ้าดอกแห้ง	1.86	46.66	0.90	1MNH2	หญ้าปล้อง	1.33	40.33	1.30
8TBD8	หาวนา	8.06	23.16	0.42	2MNH29	อะลาง	4.40	15.83	0.02
9TBD9	หญ้ามาเล	0.60	58.00	0.05	3MNH33	เสียว	6.46	73.33	0.02
10TBD10	ข้าวหอมมะลิ	2.80	4.33	1.00	4MNH12	หญ้าแพรก	3.60	1.00	1.00
11TBD11	ดินกระดิ่ง	2.53	3.50	0.20	1KND13	โสนป่า	0.53	57.33	0.25
11TBD12	หญ้าแพรก	2.53	5.33	0.20	2KND28	ฝื่อ	1.00	38.67	0.45
12TBD13	โสนป่า	13.20	10.50	0.14	3KND13	โสนป่า	1.40	56.00	0.10
1TSN14	สะแบง/ตะแบก	11.33	10.33	0.03	4KND2	หญ้าปล้อง	16.00	66.83	0.90
2TSN15	ยูคาลิปตัส	2.26	0.50	0.02	5KND13	โสนป่า	0.20	62.17	1.20
3TSN9	หญ้ามาเล	47.40	68.33	0.07	6KND1	แกล	2.26	5.83	0.04
4TSN16	มะขามป้อม	0.33	26.00	0.03	1KCH10	ข้าวหอมมะลิ	1.26	0.50	0.30
5TSN16	มะขามป้อม	16.80	1.00	0.04	2KCH2	หญ้าปล้อง	26.40	10.50	0.45
6TSN15	ยูคาลิปตัส	5.13	1.16	0.04	3KCH38	กระถิน	1.00	7.67	0.13
7TSN17	ตาล	3.80	0.10	0.05	4KCH4	ผักชีช้าง	17.60	36.67	0.39
8TSN12	หญ้าแพรก	1.80	20.00	0.56	1KRR30	เมียด	6.46	40.33	0.03
9TSN15	ยูคาลิปตัส	6.00	10.83	0.03	2KRR32	หัวเปือย	3.20	18.50	0.21
10TSN18	ข้าวเหนียว	4.73	5.66	0.14	3KRR10	ข้าวหอมมะลิ	11.13	19.33	0.03
11TSN19	หนามลัก	6.26	4.50	0.04	4KRR34	ลำไทร	85.06	48.50	0.95
1TNSR20	ผักเม็ก	9.53	4.00	0.06	5KRR36	ตัว	4.06	20.17	0.04
2TNSR18	ข้าวเหนียว	4.86	3.33	0.02	6KRR37	ตะแบก	2.80	64.33	0.03
3TNSR21	หาว	6.73	3.00	0.05	1MsTY8	หาวนา	2.33	15.67	1.00
4TNSR22	ข่า	11.00	8.50	0.12	2MsTY12	หญ้าแพรก	2.46	9.50	2.10
5TNSR18	ข้าวเหนียว	2.00	3.33	0.24	3MsTY2	หญ้าปล้อง	12.26	9.00	0.10
6TNSR23	ตะโก	71.26	1.00	0.59	4MsTY18	ข้าวเหนียว	1.53	11.17	0.04
7TNSR24	เอนอ้า	15.13	18.83	0.10	5MsTY40	หญ้าคา	42.53	15.83	0.08
1TNP15	ยูคาลิปตัส	3.40	1.00	0.04	6MsTY3	เหวหมู	4.13	3.00	0.60
2TNP25	น้อยหน่า	10.46	0.50	0.03	7MsTY41	กระออม	2.26	16.17	0.50
3TNP26	มะขาม	42.40	1.00	0.59	1MsKD33	เสียว	26.00	60.33	0.08
4TN15	ยูคาลิปตัส	2.13	0.16	0.56	2MsKD42	มันกบ	10.60	25.33	0.09
5TNP27	ผักเสี้ยน	4.60	6.00	0.05					

หมายเหตุ : TBD = บ. บ่อตุล อ. ตระการพืชผล, TSN = บ. เสาธงน้อย อ. ตระการพืชผล, TNSR = บ. โนนสำโรง อ. ตระการพืชผล, TNP = บ. นาพิน อ. ตระการพืชผล, MNK = บ. หนองขอนแก่น อ. เมือง, MNH = บ. หนองไฮ อ. เมือง, KND = บ. นาคุณ อ. เชื่องใน, KCH = บ. จาน อ. เชื่องใน, KRR = บ. รังแร้ง อ. เชื่องใน, MsTY = บ.ทุ่งใหญ่ อ. ม่วงสามสิบ, MsKD = บ. ขุมดิน อ. ม่วงสามสิบ

ตารางที่ 2 ชนิด จำนวนสปอร์ทั้งหมด และเปอร์เซ็นต์ความหนาแน่นของการเข้าอยู่อาศัย ของเชื้อรา วิเอ
มายคอร์ไรซา ที่เพิ่ม ปริมาณในกระถาง

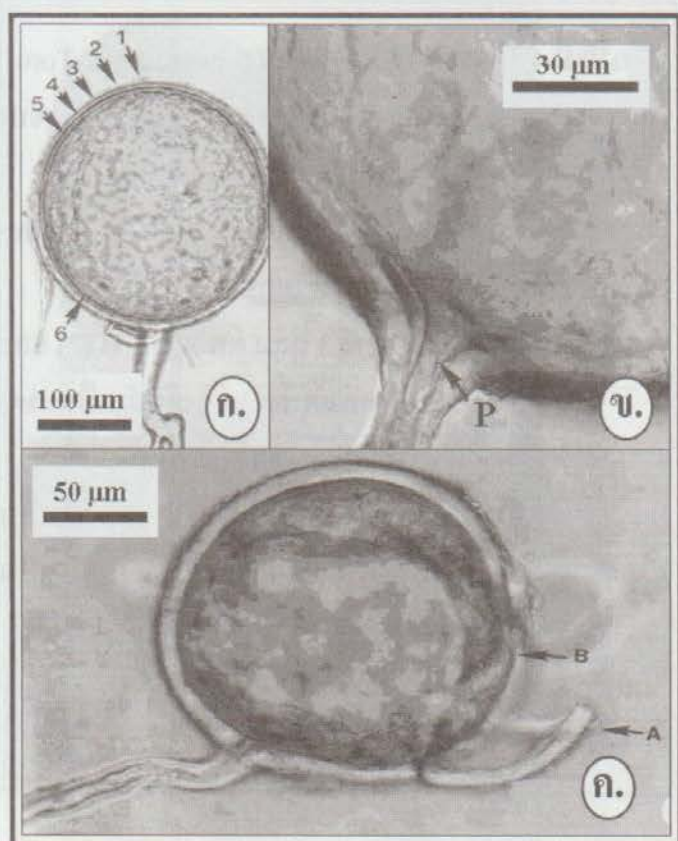
รหัส ตัวอย่าง	จำนวน สปอร์ต่อ ดิน 1 กรัม	ความ หนาแน่น ของการเข้า อยู่อาศัย (%)	ชนิดของเชื้อรา วิเอ มายคอร์ไรซา	รหัส ตัวอย่าง	จำนวน สปอร์ต่อ ดิน 1 กรัม	ความ หนาแน่น ของการเข้า อยู่อาศัย (%)	ชนิดของเชื้อรา วิเอ มายคอร์ไรซา
4KCH4	12.13	33.50	<i>Scutellospora heterogama</i>	2TBD2	2.46	27.50	<i>E. colombiana</i>
2KCH6	10.33	33.50	<i>Sc. heterogama</i>	6TBD6	0.86	40.66	<i>Gigaspora</i> sp. No.1
	2.40	42.50	<i>Entrophospora colombiana</i>		0.75	30.2	<i>A. longula</i>
1KCH10	72.33	61.300	<i>E. colombiana</i>	7TNSR24	21.50	68.16	<i>E. colombiana</i>
2KRR32	31.40	18.30	<i>E. colombiana</i>		5.53	61.00	<i>A. nicolsonii</i>
5KRR36	10.00	3.00	<i>Sc. calospora</i>		1.86	33.33	<i>Gl. scintillans</i>
4KND2	8.80	49.16	<i>Gigasopra</i> sp. No.3	3TNP26	3.33	75.80	<i>Gl. dimorphicum</i>
6KND1	7.40	15.80	<i>Sc. heterogama</i>	2TNP25	3.33	18.50	<i>Gl. glomerulatum</i>
2MsTY2	120.60	16.00	<i>Acaulospora scrobiculata</i>		5.00	34.50	<i>A. mellea</i>
	117.80	1.16	<i>E. colombiana</i>		0.60	22.33	<i>Gl. multicaulis</i>
5MsTY40	3.00	1.80	<i>Glomus ambisporum</i>	1MNK20	12.20	26.66	<i>E. colombiana</i>
	13.40	2.50	<i>Gigaspora</i> sp. No.3		6.26	58.66	<i>Gigaspora</i> sp. No.2
	9.80	28.50	<i>A. rehmi</i>	3MNK31	1.00	81.30	<i>Glomus</i> sp. No.1
6MsTY3	89.40	0.66	<i>E. colombiana</i>		0.26	46.30	<i>Gl. scintillans</i>
1MsKD33	53.60	35.50	<i>E. colombiana</i>	2MNH29	0.20	16.30	<i>Sc. dipapillosa</i>
	56.80	19.16	<i>A. nicolsonii</i>	4MNH12	110.40	9.83	<i>E. colombiana</i>
	19.80	39.66	<i>Sc. calospora</i>	3MNH33	3.20	12.60	<i>E. colombiana</i>
2MsKD42	230.00	10.00	<i>E. schenckii</i>		4.80	1.83	<i>Sc. heterogama</i>
	10.00	6.60	<i>E. colombiana</i>				

หมายเหตุ : TBD = บ. บ่อตุล อ. ตระการพืชผล, TNSR = บ. โนนสำโรง อ. ตระการพืชผล, TNP = บ. นาพิน อ. ตระการพืชผล,
MNK = บ. หนองขอนแก่น อ. เมือง, MNH = บ. หนองไฮ อ. เมือง, KND = บ. นาคุณ อ. เชื่องใน, KCH = บ. จาน อ. เชื่องใน ,
KRR = บ. รังแร้ง อ. เชื่องใน , MsTY = บ. หุ่นใหญ่ อ. ม่วงสามสิบ, MsKD = บ. ขุมดิน อ. ม่วงสามสิบ



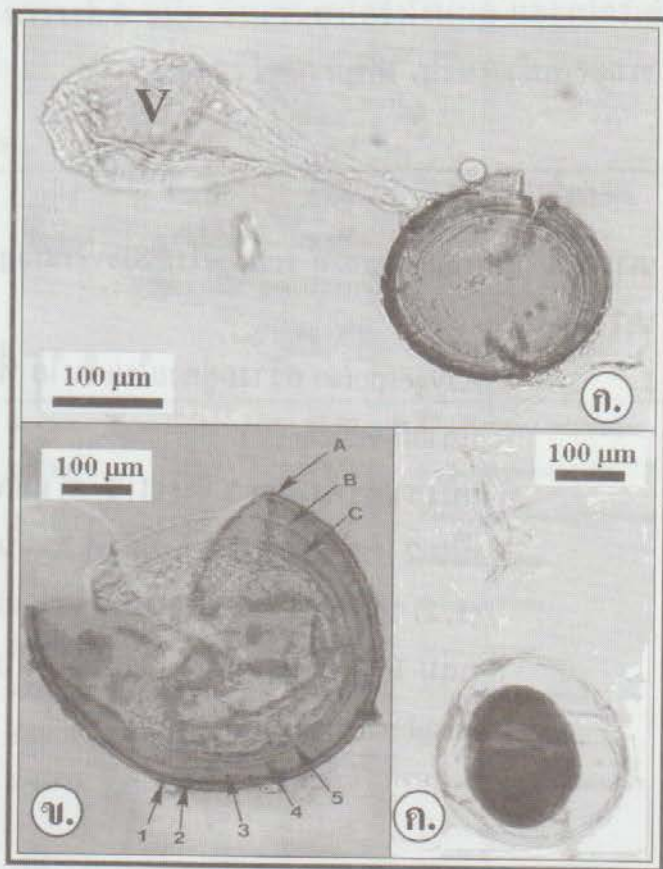
ภาพที่ 1 *Entrophospora schenckii* Sieverding & Toro.

- ก. Azygospore สร้างอยู่ภายในเส้นใย ที่ปลายมี vesicle (V)
 ข. ผนังสปอร์ทั้งหมด 3 ชั้น (1, 2, 3) แยกเป็น 2 กลุ่ม คือ กลุ่ม A มีผนัง 2 ชั้น (1, 2) อยู่ติดกัน ผนังเป็นแบบ unit wall กลุ่ม B มีผนังชั้นเดียว (3) เป็นแบบ membranous wall



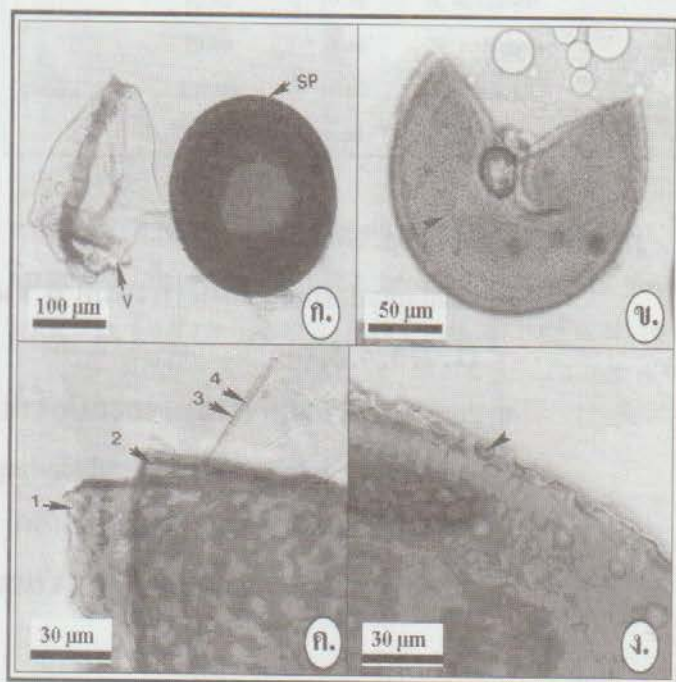
ภาพที่ 2 *Glomus* sp. No.1.

- ก. Chlamydospore มีผนังทั้งหมด 6 ชั้น (1, 2, 3, 4, 5, 6)
 ข. Pore (P) เชื่อมระหว่างฐานของสปอร์ กับ subtending hypha ผนังของ subtending hypha เชื่อมติดกับผนังสปอร์ชั้นนอก
 ค. ผนังสปอร์ประกอบด้วย 2 กลุ่ม (A และ B)



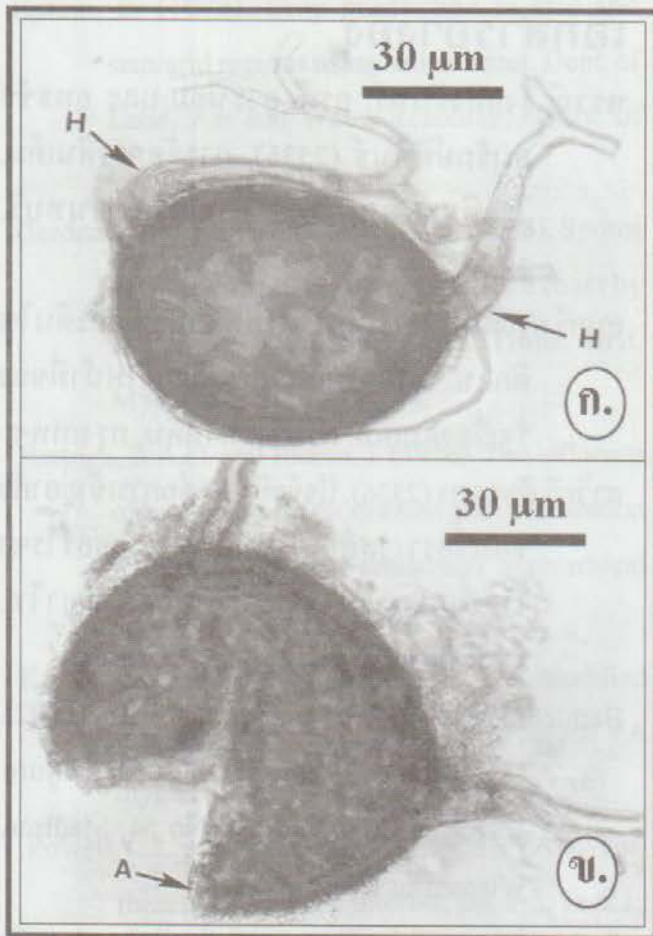
ภาพที่ 3 *Entrophospora colombiana* Spain & Schenk.

- ก. Mature azygospore สร้างอยู่ภายในเส้นใย ที่ปลายมี vesicle (V)
- ข. กลุ่มของผนังสปอร์ (A, B, C) ประกอบด้วยผนังทั้งหมด 5 ชั้น (1, 2, 3, 4, 5) ชั้นที่ 1, 2 อยู่ติดกัน ชั้นที่ 2 มีผนังแบบ laminate wall สีเหลืองถึงน้ำตาล ชั้นที่ 3 ใส แยกออกจากชั้นอื่นๆ ชั้นที่ 4 ผิวผนังมีรูปร่างคล้ายลูกบิด เป็นแบบ membranous wall ชั้นที่ 5 ผนังเป็นแบบ membranous wall
- ค. ผนังชั้นในทำปฏิกิริยากับ Melzer's reagent เป็นสีม่วงเข้ม



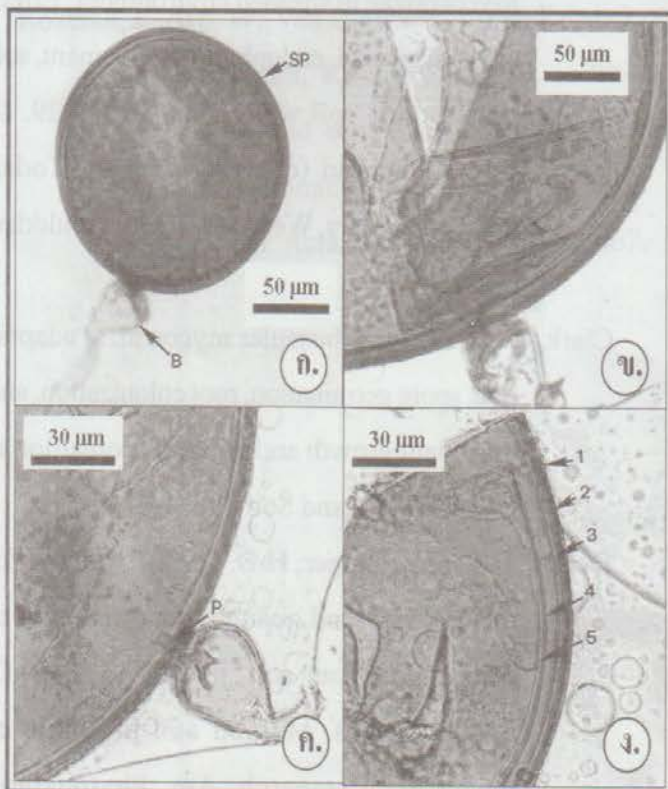
ภาพที่ 4 *Acaulospora rehmi* Sieverding & Toro.

- ก. Azygospore (SP) สร้างบนด้านข้างของเส้นใยที่ปลายมี vesicle (V)
- ข. ผนังชั้นนอกมีลักษณะเป็น labyrinthine folds (หัวลูกศร)
- ค. ผนังสปอร์ 3 กลุ่ม คือ A (1), B (2) และ C (3, 4) กลุ่มผนัง C เรียงติดกันเป็นแบบ membranous wall
- ง. ผนังชั้นนอกสุด (1) มีสิ่งตกแต่งผิวเป็นแบบ labyrinthine-form folds ลักษณะเป็นหลอด (หัวลูกศร)



ภาพที่ 5 *Glomus multicaulis* Gerdemann & Bakshi.

- ก. Chlamydospore มี subtending hypha (H) มากกว่า 1 อัน
- ข. ผนังสปอร์ 1 กลุ่ม (A)



ภาพที่ 6 *Scutellospora dipapillosa* Walker & Sanders

- ก. Azygospore (SP) อยู่บน bulbous suspensor (B)
- ข. Gemination shield (หัวตุ๊กตร)
- ค. Pore (P) เชื่อมต่อระหว่างฐานของสปอร์ กับ bulbous suspensor
- ง. ผนัง 5 ชั้น (1, 2, 3, 4, 5) ผนังชั้นที่ 1 เป็นแบบ unit wall เพราะไม่มีสี ชั้นที่ 2 เป็น laminate wall อยู่ติดกับผนังชั้นที่ 1 สีเหลืองถึงน้ำตาล ชั้นที่ 3 ผนังเป็นแบบ unit wall ไม่มีสี ชั้นที่ 4, 5 เป็นแบบ membranous wall ไม่มีสีถึงสีเหลืองอ่อน

สรุปผลการทดลอง

จากการสำรวจตัวอย่างดิน เพื่อการศึกษาชนิดของเชื้อรา วิเอ มายคอร์ไรซา ในพื้นที่ดินเค็มของ อ. ตระการพืชผล อ. เชื่องใน อ. ม่วงสามสิบ และ อ. เมือง จ. อุบลราชธานี พบว่าความเค็มของดินระดับต่างๆ มีผลต่อชนิดและปริมาณของเชื้อรา วิเอ มายคอร์ไรซา ทั้งนี้อาจเนื่องมาจากเชื้อราวิเอ มายคอร์ไรซา แต่ละชนิดมีความสามารถในการปรับตัวให้สามารถเจริญในสภาพดินเค็มระดับต่างๆ ได้แตกต่างกัน ทำการจำแนกชนิดของเชื้อราวิเอ มายคอร์ไรซา จากเชื้อราที่สามารถเพิ่มปริมาณในกระถางได้ พบว่าสามารถจำแนกเชื้อราได้ทั้งหมด 19 สปีชีส์ คือ *Acaulospora longula*, *A. mellea*, *A. nicolsonii*, *A. rehii*, *A. scrobiculata*, *Entrophospora colombiana*, *E. schenckii*, *Gigaspora* sp. No.1, *Gigaspora* sp. No.2, *Gigaspora* sp. No.3, *Glomus ambisporum*, *Gl. dimorphicum*, *Gl. glomerulatum*, *Gl. multicaulis*, *Gl. scintillans*, *Glomus* sp. No.1, *Scutellospora calospora*, *Sc. dipapillosa* และ *Sc. heterogama* และจากการทดลองพบว่า เชื้อ *Entrophospora* เป็นจีนัส (genus) ที่พบแพร่กระจายมากที่สุดในแหล่งดินเค็ม ส่วนการเพิ่มจำนวนสปอร์ของเชื้อราวิเอ มายคอร์ไรซาในกระถาง พบว่า จำนวนสปอร์ของเชื้อราที่เพิ่มขึ้นไม่ได้สอดคล้องกับเปอร์เซ็นต์ความหนาแน่นของการเข้าอยู่อาศัยของเชื้อรา วิเอ มายคอร์ไรซาในรากพืช

กิตติกรรมประกาศ

งานวิจัยนี้ได้รับเงินทุนสนับสนุนจากสภาวิจัยแห่งชาติ ประจำปีงบประมาณ 2542 และขอขอบคุณ คุณนพมาศ นามแดง นักวิทยาศาสตร์ คณะเกษตรศาสตร์ ม. อุบลราชธานี ที่กรุณาให้ความอนุเคราะห์ ช่วยเหลือในการวิเคราะห์องค์ประกอบของธาตุอาหารในดิน

เอกสารอ้างอิง

- พรรณี รุ่งแสงจันทร์, อรุณี ยูวะนิยม และ ยุทธชัย อนุรักษติพันธ์ (2536). การจัดการดินเค็ม. โรงพิมพ์แคนดิมิเดีย, ปากเกร็ด, นนทบุรี. 78 น.
- สมศรี อรุณินท์ (2536). การปรับปรุงดินเค็มและดินโซดิก. น. 5-15. ใน เอกสารคู่มือเจ้าหน้าที่ของรัฐเรื่องดินเค็ม. กรมพัฒนาที่ดิน, กรุงเทพฯ.
- สาวิตรี อัครกูร (2536). ปัจจัยที่มีผลต่อการเข้าอยู่อาศัยของเชื้อราเวสติคูลาอาบัสคูลา มายคอร์ไรซา ในเนื้อเยื่อราก. วิทยานิพนธ์ปริญญาโท. มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์, กรุงเทพฯ.
- Bethlenfalvay, G.J. and Linderman, R.G. (1992). Mycorrhizae in sustainable Agriculture. ASA Special publication No 54, Madison, Wisconsin, USA.
- Bethlenfalvay, G.J., Thomas, R.S., Dakessian, S., Brown, M.S. and Ames, R.N. (1988). Mycorrhizae in stressed environment: Effect on plant growth, endophyte development, soil stability and soil water, pp. 1015-1029. In E.E. Whithead (ed). Arid Lands, Today and Tomorrows. Westview Press, Boulder, Co.
- Clark, R.B. (1997). Arbuscular mycorrhizal adaptation, spore germination, root colonization, and host plant growth and mineral acquisition at low pH. Plant and Soil 192: 15-22.
- Daniel, B.A. and Skipper, H.D. (1982). Method for the recovery and quantitative estimation of propagules from soil, pp. 29-36. In N.C. Schenck (ed.). Method and principle of mycorrhizal research. Am. Phytopathol. Soc., St. Paul Minnesota, USA.

- Eptein, E. (1978). Crop production in arid and semiarid regions using saline water. Dept. of Land, Air and Water Resources, Univ. of California, Davis, CA.
- Gerdemann, J.W. and Nicolson, T.H. (1963). Spores of mycorrhizal *Endogone* species extract by wet sieving and decanting. Trans. Brit. Mycol. Soc. 46 : 235-244.
- Hertrick, B.A.D. and Bloom, J. (1986). The influence of host plants on production and colonization ability of vesicular-arbuscular mycorrhizal spores. Mycologia 78(1) : 32-36.
- Koske, R.E. and Gemma, J.N. (1989). A modified procedure for staining root of detect VA mycorrhizas. Mycol. Res. 92 : 486-505.
- Powell, C.L. and Bagyaraj, D.J. (1984). VA mycorrhiza : why all the interest, pp. 1-3. In C.L. Powell and Bagyaraj, D.J. (eds.). VA mycorrhiza. CRC Press, Baco Raton, Florida.
- Rozema, J., Arp, W., van Diggelen, J., van Esbroek, M., Brokeman, R. and Punte, H. (1986). Occurrence and ecological significance of vesicular-arbuscular in the salt marsh environment. Acta. Bot. Neerl. 35 : 457-467.
- Schenck, N.C. and Perez, Y. (1988). Manual for the identification of VA mycorrhizal fungi. 2nd ed., International Culture Collection of VA Mycorrhizal Fungi (INVAM), Florida. 241 p.
- Sieverding, E. (1991). Vesicular-arbuscular mycorrhiza management in tropical agrosystem. GTZ GmbH, Germany. 371 p.
- Tian, C.Y., Feng, G., Li, X.L. and Zhang, F.S. (2004). Different effects of arbuscular mycorrhizal fungal isolates from saline or non-saline on salinity tolerance of plants. Applied Soil Ecology 26: 143-148.
- Trouvelet, A., Kough, J.L. and Gianizai-Pearson, V. (1985). Musure Dutaux de Mycorrhizatio VA d'un Systene Radiculaire. 217-221. In V. Gianinazzi-Pearson and Gianinazzi, S. (eds.). Aspects Physiologi que et Genetiques des Mycorrhizes. Actes duler Symposium Europeen sur les Mycorrhizes. INRA, Paris.
- Yano-Melo, A.M., Siggin Jr., O.J. and Maia, L.C. (2003) Tolerance of mycorrhized banana (*Musa* sp. Cv. Pacovan) plantlets to saline stress. Agricul. Ecosyst. Environ. 95: 343-348.

การถ่ายภาพการสั่นพ้องแม่เหล็กนิวเคลียสของการกระจาย แบบ T_2 T_2 -distribution Magnetic Resonance Imaging

วิวัฒน์ ยงค์ดี และ พิพัฒพงษ์ สาจันทร์¹

บทคัดย่อ

ได้ศึกษาการสร้างภาพการสั่นพ้องแม่เหล็กนิวเคลียสของการกระจายแบบ T_2 ทำการถ่ายภาพของสารตัวอย่างจำนวน 4 หลอดที่มีครวมติดกัน โดยแต่ละหลอดมีค่า T_2 ที่ต่างกันเป็น 200, 116, 59 และ 20 มิลลิวินาที ตามลำดับ ใช้สนามแม่เหล็กในการทดลองขนาด 0.3 เทสลา และใช้ลำดับพัลส์ CPMG ทำการถ่ายภาพโดยใช้ค่า TE ต่างกันจำนวน 6 ค่าเป็น 45, 60, 80, 100, 120 และ 150 มิลลิวินาที นำภาพ T_2 -weighted ทั้ง 6 ภาพที่ได้ไปคำนวณและนำมาสร้างเป็นภาพการกระจายแบบ T_2 พบว่าได้ผลของการกระจายแบบ T_2 เมื่อวัดค่า T_2 จากภาพเทียบกับค่าที่วัดได้โดยตรงจากหลอดทดลองมีความแตกต่างกันอยู่ในช่วง 10-30 เปอร์เซ็นต์ และทำการทดลองกับสิ่งมีชีวิตโดยถ่ายภาพบริเวณต้นขาด้านขวาด้วยวิธีการเดียวกัน และได้ภาพของการกระจายแบบ T_2 ของเนื้อเยื่อบริเวณนั้น

Abstract

T_2 -distribution Magnetic Resonance Imaging was studied. Four different T_2 samples was packed together for imaging. T_2 of solutions in the bottles are 200, 116, 59, 20 ms, respectively. Magnetic field strength of 0.3 Tesla and the CPMG pulse sequence were used. Six images were received with different TE value of 45, 60, 80, 100, 120 and 150 ms. The 6 T_2 -weighted images were then calculated and a T_2 -distribution image was made. The image shows T_2 distribution. The measured T_2 from the distribution image were different from T_2 of solution in the range between 10 to 30 percent. The technique was used with human right leg and the image of T_2 -distribution was received.

¹ภาควิชาฟิสิกส์ คณะวิทยาศาสตร์ มหาวิทยาลัยขอนแก่น อ.เมือง จ.ขอนแก่น 40002

บทนำ

การถ่ายภาพด้วยการสั่นพ้องแม่เหล็กนิวเคลียส (Magnetic Resonance Imaging, MRI) ได้ถูกพัฒนาเป็นครั้งแรก เมื่อปี ค.ศ.1973 โดยเลาเตอร์เบอร์ [Lauterbur 1973] ได้เสนอวิธีการสร้างภาพความหนาแน่นของสปินขึ้นเป็นครั้งแรกโดยใช้เทคนิคการสั่นพ้องแม่เหล็กนิวเคลียส (Nuclear Magnetic Resonance, NMR) และในปี ค.ศ.1976 แมนฟิลด์และแมดเลสเลย์ [Mansfield and Maudsley 1976] ใช้เทคนิค MRI สร้างภาพมนุษย์เป็นครั้งแรก และสามารถพัฒนาจนสร้างภาพได้ตลอดทั้งตัว นับว่าเป็นจุดเริ่มต้นของงานวิจัยต่างๆ ทางด้าน MRI และได้พัฒนาอย่างรวดเร็ว ซึ่งปัจจุบันนี้สามารถสร้างภาพที่แยกรายละเอียดของเนื้อเยื่อต่างๆ ออกจากกันได้อย่างชัดเจน เทคนิค MRI มีประโยชน์อย่างมากในทางการแพทย์และใช้กันอย่างแพร่หลาย

การถ่ายภาพ MRI เป็นการใช้เทคนิคการกระตุ้นนิวเคลียสของอะตอมไฮโดรเจนที่อยู่ในร่างกายโดยใช้คลื่นวิทยุ (Radiofrequency, RF) ความถี่ของคลื่นวิทยุที่ใช้ในการกระตุ้นจะอยู่ในช่วงตั้งแต่ 100 กิโลเฮิร์ต จนถึง 100 เมกะเฮิร์ต ขึ้นอยู่กับสนามแม่เหล็กที่ใช้ ในโรงพยาบาลทั่วไปที่ใช้เครื่อง MRI ที่มีขนาดสนาม 1 เทสลา จะต้องใช้คลื่นวิทยุที่มีความถี่ 42.5 เมกะเฮิร์ต ซึ่งไม่เป็นอันตรายกับผู้ที่เข้ารับการถ่ายภาพด้วยเทคนิคนี้ อะตอมไฮโดรเจนโดยส่วนใหญ่อยู่ในโมเลกุลของน้ำ หลังจากทีอะตอมถูกกระตุ้นแล้วก็จะปลดปล่อยคลื่นวิทยุออกมาที่มีความถี่เดียวกับที่ใช้ในการกระตุ้น เมื่อนำสัญญาณที่ได้มาขยายและประมวลผล ทำให้เราได้ภาพของการกระจายของโปรตอน (Proton Density) หรืออีกนัยหนึ่งก็คือภาพของน้ำที่อยู่ในส่วนของร่างกายในบริเวณระนาบที่ได้รับการถ่ายภาพ บริเวณที่มีน้ำอยู่มากก็จะปรากฏออกมาเป็นบริเวณที่สว่างในภาพ ในส่วนที่มีน้ำอยู่น้อยก็จะสว่างน้อยกว่า

น้ำเมื่ออยู่กับสารเคมีหรือแร่ธาตุต่างๆ จะทำให้น้ำมีคุณสมบัติการผ่อนคลายเปลี่ยนไปขึ้นอยู่กับเนื้อเยื่อและความเข้มข้นในบริเวณนั้น ทำให้น้ำในส่วนต่างๆ ของร่างกายมีคุณสมบัติการผ่อนคลายที่ต่างกัน คุณสมบัติการผ่อนคลายมี 2 แบบ คือ การผ่อนคลายแบบตามยาวหรือการผ่อนคลายสปิน-แลททิซ (T_1 Relaxation) และการผ่อนคลายแบบตามขวางหรือการผ่อนคลายสปิน-สปิน (T_2 Relaxation)

ในการศึกษานี้ เราใช้คุณสมบัติพิเศษของเนื้อเยื่อนี้คือการผ่อนคลายแบบตามขวาง เพื่อมาทำให้ภาพที่ได้จากเทคนิค MRI เปลี่ยนไปจากเดิมที่มีเฉพาะการกระจายของโปรตอนหรือปริมาณน้ำ และทำให้สามารถแยกเนื้อเยื่อบริเวณต่างๆ ได้ และช่วยให้แพทย์สามารถนำไปใช้ประกอบในการวินิจฉัยโรคได้สะดวกมากขึ้น

ทฤษฎี

การผ่อนคลายของสปิน (Spin Relaxation)

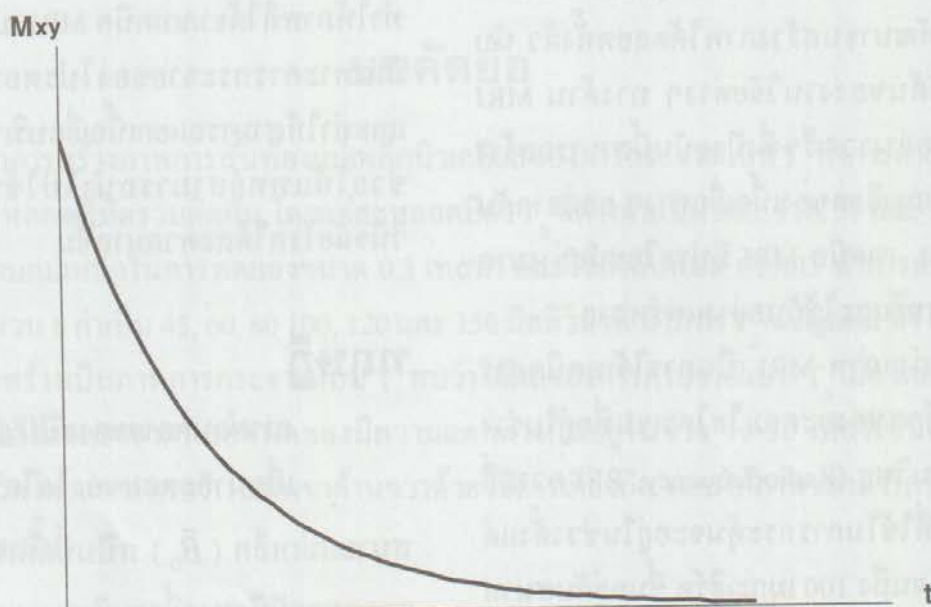
เมื่อนำอะตอมของไฮโดรเจนมาวางไว้ในสนามแม่เหล็ก ($\vec{B}_0$) สปินที่เกิดจากการหมุนของอะตอมจะมีทิศทางชี้ตามทิศทางของสนามแม่เหล็ก การผ่อนคลายของสปิน (Spin Relaxation) เกิดขึ้นหลังการให้คลื่นวิทยุ RF เข้าไปกระตุ้นอะตอมของสารตัวอย่างทำให้สปินถูกเบนไปจากแนวเดิมเป็นมุม 90° หรือ 180° ขึ้นอยู่กับขนาดและเวลาของคลื่นวิทยุที่ให้เข้าไป หลังจากนั้นสปินก็จะเบนกลับมาสู่แนวสมดุลเดิมตามสนามแม่เหล็ก เมื่อวัดสัญญาณจะได้สัญญาณที่มีขนาดของแอมพลิจูดลดลงช้าๆ (Decay) การผ่อนคลายของสปินเกิดจากการแลกเปลี่ยนและถ่ายเทพลังงานระหว่างสปินด้วยกัน และระหว่างสปินกับสิ่งแวดล้อม เป็นเหตุให้สปินกลับคืนสู่สมดุลในทิศทางขนานกับสนามแม่เหล็กหลัก $\vec{B}_0$ ในงานวิจัยนี้เป็นการใช้การผ่อนคลายที่มีการแลกเปลี่ยนและถ่ายเทพลังงานระหว่างสปินด้วยกัน

ซึ่งเรียกว่า การผ่อนคลายสปิน-สปิน (Spin-Spin Relaxation)

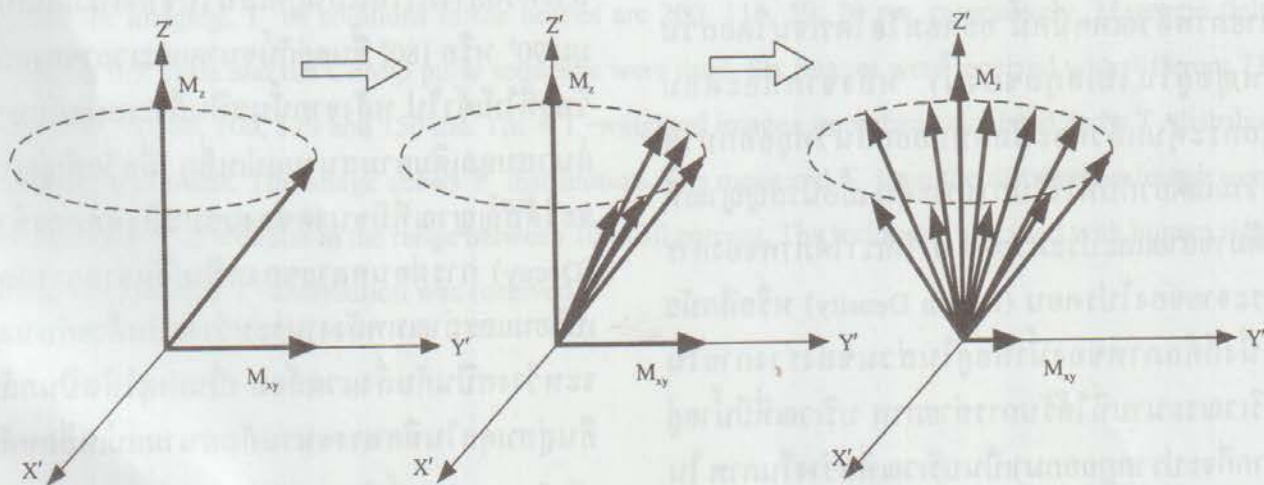
การผ่อนคลายสปิน-สปิน เกิดจากอันตรกิริยาระหว่างสปินที่อยู่ข้างกัน ซึ่งสปินมีสนามแม่เหล็กขนาดเล็ก (Local Field) ส่งผลไปถึงนิวเคลียสที่อยู่ติดกัน อันตรกิริยาระหว่างสปิน (Dipole-Dipole Interaction) นี้ทำให้อัตราการหมุนของนิวเคลียสแต่ละตัวมีการเปลี่ยนแปลงเล็กน้อย ผลจากอันตรกิริยานี้คือ ทำให้เฟสของสปิน

เปลี่ยนแปลงและค่าสปินรวมในระนาบที่ตั้งฉากกับสนามแม่เหล็ก (แมกนีไทเซชันตามขวาง) (M_{xy}) ลดลงแบบเอกโปเนนเชียลเข้าสู่ศูนย์ดังรูปที่ 1 ด้วยเวลาคงที่เรียกว่า Spin-Spin Relaxation Time หรือ Transverse Relaxation Time หรือ T_2

การกระจายเฟสของแมกนีไทเซชันที่เวลาต่างๆ แสดงได้ดังรูปที่ 2 ซึ่งผลจากการกระจายเฟสทำให้สปินรวมหรือแมกนีไทเซชันบนระนาบ x-y ลดลง



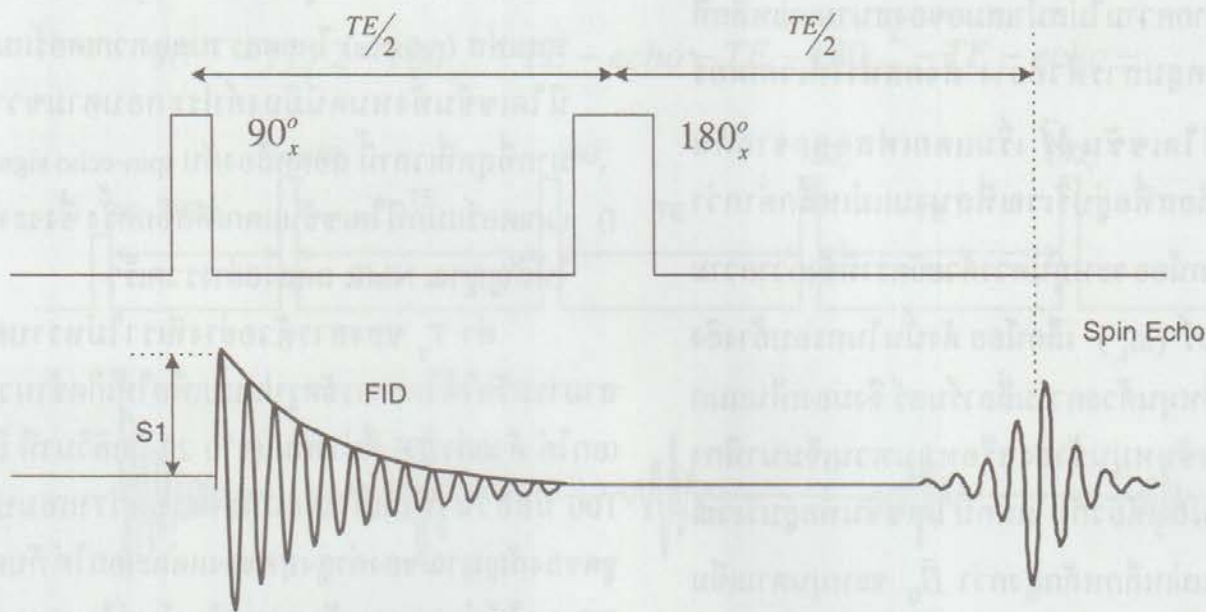
รูปที่ 1 แสดงการลดลงของ M_{xy} หลังจากการกระตุ้นด้วยคลื่นวิทยุ



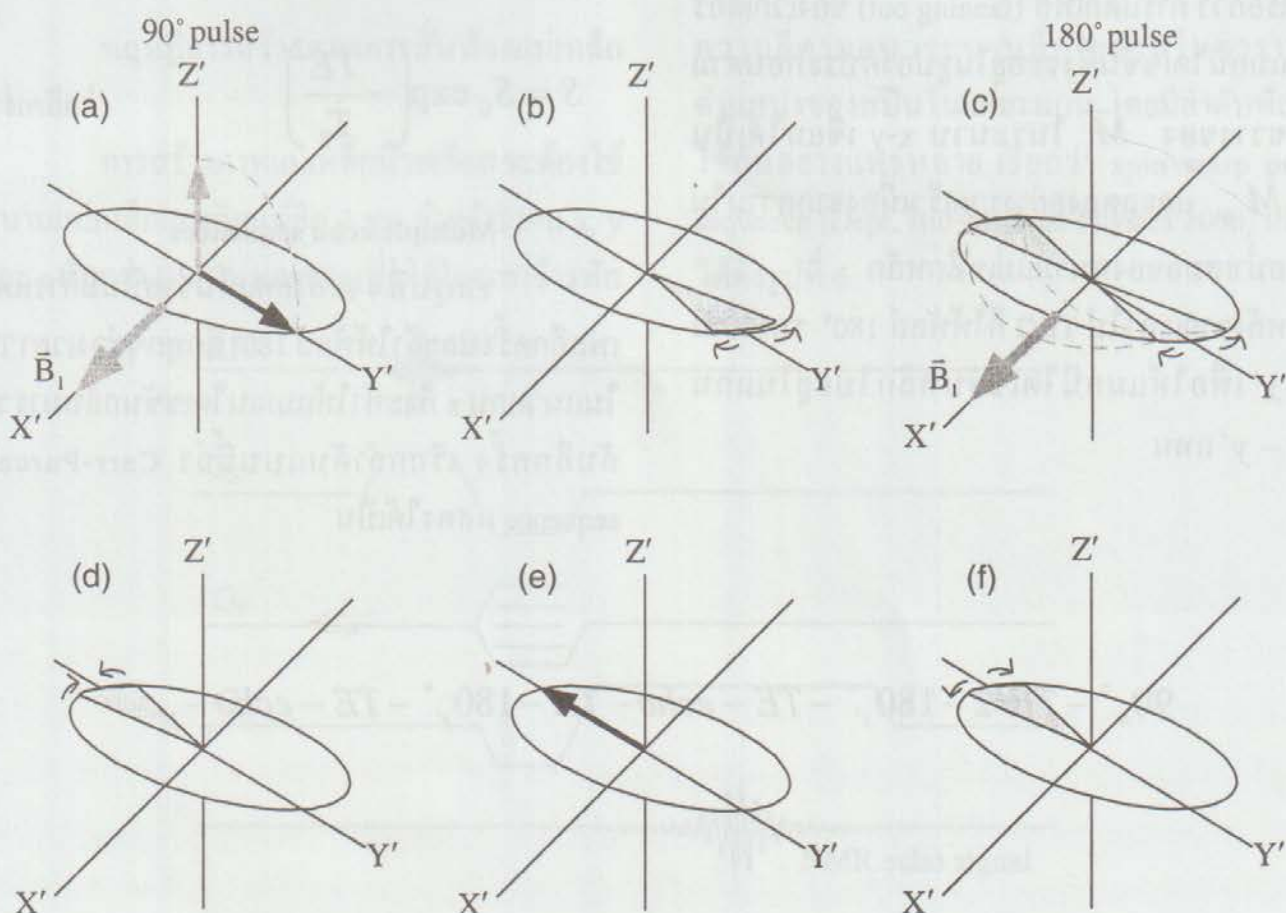
รูปที่ 2 แสดงการผ่อนคลายสปิน-สปิน ทำให้โมเมนต์แม่เหล็กหมุนควงด้วยอัตราที่แตกต่างกันเล็กน้อย ทำให้เฟสของสปินเปลี่ยนแปลง

การวัดค่าเวลาการผ่อนคลาย T_2 เราใช้เทคนิคที่ทำให้เกิดการก้อง (Echo) ของสปินโดยใช้ลำดับพัลส์ Hahn Pulse Sequence ประกอบด้วยการให้พัลส์ 90° หลังจากเวลาผ่านไป $TE/2$ (Half Echo Time) จึงให้พัลส์ 180° ทำให้แมกนีไทเซชันที่กำลังแยกออกจากกันเนื่องจากการกระจายเฟส เกิดการกลับเฟสแล้วกลับมารวมกันอีกครั้งหลังจากเวลาผ่าน

ไป $TE/2$ คงเหลือไว้แต่การแพร่ของสัญญาณเนื่องจากการผ่อนคลายสปิน-สปิน เท่านั้น พัลส์ 180° ที่ใช้ในที่นี้จะถูกเทียบว่าเป็น refocusing pulse สำหรับลำดับพัลส์แสดงได้ดังนี้ $90^\circ, \frac{TE}{2}, 180^\circ$ โดยมีลักษณะดังรูปที่ 3 สำหรับพฤติกรรมของแมกนีไทเซชันแสดงดังรูปที่ 4



รูปที่ 3 แสดง Hahn pulse sequence



รูปที่ 4 แสดงพฤติกรรมของแมกนีไทเซชัน

จากรูปที่ 4 สามารถอธิบายได้ดังนี้

a) เมื่อให้พัลส์ 90° (โดยให้ $\bar{B}_1$ ตามแกน x')

จะทำให้เวกเตอร์ของแมกนีไตเซชัน $\bar{M}$ เบนจากตำแหน่งสมดุลไปยังแกน y' เวกเตอร์

แมกนีไตเซชันทั้งหมด $\bar{M}$ เป็นผลรวมของแมกนีไตเซชันจากส่วนต่างๆ ของสารตัวอย่าง

b) เนื่องจากความไม่สม่ำเสมอของสนามแม่เหล็กที่

ครอบคลุมสารตัวอย่าง ส่งผลทำให้เวกเตอร์

แมกนีไตเซชัน $\bar{M}$ เริ่มแตกเฟสออกจากกัน

นิวเคลียสที่อยู่บริเวณที่สนามแม่เหล็กต่ำกว่า

$\bar{B}_0$ เล็กน้อย จะหมุนควงด้วยอัตราที่ช้ากว่าความ

ถี่ลามอร์ (ω_L) เล็กน้อย ดังนั้นในกรอบอ้างอิง

หมุนที่หมุนด้วยความถี่ลามอร์ จึงมองเห็นแมก

นีไตเซชันหมุนช้าลงหรือหมุนทวนเข็มนาฬิกา

ในทำนองเดียวกัน แมกนีไตเซชันที่อยู่บริเวณ

สนามแม่เหล็กหลักสูงกว่า $\bar{B}_0$ จะหมุนตามเข็

มนาฬิกาจึงเห็นแมกนีไตเซชันแยกออกจากกัน

เรียกว่า การแตกเฟส (fanning out) ของเวกเตอร์

แมกนีไตเซชันซึ่งจะอยู่ในรูปองค์ประกอบตาม

ขวางของ $\bar{M}$ ในระนาบ x-y เขียนได้เป็น

M_{xy} และลดลงอย่างรวดเร็วเนื่องจากความไม่

สม่ำเสมอของสนามแม่เหล็กหลัก

c) หลังจากเวลาไป $TE/2$ ก็ให้พัลส์ 180° รอบแกน

x' เพื่อให้แมกนีไตเซชันพลิกไปอยู่ในแกน

$-y'$ แทน

d) แมกนีไตเซชันที่หมุนตามเข็มนาฬิกาก็หมุนใน

ทิศทางเดิมเบนเข้ามาทางแกน $-y'$ และใน

ทำนองเดียวกันแมกนีไตเซชันที่หมุนทวน

เข็มนาฬิกาก็หมุนในทิศทางเดิมเบนเข้าหาแกน

$-y'$

e) หลังจากให้เวลาผ่านไป $TE/2$ เวกเตอร์แมกนีไต

เซชันทั้งหมดยังคงอยู่ในแกน $-y'$ และมีการ

รวมเฟส (refocus) โดยผลรวมของเวกเตอร์แมก

นีไตเซชันทั้งหมดนี้มีองค์ประกอบตามขวาง

มากที่สุดที่เวลานี้ สอดคล้องกับ spin-echo signal

f) เวกเตอร์แมกนีไตเซชันแตกเฟสอีกครั้ง ซึ่งจะทำ

ให้สัญญาณ NMR ลดลงอย่างรวดเร็ว

ค่า T_2 ของสารตัวอย่างที่เราไม่ทราบค่า

สามารถวัดได้โดยการจัดรูปแบบเพื่อให้เกิดจำนวน

เอกโค ด้วยค่า TE ที่ต่างกัน (จาก 20 มิลลิวินาที ถึง

100 มิลลิวินาที) แล้วเขียนกราฟระหว่างแอมพลิ

จูดของสัญญาณของค่าสูงสุดของแต่ละเอกโคกับค่า

TE จะได้ค่าออกมาดังความสัมพันธ์ในสมการ

ต่อไปนี้

$$S = S_0 \exp\left(-\frac{TE}{T_2}\right) \quad (1)$$

Multiple echo sequences

จากรูปที่ 4 จะสังเกตเห็นว่าสปินมีการแตก

เฟสอีกครั้งและถ้าให้พัลส์ 180° อีกทุกๆช่วงเวลา TE

ในแนวแกน x ก็จะทำให้แมกนีไตเซชันกลับมารวม

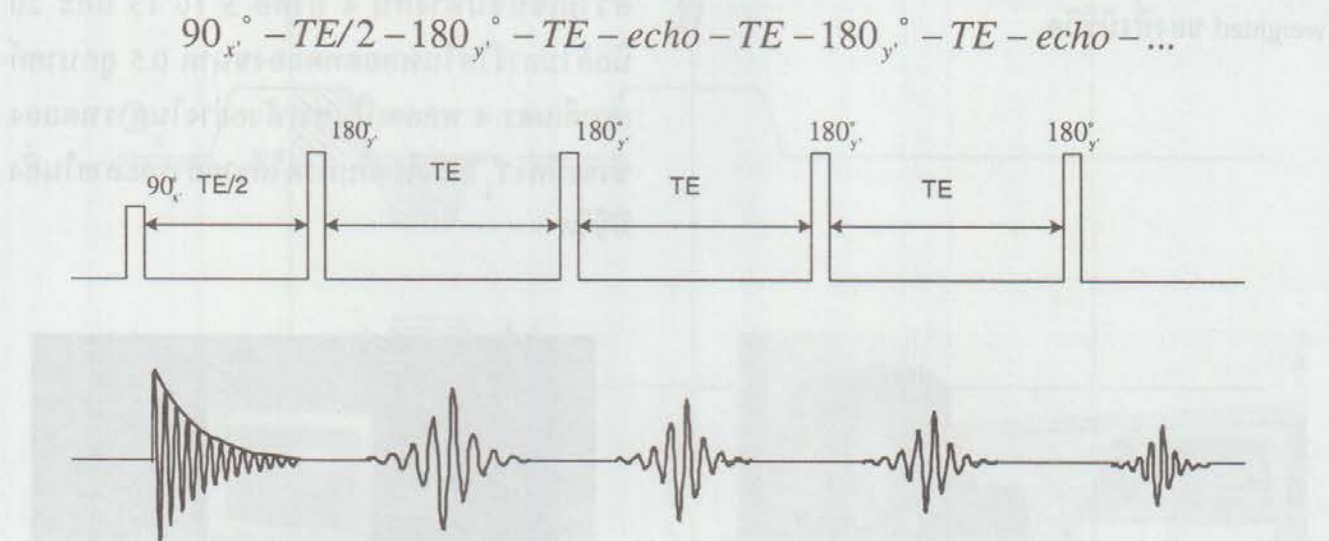
กันอีกครั้ง เรียกลำดับแบบนี้ว่า Carr-Purcell

sequence แสดงได้เป็น

$$90_{x'}^\circ - TE/2 - 180_{x'}^\circ - TE - echo - TE - 180_{x'}^\circ - TE - echo - \dots$$

สัญญาณเอกโคจะสลับกันไปแต่มีเฟสตรงกันข้าม สปินถูเข้าสู่สลับทาง $-y'$ และ $+y'$ เรื่อยๆ แต่ถ้าพัลส์ 180° ที่ให้ไม่สมบูรณ์ จะทำให้แมกนีไทเซชันพลิกกลับแล้วไม่อยู่บนระนาบ $x'y'$ อย่างสมบูรณ์ สัญญาณเอกโคที่ได้จึงไม่ถูกต้องและน้อยกว่าค่าจริง ปัญหานี้สามารถแก้ไขได้โดยการให้สนามแม่เหล็ก $\bar{B}_1$ ของพัลส์ 180° ตามทิศทาง $+y'$ แต่พัลส์ 90°

ยังคงอยู่ตามแกน $+x'$ เหมือนเดิม จะสามารถเลื่อนเฟสของพัลส์ 180° ไป 90° การแผ่อกของแมกนีไทเซชันจะถูกยกขึ้นตามแกน y' และ $\vec{M}$ ก็จะถูเข้าสู่ $+y'$ ที่ทุกๆ เอกโค วิธีนี้เรียกว่า Carr-Purcell-Meiboom-Gill pulse sequence (หรือลำดับพัลส์ CPMG) และเขียนลำดับพัลส์ได้ดังนี้

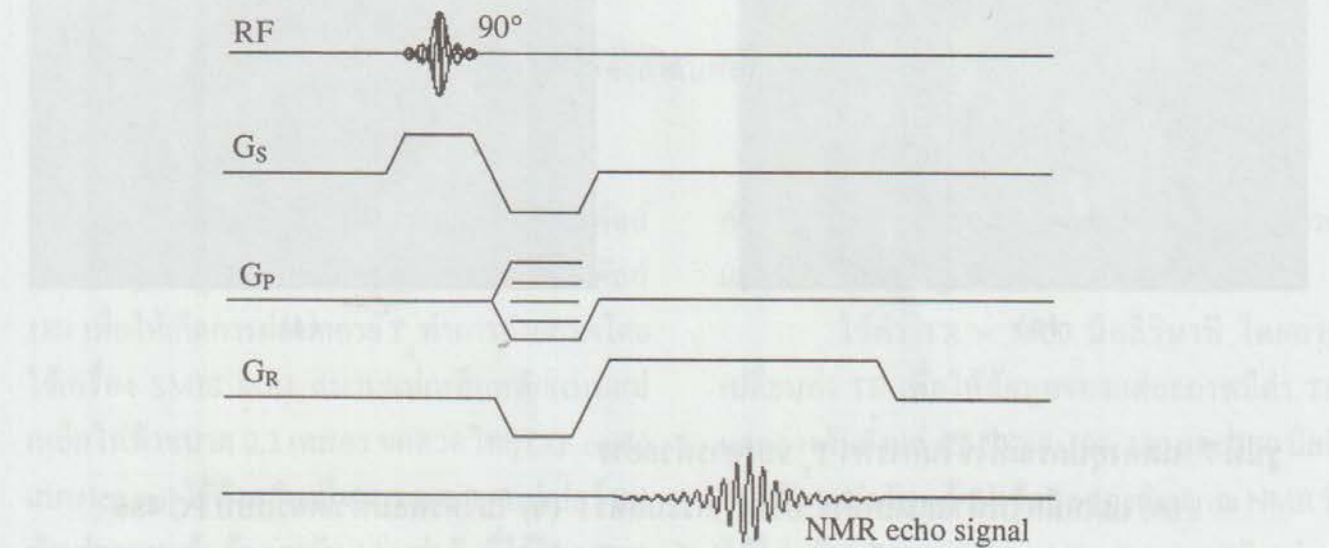


รูปที่ 5 แสดงลำดับพัลส์ CPMG

ทฤษฎีการสร้างภาพการสั่นพ้องแม่เหล็กนิวเคลียร์

การสร้างภาพแม่เหล็กนิวเคลียส จะต้องใช้สนามแม่เหล็กเกรเดียนท์อีก 3 ชุด สำหรับแกน x, y และ z เรียกว่า G_x , G_y และ G_z เพื่อใช้ในการเข้ารหัส

ความถี่ตามแนวระนาบที่ถ่ายภาพในการบอกตำแหน่งของสปินในแต่ละแกน โดยมีลำดับพัลส์ที่ใช้กันอย่างแพร่หลาย เรียกว่า spin-warp pulse sequence [Dept. Bio-Medical Physics 2000] แสดงได้ดังรูปที่ 6



รูปที่ 6 แสดงลำดับพัลส์พื้นฐาน Spin-Warp Pulse sequence ที่ใช้ในการสร้างภาพ

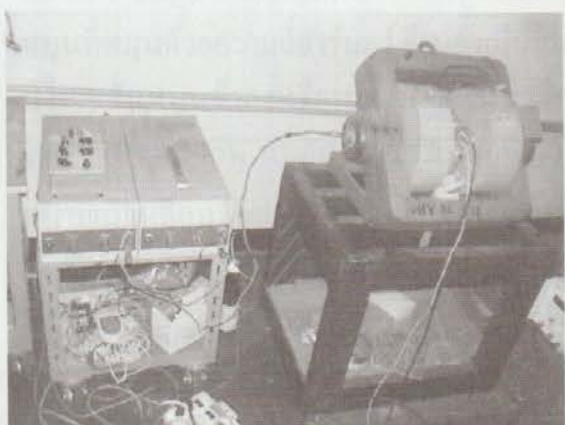
วิธีการทดลอง

กระบวนการสร้างภาพ MRI แบบ T_2 -weighted ในโครงการนี้สามารถแบ่งออกเป็น 3 ขั้นตอน คือ ขั้นตอนในการวัดค่า T_2 ของสารตัวอย่างเพื่อที่จะนำมาสร้างภาพแบบ T_2 -weighted ขั้นตอนการถ่ายภาพ MRI แบบ T_2 -weighted ของสารตัวอย่าง และขั้นตอนการถ่ายภาพ MRI แบบ T_2 -weighted ของสิ่งมีชีวิต

การวัดค่า T_2 ของสารตัวอย่าง

ในงานวิจัยนี้ ใช้ลำดับพัลส์ CPMG ดังรูปที่ 5 โดยใช้อุปกรณ์ดังในรูปที่ 7(ก) ซึ่งเป็นแม่เหล็กไฟฟ้า (conco cat.no.79637) สนามแม่เหล็กขนาด 0.3 เทสลา ความถี่สั่นพ้องอยู่ในช่วง 12.7-13.2 MHz ควบคุมจากคอมพิวเตอร์ดังแสดงในรูปที่ 7(ข)

โดยใช้สารละลายคอปเปอร์ (II) ซัลเฟต ความเข้มข้นต่างกัน 4 ค่าคือ 5 10 15 และ 20 มิลลิโมลาร์ใส่ในหลอดทดลองขนาด 0.5 ลูกบาศก์เซนติเมตร 4 หลอดเป็นสารตัวอย่างในการทดลอง ซึ่งจะมีค่า T_2 ใกล้เคียงกับที่วัดได้จากสารละลายในสิ่งมีชีวิต



(ก)



(ข)



(ค)



(ง)

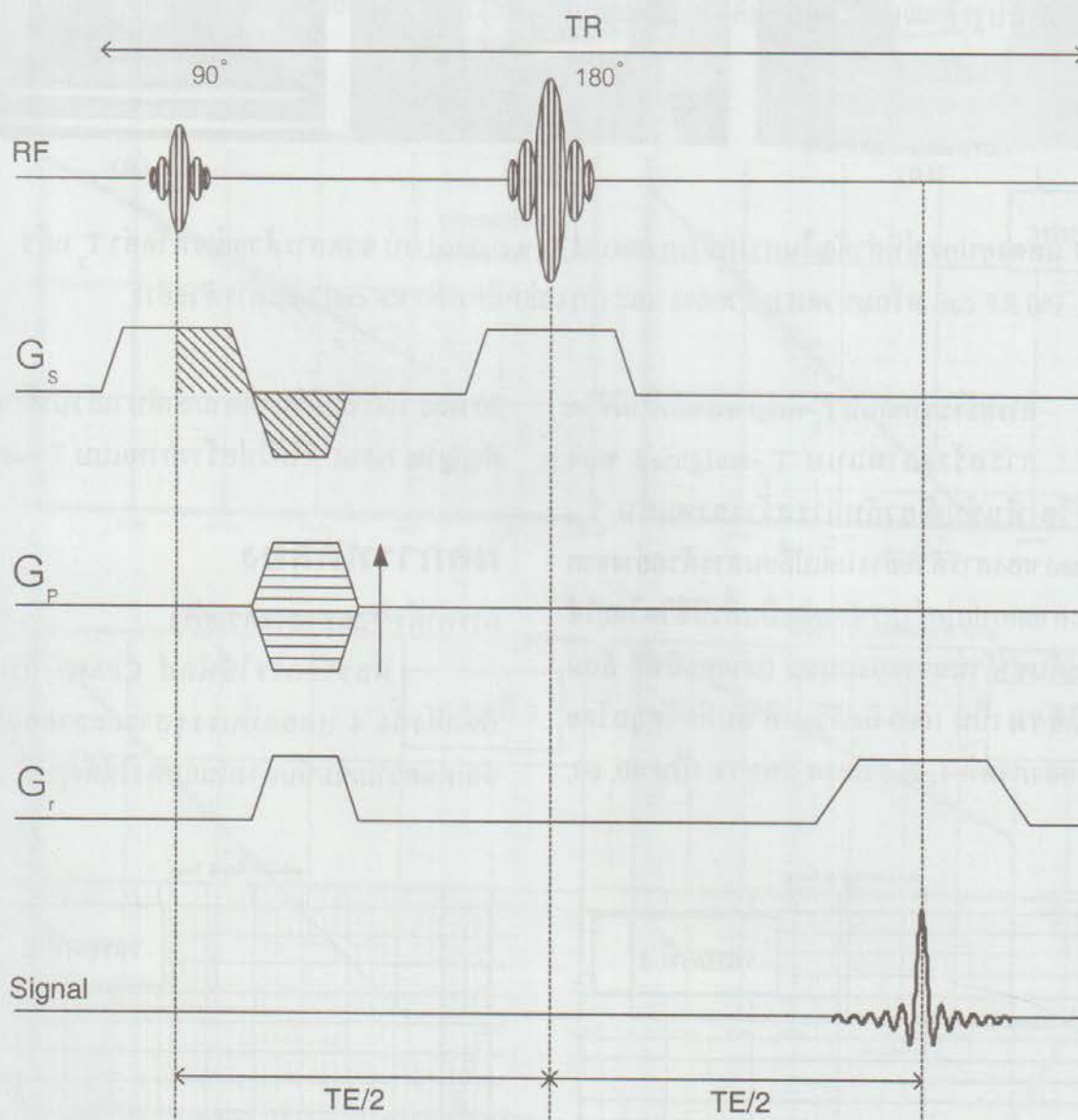
รูปที่ 7 แสดงอุปกรณ์ที่ใช้ในการหา T_2 ของสารตัวอย่าง

(ก) แม่เหล็กไฟฟ้าและแหล่งจ่ายไฟฟ้ากระแสตรง (ข) ไมโครคอมพิวเตอร์แบบ PC 486

(ค) หลอดทดลองขนาดเล็ก (ง) คอปเปอร์ (II) ซัลเฟต (CuSO_4)

การถ่ายภาพแบบ T₂-weighted

ใช้ลำดับพัลส์ในการถ่ายภาพแบบ T₂-weighted คือ spin echo pulse sequence มีลักษณะดังรูปที่ 8



รูปที่ 8 แสดงลำดับพัลส์ spin-echo

ลำดับพัลส์ spin-echo มีลักษณะคล้ายกับลำดับพัลส์ spin-warp ในรูปที่ 5 ซึ่งมีส่วนที่เพิ่มขึ้นมาคือพัลส์ 180 เพื่อให้เกิดการผ่อนคลาย T₂ ทำการถ่ายภาพโดยใช้เครื่อง SMIS MRI สนามแม่เหล็กหลักแบบแม่เหล็กไฟฟ้าขนาด 0.3 เทสลา ขดลวดวิทยุ (RF coils) แบบ leg coil ใช้ตัวอย่างเป็นสารละลายคอปเปอร์ (II) ซัลเฟตความเข้มข้นต่างกัน 4 ค่าเท่ากับที่ใช้ในการหา

ค่า T₂ ใส่ในขวดขนาด 500 ลูกบาศก์เซนติเมตร 4 ขวด และมีक्रमกันดังรูปที่ 9(ก)

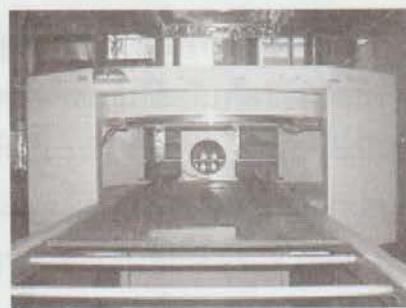
ใช้ค่า TR = 1000 มิลลิวินาที โดยการเปลี่ยนค่า TE เพื่อให้ข้อมูลของแต่ละภาพมีค่า TE แตกต่างกันตั้งแต่ 45, 60, 80, 100, 120 และ 150 มิลลิวินาที ตามลำดับ แล้วนำข้อมูลของสัญญาณ NMR ที่ได้ไปสร้างภาพแบบ T₂-weighted ของสารตัวอย่าง



(ก)



(ข)



(ค)

รูปที่ 9 แสดงอุปกรณ์ที่สำคัญในการสร้างภาพแบบ T_2 -weighted (ก) ขวดสารตัวอย่างที่วัดค่า T_2 แล้ว (ข) RF coil พร้อมขวดสารตัวอย่าง และ (ค) แม่เหล็กหลัก RF coil และสารตัวอย่าง

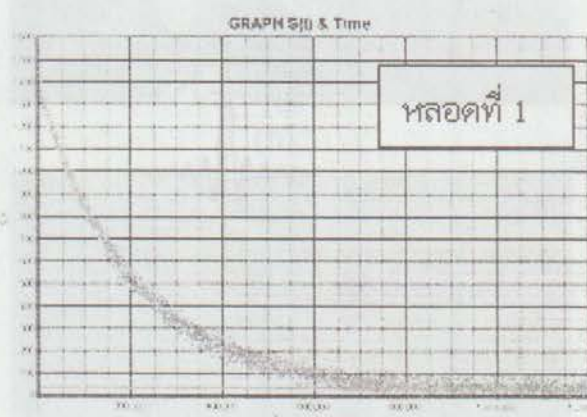
การสร้างภาพแบบ T_2 -weighted ของสิ่งมีชีวิต การสร้างภาพแบบ T_2 -weighted ของสิ่งมีชีวิต ทำเช่นเดียวกับการสร้างภาพแบบ T_2 -weighted ของสารตัวอย่าง แต่เปลี่ยนสารตัวอย่างจากสารละลายคอปเปอร์ (II) ซัลเฟตเป็นสิ่งมีชีวิตโดยใช้บริเวณต้นขาด้านขวาของมนุษย์ (นายพรสิทธิ์ ล้อมทอง) ใช้ TR เป็น 1000 มิลลิวินาที บันทึกข้อมูลโดยข้อมูลของภาพที่ 1, 2, 3 และ 4 มีค่า TE เป็น 40, 60,

80 และ 100 มิลลิวินาทีตามลำดับ แล้วนำข้อมูลของสัญญาณ NMR ที่ได้ไปสร้างภาพแบบ T_2 -weighted

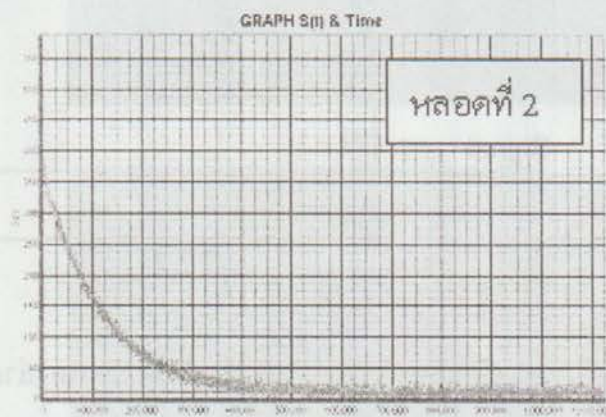
ผลการทดลอง

การหาค่า T_2 ของสารตัวอย่าง

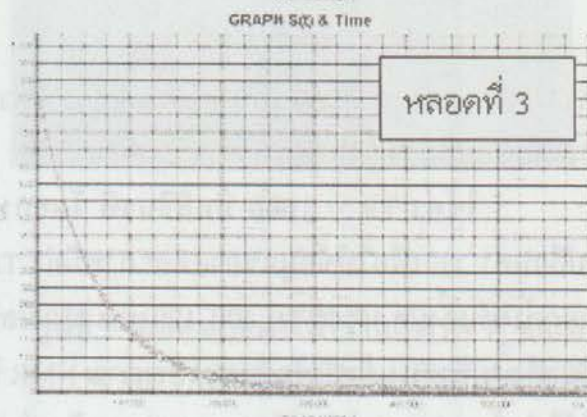
ผลจากการใช้พัลส์ CPMG กับหลอดทดลองทั้ง 4 หลอดที่บรรจุสารละลายคอปเปอร์ (II) ซัลเฟตความเข้มข้นต่างกันแสดงได้ดังรูปที่ 10



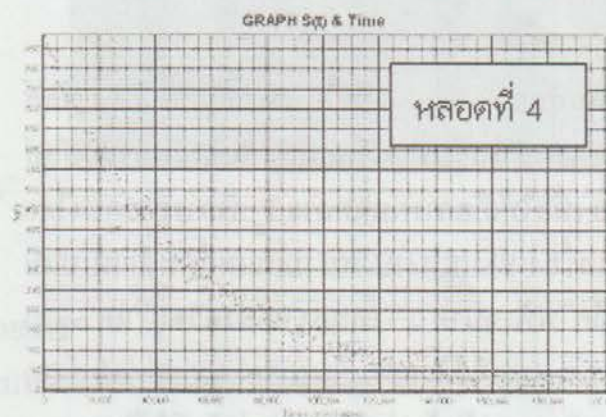
หลอดที่ 1



หลอดที่ 2



หลอดที่ 3



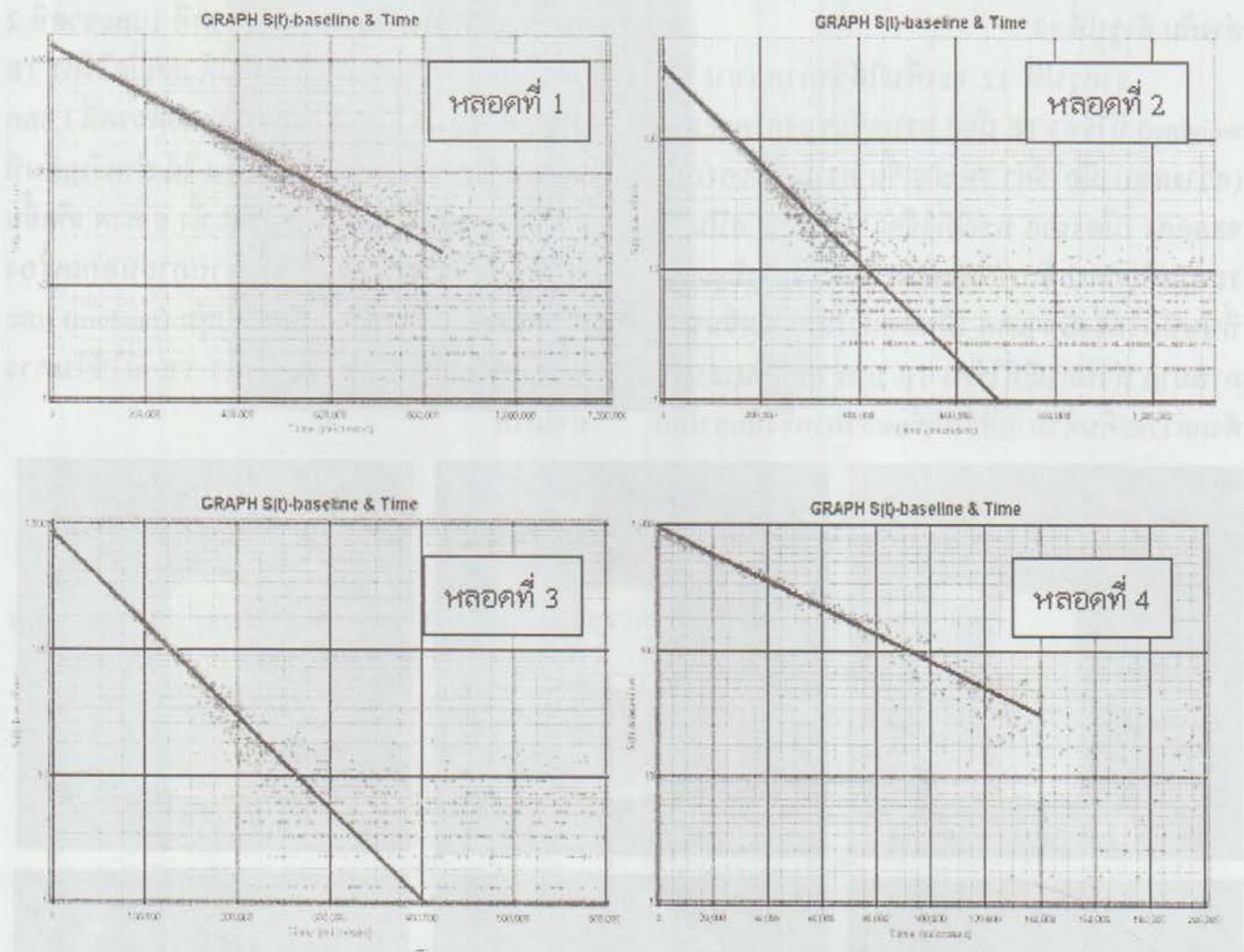
หลอดที่ 4

รูปที่ 10 แสดงกราฟระหว่าง ขนาดสัญญาณ echo กับ เวลา ของหลอดทดลองต่างๆ

จากรูปที่ 10 ลักษณะของสัญญาณจะลดลงแบบ exponential ตามสมการ

$$S(t) = S_0 \exp(-t/T_2) \tag{2}$$

เมื่อนำข้อมูลในรูปที่ 10 มาเขียนกราฟกับเวลาแบบ semi log จะได้กราฟที่มีลักษณะดังรูปที่ 11



รูปที่ 11 แสดงกราฟระหว่างขนาดสัญญาณ echo กับ เวลา ของหาควัดทดลองต่างๆแบบ semilog

นำข้อมูลที่แสดงในกราฟรูปที่ 11 มาคำนวณหาค่า T_2 โดยใช้วิธี least square ได้ผลดังแสดงในตารางที่ 1

ตารางที่ 1 แสดงผลการคำนวณค่า T_2 ของสารละลายคอปเปอร์ซัลเฟตในหาควัดต่างๆ

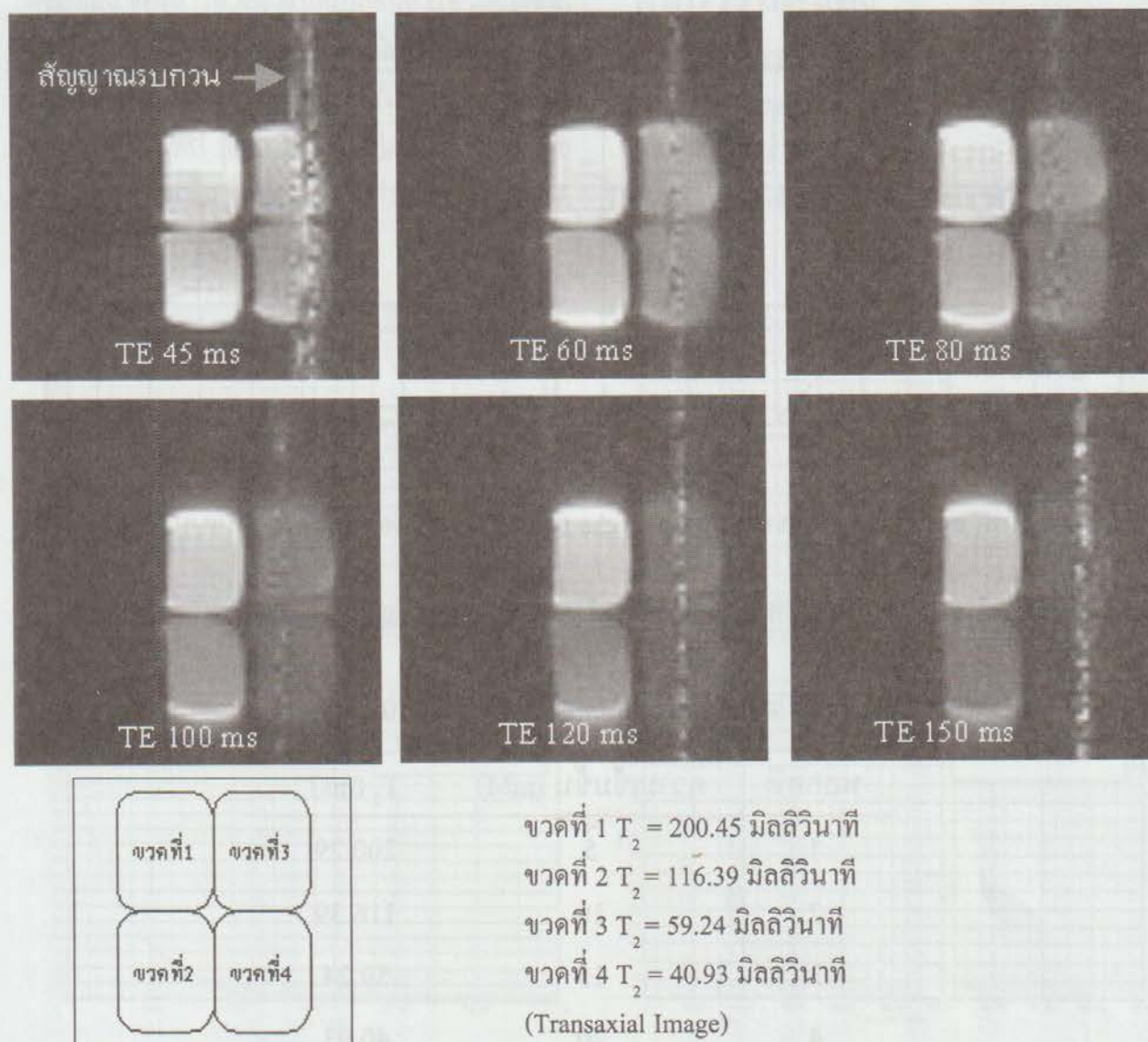
หาควัดที่	ความเข้มข้น (mM)	T_2 (ms)
1	5	200.29
2	10	116.39
3	15	59.24
4	20	40.93

การสร้างภาพแบบ T_2 -weighted ของสารตัวอย่าง

เมื่อนำสัญญาณ NMR ที่ได้จากการถ่ายภาพแบบ T_2 -weighted ด้วย spin echo pulse sequence มาแปลงฟูเรียร์ใน 2 มิติ จะได้ภาพที่มีลักษณะแตกต่างกัน ดังรูปที่ 12

จากรูปที่ 12 จะเห็นได้ว่าภาพแบบ T_2 -weighted ที่ใช้ค่า TE น้อย ความเข้มของภาพจะมาก (สว่างมาก) เมื่อใช้ค่า TE มากขึ้น ความเข้มของภาพจะลดลง เนื่องจาก กรณีที่ใช้ค่า TE น้อย สปินในระนาบที่ถูกกระตุ้น (transaxial) ค่อนข้างน้อย สัญญาณที่บันทึกได้จึงมีค่ามาก เป็นผลทำให้ความเข้มของภาพมาก ส่วนกรณีที่ใช้ค่า TE มาก สปินในระนาบดังกล่าวจะค่อนข้างน้อยความเข้มของภาพจึงน้อย นอก

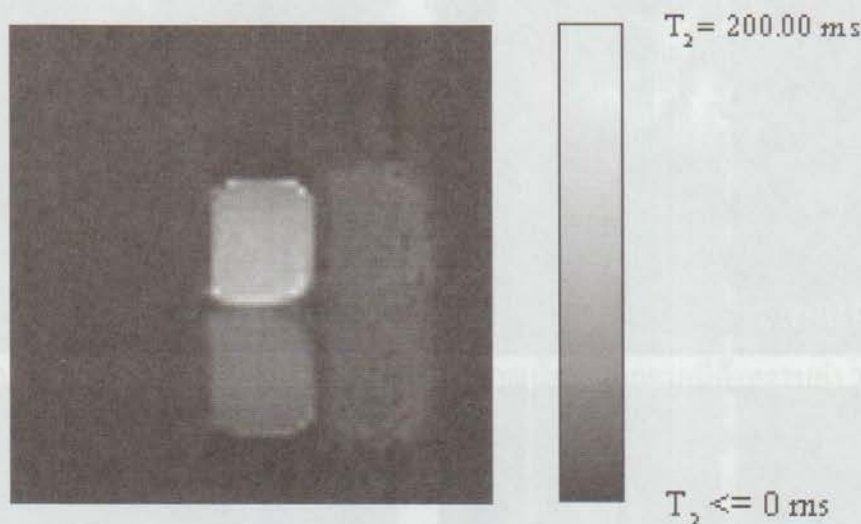
จากนี้ ถ้าพิจารณาที่ภาพใดภาพหนึ่งพบว่า ภาพของขดที่ 1 มีความเข้มมากกว่าขดที่ 2 ขดที่ 3 และขดที่ 4 ตามลำดับ เนื่องจากค่า T_2 ของขดที่ 1 มากกว่าขดที่ 2 ขดที่ 3 และขดที่ 4 ตามลำดับ (ตารางที่ 1) และเป็นไปตามสมการที่ 2 เมื่อใช้ค่า TE = 60 มิลลิวินาที จะสามารถแยกภาพของขดที่ 1 และขดที่ 2 ออกจากขดที่ 3 และขดที่ 4 ได้ แต่เมื่อใช้ค่า TE มากกว่า 100 มิลลิวินาที จะสามารถแยกขดที่ 1 ออกจากขดที่ 2 ขดที่ 3 และขดที่ 4 ได้ สำหรับเส้นที่เกิดขึ้นในภาพแบบ T_2 -weighted ทั้ง 6 ภาพ เกิดขึ้นเนื่องจากสัญญาณรบกวนจากภายนอกเครื่อง ลักษณะของสัญญาณจะเป็นแบบสุ่ม (random) และมีความเข้มสูงโดยไม่ขึ้นกับค่า TE ที่ใช้ในการถ่ายภาพ



รูปที่ 12 แสดงภาพแบบ T_2 -weighted ของสารตัวอย่าง เมื่อใช้ TE ต่างกัน

เมื่อนำข้อมูลภาพแบบ T_2 -weighted ทั้ง 6 ภาพในรูปที่ 12 มาสร้างภาพการกระจายของค่า T_2 (ค่าของ T_2 ของแต่ละจุดภาพ) โดยใช้วิธีเดียวกับการ

หาค่า T_2 ของสารตัวอย่าง จากการคำนวณได้ผลลัพธ์ดังแสดงในรูปที่ 13 และค่า T_2 ของสารละลายในแต่ละขวดจากการคำนวณแสดงไว้ในตารางที่ 2



รูปที่ 13 แสดงการกระจายของค่า T_2 ของสารตัวอย่าง

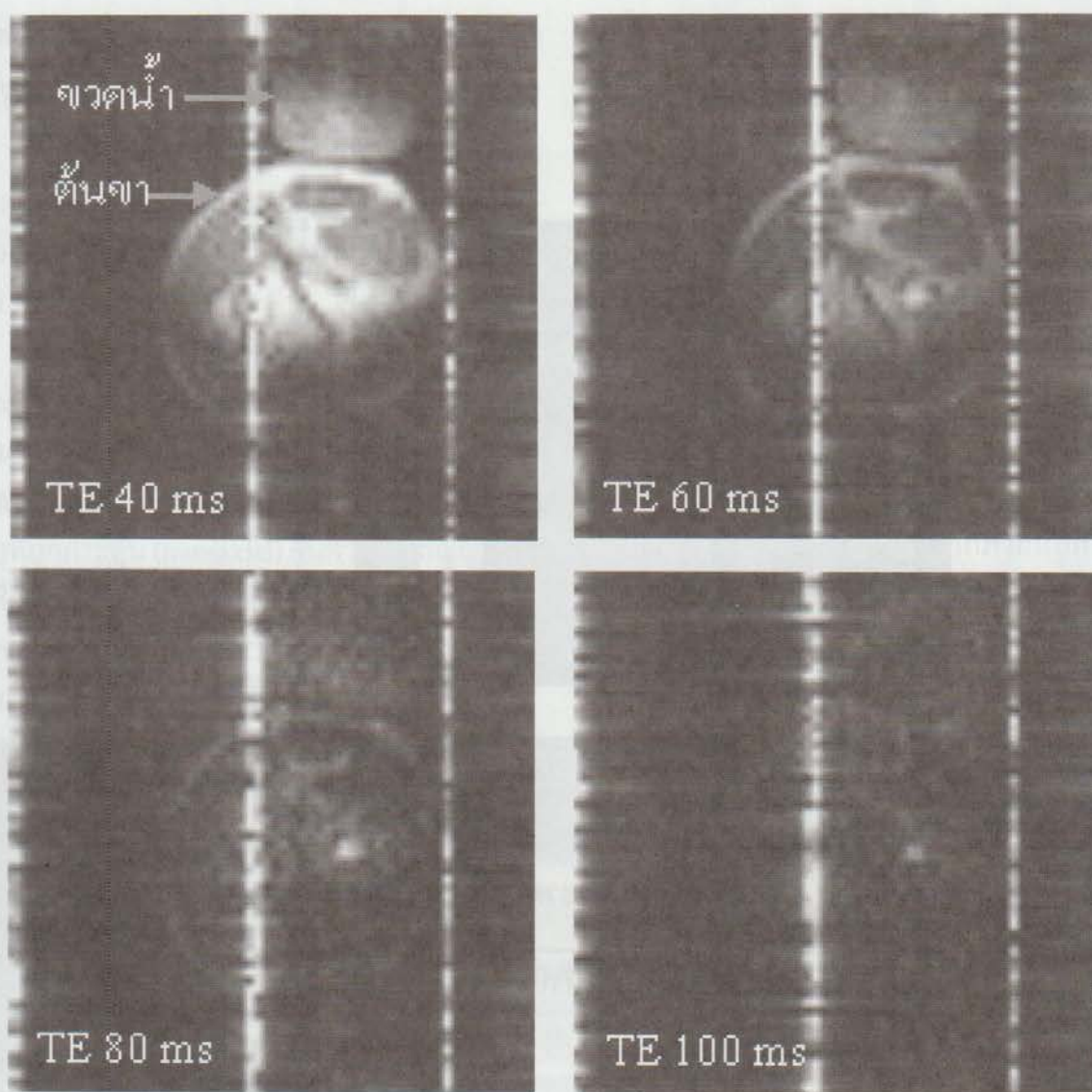
ตารางที่ 2 ตารางแสดงค่า T_2 ของสารตัวอย่างแต่ละขวด

ขวดที่	ค่าที่วัดจากหลอด (ms)	ค่าที่วัดจากภาพ (ms)	ค่าผิดพลาด (ms)
1	200.29	178.75	21.54
2	116.39	85.24	31.15
3	59.24	64.80	5.56
4	40.93	49.02	8.09

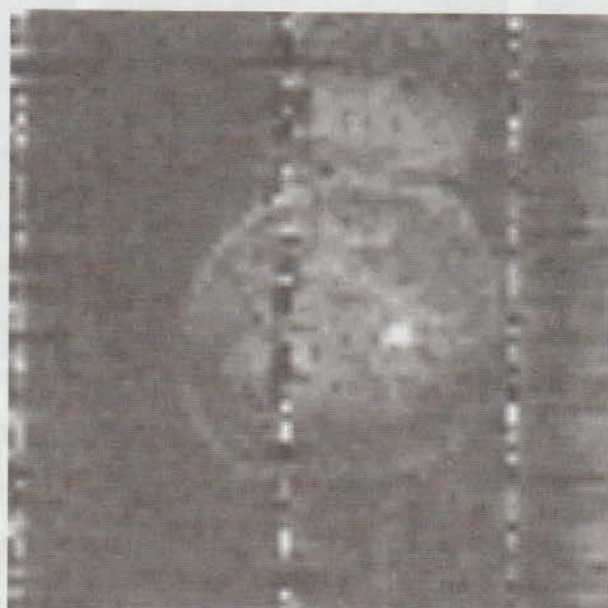
จากรูปที่ 13 จะเห็นว่าภาพการกระจายของค่า T_2 ของสารตัวอย่างขวดที่ 1 มีความเข้มมากกว่าขวดที่ 2 ขวดที่ 3 และขวดที่ 4 ตามลำดับ แสดงว่าขวดที่ 1 มีค่า T_2 มากกว่า ขวดที่ 2 ขวดที่ 3 และขวดที่ 4 ตามลำดับ (สอดคล้องกับตารางที่ 2) และค่า T_2 ของสารตัวอย่างที่คำนวณจากภาพได้ใกล้เคียงกับค่าที่คำนวณโดยตรงจากหลอดทดลอง เส้นที่เกิดจากสัญญาณรบกวนของภาพแบบ T_2 ของภาพทั้ง 6 ภาพจะลดลงจนเกือบหายไป เพราะสัญญาณที่มีลักษณะ

เป็นแบบสุ่ม เมื่อนำสัญญาณมาหาค่า T_2 จะหักล้างกันไปเกือบหมด

การสร้างภาพ T_2 -weighted ของสิ่งมีชีวิตจากกระบวนการในการสร้างภาพแบบ T_2 -weighted ของสารตัวอย่าง เมื่อนำมาใช้กับสิ่งมีชีวิต (ซึ่งเป็นภาคตัดขวางของบริเวณต้นขาด้านขวาของมนุษย์) ได้ภาพแบบ T_2 -weighted แสดงดังรูปที่ 14 ส่วนภาพการกระจายของค่า T_2 แสดงดังรูปที่ 15



รูปที่ 14 แสดงภาพแบบ T_2 -weighted ของสิ่งมีชีวิต เมื่อใช้ TE แตกต่างกัน



รูปที่ 15 แสดงภาพการกระจายของค่า T_2 ของสิ่งมีชีวิต

จากรูปที่ 14 จะเห็นได้ว่าเมื่อใช้ TE ค่าหนึ่งเนื้อเยื่อ บริเวณต่างๆจะมีความเข้มต่างกันและสามารถแยกออกจากกันได้ เมื่อนำข้อมูลภาพมาสร้างภาพการกระจายของค่า T_2 บริเวณขอบขาและบริเวณกล้ามเนื้อจะมีความเข้มมาก เมื่อพิจารณาถึงองค์ประกอบของบริเวณดังกล่าวพบว่า ประกอบด้วยน้ำหรือไขมันซึ่งเป็นสารที่มีค่า T_2 มาก ส่วนบริเวณที่มีความเข้มน้อยจะเป็นบริเวณที่มีค่า T_2 น้อยซึ่งได้แก่บริเวณที่เป็นกระดูก

สำหรับเส้นที่เกิดจากสัญญาณรบกวนของภาพแบบ T_2 ของภาพทั้ง 4 ภาพ ในรูปที่ 14 จะมากกว่าภาพแบบ T_2 ของสารตัวอย่าง เพราะว่า นอกจากจะมีสัญญาณรบกวนจากภายนอกแล้วร่างกายของมนุษย์ที่มีคุณสมบัติเป็นตัวนำยังส่งผลให้สัญญาณรบกวนเพิ่มมากขึ้น แต่เมื่อพิจารณาภาพการกระจายของค่า T_2 สัญญาณได้ลดลงลดลงจนเกือบหายไป

สรุปผลและวิจารณ์

การหาค่า T_2 ของสารตัวอย่างเพื่อนำมาสร้างภาพ MRI แบบ T_2 -weighted จะใช้ลำดับพัลส์ CPMG เนื่องจากเป็นลำดับพัลส์ที่ใช้วัดค่า T_2 ของสารได้แม่นยำที่สุด เมื่อนำข้อมูลของสัญญาณเอกโคของสารตัวอย่างทั้ง 4 ขวด มาหาค่า T_2 โดยใช้เทคนิค least square fitting สามารถหาค่า T_2 ของสารตัวอย่างแต่ละขวดได้ดังนี้

ขวดที่ 1 ความเข้มข้น 5 มิลลิโมลาร์

$$T_2 = 200.29 \text{ มิลลิวินาที}$$

ขวดที่ 2 ความเข้มข้น 10 มิลลิโมลาร์

$$T_2 = 116.39 \text{ มิลลิวินาที}$$

ขวดที่ 3 ความเข้มข้น 15 มิลลิโมลาร์

$$T_2 = 59.24 \text{ มิลลิวินาที}$$

ขวดที่ 4 ความเข้มข้น 20 มิลลิโมลาร์

$$T_2 = 40.93 \text{ มิลลิวินาที}$$

เมื่อนำขวดของสารตัวอย่างทั้ง 4 ขวด มาถ่ายภาพ MRI ด้วยเครื่อง smis 0.3 T MRI ของภาควิชาฟิสิกส์ คณะวิทยาศาสตร์ โดยใช้ลำดับพัลส์ spin echo จะได้ภาพ MRI แบบ T_2 -weighted ซึ่งภาพที่ใช้ค่า TE น้อย สัญญาณที่ได้จึงมีค่ามาก เป็นผลทำให้ความเข้มของภาพสูง ส่วนภาพที่ใช้ค่า TE มาก สัญญาณที่บันทึกได้จึงมีค่าน้อย เป็นผลทำให้ความเข้มของภาพต่ำ ถ้าพิจารณาเฉพาะภาพใดภาพหนึ่งพบว่าเมื่อใช้ค่า TE เท่ากัน บริเวณที่มีค่า T_2 มาก จะมีขนาดสัญญาณสูงกว่าบริเวณที่มีค่า T_2 น้อยจะมีขนาดสัญญาณน้อย นอกจากนี้ถ้าทราบค่า T_2 ของบริเวณที่จะทำการถ่ายภาพ MRI อย่างแน่นอนแล้ว จะสามารถเลือกใช้ค่า TE ที่เหมาะสมเพื่อแยกบริเวณที่มีค่า T_2 แตกต่างกันได้อย่างชัดเจน ซึ่งเมื่อใช้ค่า TE = 60 มิลลิวินาที จะสามารถแยกภาพของขวดที่ 1 และขวดที่ 2 ออกจากขวดที่ 3 และขวดที่ 4 ได้ และเมื่อใช้ค่า TE = 100 , 120 และ 150 มิลลิวินาที จะสามารถแยกขวดที่ 1 ออกจากขวดที่ 2 ขวดที่ 3 และขวดที่ 4

เมื่อนำข้อมูลภาพแบบ T_2 -weighted มาสร้างภาพการกระจายตัวของค่า T_2 ของสารตัวอย่าง ขวดที่มีความเข้มมากจะมีค่า T_2 มากกว่าขวดที่ขวดที่มีความเข้มน้อยและเมื่อนำภาพมาคำนวณหาค่า T_2 ได้ผลออกมาใกล้เคียงกับที่คำนวณได้จากหลอดทดลอง

เมื่อนำลำดับพัลส์ spin echo มาถ่ายภาพ MRI ของสิ่งมีชีวิตก็สามารถสร้างภาพแบบ T_2 -weighted และภาพการกระจายตัวของค่า T_2 ของสิ่งมีชีวิตได้ บริเวณขอบขาและบริเวณกล้ามเนื้อจะมีความเข้มมากเพราะประกอบด้วยน้ำหรือไขมันซึ่งมีค่า T_2 มาก ส่วนบริเวณที่มีความเข้มน้อยจะเป็นบริเวณที่มีค่า T_2 น้อยซึ่งได้แก่บริเวณที่เป็นกระดูก

ในการดำเนินงานเกี่ยวกับการสร้างภาพ MRI แบบ T_2 -weighted คุณภาพของภาพที่ได้ยังไม่ดีเท่าที่ควรเนื่องจากสัญญาณรบกวนมีค่อนข้างมาก และเมื่อทำการทดลองในสิ่งมีชีวิต สัญญาณรบกวนยิ่งสูงขึ้นคุณภาพของภาพที่ได้ก็ยิ่งน้อยลง

กิตติกรรมประกาศ

ขอขอบคุณภาควิชาฟิสิกส์ คณะวิทยาศาสตร์
ในการใช้เครื่อง MRI เพื่อทำงานวิจัยนี้

เอกสารอ้างอิง

Lauterbur, P.C. (1973). "Image formation by
induced local instructions: examples
employing nuclear magnetic resonance",
Nature 242 (5394), 190.

Mansfield, P. and Maudsley, A.A. (1946). "Planar
spin imaging by NMR", J. Phys. C: Solid
State Phys. 9, L409.

Department of Bio-Medical Physics. (2000).
"Physical basis of Magnetic Resonance
Imaging" University of Aberdeen, Aber-
deen, Scotland, UK.

๑๑๑๑๑๑

ดัชนีกรรมวารสารวิทยาศาสตร์ มข.

(เรียงตามชื่อผู้เขียน)

ปีที่ 33 (พ.ศ. 2548)

ผู้เขียน	ชื่อเรื่อง	ฉบับที่	หน้า
Irfah, Shahril, Omar, Aziz, Maail and Bujang	Microfabric Analysis using Scanning Electron Microscopy as Potential Method for Determining Instability of Weathered Rock Slope	3-4	89-97
Somporn Prasertsongskun and Ekasit Ponsoda	<i>In vitro</i> propagation of orchid, <i>Gammatophyllum speciosum</i>	1-2	53-57
กมลทิพย์ จูดาทิศ อมรพรรณ อุ้นชัย และศุภลักษณ์ พริ้งเพราะ	คุณภาพยาเม็ดไกลเบนคลาไมด์	1-2	23-31
จิระยุทธ เวทย์วีระพงศ์	ผลเฉลยของกำหนดการเชิงเส้นใน 2 ตัวแปร	1-2	1-4
ชนกพร เผ่าศิริ	วิธีชีวสังเคราะห์ของไอโซพรีนอยด์กับทางเลือก ใหม่สำหรับยาปฏิชีวนะและยารักษามาลาเรีย	3-4	70-76
นิรุต มีเกิด	การหาและการตรวจสอบความถูกต้องของ ดีเทอร์มิแนนต์	1-2	9-12
พัฒนา ธีรพรชัยสิทธิ์	"จูบมรณะ" โนเบลสาขาเคมี ปี 2004	3-4	63-69
พิกุล ภูผาสุข	การหาสูตรโมเลกุลทั่วไปของสารประกอบ อะลิเฟติกไฮโดรคาร์บอนโดยสมบัติทางกราฟ	1-2	19-22
มิตรี กระพีแดง	ค่าของลิมิต X^* เมื่อ x เข้าใกล้ศูนย์	3-4	59-62
มิตรี กระพีแดง	สามเหลี่ยมที่มีพื้นที่เท่ากับความยาว ของเส้นรอบรูป	1-2	5-8
รัชยาพร อโนราช และนาถธิดา วีระปรียาภูร	วิธีทดสอบฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระใน หลอดทดลอง	1-2	13-18

ผู้เขียน	ชื่อเรื่อง	ฉบับที่	หน้า
วัฒนา พัฒนากุล	น้ำตาลและสารให้ความหวานที่พบในพืช	3-4	77-86
วิไล เส และโสภิน บำเพ็ญทรัพย์	การทดสอบความถูกต้องของการวิเคราะห์กรดเบนโซอิก กรดซอบิก กรดซาลิซิลิก และซัคคารินในน้ำส้มเกล็ดหิมะด้วยวิธี HPLC/PDA	3-4	105-114
วิไล เส โสภิน บำเพ็ญทรัพย์ และ ไพวัลย์ อินทร์อุดม	การศึกษาความแม่นยำ และความถูกต้องของวิธีวิเคราะห์องค์ประกอบน้ำมันและคุณภาพของนมสดและนมปรุงแต่งที่จำหน่ายใน 4 จังหวัด ภาคตะวันออกเฉียงเหนือ ในช่วงปี 2544-2546	1-2	32-40
วิวัฒน์ ยงค์ดี และพิพัฒพงษ์ สาจันทร์	การถ่ายภาพการสั่นพ้องแม่เหล็กนิวเคลียสของการกระจายแบบ T_2	3-4	128-142
ศักดิ์สิทธิ์ จันทรไทย นาด ภูวงศ์ผา และไพบูรณ์ ด่านวิรุทธ	การวิเคราะห์ตะกั่วและสารหนูในสุราพื้นบ้าน	3-4	98-104
โสภณ บุญลือ ชริดา ปุกหุด และพูนพิไล สุวรรณฤทธิ์	ชนิด และการครอบครองพืชอาศัยของรา วิเอมาคอร์ไรซา ในบริเวณดินเค็มของจังหวัดอุบลราชธานี	3-4	115-127
อารี ฤทธิบุรณ์ และสุนันทา มีชนะ	การชักนำการกลายพันธุ์ การแยกและการหาสภาวะที่เหมาะสมต่อการผลิตเอนไซม์ไซลาลเนสของเชื้อราสายพันธุ์กลาย	1-2	41-52

ดัชนีุกรมวารสารวิทยาศาสตร์ มข.

(เรียงตามชื่อเรื่อง)

ปีที่ 33 (พ.ศ. 2548)

ชื่อเรื่อง	ผู้เขียน	ฉบับที่	หน้า
<i>In vitro</i> propagation of orchid, <i>Gammatophyllum speciosum</i>	Somporn Prasertsongskun and Ekasit Ponsoda	1-2	53-57
Microfabric Analysis using Scanning Electron Microscopy as Potential Method for Determining Instability of Weathered Rock Slope	Irfah, Shahril, Omar, Aziz, Maail and Bujang	3-4	89-97
การชักนำการกลายพันธุ์ การแยก และการหาสภาวะที่เหมาะสมต่อ การผลิตเอนไซม์ไซลานเนสของเชื้อรา สายพันธุ์กลาย	อารี ฤทธิบุรณ์ และสุนันทา มีชนะ	1-2	41-52
การถ่ายภาพการสั่นพ้องแม่เหล็กนิวเคลียส ของการกระจายแบบ T_2	วิวัฒน์ ยงค์ดี และพิพัฒพงษ์ สาจันทร์	3-4	128-142
การทดสอบความถูกต้องของการวิเคราะห์ กรดเบนโซอิก กรดซอบิก กรดซาลิซิลิก และซัคคารินในน้ำส้มเกล็ดหิมะด้วยวิธี HPLC/PDA	วิไล เสง และโสภิน บำเพ็ญทรัพย์	3-4	105-114
การวิเคราะห์ตะกั่วและสารหนูใน สุราพื้นบ้าน	ศักดิ์สิทธิ์ จันทร์ไทย นาด ภูวงศ์ผา และไพบูรณ์ ด่านวิรุฑ	3-4	98-104
การศึกษาความแม่นยำ และความถูกต้อง ของวิธีวิเคราะห์องค์ประกอบน้ำมันและ คุณภาพของนมสดและนมปรุงแต่งที่ จำหน่ายใน 4 จังหวัด ภาคตะวันออก เชิงเหนือ ในช่วงปี 2544-2546	วิไล เสง โสภิน บำเพ็ญทรัพย์ และ ไพวัลย์ อินทร์อุดม	1-2	32-40
การหาและการตรวจสอบความ ถูกต้องของดีเทอร์มิแนนต์	นิรุต มีเกิด	1-2	9-12

ชื่อเรื่อง	ผู้เขียน	ฉบับที่	หน้า
การหาสูตรโมเลกุลทั่วไปของสารประกอบอะลเฟติก1-2ไฮโดรคาร์บอนโดยสมบัติทางกราฟ	พิณุต ภูผาสุข	1-2	19-22
ค่าของลิมิต x^x เมื่อ x เข้าใกล้ศูนย์	มิตริ กระพีแดง	3-4	59-62
คุณภาพยาเม็ดไกลเบนคลาไมด์	กมลทิพย์ จูดาทิศ อมรพรรณ อุ้นชัย และศุภลักษณ์ พริ้งเพระ	1-2	23-31
"จูบมรณะ" โนเบลสาขาเคมี ปี 2004	พัฒนา ชีรพรชัยสิทธิ์	3-4	63-69
ชนิด และการครอบครองพืชอาศัยของรา วิเอมายคอร์ไรซา ในบริเวณดินเค็มของจังหวัดอุบลราชธานี	โสภณ บุญลือ ชริดา ปุกหุด และพูนพิไล สุวรรณฤทธิ์	3-4	115-127
น้ำตาลและสารให้ความหวานที่พบในพืช	วัฒนา พัฒนากุล	3-4	77-86
ผลเฉลยของกำหนดการเชิงเส้นใน 2 ตัวแปร	จิระยุทธ เวทย์วีระพงศ์	1-2	1-4
วิธีชีวสังเคราะห์ของไอโซปรีนอยด์กับทางเลือกใหม่สำหรับยาปฏิชีวนะและยารักษามาลาเรีย	ชนกพร เผ่าศิริ	3-4	70-76
วิธีทดสอบฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระในหลอดทดลอง	รัชยาพร อโนราช และนาถธิดา วีระปรียาภรณ์	1-2	13-18
สามเหลี่ยมที่มีพื้นที่เท่ากับควมยาวของเส้นรอบรูป	มิตริ กระพีแดง	1-2	5-8

ข้อแนะนำในการเขียนบทความลงวารสารวิทยาศาสตร์ มข.

ประเภทของเรื่องที่จะตีพิมพ์

1. รายงานผลการวิจัยและค้นคว้าหรือการสำรวจที่ยังไม่เคยตีพิมพ์ในวารสารหรือหนังสืออื่นมาก่อน
2. บทความปริทัศน์ ได้แก่งานเขียนที่รวบรวมหรือเรียบเรียงจากเอกสารหรือหนังสือต่าง ๆ เพื่อเผยแพร่และฟื้นฟูงานด้านวิชาการระดับต่าง ๆ
3. บทความแสดงข้อคิดเห็นหรือข้อเสนอแนะที่เป็นประโยชน์ในด้านวิชาการ เรื่องแปลข่าววิชาการ ย่อความจากงานวิจัยหรือหนังสือใหม่ที่น่าสนใจ
4. เรื่องที่จะตีพิมพ์ ต้องไม่เคยได้รับการตีพิมพ์ในวารสารอื่น หรือ Proceedings ของการประชุมทางวิชาการมาก่อน

รูปแบบของการเขียนและเตรียมต้นฉบับ

1. ต้นฉบับ ต้องเป็นต้นฉบับปกติ มีช่วงห่างระหว่างบรรทัดตามมาตรฐาน พิมพ์ลงในกระดาษขาว A4 (โรเนียวสัน) โดยใช้กระดาษหน้าเดียว ความยาวไม่เกิน 10 หน้า ส่งต้นฉบับ 2 ชุด
2. ต้นฉบับ จะถูกพิจารณาโดยกองบรรณาธิการ และจะตอบรับการได้รับบทความโดยไม่ส่งต้นฉบับคืน ผู้เขียนควรจะทำสำเนาเก็บไว้เป็นหลักฐานของตัวเอง 1 ฉบับ
3. ต้นฉบับ จะต้องมีความถูกต้องทั้งในด้านเนื้อหา และการใช้ภาษา รวมทั้งมีความสมบูรณ์ในรูปแบบพร้อมที่จะนำลงตีพิมพ์ได้
4. ชื่อเรื่อง ให้ใช้ภาษาไทยหรือภาษาอังกฤษ ไม่ยาวเกินไป และหลีกเลี่ยงการใช้คำย่อโดยไม่จำเป็น
5. ชื่อผู้เขียน เขียนชื่อภาษาไทยหรือภาษาอังกฤษพร้อมทั้งบอกสถานที่ทำงานให้ชัดเจน
6. เนื้อเรื่อง ใช้ได้ทั้งภาษาไทยล้วน และภาษาอังกฤษล้วน ถ้าใช้ภาษาไทย ภาษาอังกฤษที่ใช้ปนกับภาษาไทยนั้นให้พยายามแปลเป็นไทยเท่าที่จะทำได้ และให้เขียนคำเดิมกำกับในวงเล็บ การทับศัพท์ภาษาอังกฤษ ตลอดทั้งการเขียนตัวสะกด การันต์ ในภาษาไทยให้ใช้ตามแบบราชบัณฑิตยสถาน
7. ในกรณีของบทความวิจัย ต้องมีบทคัดย่อทั้งภาษาไทยและภาษาอังกฤษ และแบ่งเนื้อหาของบทความเป็นบทนำ วิธีดำเนินงาน ผลการวิเคราะห์ บทสรุปและวิจารณ์
8. เชิงอรรถ (footnote) ใช้เฉพาะที่จำเป็นเพื่อขยายหรือให้รายละเอียดเพิ่มเติมแก่ใจความเฉพาะตอนในบทความ
9. ตารางและภาพประกอบ คำบรรยายประกอบตารางหรือภาพประกอบควรจะสั้นและชัดเจน ถ้าเป็นภาพถ่ายให้ใช้ภาพขาว-ดำ ขนาดโปสเตอร์ ภาพเขียนลายเส้นควรเขียนด้วยหมึกดำ ภาพที่เขียนต้องชัดเจนและมีขนาดที่เหมาะสม
10. เอกสารอ้างอิง หรือบรรณานุกรม แนะนำให้เขียนตามแบบที่ทางวารสารกำหนด

ส่งต้นฉบับมาที่

กองบรรณาธิการวารสารวิทยาศาสตร์ มข.

คณะวิทยาศาสตร์ มหาวิทยาลัยขอนแก่น 40002

สิทธิันทนาการสำหรับผู้เขียน

เรื่องที่ได้รับการตีพิมพ์ ผู้เขียนจะได้รับวารสารฉบับนั้น 2 เล่ม และสำเนาพิมพ์อีก 15 ชุด

การเขียนเอกสารอ้างอิงในวารสารวิทยาศาสตร์ มข.

เอกสารอ้างอิง (Reference) หมายถึง เอกสารหรือส่วนหนึ่งของเอกสารที่อ้างอิงถึงหรือแปลมาโดยตรง การเขียนเอกสารอ้างอิงในเนื้อหานั้น ให้ใช้ระบบชื่อและปี เช่น Williams (2001) รายงานว่า.... หรือ...(Williams, 2001) การเขียนเอกสารอ้างอิงในตอนท้ายบทความนั้น ให้ใส่เฉพาะเล่มที่มีการอ้างอิงไว้แล้วในเนื้อหาเท่านั้น

บรรณานุกรม (Bibliography) หมายถึง เอกสารที่ใช้อ้างอิงในลักษณะที่สรุปเป็นหลักการหรือทฤษฎี โดยมีได้อ้างอิงหรือแปลมาโดยตรง

การเขียนเอกสารอ้างอิง หรือบรรณานุกรม มีแนวทางการเขียนดังนี้

1. หนังสือ

ก. ภาษาไทย

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

ข. ภาษาอังกฤษ

ชื่อสกุล, อักษรย่อชื่อต้น. อักษรย่อชื่อรอง. (เลขปี ค.ศ.). ชื่อเรื่อง. ชื่อหนังสือ. เมืองที่พิมพ์ : โรงพิมพ์ หรือสำนักพิมพ์. 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-เลขหน้าสุดท้ายที่อ้างอิง.

ข. ภาษาอังกฤษ

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

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 ให้ใส่เฉพาะชื่อแรก และใส่คำว่า "และคณะ" หรือ "et al." ในกรณีของภาษาไทย หรือภาษาอังกฤษตามลำดับ (เฉพาะในเนื้อหาเท่านั้น)
4. ถ้าเอกสารที่ถูกอ้างอิงอยู่ในระหว่างตีพิมพ์ ให้บอกรายละเอียดมากที่สุดและใช้คำว่า "ระหว่างตีพิมพ์" หรือ "in press" ในกรณีของภาษาไทย หรือภาษาอังกฤษตามลำดับ โดยวงเล็บต่อท้ายเอกสารอ้างอิงนั้น

ใบส่งลงโฆษณา ในวารสารวิทยาศาสตร์ มข.

เขียนที่.....
วันที่.....

เรียน บรรณาธิการวารสารวิทยาศาสตร์ มข.

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

มีความประสงค์จะลงโฆษณาในวารสารวิทยาศาสตร์ มข. ดังรายการต่อไปนี้

- | | | |
|---------------------------------------|-----------------------------------|------------------------------------|
| ☐ ปกหลังด้านใน | ☐ เต็มหน้า | ☐ ครึ่งหน้า |
| ☐ ในฉบับ | ☐ เต็มหน้า | ☐ ครึ่งหน้า |

โดยข้าพเจ้าขอให้ลงโฆษณา จำนวน.....ฉบับ นับตั้งแต่ฉบับแรก ที่จะพิมพ์
ในครั้งต่อไปหลังจากที่ท่านได้รับหนังสือนี้แล้ว

พร้อมกับจดหมายฉบับนี้ ข้าพเจ้าได้ส่งคืนฉบับเพื่อลงโฆษณาและเงินค่าโฆษณา
จำนวน.....บาท (.....)

เป็น ☐ ธนาณัติ หรือ ☐ เช็คไปรษณีย์ ในนามของนางบุญคุ้ม เหลือล้ำ
ส่งจ่าย ปท. มหาวิทยาลัยขอนแก่น

ลงนาม.....

ตำแหน่ง.....

อัตราค่าโฆษณาในวารสารวิทยาศาสตร์ มข.

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

หมายเหตุ ถ้าทางวารสารฯ ไม่สามารถลงตีพิมพ์บนปกหลังได้ วารสารฯจะตีพิมพ์ลงในฉบับแทน
ในวงเงินเท่ากัน



วิทยาศาสตร์ มข.

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

วัตถุประสงค์

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

กำหนดออก

ปีละ 4 ฉบับ

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

ใบสมัครเป็นสมาชิก

"วารสารวิทยาศาสตร์ มข."

- ☐ สมาชิกใหม่
☐ ต่ออายุ

ชื่อ-สกุล.....

ที่อยู่.....

รหัสไปรษณีย์.....หมายเลขสมาชิก.....

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

พร้อมนี้ได้ส่งเงินจำนวน.....บาท มาทาง

อัตราค่าบำรุง

- | | |
|--|----------------------|
| ☐ ธารณัติสั่งจ่าย ป.ท.มข. | 1 ปี 4 เล่ม 75 บาท |
| ☐ เช็คไปรษณีย์ | 2 ปี 8 เล่ม 150 บาท |
| ☐ เงินสด | 3 ปี 12 เล่ม 200 บาท |

ลายเซ็นผู้สมัคร.....

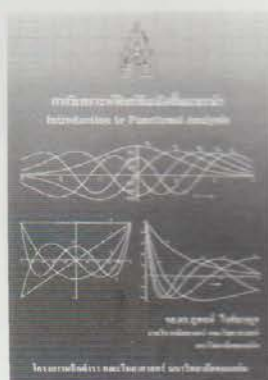
- หมายเหตุ 1. ส่งเงินทางธารณัติหรือเช็คไปรษณีย์ ในนามของนางบุญคุ้ม เหลือล้น คณะวิทยาศาสตร์ มหาวิทยาลัยขอนแก่น สั่งจ่าย ป.ท. มหาวิทยาลัยขอนแก่น ขอนแก่น 40002
2. กรณีที่มีการเปลี่ยนแปลงที่อยู่ กรุณาแจ้งให้ทราบล่วงหน้า ไม่น้อยกว่า 1 เดือน ก่อนเดือนสุดท้ายของกำหนดวารสารออก เพื่อความสะดวกในการส่งวารสารให้แก่ท่าน

หนังสือในโครงการผลิตตำรา คณะวิทยาศาสตร์ มหาวิทยาลัยขอนแก่น



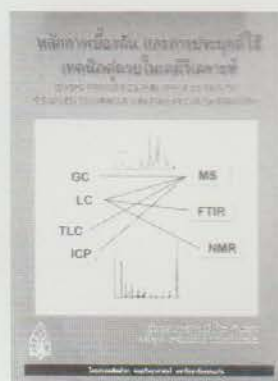
สถิติพื้นฐาน พร้อม
ตัวอย่างการวิเคราะห์
ด้วยโปรแกรม MINITAB
SPSS และ SAS

รองศาสตราจารย์ชัชวาล เรืองประพันธ์
พิมพ์ครั้งที่ 2 2543 • 510 หน้า
ISBN 974-675-666-4
ราคา 180 บาท



การวิเคราะห์ฟังก์ชันนัล
ขั้นแนะนำ

รองศาสตราจารย์ ดร.สุพจน์ ไวฑูรยากร
2547 • 344 หน้า
ISBN 974-367-958-8
ราคา 200 บาท



หลักการเบื้องต้นและ
การประยุกต์ใช้เทคนิค
คู่ควบในเคมีวิเคราะห์

ผู้ช่วยศาสตราจารย์ ดร. ศักดิ์สิทธิ์ จันทน์ไทย
2543 • 202 หน้า
ISBN 974-678-333-2
ราคา 150 บาท



แมงป่องข้าง

ผู้ช่วยศาสตราจารย์ ดร.ศักดิ์ดา คาควง
นางสาวนันทวัน เอื้อวงศ์กุล
2547 • 64 หน้า
ISBN 974-435-571-9
ราคา 160 บาท



การวิเคราะห์ข้อมูลด้วย
โปรแกรม
SPSS for Windows

รองศาสตราจารย์ชัชวาล เรืองประพันธ์
2544 • 620 หน้า
ISBN 974-674-686-2
ราคา 300 บาท



สเปกโทรสโกปีในการพิสูจน์
โครงสร้างของสารอินทรีย์

รองศาสตราจารย์ ดร.สมเดช สมเทพธาดกุล
2547 • 238 หน้า
ISBN 974-435-348-1
ราคา 180 บาท

