

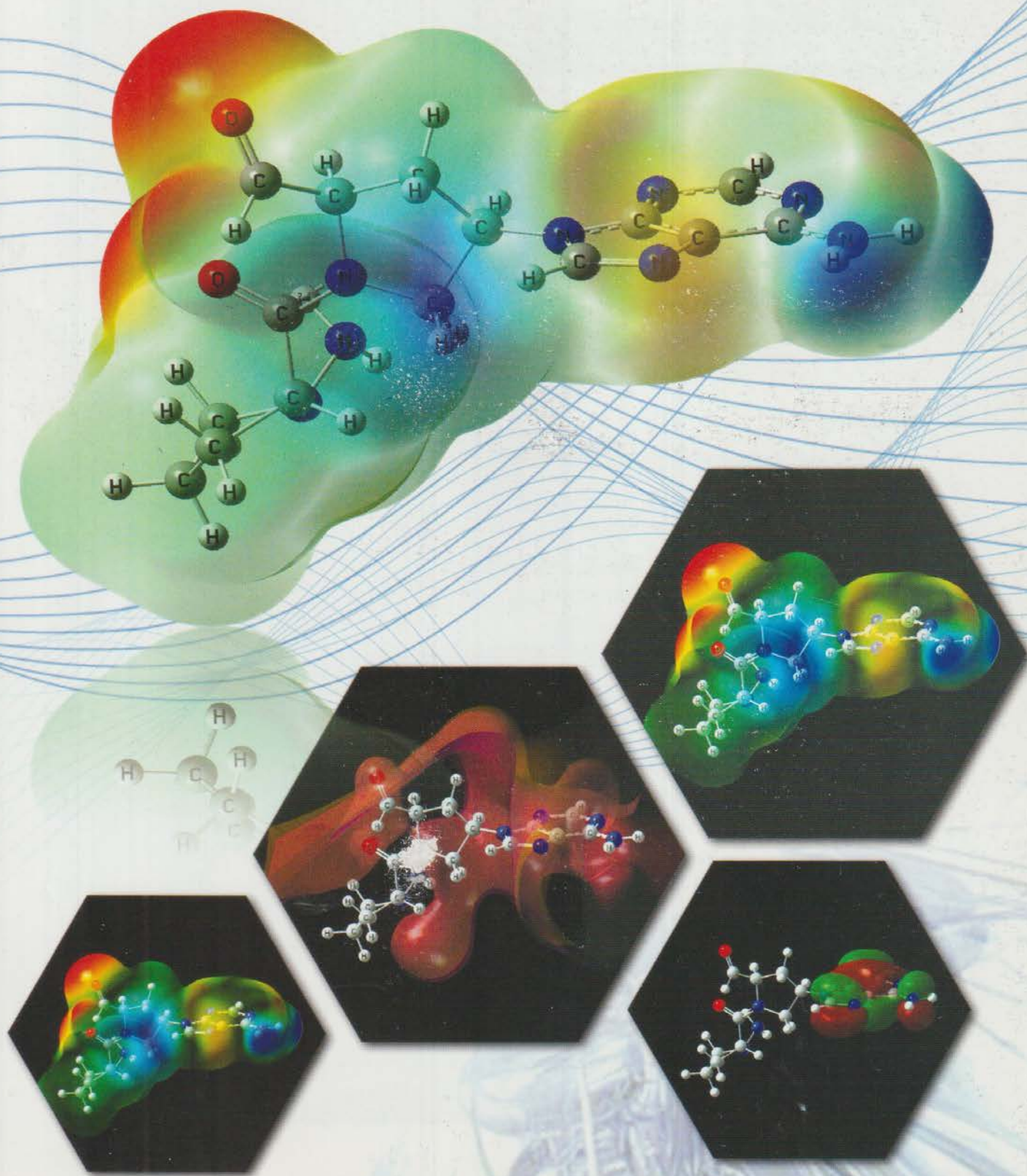


วารสาร

วิทยาศาสตร์มข.

KKU SCIENCE JOURNAL

ปีที่ 35 ฉบับที่ 1 (ม.ค.-มี.ค. 50) Vol. 35 No. 1 (Jan.-Mar.'07)





วารสาร
วิทยาศาสตร์ปู.
KKU SCIENCE JOURNAL

เจ้าของ

คณะวิทยาศาสตร์ มหาวิทยาลัยขอนแก่น

สำนักงาน

คณะวิทยาศาสตร์ ตึก 6 มหาวิทยาลัยขอนแก่น

วัตถุประสงค์

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

กำหนดออก ปีละ 4 ฉบับ

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

ที่ปรึกษา

คณบดีคณะวิทยาศาสตร์
(ละออศรี เสนาะเมือง)
รองคณบดีฝ่ายวิชาการ
(เอกพรรณ สวัสดิ์ขันธ์)

บรรณาธิการ

นฤมล แสงประดับ

กองบรรณาธิการ

กิตติกร นาคประสิทธิ์
งามนิจ อาจอินทร์
ชุติมา หาญจวนิช
ประเสริฐ แข่งขัน
สมปอง ธรรมศิริรักษ์
สมเดช กนกเมธากุล
สุพรรณี อึ้งปัญสดวงค์
เสาวนิต ทองพิมพ์
อัจฉราภรณ์ กักดี
ธรรมพิเชษฐ แผงโยธา
นุชรินทร์ พงศ์นพรัตน์

ฝ่ายศิลปและภาพ

กิเลน ตินนรเศรษฐ์
สุชาติ เทพภูเขียว

ฝ่ายเหรียญกษาปณ์

บุญคุ้ม เหลือล้ำ

ฝ่ายจัดการและ เลขานุการ

ศุภลักษณ์ ทองปัน
สมศักดิ์ อุ่นจันทิ

**บทความและงานวิจัย
ได้รับการกลั่นกรอง
จากผู้ทรงคุณวุฒิ**

บทความหรือข้อคิดเห็นใด ๆ ในวารสารนี้เป็นของผู้เขียน ไม่จำเป็นต้องสอดคล้องกับทัศนะของกองบรรณาธิการ

วิทยาศาสตร์ชุมชน.

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

ปีที่ 35 ฉบับที่ 1

Volume 35 Number 1

บรรณาธิการแถลง

บทความ

- ☐ ไวรัสตับอักเสบ ซี
กัญญา นีกดี..... 1
- ☐ ผลของสนามศักย์โน้มถ่วงโลกต่อความเร็วของเสียง
ในอากาศ
ชาญเรืองฤทธิ์ จันทน์นอก..... 8
- ☐ เรายิ้ม-226:นิวไคลด์กัมมันตรังสีในธรรมชาติ
ที่น่าสนใจในเชิงสิ่งแวดล้อม
สมพร เกลิมสุข..... 13
- ☐ แบบจำลองเชิงตัวเลขของการเคลื่อนที่ของวัตถุ
ในแนววิถีโค้ง โดยคิดแรงเสียดทานของอากาศ
อนุสรณ์ ศรีธีระวิโรจน์..... 17
- ☐ มีจำนวนเฉพาะอยู่เป็นจำนวนอนันต์
สาริต แซ่จิ่ง..... 22

วิทยาศาสตร์ชุมชน

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

ปีที่ 35 ฉบับที่ 1

Volume 35 Number 1

งานวิจัย

- ☐ การคำนวณพลังงานไอออนในเซชันของกรดเปปไทด์
นิวคลีอิกโดยวิธีทางเคมีควอนตัม
กัชรินทร์ ศิริวงศ์.....

28
- ☐ Further Studies of Bioactive Flavonoids from
Kaempferia parviflora
Chavi Yenjai, Khaetthareeya Sutthanut,
Bungon Sripanidkulchai, Nate Mungkun,
Chalayut Wongma, Siriboon Mukdasai,
Teeraporn Kongkaew.....

37
- ☐ การสร้างพัลส์สี่เหลี่ยมแบบควบคุมความกว้างและ
ความสูงได้ผ่านทางพอร์ตขนาน
วิวัฒน์ยังดี.....

42
- ☐ การผลิตและการวิเคราะห์สารปฏิชีวนะฟีนาคีน
จากแบคทีเรีย *Pseudomonas aeruginosa*
วิภาดา หงษ์ทะนี ศักดิ์สิทธิ์ จันทน์ไทย
วรรณดี บุญญศิริรัชต์และเฉลิม เรืองวิริยะชัย...

49



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

Advisory Committee	Dean, Faculty of Science (La-Orsri Sanoamuang)
	Associate Dean for Academic Affairs (Ekaphan Swatsitang)
Editor	Narumon Sangpradub
Editorial Board	Kittikorn Nakpasit Ngamnij Arch-int Chutima Hanjavanit Prasert Kaengkan Sompong Thammasirirak Somdej Kanokmedhakul Supunnee Ungpansattawong Soawanit Tongpim Adcharaporn Pagdee Thampichet Pangyotha Nucharin Phongnopparat
Artists	Kilen Tinnoraset Suchart Thepphukhieo
Treasurer	Boonkoom Lualon
Manging Staff And Secretary	Suphaluk Tongpun Somsak Unjantee

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

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

บรรณาธิการ **แถลง**

สวัสดีค่ะ ท่านสมาชิกและท่านผู้อ่านวารสารวิทยาศาสตร์ มข. ที่เคารพรักทุกท่าน

สวัสดีปีใหม่ 2550 ค่ะ วารสารวิทยาศาสตร์ มข. ปีนี้เข้าสู่ปีที่ 35 กำลังอยู่ในวัยกระฉับกระฉ่ง พร้อมรับการเป็นสื่อกลาง เพื่อแลกเปลี่ยนประสบการณ์ความรู้ และงานวิจัย ระหว่างนักวิชาการ กองบรรณาธิการขอขอบพระคุณท่านนักวิชาการที่ส่งเรื่องมาให้พิจารณาตีพิมพ์และท่านผู้ทรงคุณวุฒิที่กรุณาให้คำแนะนำและแก้ไขเพื่อความถูกต้องและความสมบูรณ์ของบทความและบทวิจัย มีนักวิชาการบางท่านเขียนแนะนำว่าควรมีการปรับปรุงวารสาร โดยรับเฉพาะงานวิจัย เพื่อนักวิจัยจะได้ส่งเรื่องมากขึ้น และเป็นการยกระดับของวารสารขึ้นเพราะเสนองานวิจัยอย่างเดียว ดิฉันขอบพระคุณในคำแนะนำ และขอเรียนว่าวารสารฯ จะยังคงรูปแบบนี้อยู่ เพราะนอกจากวัตถุประสงค์เป็นสื่อกลางดังกล่าวข้างต้นแล้ว ยังเป็นเวทีเผยแพร่วิทยาการทางด้านวิทยาศาสตร์ด้วย ซึ่งบทความวิทยาศาสตร์จะทำให้ท่านได้รับรู้เรื่องราววิทยาศาสตร์ในสาขาอื่นๆ หลากหลายด้าน และเพื่อเป็นประโยชน์แก่เยาวชนระดับมัธยมศึกษาและบุคคลทั่วไปด้วย เนื่องจากสมาชิกผู้อ่านส่วนหนึ่งเป็นโรงเรียนมัธยมศึกษา กองบรรณาธิการจะทำการสำรวจความคิดเห็นของท่านผู้อ่าน เพื่อปรับปรุงวารสารให้ดีขึ้น

ก่อนจากกันขอแจ้งข่าวดีว่า เว็บไซต์ของวารสารวิทยาศาสตร์ มข. จะได้กำหนดเปิดแล้วค่ะ หลังจากผู้ดูแลเว็บซุ่มทำอยู่หลายเดือน ติดตามอ่านได้ที่ www.champa.kku.ac.th/science_journal

สวัสดีค่ะ
บรรณาธิการ

ไวรัสตับอักเสบ ซี Hepatitis C virus (HCV)

กัญญา นีกดี¹

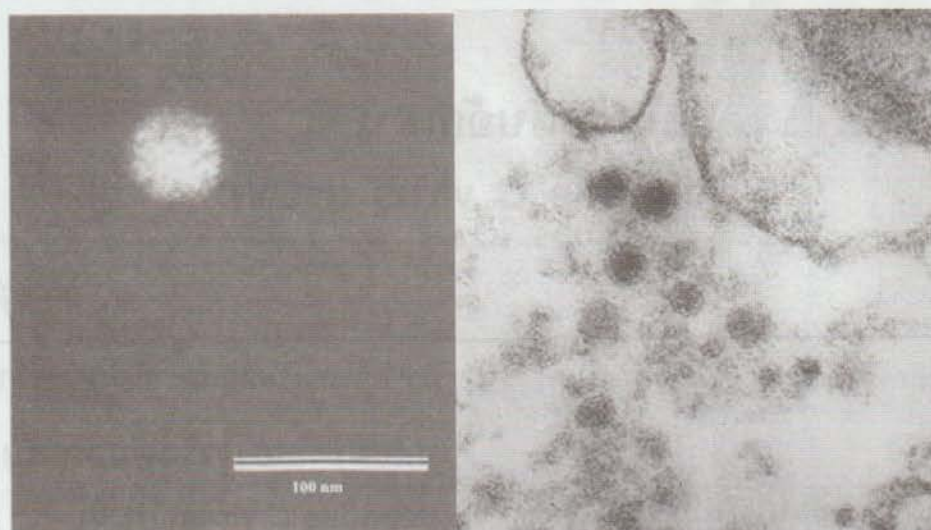
บทนำ

หลังจากมีการพัฒนาวิธีการตรวจหาไวรัสตับอักเสบ เอ และ บี ซึ่งมีการค้นพบไวรัสทั้งสองชนิดในช่วงต้นปี พ.ศ. 2512 การค้นพบวิธีทดสอบที่มีความไวเพื่อใช้ตรวจกรองไวรัสตับอักเสบ บี ในเลือดทำให้สามารถลดการเกิดโรคตับอักเสบภายหลังการรับเลือดลงได้มาก แต่อย่างไรก็ตาม ยังพบผู้ป่วยหลังการรับเลือดอยู่จำนวนหนึ่งเกิดโรคตับอักเสบตามมา จึงเป็นไปได้ว่าน่าจะมีไวรัสตับอักเสบชนิดอื่นอีก ที่ติดต่อด้วยวิธีถ่ายเลือด โดยไวรัสชนิดนั้นให้ชื่อระยะแรกว่าไวรัสไม่ใช่เอและบี (non-A, non-B, NANB) (Feinstone et al., 1975) แต่เนื่องจากว่าขณะนั้นยังไม่สามารถทำการเพาะเลี้ยงไวรัส ชนิดนั้นโดยใช้เซลล์เพาะเลี้ยงหรือศึกษาโดยใช้กล้องจุลทรรศน์อิเล็กตรอนได้ทำให้ตรวจหาเชื้อได้ยาก จึงมีการพัฒนาวิธีการตรวจหา สารพันธุกรรมของไวรัสและพบว่า เป็น RNA แล้วใช้กรรมวิธีขยายจนสามารถทราบบางส่วนของหน่วยพันธุกรรมซึ่งเชื่อว่าเป็นไวรัสตับอักเสบที่ส่วนใหญ่ติดต่อด้วยวิธีถ่ายเลือดจึงให้ชื่อว่าไวรัสตับอักเสบ ซี (HCV) (Choo et al., 1989)

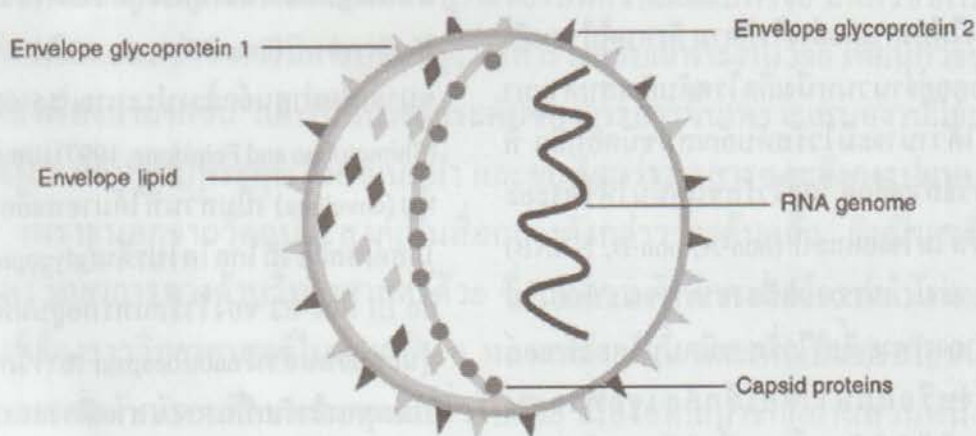
คุณสมบัติของไวรัสตับอักเสบ ซี (Hepatitis C virus, HCV)

ไวรัสตับอักเสบ ซี โครงสร้างยีนโนมมีลักษณะคล้ายกับไวรัสใน genus *Pestiviruses* และ *Flaviviruses* (Choo et al., 1991) จึงถูกจัดให้แยกออกมาเป็น genus หนึ่ง ในตระกูล *Flaviviridae* คือ genus *Hepacivirus* (Francki et al., 1991) อนุภาคไวรัสมีขนาดเส้นผ่าศูนย์กลางประมาณ 55-60 นาโนเมตร (Shimotohno and Feinstone, 1997) และมีส่วนเปลือกหุ้ม (envelope) เป็นส่วนที่ได้มาจากเยื่อหุ้มเซลล์ของโฮสต์เซลล์ซึ่งมีไกลโคโปรตีน (glycoprotein) 2 ชนิด คือ E1 และ E2 ของไวรัสแทรกอยู่บนผิวของเปลือกหุ้มล้อมรอบส่วน nucleocapsid เอาไว้ภายในอนุภาคยีนโนมของไวรัสเป็น RNA สายเดี่ยวและเป็นสายบวก ขนาดความยาวประมาณ 9500 นิวคลีโอไทด์ (Choo et al., 1991)

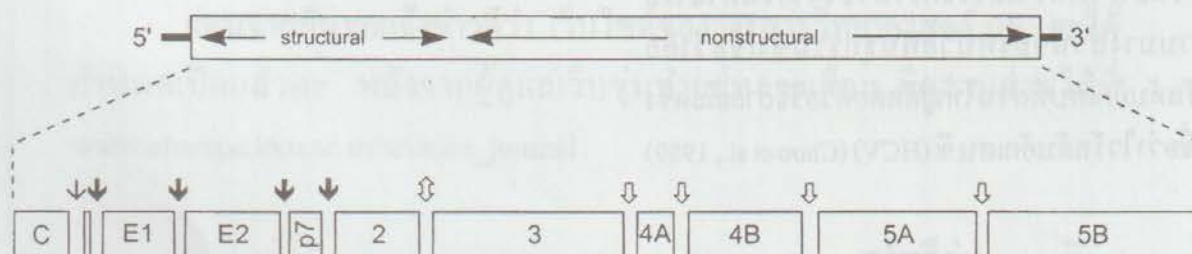
¹อาจารย์ ภาควิชาวิทยาศาสตร์ชีวภาพ คณะวิทยาศาสตร์ มหาวิทยาลัยอุบลราชธานี อ.วารินชำราบ จ.อุบลราชธานี 34190 e-mail: kanjana@sci.ubu.ac.th



ภาพที่ 1 รูปร่างของอนุภาคไวรัสตับอักเสบ ซี ภายใต้กล้องจุลทรรศน์อิเล็กตรอน, scale bar 100 นาโนเมตร (ซ้าย) (Shimotohno and Feinstone, 1997) อนุภาคไวรัสภายใน HPBALL cells (ขวา) (Major et al., 2001)



ภาพที่ 2 รูปร่างของอนุภาคไวรัสตับอักเสบ ซี (Anzola and Burgos, 2003)



ภาพที่ 3 โครงสร้างยีนของไวรัสตับอักเสบ ซี ซึ่งประกอบด้วยส่วน structural และ nonstructural proteins ถูกประกอบด้วย UTRs โปรตีนที่ถูกสร้างเป็น polyprotein จะถูกตัด (cleavage) ให้ได้โปรตีนหลายๆ ชนิด แต่ละตำแหน่งถูกตัด (cleavage sites) ด้วยเอนไซม์ต่างชนิดกัน: host cell signalases (▼), NS2-3 proteinase (⌢), NS3 proteinase (⌢), ยังไม่ทราบชนิดของ proteinase (⌢) (Bartenschlager and Lohmann, 2000)

โปรตีนส่วนประกอบอนุภาคไวรัส ตับ อักเสบ ซี

ยีนของไวรัสตับอักเสบ ซี มี open-reading frame (ORF) ประกอบด้วยรหัสสำหรับการสร้าง polyprotein ขนาด 3011 กรดอะมิโนเท่านั้น (Wilber, 1999) ORF สำหรับสร้างโปรตีนของไวรัสถูกประกอบด้วยลำดับเบส (sequence) ที่มีความคงตัวสูง (highly conserved) ที่ทั้งปลาย 5' และ 3' ซึ่งไม่ถูกแปลรหัสไปเป็นโปรตีนเรียกว่า untranslated regions (UTRs) ส่วนนี้จะมี direct repeat สั้นๆ อยู่ด้วยจึงเกิดลักษณะเป็น hairpin structure ได้ (Tanji et al., 1995) ลำดับของยีนคือ 5'-C, E1, E2/NS1, NS2, NS3, NS4A, NS4B, NS5A, NS5B-3' ซึ่ง ORF นี้จะถูกแปลรหัสไปเป็นโปรตีนแบ่งได้เป็น 2 ส่วนได้แก่ ส่วนแรกโปรตีนโครงสร้าง (structural protein) เป็นโปรตีนโครงสร้างภายในอนุภาคไวรัส ประกอบด้วย C คือ แคปซิดโปรตีนทำหน้าที่เป็นแคปซิดของอนุภาคไวรัส ตามมาด้วยไกลโคโปรตีน 2 ชนิดคือ E1 และ E2 ทำหน้าที่เป็นองค์ประกอบอยู่บนผิวของอนุภาคไวรัส โดย E2 เทียบได้กับ NS1 ของสมาชิกใน genus *Flavivirus* เนื่องจากโปรตีน NS1 ไม่พบในอนุภาคไวรัสตับอักเสบ ซี และส่วนที่สองคือโปรตีนที่ไม่ใช่โครงสร้าง (nonstructural protein) เป็นโปรตีนที่พบในเซลล์ที่ติดเชื้อ แต่ไม่พบในอนุภาคไวรัส ประกอบด้วย NS2 และ NS4 ทำหน้าที่เป็น membrane-binding proteins ซึ่งใช้ในขั้นตอนการเพิ่มจำนวน NS3 มีคุณสมบัติเป็น protease/helicase ส่วน NS5 มีคุณสมบัติเป็นเอนไซม์อาร์เอ็นเอโพลิเมอเรสที่ใช้ RNA เป็นแม่แบบ (RNA-dependent RNA polymerase) (Shimotohno and Feinstone, 1997)

ไวรัสตับอักเสบ ซี มีอัตราการกลายพันธุ์สูงและเกิดได้เกือบตลอดยีน บริเวณที่พบความแปรปรวนได้บ่อยที่สุด (hypervariable region) อยู่ตรงปลายอะมิโนของ E2/NS1 ส่วนปลาย 5'-UTR ก่อนข้างคงตัว (พิไลพันธ์ พุทธิวัฒนะและคณะ, 2540)

ความแปรปรวนของยีนที่เกิดขึ้นอย่างรวดเร็วมากนี้อาจทำให้สามารถแยกเชื้อไวรัสที่เปลี่ยนไปจากเดิมจากผู้ติดเชื้อคนเดียวกันที่เวลาต่างกันได้ (quasispecies) เนื่องจากไวรัสมีสารพันธุกรรมเป็น RNA สายบวก ซึ่งจำเป็นต้องอาศัย viral RNA polymerase ที่ไม่มีกลไกตรวจสอบความผิดพลาด (proof reading mechanism) ในระหว่างการเพิ่มจำนวนโดยการจำลองตัว (replication) จึงมีโอกาสผิดพลาดในการสังเคราะห์ RNA ได้สูง (Diedrich, 2006) ทำให้มีอัตราการกลายพันธุ์สูงมาก

การตรวจวินิจฉัยไวรัสตับอักเสบ ซี

การวินิจฉัยไวรัสตับอักเสบ ซี ทำได้โดยการนำซีรัมหรือพลาสมา มาตรวจหาแอนติบอดีชนิดที่บ่งชี้ถึงความผิดปกติในการทำงานของตับ เช่น aspartate aminotransferase (AST) หรือ serum glutamic oxaloacetic transaminase (SGOT) และ alanine aminotransferase (ALT) หรือ serum glutamic pyruvic transaminase (SGPT) ซึ่งจะออกมาในกระแสเลือดของผู้ป่วยตับอักเสบเนื่องจากมีปริมาณไวรัสในระดับที่สูงกว่าที่พบในผู้ป่วยตับอักเสบจากสาเหตุอื่นๆ และตรวจหาแอนติบอดีชนิด IgG ของกรดนิวคลีอิกของไวรัสที่เรียกว่า anti-HCV แต่เนื่องจากไวรัสมีความหลากหลายทางพันธุกรรม และไวรัสยังเพาะเลี้ยงไม่ได้ แอนติเจนที่ใช้ในชุดน้ำยาที่จำหน่ายอยู่ในขณะนี้ทั้งหมดเป็น recombinant antigen ดังนั้นถ้าแอนติเจนนั้นเตรียมจากไวรัสสายพันธุ์ที่แตกต่างไปจากสายพันธุ์ที่ก่อโรคเป็นอย่างมาก แอนติเจนนั้นอาจไม่สามารถตรวจพบแอนติบอดีในผู้ป่วยได้ จากสาเหตุนี้จึงมีการแก้ปัญหาโดยใช้น้ำยาหลายชนิดผสมกันเพื่อให้มีโอกาสตรวจพบแอนติบอดีได้มากขึ้น ในกรณีที่แอนติเจนชนิดหนึ่งไม่สามารถที่จะตรวจพบแอนติบอดีได้ แอนติเจนอื่นๆ ก็ยังมีโอกาสที่จะตรวจพบ ในการวินิจฉัยโรคนั้นใช้การตรวจหา anti-HCV โดยไม่เจาะจงว่าเป็นแอนติบอดี

ต่อแอนติเจนชนิดใดของไวรัสตับอักเสบ ซี เหตุผลอีกประการหนึ่งคือ แอนติบอดีต่อแอนติเจนต่างๆเกิดขึ้นในเวลาต่างกัน ดังนั้นการมีแอนติเจนหลายชนิดทำให้มีโอกาสตรวจพบแอนติบอดีในผู้ป่วยหลังจากมีอาการได้เร็วขึ้น (พิไลพันธ์ พุรวัฒนะและคณะ, 2540) วิธีที่ให้ความไวในการตรวจหากรดนิวคลีอิกของไวรัสได้สูงคือ RT-PCR หรือวิธีเพิ่มจำนวนกรดนิวคลีอิก (nucleic acid amplification techniques) ซึ่งจะช่วยในการตรวจหาเชื้อไวรัสในช่วงที่ตรวจไม่พบแอนติบอดีต่อไวรัส (window period) (Gretch et al., 1995)

พยาธิกำเนิด ลักษณะอาการทางคลินิก

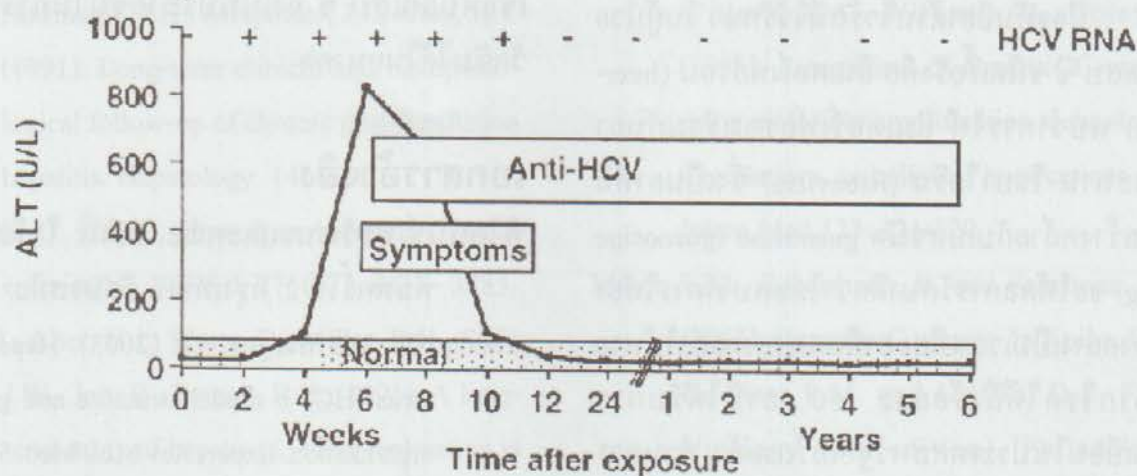
การติดเชื้อไวรัสตับอักเสบ ซี เป็นสาเหตุให้เกิดโรคตับอักเสบ ซี แบบเฉียบพลัน (acute hepatitis C) และโรคตับอักเสบ ซี แบบเรื้อรัง (chronic hepatitis C) พบว่าในผู้ป่วยที่เป็นโรคตับอักเสบ ซี แบบเฉียบพลันร้อยละ 50 จะพัฒนาไปเป็นแบบเรื้อรัง และผู้ป่วยที่เป็นโรคตับอักเสบ ซี ชนิดเรื้อรังจะมีโอกาสพัฒนาไปเป็น มะเร็งตับ ได้ถึงร้อยละ 20 (Di Bisceglie et al., 1991) การติดเชื้อไวรัสตับอักเสบ ซี มีระยะฟักตัวโดยเฉลี่ย 7 สัปดาห์ อาการของโรคตับอักเสบเฉียบพลันจะคล้ายคลึงกับอาการที่เกิดจากเชื้อไวรัสตับอักเสบ เอและ บี แต่อาการที่เกิดจากไวรัสตับอักเสบ ซี มักมีอาการไม่รุนแรงและบางครั้งไม่แสดงอาการ ผู้ป่วยร้อยละ 24 ที่มีสาเหตุมาจากการได้รับเลือดที่มีเชื้อปนจะมีอาการตาเหลือง ตัวเหลือง และน้อยกว่าร้อยละ 10 มีอาการป่วยที่รุนแรงผู้ป่วยส่วนน้อยจะมีอาการไข้ ปัสสาวะเข้ม อ่อนเพลีย อาเจียนปวดท้อง ระดับ ALT ในเลือดจะสูงขึ้นอย่างรวดเร็วและลดต่ำลง ภายหลังจะมี anti HCV เกิดขึ้นและหายเป็นปกติ ในรายที่เป็นเรื้อรัง ระดับ ALT จะขึ้นๆลงๆเป็นสัปดาห์หรือเป็นเดือน และไม่มี anti HCV เกิดขึ้น (พิไลพันธ์ พุรวัฒนะและคณะ, 2540) การเกิดโรคตับ

อักเสบแบบรุนแรง (fulminant hepatitis C) ในผู้ป่วยพบได้น้อยมาก (Farci et al., 1991) แต่หากผู้ป่วยมีอาการดังกล่าว จะมีโอกาสรอดชีวิตน้อยมากเมื่อเทียบกับ fulminant hepatitis A และ B การติดเชื้อร่วมกันระหว่าง ไวรัสตับอักเสบ ซี และ ไวรัสตับอักเสบ บี จะทำให้มีโอกาสเสี่ยงต่อการเป็น fulminant hepatitis C ได้สูง ส่วนในผู้ป่วยที่เป็นตับอักเสบแบบเรื้อรังจะมีปริมาณซีรั่ม ALT อยู่ในระดับผิดปกติและตรวจพบแอนติเจนของไวรัสมากกว่า 6 เดือน โดยผู้ป่วยส่วนใหญ่จะไม่แสดงอาการให้เห็นจนกระทั่งระยะสุดท้ายที่มีอาการตาเหลือง และผู้ป่วยที่เป็นพาหะของโรคที่มีสุขภาพสมบูรณ์จะไม่พบ anti-HCV และมีระดับ ALT ปกติ อาการของโรคจะค่อยๆ ดำเนินไปอย่างช้าๆ บางรายอาจพบนานถึง 20-30 ปี (Major et al., 2001)

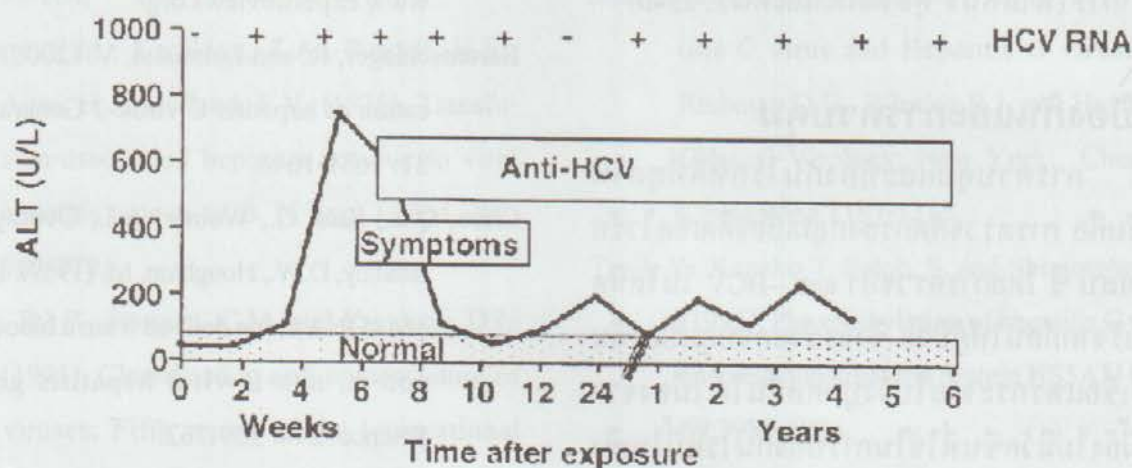
ระบาดวิทยา

การติดต่อของโรคและการเกิดโรคในคนคล้ายคลึงกับการติดต่อของไวรัสตับอักเสบบี คือติดต่อทาง parenteral เช่น ทางเลือดจากการถ่ายเลือดที่มีเชื้อไวรัสปนเปื้อนอยู่หรือการใช้ยาเสพติดชนิดฉีดเข้าเส้น โดยมีเชื้อปะปนในเข็มฉีดยาหรือการสักตามร่างกาย การติดต่อทางเพศสัมพันธ์ มีหลักฐานการติดต่อของโรคยังไม่ค่อยเด่นชัดนัก การติดต่อจากมารดาสู่ทารก ทาง perinatal หรือ vertical transmission การศึกษาที่ผ่านมาไวรัสตับอักเสบ ซี มีการถ่ายทอดเชื้อไวรัสจากมารดาสู่ทารกได้น้อยมาก ถึงแม้ไวรัสชนิดนี้จะถูกจัดอยู่ในตระกูล Flaviviridae ซึ่งเป็นกลุ่มที่มีการแพร่กระจายเชื้อโดยมีแมลงเป็นพาหะเช่น ไวรัสไข้เลือดออก และไวรัสไข้เหลือง (yellow fever virus) ที่มี ยุง เป็นพาหะ แต่อย่างไรก็ตามยังไม่พบรายงานเกี่ยวข้องกับการถ่ายทอดโรคตับอักเสบ ซี โดยแมลง (Wilber, 1999)

A: Acute Hepatitis C



B: Chronic Hepatitis C



ภาพที่ 4 แสดง markers และลักษณะที่พบได้ในผู้ป่วยโรคไวรัสตับอักเสบ ซี แบบเฉียบพลัน พบว่ามีระดับ ALT ในเลือดจะสูงขึ้นอย่างรวดเร็วและสามารถตรวจพบ RNA ของไวรัสได้ ในช่วง 2-12 สัปดาห์ หลังการติดเชื้อ และต่อจากนั้นจะมี anti HCV เกิดขึ้น ทำให้ไม่สามารถตรวจพบ RNA ของไวรัสและผู้ป่วยจะหายจากอาการของโรค (A) ในผู้ป่วยโรคไวรัสตับอักเสบ ซี แบบเรื้อรังจะมีปริมาณซีรัม ALT อยู่ในระดับผิดปกติและตรวจพบแอนติเจนของไวรัสมากกว่า 6 เดือน หลังจากเกิดอาการเฉียบพลัน และสามารถตรวจพบ anti HCV และ RNA ของไวรัสในซีรัมด้วย (B) (Major et al., 2001)

การรักษา

ปัจจุบันมียาต้านไวรัสที่ใช้รักษา ในผู้ป่วยตับอักเสบ ซี ชนิดเรื้อรังคือ อินเตอร์เฟอรอน (Interferon) พบว่าการให้ อินเตอร์เฟอรอนร่วมกับยาต้านไวรัส ไรบาวิริน (Ribavirin) ซึ่งเป็นยาที่มีโครงสร้างคล้ายกับเบสชนิด guanosine (guanosine analog) จะให้ผลการรักษาดีกว่าโดยพบว่าการให้ยาทั้งสองอย่างเป็นเวลาเพียง 6 เดือนสามารถทำให้หายขาดจากโรคได้ถึงร้อยละ 50 ยานี้ได้รับการจดทะเบียนในประเทศสหรัฐอเมริกาแล้ว ส่วนการรักษาในผู้ป่วยตับอักเสบชนิดเฉียบพลันใช้วิธีการรักษาตามอาการ (พิไลพันธ์ พุทธิวัฒนะและคณะ, 2540)

การป้องกันและการควบคุม

การควบคุมและป้องกันโรคที่ดีที่สุดในปัจจุบันคือ การตรวจคัดกรองกลุ่มเสี่ยงติดเชื้อไวรัสตับอักเสบ ซี โดยการตรวจหา anti-HCV ในโลหิตที่รับบริจาคก่อนให้ผู้ป่วย ซึ่งจะช่วยควบคุมป้องกันไม่ให้เชื้อแพร่กระจายไปยังบุคคลอื่นได้ เนื่องจากขณะนี้ยังไม่มีวัคซีนที่ใช้ในการป้องกันโรคนี้ในเชิงการค้า (Major et al., 2001)

สรุป

ไวรัสตับอักเสบ ซี เป็นไวรัสที่เป็นสาเหตุของโรคตับอักเสบและติดต่อกันได้โดยการถ่ายเลือดเช่นเดียวกันกับ ไวรัสตับอักเสบ บี แต่เมื่อศึกษาองค์ประกอบของสารพันธุกรรมภายในอนุภาคไวรัสแล้วพบว่าแตกต่างกัน โดยไวรัสตับอักเสบ ซี มีสารพันธุกรรมเป็น RNA ขณะที่ไวรัสตับอักเสบ บี มีสารพันธุกรรมเป็น DNA จึงจัดไว้ในตระกูล Flaviviridae และ Hepadnaviridae ตามลำดับ เมื่อติดเชื้อไวรัสตับอักเสบ ซี ผู้ป่วยมีโอกาสเป็นโรคตับอักเสบแบบเรื้อรังได้ถึงร้อยละ 50 และมีโอกาสพัฒนาไปเป็น มะเร็งตับ ได้ถึงร้อยละ 20 และเนื่องจากยังไม่มีวัคซีนในการป้องกันไวรัสชนิดนี้ และไวรัสมีความแปรปรวน

ค่อนข้างมาก ดังนั้นการศึกษาสายพันธุ์ชนิดต่างๆ ของเชื้อตับอักเสบ ซี จึงเป็นประโยชน์ในการพัฒนาวัคซีนได้ในอนาคต

เอกสารอ้างอิง

- พิไลพันธ์ พุทธิวัฒนะและคณะ. 2540. ไวรัสวิทยา. พิมพ์ครั้งที่ 2. กรุงเทพฯ: อักษรสมัย.
- Anzola, M. and Burgos, J.J. (2003). Hepatitis C virus (HCV): model structure and genome organization. *Expert Rev Mol. Med.* 5: [cited 2006 November 19]. Available from <http://www.expertreviews.org/>
- Bartenschlager, R. and Lohmann, V. (2000). Replication of hepatitis C virus. *J General Virol.* 81: 1631-1648.
- Choo, Q.L., Kuo, G., Weiner, A.J., Overby, L.R., Bradley, D.W., Houghton, M. (1989). Isolation of a cDNA clone derived from a blood-borne non-A, non-B viral hepatitis genome. *Science.* 244: 359-362.
- Choo, Q.L., Richman, K.H., Han, J.H., Berger, K., Lee, C., Dong, C., Gallegos, C., Coit, D., Medina-Selby, R., Barr, P.J., Weiner, A.J., Bradley, D.W., Kuo G., Houghton M. (1991). Genetic organization and diversity of the hepatitis C virus. *Proc Natl Acad Sci U S A.* 88:2451-2455.
- Davis, G.L., Balart, L.A., Schiff, R.E., Lindsay, K., Bodenheimer, H.C. (Jr), Perrillo, R.P., Carey, W., Jacobson, I.M., Payne, J., Dienstag, J.L. (1989). Treatment of chronic hepatitis C with recombinant interferon alfa. A multicenter randomized, controlled trial. Hepatitis Interventional Therapy Group. *N. Engl. J Med.* 321: 1501-1505.

- Di Bisceglie, A.M., Goodman, Z.D., Ishak, K.G., Hoofnagle, J.H., Melpolder, J.J., Alter, H.J. (1991). Long-term clinical and histopathological follow-up of chronic posttransfusion hepatitis. *Hepatology*. 14: 969.
- Diedrich, G. (2006). How does hepatitis C virus enter cells?. *FEBS J*. 273(17): 3871 - 3885.
- Farci, P., Alter, H.J., Wong, D., Miller, R.H., Shih, J.W., Jett, B., Purcell, R.H. (1991). A long-term study of hepatitis C virus replication in non-A, non-B hepatitis. *N Engl J Med*. 325: 98-104.
- Feinstone, S.M., Kapikian, Z.A., Purcell, H.R., Alter, H.J., Holland, P.V. (1975). Transfusion-associated hepatitis not due to viral hepatitis type A or B. *N Engl J Med*. 292: 767-770.
- Francki, R.I.B., Fauquet, C.M. and Knudson, D.L. (1991). Classification and nomenclature of viruses: Fifth report of the International Committee on Taxonomy of Viruses. *Arch Virol*. 2: 223.
- Gretch, D.R., dela Rosa, C., Carithers, R.L.(Jr), Willson, R.A., Williams, B., Corey, L. (1995). Assessment of hepatitis C viremia using molecular amplification technologies: Correlations and clinical implications. *Ann Intern Med*. 123: 321-329.
- Major, E.M., Rehmann, B. and Feinstone, M.S. (2001). Hepatitis C viruses. In Knipe, D.M., Howley, P.M. and Griffin, D.E. *Fields Virology* (4th edition), Philadelphia: Lippincott-Raven. 1487-1532.
- Shimotohno, K. and Feinstone, M.S. (1997). Hepatitis C virus and Hepatitis G viruses. In Richman D.D., Whitley R.J. and Hayden F. *Clinical Virology*, New York: Churchill Livingstone. 1187-1215.
- Tanji, Y., Kaneko T. Satoh, S. and Shimotohno, K. (1995). Phosphorylation of hepatitis C virus-encoded nonstructural protein NS5A. *J Virol*. 69: 3980-3986.
- Wilber, C.J. (1999). Hepatitis C and G virus. In Murray, R.P., Baron, J.E., Tenover, C.F. and Tenover, H.R. *Medical Microbiology* (7th edition), Washington DC: ASM press.



ผลของสนามศักย์โน้มถ่วงโลก ต่อความเร็วของเสียงในอากาศ

ชาญเรืองฤทธิ์ จันทร์นอก¹

บทนำ

ความเร็วของเสียงในตัวกลางต่างๆ นั้นมีค่าไม่คงที่ เพราะในทางฟิสิกส์ เสียงเป็นคลื่นกล (mechanical wave) ชนิดหนึ่ง จึงจำเป็นต้องใช้ตัวกลางในการเคลื่อนที่ ไม่เหมือนกับแสงที่เป็นคลื่นแม่เหล็กไฟฟ้า (electromagnetic wave) ความเร็วเสียงในตัวกลางต่างชนิดมีค่าที่แตกต่างกันออกไป เช่น ความเร็วเสียงในโลหะ มีค่า 1600-6400 m/s ความเร็วเสียงในของเหลว มีค่า 1300-1500 m/s และความเร็วเสียงในอากาศ มีค่า 330-343 m/s (Wolfson and Pasachoff, 1999) ซึ่งโดยส่วนใหญ่ค่าความเร็วเสียงในอากาศเป็นค่าที่ใช้กันโดยทั่วไปในการบอกคุณสมบัติของเสียง ในบทความนี้จะนำเสนอผลของความโน้มถ่วงที่มีต่อความเร็วของเสียงในอากาศ โดยพิจารณาเริ่มจากแนวคิดพื้นฐานและทฤษฎีของแก๊สภายใต้สนามศักย์โน้มถ่วง โดยแสดงขั้นตอนการคำนวณผลในเชิงคณิตศาสตร์ เพื่อให้เห็นว่าที่ระดับความสูงต่างๆ กันจะทำให้เกิดความเร็วเสียงในอากาศมีค่าที่ต่างกัน

แนวคิดพื้นฐาน

ผลของความโน้มถ่วงต่อการเคลื่อนที่ของเสียงในตัวกลางที่เป็นแก๊ส ได้มีการศึกษาเริ่มแรกโดย Lord Rayleigh (Rayleigh, 1945) โดยพิจารณาจากสมมุติฐานของบรรยากาศแบบที่มีการเปลี่ยนแปลงช้า (adiabatic atmosphere) ภายใต้ความกดของแรงโน้มถ่วง โดยสมการสถานะของระบบเป็น

$$P = k\rho^\gamma \quad (1)$$

โดยที่ P คือ ค่าความดัน ρ คือ ความหนาแน่น k คือ ค่าคงที่ค่าหนึ่ง γ คือ ค่าดัชนีความจุความร้อนของแก๊ส และจากสมการอนุพันธ์ของสมดุลความดันของของไหลสถิต (Hydrostatic)

$$dP = -\rho g dz \quad (2)$$

โดยที่ P คือ ค่าความดัน ρ คือ ความหนาแน่น γ คือ ค่าดัชนีความจุความร้อน g คือ ความเร่งเนื่องจากแรงโน้มถ่วงของโลก และ z คือ ระดับความสูง

จากสมการ (1) และ (2) เราสามารถเขียนความสัมพันธ์ของความหนาแน่น ได้คือ

$$\rho = \rho_0 \left(1 - \frac{\gamma - 1}{\gamma} \frac{\rho_0 g z}{P_0} \right)^{1/(\gamma - 1)} \quad (3)$$

โดยที่ ρ_0 เป็นความหนาแน่นที่พื้นโลก และ P_0 เป็นความดันที่พื้นโลก

เมื่อทำการหาอนุพันธ์ของความดัน (P) เทียบกับ ความหนาแน่น (ρ) ในสมการที่ (3) จะได้ค่าของความเร็วของเสียงที่ขึ้นกับระดับความสูง $c(z)$ เป็น

$$c(z) = (c(0) - (\gamma - 1)gz)^{1/2} \quad (4)$$

โดยที่ $c(0)$ คือ ค่าของความเร็วของเสียงที่ระดับพื้นโลก (ระยะ $z = 0$) ในสมการที่ (4) แสดงให้เห็นว่าค่าความเร็วเสียงยกกำลังสอง จะลดลงแบบเชิงเส้นกับค่าระดับสูง (z) ที่มากขึ้น

ซึ่งจากความสัมพันธ์นี้ Rayleigh (1945) ได้ทำการศึกษาเพิ่มเติมในกรณีที่มีการเปลี่ยนแปลงอุณหภูมิในช่วงระดับชั้นในชั้นบรรยากาศที่มีการเปลี่ยนแปลงช้า (adiabatic atmosphere) พบว่าค่าความเร็วเสียงขึ้นกับรากที่สองของอุณหภูมิสัมบูรณ์

ในที่นี้เราจะพิจารณาความเชื่อมโยงกับผลที่ได้ของ Rayleigh จากการพิจารณาในลักษณะ โมเลกุลของแก๊ส และของไหลต่อเนื่อง โดยพิจารณาจากทฤษฎีจลน์ของแก๊สอุดมคติอิสระ (free ideal gas) จะให้ความสัมพันธ์ของความเร็วเสียงในเทอมของความดัน P และความหนาแน่น ρ เป็น

$$c = (\gamma P_0 / \rho_0)^{1/2} \quad (5)$$

แต่เมื่อแก๊สถูกกระทำโดยแรงโน้มถ่วง จะมีผลให้สมการที่ (5) มีผลที่เปลี่ยนไป ซึ่งเกิดจากโมเลกุลของแก๊สมีการเคลื่อนที่เชิงกลแบบสุ่มภายใต้ความโน้มถ่วง แต่ความเร็วของโมเลกุลก็จะอยู่ในระดับเดียวกับความเร็วของเสียง (Resnick and Holliday, 1969; Serway, 1994)

ทฤษฎีจลน์ในสนามศักย์ภายนอก

ในส่วนนี้เราจะนำเสนอทฤษฎีจลน์สำหรับการเคลื่อนที่ของเสียงในตัวกลางโดยมีแรงกระทำเนื่องจากสนามศักย์โน้มถ่วงภายนอก (external field)

พิจารณาสมการของสถานะของระบบสำหรับแก๊สอุดมคติ (ideal gas) ในสนามศักย์อนุรักษ์ในแนวตั้ง z บนข้อกำหนด คือ

1. แก๊สอุดมคติเป็นโมเลกุลเดี่ยวชนิดเดียวกันทั้งหมด โดยไม่มีแรงกระทำต่อโมเลกุลด้วยกัน
2. มีการอนุรักษ์พลังงานรวม และ โมเมนตัมรวม
3. การชนกันของโมเลกุลแก๊สเป็นแบบยืดหยุ่นสมบูรณ์ (perfectly elastic)
4. การชนของโมเลกุลแก๊สเกิดขึ้นในสมดุลเชิงความร้อน (thermal equilibrium)

วิเคราะห์พลังงานรวม (พลังงานจลน์และพลังงานศักย์) ของโมเลกุลแก๊สในระบบ

$$n \frac{mv^2(z)}{2} + W(z) = n \frac{mv^2(z_0)}{2} + W(z_0) \quad (6)$$

โดยที่ n คือ จำนวนระดับขั้นความเสรี (degree of freedom) W คือ ฟังก์ชันของพลังงานศักย์ซึ่งขึ้นกับตำแหน่ง z , $W(z) = mgz$, $v(z)$ คือ ความเร็วของแก๊สที่ตำแหน่ง z , z_0 คือ ระดับตำแหน่งอ้างอิง และ m คือ มวลของโมเลกุล

จากสมการ (6) จะได้ว่า

$$v^2(z) - v^2(z_0) = -(2/nm)[W(z) - W(z_0)]$$

จัดรูปได้

$$v^2(z) = v^2(z_0) - (2/nm)[W(z) - W(z_0)] \quad (7)$$

จะได้

$$v(z) = [v^2(z_0) - (2/nm)[W(z) - W(z_0)]]^{1/2} \quad (8)$$

จะเห็นว่า ความเร็วของโมเลกุลแก๊สจะขึ้นกับตำแหน่งหรือระดับความสูงในรูปแบบที่เหมือนกัน สมการของ Rayleigh (1945) ตามสมการที่ (4)

การเคลื่อนที่ของคลื่นเสียงในสนามศักย์ภายนอก

พิจารณาการเคลื่อนที่ของคลื่นตามยาวในแนวทิศ z จากสมการเชิงอนุพันธ์ของ Arawal and Menon (1982) เพื่อค่าฟังก์ชันของคลื่นเสียง $f(z,t)$ ที่ตำแหน่ง z เวลา t โดยคำนวณจากสมการการเคลื่อนที่ของนิวตัน

$$\rho \frac{\partial^2 f}{\partial t^2} - \frac{\partial}{\partial z} \left(E \frac{\partial f}{\partial z} \right) = \frac{\rho}{m} \frac{dW}{dz} \quad (9)$$

โดยที่ W คือ พลังงานศักย์ต่อโมเลกุล

E คือ ค่าโมดูลัสของความยืดหยุ่นของโมเลกุลแก๊ส

การหาคำตอบจากสมการเชิงอนุพันธ์แบบไม่เอกพันธ์ (inhomogeneous) ในสมการที่ (9) เป็นเรื่องที่ยากในการแก้ปัญหาเชิงวิเคราะห์ จึงเขียนสมการให้อยู่ในรูปแบบเอกพันธ์ (homogeneous) เพื่อให้สามารถแก้ปัญหาเชิงวิเคราะห์ได้ คือ

$$\rho \frac{\partial^2 f}{\partial t^2} - \frac{\partial}{\partial z} \left(E \frac{\partial f}{\partial z} \right) = 0 \quad (10)$$

จะได้ผลเฉลยของสมการที่ (9) ในรูป $f_c(z,t) = \frac{u(z)}{\sqrt{E(z)}} e^{-i\omega t}$

จากวิธีการประมาณค่าแบบ WKB ในทางกลศาสตร์ควอนตัม (Schiff, 1968)

$$\text{ได้คำตอบเป็น} \quad f_c(z,t) = \frac{A}{(E\rho)^{1/4}} e^{-i\phi} \quad (11)$$

โดยที่ A คือ ค่าคงที่ค่าหนึ่ง ω คือ ความถี่เชิงมุมของคลื่น k คือ เวกเตอร์คลื่น โดย $k = \omega \sqrt{\frac{\rho}{E}}$

และ ϕ คือ มุมเฟส โดย $\phi = \int_0^z k dz - \omega t$

จากสมการที่ (11) สามารถหาค่าความเร็วเฟส (phase velocity) ของคลื่นเสียงได้จาก

$$c(z) = \left| \frac{\partial \phi}{\partial t} / \frac{\partial \phi}{\partial z} \right|$$

$$c(z) = \sqrt{E/\rho} = \gamma^{1/2} v(z) \quad (12)$$

ผลของความโน้มถ่วงต่อความเร็วเสียงในอากาศ

ในส่วนนี้เราจะเราเสนอผลของสนามโน้มถ่วงโลกที่มีผลต่อความเร็วของคลื่นเสียง

จากสมการที่ (7) ความสัมพันธ์ของความเร็วเสียงกับระดับความสูง คือ

$$v^2(z) = v^2(z_0) - \frac{2}{nm} [W(z) - W(z_0)] \quad (13)$$

เมื่อพิจารณาค่าเนื่องจากความโน้มถ่วงของโลก $W(z) = mgz$ โดยให้ที่ระดับพื้นโลก $W(z_0=0) = 0$ จะได้ว่า

$$v^2(z) = v^2(0) - \frac{2}{nm} [mgz]$$

$$v^2(z) = v^2(0) - \frac{2}{n} gz \quad (14)$$

โดยที่ n คือ จำนวนขั้นความอิสระ (degree of freedom) $n = 2/(\gamma - 1)$

จะได้

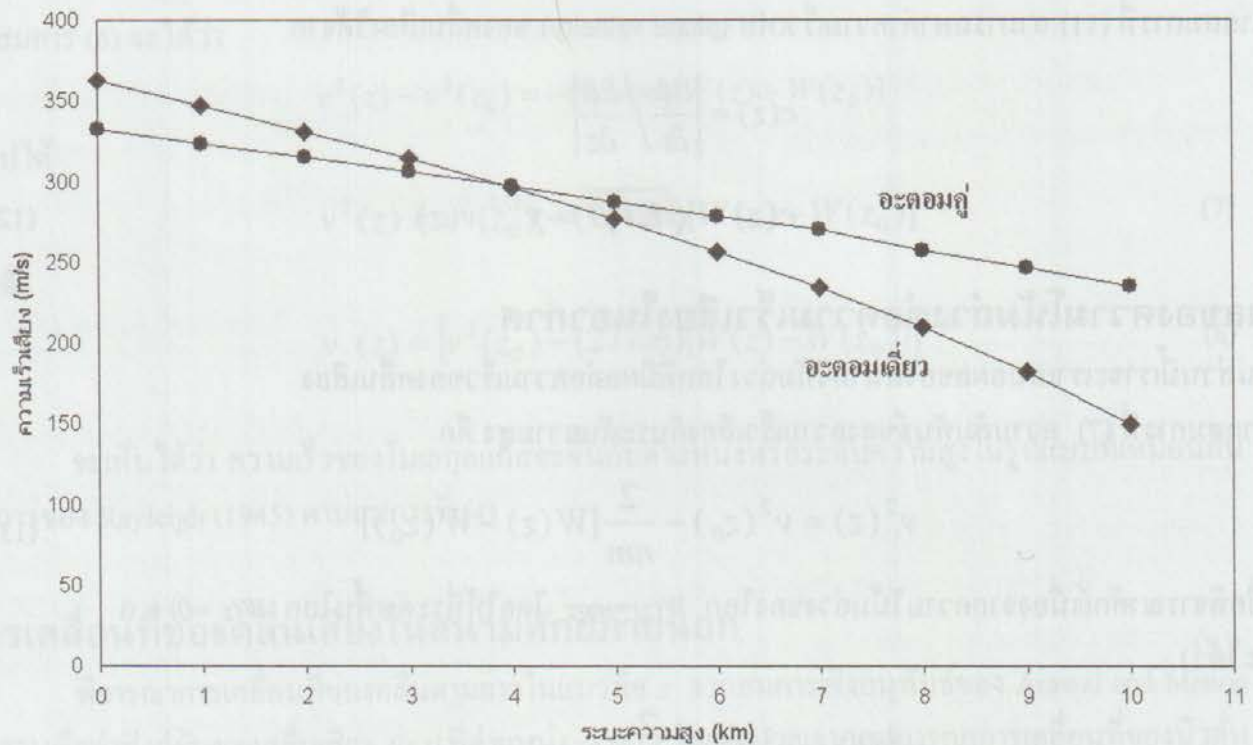
$$v^2(z) = v^2(0) - (\gamma - 1)gz$$

$$v(z) = (v^2(0) - (\gamma - 1)gz)^{1/2} \quad (15)$$

จากความเร็วเสียงในสมการที่ (12) $c(z) = \gamma^{1/2} v(z)$

จะได้ค่าความเร็วเสียง $c(z) = (c^2(0) - (\gamma - 1)gz)^{1/2} \quad (16)$

จาก สมการ (16) เราแสดงความสัมพันธ์ของระยะความสูงต่อความเร็วเสียงได้ในรูปที่ 1 ซึ่งเราพิจารณาใน 2 กรณี คือ สำหรับ แก๊สอะตอมเดี่ยว (monoatomic gas) ซึ่งมีค่า $\gamma = 5/3$ และสำหรับแก๊สอะตอมคู่ (diatomic gas) ซึ่งมีค่า $\gamma = 7/3$ จากรูปที่ 1 จะเห็นผลของค่าความเร็วเสียงมีค่าลดลงที่ระดับความสูงเพิ่มขึ้นอย่างชัดเจน และจะเห็นได้ถึงความแตกต่างความเร็วเสียงในตัวกลางที่เป็นของแก๊สอะตอมเดี่ยวและแก๊สอะตอมคู่ ซึ่งที่ระดับความสูงต่ำความเร็วเสียงในตัวกลางที่เป็นของแก๊สอะตอมเดี่ยวจะมีค่ามากกว่าในตัวกลางแก๊สอะตอมคู่ แต่ที่ระดับความสูงมากขึ้น (มากกว่า 4 km) ความเร็วเสียงในตัวกลางที่เป็นของแก๊สอะตอมคู่จะมีค่ามากกว่าในตัวกลางแก๊สอะตอมเดี่ยว



รูปที่ 1 แสดงความสัมพันธ์ของระยะความสูงต่อความเร็วเสียง สำหรับแก๊สอะตอมเดี่ยวและแก๊สอะตอมคู่

เอกสารอ้างอิง

Arawaland, D.C. and Menon, V.J. (1982). The effect of gravity on the velocity of sound.

American Journal of Physics. 509(11); 1025-1028.

Rayleigh, L. (1945). The Theory of Sound. Dover, New York.

Resnick, R. and Halliday D. (1969). Physics. Willey, New Delli.

Serway, R. (1994). Principle of Physics. Saunder College, New York.

Shiff. L.I. (1968). Quantum Mechanics. McGraw-Hill, Tokyo.

Wolfson, R. and Pasachoff J.M. (1999). Physics 3rd ed. Addison-Wesley, New York.



เรเดียม-226:นิวไคลด์กัมมันตรังสีในธรรมชาติ ที่น่าสนใจในเชิงสิ่งแวดล้อม

สมพร เกลิมสุข¹

นิวไคลด์กัมมันตรังสีในธรรมชาติหลายชนิดเกิดขึ้นพร้อมกับโลกและมีการสลายตัวให้นิวไคลด์กัมมันตรังสีเป็นอนุกรมต่อเนื่องกันมีสี่อนุกรมคือ อนุกรมทอเรียม อนุกรมเนปทูเนียม อนุกรมยูเรเนียมและอนุกรมแอกทิเนียม นิวไคลด์กัมมันตรังสีฟอสและนิวไคลด์กัมมันตรังสีลูกของอนุกรมเหล่านี้ปะปนอยู่ในเปลือกโลกและรวมเรียกว่า “ วัสดุกัมมันตรังสีที่เกิดในธรรมชาติ” (Naturally Occurring Radioactive Material or NORM) ซึ่งมีมากกว่า 60 ชนิดและที่สำคัญ เช่น ยูเรเนียม ทอเรียม เรเดียม และเรดอน เป็นต้น NORMจะปะปนอยู่ทั่วไปเช่น ในดิน น้ำอากาศพืช สัตว์ วัสดุก่อสร้าง และแม้แต่ในร่างกายของมนุษย์ บางครั้งNORMจะถูกทำให้มีความเข้มข้นเพิ่มขึ้นด้วยเทคนิคหรือขบวนการใดๆ ซึ่งจะเรียกวัสดุกัมมันตรังสีเหล่านี้ใหม่ว่า “วัสดุกัมมันตรังสีในธรรมชาติที่เพิ่มขึ้นเพราะเทคโนโลยี” (Technologically Enhanced Naturally Occurring Radioactive Material or TENORM) นิวไคลด์กัมมันตรังสีที่สำคัญได้แก่ ยูเรเนียม-238 ทอเรียม-232 เรเดียม-226 เรเดียม-228 เรเดียม-224 เรดอน-222 และ โทรอน-220

ในที่นี้จะกล่าวถึงเรเดียมโดยเฉพาะเรเดียม-226 ซึ่งจะพบมากในชีวิตประจำวันของประชาชนทั่วไปถ้าปริมาณของเรเดียมสูงกว่าที่มีในธรรมชาติทั่วไปเรเดียมเป็นโลหะที่ไวต่อปฏิกิริยาทางเคมีและเกิดในธรรมชาติ ไอโซโทปของเรเดียมที่มีมากที่สุด

คือ เรเดียม-226 จากอนุกรมของยูเรเนียม เมื่อเทียบกับเรเดียม-224 และเรเดียม-228 จากอนุกรมทอเรียม เรเดียมเป็นนิวไคลด์กัมมันตรังสีที่เกิดจากการสลายตัวของยูเรเนียมและทอเรียม ในธรรมชาติเรเดียมที่เกิดขึ้นจะมีระดับความเข้มข้นต่ำทั้งในหิน ดิน น้ำ พืช และสัตว์ทั่วไป ในบริเวณที่มีปริมาณยูเรเนียมและทอเรียมอยู่ในระดับสูงจะมีปริมาณเรเดียมอยู่ในระดับสูงเช่นกัน

คุณสมบัติของเรเดียม-226 (ภาวิณี วิสัยแสง, 2547)

เลขอะตอม : 88

มวลอะตอม : 226

จุดหลอมเหลว : 973 เคลวิน หรือ 700 องศาเซลเซียส

จุดเดือด : 1413 เคลวิน หรือ 1140 องศาเซลเซียส

ความหนาแน่น : 5 กรัม ต่อ ลูกบาศก์ - เซนติเมตร

เรเดียมเป็นธาตุในกลุ่มอัลคาไลด์ มีลักษณะทางเคมีคล้ายแบเรียม (Ba) เรเดียมมีประจุเป็น +2 เรเดียมเป็นธาตุที่มีปริมาณน้อยในธรรมชาติ จึงอยู่รวมกันในรูปสินแร่ สามารถสกัดออกมาพร้อมกับธาตุในกลุ่มอัลคาไลด์ที่เป็นเกลือซัลเฟต หรือ แร่คาร์บอเนต เช่น แคลเซียม คาร์บอเนต (CaCO_3) หรือ แบเรียมซัลเฟต (BaSO_4) เรเดียม-226 เป็นไอโซโทปที่พบมากที่สุดเกือบ 100% และพบมากในสินแร่

¹ภาควิชาฟิสิกส์ คณะวิทยาศาสตร์ มหาวิทยาลัยขอนแก่น จ.ขอนแก่น 40002

ยูเรเนียม แมรี คูรี นักฟิสิกส์ชาวฝรั่งเศสค้นพบเรเดียมในสินแร่พิชเบลนด์ซึ่งในสินแร่พิชเบลนด์ 7 ตัน จะสกัดเรเดียมได้ 1 กรัม นอกจากนี้ยังพบเป็นธาตุจำนวนน้อย (trace element) ในสารต่างๆที่มีอยู่ในธรรมชาติหลายชนิด

เรเดียม-226 มีครึ่งชีวิตประมาณ 1600 ปี สลายตัวให้รังสีแกมมาพลังงาน 186 กิโลอิเล็กตรอนโวลต์ (4%) และสลายตัวให้อนุภาคอัลฟากลายเป็นเรดอน-222 ซึ่งมีสถานะเป็นก๊าซจึงสามารถฟุ้งกระจายได้ดีและจะสลายตัวต่อไปเรื่อยๆอีก นิวไคลด์กัมมันตรังสีที่เป็นนิวไคลด์ลูกของเรเดียม-226 ที่ใช้ในการวิเคราะห์ปริมาณของเรเดียม-226 ทางอ้อมคือ บิสมัท-214 (Ba-214) ซึ่งมีครึ่งชีวิต 19.7 นาที สลายตัวให้รังสีแกมมาหลายพลังงานที่สำคัญ ได้แก่ 609 กิโลอิเล็กตรอนโวลต์ (43%) และอีกตัวหนึ่งคือ ตะกั่ว-214 (Pb-214) ซึ่งมีครึ่งชีวิต 26.8 นาที สลายตัวให้รังสีแกมมาหลายพลังงาน ที่สำคัญคือ 352 กิโลอิเล็กตรอนโวลต์และการวัดปริมาณของเรเดียม-226 เมื่อนิวไคลด์ลูกทั้งสองนิวไคลด์อยู่ในสมดุลแบบเชกิวลาร์กับนิวไคลด์เรเดียม-226 เรเดียม-228 สลายตัวให้รังสีเบตาและมีครึ่งชีวิต 5.76 ปี เรเดียม-228 สลายตัวให้รังสีอัลฟาและมีครึ่งชีวิต 3.66 วัน เรเดียมสลายตัวให้ก๊าซเรดอนซึ่งจะไม่เกิดปฏิกิริยาเคมีกับสารหรือธาตุใดๆ นิวไคลด์สุดท้ายของอนุกรมต่างๆคือนิวไคลด์ของตะกั่วที่เสถียร

เรเดียมเป็นนิวไคลด์กัมมันตรังสีในธรรมชาติซึ่งเป็นโลหะชนิดหนึ่งที่ไวต่อปฏิกิริยาทางเคมีมากและมักจะทำให้เกิดสารประกอบคล้ายกับแบเรียม ในทางปฏิบัติจึงแยกธาตุทั้งสองนี้ยากเมื่อตัดใหม่ๆ จะมีสีเงินวาวๆ แต่เมื่อทำปฏิกิริยาเคมีกับอากาศจะกลายเป็นสีดำ ในตอนแรกที่ค้นพบเรเดียมและยังไม่ทราบถึงอันตรายของเรเดียมมีการนำเรเดียมมาประยุกต์ใช้ประโยชน์ต่างๆ เช่น มีการ

นำคุณสมบัติการเรืองแสงในที่มืดของเรเดียมมาใช้ในอุตสาหกรรมได้แก่ ใช้ทำเข็มนาฬิกาแบบพรายน้ำและเข็มของมาตรวัดต่างๆ เป็นต้น ในทางการแพทย์ยังเคยนำเรเดียมมาใช้เป็นแหล่งกำเนิดรังสีรักษาโรคมะเร็ง โดยการทำเป็นเม็ดเล็กๆแล้วฝังในก้อนเนื้อมะเร็งเพื่อนำเซลล์มะเร็งเรเดียมยังถูกนำมาใช้ทำแหล่งกำเนิดนิวตรอนโดยการผสมกับเบอริลเลียมซึ่งเป็นประโยชน์ในการขุดเจาะบ่อและงานวิจัย

ขบวนการต่างๆในทางธรณีจะทำให้ธาตุกัมมันตรังสีในธรรมชาติมีความเข้มข้นขึ้น โดยเฉพาะยูเรเนียมและเรเดียม-226 ซึ่งสามารถละลายได้ดีในน้ำเป็นผลให้น้ำใต้ดินมีปริมาณของยูเรเนียมและเรเดียม-226 สูงในบริเวณที่ล้อมรอบด้วยแหล่งหินที่มียูเรเนียมและเรเดียม-226 สูงๆ ยูเรเนียมและเรเดียม-226 ผ่านเข้าสู่ร่างกายได้ง่ายทั้งจากการบริโภคน้ำโดยตรงและผ่านทางวัฏจักรอาหาร เมื่อผ่านเข้าสู่ร่างกายแล้ว เรเดียม-226 สลายตัวให้รังสีอัลฟาและรังสีแกมมาซึ่งจะเป็นอันตรายมากเมื่ออยู่ในร่างกายของมนุษย์เพราะเรเดียม-226 มีคุณสมบัติทางเคมีเหมือนธาตุแคลเซียมจึงสามารถเข้าไปแทนที่แคลเซียมในกระดูกได้และอนุภาคอัลฟาจากการสลายตัวของเรเดียม-226 จะทำให้มีการแตกตัวเป็นไอออนในเนื้อเยื่อสูง ซึ่งเรเดียม-226 ที่สะสมในกระดูกจะมีอัตราการกำจัดออกจากร่างกายช้ามากดังนั้นอาจก่อให้เกิดเป็นมะเร็งในกระดูก (bone cancer) ได้และถ้าปริมาณเรเดียมสูงๆก็มีอันตรายมากเช่นเดียวกันเมื่ออยู่ภายนอกร่างกายของมนุษย์ นอกจากนี้การได้รับรังสีจากเรเดียม-226 เป็นระยะเวลานานๆจะทำให้เพิ่มความเสี่ยงภัยจากโรคต่างๆ เช่น มะเร็งต่อมน้ำเหลือง (lymphoma) โรคเกี่ยวกับเม็ดเลือด เช่น ลูคีเมีย (leukemia) และ aplastic anemia* (วิทย์ เทียงบุรณะธรรม และ เกษม เทียงบุรณะธรรม, 2541) ซึ่งผลต่างๆเหล่านี้จะใช้เวลาในการพัฒนานานหลายปี

*หมายถึงโรคโลหิตจางที่เกิดใหม่จากเม็ดโลหิตแดงเนื่องจากไขกระดูกไม่เจริญและถูกทำลายโดยสารเคมีหรือรังสี

วิธีที่ดีที่สุดที่จะป้องกันประชากรจากการได้รับรังสีจากเรเดียมมากเกินไปคือการวัดหาปริมาณเรเดียม-226 ในสิ่งแวดล้อมโดยเฉพาะในน้ำดื่ม อุปกรณ์ที่ใช้วัดและวิเคราะห์เรเดียมนี้เป็นอุปกรณ์พิเศษ เช่น แมงกานีสไดออกไซด์ที่เคลือบบนเส้นใยอะคริลิก (Burnett & Dulaiova, 2004) เพื่อเป็นตัวดูดซับเรเดียม-226 ซึ่งใช้ในห้องปฏิบัติการนิวเคลียร์ ภาควิชาฟิสิกส์ คณะวิทยาศาสตร์ มหาวิทยาลัยขอนแก่น การหาปริมาณเรเดียม-226 นั้นต้องทำในห้องปฏิบัติการเฉพาะทางเพื่อวางแผนและป้องกันประชากรจากการได้รับรังสีจากเรเดียม-226

สภากองเกรสของสหรัฐอเมริกา (US EPA, 2004) มีการผ่านกฎหมายหลายฉบับให้อำนาจแก่องค์การป้องกันสิ่งแวดล้อมแห่งสหรัฐอเมริกา (U.S. Environmental Protection Agency) ซึ่งหน่วยงานนี้ได้กำหนดระดับปนเปื้อนสูงสุด (Maximum Contaminant Level=MCL) ของเรเดียมค่า MCL เท่ากับ 5 ปิโคคูรี ต่อ ลิตร (5 pCi/L) หรือ 0.185 เบคเคอเรล ต่อ ลิตร (Bq/L) สำหรับเรเดียม-224 ค่า MCL เท่ากับ 15 ปิโคคูรี ต่อ ลิตร (pCi/L) หรือ 0.455 เบคเคอเรล ต่อ ลิตร (Bq/L)

เอกสารอ้างอิง

- Burnett, W.C., Dulaiova, H. (2004). An Efficient Method for Gamma Spectrometric Determination of Radium-226, -228 via Manganese Fibers. Available from : <http://also.org/lomethods/free/2004/0256>.
- United States Environmental Protection Agency. (2004) Radionuclides in drinking Water. [online]. Available from <http://www.epa.gov/safewater/standard/radnucpp.html> [2004, December 24]
- ภาวิณี วิสัยแสง. (2547) การหาปริมาณเรเดียม-226 ในน้ำโดยใช้แมงกานีสไดออกไซด์ที่เคลือบบนเส้นใยอะคริลิกเป็นตัวดูดซับ. วิทยานิพนธ์วิทยาศาสตรมหาบัณฑิต สาขาวิชานิวเคลียร์เทคโนโลยี คณะวิศวกรรมศาสตร์ จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย. กรุงเทพฯ. 1, 11.
- สมพร เกลิมสุข. (2528) รังสีในชีวิตประจำวัน. ภาควิชาฟิสิกส์ คณะวิทยาศาสตร์ มหาวิทยาลัยขอนแก่น. ขอนแก่น. 16-17.
- วิทย์ เทียงบูรณะธรรม และเกษม เทียงบูรณะธรรม. (2541) พจนานุกรมแพทยศาสตร์. รวมสาส์น. กรุงเทพฯ. 79.



แบบจำลองเชิงตัวเลขของการเคลื่อนที่ของวัตถุ ในแนววิถีโค้ง โดยคิดแรงเสียดทานของอากาศ

อนุสรณ์ ศรีธีระวิโรจน์¹

บทนำ

การเคลื่อนที่ของวัตถุในอากาศโดยคิดแรงเสียดทานของอากาศซึ่งขึ้นอยู่กับความเร็วของวัตถุ จะทำให้แรงลัพธ์ที่กระทำต่อวัตถุทั้งในแนวระดับและแนวตั้งไม่คงที่ จึงมีผลทำให้ความเร่งของวัตถุไม่คงที่เช่นเดียวกัน การใช้สมการการเคลื่อนที่แบบเส้นตรงที่มีค่าความเร่งคงที่จึงแก้ปัญหานี้ไม่ได้ ดังนั้นการศึกษาการเคลื่อนที่ของวัตถุโดยการสร้างแบบจำลองเชิงตัวเลข (Numerical Modeling) ใช้วิธีมิดพอยท์ (Midpoint Method) จะทำให้ทราบว่าที่เวลาใดๆนั้น วัตถุอยู่ที่ตำแหน่งใด มีขนาดความเร็ว ความเร่ง และแรงที่มากระทำต่อวัตถุมีค่าเท่าไร

ทฤษฎี

การเคลื่อนที่ของวัตถุแบบโปรเจกไทล์ (Projectile Motion) โดยไม่คิดแรงเสียดทานของอากาศจะมีแรงโน้มถ่วงของโลก (mg) ซึ่งอยู่ในแนวตั้งที่กระทำต่อวัตถุเท่านั้น ค่าความโน้มถ่วงของโลก (g) มีผลทำให้ความเร็วในแนวตั้งมีขนาดเปลี่ยนแปลง ในขณะที่ความเร็วในแนวระดับมีขนาดคงที่ ทำให้การเคลื่อนที่ของวัตถุเป็นรูปโค้งพาราโบลา (Parabola Curve) จึงสามารถหาค่าตัวแปรต่างๆของวัตถุเช่น ตำแหน่ง ความเร็ว เป็นต้น ที่เวลาต่างๆได้โดยใช้สมการพื้นฐานของการเคลื่อนที่แบบเส้นตรงที่มีค่าความเร่งขนาดคงที่ได้ ดังนี้

$$S = ut + (1/2)at \quad (1)$$

$$v = u + at \quad (2)$$

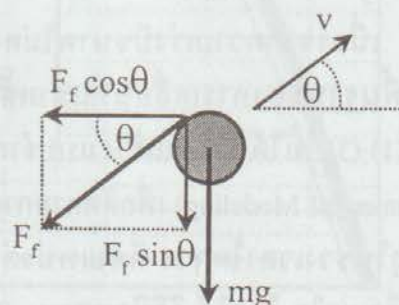
$$v^2 = u^2 + 2aS \quad (3)$$

ในแนวระดับหรือแนวแกน X จะมีความเร่งเป็นศูนย์ ($a_x = 0$) แต่ในแนวตั้งหรือแนวแกน Y จะมีความเร่งเป็นค่าความโน้มถ่วงของโลก ($a_y = g$)

เมื่อพิจารณาการเคลื่อนที่ของวัตถุโดยคิดแรงเสียดทานของอากาศด้วย จะมีแรงเสียดทานระหว่างอากาศกับวัตถุ (F_f) ซึ่งมีขนาดแปรผันโดยตรงกับอัตราเร็วของวัตถุยกกำลังสอง (v^2) แต่มีทิศทางตรงกันข้ามกับอัตราเร็วของวัตถุ โดยขนาดของแรงเสียดทาน F_f เป็น

$$F_f = k_2 v^2 \quad (4)$$

เมื่อ k_2 คือ ค่าคงที่ ซึ่งขึ้นอยู่กับความหนาแน่นของ



รูปที่ 1 แผนภาพแรงที่กระทำต่อวัตถุ

อากาศ (ρ_{air}), พื้นที่หน้าตัดของวัตถุ (A) และสัมประสิทธิ์แรงต้าน (Drag Coefficient หรือ C) ซึ่งขึ้นอยู่กับรูปร่างของวัตถุ ตามสมการ

$$k_2 = \frac{\rho_{air} CA}{2} \quad (5)$$

วัตถุแต่ละชนิดจะมีค่า C ไม่เหมือนกัน ในที่นี่จะพิจารณาลูกเบสบอลซึ่งมีค่า $C = 0.5$

วัตถุจะมีการเปลี่ยนแปลงความเร็วทั้งขนาดและทิศทางตลอดเวลา จึงทำให้แรงเสียดทาน F_f มีการเปลี่ยนแปลงทั้งขนาดและทิศทางด้วยเช่นกัน จึงพิจารณาแรงเสียดทานทั้งในแนวระดับและแนวตั้ง ดังรูปที่ 1

จากกฎข้อที่ 2 ของนิวตัน วัตถุจะมีความเร่งในแนวระดับ ตามสมการ

$$F_x = \max \quad (6)$$

$$\text{เมื่อ } F_x = -F_f \cos \quad (7)$$

$$\text{จะได้ } a_x = -A_2 v \quad (8)$$

$$\text{เมื่อ } A_2 = k_2/m \quad (9)$$

$$v_x = v \cos \quad (10)$$

ในแนวตั้ง

$$F_y = m a_y \quad (11)$$

$$\text{เมื่อ } F_y = -mg - F_f \sin \quad (12)$$

$$\text{จะได้ } a_y = -g - A_2 v \quad (13)$$

$$\text{เมื่อ } v_y = v \sin \quad (15)$$

เนื่องจากความเร่งมีขนาดไม่คงที่ จึงใช้สมการพื้นฐานของการเคลื่อนที่แบบเส้นตรงในสมการ (1)-(3) ไม่ได้ จึงต้องสร้างแบบจำลองเชิงตัวเลข (Numerical Modeling) เพื่อติดตามการเคลื่อนที่ของวัตถุในช่วงเวลาใดๆ ที่ตำแหน่งต่างๆ วัตถุมีความเร็วเท่าไร โดยใช้วิธีมิดพอยท์ (Midpoint Method) ซึ่งเป็นวิธีที่ใช้หาคำตอบสมการอนุพันธ์ (Differential Equation)

วิธีดำเนินงาน

แบบจำลองเชิงตัวเลขที่สร้างขึ้น มีขั้นตอนการทำงาน ดังนี้

ขั้นตอนที่ 1

กำหนดค่าต่างๆของลูกเบสบอล คือ มวลของวัตถุ (m) ขนาด 0.145 kg, รัศมี(R) 36.60 mm, สัมประสิทธิ์แรงต้าน (C) 0.5 และความหนาแน่นของอากาศ (ρ_{air}) 1.2 kg/m³

จะได้ พื้นที่หน้าตัดของวัตถุ (A) ตามสมการ $A = \pi R^2$ และ ค่าคงที่ (k_2) ตามสมการ (5)

ขั้นตอนที่ 2

กำหนดค่าเริ่มต้น คือ ช่วงเวลาสั้นๆ (Δt) เท่ากับ 0.1 s, ความเร็วเริ่มต้นของวัตถุ(v)ขนาด 50 m/s, มุมขว้างเริ่มต้นของวัตถุ (θ) 35°

ขั้นตอนที่ 3

จะได้ ความเร็วของวัตถุในระดับ (v_x) และในแนวตั้ง (v_y) ตามสมการ (10) และ (15) ตามลำดับ

ขั้นตอนที่ 4

คำนวณความเร่งของวัตถุในระดับ (a_x) และในแนวตั้ง (a_y) ตามสมการ (8) และ (13) ตามลำดับ

ขั้นตอนที่ 5

คำนวณความเร็วใหม่ของวัตถุในระดับ (v_x) และในแนวตั้ง (v_y) ในช่วงเวลาสั้นๆ (Δt) จากความเร็วเดิมของวัตถุ

$$v_{x,new} = v_{x,old} + a_x \Delta t \quad (16)$$

$$v_{y,new} = v_{y,old} + a_y \Delta t \quad (17)$$

ขั้นตอนที่ 6

คำนวณตำแหน่งใหม่ของวัตถุโดย วิธีมิดพอยท์ (Midpoint Method) ดังนี้

$$x_{x,new} = x_{x,old} + \left(\frac{v_{x,new} + v_{x,old}}{2} \right) \Delta t \quad (18)$$

$$y_{y,new} = y_{y,old} + \left(\frac{v_{y,new} + v_{y,old}}{2} \right) \Delta t \quad (19)$$

เนื่องจากการแบ่งช่วงเวลา Δt อาจจะไม่เหมาะสม จึงแบ่ง Δt ให้เล็กลงอีกตามสมการ

$$\Delta t = \frac{\Delta t}{\text{Loop}} \quad (22)$$

เมื่อ Loop = 1, 2, 3, ...

ทำซ้ำตั้งแต่ขั้นตอนที่ 1-8 จนกระทั่งพื้นที่ใต้กราฟของเส้นทางเดินของวัตถุในรอบใหม่เทียบกับรอบเก่าต่างกันน้อยกว่าค่าที่กำหนด ($\Delta \text{area}_{\min}$) ตามสมการ

ขั้นตอนที่ 7

เพิ่มเวลาเป็น

$$t_{\text{new}} = t_{\text{old}} + \Delta t \quad (20)$$

ขั้นตอนที่ 8

ทำซ้ำขั้นตอนที่ 4-7 จนกระทั่งวัตถุตกมาถึงพื้นอีกครั้ง โดยใช้เงื่อนไขเป็น

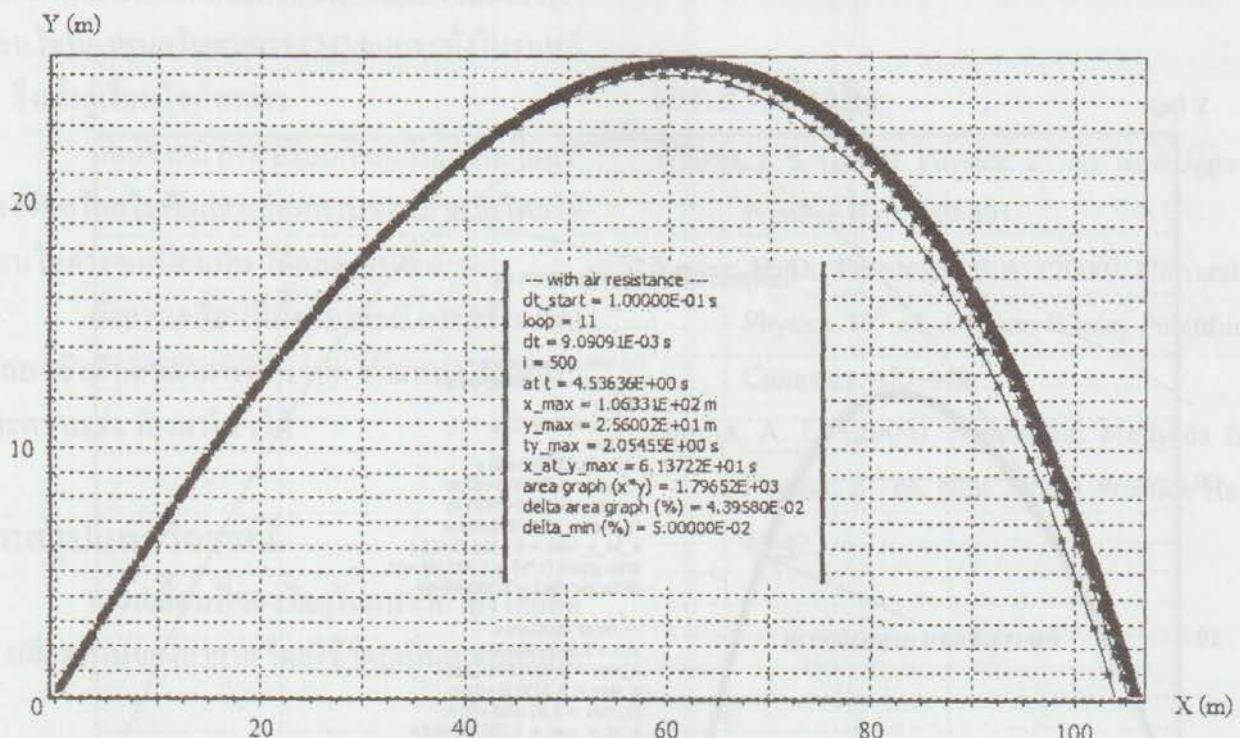
$$y \leq 0 \quad (21)$$

$$\Delta \text{area} = \frac{\text{area}_{\text{new}} - \text{area}_{\text{old}}}{\text{area}_{\text{new}}} \times 100 \quad (23)$$

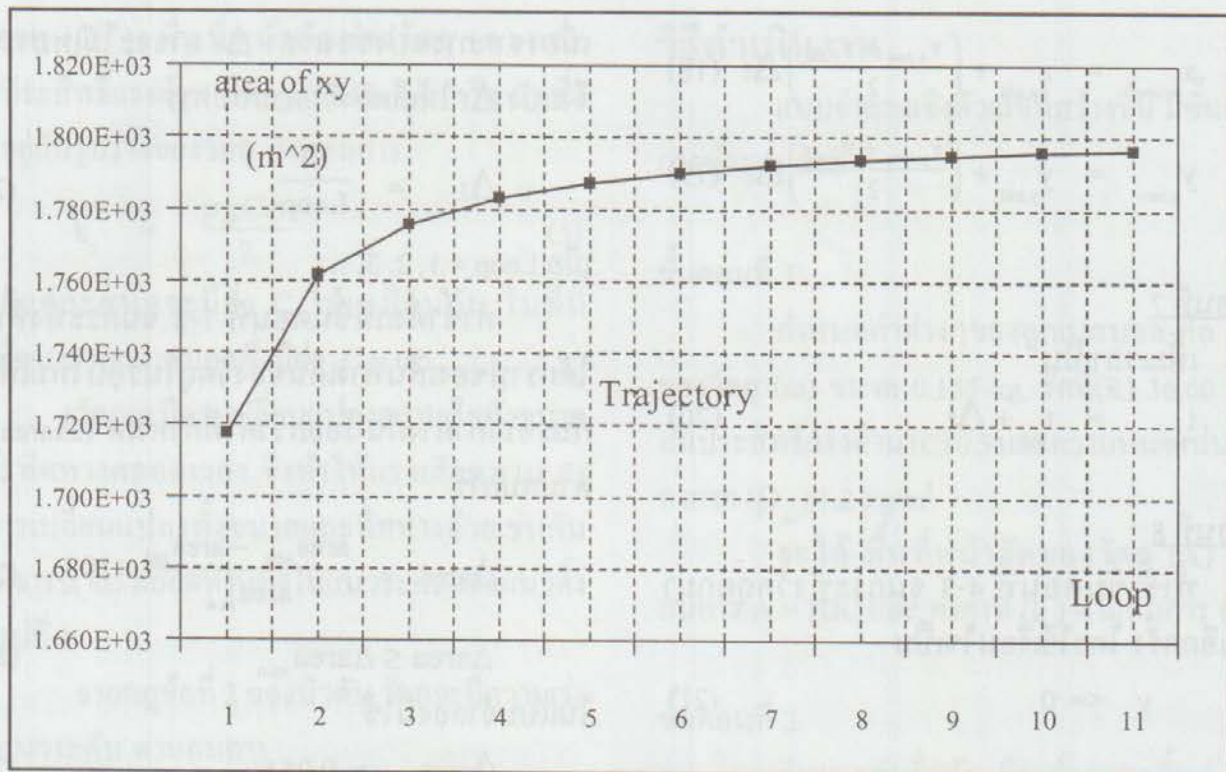
$$\Delta \text{area} \leq \Delta \text{area}_{\min} \quad (24)$$

ในแบบจำลองนี้ใช้

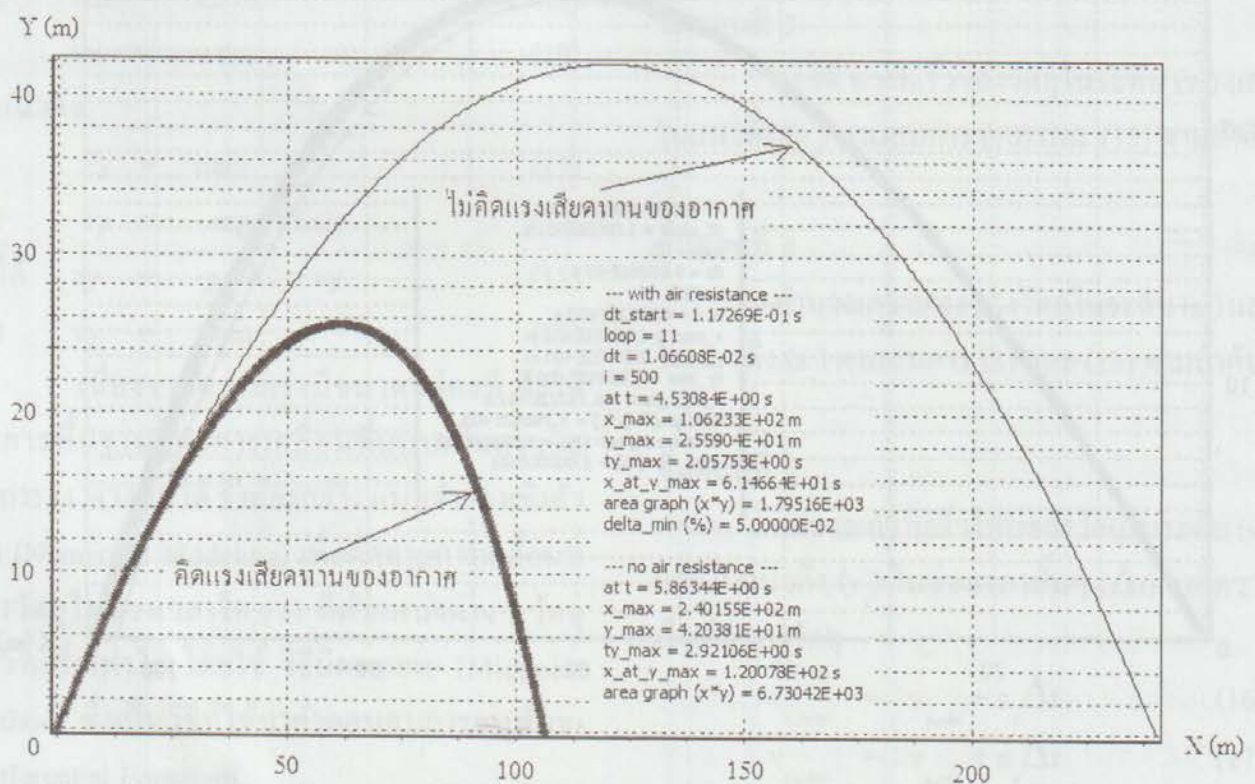
$$\Delta \text{area}_{\min} = 0.05 \% \quad (25)$$



รูปที่ 2 เส้นทางเคลื่อนที่ของวัตถุโดยคิดแรงเสียดทานของอากาศในแต่ละรอบ



รูปที่ 3 กราฟของพื้นที่ใต้กราฟที่เริ่มคงที่



รูปที่ 4 การเคลื่อนที่ของวัตถุโดยคิดแรงเสียดทานและไม่คิดแรงเสียดทานของอากาศ

ผลการวิเคราะห์

เมื่อสร้างแบบจำลองโดยใช้โปรแกรม Delphi 7 เพื่อติดตามการเคลื่อนที่ของวัตถุในแนววิถีโค้งโดยคิดแรงเสียดทานของอากาศ ได้ผลดังรูปที่ 2

จากค่าเริ่มต้นที่กำหนด $\Delta t = 0.1$ s การคำนวณจะหยุดเมื่อแบ่งเวลา Δt ให้เล็กลงจากเดิม 11 เท่า นั่นคือ Loop = 11 จะได้ $\Delta t = 9.09 \times 10^{-3}$ s

จนกระทั่งวัตถุตกถึงพื้นอีกครั้งที่ตำแหน่งไกลสุด $x_{\max} = 106.33$ m ซึ่งใช้เวลาในการเคลื่อนที่ไป $t = 4.54$ s ที่ตำแหน่งสูงสุด $y_{\max} = 25.60$ m ซึ่งขณะนั้นระยะทางในแนวระดับ $x = 61.37$ m และใช้เวลาไป $t = 2.05$ s พื้นที่ใต้กราฟที่ได้เท่ากับ $1.79652 \times 10^3 \text{ m}^2$

เมื่อเปรียบเทียบค่าพื้นที่ใต้กราฟในแต่ละรอบ โดยนำมาเขียนกราฟได้ผลดังรูปที่ 3 จะเห็นว่า กราฟจะเริ่มคงที่ตั้งแต่รอบที่ 3 แต่ยังไม่น้อยกว่าเงื่อนไขที่กำหนดในสมการ (24) จนกระทั่งในรอบที่ 11 จึงเข้าสู่เงื่อนไขดังกล่าว

นอกจากนี้ การเปรียบเทียบกับเคลื่อนที่ของวัตถุโดยไม่คิดแรงเสียดทานของอากาศโดยใช้เงื่อนไขต่างๆเหมือนกัน ได้ผลดังรูปที่ 4

ซึ่งการเคลื่อนที่ทั้งสองกรณี การสร้างแบบจำลองเชิงตัวเลขสามารถทราบค่าตำแหน่ง, ความเร็ว และความเร่ง ที่เวลาใดๆได้

บทสรุปและวิจารณ์

การเคลื่อนที่ของวัตถุในแนววิถีโค้ง โดยคิดแรงเสียดทานของอากาศ โดยใช้วัตถุเป็นลูกเบสบอล

ซึ่งมีมวล (m) เท่ากับ 0.145 kg, รัศมี (R) เท่ากับ 36.60 mm, สัมประสิทธิ์แรงต้าน (C) เท่ากับ 0.5 อากาศมีความหนาแน่น 1.2 kg/m^3 และกำหนดค่าเริ่มต้นคือความเร็วของวัตถุขนาด 50 m/s ทำมุม 35° กับแนวระดับ โดยการสร้างแบบจำลองเชิงตัวเลข (Numerical Modeling) ใช้วิธีมิดพอยท์ (Midpoint Method) ปรากฏว่า จากเงื่อนไขการหยุดโปรแกรมที่ $\Delta \text{area}_{\min} = 0.05 \%$ และเวลาสั้นๆเริ่มต้นที่ $\Delta t = 0.1$ s การคำนวณจะหยุดเมื่อแบ่งเวลา Δt ให้เล็กลงจากเดิม 11 เท่า (Loop = 11) จะได้ $\Delta t = 9.09 \times 10^{-3}$ s วัตถุมีตำแหน่งไกลสุด 106.33 m ใช้เวลาในการเคลื่อนที่ไป 4.54 s วัตถุมีตำแหน่งสูงสุด 25.60 m ซึ่งแบบจำลองเชิงตัวเลขนี้ สามารถนำไปใช้เพื่อศึกษาการเคลื่อนที่ของวัตถุที่มีขนาดต่างๆ และเงื่อนไขอื่นๆในการเรียนการสอนวิชาฟิสิกส์พื้นฐานของนักศึกษาชั้นปีที่ 1 ได้ อีกด้วย

เอกสารอ้างอิง

- Walker, J. S. (2004). Physics. 2nd ed. New Jersey. Prentice Hall. 489-491.
- Young, H. D., Freedman, R.A. (2000). University Physics. 10th ed. Addison-Wesley Publishing Company. 427-448.
- Garcia, A. L. (2000). Numerical Methods for Physics. 2nd ed. New Jersey. Prentice Hall. 41-42.



มีจำนวนเฉพาะอยู่เป็นจำนวนอนันต์

There are infinitely many primes

สาริต แซ่จิ่ง'

บทคัดย่อ

ในบทความนี้นำเสนอการพิสูจน์ว่ามีจำนวนเฉพาะอยู่เป็นจำนวนอนันต์ โดยการพิสูจน์ที่แตกต่างกันออกไป 7 แบบ โดยที่ 6 แบบแรกได้เรียบเรียงจาก Aigner and Ziegler (2003) และแบบสุดท้ายนำมาจาก Larson (1983)

ทฤษฎีบท มีจำนวนเฉพาะอยู่เป็นจำนวนอนันต์

บทพิสูจน์ที่ 1 ในการพิสูจน์แบบแรกนี้เป็นแบบดั้งเดิมเชื่อกันว่ายุคลิด (Euclid) เป็นผู้คิดค้น ซึ่งมักปรากฏในหนังสือทฤษฎีจำนวนทั่วไป เช่น Burton (1994) และ Niven and Zuckerman (1980) เป็นต้น เริ่มต้นการพิสูจน์โดยการสมมติในทางตรงกันข้ามว่า $\{p_1, p_2, \dots, p_r\}$ เป็นเซตของจำนวนเฉพาะทั้งหมด ต่อไปพิจารณาจำนวนเต็ม $n = p_1 p_2 \cdots p_r + 1$ จะได้ว่า n จะมีตัวประกอบเฉพาะ (prime factor) ให้เป็น p เนื่องจาก p สามารถหาร $p_1 p_2 \cdots p_r$ ได้ลงตัว จึงได้ว่า p สามารถหาร $n - p_1 p_2 \cdots p_r = 1$ ได้ลงตัวด้วย ซึ่งเป็นไปไม่ได้ นั่นคือ เซตของจำนวนเฉพาะทั้งหมดจะต้องเป็นเซตอนันต์ $\square$

เพื่อความสะดวกในการพิสูจน์ต่อไป กำหนดให้

$$\mathbb{N} = \{1, 2, 3, \dots\}$$

$$\mathbb{Z} = \{0, 1, -1, 2, -2, \dots\}$$

$$\mathbb{P} = \{2, 3, 5, 7, 11, 13, \dots\}$$

แทนเซตของจำนวนนับ จำนวนเต็ม และจำนวนเฉพาะตามลำดับ

บทพิสูจน์ที่ 2 พิจารณาจำนวนแฟร์มา (Fermat) $F_n = 2^{2^n} + 1$ เมื่อ $n = 0, 1, 2, \dots$ ในการแสดงว่ามีจำนวนเฉพาะอยู่เป็นจำนวนอนันต์ เป็นการเพียงพอที่จะแสดงว่าจำนวนแฟร์มาสองจำนวนใด ๆ เป็นจำนวนเฉพาะสัมพัทธ์ (relatively prime numbers) โดยการอุปนัยเชิงคณิตศาสตร์สามารถแสดงได้ว่า

$$F_0 F_1 \cdots F_{n-1} = F_n - 2 \text{ สำหรับทุก } n \in \mathbb{N}$$

ต่อไปสมมติว่า m เป็นตัวหารร่วมของ F_k และ F_n เมื่อ $k < n$ ดังนั้นจะได้ว่า m สามารถหาร $F_0 F_1 \cdots F_{n-1} = F_n - 2$ ได้ลงตัว นั่นคือ m สามารถหาร $F_n - (F_n - 2) = 2$ ได้ลงตัว นั่นคือ $m = 1$ หรือ 2 อย่างไรก็ตามพบว่า $m \neq 2$ เพราะว่า F_n เป็นจำนวนคี่ จึงสรุปได้ว่า จำนวนแฟร์มาสองจำนวนใด ๆ เป็นจำนวนเฉพาะสัมพัทธ์ ตามต้องการ $\square$

บทพิสูจน์ที่ 3 ในการพิสูจน์นี้จะประยุกต์ทฤษฎีบทของลากรองจ์ (Lagrange's Theorem) ในทฤษฎีกรุป (Rotman, 1994, Theorem 2.11, หน้า 26) ซึ่งกล่าวว่า ถ้า G เป็นกรุปและมีจำนวนสมาชิกเป็นจำนวนจำกัดแล้ว จำนวนสมาชิกของสับกรุปของ G จะสามารถหารจำนวนสมาชิกของ G ลงตัวเสมอ

เริ่มการพิสูจน์โดยสมมติว่า $\mathbb{P}$ เป็นเซตจำกัดและ p เป็นจำนวนเฉพาะตัวที่มากที่สุดต่อไปจะแสดงว่าตัวประกอบเฉพาะของ $2^p - 1$ จะมีค่ามากกว่า p เสมอ ซึ่งเป็นข้อขัดแย้งกับที่กำหนดให้ p เป็นจำนวนเฉพาะตัวที่มากที่สุด และการพิสูจน์ถือเป็นอันเสร็จสิ้น

ให้ $q \in \mathbb{P}$ และ q สามารถหาร $2^p - 1$ ได้ลงตัว ต่อไปพิจารณากรุป $(\mathbb{Z}_q \setminus \{0\}, \cdot)$ ซึ่งมีสมาชิกอยู่ $q - 1$ ตัว ให้ $H = \{x \in \mathbb{Z}_q \setminus \{0\} : q \text{ สามารถหาร } x^p - 1 \text{ ได้ลงตัว}\}$ สามารถพิสูจน์ได้ว่า $H = \{1, 2, 2^2, \dots, 2^{p-1}\}$ เป็นสับกรุปของกรุป $(\mathbb{Z}_q \setminus \{0\}, \cdot)$ โดยทฤษฎีบทของ Lagrange จึงได้ว่า p สามารถหาร $q - 1$ ได้ลงตัว นั่นคือ $p < q$ ตามต้องการ $\square$

บทพิสูจน์ที่ 4 การพิสูจน์ต่อไปประยุกต์ความรู้จากวิชาแคลคูลัสพื้นฐาน (ดูได้จาก Rudin (1964)) ให้ $f(x) =$ จำนวนของจำนวนเฉพาะทั้งหมดที่น้อยกว่าหรือเท่ากับ x

เช่น $f(1) = 0$ และ $f(2) = 1$ เป็นต้น สำหรับจำนวนจริง $x \geq 2$ เพื่อความสะดวกจะเขียนเซตของจำนวนเฉพาะทั้งหมดที่น้อยกว่าหรือเท่ากับ x แทนด้วย

$$P_x = \{p_1, p_2, \dots, p_{f(x)}\}$$

โดยที่ $2 = p_1 < p_2 < \dots < p_{f(x)}$

จะพิสูจน์ว่า $f(x)$ เป็นฟังก์ชันที่ไม่มีขอบเขต (unbounded) โดยแสดงเพียงว่า

$$\ln x \leq f(x) + 1 \text{ สำหรับทุก ๆ จำนวนจริง } x \geq 1$$

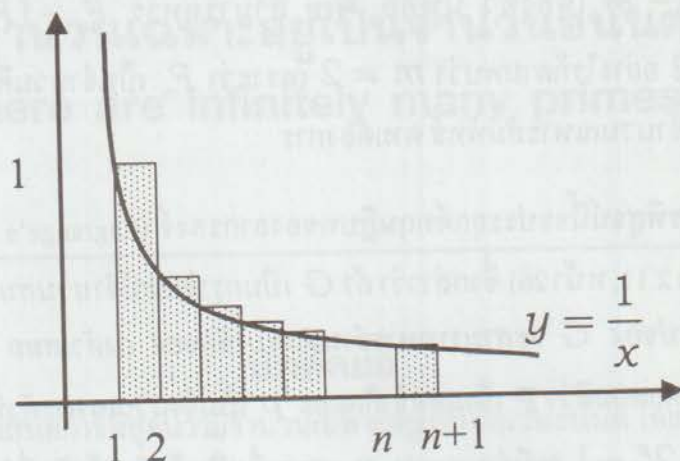
ซึ่งจะทำให้ได้ทันทีว่า มีจำนวนเฉพาะอยู่เป็นจำนวนอนันต์

สำหรับแต่ละจำนวนจริง $x \geq 1$ เลือกจำนวนนับ n ที่มีสมบัติว่า $n \leq x < n + 1$

ในวิชาแคลคูลัสพื้นฐาน เป็นที่ทราบกันว่า

$$\ln x = \int_1^x \frac{1}{t} dt$$

ต่อไปพิจารณารูป



จะทำให้ได้ว่า

$$\ln x \leq 1 + \frac{1}{2} + \frac{1}{3} + \dots + \frac{1}{n-1} + \frac{1}{n}$$

โดยทฤษฎีบทหลักมูลของเลขคณิต (The Fundamental Theorem of Arithmetic) แต่ละ m ซึ่ง $1 \leq m \leq n$

จะสามารถเขียนอยู่ในรูปผลคูณของจำนวนเฉพาะ $\prod_{p \in P_x} p^{k_p}$ จึงได้ว่า

$$1 + \frac{1}{2} + \frac{1}{3} + \dots + \frac{1}{n} \leq \left(1 + \frac{1}{p_1} + \frac{1}{p_1^2} + \dots\right) \left(1 + \frac{1}{p_2} + \frac{1}{p_2^2} + \dots\right) \dots \left(1 + \frac{1}{p_{f(x)}} + \frac{1}{p_{f(x)}^2} + \dots\right)$$

$$\text{นั่นคือ } \ln x \leq \prod_{p \in P_x} \left(\sum_{k \geq 0} \frac{1}{p^k}\right) \leq \prod_{p \in P_x} \frac{1}{1 - \frac{1}{p}} = \prod_{p \in P_x} \frac{p}{p-1} = \prod_{k=1}^{f(x)} \frac{p_k}{p_k-1}$$

สำหรับแต่ละ $k = 1, \dots, f(x)$ จะได้ว่า $p_k \geq k+1$ ดังนั้น

$$\frac{p_k}{p_k-1} = 1 + \frac{1}{p_k-1} \leq 1 + \frac{1}{k} = \frac{k+1}{k}$$

นั่นคือ

$$\ln x \leq \prod_{k=1}^{f(x)} \frac{p_k}{p_k-1} \leq \prod_{k=1}^{f(x)} \frac{k+1}{k} = f(x) + 1$$

ตามต้องการ

□

บทพิสูจน์ที่ 5 ในการพิสูจน์นี้จะอาศัยความรู้ในวิชาทอพอโลยี (Topology) (ผู้อ่านที่สนใจสามารถศึกษาเพิ่มเติมจาก Dugungi (1981)) ให้ $a, b \in \mathbb{Z}$ และ $b > 0$ นิยาม

$$N_{a,b} = \{a + nb : n \in \mathbb{Z}\}$$

และเรียกสับเซต O ของ $\mathbb{Z}$ ว่าเป็นเซตเปิด (open set) เมื่อ $O = \emptyset$ หรือสำหรับแต่ละ $a \in O$ จะมีจำนวนเต็ม $b > 0$ ซึ่งทำให้ $N_{a,b} \subseteq O$ ให้ T เป็นเซตของเซตเปิดที่นิยามข้างต้น จะแสดงว่า T เป็นทอพอโลยีสำหรับ $\mathbb{Z}$ นั่นคือจะแสดงว่า

$$(1) \quad \emptyset, \mathbb{Z} \in T$$

$$(2) \quad \text{ถ้า } O_\alpha \in T \text{ สำหรับทุก } \alpha \in \Lambda \text{ เมื่อ } \Lambda \text{ เป็นเซตคอร์ดไนใด ๆ แล้ว } \bigcup_{\alpha \in \Lambda} O_\alpha \in T$$

$$(3) \quad \text{ถ้า } O_1, O_2, \dots, O_n \in T \text{ เมื่อ } n \in \mathbb{N} \text{ แล้ว } O_1 \cap O_2 \cap \dots \cap O_n \in T$$

เนื่องจาก (1) และ (2) เห็นได้ชัด จึงแสดงเฉพาะ (3) นอกจากนี้โดยการอุปนัยเชิงคณิตศาสตร์สามารถแสดงเพียงว่า ถ้า $O_1, O_2 \in T$ แล้ว $O_1 \cap O_2 \in T$

กำหนดให้ $O_1, O_2 \in T$ ถ้า $O_1 \cap O_2 = \emptyset$ จะได้ทันทีว่า $O_1 \cap O_2 \in T$ ต่อไปสมมติว่ามี $a \in O_1 \cap O_2$ โดยนิยามของการเป็นเซตเปิดจะได้ว่ามีจำนวนเต็ม $b_1, b_2 > 0$ ซึ่งทำให้ $N_{a,b_1} \subseteq O_1$ และ $N_{a,b_2} \subseteq O_2$ ดังนั้น $N_{a,b_1} \subseteq O_1 \cap O_2$

ต่อไปสังเกตความจริงสองประการต่อไปนี้

(a) ทุก ๆ เซตเปิดที่ไม่ใช่เซตว่างเป็นเซตอนันต์

(b) $N_{a,b}$ เป็นเซตปิด (closed set) สำหรับทุก $a, b \in \mathbb{Z}$ และ $b > 0$

เนื่องจาก (a) เป็นผลที่ได้โดยตรงจากนิยามข้างต้น จึงจะแสดงเพียง (b) โดยสังเกตว่า

$$N_{a,b} = \mathbb{Z} \setminus \bigcup_{i=1}^{b-1} N_{a+i,b}$$

ดังนั้น $N_{a,b}$ เป็นเซตปิด เนื่องจาก $N_{a,b}$ เป็นคอมพลีเมนต์ของเซตเปิด

เนื่องจากสำหรับแต่ละจำนวนเต็ม $n \neq 1, -1$ จะมีตัวประกอบเฉพาะเสมอ ดังนั้น $n \in N_{0,p}$

สำหรับบางจำนวนเฉพาะ p จึงได้ว่า $\mathbb{Z} \setminus \{1, -1\} = \bigcup_{p \in \mathbb{P}} N_{0,p}$

ถ้า $\mathbb{P}$ เป็นเซตจำกัดจะได้ว่า $\mathbb{Z} \setminus \{1, -1\}$ เป็นผลพวงแบบจำกัด (finite union) ของเซตปิด ส่งผลให้

$\mathbb{Z} \setminus \{1, -1\}$ เป็นเซตปิด ซึ่งหมายถึง $\{1, -1\}$ เป็นเซตเปิดซึ่งขัดแย้งกับข้อ (a) ดังนั้น $\mathbb{P}$ จึงเป็นเซตไม่จำกัด $\square$

บทพิสูจน์ที่ 6 ในบทพิสูจน์นี้ไม่เพียงสามารถพิสูจน์ว่ามีจำนวนเฉพาะอยู่เป็นจำนวนอนันต์ ยังได้ความจริง

ที่ว่า $\sum_{p \in \mathbb{P}} \frac{1}{p}$ เป็นอนุกรมลู่ออก (divergent series) อีกด้วย ข้อความนี้เป็นผลงานที่คิดค้น โดยออยเลอร์ (Euler)

แต่บทพิสูจน์ที่ปรากฏข้างล่างนี้เป็นของแอดิช (Erdős) ซึ่งท่านได้เขียนขึ้นใหม่

กำหนดให้ $p_1, p_2, p_3, \dots$ เป็นลำดับของจำนวนเฉพาะทั้งหมดโดยที่

$$2 = p_1 < p_2 < p_3 < \dots$$

สมมติว่า $\sum_{p \in \mathbb{P}} \frac{1}{p}$ เป็นอนุกรมลู่ออก (convergent series) ดังนั้นมีจำนวนนับ k ซึ่งทำให้ $\sum_{i \geq k+1} \frac{1}{p_i} < \frac{1}{2}$ ต่อไป

“ข้อดี” $p_1, p_2, \dots, p_k$ ว่าเป็นจำนวนเฉพาะเล็ก และ $p_{k+1}, p_{k+2}, \dots$ ว่าเป็นจำนวนเฉพาะใหญ่
สำหรับจำนวนนับ N ใดๆ จะได้ว่า

$$\sum_{i \geq k+1} \frac{N}{p_i} < \frac{N}{2}$$

ให้ N_b เป็นจำนวนของจำนวนนับทั้งหมดที่น้อยกว่าหรือเท่ากับ N ซึ่งสามารถหารลงตัวได้ด้วยจำนวนเฉพาะ
ใหญ่อย่างน้อยหนึ่งตัว และ N_s เป็นจำนวนของจำนวนนับทั้งหมดที่น้อยกว่าหรือเท่ากับ N ซึ่งสามารถหาร
ลงตัวได้ด้วยจำนวนเฉพาะเล็กเท่านั้น ดังนั้น $N_b + N_s = N$ ต่อไปจะพิสูจน์ว่ามีจำนวนนับ N ที่ทำให้
 $N_b + N_s < N$ ซึ่งเป็นข้อขัดแย้ง ส่งผลให้ข้อสมมติที่กำหนดไว้ไม่สามารถเป็นไปได้

เริ่มโดยการพิจารณา N_b สังเกตว่า $\left\lfloor \frac{N}{p_i} \right\rfloor$ เป็นจำนวนของจำนวนนับ $n \leq N$ ซึ่งสามารถหารลง
ตัวได้ด้วย p_i ($\lfloor x \rfloor$ แทนจำนวนเต็มที่มากที่สุดซึ่งน้อยกว่าหรือเท่ากับ x) ดังนั้น

$$N_b \leq \sum_{i \geq k+1} \left\lfloor \frac{N}{p_i} \right\rfloor \leq \sum_{i \geq k+1} \frac{N}{p_i} < \frac{N}{2}$$

ต่อไปพิจารณา N_s ให้ n เป็นจำนวนนับใด ๆ ที่น้อยกว่าหรือเท่ากับ N ซึ่งสามารถหารลงตัวได้
ด้วยจำนวนเฉพาะเล็กเท่านั้น เขียน $n = a_n b_n^2$ โดยที่ a_n เป็นจำนวนที่ปลอดกำลังสอง (square-free)
นั่นคือ ไม่มีจำนวนเฉพาะ p ซึ่งทำให้ p^2 สามารถหาร a_n ได้ลงตัว ดังนั้น a_n จึงเป็นผลคูณของจำนวน
เฉพาะเล็กที่แตกต่างกัน ดังนั้นจำนวนที่ปลอดกำลังสองมีทั้งหมด 2^k แบบที่แตกต่างกัน นอกจากนี้จาก
 $b_n \leq \sqrt{n} \leq \sqrt{N}$ จึงได้ว่า จำนวนในส่วนที่ไม่ใช่จำนวนที่ปลอดกำลังสองสามารถมีได้ไม่เกิน $\sqrt{N}$ แบบ

ที่แตกต่างกัน ดังนั้น $N_s \leq 2^k \sqrt{N}$ จึงได้ $N_b + N_s < \frac{N}{2} + 2^k \sqrt{N}$ ถ้าสามารถเลือก N ที่ทำให้

$2^k \sqrt{N} \leq \frac{N}{2}$ จะได้ข้อขัดแย้งที่กล่าวข้างต้นทันที ซึ่งเพียงแต่ให้ $N = 2^{2k+2}$ ก็จะได้ตามต้องการ $\square$

บทพิสูจน์ที่ 7 ในการพิสูจน์แบบสุดท้ายนี้ นำมาจากแบบฝึกหัดข้อหนึ่งจาก Larson (1983) ซึ่งเป็นตำราที่ใช้ในการเตรียมสอบ William Lowell Putnam Competition โดยจะพิสูจน์ข้อสมการต่อไปนี้เสียก่อนว่า

$$\sqrt[n]{n!} \leq \prod_{p|n!} p^{\frac{1}{p-1}} \text{ สำหรับทุก } n \in \mathbb{N}$$

เมื่อ $p|n!$ แทนข้อความ p เป็นจำนวนเฉพาะซึ่ง p สามารถหาร $n!$ ได้ลงตัว และปริมาณผลคูณด้านขวามือเป็นผลคูณของพจน์ต่าง ๆ ซึ่งขึ้นกับจำนวนเฉพาะ p โดยจะพิจารณาเฉพาะจำนวนเฉพาะทั้งหมดที่สามารถหาร $n!$ ได้ลงตัวเท่านั้น เนื่องจาก

$$\left\lfloor \frac{n}{p} \right\rfloor + \left\lfloor \frac{n}{p^2} \right\rfloor + \left\lfloor \frac{n}{p^3} \right\rfloor + \cdots \leq \left\lfloor \frac{n}{p} + \frac{n}{p^2} + \frac{n}{p^3} + \cdots \right\rfloor = \left\lfloor \frac{n}{p-1} \right\rfloor \leq \frac{n}{p-1}$$

แต่ $\left\lfloor \frac{n}{p} \right\rfloor + \left\lfloor \frac{n}{p^2} \right\rfloor + \left\lfloor \frac{n}{p^3} \right\rfloor + \cdots = n_p$ เมื่อ n_p เป็นเลขชี้กำลังที่สูงที่สุดที่ทำให้ p^{n_p} สามารถหาร $n!$

ได้ลงตัว (ดู Larson (1983) เพิ่มเติมหรือทฤษฎีบท 6-9 ของ Burton (1994) หน้า 117-118) และจากสูตรของ

เลอจองด์ (Legendre's formula) ที่ว่า $n! = \prod_{p|n!} p^{n_p}$ จะได้ว่า $n! \leq \prod_{p|n!} p^{\frac{n}{p-1}}$ นั่นคือ $\sqrt[n]{n!} \leq \prod_{p|n!} p^{\frac{1}{p-1}}$

ต่อไปสมมติว่า มีจำนวนเฉพาะอยู่เป็นจำนวนจำกัด สังเกตว่า $\sqrt[n]{n!} \geq \sqrt{n} \rightarrow \infty$ ถ้า $n \rightarrow \infty$ ในขณะที่

$\prod_{p|n!} p^{\frac{1}{p-1}}$ เป็นจำนวนจำกัด ซึ่งเป็นข้อขัดแย้ง

□

กิตติกรรมประกาศ ขอขอบคุณผู้ทรงคุณวุฒิที่ให้คำแนะนำในการปรับปรุงแก้ไข ขอขอบคุณภาควิชาคณิตศาสตร์ที่เอื้อเฟื้ออุปกรณ์และสิ่งอำนวยความสะดวกในการเตรียมบทความ

บรรณานุกรม

- Aigner, M. and Ziegler, G. M. (2003). Proofs from THE BOOK. (3rd ed.) New York: Springer.
- Burton, D. (1994). Elementary Number Theory. (3rd ed.) Wm. C. Brown Publishers.
- Dugungi, J. (1981). General Topology. Toronto: Allyn and Bacon.
- Larson, L. C. (1983). Problem-Solving Through Problems. Springer-Verlag.
- Niven, I. and Zuckerman, H. S. (1980). An Introduction to the Theory of Numbers. (4th ed.) New York: Wiley.
- Rotman, J. J. (1994). An Introduction to the Theory of Groups. (4th ed.) New York: Springer-Verlag.
- Rudin W. (1964). Principles of Mathematical Analysis. (2nd ed.) New York: McGraw-Hill.



การคำนวณพลังงานไอออไนเซชันของกรดเปปไทด์นิวคลีอิก โดยวิธีทางเคมีควอนตัม

(Ionization Energy Calculation of Peptide Nucleic Acids Using Quantum Chemistry)

ศัชรินทร์ ศิริวงศ์

บทคัดย่อ

ผลการคำนวณพลังงานไอออไนเซชันของกรดเปปไทด์นิวคลีอิก (พีเอ็นเอ) ที่มีแกนหลักเป็นหมู่ pyrrolidinyI และยึดจับกับดีเอ็นเอด้วยโครงสร้างแบบขนานและขนานสวน ด้วยวิธีทางเคมีควอนตัม ระดับการคำนวณที่ HF/6-31G* โดยอาศัยทฤษฎีของคูพมานส์ พบว่าหมู่ pyrrolidinyI ทำให้พลังงานไอออไนเซชันของสายคู่พีเอ็นเอ-ดีเอ็นเอเพิ่มขึ้น 0.2 และ 0.5 eV สำหรับพีเอ็นเอ-ดีเอ็นเอที่มีโครงสร้างแบบขนานและแบบขนานสวนตามลำดับ เมื่อเปรียบเทียบกับแกนหลักของดีเอ็นเอ นอกจากนี้ยังพบว่าออร์บิทัลเชิงโมเลกุลที่มีการบรรจุอิเล็กตรอนสูงสุดจะอยู่ที่ตำแหน่งของเบสกวีนีนสำหรับคู่เบสกวีนีน-ไซโทซีน และจะอยู่ที่ตำแหน่งของเบสอะดีนีนสำหรับคู่เบสอะดีนีน-ไทมีน โดยไม่ขึ้นกับว่าเบสทั้งสองนี้อยู่ในสายของพีเอ็นเอหรือดีเอ็นเอ และสำหรับโมเลกุลสายเดี่ยวพบว่าพลังงานไอออไนเซชันของสายพีเอ็นเอจะมีค่ามากกว่าสายดีเอ็นเอประมาณ 0.4-0.7 eV ดังนั้นจึงสรุปได้ว่าแกนหลัก pyrrolidinyI มีผลทำให้นิวโอเบสมีความเสถียรต่อการถูกออกซิไดส์มากกว่าแกนหลักของดีเอ็นเอ และพีเอ็นเอที่มีโครงสร้างแบบขนานสวนจะมีความเสถียรมากกว่าโครงสร้างแบบขนาน

Abstract

The ionization energy (IE) of a novel pyrrolidinyI peptide nucleic acid (PNA) binding to DNA for both parallel and antiparallel orientations have been calculated using quantum chemistry HF/6-31G* method based on Koopmans' theorem. As a result, pyrrolidinyI groups increase the IEs of PNA-DNA duplexes about 0.2 and 0.5 eV for parallel and antiparallel fashion, respectively, compared to the DNA backbone. In each duplex, the highest occupied molecular orbital always locates at guanine and adenine bases for guanine-cytosine and adenine-thymine base pairs, respectively, independent of their backbones. The IEs of single PNA strands are larger about 0.4–0.7 eV than those of the corresponding single DNA strands. Consequently, the pyrrolidinyI backbones stabilize nucleobases in the view point of oxidation and the antiparallel system is more stable than the parallel orientation.

คำสำคัญ: พลังงานไอออไนเซชัน, พีเอ็นเอ, ดีเอ็นเอ, เคมีควอนตัม, การถ่ายโอนอิเล็กตรอน

Keywords: Ionization energy, PNA, DNA, Quantum chemistry, Electron transfer

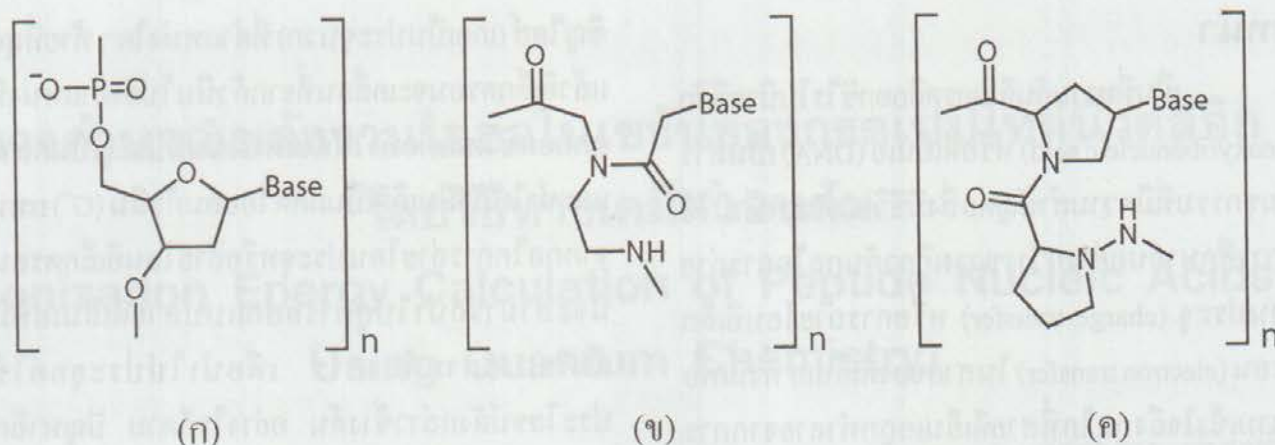
บทนำ

เป็นที่ทราบกันดีว่ากรดดีออกซีไรโบนิวคลีอิก (deoxyribonucleic acid) หรือดีเอ็นเอ (DNA) เป็นสารพันธุกรรมที่มีความสำคัญต่อสิ่งมีชีวิต ก่อนหน้านี้ได้มีการศึกษากันอย่างกว้างขวางเกี่ยวกับกลไกการถ่ายโอนประจุ (charge transfer) หรือการถ่ายโอนอิเล็กตรอน (electron transfer) ในสายของดีเอ็นเอ ทั้งนี้เพื่อความเข้าใจถึงกลไกที่สายดีเอ็นเอถูกทำลายจากการถูกออกซิไดส์ ซึ่งอาจมีผลทำให้เซลล์ตายหรืออาจเกิดการกลายพันธุ์ นอกจากนี้ความเข้าใจกลไกดังกล่าวยังมีความสำคัญต่อการซ่อมแซมและรักษาสายดีเอ็นเอ (Amitage 1998, Burrows and Muller 1998) รวมถึงการประยุกต์ใช้ประโยชน์จากดีเอ็นเอ เช่น อุปกรณ์อิเล็กทรอนิกส์ขนาดจิ๋ว (nanoelectronic device) (Fox 1999) และอุปกรณ์ตรวจจับทางชีวภาพ (biosensor device) (Listdat et al. 1999) เป็นต้น

การถ่ายโอนประจุดังกล่าวจะเกี่ยวข้องกับคุณสมบัติของอิเล็กตรอนของกรดนิวคลีอิก กล่าวคือ การที่อิเล็กตรอนจะถ่ายโอนจากเบสตัวหนึ่งไปยังเบสตัวอื่น (เบสในที่นี้หมายถึงนิวคลีโอเบส (nucleobase) ทั้งสี่ชนิดในสายดีเอ็นเอ ได้แก่ กัวนีน (guanine, G) อะดีนีน (adenine, A) ไซโทซีน (cytosine, C) และไทมีน (thymine, T)) จะขึ้นกับผลต่างของค่าพลังงานไอออไนเซชัน (ionization energy) ระหว่างเบสทั้งสอง จากการทดลองทั้งในห้องปฏิบัติการ (Hush and Cheung 1975) และการคำนวณทางทฤษฎี (Brunaud et al. 2002) พบว่าพลังงานไอออไนเซชันมีค่าตามลำดับดังนี้ กัวนีน < อะดีนีน < ไซโทซีน < ไทมีน โดยที่กัวนีนจะมีค่าพลังงานไอออไนเซชันต่ำกว่าอะดีนีนประมาณ 0.4 eV (1 eV = 23.1 kcal/mol) และต่ำกว่าไซโทซีนและไทมีนประมาณ 1 eV ซึ่งจากแนวโน้มของค่าพลังงานไอออไนเซชันนี้ทำให้ทราบว่า ถ้าดีเอ็นเอถูกออก

ซิไดส์ (เกิดเป็นประจุบวก) ที่ตำแหน่งใดๆ ท้ายที่สุดแล้วอิเล็กตรอนจะเคลื่อนที่จากกัวนีนไปยังตำแหน่งที่ถูกออกซิไดส์เพื่อให้ตำแหน่งนั้นมีประจุเป็นกลาง และทำให้กัวนีนเกิดเป็นแคตไอออนกัวนีน (G^+) แทนจากกลไกการถ่ายโอนประจุหรือถ่ายโอนอิเล็กตรอนนี้ จะสามารถนำไปสู่การออกแบบสายดีเอ็นเอที่มีลำดับเบสตามต้องการ เพื่อนำไปประยุกต์ใช้ประโยชน์ดังกล่าวข้างต้น อย่างไรก็ตาม ปัญหาอีกประการหนึ่งของดีเอ็นเอก็คือปัญหาในเรื่องความเสถียรของโมเลกุลดีเอ็นเอ โดยทั่วไปดีเอ็นเอจะมีความเสถียรหรือความทนต่อความร้อน (thermal stability) ค่อนข้างต่ำ โดยจะมีค่า T_m ประมาณ 20–50 °C ทั้งนี้ขึ้นอยู่กับลำดับเบสในสายดีเอ็นเอ (Wittung et al. 1994) (thermal melting temperature หรือ T_m หมายถึงอุณหภูมิที่ทำให้สารประกอบจำนวน 50% แยกตัวหรือแยกออกจากกัน ซึ่งเป็นดัชนีวัดความเสถียรของสารประกอบจำพวกดีเอ็นเอ)

ในช่วงสิบกว่าปีมานี้ ได้มีการสังเคราะห์โมเลกุลชีวภาพชนิดใหม่ขึ้นมาโดยการเปลี่ยนแปลงแกนหลัก (backbone) ของโมเลกุลดีเอ็นเอและเรียกโมเลกุลชนิดนี้ว่า “กรดเปปไทด์นิวคลีอิก (peptide nucleic acid)” หรือพีเอ็นเอ (PNA) พีเอ็นเอเป็นกรดนิวคลีอิกที่ได้จากการแทนที่แกนหลักที่เป็นหมู่น้ำตาลดีออกซีไรโบสและหมู่ฟอสเฟตของสายดีเอ็นเอด้วยหมู่อะมิโน ซึ่งโดยทั่วไปจะต่อกันด้วยหมู่ N-(2-amino-ethyl)-glycine (Nielsen et al. 1991) ดังแสดงในรูปที่ 1ก และ 1ข พีเอ็นเอที่สังเคราะห์ขึ้นนี้สามารถที่จะยึดจับหรือเข้าคู่กับดีเอ็นเออีกสายหนึ่งเกิดเป็นโมเลกุลสายคู่ (double strand) ของพีเอ็นเอ-ดีเอ็นเอ (การยึดจับหรือการเข้าคู่หมายถึงการที่เบสกัวนีนของสายหนึ่งยึดจับกับเบสไซโทซีนของอีกสาย หรือเบสอะดีนีนของสายหนึ่งยึดจับกับเบสไทมีนของอีกสายด้วยพันธะไฮโดรเจน)



รูปที่ 1 โครงสร้างทางเคมีของของหนึ่งหน่วยย่อยของ (ก) ดีเอ็นเอ (ข) พีเอ็นเอที่มีแกนหลักต่อกันด้วยหมู่ N-(2-amino-ethyl)-glycine และ (ค) พีเอ็นเอที่มีแกนหลักเป็นหมู่ pyrrolidiny

จากการศึกษาพบว่าพีเอ็นเอเป็นสารที่มีคุณสมบัติดีกว่าดีเอ็นเอ กล่าวคือเบสในสายพีเอ็นเอจะมีความจำเพาะเจาะจงในการเลือกจับคู่สูงมาก ทำให้การจับคู่ของเบสมีโอกาสผิดพลาดน้อยมากเมื่อเทียบกับสายดีเอ็นเอ (Egholm et al. 1993) นอกจากนี้การแทนหมู่ฟอสเฟตซึ่งเป็นหมู่ที่มีประจุลบในดีเอ็นเอด้วยหมู่อะมิโนนี้ทำให้พีเอ็นเอเป็นโมเลกุลที่ไม่มีประจุเป็นลบ ส่งผลให้โมเลกุลสายคู่ของพีเอ็นเอ-ดีเอ็นเอมีแรงผลักระหว่างกันน้อย ดังนั้นสายคู่ของพีเอ็นเอ-ดีเอ็นเอจึงมีความเสถียรมากกว่าสายคู่ของดีเอ็นเอ-ดีเอ็นเอ โดยมีค่า T_m มากกว่า 50°C (Egholm et al. 1993, Wittung et al. 1994) นอกจากนี้ยังพบว่า การเข้าคู่ของสายพีเอ็นเอและดีเอ็นเอจะเป็นไปได้ทั้งแบบขนาน (parallel) โดยที่ปลายด้าน N ของพีเอ็นเอเข้าคู่กับปลายด้าน 5' ของดีเอ็นเอ และแบบขนานสวน (antiparallel) ซึ่งปลายด้าน N ของพีเอ็นเอเข้าคู่กับปลายด้าน 3' ของดีเอ็นเอ และจากการศึกษาความเสถียรต่อความร้อน พบว่าสายคู่พีเอ็นเอ-ดีเอ็นเอที่มีโครงสร้างแบบขนานสวนมีความเสถียรมากกว่าโครงสร้างแบบขนาน (Egholm et al. 1993, Wittung et al. 1994) เมื่อไม่นานมานี้ได้มีการสังเคราะห์พีเอ็นเอชนิดใหม่โดยมีแกนหลักเป็นหมู่ pyrrolidiny (Vilaivan and Lowe, 2002) ดังแสดงในรูปที่ 1 ก และ

พบว่าพีเอ็นเอชนิดใหม่นี้มีความเสถียรต่อความร้อนมากกว่าพีเอ็นเอมีหมู่ N-(2-amino-ethyl)-glycine เป็นแกนหลัก

จากคุณสมบัติเด่นของพีเอ็นเอดังกล่าว ทำให้ในปัจจุบันนี้มีการศึกษาการประยุกต์ใช้ประโยชน์จาก พีเอ็นเออย่างกว้างขวาง เพื่อที่จะใช้แทนดีเอ็นเอสำหรับอุปกรณ์อิเล็กทรอนิกส์ขนาดเล็ก และอุปกรณ์ตรวจจับทางชีวภาพดังกล่าวข้างต้น รวมถึงใช้ในการรักษาโรคทางพันธุกรรมโดยการยับยั้งการถอดรหัสของยีน (inhibition of transcription) ซึ่งทำได้โดยการสังเคราะห์พีเอ็นเอที่มีลำดับเบสที่เหมาะสมเพื่อให้เข้าคู่กับดีเอ็นเอทำให้ดีเอ็นเอ ไม่สามารถสังเคราะห์อาร์เอ็นเอ (ribonucleic acid, RNA) ได้ และอีกทางหนึ่งคือการสังเคราะห์พีเอ็นเอที่มีลำดับเบสที่เหมาะสมเพื่อให้เข้าคู่กับอาร์เอ็นเอ ทำให้อาร์เอ็นเอไม่สามารถสังเคราะห์โปรตีนต่อไปได้ (inhibition of translation หรือ anti-sense) นอกจากนี้พีเอ็นเอยังสามารถนำไปใช้ในทางเทคโนโลยีชีวภาพ (biotechnology) การตรวจวินิจฉัยความผิดปกติของยีน (screening for genetic mutation) รวมถึงใช้ในการตรวจจับลำดับเบสในดีเอ็นเอ (sequence-specific biosensor) เป็นต้น (Nielsen 2001, Ray and Nordin 2000)

เพื่อเป็นข้อมูลพื้นฐานอันจะนำไปสู่การประยุกต์ใช้ประโยชน์จากพีเอ็นเอ จึงจำเป็นอย่างยิ่งที่จะศึกษาคุณสมบัติของพีเอ็นเอในระดับโมเลกุลซึ่งในที่นี้หมายถึงพลังงานไอออไนเซชันซึ่งมีความสัมพันธ์กับการถ่ายโอนประจุในสายพีเอ็นเอ อย่างไรก็ตาม ที่ผู้วิจัยได้ค้นคว้าข้อมูลพบว่ายังไม่มีการศึกษาเกี่ยวกับพลังงานไอออไนเซชันของพีเอ็นเอ ดังนั้นงานวิจัยนี้จึงเป็นการคำนวณค่าพลังงานไอออไนเซชันของพีเอ็นเอโดยอาศัยระเบียบวิธีทางเคมีควอนตัม (quantum chemistry) โดยเลือกศึกษาพีเอ็นเอที่มีแกนหลักเป็นหมู่ pyrrolidiny (รูปที่ 1) เพราะมีความเสถียรมากกว่าแกนหลัก N-(2-amino-ethyl)-glycine

วิธีการคำนวณ

งานวิจัยนี้ได้ศึกษาพลังงานไอออไนเซชันของโมเลกุลชีวภาพพีเอ็นเอ-ดีเอ็นเอที่มีเบสจำนวน 1 คู่ รวมทั้งหมด 8 ระบบ ได้แก่ pA-dT, pT-dA, pG-dC และ pC-dG ที่มีโครงสร้างทั้งแบบขนานและขนานสวน (ในที่นี้ p หมายถึงพีเอ็นเอที่มีหมู่ pyrrolidiny เป็นแกนหลักและ d หมายถึงดีเอ็นเอที่มีหมู่น้ำตาลและฟอสเฟตเป็นแกนหลัก) นอกจากนี้ยังได้ศึกษาโมเลกุลสายคู่ของดีเอ็นเอ-ดีเอ็นเออีก 2 ระบบ ได้แก่ dA-dT และ dG-dC ทั้งนี้เพื่อเป็นการเปรียบเทียบกับโมเลกุลพีเอ็นเอ-ดีเอ็นเอ

เนื่องจากพีเอ็นเอที่ใช้ศึกษานี้ไม่มีโครงสร้างทางรังสีเอกซ์ (X-rays) ดังนั้นจึงต้องสร้างโมเลกุลของพีเอ็นเอทั้ง 8 ระบบ โดยเริ่มจากนำสายคู่ของดีเอ็นเอ-ดีเอ็นเอที่มีคู่เบสตามต้องการมาเป็นโมเลกุลต้นแบบ จากนั้นทำการเปลี่ยนแปลงหมู่น้ำตาลและฟอสเฟตซึ่งเป็นแกนหลักของดีเอ็นเอให้เป็นหมู่ pyrrolidiny โดยการเปลี่ยนทีละอะตอม (one-to-one mapping) หลังจากนั้นนำโมเลกุลที่ได้นี้ไปคำนวณหาโครงสร้างที่เสถียรที่สุด (optimization) ด้วยวิธีฮาร์ทรี-ฟ็อกซ์ โดยใช้เซตมูลฐานชนิด 6-31G*(HF/6-31G*)

ซึ่งเป็นระเบียบวิธีทางเคมีควอนตัม เมื่อได้โครงสร้างที่เสถียรของแต่ละระบบแล้วนำไปคำนวณหาค่าพลังงานไอออไนเซชันด้วยวิธี HF/6-31G* เช่นเดิม พลังงานไอออไนเซชันนี้จะเป็นพลังงานไอออไนเซชันลำดับที่ 1 ซึ่งหาได้โดยอาศัยทฤษฎีของคูพมานส์ (Koopmans' theorem) ที่กล่าวว่าพลังงานไอออไนเซชันของอะตอมหรือโมเลกุลใด ๆ มีค่าเท่ากับพลังงานของออร์บิทัลที่อิเล็กตรอนหลุดออกมาดังนั้นพลังงานไอออไนเซชันลำดับที่ 1 ของโมเลกุลที่ศึกษานี้จะเป็นค่าพลังงานของออร์บิทัลเชิงโมเลกุลที่มีการบรรจุอิเล็กตรอนสูงสุด (Highest Occupied Molecular Orbital, HOMO) หลังจากหาคำนวณพลังงานไอออไนเซชันของโมเลกุลสายคู่ pX-dY, pY-dX และ dX-dY (เมื่อ X และ Y หมายถึง G, C, A และ T) จากนั้นคำนวณพลังงานไอออไนเซชันของโมเลกุลสายเดี่ยว pX, pY, dX และ dY ด้วยวิธีดังกล่าวข้างต้นโดยใช้โครงสร้างเสถียรของโมเลกุลสายคู่้นั้นๆ การคำนวณทั้งหมดนี้คำนวณโดยใช้โปรแกรม GAMESS version Sep. 7 2006 (Schmidt et al. 1993) บนเครื่อง PC Linux cluster ความเร็ว 2.2 GHz ที่ภาควิชาเคมี คณะวิทยาศาสตร์ มหาวิทยาลัยขอนแก่น

ผลการทดลอง

โมเลกุลสายคู่

การคำนวณพลังงานไอออไนเซชันของโมเลกุลสายคู่พีเอ็นเอ-ดีเอ็นเอ และดีเอ็นเอ-ดีเอ็นเอโดยวิธี HF/6-31G* ได้ผลดังแสดงในตารางที่ 1 โมเลกุลดีเอ็นเอ-ดีเอ็นเอมีค่าพลังงานไอออไนเซชันเท่ากับ 7.19 และ 7.87 eV สำหรับ dG-dC และ dA-dT ตามลำดับ นั่นคือ dA-dT มีพลังงานไอออไนเซชันมากกว่า dG-dC ประมาณ 0.7 eV ซึ่งผลการคำนวณที่ได้นี้สอดคล้องเป็นอย่างดีกับผลที่รายงานโดย Brunaud และคณะ (Brunaud et al. 2002) ที่คำนวณด้วยวิธี HF/6-31G* เช่นเดียวกับงานวิจัยนี้

สำหรับโมเลกุลสายคู่พีเอ็นเอ-ดีเอ็นเอพบว่าโครงสร้างแบบขนานมีพลังงานไอออไนเซชันอยู่ระหว่าง 7.36–8.25 eV และโครงสร้างแบบขนานสวนมีพลังงานไอออไนเซชันอยู่ระหว่าง 7.48–8.44 eV (ตารางที่ 1) เมื่อเปรียบเทียบกับโมเลกุลดีเอ็นเอ-ดีเอ็นเอพบว่าแกนหลัก pyrrolidinyI มีผลให้พีเอ็นเอมีพลังงานไอออไนเซชันเพิ่มขึ้น ยกตัวอย่างเช่น เมื่อเปลี่ยนแปลงแกนหลักจาก dG-dC ไปเป็น pG-dC พบว่าพลังงานไอออไนเซชันเพิ่มขึ้นจาก 7.19 eV เป็น 7.56 และ 7.76 eV สำหรับโครงสร้างแบบขนานและ

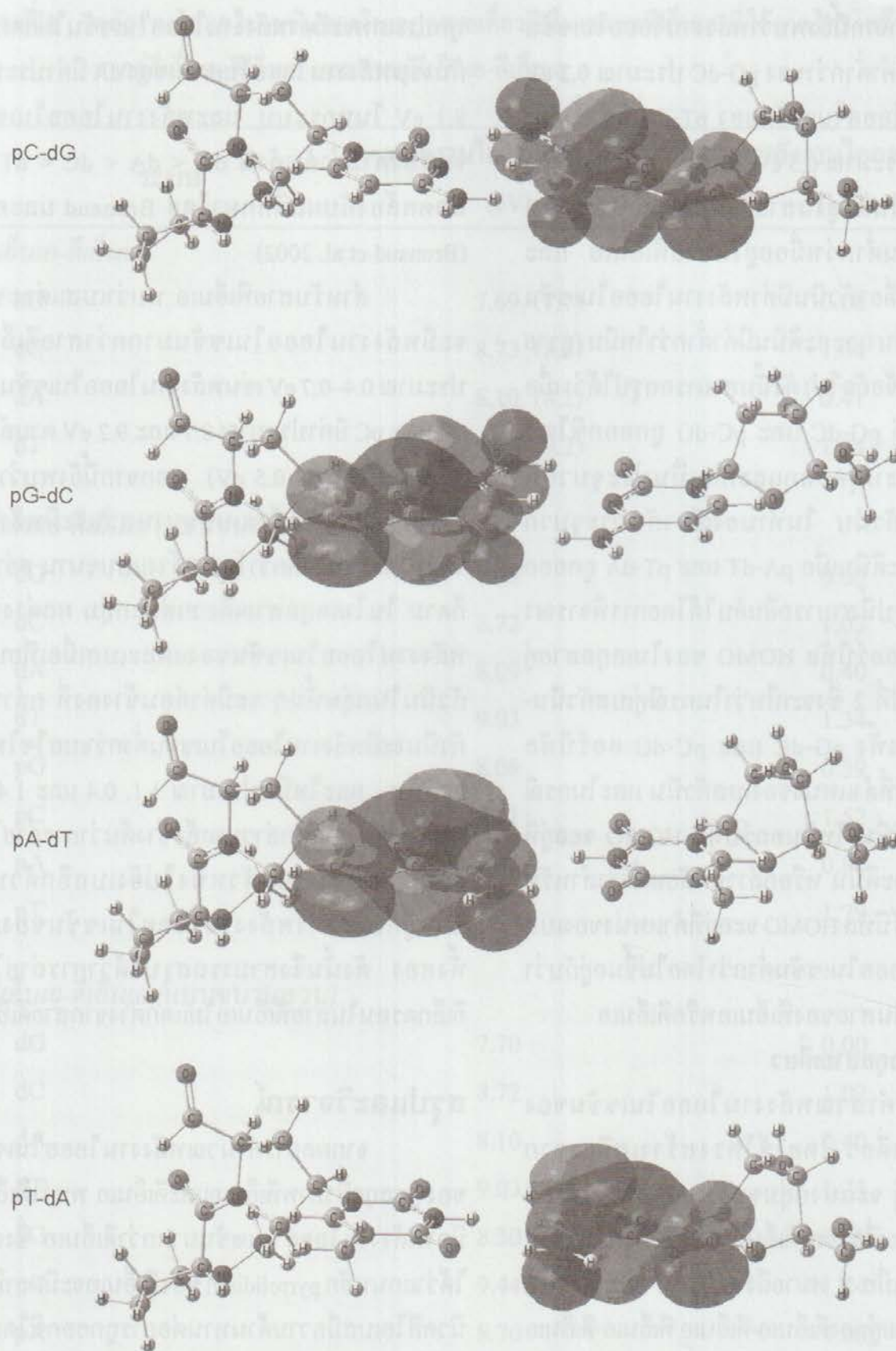
แบบขนานสวนตามลำดับ ซึ่งผลการคำนวณที่ได้นี้เป็นเช่นเดียวกับการเปลี่ยนจาก dA-dT เป็น pA-dT หรือ pT-dA นั้นแสดงให้เห็นว่าแกนหลัก pyrrolidinyI ทำให้พลังงานไอออไนเซชันในพีเอ็นเอ-ดีเอ็นเอที่มีโครงสร้างแบบขนานสวนเพิ่มขึ้นมากกว่าในโครงสร้างแบบขนาน หรือกล่าวอีกนัยหนึ่งว่าโมเลกุลสายคู่พีเอ็นเอ-ดีเอ็นเอแบบขนานสวนจะถูกออกซิไดส์ได้ยากกว่าโครงสร้างแบบขนานรวมถึงโมเลกุลดีเอ็นเอ-ดีเอ็นเอด้วย

ตารางที่ 1 พลังงานไอออไนเซชันของสายคู่ดีเอ็นเอ-ดีเอ็นเอ และพีเอ็นเอ-ดีเอ็นเอ

ระบบ	พลังงานไอออไนเซชัน [†] (eV)	ผลต่างพลังงานไอออไนเซชัน [‡] (eV)
ดีเอ็นเอ-ดีเอ็นเอ		
dG-dC	7.19 (7.2)	0.00
dA-dT	7.87 (7.9)	0.68
พีเอ็นเอ-ดีเอ็นเอ (แบบขนาน)		
pC-dG	7.36	0.00
pG-dC	7.56	0.20
pA-dT	8.25	0.89
pT-dA	8.02	0.66
พีเอ็นเอ-ดีเอ็นเอ (แบบขนานสวน)		
pC-dG	7.48	0.00
pG-dC	7.76	0.28
pA-dT	8.44	0.96
pT-dA	8.12	0.64

[†] ค่าพลังงานไอออไนเซชันในวงเล็บได้จากเอกสารอ้างอิง (Brunaud et al. 2002)

[‡] เป็นผลต่างที่เปรียบเทียบกับพลังงานไอออไนเซชันของสายคู่ dG-dC สำหรับระบบที่เป็นดีเอ็นเอ-ดีเอ็นเอ และสายคู่ pC-dG สำหรับระบบที่เป็นพีเอ็นเอ-ดีเอ็นเอในระบบเดียวกัน



รูปที่ 2 แสดงออร์บิทัล HOMO ของสายคู่พีเอ็นเอ-ดีเอ็นเอที่มีโครงสร้างแบบขนาน โดยซ้ายมือเป็นพีเอ็นเอ และขวามือเป็นดีเอ็นเอ

นอกจากนี้ยังพบว่าพลังงานไอออไนเซชันของ pC-dG มีค่าต่ำกว่าของ pG-dC ประมาณ 0.2 eV และพลังงานไอออไนเซชันของ pT-dA มีค่าต่ำกว่าของ pA-dT ประมาณ 0.3 eV แสดงให้เห็นว่าเบสกวีนินหรืออะดีนินที่อยู่ในสายดีเอ็นเอจะมีค่าพลังงานไอออไนเซชันต่ำกว่าเมื่ออยู่ในสายพีเอ็นเอ และเนื่องจากเบสเดี่ยวกวีนินมีค่าพลังงานไอออไนเซชันต่ำกว่าไซโทซีนและอะดีนินมีค่าต่ำกว่าไทมิน (ดูรายละเอียดในหัวข้อถัดไป) ดังนั้นสามารถสรุปได้ว่าเมื่อโมเลกุลสายคู่ pG-dC และ pC-dG ถูกออกซิไดส์ อิเล็กตรอนจะหลุดออกและเกิดเป็นประจุบวกที่ตำแหน่งของกวีนิน ในทำนองเดียวกันประจุบวกจะเกิดที่เบสอะดีนินเมื่อ pA-dT และ pT-dA ถูกออกซิไดส์ ข้อสรุปนี้สามารถยืนยันได้โดยการพิจารณาคำแหน่งของออร์บิทัล HOMO ของโมเลกุลสายคู่ ดังแสดงในรูปที่ 2 ซึ่งจะเห็นว่าในกรณีคู่เบสกวีนิน-ไซโทซีนของทั้ง pG-dC และ pC-dG ออร์บิทัล HOMO จะอยู่ที่ตำแหน่งของเบสกวีนิน และในกรณีของคู่เบสอะดีนิน-ไทมินออร์บิทัล HOMO จะอยู่ที่ตำแหน่งของอะดีนิน หรือกล่าวอีกนัยหนึ่งว่าสำหรับคู่เบสใดๆ ออร์บิทัล HOMO จะอยู่ที่ตำแหน่งของเบสที่มีพลังงานไอออไนเซชันต่ำกว่าโดยไม่ขึ้นอยู่กับการที่เบสนั้นจะอยู่ในสายของพีเอ็นเอหรือดีเอ็นเอ

โมเลกุลสายเดี่ยว

การคำนวณพลังงานไอออไนเซชันของโมเลกุลสายเดี่ยว โดยใช้โครงสร้างเสถียรจากโมเลกุลสายคู่ จะแบ่งกลุ่มของโมเลกุลออกเป็น 5 กลุ่ม ได้แก่ สายเดี่ยวของดีเอ็นเอ จำนวน 3 กลุ่ม (เขียนแทนด้วย dX เมื่อ X หมายถึง G, C, A และ T) ที่ได้จากโมเลกุลสายคู่ของดีเอ็นเอ-ดีเอ็นเอ พีเอ็นเอ-ดีเอ็นเอ (แบบขนาน) และพีเอ็นเอ-ดีเอ็นเอ (แบบขนาบสวน) และสายเดี่ยวของพีเอ็นเอจำนวน 2 กลุ่ม (เขียนแทนด้วย pX) ที่ได้จากโมเลกุลสายคู่ของพีเอ็นเอ-ดีเอ็นเอ (แบบขนาน) และพีเอ็นเอ-ดีเอ็นเอ (แบบขนาบสวน) ผลการคำนวณแสดงในตารางที่ 2 ซึ่งพบว่าสำหรับสายเดี่ยวของดีเอ็นเอที่ได้จากโมเลกุลสายคู่

ทุกประเภทจะมีค่าพลังงานไอออไนเซชันไม่แตกต่างกัน เช่น พลังงานไอออไนเซชันของ dA มีค่าประมาณ 8.1 eV ในทุกระบบ และพลังงานไอออไนเซชันจะเรียงตามลำดับดังนี้ $dG < dA < dC < dT$ ซึ่งสอดคล้องกับผลที่ศึกษาโดย Brunaud และคณะ (Brunaud et al. 2002)

สำหรับสายพีเอ็นเอ พบว่าเบสแต่ละชนิดจะมีพลังงานไอออไนเซชันมากกว่าสายดีเอ็นเอประมาณ 0.4–0.7 eV เช่น พลังงานไอออไนเซชันของ dC และ pC มีค่าประมาณ 8.7 และ 9.2 eV ตามลำดับ (เพิ่มขึ้นประมาณ 0.5 eV) นอกจากนี้ยังพบว่าสายพีเอ็นเอที่มีโครงสร้างแบบขนาบสวนจะมีพลังงานไอออไนเซชันมากกว่าโครงสร้างแบบขนาน อย่างไรก็ตาม ในโมเลกุลสายเดี่ยวแต่ละกลุ่ม ผลต่างของพลังงานไอออไนเซชันของแต่ละเบสเมื่อเทียบกับกวีนินในกลุ่มนั้นๆ จะมีค่าค่อนข้างคงที่ กล่าวคือ กวีนินจะมีพลังงานไอออไนเซชันต่ำกว่าเบสไซโทซีนอะดีนิน และไทมินประมาณ 1.1, 0.4 และ 1.4 eV ตามลำดับ จากที่กล่าวมาแล้วข้างต้นว่าการถ่ายโอนอิเล็กตรอนจากเบสตัวหนึ่งไปยังเบสอีกตัวหนึ่งขึ้นอยู่กับผลต่างพลังงานไอออไนเซชันของเบสทั้งสอง ดังนั้นจึงสามารถสรุปได้ว่าการถ่ายโอนอิเล็กตรอนในสายพีเอ็นเอไม่แตกต่างจากสายดีเอ็นเอ

สรุปและวิจารณ์

จากผลการคำนวณพลังงานไอออไนเซชันของโมเลกุลชีวภาพพีเอ็นเอและดีเอ็นเอ พบว่าพีเอ็นเอมีค่าพลังงานไอออไนเซชันมากกว่าดีเอ็นเอ ซึ่งสรุปได้ว่าแกนหลัก pyrrolidinyI ของพีเอ็นเอจะมีผลทำให้นิวคลีโอเบสมีความต้านทานต่อการถูกออกซิไดส์ได้ดีกว่าแกนหลักของดีเอ็นเอ และสำหรับคู่เบสกวีนิน-ไซโทซีน หรืออะดีนินกับไทมิน เมื่อถูกออกซิไดส์จะเกิดประจุบวกที่เบสกวีนินหรืออะดีนินเสมอ โดยไม่ขึ้นกับการที่เบสทั้งสองนี้อยู่ในสายของพีเอ็นเอหรือดีเอ็นเอ

ตารางที่ 2 พลังงานไอออนไนเซชันของโมเลกุลสายเดี่ยวดีเอ็นเอและพีเอ็นเอ ที่ได้จากโครงสร้างของโมเลกุลสายคู่ดีเอ็นเอ-ดีเอ็นเอ และสายคู่พีเอ็นเอ-ดีเอ็นเอ

ระบบ	พลังงานไอออนไนเซชัน [†]	ผลต่างพลังงานไอออนไนเซชัน [‡]
	(eV)	(eV)
ดีเอ็นเอ-ดีเอ็นเอ		
dG	7.69 (7.7)	0.00
dC	8.73 (8.8)	1.04
dA	8.10 (8.2)	0.41
dT	9.03 (9.2)	1.34
พีเอ็นเอ-ดีเอ็นเอ (แบบขนาน)		
dG	7.69	0.00
dC	8.72	1.03
dA	8.09	0.40
dT	9.03	1.34
pG	8.08	0.39
pC	9.21	1.52
pA	8.49	0.80
pT	9.48	1.79
พีเอ็นเอ-ดีเอ็นเอ (แบบขนานสวน)		
dG	7.70	0.00
dC	8.72	1.02
dA	8.10	0.40
dT	9.03	1.33
pG	8.30	0.60
pC	9.44	1.74
pA	8.70	1.00
pT	9.69	1.99

[†] ค่าพลังงานไอออนไนเซชันในวงเล็บได้จากเอกสารอ้างอิง (Brunaud et al. 2002)

[‡] เป็นผลต่างที่เปรียบเทียบกับค่าพลังงานไอออนไนเซชันของกัวนีนในกลุ่มนั้นๆ

อย่างไรก็ตาม ถึงแม้ว่าแกนหลักของพีเอ็นเอจะทำให้เบสมีพลังงานไอออไนเซชันเพิ่มขึ้น แต่ผลต่างของพลังงานไอออไนเซชันของแต่ละเบสจะไม่เปลี่ยนแปลงอย่างมีนัยสำคัญ ดังนั้นจึงไม่มีผลต่อการถ่ายโอนอิเล็กตรอนในสายพีเอ็นเอเมื่อเทียบกับสายดีเอ็นเอ และเนื่องจากพีเอ็นเอมีคุณสมบัติที่ดีกว่าดีเอ็นเอดังได้กล่าวมาแล้ว ดังนั้นจึงมีความเป็นไปได้ที่จะประยุกต์ใช้พีเอ็นเอแทนดีเอ็นเอในเรื่องที่เกี่ยวข้องกับการถ่ายโอนอิเล็กตรอน

กิตติกรรมประกาศ

งานวิจัยนี้ได้รับการสนับสนุนจากศูนย์นวัตกรรมทางเคมี: โครงการพัฒนาบัณฑิตศึกษาและวิจัยทางเคมี (PERCH-CIC) สำนักงานคณะกรรมการการอุดมศึกษา กระทรวงศึกษาธิการ

เอกสารอ้างอิง

- Amitage, B. (1998). Photocleavage of nucleic acids. *Chem. Rev.* 98: 1171–1200.
- Brunaud, G., Castet, F., Fritsch, A. and Ducasse, L. (2002). An effective Hamiltonian for hole transfer along B-DNA double strands. *Phys. Chem. Chem. Phys.* 4: 6072–6079.
- Burrows, C. J. and Muller, J. G. (1998). Oxidative nucleobase modifications leading to strand scission. *Chem. Rev.* 98: 1109–1151.
- Egholm, M., Buchardt, O., Christensen, L., Behrens, C., Freier, S. M., Driver, D. A., Berg, R. H., Kim, S. K., Nordén, B. and Nielsen, P. E. (1993). PNA hybridizes to complementary oligonucleotides obeying the Watson–Crick hydrogen-bonding rules. *Nature*. 365: 566–568.
- Fox, M. A. (1999). Fundamentals in the design of molecular electronic devices: long-range charge carrier transport and electronic coupling. *Acc. Chem. Res.* 32: 201–207.
- Hush, N. S. and Cheung, A. S. (1975). Ionization potentials and donor properties of nucleic acid bases. *Chem. Phys. Lett.* 34: 11–13.
- Listdat, F., Ge, B. and Scheller, F. W. (1999). Oligonucleotide-modified electrodes for fast electron transfer to cytochrome C. *Electrochem. Commun.* 1: 65–68.
- Nielsen, P. E., Egholm, M., Berg, R. H. and Buchardt, O. (1991) Sequence-selective recognition of DNA by strand displacement with a thymine-substituted polyamide. *Science*. 254: 1497–1500.
- Nielsen, P. E. (2001). Peptide nucleic acid: a versatile tool in genetic diagnostics and molecular biology. *Curr. Opin. Biotechnol.* 12: 16–20.
- Schmidt, M. W., Baldrige, K. K., Boatz, J. A., Elbert, S. T., Gordon, M. S., Jensen, J. H., Koseki, S., Matsunaga, N., Nguyen, K. A., Su, S. J., Windus, T. L., Dupuis, M. and Montgomery, J. A. (1993). General atomic and molecular electronic structure system. *J. Comput. Chem.* 14: 1347–1363.
- Ray, A. and Nordén, B. (2000). Peptide nucleic acid (PNA): its medical and biotechnological applications and promise for the future. *FASEB J.* 14: 1041–1060.
- Vilaivan, T. and Lowe, G. (2002). A novel pyrrolidiny PNA showing high sequence specificity and preferential binding to DNA over RNA. *J. Am. Chem. Soc.* 124: 9326–9327.
- Wittung, P., Nielsen, P. E., Buchardt, O., Egholm, M. and Nordén, B. (1994). DNA-like double helix formed by peptide nucleic acid. *Nature*. 368: 561–563.



Further Studies of Bioactive Flavonoids from *Kaempferia parviflora*

Chavi Yenjai¹, Khaetthareeya Sutthanut², Bungon Sripanidkulchai², Nate Mungkhun¹,
Chalayut Wongma¹, Siriboon Mukdasai¹, Teeraporn Kongkaew¹

Abstract

Five flavonoids (1-5) have been isolated from the rhizomes of *Kaempferia parviflora* and their structures were identified on the basis of spectral data. Among these, 5,7-dimethoxyflavone (1) exhibited antifungal activity against *Candida albicans* with an IC_{50} value of 19.98 $\mu\text{g/ml}$ and antimycobacterial activity with a MIC value of 50 $\mu\text{g/ml}$. However, none of the isolated compounds showed antiplasmodial activity and cytotoxicity against KB, BC and NCI-H187 cell lines. This is the first report of the isolation of compounds 3-5 from this plant.

Key Words: *Kaempferia parviflora*, Flavonoids, Antiplasmodial activity, Antifungal activity, Antimycobacterial activity, Cytotoxicity

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

² Department of Pharmaceutical Chemistry, Faculty of Pharmaceutical Sciences, Khon Kaen University, Khon Kaen, 40002, Thailand

Introduction

Kaempferia parviflora (Zingiberaceae), known in Thai as “Kra-Chai-Dam” and formerly known as *Boesenbergia pandurata* black rhizome, has been widely used as a health-promoting herb and for the treatment of anti-gastrointestinal disorders. In Thailand, a commercial tonic drink made from *K. parviflora* rhizomes has been believed to relieve impotent symptoms. In our previous report on this plant, nine flavonoids were isolated and evaluated for their biological activities (Yenjai et al., 2004). In continuation of our research on this plant, we now report the isolation, identification and some biological evaluation of five additional flavonoids.

Materials and Methods

General Experimental Procedures

Column chromatography was carried out on silica gel 60 (0.040-0.063 mm). NMR spectra were recorded in $\text{CDCl}_3/\text{DMSO}-d_6$ on a Varian Mercury Plus 400 spectrometer, using residual CHCl_3 (δ 7.26) and DMSO (δ 2.50) as an internal standard. IR spectra were carried out on a Tensor 27 Bruker (OPUS version 4) or Perkin-Elmer Spectrum One spectrophotometers. ESI-TOF mass spectra were obtained from a Micromass LCT mass spectrometer, and the lock mass calibration was applied for the determination of the accurate mass. Melting points were determined using a Gallenkamp melting point apparatus and were uncorrected.

Plant material

Fresh rhizomes of *K. parviflora* were collected from Loei province, Thailand in May 2003. Plant specimen was verified by Dr. Varima Wongpanich, Faculty of Pharmaceutical Sciences,

Khon Kaen University. A voucher specimen (CY 4303) has been deposited at the herbarium of the Faculty of Pharmaceutical Sciences, Khon Kaen University.

Extraction and isolation

Dried rhizome powder of *K. parviflora* (1 kg) was macerated twice with CH_2Cl_2 (3 L) at room temperature for three days and the solvent was removed in vacuo to give a CH_2Cl_2 extract (54 g). Then, a portion of this extract (30 g) was subjected to column chromatography on silica gel (300 g) and subsequently eluted with gradient of three solvents (hexane, CH_2Cl_2 and MeOH) by gradually increasing the polarity of eluting solvent system. The eluates were collected and examined by TLC resulting in 35 groups of eluting fractions. Further chromatographic separation of fractions 28, 30 and 31 eluting with hexane-EtOAc gradient yielded 5,7-dimethoxyflavone (**1**, 123 mg), 3,5,7,3',4'-pentamethoxyflavone (**2**, 38 mg), and 5,3'-dihydroxy-3,7,4'-trimethoxyflavone (**3**, 15 mg), respectively. Similarly, fraction 33 was chromatographed using EtOAc-MeOH as eluting solvent to give 5 subfractions. Subfractions 2 and 5 were separately rechromatographed using EtOAc-MeOH and CH_2Cl_2 - CH_3CN as eluting solvents to afford 5,4'-dihydroxy-7-methoxyflavone (**4**, 7 mg) and 4'-hydroxy-5,7-dimethoxyflavone (**5**, 4 mg), respectively.

Compound **1**: colorless crystals (CH_2Cl_2 -hexane): m.p. 150.8-151.0 °C; IR(KBr) ν_{max} 1644, 1605, 1351, 1164 cm^{-1} ; ^1H NMR (CDCl_3 , 400 MHz) δ 3.90 (3H, s, OCH_3), 3.94 (3H, s, OCH_3), 6.37 (1H, d, $J = 2.2$ Hz, H-6), 6.56 (1H, d, $J = 2.2$ Hz, H-8), 6.67 (1H, s, H-3), 7.49 (3H, m, Ar-H), 7.86 (2H, m, Ar-H); ^{13}C NMR (CDCl_3 , 100 MHz) δ 55.7 (OCH_3),

56.3 (OCH₃), 92.9 (C-8), 96.2 (C-6), 109.1 (C-3), 109.4 (C-10), 125.9 (C-2'), 128.9 (C-3'), 131.1 (C-4'), 131.6 (C-1'), 159.9 (C-9), 160.7 (C-2), 161.0 (C-5), 164.1 (C-7), 177.5 (C-4); ESI-TOF MS m/z 283 [M+1]⁺.

Compound 2: colorless crystals (CH₂Cl₂-hexane): m.p. 156.0-156.5 °C; IR(KBr) $\bar{\nu}_{\max}$ 1625, 1604, 1163 cm⁻¹; ¹H NMR (CDCl₃, 400 MHz) δ 3.86 (3H, s, OCH₃), 3.89 (3H, s, OCH₃), 3.95 (9H, s, OCH₃), 6.33 (1H, d, J = 1.8 Hz, H-6), 6.49 (1H, d, J = 1.8 Hz, H-8), 6.97 (1H, d, J = 8.8 Hz, H-5'), 7.73 (2H, m, H-2',6'); ¹³C NMR (CDCl₃, 100 MHz) δ 55.7 (OCH₃), 55.9 (OCH₃), 56.0 (OCH₃), 56.4 (OCH₃), 59.9 (OCH₃), 92.4 (C-8), 95.7 (C-6), 109.5 (C-10), 110.8 (C-5'), 111.3 (C-2'), 121.6 (C-6'), 123.4 (C-1'), 141.2 (C-3), 148.7 (C-3'), 150.8 (C-4'), 152.6 (C-2), 158.8 (C-9), 161.0 (C-5), 163.9 (C-7), 174.0 (C-4); ESI-TOF MS m/z 373 [M+1]⁺.

Compound 3: colorless crystals (CH₂Cl₂-MeOH): m.p. 175.0-176.0 °C; IR(KBr) $\bar{\nu}_{\max}$ 3399, 1650, 1593, 1497, 1159 cm⁻¹; ¹H NMR (DMSO-d₆, 400 MHz) δ 3.80 (3H, s, OCH₃), 3.82 (3H, s, OCH₃), 3.90 (3H, s, OCH₃), 6.23 (1H, d, J = 2.2 Hz, H-6), 6.41 (1H, d, J = 2.2 Hz, H-8), 6.92 (1H, d, J = 8.7 Hz, H-5'), 7.56 (1H, dd, J = 8.7, 2.2 Hz, H-6'), 7.61 (1H, d, J = 2.2 Hz, H-2'); ¹³C NMR (DMSO-d₆, 100 MHz) δ 55.5 (2xOCH₃), 59.7 (OCH₃), 91.7 (C-8), 97.4 (C-6), 105.4 (C-10), 110.9 (C-5'), 115.0 (C-2'), 120.4 (C-6'), 122.4 (C-1'), 138.3 (C-3), 146.1 (C-3'), 149.9 (C-4'), 155.7 (C-2), 156.3 (C-9), 161.3 (C-5), 165.0 (C-7), 178.3 (C-4); ESI-TOF MS m/z 345 [M+1]⁺.

Compound 4: colorless crystals (CH₂Cl₂-MeOH): m.p. 293.0-294.0 °C; IR(KBr) $\bar{\nu}_{\max}$ 3277, 1667, 1605, 1590, 1501, 1377 cm⁻¹; ¹H NMR

(DMSO-d₆, 400 MHz) δ 3.89 (3H, s, OCH₃), 6.33 (1H, d, J = 2.2 Hz, H-6), 6.55 (1H, d, J = 2.2 Hz, H-8), 6.60 (1H, s, H-3), 6.94 (2H, d, J = 9.0 Hz, H-3',5'), 7.81 (2H, d, J = 9.0 Hz, H-2',6'); ¹³C NMR (DMSO-d₆, 100 MHz) δ 55.9 (OCH₃), 92.5 (C-8), 98.1 (C-6), 103.4 (C-3), 105.3 (C-10), 116.3 (C-3',5'), 121.6 (C-1'), 128.4 (C-2',6'), 157.7 (C-9), 161.6 (C-4'), 161.8 (C-5), 164.6 (C-2), 165.4 (C-7), 182.3 (C-4); ESI-TOF MS m/z 285 [M+1]⁺.

Compound 5: colorless crystals (CH₂Cl₂-MeOH): m.p. 289.0-290.0 °C; IR(KBr) $\bar{\nu}_{\max}$ 3435, 2920, 1608, 1414, 1384 cm⁻¹; ¹H NMR (DMSO-d₆, 400 MHz) δ 3.79 (3H, s, OCH₃), 3.86 (3H, s, OCH₃), 6.46 (1H, d, J = 2.0 Hz, H-6), 6.52 (1H, s, H-3), 6.81 (1H, d, J = 2.0 Hz, H-8), 6.87 (2H, d, J = 8.7 Hz, H-3',5'), 7.82 (2H, d, J = 8.7 Hz, H-2',6'); ¹³C NMR (DMSO-d₆, 100 MHz) δ 61.1 (OCH₃), 61.2 (OCH₃), 98.5 (C-8), 101.3 (C-6), 110.9 (C-3), 113.4 (C-10), 121.3 (C-3',5'), 125.6 (C-1'), 133.0 (C-2',6'), 164.3 (C-5), 165.4 (C-4'), 165.6 (C-2), 166.9 (C-9), 168.8 (C-7), 180.9 (C-4); ESI-TOF MS m/z 321.0737 [M+Na]⁺ (calcd for C₁₇H₁₄O₅+Na, 321.0739).

Bioassay

Antimalarial Assay. Antimalarial activity was performed against *Plasmodium falciparum* (K1, multidrug resistant strain) which was cultured continuously according to the method of Trager and Jensen (1976). Quantitative assessment of antimalarial activity *in vitro* was determined by means of the microdilution radioisotope technique based on the method described by Desjardins et al. (1979). The inhibitory concentration (IC₅₀) represents the concentration that causes 50% reduction in parasite growth as indicated by the *in vitro* uptake of [³H] hypoxanthine by *P. falciparum*. The standard compound was artemisinin.

Antifungal Assay. The antifungal activity was assessed against *Candida albicans* using method modified from the soluble formazan assay (Scudiero et al., 1988). The number of living cells was determined by measuring the absorbance of 2,3-bis (2-methoxy-4-nitro-5-sulfophenyl)-5-[(phenylamino)carbonyl]-2H-tetrazolium hydroxide (XTT) formazan at 450 nm. The standard drug was amphotericin B.

Antimycobacterial Assay. The antimycobacterial activity was assessed against *Mycobacterium tuberculosis* H₃₇Ra using the Microplate Alamar Blue Assay (MABA) (Collins and Franzblau, 1997). The standard drugs, isoniazid and kanamycin sulfate, were used as the reference compounds.

Cytotoxicity Assay. Cytotoxicity assay against human epidermoid carcinoma (KB), human breast cancer cells (BC) and human small cell lung cancer (NCI-H187) cell lines were performed employing the colorimetric method (Skehan et al., 1990). Ellipticine was included as a reference substance.

Results and Discussion

Chromatographic separation of the CH₂Cl₂ extract of the rhizomes of *K. parviflora* gave five flavonoids, 5,7-dimethoxyflavone (1) (Jaipetch et al., 1983), 3,5,7,3',4'-pentamethoxyflavone (2) (Herunsalee et al., 1987), 5,3'-dihydroxy-3,7,4'-trimethoxyflavone (3) (Guerrero et al., 2002; Matsuda et al., 2002), 5,4'-dihydroxy-7-methoxyflavone (4) (Jamzad et al., 2003; Skoula et al., 2005) and 4'-hydroxy-5,7-dimethoxyflavone (5) (Lin et al., 2002). Their structures were identified on

the basis of spectral data. Compounds 3-5 were isolated from this plant for the first time.

Biological activity testing of the isolated compounds may help to establish a scientific basis for the utilization of *K. parviflora*. Our work focused on antiplasmodial, antifungal, antimycobacterial and cytotoxic activity tests of all isolates, and the results are shown in Table 1. Compound 1 showed antifungal activity against *Candida albicans* with an IC₅₀ value of 19.98 µg/ml and antimycobacterial activity with a MIC value of 50 µg/ml. In our point of view, the mono-substitution at the aromatic ring B is likely essential for antimycobacterial and antifungal activities. All of the isolated compounds (1-5) possessed no antiplasmodial activity and cytotoxicity against KB, BC and NCI-H187 cell lines.

Acknowledgements

We are indebted to the Biodiversity Research and Training Program (BRT) for financial support. Bioassay Research Facility of BIOTEC is gratefully acknowledged for biological activity tests. We are grateful to the National Research Council of Thailand (NRCT) for the partial support.

References

- Collins, L.A. and Franzblau, S.G. (1997). Microplate alamar blue assay versus BACTEC 460 system for high-throughput screening of compounds against *Mycobacterium tuberculosis* and *Mycobacterium avium*. *Antimicrob. Agents Chemother.* 41:1004-1009.

- Desjardins, R.E., Canfield, C.J., Haynes, J.D. and Chulay, J.D. (1979). Quantitative assessment of antimalarial activity *in vitro* by a semiautomated microdilution technique. *Antimicrob. Agents Chemother.* 16:710-718.
- Guerrero, M.F., Puebla, P., Martin, M.L., Carron, R., Roman, L.S., Reguero, M.T. and Arteaga, L. (2002). Inhibitory effect of N(G)-nitro-L-arginine methyl ester on the anti-adrenergic response elicited by ayanin in the pithed rat. *Planta Med.* 68:322- 325.
- Herunsalee, A., Pancharoen, O. and Tuntiwachwuttikul, P. (1987). Further studies of flavonoids of the black rhizomes *Boesenbergia pandurata*. *J. Sci. Soc. Thailand.* 13:119-122.
- Jaipetch, T., Reutrakul, V., Tuntiwachwuttikul, P. and Santisuk, T. (1983). Flavonoids in the black rhizomes of *Boesenbergia pandurata*. *Phytochemistry.* 22:625-626.
- Jamzad, Z., Grayer, R.J., Kite, G.C., Simmonds, M.S.J., Ingrouille, M. and Jalili, A. (2003). Leaf surface flavonoids in Iranian species of *Nepeta* (Lamiaceae) and some related genera. *Biochem. Sys. Eco.* 31:587-600.
- Lin, Y.M., Zhou, Y., Flavin, M.T., Zhou, L.M., Nie, W. and Chen, F.C. (2002). Chalcones and flavonoids as antituberculosis agents. *Bioorg. Med. Chem.* 10:2795-2802.
- Matsuda, H., Morikawa, T., Toguchida, I. and Yoshikawa, M. (2002). Structural requirements of flavonoids and related compounds for aldose reductase inhibitory activity. *Chem. Pharm. Bull.* 50:788-795.
- Scudiero, D.A., Shoemaker, R.H., Paull, K.D., Monks, A., Tierney, S., Nofziger, T.H., Currens, M.J., Seniff, D. and Boyd, M.R. (1988). Evaluation of a soluble tetrazolium/formazan assay for cell growth and drug sensitivity in culture using human and other tumor cell lines. *Cancer Res.* 48(17):4827-4833.
- Skehan, P., Storeng, R., Scudiero, D., Monks, A., McMahon, J., Vistica, D., Warren, J.T., Bokesch, H., Kenny, S. and Boyd, M.R. (1990). New colorimetric cytotoxicity assay for anticancer drug screening. *J. Natl. Cancer Inst.* 82:1107-1112.
- Skoula, M., Grayer, R.J. and Kite, G.C. (2005). Surface flavonoids in *Satureja thymbra* and *Satureja spinosa* (Lamiaceae). *Biochem. Sys. Eco.* 33:541-544.
- Trager, W. and Jensen, J.B. (1976). Human malaria parasite in continuous culture. *Science.* 193:673-675.
- Yenjai, C., Prasanphen, K., Daodee, S., Wongpanich, V. and Kittakoop, P. (2004). Bioactive flavonoids from *Kaempferia parviflora*. *Fitoterapia.* 75:89-91.



การสร้างพัลส์สี่เหลี่ยมแบบควบคุมความกว้างและความสูงได้ ผ่านทางพอร์ตขนาน

Width and Height Controllable Rectangle pulse using Parallel Port

วิรัตน์ ยงค์¹

บทคัดย่อ

ได้ศึกษาและออกแบบวงจรอิเล็กทรอนิกส์เพื่อการให้กำเนิดสัญญาณพัลส์รูปสี่เหลี่ยมที่สามารถปรับขนาดของความกว้างและความสูงของสัญญาณได้โดยการควบคุมผ่านทางพอร์ตขนานของคอมพิวเตอร์จากการทดสอบวงจรที่ได้ทำการออกแบบผลปรากฏว่า สามารถปรับความสูงของสัญญาณได้จาก 0 ถึง 5 โวลต์ ที่ความละเอียด 256 ระดับ (8 บิต) และสามารถปรับความกว้างของสัญญาณได้ 256 ระดับเช่นเดียวกัน โดยความกว้างนี้จะใช้เวลาเท่าไรขึ้นอยู่กับความถี่ของสัญญาณนาฬิกาที่ใช้และสามารถกำหนดได้ด้วยการปรับค่าความต้านทานที่อยู่ในวงจร

Abstract

Electronic circuit for generating rectangle pulse was studied and design. The circuit can be controlled through computer parallel port for changing width and height of the pulse. After the circuit was tested, it was found that the height of the signal can be adjusted from 0 to 5 volts with 256 levels. (8 bits) The width of the signal can also be adjusted with 256 levels. Width duration of signal depends on the frequency from clock which can be changed by changing resistance in the circuit.

¹ภาควิชาฟิสิกส์ คณะวิทยาศาสตร์ มหาวิทยาลัยขอนแก่น อ.เมือง จ.ขอนแก่น 40002

บทนำ

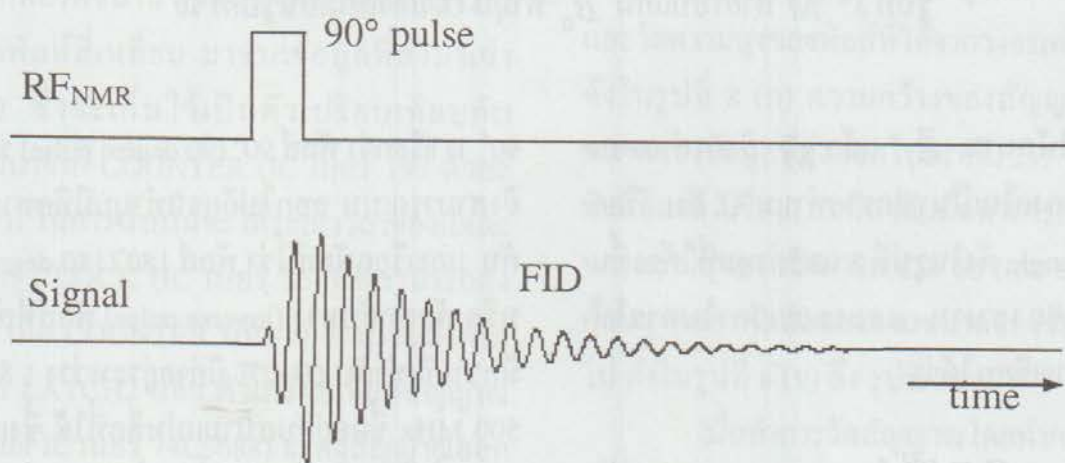
การถ่ายภาพ MRI เป็นการใช้เทคนิคการกระตุ้นนิวเคลียสของอะตอมไฮโดรเจนที่อยู่ในร่างกายโดยใช้คลื่นวิทยุ (Radiofrequency, RF) ความถี่ของคลื่นวิทยุที่ใช้ในการกระตุ้นจะอยู่ในช่วงตั้งแต่ 100 กิโลเฮิร์ต จนถึง 100 เมกะเฮิร์ต ขึ้นอยู่กับสนามแม่เหล็กที่ใช้ ในโรงพยาบาลทั่วไปที่ใช้เครื่อง MRI ที่มีขนาดสนาม 1 เทสลา จะต้องใช้คลื่นวิทยุที่มีความถี่ 42.5 เมกะเฮิร์ต ซึ่งไม่เป็นอันตรายกับผู้เข้ารับการถ่ายภาพด้วยเทคนิคนี้ อะตอมไฮโดรเจนโดยส่วนใหญ่อยู่ในโมเลกุลของน้ำ หลังจากที่ถูกกระตุ้นแล้วก็จะปลดปล่อยคลื่นวิทยุออกมาที่มีความถี่เดียวกับที่ใช้ในการกระตุ้น เมื่อนำสัญญาณที่ได้มาขยายและประมวลผล ทำให้เราได้ภาพของการกระจายของโปรตอน (Proton Density)

ในการศึกษานี้ จะทำการออกแบบวงจรและสร้างพัลส์สี่เหลี่ยมที่เรียกว่า พัลส์ 90° ที่สามารถปรับความกว้างและความสูงของสัญญาณได้เพื่อให้สามารถนำไปใช้ในการกระตุ้นอะตอมของไฮโดรเจนได้ดีที่สุด

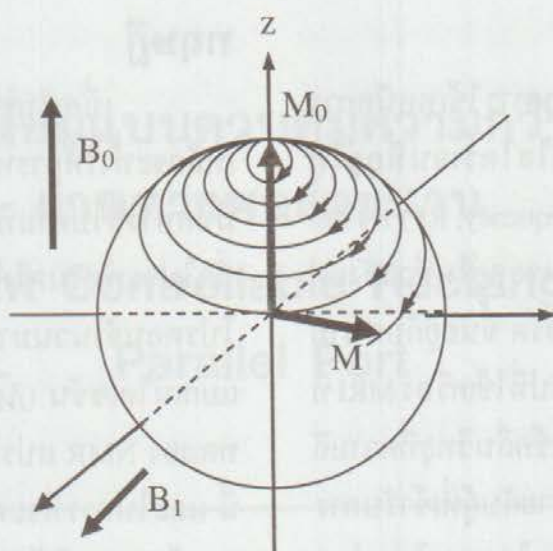
ทฤษฎี

เมื่อนำสารตัวอย่างไปวางไว้ในสนามแม่เหล็กจะทำให้การหมุนสายของโปรตอน (Spin) นั้นมีทิศทางชี้ไปตามทิศของสนามแม่เหล็ก ($\vec{B}_0$) โดยทั่วไปจะกำหนดให้มีทิศทางแกน z สปินที่เกิดจากโปรตอนจำนวนมากรวมกันมีขนาดใหญ่ขึ้นเรียกว่าแมกเนไทเซชัน ($\vec{M}$) สัญญาณที่ตรวจจับได้จากการทดลอง NMR แปรผันโดยตรงกับค่าแมกเนไทเซชันนี้ และในการที่จะตรวจจับสัญญาณได้ ต้องทำการกระตุ้นระบบให้ออกจากสถานะสมดุล โดยการให้สนามแม่เหล็กที่สอง ($\vec{B}_1$) เข้าไปในรูปของคลื่นวิทยุ (radio frequency, RF) ดังฉลากกับ และหมุนรอบ ด้วยความถี่เชิงมุม ซึ่งเท่ากับความถี่ลามอร์ [วิวัฒน์ ยงค์, 2549]

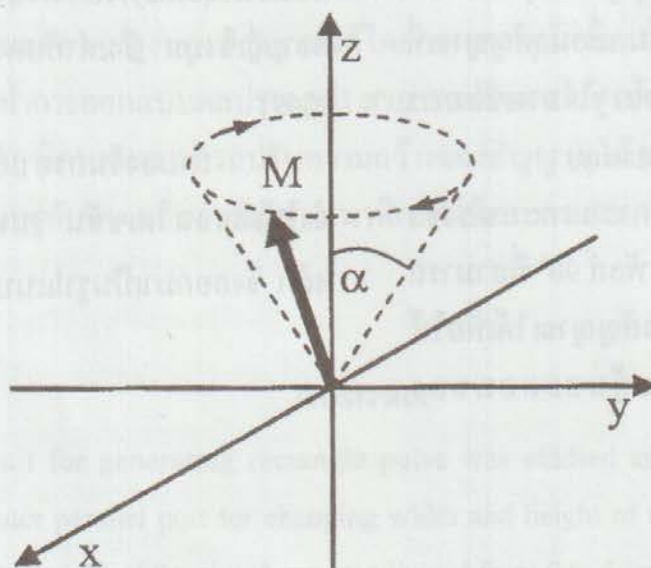
ถ้ามองในกรอบอ้างอิงที่อยู่นิ่ง สนามจากทำให้แมกเนไทเซชัน เบนออกจากสนามแม่เหล็กหลัก จึงออกมาเป็นรูปแบบเกลียว ดังรูปที่ 2



รูปที่ 1 แสดงการให้พัลส์สี่เหลี่ยมเพื่อใช้ในการกระตุ้นโปรตอน



รูปที่ 2 เส้นการเดินทางของ $\vec{M}$ ในกรอบอ้างอิงที่อยู่นิ่ง



รูปที่ 3 $\vec{M}$ ส่ายรอบแกน $\vec{B}_0$ ทำมุม α มองเห็นเป็นรูปกรวย

เมื่อหยุดการให้สนาม $\vec{B}_1$ แล้ว $\vec{M}$ ยังคงส่ายรอบ $\vec{B}_0$ ต่อ จึงมองเห็นเป็นรูปกรวยทำมุม α กับ เรียกมุมนี้ว่า flip angle ดังในรูปที่ 3 และค่ามุมที่ได้จะขึ้นอยู่กับขนาดของสนาม และระยะเวลาในการให้สนาม ซึ่งอาจเขียนได้ว่า

$$\alpha = \gamma B_1 t_p \quad (1)$$

เมื่อ t_p คือ ระยะเวลาของพัลส์ $\vec{B}_1$ ถ้าให้สนามที่ระยะเวลาหนึ่ง จะทำให้ $\vec{M}$ เบนมาจนทำมุมเท่ากับ

90° เราเรียกว่า พัลส์ 90° (90 degree pulse) นอกจากนี้ยังสามารถเบน ออกไปอีกจนทำมุมมีทิศทางตรงข้ามกับ และเรียกพัลส์นี้ว่า พัลส์ 180° (180 degree pulse) หรือ พัลส์กลับทาง (inverse pulse) พัลส์ที่ส่งออกไปมีความถี่เท่ากับ $\omega_L / 2\pi$ มีค่าอยู่ระหว่าง 1 MHz และ 500 MHz ขึ้นอยู่กับสนามแม่เหล็กที่ใช้ ซึ่งอยู่ในช่วงของคลื่นวิทยุจึงเรียก อีกชื่อหนึ่งว่า พัลส์ความถี่วิทยุ (radio frequency pulse) พัลส์ความถี่วิทยุ ($\vec{B}_1$) ที่ให้เข้าไปเพื่อไปกระตุ้นนิวเคลียสของอนุภาค ทำได้โดยการให้กระแสไฟฟ้าที่มีความถี่ ω_L เข้าไปในขดลวด

และแกนของขดลวดวางตั้งฉากกับทิศทางของ $\vec{B}_0$ ขดลวดที่ใช้ต้องมีการออกแบบให้เกิดการสั้นพ้องกับความถี่ลามอร์ของนิวเคลียสที่ศึกษาด้วย โดยการนำตัวเก็บประจุมาต่อขนาน ส่งผลทำให้เกิดสนามแม่เหล็กในขดลวดในทิศตั้งฉากกับ $\vec{B}_0$

วิธีการทดลอง

ในการออกแบบวงจร จะต้องให้วงจรสามารถปรับความสูงของสัญญาณพัลส์สี่เหลี่ยมได้เพื่อใช้ปรับขนาด B_1 ในสมการที่ (1) และสามารถปรับความกว้างของพัลส์ได้โดยปรับค่า t_p ในสมการที่ (1) เพื่อให้ได้สัญญาณที่สามารถกำหนดมุมของการเบนของแมกเนไทเซชันได้ การออกแบบวงจรจึงมีส่วนประกอบต่างๆ ดังแสดงในรูปที่ 5

เมื่อส่งข้อมูลความสูงของสัญญาณผ่านทางพอร์ตขนานของคอมพิวเตอร์ จะต้องเลือกให้สัญญาณผ่านไปยัง LATCH1 (IC เบอร์ 74HC373) เพื่อรักษานาฬิกาของสัญญาณไว้ให้คงที่ ข้อมูลที่ส่งออกมามี 8 บิต ทำให้ได้ค่าต่างๆ กันเป็น 256 ค่า (0 ถึง 255) เมื่อสัญญาณผ่านไปยัง DAC (IC เบอร์ DAC0800) จะได้สัญญาณออกมาเป็น 0 ถึง 5 โวลต์ และมีค่าต่างๆ กันเป็น 256 ระดับตามสัญญาณที่ส่งออกจากพอร์ตขนาน ส่วนสัญญาณที่สองคือความกว้างของพัลส์สี่เหลี่ยม มาจากข้อมูลที่ส่งมาเข้า LATCH2 ซึ่งจะเก็บไว้เป็นตัวเปรียบเทียบกับสัญญาณที่มาจาก COUNTER (IC เบอร์ 193 ตัวละ 4 บิต 2 ตัว) ในการนับนั้นจะได้ระยะเวลาของแต่ละการนับจาก CLOCK (IC เบอร์ 555) ที่สามารถตั้งความถี่ได้ เมื่อ COUNTER นับจาก 0 มาจนถึงค่าที่ส่งเข้ามาที่ LATCH2 แล้ว ตัวเปรียบเทียบสัญญาณ (Comparator IC เบอร์ 74LS688) จะส่งสัญญาณออกไปยังสวิตช์ (IC เบอร์ 4066) เพื่อเปิดให้สัญญาณจาก DAC ออกไปที่ Output ได้ เมื่อทำการสร้างวงจรได้ ออกมาดังรูปที่ 6

ในการศึกษานี้ใช้สัญญาณนาฬิกาความถี่ 8.5 กิโลเฮิร์ต (1 สัญญาณนาฬิกาเท่ากับ 1/8500 วินาที) ซึ่งจะทำให้ผู้ใช้สามารถปรับความกว้างของสัญญาณได้ตั้งแต่ 0 วินาทีจนถึง $255 \times (1/8500) = 0.03$ วินาที

ผลการทดลอง

เมื่อทำการต่อวงจรกับคอมพิวเตอร์และเขียนโปรแกรมควบคุม ดังในรูปที่ 7 โดยเขียนจากภาษาเคลไฟล์ ที่มีส่วนประกอบของการส่งข้อมูลไปยังพอร์ตขนานโดยใช้ "io.dll" ซึ่งเป็นซอฟต์แวร์ฟรี [www.geekhideout.com 2003] และจะต้องเขียนเพิ่มในโปรแกรมดังนี้

```
procedure PortOut (Port: Word; Data: Byte);
stdcall; external 'io.dll';
```

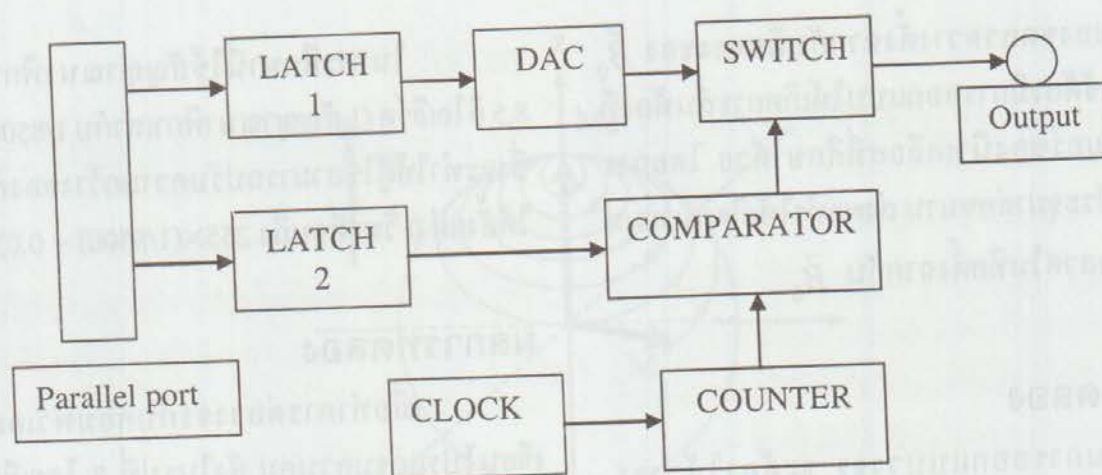
```
function PortIn (Port: Word): Byte; stdcall;
external 'io.dll';
```

โปรแกรมที่ได้ดังรูปที่ 7 สามารถส่งข้อมูลออกทางพอร์ตขนานเพื่อควบคุมวงจรที่ได้ทำการออกแบบ

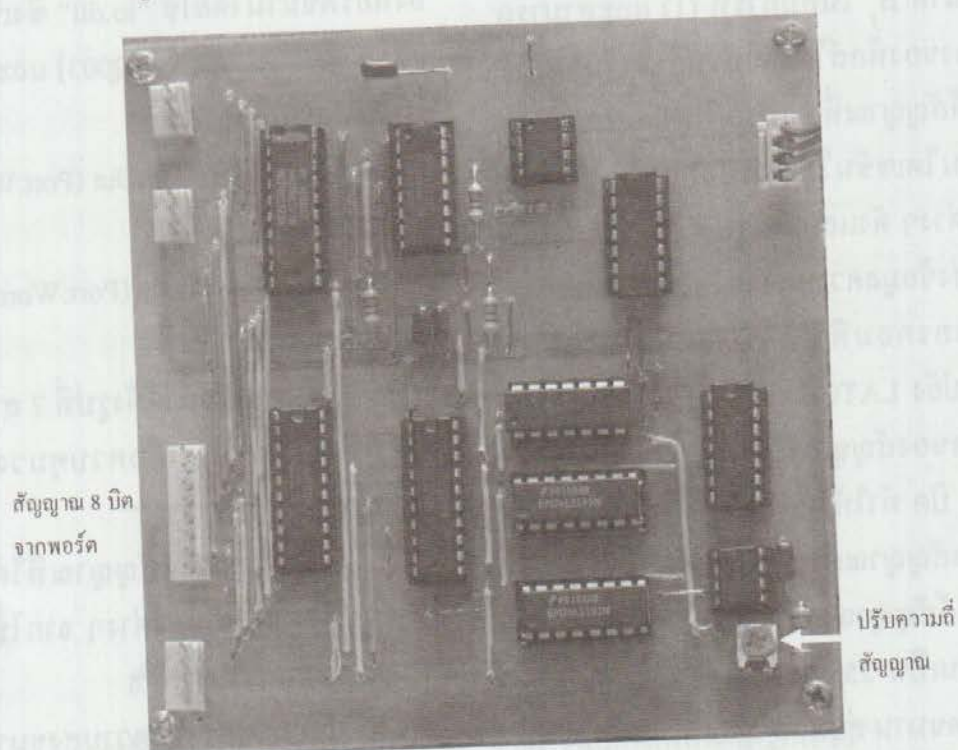
เมื่อทำการวัดสัญญาณที่ได้จากวงจร โดยทำการเปลี่ยนค่าความสูงต่างๆ จากโปรแกรม จะได้สัญญาณดังแสดงในรูปที่ 8

เมื่อส่งสัญญาณความสูงขนาด 255 ออกไป และวัดความสูงของพัลส์ที่ได้จากวงจรเท่ากับ 5 โวลต์ ดังในรูปที่ 8 (ก) ความกว้างของสัญญาณที่ได้เมื่อขนาดของข้อมูลที่ส่งออกไปเท่ากับ 255 ได้เท่ากับ 30 มิลลิวินาที หรือ 0.03 วินาที เมื่อทำการเปลี่ยนขนาดของความสูงลง เป็น 180 120 60 และ 0 ผลที่วัดได้คือขนาดของพัลส์ลดลงตามขนาดของข้อมูลที่ส่งเข้าไป ดังในรูปที่ 8 (ข) ถึง รูปที่ 8 (จ)

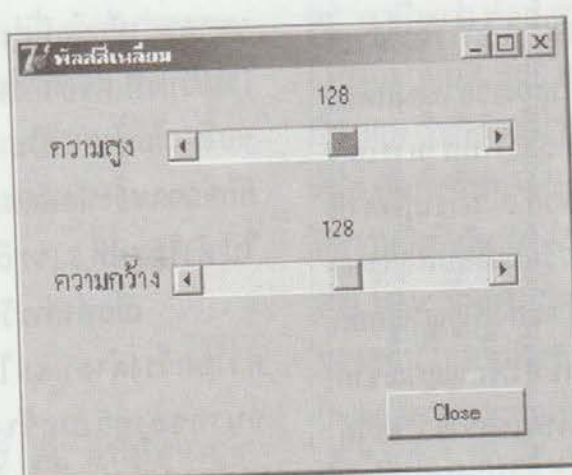
เมื่อทำการวัดสัญญาณโดยทำการเปลี่ยนค่าความกว้างต่างๆ จะได้สัญญาณดังแสดงในรูปที่ 9 ขนาดของความกว้างของพัลส์ที่ได้จะลดลงตามขนาดของข้อมูลที่ส่งเข้าไปดังในรูปที่ 9 (ก) ถึงรูปที่ 9 (ง)



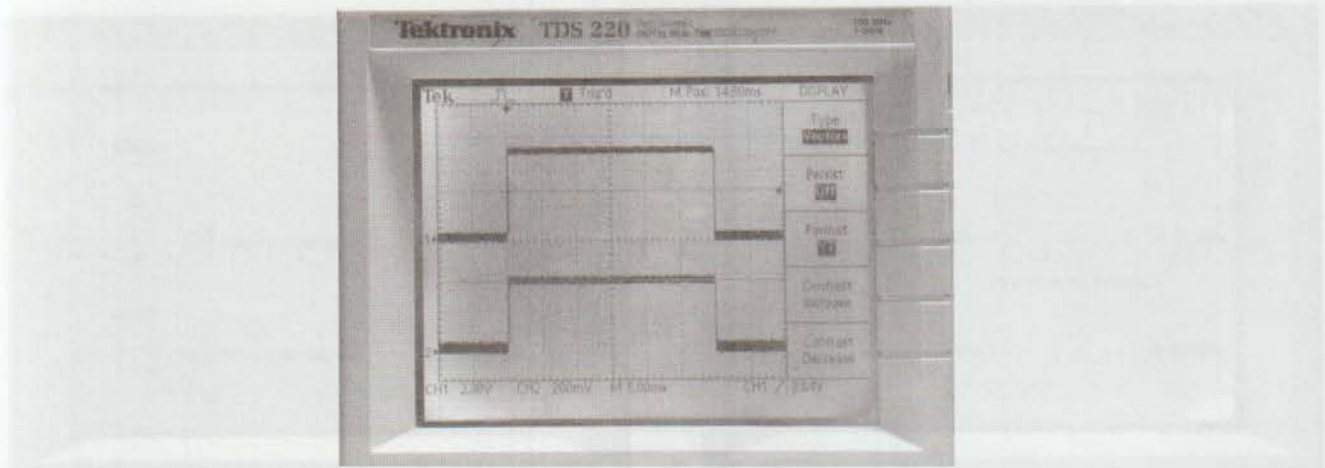
รูปที่ 5 แสดงแผนการทำงานของส่วนต่างๆ ของวงจร



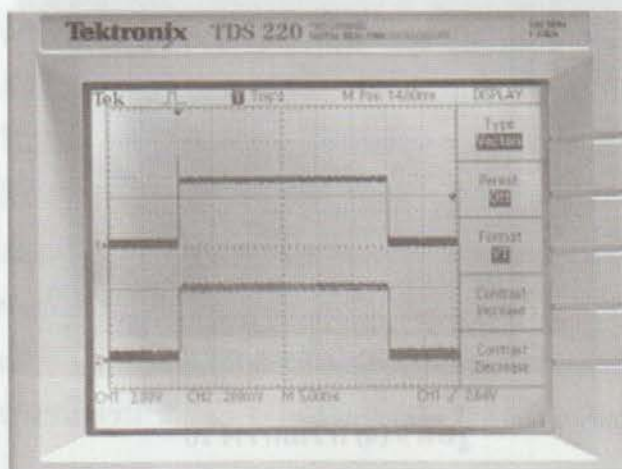
รูปที่ 6 แสดงวงจรสร้างพัลส์สี่เหลี่ยม



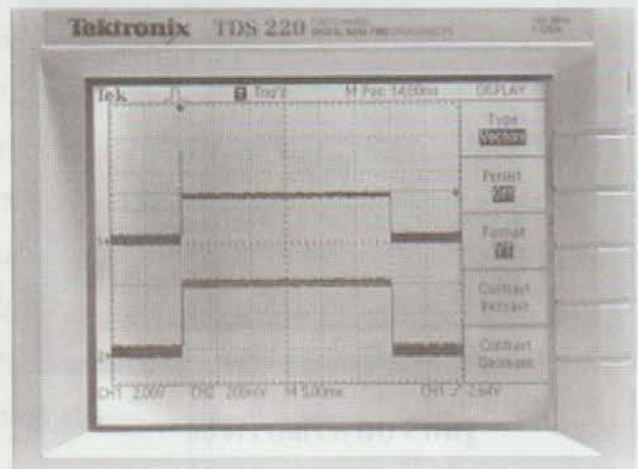
รูปที่ 7 โปรแกรมที่ใช้ในการส่งข้อมูลออกทางพอร์ตขนานสำหรับวงจรที่กำลังศึกษานี้



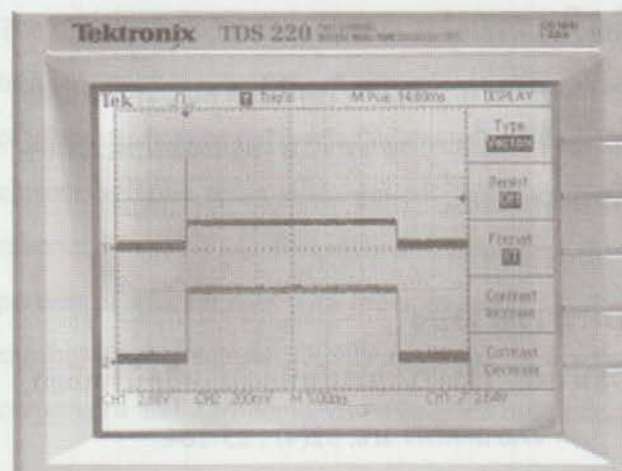
รูปที่ 8 (ก) สัญญาณที่ได้เมื่อส่งขนาดความสูงเป็น 255 และ ความกว้างเป็น 255 (ด้านบน) สัญญาณด้านล่างเป็น สัญญาณที่มาจากสวิทช์ (IC 4066) เพื่อใช้ในการเปรียบเทียบ



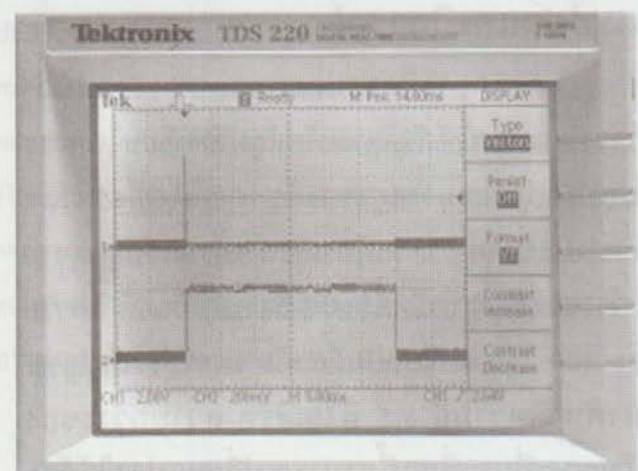
รูปที่ 8 (ข) ความสูง 180



รูปที่ 8 (ค) ความสูง 120

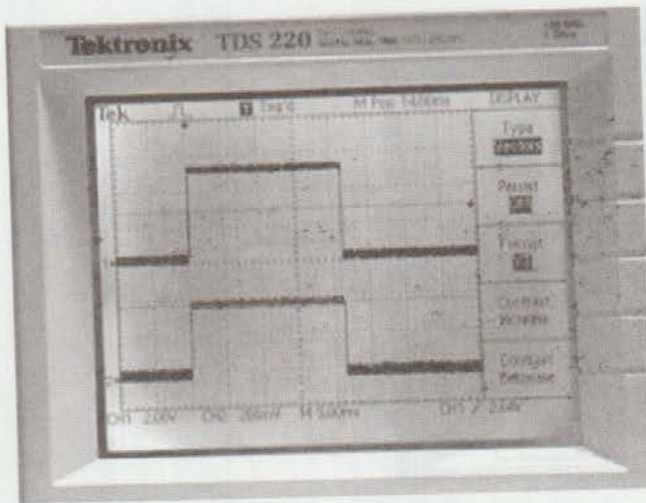


รูปที่ 8 (ง) ความสูง 60

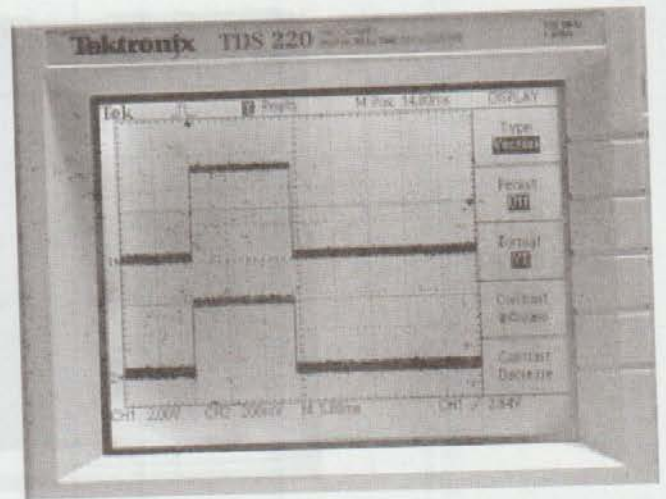


รูปที่ 8 (จ) ความสูง 0

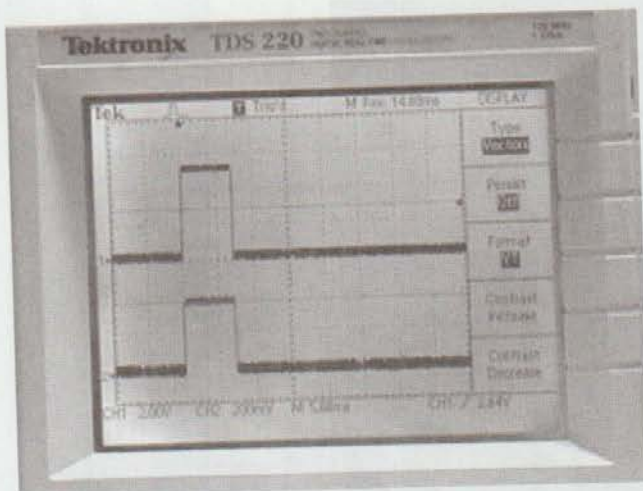
รูปที่ 8 แสดงสัญญาณที่ได้เมื่อส่งข้อมูลความสูงต่างๆจากโปรแกรมไปควบคุมวงจร



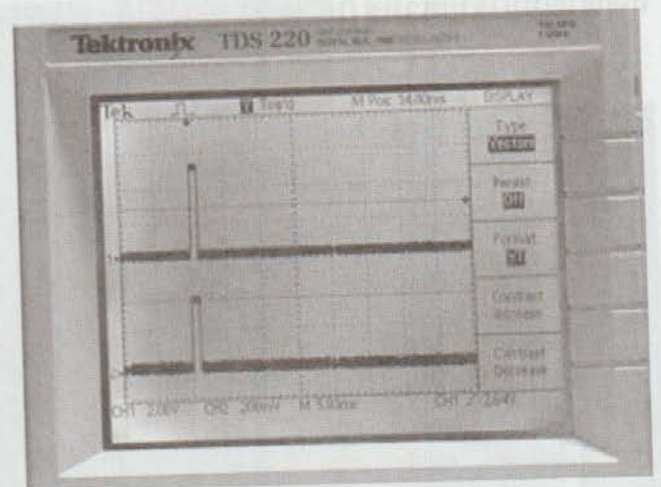
รูปที่ 9 (ก) ความกว้าง 180



รูปที่ 9 (ข) ความกว้าง 120



รูปที่ 9 (ค) ความกว้าง 60



รูปที่ 9 (ง) ความกว้าง 10

รูปที่ 9 แสดงสัญญาณที่ได้เมื่อส่งข้อมูลความกว้างต่างๆจากโปรแกรมไปควบคุมวงจร

สรุปผลและวิจารณ์

จากการศึกษาและออกแบบวงจรพบว่า วงจรสามารถให้สัญญาณพัลส์รูปสี่เหลี่ยมได้ และสามารถกำหนดความสูงของสัญญาณได้ 0 ถึง 5 โวลต์ ที่ความละเอียด 255 ระดับ และสามารถควบคุมความกว้างของสัญญาณได้ตั้งแต่ 0 ถึง 0.03 วินาที ที่ความละเอียด 256 ระดับเช่นเดียวกัน เพราะใช้สัญญาณนาฬิกาที่มีความถี่ 8.5 กิโลเฮิร์ต ความกว้างของสัญญาณที่มากที่สุดนี้สามารถเปลี่ยนแปลงได้ด้วยการปรับความถี่ของสัญญาณนาฬิกา เพื่อการนำไปประยุกต์ใช้ในงานอื่นๆได้ต่อไป

กิตติกรรมประกาศ

ขอขอบคุณภาควิชาฟิสิกส์ คณะวิทยาศาสตร์ ในการใช้เครื่องออสซิลโลสโคปและมัลติมิเตอร์ เพื่อทำงานวิจัยนี้

เอกสารอ้างอิง

- วิวัฒน์ ยงค์ติ. (2547). การสั่นพ้องแม่เหล็กนิวเคลียส. วิทยาศาสตร์ มข. 32(4) : 25-264.
www.geekhideout.com/iodll.shtml, Geek Hideout 2003, สืบค้นเมื่อวันที่ 11 กรกฎาคม 2547



การผลิตและการวิเคราะห์สารปฏิชีวนะฟีนาซีนจากแบคทีเรีย *Pseudomonas aeruginosa* Production and analysis of Antibiotic Phenazine from *Pseudomonas aeruginosa*

วิภาดา หงษ์ทะนี (Wiphada Hongthani)¹, ศักดิ์สิทธิ์ จันทร์ไทย (Dr. Saksit Chanthai)¹,
วรรณดี บุญญศิริโชค (Wandee Bunyarachata)² และเฉลิม เรืองวิริยะชัย (Dr. Chalerm Ruangviriyachai)^{1*}

บทคัดย่อ

การศึกษาถึงปัจจัยที่มีผลต่อการผลิตสารฟีนาซีนจากแบคทีเรีย *Pseudomonas aeruginosa* พบว่า สภาพที่เหมาะสมกับการผลิตสารฟีนาซีนได้แก่อาหารสูตร Pseudomonas P broth อัตราส่วนของเชื้อแบคทีเรียต่ออาหารเป็น 1: 50 ส่วน และบ่มพร้อมเขย่าที่อุณหภูมิห้อง เป็นเวลา 3 วัน ส่วนวิธีการแยกและการทำบริสุทธิ์สารที่ผลิตได้นั้นใช้เทคนิคโครมาโทกราฟีแบบแลกเปลี่ยนไอออน และการสกัดด้วยของเหลวร่วมกับเทคนิคโครมาโทกราฟีแบบดูดซับที่ใช้ซิลิกาเจลคอลัมน์ ตามลำดับ จากนั้นตรวจสอบความบริสุทธิ์ของสารฟีนาซีนด้วยเทคนิค HPLC แบบผันกลับ ส่วนการหาโครงสร้างทางเคมีของสารฟีนาซีนที่ได้ใช้เทคนิคทางสเปกโทรสโกปีและเปรียบเทียบผลที่ได้จากการวิเคราะห์ด้วยเทคนิคต่างๆ กับงานวิจัยที่ผ่านมาพบว่า สารฟีนาซีนที่ได้เป็น phenazine-1-carboxamide (PCN) การศึกษาสมบัติทางชีววิทยาของ PCN พบว่ามีสมบัติฤทธิ์ต้านเชื้อแบคทีเรียที่ก่อโรคพืชบางชนิดเช่น *Ralstonia solanacearum*, *Erwinia carotovora* และ *Xanthomonas campestris* pv. *vesicatoria* เป็นต้น

Abstract

The effects of some factors on phenazines production by *Pseudomonas aeruginosa* were studied. The optimum phenazine production conditions are revealed in Pseudomonas P broth medium and 1: 50 of bacterial culture dilution, as well as incubation at room temperature for 3 days. The isolation and purification of phenazines was performed with ion exchange chromatography, liquid-liquid extraction and adsorption chromatography using silica gel column, successively. The purity of phenazines isolated was analyzed by reversed phase HPLC. Elucidation of phenazine structure was achieved by spectroscopic techniques and comparison of spectral data with previous studied, which revealed a phenazine-1-carboxamide (PCN). The PCN exhibits an antibacterial activity against several pathogenic bacterial such as *Ralstonia solanacearum*, *Erwinia carotovora* and *Xanthomonas campestris* pv. *vesicatoria*.

Key words: Phenazines, *Pseudomonas*

¹ภาควิชาเคมี คณะวิทยาศาสตร์ มหาวิทยาลัยขอนแก่น 40002

²ภาคอุตสาหกรรม คณะวิทยาศาสตร์ มหาวิทยาลัยขอนแก่น 40002

*Corresponding Author

Introduction

Phenazines are N-containing heterocyclic pigment synthesized by *Brevibacterium*, *Burkholderia*, *Pseudomonas* and *Streptomyces* (Dwivedi and Johri, 2003). Microorganism constituted the exclusive source of phenazines in the nature and there is a considerable overlap in the production pattern. Several different organisms produce the same compounds and a particular microorganism may often produce a variety of phenazines (Leisinger and Margraff, 1979). The production of phenazines by microorganism largely depends on their carbon and mineral nutrition, the effect of some nutrient source being strain-specific (Shtark et al., 2003). In addition, composition of media, which consisting of carbon source, nitrogen source and microelements have been identified to have influence on phenazines synthesis by microorganism (Frank and Demoss, 1958, and Raaijmark et al., 2002). Phenazines can be synthesized in both nutrient rich media and minimal media, thus, it is difficult to design or find a standard medium for production of phenazines (Kanner et al., 1978). Phenazine compounds are isolated and purified by liquid extraction with organic solvents such as chloroform (Ohfuji et al., 2004) and dichloromethane (Giddens et al., 2002) or with column chromatography using polymeric Amberlite XAD base resin (Stead et al., 1996) and adsorption chromatography. The structure of phenazines was obtained from the spectral analysis including UV-Visible (UV-Vis) Spectroscopy, Infrared (IR) Spectroscopy, Nuclear Magnetic Resonance (NMR) Spectroscopy and Mass Spectrometry (MS) (Brisbane et al., 1987 and Kumar et al., 2005),

accompanied with some physical characteristics of phenazines standard in previous studied (Fernandez and Pizarro, 1997).

Among microorganisms that can produce phenazines, many strains belong to the fluorescent *Pseudomonads*. Therefore, most studied on the production and synthetic pathway of various phenazines pigment have been conducted with representative of the fluorescent *Pseudomonads* (Leisinger and Margraff, 1979), in which phenazines production of these microorganism is interestingly important for potency as biological control agents (Ellis et al., 2002). In particular, the production of phenazine-1-carboxylic acid (PCA) is required for suppression of take-all disease in wheat root caused by *Gaeumannomyces graminis* var. *tritici* (Gurusiddaiah et al., 1985). The production of phenazine-1-carboxamide (PCN) exhibits biological control activity against *Fusarium oxysporum* f. sp. *radicis-lycopersici* which is the causes of root rot in tomato (Chin-A-Woeng et al., 2001) and a range of phytopathogenic fungi that infect in rice, groundnut, tobacco, chili, mango, sugarcane, tea, cotton and banana (Kumar et al., 2005). The productions of PCA and PCN are involved in biological control of *Pythium myriotylum* on cocoyum (*Xanthosoma sagittifolium*) (Tambong and Hofte, 2001).

In this study, effect of some factors on production of phenazines by *Pseudomonas aeruginosa* was examined. The phenazines supernatant was isolated and purified by ion exchange chromatography, liquid extraction and adsorption chromatography, successively. The structure of phenazines was elucidated using IR, NMR and GC-MS. Finally, biological activity of phenazines against plants pathogen bacteria was studied.

Materials and methods

Microorganism: *P. aeruginosa* and all bacteria for bioassay were routinely maintained on nutrient agar. For daily experiment, bacteria were grown in Luria-Bertani (LB) agar (Fernández and Pizzaro, 1997).

Growth media and cultivation conditions:

Media The strain was grown on LB agars to obtain bacterial single colonies. The single colony was cultured in LB broth medium with agitation for about 3 days as starter. To study on effect of media on phenazines production, the bacterial cultures from the starter was moved to culture in *Pseudomonas* P broth medium (Audenaert et al., 2002), King's A medium (Fernández and Pizzaro, 1997) and King's B medium (Kumar et al., 2005) and incubated under the same condition as starter, which worked in triplicate in all media. The suitable medium for phenazines production was considered from maximum absorbance of crude phenazines in each medium after primarily isolation with Amberlite XAD-4 resin column.

Bacterial culture dilutions The culture was grown in *Pseudomonas* P broth with bacterial dilution in 1: 25, 1: 50, 1: 100 and 1:200 (v/v) which was incubated under the same condition as the starter. The cells growth and phenazines production were followed by sampling of the bacterial culture at 3 hours interval. The culture density was measured by UV-Visible spectrophotometer at 600 nm and then the cells were removed by centrifugation. Phenazines production was monitored by determining the absorbance of the supernatant at 360 nm.

Effect of temperatures The effect of temperatures on cells growth and phenazines production was performed at 25°C, room temperature and 37 °C and incubation with agitation for 3 days. The cells growth and phenazines production was followed as described in bacterial dilution method.

Isolation and purification of phenazines:

The cells were removed from culture by centrifugation, then added NaCl to removed residues. The supernatant was collected and passed into column contained Amberlite XAD-4 resin. The column was washed with excess water, 10% acetonitrile in water and eluted with 70 % acetonitrile in water, respectively. The solution was evaporated and lyophilized to dryness to obtain crude phenazines. Crude phenazines was dissolved in water, adjusted to pH 2.5 with 1 M HCl and then extracted with dichloromethane for 3 times. The bright yellow color dichloromethane fractions were combined and concentrated by evaporation, chromatography on silica gel column consequently eluted with dichloromethane and 10% methanol in dichloromethane. Phenazines compounds were analyzed using a (15 x 4.6 mm) Nucleosil C₁₈ (5μ) reverse phase column with mobile phase conditions consisting of 15 min linear gradient to 45% solvent B (acetonitrile-water-trifluoroacetic acid; 90-10-0.01, v/v) followed by 15 min maintained at this condition and 1 min linear gradient return to 100 solvent A (water-trifluoroacetic acid; 100-0.01, v/v). The phenazine compounds were monitored at 250 nm. The waters HPLC system includes Empower software, 600 pumps with a 2996 photodiode array detector (Waters Corp.).

Structure analysis: UV spectrum of phenazine was performed in 0.2 M HCl with Agilent 8453 UV-visible spectrophotometer. IR spectrum of phenazine was recorded in KBr disks using a Perkin Elmer, Spectrum one FT-IR spectrometer recording from 4,000 to 370 cm^{-1} . The ^1H NMR (400 MHz) and ^{13}C NMR (100 MHz) were recorded on a Varian Mercury NMR spectrometer. GC-MS data were obtained with a Zebron capillary (ZB-5) GC column (30 m, 0.25 i.d., Phenomenax) and Thermo Finnigan Trac GC, Polaris Q, Ion Trap mass spectrometer.

Antibiotic testing: Antibacterial activity of the crude phenazines and PCN were determined by disk diffusion method (Gurusidduah et al., 1980) as follows; Potato Dextrose Agar (PDA) plates were prepared, and then flooded with suspension of a bacterial test strain and allowed to dry. The crude phenazines and PCN in ethanol were treated on sterile paper disks (6-mm diameter), applied to the agar plates (Brisbane et al., 1987). The plates were incubated at room temperature for 24 hours and then diameters of inhibition zones were measured (Kerr et al., 1999).

Results and discussion

Several types of media were used to culture bacteria to produce phenazine pigment. The production of phenazines can be effected by several factors which make it hard to define the standard medium for phenazine synthesis by bacteria. *Pseudomonas* P broth, KA and KB were often used to produce phenazine by *P. aeruginosa*. The effect of types of media on phenazine production was performed with 3 types of media as described method. The results showed that *Pseudomonas* P broth was a

suitable medium for phenazine production since the highest absorption of supernatant was obtained from this medium (see Figure 1). The effect of bacterial calls on phenazine production was studied in *Pseudomonas* P broth with dilution ratio at 1: 25, 1:50, 1: 100 and 1:200 (v/v) with agitation at room temperature for 3 days. The phenazine production constantly increased during 70 hours in all condition but a greater phenazine production was obtained from 1: 50 bacterial dilution (Figure 2A). Whereas, the cell growth rapidly rose in 10 hours in all cases, which revealed that there was no significant difference in bacterial growth as shown in Figure 2B.

Effect of temperature on phenazine production was also performed in *Pseudomonas* P broth medium. The results showed that the production curves of phenazine were linearly raised in 70 hours in all cases (Figure 3A) However, the maximum phenazines production was obtained from incubation at room temperature (29-30°C). Cells growths give the same results as the cells growth bacterial dilutions (Figure 3B).

Therefore, *Pseudomonas* P broth, 1: 50 of bacterial culture dilution and incubation at room temperature under agitation for 3 days was used for phenazines productions.

The yield of the phenazines production varied in broad range between batches to batches or within the same batch of medium prepared and grown at the same condition (Byng et al., 1979).

For isolation and urifications of phenazine, crude phenazine was obtained by using ion exchange chromatography column. The crude phenazine was purified by liquid extraction with dichloromethane and silica gel column eluting with dichloromethane,

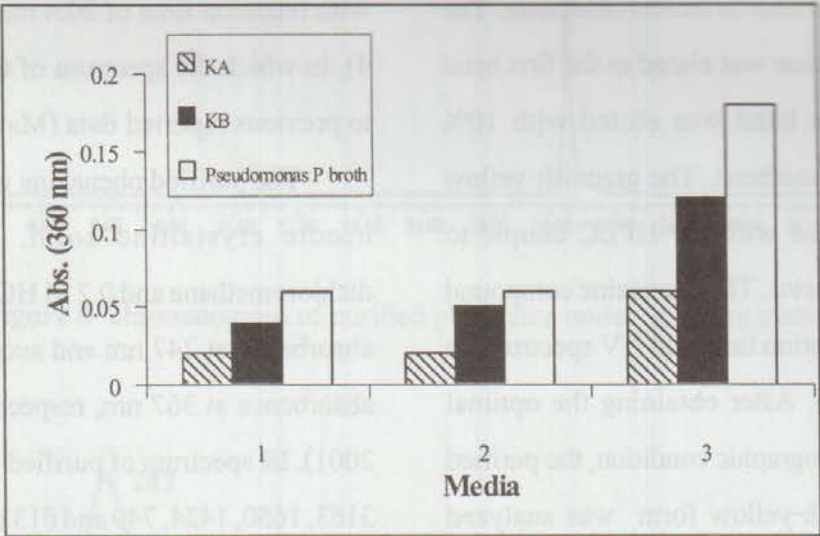


Figure 1 Effect of type of media on phenazines production.

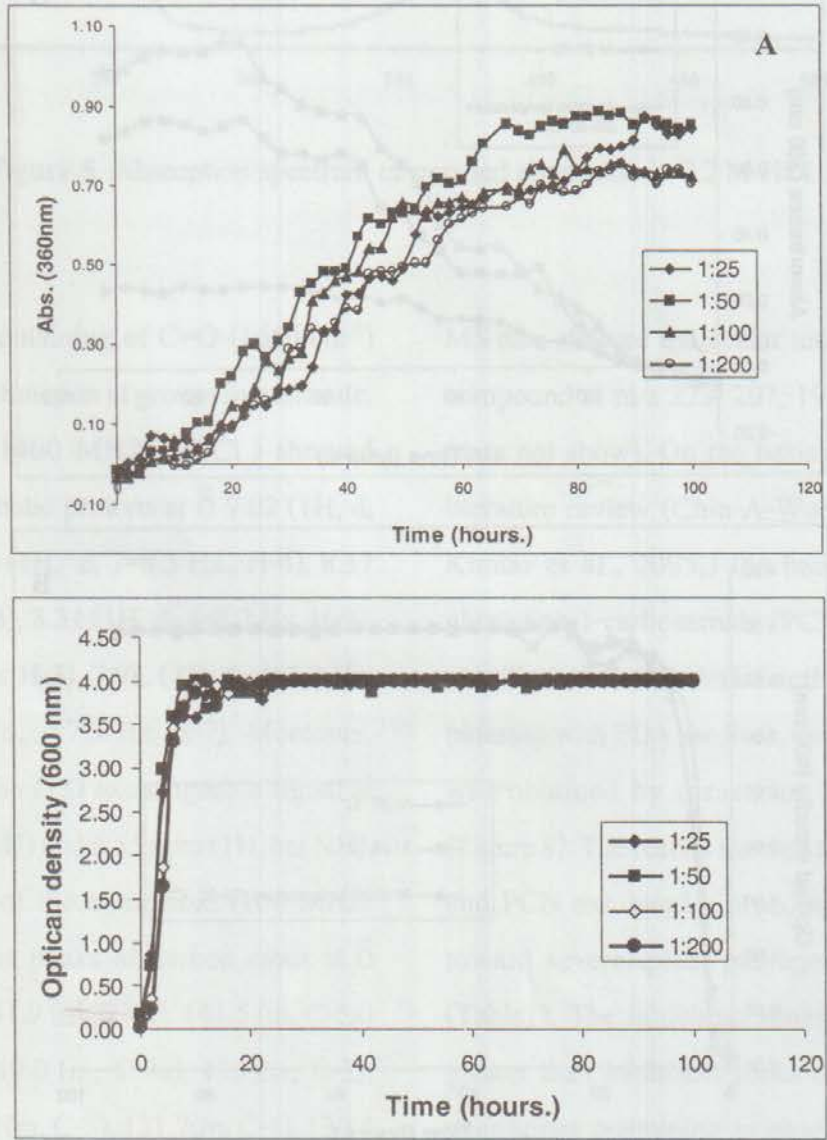


Figure 2 Effect of bacterial culture dilutions on phenazines production (A) phenazines production and (B) cells growth.

followed by 10% methanol in dichloromethane. The greenish-yellow solution was eluted as the first band and then the yellow band was eluted with 10% methanol in dichloromethane. The greenish-yellow fraction was analyzed with RP-HPLC couple to photodiode array detector. The phenazine compound was analyzed by retention time and UV spectrum, at wavelength 250 nm. After obtaining the optimal conditions of chromatographic condition, the purified phenazine in greenish-yellow form was analyzed

with retention time of 20.4 min (as shown in Figure 4), in which the spectrum of this peak is consistent to previous reported data (Mavrodi et al., 2001).

The purified phenazine was a greenish-yellow needle crystalline solid. It was soluble in dichloromethane and 0.2 M HCl, which give a strong absorbance at 247 nm and accompanied by a broad absorbance at 367 nm, respectively (Mavrodi et al. 2001). IR spectrum of purified compound was 3370, 3163, 1650, 1424, 749 and 613 cm^{-1} . The data showed

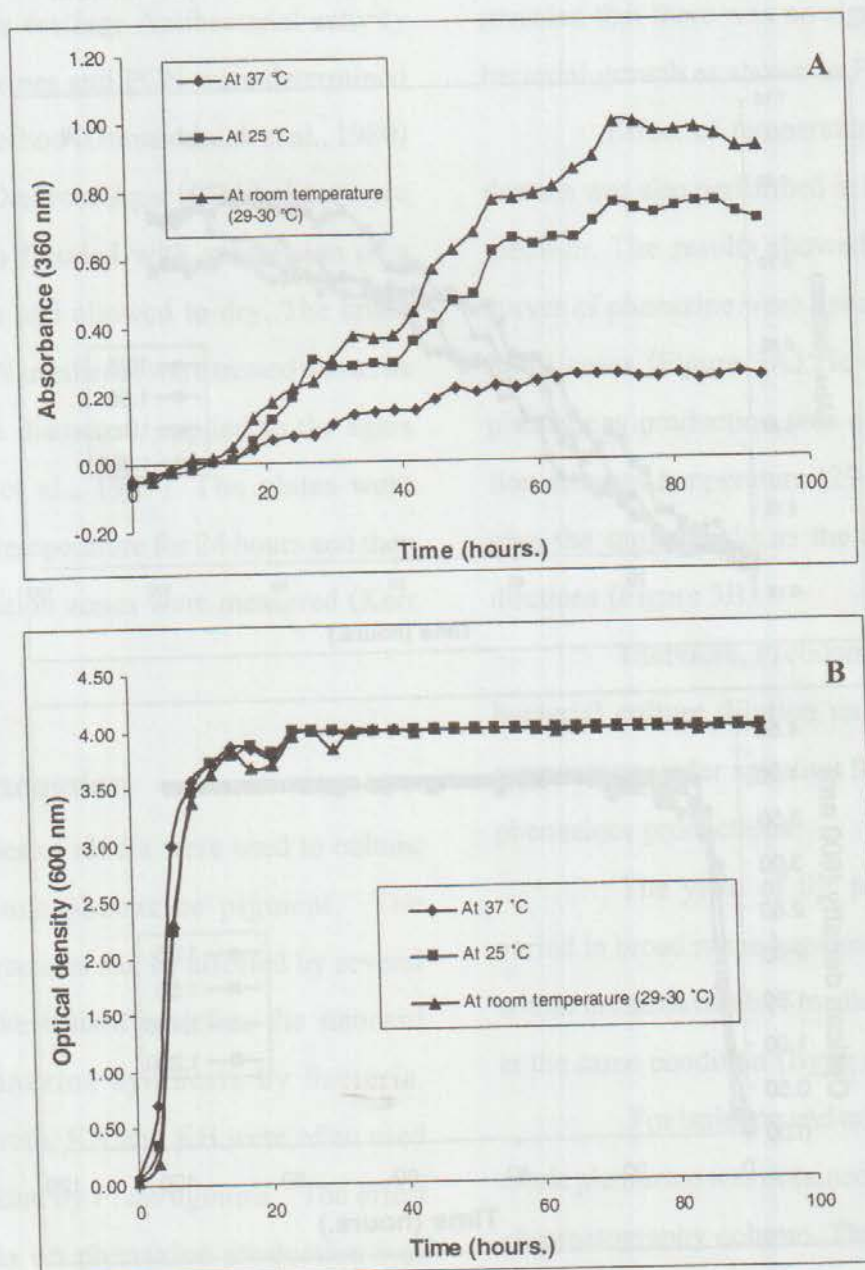


Figure 3 Effect of temperatures on (A) phenazines productions and (B) cells growth.

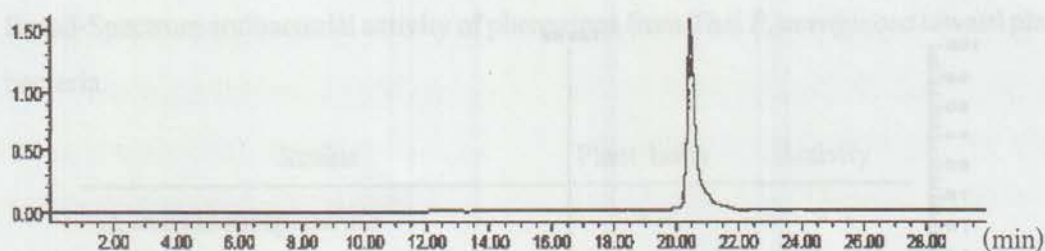


Figure 4 chromatogram of purified phenazine under gradient system.

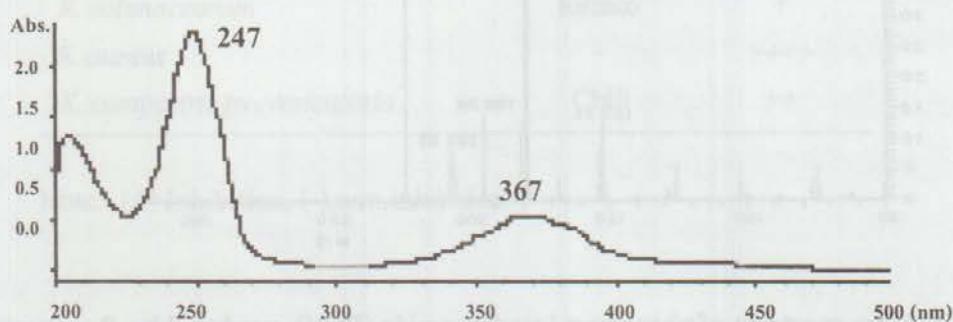


Figure 5 Absorption spectrum of purified phenazine in 0.2 M HCL.

that the compound containing of C=O (1650 cm^{-1}) and N-H (3370 cm^{-1}) function al groups in molecule.

^1H NMR spectrum (400 MHz, CDCl_3) showed signals of seven aromatic protons at δ 9.02 (1H, d, $J=8.2\text{ Hz}$, H-2), 8.50 (1H, d, $J=8.5\text{ Hz}$, H-4), 8.37 (1H, d, $J=8.0\text{ Hz}$, H-6), 8.31 (1H, d, $J=8.2\text{ Hz}$, H-9), 8.00 (1H, t, $J=7.2\text{ Hz}$, H-3), 7.98. (1H, d, $J=7.3\text{ Hz}$, H-8), and 7.95 (1H, d, $J=7.3\text{ Hz}$, H-7). Moreover, ^1H NMR displayed the D_2O exchangeable signal at δ 10.8 ppm (1H brs NH) and 6.55 ppm (1H, brs NH).

^{13}C NMR spectrum of the compound (100 MHz, CDCl_3) showed some peaks of carbon atom at δ 166.0 (s, CONH_2), 141.9 (m, C-4a), 141.5 (m, C-5a) 140.1 (m, C-10a), 140.0 (m, C-9a), 136.2 (s, C-2), 133.9 (m, C-4), 132.0 (m, C-8), 131.7 (m, C-1), 130.4 (m, C-3), 129.2 (m, C-7) and 128.0 (m, C-8). The

MS data showed molecular ion peaks of phenazine compound at m/z 223, 207, 195, 180, 179 and 152 (data not show). On the basis of spectral data and literature review (Chin-A-Woeng et al., 1998 and Kumar et al., 2005,) the bacterial compound is phenazine-1-carboxamide (PCN) (Figure6).

Test of antibacterial activity: The paper disk bioassay with PDA medium, the antibacterial activity was obtained by measuring zones of inhibition (Figure 8). The results showed that crude phenazines and PCN exhibited a broad-spectrum antagonism toward several plant pathogenic microorganisms (Table1). The inhibition zones of crude phenazine greater than inhibition zones of PCN since several phenazines containing in crude phenazines can be produced by this *P. aeruginosa*.

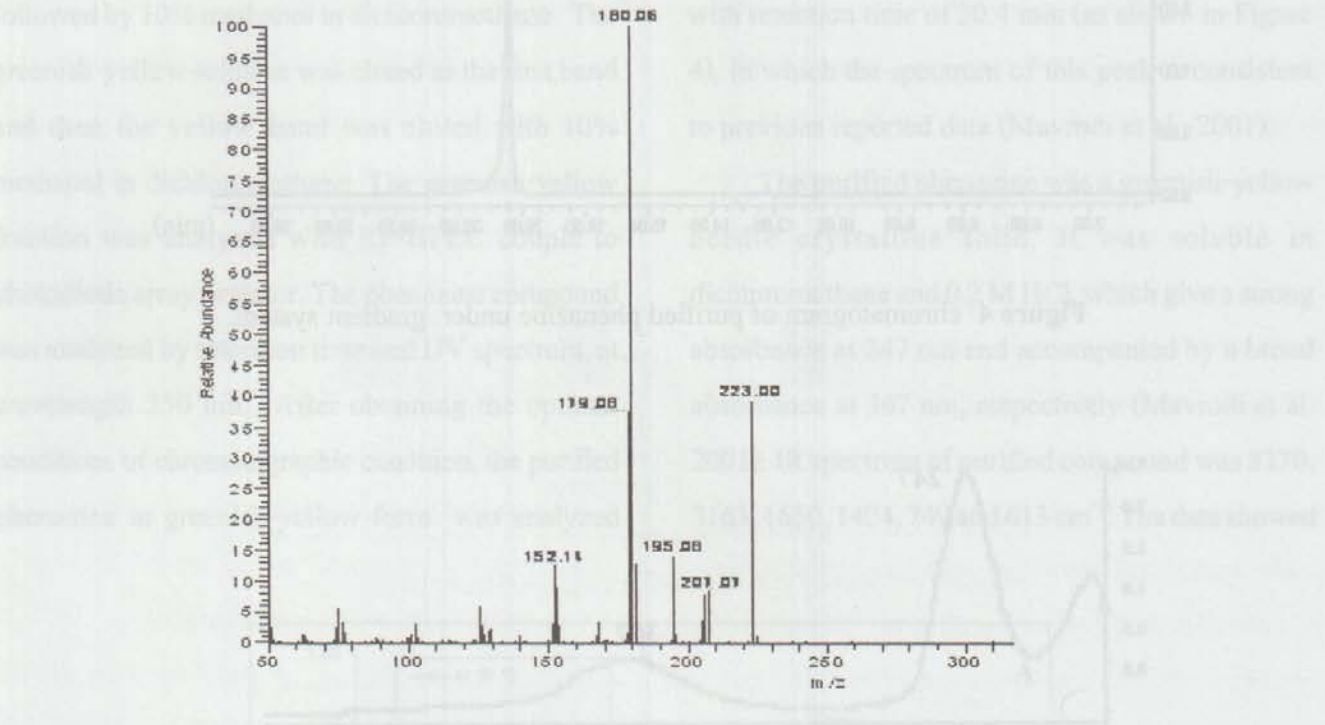


Figure 6 Mass spectrum of phenazine-1-carboxamide (PCN) produced by *P. aeruginosa*.

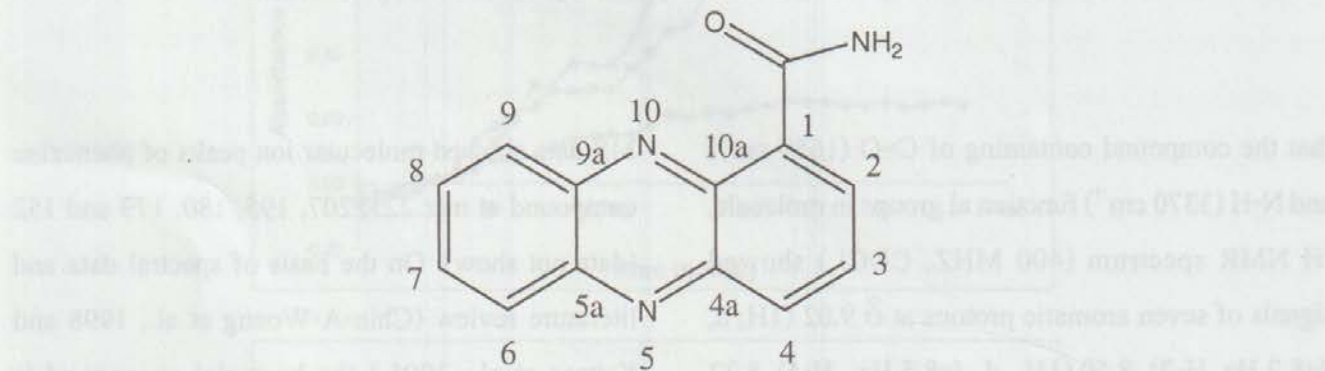


Figure 7 Structure of phenazine-1-carboxamide (PCN) produced by *P. aeruginosa*.

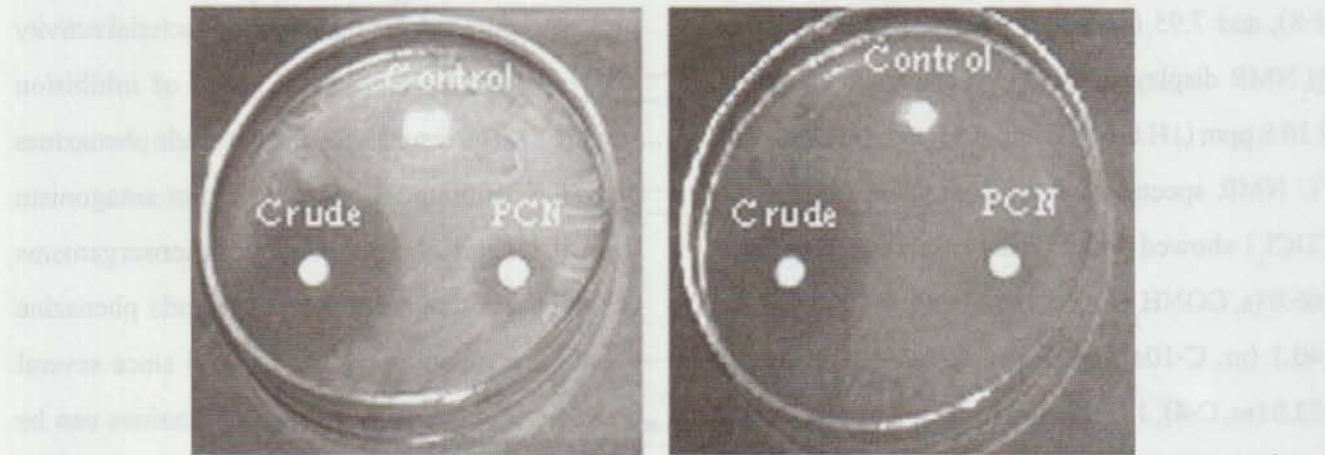


Figure 8 Inhibition zones of phenazines against (A) *S. aureus* and (B) *E. coli*.

Table 1 Broad-Spectrum antibacterial activity of phenazines from Thai *P. aeruginosa* toward plant pathogen bacteria.

Strains	Plant hosts	Activity
<i>A. avenae</i> subsp. <i>citrulli</i>	-	-
<i>B. subtilis</i>	-	++++
<i>E. aerogines</i>	-	-
<i>E. coli</i>	-	++++
<i>E. carotovora</i>	Chinese	++
<i>R. solanacearum</i>	tomato	+
<i>S. aureus</i>	-	++++
<i>X. campestris</i> pv. <i>vesicatoria</i>	Chili	++

Note: (+) Inhibition, (-) non inhibition

Conclusions

The phenazine antibiotic compounds are produced by Thai *P. aeruginosa*. The optimum conditions for is Pseudomonas P broth medium with culture dilution at 1: 50 (v/v) and incubation with agitation for 3 days. Phenazine was isolated and purified by ion exchange column using Amberlite XAD-4 resin, liquid extraction and adsorption chromatography, successively. The compounds were analyzed under gradient system of RP-HPLC with photodiode array detection. The interpretation of the spectral data includes UV, IR, ¹H NMR, ¹³C NMR and MS data, and data from previous studied, which d identified phenazine obtaine as Phenazine-1-carboxamide (PCN). The PCN exhibited antibacterial activity against some plants pathogen bacteria including *R. solanacearum*, *E. carotovora* and *X. campestris* pv. *vesicatoria*.

Acknowledgments

We would like to thank Department of Microbiology, Faculty of Science and Department of Plant Pathology, Faculty of Agriculture, Khon Kaen University for kindly provided the bacterial strains. We gratefully acknowledge The Center for Innovation in Chemistry; Postgraduate Education Research Program in Chemistry (PERCH-CIC), commission on higher education, Ministry of Education for financial support and Khon Kaen University for research grants.

References

Audenaert K., Pattery T., Cornelis P. and Hb̈fte M. (2002) Induction of synthetic resistance to *Botrytis cinerea* in tomato by *Pseudomonas aeruginosa* 7NSK2: role of salicylic acid, pyochelin and pyocyanin. Mol. Plant-Microbe Interact. 15: 1147-1156.

- Brisbane P. G., Janik L. J., Tate M. E. and Worren R. F. O. (1987) Revised structure for the phenazine antibiotic from *Pseudomonas fluorescens* 2-79 (NRRL B-15132). *Antimicrob. Agents Chemother.* 31: 1967-1971.
- Byng G. S., Eustice D. C. and Jensen R. A. (1979) Biosynthesis of phenazine pigments in mutant and wild-type cultures of *Pseudomonas aeruginosa*. *J. Bacteriol.* 138: 846-852.
- Chin-A-Woeng T. F. C., Bloemberg G. V., van der Bij A. J., van der Drift K. M. G. M., Schripsema J., Kroon B., Scheffer R. J., Keel C., Bakker P. A. H. M., Tichy H., Bruijn F. J., Thomas-Oates J. E. and Lugtenberg B. J. J. (1998) Biocontrol by phenazine-1-carboxamide-producing *Pseudomonas chlororaphis* PCL1391 of tomato root rot caused by *Fusarium oxysporum* f. sp. *radicis-lycopersici*. *Mol. Plant-Microbe Interact.* 11: 1069-1077.
- Chin-A-Woeng T. F. C., van den Broek D., De Voer G., van der Drift K. M. G. M., Tuinman S., Thomas-Oates J. E. (2001) Lungtenberg B. J. J. and Bloemberg G. V., Phenazine-1-carboxamide production in the biocontrol strain *Pseudomonas chlororaphis* PCL1391 is regulated by multiple factors secreted into the growth medium. *Mol. Plant-Microbe Interact.* 14: 969-979.
- Dwivedi D. and Johri B. N. (2003) Antifungals from fluorescent *Pseudomonads*: Biosynthesis and regulation. *Curr. Sci.* 12: 1693-1703.
- Ellis R. J., Timms-Wilson T. M. and Bailey M. J. (2000) Identification of conserved traits in fluorescent *Pseudomonads* with antifungal activity. *Environ. Microbiol.* 2: 274-284.
- Fernández R. O. and Pizarro R. A. (1997) High-performance liquid chromatographic analysis of *Pseudomonas aeruginosa* phenazines. *J. Chromatogr. A.* 77: 99-104.
- Frank L. H. and Demoss R. D. (1985) On the biosynthesis of pyocyanin. *J. Bacteriol.* 77: 776-782.
- Gidden S. R., Feng Y. and Mahanty H. K. (2002) Characterization of a novel phenazine antibiotic gene cluster in *Erwinia herbicola* Eh1087. *Mol. Microbiol.* 45(3):769-783.
- Gurusiddaiah S., Weller D. M., Sarkar A. and Cook R. J. (1986) Characterization of an antibiotic produced by a strain of *Pseudomonas fluorescens* inhibitory to *Gaeumannomyces graminis* var. *tritici* and *Pythium* spp. *Antimicrob. Agents Chemother.* 29: 488-495.
- Kanner D., Gerber N. N and Barthe R. (1978) Pattern of phenazine pigment production by a strain of *Pseudomonas aeruginosa*. *J. Bacteriol.* 134: 690-69.
- Kerr J. R., Taylor G. W., Høiby N., Cole P. J. and Wilson R. (1999) *Pseudomonas aeruginosa* pyocyanin and 1-hydroxyphenazine inhibit fungal growth. *J. Clin. Pathol.* 52: 385-387.
- Kumar R. S., Ayyadurai N., Pandiaraja P., Reddy A. V., Venkateswarlu Y., Prakash O. and Sakthivel N. (2005) Characterization of antifungal metabolite produced by a new

- strain *Pseudomonas aeruginosa* PUPa3 that exhibits broad-spectrum antifungal activity and biofertilizing triats. J. Appl. Microbiol. 10: 1-10.
- Leisinger T. and Margranff R. (1979) Secondary metabolites of the fluorescent *Pseudomonads*. Microbiol. Rev. 43: 422-442.
- Mavrodi D. V., Bonsall R. F., Delaney S. M., Soule M. J., Phillips G. and Thomashow L. S. (2001) Functional analysis of genes for biosynthesis of pyocyanin and phenazine-1-carboxamide from *Pseudomonas aeruginosa* PAO1. J. Bacteriol. 183: 6454-6465.
- Ohfuji K., Sato N., Hamada-Sato N., Kobayashi T., Imada C., Okuma H. and Watanabe E. (2004) Construction of a glucose sensor based on a screen-printed electrode and a novel mediator pyocyanin from *Pseudomonas aeruginosa*. Biosens. Bioelectron. 19: 1237-1244.
- Raaijmakers J. M., Vlami M. and De Souza J. T. (2002) Antibiotic production by bacterial biocontrol agents. Antonie van Leeuwenhoek. 81: 537-547.
- Shtark O. Yu., Shaposhnikov A. I. and Kravchenko L. V. (2003) The production of antifungal metabolites by *Pseudomonas chlororaphis* grown on different nutrient sources. Microbiol. 72: 645-650.
- Stead P., Rudd B. A. M., Bradshaw H., Noble D. and Dawson M. J. (1996) Induction of phenazine biosynthesis in cultures of *Pseudomonas aeruginosa* by L-N-(3-oxohexanoyl) homoserine lactone. FEMS Microbiol. 140: 15-22.
- Tambong J. B. and Höfte M. (2001) phenazines are involved in biocontrol of *Pythium myriotylum* on cocoyum by *Pseudomonas aeruginosa* PNA1. Eur. J. Plant. Patho. 107: 511-521.



ข้อแนะนำในการเขียนบทความลงวารสารวิทยาศาสตร์ มข.

ประเภทของเรื่องที่จะตีพิมพ์

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

รูปแบบของการเขียนและเตรียมต้นฉบับ

1. ต้นฉบับ ต้องเป็นตัวพิมพ์ปกติ โดยใช้แบบอักษร Angsana New ขนาด 14 point 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 ถ้าใช้ภาษาไทยภาษาอังกฤษที่ใช้ปนกับภาษาไทยนั้นให้พยายามแปลเป็นไทยเท่าที่จะทำได้ และให้เขียนคำเดิมกำกับในวงเล็บ การทับศัพท์ภาษาอังกฤษ ตลอดทั้งการเขียนตัวสะกด การันต์ ในภาษาไทยให้ใช้ตามแบบราชบัณฑิตยสถาน
7. ในกรณีของบทความวิจัย ต้องมีบทคัดย่อทั้งภาษาไทยและภาษาอังกฤษ และแบ่งเนื้อหาของบทความเป็นบทนำ วิธีดำเนินงาน ผลการวิเคราะห์ บทสรุปและวิจารณ์
8. เชิงอรรถ (footnote) ใช้เฉพาะที่จำเป็นเพื่อขยายหรือให้รายละเอียดเพิ่มเติมแก่ใจความเฉพาะตอนในบทความ
9. ตารางและภาพประกอบ ถ้าบรรยายประกอบตารางหรือภาพประกอบควรจะสั้นและชัดเจน ถ้าเป็นภาพถ่ายให้ใช้ภาพขาว-ดำ ขนาดโปสการ์ด ภาพเขียนลายเส้นควรเขียนด้วยหมึกดำ ภาพที่เขียนต้องชัดเจนและมีขนาดที่เหมาะสม
10. เอกสารอ้างอิง หรือบรรณานุกรม แนะนำให้เขียนตามแบบที่ทางวารสารกำหนด

ส่งต้นฉบับมาที่

กองบรรณาธิการวารสารวิทยาศาสตร์ มข.

คณะวิทยาศาสตร์ มหาวิทยาลัยขอนแก่น 40002

อภิสิทธิ์สำหรับการสำหรับผู้เขียน

เรื่องที่ได้รับการตีพิมพ์ ผู้เขียนจะได้รับวารสารฉบับนั้น 2 เล่ม และสำเนาพิมพ์อีก 15 ชุด

วารสาร

วิทยาศาสตร์มข.

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

ศาสตราจารย์ ดร. วิมลฤดี พิสุทธิกุล

หนังสือในโครงการผลิตตำรา คณะวิทยาศาสตร์ มหาวิทยาลัยขอนแก่น



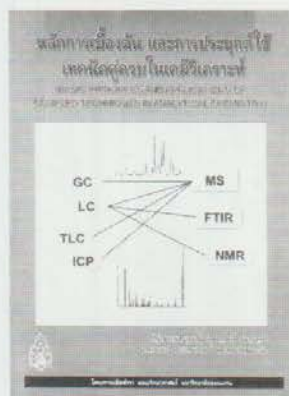
สถิติพื้นฐาน พร้อม
ตัวอย่างการวิเคราะห์
ด้วยโปรแกรม MINITAB
SPSS และ SAS

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



การวิเคราะห์ฟังก์ชัน
ขั้นพื้นฐาน

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



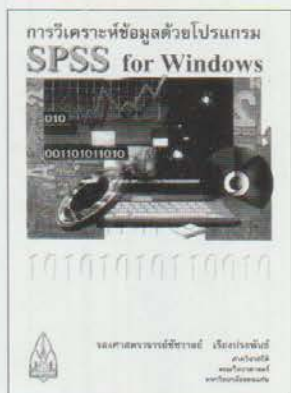
หลักการเบื้องต้นและ
การประยุกต์ใช้เทคนิค
เครื่องมือวิเคราะห์

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



แมงป่องข้าง

ผู้ช่วยศาสตราจารย์ ดร.ศักดา ดาแดง
นางสาวนันท์วัน เอื้อวงศ์กุล
2547 • 64 หน้า
ISBN 974-435-571-9
ราคา 160 บาท



การวิเคราะห์ข้อมูลด้วย
โปรแกรม
SPSS for Windows

รองศาสตราจารย์ชัชวาล เรืองประพันธ์
2544 • 620 หน้า
ISBN 974-654-608-2
ราคา 300 บาท



สเปกโทรสโกปีในการพิสูจน์
โครงสร้างของสารอินทรีย์

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

