การตรวจหาฤทธิ์ก่อกลายพันธุ์ของสารแขวนลอยในบรรยากาศการทำงานของคนงานผลิตถุงมือยางในจังหวัดสงขลา

Investigation of Mutagenicity of Air Particulate Matters in Working Atmosphere of Rubber Glove Manufacturing Workers in Songkhla Province

ซูไฮณีย์ อิงดิง

Suhainee Ingding

วิทยานิพนธ์นี้เป็นส่วนหนึ่งของการศึกษาตามหลักสูตรปริญญาวิทยาศาสตรมหาบัณฑิต
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 การตรวจหาฤทธิ์ก่อกลายพันธุ์ของสารแขวนลอยในบรรยากาศการทำงานของคนงานผลิตถุงมือยางในจังหวัดสงขลา

ผู้เขียน นางสาวซูไฮณีย์ อิงดิง

สาขาวิชา การจัดการสิ่งแวดล้อม

อาจารย์ที่ปรึกษาวิทยานิพนธ์หลัก

.....

(รองศาสตราจารย์ ดร.น.สพ.บรรจง วิทยวีรศักดิ์)

อาจารย์ที่ปรึกษาวิทยานิพนธ์ร่วม

.....

(ผู้ช่วยศาสตราจารย์ ดร.จันทิภา ปุรินทราภิบาล)

คณะกรรมการสอบ

.....ประธานกรรมการ

(ผู้ช่วยศาสตราจารย์ ดร.พญ.พิชญา พรรคทองสุข)

.....กรรมการ

(ผู้ช่วยศาสตราจารย์ ดร.นุกูล อินทระสังขา)

.....กรรมการ

(รองศาสตราจารย์ ดร.น.สพ.บรรจง วิทยวีรศักดิ์)

.....กรรมการ

(ผู้ช่วยศาสตราจารย์ ดร.จันทิภา ปุรินทราภิบาล)

บัณฑิตวิทยาลัย มหาวิทยาลัยสงขลานครินทร์ อนุมัติให้นับวิทยานิพนธ์ฉบับนี้เป็นส่วนหนึ่งของการศึกษา ตามหลักสูตรปริญญาวิทยาศาสตรมหาบัณฑิต สาขาวิชาการจัดการสิ่งแวดล้อม

.....

(รองศาสตราจารย์ ดร.เกริกชัย ทองหนู)

คณบดีบัณฑิตวิทยาลัย

ชื่อวิทยานิพนธ์	การตรวจหาฤทธิ์ก่อกลายพันธุ์ของสารแขวนลอยในบรรยากาศการทำงานของคนงานผลิตถุงมือยางในจังหวัดสงขลา
ผู้เขียน	นางสาวซูไฮณีย์ อิงดิง
สาขาวิชา	การจัดการสิ่งแวดล้อม
ปีการศึกษา	2552

บทคัดย่อ

การศึกษาวิจัยนี้มีวัตถุประสงค์เพื่อตรวจหาฤทธิ์ก่อกลายพันธุ์ในสารแขวนลอยในอากาศที่คนงานสัมผัสภายในโรงงานอุตสาหกรรมผลิตถุงมือยาง 3 แห่งในจังหวัดสงขลา โดยทำการเก็บตัวอย่างสารแขวนลอยในอากาศที่คนงานหายใจในสายการผลิตของแต่ละโรงงาน ได้แก่ แผนกผสมวัตถุดิบ (compounding) แผนกผลิตถุงมือ (production) และแผนกบรรจุหีบห่อ (packing) ด้วยเครื่องเก็บตัวอย่างอากาศส่วนบุคคลวันละ 8 ชั่วโมง เป็นเวลา 2 วันติดต่อกัน โดยเก็บแผนกละ 2 ตัวอย่าง/เดือน เป็นเวลา 3 เดือนติดต่อกัน นำแผ่นกรองตัวอย่างมาสกัดด้วย dichloromethane และ acetone แล้วทำการทดสอบความสามารถก่อกลายพันธุ์ต่อแบคทีเรีย *Salmonella typhimurium* (Ames'test) สายพันธุ์ TA 98 และ TA 100 ในสภาวะที่มีและไม่มีการกระตุ้นเมแทบอลิซึม

ผลการศึกษาไม่พบฤทธิ์ก่อกลายพันธุ์ต่อเชื้อแบคทีเรีย *Salmonella typhimurium* ทั้ง 2 สายพันธุ์ ทั้งในสภาวะที่มีและไม่มีการกระตุ้นเมแทบอลิซึม การศึกษานี้แสดงว่าสารแขวนลอยในอากาศที่คนงานสัมผัสภายในโรงงานอุตสาหกรรมผลิตถุงมือยางทั้ง 3 แห่ง ไม่มีฤทธิ์ก่อกลายพันธุ์แบบ frameshift mutation และแบบ base-pair substitution mutation ในสภาวะการทำงานปกติไม่เกิน 16 ชั่วโมง/วัน ทั้งที่เป็นฤทธิ์โดยตรง (direct mutagen) และฤทธิ์โดยอ้อม (indirect mutagen) ที่ต้องผ่านการย่อยสลายด้วยเอ็นไซม์ในระบบเมแทบอลิซึมก่อน

Thesis Title	Investigation of Mutagenicity of Air Particulate Matters in Working Atmosphere of Rubber Glove Manufacturing Workers in Songkhla Province
Author	Miss Suhainee Ingding
Major Program	Environmental Management
Academic Year	2009

ABSTRACT

The objective of this study was to investigate mutagenicity of air particulates exposed by workers in rubber glove manufacturing plants in Songkhla province. Working atmospheric air samples were taken from 3 departments (compounding, production and packing) of 3 rubber glove manufacturing factories by using personal air samplers. Two personal air samples were taken 8 hours/day for 2 consecutive days from 2 workers in each department monthly for 3 consecutive months. The air particulate samples were extracted with dichloromethane and acetone. The extracts were tested for mutagenic activity by Ames' test using *Salmonella typhimurium* strain TA 98 and TA 100, with and without metabolic activation.

The air particulate samples had no mutagenic activity on both strains of *Salmonella typhimurium* with and without metabolic activation. The study indicated that both direct and indirect frameshift mutagenicity and base-pair substitution mutagenicity were not detected in air particulates exposed by workers of the rubber glove manufacturing plants.

สารบัญ

	หน้า
สารบัญ	(6)
รายการตาราง	(7)
รายการตารางภาคผนวก	(9)
รายการภาพประกอบ	(12)
รายการภาพประกอบภาคผนวก	(13)
บทที่	
1. บทนำ	
บทนำต้นเรื่อง	1
การตรวจเอกสาร	3
วัตถุประสงค์	17
ประโยชน์ที่คาดว่าจะได้รับ	17
2. วิธีการวิจัย	
วัสดุ	18
อุปกรณ์	19
วิธีดำเนินการ	21
3. ผลการทดลองและวิจารณ์	28
4. บทสรุปและข้อเสนอแนะ	49
เอกสารอ้างอิง	51
ภาคผนวก	
ก.	57
ข.	59
ค.	61
ง.	80
ประวัติผู้เขียน	86

รายการตาราง

ตาราง **หน้า**

1. น้ำหนักของสารสกัดจากสารแขวนลอยในอากาศที่คนงานหายใจในระหว่างการทำงานเป็นเวลา 16 ชั่วโมงในโรงงานที่ 1 28
2. น้ำหนักของสารสกัดจากสารแขวนลอยในอากาศที่คนงานหายใจในระหว่างการทำงานเป็นเวลา 16 ชั่วโมงในโรงงานที่ 2 29
3. น้ำหนักของสารสกัดจากสารแขวนลอยในอากาศที่คนงานหายใจในระหว่างการทำงานเป็นเวลา 16 ชั่วโมงในโรงงานที่ 3 29
4. จำนวนโคโลนีกลายพันธุ์ของเชื้อ *Salmonella typhimurium* สายพันธุ์ TA 98 และ TA 100 ในสภาวะที่ไม่มีและมีเอ็นไซม์ตับหนู (S9 mixture) ภายหลังการเติมตัวอย่างสารสกัดจากฝุ่น (respirable dust) ในบรรยากาศการทำงาน 16 ชั่วโมงของคนงานที่ 1 และ 2 ในโรงงานอุตสาหกรรมผลิตถุงมือยางที่ 1 เดือนที่ 1 ลงในจานเลี้ยงเชื้อ 31
5. จำนวนโคโลนีกลายพันธุ์ของเชื้อ *Salmonella typhimurium* สายพันธุ์ TA 98 และ TA 100 ในสภาวะที่ไม่มีและมีเอ็นไซม์ตับหนู (S9 mixture) ภายหลังการเติมตัวอย่างสารสกัดจากฝุ่น (respirable dust) ในบรรยากาศการทำงาน 16 ชั่วโมงของคนงานที่ 1 และ 2 ในโรงงานอุตสาหกรรมผลิตถุงมือยางที่ 1 เดือนที่ 2 ลงในจานเลี้ยงเชื้อ 33
6. จำนวนโคโลนีกลายพันธุ์ของเชื้อ *Salmonella typhimurium* สายพันธุ์ TA 98 และ TA 100 ในสภาวะที่ไม่มีและมีเอ็นไซม์ตับหนู (S9 mixture) ภายหลังการเติมตัวอย่างสารสกัดจากฝุ่น (respirable dust) ในบรรยากาศการทำงาน 16 ชั่วโมงของคนงานที่ 1 และ 2 ในโรงงานอุตสาหกรรมผลิตถุงมือยางที่ 1 เดือนที่ 3 ลงในจานเลี้ยงเชื้อ 35
7. จำนวนโคโลนีกลายพันธุ์ของเชื้อ *Salmonella typhimurium* สายพันธุ์ TA 98 และ TA 100 ในสภาวะที่ไม่มีและมีเอ็นไซม์ตับหนู (S9 mixture) ภายหลังการเติมตัวอย่างสารสกัดจากฝุ่น (respirable dust) ในบรรยากาศการทำงาน 16 ชั่วโมงของคนงานที่ 1 และ 2 ในโรงงานอุตสาหกรรมผลิตถุงมือยางที่ 2 เดือนที่ 1 ลงในจานเลี้ยงเชื้อ 37

รายการตาราง (ต่อ)

ตาราง **หน้า**

8. จำนวนโคโลนีกลายพันธุ์ของเชื้อ *Salmonella typhimurium* สายพันธุ์ TA 98 และ TA 100 ในสภาวะที่ไม่มีและมีเอ็นไซม์ตับหนู (S9 mixture) ภายหลังการเติมตัวอย่างสารสกัดจากฝุ่น (respirable dust) ในบรรยากาศการทำงาน 16 ชั่วโมงของคนงานที่ 1 และ 2 ในโรงงานอุตสาหกรรมผลิตถุงมือยาง ที่ 2 เดือนที่ 2 ลงในจานเลี้ยงเชื้อ 39
9. จำนวนโคโลนีกลายพันธุ์ของเชื้อ *Salmonella typhimurium* สายพันธุ์ TA 98 และ TA 100 ในสภาวะที่ไม่มีและมีเอ็นไซม์ตับหนู (S9 mixture) ภายหลังการเติมตัวอย่างสารสกัดจากฝุ่น (respirable dust) ในบรรยากาศการทำงาน 16 ชั่วโมงของคนงานที่ 1 และ 2 ในโรงงานอุตสาหกรรมผลิตถุงมือยาง ที่ 2 เดือนที่ 3 ลงในจานเลี้ยงเชื้อ 41
10. จำนวนโคโลนีกลายพันธุ์ของเชื้อ *Salmonella typhimurium* สายพันธุ์ TA 98 และ TA 100 ในสภาวะที่ไม่มีและมีเอ็นไซม์ตับหนู (S9 mixture) ภายหลังการเติมตัวอย่างสารสกัดจากฝุ่น (respirable dust) ในบรรยากาศการทำงาน 16 ชั่วโมงของคนงานที่ 1 และ 2 ในโรงงานอุตสาหกรรมผลิตถุงมือยาง ที่ 3 เดือนที่ 1 ลงในจานเลี้ยงเชื้อ 43
11. จำนวนโคโลนีกลายพันธุ์ของเชื้อ *Salmonella typhimurium* สายพันธุ์ TA 98 และ TA 100 ในสภาวะที่ไม่มีและมีเอ็นไซม์ตับหนู (S9 mixture) ภายหลังการเติมตัวอย่างสารสกัดจากฝุ่น (respirable dust) ในบรรยากาศการทำงาน 16 ชั่วโมงของคนงานที่ 1 และ 2 ในโรงงานอุตสาหกรรมผลิตถุงมือยาง ที่ 3 เดือนที่ 2 ลงในจานเลี้ยงเชื้อ 45
12. จำนวนโคโลนีกลายพันธุ์ของเชื้อ *Salmonella typhimurium* สายพันธุ์ TA 98 และ TA 100 ในสภาวะที่ไม่มีและมีเอ็นไซม์ตับหนู (S9 mixture) ภายหลังการเติมตัวอย่างสารสกัดจากฝุ่น (respirable dust) ในบรรยากาศการทำงาน 16 ชั่วโมงของคนงานที่ 1 และ 2 ในโรงงานอุตสาหกรรมผลิตถุงมือยาง ที่ 3 เดือนที่ 3 ลงในจานเลี้ยงเชื้อ 47

รายการตารางภาคผนวก

ตารางภาคผนวก **หน้า**

1. จำนวนโคโลนีของเชื้อ *salmonella typhimurium* สายพันธุ์ TA 98
ที่กลายพันธุ์ในสภาวะที่ไม่ใช้และใช้ S9 mixture หลังจากการเติมตัวอย่างสารสกัด
จากอากาศในบรรยากาศการทำงาน 16 ชั่วโมงของโรงงานอุตสาหกรรม
ผลิตถุงมือยางที่ 1 เดือนที่ 1 ลงในจานเลี้ยงเชื้อ 62
2. จำนวนโคโลนีของเชื้อ *salmonella typhimurium* สายพันธุ์ TA 100
ที่กลายพันธุ์ในสภาวะที่ไม่ใช้และใช้ S9 mixture หลังจากการเติมตัวอย่างสารสกัด
จากอากาศในบรรยากาศการทำงาน 16 ชั่วโมงของโรงงานอุตสาหกรรม
ผลิตถุงมือยางที่ 1 เดือนที่ 1 ลงในจานเลี้ยงเชื้อ 63
3. จำนวนโคโลนีของเชื้อ *salmonella typhimurium* สายพันธุ์ TA 98
ที่กลายพันธุ์ในสภาวะที่ไม่ใช้และใช้ S9 mixture หลังจากการเติมตัวอย่างสารสกัด
จากอากาศในบรรยากาศการทำงาน 16 ชั่วโมงของโรงงานอุตสาหกรรม
ผลิตถุงมือยางที่ 1 เดือนที่ 2 ลงในจานเลี้ยงเชื้อ 64
4. จำนวนโคโลนีของเชื้อ *salmonella typhimurium* สายพันธุ์ TA 100
ที่กลายพันธุ์ในสภาวะที่ไม่ใช้และใช้ S9 mixture หลังจากการเติมตัวอย่างสารสกัด
จากอากาศในบรรยากาศการทำงาน 16 ชั่วโมงของโรงงานอุตสาหกรรม
ผลิตถุงมือยางที่ 1 เดือนที่ 2 ลงในจานเลี้ยงเชื้อ 65
5. จำนวนโคโลนีของเชื้อ *salmonella typhimurium* สายพันธุ์ TA 98
ที่กลายพันธุ์ในสภาวะที่ไม่ใช้และใช้ S9 mixture หลังจากการเติมตัวอย่างสารสกัด
จากอากาศในบรรยากาศการทำงาน 16 ชั่วโมงของโรงงานอุตสาหกรรม
ผลิตถุงมือยางที่ 1 เดือนที่ 3 ลงในจานเลี้ยงเชื้อ 66
6. จำนวนโคโลนีของเชื้อ *salmonella typhimurium* สายพันธุ์ TA 100
ที่กลายพันธุ์ในสภาวะที่ไม่ใช้และใช้ S9 mixture หลังจากการเติมตัวอย่างสารสกัด
จากอากาศในบรรยากาศการทำงาน 16 ชั่วโมงของโรงงานอุตสาหกรรม
ผลิตถุงมือยางที่ 1 เดือนที่ 3 ลงในจานเลี้ยงเชื้อ 67

รายการตารางภาคผนวก (ต่อ)

ตารางภาคผนวก **หน้า**

7. จำนวนโคโลนีของเชื้อ *salmonella typhimurium* สายพันธุ์ TA 98 ที่กลายพันธุ์ในสภาวะที่ไม่ใช้และใช้ S9 mixture หลังจากการเติมตัวอย่างสารสกัดจากอากาศในบรรยากาศการทำงาน 16 ชั่วโมงของโรงงานอุตสาหกรรมผลิตถุงมือยางที่ 2 เดือนที่ 1 ลงในจานเลี้ยงเชื้อ 68
8. จำนวนโคโลนีของเชื้อ *salmonella typhimurium* สายพันธุ์ TA 100 ที่กลายพันธุ์ในสภาวะที่ไม่ใช้และใช้ S9 mixture หลังจากการเติมตัวอย่างสารสกัดจากอากาศในบรรยากาศการทำงาน 16 ชั่วโมงของโรงงานอุตสาหกรรมผลิตถุงมือยางที่ 2 เดือนที่ 1 ลงในจานเลี้ยงเชื้อ 69
9. จำนวนโคโลนีของเชื้อ *salmonella typhimurium* สายพันธุ์ TA 98 ที่กลายพันธุ์ในสภาวะที่ไม่ใช้และใช้ S9 mixture หลังจากการเติมตัวอย่างสารสกัดจากอากาศในบรรยากาศการทำงาน 16 ชั่วโมงของโรงงานอุตสาหกรรมผลิตถุงมือยางที่ 2 เดือนที่ 2 ลงในจานเลี้ยงเชื้อ 70
10. จำนวนโคโลนีของเชื้อ *salmonella typhimurium* สายพันธุ์ TA 100 ที่กลายพันธุ์ในสภาวะที่ไม่ใช้และใช้ S9 mixture หลังจากการเติมตัวอย่างสารสกัดจากอากาศในบรรยากาศการทำงาน 16 ชั่วโมงของโรงงานอุตสาหกรรมผลิตถุงมือยางที่ 2 เดือนที่ 2 ลงในจานเลี้ยงเชื้อ 71
11. จำนวนโคโลนีของเชื้อ *salmonella typhimurium* สายพันธุ์ TA 98 ที่กลายพันธุ์ในสภาวะที่ไม่ใช้และใช้ S9 mixture หลังจากการเติมตัวอย่างสารสกัดจากอากาศในบรรยากาศการทำงาน 16 ชั่วโมงของโรงงานอุตสาหกรรมผลิตถุงมือยางที่ 2 เดือนที่ 3 ลงในจานเลี้ยงเชื้อ 72
12. จำนวนโคโลนีของเชื้อ *salmonella typhimurium* สายพันธุ์ TA 100 ที่กลายพันธุ์ในสภาวะที่ไม่ใช้และใช้ S9 mixture หลังจากการเติมตัวอย่างสารสกัดจากอากาศในบรรยากาศการทำงาน 16 ชั่วโมงของโรงงานอุตสาหกรรมผลิตถุงมือยางที่ 2 เดือนที่ 3 ลงในจานเลี้ยงเชื้อ 73

รายการตารางภาคผนวก (ต่อ)

ตารางภาคผนวก **หน้า**

13. จำนวนโคโลนีของเชื้อ *salmonella typhimurium* สายพันธุ์ TA 98
ที่กลายพันธุ์ในสภาวะที่ไม่ใช้และใช้ S9 mixture หลังจากการเติมตัวอย่างสารสกัด
จากอากาศในบรรยากาศการทำงาน 16 ชั่วโมงของโรงงานอุตสาหกรรม
ผลิตถุงมือยางที่ 3 เดือนที่ 1 ลงในจานเลี้ยงเชื้อ 74
14. จำนวนโคโลนีของเชื้อ *salmonella typhimurium* สายพันธุ์ TA 100
ที่กลายพันธุ์ในสภาวะที่ไม่ใช้และใช้ S9 mixture หลังจากการเติมตัวอย่างสารสกัด
จากอากาศในบรรยากาศการทำงาน 16 ชั่วโมงของโรงงานอุตสาหกรรม
ผลิตถุงมือยางที่ 3 เดือนที่ 1 ลงในจานเลี้ยงเชื้อ 75
15. จำนวนโคโลนีของเชื้อ *salmonella typhimurium* สายพันธุ์ TA 98
ที่กลายพันธุ์ในสภาวะที่ไม่ใช้และใช้ S9 mixture หลังจากการเติมตัวอย่างสารสกัด
จากอากาศในบรรยากาศการทำงาน 16 ชั่วโมงของโรงงานอุตสาหกรรม
ผลิตถุงมือยางที่ 3 เดือนที่ 2 ลงในจานเลี้ยงเชื้อ 76
16. จำนวนโคโลนีของเชื้อ *salmonella typhimurium* สายพันธุ์ TA 100
ที่กลายพันธุ์ในสภาวะที่ไม่ใช้และใช้ S9 mixture หลังจากการเติมตัวอย่างสารสกัด
จากอากาศในบรรยากาศการทำงาน 16 ชั่วโมงของโรงงานอุตสาหกรรม
ผลิตถุงมือยางที่ 3 เดือนที่ 2 ลงในจานเลี้ยงเชื้อ 77
17. จำนวนโคโลนีของเชื้อ *salmonella typhimurium* สายพันธุ์ TA 98
ที่กลายพันธุ์ในสภาวะที่ไม่ใช้และใช้ S9 mixture หลังจากการเติมตัวอย่างสารสกัด
จากอากาศในบรรยากาศการทำงาน 16 ชั่วโมงของโรงงานอุตสาหกรรม
ผลิตถุงมือยางที่ 3 เดือนที่ 3 ลงในจานเลี้ยงเชื้อ 78
18. จำนวนโคโลนีของเชื้อ *salmonella typhimurium* สายพันธุ์ TA 100
ที่กลายพันธุ์ในสภาวะที่ไม่ใช้และใช้ S9 mixture หลังจากการเติมตัวอย่างสารสกัด
จากอากาศในบรรยากาศการทำงาน 16 ชั่วโมงของโรงงานอุตสาหกรรม
ผลิตถุงมือยางที่ 3 เดือนที่ 3 ลงในจานเลี้ยงเชื้อ 79

รายการภาพประกอบ

ภาพประกอบ	หน้า
1. แสดงทิศทางการทำงานในกระบวนการจุ่มแบบต่อเนื่อง	5

รายการภาพประกอบภาคผนวก

ภาพประกอบภาคผนวก	หน้า
1. ลักษณะโคโลนีกลายพันธุ์ของแบคทีเรีย *Salmonella typhimurium*	58
2. ลักษณะของเครื่อง personal air sampling pump	60
3. ลักษณะการติดเครื่อง personal air sampler	60

บทที่ 1

บทนำ

1.1 บทนำต้นเรื่อง

ประเทศไทยเป็นผู้ผลิตยางธรรมชาติรายใหญ่ที่สุดของโลก สามารถผลิตยางได้ประมาณ 3 ล้านตันต่อปี โดยมีพื้นที่ปลูกยางประมาณ 13 ล้านไร่ (วรรณภา เสนาดี, 2549) ซึ่งยางพาราและผลิตภัณฑ์ยางสามารถสร้างรายได้ให้กับประเทศมากกว่าปีละ 100,000 ล้านบาท โดยในปี 2544 ยางพาราเป็นสินค้าส่งออกที่สร้างรายได้เข้าประเทศเป็นอันดับที่ 10 ของสินค้าส่งออกของไทย (กนกวรรณ สุถิรนาถ, 2545) พื้นที่ปลูกยางพาราส่วนใหญ่อยู่ในภาคใต้ของประเทศ

อุตสาหกรรมผลิตถุงมือยางในประเทศไทยมีการขยายตัวอย่างมาก ตั้งแต่ปี 2531 เป็นต้นมาจนถึงปี 2547 มีโรงงานผลิตถุงมือยางที่ได้รับการส่งเสริมการลงทุนจาก Board of Investment (BOI) จำนวน 41 ราย และมีโรงงานที่จดทะเบียนกับกรมโรงงานอุตสาหกรรม กระทรวงอุตสาหกรรม ประมาณ 63 ราย (เบญจพล จันทร์เจริญ, 2547) โดยมีสาเหตุเนื่องมาจากความต้องการของตลาดต่างประเทศที่เพิ่มขึ้น รวมทั้งความได้เปรียบในการเป็นผู้นำในการผลิตถุงมือยางธรรมชาติรายใหญ่ของโลก ประกอบกับไทยมีแหล่งผลิตน้ำยางข้นซึ่งเป็นวัตถุดิบหลักที่ใช้ในการผลิตถุงมือยาง น้ำยางข้น 1 ตันจะใช้ผลิตถุงมือยางได้ 80,000-120,000 ชิ้นขึ้นอยู่กับขนาดและความหนาบางของถุงมือ (กนกวรรณ สุถิรนาถ, 2545) การส่งออกถุงมือยางของประเทศไทยขยายตัวอย่างต่อเนื่อง โดยในช่วง 11 เดือนแรกของปี 2546 (ม.ค-พ.ย) ประเทศไทยส่งออกถุงมือยางถึง 10,018.44 ล้านคู่ คิดเป็นมูลค่า 433.80 ล้านเหรียญดอลลาร์สหรัฐ ซึ่งเพิ่มขึ้นจากช่วงเดียวกันของปี 2545 ร้อยละ 15.7 และ 22.1 ตามลำดับ (เบญจพล จันทร์เจริญ, 2547) เนื่องจากความต้องการใช้ถุงมือยางในต่างประเทศเพิ่มขึ้น ส่วนหนึ่งมาจากผลกระทบของโรคซาร์สรวมไปถึงโรคเอดส์ เพื่อป้องกันการแพร่ระบาดของเชื้อโรคทำให้การใช้ถุงมือยางทางการแพทย์เพิ่มขึ้นเพราะถุงมือประเภทนี้ใช้ครั้งเดียวแล้วทิ้ง ตลาดส่งออกถุงมือยางของไทยที่สำคัญ ได้แก่ ประเทศสหรัฐอเมริกา เยอรมนี ฯลฯ

จังหวัดสงขลาเป็นจังหวัดหนึ่งที่มีโรงงานอุตสาหกรรมผลิตภัณฑ์ยางจำนวนมากส่วนใหญ่เป็นโรงงานผลิตถุงมือยาง ซึ่งจัดเป็นอุตสาหกรรมผลิตภัณฑ์ยางที่มีความสำคัญ เนื่องจาก

ตลาดโลกมีความต้องการถุงมือยางธรรมชาติปีละประมาณ 40,000-50,000 ล้านชิ้น ประเทศไทยเป็นผู้ส่งออกอันดับ 2 รองจากประเทศมาเลเซีย

ในกระบวนการผลิตผลิตภัณฑ์ยางพารามีการใช้สารเคมีหลายชนิดด้วยกัน สารเคมีบางชนิดมีพิษเฉียบพลัน บางชนิดมีพิษเรื้อรัง ถ้าหากคนงานมีการสัมผัสกับสารเคมีดังกล่าวในบรรยากาศของการทำงานเป็นระยะเวลายาวนานและในปริมาณความเข้มข้นที่มากเพียงพอก็อาจทำให้มีความเสี่ยงที่จะเกิดโรคต่างๆได้ เช่น โรคเกี่ยวกับระบบทางเดินหายใจ โรคผิวหนัง โรคภูมิแพ้ และโรคมะเร็ง เนื่องจากสารเคมีบางชนิดสามารถทำให้เกิดการกลายพันธุ์ของเซลล์ ทำให้การทำงานของยีนผิดปกติไป และพบว่าสารก่อกลายพันธุ์ส่วนมากมีคุณสมบัติเป็นสารก่อมะเร็งด้วย (ปลื้มจิต บุณยพิพัฒน์, 2534) เมื่อกระบวนการเปลี่ยนแปลงสารพันธุกรรมปรากฏในดีเอ็นเอของเซลล์ร่างกาย การกลายพันธุ์จะถูกจำกัดอยู่กับเนื้อเยื่อของสิ่งมีชีวิตที่ได้รับสารก่อกลายพันธุ์ แต่ในกรณีที่การกลายพันธุ์ปรากฏในดีเอ็นเอของเซลล์สืบพันธุ์หรือสารตั้งต้นของเซลล์สืบพันธุ์อาจถ่ายทอดสู่ลูกหลาน โรคมะเร็งเกิดขึ้นเมื่อเซลล์เกิดการกลายพันธุ์และการแบ่งตัวที่ผิดปกติ ทำให้มีการเพิ่มจำนวนเซลล์ที่ผิดปกตินั้นมากขึ้นเรื่อยๆ ถ้าเป็นเซลล์ของอวัยวะใดก็จะทำให้เป็นก้อนเนื้องอกโตขึ้นมาตรงส่วนนั้นของร่างกาย เซลล์มะเร็งจะเจริญเติบโตอย่างรวดเร็วและสามารถแพร่กระจายไปทางเส้นโลหิตและท่อน้ำเหลือง เมื่อไปเกาะติดที่อวัยวะใดก็จะเติบโตกลายเป็นก้อนเนื้อร้ายขึ้นมาอีก (สุจิรา จรัสศิลป์, 2545) สารเคมีหลายชนิดเป็นสารก่อกลายพันธุ์ (mutagen) และสารก่อมะเร็ง (carcinogen) ทำให้เกิดการกลายพันธุ์ในยีนปกติ และทำให้เซลล์นั้นกลายเป็นเซลล์มะเร็งในที่สุด เซลล์มะเร็งที่เกิดขึ้นเมื่อได้รับการกระตุ้นจากสารเคมีบางชนิดจะสามารถแบ่งตัวและขยายตัวออกไปได้ง่ายจนกลายเป็นเนื้องอกขึ้นมา

ปัจจุบันเราสามารถทดสอบความสามารถก่อกลายพันธุ์ของสารเคมีต่างๆ ได้หลายวิธี แต่วิธีที่ทำได้ง่าย สะดวก ประหยัด แม่นยำและให้ผลเร็ว คือ Ames' test ซึ่งเป็นการทดสอบที่พัฒนาขึ้นโดย Dr. Bruce Ames เพื่อใช้คัดกรองหาฤทธิ์ก่อกลายพันธุ์ของสารเคมี สารสกัดสมุนไพร โดยการทดสอบในแบคทีเรียและพบว่าสารก่อมะเร็งประมาณร้อยละ 90 แสดงคุณสมบัติเป็นสารก่อกลายพันธุ์ด้วย (McCann and Ames, 1976)

ปี 2550 มีรายงานการศึกษาการตรวจวัดความสามารถก่อกลายพันธุ์ของน้ำทิ้งจากโรงงานอุตสาหกรรมผลิตถุงมือยางในจังหวัดสงขลาด้วยวิธี Ames' test โดยใช้แบคทีเรีย *Salmonella typhimurium* สายพันธุ์ TA 98 และ TA 100 ซึ่งพบว่าน้ำทิ้งที่เก็บในช่วงฤดูแล้งจำนวน 3 ตัวอย่างจากทั้งหมด 5 ตัวอย่างมีฤทธิ์ก่อกลายพันธุ์ต่อแบคทีเรีย *Salmonella typhimurium* สายพันธุ์ TA 98 ที่ระดับความเข้มข้น 50-200 เท่าของความเข้มข้นปกติ ในสภาวะที่ปราศจากการกระตุ้นเมแทบอลิซึม

และฤทธิ์ก่อกลายพันธุ์นี้มีความสัมพันธ์โดยตรงกับความเข้มข้นของตัวอย่างน้ำทิ้งที่ทดสอบ (สุกัญญา แซ่แต้ และคณะ, 2550)

เนื่องจากในกระบวนการผลิตถุงมือยางมีการล้างเครื่องมือ อุปกรณ์ที่ใช้ในการผลิตถุงมือยางด้วยน้ำ ทำให้มีสารเคมีที่ใช้ในการผลิตบางส่วนละลายน้ำและเป็นสารที่มีฤทธิ์ก่อกลายพันธุ์ การวิจัยครั้งนี้จึงมีวัตถุประสงค์เพื่อตรวจหาฤทธิ์ก่อกลายพันธุ์ของสารแขวนลอยในอากาศในบรรยากาศการทำงานของคนงานในโรงงานอุตสาหกรรมผลิตถุงมือยาง ถ้าพบว่าในโรงงานประเภทดังกล่าวมีฤทธิ์ก่อกลายพันธุ์ ก็จะเป็นข้อมูลให้ภาครัฐและภาคเอกชนที่เกี่ยวข้องประเมินความเสี่ยงอันตรายที่จะเกิดขึ้นกับสุขภาพอนามัยของคนงานในโรงงานอุตสาหกรรมผลิตถุงมือยางพารา และหาแนวทางในการป้องกันต่อไป

1.2 การตรวจเอกสาร

1.2.1 คำจำกัดความ

“สารก่อกลายพันธุ์” (mutagen) หมายถึง สารที่ทำให้เบสใดเบสหนึ่งในสายดีเอ็นเอผิดปกติไปจากเดิม เมื่อมีการนำสายดีเอ็นเอส่วนที่เบสถูกเปลี่ยนแปลงไปถ่ายทอด จะทำให้ได้โปรตีนที่ผิดปกติไป (อุษณีย์ วินิจเขตคำนวณ, 2534)

“การกลายพันธุ์” (mutation) หมายถึง การที่ดีเอ็นเอที่ผิดปกติไปจากเดิม ถูกนำไปถ่ายทอดรหัสแบบผิดปกตินั้น ทำให้ได้สิ่งที่ผิดไปจากธรรมชาติ ดีเอ็นเอที่ผิดปกติจะมีเบสใดเบสหนึ่งในสายดีเอ็นเอถูกเปลี่ยนแปลงไปจากเดิม (อุษณีย์ วินิจเขตคำนวณ, 2534)

“มะเร็ง” คือ เซลล์ของร่างกายที่โตและขยายจำนวนขึ้นมากในระยะเวลาอันสั้น โดยที่ร่างกายไม่สามารถควบคุมได้ เซลล์มะเร็งเมื่อเพิ่มจำนวนมากขึ้นเรื่อยๆ จะแทรกตัวเบียดเซลล์ปกติที่อยู่รอบข้าง ทำให้เนื้อเยื่อของอวัยวะนั้นๆ เสียไปไม่สามารถทำหน้าที่ตามปกติได้ เซลล์มะเร็งยังขยายตัวเข้าสู่หลอดเลือดและน้ำเหลืองกระจายไปสู่อวัยวะต่างๆ ที่อยู่ใกล้และห่างจากตัวมันได้ เช่น ต่อมน้ำเหลือง ปอด ตับ และกระดูก ซึ่งมีผลทำให้ผู้ป่วยเสียชีวิตในระยะเวลาอันสั้น (สุเมธ พีรวุฒิ, 2541)

1.2.2 ถุงมือยาง

ถุงมือยางสามารถถูกแบ่งตามลักษณะการใช้งานได้ดังนี้

ก. ถุงมือยางสำหรับใช้ในทางการแพทย์ (medical gloves)

การผลิตและการส่งออกถุงมือยางประเภทนี้ต้องผ่านการตรวจสอบมาตรฐานจากสำนักงานคณะกรรมการอาหารและยา (อย.) เพราะถูกกำหนดให้เป็นเครื่องมือทางการแพทย์เพื่อให้ได้สินค้าที่มีคุณภาพตามมาตรฐาน ซึ่งถูกแบ่งย่อยเป็น surgical gloves ใช้ในทาง

ศัลยกรรมหรือผ่าตัด ถุงมือนี้มีเนื้อบาง แข็งแรง มีความยาวถึงข้อศอก ผ่านกรรมวิธีการฆ่าเชื้อ 100% ด้วยรังสีแกมม่า ใช้เพียงครั้งเดียวทิ้ง การบรรจุหีบห่อต้องประณีต และสะดวกเวลาแกะใช้ อีกประเภทหนึ่ง คือ examination gloves ใช้ในงานตรวจโรคทั่วไปมีลักษณะบางกระชับมือ สั้นแค่ข้อมือ ไม่มีข้างซ้ายขวา ใช้ครั้งเดียวทิ้ง ไม่มีการนำกลับมาใช้อีก

ข. ถุงมือยางสำหรับใช้ในโรงงานอุตสาหกรรม (industrial gloves)

มีขนาดใหญ่ แข็งแรงเทอะทะ เพื่อความทนทานต่องานในโรงงานอุตสาหกรรม เช่น โรงงานผลไม้กระป๋อง เป็นต้น

ค. ถุงมือยางสำหรับใช้ในครัวเรือน (household gloves)

เป็นถุงมือยางที่แม่บ้านใช้ในการทำความสะอาด ซักล้าง มีขนาดใหญ่ แข็งแรง ทนทาน มีอายุการใช้งานนาน สวมใส่สบาย นุ่มมือ (เบญจพล จันทร์เจริญ, 2547)

1.2.3 กระบวนการผลิตถุงมือยาง

กระบวนการผลิตถุงมือยางโดยทั่วไปมีหลักการสำคัญ คือ การจุ่มแบบพิมพ์ถุงมือลงในน้ำยางผสมสารเคมี ค่อยๆ ยกแบบพิมพ์ขึ้นโดยพยายามให้น้ำยางจับตัวที่ผิวของแบบพิมพ์ถุงมือให้สม่ำเสมอแล้วจึงนำไปอบถอดออกจากแบบพิมพ์ ล้างสารเคมีที่อาจตกค้างในยางออก (ไพโรจน์ กลิ่นพิทักษ์ และคณะ, 2541)

หลักการจุ่มแบบพิมพ์ที่ใช้กันโดยทั่วไปมี 3 วิธี คือ

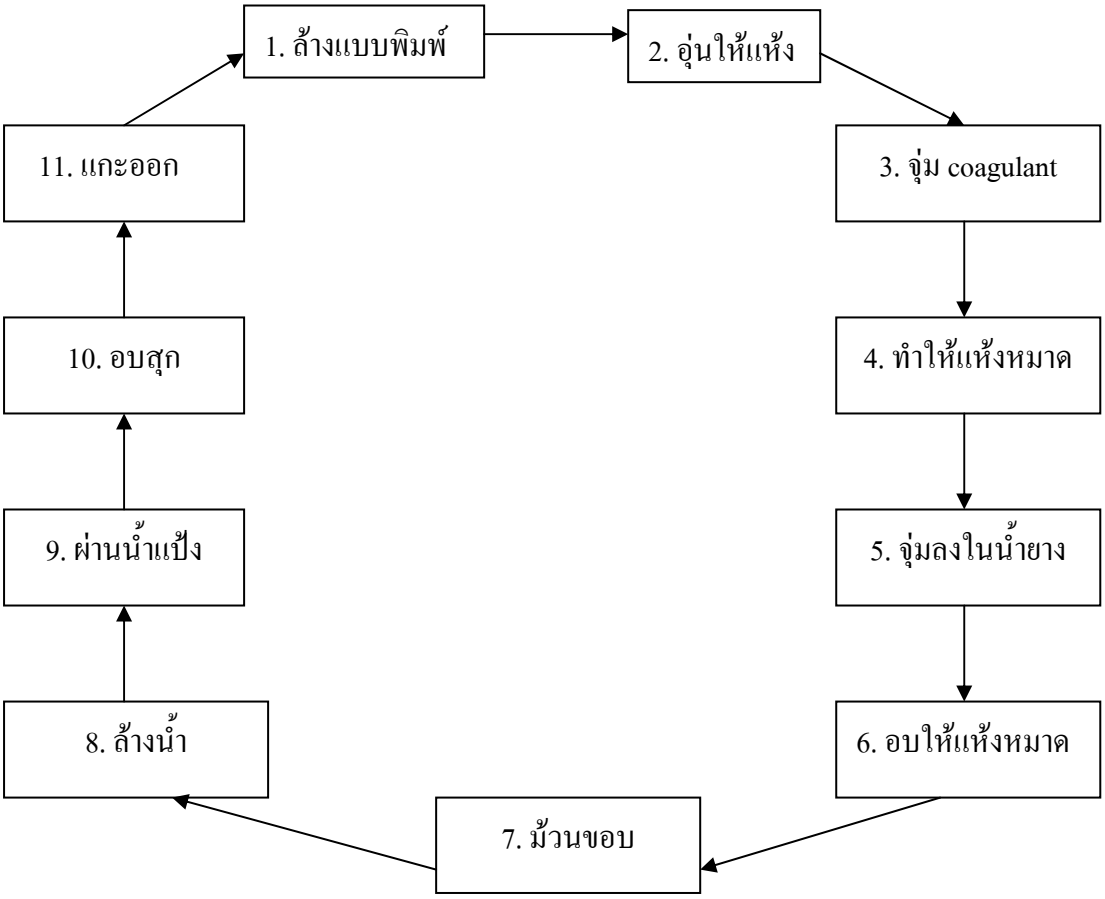
ก. การจุ่มแบบง่าย (simple dipping หรือ straight dip)

ข. การจุ่มแบบใช้สารช่วยในการจับตัวของยาง (coagulant dipping)

ค. การจุ่มแบบที่ใช้ความร้อนช่วยกระตุ้น (heat – sensitive dipping)

การทำถุงมือยางมักนิยมใช้วิธีการจุ่มแบบพิมพ์โดยการใช้สารช่วยในการจับตัว (coagulant) ซึ่งสารที่นิยมใช้โดยทั่วไป เช่น แคลเซียมคลอไรด์ หรือแคลเซียมไนเตรท ความหนาของยางที่ได้จากการจุ่มขึ้นกับปัจจัยดังต่อไปนี้ คือ ความเข้มข้นของ coagulant ความเข้มข้นของน้ำยาง ระยะเวลาที่จุ่ม ความหนืดของน้ำยาง และความเสถียรของน้ำยาง

กระบวนการผลิตถุงมือยางในโรงงานอุตสาหกรรมจะทำการจุ่มแบบต่อเนื่องดังแสดงในรูปที่ 1



รูปที่ 1 แสดงทิศทางการทำงานในกระบวนการจุ่มแบบต่อเนื่อง
ที่มา : ไพโรจน์ กลิ่นพิทักษ์ และคณะ (2541)

1.2.4 สารเคมีสำหรับทำถุงมือยาง

ตัวอย่างรายการสารเคมีสำหรับทำถุงมือยางมีดังต่อไปนี้ (ไพโรจน์ กลิ่นพิทักษ์ และคณะ, 2541)

1. ซิงค์ออกไซด์ (zinc oxide)
2. กำมะถัน (sulfur)
3. Zinc-N-diethyl dithiocarbamate (ZDEC)

4. Zinc-2-mercaptobenzthiazole (ZMBT)

5. Bentonite

6. Vultamol

7. สารกันเสื่อม เช่น 2,6-di-*tert*-butyl-*p*-cresol (BHT)

8. กรดลอริก (lauric acid)

9. โพแทสเซียมไฮดร็อกไซด์ (potassium hydroxide)

10. เอนไซม์ KP-3939

11. โซเดียมลอริลซัลเฟต (sodium lauryl sulphate)

12. แคลเซียมคลอไรด์ (calcium chloride)

13. คลอโรฟอร์ม (chloroform)

14. กรดฟอสโฟทังสติก (phosphotungstic acid, PTA)

15. กรดไตรคลอโรอะซิติก (trichloroacetic acid, TCA)

16. คอปเปอร์ซัลเฟตเพนตะไฮเดรต (copper sulfate pentahydrate)

17. โฟลิน-ซิโอคัลโต รีเอเจนต์ (folin-ciocalteau reagent)

18. ไตรโซเดียมซิเตรตไดไฮเดรต (trisodium citrate dihydrate)

19. โซเดียมคาร์บอเนต (sodium carbonate)

20. โซเดียมไฮดร็อกไซด์ (sodium hydroxide)

21. กรดกำมะถัน (sulfuric acid)

22. Bovine serum albumin (BSA)

1.2.5 การกลายพันธุ์

การกลายพันธุ์แบ่งออกได้เป็น 2 ชนิด

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

ปฏิกิริยาทัวโทเมอริกชิฟท์ หมายถึง การเปลี่ยนแปลงตำแหน่งไฮโดรเจนอะตอมในโมเลกุลของเบสของดีเอ็นเอ ซึ่งมีผลทำให้โครงสร้างโมเลกุลของเบสเปลี่ยนแปลงจากรูปคีโต (keto form) ไปเป็นรูปอีนอล (enol form) หรือเปลี่ยนแปลงจากรูปอะมิโน (amino form) ไปเป็นรูปอิมิโน (imino form)

ปฏิกิริยาการก่อให้เกิดไอออน คือ ปฏิกิริยาสูญเสียไฮโดรเจนอะตอมในโมเลกุลของเบสของดีเอ็นเอ ทำให้เกิดไอออนขึ้นมีผลทำให้การจับคู่ของเบสเปลี่ยนแปลงไปจะทำให้เกิดทรานซิชันขึ้น เช่น A-T ถูกแทนที่ด้วย G-C หรือ G-C ถูกแทนที่ด้วย A-T ซึ่งมีผลทำให้เกิดการกลายพันธุ์ได้

ข. การกลายพันธุ์ที่เกิดจากการชักนำ (induced mutation) เป็นการกลายพันธุ์ที่เกิดจากมนุษย์ใช้สิ่งก่อกลายพันธุ์ (mutagen) ชักนำให้เกิดการกลายพันธุ์ สิ่งก่อกลายพันธุ์แบ่งออกได้ 2 ประเภท ได้แก่

1. สิ่งก่อกลายพันธุ์ทางกายภาพ (physical mutagens) ได้แก่ อุณหภูมิ รังสีต่างๆ

2. สิ่งก่อกลายพันธุ์ทางเคมี (chemical mutagens) ได้แก่

- สารเคมีที่มีสูตรโครงสร้างคล้ายคลึงกับเบสชนิดต่างๆ ของดีเอ็นเอ (base analogues) สารเคมีเหล่านี้สามารถเข้าแทนที่เบสของดีเอ็นเอได้ระหว่างที่มีการจำลองโมเลกุลของดีเอ็นเอ (DNA replication) ซึ่งมีผลทำให้เกิดการแทนที่ของเบสชนิดหนึ่งด้วยเบสอีกชนิดหนึ่ง ทำให้โมเลกุลของดีเอ็นเอที่ได้ใหม่แตกต่างไปจากโมเลกุลเดิม

- สารเคมีที่ทำให้เกิดการเปลี่ยนแปลงโครงสร้างของเบส เช่น กรดไนตรัส สารไฮดรอกซีลามีน (hydroxylamine) สารที่ให้หมู่ไฮดรอกซีล (OH^-)

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

1.2.6 การเกิดการกลายพันธุ์

การกลายพันธุ์เป็นความผิดปกติของดีเอ็นเอที่มีการเปลี่ยนแปลงของลำดับคู่เบสอาจแบ่งได้ดังนี้ คือ

1) base - pair substitution (การแทนที่เบส) 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”

2) frameshift mutation เป็นผลจากการแทรกหรือการหายไปของคู่เบสในสายดีเอ็นเอ การกลายพันธุ์ของยีนอาจเป็นผลจากสารก่อมะเร็งซึ่งได้รับจากภายนอกหรือเป็นผลจากกระบวนการทางชีวเคมีในร่างกายเอง (ปารมี ทองสุกใส, 2542)

1.2.7 ลักษณะการกลายพันธุ์แบบ frameshift mutation

เป็นการเพิ่มหรือการขาดหายไปของนิวคลีโอไทด์ของ DNA เพียง 1 โมเลกุล ทำให้การอ่านของรหัสทีละ 3 โมเลกุล เปลี่ยนไปจากเดิม มีผลทำให้เกิดการสังเคราะห์โปรตีนผิดปกติไป เช่น

กรณีเบสหลุดหายไป

ปกติ GTA – GTA – GTA – GTA – GTA

(เบส T หลุดหายไป)

มิวเตชั่น GTA – GAG –TAG –TAG – TA

กรณีเบสเพิ่มเข้ามา

ปกติ GTA – GTA – GTA – GTA – GTA

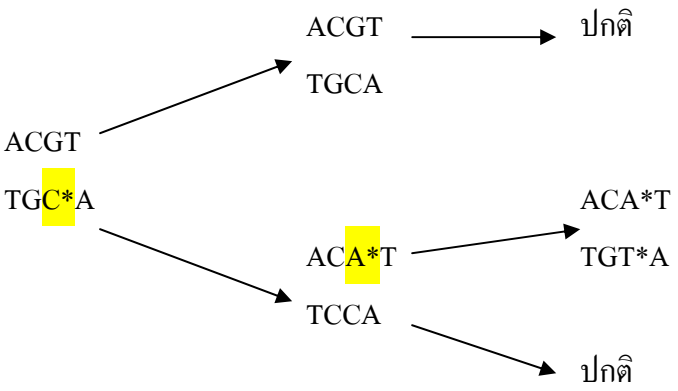
(เบส T เพิ่มเข้ามา)

มิวเตชั่น GTA – GTT – AGT – AGT – AGT – A

ไม่ว่าจะเป็นการเพิ่มหรือหลุดหายไปของเบส จะทำให้ได้โปรตีนที่ต่างไปจากเดิม โปรตีนนั้นไม่สามารถทำงานได้เหมือนเดิมหรือทำงานไม่ได้เลย ซึ่งการกลายพันธุ์แบบนี้มีความรุนแรงมากกว่าการกลายพันธุ์แบบแทนที่เบส (base-pair substitution mutation)

1.2.8 ลักษณะการกลายพันธุ์แบบแทนที่เบส (base-pair substitution mutation)

เป็นการแทนที่คู่เบส เช่น A เข้าแทนที่ G หรือ C เข้าแทนที่ T เป็นต้น เช่น



โดยทั่วไปการกลายพันธุ์แบบ base-pair substitution mutation มีความรุนแรงน้อยกว่าแบบ frameshift mutation เพราะว่าโปรตีนบางส่วนที่ได้หลังเกิดการกลายพันธุ์ยังปกติ

1.2.9 สารก่อมะเร็ง

สารก่อมะเร็ง หมายถึง กลุ่มสารที่ชักนำหรือมีโอกาสที่จะเหนี่ยวนำให้เกิดเป็นมะเร็งในมนุษย์ได้ การทดสอบความเป็นพิษของสารก่อมะเร็งมีขั้นตอนทางวิทยาศาสตร์ที่ซับซ้อนยุ่งยาก แม้ว่าจะสามารถทดสอบพบว่าสารนั้นๆ มีแนวโน้มการก่อมะเร็งสูง แต่ก็ยากที่จะระบุถึงระดับความเป็นพิษ หรืออันตรายที่เกิดขึ้นว่ารุนแรงมากน้อยเพียงใด สารก่อมะเร็งที่พบมีหลายชนิด ได้แก่ อะฟลาท็อกซิน ไดอ็อกซิน แอสเบสตอส รวมทั้งแสงแดดด้วย สารก่อมะเร็งเหล่านี้บางชนิดเมื่ออยู่ในสภาวะหนึ่งจะไม่ก่อให้เกิดอันตรายใดๆ แต่อาจจะเปลี่ยนเป็นสารก่อมะเร็งได้หากมีตัวเร่งปฏิกิริยา (catalysts) หรือเมื่อเข้าสู่ร่างกายผ่านกระบวนการทางชีวภาพ (biological activities) ในร่างกายมนุษย์หรือสัตว์หรือพืช ตัวอย่างเช่น สารไนเตรตเมื่อบริโภคเข้าสู่ร่างกายจะถูกเปลี่ยนแปลงเป็นสารก่อมะเร็งไนโตรซามีนได้ อันเนื่องมาจากกระบวนการย่อยอาหารในกระเพาะอาหารของมนุษย์ เป็นต้น และสารบางชนิดอาจจะเป็นตัวช่วยเสริมฤทธิ์สารก่อมะเร็งโดยสามารถกระตุ้นให้ก้อนเนื้อร้ายเจริญเติบโตขึ้น (ทวีศักดิ์ สุนทรธนศาสตร์, 2544)

1.2.10 การทดสอบการก่อกลายพันธุ์

การทดสอบการก่อกลายพันธุ์มีหลายวิธี แต่ที่นิยมใช้คือวิธีที่ใช้จุลินทรีย์ในการทดสอบ เพราะว่าให้ผลเร็ว ทำง่าย และค่าใช้จ่ายถูก

ก. การทดสอบของเอมส์ (Ames' test)

การทดสอบของเอมส์เป็นการทดสอบการก่อกลายพันธุ์แบบย้อนกลับ (backward or reverse mutation) ในแบคทีเรีย *Salmonella typhimurium* เพราะว่าแบคทีเรียที่นำมาใช้ถูกทำให้กลายพันธุ์ไปจนไม่สามารถสังเคราะห์กรดอะมิโนฮิสทีดีนได้ แบคทีเรียจะไม่เจริญในตัวกลางที่ขาดกรดอะมิโนฮิสทีดีน เรียกว่า histidine dependent ใช้สัญลักษณ์ His^- สารที่นำมาทดสอบสามารถทำให้แบคทีเรียกลายพันธุ์ไปสร้างกรดอะมิโนฮิสทีดีนได้อีกครั้งหนึ่ง การกลายพันธุ์ครั้งที่สองนี้จึงเป็นการย้อนกลับของการกลายพันธุ์ครั้งแรก แบคทีเรียที่เป็นเครื่องมือในการทดสอบนี้ นอกจากต้องอาศัยกรดอะมิโนฮิสทีดีนแล้วยังมีคุณสมบัติอื่นๆ ที่ทำให้แบคทีเรียมีความไวต่อการเกิดกลายพันธุ์ได้แก่

- rfa mutation คือ การทำให้แบคทีเรียขาดสารไลโปโพลี่แซคคาไรด์ที่เคลือบบนผนังเซลล์ของแบคทีเรีย ทำให้สารกลายพันธุ์ที่มีโมเลกุลใหญ่สามารถซึมผ่านผนังเซลล์เข้าไปในตัวแบคทีเรียได้

- uvrB mutation คือ การทำให้แบคทีเรียขาดระบบซ่อมแซมดีเอ็นเอที่ผิดปกติ (loss of DNA excision repairing system) ดังนั้นเมื่อมีดีเอ็นเอกลายพันธุ์เกิดขึ้น จะไม่ถูกซ่อมแซมให้ดีเหมือนเดิมทำให้ดีเอ็นเอผิดปกตินี้ถูกนำไปถ่ายทอดได้

- R factor คือ การเติมพลาสมิด ชนิด pKM 101 หรือ pAQ1 เข้าไปในแบคทีเรียเพื่อช่วยให้แบคทีเรียมีความไวต่อการถูกเปลี่ยนแปลงโดยสารก่อกลายพันธุ์ได้มากขึ้น

นอกจากนี้ Ames' test ยังมีการเพิ่มระบบการกระตุ้นด้วยเอ็นไซม์ที่ได้จากตับหนู (S9 fraction) เข้าไปในการทดลองด้วย เนื่องจากสารแปลกปลอมที่เป็นพิษต่อร่างกายเมื่อเข้าไปในร่างกายต้องถูกเปลี่ยนแปลงโดยระบบเมแทบอลิซึมของร่างกาย ซึ่งเป็นการเปลี่ยนแปลงที่เกิดขึ้นเพื่อช่วยในการสลายความเป็นพิษต่อร่างกาย ขณะเดียวกันอาจเป็นการเปลี่ยนแปลงที่เป็นการกระตุ้นความเป็นพิษต่อร่างกาย ระบบนี้อาศัยเอ็นไซม์และโคแฟกเตอร์ที่อยู่ในเซลล์

การทดสอบสารก่อกลายพันธุ์โดยเติมเอ็นไซม์เข้าไป ทำให้สารก่อกลายพันธุ์ถูกกระตุ้นให้เกิดปฏิกิริยาได้โดยเอ็นไซม์ที่พบในร่างกาย ทั้งนี้เพราะแบคทีเรียไม่มีระบบการกระตุ้นดังกล่าว การทดสอบ Ames' test จึงคล้ายกับการจำลองสถานการณ์การเกิดเมแทบอลิซึมของสารพิษที่อาจเปลี่ยนแปลงดีเอ็นเอให้ผิดปกติไปได้เหมือนกับที่อาจเกิดในร่างกายมนุษย์ (อุษณีย์ วินิจเขตคำนวณ, 2534)

ในการทดสอบของเอมส์ (Ames'test) นิยมใช้แบคทีเรีย *Salmonella typhimurium* สายพันธุ์ TA 98 ทดสอบการเกิดการกลายพันธุ์แบบเปลี่ยนแปลง (เพิ่มหรือลด) จำนวนคู่เบสในดีเอ็นเอ (frameshift mutation) และสายพันธุ์ TA 100 ทดสอบการเกิดการกลายพันธุ์ที่ทำให้คู่เบส

เดิมถูกแทนที่โดยคู่เบสอื่น แต่จำนวนของคู่เบสยังคงเดิม (base-pair substitution mutation) (Mortelmans and Zeiger, 2000)

ข. 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 เพราะสามารถผลิตเอ็นไซม์ที่เกี่ยวข้องกับกระบวนการนี้ได้ ในขณะที่สายพันธุ์ชนิดหลังเป็นสายพันธุ์กลายพันธุ์ (mutant) จากสายพันธุ์ชนิดแรกที่ไม่สามารถผลิตเอ็นไซม์ดังกล่าว จึงทำให้ขาดคุณสมบัติในการซ่อมแซม DNA ที่ถูกทำลาย ดังนั้นสารที่สามารถก่อให้เชื้อสายพันธุ์ rec^- ตายง่ายขึ้น (เมื่อเทียบกับสายพันธุ์ rec^+) อาจแปลได้ว่าสารนั้นทำลาย DNAได้ หรือเป็นสารก่อกลายพันธุ์ (mutagen) (มาลิน จุลศิริ, 2534)

ค. การทดสอบไมโครนิวเคลียส (Micronucleus test)

การทดสอบไมโครนิวเคลียสเป็นวิธีทดสอบการกลายพันธุ์ทางอ้อม เพื่อดูความเสียหายที่เกิดขึ้นกับโครโมโซมเมื่อเซลล์สัตว์หรือเซลล์คนได้รับสารเคมี วิธีนี้สามารถตรวจสอบได้ทั้งสารเคมีชนิดที่ไปมีผลทำให้โครโมโซมแตกหัก (break) คือ สารพวก clastogens และสารเคมีที่ไปมีผลต่อสายใย (spindle apparatus) ทำให้สายใยทำหน้าที่ไม่ดีหรือไม่ก่อรูป (form) ขึ้นมา สารพวกนี้คือ พวก spindle poisoning agents การทดสอบวิธีนี้ทำได้ง่าย รู้ผลรวดเร็ว สะดวก ประหยัด และไม่ต้องการเครื่องมือที่มีราคาแพง สามารถทำได้ทั้งในหลอดทดลองและในสัตว์ทดลองรวมทั้งในคนด้วย

ไมโครนิวเคลียส คือ นิวเคลียสที่มีขนาดเล็กเป็นส่วนหนึ่งของนิวเคลียสใหญ่ (main nucleus) แตกและหลุดออกมาอยู่ในไซโตพลาสม เกิดขึ้นเมื่อนิวเคลียสได้รับภยันตรายจากสารเคมี เพราะฉะนั้นเนื้อของนิวเคลียสเล็ก คือ นิวเคลียสโครมาตินนั่นเอง ไมโครนิวเคลียสเกิดจากการที่โครโมโซมบางส่วนมีการแตกหักหลุดออกมา ส่วนที่แตกหักนี้ไม่กลับไปเชื่อมต่อกับส่วนของโครโมโซมที่มันหลุดออกมาเมื่อโครโมโซมมีการซ่อมแซม จึงทำให้โครโมโซมส่วนนี้หลุดลอยอยู่ในไซโตพลาสมเห็นเป็นนิวเคลียสเล็กๆ นอกจากนี้ยังเกิดได้โดยโครโมโซมตัวหนึ่งตัวใดไม่เคลื่อนที่ไปยังขั้วของมัน หรือเคลื่อนที่ไปช้ากว่าปกติ ในขณะที่เซลล์มีการแบ่งตัวอยู่ในระยะ anaphase ซึ่งเกิดเนื่องจากสายใยของมันได้รับความเสียหายทำให้ทำหน้าที่บกพร่อง ทำให้โครโมโซมตัวนี้ลอยอยู่ในไซโตพลาสม ไม่เข้าไปรวมตัวกับนิวเคลียสใหญ่ของเซลล์ลูก ไมโครนิวเคลียสส่วนใหญ่จะเห็นเป็นลักษณะกลม อาจมีลักษณะอื่นได้แต่น้อย ขอบเขตชัดเจนและเรียบติดสี

เช่นเดียวกับนิวเคลียสใหญ่แต่มีขนาดเล็กมาก ในสัตว์ปกติจะมีไมโครนิวเคลียสประมาณ 0.2-0.3% และ 1 ไมโครนิวเคลียส ต่อ 1 เซลล์ (ปัญญา เต็มเจริญ, 2534)

ง. การทดสอบ Dominant lethal test

Dominant lethal test เป็นการทดสอบที่จะใช้วัด genetic damage ของเซลล์สืบพันธุ์เป็นการทดสอบในตัวสัตว์ทดลองเพื่อศึกษาถึงความเสี่ยงของเซลล์สืบพันธุ์ต่อ mutagen ที่สงสัยอีกครั้งหนึ่งหลังจากที่ได้มีการศึกษาในหลอดทดลอง หรือการทดสอบ mutagenicity วิธีอื่นที่เหมาะสมมาแล้ว ผลลัพธ์ในแง่บวกที่ได้จากการใช้ dominant lethal test นี้จะช่วยบ่งบอกถึงหลักฐานเกี่ยวกับการทำลายของ mutagen ต่อเซลล์สืบพันธุ์ได้

การเกิด dominant lethal test จะเกิดในเซลล์สืบพันธุ์ (ไข่หรือสเปอร์ม) ก่อนที่จะเกิดการปฏิสนธิ และมีผลทำให้ไข่ที่ได้รับการปฏิสนธิแล้วหรือตัวอ่อนตายได้ในเวลาต่อมามากกว่าที่จะทำให้เกิดการทำงานผิดปกติของเซลล์สืบพันธุ์ ตัวอ่อนที่ผิดปกติเหล่านั้นจะไม่สามารถฝังตัวเข้ากับผนังมดลูก หรืออาจจะตายหลังจากที่มีการฝังตัวเข้ากับผนังมดลูกไปไม่นานส่งผลให้เห็นว่ามีร่องรอยของตัวอ่อนที่แท้งไป ในหนูทดลองร่องรอยนี้จะคงอยู่ตลอดการตั้งท้องโดยมีลักษณะเป็น mole ซึ่งจะคงอยู่ร่วมกับตัวอ่อนที่ยังมีชีวิตอยู่ (ยุทธนา สมิตะสิริ, 2534)

1.2.11 ประโยชน์และการประยุกต์ใช้วิธีการตรวจสอบสารก่อกลายพันธุ์หรือสารก่อมะเร็งระยะสั้น

วิธีการทดสอบสารก่อกลายพันธุ์หรือสารก่อมะเร็งระยะสั้นมีประโยชน์มาก นอกจากจะใช้เป็นวิธีทดสอบศักยภาพของสารเคมีในการที่จะก่อให้เกิดมะเร็ง (carcinogenic potential) หรือทำนายว่าสารเคมีชนิดนั้นๆ มีฤทธิ์ก่อมะเร็งหรือไม่แล้ว ยังสามารถนำไปใช้หรือประยุกต์ใช้เพื่อการศึกษาดังนี้ (วรรณี โรจนโพธิ์, 2534)

1. จัดอันดับความสำคัญของสารเคมีเพื่อทำการทดสอบฤทธิ์ก่อมะเร็งในสัตว์ทดลองในกรณีที่มีสารเคมีที่น่าสนใจจะทดสอบฤทธิ์ก่อมะเร็งอยู่หลายชนิด แต่ไม่สามารถจะทดสอบได้ทุกชนิด

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

3. ช่วยในการสังเคราะห์สารเคมีที่มีประโยชน์และไม่มีฤทธิ์ก่อมะเร็งหรือฤทธิ์ก่อกลายพันธุ์ สารเคมีบางชนิดมีคุณสมบัติใช้เป็นยารักษาโรคได้ แต่มีฤทธิ์ก่อมะเร็งหรือฤทธิ์ก่อ

กลายพันธุ์ ดังนั้นจึงมีการพยายามสังเคราะห์อนุพันธุ์ชนิดใหม่ที่ยังมีคุณสมบัติใช้รักษาโรคได้เหมือนเดิม แต่ไม่มีฤทธิ์ก่อมะเร็งหรือฤทธิ์ก่อกลายพันธุ์

4. ติดตามการได้รับหรือสัมผัสสารก่อมะเร็งหรือสารก่อกลายพันธุ์เป็นการใช้วิธีการทดสอบระยะสั้น ทดสอบสารก่อกลายพันธุ์ในเลือด ปัสสาวะ อุจจาระของคน ถ้าพบก็แสดงว่าผู้นั้นได้รับสารก่อมะเร็งหรือสารก่อกลายพันธุ์มาก่อน

5. ศึกษาคุณสมบัติต้านการกลายพันธุ์หรือต้านการเกิดมะเร็งของสารเคมี หรือส่วนสกัดจากพืช เช่น สมุนไพร ผัก ผลไม้ เครื่องเทศ เป็นต้น

6. ทดสอบคุณสมบัติของสารเคมีในการเป็นสารตั้งต้นสำหรับสารก่อมะเร็งหรือสารก่อกลายพันธุ์ประเภทไนโตรโซหรือไนโตรซามีน

7. ทำนายอวัยวะเป้าหมายของสารก่อมะเร็ง

8. ศึกษาเมแทบอลิซึมของสารก่อมะเร็งในสัตว์ทดลองและคน

1.2.12 ประเภทของการเก็บตัวอย่างมลพิษทางอากาศ

การเก็บตัวอย่างมลพิษทางอากาศแบ่งได้เป็น 3 ประเภท ได้แก่

ก. การเก็บตัวอย่างอากาศที่จุดใดจุดหนึ่ง (specific area sampling) การเก็บตัวอย่างประเภทนี้มีวัตถุประสงค์เพื่อตรวจหาแหล่งที่ปล่อยมลพิษออกมาสู่สิ่งแวดล้อม และเพื่อตรวจประสิทธิภาพของเครื่องมือควบคุมการปล่อยมลพิษจากกระบวนการผลิต

ข. การเก็บตัวอย่างอากาศในบริเวณที่ทำงานทั่วไป (general area sampling) มีวัตถุประสงค์เพื่อประเมินปริมาณมลพิษในสิ่งแวดล้อมซึ่งผู้ปฏิบัติงานสัมผัส หรือหายใจเข้าไปในช่วงเวลาการทำงาน

ค. การเก็บตัวอย่างอากาศที่บริเวณระดับการหายใจของผู้ปฏิบัติงาน (breathing zone sampling) เป็นการเก็บตัวอย่างในบริเวณรัศมี 1 ฟุต ห่างจากจมูกของผู้ปฏิบัติงาน การเก็บตัวอย่างโดยวิธีนี้อาจติดเครื่องมือเก็บตัวอย่างไว้ที่ตัวผู้ปฏิบัติงาน หรือผู้ทำการตรวจวัดเป็นผู้ถือเครื่องมือไว้ด้วย

1.2.13 กลวิธีการเก็บตัวอย่างมลพิษทางอากาศ

กลวิธีการเก็บตัวอย่างมลพิษทางอากาศแบ่งตามจำนวนและช่วงเวลาในการเก็บตัวอย่างได้เป็น 4 ประเภท คือ

ก. การเก็บตัวอย่างเพียงหนึ่งตัวอย่างตลอด 8 ชั่วโมง หรือตลอดช่วงเวลาการทำงาน (single sampling for full period) การเก็บตัวอย่างประเภทนี้จะสะท้อนถึงความเข้มข้นเฉลี่ยของมลพิษที่ผู้ปฏิบัติงานสัมผัสหรือหายใจเข้าไปตลอดเวลาการทำงาน แต่ต้องระวังการเกิดการเกาะของฝุ่นบนกระดาษกรองมากๆ ทำให้กระดาษกรองตันซึ่งจะทำให้อัตราการไหลของ

อากาศผ่านหน่วยเก็บตัวอย่างผิดพลาดได้ การเก็บตัวอย่างโดยวิธีนี้ไม่สามารถบอกช่วงเวลาที่ความเข้มข้นของมลพิษในอากาศสูงที่สุดได้

ข. การเก็บตัวอย่างหลายตัวอย่างต่อเนื่องกันในเวลา 8 ชั่วโมง หรือตลอดเวลาการทำงาน (consecutive sampling for full period) การเก็บตัวอย่างวิธีนี้ช่วยแก้ปัญหาการอุดตันของฝุ่นบนกระดาษกรองได้ และยังบอกช่วงเวลาที่ความเข้มข้นของมลพิษในอากาศสูงสุดได้

ค. การเก็บตัวอย่างต่อเนื่องมากกว่าหนึ่งตัวอย่างโดยระยะเวลาการเก็บตัวอย่างทั้งหมดน้อยกว่า 8 ชั่วโมง (consecutive sampling for partial period) เป็นการสุ่มเก็บตัวอย่างบางช่วงของการทำงาน เช่น เก็บ 2 ตัวอย่าง ตัวอย่างละ 2 ชั่วโมง ในช่วงเช้าและช่วงบ่าย เป็นวิธีการเก็บตัวอย่างที่นิยมใช้เมื่อจำนวนตัวอย่างมีมาก การเลือกเก็บตัวอย่างโดยวิธีนี้ช่วยประหยัดเวลาในการเก็บตัวอย่างและประหยัดค่าใช้จ่ายในการวิเคราะห์ตัวอย่าง

ง. การเก็บตัวอย่างในช่วงสั้นๆ หลายตัวอย่าง (grab sampling) เป็นการเก็บตัวอย่างอากาศโดยใช้ระยะเวลาการเก็บตัวอย่างสั้นๆ ไม่ควรเกินตัวอย่างละ 5 นาที ใช้เมื่อความเข้มข้นของมลพิษในอากาศมีสูงและคงที่ (วันทนีย์ พันธุ์ประสิทธุ์, 2542)

1.2.14 เอกสารงานวิจัยที่เกี่ยวข้อง

มีรายงานการทดสอบความสามารถก่อกลายพันธุ์ของสารประกอบ tetramethyl thiuram disulphide (TMTD) ซึ่งเป็นสารตัวเร่งชนิดหนึ่งที่ใช้เติมในกระบวนการผลิตยางรถยนต์ในโรงงานอุตสาหกรรม ซึ่งเป็นสารก่อกลายพันธุ์ต่อแบคทีเรีย *Salmonella typhimurium* สายพันธุ์ TA 98 (George and Kuttan, 1995)

มีการศึกษาการสัมผัสสารระเหยกลุ่ม nitrosamines ของคนงานจำนวน 709 คน ในโรงงานยางจำนวน 24 แห่ง ระหว่างปี ค.ศ.1992 – 1995 โดยทำการศึกษาในคนงานในพื้นที่ทั่วไปหรือบริเวณเฉพาะในสายการผลิตที่มีโอกาสสัมผัสสาร nitrosamines โดยการหายใจ ซึ่งพบว่าสาร *N*-nitrosodimethylamine เป็นสารที่พบบ่อยที่สุดในกลุ่มของสาร nitrosamines ทั้งหมด และพบว่าคนงานจำนวน 141 คน สัมผัสสารนี้เกินค่ามาตรฐาน TRK (Technische Richtkonzentration) ซึ่งเป็นค่ามาตรฐานของประเทศเยอรมนีที่กำหนดไว้ไม่เกิน 2.5 $\mu g/m^3$ (Oury *et al*., 1997)

มีการตรวจสอบโดยสำนักงานเครื่องมือแพทย์ในประเทศอังกฤษเกี่ยวกับอันตรายที่อาจเกิดขึ้นกับสุขภาพของคนจากสารเคมีกลุ่ม dithiocarbamate ที่ผสมเป็นตัวเร่งในผลิตภัณฑ์น้ำยาง (วัตถุดิบหลักของถุงมือ) ซึ่งทำการทดสอบในหลอดทดลองโดยใช้แบคทีเรีย *Salmonella typhimurium* สายพันธุ์ TA 1535, TA 1537, TA 98 และ TA 100 และทำการทดสอบในหนูด้วย พบว่าสาร zinc dimethyldithiocarbamate (ZDMC) ให้ผลก่อกลายพันธุ์ทั้งในแบคทีเรีย *Salmonella*

typhimurium และในหนู ส่วนสาร zinc diethyldithiocarbamate (ZDEC) ให้ผลก่อกลายพันธุ์กับแบคทีเรีย *Salmonella typhimurium* แต่ไม่ก่อกลายพันธุ์กับหนู (Tinkler *et al*., 1998)

มีรายงานการนำฝุ่นในโรงงานยางพาราบริเวณที่มีการผสมยางและการรีดยาง (mixing, weighing, calendering, compounding and extruding) มาทดสอบหาสารก่อกลายพันธุ์ด้วยวิธี Ames' test โดยใช้เชื้อ *Salmonella typhimurium* สายพันธุ์ TA 98, TA 98NR, TA 100 และ YG 1021 ทั้งในสภาวะที่ถูกและไม่ถูกกระตุ้นด้วยเอ็นไซม์ ซึ่งพบว่าทำให้ *Salmonella typhimurium* เกิดการกลายพันธุ์แบบ frameshift mutation เมื่อทำการวิเคราะห์ด้วยวิธี high performance liquid chromatography (HPLC) พบสาร polycyclic aromatic hydrocarbons (PAHs) และเมื่อวิเคราะห์ด้วยวิธี gas chromatography-mass spectrometry (GC-MS) พบสารประกอบของ azulene derivative, 1,2-dihydro-2,2,4-trimethylquinoline, *N*-methyl *N*-phenylbenzenamine, diphenylamine, bis(2-ethylhexyl)-phthalate และ bis(methyl-propyl)-phthalate (Fracasso *et al*., 1999)

ในปี ค.ศ. 1999 มีการศึกษาปัจจัยเสี่ยงที่ทำให้เกิดการตายจากโรคมะเร็งช่องท้องและมะเร็งปอดในคนงาน โดยทำการศึกษาในคนงานเพศชายของโรงงานอุตสาหกรรมยางในประเทศเยอรมนี จำนวน 11,633 คน ทำการศึกษาตั้งแต่เดือนมกราคม 1981 จนถึงธันวาคม 1991 โดยศึกษาในพื้นที่ 6 แห่งภายในโรงงาน ได้แก่ การเตรียมวัตถุดิบ ผลิตภัณฑ์ยาง ผลิตภัณฑ์ล้อยางรถยนต์ การเก็บและขนส่ง การซ่อมบำรุง และบริเวณอื่นๆ พบว่ามีคนงานในพื้นที่การเตรียมวัตถุดิบตายด้วยโรคมะเร็งช่องท้องและมะเร็งปอด สำหรับคนงานในพื้นที่ผลิตภัณฑ์ยางและพื้นที่ผลิตภัณฑ์ล้อยางรถยนต์ตายด้วยโรคมะเร็งปอด โดยเฉพาะจุดชั่งน้ำหนักและจุดผสม ซึ่งชี้ให้เห็นถึงปัจจัยเสี่ยงที่ทำให้เกิดการตาย นั่นคือ asbestos และ carbon black (Straif *et al*., 1999)

มีการศึกษานำฝุ่นและควันในบริเวณรอบๆที่มีการผสมและบริเวณแผนกต่างๆ ของโรงงานผลิตยางรถ 2 แห่ง ในประเทศเนเธอร์แลนด์และประเทศสวีเดน เพื่อทดสอบหาสารก่อกลายพันธุ์ที่อยู่ในฝุ่นและควัน โดยใช้ *Salmonella typhimurium* สายพันธุ์ YG1021, YG1024 และ YG1041 พบว่าในฝุ่นและควันของโรงงานผลิตยางรถทั้ง 2 แห่ง มีสารก่อกลายพันธุ์กลุ่ม nitroarenes และ aromatic amines (Vermeulen *et al*., 2000)

มีรายงานการตรวจหาสารก่อกลายพันธุ์หรือสารก่อมะเร็งของมลภาวะทางอากาศของโรงงานยาง 4 แห่ง โดยใช้วิธี Ames' test และดูความเสียหายของ DNA ของเม็ดเลือดขาวในคนและวิเคราะห์ด้วยวิธี gas chromatography-mass spectrometry พบว่าอนุภาคของอากาศส่วนใหญ่ประกอบด้วย nitrosamine และ polycyclic aromatic hydrocarbons ซึ่งมีความสามารถในการก่อกลายพันธุ์ด้วย (Monarca *et al*., 2001)

มีการประเมินการได้รับสาร butadiene ในคนงานโรงงานยางสังเคราะห์ใน Texas โดยใช้ปริมาณการกลายพันธุ์ของ *hprt* ในเม็ดเลือดขาว ซึ่งพบว่า 1,3-butadiene (BD) ที่ใช้ในโรงงานสังเคราะห์ยางเป็นสารก่อกลายพันธุ์และสารก่อมะเร็ง เพราะที่ผ่านมาพบว่าโรคที่เกิดจากการสัมผัสสารมีความสัมพันธ์กับความเสี่ยงที่เพิ่มขึ้นในการเป็นโรคมะเร็งในเลือด (Jonathan *et al*., 2001)

มีการศึกษาการสัมผัสสารก่อกลายพันธุ์ในโรงงานผลิตภัณฑ์ยางของประเทศเนเธอร์แลนด์ โดยทำการศึกษาในโรงงานผลิตภัณฑ์ยาง 9 แห่ง (โรงงานยางรถยนต์ 3 แห่ง โรงงานยางทั่วไป 5 แห่ง และโรงงานหล่อดอกยาง 1 แห่ง) ผลการศึกษาใน total suspended particulate matter (TSPM) ในอากาศ โดยใช้วิธีทดสอบการกลายพันธุ์แบบ Ames' test ใน *Salmonella typhimurium* สายพันธุ์ YG1041 พบว่า TSPM มีฤทธิ์ก่อกลายพันธ์อยู่ในระดับสูง (Vermeulen *et al*., 2001)

มีการศึกษาหาสารก่อกลายพันธุ์ในปัสสาวะของคนงานในโรงงานยางที่ได้รับสารก่อกลายพันธุ์โดยการสูดดมและสัมผัสทางผิวหนัง ซึ่งพบว่าคนงานที่ได้รับสารโดยการสัมผัสทางผิวหนังจะทำให้มีสารก่อกลายพันธุ์ในปัสสาวะเพิ่มขึ้น (Vermeulen *et al*., 2003)

ในปี ค.ศ. 2003 มีการศึกษาความสามารถก่อกลายพันธุ์แบคทีเรีย *Salmonella typhimurium* ด้วยวิธี Ames' test ของน้ำเสียจากโรงงานอุตสาหกรรมในเมือง Aligarh น้ำผิวดินบริเวณที่มีโรงงานอุตสาหกรรมในเมือง Aligarh และน้ำในแม่น้ำ Yamuna ประเทศอินเดีย พบว่าแบคทีเรีย *Salmonella typhimurium* สายพันธุ์ TA 98 และ TA 100 มีความไวที่สุดในการทดสอบ (Siddiqui and Ahmad, 2003)

สำหรับในประเทศไทยมีการนำวิธี Ames' test มาใช้ในการทดสอบหาสารก่อกลายพันธุ์ในน้ำของลำน้ำพอง 6 จุด โดยใช้แบคทีเรีย *Salmonella typhimurium* สายพันธุ์ TA 98 ซึ่งพบว่าไม่มีฤทธิ์ก่อกลายพันธุ์ทั้ง 6 จุด (ศิริลักษณ์ พาชนิด, 2545)

1.5 วัตถุประสงค์

เพื่อศึกษาหาฤทธิ์ก่อกลายพันธุ์ของสารแขวนลอยในอากาศในบรรยากาศการทำงานของคนงานผลิตถุงมือยางในจังหวัดสงขลา

1.6 ประโยชน์ที่คาดว่าจะได้รับ

1.4.1 เป็นข้อมูลสำหรับการประเมินผลกระทบต่อสุขภาพของคนงานโรงงานอุตสาหกรรมผลิตถุงมือยาง

1.4.2 เป็นข้อมูลสำหรับเจ้าหน้าที่หรือหน่วยงานที่เกี่ยวข้องในการออกมาตรการในการควบคุมและป้องกันการสัมผัสสารเคมีในบรรยากาศการทำงานของคนงานโรงงานอุตสาหกรรมผลิตถุงมือยาง

1.4.3 เป็นข้อมูลให้โรงงานนำไปใช้ในการปรับปรุงกระบวนการผลิตเพื่อลดความเสี่ยงต่อคนงาน

บทที่ 2

วิธีการวิจัย

2.1 วัสดุ

วัสดุที่ใช้ในการศึกษาวิจัยครั้งนี้ประกอบด้วย เชื้อที่ใช้ทดสอบ อาหารเลี้ยงเชื้อสำหรับเลี้ยงเชื้อแบคทีเรีย รวมทั้งสารเคมีที่ใช้ในห้องปฏิบัติการ มีรายละเอียดดังนี้

2.1.1 เชื้อที่ใช้ทดสอบ และอาหารเลี้ยงเชื้อสำหรับเลี้ยงเชื้อแบคทีเรีย

- *Salmonella typhimurium* strain TA 98 และ TA 100
- Oxoid nutrient broth No.2 (Oxoid, England)
- Bacto agar (Difco, France)

2.1.2 สารเคมี

- Dichloromethane (DCM) (Merck, Germany)
- Acetone (BDH, England)
- β-Nicotinamide adenine di-nucleotide (β-NADP) (Sigma, USA.)
- β-D-Glucose-6-phosphate sodium salt (Sigma, England)
- Citric acid, monohydrate (Sigma, Australia)
- D-Biotin (Sigma, HongKong)
- Glucose, anhydrous (Sigma, China)
- Glycerol (Sigma, USA)
- K_2HPO_4 anhydrous (Ajax, Australia)
- L-Histidine.HCl.H_2O (Sigma, USA.)
- Na_2HPO_4 (Merck, 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)
- $MgSO_4.7H_2O$ (Merck, Germany)

- Ampicillin (Sigma, USA.)
- NaCl (Sigma, USA.)
- 2-(2-Furyl-3-(5-nitro-2-furyl) acrylamide) (AF-2) (Wako, Japan)
- 2-Aminoanthracene (2-AA) (Sigma, USA.)
- S9 fraction
- Crystal violet
- 70% Ethanol

2.1.3 อื่นๆ

- Sterile distilled water
- Autoclave tape
- Alumium foil

2.2 อุปกรณ์

เครื่องมืออุปกรณ์ที่ใช้ในการวิจัยครั้งนี้ ประกอบด้วยอุปกรณ์ที่ใช้ในการเก็บตัวอย่างอากาศและอุปกรณ์ที่ใช้ในการวิเคราะห์หาสารก่อกลายพันธุ์

2.2.1 อุปกรณ์เก็บตัวอย่างอากาศ

- ปั๊มเก็บตัวอย่างอากาศส่วนบุคคล (personal air sampling pump) ยี่ห้อ Gilian รุ่น GilAir 5
- กระดาษกรอง fiber glass เส้นผ่าศูนย์กลาง 37 มิลลิเมตร
- ตลับเก็บตัวอย่าง (cassette)
- เครื่องชั่งไฟฟ้าทศนิยม 5 ตำแหน่ง

2.2.2 อุปกรณ์วิเคราะห์หาสารก่อกลายพันธุ์

- นาฬิกาจับเวลา
- กล้องจุลทรรศน์ (microscope)
- หม้อนึ่งความดันไอน้ำ (autoclave)
- ตู้บ่มเชื้อ (incubator) อุณหภูมิ 37°C
- เครื่องอังไอน้ำ (water bath) อุณหภูมิ 45°C
- เครื่องอังไอน้ำ (water bath) แบบเขย่า อุณหภูมิ 37°C
- ตู้อบความร้อน (hot air oven)
- เตาไฟฟ้าพร้อมระบบแม่เหล็ก (hot plate / magnetic stirrer)

- ตู้เย็น (refrigerator) อุณหภูมิ 4°C, ตู้เยือกแข็ง (freezer) อุณหภูมิ -20°C และ อุณหภูมิ -70°C
- เครื่องชั่งไฟฟ้าทศนิยม 2 ตำแหน่ง
- เครื่องชั่งไฟฟ้าทศนิยม 4 ตำแหน่ง
- เครื่องวัดความยาวคลื่นของแสง (spectrophotometer)
- Micropipette พร้อม tip
- Serological pipette
- Pipette
- จานเลี้ยงเชื้อ (petri dish)
- ห่วงเขี่ยเชื้อ (wire loop)
- ขวดใส่สาร (reagent bottle)
- หลอดทดลอง ขนาด 16x100 mm พร้อมฝาปิด
- L-shaped culture tube
- ที่วางหลอดทดลอง (rack)
- Forceps
- Cryotube
- ตะเกียงแก๊ส
- ปากกาเขียนฉลากบนเครื่องแก้ว
- Reagent bottle
- Volumetric flask
- ถุงมือยาง
- บีกเกอร์ (beaker)
- กระบอกตวง
- เตาอบไมโครเวฟ
- ขวดสกัดตัวอย่าง
- เครื่องนับจำนวนโคโลนี
- Shaker ใช้สำหรับ incubate เชื้อ

2.3 วิธีดำเนินการ

2.3.1 การเก็บตัวอย่าง

เก็บตัวอย่างอากาศในระดับการหายใจของคนงานในโรงงานอุตสาหกรรมผลิตถุงมือยาง 3 แห่งในจังหวัดสงขลา เนื่องจากต้องการศึกษาการสัมผัสอากาศของคนงานในขณะทำงาน โดยทำการติดเครื่องมือเก็บตัวอย่างอากาศส่วนบุคคล (Gilian รุ่น GilAir 5) ที่มีอัตราการไหล 1.7 ลิตรต่อนาที ± 5 % (NIOSH, 1998) ประกอบด้วยไซโคลนชนิดไนลอนขนาดเล็กติดกับปกเสื้อของคนงานที่กำลังทำงานใน 3 แผนก คือ แผนกผสมวัตถุดิบ (compounding) แผนกผลิตถุงมือ (production) และแผนกบรรจุหีบห่อ (packing) และตลับบรรจุกระดาษกรองที่ทำด้วย fiber glass ที่มีเส้นผ่าศูนย์กลาง 37 มิลลิเมตร และมีขนาดรูกรอง 1.2 ไมโครเมตร เก็บตัวอย่างอากาศเป็นเวลา 2 วันๆ ละ 8 ชั่วโมง ทำการเก็บตัวอย่างแผนกละ 2 ตัวอย่าง เดือนละ 1 ครั้ง เป็นเวลา 3 เดือนติดต่อกัน ซึ่งเป็นการเก็บตัวอย่างที่เป็นตัวแทนของการผลิตตลอดปีเนื่องจากการผลิตถุงมือยางของโรงงานทั้ง 3 แห่ง มีความสม่ำเสมอตลอดทั้งปี

2.3.2 การสกัดตัวอย่าง

นำกระดาษกรองที่เก็บตัวอย่างอากาศด้วยเครื่องเก็บตัวอย่างอากาศส่วนบุคคลแล้วทั้ง 2 วันมาสกัดรวมกันด้วยสาร dichloromethane (DCM) 20 ml เขย่านาน 30 นาที จำนวน 3 ครั้ง และสกัดด้วย acetone 1 ครั้ง หลังจากนั้นนำสารละลายที่ได้ไประเหยจนแห้งที่อุณหภูมิห้อง

2.3.3 การตรวจสอบคุณสมบัติของแบคทีเรีย

2.3.3.1. การตรวจ histidine requirement

<u>สิ่งที่ต้องเตรียม</u>

1) สารละลายไบโอติน 1 มิลลิโมล่าร์ ที่ปลอดเชื้อ

2) สารละลายฮิสทีดีน 1 มิลลิโมล่าร์ ที่ปลอดเชื้อ

3) สารละลาย top agar ที่มีส่วนผสมและอัตราส่วน ดังนี้

Bacto agar	0.6	กรัม
NaCl	0.5	กรัม
น้ำกลั่น	100	มิลลิลิตร

สารละลายผสมนี้จะนึ่งให้ปลอดเชื้อ

4) จานอาหารเลี้ยงเชื้อ (minimal glucose agar plate)

<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 แล้วนำไปไว้ในตู้อบที่มีอุณหภูมิ 37 °C โดยเก็บในลักษณะที่ตั้งจานเลี้ยงเชื้อกลับด้าน (invert) เป็นเวลา 48 ชั่วโมง

5) เตรียมหลอดทดลองเช่นเดียวกันกับข้อ 1 อีกครั้ง

6) เติม 0.1 มิลลิลิตร สารละลายฮิสทีดีนลงไปด้วย เขย่า

7) เติม 2 มิลลิลิตร สารละลาย top agar (อุณหภูมิ 45°C) เขย่าแล้วเทลงใน minimal glucose agar plate หลังจากนั้นนำไปไว้ในตู้อบเช่นเดียวกัน

8) ต้องไม่มีโคโลนีให้เห็นในจานอาหารเลี้ยงเชื้อในข้อ 4 แต่จะเห็นโคโลนีในจานอาหารเลี้ยงเชื้อ ข้อ7

2.3.3.2. การตรวจ rfa mutation

<u>สิ่งที่ต้องเตรียม</u>

1) สารละลาย crystal violet เข้มข้น 1 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร

2) กระดาษกรองตัดเป็นวงกลมขนาดเส้นผ่าศูนย์กลาง 6-8 มิลลิลิตร ผ่านการฆ่าเชื้อแล้ว

3) สารละลาย top agar ที่นึ่งให้ปลอดเชื้อ ในการทดลองต้องให้อุณหภูมิประมาณ 45°C และเติมสารละลายผสมของ 0.5 มิลลิโมล่าร์ฮิสทีดีนและไบโอติน ลงไปในอัตราส่วน 10 มิลลิลิตรต่อ 100 มิลลิลิตรของ top agar

<u>วิธีทำ</u>

1) ใส่ 0.1 มิลลิลิตร overnight culture ของแบคทีเรียลงในหลอดที่ปราศจากเชื้อ

2) เติม 2 มิลลิลิตร top agar (อุณหภูมิ 45°C) ลงไปเขย่าในอุ้งมือ แล้วเทลงใน minimal glucose agar plate ตั้งทิ้งไว้ 30 นาที จนผิวของวุ้นแข็ง

3) ใช้ปากคีบที่ปราศจากเชื้อ ค่อยๆวางกระดาษกรองที่เตรียมไว้ โดยกดลงบนผิววุ้นเล็กน้อย

4) หยดสารละลาย crystal violet 10 ไมโครลิตรลงบนกระดาษกรอง

5) นำ plate ไปวางแบบกลับด้านในตู้อบอุณหภูมิ 37°C เป็นเวลา 12-24 ชั่วโมง

6) หลังจากนั้นนำ plate ออกมาตรวจดูการเจริญเติบโตของแบคทีเรีย ให้สังเกตว่ารอบๆ กระดาษกรองที่หยด crystal violet จะเห็นเป็นวงกลมลักษณะใส เรียกว่า clear zone เนื่องจากส่วนนี้จะไม่มีแบคทีเรียเจริญ ให้วัดเส้นผ่าศูนย์กลางของวงกลมนี้ ควรมีขนาดประมาณ 12-14 มิลลิลิตร จึงจะถือว่าแบคทีเรียมี rfa mutation อยู่ ถ้าเกิดวงกลมที่มีขนาดเล็กกว่านี้ แสดงว่าแบคทีเรียนั้นมีความผิดปกติของคุณสมบัติ เช่น อาจสูญเสีย rfa mutation ควรพิจารณาเตรียมแยก single colony ใหม่

2.3.3.3. การตรวจ R-factor

<u>สิ่งที่ต้องเตรียม</u>

1) สารละลาย ampicillin เข้มข้น 50 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร

2) กระดาษกรองตัดเป็นวงกลมขนาดเส้นผ่าศูนย์กลาง 6-8 มิลลิเมตร ผ่านการฆ่าเชื้อแล้ว

3) สารละลาย top agar ที่นึ่งให้ปลอดเชื้อ ในการทดลองต้องให้อุณหภูมิประมาณ 45°C และเติมสารละลายผสมของ 0.5 มิลลิโมล่าร์ฮิสทีดีนและไบโอติน ลงไปในอัตราส่วน 10 มิลลิลิตรต่อ 100 มิลลิลิตรของ top agar

<u>วิธีทำ</u>

1) ใส่ 0.1 มิลลิลิตร overnight culture ของแบคทีเรียลงในหลอดทดลองที่ปราศจากเชื้อ

2) เติม 2 มิลลิลิตร top agar (อุณหภูมิ 45°C) ที่มีส่วนผสมฮิสทีดีนและไบโอติน เขย่าในอุ้งมือแล้วเทลงใน minimal glucose agar plate ตั้งทิ้งไว้ 30 นาที จนผิวของวุ้นแข็ง

3) ใช้ปากคีบที่ปราศจากเชื้อ ค่อยๆ วางกระดาษกรองที่เตรียมไว้ โดยกดลงบนผิววุ้นเล็กน้อย

4) หยดสารละลาย ampicillin 10 ไมโครลิตรลงบนกระดาษกรอง

5) นำ plate ไปวางแบบกลับด้านในตู้อบอุณหภูมิ 37°C เป็นเวลา 12-24 ชั่วโมง

6) หลังจากนั้นนำ plate ออกมาตรวจดูการเจริญเติบโตของแบคทีเรีย ให้สังเกตว่ารอบๆ ampicillin disk ไม่ควรจะเกิด clear zone ถ้าเกิดแสดงว่า

ยา ampicillin ไปฆ่าแบคทีเรียรอบๆ จึงไม่มีการเจริญ แสดงว่าแบคทีเรียขาดคุณสมบัติการมี R-factor

2.3.3.4. การตรวจสอบฤทธิ์ก่อกลายพันธุ์โดยสารก่อกลายพันธุ์มาตรฐาน (sensitivity to standard mutagens)

สิ่งที่ต้องเตรียม

1) สารละลายฟอสเฟตบัฟเฟอร์ 0.2 โมล่าร์, pH 7.4

2) สารก่อกลายพันธุ์มาตรฐาน

3) สารละลายผสมเอ็นไซม์ (S9 mixture)

4) Overnight culture ของแบคทีเรีย TA 98 และ TA 100

5) สารละลาย top agar ที่นึ่งให้ปลอดเชื้อ อุณหภูมิประมาณ 45°C ซึ่งเติมสารละลายผสมของ 0.5 มิลลิโมล่าร์ ฮิสทีดีนและไบโอติน ลงในอัตราส่วน 10 มิลลิลิตรต่อ 100 มิลลิลิตรของ top agar

6) Minimal glucose agar plate

วิธีทำ

1) ผสม 0.05 มิลลิลิตร ของสารก่อกลายพันธุ์มาตรฐานกับ 0.5 มิลลิลิตร สารละลายฟอสเฟตบัฟเฟอร์ เมื่อไม่ต้องการกระตุ้นด้วยเอ็นไซม์ หรือ 0.5 มิลลิลิตร สารละลายผสมเอ็นไซม์ (S9 mixture) เมื่อต้องการการกระตุ้นด้วยเอ็นไซม์

2) เติม 0.1 มิลลิลิตร overnight culture ของแบคทีเรียลงไป เขย่าให้เข้ากัน

3) เติม 2 มิลลิลิตร top agar (อุณหภูมิ 45°C) ซึ่งเติมสารละลายผสมฮิสทีดีนและไบโอตินลงไปแล้วเขย่าโดยหมุนไปมาในอุ้งมือ 4-5 วินาที

4) เทลงใน minimal glucose agar plate รอจนผิววุ้นแข็ง จึงนำไปไว้ในตู้อบอุณหภูมิ 37°Cโดยวางแบบกลับด้านเป็นเวลา 48 ชั่วโมง

5) เมื่อครบ 48 ชั่วโมง นำไปนับจำนวน revertant colonies

6) จำนวน revertant colonies ที่เกิดจากสารก่อกลายพันธุ์มาตรฐานจำนวนจริง คือจำนวนที่ต้องหักลบด้วยค่า spontaneous revertant colony ทุกครั้ง

2.3.3.5. การตรวจการกลายพันธุ์ของแบคทีเรียที่มีตามธรรมชาติ

สิ่งที่ต้องเตรียม

1) สารละลายฟอสเฟตบัฟเฟอร์ 0.2 โมล่าร์, pH 7.4

2) สารละลายผสมเอ็นไซม์ (S9 mixture)

3) Overnight culture ของแบคทีเรีย TA 98 และ TA 100

4) สารละลาย top agar ที่นึ่งให้ปลอดเชื้อ อุณหภูมิประมาณ 45°C ซึ่งเติมสารละลายผสมของ 0.5 มิลลิโมล่าร์ ฮิสทีดีนและไบโอติน ลงไปในอัตราส่วน 10 มิลลิลิตรต่อ 100 มิลลิลิตรของ top agar

5) Minimal glucose agar plate

<u>วิธีทำ</u>

1) ใส่ 0.1 มิลลิลิตร overnight culture ของแบคทีเรียลงในหลอดทดลองที่ปราศจากเชื้อ เติม 0.5 มิลลิลิตร สารละลายฟอสเฟตบัฟเฟอร์ pH 7.4

2) เติม 2 มิลลิลิตร top agar (อุณหภูมิ 45°C) ที่มีส่วนผสมฮิสทีดีนและไบโอติน เขย่าในอุ้งมือแล้วเทลงใน minimal glucose agar plate ตั้งทิ้งไว้ 30 นาที จนผิวของวุ้นแข็ง

3) เตรียมหลอดทดลองที่มี 0.1 มิลลิลิตร overnight culture ของแบคทีเรียอีกครั้ง

4) เติม 0.5 มิลลิลิตร สารละลายเอ็นไซม์ (S9 mixture)

5) เติม 2 มิลลิลิตร top agar (อุณหภูมิ 45°C) ที่มีส่วนผสมฮิสทีดีนและไบโอติน เขย่าในอุ้งมือแล้วเทลงใน minimal glucose agar plate ตั้งทิ้งไว้ 30 นาที จนผิวของวุ้นแข็ง

6) นำ plate ทั้งหมดไปวางแบบกลับด้านในตู้อบอุณหภูมิ 37°C เป็นเวลา 48 ชั่วโมง

7) นับจำนวนโคโลนีที่เห็นด้วยตาเปล่า ซึ่งเป็น spontaneous revertant colony

8) Spontaneous revertant colony ที่นับได้จาก plate ข้อ 2 เป็นค่าที่ไม่มีการกระตุ้นด้วยเอ็นไซม์ S9 mixture ส่วนค่าของ plate ข้อ 5 เป็นค่า spontaneous revertant colony เมื่อมี S9 mixture

2.3.4 การแยกแบคทีเรียใหม่ (Reisolation of tester strain)

<u>สิ่งที่ต้องเตรียม</u>

1) สารละลายฮิสทีดีน เข้มข้น 5 มิลลิโมล่าร์ และไบโอตินเข้มข้น 0.5 มิลลิโมล่าร์

2) สารละลาย ampicillin ในปริมาณ 750 ไมโครกรัมต่อ plate

3) Glycerol

4) Minimal glucose agar plate

<u>วิธีทำ</u>

1) นำ frozen permanent copy ของแบคทีเรียสายพันธุ์ที่แยกโคโลนีเดี่ยวออกมา 1 หลอดจาก -80°C

2) เตรียม minimal glucose agar plate ที่เคลือบด้วย 0.2 มิลลิลิตร สารละลายฮิสทีดีนเข้มข้น 5 มิลลิโมล่าร์ และไบโอตินเข้มข้น 0.5 มิลลิโมล่าร์

3) เมื่อผิววุ้นแข็งได้ที่แล้ว เคลือบผิววุ้นอีกครั้งด้วย spread สารละลาย ampicillin ในปริมาณ 750 ไมโครกรัม ต่อ plate ทิ้งไว้ประมาณ 30 นาที

4) หลังจากนั้นใช้ wire loop แตะ frozen permanent copy ของแบคทีเรียแล้ว streak ไปมาบน agar เพื่อให้ได้ single colony

5) นำ plate ไปวางแบบกลับด้านในตู้อบอุณหภูมิ 37°C เป็นเวลา 48 ชั่วโมง

6) เมื่อครบ 48 ชั่วโมง นำ plate ออกมา ใช้ wire loop แตะบนโคโลนีเดี่ยวที่เด่นชัดสุด (well-isolated colony) นำไปเลี้ยงใน oxoid nutrient broth 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 glycerol 30% ลงไปอัตราส่วน culture 0.5 มิลลิลิตร ต่อ glycerol 30 % 0.5 มิลลิลิตร เขย่าให้เข้ากันก่อนจะเก็บเป็น aliquot) ส่วนที่เหลือของ overnight culture นำไปตรวจสอบคุณสมบัติที่จำเป็นทั้งหมดได้แก่ histidine requirement, rfa mutation, R-factor, spontaneous reversion และ sensitive ต่อสารก่อกลายพันธุ์

8) Aliquot ที่แยกจาก single colony แต่ละโคโลนีที่มีคุณสมบัติครบถ้วน เก็บเป็น master copies ที่ -80°C หรือ master plate สำหรับใช้ประจำระหว่างทดลอง ส่วน aliquot ใดๆ ที่ได้จาก single colony ที่มีคุณสมบัติไม่ครบควรจะทิ้งไป 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) ให้ถูกต้องและควรให้แตกต่างจากเครื่องหมายของ permanent copy เมื่อจะใช้ในการทดลองแต่ละครั้งก็เอามาเตรียมเป็น overnight culture สำหรับทดสอบได้เลย

2.3.5 การทดสอบการก่อกลายพันธุ์แบคทีเรีย

2.3.5.1 นำสารตัวอย่างที่ได้จากการสกัดด้วย DCM มาละลายด้วย DMSO ปริมาตร 500 µl เพื่อใช้ในการทดสอบการก่อกลายพันธุ์

2.3.5.2 การทดสอบฤทธิ์ก่อกลายพันธุ์โดยใช้วิธีการของ Ames (Dorothy and Ames, 1984) ดังนี้ ใช้ตัวอย่าง 50 µl (test) หรือ DMSO 50 µl (negative control) ผสมกับ 0.1 ml overnight broth culture ของแบคทีเรีย *Salmonella typhimurium* สายพันธุ์ TA 98 หรือ TA 100 และเติมสารละลายเอ็นไซม์จากตับหนู (S9 mixture) 0.5 ml (S9 mixture 1 ml ประกอบด้วย S9 fraction 0.04 ml, 1.65 M KCl-0.4 M $MgCl_2$ 0.02 ml, 1 M glucose-6-phosphate 0.005 ml, 0.1 M NADP 0.04 ml, 0.2 M sodium phosphate buffer, pH 7.4 0.5 ml และน้ำกลั่น 0.395 ml) อุ่นและเขย่าที่อุณหภูมิ 37°C นาน 30 นาที จากนั้นเติม 2 ml molten top agar (ประกอบด้วย 0.6% agar, 0.5% NaCl และ 0.5 mM histidine-biotin) ซึ่งแช่ไว้ที่อุณหภูมิ 45°C ผสมให้เข้ากัน แล้วเทลงบนจานเลี้ยงเชื้อที่มี minimal glucose agar (ประกอบด้วย 10% Vogel-Bonner medium E, 2% glucose และ 1.5% agar) ที่เตรียมไว้ ทิ้งไว้ที่อุณหภูมิห้อง 30 นาที จน top agar แข็งตัวแล้วนำไปบ่มในตู้อบที่อุณหภูมิ 37°C เป็นเวลา 48 ชั่วโมง นับจำนวน colony ที่เกิดขึ้น

ทำการทดลองซ้ำ แต่เป็นการทดสอบตัวอย่างในสภาวะที่ไม่มีการกระตุ้นปฏิกิริยาด้วยเอนไซม์ (สภาวะที่ไม่ใช้ S9 mixture) โดยการใส่ 0.2 M phosphate buffer pH 7.4 ปริมาตร 0.5 ml แทน S9 mixture

การทดสอบตัวอย่างควบคุมบวก (positive control) ในสภาวะที่ใช้ S9 mixture ใช้สารก่อกลายพันธุ์มาตรฐาน 2-aminoanthracene (2-AA) ที่ความเข้มข้น 0.125 µg/plate สำหรับสายพันธุ์ TA 98 และสายพันธุ์ TA 100 ส่วนในสภาวะที่ไม่ใช้ S9 mixture ใช้สาร 2-(2-Furyl-3-(5-nitro-2-furyl) acrylamide) (AF-2) ที่ความเข้มข้น 0.2 µg/plate สำหรับสายพันธุ์ TA 98 และที่ความเข้มข้น 0.01 µg/plate สำหรับสายพันธุ์ TA 100 ซึ่งเชื้อมาตรฐาน 2 สายพันธุ์นี้ได้ผ่านการทดสอบแล้วว่ามีความไวต่อสารก่อกลายพันธุ์มาตรฐาน

การทดสอบทุกครั้งทำ 2 ซ้ำ (duplicate) อ่านผลการทดลองโดยการนับจำนวนโคโลนีกลายพันธุ์ที่ปรากฏในแต่ละ plate (revertant colonies/plate) และนำค่าเฉลี่ยมาหารด้วยจำนวนโคโลนีกลายพันธุ์ที่เกิดขึ้นเองตามธรรมชาติ (spontaneous revertants, SR) ที่อ่านผลจาก negative control plate ได้เป็นค่า mutagenic activity ratio (MAR) การแปลผลที่แสดงว่าตัวอย่างมีฤทธิ์ก่อกลายพันธุ์ คือ มีค่า MAR มากกว่า 2

บทที่ 3

ผลการทดลองและวิจารณ์

การศึกษาหาฤทธิ์ก่อกลายพันธุ์ของฝุ่นในอากาศในบรรยากาศการทำงานของคนงานโรงงานอุตสาหกรรมผลิตถุงมือยางในจังหวัดสงขลา โดยเก็บตัวอย่างอากาศที่ระดับการหายใจของคนงาน และนำมาทดสอบฤทธิ์ก่อกลายพันธุ์ด้วยวิธี Ames' test ซึ่งใช้แบคทีเรีย *Salmonella typhimurium* สายพันธุ์ TA 98 และ TA 100 ในสภาวะที่มีและไม่มี S9 mixture มีผลการศึกษาดังต่อไปนี้

3.1. น้ำหนักของสารสกัดจากสารแขวนลอยในอากาศที่คนงานหายใจระหว่างทำงานเป็นเวลา 16 ชั่วโมง

น้ำหนักของสารสกัดจากสารแขวนลอยในอากาศที่คนงานหายใจในโรงงานที่ 1, 2 และ 3 ได้แสดงไว้ในตารางที่ 1, 2 และ 3 ตามลำดับ

ตารางที่ 1 น้ำหนักของสารสกัดจากสารแขวนลอยในอากาศที่คนงานหายใจในระหว่างการทำงานเป็นเวลา 16 ชั่วโมง ในโรงงานที่ 1

ตัวอย่าง	น้ำหนักสารสกัด (mg)					
	เดือนที่ 1		เดือนที่ 2		เดือนที่ 3	
	คนที่ 1	คนที่ 2	คนที่ 1	คนที่ 2	คนที่ 1	คนที่ 2
แผนก compounding	2.84	1.93	1.80	2.55	2.22	2.10
แผนก production	3.87	2.57	3.01	2.34	3.78	3.11
แผนก packing	3.24	2.76	2.11	2.43	2.99	3.22

ตารางที่ 2 น้ำหนักของสารสกัดจากสารแขวนลอยในอากาศที่คนงานหายใจในระหว่างการทำงานเป็นเวลา 16 ชั่วโมง ในโรงงานที่ 2

ตัวอย่าง	น้ำหนักสารสกัด (mg)					
	เดือนที่ 1		เดือนที่ 2		เดือนที่ 3	
	คนที่ 1	คนที่ 2	คนที่ 1	คนที่ 2	คนที่ 1	คนที่ 2
แผนก compounding	3.44	2.93	2.88	2.59	2.96	3.26
แผนก production	4.87	4.57	4.21	3.34	3.88	4.22
แผนก packing	4.24	3.86	3.17	2.93	2.89	3.32

ตารางที่ 3 น้ำหนักของสารสกัดจากสารแขวนลอยในอากาศที่คนงานหายใจในระหว่างการทำงานเป็นเวลา 16 ชั่วโมง ในโรงงานที่ 3

ตัวอย่าง	น้ำหนักสารสกัด (mg)					
	เดือนที่ 1		เดือนที่ 2		เดือนที่ 3	
	คนที่ 1	คนที่ 2	คนที่ 1	คนที่ 2	คนที่ 1	คนที่ 2
แผนก compounding	1.84	1.73	1.77	2.24	1.86	1.39
แผนก production	2.87	2.67	2.01	2.46	2.78	2.11
แผนก packing	2.24	2.66	2.22	2.63	2.92	3.02

3.2 ผลการทดสอบฤทธิ์ก่อกลายพันธุ์โดยวิธี Ames' test ด้วยเชื้อ *Salmonella typhimurium* สายพันธุ์ TA 98 และ TA 100 ในสภาวะที่ใช้และไม่ใช้ S9 mixture

3.2.1 ตัวอย่างสารสกัดจากฝุ่น (respirable dust) ในบรรยากาศการทำงานของคนงานในโรงงานอุตสาหกรรมผลิตถุงมือยางที่ 1 เดือนที่ 1

3.2.1.1 ผลการทดสอบด้วยเชื้อ *Salmonella typhimurium* สายพันธุ์ TA 98 ได้แสดงไว้ในตารางที่ 4

เมื่อนำจำนวน revertant colonies เฉลี่ยของเชื้อ *Salmonella typhimurium* สายพันธุ์ TA 98 ในสภาวะที่ไม่มีและมี S9 mixture ที่เติมสารสกัดตัวอย่างอากาศจากแผนก compounding แผนก production และแผนก packing มาหารด้วยจำนวนโคโลนีกลายพันธุ์ที่

เกิดขึ้นเองตามธรรมชาติ (spontaneous reversion, SR) พบว่ามีค่าน้อยกว่า 2 เท่าของจำนวนการกลายพันธุ์ของแบคทีเรียที่เกิดขึ้นตามธรรมชาติ แสดงว่าตัวอย่างสารสกัดจากอากาศในบรรยากาศการทำงานของโรงงานอุตสาหกรรมผลิตถุงมือยางที่ 1 เดือนที่ 1 ไม่มีฤทธิ์ก่อกลายพันธุ์แบบเปลี่ยนแปลง (เพิ่มหรือลด) จำนวนคู่เบสในดีเอ็นเอ (frameshift mutation) นอกจากนี้เมื่อทดสอบในสภาวะที่มี S9 mixture เมแทบอไลท์ที่เกิดขึ้นจากการย่อยสลายด้วยเอ็นไซม์จากตับหนูก็ยังไม่มีฤทธิ์ก่อกลายพันธุ์ด้วย นั่นคือตัวอย่างไม่มีฤทธิ์ก่อกลายพันธุ์แบบ frameshift mutation ทั้งโดยตรง (direct mutagen) และโดยอ้อม (indirect mutagen)

3.2.1.2 ผลการทดสอบด้วยเชื้อ *Salmonella typhimurium* สายพันธุ์ TA 100 ได้แสดงไว้ในตารางที่ 4

เมื่อนำจำนวน revertant colonies เฉลี่ยของเชื้อ *Salmonella typhimurium* สายพันธุ์ TA 100 ในสภาวะที่ไม่มีและมี S9 mixture ที่เติมสารสกัดตัวอย่างอากาศจากแผนก compounding แผนก production และแผนก packing มาหารด้วยจำนวนโคโลนีกลายพันธุ์ที่เกิดขึ้นเองตามธรรมชาติ (SR) พบว่ามีค่าน้อยกว่า 2 เท่าของจำนวนการกลายพันธุ์ของแบคทีเรียที่เกิดขึ้นตามธรรมชาติ แสดงว่าตัวอย่างสารสกัดจากอากาศในบรรยากาศการทำงานของโรงงานอุตสาหกรรมผลิตถุงมือยางที่ 1 เดือนที่ 1 ไม่มีฤทธิ์ก่อกลายพันธุ์ที่ทำให้คู่เบสเดิมถูกแทนที่โดยคู่เบสอื่นแต่จำนวนของคู่เบสยังคงเดิม (base-pair substitution mutation) นอกจากนี้เมแทบอไลท์ที่เกิดขึ้นจากการย่อยสลายด้วยเอ็นไซม์จากตับหนูก็ยังไม่มีฤทธิ์ก่อกลายพันธุ์ด้วย นั่นคือตัวอย่างไม่มีฤทธิ์ก่อกลายพันธุ์แบบ base-pair substitution mutation ทั้งโดยตรง (direct mutagen) และโดยอ้อม (indirect mutagen)

ตารางที่ 4 จำนวนโคโลนีกลายพันธุ์ของเชื้อ *Salmonella typhimurium* สายพันธุ์ TA 98 และ TA 100 ในสภาวะที่ไม่มีและมีเอ็นไซม์ตับหนู (S9 mixture) ภายหลังการเติมตัวอย่างสารสกัดจากฝุ่น (respirable dust) ในบรรยากาศการทำงาน 16 ชั่วโมงของคนงานที่ 1 และ 2 ในโรงงานอุตสาหกรรมผลิตถุงมือยางที่ 1 เดือนที่ 1 ลงในจานเลี้ยงเชื้อ

ตัวอย่าง	จำนวนโคโลนีกลายพันธุ์ (colonies/plate)							
	TA98 (-S9)		TA98 (+S9)		TA100 (-S9)		TA100 (+S9)	
	คนที่ 1	คนที่ 2	คนที่ 1	คนที่ 2	คนที่ 1	คนที่ 2	คนที่ 1	คนที่ 2
SR	30.00±4.24	30.00±4.24	52.50±4.95	52.50±4.95	176.50±4.95	176.50±4.95	197.00±4.24	197.00±4.24
AF-2	352.50±4.95*	352.50±4.95*	-	-	391.50±7.78*	391.50±7.78*	-	-
2-AA	-	-	360.00±7.07*	360.00±7.07*	-	-	427.00±4.24*	427.00±4.24*
แผนก compounding	26.00±2.83	29.00±2.83	48.50±4.95	49.50±3.54	190.00±5.66	189.50±2.12	212.00±4.24	218.00±4.24
แผนก production	36.50±3.54	32.00±2.83	46.50±6.36	49.50±2.12	170.50±2.12	166.00±4.24	199.00±2.83	189.50±6.36
แผนก packing	25.00±5.66	23.50±3.54	42.50±2.12	46.00±1.41	184.50±7.78	192.50±6.36	189.00±4.24	190.50±7.78

หมายเหตุ: 1) ผลที่แสดงเป็นค่าเฉลี่ย ± ส่วนเบี่ยงเบนมาตรฐานจากการทดลอง 2 ซ้ำ โดยไม่ได้หักลบจำนวน spontaneous revertants

2) SR = spontaneous revertants (negative control)

3) AF-2 = positive control (-S9): 0.2 µg/plate สำหรับ TA 98; 0.01 µg/plate สำหรับ TA 100

4) 2-AA = positive control (+S9): 0.125 µg/plate สำหรับทั้ง TA 98 และ TA 100

5) * มีจำนวนโคโลนีกลายพันธุ์มากกว่า 2 เท่าของกลุ่มควบคุม (MAR > 2)

3.2.2 ตัวอย่างสารสกัดจากฝุ่น (respirable dust) ในบรรยากาศการทำงานของคนงานในโรงงานอุตสาหกรรมผลิตถุงมือยางที่ 1 เดือนที่ 2

3.2.2.1 ผลการทดสอบด้วยเชื้อ *Salmonella typhimurium* สายพันธุ์ TA 98 ได้แสดงไว้ในตารางที่ 5

เมื่อนำจำนวน revertant colonies เฉลี่ยของเชื้อ *Salmonella typhimurium* สายพันธุ์ TA 98 ในสภาวะที่ไม่มีและมี S9 mixture ที่เติมสารสกัดตัวอย่างอากาศจากแผนก compounding แผนก production และแผนก packing มาหารด้วยจำนวนโคโลนีกลายพันธุ์ที่เกิดขึ้นเองตามธรรมชาติ (SR) พบว่ามีค่าน้อยกว่า 2 เท่าของจำนวนการกลายพันธุ์ของแบคทีเรียที่เกิดขึ้นตามธรรมชาติ แสดงว่าตัวอย่างสารสกัดจากอากาศในบรรยากาศการทำงานของโรงงานอุตสาหกรรมผลิตถุงมือยางที่ 1 เดือนที่ 2 ไม่มีฤทธิ์ก่อกลายพันธุ์แบบเปลี่ยนแปลง (เพิ่มหรือลด) จำนวนคู่เบสในดีเอ็นเอ (frameshift mutation) นอกจากนี้เมื่อทดสอบในสภาวะที่มี S9 mixture เมแทบอไลท์ที่เกิดขึ้นจากการย่อยสลายด้วยเอ็นไซม์จากตับหนูก็ยังไม่มีฤทธิ์ก่อกลายพันธุ์ด้วย นั่นคือตัวอย่างไม่มีฤทธิ์ก่อกลายพันธุ์แบบ frameshift mutation ทั้งโดยตรง (direct mutagen) และโดยอ้อม (indirect mutagen)

3.2.2.2 ผลการทดสอบด้วยเชื้อ *Salmonella typhimurium* สายพันธุ์ TA 100 ได้แสดงไว้ในตารางที่ 5

เมื่อนำจำนวน revertant colonies เฉลี่ยของเชื้อ *Salmonella typhimurium* สายพันธุ์ TA 100 ในสภาวะที่ไม่มีและมี S9 mixture ที่เติมสารสกัดตัวอย่างอากาศจากแผนก compounding แผนก production และแผนก packing มาหารด้วยจำนวนโคโลนีกลายพันธุ์ที่เกิดขึ้นเองตามธรรมชาติ (spontaneous revertants, SR) พบว่ามีค่าน้อยกว่า 2 เท่าของจำนวนการกลายพันธุ์ของแบคทีเรียที่เกิดขึ้นตามธรรมชาติ แสดงว่าตัวอย่างสารสกัดจากอากาศในบรรยากาศการทำงานของโรงงานอุตสาหกรรมผลิตถุงมือยางที่ 1 เดือนที่ 2 ไม่มีฤทธิ์ก่อกลายพันธุ์ที่ทำให้คู่เบสเดิมถูกแทนที่โดยคู่เบสอื่นแต่จำนวนของคู่เบสยังคงเดิม (base-pair substitution mutation) นอกจากนี้เมแทบอไลท์ที่เกิดขึ้นจากการย่อยสลายด้วยเอ็นไซม์จากตับหนูก็ยังไม่มีฤทธิ์ก่อกลายพันธุ์ด้วย นั่นคือตัวอย่างไม่มีฤทธิ์ก่อกลายพันธุ์แบบ base-pair substitution mutation ทั้งโดยตรง (direct mutagen) และโดยอ้อม (indirect mutagen)

ตารางที่ 5 จำนวนโคโลนีกลายพันธุ์ของเชื้อ *Salmonella typhimurium* สายพันธุ์ TA 98 และ TA 100 ในสภาวะที่ไม่มีและมีเอ็นไซม์ตับหนู (S9 mixture) ภายหลังการเติมตัวอย่างสารสกัดจากฝุ่น (respirable dust) ในบรรยากาศการทำงาน 16 ชั่วโมงของคนงานที่ 1 และ 2 ในโรงงานอุตสาหกรรมผลิตถุงมือยางที่ 1 เดือนที่ 2 ลงในจานเลี้ยงเชื้อ

ตัวอย่าง	จำนวนโคโลนีกลายพันธุ์ (colonies/plate)							
	TA98 (-S9)		TA98 (+S9)		TA100 (-S9)		TA100 (+S9)	
	คนที่ 1	คนที่ 2	คนที่ 1	คนที่ 2	คนที่ 1	คนที่ 2	คนที่ 1	คนที่ 2
SR	33.00±1.41	33.00±1.41	41.00±4.24	41.00±4.24	169.50±2.12	169.50±2.12	187.50±0.71	187.50±0.71
AF-2	379.00±5.66*	379.00±5.66*	-	-	430.00±4.24*	430.00±4.24*	-	-
2-AA	-	-	390.50±6.36*	390.50±6.36*	-	-	371.00±5.66*	371.00±5.66*
แผนก compounding	27.50±2.12	31.50±3.54	31.00±5.66	25.31±0.71	172.50±3.54	177.50±6.36	175.50±6.36	183.50±3.54
แผนก production	27.00±2.83	34.50±2.12	45.00±4.24	30.26±4.95	167.00±1.41	161.00±2.83	178.00±5.66	172.00±4.24
แผนก packing	28.50±2.12	31.00±2.83	46.00±4.24	29.62±2.12	176.00±2.83	184.50±3.54	187.00±5.66	183.50±2.12

หมายเหตุ: 1) ผลที่แสดงเป็นค่าเฉลี่ย ± ส่วนเบี่ยงเบนมาตรฐานจากการทดลอง 2 ซ้ำ โดยไม่ได้หักลบจำนวน spontaneous revertants

2) SR = spontaneous revertants (negative control)

3) AF-2 = positive control (-S9): 0.2 µg/plate สำหรับ TA 98; 0.01 µg/plate สำหรับ TA 100

4) 2-AA = positive control (+S9): 0.125 µg/plate สำหรับทั้ง TA 98 และ TA 100

5) * มีจำนวนโคโลนีกลายพันธุ์มากกว่า 2 เท่าของกลุ่มควบคุม (MAR > 2)

3.2.3 ตัวอย่างสารสกัดจากฝุ่น (respirable dust) ในบรรยากาศการทำงานของคนงานในโรงงานอุตสาหกรรมผลิตถุงมือยางที่ 1 เดือนที่ 3

3.2.3.1 ผลการทดสอบด้วยเชื้อ *Salmonella typhimurium* สายพันธุ์ TA 98 ได้แสดงไว้ในตารางที่ 6

เมื่อนำจำนวน revertant colonies เฉลี่ยของเชื้อ *Salmonella typhimurium* สายพันธุ์ TA 98 ในสภาวะที่ไม่มีและมี S9 mixture ที่เติมสารสกัดตัวอย่างอากาศจากแผนก compounding แผนก production และแผนก packing มาหารด้วยจำนวนโคโลนีกลายพันธุ์ที่เกิดขึ้นเองตามธรรมชาติ (SR) พบว่ามีค่าน้อยกว่า 2 เท่าของจำนวนการกลายพันธุ์ของแบคทีเรียที่เกิดขึ้นตามธรรมชาติ แสดงว่าตัวอย่างสารสกัดจากอากาศในบรรยากาศการทำงานของโรงงานอุตสาหกรรมผลิตถุงมือยางที่ 1 เดือนที่ 3ไม่มีฤทธิ์ก่อกลายพันธุ์แบบเปลี่ยนแปลง (เพิ่มหรือลด) จำนวนคู่เบสในดีเอ็นเอ (frameshift mutation) นอกจากนี้เมื่อทดสอบในสภาวะที่มี S9 mixture เมแทบอไลท์ที่เกิดขึ้นจากการย่อยสลายด้วยเอ็นไซม์จากตับหนูก็ยังไม่มีฤทธิ์ก่อกลายพันธุ์ด้วย นั่นคือตัวอย่างไม่มีฤทธิ์ก่อกลายพันธุ์แบบ frameshift mutation ทั้งโดยตรง (direct mutagen) และโดยอ้อม (indirect mutagen)

3.2.3.2 ผลการทดสอบด้วยเชื้อ *Salmonella typhimurium* สายพันธุ์ TA 100 ได้แสดงไว้ในตารางที่ 6

เมื่อนำจำนวน revertant colonies เฉลี่ยของเชื้อ *Salmonella typhimurium* สายพันธุ์ TA 100 ในสภาวะที่ไม่มีและมี S9 mixture ที่เติมสารสกัดตัวอย่างอากาศจากแผนก compounding แผนก production และ แผนก packing มาหารด้วยจำนวนโคโลนีกลายพันธุ์ที่เกิดขึ้นเองตามธรรมชาติ (SR) พบว่ามีค่าน้อยกว่า 2 เท่าของจำนวนการกลายพันธุ์ของแบคทีเรียที่เกิดขึ้นตามธรรมชาติ แสดงว่าตัวอย่างสารสกัดจากอากาศในบรรยากาศการทำงานของโรงงานอุตสาหกรรมผลิตถุงมือยางที่ 1 เดือนที่ 3 ไม่มีฤทธิ์ก่อกลายพันธุ์ที่ทำให้คู่เบสเดิมถูกแทนที่โดยคู่เบสอื่นแต่จำนวนของคู่เบสยังคงเดิม (base-pair substitution mutation) นอกจากนี้เมแทบอไลท์ที่เกิดขึ้นจากการย่อยสลายด้วยเอ็นไซม์จากตับหนูก็ยังไม่มีฤทธิ์ก่อกลายพันธุ์ด้วย นั่นคือตัวอย่างไม่มีฤทธิ์ก่อกลายพันธุ์แบบ base-pair substitution mutation ทั้งโดยตรง (direct mutagen) และโดยอ้อม (indirect mutagen)

ตารางที่ 6 จำนวนโคโลนีกลายพันธุ์ของเชื้อ *Salmonella typhimurium* สายพันธุ์ TA 98 และ TA 100 ในสภาวะที่ไม่มีและมีเอ็นไซม์ตับหนู (S9 mixture) ภายหลังการเติมตัวอย่างสารสกัดจากฝุ่น (respirable dust) ในบรรยากาศการทำงาน 16 ชั่วโมงของคนงานที่ 1 และ 2 ในโรงงานอุตสาหกรรมผลิตถุงมือยางที่ 1 เดือนที่ 3 ลงในจานเลี้ยงเชื้อ

ตัวอย่าง	จำนวนโคโลนีกลายพันธุ์ (colonies/plate)							
	TA98 (-S9)		TA98 (+S9)		TA100 (-S9)		TA100 (+S9)	
	คนที่ 1	คนที่ 2	คนที่ 1	คนที่ 2	คนที่ 1	คนที่ 2	คนที่ 1	คนที่ 2
SR	28.00±4.24	28.00±4.24	43.00±4.24	43.00±4.24	165.00±2.83	165.00±2.83	169.50±2.12	169.50±2.12
AF-2	365.00±2.83*	365.00±2.83*	-	-	423.50±2.12*	423.50±2.12*	-	-
2-AA	-	-	379.00±2.83*	379.00±2.83*	-	-	456.50±6.36*	456.50±6.36*
แผนก compounding	30.00±2.83	27.50±2.12	50.50±2.12	44.50±4.95	178.50±3.54	174.50±1.77	170.00±2.83	170.50±4.95
แผนก production	34.00±1.41	33.50±4.95	43.50±3.54	42.00±4.24	158.50±6.36	165.50±1.77	189.00±2.83	180.50±3.54
แผนก packing	27.00±4.24	26.00±1.41	44.00±1.41	50.00±4.24	176.00±5.66	170.50±2.47	168.00±4.24	165.50±2.12

หมายเหตุ: 1) ผลที่แสดงเป็นค่าเฉลี่ย ± ส่วนเบี่ยงเบนมาตรฐานจากการทดลอง 2 ซ้ำ โดยไม่ได้หักลบจำนวน spontaneous revertants

2) SR = spontaneous revertants (negative control)

3) AF-2 = positive control (-S9): 0.2 µg/plate สำหรับ TA 98; 0.01 µg/plate สำหรับ TA 100

4) 2-AA = positive control (+S9): 0.125 µg/plate สำหรับทั้ง TA 98 และ TA 100

5) * มีจำนวนโคโลนีกลายพันธุ์มากกว่า 2 เท่าของกลุ่มควบคุม (MAR > 2)

3.2.4 ตัวอย่างสารสกัดจากฝุ่น (respirable dust) ในบรรยากาศการทำงานของคนงานในโรงงานอุตสาหกรรมผลิตถุงมือยางที่ 2 เดือนที่ 1

3.2.4.1 ผลการทดสอบด้วยเชื้อ *Salmonella typhimurium* สายพันธุ์ TA 98 ได้แสดงไว้ในตารางที่ 7

เมื่อนำจำนวน revertant colonies เฉลี่ยของเชื้อ *Salmonella typhimurium* สายพันธุ์ TA 98 ในสภาวะที่ไม่มีและมี S9 mixture ที่เติมสารสกัดตัวอย่างอากาศจากแผนก compounding แผนก production และแผนก packing มาหารด้วยจำนวนโคโลนีกลายพันธุ์ที่เกิดขึ้นเองตามธรรมชาติ (SR) พบว่ามีค่าน้อยกว่า 2 เท่าของจำนวนการกลายพันธุ์ของแบคทีเรียที่เกิดขึ้นตามธรรมชาติ แสดงว่าตัวอย่างสารสกัดจากอากาศในบรรยากาศการทำงานของโรงงานอุตสาหกรรมผลิตถุงมือยางที่ 2 เดือนที่ 1 ไม่มีฤทธิ์ก่อกลายพันธุ์แบบเปลี่ยนแปลง (เพิ่มหรือลด) จำนวนคู่เบสในดีเอ็นเอ (frameshift mutation) นอกจากนี้เมื่อทดสอบในสภาวะที่มี S9 mixture เมแทบอไลท์ที่เกิดขึ้นจากการย่อยสลายด้วยเอ็นไซม์จากตับหนูก็ยังไม่มีฤทธิ์ก่อกลายพันธุ์ด้วย นั่นคือตัวอย่างไม่มีฤทธิ์ก่อกลายพันธุ์แบบ frameshift mutation ทั้งโดยตรง (direct mutagen) และโดยอ้อม (indirect mutagen)

3.2.4.2 ผลการทดสอบด้วยเชื้อ *Salmonella typhimurium* สายพันธุ์ TA 100 ได้แสดงไว้ในตารางที่ 7

เมื่อนำจำนวน revertant colonies เฉลี่ยของเชื้อ *Salmonella typhimurium* สายพันธุ์ TA 100 ในสภาวะที่ไม่มีและมี S9 mixture ที่เติมสารสกัดตัวอย่างอากาศจากแผนก compounding แผนก production และแผนก packing มาหารด้วยจำนวนโคโลนีกลายพันธุ์ที่เกิดขึ้นเองตามธรรมชาติ (SR) พบว่ามีค่าน้อยกว่า 2 เท่าของจำนวนการกลายพันธุ์ของแบคทีเรียที่เกิดขึ้นตามธรรมชาติ แสดงว่าตัวอย่างสารสกัดจากอากาศในบรรยากาศการทำงานของโรงงานอุตสาหกรรมผลิตถุงมือยางที่ 2 เดือนที่ 1 ไม่มีฤทธิ์ก่อกลายพันธุ์ที่ทำให้คู่เบสเดิมถูกแทนที่โดยคู่เบสอื่นแต่จำนวนของคู่เบสยังคงเดิม (base-pair substitution mutation) นอกจากนี้เมแทบอไลท์ที่เกิดขึ้นจากการย่อยสลายด้วยเอ็นไซม์จากตับหนูก็ยังไม่มีฤทธิ์ก่อกลายพันธุ์ด้วย นั่นคือตัวอย่างไม่มีฤทธิ์ก่อกลายพันธุ์แบบ base-pair substitution mutation ทั้งโดยตรง (direct mutagen) และโดยอ้อม (indirect mutagen)

ตารางที่ 7 จำนวนโคโลนีกลายพันธุ์ของเชื้อ *Salmonella typhimurium* สายพันธุ์ TA 98 และ TA 100 ในสภาวะที่ไม่มีและมีเอ็นไซม์ตับหนู (S9 mixture) ภายหลังการเติมตัวอย่างสารสกัดจากฝุ่น (respirable dust) ในบรรยากาศการทำงาน 16 ชั่วโมงของคนงานที่ 1 และ 2 ในโรงงานอุตสาหกรรมผลิตถุงมือยางที่ 2 เดือนที่ 1 ลงในจานเลี้ยงเชื้อ

ตัวอย่าง	จำนวนโคโลนีกลายพันธุ์ (colonies/plate)							
	TA98 (-S9)		TA98 (+S9)		TA100 (-S9)		TA100 (+S9)	
	คนที่ 1	คนที่ 2	คนที่ 1	คนที่ 2	คนที่ 1	คนที่ 2	คนที่ 1	คนที่ 2
SR	34.00±2.83	34.00±2.83	42.50±4.95	42.50±4.95	169.00±5.66	169.00±5.66	195.50±4.95	195.50±4.95
AF-2	379.00±4.24*	379.00±4.24*	-	-	363.00±1.41*	363.00±1.41*	-	-
2-AA	-	-	425.50±3.54*	425.50±3.54*	-	-	367.00±5.66*	367.00±5.66*
แผนก compounding	35.50±4.95	35.00±2.83	40.00±5.66	38.00±4.24	176.00±4.24	167.50±4.95	182.00±7.07	172.50±4.95
แผนก production	36.00±2.83	27.50±3.54	35.00±4.24	42.00±4.24	178.00±4.24	174.00±1.41	196.50±0.71	186.50±3.54
แผนก packing	32.00±4.24	32.50±4.95	35.00±2.83	40.00±8.49	167.50±2.12	179.00±4.24	180.50±7.78	187.50±3.54

หมายเหตุ: 1) ผลที่แสดงเป็นค่าเฉลี่ย ± ส่วนเบี่ยงเบนมาตรฐานจากการทดลอง 2 ซ้ำ โดยไม่ได้หักลบจำนวน spontaneous revertants

2) SR = spontaneous revertants (negative control)

3) AF-2 = positive control (-S9): 0.2 µg/plate สำหรับ TA 98; 0.01 µg/plate สำหรับ TA 100

4) 2-AA = positive control (+S9): 0.125 µg/plate สำหรับทั้ง TA 98 และ TA 100

5) * มีจำนวนโคโลนีกลายพันธุ์มากกว่า 2 เท่าของกลุ่มควบคุม (MAR > 2)

3.2.5 ตัวอย่างสารสกัดจากฝุ่น (respirable dust) ในบรรยากาศการทำงานของคนงานในโรงงานอุตสาหกรรมผลิตถุงมือยางที่ 2 เดือนที่ 2

3.2.5.1 ผลการทดสอบด้วยเชื้อ *Salmonella typhimurium* สายพันธุ์ TA 98 ได้แสดงไว้ในตารางที่ 8

เมื่อนำจำนวน revertant colonies เฉลี่ยของเชื้อ *Salmonella typhimurium* สายพันธุ์ TA 98 ในสภาวะที่ไม่มีและมี S9 mixture ที่เติมสารสกัดตัวอย่างอากาศจากแผนก compounding แผนก production และ แผนก packing มาหารด้วยจำนวนโคโลนีกลายพันธุ์ที่เกิดขึ้นเองตามธรรมชาติ (SR) พบว่ามีค่าน้อยกว่า 2 เท่าของจำนวนการกลายพันธุ์ของแบคทีเรียที่เกิดขึ้นตามธรรมชาติ แสดงว่าตัวอย่างสารสกัดจากอากาศในบรรยากาศการทำงานของโรงงานอุตสาหกรรมผลิตถุงมือยางที่ 2 เดือนที่ 2 ไม่มีฤทธิ์ก่อกลายพันธุ์แบบเปลี่ยนแปลง (เพิ่มหรือลด) จำนวนคู่เบสในดีเอ็นเอ (frameshift mutation) นอกจากนี้เมื่อทดสอบในสภาวะที่ใช้ S9 mixture เมแทบอไลท์ที่เกิดขึ้นจากการย่อยสลายด้วยเอ็นไซม์จากตับหนูก็ยังไม่มีฤทธิ์ก่อกลายพันธุ์ด้วย นั่นคือตัวอย่างไม่มีฤทธิ์ก่อกลายพันธุ์แบบ frameshift mutation ทั้งโดยตรง (direct mutagen) และโดยอ้อม (indirect mutagen)

3.2.5.2 ผลการทดสอบด้วยเชื้อ *Salmonella typhimurium* สายพันธุ์ TA 100 ได้แสดงไว้ในตารางที่ 8

เมื่อนำจำนวน revertant colonies เฉลี่ยของเชื้อ *Salmonella typhimurium* สายพันธุ์ TA 100 ในสภาวะที่ไม่มีและมี S9 mixture ที่เติมสารสกัดตัวอย่างอากาศจากแผนก compounding แผนก production และแผนก packing มาหารด้วยจำนวนโคโลนีกลายพันธุ์ที่เกิดขึ้นเองตามธรรมชาติ (SR) พบว่ามีค่าน้อยกว่า 2 เท่าของจำนวนการกลายพันธุ์ของแบคทีเรียที่เกิดขึ้นตามธรรมชาติ แสดงว่าตัวอย่างสารสกัดจากอากาศในบรรยากาศการทำงานของโรงงานอุตสาหกรรมผลิตถุงมือยางที่ 2 เดือนที่ 2 ไม่มีฤทธิ์ก่อกลายพันธุ์ที่ทำให้คู่เบสเดิมถูกแทนที่โดยคู่เบสอื่นแต่จำนวนของคู่เบสยังคงเดิม (base-pair substitution mutation) นอกจากนี้เมแทบอไลท์ที่เกิดขึ้นจากการย่อยสลายด้วยเอ็นไซม์จากตับหนูก็ยังไม่มีฤทธิ์ก่อกลายพันธุ์ด้วย นั่นคือตัวอย่างไม่มีฤทธิ์ก่อกลายพันธุ์แบบ base-pair substitution mutation ทั้งโดยตรง (direct mutagen) และโดยอ้อม (indirect mutagen)

ตารางที่ 8 จำนวนโคโลนีกลายพันธุ์ของเชื้อ *Salmonella typhimurium* สายพันธุ์ TA 98 และ TA 100 ในสภาวะที่ไม่มีและมีเอ็นไซม์ตับหนู (S9 mixture) ภายหลังการเติมตัวอย่างสารสกัดจากฝุ่น (respirable dust) ในบรรยากาศการทำงาน 16 ชั่วโมงของคนงานที่ 1 และ 2 ในโรงงานอุตสาหกรรมผลิตถุงมือยางที่ 2 เดือนที่ 2 ลงในจานเลี้ยงเชื้อ

ตัวอย่าง	จำนวนโคโลนีกลายพันธุ์ (colonies/plate)							
	TA98 (-S9)		TA98 (+S9)		TA100 (-S9)		TA100 (+S9)	
	คนที่ 1	คนที่ 2	คนที่ 1	คนที่ 2	คนที่ 1	คนที่ 2	คนที่ 1	คนที่ 2
SR	29.50±4.95	29.50±4.95	28.00±2.83	28.00±2.83	178.50±6.36	178.50±6.36	185.00±4.24	185.00±4.24
AF-2	383.50±2.12*	383.50±2.12*	-	-	381.00±7.07*	381.00±7.07*	-	-
2-AA	-	-	375.50±4.95*	375.50±4.95*	-	-	428.00±4.24*	428.00±4.24*
แผนก compounding	30.50±2.12	28.00±2.83	39.00±4.24	38.50±3.54	164.50±6.36	160.50±9.19	185.50±9.19	183.00±2.83
แผนก production	32.00±2.83	24.00±5.66	36.00±4.24	42.00±4.24	168.00±4.24	160.50±3.54	179.00±1.41	169.50±6.36
แผนก packing	22.504.95	34.50±0.71	33.50±4.95	35.00±1.41	182.00±5.66	171.50±4.95	158.50±7.78	170.00±1.41

หมายเหตุ: 1) ผลที่แสดงเป็นค่าเฉลี่ย ± ส่วนเบี่ยงเบนมาตรฐานจากการทดลอง 2 ซ้ำ โดยไม่ได้หักลบจำนวน spontaneous revertants

2) SR = spontaneous revertants (negative control)

3) AF-2 = positive control (-S9): 0.2 µg/plate สำหรับ TA 98; 0.01 µg/plate สำหรับ TA 100

4) 2-AA = positive control (+S9): 0.125 µg/plate สำหรับทั้ง TA 98 และ TA 100

5) * มีจำนวนโคโลนีกลายพันธุ์มากกว่า 2 เท่าของกลุ่มควบคุม (MAR > 2)

3.2.6 ตัวอย่างสารสกัดจากฝุ่น (respirable dust) ในบรรยากาศการทำงานของคนงานในโรงงานอุตสาหกรรมผลิตถุงมือยางที่ 2 เดือนที่ 3

3.2.6.1 ผลการทดสอบด้วยเชื้อ *Salmonella typhimurium* สายพันธุ์ TA 98 ได้แสดงไว้ในตารางที่ 9

เมื่อนำจำนวน revertant colonies เฉลี่ยของเชื้อ *Salmonella typhimurium* สายพันธุ์ TA 98 ในสภาวะที่ไม่มีและมี S9 mixture ที่เติมสารสกัดตัวอย่างอากาศจากแผนก compounding แผนก production และ แผนก packing มาหารด้วยจำนวนโคโลนีกลายพันธุ์ที่เกิดขึ้นเองตามธรรมชาติ (SR) พบว่ามีค่าน้อยกว่า 2 เท่าของจำนวนการกลายพันธุ์ของแบคทีเรียที่เกิดขึ้นตามธรรมชาติ แสดงว่าตัวอย่างสารสกัดจากอากาศในบรรยากาศการทำงานของโรงงานอุตสาหกรรมผลิตถุงมือยางที่ 2 เดือนที่ 3 ไม่มีฤทธิ์ก่อกลายพันธุ์แบบเปลี่ยนแปลง (เพิ่มหรือลด) จำนวนคู่เบสในดีเอ็นเอ (frameshift mutation) นอกจากนี้เมื่อทดสอบในสภาวะที่มี S9 mixture เมแทบอไลท์ที่เกิดขึ้นจากการย่อยสลายด้วยเอ็นไซม์จากตับหนูก็ยังไม่มีฤทธิ์ก่อกลายพันธุ์ด้วย นั่นคือตัวอย่างไม่มีฤทธิ์ก่อกลายพันธุ์แบบ frameshift mutation ทั้งโดยตรง (direct mutagen) และโดยอ้อม (indirect mutagen)

3.2.6.2 ผลการทดสอบด้วยเชื้อ *Salmonella typhimurium* สายพันธุ์ TA 100 ได้แสดงไว้ในตารางที่ 9

เมื่อนำจำนวน revertant colonies เฉลี่ยของเชื้อ *Salmonella typhimurium* สายพันธุ์ TA 100 ในสภาวะที่ไม่มีและมี S9 mixture ที่เติมสารสกัดตัวอย่างอากาศจากแผนก compounding แผนก production และ แผนก packing มาหารด้วยจำนวนโคโลนีกลายพันธุ์ที่เกิดขึ้นเองตามธรรมชาติ (SR) พบว่ามีค่าน้อยกว่า 2 เท่าของจำนวนการกลายพันธุ์ของแบคทีเรียที่เกิดขึ้นตามธรรมชาติ แสดงว่าตัวอย่างสารสกัดจากอากาศในบรรยากาศการทำงานของโรงงานอุตสาหกรรมผลิตถุงมือยางที่ 2 เดือนที่ 3 ไม่มีฤทธิ์ก่อกลายพันธุ์ที่ทำให้คู่เบสเดิมถูกแทนที่โดยคู่เบสอื่นแต่จำนวนของคู่เบสยังคงเดิม (base-pair substitution mutation) นอกจากนี้เมแทบอไลท์ที่เกิดขึ้นจากการย่อยสลายด้วยเอ็นไซม์จากตับหนูก็ยังไม่มีฤทธิ์ก่อกลายพันธุ์ด้วย นั่นคือตัวอย่างไม่มีฤทธิ์ก่อกลายพันธุ์แบบ base-pair substitution mutation ทั้งโดยตรง (direct mutagen) และโดยอ้อม (indirect mutagen)

ตารางที่ 9 จำนวนโคโลนีกลายพันธุ์ของเชื้อ *Salmonella typhimurium* สายพันธุ์ TA 98 และ TA 100 ในสภาวะที่ไม่มีและมีเอ็นไซม์ตับหนู (S9 mixture) ภายหลังการเติมตัวอย่างสารสกัดจากฝุ่น (respirable dust) ในบรรยากาศการทำงาน 16 ชั่วโมงของคนงานที่ 1 และ 2 ในโรงงานอุตสาหกรรมผลิตถุงมือยางที่ 2 เดือนที่ 3 ลงในจานเลี้ยงเชื้อ

ตัวอย่าง	จำนวนโคโลนีกลายพันธุ์ (colonies/plate)							
	TA98 (-S9)		TA98 (+S9)		TA100 (-S9)		TA100 (+S9)	
	คนที่ 1	คนที่ 2	คนที่ 1	คนที่ 2	คนที่ 1	คนที่ 2	คนที่ 1	คนที่ 2
SR	49.00±4.24	49.00±4.24	32.50±3.54	32.50±3.54	192.00±1.41	192.00±1.41	181.00±4.24	181.00±4.24
AF-2	373.00±5.66*	373.00±5.66*	-	-	388.00±5.66*	388.00±5.66*	-	-
2-AA	-	-	387.50±6.36*	387.50±6.36*	-	-	367.00±5.66*	367.00±5.66*
แผนก compounding	45.00±1.41	33.50±3.54	25.00±2.83	26.50±7.78	156.00±4.24	142.50±2.12	173.00±1.41	161.50±2.12
แผนก production	50.50±4.95	42.00±4.24	23.50±0.71	27.00±1.41	180.50±4.95	189.00±8.49	168.50±4.95	164.50±7.78
แผนก packing	47.00±7.07	40.00±2.83	23.00±2.83	24.00±0.00	203.00±9.90	209.00±9.90	171.50±3.54	175.50±0.71

หมายเหตุ: 1) ผลที่แสดงเป็นค่าเฉลี่ย ± ส่วนเบี่ยงเบนมาตรฐานจากการทดลอง 2 ซ้ำ โดยไม่ได้หักลบจำนวน spontaneous revertants

2) SR = spontaneous revertants (negative control)

3) AF-2 = positive control (-S9): 0.2 µg/plate สำหรับ TA 98; 0.01 µg/plate สำหรับ TA 100

4) 2-AA = positive control (+S9): 0.125 µg/plate สำหรับทั้ง TA 98 และ TA 100

5) * มีจำนวนโคโลนีกลายพันธุ์มากกว่า 2 เท่าของกลุ่มควบคุม (MAR > 2)

3.2.7 ตัวอย่างสารสกัดจากฝุ่น (respirable dust) ในบรรยากาศการทำงานของคนงานในโรงงานอุตสาหกรรมผลิตถุงมือยางที่ 3 เดือนที่ 1

3.2.7.1 ผลการทดสอบด้วยเชื้อ *Salmonella typhimurium* สายพันธุ์ TA 98 ได้แสดงไว้ในตารางที่ 10

เมื่อนำจำนวน revertant colonies เฉลี่ยของเชื้อ *Salmonella typhimurium* สายพันธุ์ TA 98 ในสภาวะที่ไม่มีและมี S9 mixture ที่เติมสารสกัดตัวอย่างอากาศจากแผนก compounding แผนก production และ แผนก packing มาหารด้วยจำนวนโคโลนีกลายพันธุ์ที่เกิดขึ้นเองตามธรรมชาติ (SR) พบว่ามีค่าน้อยกว่า 2 เท่าของจำนวนการกลายพันธุ์ของแบคทีเรียที่เกิดขึ้นตามธรรมชาติ แสดงว่าตัวอย่างสารสกัดจากอากาศในบรรยากาศการทำงานของโรงงานอุตสาหกรรมผลิตถุงมือยางที่ 3 เดือนที่ 1 ไม่มีฤทธิ์ก่อกลายพันธุ์แบบเปลี่ยนแปลง (เพิ่มหรือลด) จำนวนคู่เบสในดีเอ็นเอ (frameshift mutation) นอกจากนี้เมื่อทดสอบในสภาวะที่ใช้ S9 mixture เมแทบอไลท์ที่เกิดขึ้นจากการย่อยสลายด้วยเอ็นไซม์จากตับหนูก็ยังไม่มีฤทธิ์ก่อกลายพันธุ์ด้วย นั่นคือตัวอย่างไม่มีฤทธิ์ก่อกลายพันธุ์แบบ frameshift mutation ทั้งโดยตรง (direct mutagen) และโดยอ้อม (indirect mutagen)

3.2.7.2 ผลการทดสอบด้วยเชื้อ *Salmonella typhimurium* สายพันธุ์ TA 100 ได้แสดงไว้ในตารางที่ 10

เมื่อนำจำนวน revertant colonies เฉลี่ยของเชื้อ *Salmonella typhimurium* สายพันธุ์ TA 100 ในสภาวะที่ไม่มีและมี S9 mixture ที่เติมสารสกัดตัวอย่างอากาศจากแผนก compounding แผนก production และแผนก packing มาหารด้วยจำนวนโคโลนีกลายพันธุ์ที่เกิดขึ้นเองตามธรรมชาติ (SR) พบว่ามีค่าน้อยกว่า 2 เท่าของจำนวนการกลายพันธุ์ของแบคทีเรียที่เกิดขึ้นตามธรรมชาติ แสดงว่าตัวอย่างสารสกัดจากอากาศในบรรยากาศการทำงานของโรงงานอุตสาหกรรมผลิตถุงมือยางที่ 3 เดือนที่ 1 ไม่มีฤทธิ์ก่อกลายพันธุ์ที่ทำให้คู่เบสเดิมถูกแทนที่โดยคู่เบสอื่นแต่จำนวนของคู่เบสยังคงเดิม (base-pair substitution mutation) นอกจากนี้เมแทบอไลท์ที่เกิดขึ้นจากการย่อยสลายด้วยเอ็นไซม์จากตับหนูก็ยังไม่มีฤทธิ์ก่อกลายพันธุ์ด้วย นั่นคือตัวอย่างไม่มีฤทธิ์ก่อกลายพันธุ์แบบ base-pair substitution mutation ทั้งโดยตรง (direct mutagen) และโดยอ้อม (indirect mutagen)

ตารางที่ 10 จำนวนโคโลนีกลายพันธุ์ของเชื้อ *Salmonella typhimurium* สายพันธุ์ TA 98 และ TA 100 ในสภาวะที่ไม่มีและมีเอ็นไซม์ตับหนู (S9 mixture) ภายหลังการเติมตัวอย่างสารสกัดจากฝุ่น (respirable dust) ในบรรยากาศการทำงาน 16 ชั่วโมงของคนงานที่ 1 และ 2 ในโรงงานอุตสาหกรรมผลิตถุงมือยางที่ 3 เดือนที่ 1 ลงในจานเลี้ยงเชื้อ

ตัวอย่าง	จำนวนโคโลนีกลายพันธุ์ (colonies/plate)							
	TA98 (-S9)		TA98 (+S9)		TA100 (-S9)		TA100 (+S9)	
	คนที่ 1	คนที่ 2	คนที่ 1	คนที่ 2	คนที่ 1	คนที่ 2	คนที่ 1	คนที่ 2
SR	42.00±4.24	42.00±4.24	51.00±11.31	51.00±11.31	181.00±5.66	181.00±5.66	182.50±4.95	182.50±4.95
AF-2	417.50±9.19*	417.50±9.19*	-	-	390.00±2.83*	390.00±2.83*	-	-
2-AA	-	-	375.00±11.31*	375.00±11.31*	-	-	373.00±5.66*	373.00±5.66*
แผนก compounding	25.00±0.00	38.50±0.71	49.50±2.12	41.50±10.61	193.50±2.12	182.50±3.54	178.50±4.95	174.50±2.12
แผนก production	36.00±0.00	40.50±4.95	38.50±3.54	36.00±1.41	175.00±4.24	180.50±4.95	182.50±6.36	186.50±4.95
แผนก packing	37.00±4.24	44.00±4.24	47.50±2.12	51.50±3.54	189.50±2.12	179.00±2.83	175.00±4.24	182.00±1.41

หมายเหตุ: 1) ผลที่แสดงเป็นค่าเฉลี่ย ± ส่วนเบี่ยงเบนมาตรฐานจากการทดลอง 2 ซ้ำ โดยไม่ได้หักลบจำนวน spontaneous revertants

2) SR = spontaneous revertants (negative control)

3) AF-2 = positive control (-S9): 0.2 µg/plate สำหรับ TA 98; 0.01 µg/plate สำหรับ TA 100

4) 2-AA = positive control (+S9): 0.125 µg/plate สำหรับทั้ง TA 98 และ TA 100

5) * มีจำนวนโคโลนีกลายพันธุ์มากกว่า 2 เท่าของกลุ่มควบคุม (MAR > 2)

3.2.8 ตัวอย่างสารสกัดจากฝุ่น (respirable dust) ในบรรยากาศการทำงานของคนงานในโรงงานอุตสาหกรรมผลิตถุงมือยางที่ 3 เดือนที่ 2

3.2.8.1 ผลการทดสอบด้วยเชื้อ *Salmonella typhimurium* สายพันธุ์ TA 98 ได้แสดงไว้ในตารางที่ 11

เมื่อนำจำนวน revertant colonies เฉลี่ยของเชื้อ *Salmonella typhimurium* สายพันธุ์ TA 98 ในสภาวะที่ไม่มีและมี S9 mixture ที่เติมสารสกัดตัวอย่างอากาศจากแผนก compounding แผนก production และแผนก packing มาหารด้วยจำนวนโคโลนีกลายพันธุ์ที่เกิดขึ้นเองตามธรรมชาติ (SR) พบว่ามีค่าน้อยกว่า 2 เท่าของจำนวนการกลายพันธุ์ของแบคทีเรียที่เกิดขึ้นตามธรรมชาติ แสดงว่าตัวอย่างสารสกัดจากอากาศในบรรยากาศการทำงานของโรงงานอุตสาหกรรมผลิตถุงมือยางที่ 3 เดือนที่ 2 ไม่มีฤทธิ์ก่อกลายพันธุ์แบบเปลี่ยนแปลง (เพิ่มหรือลด) จำนวนคู่เบสในดีเอ็นเอ (frameshift mutation) นอกจากนี้เมื่อทดสอบในสภาวะที่มี S9 mixture เมแทบอไลท์ที่เกิดขึ้นจากการย่อยสลายด้วยเอ็นไซม์จากตับหนูก็ยังไม่มีฤทธิ์ก่อกลายพันธุ์ด้วย นั่นคือตัวอย่างไม่มีฤทธิ์ก่อกลายพันธุ์แบบ frameshift mutation ทั้งโดยตรง (direct mutagen) และโดยอ้อม (indirect mutagen)

3.2.8.2 ผลการทดสอบด้วยเชื้อ *Salmonella typhimurium* สายพันธุ์ TA 100 ได้แสดงไว้ในตารางที่ 11

เมื่อนำจำนวน revertant colonies เฉลี่ยของเชื้อ *Salmonella typhimurium* สายพันธุ์ TA 100 ในสภาวะที่ไม่มีและมี S9 mixture ที่เติมสารสกัดตัวอย่างอากาศจากแผนก compounding แผนก production และแผนก packing มาหารด้วยจำนวนโคโลนีกลายพันธุ์ที่เกิดขึ้นเองตามธรรมชาติ (SR) พบว่ามีค่าน้อยกว่า 2 เท่าของจำนวนการกลายพันธุ์ของแบคทีเรียที่เกิดขึ้นตามธรรมชาติ แสดงว่าตัวอย่างสารสกัดจากอากาศในบรรยากาศการทำงานของโรงงานอุตสาหกรรมผลิตถุงมือยางที่ 3 เดือนที่ 2 ไม่มีฤทธิ์ก่อกลายพันธุ์ที่ทำให้คู่เบสเดิมถูกแทนที่โดยคู่เบสอื่นแต่จำนวนของคู่เบสยังคงเดิม (base-pair substitution mutation) นอกจากนี้เมแทบอไลท์ที่เกิดขึ้นจากการย่อยสลายด้วยเอ็นไซม์จากตับหนูก็ยังไม่มีฤทธิ์ก่อกลายพันธุ์ด้วย นั่นคือตัวอย่างไม่มีฤทธิ์ก่อกลายพันธุ์แบบ base-pair substitution mutation ทั้งโดยตรง (direct mutagen) และโดยอ้อม (indirect mutagen)

ตารางที่ 11 จำนวนโคโลนีกลายพันธุ์ของเชื้อ *Salmonella typhimurium* สายพันธุ์ TA 98 และ TA 100 ในสภาวะที่ไม่มีและมีเอ็นไซม์ตับหนู (S9 mixture) ภายหลังการเติมตัวอย่างสารสกัดจากฝุ่น (respirable dust) ในบรรยากาศการทำงาน 16 ชั่วโมงของคนงานที่ 1 และ 2 ในโรงงานอุตสาหกรรมผลิตถุงมือยางที่ 3 เดือนที่ 2 ลงในจานเลี้ยงเชื้อ

ตัวอย่าง	จำนวนโคโลนีกลายพันธุ์ (colonies/plate)							
	TA98 (-S9)		TA98 (+S9)		TA100 (-S9)		TA100 (+S9)	
	คนที่ 1	คนที่ 2	คนที่ 1	คนที่ 2	คนที่ 1	คนที่ 2	คนที่ 1	คนที่ 2
SR	22.50±3.54	22.50±3.54	20.50±2.12	20.50±2.12	169.50±3.54	169.50±3.54	192.00±4.24	192.00±4.24
AF-2	436.50±7.78*	436.50±7.78*	-	-	384.50±6.36*	384.50±6.36*	-	-
2-AA	-	-	369.00±2.83*	369.00±2.83*	-	-	383.50±7.78*	383.50±7.78*
แผนก compounding	26.50±6.36	30.50±4.95	27.00±1.41	28.50±2.12	181.00±7.07	171.00±7.07	169.50±6.36	169.50±2.12
แผนก production	24.50±2.12	28.50±4.95	26.50±2.12	22.50±2.12	171.50±4.95	182.50±3.54	176.00±5.66	175.00±2.83
แผนก packing	39.00±2.83	32.00±2.83	28.00±2.83	29.50±4.95	164.00±4.24	169.50±6.36	166.00±2.83	167.00±5.66

หมายเหตุ: 1) ผลที่แสดงเป็นค่าเฉลี่ย ± ส่วนเบี่ยงเบนมาตรฐานจากการทดลอง 2 ซ้ำ โดยไม่ได้หักลบจำนวน spontaneous revertants

2) SR = spontaneous revertants (negative control)

3) AF-2 = positive control (-S9): 0.2 µg/plate สำหรับ TA 98; 0.01 µg/plate สำหรับ TA 100

4) 2-AA = positive control (+S9): 0.125 µg/plate สำหรับทั้ง TA 98 และ TA 100

5) * มีจำนวนโคโลนีกลายพันธุ์มากกว่า 2 เท่าของกลุ่มควบคุม (MAR > 2)

3.2.9 ตัวอย่างสารสกัดจากฝุ่น (respirable dust) ในบรรยากาศการทำงานของคนงานในโรงงานอุตสาหกรรมผลิตถุงมือยางที่ 3 เดือนที่ 3

3.2.9.1 ผลการทดสอบด้วยเชื้อ *Salmonella typhimurium* สายพันธุ์ TA 98 ได้แสดงไว้ในตารางที่ 12

เมื่อนำจำนวน revertant colonies เฉลี่ยของเชื้อ *Salmonella typhimurium* สายพันธุ์ TA 98 ในสภาวะที่ไม่มีและมี S9 mixture ที่เติมสารสกัดตัวอย่างอากาศจากแผนก compounding แผนก production และแผนก packing มาหารด้วยจำนวนโคโลนีกลายพันธุ์ที่เกิดขึ้นเองตามธรรมชาติ (SR) พบว่ามีค่าน้อยกว่า 2 เท่าของจำนวนการกลายพันธุ์ของแบคทีเรียที่เกิดขึ้นตามธรรมชาติ แสดงว่าตัวอย่างสารสกัดจากอากาศในบรรยากาศการทำงานของโรงงานอุตสาหกรรมผลิตถุงมือยางที่ 3 เดือนที่ 3 ไม่มีฤทธิ์ก่อกลายพันธุ์แบบเปลี่ยนแปลง (เพิ่มหรือลด) จำนวนคู่เบสในดีเอ็นเอ (frameshift mutation) นอกจากนี้เมื่อทดสอบในสภาวะที่มี S9 mixture เมแทบอไลท์ที่เกิดขึ้นจากการย่อยสลายด้วยเอ็นไซม์จากตับหนูก็ยังไม่มีฤทธิ์ก่อกลายพันธุ์ด้วย นั่นคือตัวอย่างไม่มีฤทธิ์ก่อกลายพันธุ์แบบ frameshift mutation ทั้งโดยตรง (direct mutagen) และโดยอ้อม (indirect mutagen)

3.2.9.2 ผลการทดสอบด้วยเชื้อ *Salmonella typhimurium* สายพันธุ์ TA 100 ได้แสดงไว้ในตารางที่ 12

เมื่อนำจำนวน revertant colonies เฉลี่ยของเชื้อ *Salmonella typhimurium* สายพันธุ์ TA 100 ในสภาวะที่ไม่มีและมี S9 mixture ที่เติมสารสกัดตัวอย่างอากาศจากแผนก compounding แผนก production และแผนก packing มาหารด้วยจำนวนโคโลนีกลายพันธุ์ที่เกิดขึ้นเองตามธรรมชาติ (SR) พบว่ามีค่าน้อยกว่า 2 เท่าของจำนวนการกลายพันธุ์ของแบคทีเรียที่เกิดขึ้นตามธรรมชาติ แสดงว่าตัวอย่างสารสกัดจากอากาศในบรรยากาศการทำงานของโรงงานอุตสาหกรรมผลิตถุงมือยางที่ 3 เดือนที่ 3 ไม่มีฤทธิ์ก่อกลายพันธุ์ที่ทำให้คู่เบสเดิมถูกแทนที่โดยคู่เบสอื่นแต่จำนวนของคู่เบสยังคงเดิม (base-pair substitution mutation) นอกจากนี้เมแทบอไลท์ที่เกิดขึ้นจากการย่อยสลายด้วยเอ็นไซม์จากตับหนูก็ยังไม่มีฤทธิ์ก่อกลายพันธุ์ด้วย นั่นคือตัวอย่างไม่มีฤทธิ์ก่อกลายพันธุ์แบบ base-pair substitution mutation ทั้งโดยตรง (direct mutagen) และโดยอ้อม (indirect mutagen)

ตารางที่ 12 จำนวนโคโลนีกลายพันธุ์ของเชื้อ *Salmonella typhimurium* สายพันธุ์ TA 98 และ TA 100 ในสภาวะที่ไม่มีและมีเอ็นไซม์ตับหนู (S9 mixture) ภายหลังการเติมตัวอย่างสารสกัดจากฝุ่น (respirable dust) ในบรรยากาศการทำงาน 16 ชั่วโมงของคนงานที่ 1 และ 2 ในโรงงานอุตสาหกรรมผลิตถุงมือยางที่ 3 เดือนที่ 3 ลงในจานเลี้ยงเชื้อ

ตัวอย่าง	จำนวนโคโลนีกลายพันธุ์ (colonies/plate)							
	TA98 (-S9)		TA98 (+S9)		TA100 (-S9)		TA100 (+S9)	
	คนที่ 1	คนที่ 2	คนที่ 1	คนที่ 2	คนที่ 1	คนที่ 2	คนที่ 1	คนที่ 2
SR	41.50±3.54	41.50±3.54	49.50±6.36	49.50±6.36	184.50±4.95	184.50±4.95	174.50±3.54	174.50±3.54
AF-2	358.00±7.07*	358.00±7.07*	-	-	374.00±1.41*	374.00±1.41*	-	-
2-AA	-	-	381.50±4.95*	381.50±4.95*	-	-	377.00±5.66*	377.00±5.66*
แผนก compounding	51.00±1.41	53.50±2.12	46.50±6.36	46.00±7.07	176.50±3.54	163.50±7.78	190.50±6.36	190.50±3.54
แผนก production	51.50±7.78	58.00±2.83	47.50±7.78	56.00±1.41	177.50±3.54	176.00±5.66	171.00±5.66	177.50±6.36
แผนก packing	33.50±6.36	46.50±2.12	55.00±4.24	40.50±6.36	173.00±8.49	163.50±4.95	192.50±6.36	192.50±4.95

หมายเหตุ: 1) ผลที่แสดงเป็นค่าเฉลี่ย ± ส่วนเบี่ยงเบนมาตรฐานจากการทดลอง 2 ซ้ำ โดยไม่ได้หักลบจำนวน spontaneous revertants

2) SR = spontaneous revertants (negative control)

3) AF-2 = positive control (-S9): 0.2 µg/plate สำหรับ TA 98; 0.01 µg/plate สำหรับ TA 100

4) 2-AA = positive control (+S9): 0.125 µg/plate สำหรับทั้ง TA 98 และ TA 100

5) * มีจำนวนโคโลนีกลายพันธุ์มากกว่า 2 เท่าของกลุ่มควบคุม (MAR > 2)

จากการทดสอบฤทธิ์ก่อกลายพันธุ์ด้วยเชื้อ *Salmonella typhimurium* สายพันธุ์ TA 98 และ TA 100 ทั้งในสภาวะที่มีและไม่มีเอ็นไซม์จากตับหนู พบว่าตัวอย่างสารแขวนลอยในอากาศในบรรยากาศการทำงานของคนงานในโรงงานอุตสาหกรรมผลิตถุงมือยางทั้ง 3 แห่งไม่มีฤทธิ์ก่อกลายพันธุ์แบบ frameshift mutation และแบบ base-pair substitution mutation แสดงว่าอาจมีสารก่อกลายพันธุ์แต่มีความเข้มข้นน้อยเกินไปจนไม่สามารถตรวจพบฤทธิ์ก่อกลายพันธุ์ได้ด้วยวิธี Ames' test แม้ว่าวิธีการนี้จะสามารถตรวจวัดฤทธิ์ก่อกลายพันธุ์ของสารเคมีที่ความเข้มข้นระดับนาโนโมลก็ตาม (McCann and Ames, 1976) หรือสารที่มีฤทธิ์ก่อกลายพันธุ์อาจเป็นสารที่มีสถานะเป็นไอระเหยหรือก๊าซทำให้ตรวจไม่พบในฝุ่น ในกระบวนการผลิตผลิตภัณฑ์ยางจะมีการเติมสารบางชนิด เช่น TMTD, ZDEC, ZDBC ฯลฯ เพื่อช่วยเร่งปฏิกิริยาวัลคาไนเซชั่นของยางทำให้เกิดสารเคมีที่อาจเป็นสารก่อกลายพันธุ์แต่ระเหยง่ายจึงตรวจไม่พบด้วยวิธีนี้ อย่างไรก็ตามเคยมีรายงานการตรวจพบฤทธิ์ก่อกลายพันธุ์ในสารแขวนลอยในอากาศภายในโรงงานอุตสาหกรรมผลิตภัณฑ์ยางในบริเวณที่มีการผสมยางและการรีดยาง (mixing, weighing, calendering, compounding and extruding) เมื่อทดสอบด้วยวิธี Ames' test โดยใช้เชื้อ *Salmonella typhimurium* สายพันธุ์ TA 98 และ YG 1021 ทั้งในสภาวะที่ถูกและไม่ถูกกระตุ้นด้วยเอ็นไซม์ แสดงว่าทำให้เกิดการกลายพันธุ์แบบ frameshift mutation เมื่อทำการวิเคราะห์ด้วยวิธี high performance liquid chromatography (HPLC) พบสาร polycyclic aromatic hydrocarbons (PAHs) และเมื่อวิเคราะห์ด้วยวิธี gas chromatography-mass spectrometry (GC-MS) พบสารประกอบของ azulene derivative, 1,2-dihydro-2,2,4-trimethylquinoline, *N*-methyl *N*-phenylbenzenamine, diphenylamine, bis(2-ethylhexyl)-phthalate และ bis(methyl-propyl)-phthalate (Fracasso *et al*., 1999) แต่เนื่องจากผลิตภัณฑ์ยางที่ได้เป็นคนละประเภทกับถุงมือยางในการศึกษาครั้งนี้ จึงใช้วัตถุดิบแตกต่างกัน ซึ่งอาจมีสารเคมีบางชนิดที่มีฤทธิ์ก่อกลายพันธุ์เกิดขึ้นได้

บทที่ 4

บทสรุปและข้อเสนอแนะ

การศึกษาครั้งนี้มีวัตถุประสงค์เพื่อทดสอบฤทธิ์ก่อกลายพันธุ์เชื้อแบคทีเรีย *Salmonella typhimurium* ของสารแขวนลอยในอากาศในบรรยากาศการทำงานของคนงานในโรงานอุตสาหกรรมผลิตถุงมือยาง 3 แห่งในจังหวัดสงขลา โดยทำการเก็บตัวอย่างอากาศแบบส่วนบุคคลของคนงานที่กำลังทำงานใน 3 แผนก ได้แก่ แผนก compounding แผนก production และแผนก packing แล้วนำมาสกัดตัวอย่างด้วย dichloromethane และ acetone หลังจากนั้นทำการทดสอบฤทธิ์ก่อกลายพันธุ์ด้วยวิธี Ames' test ซึ่งทดสอบกับเชื้อแบคทีเรีย *Salmonella typhimurium* สายพันธุ์ TA 98 (ทดสอบการกลายพันธุ์แบบ frameshift mutation) และสายพันธุ์ TA 100 (ทดสอบการกลายพันธุ์แบบ base-pair substitution mutation) ทั้งในสภาวะที่มีและไม่มีเอ็นไซม์จากตับหนู

ผลการทดสอบฤทธิ์ก่อกลายพันธุ์ของตัวอย่างสารแขวนลอยในอากาศในบรรยากาศการทำงานของคนงาน ไม่พบฤทธิ์ก่อกลายพันธุ์ต่อ *Salmonella typhimurium* สายพันธุ์ TA 98 และ TA 100 ทุกตัวอย่าง แสดงว่าไม่มีฤทธิ์ก่อกลายพันธุ์ชนิด frameshift mutation และชนิด base-pair substitution mutation ตามลำดับ ทั้งจากตัวสารโดยตรง (direct mutation) และจากเมแทบอไลท์ของสาร (ถ้ามี) ที่เกิดขึ้นหลังจากผ่านการย่อยสลายด้วยเอ็นไซม์จากตับหนูก่อน (indirect mutation) แสดงว่าตัวอย่างไม่มีฤทธิ์ก่อกลายพันธุ์ทั้งโดยตรง (direct mutagenicity) และโดยอ้อม (indirect mutagenicity)

ข้อเสนอแนะ

1. เนื่องจากการศึกษาครั้งนี้เป็นการศึกษาหาฤทธิ์ก่อกลายพันธุ์ในฝุ่นในบรรยากาศการทำงานของคนงานผลิตถุงมือยางเท่านั้น จึงควรมีการเก็บตัวอย่างไอระเหยง่าย (volatile compounds) มาวิเคราะห์ทางเคมีเพื่อหาชนิดและปริมาณของสารอินทรีย์ระเหยง่ายและทบทวนวรรณกรรมว่ามีฤทธิ์ก่อกลายพันธุ์หรือไม่ จึงจะเชื่อมั่นได้ว่าคนงานมีความปลอดภัยจากสารก่อกลายพันธุ์จริง

2. ควรมีการทดสอบฤทธิ์ก่อกลายพันธุ์ต่อเชื้อแบคทีเรีย *Salmonella typhimurium* สายพันธุ์อื่นๆต่อไป เช่น สายพันธุ์ YG 1041, YG 1042 เป็นต้น เนื่องจากสายพันธุ์ YG 1041 จะเกิดการกลายพันธุ์แบบ frameshift mutation และสายพันธุ์ YG 1042 จะเกิดการกลายพันธุ์แบบ base-pair substitution mutation เนื่องจากเคยมีรายงานว่าให้ผลบวกต่อสารแขวนลอยในโรงงานยางที่โปแลนด์ สายพันธุ์ YG 1041 และ YG 1042 พัฒนาจากสายพันธุ์ TA 98 และ TA 100 ตามลำดับ โดยมีเอ็นไซม์ nitroreductase และ *O*-acetyltransferase บนพลาสมิดในปริมาณสูง ทำให้มีความไวต่อสารกลุ่ม PAH, nitro- , amino- และ hydroxylamino มากขึ้น (PieKarska and Karpinska-Smulikowska, 2007)

เอกสารอ้างอิง

กนกวรรณ สุถิรนาถ. 2545. “อุตสาหกรรมยางไทย สร้างรายได้อันดับ 10”. วารสารส่งเสริมการลงทุน 5 (พฤษภาคม 2545): 41-46.

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

เบญจพล จันทร์เจริญ. 2547. “อุตสาหกรรมถุงมือยาง”. ภาวะเศรษฐกิจและอุตสาหกรรม.(ออนไลน์) สืบค้นจาก http://rubber.sc.mahidol.ac.th/RTUinfo/factory/GLV_7.htm [22มิถุนายน2550]

ประดิษฐ์ พงษ์ทองคำ. 2543. พันธุศาสตร์. กรุงเทพฯ: สำนักพิมพ์มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์.

ปลื้มจิต บุณยพิพัฒน์. 2534. “สิ่งแวดล้อมและกำเนิดมะเร็ง”. สงขลานครินทร์เวชสาร 1 (มกราคม-มีนาคม 2534): 61-68.

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.

ไพโรจน์ กลิ่นพิทักษ์, เสาวนีย์ ก่อวุฒิกุลรังษี และ กิตติ ตั้งคำ. 2541. รายงานการวิจัย เรื่องการทำถุงมือยางจากน้ำยางโปรตีนต่ำ. มหาวิทยาลัยสงขลานครินทร์.

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

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

ศิริลักษณ์ พาชนิด. 2545. “การตรวจสอบฤทธิ์ก่อกลายพันธุ์โดยใช้แบคทีเรีย *Salmonella typhimurium* สายพันธุ์ TA 98 และการตรวจหาปริมาณโลหะหนักบางชนิดของน้ำในลำน้ำพอง”, วิทยานิพนธ์สาธารณสุขศาสตร์มหาบัณฑิต สาขาวิชาอนามัยสิ่งแวดล้อม บัณฑิตวิทยาลัย มหาวิทยาลัยขอนแก่น.(สำเนา)

สุกัญญา แซ่แต้, จันทิภา ปุรินทราภิบาล และบรรจง วิทยวีรศักดิ์. 2550. “การตรวจวัดความสามารถก่อกลายพันธุ์ของน้ำทิ้งจากโรงงานอุตสาหกรรมผลิตถุงมือยาง โดยการทดสอบการกลายพันธุ์ของแบคทีเรีย *Salmonella*”. วารสารอนามัยสิ่งแวดล้อม 3 (เมษายน-มิถุนายน 2550): 31-40.

สุจิรา จรัสศิลป์. 2545. มะเร็งที่รัก. กรุงเทพฯ: โรงพิมพ์ บริษัท สหธรรมิก จำกัด.

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

วรรณภา เสนาดี. 2549. “อนาคตยางพาราไทยจะยังสดใสอีกนานแค่ไหน”. วารสารเคหการเกษตร 9 (กันยายน 2549). 77-85.

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

วันทนีย์ พันธุ์ประสิทธุ์. 2542. “การประเมินทางสุขศาสตร์อุตสาหกรรม”. เอกสารการสอนชุดวิชาสุขศาสตร์อุตสาหกรรมพื้นฐาน หน่วยที่ 1-8. หน้า 44-51. มหาวิทยาลัยสุโขทัยธรรมาธิราช

อุษณีย์ วินิจเขตคำนวณ. 2534. “การทดสอบการกลายพันธุ์โดยแบคทีเรียซัลโมเนลลา”. เอกสารการประชุมเชิงปฏิบัติการการทดสอบสารก่อกลายพันธุ์ สารก่อมะเร็งและสารก่อลูกวิรูปด้วยวิธีตรวจระยะสั้น 3-4 พฤศจิกายน 2534. หน้า 1-29. คณะแพทยศาสตร์มหาวิทยาลัยเชียงใหม่.

Dorothy, M.M and Ames, B.N., 1984. “Revised methods for the *Salmonella* mutagenicity test”. Handbook of Mutagenicity Test Procedures Berkeley: B.J.Kilbey. p 93-140.

Fracasso, M.E., Franceschetti, P., Mossini, E., *et al*., 1999. “Exposure to mutagenic airborne particulate in rubber manufacturing plant”. Mutation Research 441: 43-51.

George, J. and Kuttan, R., 1995. “Studies on clastogenic and carcinogenic potency of tetramethyl thiuram dislphide”. Cancer Letters 97: 213-216.

Jonathan B. W. Jr, Sherif Z. A. Rogene F. H., *et al*., 2001. “Assessment of butadiene exposure in synthetic rubber manufacturing workers in Taxas using frequencies of *hprt* mutant lymphocytes as a biomarker”. Chemico-Biological Interactions 135: 465-483.

McCann, J. and Ames, B.N. 1976. “Detection of carcinogens as mutagens in the *Salmonella*/microsome test: Assay of 300 chemicals: Discussion”. Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America 73: 950-954.

Monarca, S., Feretti, D., Zanardini, A., *et al.,* 2001. “Monitoring airborne genotoxicants in the rubber industry using genotoxicity tests and chemical analyses”. Mutation Research 490: 159-169.

Mortelmans, K. and Zeiger, E. 2000. "The Ames Salmonella/microsome mutagenicity assay". Mutation Research 455: 29-60.

NIOSH. 1998. "Particulate not otherwise regulated, respirable: Method 0600". http://www.cdc.gov/NIOSH/nman/pdfs/0600.pdf. (19/09/50)

Oury, B., Limasset, J.C. and Protois, J.C., 1997. "Assessment of exposure to carcinogenic N-nitrosamines in the rubber industry". Int Arch Occup Environ Health 70: 261-271.

Piekarska, K., and Karpinska-Smulikowska, J. 2007. "Mutagenic activity of environmental air samples from the area of Wroclaw, Poland". Polish Journal of Environmental 16: 745-752.

Siddiqui, A.H. and Admad, M. 2003. "The Salmonella mutagenicity of industrial, surface and ground water samples of Aligrarh region of India". Mutation Research/Genetic Toxicology and Environmental Mutagenesis 541: 21-29.

Straif, K., Chambless, L., Weiland, S. K., et al., 1999. "Occupational risk factor for mortality from stomach and lung cancer among rubber workers: an analysis using internal controls and refined exposure assessment". Epidemiology 28: 1037-1043.

Tinkler, J., Gott, D. and Bootman, J., 1998. "Risk assessment of dithiocarbamate accelerator residues in latex-based medical device: genotoxicity consideration". Food and Chemical Toxinology 36: 849-866.

Vermeulen, R., Bos, R.P. and Kromhout, H., 2001. "Mutagenic exposure in the rubber manufacturing industry:an industry wide survey". Mutation Research 490: 27-34.

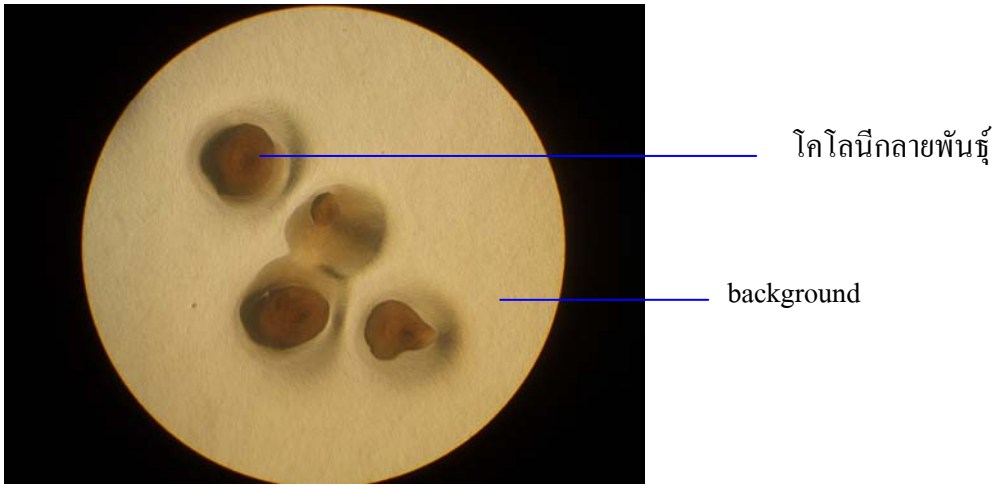
Vermeulen, R., Bos, R.P., Pertijs, J., *etal*., 2003. "Exposure related mutagens in urine of rubber wokers associated with inhalable particulate and dermal exposure". Occup Environ 60: 97-103.

Vermeulen, R., Bos, R.P., de Hartog, J., *etal*., 2000. "Mutagenic profile of rubber dust and fume exposure in two rubber tire companies". Mutation Research 468: 165-171.

ภาคผนวก

ภาคผนวก ก

ลักษณะโคโลนีกลายพันธุ์ของแบคทีเรีย *Salmonella typhimurium*



ภาพประกอบภาคผนวก ก 1 ลักษณะโคโลนีกลายพันธุ์ของแบคทีเรีย *Salmonella typhimurium* (ภาพถ่ายจากกล้องจุลทรรศน์กำลังขยาย 4 เท่า)

ภาคผนวก ข
ลักษณะของเครื่องเก็บตัวอย่างอากาศส่วนบุคคล

ภาพประกอบภาคผนวก ข 1 ลักษณะของเครื่อง personal air sampling pump

ภาพประกอบภาคผนวก ข 2 ลักษณะการติดเครื่อง personal air sampler

ภาคผนวก ค
จำนวนโคโลนีกลายพันธุ์ของเชื้อ *salmonella typhimurium*

ตารางภาคผนวก ค 1 จำนวนโคโลนีของเชื้อ *salmonella typhimurium* สายพันธุ์ TA 98 ที่กลายพันธุ์ในสภาวะที่ไม่ใช้และใช้ S9 mixture หลังจากการเติมตัวอย่างสารสกัดจากอากาศในบรรยากาศการทำงาน 16 ชั่วโมงของโรงงานอุตสาหกรรมผลิตถุงมือยางที่ 1 เดือนที่ 1 ลงในจานเลี้ยงเชื้อ

ตัวอย่าง	TA98(-S9)								TA98(+S9)							
	คนที่ 1				คนที่ 2				คนที่ 1				คนที่ 2			
	plate 1	plate 2	Mean	SD	plate 1	plate 2	Mean	SD	plate 1	plate 2	Mean	SD	plate 1	plate 2	Mean	SD
SR	33	27	30.00	4.24	33	27	30.00	4.24	56	49	52.50	4.95	56	49	52.50	4.95
AF-2, 0.2 µg/plate	349	356	352.50	4.95	349	356	352.50	4.95	-	-	-	-	-	-	-	-
2-AA, 0.125 µg/plate	-	-	-	-	-	-	-	-	355	365	360.00	7.07	355	365	360.00	7.07
แผนก compounding	24	28	26.00	2.83	27	31	29.00	2.83	52	45	48.50	4.95	47	52	49.50	3.54
แผนก production	34	39	36.50	3.54	30	34	32.00	2.83	42	51	46.50	6.36	48	51	49.50	2.12
แผนก packing	29	21	25.00	5.66	21	26	23.50	3.54	41	44	42.50	2.12	45	47	46.00	1.41

ตารางภาคผนวก ค 2 จำนวนโคโลนีของเชื้อ *salmonella typhimurium* สายพันธุ์ TA 100 ที่กลายพันธุ์ในสภาวะที่ไม่ใช้และใช้ S9 mixture หลังจากการเติมตัวอย่างสารสกัดจากอากาศในบรรยากาศการทำงาน 16 ชั่วโมงของโรงงานอุตสาหกรรมผลิตถุงมือยางที่ 1 เดือนที่ 1 ลงในจานเลี้ยงเชื้อ

ตัวอย่าง	TA100(-S9)								TA100(+S9)							
	คนที่ 1				คนที่ 2				คนที่ 1				คนที่ 2			
	plate 1	plate 2	Mean	SD	plate 1	plate 2	Mean	SD	plate 1	plate 2	Mean	SD	plate 1	plate 2	Mean	SD
SR	173	180	176.50	4.95	173	180	176.50	4.95	200	194	197.00	4.24	200	194	197.00	4.24
AF-2, 0.01 µg/plate	386	397	391.50	7.78	386	397	391.50	7.78	-	-	-	-	-	-	-	-
2-AA, 0.125 µg/plate	-	-	-	-	-	-	-	-	430	424	427.00	4.24	430	424	427.00	4.24
แผนก compounding	194	186	190.00	5.66	188	191	189.50	2.12	215	209	212.00	4.24	221	215	218.00	4.24
แผนก production	172	169	170.50	2.12	169	163	166.00	4.24	201	197	199.00	2.83	185	194	189.50	6.36
แผนก packing	179	190	184.50	7.78	188	197	192.50	6.36	192	186	189.00	4.24	185	196	190.50	7.78

ตารางภาคผนวก ค 3 จำนวนโคโลนีของเชื้อ *salmonella typhimurium* สายพันธุ์ TA 98 ที่กลายพันธุ์ในสภาวะที่ไม่ใช้และใช้ S9 mixture หลังจากการเติมตัวอย่างสารสกัดจากอากาศในบรรยากาศการทำงาน 16 ชั่วโมงของโรงงานอุตสาหกรรมผลิตถุงมือยางที่ 1 เดือนที่ 2 ลงในจานเลี้ยงเชื้อ

ตัวอย่าง	TA98(-S9)								TA98(+S9)							
	คนที่ 1				คนที่ 2				คนที่ 1				คนที่ 2			
	plate 1	plate 2	Mean	SD	plate 1	plate 2	Mean	SD	plate 1	plate 2	Mean	SD	plate 1	plate 2	Mean	SD
SR	32	34	33.00	1.41	32	34	33.00	1.41	38	44	41.00	4.24	38	44	41.00	4.24
AF-2, 0.2 µg/plate	383	375	379.00	5.66	383	375	379.00	5.66	-	-	-	-	-	-	-	-
2-AA, 0.125 µg/plate	-	-	-	-	-	-	-	-	395	386	390.50	6.36	395	386	390.50	6.36
แผนก compounding	29	26	27.50	2.12	29	34	31.50	3.54	27	35	31.00	5.66	36	37	25.31	0.71
แผนก production	25	29	27.00	2.83	36	33	34.50	2.12	48	42	45.00	4.24	44	51	30.26	4.95
แผนก packing	27	30	28.50	2.12	33	29	31.00	2.83	43	49	46.00	4.24	43	46	29.62	2.12

ตารางภาคผนวก ค 4 จำนวนโคโลนีของเชื้อ *salmonella typhimurium* สายพันธุ์ TA 100 ที่กลายพันธุ์ในสภาวะที่ไม่ใช้และใช้ S9 mixture หลังจากการเติมตัวอย่างสารสกัดจากอากาศในบรรยากาศการทำงาน 16 ชั่วโมงของโรงงานอุตสาหกรรมผลิตถุงมือยางที่ 1 เดือนที่ 2 ลงในจานเลี้ยงเชื้อ

ตัวอย่าง	TA100(-S9)								TA100(+S9)							
	คนที่ 1				คนที่ 2				คนที่ 1				คนที่ 2			
	plate 1	plate 2	Mean	SD	plate 1	plate 2	Mean	SD	plate 1	plate 2	Mean	SD	plate 1	plate 2	Mean	SD
SR	171	168	169.50	2.12	171	168	169.50	2.12	187	188	187.50	0.71	187	188	187.50	0.71
AF-2, 0.01 µg/plate	433	427	430.00	4.24	433	427	430.00	4.24	-	-	-	-	-	-	-	-
2-AA, 0.125 µg/plate	-	-	-	-	-	-	-	-	375	367	371.00	5.66	375	367	371.00	5.66
แผนก compounding	170	175	172.50	3.54	173	182	177.50	6.36	171	180	175.50	6.36	186	181	183.50	3.54
แผนก production	166	168	167.00	1.41	159	163	161.00	2.83	182	174	178.00	5.66	175	169	172.00	4.24
แผนก packing	174	178	176.00	2.83	182	187	184.50	3.54	183	191	187.00	5.66	185	182	183.50	2.12

ตารางภาคผนวก ค 5 จำนวนโคโลนีของเชื้อ *salmonella typhimurium* สายพันธุ์ TA 98 ที่กลายพันธุ์ในสภาวะที่ไม่ใช้และใช้ S9 mixture หลังจากการเติมตัวอย่างสารสกัดจากอากาศในบรรยากาศการทำงาน 16 ชั่วโมงของโรงงานอุตสาหกรรมผลิตถุงมือยางที่ 1 เดือนที่ 3 ลงในจานเลี้ยงเชื้อ

ตัวอย่าง	TA98(-S9)								TA98(+S9)							
	คนที่ 1				คนที่ 2				คนที่ 1				คนที่ 2			
	plate 1	plate 2	Mean	SD	plate 1	plate 2	Mean	SD	plate 1	plate 2	Mean	SD	plate 1	plate 2	Mean	SD
SR	25	31	28.00	4.24	25	31	28.00	4.24	40	46	43.00	4.24	40	46	43.00	4.24
AF-2, 0.2 µg/plate	367	363	365.00	2.83	367	363	365.00	2.83	-	-	-	-	-	-	-	-
2-AA, 0.125 µg/plate	-	-	-	-	-	-	-	-	381	377	379.00	2.83	381	377	379.00	2.83
แผนก compounding	28	32	30.00	2.83	26	29	27.50	2.12	52	49	50.50	2.12	48	41	44.50	4.95
แผนก production	33	35	34.00	1.41	30	37	33.50	4.95	46	41	43.50	3.54	39	45	42.00	4.24
แผนก packing	24	30	27.00	4.24	25	27	26.00	1.41	45	43	44.00	1.41	47	53	50.00	4.24

ตารางภาคผนวก ค 6 จำนวนโคโลนีของเชื้อ *salmonella typhimurium* สายพันธุ์ TA 100 ที่กลายพันธุ์ในสภาวะที่ไม่ใช้และใช้ S9 mixture หลังจากการเติมตัวอย่างสารสกัดจากอากาศในบรรยากาศการทำงาน 16 ชั่วโมงของโรงงานอุตสาหกรรมผลิตถุงมือยางที่ 1 เดือนที่ 3 ลงในจานเลี้ยงเชื้อ

ตัวอย่าง	TA100(-S9)								TA100(+S9)							
	คนที่ 1				คนที่ 2				คนที่ 1				คนที่ 2			
	plate 1	plate 2	Mean	SD	plate 1	plate 2	Mean	SD	plate 1	plate 2	Mean	SD	plate 1	plate 2	Mean	SD
SR	163	167	165.00	2.83	163	167	165.00	2.83	168	171	169.50	2.12	168	171	169.50	2.12
AF-2, 0.01 µg/plate	425	422	423.50	2.12	425	422	423.50	2.12	-	-	-	-	-	-	-	-
2-AA, 0.125 µg/plate	-	-	-	-	-	-	-	-	452	461	456.50	6.36	452	461	456.50	6.36
แผนก compounding	176	181	178.50	3.54	172	177	174.50	1.77	168	172	170.00	2.83	167	174	170.50	4.95
แผนก production	154	163	158.50	6.36	163	168	165.50	1.77	187	191	189.00	2.83	178	183	180.50	3.54
แผนก packing	172	180	176.00	5.66	174	167	170.50	2.47	171	165	168.00	4.24	164	167	165.50	2.12

ตารางภาคผนวก ค 7 จำนวนโคโลนีของเชื้อ *salmonella typhimurium* สายพันธุ์ TA 98 ที่กลายพันธุ์ในสภาวะที่ไม่ใช้และใช้ S9 mixture หลังจากการเติมตัวอย่างสารสกัดจากอากาศในบรรยากาศการทำงาน 16 ชั่วโมงของโรงงานอุตสาหกรรมผลิตถุงมือยางที่ 2 เดือนที่ 1 ลงในจานเลี้ยงเชื้อ

ตัวอย่าง	TA98(-S9)								TA98(+S9)							
	คนที่ 1				คนที่ 2				คนที่ 1				คนที่ 2			
	plate 1	plate 2	Mean	SD	plate 1	plate 2	Mean	SD	plate 1	plate 2	Mean	SD	plate 1	plate 2	Mean	SD
SR	36	32	34.00	2.83	36	32	34.00	2.83	39	46	42.50	4.95	39	46	42.50	4.95
AF-2, 0.2 µg/plate	382	376	379.00	4.24	382	376	379.00	4.24	-	-	-	-	-	-	-	-
2-AA, 0.125 µg/plate	-	-	-	-	-	-	-	-	423	428	425.50	3.54	423	428	425.50	3.54
แผนก compounding	39	32	35.50	4.95	33	37	35.00	2.83	36	44	40.00	5.66	41	35	38.00	4.24
แผนก production	34	38	36.00	2.83	30	25	27.50	3.54	38	32	35.00	4.24	39	45	42.00	4.24
แผนก packing	29	35	32.00	4.24	36	29	32.50	4.95	33	37	35.00	2.83	46	34	40.00	8.49

ตารางภาคผนวก ค 8 จำนวนโคโลนีของเชื้อ *salmonella typhimurium* สายพันธุ์ TA 100 ที่กลายพันธุ์ในสภาวะที่ไม่ใช้และใช้ S9 mixture หลังจากการเติมตัวอย่างสารสกัดจากอากาศในบรรยากาศการทำงาน 16 ชั่วโมงของโรงงานอุตสาหกรรมผลิตถุงมือยางที่ 2 เดือนที่ 1 ลงในจานเลี้ยงเชื้อ

ตัวอย่าง	TA100 (-S9)								TA100 (+S9)							
	คนที่ 1				คนที่ 2				คนที่ 1				คนที่ 2			
	plate 1	plate 2	Mean	SD	plate 1	plate 2	Mean	SD	plate 1	plate 2	Mean	SD	plate 1	plate 2	Mean	SD
SR	173	165	169.00	5.66	173	165	169.00	5.66	199	192	195.50	4.95	199	192	195.50	4.95
AF-2, 0.01 µg/plate	364	362	363.00	1.41	364	362	363.00	1.41	-	-	-	-	-	-	-	-
2-AA, 0.125 µg/plate	-	-	-	-	-	-	-	-	363	371	367.00	5.66	363	371	367.00	5.66
แผนก compounding	179	173	176.00	4.24	164	171	167.50	4.95	177	187	182.00	7.07	169	176	172.50	4.95
แผนก production	181	175	178.00	4.24	173	175	174.00	1.41	197	196	196.50	0.71	184	189	186.50	3.54
แผนก packing	166	169	167.50	2.12	176	182	179.00	4.24	186	175	180.50	7.78	190	185	187.50	3.54

ตารางภาคผนวก ค 9 จำนวนโคโลนีของเชื้อ *salmonella typhimurium* สายพันธุ์ TA 98 ที่กลายพันธุ์ในสภาวะที่ไม่ใช้และใช้ S9 mixture หลังจากการเติมตัวอย่างสารสกัดจากอากาศในบรรยากาศการทำงาน 16 ชั่วโมงของโรงงานอุตสาหกรรมผลิตถุงมือยางที่ 2 เดือนที่ 2 ลงในจานเลี้ยงเชื้อ

ตัวอย่าง	TA98(-S9)								TA98(+S9)							
	คนที่ 1				คนที่ 2				คนที่ 1				คนที่ 2			
	plate 1	plate 2	Mean	SD	plate 1	plate 2	Mean	SD	plate 1	plate 2	Mean	SD	plate 1	plate 2	Mean	SD
SR	26	33	29.50	4.95	26	33	29.50	4.95	30	26	28.00	2.83	30	26	28.00	2.83
AF-2, 0.2 µg/plate	385	382	383.50	2.12	385	382	383.50	2.12	-	-	-	-	-	-	-	-
2-AA, 0.125 µg/plate	-	-	-	-	-	-	-	-	372	379	375.50	4.95	372	379	375.50	4.95
แผนก compounding	29	32	30.50	2.12	30	26	28.00	2.83	36	42	39.00	4.24	41	36	38.50	3.54
แผนก production	34	30	32.00	2.83	20	28	24.00	5.66	39	33	36.00	4.24	39	45	42.00	4.24
แผนก packing	26	19	22.50	4.95	35	34	34.50	0.71	30	37	33.50	4.95	36	34	35.00	1.41

ตารางภาคผนวก ค 10 จำนวนโคโลนีของเชื้อ *salmonella typhimurium* สายพันธุ์ TA 100 ที่กลายพันธุ์ในสภาวะที่ไม่ใช้และใช้ S9 mixture หลังจากการเติมตัวอย่างสารสกัดจากอากาศในบรรยากาศการทำงาน 16 ชั่วโมงของโรงงานอุตสาหกรรมผลิตถุงมือยางที่ 2 เดือนที่ 2 ลงในจานเลี้ยงเชื้อ

ตัวอย่าง	TA100(-S9)								TA100(+S9)							
	คนที่ 1				คนที่ 2				คนที่ 1				คนที่ 2			
	plate 1	plate 2	Mean	SD	plate 1	plate 2	Mean	SD	plate 1	plate 2	Mean	SD	plate 1	plate 2	Mean	SD
SR	174	183	178.50	6.36	174	183	178.50	6.36	188	182	185.00	4.24	188	182	185.00	4.24
AF-2, 0.01 µg/plate	386	376	381.00	7.07	386	376	381.00	7.07	-	-	-	-	-	-	-	-
2-AA, 0.125 µg/plate	-	-	-	-	-	-	-	-	425	431	428.00	4.24	425	431	428.00	4.24
แผนก compounding	169	160	164.50	6.36	154	167	160.50	9.19	192	179	185.50	9.19	181	185	183.00	2.83
แผนก production	171	165	168.00	4.24	163	158	160.50	3.54	178	180	179.00	1.41	174	165	169.50	6.36
แผนก packing	178	186	182.00	5.66	168	175	171.50	4.95	153	164	158.50	7.78	169	171	170.00	1.41

ตารางภาคผนวก ค 11 จำนวนโคโลนีของเชื้อ *salmonella typhimurium* สายพันธุ์ TA 98 ที่กลายพันธุ์ในสภาวะที่ไม่ใช้และใช้ S9 mixture หลังจากการเติมตัวอย่างสารสกัดจากอากาศในบรรยากาศการทำงาน 16 ชั่วโมงของโรงงานอุตสาหกรรมผลิตถุงมือยางที่ 2 เดือนที่ 3 ลงในจานเลี้ยงเชื้อ

ตัวอย่าง	TA98(-S9)								TA98(+S9)							
	คนที่ 1				คนที่ 2				คนที่ 1				คนที่ 2			
	plate 1	plate 2	Mean	SD	plate 1	plate 2	Mean	SD	plate 1	plate 2	Mean	SD	plate 1	plate 2	Mean	SD
SR	52	46	49.00	4.24	52	46	49.00	4.24	35	30	32.50	3.54	35	30	32.50	3.54
AF-2, 0.2 µg/plate	377	369	373.00	5.66	377	369	373.00	5.66	-	-	-	-	-	-	-	-
2-AA, 0.125 µg/plate	-	-	-	-	-	-	-	-	383	392	387.50	6.36	383	392	387.50	6.36
แผนก compounding	46	44	45.00	1.41	36	31	33.50	3.54	23	27	25.00	2.83	32	21	26.50	7.78
แผนก production	47	54	50.50	4.95	39	45	42.00	4.24	23	24	23.50	0.71	26	28	27.00	1.41
แผนก packing	52	42	47.00	7.07	38	42	40.00	2.83	21	25	23.00	2.83	24	24	24.00	0.00

ตารางภาคผนวก ค 12 จำนวนโคโลนีของเชื้อ *salmonella typhimurium* สายพันธุ์ TA 100 ที่กลายพันธุ์ในสภาวะที่ไม่ใช้และใช้ S9 mixture หลังจากการเติมตัวอย่างสารสกัดจากอากาศในบรรยากาศการทำงาน 16 ชั่วโมงของโรงงานอุตสาหกรรมผลิตถุงมือยางที่ 2 เดือนที่ 3 ลงในจานเลี้ยงเชื้อ

ตัวอย่าง	TA100(-S9)								TA100(+S9)							
	คนที่ 1				คนที่ 2				คนที่ 1				คนที่ 2			
	plate 1	plate 2	Mean	SD	plate 1	plate 2	Mean	SD	plate 1	plate 2	Mean	SD	plate 1	plate 2	Mean	SD
SR	193	191	192.00	1.41	193	191	192.00	1.41	178	184	181.00	4.24	178	184	181.00	4.24
AF-2, 0.01 µg/plate	384	392	388.00	5.66	384	392	388.00	5.66	-	-	-	-	-	-	-	-
2-AA, 0.125 µg/plate	-	-	-	-	-	-	-	-	363	371	367.00	5.66	363	371	367.00	5.66
แผนก compounding	159	153	156.00	4.24	144	141	142.50	2.12	172	174	173.00	1.41	160	163	161.50	2.12
แผนก production	177	184	180.50	4.95	183	195	189.00	8.49	165	172	168.50	4.95	170	159	164.50	7.78
แผนก packing	196	210	203.00	9.90	216	202	209.00	9.90	174	169	171.50	3.54	175	176	175.50	0.71

ตารางภาคผนวก ค 13 จำนวนโคโลนีของเชื้อ *salmonella typhimurium* สายพันธุ์ TA 98 ที่กลายพันธุ์ในสภาวะที่ไม่ใช้และใช้ S9 mixture หลังจากการเติมตัวอย่างสารสกัดจากอากาศในบรรยากาศการทำงาน 16 ชั่วโมงของโรงงานอุตสาหกรรมผลิตถุงมือยางที่ 3 เดือนที่ 1 ลงในจานเลี้ยงเชื้อ

ตัวอย่าง	TA98(-S9)								TA98(+S9)							
	คนที่ 1				คนที่ 2				คนที่ 1				คนที่ 2			
	plate 1	plate 2	Mean	SD	plate 1	plate 2	Mean	SD	plate 1	plate 2	Mean	SD	plate 1	plate 2	Mean	SD
SR	45	39	42.00	4.24	45	39	42.00	4.24	43	59	51.00	11.31	43	59	51.00	11.31
AF-2, 0.2 µg/plate	424	411	417.50	9.19	424	411	417.50	9.19	-	-	-	-	-	-	-	-
2-AA, 0.125 µg/plate	-	-	-	-	-	-	-	-	367	383	375.00	11.31	367	383	375.00	11.31
แผนก compounding	25	25	25.00	0.00	39	38	38.50	0.71	48	51	49.50	2.12	49	34	41.50	10.61
แผนก production	36	36	36.00	0.00	44	37	40.50	4.95	41	36	38.50	3.54	37	35	36.00	1.41
แผนก packing	40	34	37.00	4.24	47	41	44.00	4.24	46	49	47.50	2.12	54	49	51.50	3.54

ตารางภาคผนวก ค 14 จำนวนโคโลนีของเชื้อ *salmonella typhimurium* สายพันธุ์ TA 100 ที่กลายพันธุ์ในสภาวะที่ไม่ใช้และใช้ S9 mixture หลังจากการเติมตัวอย่างสารสกัดจากอากาศในบรรยากาศการทำงาน 16 ชั่วโมงของโรงงานอุตสาหกรรมผลิตถุงมือยางที่ 3 เดือนที่ 1 ลงในจานเลี้ยงเชื้อ

ตัวอย่าง	TA100(-S9)								TA100(+S9)							
	คนที่ 1				คนที่ 2				คนที่ 1				คนที่ 2			
	plate 1	plate 2	Mean	SD	plate 1	plate 2	Mean	SD	plate 1	plate 2	Mean	SD	plate 1	plate 2	Mean	SD
SR	177	185	181.00	5.66	177	185	181.00	5.66	186	179	182.50	4.95	186	179	182.50	4.95
AF-2, 0.01 µg/plate	392	388	390.00	2.83	392	388	390.00	2.83	-	-	-	-	-	-	-	-
2-AA, 0.125 µg/plate	-	-	-	-	-	-	-	-	377	369	373.00	5.66	377	369	373.00	5.66
แผนก compounding	192	195	193.50	2.12	180	185	182.50	3.54	182	175	178.50	4.95	173	176	174.50	2.12
แผนก production	178	172	175.00	4.24	184	177	180.50	4.95	187	178	182.50	6.36	183	190	186.50	4.95
แผนก packing	188	191	189.50	2.12	181	177	179.00	2.83	172	178	175.00	4.24	183	181	182.00	1.41

ตารางภาคผนวก ค 15 จำนวนโคโลนีของเชื้อ *salmonella typhimurium* สายพันธุ์ TA 98 ที่กลายพันธุ์ในสภาวะที่ไม่ใช้และใช้ S9 mixture หลังจากการเติมตัวอย่างสารสกัดจากอากาศในบรรยากาศการทำงาน 16 ชั่วโมงของโรงงานอุตสาหกรรมผลิตถุงมือยางที่ 3 เดือนที่ 2 ลงในจานเลี้ยงเชื้อ

ตัวอย่าง	TA98(-S9)								TA98(+S9)							
	คนที่ 1				คนที่ 2				คนที่ 1				คนที่ 2			
	plate 1	plate 2	Mean	SD	plate 1	plate 2	Mean	SD	plate 1	plate 2	Mean	SD	plate 1	plate 2	Mean	SD
SR	20	25	22.50	3.54	20	25	22.50	3.54	19	22	20.50	2.12	19	22	20.50	2.12
AF-2, 0.2 µg/plate	431	442	436.50	7.78	431	442	436.50	7.78	-	-	-	-	-	-	-	-
2-AA, 0.125 µg/plate	-	-	-	-	-	-	-	-	371	367	369.00	2.83	371	367	369.00	2.83
แผนก compounding	31	22	26.50	6.36	27	34	30.50	4.95	28	26	27.00	1.41	30	27	28.50	2.12
แผนก production	26	23	24.50	2.12	32	25	28.50	4.95	25	28	26.50	2.12	21	24	22.50	2.12
แผนก packing	37	41	39.00	2.83	30	34	32.00	2.83	30	26	28.00	2.83	26	33	29.50	4.95

ตารางภาคผนวก ค 16 จำนวนโคโลนีของเชื้อ *salmonella typhimurium* สายพันธุ์ TA 100 ที่กลายพันธุ์ในสภาวะที่ไม่ใช้และใช้ S9 mixture หลังจากการเติมตัวอย่างสารสกัดจากอากาศในบรรยากาศการทำงาน 16 ชั่วโมงของโรงงานอุตสาหกรรมผลิตถุงมือยางที่ 3 เดือนที่ 2 ลงในจานเลี้ยงเชื้อ

ตัวอย่าง	TA100(-S9)								TA100(+S9)							
	คนที่ 1				คนที่ 2				คนที่ 1				คนที่ 2			
	plate 1	plate 2	Mean	SD	plate 1	plate 2	Mean	SD	plate 1	plate 2	Mean	SD	plate 1	plate 2	Mean	SD
SR	167	172	169.50	3.54	167	172	169.50	3.54	195	189	192.00	4.24	195	189	192.00	4.24
AF-2, 0.01 µg/plate	389	380	384.50	6.36	389	380	384.50	6.36	-	-	-	-	-	-	-	-
2-AA, 0.125 µg/plate	-	-	-	-	-	-	-	-	378	389	383.50	7.78	378	389	383.50	7.78
compound	186	176	181.00	7.07	166	176	171.00	7.07	165	174	169.50	6.36	171	168	169.50	2.12
production	168	175	171.50	4.95	180	185	182.50	3.54	180	172	176.00	5.66	177	173	175.00	2.83
packing	161	167	164.00	4.24	174	165	169.50	6.36	168	164	166.00	2.83	163	171	167.00	5.66

ตารางภาคผนวก ค 17 จำนวนโคโลนีของเชื้อ *salmonella typhimurium* สายพันธุ์ TA 98 ที่กลายพันธุ์ในสภาวะที่ไม่ใช้และใช้ S9 mixture หลังจากการเติมตัวอย่างสารสกัดจากอากาศในบรรยากาศการทำงาน 16 ชั่วโมงของโรงงานอุตสาหกรรมผลิตถุงมือยางที่ 3 เดือนที่ 3 ลงในจานเลี้ยงเชื้อ

ตัวอย่าง	TA98(-S9)								TA98(+S9)							
	คนที่ 1				คนที่ 2				คนที่ 1				คนที่ 2			
	plate 1	plate 2	Mean	SD	plate 1	plate 2	Mean	SD	plate 1	plate 2	Mean	SD	plate 1	plate 2	Mean	SD
SR	44	39	41.50	3.54	44	39	41.50	3.54	54	45	49.50	6.36	54	45	49.50	6.36
AF-2, 0.2 µg/plate	353	363	358.00	7.07	353	363	358.00	7.07	-	-	-	-	-	-	-	-
2-AA, 0.125 µg/plate	-	-	-	-	-	-	-	-	378	385	381.50	4.95	378	385	381.50	4.95
แผนก compounding	50	52	51.00	1.41	55	52	53.50	2.12	51	42	46.50	6.36	41	51	46.00	7.07
แผนก production	57	46	51.50	7.78	56	60	58.00	2.83	53	42	47.50	7.78	57	55	56.00	1.41
แผนก packing	29	38	33.50	6.36	45	48	46.50	2.12	52	58	55.00	4.24	36	45	40.50	6.36

ตารางภาคผนวก ค 18 จำนวนโคโลนีของเชื้อ *salmonella typhimurium* สายพันธุ์ TA 100 ที่กลายพันธุ์ในสภาวะที่ไม่ใช้และใช้ S9 mixture หลังจากการเติมตัวอย่างสารสกัดจากอากาศในบรรยากาศการทำงาน 16 ชั่วโมงของโรงงานอุตสาหกรรมผลิตถุงมือยางที่ 3 เดือนที่ 3 ลงในจานเลี้ยงเชื้อ

ตัวอย่าง	TA100(-S9)								TA100(+S9)							
	คนที่ 1				คนที่ 2				คนที่ 1				คนที่ 2			
	plate 1	plate 2	Mean	SD	plate 1	plate 2	Mean	SD	plate 1	plate 2	Mean	SD	plate 1	plate 2	Mean	SD
SR	181	188	184.50	4.95	181	188	184.50	4.95	172	177	174.50	3.54	172	177	174.50	3.54
AF-2, 0.01 µg/plate	375	373	374.00	1.41	375	373	374.00	1.41	-	-	-	-	-	-	-	-
2-AA, 0.125 µg/plate	-	-	-	-	-	-	-	-	381	373	377.00	5.66	381	373	377.00	5.66
แผนก compounding	174	179	176.50	3.54	158	169	163.50	7.78	186	195	190.50	6.36	193	188	190.50	3.54
แผนก production	175	180	177.50	3.54	180	172	176.00	5.66	175	167	171.00	5.66	182	173	177.50	6.36
แผนก packing	167	179	173.00	8.49	167	160	163.50	4.95	188	197	192.50	6.36	196	189	192.50	4.95

ภาคผนวก ง

วิธีเตรียมสารละลายต่างๆ สำหรับการทดสอบการกลายพันธุ์ด้วยวิธี Ames' test

วิธีเตรียมสารละลายสำหรับ Ames' test

1. Minimal glucose agar plate

ส่วนผสม

1. Agar	15	กรัม
2. Glucose, anhydrous	20	กรัม
3. Volgel-Borner medium E (10X)	100	มิลลิลิตร
4. น้ำกลั่น	900	มิลลิลิตร

วิธีทำ

1. ละลาย agar ด้วยน้ำกลั่น 800 มิลลิลิตร ใน reagent bottle ขนาด 2 ลิตร
2. ละลาย glucose ด้วยน้ำกลั่นจนได้สารละลายปริมาตร 100 มิลลิลิตร ใน reagent bottle ขนาด 250 มิลลิลิตร
3. ใส่ volgel-Borner medium E 100 มิลลิลิตร ใน reagent bottle ขนาด 250 มิลลิลิตร
4. นำสารละลายทั้งสามไป autoclave ที่อุณหภูมิ 120 °C ความดัน 15 ปอนด์, 15 นาที
5. เอาออกมาตั้งทิ้งไว้ที่อุณหภูมิห้องจนอุณหภูมิของสารละลาย agar ประมาณ 55 °C เทสารละลาย glucose ลงไป ตามด้วยสารละลาย volgel-Borner medium E ผสมให้เข้ากัน
6. นำไปเทลงใน plate ซึ่ง sterile ไว้แล้วปริมาณ plate ละ 25 มิลลิลิตร ตั้งทิ้งไว้ที่อุณหภูมิห้องจน agar แข็งตัวจึงนำไปวางแบบพลิกกลับด้านในที่แห้ง 2-3 วัน จึงจะนำมาใช้ได้

2. Volgel-Borner medium E (10X)

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	1	ลิตร

วิธีทำ

ละลายสารตัวที่ 1 ในน้ำประมาณ 500 มิลลิลิตร จนสารละลายหมด เติมสารตัวที่ 2 ลงไปจนสารละลายหมด จึงเติมสารตัวที่ 3 ค่อยๆ เติมจนสารละลายหมดไปทีละตัวตามลำดับ จนครบทุกตัว ปรับปริมาตรให้เป็น 1 ลิตร นำไป autoclave 15 นาที เก็บไว้ในตู้เย็น

3. Top agar

ส่วนผสม

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

วิธีทำ

ผสมสารละลายเข้าด้วยกันแล้วนำไป autoclave 15 นาที ตั้งทิ้งไว้จนอุณหภูมิประมาณ 50-55 °C เติมสารละลายฮิสทีดีนและไบโอติน (0.5 มิลลิโมล่าร์) ลงไปในอัตราส่วน 10 มิลลิลิตร ต่อ top agar 100 มิลลิลิตร

4. 0.5 mM Histidine-Biotin

ส่วนผสม

1. D-Biotin	122	มิลลิลิตร
2. L-Histidine-HCl.H_2O	105	มิลลิลิตร
3. น้ำกลั่น	1000	มิลลิลิตร

วิธีทำ

ผสมสารเข้าด้วยกัน อุ่นให้ร้อนจนละลายหมด Sterile โดยกรองผ่าน Millipore filter membrane (0.5 ไมครอน)

5. Nutrient Broth สำหรับเลี้ยงเชื้อ

ส่วนผสม

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

วิธีทำ

ละลายสารจนหมด แบ่งใส่หลอดๆละ 10 มิลลิลิตร autoclave 15 นาที

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 (1M)

วิธีทำ

1. ละลายสารตัวที่ 1 ในน้ำประมาณ 180 มิลลิลิตร จนสารละลายหมด
2. เติมสารตัวที่ 2 ลงไป จนสารละลายหมด
3. ปรับ pH 7.4 ด้วย 1 M NaOH (เตรียม 4 กรัม NaOH ละลายในน้ำกลั่น 100 มิลลิลิตร) และปรับปริมาตรให้เป็น 200 มิลลิลิตร
4. นำไป autoclave และเก็บไว้ในตู้เย็น

7. เตรียม 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

ส่วนผสมนี้ต้องเตรียมใหม่ทุกครั้งที่ต้องการใช้ และควรแช่ในน้ำแข็งตลอดเวลา ส่วนผสม S9 mixture ที่เหลือจากการใช้และ S9 fraction ที่เหลือก็ควรทิ้งไป ปริมาณของ S9 mixture แต่ละครั้งคำนวณจากปริมาณหลอดทดลองที่ต้องใส่ S9 mixture เทียบจาก 1 หลอดทดลองเติม S9 mixture 0.5 มิลลิลิตร

8. การเตรียม S9 fraction

<u>วิธีทำ</u>

1. เตรียมหนูขาวเพศผู้ (Sprague-Dawley หรือ Wistar rat) น้ำหนักประมาณ 200-250 กรัม ควรนำมาเลี้ยงล่วงหน้าประมาณ 1 อาทิตย์ก่อนทดลอง

วันที่ 1 ฉีดสารละลาย phenobarnital ในน้ำเข้มข้น 30 มิลลิกรัม/น้ำหนักตัว 1 กิโลกรัม โดยฉีดเข้าช่องท้อง (intraperitoneal) ควรทำตอนเช้า

วันที่ 2 ฉีดสารละลาย phenobarnital ในน้ำเข้มข้น 60 มิลลิกรัม/น้ำหนักตัว 1 กิโลกรัม โดยฉีดเข้าช่องท้อง (intraperitoneal) ควรทำตอนเช้าเช่นเดียวกัน

วันที่ 3 (ตอนเช้า) ฉีดสารละลาย phenobarnital ในน้ำเข้มข้น60 มิลลิกรัม/น้ำหนักตัว 1 กิโลกรัม

(ตอนบ่าย) ฉีดสารละลาย 5,6–naphthoflavone ละลายใน corn oil เข้มข้น 80 มิลลิกรัม/น้ำหนักตัว 1 กิโลกรัม โดยฉีดเข้าช่องท้อง

วันที่ 4 (ตอนเช้า) ฉีดสารละลาย phenobarnital ในน้ำเข้มข้น 60 มิลลิกรัม/น้ำหนักตัว 1 กิโลกรัม โดยฉีดเข้าช่องท้อง

(ตอนกลางคืน) จำกัดอาหารที่ใช้เลี้ยงหนูอาจให้เพียง 1 เม็ด แต่ให้น้ำตามปกติ

วันที่ 5 ทำการฆ่าหนูทั้งหมดโดย cervical dislocation แล้วแยกตับหนูทุกตัวออกมา โดย sterile technique ชั่งน้ำหนักตับทั้งหมด

<u>วิธีเตรียม S9 เอ็นไซม์</u> (ทุกขั้นตอนต้องทำที่อุณหภูมิ 0-4°C สารละลายและเครื่องมือที่ใช้ต้องผ่านการฆ่าเชื้อ)

1. ล้างตับหนูในบีกเกอร์ที่เติม 0.15 โมล่าร์ KCL ปริมาตร 1 มิลลิลิตร/น้ำหนักตับ 1 กรัม ควรล้างหลายๆครั้งด้วย fresh, chilled KCL เพื่อการ sterile ที่มั่นใจและเพื่อกำจัดฮีโมโกลบิน ซึ่งสามารถยับยั้งฤทธิ์ของ cytochrome P_{450} enzymes
2. นำตับหนูใส่ในบีกเกอร์ที่มี 0.15 โมล่าร์ KCL ปริมาณ 3 เท่าของน้ำหนักตับ
3. Minced ด้วยกรรไกรที่สะอาดแล้วนำไป homogenize
4. นำ homogenate ไปปั่นที่ 9,000 รอบ เป็นเวลา 10 นาที
5. Supernatant ที่ได้ คือ S9 fraction ที่มีเอ็นไซม์ของระบบแมแทบอลิซึม
6. แบ่งเป็น aliquot 1-2 มิลลิลิตร ใส่ในหลอดพลาสติกที่มีฝาปิด (cryotube) นำไปเก็บที่อุณหภูมิ -80 °C เมื่อต้องการใช้ให้นำออกมาใช้ตามจำนวนปริมาตรที่ต้องการ

7. แบ่งบางส่วนไปหาปริมาณโปรตีน ซึ่งควรจะมีความเข้มข้นของโปรตีนไม่น้อยกว่า 35-40 มิลลิกรัม/มิลลิลิตร

8. ทดสอบ sterility ของ S9 fraction โดย spread 0.1 มิลลิลิตร ของ supernatant ลงบน minimal glucose agar plate ที่มีฮีสทีดีนและไบโอติน

9. สามารถเตรียม S9 fraction จากเนื้อเยื่ออื่นๆ ได้เช่นเดียวกัน เช่น จากไต ลำไส้เล็ก และปอด นอกจากนี้สมารถเตรียมจากสัตว์ทดลองอื่นๆ ได้ เช่น hamster, guinea pig

ประวัติผู้เขียน

ชื่อ สกุล นางสาวซูไฮณีย์ อิงดิง

รหัสประจำตัวนักศึกษา 4910920050

วุฒิการศึกษา

วุฒิ	ชื่อสถาบัน	ปีที่สำเร็จการศึกษา
วิทยาศาสตรบัณฑิต (ผลิตกรรมชีวภาพ)	มหาวิทยาลัยสงขลานครินทร์ วิทยาเขตสุราษฎร์ธานี	2545

การตีพิมพ์เผยแพร่ผลงาน

ซูไฮณีย์ อิงดิง, บรรจง วิทยวีรศักดิ์ และจันทิภา ปุรินทราภิบาล. 2552.“การตรวจหาสารก่อกลายพันธุ์ในสารแขวนลอยในอากาศที่คนงานสัมผัสภายในโรงงานอุตสาหกรรมผลิตถุงมือยางในจังหวัดสงขลา” การประชุมวิชาการการนำเสนอผลงานวิจัยระดับบัณฑิตศึกษาครั้งที่ 2 23-24 เมษายน 2552. หน้า 11-16. สำนักบริหารวิชาการ สถาบันเทคโนโลยี พระจอมเกล้าคุณทหารลาดกระบัง.