การใช้ไรแดงในการตรวจคัดกรองความเป็นพิษของน้ำชะถุงมือที่ใช้สัมผัสอาหาร

Use of *Moina macrocopa* for a Toxicity Screening Test of Food Contact Glove Leachates

เติมสิน ทองไกร

Termsin Thongkrai

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
2557

ลิขสิทธิ์ของมหาวิทยาลัยสงขลานครินทร์

ชื่อวิทยานิพนธ์ การใช้ไรแดงในการตรวจคัดกรองความเป็นพิษของน้ำชะถุงมือที่ใช้สัมผัสอาหาร

ผู้เขียน นางสาวเติมสิน ทองไกร

สาขาวิชา การจัดการสิ่งแวดล้อม

ปีการศึกษา 2557

บทคัดย่อ

งานวิจัยชิ้นนี้มีวัตถุประสงค์เพื่อพัฒนาวิธีการตรวจคัดกรองความเป็นพิษของฟีนอล ฟอร์มัลดีไฮด์ และสารตกค้างจากการระเหยในน้ำชะถุงมือที่ใช้สัมผัสอาหาร โดยใช้ไรแดงทดสอบความเป็นพิษเฉียบพลัน ตัวอย่างถุงมือที่ใช้ทดสอบ ได้แก่ ถุงมือยางธรรมชาติแบบบางชนิดมีแป้ง ถุงมือยางธรรมชาติแบบบางชนิดไม่มีแป้ง ถุงมือยางธรรมชาติแบบหนาชนิดไม่มีแป้ง และถุงมือพลาสติกชนิดโพลีเอทิลีน การศึกษาประกอบด้วย 1) การทดสอบความเป็นพิษเฉียบพลันของสารละลายฟีนอล และฟอร์มัลดีไฮด์ 2) การวิเคราะห์ปริมาณของฟีนอล ฟอร์มัลดีไฮด์ และสารตกค้างจากการระเหยที่ถูกชะออกมาจากถุงมือที่ใช้สัมผัสอาหาร 3) การทดสอบความเป็นพิษของน้ำชะถุงมือที่ใช้สัมผัสอาหารด้วยไรแดง และ 4) การหาสภาวะที่เหมาะสมสำหรับวิธีการตรวจคัดกรอง

ผลการศึกษาพบว่า ความเข้มข้นของสารละลายฟีนอล และฟอร์มัลดีไฮด์ ที่ทำให้เกิดอัตราการตายของไรแดงร้อยละ 50 (LC_{50}) ในระยะเวลา 24 ชั่วโมง มีค่าเท่ากับ 0.34 และ 3.13 มิลลิกรัมต่อลิตร ตามลำดับ ปริมาณฟีนอลเฉลี่ยที่ถูกชะออกมาจากถุงมือ 4 ชนิดดังกล่าวมีค่าเท่ากับ 0.627 $\pm$ 0.122, 0.633 $\pm$ 0.084, 0.880 $\pm$ 0.124 และ 0.339 $\pm$ 0.117 ไมโครกรัมต่อตารางเซนติเมตร ตามลำดับ ปริมาณสารตกค้างจากการระเหยในตัวอย่างน้ำชะถุงมือเฉลี่ยมีค่าเท่ากับ 79.3 $\pm$ 2.67, 8.9 $\pm$ 0.6, 45.3 $\pm$ 6.33 และ 4.11 $\pm$ 0.4 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร ตามลำดับ และตรวจไม่พบฟอร์มัลดีไฮด์ในน้ำชะถุงมือทุกตัวอย่าง

พบว่าเมื่อใช้น้ำกลั่นปริมาตร 100 มิลลิลิตรชะถุงมือแต่ละข้างที่อุณหภูมิ 70 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 30 นาที และเจือจางให้ได้ความเข้มข้น 25% เมื่อนำมาทดสอบความเป็นพิษต่อไรแดงเป็นเวลา 24 ชั่วโมง จะให้ค่าความไวและความจำเพาะสูงสุด เกณฑ์ในการตัดสินเป็นผลบวกคือเมื่อไรแดงมีการตายตั้งแต่ร้อยละ 50 ขึ้นไป โดยใช้ค่าเฉลี่ยจากการทดสอบ 10 ซ้ำต่อตัวอย่าง การศึกษานี้ชี้ให้เห็นว่าเราสามารถนำไรแดงมาใช้ตรวจคัดกรองฟีนอลและสารตกค้างจากการระเหย ในน้ำชะถุงมือที่ใช้สัมผัสอาหารได้

Thesis Title	Use of *Moina macrocopa* in a Toxicity Screening Test of Food Contact Glove Leachates
Author	Miss Termsin Thongkrai
Major Program	Environmental Management
Academic Year	2014

Abstract

This study aimed to use water fleas (*Moina macrocopa*) in an acute toxicity test for screening of phenol, formaldehyde and evaporation residue migrated from food contact gloves. Four types of gloves were tested, including slim powdered natural rubber gloves, slim powder-free natural rubber gloves, thick powder-free natural rubber gloves and polyethylene gloves. The study consisted of 4 steps: 1) acute toxicity test of phenol and formaldehyde on *Moina macrocopa*. 2) determination of phenol, formaldehyde and evaporation residue in the glove leachates. 3) toxicity test of the glove leachate on *Moina macrocopa*. 4) optimization of the screening test.

It was found that the values of 24 h LC_{50} of phenol and formaldehyde on *Moina macrocopa* were equal to 0.34 and 3.13 mg/L, respectively. The average phenol levels migrated from the tested gloves were 0.63 ± 0.12, 0.63 ± 0.08, 0.88 ± 0.12 and 0.34 ± 0.12 μg/cm^2, respectively. The average levels of evaporation residues migrated from the tested gloves were 79.3 ± 2.67, 8.9 ± 0.6, 45.3 ± 6.33 and 4.11 ± 0.4 μg/mL, respectively. Formaldehyde was not found in any of the tested samples.

It was found that if a glove was dipped in 100 mL of distilled water at 70 ºC for 30 minutes and the leachate was diluted to 25 %, the 24 h toxicity test of this solution on *Moina macrocopa* gave the highest sensitivity and specificity. Positive result was interpreted when the average % kill from 10 repetitions of the toxicity test exceeded 50 %. This study indicated that *Moina macrocopa* could be used in a screening test of phenol and evaporation residue in leachate of food contact gloves.

ชื่อวิทยานิพนธ์ การใช้ไรแดงในการตรวจคัดกรองความเป็นพิษของน้ำชะถุงมือที่ใช้สัมผัสอาหาร

ผู้เขียน นางสาวเติมสิน ทองไกร

สาขาวิชา การจัดการสิ่งแวดล้อม

ปีการศึกษา 2557

บทคัดย่อ

งานวิจัยชิ้นนี้มีวัตถุประสงค์เพื่อพัฒนาวิธีการตรวจคัดกรองความเป็นพิษของฟีนอล ฟอร์มัลดีไฮด์ และสารตกค้างจากการระเหยในน้ำชะถุงมือที่ใช้สัมผัสอาหาร โดยใช้ไรแดงทดสอบความเป็นพิษเฉียบพลัน ตัวอย่างถุงมือที่ใช้ทดสอบ ได้แก่ ถุงมือยางธรรมชาติแบบบางชนิดมีแป้ง ถุงมือยางธรรมชาติแบบบางชนิดไม่มีแป้ง ถุงมือยางธรรมชาติแบบหนาชนิดไม่มีแป้ง และถุงมือพลาสติกชนิดโพลีเอทิลีน การศึกษาประกอบด้วย 1) การทดสอบความเป็นพิษเฉียบพลันของสารละลายฟีนอล และฟอร์มัลดีไฮด์ 2) การวิเคราะห์ปริมาณของฟีนอล ฟอร์มัลดีไฮด์ และสารตกค้างจากการระเหยที่ถูกชะออกมาจากถุงมือที่ใช้สัมผัสอาหาร 3) การทดสอบความเป็นพิษของน้ำชะถุงมือที่ใช้สัมผัสอาหารด้วยไรแดง และ 4) การหาสภาวะที่เหมาะสมสำหรับวิธีการตรวจคัดกรอง

ผลการศึกษาพบว่า ความเข้มข้นของสารละลายฟีนอล และฟอร์มัลดีไฮด์ ที่ทำให้เกิดอัตราการตายของไรแดงร้อยละ 50 (LC_{50}) ในระยะเวลา 24 ชั่วโมง มีค่าเท่ากับ 0.34 และ 3.13 มิลลิกรัมต่อลิตร ตามลำดับ ปริมาณฟีนอลเฉลี่ยที่ถูกชะออกมาจากถุงมือ 4 ชนิดดังกล่าวมีค่าเท่ากับ 0.627 $\pm$ 0.122, 0.633 $\pm$ 0.084, 0.880 $\pm$ 0.124 และ 0.339 $\pm$ 0.117 ไมโครกรัมต่อตารางเซนติเมตร ตามลำดับ ปริมาณสารตกค้างจากการระเหยในตัวอย่างน้ำชะถุงมือเฉลี่ยมีค่าเท่ากับ 79.3 $\pm$ 2.67, 8.9 $\pm$ 0.6, 45.3 $\pm$ 6.33 และ 4.11 $\pm$ 0.4 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร ตามลำดับ และตรวจไม่พบฟอร์มัลดีไฮด์ในน้ำชะถุงมือทุกตัวอย่าง

พบว่าเมื่อใช้น้ำกลั่นปริมาตร 100 มิลลิลิตรชะถุงมือแต่ละข้างที่อุณหภูมิ 70 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 30 นาที และเจือจางให้ได้ความเข้มข้น 25% เมื่อนำมาทดสอบความเป็นพิษต่อไรแดงเป็นเวลา 24 ชั่วโมง จะให้ค่าความไวและความจำเพาะสูงสุด เกณฑ์ในการตัดสินเป็นผลบวกคือเมื่อไรแดงมีการตายตั้งแต่ร้อยละ 50 ขึ้นไป โดยใช้ค่าเฉลี่ยจากการทดสอบ 10 ซ้ำต่อตัวอย่าง การศึกษานี้ชี้ให้เห็นว่าเราสามารถนำไรแดงมาใช้ตรวจคัดกรองฟีนอลและสารตกค้างจากการระเหย ในน้ำชะถุงมือที่ใช้สัมผัสอาหารได้

Thesis Title	Use of *Moina macrocopa* in a Toxicity Screening Test of Food Contact Glove Leachates
Author	Miss Termsin Thongkrai
Major Program	Environmental Management
Academic Year	2014

Abstract

This study aimed to use water fleas (*Moina macrocopa*) in an acute toxicity test for screening of phenol, formaldehyde and evaporation residue migrated from food contact gloves. Four types of gloves were tested, including slim powdered natural rubber gloves, slim powder-free natural rubber gloves, thick powder-free natural rubber gloves and polyethylene gloves. The study consisted of 4 steps: 1) acute toxicity test of phenol and formaldehyde on *Moina macrocopa*. 2) determination of phenol, formaldehyde and evaporation residue in the glove leachates. 3) toxicity test of the glove leachate on *Moina macrocopa*. 4) optimization of the screening test.

It was found that the values of 24 h LC_{50} of phenol and formaldehyde on *Moina macrocopa* were equal to 0.34 and 3.13 mg/L, respectively. The average phenol levels migrated from the tested gloves were 0.63 ± 0.12, 0.63 ± 0.08, 0.88 ± 0.12 and 0.34 ± 0.12 μg/cm^2, respectively. The average levels of evaporation residues migrated from the tested gloves were 79.3 ± 2.67, 8.9 ± 0.6, 45.3 ± 6.33 and 4.11 ± 0.4 μg/mL, respectively. Formaldehyde was not found in any of the tested samples.

It was found that if a glove was dipped in 100 mL of distilled water at 70 ºC for 30 minutes and the leachate was diluted to 25 %, the 24 h toxicity test of this solution on *Moina macrocopa* gave the highest sensitivity and specificity. Positive result was interpreted when the average % kill from 10 repetitions of the toxicity test exceeded 50 %. This study indicated that *Moina macrocopa* could be used in a screening test of phenol and evaporation residue in leachate of food contact gloves.

กิตติกรรมประกาศ

ผู้วิจัยขอขอบคุณ รศ.ดร.บรรจง วิทยวีรศักดิ์ และผศ.ดร.สุปียนิตย์ ไม้แพ อาจารย์ที่ปรึกษาวิทยานิพนธ์ที่ให้คำปรึกษาชี้แนะแนวทางในการแก้ปัญหาต่างๆและแก้ไขความบกพร่องในการทำวิทยานิพนธ์ และขอขอบคุณดร.อรมาศ สุทธินุ่น ประธานกรรมการการสอบวิทยานิพนธ์ ผศ.ดร.วิไลรัตน์ ชีวะเศรษฐธรรม และรศ.ดร.มณฑล เลิศคณาวนิชกุล คณะกรรมการสอบวิทยานิพนธ์ที่ให้คำปรึกษา ชี้แนะแนวทางแก้ไขวิทยานิพนธ์ ตลอดจนช่วยตรวจสอบความถูกต้องจนทำให้วิทยานิพนธ์เสร็จสมบูรณ์

ขอขอบคุณ คุณสาธิดา มะลี และคุณศักดิ์ชัยบดี ปิ่นศรีทอง นักวิทยาศาสตร์ศูนย์เครื่องมือวิทยาศาสตร์ มหาวิทยาลัยสงขลานครินทร์ ในการให้คำแนะนำช่วยเหลืออำนวยความสะดวกและสอนเทคนิคต่างๆในการใช้เครื่องมือ นอกจากนี้ขอขอบคุณภาควิชาชีววิทยา คณะวิทยาศาสตร์ มหาวิทยาลัยสงขลานรินทร์เอื้ออำนวยในการให้วัสดุที่ต้องใช้ในทำวิยานิพนธ์ และขอขอบคุณเจ้าหน้าที่ห้องปฏิบัติการสิ่งแวดล้อม คณะการจัดการสิ่งแวดล้อม มหาวิทยาลัยสงขลานครินทร์ ในการเอื้อเฟื้ออุปกรณ์ และเครื่องมือในการทำวิทยานิพนธ์

ขอขอบคุณสำนักงานกองทุนสนับสนุนการวิจัย (สกว.) และบัณฑิตวิทยาลัย มหาวิทยาลัยสงขลานครินทร์ที่สนับสนุนทุนในการวิจัย

ขอขอบคุณคุณอัฐพงศ์ ปิ่นทองพันธ์ คุณสหัสชัย พิชัยยุทธ์ คุณกนกรัตน์ เชิญทอง คุณกิตติยา วรุตมพันธ์ คุณสุวภา ชำนาญการ และเพื่อนๆ พี่ๆคณะการจัดการสิ่งแวดล้อมที่ให้ความช่วยเหลือและคำแนะนำในการทำวิทยานิพนธ์

สุดท้ายขอขอบคุณครอบครัวที่ให้กำลังใจและทุนในการศึกษาตลอดมา หวังว่าวิทยานิพนธ์เล่มนี้จะเป็นประโยชน์ต่อหน่วยงานหรือบุคคลที่สนใจต่อไป

เติมสิน ทองไกร

สารบัญ

	หน้า
ใบรับรอง	(3)
บทคัดย่อ	(5)
Abstract	(6)
กิตติกรรมประกาศ	(7)
สารบัญ	(8)
สารบัญตาราง	(13)
สารบัญภาพ	(16)
บทที่	
บทที่ 1 บทนำ	1
1.1 บทนำต้นเรื่อง	1
1.2 การตรวจเอกสาร	4
1.2.1 ถุงมือยาง	
1.2.1.1 ประเภทถุงมือยาง	4
1.2.1.2 กระบวนการผลิตถุงมือยาง	4
1.2.1.3วัตถุดิบและสารเคมีหลักที่ต้องใช้	8
1.2.1.4สารเคมีในถุงมือแต่ละประเภท	10
1.2.2 การเคลื่อนย้ายสารเคมีจากบรรจุภัณฑ์มาปนเปื้อนในอาหาร	13
1.2.3 ข้อกำหนดเกี่ยวกับการทดสอบการเคลื่อนย้ายของสารที่เป็นส่วนประกอบในพลาสติกลงสู่อาหาร	14
1.2.4 สารตกค้างจากการระเหยน้ำ	16
1.2.5 ฟีนอล	18
1.2.5.1 การนำไปใช้	18
1.2.5.2 การวิเคราะห์หาปริมาสารประกอบฟีนอลในน้ำ	19
1.2.6 ฟอร์มัลดีไฮด์	21
1.2.6.1 การนำไปใช้	22
1.2.6.2 การวิเคราะห์ฟอร์มัลดีไฮด์ในน้ำ	22

สารบัญ (ต่อ)

	หน้า
1.2.7 ชีววิเคราะห์ (Bioassay)	25
1.2.8 การทดสอบความเป็นพิษในสิ่งมีชีวิต	25
1.2.9 ชีววิทยาของไรแดง	27
1.2.9.1 ลักษณะทั่วไป	27
1.2.9.2 การสืบพันธุ์	27
1.2.9.3 วงจรชีวิตของไรแดง	28
1.2.10 การเพาะไรแดง	29
1.2.10.1 รูปแบบของการเพาะไรแดง	29
1.2.10.2วัสดุและอุปกรณ์ที่ใช้ในการเพาะไรแดง	29
1.2.10.3การเตรียมการเพาะเลี้ยงไรแดง	31
1.2.10.4 ขั้นตอนการเพาะเลี้ยงไรแดง	32
1.2.10.5 ปัจจัยสำคัญในการเพาะเลี้ยงไรแดง	34
1.2.11 การวิเคราะห์โดยวิธีโพรบิท (Probit analysis)	35
1.2.12 การทดสอบประสิทธิภาพของวิธีการตรวจวินิจฉัย	40
1.3 งานวิจัยที่เกี่ยวข้อง	42
1.4 วัตถุประสงค์ของงานวิจัย	43
1.5 กรอบแนวคิดการวิจัย	44
1.6 ขอบเขตการวิจัย	44
1.7 ประโยชน์ที่คาดว่าจะได้รับ	45
บทที่ 2 วิธีการวิจัย	46
2.1 วัสดุ เครื่องมือและอุปกรณ์	46
2.1.1 สิ่งมีชีวิตและตัวอย่างที่ใช้ทำการวิจัย	46
2.1.1.1 สิ่งมีชีวิตที่ใช้ในการทดสอบความเป็นพิษ	46
2.1.1.2 ตัวอย่างที่ใช้ในการวิจัย	46

สารบัญ (ต่อ)

	หน้า
2.1.2 สารมาตรฐานและสารเคมี	47
2.1.2.1 สารมาตรฐาน (Standard chemicals)	47
2.1.2.2 สารเคมี	47
2.1.3 เครื่องมือ	48
2.1.4 อุปกรณ์	48
2.2 วิธีดำเนินการ	49
2.2.1 การเตรียมอุปกรณ์	49
2.2.2 การเพาะเลี้ยงไรแดง	49
2.2.2.1 การเพาะสาหร่ายคลอเรลลาเพื่อนำมาใช้เป็นอาหารให้ไรแดง	49
2.2.2.2 การคัดเลือกแม่พันธุ์ไรแดงและการเพาะเลี้ยง	50
2.2.3 การเตรียมน้ำชะถุงมือเพื่อใช้ทดสอบความเป็นพิษกับไรแดง	50
2.2.4 การเตรียมน้ำชะถุงมือเพื่อใช้วิเคราะห์หาปริมาณฟีนอล ฟอร์มัลดีไฮด์ และสารตกค้างจากการระเหย	51
2.2.5 การเตรียมสารละลายมาตรฐานและการสร้างกราฟมาตรฐาน	52
2.2.5.1 การเตรียมสารละลายมาตรฐานฟีนอล	52
2.2.5.2 การเตรียมสารละลายมาตรฐานฟอร์มัลดีไฮด์และ internal standard	52
2.2.6 การทดลอง	53
การทดลองที่ 1 การทดสอบความเป็นพิษของฟีนอล ฟอร์มัลดีไฮด์	53

สารบัญ (ต่อ)

	หน้า
การทดลองที่ 2 การวิเคราะห์หาปริมาณฟีนอล ฟอร์มัลดีไฮด์ และสารตกค้างจากการระเหยในน้ำชะถุงมือที่ใช้สัมผัสอาหาร	53
การตรวจสอบความน่าเชื่อถือของวิธีวิเคราะห์	56
การทดลองที่ 3 การทดสอบความเป็นพิษของน้ำชะถุงมือที่ใช้สัมผัสอาหาร	57
การทดลองที่4 การหาประสิทธิภาพของวิธีการตรวจคัดกรองน้ำชะถุงมือ	58
การวิเคราะห์ทางสถิติ	59
บทที่ 3 ผลการวิจัยและอภิปรายผล	60
3.1 การทดสอบความเป็นพิษของสารละลายมาตรฐานฟีนอลและฟอร์มัลดีไฮด์ด้วยไรแดง	60
3.2 การตรวจสอบความน่าเชื่อถือของวิธีการวิเคราะห์ฟีนอลและฟอร์มัลดีไฮด์ในน้ำชะถุงมือที่ใช้สัมผัสอาหารชนิดต่างๆ	62
3.3 โครมาโตแกรมของสารละลายมาตรฐานฟีนอล ฟอร์มัลดีไฮด์ และตัวอย่างน้ำชะถุงมือที่ใช้สัมผัสอาหาร	63
3.4 ปริมาณการเคลื่อนย้ายออกมาของฟีนอลในน้ำชะถุงมือที่ใช้สัมผัสอาหาร	67
3.5 ปริมาณการเคลื่อนย้ายออกมาของฟอร์มัลดีไฮด์ต่อพื้นที่ผิวของถุงมือที่ใช้สัมผัสอาหาร	68
3.6 ปริมาณการเคลื่อนย้ายออกมาของสารตกค้างจากการระเหยในน้ำชะถุงมือที่ใช้สัมผัสอาหาร	68
3.7 ผลการทดสอบความเป็นพิษของน้ำชะถุงมือที่ใช้สัมผัสอาหารด้วยไรแดง	71

สารบัญ (ต่อ)

	หน้า
3.8 การคำนวณปริมาณสูงสุดของสารฟีนอลที่ยินยอมให้เคลื่อนย้ายออกมาจากถุงมือที่ใช้สัมผัสอาหาร	72
3.9 การหาประสิทธิภาพของวิธีการตรวจคัดกรองน้ำชะถุงมือ	72
บทที่ 4 สรุปผลการวิจัยและข้อเสนอแนะ	77
4.1 สรุปผลการวิจัย	77
4.1.1 การทดสอบความเป็นพิษของสารละลายฟีนอลและฟอร์มัลดีไฮด์ ด้วยไรแดง	77
4.1.2 ปริมาณการเคลื่อนย้ายออกมาของฟีนอล ฟอร์มัลดีไฮด์ และสารตกค้างจากการระเหยต่อพื้นที่ผิวของถุงมือที่ใช้สัมผัสอาหาร	77
4.1.3 การทดสอบความเป็นพิษของน้ำชะถุงมือที่ใช้สัมผัสอาหารด้วยไรแดง	78
4.1.4 การหาประสิทธิภาพของวิธีการตรวจคัดกรองน้ำชะถุงมือ	78
4.2 ข้อเสนอแนะ	79
เอกสารอ้างอิง	80
ภาคผนวก	90
ก อัตราการตายของไรแดง	91
ข กราฟมาตรฐานของฟีนอล, ฟอร์มัลดีไฮด์ และร้อยละการได้คืนกลับของฟีนอล	104
ค ข้อมูลผลการทดลอง	107
ง การวิเคราะห์ทางสถิติ	110
จ ภาพตัวอย่างและการทดลอง	114
ประวัติผู้เขียน	120

สารบัญตาราง

ตารางที่		หน้า
1-1	สารเคมีในถุงมือแต่ละประเภท	10
1-2	สารเคมีที่พบการปนเปื้อนในบรรจุภัณฑ์ต่างๆ	13
1-3	ข้อกำหนดเกี่ยวกับการทดสอบการเคลื่อนย้ายของสารสำหรับภาชนะพลาสติกบรรจุอาหารของแต่ละประเทศ	15
1-4	ระยะเวลาที่ใช้ทดสอบ	15
1-5	อุณหภูมิที่ใช้ทดสอบ	16
1-6	คุณภาพหรือมาตรฐานเนื้อพลาสติก: การแพร่กระจาย	17
1-7	คุณภาพหรือมาตรฐานเนื้อยาง: การแพร่กระจาย	17
1-8	ผลกระทบของฟีนอลต่อสุขภาพอนามัย	19
1-9	วิธีต่างๆที่ใช้ในการวิเคราะห์ฟีนอล	20
1-10	ผลกระทบของฟอร์มัลดีไฮด์ต่อสุขภาพอนามัย (health effect)	22
1-11	วิธีต่าง ๆ ที่ใช้ในการวิเคราะห์ฟอร์มัลดีไฮด์ในน้ำ	23
1-12	ข้อดีและข้อเสียของสิ่งมีชีวิตแต่ละชนิดที่นำมาทดสอบความเป็นพิษ	25
1-13	สูตรอาหารของสาหร่าย *Chlorella* สำหรับการเพาะเลี้ยงในบ่อซีเมนต์	32
1-14	สูตรอาหารของสาหร่าย *Chlorella* สำหรับการเพาะเลี้ยงในบ่อดิน	34
1-15	งานวิจัยที่ใช้การวิเคราะห์โดยวิธีโพรบิท	39
1-16	งานวิจัยที่ใช้วิธีการตรวจวินิจฉัย	41
2-1	คุณสมบัติของถุงมือทั้ง 4 ประเภท	47
2-2	สภาวะเครื่อง GC-FID ในการวัดสารฟีนอล	54
2-3	สภาวะเครื่อง GC-ECD ในการวัดสารฟอร์มัลดีไฮด์	55
2-4	สภาวะการทดสอบความเป็นพิษ	58
2-5	การหาค่าความไวและความจำเพาะของวิธีการตรวจวิเคราะห์ใหม่ที่พัฒนาขึ้นมา	59
3-1	ค่าร้อยละการได้คืนกลับของฟีนอล	63
3-2	ปริมาณฟีนอลในน้ำชะถุงมือที่ใช้สัมผัสอาหารประเภทต่างๆ	67
3-3	ปริมาณสารตกค้างจากการระเหยในน้ำชะถุงมือประเภทต่างๆ	69

สารบัญตาราง (ต่อ)

ตารางที่		หน้า
3-4	อัตราการตายของไรแดงในน้ำชะถุงมือที่ระดับความเข้มข้นต่างๆที่เวลา 24 ชั่วโมง	71
3-5	ผลการตรวจคัดกรองน้ำชะถุงมือที่ระดับความเข้มข้นต่างๆด้วยไร	73
3-6	ผลการตรวจคัดกรองตัวอย่างน้ำชะถุงมือด้วยวิธีการวิเคราะห์ทางเคมีที่ 24 ชั่วโมง	74
3-7	ค่าความไวและความจำเพาะของวิธีการตรวจคัดกรองด้วยไรแดงที่ระดับความเข้มข้นต่างๆ	75
3-8	สภาวะที่เหมาะสมสำหรับวิธีการตรวจคัดกรองตัวอย่างถุงมือใช้สัมผัสอาหาร	76
4-1	สภาวะที่เหมาะสมสำหรับวิธีการตรวจคัดกรองตัวอย่างถุงมือใช้สัมผัสอาหาร	78
ก-1	อัตราการตายของไรแดงที่ความเข้มข้นต่างๆของน้ำชะถุงมือยางธรรมชาติแบบบางชนิดมีแป้งยี่ห้อ A	92
ก-2	อัตราการตายของไรแดงที่ความเข้มข้นต่างๆของน้ำชะถุงมือยางธรรมชาติแบบบางชนิดมีแป้งยี่ห้อ B	93
ก-3	อัตราการตายของไรแดงที่ความเข้มข้นต่างๆของน้ำชะถุงมือยางธรรมชาติแบบบางชนิดมีแป้งยี่ห้อ C	94
ก-4	อัตราการตายของไรแดงที่ความเข้มข้นต่างๆของน้ำชะถุงมือยางธรรมชาติแบบบางชนิดไม่มีแป้งยี่ห้อ D	95
ก-5	อัตราการตายของไรแดงที่ความเข้มข้นต่างๆของน้ำชะถุงมือยางธรรมชาติแบบหนาชนิดไม่มีแป้งยี่ห้อ E	96
ก-6	อัตราการตายของไรแดงที่ความเข้มข้นต่างๆของน้ำชะถุงมือยางธรรมชาติแบบหนาชนิดไม่มีแป้งยี่ห้อ F	97

สารบัญตาราง (ต่อ)

ตารางที่		หน้า
ก-7	อัตราการตายของไรแดงที่ความเข้มข้นต่างๆของน้ำชะถุงมือยางธรรมชาติแบบหนาชนิดไม่มีแป้งยี่ห้อ G	98
ก-8	อัตราการตายของไรแดงที่ความเข้มข้นต่างๆของน้ำชะถุงมือโพลีเอทธิลีนยี่ห้อ H	99
ก-9	อัตราการตายของไรแดงที่ความเข้มข้นต่างๆของน้ำชะถุงมือโพลีเอทธิลีนยี่ห้อ I	100
ก-10	อัตราการตายของไรแดงที่ความเข้มข้นต่างๆของน้ำชะถุงมือโพลีเอทธิลีนยี่ห้อ J	101
ก-11	อัตราการตายของไรแดงที่ความเข้มข้นต่างๆกับสารมาตรฐานฟีนอล	102
ก-12	อัตราการตายของไรแดงที่ความเข้มข้นต่างๆกับสารมาตรฐานฟอร์มัลดีไฮด์	103
ข-1	ร้อยละการได้คืนกลับของฟีนอล	106
ค-1	ปริมาณเฉลี่ยและส่วนเบี่ยงเบนมาตรฐานของสารตกค้างจากการระเหยที่เคลื่อนย้ายออกจากถุงมือที่ใช้สัมผัสอาหาร 4 ชนิด	108
ค-2	ความเข้มข้นเฉลี่ยและส่วนเบี่ยงเบนมาตรฐานของฟีนอลที่เคลื่อนย้ายจากถุงมือที่ใช้สัมผัสอาหาร 4 ชนิด	109
ง-1	เปรียบเทียบปริมาณฟีนอลที่ถูกชะออกมาจากตัวอย่างถุงมือประเภทต่างๆ โดยใช้วิธี One-Way ANOVA	111
ง-2	เปรียบเทียบปริมาณฟีนอลที่ถูกชะออกมาจากตัวอย่างถุงมือประเภทต่างๆ ทดสอบ Multiple Comparisons ด้วยวิธี Tukey (HSD)	112
ง-3	เปรียบเทียบปริมาณสารตกค้างจากการระเหยที่ถูกชะออกมาจากตัวอย่างถุงมือประเภทต่างๆโดยใช้วิธี One-Way ANOVA	113
ง-4	เปรียบเทียบปริมาณสารตกค้างจากการระเหยที่ถูกชะออกมาจากตัวอย่างถุงมือประเภทต่างๆทดสอบ Multiple Comparisons ด้วยวิธี Tukey (HSD)	114

สารบัญภาพ

ภาพที่		หน้า
1-1	กระบวนการผลิตถุงมือยางชนิดมีแป้ง	7
1-2	กระบวนการผลิตถุงมือยางชนิดไม่มีแป้ง	7
1-3	กระบวนการผลิตถุงมือยางชนิดไม่มีแป้ง (เคลือบด้วยโพลิเมอร์)	8
1-4	วงจรชีวิตของไรแดง (*Moina macrocopa* Straus.)	28
1-5	การกระจายความถี่ของการตายรูปแบบปกติ (normal distribution)	36
1-6	กราฟแสดงความสัมพันธ์ของร้อยละการตายสะสมกับค่าความเข้มข้น (Concentration)	37
1-7	กราฟแสดงความสัมพันธ์ระหว่างร้อยละการตายสะสมกับค่าลอกการิทึมของความเข้มข้น	37
1-8	ตัวอย่างกราฟที่เปลี่ยนค่าร้อยละการตายเป็นค่าโพรบิท และเปลี่ยนค่า concentration เป็น logarithm of concentration	38
2-1	สาหร่ายคลอเรลลาที่ได้จากการเพาะ	50
2-2	แม่พันธุ์ไรแดงที่มีลูก	50
2-3	ถุงมือกลับด้านนอกเข้าด้านใน	51
2-4	ถุงมือที่รัดด้วยยางรัดของ	51
2-5	การเตรียมตัวอย่างน้ำชะ	51
3-1	กราฟแสดงความสัมพันธ์ระหว่างความเข้มข้นของฟีนอลกับค่าโปรบิทของอัตราการตายของไรแดงที่ 24 ชั่วโมง	61
3-2	กราฟแสดงความสัมพันธ์ระหว่างค่าลอกการิทึมความเข้มข้นของฟอร์มัลดีไฮด์กับค่า โปรบิทของอัตราการตายของไรแดง ที่ 24 ชั่วโมง	61
3-3	โครมาโทแกรมของสารละลายมาตรฐานฟีนอลความเข้มข้น 100 มิลลิกรัมต่อลิตร	64
3-4	โครมาโทแกรมของน้ำชะตัวอย่างถุงมือยางธรรมชาติแบบบางชนิดมีแป้ง	64
3-5	โครมาโทแกรมของน้ำชะตัวอย่างถุงมือยางธรรมชาติแบบบางชนิดไม่มีแป้ง	65

สารบัญภาพ (ต่อ)

ภาพที่		หน้า
3-6	โครมาโทแกรมของน้ำชะตัวอย่างถุงมือยางธรรมชาติแบบหนาชนิดไม่มีแป้ง	65
3-7	โครมาโทแกรมของน้ำชะตัวอย่างถุงมือพลาสติกชนิดโพลีเอทธิลีน	66
3-8	โครมาโทแกรมของสารละลายมาตรฐานฟอร์มัลดีไฮด์ความเข้มข้น 10 ไมโครกรัมต่อลิตร	66
ข-1	กราฟมาตรฐาน(calibration curve) ของสารละลายฟีนอลที่ความเข้มข้น 5, 25, 50, 100, 200 มิลลิกรัมต่อลิตร	105
ข-2	กราฟมาตรฐาน (calibration curve) ของสารละลายฟอร์มัลดีไฮด์ที่ความเข้มข้น 5,10, 20, 30, 40 ไมโครกรัมต่อลิตร	105
จ-1	ถุงมือยางธรรมชาติแบบบางชนิดมีแป้ง	115
จ-2	ถุงมือยางธรรมชาติแบบบางชนิดไม่มีแป้ง	115
จ-3	ถุงมือยางธรรมชาติแบบหนาชนิดไม่มีแป้ง	116
จ-4	ถุงมือพลาสติกชนิดโพลีเอทธิลีน	116
จ-5	การเพาะไรแดงในสาหร่ายคลอเรลลา	117
จ-6	ลักษณะของไรแดงเพศเมีย	117
จ-7	การสกัดตัวอย่างน้ำชะถุงมือเพื่อนำไปวิเคราะห์หาฟีนอล	118
จ-8	ขั้นตอนการกำจัดสารปนเปื้อน	118
จ-9	การอุ่นสารเพื่อนำไปวิเคราะห์หาฟอร์มัลดีไฮด์	119
จ-10	การเตรียมตัวอย่างน้ำชะถุงมือเพื่อนำไปวิเคราะห์หาสารตกค้างจากการระเหย	119

บทที่ 1
บทนำ

1.1 บทนำต้นเรื่อง

ปัจจุบันถุงมือถูกนำมาใช้ในกิจกรรมด้านการผลิตอาหาร เช่น อุตสาหกรรมอาหารแช่แข็ง ใช้ถุงมือยางธรรมชาติในขั้นตอนการตัดแต่ง การขอดเกล็ดและควักไส้ปลา ผู้ประกอบการร้านค้าจำหน่ายอาหารใช้ถุงมือพลาสติกชนิดโพลีเอทิลีนในการประกอบอาหาร ในกระบวนการผลิตถุงมือมีการเติมสารเคมีลงไปหลายชนิด เช่น สารเร่งปฏิกิริยาวัลคาไนซ์ สารวัลคาไนซ์ สารป้องกันปฏิกิริยาออกซิเดชั่น เป็นต้น เมื่อนำถุงมือไปใช้สัมผัสอาหาร สารเหล่านี้อาจมีการตกค้างในถุงมือและปนเปื้อนสู่อาหารได้ ถ้าผู้บริโภคได้รับสารดังกล่าวอย่างต่อเนื่องจะทำให้เกิดอันตรายต่อสุขภาพได้ โดยปริมาณสารที่เคลื่อนย้ายออกมาจากผลิตภัณฑ์ทั้งหมด สามารถหาได้โดยนำผลิตภัณฑ์ยางมาแช่ในน้ำเพื่อให้ชะสารเหล่านี้ออกมาและระเหยน้ำออก เหลือเป็นสารตกค้างจากการระเหย ปัจจุบันมีข้อกำหนดให้มีการตรวจหาสารเคมีที่อาจเคลื่อนย้ายออกมาจากผลิตภัณฑ์ยางและพลาสติกที่ใช้บรรจุหรือสัมผัสอาหาร ได้แก่ ฟีนอล ฟอร์มัลดีไฮด์ สังกะสี ตะกั่ว และสารตกค้างจากการระเหย (Rijk and Veraart, 2010)

โดยทั่วไปน้ำยางสดที่มาจากต้นยางพาราจะคงสภาพเป็นน้ำยางได้ไม่เกิน 3-6 ชั่วโมง จึงต้องมีการเติมสารป้องกันการสูญเสียสภาพของน้ำยางสด เรียกว่า สารรักษาสภาพน้ำยาง (preservative) เช่น ฟอร์มัลดีไฮด์ (formaldehyde) เพราะแบคทีเรียที่อยู่ในอากาศและจากเปลือกของต้นยางจะลงไปในน้ำยาง และกินสารอาหารที่อยู่ในน้ำยาง ได้แก่ โปรตีน และน้ำตาล ซึ่งทำให้แบคทีเรียเจริญเติบโตอย่างรวดเร็ว ทำให้เกิดก๊าซคาร์บอนไดออกไซด์ ก๊าซแอมโมเนีย และกรดไขมันระเหยง่าย (valatile fatty acid) ซึ่งเกิดเนื่องจากการย่อยของแบคทีเรีย เมื่อปริมาณกรดไขมันระเหยง่ายในน้ำยางเพิ่มมากขึ้น ทำให้น้ำยางเกิดการสูญเสียสภาพ โดยพบว่าน้ำยางจะค่อยๆ หนืดมากขึ้น เพราะอนุภาคยางเริ่มจับตัวเป็นเม็ดเล็กๆ และขยายตัวเป็นก้อนใหญ่จนน้ำยางสูญเสียสภาพ เกิดการบูดเน่า และมีกลิ่นเหม็น (บุญรักษ์ กาญจนวรวณิชย์, 2551) มีรายงานการศึกษาการปลดปล่อยฟอร์มัลดีไฮด์ออกจากถุงมือยาง พบว่าในถุงมือยาง 1 กรัม จะปล่อยสารประกอบฟอร์มัลดีไฮด์ 20 ไมโครกรัม และถ้าถุงมือเปียกน้ำจะปล่อยฟอร์มัลดีไฮด์ถึง 40 ไมโครกรัม โดยพบในถุงมือ PVC ทุกตัวอย่าง (จากทั้งหมด 4 ตัวอย่าง) พบในถุงมือยาง nitrile 1 ตัวอย่าง (จากทั้งหมด 3 ตัวอย่าง) พบในถุงมือยางธรรมชาติ 1 ตัวอย่าง (จากทั้งหมด 3 ตัวอย่าง) (Ponten, 2006) ซึ่งสารดังกล่าวทำให้เกิดการระคายตา จมูก และผิวหนัง ทำให้เป็นแผลหรือถึงขั้นตาบอด ถ้าสูดดมเข้าไปมากๆ จะทำให้น้ำท่วมปอด จนหายใจไม่ออก แน่นหน้าอก และเสียชีวิต หากได้รับปริมาณน้อยเป็นเวลานานจะมีอาการไอและหายใจติดขัดเพราะหลอดลมอักเสบ (สุชาตา ชินะจิตร, 2549) นอกจาก

นี้ฟอร์มัลดีไฮด์ยังเป็นสารก่อมะเร็งในมนุษย์ เมื่อได้รับสัมผัสทางการหายใจโดยจัดอยู่ในกลุ่ม 1 อีกด้วย (IARC, 2006)

นอกจากสารรักษาสภาพน้ำยางแล้วยังมีการเติมสารป้องกันการเสื่อมสภาพเนื่องจากปฏิกิริยาออกซิเดชั่น (antioxidant) เป็นการยืดอายุการใช้งานของผลิตภัณฑ์ โดยนิยมใช้สารในกลุ่มฟีนอลหรืออนุพันธ์ของฟีนอล (phenol or phenol derivative) ในการผลิตถุงมือยาง เนื่องจากผลิตภัณฑ์ที่ได้จะไม่เปลี่ยนสี ได้แก่ Permannax WSL (2,4-dimethy-6-methylcyclohenyl)-p-cresol), Montaclere (a styrenated phenol), Wingstay L (a hindered phenol) (วราภรณ์ ขจรไชยกูล และคณะ, 2533) นอกจากนี้ ยังมีรายงานการพบสาร methyl cyclohexyl dimethyl phenol ในถุงมือยางธรรมชาติ สาร bisphenol A ในถุงมือพลาสติก PVC (Rose *et al*., 2009) สาร 6-bis(1,1-dimethyl ethyl)-4-methyl phenol (BHT) และ 2,2'-methylenebis (6-(1,1-dimethylethyl)-4-methylphenol (A2246) ในจุกนมยาง (Rujiralai and Cheewasedtham, 2011) อีกด้วย สารดังกล่าวทำให้เกิดอาการระคายเคืองต่อระบบทางเดินอาหารหากรับประทานเข้าไป (เกศ สัตยพงศ์, 2554)

ในการตรวจสอบความปลอดภัยของถุงมือยางนั้น จะต้องมีการตรวจวิเคราะห์ทางเคมีเพื่อหาสารตกค้างในถุงมือและในน้ำชะจากถุงมือที่ใช้สัมผัสอาหาร(เฉพาะที่มีระดับความเป็นกรดเป็นด่างมากกว่า 5) มักมีค่าใช้จ่ายสูง วิเคราะห์ตัวอย่างได้จำนวนน้อย เสียเวลาในการวิเคราะห์มาก ผู้วิจัยจึงต้องการพัฒนาวิธีการตรวจคัดกรองสารพิษที่เคลื่อนย้ายออกจากถุงมือ โดยใช้วิธีชีววิเคราะห์ (bioassay) ซึ่งเป็นวิธีการใช้สิ่งมีชีวิตทดสอบกับตัวอย่างในห้องปฏิบัติการและดูผลที่เกิดขึ้นกับสิ่งมีชีวิต (พรทิพย์ จันทรมงคล, 2550) สิ่งมีชีวิตที่นิยมนำมาทดสอบความเป็นพิษ ได้แก่ ปลา พืช สาหร่าย ไรน้ำ และแบคทีเรีย ในการเลือกสิ่งมีชีวิตที่จะนำมาใช้ทดสอบความเป็นพิษจะต้องพิจารณาปัจจัยด้านระยะเวลาที่ใช้ในการทดสอบ เนื่องจากการใช้พืชและปลาทดสอบความเป็นพิษต้องใช้ระยะเวลานานประมาณ 4-6 วัน (Bartram and Balance, 1996) และในการเลี้ยงปลาจำเป็นต้องใช้อุปกรณ์เฉพาะ ทำให้สิ้นเปลืองค่าใช้จ่าย ส่วนการใช้สาหร่ายเพื่อทดสอบความเป็นพิษ มักมีปัญหาการเพาะเลี้ยงที่ทำได้ยาก (Farre and Barcelo, 2003) จึงไม่เหมาะสมที่จะนำมาทดสอบความเป็นพิษ การใช้ไรน้ำและแบคทีเรียทดสอบความเป็นพิษได้ในระยะเวลาสั้น คือ ไรน้ำใช้ระยะเวลาการทดสอบความเป็นพิษ 24-48 ชั่วโมง ส่วนแบคทีเรียใช้ระยะเวลาในการทดสอบความเป็นพิษ 30 นาที (Bartram and Balance, 1996) แต่หากเลือกใช้แบคทีเรียจะมีปัญหาเรื่องความจำเพาะของแบคทีเรีย เช่น *Vibrio fischeri* เป็นแบคทีเรียที่พบในทะเล จึงเหมาะสมกับการทดสอบความเป็นพิษในน้ำเค็มเท่านั้น (Farre and Barcelo, 2003) ไรน้ำที่นิยมนำมาทดสอบความเป็นพิษ คือ *Daphnia magna* Straus. เนื่องจากมีความไวต่อสารเคมี จำแนกลักษณะได้ง่าย และพบอาศัยทั่วไปในเขตอบอุ่น (APHA, AWWA and WEF, 2012) สำหรับประเทศไทยซึ่งเป็นเขตร้อน

ชื้นไรน้ำที่พบทั่วไป คือ ไรแดง (*Moina macrocopa*) มีรายงานวิจัยพบว่าไรแดง มีการตอบสนองต่อความเป็นพิษแบบเฉียบพลันของน้ำทิ้งอุตสาหกรรมได้ดีกว่า *Daphnia magna* (Xianliang *et al.*, 2010)

ไรแดง เป็นสัตว์ที่สามารถนำมาใช้ในการบ่งชี้คุณภาพสิ่งแวดล้อมได้ดี เพราะมีบทบาทสำคัญในระบบนิเวศทางน้ำ อาศัยอยู่ในแหล่งน้ำทั่วไป จำแนกลักษณะได้ง่าย เตรียมตัวอย่างได้จำนวนมาก เจริญเติบโตได้รวดเร็ว โดยมีข้อมูลลักษณะทางนิเวศวิทยาเพียงพอและมีความแปรปรวนในระดับยีนน้อย (ลัดดา วงรัตน์, 2541) มีรายงานการนำไรแดงมาประเมินความเป็นพิษของตะกอนท้องน้ำ พบว่าไรแดงสามารถประเมินความเป็นพิษ จำแนก และบ่งชี้สาเหตุความเป็นพิษของตะกอนท้องน้ำได้ (สมคิด ปราบภัย, 2545) มีรายงานการทดสอบความเป็นพิษของสีย้อมเบสิคและสีย้อมรีแอคทีฟด้วยสาหร่ายคลอเรลลาและไรแดง พบว่าสีย้อมเบสิคเป็นพิษต่อสาหร่ายคลอเรลลาและไรแดงมากกว่าสีย้อมรีแอคทีฟ (วารุณี ฉัตรเท, 2547) นอกจากนี้ ยังมีรายงานวิจัยพบว่าไรน้ำมีความไวต่อความเป็นพิษของฟีนอลมากกว่าแบคทีเรีย (Tisler and Koncan, 1997) โครงการวิจัยนี้จึงมีวัตถุประสงค์เพื่อนำไรแดงมาใช้คัดกรองความเป็นพิษของฟีนอล ฟอร์มัลดีไฮด์ และสารตกค้างจากการระเหยที่ถูกปลดปล่อยออกมาจากถุงมือที่ใช้สัมผัสอาหาร เนื่องจากเป็นวิธีการที่ประหยัด และสามารถบอกความเป็นพิษได้อย่างรวดเร็วภายใน 24-48 ชั่วโมง โดยวัดอัตราการตายของไรแดง ซึ่งมีความสัมพันธ์กับชนิดและความเข้มข้นของสารเคมี วิธีการตรวจคัดกรองที่ได้จากโครงการวิจัยนี้จะช่วยลดค่าใช้จ่ายและเวลาในการตรวจหาสารพิษที่เคลื่อนย้ายออกมาจากถุงมือที่ใช้สัมผัสอาหาร เพื่อความปลอดภัยต่อผู้บริโภค

1.2 การตรวจเอกสาร

1.2.1 ถุงมือยาง

ถุงมือยางเป็นผลิตภัณฑ์ที่ผลิตมาจากน้ำยางโดยเริ่มจากกระบวนการเตรียมน้ำยางผสมกับสารเคมีซึ่งทำให้อยู่ในสถานะที่เหมาะสมแล้วในอัตราส่วนและลำดับการผสมที่ถูกต้อง จุ่มแบบพิมพ์ (former) ลงในน้ำยางผสมสารเคมี (compounded latex) ทำให้ฟิล์มยางที่จับแบบพิมพ์แห้งและคงรูป (vulcanised) โดยถุงมือยางมีหลายชนิด เช่น ถุงมือที่ใช้งานศัลยกรรม (surgeon's glove) ถุงมือใช้ในงานบ้าน (household glove) ถุงมือใช้ในงานไฟฟ้า (electrician's glove) เป็นต้น

1.2.1.1 ประเภทถุงมือยาง

ถุงมือยางมีหลายชนิดโดยแบ่งตามลักษณะการใช้งานได้ 3 ประเภท คือ

1) ถุงมือยางสำหรับใช้ในทางการแพทย์ (medical glove) แบ่งออกเป็น

- ถุงมือที่ใช้ในการผ่าตัด (surgical glove) ใช้ในทางศัลยกรรม มีลักษณะเนื้อบางแข็งแรง มีความยาวถึงข้อศอก โดยผ่านกรรมวิธีการฆ่าเชื้อ 100% ใช้เพียงครั้งเดียวทิ้ง หรืออาจนำไปนึ่งฆ่าเชื้อแล้วนำกลับมาใช้ซ้ำก็ได้ การบรรจุหีบห่อต้องประณีต สะดวกต่อการใช้งาน

- ถุงมือที่ใช้ในงานตรวจโรคทั่วไป (examination glove) ใช้ในงานตรวจโรค มีลักษณะบาง กระชับมือ สั้นแค่ข้อมือ ใช้ครั้งเดียวทิ้งโดยไม่มีการนำกลับมาใช้อีก

2) ถุงมือยางสำหรับใช้ในโรงงานอุตสาหกรรม (industrial glove) แบ่งออกเป็น 3 ประเภท ได้แก่ ถุงมือที่ทำจากน้ำยางธรรมชาติ ถุงมือที่ทำจากน้ำยางสังเคราะห์ ถุงมือที่ทำจากน้ำยางธรรมชาติผสมน้ำยางสังเคราะห์ (มาตรฐานผลิตภัณฑ์อุตสาหกรรม มอก. 2505-2553) ซึ่งอาจมีขนาดใหญ่ แข็งแรงเทอะทะ เพื่อความทนทานต่องานในโรงงานอุตสาหกรรม เช่น โรงงานผลไม้กระป๋อง หรืออาจมีขนาดบางกระชับหรือใช้สวมเฉพาะบางส่วนของมือ เช่น ถุงนิ้ว (finger cot) มักใช้ในอุตสาหกรรมอิเล็กทรอนิกส์

3) ถุงมือยางสำหรับใช้ในครัวเรือน (household glove)

เป็นถุงมือยางที่แม่บ้านใช้ในการทำความสะอาด ซักล้าง มีขนาดใหญ่ แข็งแรง ทนทานต่อการใช้งาน มีอายุการใช้งานนาน สวมใส่สบาย นุ่มมือ (จินตนา ลีกิจวัฒนะ, 2551)

1.2.1.2 กระบวนการผลิตถุงมือยาง

ถุงมือยางผลิตโดยใช้วิธีการจุ่มพิมพ์ลงในน้ำยาง (latex dipping) ซึ่งประมาณ 50 % ใช้ยางธรรมชาติ (natural rubber) เพราะยางธรรมชาติมีความทนทานต่อแรงดึงและมีความยืดหยุ่นสูงมาก ส่วนยางสังเคราะห์ (synthetic latex) นิยมใช้ทำผลิตภัณฑ์ที่ใช้ในอุตสาหกรรม เช่น ถุงมือยางที่ใช้ในอุตสาหกรรม แต่มีปริมาณการใช้น้อยกว่ายางธรรมชาติ ในการผลิตถุงมือยางใช้หลักการจุ่มพิมพ์แม่แบบลงในน้ำยาง (latex dipping) ทำให้แห้งแล้วดึงถุงมือยางออกจากแม่พิมพ์ และนำไป

ผ่านกระบวนการทำให้ยางคงรูป (vulcanization) (วราภรณ์ ขจรไชยกูล และคณะ, 2533) ขั้นตอนการผลิตถุงมือยางชนิดมีแป้ง (ภาพที่ 1-1) ส่วนถุงมือไม่มีแป้งอาจทำการทรีตที่ผิว เช่น การทำคลอริเนชัน (chlorination) (ภาพที่ 1-2) หรือการเคลือบผิวด้วยโพลิเมอร์ (polymer coating) (ภาพที่ 1-3) เพื่อลดการแพ้โปรตีนในน้ำยาง มีดังต่อไปนี้

1) การบ่มน้ำยางผสม (maturation)

เป็นขั้นตอนที่มีการเติมสารเคมีลงไปในน้ำยาง แล้วเก็บไว้ระยะหนึ่งเพื่อให้สารต่างๆ ที่ผสมลงไปได้กระจายอย่างทั่วถึงเป็นเนื้อเดียวกับน้ำยาง การบ่มมีข้อดี คือทำให้น้ำยางผสมมีความหนืดสม่ำเสมอดี ได้ยางจับตัวที่แข็งแรง (strong gel) และทำให้ผลผลิตสุดท้ายมีการคงรูปอย่างทั่วถึง (uniform vulcanization) สำหรับระยะเวลาการบ่มจะนานเพียงใดนั้นขึ้นอยู่กับสารคงรูปที่ใช้และอุณหภูมิของการบ่ม น้ำยางที่ผ่านการบ่มแล้วเรียกว่า compound latex

2) การเตรียมพิมพ์และการล้างแบบพิมพ์

แบบพิมพ์ที่ใช้งานต้องเป็นแบบพิมพ์ที่สะอาด เพราะแบบพิมพ์ที่สกปรก จะส่งผลให้เกิดจุดบกพร่องหรือเกิดตำหนิกับถุงมือยางได้ ดังนั้นก่อนจุ่มแบบพิมพ์ลงในน้ำยางผสมทุกครั้งจะต้องทำความสะอาดแบบพิมพ์ด้วยด่างหรือกรดอินทรีย์ แล้วล้างแบบพิมพ์ด้วยน้ำสะอาด และอาจขัดถูสิ่งสกปรกออกจากแบบพิมพ์โดยใช้แปรงเพื่อให้มั่นใจว่าแบบพิมพ์สะอาดปราศจากสิ่งแปลกปลอมทั้งหลายรวมทั้งสารเคมีที่ใช้ทำความสะอาดแบบพิมพ์ด้วย เมื่อแบบพิมพ์สะอาดแล้วจากนั้นอบแบบพิมพ์ให้แห้งก่อนจุ่มลงในน้ำยาง

3) การจุ่มแบบพิมพ์ (dipping)

การจุ่มแบบพิมพ์โดยใช้เทคนิคการจุ่ม ซึ่งใช้สารช่วยจับตัว เป็นที่นิยมและเหมาะสมสำหรับการผลิตถุงมือโดยทั่วไป สารจะช่วยทำให้น้ำยางจับตัวและช่วยให้น้ำยางเกาะพิมพ์ (วราภรณ์ ขจรไชยกูล และคณะ, 2533)

4) การล้าง (leaching)

คือการล้างฟิล์มยางซึ่งจับอยู่บนแบบพิมพ์ ซึ่งอาจทำได้ 2 วิธี คือล้างในขณะที่อยู่ในกระบวนการผลิต (on-line) หรือล้างหลังจากแกะถุงมือยางออกจากแบบพิมพ์แล้ว (off-line) การล้างนี้เพื่อกำจัดสารละลายพวกเกลือที่มีอยู่ในน้ำยางอยู่เดิมหรือที่เติมลงไปในน้ำยาง

5) การอบแห้งและทำให้ยางคงรูป (drying and vulcanizing)

เป็นการอบแห้งและทำให้ยางคงรูปในตู้อบร้อน โดยอบเพื่อให้ยางที่จับพิมพ์แห้งในตู้ที่อุณหภูมิประมาณ 70-80 องศาเซลเซียส ก่อนที่จะอบให้ยางคงรูป ระยะเวลาอบขึ้นอยู่กับชนิดของสารทำให้ยางคงรูปที่ใช้

6) การม้วนขอบ (beading)

การม้วนขอบถุงมือเพื่อให้ถุงมือมีความแข็งแรง โดยม้วนขอบขณะที่ยางเกาะบนแบบพิมพ์แห้งแล้ว แต่ยังไม่ได้ทำให้คงรูป ถ้าในขั้นตอนของการอบแห้งแยกกับการอบให้ยางคงรูปก็จะทำการม้วนขอบระหว่างสองขั้นตอนของการอบนี้ การม้วนขอบสามารถทำได้โดยใช้มือหรือใช้เครื่อง

7) การปรับผิวของถุงมือ (มอก.2505-2553)

การปรับผิวของถุงมือมี 2 ชนิด คือ

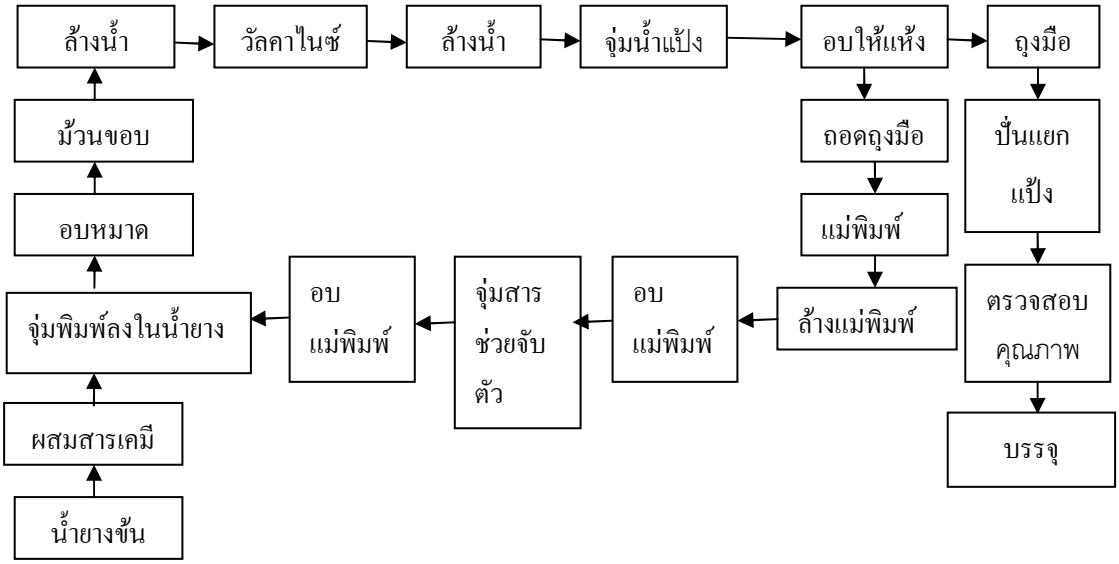
- ถุงมือยางผิวมีแป้ง หมายถึง ถุงมือยางที่ใช้แป้ง (แป้งข้าวโพด แคลเซียมคาร์บอเนต หรือทัลคัม (พร้อมศักดิ์ สงวนธำมรงค์, 2554)) เพื่อป้องกันการติดกันของถุงมือยางและช่วยความสะดวกในการสวมใส่
- ถุงมือยางผิวไม่มีแป้ง หมายถึง ถุงมือยางที่ผ่านกรรมวิธีปรับผิว เช่น แช่ในสารละลายคลอรีน (chlorination) พ่นด้วยผงเส้นใยด้านในของถุงมือ (flocking) เคลือบด้วยพอลิเมอร์ (polymer coating) เพื่อเพิ่มความลื่นที่ผิว เพื่อความนุ่มและสะดวกในการสวมใส่แทนการใช้แป้ง

8) การถอดถุงมือออกจากแบบพิมพ์

การถอดถุงมือจากพิมพ์จะเป็นขั้นตอนสุดท้ายของกระบวนการผลิต โดยทั่วไปมักใช้มือถอดและอาศัยแป้งช่วยเพื่อป้องกันยางติด เช่น แป้งทาล์ค

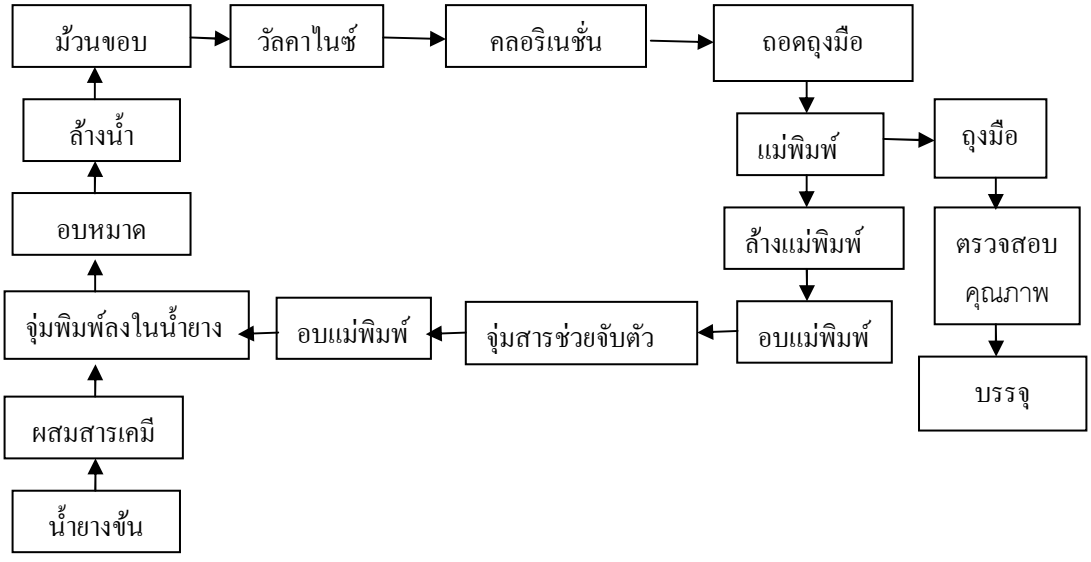
9) การตรวจสอบ

การตรวจสอบขึ้นอยู่กับชนิดของถุงมือ เช่น ถุงมือใช้งานบ้าน เปอร์เซ็นต์การตรวจสอบอาจต่ำ และอาจตรวจสอบโดยใช้สายตาและการเป่าลม โดยต้องมีการตรวจสอบความต้านแรงดึงและความยืดเมื่อขาด ความสม่ำเสมอของความหนาของเนื้อยาง และปราศจากรูรั่ว เป็นต้น



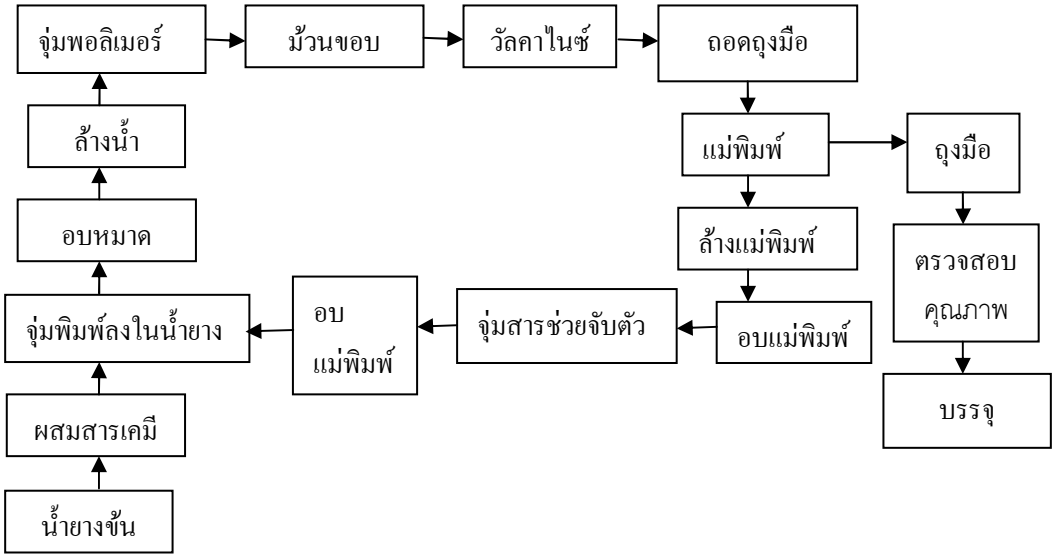
ภาพที่ 1-1 กระบวนการผลิตถุงมือยางชนิดมีแป้ง

ที่มา : พร้อมศักดิ์ สงวนธำมรงค์ (2554)



ภาพที่ 1-2 กระบวนการผลิตถุงมือยางชนิดไม่มีแป้ง (คลอริเนชั่น)

ที่มา : พร้อมศักดิ์ สงวนธำมรงค์ (2554)



ภาพที่ 1-3 กระบวนการผลิตถุงมือยางชนิดไม่มีแป้ง (เคลือบด้วยโพลิเมอร์)

ที่มา : พร้อมศักดิ์ สงวนธำมรงค์ (2554)

1.2.1.3 วัตถุดิบและสารเคมีหลักที่ต้องใช้

1) น้ำยางข้น (concentrated latex)

ในการผลิตโดยทั่วไปจะใช้น้ำยางธรรมชาติ แต่ถ้าต้องการถุงมือยางที่มีความทนทานต่อสารประเภทน้ำมัน กรีสหรือโอโซน จะใช้น้ำยางสังเคราะห์โพลีคลอโรพรีน (polychloroprene latex) ชนิดของน้ำยางข้นที่ใช้ผลิตถุงมือ มี 2 ชนิด คือ ชนิดรักษาด้วยแอมโมเนียมาก (high ammonia, HA) ชนิดนี้ต้องไล่แอมโมเนียให้เหลือประมาณ 0.2% (โดยน้ำหนักของน้ำยาง) ก่อนการใช้ และชนิดที่รักษาด้วยแอมโมเนียน้อยร่วมกับสารช่วย (low ammonia, LA) ไม่จำเป็นต้องลดแอมโมเนียและน้ำยางชนิดนี้ที่นิยมใช้ คือ ชนิด LA-TZ (low ammonia-tetramethyl thiuram disulphide/zinc oxide)

2) สารเพิ่มความคงตัว (stabilizer)

ทำหน้าที่รักษาสภาพความเป็นของเหลวของน้ำยาง โดยช่วยรักษาสภาพความเป็นด่าง (alkalinity) ของน้ำยาง และช่วยลดการเกิดครีมที่ผิวน้ำยาง สารเพิ่มความคงตัวมีความเป็นด่างและสบู่ของกรดไขมัน ได้แก่ ด่างโพแทสเซียมไฮดรอกไซด์ ด่างโซเดียมไฮดรอกไซด์ ซึ่งด่างโพแทสเซียมไฮดรอกไซด์เป็นที่นิยมมากกว่าด่างโซเดียมไฮดรอกไซด์ เพราะอนุมูลโปแทสเซียมมีผลต่อการลดความคงตัวของน้ำยางน้อยกว่าอนุมูลโซเดียม ปริมาณการใช้อยู่ระหว่าง 0.2-0.5 ส่วนต่อเนื้อยาง 100 ส่วน สารพวกสบู่ของกรดไขมันจะใช้ชนิดที่โมเลกุล

ประกอบด้วยคาร์บอน 8-12 อะตอม เช่น โปแทสเซียมแคปริเอต (potassium capryate, $CH_3(CH_2)_{10}COOK$) และโปแทสเซียมลอเรต (potassium laurate, $CH_3(CH_2)_{10}COOK$) ซึ่งจะช่วยให้น้ำยางมีความคงตัวต่อเครื่องมือกล (mechanical stability) ดีขึ้น แต่ไม่ควรใส่สารนี้มากเกินไป เพราะจะทำให้เกิดฟอง ปริมาณการใช้อยู่ระหว่าง 0.2-0.4 ส่วนต่อเนื้อยาง 100 ส่วน (phr) (ผลชิต บัวแก้ว, 2541) นอกจากนี้ การเติมสารเพิ่มความคงตัวมากเกินไปทำให้การจุ่มพิมพ์ได้ฟิล์มยางที่มีความหนาไม่สม่ำเสมอ

3) สารในระบบคงรูป (vulcanizing systems)

ซัลเฟอร์เป็นสารทำให้ยางคงรูป ส่วนซิงค์ออกไซด์เป็นสารกระตุ้น และใช้สารเร่งปฏิกิริยายางคงรูปชนิดเดียวหรือสองชนิดขึ้นไป เช่น กลุ่ม dithiocarbamate

4) สารเร่งปฏิกิริยายางคงรูป (accelerator)

เป็นสารที่ช่วยเร่งปฏิกิริยายางคงรูปเร็วขึ้น และช่วยลดปริมาณกำมะถันที่ต้องใช้ในการทำให้ยางคงรูป ซึ่งการทำให้ยางคงรูปโดยใช้กำมะถันเพียงอย่างเดียวจะต้องใช้กำมะถันปริมาณสูง และยังทำให้ประสิทธิภาพของการทำปฏิกิริยาต่ำด้วย ดังนั้นจึงใช้สารเคมีช่วยเร่งปฏิกิริยาของการคงรูป ได้แก่สารกลุ่ม ซัลฟีนาไมด์ ไดไทโอคาร์บาเมต และไทยูแรม

5) สารป้องกันการเสื่อมสภาพเนื่องจากปฏิกิริยาออกซิเดชั่น (antioxidant)

เป็นสารที่เติมลงไปในน้ำยางเพื่อทำหน้าที่ป้องกันการเกิดปฏิกิริยาออกซิเดชันของผลิตภัณฑ์ ซึ่งเป็นการยืดอายุการใช้งาน ปริมาณการใช้ประมาณ 1-4 ส่วนต่อเนื้อยาง 100 ส่วน (phr) แบ่งเป็น 2 กลุ่ม คือ

1. กลุ่มเอมีนหรืออนุพันธ์ของเอมีน (amine or amine derivative) เช่น N,N'-di-2-naphthyl-p-phenylenediamine มีข้อเสียคือทำให้ยางเปลี่ยนสี นิยมใช้ในผลิตภัณฑ์จากยางแห้งที่ต้องการสีคล้ำ

2. กลุ่มฟีนอลหรืออนุพันธ์ของฟีนอล (phenol or phenol derivative) เช่น PermannaxWSL (2,4-dimethy-6-methylcyclohenyl)-p-cresol), Montaclere (a styrenated phenol), Wingstay L (a hindered phenol) นิยมใช้สารในกลุ่มนี้ในการผลิตถุงมือยางมากกว่า เนื่องจากผลิตภัณฑ์ที่ได้จะไม่เปลี่ยนสี (วราภรณ์ ขจรไชยกูล และคณะ, 2533)

1.2.1.4 สารเคมีในถุงมือแต่ละประเภท

สารเคมีที่ถูกเติมลงในถุงมือแต่ละประเภทได้แสดงดังตารางที่ 1-1

ตารางที่ 1-1 สารเคมีในถุงมือประเภทต่างๆ

สารเคมี	ประเภทถุงมือ			
	ยางธรรมชาติ	ไนไตรล์	นีโอพรีน	พีวีซี
Zinc oxide	Yes	Yes	No	No
Titanium dioxide	Yes	Yes	No	No
Calcium nitrate	Yes	Yes	No	No
Fillers				
Calcium carbonate	Yes	No	No	No
Zinc sulfide	Yes	No	No	No
Barium sulfate	Yes	No	No	No
Plasticizers				
Naphthenic oil	Yes	No	No	No
Paraffinic process oil	Yes	No	No	No
Epoxy resins	No	No	No	Yes
Adipic polyester	No	No	No	Yes
Poly (adipic acid-co-1,2-propylene glycol)	No	No	No	Yes
Stabilizers				
Potassium oleate	Yes	No	No	No
Triethanolamine oleate	Yes	No	No	No
Casein	Yes	Yes	No	No
Di(2-ethylhexyl)phthalate	No	Yes	No	Yes
Dibutyl phthalate	No	No	No	Yes
Di –(n-octyl)tin-bis(2-ethylhexylmaleate)	No	No	No	Yes
Antioxidants				
Bisphenol A	No	No	No	Yes
Methylcyclohexyldimethylphenol	unknown	unknown	unknown	unknown
4,4’-Thiobis(6-tert-butyl-meta cresol) (Lowinox 44S63)	Yes	No	No	No
Butylated hydrixyanisole (BHA)	Yes	No	No	No

ตารางที่ 1-1 (ต่อ) สารเคมีในถุงมือประเภทต่างๆ

สารเคมี	ประเภทถุงมือ			
	ยางธรรมชาติ	ไนไตรล์	นีโอพรีน	พีวีซี
2-Tertiary-butyl-4-methyphenol	No	Yes	No	No
4,4'-Dihydroxydiphenyl ether	No	No	Yes	No
N-Isopropyl-N'-phenyl-paraphenylenediamine	Yes	Yes	No	No
N-Cyclohexyl-N'-phenyl-paraphenylenediamine	Yes	Yes	No	No
Accelerators				
2-Mercaptobenzothiazole	Yes	Yes	Yes	No
N-Cyclohexyl-2-benzothiazylsulfenamide	Yes		Yes	No
Morpholinylmercaptobenzothiazole	Yes	Yes	Yes	No
Dibenzothiazyldisulfide	Yes	Yes	Yes	No
Zinc diethyldithiocarbamate	Yes	Yes	Yes	No
Zinc dibutyldithiocarbamate	Yes	Yes	Yes	No
Zinc dimethyldithiocarbamate	Yes	Yes	Yes	No
1,3-Diphenylguanidine	Yes	Yes	Yes	No
Tetraethylthiuram disulfide	Yes	Yes	Yes	No
Tetramethylthiuram monosulfide	Yes	Yes	Yes	No
Tetramethylthiuram disulfide	Yes	Yes	Yes	No
Dipentamethyenethiuram disulfide	Yes	Yes	Yes	No
Dibutyl thiourea	Yes	Yes	Yes	No
Diphenyl thiourea	Yes	Yes	Yes	No
Diethyl thiourea	Yes	Yes	Yes	No
Pigment				
Sulfur black	Yes	Yes	No	No
Pigment Yellow (CI 21290)	Yes	No	No	No
Pigment Blue 15 : 1 (CI 74160 : 3)	No	Yes	No	No
Pigment Green 7 (CI 74260)	No	Yes	No	No
Carbon black	Yes	No	No	No
Pigment Red 122 (CI 73915)	Yes	No	No	No
Disperse Yellow 134 (CI 47023)	No	No	No	Yes
Surfactant				

ตารางที่ 1-1 (ต่อ) สารเคมีในถุงมือประเภทต่างๆ

สารเคมี	ประเภทถุงมือ			
	ยางธรรมชาติ	ไนไตรล์	นีโอพรีน	พีวีซี
Fatty alcohol polyglycol ethers	Yes	Yes	No	No
Dowfax™ (mono- and – di-alkyl diphenyl oxide disulfonate disodium salt)	No	Yes	No	No
Thickener				
Polyamide	Yes	Yes	No	No
Sodium carboxymethyl cellulose	Yes	Yes	No	No
Ammonia solution	Yes	Yes	No	No
Defoamers				
Blend metallic soap/ mild nonionic surfactants	Yes	No	No	No
Mineral oil	No	Yes	No	No
Tackifiers				
Terpene phenolic resin	No	Yes	No	No
Cross-linking agents				
Methylated melamine resin	No	Yes	No	No
Anticaking agents				
Silica with medium oil absorption	No	Yes	No	No
Emulsifiers				
Polyvinyl alcohol (PVA)	No	Yes	No	No
Promaters				
Methanol	Yes	Yes	No	No
Dispersers				
Xylene	Yes	No	No	No
Antimicrobials				
Formaldehyde	No	No	No	Yes
1,2 Benzisothiazolinone	No	No	No	Yes
Cetyl pyridinium chloride	Yes	No	No	No
Corn Strarch powder	Yes	Yes	No	No

ที่มา: Bohrer (2013)

1.2.2 การเคลื่อนย้ายสารเคมีจากบรรจุภัณฑ์มาปนเปื้อนในอาหาร

การเคลื่อนย้าย (migration) คือ กระบวนการเคลื่อนย้ายของอนุภาคหรือโมเลกุล ซึ่งเป็นองค์ประกอบของภาชนะบรรจุอาหารไปสู่อาหาร ส่วนใหญ่มักเกิดในภาชนะประเภทพลาสติก นอกจากนี้การเคลื่อนย้ายยังอาจทำให้สีและกลิ่นของอาหารเปลี่ยนไปจากเดิมได้ (สถาบันพัฒนาวิสาหกิจขนาดกลางและขนาดย่อม, 2554) ซึ่งสารเคมีที่พบการปนเปื้อนในบรรจุภัณฑ์ได้แสดงในตารางที่ 1-2

ตารางที่ 1-2 สารเคมีที่พบการปนเปื้อนในบรรจุภัณฑ์ต่างๆ

สารเคมีที่พบและเครื่องมือที่ใช้วิเคราะห์	อ้างอิง
ตรวจพบการปนเปื้อนของ benzene ในอาหารที่บรรจุในขวดพลาสติกประเภท PET โดยวิเคราะห์ด้วยเครื่อง GC-MS	Lau and Wong (2000)
ตรวจพบการปนเปื้อนของ diphenylthiurea, isothiocyanatobenzene และ aniline ในบรรจุภัณฑ์ใส่อาหาร โดยวิเคราะห์ด้วยเครื่อง HPLC	Lau and Wong (2000)
ตรวจพบการปนเปื้อนของ naphthalene ในน้ำนมที่บรรจุในขวด LDPE และพบว่า naphthalene ที่อยู่ในอากาศสามารถซึมผ่านขวด LDPE ได้ โดยวิเคราะห์ด้วยเครื่อง GC	Lau and Wong (2000)
ตรวจพบการปนเปื้อนของ dioxins ในภาชนะ PVC ในช่วงความเข้มข้น 2.6-6.9 ng TEQ/kg และปริมาณความเข้มข้นสูงสุดที่เคลื่อนย้ายลงสู่อาหารคือ 0.007 ng TEQ/kg	Lau and Wong (2000)
ตรวจพบการปนเปื้อนของ hydrogen peroxide ที่อยู่ในบรรจุภัณฑ์ประเภท polyethylene และ polypropylene	Lau and Wong (2000)
ตรวจพบการปนเปื้อนของ phenol, m-cresol, bisphenol F, bisphenol A, 4-tert-butyl phenol, bisphenol F diglycidyl ether และ bisphenol A diglycidyl ether ในตัวอย่างน้ำและไวน์ในภาชนะที่เคลือบสาร epoxy resins โดยวิเคราะห์ด้วยเครื่อง HPLC	Lambert and Larroque (1997)
ตรวจพบสารที่มีแนวโน้มเคลื่อนย้ายจากถุงร้อนบรรจุอาหารชนิด HDPE, ถุงเย็นบรรจุอาหารชนิด LDPE และฟิล์มยืด โดยวิเคราะห์ด้วยเครื่อง Fourier transform infrared spectroscopy	งามทิพย์ ภู่วโรดม (2543)

โดยทั่วไปการเคลื่อนย้ายจะต้องอาศัยปัจจัยที่เหมาะสม ได้แก่

1) อาหาร อาหารที่เหมาะสมในการเกิด migration มักเป็นอาหารที่มีไขมันสูง เช่น อาหารจำพวกน้ำพริก เครื่องปรุงรส ที่บรรจุอยู่ในขวดแก้วที่มีฝาปิด โดยสารที่ผสมอยู่ในฝาปิดขวดแก้วจะละลายได้ดีในอาหารประเภทไขมัน

2) ระยะเวลา อาหารที่มีช่วงระยะเวลานาน เช่น อาหารกระป๋องที่มีอายุการเก็บรักษาได้นาน 3 ปี ก็จะทำให้คุณภาพของกระป๋องเสื่อมเกิด migration ได้ง่าย

3) ภาชนะบรรจุ วัสดุที่นำมาทำภาชนะบรรจุมีสารเคมีในปริมาณมาก ก็เป็นสาเหตุให้เกิด migration ได้

4) อุณหภูมิ การถนอมอาหารโดยการใช้ความร้อน เช่น การสเตอริไลเซชัน (sterilization) ความร้อนอาจทำให้สารที่อยู่ในวัสดุสัมผัสอาหารสลายตัวเมื่อสัมผัสกับอาหารจึงทำให้ปนเปื้อนเข้าไปในอาหารได้ (Tangpitayakul, 2011)

1.2.3 ข้อกำหนดเกี่ยวกับการทดสอบการเคลื่อนย้ายของสารที่เป็นส่วนประกอบในพลาสติกลงสู่อาหาร

สหภาพยุโรปได้ออกระเบียบเกี่ยวกับวัสดุและบรรจุภัณฑ์พลาสติกที่สัมผัสอาหารใน Directive 2002/72/EC relating to plastic materials and articles intended to come into contact with foodstuffs " กำหนดให้วัสดุบรรจุภัณฑ์และสารที่สัมผัสกับอาหารทั้งโดยตรงและโดยอ้อม ไม่ถ่ายเทสารในวัสดุบรรจุภัณฑ์นั้นเข้าสู่อาหารในระดับที่ก่อให้เกิดอันตรายต่อผู้บริโภค หรือก่อให้เกิดการเปลี่ยนแปลงอย่างมากในองค์ประกอบของอาหาร หรือไม่ทำให้ลักษณะทางกายภาพประเภท รูป รส กลิ่น สี เกิดการเปลี่ยนแปลง" จากระเบียบดังกล่าว ได้กำหนดวิธีการทดสอบการเคลื่อนย้ายของสารที่เป็นส่วนประกอบในพลาสติกลงสู่อาหาร (migration test) โดยได้แบ่งสารละลายที่ใช้เป็นตัวแทนอาหารออกเป็น 4 ชนิด ซึ่งต้องเลือกให้เหมาะสมตามคุณสมบัติของอาหารที่บรรจุ

1. น้ำใช้แทนอาหารที่เป็นกลาง (ความเป็นกรดด่างมากกว่า 5)
2. 3% acetic acid ใช้แทนอาหารที่เป็นกรด (ความเป็นกรดด่างน้อยกว่า 5)
3. 15% ethanol ใช้แทนอาหารที่มีแอลกอฮอล์
4. น้ำมันมะกอกหรือน้ำมันอื่นที่เหมาะสมใช้เป็นตัวแทนอาหารที่มีไขมัน เช่น น้ำมันดอกทานตะวัน ไอโซออกเทน และ 95% แอลกอฮอล์

ข้อกำหนดที่เป็นมาตรฐานความปลอดภัยของแต่ละประเทศนั้นอาจแตกต่างกันบ้าง (ตารางที่ 1-3) สำหรับระยะเวลาและอุณหภูมิที่ใช้ในการทดสอบ (ตารางที่ 1-4 และตารางที่ 1-5) ในการศึกษานี้จะอ้างอิงตามข้อกำหนดของสหภาพยุโรปเป็นหลักเพราะใช้ในประเทศต่างๆ ของประชาคมยุโรปซึ่งน่าจะได้รับการยอมรับกว้างขวางกว่ามาตรฐานของประเทศใดประเทศหนึ่ง

ตารางที่ 1-3 ข้อกำหนดเกี่ยวกับการทดสอบการเคลื่อนย้ายของสารสำหรับภาชนะพลาสติกบรรจุอาหารของแต่ละประเทศ

NIHS (Japan)	**Notification 295 (Thailand)**	**EU Directive**
สารที่ใช้เป็นตัวทำละลายแทนอาหาร 4 ชนิด (food simulant) - water 60 ºC or 95 ºC * 30 min - 4% acetic acid 60 ºC or 95 ºC* 30 min - 20% ethanol 60˚ ºC 30 min - n–heptane 25 ºC 60 min (Use 2 ml/cm^2 of stimulant)	สารที่ใช้เป็นตัวทำละลายแทนอาหาร 4 ชนิด (food simulant) - water 60 ºC or 95 ºC * 30 min - 4% acetic acid 60˚C or 95˚C* 30 min - 20% ethanol 60 ºC 30 min - n–heptane 25 ºC 60 min (Use 2 ml/cm^2 of stimulant)	สารที่ใช้เป็นตัวทำละลายแทนอาหาร 4 ชนิด (food simulant) - water - 3% acetic acid - 15% ethanol - Rectified olive oil or sunflower oil (สารละลาย : ของแข็ง = 10 ลิตร/กิโลกรัม) อุณหภูมิและระยะเวลากำหนดไว้ตามระยะเวลาใช้งาน**

Use 2 ml/cm^2 of simulant, *When use temp>100 ˚C

ที่มา: สุมาลี ทั่งพิทยกุล (2554); European Communities (2009)

ตารางที่ 1-4 ระยะเวลาที่ใช้ทดสอบ

Contact time	**Test time**
t $\leq$ 0.5 hour	0.5 hour
0.5 hour < t $\leq$ 1 hour	1 hour
1 hour < t $\leq$ 2 hour	2 hour
2 hour < t $\leq$ 24 hour	24 hour
t > 24 hour	10 days

ที่มา: European Communities (2009)

ตารางที่ 1-5 อุณหภูมิที่ใช้ทดสอบ

Contact Temperature	Test temperature
T ≤ 0.5 ºC	0.5 ºC
5 ºC < T ≤ 20 ºC	20 ºC
20 ºC < T ≤ 40 ºC	40 ºC
40 ºC < T ≤ 70 ºC	70 ºC
70 ºC < T ≤ 100 ºC	100 ºC or reflux temperature
100 ºC < T ≤ 121 ºC	121 ºC
121 ºC < T ≤ 130 ºC	130 ºC
130 ºC < T ≤ 150 ºC	150 ºC
T > 150 ºC	175 ºC

ที่มา: European Communities (2009)

1.2.4 สารตกค้างจากการระเหยน้ำ

สารตกค้างจากการระเหยน้ำ คือสารที่หลงเหลือจากการระเหยน้ำชะพลาสติกหรือยาง ซึ่งแสดงถึงปริมาณสารที่เคลื่อนย้ายออกมาจากผลิตภัณฑ์ ปัจจุบันผลิตภัณฑ์ที่นำมาใช้ในการสัมผัสกับอาหาร เช่น พลาสติก กระดาษ ยาง ซิลิโคน จุกคอร์ก เป็นต้น ในกระบวนการผลิตมีการนำสารหลายชนิดมาใช้ผสม ได้แก่ โมโนเมอร์หรือสารเติมแต่ง เช่น พลาสติไซเซอร์ สีย้อมในวัสดุ เป็นต้น นอกจากนี้มีการนำเอายางธรรมชาติมาผลิตเป็นผลิตภัณฑ์ที่ใช้สัมผัสอาหาร เช่น ถุงมือ สายพานลำเลียงในอุตสาหกรรมอาหาร แม่พิมพ์ซิลิโคน ซึ่งสารเคมีที่ถูกเติมลงในผลิตภัณฑ์ยางมีหลายชนิด ได้แก่ สารเร่งปฏิกิริยาการวัลคาไนซ์ สารวัลคาไนซ์ สารป้องกันปฏิกิริยาออกซิเดชัน เป็นต้น ซึ่งสารเหล่านี้อาจมีการตกค้างและเคลื่อนย้ายไปยังอาหารได้ อาจทำให้ผู้บริโภคสะสมสารพิษเข้าไปในร่างกายต่อเนื่องทำให้เกิดอันตรายต่อผู้บริโภคได้ (ดารณี เจริญสุข, 2551)

ข้อบังคับของสหภาพยุโรปเกี่ยวกับวัสดุที่ใช้สัมผัสอาหารกำหนดไว้ว่า วัสดุสัมผัสอาหารที่ปลอดภัยต้องไม่เคลื่อนย้ายองค์ประกอบต่างๆ เข้าไปในอาหาร (migration) ในปริมาณที่เป็นอันตรายต่อสุขภาพผู้บริโภค และทำให้องค์ประกอบของอาหารเปลี่ยนแปลงจนไม่เป็นที่ยอมรับได้ หรือทำให้อาหารเสียรสชาติ (กรมวิทยาศาสตร์บริการ, 2554) จึงมีข้อกำหนดให้มีการตรวจหา

สารเคมีที่อาจเคลื่อนย้าย (migrate) ออกมาจากผลิตภัณฑ์ยางและพลาสติกที่ใช้สัมผัสอาหาร ได้แก่ ฟีนอล ฟอร์มัลดีไฮด์ สังกะสี โลหะหนัก(ตะกั่ว) และสารตกค้างจากการระเหยน้ำ (สุมาลี ทั่งพิทยกุล, 2554) ซึ่งมีการกำหนดค่ามาตรฐานการแพร่กระจายของสารจากเนื้อพลาสติกและเนื้อยางลงสู่อาหารที่บรรจุ ดังแสดงในตารางที่ 1-6 และตารางที่ 1-7

ตารางที่ 1-6 คุณภาพหรือมาตรฐานเนื้อพลาสติก: การแพร่กระจาย

สารเคมี	ปริมาณสูงสุดที่ให้มีได้ (มิลลิกรัมต่อลิตร)
โลหะหนัก (ตะกั่ว)	1
โพแทสเซียมเปอร์แมงกาเนตที่ทำปฏิกิริยา	5
สารตกค้างจากการระเหยน้ำ (พีเอช> 5)	15
สารตกค้างจากการระเหยในกรดอะซีติก (พีเอชน้อยกว่าหรือเท่ากับ 5)	15

ที่มา : กระทรวงสาธารณสุข (2532)

ตารางที่ 1-7 คุณภาพหรือมาตรฐานเนื้อยาง: การแพร่กระจาย

สารเคมี	ปริมาณสูงสุดที่ให้มีได้ (มิลลิกรัมต่อลิตร)
ฟีนอล	5
ฟอร์มัลดีไฮด์	4
สังกะสี	1
โลหะหนัก (ตะกั่ว)	1
สารตกค้างจากการระเหยในน้ำ	40

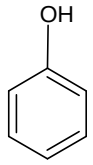
ที่มา : กระทรวงสาธารณสุข (2532)

1.2.5 ฟีนอล

ฟีนอลมีลักษณะเป็นของเหลวหรือของแข็ง ไม่มีสี แต่อนุพันธ์ฟีนอลมีสี ฟีนอลเป็นสารประกอบอินทรีย์ที่มีหมู่ไฮดรอกซิล (hydroxyl group) เชื่อมกับวงแหวนเบนซีนหรืออนุพันธ์ของเบนซีน การที่ฟีนอลมีหมู่ไฮดรอกซิลเหมือนอัลกอฮอล์ จึงทำให้ฟีนอลมีคุณสมบัติที่คล้ายกับอัลกอฮอล์ คือสามารถเกิดพันธะไฮโดรเจนระหว่างโมเลกุลที่แข็งแรง (strong intermolecular hydrogen bond) ได้ ส่งผลให้มีจุดเดือดที่สูงกว่าพันธะไฮโดรเจนและมีความสามารถละลายน้ำได้ประมาณ 9 กรัมในน้ำ 100 กรัม ที่อุณหภูมิ 25 องศาเซลเซียส เพราะฟีนอลสามารถเกิดพันธะไฮโดรเจนกับน้ำได้ (โสภณ เริงสำราญ และคณะ, 2542)

ข้อมูลแสดงคุณสมบัติทางเคมีและกายภาพจาก OSHA (2012) มีดังนี้

- ชื่อเคมี IUPAC : Phenol
- ชื่อพ้องอื่นๆ : Carbolic acid, monohydroxybenzene, hydroxybenzene, benzenol, phenylic acid, phenyl hydroxide, benzophenol, phenyl hydrate, phenylic alcohol, monophenol, phenic acid, oxybenzene
- สูตรเคมีโมเลกุล : C_6H_5OH
- น้ำหนักโมเลกุล : 94.11
- จุดเดือด : 182 °C
- จุดหลอมเหลว : 41°C
- การละลายน้ำ : ละลายน้ำได้
- การละลาย (g/100 g H_2O at 25 °C) : 9.3
- สูตรโครงสร้าง



1.2.5.1 การนำไปใช้

ฟีนอลถูกนำมาใช้ในการผลิตถุงมือยางโดยใช้เป็นสารป้องกันการเสื่อมสภาพเนื่องจากปฏิกิริยาออกซิเดชั่น (antioxidant) เพื่อใช้ยืดอายุการใช้งานของผลิตภัณฑ์ โดยนิยมใช้สารกลุ่มฟีนอล เนื่องจากเป็นสารที่มีคุณสมบัติที่ดีคือ ผลิตภัณฑ์ที่ได้จะไม่เปลี่ยนสี ซึ่งสารที่กล่าวมานี้หากได้รับสัมผัสจะเป็นอันตรายต่อสุขภาพ ดังแสดงในตารางที่ 1-8

ตารางที่ 1-8 ผลกระทบของฟีนอลต่อสุขภาพอนามัย

เส้นทางการสัมผัส	ระดับความเข้มข้นและผลกระทบต่อสุขภาพ	อ้างอิง
ทางหายใจ	- ถ้าสูดดมฟีนอลในระดับความเข้มข้น 18.2 มิลลิกรัมต่อลิตร เป็นระยะเวลา 6 เดือน จะมีอาการปวดศีรษะ ไอ เจ็บคอ	USEPA (2002)
ทางผิวหนัง	- ถ้าสัมผัสถูกผิวหนังทำให้เกิดการจะเกิดรอยไหม้จากสารเคมี ลักษณะเป็นรอยเนื้อตายให้เหลือความเข้มข้น 10%	HPA (2007)
ทางการรับประทาน	- หากรับประทานฟีนอลเข้าสู่ร่างกายทำให้เสียชีวิตได้โดยในเด็กในปริมาณ 50-500 มิลลิกรัม และในผู้ใหญ่ 1-32 มิลลิกรัม	ASTDR (2013)
สัมผัสถูกตา	- ถ้าสัมผัสไอของฟีนอลในระดับความเข้มข้น 48 มิลลิกรัมต่อลิตร ทำให้เกิดการระคายเคืองตา	NIOSH (1981)

1.2.5.2 การวิเคราะห์หาปริมาณสารประกอบฟีนอลในน้ำ

การวิเคราะห์ฟีนอลในน้ำ สามารถทำได้หลายวิธีซึ่งขึ้นอยู่กับประเภทของตัวอย่างที่นำมาวิเคราะห์ ดังแสดงในตารางที่ 1-9

ตารางที่ 1-9 วิธีต่างๆที่ใช้ในการวิเคราะห์ฟีนอล

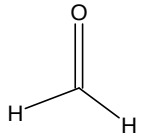
วิธีการวิเคราะห์	การเตรียมสาร	ผล	อ้างอิง
Immunoassay (ELISA)	ใช้ในการวิเคราะห์ 4-nitrophenol และ 2,4-dinitrophenol ในปัสสาวะและในน้ำ	ค่า LOD ที่ได้คือ 7 ไมโครกรัมต่อลิตร วิธีการนี้อาจใช้ LC เป็นตัวตรวจวัด แต่จะมีปัญหาเรื่องการเข้ากันไม่ได้ของสารละลาย methanol หรือ acetonitrile	Puig and Barcelo (1996)
Biosensors	ใช้ tyrosinase ในการวิเคราะห์สาร catechol, phenol, 4-chlorophenol และ 4-methylphenol	tyrosinase มีdetection limit ต่ำกว่าระดับไมโครกรัม ต่อลิตร	Puig and Barcelo (1996)
Gas Chromatography (GC)	เป็นการทำ derivatization ด้วย pentafluorobenzyl bromide ก่อนที่จะวิเคราะห์ด้วย GC อาจใช้ flame ionization detector (FID), electron-capture detector (ECD) หรือ mass spectrometer (MS) เป็นตัวตรวจวัดก็ได้	FID ค่า LOD อยู่ในช่วง 0.1-13 ไมโครกรัมต่อลิตร และเมื่อใช้ ECD ค่า LOD อยู่ในช่วง 0.5-2.2 ไมโครกรัมต่อลิตร สำหรับตัวตรวจวัดที่เหมาะสมที่สุดก็คือ MS มีการรายงานค่า LOD อยู่ในช่วง 0.01-0.25 ไมโครกรัมต่อลิตร (Kovacs *et al*., 2008)	Puig and Barcelo (1996)
Liquid chromatography (LC)	ใช้ C_{18} หรือ C_8 column ในการวิเคราะห์สารประกอบ ฟีนอล มี fluorescence เป็นตัวตรวจวัด ในการวิเคราะห์ nitrophenols และ pentachlorophenol ใช้ UV เป็นตัวตรวจวัด ที่ความยาวคลื่น 280 นาโนเมตร อาจใช้ diode array detector เนื่องจากเป็นตัวตรวจวัดที่มีความไว	ค่า LOD อยู่ในระดับนาโนกรัมต่อลิตร	Puig and Barcelo (1996)

1.2.6 ฟอร์มัลดีไฮด์

เป็นสารอินทรีย์กลุ่มแอลดีไฮด์ที่มีโมเลกุลสั้นที่สุด โดยฟอร์มัลดีไฮด์ได้มาจากการออกซิไดซ์สารเมทธิลแอลกอฮอล์กับออกซิเจนในอากาศ และมีทองแดงหรือเงินเป็นตัวเร่งปฏิกิริยา ฟอร์มัลดีไฮด์หรือฟอร์มาลินเป็นสารละลายใส ไม่มีสี มีกลิ่นฉุนเฉพาะตัว เป็นสารรีดิวซ์รุนแรง เมื่อสัมผัสกับอากาศจะถูกออกซิไดส์ช้าๆ ไปเป็นกรดฟอร์มิกซึ่งมีฤทธิ์กัดกร่อน มีค่า pH ประมาณ 2.8-4.0 สามารถละลายได้ดีในน้ำ acetone, benzene, diethylether, chloroform และ ethanol แต่ฟอร์มาลินไม่สามารถใช้ร่วมกับสารต่อไปนี้ ได้แก่ ด่างทับทิม ไอโอดีน และไฮโดรเจนเปอร์ออกไซด์ ถ้าเป็นฟอร์มาลีนที่เก็บไว้นานหรือเก็บไว้ที่อุณหภูมิต่ำกว่า 40 องศาฟาเรนไฮต์ (4.4 องศาเซลเซียส) ฟอร์มาลินจะเปลี่ยนรูปไปเป็นพาราฟอร์มาลดีไฮด์ ซึ่งมีลักษณะเป็นตะกอนสีขาวจึงไม่ควรนำไปใช้เพราะจะเป็นอันตรายต่อสัตว์น้ำ คุณสมบัติทางเคมีของฟอร์มัลดีไฮด์จะแตกต่างจากคุณสมบัติของพวกแอลดีไฮด์ทั่วไป เพราะพวกแอลดีไฮด์จะมีไฮโดรเจนเพียงอะตอมเดียวเท่านั้นที่เกาะกับหมู่แอลดีไฮด์ (-CHO) และไม่มีอนุมูลของอัลคิลอยู่ในโมเลกุลอีกด้วย (ศันสนีย์ เพชรทองบุญ, 2548)

ข้อมูลแสดงคุณสมบัติทางเคมีและกายภาพจากเอกสารข้อมูลความปลอดภัยเคมีภัณฑ์ (MSDS) ของกรมควบคุมมลพิษ มีดังนี้

- ชื่อเคมี IUPAC : Formaldehyde
- ชื่อพ้องอื่นๆ : Formalin; HCHO; Formic aldehyde; Formol; Oxymethylene; Morbicid; Veracur; Methylene glycol; Formalin 40; BFV; Fannoform; Formalith; FYDE; HOCH; Karsan; Lysoform; Superlysoform; Oxomethylene; Methan 21; Melamine-Formaldehyde Resin; Formaldehyde ; Formaldehyde solution, flammable; Formaldehyde solutions (Formalin) (corrosive); Methyl aldehyde ; Methylene oxide ; Oxomethane
- สูตรเคมีโมเลกุล : HCHO
- น้ำหนักโมเลกุล : 30
- การละลายน้ำ : > 100 g/100 ml (20 °C)
- จุดเดือด : 96 °C
- สูตรโครงสร้าง



1.2.6.1 การนำไปใช้

ฟอร์มัลดีไฮด์นำมาใช้เป็นสารป้องกันการสูญเสียสภาพของน้ำยางไม่ให้อนุภาคของเม็ดยางเกิดการรวมตัวกัน จึงมีการใส่สารเคมีลงไปในน้ำยางเพื่อเก็บรักษาน้ำยางให้คงสภาพเป็นของเหลว โดยสารเคมีที่ใช้ในการเก็บรักษาน้ำยางเรียกว่า สารป้องกันการจับตัว(Anticoagulant) ได้แก่ แอมโมเนีย โซเดียมซัลไฟด์ ฟอร์มาลดีไฮด์ เป็นต้น ซึ่งสารแต่ละสารจะใช้ในการแปรรูปยางดิบ เช่น แอมโมเนียใช้สำหรับน้ำยางข้น ยางแท่ง ยางแผ่น ส่วนโซเดียมซัลไฟด์และฟอร์มาลดีไฮด์ใช้สำหรับยางแท่ง ยางแผ่น (วิภาวี พัฒนกุล, 2554) หากสัมผัสสารดังกล่าวหรือได้รับสารเข้าสู่ร่างกายอาจทำให้เกิดอันตรายได้ ซึ่งได้แสดงในตารางที่ 1-10

ตารางที่ 1-10 ผลกระทบของฟอร์มัลดีไฮด์ต่อสุขภาพอนามัย (health effect)

เส้นทางการสัมผัส	ระดับความเข้มข้นและผลกระทบต่อสุขภาพ	อ้างอิง
ทางหายใจ	- ระคายเคืองต่อระบบทางเดินหายใจที่ระดับความเข้มข้น 120 ไมโครกรัมต่อตารางเมตร	World Health Organization (2002)
ทางผิวหนัง	- ระคายเคืองต่อผิวหนังที่ระดับความเข้มข้น 1.79-3.78 มิลลิกรัมต่อลิตร เมื่อได้รับสัมผัส 15 ชั่วโมงต่อสัปดาห์ เป็นเวลา 2 เดือน	ATSDR (2010)
ทางการรับประทาน	- ระคายเคืองต่อคอที่ระดับความเข้มข้น 3 มิลลิกรัมต่อตารางเมตร	World Health Organization (2002)
สัมผัสถูกตา	เกิดการระคายเคืองต่อตาที่ระดับความเข้มข้น 60 ไมโครกรัมต่อตารางเมตร	World Health Organization (2002)

1.2.6.2 การวิเคราะห์ฟอร์มัลดีไฮด์ในน้ำ

การวิเคราะห์ฟอร์มัลดีไฮด์ในน้ำ สามารถเลือกใช้วิธีในการวิเคราะห์ได้หลายวิธี ดังแสดงในตารางที่ 1-11

ตารางที่ 1-11 วิธีต่าง ๆ ที่ใช้ในการวิเคราะห์ฟอร์มัลดีไฮด์ในน้ำ

วิธีการวิเคราะห์	การเตรียมสาร	ผล	อ้างอิง
Chromatropic acid	เติม 5% CTA และ 50% H_2SO_4 ในสารตัวอย่าง ตามลำดับ นำไประเหยและปรับปริมาตรด้วยน้ำ แล้วนำไปวัดค่าการดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 572 นาโนเมตร ด้วยเครื่อง spectrophotometer	ความเข้มข้นที่ได้อยู่ในช่วง 1-20 มิลลิกรัมต่อลิตร ซึ่งจะมีปัญหาเรื่องตัวรบกวน ด้วยเหตุนี้วิธีการนี้จึงไม่น่าเชื่อถือ	Velikonja *et al.* (1995)
Fluorometry	อาศัยปฏิกิริยา 3,4-diaminoanisole ซึ่งอยู่ในสารละลาย alkaline ethanol water	ขีดจำกัดของวิธีการนี้คือ 0.6 ไมโครกรัมต่อลิตร ค่าการได้กลับคืนมาคือ 93 %R.S.D. คือ 6.05% ที่ระดับความเข้มข้น 10 ไมโครกรัมต่อลิตร	Girousi *et al*. (1997)
Gas Chromatography ร่วมกับการใช้ flame ionization detector (GC-FID)	สกัดด้วย 2,4-dinitrophenyl- hydrazine วางทิ้งไว้ เป็นเวลา 20 นาที จากนั้นเติม acetonitrile และนำไประเหยปรับปริมาตรและนำไปวิเคราะห์ด้วย GC-FID	สามารถวิเคราะห์ในช่วงความเข้มข้น 0.06-1 มิลลิกรัมต่อลิตร	Velikonja *et al.* (1995)
Gas Chromatography ร่วมกับการใช้ electron-capture detector (GC-ECD)	สกัดสารตัวอย่างด้วย 2,4-dinitrophenyl- hydrazine ที่อยู่ใน toluene วิเคราะห์ด้วย GC-ECD	สามารถตรวจวัดได้ในช่วงความเข้มข้น 0.8-10 มิลลิกรัมต่อลิตร	Velikonja *et al.* (1995)

ตารางที่ 1-11 (ต่อ) วิธีต่าง ๆ ที่ใช้ในการวิเคราะห์ฟอร์มัลดีไฮด์ในน้ำ

วิธีการวิเคราะห์	การเตรียมสาร	ผล	อ้างอิง
MBTH (3-methyl-2-benzothiazolone hydrazone)	เติมสารละลาย MBTH สารละลาย $FeCl_3$ และสารละลายH_3NSO_3 ลงในสารตัวอย่าง จากนั้นเจือจางด้วยน้ำและนำไปวัดค่าการดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 632 นาโนเมตร ด้วย spectrophotometer	ความเข้มข้นที่ได้อยู่ในช่วง 0.06-4 มิลลิกรัมต่อลิตร	Velikonja *et al.* (1995)
High performance liquid chromatography (HPLC)	ทำ derivatization ด้วย 2,4-dinitrophenyl hydrazine (DNPH)	ความเข้มข้นที่ได้ คือ 1.140 นาโนกรัมต่อไมโครลิตร	USEPA (1996)

1.2.7 ชีววิเคราะห์ (Bioassay)

เป็นการนำสิ่งมีชีวิตมาทดสอบกับตัวอย่างจากนั้นดูผลที่เกิดขึ้นกับสิ่งมีชีวิตในห้องปฏิบัติการ สำหรับวิธีการนี้ใช้เมื่อเพื่อตัดสินระดับความเข้มข้นที่พิษกับสิ่งมีชีวิต ใช้เพื่อการศึกษาผลของสารเคมีแต่ละชนิดที่มีต่อสัตว์ทดลอง และใช้เพื่อกำหนดระดับความปลอดภัยของสารพิษต่างๆ (พรทิพย์ จันทรมงคล, 2550)

1.2.8 การทดสอบความเป็นพิษในสิ่งมีชีวิต

เราสามารถทดสอบความเป็นพิษของสารเคมีในสิ่งมีชีวิต เพื่อตรวจสอบความสามารถของสารที่ทำให้เกิดพิษ สภาวะที่สารนั้นก่อให้เกิดอาการพิษ และกลไกการเกิดพิษ ผลการทดสอบจะใช้เป็นข้อมูลเพื่อประเมินความเสี่ยงอันตรายของสาร จุดประสงค์ของการทดสอบความเป็นพิษคือต้องการลดอัตราเสี่ยง ในการทดสอบมีข้อกำหนดไว้ว่าจะต้องดำเนินการแบบมีมนุษยธรรมและจริยธรรม ตัวอย่างของสิ่งมีชีวิตที่นิยมใช้ในการทดสอบความเป็นพิษของน้ำและน้ำเสียได้แสดงไว้ในตารางที่ 1-12

ตารางที่ 1-12 ข้อดีและข้อเสียของสิ่งมีชีวิตแต่ละชนิดที่นำมาทดสอบความเป็นพิษ

ชนิดสิ่งมีชีวิต	การทดสอบความเป็นพิษ	ข้อดี-ข้อเสีย
<u>ปลา</u> Rainbow trout, fathead minnow (Farre and Barcelo, 2003)	- เป็นการวัดอัตราการเจริญเติบโต	ข้อดี - มีความไวต่อความเป็นพิษ ข้อเสีย - ต้องใช้อุปกรณ์ในการเลี้ยงโดยเฉพาะ - ต้องใช้ผู้ที่มีความชำนาญ
<u>แบคทีเรีย</u> *Pseudomonas*, *Klebsiella*, *Escherichia*, *Aeromonas*, *Bacillus*, *Vibrio* (สมคิด ปราบภัย, 2545)	- เป็นการวัดการเจริญเติบโตในอาหาร การหายใจและกิจกรรมของเอนไซม์	ข้อดี - สามารถตอบสนองต่อการเปลี่ยนแปลงของสิ่งแวดล้อมได้อย่างรวดเร็ว จึงเหมาะสมกับการทดสอบความเป็นพิษของสารในแหล่งน้ำ (สมคิด ปราบภัย, 2545)

ตารางที่ 1-12 (ต่อ) ข้อดีและข้อเสียของสิ่งมีชีวิตแต่ละชนิดที่นำมาทดสอบความเป็นพิษ

ชนิดสิ่งมีชีวิต	การทดสอบความเป็นพิษ	ข้อดี-ข้อเสีย
		ข้อเสีย - วิธีการทดสอบความเป็นพิษมีความยุ่งยาก
<u>สาหร่าย</u> *Selenastrum capricornutum* หรือ *Dunaliella tertiolecta* (Farre and Barcelo, 2003)	- เป็นการวัดการเจริญเติบโต การนับจำนวนสาหร่าย ระยะเวลาการทดสอบ 72-96 ชั่วโมง	ข้อดี - มีความไวต่อความเป็นพิษ ข้อเสีย - เพาะเลี้ยงได้ยาก
<u>สัตว์ไม่มีกระดูกสันหลัง</u> สัตว์ในกลุ่ม Cladocerans ได้แก่ *Daphnia* และ *Ceriodaphnia* นอกจากนี้ยังมีพวก กุ้ง หอยนางรม (Farre and Barcelo, 2003)	- เป็นการวัดอัตราการตาย ระยะเวลาการทดสอบ 24-48 ชั่วโมง	ข้อดี - มีความไวในการตอบสนองต่อสารพิษและเพาะเลี้ยงง่าย ข้อเสีย มีความไวต่อสารบางชนิด
<u>พืช</u> ต้นโอ๊ต (*Avena sativa*) ผักกาดขาว (*Brassica campestris*) *Lemna minor* (Bartram and Balance, 1996)	- เป็นการวัดความยาวของรากใช้ระยะเวลาการทดสอบ 4-6 วัน	ข้อดี - มีราคาต่ำ ข้อเสีย - ใช้เวลานาน

1.2.9 ชีววิทยาของไรแดง

ไรแดงอยู่ในสกุล *Moina* โดยทั่วไปพบ 2 ชนิด คือ *Moina macrocopa* และ *Moina micrura* เป็นสัตว์ที่ไม่มีกระดูกสันหลังพวก Crustacean ซึ่งจัดเข้าในพวกแพลงค์ตอนสัตว์ (zooplankton) มีขนาดเล็ก สามารถมองเห็นได้ด้วยตาเปล่า ลำตัวมีสีส้มหรือสีค่อนข้างแดง มีคุณสมบัติใช้เป็นสัตว์สำหรับบ่งชี้คุณภาพสิ่งแวดล้อม คือ มีบทบาทสำคัญในระบบนิเวศทางน้ำ อาศัยอยู่ในแหล่งน้ำทั่วไป จำแนกลักษณะได้ง่าย เตรียมตัวอย่างได้จำนวนมาก สะสมมวลได้ง่าย มีข้อมูลลักษณะทางนิเวศวิทยาเพียงพอ มีความแปรปรวนในระดับยีนน้อย และมีความสำคัญด้านเศรษฐกิจ (ลัดดา วงศ์รัตน์, 2541)

สามารถจำแนกทางอนุกรมวิธานได้ดังนี้

Phylum Arthropoda
Subphylum Mandibulata
Superclass Crustacea
class Branchiopoda
Superorder Cladocera (Water Flea)
Suborder Calyptomera
Family Moinidea
Genus *Moina*
Species *Moina macrocopa* Straus

1.2.9.1 ลักษณะทั่วไป

ไรแดงเพศเมียจะมีขนาดใหญ่กว่าเพศผู้ คือตัวเมียมีขนาดประมาณ 0.6×1.3 มิลลิเมตร ส่วนตัวผู้มีขนาดประมาณ 0.4×0.6 มิลลิเมตร ไรแดง 1 ตัว หนักประมาณ 0.2 มิลลิกรัม ลำตัวของไรแดงมีเปลือกเกือบทั้งหมด ยกเว้นส่วนหัว หัวมีลักษณะกลม ส่วนหนวดคู่ที่ 2 อยู่ข้างส่วนหัวมีขนาดใหญ่และลักษณะเป็นปล้อง ตรงข้อต่อของทุกเปลือกมีแขนงซึ่งเป็นขนคล้ายขนนก ไรแดงมีขา 5 คู่อยู่ที่อก ซึ่งมองเห็นไม่ชัดเพราะมีเปลือกหุ้มอยู่ (ลัดดา วงศ์รัตน์, 2543)

1.2.9.2 การสืบพันธุ์

ไรแดงมีการสืบพันธุ์ 2 แบบ (ลัดดา วงศ์รัตน์, 2543)

1. การสืบพันธุ์แบบไม่อาศัยเพศ (Parthenogenetic reproduction)

ไรแดงเพศเมียจะมีถุงไข่อยู่บนหลังของลำตัว ถุงนี้เป็นที่เก็บไข่และให้ไข่เจริญเติบโตเป็นตัวอ่อน เมื่อมีสภาวะแวดล้อมที่เหมาะสม คืออาหารสมบูรณ์ดี ไข่ในถุงไข่จึง

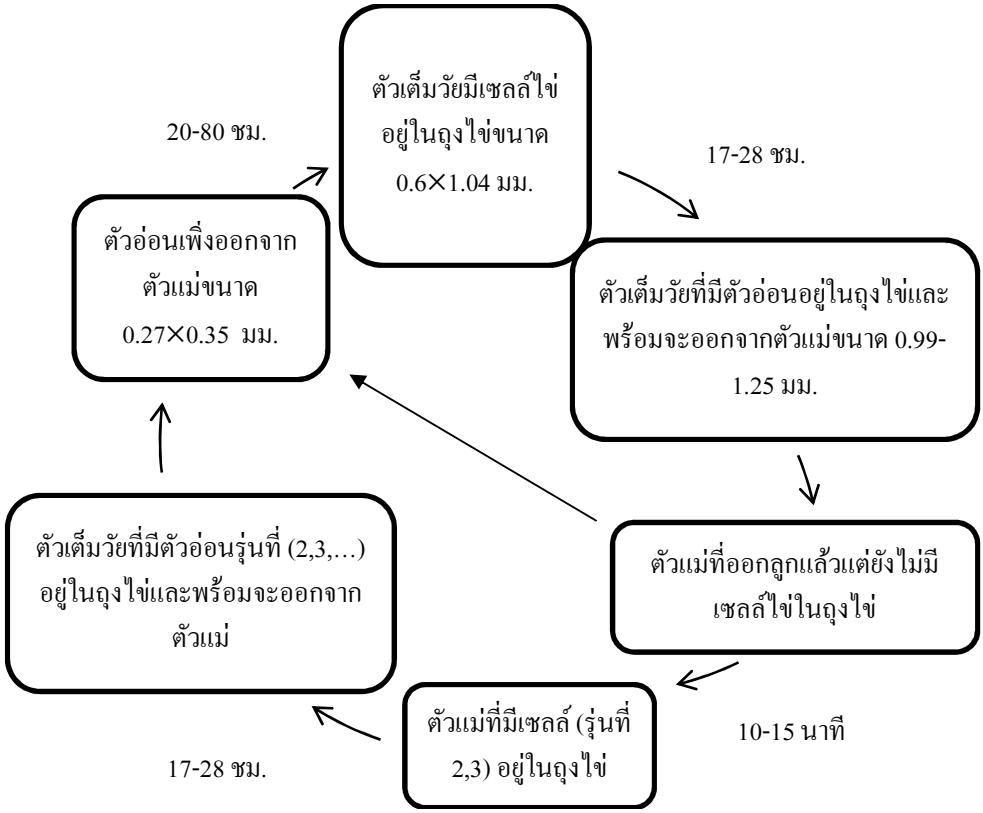
สามารถเติบโตเป็นตัวอ่อนได้ โดยไม่ต้องได้รับการผสมจากเชื้อตัวผู้ โดยไรแดงเพศเมียสามารถออกลูกโดยวิธีนี้เกือบตลอดเวลา ไรแดงเพศเมีย 1 ตัวให้ลูกอ่อนได้เฉลี่ย 15 ตัว (1-35 ตัว)

2. การสืบพันธุ์แบบอาศัยเพศ (sexual reproduction)

เกิดขึ้นเมื่อสภาวะแวดล้อมของน้ำไม่เหมาะสม เช่น คุณภาพน้ำไม่ดี อาหารไม่เพียงพอ ไรแดงจะสร้างไข่ชนิดพิเศษขึ้นมา 2 ชนิด ชนิดแรกเป็นไข่ซึ่งเจริญเป็นเพศผู้ และชนิดที่ 2 เป็นไข่ที่เจริญเป็นเพศเมียที่สืบพันธุ์แบบมีเพศ เมื่อโตเต็มวัยจะสร้างไข่ 2 ฟองต่อตัว ไข่ประเภทนี้มีลักษณะทึบแสงและต้องผสมพันธุ์กับเชื้อตัวผู้จึงเจริญไปเป็นตัวอ่อนได้

1.2.9.3 วงจรชีวิตของไรแดง

ไรแดงแต่ละตัวจะผลิตลูก 2 ครั้ง แต่ละครั้งจะใช้เวลาต่างกัน 24-36 ชั่วโมง และการให้ลูกแต่ละครั้งเฉลี่ย 8-14 ตัว หลังจากไรแดงได้ลูกครั้งที่ 2 หมดแล้ว ตัวแม่ก็ตาย เมื่อรวมระยะวงจรชีวิตปกติของไรแดงตั้งแต่เกิดจนตาย ใช้เวลาประมาณ 99-144 ชั่วโมง (4-6 วัน) จึงสามารถสรุปวงจรชีวิตของไรแดงมี 3 ขั้นตอน คือ ไข่ วัยอ่อน และตัวเต็มวัย (ภาพที่ 1-4)



ภาพที่ 1-4 วงจรชีวิตของไรแดง (*Moina macrocopa* Straus.)
ที่มา: ลัดดา วงศ์รัตน์ (2543)

1.2.10 การเพาะไรแดง

1.2.10.1 รูปแบบของการเพาะไรแดง (สำนักงานประมงจังหวัดนครปฐม, 2550) การเพาะเลี้ยงไรแดงแบ่งออกเป็น 2 รูปแบบ คือ

1) การเพาะเลี้ยงไรแดงในบ่อซีเมนต์ มี 2 วิธีคือ

1.1) การเพาะเลี้ยงแบบเก็บเกี่ยวไม่ต่อเนื่อง คือ การเพาะไรแดงแบบเก็บเกี่ยวเพียงครั้งเดียวหมดบ่อ ต้องมีบ่ออย่างน้อย 5 บ่อ โดยเพาะไรแดงวันละ 1 บ่อทุกวัน เพื่อให้ได้ผลผลิตทุกวัน การเพาะแบบไม่ต่อเนื่องจะทำให้ได้ปริมาณไรแดงที่แน่นอนและจำนวนมาก ไม่ต้องคำนึงเรื่องศัตรูของไรแดง เพราะเป็นการเพาะในช่วงระยะเวลาสั้นๆ

1.2) การเพาะเลี้ยงแบบเก็บเกี่ยวต่อเนื่อง คือ การเพาะไรแดงแบบเก็บเกี่ยวผลผลิตไรแดงหลายวันภายในบ่อเดียวกัน เป็นการเพาะพร้อมกันอย่างน้อย 5 บ่อ การเพาะแบบต่อเนื่องจะต้องคำนึงถึงศัตรูของไรแดงและสภาวะแวดล้อมในบ่อเพาะไรแดง เนื่องจากการเติมพวกอินทรีย์สารต่าง ๆ หรือการเติมน้ำเขียวลงในบ่อ ควรมีการถ่ายน้ำและเพิ่มน้ำสะอาดลงในบ่อเพื่อเป็นการลดความเป็นพิษของแอมโมเนียและสารพิษอื่นๆ ที่เกิดขึ้นในบ่อ

2) การเพาะไรแดงในบ่อดิน

เป็นวิธีการที่ใช้ต้นทุนในระยะเริ่มต้นต่ำ และสามารถเพาะไรแดงได้ครั้งละมากๆ ตามขนาดของที่ดิน แต่มีข้อเสียเนื่องจากอาจมีสิ่งปนเปื้อนหรือศัตรูของไรแดงเข้ามาปะปนอยู่ได้ง่าย และอาจก่อให้เกิดความเสียหายได้

1.2.10.2 วัสดุและอุปกรณ์ที่ใช้ในการเพาะไรแดง

1. บ่อผลิต

บ่อซีเมนต์ที่ใช้ในการเพาะเลี้ยงไรแดงควรมีลักษณะเป็นรูปไข่ แต่ถ้าบ่อซีเมนต์มีลักษณะเป็นสี่เหลี่ยมก็สามารถนำมาใช้ได้ พื้นก้นของบ่อ ควรฉาบและขัดมันเพื่อความสะดวกในการหมุนเวียนของน้ำ เพราะถ้ามีการหมุนเวียนของน้ำที่ดี ทำให้การย่อยสลายของปุ๋ยและอาหารผสมดีขึ้น บ่อซีเมนต์ ควรมีทางน้ำเข้าและน้ำออกเพื่อสะดวกในการเพาะ การล้าง และการเก็บเกี่ยวไรแดง การสร้างบ่อผลิตควรอยู่กลางแจ้ง ขนาดของบ่อเพาะไรแดงจะขึ้นอยู่กับความต้องการผลผลิตของไรแดงแต่ความสูงของบ่อควรสูงประมาณ 60 เซนติเมตร

2. เครื่องเป่าลม

เครื่องตีน้ำหรือเครื่องเป่าลมช่วยเพิ่มออกซิเจนและเร่งการเจริญเติบโตของไรแดง ในบ่อเพาะที่มีขนาดใหญ่ ตั้งแต่ 30-50 ตารางเมตร จะต้องมีเครื่องเป่าลมไว้ในบ่อเพาะ เครื่องเป่าลมจะก่อให้เกิดการหมุนเวียนของน้ำในบ่อเพาะเป็นการช่วยเพิ่มปริมาณออกซิเจน และช่วยการ

สังเคราะห์แสงของน้ำเขียวซึ่งเป็นอาหารของไรแดงทำให้ไรแดงเพิ่มจำนวนมากขึ้น และลดความเป็นพิษของน้ำที่มีต่อไรแดง

3. ผ้ากรอง

ใช้สำหรับกรองน้ำ (น้ำบาดาล น้ำคลอง น้ำประปา น้ำเขียว) ลงในบ่อเพาะทุกครั้ง เพื่อเป็นการป้องกันสิ่งมีชีวิตชนิดอื่นๆ และศัตรูของไรแดง ผ้ากรองควรมีขนาด 69 ไมครอนหรือต่ำกว่า

4. น้ำเขียว

น้ำเขียวที่เพาะเลี้ยงไรแดง เป็นสาหร่ายเซลล์เดียวขนาดเล็ก เรียก แพลงก์ตอนพืช มีอยู่หลายชนิดและมีคุณค่าทางอาหารแตกต่างกัน สาหร่ายเซลล์เดียวที่ใช้ในการเพาะเลี้ยงไรแดง คือ สาหร่ายคลอเรลลา มีขนาด 2.5-3.5 ไมครอน โดยมีโปรตีนสูงกว่าสาหร่ายเซลล์เดียวชนิดอื่น คือมีโปรตีน 64.15% หรืออาจใช้ปุ๋ยอนินทรีย์ร่วมกับปุ๋ยอินทรีย์ ระยะเวลาในการเพาะเพื่อทำให้น้ำเขียวเข้มจะใช้เวลาประมาณ 3 วัน

5. ไรแดง

ควรคัดเลือกไรแดงที่แข็งแรง มีสีแดงเรื่อ ๆ มาเป็นแม่พันธุ์หรือหัวเชื้อไรแดงที่ใช้สำหรับแพร่ขยายพันธุ์ต่อไป (เสน่ห์ ผลประสิทธิ์, 2550)

6. อามิ-อามิ (กากผงชูรส)

อามิ-อามิ เป็นกากที่เกิดจากการทำผงชูรส ซึ่งประกอบด้วยแร่ธาตุไนโตเจน 4.2% และฟอสฟอรัส 0.2% การใช้ควรใช้ทั้งน้ำและตะกอนร่วมกัน ในกรณีอามิ-อามิ เกิดการตกตะกอนมากขึ้นควรลดระดับปริมาณการใช้ลง เพื่อป้องกันการเน่าเสียของน้ำในบ่อไรแดง

7. อาหารสมทบ

ได้แก่ รำ กากถั่ว และ ปลาป่น สามารถนำมาเป็นอาหารของไรแดงได้ ทำให้เกิดแบคทีเรีย จำนวนมาก ซึ่งไรแดงสามารถนำมาใช้เป็นอาหารได้อีกด้วย

8. อาหารของไรแดง

1) ปุ๋ยวิทยาศาสตร์

ได้แก่ ปุ๋ยนา สูตร 16-20-0 ปุ๋ยซุปเปอร์ฟอสเฟต สูตร 0-46-0 ปุ๋ยยูเรีย สูตร 46-0-0 ในการใช้ปุ๋ยวิทยาศาสตร์ทุกครั้งควรละลายน้ำเพื่อป้องกันการตกค้างของปุ๋ยในบ่อเพาะไรแดง

2) ปูนขาว

การใช้ปูนขาวในบ่อเพาะเลี้ยงไรแดง เพื่อเป็นการปรับความเป็นกรดเป็นด่างของน้ำ ช่วยเพิ่มปริมาณคาร์บอนไดออกไซด์ในน้ำ ช่วยการเจริญเติบโตและขยายพันธุ์ของน้ำเขียวเร็ว

ขึ้น การใช้ปูนขาวควรละลายน้ำก่อนจึงใส่ลงในบ่อเพาะเลี้ยงไรแดงซึ่งปูนขาวมีหลายประเภท เช่น ปูนเผา หรือ calcium oxide (CaO) ปูนเปียก หรือ calcium hydroxide $Ca(OH)_2$ หินปูน หรือ $CaCO_3$ ปูนมาร์ล โดยปูนเผาจะมีประสิทธิภาพสูงสุด

1.2.10.3 การเตรียมการเพาะเลี้ยงไรแดง

1. การเตรียมบ่อผลิต

บ่อต้องอยู่ในสภาพเป็นกลางหรือด่างอ่อนๆ (pH 7-8) โดยแช่น้ำทิ้งไว้ประมาณ 1–3 สัปดาห์ จากนั้นระบายน้ำทิ้ง ถ้าต้องการลดระยะเวลาการปรับสภาพของบ่อ ให้หมักฟางหญ้าหรือเศษพืชผักไว้ในบ่อเพราะจะเกิดกรดอินทรีย์ เช่น กรดฮิวมิค ช่วยลดความเป็นด่างได้เล็กน้อย หรือใช้กรดน้ำส้มเทียมผสมน้ำในบ่อให้เต็ม แช่ทิ้งไว้ประมาณ 3-5 วัน แล้วระบายน้ำทิ้ง และเปิดน้ำใหม่แช่ทิ้งไว้อีก 24 ชั่วโมง ส่วนบ่อเก่าต้องล้างบ่อแล้วตากบ่อให้แห้งเพื่อกำจัดศัตรูไรแดง

2. การเตรียมน้ำ

โดยระบายน้ำเข้าบ่อโดยผ่านการกรองด้วยผ้า เพื่อป้องกันศัตรูไรแดงและคัดขนาดของแพลงก์ตอนพืชที่ติดมากับน้ำ ซึ่งเป็นอาหารไรแดง ระดับน้ำในบ่อเพาะเลี้ยงไรแดงประมาณ 20-30 เซนติเมตร

3. การเตรียมอาหาร

อาหารที่ใช้ผลิตไรแดง แบ่งออกเป็น 3 ประเภท คือ

1) อาหารผสม ได้แก่ รำละเอียด ปลาป่น และกากถั่วเหลือง โดยเฉพาะกากถั่วเหลืองจะมีกรดไขมันที่เร่งการลอกคราบของไรแดงทำให้ผลผลิตไรแดงสูงขึ้น

2) จุลินทรีย์ เป็นอาหารที่ได้จากการหมักอาหารกับน้ำ ได้แก่ ยีสต์และแบคทีเรีย สำหรับยีสต์จะมีวิตามินอีซึ่งช่วยในการทำงานของระบบสืบพันธุ์

3) น้ำเขียว เป็นอาหารอีกชนิดหนึ่ง คือแพลงก์ตอนพืช หลายๆ ชนิดที่ไรแดงกินได้ เช่น คลอเรลลา ซึ่งทำให้ไรแดงสมบูรณ์จึงมีผลผลิตเพิ่มขึ้น

4. การเตรียมพันธุ์ไรแดง

การคัดเลือกพันธุ์ไรแดงเพื่อเพาะเลี้ยงไรแดง ต้องใช้แม่พันธุ์ที่มีชีวิตสมบูรณ์และแข็งแรงในการเลือกแม่พันธุ์หรือหัวเชื้อ โดยสังเกตไรแดงที่มีรูปร่างอ้วนกลมซึ่งมีวิธีการตรวจสอบ คือ ใช้แก้วใส่น้ำใส ๆ แล้วช้อนไรแดงพอประมาณยกขึ้นส่องดู ไรแดงเพศผู้มีลำตัวผอมยาวรีไม่ควรนำไปขยายพันธุ์ จากนั้นเติมแม่พันธุ์ไรแดงลงในบ่อ

5. การควบคุมการผลิต

เป็นการคงสภาพบ่อผลิตให้สามารถเก็บผลผลิตได้มากกว่า 7 วัน มีวิธีการดังนี้

1) การเก็บผลผลิตไรแดง ให้เก็บเกี่ยวเพียงวันละครึ่งหนึ่งของผลผลิตทั้งหมด คือ ครั้งแรก วันที่ 3 หรือ 5 หลังจากเติมแม่พันธุ์ไรแดง

2) การเติมอาหาร โดยการเติมอาหารผสม ให้เติมอาหารที่หมักแล้วทุกวัน

3) การถ่ายน้ำ เป็นการระบายน้ำออกและเติมน้ำเข้าทุก 2-3 วัน

1.2.10.4 ขั้นตอนการเพาะเลี้ยงไรแดง

1. การเพาะเลี้ยงไรแดงในบ่อซีเมนต์

1.1วิธีเพาะเลี้ยงไรแดงแบบเก็บเกี่ยวไม่ต่อเนื่อง

1.1.1 ในบ่อซีเมนต์ขนาด 50 ตารางเมตร ซึ่งทำความสะอาดและตากบ่อทิ้งไว้แล้ว 1 วัน

1.1.2 เปิดน้ำและกรองลงบ่อให้ได้ระดับความสูง 20 เซนติเมตร ปริมาณน้ำ 10 ลูกบาศก์เมตรพร้อมทั้งละลายปุ๋ยและอาหารลงในบ่อโดยใช้สูตรใดสูตรหนึ่ง (ตารางที่ 1-13)

ตารางที่ 1-13 สูตรอาหารของสาหร่าย *Chlorella* สำหรับการเพาะเลี้ยงในบ่อซีเมนต์

สูตร	ปริมาณปุ๋ยและอาหาร
สูตรที่ 1	อามิ-อามิ 8 ลิตร ปุ๋ยนา (16-20-0) 1.2 กก. ปุ๋ยยูเรีย (46-0-0) 1.2 กก. ปุ๋ยซุปเปอร์ฟอสเฟต (0-46-0) 100 กรัม ปูนขาว 1 กก. กากถั่วเหลือง 1 กก.
สูตรที่ 2	รำละเอียด 1 กก. ปลาป่น 0.5 กก. กากถั่วเหลือง 0.5 กก. ปุ๋ยนา (16-20-0) 1.2 กก. ปุ๋ยยูเรีย (46-0-0) 1.2 กก. ปุ๋ยซุปเปอร์ฟอสเฟต (0-46-0) 100 กรัม ปูนขาว 1 กก. (อาหารที่ใช้ควรหมักไว้อย่างน้อย 24 ชั่วโมง อัตราส่วนที่ใช้หมัก ได้แก่ อาหาร 1 ส่วน : น้ำ 2 ส่วน : ปูนขาว 1 ส่วน)
สูตรที่ 3	อามิ-อามิ 6 ลิตร กากถั่วเหลืองหมัก หรือ รำละเอียดหมัก หรือ ปลาป่นอย่างใดอย่างหนึ่ง 0.5 กก. ปุ๋ยนา (16-20-0) 1.2 กก. ปุ๋ยยูเรีย (46-0-0) 1.2 กก. ปุ๋ยซุปเปอร์ฟอสเฟต (0-46-0) 100 กรัม ปูนขาว 1 กก.

ที่มา: สำนักงานประมงจังหวัดนครปฐม (2550)

1.1.3 เติมน้ำเขียวลงในบ่อประมาณ 1,000 ลิตร ทิ้งไว้ประมาณ 3 วัน ในระหว่างนี้ควรคนบ่อยๆ เพื่อป้องกันการตกตะกอน

1.1.4 เมื่อได้น้ำเขียวแล้ว จากนั้นแบ่งเชื้อน้ำเขียวใส่ลงบ่อเพาะใหม่จำนวน 1,000 ลิตร หลังจากนั้นจึงนำพันธุ์ไรแดงที่มีความสมบูรณ์ใส่ลงไปจำนวน 2 กิโลกรัม และให้เติมอากาศในน้ำทิ้งไว้ประมาณ 2 วัน ไรแดงจะขยายพันธุ์ขึ้นและสามารถเก็บเกี่ยวไรแดงได้ประมาณ 13-15 กิโลกรัม ระยะเวลาการเพาะเลี้ยงไรแดงประมาณ 5 วัน จะต้องมีบ่อซีเมนต์จำนวน 5 บ่อ จึงจะทำการเพาะไรแดงแบบไม่ต่อเนื่องได้ครบวงจร

1.2 วิธีเพาะเลี้ยงไรแดงแบบเก็บเกี่ยวต่อเนื่อง

1.2.1 เมื่อดำเนินขั้นตอนตามวิธีการเพาะในแบบที่ 1 ถึง ข้อ 1.1.4 ในการเก็บเกี่ยวจะทำการเก็บไรแดงมาใช้เพียง 1/2 ของไรแดงที่เกิดขึ้นในบ่อประมาณ 5 - 6 กิโลกรัม

1.2.2 ลดระดับน้ำลงประมาณ 10 เซนติเมตร แล้วเติมน้ำสะอาดและน้ำเขียวผสมอาหารและปุ๋ยอย่างละ 5 เซนติเมตร ทำเช่นนี้ทุกวันจนกว่าสภาวะแวดล้อมในบ่อไรแดงไม่เหมาะสม หรือผลผลิตต่อไรแดงลดลง จึงทำการล้างบ่อแล้วเริ่มทำการเพาะใหม่

1.2.3 ผลผลิตไรแดงแบบเก็บเกี่ยวต่อเนื่อง จะเก็บเกี่ยวไรแดงได้ ประมาณ 25 กิโลกรัม ระยะเวลาในการเพาะจนถึงเก็บเกี่ยวครั้งสุดท้ายรวม 12 วัน หลังจากนั้นควรล้างบ่อและทำความสะอาดแล้วจึงเริ่มเพาะเลี้ยงใหม่

2. การเพาะเลี้ยงไรแดงในบ่อดิน

2.1 เตรียมบ่อดิน ขนาดประมาณ 200–800 ตารางเมตร จำนวนบ่อขึ้นกับปริมาณในการผลิต โดยต้องกำจัดวัชพืชออกและปรับบ่อให้เรียบ แล้วตากบ่อไว้ประมาณ 2-3 วัน (เสน่ห์ ผลประสิทธิ์, 2550)

2.2 กรองน้ำลงบ่อให้มีระดับน้ำสูงจากพื้นบ่อประมาณ 25-40 เซนติเมตร จากนั้นเติมปุ๋ยและอาหารลงไป สูตรอาหารที่ใช้เพาะเลี้ยงสาหร่าย *chlorella* ในบ่อดินได้แสดงไว้ในตารางที่ 1- 14

ตารางที่ 1-14 สูตรอาหารของสาหร่าย *Chlorella* สำหรับการเพาะเลี้ยงในบ่อดิน

วัสดุ	บ่อ 200 ตารางเมตร	บ่อ 800 ตารางเมตร
ปูนขาว	15 กิโลกรัม	60 กิโลกรัม
อามิ-อามิ	25 ลิตร	100 ลิตร
ปุ๋ยสูตร 16-20-0	2.5 กิโลกรัม	10 กิโลกรัม
ยูเรีย	1.2 กิโลกรัม	5 กิโลกรัม
กากถั่วเหลืองหมัก	2.5 กิโลกรัม	10 กิโลกรัม

ที่มา: สำนักงานประมงจังหวัดนครปฐม (2550)

2.3 ถ้าไม่มีอามิ-อามิ ให้ใช้มูลไก่ประมาณ 80 กิโลกรัม/800 ตารางเมตร แล้วใส่น้ำเขียวประมาณ 2 ตัน ถ้าไม่มีน้ำเขียวก็หมักน้ำทิ้งไว้ประมาณ 3 วัน

2.4 เมื่อน้ำในบ่อมีสีเขียวแล้วให้เติมพันธุ์ไรแดงที่สมบูรณ์ ประมาณ 2 กิโลกรัม

2.5 เริ่มเก็บเกี่ยวไรแดงได้ในวันที่ 4-7 ควรเก็บเกี่ยวไรแดงให้ได้มากที่สุด อาหารที่ควรเติมควรเป็นพวกย่อยสลายเร็ว เช่น น้ำถั่วเหลือง น้ำเขียว รำ ปุ๋ยวิทยาศาสตร์และปุ๋ยคอก เป็นต้น โดยเติมอาหารลดลงไปจากเดิมครึ่งหนึ่ง ไรแดงจะเพิ่มจำนวนมากขึ้นอีกภายใน 2-3 วัน และจะกลับลดลงไปอีก ก็ให้เติมอาหารไปเท่ากับครั้งที่ 2 ในกรณีนี้การเกิดไรแดงจะลดจำนวนลงมากถึงจะเติมอาหารลงไปอีก ไรแดงก็จะไม่เพิ่มปริมาณมากขึ้น

1.2.10.5 ปัจจัยสำคัญในการเพาะเลี้ยงไรแดง

1) แสงแดด เป็นปัจจัยที่สำคัญที่สุด แสงแดดจะมีผลต่อปริมาณความหนาแน่นของน้ำเขียว โดยแสงแดดใช้ในกระบวนการสังเคราะห์แสงของแพลงก์ตอนพืช ซึ่งเป็นอาหารของไรแดง เพื่อสร้างเนื้อเยื่อต่างๆ ในการเจริญเติบโตเพื่อเป็นอาหารไรแดง (เสน่ห์ ผลประสิทธิ์, 2550) การเพาะไรแดงในช่วงที่มีแดดจัดจะทำให้ผลผลิตของไรแดงสูงขึ้น และใช้ระยะเวลาสั้นกว่าการเพาะในช่วงที่มีแดดไม่จัดหรือไม่มีแสงแดด

2) ออกซิเจน ไรแดงจำเป็นต้องใช้ออกซิเจนในขบวนการสร้างพลังงาน จึงต้องมีการปั๊มลมลงในบ่อเพาะเลี้ยงไรแดงเพื่อเพิ่มออกซิเจน นอกจากจะช่วยให้ไรแดงมีการขยายพันธุ์ได้รวดเร็ว และเป็นการช่วยให้น้ำเขียวมีการเจริญเติบโตได้ดีขึ้น ดังนั้นในการเพิ่มออกซิเจนลงในบ่อเพาะเลี้ยงไรแดง ก็จะมีส่วนให้ไรแดงมีผลผลิตสูงขึ้น

3) การหมุนเวียนน้ำ ช่วยเพิ่มปริมาณออกซิเจนซึ่งจะมีผลทำให้ผลผลิตของไรแดงสูงขึ้น

4) อาหาร (น้ำเขียว) การใช้ปุ๋ยอินทรีย์ร่วมกับปุ๋ยอนินทรีย์ทำให้น้ำเขียวมีการเจริญเติบโตรวดเร็วกว่าการใช้ปุ๋ยอินทรีย์หรือปุ๋ยอนินทรีย์เพียงอย่างเดียว (ภาณุ เทวรัตน์มณีกุล และคณะ, 2530)

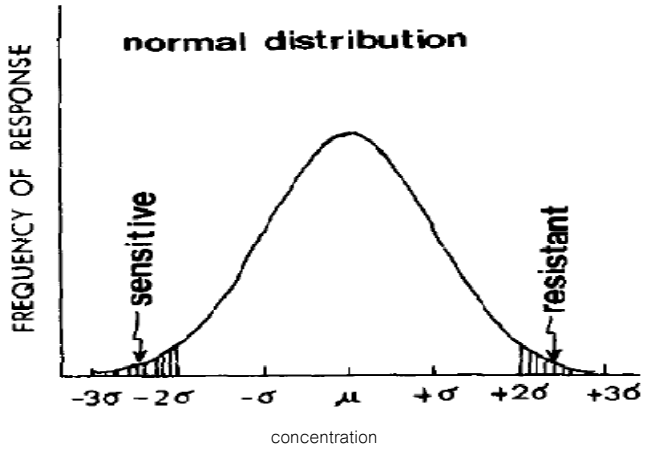
5) ศัตรูของไรแดงคือโรติเฟอร์ซึ่งจะมาแย่งอาหารของไรแดง ทำให้ปริมาณของไรแดงลดลง ดังนั้นต้องกรองน้ำทุกครั้ง (ภาณุ เทวรัตน์มณีกุล และคณะ, 2530)

1.2.11 การวิเคราะห์โดยวิธีโพรบิท (Probit analysis)

ในการหาค่าความเข้มข้นของสารพิษซึ่งทำให้สัตว์ทดลองตายลงครึ่งหนึ่งภายในระยะเวลาที่กำหนด หรือค่า LC_{50} (median lethal concentration) สามารถวิเคราะห์จากค่าสมการเส้นตรง (regression) หรือการวิเคราะห์จากกราฟ โดยการเปรียบเทียบความเข้มข้นกับร้อยละการตาย ใช้หน่วยเป็น มิลลิกรัม/ลิตร มิลลิกรัม/กรัม หรือแม้กระทั่งใช้เป็นอัตราส่วนเจือจางจากสารละลายมาตรฐาน เช่น 1:1000 และ 1:10,000 เป็นต้น ค่านี้สามารถหาได้โดยทำการทดสอบสัตว์ทดลองกับสารละลายที่หลาย ๆ ความเข้มข้น (ประมาณ 3-5 ความเข้มข้น) แล้ววัดอัตราการตายของสัตว์ทดลองที่อยู่ในช่วงระหว่างร้อยละ 10 ถึง ร้อยละ 90 โดยที่แกนตั้ง (แกน y) เป็นร้อยละการตาย และแกนนอน (แกน x) เป็นค่า log ของความเข้มข้น จากนั้นทำการวัดว่าการตายที่ร้อยละ 50 ตรงกับความเข้มข้นที่เท่าไร การประเมินค่า LC นี้จะไม่รู้ว่าสัตว์ทดลองแต่ละตัวได้รับสารพิษในปริมาณเท่าใด แต่รู้ว่าสัตว์ทดลองได้รับสารพิษที่มีความเข้มข้นเท่าใด

การหาค่า LC_{50} จากการทดสอบความเป็นพิษเฉียบพลันของตัวอย่างน้ำหลายๆความเข้มข้นสามารถหาได้จากการคำนวณโดยวิธีโพรบิท ซึ่งเป็นวิธีการที่มีความแม่นยำและเที่ยงมากกว่าการหาค่า LC_{50} จากกราฟ ที่อาจเกิดความผิดพลาด เนื่องจากค่าอัตราการตายที่ได้ไม่อยู่บนเส้นตรงทีลากต่อกัน ทำให้เกิดความแปรปรวนจากการลากเส้นในแต่ละบุคคล (Hayes, 1994)

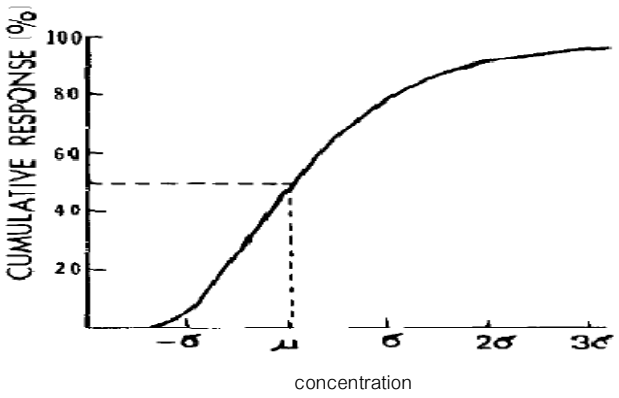
เมื่อนำข้อมูลจากการทดสอบความเป็นพิษมาพล็อตค่าความถี่ของการตายบนแกน y กับค่าความเข้มข้นของสารพิษบนแกน x จะได้เป็นรูประฆังคว่ำ แสดงว่ามีการกระจายของข้อมูลแบบปกติ (normal distribution) ดังภาพที่ 1-5



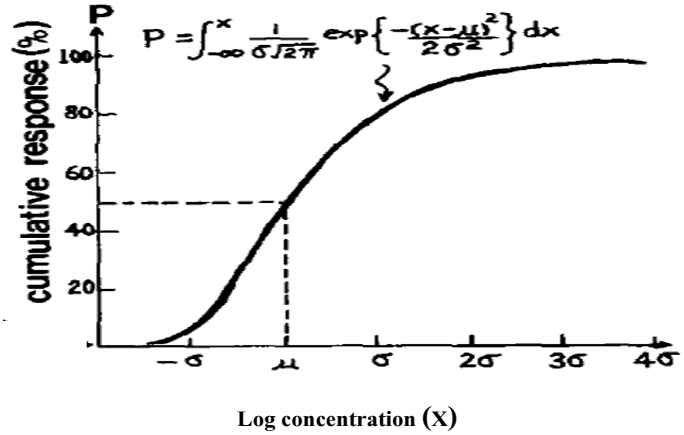
ภาพที่ 1-5 การกระจายความถี่ของการตายรูปแบบปกติ (normal distribution)
ที่มา : Hayes (1994)

ในประชากรที่มีการกระจายของข้อมูลแบบปกติ (normal distribution) ค่า mean± 1 standard deviation จะครอบคลุมร้อยละ 68.3 ของประชากร mean± 2 standard deviation จะครอบคลุมร้อยละ 95.5 และ mean± 3 standard deviation จะครอบคลุมร้อยละ 99.7 ดังนั้นจึงมีผู้เสนอให้ใช้หน่วย normal equivalent deviations (NEDs) แทน โดย NED ที่ 50% response เท่ากับ 0 NED ที่ 84.1% response เท่ากับ +1 NED ที่ 15.9% response เท่ากับ -1 เป็นต้น ต่อมามีผู้เสนอให้ใช้หน่วย probit โดยบวกค่า NED ด้วย 5 (probit= NED+5) เพื่อให้เป็นค่าบวกหมด (Klaassen, 2001)

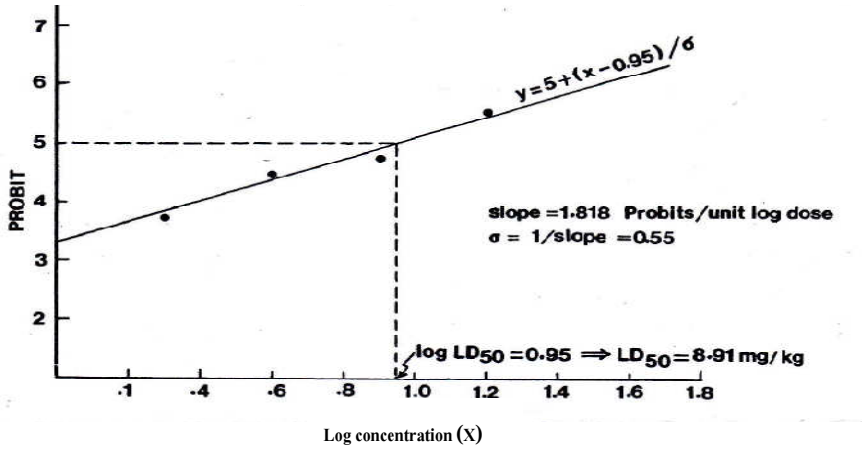
เมื่อเขียนกราฟร้อยละการตายกับค่าความเข้มข้น (Concentration) ลักษณะของกราฟมักจะอยู่ในรูป symmetric sigmoid curve ดังแสดงในภาพที่ 1-6 แต่เมื่อเราปรับค่า concentration ให้อยู่ในรูปของลอกการิทึม ลักษณะกราฟจะเป็นในรูปของ symmetric sigmoid curve ดังแสดงในภาพที่ 1-7 แต่ลักษณะกราฟยากต่อการใช้คำนวณ จึงจำเป็นต้องมีการเปลี่ยนค่าร้อยละการตายเป็นค่าโพรบิท และเปลี่ยนค่า concentration เป็น logarithm of concentration เพื่อเปลี่ยนกราฟให้เป็นกราฟเส้นตรงดังแสดงในภาพที่ 1-8



ภาพที่ 1-6 กราฟแสดงความสัมพันธ์ของร้อยละการตายสะสมกับค่าความเข้มข้น (Concentration)
ที่มา : Hayes (1994)



ภาพที่ 1-7 กราฟแสดงความสัมพันธ์ระหว่างร้อยละการตายสะสมกับค่าลอกการิทึมของความเข้มข้น
ที่มา : Hayes (1994)



ภาพที่ 1-8 ตัวอย่างกราฟที่เปลี่ยนค่าร้อยละการตายเป็นค่าโพรบิท และเปลี่ยน ค่า concentration เป็น logarithm of concentration

ที่มา : Hayes (1994)

สำหรับงานวิจัยที่ใช้การวิเคราะห์โดยวิธีโพรบิทได้แสดงในตาราง 1-15 ในหน้าถัดไป

ตารางที่ 1-15 งานวิจัยที่ใช้การวิเคราะห์โดยวิธีโพรบิท

งานวิจัย	อ้างอิง
การทดสอบความเป็นพิษของสีย้อมเบสิคและสีย้อมรีแอคทีฟด้วยสาหร่ายคลอเรลลาและไรแดง พบค่า 96-h EC_{50}ของสีย้อมเบสิคและสีย้อมรีแอคทีฟต่อสาหร่ายคลอเรลลามีค่าเท่ากับ 10.88 และ 95.55 มิลลิกรัมต่อลิตร ตามลำดับ และจากการทดสอบความเป็นพิษของสีย้อมเบสิคและสีย้อมรีแอคทีฟต่อไรแดงพบค่า 48-h LC_{50} เท่ากับ 4.91 และ 18.26 มิลลิกรัมต่อลิตร ตามลำดับ	วารุณี ฉัตรเท, 2547
การประเมินความเป็นพิษของตะกอนท้องน้ำ โดยการทดสอบค่าความเป็นพิษเฉียบพลัน โดยนำไรแดงใส่ในน้ำที่สกัดได้จากตะกอนท้องน้ำที่ระดับความเข้มข้นต่างๆ แล้วนับการตายของไรแดงที่ 24 และ 48 ชั่วโมง จากนั้นนำมาหาค่า LC_{50}	สมคิด ปราบภัย, 2545
การศึกษาพิษเฉียบพลันของยาฆ่าแมลงต่อเซลล์ตับปลาตะเพียน *In Vitro* โดยใช้ยาฆ่าแมลง ได้แก่ ไดอะซีนอน (กลุ่มออร์กาโนฟอสเฟต) คาร์บาริล (กลุ่มคาร์บาเมต) และคาร์โบฟูแรน(กลุ่มคาร์บาเมต) พบค่า LC_{50} ที่ 96 ชั่วโมง มีค่าเท่ากับ 0.069, 0.190 และ 0.129 มิลลิกรัมต่อลิตร ตามลำดับ และพบว่าเซลล์ตับปลาตะเพียนจะมีความไวต่อการตอบสนองต่อความเป็นพิษของไดอะซีนอนมากที่สุด รองลงมาคือ คาร์โบฟูแรน และคาร์บาริล ตามลำดับ	กันยา กาวิน, 2551
การศึกษาพิษเฉียบพลันของ 15 สารประกอบ (Paraoxon, Parathion, DCA , Chlorpyrifos, Mercurous chloride, Cadmium chloride, Copper sulfate, Zinc sulfate, Sodium dichromate, Chromous chloride, Sodium bromide, Ethanol, Methanol, SDS, DBS) ต่อ *Daphnia magna* พบค่า LC_{50} ที่ 24 ชั่วโมง มีค่าน้อยกว่า 0.22 มิลลิกรัมต่อลิตรทุกสาร	Guilhermino *et al.*, 2000
การศึกษาความเป็นพิษเฉียบพลันและความเป็นพิษเรื้อรังของยาฆ่าแมลงเอนโดซัลแฟน (endosulfan) โดยค่า LC_{50} ที่ 24 และ 48 ชั่วโมง คือ 3.34 และ 0.16 มิลลิกรัมต่อลิตร ตามลำดับ และพบว่ามีผลต่อการสืบพันธ์ของไรแดง โดยทำให้ได้ปริมาณไข่ของไรแดงลดลง	Chuah *et al.*, 2007
การทดสอบความเป็นพิษเฉียบพลันของโลหะหนัก (Cu, Pb, Zn) ฟีนอล และโซเดียมซัลเฟตต่อ *Allium cepa L.*, *Lepidium saticum L.* และ *Daphnia magna* โดย *Allium cepa L.*, *Lepidium saticum L.* เป็นการหาค่า IC_{50} ส่วน *Daphnia magna* เป็นการหาค่า LC_{50} ที่ 48 ชั่วโมง พบว่าความเป็นพิษเรียงลำดับดังนี้ Cu > Zn > phenol >Pb > Na_2SO_4 > NaCl	Arambasic *et al.*, 1995

1.2.12 การทดสอบประสิทธิภาพของวิธีการตรวจวินิจฉัย (Diagnostic test) (Armitage *et al.,* 1994)

เป็นการเปรียบเทียบผลที่ได้จากการใช้วิธีการทดสอบนั้น ในกลุ่มตัวอย่างกับผลการวินิจฉัยที่ได้จากวิธีการปกติ ซึ่งเป็นวิธีการมาตรฐานที่เป็นที่ยอมรับกันทั่วไป (gold standard) เพื่อยืนยันความถูกต้องของวิธีการตรวจวินิจฉัยที่ได้พัฒนาขึ้นมา สำหรับสถิติที่ใช้บอกประสิทธิภาพของวิธีการทดสอบนั้นๆ ได้แก่ ความไว (sensitivity) และความจำเพาะ (specificity) สำหรับงานวิจัยแบบ diagnostic test นั้นจะสร้างตาราง 2X2 แล้วทำการคำนวณค่าความไวและความจำเพาะ ต่างๆ ออกมาดังนี้

		การตรวจด้วยวิธีมาตรฐาน (Gold Standard)	
		ผลบวก	ผลลบ
ผลการตรวจด้วยวิธีทดสอบใหม่	ผลบวก	a True positive	b False positive
	ผลลบ	c False negative	d True negative

การแปลค่าความไว (sensitivity) และความจำเพาะ (specificity)

ความไว (sensitivity) เป็นสัดส่วนของจำนวนตัวอย่างที่ให้ผลเป็นบวกในจำนวนตัวอย่างทั้งหมดที่มีผลเป็นบวกเมื่อทดสอบด้วยวิธีการมาตรฐาน การคำนวณจากข้อมูลในตาราง sensitivity จะมีค่าเท่ากับ true positive/total positive (a/ a+c)

ความจำเพาะ (specificity) เป็นสัดส่วนของจำนวนตัวอย่างที่ให้ผลเป็นลบในจำนวนตัวอย่างทั้งหมดที่มีผลเป็นลบ จากข้อมูลในตาราง specificity จะมีค่าเท่ากับ true negative/total negative (d/ b+d) ค่า specificity สำหรับงานวิจัยที่ใช้วิธีการตรวจวินิจฉัยแสดงในตารางที่ 1-16

ตารางที่ 1-16 ตัวอย่างงานวิจัยเกี่ยวกับการประเมินประสิทธิภาพของวิธีการตรวจวินิจฉัย

งานวิจัย	อ้างอิง
การศึกษาความถูกต้องของผลการตรวจด้วยวิธีเอ็กซเรย์คอมพิวเตอร์ (CT scanning) เปรียบเทียบกับผลการตรวจชิ้นเนื้อด้วยวิธีทางพยาธิวิทยา (Pathology) ในการวินิจฉัยโรคมะเร็งปอด พบค่า sentivity 51% specificity 52% ซึ่งอยู่ในระดับปานกลาง	รัชนันทน์ ตติยนันทพร, 2554
การเปรียบเทียบการตรวจหาเชื้อวัณโรคดื้อยาระหว่างวิธี Real-time PCR โดยใช้ Dual Priming Oligonucleotide ตรวจหาการดื้อยา INH และ RMP เปรียบเทียบกับวิธีมาตรฐานการทดสอบความไวต่อยา ด้วยเครื่อง BACTECTM MGITTM 960 System พบว่าการตรวจหาการดื้อยา INH, RMP และชนิด MDR-TB ด้วยน้ำยา Anyplex™ plus MDR-TB Detection มีความไวร้อยละ 95.2, 100 และ 94.0 ตามลำดับ มีความจำเพาะร้อยละ 98.7, 97.6 และ 98.9 ตามลำดับ มีค่าความถูกต้องร้อยละ 97.1, 98.6 และ 97.1 ตามลำดับ ผลการศึกษาแสดงว่าวิธี Real-time PCR เป็นวิธีที่มีความไวและความจำเพาะสูง	ไกรฤกษ์ สุธรรม และ ณัฏฐกัญจน์ ทิพย์เครือ, 2556
การศึกษาประสิทธิภาพของการตรวจการติดเชื้อโรคเรื้อน โดยวิธี PGL-1 (Phenolic glycolopid 1) Rapid flow test เปรียบเทียบกับ Slit skin smear Neelsen ในกลุ่มผู้ป่วยโรคเรื้อน และผู้ที่อยู่ร่วมบ้านกับผู้ป่วยโรคเรื้อน พื้นที่จังหวัดเชียงใหม่ เชียงราย พะเยา และลำปาง พบว่าวิธี PGL-1 มีความไวสูงกว่า Slit skin smear ซึ่งเป็นวิธีมาตรฐาน	วรศักดิ์ สุทาชัย และคณะ, 2552
การประเมินประสิทธิภาพ latex agglutination test สำหรับตรวจคัดกรอง *Staphylococcus aureus* ดื้อต่อยา methicillin ที่แยกได้จากผู้ป่วยมะเร็ง โดยวิธี PBP2a latex agglutination test มีความไว (sensitivity) 100% ในขณะที่วิธี oxacillin agar ซึ่งเป็นวิธีมาตรฐานมีความไวต่ำกว่า คือ 95.4%	ยุทธนา สุดเจริญ, 2555
การศึกษาประสิทธิภาพ และความไวของวิธี Loop Mediated Isothermal Amplification (LAMP)สำหรับการตรวจระบุเพศจากตัวอย่างเลือดมนุษย์จากการคำนวณค่า Performance Characteristics ของการทดสอบเพบว่า Sensitivity เท่ากับ 100 % Specificity เท่ากับ 93%	จิรายุทธ์ วังตา และคณะ, 2555

1.3 งานวิจัยที่เกี่ยวข้อง

ธนาภรณ์ จิตตปาลพงศ์ (2536) ศึกษาพิษเฉียบพลันของผงซักฟอก 3 ชนิด คือ Fab, Breeze, White Magic ต่อไรแดงในน้ำนิ่ง โดยใช้ 5 ระดับความเข้มข้นของสารละลายผงซักฟอก จากนั้นสังเกตการตอบสนองของไรแดงอายุน้อยกว่า 24 ชั่วโมง โดยสังเกตการตายร้อยละ 50 ภายในเวลา 24 ชั่วโมง (LC_{50}) พบว่าค่าเฉลี่ย LC_{50} ของ Fab, Breeze และ White Magic เท่ากับ 28.1, 37.3 และ 16.8 มิลลิกรัมต่อลิตร ตามลำดับ

Tisler and Zagorc-Koncan (1997) ได้เปรียบเทียบการใช้สิ่งมีชีวิตได้แก่ แบคทีเรีย สาหร่าย *Scenedesmus quadricauda* ไรน้ำ *Daphnia pulex* และ ปลา rainbow trout ทดสอบความเป็นพิษของฟีนอล ฟอร์มัลดีไฮด์ และน้ำเสียอุตสาหกรรมที่มีฟีนอล และฟอร์มัลดีไฮด์จากโรงงานยาง พบว่า แบคทีเรีย ไรน้ำ *Daphnia pulex* และสาหร่าย *Scenedesmus quadricauda* มีความไวต่อความเป็นพิษของฟอร์มัลดีไฮด์มากกว่าฟีนอล ไรน้ำ *Daphnia pulex* และปลา *rainbow trout* มีความไวต่อความเป็นพิษของฟีนอลมากกว่าแบคทีเรีย และสาหร่าย *Scenedesmus quadricauda*

Ponten (2006) ได้ศึกษาเปรียบเทียบการปลดปล่อยฟอร์มัลดีไฮด์จากถุงมือพลาสติก PVC ถุงมือยางไนไตรล์ และถุงมือยางธรรมชาติ ทั้งหมด 9 ยี่ห้อ พบว่า 6 ใน 9 ยี่ห้อปล่อยฟอร์มัลดีไฮด์ออกมาบางส่วน ที่ความเข้มข้นมากกว่าหรือเท่ากับ 40 ไมโครกรัมต่อชิ้นส่วนถุงมือขนาด 8×8 เซนติเมตร

Lithner *et al*. (2008) ได้ทดสอบความเป็นพิษในน้ำชะผลิตภัณฑ์พลาสติก 32 ผลิตภัณฑ์ โดยใช้ *Daphnia magna* คัดกรองความเป็นพิษเป็นเวลา 48 ชั่วโมง พบค่า EC_{50} อยู่ในช่วง 5-80 กรัมต่อลิตร และยังพบว่าแผ่นซีดีมีความเป็นพิษมากที่สุด เนื่องจากมีเงินเป็นส่วนประกอบ รองลงมาได้แก่ พลาสติกพีวีซี และพลาสติกยูรีเทน นอกจากนี้ยังพบว่าพวกโมโนเมอร์ (propylene และ ethylene) ที่ใช้ในการผลิต polypropylene และ polyethylene มีความเป็นพิษต่ำ แต่สามารถที่จะชะสารเติมแต่งที่ก่อให้เกิดความเป็นพิษเฉียบพลันได้

Yi *et al.* (2010) ได้ประเมินความเป็นพิษแบบเรื้อรังและแบบเฉียบพลันในน้ำทิ้งอุตสาหกรรมสิ่งทอและสีย้อม โดยใช้ *Daphnia* และ *Moina macrocopa* เป็นเวลาทดสอบ 48 ชั่วโมง พบว่า *M. macrocopa* มีความไวต่อพิษเฉียบพลันมากกว่า *D. magna*

Lithner *et al*. (2011) ได้ทดสอบความเป็นพิษแบบเฉียบพลันของน้ำชะจากผลิตภัณฑ์พลาสติกที่ทำจาก polypropylene, polyethylene, PVC, acrylonitrile–butadiene–styrene และ epoxy โดยให้ผลิตภัณฑ์เหล่านี้ถูกชะในน้ำปราศจากอิออนเป็นเวลา 3 วัน ที่อุณหภูมิ 50 องศาเซลเซียส และนำน้ำชะไปทดสอบความเป็นพิษต่อ *Daphnia magna* จากนั้นจำแนกความเป็นพิษโดยการ

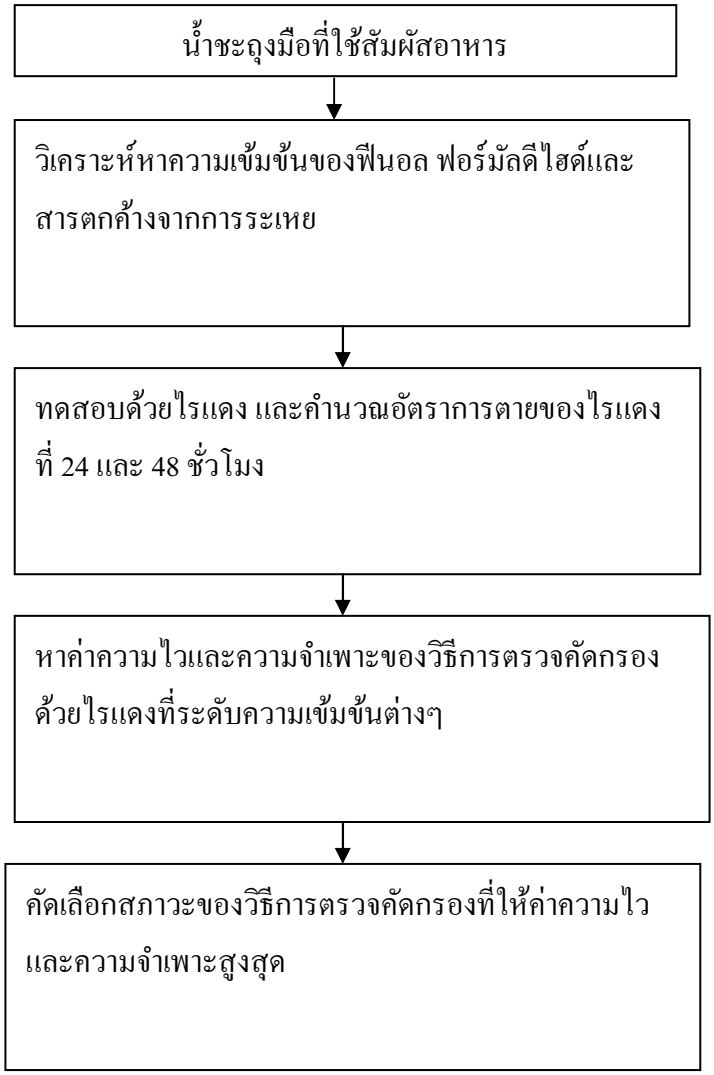
กรองด้วย C_{18} และการเติม EDTA เพื่อวิเคราะห์หาสาเหตุความเป็นพิษที่เกิดจากโลหะไอออนบวก ซึ่งสาร EDTA จะเกิดปฏิกิริยาเชิงซ้อนกับโลหะ ทำให้โลหะหมดสภาพความเป็นพิษได้ พบว่าน้ำชะของผลิตภัณฑ์พลาสติก PVC และ epoxy มีความเป็นพิษสูงสุด ในระยะเวลา 24-48 ชั่วโมง โดยมีค่า EC_{50} อยู่ในช่วง 2-235 กรัมของพลาสติกต่อลิตร เมื่อนำไปจำแนกความเป็นพิษพบว่าความเป็นพิษมาจากสารอินทรีย์ละลายน้ำและโลหะที่มีประจุบวก ส่วนน้ำชะพลาสติก polypropylene, acrylonitrile–butadiene–styrene และพลาสติก PVC ไม่พบความเป็นพิษ แม้ที่ระดับความเข้มข้นสูงสุด (250 กรัมของพลาสติกต่อลิตร) มีเพียงน้ำชะของผลิตภัณฑ์ HDPE ที่มีความเป็นพิษ

Rujiralai and Cheewasedtham (2011) ได้พัฒนาวิธีการสกัดที่มีประสิทธิภาพสำหรับการวิเคราะห์ total antioxidants และ mercaptobenzothiazole residue ในหัวนมสำหรับทำจุกนมทารก โดยใช้สารละลาย dichloromethane, acetonitrile และ hexane อัตราส่วน 1:1:1 ที่อุณหภูมิ 70 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 120 นาที โดยสกัดสองครั้ง พบว่าตัวอย่างจุกนมยางธรรมชาติในทุกตัวอย่าง มี total antioxidants และ MBT โดยความเข้มข้นของ total antioxidants อยู่ในช่วงการตรวจวัดต่ำกว่า 14.1 มิลลิกรัมต่อกรัม และความเข้มข้นของ MBT อยู่ในช่วงการตรวจวัดต่ำกว่า 0.13 มิลลิกรัมต่อกรัม

1.4 วัตถุประสงค์ของงานวิจัย

1. เพื่อหาปริมาณสารฟีนอล ฟอร์มัลดีไฮด์ และสารตกค้างจากการระเหยในน้ำชะถุงมือที่ใช้สัมผัสอาหาร
2. เพื่อทดสอบความเป็นพิษเฉียบพลันของน้ำชะถุงมือที่ใช้สัมผัสอาหารต่อไรแดง
3. เพื่อหาสภาวะที่เหมาะสมสำหรับใช้ในวิธีการตรวจคัดกรองที่พัฒนาขึ้น

1.5 กรอบแนวคิดการวิจัย



1.6 ขอบเขตการวิจัย

การวิจัยครั้งนี้เป็นการตรวจคัดกรองสารฟีนอล ฟอร์มัลดีไฮด์ และสารตกค้างจากการระเหย โดยมีการทดสอบความเป็นพิษเฉียบพลันของน้ำชะถุงมือที่ใช้สัมผัสอาหารด้วยไรแดง จากนั้นวิเคราะห์ปริมาณฟีนอล ฟอร์มัลดีไฮด์ และสารตกค้างจากการระเหยที่เคลื่อนย้ายออกมาจากถุงมือที่ใช้สัมผัสอาหารด้วยวิธีมาตรฐาน หาสภาวะที่เหมาะสมสำหรับใช้ในวิธีการตรวจคัดกรองสารตกค้างเหล่านี้ในน้ำชะถุงมือ

ถุงมือที่ใช้ในการวิจัยมี 4 ชนิด ได้แก่

1. ถุงมือยางธรรมชาติแบบบางชนิดมีแป้ง
2. ถุงมือยางธรรมชาติแบบบางชนิดไม่มีแป้ง
3. ถุงมือยางธรรมชาติแบบหนาชนิดไม่มีแป้ง
4. ถุงมือพลาสติกชนิดโพลีเอทิลีน (polyethylene, PE)

เหตุผลที่เลือกถุงมือ 4 ชนิดนี้เนื่องจากในโรงงานอุตสาหกรรมอาหาร เช่น อุตสาหกรรมอาหารแช่แข็ง ใช้ถุงมือยางธรรมชาติชนิดบางและชนิดหนาในขั้นตอนการตัดแต่ง เช่น การขอดเกล็ด ควักไส้ เป็นต้น ส่วนผู้ประกอบการร้านค้าจำหน่ายอาหารใช้ถุงมือพลาสติกชนิดโพลีเอทิลีนในการสัมผัสกับอาหาร

<u>ตัวแปรในการศึกษา</u>

ตัวแปรต้น คือ ความเข้มข้นของฟีนอล ฟอร์มัลดีไฮด์ และสารตกค้างจากการระเหยในน้ำชะถุงมือ

ตัวแปรตาม คือ ร้อยละการตายของไรแดง

1.7 ประโยชน์ที่คาดว่าจะได้รับ

1. วิธีการตรวจคัดกรองสารพิษที่เคลื่อนย้ายออกมาจากถุงมือที่ใช้สัมผัสอาหารโดยใช้ไรแดง สามารถนำไปใช้สำรวจเบื้องต้นว่าถุงมือชนิดใด แหล่งใด รุ่นใด ที่ไม่ปลอดภัยในการใช้สัมผัสอาหารเพื่อที่จะคัดเลือกน้ำชะถุงมือที่ให้ผลบวกไปวิเคราะห์ทางเคมีต่อไป เป็นการลดจำนวนถุงมือที่จะต้องตรวจวิเคราะห์ทางเคมี ลดค่าใช้จ่ายและระยะเวลาที่ใช้ในการวิเคราะห์ตัวอย่างจำนวนมาก

2. ผลงานวิจัยสามารถนำไปพัฒนาเป็นวิธีการตรวจคัดกรองสารพิษที่ถูกชะออกมาจากผลิตภัณฑ์อื่นๆที่ใช้สัมผัสอาหาร เช่น ขวดน้ำดื่ม ภาชนะบรรจุอาหาร จุกนมยาง สายยางให้อาหารเหลว เป็นต้น

บทที่ 2
วิธีการวิจัย

การศึกษานี้เป็นการนำไรแดงมาใช้ตรวจคัดกรองฟีนอล ฟอร์มัลดีไฮด์ และสารตกค้างจากระเหยที่ถูกปลดปล่อยออกมาจากถุงมือที่ใช้สัมผัสอาหาร โดยมีวัสดุอุปกรณ์และวิธีดำเนินการดังนี้

2.1 วัสดุ เครื่องมือและอุปกรณ์

2.1.1 สิ่งมีชีวิตและตัวอย่างที่ใช้ทำการวิจัย

2.1.1.1 สิ่งมีชีวิตที่ใช้ในการทดสอบความเป็นพิษ

-ไรแดง (*Moina macrocopa*)

- หัวเชื้อสาหร่ายคลอเรลลา (*chlorella* sp.) ได้รับอนุเคราะห์จากภาควิชาชีววิทยา คณะวิทยาศาสตร์ มหาวิทยาลัยสงขลานครินทร์

2.1.1.2 ตัวอย่างที่ใช้ในการวิจัย

ถุงมือที่ใช้ในการวิจัยมี 4 ชนิด ได้แก่

- ถุงมือยางธรรมชาติแบบบางชนิดมีแป้งจำนวน 3 ยี่ห้อ (A, B, C)
- ถุงมือยางธรรมชาติแบบบางชนิดไม่มีแป้งจำนวน 1 ยี่ห้อ (D)
- ถุงมือยางธรรมชาติแบบหนาชนิดไม่มีแป้งจำนวน 3 ยี่ห้อ (E, F, G)
- ถุงมือพลาสติกชนิดโพลีเอทิลีน จำนวน 3 ยี่ห้อ (H, I, J)

เหตุผลที่เลือกถุงมือ 4 ชนิดนี้เป็นถุงมือที่ใช้สำหรับสัมผัสอาหารเท่านั้น โดยสามารถหาซื้อได้ตามท้องตลาดทั่วไป ซึ่งถุงมือแต่ละชนิดถูกนำไปใช้งานที่แตกต่างกันโดยถุงมือยางธรรมชาติ ชนิดบางและชนิดหนาในขั้นตอนการตัดแต่ง เช่น การขอดเกล็ด ควักไส้ เป็นต้น ส่วนถุงมือพลาสติกชนิดโพลีเอทิลีน ผู้จำหน่ายอาหารทั่วไปนิยมใช้ในสัมผัสกับอาหาร ซึ่งอาจมีการเคลื่อนย้ายของสารเคมีจากถุงมือลงสู่อาหารได้

ตารางที่ 2-1 คุณสมบัติของถุงมือทั้ง 4 ประเภท

	ยี่ห้อ									
	A	**B**	**C**	**D**	**E**	**F**	**G**	**H**	**I**	**J**
สี	ขาว	ขาว	ขาว	ขาว-เหลือง	ชมพู	ส้ม	เหลือง	ใส	ใส	ใส
ความหนา (mm.)	0.06	0.06	0.06	0.06	0.15	0.15	0.15	0.2	0.2	0.2
เดือน-ปีที่ผลิต	11/55	12/55	7/55	8/55	11/55	12/55	8/55	11/55	12/55	7/55
เดือน-ปีที่ทำการทดลอง	1/56	1/56	1/56	1/56	1/56	1/56	1/56	12/55	12/55	12/55

2.1.2 สารมาตรฐานและสารเคมี

2.1.2.1 สารมาตรฐาน (Standard chemicals)

- Formaldehyde purity 36.6% (Sigma-Aldrich, Germany)
- Phenol purity 99.5%, GC grade (Sigma-Aldrich, Germany)

2.1.2.2 สารเคมี

- Hexane (C_6H_{14}), GC grade (LAB-SCAN, Thailand)
- Sulfuric acid (H_2SO_4), AR grade (LAB-SCAN, Thailand)
- Potassium hydrogen phathalate (KHP), AR grade (Ajax finechem, the Netherlands)
- O-(2,3,4,5,6-Pentafluorobenzyl)hydroxylamine hydrochloride (PFBHA), (Sigma-Aldrich, Germany)
- Methylene Chloride (CH_2Cl_2), AR grade (LAB-SCAN, Thailand)
- 2-Propanol (C_3H_8O), AR grade (LAB-SCAN, Thailand)
- Toluene (C_6H_5-CH_3), AR grade (LAB-SCAN, Thailand)
- Sodium sulfate anhydrous (Na_2SO_4 anhydrous), AR grade (LAB- SCAN, Thailand)
- Silica gel (70-230 mesh) (Merk, Germany)
- Sodium hydroxide (NaOH), AR grade (LAB-SCAN, Thailand)

- 1,2-Dichloropropane ($CH_3CHBrCH_2Br$), (Sigma-Aldrich, Germany)

2.1.3 เครื่องมือ

- เครื่องวัดความเป็นกรด-ด่าง (pH meter) รุ่น 150(Russell, USA)
- อ่างควบคุมอุณหภูมิ (water bath) รุ่น w760 (Memmert, Germeny)
- เครื่องแก๊สโครมาโทกราฟ ที่มีตัวตรวจวัดแบบ micro electron capture detector ยี่ห้อ Agilent รุ่น GC 7890, USA.
- เครื่องแก๊สโครมาโทกราฟ ที่มีตัวตรวจวัดแบบ flame ionization detector ยี่ห้อ Hewlett-Packard รุ่น GC 6850, USA.
- ตู้อบสารเคมี (Contherm)
- เครื่องชั่งความละเอียดทศนิยม 3 ตำแหน่ง ยี่ห้อ Mettler Toledo รุ่น PB 1502 (Delta Range, Switzerland)
- เครื่องชั่งความละเอียดทศนิยม 4 ตำแหน่ง ยี่ห้อ Mettler Toledo รุ่น PB 204 (Delta Range, Switzerland)
- ตู้ดูดควัน (Super flow fume cupboard) (Wizard, Thailand)
- เครื่องให้ความร้อน (hot plate) ยี่ห้อ LMS รุ่น HTP-1002

2.1.4 อุปกรณ์

- ตู้กระจกเลี้ยงปลาขนาด 10×6.25 นิ้ว
- บีกเกอร์ ขนาด 50, 100, 250, 500, 1000 มิลลิลิตร
- ปิเปต ขนาด 5, 10 มิลลิลิตร
- ไมโครปิเปต ขนาด 1000 ไมโครลิตร
- กระบอกตวง ขนาด 10, 25, 50 มิลลิลิตร
- ขวดก้นกลม ขนาด 250 มิลลิลิตร
- จานเพาะเลี้ยงเชื้อ (petri dish)
- กรวยแยก (separatory funnel) ขนาด 250 มิลลิลิตร
- ขวดวัดปริมาตร ขนาด 10 มิลลิลิตร
- หลอดทดลอง
- จานระเหย (evaporating dish)
- ขวด vial ขนาด 2 มิลลิลิตร
- ขวดรูปชมพู่ ขนาด 250, 500 มิลลิลิตร

2.2 วิธีดำเนินการวิจัย

2.2.1 การเตรียมอุปกรณ์

การทำความสะอาดเครื่องแก้วก่อนใช้งานและหลังการใช้งาน โดยล้างเครื่องแก้วด้วยน้ำยาสำหรับล้างเครื่องแก้ว จากนั้นล้างด้วยน้ำประปาและชะด้วยน้ำกลั่น ตามลำดับ สำหรับการกำจัดสารตกค้างของฟอร์มัลดีไฮด์ โดยนำเครื่องแก้วไปอบให้แห้งที่อุณหภูมิ 130 ºC เป็นเวลา 2 ชั่วโมง (USEPA, 1998) และการกำจัดสารตกค้างของฟีนอล โดยนำเครื่องแก้วไปอบให้แห้งที่อุณหภูมิ 400 ºC เป็นเวลา 15-30 นาที (USEPA, 1996) จากนั้นชะเครื่องแก้วด้วยอะซีโตน และเฮกเซน ตามลำดับ (Livadara, *et al.,* 2008) ปิดผนึกด้วยอลูมิเนียมฟอยล์เพื่อป้องกันการเกาะของฝุ่น

2.2.2 การเพาะเลี้ยงไรแดง

2.2.2.1 การเพาะสาหร่ายคลอเรลลาเพื่อนำมาใช้เป็นอาหารให้ไรแดง

วิธีการเพาะเลี้ยงไรแดงได้ประยุกต์วิธีการจากสำนักงานประมงจังหวัดนครปฐม (2550) สำหรับการเพาะเลี้ยงไรแดงให้ได้ไรแดงในปริมาณสูง จะต้องให้ไรแดงอยู่ในสภาวะที่เหมาะสม คือ มีอาหาร อากาศ แสงแดด และขนาดของภาชนะที่ใช้เพาะเลี้ยงกับจำนวนของไรแดง ถ้าอยู่ในสภาวะที่ไม่เหมาะสม ไรแดงจะเปลี่ยนจากการสืบพันธุ์แบบไม่อาศัยเพศเป็นแบบอาศัยเพศ ซึ่งมีผลทำให้ปริมาณของไรแดงที่ได้ลดลง (ลัดดา วงรัตน์, 2543) อาหารของไรแดงที่ใช้ในการศึกษานี้คือสาหร่ายคลอเรลลา สำหรับวิธีการการเพาะสาหร่ายคลอเรลลาได้ดัดแปลงอัตราส่วนของส่วนผสมอาหารมาจากสำนักงานประมงจังหวัดนครปฐม (2550) โดยนำตู้กระจกเลี้ยงปลาที่มีความจุ 4.6 ลิตร (ขนาด 10×6.25 นิ้ว) มาทำความสะอาดและตากไว้ให้แห้ง จากนั้นเติมน้ำประปาประมาณ 75% ของภาชนะ และปรับค่าความเป็นกรดด่างของน้ำ 7.26 (กิตติพล กสิภาร์ และคณะ, 2555) พักน้ำไว้ 24 ชั่วโมง เพื่อระเหยคลอรีนในน้ำ ใส่ปุ๋ยยูเรีย 0.115 กรัม ปุ๋ยคอก 57 กรัม เพื่อช่วยให้สาหร่ายมีการเจริญเติบโตและช่วยในกระบวนการต่าง ๆ เช่น กระบวนการสังเคราะห์แสง กระบวนการหายใจ กระบวนการสร้างน้ำตาลและแป้ง แล้วนำมาละลายด้วยน้ำปริมาตร 1.5 ลิตร จากนั้นเติมส่วนผสมทั้งหมดลงในตู้เลี้ยงปลา เติมแพลงก์ตอน *Chlorella* sp. 80 มิลลิลิตร ที่มีความหนาแน่น 15×10^{7} เซลล์/มิลลิลิตร ลงในตู้เลี้ยงปลา และคนส่วนผสมทั้งหมดเพื่อไม่ให้ตกตะกอน วางไว้กลางแจ้ง (อุณหภูมิ 29.5 องศาเซลเซียส) ประมาณ 6 วัน จะได้น้ำที่มีสีเขียวเข้มซึ่งเป็นระยะเวลาที่เหมาะสมที่สุด (ขจรเกียรติ์ ศรีนวลสม, 2552) เนื่องจากเมื่อพ้น 6 วันไปแล้ว การเจริญเติบโตของแพลก์ตอนจะค่อยๆลดลงจนหยุดนิ่ง และเซลล์เริ่มตาย (ดำรง โลหะลักษณาเดช และคณะ, 2554) (ภาพที่ 2-1)

2.2.2.2 การคัดเลือกแม่พันธุ์ไรแดง

เลือกไรแดงเบื้องต้นจาการสังเกตด้วยตาเปล่าโดยเลือกไรแดงที่มีสีแดงเรื่อและมีรูปร่างอ้วนกลม จากนั้นนำไรแดงวางบนจานเพาะเชื้อ แล้วใช้กล้องจุลทรรศน์คัดเลือกไรแดงที่มีลูก (ภาพที่2-2) ทำการคัดเลือกตามวิธีการดังกล่าวจนได้ไรแดงจำนวน 20 ตัว ในการคัดเลือกให้ระวังโรติเฟอร์ซึ่งจะเกาะอยู่กับไรแดง เพราะโรติเฟอร์จะไปแย่งอาหารของไรแดง ทำให้ไรแดงที่ได้มีปริมาณลดลง จากนั้นใส่ไรแดงลงในตู้เลี้ยงปลา วางไว้กลางแจ้ง (อุณหภูมิ 25 - 30 องศาเซลเซียส ซึ่งอุณหภูมิจะมีผลต่อขนาดตัว ช่วงชีวิต และการสืบพันธ์ของไรแดง (Engert *et al.*, 2013)) และเติมอากาศตลอดเวลา ประมาณ 2 วัน จึงคัดเลือกลูกไรแดงอายุ 24 ชั่วโมง โดยแม่พันธุ์ไรแดง 1 ตัวจะให้ลูกไรแดงประมาณ 14 ตัว

ภาพที่ 2-1 สาหร่ายคลอเรลลาที่ได้จากการเพาะ

ภาพที่ 2-2 แม่พันธุ์ไรแดงที่มีลูก (กำลังขยายกล้องจุลทรรศน์ 25×)

2.2.3 การเตรียมน้ำชะถุงมือเพื่อใช้ทดสอบความเป็นพิษกับไรแดง

นำตัวอย่างถุงมือ 4 ประเภท ได้แก่ ถุงมือยางธรรมชาติแบบบางชนิดมีแป้ง ถุงมือยางธรรมชาติแบบบางชนิดไม่มีแป้ง ถุงมือยางธรรมชาติแบบหนาชนิดไม่มีแป้ง และถุงมือโพลีเอทธิลีน มากลับด้านนอกเข้าด้านใน สำหรับอุณหภูมิและระยะเวลาที่ใช้ทดสอบของ EU ได้กำหนดไว้ดังตารางที่ 2-2 โดยการศึกษานี้จะเลือกใช้กรณีที่ถุงมือสัมผัสกับอาหารที่มีอุณหภูมิต่ำกว่า 40 องศาเซลเซียสถึง 70 องศาเซลเซียส และถุงมือสัมผัสกับอาหารเป็นเวลาต่ำกว่า 5 นาทีถึง 30 นาที โดยเติมน้ำกลั่นอุณหภูมิ 70 องศาเซลเซียส ปริมาตร 100 มิลลิลิตรลงในถุงมือ แล้วมัดบริเวณข้อมือของถุงมือให้แน่นด้วยยางรัดของ และนำไปอบในเตาอบที่อุณหภูมิ 70 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 30 นาที (European Communities, 2009) จากนั้นนำน้ำชะถุงมือที่ได้นี้ไปทดสอบความเป็นพิษกับไรแดง

ภาพที่ 2-3 ถุงมือกลับด้านนอกเข้าด้านใน

ภาพที่ 2-4 ถุงมือที่รัดด้วยยางรัดของ

2.2.4 การเตรียมน้ำชะถุงมือเพื่อใช้วิเคราะห์หาปริมาณฟีนอล ฟอร์มัลดีไฮด์ และสารตกค้างจากการระเหย

วิธีการสกัดเป็นการสกัดตัวอย่างตามวิธีการมาตรฐานของ EU โดยกำหนดให้ใช้น้ำกลั่น 2 มิลลิลิตรต่อพื้นที่ผิวสัมผัส 1 ตารางเซนติเมตร ซึ่งพื้นที่ผิวสัมผัสของถุงมืออยู่ที่ประมาณ 370 ตารางเซนติเมตร ดังนั้นปริมาตรน้ำกลั่นที่ใช้จึงเป็น 740 มิลลิลิตร สำหรับอุณหภูมิและระยะเวลาที่ใช้ทดสอบอิงตามมาตรฐานของ EU ได้กำหนดไว้ดังแสดงในตารางที่ 2-1 โดยการศึกษานี้จะเลือกใช้กรณีที่ถุงมือสัมผัสกับอาหารที่มีอุณหภูมิต่ำกว่า 40 องศาเซลเซียสถึง 70 องศาเซลเซียส และถุงมือสัมผัสกับอาหารเป็นเวลาต่ำกว่า 5 นาทีถึง 30 นาที การชะถุงมือทำโดยการนำคลิปมาหนีบบริเวณขอบปากถุงมือกับขอบของปากบีกเกอร์ขนาดความจุ 1 ลิตร จากนั้นเติมน้ำกลั่นอุณหภูมิ 70 องศาเซลเซียส ปริมาตร 740 มิลลิลิตรลงไป แล้วนำไปอบที่อุณหภูมิ 70 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 30 นาที (European Communities, 2009) จากนั้นนำน้ำชะถุงมือที่ได้นี้ ไปวิเคราะห์หาปริมาณฟีนอล ฟอร์มัลดีไฮด์ และสารตกค้างจากการระเหย

ภาพที่ 2-5 การเตรียมตัวอย่างน้ำชะ

2.2.5 การเตรียมสารละลายมาตรฐานและการสร้างกราฟมาตรฐาน

2.2.5.1 การเตรียมสารละลายมาตรฐานฟีนอล

ฟีนอล 1 กรัมที่อยู่ในลักษณะเป็นของเหลวใสใส่ในขวดวัดปริมาตรขนาด 1000 มิลลิลิตร จากนั้นปรับปริมาตรด้วยสารละลาย 2-โพรพานอล ได้ความเข้มข้นเท่ากับ 1000 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร แล้วห่อปิดปากขวดด้วยแผ่นอลูมิเนียมฟอยล์ และพันหุ้มอลูมิเนียมฟอยล์ด้วยแผ่นพาราฟิล์มอีกชั้นหนึ่ง แล้วนำไปเก็บที่อุณหภูมิ 4 องศาเซลเซียส (USEPA, 1996)

สร้างกราฟมาตรฐาน (standard calibration curve) นำ stock standard solution วางไว้ที่อุณหภูมิห้อง จากนั้นนำมาเจือจางด้วยสารละลาย 2-โพรพานอลให้ได้ความเข้มข้น 5, 25, 50, 100, 200 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร ปิเปตสารละลายแต่ละความเข้มข้นมา 2 มิลลิลิตร ใส่ลงในขวด vial แล้วนำไปฉีดเข้าเครื่องแก๊สโครมาโทกราฟ ด้วยปริมาตร 1 ไมโครลิตร

2.2.5.2 การเตรียมสารละลายมาตรฐานฟอร์มัลดีไฮด์และ internal standard

นำสารละลายฟอร์มัลดีไฮด์ที่มีความเข้มข้น 37% มาคำนวณหาความเข้มข้นในหน่วยของโมลาร์ ได้ 12.86 โมลาร์ จากนั้นนำสารละลายมาเจือจางด้วยอะซีโตไนไตรล์แล้วปรับปริมาตรให้ได้ 10 มิลลิลิตร ให้ได้สารละลายที่มีความเข้มข้น 1.286 กรัมต่อลิตร แล้วห่อปิดปากขวดด้วยแผ่นอลูมิเนียมฟอยล์และพันหุ้มอลูมิเนียมฟอยด์ด้วยแผ่นพาราฟิล์มอีกชั้นหนึ่ง และนำไปเก็บที่อุณหภูมิ -10 องศาเซลเซียส (USEPA, 1998)

เตรียมสารละลาย 1,2-Dichloropropane (stock internal standard solution) ชั่งสาร 1,2-Dichloropropane 0.1 กรัมใส่ในขวดวัดปริมาตรขนาด 10 มิลลิลิตร จากนั้นปรับปริมาตรเป็น 10 มิลลิลิตรด้วยเฮกเซน จะได้สารละลายที่มีความเข้มข้น 10,000 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร จากนั้นนำมาเจือจางด้วยเฮกเซนให้ได้ความเข้มข้น 400 ไมโครกรัมต่อลิตร โดยปิเปตจาก stock internal standard solution 40 ไมโครลิตร แล้วปรับปริมาตรให้ได้ 1 ลิตรด้วยเฮกเซน ปิดฝาขวดแล้วพันด้วยพาราฟิล์ม นำไปเก็บที่อุณหภูมิ 4 องศาเซลเซียส ใช้ได้ 4 สัปดาห์

การสร้างกราฟมาตรฐาน นำ stock standard solution มาเจือจางด้วยอะซีโตไนไตรล์ให้ได้ความเข้มข้น 5, 10, 20, 30, 40 ไมโครกรัมต่อลิตร จากนั้นนำมาทำอนุพันธ์ โดยเติมสารละลาย O–(2,3,4,5,6-pentafluorobenzyl) hydroxylamine hydrochloride ในน้ำ เข้มข้น 15 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร ปริมาตร 1 มิลลิลิตร แล้วนำไปวางในอ่างควบคุมอุณหภูมิที่ 35 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 2 ชั่วโมง ทิ้งไว้ให้เย็นที่อุณหภูมิห้อง และเติมสารละลาย 1,2-ไดโบรโมโพรเพน เข้มข้น 400 ไมโครกรัมต่อลิตร จากนั้นปิเปตสารละลาย 2 มิลลิลิตร ใส่ลงในขวด vial แล้วนำไปฉีดเข้าเครื่องแก๊สโครมาโทกราฟด้วยปริมาตร 1 ไมโครลิตร

2.2.6 การทดลอง

แบ่งออกเป็น 4 การทดลอง ดังนี้

การทดลองที่ 1 การทดสอบความเป็นพิษของฟีนอล และฟอร์มัลดีไฮด์

เตรียมสารละลายฟีนอล ฟอร์มัลดีไฮด์ ที่ระดับความเข้มข้น 0.05, 0.5, 2, 4, 8, 16 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร จากนั้นนำไรแดงมาเลี้ยงที่ระดับความเข้มข้นต่างๆ โดยเลี้ยงไรแดงความเข้มข้นละ 20 ตัว สำหรับสภาวะการเลี้ยงจะเลี้ยงที่อุณหภูมิห้อง (25-30 องศาเซลเซียส) จากนั้นบันทึกการตายของไรแดงที่เวลา 24 และ 48 ชั่วโมง ซึ่งการตายของไรแดงสามารถสังเกตได้ด้วยตาเปล่าและด้วยกล้องจุลทรรศน์คือลำตัวมีสีขาวขุ่น ไม่มีการเคลื่อนไหว นอนอยู่ที่ก้นภาชนะ เมื่อใช้เข็มเขี่ยไม่มีปฏิกิริยาตอบสนอง นำค่าร้อยละการตายของไรแดงที่แต่ละระดับความเข้มข้นของสารฟีนอลและฟอร์มัลดีไฮด์ มาคำนวณหาค่า LC_{50} ด้วยวิธีโปรบิท (วสกร บัลลังก์โพธิ์. ม.ป.ป.)

การทดลองที่ 2 การวิเคราะห์หาปริมาณฟีนอล ฟอร์มัลดีไฮด์ และสารตกค้างจากการระเหยในน้ำชะถุงมือที่ใช้สัมผัสอาหาร

1.1) การวิเคราะห์ปริมาณฟีนอลในน้ำชะถุงมือ

การวิเคราะห์ปริมาณฟีนอลในน้ำชะถุงมือได้ดัดแปลงวิธีการของ Standard Methods for Examination of Water And Wastewater (APHA, AWWA and WEF, 2012) โดยนำน้ำชะถุงมือ 100 มิลลิลิตร มาปรับความเป็นกรดด่างเป็น 12 ด้วยสารละลายโซเดียมไฮดรอกไซด์เข้มข้น 1 นอร์มอล สกัดด้วยเมทธิลีนคลอไรด์ 60 มิลลิลิตร 1 ครั้ง นำไปปรับความเป็นกรดด่างเป็น 1-2 ด้วยสารละลายกรดซัลฟูริกเข้มข้น 1 นอร์มอล จากนั้นสกัดด้วยเมทธิลีนคลอไรด์ 2 ครั้ง นำสารละลายไปลดปริมาตรด้วยเครื่องกลั่นระเหยแบบหมุนจนเกือบแห้ง แล้วนำไปกำจัดสารปนเปื้อน โดยเตรียมกระบอกฉีดยาบรรจุซิลิกาเจล 4 กรัม และโซเดียมซัลเฟตแอนไฮดรัส 2 กรัม เติมเฮกเซน 6 มิลลิลิตรลงในกระบอกฉีดยา ตามด้วยสารละลายตัวอย่าง เติมเฮกเซน 10 มิลลิลิตร และปล่อยทิ้ง จากนั้นเติมสารละลายโทลูอีน : เฮกเซน (15 : 85 ปริมาตร/ปริมาตร) 10 มิลลิลิตร ตามด้วยสารละลายโทลูอีน: เฮกเซน (40 : 60 ปริมาตร/ปริมาตร) 10 มิลลิลิตร สารละลายโทลูอีน : เฮกเซน (75 : 25 ปริมาตร/ปริมาตร) 10 มิลลิลิตร และ สารละลาย 2-โพรพานอล : โทลูอีน (15 : 85 ปริมาตร/ปริมาตร) 10 มิลลิลิตร เก็บสารละลายทั้งหมดที่ผ่านกระบอกฉีดยาออกมา นำไปลดปริมาตรด้วยเครื่องกลั่นระเหยแบบหมุนจนเกือบแห้ง แล้วปรับปริมาตรเป็น 2 มิลลิลิตรด้วย 2-โพรพานอล จากนั้นนำไปวิเคราะห์ด้วยเครื่อง GC-FID โดยวิเคราะห์ 5 ตัวอย่างต่อยี่ห้อถุงมือ สภาวะสำหรับการวิเคราะห์ฟีนอลได้แสดงในตารางที่ 2-2

ตารางที่ 2-2 สภาวะเครื่อง GC-FID ในการวัดสารฟีนอล

โปรแกรม/โหมด	สภาวะการทำงาน
Inlet conditions	Mode : Splitless 1 μL
Column	HP-5 5% phenyl methyl siloxane
	Length: 30 m.
	Diameter: 320 μm
	Film thickness: 0.25 μm
Temperature program	100˚C for 2 min to 250 ˚C at 4˚C /min
Injector temperature	200 ˚C
Detector	Flame ionization detector (FID)
	Temperature : 300 ˚C
	Flow rate : He (carrier gas) 4.0 mL/min
	H_2 (fuel gas) 30 mL/min
	N_2 (make up gas) 25 mL/min
	Air (oxidant gas) 300 mL/min

ที่มา : USEPA (2007); Bartak *et al.* (2000)

1.2) การวิเคราะห์ปริมาณฟอร์มัลดีไฮด์ในน้ำชะถุงมือ

การวิเคราะห์ปริมาณฟอร์มัลดีไฮด์ในน้ำชะถุงมือได้ประยุกต์จากวิธีการของ Standard Methods for Examination of Water And Wastewater (APHA, AWWA and WEF, 2012) โดยนำน้ำชะถุงมือ 20 มิลลิลิตร เติมสารละลาย 2,3,5,6-เตตระฟลูออโรเบนซัลดีไฮด์ (2,3,5,6-tetrafluorobenzaldehyde) ในอะซีโตไนไตรล์เข้มข้น 20 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร ปริมาตร 10 ไมโครลิตรลงไป เติมโปตัสเซียมไฮโดรเจนธาเลท (Potassium hydrogen phthalate) 200 มิลลิกรัม แล้วเขย่าให้ละลาย เติมสารละลาย O – (2,3,4,5,6-เพนตะฟลูออโรเบนซิล)ไฮดรอกซิลอะมีนไฮโดรคลอไรด์ (O – (2,3,4,5,6-pentafluorobenzyl) hydroxylamine hydrochloride) ในน้ำ เข้มข้น 15 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร ปริมาตร 1 มิลลิลิตรลงไป เพื่อให้เกิดปฏิกิริยาการเติมอนุพันธ์ (derivatization) แล้วนำไปวางในอ่างควบคุมอุณหภูมิที่ 35 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 2 ชั่วโมง เติมกรดซัลฟูริกเข้มข้น 2 หยด เพื่อหยุดปฏิกิริยาการเติมอนุพันธ์ เติมสารละลาย 1,2-Dichloropropane (internal standard)ในเฮกเซน เข้มข้น 400 ไมโครกรัมต่อลิตร ปริมาตร 4 มิลลิลิตร เขย่าเป็นเวลา 3 นาที เก็บสารละลายด้านบนใส่ในหลอดทดลองที่มีกรดซัลฟูริกเข้มข้น 0.2 นอร์มอล ปริมาตร 3

มิลลิลิตร เขย่าด้วยมือ 30 วินาที เก็บสารละลายด้านบน นำไปวิเคราะห์ด้วยเครื่อง GC-ECD โดยวิเคราะห์ 5 ตัวอย่างต่อยี่ห้อถุงมือ สภาวะสำหรับการวิเคราะห์ฟอร์มัลดีไฮด์ได้แสดงไว้ในตารางที่ 2-3

ตารางที่ 2-3 สภาวะเครื่อง GC-ECD ในการวัดสารฟอร์มัลดีไฮด์

โปรแกรม/โหมด	สภาวะการทำงาน
Inlet conditions	Mode : Splitless 1 μL
Column	ZB-5 5% diphenyl 95% dimethyl polysiloxane Length: 30 m. Diameter: 0.25 mm. Film thickness: 0.25 μm.
Temperature program	50 ˚C (1 min) to 250 ˚C (5 min) at 20 ˚C /min
Injector temperature	250 ˚C
Detector type	Micro-Electron Capture Detector (μECD) Temperature : 300 ˚C Flow rate : He (carrier gas) 1.5 mL/min N_2 (make up gas) 33 mL/min

ที่มา: Cancho *et al.* (2001); USEPA (1998)

1.3) การวิเคราะห์ปริมาณสารตกค้างจากการระเหย (European Communities, 2009)

นำชามระเหยมาไล่ความชื้นโดยการอบและวางไว้ให้เย็นในโถดูดความชื้นแล้วนำมาชั่งน้ำหนัก จากนั้นเทน้ำชะถุงมือปริมาตร 740 มิลลิลิตรลงในชามระเหย และนำไประเหยโดยการอบที่อุณหภูมิ 105 ± 5 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 2 ชั่วโมง วางไว้ให้เย็นในโถดูดความชื้น แล้วนำไปชั่งน้ำหนัก เมื่อลบน้ำหนักของภาชนะออกก็จะได้น้ำหนักของสารตกค้างจากการระเหย โดยวิเคราะห์ 5 ตัวอย่าง/ยี่ห้อถุงมือ

การตรวจสอบความน่าเชื่อถือของวิธีวิเคราะห์

1) ความเป็นเส้นตรง (Linearity)

เป็นค่าที่แสดงความสัมพันธ์เชิงเส้นตรงระหว่างความเข้มข้นและการตอบสนอง โดยค่าที่วิเคราะห์ได้เป็นสัดส่วนโดยตรงกับปริมาณที่มีอยู่จริง (นีระนารถ แจ้งทอง และ ปัทมา นพรัตน์, 2546, อารี ชูวิสิฐกุล, 2540) การหาค่า linearity ทำได้โดยการฉีดสารละลายมาตรฐาน 3-5 ความเข้มข้น จากนั้น plot standard curve ระหว่างค่าความเข้มข้นและ peak area แล้ววิเคราะห์ทางสถิติหาค่าสัมประสิทธิ์สหสัมพันธ์ (correlation coefficient, r) ซึ่งต้องได้ค่า $\geq$ 0.995 จึงจะยอมรับได้

2) ความแม่น (Accuracy)

การหาค่าเปอร์เซ็นต์การได้คืนกลับของสารที่วิเคราะห์ได้ โดยการเติมสารมาตรฐานฟีนอลลงไปในน้ำชะถุงมือที่ระดับความเข้มข้นใกล้เคียงกับค่าความเข้มข้นเฉลี่ยที่วิเคราะห์ได้จากน้ำชะถุงมือ 4 ชนิดได้แก่ ถุงมือยางธรรมชาติแบบบางชนิดมีแป้ง ถุงมือยางธรรมชาติแบบบางชนิดไม่มีแป้ง ถุงมือยางธรรมชาติแบบหนาชนิดไม่มีแป้ง และถุงมือโพลีเอทธิลีน นำไปวิเคราะห์หาปริมาณฟีนอล แล้วคำนวณหาค่าเปอร์เซ็นต์การคืนกลับตามสูตร

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

โดย

Cs คือ ความเข้มข้นของสารในตัวอย่างที่เติมสารละลายมาตรฐาน

Cu คือ ความเข้มข้นของสารในตัวอย่างก่อนเติมสารละลายมาตรฐาน

C คือ ความเข้มข้นของสารละลายมาตรฐาน

3) ความเที่ยงของวิธีวิเคราะห์ (Precision)

เป็นการตรวจสอบค่าใกล้เคียงของค่าที่ได้จากการวิเคราะห์ตัวอย่างซ้ำหลายๆครั้งเมื่อทดลองด้วยวิธีเดียวกัน ภายใต้สภาวะที่ใกล้เคียงกัน โดยหาค่าร้อยละส่วนเบี่ยงเบนมาตรฐานสัมพัทธ์ (% relative standard deviation, %RSD) ซึ่งเกณฑ์การยอมรับของ %RSD ต้องมีค่าไม่เกิน 10% จึงจะถือว่าวิธีวิเคราะห์นั้นมีความเที่ยง (วิมล ตันติไชยากุล, 2546; อารี ชูวิสิฐกุล, 2540)

$$\%\text{RSD} = \frac{\text{SD}}{\text{Mean}} \times 100$$

โดยที่ SD = ส่วนเบี่ยงเบนมาตรฐาน (standard deviation)

Mean = ค่าเฉลี่ย

4) การหาขีดจำกัดของการตรวจวัดเชิงคุณภาพ (Limit of detection, LOD) และขีดจำกัดของการตรวจวัดเชิงปริมาณ Limit of quantitation, LOQ)

Limit of detection (LOD) เป็นค่าความเข้มข้นต่ำสุดหรือน้อยที่สุดของสารที่สามารถตรวจพบได้ โดยปริมาณสารที่ให้สัญญาณเป็น 3 เท่า ของสัญญาณรบกวน (signal to noise ratio 3:1)

Limit of quantitation (LOQ) เป็นค่าความเข้มข้นต่ำสุดที่สามารถตรวจวัดได้ด้วยวิธีวิเคราะห์ที่กำหนด โดยอุปกรณ์หรือเครื่องมือสามารถวิเคราะห์ได้ค่าที่ถูกต้อง แม่นยำ และ linearity ที่ยอมรับได้ โดยปริมาณสารที่ให้สัญญาณเป็น 10 เท่า ของสัญญาณรบกวน (signal to noise ratio 10:1)

LOD และ LOQ หาได้โดยการวิเคราะห์สารตัวอย่างที่มีความเข้มข้นน้อยที่สุด จำนวน 10 ซ้ำ หาค่า SD และนำค่า SD (standard deviation) มาคำนวณโดยใช้สูตรการคำนวณ (Taverniers *et al.,* 2004)

ดังนี้

$$LOD = 3SD$$

$$LOQ = 10SD$$

การทดลองที่ 3 การทดสอบความเป็นพิษของน้ำชะถุงมือที่ใช้สัมผัสอาหาร

การทดสอบความเป็นพิษของน้ำชะถุงมือที่ใช้สัมผัสอาหารเป็นการประยุกต์จากวิธีการของ OECD (2004) โดยเจือจางน้ำชะถุงมือด้วยน้ำกลั่นให้มีความเข้มข้น 100%, 50%, 25%, 12.5%, 6.25% นำตัวอย่างน้ำชะถุงมือแต่ละความเข้มข้น ปริมาตร 40 มิลลิลิตรมาใส่จานอาหารเลี้ยงเชื้อ ใส่ไรแดงจำนวน 20 ตัว ซึ่งแต่ละความเข้มข้นทำ 10 ซ้ำ แล้วบันทึกการตายของไรแดง ซึ่งการตายของไรแดงสามารถสังเกตได้ด้วยตาเปล่าและด้วยกล้องจุลทรรศน์คือลำตัวมีสีขาวขุ่น ไม่มีการเคลื่อนไหว นอนอยู่ที่ก้นภาชนะ เมื่อใช้เข็มเขี่ยไม่มีปฏิกิริยาตอบสนอง เปรียบเทียบกับกลุ่มควบคุม (ไรแดงที่เลี้ยงในน้ำกลั่น) เมื่อครบ 24 ชั่วโมง และ 48 ชั่วโมง

ตารางที่ 2-4 สภาวะการทดสอบความเป็นพิษ

สภาวะ	สภาวะที่ใช้ทดสอบ
ขนาดภาชนะที่ใช้ทดสอบ	50 มิลลิลิตร
ปริมาตรน้ำตัวอย่างที่ใช้ทดสอบ	40 มิลลิลิตร
อายุของไรแดง	24 ชั่วโมง
จำนวนไรแดงต่อระดับความเข้มข้น	20 ตัว
จำนวนซ้ำต่อตัวอย่าง	10 ซ้ำ
น้ำที่ใช้เจือจาง	น้ำกลั่น
อุณหภูมิ	อุณหภูมิห้อง
ระยะเวลาการทดสอบ	24-48 ชั่วโมง
กลุ่มควบคุม	เลี้ยงไรแดงในน้ำกลั่นต้องตายไม่เกิน 10%

ที่มา : OECD (2004)

การทดลองที่ 4 การหาประสิทธิภาพของวิธีการตรวจคัดกรองน้ำชะถุงมือ

การหาประสิทธิภาพของวิธีการตรวจคัดกรองน้ำชะถุงมือเป็นการประยุกต์จากวิธีการของ Armitage *et al.* (1994) เป็นการนำอัตราการตายของไรแดงที่ระดับความเข้มข้นต่างๆ มาคำนวณหาค่าความไว (sensitivity) และความจำเพาะ (specificity) ซึ่งเป็นค่าที่บอกความน่าเชื่อถือของวิธีการตรวจวินิจฉัยใหม่ โดยผลการตรวจวินิจฉัยเป็นได้สองอย่างคือ ผลบวกหรือผลลบ ซึ่งผลบวกคืออัตราการตายของไรแดงมีตั้งแต่ร้อยละ 50 ขึ้นไป ผลลบคืออัตราการตายของไรแดงมีอัตราการตายต่ำกว่าร้อยละ 50

ความไว คือ อัตราส่วนของจำนวนไรแดงที่ทดสอบแล้วให้ผลเป็นบวกต่อจำนวนไรแดงทั้งหมดที่เป็นบวกเมื่อทดสอบด้วยวิธีวิเคราะห์ทางเคมีซึ่งเป็นวิธีมาตรฐาน (gold standard)

$$\text{ความไว} = a/a+c$$

a = จำนวนตัวอย่างที่ให้ผลเป็นบวกเมื่อทดสอบความเป็นพิษด้วยไรแดงและให้ผลเป็นบวกเมื่อวิเคราะห์ทางเคมีด้วย

c = จำนวนตัวอย่างที่ให้ผลเป็นลบเมื่อทดสอบความเป็นพิษด้วยไรแดง แต่ให้ผลเป็นบวกเมื่อวิเคราะห์ทางเคมี

ความจำเพาะ คือ อัตราส่วนของจำนวนไรแดงที่ทดสอบแล้วให้ผลเป็นลบต่อจำนวนไรแดงทั้งหมดที่ให้ผลเป็นลบเมื่อทดสอบด้วยวิธีวิเคราะห์ทางเคมีซึ่งเป็นวิธีมาตรฐาน (gold standard)

$$\text{ความจำเพาะ} = d/b+d$$

d = จำนวนตัวอย่างที่ให้ผลเป็นลบเมื่อทดสอบความเป็นพิษด้วยไรแดงและให้ผลเป็นลบเมื่อวิเคราะห์ทางเคมีด้วย

b = จำนวนตัวอย่างที่ให้ผลเป็นบวกเมื่อทดสอบความเป็นพิษด้วยไรแดง แต่ให้ผลเป็นลบเมื่อวิเคราะห์ทางเคมี

ค่า a, b, c และ d สามารถแสดงให้เข้าใจโดยง่ายโดยใช้ตาราง 2-5

ตารางที่ 2-5 การหาค่าความไวและความจำเพาะของวิธีการตรวจวิเคราะห์ใหม่ที่พัฒนาขึ้นมา

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

การวิเคราะห์ข้อมูลทางสถิติ

1. นำเสนอข้อมูลด้วยกราฟเส้นตรง ตารางแสดงค่าเฉลี่ย ร้อยละ และ ส่วนเบี่ยงเบนมาตรฐาน โดยใช้โปรแกรมสำเร็จรูป SPSS version 17

2.วิเคราะห์ความแตกต่างของชุดข้อมูลด้วยสถิติ oneway-ANOVA test และ Tukey test โดยใช้โปรแกรมสำเร็จรูป SPSS version 17

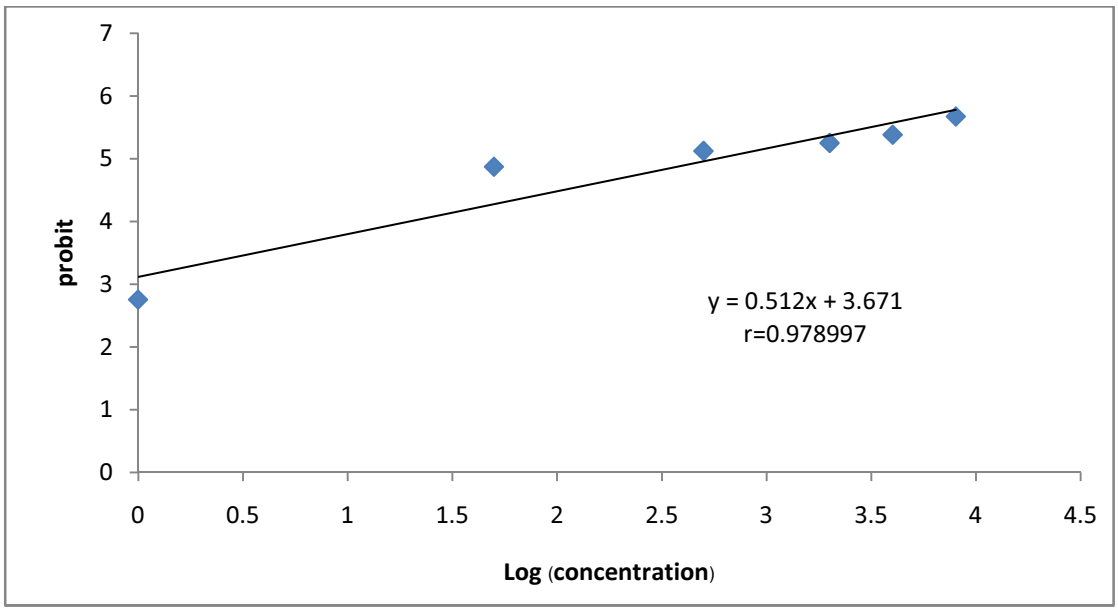
3.คำนวณหาค่า LC_{50} โดยการวิเคราะห์โพรบิทด้วยโปรแกรม StatPlus Professional version 2008

บทที่ 3
ผลการวิจัยและอภิปรายผล

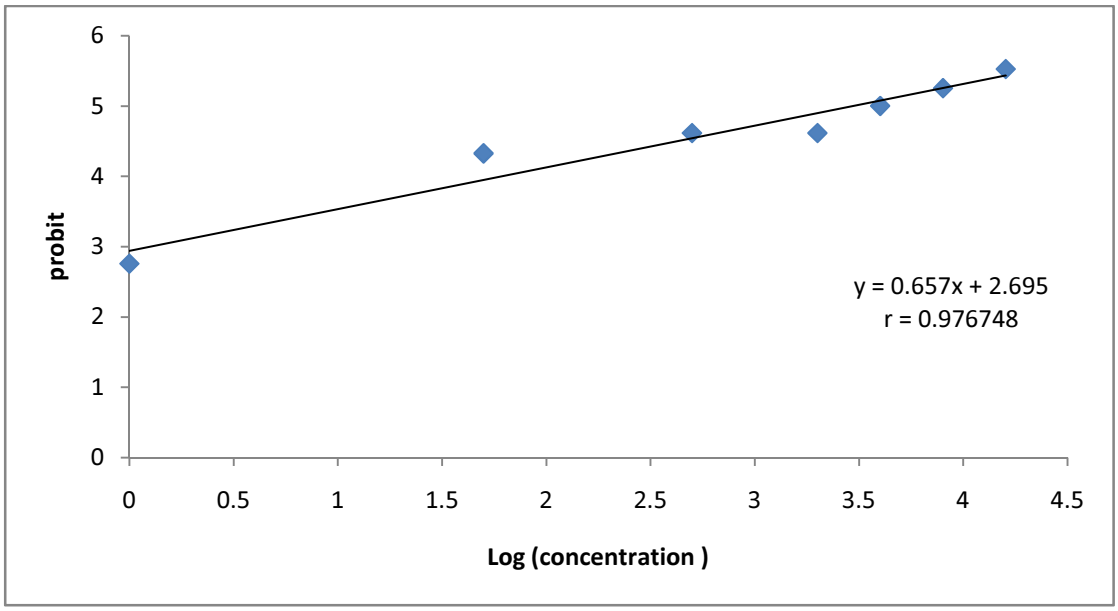
3.1 การทดสอบความเป็นพิษของสารละลายฟีนอลและฟอร์มัลดีไฮด์ด้วยไรแดง

เตรียมสารละลายฟีนอล และฟอร์มัลดีไฮด์ ที่ระดับความเข้มข้น 0.05, 0.5, 2, 4, 8, 16 มิลลิกรัมต่อลิตร นำสารละลายเหล่านี้มาทดสอบความเป็นพิษต่อไรแดง ที่ระยะเวลา 24 และ 48 ชั่วโมง บันทึกจำนวนของไรแดงที่ตายไป ทำการทดลอง 10 ซ้ำ จากนั้นนำมาหาค่าร้อยละการตายของไรแดงและหาค่า LC_{50} ด้วยวิธีวิเคราะห์โปรบิทซึ่งเป็นวิธีการที่มีความแม่นยำและเที่ยงมากกว่าการหาค่า LC_{50} จากกราฟที่อาจเกิดความผิดพลาด เนื่องจากความแปรปรวนจากการลากเส้นของแต่ละบุคคล

พบว่าความเข้มข้นของสารละลายฟีนอลและสารละลายฟอร์มัลดีไฮด์ ที่ทำให้เกิดอัตราการตายของไรแดงร้อยละ 50 (LC_{50}) ที่ระยะเวลา 24 ชั่วโมง มีค่าเท่ากับ 0.34 และ 3.13 มิลลิกรัมต่อลิตร (ภาพที่ 3-1 ถึง 3-2) ตามลำดับ จะเห็นว่าฟีนอลมีความเป็นพิษมากกว่าฟอร์มัลดีไฮด์ ซึ่งผลที่ได้สอดคล้องกับงานวิจัยของ Telesh *et al*. (2010) ที่พบว่าฟีนอลมีความเป็นพิษต่อตัวอ่อนไรแดงที่อยู่ในไข่มากกว่าฟอร์มัลดีไฮด์ แต่ผลที่ได้แตกต่างจากรายงานวิจัยของ Tisler and Zagorc-Koncan (1997) ที่พบว่าฟอร์มัลดีไฮด์มีความเป็นพิษมากกว่าฟีนอล สาเหตุส่วนหนึ่งที่การทดลองครั้งนี้พบว่าฟอร์มัลดีไฮด์มีความเป็นพิษน้อยกว่าฟีนอลอาจเนื่องมาจากการระเหยออกไปของฟอร์มัลดีไฮด์ที่อุณหภูมิ 27-30 องศาเซลเซียส ทำให้ระดับความเข้มข้นของฟอร์มัลดีไฮด์ลดลง (มะลิวรรณ แสงจันทร์, 2531)



ภาพที่ 3-1 กราฟแสดงความสัมพันธ์ระหว่างความเข้มข้นของฟีนอลกับค่าโปรบิทของอัตราการตายของไรแดงที่ 24 ชั่วโมง



ภาพที่ 3-2 กราฟแสดงความสัมพันธ์ระหว่างค่าลอกการิทึมความเข้มข้นของฟอร์มัลดีไฮด์กับค่าโปรบิทของอัตราการตายของไรแดง ที่ 24 ชั่วโมง

3.2 การตรวจสอบความน่าเชื่อถือของวิธีการวิเคราะห์ฟีนอลและฟอร์มัลดีไฮด์ในน้ำชะถุงมือที่ใช้สัมผัสอาหารชนิดต่างๆ

ผลการทดสอบความน่าเชื่อถือของวิธีการวิเคราะห์สารฟีนอล พบว่ากราฟมาตรฐานของสารละลายฟีนอล เป็นเส้นตรงในช่วงความเข้มข้น 5-200 มิลลิกรัมต่อลิตร โดยมีค่าสัมประสิทธ์สหสัมพันธ์ (r) เท่ากับ 0.9996 และค่าสัมประสิทธ์การทำนาย (r^2) เท่ากับ 0.9992 ซึ่งค่าสัมประสิทธิ์สหสัมพันธ์มีค่าเข้าใกล้ 1 และสัมประสิทธิ์การทำนายมีค่ามากกว่า 0.995 แสดงว่ากราฟมาตรฐานมีช่วงความเป็นเส้นตรงที่ยอมรับได้ (Taverniers *et al*., 2004) ค่าร้อยละการได้คืนกลับของการเตรียมตัวอย่างน้ำชะอยู่ในช่วง 80.91 - 93.24 (ตารางที่ 3-1) ซึ่งเป็นค่าที่อยู่ในเกณฑ์ที่ยอมรับได้ (80% - 120%) (Taverniers *et al*., 2004) ค่าความเข้มข้นต่ำสุดที่สามารถตรวจพบได้ (LOD) และความเข้มข้นต่ำสุดที่สามารถวิเคราะห์ปริมาณได้ (LOQ) มีค่าเท่ากับ 0.253 มิลลิกรัมต่อลิตร และ 0.843 มิลลิกรัมต่อลิตร ตามลำดับ และส่วนเบี่ยงเบนมาตรฐานสัมพัทธ์ (%RSD) มีค่าเท่ากับร้อยละ 1.7 ซึ่งไม่เกินร้อยละ 10 แสดงว่ามีความเที่ยงที่ยอมรับได้ (Taverniers *et al*., 2004)

ผลการทดสอบความน่าเชื่อถือของวิธีการวิเคราะห์สารฟอร์มัลดีไฮด์ พบว่ากราฟมาตรฐานของสารละลายฟอร์มัลดีไฮด์ เป็นเส้นตรงในช่วงความเข้มข้น 5 - 40 ไมโครกรัมต่อลิตร โดยมีค่าสัมประสิทธ์สหสัมพันธ์ (r) เท่ากับ 0.998 และค่าสัมประสิทธ์การทำนาย (r^2) เท่ากับ 0.997 ซึ่งค่าสัมประสิทธิ์สหสัมพันธ์มีค่าเข้าใกล้ 1 และสัมประสิทธิ์การทำนายมีค่ามากกว่า 0.995 แสดงว่ากราฟมาตรฐานมีช่วงความเป็นเส้นตรงที่ยอมรับได้ (Taverniers *et al*., 2004) ค่าความเข้มข้นต่ำสุดที่สามารถตรวจพบได้ (LOD) และความเข้มข้นต่ำสุดที่สามารถวิเคราะห์ปริมาณได้ (LOQ) เท่ากับ 0.243 ไมโครกรัมต่อลิตร และ 0.81 ไมโครกรัมต่อลิตร ตามลำดับ และส่วนเบี่ยงเบนมาตรฐานสัมพัทธ์ (%RSD) มีค่าเท่ากับร้อยละ 2.2 ซึ่งไม่เกินร้อยละ 10 แสดงว่ามีความเที่ยงที่ยอมรับได้ (Taverniers *et al*., 2004)

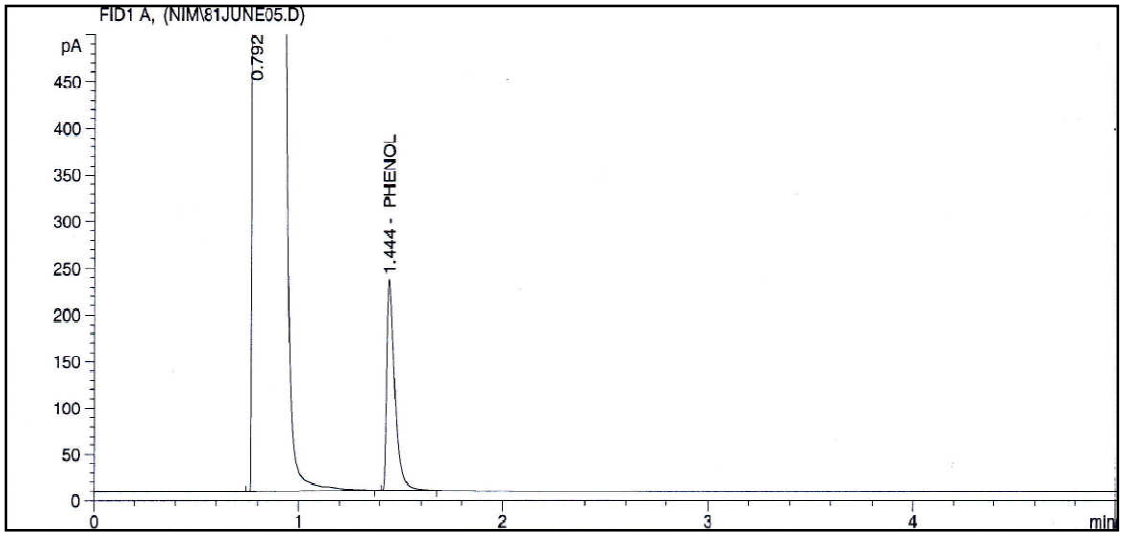
ตารางที่ 3-1 ค่าร้อยละการได้คืนกลับของวิธีการวิเคราะห์ฟีนอล

ตัวอย่าง	ร้อยละการได้คืนกลับ
ถุงมือยางธรรมชาติแบบบางชนิดมีแป้งยี่ห้อ A	80.91± 14.72
ถุงมือยางธรรมชาติแบบบางชนิดมีแป้งยี่ห้อ B	87.75 ± 21.42
ถุงมือยางธรรมชาติแบบบางชนิดมีแป้งยี่ห้อ C	85.44 ± 24.14
ถุงมือยางธรรมชาติแบบบางชนิดไม่มีแป้งยี่ห้อ D	81.71± 14.26
ถุงมือยางธรรมชาติแบบหนาชนิดไม่มีแป้งยี่ห้อ E	86.67 ± 22.34
ถุงมือยางธรรมชาติแบบหนาชนิดไม่มีแป้งยี่ห้อ F	83.61 ± 6.34
ถุงมือยางธรรมชาติแบบหนาชนิดไม่มีแป้งยี่ห้อ G	85.03 ± 29.39
ถุงมือพลาสติกชนิดโพลีเอทิลีนยี่ห้อ H	84.23 ± 45.91
ถุงมือพลาสติกชนิดโพลีเอทิลีนยี่ห้อ I	93.24 ± 24.61
ถุงมือพลาสติกชนิดโพลีเอทิลีนยี่ห้อ J	82.94 ± 5.53

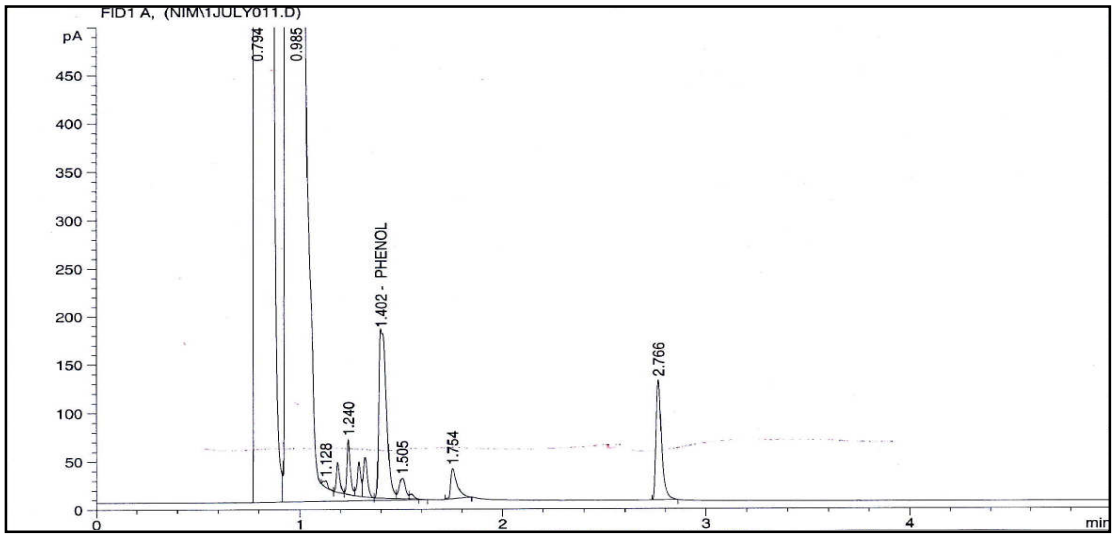
ความเข้มข้นของฟีนอลที่เติมลงในน้ำชะถุงมือและค่าความเข้มข้นของฟีนอลที่วิเคราะห์ได้เมื่อเติมฟีนอลลงในตัวอย่างน้ำชะถุงมือ ได้แสดงในตารางภาคผนวกที่ ข-1

3.3 โครมาโตแกรมของสารละลายมาตรฐานฟีนอล ฟอร์มัลดีไฮด์ และตัวอย่างน้ำชะถุงมือที่ใช้สัมผัสอาหาร

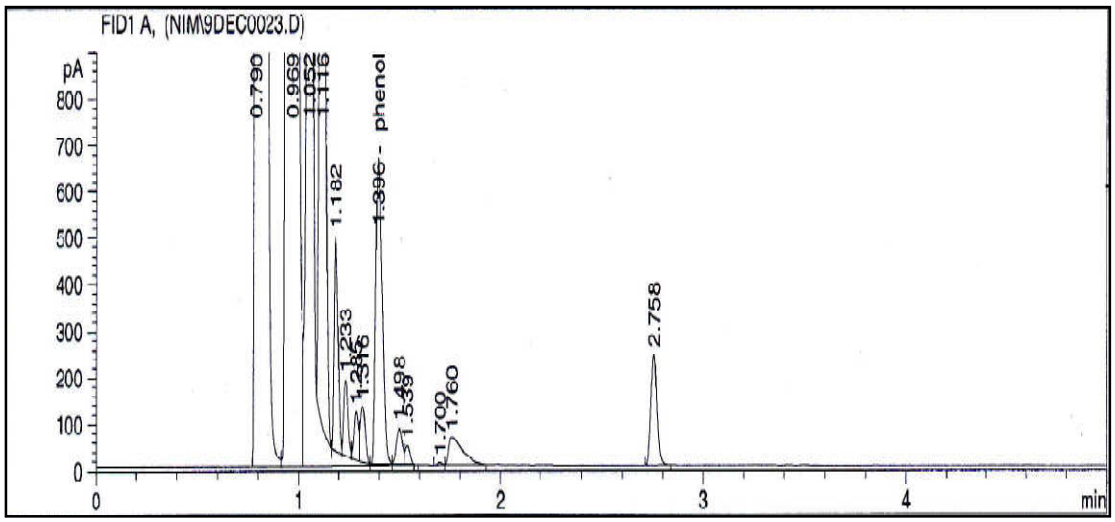
ในการวิเคราะห์ปริมาณฟีนอล ด้วยเครื่อง GC-FID โดยฉีดสารละลายมาตรฐานฟีนอลและคำนวณปริมาณโดยใช้พื้นที่ใต้กราฟ พบพีคของฟีนอลเกิดขึ้นที่เวลา 1.44 ± 0.05 นาที (ภาพที่ 3-3) ส่วนพีคของฟีนอลในตัวอย่างน้ำชะถุงมือชนิดต่างๆเกิดขึ้นที่เวลา 1.42 ± 0.02 นาที (ภาพที่ 3-4 ถึง 3-7)



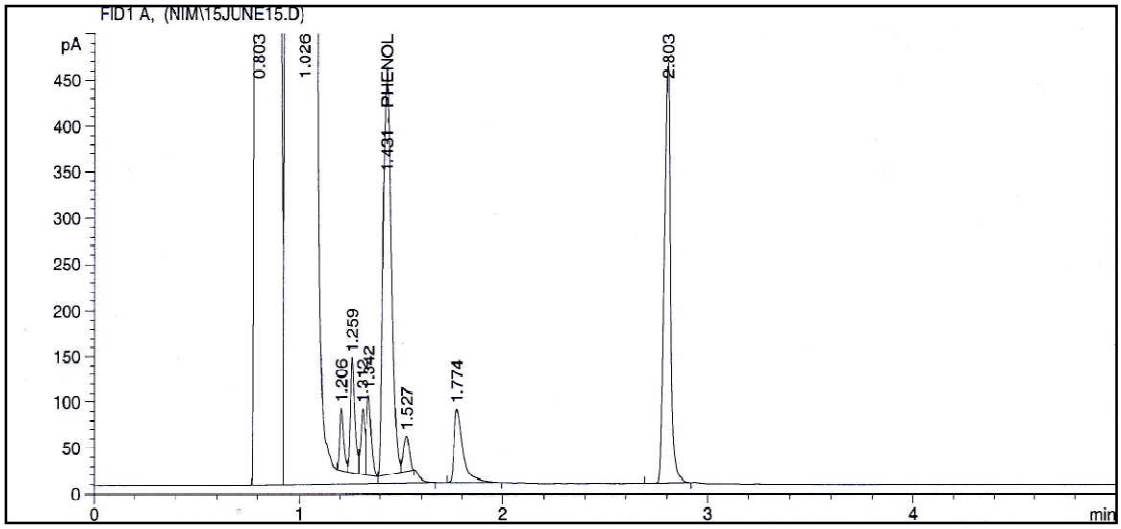
ภาพที่ 3-3 โครมาโทแกรมของสารละลายมาตรฐานฟีนอลความเข้มข้น 100 มิลลิกรัมต่อลิตร



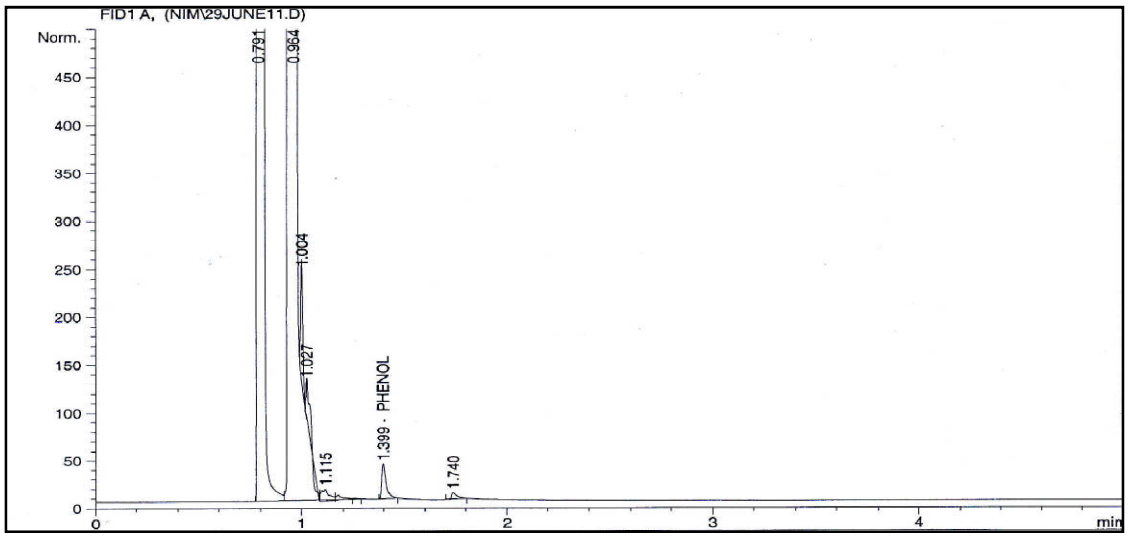
ภาพที่ 3-4 โครมาโทแกรมของน้ำชะตัวอย่างถุงมือยางธรรมชาติแบบบางชนิดมีแป้ง



ภาพที่ 3-5 โครมาโทแกรมของน้ำชะตัวอย่างถุงมือยางธรรมชาติแบบบางชนิดไม่มีแป้ง

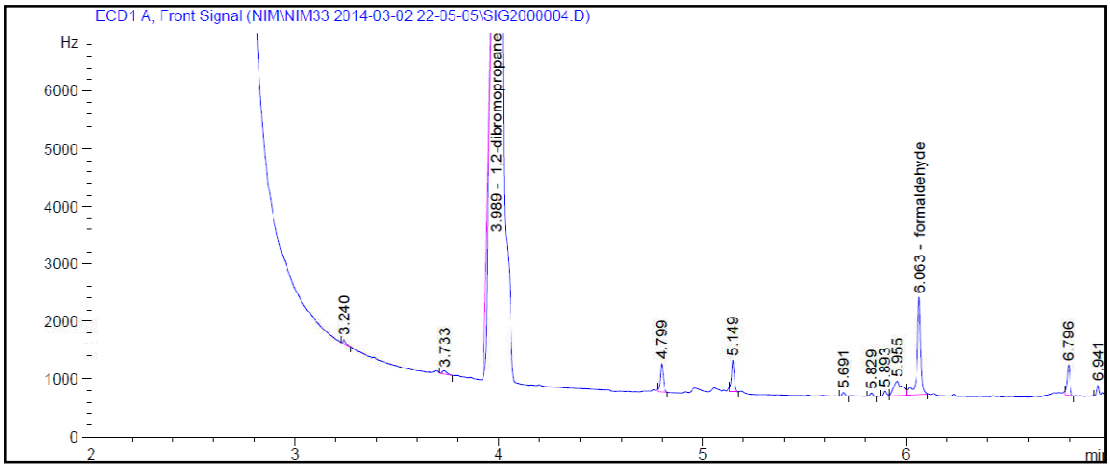


ภาพที่ 3-6 โครมาโทแกรมของน้ำชะตัวอย่างถุงมือยางธรรมชาติแบบหนาชนิดไม่มีแป้ง



ภาพที่ 3-7 โครมาโทแกรมของน้ำชะตัวอย่างถุงมือพลาสติกชนิดโพลีเอทิลีน

สำหรับการวิเคราะห์ปริมาณฟอร์มัลดีไฮด์ด้วยเครื่อง GC-ECD โดยฉีดสารละลายมาตรฐานฟอร์มัลดีไฮด์ และคำนวณปริมาณโดยใช้พื้นที่ใต้กราฟ พบพีคของฟอร์มัลดีไฮด์เกิดขึ้นที่เวลา 6.082 ± 0.0008 นาที (ภาพที่ 3-8) แต่ไม่พบพีคของฟอร์มัลดีไฮด์ในน้ำชะตัวอย่างถุงมือยางธรรมชาติแบบบางชนิดมีแป้ง ถุงมือยางธรรมชาติแบบบางชนิดไม่มีแป้ง ถุงมือยางธรรมชาติแบบหนาชนิดไม่มีแป้ง และถุงมือพลาสติกชนิดโพลีเอทิลีน สาเหตุที่ไม่พบฟอร์มัลดีไฮด์อาจเป็นได้ 2 กรณี ได้แก่เฟอร์มัลดีไฮด์อาจมีน้อยมากในเนื้อถุงมือหรือฟอร์มัลดีไฮด์ส่วนใหญ่ระเหยออกไปจากน้ำชะถุงมือที่อุณหภูมิ 70 องศาเซลเซียส



ภาพที่ 3-8 โครมาโทแกรมของสารละลายมาตรฐานฟอร์มัลดีไฮด์ความเข้มข้น 10 ไมโครกรัมต่อลิตร

3.4 ปริมาณการเคลื่อนย้ายออกมาของฟีนอลต่อพื้นที่ผิวของถุงมือที่ใช้สัมผัสอาหาร

ผลการวิเคราะห์ปริมาณฟีนอลที่เคลื่อนย้ายออกมาจากถุงมือยางธรรมชาติแบบบางชนิดมีแป้ง ถุงมือยางธรรมชาติแบบบางชนิดไม่มีแป้ง ถุงมือยางธรรมชาติแบบหนาชนิดไม่มีแป้ง ถุงมือพลาสติกชนิดโพลีเอทิลีนต่อพื้นที่ผิวสัมผัสของถุงมือประมาณ 370 ตารางเซนติเมตร (ตารางที่ 3-2)

ตารางที่ 3-2 ปริมาณฟีนอลในน้ำชะถุงมือที่ใช้สัมผัสอาหารประเภทต่างๆ

ตัวอย่าง	**ฟีนอล** (ไมโครกรัมต่อลิตร)	**ปริมาณฟีนอลที่เคลื่อนย้ายออกมาต่อพื้นที่ผิวของถุงมือ** (ไมโครกรัมต่อตารางเซนติเมตร)
ถุงมือยางธรรมชาติแบบบางชนิดมีแป้งยี่ห้อ A	89.05 ± 11.57	0.481 ± 0.062[a]
ถุงมือยางธรรมชาติแบบบางชนิดมีแป้งยี่ห้อ B	85.91 ± 14.58	0.464 ± 0.079[a]
ถุงมือยางธรรมชาติแบบบางชนิดมีแป้งยี่ห้อ C	172.95 ± 41.63	0.935 ± 0.225[b,c,d]
ถุงมือยางธรรมชาติแบบบางชนิดไม่มีแป้งยี่ห้อ D	117.06 ± 15.47	0.633 ± 0.084[a,e]
ถุงมือยางธรรมชาติแบบหนาชนิดไม่มีแป้งยี่ห้อ E	208.41 ± 45.07	1.127 ± 0.244[c,d]
ถุงมือยางธรรมชาติแบบหนาชนิดไม่มีแป้งยี่ห้อ F	199.01 ± 4.07	1.076 ± 0.022[d]
ถุงมือยางธรรมชาติแบบหนาชนิดไม่มีแป้งยี่ห้อ G	80.93 ± 19.84	0.437 ± 0.107[a]
ถุงมือพลาสติกชนิดโพลีเอทิลีนยี่ห้อ H	138.74 ± 56.98	0.750 ± 0.308[e]
ถุงมือพลาสติกชนิดโพลีเอทิลีนยี่ห้อ I	32.29 ± 7.72	0.175 ± 0.042[f,g]
ถุงมือพลาสติกชนิดโพลีเอทิลีนยี่ห้อ J	17.45 ± 0.23	0.094 ± 0.0001[g]

อักษรที่ต่างกันมีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p < 0.05$)

จากตารางที่ 3-2 ปริมาณฟีนอลเฉลี่ยในถุงมือยางธรรมชาติแบบบางชนิดมีแป้งยี่ห้อ A, B, C มีค่าเท่ากับ 89.05, 85.91, 172.95 ไมโครกรัมต่อลิตร ตามลำดับ ถุงมือยางธรรมชาติแบบบางชนิดไม่มีแป้งยี่ห้อ D มีค่าเท่ากับ 117.06 ไมโครกรัมต่อลิตร ถุงมือยางธรรมชาติแบบหนาชนิดไม่มีแป้งยี่ห้อ E, F, G มีค่าเท่ากับ 208.41, 199.01, 80.93 ไมโครกรัมต่อลิตร ตามลำดับ และถุงมือพลาสติกโพลีเอทธิลีนยี่ห้อ H, I, J มีค่าเท่ากับ 138.74, 32.29, 17.45 ไมโครกรัมต่อลิตร ตามลำดับ ซึ่งปริมาณฟีนอลขึ้นอยู่กับยี่ห้อของถุงมือแต่ละชนิดด้วย โดยปริมาณฟีนอลที่ได้ไม่เกินมาตรฐานของกระทรวงสาธารณสุข (5 มิลลิกรัมต่อลิตร) พบว่าถุงมือยางธรรมชาติแบบหนาชนิดไม่มีแป้ง มีปริมาณฟีนอลเคลื่อนย้ายออกมาต่อพื้นที่ผิวสัมผัสของถุงมือสูงกว่าถุงมือชนิดอื่นๆอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p < 0.05$)

3.5 ปริมาณการเคลื่อนย้ายออกมาของฟอร์มัลดีไฮด์ในน้ำชะถุงมือที่ใช้สัมผัสอาหาร

ผลการวิเคราะห์ปริมาณฟอร์มัลดีไฮด์ที่เคลื่อนย้ายออกมาจากถุงมือที่ใช้สัมผัสอาหาร พบว่าตรวจไม่พบสารฟอร์มัลดีไฮด์ในตัวอย่างน้ำชะถุงมือทุกตัวอย่างหรือค่าที่ได้ต่ำกว่าค่า detection limit อาจเนื่องจากฟอร์มัลดีไฮด์เป็นสารที่มีคุณสมบัติเป็นสารระเหยง่ายซึ่งอาจมีการระเหยไปในอากาศในระหว่างกระบวนการเตรียมตัวอย่าง นอกจากนี้จากทบทวนเอกสารพบว่าฟอร์มัลดีไฮด์ถูกนำมาใช้เป็นสารแอนติออกซิแดนท์ในถุงมือพลาสติก ประเภท PVC เท่านั้น (Bohrer, 2013)

3.6 ปริมาณการเคลื่อนย้ายออกมาของสารตกค้างจากการระเหยในน้ำชะถุงมือที่ใช้สัมผัสอาหาร

ผลการวิเคราะห์ปริมาณสารตกค้างจากการระเหยในถุงมือยางธรรมชาติแบบบางชนิดมีแป้ง ถุงมือยางธรรมชาติแบบบางชนิดไม่มีแป้ง ถุงมือยางธรรมชาติแบบหนาชนิดไม่มีแป้ง และถุงมือพลาสติกชนิดโพลีเอทิลีน (ตารางที่ 3-3)

ตารางที่ 3-3 ปริมาณสารตกค้างจากการระเหยในน้ำชะถุงมือประเภทต่างๆ

ตัวอย่าง	สารตกค้างจากการระเหย (ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร)
ถุงมือยางธรรมชาติแบบบางชนิดมีแป้งยี่ห้อ A	42.90 ± 5.00^{a}
ถุงมือยางธรรมชาติแบบบางชนิดมีแป้งยี่ห้อ B	15.00 ± 2.00^{b}
ถุงมือยางธรรมชาติแบบบางชนิดมีแป้งยี่ห้อ C	180.00 ± 1.00^{c}
ถุงมือยางธรรมชาติแบบบางชนิดไม่มีแป้งยี่ห้อ D	$8.90 \pm 0.60^{d,h,i}$
ถุงมือยางธรรมชาติแบบหนาชนิดไม่มีแป้งยี่ห้อ E	24.60 ± 3.00^{e}
ถุงมือยางธรรมชาติแบบหนาชนิดไม่มีแป้งยี่ห้อ F	41.30 ± 6.00^{a}
ถุงมือยางธรรมชาติแบบหนาชนิดไม่มีแป้งยี่ห้อ G	70.00 ± 10.00^{f}
ถุงมือพลาสติกชนิดโพลีเอทิลีนยี่ห้อ H	$2.34 \pm 1.00^{g,h,i}$
ถุงมือพลาสติกชนิดโพลีเอทิลีนยี่ห้อ I	$4.88 \pm 0.10^{h,i}$
ถุงมือพลาสติกชนิดโพลีเอทิลีนยี่ห้อ J	5.10 ± 0.10^{i}

อักษรที่ต่างกันมีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p < 0.05$)

จากตารางที่ 3-3 ปริมาณสารตกค้างจากการระเหยเฉลี่ยในตัวอย่างน้ำชะถุงมือยางธรรมชาติแบบบางชนิดมีแป้งยี่ห้อ A, B, C มีค่าเท่ากับ 42.90, 15.00, 180.00 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร ตามลำดับ ถุงมือยางธรรมชาติแบบบางชนิดไม่มีแป้งยี่ห้อ D มีค่าเท่ากับ 8.90 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร ถุงมือยางธรรมชาติแบบหนาชนิดไม่มีแป้งยี่ห้อ E, F, G มีค่าเท่ากับ 24.60, 41.30, 70.00 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร ตามลำดับ และถุงมือพลาสติกโพลีเอทธิลีนยี่ห้อ H, I, J มีค่าเท่ากับ 2.34, 4.88, 5.10 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร ตามลำดับ โดยปริมาณสารตกค้างจากการระเหยขึ้นอยู่กับยี่ห้อและชนิดของถุงมือ พบว่าถุงมือยางธรรมชาติแบบบางชนิดมีแป้งมีปริมาณสารตกค้างจากการระเหยเคลื่อนย้ายออกมาต่อพื้นที่ผิวสัมผัสของถุงมือสูงกว่าถุงมือที่ใช้สัมผัสอาหารชนิดอื่นๆ อย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p < 0.05$) ซึ่งเคยมีรายงานการศึกษาสารที่มีแนวโน้มเคลื่อนย้ายออกจากถุงและพลาสติกที่ใช้สัมผัสอาหารและพบว่าในบางตัวอย่างค่าที่ได้เกินมาตรฐานสหภาพยุโรป (งามทิพย์ ภู่วโรดม, 2543)

ผลการศึกษาปริมาณการเคลื่อนย้ายออกมาของฟีนอลและสารตกค้างจากการระเหย สรุปได้ว่าในตัวอย่างถุงมือแต่ละตัวอย่างที่สกัดได้มีปริมาณสารที่แตกต่างกัน ซึ่งอาจมาจากปัจจัยหลายอย่าง เช่น ปริมาณสารเคมีที่เติมลงในกระบวนการผลิตถุงมือแต่ละชนิดซึ่งอาจแตกต่างกัน (Bohrer, 2013) ความหนาของถุงมือ การเสื่อมสภาพของถุงมือ ผลของความหนาของถุงมือต่อการถูกชะ

ออกมาของฟีนอลโดยใช้ตารางที่ 2-1 ประกอบการวิเคราะห์ผล พบว่าความหนาของถุงมือแต่ละประเภทมีความหนาแตกต่างกันโดยเรียงลำดับจากมากไปหาน้อยดังนี้คือ ถุงมือพลาสติกชนิดโพลีเอทิลีน > ถุงมือยางธรรมชาติแบบบางชนิดมีแป้งและชนิดไม่มีแป้ง > ถุงมือยางธรรมชาติแบบหนาชนิดไม่มีแป้ง ซึ่งจากการศึกษาปริมาณฟีนอลที่เคลื่อนย้ายออกมาจากน้ำชะถุงมือโดยเรียงลำดับจากมากไปหาน้อยดังนี้คือ ถุงมือยางธรรมชาติแบบหนาชนิดไม่มีแป้ง > ถุงมือยางธรรมชาติแบบบางชนิดมีแป้ง > ถุงมือยางธรรมชาติแบบบางชนิดไม่มีแป้ง > ถุงมือพลาสติกชนิดโพลีเอทิลีน สำหรับปริมาณสารตกค้างจากการระเหยที่เคลื่อนย้ายออกมาจากน้ำชะถุงมือโดยเรียงลำดับจากมากไปหาน้อยดังนี้คือถุงมือยางธรรมชาติแบบบางชนิดมีแป้ง > ถุงมือยางธรรมชาติแบบหนาชนิดไม่มีแป้ง > ถุงมือยางธรรมชาติแบบบางชนิดไม่มีแป้ง > ถุงมือพลาสติกชนิดโพลีเอทิลีน ดังนั้นความหนาของถุงมือมีผลน้อยต่อการถูกชะออกมาของฟีนอล สำหรับถุงมือที่นำมาใช้ทดลองมีอายุใกล้เคียงกันเพื่อลดปัญหาเรื่องการเสื่อมสภาพของถุงมือที่อาจมีผลต่อการศึกษานี้โดยได้แสดงวันที่ผลิตถุงมือในตารางที่ 2-1 ปริมาณของสารเคมีแต่ละชนิดที่เติมลงในถุงมือแต่ละยี่ห้ออาจมีผลต่อปริมาณฟีนอลที่ถูกชะออกมามากกว่า

3.7 ผลการทดสอบความเป็นพิษของน้ำชะถุงมือที่ใช้สัมผัสอาหารด้วยไรแดง

เมื่อนำไรแดงมาเลี้ยงในน้ำชะถุงมือประเภทต่างๆ โดยเจือจางให้ได้ 5 ความเข้มข้น ได้แก่ 100 %, 50%, 25%, 12.5%, 6.25% ซึ่งเป็นการเจือจางทีละครึ่งแล้วทดสอบความเป็นพิษเป็นเวลา 24 ชั่วโมง (ตารางที่ 3-4)

ตารางที่ 3-4 อัตราการตายของไรแดงในน้ำชะถุงมือที่ระดับความเข้มข้นต่างๆที่เวลา 24 ชั่วโมง

ตัวอย่าง	ความเข้มข้น				
	100%	**50%**	**25%**	**12.5%**	**6.25%**
ถุงมือยางธรรมชาติแบบบางชนิดมีแป้งยี่ห้อ A	85.5	68.5	58.0	32.5	18.0
ถุงมือยางธรรมชาติแบบบางชนิดมีแป้งยี่ห้อ B	80.0	70.0	49.0	26.0	18.0
ถุงมือยางธรรมชาติแบบบางชนิดมีแป้งยี่ห้อ C	89.5	70.5	52.5	28.0	16.5
ถุงมือยางธรรมชาติแบบบางชนิดไม่มีแป้งยี่ห้อ D	55.5	40.5	26.0	16.0	10.0
ถุงมือยางธรรมชาติแบบหนาชนิดไม่มีแป้งยี่ห้อ E	100.0	80.0	45.0	22.5	15.5
ถุงมือยางธรรมชาติแบบหนาชนิดไม่มีแป้งยี่ห้อ F	97.0	72.5	60.5	49.0	21.5
ถุงมือยางธรรมชาติแบบหนาชนิดไม่มีแป้งยี่ห้อ G	78.5	67.0	50.5	25.5	19.5
ถุงมือพลาสติกชนิดโพลีเอทิลีนยี่ห้อ H	28.5	19.5	16.5	16.0	13.5
ถุงมือพลาสติกชนิดโพลีเอทิลีนยี่ห้อ I	24.5	21.5	19.5	16.0	13.0
ถุงมือพลาสติกชนิดโพลีเอทิลีนยี่ห้อ J	23.5	19.0	18.5	16.0	12.5

จากตาราง 3-4 พบว่าอัตราการตายของไรแดงในน้ำชะถุงมือประเภทต่างๆที่เวลา 24 ชั่วโมง มีความแตกต่างกันตามระดับความเข้มข้นของน้ำชะและชนิดของถุงมือ โดยอัตราการตายของไรแดงจะลดลงตามระดับการเจือจาง ในกรณีถุงมือยางธรรมชาติชนิดบางชนิดมีแป้งกับถุงมือยางธรรมชาติชนิดบางชนิดไม่มีแป้ง โดยแป้งในถุงมือไม่มีผลต่อการตายของไรแดงเนื่องจากในขั้นตอนการสกัดตัวอย่างน้ำชะถุงมือเป็นการชะด้านนอกของถุงมือซึ่งไม่มีแป้งเพราะแป้งถูกบรรจุจะอยู่ด้านในของถุงมือ

ส่วนการเลี้ยงไรแดงที่ 48 ชั่วโมง พบว่าอัตราการตายของไรแดงในกลุ่มควบคุมมากกว่าร้อยละ 10 ซึ่งถือว่ามากเกินไป (OECD, 2004) จึงไม่เหมาะสมที่จะนำมาใช้ในการตรวจคัดกรองความเป็นพิษของน้ำชะถุงมือที่ใช้สัมผัสอาหาร

3.8 การคำนวณปริมาณสูงสุดของสารฟีนอลและสารตกค้างจากการระเหยที่ยินยอมให้เคลื่อนย้ายออกมาจากถุงมือที่ใช้สัมผัสอาหาร

ปริมาณสูงสุดของสารปนเปื้อนที่ยินยอมให้เคลื่อนย้ายออกมาจากถุงมือที่ใช้สัมผัสอาหารสามารถคำนวณได้จากค่า tolerable daily intake (TDI) ของสารฟีนอล คือ 0.5 มิลลิกรัมต่อกิโลกรัมต่อวัน (Commission of the European Communities, 2007) สมมติให้น้ำหนักเฉลี่ยของคนทั่วไปเท่ากับ 60 กิโลกรัม พื้นที่ผิวสัมผัสของถุงมือเท่ากับ 370 ตารางเซนติเมตร จะได้ปริมาณสูงสุดของฟีนอลที่ยอมให้เคลื่อนย้ายออกมาจากถุงมือไม่เกิน $0.5 \times 60/370 = 0.081$ มิลลิกรัมต่อตารางเซนติเมตรต่อวัน พบว่าปริมาณฟีนอลที่เคลื่อนย้ายออกมาจากตัวอย่างถุงมือที่ใช้สัมผัสอาหารทุกชนิดมีค่าไม่เกินปริมาณสูงสุดที่ยอมให้เคลื่อนย้ายออกมาได้ ส่วนปริมาณสารตกค้างจากการระเหยที่เคลื่อนย้ายออกมาจากถุงมือที่ใช้สัมผัสอาหารร้อยละ 40 มีค่าเกินปริมาณสูงสุดที่ยอมให้เคลื่อนย้ายออกมาได้ คือ 30 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตรตามมาตรฐาน EU (Rijk and Veraart, 2010) (ตารางที่ 3-3) โดยพบว่าเป็นตัวอย่างถุงมือยางธรรมชาติทั้งหมด

3.9 การหาประสิทธิภาพของวิธีการตรวจคัดกรองน้ำชะถุงมือ

เมื่อนำอัตราการตายของไรแดงที่ระดับความเข้มข้นต่างๆ ของตัวอย่างน้ำชะถุงมือที่ 24 ชั่วโมง มาแปลผลโดยกำหนดให้การทดสอบด้วยไรแดงมีผลเป็นบวกเมื่ออัตราการตายของไรแดงมีการตายตั้งแต่ร้อยละ 50 ขึ้นไป และให้ผลลบเมื่ออัตราการตายของไรแดงต่ำกว่าร้อยละ 50 จะให้ผลการตรวจคัดกรองดังแสดงในตารางที่ 3-5 ส่วนผลการตรวจคัดกรองด้วยการวิเคราะห์ทางเคมีให้ผลบวกเมื่อปริมาณสารปนเปื้อนที่เคลื่อนย้ายออกมาจากถุงมือมีค่าเกินปริมาณสูงสุดที่ยอมให้สารนั้นถูกชะออกมาจากถุงมือได้ และให้ผลลบเมื่อปริมาณสารปนเปื้อนที่เคลื่อนย้ายออกมาจากถุงมือมีค่าไม่เกินปริมาณสูงสุดที่ยอมให้สารนั้นถูกชะออกมาจากถุงมือได้ (ตารางที่ 3-6)

ตารางที่ 3-5 ผลการตรวจคัดกรองน้ำชะถุงมือที่ระดับความเข้มข้นต่างๆด้วยไรแดงที่ 24 ชั่วโมง

ตัวอย่าง	ความเข้มข้น				
	100%	**50%**	**25%**	**12.5%**	**6.25%**
ถุงมือยางธรรมชาติแบบบางชนิดมีแป้ง ยี่ห้อ A	+	+	+	-	-
ถุงมือยางธรรมชาติแบบบางชนิดมีแป้ง ยี่ห้อ B	+	+	-	-	-
ถุงมือยางธรรมชาติแบบบางชนิดมีแป้ง ยี่ห้อ C	+	+	+	-	-
ถุงมือยางธรรมชาติแบบบางชนิดไม่มีแป้ง ยี่ห้อ D	+	-	-	-	-
ถุงมือยางธรรมชาติแบบหนาชนิดไม่มีแป้ง ยี่ห้อ E	+	+	-	-	-
ถุงมือยางธรรมชาติแบบหนาชนิดไม่มีแป้ง ยี่ห้อ F	+	+	+	-	-
ถุงมือยางธรรมชาติแบบหนาชนิดไม่มีแป้ง ยี่ห้อ G	+	+	+	-	-
ถุงมือพลาสติกชนิดโพลีเอทิลีน ยี่ห้อ H	-	-	-	-	-
ถุงมือพลาสติกชนิดโพลีเอทิลีน ยี่ห้อ I	-	-	-	-	-
ถุงมือพลาสติกชนิดโพลีเอทิลีน ยี่ห้อ J	-	-	-	-	-

หมายเหตุ : + = อัตราการตายของไรแดงมีตั้งแต่ร้อยละ 50 ขึ้นไป, - = อัตราการตายของไรแดงมีอัตราการตายต่ำกว่าร้อยละ 50

ตารางที่ 3-6 ผลการตรวจคัดกรองตัวอย่างน้ำชะถุงมือด้วยวิธีการวิเคราะห์ทางเคมี

ตัวอย่าง	สารปนเปื้อน			
	ฟีนอล	ฟอร์มัลดีไฮด์	สารตกค้างจากการระเหย	ผลรวม
ถุงมือยางธรรมชาติแบบบางชนิดมีแป้งยี่ห้อ A	-	-	+	+
ถุงมือยางธรรมชาติแบบบางชนิดมีแป้งยี่ห้อ B	-	-	-	-
ถุงมือยางธรรมชาติแบบบางชนิดมีแป้งยี่ห้อ C	-	-	+	+
ถุงมือยางธรรมชาติแบบบางชนิดไม่มีแป้งยี่ห้อ D	-	-	-	-
ถุงมือยางธรรมชาติแบบหนาชนิดไม่มีแป้งยี่ห้อ E	-	-	-	-
ถุงมือยางธรรมชาติแบบหนาชนิดไม่มีแป้งยี่ห้อ F	-	-	+	+
ถุงมือยางธรรมชาติแบบหนาชนิดไม่มีแป้งยี่ห้อ G	-	-	+	+
ถุงมือพลาสติกชนิดโพลีเอทิลีนยี่ห้อ H	-	-	-	-
ถุงมือพลาสติกชนิดโพลีเอทิลีนยี่ห้อ I	-	-	-	-
ถุงมือพลาสติกชนิดโพลีเอทิลีนยี่ห้อ J	-	-	-	-

หมายเหตุ : + = ปริมาณสารปนเปื้อนที่เคลื่อนย้ายออกมาจากถุงมือมีค่าเกินปริมาณสูงสุดที่ยินยอมให้ถูกชะออกมาจากถุงมือได้ (ฟีนอลมีค่าเกิน0.081 มิลลิกรัมต่อตารางเซนติเมตร, สารตกค้างจากการระเหยมีค่าเกิน 30 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร)

- = ปริมาณสารปนเปื้อนที่เคลื่อนย้ายออกมาจากถุงมือมีค่าไม่เกินปริมาณสูงสุดที่ยินยอมให้ถูกชะออกมาจากถุงมือได้ (ฟีนอลมีค่าไม่เกิน0.081 มิลลิกรัมต่อตารางเซนติเมตร, สารตกค้างจากการระเหยมีค่าไม่เกิน 30 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร)

เมื่อนำผลการแปลผลการตรวจคัดกรองน้ำชะถุงมือที่ระดับความเข้มข้นต่างๆด้วยไรแดงที่ 24 ชั่วโมง (ตารางที่ 3-5) และผลรวมการตรวจคัดกรองตัวอย่างน้ำชะถุงมือด้วยวิธีการวิเคราะห์ทางเคมี (ตารางที่ 3-6) มาคำนวณหาค่าความไวและความจำเพาะ (ตารางที่ 2-6) จากตารางที่ 3-7 พบว่ายิ่งเจือจางน้ำชะถุงมือให้มีระดับความเข้มข้นลดลงมีผลให้ความไวลดลง แต่ความจำเพาะเพิ่มสูงขึ้น พบว่าตัวอย่างน้ำชะถุงมือที่ถูกเจือจางให้มีความเข้มข้น 25% มีความไวสูงสุดเท่ากับ 1 ความจำเพาะสูงสุดเท่ากับ 1 แสดงว่าที่ระดับความเข้มข้นนี้ ไรแดงจะมีประสิทธิภาพในการตรวจคัดกรองสารพิษที่เคลื่อนย้ายออกมาจากถุงมือได้ดีที่สุด

ตารางที่ 3-7 ค่าความไวและความจำเพาะของวิธีการตรวจคัดกรองน้ำชะถุงมือที่ระดับความเข้มข้นต่างๆด้วยไรแดง

ความไว/ ความจำเพาะ	**ความเข้มข้น 100%**	**ความเข้มข้น 50%**	**ความเข้มข้น 25%**	**ความเข้มข้น 12.5%**	**ความเข้มข้น 6.25%**
ความไว	1	1	1	0	0
ความจำเพาะ	0.5	0.8	1	1	1

สภาวะที่เหมาะสมสำหรับวิธีการตรวจคัดกรองตัวอย่างถุงมือที่ใช้สัมผัสอาหารได้สรุปไว้ในตารางที่ 3-8 เหตุที่กำหนดระยะเวลาทดสอบที่ 24 ชั่วโมง เพราะที่ระยะเวลา 48 ชั่วโมงไรแดงในกลุ่มควบคุมตายเกินร้อยละ 10 ซึ่งถือว่ามากเกินไป (OECD, 2004) สำหรับอายุของไรแดงที่นำมาใช้ทดสอบความเป็นพิษคือ 24 ชั่วโมง เนื่องจากเป็นช่วงที่ไรแดงโตเต็มวัย อุณหภูมิของน้ำที่ใช้เลี้ยงไรแดงก็มีผลต่อความสมบูรณ์ของไรแดงด้วย โดยอุณหภูมิที่เหมาะสมสำหรับการทดสอบไรแดงคือ 25-30 องศาเซลเซียส การทดสอบให้ทำ 10 ซ้ำ เพื่อลดความผิดพลาดในการแปลผล และเป็นไปตามมาตรฐานสากลของวิธีการทดสอบกับไรน้ำ (OECD, 2004)

ตารางที่ 3-8 สภาวะที่เหมาะสมสำหรับวิธีการตรวจคัดกรองตัวอย่างถุงมือใช้สัมผัสอาหาร

พารามิเตอร์	สภาวะที่เหมาะสม
ความเข้มข้นของน้ำชะถุงมือ	25%
อายุไรแดง	24 ชั่วโมง
จำนวนไรแดง	20 ตัว
จำนวนซ้ำต่อตัวอย่าง	10 ซ้ำ
ระยะเวลาในการทดสอบ	24 ชั่วโมง
อุณหภูมิ	อุณหภูมิห้อง (25-30 องศาเซลเซียส)
เกณฑ์ในการตัดสิน	ผลบวก เมื่ออัตราการตายของไรแดงมีการตายตั้งแต่ร้อยละ 50 ขึ้นไป
	ผลลบ เมื่ออัตราการตายของไรแดงมีการตายต่ำกว่าร้อยละ 50
กลุ่มควบคุม	อัตราการตายของไรแดงต้องไม่เกินร้อยละ 10

จากการทดลองใช้ไรแดงในการตรวจคัดกรองความเป็นพิษเฉียบพลันของน้ำชะถุงมือที่ใช้สัมผัสอาหารเปรียบเทียบกับผลการวิเคราะห์ความเข้มข้นของฟีนอล ฟอร์มัลดีไฮด์ และสารตกค้างจากการระเหยในน้ำชะถุงมือ สรุปได้ว่าสามารถนำไรแดงไปใช้ในการตรวจคัดกรองตัวอย่างถุงมือที่ใช้สัมผัสอาหารในการทดสอบการเคลื่อนย้ายของสารตกค้างสู่อาหาร(migration test) เนื่องจากให้ค่าความไวและความจำเพาะที่ดี ซึ่งบ่งชี้ได้ว่าไรแดงมีประสิทธิภาพในการตรวจคัดกรองระดับความเข้มข้นของฟีนอลและสารตกค้างจากกระเหยที่เคลื่อนย้ายออกมาจากถุงมือได้ ผลการศึกษานี้สามารถนำไปประยุกต์ใช้เพื่อช่วยลดจำนวนตัวอย่างในการวิเคราะห์ทางเคมี โดยถ้าหากตัวอย่างใดมีสารฟีนอล และสารตกค้างจากการระเหยในน้ำชะมากเกินค่าสูงสุดที่ยินยอมให้มีได้หรือเกินค่าที่กำหนดไว้ในมาตรฐานของวัสดุพลาสติกที่ใช้สัมผัสอาหาร วิธีการตรวจคัดกรองนี้จะแสดงผลบวกทันที จากนั้นเราสามารถแยกตัวอย่างนั้นไปวิเคราะห์ทางเคมีเพื่อยืนยันผลอีกครั้งหนึ่ง

บทที่ 4
สรุปผลการวิจัยและข้อเสนอแนะ

4.1 สรุปผลการวิจัย

การศึกษานี้มีวัตถุประสงค์เพื่อพัฒนาวิธีการใหม่ในการตรวจคัดกรองตัวอย่างน้ำชะถุงมือที่ใช้สัมผัสอาหาร โดยใช้ไรแดงทดสอบความเป็นพิษเฉียบพลัน โดยเป็นการศึกษาเฉพาะการตรวจคัดกรองสารฟีนอล ฟอร์มัลดีไฮด์ และสารตกค้างจากการระเหยที่ถูกชะออกมาจากถุงมือที่ใช้สัมผัสอาหาร 4 ชนิด ได้แก่ ถุงมือยางธรรมชาติแบบบางชนิดมีแป้ง ถุงมือยางธรรมชาติแบบบางชนิดไม่มีแป้ง ถุงมือยางธรรมชาติแบบหนาชนิดไม่มีแป้ง และถุงมือโพลีเอทธิลีน โดยใช้น้ำกลั่นอุณหภูมิ 70 องศาเซลเซียส 30 นาที ชะสารออกมาตามวิธีการทดสอบมาตรฐาน (migration test) ของ EU ถ้าสารฟีนอล ฟอร์มัลดีไฮด์และสารตกค้างจากกระเหยถูกน้ำชะออกมาเกินค่าสูงสุดที่ยินยอมให้มีได้ (ค่าที่กำหนดไว้ในมาตรฐานของวัสดุพลาสติกที่ใช้สัมผัสอาหาร) วิธีการตรวจคัดกรองนี้ต้องแสดงผลบวก เพื่อที่จะสามารถแยกตัวอย่างนั้นไปวิเคราะห์ทางเคมีต่อไป จากการศึกษาได้ผลสรุปดังนี้

4.1.1 การทดสอบความเป็นพิษของสารละลายฟีนอล และฟอร์มัลดีไฮด์ด้วยไรแดง

ความเข้มข้นของสารละลายฟีนอล และฟอร์มัลดีไฮด์ ที่ทำให้เกิดอัตราการตายของไรแดงร้อยละ 50 (LC_{50}) ที่ระยะเวลา 24 ชั่วโมง มีค่าเท่ากับ 0.34 และ 3.13 มิลลิกรัมต่อลิตร ตามลำดับ

4.1.2 ปริมาณการเคลื่อนย้ายออกมาของฟีนอล ฟอร์มัลดีไฮด์ และสารตกค้างจากการระเหยต่อพื้นที่ผิวของถุงมือที่ใช้สัมผัสอาหาร

ปริมาณฟีนอลเฉลี่ยในตัวอย่างถุงมือยางธรรมชาติแบบบางชนิดมีแป้ง ถุงมือยางธรรมชาติแบบบางชนิดไม่มีแป้ง ถุงมือยางธรรมชาติแบบหนาชนิดไม่มีแป้ง และถุงมือพลาสติกชนิดโพลีเอทิลีนอยู่ในช่วง 0.464 - 0.935, 0.633, 0.437 - 1.127, 0.094 - 0.750 ไมโครกรัมต่อตารางเซนติเมตร ตามลำดับ ซึ่งขึ้นอยู่กับยี่ห้อของถุงมือ ตรวจไม่พบฟอร์มัลดีไฮด์ในตัวอย่างน้ำชะถุงมือทุกประเภท พบว่าปริมาณสารตกค้างจากการระเหยเฉลี่ยในตัวอย่างน้ำชะถุงมืออยู่ในช่วง 42.9 - 180, 8.9, 24.6 - 70, 2.34 - 5.1 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร ตามลำดับ ซึ่งขึ้นอยู่กับยี่ห้อของถุงมือ พบว่าถุงมือยางธรรมชาติแบบหนาชนิดไม่มีแป้งมีปริมาณ ฟีนอลเคลื่อนย้ายออกมาต่อพื้นที่ผิวสัมผัสของถุงมือสูงกว่าถุงมือชนิดอื่นๆ อย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p<0.05$) ถุงมือยางธรรมชาติแบบบางชนิดมีแป้งมีปริมาณสารตกค้างจากการระเหยเคลื่อนย้ายออกมามากกว่าถุงมือประเภทอื่นๆอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p < 0.05$)

ปริมาณฟีนอลที่เคลื่อนย้ายออกมาจากตัวอย่างถุงมือที่ใช้สัมผัสอาหารทุกชนิดมีค่าไม่เกินปริมาณสูงสุดที่ยอมให้เคลื่อนย้ายออกมาได้ (0.081 มิลลิกรัมต่อตารางเซนติเมตร) ส่วนปริมาณสารตกค้างจากการระเหยที่เคลื่อนย้ายออกมาจากถุงมือที่ใช้สัมผัสอาหารร้อยละ 40 ของตัวอย่าง มีค่าเกินปริมาณสูงสุดที่ยินยอมให้เคลื่อนย้ายออกมาได้ (30 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร)

4.1.3 การทดสอบความเป็นพิษของน้ำชะถุงมือที่ใช้สัมผัสอาหารด้วยไรแดง

อัตราการตายของไรแดงในถุงมือพลาสติกชนิดโพลีเอทิลีน ที่เวลา 24 ชั่วโมง มีความแตกต่างกันตามระดับความเข้มข้นของน้ำชะและชนิดของถุงมือ โดยอัตราการตายของไรแดงจะลดลงตามระดับการเจือจาง และระยะเวลา 48 ชั่วโมงอัตราการตายของไรแดงในกลุ่มควบคุม มีการตายของไรแดงมากกว่าร้อยละ 10 ซึ่งถือว่าไม่เหมาะสมในการใช้ทดสอบ

4.1.4 การหาประสิทธิภาพของวิธีการตรวจคัดกรองน้ำชะถุงมือ

การทดสอบไรแดงในตัวอย่างน้ำชะถุงมือทุกประเภทที่ความเข้มข้น 25% มีความไวสูงสุด (=1) ความจำเพาะสูงสุด (=1) แสดงว่าไรแดงมีประสิทธิภาพในการตรวจคัดกรองสารพิษที่เคลื่อนย้ายออกมาจากถุงมือที่ความเข้มข้นนี้ได้ดีที่สุด สภาวะที่เหมาะสมสำหรับวิธีการตรวจคัดกรองตัวอย่างถุงมือใช้สัมผัสอาหาร สามารถสรุปได้ดังแสดงใน ตารางที่ 4-1

ตารางที่ 4-1 สภาวะที่เหมาะสมสำหรับวิธีการตรวจคัดกรองตัวอย่างถุงมือใช้สัมผัสอาหาร

พารามิเตอร์	สภาวะที่เหมาะสม
ความเข้มข้นของน้ำชะถุงมือ	25%
อายุไรแดง	24 ชั่วโมง
จำนวนไรแดง	20 ตัว
จำนวนซ้ำต่อตัวอย่าง	10 ซ้ำ
ระยะเวลาในการทดสอบ	24 ชั่วโมง
อุณหภูมิ	อุณหภูมิห้อง (25-30 องศาเซลเซียส)
เกณฑ์ในการตัดสิน	ผลบวก เมื่ออัตราการตายของไรแดงมีการตายตั้งแต่ร้อยละ 50 ขึ้นไป ผลลบ เมื่ออัตราการตายของไรแดงมีการตายต่ำกว่าร้อยละ 50
กลุ่มควบคุม	อัตราการตายของไรแดงไม่เกินร้อยละ 10

4.2 ข้อเสนอแนะ

4.2.1 ในขั้นตอนการทดสอบความเป็นพิษของน้ำชะถุงมือด้วยไรแดง อาจเจือจางน้ำชะถุงมือด้วยน้ำทดสอบ (test water) ที่มีแร่ธาตุสมดุลเหมาะกับการดำรงชีวิตของไรแดง (Dutka and Bitton, 1986) อาจเลี้ยงไรแดงได้ถึงระยะเวลา 48 ชั่วโมง

4.2.2 ควรมีการศึกษาความเป็นพิษของสารเคมีอื่นๆในน้ำชะถุงมือ เช่น โลหะหนัก

4.2.3 สามารถนำวิธีนี้ไปใช้ในการตรวจคัดกรองความเป็นพิษของวัสดุที่ใช้สัมผัสอาหารอื่นๆได้ เช่น ขวดน้ำดื่ม ถุงบรรจุอาหาร จุกนมยาง เป็นต้น

4.2.4 ถุงมือที่ใช้สัมผัสอาหารยังไม่ได้ถูกจัดให้อยู่ในกลุ่มของผลิตภัณฑ์ที่ใช้สัมผัสอาหาร และยังไม่มีการกำหนดปริมาณสูงสุดของสารเคมีที่ยินยอมให้เคลื่อนย้ายออกมาจากถุงมือที่ใช้สัมผัสอาหารได้ ผลการวิจัยนี้สามารถช่วยภาครัฐในการกำหนดค่ามาตรฐานของสารเคมีที่ยินยอมให้เคลื่อนย้ายออกมาจากถุงมือที่ใช้สัมผัสอาหารและวิธีการตรวจคัดกรองอย่างง่ายเพื่อความปลอดภัยของผู้บริโภค

4.2.5 ควรมีการศึกษาสภาวะและปัจจัยต่างๆที่มีผลต่อการเคลื่อนย้ายออกมาของฟีนอลเพื่อความปลอดภัยของผู้บริโภค

เอกสารอ้างอิง

กรมควบคุมมลพิษ. 2544. Formaldehyde. (ออนไลน์). สืบค้นจาก: http://msds.pcd.go.th /searchName.asp?vID=40. (3 มกราคม 2555).

กระทรวงสาธารณสุข. 2532. คุณภาพหรือมาตรฐานเนื้อพลาสติก. (ออนไลน์). สืบค้นจาก: www.agro.ku.ac.th/file/UPLOAD/AI-Book-2554.pdf. (25 กรกฎาคม 2555).

กระทรวงสาธารณสุข. 2532. คุณภาพหรือมาตรฐานเนื้อยาง. (ออนไลน์). สืบค้นจาก: www.agro.ku.ac.th/file/UPLOAD/AI-Book-2554.pdf. (25 กรกฎาคม 2555).

กันยา กาวิน. 2551. พิษเฉียบพลันของยาฆ่าแมลงบางชนิดต่อเซลล์ตับของปลาตะเพียน *In Vitro*. งานวิจัยคณะวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยี**,** มหาวิทยาลัยราชภัฏนครสวรรค์.

กัลยา วาณิชย์บัญชา. 2550. **สถิติสำหรับงานวิจัย.** พิมพ์ครั้งที่3. กรุงเทพมหานคร: จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

เกศ สัตยพงศ์. 2554. ฟีนอล. (ออนไลน์). สืบค้นจาก: http://www.summacheeva.org /index_ thaitox_phenol.htm. (18 มกราคม 2555).

กิตติพล กสิภาร์ วัชระ เวียงแก้ว ศิริวรรณ ศรีสรฉัตร์ และ ชนาธิป สามารถ. 2555. การศึกษาสภาวะที่เหมาะสมในการเพาะเลี้ยง *Chlorella vulgaris* ด้วยวิธีการออกแบบการทดลองแบบพื้นผิวตอบสนอง. **วารสารวิทยาศาสตร์มหาวิทยาลัยขอนแก่น** 40(1): 188-197.

ไกรฤกษ์ สุธรรม และ ณัฏฐกัญจน์ ทิพย์เครือ. 2556. การเปรียบเทียบการตรวจหาเชื้อวัณโรคดื้อยาระหว่างวิธี Real-time PCR โดยใช้ Dual Priming Oligonucleotide กับการทดสอบความไวต่อยาด้วยเครื่อง BACTECTM MGITTM 960 System. **วารสารเทคนิคการแพทย์** 41(3): 4654-4666.

ขจรเกียรติ์ ศรีนวลสม และ ยงยุทธ ประยูรชาญ. 2552. การศึกษาผลของระยะเวลาการเจริญของสาหร่ายคลอเรลลา (*Chlorella sp.*) ต่อการเพิ่มผลผลิตไรแดง (*Moina macrocopa*). เอกสารประกอบการประชุมวิชาการมหาวิทยาลัยราชภัฏเชียงราย ประจำปี 2552 เรื่อง “บูรณาการงานวิจัยสู่ชุมชนและท้องถิ่น เพื่อวิถีชีวิตที่ยั่งยืน” ระหว่างวันที่ 18 – 19 กุมภาพันธ์ 2552 ณ อาคารสถาบันภาษาและคอมพิวเตอร์ มหาวิทยาลัยราชภัฏเชียงราย. หน้า 559 – 563.

งามทิพย์ ภู่วโรดม. 2543. สารที่มีแนวโน้มเคลื่อนย้ายจากถุงและฟิล์มพลาสติกที่สัมผัสกับอาหาร. เอกสารประกอบการประชุมวิชาการมหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์ ครั้งที่ 38 สาขาวิศวกรรมศาสตร์และสาขาอุตสาหกรรมเกษตร ระหว่างวันที่ 1 – 4 กุมภาพันธ์ 2543 ณ กรุงเทพมหานคร. หน้า 514 – 521.

จินตนา ลีกิจวัฒนะ. 2551. ถุงมือยาง. (ออนไลน์). สืบค้นจาก https://soclaimon.wordpress .com (2 กุมภาพันธ์ 2555).

จิรายุทธ์ วังตา, ธานินทร์ ภู่พัฒน์, เลิศลักขณา ภู่พัฒน์. 2555. ประสิทธิภาพ และความไวของวิธี Loop Mediated Isothermal Amplification (LAMP) สำหรับการตรวจระบุเพศจากตัวอย่างเลือดมนุษย์. **วารสารนิติเวชศาสตร์** 4(3): 234-243.

ฐิติยา แซ่ปัง. 2551. **พิษวิทยาสิ่งแวดล้อม.** พิมพ์ครั้งที่ 1. กรุงเทพมหารนคร: มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์.

ดารณี เจริญสุข. 2551. สารเคมียางที่ใช้ในอุตสาหกรรมอาหารตามข้อกำหนดอาหารและยาประเทศสหรัฐอเมริกา. **วารสารเพื่อการพัฒนาอุตสาหกรรมยางไทย** 2(1): 1-35

ดำรงค์ โลหะลักษณาเดช ทัศนีย์ ชวนประชุมและเอกพงศ์ แก้วสุทธิ์. 2554. การเปรียบเทียบสูตรอาหารในการเพาะเลี้ยง *Chlorella ellipsoidea*. **วารสารวิจัยเทคโนโลยีการประมง** 5(2): 48-54.

นิตยา ขันธบุตร สิตา ทิศาดลดิลก และศศมล ผาสุข. 2554. การศึกษาประสิทธิภาพของสารสกัดจากใบทองพันชั่ง(Rhinacanthus nasutus Linn.) และรากหนอนตายหยาก(Samanea tuberosa Lour.) ที่มีฤทธิ์ในการกำจัดเห็บสุนัข. **วารสารวไลยอลงกรณ์ปริทัศน์** 1(2): 59-76

บุญรักษ์ กาญจนวรวณิชย์. 2551. จากสารรักษาสภาพน้ำยางสู่สารบอดี้เพ้นท์. (ออนไลน์). สืบค้นจาก: http://www.mtec.or.th. (14 ธันวาคม 2554).

ปณัตดา ยอดแสง. 2550. ฟีนอล. (ออนไลน์). สืบค้นจาก: http://chemsafe.chula.ac.th. (20 พฤศจิกายน 2555).

พรทิพย์ จันทรมงคล. 2550. วิธีการทางนิเวศเพื่อศึกษาระบบนิเวศแหล่งน้ำจืด. ภาควิชาชีววิทยา คณะวิทยาศาสตร์ มหาวิทยาลัยเชียงใหม่. (ออนไลน์). สืบค้นจาก: http://www.biology .science.cmu.ac.th/lectures/online202371/ecol_methods_02_thai.pdf.

(11 กรกฎาคม 2555).

พร้อมศักดิ์ สงวนธำมรงค์. 2554. การเคลือบผิวผลิตภัณฑ์จากน้ำยางด้วยโพลิเมอร์. (ออนไลน์). สืบค้นจาก: http://www.rubbercenter.org. (15 ตุลาคม 2557).

พีระนารถ แจ้งทอง และปัทมา นพรัตน์. 2546. การควบคุมคุณภาพภายในสำหรับห้องปฏิบัติการวิเคราะห์ทดสอบ. เอกสารรายงานการวิจัยของบุคลากร. กรมวิทยาศาสตร์บริการ. (ออนไลน์). สืบค้นจาก: http://siweb.dss.go.th/technical_report/user_technical_ list_ vicha.asp. (3 มีนาคม 2555).

ภาณุ เทวรัตน์มณีกุล, วีระ วัชรกรโยธิน และทัศนีย์ สุขสวัสดิ์. 2530. การเพาะไรแดงเพื่อการค้า รายงานการประชุมทางวิชาการมหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์ครั้งที่ 25 ณ สถาบันประมงน้ำจืดแห่งชาติและศูนย์วิจัยอารักขาข้าว. 3-5 กุมภาพันธ์ 2530. หน้า 297-309. (ออนไลน์) สืบค้นจาก: www.thailis.or.th. (3 สิงหาคม 2555).

มะลิวรรณ แสงจันทร์. 2531. การสลายตัวของฟอร์มาลีนและความเป็นพิษต่อ *Aeromonas hidrophila* และแพลงค์ตอน. วิทยานิพนธ์วิทยาศาสตรมหาบัณฑิต. สาขาวิทยาศาสตร์ประมง.

ยุทธนา สุดเจริญ. 2555. การการประเมินประสิทธิภาพ latex agglutination test สำหรับตรวจคัดกรอง Staphylococcus aureus ดื้อต่อยา methicillin ที่แยกได้จากผู้ป่วยมะเร็ง. รายงานการวิจัยคณะวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยีมหาวิทยาลัยราชภัฏสวนสุนันทา.

สำนักงานมาตรฐานผลิตภัณฑ์อุตสาหกรรม. 2553. มาตรฐานผลิตภัณฑ์อุตสาหกรรม (มอก.2505-2553) ถุงมือยางที่ใช้ในอุตสาหกรรมอาหาร. กระทรวงอุตสาหกรรม กรุงเทพมหานคร.

ยุพิน รัตนะแพร. ม.ป.ป. เราจะตรวจสอบความใช้ได้ของวิธี (ทางเคมี) อย่างไร. (ออนไลน์). สืบค้นจาก: http://siweb.dss.go.th/technical_report/user_technical_list_vicha.asp. (3 มีนาคม 2555).

รัชนันทน์ ตติยนันทพร. 2554. ความถูกต้องของผลการตรวจด้วยวิธีเอ็กซเรย์คอมพิวเตอร์เปรียบเทียบกับผลการตรวจชิ้นเนื้อด้วยวิธีทางพยาธิวิทยาในการวินิจฉัยโรคมะเร็งปอด. **ขอนแก่นเวชสาร**35: 16-22.

ลัดดา วงรัตน์. 2543. **คู่มือการเลี้ยงแพลงก์ตอน**. พิมพ์ครั้งที่ 3. กรุงเทพมหานคร: มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์.

ลัดดา วงรัตน์. 2543. **แพลงก์ตอนสัตว์ (zooplankton)**. พิมพ์ครั้งที่ 2. กรุงเทพมหานคร: มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์.

วราภรณ์ ขจรไชยกูล. 2532**.** การผลิตถุงมือยาง. **วิจัยยางพารา** 9(2): 60-94. (ออนไลน์). สืบค้นจาก: http://www.rubberthai.com (20 ธันวาคม 2554).

วรวิทย์ จันทร์สุวรรณ. 2554. พอลีเมอร์. (ออนไลน์). สืบค้นจาก: www.sc.sci.rmutp.ac.th/sctank /appchem/wcs-polymer.pdf. (2 กุมภาพันธ์ 2556).

วรศักดิ์ สุทาชัย, วิรัช นิรารุทธิ์, กมลวรรณ บุญโปร่ง. 2552. **วารสารเทคนิคการแพทย์เชียงใหม่** 42(2): 120 - 127.

วารุณี ฉัตรเท. 2547. การทดสอบความเป็นพิษของสีย้อมโดยใช้สาหร่ายและไรแดง. วิทยานิพนธ์วิทยาศาสตรมหาบัณฑิต. สาขาวิชาเทคโนโลยีสิ่งแวดล้อม มหาวิทยาลัยเทคโนโลยีพระจอมเกล้าธนบุรี.

วิภา เศวตกนิษฐ์, กุลทิวา รัตนเวคินรักษ์, นุชนาฎ ณ ระนอง, พลชิต บัวแก้ว, อำพันทอง ทองคำ. 2541. การผลิตฝาจุกยางสำหรับขวดยา. วิจัยยางพารา. (ออนไลน์). สืบค้นจาก: http://www.rubberthai.com (20 มิถุนายน 2555).

วิภาวี พัฒนกุล, 2554. ยางธรรมชาติและยางสังเคราะห์. เอกสารงานนิทรรศการพืชสวน เชียงใหม่ (ออนไลน์). สืบค้นจาก: www.rubberthai.com/book/file/98.pdf. (10 ตุลาคม 2557).

วิมล ตันติไชยากุล. 2546. **คู่มือปฏิบัติการเภสัชวิเคราะห์ 1**. พิมพ์ครั้งที่ 1. กรุงเทพมหานคร: ภาควิชาเภสัชเคมี มหาวิทยาลัยสงขลานครินทร์

สุชาตา ชินะจิตร. 2549. **ฟอร์มาลีน-ฟอร์มัลดีไฮด์ สารร้ายตัวก่อมะเร็ง.** (ออนไลน์)**.** สืบค้นจาก : http://www.chemtrack.org/News-Detail.asp?TID=1&ID=43. (29 ตุลาคม 2555).

สุมาลี ทั่งพิทยกุล. 2554. วัสดุสัมผัสอาหาร. กรมวิทยาศาสตร์บริการ. กรุงเทพมหานคร.

สำนักงานประมงจังหวัดนครปฐม. 2550. เอกสารเผยแพร่เรื่อง การเพาะเลี้ยงไรแดง. (ออนไลน์). สืบค้นจาก: http://www.fisheries.go.th/fpo-nakhonpatom/knows.htm.(3 พฤศจิกายน 2555).

สำนักหอสมุดและศูนย์สารสนเทศวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยี. 2554. วัสดุสัมผัสอาหาร. (ออนไลน์). สืบค้นจาก: http://www.dss.go.th. (1 สิงหาคม 2555).

เสน่ห์ ผลประสิทธิ์. 2550. การเพาะไรแดง. (ออนไลน์). สืบค้นจาก:http://www.rakbankerd.com (4 สิงหาคม 2555)

เสาวภา อังสุภานิช. 2528. **แพลงค์ตอนสัตว์.** พิมพ์ครั้งที่ 1. สงขลา: คณะทรัพยากรธรรมชาติ มหาวิทยาลัยสงขลานครินทร์.

โสภณ เริงสำราญ, อมร เพชรสม, ศุภศร พัฒนอักษร และสุชัย พรภคกุล. 2542. **อินทรีย์เคมี II.** พิมพ์ครั้งที่ 2. กรุงเทพมหานคร: จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย.

สมคิด ปราบภัย. 2545. การใช้ไรแดง (*Moina macrocopa* Straus.) ประเมินความเป็นพิษของตะกอนท้องน้ำ.วิทยานิพนธ์ปริญญาสาธารณสุขศาสตรมหาบัณฑิต, มหาวิทยาลัยขอนแก่น.

อารี ชูวิสิฐกุล. 2540. การตรวจสอบความถูกต้องของวิธีวิเคราะห์คอเลสเทอรอลในนมและผลิตภัณฑ์นม. เอกสารผลงานที่เสนอประเมินเพื่อแต่งตั้งให้ดำรงตำแหน่งนักวิทยาศาสตร์ 8ว. (ออนไลน์). สืบค้นจาก: http://www.dss.go.th. (8 มิถุนายน 2555).

อดุลย์ บัณฑุกุล. 2542. ฟอร์มัลดีไฮด์. ใน **อาชีวเวชศาสตร์ ฉบับ พิษวิทยา** (วิลาวัณย์ จึงประเสริฐ: บรรณาธิการ) กรุงเทพมหานคร: สมาคมอนามัยแห่งประเทศไทย.

Arambasic, M.B., Bjelic, S., Subakov, G. 1995. Acute toxicity of heavy metals (copper, lead, zinc), phenol and sodium on *Allium cepa* L., *Lepidium sativum* L. and *Daphnia magna* St.: Comparative investigations and the practical applications. **Water Research** 29: 497-503**.**

APHA, AWWA and WEF. 2012. **Standard Methods for The Examination of Water and Wastewater.** 22 th Edition. Washington, D.C: American Public Health Association.

Armitage P., Berry G. 1994. **Statistical Methods in Medical Research.** 3rd ed., London: Blackwell Scientific Publication.

ATSDR, 2010. Addendum to the toxicological profile for formaldehyde. [2013 February 2] Available from: URL: http://www.atsdr.cdc.gov/substances /index.asp.

ATSDR, 2013. Toxguide™ for phenol. [2013 February 2] Available from: URL: http://www.atsdr.cdc.gov/substances/toxsubstance.asp?toxid=27.

Bartak, P., Frnkova, P. and Cap, L. 2000. Determination of phenols using simultaneous steam distillation extraction. **Journal of Chromatography A** 867: 281–287

Bartram, J. and Balance, R. 1996. Biological monitoring. [homepage]. [2012 November 2] Available from: URL: http://www.who.int/water_sanitation_health/ resource squality/wqmonitor/en/

Boonsom, J. 1997. The freshwater zooplankton of Thailand (Rotifera and Crustacea). **Journal of Science Society of Thailand** 23: 23-34.

Bohrer, D. 2013. sources of contamination in medicinal products and medical devices. New Jersy : Wiley

Cancho-Grande, B., Ventura, F. and Galceran, M.T. 2001. Determination of aldehydes in drinking water using pentafluorobenzylhydroxylamine derivatization and solid-phase microextraction. **Journal of Chromatography A** 943: 1–13.

Chuah, T. S., Loh, J. Y., Hii, Y. S. 2007. Acute and Chronic Effects of the Insecticide-Endosulfan on Freshwater Cladoceran, Moina macrocopa Straus. **Bull Environ Contam Toxicol** 79: 557–561.

Commission Directive 2002/72/EC relating to plastic materials and articles intended to come into contact with foodstuffs.

Dutka, B.J. and Bitton, G. 1986. Toxicity Testing using Microorganisms. Volume II. Florida: CRC Press. p. 79-100.

Engert A. , Chakrabarti S. , Saul N. , Bittner M. , Menzel R. , Steinberg C.E.W. 2013. Interaction of temperature and an environmental stressor: Moina macrocopa responds with increased body size, increased lifespan, and increased offspring numbers slightly above its temperature optimum. **Chemosphere** 90: 2136–2141.

European Communities, 2009. **Guidelines on testing conditions for articles in contact with foodstuffs.(with a focus on kitchenware)**. 1st Edition Italy: Luxembourg.

Farre, M. and Barcelo, D. 2003. Toxicity testing of wastewater and sewage sludge by biosensors, bioassays and chemical analysis. **Trends in Analytical Chemistry** 22: 299-310.

Girousi, S.T., Golia, E.E., Voulgaropoulos, N.A. and Maroulis, A.J. 1997. Fluorometric determination of formaldehyde. **Fresenius' Journal of Analytical Chemistry** 358: 667–668.

Guilhermino, L., Diamantino, T., Carolina Silva, M., Soares, A. M. V. M. 2000. Acute Toxicity Test with Daphnia magna: An Alternative to Mammals in the Prescreening of Chemical Toxicity?. **Ecotoxicology and Environmental Safety** 46: 357-362.

Hayes, A.W. 1994. **Principles and Methods of Toxicology**. 3 rd Edition New York: Raven Press.

HPA, 2007. Phenol toxicological overview. [2013 February 2] Available from: URL: http://www.hpa.org.uk/.

International Agency for Research on Cancer. 2006. IARC Monographs on the Evalution of Carcinogenic Risks to Human Volume 88 Formaldehyde, 2-Butotoxyethanol and 1-tert-Butoxypropan-2-ol. (PDF file). International Agency for Research on Cancer, World Health Organizations.

Klaassen, C.D. 2001. **Casarett & Doull's Toxicology: The Basic Science Of Poisons.** 6 th Edition. New York: McGraw – Hill**.**

Kovacs, A., Kende, A., Mortl, M., Volk, G., Rikker, T., and Torkos, K. 2008. Determination of phenols and chlorophenols as trimethylsilyl derivatives using gas chromatography–mass spectrometry. **Journal of Chromatography A** 1194: 139–142.

Lambert, C. and Larroque, M. 1997. Chromatographic Analysis of Water and Wine Samples for Phenolic Compounds Released from Food-Contact Epoxy Resins. **Journal of Chromatographic Science** 35: 57-62.

Lau, O.-W. and Wong, S.-K. 2000. Review Contamination in food from packaging material. **Journal of Chromatography A** 882: 255–270.

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

Lithner, D., Nordensvan, I. and Dave, G. 2011. Comparative acute toxicity of leachates fromplastic productsmade of polypropylene, polyethylene, PVC, acrylonitrile–butadiene –styrene, and epoxy to *Daphnia magna***. Environmental Science and Pollution Research** 19: 1763–1772.

NIOSH, 1981. Occupational Health Guideline for phenol. [2013 February 2] Available from: URL: http://www.cdc.gov/niosh/.

Organization for Economic Co-operation and Development. (2004). OECD guideline for testing of chemicals: *Daphnia* sp., acute immobilisation test. Retrieved January 23, 2014. from http://www.oecd-ilibrary.org/environment/oecd-guidelines-for-the-testing-of-chemicals-section-2-effects-on-biotic-systems_ 20745761.

Ponten, A. 2006. Formaldehyde in reusable protective gloves. **Contact Dermatitis** 54: 268-271.

Puig, D. and Barcelo, D. 1996. Determination of phenolic compounds in water and waste water. **Trends in Analytical Chemistry**15: 362-375.

Rujiralai, T. and Cheewasedtham, W. 2011. An effect extraction method for estimation of total antioxidant and mercaptobenzothiazole residues in baby nipples. **European Journal of Scientific Research** 64: 277-284.

Tangpitayakul, S. Food Contact Material and Testing for Compliance and official Control. [19 January 2011] Available from URL: http//www.metalpackaging.or.th /mam/images/ stories /document/BPA_by_dss.pdf.

Taverniers I. , De Loose M. , Van Bockstaele E. 2004. Trends in quality in the analytical laboratory. II. Analytical method validation and quality assurance. **Trends in Analytical Chemistry** 23(8): 535-552.

Telesh, V., Makrushin A.V., Hwang J.-S. 2010. Does the survivorship of activated resting stages in toxic environments providecues for ballast water treatment?. **Marine Pollution Bulletin** 61: 254–258.

Tisler, T. and Zagorc-Koncan, J. 1997. Comparative assessment of toxicity of phenol, formaldehyde and industrial wastewater to aquatic organisms. **Air and Soil Pollution** 97: 315-322.

USEPA. 1994. 600/4-91-002. Short-term method for estimating the chronic toxicity of effluents and receiving water to freshwater organism. 3rd edition July 1994. [superseded EPA 600/4-58-014-1st Edition and 600/400-89-001-2nd Edition] [homepage]. [2012 March 12] Available from: URL: http://www.epa.gov/ost/ cs/freshfact.html.

USEPA. 1996. Determination of carbonyl compounds by high performance liquid chromatography (HPLC). Method 8315A. [2012 August 31] Available from: URL: http://www.epa.gov/hazard/ testmethods/8315a.pdf.

USEPA. 1998. Determination of carbonyl compounds in drinking water by penta-fluorobenzylhydroxylamine derivatization and capillary gas chromatography with electron capture detection. Method 565. [2012 August 9] Available from: URL: http://www.epa.gov/ogwdw/ methods/…/methos/met556.pdf.

USEPA, 2002. Toxicilogical review of phenol. [2013 February 2] Available from: URL: http://www.epa.gov/.

USEPA. 2007. Phenols by gas chromatography. Method 8041A. [2012 August 31] Available from: URL: http://www.epa.gov/hazard/ testmethods/…/8041a.pdf.

USEPA. 2012. *Daphnid*, *Ceriodaphnia Dubia*, survival and reproduction test method. [homepage]. [2012 November 23] Available from: http://www.epa.gov.

Velikonja, S., Jarc, I., Zupancic-Kralj, L. and Marsel, J. 1994. Comparision of gas chromatographic and spectrophotometric techniques for the determination of formaldehyde in water. **Journal of Chromatography A** 704: 449-454.

World Health Organization. 2002. **Environmental Health Criteria for Formaldehyde**. Volume 89, Geneva, Switzerland.

Yi, X., Kang, S.K. and Jung, J. 2010. Long-term evaluation of lethal and sublethal toxicity of industrial effluents using *Daphnia magna* and *Moina macrocopa.* **Journal of Hazardous Materials** 178: 982–987.

ภาคผนวก

ภาคผนวก ก

อัตราการตายของไรแดง

ตารางภาคผนวกที่ ก-1 อัตราการตายของไรแดงที่ความเข้มข้นต่างๆของน้ำชะถุงมือยางธรรมชาติแบบบางชนิดมีแป้งยี่ห้อ A

Concentration / Types of chemical		100%		50%		25%		12.5%		6.25%		Control	
Brand A	Replicate	24 h	48 h	24 h	48 h	24 h	48 h	24 h	48 h	24 h	48 h	24 h	48 h
	1	16	18	14	15	11	13	7	9	3	5	1	2
	2	16	17	13	14	12	14	6	8	4	6	1	3
	3	18	20	15	16	10	12	7	10	3	5	1	3
	4	16	18	14	15	12	14	6	9	3	6	0	2
	5	17	19	13	15	13	15	6	9	3	5	1	2
	6	18	20	13	15	10	13	7	10	4	6	1	3
	7	17	18	14	16	11	13	7	10	4	6	1	3
	8	18	20	13	15	12	15	7	9	3	5	1	2
	9	17	18	14	16	12	14	6	8	5	7	1	3
	10	18	20	14	16	13	15	6	9	4	6	1	3
Average		17.1	18.8	13.7	15.3	11.6	13.8	6.5	9.1	3.6	5.7	0.9	2.6
SD		0.88	1.14	0.67	0.67	1.07	1.03	0.53	0.74	0.70	0.67	0.32	0.52
% Kill		85.5	94	68.5	76.5	58	69	32.5	45.5	18	28.5	4.5	13

ตารางภาคผนวกที่ ก-2 อัตราการตายของไรแดงที่ความเข้มข้นต่างๆของน้ำชะถุงมือยางธรรมชาติแบบบางชนิดมีแป้งยี่ห้อ B

Concentration / Types of chemical		100%		50%		25%		12.5%		6.25%		Control	
Brand B	Replicate	24 h	48 h	24 h	48 h	24 h	48 h	24 h	48 h	24 h	48 h	24 h	48 h
	1	16	18	14	15	10	12	4	6	3	5	1	2
	2	16	18	13	14	11	12	5	7	2	5	1	3
	3	16	17	13	15	10	13	5	8	4	6	1	3
	4	15	17	13	14	10	13	6	8	4	5	0	2
	5	16	18	14	15	9	12	5	6	3	4	1	2
	6	15	17	14	15	10	12	5	7	3	5	1	3
	7	17	18	15	16	9	11	6	8	4	5	1	3
	8	17	18	15	16	10	13	5	6	3	5	1	2
	9	16	19	14	15	9	11	5	6	5	6	1	3
	10	16	18	15	16	10	12	6	7	5	6	1	3
Average		16	17.8	14	15.1	9.8	12.1	5.2	6.9	3.6	5.2	0.9	2.6
SD		0.67	0.63	0.82	0.74	0.63	0.74	0.63	0.88	0.97	0.63	0.32	0.52
% Kill		80	89	70	75.5	49	60.5	26	34.5	18	26	4.5	13

ตารางภาคผนวกที่ ก-3 อัตราการตายของไรแดงที่ความเข้มข้นต่างๆของน้ำชะถุงมือยางธรรมชาติแบบบางชนิดมีแป้งยี่ห้อ C

Concentration / Types of chemical		100%		50%		25%		12.5%		6.25%		Control	
Brand C	Replicate	24 h	48 h	24 h	48 h	24 h	48 h	24 h	48 h	24 h	48 h	24 h	48 h
	1	18	20	15	17	11	13	6	8	3	5	1	2
	2	17	19	13	15	10	12	5	7	4	5	1	3
	3	19	20	13	15	10	12	5	8	3	6	1	3
	4	18	20	15	17	11	13	5	7	3	6	0	2
	5	18	20	15	17	10	12	6	7	3	4	1	2
	6	18	20	13	16	12	14	5	7	4	5	1	3
	7	17	18	14	16	10	12	7	8	3	5	1	3
	8	18	19	14	16	10	12	7	7	3	6	1	2
	9	18	20	15	17	11	13	6	7	3	7	1	3
	10	18	20	14	16	10	13	6	8	4	8	1	3
Average		17.9	19.6	14.1	16.2	10.5	12.6	5.6	7.4	3.3	5.7	0.9	2.6
SD		0.57	0.70	0.88	0.79	0.70	0.70	0.70	0.52	0.48	1.16	0.32	0.52
% Kill		89.5	98	70.5	81	52.5	63	28	37	16.5	28.5	4.5	13

ตารางภาคผนวกที่ ก-4 อัตราการตายของไรแดงที่ความเข้มข้นต่างๆของน้ำชะถุงมือยางธรรมชาติแบบบางชนิดไม่มีแป้งยี่ห้อ D

Concentration / Types of chemical		100%		50%		25%		12.5%		6.25%		Control	
Brand D	Replicate	24 h	48 h	24 h	48 h	24 h	48 h	24 h	48 h	24 h	48 h	24 h	48 h
	1	11	14	9	11	6	8	3	6	3	2	2	3
	2	10	13	8	10	5	8	4	8	2	4	1	2
	3	11	13	8	11	4	7	3	6	1	4	1	2
	4	12	14	8	10	6	9	3	5	1	4	1	2
	5	12	13	7	9	5	9	2	7	2	5	2	3
	6	11	14	8	10	5	8	3	7	1	2	1	2
	7	11	15	8	9	5	7	3	7	3	6	0	1
	8	10	13	9	11	6	9	4	5	2	3	1	2
	9	10	12	8	12	5	8	3	4	2	6	1	2
	10	13	15	8	11	5	8	4	5	3	2	1	3
Average		11.1	13.6	8.1	10.4	5.2	8.1	3.2	6	2	3.8	1.1	2.2
SD		0.99	0.97	0.57	0.97	0.63	0.74	0.63	1.25	0.82	1.55	0.57	0.63
% Kill		55.5	68	40.5	52	26	40.5	16	30	10	19	5.5	11

ตารางภาคผนวกที่ ก-5 อัตราการตายของไรแดงที่ความเข้มข้นต่างๆของน้ำชะถุงมือยางธรรมชาติแบบหนาชนิดไม่มีแป้งยี่ห้อ E

Concentration / Types of chemical		100%		50%		25%		12.5%		6.25%		Control	
Brand E	Replicate	24 h	48 h	24 h	48 h	24 h	48 h	24 h	48 h	24 h	48 h	24 h	48 h
	1	20	20	16	18	10	12	5	7	3	4	2	3
	2	20	20	16	18	9	11	4	6	3	5	1	3
	3	20	20	16	19	9	11	5	7	4	5	0	2
	4	20	20	16	19	10	12	4	7	3	5	1	2
	5	20	20	15	17	8	11	4	6	3	4	1	2
	6	20	20	14	17	8	10	4	7	3	4	0	2
	7	20	20	17	18	8	10	5	7	3	4	1	2
	8	20	20	18	19	10	13	5	8	3	5	0	2
	9	20	20	15	18	9	11	5	8	3	5	1	3
	10	20	20	17	19	9	11	4	6	3	5	1	2
Average		20	20	16	18.2	9	11.2	4.5	6.9	3.1	4.6	0.8	2.3
SD		0	0	1.15	0.79	0.82	0.92	0.53	0.74	0.32	0.52	0.63	0.48
% Kill		100	100	80	91	45	56	22.5	34.5	15.5	23	4	11.5

ตารางภาคผนวกที่ ก-6 อัตราการตายของไรแดงที่ความเข้มข้นต่างๆของน้ำชะถุงมือยางธรรมชาติแบบหนาชนิดไม่มีแป้งยี่ห้อ F

Concentration / Types of chemical		100%		50%		25%		12.5%		6.25%		Control	
Brand F	Replicate	24 h	48 h	24 h	48 h	24 h	48 h	24 h	48 h	24 h	48 h	24 h	48 h
	1	19	20	15	20	11	13	9	11	4	5	2	3
	2	20	20	14	20	13	15	10	13	2	4	1	3
	3	19	20	15	20	10	13	9	10	4	5	0	2
	4	20	20	14	20	12	14	10	12	5	6	1	2
	5	19	20	15	20	12	13	11	12	3	5	1	2
	6	19	20	15	20	13	14	10	13	3	5	0	2
	7	19	20	15	20	12	15	9	12	5	6	1	2
	8	20	20	15	20	12	15	10	12	6	8	0	2
	9	19	20	14	20	13	16	10	13	5	6	1	3
	10	20	20	13	20	13	15	10	11	6	8	1	2
Average		19.4	20	14.5	20	12.1	14.3	9.8	11.9	4.3	5.8	0.8	2.3
SD		0.52	0	0.71	0	0.99	1.06	0.63	0.99	1.34	1.32	0.63	0.48
% Kill		97	100	72.5	100	60.5	71.5	49	59.5	21.5	29	4	11.5

ตารางภาคผนวกที่ ก-7 อัตราการตายของไรแดงที่ความเข้มข้นต่างๆของน้ำชะถุงมือยางธรรมชาติแบบหนาชนิดไม่มีแป้งยี่ห้อ G

Concentration / Types of chemical		100%		50%		25%		12.5%		6.25%		Control	
Brand G	Replicate	24 h	48 h	24 h	48 h	24 h	48 h	24 h	48 h	24 h	48 h	24 h	48 h
	1	18	20	14	20	11	20	6	7	4	7	2	3
	2	15	20	13	20	11	20	5	6	4	5	1	3
	3	17	20	14	20	10	20	6	9	3	5	0	2
	4	15	20	12	20	10	20	6	8	4	5	1	2
	5	17	20	13	20	10	20	5	6	4	5	1	2
	6	15	20	14	20	9	20	4	6	4	6	0	2
	7	13	20	14	20	11	20	6	7	4	7	1	2
	8	15	20	13	20	9	20	5	6	3	5	0	2
	9	17	20	13	20	10	20	4	6	5	6	1	3
	10	15	20	14	20	10	20	4	6	4	5	1	2
Average		15.7	20	13.4	20	10.1	20	5.1	6.7	3.9	5.6	0.8	2.3
SD		1.49	0	0.70	0	0.74	0	0.88	1.06	0.57	0.84	0.63	0.48
% Kill		78.5	100	67	100	50.5	100	25.5	33.5	19.5	28	4	11.5

ตารางภาคผนวกที่ ก-8 อัตราการตายของไรแดงที่ความเข้มข้นต่างๆของน้ำชะถุงมือโพลีเอทธิลีนยี่ห้อ H

Concentration / Types of chemical		100%		50%		25%		12.5%		6.25%		Control	
Brand H	Replicate	24 h	48 h	24 h	48 h	24 h	48 h	24 h	48 h	24 h	48 h	24 h	48 h
	1	4	6	3	5	4	7	4	6	3	5	1	3
	2	8	10	5	7	5	8	4	7	2	4	2	4
	3	6	8	4	8	4	6	3	5	1	3	1	3
	4	6	8	5	7	8	10	2	4	9	10	1	3
	5	5	9	3	5	3	5	4	6	2	4	2	4
	6	8	10	2	4	3	6	2	5	3	4	1	2
	7	4	6	3	5	2	5	1	3	3	5	2	5
	8	6	8	7	9	0	3	8	10	0	2	1	3
	9	5	7	3	5	2	4	4	6	3	5	2	5
	10	5	7	4	6	2	4	0	3	1	2	1	2
Average		5.7	7.9	3.9	6.1	3.3	5.8	3.2	5.5	2.7	4.4	1.4	3.4
SD		1.42	1.45	1.45	1.60	2.16	2.10	2.20	2.07	2.45	2.27	0.52	1.07
% Kill		28.5	39.5	19.5	30.5	16.5	29	16	27.5	13.5	22	7	17

ตารางภาคผนวกที่ ก-9 อัตราการตายของไรแดงที่ความเข้มข้นต่างๆของน้ำชะถุงมือโพลีเอทธิลีนยี่ห้อ I

Concentration / Types of chemical		100%		50%		25%		12.5%		6.25%		Control	
Brand I	Replicate	24 h	48 h	24 h	48 h	24 h	48 h	24 h	48 h	24 h	48 h	24 h	48 h
	1	7	9	4	7	5	7	2	4	2	4	1	3
	2	5	7	6	8	1	3	2	4	2	5	2	4
	3	5	8	2	5	2	5	4	6	3	5	1	3
	4	4	7	5	7	5	7	5	7	3	6	1	3
	5	5	7	4	8	4	8	1	3	2	4	2	4
	6	5	8	3	5	3	5	2	5	6	8	1	2
	7	4	6	5	7	2	5	4	6	0	2	2	5
	8	3	5	3	5	4	6	6	8	3	5	1	3
	9	6	8	6	8	8	9	2	5	1	3	2	5
	10	5	9	5	7	5	7	4	6	4	6	1	2
Average		4.9	7.4	4.3	6.7	3.9	6.2	3.2	5.4	2.6	4.8	1.4	3.4
SD		1.10	1.26	1.34	1.25	2.02	1.75	1.62	1.51	1.65	1.69	0.52	1.07
% Kill		24.5	37	21.5	33.5	19.5	31	16	27	13	24	7	17

ตารางภาคผนวกที่ ก-10 อัตราการตายของไรแดงที่ความเข้มข้นต่างๆของน้ำชะถุงมือโพลีเอทธิลีนยี่ห้อ J

Concentration / Types of chemical		100%		50%		25%		12.5%		6.25%		Control	
Brand J	Replicate	24 h	48 h	24 h	48 h	24 h	48 h	24 h	48 h	24 h	48 h	24 h	48 h
	1	4	8	7	8	5	7	3	5	2	4	1	3
	2	3	7	3	6	2	4	2	4	1	3	2	4
	3	7	10	6	8	3	5	3	5	4	6	1	3
	4	4	8	4	6	3	5	7	8	0	2	1	3
	5	4	8	2	4	3	6	4	6	4	6	2	4
	6	4	9	3	5	5	7	2	4	2	5	1	2
	7	4	8	2	4	4	6	4	6	3	5	2	5
	8	4	7	2	5	7	9	2	4	5	7	1	3
	9	7	11	3	6	3	5	2	4	2	4	2	5
	10	6	10	6	8	2	4	3	4	2	4	1	2
Average		4.7	8.6	3.8	6	3.7	5.8	3.2	5	2.5	4.6	1.4	3.4
SD		1.42	1.35	1.87	1.56	1.57	1.55	1.55	1.33	1.51	1.51	0.52	1.07
% Kill		23.5	43	19	30	18.5	29	16	25	12.5	23	7	17

ตารางภาคผนวกที่ ก-11 อัตราการตายของไรแดงที่ความเข้มข้นต่างๆกับสารมาตรฐานฟีนอล

Concentration / Types of chemical		16 mg/L		8 mg/L		4 mg/L		2 mg/L		0.5 mg/L		0.05 mg/L		control	
	Replicate	24 h	48 h	24 h	48 h	24 h	48 h	24 h	48 h	24 h	48 h	24 h	48 h	24 h	48 h
	1	16	18	16	16	15	15	13	14	10	11	8	11	1	3
	2	17	19	16	16	10	14	12	13	11	12	13	15	1	2
	3	16	19	15	17	14	14	13	13	12	12	7	8	2	3
	4	17	18	15	15	13	13	13	13	10	13	12	9	1	2
	5	17	18	16	16	15	15	11	12	11	11	10	11	2	2
	6	18	18	16	16	14	14	12	13	10	11	10	9	2	3
	7	17	19	16	16	14	14	13	13	12	12	10	11	1	2
	8	16	18	15	15	14	14	10	12	11	11	8	11	1	2
	9	14	18	14	16	15	15	13	14	13	13	10	11	1	3
	10	13	17	15	17	13	13	11	13	12	12	10	8	2	3
Average		16.1	18.2	15.4	16	13.7	14.1	12.1	14.1	11.2	11.8	9.8	10.4	1.4	2.5
SD		1.52	0.63	0.70	0.67	1.49	0.74	1.10	0.74	1.03	0.79	1.81	2.07	0.52	0.53
% Kill		80.5	91	77	80	68.5	70.5	60.5	70.5	56	59	49	52	7	12.5

ตารางภาคผนวกที่ ก-12 อัตราการตายของไรแดงที่ความเข้มข้นต่างๆกับสารมาตรฐานฟอร์มัลดีไฮด์

Concentration / Types of chemical		16 mg/L		8 mg/L		4 mg/L		2 mg/L		0.5 mg/L		0.05 mg/L		control	
	Replicate	24 h	48 h	24 h	48 h	24 h	48 h	24 h	48 h	24 h	48 h	24 h	48 h	24 h	48 h
	1	13	15	12	14	10	11	8	9	8	9	6	8	0	2
	2	12	15	13	16	11	12	9	8	6	7	5	6	1	3
	3	14	16	12	13	10	11	7	8	7	8	6	7	0	3
	4	13	15	11	15	11	12	7	9	8	9	4	6	1	2
	5	15	17	12	13	12	12	8	10	7	8	6	7	0	3
	6	14	16	12	14	11	13	9	10	6	8	6	7	0	3
	7	14	16	13	13	10	12	9	9	6	7	5	6	1	2
	8	15	16	12	14	12	13	8	8	7	8	6	6	0	2
	9	16	18	12	14	10	10	7	8	8	7	6	8	0	2
	10	15	16	13	15	11	12	7	8	7	7	5	6	1	2
Average		14.1	16	12.2	14	10.8	11.8	7.9	8.7	7	7.8	5.5	6.7	0.4	2.4
SD		1.20	0.94	0.63	0.99	0.79	0.92	0.88	0.82	0.82	0.79	0.71	0.82	0.52	0.52
% Kill		70.5	80	61	70	54	59	39.5	43.5	35	39	27.5	33.5	2	12

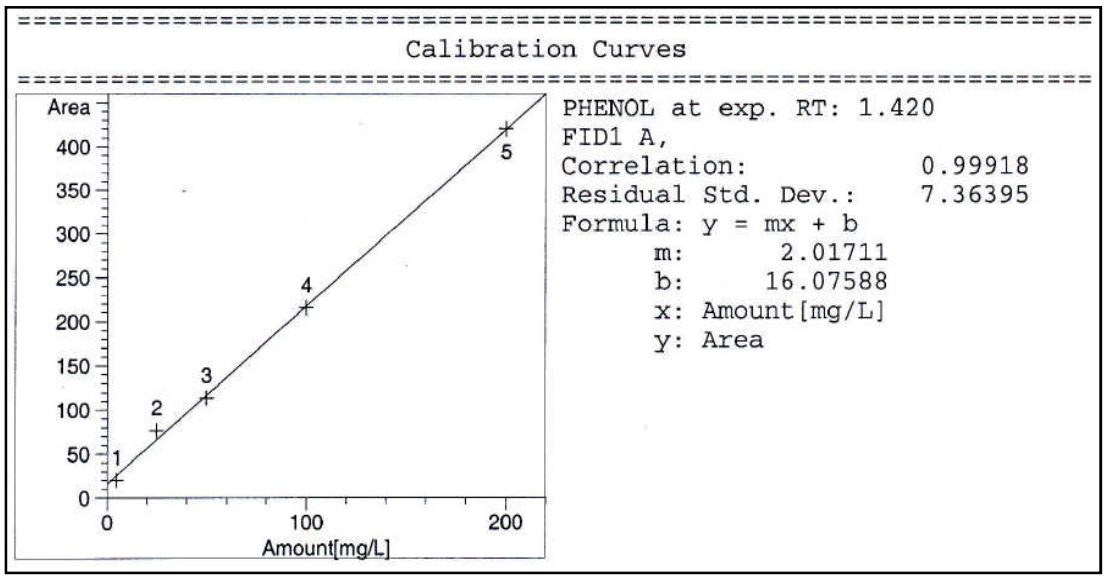
ภาคผนวก ข

กราฟมาตรฐานของฟีนอล, ฟอร์มัลดีไฮด์

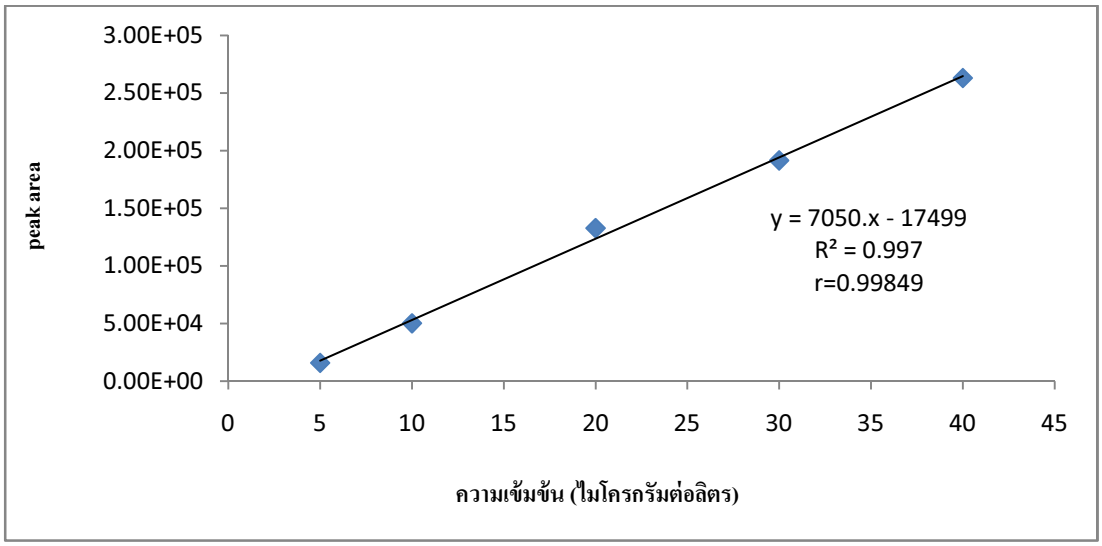
และร้อยละการได้คืนกลับของฟีนอล

ภาคผนวก ข

กราฟมาตรฐานของสารละลายฟีนอล และฟอร์มัลดีไฮด์



ภาพภาคผนวกที่ ข-1 กราฟมาตรฐาน(calibration curve) ของสารละลายฟีนอลที่ความเข้มข้น 5, 25, 50, 100, 200 มิลลิกรัมต่อลิตร



ภาพภาคผนวกที่ ข-2 กราฟมาตรฐาน (calibration curve) ของสารละลายฟอร์มัลดีไฮด์ที่ความเข้มข้น 5,10, 20, 30, 40 ไมโครกรัมต่อลิตร

ตารางภาคผนวกที่ ข-1 ร้อยละการได้คืนกลับของฟีนอล (n=10)

ตัวอย่างน้ำชะจาก	ความเข้มข้นของฟีนอลที่เติมลงไปในตัวอย่างน้ำชะถุงมือ (C) (ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร)	ความเข้มข้นของฟีนอลในตัวอย่างน้ำชะถุงมือ (C_u) (ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร)	ค่าความเข้มข้นของฟีนอลที่วิเคราะห์ได้ เมื่อเติมฟีนอลลงในตัวอย่างน้ำชะถุงมือ (C_s) (ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร)	% recovery $\frac{(C_s - C_u)}{C} \times 100$
ถุงมือยางธรรมชาติแบบบางชนิดมีแป้งยี่ห้อ A	80	89.052 ± 11.57	153.62 ± 5.53	80.91± 14.72
ถุงมือยางธรรมชาติแบบบางชนิดมีแป้งยี่ห้อ B	80	85.91± 14.58	157.08 ± 2.62	87.75 ± 21.42
ถุงมือยางธรรมชาติแบบบางชนิดมีแป้งยี่ห้อ C	170	172.95 ± 41.63	312.83 ± 15.46	85.44 ± 24.14
ถุงมือยางธรรมชาติแบบบางชนิดไม่มีแป้งยี่ห้อ D	110	117.06 ± 15.47	205.45 ± 5.93	81.71± 14.26
ถุงมือยางธรรมชาติแบบหนาชนิดไม่มีแป้งยี่ห้อ E	200	208.41±45.07	386.38 ± 8.41	86.67 ± 22.34
ถุงมือยางธรรมชาติแบบหนาชนิดไม่มีแป้งยี่ห้อ F	200	199.01±4.07	361.67 ± 8.81	83.61 ± 6.34
ถุงมือยางธรรมชาติแบบหนาชนิดไม่มีแป้งยี่ห้อ G	80	80.93 ± 19.84	149.29 ± 5.32	85.03 ± 29.39
ถุงมือโพลีเอทธิลีนยี่ห้อ H	130	138.74 ± 56.98	246.93 ± 4.89	84.23 ± 45.91
ถุงมือโพลีเอทธิลีนยี่ห้อ I	30	32.29 ± 7.72	59.05 ± 1.86	93.24 ± 24.61
ถุงมือโพลีเอทธิลีนยี่ห้อ J	10	17.45 ± 0.23	24.50 ± 1.50	82.94 ± 5.53

ภาคผนวก ค

ข้อมูลผลการทดลอง

ปริมาณสารตกค้างจากการระเหย และฟีนอล

ตารางภาคผนวกที่ ค-1 ปริมาณเฉลี่ยและส่วนเบี่ยงเบนมาตรฐานของสารตกค้างจากการระเหยที่เคลื่อนย้ายออกจากถุงมือที่ใช้สัมผัสอาหาร 4 ชนิด

ตัวอย่าง	จำนวนครั้งที่ (กรัม)					Mean ± SD
	1	2	3	4	5	
ถุงมือยางธรรมชาติแบบบางชนิดมีแป้งยี่ห้อ A	3.83×10^{-2}	4.63×10^{-2}	4.47×10^{-2}	4.94×10^{-2}	3.59×10^{-2}	$4.29 \times 10^{-2} \pm 0.005$
ถุงมือยางธรรมชาติแบบบางชนิดมีแป้งยี่ห้อ B	0.015	0.016	0.013	1.39×10^{-2}	0.017	0.015 ± 0.002
ถุงมือยางธรรมชาติแบบบางชนิดมีแป้งยี่ห้อ C	1.82×10^{-1}	1.79×10^{-1}	0.18×10^{-1}	1.80×10^{-1}	1.80×10^{-1}	$1.80 \times 10^{-1} \pm 0.001$
ถุงมือยางธรรมชาติแบบบางชนิดไม่มีแป้งยี่ห้อ D	8.30×10^{-3}	8.30×10^{-3}	8.80×10^{-3}	9.30×10^{-3}	9.80×10^{-3}	$8.90 \times 10^{-3} \pm 0.0006$
ถุงมือยางธรรมชาติแบบหนาชนิดไม่มีแป้งยี่ห้อ E	2.46×10^{-2}	2.72×10^{-2}	1.96×10^{-2}	2.61×10^{-2}	2.56×10^{-2}	$2.46 \times 10^{-2} \pm 0.003$
ถุงมือยางธรรมชาติแบบหนาชนิดไม่มีแป้งยี่ห้อ F	3.85×10^{-2}	4.98×10^{-2}	0.04×10^{-2}	3.18×10^{-2}	4.17×10^{-2}	$4.13 \times 10^{-2} \pm 0.006$
ถุงมือยางธรรมชาติแบบหนาชนิดไม่มีแป้งยี่ห้อ G	0.07	0.06	0.08	6.75×10^{-2}	0.07	0.07 ± 0.01
ถุงมือโพลีเอทธิลีนยี่ห้อ H	2.80×10^{-3}	2.90×10^{-3}	2.80×10^{-3}	2.90×10^{-3}	3.00×10^{-3}	$2.34 \times 10^{-3} \pm 0.001$
ถุงมือโพลีเอทธิลีนยี่ห้อ I	4.80×10^{-3}	5.00×10^{-3}	0.005×10^{-3}	4.80×10^{-3}	5.00×10^{-3}	$4.88 \times 10^{-3} \pm 0.0001$
ถุงมือโพลีเอทธิลีนยี่ห้อ J	0.005	0.005	0.005	5.1×10^{-3}	0.005	0.005 ± 0.0001

ตารางภาคผนวกที่ ค-2 ความเข้มข้นเฉลี่ยและส่วนเบี่ยงเบนมาตรฐานของฟีนอลที่เคลื่อนย้ายจากถุงมือที่ใช้สัมผัสอาหาร 4 ชนิด

ตัวอย่าง	จำนวนครั้งที่ (ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร)					Mean ± SD
	1	2	3	4	5	
ถุงมือยางธรรมชาติแบบบางชนิดมีแป้งยี่ห้อ A	70.25	100.98	94.41	92.06	87.55	89.052 ± 11.57
ถุงมือยางธรรมชาติแบบบางชนิดมีแป้งยี่ห้อ B	83.92	87.54	106.33	65.27	86.50	85.91± 14.58
ถุงมือยางธรรมชาติแบบบางชนิดมีแป้งยี่ห้อ C	165.19	215.37	205.14	109.51	169.57	172.95 ± 41.63
ถุงมือยางธรรมชาติแบบบางชนิดไม่มีแป้งยี่ห้อ D	138.78	95.06	117.885	117.035	116.526	117.06 ± 15.47
ถุงมือยางธรรมชาติแบบหนาชนิดไม่มีแป้งยี่ห้อ E	222.20	211.79	274.90	168.20	164.97	208.41±45.07
ถุงมือยางธรรมชาติแบบหนาชนิดไม่มีแป้งยี่ห้อ F	196.52	197.94	205.94	195.71	198.95	199.01±4.07
ถุงมือยางธรรมชาติแบบหนาชนิดไม่มีแป้งยี่ห้อ G	72.53	70.75	100.33	57.89	103.14	80.93 ± 19.84
ถุงมือโพลีเอทธิลีนยี่ห้อ H	82.29	126.02	89.70	209.01	186.67	138.74 ± 56.98
ถุงมือโพลีเอทธิลีนยี่ห้อ I	37.60	40.46	22.20	34.84	26.35	32.29 ± 7.72
ถุงมือโพลีเอทธิลีนยี่ห้อ J	17.14	17.32	17.47	17.77	17.45	17.45 ± 0.23

ภาคผนวก ง

การวิเคราะห์ทางสถิติ

ภาคผนวก ง

การวิเคราะห์ทางสถิติ

โดยเป็นการวิเคราะห์แบบทางเดียว (One-Way ANOVA) โดยมี Tukey (HSD) เป็น posthoc test เป็นการวิเคราะห์ความแปรปรวน โดยเปรียบเทียบปริมาณฟีนอล และสารตกค้างกับถุงมือประเภทต่างๆแสดงในตารางภาคผนวกที่ ง-1 ถึง ง-4

ตารางภาคที่ ง-1 เปรียบเทียบปริมาณฟีนอลที่ถูกชะออกมาจากตัวอย่างถุงมือประเภทต่างๆ โดยใช้วิธี One-Way ANOVA

ANOVA

	Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.
Between Groups	75047.562	2	37523.781	10.511	.000
Within Groups	149943.429	42	3570.082		
Total	224990.990	44			

ตารางภาคที่ ง-2 เปรียบเทียบปริมาณฟีนอลที่ถูกชะออกมาจากตัวอย่างถุงมือประเภทต่างๆ ทดสอบ Multiple Comparisons ด้วยวิธี Tukey (HSD)

Multiple Comparisons

Tukey HSD

(I) VAR00001	(J) VAR00001	Mean Difference (I-J)	Std. Error	Sig.	95% Confidence Interval	
					Lower Bound	Upper Bound
A	B	-46.81133	21.81767	.093	-99.8172	6.1946
	C	53.15333*	21.81767	.049	.1474	106.1592
B	A	46.81133	21.81767	.093	-6.1946	99.8172
	C	99.96467*	21.81767	.000	46.9588	152.9706
C	A	-53.15333*	21.81767	.049	-106.1592	-.1474
	B	-99.96467*	21.81767	.000	-152.9706	-46.9588

*. The mean difference is significant at the 0.05 level.

หมายเหตุ

A = ถุงมือยางธรรมชาติแบบบางชนิดมีแป้ง

B = ถุงมือยางธรรมชาติแบบหนาชนิดไม่มีแป้ง

C = ถุงมือพลาสติก

ตารางภาคที่ ง-3 เปรียบเทียบปริมาณสารตกค้างจากการระเหยที่ถูกชะออกมาจากตัวอย่างถุงมือประเภทต่างๆ โดยใช้วิธี One-Way ANOVA

ANOVA

	Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.
Between Groups	33437.676	2	16718.838	9.450	.000
Within Groups	74307.546	42	1769.227		
Total	107745.222	44			

ตารางภาคที่ ง-4 เปรียบเทียบปริมาณสารตกค้างจากการระเหยที่ถูกชะออกมาจากตัวอย่างถุงมือประเภทต่างๆทดสอบ Multiple Comparisons ด้วยวิธี Tukey (HSD)

Multiple Comparisons

Tukey HSD

(I) VAR00001	(J) VAR00001	Mean Difference (I-J)	Std. Error	Sig.	95% Confidence Interval	
					Lower Bound	Upper Bound
A	C	25.27333	15.35894	.238	-12.0411	62.5878
	B	66.15967*	15.35894	.000	28.8452	103.4741
C	A	-25.27333	15.35894	.238	-62.5878	12.0411
	B	40.88633*	15.35894	.029	3.5719	78.2008
B	A	-66.15967*	15.35894	.000	-103.4741	-28.8452
	C	-40.88633*	15.35894	.029	-78.2008	-3.5719

*. The mean difference is significant at the 0.05 level.

หมายเหตุ

A = ถุงมือยางธรรมชาติแบบบางชนิดมีแป้ง

B = ถุงมือยางธรรมชาติแบบหนาชนิดไม่มีแป้ง

C = ถุงมือพลาสติก

ภาคผนวก จ

ภาพตัวอย่างและการทดลอง

ภาคผนวก จ

ตัวอย่างถุงมือที่ใช้ในการทดลองแสดงในภาพภาคผนวกที่ จ-1 ถึง จ-4

ภาพภาคผนวกที่ จ-1 ถุงมือยางธรรมชาติแบบบางชนิดมีแป้ง

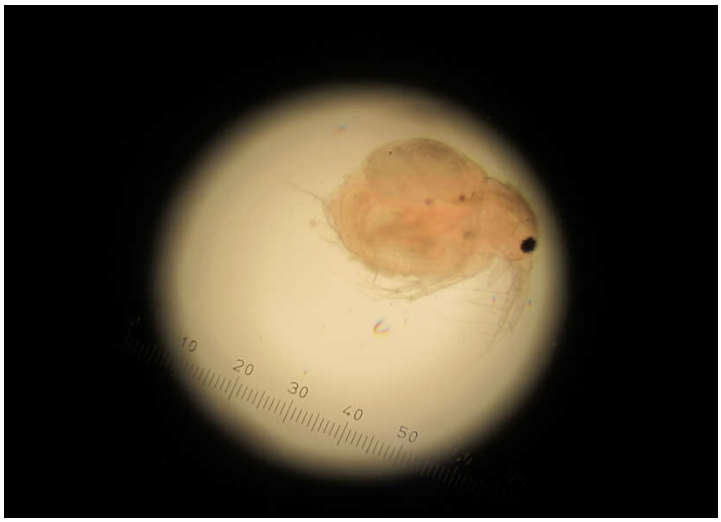
ภาพภาคผนวกที่ จ-2 ถุงมือยางธรรมชาติแบบบางชนิดไม่มีแป้ง

ภาพภาคผนวกที่ จ-3 ถุงมือยางธรรมชาติแบบหนาชนิดไม่มีแป้ง

ภาพภาคผนวกที่ จ-4 ถุงมือโพลีเอทธิลีน

ภาพขั้นตอนการดำเนินการวิจัย แสดงไว้ในภาพภาคผนวกที่ จ-5 ถึง จ-10

ภาพภาคผนวกที่ จ-5 การเพาะเลี้ยงไรแดงด้วยสาหร่ายคลอเรลลา



ภาพภาคผนวกที่ จ-6 ลักษณะของไรแดงเพศเมีย

ภาพภาคผนวกที่ จ-7 การสกัดตัวอย่างน้ำชะถุงมือเพื่อนำไปวิเคราะห์หาฟีนอล

ภาพภาคผนวกที่ จ-8 ขั้นตอนการกำจัดสารปนเปื้อน

ภาพภาคผนวกที่ จ-9 การอุ่นสารเพื่อนำไปวิเคราะห์หาฟอร์มัลดีไฮด์

ภาพภาคผนวกที่ จ-10 การเตรียมตัวอย่างน้ำชะถุงมือเพื่อนำไปวิเคราะห์หาสารตกค้างจากการระเหย

ประวัติผู้เขียน

ชื่อ สกุล นางสาวเติมสิน ทองไกร

รหัสประจำตัวนักศึกษา 5410920028

วุฒิการศึกษา

วุฒิ	ชื่อสถาบัน	ปีที่สำเร็จการศึกษา
วิทยาศาสตรบัณฑิต (เคมี)	มหาวิทยาลัยสงขลานครินทร์	2554

การตีพิมพ์เผยแพร่ผลงาน

การเผยแพร่ในการประชุมวิชาการ

เติมสิน ทองไกร บรรจง วิทยวีรศักดิ์ และ สุปียนิตย์ ไม้แพ. 2557. การทดสอบความเป็นพิษเฉียบพลันต่อไรแดงที่ใช้ในการตรวจคัดกรองฟีนอล ฟอร์มัลดีไฮด์ และสารตกค้างจากการระเหยที่ถูกชะออกมาจากถุงมือที่ใช้สัมผัสอาหาร. ในเอกสารการประชุมวิชาการระดับชาติมหาวิทยาลัยทักษิณ ครั้งที่ 24 ประจำปีการศึกษา 2557 เรื่อง “ วิจัยเพิ่มมูลค่าเศรษฐกิจก้าวหน้า การศึกษาก้าวไกล สังคมไทยยั่งยืน’’ ระหว่างวันที่ 21-24 พฤษภาคม 2557 ณ ศูนย์ประชุมนานาชาติฉลองสิริราชสมบัติครบ 60 ปี อำเภอหาดใหญ่ จังหวัดสงขลา. หน้า 156-163.