การวิเคราะห์หาสารก่อกลายพันธุ์ในน้ำเสียของโรงงานอุตสาหกรรมผลิตถุงมือยางในจังหวัดสงขลา

Determination of Mutagens in Wastewater of Rubber Gloves Manufacturing Plants in Changwat Songkhla

กัญญารัตน์ หลงเศษ

Kanyarat Longsed

วิทยานิพนธ์นี้เป็นส่วนหนึ่งของการศึกษาตามหลักสูตรปริญญา
วิทยาศาสตรมหาบัณฑิต สาขาวิชาการจัดการสิ่งแวดล้อม
มหาวิทยาลัยสงขลานครินทร์

A Thesis Submitted in Partial Fulfillment of the Requirements for the Degree of Master of Science in Environmental Management
Prince of Songkla University

2553

ลิขสิทธิ์ของมหาวิทยาลัยสงขลานครินทร์

ชื่อวิทยานิพนธ์ การวิเคราะห์หาสารก่อกลายพันธุ์ในน้ำเสียของโรงงานอุตสาหกรรมผลิตถุงมือยางในจังหวัดสงขลา

ผู้เขียน นางสาวกัญญารัตน์ หลงเศษ

สาขาวิชา การจัดการสิ่งแวดล้อม

อาจารย์ที่ปรึกษาวิทยานิพนธ์หลัก

.....

(รองศาสตราจารย์ ดร.บรรจง วิทยวีรศักดิ์)

อาจารย์ที่ปรึกษาวิทยานิพนธ์ร่วม

.....

(ผู้ช่วยศาสตราจารย์ ดร.จันทิภา ปุรินทราภิบาล)

คณะกรรมการสอบ

.....ประธานกรรมการ

(ผู้ช่วยศาสตราจารย์ ดร.สุวิทย์ สุวรรณโณ)

.....กรรมการ

(ผู้ช่วยศาสตราจารย์ ดร.วิไลรัตน์ ชีวะเศรษฐธรรม)

.....กรรมการ

(ดร.ปิยาภรณ์ ภาษิตกุล)

.....กรรมการ

(รองศาสตราจารย์ ดร.บรรจง วิทยวีรศักดิ์)

.....กรรมการ

(ผู้ช่วยศาสตราจารย์ ดร.จันทิภา ปุรินทราภิบาล)

บัณฑิตวิทยาลัย มหาวิทยาลัยสงขลานครินทร์ อนุมัติให้นับวิทยานิพนธ์ฉบับนี้เป็นส่วนหนึ่งของการศึกษา ตามหลักสูตรปริญญาวิทยาศาสตรมหาบัณฑิต สาขาวิชาการจัดการสิ่งแวดล้อม

.....

(รองศาสตราจารย์ ดร.เกริกชัย ทองหนู)

คณบดีบัณฑิตวิทยาลัย

ชื่อวิทยานิพนธ์	การวิเคราะห์หาสารก่อกลายพันธุ์ในน้ำเสียของโรงงานอุตสาหกรรมผลิตถุงมือยางในจังหวัดสงขลา
ผู้เขียน	นางสาวกัญญารัตน์ หลงเศษ
สาขาวิชา	การจัดการสิ่งแวดล้อม
ปีการศึกษา	2552

บทคัดย่อ

งานวิจัยนี้มีวัตถุประสงค์เพื่อศึกษาความสามารถก่อกลายพันธุ์และวิเคราะห์ชนิดและปริมาณของสารก่อกลายพันธุ์ในน้ำเสียของโรงงานอุตสาหกรรมถุงผลิตมือยางในจังหวัดสงขลา โดยแบ่งการทดลองออกเป็น 2 ส่วน ได้แก่ การทดสอบความสามารถก่อกลายพันธุ์ของตัวอย่างน้ำเสียด้วยวิธี Ames' test ซึ่งใช้ *Salmonella typhimurium* สายพันธุ์ TA98 และ TA100 ในการทดสอบทั้งในสภาวะที่มีและไม่มีการย่อยสลายด้วยเอนไซม์จากตับหนู (S9 mixture) และการวิเคราะห์ชนิดและปริมาณของสารก่อกลายพันธุ์ในตัวอย่างน้ำเสียด้วยวิธีโครมาโทกราฟีของเหลวสมรรถนะสูง (high performance liquid chromatography, HPLC) คณะผู้วิจัยได้ทำการเก็บตัวอย่างน้ำเสียของโรงงานอุตสาหกรรมผลิตถุงมือยางในจังหวัดสงขลาจำนวน 3 แห่ง โดยเก็บจากทุกบ่อบำบัดของโรงงานทุกวันติดต่อกัน 5 วันในช่วงฤดูร้อน (เดือนเมษายน) ของปี พ.ศ. 2551

ผลการทดสอบความสามารถก่อกลายพันธุ์ของน้ำเสียที่ระดับความเข้มข้นปกติ ไม่พบตัวอย่างใดที่สามารถก่อกลายพันธุ์ได้ แต่ที่ระดับความเข้มข้น 50 เท่าขึ้นไปของความเข้มข้นปกติ พบว่าน้ำเสียจากบ่อบำบัดทุกบ่อของโรงงานทั้ง 3 แห่งมีฤทธิ์ก่อกลายพันธุ์ต่อ *S. typhimurium* สายพันธุ์ TA98 ทั้งในสภาวะปกติและสภาวะที่มีการย่อยสลายด้วยเอนไซม์จากตับหนู ฤทธิ์ก่อกลายพันธุ์นี้สัมพันธ์โดยตรงกับความเข้มข้นของน้ำเสียที่ทดสอบ สรุปได้ว่าน้ำเสียมีสารเคมีที่ก่อให้เกิดการกลายพันธุ์แบบเพิ่มหรือลดจำนวนคู่เบสของ DNA (frameshift mutation)

ผลการวิเคราะห์ชนิดและปริมาณของสารก่อการกลายพันธุ์ พบสารประกอบ tetramethyl thiuram disulphide (TMTD) และ zinc dimethyldithiocarbamate (ZDMC) ในตัวอย่างน้ำเสียที่ความเข้มข้นระหว่าง ตรวจไม่พบ-0.004 มิลลิกรัมต่อลิตร และตรวจไม่พบ-0.078 มิลลิกรัมต่อลิตร เมื่อนำสารเคมีทั้งสองมาทดสอบความสามารถก่อกลายพันธุ์ พบว่าสารประกอบ TMTD มีฤทธิ์ก่อกลายพันธุ์ต่อ *S. typhimurium* สายพันธุ์ TA 98 ในสภาวะที่มีการย่อยสลายด้วยเอนไซม์จากตับหนู และสารประกอบ ZDMC มีฤทธิ์ก่อกลายพันธุ์ต่อ *S. typhimurium* สายพันธุ์ TA 98 ทั้งใน

สภาวะที่มีและไม่มีการย่อยสลายด้วยเอนไซม์จากตับหนู การศึกษาครั้งนี้จึงสรุปได้ว่าพบสารก่อกลายพันธุ์อย่างน้อยสองชนิดในน้ำเสียของโรงงานอุตสาหกรรมผลิตถุงมือยาง ได้แก่ TMTD และ ZDMC ซึ่งมีความเข้มข้นในระดับต่ำจนไม่มีฤทธิ์ก่อกลายพันธุ์เมื่อทดสอบด้วยวิธี Ames' test

Thesis Title	Determination of Mutagens in Wastewater of Rubber Glove Manufacturing Plants in Changwat Songkhla
Author	Miss Kanyarat Longsed
Major Program	Environmental Management
Academic Year	2009

ABSTRACT

The objectives of this study were to investigate the mutagenicity of wastewater within rubber glove manufacturing plants in Songkhla province and to identify and determine mutagens present in the wastewater. The study was divided into two parts including conducting a short-term bacterial mutagenicity test on *S. typhimurium* (Ames' test) strains TA98 and TA100 with and without rat liver enzyme (S9 mixture) and identification of mutagens in the wastewater with ahigh performance liquid chromatograph (HPLC). Wastewater samples were taken daily from every treatment pond of 3 manufacturing plants for 5 consecutive days during dry season of the year 2008.

At a normal concentration, all the samples were found not mutagenic for both strains of *S. typhimurium*. However, when the samples were concentrated to 50 folds or more, they were found mutagenic to *S. typhimurium* strain TA98 in a dose-dependent manner with and without metabolic activation, indicating a frameshift mutation was induced by certain chemicals present in the wastewater

Analysis of the wastewater samples with a high performance liquid chromatograph (HPLC) found peaks of tetramethy thiuram disulfide (TMTD) and zinc dimethyldithiocarbamate (ZDMC) at concentrations between not detected-0.004 mg/L and not detected-0.078 mg/L. It was found that TMTD was mutagenic to *S. typhimurium* strain TA98 with metabolic activation and ZDMC was mutagenic to *S.*

typhimurium strain TA98 with and without metabolic activation. In conclusion these were at test two mutagens in wastewater of rubber glove manufacturing plants including TMTD and ZDMC. Their concentrations were too low to give any mutagenic effect on Ames' test.

กิตติกรรมประกาศ

ผู้เขียนขอขอบพระคุณอย่างสูงในความกรุณาของ รองศาสตราจารย์ ดร. น.สพ.บรรจง วิทยวีรศักดิ์ อาจารย์ที่ปรึกษาวิทยานิพนธ์หลัก ผู้ช่วยศาสตราจารย์ ดร.จันทิภา ปุรินทราภิบาล อาจารย์ที่ปรึกษาวิทยานิพนธ์ร่วม ผู้ช่วยศาสตราจารย์ ดร. สุวิทย์ สุวรรณโณ ผู้ช่วยศาสตราจารย์ ดร. วิไลรัตน์ ชีวะเศรษฐธรรม และดร. ปิยาภรณ์ ภาษิตกุล คณะกรรมการสอบวิทยานิพนธ์ ที่กรุณาให้คำปรึกษา วิจารณ์ ชี้แนะ ตรวจสอบ และแก้ไขข้อบกพร่องในวิทยานิพนธ์เล่มนี้จนสำเร็จเรียบร้อยสมบูรณ์

ขอขอบคุณเจ้าหน้าที่ของโรงงานถุงมือยาง ในจังหวัดสงขลาในการอำนวยความสะดวกในการเก็บตัวอย่าง

ขอขอบคุณบัณฑิตวิทยาลัย และสำนักงานกองทุนสนับสนุนการวิจัย (สกว.) ในการสนับสนุนทุนอุดหนุนการทำวิจัยในครั้งนี้

ขอขอบคุณภาควิชาชีวเวชศาสตร์ คณะแพทย์ศาสตร์ มหาวิทยาลัยสงขลานครินทร์ ที่ได้ให้ความอนุเคราะห์สถานที่ และอุปกรณ์ในการทำวิจัย

ขอขอบคุณ คุณศรีธยา ฤทธิ์ช่วยรอด ที่ให้คำปรึกษา คำแนะนำ ความช่วยเหลือในการใช้เครื่อง HPLC

ขอขอบคุณคณาจารย์ คณะการจัดการสิ่งแวดล้อมทุกท่านที่ได้กรุณาถ่ายทอดความรู้และคำแนะนำต่างๆ ที่เป็นประโยชน์ต่องานวิจัย รวมทั้งเจ้าหน้าที่ประจำคณะการจัดการสิ่งแวดล้อม ที่ให้บริการอย่างเต็มที่ เต็มใจ และรวดเร็วเป็นอย่างยิ่ง

ขอกราบขอบพระคุณ คุณพ่อสะหมาด หลงเศษ คุณแม่หนูพา หลงเศษ รวมถึงน้องๆ ทุกคน เป็นอย่างสูง ที่สนับสนุนเงินทุนในการศึกษา ตลอดจนให้ความรัก ความห่วงใยและเป็นกำลังใจเสมอมา

ท้ายสุดนี้ขอขอบคุณ คุณปิ่นรัตน์ สิริพันธ์พงศ์ คุณศิริพร กลอดแก้ว ตลอดจน พี่ๆ เพื่อนๆ และน้องๆ นักศึกษาปริญญาโท หลักสูตรวิทยาศาสตร์มหาบัณฑิต (การจัดการสิ่งแวดล้อม) มหาวิทยาลัยสงขลานครินทร์ ทุกท่านที่ได้ร่วมเรียน ร่วมฝันฝ่าอุปสรรค และเป็นกำลังใจซึ่งกันและกันมาโดยตลอด ขอขอบคุณความดี และประโยชน์ทั้งหลายที่เกิดจากการทำวิจัยครั้งนี้ แด่ทุกท่านที่มีส่วนร่วมทำให้วิทยานิพนธ์ฉบับนี้สำเร็จลุล่วงไปด้วยดี

กัญญารัตน์ หลงเศษ

สารบัญ

	หน้า
บทคัดย่อ	(3)
Abstract	(5)
กิตติกรรมประกาศ	(7)
สารบัญ	(8)
รายการตาราง	(9)
รายการตารางประกอบภาคผนวก	(11)
รายการภาพประกอบ	(19)
รายการภาพประกอบภาคผนวก	(21)
บทที่	
1. บทนำ	1
บทนำต้นเรื่อง	1
การตรวจเอกสาร	3
วัตถุประสงค์	21
ประโยชน์ที่คาดว่าจะได้รับ	21
2. วัสดุ อุปกรณ์ และวิธีการวิจัย	22
3. ผลและวิจารณ์ผลการทดลอง	30
4. สรุปผลการทดลอง	59
ข้อเสนอแนะ	60
บรรณานุกรม	61
ภาคผนวก	66
ประวัติผู้เขียน	153

รายการตาราง

ตารางที่		หน้า
3-1	ผลการทดสอบความสามารถก่อกลายพันธุ์ของ *S. typhimurium* สายพันธุ์ TA98 ที่ระดับความเข้มข้น 50 เท่าในสภาวะที่มีและไม่มีการย่อยด้วยเอ็นไซม์ของตับหนู	33
3-2	ผลการทดสอบความสามารถก่อกลายพันธุ์ของ *S. typhimurium* สายพันธุ์ TA98 ที่ระดับความเข้มข้น 100 เท่าในสภาวะที่มีและไม่มีการย่อยด้วยเอ็นไซม์ของตับ	34
3-3	ผลการทดสอบความสามารถก่อกลายพันธุ์ของ *S. typhimurium* สายพันธุ์ TA98 ที่ระดับความเข้มข้น 200 เท่าในสภาวะที่มีและไม่มีการย่อยด้วยเอ็นไซม์ของตับหนู	35
3-4	ผลการทดสอบความสามารถก่อกลายพันธุ์ของ *S. typhimurium* สายพันธุ์ TA100 ที่ระดับความเข้มข้น 50 เท่าในสภาวะที่มีและไม่มีการย่อยด้วยเอ็นไซม์ของตับหนู	37
3-5	ผลการทดสอบความสามารถก่อกลายพันธุ์ของ *S. typhimurium* สายพันธุ์ TA100 ที่ระดับความเข้มข้น 100 เท่าในสภาวะที่มีและไม่มีการย่อยด้วยเอ็นไซม์ของตับหนู	38
3-6	ผลการทดสอบความสามารถก่อกลายพันธุ์ของ *S. typhimurium* สายพันธุ์ TA100 ที่ระดับความเข้มข้น 200 เท่าในสภาวะที่มีและไม่มีการย่อยด้วยเอ็นไซม์ของตับหนู	39
3-7	Retention time ของสารเคมีที่ใช้ในกระบวนการวัลคาไนซ์	45
3-8	Retention time ของตัวอย่างน้ำเสียที่มีสารประกอบ ZDMC	45
3-9	Retention time ของตัวอย่างน้ำเสียที่มีสารประกอบ ZDMC	45
3-10	ปริมาณของสารประกอบ TMTD ในตัวอย่างน้ำเสียจากโรงงานผลิตถุงมือยาง	51
3-11	ปริมาณของสารประกอบ ZDMC ในตัวอย่างน้ำเสียจากโรงงานผลิตถุงมือยาง	52
3-12	การหาค่า % recovery ของการวิเคราะห์หาปริมาณสารประกอบ TMTD	53
3-13	การหาค่า % recovery ของการวิเคราะห์หาปริมาณสารประกอบ ZDMC	53
3-14	ผลการทดสอบความสามารถก่อกลายพันธุ์ของเชื้อ *S. typhimurium* สายพันธุ์ TA98 ที่กลายพันธุ์ในสภาวะที่มีและไม่มี S9 mixture ของสารบริสุทธิ์ TMTD	54
3-15	ผลการทดสอบความสามารถก่อกลายพันธุ์ของเชื้อ *S. typhimurium* สายพันธุ์ TA100 ที่กลายพันธุ์ในสภาวะที่มีและไม่มี S9 mixture ของสารบริสุทธิ์ TMTD	55

รายการตาราง (ต่อ)

ตารางที่		หน้า
3-16	ผลการทดสอบความสามารถก่อกลายพันธุ์ของเชื้อ *S. typhimurium* สายพันธุ์ TA98 ที่กลายพันธุ์ในสภาวะที่มีและไม่มี S9 mixture ของสารบริสุทธิ์ ZDMC	56
3-17	ผลการทดสอบความสามารถก่อกลายพันธุ์ของเชื้อ *S. typhimurium* สายพันธุ์ TA100 ที่กลายพันธุ์ในสภาวะที่มีและไม่มี S9 mixture ของสารบริสุทธิ์ ZDMC	56

รายการตารางภาคผนวก

ตารางภาคผนวกที่		หน้า
ค-1	จำนวนโคโลนีของเชื้อ *Salmonella typhimurium* สายพันธุ์ TA98 ที่กลายพันธุ์ในสภาวะที่ไม่มี S9 mixture ที่เจริญเติบโตในตัวอย่างสกัดของน้ำเสียจากโรงงานถุงมือยางโรงที่ 1 เก็บ ณ วันที่ 1	72
ค-2	จำนวนโคโลนีของเชื้อ *Salmonella typhimurium* สายพันธุ์ TA98 ที่กลายพันธุ์ในสภาวะที่ไม่มี S9 mixture ที่เจริญเติบโตในตัวอย่างสกัดของน้ำเสียจากโรงงานถุงมือยางโรงที่ 1 เก็บ ณ วันที่ 2	73
ค-3	จำนวนโคโลนีของเชื้อ *Salmonella typhimurium* สายพันธุ์ TA98 ที่กลายพันธุ์ในสภาวะที่ไม่มี S9 mixture ที่เจริญเติบโตในตัวอย่างสกัดของน้ำเสียจากโรงงานถุงมือยางโรงที่ 1 เก็บ ณ วันที่ 3	74
ค-4	จำนวนโคโลนีของเชื้อ *Salmonella typhimurium* สายพันธุ์ TA98 ที่กลายพันธุ์ในสภาวะที่ไม่มี S9 mixture ที่เจริญเติบโตในตัวอย่างสกัดของน้ำเสียจากโรงงานถุงมือยางโรงที่ 1 เก็บ ณ วันที่ 4	75
ค-5	จำนวนโคโลนีของเชื้อ *Salmonella typhimurium* สายพันธุ์ TA98 ที่กลายพันธุ์ในสภาวะที่ไม่มี S9 mixture ที่เจริญเติบโตในตัวอย่างสกัดของน้ำเสียจากโรงงานถุงมือยางโรงที่ 1 เก็บ ณ วันที่ 5	76
ค-6	จำนวนโคโลนีของเชื้อ *Salmonella typhimurium* สายพันธุ์ TA98 ที่กลายพันธุ์ในสภาวะที่ไม่มี S9 mixture ที่เจริญเติบโตในตัวอย่างสกัดของน้ำเสียจากโรงงานถุงมือยางโรงที่ 2 เก็บ ณ วันที่ 1	77
ค-7	จำนวนโคโลนีของเชื้อ *Salmonella typhimurium* สายพันธุ์ TA98 ที่กลายพันธุ์ในสภาวะที่ไม่มี S9 mixture ที่เจริญเติบโตในตัวอย่างสกัดของน้ำเสียจากโรงงานถุงมือยางโรงที่ 2 เก็บ ณ วันที่ 2	78
ค-8	จำนวนโคโลนีของเชื้อ *Salmonella typhimurium* สายพันธุ์ TA98 ที่กลายพันธุ์ในสภาวะที่ไม่มี S9 mixture ที่เจริญเติบโตในตัวอย่างสกัดของน้ำเสียจากโรงงานถุงมือยางโรงที่ 2 เก็บ ณ วันที่ 3	79

รายการตารางภาคผนวก (ต่อ)

ตารางภาคผนวกที่		หน้า
ค-9	จำนวนโคโลนีของเชื้อ *Salmonella typhimurium* สายพันธุ์ TA98 ที่กลายพันธุ์ในสภาวะที่ไม่มี S9 mixture ที่เจริญเติบโตใน ตัวอย่างสกัดของน้ำเสียจากโรงงานถุงมือยางโรงที่ 2 เก็บ ณ วันที่ 4	80
ค-10	จำนวนโคโลนีของเชื้อ *Salmonella typhimurium* สายพันธุ์ TA98 ที่กลายพันธุ์ในสภาวะที่ไม่มี S9 mixture ที่เจริญเติบโตใน ตัวอย่างสกัดของน้ำเสียจากโรงงานถุงมือยางโรงที่ 2 เก็บ ณ วันที่ 5	81
ค-11	จำนวนโคโลนีของเชื้อ *Salmonella typhimurium* สายพันธุ์ TA98 ที่กลายพันธุ์ในสภาวะที่ไม่มี S9 mixture ที่เจริญเติบโตใน ตัวอย่างสกัดของน้ำเสียจากโรงงานถุงมือยางโรงที่ 3 เก็บ ณ วันที่ 1	82
ค-12	จำนวนโคโลนีของเชื้อ *Salmonella typhimurium* สายพันธุ์ TA98 ที่กลายพันธุ์ในสภาวะที่ไม่มี S9 mixture ที่เจริญเติบโตใน ตัวอย่างสกัดของน้ำเสียจากโรงงานถุงมือยางโรงที่ 3 เก็บ ณ วันที่ 2	83
ค-13	จำนวนโคโลนีของเชื้อ *Salmonella typhimurium* สายพันธุ์ TA98 ที่กลายพันธุ์ในสภาวะที่ไม่มี S9 mixture ที่เจริญเติบโตใน ตัวอย่างสกัดของน้ำเสียจากโรงงานถุงมือยางโรงที่ 3 เก็บ ณ วันที่ 3	84
ค-14	จำนวนโคโลนีของเชื้อ *Salmonella typhimurium* สายพันธุ์ TA98 ที่กลายพันธุ์ในสภาวะที่ไม่มี S9 mixture ที่เจริญเติบโตใน ตัวอย่างสกัดของน้ำเสียจากโรงงานถุงมือยางโรงที่ 3 เก็บ ณ วันที่ 4	85
ค-15	จำนวนโคโลนีของเชื้อ *Salmonella typhimurium* สายพันธุ์ TA98 ที่กลายพันธุ์ในสภาวะที่ไม่มี S9 mixture ที่เจริญเติบโตใน ตัวอย่างสกัดของน้ำเสียจากโรงงานถุงมือยางโรงที่ 3 เก็บ ณ วันที่ 5	86
ค-16	จำนวนโคโลนีของเชื้อ *Salmonella typhimurium* สายพันธุ์ TA98 ที่กลายพันธุ์ในสภาวะที่มี S9 mixture ที่เจริญเติบโตใน ตัวอย่างสกัดของน้ำเสียจากโรงงานถุงมือยางโรงที่ 1 เก็บ ณ วันที่ 1	87
ค-17	จำนวนโคโลนีของเชื้อ *Salmonella typhimurium* สายพันธุ์ TA98 ที่กลายพันธุ์ในสภาวะที่มี S9 mixture ที่เจริญเติบโตใน ตัวอย่างสกัดของน้ำเสียจากโรงงานถุงมือยางโรงที่ 1 เก็บ ณ วันที่ 2	88

รายการตารางภาคผนวก (ต่อ)

ตารางภาคผนวกที่		หน้า
ค-18	จำนวนโคโลนีของเชื้อ *Salmonella typhimurium* สายพันธุ์ TA98 ที่กลายพันธุ์ในสภาวะที่มี S9 mixture ที่เจริญเติบโตใน ตัวอย่างสกัดของน้ำเสียจากโรงงานถุงมือยางโรงที่ 1 เก็บ ณ วันที่ 3	89
ค-19	จำนวนโคโลนีของเชื้อ *Salmonella typhimurium* สายพันธุ์ TA98 ที่กลายพันธุ์ในสภาวะที่มี S9 mixture ที่เจริญเติบโตใน ตัวอย่างสกัดของน้ำเสียจากโรงงานถุงมือยางโรงที่ 1 เก็บ ณ วันที่ 4	90
ค-20	จำนวนโคโลนีของเชื้อ *Salmonella typhimurium* สายพันธุ์ TA98 ที่กลายพันธุ์ในสภาวะที่มี S9 mixture ที่เจริญเติบโตใน ตัวอย่างสกัดของน้ำเสียจากโรงงานถุงมือยางโรงที่ 1 เก็บ ณ วันที่ 5	91
ค-21	จำนวนโคโลนีของเชื้อ *Salmonella typhimurium* สายพันธุ์ TA98 ที่กลายพันธุ์ในสภาวะที่มี S9 mixture ที่เจริญเติบโตใน ตัวอย่างสกัดของน้ำเสียจากโรงงานถุงมือยางโรงที่ 2 เก็บ ณ วันที่ 1	92
ค-22	จำนวนโคโลนีของเชื้อ *Salmonella typhimurium* สายพันธุ์ TA98 ที่กลายพันธุ์ในสภาวะที่มี S9 mixture ที่เจริญเติบโตใน ตัวอย่างสกัดของน้ำเสียจากโรงงานถุงมือยางโรงที่ 2 เก็บ ณ วันที่ 2	93
ค-23	จำนวนโคโลนีของเชื้อ *Salmonella typhimurium* สายพันธุ์ TA98 ที่กลายพันธุ์ในสภาวะที่มี S9 mixture ที่เจริญเติบโตใน ตัวอย่างสกัดของน้ำเสียจากโรงงานถุงมือยางโรงที่ 2 เก็บ ณ วันที่ 3	94
ค-24	จำนวนโคโลนีของเชื้อ *Salmonella typhimurium* สายพันธุ์ TA98 ที่กลายพันธุ์ในสภาวะที่มี S9 mixture ที่เจริญเติบโตใน ตัวอย่างสกัดของน้ำเสียจากโรงงานถุงมือยางโรงที่ 2 เก็บ ณ วันที่ 4	95
ค-25	จำนวนโคโลนีของเชื้อ *Salmonella typhimurium* สายพันธุ์ TA98 ที่กลายพันธุ์ในสภาวะที่มี S9 mixture ที่เจริญเติบโตใน ตัวอย่างสกัดของน้ำเสียจากโรงงานถุงมือยางโรงที่ 2 เก็บ ณ วันที่ 5	96
ค-26	จำนวนโคโลนีของเชื้อ *Salmonella typhimurium* สายพันธุ์ TA98 ที่กลายพันธุ์ในสภาวะที่มี S9 mixture ที่เจริญเติบโตใน ตัวอย่างสกัดของน้ำเสียจากโรงงานถุงมือยางโรงที่ 3 เก็บ ณ วันที่ 1	97

รายการตารางภาคผนวก (ต่อ)

ตารางภาคผนวกที่		หน้า
ค-27	จำนวนโคโลนีของเชื้อ *Salmonella typhimurium* สายพันธุ์ TA98 ที่กลายพันธุ์ในสภาวะที่มี S9 mixture ที่เจริญเติบโตในตัวอย่างสกัดของน้ำเสียจากโรงงานถุงมือยางโรงที่ 3 เก็บ ณ วันที่ 2	98
ค-28	จำนวนโคโลนีของเชื้อ *Salmonella typhimurium* สายพันธุ์ TA98 ที่กลายพันธุ์ในสภาวะที่มี S9 mixture ที่เจริญเติบโตในตัวอย่างสกัดของน้ำเสียจากโรงงานถุงมือยางโรงที่ 3 เก็บ ณ วันที่ 3	99
ค-29	จำนวนโคโลนีของเชื้อ *Salmonella typhimurium* สายพันธุ์ TA98 ที่กลายพันธุ์ในสภาวะที่มี S9 mixture ที่เจริญเติบโตในตัวอย่างสกัดของน้ำเสียจากโรงงานถุงมือยางโรงที่ 3 เก็บ ณ วันที่ 4	100
ค-30	จำนวนโคโลนีของเชื้อ *Salmonella typhimurium* สายพันธุ์ TA98 ที่กลายพันธุ์ในสภาวะที่มี S9 mixture ที่เจริญเติบโตในตัวอย่างสกัดของน้ำเสียจากโรงงานถุงมือยางโรงที่ 3 เก็บ ณ วันที่ 5	101
ค-31	จำนวนโคโลนีของเชื้อ *Salmonella typhimurium* สายพันธุ์ TA100 ที่กลายพันธุ์ในสภาวะที่ไม่มี S9 mixture ที่เจริญเติบโตในตัวอย่างสกัดของน้ำเสียจากโรงงานถุงมือยางโรงที่ 1 เก็บ ณ วันที่ 1	102
ค-32	จำนวนโคโลนีของเชื้อ *Salmonella typhimurium* สายพันธุ์ TA100 ที่กลายพันธุ์ในสภาวะที่ไม่มี S9 mixture ที่เจริญเติบโตในตัวอย่างสกัดของน้ำเสียจากโรงงานถุงมือยางโรงที่ 1 เก็บ ณ วันที่ 2	103
ค-33	จำนวนโคโลนีของเชื้อ *Salmonella typhimurium* สายพันธุ์ TA100 ที่กลายพันธุ์ในสภาวะที่ไม่มี S9 mixture ที่เจริญเติบโตในตัวอย่างสกัดของน้ำเสียจากโรงงานถุงมือยางโรงที่ 1 เก็บ ณ วันที่ 3	104
ค-34	จำนวนโคโลนีของเชื้อ *Salmonella typhimurium* สายพันธุ์ TA100 ที่กลายพันธุ์ในสภาวะที่ไม่มี S9 mixture ที่เจริญเติบโตในตัวอย่างสกัดของน้ำเสียจากโรงงานถุงมือยางโรงที่ 1 เก็บ ณ วันที่ 4	105

รายการตารางภาคผนวก (ต่อ)

ตารางภาคผนวกที่		หน้า
ค-35	จำนวนโคโลนีของเชื้อ *Salmonella typhimurium* สายพันธุ์ TA100 ที่กลายพันธุ์ในสภาวะที่ไม่มี S9 mixture ที่เจริญเติบโตในตัวอย่างสกัดของน้ำเสียจากโรงงานถุงมือยางโรงที่ 1 เก็บ ณ วันที่ 5	106
ค-36	จำนวนโคโลนีของเชื้อ *Salmonella typhimurium* สายพันธุ์ TA100 ที่กลายพันธุ์ในสภาวะที่ไม่มี S9 mixture ที่เจริญเติบโตในตัวอย่างสกัดของน้ำเสียจากโรงงานถุงมือยางโรงที่ 2 เก็บ ณ วันที่ 1	107
ค-37	จำนวนโคโลนีของเชื้อ *Salmonella typhimurium* สายพันธุ์ TA100 ที่กลายพันธุ์ในสภาวะที่ไม่มี S9 mixture ที่เจริญเติบโตในตัวอย่างสกัดของน้ำเสียจากโรงงานถุงมือยางโรงที่ 2 เก็บ ณ วันที่ 2	108
ค-38	จำนวนโคโลนีของเชื้อ *Salmonella typhimurium* สายพันธุ์ TA100 ที่กลายพันธุ์ในสภาวะที่ไม่มี S9 mixture ที่เจริญเติบโตในตัวอย่างสกัดของน้ำเสียจากโรงงานถุงมือยางโรงที่ 2 เก็บ ณ วันที่ 3	109
ค-39	จำนวนโคโลนีของเชื้อ *Salmonella typhimurium* สายพันธุ์ TA100 ที่กลายพันธุ์ในสภาวะที่ไม่มี S9 mixture ที่เจริญเติบโตในตัวอย่างสกัดของน้ำเสียจากโรงงานถุงมือยางโรงที่ 2 เก็บ ณ วันที่ 4	110
ค-40	จำนวนโคโลนีของเชื้อ *Salmonella typhimurium* สายพันธุ์ TA100 ที่กลายพันธุ์ในสภาวะที่ไม่มี S9 mixture ที่เจริญเติบโตในตัวอย่างสกัดของน้ำเสียจากโรงงานถุงมือยางโรงที่ 2 เก็บ ณ วันที่ 5	111
ค-41	จำนวนโคโลนีของเชื้อ *Salmonella typhimurium* สายพันธุ์ TA100 ที่กลายพันธุ์ในสภาวะที่ไม่มี S9 mixture ที่เจริญเติบโตในตัวอย่างสกัดของน้ำเสียจากโรงงานถุงมือยางโรงที่ 3 เก็บ ณ วันที่ 1	112
ค-42	จำนวนโคโลนีของเชื้อ *Salmonella typhimurium* สายพันธุ์ TA100 ที่กลายพันธุ์ในสภาวะที่ไม่มี S9 mixture ที่เจริญเติบโตในตัวอย่างสกัดของน้ำเสียจากโรงงานถุงมือยางโรงที่ 3 เก็บ ณ วันที่ 2	113

รายการตารางภาคผนวก (ต่อ)

ตารางภาคผนวกที่		หน้า
ค-43	จำนวนโคโลนีของเชื้อ *Salmonella typhimurium* สายพันธุ์ TA100 ที่กลายพันธุ์ในสภาวะที่ไม่มี S9 mixture ที่เจริญเติบโตในตัวอย่างสกัดของน้ำเสียจากโรงงานถุงมือยางโรงที่ 3 เก็บ ณ วันที่ 3	114
ค-44	จำนวนโคโลนีของเชื้อ *Salmonella typhimurium* สายพันธุ์ TA100 ที่กลายพันธุ์ในสภาวะที่ไม่มี S9 mixture ที่เจริญเติบโตในตัวอย่างสกัดของน้ำเสียจากโรงงานถุงมือยางโรงที่ 3 เก็บ ณ วันที่ 4	115
ค-45	จำนวนโคโลนีของเชื้อ *Salmonella typhimurium* สายพันธุ์ TA100 ที่กลายพันธุ์ในสภาวะที่ไม่มี S9 mixture ที่เจริญเติบโตในตัวอย่างสกัดของน้ำเสียจากโรงงานถุงมือยางโรงที่ 3 เก็บ ณ วันที่ 5	116
ค-46	จำนวนโคโลนีของเชื้อ *Salmonella typhimurium* สายพันธุ์ TA100 ที่กลายพันธุ์ในสภาวะที่มี S9 mixture ที่เจริญเติบโตในตัวอย่างสกัดของน้ำเสียจากโรงงานถุงมือยางโรงที่ 1 เก็บ ณ วันที่ 1	117
ค-47	จำนวนโคโลนีของเชื้อ *Salmonella typhimurium* สายพันธุ์ TA100 ที่กลายพันธุ์ในสภาวะที่มี S9 mixture ที่เจริญเติบโตในตัวอย่างสกัดของน้ำเสียจากโรงงานถุงมือยางโรงที่ 1 เก็บ ณ วันที่ 2	118
ค-48	จำนวนโคโลนีของเชื้อ *Salmonella typhimurium* สายพันธุ์ TA100 ที่กลายพันธุ์ในสภาวะที่มี S9 mixture ที่เจริญเติบโตในตัวอย่างสกัดของน้ำเสียจากโรงงานถุงมือยางโรงที่ 1 เก็บ ณ วันที่ 3	119
ค-49	จำนวนโคโลนีของเชื้อ *Salmonella typhimurium* สายพันธุ์ TA100 ที่กลายพันธุ์ในสภาวะที่มี S9 mixture ที่เจริญเติบโตในตัวอย่างสกัดของน้ำเสียจากโรงงานถุงมือยางโรงที่ 1 เก็บ ณ วันที่ 4	120
ค-50	จำนวนโคโลนีของเชื้อ *Salmonella typhimurium* สายพันธุ์ TA100 ที่กลายพันธุ์ในสภาวะที่มี S9 mixture ที่เจริญเติบโตในตัวอย่างสกัดของน้ำเสียจากโรงงานถุงมือยางโรงที่ 1 เก็บ ณ วันที่ 5	121

รายการตารางภาคผนวก (ต่อ)

ตารางภาคผนวกที่		หน้า
ค-51	จำนวนโคโลนีของเชื้อ *Salmonella typhimurium* สายพันธุ์ TA100 ที่กลายพันธุ์ในสภาวะที่มี S9 mixture ที่เจริญเติบโตใน ตัวอย่างสกัดของน้ำเสียจากโรงงานถุงมือยางโรงที่ 2 เก็บ ณ วันที่ 1	122
ค-52	จำนวนโคโลนีของเชื้อ *Salmonella typhimurium* สายพันธุ์ TA100 ที่กลายพันธุ์ในสภาวะที่มี S9 mixture ที่เจริญเติบโตใน ตัวอย่างสกัดของน้ำเสียจากโรงงานถุงมือยางโรงที่ 2 เก็บ ณ วันที่ 2	123
ค-53	จำนวนโคโลนีของเชื้อ *Salmonella typhimurium* สายพันธุ์ TA100 ที่กลายพันธุ์ในสภาวะที่มี S9 mixture ที่เจริญเติบโตใน ตัวอย่างสกัดของน้ำเสียจากโรงงานถุงมือยางโรงที่ 2 เก็บ ณ วันที่ 3	124
ค-54	จำนวนโคโลนีของเชื้อ *Salmonella typhimurium* สายพันธุ์ TA100 ที่กลายพันธุ์ในสภาวะที่มี S9 mixture ที่เจริญเติบโตใน ตัวอย่างสกัดของน้ำเสียจากโรงงานถุงมือยางโรงที่ 2 เก็บ ณ วันที่ 4	125
ค-55	จำนวนโคโลนีของเชื้อ *Salmonella typhimurium* สายพันธุ์ TA100 ที่กลายพันธุ์ในสภาวะที่มี S9 mixture ที่เจริญเติบโตใน ตัวอย่างสกัดของน้ำเสียจากโรงงานถุงมือยางโรงที่ 2 เก็บ ณ วันที่ 5	126
ค-56	จำนวนโคโลนีของเชื้อ *Salmonella typhimurium* สายพันธุ์ TA100 ที่กลายพันธุ์ในสภาวะที่มี S9 mixture ที่เจริญเติบโตใน ตัวอย่างสกัดของน้ำเสียจากโรงงานถุงมือยางโรงที่ 3 เก็บ ณ วันที่ 1	127
ค-57	จำนวนโคโลนีของเชื้อ *Salmonella typhimurium* สายพันธุ์ TA100 ที่กลายพันธุ์ในสภาวะที่มี S9 mixture ที่เจริญเติบโตใน ตัวอย่างสกัดของน้ำเสียจากโรงงานถุงมือยางโรงที่ 3 เก็บ ณ วันที่ 2	128
ค-58	จำนวนโคโลนีของเชื้อ *Salmonella typhimurium* สายพันธุ์ TA100 ที่กลายพันธุ์ในสภาวะที่มี S9 mixture ที่เจริญเติบโตใน ตัวอย่างสกัดของน้ำเสียจากโรงงานถุงมือยางโรงที่ 2-เก็บ ณ วันที่ 3	129

รายการตารางภาคผนวก (ต่อ)

ตารางภาคผนวกที่		หน้า
ค-59	จำนวนโคโลนีของเชื้อ *Salmonella typhimurium* สายพันธุ์ TA100 ที่กลายพันธุ์ในสภาวะที่มี S9 mixture ที่เจริญเติบโตใน ตัวอย่างสกัดของน้ำเสียจากโรงงานถุงมือยางโรงที่ 3 เก็บ ณ วันที่ 4	130
ค-60	จำนวนโคโลนีของเชื้อ *Salmonella typhimurium* สายพันธุ์ TA100 ที่กลายพันธุ์ในสภาวะที่มี S9 mixture ที่เจริญเติบโตใน ตัวอย่างสกัดของน้ำเสียจากโรงงานถุงมือยางโรงที่ 3 เก็บ ณ วันที่ 5	131
ง-1	จำนวนโคโลนีของเชื้อ *S. typhimurium* สายพันธุ์ TA98 ที่กลายพันธุ์ในสภาวะที่ไม่มี S9 mixture ของสารบริสุทธิ์ TMTD	133
ง-2	จำนวนโคโลนีของเชื้อ *S. typhimurium* สายพันธุ์ TA98 ที่กลายพันธุ์ในสภาวะที่มี S9 mixture ของสารบริสุทธิ์ TMTD	134
ง-3	จำนวนโคโลนีของเชื้อ *S. typhimurium* สายพันธุ์ TA100 ที่กลายพันธุ์ในสภาวะที่ไม่มี S9 mixture ของสารบริสุทธิ์ TMTD	135
ง-4	จำนวนโคโลนีของเชื้อ *S. typhimurium* สายพันธุ์ TA100 ที่กลายพันธุ์ในสภาวะที่มี S9 mixture ของสารบริสุทธิ์ TMTD	136
ง-5	จำนวนโคโลนีของเชื้อ *S. typhimurium* สายพันธุ์ TA98 ที่กลายพันธุ์ในสภาวะที่ไม่มี S9 mixture ของสารบริสุทธิ์ ZDMC	137
ง-6	จำนวนโคโลนีของเชื้อ *S. typhimurium* สายพันธุ์ TA98 ที่กลายพันธุ์ในสภาวะที่มี S9 mixture ของสารบริสุทธิ์ ZDMC	138
ง-7	จำนวนโคโลนีของเชื้อ *S. typhimurium* สายพันธุ์ TA100 ที่กลายพันธุ์ในสภาวะที่ไม่มี S9 mixture ของสารบริสุทธิ์ ZDMC	139
ง-8	จำนวนโคโลนีของเชื้อ *S. typhimurium* สายพันธุ์ TA100 ที่กลายพันธุ์ในสภาวะที่มี S9 mixture ของสารบริสุทธิ์ ZDMC	140

รายการภาพประกอบ

ภาพที่		หน้า
1-1	กระบวนการผลิตถุงมือยาง	9
3-1	ลักษณะโคโลนีกลายพันธุ์ของ *S. typhimurium* สายพันธุ์ TA98 ในตัวอย่างน้ำเสียโรงที่ 1 บ่อ 1 ที่ความเข้มข้น 100 เท่า ของความเข้มข้นปกติ ในสภาวะที่มีเอนไซม์จากตับหนู	31
3-2	ความสัมพันธ์ระหว่างจำนวนโคโลนีกลายพันธุ์ ของเชื้อ *S. typhimurium* สายพันธุ์ TA98 และความเข้มข้น ของส่วนสกัดจากตัวอย่างน้ำเสียโรงงานผลิตถุงมือยางโรงที่ 1-3 ตัวอย่างน้ำเสียบ่อ 1 ที่ระดับความเข้มข้นต่างๆ ในสภาวะที่ไม่มี S9	41
3-2-	ความสัมพันธ์ระหว่างจำนวนโคโลนีกลายพันธุ์ ของเชื้อ *S. typhimurium* สายพันธุ์ TA98 และความเข้มข้น ของส่วนสกัดจากตัวอย่างน้ำเสียโรงงานผลิตถุงมือยางโรงที่ 1-3 ตัวอย่างน้ำเสียบ่อ 2 ที่ระดับความเข้มข้นต่างๆ ในสภาวะที่ไม่มี S9	41
3-4	ความสัมพันธ์ระหว่างจำนวนโคโลนีกลายพันธุ์ ของเชื้อ *S. typhimurium* สายพันธุ์ TA98 และความเข้มข้น ของส่วนสกัดจากตัวอย่างน้ำเสียโรงงานผลิตถุงมือยางโรงที่ 1-3 ตัวอย่างน้ำเสียบ่อ 3 ที่ระดับความเข้มข้นต่างๆ ในสภาวะที่ไม่มี S9	42
3-5	ความสัมพันธ์ระหว่างจำนวนโคโลนีกลายพันธุ์ ของเชื้อ *S. typhimurium* สายพันธุ์ TA98 และความเข้มข้น ของส่วนสกัดจากตัวอย่างน้ำเสียโรงงานผลิตถุงมือยางโรงที่ 1-3 ตัวอย่างน้ำเสียบ่อ 1 ที่ระดับความเข้มข้นต่างๆ ในสภาวะที่มี S9	42
3-6	ความสัมพันธ์ระหว่างจำนวนโคโลนีกลายพันธุ์ ของเชื้อ *S. typhimurium* สายพันธุ์ TA98 และความเข้มข้น ของส่วนสกัดจากตัวอย่างน้ำเสียโรงงานผลิตถุงมือยางโรงที่ 1-3 ตัวอย่างน้ำเสียบ่อ 2 ที่ระดับความเข้มข้นต่างๆ ในสภาวะที่มี S9	43

รายการภาพประกอบ (ต่อ)

ภาพที่		หน้า
3-7	ความสัมพันธ์ระหว่างจำนวนโคโลนีกลายพันธุ์ ของเชื้อ *S. typhimurium* สายพันธุ์ TA98 และความเข้มข้น ของส่วนสกัดจากตัวอย่างน้ำเสียโรงงานผลิตถุงมือยางโรงที่ 1-3 ตัวอย่างน้ำเสียบ่อ 3 ที่ระดับความเข้มข้นต่างๆ ในสภาวะที่มี S9	43
3-8	โครมาโทแกรมของสารละลายมาตรฐาน สารประกอบ TMTD ความเข้มข้น 4 มิลลิกรัมต่อลิตร	46
3-9	โครมาโทแกรมของตัวอย่างน้ำเสียโรงงานถุงมือยางโรงที่ 2 บ่อ 1 ที่มีสารประกอบ TMTD	46
3-10	โครมาโทแกรมของตัวอย่างน้ำเสียโรงงานผลิตถุงมือยางโรงที่ 1 บ่อ 2	47
3-11	โครมาโทแกรมของตัวอย่างน้ำเสียโรงงานผลิตถุงมือยางโรงที่ 1 บ่อ 2 ที่ spike สารประกอบ TMTD ลงไป 5 มิลลิกรัมต่อลิตร	47
3-12	ลักษณะโครมาโทแกรมของสามาละลายมาตรฐาน ZDMC ความเข้มข้น 500 มิลลิกรัมต่อลิตร	48
3-13	ลักษณะโครมาโทแกรมของตัวอย่างน้ำเสียโรงงานผลิตถุงมือยางโรง 2 บ่อ 1 ที่มีสารประกอบ ZDMC อยู่	48
3-14	ลักษณะโครมาโทแกรมของตัวอย่างน้ำเสียโรงงานถุงมือยางโรง 2 บ่อ 3	49
3-15	ลักษณะโครมาโทแกรมของตัวอย่างน้ำเสียโรงงานถุงมือยางโรง 2 บ่อ 3 ที่ spike สารประกอบ ZDMC ลงไป 100 มิลลิกรัมต่อลิตร	49
3-16	กราฟมาตรฐาน (calibration curve) ของสารประกอบ TMTD	50
3-17	กราฟมาตรฐาน (calibration curve) ของสารประกอบ ZDMC	50

รายการภาพประกอบภาคผนวก

ภาพภาคผนวกที่		หน้า
ก-1	การสกัดตัวอย่างน้ำเสีย	68
ข-1	ลักษณะโคโลนีของแบคทีเรียที่มีการกลายพันธุ์	70

บทที่ 1
บทนำ

บทนำต้นเรื่อง

อุตสาหกรรมการผลิตถุงมือยางเป็นอุตสาหกรรมที่ประสบความสำเร็จทำรายได้ให้ประเทศปีละหลายพันล้านบาท ในปี พ.ศ. 2531 มีมูลค่าการส่งออก 1,778.25 ล้านบาท และเพิ่มขึ้นเป็น 2,786.50 ล้านบาท ในปี 2535 จะเห็นว่าในเวลาเพียง 5 ปี มูลค่าการส่งออกเพิ่มขึ้นกว่าหนึ่งพันล้านบาท และมีแนวโน้มของการขยายตัวสูงเพราะมีแหล่งวัตถุดิบภายในประเทศและกำลังได้รับการส่งเสริมการลงทุนจากรัฐบาลในการเปลี่ยนวัตถุดิบยางพาราให้เป็นผลิตภัณฑ์สำเร็จรูปเพื่อเพิ่มมูลค่าให้กับสินค้าและเป็นการลดการนำเข้าจากต่างประเทศ จากสถิติในปี พ.ศ. 2533 ประเทศไทยมีผู้ประกอบการโรงงานถุงมือยางทั้งสิ้น 23 ราย (สุรศักดิ์ สุทธิสงค์, 2536) ในปี พ.ศ. 2545 มีผู้ประกอบการอุตสาหกรรมถุงมือยางในประเทศไทยเป็นจำนวนทั้งสิ้น 65 ราย โดยแบ่งเป็นผู้ประกอบการขนาดใหญ่จำนวน 10 ราย ผู้ประกอบการขนาดกลางจำนวน 39 ราย ผู้ประกอบการขนาดเล็กจำนวน 16 ราย (ข้อมูลจากกรมโรงงาน เดือนมีนาคม 2545) เฉพาะในจังหวัดสงขลาตามข้อมูลปีพ.ศ. 2549 มีโรงงานที่เปิดดำเนินการอยู่ 14 ราย

อย่างไรก็ตาม อุตสาหกรรมผลิตถุงมือยางอาจก่อให้เกิดมลภาวะต่อสิ่งแวดล้อมอันเนื่องมาจากน้ำเสียที่ออกจากกระบวนการผลิตถ้าหากไม่มีการบำบัดหรือควบคุมก่อนปล่อยออกสู่แหล่งน้ำสาธารณะ น้ำเสียที่เกิดจากการผลิตถุงมือยางเกิดได้จาก 2 จุดใหญ่ๆ คือ น้ำเสียที่เกิดจากน้ำล้างภาชนะที่ใช้บรรจุน้ำยางผสมกับสารเคมี และน้ำเสียซึ่งเกิดจากขั้นตอนการผลิตโดยตรง ในขั้นตอนการผลิตถุงมือนั้นต้องใช้น้ำยางข้น 60% เป็นวัตถุดิบในการผลิต ทำให้น้ำเสียที่ออกมาจากกระบวนการผลิตมีส่วนประกอบของยางจำนวนมาก ส่วนประกอบของเนื้อยางพารานอกจากจะมีเนื้อยางไฮโดรคาร์บอนถึง 86% มีสารโปรตีน 1% ในน้ำยาง แล้วยังมีน้ำตาลประกอบอยู่ด้วย จึงทำให้น้ำเสียจากโรงงานผลิตถุงมือยางมีค่าสารอินทรีย์สูง ส่งผลให้เกิดความเสื่อมโทรมทางด้านสิ่งแวดล้อมโดยเฉพาะปัญหามลพิษทางน้ำ จังหวัดสงขลามีโรงงานหลายแห่งตั้งอยู่ใกล้กับแหล่งน้ำสาธารณะและมีการระบายน้ำทิ้งลงสู่แหล่งน้ำโดยเฉพาะคลองอู่ตะเภาซึ่งเป็นแหล่งน้ำดิบที่สำคัญสำหรับใช้ในการผลิตน้ำประปาโดยน้ำทิ้งเหล่านี้อาจมีการปนเปื้อนสารเคมีทั้งที่เกิดจากเนื้อยางเองและจากกระบวนการผลิต

การใช้ถุงมือยางพารามีมานานกว่า 70 ปีแล้ว และจากการระบาดของโรคเอดส์ในปี ค.ศ. 1985 ทำให้มีการใช้ถุงมือยางเพิ่มขึ้นอย่างมาก เพราะต้องสวมถุงมือยางเพื่อป้องกันการปนเปื้อนหรือการติดเชื้อ เริ่มมีการผลิตถุงมือยางในประเทศไทยประมาณ 20 ปี ที่ผ่านมา จากเดิม

ประเทศไทยต้องนำเข้าถุงมือยางเพื่อการบริโภคภายในประเทศ การผลิตในประเทศคุณภาพยังไม่เป็นที่ยอมรับเท่ากับถุงมือยางที่ผลิตจากต่างประเทศ ภายหลังเมื่อรัฐบาลให้การส่งเสริมโดยเฉพาะการส่งเสริมการลงทุน จึงมีผู้ประกอบการจากต่างประเทศเข้ามาลงทุนโดยนำเทคโนโลยีในการผลิตเข้ามาด้วย ส่งผลให้หลังจากปี พ.ศ. 2529 เป็นต้นมา ประเทศไทยสามารถทำการผลิตเพื่อส่งออกถุงมือยางไปจำหน่ายยังต่างประเทศได้ ซึ่งต่อมาได้มีการกำหนดมาตรฐานขึ้นโดยสำนักงานมาตรฐานผลิตภัณฑ์อุตสาหกรรม กระทรวงอุตสาหกรรม สำหรับมาตรฐานถุงมือยางที่ใช้ในการศัลยกรรม (มอก.538-2534) และมาตรฐานถุงมือยางที่ใช้ในการตรวจโรค (มอก.1056-2534) เนื่องจากถุงมือยางเป็นสินค้าที่เข้าข่ายเครื่องมือแพทย์ สำนักงานคณะกรรมการอาหารและยา กระทรวงสาธารณสุข จึงได้กำหนดมาตรฐานการผลิตและการนำเข้าอีกด้วย จากการให้การส่งเสริมการลงทุนของสำนักงานคณะกรรมการส่งเสริมการลงทุน (BOI) มีผู้ประกอบการซึ่งเป็นบริษัทที่ร่วมลงทุนกับต่างชาติ หรือบริษัทข้ามชาติเปิดดำเนินการเพียงไม่กี่ราย อุตสาหกรรมถุงมือยางมีการขยายตัวอย่างมากในช่วงปี 2531-2532 จากความต้องการของตลาดต่างประเทศโดยเฉพาะสหรัฐอเมริกาที่เพิ่มสูงขึ้นจากการตื่นตัวในการป้องกันตนเองจากปัญหาโรคเอดส์ ซึ่งเริ่มแพร่ระบาดโดยยังไม่มีการรักษาให้หายขาดได้นอกจากป้องกันตนเองไม่ให้ติดโรค (ศูนย์ส่งเสริมอุตสาหกรรมภาคที่ 9, 2545)

ถุงมือยางเป็นสิ่งจำเป็นสำหรับชีวิตประจำวันของคนบางกลุ่มบางอาชีพ เป็นวัสดุสำคัญทางการแพทย์ และใช้กันอย่างแพร่หลายในห้องปฏิบัติการตามโรงงานอาหารกระป๋องและอาหารแช่แข็ง สามารถป้องกันการปนเปื้อนหรือการติดเชื้อระหว่างการจับต้องสิ่งสกปรกและอาหารโดยเฉพาะทางการแพทย์ใช้กันอย่างกว้างขวาง ในปัจจุบันนี้อยู่ในสภาวะที่โรคเอดส์และโรคติดเชื้ออื่น ๆ ระบาดอยู่ ถุงมือยางเป็นวัสดุป้องกันการติดเชื้อเหล่านี้ได้

การผลิตถุงมือยางใช้วัตถุดิบที่สำคัญได้แก่ น้ำยางข้น และสารเคมีที่ช่วยให้น้ำยางจับตัว สำหรับกรรมวิธีการผลิตนั้นประกอบด้วยการนำน้ำยางสดไปปรับสภาพโดยการเติมสารเคมีเพื่อให้เหมาะในการเข้าเครื่องปั่นน้ำยางข้น เมื่อนำน้ำยางเข้าเครื่องปั่น เครื่องปั่นจะแยกส่วนที่เป็นน้ำยางข้น และส่วนที่เป็นน้ำและเศษยางออกจากกัน นำน้ำยางข้นไปปรับสภาพเพื่อให้ได้ส่วนประกอบของเนื้อยางร้อยละ 60 ผสมสารเคมีต่างๆ เช่น โปแตสเซียมไฮดร็อกไซด์ โปแตสเซียมคลอเรต กำมะถัน สารป้องกันยางเสื่อม ซิงค์อ๊อกไซด์ เป็นต้น ทั้งนี้เพื่อให้น้ำยางอยู่ในสภาพที่เหมาะสมในการขึ้นรูปเป็นถุงมือยาง (ศูนย์ส่งเสริมอุตสาหกรรมภาคที่ 9, 2545)

อุตสาหกรรมผลิตถุงมือยางเป็นอุตสาหกรรมที่เกี่ยวข้องกับสารเคมีหลายชนิดที่แตกต่างกันมาผสมกัน ด้วยกระบวนการให้ความร้อน ความดัน ปฏิกิริยาเร่ง ทำให้เกิดการปนเปื้อนในสิ่งแวดล้อม (NIOSH, 1993) มีการตรวจพบสารเคมีกลุ่ม PAHs และ aromatic amines หลาย

ชนิดในอากาศหรือฝุ่นละอองในกระบวนการผลิตบางชนิด เช่น benzo(a)pyrene, benzofluoranthene ที่มีฤทธิ์ก่อมะเร็ง (Duinska *et al.,* 1997; Oury *et al.,* 1997; Fracasso *et al.,* 1999) และมีฤทธิ์ก่อกลายพันธุ์ต่อเชื้อ *S. typhimurium* หลายสายพันธุ์เมื่อศึกษาในสภาวะที่ผ่านขบวนการเมแทบอลิซึมโดยเอนไซม์จากตับหนู (Quillardet *et al.,* 1985 and McCann *et al.,* 1975)

จากการศึกษาเบื้องต้นเพื่อหาความสามารถก่อกลายพันธุ์ของตัวอย่างน้ำทิ้งจากโรงงานอุตสาหกรรมผลิตถุงมือยางจำนวน 5 แห่งที่ปล่อยน้ำทิ้งลงสู่คลองอู่ตะเภาในจังหวัดสงขลา โดยการทดสอบด้วยเชื้อ *Salmonella typhimurium* สายพันธุ์ TA98 และ TA100 พบฤทธิ์ก่อกลายพันธุ์ของน้ำทิ้งจำนวน 3 ตัวอย่างจากทั้งหมด 5 ตัวอย่างที่เก็บในช่วงฤดูร้อนเมื่อทำให้ความเข้มข้นเพิ่มขึ้น 100 เท่าของความเข้มข้นปกติ (สุกัญญา แซ่แต้ และคณะ, 2550) ผลจากการศึกษานี้แสดงให้เห็นว่ามีสารก่อกลายพันธุ์ในน้ำทิ้งของโรงงานอุตสาหกรรมผลิตถุงมือยางบางแห่งที่ปล่อยลงสู่คลองอู่ตะเภาในจังหวัดสงขลา

การศึกษาในครั้งนี้มีวัตถุประสงค์เพื่อศึกษาความสามารถก่อกลายพันธุ์ของน้ำเสียจากระบบบำบัดน้ำเสียของโรงงานผลิตถุงมือยางและหาชนิดและปริมาณของสารเคมีที่เป็นต้นเหตุทำให้เกิดการกลายพันธุ์ของแบคทีเรีย เพราะว่าสารก่อกลายพันธุ์แบคทีเรียที่พบอาจเป็นสารก่อกลายพันธุ์และสารก่อมะเร็งในมนุษย์และสิ่งมีชีวิตอื่น ๆ จึงอาจส่งผลกระทบต่อสุขภาพของมนุษย์และสิ่งมีชีวิตชนิดต่างๆ ที่อาศัยอยู่ในน้ำและดินตะกอน ผลจากการศึกษานี้จะเป็นข้อมูลสำคัญสำหรับการกำหนดมาตรการควบคุมป้องกันที่เหมาะสมต่อไป

การตรวจเอกสาร

1 คำจำกัดความ

สารก่อกลายพันธุ์ (mutagen) หมายถึง สารที่ทำให้เบสใดเบสหนึ่งในสาย DNA ผิดปกติไปจากเดิม เมื่อมีการนำสาย DNA ส่วนที่เบสถูกเปลี่ยนแปลงไปถ่ายทอด จะทำให้ได้โปรตีนที่ผิดปกติ ซึ่งเรียกว่าเกิดการกลายพันธุ์หรือการผ่าเหล่า (mutation) วิธีการทดสอบความสามารถก่อกลายพันธุ์ของสารเคมีมีหลายวิธี เช่น การทดสอบในหลอดแก้ว การทดลองในสัตว์ และการวิจัยเชิงระบาดวิทยาระดับโมเลกุล แต่ที่นิยมใช้กันอย่างแพร่หลายคือ การทดสอบในหลอดแก้ว โดยวิธี Ames' test เนื่องจากทำได้ง่าย สะดวก และรวดเร็วโดยการนำสารที่จะทดสอบใส่เข้าไปในจานเพาะเลี้ยงแบคทีเรียที่ใช้ในการทดสอบ ถ้าสารนั้นทำให้แบคทีเรียนั้นกลายพันธุ์ไปอย่างมีนัยสำคัญให้ถือว่าเป็นสารก่อกลายพันธุ์ (ปลื้มจิต บุณยพิพัฒน์, 2534)

การกลายพันธุ์ (mutation) หมายถึง การที่ดีเอ็นเอผิดปกติไปจากเดิมเมื่อถูกนำไปถ่ายทอดรหัสแบบผิดปกตินั้น ทำให้ได้สิ่งที่ผิดปกติไปจากธรรมชาติ ดีเอ็นเอที่ผิดปกติจะมีเบสใดเบสหนึ่งในสายดีเอ็นเอถูกเปลี่ยนแปลงไปจากเดิม

มะเร็ง (cancer) คือ เซลล์ของร่างกายที่โตและขยายจำนวนขึ้นมากในระยะเวลาอันสั้น โดยที่ร่างกายไม่สามารถควบคุมได้ เซลล์มะเร็งเมื่อเพิ่มจำนวนมากขึ้นเรื่อยๆจะแทรกตัวเบียดเซลล์ปกติที่อยู่รอบข้าง ทำให้เนื้อเยื่อของอวัยวะนั้นๆเสียไป ไม่สามารถทำหน้าที่ตามปกติได้ เซลล์มะเร็งยังขยายตัวเข้าสู่หลอดเลือดและน้ำเหลือง กระจายไปสู่อวัยวะต่างๆที่อยู่ใกล้และห่างจากตัวมันได้ เช่น ต่อมน้ำเหลือง ปอด ตับ และกระดูก ซึ่งมีผลทำให้ผู้ป่วยเสียชีวิตในระยะเวลาอันสั้น (สุเมธ พีรวุฒิ, 2541)

Ames' test หมายถึง การทดสอบสารกลายพันธุ์แบบย้อนกลับ (backward or reverse mutation) ในแบคทีเรีย *Salmonella typhimurium* เนื่องจากแบคทีเรียที่นำมาใช้ในการทดลองนี้ได้ถูกทำให้กลายพันธุ์ไปจนไม่สามารถสังเคราะห์กรดอะมิโน histidine ได้ ทำให้ไม่สามารถเจริญเติบโตในอาหารเลี้ยงเชื้อที่ขาดกรดอะมิโนชนิดนี้ได้ เรียกว่า histidine dependent (His-) สารทดสอบที่มีฤทธิ์ก่อกลายพันธุ์จะทำให้แบคทีเรียชนิดนี้เกิดการกลายพันธุย้อนกลับสามารถสร้าง histidine ได้เอง เป็น histidine independent (His+) จึงสามารถกลับมาเจริญเติบโตในอาหารเลี้ยงเชื้อที่ขาด histidine ได้อีก

2. ชนิดของการกลายพันธุ์

การกลายพันธุ์ แบ่งออกได้เป็น 2 ชนิด

ก. การกลายพันธุ์ที่เกิดขึ้นเองในธรรมชาติ (spontaneous mutation) ซึ่งเป็นผลมาจากรังสี สารเคมี อุณหภูมิ ที่มีอยู่ในธรรมชาติ กระตุ้นให้เกิดปฏิกิริยา tautomeric shift หรือการก่อให้เกิดไอออน (ionization) ในโมเลกุลของเบสของดีเอ็นเอ ซึ่งมีผลทำให้เกิดการแทนที่คู่เบสในสายโพลีนิวคลีโอไทด์ของดีเอ็นเอ อัตราการเกิดการกลายพันธุ์ที่เกิดขึ้นเองในธรรมชาตินั้นมีค่อนข้างต่ำ

ปฏิกิริยา tautomeric shift หมายถึง การเปลี่ยนแปลงตำแหน่งไฮโดรเจนอะตอมในโมเลกุลของเบสของดีเอ็นเอ ซึ่งมีผลทำให้โครงสร้างโมเลกุลของเบสเปลี่ยนแปลงจากรูปคีโต (keto form) ไปเป็นรูปอีนอล (enol form) หรือเปลี่ยนแปลงจากรูปอะมิโน (amino form) ไปเป็นรูปอิมิโน (imino form)

ปฏิกิริยาการก่อให้เกิดไอออน คือ ปฏิกิริยาสูญเสียไฮโดรเจนอะตอมในโมเลกุลของเบสของดีเอ็นเอ ทำให้เกิดไอออนขึ้นมีผลทำให้การจับคู่ของเบสเปลี่ยนแปลงไปจะทำ

ให้เกิดทรานซิชันขึ้น เช่น A-T ถูกแทนที่ด้วย G-C หรือ G-C ถูกแทนที่ด้วย A-T ซึ่งมีผลทำให้เกิดการกลายพันธุ์ได้

ข. การกลายพันธุ์ที่เกิดจากการชักนำ (induced mutation) เป็นการกลายพันธุ์ที่เกิดจากมนุษย์ใช้สิ่งก่อกลายพันธุ์ (mutagen) ชักนำให้เกิดการกลายพันธุ์ ได้แก่

- สิ่งก่อกลายพันธุ์กายภาพ (physical mutagen) ได้แก่ อุณหภูมิ รังสีต่างๆ
- สิ่งก่อกลายพันธุ์ทางเคมี (chemical mutagen) ได้แก่

1. สารเคมีที่มีสูตรโครงสร้างคล้ายคลึงกับเบสชนิดต่างๆของดีเอ็นเอ (base analogues) สารเคมีเหล่านี้สามารถเข้าแทนที่เบสของดีเอ็นเอได้ระหว่างที่มีการจำลองโมเลกุลของดีเอ็นเอ (DNA replication) ซึ่งมีผลทำให้เกิดการแทนที่ของเบสชนิดหนึ่งด้วยเบสอีกชนิดหนึ่ง ทำให้โมเลกุลของดีเอ็นเอที่ได้ใหม่แตกต่างไปจากโมเลกุลเดิม

2. สารเคมีที่ทำให้เกิดการเปลี่ยนแปลงโครงสร้างของเบส เช่น กรดไนตรัส สารไฮดรอกซีลามีน (hydroxylamine) และสารที่ให้หมู่ไฮดร็อกซีล (OH^-) สารกลุ่มที่มีหมู่อัลคีล (alkylating agents)

3. สารเคมีที่ทำให้เกิดการเพิ่มหรือการขาดหายไปของนิวคลีโอไทด์ในโมเลกุลของดีเอ็นเอ สารเคมีเหล่านี้ได้แก่ สีย้อมต่างๆ (acridine dyes) เช่น โพรฟลาวิน (proflavin) และอะคริดินออเรนจ์ (acridine orange) ซึ่งเป็นสารเคมีที่มีผลโดยตรงต่อโมเลกุลของดีเอ็นเอ (ประดิษฐ์ พงษ์ทองคำ, 2543)

3. การเกิดการกลายพันธุ์

การกลายพันธุ์เป็นความผิดปกติของดีเอ็นเอที่มีการเปลี่ยนแปลงของลำดับคู่เบสอาจแบ่งเป็น 2 แบบตามวิธีการเกิด คือ การแทนที่เบส (base substitution) และ frameshift mutation การแทนที่ของเบสอาจเป็นการแทนที่ชนิดของเบสในกลุ่มเดียวกัน คือ pyrimidine เป็น pyrimidine (thymine และ cytosine) หรือ purine เป็น purine (guanine และ adenine) เรียกการแทนที่แบบนี้ว่า “transition” ส่วนการแทนที่ของเบสคนละชนิด คือ pyrimidine เป็น purine หรือ purine เป็น pyrimidine เรียกว่า “transversion” ส่วน frameshift mutation เป็นผลจากการแทรกหรือการหายไปของคู่เบสในสายดีเอ็นเอ การกลายพันธุ์ของยีนอาจเป็นผลจากสารก่อมะเร็งซึ่งได้รับจากภายนอกหรือเป็นผลจากกระบวนการทางชีวเคมีในร่างกายเอง (ปารมี ทองสุกใส, 2542)

4. สารก่อมะเร็ง

สารก่อมะเร็ง หมายถึง กลุ่มสารที่ชักนำหรือมีโอกาสที่จะเหนี่ยวนำให้เกิดเป็นมะเร็งในมนุษย์ได้ การทดสอบความเป็นพิษของสารก่อมะเร็งมีขั้นตอนทางวิทยาศาสตร์ที่ซับซ้อนยุ่งยาก แม้ว่าจะสามารถทดสอบพบว่าสารนั้นๆ มีแนวโน้มการก่อมะเร็งสูง แต่ก็ยากที่จะระบุถึงระดับความเป็นพิษหรืออันตรายที่เกิดขึ้นว่ารุนแรงมากน้อยเพียงใด สารก่อมะเร็งที่พบมีหลายชนิด ได้แก่ อะฟลาทอกซิน ไดออกซิน แอสเบสตอส รวมทั้งแสงแดดด้วย สารก่อมะเร็งเหล่านี้บางชนิดเมื่ออยู่ในสภาวะหนึ่งจะไม่ก่อให้เกิดอันตรายใดๆ แต่อาจจะเปลี่ยนเป็นสารก่อมะเร็งได้หากมีตัวเร่งปฏิกิริยา (catalysts) หรือเมื่อเข้าสู่ร่างกายผ่านกระบวนการทางชีวภาพ (biological activities) ในร่างกายมนุษย์หรือสัตว์ ยกตัวอย่างเช่น สารไนเตรต เมื่อบริโภคเข้าสู่ร่างกายจะถูกเปลี่ยนแปลงเป็นสารก่อมะเร็งไนโตรซามีนได้ อันเนื่องจากกระบวนการย่อยอาหารในกระเพาะอาหารของมนุษย์เป็นต้น สารบางชนิดอาจจะเป็นตัวช่วยเสริมฤทธิ์สารก่อมะเร็งสามารถกระตุ้นให้ก้อนเนื้อร้ายเจริญเติบโตขึ้น ซึ่งก้อนเนื้อร้ายนี้เดิมเกิดขึ้นเนื่องจากสารก่อมะเร็งมาก่อน (ทวีศักดิ์ สุนทรธนศาสตร์, 2544)

5. อุตสาหกรรมยางพารา

อุตสาหกรรมยางพาราเป็นอุตสาหกรรมที่มีมูลค่าการส่งออกในแต่ละปีนับเป็นจำนวนมากกว่า 80,000 ล้านตัน และมูลค่าการส่งออกได้ขยับขึ้นทุกปีโดยประเทศไทยเป็นผู้ผลิตและส่งออกยางธรรมชาติหรือยางแปรรูปขั้นต้นรายใหญ่ที่สุดในโลก รองลงมาคือ อินโดนิเซีย และ มาเลเซีย ผลผลิตยางธรรมชาติของไทยแบ่งเป็น 5 ประเภท คือ

1. น้ำยางข้น
2. ยางแผ่นรมควัน
3. ยางแท่ง
4. ยางแผ่นผึ่งแห้ง
5. ยางเครพ

ผลผลิตของอุตสาหกรรมยางพารามีตั้งแต่วัตถุดิบในรูปของยางแห้งรูปแบบต่างๆ และน้ำยางข้นจนถึงผลิตภัณฑ์ยางสำเร็จรูปต่างๆ เช่น ถุงมือยาง ยางรัดของ ยางล้อรถยนต์ เป็นต้น กระบวนการผลิตเหล่านี้ นอกจากจะมีวัตถุดิบและขั้นตอนที่แตกต่างกันแล้ว ยังมีความหลากหลายของสารเคมีที่นำมาใช้ในกระบวนการผลิต สารเคมีที่นำมาใช้ในกระบวนการผลิตมีหลายชนิดที่พบเป็นอันตรายและก่อให้เกิดการกลายพันธุ์และอาจก่อให้เกิดโรคมะเร็ง ได้แก่

1. เขม่าและควันไฟ ก่อให้เกิดมลพิษทางอากาศ และมีสารก่อมะเร็งหลาย ๆ ตัว โดยเฉพาะในกลุ่ม polycyclic aromatic hydrocarbons (PAHs) ปะปนอยู่ด้วย

2. ฟอร์มัลดีไฮด์ มีฤทธิ์ระคายเคืองต่อผิวหนังและเยื่อบุต่าง ๆ ทำให้เกิดการไอ แน่นหน้าอก หายใจลำบาก ปอดบวมน้ำ ปอดอักเสบและเสียชีวิตได้ ถ้าได้รับเข้าไปมากจะเกิดภาวะความเป็นกรดในร่างกาย และเป็นพิษต่อระบบสืบพันธุ์

3. Nitrosodiphenylamine (NDPA) ในอุตสาหกรรมยางนิยมใช้เป็นสารหน่วงในยาง พบว่าหากใช้ NDPA ร่วมกับสารเคมีอื่น ๆ ในยางที่สามารถปล่อย secondary amine จะก่อให้เกิดไนโตรโซเอมีนขึ้นและสารตัวนี้เองที่เป็นสาเหตุให้เกิดมะเร็งได้ (พรพรรณ นิธิอุทัย, 2530)

อุตสาหกรรมยางในประเทศไทย ประกอบด้วยอุตสาหกรรม 2 ส่วน คือ

1. อุตสาหกรรมยางแปรรูปขั้นต้น เป็นการแปรรูปน้ำยางสดที่ได้จากต้นยางพาราไปเป็นผลิตภัณฑ์ยางขั้นต้นหรือยางดิบ เพื่อนำไปใช้เป็นวัตถุดิบของอุตสาหกรรมผลิตภัณฑ์ยางต่างๆ ซึ่งผลิตภัณฑ์ยางขั้นต้นนี้จะมีอยู่ 2 ลักษณะ คือ

ก. ยางแห้งชนิดต่างๆ ได้แก่ ยางแผ่นรมควัน ยางแท่ง และยางเครพ

ข. น้ำยางข้น (concentrated latex) โดยการทำให้น้ำยางสดมีความเข้มข้นสูงขึ้นอยู่ในระดับที่เหมาะสมในทางอุตสาหกรรม

ยางธรรมชาติที่ผลิตมากที่สุด ได้แก่ ยางแผ่นรมควัน รองลงมาคือ ยางแท่งและน้ำยางข้น ตามลำดับ

2. อุตสาหกรรมผลิตภัณฑ์ยาง ได้แก่ ถุงมือยาง ถุงยางอนามัย ยางรัดของ ชิ้นส่วนยานยนต์ สายพาน ท่อยาง ซึ่งปัจจุบันอุตสาหกรรมผลิตภัณฑ์ยางในประเทศไทยเริ่มมีการขยายตัวและมีแนวโน้มเพิ่มขึ้นมาเรื่อยๆ จากประมาณ 24,500 ล้านบาท ใน พ.ศ. 2540 เป็น 34,134 ล้านบาท ใน พ.ศ. 2542 และ 42,000 ล้านบาท ใน พ.ศ. 2543 และใน พ.ศ. 2544 สามารถส่งออกผลิตภัณฑ์ยางทำรายได้ให้ประเทศเกือบ 50,000 ล้าน

6. ถุงมือยาง

เราสามารถแบ่งถุงมือยางตามการใช้ประโยชน์ได้เป็น 3 ประเภทคือ

1. ถุงมือยางสำหรับใช้ในทางการแพทย์ (medical gloves) ซึ่งแบ่งย่อยออกเป็น

1.1 Surgical gloves ใช้ในทางศัลยกรรม มีลักษณะเนื้อบาง แข็งแรง มีความยาวถึงข้อศอก ถุงมือยางประเภทนี้ต้องผ่านกรรมวิธีฆ่าเชื้อ 100% และต้องใช้เพียงครั้งเดียวแล้วทิ้ง

1.2 Examination gloves ใช้ในงานตรวจโรค มีลักษณะบาง กระชับ สั้นแค่ข้อมือ และใช้เพียงครั้งเดียวก็ทิ้งเช่นกัน

2. ถุงมือยางสำหรับใช้ในโรงงานอุตสาหกรรม (industrial gloves) มีขนาดใหญ่ แข็งแรง เทอะทะ เพื่อความทนทานต่องานในโรงงานอุตสาหกรรม

3. ถุงมือยางสำหรับใช้ในครัวเรือน (household gloves) เป็นถุงมือยางที่แม่บ้านใช้สำหรับทำความสะอาด ซักล้าง ซึ่งเป็นถุงมือยางที่มีขนาดใหญ่ แข็งแรง ทนทานต่อการใช้งาน มีอายุการใช้งานนานและสวมใส่สบาย

7. กระบวนการผลิตถุงมือยาง

ถุงมือยางเป็นผลิตภัณฑ์จากน้ำยางข้นโดยกระบวนการจุ่มแบบพิมพ์ กระบวนการสำคัญที่ใช้ในการผลิตถุงมือยางเริ่มจากการเตรียมน้ำยางผสมสารเคมี (compound latex) ซึ่งได้ทำให้อยู่ในสถานะที่เหมาะสมแล้วในอัตราส่วนและลำดับการผสมที่ถูกต้อง จากนั้นจุ่มแบบพิมพ์ (former) ลงในน้ำยางผสมสารเคมี แล้วทำให้ฟิลม์ยางที่จับแบบพิมพ์แห้งและคงรูป (vulcanized) แล้วจึงนำไปล้างและถอดออกจากแบบพิมพ์ดังภาพประกอบที่ 1-1

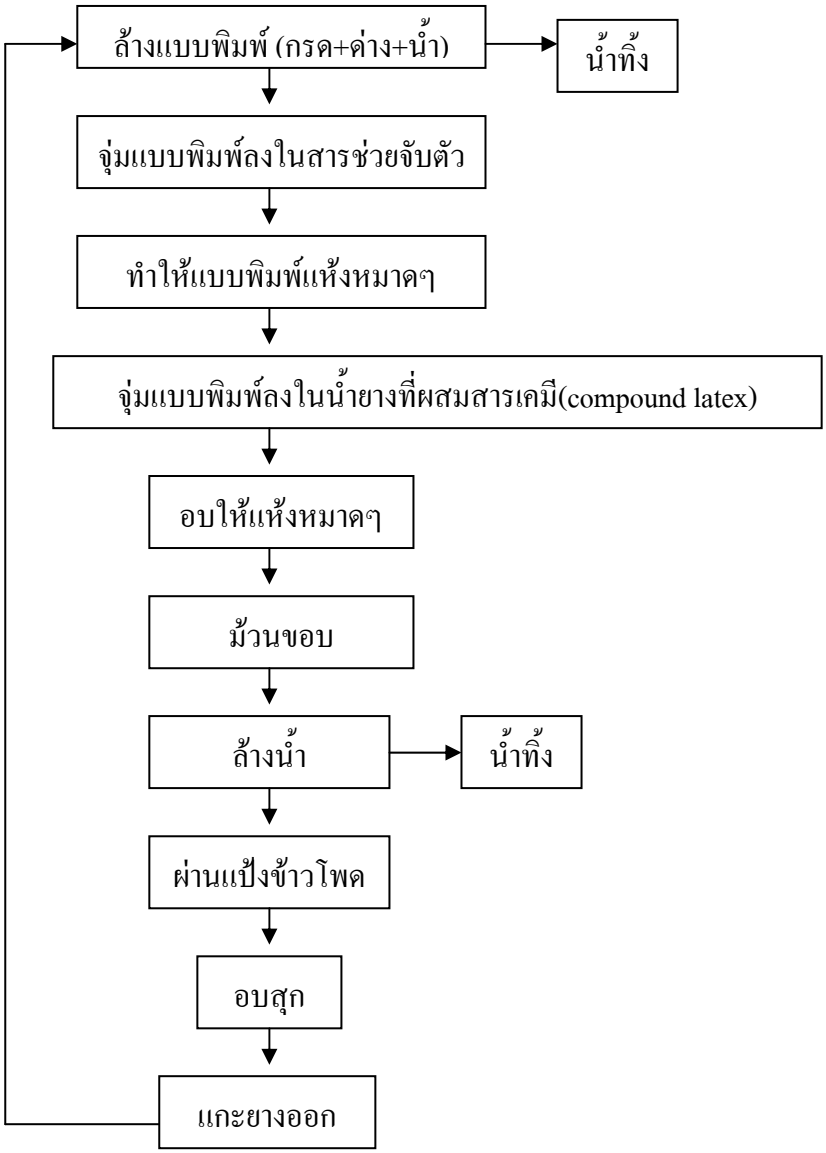
รายละเอียดของขั้นตอนการผลิตถุงมือยางมีดังนี้

1. การบ่มน้ำยาง (maturation)

เป็นขั้นตอนที่มีการผสมสารเคมีลงไปในน้ำยาง แล้งทิ้งไว้ระยะหนึ่เพื่อให้สารต่างๆ ที่ผสมลงไปได้กระจายอย่างทั่วถึงเป็นเนื้อเดียวกับน้ำยางตลอด ทำให้น้ำยางผสมมีความหนืดสม่ำเสมอดี ได้ยางจับตัวที่แข็ง (strong gel) และทำให้ผลผลิตสุดท้ายมีการคงรูปอย่างทั่วถึง น้ำยางที่ผ่านการบ่มแล้วเรียกว่า compound latex

2. การล้างแบบพิมพ์

แบบพิมพ์ที่จะใช้งานต้องเป็นแบบพิมพ์ที่สะอาด เพราะแบบพิมพ์ที่สกปรกไม่ว่าด้วยสิ่งแปลกปลอมใดๆ จะส่งผลให้เกิดจุดบกพร่องหรือเกิดตำหนิกับถุงมือได้ ดังนั้นก่อนจุ่มแบบพิมพ์ลงในน้ำยาผสมทุกครั้ง จะต้องทำความสะอาดแบบพิมพ์ด้วยด่างหรือกรดอนินทรีย์ แล้วล้างแบบพิมพ์ด้วยน้ำสะอาดที่เป็นน้ำอ่อน และอาจขัดถูสิ่งสกปรกออกจากแบบพิมพ์โดยใช้แปรงเพื่อให้มั่นใจว่าแบบพิมพ์สะอาดปราศจากสิ่งแปลกปลอมทั้งหลายรวมทั้งสารเคมีที่ใช้ทำความสะอาดแบบพิมพ์ด้วย เมื่อแบบพิมพ์สะอาดแล้ว ต้องทำการอบแห้งก่อนจุ่มลงไปในน้ำยาง



ภาพที่ 1-1 กระบวนการผลิตถุงมือยาง

3. การจุ่มแบบพิมพ์ (dipping) มีหลายวิธีได้แก่

-การจุ่มน้ำยางโดยตรง (straight dipping)

-การจุ่มโดยใช้สารช่วยจับ (coagulant dipping)

-การจุ่มโดยใช้พิมพ์ร้อน (heat sensitive dipping)

-การจุ่มโดยใช้ขั้วไฟฟ้าช่วย (electrode dipping)

วิธีที่นิยมใช้ในการจุ่มแบบพิมพ์ของถุงมือยางคือการจุ่มโดยใช้สารช่วยจับ ซึ่งสารที่นิยมใช้คือ calcium chloride ($CaCl_2.2H_2O$) และ calcium nitrate ($Ca(NO_3)_2.4H_2O$) (พรพรรณ นิธิอุทัย และคณะ, 2533)

การจุ่มแบบพิมพ์ลงในน้ำยางผสมมีหลักการคือ ต้องจุ่มแบบพิมพ์ที่เคลือบหมาดๆ ด้วยสารช่วยจับและนำแบบพิมพ์ขึ้นจากน้ำยางผสมด้วยความเร็วที่สม่ำเสมอ

4. การล้าง (leaching)

หมายถึงการล้างพิมพ์ยางซึ่งจับอยู่บนแบบพิมพ์ ซึ่งอาจทำได้ 2 วิธีคือล้างในขณะที่อยู่ในกระบวนการผลิต หรือล้างหลังจากแกะถุงมือออกจากแบบพิมพ์แล้วเพื่อกำจัดสารละลายพวกเกลือที่มีอยู่ในน้ำยางอยู่เดิมหรือที่เติมลงไปในน้ำยาง การล้างถุงมือในระหว่างกระบวนการผลิตขณะที่ยางอยู่ในสถานะฟิล์มเปียกจะได้ผลดี เพราะน้ำจะช่วยชำระล้างสารต่างๆได้ง่าย

5. การอบแห้งและทำให้ยางคงรูป (drying and vulcanizing)

มักจะอบแห้งและทำให้ยางคงรูปในตู้อบร้อน

6. การม้วนขอบ (beading)

การม้วนขอบถุงมือเพื่อให้ถุงมือมีความแข็งแรง จะม้วนขอบขณะที่ยางเกาะบนแบบพิมพ์แห้งแล้วแต่ยังไม่ได้ทำให้คงรูป

7. การถอดถุงมือออกจากแบบพิมพ์

เป็นขั้นตอนสุดท้ายของกระบวนการผลิตมักอาศัยแป้งช่วยเพื่อป้องกันยางติดกัน

8. วัตถุดิบและสารเคมีหลักที่ต้องใช้ในการผลิตถุงมือยาง

1. น้ำยางข้น

น้ำยางที่ใช้ในการผลิตถุงมือยางเป็นน้ำยางข้น 60% dry rubber content (DRC) ซึ่งมาจากน้ำยางธรรมชาติ มีส่วนประกอบและวิธีการเก็บรักษาสภาพดังนี้

1.1 สมบัติและส่วนประกอบของน้ำยาง

น้ำยางสดจากต้นยางพารามีลักษณะเป็นของเหลวสีขาวหรือสีครีม ในทางเคมีจัดเป็นสารแขวนลอย มีความหนาแน่น 0.975-0.980 กรัม/มิลลิลิตร มี pH ประมาณ 6.5-7.0 ความหนืดไม่แน่นอน (ผลชิต บัวแก้ว, 2531)

ส่วนประกอบของน้ำยางสดแบ่งได้เป็น 2 ส่วนคือ

1.1.1 ส่วนที่เป็นยาง (DRC) เป็นส่วนของสารพวกไฮโดรเจนที่มีคาร์บอน 3 อะตอมและไฮโดรเจน 8 อะตอม $(C_3H_8)_n$ มีน้ำหนักโมเลกุลประมาณ 300,000 รูปร่างของอนุภาคยางเป็นรูปกลมหรือรูปลูกแพร์ขนาด 0.05-5 ไมครอน มีประจุไฟฟ้าที่ผิวเป็นลบเคลื่อนที่แบบบราวเนียนไปมาตลอดเวลา (สุรศักดิ์ สุทธิวงศ์, 2529)

ยางมีความยืดหยุ่นได้เนื่องจากโมเลกุลขนาดใหญ่ของยางแต่ละชนิดเป็นขดของสายโมเลกุลที่เกิดจากหน่วยย่อยไอโซพรีนต่อเนื่องกัน ยางชิ้นหนึ่งๆจะประกอบด้วยสายของโมเลกุลที่พันกันอย่างยุ่งเหยิง สายโมเลกุลเหล่านี้มีสมบัติหักงอหรือยืดได้ การดึงหรือยืดชิ้นยางเท่ากับยืดสายโมเลกุลของยางให้คลายออก แต่เมื่อปล่อยคืนสายโมเลกุลยางก็จะพยายามหดตัวกลับมาขดอยู่ในสภาพเดิม (สุรศักดิ์ สุทธิวงศ์, 2529)

ปริมาณเนื้อยางแห้งของยางธรรมชาติ ในสภาพน้ำยางสดไม่แน่นอน คือ ตั้งแต่ 25-34% ความแตกต่างระหว่างปริมาณของสารที่เป็นของแข็งทั้งหมด กับปริมาณเนื้อยางแห้งในน้ำยางสดจะอยู่ที่ประมาณ 3% แต่ถ้าปั่นน้ำยางสดเป็นน้ำยางแห้งแล้ว ความแตกต่างนี้จะอยู่ที่ประมาณ 1-2% ทั้งนี้ขึ้นอยู่กับประสิทธิภาพและการปรับเครื่องปั่น นอกจากนี้ยังมีโลหะธาตุบางอย่าง เช่น แมกนีเซียม โพแทสเซียมและทองแดงติดอยู่กับผิวประมาณ 0.05% (สุรศักดิ์ สุทธิวงศ์, 2529)

1.1.2 ส่วนประกอบที่ไม่ใช่ยาง (nonrubber content) เป็นส่วนประกอบอื่นๆทั้งหมดที่ไม่ใช่ยาง มีสารประกอบต่างๆ หลายชนิดได้แก่

-คาร์โบไฮเดรต ส่วนใหญ่เป็น *l*-methylinositol ส่วนคาร์โบไฮเดรตอื่นๆ ได้แก่ กลูโคส ซูโครส ฟรุกโตส และกาแลคโตส มีอยู่จำนวนน้อย น้ำตาลเหล่านี้เมื่อถูกออกซิไดซ์โดยจุลินทรีย์จะเปลี่ยนสภาพเป็นกรดระเหยได้ เช่น กรดฟอร์มิก กรดอะซิติก กรดโพรไพโอนิค เป็นต้น

-โปรตีนและกรดอะมิโน ส่วนใหญ่เป็นแอลฟา โกลบูลิน (α-globulin) และเฮวาลิน (hevelin) สำหรับแอลฟา โกลบูลิน เป็นโปรตีนที่มีสมบัติเป็น surface-active จะอยู่เป็นรอยต่อระหว่างน้ำ-อากาศ และน้ำมัน-น้ำได้ทันที ไม่ละลายน้ำ และละลายในกรด ด่าง และเกลือ มี isoelectric point ที่พีเอช เท่ากับ 4.8 ซึ่งเป็นจุดที่ใกล้เคียงกับน้ำยางมาก เฮ

วาลิน (hevelin) จะอยู่ที่อนุภาคเม็ดยางและละลายอยู่ในชั้นน้ำมีค่า isoelectric point ที่พีเอช เท่ากับ 4.5 มีกำมะถันเป็นองค์ประกอบอยู่ 5% เมื่อน้ำยางเกิดการบูดเน่า โปรตีนส่วนหนึ่งละลายน้ำ ให้สารประกอบพวกไฮโดรเจนซัลไฟด์และสารเมอร์แคพแทน ซึ่งทำให้มีกลิ่นเหม็น

- องค์ประกอบอื่นๆ มีพวก free nitrogenous base เช่น เมธิลลามีน (methylamine) กรดอินทรีย์ กรดอนินทรีย์ ฟอสเฟต และคาร์บอเนต และมีไอออนของโลหะของโพแทสเซียม ส่วนใหญ่เป็นพวกแมกนีเซียม เหล็ก เกลือ และทองแดง นอกจากนี้ยังมีไซยาไนด์ประมาณ 0.25% ด้วย

1.2 การรักษาสภาพและการเสียสภาพของน้ำยาง

ในทางเคมีจัดน้ำยางสดเป็นสารแขวนลอยที่มีส่วนของอนุภาคยางแขวนลอยกระจัดกระจายอยู่ในตัวกลางที่เรียกว่าเซรุ่ม (serum) มีโปรตีนดูดซับอยู่รอบผิวของอนุภาคยางไว้ ชั้นห่อหุ้มยางนี้มีความสำคัญต่อสถานะความคงตัวเป็นของเหลวของน้ำยาง เพราะชั้นโปรตีนนี้จะป้องกันไม่ให้แต่ละอนุภาคยางรวมตัวกัน

นอกจากชั้นโปรตีนจะห่อหุ้มและทำหน้าที่รักษาสถานะการเป็นของเหลวให้น้ำยางแล้ว ในชั้นโปรตีนนี้ยังมีอนุมูลลบของคาร์บ็อกซีเลต (carboxylate) ซึ่งก่อให้เกิดการผลักกันระหว่างอนุภาคยาง นั่นคือ น้ำยางคงสภาพเป็นของเหลวอยู่ได้ด้วยปัจจัยสำคัญ 2 ประการคือ ชั้นโปรตีนที่ห่อหุ้มอนุภาคน้ำยาง และ อนุมูลลบของคาร์บ็อกซีเลต

การเสียสภาพจากการเป็นของเหลวของน้ำยางจะเกิดขึ้นเมื่อมีการทำลายปัจจัยสำคัญทั้งสองดังกล่าวข้างต้น เช่น การสูญเสียน้ำในชั้นของโปรตีนหรือการทำลายอนุมูลลบของคาร์บ็อกซีเลต (carboxylate) ซึ่งจะทำให้ยางเกิดการรวมตัวจับกันเป็นก้อนยาง เรียกว่า coagulum แยกจากส่วนของเซรุ่ม

2. สารวัลคาไนซิ่ง (vulcanizing agents)

เป็นสารที่ทำให้เกิดการคงรูปหรือการวัลคาไนซ์ คือทำให้ยางเปลี่ยนคุณสมบัติจากการมี plasticity สูงไปเป็นยางที่มีคุณสมบัติยืดหยุ่นต่ำด้วยการเชื่อมต่อของโมเลกุลยางเป็นลักษณะสามมิติ สารวัลคาไนซ์ที่นิยมใช้คือ กำมะถัน ปริมาณที่ใช้ในน้ำยางประมาณ 0.5-2 ส่วนต่อน้ำยางหนึ่งร้อยส่วน (ภัทรา กานตศิลป์, 2531)

3. สารเร่งปฏิกิริยาของยาง (accelerator)

การทำให้ยางคงรูปโดยใช้กำมะถันเพียงตัวเดียว จะพบว่าต้องใช้กำมะถันปริมาณสูง และยังทำให้ประสิทธิภาพการทำปฏิกิริยาต่ำด้วย ดังนั้นจึงใช้สารเคมีช่วยเร่งปฏิกิริยาการคงรูป สารเคมีที่เร่งปฏิกิริยาการคงรูปมีหลายชนิดด้วยกันเช่น tetramethyl thiuram disulphide (TMTD), zinc diethyl dithiocarbamate (ZDEC), zinc dibutyl dithiocarbamate (ZDBC), zinc

dimethyl dithiocarbamate (ZDMC) โดยสาร TMTD เป็นสารในกลุ่มไทยูแรมส่วนสาร ZDMC เป็นสารในกลุ่มไดไทโอคาร์บาเมตซึ่งสารทั้งสองกลุ่มนี้เป็นสารที่นิยมใส่เพื่อเร่งปฏิกิริยาของยางและสารทั้งสองตัวนี้เป็นสารตัวเร่งปฏิกิริยาที่เป็นต้นกำเนิดให้เกิดไนโตรซามีนซึ่งเป็นสารก่อมะเร็งและเป็นสารก่อกลายพันธุ์ (กนกทิพย์ บุญเกิด, 2551) โดยสาร TMTD เป็นสารที่ทำให้เกิดการกลายพันธุ์ในหนู (Yadav *et al.,* 2001) และเป็นสารที่ทำให้ทารกในครรภ์เกิดความผิดปกติและทำให้เกิดความเสียหายต่อตับ โดยปลาต้องได้รับ TMTD น้อยกว่า 5 มิลลิกรัมต่อลิตร (Priyantha *et al.,* 2008) แต่เป็นสารที่มีการสลายตัวเร็วโดยที่ pH 3.5 TMTD จะสามารถสลายตัวได้ใน 4-5 สัปดาห์ ส่วนที่ pH 7 TMTD สามารถสลายตัวได้ใน 14-15 สัปดาห์ (Sharma *et al.,* 2003) ส่วนสาร ZDMC ที่ความเข้มข้น 0.1-10 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร ทำให้เกิดความเป็นพิษในเม็ดเลือดขาวของคนทั้งโดยตรงและโดยอ้อมและยังทำให้เกิดมะเร็งที่ต่อมไทรอยด์ ปอด ต่อมน้ำเหลืองในหนู (Zenzen *et al.,* 2001)

4. สารเสริมตัวเร่งปฏิกิริยาวัลคาไนซ์ (activators)

สารชนิดนี้ช่วยให้ระยะการเกิดปฏิกิริยาวัลคาไนซ์เร็วขึ้น โดยทำให้เกิดการเชื่อมโยงระหว่างโมเลกุลเพิ่มขึ้น สารเสริมเร่งปฏิกิริยาแบ่งเป็น 2 พวก คือ

-สารอินทรีย์ ได้แก่ กรดสะเตียริค

-สารอนินทรีย์ ได้แก่ ซิงค์อ็อกไซด์

5. สารป้องกันการเสื่อมสภาพ (antioxidant)

สารป้องกันการเสื่อมสภาพที่ใช้กับยางมี 2 ชนิดใหญ่ๆ คือ ชนิดที่เป็นเอมีนและฟีนอล เป็นสารที่ใส่ลงไปในผลิตภัณฑ์ยางเพื่อป้องกันการถูกอ็อกซิไดซ์ของโมเลกุลของยาง ที่นิยมใช้ในผลิตภัณฑ์ถุงมือยางจะเป็นพวกฟีนอล

9. การทดสอบการก่อการกลายพันธุ์

วิธีการทดสอบการก่อการกลายพันธุ์มีหลายวิธีด้วยกันคือ

1. การทดสอบ Rec Assay

การทดสอบ Rec assay หรือ recombination assay เชื้อแบคทีเรียที่ใช้ คือ *Bacillus subtilis* สองสายพันธุ์ คือ สายพันธุ์ชนิดที่เป็น recombination-proficient (rec^+) และชนิดที่เป็น recombination-deficient (rec^-) ทั้งนี้สายพันธุ์ชนิดแรกเป็นสายพันธุ์ดั้งเดิมที่มีคุณสมบัติซ่อมแซม DNA ได้เมื่อถูกกระทบกระเทือน เพราะผลิตเอนไซม์ที่เกี่ยวข้องกับกระบวนการนี้ได้ ในขณะที่สายพันธุ์ชนิดหลังเป็นสายพันธุ์กลายพันธุ์ (mutant) จากสายพันธุ์ชนิดแรกที่ไม่สามารถผลิตเอนไซม์ดังกล่าว จึงทำให้ขาดคุณสมบัติในการซ่อมแซม DNA ที่ถูกทำลาย ดังนั้น สารที่

สามารถก่อให้เชื้อสายพันธุ์ rec^- ตายง่ายขึ้น (เมื่อเทียบกับสายพันธุ์ rec^+) อาจแปลได้ว่า สารนั้นทำลาย DNA ได้ หรือเป็นสารก่อกลายพันธุ์ (mutagen) (มาลิน จุลศิริ, 2534)

2. การทดสอบไมโครนิวเคลียส (Micronucleus test)

การทดสอบไมโครนิวเคลียส เป็นวิธีทดสอบการกลายพันธุ์ทางอ้อม เพื่อดูความเสียหายที่เกิดขึ้นกับโครโมโซมเมื่อเซลล์สัตว์หรือเซลล์คนได้รับสารเคมี วิธีนี้สามารถตรวจสอบได้ทั้งสารเคมีชนิดที่ไปมีผลทำให้โครโมโซมแตกหัก (break) คือ สารพวก clastogens และสารเคมีที่ไปมีผลต่อสายใย (spindle apparatus) ทำให้สายใยทำหน้าที่ไม่ดี หรือไม่ก่อรูป (form) ขึ้นมา สารพวกนี้คือ พวก spindle poisoning การทดสอบวิธีนี้ทำได้ง่าย รู้ผลรวดเร็ว สะดวก ประหยัด และไม่ต้องการเครื่องมือที่ราคาแพง สามารถทำได้ทั้งในหลอดทดลอง และในสัตว์ทดลอง รวมทั้งในคนด้วย

ไมโครนิวเคลียส คือ นิวเคลียสที่มีขนาดเล็ก มันเป็นส่วนหนึ่งของนิวเคลียสใหญ่ (main nucleus) แตกและหลุดออกมาอยู่ในไซโตพลาสม เกิดขึ้นเมื่อนิวเคลียสได้รับภยันตรายจากสารเคมี เพราะฉะนั้นเนื้อของนิวเคลียสเล็ก คือ นิวเคลียสโครมาตินนั่นเอง ไมโครนิวเคลียสเกิดจากการที่โครโมโซมบางส่วนมีการแตกหักหลุดออกมา ส่วนที่แตกหักนี้ไม่กลับไปเชื่อมต่อกับส่วนของโครโมโซมที่มันหลุดออกมาเมื่อโครโมโซมมีการซ่อมแซม จึงทำให้โครโมโซมส่วนนี้หลุดลอยอยู่ในไซโตพลาสมเห็นเป็นนิวเคลียสเล็กๆ นอกจากนี้ยังเกิดได้โดยโครโมโซมตัวหนึ่งตัวใดไม่เคลื่อนที่ไปยังขั้วของมัน หรือเคลื่อนที่ไปช้ากว่าปกติ ในขณะที่เซลล์มีการแบ่งตัวอยู่ในระยะ anaphase ซึ่งเกิดเนื่องจากสายใยของมันได้รับความเสียหายทำให้ทำหน้าที่บกพร่อง ทำให้โครโมโซมตัวนี้ลอยอยู่ในไซโตพลาสม ไม่เข้าไปรวมตัวกับนิวเคลียสใหญ่ของเซลล์ลูก ไมโครนิวเคลียสส่วนใหญ่จะเห็นเป็นลักษณะกลม อาจมีลักษณะอื่นได้แต่น้อย ขอบเขตชัดเจน และเรียบ ติดสีเช่นเดียวกับนิวเคลียสใหญ่ แต่มีขนาดเล็กมาก ในสัตว์ปกติจะมีไมโครนิวเคลียสประมาณ 0.2-0.3% และ 1 ไมโครนิวเคลียส ต่อ 1 เซลล์ (ปัญญา เต็มเจริญ, 2534)

3. การทดสอบ Dominant lethal test

Dominant lethal test เป็นการทดสอบที่จะใช้วัด genetic damage ของเซลล์สืบพันธุ์เป็นการทดสอบในตัวสัตว์ทดลองเพื่อศึกษาถึงความเสี่ยงของเซลล์สืบพันธุ์ต่อสารก่อกลายพันธุ์ที่สงสัยอีกครั้งหนึ่งหลังจากที่ได้มีการศึกษาในหลอดทดลอง หรือการทดสอบ mutagenicity วิธีอื่นที่เหมาะสมมาแล้ว ผลลัพธ์ในแง่บวก ที่ได้จากการใช้ dominant lethal test นี้ จะช่วยบ่งบอกถึงหลักฐานเกี่ยวกับการทำลายของ mutagen ต่อเซลล์สืบพันธุ์ได้

การเกิด dominant lethal test จะเกิดในเซลล์สืบพันธุ์ (ไข่ หรือสเปอร์ม) ก่อนที่จะเกิดการปฏิสนธิ และมีผลทำให้ไข่ที่ได้รับการปฏิสนธิแล้ว หรือตัวอ่อนตายได้ใน

เวลาต่อมามากกว่าที่จะทำให้เกิดการทำงานผิดปกติของเซลล์สืบพันธุ์ ตัวอ่อนที่ผิดปกติเหล่านั้นจะไม่สามารถฝังตัวเข้ากับผนังมดลูก หรืออาจจะตายหลังจากที่มีการฝังตัวเข้ากับผนังมดลูกไปไม่นานนัก ส่งผลให้เห็นว่ามีร่องรอยของตัวอ่อนที่แท้งไป ในหนูทดลองร่องรอยนี้จะคงอยู่ตลอดการตั้งท้องโดยมีลักษณะเป็น mole ซึ่งจะคงอยู่ร่วมกับตัวอ่อนที่ยังมีชีวิตอยู่ (ยุทธนา สมิตะสิริ, 2534)

4. Ames' test

Ames' test เป็นการทดสอบที่พัฒนาขึ้นโดย Dr.Bruce Ames เมื่อปี พ.ศ. 2514 เพื่อใช้คัดกรองหาฤทธิ์ก่อกลายพันธุ์ของสารเคมีและสารสกัดสมุนไพร ด้วยการทดสอบในแบคทีเรีย เนื่องจากแนวคิดที่ว่าสารที่ทำให้เกิดความเสียหายของ DNA และเหนี่ยวนำให้เกิดการกลายพันธุ์ในแบคทีเรียอาจส่งผลให้เกิดการกลายพันธุ์ใน mammalian cell ได้เช่นเดียวกัน ซึ่งการทดสอบในแบคทีเรียนั้นสามารถทำได้ง่าย สะดวก ราคาถูก และให้ผลเร็วกว่าการทดลองในสัตว์ โดยสามารถรู้ผลอย่างคร่าว ๆ ได้ใน 2-3 วัน (สมชัยยา สุริฉันท์, 2547)

การทดสอบการก่อกลายพันธุ์โดยวิธี Ames' test ใช้แบคทีเรีย *Salmonella typhimurium* ซึ่งมีหลายสายพันธุ์ ได้แก่ TA97, TA98, TA100, TA102, TA104, TA1535, TA1537 และ TA1538 เป็นต้น แต่สายพันธุ์ที่นิยมใช้มากที่สุด ได้แก่ สายพันธุ์ TA98 และสายพันธุ์ TA100 โดยสายพันธุ์ TA98 ใช้ในการทดสอบสารก่อกลายพันธุ์ที่ทำให้เกิดการเปลี่ยนแปลง (เพิ่มหรือลด) จำนวนคู่เบสในดีเอนเอที่มีผลต่อการแปลรหัสของ mRNA เป็นกรดอะมิโนผิดไปจากเดิมตั้งแต่บริเวณที่มีการเปลี่ยนแปลงของเบสเป็นต้นไป ส่งผลให้ได้โปรตีนที่ผิดปกติไป เรียกว่า frameshift mutation ส่วนสายพันธุ์ TA100 ใช้สำหรับการทดสอบสารก่อกลายพันธุ์ที่คู่เบสเดิมถูกแทนที่โดยคู่เบสคู่อื่นทำให้เกิดการเปลี่ยนแปลงของคู่เบสในดีเอ็นเอโดยที่จำนวนของคู่เบสยังคงเท่าเดิมเรียกว่า base-pair substitution mutation (U.S. Food and Drug Administration, 2000)

มีรายงานมากมายที่ใช้วิธี Ames' test นี้ตรวจสอบและยืนยันแล้วสรุปว่าประมาณร้อยละ 85-90 ของสารก่อมะเร็ง แสดงคุณลักษณะเป็นสารก่อกลายพันธุ์ ด้วยเหตุนี้เองในระยะหลัง ๆ นี้ ห้องปฏิบัติการทางวิทยาศาสตร์ชีวภาพเกือบทั่วไปได้นำเทคนิคนี้ไปใช้เพื่อตรวจสอบสารเคมีจากสิ่งแวดล้อมและคาดว่าจะเป็นสารก่อมะเร็ง ในรูปแบบที่เรียกว่า การตรวจคัดกรอง (screening test) (ประสงค์ คุณานุวัฒน์เดช, 2525)

10. หลักการของ Ames' test

เป็นการทดสอบการกลายพันธุ์แบบย้อนกลับ (backward or reverse mutation) ในแบคทีเรีย *Salmonella typhimurium* เนื่องจากแบคทีเรียที่นำมาใช้ในการทดลองนี้ได้ถูกทำให้กลายพันธุ์ไปจนไม่สามารถสังเคราะห์กรดอะมิโนฮิสทิดีนได้ ทำให้ไม่สามารถเจริญในตัวกลางที่ขาดกรดอะมิโนชนิดนี้ได้ เรียกว่า histidine dependent (His-) สารทดสอบที่มีฤทธิ์ก่อกลายพันธุ์จะทำให้แบคทีเรียชนิดนี้เกิดการกลายพันธุ์ย้อนกลับ สามารถสร้างกรดอะมิโนฮิสทิดีนได้เอง เป็น histidine independent (His+) นอกจาก *S. typhimurium* แล้วยังมีแบคทีเรียที่นิยมใช้ในการทดสอบการกลายพันธุ์ตัวอื่นอีก คือ *Escherichia coli* ซึ่งหลักการของการทดสอบในเชื้อ 2 ชนิดนี้เหมือนกัน แต่ต่างกันที่ต้องการกรดอะมิโนคนละตัวกัน กล่าวคือ *S. typhimurium* ต้องการ กรดอะมิโนฮิสทิดีน ส่วน *Escherichia coli* ต้องการกรดอะมิโนแฮซิด เนื่องจากสารบางตัวเป็น สารที่ไม่มีฤทธิ์ก่อกลายพันธุ์เมื่อเข้าไปสู่ร่างกายคน อาศัยการย่อยสลายโดยเอนไซม์ที่ตับเปลี่ยนให้เป็นการกระตุ้นแมทาบอไลท์ที่มีฤทธิ์เป็นสารก่อกลายพันธ์ เช่น สาร benzo(a)pyrene ซึ่งไม่มีฤทธิ์ก่อกลายพันธุ์ แต่เมื่อถูกเปลี่ยนโดยเอนไซม์ที่ตับ เป็น diol epoxides จะมีฤทธิ์ก่อกลายพันธุ์และก่อมะเร็งอย่างรุนแรง ดังนั้น ในการทดสอบ Ames' test ได้เพิ่มการย่อยสลายด้วยเอนไซม์ที่ได้จากตับหนู (S9 mixture) คล้ายกับเป็นการจำลองการเกิดแมทาบอลิซึมในร่างกาย เปลี่ยนสารที่ไม่มีฤทธิ์ก่อกลายพันธุ์ให้เป็นสารที่มีฤทธิ์ก่อกลายพันธุ์ทำให้ Ames' test ครอบคลุมไปถึงการคัดกรองหาฤทธิ์ก่อกลายพันธุ์ในสารพวกที่ไม่มีฤทธิ์ก่อกลายพันธุ์โดยตรงได้ด้วย (สมชัยยา สุริฉันท์, 2547)

สำหรับการตรวจสอบสารก่อมะเร็งที่มีคุณลักษณะเป็นสารก่อกลายพันธุ์โดยวิธี Ames' test ควรทำในสภาวะเปรียบเทียบที่มีหรือไม่มีการย่อยสลายด้วยเอนไซม์ที่ได้จากตับหนู และแปรผันความเข้มข้นของสารก่อมะเร็งที่ตรวจสอบ เราสามารถนำไป plot dose-response curve หลังจากนับจำนวนโคโลนีกลายพันธุ์ในแต่ละสภาวะแล้ว

ในการตรวจสอบสารก่อมะเร็งโดยวิธีของ Ames และคณะ (1975) เพื่อทำการตรวจคัดกรองของสารต่าง ๆ ควรทำโดยแปรผันความเข้มข้นของสารที่ตรวจสอบในพิสัยที่กว้าง แล้วค่อยทดสอบยืนยันผลโดยแปรผันความเข้มข้นของสารที่ตรวจสอบในพิสัยที่แคบลง นอกจากนี้ Ames ยังเสนอว่าควรจะทำจุดที่ทดสอบสำหรับการศึกษาเบื้องต้นอีกด้วย ผลการทดลองพบว่าเมื่อใช้สารก่อมะเร็งที่มีความเข้มข้นสูงมากถึงระดับหนึ่ง เช่น aflatoxin B1, niridazole และ benzo (a) pyrene-4,5-oxide สารเหล่านี้จะไปเป็นพิษต่อแบคทีเรีย หรือไปยับยั้งการเจริญเติบโตของแบคทีเรียเกือบทุกสายพันธุ์ของ *S. typhimurium* นอกจากสารทั้งสามชนิดดังกล่าวแล้ว ยังมีอีกจำนวนมากที่ได้ผลเช่นนี้ อย่างน้อยที่สุดก็มีแนวโน้มที่จะเกิดขึ้นในลักษณะเดียวกัน

แบคทีเรียที่ใช้ในการทดสอบนี้ นอกจากต้องอาศัยกรดอะมิโนฮิสทีดีนแล้ว ยังมีคุณสมบัติอื่นๆ ที่ทำให้แบคทีเรียมีความไวต่อการเกิดการกลายพันธุ์ (อุษณีย์ วินิจเขตคำนวณ, 2534) ได้แก่

ก. rfa mutation เป็นการเพิ่ม cell wall permeability โดยทำให้เกิดการกลายพันธุ์ขึ้นในแบคทีเรีย ทำให้ความสามารถในการสร้าง lipopolysaccharide ซึ่งเคลือบอยู่บนผนังเซลล์ลดลงหรือขาดหายไป ทำให้สารโมเลกุลใหญ่เข้าไปภายในเซลล์ได้มากขึ้น

ข. uvrB mutation คือ การทำให้เกิดการกลายพันธุ์ในแบคทีเรีย ทำให้แบคทีเรียสูญเสียความสามารถในการซ่อมแซม DNA ที่ผิดปกติ

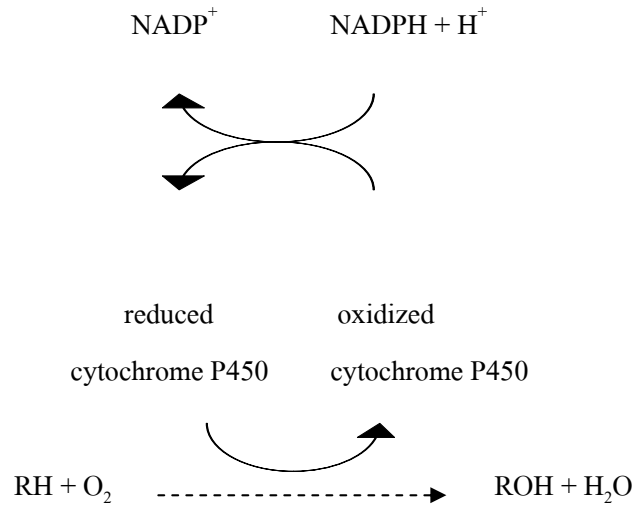
ค. R-factor plasmids คือ การใส่ plasmid เช่น pkM101 หรือ pAQ1 เข้าในแบคทีเรียบางสายพันธุ์เพื่อช่วยให้แบคทีเรียมีความไวต่อสารก่อกลายพันธุ์มากขึ้น เนื่องจากพลาสมิด จะไปเพิ่มความผิดพลาดในการซ่อมแซมความเสียหายของ DNA ทำให้แบคทีเรียมีความไวต่อสารก่อกลายพันธุ์กว้างขึ้น

นอกจากนี้ การทดสอบ Ames' test ยังมีการเพิ่มระบบการกระตุ้นด้วยเอนไซม์ที่ได้จากตับหนู (S9 fraction) เข้าไปในการทดลองด้วย เนื่องจากสารแปลกปลอมที่เป็นพิษต่อร่างกายเมื่อเข้าไปในร่างกายจะถูกเปลี่ยนแปลงโดยระบบเมแทบอลิซึมของร่างกาย ซึ่งเป็นการเปลี่ยนแปลงที่เกิดขึ้นเพื่อช่วยในการสลายความเป็นพิษต่อร่างกาย ขณะเดียวกันอาจเป็นการเปลี่ยนแปลงที่เป็นการกระตุ้นความเป็นพิษต่อร่างกาย ระบบนี้อาศัยเอนไซม์และโคแฟกเตอร์ที่มีอยู่ในเซลล์ตับ ซึ่งสารเคมีต่างๆ เมื่อเข้าสู่ร่างกายจะต้องถูกเปลี่ยนแปลงโดยขบวนการเมแทบอลิซึม ได้แก่

ก. Phase I reaction

phase I reaction เป็นปฏิกิริยาการเปลี่ยนแปลงสารเคมีต่างๆ โดยอาศัยเอนไซม์ microsomal mixed function oxidase ซึ่งเป็นเอนไซม์ของไมโครโซมจากเอนโดพลาสมิก เรติคูลัม ของเซลล์ ปฏิกิริยาที่เกิดเป็นการออกซิไดส์โดยการเติมออกซิเจนแก่สับสเตรทซึ่งหมายถึงสารเคมีต่างๆ ทั้งนี้เพราะสารเคมีเหล่านี้ส่วนมากจะไม่สามารถละลายน้ำ ทำให้ยากต่อการขับออกจากร่างกาย จึงต้องมีการเปลี่ยนแปลงโดยเอนไซม์ ระบบนี้ทำให้เปลี่ยนสถานะของสารเคมีจากสารที่ละลายในไขมัน เป็นสารที่ละลายน้ำ (hydrophilic) ได้ดีขึ้น นอกจากนี้ยังเป็นการเปลี่ยนสารเคมีเพื่อกลายเป็นสับสเตรทของเอนไซม์ใน Phase II reaction ให้เกิดปฏิกิริยาต่อเนื่อง จนสามารถกำจัดความเป็นพิษของสารเคมีได้ อย่างไรก็ตาม ถึงแม้ว่าการเกิดปฏิกิริยาทั้งหมดเพื่อเป็นการกำจัดความเป็นพิษของสารเคมี ในบางกรณีผลที่เกิดขึ้นอาจกลายเป็นสารที่มีพิษมากกว่าสารเคมีต้นแบบ ซึ่งทำให้เกิดพิษ (toxication) ปฏิกิริยาที่เกิดใน Phase I reaction อาศัย

cytochrome P450 โดยที่อิเลคตรอนที่ใช้ในการรีดิวซ์ cytochrome P450 ได้มาจาก NADPH ของปฏิกิริยาที่เกี่ยวข้องแสดงได้โดยสรุปดังนี้



ข. Phase II reaction

เป็นปฏิกิริยาการรวมกันซึ่งจะรวมกับสารเคมีหรือสารตัวกลางที่ได้จาก Phase I reaction กับการรวมกันของสารตัวเร่งในร่างกาย เช่น กลูตาธัยโอน กลัยซีน กลูคิวโรนายด์ ซัลเฟต ฯลฯ ผลที่เกิดขึ้นจะมีความเป็นขั้วมากขึ้นและพิษน้อยลง

ชนิดของปฏิกิริยาแบ่งได้ 2 แบบ ดังนี้

แบบที่ 1

activated conjugation agents + substrate ---------- conjugation product

แบบที่ 2

activated substrate + amino acid ---------- conjugated product

การทดสอบสารก่อกลายพันธุ์โดยเติมเอนไซม์เข้าไป ทำให้สารก่อ กลายพันธุ์ถูกย่อยสลายให้เกิดปฏิกิริยาได้โดยเอนไซม์ที่พบในตับ ทั้งนี้แบคทีเรียไม่มีระบบย่อยสลายดังกล่าว การทดสอบ Ames' test จึงคล้ายกับการจำลองสถานการณ์การเกิดเมแทบอลิซึมสารพิษจนสามารถเปลี่ยนแปลงดีเอ็นเอให้ผิดปกติไปได้ เหมือนกับที่เกิดในร่างกายมนุษย์ (อุษณีย์ วินิจเขตคำนวณ, 2534) วิธี Ames' test จึงเป็นวิธีการดัดแปลงให้ทดสอบได้ทั้งกับ

สารเคมีที่เป็นสารก่อกลายพันธุ์โดยตรงและสารก่อกลายพันธุ์โดยอ้อมที่จำเป็นต้องอาศัยเอนไซม์จากตับ (Araki *et al.,* 1984)

S9 mixture เป็นส่วนผสมของเอนไซม์และโคแฟคเตอร์ที่จำเป็นในการกระตุ้นสารเคมีโดยอาศัยเอนไซม์จากตับเป็นส่วนของ supernatant ที่ได้จากการปั่นตับหนูที่ถูกเหนี่ยวนำให้มีการกระตุ้นเอนไซม์เพิ่มขึ้น เป็นส่วนที่มีเอนไซม์ของระบบเมแทบอลิซึมที่ตับอยู่ สามารถนำไปกระตุ้นปฏิกิริยา ซึ่งอาจเป็นการกระตุ้นแมเทบอลิก หรือ ไม่มีการกระตุ้นแมเทบอลิกของสารเคมีในหลอดทดลองได้

สารเคมีที่ใช้ในการกระตุ้นความไวของเอนไซม์ ที่นิยมได้แก่ polychlorinated (PCB) mixture, arochlor 1254 และ phenobarbital ร่วมกับ 5,6-naphthoflavone การเลือกใช้สารกระตุ้นต่างๆ ขึ้นอยู่กับความสะดวกในการหาสารเคมีนั้นๆ แต่ที่นิยมใช้คือ phenobarbital ร่วมกับ 5,6-naphthoflavone เป็นตัวกระตุ้นเอนไซม์ ทั้งนี้เพราะมีรายงานว่าสารเคมี PCB หรือ arochlor 1254 สลายได้ยากโดยธรรมชาติ ทำให้เพิ่มมลพิษต่อสิ่งแวดล้อม

วิธีตรวจสอบโดย Ames' test นี้ยังสามารถนำไปดัดแปลงใช้เพื่อยืนยันผลและใช้ในกรณีที่ผลการทดลองบางครั้งหาข้ออธิบายสรุปหรือแปลผลไม่ได้ อาทิ วิธี preincubation ของ Yahagi และคณะ ซึ่งเป็นที่ยอมรับและถูกนำไปใช้ในห้องปฏิบัติการอย่างกว้างขวาง (ประสงค์ คุณานุวัฒน์เดช, 2525) มีการศึกษาความสามารถก่อกลายพันธุ์ด้วยวิธี Ames' test ในน้ำทิ้งจากอุตสาหกรรมและน้ำผิวดินจากบริเวณที่มีอุตสาหกรรม พบว่าสายพันธุ์ที่มีความไวที่สุดในการทดสอบ คือ *S. typhimurium* สายพันธุ์ TA98 และ TA100 (Habib and Ahmad, 2003; Mersh-Sundermann, *et al.,* 1988; Kutlu, *et al.,* 2004)

สำหรับประเทศไทย มีการนำวิธี Ames' test มาใช้ในการวิเคราะห์หาสารก่อกลายพันธุ์โดยมีการศึกษาหาสารก่อกลายพันธุ์ของน้ำจากแหล่งน้ำผิวดินสำหรับผลิตน้ำประปาหมู่บ้าน โดยใช้ *S. typhimurium* สายพันธุ์ TA98 ตรวจวิเคราะห์ที่ห้องปฏิบัติการมหาวิทยาลัยขอนแก่น ผลการวิเคราะห์ไม่พบฤทธิ์ก่อกลายพันธุ์ของน้ำ (วราภรณ์ สังสิทธิสวัสดิ์ และคณะ, 2546)

สรุปได้ว่าวิธีการตรวจสอบสารก่อมะเร็งที่มีคุณลักษณะเป็นสารกลายพันธุ์โดย Ames' test นี้เป็นวิธีการที่เหมาะสมอย่างยิ่งที่จะนำเอามาใช้ในวงการวิทยาศาสตร์การแพทย์ที่เกี่ยวข้องกับสารเคมีในสิ่งแวดล้อมของประเทศไทย ถึงแม้ว่าจะมีจุดอ่อนบางแง่ หรือมีความผันแปรซึ่งส่วนใหญ่เกี่ยวพันถึงเทคนิคเล็ก ๆ น้อย ๆ และตัววิธีการตรวจสอบสารก่อมะเร็งในระยะเวลาสั้น มีความไวสูง มีความแม่นยำพอสมควร การตรวจสอบทำได้ง่าย เป็นวิธีที่ประหยัดและลงทุนน้อย

11. ประโยชน์และการประยุกต์ใช้วิธีการตรวจสอบสารก่อกลายพันธุ์หรือสารก่อมะเร็งระยะสั้น

วิธีการทดสอบสารก่อมะเร็งระยะสั้นมีประโยชน์มาก นอกจากจะใช้เป็นวิธีทดสอบศักยภาพของสารเคมีในการที่จะก่อให้เกิดมะเร็ง (carcinogenic potential) หรือทำนายว่าสารเคมีชนิดนั้นๆ จะมีฤทธิ์ก่อมะเร็งหรือไม่แล้ว ยังสามารถนำไปใช้หรือประยุกต์ใช้เพื่อการศึกษา (วรรณี โรจนโพธิ์, 2534) ดังนี้

1. จัดอันดับความสำคัญของสารเคมีเพื่อทำการทดสอบฤทธิ์ก่อมะเร็งในสัตว์ทดลองในกรณีที่มีสารเคมีที่น่าสนใจจะทดสอบฤทธิ์ก่อมะเร็งอยู่หลายชนิด แต่ไม่สามารถจะทดสอบได้ทุกชนิด

2. ทดสอบสารก่อกลายพันธุ์ใน complex mixture เช่น การศึกษาในสิ่งแวดล้อมต่างๆ เช่น อากาศ น้ำ อาหาร น้ำทิ้งจากโรงงานอุตสาหกรรม เป็นต้น ว่าจะมีสารก่อมะเร็งหรือสารก่อกลายพันธุ์ปะปนอยู่หรือไม่ โดยที่ไม่ต้องสกัดแยกสารเคมีให้บริสุทธิ์ก่อน นอกจากนี้ยังใช้วิธีเหล่านี้ติดตามสารสกัด และแยกสารก่อกลายพันธุ์ให้บริสุทธิ์เพื่อค้นหาสารก่อมะเร็งชนิดใหม่

3. ช่วยในการสังเคราะห์สารเคมีที่มีประโยชน์และไม่มีฤทธิ์ก่อมะเร็งหรือฤทธิ์ก่อกลายพันธุ์ สารเคมีบางชนิดมีคุณสมบัติใช้เป็นยารักษาโรคได้ แต่มีฤทธิ์ก่อมะเร็งหรือฤทธิ์ก่อกลายพันธุ์ ดังนั้นจึงมีการพยายามสังเคราะห์อนุพันธุ์ชนิดใหม่ที่ยังมีคุณสมบัติใช้รักษาโรคได้เหมือนเดิม แต่ไม่มีฤทธิ์ก่อมะเร็งหรือฤทธิ์ก่อกลายพันธุ์

4. ติดตามการได้รับหรือสัมผัสสารก่อมะเร็งหรือสารก่อกลายพันธุ์เป็นการใช้วิธีการทดสอบระยะสั้น ทดสอบสารก่อกลายพันธุ์ในเลือด ปัสสาวะ อุจาระของคน ถ้าพบก็แสดงว่าผู้นั้นได้รับสารก่อมะเร็งหรือสารก่อกลายพันธุ์มาก่อน

5. ศึกษาคุณสมบัติต้านการกลายพันธุ์หรือต้านการเกิดมะเร็งของสารเคมีหรือส่วนสกัดจากพืช เช่น สมุนไพร ผัก ผลไม้ เครื่องเทศ เป็นต้น

6. ทดสอบคุณสมบัติของสารเคมีในการเป็นสารตั้งต้นสำหรับสารก่อมะเร็งหรือสารก่อกลายพันธุ์ ประเภทไนโตรโซหรือไนโตรซามีน

7. ทำนายอวัยวะเป้าหมายของสารก่อมะเร็ง

8. ศึกษาเมแทบอลิซึมของสารก่อมะเร็งในสัตว์ทดลองและคน

วัตถุประสงค์ของการวิจัย

1. เพื่อศึกษาความสามารถก่อกลายพันธุ์แบคทีเรียของน้ำเสียจากบ่อบำบัดต่างๆ ของโรงงานอุตสาหกรมผลิตถุงมือยางในจังหวัดสงขลา

2. เพื่อระบุชื่อของสารก่อกลายพันธุ์ในน้ำเสียของโรงงานอุตสาหกรรมผลิตถุงมือยางในจังหวัดสงขลา

3. เพื่อวิเคราะห์ปริมาณของสารก่อกลายพันธุ์ในน้ำเสียของโรงงานอุตสาหกรรมผลิตถุงมือยางในจังหวัดสงขลา

ประโยชน์ที่คาดว่าจะได้รับ

1. ทราบว่าน้ำเสียจากบ่อบัดต่างๆ ของโรงงานอุตสาหกรมผลิตถุงมือยางในจังหวัดสงขลาสามารถก่อกลายพันธุ์ได้หรือไม่

2. ทราบชนิดและปริมาณของสารที่ก่อให้เกิดการกลายพันธุ์ในน้ำทิ้งของโรงงานอุตสาหกรรมผลิตถุงมือยางซึ่งสามารถนำไปใช้ในการประเมินความเสี่ยงและผลกระทบต่อสุขภาพที่อาจเกิดขึ้นกับมนุษย์และสิ่งแวดล้อมได้

3. เป็นข้อมูลประกอบการพิจารณากำหนดมาตรการปรับปรุงคุณภาพน้ำทิ้งของโรงงานอุตสาหกรรมผลิตถุงมือยางเพื่อลดผลกระทบต่อสุขภาพและสิ่งแวดล้อม

บทที่ 2
วิธีการวิจัย

1.วัสดุ

วัสดุที่ใช้ในการศึกษาวิจัยครั้งนี้ ประกอบด้วย เชื้อที่ใช้ทดสอบ อาหารเลี้ยงเชื้อแบคทีเรีย และสารเคมีที่ใช้ในห้องปฏิบัติการและภาคสนาม มีรายละเอียดดังนี้

1.1 เชื้อที่ใช้ทดสอบและอาหารเลี้ยงเชื้อสำหรับเลี้ยงเชื้อแบคทีเรีย

- *Salmonella typhimurium* สายพันธุ์ TA98 และ TA100
- Oxoid nutrient broth No.2 (Oxoid, England)
- Bacto agar (Difco, France)

1.2 สารเคมี

- β-D-Glucose-6-phosphate sodium salt (Sigma, England)
- β-Nicotinamide adenine di-nucleotide: β-NADP (Sigma, USA)
- Citric acid, monohydrate (Sigma, Australia)
- D-Biotin (Sigma, Hong Kong)
- Glucose, anhydrous (Sigma, China)
- Glyceral (Sigma, USA)
- K_2HPO_4 anhydrous (Sigma, USA)
- L-Histidine (Sigma, USA.)
- Na_2HPO_4 (Sigma, Germany)
- $NaH_2PO_4.H_2O$ (Merck, Germany)
- $NH_4H_2PO_4$ (Sigma, Japan)
- NaOH (Sigma, Sweden)
- Dimethyl sulfoxide (DMSO) (Sigma, USA)
- $MgCl_2.6H_2O$ (Fluka, Germany)
- Ampicillin (Sigma, USA)
- NaCl (Sigma, USA)
- 2-(2-furyl-3-5-nitro-2-futyl) acrylamide (AF-2) (Wako, Japan)
- 2-Aminoanthracene (2-AA) (Sigma, USA)
- S9 fraction

- 1% ceric sulfateใน 10% sulfuric acid
- Ethyl acetate
- Methanol
- Acetonitrile
- Crystal violet
- Sterile distilled water
- Autoclave tape
- Aluminium foil

2. เครื่องมือและอุปกรณ์

เครื่องมือและอุปกรณ์ที่ใช้ในการวิจัยครั้งนี้ ประกอบด้วยเครื่องมือที่ใช้ในการวิเคราะห์สารก่อกลายพันธุ์และอุปกรณ์ที่ใช้ในการเก็บตัวอย่างน้ำ อุปกรณ์ในการตรวจวิเคราะห์คุณภาพน้ำ

2.1 เครื่องมือ

- เครื่องวัดค่าการนำไฟฟ้า (conductivity meter)
- เครื่องวัดค่าความขุ่น (turbidity meter)
- เครื่องวัดค่าความเป็นกรด-ด่าง (pH meter)
- เครื่องนับจำนวนโคโลนี
- โครมาโทกราฟีของเหลวสมรรถนะสูง
  (Agilent 1100 series, USA)

2.2 อุปกรณ์

- เทอร์โมมิเตอร์ สำหรับวัดอุณหภูมิน้ำ
- ขวดพลาสติกชนิดโพลีเอทีลีน
- กล่องโฟมมีน้ำแข็งสำหรับรักษาอุณหภูมิของตัวอย่างน้ำ
- ขวดน้ำกลั่น
- ทิชชู
- ปากกาเคมี
- กล้องจุลทรรศน์ (microscope)
- หม้อนึ่งความดันไอ (autoclave)
- ตู้บ่มเชื้อ (incubator) อุณหภูมิ 37^0C

- ตู้อบความร้อน (hot air oven)
- เครื่องอังไอน้ำ (water bath) อุณหภูมิ 45^0C
- เครื่องอังไอน้ำ (water bath) แบบเขย่า อุณหภูมิ 37^0C
- เตาไฟฟ้าพร้อมระบบแม่เหล็ก (hot plate/ magnetic stirrer)
- ตู้ปลอดเชื้อ (laminar flow)
- ตู้เย็น (refrigerator) อุณหภูมิ 4^0C, ตู้เยือกแข็ง (freezer) อุณหภูมิ -20^0C และ อุณหภูมิ -70^0C
- เครื่องชั่งไฟฟ้าทศนิยม 2 ตำแหน่ง
- เครื่องชั่งไฟฟ้าทศนิยม 4 ตำแหน่ง
- เครื่องหมุนเหวี่ยงความเร็วสูง (superspeed centrifuge)
- หัวเหวี่ยงชนิด SLA-1000
- หลอดปั่น
- Micropipette พร้อม tip
- Pipette
- Dispenser
- จานเลี้ยงเชื้อ (petri dish)
- ห่วงเขี่ยเชื้อ (wire loop)
- หลอดทดลอง ขนาด 16×100 mm พร้อมฝาปิด
- L-shaped culture tube
- Spreader
- Forceps
- Filter set
- Filter membrane, 0.22 μm
- Microfuge tube ขนาด 1.5 ml
- ที่วางหลอดทดลอง (rack)
- Cryotube ขนาด 2.0 ml
- ตะเกียงแก๊ส
- ปากกาเขียนฉลากบนเครื่องแก้ว
- Reagent bottle
- Volumetic flask

- Glove
- บีกเกอร์
- กระบอกตวง
- เตาอบไมโครเวฟ
- หลอดหยด
- จุกยาง
- Ultrasonic cleaner
- Shaker ใช้สำหรับ incubate เชื้อ
- Solid phase extraction C18 (SPE-C18)

3. วิธีดำเนินการ

3.1 สถานที่เก็บตัวอย่างและการกำหนดกลุ่มตัวอย่าง

ประชากรที่ใช้ในการศึกษาครั้งนี้ คือโรงงานอุตสาหกรรมผลิตถุงมือยางในจังหวัดสงขลา กำหนดกลุ่มตัวอย่างโดยใช้หลักเกณฑ์การสุ่มตัวอย่างแบบเจาะจง ซึ่งตัวอย่างที่ใช้ในการวิจัยครั้งนี้มีจำนวน 3 โรงงาน

3.2 การเก็บตัวอย่างน้ำเสีย

เก็บตัวอย่างน้ำเสียจากโรงงานอุตสาหกรรมผลิตถุงมือยางเก็บในบ่อบำบัดทุกบ่อโดยใช้วิธีเก็บแบบจ้วงด้วยขวดพลาสติกชนิดโพลีเอทิลีน ปริมาตร 5 ลิตร ทำการวิเคราะห์ตัวอย่างน้ำทางด้านกายภาพและทางเคมี ณ จุดเก็บตัวอย่าง และเก็บตัวอย่างไว้ในกล่องโฟมที่บรรจุน้ำแข็งเพื่อรักษาอุณหภูมิไว้ที่ประมาณ 4 องศาเซลเซียส จากนั้นนำตัวอย่างมาเก็บไว้ในตู้เยือกแข็ง (freezer) อุณหภูมิประมาณ -20 องศาเซลเซียส จนกว่าจะทำการวิเคราะห์ โดยการเก็บตัวอย่างในครั้งนี้ทำการเก็บตัวอย่างในฤดูร้อน (เดือนเมษายน) เก็บตัวอย่างทุกวันติดต่อกันเป็นเวลา 5 วัน

3.3 การวิเคราะห์ตัวอย่างน้ำ

3.3.1 วิเคราะห์ลักษณะทางกายภาพและทางเคมี

1) วัดอุณหภูมิน้ำ ด้วยเทอร์โมมิเตอร์

2) วัดค่าความเป็นกรด-ด่าง (pH) โดยวิธี electrometric โดยใช้ pH meter ชนิด glass electrode หัวเดียว ก่อนใช้เครื่องมือควรปรับ pH โดยใช้สารละลายบัฟเฟอร์ที่ทราบค่าความเป็นกรด-ด่าง ที่แน่นอน เพื่อปรับเครื่องมือให้ได้ค่ามาตรฐานก่อนที่จะทำการวัดตัวอย่างน้ำ

3) วัดค่าการนำไฟฟ้า (conductivity) ด้วย conductivity meter ก่อนใช้ปรับเครื่องมือก่อนการใช้งานด้วยสารละลายมาตรฐาน KCl

3.3.2 วิเคราะห์ความสามารถก่อกลายพันธุ์ของแบคทีเรียในตัวอย่างน้ำ

1) เตรียมตัวอย่างน้ำสำหรับการทดสอบฤทธิ์ก่อกลายพันธุ์ โดยนำตัวอย่างน้ำเสียจากโรงงานอุตสาหกรรมผลิตถุงมือยาง มาปั่นเหวี่ยงโดยใช้หัวเหวี่ยงชนิด SLA-1000 ที่ 15,000 g (10,270 rpm) ให้ตกตะกอนเป็นเวลา 15 นาที จากนั้นนำส่วนใสมากรองด้วยกระดาษกรอง ที่มีขนาดของรูพรุน 0.22 ไมโครเมตร

2) นำตัวอย่างที่กรองแล้วแบ่งเป็น 2 ส่วน โดยส่วนแรกเป็นตัวอย่างที่ความเข้มข้นปกติและอีกส่วนหนึ่งนำมาระเหยจนแห้งในตู้อบอุณหภูมิ 50 องศาเซลเซียส แล้วละลายด้วยน้ำกลั่นที่ปราศจากเชื้อให้ได้ความเข้มข้นเป็น 50-200 เท่าของความเข้มข้นปกติ

3) การทดสอบฤทธิ์ก่อกลายพันธุ์โดยใช้เทคนิคของ Ames และคณะ (1975) ในสภาวะที่มีสารละลาย S9 (S9 mixture) คือ เตรียมตัวอย่างน้ำที่ระดับความเข้มข้นต่างๆ ใช้ตัวอย่าง 50 ไมโครลิตร (test) ผสมกับ overnight broth culture ของแบคทีเรีย *S. typhimurium* สายพันธุ์ TA98 หรือ TA100 ปริมาตร 0.1 มิลลิลิตร เติมสารละลายผสม S9 (S9 mixture) ปริมาตร 0.5 มิลลิลิตร อุ่นและเขย่าที่อุณหภูมิ 37 องศาเซลเซียส นาน 20 นาที จากนั้นเติม molten top agar (ประกอบด้วย 0.6% agar, 0.5% NaCl และ 0.5 mM histidine-biotin) ปริมาตร 2 มิลลิลิตร ซึ่งแช่ไว้ที่อุณหภูมิ 45 องศาเซลเซียส ผสมให้เข้ากันดีแล้วเทบนจานเลี้ยงเชื้อที่มี minimal glucose agar (ประกอบด้วย 10% Vogel-Bonner medium E, 2% glucose และ 1.5% agar) ที่เตรียมไว้ก่อนแล้วทิ้งไว้จน top agar แข็งตัวจึงนำไปบ่มในตู้อบที่อุณหภูมิ 37 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 48 ชั่วโมง นับจำนวนโคโลนีกลายพันธุ์ที่เกิดขึ้น

4) การทดสอบตัวอย่างในสภาวะที่ไม่มีการกระตุ้นปฏิกิริยาด้วยเอนไซม์ (สภาวะที่ไม่มี S9 mixture) ทำโดยการเติม 0.2 M phosphate buffer pH 7.4 ปริมาตร 0.5 มิลลิลิตร แทน S9 mixture

การทดสอบตัวอย่างกลุ่มควบคุมบวก (positive control) ในสภาวะที่ไม่มี S9 mixture ใช้สารก่อกลายพันธุ์ 2-(2-Furyl-3-(5-nitro-2-furyl) acrylamide (AF-2) ที่ความเข้มข้น 0.2 µg/plate สำหรับสายพันธุ์ TA98 และ ที่ความเข้มข้น 0.01 µg/plate สำหรับสายพันธุ์ TA100 – ส่วนในสภาวะที่มี S9 mixture ใช้สารก่อกลายพันธุ์มาตรฐาน 2-aminoanthracene (2-AA) ที่ความเข้มข้น 0.125 µg/plate สำหรับสายพันธุ์ TA98 และ ที่ความเข้มข้น 0.125 µg/plate สำหรับสายพันธุ์ TA100 (บังอร ศรีพานิชกุล และคณะ, 2545) และใช้น้ำกลั่น 50 ไมโครลิตร เป็น negative control

การทดลองตัวอย่างต่างๆ ทำ 2 ครั้ง แต่ละครั้งทำ 3 ซ้ำ อ่านผลการทดลองโดยการนับจำนวนโคโลนีกลายพันธุ์ที่ปรากฏในแต่ละ plate (revertant colonies (His^+)/plate) และนำค่าเฉลี่ยจำนวนโคโลนีกลายพันธุ์ของแต่ละความเข้มข้นที่หักค่าจำนวนโคโลนีกลายพันธุ์โดยตัวเอง (spontaneous revertants, SR) โดยอ่านผลจาก negative control plate แล้วมาแสดงในลักษณะ dose-response relationship การแปลผลที่แสดงว่า ตัวอย่างมีฤทธิ์ก่อกลายพันธุ์ คือ มีอัตราส่วนจำนวนโคโลนี กลายพันธุ์ของตัวอย่างที่ทดสอบต่อจำนวนโคโลนีกลายพันธุ์โดยตัวเองมากกว่า 2

3.3.3 การวิเคราะห์หาสารก่อกลายพันธุ์โดยใช้เครื่องโครมาโทกราฟีของเหลวสมรรถนะสูง

1.1) การสกัดตัวอย่างน้ำ (Filipe *et al*., 2008)

(1) การเตรียมคอลัมน์ของตัวดูดซับของแข็ง (SPE column solvation) ทำได้โดยการชะตัวดูดซับของแข็งด้วยเมทานอลปริมาตร 6 มิลลิลิตร หลังจากนั้นปรับสภาพคอลัมน์ของตัวดูดซับของแข็งโดยการชะด้วยน้ำกลั่นปริมาตร 6 มิลลิลิตร

(2) การสกัดสารตัวอย่าง โดยการผ่านน้ำตัวอย่างเข้าสู่คอลัมน์ของตัวดูดซับของแข็งใช้ตัวอย่างน้ำปริมาตร 500 มิลลิลิตร ภายใต้สภาวะสุญญากาศโดยอัตราไหลของตัวอย่างน้ำอยู่ที่ 15-20 มิลลิตรต่อนาที จากนั้นชะคอลัมน์ด้วยน้ำกลั่นอีกครั้งปริมาตร 3 มิลลิลิตร แล้วนำคอลัมน์ไปทำให้แห้งโดยผ่านก๊าซไนโตรเจนเป็นเวลา 30 นาที

(3) นำสารที่อยู่ในคอลัมน์มาชะด้วย acetonitrile ปริมาตร 5 มิลลิลิตรจะได้ตัวอย่างน้ำเสียที่ความเข้มข้น 100 เท่า ของความเข้มข้นปกติ

1.2) นำตัวอย่างน้ำที่ความเข้มข้น 100 เท่า มาวิเคราะห์ด้วยเครื่องโครมาโทกราฟีของเหลวสมรรถนะสูง รุ่น Agilent 1100 series ใช้คอลัมน์ชนิด Hypersil ODS 4.0×250 mm, 5 μm ตัวตรวจวัดที่ใช้คือ variable wavelength ที่ความยาวคลื่น 270 นาโนเมตร เฟสเคลื่อนที่ คือ acetonitrile : น้ำ (60:40) อัตราการไหล 1.0 มิลลิลิตรต่อนาที อุณหภูมิ 25 องศาเซลเซียส ปริมาตรที่ฉีดเข้าเครื่อง คือ 20 ไมโครลิตร ตัวอย่างละ 3 ซ้ำ (Suzuki *et al*., 1993)

4. การวิเคราะห์ข้อมูล

4.1 วิเคราะห์ข้อมูลด้วยสถิติเชิงพรรณนา (descriptive statistics) ได้แก่ ค่าเฉลี่ย ร้อยละ และ ส่วนเบี่ยงเบนมาตรฐาน โดยใช้โปรแกรมสำเร็จรูป SPSS/PC (Statistical Package for the Social Science/Personal Computer) version 11.5

4.2 วิเคราะห์ข้อมูลด้วยสถิติเชิงวิเคราะห์ (analytical statistics) ได้แก่

4.2.1ค่าสัมประสิทธิ์สหสัมพันธ์ของเพียร์สัน (Pearson correlation coefficient) เพื่อหาค่าความสัมพันธ์ระหว่างความเข้มข้นของส่วนสกัดจากตัวอย่างน้ำและจำนวนโคโลนีกลายพันธุ์

4.2.2 Simple linear regression analysis เพื่อทำนายจำนวนโคโลนีกลายพันธุ์ของเชื้อ *S. typhimurium* ที่เป็นผลจากการเปลี่ยนแปลงของระดับความเข้มข้นของส่วนสกัดจากตัวอย่างน้ำ

4.3 การหาประสิทธิภาพของการวิเคราะห์

4.3.1 การหาค่า % recovery ค่าที่ได้ควรอยู่ในช่วง 90-110%

$$\% \text{ recovery} = \frac{(Cs-Cu) \times 100}{C}$$

เมื่อ Cs = ความเข้มข้นที่วัดได้ของ spiked sample

Cu = ความเข้มข้นที่วัดได้ของ unspiked sample

C = ความเข้มข้นของสารละลายมาตรฐาน

4.3.2 ความเที่ยง (precision) โดยทำการวิเคราะห์ตัวอย่างเดียวกัน 10 ซ้ำ แล้วนำไปคำนวณหาค่าร้อยละส่วนเบี่ยงเบนมาตรฐานสัมพัทธ์ (percent relative standard deviation , % RSD)

$$\%RSD = \frac{SD \times 100}{\bar{x}}$$

เมื่อ SD = ค่าเบี่ยงเบนมาตรฐาน

$\bar{x}$ = ค่าเฉลี่ยของข้อมูล

4.3.3 การหาค่าขีดจำกัดของการตรวจวัด (limit of detection, LOD) หมายถึง ความเข้มข้นที่ต่ำสุดหรือน้อยสุดที่สามารถตรวจวัดได้ โดยนำ reagent blank มาวัดสัญญาณจำนวน 10 ซ้ำ แล้นำค่าสัญญาณที่ได้มาหาค่า SD แล้วคำนวณค่า LOD จากค่าเฉลี่ยของสัญญาณที่ได้จาก blank กับส่วนเบี่ยงเบนมาตรฐาน

$$LOD = 3SD$$

4.3.4 การหาค่าขีดจำกัดของการวิเคราะห์เชิงปริมาณ (limit of quantitation, LOQ) หมายถึงค่าต่ำสุดที่ตรวจหาปริมาณได้ โดยนำ reagent blank มาวัดสัญญาณจำนวน 10 ซ้ำ แล้วคำนวณค่า LOQ จากค่าเฉลี่ยของสัญญาณที่ได้จาก blank กับส่วนเบี่ยงเบนมาตรฐาน

$$LOQ = 10SD$$

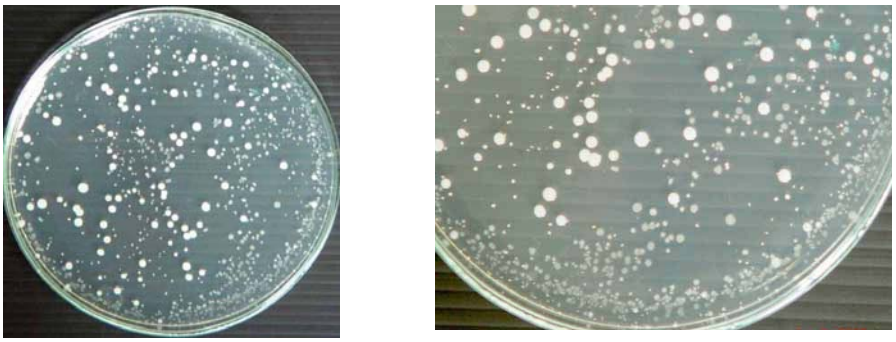
บทที่ 3
ผลและวิจารณ์ผลการการทดลอง

การวิเคราะห์หาสารก่อกลายพันธุ์ในน้ำเสียของโรงงานอุตสาหกรรมผลิตถุงมือยางในจังหวัดสงขลา ทำการศึกษาโดยการนำตัวอย่างน้ำเสียที่ทำการเก็บตัวอย่างในฤดูร้อน (เดือนเมษายน) ปี พ.ศ. 2551 มาทดสอบความสามารถก่อกลายพันธุ์ด้วยวิธี Ames' test ซึ่งใช้แบคทีเรีย *S. typhimurium* สายพันธุ์ TA98 และ TA100 ทั้งในสภาวะที่มีและไม่มี S9 mixture ที่ระดับความเข้มข้นปกติ และที่ความเข้มข้น 50-200 เท่า ซึ่งการทดสอบความสามารถก่อกลายพันธุ์ด้วยวิธี Ames' test โดยใช้ *S. typhimurium* สายพันธุ์ TA98 และ TA100 ทั้งในสภาวะที่มีและไม่มีการย่อยสลายด้วยเอนไซม์จากตับหนู (S9 mixture) ซึ่งเป็นวิธีการที่นิยมใช้ในการตรวจคัดกรองเพื่อประเมินฤทธิ์ก่อกลายพันธุ์เบื้องต้นของสารเคมี เพราะมีความสะดวก รวดเร็ว ขั้นตอนง่ายไม่ซับซ้อน การทดสอบความสามารถก่อกลายพันธุ์ในแบคทีเรียได้เพิ่มระบบการกระตุ้นสารเคมีด้วยเอนไซม์จากตับหนู (S9 mixture) ซึ่งเตรียมจากสัตว์ทดลองที่ถูกเหนี่ยวนำด้วยสารเคมีเพื่อกระตุ้นให้เอนไซม์มีความไวเพิ่มขึ้นเปรียบเสมือนการจำลองสถานการณ์การกระตุ้นสารเคมีด้วยเอนไซม์ที่พบในสัตว์เลี้ยงลูกด้วยน้ำนมเข้าไปในการทดลองด้วย เนื่องจากสารแปลกปลอมที่เป็นพิษต่อร่างกายเมื่อเข้าไปในร่างกายจะถูกเปลี่ยนแปลงโดยระบบแมเทบอลิซึมของร่างกายซึ่งเป็นการเปลี่ยนแปลงที่เกิดขึ้นเพื่อกำจัดสารแปลกปลอมเหล่านั้นออกจากร่างกาย ขณะเดียวกันอาจเป็นการลดหรือเพิ่มความเป็นพิษต่อร่างกาย

การทดสอบความสามารถก่อกลายพันธุ์โดยใช้ *S. typhimurium* สายพันธุ์ TA98 เป็นการทดสอบสารก่อกลายพันธุ์ที่ทำให้เกิดการเปลี่ยนแปลง(เพิ่มหรือลด)จำนวนคู่เบสในดีเอ็นเอ (frameshift mutation) ส่วน *S. typhimurium* สายพันธุ์ TA100 เป็นการทดสอบสารก่อกลายพันธุ์ที่คู่เบสเดิมถูกแทนที่โดยคู่เบสคู่อื่น แต่จำนวนของคู่เบสยังคงเท่าเดิม (base-pair substitution mutation) (U.S. Food and Drug Administration, 2000) และวิเคราะห์หาสารก่อกลายพันธุ์ในตัวอย่างน้ำเสียที่มีความสามารถก่อกลายพันธุ์ด้วยเครื่องโครมาโทกราฟีของเหลวสมรรถนะสูง ซึ่งมีผลการศึกษาเป็นดังนี้

1. ผลการทดสอบความสามารถก่อกลายพันธุ์ด้วยเชื้อ *S. typhimurium* สายพันธุ์ TA98 ในสภาวะที่มีและไม่มี S9 mixture ของตัวอย่างน้ำเสียในบ่อบำบัดต่างๆ ของ โรงงานผลิตถุงมือยาง

จากการทดสอบความสามารถก่อกลายพันธุ์ของตัวอย่างน้ำเสียในโรงงานผลิตถุงมือยางนั้น ผลการทดสอบพบว่าจำนวนโคโลนีกลายพันธุ์ของ positive control มีมากกว่า 2 เท่า ของจำนวนโคโลนีกลายพันธุ์ของ negative control แสดงว่า วิธีการทดสอบและการเปลี่ยนแปลงของเชื้อที่ใช้ในการทดสอบเกิดขึ้นอย่างถูกต้องและเหมาะสม และพบว่าตัวอย่างน้ำเสียของโรงงานผลิตถุงมือยางทุกบ่อบำบัดทั้ง 3 โรง มีฤทธิ์ก่อกลายพันธุ์ต่อ *S. typhimurium* สายพันธุ์ TA 98 ทั้งในสภาวะที่มีและไม่มี S9 mixture เมื่อทำให้ตัวอย่างน้ำเสียมีความเข้มข้นเป็น 50-200 เท่า ของความเข้มข้นปกติ ดังแสดงในตารางที่ 3-4 ถึง 3-6 โดยมีลักษณะโคโลนีกลายพันธุ์ดังแสดงในรูปที่ 3-1 แสดงว่ามีสารก่อกลายพันธุ์ที่อาจเป็นสารตั้งต้น (parent compound) ที่ไม่ถูกย่อยสลายได้ง่ายด้วยเอนไซม์จากตับหนูหรือทั้งสารตั้งต้นและสารเมแทบอไลท์ที่เกิดจากการย่อยสลายตัวด้วยเอนไซม์จากตับหนูต่างมีฤทธิ์ก่อกลายพันธุ์เหมือนกัน



ภาพที่ 3-1 ลักษณะโคโลนีกลายพันธุ์ของ *S. typhimurium* สายพันธุ์ TA98 ในตัวอย่างน้ำเสียโรงที่ 1 บ่อ 1 ที่ความเข้มข้น 100 เท่า ของความเข้มข้นปกติในสภาวะที่มีเอนไซม์จากตับหนู

ตัวอย่างน้ำที่นำมาทดสอบฤทธิ์ก่อกลายพันธุ์ เป็นตัวอย่างน้ำเสียจากโรงงานอุตสาหกรรมผลิตถุงมือยางที่ทำการเก็บในช่วงฤดูร้อนซึ่งเป็นช่วงที่มีปริมาณน้ำน้อยทำให้สารตัวอย่างที่อยู่ในน้ำไม่ถูกเจือจางไปมากนัก การที่น้ำเสียที่ความเข้มข้นปกติไม่มีฤทธิ์ก่อกลายพันธุ์อาจมีสาเหตุมาจากในตัวอย่างน้ำเสียมีสารก่อกลายพันธุ์ในความเข้มข้นน้อยมากเกินกว่าที่จะมีผลให้เกิดการกลายพันธุ์ของเซลล์แบคทีเรียได้ ส่วนฤทธิ์ก่อกลายพันธุ์ของตัวอย่างน้ำเสียซึ่งพบที่ความเข้มข้น 50 เท่าขึ้นไปนั้นแสดงว่ามีสารก่อกลายพันธุ์ที่มีความเข้มข้นสูงพอในตัวอย่างน้ำเสีย

จากการทดสอบพบว่าตัวอย่างน้ำเสียที่เก็บทุกวันติดต่อกันเป็นเวลา 5 วัน จากทุกบ่อบำบัดของโรงงานผลิตถุงมือยางมีสารก่อกลายพันธุ์แสดงว่าระบบบำบัดน้ำเสียของโรงงานผลิตถุงมือยางไม่สามารถบำบัดสารก่อกลายพันธุ์ได้หมด หากในอนาคตมีโรงงานอุตสาหกรรมถุงมือยางจำนวนมากตั้งอยู่ใกล้กับแหล่งน้ำสาธารณะและทั้งหมดปล่อยน้ำทิ้งที่มีสารเคมีที่มีฤทธิ์ก่อกลายพันธุ์ลงสู่แหล่งน้ำสาธารณะอาจจะทำให้แหล่งน้ำสาธารณะนั้นมีความเข้มข้นของสารก่อกลายพันธุ์เพิ่มสูงขึ้นจนถึงระดับที่อาจทำให้เกิดการกลายพันธุ์ของสิ่งมีชีวิตในน้ำก็เป็นได้

ตารางที่ 3-1 ผลการทดสอบความสามารถก่อกลายพันธุ์ของ *S. typhimurium* สายพันธุ์ TA98 ที่เจริญเติบโตในตัวอย่างสกัดจากน้ำเสียโรงงานผลิตถุงมือยางที่ระดับความเข้มข้น 50 เท่าในสภาวะที่มีและไม่มีการย่อยด้วยเอ็นไซม์ของตับหนู

วันที่เก็บตัวอย่าง	ไม่มีเอ็นไซม์ของตับหนู									มีเอ็นไซม์ของตับหนู								
	โรงงานที่ 1			โรงงานที่ 2			โรงงานที่ 3			โรงงานที่ 1			โรงงานที่ 2			โรงงานที่ 3		
	บ่อ 1	บ่อ 2	บ่อ 3	บ่อ 1	บ่อ 2	บ่อ 3	บ่อ 1	บ่อ 2	บ่อ 3	บ่อ 1	บ่อ 2	บ่อ 3	บ่อ 1	บ่อ 2	บ่อ 3	บ่อ 1	บ่อ 2	บ่อ 3
1	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
2	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
3	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
4	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
5	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+

หมายเหตุ : + = มีฤทธิ์ก่อกลายพันธุ์

ตารางที่ 3-2 ผลการทดสอบความสามารถก่อกลายพันธุ์ของ *S. typhimurium* สายพันธุ์ TA98 ที่เจริญเติบโตในตัวอย่างสกัดจากน้ำเสียโรงงานผลิตถุงมือยางที่ระดับความเข้มข้น 100 เท่าในสภาวะที่มีและไม่มีการย่อยด้วยเอ็นไซม์ของตับหนู

วันที่เก็บตัวอย่าง	ไม่มีเอ็นไซม์ของตับหนู									มีเอ็นไซม์ของตับหนู								
	โรงงานที่ 1			โรงงานที่ 2			โรงงานที่ 3			โรงงานที่ 1			โรงงานที่ 2			โรงงานที่ 3		
	บ่อ 1	บ่อ 2	บ่อ 3	บ่อ 1	บ่อ 2	บ่อ 3	บ่อ 1	บ่อ 2	บ่อ 3	บ่อ 1	บ่อ 2	บ่อ 3	บ่อ 1	บ่อ 2	บ่อ 3	บ่อ 1	บ่อ 2	บ่อ 3
1	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
2	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
3	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
4	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
5	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+

หมายเหตุ : + = มีฤทธิ์ก่อกลายพันธุ์

ตารางที่ 3-3 ผลการทดสอบความสามารถก่อกลายพันธุ์ของ *S. typhimurium* สายพันธุ์ TA98 ที่เจริญเติบโตในตัวอย่างสกัดจากน้ำเสียโรงงานผลิตถุงมือยางที่ระดับความเข้มข้น 200 เท่าในสภาวะที่มีและไม่มีการย่อยด้วยเอ็นไซม์ของตับหนู

วันที่เก็บตัวอย่าง	ไม่มีเอ็นไซม์ของตับหนู									มีเอ็นไซม์ของตับหนู								
	โรงงานที่ 1			โรงงานที่ 2			โรงงานที่ 3			โรงงานที่ 1			โรงงานที่ 2			โรงงานที่ 3		
	บ่อ 1	บ่อ 2	บ่อ 3	บ่อ 1	บ่อ 2	บ่อ 3	บ่อ 1	บ่อ 2	บ่อ 3	บ่อ 1	บ่อ 2	บ่อ 3	บ่อ 1	บ่อ 2	บ่อ 3	บ่อ 1	บ่อ 2	บ่อ 3
1	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
2	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
3	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
4	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
5	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+

หมายเหตุ : + = มีฤทธิ์ก่อกลายพันธุ์

2. ผลการทดสอบความสามารถก่อกลายพันธุ์ด้วยเชื้อ *S. typhimurium* สายพันธุ์ TA100 ในสภาวะที่มีและไม่มี S9 mixture ของตัวอย่างน้ำเสียในบ่อบำบัดต่างๆ ของโรงงานผลิตถุงมือยาง

จากการทดสอบความสามารถก่อกลายพันธุ์ของตัวอย่างน้ำเสียในโรงงานผลิตถุงมือยางนั้น ผลการทดสอบพบว่าจำนวนโคโลนีกลายพันธุ์ของ positive control มีมากกว่า 2 เท่าของจำนวนโคโลนีกลายพันธุ์ของ negative control แสดงว่า วิธีการทดสอบและการเปลี่ยนแปลงของเชื้อที่ใช้ในการทดสอบเกิดขึ้นอย่างถูกต้องและเหมาะสม และพบว่าตัวอย่างน้ำเสียของโรงงานผลิตถุงมือยางทุกบ่อบำบัดทั้ง 3 โรง ไม่มีฤทธิ์ก่อกลายพันธุ์ต่อ *S. typhimurium* สายพันธุ์ TA100 ทั้งในสภาวะที่มีและไม่มี S9 mixture แม้แต่ที่ระดับความเข้มข้นสูงถึง 200 เท่า ก็ยังไม่พบฤทธิ์ก่อกลายพันธุ์ต่อแบคทีเรียสายพันธุ์ TA 100 ดังแสดงในตารางที่ 3-7 ถึง 3-9

ตารางที่ 3-4 ผลการทดสอบความสามารถก่อกลายพันธุ์ของ *S. typhimurium* สายพันธุ์ TA100 ที่เจริญเติบโตในตัวอย่างสกัดจากน้ำเสียโรงงานผลิตถุงมือยางที่ระดับความเข้มข้น 50 เท่าในสภาวะที่มีและไม่มีการย่อยด้วยเอ็นไซม์ของตับหนู

วันที่เก็บตัวอย่าง	ไม่มีเอ็นไซม์ของตับหนู									มีเอ็นไซม์ของตับหนู								
	โรงงานที่ 1			โรงงานที่ 2			โรงงานที่ 3			โรงงานที่ 1			โรงงานที่ 2			โรงงานที่ 3		
	บ่อ 1	บ่อ 2	บ่อ 3	บ่อ 1	บ่อ 2	บ่อ 3	บ่อ 1	บ่อ 2	บ่อ 3	บ่อ 1	บ่อ 2	บ่อ 3	บ่อ 1	บ่อ 2	บ่อ 3	บ่อ 1	บ่อ 2	บ่อ 3
1	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
2	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
3	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
4	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
5	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-

หมายเหตุ : - = ไม่มีฤทธิ์ก่อกลายพันธุ์

ตารางที่ 3-5 ผลการทดสอบความสามารถก่อกลายพันธุ์ของ *S. typhimurium* สายพันธุ์ TA100 ที่เจริญเติบโตในตัวอย่างสกัดจากน้ำเสียโรงงานผลิตถุงมือยางที่ระดับความเข้มข้น 100 เท่าในสภาวะที่มีและไม่มีการย่อยด้วยเอ็นไซม์ของตับหนู

วันที่เก็บตัวอย่าง	ไม่มีเอ็นไซม์ของตับหนู									มีเอ็นไซม์ของตับหนู								
	โรงงานที่ 1			โรงงานที่ 2			โรงงานที่ 3			โรงงานที่ 1			โรงงานที่ 2			โรงงานที่ 3		
	บ่อ 1	บ่อ 2	บ่อ 3	บ่อ 1	บ่อ 2	บ่อ 3	บ่อ 1	บ่อ 2	บ่อ 3	บ่อ 1	บ่อ 2	บ่อ 3	บ่อ 1	บ่อ 2	บ่อ 3	บ่อ 1	บ่อ 2	บ่อ 3
1	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
2	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
3	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
4	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
5	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-

หมายเหตุ : - = ไม่มีฤทธิ์ก่อกลายพันธุ์

ตารางที่ 3-6 ผลการทดสอบความสามารถก่อกลายพันธุ์ของ *S. typhimurium* สายพันธุ์ TA100 ที่เจริญเติบโตในตัวอย่างสกัดจากน้ำเสียโรงงานผลิตถุงมือยางที่ระดับความเข้มข้น 200 เท่าในสภาวะที่มีและไม่มีการย่อยด้วยเอ็นไซม์ของตับหนู

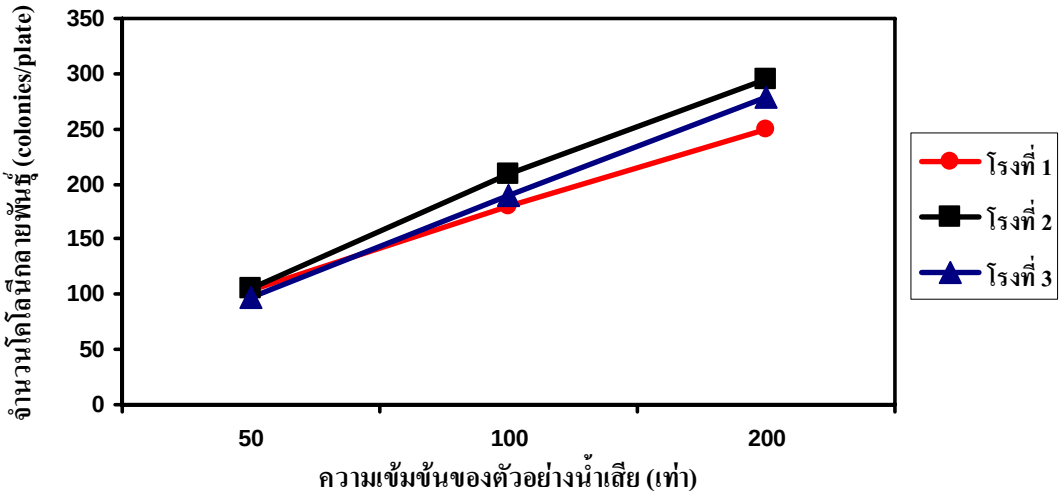
วันที่เก็บตัวอย่าง	ไม่มีเอ็นไซม์ของตับหนู									มีเอ็นไซม์ของตับหนู								
	โรงงานที่ 1			โรงงานที่ 2			โรงงานที่ 3			โรงงานที่ 1			โรงงานที่ 2			โรงงานที่ 3		
	บ่อ 1	บ่อ 2	บ่อ 3	บ่อ 1	บ่อ 2	บ่อ 3	บ่อ 1	บ่อ 2	บ่อ 3	บ่อ 1	บ่อ 2	บ่อ 3	บ่อ 1	บ่อ 2	บ่อ 3	บ่อ 1	บ่อ 2	บ่อ 3
1	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
2	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
3	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
4	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
5	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-

หมายเหตุ : - = ไม่มีฤทธิ์ก่อกลายพันธุ์

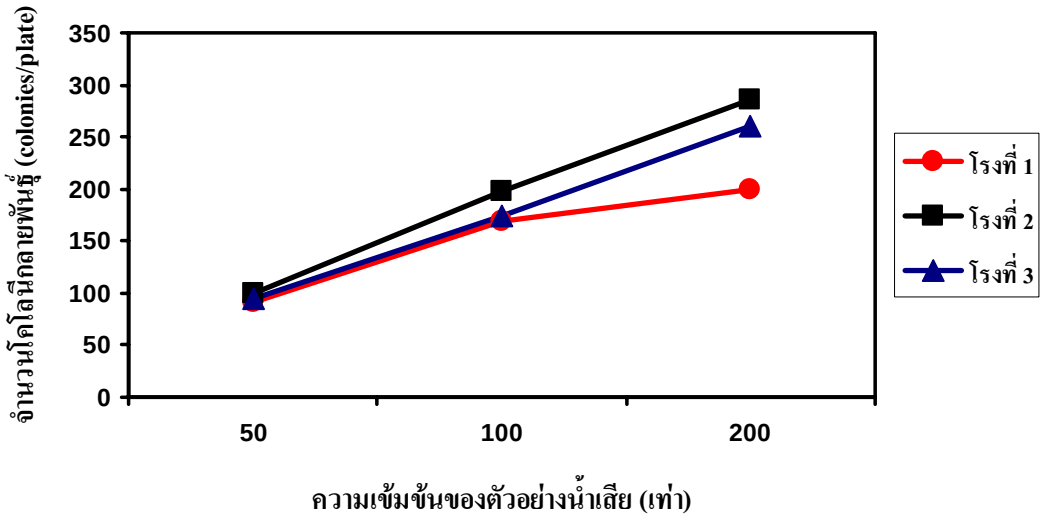
3. ความสัมพันธ์ระหว่างความเข้มข้นของส่วนสกัดจากตัวอย่างน้ำเสียและค่าเฉลี่ยจำนวนโคโลนีกลายพันธุ์ของเชื้อ *S. typhimurium*

จากผลการศึกษาความสามารถก่อกลายพันธุ์ของแบคทีเรียในตัวอย่างน้ำเสียโรงงานผลิตถุงมือยาง ในสภาวะที่มีและไม่มี S9 mixture ทดสอบด้วยเชื้อ *S. typhimurium* สายพันธุ์ TA98 (ตารางที่ 3-1 ถึง 3-3) พบว่าตัวอย่างน้ำเสียทุกบ่อของโรงงานผลิตถุงมือยาง ที่ความเข้มข้น 50, 100 และ 200 เท่า ของความเข้มข้นปกติมีฤทธิ์ก่อกลายพันธุ์

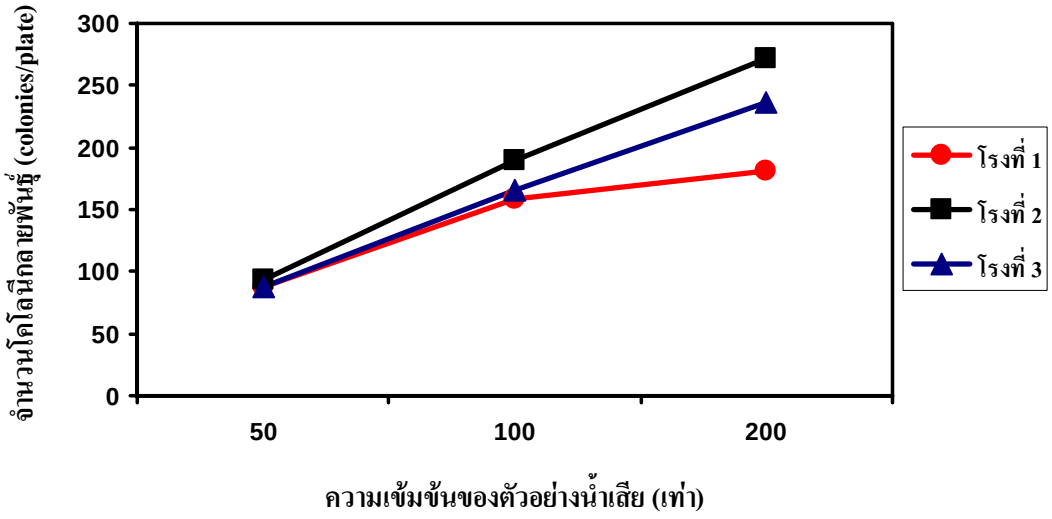
เมื่อนำผลการทดลองมาทดสอบหาความสัมพันธ์ระหว่างความเข้มข้นของส่วนสกัดจากตัวอย่างน้ำเสียและจำนวนโคโลนีกลายพันธุ์ในสภาวะที่ไม่มี S9 mixture โดยใช้สัมประสิทธ์สหสัมพันธ์ของเพียร์สัน (Pearson correlation coefficient) ที่ระดับความเชื่อมั่น 95 % ผลการทดสอบพบว่า โรงงานถุงมือยางโรงที่ 1 ตัวอย่างน้ำเสียที่เก็บใน บ่อ 1-4 มีค่าสัมประสิทธิ์สหสัมพันธ์ (r) เท่ากับ 0.988 ($p<0.001$), 0.987 ($p<0.001$), 0.989 ($p<0.001$) และ 0.993 ($p<0.001$) ตามลำดับ ส่วนโรงงานถุงมือยางโรงที่ 2 ตัวอย่างน้ำเสียที่เก็บใน บ่อ 1-3 มีค่าสัมประสิทธิ์สหสัมพันธ์ (r) เท่ากับ 0.997 ($p<0.001$), 0.989 ($p<0.001$) และ 0.992 ($p<0.001$) ตามลำดับ และโรงงานถุงมือยางโรงที่ 3 ตัวอย่างน้ำเสียที่เก็บใน บ่อ 1-3 มีค่าสัมประสิทธิ์สหสัมพันธ์ (r) เท่ากับ 0.993 ($p<0.001$), 0.990 ($p<0.001$) และ 0.994 ($p<0.001$) ตามลำดับ ดังภาพประกอบที่ 3-2 ถึง 3-4 ส่วนในสภาวะที่มี S9 mixture พบว่าโรงงานถุงมือยางโรงที่ 1 ตัวอย่างน้ำเสียที่เก็บใน บ่อ 1-4 มีค่าสัมประสิทธิ์สหสัมพันธ์ (r) เท่ากับ 0.989 ($p<0.001$), 0.990 ($p<0.001$), 0.990 ($p<0.001$) และ 0.991 ($p<0.001$) ตามลำดับ โรงงานถุงมือยางโรงที่ 2 ตัวอย่างน้ำเสียที่เก็บใน บ่อ 1-3 มีค่าสัมประสิทธิ์สหสัมพันธ์ (r) เท่ากับ 0.991 ($p<0.001$), 0.990 ($p<0.001$) และ 0.990 ($p<0.001$) ตามลำดับ และโรงงานถุงมือยางโรงที่ 3 ตัวอย่างน้ำเสียที่เก็บใน บ่อ 1-3 มีค่าสัมประสิทธิ์สหสัมพันธ์ (r) เท่ากับ 0.990 ($p<0.001$), 0.990 ($p<0.001$) และ 0.988 ($p<0.001$) ตามลำดับ ดังภาพประกอบที่ 3-2 ถึง 3-7 จากกราฟที่แสดงผลการทดสอบทั้ง 2 สภาวะ (ภาพประกอบที่ 3-2 ถึง 3-7) โดยสรุปจะเห็นว่าเมื่อความเข้มข้นของตัวอย่างน้ำเสียเพิ่มขึ้น จำนวนโคโลนีกลายพันธุ์เพิ่มขึ้นตามไปด้วยโดยมีความสัมพันธ์เชิงเส้นตรงต่อกัน บ่งชี้ถึงความสัมพันธ์เชิงเหตุและผลต่อกัน นั้นคือในตัวอย่างน้ำเสียที่นำมาทดสอบมีสารก่อกลายพันธุ์



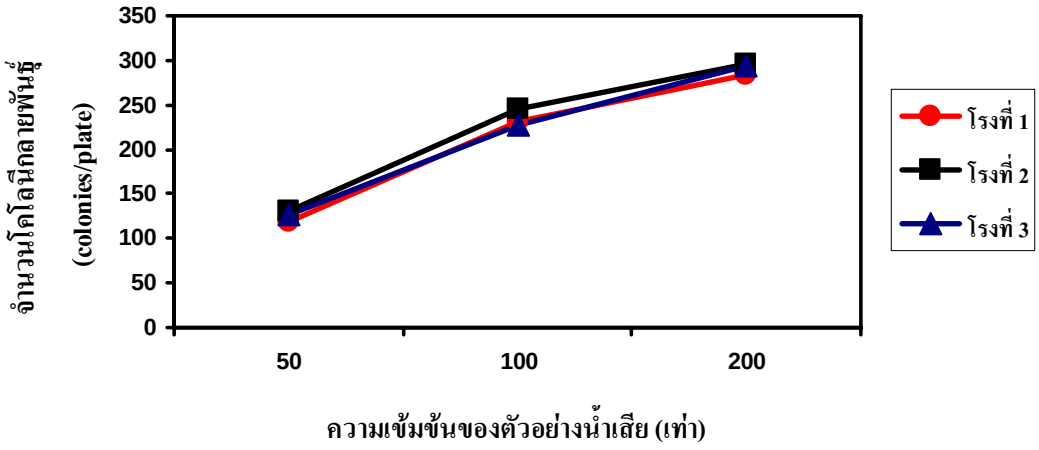
ภาพที่ 3-2 ความสัมพันธ์ระหว่างจำนวนโคโลนีกลายพันธุ์ของเชื้อ *S. typhimurium* สายพันธุ์ TA98 และความเข้มข้นของส่วนสกัดจากตัวอย่างน้ำเสียโรงงานผลิตถุงมือยางโรงที่ 1-3 ตัวอย่างน้ำเสียบ่อ 1 ที่ระดับความเข้มข้นต่างๆ ในสภาวะที่ไม่มี S9



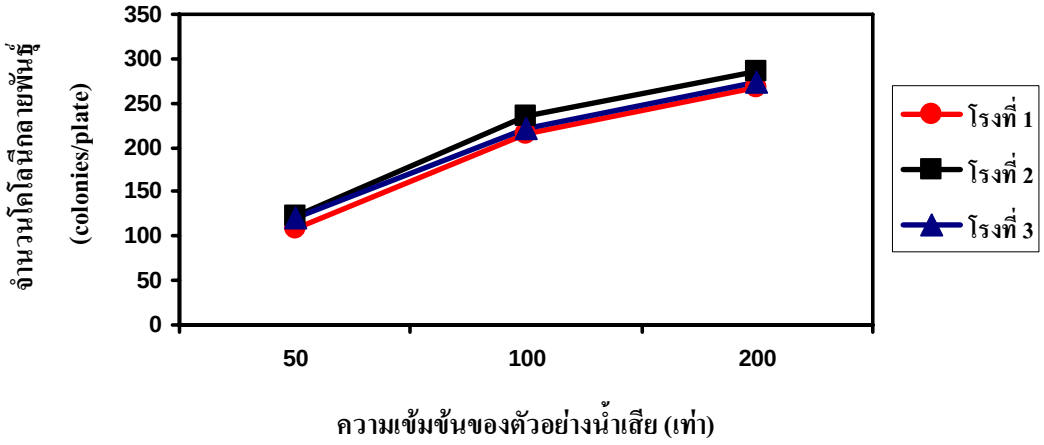
ภาพที่ 3-3 ความสัมพันธ์ระหว่างจำนวนโคโลนีกลายพันธุ์ของเชื้อ *S. typhimurium* สายพันธุ์ TA98 และความเข้มข้นของส่วนสกัดจากตัวอย่างน้ำเสียโรงงานผลิตถุงมือยางโรงที่ 1-3 ตัวอย่างน้ำเสียบ่อ 2 ที่ระดับความเข้มข้นต่างๆ ในสภาวะที่ไม่มี S9



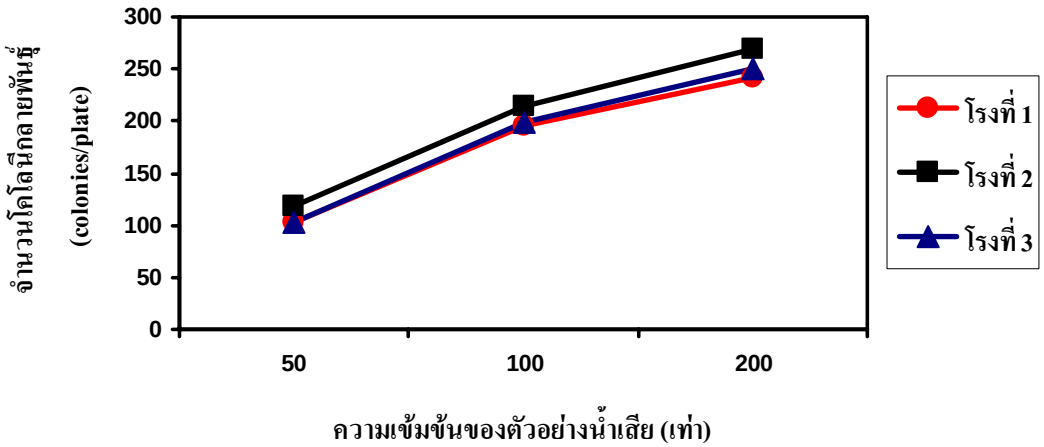
ภาพที่ 3-4 ความสัมพันธ์ระหว่างจำนวนโคโลนีกลายพันธุ์ของเชื้อ *S. typhimurium* สายพันธุ์ TA98 และความเข้มข้นของส่วนสกัดจากตัวอย่างน้ำเสียโรงงานผลิตถุงมือยางโรงที่ 1-3 ตัวอย่างน้ำเสียบ่อ 3 ที่ระดับความเข้มข้นต่างๆ ในสภาวะที่ไม่มี S9



ภาพที่ 3-5 ความสัมพันธ์ระหว่างจำนวนโคโลนีกลายพันธุ์ของเชื้อ *S. typhimurium* สายพันธุ์ TA98 และความเข้มข้นของส่วนสกัดจากตัวอย่างน้ำเสียโรงงานผลิตถุงมือยางโรงที่ 1-3 ตัวอย่างน้ำเสียบ่อ 1 ที่ระดับความเข้มข้นต่างๆ ในสภาวะที่มี S9



ภาพที่ 3-6 ความสัมพันธ์ระหว่างจำนวนโคโลนีกลายพันธุ์ของเชื้อ *S. typhimurium* สายพันธุ์ TA98 และความเข้มข้นของส่วนสกัดจากตัวอย่างน้ำเสียโรงงานผลิตถุงมือยางโรงที่ 1-3 ตัวอย่างน้ำเสียบ่อ 2 ที่ระดับความเข้มข้นต่างๆ ในสภาวะที่มี S9



ภาพที่ 3-7 ความสัมพันธ์ระหว่างจำนวนโคโลนีกลายพันธุ์ของเชื้อ *S. typhimurium* สายพันธุ์ TA98 และความเข้มข้นของส่วนสกัดจากตัวอย่างน้ำเสียโรงงานผลิตถุงมือยางโรงที่ 1-3 ตัวอย่างน้ำเสียบ่อ 3 ที่ระดับความเข้มข้นต่างๆ ในสภาวะที่มี S9

การทดสอบฤทธิ์ก่อกลายพันธุ์โดยใช้แบคทีเรีย *S. typhimurium* ซึ่งเป็นเซลล์โปรคาริโอตนั้นถือว่าเป็นการทดสอบขั้นแรกเนื่องจากสามารถทำได้ง่าย สะดวก และรวดเร็วเพื่อเป็นการตรวจคัดกรองก่อนการทดสอบฤทธิ์การก่อกลายพันธุ์และการก่อมะเร็งในสัตว์เลี้ยงลูกด้วยนมซึ่งมีเซลล์แบบยูคาริโอตต่อไป ทั้งนี้เพื่อให้การวิเคราะห์หาสารก่อกลายพันธุ์หรือสารก่อมะเร็งในสิ่งแวดล้อมเป็นไปได้อย่างรวดเร็ว ประหยัดเวลาและค่าใช้จ่ายได้มาก

4. ผลการวิเคราะห์หาชนิดและปริมาณของสารก่อกลายพันธุ์แบคทีเรียของน้ำเสียจากโรงงานอุตสาหกรรมผลิตถุงมือยาง

4.1 ผลการวิเคราะห์หาชนิดของสารก่อกลายพันธุ์แบคทีเรียของน้ำเสียจากโรงงานอุตสาหกรรมผลิตถุงมือยาง

เมื่อนำตัวอย่างน้ำเสียจากโรงงานผลิตถุงมือยางโรงที่ 2 บ่อที่ 1 ที่ความเข้มข้น 100 เท่าของความเข้มข้นปกติ มาวิเคราะห์ด้วยโครมาโทกราฟีของเหลวสมรรถนะสูง ตรวจวัดด้วยตัวตรวจวัด UV-Vis ในสภาวะที่สามารถวิเคราะห์สารเคมีที่ใช้ในกระบวนการวัลคาไนซ์ได้หลายตัวในคราวเดียวกัน (Suzuki *et al.,* 1993; Bergendorff *et al*., 2006) จากผลการศึกษาพบว่า peak ของตัวอย่างน้ำเสียที่ทำการทดสอบมี retention time ใกล้เคียงกับสารเคมีบางตัวที่ใช้กระบวนการวัลคาไนซ์ ดังตารางที่ 3-7 และภาพประกอบที่ 3-9 และ 3-13 จึงได้นำตัวอย่างน้ำเสียมาทำการวิเคราะห์พบว่าตัวอย่างน้ำเสียมี retention time ตรงกับ retention time ของสารละลายมาตรฐานสารประกอบ TMTD และ ZDMC ดังภาพประกอบที่ 3-8 ถึง 3-15 ดังนั้นในตัวอย่างน้ำเสียโรงงานผลิตถุงมือยางทุกบ่อบำบัดทั้ง 3 โรง น่าจะเป็นสารประกอบ TMTD และ ZDMC โดยทำการวิเคราะห์ตัวอย่างน้ำเสียที่ความเข้มข้น 100 เท่าของความเข้มข้นปกติ

ตารางที่ 3-7 Retention time ของสารเคมีที่ใช้ในกระบวนการวัลคาไนซ์

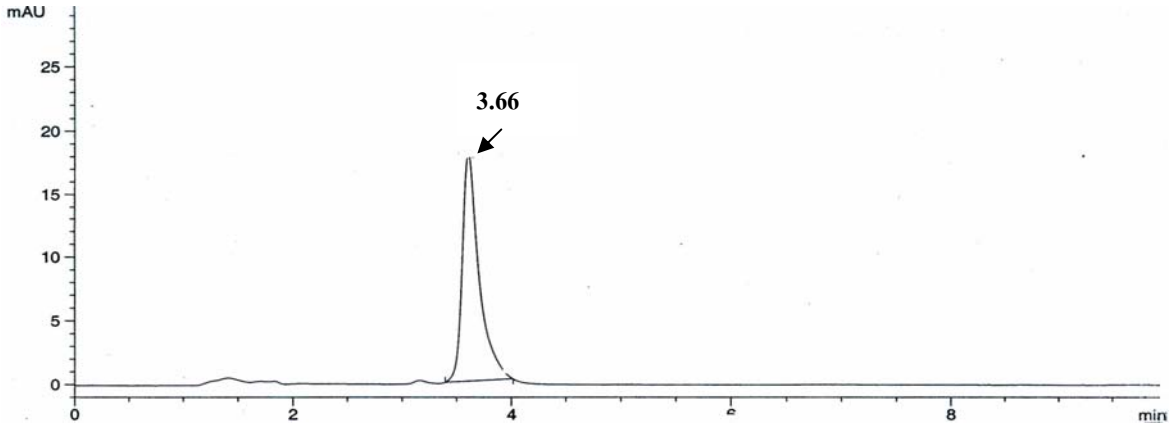
สารเคมีที่ใช้ในกระบวนการวัลคาไนซ์	**Retention time (min)**
Tetramethylthiuram monosulfide (TMTM)	4.5
Tetramethylthiuram disulfide (TMTD)	3.6
Zinc dimethyldithiocarbamate (ZDMC)	6.4
Tetraethylthiuram disulfide (TETD)	20.1
Zinc diethyldithiocarbamate (ZDEC)	27.7
Zinc dibenzyldithiocarbamate (ZBEC)	42.2
Zinc dibutyldithiocarbamate (ZDBC)	48.0

ตารางที่ 3-8 Retention time ของตัวอย่างน้ำเสียที่มีสารประกอบ TMTD อยู่

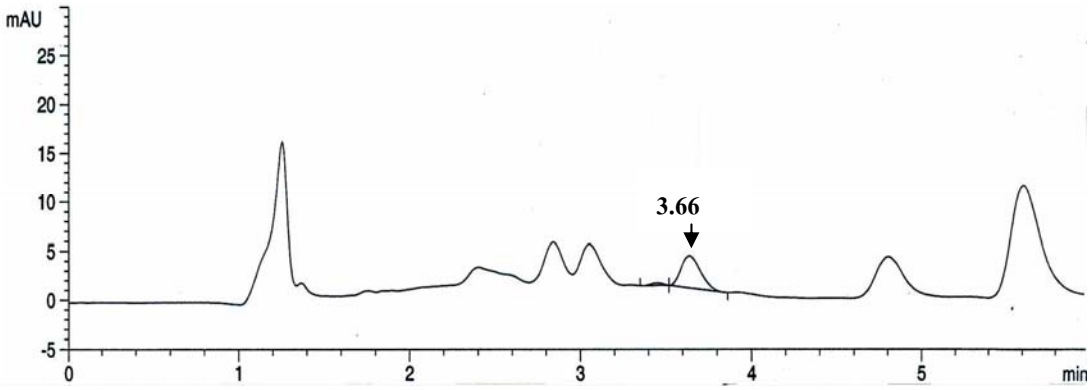
ตัวอย่างน้ำเสีย	Retention time (min)
โรงงานผลิตถุงมือยางโรงที่ 1 บ่อ 1	3.67
โรงงานผลิตถุงมือยางโรงที่ 2 บ่อ 1	3.66
โรงงานผลิตถุงมือยางโรงที่ 3 บ่อ 1	3.65

ตารางที่ 3-9 Retention time ของตัวอย่างน้ำเสียที่มีสารประกอบ ZDMC อยู่

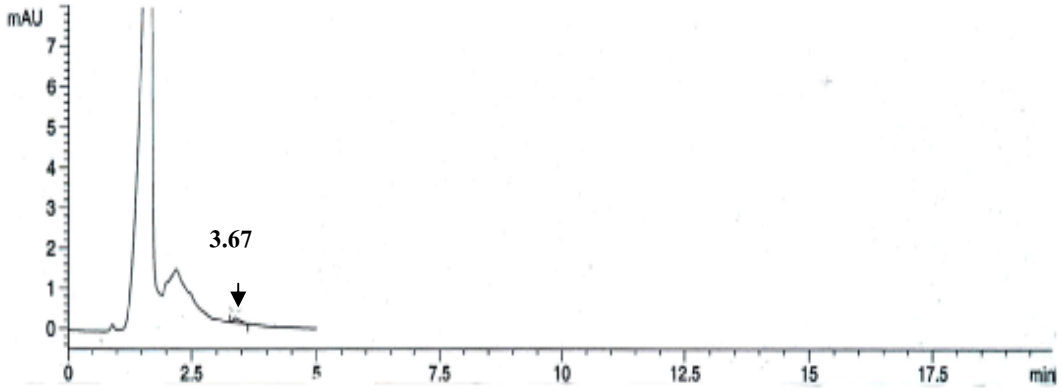
ตัวอย่างน้ำเสีย	Retention time (min)
โรงงานผลิตถุงมือยางโรงที่ 1 บ่อ 1	6.47
โรงงานผลิตถุงมือยางโรงที่ 2 บ่อ 1	6.45
โรงงานผลิตถุงมือยางโรงที่ 2 บ่อ 2	6.44
โรงงานผลิตถุงมือยางโรงที่ 3 บ่อ 1	6.46



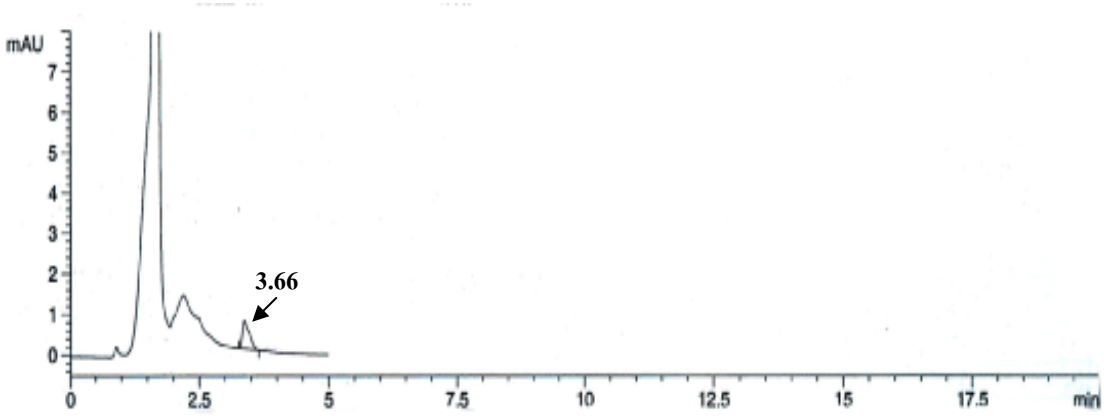
ภาพที่ 3-8 โครมาโทแกรมสารละลายมาตรฐาน TMTD ความเข้มข้น 4 มิลลิกรัมต่อลิตร



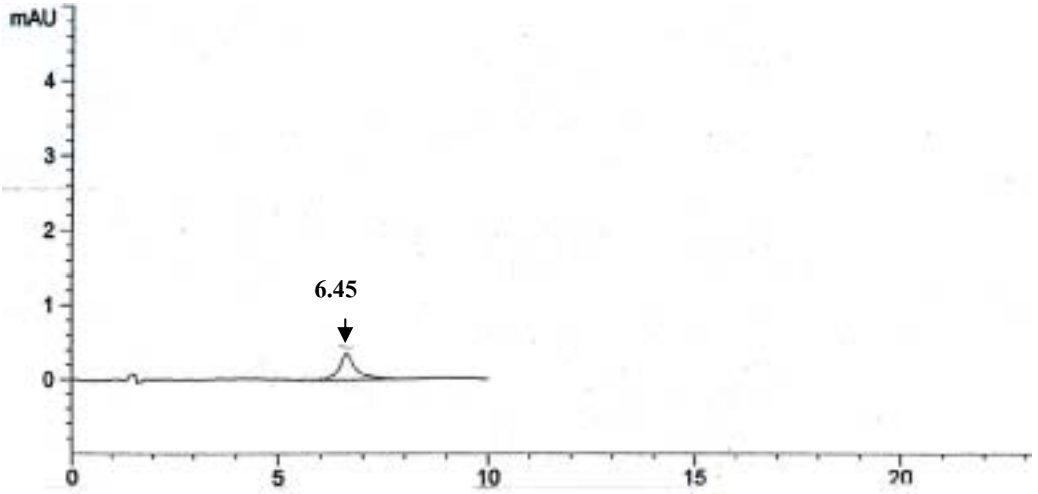
ภาพที่ 3-9 ลักษณะโครมาโทแกรมของตัวอย่างน้ำเสียโรงงานผลิตถุงมือยางโรง 2 บ่อ 1 ที่มีสารประกอบ TMTD อยู่



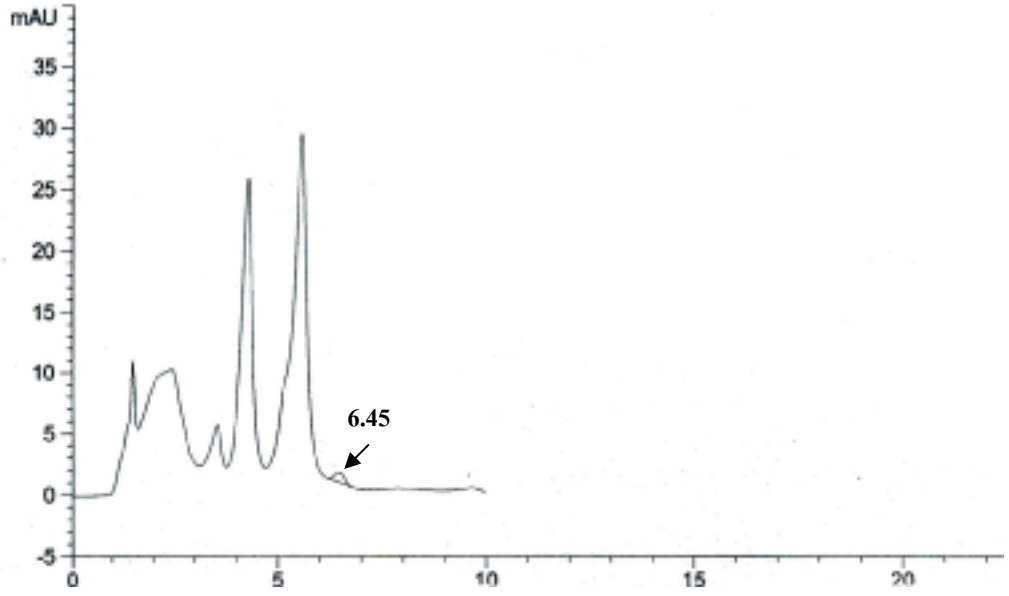
ภาพที่ 3-10 โครมาโทแกรมของตัวอย่างน้ำเสียโรงงานผลิตถุงมือยางโรงที่ 1 บ่อ 2



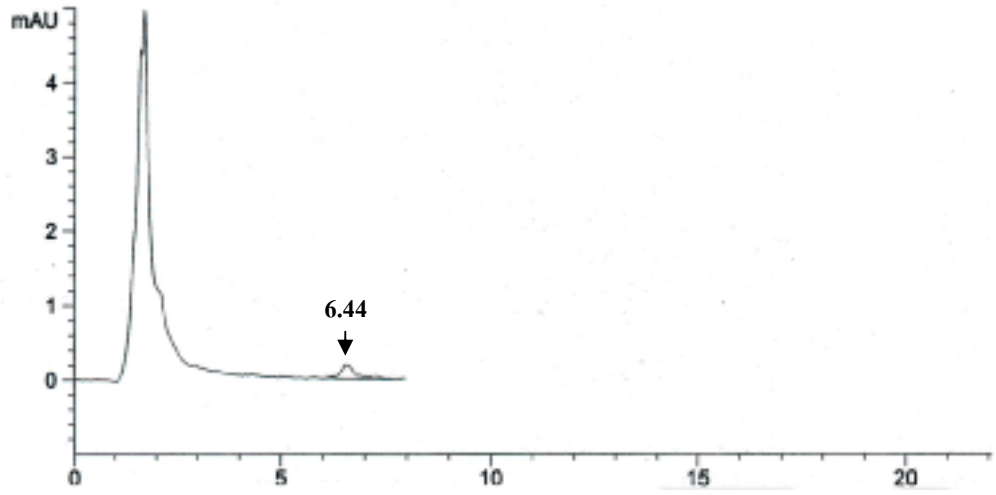
ภาพที่ 3-11 โครมาโทแกรมของตัวอย่างน้ำเสียโรงงานผลิตถุงมือยางโรงที่ 1 บ่อ 2 ที่ spike สารประกอบ TMTD ลงไป 5 มิลลิกรัมต่อลิตร



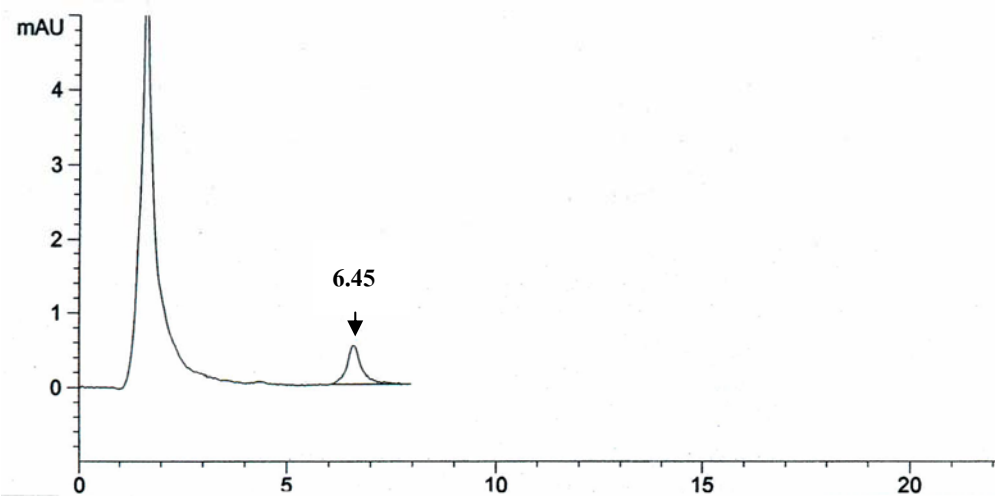
ภาพที่ 3-12 ลักษณะโครมาโทแกรมของสารละลายมาตรฐาน ZDMC ความเข้มข้น 20 มิลลิกรัมต่อลิตร



ภาพที่ 3-13 ลักษณะโครมาโทแกรมของตัวอย่างน้ำเสียโรงงานผลิตถุงมือยางโรง 2 บ่อ 1 ที่มีสารประกอบ ZDMC อยู่



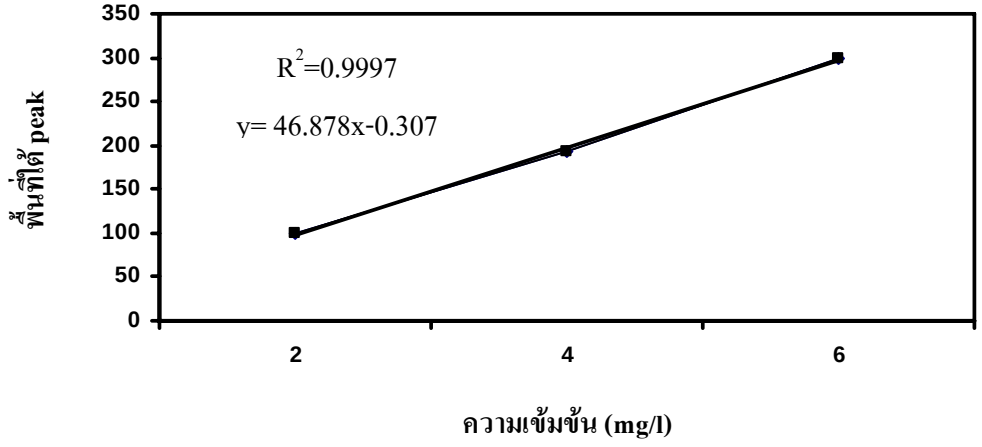
ภาพที่ 3-14 ลักษณะโครมาโทแกรมของตัวอย่างน้ำเสียโรงงานถุงมือยางโรง 2 บ่อ 3



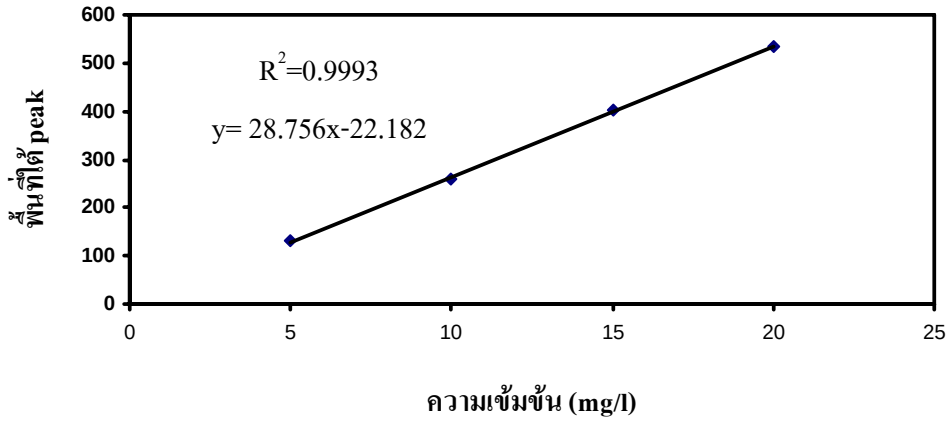
ภาพที่ 3-15 ลักษณะโครมาโทแกรมของตัวอย่างน้ำเสียโรงงานถุงมือยางโรง 2 บ่อ 3 ที่ spike สารประกอบ ZDMC ลงไป 100 มิลลิกรัมต่อลิตร

4.2 ผลการวิเคราะห์หาปริมาณของ TMTD และ ZDMC ในตัวอย่างน้ำเสียจากโรงงานอุตสาหกรรมผลิตถุงมือยาง

จากผลการวิเคราะห์หาสารก่อกลายพันธุ์ด้วย HPLC พบว่าน่าจะเป็นสารประกอบ TMTD และ ZDMC จึงได้ทำการวิเคราะห์หาปริมาณของสารประกอบทั้งสองที่มีอยู่ในตัวอย่างน้ำเสียของโรงงานผลิตถุงมือยาง คำนวณความเข้มข้นโดยเปรียบเทียบพื้นที่ใต้ peak กับกราฟมาตรฐานของสารประกอบ TMTD (ภาพประกอบที่ 3-16) และ ZDMC (ภาพประกอบที่ 3-17) ดังแสดงในตารางที่ 3-10 และ 3-11



ภาพที่ 3-16 กราฟมาตรฐาน (calibration curve) ของสารประกอบ TMTD



ภาพที่ 3-17 กราฟมาตรฐาน (calibration curve) ของสารประกอบ ZDMC

ตารางที่ 3-10 ปริมาณของสารประกอบ TMTD ในตัวอย่างน้ำเสียจากโรงงานผลิตถุงมือยาง

ตัวอย่างน้ำเสีย	ความเข้มข้น 100 เท่า (มิลลิกรัมต่อลิตร)	ความเข้มข้นปกติ (มิลลิกรัมต่อลิตร)
โรงงานผลิตถุงมือยางโรงที่ 1 บ่อ 1	0.19±1.03	0.002
โรงงานผลิตถุงมือยางโรงที่ 1 บ่อ 2	Nd	Nd
โรงงานผลิตถุงมือยางโรงที่ 1 บ่อ 3	Nd	Nd
โรงงานผลิตถุงมือยางโรงที่ 1 บ่อ 4	Nd	Nd
โรงงานผลิตถุงมือยางโรงที่ 2 บ่อ 1	0.43±2.81	0.004
โรงงานผลิตถุงมือยางโรงที่ 2 บ่อ 2	trace	trace
โรงงานผลิตถุงมือยางโรงที่ 2 บ่อ 3	trace	trace
โรงงานผลิตถุงมือยางโรงที่ 3 บ่อ 1	0.24±2.09	0.002
โรงงานผลิตถุงมือยางโรงที่ 3 บ่อ 2	Nd	Nd
โรงงานผลิตถุงมือยางโรงที่ 3 บ่อ 3	Nd	Nd

หมายเหตุ : Nd = ตรวจวัดได้น้อยกว่า 0.05 มิลลิกรัมต่อลิตร

LOD=0.015 มิลลิกรัมต่อลิตร

LOQ= 0.05 มิลลิกรัมต่อลิตร

trace = ตรวจพบแต่ไม่สามารถหาปริมาณได้

ตารางที่ 3-11 ปริมาณของสารประกอบ ZDMC ในตัวอย่างน้ำเสียจากโรงงานผลิตถุงมือยาง

ตัวอย่างน้ำเสีย	ความเข้มข้น 100 เท่า (มิลลิกรัมต่อลิตร)	ความเข้มข้นปกติ (มิลลิกรัมต่อลิตร)
โรงงานผลิตถุงมือยางโรงที่ 1 บ่อ 1	2.35±1.43	0.024
โรงงานผลิตถุงมือยางโรงที่ 1 บ่อ 2	Nd	Nd
โรงงานผลิตถุงมือยางโรงที่ 1 บ่อ 3	Nd	Nd
โรงงานผลิตถุงมือยางโรงที่ 1 บ่อ 4	Nd	Nd
โรงงานผลิตถุงมือยางโรงที่ 2 บ่อ 1	7.82±2.21	0.08
โรงงานผลิตถุงมือยางโรงที่ 2 บ่อ 2	5.82±1.83	0.06
โรงงานผลิตถุงมือยางโรงที่ 2 บ่อ 3	trace	trace
โรงงานผลิตถุงมือยางโรงที่ 3 บ่อ 1	4.70±2.37	0.05
โรงงานผลิตถุงมือยางโรงที่ 3 บ่อ 2	Nd	Nd
โรงงานผลิตถุงมือยางโรงที่ 3 บ่อ 3	Nd	Nd

หมายเหตุ : Nd = ตรวจวัดได้น้อยกว่า 1 มิลลิกรัมต่อลิตร

LOD=0.3 มิลลิกรัมต่อลิตร

LOQ= 1 มิลลิกรัมต่อลิตร

trace = ตรวจพบแต่ไม่สามารถหาปริมาณได้

เมื่อทดสอบหาค่า % recovery ของตัวอย่างน้ำเสียโรงงานถุงมือยางโรงที่ 1 บ่อ 2 โดยการ spike สารมาตรฐาน TMTD 5 มิลลิกรัมต่อลิตร ได้ค่า % recovery เป็น 94.40 ดังแสดงในตารางที่ 3-12 ซึ่งอยู่ในช่วง 90-110 แสดงว่ามีความน่าเชื่อถือของผลการวิเคราะห์เพียงพอ

ตารางที่ 3-12 การหาค่า % recovery ของการวิเคราะห์หาปริมาณสารประกอบ TMTD

ตัวอย่าง	ครั้งที่	ปริมาณที่พบ (มิลลิกรัมต่อลิตร)	ปริมาณเฉลี่ย (มิลลิกรัมต่อลิตร)	เปอร์เซ็นต์ recovery
โรงที่ 1 บ่อ 2	1	4.53±1.21	4.77	94.40
	2	5.11±1.53		
	3	4.68±1.33		

เมื่อทดสอบหาค่า % recovery ของตัวอย่างน้ำเสียโรงงานถุงมือยางโรงที่ 2 บ่อ 3 โดยการ spike สารมาตรฐาน ZDMC 100 มิลลิกรัมต่อลิตร ได้ค่า % recovery เป็น 93.18 ดังแสดงในตารางที่ 3-13 ซึ่งอยู่ในช่วง 90-110 แสดงว่ามีความน่าเชื่อถือของผลการวิเคราะห์เพียงพอ

ตารางที่ 3-13 การหาค่า % recovery ของการวิเคราะห์หาปริมาณสารประกอบ ZDMC

ตัวอย่าง	ครั้งที่	ปริมาณที่พบ (มิลลิกรัมต่อลิตร)	ปริมาณเฉลี่ย (มิลลิกรัมต่อลิตร)	เปอร์เซ็นต์ recovery
โรงที่ 2 บ่อ 3	1	95.42±1.05	94.18	93.18
	2	92.83±1.72		
	3	94.29±1.43		

4.3 ผลการวิเคราะห์ความสามารถก่อกลายพันธุ์ของสารมาตรฐาน TMTD

จากการทดลองพบว่าสารประกอบ TMTD มีฤทธิ์ก่อกลายพันธุ์ต่อสายพันธุ์ TA98 ในสภาวะที่มี S9 mixture โดยฤทธิ์ก่อกลายพันธุ์เพิ่มขึ้นเมื่อความเข้มข้นเพิ่มขึ้นดังตารางที่ 3-14 ถึง 3-15

ตารางที่ 3-14 ผลการทดสอบความสามารถก่อกลายพันธุ์ของ *S. typhimurium* สายพันธุ์ TA98 ที่กลายพันธุ์ในสภาวะที่มีและไม่มี S9 mixture ของสารบริสุทธิ์ TMTD ที่ความเข้มข้นต่างๆ

ความเข้มข้นของสารบริสุทธิ์ TMTD (มิลลิกรัมต่อลิตร)	ไม่มีเอ็นไซม์ของตับหนู	มีเอ็นไซม์ของตับหนู
0.03	-	+
0.06	-	+
0.13	-	+
0.25	-	+
0.50	-	+

หมายเหตุ : + = มีฤทธิ์ก่อกลายพันธุ์, - = ไม่มีฤทธิ์ก่อกลายพันธุ์

ตารางที่ 3-15 ผลการทดสอบความสามารถก่อกลายพันธุ์ของ *S. typhimurium* สายพันธุ์ TA100 ที่กลายพันธุ์ในสภาวะที่มีและไม่มี S9 mixture ของสารบริสุทธิ์ TMTD ที่ความเข้มข้นต่างๆ

ความเข้มข้นของสารบริสุทธิ์ TMTD (มิลลิกรัมต่อลิตร)	ไม่มีเอ็นไซม์ของตับหนู	มีเอ็นไซม์ของตับหนู
0.03	-	-
0.06	-	-
0.13	-	-
0.25	-	-
0.50	-	-

หมายเหตุ : + = มีฤทธิ์ก่อกลายพันธุ์, - = ไม่มีฤทธิ์ก่อกลายพันธุ์

4.4 ผลการวิเคราะห์ความสามารถก่อกลายพันธุ์ของสารมาตรฐาน ZDMC

จากการทดลองพบว่าสารประกอบ ZDMC มีฤทธิ์ก่อกลายพันธุ์ต่อสายพันธุ์ TA98 ในสภาวะที่มีและไม่มี S9 mixture โดยฤทธิ์ก่อกลายพันธุ์เพิ่มขึ้นเมื่อความเข้มข้นเพิ่มขึ้นดังตารางที่ 3-16 ถึง 3-17

ตารางที่ 3-16 ผลการทดสอบความสามารถก่อกลายพันธุ์ของ *S. typhimurium* สายพันธุ์ TA98 ที่กลายพันธุ์ในสภาวะที่มีและไม่มี S9 mixture ของสารบริสุทธิ์ ZDMC ที่ความเข้มข้นต่างๆ

ความเข้มข้นของสารบริสุทธิ์ ZDMC (มิลลิกรัมต่อลิตร)	ไม่มีเอ็นไซม์ของตับหนู	มีเอ็นไซม์ของตับหนู
0.03	+	+
0.06	+	+
0.13	+	+
0.25	+	+
0.50	+	+

หมายเหตุ : + = มีฤทธิ์ก่อกลายพันธุ์, - = ไม่มีฤทธิ์ก่อกลายพันธุ์

ตารางที่ 3-17 ผลการทดสอบความสามารถก่อกลายพันธุ์ของ *S. typhimurium* สายพันธุ์ TA100 ที่กลายพันธุ์ในสภาวะที่มีและไม่มี S9 mixture ของสารบริสุทธิ์ ZDMC ที่ความเข้มข้นต่างๆ

ความเข้มข้นของสารบริสุทธิ์ ZDMC (มิลลิกรัมต่อลิตร)	ไม่มีเอ็นไซม์ของตับหนู	มีเอ็นไซม์ของตับหนู
0.03	-	-
0.06	-	-
0.13	-	-
0.25	-	-
0.50	-	-

หมายเหตุ : + = มีฤทธิ์ก่อกลายพันธุ์, - = ไม่มีฤทธิ์ก่อกลายพันธุ์

นอกจากนี้ยังมีรายงานพบว่าสาร TMTD และ ZDMC ทำให้เกิดการกลายพันธุ์ใน *E.coli* และในหนู (Yadav, *et al.,* 2001) และจากการทดสอบความสามารถก่อกลายพันธุ์ของสารประกอบ TMTD ที่ระดับความเข้มข้น 0.03-1 มิลลิกรัมต่อลิตร ด้วย *S. typhimurium* สายพันธุ์ TA98 และ TA100 ในสภาวะที่มีและไม่มีการย่อยสลายด้วยเอนไซม์จากตับหนู พบว่ามีฤทธิ์

ก่อกลายพันธุ์ต่อ *S. typhimurium* สายพันธุ์ TA98 ในสภาวะที่มีการย่อยสลายด้วยเอนไซม์จากตับหนู (ตารางที่ 3-38) แสดงว่าเป็นสารก่อกลายพันธุ์ที่ออกฤทธิ์โดยทางอ้อม (indirect mutagen) และจากการวิเคราะห์หาปริมาณของสารประกอบ TMTD ในตัวอย่างน้ำเสียพบว่ามีปริมาณน้อยมาก เนื่องจากสารประกอบ TMTD สามารสลายตัวได้เร็วในน้ำโดยที่ pH 3.5 pH 3.5 TMTD จะสามารถสลายตัวได้ใน 4-5 สัปดาห์ ส่วนที่ pH 7 TMTD สามารถสลายตัวได้ใน 14-15 สัปดาห์ (Sharma *et al.,*)

จากการศึกษาความสามารถก่อกลายพันธุ์ของสารประกอบ ZDMC ที่ความเข้มข้น 0.25-2 มิลลิกรัมต่อลิตร พบว่ามีฤทธิ์ก่อกลายพันธุ์ต่อ *S. typhimurium* สายพันธุ์ TA98 ทั้งในสภาวะที่มีและไม่มี S9 ซึ่งสอดคลองกับรายงานก่อนหน้านี้ที่พบว่าสารประกอบ ZDMC ทำให้เกิดการกลายพันธุ์ต่อ *S. typhimurium* สายพันธุ์ TA98 ที่ความเข้มข้น 0.1-10 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร (Zenzen *et al.,* 2001) แสดงว่าสารประกอบ ZDMC เป็นสารก่อกลายพันธุ์ที่ออกฤทธิ์โดยทางตรง (direct mutagen) และเป็นสารที่ถูกย่อยสลายได้ช้าด้วยเอนไซม์จากตับหนูจึงทำให้มีฤทธิ์ก่อกลายพันธุ์ทั้งโดยตรงและโดยอ้อม จะเห็นว่าการทดสอบความสามารถก่อกลายพันธุ์โดยวิธี Ames' test เป็นวิธีการที่เหมาะสม ที่จะใช้หาสารก่อกลายพันธุ์ในตัวอย่างน้ำเสียมากกว่าวิธีการวิเคราะห์สารเคมีด้วยเครื่อง HPLC เนื่องจากเป็นวิธีที่ไวกว่าและไม่เจาะจงว่าเป็นสารก่อกลายพันธุ์ชนิดใด อย่างไรก็ตามวิธีนี้ไม่สามารถระบุชนิดและปริมาณของสารเคมีได้

สารประกอบ TMTD และ ZDMC เป็นสารที่ทำให้เกิดเอมีนทุติยภูมิซึ่งเอมีนทุติยภูมิเป็นสารสำคัญที่ทำให้เกิดไนโตรซามีนมากกว่า 250 ชนิด โดยสารประกอบไนโตรซามีนสามารถทำให้เกิดการเปลี่ยนแปลงโครงสร้างของดีเอ็นเอและเป็นสารก่อมะเร็งโดยสามารถก่อให้เกิดโรคมะเร็งกับสัตว์ทดลอง อวัยวะที่ได้รับผลกระทบจากไนโตรซามีนส่วนใหญ่คือ ตับ ไต ปอด ผิวหนัง และตา สารประกอบ TMTD ที่อยู่ในสภาวะที่มีกรดสามารถเปลี่ยนรูปไปเป็น dimethyldithiocarbamate หลังจากนั้น dimethyldithiocarbamate ถูกย่อยสลายในสภาวะที่เป็นกรดได้เป็น carbon disulfide และ dimethylamine ซึ่ง dimethylamine ทำปฏิกิริยากับสารประกอบ nitrosoในสภาวะที่เป็นกรด เกิดสารประกอบไนโตรซามีนที่มีชื่อว่า nitrosodimethylamine (NDMA) ซึ่งเป็นสารที่ทำให้เกิดการกลายพันธุ์และเกิดมะเร็งได้สารประกอบ TMTD ทำให้เกิดความเป็นพิษต่อตับ ไต ต่อมไทรอยด์ การสร้างเลือด และความผิดปกติต่อการปฏิบัติหน้าที่ของระบบอวัยวะในร่างกาย (Dalvi *et al.,* 2003; Andrzejewski, *et al.,* 2005) สารประกอบ ZDMC สามารถทำให้เกิดความเป็นพิษในเม็ดเลือดของคนงานทั้งทางตรงและทางอ้อมและทำให้เกิดมะเร็งที่ต่อมไทรอยด์ ปอดและต่อมน้ำเหลืองและในสัตว์เลี้ยงลูกด้วยนม ทำให้ยืนเกิดการกลายพันธุ์และ

ทำให้เซลล์เม็ดเลือดขาวเกิดความเสียหายได้ (Tinkler *et al*., 1998) มีรายงานพบว่าโดยคนงานที่ทำงานในโรงงานที่ได้รับ ZDMC เป็นเวลา 1 ปี เกิดมะเร็งในเลือดได้ (Errol *et al*., 2001)

Pattamawadee และคณะ (2004) ได้ทำการศึกษาความสามารถก่อกลายพันธุ์ของสารเคมีที่ใช้เป็นตัวเร่งในอุตสาหกรรมยาง พบว่า zinc dibenzyl dithiocarbamate (ZBEC) มีฤทธิ์ก่อกลายพันธุ์ต่อแบคทีเรีย *S. typhimurium* สายพันธุ์ TA98 ในสภาวะที่ไม่มีการย่อยสลายด้วยเอนไซม์ตับหนู (S9 mixture) แสดงว่ามีฤทธิ์ก่อกลายพันธุ์โดยตรง ส่วน zinc dibutyl dithiocarbamate (ZDBC) มีฤทธิ์ก่อกลายพันธุ์ต่อแบคทีเรีย *S. typhimurium* สายพันธุ์ TA98 ในสภาวะที่มีการย่อยสลายด้วยเอนไซม์ตับหนูแสดงว่ามีฤทธิ์ก่อกลายพันธุ์โดยอ้อม ซึ่งจากการศึกษาความเป็นพิษของสารประกอบที่ใช้ในกระบวนการวันคาไนซ์พบว่าสารประกอบ ZDBC มีความเป็นพิษต่ำกว่าสารประกอบ TMTD และ ZDMC (Wim *et al*., 2002)

ดังนั้นในกระบวนการวัลคาไนซ์ยางควรศึกษาวิจัยหาสารตัวเร่งที่ตัวใหม่มาทดแทนสารประกอบ TMTD และ ZDMC เนื่องจากสารประกอบทั้งสองนี้อาจทำให้เกิดอันตรายต่อสุขภาพและสิ่งมีชีวิตที่อาศัยอยู่ในแหล่งน้ำได้หากมีการปนเปื้อนมากพอในแหล่งน้ำ การที่สารเคมีเหล่านี้มีโอกาสปนเปื้อนลงสู่แหล่งน้ำได้ จึงควรมีการติดตามเฝ้าระวังสารเหล่านี้ในน้ำทิ้งของโรงงานอุตสาหกรรมยางพาราเป็นประจำ หรือกำหนดให้ใช้ระบบหมุนเวียนน้ำทิ้งกลับมาใช้ใหม่ในกระบวนการผลิตภายในโรงงานเพื่อลดการปนเปื้อนลงสู่สิ่งแวดล้อมและควรมีการติดตามตรวจสอบคุณภาพน้ำใต้ดินด้วยว่ามีการปนเปื้อนด้วยหรือไม่

บทที่ 4
สรุปผลการวิจัย

การศึกษาครั้งนี้มีวัตถุประสงค์เพื่อทดสอบความสามารถก่อกลายพันธุ์และวิเคราะห์หาชนิดและปริมาณของสารก่อกลายพันธุ์ในน้ำเสียโรงงานอุตสาหกรรมผลิตถุงมือยางในจังหวัดสงขลาโดยทำการเก็บตัวอย่างน้ำเสียโรงงานผลิตถุงมือยางติดต่อกันเป็นเวลา 5 วัน จากบ่อบำบัดทุกบ่อของโรงงานผลิตถุงมือยางทั้ง 3 โรงงาน

1. ผลการทดสอบความสามารถก่อกลายพันธุ์ของตัวอย่างน้ำเสียจากโรงงานอุตสาหกรรมผลิตถุงมือยาง

ผลการทดสอบความสามารถก่อกลายพันธุ์ของตัวอย่างน้ำเสียจากโรงงานอุตสาหกรรมผลิตถุงมือยาง ไม่พบฤทธิ์ก่อกลายพันธุ์ต่อ *S. typhimurium* สายพันธุ์ TA98 และ TA100 ที่ความเข้มข้นปกติ แต่พบฤทธิ์ก่อกลายพันธุ์ของตัวอย่างน้ำเสียจากบ่อบำบัดทุกบ่อที่ความเข้มข้น 50 เท่าขึ้นไปของความเข้มข้นปกติใน *S. typhimurium* สายพันธุ์ TA98 ทั้งในสภาวะปกติและสภาวะที่มีการย่อยสลายด้วยเอนไซม์จากตับหนู โดยพบว่ามีความสัมพันธ์เชิงเส้นตรงระหว่างความเข้มข้นของตัวอย่างน้ำเสียกับจำนวนโคโลนีกลายพันธุ์ของแบคทีเรีย กล่าวคือเมื่อความเข้มข้นเพิ่มขึ้น จำนวนโคโลนีกลายพันธุ์เพิ่มขึ้นตามไปด้วย

แสดงว่ามีสารก่อกลายพันธุ์ที่อาจเป็นสารตั้งต้น (parent compound) ที่ไม่ถูกย่อยสลายได้ง่ายด้วยเอนไซม์จากตับ หรือว่าทั้งสารตั้งต้นและสารเมแทโบไลท์ที่เกิดจากการย่อยสลายสารตั้งต้นด้วยเอนไซม์จากตับหนูต่างมีฤทธิ์ก่อกลายพันธุ์แบบเดียวกัน การที่ตัวอย่างน้ำเสียของโรงงานอุตสาหกรรมผลิตถุงมือยางมีฤทธิ์ก่อกลายพันธุ์ต่อแบคทีเรีย *S. typhimurium* เฉพาะสายพันธุ์ TA98 แสดงว่าตัวอย่างน้ำเสียของโรงงานผลิตถุงมือยางมีสารก่อกลายพันธุ์ที่ออกฤทธิ์โดยการเพิ่มหรือลดจำนวนคู่เบส DNA (frameshift mutation)

2. การวิเคราะห์หาสารก่อกลายพันธุ์ด้วยเครื่อง HPLC

จากการวิเคราะห์หาสารก่อกลายพันธุ์ด้วยเครื่อง HPLC พบ peak ของสารประกอบ tetramethyl thiuram disulphide (TMTD) โดยมีสารประกอบ TMTD และ ZDMC อยู่ในช่วง ตรวจไม่พบ-0.004 มิลลิกรัมต่อลิตร และ ตรวจไม่พบ-0.078 มิลลิกรัมต่อลิตร ตามลำดับ

สารประกอบ TMTD ให้ผลบวกต่อสายพันธุ์ TA98 ในสภาวะที่มีเอนไซม์จากตับหนู ส่วนสารประกอบ ZDMC มีฤทธิ์ก่อกลายพันธุ์เหมือนกับตัวอย่างน้ำเสีย คือให้ผลบวกต่อสายพันธุ์ TA98 ทั้งในสภาวะที่มีและไม่มีเอนไซม์จากตับหนู จึงพิสูจน์ได้ว่าฤทธิ์ก่อกลายพันธุ์

ในน้ำเสียมาจากสารเคมีทั้งสองนี้ โดยสารเคมีทั้งสองชนิดนี้มีฤทธิ์ก่อกลายพันธุ์หากมีการปนเปื้อนในสิ่งแวดล้อมจะทำให้เป็นอันตรายต่อสิ่งมีชีวิตได้

ข้อเสนอแนะ

1. ควรมีการติดตามตรวจสอบระดับของสาร TMTD และ ZMDC ในตัวอย่างสิ่งแวดล้อมอื่นๆ เช่น ดินตะกอน น้ำใต้ดิน

2. ควรมีการศึกษาพิษเรื้อรังของสาร TMTD และ ZDMC และความเสี่ยงต่อสุขภาพมนุษย์และสิ่งแวดล้อม

3. ควรมีการวิจัยหาสารที่มีพิษต่ำกว่ามาทดแทนสาร TMTD และ ZDMC ที่ใช้ในอุตสาหกรรมยางพารา

บรรณานุกรม

กนกทิพย์ บุญเกิด. 2551. ไนโตรซามีนในอุตสาหกรรมยาง. **วารสารยางพารา.**1. (มกราคม-มีนาคม 2551), 5-10.

ทวีศักดิ์ สุนทรธนศาสตร์. 2544. “สารก่อมะเร็ง” กระทรวงวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยี. (ออนไลน์) สืบค้น จาก http://www.tistr.or.th/t/publication/page_area_show_bc.asp?i1=66&i2=35 [5 สิงหาคม 2550].

ปารมี ทองสุกใส. 2542. “รูปแบบการกลายพันธุ์ของยีน p53 กับความรู้ด้านอณูชีววิทยาของมะเร็ง”. **สงขลานครินทร์เวชสาร.** 1 (มกราคม-มีนาคม 2542), 64-71.

ปัญญา เต็มเจริญ. “การทดสอบไมโครนิวเคลียส”. เอกสารการประชุมเชิงปฏิบัติการการทดสอบสารก่อกลายพันธุ์ สารก่อมะเร็งและสารก่อลูกวิรูปด้วยวิธีตรวจระยะสั้น 3-4 พฤศจิกายน 2534.หน้า 59-65. คณะแพทยศาสตร์ มหาวิทยาลัยเชียงใหม่.

ประดิษฐ์ พงษ์ทองคำ. 2543. **พันธุศาสตร์.** กรุงเทพฯ:สำนักพิมพ์มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์.

ประสงค์ คุณานุวัฒน์เดช. 2525. “การตรวจสอบสารก่อมะเร็งโดยวิธี Ames ’ test”, **เทคนิคการแพทย์.** 10(1): 17-21.

ปลื้มจิต บุณยพิพัฒน์. 2534. “สิ่งแวดล้อมและการกำเนิดมะเร็ง”, **สงขลานครินทร์เวชสาร.** 9: 61-67.

ผลชิต บัวแก้ว. 2531. น้ำยางข้น. “ในน้ำยางข้นและการผลิตถุงมือยางเอกสารประกอบการบรรยาย”, ในการสัมนาเชิงวิชาการ เรื่องอุตสาหกรรมน้ำยางข้นและเทคโนโลยีการผลิตถุงมือยาง. หน้า 1-34.

พรพรรณ นิธิอุทัย. 2530. “ไนโตรซามีนในยาง”, **วารสารสงขลานครินทร์.** 9(4): 515-519.

พรพรรณ นิธิอุทัย วราภรณ์ ขจรไชยกุล และ บุญธรรม นิธิอุทัย. 2533. “การผลิตถุงมือยาง”, ในเอกสารประกอบการประชุมวิชาการเรื่องการผลิตถุงมือยาง.

มาลิน จุลศิริ. “การทดสอบ Rec Assay”. เอกสารการประชุมเชิงปฏิบัติการการทดสอบสารก่อกลายพันธุ์ สารก่อมะเร็งและสารก่อลูกวิรูปด้วยวิธีตรวจระยะสั้น 3-4 พฤศจิกายน 2534. หน้า 31-43. คณะแพทยศาสตร์ มหาวิทยาลัยเชียงใหม่.

ยุทธนา สมิตะสิริ. “Dominant Lethal Test”. เอกสารการประชุมเชิงปฏิบัติการการทดสอบสารก่อกลายพันธุ์ สารก่อมะเร็งและสารก่อลูกวิรูปด้วยวิธีตรวจระยะสั้น 3-4 พฤศจิกายน 2534.หน้า 67-74. คณะแพทยศาสตร์ มหาวิทยาลัยเชียงใหม่.

ภัทรา กานตศิลป์. 2531. “สารเคมีผสมน้ำยาง ในน้ำยางข้นและการผลิตถุงมือยาง”, เอกสารประกอบคำบรรยายในสัมมนาเชิงวิชาการ เรื่อง อุตสาหกรรมน้ำยางข้นและเทคโนโลยีการผลิตถุงมือยาง. 2-24.

วราภรณ์ บูรณานนท์. 2547. “สารต้านการกลายพันธ์ในอาหาร”, วิจัยวิทยาสาสตร์การแพทย์. (ออนไลน์). สืบค้นจาก : http://www.gpo.or.th/rdi/thmls/mutate.html (17 มิถุนายน 2547).

วรางคณา สังสิทธิสวัสดิ์, ศิริลักษณ์ พาชนิด, บังอร ศรีพานิชกุลชัย, วิทัศน์ จันทรโพธิ์ศรี, สมศักดิ์ พิทักษานุรัตน์, ชัชวาล ยุทธชัยยางกุล และเฉลิมศักดิ์ ท่านเจริญ. 2546. “สารมลพิษและฤทธิ์ก่อกลายพันธุ์ของน้ำ จากแหล่งน้ำดิบสำหรับผลิตประปาหมู่บ้าน โดยใช้ *Salmonella typhimurium* TA98”, **วารสารวิจัย มข.** 8(1): 71-83.

วรรณี โรจนโพธิ์. 2534. “ประโยชน์และการประยุกต์ใช้วิธีการตรวจสอบสารก่อมะเร็งระยะสั้น”. เอกสารการประชุมเชิงปฏิบัติการการทดสอบสารก่อกลายพันธุ์ สารก่อมะเร็งและสารก่อลูกวิรูปด้วยวิธีตรวจระยะสั้น 3-4 พฤศจิกายน 2534.หน้า 31-43. คณะแพทยศาสตร์ มหาวิทยาลัยเชียงใหม่.

ศูนย์ส่งเสริมอุตสาหกรรมภาคที่ 9. 2545. ถุงมือยาง. เข้าถึงได้ที่ http://ipc9.dip.go.th/Research/PreviewInvesment1.asp?WebSiteID=19&InvestmentFormID=74 (เข้าถึงเมื่อ 24 พฤษภาคม 2550).

สุกัญญา แซ่แต้, จันทิภา ปุรินทราภิบาล, บรรจง วิทยวีรศักดิ์. 2550. “การตรวจวัดความสามารถก่อกลายพันธุ์ของน้ำทิ้งจากโรงงานอุตสาหกรรมผลิตถุงมือยางโดยการทดสอบการกลายพันธุ์ของแบคทีเรีย *Salmonella typhimurium*”, การประชุมเสนอผลงานวิจัยระดับบัณฑิตศึกษา ครั้งที่ 7 วันที่ 4-5 เมษายน 2550 ณ มหาวิทยาลัยสงขลานครินทร์ เขตการศึกษาสุราษฎร์ธานี.

สุเมธ พีรวุฒิ. 2541. **มะเร็ง หู คอ จมูก เป็นได้ก็รักษาได้.** กรุงเทพฯ: โอ เอส พริ้นติ้งเฮ้าส์.

สุรศักดิ์ สุทธิวงค์. 2529. อุตสาหกรรมน้ำยางดิบในการฝึกอบรมเจ้าหน้าที่หลักสูตรวิชายาง ณ หอสมุดศูนย์วิจัยสงขลา.

สมชัยยา สุริฉันท์. 2547. “Ames ’ test”, วิจัยวิทยาศาสตร์การแพทย์. (ออนไลน์). สืบค้นจาก : http://www.gpo.or.th/rdi/html/ames_test.html (22 มกรคม 2550).

อุตสาหกรรมจังหวัดสงขลา, สำนักงาน. 2540. **สภาวะเศรษฐกิจอุตสาหกรรมจังหวัดสงขลาปี 2545**. กรุงเทพฯ : สำนักงานปลัดกระทรวงอุตสาหกรรม.

อุษณีย์ วินิจเขตคำนวณ. 2534. “การทดสอบการกลายพันธุ์โดยแบคทีเรียซัลโมแนลลา”, ใน การทดสอบสารก่อกลายพันธุ์ สารก่อมะเร็งและสารก่อลูกวิรูปด้วยวิธีตรวจระยะสั้น 4-8 พฤษจิกายน 2534. หน้า 1-29. กรุงเทพฯ : คณะแพทย์ศาสตร์ มหาวิทยาลัยเชียงใหม่.

Ames, B.N., McCann, J. and Yamasaki, E. 1975. Method for detecting carcinogens mutagens with the *Salmonella/*mammalian-microsome mutagenicity test. **Mutation Reseach**. 31: 347-363.

Andrzejewski, P., Hordern, B.K. and Nawrocki, J. 2005. “The hazard of N-nitrosodimethylamine (NDMA) formation during water disinfection with strong oxidants”, **Desalination** 176: 37-45.

Araki, A., Muramatsu, M. and Matsushima, T. 1984. “Comparison of mutagenicities of N-nitrosamines on *Salmonella typhimurium* TA100 and Escherichia coli WP2 uvrA/pkM101 using rat and hamster liver S9”, **Gann.** 75: 8-16.

Bergendorff, O., Persson, C., Ludtke, A. and Hansson, C. 2007. “Chemical changes in rubber allergens during vulcaization”, **Contact Dermatitis.** 57: 152-157.

Bergendorff, O., Persson, C. and Hansson, C. 2006. “High-performance liquid chromatography analysis of rubber allergens in protecetive gloves use in health care”, **Contact Dermatitis.** 55: 210-215.

Dalvi, P.S., Wilder-Kofie, T., Mares, B., Dilvi, R.R. and Billups, L.H. 2003. “Toxicologic implication of the metabolism of thiram dimethyldithiocarbamate and carbon disulfide medicate by hepatic cytochrom P450 isozymes in rat”, **Pesticide Biochemistry and Physiology**. 74: 85-90.

Duinska, M., Fabry, R., Szabova, E., Somorovska, M., Petrovska, H. and Collins, A. 1997. “Occupational exposure to mutagen airborne particulate in rubber manufacturing plant”, **Mutation Research**. 441: 43-51.

Errol, Z. 2001. “Mutagens that are not carcinogen:faulty theory or faulty test”, **Mutation Research.** 492**:** 29-38.

Filipe, O.M.S., Vidal, M.M., Duarte, A.C. and Santos, E.B.H. 2008. “Influence of Fulvic Acides and Copper Ions on Thiram Determination in Water”, **Journal of Agricultural and Chemistry**. 56: 7347-7357.

Fracasso, K.E., Franceschetti, P., Mossini, E., Tieghi, S., Perbellini, L. and Romeo, L. 1999. "Exposure to mutagenic airborne particulate in rubber manufacturing plant", **Mutation Research.** 441: 43-51.

Habib, S.A. and Ahmad, M. 2003. "The *Salmonella* mutagenicity of industrial, surface and ground water samples of Aligarh region of India", **Mutation Research.** 541: 21-29.

Kutlu, M., Aydogan, G., Susuz, F. and Ozata, A. 2004. "The Salmonella mutagenicity of water and sediment from the Porsuk River in Turkey", **Environmental Toxicology and Pharmacology.** 17: 111-116.

Mersh-Sundermann, V., Dickgiesser, N., Kotter, K. and Harre, M. 1988. "The mutagenicity of surface water, wate water and drinking water in the Rhine-Ncckar region in the *Salmonella* microsome test (Ames test)", **Public of medicine.** 185: 397-410.

McCann, L., Choi, E., Yamasaki, E. and Ames, B.N. 1975. "Detection of carcinogens as mutagens in the Salmonella/microsome test: assay of 300 chemical", **Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America.** 72: 5135-5139.

NIOSH. 1993. **Rubber product manufacturing industry**. U.S. Department of Health and Human Services, Public Health Service, Centers for Disease Control and Prevention, National Institute for Occupational Safety and Health.

Oury, B., Limasset, J.C. and Protois, J.C. 1997. "Assessment of exposure to carcinogenic N-nitrosamines in the rubber industry**", International Archives of Occupational and Environmental Health** 70: 261-271.

Pattamawadee Sankheangaew. 2004. "Genotoxicity test of vulcanized rubber and residual chemical used in curing processes using reverse mutation assay of Salmonella typhimurium", Chulalongkorn University.

Priyantha, N., Navaratne, A., Ekanayake, C.B. and Ratnaake, A. 2008. "Solvent extraction followed by ultraviolet detection for investigation of tetramethylthiuram disulfide at soil-water interface", **Journal of Environmental Science and technology.** 5(4): 547-554.

Quillardet, P., de Bellecombe, C. and Hofnung, M. 1985. "The SOS Chromotest, a colorimetric bacterial assay for genotoxins: validation study with 83 compounds", **Mutation Research.** 147: 79-95.

Sharma, V.K., Aulakh, J.S. and Malik, A.K. 2003. “Thiram degradation and analytical method”, **Journal of Environmental Monitoring.** 5: 717-723.

Suzuki, T., Yaguchi, K. and Kano, I. 1993. “Screening methods for asulam, oxine-copper and thiram in water by high-performance liquid chromatography after enrichment with a minicolumn”, **Journal of Chromatography**. 643: 173-179.

Tinkler, J., Gott, D. and Bootman, J. 1998. “Risk Assessment of Dithiocarbamate Accelerator Residues in Latex-base Medical Devices:Genotoxicity Consideration”, **Food and Chemical Toxicology.** 36: 849-856**.**

U.S. Food and Drug Administration. 2000. “Bacterial revers mutation test”, In **Office of Food Additive Safety Redbook 2000 Toxicological Principles for the Safety Assessment of Food Ingredients. July 7, 2000.** Center for Food Safety and Applied Nutrition.

Wim, H., De, J., Francois, M.M., Van, O., Constance, F., Den, H.J., Sander, W.S., Slob, W., Rob, J.V. and Henk, V.L. 2002. “Ranking of allergenic potency of rubber chemicals in a modified local lymph node assay”, **Toxicological Science**. 66: 226-232.

Yadav, J.S. and Chhillar, A.K. 2001. “Cytogenetic Risk Assessment in Workers of Rubber Industry”, **Mutation Research.** 14: 243-248.

Zenzen, V., Fauth, E., Zankl, H., Janzowski, C. and Eisenbrand, G. 2001. “Mutagenic and cytotoxic effectiveness of zinc dimethyl and zinc diisononyldithiocarbamate in human lymphocyte cultures”, **Mutation Research.** 497: 89-99.

ภาคผนวก

ภาคผนวก ก
การสกัดตัวอย่างน้ำเสีย

ภาพประกอบภาคผนวก ก-1 การสกัดตัวอย่างน้ำเสีย

ก. การเตรียมคอลัมน์ SPE ข. การสกัดตัวอย่างน้ำเสีย

ค. การทำคอลัมน์ให้แห้งด้วยไนโตรเจนเหลว ง. การสกัดสารในตัวอย่างน้ำเสีย

ก.

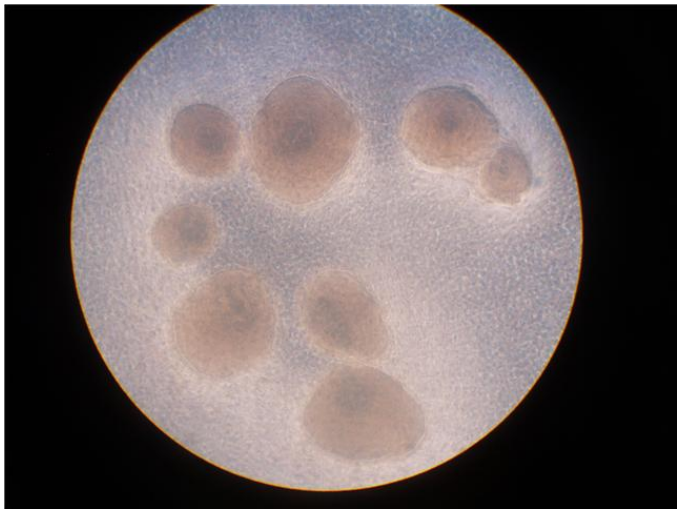
ข.

ค,

ง.

ภาคผนวก ข
ลักษณะโคโลนีของแบคทีเรียที่มีการกลายพันธุ์

ภาพประกอบภาคผนวก ข-1 ลักษณะโคโลนีของแบคทีเรียที่มีการกลายพันธุ์ด้วยกล้องจุลทรรศน์กำลังขยาย 4x



ภาคผนวก ค

จำนวนโคโลนีกลายพันธุ์ (Revertant colonies) ของเชื้อ *S. typhimurium* ในตัวอย่างน้ำเสียโรงงานผลิตถุงมือยาง

ตารางภาคผนวก ค-1 จำนวนโคโลนีของเชื้อ *Salmonella typhimurium* สายพันธุ์ TA98 ที่กลายพันธุ์ในสภาวะที่ไม่มี S9 mixture หลังจากเติมตัวอย่างน้ำเสียโรงงานถุงมือยางโรงที่ 1 เก็บ ณ วันที่ 1 ที่ระดับความเข้มข้นต่าง ๆ

ตัวอย่างน้ำ	จำนวนโคโลนีกลายพันธุ์ (colonies/plate)							
	ครั้งที่ 1			ครั้งที่ 2			Mean	SD
	Plate 1	Plate 2	Plate 3	Plate 1	Plate 2	Plate 3		
SR	33.00	31.00	30.00	29.00	28.00	24.00	29.17	3.06
AF-2, 0.2 µg/plate	255.00	257.00	249.00	260.00	265.00	269.00	259.17	7.17
บ่อ 1 ปกติ	45.00	44.00	43.00	47.00	49.00	51.00	46.50	3.08
บ่อ 1 50 เท่า	100.00	97.00	95.00	106.00	112.00	99.00	101.50	6.35
บ่อ 1 100 เท่า	167.00	177.00	180.00	185.00	187.00	171.00	177.83	7.81
บ่อ 1 200 เท่า	234.00	240.00	250.00	241.00	253.00	255.00	245.50	8.36
บ่อ 2 ปกติ	43.00	41.00	42.00	40.00	39.00	45.00	41.67	2.16
บ่อ 2 50 เท่า	97.00	95.00	93.00	100.00	94.00	90.00	94.83	3.43
บ่อ 2 100 เท่า	160.00	159.00	164.00	172.00	169.00	169.00	165.50	5.32
บ่อ 2 200 เท่า	220.00	234.00	219.00	240.00	233.00	227.00	228.83	8.33
บ่อ 3 ปกติ	40.00	39.00	37.00	35.00	41.00	33.00	37.50	3.08
บ่อ 3 50 เท่า	90.00	93.00	95.00	97.00	83.00	87.00	90.83	5.23
บ่อ 3 100 เท่า	155.00	158.00	150.00	145.00	160.00	169.00	156.17	8.33
บ่อ 3 200 เท่า	210.00	209.00	213.00	220.00	213.00	222.00	214.50	5.32
บ่อ 4 ปกติ	33.00	32.00	30.00	29.00	35.00	27.00	31.00	2.90
บ่อ 4 50 เท่า	80.00	84.00	87.00	90.00	88.00	75.00	84.00	5.62
บ่อ 4 100 เท่า	150.00	139.00	155.00	157.00	153.00	140.00	149.00	7.72
บ่อ 4 200 เท่า	209.00	203.00	200.00	213.00	219.00	205.00	208.17	7.00

ตารางภาคผนวก ค-2 จำนวนโคโลนีของเชื้อ *Salmonella typhimurium* สายพันธุ์ TA98 ที่กลายพันธุ์ในสภาวะที่ไม่มี S9 mixture หลังจากเติมตัวอย่างน้ำเสียโรงงานถุงมือยางโรงที่ 1 เก็บ ณ วันที่ 2 ที่ระดับความเข้มข้นต่าง ๆ

ตัวอย่างน้ำ	จำนวนโคโลนีกลายพันธุ์ (colonies/plate)							
	ครั้งที่ 1			ครั้งที่ 2			Mean	SD
	Plate 1	Plate 2	Plate 3	Plate 1	Plate 2	Plate 3		
SR	25.00	27.00	29.00	30.00	35.00	33.00	29.83	3.71
AF-2, 0.2 µg/plate	260.00	263.00	255.00	245.00	251.00	247.00	253.50	7.15
บ่อ 1 ปกติ	51.00	49.00	47.00	55.00	42.00	45.00	48.17	4.58
บ่อ 1 50 เท่า	111.00	117.00	113.00	120.00	99.00	107.00	111.17	7.49
บ่อ 1 100 เท่า	200.00	211.00	217.00	205.00	213.00	203.00	208.17	6.52
บ่อ 1 200 เท่า	268.00	270.00	278.00	275.00	280.00	283.00	275.67	5.82
บ่อ 2 ปกติ	41.00	43.00	50.00	40.00	42.00	39.00	42.50	3.94
บ่อ 2 50 เท่า	97.00	99.00	100.00	95.00	93.00	90.00	95.67	3.78
บ่อ 2 100 เท่า	189.00	195.00	185.00	179.00	190.00	193.00	188.50	5.79
บ่อ 2 200 เท่า	245.00	250.00	252.00	260.00	264.00	270.00	256.83	9.43
บ่อ 3 ปกติ	40.00	39.00	37.00	42.00	35.00	41.00	39.00	2.61
บ่อ 3 50 เท่า	89.00	87.00	90.00	93.00	91.00	95.00	90.83	2.86
บ่อ 3 100 เท่า	178.00	160.00	159.00	177.00	173.00	173.00	170.00	8.39
บ่อ 3 200 เท่า	230.00	235.00	245.00	250.00	239.00	247.00	241.00	7.67
บ่อ 4 ปกติ	31.00	33.00	29.00	27.00	30.00	35.00	30.83	2.86
บ่อ 4 50 เท่า	86.00	90.00	91.00	89.00	85.00	83.00	87.33	3.14
บ่อ 4 100 เท่า	159.00	162.00	166.00	170.00	153.00	165.00	162.50	5.96
บ่อ 4 200 เท่า	210.00	218.00	220.00	215.00	208.00	202.00	212.17	6.77

ตารางภาคผนวก ค-3 จำนวนโคโลนีของเชื้อ *Salmonella typhimurium* สายพันธุ์ TA98 ที่กลายพันธุ์ในสภาวะที่ไม่มี S9 mixture หลังจากเติมตัวอย่างน้ำเสียโรงงานถุงมือยางโรงที่ 1 เก็บ ณ วันที่ 3 ที่ระดับความเข้มข้นต่าง ๆ

ตัวอย่างน้ำ	จำนวนโคโลนีกลายพันธุ์ (colonies/plate)							
	ครั้งที่ 1			ครั้งที่ 2			Mean	SD
	Plate 1	Plate 2	Plate 3	Plate 1	Plate 2	Plate 3		
SR	31.00	29.00	33.00	35.00	28.00	32.00	31.33	2.58
AF-2, 0.2 µg/plate	263.00	271.00	260.00	255.00	265.00	270.00	264.00	6.07
บ่อ 1 ปกติ	40.00	44.00	47.00	51.00	43.00	55.00	46.67	5.54
บ่อ 1 50 เท่า	102.00	112.00	109.00	103.00	100.00	115.00	106.83	6.05
บ่อ 1 100 เท่า	210.00	203.00	207.00	213.00	217.00	201.00	208.50	6.06
บ่อ 1 200 เท่า	300.00	295.00	289.00	290.00	296.00	302.00	295.33	5.20
บ่อ 2 ปกติ	40.00	39.00	37.00	41.00	35.00	43.00	39.17	2.86
บ่อ 2 50 เท่า	100.00	95.00	102.00	97.00	107.00	93.00	99.00	5.10
บ่อ 2 100 เท่า	199.00	189.00	196.00	197.00	201.00	205.00	197.83	5.38
บ่อ 2 200 เท่า	289.00	278.00	290.00	285.00	291.00	283.00	286.00	4.98
บ่อ 3 ปกติ	33.00	32.00	37.00	39.00	30.00	36.00	34.50	3.39
บ่อ 3 50 เท่า	99.00	89.00	96.00	94.00	94.00	90.00	93.67	3.72
บ่อ 3 100 เท่า	195.00	190.00	187.00	193.00	184.00	193.00	190.33	4.18
บ่อ 3 200 เท่า	278.00	263.00	275.00	273.00	269.00	272.00	271.67	5.20
บ่อ 4 ปกติ	33.00	30.00	29.00	27.00	31.00	35.00	30.83	2.86
บ่อ 4 50 เท่า	97.00	85.00	80.00	83.00	79.00	82.00	84.33	6.56
บ่อ 4 100 เท่า	176.00	173.00	169.00	165.00	178.00	183.00	174.00	6.45
บ่อ 4 200 เท่า	239.00	229.00	237.00	231.00	243.00	233.00	235.33	5.28

ตารางภาคผนวก ค-4 จำนวนโคโลนีของเชื้อ *Salmonella typhimurium* สายพันธุ์ TA98 ที่กลายพันธุ์ในสภาวะที่ไม่มี S9 mixture หลังจากเติมตัวอย่างน้ำเสียโรงงานถุงมือยางโรงที่ 1 เก็บ ณ วันที่ 4 ที่ระดับความเข้มข้นต่าง ๆ

ตัวอย่างน้ำ	จำนวนโคโลนีกลายพันธุ์ (colonies/plate)							
	ครั้งที่ 1			ครั้งที่ 2			Mean	SD
	Plate 1	Plate 2	Plate 3	Plate 1	Plate 2	Plate 3		
SR	34.00	29.00	33.00	32.00	33.00	32.00	32.17	1.72
AF-2, 0.2 µg/plate	253.00	247.00	254.00	249.00	251.00	255.00	251.50	3.08
บ่อ 1 ปกติ	40.00	44.00	45.00	47.00	40.00	43.00	43.17	2.79
บ่อ 1 50 เท่า	112.00	110.00	105.00	113.00	102.00	114.00	109.33	4.80
บ่อ 1 100 เท่า	207.00	210.00	203.00	214.00	221.00	215.00	211.67	6.38
บ่อ 1 200 เท่า	300.00	297.00	294.00	296.00	301.00	293.00	296.83	3.19
บ่อ 2 ปกติ	41.00	40.00	39.00	44.00	45.00	40.00	41.50	2.43
บ่อ 2 50 เท่า	99.00	103.00	95.00	93.00	107.00	96.00	98.83	5.31
บ่อ 2 100 เท่า	188.00	184.00	183.00	185.00	178.00	180.00	183.00	3.58
บ่อ 2 200 เท่า	276.00	268.00	290.00	269.00	286.00	283.00	278.67	9.11
บ่อ 3 ปกติ	39.00	37.00	35.00	33.00	37.00	35.00	36.00	2.10
บ่อ 3 50 เท่า	90.00	97.00	94.00	89.00	95.00	93.00	93.00	3.03
บ่อ 3 100 เท่า	177.00	168.00	180.00	178.00	173.00	170.00	174.33	4.76
บ่อ 3 200 เท่า	245.00	250.00	253.00	248.00	241.00	260.00	249.50	6.60
บ่อ 4 ปกติ	33.00	30.00	37.00	31.00	29.00	34.00	32.33	2.94
บ่อ 4 50 เท่า	89.00	92.00	85.00	82.00	84.00	89.00	86.83	3.76
บ่อ 4 100 เท่า	171.00	169.00	173.00	165.00	160.00	163.00	166.83	5.00
บ่อ 4 200 เท่า	234.00	229.00	241.00	235.00	223.00	243.00	234.17	7.44

ตารางภาคผนวก ค-5 จำนวนโคโลนีของเชื้อ *Salmonella typhimurium* สายพันธุ์ TA98 ที่กลายพันธุ์ในสภาวะที่ไม่มี S9 mixture หลังจากเติมตัวอย่างน้ำเสียโรงงานถุงมือยางโรงที่ 1 เก็บ ณ วันที่ 5 ที่ระดับความเข้มข้นต่าง ๆ

ตัวอย่างน้ำ	จำนวนโคโลนีกลายพันธุ์ (colonies/plate)							
	ครั้งที่ 1			ครั้งที่ 2			Mean	SD
	Plate 1	Plate 2	Plate 3	Plate 1	Plate 2	Plate 3		
SR	25.00	26.00	27.00	28.00	29.00	33.00	28.00	2.83
AF-2, 0.2 µg/plate	260.00	271.00	274.00	264.00	265.00	273.00	267.83	5.64
บ่อ 1 ปกติ	40.00	39.00	41.00	37.00	40.00	39.00	39.33	1.37
บ่อ 1 50 เท่า	121.00	119.00	116.00	112.00	99.00	115.00	113.67	7.84
บ่อ 1 100 เท่า	189.00	190.00	191.00	187.00	185.00	193.00	189.17	2.86
บ่อ 1 200 เท่า	289.00	299.00	303.00	305.00	298.00	301.00	299.17	5.60
บ่อ 2 ปกติ	39.00	37.00	39.00	35.00	36.00	34.00	36.67	2.07
บ่อ 2 50 เท่า	109.00	99.00	104.00	97.00	102.00	95.00	101.00	5.10
บ่อ 2 100 เท่า	180.00	179.00	183.00	173.00	178.00	185.00	179.67	4.18
บ่อ 2 200 เท่า	278.00	275.00	269.00	270.00	264.00	278.00	272.33	5.61
บ่อ 3 ปกติ	37.00	35.00	33.00	34.00	36.00	33.00	34.67	1.63
บ่อ 3 50 เท่า	98.00	94.00	96.00	103.00	93.00	92.00	96.00	4.05
บ่อ 3 100 เท่า	170.00	169.00	165.00	178.00	171.00	173.00	171.00	4.34
บ่อ 3 200 เท่า	256.00	259.00	248.00	251.00	249.00	244.00	251.17	5.49
บ่อ 4 ปกติ	30.00	29.00	33.00	31.00	29.00	34.00	31.00	2.10
บ่อ 4 50 เท่า	90.00	94.00	89.00	83.00	85.00	80.00	86.83	5.12
บ่อ 4 100 เท่า	150.00	158.00	160.00	151.00	149.00	153.00	153.50	4.51
บ่อ 4 200 เท่า	234.00	230.00	229.00	241.00	237.00	243.00	235.67	5.72

ตารางภาคผนวก ค-6 จำนวนโคโลนีของเชื้อ *Salmonella typhimurium* สายพันธุ์ TA98 ที่กลายพันธุ์ในสภาวะที่ไม่มี S9 mixture หลังจากเติมตัวอย่างน้ำเสียโรงงาน ถุงมือยางโรงที่ 2 เก็บ ณ วันที่ 1 ที่ระดับความเข้มข้นต่าง ๆ

ตัวอย่างน้ำ	จำนวนโคโลนีกลายพันธุ์ (colonies/plate)							
	ครั้งที่ 1			ครั้งที่ 2			Mean	SD
	Plate 1	Plate 2	Plate 3	Plate 1	Plate 2	Plate 3		
SR	33	34	29	25	27	24	28.67	4.13
AF-2, 0.2 µg/plate	264	259	263	271	268	263	264.67	4.23
บ่อ 1 ปกติ	40	38	39	37	35	36	37.50	1.87
บ่อ 1 50 เท่า	95	97	102	105	99	100	99.67	3.56
บ่อ 1 100 เท่า	180	175	163	183	171	189	176.83	9.22
บ่อ 1 200 เท่า	250	247	246	257	233	235	244.67	9.14
บ่อ 2 ปกติ	35	37	33	33	32	33	33.83	1.83
บ่อ 2 50 เท่า	80	95	98	93	90	89	90.83	6.24
บ่อ 2 100 เท่า	153	148	147	151	145	143	147.83	3.71
บ่อ 2 200 เท่า	205	196	197	201	181	185	194.17	9.30
บ่อ 3 ปกติ	30	33	32	31	29	30	30.83	1.47
บ่อ 3 50 เท่า	80	89	82	79	75	83	81.33	4.68
บ่อ 3 100 เท่า	137	135	139	140	141	142	139.00	2.61
บ่อ 3 200 เท่า	165	183	169	171	177	167	172.00	6.78

ตารางภาคผนวก ค-7 จำนวนโคโลนีของเชื้อ *Salmonella typhimurium* สายพันธุ์ TA98 ที่กลายพันธุ์ในสภาวะที่ไม่มี S9 mixture หลังจากเติมตัวอย่างน้ำเสียโรงงานถุงมือยางโรงที่ 2 เก็บ ณ วันที่ 2 ที่ระดับความเข้มข้นต่าง ๆ

ตัวอย่างน้ำ	จำนวนโคโลนีกลายพันธุ์ (colonies/plate)							
	ครั้งที่ 1			ครั้งที่ 2			Mean	SD
	Plate 1	Plate 2	Plate 3	Plate 1	Plate 2	Plate 3		
SR	30	24	31	31	26	29	28.50	2.88
AF-2, 0.2 µg/plate	260	277	259	253	260	271	263.33	8.87
บ่อ 1 ปกติ	42	43	45	47	50	49	46.00	3.22
บ่อ 1 50 เท่า	100	99	95	93	97	105	98.17	4.22
บ่อ 1 100 เท่า	171	175	180	183	179	177	177.50	4.18
บ่อ 1 200 เท่า	241	239	245	243	240	237	240.83	2.86
บ่อ 2 ปกติ	40	39	37	38	39	41	39.00	1.41
บ่อ 2 50 เท่า	89	95	87	90	82	80	87.17	5.49
บ่อ 2 100 เท่า	160	159	161	163	165	155	160.50	3.45
บ่อ 2 200 เท่า	210	199	205	189	197	200	200.00	7.16
บ่อ 3 ปกติ	30	33	29	29	30	31	30.33	1.51
บ่อ 3 0 เท่า	79	83	75	88	72	77	79.00	5.76
บ่อ 3 100 เท่า	129	131	133	125	127	135	130.00	3.74
บ่อ 3 200 เท่า	181	179	175	169	170	171	174.17	5.00

ตารางภาคผนวก ค-8 จำนวนโคโลนีของเชื้อ *Salmonella typhimurium* สายพันธุ์ TA98 ที่กลายพันธุ์ในสภาวะที่ไม่มี S9 mixture หลังจากเติมตัวอย่างน้ำเสียโรงงานถุงมือยางโรงที่ 2 เก็บ ณ วันที่ 3 ที่ระดับความเข้มข้นต่าง ๆ

ตัวอย่างน้ำ	จำนวนโคโลนีกลายพันธุ์ (colonies/plate)							
	ครั้งที่ 1			ครั้งที่ 2			Mean	SD
	Plate 1	Plate 2	Plate 3	Plate 1	Plate 2	Plate 3		
SR	29	31	33	25	26	25	28.17	3.37
AF-2, 0.2 µg/plate	260	258	272	26	271	265	225.33	97.82
บ่อ 1 ปกติ	45	47	48	49	52	51	48.67	2.58
บ่อ 1 50 เท่า	107	105	99	103	108	96	103.00	4.69
บ่อ 1 100 เท่า	175	179	182	180	181	185	180.33	3.33
บ่อ 1 200 เท่า	250	252	251	249	246	247	249.17	2.32
บ่อ 2 ปกติ	41	38	35	37	39	40	38.33	2.16
บ่อ 2 50 เท่า	99	97	89	97	83	80	90.83	8.06
บ่อ 2 100 เท่า	166	165	167	169	173	171	168.50	3.08
บ่อ 2 200 เท่า	203	205	199	200	197	195	199.83	3.71
บ่อ 3 ปกติ	35	32	31	30	33	40	33.50	3.62
บ่อ 3 50 เท่า	87	85	84	88	90	92	87.67	3.01
บ่อ 3 100 เท่า	167	162	165	150	155	153	158.67	6.95
บ่อ 3 200 เท่า	175	179	180	181	183	185	180.50	3.45

ตารางภาคผนวก ค-9 จำนวนโคโลนีของเชื้อ *Salmonella typhimurium* สายพันธุ์ TA98 ที่กลายพันธุ์ในสภาวะที่ไม่มี S9 mixture หลังจากเติมตัวอย่างน้ำเสียโรงงานถุงมือยางโรงที่ 2 เก็บ ณ วันที่ 4 ที่ระดับความเข้มข้นต่าง ๆ

ตัวอย่างน้ำ	จำนวนโคโลนีกลายพันธุ์ (colonies/plate)							
	ครั้งที่ 1			ครั้งที่ 2			Mean	SD
	Plate 1	Plate 2	Plate 3	Plate 1	Plate 2	Plate 3		
SR	24	27	29	30	25	31	27.67	2.80
AF-2, 0.2 µg/plate	263	267	259	271	268	273	266.83	5.15
บ่อ 1 ปกติ	46	47	50	46	45	44	46.33	2.07
บ่อ 1 50 เท่า	105	99	100	102	107	98	101.83	3.54
บ่อ 1 100 เท่า	190	183	179	180	189	187	184.67	4.68
บ่อ 1 200 เท่า	250	251	243	249	253	247	248.83	3.49
บ่อ 2 ปกติ	42	40	39	41	42	37	40.17	1.94
บ่อ 2 50 เท่า	92	98	90	100	97	85	93.67	5.68
บ่อ 2 100 เท่า	170	169	171	165	168	172	169.17	2.48
บ่อ 2 200 เท่า	210	209	211	213	199	200	207.00	5.97
บ่อ 3 ปกติ	35	33	32	30	31	33	32.33	1.75
บ่อ 3 50 เท่า	87	80	90	75	93	90	85.83	6.91
บ่อ 3 100 เท่า	127	125	131	129	133	130	129.17	2.86
บ่อ 3 200 เท่า	179	181	189	175	185	177	181.00	5.22

ตารางภาคผนวก ค-10 จำนวนโคโลนีของเชื้อ *Salmonella typhimurium* สายพันธุ์ TA98 ที่กลายพันธุ์ในสภาวะที่ไม่มี S9 mixture หลังจากเติมตัวอย่างน้ำเสียโรงงานถุงมือยางโรงที่ 2 เก็บ ณ วันที่ 5 ที่ระดับความเข้มข้นต่าง ๆ

ตัวอย่างน้ำ	จำนวนโคโลนีกลายพันธุ์ (colonies/plate)							
	ครั้งที่ 1			ครั้งที่ 2			Mean	SD
	Plate 1	Plate 2	Plate 3	Plate 1	Plate 2	Plate 3		
SR	43	33	35	37	39	39	37.67	3.50
AF-2, 0.2 µg/plate	279	274	269	271	268	263	270.67	5.47
บ่อ 1 ปกติ	43	47	45	50	44	46	45.83	2.48
บ่อ 1 50 เท่า	105	109	103	99	107	100	103.83	3.92
บ่อ 1 100 เท่า	191	189	187	179	183	185	185.67	4.32
บ่อ 1 200 เท่า	251	255	257	249	245	250	251.17	4.31
บ่อ 2 ปกติ	40	41	42	43	44	40	41.67	1.63
บ่อ 2 50 เท่า	97	89	99	100	79	85	91.50	8.53
บ่อ 2 100 เท่า	175	180	179	181	175	177	177.83	2.56
บ่อ 2 200 เท่า	211	210	209	213	220	215	213.00	4.05
บ่อ 3 ปกติ	30	31	33	29	30	33	31.00	1.67
บ่อ 3 50 เท่า	87	89	90	85	87	79	86.17	3.92
บ่อ 3 100 เท่า	131	128	127	131	129	130	129.33	1.63
บ่อ 3 200 เท่า	181	183	179	175	180	181	179.83	2.71

ตารางภาคผนวก ค-11 จำนวนโคโลนีของเชื้อ *Salmonella typhimurium* สายพันธุ์ TA98 ที่กลายพันธุ์ในสภาวะที่ไม่มีS9 mixture หลังจากเติมตัวอย่างน้ำเสียโรงงานถุงมือยางโรงที่ 3 เก็บ ณ วันที่ 1 ที่ระดับความเข้มข้นต่าง ๆ

ตัวอย่างน้ำ	จำนวนโคโลนีกลายพันธุ์ (colonies/plate)							
	ครั้งที่ 1			ครั้งที่ 2			Mean	SD
	Plate 1	Plate 2	Plate 3	Plate 1	Plate 2	Plate 3		
SR	33.00	31.00	30.00	29.00	28.00	24.00	29.17	3.06
AF-2, 0.2 µg/plate	255.00	257.00	249.00	260.00	265.00	269.00	259.17	7.17
บ่อ 1 ปกติ	39.00	41.00	44.00	45.00	47.00	33.00	41.50	5.05
บ่อ 1 50 เท่า	112.00	110.00	117.00	120.00	114.00	112.00	114.17	3.71
บ่อ 1 100 เท่า	225.00	210.00	211.00	217.00	213.00	219.00	215.83	5.67
บ่อ 1 200 เท่า	265.00	270.00	273.00	275.00	263.00	260.00	267.67	5.92
บ่อ 2 ปกติ	35.00	33.00	37.00	40.00	31.00	33.00	34.83	3.25
บ่อ 2 50 เท่า	99.00	93.00	95.00	97.00	110.00	99.00	98.83	5.95
บ่อ 2 100 เท่า	187.00	170.00	175.00	183.00	179.00	180.00	179.00	5.97
บ่อ 2 200 เท่า	220.00	234.00	221.00	226.00	227.00	219.00	220.00	5.68
บ่อ 3 ปกติ	30.00	27.00	29.00	31.00	33.00	32.00	30.33	2.16
บ่อ 3 50 เท่า	80.00	89.00	90.00	93.00	95.00	97.00	90.67	6.02
บ่อ 3 100 เท่า	141.00	145.00	149.00	151.00	140.00	139.00	144.17	5.00
บ่อ 3 200 เท่า	219.00	215.00	220.00	213.00	223.00	225.00	219.17	4.58

ตารางภาคผนวก ค-12 จำนวนโคโลนีของเชื้อ *Salmonella typhimurium* สายพันธุ์ TA98 ที่กลายพันธุ์ในสภาวะที่ไม่มี S9 mixture หลังจากเติมตัวอย่างน้ำเสียโรงงานถุงมือยางโรงที่ 3 เก็บ ณ วันที่ 2 ที่ระดับความเข้มข้นต่าง ๆ

ตัวอย่างน้ำ	จำนวนโคโลนีกลายพันธุ์ (colonies/plate)							
	ครั้งที่ 1			ครั้งที่ 2			Mean	SD
	Plate 1	Plate 2	Plate 3	Plate 1	Plate 2	Plate 3		
SR	25.00	27.00	29.00	30.00	35.00	33.00	29.83	3.71
AF-2, 0.2 µg/plate	260.00	263.00	255.00	245.00	251.00	247.00	253.50	7.15
บ่อ 1 ปกติ	49.00	47.00	45.00	39.00	40.00	44.00	44.00	3.90
บ่อ 1 50 เท่า	119.00	114.00	110.00	106.00	103.00	105.00	109.50	6.09
บ่อ 1 100 เท่า	203.00	205.00	199.00	209.00	210.00	197.00	203.83	5.23
บ่อ 1 200 เท่า	245.00	249.00	250.00	260.00	263.00	257.00	254.00	7.04
บ่อ 2 ปกติ	37.00	39.00	33.00	35.00	40.00	33.00	36.17	2.99
บ่อ 2 50 เท่า	99.00	96.00	93.00	90.00	100.00	94.00	95.33	3.78
บ่อ 2 100 เท่า	190.00	189.00	178.00	180.00	177.00	195.00	184.83	7.47
บ่อ 2 200 เท่า	245.00	230.00	236.00	245.00	239.00	250.00	240.83	7.25
บ่อ 3 ปกติ	29.00	27.00	30.00	32.00	33.00	35.00	31.00	2.90
บ่อ 3 50 เท่า	90.00	89.00	95.00	92.00	87.00	83.00	89.33	4.13
บ่อ 3 100 เท่า	178.00	180.00	175.00	183.00	169.00	181.00	177.67	5.05
บ่อ 3 200 เท่า	234.00	229.00	241.00	238.00	233.00	235.00	235.00	4.15

ตารางภาคผนวก ค-13 จำนวนโคโลนีของเชื้อ *Salmonella typhimurium* สายพันธุ์ TA98 ที่กลายพันธุ์ในสภาวะที่ไม่มี S9 mixture หลังจากเติมตัวอย่างน้ำเสียโรงงานถุงมือยางโรงที่ 3 เก็บ ณ วันที่ 3 ที่ระดับความเข้มข้นต่าง ๆ

ตัวอย่างน้ำ	จำนวนโคโลนีกลายพันธุ์ (colonies/plate)							
	ครั้งที่ 1			ครั้งที่ 2			Mean	SD
	Plate 1	Plate 2	Plate 3	Plate 1	Plate 2	Plate 3		
SR	31.00	29.00	33.00	35.00	28.00	32.00	31.33	2.58
AF-2, 0.2 µg/plate	263.00	271.00	260.00	255.00	265.00	270.00	264.00	6.07
บ่อ 1 ปกติ	55.00	53.00	49.00	57.00	47.00	44.00	50.83	5.00
บ่อ 1 50 เท่า	102.00	96.00	99.00	104.00	93.00	92.00	97.67	4.84
บ่อ 1 100 เท่า	189.00	190.00	192.00	196.00	186.00	184.00	189.50	4.28
บ่อ 1 200 เท่า	267.00	282.00	279.00	284.00	289.00	272.00	278.83	8.08
บ่อ 2 ปกติ	47.00	45.00	41.00	39.00	42.00	46.00	43.33	3.14
บ่อ 2 50 เท่า	90.00	95.00	98.00	89.00	99.00	92.00	93.83	4.17
บ่อ 2 100 เท่า	178.00	168.00	172.00	174.00	180.00	171.00	173.83	4.49
บ่อ 2 200 เท่า	269.00	258.00	253.00	270.00	255.00	261.00	261.00	7.13
บ่อ 3 ปกติ	40.00	39.00	37.00	41.00	35.00	40.00	38.67	2.25
บ่อ 3 50 เท่า	90.00	83.00	87.00	83.00	92.00	95.00	88.33	4.89
บ่อ 3 100 เท่า	170.00	174.00	160.00	159.00	164.00	161.00	164.67	6.06
บ่อ 3 200 เท่า	239.00	231.00	236.00	229.00	241.00	245.00	236.83	6.08

ตารางภาคผนวก ค-14 จำนวนโคโลนีของเชื้อ *Salmonella typhimurium* สายพันธุ์ TA98 ที่กลายพันธุ์ในสภาวะที่ไม่มี S9 mixture หลังจากเติมตัวอย่างน้ำเสียโรงงานถุงมือยางโรงที่ 3 เก็บ ณ วันที่ 4 ที่ระดับความเข้มข้นต่าง ๆ

ตัวอย่างน้ำ	จำนวนโคโลนีกลายพันธุ์ (colonies/plate)							
	ครั้งที่ 1			ครั้งที่ 2			Mean	SD
	Plate 1	Plate 2	Plate 3	Plate 1	Plate 2	Plate 3		
SR	34.00	29.00	33.00	32.00	33.00	32.00	32.17	1.72
AF-2, 0.2 µg/plate	253.00	247.00	254.00	249.00	251.00	255.00	251.50	3.08
บ่อ 1 ปกติ	41.00	45.00	44.00	40.00	43.00	45.00	43.00	2.10
บ่อ 1 50 เท่า	112.00	99.00	109.00	103.00	104.00	102.00	104.83	4.79
บ่อ 1 100 เท่า	190.00	192.00	195.00	197.00	189.00	194.00	192.83	3.06
บ่อ 1 200 เท่า	279.00	270.00	267.00	280.00	265.00	269.00	271.67	6.31
บ่อ 2 ปกติ	40.00	39.00	35.00	41.00	37.00	40.00	38.67	2.25
บ่อ 2 50 เท่า	99.00	97.00	89.00	94.00	103.00	95.00	96.17	4.75
บ่อ 2 100 เท่า	164.00	159.00	171.00	168.00	170.00	163.00	165.83	4.62
บ่อ 2 200 เท่า	250.00	264.00	258.00	255.00	262.00	269.00	259.67	6.77
บ่อ 3 ปกติ	32.00	31.00	27.00	33.00	29.00	30.00	30.33	2.16
บ่อ 3 50 เท่า	80.00	90.00	96.00	85.00	93.00	95.00	89.83	6.24
บ่อ 3 100 เท่า	141.00	147.00	150.00	158.00	160.00	143.00	149.83	7.78
บ่อ 3 200 เท่า	234.00	245.00	239.00	243.00	247.00	250.00	243.00	5.76

ตารางภาคผนวก ค-15 จำนวนโคโลนีของเชื้อ *Salmonella typhimurium* สายพันธุ์ TA98 ที่กลายพันธุ์ในสภาวะที่ไม่มี S9 mixture หลังจากเติมตัวอย่างน้ำเสียโรงงานถุงมือยางโรงที่ 3 เก็บ ณ วันที่ 5 ที่ระดับความเข้มข้นต่าง ๆ

ตัวอย่างน้ำ	จำนวนโคโลนีกลายพันธุ์ (colonies/plate)							
	ครั้งที่ 1			ครั้งที่ 2			Mean	SD
	Plate 1	Plate 2	Plate 3	Plate 1	Plate 2	Plate 3		
SR	25.00	26.00	27.00	28.00	29.00	33.00	28.00	2.83
AF-2, 0.2 µg/plate	260.00	271.00	274.00	264.00	265.00	273.00	267.83	5.64
บ่อ 1 ปกติ	40.00	39.00	41.00	37.00	35.00	42.00	39.00	2.61
บ่อ 1 50 เท่า	102.00	109.00	110.00	104.00	98.00	94.00	102.83	6.21
บ่อ 1 100 เท่า	190.00	189.00	191.00	187.00	183.00	190.00	188.33	2.94
บ่อ 1 200 เท่า	289.00	290.00	284.00	295.00	282.00	293.00	288.83	5.04
บ่อ 2 ปกติ	39.00	40.00	37.00	35.00	36.00	40.00	37.83	2.14
บ่อ 2 50 เท่า	90.00	94.00	93.00	87.00	97.00	99.00	93.33	4.41
บ่อ 2 100 เท่า	180.00	183.00	179.00	177.00	173.00	176.00	178.00	3.46
บ่อ 2 200 เท่า	278.00	270.00	269.00	274.00	273.00	280.00	274.00	4.34
บ่อ 3 ปกติ	33.00	35.00	29.00	30.00	31.00	34.00	32.00	2.37
บ่อ 3 50 เท่า	89.00	84.00	81.00	79.00	88.00	90.00	85.17	4.54
บ่อ 3 100 เท่า	160.00	163.00	157.00	153.00	167.00	161.00	160.17	4.83
บ่อ 3 200 เท่า	220.00	228.00	225.00	230.00	232.00	225.00	226.67	4.27

ตารางภาคผนวก ค-16 จำนวนโคโลนีของเชื้อ *Salmonella typhimurium* สายพันธุ์ TA98 ที่กลายพันธุ์ในสภาวะที่มี S9 mixture หลังจากเติมตัวอย่างน้ำเสียโรงงานถุงมือยางโรงที่ 1 เก็บ ณ วันที่ 1 ที่ระดับความเข้มข้นต่างๆ

ตัวอย่างน้ำ	จำนวนโคโลนีกลายพันธุ์ (colonies/plate)							
	ครั้งที่ 1			ครั้งที่ 2			Mean	SD
	Plate 1	Plate 2	Plate 3	Plate 1	Plate 2	Plate 3		
SR	42	45	41	40	42	45	42.50	2.07
AF-2, 0.2 µg/plate	489	498	488	502	487	478	490.33	8.55
บ่อ 1 ปกติ	40	42	44	39	59	55	46.50	8.41
บ่อ 1 50 เท่า	154	155	150	149	145	156	151.50	4.23
บ่อ 1 100 เท่า	231	233	234	240	232	237	234.50	3.39
บ่อ 1 200 เท่า	285	289	288	287	290	295	289.00	3.41
บ่อ 2 ปกติ	40	41	47	50	43	47	44.67	3.93
บ่อ 2 50 เท่า	130	145	148	135	129	147	139.00	8.69
บ่อ 2 100 เท่า	237	238	230	219	230	223	229.50	7.50
บ่อ 2 200 เท่า	272	275	270	271	272	269	271.50	2.07
บ่อ 3 ปกติ	46	40	39	44	47	43	43.17	3.19
บ่อ 3 50 เท่า	122	120	126	125	119	115	121.17	4.07
บ่อ 3 100 เท่า	217	221	218	213	210	219	216.33	4.08
บ่อ 3 200 เท่า	257	267	269	273	255	269	265.00	7.27
บ่อ 4 ปกติ	40	38	35	42	44	47	41.00	4.29
บ่อ 4 50 เท่า	119	115	112	109	117	103	112.50	5.86
บ่อ 4 100 เท่า	200	216	213	209	212	202	208.67	6.38
บ่อ 4 200 เท่า	260	243	259	255	251	262	255.00	7.07

ตารางภาคผนวก ค-17 จำนวนโคโลนีของเชื้อ *Salmonella typhimurium* สายพันธุ์ TA98 ที่กลายพันธุ์ในสภาวะที่มี S9 mixture หลังจากเติมตัวอย่างน้ำเสียโรงงานถุงมือยางโรงที่ 1 เก็บ ณ วันที่ 2 ที่ระดับความเข้มข้นต่าง ๆ

ตัวอย่างน้ำ	จำนวนโคโลนีกลายพันธุ์ (colonies/plate)							
	ครั้งที่ 1			ครั้งที่ 2			Mean	SD
	Plate 1	Plate 2	Plate 3	Plate 1	Plate 2	Plate 3		
SR	45	42	48	43	44	46	44.67	2.16
AF-2, 0.2 µg/plate	489	478	498	487	498	498	491.33	8.19
บ่อ 1 ปกติ	49	50	52	54	55	50	51.67	2.42
บ่อ 1 50 เท่า	123	124	131	136	138	139	131.83	7.03
บ่อ 1 100 เท่า	241	245	250	239	251	250	246.00	5.14
บ่อ 1 200 เท่า	300	302	298	297	289	284	295.00	6.99
บ่อ 2 ปกติ	50	47	49	53	45	43	47.83	3.60
บ่อ 2 50 เท่า	121	123	122	131	129	109	122.50	7.74
บ่อ 2 100 เท่า	234	235	237	238	229	240	235.50	3.83
บ่อ 2 200 เท่า	278	287	289	284	285	293	286.00	5.06
บ่อ 3 ปกติ	47	46	43	49	41	40	44.33	3.56
บ่อ 3 50 เท่า	110	121	125	119	127	113	119.17	6.65
บ่อ 3 100 เท่า	189	197	191	213	202	200	198.67	8.64
บ่อ 3 200 เท่า	256	245	244	253	250	249	249.50	4.59
บ่อ 4 ปกติ	39	41	37	44	35	42	39.67	3.33
บ่อ 4 50 เท่า	109	103	108	102	105	107	105.67	2.80
บ่อ 4 100 เท่า	178	170	181	189	197	185	183.33	9.31
บ่อ 4 200 เท่า	243	254	233	244	248	251	245.50	7.40

ตารางภาคผนวก ค-18 จำนวนโคโลนีของเชื้อ *Salmonella typhimurium* สายพันธุ์ TA98 ที่กลายพันธุ์ในสภาวะที่มี S9 mixture หลังจากเติมตัวอย่างน้ำเสียโรงงานถุงมือยางโรงที่ 1 เก็บ ณ วันที่ 3 ที่ระดับความเข้มข้นต่าง ๆ

ตัวอย่างน้ำ	จำนวนโคโลนีกลายพันธุ์ (colonies/plate)							
	ครั้งที่ 1			ครั้งที่ 2			Mean	SD
	Plate 1	Plate 2	Plate 3	Plate 1	Plate 2	Plate 3		
SR	51	47	46	50	45	44	47.17	2.79
AF-2, 0.2 µg/plate	487	491	472	480	489	492	485.17	7.73
บ่อ 1 ปกติ	53	52	57	49	50	39	50.00	6.07
บ่อ 1 50 เท่า	141	143	145	147	148	150	145.67	3.33
บ่อ 1 100 เท่า	247	230	249	230	249	243	241.33	9.05
บ่อ 1 200 เท่า	293	285	287	283	288	298	289.00	5.55
บ่อ 2 ปกติ	39	41	47	46	50	46	44.83	4.07
บ่อ 2 50 เท่า	134	113	119	129	112	130	122.83	9.41
บ่อ 2 100 เท่า	234	229	237	232	224	241	232.83	5.98
บ่อ 2 200 เท่า	271	279	275	278	273	280	276.00	3.58
บ่อ 3 ปกติ	40	43	42	39	38	35	39.50	2.88
บ่อ 3 50 เท่า	110	113	115	118	114	111	113.50	2.88
บ่อ 3 100 เท่า	213	215	218	214	210	229	216.50	6.66
บ่อ 3 200 เท่า	257	269	270	272	270	263	266.83	5.71
บ่อ 4 ปกติ	29	27	35	38	49	43	36.83	8.35
บ่อ 4 50 เท่า	109	98	101	100	99	95	100.33	4.72
บ่อ 4 100 เท่า	185	179	186	184	187	179	183.33	3.50
บ่อ 4 200 เท่า	245	248	249	250	252	247	248.50	2.43

ตารางภาคผนวก ค-19 จำนวนโคโลนีของเชื้อ *Salmonella typhimurium* สายพันธุ์ TA98 ที่กลายพันธุ์ในสภาวะที่มี S9 mixture หลังจากเติมตัวอย่างน้ำเสียโรงงานถุงมือยางโรงที่ 1 เก็บ ณ วันที่ 4 ที่ระดับความเข้มข้นต่าง ๆ

ตัวอย่างน้ำ	จำนวนโคโลนีกลายพันธุ์ (colonies/plate)							
	ครั้งที่ 1			ครั้งที่ 2			Mean	SD
	Plate 1	Plate 2	Plate 3	Plate 1	Plate 2	Plate 3		
SR	47	48	45	49	45	48	47.00	1.67
AF-2 ,0.2 µg/plate	487	497	472	484	476	478	482.33	9.00
บ่อ 1 ปกติ	54	56	55	53	52	49	53.17	2.48
บ่อ 1 50 เท่า	154	150	155	139	149	158	150.83	6.68
บ่อ 1 100 เท่า	241	237	239	250	245	257	244.83	7.55
บ่อ 1 200 เท่า	298	290	296	293	289	291	292.83	3.54
บ่อ 2 ปกติ	52	45	47	43	41	40	44.67	4.41
บ่อ 2 50 เท่า	132	131	135	137	138	140	135.50	3.51
บ่อ 2 100 เท่า	239	241	227	235	233	230	234.17	5.31
บ่อ 2 200 เท่า	275	283	290	289	280	285	283.67	5.65
บ่อ 3 ปกติ	39	40	45	43	41	44	42.00	2.37
บ่อ 3 50 เท่า	121	120	123	119	115	113	118.50	3.78
บ่อ 3 100 เท่า	221	239	230	231	229	219	228.17	7.28
บ่อ 3 200 เท่า	289	268	275	269	271	273	274.17	7.70
บ่อ 4 ปกติ	43	35	39	37	40	42	39.33	3.01
บ่อ 4 50 เท่า	105	109	102	110	104	98	104.67	4.46
บ่อ 4 100 เท่า	210	215	216	218	219	211	214.83	3.66
บ่อ 4 200 เท่า	253	267	261	277	275	271	267.33	9.07

ตารางภาคผนวก ค-20 จำนวนโคโลนีของเชื้อ *Salmonella typhimurium* สายพันธุ์ TA98 ที่กลายพันธุ์ในสภาวะที่มี S9 mixture หลังจากเติมตัวอย่างน้ำเสียโรงงานถุงมือยางโรงที่ 1 เก็บ ณ วันที่ 5 ที่ระดับความเข้มข้นต่าง ๆ

ตัวอย่างน้ำ	จำนวนโคโลนีกลายพันธุ์ (colonies/plate)							
	ครั้งที่ 1			ครั้งที่ 2			Mean	SD
	Plate 1	Plate 2	Plate 3	Plate 1	Plate 2	Plate 3		
SR	43	44	46	46	47	49	45.83	2.14
AF-2, 0.2 µg/plate	479	487	499	485	487	505	490.33	9.69
บ่อ 1 ปกติ	50	52	49	51	52	48	50.33	1.63
บ่อ 1 50 เท่า	139	140	135	145	155	148	143.67	7.20
บ่อ 1 100 เท่า	257	243	247	250	239	249	247.50	6.19
บ่อ 1 200 เท่า	281	296	308	290	300	293	294.67	9.16
บ่อ 2 ปกติ	42	45	47	39	40	50	43.83	4.26
บ่อ 2 50 เท่า	132	131	135	137	138	140	135.50	3.51
บ่อ 2 100 เท่า	225	227	221	229	231	235	228.00	4.86
บ่อ 2 200 เท่า	280	289	279	284	285	286	283.83	3.76
บ่อ 3 ปกติ	41	44	47	39	40	36	41.17	3.87
บ่อ 3 50 เท่า	121	125	127	119	116	115	120.50	4.81
บ่อ 3 100 เท่า	211	216	219	215	220	225	217.67	4.80
บ่อ 3 200 เท่า	263	271	275	269	265	264	267.83	4.67
บ่อ 4 ปกติ	39	41	37	36	33	44	38.33	3.88
บ่อ 4 50 เท่า	109	115	106	103	102	99	105.67	5.72
บ่อ 4 100 เท่า	214	203	209	211	204	210	208.50	4.23
บ่อ 4 200 เท่า	266	261	253	260	251	265	259.33	6.15

ตารางภาคผนวก ค-21 จำนวนโคโลนีของเชื้อ *Salmonella typhimurium* สายพันธุ์ TA98 ที่กลายพันธุ์ในสภาวะที่มี S9 mixture หลังจากเติมตัวอย่างน้ำเสียโรงงานถุงมือยางโรงที่ 2 เก็บ ณ วันที่ 1 ที่ระดับความเข้มข้นต่าง ๆ

ตัวอย่างน้ำ	จำนวนโคโลนีกลายพันธุ์ (colonies/plate)							
	ครั้งที่ 1			ครั้งที่ 2			Mean	SD
	Plate 1	Plate 2	Plate 3	Plate 1	Plate 2	Plate 3		
SR	34	48	43	35	40	38	39.67	5.24
2-AA 0.13 µg/plate	555	549	541	552	554	549	550.00	5.06
บ่อ 1 ปกติ	49	52	53	57	51	50	52.00	2.83
บ่อ 1 50 เท่า	123	125	120	119	115	110	118.67	5.47
บ่อ 1 100 เท่า	231	233	230	235	229	227	230.83	2.86
บ่อ 1 200 เท่า	282	289	279	280	287	285	283.67	3.98
บ่อ 2 ปกติ	44	43	45	47	46	49	45.67	2.16
บ่อ 2 50 เท่า	100	99	115	112	111	110	107.83	6.68
บ่อ 2 100 เท่า	217	218	220	219	210	213	216.17	3.87
บ่อ 2200 เท่า	262	265	270	271	273	269	268.33	4.08
บ่อ 3 ปกติ	39	37	35	32	33	34	35.00	2.61
บ่อ 3 50 เท่า	106	109	102	100	98	99	102.33	4.32
บ่อ 3 100 เท่า	187	203	195	199	198	189	195.17	6.15
บ่อ 3 200 เท่า	247	250	234	235	245	242	242.17	6.49

ตารางภาคผนวก ค-22 จำนวนโคโลนีของเชื้อ *Salmonella typhimurium* สายพันธุ์ TA98 ที่กลายพันธุ์ในสภาวะที่มี S9 mixture หลังจากเติมตัวอย่างน้ำเสียโรงงานถุงมือยางโรงที่ 2 เก็บ ณ วันที่ 2 ที่ระดับความเข้มข้นต่าง ๆ

ตัวอย่างน้ำ	จำนวนโคโลนีกลายพันธุ์ (colonies/plate)							
	ครั้งที่ 1			ครั้งที่ 2			Mean	SD
	Plate 1	Plate 2	Plate 3	Plate 1	Plate 2	Plate 3		
SR	42	43	39	38	41	40	40.50	1.87
2-AA 0.13 µg/plate	557	567	569	555	549	558	559.17	7.55
บ่อ 1 ปกติ	55	57	60	63	64	59	59.67	3.44
บ่อ 1 50 เท่า	121	120	118	115	118	111	117.17	3.66
บ่อ 1 100 เท่า	223	227	230	231	225	233	228.17	3.82
บ่อ 1 200 เท่า	285	289	290	283	285	291	287.17	3.25
บ่อ 2 ปกติ	50	45	47	43	49	51	47.50	3.08
บ่อ 2 50 เท่า	110	105	99	98	107	99	103.00	5.02
บ่อ 2 100 เท่า	217	203	199	213	211	195	206.33	8.64
บ่อ 2200 เท่า	254	257	260	261	255	253	256.67	3.27
บ่อ 3 ปกติ	40	37	39	35	39	41	38.50	2.17
บ่อ 3 50 เท่า	90	100	99	93	97	103	97.00	4.77
บ่อ 3 100 เท่า	188	180	183	189	187	185	185.33	3.39
บ่อ 3 200 เท่า	229	231	229	227	239	233	231.33	4.27

ตารางภาคผนวก ค-23 จำนวนโคโลนีของเชื้อ *Salmonella typhimurium* สายพันธุ์ TA98 ที่กลายพันธุ์ในสภาวะที่มี S9 mixture หลังจากเติมตัวอย่างน้ำเสียโรงงานถุงมือยางโรงที่ 2 เก็บ ณ วันที่ 3 ที่ระดับความเข้มข้นต่าง ๆ

ตัวอย่างน้ำ	จำนวนโคโลนีกลายพันธุ์ (colonies/plate)							
	ครั้งที่ 1			ครั้งที่ 2			Mean	SD
	Plate 1	Plate 2	Plate 3	Plate 1	Plate 2	Plate 3		
SR	39	37	45	40	42	46	41.50	3.51
2-AA 0.13 µg/plate	499	551	552	550	498	552	533.67	27.25
บ่อ 1 ปกติ	52	55	57	59	63	65	58.50	4.89
บ่อ 1 50 เท่า	123	119	115	113	125	113	118.00	5.18
บ่อ 1 100 เท่า	227	230	229	220	219	231	226.00	5.22
บ่อ 1 200 เท่า	293	295	301	297	299	300	297.50	3.08
บ่อ 2 ปกติ	49	47	50	53	50	49	49.67	1.97
บ่อ 2 50 เท่า	112	108	99	103	105	113	106.67	5.39
บ่อ 2 100 เท่า	210	215	217	220	219	213	215.67	3.78
บ่อ 2200 เท่า	271	269	265	260	263	270	266.33	4.37
บ่อ 3 ปกติ	39	41	40	37	35	49	40.17	4.83
บ่อ 3 50 เท่า	98	99	105	100	95	99	99.33	3.27
บ่อ 3 100 เท่า	179	180	181	183	177	184	180.67	2.58
บ่อ 3 200 เท่า	217	221	234	229	231	230	227.00	6.54

ตารางภาคผนวก ค-24 จำนวนโคโลนีของเชื้อ *Salmonella typhimurium* สายพันธุ์ TA98 ที่กลายพันธุ์ในสภาวะที่มี S9 mixture หลังจากเติมตัวอย่างน้ำเสียโรงงานถุงมือยางโรงที่ 2 เก็บ ณ วันที่ 4 ที่ระดับความเข้มข้นต่าง ๆ

ตัวอย่างน้ำ	จำนวนโคโลนีกลายพันธุ์ (colonies/plate)							
	ครั้งที่ 1			ครั้งที่ 2			Mean	SD
	Plate 1	Plate 2	Plate 3	Plate 1	Plate 2	Plate 3		
SR	43	40	45	45	49	41	43.83	3.25
2-AA 0.13 µg/plate	552	551	555	557	559	600	562.33	18.69
บ่อ 1 ปกติ	60	63	55	50	52	61	56.83	5.27
บ่อ 1 50 เท่า	119	123	120	115	123	117	119.50	3.21
บ่อ 1 100 เท่า	221	237	219	230	229	220	226.00	7.16
บ่อ 1 200 เท่า	279	285	283	273	280	277	279.50	4.28
บ่อ 2 ปกติ	45	50	44	47	51	43	46.67	3.27
บ่อ 2 50 เท่า	113	100	110	115	112	114	110.67	5.50
บ่อ 2 100 เท่า	180	185	188	190	220	189	192.00	14.18
บ่อ 2200 เท่า	261	259	266	258	268	269	263.50	4.76
บ่อ 3 ปกติ	32	33	35	37	39	38	35.67	2.80
บ่อ 3 50 เท่า	109	97	95	93	105	99	99.67	6.15
บ่อ 3 100 เท่า	180	179	175	171	169	165	173.17	5.88
บ่อ 3 200 เท่า	233	230	231	231	229	228	230.33	1.75

ตารางภาคผนวก ค-25 จำนวนโคโลนีของเชื้อ *Salmonella typhimurium* สายพันธุ์ TA98 ที่กลายพันธุ์ในสภาวะที่มี S9 mixture หลังจากเติมตัวอย่างน้ำเสียโรงงานถุงมือยางโรงที่ 2 เก็บ ณ วันที่ 5 ที่ระดับความเข้มข้นต่าง ๆ

ตัวอย่างน้ำ	จำนวนโคโลนีกลายพันธุ์ (colonies/plate)							
	ครั้งที่ 1			ครั้งที่ 2			Mean	SD
	Plate 1	Plate 2	Plate 3	Plate 1	Plate 2	Plate 3		
SR	39	41	43	34	47	50	42.33	5.72
2-AA 0.13 µg/plate	555	576	598	599	601	559	581.33	5.47
บ่อ 1 ปกติ	65	57	59	63	56	54	59.00	4.24
บ่อ 1 50 เท่า	119	107	122	127	120	109	117.33	7.76
บ่อ 1 100 เท่า	229	230	234	235	227	239	232.33	4.46
บ่อ 1 200 เท่า	291	290	288	287	278	289	287.17	4.71
บ่อ 2 ปกติ	47	45	59	52	56	49	51.33	5.39
บ่อ 2 50 เท่า	101	103	100	105	109	98	102.67	3.93
บ่อ 2 100 เท่า	213	215	217	220	219	215	216.50	2.66
บ่อ 2200 เท่า	270	261	265	275	272	269	268.67	5.01
บ่อ 3 ปกติ	35	37	39	40	43	41	39.17	2.86
บ่อ 3 50 เท่า	109	110	105	103	100	98	104.17	4.79
บ่อ 3 100 เท่า	209	203	200	199	208	210	204.83	4.79
บ่อ 3 200 เท่า	233	231	229	237	235	230	232.50	3.08

ตารางภาคผนวก ค-26 จำนวนโคโลนีของเชื้อ *Salmonella typhimurium* สายพันธุ์ TA98 ที่กลายพันธุ์ในสภาวะที่มี S9 mixture หลังจากเติมตัวอย่างน้ำเสียโรงงานถุงมือยางโรงที่ 3 เก็บ ณ วันที่ 1 ที่ระดับความเข้มข้นต่าง ๆ

ตัวอย่างน้ำ	จำนวนโคโลนีกลายพันธุ์ (colonies/plate)							
	ครั้งที่ 1			ครั้งที่ 2			Mean	SD
	Plate 1	Plate 2	Plate 3	Plate 1	Plate 2	Plate 3		
SR	44	45	39	40	42	45	42.50	2.59
2-AA								
0.13 µg/plate	545	549	541	542	554	549	546.67	4.93
บ่อ 1 ปกติ	55	57	60	55	54	52	55.50	2.74
บ่อ 1 50 เท่า	130	121	124	126	128	119	124.67	4.18
บ่อ 1 100 เท่า	260	249	263	257	258	259	257.67	4.72
บ่อ 1 200 เท่า	312	332	315	313	308	305	314.17	9.45
บ่อ 2 ปกติ	59	50	55	49	47	51	51.83	4.40
บ่อ 2 50 เท่า	112	115	117	119	121	109	115.50	4.46
บ่อ 2 100 เท่า	237	228	230	235	230	240	233.33	4.72
บ่อ 2200 เท่า	282	303	297	296	294	287	293.17	7.52
บ่อ 3 ปกติ	44	43	45	50	51	56	48.17	5.04
บ่อ 3 50 เท่า	109	107	103	115	113	110	109.50	4.28
บ่อ 3 100 เท่า	217	211	203	199	198	210	206.33	7.53
บ่อ 3 200 เท่า	250	253	269	245	251	262	255.00	8.83

ตารางภาคผนวก ค-27 จำนวนโคโลนีของเชื้อ *Salmonella typhimurium* สายพันธุ์ TA98 ที่กลายพันธุ์ในสภาวะที่มี S9 mixture หลังจากเติมตัวอย่างน้ำเสียโรงงานถุงมือยางโรงที่ 3 เก็บ ณ วันที่ 2 ที่ระดับความเข้มข้นต่าง ๆ

ตัวอย่างน้ำ	จำนวนโคโลนีกลายพันธุ์ (colonies/plate)							
	ครั้งที่ 1			ครั้งที่ 2			Mean	SD
	Plate 1	Plate 2	Plate 3	Plate 1	Plate 2	Plate 3		
SR	45	41	48	43	40	46	43.83	3.06
2-AA								
0.13 µg/plate	537	547	549	545	549	558	547.50	6.80
บ่อ 1 ปกติ	57	58	51	50	55	53	54.00	3.22
บ่อ 1 50 เท่า	130	133	119	123	129	130	127.33	5.24
บ่อ 1 100 เท่า	233	227	230	231	215	233	228.17	6.82
บ่อ 1 200 เท่า	293	298	295	287	285	299	292.83	5.74
บ่อ 2 ปกติ	54	57	48	49	50	52	51.67	3.39
บ่อ 2 50 เท่า	119	123	126	112	115	122	119.50	5.24
บ่อ 2 100 เท่า	217	220	215	223	211	238	220.67	9.44
บ่อ 2200 เท่า	285	283	260	265	275	273	273.50	9.79
บ่อ 3 ปกติ	47	53	44	41	43	49	46.17	4.40
บ่อ 3 50 เท่า	114	105	103	92	101	95	101.67	7.79
บ่อ 3 100 เท่า	211	215	218	208	220	213	214.17	4.45
บ่อ 3 200 เท่า	256	268	264	270	277	278	268.83	8.26

ตารางภาคผนวก ค-28 จำนวนโคโลนีของเชื้อ *Salmonella typhimurium* สายพันธุ์ TA98 ที่กลายพันธุ์ในสภาวะที่มี S9 mixture หลังจากเติมตัวอย่างน้ำเสียโรงงานถุงมือยางโรงที่ 3 เก็บ ณ วันที่ 3 ที่ระดับความเข้มข้นต่าง ๆ

ตัวอย่างน้ำ	จำนวนโคโลนีกลายพันธุ์ (colonies/plate)							
	ครั้งที่ 1			ครั้งที่ 2			Mean	SD
	Plate 1	Plate 2	Plate 3	Plate 1	Plate 2	Plate 3		
SR	41	43	46	40	42	44	42.67	2.16
2-AA								
0.13 µg/plate	487	491	482	490	511	492	492.17	9.91
บ่อ 1 ปกติ	52	54	56	50	58	49	53.17	3.49
บ่อ 1 50 เท่า	123	125	132	128	126	136	128.33	4.84
บ่อ 1 100 เท่า	247	230	239	230	249	231	237.67	8.71
บ่อ 1 200 เท่า	293	285	301	297	299	298	295.50	5.79
บ่อ 2 ปกติ	48	45	47	50	52	53	49.17	3.06
บ่อ 2 50 เท่า	114	118	123	124	120	112	118.50	4.81
บ่อ 2 100 เท่า	217	215	235	220	221	234	223.67	8.66
บ่อ 2200 เท่า	271	279	265	287	273	270	274.17	7.76
บ่อ 3 ปกติ	49	50	44	41	48	42	45.67	3.83
บ่อ 3 50 เท่า	110	114	115	102	101	98	106.67	7.26
บ่อ 3 100 เท่า	210	222	217	219	221	225	219.00	5.18
บ่อ 3 200 เท่า	267	269	270	276	274	257	268.83	6.68

ตารางภาคผนวก ค-29 จำนวนโคโลนีของเชื้อ *Salmonella typhimurium* สายพันธุ์ TA98 ที่กลายพันธุ์ในสภาวะที่มี S9 mixture หลังจากเติมตัวอย่างน้ำเสียโรงงานถุงมือยางโรงที่ 3 เก็บ ณ วันที่ 4 ที่ระดับความเข้มข้นต่าง ๆ

ตัวอย่างน้ำ	จำนวนโคโลนีกลายพันธุ์ (colonies/plate)							
	ครั้งที่ 1			ครั้งที่ 2			Mean	SD
	Plate 1	Plate 2	Plate 3	Plate 1	Plate 2	Plate 3		
SR	50	48	46	49	45	53	48.50	2.88
2-AA								
0.13 µg/plate	542	531	555	537	549	530	540.67	9.97
บ่อ 1 ปกติ	52	54	49	47	49	46	49.50	3.02
บ่อ 1 50 เท่า	120	122	126	124	128	132	125.33	4.32
บ่อ 1 100 เท่า	244	246	249	252	250	260	250.17	5.60
บ่อ 1 200 เท่า	300	293	305	296	309	297	300.00	6.00
บ่อ 2 ปกติ	40	43	47	48	49	50	46.17	3.87
บ่อ 2 50 เท่า	121	116	118	120	109	103	114.50	7.06
บ่อ 2 100 เท่า	239	229	227	235	223	230	230.50	5.72
บ่อ 2200 เท่า	283	280	289	285	278	275	281.67	5.05
บ่อ 3 ปกติ	44	39	47	43	41	37	41.83	3.60
บ่อ 3 50 เท่า	109	107	105	102	104	99	104.33	3.56
บ่อ 3 100 เท่า	211	229	218	215	221	219	218.83	6.08
บ่อ 3 200 เท่า	285	280	277	270	264	269	274.17	7.83

ตารางภาคผนวก ค-30 จำนวนโคโลนีของเชื้อ *Salmonella typhimurium* สายพันธุ์ TA98 ที่กลายพันธุ์ในสภาวะที่มี S9 mixture หลังจากเติมตัวอย่างน้ำเสียโรงงานถุงมือยางโรงที่ 3 เก็บ ณ วันที่ 5 ที่ระดับความเข้มข้นต่าง ๆ

ตัวอย่างน้ำ	จำนวนโคโลนีกลายพันธุ์ (colonies/plate)							
	ครั้งที่ 1			ครั้งที่ 2			Mean	SD
	Plate 1	Plate 2	Plate 3	Plate 1	Plate 2	Plate 3		
SR	51	54	46	53	49	50	50.50	2.88
2-AA 0.13 µg/plate	555	546	558	569	551	549	554.67	4.58
บ่อ 1 ปกติ	56	54	52	50	48	44	50.67	4.31
บ่อ 1 50 เท่า	130	128	125	132	135	129	129.83	3.43
บ่อ 1 100 เท่า	239	230	234	235	227	239	234.00	4.82
บ่อ 1 200 เท่า	281	290	288	309	288	289	290.83	9.45
บ่อ 2 ปกติ	48	45	49	43	51	50	47.67	3.08
บ่อ 2 50 เท่า	123	125	119	116	113	115	118.50	4.72
บ่อ 2 100 เท่า	223	240	227	229	232	239	231.67	6.74
บ่อ 2200 เท่า	270	281	275	275	294	286	280.17	8.75
บ่อ 3 ปกติ	39	50	53	47	45	43	46.17	5.00
บ่อ 3 50 เท่า	112	113	108	102	101	99	105.83	5.98
บ่อ 3 100 เท่า	227	225	230	219	228	225	225.67	3.78
บ่อ 3 200 เท่า	284	279	264	277	273	280	276.17	6.97

ตารางภาคผนวก ค-31 จำนวนโคโลนีของเชื้อ *Salmonella typhimurium* สายพันธุ์ TA100 ที่กลายพันธุ์ในสภาวะที่ไม่มี S9 mixture หลังจากเติมตัวอย่างน้ำเสียโรงงานถุงมือยางโรงที่ 1 เก็บ ณ วันที่ 1 ที่ระดับความเข้มข้นต่าง ๆ

ตัวอย่างน้ำ	จำนวนโคโลนีกลายพันธุ์ (colonies/plate)							
	ครั้งที่ 1			ครั้งที่ 2			Mean	SD
	Plate 1	Plate 2	Plate 3	Plate 1	Plate 2	Plate 3		
SR	188	179	170	175	185	183	180.0	6.7
AF-2,0.01 µg/plate	391	389	380	385	393	381	386.5	5.4
บ่อ 1 ปกติ	189	191	195	181	186	183	187.5	5.2
บ่อ 1 50 เท่า	251	255	253	259	261	267	257.7	5.9
บ่อ 1 100 เท่า	280	281	279	283	286	290	283.2	4.2
บ่อ 1 200 เท่า	297	298	291	295	300	305	297.7	4.7
บ่อ 2 ปกติ	179	173	169	171	176	165	172.2	5.0
บ่อ 2 50 เท่า	247	239	245	241	249	250	245.2	4.4
บ่อ 2 100 เท่า	267	269	273	275	265	277	271.0	4.7
บ่อ 2200 เท่า	290	295	289	296	286	293	291.5	3.8
บ่อ 3 ปกติ	159	161	163	155	168	158	160.7	4.5
บ่อ 3 50 เท่า	229	221	227	219	225	223	224.0	3.7
บ่อ 3 100 เท่า	249	251	263	256	258	266	257.2	6.6
บ่อ 3 200 เท่า	279	280	275	283	285	271	278.8	5.2
บ่อ 4 ปกติ	139	135	129	127	133	131	132.3	4.3
บ่อ 4 50 เท่า	207	205	211	209	203	200	205.8	4.0
บ่อ 4 100 เท่า	220	226	227	229	233	237	228.7	5.9
บ่อ 4 200 เท่า	251	253	261	267	259	264	259.2	6.2

ตารางภาคผนวก ค-32 จำนวนโคโลนีของเชื้อ *Salmonella typhimurium* สายพันธุ์ TA100 ที่กลายพันธุ์ในสภาวะที่ไม่มี S9 mixture หลังจากเติมตัวอย่างน้ำเสียโรงงานถุงมือยางโรงที่ 1 เก็บ ณ วันที่ 2 ที่ระดับความเข้มข้นต่าง ๆ

ตัวอย่างน้ำ	จำนวนโคโลนีกลายพันธุ์ (colonies/plate)							
	ครั้งที่ 1			ครั้งที่ 2			Mean	SD
	Plate 1	Plate 2	Plate 3	Plate 1	Plate 2	Plate 3		
SR	187	179	177	176	169	171	176.5	6.4
AF-2,0.01 µg/plate	388	389	379	390	392	385	387.2	4.6
บ่อ 1 ปกติ	199	201	203	198	197	205	200.5	3.1
บ่อ 1 50 เท่า	245	247	251	249	255	257	250.7	4.6
บ่อ 1 100 เท่า	297	289	295	291	287	285	290.7	4.6
บ่อ 1 200 เท่า	303	311	315	307	305	319	310.0	6.2
บ่อ 2 ปกติ	185	183	181	179	186	177	181.8	3.5
บ่อ 2 50 เท่า	237	230	233	229	237	225	231.8	4.8
บ่อ 2 100 เท่า	270	275	276	279	281	285	277.7	5.2
บ่อ 2200 เท่า	300	293	295	289	291	287	292.5	4.6
บ่อ 3 ปกติ	167	163	165	169	171	173	168.0	3.7
บ่อ 3 50 เท่า	187	180	183	179	185	188	183.7	3.7
บ่อ 3 100 เท่า	230	235	241	245	248	250	241.5	7.8
บ่อ 3 200 เท่า	280	285	279	273	281	286	280.7	4.7
บ่อ 4 ปกติ	150	149	155	147	151	153	150.8	2.9
บ่อ 4 50 เท่า	170	173	169	178	175	167	172.0	4.1
บ่อ 4 100 เท่า	219	220	225	217	223	213	219.5	4.3
บ่อ 4 200 เท่า	269	259	265	257	268	253	261.8	6.5

ตารางภาคผนวก ค-33 จำนวนโคโลนีของเชื้อ *Salmonella typhimurium* สายพันธุ์ TA100 ที่กลายพันธุ์ในสภาวะที่ไม่มี S9 mixture หลังจากเติมตัวอย่างน้ำเสียโรงงานถุงมือยางโรงที่ 1 เก็บ ณ วันที่ 3 ที่ระดับความเข้มข้นต่าง ๆ

ตัวอย่างน้ำ	จำนวนโคโลนีกลายพันธุ์ (colonies/plate)							
	ครั้งที่ 1			ครั้งที่ 2			Mean	SD
	Plate 1	Plate 2	Plate 3	Plate 1	Plate 2	Plate 3		
SR	180	188	185	179	173	175	180.0	5.7
AF-2,0.01 µg/plate	375	373	380	381	386	379	379.0	4.6
บ่อ 1 ปกติ	175	180	185	177	179	183	179.8	3.7
บ่อ 1 50 เท่า	240	245	247	250	253	258	248.8	6.3
บ่อ 1 100 เท่า	270	273	279	286	283	290	280.2	7.7
บ่อ 1 200 เท่า	289	293	297	300	298	303	296.7	5.0
บ่อ 2 ปกติ	165	169	163	159	166	157	163.2	4.5
บ่อ 2 50 เท่า	239	237	241	231	248	243	239.8	5.7
บ่อ 2 100 เท่า	269	270	263	273	265	272	268.7	3.9
บ่อ 2200 เท่า	280	279	285	277	286	289	282.7	4.7
บ่อ 3 ปกติ	157	153	150	149	159	160	154.7	4.7
บ่อ 3 50 เท่า	225	223	219	220	229	230	224.3	4.5
บ่อ 3 100 เท่า	249	251	253	255	248	257	252.2	3.5
บ่อ 3 200 เท่า	271	269	275	280	278	273	274.3	4.2
บ่อ 4 ปกติ	149	151	144	155	141	139	146.5	6.2
บ่อ 4 50 เท่า	209	219	217	210	213	211	213.2	4.0
บ่อ 4 100 เท่า	230	237	240	229	246	238	236.7	6.4
บ่อ 4 200 เท่า	263	259	255	261	253	267	259.7	5.2

ตารางภาคผนวก ค-34 จำนวนโคโลนีของเชื้อ *Salmonella typhimurium* สายพันธุ์ TA100 ที่กลายพันธุ์ในสภาวะที่ไม่มี S9 mixture หลังจากเติมตัวอย่างน้ำเสียโรงงานถุงมือยางโรงที่ 1 เก็บ ณ วันที่ 4 ที่ระดับความเข้มข้นต่าง ๆ

ตัวอย่างน้ำ	จำนวนโคโลนีกลายพันธุ์ (colonies/plate)							
	ครั้งที่ 1			ครั้งที่ 2			Mean	SD
	Plate 1	Plate 2	Plate 3	Plate 1	Plate 2	Plate 3		
SR	175	180	173	171	179	183	176.8	4.6
AF-2,0.01 µg/plate	359	360	363	370	375	372	366.5	6.7
บ่อ 1 ปกติ	178	180	175	181	186	183	180.5	3.8
บ่อ 1 50 เท่า	270	265	267	271	273	278	270.7	4.6
บ่อ 1 100 เท่า	280	285	290	279	281	283	283.0	4.0
บ่อ 1 200 เท่า	290	295	299	304	307	293	298.0	6.6
บ่อ 2 ปกติ	167	170	171	165	173	177	170.5	4.3
บ่อ 2 50 เท่า	240	245	251	253	256	258	250.5	6.8
บ่อ 2 100 เท่า	270	275	277	283	273	285	277.2	5.8
บ่อ 2200 เท่า	288	291	290	287	293	285	289.0	2.9
บ่อ 3 ปกติ	159	157	149	153	147	150	152.5	4.7
บ่อ 3 50 เท่า	230	235	237	240	229	235	234.3	4.2
บ่อ 3 100 เท่า	260	295	263	257	269	265	268.2	13.8
บ่อ 3 200 เท่า	280	283	277	277	285	286	281.3	3.9
บ่อ 4 ปกติ	141	143	135	139	147	150	142.5	5.4
บ่อ 4 50 เท่า	219	220	230	227	225	218	223.2	4.9
บ่อ 4 100 เท่า	240	245	253	248	257	242	247.5	6.5
บ่อ 4 200 เท่า	260	265	270	275	268	277	269.2	6.3

ตารางภาคผนวก ค-35 จำนวนโคโลนีของเชื้อ *Salmonella typhimurium* สายพันธุ์ TA100 ที่กลายพันธุ์ในสภาวะที่ไม่มี S9 mixture หลังจากเติมตัวอย่างน้ำเสียโรงงานถุงมือยางโรงที่ 1 เก็บ ณ วันที่ 5 ที่ระดับความเข้มข้นต่าง ๆ

ตัวอย่างน้ำ	จำนวนโคโลนีกลายพันธุ์ (colonies/plate)							
	ครั้งที่ 1			ครั้งที่ 2			Mean	SD
	Plate 1	Plate 2	Plate 3	Plate 1	Plate 2	Plate 3		
SR	170	180	183	185	173	177	178.0	5.8
AF-2,0.01 µg/plate	350	368	359	370	373	375	365.8	9.5
บ่อ 1 ปกติ	178	189	190	172	183	185	182.8	6.9
บ่อ 1 50 เท่า	278	280	279	283	281	284	280.8	2.3
บ่อ 1 100 เท่า	280	289	287	285	290	297	288.0	5.7
บ่อ 1 200 เท่า	299	300	307	310	303	295	302.3	5.5
บ่อ 2 ปกติ	160	165	170	173	168	163	166.5	4.8
บ่อ 2 50 เท่า	260	270	268	263	271	265	266.2	4.3
บ่อ 2 100 เท่า	270	273	280	275	282	277	276.2	4.4
บ่อ 2200 เท่า	280	285	283	290	291	287	286.0	4.2
บ่อ 3 ปกติ	158	165	160	155	158	165	160.2	4.1
บ่อ 3 50 เท่า	249	251	243	246	258	260	251.2	6.7
บ่อ 3 100 เท่า	260	265	270	277	275	268	269.2	6.3
บ่อ 3 200 เท่า	280	281	279	275	286	288	281.5	4.8
บ่อ 4 ปกติ	143	140	139	137	145	147	141.8	3.8
บ่อ 4 50 เท่า	230	237	240	229	227	222	230.8	6.6
บ่อ 4 100 เท่า	250	247	243	237	252	255	247.3	6.5
บ่อ 4 200 เท่า	280	277	279	269	265	273	273.8	5.9

ตารางภาคผนวก ค-36 จำนวนโคโลนีของเชื้อ *Salmonella typhimurium* สายพันธุ์ TA100 ที่กลายพันธุ์ในสภาวะที่ไม่มี S9 mixture หลังจากเติมตัวอย่างน้ำเสียโรงงานถุงมือยางโรงที่ 2 เก็บ ณ วันที่ 1 ที่ระดับความเข้มข้นต่าง ๆ

ตัวอย่างน้ำ	จำนวนโคโลนีกลายพันธุ์ (colonies/plate)							
	ครั้งที่ 1			ครั้งที่ 2			Mean	SD
	Plate 1	Plate 2	Plate 3	Plate 1	Plate 2	Plate 3		
SR	168	171	188	187	191	189	182.33	6.34
AF-2,0.01 µg/plate	397	389	403	405	398	395	397.83	5.74
บ่อ 1 ปกติ	56	54	52	50	48	44	50.67	4.31
บ่อ 1 50 เท่า	130	128	125	132	135	129	129.83	3.43
บ่อ 1 100 เท่า	239	230	234	235	227	239	234.00	4.82
บ่อ 1 200 เท่า	281	290	288	309	288	289	290.83	9.45
บ่อ 2 ปกติ	48	45	49	43	51	50	47.67	3.08
บ่อ 2 50 เท่า	123	125	119	116	113	115	118.50	4.72
บ่อ 2 100 เท่า	223	240	227	229	232	239	231.67	6.74
บ่อ 2200 เท่า	270	281	275	275	294	286	280.17	8.75
บ่อ 3 ปกติ	39	50	53	47	45	43	46.17	5.00
บ่อ 3 50 เท่า	112	113	108	102	101	99	105.83	5.98
บ่อ 3 100 เท่า	227	225	230	219	228	225	225.67	3.78
บ่อ 3 200 เท่า	284	279	264	277	273	280	276.17	6.97

ตารางภาคผนวก ค-37 จำนวนโคโลนีของเชื้อ *Salmonella typhimurium* สายพันธุ์ TA100 ที่กลายพันธุ์ในสภาวะที่ไม่มี S9 mixture หลังจากเติมตัวอย่างน้ำเสียโรงงานถุงมือยางโรงที่ 2 เก็บ ณ วันที่ 2 ที่ระดับความเข้มข้นต่าง ๆ

ตัวอย่างน้ำ	จำนวนโคโลนีกลายพันธุ์ (colonies/plate)							
	ครั้งที่ 1			ครั้งที่ 2			Mean	SD
	Plate 1	Plate 2	Plate 3	Plate 1	Plate 2	Plate 3		
SR	188	187	188	190	191	189	188.83	1.47
AF-2,0.01 µg/plate	395	379	390	401	397	389	391.83	7.70
บ่อ 1 ปกติ	180	181	183	185	187	179	182.50	3.08
บ่อ 1 50 เท่า	240	245	247	243	239	235	241.50	4.37
บ่อ 1 100 เท่า	279	282	280	275	283	287	281.00	4.05
บ่อ 1 200 เท่า	303	305	311	317	300	309	307.50	6.12
บ่อ 2 ปกติ	149	150	159	157	148	151	152.33	4.55
บ่อ 2 50 เท่า	219	220	227	231	232	230	226.50	5.68
บ่อ 2 100 เท่า	250	247	245	253	241	244	246.67	4.32
บ่อ 2200 เท่า	282	285	287	289	283	280	284.33	3.33
บ่อ 3 ปกติ	137	130	132	125	137	129	131.67	4.72
บ่อ 3 50 เท่า	200	189	197	199	190	195	195.00	4.60
บ่อ 3 100 เท่า	199	203	217	209	210	213	208.50	6.57
บ่อ 3 200 เท่า	254	249	251	253	249	247	250.50	2.66

ตารางภาคผนวก ค-38 จำนวนโคโลนีของเชื้อ *Salmonella typhimurium* สายพันธุ์ TA100 ที่กลายพันธุ์ในสภาวะที่ไม่มี S9 mixture หลังจากเติมตัวอย่างน้ำเสียโรงงานถุงมือยางโรงที่ 2 เก็บ ณ วันที่ 3 ที่ระดับความเข้มข้นต่าง ๆ

ตัวอย่างน้ำ	จำนวนโคโลนีกลายพันธุ์ (colonies/plate)							
	ครั้งที่ 1			ครั้งที่ 2			Mean	SD
	Plate 1	Plate 2	Plate 3	Plate 1	Plate 2	Plate 3		
SR	190	191	189	179	188	193	188.33	4.89
AF-2,0.01 µg/plate	395	387	389	403	398	401	395.50	6.44
บ่อ 1 ปกติ	181	185	189	188	192	190	187.50	3.94
บ่อ 1 50 เท่า	251	253	250	248	245	247	249.00	2.90
บ่อ 1 100 เท่า	287	283	285	289	291	290	287.50	3.08
บ่อ 1 200 เท่า	321	320	319	317	309	311	316.17	5.00
บ่อ 2 ปกติ	151	154	159	168	165	160	159.50	6.41
บ่อ 2 50 เท่า	235	238	231	232	229	231	232.67	3.27
บ่อ 2 100 เท่า	252	252	257	259	260	265	257.50	5.01
บ่อ 2200 เท่า	290	292	289	286	279	275	285.17	6.74
บ่อ 3 ปกติ	135	132	130	129	139	140	134.17	4.62
บ่อ 3 50 เท่า	207	200	199	189	185	187	194.50	8.76
บ่อ 3 100 เท่า	215	218	216	220	221	221	218.50	2.59
บ่อ 3 200 เท่า	262	263	256	255	249	251	256.00	5.66

ตารางภาคผนวก ค-39 จำนวนโคโลนีของเชื้อ *Salmonella typhimurium* สายพันธุ์ TA100 ที่กลายพันธุ์ในสภาวะที่ไม่มี S9 mixture หลังจากเติมตัวอย่างน้ำเสียโรงงานถุงมือยางโรงที่ 2 เก็บ ณ วันที่ 4 ที่ระดับความเข้มข้นต่าง ๆ

ตัวอย่างน้ำ	จำนวนโคโลนีกลายพันธุ์ (colonies/plate)							
	ครั้งที่ 1			ครั้งที่ 2			Mean	SD
	Plate 1	Plate 2	Plate 3	Plate 1	Plate 2	Plate 3		
SR	198	188	190	195	188	190	191.50	4.09
AF-2,0.01 µg/plate	395	407	399	398	409	411	403.17	6.65
บ่อ 1 ปกติ	189	179	190	183	185	187	185.50	4.09
บ่อ 1 50 เท่า	251	249	250	247	239	242	246.33	4.80
บ่อ 1 100 เท่า	289	283	280	285	279	281	282.83	3.71
บ่อ 1 200 เท่า	311	309	312	303	305	314	309.00	4.24
บ่อ 2 ปกติ	157	159	160	153	155	161	157.50	3.08
บ่อ 2 50 เท่า	220	229	233	235	237	227	230.17	6.21
บ่อ 2 100 เท่า	258	252	239	249	245	250	248.83	6.43
บ่อ 2200 เท่า	282	280	289	290	279	277	282.83	5.42
บ่อ 3 ปกติ	130	120	127	131	135	132	129.17	5.19
บ่อ 3 50 เท่า	211	207	199	195	208	205	204.17	6.01
บ่อ 3 100 เท่า	217	219	231	225	223	220	222.50	5.05
บ่อ 3 200 เท่า	245	259	260	255	253	249	253.50	5.79

ตารางภาคผนวก ค-40 จำนวนโคโลนีของเชื้อ *Salmonella typhimurium* สายพันธุ์ TA100 ที่กลายพันธุ์ในสภาวะที่ไม่มี S9 mixture หลังจากเติมตัวอย่างน้ำเสียโรงงานถุงมือยางโรงที่ 2 เก็บ ณ วันที่ 5 ที่ระดับความเข้มข้นต่าง ๆ

ตัวอย่างน้ำ	จำนวนโคโลนีกลายพันธุ์ (colonies/plate)							
	ครั้งที่ 1			ครั้งที่ 2			Mean	SD
	Plate 1	Plate 2	Plate 3	Plate 1	Plate 2	Plate 3		
SR	188	187	179	191	195	189	188.17	5.31
AF-2,0.01 µg/plate	404	397	395	399	407	403	400.83	4.58
บ่อ 1 ปกติ	195	191	190	185	186	188	189.17	3.66
บ่อ 1 50 เท่า	252	249	253	248	251	255	251.33	2.58
บ่อ 1 100 เท่า	290	289	288	285	287	291	288.33	2.16
บ่อ 1 200 เท่า	314	317	309	307	311	320	313.00	4.94
บ่อ 2 ปกติ	153	167	165	166	165	159	162.50	5.43
บ่อ 2 50 เท่า	230	231	227	229	233	235	230.83	2.86
บ่อ 2 100 เท่า	260	261	259	255	253	261	258.17	3.37
บ่อ 2200 เท่า	290	293	291	289	279	287	288.17	4.92
บ่อ 3 ปกติ	139	137	140	141	145	139	140.17	2.71
บ่อ 3 50 เท่า	189	197	187	190	179	183	187.50	6.19
บ่อ 3 100 เท่า	220	225	235	230	228	221	226.50	5.68
บ่อ 3 200 เท่า	261	263	268	270	265	264	265.17	3.31

ตารางภาคผนวก ค-41 จำนวนโคโลนีของเชื้อ *Salmonella typhimurium* สายพันธุ์ TA100 ที่กลายพันธุ์ในสภาวะที่ไม่มี S9 mixture หลังจากเติมตัวอย่างน้ำเสียโรงงานถุงมือยางโรงที่ 3 เก็บ ณ วันที่ 1 ที่ระดับความเข้มข้นต่าง ๆ

ตัวอย่างน้ำ	จำนวนโคโลนีกลายพันธุ์ (colonies/plate)							
	ครั้งที่ 1			ครั้งที่ 2			Mean	SD
	Plate 1	Plate 2	Plate 3	Plate 1	Plate 2	Plate 3		
SR	188	179	170	175	185	183	180.0	6.7
AF-2,0.01 µg/plate	391	389	380	385	393	381	386.5	5.4
บ่อ 1 ปกติ	175	171	169	162	172	167	169.3	4.5
บ่อ 1 50 เท่า	189	195	199	187	186	198	192.3	5.7
บ่อ 1 100 เท่า	241	246	251	259	256	243	249.3	7.2
บ่อ 1 200 เท่า	289	290	293	287	283	297	289.8	4.8
บ่อ 2 ปกติ	159	163	155	161	157	151	157.7	4.3
บ่อ 2 50 เท่า	180	171	176	175	183	178	177.2	4.2
บ่อ 2 100 เท่า	220	225	231	237	239	227	229.8	7.3
บ่อ 2200 เท่า	261	266	271	275	263	274	268.3	5.9
บ่อ 3 ปกติ	141	139	138	143	145	141	141.2	2.6
บ่อ 3 50 เท่า	169	171	166	168	175	176	170.8	4.0
บ่อ 3 100 เท่า	186	190	187	195	197	184	189.8	5.2
บ่อ 3 200 เท่า	245	247	251	253	242	241	246.5	4.8

ตารางภาคผนวก ค-42 จำนวนโคโลนีของเชื้อ *Salmonella typhimurium* สายพันธุ์ TA100 ที่กลายพันธุ์ในสภาวะที่ไม่มี S9 mixture หลังจากเติมตัวอย่างน้ำเสียโรงงานถุงมือยางโรงที่ 3 เก็บ ณ วันที่ 2 ที่ระดับความเข้มข้นต่าง ๆ

ตัวอย่างน้ำ	จำนวนโคโลนีกลายพันธุ์ (colonies/plate)							
	ครั้งที่ 1			ครั้งที่ 2			Mean	SD
	Plate 1	Plate 2	Plate 3	Plate 1	Plate 2	Plate 3		
SR	187	179	177	176	169	171	176.5	6.4
AF-2,0.01 µg/plate	388	389	379	390	392	385	387.2	4.6
บ่อ 1 ปกติ	163	159	167	157	168	170	164.0	5.2
บ่อ 1 50 เท่า	191	195	200	197	203	193	196.5	4.5
บ่อ 1 100 เท่า	260	263	267	270	265	272	266.2	4.4
บ่อ 1 200 เท่า	280	283	291	287	293	296	288.3	6.1
บ่อ 2 ปกติ	141	143	151	157	149	153	149.0	6.1
บ่อ 2 50 เท่า	180	179	177	163	175	168	173.7	6.7
บ่อ 2 100 เท่า	251	255	260	253	263	258	256.7	4.5
บ่อ 2200 เท่า	271	269	274	276	268	279	272.8	4.3
บ่อ 3 ปกติ	131	137	140	139	142	147	139.3	5.3
บ่อ 3 50 เท่า	161	150	155	158	163	168	159.2	6.3
บ่อ 3 100 เท่า	179	183	175	181	176	173	177.8	3.8
บ่อ 3 200 เท่า	229	219	217	225	227	228	224.2	5.0

ตารางภาคผนวก ค-43 จำนวนโคโลนีของเชื้อ *Salmonella typhimurium* สายพันธุ์ TA100 ที่กลายพันธุ์ในสภาวะที่ไม่มี S9 mixture หลังจากเติมตัวอย่างน้ำเสียโรงงานถุงมือยางโรงที่ 3 เก็บ ณ วันที่ 3 ที่ระดับความเข้มข้นต่าง ๆ

ตัวอย่างน้ำ	จำนวนโคโลนีกลายพันธุ์ (colonies/plate)							
	ครั้งที่ 1			ครั้งที่ 2			Mean	SD
	Plate 1	Plate 2	Plate 3	Plate 1	Plate 2	Plate 3		
SR	180	188	185	179	173	175	180.0	5.7
AF-2,0.01 µg/plate	375	373	380	381	386	379	379.0	4.6
บ่อ 1 ปกติ	180	183	188	190	187	193	186.8	4.7
บ่อ 1 50 เท่า	220	219	211	217	225	223	219.2	4.9
บ่อ 1 100 เท่า	251	253	254	260	257	263	256.3	4.5
บ่อ 1 200 เท่า	280	283	290	293	287	285	286.3	4.7
บ่อ 2 ปกติ	170	169	173	167	175	165	169.8	3.7
บ่อ 2 50 เท่า	197	199	207	210	218	213	207.3	8.1
บ่อ 2 100 เท่า	239	243	237	245	240	250	242.3	4.7
บ่อ 2200 เท่า	270	275	277	280	283	272	276.2	4.9
บ่อ 3 ปกติ	153	149	155	147	158	160	153.7	5.0
บ่อ 3 50 เท่า	196	180	189	195	199	203	193.7	8.1
บ่อ 3 100 เท่า	229	227	220	219	218	225	223.0	4.6
บ่อ 3 200 เท่า	250	269	271	258	268	255	261.8	8.7

ตารางภาคผนวก ค-44 จำนวนโคโลนีของเชื้อ *Salmonella typhimurium* สายพันธุ์ TA100 ที่กลายพันธุ์ในสภาวะที่ไม่มี S9 mixture หลังจากเติมตัวอย่างน้ำเสียโรงงานถุงมือยางโรงที่ 3 เก็บ ณ วันที่ 4 ที่ระดับความเข้มข้นต่าง ๆ

ตัวอย่างน้ำ	จำนวนโคโลนีกลายพันธุ์ (colonies/plate)							
	ครั้งที่ 1			ครั้งที่ 2			Mean	SD
	Plate 1	Plate 2	Plate 3	Plate 1	Plate 2	Plate 3		
SR	175	180	173	171	179	183	176.8	4.6
AF-2,0.01 µg/plate	359	360	363	370	375	372	366.5	6.7
บ่อ 1 ปกติ	183	187	179	180	185	189	183.8	3.9
บ่อ 1 50 เท่า	219	223	227	217	229	230	224.2	5.4
บ่อ 1 100 เท่า	240	245	248	253	255	260	250.2	7.3
บ่อ 1 200 เท่า	279	283	280	285	275	276	279.7	3.9
บ่อ 2 ปกติ	175	169	168	171	172	165	170.0	3.5
บ่อ 2 50 เท่า	190	199	189	197	185	193	192.2	5.2
บ่อ 2 100 เท่า	229	233	235	231	240	239	234.5	4.4
บ่อ 2200 เท่า	271	275	280	279	281	273	276.5	4.1
บ่อ 3 ปกติ	151	153	160	157	163	167	158.5	6.1
บ่อ 3 50 เท่า	180	173	182	175	178	185	178.8	4.4
บ่อ 3 100 เท่า	220	219	215	209	205	213	213.5	5.8
บ่อ 3 200 เท่า	259	263	265	257	271	269	264.0	5.5

ตารางภาคผนวก ค-45 จำนวนโคโลนีของเชื้อ *Salmonella typhimurium* สายพันธุ์ TA100 ที่กลายพันธุ์ในสภาวะที่ไม่มี S9 mixture หลังจากเติมตัวอย่างน้ำเสียโรงงานถุงมือยางโรงที่ 3 เก็บ ณ วันที่ 5 ที่ระดับความเข้มข้นต่าง ๆ

ตัวอย่างน้ำ	จำนวนโคโลนีกลายพันธุ์ (colonies/plate)							
	ครั้งที่ 1			ครั้งที่ 2			Mean	SD
	Plate 1	Plate 2	Plate 3	Plate 1	Plate 2	Plate 3		
SR	170	180	183	185	173	177	178.0	5.8
AF-2,0.01 µg/plate	350	368	359	370	373	375	365.8	9.5
บ่อ 1 ปกติ	170	173	169	175	165	178	171.7	4.6
บ่อ 1 50 เท่า	259	260	263	265	258	268	262.2	3.9
บ่อ 1 100 เท่า	270	275	277	280	283	285	278.3	5.5
บ่อ 1 200 เท่า	290	291	293	289	295	297	292.5	3.1
บ่อ 2 ปกติ	161	159	158	163	164	155	160.0	3.3
บ่อ 2 50 เท่า	230	229	233	237	227	235	231.8	3.8
บ่อ 2 100 เท่า	250	249	253	248	255	258	252.2	3.9
บ่อ 2200 เท่า	280	283	285	279	288	279	282.3	3.7
บ่อ 3 ปกติ	140	143	139	137	145	148	142.0	4.1
บ่อ 3 50 เท่า	219	220	218	224	217	226	220.7	3.6
บ่อ 3 100 เท่า	230	233	240	237	242	247	238.2	6.2
บ่อ 3 200 เท่า	270	275	280	279	283	281	278.0	4.7

ตารางภาคผนวก ค-46 จำนวนโคโลนีของเชื้อ *Salmonella typhimurium* สายพันธุ์ TA100 ที่กลายพันธุ์ในสภาวะที่มี S9 mixture หลังจากเติมตัวอย่างน้ำเสียโรงงานถุงมือยางโรงที่ 1 เก็บ ณ วันที่ 1 ที่ระดับความเข้มข้นต่าง ๆ

ตัวอย่างน้ำ	จำนวนโคโลนีกลายพันธุ์ (colonies/plate)							
	ครั้งที่ 1			ครั้งที่ 2			Mean	SD
	Plate 1	Plate 2	Plate 3	Plate 1	Plate 2	Plate 3		
SR	217	215	212	213	217	219	215.50	2.66
2-AA, 0.13 µg/plate	489	478	488	473	479	463	478.33	9.71
บ่อ 1 ปกติ	287	277	285	273	273	279	279.00	5.93
บ่อ 1 50 เท่า	275	274	280	273	293	287	280.33	8.09
บ่อ 1 100 เท่า	311	327	319	323	322	316	319.67	5.65
บ่อ 1 200 เท่า	356	368	362	343	359	357	357.50	8.31
บ่อ 2 ปกติ	221	234	239	233	243	250	236.67	9.89
บ่อ 2 50 เท่า	253	275	259	265	261	253	261.00	8.29
บ่อ 2 100 เท่า	317	301	309	293	299	295	302.33	9.09
บ่อ 2200 เท่า	323	327	333	333	329	345	331.67	7.55
บ่อ 3 ปกติ	229	227	219	223	230	235	227.17	5.60
บ่อ 3 50 เท่า	251	259	240	253	257	265	254.17	8.50
บ่อ 3 100 เท่า	297	279	288	273	289	285	285.17	8.35
บ่อ 3 200 เท่า	311	317	322	323	313	322	318.00	5.14
บ่อ 4 ปกติ	222	232	212	234	232	233	227.50	8.76
บ่อ 4 50 เท่า	256	263	248	250	248	239	250.67	8.14
บ่อ 4 100 เท่า	289	298	299	287	282	278	288.83	8.42
บ่อ 4 200 เท่า	323	312	322	324	322	333	322.67	6.68

ตารางภาคผนวก ค-47 จำนวนโคโลนีของเชื้อ *Salmonella typhimurium* สายพันธุ์ TA100 ที่กลายพันธุ์ในสภาวะที่มี S9 mixture หลังจากเติมตัวอย่างน้ำเสียโรงงานถุงมือยางโรงที่ 1 เก็บ ณ วันที่ 2 ที่ระดับความเข้มข้นต่าง ๆ

ตัวอย่างน้ำ	จำนวนโคโลนีกลายพันธุ์ (colonies/plate)							
	ครั้งที่ 1			ครั้งที่ 2			Mean	SD
	Plate 1	Plate 2	Plate 3	Plate 1	Plate 2	Plate 3		
SR	224	233	227	219	216	226	224.17	6.05
2-AA, 0.13 µg/plate	475	498	499	488	497	488	490.83	9.20
บ่อ 1 ปกติ	266	277	274	268	263	270	269.67	5.16
บ่อ 1 50 เท่า	285	277	273	287	277	280	279.83	5.31
บ่อ 1 100 เท่า	314	317	325	313	316	298	313.83	8.84
บ่อ 1 200 เท่า	323	331	329	324	333	319	326.50	5.36
บ่อ 2 ปกติ	262	253	245	269	258	269	259.33	9.40
บ่อ 2 50 เท่า	277	281	291	272	287	270	279.67	8.29
บ่อ 2 100 เท่า	301	294	298	293	313	289	298.00	8.44
บ่อ 2200 เท่า	333	349	332	329	334	331	334.67	7.23
บ่อ 3 ปกติ	255	239	247	233	247	248	244.83	7.70
บ่อ 3 50 เท่า	277	276	286	278	272	275	277.33	4.72
บ่อ 3 100 เท่า	297	289	311	307	295	310	301.50	9.07
บ่อ 3 200 เท่า	338	321	315	323	339	327	327.17	9.60
บ่อ 4 ปกติ	243	233	245	226	253	234	239.00	9.78
บ่อ 4 50 เท่า	287	278	277	288	276	284	281.67	5.32
บ่อ 4 100 เท่า	299	300	311	307	311	312	306.67	5.82
บ่อ 4 200 เท่า	332	337	324	345	334	323	332.50	8.26

ตารางภาคผนวก ค-48 จำนวนโคโลนีของเชื้อ *Salmonella typhimurium* สายพันธุ์ TA100 ที่กลายพันธุ์ในสภาวะที่มี S9 mixture หลังจากเติมตัวอย่างน้ำเสียโรงงานถุงมือยางโรงที่ 1 เก็บ ณ วันที่ 3 ที่ระดับความเข้มข้นต่าง ๆ

ตัวอย่างน้ำ	จำนวนโคโลนีกลายพันธุ์ (colonies/plate)							
	ครั้งที่ 1			ครั้งที่ 2			Mean	SD
	Plate 1	Plate 2	Plate 3	Plate 1	Plate 2	Plate 3		
SR	233	225	244	239	222	231	232.33	8.29
2-AA, 0.13 µg/plate	477	489	486	495	479	488	485.67	6.68
บ่อ 1 ปกติ	246	259	255	241	249	259	251.50	7.37
บ่อ 1 50 เท่า	275	272	287	277	283	278	278.67	5.47
บ่อ 1 100 เท่า	322	320	329	313	325	315	320.67	6.02
บ่อ 1 200 เท่า	332	349	331	347	348	355	343.67	9.83
บ่อ 2 ปกติ	241	247	253	249	245	231	244.33	7.66
บ่อ 2 50 เท่า	273	274	269	267	271	277	271.83	3.60
บ่อ 2 100 เท่า	321	319	319	307	327	325	319.67	7.00
บ่อ 2200 เท่า	330	319	325	327	321	335	326.17	5.88
บ่อ 3 ปกติ	227	230	229	211	232	225	225.67	7.58
บ่อ 3 50 เท่า	263	256	252	245	257	260	255.50	6.35
บ่อ 3 100 เท่า	297	289	293	278	289	298	290.67	7.28
บ่อ 3 200 เท่า	320	311	327	315	305	319	316.17	7.65
บ่อ 4 ปกติ	215	222	217	225	221	211	218.50	5.13
บ่อ 4 50 เท่า	278	265	269	268	271	269	270.00	4.38
บ่อ 4 100 เท่า	303	298	299	311	302	289	300.33	7.20
บ่อ 4 200 เท่า	342	321	332	343	331	322	331.83	9.41

ตารางภาคผนวก ค-49 จำนวนโคโลนีของเชื้อ *Salmonella typhimurium* สายพันธุ์ TA100 ที่กลายพันธุ์ในสภาวะที่มี S9 mixture หลังจากเติมตัวอย่างน้ำเสียโรงงานถุงมือยางโรงที่ 1 เก็บ ณ วันที่ 4 ที่ระดับความเข้มข้นต่าง ๆ

ตัวอย่างน้ำ	จำนวนโคโลนีกลายพันธุ์ (colonies/plate)							
	ครั้งที่ 1			ครั้งที่ 2			Mean	SD
	Plate 1	Plate 2	Plate 3	Plate 1	Plate 2	Plate 3		
SR	220	222	234	230	221	238	227.50	7.58
2-AA, 0.13 µg/plate	478	486	477	486	475	473	479.17	5.56
บ่อ 1 ปกติ	250	253	249	257	266	265	256.67	7.39
บ่อ 1 50 เท่า	280	291	278	286	289	295	286.50	6.53
บ่อ 1 100 เท่า	339	322	332	330	323	338	330.67	7.20
บ่อ 1 200 เท่า	365	345	353	350	361	356	355.00	7.29
บ่อ 2 ปกติ	224	231	239	247	239	241	236.83	8.11
บ่อ 2 50 เท่า	282	279	278	273	271	277	276.67	4.03
บ่อ 2 100 เท่า	325	327	313	319	310	315	318.17	6.77
บ่อ 2200 เท่า	335	327	329	331	322	327	328.50	4.37
บ่อ 3 ปกติ	227	211	221	227	229	218	222.17	6.88
บ่อ 3 50 เท่า	260	249	259	253	255	252	254.67	4.23
บ่อ 3 100 เท่า	295	289	290	281	293	295	290.50	5.28
บ่อ 3 200 เท่า	330	339	327	325	323	328	328.67	5.61
บ่อ 4 ปกติ	222	223	229	212	224	227	222.83	5.91
บ่อ 4 50 เท่า	278	274	283	285	267	275	277.00	6.54
บ่อ 4 100 เท่า	311	321	314	302	321	322	315.17	7.83
บ่อ 4 200 เท่า	343	323	343	335	339	344	337.83	8.01

ตารางภาคผนวก ค-50 จำนวนโคโลนีของเชื้อ *Salmonella typhimurium* สายพันธุ์ TA100 ที่กลายพันธุ์ในสภาวะที่มี S9 mixture หลังจากเติมตัวอย่างน้ำเสียโรงงานถุงมือยางโรงที่ 1 เก็บ ณ วันที่ 5 ที่ระดับความเข้มข้นต่าง ๆ

ตัวอย่างน้ำ	จำนวนโคโลนีกลายพันธุ์ (colonies/plate)							
	ครั้งที่ 1			ครั้งที่ 2			Mean	SD
	Plate 1	Plate 2	Plate 3	Plate 1	Plate 2	Plate 3		
SR	215	219	224	227	213	217	219.17	5.38
2-AA, 0.13 µg/plate	489	488	497	476	476	479	484.17	8.52
บ่อ 1 ปกติ	223	237	245	240	249	245	239.83	9.26
บ่อ 1 50 เท่า	278	279	290	285	297	289	286.33	7.20
บ่อ 1 100 เท่า	323	329	336	332	345	327	332.00	7.75
บ่อ 1 200 เท่า	345	340	357	359	351	355	351.17	7.39
บ่อ 2 ปกติ	245	247	243	249	250	257	248.50	4.89
บ่อ 2 50 เท่า	275	277	265	286	280	279	277.00	6.96
บ่อ 2 100 เท่า	322	321	329	311	325	317	320.83	6.27
บ่อ 2200 เท่า	321	337	329	330	335	338	331.67	6.38
บ่อ 3 ปกติ	222	225	237	219	222	226	225.17	6.31
บ่อ 3 50 เท่า	255	247	259	253	260	255	254.83	4.67
บ่อ 3 100 เท่า	289	297	279	287	283	291	287.67	6.28
บ่อ 3 200 เท่า	318	322	319	320	315	329	320.50	4.76
บ่อ 4 ปกติ	232	221	235	223	221	220	225.33	6.47
บ่อ 4 50 เท่า	267	257	265	254	255	263	260.17	5.53
บ่อ 4 100 เท่า	298	287	289	297	289	290	291.67	4.63
บ่อ 4 200 เท่า	324	331	333	328	329	321	327.67	4.46

ตารางภาคผนวก ค-51 จำนวนโคโลนีของเชื้อ *Salmonella typhimurium* สายพันธุ์ TA100 ที่กลายพันธุ์ในสภาวะที่มี S9 mixture หลังจากเติมตัวอย่างน้ำเสียโรงงานถุงมือยางโรงที่ 2 เก็บ ณ วันที่ 1 ที่ระดับความเข้มข้นต่าง ๆ

ตัวอย่างน้ำ	จำนวนโคโลนีกลายพันธุ์ (colonies/plate)							
	ครั้งที่ 1			ครั้งที่ 2			Mean	SD
	Plate 1	Plate 2	Plate 3	Plate 1	Plate 2	Plate 3		
SR	225	217	232	233	227	219	225.50	6.57
2-AA, 0.13 µg/plate	585	598	600	601	599	603	597.67	6.44
บ่อ 1 ปกติ	267	270	275	269	273	271	270.83	2.86
บ่อ 1 50 เท่า	285	274	290	279	283	287	283.00	5.76
บ่อ 1 100 เท่า	311	317	309	319	312	316	314.00	3.90
บ่อ 1 200 เท่า	352	358	352	361	359	367	358.17	5.71
บ่อ 2 ปกติ	247	252	249	255	253	250	251.00	2.90
บ่อ 2 50 เท่า	263	265	269	270	271	273	268.50	3.78
บ่อ 2 100 เท่า	307	311	309	303	302	305	306.17	3.49
บ่อ 2200 เท่า	323	327	330	331	329	325	327.50	3.08
บ่อ 3 ปกติ	239	237	239	229	230	235	234.83	4.40
บ่อ 3 50 เท่า	251	259	260	263	257	255	257.50	4.18
บ่อ 3 100 เท่า	297	289	290	287	299	295	292.83	4.83
บ่อ 3 200 เท่า	311	317	320	321	313	315	316.17	3.92

ตารางภาคผนวก ค-52 จำนวนโคโลนีของเชื้อ *Salmonella typhimurium* สายพันธุ์ TA100 ที่กลายพันธุ์ในสภาวะที่มี S9 mixture หลังจากเติมตัวอย่างน้ำเสียโรงงานถุงมือยางโรงที่ 2 เก็บ ณ วันที่ 2 ที่ระดับความเข้มข้นต่าง ๆ

ตัวอย่างน้ำ	จำนวนโคโลนีกลายพันธุ์ (colonies/plate)							
	ครั้งที่ 1			ครั้งที่ 2			Mean	SD
	Plate 1	Plate 2	Plate 3	Plate 1	Plate 2	Plate 3		
SR	220	213	217	219	206	216	215.17	5.12
2-AA, 0.13 µg/plate	595	597	599	608	607	604	601.67	5.43
บ่อ 1 ปกติ	256	267	270	258	262	272	264.17	6.52
บ่อ 1 50 เท่า	285	272	283	287	277	285	281.50	5.79
บ่อ 1 100 เท่า	311	307	315	313	306	298	308.33	6.12
บ่อ 1 200 เท่า	342	351	339	344	353	349	346.33	5.50
บ่อ 2 ปกติ	252	253	255	249	257	259	254.17	3.60
บ่อ 2 50 เท่า	273	281	271	272	277	270	274.00	4.20
บ่อ 2 100 เท่า	306	294	290	293	303	289	295.83	7.03
บ่อ 2200 เท่า	323	317	322	319	324	311	319.33	4.84
บ่อ 3 ปกติ	245	239	240	243	247	241	242.50	3.08
บ่อ 3 50 เท่า	267	270	276	262	272	265	268.67	5.05
บ่อ 3 100 เท่า	297	299	301	303	295	300	299.17	2.86
บ่อ 3 200 เท่า	308	311	315	313	309	317	312.17	3.49

ตารางภาคผนวก ค-53 จำนวนโคโลนีของเชื้อ *Salmonella typhimurium* สายพันธุ์ TA100 ที่กลายพันธุ์ในสภาวะที่มี S9 mixture หลังจากเติมตัวอย่างน้ำเสียโรงงานถุงมือยางโรงที่ 2 เก็บ ณ วันที่ 3 ที่ระดับความเข้มข้นต่าง ๆ

ตัวอย่างน้ำ	จำนวนโคโลนีกลายพันธุ์ (colonies/plate)							
	ครั้งที่ 1			ครั้งที่ 2			Mean	SD
	Plate 1	Plate 2	Plate 3	Plate 1	Plate 2	Plate 3		
SR	223	230	234	229	227	231	229.00	3.74
2-AA, 0.13 µg/plate	607	595	599	609	606	611	604.50	6.19
บ่อ 1 ปกติ	250	253	255	257	249	251	252.50	3.08
บ่อ 1 50 เท่า	285	290	291	287	283	281	286.17	3.92
บ่อ 1 100 เท่า	322	320	319	313	315	325	319.00	4.43
บ่อ 1 200 เท่า	352	349	351	347	355	345	349.83	3.60
บ่อ 2 ปกติ	240	247	243	239	245	241	242.50	3.08
บ่อ 2 50 เท่า	273	275	269	267	271	277	272.00	3.74
บ่อ 2 100 เท่า	311	319	309	307	317	315	313.00	4.73
บ่อ 2200 เท่า	330	329	325	327	331	333	329.17	2.86
บ่อ 3 ปกติ	227	230	229	231	232	225	229.00	2.61
บ่อ 3 50 เท่า	253	257	260	255	251	250	254.33	3.78
บ่อ 3 100 เท่า	297	299	295	300	293	298	297.00	2.61
บ่อ 3 200 เท่า	310	311	317	315	309	319	313.50	4.09

ตารางภาคผนวก ค-54 จำนวนโคโลนีของเชื้อ *Salmonella typhimurium* สายพันธุ์ TA100 ที่กลายพันธุ์ในสภาวะที่มี S9 mixture หลังจากเติมตัวอย่างน้ำเสียโรงงานถุงมือยางโรงที่ 2 เก็บ ณ วันที่ 4 ที่ระดับความเข้มข้นต่าง ๆ

ตัวอย่างน้ำ	จำนวนโคโลนีกลายพันธุ์ (colonies/plate)							
	ครั้งที่ 1			ครั้งที่ 2			Mean	SD.
	Plate 1	Plate 2	Plate 3	Plate 1	Plate 2	Plate 3		
SR	230	232	237	240	241	238	236.33	4.41
2-AA, 0.13 µg/plate	579	568	595	597	598	599	589.33	12.82
บ่อ 1 ปกติ	260	263	259	257	261	255	259.17	2.86
บ่อ 1 50 เท่า	290	291	285	283	289	292	288.33	3.56
บ่อ 1 100 เท่า	329	325	322	320	323	327	324.33	3.33
บ่อ 1 200 เท่า	360	355	353	350	351	354	353.83	3.54
บ่อ 2 ปกติ	244	241	239	247	249	251	245.17	4.67
บ่อ 2 50 เท่า	280	279	275	273	281	277	277.50	3.08
บ่อ 2 100 เท่า	315	317	313	309	310	311	312.50	3.08
บ่อ 2200 เท่า	335	330	329	331	332	327	330.67	2.73
บ่อ 3 ปกติ	217	210	221	220	219	215	217.00	4.05
บ่อ 3 50 เท่า	260	259	255	253	261	252	256.67	3.83
บ่อ 3 100 เท่า	285	289	290	291	293	295	290.50	3.45
บ่อ 3 200 เท่า	320	319	317	315	313	318	317.00	2.61

ตารางภาคผนวก ค-55 จำนวนโคโลนีของเชื้อ *Salmonella typhimurium* สายพันธุ์ TA100 ที่กลายพันธุ์ในสภาวะที่มี S9 mixture หลังจากเติมตัวอย่างน้ำเสียโรงงานถุงมือยางโรงที่ 2 เก็บ ณ วันที่ 5 ที่ระดับความเข้มข้นต่าง ๆ

ตัวอย่างน้ำ	จำนวนโคโลนีกลายพันธุ์ (colonies/plate)							
	ครั้งที่ 1			ครั้งที่ 2			Mean	SD
	Plate 1	Plate 2	Plate 3	Plate 1	Plate 2	Plate 3		
SR	233	229	234	237	230	227	231.67	3.67
2-AA, 0.13 µg/plate	589	598	599	610	609	607	602.00	8.15
บ่อ 1 ปกติ	263	267	265	260	259	255	261.50	4.37
บ่อ 1 50 เท่า	288	279	290	285	287	289	286.33	3.98
บ่อ 1 100 เท่า	330	329	326	332	325	327	328.17	2.64
บ่อ 1 200 เท่า	355	360	357	359	361	365	359.50	3.45
บ่อ 2 ปกติ	252	247	253	249	250	251	250.33	2.16
บ่อ 2 50 เท่า	275	277	285	286	280	279	280.33	4.37
บ่อ 2 100 เท่า	320	321	319	311	315	317	317.17	3.71
บ่อ 2200 เท่า	331	327	329	330	335	338	331.67	4.08
บ่อ 3 ปกติ	222	225	217	219	220	221	220.67	2.73
บ่อ 3 50 เท่า	255	257	259	263	260	265	259.83	3.71
บ่อ 3 100 เท่า	299	297	289	287	293	291	292.67	4.63
บ่อ 3 200 เท่า	318	322	319	320	325	321	320.83	2.48

ตารางภาคผนวก ค-56 จำนวนโคโลนีของเชื้อ *Salmonella typhimurium* สายพันธุ์ TA100 ที่กลายพันธุ์ในสภาวะที่มี S9 mixture หลังจากเติมตัวอย่างน้ำเสียโรงงานถุงมือยางโรงที่ 3 เก็บ ณ วันที่ 1 ที่ระดับความเข้มข้นต่าง ๆ

ตัวอย่างน้ำ	จำนวนโคโลนีกลายพันธุ์ (colonies/plate)							
	ครั้งที่ 1			ครั้งที่ 2			Mean	SD
	Plate 1	Plate 2	Plate 3	Plate 1	Plate 2	Plate 3		
SR	215	217	212	223	227	219	218.83	5.46
2-AA, 0.13 µg/plate	565	578	588	573	579	563	574.33	9.37
บ่อ 1 ปกติ	287	277	285	273	263	279	277.33	8.71
บ่อ 1 50 เท่า	285	274	290	273	293	287	283.67	8.33
บ่อ 1 100 เท่า	321	337	319	333	322	326	326.33	7.20
บ่อ 1 200 เท่า	356	368	362	373	359	377	365.83	8.23
บ่อ 2 ปกติ	241	234	239	233	243	260	241.67	9.79
บ่อ 2 50 เท่า	263	275	259	275	261	253	264.33	8.91
บ่อ 2 100 เท่า	317	301	309	303	319	315	310.67	7.53
บ่อ 2200 เท่า	343	327	333	333	329	345	335.00	7.38
บ่อ 3 ปกติ	219	227	229	223	230	225	225.50	4.09
บ่อ 3 50 เท่า	241	259	240	243	257	255	249.17	8.73
บ่อ 3 100 เท่า	297	279	280	273	279	285	282.17	8.21
บ่อ 3 200 เท่า	321	317	322	323	313	325	320.17	3.92

ตารางภาคผนวก ค-57 จำนวนโคโลนีของเชื้อ *Salmonella typhimurium* สายพันธุ์ TA100 ที่กลายพันธุ์ในสภาวะที่มี S9 mixture หลังจากเติมตัวอย่างน้ำเสียโรงงานถุงมือยางโรงที่ 3 เก็บ ณ วันที่ 2 ที่ระดับความเข้มข้นต่าง ๆ

ตัวอย่างน้ำ	จำนวนโคโลนีกลายพันธุ์ (colonies/plate)							
	ครั้งที่ 1			ครั้งที่ 2			Mean	SD
	Plate 1	Plate 2	Plate 3	Plate 1	Plate 2	Plate 3		
SR	224	233	227	219	216	226	224.17	6.05
2-AA, 0.13 µg/plate	555	547	539	568	557	548	552.33	9.99
บ่อ 1 ปกติ	266	277	274	268	263	270	269.67	5.16
บ่อ 1 50 เท่า	285	267	273	287	267	280	276.50	8.80
บ่อ 1 100 เท่า	314	307	325	303	316	298	310.50	9.77
บ่อ 1 200 เท่า	323	341	329	344	333	319	331.50	9.83
บ่อ 2 ปกติ	262	253	265	249	258	269	259.33	7.50
บ่อ 2 50 เท่า	277	281	261	272	267	270	271.33	7.12
บ่อ 2 100 เท่า	301	294	298	293	313	289	298.00	8.44
บ่อ 2200 เท่า	323	319	312	329	324	331	323.00	6.90
บ่อ 3 ปกติ	255	239	247	233	247	248	244.83	7.70
บ่อ 3 50 เท่า	277	276	266	268	272	275	272.33	4.50
บ่อ 3 100 เท่า	297	289	311	307	295	310	301.50	9.07
บ่อ 3 200 เท่า	318	321	315	323	319	327	320.50	4.18

ตารางภาคผนวก ค-58 จำนวนโคโลนีของเชื้อ *Salmonella typhimurium* สายพันธุ์ TA100 ที่กลายพันธุ์ในสภาวะที่มี S9 mixture หลังจากเติมตัวอย่างน้ำเสียโรงงานถุงมือยางโรงที่ 3 เก็บ ณ วันที่ 3 ที่ระดับความเข้มข้นต่าง ๆ

ตัวอย่างน้ำ	จำนวนโคโลนีกลายพันธุ์ (colonies/plate)							
	ครั้งที่ 1			ครั้งที่ 2			Mean	SD
	Plate 1	Plate 2	Plate 3	Plate 1	Plate 2	Plate 3		
SR	233	235	244	229	222	231	232.33	7.26
2-AA, 0.13 µg/plate	557	565	549	569	546	561	557.83	9.00
บ่อ 1 ปกติ	256	259	255	251	249	259	254.83	4.12
บ่อ 1 50 เท่า	295	292	287	287	283	278	287.00	6.10
บ่อ 1 100 เท่า	332	320	329	313	325	325	324.00	6.75
บ่อ 1 200 เท่า	342	349	331	347	358	355	347.00	9.70
บ่อ 2 ปกติ	241	247	253	249	245	241	246.00	4.69
บ่อ 2 50 เท่า	263	274	269	277	271	277	271.83	5.38
บ่อ 2 100 เท่า	331	319	319	307	327	315	319.67	8.55
บ่อ 2200 เท่า	330	319	325	327	321	335	326.17	5.88
บ่อ 3 ปกติ	227	230	229	231	232	225	229.00	2.61
บ่อ 3 50 เท่า	263	256	260	245	257	250	255.17	6.62
บ่อ 3 100 เท่า	297	289	293	310	289	298	296.00	7.85
บ่อ 3 200 เท่า	320	311	327	315	305	319	316.17	7.65

ตารางภาคผนวก ค-59 จำนวนโคโลนีของเชื้อ *Salmonella typhimurium* สายพันธุ์ TA100 ที่กลายพันธุ์ในสภาวะที่มี S9 mixture หลังจากเติมตัวอย่างน้ำเสียโรงงานถุงมือยางโรงที่ 3 เก็บ ณ วันที่ 4 ที่ระดับความเข้มข้นต่าง ๆ

ตัวอย่างน้ำ	จำนวนโคโลนีกลายพันธุ์ (colonies/plate)							
	ครั้งที่ 1			ครั้งที่ 2			Mean	SD
	Plate 1	Plate 2	Plate 3	Plate 1	Plate 2	Plate 3		
SR	220	232	234	240	221	238	230.83	8.50
2-AA, 0.13 µg/plate	569	584	575	587	578	569	577.00	7.51
บ่อ 1 ปกติ	250	253	259	257	266	255	256.67	5.54
บ่อ 1 50 เท่า	280	291	288	286	289	295	288.17	5.04
บ่อ 1 100 เท่า	329	322	332	330	323	328	327.33	3.98
บ่อ 1 200 เท่า	365	345	353	350	361	356	355.00	7.29
บ่อ 2 ปกติ	244	231	239	247	239	251	241.83	7.05
บ่อ 2 50 เท่า	282	279	278	273	271	277	276.67	4.03
บ่อ 2 100 เท่า	325	327	313	309	310	315	316.50	7.69
บ่อ 2200 เท่า	335	337	329	331	322	327	330.17	5.46
บ่อ 3 ปกติ	227	211	221	227	219	218	220.50	6.06
บ่อ 3 50 เท่า	260	269	259	253	255	252	258.00	6.26
บ่อ 3 100 เท่า	295	289	290	281	293	295	290.50	5.28
บ่อ 3 200 เท่า	330	319	327	325	313	328	323.67	6.44

ตารางภาคผนวก ค-60 จำนวนโคโลนีของเชื้อ *Salmonella typhimurium* สายพันธุ์ TA100 ที่กลายพันธุ์ในสภาวะที่มี S9 mixture หลังจากเติมตัวอย่างน้ำเสียโรงงานถุงมือยางโรงที่ 3 เก็บ ณ วันที่ 5 ที่ระดับความเข้มข้นต่าง ๆ

ตัวอย่างน้ำ	จำนวนโคโลนีกลายพันธุ์ (colonies/plate)							
	ครั้งที่ 1			ครั้งที่ 2			Mean	SD
	Plate 1	Plate 2	Plate 3	Plate 1	Plate 2	Plate 3		
SR	225	239	234	237	233	217	230.83	8.30
2-AA, 0.13 µg/plate	569	558	559	540	559	547	555.33	10.25
บ่อ 1 ปกติ	253	247	245	260	259	245	251.50	6.86
บ่อ 1 50 เท่า	278	279	280	285	297	289	284.67	7.34
บ่อ 1 100 เท่า	333	329	336	332	345	327	333.67	6.38
บ่อ 1 200 เท่า	355	340	357	359	351	355	352.83	6.82
บ่อ 2 ปกติ	255	247	243	249	250	257	250.17	5.15
บ่อ 2 50 เท่า	275	277	265	286	290	279	278.67	8.78
บ่อ 2 100 เท่า	322	321	329	311	325	317	320.83	6.27
บ่อ 2200 เท่า	331	337	329	330	325	338	331.67	4.97
บ่อ 3 ปกติ	222	225	237	219	222	226	225.17	6.31
บ่อ 3 50 เท่า	255	247	249	253	260	255	253.17	4.67
บ่อ 3 100 เท่า	289	297	279	287	283	291	287.67	6.28
บ่อ 3 200 เท่า	328	322	319	320	325	329	323.83	4.17

ภาคผนวก ง

จำนวนโคโลนีกลายพันธุ์ (Revertant colonies) ของสารบริสุทธิ์ TMTD และ ZDMC ที่ทดสอบด้วยเชื้อ *S. typhimuriu*

ตารางที่ ง-1 จำนวนโคโลนีของเชื้อ *S. typhimurium* สายพันธุ์ TA98 ที่กลายพันธุ์ในสภาวะที่ไม่มี S9 mixture ของสารบริสุทธิ์ TMTD ที่ความเข้มข้นต่างๆ

ความเข้มข้นของสารบริสุทธิ์ TMTD (มิลลิกรัมต่อลิตร)	จำนวนโคโลนีกลายพันธุ์ (colonies/plate)							
	ครั้งที่ 1			ครั้งที่ 2			Mean	SD
	Plate 1	Plate 2	Plate 3	Plate 1	Plate 2	Plate 3		
SR	32	33	35	37	31	29	32.83	2.86
AF-2, 0.2 µg/plate	268	270	274	265	277	279	272.17	5.42
0.03	10	9	8	7	11	13	9.67	2.16
0.06	16	17	19	15	20	21	18.00	2.37
0.13	30	25	32	27	29	31	29.00	2.61
0.25	31	35	37	40	33	39	35.83	3.49
0.5	42	39	37	45	47	49	43.17	4.67
1	56	49	50	55	53	47	51.67	3.56

ตารางที่ ง-2 จำนวนโคโลนีของเชื้อ *S. typhimurium* สายพันธุ์ TA98 ที่กลายพันธุ์ในสภาวะที่มี S9 mixture ของสารบริสุทธิ์ TMTD ที่ความเข้มข้นต่างๆ

ความเข้มข้นของสารบริสุทธิ์ TMTD (มิลลิกรัมต่อลิตร)	จำนวนโคโลนีกลายพันธุ์ (colonies/plate)							
	ครั้งที่ 1			ครั้งที่ 2				
	Plate 1	Plate 2	Plate 3	Plate 1	Plate 2	Plate 3	Mean	SD
SR	45	47	40	42	44	49	44.50	3.27
2-AA, 0.13 µg/plate	590	587	593	595	585	597	591.17	4.67
0.03	109	100	103	107	105	111	105.83	4.02
0.06	132	130	129	135	137	134	132.83	3.06
0.13	148	145	151	150	154	157	150.83	4.26
0.25	172	170	169	165	175	171	170.33	3.33
0.5	188	183	180	177	190	185	183.83	4.88
1	260	263	257	259	265	269	262.17	4.40

ตารางที่ ง-3 จำนวนโคโลนีของเชื้อ *S. typhimurium* สายพันธุ์ TA100 ที่กลายพันธุ์ในสภาวะที่ไม่มี S9 mixture ของสารบริสุทธิ์ TMTD ที่ความเข้มข้นต่างๆ

ความเข้มข้นของสารบริสุทธิ์ TMTD (มิลลิกรัมต่อลิตร)	จำนวนโคโลนีกลายพันธุ์ (colonies/plate)							
	ครั้งที่ 1			ครั้งที่ 2				
	Plate 1	Plate 2	Plate 3	Plate 1	Plate 2	Plate 3	Mean	SD
SR	170	168	171	173	175	165	170.33	3.56
AF-2, 0.01 µg/plate	488	481	479	482	485	477	482.00	4.00
0.03	81	79	83	75	77	84	79.83	3.49
0.06	131	130	129	135	137	134	132.67	3.14
0.13	164	160	158	162	157	155	159.33	3.33
0.25	192	187	179	195	183	175	185.17	7.65
0.5	227	215	217	230	219	220	221.33	5.89
1	264	263	257	259	265	255	260.50	4.09

ตารางที่ ง-4 จำนวนโคโลนีของเชื้อ *S. typhimurium* สายพันธุ์ TA100 ที่กลายพันธุ์ในสภาวะที่มี S9 mixture ของสารบริสุทธิ์ TMTD ที่ความเข้มข้นต่างๆ

ความเข้มข้นของสารบริสุทธิ์ TMTD (มิลลิกรัมต่อลิตร)	จำนวนโคโลนีกลายพันธุ์ (colonies/plate)						Mean	SD
	ครั้งที่ 1			ครั้งที่ 2				
	Plate 1	Plate 2	Plate 3	Plate 1	Plate 2	Plate 3		
SR	170	168	171	173	175	165	170.33	3.56
2-AA, 0.13 µg/plate	235	230	227	223	229	237	230.17	5.15
0.03	586	590	583	588	585	593	587.50	3.62
0.06	154	160	166	162	164	157	160.50	4.46
0.13	187	183	180	191	185	193	186.50	4.89
0.25	222	220	217	225	227	219	221.67	3.78
0.5	258	251	253	260	262	255	256.50	4.23
1	283	280	279	277	285	282	281	2.90

ตารางที่ ง-5 จำนวนโคโลนีของเชื้อ *S. typhimurium* สายพันธุ์ TA98 ที่กลายพันธุ์ในสภาวะที่ไม่มี S9 mixture ของสารบริสุทธิ์ ZDMC ที่ความเข้มข้นต่างๆ

ความเข้มข้นของสารบริสุทธิ์ ZDMC (มิลลิกรัมต่อลิตร)	จำนวนโคโลนีกลายพันธุ์ (colonies/plate)						Mean	SD
	ครั้งที่ 1			ครั้งที่ 2				
	Plate 1	Plate 2	Plate 3	Plate 1	Plate 2	Plate 3		
SR	29	27	35	30	31	33	30.83	2.86
AF-2, 0.2 µg/plate	253	250	247	257	245	252	250.67	4.32
0.25	67	69	65	58	56	71	64.33	6.06
0.5	94	90	93	89	87	96	91.50	3.39
1	133	129	132	127	135	131	131.17	2.86
1.5	186	184	181	179	188	177	182.50	4.23
2	219	207	210	215	213	209	212.17	4.40

ตารางที่ ง-6 จำนวนโคโลนีของเชื้อ *S. typhimurium* สายพันธุ์ TA98 ที่กลายพันธุ์ในสภาวะที่มี S9 mixture ของสารบริสุทธิ์ ZDMC ที่ความเข้มข้นต่างๆ

ความเข้มข้นของสารบริสุทธิ์ ZDMC (มิลลิกรัมต่อลิตร)	จำนวนโคโลนีกลายพันธุ์ (colonies/plate)						Mean	SD
	ครั้งที่ 1			ครั้งที่ 2				
	Plate 1	Plate 2	Plate 3	Plate 1	Plate 2	Plate 3		
SR	47	46	45	44	40	41	43.83	2.79
2-AA, 0.13 µg/plate	505	510	513	507	509	515	509.83	3.71
0.25	107	105	99	103	109	111	105.67	4.32
0.5	133	139	137	140	135	131	135.83	3.49
1	186	184	181	175	188	190	184.00	5.40
1.5	214	217	210	213	220	223	216.17	4.79
2	254	262	259	257	260	263	259.17	3.31

ตารางที่ ง-7 จำนวนโคโลนีของเชื้อ *S. typhimurium* สายพันธุ์ TA100 ที่กลายพันธุ์ในสภาวะที่ไม่มี S9 mixture ของสารบริสุทธิ์ ZDMC ที่ความเข้มข้นต่างๆ

ความเข้มข้นของสารบริสุทธิ์ ZDMC (มิลลิกรัมต่อลิตร)	จำนวนโคโลนีกลายพันธุ์ (colonies/plate)							
	ครั้งที่ 1			ครั้งที่ 2				
	Plate 1	Plate 2	Plate 3	Plate 1	Plate 2	Plate 3	Mean	SD
SR	165	160	157	159	162	168	161.83	4.07
AF-2, 0.01 µg/plate	396	394	390	389	391	387	391.17	3.31
0.25	133	137	141	139	140	130	136.67	4.32
0.5	166	159	157	163	160	164	161.50	3.39
1	196	193	189	195	191	185	191.50	4.09
1.5	228	223	219	220	220	225	222.50	3.51
2	254	249	259	257	260	263	257.00	4.94

ตารางที่ ง-8 จำนวนโคโลนีของเชื้อ *S. typhimurium* สายพันธุ์ TA100 ที่กลายพันธุ์ในสภาวะที่มี S9 mixture ของสารบริสุทธิ์ ZDMC ที่ความเข้มข้นต่างๆ

ความเข้มข้นของสารบริสุทธิ์ ZDMC (มิลลิกรัมต่อลิตร)	จำนวนโคโลนีกลายพันธุ์ (colonies/plate)							
	ครั้งที่ 1			ครั้งที่ 2			Mean	SD
	Plate 1	Plate 2	Plate 3	Plate 1	Plate 2	Plate 3		
SR	240	243	247	239	245	237	241.83	3.82
2-AA, 0.13 µg/plate	609	600	607	610	612	605	607.17	4.26
0.25	184	181	179	177	186	190	182.83	4.79
0.5	225	222	219	221	227	230	224.00	4.10
1	255	247	250	249	253	252	251.00	2.90
1.5	282	280	277	279	285	287	281.67	3.78
2	342	340	339	335	345	337	339.67	3.56

ภาคผนวก จ

วิธีการเตรียมสารละลายสำหรับการปฏิบัติการ

วิธีการเตรียมสารละลายสำหรับการทดสอบความสารถก่อกลายพันธุ์

1. Minimal glucose agar plate

ส่วนผสม

1. Agar	15	กรัม
2. Dlucose, anhydrous	20	กรัม
3. Volgel-Borner medium E (x10)	100	มิลลิลิตร
4. น้ำกลั่น	900	มิลลิลิตร

วิธีทำ

1. ละลาย agar ด้วยน้ำกลั่น 800 มิลลิลิตร ใน reagent bottle ขนาด 2 ลิตร
2. ละลาย glucose ด้วยน้ำกลั่น 100 มิลลิลิตร ใน reagent bottle ขนาด 250 ลิตร
3. ใส่ volgel-Boener medium E 100 มิลลิลิตร ใน reagent bottle ขนาด 250 มิลลิลิตร
4. นำสารละลายทั้งสามไป autoclave ที่อุณหภูมิ 120 °C ความดัน 15 ปอนด์, 20 นาที
5. เอาออกมาทั้งทิ้งไว้ที่อุณหภูมิห้อง จนอุณหภูมิของสารละลาย agar ประมาณ 65 °C เท สารละลายกลูโคสลงไป ตามด้วยสารละลาย volgel-Boener medium E เขย่าให้เข้ากันดี
6. นำไป pour plate ซึ่ง sterile ไว้แล้ว plate ละ 25 มิลลิลิตร ตั้งทิ้งไว้ที่อุณหภูมิห้องจน agar แข็งจึงนำไปวางพลิกกลับด้านในที่แห้ง 3-4 วัน จึงจะนำมาใช้ได้

2. Volgel-Borner medium E (x10)

ส่วนผสม

1. $MgSO_4.7H_2O$	2	กรัม
2. Citric acid, monohydrate	20	กรัม
3. K_2HPO_4 (anhydrous)	100	กรัม
4. $NH_4H_2PO_4$	19.2	กรัม
5. NaOH	6.6	กรัม
6. น้ำกลั่น	2	ลิตร

วิธีทำ

ละลายสารตัวที่ 1 ในน้ำประมาณ 1000 มิลลิลิตร จนสารละลายหมด เติมสารตัวที่ 2 ลงไปอีกจนสารละลายหมด จึงเติมสารละลายตัวที่ 3 ค่อย ๆ เติมจนสารละลายหมดไปทีละตัว ตามลำดับ จนครบปรับปริมาณให้เป็น 2 ลิตร นำไป autoclave และเก็บไว้ที่อุณหภูมิ 4 °C

3. Top agar

ส่วนผสม

1. Bacto agar	0.6	กรัม
2. NaCl	0.5	กรัม
3. น้ำกลั่น	100	มิลลิลิตร

วิธีทำ

Autoclave 120 °C ความดัน 15 ปอนด์ 20 นาที sterile ก่อนใช้ทุกครั้ง ตั้งทิ้งไว้จนอุณหภูมิประมาณ 55 °C เติมสารละลายฮิสทีดีนและไบโอติน (0.5 มิลลิโมล่าร์) ลงไปในอัตราส่วน 10 มิลลิลิตร ต่อ top agar 100 มิลลิลิตร

4. 0.5 mM Histidine-Biotin

สารเคมี

1. D-Biotin	124	มิลลิกรัม
2. L-Histidine	105	มิลลิกรัม
3. น้ำกลั่น	1000	มิลลิลิตร

วิธีทำ

Sterile โดยกรองผ่าน Millipore filter membrane (0.45 ไมครอน)

5. Nutrient Broth สำหรับเลี้ยงเชื้อ

ส่วนผสม

1. Oxoid nutrient broth No.2	4	กรัม
2. น้ำกลั่น	160	กรัม

วิธีทำ

แบ่งเป็นหลอด ๆ ละ 10 มิลลิลิตร หรือ 5 มิลลิลิตร autoclave

6. 0.2 M phosphate buffer, pH 7.4

ส่วนผสม

1. Na_2HPO	5.6784	กรัม
2. $NaH_2PO_4.H_2O$	5.5196	กรัม
3. น้ำกลั่น		
4. NaOH (1 M)		

วิธีทำ

1. ละลายสารตัวที่ 1 ในน้ำประมาณ 180 มิลลิลิตร จนสารละลายหมด
2. เติมสารละลายตัวที่ 2 ลงไป จนสารละลายหมด
3. ปรับปริมาตรให้เป็น 200 มิลลิลิตร และ pH 7.4 ด้วย 1 M NaOH (เตรียม 4 กรัม NaOH ละลายในน้ำกลั่น 100 มิลลิลิตร)
4. นำไป autoclave และเก็บไว้ที่อุณหภูมิ 4 °C

7. วิธีเตรียม S9 mixture

8. วิธีเตรียมส่วนผสมของ S9 mixture

ส่วนผสมของ S9 mixture 1 มิลลิลิตร

1. 1.65 M KCl-0.4 M $MgCl_2$	0.02	มิลลิลิตร
2. 1.0 M Glucose-6-phosphate	0.005	มิลลิลิตร
3. 0.1 M NADP	0.04	มิลลิลิตร
4. 0.2 M sodium phosphate buffer, pH 7.4	0.5	มิลลิลิตร
5. S9 fraction	0.04	มิลลิลิตร
6. sterile H_2O	0.395	มิลลิลิตร

วิธีทำ

ส่วนผสมนี้ต้องเตรียมใหม่ทุกครั้งที่ต้องการใช้และควรแช่ในน้ำแข็งตลอดเวลา ส่วนผสม S9 mixture ที่เหลือจากการใช้และ S9 fraction ที่เหลือก็ควรทิ้งไป

ปริมาณของ S9 mixture แต่ละครั้งคำนวณจากปริมาณหลอดทดลองที่ต้องใส่ S9 mixture เทียบจาก 1 หลอดทดลองเติม S9 mixture 0.5 มิลลิลิตร

ภาคผนวก ฉ
การตรวจสอบคุณสมบัติของแบคทีเรีย

1. การตรวจ Histidine requirement

<u>สิ่งที่ต้องเตรียม</u>

1. สารละลายไบโอติน 1 มิลลิโมล่าร์ ที่ปลอดเชื้อ
2. สารละลายฮิสทิดีน 1 มิลลิโมล่าร์ ที่ปลอดเชื้อ
3. สารละลาย top agar ที่มีส่วนผสมและอัตราส่วน ดังนี้

Bactoagar	0.6	กรัม
NaCl	0.5	กรัม
น้ำกลั่น	100	กรัม

สารละลายผสมนี้จะนึ่งให้ปลอดเชื้อ

4. จารอาหารเลี้ยงเชื้อ (minimal glucose agar plates)

<u>วิธีทำ</u>

1. ผสม 0.1 มิลลิลิตร ของสารละลายไบโอติน กับ 0.1 มิลลิลิตร overnight culture of bacteria ในหลอดทดลองที่ปราศจากเชื้อ
2. เติม 2 มิลลิลิตร ของสารละลาย top agar (อุณหภูมิ 45 °C) เขย่าโดยหมุนในอุ้งมือไปมา 4-5 วินาที
3. เทลงบน minimal glucose agar plate
4. หมุนจานเลี้ยงเชื้อให้สารละลายกระจายสม่ำเสมอ ตั้งทิ้งไว้ที่อุณหภูมิห้องประมาณ 30 นาที แล้วนำไปไว้ในตู้อบซึ่งมีอุณหภูมิ 37 °C โดยเก็บในลักษณะที่ตั้งจานอาหารเลี้ยงเชื้อกลับด้าน (inverted) เป็นเวลา 48 ชั่วโมง
5. เตรียมหลอดทดลองเช่นเดียวกับข้อ 1 อีกครั้ง
6. เติม 0.1 มิลลิลิตร สารละลายอิสทิดีนลงไปด้วย เขย่า
7. เติม 2 มิลลิลิตร สารละลาย top agar (อุณหภูมิ 45 °C) เขย่าแล้วเทลงใน minimal glucose agar plate หลังจากนั้นนำไปไว้ในตู้อบเช่นเดียวกัน
8. ต้องไม่มีโคโลนีให้เห็นในจานอาหารเลี้ยงเชื้อในข้อ 4 แต่จะเห็นโคโลนีในจานอาหารเลี้ยงเชื้อข้อ 7

2. การตรวจ rfa mutation

สิ่งที่ต้องเตรียม

1. สารละลาย crystal violet เข้มข้น 1 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร
2. กระดาษกรองตัดเป็นวงกลมขนาดเส้นผ่านศูนย์กลาง 6-8 มิลลิเมตร ผ่านการฆ่าเชื้อแล้ว
3. สารละลาย top agar ที่นึ่งให้ปลอดเชื้อ ในการทดสองต้องให้อุณหภูมิประมาณ 45 °C และเติมสารละลายผสมของ 0.5 มิลลิโมล่าร์อิสทีดีนและไบโอติน ลงไปในอัตราส่วน 10 มิลลิลิตรต่อ 100 มิลลิลิตรของ top agar

วิธีทำ

1. ใส่ 0.1 มิลลิลิตร overnight culture ของแบคทีเรียลงไปในหลอดทดลองที่ปราศจากเชื้อ
2. เติม 2 มิลลิลิตร top agar (อุณหภูมิ 45 °C) เขย่าโดยหมุนในอุ้งมือ เทลงใน minimal glucose agar plate ตั้งทิ้งไว้ 30 นาที จนผิววุ้นแข็งตัว
3. ใช้ปากคีบที่ปราศจากเชื้อ ค่อย ๆ วางกระดาษกรองที่เตรียมไว้โดยกดลงบนผิววุ้นเล็กน้อย
4. หยดสารละลาย crystal violet 10 ไมโครลิตรลงบนกระดาษกรอง
5. นำ plate ไปวางแบบกลับด้านในตู้อุณหภูมิ 37 °C เป็นเวลา 12-24 ชั่วโมง
6. หลังจากนั้นนำ plate ออกมาตรวจดูการเจริญเติบโตของแบคทีเรีย ให้สังเกตว่ารอบ ๆ กระดาษกรองที่หยด crystal violet จะเห็นเป็นวงกลมลักษณะใส เรียกว่า clear zone เนื่องจากส่วนนี้จะไม่มีแบคทีเรียเจริญ ให้วัดเส้นผ่านศูนย์กลางของวงกลมนี้ ควรจะมีขนาดประมาณ 12-14 มิลลิลิตร จึงจะถือว่าแบคทีเรียมี rfa mutation อยู่ถ้าเกิดวงกลมที่มีขนาดเล็กกว่านี้แสดงว่าแบคทีเรียนั้นมีความผิดปกติของคุณสมบัติ เช่น อาจสูญเสีย rfa mutation ควรพิจารณาเตรียมแยก single colony ใหม่

3. การตรวจ R-factor

สิ่งที่ต้องเตรียม

1. สารละลาย ampicillin เข้มข้น 50 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร
2. กระดาษกรองตัดเป็นวงกลมขนาดเส้นผ่านศูนย์กลาง 6-8 มิลลิลิตร ผ่านการฆ่าเชื้อแล้ว
3. สารละลาย top agar ที่นึ่งให้ปลอดเชื้อ ในการทดลองต้องให้อุณหภูมิประมาณ 45 °C และเติมสารละลายผสมของ 0.5 มิลลิโมล่าร์อิสทีดีนและไบโอติน ลงไปในอัตราส่วน 10 มิลลิลิตรต่อ 100 มิลลิลิตรของ top agar

วิธีทำ

1. ใส่ 0.1 มิลลิลิตร overnight culture ของแบคทีเรียลงไปในหลอดทดลองที่ปราศจากเชื้อ
2. เติม 2 มิลลิลิตร top agar (อุณหภูมิ 45 °C) ที่มีส่วนผสมของฮิสทีดีนและไบโอติน เขย่าในอุ้งมือ เทลงใน minimal glucose agar plate ตั้งทิ้งไว้ 30 นาที จนผิววุ้นแข็งตัว
3. ใช้ปากคีบที่ปราศจากเชื้อ ค่อย ๆ วางกระดาษกรองที่เตรียมไว้โดยกดลงบนผิววุ้นเล็กน้อย
4. หยดสารละลาย ampicillin 10 ไมโครลิตรลงบนกระดาษกรอง
5. นำ plate ไปวางแบบกลับด้านในตู้อุณหภูมิ 37 °C เป็นเวลา 12-24 ชั่วโมง
6. หลังจากนั้นนำ plate ออกมาตรวจดูการเจริญเติบโตของแบคทีเรีย ให้สังเกตว่ารอบ ๆ กระดาษกรองที่หยด ampicillin ไม่ควรจะเกิด clear zone (ถ้าเกิดแสดงว่ายา ampicillin ไปฆ่าแบคทีเรียรอบ ๆ จึงไม่มีการเจริญแสดงว่า แบคทีเรียขาดคุณสมบัติการมี R-factor)

4. การตรวจสอบฤทธิ์การก่อกลายพันธุ์มาตรฐานโดยสารก่อกลายพันธุ์มาตรฐาน (sensitivity to standard mutations)

สิ่งที่ต้องเตรียม

1. สารละลายฟอสเฟตบัฟเฟอร์ 0.2 โมล่าร์, pH 7.4
2. สารก่อกลายพันธุ์มาตรฐาน
3. สารละลายผสมเอนไซม์ (S9 mixture)
4. Overnight culture ของแบคทีเรีย TA98 และ TA100
5. สารละลาย top agar ที่นึ่งให้ปลอดเชื้อ อุณหภูมิประมาณ อุณหภูมิ 45 °C ซึ่งเติมสารละลายผสมของ 0.5 มิลลิโมล่าร์อิสทีดีนและไบโอติน ลงไปในอัตราส่วน 10 มิลลิลิตรต่อ 100 มิลลิลิตรของ top agar
6. Minimal glucose agar plate

วิธีทำ

1. ผสม 0.05 มิลลิลิตร ของสารก่อกลายพันธุ์มาตรฐานกับ 0.5 มิลลิลิตร สารละลายฟอสเฟตบัฟเฟอร์ เมื่อไม่ต้องการกระตุ้นด้วยเอนไซม์ หรือ 0.5 มิลลิลิตร สารละลายผสมเอนไซม์ (S9 mixture) เมื่อต้องการการกระตุ้นด้วยเอนไซม์
2. เติม 0.1 มิลลิลิตร overnight culture ของแบคทีเรียลงไป เขย่าให้เข้ากัน
3. เติม 2 มิลลิลิตร ของสารละลาย top agar (อุณหภูมิ 45 °C) เขย่าโดยหมุนในอุ้งมือไปมา 4-5 วินาที

4. เทลงใน minimal glucose agar plate ตั้งทิ้งไว้ 30 นาที จนผิววุ้นแข็งตัว นำ plate ไปวางแบบกลับด้านในตู้อบอุณหภูมิ 37 °C เป็นเวลา 48 ชั่วโมง
5. เมื่อครบ 48 ชั่วโมง นำไปนับจำนวน revertant colonies
6. จำนวน revertant colonies ที่เกิดจากสารก่อกลายพันธุ์มาตรฐานจำนวนจริง คือจำนวนที่ต้องหักลบด้วยค่า spontaneous revertant colony ทุกครั้ง

5. การตรวจการกลายพันธุ์ของแบคทีเรียที่มีตามธรรมชาติ

<u>สิ่งที่ต้องเตรียม</u>

1. สารละลายฟอสเฟตบัฟเฟอร์ 0.2 โมล่าร์, pH 7.4
2. สารละลายผสมเอนไซม์ (S9 mixture)
3. Overnight culture ของแบคทีเรีย TA98 และ TA100
4. สารละลาย top agar ที่นึ่งให้ปลอดเชื้อ อุณหภูมิประมาณ อุณหภูมิ 45 °C ซึ่งเติมสารละลายผสมของ 0.5 มิลลิโมล่าร์อิสทีดีนและไบโอติน ลงไปในอัตราส่วน 10 มิลลิลิตรต่อ 100 มิลลิลิตรของ top agar
5. Minimal glucose agar plate

<u>วิธีทำ</u>

1. ใส่ 0.1 มิลลิลิตร overnight culture ของแบคทีเรียลงไปในหลอดทดลองที่ปราศจากเชื้อ เติม 0.5 มิลลิลิตร สารละลายฟอสเฟตบัฟเฟอร์ 0.2 โมล่าร์, pH 7.4
2. เติม 2 มิลลิลิตร top agar (อุณหภูมิ 45 °C) ที่มีส่วนผสมของฮิสทีดีนและไบโอติน เขย่าในอุ้งมือ เทลงใน minimal glucose agar plate ตั้งทิ้งไว้ 30 นาที จนผิววุ้นแข็งตัว
3. เตรียมหลอดทดลองที่มี 0.1 มิลลิลิตร overnight culture ของแบคทีเรียอีกครั้ง
4. เติม 0.5 มิลลิลิตร สารละลายผสมเอนไซม์ (S9 mixture)
5. เติม 2 มิลลิลิตร top agar (อุณหภูมิ 45 °C) ที่มีส่วนผสมของฮิสทีดีนและไบโอติน เขย่าในอุ้งมือ เทลงใน minimal glucose agar plate ตั้งทิ้งไว้ 30 นาที จนผิววุ้นแข็งตัว
6. นำ plate ไปวางแบบกลับด้านในตู้อบอุณหภูมิ 37 °C เป็นเวลา 48 ชั่วโมง
7. นับจำนวนโคโลนีที่เห็นด้วยตาเปล่า ซึ่งเป็น spontaneous revertant colony
8. Spontaneous revertant colony ที่นับได้จาก plate ข้อ 2 เป็นค่าที่ไม่มีการกระตุ้นด้วยเอนไซม์ (-S9 mixture) ส่วนค่าของ plate ข้อ 5 เป็นค่า spontaneous revertant colony เมื่อมี S9 mixture

ภาคผนวก ช
การแยกแบคทีเรียใหม่ (Reisolation of test strain)

สิ่งที่ต้องเตรียม

1. สารละลายฮิสทีดีน เข้มข้น 0.5 มิลลิโมล่าร์ และไบโอติน เข้มข้น 0.5 มิลลิโมล่าร์
2. สารละลาย ampicillin ในปริมาณ 750 ไมโครกรัมต่อ plate
3. Glyceral
4. Minimal glucose agar plate

วิธีทำ

1. นำ frozen permanent copy ของแบคทีเรียสายพันธุ์ที่จะแยกโคโลนีเดี่ยวออกมา 1 หลอด จาก -80 °C
2. เตรียม minimal glucose agar plate ที่เคลือบด้วย 0.2 มิลลิลิตร สารละลายฮิสทีดีน เข้มข้น 0.5 มิลลิโมล่าร์ และไบโอติน เข้มข้น 0.5 มิลลิโมล่าร์
3. เมื่อผิววุ้นแข็งได้ที่แล้ว เคลือบผิววุ้นอีกครั้งด้วยการ spread สารละลาย ampicillin ในปริมาณ 750 ไมโครกรัมต่อ plate ทิ้งไว้ประมาณ 30 นาที
4. หลังจากนั้นใช้ wire loop แตะ frozen permanent copy ของแบคทีเรีย แล้ว streak ไปมาบน agar เพื่อให้ได้ single colony
5. นำ plate ไปวางแบบกลับด้านในตู้อบอุณหภูมิ 37 °C เป็นเวลา 48 ชั่วโมง
6. เมื่อครบ 48 ชั่วโมง นำ plate ออกมาใช้ wire loop แตะบนโคโลนีเดี่ยวที่เด่นชัดที่สุด (well-isolated colony) นำไปเลี้ยงใน oxiod nutrient both No.2 เป็นเวลา 14 ชั่วโมง จะได้ overnight culture (ควรแยกโคโลนีเดี่ยวประมาณ 4-5 โคโลนีต่อครั้ง)
7. แบ่งเก็บเป็น aliquot ที่ -80 °C ส่วนละ 0.5 มิลลิลิตร (แบ่ง overnight culture บางส่วนมาเก็บโดยเติม glyceral 30% ลงไปในอัตราส่วน culture 0.5 มิลลิลิตร ต่อ glyceral 30% 0.5 มิลลิลิตรเขย่าให้เข้ากันก่อนที่จะเก็บเป็น aliquot) ส่วนที่เหลือของ overnight culture นำไปตรวจสอบคุณสมบัติที่จำเป็นทั้งหมด ได้แก่ ; R-factor, Histidine requirement, rfa mutation, spontaneous reversion และ sensitive ต่อสารก่อกลายพันธุ์
8. Aliquot ที่แยกจาก single colony แต่ละโคโลนีที่มีคุณสมบัติครบถ้วน เก็บเป็น master copies ที่ -80 °C หรือ master plate สำหรับใช้ประจำระหว่างทดลอง ส่วน aliquot ใด ๆ ที่ได้จาก single colony ที่มีคุณสมบัติไม่ครบ ควรทิ้งไป ไม่ควรเก็บให้ปนกัน
9. การเก็บในรูป master copy เตรียมเช่นเดียวกับการเก็บ permanent copy แต่ใช้ aliquot จาก single colony ที่มีคุณสมบัติครบมาเตรียม overnight culture หลังจากนั้นเติม glycerol 30% ลงไปในอัตราส่วนเดียวกัน แล้วแบ่งใส่หลอดพลาสติก cryotube หลอดละ 0.2 มิลลิลิตร จึงนำไปเก็บที่อุณหภูมิ -80 °C ทำเครื่องหมาย (label) ให้ถูกต้องและควรให้แตกต่างจาก

เครื่องหมายของ permanent copy เมื่อใช้ในการทดลองแต่ละครั้งก็เอาออกมาและเตรียม
เป็น overnight culture สำหรับทดสอบได้เลย

ประวัติผู้เขียน

ชื่อ สกุล นางสาวกัญญารัตน์ หลงเศษ

รหัสประจำตัวนักศึกษา 4910920002

วุฒิการศึกษา

วุฒิ	ชื่อสถาบัน	ปีที่สำเร็จการศึกษา
วิทยาศาสตรบัณฑิต (สาขาวิชาเคมี)	มหาวิทยาลัยราชภัฏภูเก็ต	2549

ทุนการศึกษา (ที่ได้รับในระหว่างการศึกษา)

ทุนสนับสนุนการวิจัยของสำนักงานกองทุนสนับสนุนการวิจัย (สกว.)

การตีพิมพ์และการเผยแพร่ผลงาน

กัญญารัตน์ หลงเศษ บรรจง วิทยวีรศักดิ์ และ จันทิภา ปุรินทราภิบาล. 2551. “ความสามารถก่อกลายพันธุ์แบคทีเรียของน้ำเสียในโรงงานอุตสาหกรรมผลิตถุงมือยางในจังหวัดสงขลา” ใน การประชุมวิชาเสนอผลงานวิจัยระดับบัณฑิตศึกษาแห่งชาติครั้งที่ 12. เล่ม 1, 1527-1533. ขอนแก่น:มหาวิทยาลัยขอนแก่น.