การใช้ไรแดง (*Moina macrocopa* Straus.) ตรวจคัดกรองสาร DEHP, TMTD และ ZDMC ที่เคลื่อนย้ายออกมาจากถุงมือที่ใช้สัมผัสอาหาร

Use of *Moina macrocopa* Straus. for a Screening Test of DEHP, TMTD and ZDMC which Migrated from Food Contact Gloves

กิตติญา วรุตมพันธ์

Kittiya Waruthamaphan

วิทยานิพนธ์นี้เป็นส่วนหนึ่งของการศึกษาตามหลักสูตรปริญญา
วิทยาศาสตรมหาบัณฑิต สาขาวิชาการจัดการสิ่งแวดล้อม
มหาวิทยาลัยสงขลานครินทร์

A Thesis Submitted in Partial Fulfillment of the Requirements for the Degree of Master of Science in Environmental Management
Prince of Songkla University
2555

ลิขสิทธิ์ของมหาวิทยาลัยสงขลานครินทร์

การใช้ไรแดง (*Moina macrocopa* Straus.) ตรวจคัดกรองสาร DEHP, TMTD และ ZDMC ที่เคลื่อนย้ายออกมาจากถุงมือที่ใช้สัมผัสอาหาร

Use of *Moina macrocopa* Straus. for a Screening Test of DEHP, TMTD and ZDMC which Migrated from Food Contact Gloves

กิตติญา วรุตมพันธ์

Kittiya Waruthamaphan

วิทยานิพนธ์นี้เป็นส่วนหนึ่งของการศึกษาตามหลักสูตรปริญญา
วิทยาศาสตรมหาบัณฑิต สาขาวิชาการจัดการสิ่งแวดล้อม
มหาวิทยาลัยสงขลานครินทร์

A Thesis Submitted in Partial Fulfillment of the Requirements for the Degree of Master of Science in Environmental Management
Prince of Songkla University
2556

ลิขสิทธิ์ของมหาวิทยาลัยสงขลานครินทร์

ชื่อวิทยานิพนธ์ การใช้ไรแดง (*Moina macrocopa* Straus.) ตรวจคัดกรองสาร DEHP, TMTD และ ZDMC ที่เคลื่อนย้ายออกมาจากถุงมือที่ใช้สัมผัสอาหาร

ผู้เขียน นางสาวกิตติญา วรุตมพันธ์

สาขาวิชา การจัดการสิ่งแวดล้อม

อาจารย์ที่ปรึกษาวิทยานิพนธ์ หลัก	**คณะกรรมการสอบ**
…….	……..ประธาน กรรมการ
(รองศาสตราจารย์ ดร .บรรจง วิทยวีรศักดิ์)	(ผู้ช่วยศาสตราจารย์ ดร .สุวิทย์ สุวรรณโณ)
	……..กรรมการ
อาจารย์ที่ปรึกษาวิทยานิพนธ์ร่วม	(รองศาสตราจารย์ ดร .บรรจง วิทยวีรศักดิ์)
…….	……..กรรมการ
(ผู้ช่วยศาสตราจารย์ ดร สุปิยนิตย์. ไม้แพ)	(รองศาสตราจารย์ ดรวรรณา ชูฤทธิ์.)
	……..กรรมการ
	(ผู้ช่วยศาสตราจารย์ ดร วิไลรัตน์. ชีวะเศรษฐธรรม)
	……..กรรมการ
	(ผู้ช่วยศาสตราจารย์ ดร สุปิยนิตย์. ไม้แพ)

บัณฑิตวิทยาลัย มหาวิทยาลัยสงขลานครินทร์ อนุมัติให้นับวิทยานิพนธ์ฉบับนี้เป็นส่วนหนึ่งของการศึกษา ตามหลักสูตรปริญญาวิทยาศาสตรมหาบัณฑิต สาขาวิชาการจัดการสิ่งแวดล้อม

……

(รองศาสตราจารย์ ดร .ธีระพล ศรีชนะ)

คณบดีบัณฑิตวิทยาลัย

ขอรับรองว่า ผลงานวิจัยนี้เป็นผลมาจากการศึกษาวิจัยของนักศึกษาเอง และขอขอบคุณผู้ที่มีส่วนเกี่ยวข้องทุกท่านไว้ ณ ที่นี้

ลงชื่อ_____
(รองศาสตราจารย์ดร.บรรจง วิทยวีรศักดิ์)
อาจารย์ที่ปรึกษาวิทยานิพนธ์

ลงชื่อ_____
(นางสาวกิตติญา วรุตมพันธ์)
นักศึกษา

ข้าพเจ้าขอรับรองว่า ผลงานวิจัยนี้ไม่เคยเป็นส่วนหนึ่งในการอนุมัติปริญญาในระดับใดมาก่อนและไม่ได้ถูกใช้ในการยื่นขออนุมัติปริญญาในขณะนี้

ลงชื่อ_____

(นางสาวกิตติญา วรุตมพันธ์)

นักศึกษา

ชื่อวิทยานิพนธ์	การใช้ไรแดง (*Moina macrocopa* Straus.) ตรวจคัดกรองสาร DEHP, TMTD และ ZDMC ที่เคลื่อนย้าย ออกมาจากถุงมือที่ใช้สัมผัสอาหาร
ผู้เขียน	นางสาวกิตติญา วรุตมพันธ์
สาขาวิชา	การจัดการสิ่งแวดล้อม
ปีการศึกษา	2555

บทคัดย่อ

ในการตรวจสอบความปลอดภัยของวัสดุที่ใช้สัมผัสอาหาร กำหนดให้มีการตรวจวิเคราะห์หาชนิดและปริมาณของ สารตกค้าง ที่เคลื่อนย้าย ออกมา ซึ่งมีขั้นตอนยุ่งยาก ค่าใช้จ่ายสูง และเสียเวลามาก การศึกษาครั้งนี้จึงมีวัตถุประสงค์เพื่อใช้ไรแดง (*Moina macrocopa*) ในการตรวจคัดกรองความเป็นพิษเฉียบพลันของสาร di(2-ethylhexy)phthalate (DEHP), tetramethylthiuram disulfide (TMTD) และ zinc-dimethyl dithiocarbamate (ZDMC) ที่เคลื่อนย้ายออกมาจากถุงมือที่ใช้สัมผัสอาหาร โดยขั้นตอนแรกเป็นการศึกษาหาค่าความเข้มข้นของสารเคมีเหล่านี้ที่ทำให้เกิดอัตราการตายของไรแดงร้อยละ 50 (LC_{50}) พบว่าสารละลายผสมระหว่างสารทั้ง 3 ชนิดนี้ในอัตราส่วน 1:1:1 มิลลิกรัมต่อลิตร มีความเป็นพิษสูงที่สุด รองลงมาคือ สารละลายผสมระหว่าง DEHP กับ TMTD (1:1) สารละลายผสมระหว่าง DEHP กับ ZDMC (1:1) มิลลิกรัมต่อลิตร สารละลาย DEHP สารละลายผสมระหว่าง TMTD กับ ZDMC (1:1) มิลลิกรัมต่อลิตร สารละลาย TMTD และสารละลาย ZDMC ตามลำดับ โดยมีค่า LC_{50} ที่ระยะเวลา 24 ชั่วโมง เท่ากับ 1.32, 1.85, 2.83, 4.41, 7.26, 9.52 และ 13.85 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร ตามลำดับ พบว่ามีการเสริมฤทธิ์กันระหว่างสารทั้ง 3 ชนิด

ขั้นตอนต่อมาเป็นการวิเคราะห์หาระดับการปนเปื้อนของสาร ทั้ง 3 ชนิดในน้ำชะถุงมือ 4 ชนิดที่ใช้สัมผัสอาหาร พบสาร DEHP เคลื่อนย้ายออกมาจากถุงมือยางธรรมชาติแบบหนาชนิดไม่มีแป้ง ถุงมือยางธรรมชาติแบบบางชนิดไม่มีแป้ง ถุงมือยางธรรมชาติ แบบบางชนิด มีแป้งและถุงมือพลาสติก PE ใน ปริมาณ 0.023 ± 0.010, 0.010 ± 0.001, 0.015 ± 0.010 และ 0.007 ± 0.010 ไมโครกรัมต่อตารางเซนติเมตร ตามลำดับ พบสาร TMTD เคลื่อนย้ายออกมาจาก ถุงมือยางธรรมชาติ แบบหนาชนิดไม่ มีแป้ง ถุงมือยางธรรมชาติ แบบบาง ชนิดไม่มีแป้ง และถุงมือยางธรรมชาติ แบบบางชนิด มีแป้งในปริมาณ 0.005 ± 0.001, 0.013 ± 0.002 และ 0.020 ± 0.003 ไมโครกรัมต่อตารางเซนติเมตร ตามลำดับ ตรวจไม่พบ TMTD ในน้ำชะถุงมือพลาสติก PE และ

ตรวจไม่พบ ZDMC ในน้ำชะถุงมือทุกตัวอย่าง จากนั้นทดสอบความเป็นพิษของน้ำชะถุงมือ แต่ละชนิดด้วยไรแดงเพื่อหาระยะเวลาและความเข้มข้นของน้ำชะถุงมือที่เหมาะสมที่สุดสำหรับใช้ในการตรวจคัดกรอง พบว่าที่ความเข้มข้น 100% ของน้ำชะถุงมือยางและที่ความเข้มข้น 50% ของน้ำชะถุงมือพลาสติก ให้ค่าความไว และค่าความจำเพาะ สูงสุด (= 1.0) ที่ระยะเวลา ทดสอบ 24 ชั่วโมง การศึกษาครั้งนี้สรุปได้ว่า สามารถใช้ ไรแดง ในการ ตรวจคัดกรองสารเคมี ทั้ง 3 ชนิดที่เคลื่อนย้ายออกมาจากถุงมือที่ใช้สัมผัสอาหาร ได้

คำสำคัญ: การตรวจคัดกรอง , di-(2-ethylhexyl) phthalate (DEHP), tetramethylthiuram disulfide (TMTD), zinc-dimethyl dithiocarbamate (ZDMC), ถุงมือใช้สัมผัสอาหาร, ไรแดง (*Moina macrocopa*)

Thesis Title Use of *Moina macrocopa* Straus. for a Screening Test of DEHP, TMTD and ZDMC Which Migrated from Food Contact Gloves

Author Miss Kittiya Waruthamaphan

Major Program Environmental Management

Academic Year 2012

ABSTRACT

A safety checking of food contact materials requires analytical measurements of migration of toxic residues which are tedious, expensive and time consuming. Thus, this study aimed to develop a screening test of di (2-ethylhexy) phthalate (DEHP), tetramethylthiuram disulfide (TMTD) and zinc-dimethyl dithiocarbamate (ZDMC) which migrated from food contact gloves by using *Moina macrocopa* Straus. First, concentrations of the test chemicals that causes 50 percent mortality (LC_{50}) to the population of *Moina macrocopa* were analyzed. It was found that a mixture of DEHP, TMTD and ZDMC (1:1:1) had the highest toxicity, followed by a mixture of DEHP and TMTD (1:1), a mixture of DEHP and ZDMC (1:1), DEHP, a mixture of TMTD and ZDMC (1:1), TMTD and ZDMC, respectively, of which the LC_{50} were 1.32, 1.85, 2.83, 4.41, 7.26, 9.52 and 13.85 μg/ml, respectively. Synergistic interactions between DEHP, TMTD and ZDMC were noted.

Next, the toxic chemicals which migrated from four types of food contact gloves were determined. DEHP which migrated from thick powder-free natural rubber gloves, slim powdered natural rubber gloves, slim powder-free natural rubber gloves and plastic gloves were 0.023 ± 0.010, 0.010 ± 0.001, 0.015 ± 0.010 and 0.007 ± 0.010 μg/cm^2, respectively. TMTD which migrated from thick powder-free natural rubber gloves, slim powder-free natural rubber gloves and slim powdered natural rubber gloves were 0.005 ± 0.001, 0.013 ± 0.002 and 0.020 ± 0.003μg/cm^2, respectively. No TMTD was found in the plastic gloves. In addition, no ZDMC was found in all of the gloves analyzed. Next, an acute toxicity of each leachate of the food contact gloves was tested with *Moina macrocopa* to determine a test duration and a dilution which were best fit for the screening test. It was found that 100% concentration of rubber glove leachates and

50% concentration of plastic glove leachates gave the highest sensitivity and specificity (= 1.0) at 24 hours test duration. In conclusion, *Moina macrocopa* could be used in a screening test of the three chemicals which migrated from food contact gloves.

Keywords: Screening test, Di-(2-ethylhexyl) phthalate (DEHP), Tetramethylthiuram disulfide (TMTD), Zinc-dimethyl dithiocarbamate (ZDMC), Food contact gloves, *Moina macrocopa* Straus.

กิตติกรรมประกาศ

ผู้วิจัยขอขอบพระคุ ณ รองศาสตราจารย์ นสพ .ดร.บรรจง วิทยวีรศักดิ์ อาจารย์ที่ปรึกษาวิทยานิพนธ์และผู้ช่วยศาสตราจารย์ ดร. สุปียนิตย์ ไม้แพ อาจารย์ที่ปรึกษาวิทยานิพนธ์ร่วมที่มีความกรุณาเสียสละเวลาให้คำแนะนำตรวจแก้ไขข้อบกพร่องต่างๆจนสามารถผ่านไปได้ด้วยดี ผู้วิจัยขอกราบขอบพระคุณ ผู้ช่วยศาสตราจารย์ ดร. สุวิทย์ สุวรรณ โณ ประธานกรรมการสอบวิทยานิ พนธ์และรองศาสตราจารย์ ดร .วรรณา ชูฤทธิ์ ผู้ช่วยศาสตราจารย์ ดร .วิไลรัตน์ ชีวะเศรษฐธรรม คณะกรรมการสอบวิทยานิพนธ์ที่ได้กรุณาให้คำแนะนำและเสนอข้อคิดเห็นที่เป็นประโยชน์ตลอดจนช่วยตรวจแก้ไขวิทยานิพนธ์ให้มีความสมบูรณ์ยิ่งขึ้น

ขอขอบคุ ณภาควิชาชีววิทยา คณะวิทยาศาสตร์ มหาวิทยาลัยสงขลานครินทร์ ที่ ช่วยอนุเคราะห์สาหร่ายคลอเรลลา และขอขอบคุณนักวิทยาศาสตร์ ศูนย์เครื่องมือวิทยาศาสตร์และนักวิท ยาศาสตร์คณะการจัดการสิ่งแวดล้อม มหาวิทยาลัยสงขลานครินทร์ ที่ช่วยเหลือและให้คำแนะนำการใช้เครื่องมือในการทำวิทยานิพนธ์ครั้งนี้จนสำเร็จลุล่วงด้วยดี

ขอขอบคุ ณสำนักงานกองทุนสนับสนุนการวิจัย (สกว.) โครงการวิจัยขนาดกลางเรื่องยางพารา (MPR) และบัณฑิตวิทยาลัย มหาวิทยาลัยสงขลานครินทร์ ที่ให้ทุนสนับสนุนการวิจัยในครั้งนี้

ขอกราบขอบพระคุณ คุณพ่อสิริชัยและคุณแม่กัญญา วรุตมพันธ์ เป็นอย่างสูงที่สนับสนุนทุนการศึกษาตลอดจนทุกคนในครอบครัวที่ให้ความรัก ความห่วงใย คามเอาใจใส่ ความช่วยเหลือและเป็นกำลังใจเสมอมา

ท้าย ที่สุดนี้ขอขอบคุณ คุณกนกรัตน์ เชิญทอง ที่คอยให้ความช่วยเหลือเสมอมาและขอขอบคุณเพื่อนๆนักศึกษาปริญญาโท คณะการจัดการสิ่งแวดล้อม มหาวิทยาลัยสงขลานครินทร์ที่คอยเป็นกำลังใจและให้ความช่วยเหลือเป็นอย่างดีตลอดมา

กิตติญา วรุตมพันธ์

สารบัญ

	หน้า
บทคัดย่อ	(5)
Absaract	(7)
กิตติกรรมประกาศ	(9)
สารบัญ	(10)
สารบัญตาราง	(13)
สารบัญภาพ	(16)
บทที่ 1 บทนำ	1
1.1 บทนำเรื่อง	1
1.2 ตรวจเอกสาร	4
1.3 ขอบเขตการวิจัย	27
1.4 วัตถุประสงค์ของการวิจัย	28
1.5 นิยามศัพท์	28
1.4 ประโยชน์ที่คาดว่าจะได้รับ	28
บทที่ 2 วิธีดำเนินการวิจัย	29
2.1 วัสดุ เครื่องมือและอุปกรณ์	29
2.1.1 สิ่งมีชีวิตที่ใช้ในการทดสอบความเป็นพิษ	29
2.1.2 อาหารที่ใช้เลี้ยงไรแดง	29
2.1.3 สารมาตรฐาน (standard chemical)	29
2.1.4 ตัวอย่างที่ใช้ในการทดลอง	29
2.1.5 สารเคมี	29
2.1.6 เครื่องมือ	30
2.1.7 วัสดุและอุปกรณ์	30
2.2 วิธีดำเนินการ	31
2.2.1 การเตรียมอุปกรณ์และเครื่องแก้ว	31
2.2.2 การเตรียมสารละลาย DEHP	32
2.2.3 การเตรียมสารละลาย TMTD และ ZDMC	32

สารบัญ (ต่อ)

	หน้า
2.2.4 การเตรียมการทดลองในการเพาะเลี้ยงไรแดง	32
2.2.5 การเตรียมตัวอย่างน้ำชะถุงมือ	35
2.2.6 เทคนิคการสกัดด้วยตัวดูดซับของแข็ง (Solid phase extraction)	36
2.2.7 การวิเคราะห์สารประกอบ TMTD และ ZDMC	37
2.2.8 การวิเคราะห์สารประกอบ DEHP	38
2.2.9 การคำนวณปริมาณสาร	38
2.2.10 การตรวจสอบความน่าเชื่อถือ (Method validation)	39
2.2.11 ชุดการทดลอง	41
บทที่ 3 ผลการทดลองและวิจารณ์ผล	44
3.1. การทดสอบความเป็นพิษของสารละลาย TMTD, DEHP, ZDMC และสารละลายผสมระหว่างสารเคมีเหล่านี้ต่อไรแดง	44
3.2 การตรวจสอบความน่าเชื่อถือของวิธีวิเคราะห์	48
3.3 โครมาโตแกรมของตัวอย่างน้ำชะถุงมือที่ใช้สัมผัสอาหาร	50
3.4 ปริมาณการเคลื่อนย้ายออกมาของ DEHP ต่อพื้นที่ผิวของถุงมือที่ใช้สัมผัสอาหาร	53
3.5 ปริมาณของ TMTD ที่เคลื่อนย้ายออกมาสู่น้ำกลั่นต่อพื้นที่ผิวของถุงมือที่ใช้สัมผัสอาหาร	54
3.6 การคำนวณปริมาณสูงสุดของสาร DEHP และ TMTD ที่ยินยอมให้เคลื่อนย้ายออกมาจากถุงมือที่ใช้สัมผัสอาหาร	55
3.7 ผลการทดสอบความเป็นพิษของน้ำชะถุงมือที่ใช้สัมผัสอาหารด้วยไรแดง	55
3.8 การพัฒนาวิธีการตรวจคัดกรองถุงมือที่ใช้สัมผัสอาหารด้วยไรแดง	59
บทที่ 4 สรุปผลการวิจัยและข้อเสนอแนะ	64
4.1 สรุปผลการวิจัย	64
4.2 ข้อเสนอแนะ	65
เอกสารอ้างอิง	66
ภาคผนวก	72

สารบัญ (ต่อ)

	หน้า
ภาคผนวก ก ตารางแสดงอัตราการตายของไรแดงในการทดสอบความเป็นพิษของน้ำชะถุงมือที่ใช้สัมผัสอาหาร	72
ภาคผนวก ข ตารางแสดง probit transformation และผลการคำนวณค่า LC_{50} ของสาร TMTDสาร DEHP และ สาร ZDMC จากโปรแกรม SPSS	90
ภาคผนวก ค Calibration curve และปริมาณของสาร DEHP, TMTD และ ZDMC ที่เคลื่อนย้ายออกมาจากถุงมือที่ใช้สัมผัสอาหาร	99
ภาคผนวก ง การวิเคราะห์ทางสถิติ	108
ประวัติผู้เขียน	113

สารบัญตาราง

ตารางที่ **หน้า**

1-1 ผลกระทบของ TMTD ต่อสุขภาพอนามัย 10

1-2 ผลกระทบของ ZDMC ต่อสุขภาพอนามัย 11

1-3 ผลกระทบของ ZDEC ต่อสุขภาพอนามัย 12

1-4 ผลกระทบของ DEHP ต่อสุขภาพอนามัย 15

1-5 ค่า LC_{50} ของสาร DEHP, TMTD และ ZDMC ต่อ *Daphnia magna* ที่ 48 ชั่วโมง 27

2-1 สภาวะการทดสอบความเป็นพิษเพื่อควบคุมคุณภาพการทดลอง 33

2-2 สภาวะเครื่อง GC-FID สำหรับการวิเคราะห์ DEHP 38

3-1 ค่าร้อยละการได้คืนกลับ (% recovery) ของสารประกอบ DEHP ในน้ำชะถุงมือที่ใช้สัมผัสอาหาร 49

3-2 ค่าร้อยละการได้คืนกลับ (% recovery) ของสารประกอบ TMTD ในน้ำชะถุงมือชนิดต่างๆที่ใช้สัมผัสอาหาร 50

3-3 ปริมาณของ DEHP เคลื่อนย้ายออกมาสู่น้ำกลั่นต่อพื้นที่ผิวสัมผัสของถุงมือ 53

3-4 ปริมาณการเคลื่อนย้ายออกมาของ TMTD สู่น้ำกลั่นต่อพื้นที่ผิวถุงมือ 54

3-5 ผลการตรวจคัดกรองตัวอย่างน้ำชะของถุงมือยางธรรมชาติที่ใช้สัมผัสอาหาร 60

3-6 ผลการตรวจคัดกรองตัวอย่างน้ำชะของถุงมือพลาสติก PE 61

3-7 สภาวะที่ใช้ในวิธีการตรวจคัดกรองตัวอย่างถุงมือที่ใช้สัมผัสอาหาร 63

ก-1 อัตราการตายของไรแดงที่ความเข้มข้นต่างๆของน้ำชะถุงมือยางธรรมชาติแบบหนาชนิดไม่มีแป้งยี่ห้อ A 73

ก-2 อัตราการตายของไรแดงที่ความเข้มข้นต่างๆของน้ำชะถุงมือยางธรรมชาติแบบหนาชนิดไม่มีแป้งยี่ห้อ B 74

ก-3 อัตราการตายของไรแดงที่ความเข้มข้นต่างๆของน้ำชะถุงมือยางธรรมชาติแบบหนาชนิดไม่มีแป้งยี่ห้อ C 75

สารบัญตาราง(ต่อ)

ตารางที่ **หน้า**

ก-4 อัตราการตายของไรแดงที่ความเข้มข้นต่างๆของน้ำชะถุงมือยาง ธรรมชาติแบบบางชนิดไม่มีแป้งยี่ห้อ D 76
ก-5 อัตราการตายของไรแดงที่ความเข้มข้นต่างๆของน้ำชะถุงมือยาง ธรรมชาติแบบบางชนิดมีแป้งยี่ห้อ E 77
ก-6 อัตราการตายของไรแดงที่ความเข้มข้นต่างๆของน้ำชะถุงมือยาง ธรรมชาติแบบบางชนิดมีแป้งยี่ห้อ F 78
ก-7 อัตราการตายของไรแดงที่ความเข้มข้นต่างๆของน้ำชะถุงมือยาง ธรรมชาติแบบบางชนิดมีแป้งยี่ห้อ G 79
ก-8 อัตราการตายของไรแดงที่ความเข้มข้นต่างๆของน้ำชะถุงมือพลาสติก (PE) ยี่ห้อ H 80
ก-9 อัตราการตายของไรแดงที่ความเข้มข้นต่างๆของน้ำชะถุงมือพลาสติก (PE) ยี่ห้อ I 81
ก-10 อัตราการตายของไรแดงที่ความเข้มข้นต่างๆของน้ำชะถุงมือพลาสติก (PE) ยี่ห้อ J 82
ก-11 อัตราการตายของไรแดงที่ความเข้มข้นต่างๆกับสารมาตรฐาน DEHP + TMTD + ZDMC 83
ก-12 อัตราการตายของไรแดงที่ความเข้มข้นต่างๆกับสารมาตรฐาน DEHP ร่วมกับ TMTD 84
ก-13 อัตราการตายของไรแดงที่ความเข้มข้นต่างๆกับสารมาตรฐาน DEHP ร่วมกับ ZDMC 85
ก-14 อัตราการตายของไรแดงที่ความเข้มข้นต่างๆกับสารมาตรฐาน DEHP 86
ก-15 อัตราการตายของไรแดงที่ความเข้มข้นต่างๆกับสารมาตรฐาน TMTD ร่วมกับ ZDMC 87
ก-16 อัตราการตายของไรแดงที่ความเข้มข้นต่างๆกับสารมาตรฐาน TMTD 88

สารบัญตาราง(ต่อ)

ตารางที่ **หน้า**

ก-17 อัตราการตายของไรแดงที่ความเข้มข้นต่างๆกับสารมาตรฐาน ZDMC 89

ข-1 แสดงค่า probit transformation 91

ข-2 การคำนวณค่า LC_{50} ของสาร ZDMC ต่อไรแดง 92

ข-3 การคำนวณค่า LC_{50} ของสาร TMTD ต่อไรแดง 94

ข-4 การคำนวณค่า LC_{50} ของสาร DEHP ต่อไรแดง 97

ค-1 ปริมาณ DEHP ที่เคลื่อนย้ายออกมาจากถุงมือที่ใช้สัมผัสอาหาร 4 ชนิด 102

ค-2 ปริมาณ TMTD ในถุงมือยางธรรมชาติ 3 ชนิด 103

ค-3 ค่าร้อยละการได้คืนกลับ (% recovery) ของสารประกอบ DEHP ในน้ำชะถุงมือที่ใช้สัมผัสอาหาร 104

ค-4 ค่าร้อยละการได้คืนกลับ (% recovery) ของสารประกอบ TMTD ในน้ำชะถุงมือที่ใช้สัมผัสอาหาร 105

ง-1 ผลการเปรียบเทียบอัตราการตายของไรแดงกับสารเคมี 110

ง-2 ผลการเปรียบเทียบน้ำชะถุงมือพลาสติก PE ยี่ห้อต่างๆกับอัตราการตายของไรแดง 112

ง-3 ผลการเปรียบเทียบน้ำชะถุงมือยางธรรมชาติแบบบางชนิดมีแป้งยี่ห้อต่างๆกับอัตราการตายของไรแดง 112

ง-4 ผลการเปรียบเทียบน้ำชะถุงมือยางธรรมชาติแบบบางชนิดไม่มีแป้งยี่ห้อต่างๆกับอัตราการตายของไรแดง 113

สารบัญภาพ

ภาพที่ **หน้า**

1-1 ขั้นตอนการผลิตถุงมือยางและของเสียที่ออกจากการผลิต 6
1-2 การขึ้นรูปผลิตภัณฑ์ด้วยการ stretch blow molding 13
1-3 ปัจจัยในการเกิดการเคลื่อนย้าย (migration) องค์ประกอบของบรรจุภัณฑ์สู่อาหาร 16
1-4 องค์ประกอบของเครื่อง Gas chromatograph 18
1-5 ส่วนประกอบของเครื่อง High Performance Liquid Chromatograph 19
1-6ไรแดง 22
2-1 ตู้ปลาขนาดเล็กสำหรับใช้เลี้ยงไรแดง, สาหร่าย *Chrorella* sp. 34
2-2 ถุงมือยางธรรมชาติแบบบางชนิดมีแป้ง, ถุงมือยางธรรมชาติแบบบางชนิดไม่มีแป้ง, ถุงมือยางธรรมชาติแบบหนาชนิดไม่มีแป้ง, ถุงมือพลาสติก polyethylene (PE) 35
2-3 การบรรจุคอลัมน์ SPE (solid phase extraction) 36
3-1 ความสัมพันธ์ระหว่าง log ความเข้มข้นของสาร ZDMC กับโปรบิทอัตราการตายของไรแดงที่ 24 ชั่วโมง 45
3-2 ความสัมพันธ์ระหว่าง log ความเข้มข้นของสาร TMTD กับโปรบิทอัตราการตายของไรแดงที่ 24 ชั่วโมง 45
3-3 ความสัมพันธ์ระหว่าง log ความเข้มข้นของสาร TMTD ผสมกับ ZDMC กับโปรบิทอัตราการตายของไรแดง 46
3-4 ความสัมพันธ์ระหว่าง log ความเข้มข้นของสาร DEHP กับโปรบิทอัตราการตายของไรแดง 46
3-5 ความสัมพันธ์ระหว่าง log ความเข้มข้นของสาร DEHP ผสมกับ ZDMC กับโปรบิทอัตราการตายของไรแดง 47

สารบัญภาพ(ต่อ)

ภาพที่ **หน้า**

3-6 ความสัมพันธ์ระหว่าง log ความเข้มข้นของสาร DEHP ผสมกับ TMTD กับโปรบิทอัตราการตายของไรแดง 47

3-7 ความสัมพันธ์ระหว่าง log ความเข้มข้นของสาร DEHP ผสมกับ TMTD ผสมกับ ZDMC กับโปรบิทอัตราการตายของไรแดง 48

3-8 โครมาโตแกรมของสารละลายมาตรฐาน DEHP ที่ความเข้มข้น 10 มิลลิกรัมต่อลิตร 50

3-9 โครมาโตแกรมของตัวอย่างน้ำชะถุงมือพลาสติก PE 51

3-10 โครมาโตแกรมของน้ำชะตัวอย่างถุงมือยางธรรมชาติแบบบางชนิดมีแป้ง 51

3-11 โครมาโตแกรมของน้ำชะตัวอย่างถุงมือยางธรรมชาติแบบบางชนิดมีแป้ง 52

3-12 โครมาโตแกรมของสารละลายมาตรฐาน TMTD ที่ความเข้มข้น 1.0 มิลลิกรัมต่อลิตร 52

3-13 ความสัมพันธ์ระหว่างอัตราการตายของไรแดงและความเข้มข้นของน้ำชะถุงมือยา ธรรมชาติแบบหนาชนิดไม่มีแป้ง 3 ยี่ห้อ ที่ 24 ชั่วโมง 56

3-14 ความสัมพันธ์ระหว่างอัตราการตายของไรแดงและความเข้มข้นของน้ำชะถุงมือยางธรรมชาติแบบหนาชนิดไม่มีแป้ง 3 ยี่ห้อ ที่ 48 ชั่วโมง 56

3-15 ความสัมพันธ์ระหว่างอัตราการตายของไรแดงและความเข้มข้นของน้ำชะถุงมือยางธรรมชาติแบบบางชนิดมีแป้ง 3 ยี่ห้อ ที่ 24 ชั่วโมง 57

3-16 ความสัมพันธ์ระหว่างอัตราการตายของไรแดงและความเข้มข้นของน้ำชะถุงมือยางธรรมชาติแบบบางชนิดมีแป้ง 3 ยี่ห้อ ที่ 48 ชั่วโมง 58

3-17 ความสัมพันธ์ระหว่างอัตราการตายของไรแดงและความเข้มข้นของน้ำชะถุงมือพลาสติก PE 3 ยี่ห้อ ที่ 24 ชั่วโมง 58

3-18 ความสัมพันธ์ระหว่างอัตราการตายของไรแดงและความเข้มข้นของน้ำชะถุงมือพลาสติก PE 3 ยี่ห้อ ที่ 48 ชั่วโมง 59

ค-1 Calibration data ของ DEHP ที่ระดับความเข้มข้น 0.1, 0.5, 1.0, 5.0 และ 10.0ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร 100

สารบัญภาพ(ต่อ)

ภาพที่ **หน้า**

ค-2 Calibration data ของ TMTD ที่ระดับความเข้มข้น 0.02, 0.04, 0.05, 0.1 และ 0.5ไมโครกรัมต่อต่อมิลลิลิตร 100
ค-3 โครมาโตแกตัวอย่างสกัดจากน้ำชะตัวอย่างถุงมือยางธรรมชาติแบบบางชนิดไม่มีแป้ง 101
ค-4 โครมาโตแกตัวอย่างสกัดจากน้ำชะตัวอย่างถุงมือยางธรรมชาติแบบบางชนิดมีแป้ง 101
ค-5 การเตรียมสาหร่าย *Chrorella* sp 106
ค-6 การเลี้ยงไรแดงในน้ำชะถุงมือที่ใช้สัมผัสอาหาร 106
ค-7 การเตรียมสาร DEHP, TMTD และ ZDMC 107
ค-8 ขั้นตอนการเขย่าน้ำชะถุงมือที่ใช้สัมผัสอาหาร 107

บทที่ 1
บทนำ

ความสำคัญและที่มาของงานวิจัย

ปัจจุ บันความต้อ งการการใช้ถุงมือมีเพิ่มมากขึ้น สาเหตุส่วนหนึ่งเนื่องมาจาก ในกระบวนการผลิตอาหารทั่วไปมีการสวมถุงมือเพื่อป้องกันเชื้อโรคและสิ่งปนเปื้อนต่างๆที่มาจากแหล่งผลิตสู่ผู้บริโภคและเป็นการควบคุมคุณภาพความสะอาด ของผลิตภัณฑ์เพื่อสร้างความมั่นใจและความปลอดภัยต่อผู้บริโภ ค ในกระบวนการผลิตถุงมือยางมีการเติมสารเคมีที่ทำให้ยางคงรูปหรือเรียกว่าสาร วัลคาไนซ์ยางเพื่อให้ยางมีคุณสมบัติยืดหยุ่นและสามารถรักษารูปร่างเดิมได้ สารวัลคาไนซ์ (vulcanizing agents) ได้แก่ กำมะถันหรือสารประกอบกำมะถันและสารปรุงแต่งอื่นๆ เช่น สารกระตุ้นปฏิกิริยายางคงรูป (activators) สารเร่งปฏิกิริยายางคงรูป (accelerators) และสารป้องกันการเสื่อมสภาพเนื่องจากปฏิกิริยาออกซิเดชั่น (antioxidants) เป็นต้น ต่อมาจึงมีการผลิตสารกลุ่มไทยูแรม เช่น tetramethylthiuram disulfide (TMTD) และ dithiocarbamate เช่น zinc-dimethyl dithiocarbamate (ZDMC), zinc diethyldithiocarbamate (ZDEC), zinc dibutyldithiocarbamate (ZDBC) เป็นต้น ซึ่งสารชนิดนี้ช่วยให้ระยะเวลาการเกิดปฏิกิริยาวัลคาไนซ์เร็วขึ้น เกิดการเชื่อมโยงระหว่างโมเลกุลเพิ่มขึ้น แม้ว่าสารเคมีในกลุ่มนี้จะมีประสิทธิภาพในการเร่งอัตราเร็วการเกิดปฏิกิริยาวัลคาไนซ์ที่สูงมาก แต่สารเคมีหลายๆตัวที่ใช้ในการเร่งปฏิกิริยาวัลคาไนซ์นี้จัดเป็นสารเคมีที่ก่อให้เกิดมลพิษหรืออันตรายต่อสุขภาพของผู้ปฏิบัติงาน (พงษ์ธร แซ่อุยและชาคริต สิริสิงห์ , 2550) มีรายงานพบว่า สารเหล่านี้ เป็นสารก่อกลายพันธุ์และสารก่อมะเร็งในสัตว์ทดลอง (Bergendorff *et al*., 2007) และทำให้เกิดไดเมทธิลไนโตรซามีน (NDMA) ขึ้นในกระบวนการวัลคาไนซ์ยางโดยการให้ไดเมทธิลเอมีนทุติยภูมิซึ่งจะทำปฏิกิริยากับไนโตรเจนออกไซด์ที่มีในอากาศและในอ่างเกลือที่ใช้ในกระบวนการวัลคาไนซ์ยาง ซึ่ง NDMA เป็นสารก่อมะเร็งในสัตว์ทดลองและอาจเป็นสารก่อมะเร็งในคนด้วย (Bergendorff *et al*., 2007)

นอกจากนี้ ในการขึ้นรูปถุงมือยางและถุงมือพลาสติกยัง มีการ เติมสาร พลาสติไซเซอร์ในกระบวนการวัลคาไนซ์ด้วย คุณสมบัติของพลาสติไซเซอร์ที่อ่อนตัว และเหนียว สามารถใช้ในการขึ้นรูปถุงมือยางได้ง่าย ทำให้ได้รูปแบบที่ต้องการ สารพลาสติ ไซเซอร์ที่ใส่ เข้าไปจะทำหน้าที่เป็นตัวหล่อลื่นระหว่างโมเลกุล ทำ ให้โมเลกุลยางเคลื่อนไหวได้ง่าย ยางจะนิ่มลง ขึ้นรูปได้ง่ายขึ้น พบว่าในถุงมือ PVC ชนิดอ่อนนุ่มจะมีพลาสติไซเซอร์เป็นส่วนผสม อยู่ 60-70 % (Korte *et al*., 2003) ถุงมือพลาสติกชนิดอ่อนนุ่ม นิยม นำมา ใช้สัมผัสอาหารในร้านค้าต่างๆ และ ในโรงงานอุตสาหกรรมอาหารอย่างแพร่หลาย พลาสติไซเซอร์ที่นิยมนำมาใช้มากคือสารกลุ่ม phthalate เช่น

di(2-ethylhexyl)phthalate (DEHP), dibutyl phthalate (DBP), benzyl butyl phthalate (BBP) เป็นต้น แต่ที่นิยมใช้มากที่สุดคือ DEHP เนื่องจากมีคุณภาพดี และราคาถูกช่วยประหยัดต้นทุนการผลิต

อย่างไรก็ตาม ผลการทดสอบพิษของ di(2-ethylhexy)phthalate (DEHP)ในห้องปฏิบัติการหลายแห่งยืนยัน ว่าสารนี้เป็นอันตรายต่อร่างกาย โดยจะมีผลต่อ ปอด ตับ และไต และสามารถก่อให้เกิดโรคมะเร็งได้ในสัตว์ทดลอง (Park *et al*., 2002)

ในการตรวจสอบความปลอดภัยของถุงมือเพื่อความปลอดภัยของผู้บริโภค จำเป็นต้องมีการตรวจวิเคราะห์ทางเคมีเพื่อหาสารตกค้างในถุงมือ แต่เนื่องจากการวิเคราะห์ทางเคมีมีค่าใช้จ่ายที่สูง มีวิธีการวิเคราะห์ยุ่งยาก ใช้ครุภัณฑ์ราคาแพง และใช้ระยะเวลานานในกา รตรวจวิเคราะห์ตัวอย่างจำนวนมาก จึงมีแนวคิดที่จะพัฒนาวิธีการตรวจคัดกรองสารเคมีเบื้องต้นโดยใช้สิ่งมีชีวิตในการทดสอบ

สำหรับการทดสอบความเป็นพิษของสารเคมีต่อสิ่งมีชีวิตนั้น มีวิธีการศึกษาหลายวิธี แต่วิธีที่นับว่าสะดวก รวดเร็วและมีความเหมาะสมในเชิงเศรษฐกิจ คือ วิธีชีววิเคราะห์ (Bioassay) ซึ่งเป็นวิธีหนึ่งที่ใช้เป็นแนวทางในการป้องกันรักษาแหล่งน้ำ ให้อยู่ในสภาพที่เหมาะสม สำหรับการดำรงชีพของสิ่งมีชีวิต รวมทั้งการจัดการของเสีย (Henderson, 1957 อ้างอิงใน โชคชัย และคณะ , 2539) วิธีนี้เป็นการทดสอบความเป็นพิษของสารพิษในห้องปฏิบัติการ โดยสิ่งมีชีวิตที่นิยมนำมาใช้ทดสอบความเป็นพิษ ได้แก่ แบคทีเรีย สัตว์ไม่มีกระดู กสันหลัง ปลาและสาหร่าย เป็นต้น ซึ่งสัตว์ไม่มีกระดูกสันหลังที่พบทั่วไปในแหล่งน้ำเหมาะสำหรับการศึกษาด้านจำนวนประชากร สามารถปรับตัวได้ง่ายในห้องปฏิบัติการและมีความอ่อนไหวต่อสารเคมี ได้แก่ ไรน้ำชนิดต่างๆดังนี้ *Moina* sp., *Daphnia magna, Daphnia pulex, Ceriodaphia reticulata* มีรายงานว่าไร น้ำเป็นสิ่งมีชีวิตที่มีความอ่อนไหวที่สุดในการทดสอบความเป็นพิษ มีความสำคัญในตำแหน่งกึ่งก ลางของสายใยอาหาร โดยจะกินแบคทีเรียและสาหร่ายแล้วกลายเป็นอาหารของสัตว์ไม่มีกระดูกสันหลังอีกหลายชนิดและเป็นอาหารของปลาอีกด้วย (Wong, P.T. and Dixon, D.G., 1995) ในประเทศแถบตะวันตกได้มีการนำไรน้ำ ชนิด *Daphnia magna* มาตรวจคัดกรองความเป็นพิษ ของสารเคมี เนื่องจากมีคุณสมบัติที่เหมาะสมในการใช้บ่งชี้คุณภาพสิ่งแวดล้อมคือ จำแนกลักษณะได้ง่าย เตรียมตัวอย่างได้จำนวนมาก พบอาศัยอยู่ทั่วไป และเพาะเลี้ยงง่าย (Hellawell, 1989) มีรายงานการนำ *Daphnia magna* มาตรวจคัดกรองความเป็นพิษของน้ำชะจาก ผลิตภัณฑ์พลาสติก (Lithner *et al*., 2008) และใช้ศึกษาความเป็นพิษของทองแดงที่ละลายอยู่ในน้ำและเกาะติดกับอนุภาคตะกอนท้องน้ำต่อสิ่งมีชีวิตน้ำจืด โดยวัดอัตราการรอดชีวิตของ *Daphnia magna* Straus. (Seudel *et al.,* 1996) สำหรับในประเทศไทย ไรน้ำที่มีคุณสมบัติ ใกล้เคียง กับ *Daphnia magna* คือไรแดง *(Moina macrocopa* Straus.)

ไรแดง *(Moina macrocopa* Straus.*)* เป็นสัตว์น้ำชนิดหนึ่งที่พ บได้ทั่วๆไปตามแหล่งน้ำธรรมชาติ และมักจะพบปริมาณมากในแหล่งน้ำ ตามบ้านเรือนหรือที่อยู่อาศัย ไรแดงมีวงจรชีวิต (life cycle) สั้น มีอายุประมาณ 4-6 วัน (สันทนา ควงสวัสดิ์, 2524) ไรแดงมีความไว (sensitivity) ต่อสารพิษประเภทต่างๆ (ธนาภรณ์ จิตตปาลพงศ์, 2526) และยังเป็นแพลงก์ตอนสัตว์ ที่เป็นอาหารธรรมชาติของสัตว์น้ำวัยอ่อนชนิดต่างๆ เช่น ปลา กุ้ง และอื่นๆ ไรแดงยังสามารถเพาะเลี้ยงได้ง่ายในห้องปฏิบัติการ สามารถใช้เป็นดัชนีบ่งชี้ความสมบูรณ์ของระบบนิเวศและแหล่งน้ำได้และยังสามารถใช้เป็นดัชนีบ่งชี้ทางชีวภาพ (biological indicator) ที่บ่งชี้ความเป็นพิษของสารมลพิษต่างๆ มีรายงานการศึกษาความเป็นพิษของสารเคมีต่างๆต่อไรแดง เช่น การทดสอบความเป็นพิษของสีย้อมโดยใช้สาหร่า ยและไรแดง (วารุณี ฉัตรเท , 2547) การใช้ไรแดงประเมินความเป็นพิษของตะกอนท้องน้ำ (สมคิด ปราบภัย , 2545) การทดสอบ พิษเฉียบพลันของผงซักฟอกที่มีต่อไรแดง (ธนาภรณ์ จิตตปาลหงส์, 2526) เป็นต้น ดังนั้นจึงมีความเหมาะสมที่จะนำไรแดงมาใช้เป็นดัชนีบ่งชี้ทางชีวภาพ (biological indicator) ในการตรวจคัดกรองสารพิษในน้ำชะถุงมือที่ใช้สัมผัสอาหารเพื่อคัดแยกถุงมือที่มีปริมาณสารพิษที่เคลื่อนย้ายออกมาจากถุงมือสู่อาหาร สูงเกินค่ามาตรฐานที่ยอมให้มีได้

การตรวจเอกสาร

1. ข้อมูลเกี่ยวกับถุงมือยาง

1.1 ข้อมูลทั่วไป

ถุงมือยางเริ่มมีการผลิตในประเทศไทยประมาณ 20 ปีที่ผ่านมา จากเดิมประเทศไทยต้องนำเข้าถุงมือยางเพื่อการบริโภคภายในประเทศ เนื่องจาก การผลิตในประเทศคุณภาพยังไม่เป็นที่ยอมรับเท่ากับถุงมือยางที่ผลิตจากต่างประเทศ ภายหลังเมื่ อรัฐบาลให้การส่งเสริมโดยเฉพา ะส่งเสริมการลงทุน จึงมีผู้ประกอบการจากต่างประเทศเข้ามาลงทุนโดยนำเทคโนโลยีในการผลิตเข้ามาด้วย ส่งผลให้หลังจากปี พ.ศ. 2529 เป็นต้นมา ประเทศไทยสามารถผลิตเพื่อส่งออกถุงมือยางไปจำหน่ายยังต่างประเทศได้ (จินตนา ลีกิจวัฒนะ, 2551)

1.2 กระบวนการผลิตถุงมือยางและแหล่งกำเนิดของเสียจากกระบวนการผลิต

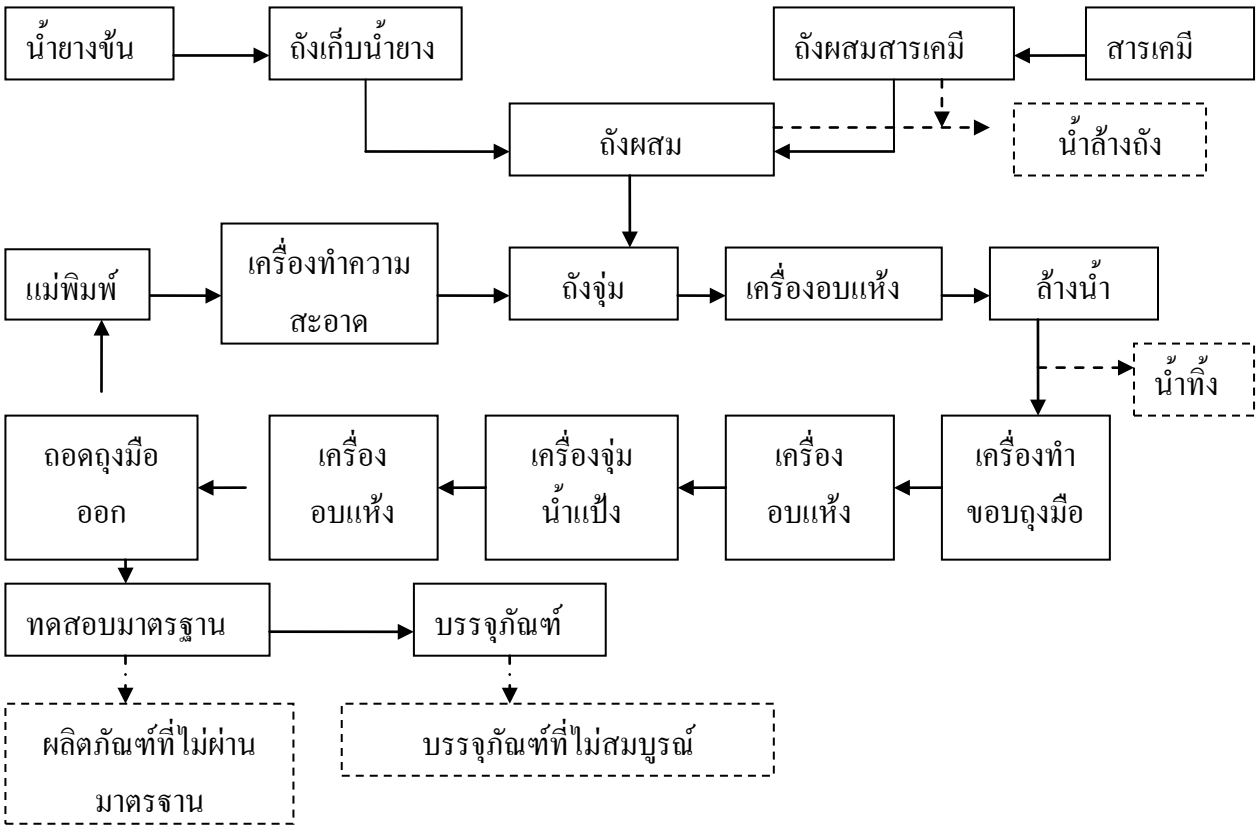
ในกระบวนการผลิตถุงมือยางใช้วัตถุดิบที่สำคัญได้แก่ น้ำยางข้น และสารเคมีที่ช่วยให้น้ำยางจับตัว สำหรับกรรมวิธีการผลิตนั้นประกอบด้วยการนำน้ำยางสดไปปรับสภาพโดยการเติมสารเคมีเพื่อให้เหมาะในการเข้าเครื่องปั่นน้ำยางข้น เมื่อนำน้ำยางเข้าเครื่องปั่น เครื่องปั่นจะแยกส่วนที่เป็นน้ำยางข้น และส่วนที่เป็นน้ำและเศษยางออกจากกัน นำน้ำยางข้นไปปรับสภาพเพื่อให้ได้ส่วนประกอบของเนื้อยางร้อยละ 60 ผสมสารเคมีต่างๆ เช่น โปแตสเซียมไฮด ร็อกไซด์ โปแต-สเซียมคลอเรต กำมะถัน สารป้องกันยางเสื่อม ซิงค์ออกไซด์ เป็นต้น ทั้งนี้เพื่อให้น้ำยางอยู่ในสภาพที่เหมาะสมในการขึ้นรูปเป็นถุงมือยางโดยการใช้วิธีการจุ่ม วิธีนี้จะนำพิมพ์ที่ทำจากพลาสติก โลหะหรือเซรามิค จุ่มลงในสารละลายที่ช่วยให้น้ำยางจับตัวก่อน เมื่อยกพิมพ์ขึ้น รอให้แห้งหมาดๆ สารละลายที่ช่วยให้น้ำยางจับตัว จะเกิดเป็นฟิล์มบางๆจับตัวเกาะอยู่ที่พิมพ์ เมื่อนำพิมพ์ไปจุ่มในน้ำยางที่ผสมสารเคมี ยกพิมพ์ขึ้นช้าๆ ฟิล์มยางจะเคลือบพิมพ์ นำไปอบให้คงรูปในตู้อบที่อุณหภูมิ 120 องศาเซลเซียสเป็นเวลา 30 นาที จากนั้นนำไปตรวจ สอบคุณภาพและบรรจุเพื่อจัดจำหน่า ย (อาสาฬห์ ภิรมรศ, 2550)

ตามพระราชบัญญัติเครื่องมือแพทย์ พ .ศ.2531 ผู้ผลิตหรือผู้นำเข้าถุงมือยางเพื่อใช้เป็นเครื่องมือทางการแพทย์จะต้องขอรับใบอนุญาตจากสำนักงานคณะกรรมการอาหารและยา ถุงมือยางจะต้องมีคุณภาพมาตรฐานตามที่สำนักงานคณะกรรมการอาหารและยากำหนดไว้ กระบวนการผลิตถุงมือยางแสดงไว้ในภาพที่ 1-1 ซึ่งสามารถแบ่งกระบวนการผลิตถุงมือยางออกเป็น 6 ขั้นตอนดังนี้

- ขั้นตอนที่หนึ่ง : เป็นขั้นตอนที่ผสมสารเคมีล งในน้ำยาง ในถังผสม แล้วทิ้งไว้ระยะหนึ่งเพื่อให้สารต่างๆที่ผสมลงไปในน้ำยางได้กระจายกันอย่างทั่วถึงและเป็นเนื้อเดียวกันกับน้ำยางตลอด ทำให้น้ำยางผสมมีความหนืด สม่ำเสมอดี ได้ยางจับ ตัวที่แข็ง และทำให้ผลผลิต

สุดท้ายมีการคงรูปอย่างทั่วถึง (uniform vulcanization)น้ำยางที่ผ่านการบ่มแล้วเรียกว่า compound latex แล้วส่งไปขึ้นรูปในขั้นตอนต่อไป (แน่งน้อย ศรีสุวรรณ, 2539)

- ขั้นตอนที่สอง: เป็นการจุ่มแบบพิมพ์ (dipping) ลงในน้ำยางผสมสารเคมีในขั้นแรก มีหลักการคือ ต้องจุ่มแบบพิมพ์ที่เคลือบหมาดๆ ด้วยสารช่วยจับตัวและนำแบบพิมพ์ขึ้นจากน้ำยางด้วยความเร็วที่สม่ำเสมอ เพื่อให้มีความหนาของเนื้อยางที่เหมาะส มและสม่ำเสมอไม่หนาหรือบางเกินไป (แน่งน้อย ศรีสุวรรณ, 2539)
- ขั้นตอนที่สาม : เป็นการอบแห้งและการทำให้ยางคงรูป (drying and vulcanizing) เมื่อผ่านกระบวนการขึ้นรูปก็จะส่งเข้าสู่กระบวนการอบแห้งและทำให้ยางคงรูปในตู้อบร้อนแต่เป็นการอบให้ตัวของชิ้นงานแห้งหมาดๆเท่านั้น เพื่อที่จะนำชิ้นงานนั้นไปม้วนขอบ โดยการม้วนขอบนั้นจะต้องม้วนในขณะที่ยางเกาะบนแบบพิมพ์ เพื่อให้ถุงมือมีความแข็งแรง
- ขั้นตอนที่สี่ : เป็นการนำชิ้นงานที่ม้วนขอบแล้วไปอบแห้งด้วยเครื่องอบแห้ง แล้วนำชิ้นงานเข้าในเครื่องจุ่มน้ำแป้งเพื่อให้แกะออกง่ายตอนนำชิ้นงานออกจากแบบพิมพ์ โดยอาศัยแป้งช่วยเพื่อป้องกันยางติดกับแบบพิมพ์ เมื่อชิ้นงานผ่านเครื่องจุ่มแป้งแล้วนำไปอบแห้งอีกครั้ง หลังจากนั้นถอดชิ้นงานออกจากแบบพิมพ์ (แน่งน้อย ศรีสุวรรณ, 2539)
- ขั้นตอนที่ห้า : เป็นขั้นตอนสุดท้ายของการนำถุงมือยางไปทดสอบตามมาตรฐานของผลิตภัณฑ์ ซึ่งการตรวจสอบมาตรฐานของถุงมือยา งจะทำการตรวจสอบด้วยน้ำและด้วยลม (อาสาฬห์ ภิรมรศ , 2550) ถ้าหากทดสอบว่าชิ้นงานนั้นผ่านมาตรฐานก็จะถูกส่งต่อไปยังกระบวนการบรรจุภัณฑ์ แต่หากไม่ผ่านก็จะแยกชิ้นงานออกเพื่อคัดทิ้ง
- ขั้นตอนสุดท้าย: เป็นการบรรจุผลิตภัณฑ์ภายในห้องปลอด เชื้อก่อนการจัดส่งให้กับลูกค้า (อาสาฬห์ ภิรมรศ, 2550)



ภาพที่1-1 ขั้นตอนการผลิตถุงมือยางและของเสียที่ออกจากการผลิต
ที่มา: อาสาฬห์ ภิรมรศ (2550)

1.3 ประเภทของถุงมือยาง

ถุงมือยางมีหลายชนิดโดยแบ่งตามลักษณะการใช้งานได้ 3 ประเภท (จินตนา ลีกิจวัฒนะ, 2551) ได้แก่

1.3.1 ถุงมือยางสำหรับใช้ในทางการแพทย์ (medical glove) ซึ่งแบ่งย่อยเป็น

- ถุงมือที่ใช้ในการผ่าตัด (surgical glove) ใช้ในทางศัลยกรรม มีลักษณะเนื้อบาง แข็งแรง มีความยาวถึงข้อศอกโดยผ่านกรรมวิธีการฆ่าเชื้อ 100% ใช้เพียงครั้งเดียวทิ้ง หรืออาจนำไปนึ่งฆ่าเชื้อแล้วนำกลับมาใช้ซ้ำก็ได้ การบรรจุหีบห่อต้องประณีต สะดวกต่อการใช้งาน
- ถุงมือที่ใช้ในงานตรวจโรคทั่วไป (examination glove) ใช้ในงานตรวจโรค มีลักษณะบางกระชับมือ สั้นประมาณข้อมือ ไม่มีข้างซ้ายขวา ใช้ครั้งเดียวทิ้งโดยไม่มีการนำกลับมาใช้อีก

1.3.2 ถุงมือยางสำหรับใช้ในโรงงานอุตสาหกรรม (industrial glove) อาจมีขนาดใหญ่ แข็งแรง เทอะทะ เพื่อความทนทานต่องานในโรงงานอุตสาหกรรม เช่น โรงงานผลไม้

กระป๋อง หรืออาจมีขนาดบางกระชับหรือใช้สวมเฉพาะบางส่วนของมือ เช่น ถุงนิ้ว (finger cot) มักใช้ในอุตสาหกรรมอิเล็กทรอนิกส์

1.3.3 ถุงมือยางสำหรับใช้ในครัวเรือน (household glove) เป็นถุงมือยางที่แม่บ้านใช้ในการทำความ สะอาด ซักล้าง มีขนาดใหญ่ แข็งแรง ทนทานต่อการใช้งาน มีอายุการใช้งานนาน สวมใส่สบาย นุ่มมือ

1.4 สารเคมีสำหรับผลิตผลิตภัณฑ์จากน้ำยาง

สารเคมีที่ใช้ผสมลงไปในน้ำยางมีวัตถุประสงค์เพื่อให้ได้ผลิตภัณฑ์ที่มีสมบัติ ตามต้องการ กล่าวคือ เป็นตัวช่วยในกระบวนการแปรรูป ให้ยางมีขอบเขตการใช้งานกว้างขึ้นและเพื่อลดต้นทุนการผลิต เป็นต้น หลักการสำคัญในการออกสูตรน้ำยางผสมสารเคมีเพื่อขึ้นรูปผลิตภัณฑ์ คือจะต้องพยายามใช้สารเคมีน้อยที่สุดในระหว่างกระบวนการผลิต หรือเมื่อขึ้นรูปเป็นผลิตภัณฑ์แล้วจะต้องเหลือสารเคมีที่ตกค้างในผลิตภัณฑ์ให้น้อยที่สุด โดยทั่วไปแล้วควรล้างผลิตภัณฑ์ด้วยน้ำร้อน เพื่อความปลอดภัยต่อผู้บริโภค สารเคมีที่ใช้ผสมน้ำยาง ประกอบด้วย

1) สารช่วยความเสถียร เป็นสารเคมีที่ผสมลงไปในน้ำยางเพื่อรักษาสภาพความเป็นด่างของน้ำยางไม่ให้เสียสภาพไปได้ สารช่วยความเสถียรจึงมีฤทธิ์เป็นด่าง ที่นิยมใช้คือ โปแตสเซียมไฮดร์ อกไซด์ (KOH) หรือที่นิยมใช้อีกชนิดห นึ่ง คือ สบู่ของกรดไขมัน เช่น โ ปแตสเซียมลอเรต โปแตสเซียมโอลีเอต แอมโมเนียม ลอเรต และแอมโมเนียม คาซีเนต เป็นต้น

สารที่กล่าวมานี้ ช่วยให้น้ำยางมีความคงตัวต่อเครื่องกลดีขึ้น ไม่ทำให้น้ำยางเกิดเป็นเม็ดเล็ก ๆ ได้ง่าย

2) สารวัลคาไนซ์ เป็นสารเคมีที่สำคัญในการทำผลิตภัณฑ์ยาง คือ ทำให้เกิดการเชื่อมโยงระหว่างโมเลกุลของยางเพื่อการปรับปรุงสมบัติของยางให้ดีขึ้น สารวัลคาไนซ์ที่นิยมใช้กัน คือ กำมะถัน สามารถใช้ได้กับยางธรรมชาติและยางสังเคราะห์ ในกรณีที่ใช้กับน้ำยางจะต้องเป็นกำมะถันชนิดคุณภาพดี นอกจากนี้ยังมีสารที่ให้กำมะถัน เช่น TMTD (tetramethyl thiuram disulfide) และสารอื่นที่ไม่ใช่กำมะถัน เช่น สารพวกเพอร์อ็อกไซด์ เป็นต้น

3) สารกระตุ้นปฏิกิริยา ทำหน้าที่เร่งอัตราการวัลคาไนซ์ยางให้เร็วขึ้น นอกจากนี้ยังช่วยปรับปรุงสมบัติทางกายภาพของผลิตภัณฑ์ให้ดียิ่งขึ้น สารกระตุ้นปฏิกิริยาที่นิยมใช้ คือ ซิงค์ออกไซด์ แต่มีผลทำให้น้ำยางหนืด จึงมักเติมสารชนิดนี้ลงในน้ำยางในขั้นสุดท้ายของการผสมสารต่าง ๆ

4) สารเร่งปฏิกิริยายางคงรูป เป็นสารที่ก่อให้เกิดการเชื่อมโยงระหว่างโมเลกุลของยาง (crosslink) ตรงตำแหน่งที่ว่องไวต่อปฏิกิริยาได้แก่สารกำมะถัน สารที่มีส่วนประกอบของ

กำมะถัน สารเพอร์ออกไซด์ สารเร่งปฏิกิริยาที่นิยมและใช้กันมาก คือ กลุ่มไดไธโอคาร์บาเมต ไธอาโซล และไทยูแรม

5) สารป้องกันยางเสื่อมสภาพ เป็นสารเคมีที่ป้องกันออกซิเจนในอากาศที่จะทำให้ผลิตภัณฑ์เกิดการเสื่อมสภาพ จึงช่วยยืดอายุการใช้งาน แบ่งออกเป็น 3 กลุ่มคือ

กลุ่มที่หนึ่ง อนุพันธ์เอมีน (ชนิดตกสี) มักเปลี่ยนแปลงสี เมื่ออายุการใช้งานนาน ๆ

กลุ่มที่สอง อนุพันธ์พีนอล (ชนิดไม่ตกสี)

กลุ่มที่สาม อิมิดาซิล

6) สารตัวเติม ส่วนมากเป็นสารพวกอนินทรีย์ เติมลงไปในน้ำยางเพื่อให้ผลิตภัณฑ์แข็ง แต่ไม่เพิ่มสมบัติด้านความทนแรงดึงหรือทนต่อการฉีกขาด ที่นิยมใช้คือแคลเซียมคาร์บอเนต เคลย์ และผงถ่าน เป็นต้น

7) สารที่ทำให้เกิดเจล เป็นสารพวกอนินทรีย์เติมลงไปในน้ำยางเพื่อให้เกิดเจล ซึ่งมีลักษณะกึ่งของแข็งกึ่งของเหลว ส่วนมากใช้ในผลิตภัณฑ์ยางฟองน้ำ ที่นิยมใช้คือ sodium silicofluoride (SSF)

8) สารช่วยให้ยางมีสีสวย ส่วนมากเป็นสารพวกอนินทรีย์ ช่วยเพิ่มสีสันให้กับผลิตภัณฑ์ เช่น

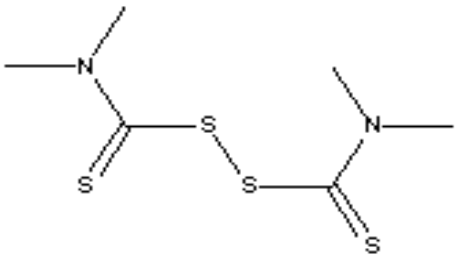
- ติตาเนียม ไดออกไซด์ ให้สีขาว
- โครเมียมออกไซด์ ให้สีเขียว
- เหล็ก ออกไซด์ ให้สีแดงจนเหลือง
- นิคเกิล ติตาเนต ให้สีเหลือง (สถาบันพัฒนาการศึกษานอกระบบและการศึกษาตามอัธยาศัยภาคใต้, 2550)

2. สารกลุ่มไทยูแรม (Thiuram)

สารกลุ่มนี้มีหลายชนิด เช่น tetramethyl thiuram disulphide (TMTD), tetramethyl thiuram monosulphide (TMTM) การใช้ประโยชน์ของสารกลุ่มนี้คือเป็นตัวช่วยเร่งปฏิกิริยาในการผลิตยางเป็น สารเชื่อม โยงโมเลกุลของยาง และยังมีการเติมสารกลุ่มนี้เพื่อ ถนอมน้ำยางสดที่ส่งเข้าสู่อุตสาหกรรมการผลิตน้ำยางข้น ปัจจุบันนิยมใช้สาร TMTD ร่วมกับ ZnO (zinc oxide) นอกจากนั้นสารกลุ่มนี้ยังช่วยในการฆ่าเชื้อรา ฆ่าเชื้อโรคในเมล็ดพืช ยาฆ่าแมลง ฆ่าแบคทีเรียในการผลิตสบู่ ใช้ไล่นกและสัตว์ต่างๆ เป็นสาร antioxidant ในการผลิต polyolefins สารหล่อลื่นน้ำมัน เป็นต้น สารกลุ่มนี้มีการสลายตัวเร็วที่ pH 3.5 TMTD จะสามารถสลายตัวได้ใน 4-5 สัปดาห์ ส่วนที่ pH 7

TMTD สามารถสลายตัวได้ใน 14-15 สัปดาห์ (Sharma, *et al.,* 2003) ข้อมูลแสดงสมบัติทางเคมีและกายภาพจากเอกสารข้อมูลความปลอดภัยเคมีภัณฑ์ (MSDS) ของกรมควบคุมมลพิษ (2544) มีดังนี้

- ชื่อเคมีทั่วไป: Bis(dimethylthiocarbamoyl)disulfide
- ชื่อเคมี IUPAC: Tetramethylthioperoxydicarbonothioic diamine
- สูตรเคมีโมเลกุล: $C_6H_{12}N_2S_4$
- น้ำหนักโมเลกุล: 240.44
- จุดเดือด (^{0}ซ.): 129
- LD_{50} (มก./กก.): 780 – 1300 (หนู) ซึ่งสัตว์ทดลองได้รับสารเคมีทางปาก
- LC_{50} (มก./ม^3.): 500/4 ชั่วโมง (หนู) ซึ่งสัตว์ทดลองได้รับสารเคมีจากการสูดดม
- ความสามารถในการละลายน้ำที่ (กรัม/100 มล.): 103
- สูตรโครงสร้าง



สาร TMTD ที่อยู่ในสภาวะที่มีกรดสามารถเปลี่ยนรูปไปเป็น dimethyldithiocarbamate หลังจากนั้น dimethyldithiocarbamate ถูกย่อยสลายในสภาวะที่เป็นกรดได้เป็น carbon disulfide และ dimethylamine ซึ่งทำปฏิกิริยากับสารประกอบ nitrosoในสภาวะที่เป็นกรด เกิดสารประกอบไนโตรซามีนที่มีชื่อว่า nitrosodimethylamine (NDMA) ซึ่งเป็นสารที่ทำให้เกิดการกลายพันธุ์และเกิดมะเร็งได้ (Dalvi *et al.,* 2003) สารประกอบ TMTD ทำให้เกิดความเป็นพิษต่อตับ ไต ต่อมไทรอยด์ การสร้างเลือด และความผิดปกติต่อการปฏิบัติหน้าที่ของระบบอวัยวะในร่างกาย(Dalvi *et al.,* 2003)

ข้อมูลแสดงอันตรายต่อสุขภาพอนามัย ของสาร TMTD จากเอกสารข้อมูล ความปลอ ดภัยเคมีภัณฑ์ (MSDS) ของกรมควบคุมมลพิษ (2544) ได้แสดงในตารางที่ 1-1

ตารางที่ 1-1 ผลกระทบของ TMTD ต่อสุขภาพอนามัย

เส้นทางการสัมผัส	ผลกระทบ
ทางการหายใจ	การหายใจเข้าไปจะก่อให้เกิดการระคายเคืองต่อทางเดินหายใจเป็นอันตรายและทำให้วิงเวียนศีรษะ ไอ เจ็บคอ
ทางผิวหนัง	การสัมผัสถูกผิวหนังจะก่อให้เกิดการระคายเคืองต่อผิวหนัง
ทางการรับประทานเข้าไป	การกลืนหรือกินเข้าไปจะก่อให้เกิดการระคายเคืองเป็นอันตรายต่อร่างกาย ทำให้วิงเวียนศีรษะ
สัมผัสถูกตา	การสัมผัสถูกตาจะก่อให้เกิดการระคายเคืองต่อตา
การก่อมะเร็ง :	อวัยวะเป้าหมาย ตับ ไต ระบบประสาทส่วนกลาง

ที่มา: กรมควบคุมมลพิษ (2544)

3. กลุ่มไดไทโอคาร์บาเมต (dithiocarbamate)

สารกลุ่มนี้เป็นสาร ตัวเร่งแบบเร็วมาก (ultrafast accelerator) อัตราเร็วในการเกิดปฏิกิริยาวัลคาไนซ์สูง ปกติจะใช้ในปริมาณน้อยร่วมกับสารตัวเร่งกลุ่มอื่น สารในกลุ่มนี้ ได้แก่ zinc dimethyldithiocarbamate (ZDMC), zinc diethydithiocarbamate (ZDEC), zinc dibutyldithiocarbamate (ZDBC) ซึ่งจะมีคุณสมบัติทางกายภาพและเคมีที่คล้ายกัน เพื่อให้ผลผลิตมีคุณสมบัติโปร่งใส ขาว วัลคาไนซ์ที่อุณหภูมิต่ำ สีของยางไม่เปลี่ยนแปลงมากนัก การใช้ประโยชน์ใช้เป็นสารในกระบวนการผลิตยาง และเป็นสารลดการเกิดควัน (กรมควบคุมมลพิษ, 2544)

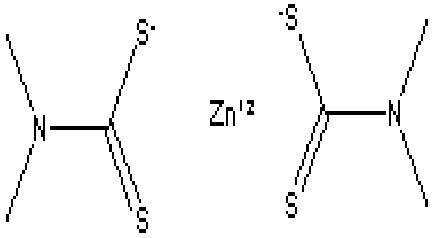
3.1 ซิงค์ไดเมทธิลไดไธโอคาร์บาเมต (zinc dimethyldithiocarba mate, ZDMC)

สารกลุ่มนี้เป็นสารกลุ่มไดไธโอคาร์บาเมต (dithiocarbamate) ใช้เป็นสารในกระบวนการผลิตยาง และเป็นสารลดการเกิดควัน สารนี้สามารถละลายได้ในคาร์บอนไดซัลไฟด์ กรดไฮโดรคลอริก เอทานอล อะซิโตน เบนซิน และคาร์บอนเตตระคลอไรด์

ข้อมูลแสดงสมบัติทางเคมีและกายภาพจากเอกสารข้อมูลความปลอดภัยเคมีภัณฑ์ (MSDS) ของกรมควบคุมมลพิษ (2544) มีดังนี้

- ชื่อเคมี IUPAC: Zinc bis dimethyldithiocarbamate or zinc dimethyldithio carbamate
- ชื่อเคมีทั่วไป: Ziram, Methyl zimate
- สูตรเคมีโมเลกุล: $C_6H_{12}N_2S_4Zn$
- น้ำหนักโมเลกุล: 305.82

- จุดเดือด(^{0}ซ.): 246
- LD_{50} (มก./กก.): 267 (หนู) ซึ่งสัตว์ทดลองได้รับสารเคมีทางปาก
- สูตรโครงสร้าง



สารประกอบ ZDMC สามารถทำให้เกิดความเป็นพิษในเม็ดเลือดของคนงานทั้งทางตรงและทางอ้อมและทำให้เกิดมะเร็งที่ต่อมไทรอยด์ ปอดและต่อมน้ำเหลืองและในสัตว์เลี้ยงลูกด้วยนมทำให้ยีนเกิดการกลายพันธุ์และทำให้เซลล์เม็ดเลือดขาวเกิดความเสียหายได้ (Tinkler *et al*., 1998) มีรายงานพบว่าคนงานที่ได้รับ ZDMC เป็นเวลา 1 ปี เกิดมะเร็งในเลือดได้ (Errol, 2001) อันตรายต่อสุขภาพอนามัย ได้แสดงไว้ในตารางที่ 1-2

ตารางที่ 1-2 ผลกระทบของ ZDMC ต่อสุขภาพอนามัย

เส้นทางการสัมผัส	ผลกระทบ
ทางการหายใจ	การหายใจเข้าไปจะก่อให้เกิดการระคายเคืองต่อระบบทางเดินหายใจ
ทางผิวหนัง	การสัมผัสถูกผิวหนังจะก่อให้เกิดการระคายเคืองต่อผิวหนัง
ทางการรับประทานเข้าไป	การกลืนหรือกินเข้าไปจะก่อให้เกิดการระคายเคืองเป็นอันตรายต่อร่างกาย ทำให้วิงเวียนศีรษะ
สัมผัสถูกตา	การสัมผัสถูกตาจะก่อให้เกิดการระคายเคืองต่อตา
การก่อมะเร็ง	สารนี้เป็นสารก่อมะเร็งที่ยังจำแนกไม่ได้ว่าเป็นสารก่อมะเร็งในมนุษย์

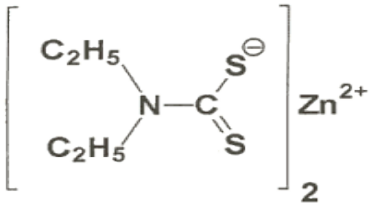
ที่มา: กรมควบคุมมลพิษ (2544)

3.2 ซิงค์ไดเอทธิลไดไธโอคาร์บาเมต (zinc diethydithiocarbamate, ZDEC)

ZDEC เป็น zinc salt accelerator ที่เป็น water insoluble accelerator (สารเร่งที่ไม่ละลายน้ำ)

ข้อมูลแสดงสมบัติทางเคมีและกายภาพจากเอกสารข้อมูลความปลอดภัยเคมีภัณฑ์ (MSDS) ของกรมควบคุมมลพิษ (2544) มีดังนี้

- สูตรโมเลกุลของ ZDEC: $((C_2H_5)_2NSCS^-)$
- สูตรโครงสร้างของ ZDEC



- LD_{50} (มก./กก.): 267 (หนู) ซึ่งสัตว์ทดลองได้รับสารเคมีทางปาก

ผลต่อสุขภาพอนามัย (health effect) ของมนุษย์ที่เกิดจาก สารกลุ่ม ไดไธโอคาร์บาเมต ได้แสดงในตารางที่ 1-3

ตารางที่ 1-3 ผลกระทบของ ZDEC ต่อสุขภาพอนามัย

เส้นทางการสัมผัส	ผลกระทบ
ทางการหายใจ	การหายใจเข้าไปจะก่อให้เกิดการระคายเคืองต่อระบบทางเดินหายใจ
ทางผิวหนัง	การสัมผัสถูกผิวหนังจะก่อให้เกิดการระคายเคืองต่อผิวหนัง
ทางการรับประทานเข้าไป	การกลืนหรือกินเข้าไปจะก่อให้เกิดการระคายเคืองเป็นอันตรายต่อร่างกาย ทำให้วิงเวียนศีรษะ
สัมผัสถูกตา	การสัมผัสถูกตาจะก่อให้เกิดการระคายเคืองต่อตา

ที่มา: กรมควบคุมมลพิษ (2544)

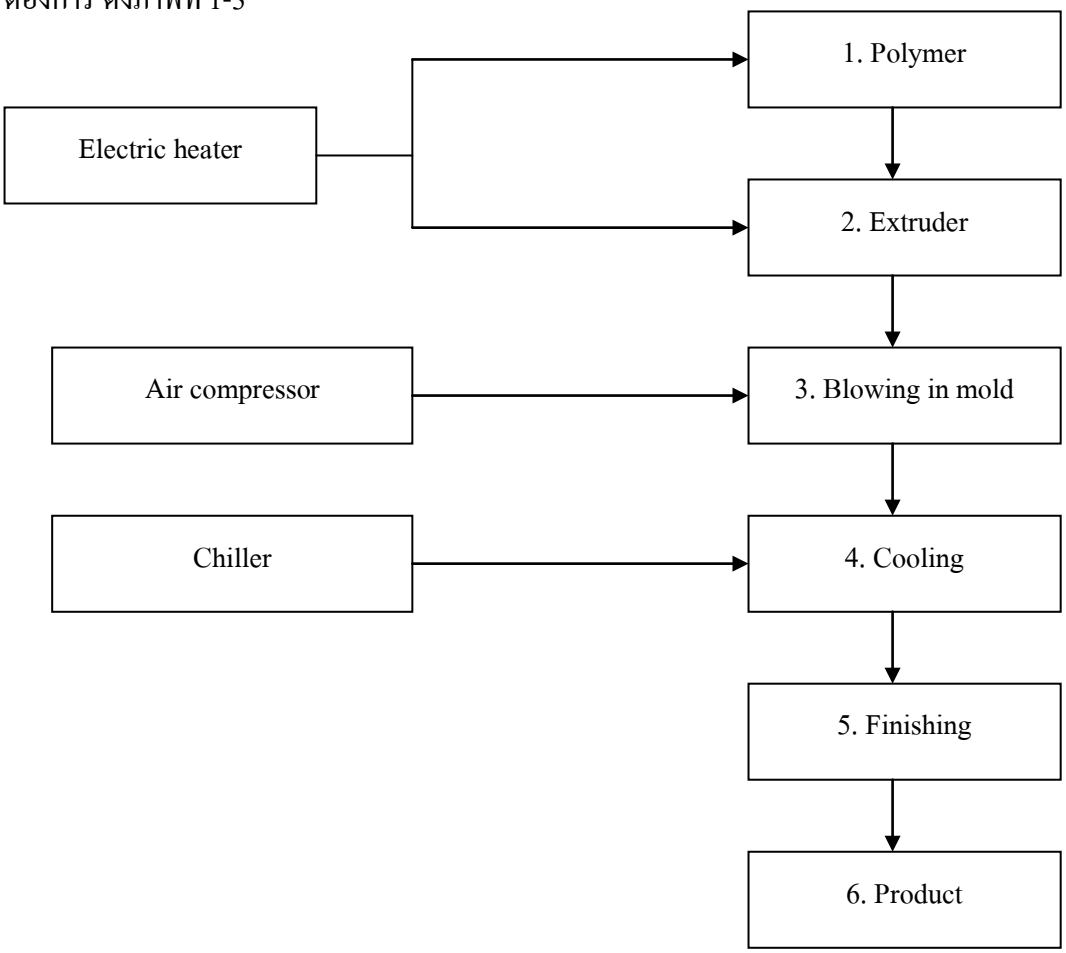
4. ข้อมูลเกี่ยวกับถุงมือพลาสติก

ถุงมือพลาสติก (disposable plastic glove) ชนิด polyethylene (PE) ผลิตมาจาก HDPE (high density polyethylene) คือ พลาสติกในหมวดหมู่ Polyethylene ที่มีความหนาแน่นสูง เนื้อวัสดุ

มีลักษณะขาวไม่ทึบแต่ก็ไม่โปร่งแสง มีความเหนียวสูงไม่ขาดง่าย เหมาะสมสำหรับ ใช้ใน โรงงานอาหาร หรือภัตตาคารร้านค้า สวมใส่เพื่อสุขลักษณะที่ดีในการประกอบอาหาร ป้องกันเชื้อโรคจุลินทรีย์ที่อาจปนเปื้อนจากมือของพนักงาน

4.1 กระบวนการผลิตถุงมือพลาสติก

Blow molding เป็นการเป่าขึ้นรูปถุงมือพลาสติกโดยเริ่มจากวัตถุดิบ คือ เม็ดพลาสติกชนิด PVC, PP, PE เป็นต้น นำเม็ดพลาสติกมาหลอมใน extruder โดยใช้ความร้อนจาก heater ไฟฟ้า จากนั้นสกรูจะอัดพลาสติกเหลวโดยใช้หลักการขับเคลื่อนสกรูและการเปิด-ปิด mold ด้วยระบบ hydraulics ส่งผ่านหัว die head ออกมาเป็นลักษณะทรงกระบอก (parison) จากนั้น mold จะเคลื่อนตัวมาประกบแล้วเป่าลมโดยใช้อากาศอัดเพื่อให้เนื้อพลาสติกขยายเต็มตาม mold เมื่อเต็ม mold แล้วจะมีน้ำเย็นจากเครื่อง chiller ไหลมาหล่อเย็นเพื่อให้ชิ้นงานแข็งตัวคงรูปตามแม่พิมพ์ที่ต้องการ ดังภาพที่ 1-3



ภาพที่ 1-2 การขึ้นรูปผลิตภัณฑ์พลาสติกด้วยการ stretch blow molding
ที่มา: สำนักงานมาตรฐานผลิตภัณฑ์อุตสาหกรรม (2549)

5. กลุ่มธาเลต (phthalate)

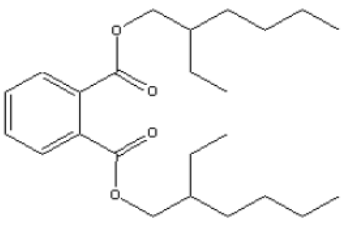
Phthalate เป็นสารพลาสติไซเซอร์ ที่มีคุณสมบัติอ่อนตัวและเหนียว ถูกนำมาใช้กันอย่างแพร่หลายในอุตสาหกรรมผลิตพลาสติก ใช้เป็นพลาสติไซเซอร์ และใช้เป็น สเตบิไลเซอร์ สารหล่อลื่น อิมัลซิฟายเออร์ เป็นต้น สารกลุ่ม phthalate ที่นิยมใช้กันมาก คือ di-(2-ethylhexyl) phthalate (DEHP), diisodecyl phthalate (DIDP) และ diisononyl phthalate (DINP) แต่สารที่นิยมใช้กันมากที่สุดคือ DEHP เนื่องจากมีราคาถูกทำให้ช่วยประหยัดต้นทุนการผลิต Phthalate จะอยู่ในพลาสติกอ่อน (soft vinyl product) ซึ่งเป็นพลาสติกที่ทำจาก PVC จะมี phthalate ผสมอยู่ประมาณ 20-40% โดยน้ำหนัก พลาสติกประเภทนี้เป็นที่นิยมใช้กันอย่างแพร่หลาย เช่น ถุงมือ ขวดน้ำประเก็นในขวดอาหาร เป็นต้น (อรุณศักดิ์ โสภณธรรมภาณ, 2550)

5.1 คุณสมบัติของ di-(2-ethylhexyl) phthalate (DEHP)

DEHP มีสมบัติในการละลายน้ำได้เล็กน้อย แต่จะละลายในน้ำมันได้ดีและมีการระเหยที่ต่ำ มีขั้วเล็กน้อยที่หมู่คาร์บอกซิล กลุ่ม DEHP สามารถเข้าสู่ร่างกายได้ทั้ง ทางการกิน การหายใจ และ การซึมผ่านทางผิวหนัง การได้รับสารนี้ จะมีผลต่อตับ และไต มีฤทธิ์ไปรบกวนฮอร์โมนเพศทั้งในเพศหญิง และเพศชาย แต่จะมีผลต่อเพศชายมากกว่า ซึ่งทำให้มีโอกาสเป็นหมันได้ หญิงที่ตั้งครรภ์ได้รับสารนี้เข้าไปในร่างกาย จะส่งผลต่อทารกที่อยู่ในครรภ์อาจทำให้เด็กมีกลุ่มอาการดาวน์ (Down's syndrome)

ข้อมูล แสดง สมบัติทางเคมี และกายภาพจากเอกสารข้อมูล ความปลอดภัยเคมีภัณฑ์ (MSDS) ของกรมควบคุมมลพิษ (2544) มีดังนี้

- ชื่อเคมี IUPAC: Di-sec octyl phthalate
- ชื่อพ้องอื่นๆ: di(2- ethylhexyl)phthalate (DEHP), bis -92-Ethylhexyl (DOP) phthalate , Octyl Phthalate
- สูตรเคมีโมเลกุล: $C_{24}H_{38}O_4$
- น้ำหนักโมเลกุล: 390.62
- การละลายน้ำ: 3 μg/l ที่ 20°C
- สูตรโครงสร้าง



5.2 ความเป็นพิษ (Toxicity) DEHP สามารถสะสมในห่วงโซ่อาหารในสิ่งแวดล้อมและถ่ายทอดสู่ผู้บริโภคสูงสุดคือมนุษย์ สถาบันวิจัยมะ เร็งนานาชาติ และกองบริการสาธารณ สุขของสหรัฐอเมริกา จัดให้สาร DEHP เป็นสารที่อาจก่อให้เกิดมะเร็งในมนุษย์ มีผลกระทบต่อระบบสืบพันธุ์ ในเพศชายและเพศหญิง มีผลกระทบต่อก ารทำงานของตับและปอ ด รวมทั้งกระบวนการสร้างและสลายฮอร์โมนและยังมีผลกระทบ ต่อการ ทำงานของระบบภูมิคุ้มกันภายในร่างกาย การสัมผัส DEHP มีผลต่อร่างกายดังแสดงในตารางที่ 1-4

ตารางที่ 1-4 ผลกระทบของ DEHP ต่อสุขภาพอนามัย

เส้นทางการสัมผัส	ผลกระทบ
ทางการหายใจ	การหายใจเข้าไป จะทำให้เกิดการระคายเคืองต่อทางเดินหายใจ คลื่นไส้ อาเจียน สารนี้ที่ความดันต่ำ จะไม่ค่อยอันตรายแต่ถ้าถูกความร้อน หรือเป็นละอองจะมีอันตรายสูง
ทางผิวหนัง	การสัมผัสถูกผิวหนัง จะทำให้เกิดการระคายเคืองเล็กน้อย สารนี้สามารถดูดซึมผ่านผิวหนังเข้าสู่ร่างกายได้ในระดับต่ำ
ทางการรับประทานเข้าไป	การกลืนหรือกินเข้าไป จะทำให้เกิดอาการคลื่นไส้ ปวดท้อง ท้องร่วง ระบบประสาทส่วนกลางถูกกด เซื่องซึม ง่วงนอน
สัมผัสถูกตา	การสัมผัสถูกตา จะก่อให้เกิดการระคายเคืองต่อตา ตาแดง เจ็บตา
การก่อมะเร็ง	สารนี้คาดว่าจะเป็นสารก่อมะเร็งและมีผลกระทบต่อการพัฒนาการของทารกในครรภ์

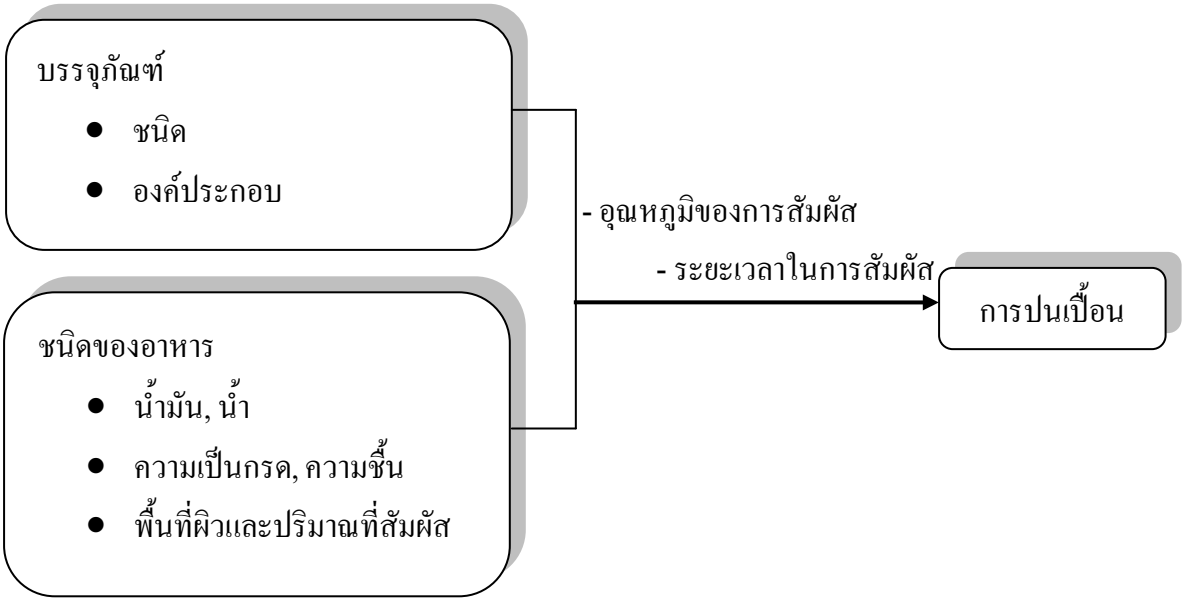
ที่มา: กรมควบคุมมลพิษ (2544)

5.3 การปนเปื้อนในอาหาร

Phthalateได้ถูกนำมาใช้อย่างกว้างขวางในส่วนผสม ของการ ผลิตบรรจุภัณฑ์สำหรับอาหาร และในถุงมือยางที่ใช้สัมผัสอาหาร ซึ่งจะเห็นว่ามีความเสี่ยงต่อผู้บริโภคที่จะได้รับพลาสติไซเซอร์จากบรรจุภัณฑ์

การสะสมของ DEHP ในสิ่งแวดล้อมเป็นปัจจัยที่สำคัญของการได้รับ DEHP เข้าสู่ร่างกายจากการรับประทานอาหาร นอกจากนี้ก็มาจากการปนเปื้อนในกระบวนการผลิตและการปนเปื้อนจากบรรจุภัณฑ์ที่เกิดจากการ เคลื่อนย้าย (migration) ของอนุภาคหรือโมเลกุล ซึ่งเป็น

องค์ประกอบของบรรจุภัณฑ์สู่อาหาร ปัจจัยของการเกิด การเคลื่อนย้าย ขึ้นอยู่กับ ชนิดและองค์ประกอบของบรรจุภัณฑ์ ชนิดและองค์ประกอบของอาหารและปัจจัยอื่นๆ ได้แก่ อุณหภูมิของการสัมผัส ระยะเวลาในการสัมผัส เป็นต้น (ภาพที่ 1-4)



ภาพที่ 1-3 ปัจจัยในการเกิดการเคลื่อนย้าย (migration) องค์ประกอบของบรรจุภัณฑ์สู่อาหาร
ที่มา: ทีมวิจัยการปนเปื้อนจากบรรจุภัณฑ์อาหาร จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย (2002)

นอกจากบรรจุภัณฑ์อาหารแล้ว ในปัจจุบันยังนิยมใช้ถุงมือยางและถุงมือพลาสติกสัมผัสอาหารเพื่อป้องกันเชื้อโรคที่มาจากมนุษย์และสิ่งแวดล้อมสู่อาหาร ถุงมือยางและถุงมือพลาสติกจึงเป็นทางเลือกหนึ่งที่ถูกนำมาใช้ อย่างกว้างขวางในอุตสาหกรรมอาหาร จากการควบคุมมาตรฐานทางด้านอาหารของสหภาพยุโรปได้บังคับใช้เกณฑ์มาตรฐานด้านวัสดุและสิ่งของที่ใช้สัมผัสอาหาร (food contact materials) เพื่อป้องกันสารอันตรายหลุดลอกออกจากวัสดุที่ สัมผัสอาหารและปนเปื้อนสู่อาหาร ปัจจุบัน EU ได้กำหนดค่า tolerable daily intake (TDI) ของ ธาเลต 4 ชนิด ไว้ดังนี้

- เบนซิล-บิวทิล ธาเลต (BBP) TDI = 0.20 มิลลิกรัมต่อกิโลกรัมต่อวัน
- ได-(ไอโซโนนิว) ธาเลต (DINP) TDI = 0.15 มิลลิกรัมต่อกิโลกรัมต่อวัน
- ได-(บิวทิว) ธาเลต (DBP) TDI = 0.10 มิลลิกรัมต่อกิโลกรัมต่อวัน
- ได-(2-เอทธิลเฮกซิล) ธาเลต (DEHP) TDI = 0.037 มิลลิกรัมต่อกิโลกรัมต่อวัน

ค่า TDI ของสาร DEHP มีค่าต่ำสุดในบรรดากลุ่มธาเลตด้วยกัน ซึ่งหมายความว่า DEHP มีความเป็นพิษสูงสุด จากข้อมูลของ EU พบว่าหากผลิตภัณฑ์อาหารมีระดับของ DINP และ DIDP > 180 มิลลิกรัมต่อกิโลกรัมและระดับของ DEHP > 60 มิลลิกรัมต่อกิโลกรัม จะส่งผลให้มีค่า daily intake เกินจากค่า TDI ที่กำหนดไว้ข้างต้น ซึ่งหาก EU สุ่มตรวจพบสินค้านั้นก็จะ สั่งเก็บจากตลาดทันที (The Commission of the European Communities, 2007)

ปัจจุบันมีการกำห นดมาตรฐานระหว่างประเทศเกี่ยวกับยาง และผลิตภัณฑ์ยางขึ้นมาเรียกว่า ISO TC45-rubber and rubber products ซึ่งมีประมาณ 400 มาตรฐานด้วยกัน ในจำนวนนี้มีมาตรฐานที่เกี่ยวข้องกับถุงมือยาง ด้วยแต่ยังไม่มีการกำหนดระดับการปนเปื้อนที่ยอมให้มีได้ของสารก่อกลายพันธุ์ชนิดต่างๆในถุงมือยาง

มีรายงานการ ศึกษาการปนเปื้อนของสาร DEHP ในถุงมือพลาสติก PVC ในอาหาร โดยทดลองตรวจสอบอาหารก่อนและหลังการใช้ถุงมือพลาสติก PVC พบว่า หัวไชเท้าก่อนการประกอบอาหารมี DEHP ปนเปื้อน 0.04 mg/kg และหลังจากใช้ถุงมือพลาสติก PVC ประกอบอาหารพบว่ามี DEHP เพิ่มขึ้นเป็น 18.4 mg/kg (Tsumara *et al.,* 2000)

6. การวิเคราะห์ด้วยวิธีก๊าซโครมาโทกราฟฟี (Gas chromatography)

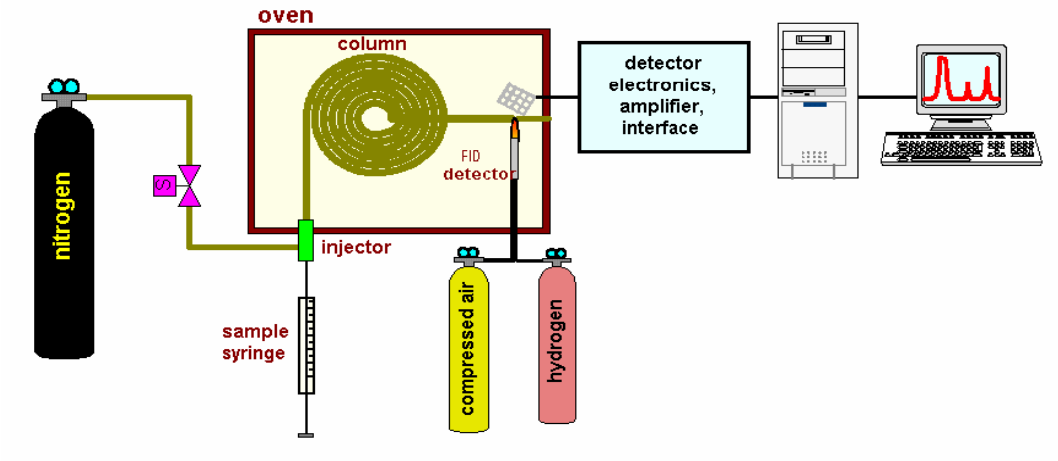
ก๊าซโครมาโตกราฟี (GC) เป็นเทคนิคหนึ่งของการวิเคราะห์ด้วยวิธีโครมาโตกราฟีซึ่งนิยมใช้กันอย่างกว้างขวางเพราะมีความสามารถแยกและวิเคราะห์ตัวอย่างที่มีองค์ประกอบซับซ้อนได้และยังให้ผลเที่ยงตรง หลักการของก๊าซโครมาโตกราฟี คือเฟสเคลื่อนที่ต้อง เป็นก๊าซ และสารตัวอย่างที่ใส่ลงในคอลัมน์ต้องมีสภาพเป็นไอตั้งแต่บริเวณส่วนบนสุดของคอลัมน์ การปล่อยสารตัวอย่างออกจากคอลัมน์เกิดจากแรงพาของเฟสเคลื่อนที่ซึ่งเรียกว่าตัวพา (carrier) ตัวพาที่ใช้ต้องเป็นก๊าซเฉื่อย เช่น ไนโตรเจน หรือฮีเลียม

ก๊าซโครมาโตกราฟีใช้ได้กับสารที่สามารถระเหยกลายเป็นไอได้ ณ อุณหภูมิของคอลัมน์เท่านั้น ดังนั้นวิธีการของก๊าซโครมาโตกราฟีจึงเป็นเทคนิคที่ใช้ในการแยกสารประกอบอินทรีย์เท่านั้น เพราะสารประกอบอินทรีย์สามารถกลายเป็นไอได้ง่าย จะไม่ใช้วิธีก๊าซโครมาโตกราฟีสำหรับการวิเคราะห์สารประกอบอนินทรีย์ เพราะสารประกอบอนินทรีย์ไม่สามารถกลายเป็นไอได้ในอุณหภูมิปกติ (ที่ทำการทดลอง) ของคอลัมน์ วิธีก๊าซโครมาโตกราฟีสามารถใช้ในการวิเคราะห์ได้ทั้งทางคุณภาพและทางปริมาณ

องค์ประกอบของเครื่อง GC

เครื่องโครมาโทกราฟ (GC) ประกอบด้วยส่วนหลักๆ 5 ส่วน คือ

- แก๊สพา (carrier gas) - มีถังบรรจุแก๊สพาและส่วนควบคุมการไหลของแก๊ส
- ส่วนฉีดสารตัวอย่าง (injector) - ส่วนที่นำสารเข้าสู่คอลัมน์เพื่อทำการแยก
- คอลัมน์ (column) - วางอยู่ในตู้อบ (oven) ที่สามารถปรับอุณหภูมิได้รวดเร็ว
- ส่วนการตรวจวัด (detector) - ทำการตรวจวัดสารแต่ละชนิดที่ถูกแยกออกมา
- ส่วนการประมวลผล (recorder and data processing) ดังภาพที่ 1-5



ภาพที่ 1-4 องค์ประกอบของเครื่อง Gas chromatograph

ที่มา: http://www.LAB_TODAY.GC.htm

7. การวิเคราะห์ด้วยวิธีโครมาโทกราฟีของเหลวสมรรถนะสูง (High Performance Liquid Chromatography)

เครื่อง HPLC เป็นเครื่องมือใช้สำหรับแยกสารประกอบที่สนใจที่ผสมอยู่ในตัวอย่าง โดยกระบวนการแยกสารประกอบที่สนใจจะเกิดขึ้นระหว่างเฟส 2 เฟส คือ เฟสอยู่ กับที่ (column) กับเฟสเคลื่อนที่ (mobile phase) จะถูกแยกออกมาในเวลาที่ต่างกัน ซึ่งสารผสมที่อยู่ในตัวอย่างสามารถถูกแยกออกจากกันได้นั้นขึ้นอยู่กับความสามารถในการเข้ากันได้ดีของสารนั้นกับ mobile phase หรือ stationary phase สารประกอบตัวไหนที่สามารถเข้ากัน ได้ดีกับ mobile phase สารนั้นก็จะถูกแยกออกมาก่อน ส่วนสารที่เข้ากันได้ไม่ดีกับ mobile phase หรือเข้ากันได้ดีกับ stationary phase ก็จะถูกแยกออกมาทีหลัง โดยสารที่ถูกแยกออกมาได้นี้จะถูกตรวจวัดสัญญาณด้วยตัวตรวจวัด สัญญาณที่บันทึกได้จากตัวตรวจวัดจะมีลักษณะเป็นพีค ซึ่งจะเรียกว่า โครมา โตแกร ม

โดย HPLC สามารถทดสอบได้ทั้งเชิงคุณภาพ และ เชิงปริมาณ โดยการเปรียบเทียบกับสารมาตรฐาน (ศูนย์เครื่องมือวิทยาศาสตร์มหาวิทยาลัยสงขลานครินทร์, 2006)

ส่วนประกอบหลักของเครื่อง HPLC (ภาพที่ 1-6)

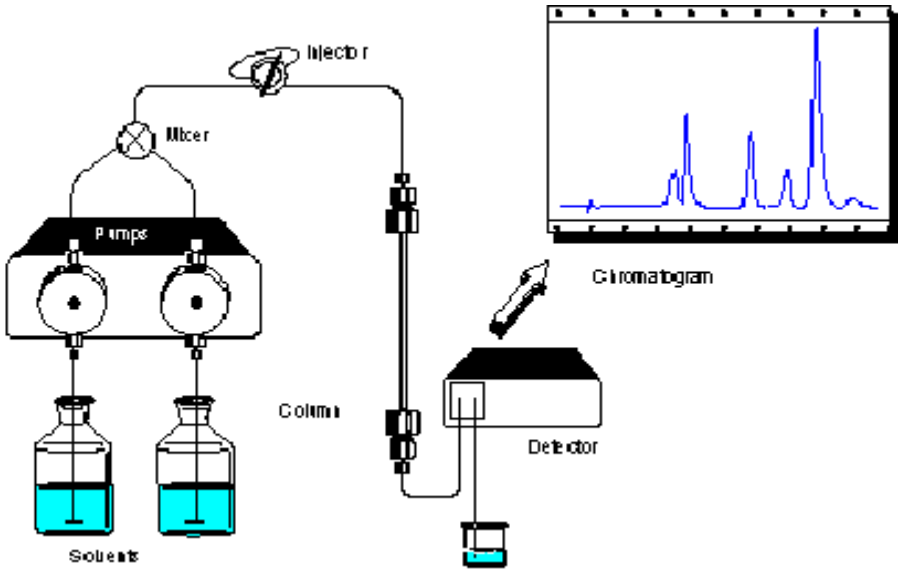
1. Mobile phase /solvent หรือตัวทำละลายที่ใช้ในการชะหรือแยกตัวอย่าง เป็นเฟสเคลื่อนที่ มีลักษณะเป็นของเหลว ทำหน้าที่ในการนำสารตัวอย่างและตัวทำละลายเข้าสู่ stationary phase (ในที่นี้คือ คอลัมน์) เพื่อให้เกิดกระบวนการแยกภายในคอลัมน์

2. Pump ทำหน้าที่ดึงตัวทำละลาย (mobile phase) เข้าสู่ระบบ HPLC

3. Injector/Autosampler ทำหน้าที่ในการฉีดสารตัวอย่างเข้าระบบ HPLC

4. Column หรือจะเรียกว่า stationary phase มีลักษณะเป็นของแข็งหรือเจล เป็นเฟสอยู่กับที่ ทำหน้าที่ให้เกิดกระบวนการแยกของสารที่สนใจ โดยจะเกิดขึ้นระหว่าง mobile phase กับ stationary phase

5. Detector คือ ตัวตรวจวัดสัญญาณ ทำหน้าที่ในการตรวจวัดสัญญาณของสารที่สนใจที่ได้จากกระบวนการแยก



ภาพที่ 1-5 ส่วนประกอบของเครื่อง High Performance Liquid Chromatograph

ที่มา : http://www.sec.psu.ac.th/web-board/content/view_img.php?id=699

8. การทดสอบความเป็นพิษ

8.1 ความเป็นพิษเฉียบพลันและเรื้อรัง

1. พิษเฉียบพลัน (Acute toxicity) การศึกษาสัตว์ทดลองถึงผลกระทบอันไม่พึงประสงค์ที่เกิดขึ้นภายในระยะเวลาสั้นๆ (1-7 วัน) หลังจากได้รับสารหนึ่งครั้งหรือมากกว่า

โดยทั่วไปการทดสอบความเป็นพิษเฉียบพลันมักใช้ในการหาค่า LD_{50} ของสารประกอบซึ่งค่า LD_{50} นี้หมายถึง ค่าทางสถิติของปริมาณสารที่ใช้ในหนึ่งครั้ งแล้วทำให้สัตว์ทดลองตายร้อยละ 50 (กรมส่งเสริมสุขภาพสิ่งแวดล้อม, 2541 อ้างอิงใน วารุณี ฉัตรเท, 2547)

2. พิษเรื้อรัง (Chronic toxicity) การศึกษาสัตว์ทดลองโดยการสังเกตสัตว์ทดลองตลอดช่วงอายุขัยหรือส่วนใหญ่ของช่วงอายุขัย และโดยการให้สารที่ใช้ทดสอบตลอดช่วงระยะเวลาของการสังเก ตหรือเฉพาะช่วงเวลาสำคัญ คำว่า ความเป็นพิษระยะยาว (long term toxicity) ในบางครั้งใช้ในความหมายเดียวกับ chronic toxicity test และบางครั้งยังหมายถึงการศึกษาการเกิดพิษที่อยู่ระหว่างระดับการทดสอบความเป็นพิษในระยะสั้น (Subacute หรือ short-term toxicity test) กับการศึกษาความเป็นพิษเรื้อรัง (กรมส่งเสริมสุขภาพสิ่งแวดล้อม , 2541 อ้างอิงใน วารุณี ฉัตรเท , 2547)

8.2 การทดสอบความเป็นพิษกับสิ่งมีชีวิต

สิ่งมีชีวิตที่ใช้ในการทดสอบความเป็นพิษ (test organisms) มีทั้งสัตว์มีกระดูก สันหลังและไม่มีกระดูกสันหลังรวมทั้งสาหร่ายและแบคทีเรีย เทคนิคด้านชีววิเคราะห์สำหรับ ประเมินความเป็นพิษของสารเคมีต่อสิ่งมีชีวิต นำมาใช้เพื่อมุ่งพัฒนากระบวนการกำหนดคุณภาพน้ำ และเพื่อประเมินผลกระทบของสิ่งแวดล้อมที่มีการปนเปื้อนต่อสัตว์น้ำ สิ่งมีชีวิตที่นิยมใช้มีดังนี้ (Wong, and Dixon, 1995)

1. แบคทีเรีย (Bacteria) แบคทีเรียเป็นสิ่งมีชีวิตเบื้องต้นที่สำคัญในวัฏจักรของสารวงจรชีวิตของมันสั้นมาก สามารถตอบสนองต่อการเปลี่ยนแปลงของสิ่งแวดล้อมได้อย่างรวดเร็ว จึงเหมาะสมสำหรับการทดสอบความเป็นพิษของสารในแหล่งน้ำ โดยมีพื้นฐานการวัดด้าน การเจริญเติบโตในอาหาร การหายใจและกิจกรรมของเอนไซม์ กลุ่มแบคทีเรียที่นำมาใช้ได้แก่ *Pseudomonas, Klebsiella, Escherichia, Aeromonas, Bacillus, Vibrio* โดยเฉพาะ *Nitrobactor* ที่นำมาวัดความเป็นพิษของโลหะหนักและน้ำเสียอุตสาหกรรม โดยวัดการเปลี่ยนแปลงจากไนไตรท์เป็นไนเตรทนั้นเอง

2. สาหร่าย (Algae) วิธีชีววิเคราะห์ด้วยสาหร่ายนิยมแพร่หลายในการศึกษาผลกระทบของสารพิษต่อสิ่งแวดล้อม เนื่องจากมี การแปรผันทางพันธุกรรมน้อยกว่า การทดสอบด้วยแบคทีเรีย ชนิดของสาหร่ายที่นิยมใช้ เช่น *Selenastrum capricornuutum, Chlorella vulgaris, Scenedesmus acutus* และ *Skeletonema costatum* เป็นต้น

3. สัตว์ไม่มีกระดูกสันหลัง (Invertebrates) สัตว์ไม่มีกระดูกสันหลังพบทั่วไปในแหล่งน้ำ เหมาะสำหรับการศึกษาด้านปริมาณประชากร สามารถปรับตัวได้ง่ายในห้องปฏิบัติการ และมีความอ่อนไหวต่อสารเคมี กลุ่มที่นิยมนำมาใช้ ได้แก่ ไร น้ำชนิดต่างๆดังนี้ *Moina* sp.,

Daphnia magna, Daphnia pulex และ *Ceriodaphnia reticulate* มีรายงานว่าไร น้ำเป็นสิ่งมีชีวิตที่มีความอ่อนไหวที่สุดในการทดสอบความเป็นพิษ มีความสำคัญในกึ่งกลางของสายใยอาหาร โดยมันจะกินแบคทีเรียและสาหร่ายแล้วกลายเป็นอาหารของสัตว์ไม่มีกระดูกสันหลังอีกหลายชนิดและเป็นอาหารของปลาอีกด้วย

4. ปลา (Fish) การทดสอบความเป็นพิษด้วยปลา เป็นวิธีที่ใช้กันมานาน ระยะแรกนิยมใช้ปลาทดสอบความเป็นพิษแบบเฉียบพลันของสารเคมีต่อสิ่งแวดล้อม มีปลาน้ำจืดและน้ำเค็ม 2-3 ชนิดที่ใช้เป็นประจำ ได้แก่ Fathead Minnow (*Pimephales promelas*) และ Rainbow Trout ปลาน้ำเค็มได้แก่ Speerhead Minnow และ Spot อย่างไรก็ตาม พบว่าค่า LC_{50} ที่ได้จากการทดสอบความเป็นพิษของสารต่อปลาไม่เพียงพอต่อการปกป้องสิ่งมีชีวิตในน้ำจากพิษรองเฉียบพลัน คือ การเปลี่ยนแปลงด้านพฤติกรรม ด้านกายภาพ (การเจริญเติบโตและการมีชีวิตรอด ความสำเร็จด้านการเจริญพันธุ์) รูปร่างลักษณะและผลต่อพันธุกรรม

9. ไรแดง

ไรแดงมีชื่อวิทยาศาสตร์ว่า *Moina macrocopa* (Straus, 1820) จัดเป็นสัตว์ไม่มีกระดูกสันหลังกลุ่ม Crustacean ดำรงชีวิตเป็นแพลงก์ตอนสัตว์ ไรแดงเป็นสัตว์น้ำจืดขนาดเล็ก แต่ยังสามารถมองเห็นได้ด้วยตาเปล่า พบได้ทั่วไปในแหล่งน้ำธรรมชาติ (สันทนา ควงสวัสดิ์, 2524) ไรแดงจำแนกทางอนุกรมวิธานได้ดังนี้

Phylum	Arthropoda
Subphylum	Mandibulata
Class	Crustacea
Subclass	Branchiopoda
Order	Cladocera (Water Flwa)
Suborder	Calyptomera
Family	Daphnidae
Genus	*Moina*
Species	*Moina macrocopa* (Straus, 1820)

9.1 ลักษณะทั่วไป

ไรแดงมีขนาด 0.4-1.8 มิลลิเมตร ลำตัวมีสีส้มหรือสีค่อนข้างแดง ถ้าอยู่รวมกันเป็นจำนวนมากจะมองเห็นไรแดงมีสีแดงชัดเจน เพศเมียจะมีขนาดใหญ่กว่าเพศผู้ ลำตัวอ้วนเกือบกลมมีขนาดเฉลี่ย 1.3 มิลลิเมตร ส่วนเพศผู้ตัวเล็ก และค่อนข้างยาว มีขนาดเฉลี่ย 0.5 มิลลิเมตร ตัวอ่อนที่

ออกมาจากถุงไข่ใหม่ๆ จะมีขนาด 0.22-0.35 มิลลิเมตร มีสีจางกว่าตัวเต็มวัย แสดงได้ดัง ภาพที่ 1-7 ในสภาวะแวดล้อมที่เหมาะสม ไรแดงจะมีประชากรเพศผู้ 5 % เพศเมีย 95 % ไรแดงมีวงจรชีวิต (life cycle) สั้นประมาณ 4-6 วัน (สันทนา ควงสวัสดิ์ , 2524) นอกจากนี้ไรแดงมีความไว (sensitivity) ในการตอบสนองต่อสารพิษประเภทต่างๆได้รวดเร็ว ดังนั้นไรแดงจึงมีความเหมาะสมที่จะนำมาใช้ทดลอง (ธนาภรณ์ จิตตปาลพงศ์, 2526)

ภาพที่ 1-6ไรแดง

ไรแดงจัดเป็นสัตว์ที่มีความสำคัญต่อการเพาะเลี้ยงสัตว์น้ำเป็นอย่างยิ่ง เพราะมีการนำไรแดงไปเป็นอาหารของสัตว์น้ำวัยอ่อ นรวมทั้งปลาตู้สวยงามเกือบทุกชนิด ทำให้ปัญหาความต้องการไรแดงมีแนวโน้มเพิ่มขึ้นมาเป็นลำดับ ในอดีตการเพาะเลี้ยงสัตว์น้ำยังทำกันไม่มากนักจึงสามารถหาไรแดงมาเป็นอาหารของสัตว์น้ำวัยอ่อนได้พอเพียง แต่ในปัจจุบันมีการเพาะเลี้ยงสัตว์น้ำมากขึ้น ทำให้ปริ มาณไรแดงโตเฉลี่ยลดลง ประกอบกับแหล่งน้ำที่อาศัยของไรแดงก็ลดน้อยลง เพราะถูกนำไปสร้างถนนและที่อยู่อาศัย ในปัจจุบันกา รเพาะเลี้ยงไรแดงจะนิยมใช้สาหร่าย เซลล์เดียว เช่น C*hlorella* sp. เป็นอาหาร (Martimez and Gutierrez, 1991)

9.2 การสืบพันธุ์

ไรแดงมีการสืบพันธุ์ 2 แบบคือ

9.2.1 เป็นการสืบพันธุ์แบบไม่อาศัยเพศ (parthenogenetic) การสืบพันธุ์แบบนี้ไรแดงเพศเมียจะสร้างไข่ที่เรียกว่า parthenogenetic egg ไรแดงเพศเมียจะไข่แล้วฟักเ ป็นตัวโดยไม่ผสมกับไรแดงตัวผู้ ไข่จะฝังตัวอยู่ในช่องท้องระหว่ างผนังภายในของด้านหลังลำตัว (brood chamber) แล้วเจริญเป็นตัวอ่อนซึ่งเมื่อเติบโตเต็มที่ เกือบเหมือนพ่อแม่จึงออกจากถุง ว่ายน้ำเป็นอิสระ ไข่ชนิด นี้จะให้ลูกทั้งเพศผู้และเพศเมีย โดยพบว่าสัดส่วนของเพศลูกที่ได้ถู กควบคุมด้วยปัจจัยทางสิ่งแวดล้อม เช่น อาหาร ถ้าเลี้ยงไรแดงแบบแยกเดี่ยวและให้อาหารความเข้มข้นต่ำจะมีไร

แดงเพศผู้น้อยมาก ในขณะที่ถ้าเลี้ยงตัวเมียหลายตัวรวมกันและให้อาหารความเข้มข้นต่างๆ ในสภาพนี้ไรแดงจะให้ลูกเพศผู้มาก พบว่าที่อุณหภูมิต่ำสัดส่วนของลูกเพศผู้จะมากกว่าที่อุณหภูมิปกติ (25-30 องศาเซลเซียส) นอกจากนี้เมื่อพิจารณาถึงความหนาแน่นของประชากร อุณหภูมิ และอาหารเปรียบเทียบกัน ความหนาแน่นของประชากรมีผลมากที่สุดในการเกิดไรแดงเพศผู้ ส่วนใหญ่แล้วไรแดงที่เกิดขึ้นมักจะเป็นเพศเมีย เมื่อมีสภาวะที่เหมาะสม โดยปกติไรแดงจะมีอายุระหว่าง 4-6 วัน แพร่พันธุ์ได้ 1-5 ครั้ง หรือเฉลี่ย 3 ครั้งๆละ 19-23 ตัว ทั้งนี้สภาวะแวดล้อมจะต้องเหมาะสม

9.2.2 เป็นการสืบพันธุ์แบบอาศัยเพศ (sexual reproduction) ในสภาวะแวดล้อมที่ผิดปกติ เช่น อุณหภูมิสูงหรือต่ำเกินไป ความเป็นกรดเป็นด่างไม่เหมาะสมหรือขาดแคลนอาหาร มีการสะสมของเสียต่าง ๆที่ได้จากกระบวนการเมแทบอลิซึม การขาดแคลนอาหาร และมีสภาพอุณหภูมิต่ำกว่า 14 องศาเซลเซียส ไรแดงจะเพิ่มปริมาณเพศผู้มากขึ้น ไรแดงเพศเมียจะสร้างไข่อีกชนิดหนึ่งซึ่งจะต้องได้รับการผสมพันธุ์จากเพศผู้แล้วสร้างเปลือกหุ้ มหนา เพื่อให้ทนต่อสภาพแวดล้อม ซึ่งเรียกว่า resting egg ไข่นี้มีขนาดใหญ่และมีสีขาวขุ่น แม่ 1 ตัวจะให้ไข่ชนิดนี้ 2 ฟอง หลังจากนั้นตัวเมียก็จะตายเนื่องจากสภาวะแวดล้อมที่ไม่เหมาะสมนั้นไข่จะถูกทิ้งให้อยู่ก้นบ่อหรือก้นแหล่งน้ำนั้น ไข่เปลือกแข็งนี้สามารถทนต่อส ภาวะแวดล้อมที่ไม่เหมาะสมได้นาน และจะฟักออกเป็นตัวเมื่อสภาวะแวดล้อมที่ดีขึ้นและมีอาหารที่อุดมสมบูรณ์ (สันทนา ควงสวัสดิ์, 2529)

9.3 วงจรชีวิตของไรแดง

จากตัวอ่อนที่หลุดออกมาจาก brood chamber ของแม่จนเป็นตัวเต็มวัย และสามารถผลิตลูกได้จะใช้เวลา 40-60 ชั่วโมง ซึ่งในช่วงเวลาประมาณนี้ จะมีการลอกคราบครั้งที่ 1 และมีการแพร่พันธุ์ให้ลูกออกมาประมาณ 8-14 ตัว โดยทยอยหลุดออกจาก brood chamber ครั้งละประมาณ 2-4 ตัว หลังจากนั้นอีกประมาณ 24-36 ชั่วโมง ก็จะมีการแพร่พันธุ์ครั้งที่ 2 โดยให้จำนวนลูกใกล้เคียงกับครั้งแรก บางครั้งในสภาพที่เหมาะสม ไรแดงคงแพร่พันธุ์ได้อีก 1-2 ครั้ง แต่ปกติโดยทั่วไป ไรแดงแต่ละตัวจะผลิตลูก 2 ครั้ง แต่ละครั้งจะใช้เวลาต่างกัน 24-36 ชั่วโมง และการให้ลูกแต่ละครั้งเฉลี่ยประมาณ 8-14 ตัว หลังจากไรแดงให้ลูกครั้งที่ 2 หมดแล้ว ตัวแม่ก็จะตาย เมื่อรวมระยะวงจรชีวิตปกติของไรแดงตั้งแต่เกิดจนตาย ใช้ระยะเวลาประมาณ 99-144 ชั่วโมง (4-6 วัน) จึงสรุปวงจรชีวิตของไรแดงมี 3 ขั้นตอน คือ ไข่ วัยอ่อน และตัวเต็มวัย

9.4 ที่อยู่อาศัยและฤดูกาลที่พบ

ไรแดงชอบอยู่ในแหล่งน้ำ ที่สกปรกซึ่งมักพบในบ่อน้ำนิ่ง หรือแหล่งน้ำขังใกล้เคียงกับแหล่งที่มีเศษอาหาร ซากพืชซากสัตว์ต่างๆ เนื่องจากเป็นอาหารที่อุดมสมบูรณ์ ตราบใดที่ยังมีน้ำและอาหารอยู่ ก็จะสามารถพบไรแดงได้ตลอดปี มีรายงานว่าไรแดงสามารถอยู่ได้ในที่มีออกซิเจนละลายอยู่ 0.5-4.2 mg/l (สันทนา ควงสวัสดิ์, 2524) พบว่าไรแดงส่วนใหญ่ชอบอยู่ใน น้ำที่

มี pH 7.0-8.5 ส่วนฤดูกาลที่มักพบไรแดงนั้นคือฤดูร้อนและฤดูฝน โดยไรแดงจะมีมากโดยเฉพาะในเดือนเมษายน และจะมีมากอีกครั้งในเดือนตุลาคม แล้วลดลงในฤดูหนาว ทั้งนี้ช่วงฤดูฝน ฝนจะนำอาหารจากที่ต่างๆมา หลังจากนั้นเมื่อน้ำเริ่มแห้งและไรแดงหนาแน่นอ าหารเริ่มหมดก็จะทำให้ไรแดงตายลง คงเหลือแต่ sexual eggs ไว้เพื่อแพร่พันธุ์ต่อเมื่อสภาวะแวดล้อมเหมาะสมอีกครั้ง

8.5 อาหารของไรแดง

ไรแดงกินอาหารพวกชีวอินทรีย์ขนาดเล็ก ประกอบด้วย โปรโตซัว เช่น *Euglena* sp. แบคทีเรียพวก *Flavobacterium surescens*, *F. diffusum*, *Macrococcus flavus*, *Bacterium lactis* และ *Escherichea aerugenosa* ซึ่งเป็นแบคทีเรียที่เหมาะสมต่อการเพาะเลี้ ยงไรแดง นอกจากนี้ยังมีสาหร่ายเซลล์เดี่ยว ซึ่งปัจจุบันมีผู้นิยมเพาะเลี้ยงสาหร่าย *Chlorella* sp. เพื่อใช้เป็นอาหารของ ไรแดงในการเพิ่มผลผลิตทางการค้า เรียกว่า “น้ำเขียว” *Chlorella* เป็นอาหารที่เหมาะสมในการเลี้ยงไรแดง เนื่องจากคงสภาพอยู่นานไม่เน่าเสีย มีขนาดเล็กเพียง 2.3-3.5 ไมครอน มีคุณค่าทางอาหารสูงคือมีโปรตีน 64.15% ที่สำคัญที่สุดคือน้ำเขียวสามารถเพาะเลี้ยงด้วยปุ๋ยหลายชนิดและยังสามารถเจริญเติบโตได้รวดเร็วอีกด้วย ไรแดงจะกินอาหารโดยการพัดโบกให้เกิดกระแสน้ำส่งอาหารเข้าไปในปาก แล้วกรองแยกอาหารไว้

การวิเคราะห์ด้วยวิธีโพรบิท (Probit analysis)

การวิเคราะห์ probit เป็นที่นิยมใช้ในการตรวจสอบความเป็นพิษของสารเคมี ต่อสิ่งมีชีวิตโดยทดสอบการตอบสนองของสิ่งมีชีวิตภายใต้ความเข้มข้นต่างๆของสารเคมีแล้ว ศึกษาความสัมพันธ์ระหว่างการตอบสนองและความเข้มข้นต่างๆ ซึ่งแสดงเป็น กราฟเส้นโค้ง แบบ sigmoid คล้ายรูปตัวเอส (s) โดยให้การตอบสนองเป็นตัวแปรที่มีการแจกแจงแบบทวินาม (binary) เช่น การตอบสนองที่แสดงเป็นการตายหรือการไม่เคลื่อนไหว เป็นต้น การวิเคราะห์ probit สามารถทำได้โดยใช้ตารางประมาณค่า probit และคำนวณค่าสัมประสิทธิ์ถดถอยและช่วงความเชื่อมั่น การวิเคราะห์ probit จะทำหน้าที่เปลี่ยนความสัมพันธ์จาก sigmoid curve ไปเป็นกราฟเส้นตรง ผลลัพธ์ที่ได้จะมีความถูกต้องแม่นยำมากกว่า (Kim, 1998)

การหาค่าความเข้มข้นของสารพิษซึ่ง เป็นของเหลวหรือก๊าซที่ ทำให้สัตว์ทดลองตายภายในระยะเวลาที่กำหนด สามารถหาได้ในรูป LC_{50} (median lethal concentration) ซึ่งโดยปกติสามารถวิเคราะห์ได้จากสมการเส้นตรง (regression) หรือจากกราฟ โดยการเปรียบเทียบค่าการตายที่ความเข้มข้น ต่างๆ ซึ่ง ใช้หน่วยเป็น ppm (part per million) มิลลิกรัม/ลิตร มิลลิกรัม/กรัม หรือแม้กระทั่งใช้เป็นอัตราส่วนเจือจางจากสารละลายมาตรฐาน เช่น 1: 1000 และ 1: 10,000 เป็นต้น ค่าการตายนี้สามารถหาได้โดยทำการทดสอบกับสัตว์ทดลอง โดยให้ได้รับ สารที่หลายๆความเข้มข้น (ประมาณ 3-5 ความเข้มข้น) แล้ววัดอัตราการตายของสัตว์ทดลองที่อยู่ในช่วงระหว่าง 10 ถึง 90

เปอร์เซ็นต์ โดยที่แกนตั้ง (แกน y) เป็นเปอร์เซ็นต์การตายและแกนนอน (แกน x) เป็นค่า log ของความเข้มข้น จากนั้นทำการวัดเปอร์เซ็นต์การตายที่ 50% ว่าตรงกับความเข้มข้นที่เท่าไร การประเมินค่า LC_{50} นี้จะไม่รู้ว่าสัตว์ทดลองแต่ละตัวได้รับสารพิษในปริมาณเท่าใด แต่รู้ว่าสัตว์ทดลองได้รับสารพิษที่มีความเข้มข้นเท่าใด

การหาค่า LC_{50} จากการทดสอบความเป็นพิษเฉียบพลันของตัวอย่างน้ำหลายๆ ความเข้มข้น สามารถหาได้จากการคำนวณโดยวิธีโพรบิท ซึ่งเป็นวิธีการที่มีความแม่นยำและเที่ยงตรงมากกว่าการหาค่า LC_{50} จากกราฟ ซึ่งอาจเกิดความผิดพลาด เนื่องจากค่าอัตราการตายที่ได้ไม่อยู่บนเส้นตรงที่ลากต่อกัน ทำให้เกิดความแปรปรวนจากการลากเส้นในแต่ละบุคคล นอกจากจะได้ค่า LC_{50} ยังจะได้ค่าการวิเคราะห์ความแตกต่างระหว่างข้อมูล ค่าความเชื่อมั่นของข้อมูล ค่าความชันของข้อมูล ซึ่งข้อมูลเหล่านี้ถือว่ามีความสำคัญในการรายงานผลค่าความเป็นพิษของสารในสัตว์ทดลอง (วสกร บัลลังก์โพธิ์, ม.ป.ป.)

งานวิจัยที่เกี่ยวข้อง

ในการวิจัยครั้งนี้ได้รวบรวมงานวิจัยที่เกี่ยวข้องกับสาร DEHP, TMTD และ ZDMC ที่มีรายงานว่ามีการปนเปื้อนในแหล่งต่างๆทั้งส่วนของน้ำเสียจากโรงงานผลิตถุงมือยาง ผลิตภัณฑ์ถุงมือยางและผลิตภัณฑ์ ต่างๆที่พบว่ามีสารดังกล่าวประกอบอยู่ รวมทั้งงานวิจัยที่เกี่ยวข้องกับการทดสอบความเป็นพิษโดยใช้สิ่งมีชีวิตเป็นตัวทดสอบ ดังนี้

จากผลการทดสอบความสามารถก่อกลายพันธุ์ของตัวอย่างน้ำเสียจากโรงงานอุตสาหกรรมผลิตถุงมือยาง 3 แห่งในจังหวัดสงขลา พบฤทธิ์ก่อกลายพันธุ์ของตัวอย่างน้ำที่ความเข้มข้น 50-200 เท่าของความเข้มข้นปกติต่อแบคทีเรีย *Salmonella typhimurium* สายพันธุ์ TA98 ทั้งในสภาวะที่มีและไม่มีการย่อยสลายด้วยเอนไซม์จากตับหนู แสดงว่าตัวอย่างน้ำเสียของโรงงานผลิตถุงมือยางมีสารก่อกลายพันธุ์ที่ออกฤทธิ์โดยการเพิ่มหรือลดจำนวนคู่เบสของ DNA (frameshift mutation) จากการวิเคราะห์สารก่อกลายพันธุ์ด้วยวิธี high performance liquid chromatography (HPLC) พบว่าสารก่อกลายพันธุ์ น่าจะเป็น TMTD และ zinc-dimethyl dithiocarbamate (ZDMC) ซึ่งเป็นสารแปรรูปทางชีวภาพจาก TMTD สารทั้งสองตัวนี้ใช้เป็นตัวเร่งในปฏิกิริยาการวัลคาไนซ์ยาง และมีรายงานการทดลองในห้องปฏิบัติการว่าเป็นสารก่อกลายพันธุ์และสารก่อมะเร็ง โดยพบสารประกอบ TMTD และ ZDMC ได้สูงถึง 0.004 มิลลิกรัมต่อลิตร และ 0.078 มิลลิกรัมต่อลิตร ตามลำดับ (บรรจง วิทยวีรศักดิ์ และคณะ, 2552)

มีรายงานการวิเคราะห์สารเร่งปฏิกิริยายางคงรูป (accelerator) ที่ใช้ในกระบวนการผลิตถุงมือยางที่ใช้ในทางการแพทย์ในประเทศสวีเดน จากการวิเคราะห์ตัวอย่างด้วยเครื่อง HPLC พบว่า

จากตัวอย่างถุงมือยาง 19 ตัวอย่าง พบสาร zinc diethyldithiocarbamate (ZDEC), zinc pentamethylenedithiocarbamate, zinc dibutyldithiocarbamate และ 2-mercaptobenzothiazole ปริมาณที่พบ คือ 0.070–3.5 mg/g, 1.0–4.3 mg/g, 0.9–1.1 mg/g และ 0.005–0.008 mg/g ตามลำดับ (Bergendorff *et al*., 2006)

จากการตรวจปัสสาวะของสตรีมีครรภ์ในนิวยอร์กและเมืองคราคูฟ ประเทศโปแลนด์ ได้พบว่าการสูดอากาศเข้าไปเป็นหนทางสำคัญในการสัมผัสกับ phthalate (Adibi, *et al.,* 2003) สำหรับการปนเปื้อนมากับอาหารนั้น ถุงมือก็เป็นอีกอย่างหนึ่งที่ทำให้เกิดการปนเปื้อน phthalate สู่อาหารได้มาก มีรายงานศึกษา phthalate ในถุงมือพีวีซีที่ใช้ในการสัมผัสอาหาร พบว่าถุงมือขนาดกลาง มีสาร DEHP ผสมอยู่ 21% DEHA 2.8 % BBP 0.4% แต่สำหรับถุงมือที่อ่อนนิ่ม จะมี DEHP ผสมอยู่ 41% DEHA 3.8 % DINP 7.5% จากการใช้ถุงมือ PVC ในการทำอาหารพบว่าจากเดิมเนื้อไก่มี DEHP ปนเปื้อน 0.08 mg/kg เมื่อนำไปทอด DEHP เพิ่มขึ้นเป็น 13.1 mg/kg ซึ่ง DEHP สามารถถูกชะออกมาจากถุงมือได้ ดีเนื่องจากการปรุงอาหารส่วนใหญ่จะมีน้ำมันเป็นองค์ประกอบในการปรุงอาหาร (Tsumura *et al*., 2000)

มีรายงานการศึกษาจากเดนมาร์ก โดยการ ทดสอบผลิตภัณฑ์ PVC ผ้าม่านอาบน้ำ พื้น ถุงมือ กระเบื้องพรม วอลล์เปเปอร์ และกระเป๋า ซึ่งพบ phthalate อย่างน้อยหนึ่ง อย่างในผลิตภัณฑ์เหล่านี้ที่ระดับ 24-630 g/ kg ระดับรวมของ DIDP - DINP พบที่ 88 g/ kg ของผ้าม่านในห้องอาบน้ำ 110 g/ kg ในกระเป๋า 260 g/ kg ใน วอลล์เปเปอร์ 290 g/ kg ในกระเบื้องพรม 310 กรัม/กก. ในพื้น และ 600 g/ kg ในถุงมือ การศึกษาของกลุ่มกรีนพีซล่าสุดพบ phthalates ระดับถึง 390 g/ kg ในผลิตภัณฑ์ PVC ของสินค้าอุปโภคบริโภค สำหรับเด็กรวมทั้งกางเกงผ้าอ้อม (DINP) ผ้าอ้อมที่ใช้เปลี่ยนสำหรับเด็ก (DINP) ที่คลุมฝน สำหรับรถเข็น (DEHP) หลอดน้ำดื่ม (DINP) ยางกัดสำหรับเด็ก (DINP) และหมวก (DEHP) (Digangi *et al*., 2002)

ได้มีการนำไรแดงมาใช้ในการตรวจคัดกรองความเป็นพิษเฉียบพลันของผงซักฟอก 3 ชนิด คือ Fab, Breeze และ White magic ผลการทดลองเมื่อวิเคราะห์หาค่า 24-h LC_{50} ที่ช่วงความเชื่อมั่น 50% พบว่าค่าเฉลี่ย 24- h LC_{50} ของ Fab, Breeze และ White Magic คือ 28.1 ppm, 37.3 ppm และ 16.8 ppm ตามลำดับ (ธนาภรณ์ จิตตปาล พงศ์, 2526) นอกจากนี้ยัง มีการศึกษาวิจัยทดสอบความเป็นพิษของสีย้อมเบสิคและสีย้อมรีแอกทีฟต่อสาหร่าย *chlorella* sp. และไรแดง พบว่า ค่า 48-h LC_{50} ของสีย้อมเบสิคและสีย้อมรีแอกทีฟมีค่าเท่ากับ 4.91 และ 18.26 มิลลิกรัม/ลิตร ตามลำดับ (วารุณี ฉัตรเท, 2547)

มีการศึกษา การ ทดสอบ ความเป็นพิษของน้ำชะจาก ผลิตภัณฑ์ พลาสติกด้วย *Daphnia magna* โดยการบันทึกการตายของ *Daphnia magna* และ pH หลังจาก 24 ชั่วโมงและ 48 ชั่วโมง ผล

การทดสอบ พบว่า แผ่นซีดีมีความเป็นพิษสูงสุดของ ตัวอย่างผลิตภัณฑ์พลาสติก ที่ทดสอบ ความเป็นพิษมาจากชั้นที่เคลือบด้วยเงิน ไม่ใช่จากวัสดุพลาสติก polycarbonate (Lithner *et al*., 2008)

ค่าความเข้มข้นของสาร DEHP, TMTD และ ZDMC ที่ทำให้ *Daphnia magna* ตาย 50 เปอร์เซ็นต์ (LC_{50}) และค่าความเข้มข้นที่ทำให้ *Daphnia magna* ไม่เคลื่อนที่ 50 เปอร์เซ็นต์ (EC_{50}) ที่ 48 ชั่วโมง แสดงไว้ในตารางที่ 1-5

ตางราง 1-5 ค่า LC_{50} และ EC_{50} ของสาร DEHP, TMTD และ ZDMC ต่อ *Daphnia magna* ที่ 48 ชั่วโมง

สารประกอบ	LC_{50} (mg/l)	EC_{50} (mg/l)
DEHP	0.017	9.40
TMTD	0.21	24.0
ZDMC	0.23	0.14
ZDEC	0.44	0.24

ที่มา : Chem Specialty Chemicals (2011)

ขอบเขตการวิจัย

ทดสอบน้ำชะตัวอย่างถุงมือที่ใช้สัมผัสอาหาร 4 ชนิดซึ่งสิ่งมีชีวิตที่ใช้ในการศึกษาคือ ไรแดง (*Moina macrocopa* Straus.) อายุ 1 วัน ที่ได้จากการเพาะเลี้ยงในห้องปฏิบัติการ และนำมาทดสอบความเป็นพิษ เฉียบพลัน ของ สาร di-(2-ethylhexyl) phthalate (DEHP), tetramethylthiuram disulfide (TMTD) และ zinc-dimethyl dithiocarbamate (ZDMC) โดยรายงานเป็นค่าความเข้มข้นที่ทำให้เกิดอัตราการตายของไรแดงร้อยละ 50 (LC_{50}) และวิเคราะห์ความเข้มข้นของ สาร DEHP, TMTD และ ZDMC ในน้ำชะถุงมือที่ใช้สัมผัสอาหาร จากนั้นจึงนำไปพัฒนาวิธีการตรวจคัดกรองถุงมือที่ใช้สัมผัสอาหารด้วยไรแดงโดยการหาค่าความเข้มข้นของน้ำชะถุงมือที่ให้ค่าความไว (sensitivity) และความจำเพาะ (specificity) ของวิธีการคัดกรองสูงสุด

วัตถุประสงค์ของงานวิจัย

1. เพื่อศึกษาความเป็นพิษของสาร DEHP, TMTD และ ZDMC ต่อประชากรไรแดงโดยการหาค่าอัตราการตายของไรแดงร้อยละ 50 (median lethal concentration, LC_{50})

2. ศึกษาระดับการปนเปื้อนของสารเคมี DEHP, TMTD และ ZDMC ในน้ำชะออกจากถุงมือที่ใช้สัมผัสอาหาร

3. เพื่อพัฒนาวิธีการตรวจคัดกรองสาร DEHP, TMTD และ ZDMC ที่เคลื่อนย้าย ออกมาจากถุงมือที่ใช้สัมผัสอาหารโดยใช้ไรแดง

นิยามศัพท์

วิธีชีววิเคราะห์(Bioassay) หมายถึง วิธีการทดสอบความเป็นพิษของเคมีในห้องปฏิบัติการด้วยสิ่งมีชีวิต

LC_{50} (mean Lethal concentration) หมายถึง ระดับความเข้มข้นของสารเคมีที่ทำให้ประชากรสัตว์ตายร้อยละ 50

ประโยชน์ที่คาดว่าจะได้รับ

1. เพื่อนำวิธีการตรวจคัดกรองนี้ไปคัดแยกเบื้องต้นว่าถุงมือชนิดใด แหล่งใดที่ไม่ปลอดภัยในการใช้สัมผัสอาหารก่อนที่จะนำไปวิเคราะห์ทางเคมีเพื่อหาปริมาณของสารพิษที่เคลื่อนย้ายออกจากถุงมือต่อไป

2. เพื่อนำวิธีการตรวจคัดกรองนี้ไปประยุกต์ใช้กับผลิตภัณฑ์อื่นๆที่ใช้สัมผัสอาหาร เช่น ถุงพลาสติกแบบร้อน ถุงพลาสติกแบบเย็นและถ้วยโฟม เป็นต้น

บทที่ 2
วิธีการดำเนินการวิจัย

การวิจัยนี้เป็นการศึกษาการตรวจคัดกรองสารพิษที่ถูกชะออกมาจากถุงมือที่ใช้สัมผัสอาหาร โดยใช้ไรแดง (*Moina macrocopa*) ซึ่งมีวิธีการดังนี้

2.1 วัสดุ เครื่องมือและอุปกรณ์

2.1.1 สิ่งมีชีวิตที่ใช้ในการทดสอบความเป็นพิษ

- ไรแดง *(Moina macrocopa*)

2.1.2 อาหารที่ใช้เลี้ยงไรแดง

-สาหร่ายสีเขียว (C*hlorella* sp.) ซึ่งได้รับความอนุเคราะห์ จากภาควิชาชีววิทยา คณะวิทยาศาสตร์ มหาวิทยาลัยสงขลานครินทร์

2.1.3 สารมาตรฐาน (Standard chemicals)

- Di-(2-ethylhexyl) phthalate (DEHP) purity 99.7%, GC grade (Fluka, Germany)
- Tetramethylthiuram disulfide (TMTD) (Sigma-Aldrich, Germany)
- Zinc dimethyldithiocarbamate (ZDMC) (Sigma-Aldrich, USA)

2.1.4 ตัวอย่างที่ใช้ในการทดลอง

เลือกศึกษาถุงมือที่ใช้สัมผัสอาหารที่มีจำหน่ายในจังหวัดสงขลา ได้แก่

- ถุงมือยางธรรมชาติแบบบางชนิดมีแป้ง 3 ยี่ห้อ
- ถุงมือยางธรรมชาติแบบบางชนิดไม่มีแป้ง 1 ยี่ห้อ
- ถุงมือยางธรรมชาติแบบหนาชนิดไม่มีแป้ง 3 ยี่ห้อ
- ถุงมือพลาสติก polyethylene (PE) 3 ยี่ห้อ

2.1.5 สารเคมี

- ฟลอริซิล (Florisil 60-100 mesh) (Vertical, Thailand)
- โซเดียมซัลเฟต (Na_2SO_4 anhydrous), AR grade (LAB-SCAN, Thailand)

  เฮกเซน (C_6H_{14}), AR grade (LAB-SCAN, Thailand)
- อะซิโตไนไตรล์ (CH_3CN), AR grade (LAB-SCAN, Thailand)
- อะซิโตน (CH_3COOCH), AR grade (Merck, Germany)

2.1.6 เครื่องมือ

- เครื่องแก๊สโครมาโทกราฟ (gas chromatograph-flame ionization detector) ยี่ห้อ Agilent รุ่น GC 7890 (Agilent, USA)
- Capillary column: HP-5MS (30 m length x 0.25 mm I.D., 0.25 μm film thickness), (Agilent, USA)
- Chemstation software (Agilent, USA)
- เครื่องโครมาโทกราฟของเหลวสมรรถนะสูง (high-performance liquid chromatograph รุ่น Agilent 1100 series, USA.) พร้อมด้วยตัวตรวจวัด ultraviolet-visible detect
- เครื่องทำน้ำปราศจากไอออน (deionizer) (Millipore รุ่น Milli-Q 185 plus, Switzerland)
- เครื่องชั่งความละเอียดทศนิยม 3 ตำแหน่ง รุ่น EOD 120 (Ohaus, USA)
- เครื่องชั่งความละเอียดทศนิยม 4 ตำแหน่ง รุ่น Mettler Toledo PB 204 (Delta Range, Switzerland)
- เครื่องกลั่นระเหยสารแบบหมุน (Rotary evaporator) (Buchi รุ่น R-114, Switzerland)
- เครื่องเขย่าสารละลาย (shaker) (Wizard, Thailand)
- ตู้ดูดควัน (hood) Major super flow fume cupboard (Wizard, Thailand)
- กล้องจุลทรรศน์ (microscope)

2.1.7 วัสดุและอุปกรณ์

- บีกเกอร์ ขนาด 50, 100, 250 มิลลิลิตร
- ปิเปต ขนาด 0.5-25 มิลลิลิตร
- กระบอกตวง ขนาด 25, 50 มิลลิลิตร
- ขวดรูปชมพู่ ขนาด 250 มิลลิลิตร
- ขวดก้นกลม ขนาด 250 มิลลิลิตร
- จานเพาะเลี้ยงเชื้อ (petri dish) สำหรับเป็นภาชนะทดสอบความเป็นพิษ
- ขวด vial ขนาด 2 มิลลิลิตร
- กรวยแยก (separatory funnel)
- หลอดหยด
- หลอดทดลอง
- ขวดน้ำกลั่น

- Micropipette
- แท่งแก้วคน
- กระบอกฉีดยาแก้ว (glass syringe)
- Forceps
- จุกยาง
- ที่วางหลอดทดลอง (rack)
- Duran bottle
- กระดาษกรอง Whatman เบอร์ 1
- พาราฟิล์ม
- อลูมิเนียมฟอยล์

2.2 วิธีดำเนินการ

รูปแบบการวิจัย

การศึกษานี้เป็นการทดลองในห้องปฏิบัติการ เพื่อตรวจคัดกรองสา ร DEHP, TMTD และ ZDMC ที่ถูกชะออกจากถุงมือยางธรรมชาติมีแป้งชนิดบาง ถุงมือยางธรรมชาติไม่มีแป้งชนิดบาง ถุงมือยางธรรมชาติไม่มีแป้งชนิดหนาและถุงมือพลาสติก PE

ประชากรและตัวอย่างที่ทำการวิจัย

1. ประชากร คือ ไรแดง (*Moina macrocopa*) อายุ 1 วันจะได้ไรแดงตัวเต็มวัย ที่ได้จากการเพาะเลี้ยงในห้องปฏิบัติการ

2. ตัวอย่างคือ ถุงมือที่ใช้สัมผัสอาหาร 4 ชนิด คือ ถุงมือยางธรรมชาติมีแป้งชนิดบาง ถุงมือยางธรรมชาติไม่มีแป้งชนิดหนา ถุงมือพลาสติก โพลิเอ็ทธิลีน ชนิดละ 3 ยี่ห้อ และถุงมือยางธรรมชาติไม่มีแป้งชนิดบาง 1 ยี่ห้อ

3. ขนาดตัวอย่าง ใช้ไรแดงจำนวน 20 ตัวต่อหน่วยการทดลอง

ขั้นตอนการเตรียม

2.2.1 การเตรียมอุปกรณ์และเครื่องแก้ว

เพื่อป้องกันการปนเปื้อนของสารเคมีที่มาจากเครื่องแก้วและอุปกรณ์ในห้องปฏิบัติการ โดยทำความสะอาดอุปกรณ์และเครื่องแก้วด้วยน้ำยาทำความสะอาดเครื่องแก้ว ล้างผ่านด้วยน้ำสะอาด แล้วจึงล้างด้วยน้ำปราศจากไอออนอีกครั้ ง หลังจากนั้นนำเครื่องแก้วไปอบที่ 150 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 2 ชั่วโมง (Leivadara *et al*., 2007) เพื่อไล่สารตกค้าง และชะเครื่องแก้วด้วย เฮกเซนและอะซิโตนตามลำดับทุกครั้งก่อนใช้ในการทดลอง

2.2.2 การเตรียมสารละลาย DEHP

1. เตรียมสารละลาย DEHP (stock solution) โดยนำสารละลายมาตรฐาน DEHP ความเข้มข้น 1 กรัมต่อมิลลิลิตร ปริมาตร 1 มิลลิลิตร ใส่ในขวดตวง ปริมาตรขนาด 100 มิลลิลิตร ปรับปริมาตรด้วยสารละลาย เฮกเซน ให้ได้ปริมาตร 100 มิลลิลิตร จะได้สารที่ระดับความเข้มข้น 10 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร

2. ปิดปากขวดด้วยอลูมิเนียมฟอยล์ แล้วห่อทับด้วยพาราฟิล์ม แล้วนำไปเก็บที่อุณหภูมิ 4 องศาเซลเซียส (USEPA, 1996)

3. เตรียมสารละลายมาตรฐาน DEHP จาก stock solution โดยใช้เฮกเซนในการปรับปริมาตรให้ได้ความเข้มข้นของสารละลายมาตรฐาน DEHP เท่ากับ 0.1, 0.5, 1.0, 5.0 และ 10.0 ไมโครกรัมต่อ มิลลิลิตร ในขวดตวง ปริมาตรขนาด 10 มิลลิลิตร โดยเตรียมสารละลายมาตรฐาน DEHP ความเข้มข้น 10 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร จาก stock solution ก่อน

2.2.3 การเตรียมสารละลาย TMTD และ ZDMC

1. เตรียมสาร ละลาย TMTD (stock solution) และ ZDMC (stock solution) โดยชั่งสาร มา 0.1 กรัม ใส่ในขวดตวง ปริมาตรขนาด 50 มิลลิลิตร ปรับปริมาตรด้วย อะซิโตน จะได้สารที่ความเข้มข้น 2,000 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร

2. ปิดปากขวดด้วยอลูมิเนียมฟอยล์แล้วห่อด้วยพาราฟิล์ม แล้วนำไปเก็บที่อุณหภูมิ 4 องศาเซลเซียส (USEPA, 1996)

3. เตรียมสารละลายมาตรฐาน TMTD และ ZDMC จาก stock solution โดยใช้อะซิโตนในการปรับปริมาตรให้ได้ความเข้มข้นของสารละลายมาตรฐานเท่ากับ 0.5, 1, 5, 10, และ 50 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร โดยเตรียมในขวดตวงปริมาตรขนาด 10 มิลลิลิตร โดยที่ระดับความเข้มข้น 10 และ 50 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร เตรียมจากสารละลาย stock solution ปริมาตร 50 และ 250 ไมโครลิตรและปรับปริมาตรในขวดให้เท่ากับ 10 มิลลิลิตร ส่วนสารละลายมาตรฐาน ความเข้มข้น 0.5, 1 และ 5 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร เตรียมจากสารละลายมาตรฐาน ความเข้มข้น 10 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร ปริมาตร 0.5, 1 และ 5 มิลลิลิตรและปรับปริมาตรในขวด ให้เท่ากับ 10 มิลลิลิตร ส่วนสารละลายมาตรฐาน ZDMC ก็เตรียมเช่นเดียวกันกับสารละลายมาตรฐาน TMTD

2.2.4 การเตรียมการทดลองในการเพาะเลี้ยงไรแดง

2.2.4.1 การเตรียมสาหร่าย *Chlorella* sp. เพื่อเป็นอาหารแก่ไรแดง

- นำตู้ปลาขนาดเล็กใส่น้ำประปาเตรียมไว้ประมาณ 2 ลิตร พักน้ำประปาไว้พร้อมเติมอากาศเป็นระยะเวลาประมาณ 2 วัน

- เตรียมอาหารสำหรับเพาะเลี้ยงสาหร่ายโดย อาหารที่ใช้เพาะเลี้ยงสาหร่าย *Chlorella* sp. มีดังนี้ (ศูนย์วิจัยและพัฒนาประมงน้ำจืดพะเยา, 2552)

มูลไก่	5.00	กรัม
รำ	0.83	กรัม
ปุ๋ยยูเรีย (46-0-0)	0.50	กรัม
ปุ๋ย TSP (0-46-0)	0.17	กรัม

- เติมน้ำเขียว หรือสาหร่าย *Chlorella* sp. ที่ได้รับความอนุเคราะห์ มาจากภาควิชาชีววิทยา คณะวิทยาศาสตร์ มหาวิทยาลัยสงขลานครินทร์ แล้วนำไปตั้งไว้ในที่ที่มีแสงสว่าง และหมั่นคนเรื่อย ๆ ทิ้งไว้ประมาณ 3 วันสาหร่าย *Chlorella* sp.จะขยายพันธุ์มากขึ้น มองเห็นเป็นสีเขียวเข้ม (ภาพที่ 2-1)

2.2.4.2 การเตรียมไรแดง

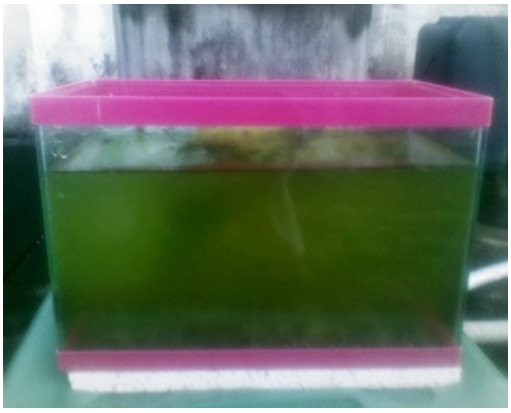
- นำไรแดงที่ได้จากการจัดซื้อมาเพาะเลี้ยงในภาชนะโดยนำเพศเมียมาเลี้ยงแยกไว้ในภาชนะ 1 ตัวเพราะไรแดงเพศเมีย 1 ตัวให้ลูกอ่อนได้เฉลี่ย 15 ตัว(1-35 ตัว) ให้อาหารไรแดงโดยใช้สาหร่าย (C*hlorella* sp.) จากนั้นจึงคัดเลือกลูกไรแดงที่แข็งแรง โดยจะ สังเกต ว่าตัว ไรแดงจะมีลักษณะรูปร่างอ้วนกลม เคลื่อนไหวได้รวดเร็ว อายุใกล้เคียงกัน มาเพาะเลี้ยงแบบแยกเดี่ยวอีกครั้งหนึ่ง ภายในระยะเวลา 24 ชั่วโมง ไรแดงจะโตเต็มวัยและสามารถให้ลูกรุ่นแรกที่มีอายุใกล้เคียงกันมากที่สุด หลังจากนั้นนำไรแดงอายุ 24 ชั่วโมงซึ่งสังเกตได้ก่อนหน้านี้จากการเลี้ยงไรแดงตัวแม่ไว้เป็นระยะเวลา 24 ชั่วโมง มาทดสอบความเป็นพิษกับน้ำชะจากถุงมือที่ใช้สัมผัสอาหาร ซึ่งสภาวะทดสอบความเป็นพิษของน้ำชะถุงมือธรรมชาติ ดังแสดงในตารางที่ 2-1

ตารางที่ 2-1 สภาวะการทดสอบความเป็นพิษเพื่อควบคุมคุณภาพการทดลอง

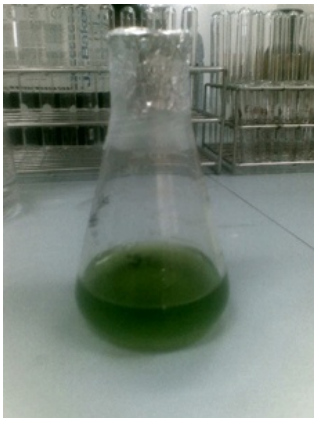
1. วิธีการทดสอบ	น้ำนิ่งไม่เปลี่ยนน้ำ 48 ชั่วโมง
2. ขนาดภาชนะที่ใช้ทดลอง	50 มิลลิลิตร
3. ปริมาตรตัวอย่างที่ใช้ทดสอบ	40 มิลลิลิตร
4. อายุของไรแดง	24 ± 2 ชั่วโมง
5. จำนวนไรแดงต่อระดับความเข้มข้น	200 ตัว
6. จำนวนซ้ำต่อตัวอย่าง	10 ซ้ำ
7. จำนวนไรแดงต่อซ้ำ	20 ตัว
8. อาหาร	สาหร่าย *chlorella* sp.

ตารางที่ 2-1(ต่อ) สภาวะการทดสอบความเป็นพิษเพื่อควบคุมคุณภาพการทดลอง

9. การเติมอากาศในภาชนะทดสอบ	ไม่เติม
10. ความเข้มข้นของน้ำที่ใช้ทดสอบ	5 ระดับ ได้แก่ 100%, 50%, 25%, 12.5%, 6.25% ของความเข้มข้นน้ำชะถุงมือ โดยเปรียบเทียบกับกลุ่มควบคุม



(ก)



(ข)

ภาพที่ 2-1 (ก) ตู้ปลาขนาดเล็กสำหรับใช้เลี้ยงไรแดง (ข) สาหร่าย *Chlorella* sp.

2.2.5 การเตรียมตัวอย่างน้ำชะถุงมือ

1. จัดหาตัวอย่างถุงมือที่ใช้สัมผัสอาหารมา 4 ชนิดได้แก่ ถุงมือยางธรรมชาติมีแป้งชนิดบาง ถุงมือยางธรรมชาติไม่มีแป้งชนิดหนา และถุงมือพลาสติก PE ชนิดละ 3 ยี่ห้อ และถุงมือยางธรรมชาติไม่มีแป้งชนิดบาง 1 ยี่ห้อ (ภาพที่ 2-2)

2. นำถุงมือแต่ละชนิดมากลับด้านนอกเข้าด้านในแล้วบรรจุน้ำกลั่น 100 มิลลิลิตร แล้วผูกด้วยยางรัดที่บริเวณข้อมือของถุงมือแต่ละชนิด

3. เขย่าด้วยเครื่องเขย่าสารละลาย (Shaker) ความเร็ว 140 รอบต่อนาที เขย่าทิ้งไว้ 30 นาที แล้วนำน้ำชะที่ได้ไปสกัดด้วย hexane 50 มิลลิลิตร จากนั้นนำไปลดปริมาตร ด้วยเครื่องลดปริมาตร ละลายด้วย hexane: acetone (1:1, v/v) 5 มิลลิลิตร นำตัวอย่างที่สกัดได้ไป กำจัดสารปนเปื้อนและวิเคราะห์ปริมาณสาร DEHP, TMTD และ ZDMC ต่อไป

(ก)

(ข)

(ค)

(ง)

ภาพที่ 2-2 (ก) ถุงมือยางธรรมชาติแบบบางชนิดมีแป้ง (ข) ถุงมือยางธรรมชาติแบบบางชนิดไม่มีแป้ง (ค) ถุงมือยางธรรมชาติแบบหนาชนิดไม่มีแป้ง (ง) ถุงมือพลาสติก polyethylene (PE)

คุณสมบัติของถุงมือที่ใช้ในการทดลอง

1. ถุงมือยางธรรมชาติแบบบางชนิดมีแป้ง และถุงมือยางธรรมชาติแบบบางชนิดไม่มีแป้ง มีน้ำหนักเบา สวมใส่ง่าย มีน้ำหนักเฉลี่ยประมาณ 5 กรัม และมีพื้นที่ผิวด้านนอกส่วนฝ่ามือและหลังมือรวมกันประมาณ 370 ตารางเซนติเมตรต่อ 1 ข้าง (ภาพที่ 1-2 (ก, ข)

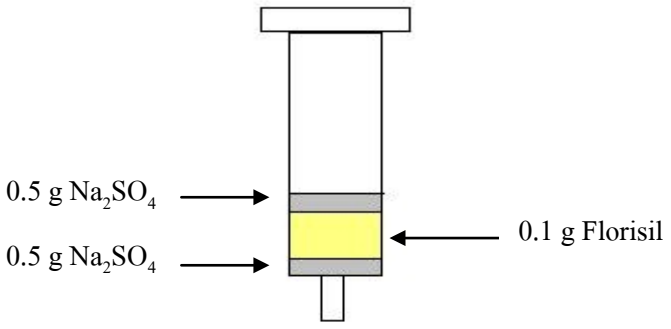
2. ถุงมือยางธรรมชาติแบบหนาชนิดไม่มีแป้ง เป็นถุงมือที่มีความหนา แข็งแรงเหมาะที่จะนำไปใช้ในอุตสาหกรรมและทำความสะอาดทั่วไป มีน้ำหนักเฉลี่ยประมาณ 32 กรัม และมีพื้นที่ผิวด้านนอกส่วนฝ่ามือและหลังมือรวมกันประมาณ 370 ตารางเซนติเมตรต่อ 1 ข้าง (ภาพที่ 1-2 (ค))

3. ถุงมือพลาสติก PEเป็นถุงมือพลาสติกที่มีน้ำนักเบานิยมใช้สวมใส่ในการประกอบอาหาร มีน้ำหนักเฉลี่ยประมาณ 1.3 กรัม และมีพื้นที่ผิวด้านนอกส่วนฝ่ามือและหลังมือรวมกันประมาณ 370 ตารางเซนติเมตรต่อ 1 ข้าง (ภาพที่ 1-2 (ง))

2.2.6 การกำจัดสารปนเปื้อนในตัวอย่าง (clean up) เทคนิคการสกัดด้วยตัวดูดซับของแข็ง (Solid phase extraction)

ใช้เทคนิคการสกัดด้วยตัวดูดซับของแข็ง (solid phase extraction, SPE) เป็นการกำจัด สารปนเปื้อนออกโดย ให้สารที่ต้องการ ถูกดูดซับบนวัฏภาคนิ่งในคอลัมน์ (ตัวดูดซับ เป็นของแข็ง อยู่ในคอลัมน์) จากนั้นเติม สาร ตัวทำละลายเพื่อดึงเอาสารที่สนใจที่เกาะติดกับ ตัวดูดซับของแข็งออกเพื่อนำไปวิเคราะห์ต่อไป ในการทดลองนี้ได้ใช้ฟลอริซิลเป็นวัฏภาคนิ่งในคอลัมน์เพื่อดูดซับสารประกอบ DEHP, TMTD และ ZDMC

การเตรียม sorbent หรือ packing ที่บรรจุอยู่ในแท่ง SPE จะใช้กระดาษกรองที่ตัดเป็นวงกลมขนาดเท่าเส้นผ่านศูนย์กลางภายในของ gluss syringe ขนาด 5 มิลลิลิตร บรรจุด้วยโซเดียมซัลเฟต 0.5 กรัม ตามด้วย Florisil หนัก 1.0 กรัม ปิดทับด้วย โซเดียมซัลเฟต 0.5 กรัมต่อกระบอกฉีดยาแก้วกับ stop cock ที่ต่อบนช่องของ SPE manifold ซึ่งมีหลอดทดลอง ขนาด 15 มิลลิลิตร รองรับสารละลายที่ออกจากกระบอกฉีดยาแก้ว ดังภาพที่ 2-2



ภาพที่ 2-3 การบรรจุคอลัมน์ SPE (solid phase extraction)

การกำจัดสารปนเปื้อน (clean up) ในตัวอย่างน้ำชะถุงมือที่ใช้สัมผัสอาหาร เพื่อการวิเคราะห์ปริมาณสาร TMTD และ ZDMC มีขั้นตอนดังนี้ (USEPA, 1989)

1. ปรับสภาพคอลัมน์โดย การเติม hexane-acetone (1:1, v/v) 5 มิลลิลิตร ลงในกระบอกฉีดยาแล้วทิ้งสารละลาย

2. ผ่านสารละลายตัวอย่างลงในคอลัมน์แก้วเพื่อให้จับกับตัวดูดซับ

3. ชะด้วย hexane-acetone (1:1, v/v) 10 มิลลิลิตร ลงในกระบอกฉีดยา

4. นำสารละลายที่ออกจากกระบอกฉีดยาไปลดปริมาตร ด้วยเครื่องลดปริมาตรที่อุณหภูมิ 40 องศาเซลเซียส จนเกือบแห้ง ปรับปริมาตรเป็น 2 มิลลิลิตร ด้วย acetonitrile ถ่ายสารละลายใส่ vial

2.2.7 การวิเคราะห์สารประกอบ TMTD และ ZDMC

นำตัวอย่างน้ำชะที่ได้มาวิเคราะห์ด้วยเครื่องโครมาโทกราฟฟีของเหลวสมรรถนะสูง (high performance liquid chromatograph) รุ่น Agilent 1100 series ใช้คอลัมน์ชนิด Hypersil ODS 4.0×250 mm, 5 μm ตัวตรวจวัดที่ใช้คือ UV-visible variable wavelength ที่ความยาวคลื่น 270 นาโนเมตร เฟสเคลื่อนที่ คือ acetonitrile: น้ำ (60:40) อัตราการไหล 1.0 มิลลิลิตรต่อนาที อุณหภูมิ 25 องศาเซลเซียส ปริมาตรที่ฉีดเข้าเครื่อง คือ 20 ไมโครลิตร ตัวอย่างละ 3 ซ้ำ (Suzuki, *et al*., 1993)

การกำจัดสารปนเปื้อน (clean up) ในการวิเคราะห์สาร DEHP ของตัวอย่างน้ำชะถุงมือที่ใช้สัมผัสอาหารมีขั้นตอนดังนี้ (USEPA, 1989)

1. ปรับสภาพคอลัมน์โดยการเติม hexane 5 มิลลิลิตร ลงในกระบอกฉีดยาแล้วทิ้งสารละลาย

2. ผ่านสารละลายตัวอย่างลงในคอลัมน์แก้วเพื่อให้จับกับสารดูดซับ

3. ชะตัวอย่างด้วย hexane-acetone (90:10, v/v) 10 มิลลิลิตรลงในกระบอกฉีดยา

4.นำสารละลายที่ออกจาก กระบอกฉีดยา ไปลดปริมาตร ด้วยเครื่องลดปริมาตรที่อุณหภูมิ 40 องศาเซลเซียส จนเกือบแห้ง ปรับปริมาตรเป็น 2 มิลลิลิตร ด้วย hexane ถ่ายสารละลายใส่ vial

2.2.8 การวิเคราะห์สารประกอบ DEHP

ตั้งสภาวะเครื่อง gas chromatograph (ดังตารางที่ 2-2)

ตารางที่ 2-2 สภาวะเครื่อง GC-FID สำหรับการวิเคราะห์ DEHP

โปรแกรม/โหมด	สภาวะการทำงาน
Inlet conditions	Mode: splitless 1µl
Column	HP-5 5% phenyl methyl siloxane Length: 30 m Diameter: 320 µm Film thickness: 0.25 µm
Detector	FID Flow rate : He (carrier gas) 1.2 mL/min H_2 (fuel gas) 40 mL/min N_2 (make-up gas) 30 mL/min Air (oxidant gas) 300 mL/min
Injector temperature	255 ºC
Initial temperature	110 ºC initial time 1.00 min
Temperature program	20 ºC/min to 300 ºC hold for 2 min
Run time	15 minute

ที่มา: ภมรรัตน์ เกื้อเส้ง (2549)

2.2.9 การคำนวณปริมาณสาร

สร้าง standard curve ระหว่างค่าความเข้มข้นของสารกลุ่มไทยูแรม (thiuram) กลุ่มไดไทโอคาร์บาเมต (dithiocarbamate) กลุ่มธาเลต (phthalate) และ peak area โดยใช้ linear regression equation ($y = ax + b$) หน่วยเป็น mg/L

2.2.10 การตรวจสอบความน่าเชื่อถือ (Method validation)

1. ความเป็นเส้นตรง (Linearity)

นำ standard curve มาหาค่า correlation coefficient (r) ซึ่งต้อง $\geq$ 0.995 จึงจะยอมรับได้ (FDA, 2005)

2. ความแม่น (Accuracy)

การหา ความแม่น ของการ วิเคราะห์ โดยการเติม (spike) สารละลายมาตรฐาน DEHP, TMTD และ ZDMC ลงไปในน้ำชะถุงมือ ที่ระดับความเข้มข้นใกล้เคียงกับค่าความเข้มข้นเฉลี่ยที่วิเคราะห์ได้จากชิ้นส่วนถุงมือ ยางทั้ง 4 ชนิด ได้แก่ ถุงมือยางธรรมชาติมีแป้ง ชนิดบาง (3 ยี่ห้อ) ถุงมือยางธรรมชาติไม่มีแป้งชนิดหนา (3 ยี่ห้อ) ถุงมือยางธรรมชาติไม่มีแป้ง ชนิดบาง และถุงมือพลาสติก PE (3 ยี่ห้อ) นำไปวิเคราะห์หาปริมาณ DEHP, TMTD และ ZDMC แล้วคำนวณเปอร์เซ็นต์การได้คืนกลับของสารมาตรฐาน (% recovery) ในชิ้นส่วนถุงมือยาง

$$\%\ \mathbf{recovery} \ = \ \frac{(\mathbf{C_s} - \mathbf{C_u})}{\mathbf{C}} \times \mathbf{100}$$

เมื่อ C_s = ความเข้มข้นที่วัดได้ของตัวอย่างที่เติมสารละลายมาตรฐานลงไป

C_u = ความเข้มข้นที่วัดได้ของตัวอย่าง

C = ความเข้มข้นของสารละลายมาตรฐานที่เติมลงไป

ค่า % recovery ที่ได้ควรอยู่ในช่วง 80-120 (แม้น อมรสิทธ์ และ อมร เพชรสม, 2534; FDA, 2005)

3. ความเที่ยง (Precision)

หาความเที่ยง (Precision) ของวิธีวิเคราะห์โดยทำการวิเคราะห์ตัวอย่างเดียวกัน 10 ซ้ำ แล้วนำไปคำนวณหาค่าร้อยละส่วนเบี่ยงเบนมาตรฐานสัมพัทธ์ (percent relative standard deviation, % RSD) ซึ่งเกณฑ์การยอมรับของ %RSD ต้องมีค่าไม่เกิน 10% จึงจะถือว่าวิธีวิเคราะห์นั้นมีความเที่ยง (แม้น อมรสิทธ์ และอมร เพชรสม , 2534 ; APHA, AWWA and WEF, 2005 ; FDA, 2005)

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

เมื่อ SD = ค่าเบี่ยงเบนมาตรฐาน

$\bar{x}$ = ค่าเฉลี่ยของข้อมูล

4. ขีดจำกัดของการตรวจวัดเชิงคุณภาพ (limit of detection: LOD) และ ขีดจำกัดของการวัดเชิงปริมาณ (limit of quantitation: LOQ)

Limit of detection (LOD) เป็นความเข้มข้นต่ำสุดของสารในตัวอย่างที่สามารถตรวจพบได้ LOD คือปริมาณสารที่ให้สัญญาณเป็น 3 เท่าของสัญญาณรบกวน

Limit of quantitation (LOQ) เป็นค่าความเข้มข้นต่ำสุดในตัวอย่างที่สามารถหาปริมาณได้ โดยที่มีความแม่ นและความเที่ยงเป็นที่ยอมรับได้ LOQ คือปริมาณสารที่ให้สัญญาณเท่ากับ 10 เท่าของสัญญาณรบกวน

LOD และ LOQ หาได้โดยการวิเคราะห์สารตัวอย่างที่มีความเข้มข้นน้อยจำนวน 10 ซ้ำ หาค่า SD (standard deviation) และนำค่า SD มาคำนวณโดยใช้สูตรการคำนวณ (แม้น อมรสิทธ์ และอมร เพชรสม, 2534; FDA, 2005) ดังนี้

$$LOD = 3SD$$

$$LOQ = 10SD$$

โดยค่า S.D. คิดจาก $$s = \sqrt{\sum_{i=1}^{n} \frac{(x_i - \bar{x})^2}{(n-1)}}$$

เมื่อ S = ค่าส่วนเบี่ยงเบนมาตรฐาน

n = จำนวนข้อมูล

x_i = ค่าที่ได้จากการวัดแต่ละครั้ง

$\bar{x}$ = ค่าเฉลี่ยจากการวัดหลายๆ ครั้ง

5. การวิเคราะห์ทางสถิติ

1. วิเคราะห์ข้อมูลด้วยสถิติเชิงพรรณนา (descriptive statistics)

นำเสนอข้อมูลด้วยกราฟเส้น แผนภูมิ ค่าเฉลี่ย ร้อยละ และ ส่วนเบี่ยงเบนมาตรฐาน โดยใช้โปรแกรมสำเร็จรูป SPSS/PC (Statistical Package for the Social Science/Personal Computer) version 11.5

2. วิเคราะห์ข้อมูลด้วยสถิติเชิงอนุมาน (inferential statistics)

การวิเคราะห์ความแตกต่างของชุดข้อมูลด้วยสถิติ one way ANOVA และ Tukey test โดยใช้โปรแกรม SPSS ในการประมวลผลข้อมูล

3. วิเคราะห์หาค่าระดับความเข้มข้นเฉลี่ย ของน้ำชะถุงมือให้ไรแดงตายร้อยละ 50 (LC_{50}) ด้วยวิธีวิเคราะห์โปรบิท (Probit analysis) สามารถทำได้โดยใช้ตารางการประมาณค่า Probit และคำนวณค่าสัมประสิทธิ์ถดถอยและช่วงความเชื่อมั่นด้วยโปรแกรมสำเร็จรูป SPSS/PC

2.2.11 ชุดการทดลอง

ในการวิจัยครั้งนี้แบ่งการทดลองเป็น 3 ชุดการทดลอง คือ

การทดลองที่ 1 การทดสอบความเป็นพิษ เฉียบพลัน ของสาร DEHP, TMTD, ZDMC และสารผสมระหว่าง DEHP, TMTD และ ZDMC ต่อไรแดง

1. เตรียมสารละลาย DEHP, TMTD และ ZDMC และสารละลายผสมระหว่างสารเคมีเหล่านี้ที่ความเข้มข้น 0.1, 0.5, 1.0, 2.0, 4.0, 6.0, 8.0, 10.0, 12.0 และ 14.0 µg/ml

2. เลี้ยง ไรแดงที่ระดับความเข้มข้นต่างๆความเข้มข้นละ 20 ตัว โดยเลี้ยงที่อุณหภูมิห้อง สังเกตอาการและบันทึกจำนวนการตายของไรแดงภายใน 24 ชั่วโมงและ 48 ชั่วโมง พิจารณาการตายของไรแดงจากการสังเกตด้วยตาเปล่าและกล้องจุลทรรศน์ซึ่งใช้เวลาการสังเกตไรแดงประมาณ 3-5 นาทีต่อซ้ำโดยไรแดงหยุดการเคลื่อนไหวนอนอยู่ที่ก้นบีกเกอร์ ลำตัวมีสีขุ่นและซีดเมื่อใช้เข็มเขี่ยไม่มีปฏิกิริยาตอบสนองใดๆ

3. นับจำนวนไรแดงที่ตายแล้วบันทึกข้อมูล

4. นำค่าร้อยละการตายของไรแดงและค่าลอการิทึมของความเข้มข้นสารละลายมาพล็อตกราฟเพื่อ วิเคราะห์ หาความเข้มข้นเฉลี่ยของสาร ละลาย DEHP, TMTD และ ZDMC และสารละลายผสมระหว่างสารเคมีเหล่านี้ที่ทำให้ไรแดงตายร้อยละ 50 (LC_{50}) ด้วยวิธีวิเคราะห์โปรบิท (Probit analysis)

การทดลองที่ 2 การวิเคราะห์หาปริมาณสาร DEHP, TMTD และ ZDMC ในน้ำชะถุงมือที่ใช้สัมผัสอาหาร

การสกัดตัวอย่างน้ำชะถุงมือ

นำตัวอย่างถุงมือยางธรรมชาติมีแป้งชนิดบาง ถุงมือยางธรรมชาติไม่มีแป้งชนิดบาง ถุงมือยางธรรมชาติไม่มีแป้งชนิดหนา และถุงมือพลาสติก PE มากลับด้านนอกเข้าด้านในแล้วบรรจุน้ำกลั่น 100 มิลลิลิตร ลงในถุงมือผูกที่ข้อมือ ของถุงมือ ด้วยยางรัดของ แล้วนำมาเขย่าด้วยเครื่องเขย่าสารละลาย (shaker) ความเร็ว 140 รอบต่อนาที เขย่าทิ้งไว้ 30 นาทีแล้วนำน้ำชะที่ได้มาใส่ในขวดรูปชมพู่ สกัดด้วยเฮกเซน ปริมาตร 50 มิลลิลิตร หลังจากนั้นนำสารละลายไป ลดปริมาตรด้วยเครื่อง ลดปริมาตร (rotary evaporator) ที่อุณหภูมิ 40 องศาเซลเซียส จนเกือบแห้ง แล้วละลายกลับด้วยเฮกเซนและอะซิโตน (1:1) ปริมาตร 5 มิลลิลิตร เก็บที่อุณหภูมิ 4 องศาเซลเซียส แล้วนำไปกำจัดสารปนเปื้อนด้วยวิธี solid phase extraction (SPE)

การกำจัดสารปนเปื้อน (clean up) ของสาร TMTD และ ZDMC ในตัวอย่างน้ำชะถุงมือที่ใช้สัมผัสอาหารมีขั้นตอนดังนี้ (USEPA, 1989)

ปรับสภาพคอลัมน์ ด้วยการเติม hexane-acetone (1:1, v/v) 5 มิลลิลิตร ลงในคอลัมน์แล้วทิ้งสารละลาย ถ่ายตัวอย่างลงในคอลัมน์เพื่อให้จับกับสารดูดซับ ชะด้วย acetonitrile 10 มิลลิลิตร ลงในคอลัมน์นำสารละลายที่ออกจาก คอลัมน์ไปลดปริมาตร ด้วยเครื่องลดปริมาตรที่อุณหภูมิ 40 องศาเซลเซียส จนเกือบแห้ง ปรับปริมาตรเป็น 2 มิลลิลิตร ด้วย acetonitrile ถ่ายสารละลายใส่ vial นำตัวอย่างน้ำชะที่ได้มาวิเคราะห์ด้วยเครื่อง HPLC

การกำจัดสารปนเปื้อน (clean up) ของสาร DEHP ของตัวอย่างน้ำชะถุงมือที่ใช้สัมผัสอาหารมีขั้นตอนดังนี้ (US.EPA, 1989)

ปรับสภาพคอลัมน์ด้วยการเติม hexane 5 ml ลงในsyringe แล้วทิ้งสารละลาย load ตัวอย่าง ลงใน syringe เพื่อให้จับกับ sorbent ชะตัวอย่างด้วย hexane-acetone (90:10, v/v) 10 มิลลิลิตร ลงใน syringe นำสารละลายที่ออกจาก syringe ไปลดปริมาตร ด้วยเครื่องลดปริมาตรที่อุณหภูมิ 40 องศาเซลเซียส จนเกือบแห้ง ปรับปริมาตรเป็น 2 มิลลิลิตร ด้วย hexane ถ่ายสารละลายใส่ vial นำตัวอย่างน้ำชะที่ได้มาวิเคราะห์ด้วยเครื่อง GC

การทดลองที่ 3 การทดสอบความเป็นพิษของน้ำชะถุงมือที่ใช้สัมผัสอาหารด้วยไรแดง

นำตัวอย่างน้ำชะถุงมือยางธรรมชาติมีแป้งชนิดบาง ถุงมือยางธรรมชาติไม่มีแป้งชนิดหนา ถุงมือยางไม่มีแป้งชนิดบางและถุงมือพลาสติก (PE) ที่พบในท้องตลาดทั่วไป 4 ยี่ห้อและถุงมือยางธรรมชาติไม่มีแป้งชนิดบาง 1 ยี่ห้อมาทดสอบ

1. แบ่งชุดการทดลองเป็น 4 ชุดการทดลอง คือน้ำชะถุงมือยางธรรมชาติมีแป้งชนิดบาง ถุงมือยางธรรมชาติไม่มีแป้งชนิดหนา ถุงมือยางไม่มีแป้งชนิดบางและถุงมือพลาสติก (PE)

2. นำตัวอย่างน้ำชะถุงมือมาเจือจางที่ 5 ระดับความเข้มข้นได้แก่ ร้อยละ 100 ร้อยละ 50 ร้อยละ 25 ร้อยละ 12.5 และร้อยละ 6.25 โดยทำการทดลองระดับความเข้มข้นละ 10 ซ้ำ

3. นำตัวอย่างน้ำชะถุงมือแต่ละความเข้มข้นและกลุ่มควบคุม (น้ำกลั่น) มาเลี้ยงไรแดง โดยแต่ละความเข้มข้นใช้ตัวอย่าง 20 ตัว/ซ้ำ บันทึกการ ตายของไรแดง หลังจาก 24 ชั่วโมง และ 48 ชั่วโมง เพื่อดูร้อยละการตายของไรแดงในถุงมือแต่ละชนิด หลักเกณฑ์ในก ารตัดสินว่าไรแดงตายแล้วหรือยัง พิจารณาจากการสังเกตด้วยตาเปล่าและกล้องจุลทรรศน์ซึ่งใช้เวลาการสังเกตไรแดงประมาณ 3-5 นาทีต่อซ้ำโดยพิจารณาขั้นแรกจากการที่ไรแดงหยุดการเคลื่อนไหวนอนอยู่ที่ก้นบีกเกอร์ ลำตัวมีสีขุ่นและซีดเมื่อใช้เข็มเขี่ยไม่มีปฏิกิริยาตอบสนองและการเคลื่อนไหว

4. นำอัตราการตายของไรแดงในน้ำชะถุงมือที่ระดับความเข้มข้นที่เหมาะสมมาพัฒนาวิธีตรวจคัดกรองถุงมือที่ใช้สัมผัสอาหารด้วยไรแดง

การทดลองที่ 4 การพัฒนาวิธีการตรวจคัดกรองถุงมือที่ใช้สัมผัสอาหารด้วยไรแดง

นำอัตราการตายของไรแดงที่ระดับความเข้มข้น ต่างๆ จากการทดลองที่ 3 มาคำนวณหาค่าความไว (sensitivity) และความจำเพาะ (specificity) ของวิธีการตรวจคัดกรอง (Loong T.W., 2003) โดยกำหนดให้

ความไว (sensitivity) คือ อัตราส่วนของจำนวนไรแดงที่ทดสอบแล้วให้ผลเป็นบวกต่อจำนวนไรแดงทั้งหมดที่เป็นบวกเมื่อทดสอบด้วยวิธีมาตรฐาน (วิธีวิเคราะห์ทางเคมี)

ความจำเพาะ (specificity) คือ อัตราส่วนของจำนวนไรแดงที่ทดสอบแล้วให้ผลเป็นลบต่อจำนวนไรแดงทั้งหมดที่เป็นลบเมื่อทดสอบด้วยวิธีวิเคราะห์ทางเคมีซึ่งเป็นวิธีมาตรฐาน (gold standard)

		Expected (Gold Standard)	
		+	-
Observed (Test)	+	a	b
	-	c	d

ความไว (sensitivity) = a/a+c

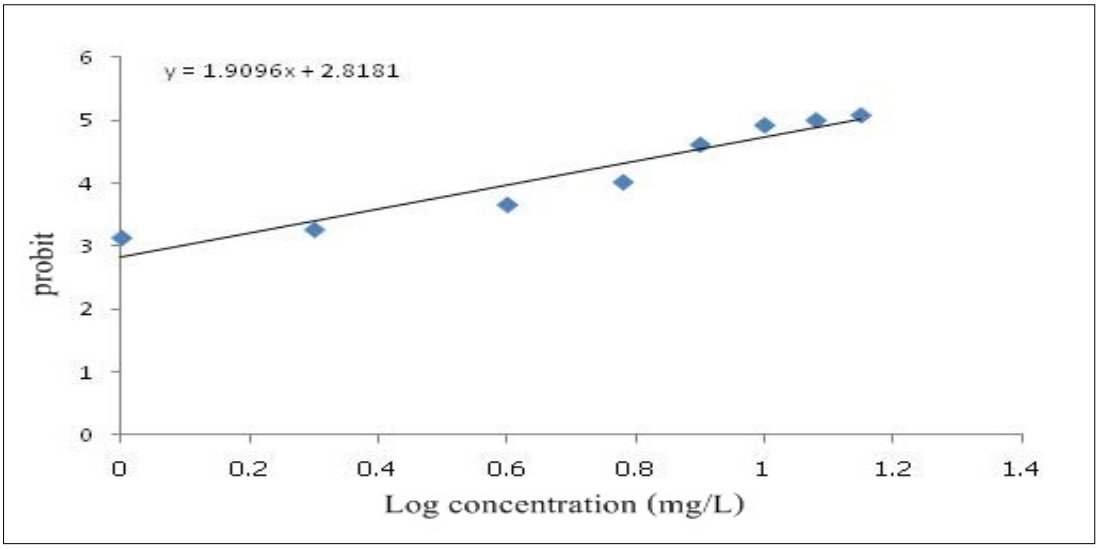
ความจำเพาะ (specificity) = d/b+d

บทที่ 3
ผลการทดลองและวิจารณ์ผล

การวิจัยนี้เป็นการพัฒนาวิธีการตรวจคัดกรองสารพิษที่ถูกชะออกมาจากถุงมือที่ใช้สัมผัสอาหารโดยใช้ไรแดง (*Moina macrocopa* Straus.) เป็นตัวทดสอบโดยแบ่งการศึกษาออกเป็น 4 ขั้นตอน ได้แก่ ขั้นตอนแรก ทดสอบความเป็นพิษเฉียบพลันของสาร di(2-ethylhexy)phthalate (DEHP), tetramethylthiuram disulfide (TMTD) และ zinc-dimethyl dithiocarbamate (ZDMC) ต่อไรแดงในเวลา 24 ชั่วโมงและ 48 ชั่วโมง ขั้นตอนที่ 2 เป็นการวิเคราะห์หา ระดับการปนเปื้อนของสาร di(2-ethylhexy)phthalate (DEHP), tetramethylthiuram disulfide (TMTD) และ zinc-dimethyl dithiocarbamate (ZDMC) ในน้ำชะถุงมือที่ใช้สัมผัสอาหาร โดยใช้วิธีการวิเคราะห์ด้วยเครื่อง แก๊สโครมาโทกราฟ (gas chromatograph) สำหรับ DEHP และเครื่อง โครมาโทกราฟของเหลวสมรรถนะสูง (high performance liquid chromatograph) สำหรับ TMTD และ ZDMC ขั้นตอนที่ 3 การทดสอบความเป็นพิษของน้ำชะถุงมือที่ใช้สัมผัสอาหารด้วยไรแดงและขั้นตอนที่ 4 การพัฒนาวิธีการตรวจคัดกรองถุงมือที่ใช้สัมผัสอาหารด้วยไรแดง ผลการศึกษามีดังต่อไปนี้

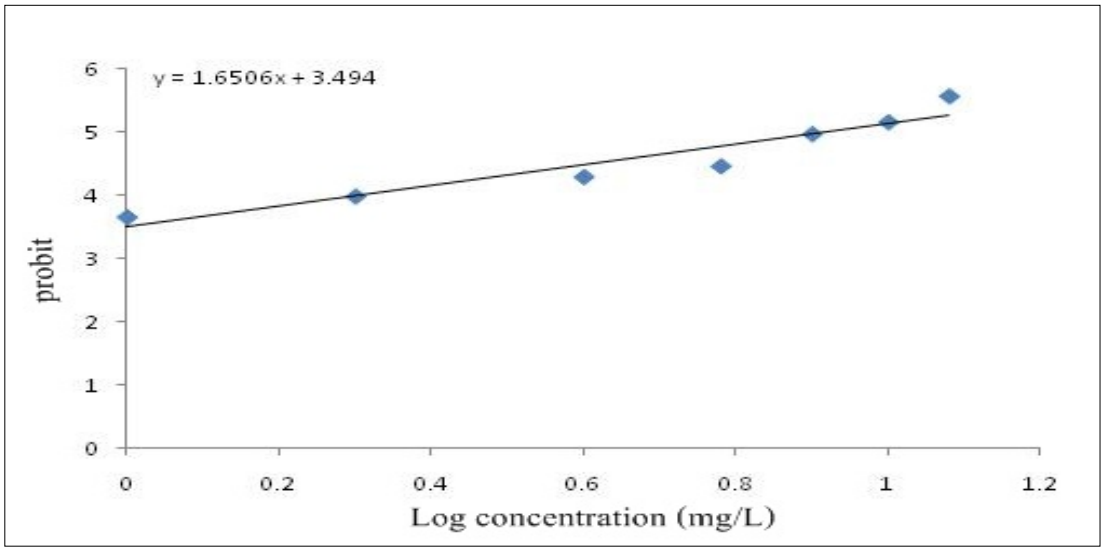
3.1. การทดสอบความเป็นพิษของสาร ละลาย TMTD, DEHP, ZDMC และสาร ละลายผสมระหว่างสารเคมีเหล่านี้ต่อไรแดง

การทดสอบความเป็นพิษของสารละลาย TMTD, DEHP, ZDMC และสารละ ลายผสมระหว่างสารเคมีเหล่านี้ที่ความเข้มข้นต่างๆเพื่อดูอัตราการตายของไรแดงต่อสารเคมี โดยแสดงผลการวิเคราะห์เป็นการหาค่าความเข้มข้นที่ทำให้เกิดอัตราการตายของไรแดงร้อยละ 50 (LC_{50}) ซึ่งใช้วิธีวิเคราะห์โปรบิท (probit analysis) พบว่าความเข้มข้นของสาร ZDMC ที่ทำให้เกิดอัตราการตายของไรแดงร้อยละ 50 (LC_{50}) ที่ระยะเวลา 24 ชั่วโมง มีค่าเท่ากับ 13.85 มิลลิกรัมต่อลิตร (ภาพที่ 3-1)



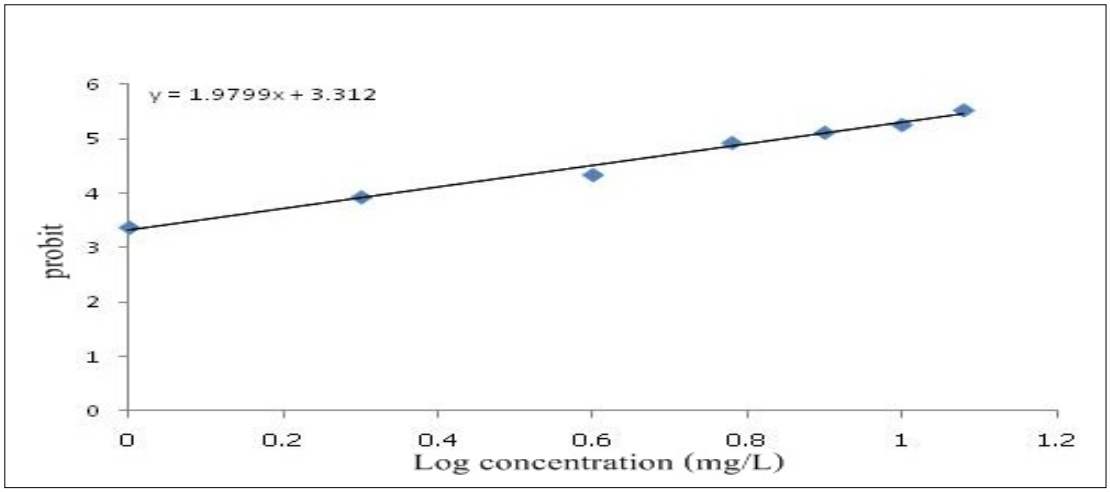
ภาพที่ 3-1 ความสัมพันธ์ระหว่าง log ความเข้มข้นของสาร ZDMC กับโปรบิทอัตราการตายของไรแดงที่ 24 ชั่วโมง

ความเข้มข้นของสาร TMTD ที่ทำให้เกิดอัตราการตายของไรแดงร้อยละ 50 (LC_{50}) ที่ระยะเวลา 24 ชั่วโมง มีค่าเท่ากับ 9.52 มิลลิกรัมต่อลิตร (ภาพที่ 3-2)



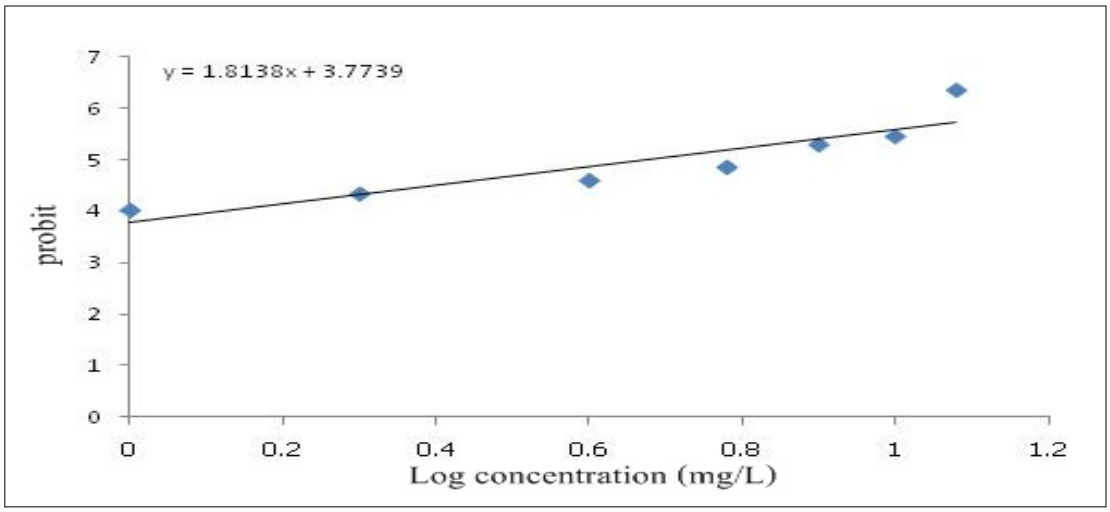
ภาพที่ 3-2 ความสัมพันธ์ระหว่าง log ความเข้มข้นของสาร TMTD กับโปรบิทอัตราการตายของไรแดงที่ 24 ชั่วโมง

ความเข้มข้นของสาร TMTD ผสมกับ ZDMC ทำให้เกิดอัตราการตายของไรแดงร้อยละ 50 (LC_{50}) ที่ระยะเวลา 24 ชั่วโมง มีค่าเท่ากับ 7.26 มิลลิกรัมต่อลิตร (ภาพที่ 3-3)



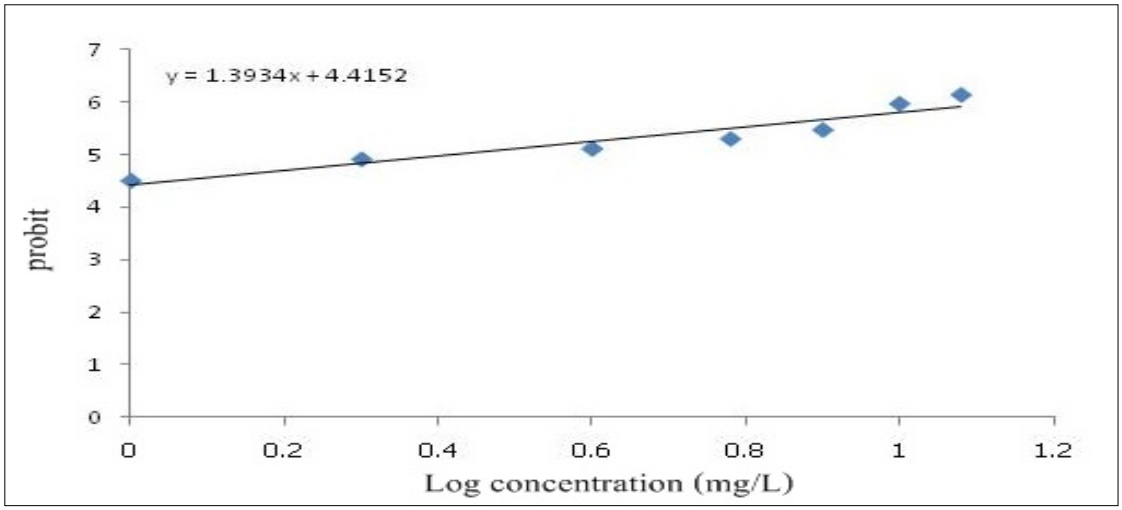
ภาพที่ 3-3 ความสัมพันธ์ระหว่าง log ความเข้มข้นของสาร TMTD ผสมกับ ZDMC กับโปรบิทอัตราการตายของไรแดง

ความเข้มข้นของสาร TMTD ผสมกับ ZDMC ที่ทำให้เกิดอัตราการตายของไรแดงร้อยละ 50 (LC_{50}) ที่ระยะเวลา 24 ชั่วโมง มีค่าเท่ากับ 4.41 มิลลิกรัมต่อลิตร (ภาพที่ 3-4)



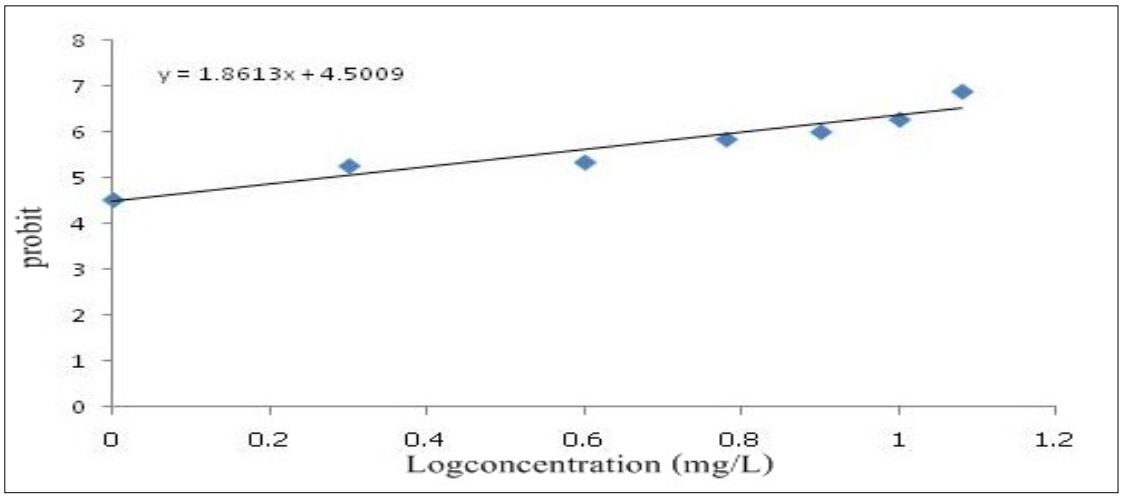
ภาพที่ 3-4 ความสัมพันธ์ระหว่าง log ความเข้มข้นของสาร DEHP กับโปรบิทอัตราการตายของไรแดง

ความเข้มข้นของสาร DEHP ผสมกับ ZDMC ที่ทำให้เกิดอัตราการตายของไรแดงร้อยละ 50 (LC_{50}) ที่ระยะเวลา 24 ชั่วโมง มีค่าเท่ากับ 2.83 มิลลิกรัมต่อลิตร (ภาพที่ 3-5)



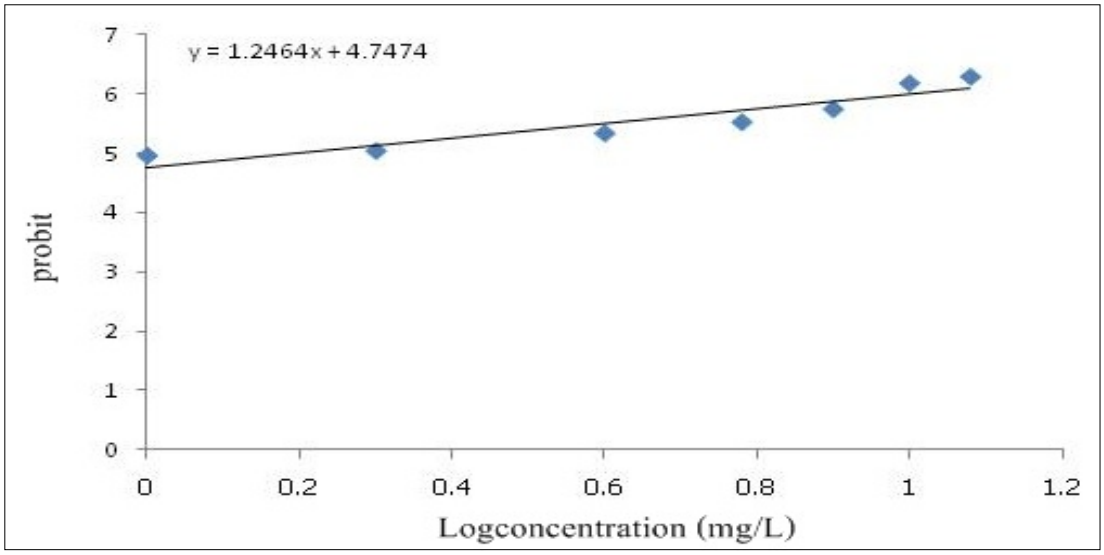
ภาพที่ 3-5 ความสัมพันธ์ระหว่าง log ความเข้มข้นของสาร DEHP ผสมกับ ZDMC กับโปรบิทอัตราการตายของไรแดง

ความเข้มข้นของสาร DEHP ผสมกับ TMTD ที่ทำให้เกิดอัตราการตายของไรแดงร้อยละ 50 (LC_{50}) ที่ระยะเวลา 24 ชั่วโมง มีค่าเท่ากับ 1.85 มิลลิกรัมต่อลิตร (ภาพที่ 3-6)



ภาพที่ 3-6 ความสัมพันธ์ระหว่าง log ความเข้มข้นของสาร DEHP ผสมกับ TMTD กับโปรบิทอัตราการตายของไรแดง

ความเข้มข้นของสาร DEHP ผสมกับ TMTD ผสมกับ ZDMC ที่ทำให้เกิดอัตราการตายของไรแดงร้อยละ 50 (LC_{50}) ที่ระยะเวลา 24 ชั่วโมง มีค่าเท่ากับ 1.32 มิลลิกรัมต่อลิตร (ภาพที่ 3-7)



ภาพที่ 3-7 ความสัมพันธ์ระหว่าง log ความเข้มข้นของสาร DEHP ผสมกับ TMTD ผสมกับ ZDMC กับโปรบิทอัตราการตายของไรแดง

จากผลข้างต้น พบว่า สารละลายผสมระหว่างสาร DEHP, TMTD และ ZDMC มีค่า LC_{50} น้อยที่สุดแสดงว่ามีความเป็นพิษต่อไรแดงสูงที่สุด รองลงมาคือ DEHP + TMTD, DEHP + ZDMC, DEHP, TMTD + ZDMC, TMTD และ ZDMC ตามลำดับ จะเห็นได้ว่าการผสมกันของสารทั้ง 3 ตัว มีผลทำให้อัตราการตายของไรแดงสูงกว่าผลขอ งสารเพียงตัวเดียว บ่งชี้ว่ามีการเสริมฤทธิ์กันของสารแบบ synergism ซึ่งเป็น การเสริมฤทธิ์ต่อกันของสารเคมีมากกว่า 1 ชนิด ทำให้ฤทธิ์ที่ได้มีค่ามากกว่าผลรวมของฤทธิ์ของสารทั้งสองชนิด (Euton and Klaassen, 2001)

จากผลทดสอบความเป็นพิษของไรแดงที่ 48 ชั่วโมง พบว่า ไรแดงในกลุ่มควบคุมมีการตายมากกว่า 10% ซึ่งถือว่ามากเกินไป (OECD, 2004) ดังนั้นอัตราการตายของไรแดงที่ 48 ชั่วโมงจึงไม่เหมาะที่จะนำมาใช้เป็นวิธีการมาตรฐานในการตรวจคัดกรอง

3.2 การตรวจสอบความน่าเชื่อถือของวิธีวิเคราะห์

จากการ วิเคราะห์ ปริมาณ สาร DEHP และ TMTD ในสารละลาย ที่ความเข้มข้นต่ำๆ จำนวน 10 ซ้ำ นำค่าส่วนเบี่ยงเบนมาตรฐานมาคำนวณหา LOD และ LOQ พบว่าความเข้มข้นต่ำสุดที่สามารถ ตรวจพบ ได้ (LOD) คือ 8.4 ไมโครกรัมต่อลิตร และ 7.0 ไมโครกรัมต่อลิตร ตามลำดับ และความเข้มข้นต่ำสุดที่สามารถรายงาน ปริมาณได้ (LOQ) คือ 28.1 ไมโครกรัมต่อลิตร และ 23.2 ไมโครกรัมต่อลิตร ตามลำดับ และ มีค่าส่วน เบี่ยงเบนมาตรฐานสัมพัทธ์ (%RSD) เท่ากับร้อยละ 3.80 และ 4.42 ตามลำดับ ซึ่งไม่เกินร้อยละ 10 แสดงว่ามีความเที่ยงที่ยอมรับได้ (แม้น อมรสิทธ์ และ อมร เพชรสม, 2534) พบว่ากราฟ มาตรฐานข อง DEHP แสดงความเป็นเส้นตรงในช่วงความ

เข้มข้น 0.5 – 50 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร มีค่าสัมประสิทธิ์สหสัมพันธ์ (correlation coefficient, r) เท่ากับ 0.998 และกราฟมาตรฐานของ TMTD แสดงความเป็นเส้นตรงในช่วงความเข้มข้น 0.02 – 0.5 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร มีค่าสัมประสิทธิ์สหสัมพันธ์ (correlation coefficient, r) เท่ากับ 0.998 ซึ่งค่าสัมประสิทธิ์สหสัมพันธ์ที่ได้มากกว่า 0.995 ถือว่ามีความสัมพันธ์เชิงเส้นตรงที่ดี (แม้น อมรสิทธ์ และ อมร เพชรสม, 2534; FDA, 2005)

ความแม่นของการวิเคราะห์สามารถแสดงด้วยค่าร้อยละ การได้คืนกลับของสารมาตรฐาน (% recovery) ซึ่งเป็นการวิเคราะห์การได้คืนกลับของสารมาตรฐานที่ทราบความเข้มข้นด้วยการเติม (spike) สารละลายมาตรฐานลงในน้ำชะถุงมือที่ใช้สัมผัสอาหาร ค่าร้อยละ การได้คืนกลับ สาร DEHP ที่วิเคราะห์ได้จากตัวอย่างน้ำชะถุงมือที่ใช้สัมผัสอาหารทั้ง 4 ชนิด มีค่าเฉลี่ยอยู่ระหว่าง ร้อยละ 82.95-91.10 ซึ่งอยู่ในช่วงร้อยละ 80-120 จึงถือว่าการวิเคราะห์ปริมาณ DEHP ในตัวอย่างน้ำชะถุงมือที่ใช้สัมผัสอาหารทั้ง 4 ชนิดมีความแม่นเพียงพอสามารถเชื่อถือได้ (ตารางที่ 3-1) (แม้น อมรสิทธ์ และ อมร เพชรสม, 2534; FDA, 2005)

ตารางที่ 3-1 ค่าร้อยละ การได้คืนกลับ (% recovery) ของสารประกอบ DEHP ในน้ำชะถุงมือที่ใช้สัมผัสอาหาร

ชนิดถุงมือ	% Recovery (Mean ± SD)
ถุงมือยางธรรมชาติแบบหนาชนิดไม่มีแป้งยี่ห้อ A	83.73 ± 3.17
ถุงมือยางธรรมชาติแบบหนาชนิดไม่มีแป้งยี่ห้อ B	84.03 ± 4.27
ถุงมือยางธรรมชาติแบบหนาชนิดไม่มีแป้งยี่ห้อ C	89.45 ± 2.09
ถุงมือยางธรรมชาติแบบบางชนิดไม่มีแป้งยี่ห้อ D	87.06 ± 1.89
ถุงมือยางธรรมชาติแบบบางชนิดมีแป้งยี่ห้อ E	87.23 ± 1.56
ถุงมือยางธรรมชาติแบบบางชนิดมีแป้งยี่ห้อ F	84.75 ± 4.26
ถุงมือยางธรรมชาติแบบบางชนิดมีแป้งยี่ห้อ G	91.10 ± 4.43
ถุงมือพลาสติก (PE) ยี่ห้อ H	82.95 ± 0.03
ถุงมือพลาสติก (PE) ยี่ห้อ I	89.60 ± 3.63
ถุงมือพลาสติก (PE) ยี่ห้อ J	90.00 ± 4.08

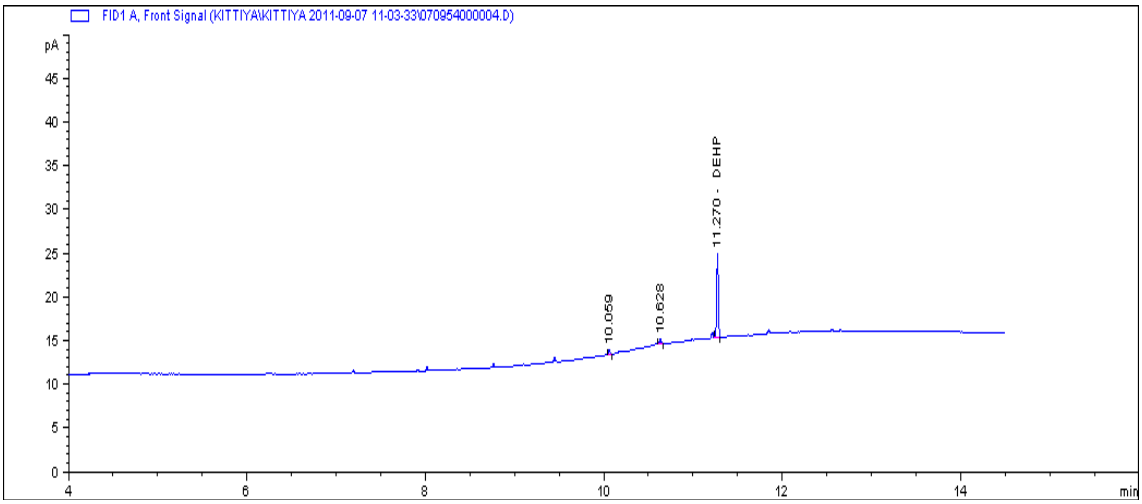
ค่าร้อยละ การได้คืนกลับ สาร TMTD ที่วิเคราะห์ได้จากตัวอย่าง น้ำชะ ถุงมือ ที่ใช้สัมผัสอาหารทั้ง 3 ชนิด มีค่าเฉลี่ยอยู่ระหว่างร้อยละ 82.88-91.55 ซึ่งอยู่ในช่วงร้อยละ 80-120 จึงถือว่าการวิเคราะห์ปริมาณ TMTD ในตัวอย่างน้ำชะถุงมือที่ใช้สัมผัสอาหารทั้ง 3 ชนิดมีความแม่นเพียงพอสามารถเชื่อถือได้ (ตารางที่ 3-2) (แม้น อมรสิทธ์ และ อมร เพชรสม, 2534; FDA, 2005)

ตารางที่ 3-2 ค่าร้อยละการได้คืนกลับ (% recovery) ของสารประกอบ TMTD ในน้ำชะถุงมือ ชนิดต่างๆที่ใช้สัมผัสอาหาร

ชนิดถุงมือ	% Recovery (Mean± SD)
ถุงมือยางธรรมชาติแบบหนาชนิดไม่มีแป้งยี่ห้อ A	82.88 ± 2.43
ถุงมือยางธรรมชาติแบบหนาชนิดไม่มีแป้งยี่ห้อ B	90.40 ± 4.40
ถุงมือยางธรรมชาติแบบหนาชนิดไม่มีแป้งยี่ห้อ C	86.00 ± 3.53
ถุงมือยางธรรมชาติแบบบางชนิดไม่มีแป้งยี่ห้อ D	84.35 ± 2.77
ถุงมือยางธรรมชาติแบบบางชนิดมีแป้งยี่ห้อ E	84.83 ± 3.85
ถุงมือยางธรรมชาติแบบบางชนิดมีแป้งยี่ห้อ F	85.08 ± 3.79
ถุงมือยางธรรมชาติแบบบางชนิดมีแป้งยี่ห้อ G	91.55 ± 4.51

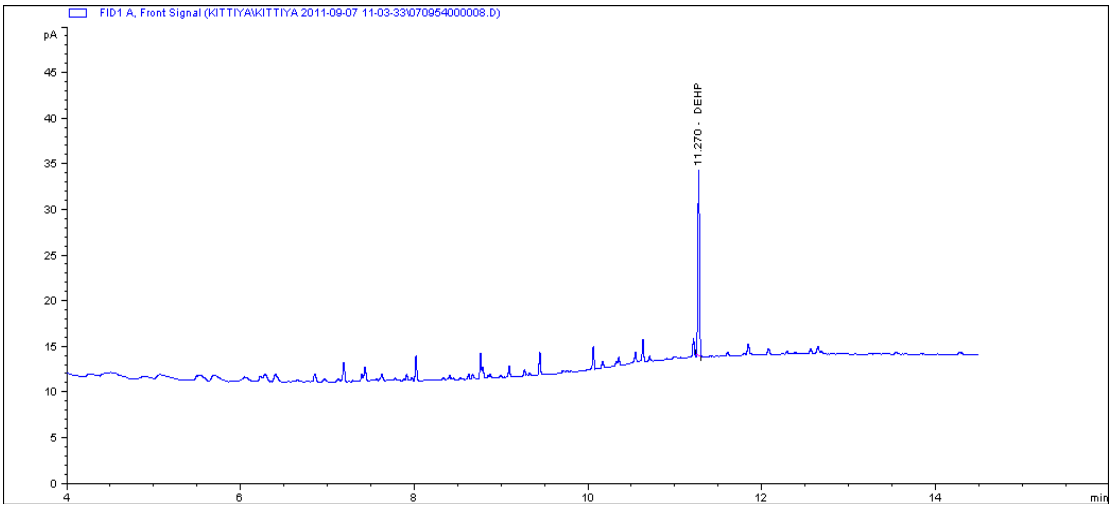
3.3 โครมาโตแกรมของตัวอย่างน้ำชะถุงมือที่ใช้สัมผัสอาหาร

โครมาโตแกรมที่ได้จากการตรวจวัดสารละลายมาตรฐาน DEHP ด้วย GC-FID ได้แสดงไว้ในภาพที่ 3-8 พีคของ DEHP เกิดขึ้นที่เวลา 11.27 นาที

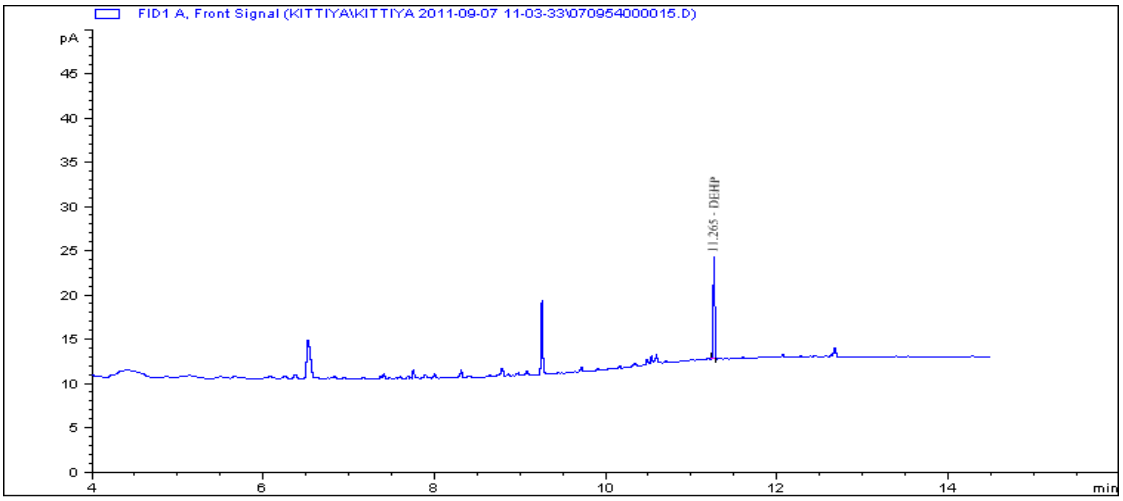


ภาพที่ 3-8 โครมาโตแกรมของสารละลายมาตรฐาน DEHP ความเข้มข้น 10 มิลลิกรัมต่อลิตร

จากผลการวิเคราะห์น้ำชะตัวอย่างถุงมือยางชนิดต่างๆ ได้แก่ ถุงมือยางธรรมชาติแบบบางชนิดมีแป้ง ถุงมือยางธรรมชาติแบบบางชนิดไม่มีแป้ง ถุงมือยางธรรมชาติแบบหนาชนิดไม่มีแป้ง และถุงมือพลาสติก PE ด้วย GC-FID ได้โครมาโตแกรม ซึ่งปรากฏพีคของสาร DEHP ที่เวลา 11.27± 0.01 นาที ดังแสดงในภาพที่ 3-9 ถึง 3-10



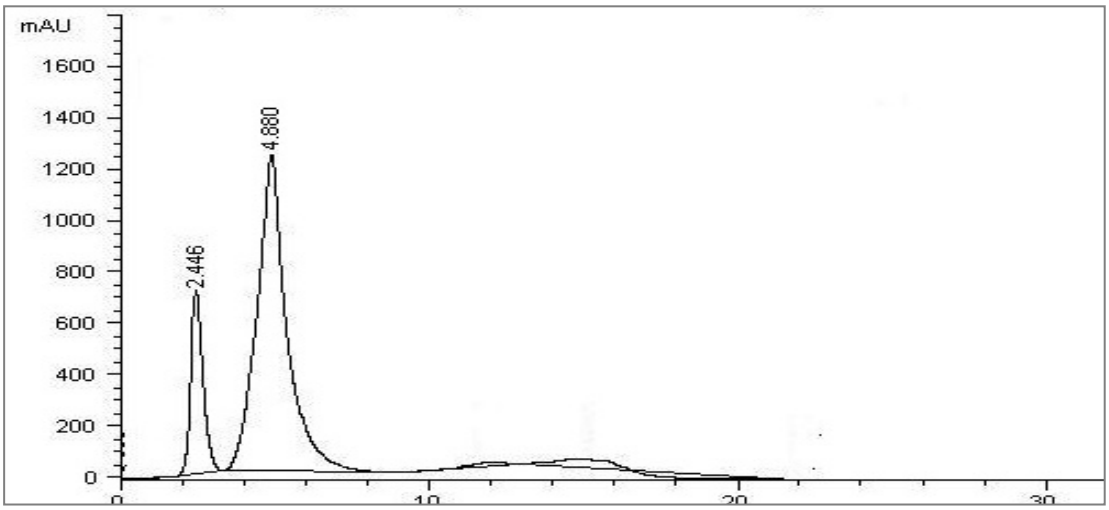
ภาพที่ 3-9 โครมาโตแกรมของตัวอย่างน้ำชะถุงมือพลาสติก PE



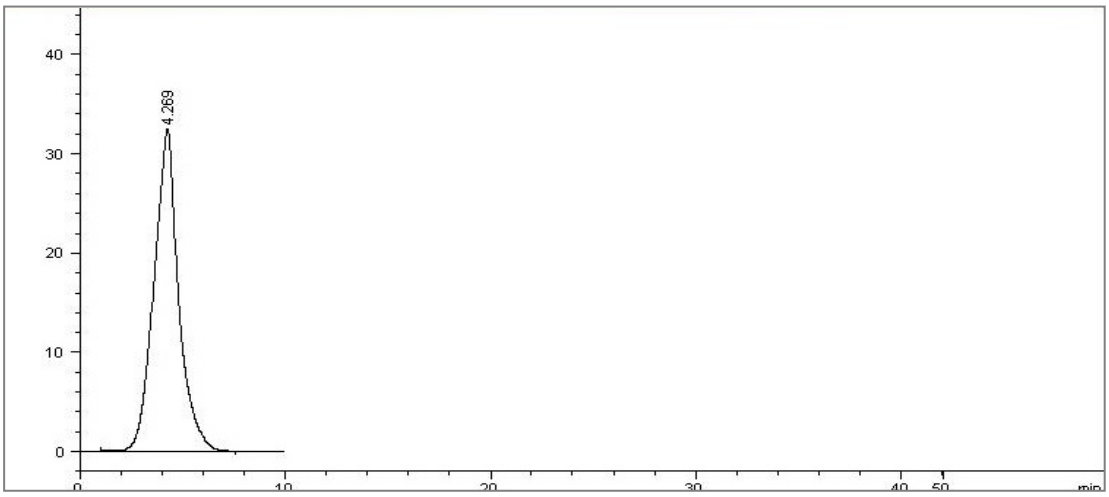
ภาพที่ 3-10 โครมาโตแกรมของน้ำชะตัวอย่างถุงมือยางธรรมชาติแบบบางชนิดมีแป้ง

จากผลการวิเคราะห์หาความเข้มข้นของสาร TMTD และ สารกลุ่มไดไทโอคาร์บาเมต ที่มีอยู่ในน้ำชะถุงมือยางที่ใช้สัมผัสอาหาร ด้วยเทคนิคโครมาโทกราฟฟีของเหลวสมรรถนะสูง (HPLC) โดยใช้ตัวตรวจวัด ultraviolet-visible detector ผลจากการวิเคราะห์พบเฉพาะ พีคของสารประกอบ TMTD ที่เวลา 4.88 ± 0.61 นาที (ภาพที่ 3-11) ไม่พบพีคของสาร ZDMC

พีคของสาร TMTD ในโครมาโตแกรมของตัวอย่างสกัดจากน้ำชะถุงมือที่ใช้สัมผัสอาหาร เมื่อเปรียบเทียบกับ พีคของสารเดียวกันโ ครมาโทแกรมของสารละลายมาตรฐาน TMTD พบว่า retention time ของสาร TMTD มีการเลื่อนออกไปเล็กน้อยอาจ เนื่องจาก TMTD อยู่ในสารตัวทำละลายที่แตกต่างกัน จึงมีผลต่อการถูกดูดซับด้วยเฟสคงที่แตกต่างกัน (ภาพที่ 3-11 และ 3-12)



ภาพที่ 3-11 โครมาโตแกรมของน้ำชะตัวอย่างถุงมือยางธรรมชาติแบบบางชนิดมีแป้ง



ภาพที่ 3-12 โครมาโตแกรมของสารละลายมาตรฐาน TMTD ที่ความเข้มข้น 1.0 มิลลิกรัมต่อลิตร

3.4 ปริมาณการเคลื่อนย้ายออกมาของ DEHP ต่อพื้นที่ผิวของถุงมือที่ใช้สัมผัสอาหาร

ผลการวิเคราะห์ปริมาณ DEHP ที่เคลื่อนย้ายออกมาจากถุงมือยางธรรมชาติแบบหนาชนิดไม่มีแป้ง ถุงมือยางธรรมชาติแบบบางชนิดมีแป้ง ถุงมือยางธรรมชาติแบบบางชนิดไม่มีแป้ง และถุงมือพลาสติก (PE) ต่อพื้นที่ผิวสัมผัส ของถุงมือ ประมาณ 370 ตารางเซนติเมตร พบว่าถุงมือยางธรรมชาติแบบหนาชนิดไม่มีแป้งมีปริมาณ DEHP เคลื่อนย้ายออกมาต่อพื้นที่ผิวสัมผัสของถุงมือสูงกว่าถุงมือที่ใช้สัมผัสอาหารชนิดอื่นๆอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p<0.05$) (ตารางที่ 3-3)

ตารางที่ 3-3 ปริมาณของ DEHP ที่เคลื่อนย้ายออกมาสู่น้ำกลั่นต่อพื้นที่ผิวสัมผัสของถุงมือ

ชนิดถุงมือ	ความเข้มข้นเฉลี่ยของ DEHP (µg/ml)	ปริมาณ DEHP ที่เคลื่อนย้ายออกมาต่อพื้นที่ผิวสัมผัสของถุงมือ (µg/cm^2)	Mean ± SD (µg/cm^2)
ถุงมือยางธรรมชาติแบบหนาชนิดไม่มีแป้งยี่ห้อ A	5.93 ± 0.42	0.032 ± 0.002	0.023 ± 0.01
ถุงมือยางธรรมชาติแบบหนาชนิดไม่มีแป้งยี่ห้อ B	3.91 ± 0.28	0.021 ± 0.001	
ถุงมือยางธรรมชาติแบบหนาชนิดไม่มีแป้งยี่ห้อ C	3.16 ± 0.38	0.017 ± 0.002	
ถุงมือยางธรรมชาติแบบบางชนิดไม่มีแป้งยี่ห้อ D	1.78 ± 0.20	0.010 ± 0.001	0.010 ±0.001
ถุงมือยางธรรมชาติแบบบางชนิดมีแป้งยี่ห้อ E	4.02 ± 0.13	0.022 ± 0.001	0.015 ± 0.01
ถุงมือยางธรรมชาติแบบบางชนิดมีแป้งยี่ห้อ F	2.87 ± 0.48	0.015 ± 0.003	
ถุงมือยางธรรมชาติแบบบางชนิดมีแป้งยี่ห้อ G	1.43 ± 0.39	0.008 ± 0.002	
ถุงมือพลาสติก (PE) ยี่ห้อ H	2.48 ± 0.80	0.013 ± 0.004	0.007 ± 0.01
ถุงมือพลาสติก (PE) ยี่ห้อ I	0.82 ± 0.27	0.004 ± 0.001	
ถุงมือพลาสติก (PE) ยี่ห้อ J	0.47 ± 0.18	0.002 ± 0.001	

3.5 ปริมาณของ TMTD ที่เคลื่อนย้ายออกมาสู่น้ำกลั่นต่อพื้นที่ผิวของถุงมือที่ใช้สัมผัสอาหาร

ผลการวิเคราะห์ปริมาณ TMTD ที่เคลื่อนย้ายออกมาจากถุงมือยางธรรมชาติแบบบางชนิดมีแป้ง ถุงมือยางธรรมชาติแบบบางชนิดไม่มีแป้ง และถุงมือยางธรรมชาติแบบหนาชนิดไม่มีแป้ง ต่อพื้นที่ผิวสัมผัสของถุงมือเฉลี่ย 370 ตารางเซนติเมตร พบว่า ถุงมือยางธรรมชาติแบบบางชนิดมีแป้งมีปริมาณ TMTD เคลื่อนย้ายออกมาสู่น้ำกลั่นต่อพื้นที่ผิวสัมผัสของถุงมือสูงกว่าถุงมือยางธรรมชาติแบบบางชนิดไม่มีแป้ง และถุงมือยางธรรมชาติแบบหนาชนิดไม่มีแป้ง อย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p<0.05$) (ตารางที่ 3-4)

ตารางที่ 3-4 ปริมาณการเคลื่อนย้ายออกมาของ TMTD สู่น้ำกลั่นต่อพื้นที่ผิวถุงมือ

ชนิดถุงมือ	ความเข้มข้นเฉลี่ยของ TMTD (µg/ml)	ปริมาณ TMTD ที่เคลื่อนย้ายออกมาต่อพื้นที่ผิวของถุงมือ ($\mu g/cm^2$)	Mean ± SD ($\mu g/cm^2$)
ถุงมือยางธรรมชาติแบบหนาชนิดไม่มีแป้งยี่ห้อ A	0.83 ± 0.25	0.004 ± 0.001	0.005 ± 0.001
ถุงมือยางธรรมชาติแบบหนาชนิดไม่มีแป้งยี่ห้อ B	0.95 ± 0.10	0.005 ± 0.001	
ถุงมือยางธรรมชาติแบบหนาชนิดไม่มีแป้งยี่ห้อ C	0.70 ± 0.11	0.003 ± 0.001	
ถุงมือยางธรรมชาติแบบบางชนิดไม่มีแป้งยี่ห้อ D	2.41 ± 0.46	0.013 ± 0.002	0.013 ± 0.002
ถุงมือยางธรรมชาติแบบบางชนิดมีแป้งยี่ห้อ E	4.01 ± 0.42	0.022 ± 0.002	0.020 ± 0.003
ถุงมือยางธรรมชาติแบบบางชนิดมีแป้งยี่ห้อ F	3.03 ± 0.28	0.016 ± 0.001	
ถุงมือยางธรรมชาติแบบบางชนิดมีแป้งยี่ห้อ G	2.51 ± 0.41	0.014 ± 0.002	

3.6 การคำนวณปริมาณสูงสุดของสาร DEHP และ TMTD ที่ยินยอมให้เคลื่อนย้ายออกมาจากถุงมือที่ใช้สัมผัสอาหาร

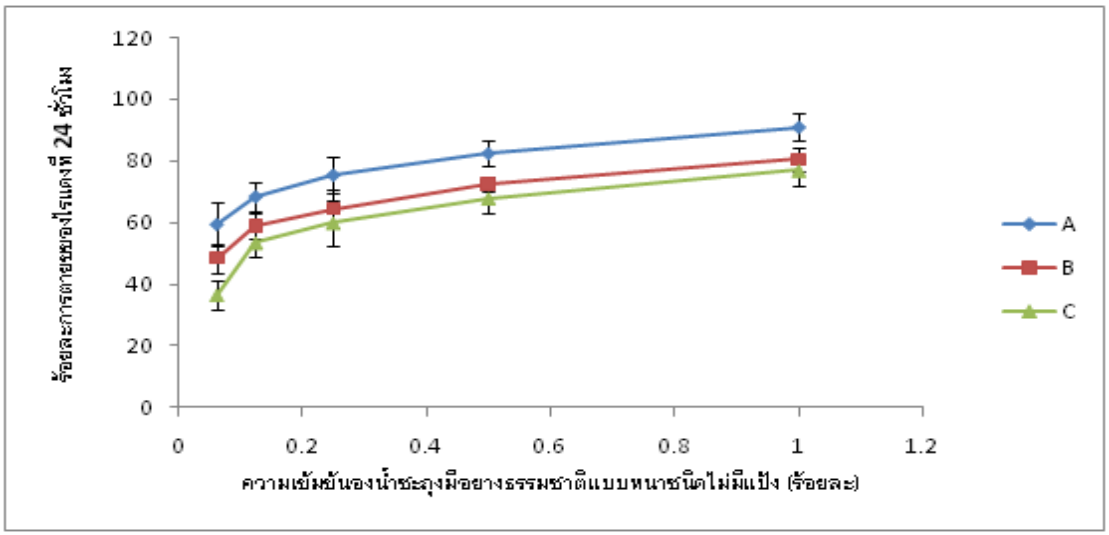
ในการกำหนดปริมาณสูงสุดของสารปนเปื้อนที่ยินยอมให้เคลื่อนย้ายออกมาจากถุงมือที่ใช้สัมผัสอาหารนั้นสามารถ คำนวณได้จากค่ามาตรฐาน tolerable daily intake (TDI) ของสารปนเปื้อนค่ามาตรฐาน TDI ของสาร DEHP และสาร TMTD คือ 0.037 ไมโครกรัมต่อกิโลกรัมต่อวัน และ 8.9 ไมโครกรัมต่อกิโลกรัมต่อวัน ตามลำดับ (The Commission of the European Communities, 2007) สมมติให้น้ำหนักเฉลี่ยของคนทั่วไปเท่ากับ 60 กิโลกรัม พื้นที่ผิวสัมผัสของถุงมือเท่ากับ 370 ตารางเซนติเมตร จะได้ปริมาณสูงสุดของ DEHP ที่ยอมให้เคลื่อนย้าย ออกมาจากถุงมือไม่เกิน $0.037 \times 60/370 = 0.006$ ไมโครกรัมต่อตารางเซนติเมตรและปริมาณสูงสุดของ TMTD ที่ยอมให้เคลื่อนย้ายออกมาจากถุงมือไม่เกิน $8.90 \times 60/370 = 1.443$ ไมโครกรัมต่อตารางเซนติเมตร

จะเห็นได้ว่าปริมาณ DEHP ที่เคลื่อนย้ายออกมาจากถุงมือยางทุกตัวอย่าง ยกเว้นถุงมือพลาสติกยี่ห้อ I และ J มีค่าเกินปริมาณสูงสุดที่ยอมให้ DEHP เคลื่อนย้าย ออกมาได้ (ตารางที่ 3-3) และปริมาณสาร TMTD ที่เคลื่อนย้าย ออกมาจากถุงมือ ยางทุกตัวอย่างมีค่าไม่เกินปริมาณสูงสุดที่ยอมให้เคลื่อนย้ายออกมาได้ (ตารางที่ 3-4)

3.7 ผลการทดสอบความเป็นพิษของน้ำชะถุงมือที่ใช้สัมผัสอาหารด้วยไรแดง

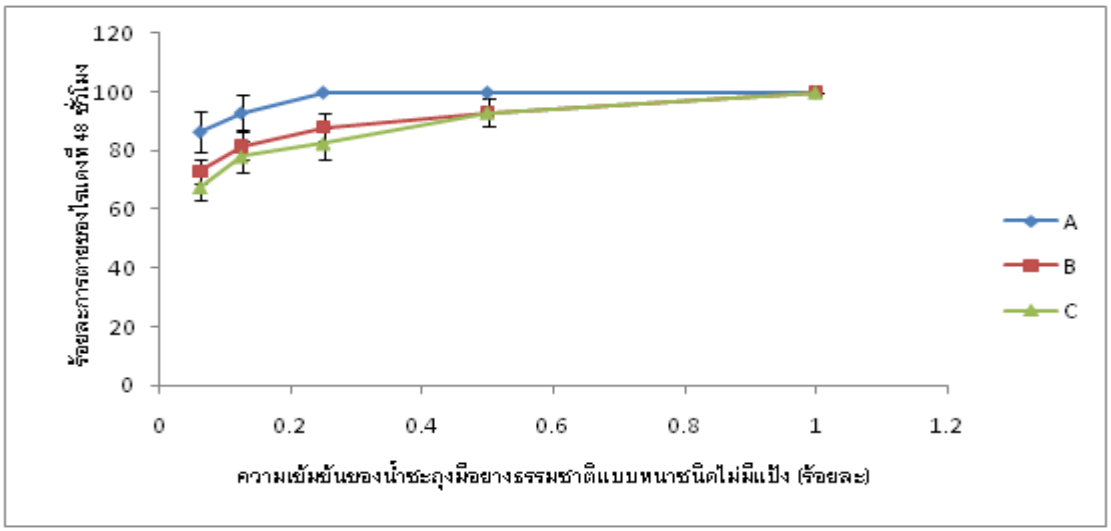
เมื่อนำน้ำชะถุงมือมาทดสอบกับไรแดงเพื่อหาระดับความเป็นพิษโดยกำหนดความเข้มข้นเป็น 5 ระดับ บันทึกการตายของไรแดงเมื่อครบระยะเวลา 24 ชั่วโมง ผลการทดสอบความเป็นพิษของน้ำชะถุงมือด้วยไรแดงได้แสดงไว้ในภาพที่ 3-13 ถึง ภาพที่ 3-18

ผลการทดลองเลี้ยงไรแดงในน้ำชะจากน้ำชะถุงมือยางธรรมชาติแบบหนาชนิดไม่มีแป้งที่ 24 ชั่วโมงและ 48 ชั่วโมง พบว่าอัตราการตายของไรแดงอยู่ในช่วง ร้อยละ 36.5-91.0 และ 67.5-100 ตามลำดับ จะเห็นว่าน้ำชะจากถุงมือยางธรรมชาติไม่มีแป้งชนิดหนายี่ห้อ A มีอัตราการตายของไรแดงสูงที่สุดที่ 24 ชั่วโมงและ 48 ชั่วโมง สูงกว่าน้ำชะจากถุงมือยางธรรมชาติแบบหนาชนิดไม่มีแป้งยี่ห้ออื่นๆอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p<0.05$) แสดงว่าน้ำชะถุงมือยางธรรมชาติแบบหนาชนิดไม่มีแป้งยี่ห้อ A มีพิษต่อไรแดงมากที่สุด (ภาพที่ 3-13 และ 3-14)



ภาพที่ 3-13 ความสัมพันธ์ระหว่างอัตราการตายของไรแดงและความเข้มข้นของน้ำชะถุงมือยางธรรมชาติแบบหนาชนิดไม่มีแป้ง 3 ยี่ห้อ ที่ 24 ชั่วโมง

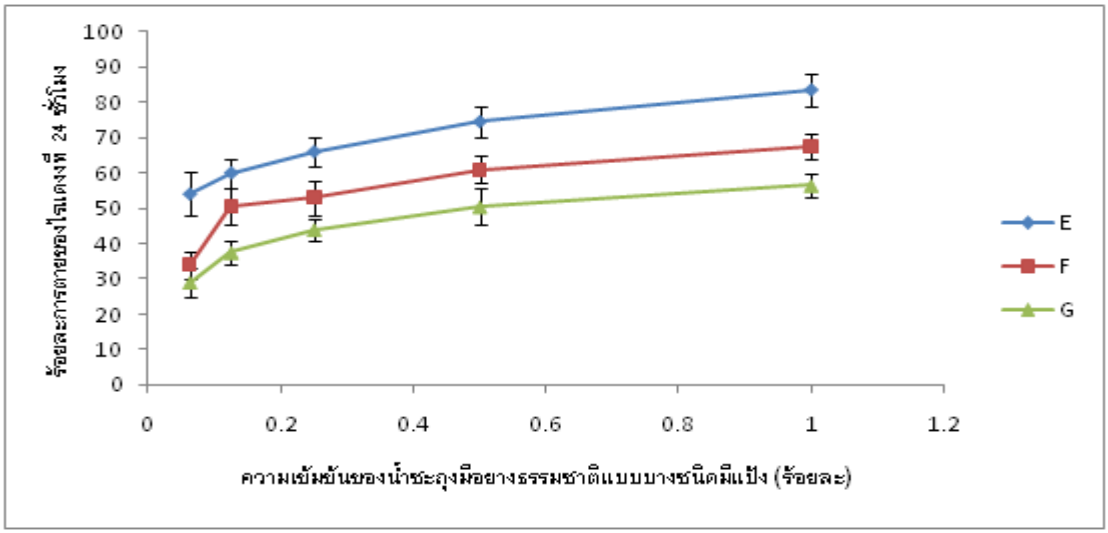
หมายเหตุ : A, B และ C แทนยี่ห้อของถุงมือ



ภาพที่ 3-14 ความสัมพันธ์ระหว่างอัตราการตายของไรแดงและความเข้มข้นของน้ำชะถุงมือยางธรรมชาติแบบหนาชนิดไม่มีแป้ง 3 ยี่ห้อ ที่ 48 ชั่วโมง

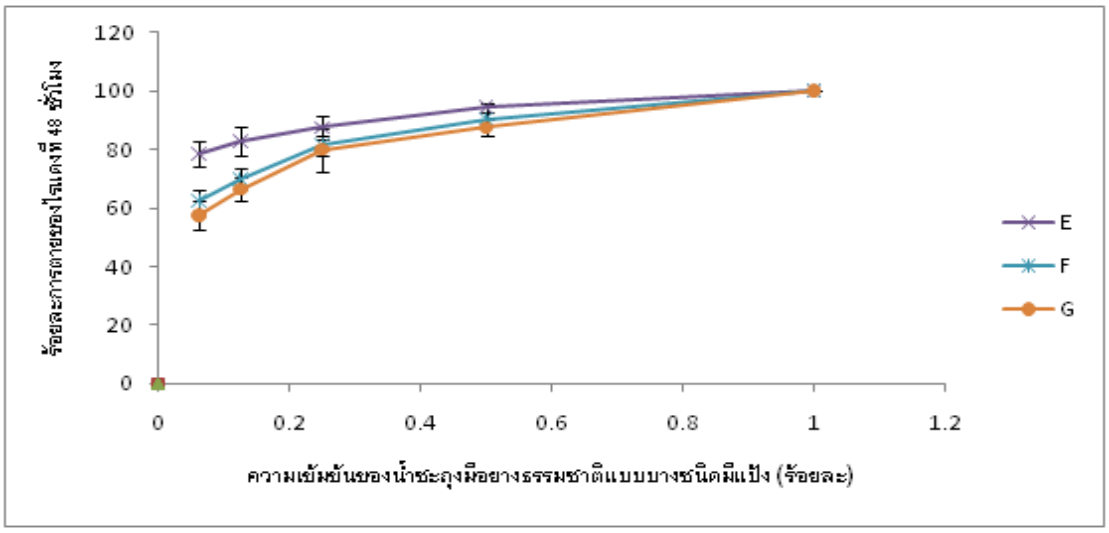
หมายเหตุ : A, B และ C แทนยี่ห้อของถุงมือ

ผลการทดลองเลี้ยงไรแดงในน้ำชะจากถุงมือยางธรรมชาติแบบบางชนิดมีแป้งที่ 24 ชั่วโมง และ 48 ชั่วโมง พบว่า อัตราก ารตายของไรแดงอยู่ในช่วง ร้อยละ 29.0-83.5.0 และ 57.8-100 ตามลำดับ จะเห็นได้ว่าน้ำชะจากถุงมือยางธรรมชาติมีแป้ง ยี่ห้อ E มีอัตราการตายของไรแดงที่ 24 ชั่วโมงและ 48 ชั่วโมง สูงกว่าน้ำชะจาก ถุงมือยางธรรมชาติแบบบางชนิดมีแป้ง ยี่ห้ออื่นๆอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p<0.05$) แสดงว่าถุงมือยางธรรมชาติแบบบางชนิดมีแป้ง ยี่ห้อ E มีพิษต่อไรแดงมากที่สุด (ภาพที่ 3-15 และ 3-16)



ภาพที่ 3-15 ความสัมพันธ์ระหว่างอัตราการตายของไรแดงและความเข้มข้นของน้ำชะถุงมือยางธรรมชาติแบบบางชนิดมีแป้ง 3 ยี่ห้อ ที่ 24 ชั่วโมง

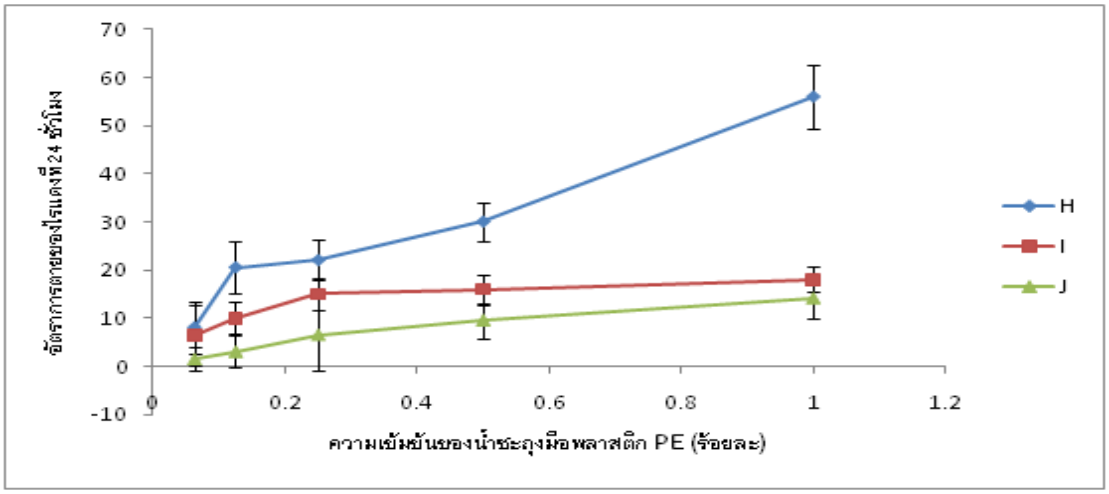
หมายเหตุ : E, F และ G แทนยี่ห้อของถุงมือ



ภาพที่ 3-16 ความสัมพันธ์ระหว่างอัตราการตายของไรแดงและความเข้มข้นของน้ำชะถุงมือยางธรรมชาติแบบบางชนิดมีแป้ง 3 ยี่ห้อ ที่ 48 ชั่วโมง

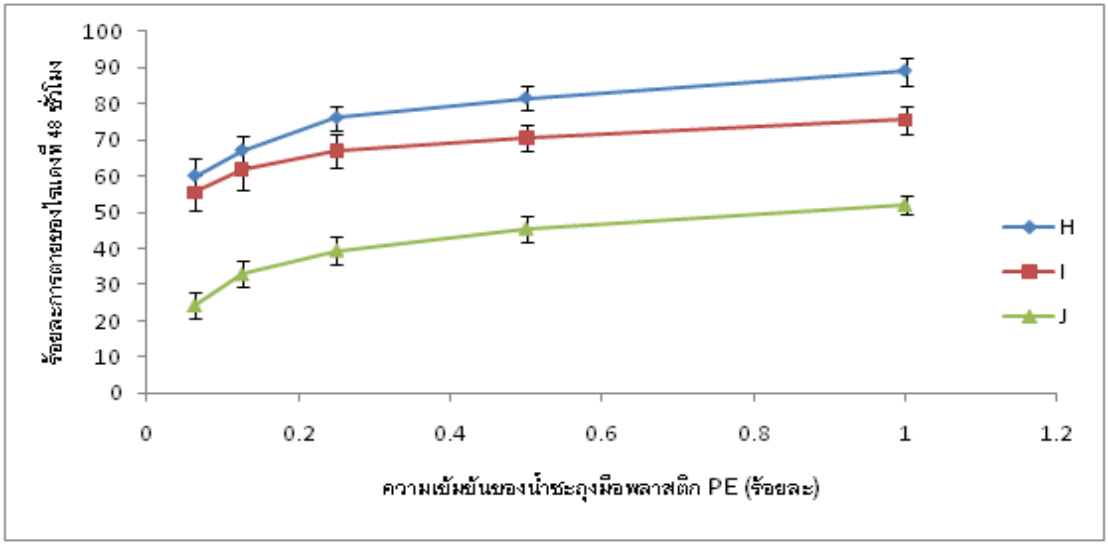
หมายเหตุ : E, F และ G แทนยี่ห้อของถุงมือ

ผลการทดลองเลี้ยงไรแดงในน้ำชะจากถุงมือพลาสติก PE ที่ 24 ชั่วโมงและ 48 ชั่วโมง พบอัตราการตายของไรแดงอยู่ในช่วงร้อยละ 1.5-56.0 และ 24.5-89.0 ตามลำดับ จะเห็นได้ว่าน้ำชะ ถุงมือพลาสติก PE ยี่ห้อ 1 มีอัตราการตายของไรแดงที่ 24 ชั่วโมงและ 48 ชั่วโมง สูงกว่าน้ำชะจาก ถุงมือพลาสติก PE ยี่ห้ออื่นๆ อย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p<0.05$) แสดงว่าน้ำชะถุงมือพลาสติก PE ยี่ห้อ 1 มีพิษต่อไรแดงมากที่สุด (ภาพที่ 3-17 และ 3-18)



ภาพที่ 3-17 ความสัมพันธ์ระหว่างอัตราการตายของไรแดงและความเข้มข้นของน้ำชะถุงมือพลาสติก PE 3 ยี่ห้อ ที่ 24 ชั่วโมง

หมายเหตุ : H, I และ J แทนยี่ห้อของถุงมือพลาสติก (PE)



ภาพที่ 3-18 ความสัมพันธ์ระหว่างอัตราการตายของไรแดงและความเข้มข้นของน้ำชะถุงมือพลาสติก PE 3 ยี่ห้อ ที่ 48 ชั่วโมง

หมายเหตุ : H, I และ J แทนยี่ห้อของถุงมือพลาสติก (PE)

อย่างไรก็ตามเนื่องจากอัตราการตายของไรแดงในน้ำชะถุงมือแต่ละยี่ห้อมีความแตกต่างกัน แม้จะเป็นน้ำชะถุงมือชนิดเดียวกัน ถ้าลดความเข้มข้นลง ความเป็นพิษก็จะน้อยลง ในการตรวจคัดกรองจึงต้องหาความเข้มข้นที่เหมาะสมที่ให้ผลสอดคล้องกันระหว่างความเข้มข้นของสารเคมี ที่ได้จากการวิเคราะห์ทางเคมีและอัตราการตายของไรแดงที่ได้จากการทดสอบนี้ อย่างไรก็ตามอัตราการตายของไรแดงที่ 48 ชั่วโมง มีมากกว่าร้อยละ 10 ถือว่าไม่เหมาะสมที่จะนำมาใช้ตรวจคัดกรองสาร (OECD, 2004)

3.8 การพัฒนาวิธีการตรวจคัดกรองถุงมือที่ใช้สัมผัสอาหารด้วยไรแดง

เมื่อนำอัตราการตายของไรแดงที่ระดับความเข้มข้นต่างๆของน้ำชะถุงมือยางธรรมชาติ ที่ 24 ชั่วโมง มาเปรียบเทียบกับความเข้มข้นของ DEHP ที่ได้จากการวิเคราะห์ทางเคมี โดยกำหนดให้การทดลองด้วยไรแดงมีผลบวกเมื่ออัตราการตายของไรแดงมีการตายตั้งแต่ร้อยละ 50 ขึ้นไปและให้ผลลบ เมื่ออัตราการตายของไรแดงมีการตายต่ำกว่าร้อยละ 50 และการวิเคราะห์ทางเคมีให้ผลบวกเมื่อปริมาณสาร DEHP ที่เคลื่อนย้ายออกมาจากถุงมือมีค่าเกินปริมาณสูงสุดที่ยอมให้ DEHP ถูกชะออกมาจากถุง มือได้ (0.006 ไมโครกรัมต่อตารางเซนติเมตร) และให้ผลลบเมื่อปริมาณสาร DEHP ที่เคลื่อนย้าย ออกมาจากถุงมือมีค่าไม่เกิน 0.006 ไมโครกรัมต่อตารางเซนติเมตร พบว่าที่ความเข้มข้น ร้อยละ 50 ของน้ำชะถุงมือยางธรรมชาติชนิดต่างๆ ให้ผลสอดคล้องกัน มากที่สุด ระหว่างผลการวิเคราะห์ทางเคมีและผลการทดสอบกับไรแดง (ตารางที่ 3-5)

ตารางที่ 3-5 ผลการตรวจคัดกรองตัวอย่างน้ำชะถุงมือยางธรรมชาติที่ใช้สัมผัสอาหารที่ความเข้มข้นร้อยละ 50

ชนิดของถุงมือ	ปริมาณ DEHP ที่เคลื่อนย้ายออกมาต่อพื้นที่ผิวสัมผัส ($\mu g/cm^2$)	อัตราการตายของไรแดง (%)
ถุงมือยางธรรมชาติแบบหนาชนิดไม่มีแป้งยี่ห้อ A	0.032 ± 0.002 (+)	91.0 ± 4.59 (+)
ถุงมือยางธรรมชาติแบบหนาชนิดไม่มีแป้งยี่ห้อ B	0.021 ± 0.001 (+)	80.5 ± 3.69 (+)
ถุงมือยางธรรมชาติแบบหนาชนิดไม่มีแป้งยี่ห้อ C	0.017 ± 0.002 (+)	77.0 ± 4.83 (+)
ถุงมือยางธรรมชาติแบบบางชนิดไม่มีแป้งยี่ห้อ D	0.010 ± 0.001 (+)	52.0 ± 4.83 (+)
ถุงมือยางธรรมชาติแบบบางชนิดมีแป้งยี่ห้อ E	0.022 ± 0.001 (+)	83.5 ± 4.74 (+)
ถุงมือยางธรรมชาติแบบบางชนิดมีแป้งยี่ห้อ F	0.015 ± 0.003 (+)	67.5 ± 3.54 (+)
ถุงมือยางธรรมชาติแบบบางชนิดมีแป้งยี่ห้อ G	0.008 ± 0.002 (+)	56.5 ± 3.37 (+)

3.8.1 ผลการคำนวณประสิทธิภาพของวิธีการตรวจคัดกรองตัวอย่างถุงมือยางธรรมชาติที่ใช้สัมผัสอาหาร

		Expected (Gold Standard)		
		+	-	Total
Observed (Test)	+	(a) 7	(b) 0	7
	-	(c) 0	(d) 0	0
Total		7	0	7

ความไว (sensitivity) = a/a+c

= 7/7

= 1

ความจำเพาะ (specificity) = d/b+d

= 0

เมื่อนำผลการทดสอบน้ำชะถุงมือยางธรรมชาติแบบหนาชนิดไม่มีแป้ง ถุงมือยางธรรมชาติแบบบางชนิดมีแป้ง และถุงมือยางธรรมชาติแบบบางชนิดไม่มีแป้ง ที่ความเข้มข้นร้อยละ 50 มาหาค่าความไวจะได้เท่ากับ 1 ทุกตัวอย่างเพราะในตัวอย่างน้ำชะถุงมือมีปริมาณสาร DEHP ที่เคลื่อนย้ายออกมาต่อพื้นที่ผิวสัมผัสของถุงมือ เกินปริมาณสูงสุดที่ยอมให้เคลื่อนย้ายออกมาต่อวันและมีอัตราการตายของไรแดง มากกว่า ร้อยละ 50 ทุกตัวอย่าง ค่าความไวสูง สุด (=1) นี้บ่งชี้ว่าไรแดงมีประสิทธิภาพในการตรวจพบสารพิษที่เคลื่อนย้ายออกมาจากถุงมือได้ดี ส่วนค่าความจำเพาะมีค่าเท่ากับ 0 ที่ความเข้มข้นนี้หรือหาไม่ได้เนื่องจากไม่มีตัวอย่างใดที่ให้ผลลบเลยทั้งการวิเคราะห์ทางเคมีและการทดสอบด้วยไรแดง (ไพบูลย์ โล่ห์สุนทร, 2540)

เมื่อนำอัตราการตายของไรแดงที่ระดับความเข้มข้นต่างๆของน้ำชะถุงมือพลาสติกมาเปรียบเทียบกับความเข้มข้นของ DEHP ที่ได้จากการวิเคราะห์ทางเคมี โดยกำหนดให้การทดลองด้วยไรแดงมีผลบวกเมื่ออัตราการตายของไรแดง มากกว่าร้อยละ 50 ขึ้นไป ให้ผลลบเมื่ออัตราการตายของไรแดงมีการต ายต่ำกว่า ร้อยละ 50 และการวิเคราะห์ทางเคมีให้ผลบวกเมื่อปริมาณสาร DEHP ที่ถูกชะออกมาจากถุงมือมีค่าเกินปริมาณสูงสุดที่ยอมให้ DEHP เคลื่อนย้ายออกมาจากถุงมือได้ (0.006 ไมโครกรัมต่อตารางเซนติเมตร) และให้ผลลบเมื่อปริมาณสาร DEHP ที่ถูกชะออกมาจากถุงมือมีค่าต่ำกว่า 0.006 ไมโครกรัมต่อตารางเซนติเมตร พบว่าที่ความเข้มข้นร้อยละ 100 ของน้ำชะถุงมือพลาสติกให้ผลสอดคล้องกันมากที่สุดระหว่างผลการวิเคราะห์ทางเคมีและผลการทดสอบกับไรแดง (ตารางที่ 3-6)

ตารางที่ 3-6 ผลการตรวจคัดกรองตัวอย่างน้ำชะของถุงมือพลาสติก PE

ชนิดของถุงมือ	**ปริมาณของ DEHP ที่เคลื่อนย้ายออกมาต่อพื้นที่ผิวสัมผัส ($\mu g/cm^2$)**	**อัตราการตายของไรแดง (%)**
ถุงมือพลาสติก (PE) ยี่ห้อ H	0.013 ± 0.004*(+)	56.0 ± 6.58* (+)
ถุงมือพลาสติก (PE) ยี่ห้อ I	0.004 ± 0.001* (-)	18.0 ± 2.58* (-)
ถุงมือพลาสติก (PE) ยี่ห้อ J	0.002 ± 0.001* (-)	14.0 ± 3.94* (-)

* (Mean±SD)

3.8.2 ผลการ คำนวณ ประสิทธิภาพของวิธีการตรวจคัดกรองตัวอย่างถุงมือพลาสติกที่ใช้สัมผัสอาหาร

		Expected (Gold Standard) +	-	Total
Observed (Test)	+	(a) 1	(b) 0	1
	-	(c) 0	(d) 2	2
Total		1	2	3

ความไว (sensitivity) = a/a+c

= 1/1

= 1

ความจำเพาะ (specificity) = d/b+d

= 2/2

= 1

จากผลการทดลองจะเห็นได้ว่าค่าความไว (sensitivity) และความจำเพาะ (specificity) ของวิธีการตรวจคัดกรองน้ำชะถุงมือพลาสติก PE ที่ใช้สัมผัสอาหารด้วยไรแดงต่างมีค่าเท่ากับ 1 เพราะมีหนึ่งตัวอย่างของน้ำชะถุงมือพลาสติก PE ที่มีปริมาณสาร DEHP ที่ถูกชะออกมาต่อพื้นที่ผิวสัมผัสของถุงมือเกินปริมาณสูงสุดที่ยอมให้ถูกชะออกมาต่อวันและมีอัตราการตายของไรแดงมากกว่าร้อยละ 50 ส่วนค่าความจำเพาะมีค่าเท่ากับ 1 เช่นเดียวกันเพราะมีตัวอย่างน้ำชะถุงมือพลาสติก PE สองยี่ห้อที่มี DEHP เคลื่อนย้ายออกมาต่ำกว่าปริมาณของ สารสูงสุดที่ยอมให้ออกมาต่อวันและมีอัตราการตายของไรแดงไม่เกินร้อยละ 50 แสดงว่าไรแดงสามารถคัดกรองตัวอย่างน้ำชะถุงมือพลาสติก PE ที่มีค่าไม่เกินปริมาณของสารสูงสุดที่ยอมให้ถูกชะออกมาต่อวันได้ (ไพบูลย์ โล่ห์สุนทร, 2540)

ดังนั้นจึงสามารถสรุปสภาวะที่เหมาะสมที่ใช้ในวิธีการตรวจคัดกรองตัวอย่างถุงมือที่ใช้สัมผัสอาหาร ดังตารางที่ 3-7

ตารางที่ 3-7 สภาวะที่เหมาะสมสำหรับวิธีการตรวจคัดกรองตัวอย่างถุงมือที่ใช้สัมผัสอาหาร

1. อัตราการตายของไรแดง	ความเข้มข้น ร้อยละ 50 ของความเข้มข้นเดิมของ น้ำชะถุงมือ ยางธรรมชาติ ความเข้มข้น ร้อยละ 100 ของความเข้มข้นเดิมของน้ำชะถุงมือพลาสติก
2. อายุของไรแดง	24 ชั่วโมง
3. จำนวนซ้ำต่อตัวอย่าง	10 ซ้ำ
4. ระยะเวลาในการทดสอบ	24 ชั่วโมง
5. อุณหภูมิ	อุณหภูมิห้อง
6. เกณฑ์ในการตัดสิน	ผลบวก เมื่ออัตราการตายของไรแดงมีการตายตั้งแต่ร้อยละ 50 ขึ้นไป ผลลบ เมื่ออัตราการตายของไรแดงมีการตายต่ำกว่าร้อยละ 50
7. กลุ่มควบคุม	อัตราการตายของไรแดงไม่เกินร้อยละ 10

จากตารางที่ 3-7 อัตราการตายของไรแดง ที่ความเข้มข้น ร้อยละ 50 ของความเข้มข้นเดิมของน้ำชะถุงมือยางธรรมชาติและที่ความเข้มข้น ร้อยละ 100 ของความเข้มข้นเดิมของน้ำชะถุงมือพลาสติกเนื่องจากน้ำชะถุงมือยางธรรมชาติให้อัตราการตายของไรแดงสูงกว่าน้ำชะถุงมือพลาสติก อายุของไรแดงกำหนดไว้ที่ 24 ชั่วโมงเพราะไรแดงจะโตเต็มวัย (ลัดดา วงศ์รัตน์, 2541) ใช้จำนวนซ้ำต่อตัวอย่าง 10 ซ้ำเพราะถ้ามีไรแดงตาย 1-2 ตัว อัตราการตายของไรแดงต้องไม่เกินร้อยละ 10 ในกลุ่มควบคุม (OECD, 2004) ระยะเวลาที่ใช้ในการทดสอบ 24 ชั่วโมง เพราะที่ 48 ชั่วโมงอัตราการตายของไรแดงเกินร้อยละ 10 ในกลุ่มควบคุม อุณหภูมิที่ใช้คืออุณหภูมิห้องหรือ 25 องศาเซลเซียส (ธิดา เพชรมณีและคณะ, 2536) เกณฑ์ในการตัดสินเป็นผลบวกเมื่ออัตราการตายของไรแดงมีการตายตั้งแต่ร้อยละ 50 ขึ้นไปและเป็นผลลบเมื่ออัตราการตายของไรแดงมีการตายต่ำกว่าร้อยละ 50 โดยที่อัตราการตายของไรแดงในกลุ่มควบคุมต้องไม่เกินร้อยละ 10 จากผลการทดลองดังก ล่าวจะเป็นประโยชน์ในการนำไปใช้เพื่อต่อยอดในงานวิจัยอื่นต่อไป

บทที่ 4
สรุปผลการวิจัยและข้อเสนอแนะ

4.1 สรุปผลการวิจัย

4.1.1 ความเข้มข้นของสารเคมีที่ทำให้เกิดอัตราการตายของไรแดงร้อยละ 50 (LC_{50})

สารละลายผสมของสาร DEHP, TMTD และ ZDMC มีความเป็นพิษต่อไรแดงสูงที่สุด รองลงมาคือ DEHP + TMTD, DEHP + ZDMC, DEHP, TMTD + ZDMC, TMTD และ ZDMC ตามลำดับ โดยมีค่า LC_{50} เท่ากับ 1.32, 1.85, 2.83, 4.41, 7.26, 9.52 และ 13.85 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร ตามลำดับ จะเห็นได้ว่า สารละลายผสม มีผลทำให้อัตราการตายของไรแดงสูงกว่าผลของสารละลายเดี่ยว DEHP, TMTD และ ZDMC บ่งชี้ว่ามีการเสริมฤทธิ์กันของสารแบบ synergism ซึ่งเป็นการเสริมฤทธิ์ต่อกันของสารเคมีมากกว่า 1 ชนิด ทำให้ฤทธิ์ที่ได้มีค่ามากกว่าผลรวมของฤทธิ์ของสารแต่ละชนิด

4.1.2 ปริมาณการเคลื่อนย้ายมาสู่น้ำของสาร DEHP และ TMTD ต่อพื้นที่ผิวสัมผัสของถุงมือ

พบว่าสาร DEHP ที่เคลื่อนย้าย ออกมาจากถุงมือยางธรรมชาติ แบบหนาชนิด ไม่มีแป้งมากกว่า ถุงมือที่ใช้สัมผัสอาหารชนิดอื่นๆอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p<0.05$) ปริมาณ TMTD เคลื่อนย้ายออกมาจากถุงมือยางธรรมชาติแบบบางชนิดมี แป้งสูงกว่าจากถุงมือยางธรรมชาติชนิดอื่นๆอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p<0.05$) ปริมาณ TMTD ที่เคลื่อนย้ายออกมาจากถุงมือยางทุกชนิดมีค่าไม่เกินปริมาณสูงสุดที่ยอมให้ถูกชะออกมาจากถุงมือได้ (1.44 ไมโครกรัมต่อตารางเซนติเมตร)

ปริมาณของสาร DEHP ที่เคลื่อนย้าย ออกมาจากถุงมือ ยางธรรมชาติทุกชนิด มีค่าเกินปริมาณสูงสุดที่ยอม ให้เคลื่อนย้าย ออกมาจากถุง มือได้ (0.006 ไมโครกรัมต่อตารางเซนติเมตร) อย่างไรก็ตามปริมาณของสาร DEHP ที่เคลื่อนย้ายออกมาจากถุงมือพลาสติก 2 ใน 3 ยี่ห้อ J มีค่าต่ำกว่าปริมาณสูงสุดที่ยอมให้ DEHP เคลื่อนย้ายออกมาจากถุงมือได้

4.1.3 การทดสอบความเป็นพิษของน้ำชะถุงมือที่ใช้สัมผัสอาหารด้วยไรแดง

น้ำชะถุงมือที่ใช้สัมผัสอาหารชนิดเดียวกันแต่ต่างยี่ห้อกันทำให้เกิดความเป็นพิษต่อไรแดงต่างกัน

4.1.4 การพัฒนาวิธีการตรวจคัดกรองถุงมือที่ใช้สัมผัสอาหารด้วยไรแดง

เมื่อนำอัตราการตายของไรแดงที่ระดับความเข้มข้นต่างๆของน้ำชะถุงมือยางธรรมชาติและถุงมือพลาสติก มาคำนวณหาค่า ความไว (sensitivity) และความจำเพาะ (specificity) ของวิธีการตรวจคัดกรองพบว่ามีค่าความไวเท่ากับ 1.0 และมีค่าความจำเพาะ เท่ากับ 1.0 แสดงว่าการตรวจคัดกรองสารเคมีด้วยไรแดงมีประสิทธิภาพดีมีความน่าเชื่อถือสามารถนำไปใช้ได้

ความเข้มข้นของน้ำชะถุงมือที่เหมาะสมของถุงมือยางธรรมชาติอยู่ที่ร้อยละ 50 และถุงมือพลาสติกอยู่ที่ร้อยละ 100 อายุของไรแดงที่เหมาะสมที่ใช้ในการทดสอบที่ 24 ชั่วโมง จำนวนซ้ำ ต่อตัวอย่าง 10 ซ้ำ ระยะเวลาที่ใช้ในการทดสอบ 24 ชั่วโมง อุณหภูมิที่ใช้คืออุณหภูมิห้องหรือ 25 องศาเซลเซียส เกณฑ์ในการตัดสินเป็นผลบวกเมื่ออัตราการตายของไรแดงมีการตายตั้งแต่ร้อยละ 50 ขึ้นไปและเป็นผลลบเมื่ออัตราการตายของไรแดงมีการตายต่ำกว่าร้อยละ 50 โดยที่อัตราการตายของไรแดงในกลุ่มควบคุมต้องไม่เกินร้อยละ 10

4.2 ข้อเสนอแนะ

4.2.1 ข้อเสนอแนะสำหรับการวิจัยต่อไป

จากงานวิจัยนี้แสดงให้เห็นว่าไรแดงมีความเหมาะสมที่จะประยุกต์ใช้ในการตรวจคัดกรองความเป็นพิษของถุงมือที่ใช้สัมผัสอาหาร และเนื่องจากไรแดงสามารถเพาะเลี้ยงได้ง่ายในห้องปฏิบัติการ มีช่วงอายุที่สั้น และมีความไวต่อสารพิษสูง จึงมีความเป็นไปได้มากที่จะ นำไรแดงไปตรวจคัดกรองความเป็นพิษของผลิตภัณฑ์อื่นๆที่ใช้สัมผัสอาหารได้ เช่น ถุงพลาสติกชนิด บรรจุของเย็นและถุงพลาสติกชนิดบรรจุของร้อน และถ้วยโฟม เป็นต้น

4.2.2 ข้อเสนอแนะสำหรับหน่วยงานที่เกี่ยวข้องและผู้บริโภค

- สำหรับหน่วยงานภาครัฐที่เกี่ยวข้องควรมีข้อกำหนดปริมาณ di(2-ethylhexy)phthalate (DEHP) และtetramethylthiuram disulfide (TMTD) ที่ยินยอมให้เคลื่อนย้ายออกมาจากถุงมือที่ใช้สัมผัสอาหารเพื่อความปลอดภัยสำหรับผู้บริโภค
- สำหรับโรงงานอุตสาหกรรม สามารถนำไรแดงมาใช้ในการสุ่มตรวจความเป็นพิษเบื้องต้นของตัวอย่างจากการผลิตแต่ละครั้งได้

เอกสารอ้างอิง

กรมควบคุมมลพิษ. 2551. TMTD (ออนไลน์). สืบค้นจาก:
http://msds.pcd.go.th/searchName.asp?vID=796 (12 กุมภาพันธ์ 2553)

ธนาภรณ์ จิตตปาล พงศ์. 2526. พิษเฉียบพลันของผงซักฟอกที่มีต่อไรแดง (*Moina macrocopa* Straus.). วิทยานิพนธ์วิทยาศาสตรมหาบัณฑิต คณะวิทยาศาสตร์ มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์.

ธิดา เพชรมณี, มาวิทย์ อัศวจารีย์ และ สุจินต์ บุญช่วย. 2536. ความเป็นไปได้ในการเพาะเลี้ยงไรแดงด้วย *Chlorella* ภาคใต้. สถาบันพัฒนาการเพาะเลี้ยงสัตว์น้ำชายฝั่ง จ.สงขลา.

แน่งน้อย ศรีสุวรรณ. 2539. การบำบัดน้ำเสียจากโรงงานถุงมือยางโดยวิธีการลอยตะกอน. วิทยานิพนธ์วิทยาศาสตรมหาบัณฑิต คณะการจัดการสิ่งแวดล้อม มหาวิทยาลัยสงขลานครินทร์.

บรรจง วิทยวีรศักดิ์, จันทิภา ปุรินทราภิบาล, กัญญารัตน์ หลงเศษ และ ซูไฮณีย์ อิงดิง. 2553. การตรวจสอบหาสารกลายพันธุ์ในน้ำทิ้งและในบรรยากาศการทำงานภายในโรงงานผลิตถุงมือยางในจังหวัดสงขลา. การประชุมวิชาการยางพาราแห่งชาติครั้งที่ 2 วันที่ 6-7 พฤษภาคม 2553. กรุงเทพมหานคร. หน้า 191-200.

พงษ์ธร แซ่อุย และชาคริต สิริสิงห์. 2550. ยาง: กระบวนการผลิตและการทดสอบ. พิมพ์ครั้งที่ 1 กรุงเทพมหานคร: ศูนย์เทคโนโลยีโลหะและวัสดุแห่งชาติ.

ไพบูลย์ โล่สุนทร. 2540. ระบาดวิทยา. ภาควิชาเวชศาสตร์ป้องกัน คณะแพทยศาสตร์ จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย.

ภมรรัตน์ เกื้อเส้ง. 2549. การวิเคราะห์สารธาเลตและอดิเพตเอสเทอร์ปริมาณน้อยที่ปนเปื้อนในอาหารบรรจุภัณฑ์. วิทยานิพนธ์วิทยาศาสตร์ดุษฎีบัณฑิต สาขาเคมีวิเคราะห์ มหาวิทยาลัยสงขลานครินทร์

แม้น อมรสิทธ์ และ อมร เพชรสม. 2534. หลักการและเทคนิคการวิเคราะห์เชิงเครื่องมือ . พิมพ์ครั้งที่ 1. กรุงเทพมหานคร: โรงพิมพ์ชวนพิมพ์.

ลัดดา วงศ์รัตน์ . 2541. คู่มือการเลี้ยงแพลงก์ตอน . พิมพ์ครั้งที่ 3. กรุงเทพมาหานคร : มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์.

วารุณี ฉัตรเท. 2547. การทดสอบความเป็นพิษของสีย้อมโดยใช้สาหร่าย และไรแดง . วิทยานิพนธ์วิทยาศาสตรมหาบัณฑิต สาขาวิชาเทคโนโลยีสิ่งแวดล้อม คณะพลังงานและวัสดุ มหาวิทยาเทคโนโลยีพระจอมเกล้าธนบุรี.

ศูนย์เครื่องมือวิทยาศาสตร์มหาวิทยาลัยสงขลานครินทร์. 2006. หลักการทำงานของเครื่องโครมาโทกราฟฟีของเหลวสมรรถนะสูง. (ออนไลน์). สืบค้นจาก: http://www.sec.psu.ac.th/web-board/content/view_img.php?id=699 (2 มีนาคม 2555)

ศูนย์วิจัยและพัฒนาประมงน้ำจืดพะเยา. 2552. การเพาะเลี้ยงไรแดง. (ออนไลน์) สืบค้นจาก: http://www.fisheries.go.th/ifphayao/web2 / index.php?option=com_content&view=article&id=28&Itemid=38 (2 พฤศจิกายน 2554)

สมคิด ปราบภัย . 2545. การใช้ไรแดง (*Moina macrocopa* Straus.) ประเมินความเป็นพิษของตะกอนท้องน้ำ . วิทยานิพนธ์ปริญญาสาธารณสุขศาสตร์มหาบัณฑิต สาขาวิชาอนามัย บัณฑิตวิทยาลัย มหาวิทยาลัยขอนแก่น.

สถาบันพัฒนาการศึกษานอกระบบและการศึกษาตามอัธยาศัยภาคใต้. 2550. สารเคมีสำหรับผลิตภัณฑ์จากน้ำยาง. (ออนไลน์) สืบค้นจาก: http://south.nfe.go.th/elearning/courses/8/02paraproduc001.htm (26 พฤษภาคม 2553)

สันทนา ดวงสวัสดิ์. 2529. ชีวประวัติและการเพาะเลี้ยงไรแดง . เอกสารเผยแพร่ฉบับที่ 3. สถาบันประมงน้ำจืดแห่งชาติ กรมประมง.

อรุณศักดิ์ โสภณธรรมภา . 2550. พลาสติไซเซอร์ (Plasticizers): การปนเปื้อนจากบรรจุภัณฑ์สู่อาหาร (ออนไลน์) สืบค้นจาก : http://www.etm.sc.mahidol.ac.th/a1.html (2 สิงหาคม 2553)

อาสาฬห์ ภิรมรศ. 2550. รายงานการฝึกงานที่บริษัทสยามเซมเพอร์เมดจำกัด . สาขาเทคโนโลยีการจัดการอุตสาหกรรม มหาวิทยาลัยสงขลานครินทร์.

APHA, AWWA and WEF. 2005. Standard Methods for the Examination of Water and Wastewater. 21th edition. Washington DC: American Public Health Association.

Bergendorff, O., Persson, C., Ludtke, A., *et al*., 2007. Chemical changes in rubber allergens during vulcanization. Contact Dermatitis 57: 152-157.

Chem specialty chemicals. 2011. Material safety data sheet. (online) Available from: http://www.google.co.th/url?sa=t&rct=j&q=daphnia+magna+%2BTMTD+LC50 (2012 May 20)

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

Digangi, J., Schettler, T. and Rossi, M. 2002. Aggregate exposures to phthalates in humans. Health Care Without Harm. (online) Available from: http://www.ecocenter.org/dust/Phthalate_hcwh.pdf (2010 May 26)

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

Euton, D.L. and Klaassen, C.D., 2001. Principles of toxicology. In: Klaassen, C.D. (Ed.) Casarett & Doull's. Toxicology: The Basic Science of Poison. 6th edition. NewYork: McGraw-Hill.

FDA. 2005. Validation and verification Guidance for human drug analytical Method. ORA laboratory procedure: Document No. ORA-LAB.5.4.5. Food and drug administration.

Hellawell, J.M. 1989. Biological Indicators of Freshwater Pollution and Environmental Management. New York: Elsevier.

Kim, V. 1998. Probit Analysis. Cambridge: Cambridge University Press.

Korte, K., Alanko, K., Eckerman, H., Estlander, T., and Jolamki, R. 2003. Allergic contact dermatitis from bisphenol A in PVC glove. Allergy Hospital 49: 202-205.

Kueseng, P., Thavarungkul P., Kanatharana P. 2005. Analysis of food contaminant (phthalate and adipate esters) in packaged food by gas chromatography with flame Ionization detection. Available from: http://www.scisoc.or.th/stt/31/sec_c/paper/stt31_C0153.pdf (2010 Oct 16).

Lithner, D., Damberg, J., Dave, G. and Larsson K. 2008. Leachates from plastic consumer products – Screening for toxicity with *Daphnia magna*. Journal of Chemosphere 74: 1195–1200.

Loong, T.W. 2003. Understanding sensitivity and specificity with the right side of the brain. British Medical Journal 327: 716–9.

Martimez, J.F. and Gutierrez, V.A. 1991. Fecundity, reproduction, and growth of *Moina macrocopa* fed different algae. Hydrobiologia 222(1): 49-55.

Park, J.D., Habeebu, S.S.M. and Klaaseen, C.D. 2002. Testicular toxicity of di-(ethyhexyl) phthalate in young Sprague-Dawley rat. Toxicology 171: 105-115.

Organization for Economic Co-operation and Development. 2004. OECD guideline for testing of chemicals: *Daphnia* sp., acute immobilisation test. Available from: http://www.oecd-ilibrary.org/environment/oecd-guidelines-for-the-testing-of-chemicals-section-2-effects-on-biotic-systems_20745761 (2012 July 12)

Seudel, B.C., Deaver, E., and Rodgers, J.H.,Jr. 1996. Experimental factors that may affect toxicity of aqueous and sediment bound copper to freshwater organisims. Archive of Environmental Contamination and Toxicology 30(1): 40-46.

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

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

Tinkler, J., Gott, D. and Bootman, J. 1998. Risk assessment of dithiocarbamate accelerator residues in latex-base medical devices: genotoxicity consideration. Food and Chemical Toxicology 36: 849-856.

The Commission of the European Communities. 2007. Commission Regulation (EC) No. 372/2007 of 2 April 2007. Brussels: EU.

Tsumara Y., Ishimitsu S., Saito I., Kaihara A., Yoshii K., Nakamura Y., and Tonogai Y. 2000. Di(2-ethylhexyl)phthalate contamination of retail packed lunches caused by PVC gloves used in the preparation of foods. National Institute of Health Sciences 18: 569-579.

USEPA. 1989. Evaluation of sample extract cleanup using solid-phase extraction cartridges. Project report. United State Environmental Protection Agency.

USEPA. 1996. Draft for Public Health Goal for Di-(2-ethylhexyl) phthalate (DEHP) in Drinking Water. Pesticide and Environmental Toxicology Section. Office of Environmental Toxicology Section. Office of Environmental Health Hazard Assessment. California Environmental Protection Agency.

Wong, P.T. and Dixon, D.G. 1995. Bioassesment of water quality. Environmental Toxicology and Water Quality 10: 9-17.

ภาคผนวก ก

ตารางแสดงอัตราการตายของไรแดงในการทดสอบความเป็นพิษของน้ำชะถุงมือที่ใช้สัมผัสอาหาร

ตารางที่ ก-1 อัตราการตายของไรแดงที่ความเข้มข้นต่างๆของน้ำชะถุงมือยางธรรมชาติแบบหนาชนิดไม่มีแป้งยี่ห้อ A

ความเข้มข้นน้ำชะถุงมือ / ชนิดถุงมือ		1 เท่า(ตัว)		0.5 เท่า(ตัว)		0.25 เท่า(ตัว)		0.125 เท่า(ตัว)		0.0625 เท่า(ตัว)		Control	
		24 h	48 h	24 h	48 h	24 h	48 h	24 h	48 h	24 h	48 h	24 h	48 h
(A)	1	18	20	16	20	14	20	14	20	11	17	0	2
	2	18	20	17	20	16	20	13	18	14	19	1	3
	3	17	20	15	20	15	20	14	20	12	17	0	3
	4	18	20	17	20	14	20	12	18	13	18	0	2
	5	17	20	18	20	17	20	15	19	12	18	1	2
	6	19	20	16	20	15	20	15	18	14	16	1	2
	7	19	20	17	20	17	20	13	17	10	16	1	3
	8	18	20	17	20	14	20	13	17	12	18	1	2
	9	20	20	16	20	15	20	14	20	11	19	0	2
	10	18	20	16	20	14	20	14	19	10	15	1	2
ค่าเฉลี่ย		18.2	20	16.5	20	15.1	20	13.7	18.6	11.9	17.3	0.6	2.3
ค่า SD		0.92	0	0.85	0	1.20	0	0.95	1.17	1.60	1.33	0.52	0.48
% การตายของไรแดง		91	100	82.5	100	75.5	100	68.5	93	59.5	86.5	3	11.5

ตารางที่ ก-2 อัตราการตายของไรแดงที่ความเข้มข้นต่างๆของน้ำชะถุงมือยางธรรมชาติแบบหนาชนิดไม่มีแป้งยี่ห้อ B

ความเข้มข้นน้ำชะถุงมือ / ชนิดถุงมือ		1 เท่า(ตัว)		0.5 เท่า(ตัว)		0.25 เท่า(ตัว)		0.125 เท่า(ตัว)		0.0625 เท่า(ตัว)		Control	
		24 h	48 h	24 h	48 h	24 h	48 h	24 h	48 h	24 h	48 h	24 h	48 h
(B)	1	16	20	15	18	12	16	11	17	9	16	1	3
	2	15	20	14	20	11	18	12	15	10	14	1	2
	3	16	20	15	19	14	18	11	16	11	14	0	3
	4	15	20	14	19	15	17	12	16	11	14	0	2
	5	17	20	14	18	12	17	13	17	10	15	1	2
	6	16	20	15	17	13	17	11	15	9	16	1	3
	7	17	20	15	18	14	18	13	17	10	14	0	2
	8	16	20	15	20	12	19	11	16	9	15	0	3
	9	17	20	14	18	13	17	12	16	10	14	0	2
	10	16	20	14	19	13	19	12	18	8	14	1	2
ค่าเฉลี่ย		16.1	20	14.5	18.6	12.9	17.6	11.8	16.3	9.7	14.6	0.5	2.4
ค่า SD		0.74	0	0.53	0.97	1.20	0.97	0.79	0.95	0.95	0.84	0.53	0.53
% การตายของไรแดง		80.5	100	72.5	93	64.5	88	59	81.5	48.5	73	2.5	12

ตารางที่ ก-3 อัตราการตายของไรแดงที่ความเข้มข้นต่างๆของน้ำชะถุงมือยางธรรมชาติแบบหนาชนิดไม่มีแป้งยี่ห้อ C

ความเข้มข้นน้ำชะถุงมือ / ชนิดถุงมือ		1 เท่า(ตัว)		0.5 เท่า(ตัว)		0.25 เท่า(ตัว)		0.125 เท่า(ตัว)		0.0625 เท่า(ตัว)		Control	
		24 h	48 h	24 h	48 h	24 h	48 h	24 h	48 h	24 h	48 h	24 h	48 h
(C)	1	16	20	13	19	10	15	12	15	9	14	0	2
	2	16	20	14	20	13	16	10	16	8	13	0	2
	3	14	20	13	19	11	15	11	15	7	12	1	2
	4	15	20	12	18	12	16	11	14	6	13	0	2
	5	16	20	14	17	13	17	10	16	8	14	1	3
	6	15	20	15	17	14	18	11	17	7	14	1	3
	7	14	20	15	18	14	18	9	16	7	13	0	2
	8	15	20	14	19	12	17	11	16	8	14	0	2
	9	16	20	13	20	10	17	10	17	6	15	1	2
	10	17	20	13	19	11	16	12	14	7	13	0	3
ค่าเฉลี่ย		15.4	20	13.6	18.6	12	16.5	10.7	15.6	7.3	13.5	0.4	2.3
ค่า SD		0.97	0	0.97	1.07	1.49	1.08	0.94	1.07	0.95	0.85	0.52	0.48
% การตายของไรแดง		77	100	68	93	60	82.5	53.5	78	36.5	67.5	2	11.5

ตารางที่ ก-4 อัตราการตายของไรแดงที่ความเข้มข้นต่างๆของน้ำชะถุงมือยางธรรมชาติแบบบางชนิดไม่มีแป้งยี่ห้อ D

ความเข้มข้นน้ำชะถุงมือ / ชนิดถุงมือ		1 เท่า(ตัว)		0.5 เท่า(ตัว)		0.25 เท่า(ตัว)		0.125 เท่า(ตัว)		0.0625 เท่า(ตัว)		Control	
		24 h	48 h	24 h	48 h	24 h	48 h	24 h	48 h	24 h	48 h	24 h	48 h
(D)	1	10	14	4	13	3	12	2	11	0	11	1	1
	2	11	16	5	14	5	14	4	12	1	11	0	3
	3	10	17	7	16	5	15	3	14	2	12	0	3
	4	9	14	6	14	4	13	3	13	0	12	0	2
	5	12	15	7	14	6	14	5	13	3	12	1	3
	6	11	16	5	15	3	13	3	12	2	10	0	2
	7	11	15	6	13	4	13	4	11	1	11	0	1
	8	10	16	5	14	3	13	2	12	3	10	0	2
	9	9	17	4	15	3	14	2	14	0	13	1	3
	10	11	14	6	14	4	14	3	14	1	13	1	2
ค่าเฉลี่ย		10.4	15.4	5.5	14.2	4	13.5	3.1	12.6	1.3	11.5	0.4	2.2
ค่า SD		0.97	1.17	1.08	0.92	1.05	0.85	0.99	1.17	1.16	1.08	0.52	0.79
% การตายของไรแดง		52	77	27.5	71	20	67.5	15.5	63	6.5	57.5	2	11

ตารางที่ ก-5 อัตราการตายของไรแดงที่ความเข้มข้นต่างๆของน้ำชะถุงมือยางธรรมชาติแบบบางชนิดมีแป้งยี่ห้อ E

ความเข้มข้นน้ำชะถุงมือ / ชนิดถุงมือ		1 เท่า(ตัว)		0.5 เท่า(ตัว)		0.25 เท่า(ตัว)		0.125 เท่า(ตัว)		0.0625 เท่า(ตัว)		Control	
		24 h	48 h	24 h	48 h	24 h	48 h	24 h	48 h	24 h	48 h	24 h	48 h
(E)	1	17	20	16	19	14	17	11	16	10	15	1	2
	2	15	20	14	19	12	19	11	18	11	15	0	1
	3	16	20	15	19	13	18	12	17	10	17	0	3
	4	16	20	14	19	13	17	12	16	12	16	1	3
	5	17	20	15	19	12	16	11	15	9	15	0	2
	6	18	20	14	19	13	18	12	17	12	15	0	3
	7	18	20	15	19	14	17	13	16	10	15	0	2
	8	17	20	16	18	14	18	13	18	13	16	1	3
	9	16	20	14	19	13	17	12	16	10	17	0	3
	10	17	20	16	19	14	18	13	17	11	16	1	2
ค่าเฉลี่ย		16.7	20	14.9	18.9	13.2	17.5	12	16.6	10.8	15.7	0.4	2.4
ค่า SD		0.95	0	0.74	0.32	0.79	0.85	0.82	0.97	1.22	0.82	0.52	0.70
% การตายของไรแดง		83.5	100	74.5	94.5	66	87.5	60	83	54	78.5	2	12

ตารางที่ ก-6 อัตราการตายของไรแดงที่ความเข้มข้นต่างๆของน้ำชะถุงมือยางธรรมชาติแบบบางชนิดมีแป้งยี่ห้อ F

ความเข้มข้นน้ำชะถุงมือ / ชนิดถุงมือ		1 เท่า(ตัว)		0.5 เท่า(ตัว)		0.25 เท่า(ตัว)		0.125 เท่า(ตัว)		0.0625 เท่า(ตัว)		Control	
		24 h	48 h	24 h	48 h	24 h	48 h	24 h	48 h	24 h	48 h	24 h	48 h
(F)	1	13	20	12	17	10	16	11	14	8	12	0	2
	2	14	20	13	20	9	16	12	15	7	13	0	2
	3	14	20	12	19	10	17	10	13	7	12	0	2
	4	12	20	11	18	10	17	10	14	8	12	1	3
	5	14	20	13	17	11	15	9	14	6	12	1	2
	6	14	20	13	17	12	17	11	13	7	13	1	2
	7	13	20	12	18	11	16	10	14	6	12	0	1
	8	13	20	12	19	11	16	9	14	6	13	1	2
	9	14	20	13	17	12	16	9	15	6	12	0	3
	10	14	20	11	19	10	17	10	14	7	14	1	2
ค่าเฉลี่ย		13.5	20	12.2	18.1	10.6	16.3	8.1	14.0	6.8	12.5	0.5	2.1
ค่า SD		0.71	0	0.79	1.10	0.97	0.67	0.88	0.67	0.79	0.71	0.52	0.57
% การตายของไรแดง		67.5	100	61	90.5	53	81.5	40.5	70	34	62.5	2.5	10.5

ตารางที่ ก-7 อัตราการตายของไรแดงที่ความเข้มข้นต่างๆของน้ำชะถุงมือยางธรรมชาติแบบบางชนิดมีแป้งยี่ห้อ G

ความเข้มข้นน้ำชะถุงมือ / ชนิดถุงมือ		1 เท่า(ตัว)		0.5 เท่า(ตัว)		0.25 เท่า(ตัว)		0.125 เท่า(ตัว)		0.0625 เท่า(ตัว)		Control	
		24 h	48 h	24 h	48 h	24 h	48 h	24 h	48 h	24 h	48 h	24 h	48 h
(G)	1	11	20	11	18	8	18	8	12	5	10	1	3
	2	12	20	12	17	9	17	7	12	6	11	1	2
	3	11	20	10	18	8	16	7	13	7	12	0	1
	4	12	20	10	17	8	15	8	14	5	12	0	2
	5	11	20	9	18	9	16	7	14	6	10	0	2
	6	11	20	11	17	9	17	9	13	7	12	1	3
	7	12	20	10	18	9	14	7	14	6	13	0	2
	8	12	20	9	17	9	18	7	14	5	12	0	1
	9	10	20	9	18	9	15	8	13	5	12	1	3
	10	11	20	10	17	10	14	7	14	6	11	1	2
ค่าเฉลี่ย		11.3	20	10.1	17.5	8.8	16.0	7.5	13.3	5.8	11.5	0.5	2.1
ค่า SD		0.67	0	0.99	0.53	0.63	1.49	0.71	0.82	0.79	0.97	0.52	0.74
% การตายของไรแดง		56.5	100	50.5	87.5	44	80	37.5	66.5	29	57.8	2.5	10.5

ตารางที่ ก-8 อัตราการตายของไรแดงที่ความเข้มข้นต่างๆของน้ำชะถุงมือพลาสติก (PE) ยี่ห้อ H

ความเข้มข้นน้ำชะถุงมือ / ชนิดถุงมือ		1 เท่า(ตัว)		0.5 เท่า(ตัว)		0.25 เท่า(ตัว)		0.125 เท่า(ตัว)		0.0625 เท่า(ตัว)		Control	
		24 h	48 h	24 h	48 h	24 h	48 h	24 h	48 h	24 h	48 h	24 h	48 h
(H)	1	11	17	7	16	6	15	6	14	2	12	1	3
	2	12	18	6	17	5	14	5	13	2	12	1	2
	3	12	17	5	16	3	15	5	14	1	13	0	3
	4	11	18	6	17	5	16	3	14	3	12	0	2
	5	11	19	7	16	4	15	5	14	2	11	1	2
	6	12	19	6	17	4	15	4	14	1	14	0	3
	7	9	18	5	17	4	16	3	13	0	12	1	2
	8	12	17	7	16	5	15	3	12	2	11	1	3
	9	13	18	5	16	4	16	3	14	3	12	1	3
	10	9	17	6	15	4	15	4	12	0	11	0	2
ค่าเฉลี่ย		11.2	17.8	6	16.3	4.4	15.2	4.1	13.4	1.6	12	0.6	2.5
ค่า SD		0.79	0.79	0.82	0.67	0.84	0.63	1.10	0.84	1.07	0.94	0.52	0.53
% การตายของไรแดง		56	89	30	81.5	22	76	20.5	67	8	60	3	12.5

ตารางที่ ก-9 อัตราการตายของไรแดงที่ความเข้มข้นต่างๆของน้ำชะถุงมือพลาสติก (PE) ยี่ห้อ I

ความเข้มข้นน้ำชะถุงมือ / ชนิดถุงมือ		1 เท่า(ตัว)		0.5 เท่า(ตัว)		0.25 เท่า(ตัว)		0.125 เท่า(ตัว)		0.0625 เท่า(ตัว)		Control	
		24 h	48 h	24 h	48 h	24 h	48 h	24 h	48 h	24 h	48 h	24 h	48 h
(I)	1	3	14	3	13	3	12	2	11	0	10	0	2
	2	4	15	4	15	3	15	3	14	2	11	0	1
	3	3	15	3	14	3	13	2	13	3	12	1	3
	4	4	14	4	13	4	12	2	11	0	10	1	3
	5	4	16	3	14	3	13	2	12	1	11	0	1
	6	3	15	2	15	2	14	2	13	0	12	0	1
	7	4	16	3	14	3	14	2	14	2	13	0	2
	8	4	15	3	14	3	13	1	12	3	11	1	3
	9	4	16	4	15	4	14	3	13	2	11	1	3
	10	3	15	3	14	2	14	1	11	0	10	0	2
ค่าเฉลี่ย		3.6	15.1	3.2	14.1	3.0	13.4	2.0	12.4	1.3	11.1	0.4	2.1
ค่า SD		0.52	0.74	0.63	0.74	0.67	0.97	0.67	1.17	0.48	0.99	0.52	0.88
% การตายของไรแดง		18	75.5	16	70.5	15.0	67	10	62	6.5	55.5	2	10.5

ตารางที่ ก-10 อัตราการตายของไรแดงที่ความเข้มข้นต่างๆของน้ำชะถุงมือพลาสติก (PE) ยี่ห้อ J

ความเข้มข้นน้ำชะถุงมือ / ชนิดถุงมือ		1 เท่า(ตัว)		0.5 เท่า(ตัว)		0.25 เท่า(ตัว)		0.125 เท่า(ตัว)		0.0625 เท่า(ตัว)		Control	
		24 h	48 h	24 h	48 h	24 h	48 h	24 h	48 h	24 h	48 h	24 h	48 h
(J)	1	2	10	2	9	2	8	1	7	0	5	0	3
	2	4	11	3	10	2	9	1	8	1	5	0	2
	3	3	10	2	9	2	8	1	7	1	6	0	1
	4	2	10	1	9	1	7	1	6	0	5	0	2
	5	2	11	1	10	1	9	0	6	0	4	0	3
	6	3	10	2	9	2	8	0	7	1	4	1	2
	7	2	11	1	10	0	8	0	7	0	6	0	3
	8	3	10	2	9	1	7	1	6	0	5	1	2
	9	3	11	2	8	1	7	0	6	0	5	1	3
	10	4	10	3	8	1	8	1	6	0	4	0	2
ค่าเฉลี่ย		2.8	10.4	1.9	9.1	1.3	7.9	0.6	6.6	0.3	4.9	0.3	2.3
ค่า SD		0.79	0.52	0.74	0.74	0.67	0.74	0.52	0.70	0.48	0.74	0.48	0.67
% การตายของไรแดง		14	52	9.5	45.5	6.5	39.5	3	33	1.5	24.5	1.5	11.5

ตารางที่ ก-11 อัตราการตายของไรแดงที่ความเข้มข้นต่างๆกับสารมาตรฐาน DEHP + TMTD + ZDMC

ความเข้มข้น / ชนิดของสาร		14.0 ug/ml		12.0 ug/ml		10.0 ug/ml		8.0 ug/ml		6.0 ug/ml		4.0 ug/ml		2.0 ug/ml		1.0 ug/ml		0.5 ug/ml		0.1 ug/ml		0.00 ug/ml	
		24 h (ตัว)	48 h (ตัว)	24 h (ตัว)	48 h (ตัว)	24 h (ตัว)	48 h (ตัว)	24 h (ตัว)	48 h (ตัว)	24 h (ตัว)	48 h (ตัว)	24 h (ตัว)	48 h (ตัว)	24 h (ตัว)	48 h (ตัว)	24 h (ตัว)	48 h (ตัว)	24 h (ตัว)	48 h (ตัว)	24 h (ตัว)	48 h (ตัว)	24 h (ตัว)	48 h (ตัว)
DEHP + TMTD + ZDMC	**1**	20	20	20	20	18	20	14	18	13	16	12	15	10	13	9	11	7	10	5	7	1	3
	2	20	20	20	20	20	20	16	18	15	17	13	16	9	12	7	10	6	11	4	8	0	1
	3	20	20	20	20	18	20	14	16	13	16	11	15	10	12	8	11	7	10	6	9	0	2
	4	20	20	20	20	18	20	16	18	15	18	14	15	9	12	8	12	7	11	6	8	1	3
	5	20	20	20	20	19	20	16	18	14	17	13	15	10	14	9	13	8	12	7	9	0	1
	6	20	20	20	20	20	20	17	19	13	16	12	14	9	11	7	10	6	9	5	7	1	2
	7	20	20	20	20	20	20	17	19	15	17	11	15	10	12	9	13	8	10	7	9	1	3
	8	20	20	20	20	18	20	14	17	13	18	13	14	11	13	9	13	8	10	6	9	0	3
	9	20	20	20	20	17	20	16	18	15	18	13	16	9	13	7	12	7	13	6	8	1	2
	10	20	20	20	20	19	20	15	19	14	16	14	15	9	11	8	10	6	10	5	9	1	3
ค่าเฉลี่ย		20	20	20	20	18.7	20	15.5	18	14	16.9	12.6	15	9.6	12.3	8.1	11.5	7	10.6	5.7	8.3	0.6	2.3
ค่า SD		0	0	0	0	1.06	0	1.18	0.94	0.94	0.88	1.07	0.67	0.7	0.95	0.88	1.27	0.82	1.17	0.95	0.82	0.52	0.82
% การตายของไรแดง		100	100	100	100	93.5	100	77.5	90	70	84.5	63	75	48	61.5	40.5	57.5	35	53	28.5	41.5	3	11.5

ตารางที่ ก-12 อัตราการตายของไรแดงที่ความเข้มข้นต่างๆกับสารมาตรฐาน DEHP ร่วมกับ TMTD

ความเข้มข้น / ชนิดของสาร		14.0 ug/ml		12.0 ug/ml		10.0 ug/ml		8.0 ug/ml		6.0 ug/ml		4.0 ug/ml		2.0 ug/ml		1.0 ug/ml		0.5 ug/ml		0.1 ug/ml		0.00 ug/ml	
		24 h (ตัว)	48 h (ตัว)	24 h (ตัว)	48 h (ตัว)	24 h (ตัว)	48 h (ตัว)	24 h (ตัว)	48 h (ตัว)	24 h (ตัว)	48 h (ตัว)	24 h (ตัว)	48 h (ตัว)	24 h (ตัว)	48 h (ตัว)	24 h (ตัว)	48 h (ตัว)	24 h (ตัว)	48 h (ตัว)	24 h (ตัว)	48 h (ตัว)	24 h (ตัว)	48 h (ตัว)
DEHP + TMTD	**1**	20	20	20	20	18	20	15	18	14	16	12	14	9	10	6	8	4	7	2	6	0	2
	2	20	20	20	20	18	20	15	17	13	17	11	15	9	10	4	9	4	5	3	3	1	3
	3	20	20	20	20	18	20	16	18	12	17	12	14	8	9	3	9	3	5	4	4	0	3
	4	20	20	20	20	17	20	16	18	13	17	13	15	10	11	4	8	4	6	2	4	0	2
	5	20	20	20	20	18	20	14	16	14	16	11	14	9	10	4	8	3	5	3	4	1	2
	6	20	20	20	20	19	20	15	18	14	17	12	15	10	11	5	9	4	6	2	5	1	2
	7	20	20	20	20	18	20	15	17	13	15	13	15	8	9	7	9	3	6	4	7	1	3
	8	20	20	20	20	19	20	16	18	12	15	12	13	10	12	6	8	3	6	3	6	1	2
	9	20	20	20	20	18	20	14	17	12	17	11	13	8	11	5	7	4	7	4	5	0	2
	10	20	20	20	20	17	20	15	18	13	18	10	12	9	11	6	8	3	7	3	6	1	2
ค่าเฉลี่ย		20	20	20	20	18	20	15.1	17.5	13	16.5	11.7	14	9	10.4	5	8.3	3.5	6	3	5	0.6	2.3
ค่า SD		0	0	0	0	0.67	0	0.74	0.71	0.82	0.97	0.95	1.05	0.82	0.97	1.25	0.67	0.53	0.82	0.82	1.25	0.52	0.48
% การตายของไรแดง		100	100	100	100	90	100	75.5	87.5	65	82.5	58.5	70	45	52	25	41.5	17.5	30	15	25	3	11.5

ตารางที่ ก-13 อัตราการตายของไรแดงที่ความเข้มข้นต่างๆกับสารมาตรฐาน DEHP ร่วมกับ ZDMC

ความเข้มข้น / ชนิดของสาร		14.0 ug/ml		12.0 ug/ml		10.0 ug/ml		8.0 ug/ml		6.0 ug/ml		4.0 ug/ml		2.0 ug/ml		1.0 ug/ml		0.5 ug/ml		0.1 ug/ml		0.00 ug/ml	
		24 h (ตัว)	48 h (ตัว)	24 h (ตัว)	48 h (ตัว)	24 h (ตัว)	48 h (ตัว)	24 h (ตัว)	48 h (ตัว)	24 h (ตัว)	48 h (ตัว)	24 h (ตัว)	48 h (ตัว)	24 h (ตัว)	48 h (ตัว)	24 h (ตัว)	48 h (ตัว)	24 h (ตัว)	48 h (ตัว)	24 h (ตัว)	48 h (ตัว)	24 h (ตัว)	48 h (ตัว)
DEHP + ZDMC	**1**	20	20	19	20	15	19	13	15	12	14	10	12	6	9	8	8	2	6	1	2	1	3
	2	20	20	18	20	16	17	15	17	11	15	10	11	8	9	6	9	3	3	1	3	1	2
	3	20	20	18	20	17	18	14	16	12	14	9	12	6	8	5	8	4	4	1	3	0	1
	4	20	20	17	20	15	17	13	15	13	15	10	12	7	10	5	7	2	4	0	2	0	2
	5	20	20	19	20	16	19	12	15	11	13	8	11	7	9	6	9	3	4	1	2	0	2
	6	20	20	19	20	16	19	13	17	12	15	9	11	8	10	7	9	2	5	0	2	1	3
	7	20	20	17	20	15	17	14	16	13	15	10	13	8	9	6	8	4	7	1	3	0	2
	8	20	20	20	20	16	16	14	15	12	14	10	12	6	10	5	8	3	6	0	2	0	1
	9	20	20	17	20	15	17	14	17	11	14	9	11	7	8	7	9	4	5	1	3	1	2
	10	20	20	18	20	16	18	15	17	10	13	8	10	7	9	7	8	3	6	0	2	1	2
ค่าเฉลี่ย		20	20	18.2	20	15.7	17.7	13.7	16	11.7	14.2	9.3	11.5	7	9.1	6.2	8.3	3	5	0.6	2.4	0.5	2
ค่า SD		0	0	1.03	0	0.67	1.06	0.95	0.94	0.95	0.79	0.82	0.85	0.82	0.74	1.03	0.67	0.82	1.25	0.52	0.52	0.53	0.67
% การตายของไรแดง		100	100	91	100	78.5	88.5	68.5	80	58.5	71	46.5	57.5	35	45.5	31	41.5	15	25	3	12	2.5	10

ตารางที่ ก-14 อัตราการตายของไรแดงที่ความเข้มข้นต่างๆกับสารมาตรฐาน DEHP

ความเข้มข้น / ชนิดของสาร		14.0 ug/ml		12.0 ug/ml		10.0 ug/ml		8.0 ug/ml		6.0 ug/ml		4.0 ug/ml		2.0 ug/ml		1.0 ug/ml		0.5 ug/ml		0.1 ug/ml		0.00 ug/ml	
		24 h (ตัว)	48 h (ตัว)	24 h (ตัว)	48 h (ตัว)	24 h (ตัว)	48 h (ตัว)	24 h (ตัว)	48 h (ตัว)	24 h (ตัว)	48 h (ตัว)	24 h (ตัว)	48 h (ตัว)	24 h (ตัว)	48 h (ตัว)	24 h (ตัว)	48 h (ตัว)	24 h (ตัว)	48 h (ตัว)	24 h (ตัว)	48 h (ตัว)	24 h (ตัว)	48 h (ตัว)
DEHP	**1**	20	20	16	20	14	15	10	13	11	10	8	11	5	6	2	3	1	3	1	1	0	2
	2	18	20	17	20	15	17	13	15	10	13	9	10	3	9	3	4	1	4	1	4	1	3
	3	20	20	18	20	14	16	12	16	10	12	7	9	4	6	4	6	0	2	1	3	1	3
	4	19	20	17	20	15	15	13	15	9	13	8	10	4	8	3	4	0	3	0	2	0	2
	5	19	20	16	20	14	15	11	13	10	11	6	8	4	7	3	5	0	3	1	1	1	3
	6	18	20	18	20	15	17	13	15	10	13	7	9	6	8	3	5	1	3	0	4	0	2
	7	20	20	17	20	14	16	12	15	11	12	8	10	7	8	4	6	0	2	1	3	1	3
	8	17	20	16	19	12	15	13	15	10	13	9	11	5	6	3	4	1	3	0	2	0	2
	9	18	20	17	19	14	17	13	16	11	12	8	9	7	8	4	6	1	2	1	3	1	3
	10	18	20	18	20	16	17	11	14	10	11	6	8	6	7	3	5	1	3	0	2	0	2
ค่าเฉลี่ย		18.7	20	17	19.8	14.3	16	12.1	14.7	10.2	12	7.6	9.5	5.1	7.3	3.2	4.8	0.6	2.8	0.6	2.5	0.5	2.5
ค่า SD		1.06	0	0.82	0.42	1.06	0.94	1.10	1.06	0.63	1.05	1.07	1.08	1.37	1.06	0.63	1.03	0.52	0.63	0.52	1.08	0.53	0.53
% การตายของไรแดง		93.5	100	85	99	71.5	80	60.5	73.5	51	60	38	47.5	25.5	36.5	16	24	3	14	3	12.5	2.5	12.5

ตารางที่ ก-15 อัตราการตายของไรแดงที่ความเข้มข้นต่างๆกับสารมาตรฐาน TMTD ร่วมกับ ZDMC

ความเข้มข้น / ชนิดของสาร		14.0 ug/ml		12.0 ug/ml		10.0 ug/ml		8.0 ug/ml		6.0 ug/ml		4.0 ug/ml		2.0 ug/ml		1.0 ug/ml		0.5 ug/ml		0.1 ug/ml		0.00 ug/ml	
		24 h (ตัว)	48 h (ตัว)	24 h (ตัว)	48 h (ตัว)	24 h (ตัว)	48 h (ตัว)	24 h (ตัว)	48 h (ตัว)	24 h (ตัว)	48 h (ตัว)	24 h (ตัว)	48 h (ตัว)	24 h (ตัว)	48 h (ตัว)	24 h (ตัว)	48 h (ตัว)	24 h (ตัว)	48 h (ตัว)	24 h (ตัว)	48 h (ตัว)	24 h (ตัว)	48 h (ตัว)
TMTD + ZDMC	**1**	15	17	13	16	11	14	10	14	9	11	6	8	3	3	2	3	0	1	2	2	0	1
	2	16	19	15	17	13	16	11	13	8	10	3	6	4	6	1	2	0	2	0	1	0	1
	3	17	18	14	17	12	15	10	14	7	9	4	7	3	4	1	2	1	2	0	1	1	3
	4	15	17	13	15	12	15	9	14	8	10	4	7	2	3	0	2	1	2	0	2	1	2
	5	16	19	14	15	11	16	11	14	7	8	4	6	3	4	1	2	1	3	1	3	0	2
	6	16	18	14	17	13	16	10	13	7	9	5	8	2	4	0	3	1	3	1	3	0	3
	7	15	18	14	18	12	15	10	13	9	10	7	9	3	5	1	3	0	1	0	1	1	1
	8	16	19	14	18	13	16	10	12	7	11	6	9	2	4	1	3	0	3	1	3	2	3
	9	15	19	14	17	12	15	9	13	8	9	5	7	4	5	0	3	2	4	1	4	0	3
	10	16	18	15	18	12	16	10	12	8	9	6	8	3	5	0	2	0	2	0	1	0	2
ค่าเฉลี่ย		15.7	18.2	14	16.8	12.1	15.4	10	13.2	7.8	9.6	5	7.5	2.9	4.3	0.7	2.5	0.6	2.3	0.6	2.1	0.5	2.1
ค่า SD		0.67	0.79	0.67	1.14	0.74	0.70	0.67	0.79	0.79	0.97	1.25	1.08	0.74	0.9	0.67	0.53	0.70	0.95	0.70	1.10	0.71	0.88
% การตายของไรแดง		78.5	91	70	84	60.5	77	50	66	39	48	25	37.5	14.5	21.5	3.5	12.5	3	11.5	3	10.5	2.5	10.5

ตารางที่ ก-16 อัตราการตายของไรแดงที่ความเข้มข้นต่างๆกับสารมาตรฐาน TMTD

ความเข้มข้น / ชนิดของสาร		14.0 ug/ml		12.0 ug/ml		10.0 ug/ml		8.0 ug/ml		6.0 ug/ml		4.0 ug/ml		2.0 ug/ml		1.0 ug/ml		0.5 ug/ml		0.1 ug/ml		0.00 ug/ml	
		24 h (ตัว)	48 h (ตัว)	24 h (ตัว)	48 h (ตัว)	24 h (ตัว)	48 h (ตัว)	24 h (ตัว)	48 h (ตัว)	24 h (ตัว)	48 h (ตัว)	24 h (ตัว)	48 h (ตัว)	24 h (ตัว)	48 h (ตัว)	24 h (ตัว)	48 h (ตัว)	24 h (ตัว)	48 h (ตัว)	24 h (ตัว)	48 h (ตัว)	24 h (ตัว)	48 h (ตัว)
TMTD	**1**	14	17	14	15	10	13	8	12	5	8	2	3	2	2	2	3	2	3	1	3	0	2
	2	16	17	13	15	11	15	9	11	4	9	3	6	0	2	1	2	0	2	1	2	0	3
	3	14	18	12	14	12	14	9	12	5	7	4	5	1	3	1	2	0	2	0	1	0	2
	4	13	17	12	14	11	13	8	13	4	8	3	5	0	2	0	3	0	4	0	2	1	3
	5	14	17	14	15	11	12	8	11	5	6	3	4	1	3	1	2	0	3	0	3	1	3
	6	13	18	14	16	12	13	9	12	6	7	2	5	2	4	0	4	1	2	0	2	0	2
	7	13	17	13	15	11	13	8	13	7	8	4	6	1	3	1	3	0	1	1	2	1	2
	8	13	16	12	15	12	14	7	10	6	9	3	4	2	3	1	4	0	2	0	2	0	1
	9	16	17	14	15	10	13	8	11	7	9	4	6	0	2	1	2	2	4	1	3	0	3
	10	15	18	14	16	10	15	8	10	7	9	3	5	2	4	0	3	0	3	0	4	0	2
ค่าเฉลี่ย		14.1	17.2	13.2	15	11	13.5	8.2	11.5	5.6	8	3.1	4.9	1.1	2.8	0.8	2.8	0.5	2.6	0.4	2.4	0.3	2.3
ค่า SD		1.20	0.63	0.92	0.67	0.82	0.97	0.63	1.08	1.17	1.05	0.74	0.99	0.88	0.79	0.63	0.79	0.85	0.97	0.52	0.84	0.48	0.67
% การตายของไรแดง		70.5	86	66	75	55	67.5	41	57.5	28	40	15.5	24.5	5.5	14	4	14	2.5	13	2	12	1.5	11.5

ตารางที่ ก-17 อัตราการตายของไรแดงที่ความเข้มข้นต่างๆกับสารมาตรฐาน ZDMC

ความเข้มข้น / ชนิดของสาร		14.0 ug/ml		12.0 ug/ml		10.0 ug/ml		8.0 ug/ml		6.0 ug/ml		4.0 ug/ml		2.0 ug/ml		1.0 ug/ml		0.5 ug/ml		0.1 ug/ml		0.00 ug/ml	
		24 h (ตัว)	48 h (ตัว)	24 h (ตัว)	48 h (ตัว)	24 h (ตัว)	48 h (ตัว)	24 h (ตัว)	48 h (ตัว)	24 h (ตัว)	48 h (ตัว)	24 h (ตัว)	48 h (ตัว)	24 h (ตัว)	48 h (ตัว)	24 h (ตัว)	48 h (ตัว)	24 h (ตัว)	48 h (ตัว)	24 h (ตัว)	48 h (ตัว)	24 h (ตัว)	48 h (ตัว)
ZDMC	1	12	14	10	13	11	12	6	11	2	5	0	3	1	2	0	2	1	3	0	3	0	3
	2	11	15	9	11	10	11	8	10	3	4	1	2	1	3	0	3	1	3	0	3	0	2
	3	14	16	9	12	9	10	6	9	4	5	1	3	1	3	0	3	1	2	0	2	0	2
	4	13	16	10	13	10	13	8	10	2	3	0	2	0	2	2	2	1	3	0	3	0	3
	5	14	14	11	13	8	10	7	8	3	5	2	2	1	4	1	2	0	2	2	2	0	2
	6	12	15	11	12	9	12	8	9	3	5	1	3	1	3	1	4	1	3	0	2	1	3
	7	13	15	11	13	10	13	6	10	4	7	2	4	0	2	0	3	1	3	0	3	1	3
	8	13	15	12	14	11	12	6	9	3	6	3	4	2	2	0	2	0	2	1	2	1	2
	9	14	16	12	14	9	11	8	9	4	7	1	3	1	3	2	3	0	2	1	2	1	3
	10	11	15	10	13	8	10	7	8	4	6	1	4	1	3	1	3	1	3	1	3	0	2
ค่าเฉลี่ย		12.7	15.1	10.5	12.8	9.5	11.4	7	9.3	3.2	5.3	1.2	3	0.9	2.7	0.7	2.7	0.7	2.6	0.5	2.5	0.4	2.5
ค่า SD		1.16	0.74	1.08	0.92	1.08	1.17	0.94	0.95	0.79	1.25	0.92	0.82	0.57	0.67	0.82	0.67	0.48	0.52	0.71	0.53	0.52	0.53
% การตายของไรแดง		63.5	75.5	52.5	64	47.5	57	35	46.5	16	26.5	6	15	4.5	13.5	3.5	13.5	3.5	13	2.5	12.5	2	12.5

ภาคผนวก ข

ตารางแสดง probit transformation และผลการคำนวณค่า LC_{50} ของสาร TMTD สาร DEHP และ สาร ZDMC จากโปรแกรม SPSS

ตารางที่ ข-1 แสดงค่า probit transformation

Table 3.2 Transformation of percentages to probits

%	0	1	2	3	4	5	6	7	8	9
0	—	2.67	2.95	3.12	3.25	3.36	3.45	3.52	3.59	3.66
10	3.72	3.77	3.82	3.87	3.92	3.96	4.01	4.05	4.08	4.12
20	4.16	4.19	4.23	4.26	4.29	4.33	4.36	4.39	4.42	4.45
30	4.48	4.50	4.53	4.56	4.59	4.61	4.64	4.67	4.69	4.72
40	4.75	4.77	4.80	4.82	4.85	4.87	4.90	4.92	4.95	4.97
50	5.00	5.03	5.05	5.08	5.10	5.13	5.15	5.18	5.20	5.23
60	5.25	5.28	5.31	5.33	5.36	5.39	5.41	5.44	5.47	5.50
70	5.52	5.55	5.58	5.61	5.64	5.67	5.71	5.74	5.77	5.81
80	5.84	5.88	5.92	5.95	5.99	6.04	6.08	6.13	6.18	6.23
90	6.28	6.34	6.41	6.48	6.55	6.64	6.75	6.88	7.05	7.33
—	0.0	0.1	0.2	0.3	0.4	0.5	0.6	0.7	0.8	0.9
99	7.33	7.37	7.41	7.46	7.51	7.58	7.65	7.75	7.88	8.09

(ที่มา: Finney, 1952)

ในแต่ละความเข้มข้นของสาร TMTD และสาร DEHP ดูอัตราการตายของไรแดงที่ 24 ชั่วโมง แล้วนำไปเปิดตาราง probit transformation เพื่อแปลงเป็นค่า empirical probit ซึ่งจะได้นำไปเขียนกราฟแสดงความสัมพันธ์ระหว่าง log ความเข้มข้นเป็นแกน X และค่า probit ของอัตราการตายเป็นแกน Y สำหรับทำนายอัตราการตายของไรแดง คำนวณค่า LC_{50} จาก Probit analysis

* * * * * * * * * * * * PROBIT ANALYSIS * * * * * * * * * * * *

Parameter estimates converged after 17 iterations.

Optimal solution found.

Parameter Estimates (PROBIT model: (PROBIT(p)) = Intercept + BX):

	Regression Coeff.	Standard Error	Coeff./S.E.
CONC	1.56302	.29307	5.33330

	Intercept	Standard Error	Intercept/S.E.
	-1.78427	.26097	-6.83716

Pearson Goodness-of-Fit Chi Square = 37.134 DF = 8 P = .000

Since Goodness-of-Fit Chi square is significant, a heterogeneity

factor is used in the calculation of confidence limits.

* * * * * * * * * * * * P R O B I T A N A L Y S I S * * * * * * * * * * * *

Observed and Expected Frequencies

ตาราง ข-2 การคำนวณค่า LC_{50} ของสาร ZDMC ต่อไรแดง

Log Conc.	Subjects	Responses	Responses	Residual	Prob
-1.00	20.0	.5	.008	.492	.00041
-.30	20.0	.7	.241	.459	.01207
.00	20.0	.7	.744	-.044	.03719
.30	20.0	.9	1.889	-.989	.09447
.60	20.0	1.2	3.991	-2.791	.19955
.78	20.0	3.2	5.700	-2.500	.28502
.90	20.0	7.0	7.094	-.094	.35468
1.00	20.0	9.5	8.249	1.251	.41245
1.08	20.0	10.5	9.223	1.277	.46117
1.15	20.0	12.7	10.057	2.643	.50286

* * * * * * * * * * * * P R O B I T A N A L Y S I S * * * * * * * * * * * *

Confidence Limits for Effective CONC

ตาราง ข-2 การคำนวณค่า LC_{50} ของสาร ZDMC ต่อไรแดง

	95% Confidence Limits		
Prob	CONC	Lower	Upper
.01	.44997	7.910380E-17	1.84793
.02	.67234	2.727639E-14	2.32844
.03	.86745	1.105960E-12	2.70907
.04	1.05072	1.785658E-11	3.04668
.05	1.22799	1.710568E-10	3.36230
.06	1.40226	1.167343E-09	3.66685
.07	1.57528	6.270885E-09	3.96721
.09	1.92200	.00000	4.57493
.10	2.09716	.00000	4.89049

	95% Confidence Limits		
Prob	**CONC**	**Prob**	**CONC**
.15	3.00922	.00007	6.76408
.20	4.00951	.00344	9.90583
.25	5.12885	.07820	18.06761
.30	6.39801	.68512	58.44615
.35	7.85283	2.11765	419.33758
.40	9.53808	3.62768	4633.51810
.45	11.51204	4.95389	58374.36249
.50	13.85315	6.16779	771041.55245
.55	16.67036	7.35340	10635493.7112
.60	20.12039	8.57634	156882028.864
.65	24.43830	9.89587	2573604989.31
.70	29.99525	11.37893	49634934119.8
.75	37.41772	13.11754	1220299796830
.80	47.86363	15.26034	4.346149E+13
.85	63.77399	18.08854	2.815037E+15
.90	91.50959	22.25814	5.388085E+17
.91	99.84910	23.38300	1.918411E+18
.92	109.77234	24.66246	7.624363E+18
.93	121.82550	26.14214	3.477435E+19
.94	136.85797	27.89025	1.894396E+20
.95	156.27949	30.01521	1.310075E+21
.96	182.64679	32.70398	1.271128E+22
.97	221.23455	36.31965	2.078323E+23
.98	285.43500	41.71579	8.536146E+24
.99	426.49315	51.81005	2.986198E+27

ตาราง ข-3 การคำนวณค่า LC_{50} ของสาร TMTD ต่อไรแดง

* * * * * * * * * * * * P R O B I T A N A L Y S I S * * * * * * * * * * * *

Parameter estimates converged after 17 iterations.

Optimal solution found.

Parameter Estimates (PROBIT model: (PROBIT(p)) = Intercept + BX):

	Regression Coeff.	Standard Error	Coeff./S.E.
CONC	1.80237	.30079	5.99216

	Intercept	Standard Error	Intercept/S.E.
	-1.76360	.26458	-6.66576

Pearson Goodness-of-Fit Chi Square = 47.332 DF = 8 P = .000

Since Goodness-of-Fit Chi square is significant, a heterogeneity

factor is used in the calculation of confidence limits.

* * * * * * * * * * * * P R O B I T A N A L Y S I S * * * * * * * * * * * *

Observed and Expected Frequencies

Log Conc.	Subjects	Responses	Responses	Residual	Prob
-1.00	20.0	.4	.004	.396	.00018
-.30	20.0	.5	.211	.289	.01055
.00	20.0	.8	.778	.022	.03890
.30	20.0	1.1	2.221	-1.121	.11104
.60	20.0	3.1	4.975	-1.875	.24874
.78	20.0	5.6	7.180	-1.580	.35902
.90	20.0	8.2	8.919	-.719	.44595
1.00	20.0	11.0	10.309	.691	.51546
1.08	20.0	13.2	11.440	1.760	.57200
1.15	20.0	14.1	12.375	1.725	.61873

* * * * * * * * * * * * PROBIT ANALYSIS * * * * * * * * * * * *

Confidence Limits for Effective CONC

ตาราง ข-3(ต่อ) การคำนวณค่า LC_{50} ของสาร TMTD ต่อไรแดง

	95% Confidence Limits		
Prob	**CONC**	**Lower**	**Upper**
.01	.48728	2.092407E-17	1.91054
.02	.69027	4.762101E-15	2.33239
.03	.86095	1.485306E-13	2.65641
.04	1.01664	1.970711E-12	2.93682
.05	1.16382	1.610821E-11	3.19316
.06	1.30576	9.613283E-11	3.43515
.07	1.44439	4.596011E-10	3.66860
.08	1.58096	1.862484E-09	3.89740
.09	1.71635	6.638726E-09	4.12447
.10	1.85120	.00000	4.35217
.15	2.53193	.00000	5.57005
.20	3.24742	.00011	7.13356
.25	4.02038	.00268	9.60544
.30	4.87013	.03842	14.83857
.35	5.81709	.31573	31.87270
.40	6.88538	1.23977	123.74083
.45	8.10534	2.56476	834.61630
.50	9.51681	3.82684	7485.53595
.55	11.17407	4.96008	77286.48838
.60	13.15390	6.02662	887558.10192
.65	15.56958	7.09296	11496314.9344
.70	18.59696	8.22100	175100584.686
.75	22.52762	9.48023	3364451572.05

	95% Confidence Limits		
Prob	**CONC**	**Prob**	**CONC**
.80	27.88971	10.96936	91591159774.4
.85	35.77098	12.86290	4356616333297
.90	48.92475	15.55339	5.676754E+14
.91	52.76868	16.26350	1.842718E+15
.92	57.28760	17.06441	6.624709E+15
.93	62.70434	17.98238	2.706434E+16
.94	69.36161	19.05646	1.303965E+17
.90	48.92475	15.55339	5.676754E+14
.91	52.76868	16.26350	1.842718E+15
.92	57.28760	17.06441	6.624709E+15
.93	62.70434	17.98238	2.706434E+16
.94	69.36161	19.05646	1.303965E+17
.95	77.82118	20.34831	7.840247E+17
.96	89.08742	21.96350	6.455411E+18
.97	105.19700	24.10526	8.627849E+19
.98	131.20892	27.24605	2.711576E+21
.99	185.86952	32.97486	6.225001E+23

* * * * * * * * * * * * P R O B I T A N A L Y S I S * * * * * * * * * * * *

Parameter estimates converged after 11 iterations.

Optimal solution found.

Parameter Estimates (PROBIT model: (PROBIT(p)) = Intercept + BX):

	Regression Coeff.	Standard Error	Coeff./S.E.
CONC	1.72806	.23860	7.24239

Intercept	Standard Error	Intercept/S.E.
-1.11361	.19061	-5.84235

Pearson Goodness-of-Fit Chi Square = 11.659 DF = 8 P = .167

Since Goodness-of-Fit Chi square is NOT significant, no het

* * * * * * * * * * * * P R O B I T A N A L Y S I S * * * * * * * * * * * *

Observed and Expected Frequencies

ตาราง ข-4 การคำนวณค่า LC_{50} ของสาร DEHP ต่อไรแดง

Log Conc.	Subjects	Responses	Responses	Residual	Prob
-1.00	20.0	.6	.045	.555	.00224
-.30	20.0	.6	1.023	-.423	.05115
.00	20.0	3.2	2.654	.546	.13272
.30	20.0	5.1	5.529	-.429	.27645
.60	20.0	7.6	9.416	-1.816	.47082
.78	20.0	10.2	11.827	-1.627	.59137
.90	20.0	12.1	13.451	-1.351	.67256
1.00	20.0	14.3	14.611	-.311	.73054
1.08	20.0	17.0	15.475	1.525	.77376
1.15	20.0	18.7	16.140	2.560	.80702

* * * * * * * * * * * * P R O B I T A N A L Y S I S * * * * * * * * * * * *

Confidence Limits for Effective CONC

ตาราง ข-4 การคำนวณค่า LC_{50} ของสาร DEHP ต่อไรแดง

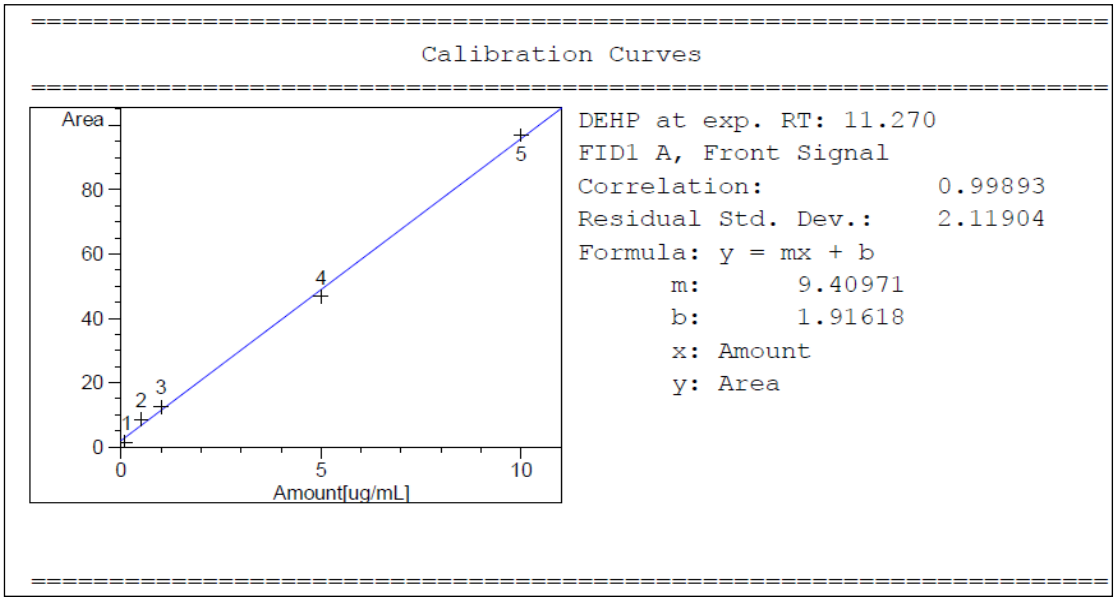
	95% Confidence Limits		
Prob	**CONC**	**Lower**	**Upper**
.01	.19871	.05907	.40598
.02	.28573	.09669	.54317
.03	.35979	.13208	.65383
.04	.42790	.16694	.75203
.05	.49270	.20190	.84300
.06	.55553	.23730	.92931
.07	.61718	.27334	1.01249
.08	.67817	.31016	1.09351

	95% Confidence Limits		
Prob	**CONC**	**Prob**	**CONC**
.09	.73885	.34786	1.17307
.10	.79950	.38653	1.25165
.15	1.10831	.59650	1.64121
.20	1.43680	.83877	2.04368
.25	1.79520	1.11905	2.47701
.30	2.19264	1.44307	2.95750
.35	2.63907	1.81690	3.50403
.40	3.14645	2.24700	4.14103
.45	3.73002	2.74047	4.90168
.50	4.40990	3.30581	5.83205
.55	5.21371	3.95468	6.99709
.60	6.18068	4.70486	8.49062
.65	7.36897	5.58495	10.45393
.70	8.86931	6.64176	13.11301
.75	10.83288	7.95431	16.85850
.80	13.53505	9.66457	22.43663
.85	17.54666	12.05855	31.48707
.90	24.32428	15.83758	48.51200
.91	26.32085	16.90355	53.88836
.92	28.67601	18.13856	60.42135
.93	31.50960	19.59571	68.54073
.94	35.00650	21.35569	78.92816
.95	39.47084	23.54891	92.74048
.96	45.44852	26.40483	112.13038
.97	54.05187	30.37989	141.67802
.98	68.06078	36.58031	193.47863
.99	97.86899	48.96015	316.56801

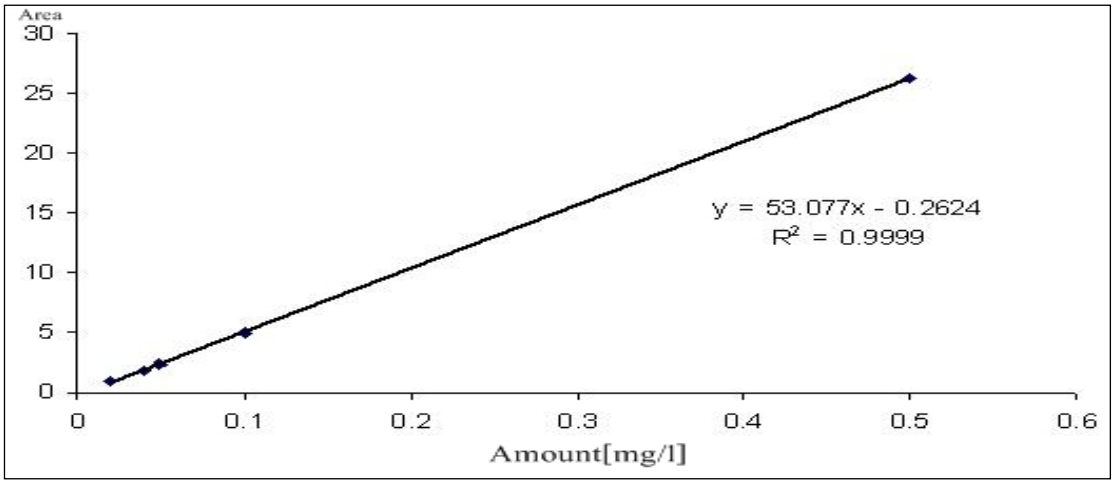
ภาคผนวก ค

Calibration curve และปริมาณของสาร DEHP, TMTD และ ZDMC ที่เคลื่อนย้ายออกมาจากถุงมือที่ใช้สัมผัสอาหาร

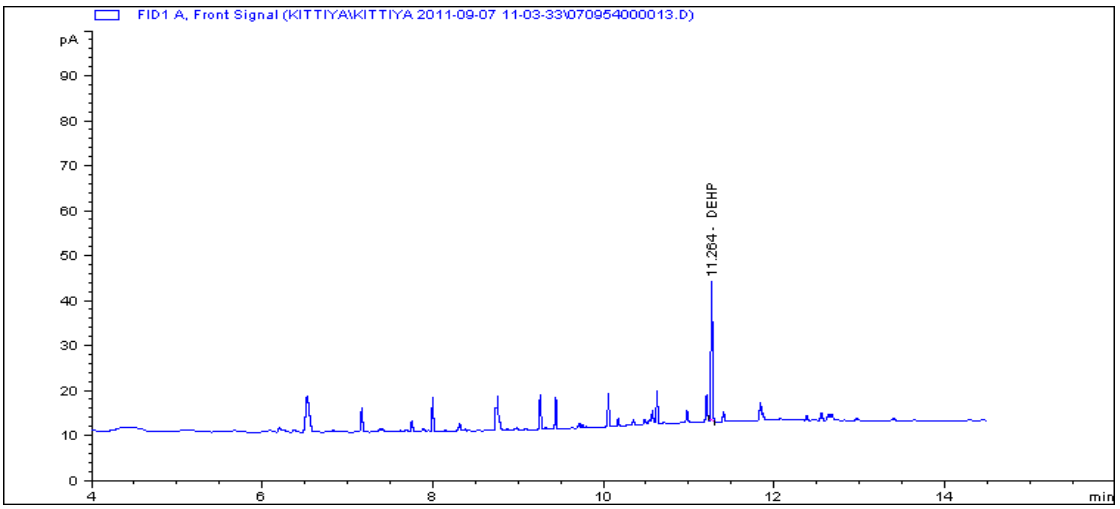
Calibration curve



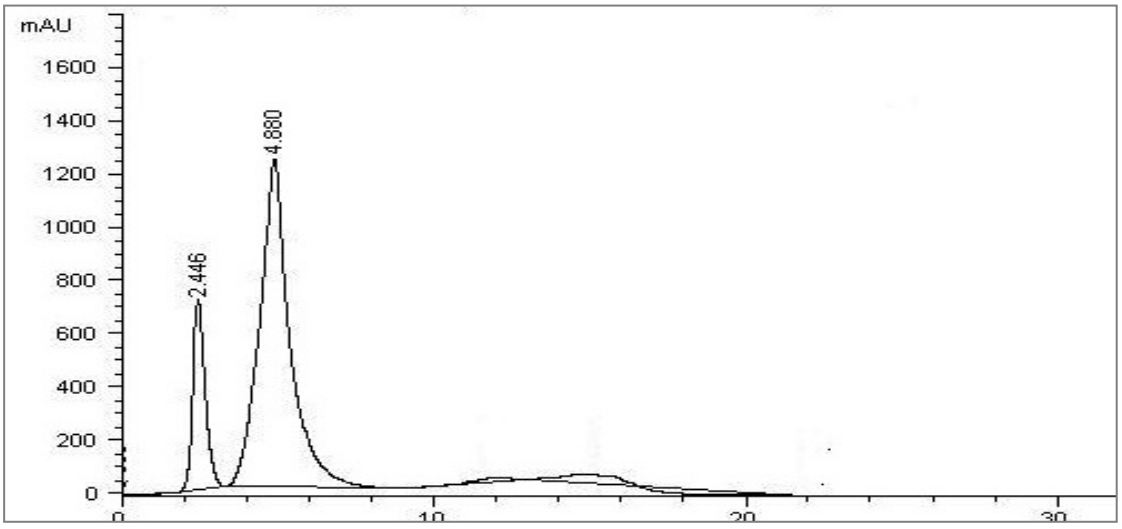
ภาพที่ ค-1 Calibration data ของ DEHP ที่ระดับความเข้มข้น 0.1, 0.5, 1.0, 5.0 และ 10.0 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร



ภาพที่ ค-2 Calibration data ของ TMTD ที่ระดับความเข้มข้น 0.02, 0.04, 0.05, 0.1 และ 0.5 ไมโครกรัมต่อต่อมิลลิลิตร



ภาพที่ ค-3 โครมาโตแกรมตัวอย่างสกัดจากน้ำชะตัวอย่างถุงมือยางธรรมชาติแบบบางชนิดไม่มีแป้ง



ภาพที่ ค-4 โครมาโตแกรมตัวอย่างสกัดจากน้ำชะตัวอย่างถุงมือยางธรรมชาติแบบบางชนิดมีแป้ง

ปริมาณสาร DEHP, TMTD และ ZDMC

ตารางที่ ค-1 ปริมาณ DEHP ที่เคลื่อนย้ายออกมาจากถุงมือที่ใช้สัมผัสอาหาร 4 ชนิด

จำนวนตัวอย่างที่	ค่าเฉลี่ย DEHP (ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร)			
	ถุงมือยางธรรมชาติ มีแป้งชนิดบาง	ถุงมือยางธรรมชาติ ไม่มีแป้งชนิดบาง	ถุงมือพลาสติก PE	ถุงมือยางธรรมชาติ ไม่มีแป้งชนิดหนา
1	3.93	2.55	3.07	6.24
2	4.18	1.79	3.06	5.28
3	3.93	1.77	1.01	5.98
4	4.16	1.83	2.62	6.45
5	4.12	1.79	2.93	6.09
6	4.08	1.73	2.56	5.95
7	4.05	1.56	3.01	5.51
8	4.00	1.75	2.80	6.03
9	3.99	1.48	2.79	5.35
10	3.73	1.81	0.98	6.41
ค่าเฉลี่ย ± SD	4.02 ± 0.13	1.78 ± 0.2	2.48 ± 0.80	5.93 ± 0.42

ตารางที่ ค-2 ปริมาณ TMTD ในถุงมือยางธรรมชาติ 3 ชนิด

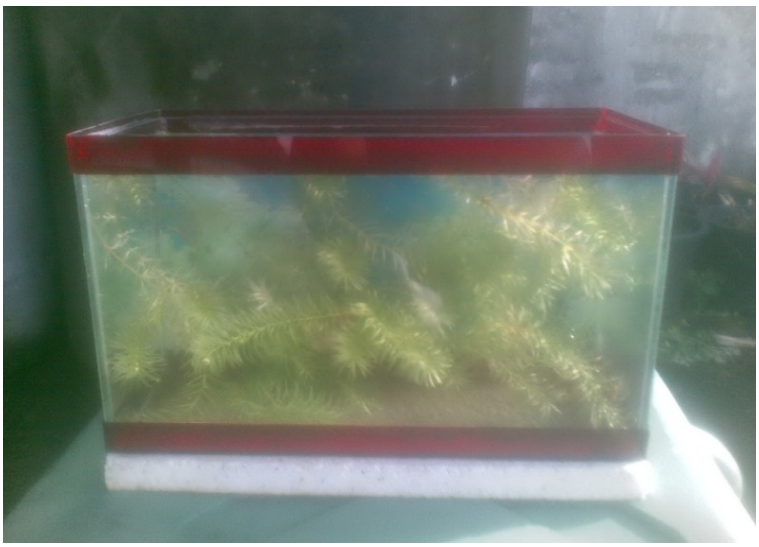
จำนวนตัวอย่างที่	ค่าเฉลี่ย TMTD (ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร)		
	ถุงมือยางธรรมชาติมีแป้งชนิดบาง	ถุงมือยางธรรมชาติไม่มีแป้งชนิดบาง	ถุงมือยางธรรมชาติชนิดหนา
1	4.15	3.05	0.78
2	4.03	2.58	0.58
3	4.59	2.12	1.15
4	4.01	3.12	0.64
5	4.15	2.76	0.46
6	3.34	1.95	0.98
7	3.87	2.08	0.65
8	4.28	1.81	1.06
9	3.28	2.45	0.83
10	4.38	2.22	1.19
ค่าเฉลี่ย ± SD	4.08 ± 0.42	2.41 ± 0.46	0.83 ± 0.25

ตารางที่ ค-3 ค่าร้อยละการได้คืนกลับ (% recovery) ของสารประกอบ DEHP ในน้ำชะถุงมือที่ใช้สัมผัสอาหาร

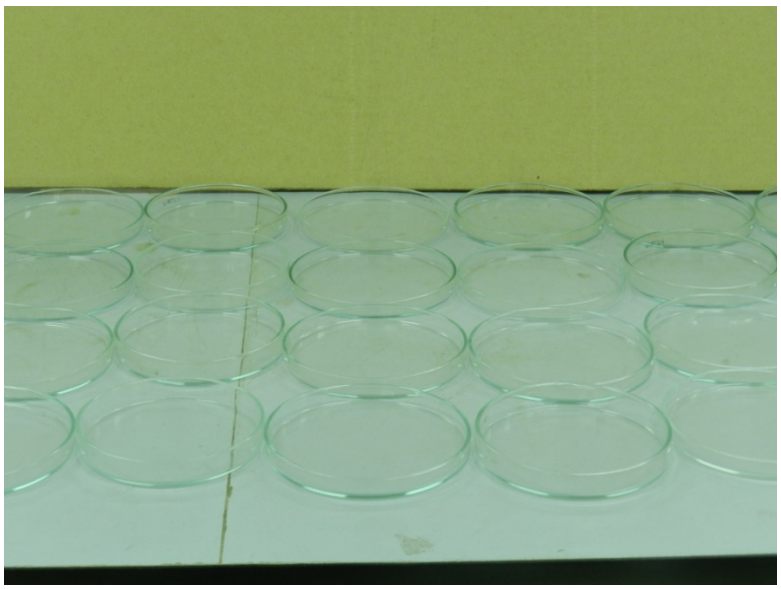
ชนิดถุงมือ	ความเข้มข้นของ DEHP (ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร)	ความเข้มข้นของ DEHP ในน้ำชะถุงมือ (ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร)	ค่าที่วิเคราะห์ได้ (ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร)	% Recovery ± SD
ถุงมือยางธรรมชาติแบบหนาชนิดไม่มีแป้งยี่ห้อ A	6.0	5.93 ± 0.42	10.96 ± 0.56	83.73 ± 3.17
ถุงมือยางธรรมชาติแบบหนาชนิดไม่มีแป้งยี่ห้อ B	3.0	3.91 ± 0.28	6.43 ± 0.40	84.03 ± 4.27
ถุงมือยางธรรมชาติแบบหนาชนิดไม่มีแป้งยี่ห้อ C	2.0	3.16 ± 0.38	4.94 ± 0.37	89.45 ± 2.09
ถุงมือยางธรรมชาติแบบบางชนิดไม่มีแป้งยี่ห้อ D	1.7	1.78 ± 0.20	3.26 ± 0.21	87.06 ± 1.89
ถุงมือยางธรรมชาติแบบบางชนิดมีแป้งยี่ห้อ E	4.0	4.02 ± 0.13	7.51 ± 0.13	87.23 ± 1.56
ถุงมือยางธรรมชาติแบบบางชนิดมีแป้งยี่ห้อ F	2.0	2.87 ± 0.48	4.56 ± 0.52	84.75 ± 4.26
ถุงมือยางธรรมชาติแบบบางชนิดมีแป้งยี่ห้อ G	1.0	1.43 ± 0.39	2.34 ± 0.38	91.10 ± 4.43
ถุงมือพลาสติก (PE) ยี่ห้อ H	2.0	2.48 ± 0.80	4.14 ± 0.79	82.95 ± 0.03
ถุงมือพลาสติก (PE) ยี่ห้อ I	0.5	0.82 ± 0.27	1.26 ± 0.27	89.60 ± 3.63
ถุงมือพลาสติก (PE) ยี่ห้อ J	0.2	0.47 ± 0.65	0.65 ± 0.18	90.00 ± 4.08

ตารางที่ ค-4 ค่าร้อยละการได้คืนกลับ (% recovery) ของสารประกอบ TMTD ในน้ำชะถุงมือที่ใช้สัมผัสอาหาร

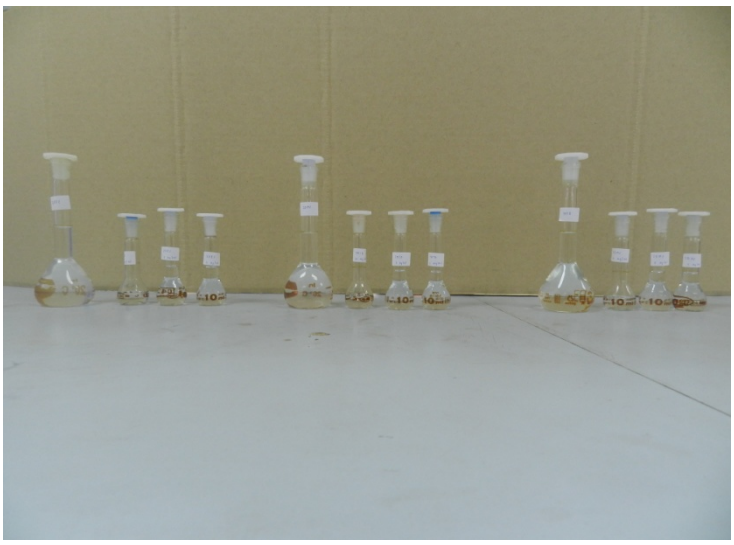
ชนิดถุงมือ	ความเข้มข้นของ TMTD (ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร)	ความเข้มข้นของ TMTD ในน้ำชะถุงมือ (ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร)	ค่าที่วิเคราะห์ได้ (ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร)	% Recovery ± SD
ถุงมือยางธรรมชาติแบบบางชนิดมีแป้งยี่ห้อ E	4.0	4.01 ± 0.42	7.40 ± 0.42	84.83 ± 3.85
ถุงมือยางธรรมชาติแบบบางชนิดมีแป้งยี่ห้อ F	2.5	3.03 ± 0.28	5.16 ± 0.33	85.08 ± 3.79
ถุงมือยางธรรมชาติแบบบางชนิดมีแป้งยี่ห้อ G	2.0	2.51 ± 4.34	4.34 ± 0.42	91.55 ± 4.51
ถุงมือยางธรรมชาติแบบบางชนิดไม่มีแป้งยี่ห้อ D	2.0	2.41 ± 0.46	4.10 ± 0.45	84.35 ± 2.77
ถุงมือยางธรรมชาติแบบหนาชนิดไม่มีแป้งยี่ห้อ A	0.8	0.83 ± 0.25	1.49 ± 0.26	82.88 ± 2.43
ถุงมือยางธรรมชาติแบบหนาชนิดไม่มีแป้งยี่ห้อ B	0.5	0.95 ± 0.10	1.43 ± 0.11	90.4 ± 4.40
ถุงมือยางธรรมชาติแบบหนาชนิดไม่มีแป้งยี่ห้อ C	0.5	0.70 ± 0.11	1.13 ± 0.11	86.00 ± 3.53



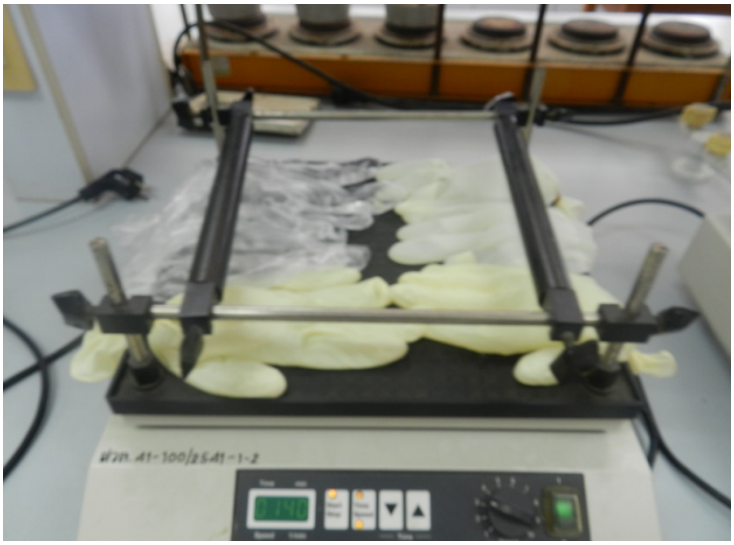
ภาพที่ ค-5 การเตรียมสาหร่าย *Chrorella* sp.



ภาพที่ ค-6 การเลี้ยงไรแดงในน้ำชะถุงมือที่ใช้สัมผัสอาหาร



ภาพที่ ค-7 การเตรียมสาร DEHP, TMTD และ ZDMC



ภาพที่ ค-8 ขั้นตอนการเขย่าน้ำชะถุงมือที่ใช้สัมผัสอาหาร

ภาคผนวก ง
การวิเคราะห์ทางสถิติ

การวิเคราะห์ทางสถิติ

การวิเคราะห์ความแปรปรวนทางเดียว หรือ One-way ANOVA เป็นวิธีการทดสอบเพื่อวิเคราะห์ความสัมพันธ์ ระหว่างตัวแปรอิสระหรือตัวแปรต้นตัวเดียวกับตัวแปรตามเพียงตัวเดียว โดยที่ตัวแปรอิสระหรือตัวแปรต้นอาจมีลักษณะเป็นตัวแปรเชิงคุณภาพ (Qualitative Variable) ส่วนตัวแปรตามอาจมีลักษณะเป็นตัวแปรเชิงปริมาณ (Quantitative Variable) เพื่อศึกษาความสัมพันธ์ของตัวแปรอิสระหรือตัวแปรต้นว่าจะส่งผลอย่างไรกับตัวแปรตาม ตามสมมติฐานการวิจัยที่กำหนดไว้

ความแตกต่างของการเลี้ยงไรแดงกับสารเคมีต่างๆ น้ำชะถุงมือที่ใช้สัมผัสอาหาร และผลปริมาณสารที่ปนเปื้อนอยู่ในถุงมือที่ใช้สัมผัสอาหาร ทดสอบโดยวิธี One-way ANOVA ดังนี้

ตารางที่ ง-1 ผลการเปรียบเทียบอัตราการตายของไรแดงกับสารเคมี

ANOVA

DEATH

	Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.
Between Groups	777.883	5	155.577	164.406	.000
Within Groups	51.100	54	.946		
Total	828.983	59			

Multiple Comparisons

Dependent Variable: DEATH
Tukey HSD

ตารางที่ ง-1(ต่อ) ผลการเปรียบเทียบอัตราการตายของไรแดงกับสารเคมี

(I) TYPE	(J) TYPE	Mean Difference (I-J)	Std. Error	Sig.	95% Confidence Interval	
					Lower Bound	Upper Bound
TMTD+DEHP	ZDMC+DEHP	2.4000(*)	.43504	.000	1.1147	3.6853
	ZDMC+TMTD	6.7000(*)	.43504	.000	5.4147	7.9853
	DEHP	4.1000(*)	.43504	.000	2.8147	5.3853
	TMTD	8.6000(*)	.43504	.000	7.3147	9.8853
	ZDMC	10.5000(*)	.43504	.000	9.2147	11.7853
ZDMC+DEHP	TMTD+DEHP	-2.4000(*)	.43504	.000	-3.6853	-1.1147
	ZDMC+TMTD	4.3000(*)	.43504	.000	3.0147	5.5853
	DEHP	1.7000(*)	.43504	.003	.4147	2.9853
	TMTD	6.2000(*)	.43504	.000	4.9147	7.4853
	ZDMC	8.1000(*)	.43504	.000	6.8147	9.3853
ZDMC+TMTD	TMTD+DEHP	-6.7000(*)	.43504	.000	-7.9853	-5.4147
	ZDMC+DEHP	-4.3000(*)	.43504	.000	-5.5853	-3.0147
	DEHP	-2.6000(*)	.43504	.000	-3.8853	-1.3147
	TMTD	1.9000(*)	.43504	.001	.6147	3.1853
	ZDMC	3.8000(*)	.43504	.000	2.5147	5.0853
DEHP	TMTD+DEHP	-4.1000(*)	.43504	.000	-5.3853	-2.8147
	ZDMC+DEHP	-1.7000(*)	.43504	.003	-2.9853	-.4147
	ZDMC+TMTD	2.6000(*)	.43504	.000	1.3147	3.8853
	TMTD	4.5000(*)	.43504	.000	3.2147	5.7853
	ZDMC	6.4000(*)	.43504	.000	5.1147	7.6853
TMTD	TMTD+DEHP	-8.6000(*)	.43504	.000	-9.8853	-7.3147
	ZDMC+DEHP	-6.2000(*)	.43504	.000	-7.4853	-4.9147
	ZDMC+TMTD	-1.9000(*)	.43504	.001	-3.1853	-.6147
	DEHP	-4.5000(*)	.43504	.000	-5.7853	-3.2147
	ZDMC	1.9000(*)	.43504	.001	.6147	3.1853
ZDMC	TMTD+DEHP	-10.5000(*)	.43504	.000	-11.7853	-9.2147
	ZDMC+DEHP	-8.1000(*)	.43504	.000	-9.3853	-6.8147
	ZDMC+TMTD	-3.8000(*)	.43504	.000	-5.0853	-2.5147
	DEHP	-6.4000(*)	.43504	.000	-7.6853	-5.1147
	TMTD	-1.9000(*)	.43504	.001	-3.1853	-.6147

* The mean difference is significant at the .05 level.

ตารางที่ ง-2 ผลการเปรียบเทียบน้ำชะถุงมือพลาสติก PE ยี่ห้อต่างๆกับอัตราการตายของไรแดง

ANOVA

DEATH

	Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.
Between Groups	62.067	2	31.033	48.434	.000
Within Groups	17.300	27	.641		
Total	79.367	29			

Multiple Comparisons

Dependent Variable: DEATH
Tukey HSD

(I) TYPE	(J) TYPE	Mean Difference (I-J)	Std. Error	Sig.	95% Confidence Interval	
					Lower Bound	Upper Bound
brand 1	brand 2	2.1000(*)	.35798	.000	1.2124	2.9876
	band 3	3.5000(*)	.35798	.000	2.6124	4.3876
brand 2	brand 1	-2.1000(*)	.35798	.000	-2.9876	-1.2124
	band 3	1.4000(*)	.35798	.002	.5124	2.2876
band 3	brand 1	-3.5000(*)	.35798	.000	-4.3876	-2.6124
	brand 2	-1.4000(*)	.35798	.002	-2.2876	-.5124

* The mean difference is significant at the .05 level.

ตารางที่ ง-3 ผลการเปรียบเทียบน้ำชะถุงมือยางธรรมชาติแบบบางชนิดมีแป้งยี่ห้อต่างๆกับอัตราการตายของไรแดง

ANOVA

DEATH

	Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.
Between Groups	102.067	2	51.033	71.026	.000
Within Groups	19.400	27	.719		
Total	121.467	29			

Multiple Comparisons

Dependent Variable: DEATH
Tukey HSD

ตารางที่ ง-3(ต่อ) ผลการเปรียบเทียบน้ำชะถุงมือยางธรรมชาติแบบบางชนิดมีแป้งยี่ห้อต่างๆกับอัตราการตายของไรแดง

(I) TYPE	(J) TYPE	Mean Difference (I-J)	Std. Error	Sig.	95% Confidence Interval	
					Lower Bound	Upper Bound
brand 1	brand 2	1.9000(*)	.37908	.000	.9601	2.8399
	band 3	4.5000(*)	.37908	.000	3.5601	5.4399
brand 2	brand 1	-1.9000(*)	.37908	.000	-2.8399	-.9601
	band 3	2.6000(*)	.37908	.000	1.6601	3.5399
band 3	brand 1	-4.5000(*)	.37908	.000	-5.4399	-3.5601
	brand 2	-2.6000(*)	.37908	.000	-3.5399	-1.6601

* The mean difference is significant at the .05 level.

ตารางที่ ง-4 ผลการเปรียบเทียบน้ำชะถุงมือยางธรรมชาติแบบหนาชนิดไม่มีแป้งยี่ห้อต่างๆกับอัตราการตายของไรแดง

ANOVA

DEATH

	Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.
Between Groups	46.067	2	23.033	28.528	.000
Within Groups	21.800	27	.807		
Total	67.867	29			

Multiple Comparisons

Dependent Variable: DEATH
Tukey HSD

(I) TYPE	(J) TYPE	Mean Difference (I-J)	Std. Error	Sig.	95% Confidence Interval	
					Lower Bound	Upper Bound
brand 1	brand 2	1.9000(*)	.40185	.000	.9037	2.8963
	band 3	3.0000(*)	.40185	.000	2.0037	3.9963
brand 2	brand 1	-1.9000(*)	.40185	.000	-2.8963	-.9037
	band 3	1.1000(*)	.40185	.028	.1037	2.0963
band 3	brand 1	-3.0000(*)	.40185	.000	-3.9963	-2.0037
	brand 2	-1.1000(*)	.40185	.028	-2.0963	-.1037

* The mean difference is significant at the .05 level.

ประวัติผู้เขียน

ชื่อ สกุล นางสาวกิตติญา วรุตมพันธ์

รหัสประจำตัวนักศึกษา 5210920003

วุฒิการศึกษา

วุฒิ	สถาบัน	ปีที่สำเร็จการศึกษา
วิทยาศาสตรบัณฑิต (เคมี-ชีววิทยา)	มหาวิทยาลัยสงขลานครินทร์	2551

การตีพิมพ์เผยแพร่ผลงาน

กิตติญา วรุตมพันธ์, บรรจง วิทยวีรศักดิ์และสุปียนิตย์ ไม้แพ. การตรวจคัดกรองสาร ไค-2-เอ็ทธิล เฮ็ทซิลธาเลตที่ถูกชะออกมาจากถุงมือโพลิเอ็ทธิลีนโดยใช้ไรแดง (*Moina macrocopa*). ในเอกสารประชุมทางวิชาการ มหาวิทยาลัยพะเยา ครั้งที่ 1. 12-13 มกราคม 2555. พะเยา.