บทที่ 4

วิจารณ์

1. ผลของโพแทสเซียมไดโครเมตต่อเปอร์เซนต์ไมโตติกอินเด็กซ์

1.1 ผลต่อการแบ่งเซลล์

ผลการศึกษาพบว่าสารละลายโพแทสเซียมไดโครเมตทุกความเข้มข้นที่ใช้ในการทดลองครั้งนี้ไม่มีผลต่อเปอร์เซนต์ไมโตติกอินเด็กซ์โดยมีค่าไม่แตกต่างไปจากการทดลองควบคุม แสดงว่าโปแทสเซียมไดโครเมตไม่มีผลต่ออัตราการแบ่งตัวของเซลล์ในปลาตะเพียนขาววัยอ่อน อย่างไรก็ตามในชุดควบคุมของการทดลองทั้งสองการทดลองมีไมโตติกอินเด็กซ์ค่อนข้างต่ำ คือ 0.23 $\pm$ 0.01 เปอร์เซ็นต์ในการทดลองเบื้องต้น และ 0.18 $\pm$ 0.01 เปอร์เซนต์ในการทดลอง Full scale test ทำให้เซลล์ในระยะเมตาเฟสที่ใช้ในการศึกษาครั้งนี้มีจำนวนน้อยตามไปด้วย

ผลจากการทดลองครั้งนี้สอดคล้องกับรายงานของ Patra *et al*. (2001) ซึ่งพบว่าสารสกัดจากผักที่ปนเปื้อนโครเมียมและโลหะหนักอื่นๆจากโรงงานไม่มีผลต่อไมโตติกอินเด็กซ์ในหนูแต่การทดลองของ Patra *et al*. (2001) ไม่ได้ใช้โพแทสเซียมไดโครเมตโดยตรง สำหรับการทดสอบด้วยโพแทสเซียมไดโครเมตโดยตรงและได้ผลแตกต่างจากการทดลองครั้งนี้ คือการทดลองของ Guerci *et al*.(2000) โดยรายงานว่าโพแทสเซียมไดโครเมตมีผลให้ไมโตติกอินเด็กซ์ลดลงทำให้จำนวนเซลล์ที่นำมาศึกษาการเกิดแอนยูพลอยด์ในเซลล์ MRC-5 ของคนโดยการเพาะเลี้ยงมีน้อยลงด้วย นอกจากนี้ยังมีรายงานของ Bakke *et al*. (1984) ศึกษาผลของโพแทสเซียมไดโครเมตต่อเซลล์ NHIK 3025 ในการแบ่งตัวในระยะต่างๆพบว่าที่ความเข้มข้น 0.29 – 0.58 ppm ส่งผลให้ระยะเวลาในช่วง G_2 ,มีเวลานานขึ้นและเมื่อความเข้มข้นมากกว่า 0.58 ppm เซลล์จะหยุดการแบ่งตัวและยังพบอีกว่าสารประกอบพวกโครเมตนี้จะมีพิษและทำลายเซลล์ได้ดีในระยะ S และมีพิษสูงที่ความเข้มข้น 2.35 ppm ส่งผลให้เซลล์หยุดชะงักในช่วงต้นของระยะ S การศึกษาของ Bakke *et al*.(1984)สรุปว่าโพแทสเซียมไดโครเมตมีผลต่อการสังเคราะห์ดีเอ็นเอและอาร์เอ็นเอ ในระยะ S และไปรบกวนในระยะ G_2

สำหรับในพืชมีการศึกษาได้ผลแตกต่างกับการทดลองครั้งนี้ได้แก่ การศึกษาของ Liu *et al*. (1992) พบว่าโครเมียมชนิด Cr^{3+} และ Cr^{6+} มีผลต่อการแบ่งเซลล์ในหอม *Allium cepa* โดยทั้งโพแทสเซียมไดโครเมต และโครเมียมไนเตรท ยับยั้งการเติบโตของรากและทำให้การแบ่งตัวของ

เซลล์ผิดปกติ ความผิดปกติที่พบได้แก่ โครโมโซมไม่เคลื่อนเข้าสู่ขั้วเซลล์ โดยโพแทสเซียมไดโครเมต ยับยั้งการเติบโตของรากและการแบ่งเซลล์ได้มากกว่าโครเมียมไนเตรท

ในพวกแบคทีเรียได้ผลแตกต่างเช่นเดียวกันได้แก่ การศึกษาของ Ogawa *et al*.(1989) ถึงผลกระทบของโพแทสเซียมไดโครเมตและโครมิคคลอไรด์ซึ่งเป็นสารประกอบที่ได้จากน้ำเสียจากโรงงานฟอกหนังต่อการเจริญเติบโตของแบคทีเรีย *Bacillus subtilis* ที่ใช้ในการบำบัดน้ำเสียจากโรงงาน พบว่าทั้งโพแทสเซียมไดโครเมตและโครมิคคลอไรด์ยับยั้งอัตราการสังเคราะห์ ดีเอ็นเอ และพบว่าโพแทสเซียมไดโครเมตจะทำให้ช่วงรุ่นยาวนานขึ้นในขณะเดียวกันจะไปลดการแบ่งเซลล์ทำให้มีการแบ่งเซลล์ช้าลง

1.2 การเลือกเซลล์นำมาศึกษา

ในการทดลองครั้งนี้ใช้เซลล์บริเวณเหงือกของปลามาศึกษา ซึ่งจากการทดลองของ Sabti (1985) พบว่าเซลล์บริเวณเหงือกเป็นบริเวณที่เซลล์มีการแบ่งตัวน้อยเมื่อเทียบกับเซลล์บริเวณไต นอกจากนี้การทดสอบความเป็นพิษของการเปลี่ยนแปลงอุณหภูมิโดยฉับพลันต่อเซลล์ของปลาทอง(*Carassius auratus*) โดย Anitha *et al*.(2000) โดยใช้เซลล์บริเวณไตพบว่าการทดลองควบคุมมีเปอร์เซนต์ไมโตติกอินเด็กซ์สูงกว่าการทดลองครั้งนี้ถึง 10 เท่า สาเหตุที่การทดลองครั้งนี้ไม่นำเซลล์บริเวณไตมาศึกษาเนื่องจากสารละลายโพแทสเซียมไดโครเมตจะเข้าทำลายตรงบริเวณเหงือกมากกว่าบริเวณไต (Sabti,1985) จึงเลือกที่จะนำเซลล์บริเวณเหงือกมาศึกษาส่งผลให้ไมโตติกอินเด็กซ์มีค่าน้อยอาจทำให้เห็นความแตกต่างในแต่ละความเข้มข้นไม่ชัดเจนซึ่งแตกต่างกับการทดลองของ Guerci *et al*.,2000 ที่ทดลองในเซลล์ที่เพาะเลี้ยงซึ่งจะมีการแบ่งเซลล์อยู่ตลอดเวลา ดังนั้นไมโตติกอินเด็กซ์จึงมีค่าสูงและสามารถเห็นความแตกต่างได้ชัดเจนกว่าการที่มีค่าไมโตติกอินเด็กซ์ต่ำในกรณีที่ทดสอบสารที่สามารถชักนำให้เกิดการเปลี่ยนแปลงไมโตติกอินเด็กซ์ได้

2.ผลต่อการเปลี่ยนแปลงจำนวนโครโมโซม

2.1 จำนวนโครโมโซมในเซลล์ดิพลอยด์

จากผลการทดลองชุดควบคุม พบว่าจำนวนเซลล์ที่มีโครโมโซม 50 แท่งมีมากที่สุดทั้งการสำรวจเบื้องต้นและการทดลอง Full scale test แสดงว่าปลาตะเพียนขาวที่ใช้ในการทดลองครั้งนี้เซลล์ดิพลอยด์มีจำนวนโครโมโซม 50 แท่ง สอดคล้องกับรายงานของธวัช ดอนสกุลและวิเชียร มากตุ่น (2540) และเพื่อเป็นการลดความผิดพลาดจากวิธีการเตรียมเซลล์และนับจำนวนโครโมโซมจึงกำหนดให้เซลล์ที่มีชุดโครโมโซมเป็นดิพลอยด์มีโครโมโซมอยู่ในช่วง 47-51 แท่งตามวิธีของ Oshima (2001) ดังนั้นเซลล์ที่มีโครโมโซมน้อยกว่า 47 แท่งและมากกว่า 51 แท่ง จัดเป็นเซลล์ไฮโปดิพลอยด์และไฮเปอร์ดิพลอยด์ตามลำดับ

2.2 ผลของโพแทสเซียมไดโครเมตต่อจำนวนโครโมโซม

2.2.1 การสำรวจเบื้องต้น

จากการสำรวจเบื้องต้นพบการกระจายของจำนวนโครโมโซมต่อเซลล์ในปลาที่ได้รับสารละลายโพแทสเซียมไดโครเมตอยู่ในช่วง 18-70แท่งทั้งความเข้มข้น 0.3 และ 0.7 ppm ซึ่งเป็นการกระจายอยู่ในช่วงกว้างกว่าที่พบในการทดลองควบคุมแสดงว่าโพแทสเซียมไดโครเมตมีผลต่อการเปลี่ยนแปลงจำนวนโครโมโซม เมื่อเปรียบเทียบชุดโครโมโซมที่พบแต่ละกลุ่มพบว่าชุดโครโมโซมที่เป็นไฮโปดิพลอยด์จากการทดลองที่ได้รับสารละลายโพแทสเซียมไดโครเมตมีมากกว่าการทดลองควบคุมแสดงว่าสารละลายโพแทสเซียมไดโครเมตเป็นสารที่ชักนำให้เกิดไฮโปดิพลอยด์ซึ่งผลสอดคล้องกับเซลล์ที่มีชุดโครโมโซมเป็นดิพลอยด์ในการทดลองควบคุมซึ่งมีมากกว่าในการทดลองที่ได้รับสารละลายโพแทสเซียมไดโครเมต สำหรับเซลล์ที่มีชุดโครโมโซมเป็นไฮเปอร์ดิพลอยด์พบว่าการทดลองควบคุมมีความแตกต่างกับความเข้มข้น 0.3 ppm แต่ไม่แตกต่างกับความเข้มข้น0.7 ppm ในขณะที่ความเข้มข้น 0.3 และ 0.7 ppm ไม่แตกต่างกันแสดงว่าสารละลายโพแทสเซียมไดโครเมตจะชักนำให้เกิดไฮเปอร์ดิพลอยด์ที่ความเข้มข้น 0.3 ppm ได้เช่นเดียวกับการเกิดไฮโปดิพลอยด์ สรุปได้ว่า ที่ความเข้มข้น 0.3 ppm เป็นความเข้มข้นที่ทำให้มีการเปลี่ยนแปลงจำนวนโครโมโซมทั้งแบบไฮโปดิพลอยด์และไฮเปอร์ดิพลอยด์

2.2.2 การทดลอง Full scale test

ในการทดลอง Full scale test พบการกระจายของจำนวนโครโมโซมต่อเซลล์ในปลาที่ได้รับสารละลายโพแทสเซียมไดโครเมตความเข้มข้น0.05 ppm อยู่ในช่วง 18-70แท่ง ความเข้มข้น 0.15 ppm อยู่ในช่วง 19-70แท่งและความเข้มข้น 0.3 ppm อยู่ในช่วง 20-70แท่ง ซึ่งมีการกระจายอยู่ในช่วงกว้างกว่าการทดลองควบคุมเช่นเดียวกับการสำรวจเบื้องต้นเป็นการยืนยันว่าโพแทสเซียมไดโครเมตมีผลต่อการเปลี่ยนแปลงจำนวนโครโมโซม

2.2.3 ชุดโครโมโซมไฮโปดิพลอยด์

เมื่อเปรียบเทียบเซลล์ที่มีชุดโครโมโซมแต่ละกลุ่มพบว่าชุดโครโมโซมที่เป็นไฮโปดิพลอยด์จากการทดลองที่ได้รับสารละลายโพแทสเซียมไดโครเมตมีมากกว่าการทดลองควบคุม โดยที่ความเข้มข้น0.05 และ 0.15 ppm ซึ่งเป็นความเข้มข้นที่ต่ำลงแต่ทำให้เกิดเซลล์ไฮโปดิพลอยด์มากกว่าความเข้มข้น 0.3 ppm ซึ่งเซลล์ไฮโปดิพลอยด์จากความเข้มข้น0.3 ppm ในการทดลอง Full scale test มีเปอร์เซนต์ใกล้เคียงกับการสำรวจเบื้องต้น ยังพบว่าเซลล์ไฮโปดิพลอยด์จากความเข้มข้น 0.7 ppmในการทดลองเบื้องต้นมีน้อยกว่าที่พบในการทดลองที่ความเข้มข้น 0.05 ppm และ 0.15 ppm อีกด้วย ผลที่ได้แสดงว่าสารละลายโพแทสเซียมไดโครเมตที่ความเข้มข้นต่ำสามารถทำให้เกิดไฮโปดิพลอยด์มากกว่าที่ความเข้มข้นสูง ผลของโพแทสเซียมไดโครเมตในการชักนำให้เกิดเซลล์ที่มีชุดโครโมโซมไฮโปดิพลอยด์สอดคล้องกับการทดลองควบคุมโดยในการทดลองควบคุมมีชุดโครโมโซมดิพลอยด์มากกว่าชุดโครโมโซมอื่น

การทดลองครั้งนี้สอดคล้องกับรายงานของ Guerci *et al*.(2000) ซึ่งศึกษาการเปลี่ยนแปลงจำนวนโครโมโซมในเซลล์ MRC-5 ของคนในจานเพาะเลี้ยงโดยได้รับสารโพแทสเซียมไดโครเมตความเข้มข้นต่างๆและพบว่าตั้งแต่ความเข้มข้น 0.07 ppm ขึ้นไปสามารถชักนำให้เกิดการเปลี่ยนแปลงจำนวนโครโมโซมได้โดยเซลล์ที่พบเป็นชนิดไฮโปดิพลอยด์มากกว่าไฮเปอร์ดิพลอยด์เช่นเดียวกับการทดลองครั้งนี้ ส่วนสาเหตุของการเกิดไฮโปดิพลอยด์นั้นอธิบายโดย Seoane และ Dulout (2001) ซึ่งศึกษาการเกิดการเปลี่ยนแปลงจำนวนโครโมโซมโดยศึกษาในไมโครนิวเคลียสของเซลล์บริเวณปอดของผู้หญิงด้วยการย้อมสี kinetochore โดยใช้วิธี Cytokinesis-blocked micronucleus assay พบส่วนที่ย้อมติดสีมากกว่าส่วนที่ย้อมไม่ติด รายงานสรุปว่าเซลล์มีโอกาสที่จะเกิดการเปลี่ยนแปลงจำนวนโครโมโซมได้มากและเป็นชนิดไฮโปดิพลอยด์ เนื่องจากโครโมโซมจะเคลื่อนที่เข้าสู่ขั้วเซลล์ได้ไม่หมดทุกแท่งเมื่อเซลล์แบ่งตัวจำนวนโครโมโซมในเซลล์จะลดลง นอกจากนี้พบว่าสาเหตุที่ทำให้มีการเปลี่ยนแปลงจำนวนโครโมโซมเกิดจาก Cr^{6+} มีผลทำให้เซนโตรเมียร์เสื่อมสภาพทำให้โครโมโซมไม่เคลื่อนเข้าสู่ขั้วเซลล์และทำให้เกิดการแตกของ

นิวเคลียสซึ่งเป็นสาเหตุที่ทำให้เกิดการเปลี่ยนแปลงจำนวนโครโมโซม (Liu *et al*., 1992 ; Sahi *et al*.,1998)

2.2.4 ชุดโครโมโซมไฮเปอร์ดิพลอยด์

สำหรับชุดโครโมโซมที่เป็นไฮเปอร์ดิพลอยด์สามารถชักนำให้เกิดได้ที่ความเข้มข้น 0.3 ppm โดยที่ความเข้มข้น 0.05 และ 0.15 เปอร์เซนต์เซลล์ไฮโปดิพลอยด์มีค่าไม่แตกต่างจากชุดควบคุมแต่จะมีค่าเพิ่มขึ้นเมื่อมีความเข้มข้นสูงขึ้นแต่จะเพิ่มอย่างช้าๆเห็นได้จากที่ความเข้มข้น 0.15 และ 0.3 ppm ไม่มีความแตกต่างกันแสดงว่าโพแทสเซียมไดโครเมตชักนำให้เกิดไฮโปดิพลอยด์เมื่อมีความเข้มข้นสูงขึ้นเมื่อเปรียบเทียบกับค่าที่ได้ในการสำรวจเบื้องต้นที่ความเข้มข้น 0.7 ppm พบว่ามีค่าไม่แตกต่างกับความเข้มข้น 0.3 ppm แสดงว่าเมื่อความเข้มข้นสูงจนถึงระดับหนึ่งการเกิดไฮเปอร์ดิพลอยด์อาจจะคงที่ สำหรับการชักนำให้เกิดไฮเปอร์ดิพลอยด์ในการทดลองครั้งนี้พบว่าสามารถชักนำให้เกิดได้เช่นเดียวกับการทดลองของ (Guerci *et al*.,2000) นอกจากนี้ยังพบว่าสามารถชักนำให้เกิดโพลีพลอยด์ได้ จากการทดลองของ Ahmed *et al*.(1998) ซึ่งศึกษาโครโมโซมของควายที่อาศัยในเขตมลพิษที่มีโครเมียมปนเปื้อนอยู่ด้วยพบว่าสามารถชักนำให้เกิดโพลีพลอยด์ได้ สรุปได้ว่าสารละลายโพแทสเซียมไดโครเมตสามารถชักนำให้เกิดไฮเปอร์ดิพลอยด์ได้ในความเข้มข้น0.3 ppm และจะคงที่เมื่อถึงความเข้มข้น 0.7 ppm ซึ่งควรมีการศึกษาการเปลี่ยนแปลงในช่วงความเข้มข้น 0.3-0.7 ppm ต่อไป2.2.5 เปรียบเทียบชุดโครโมโซมไฮโปดิพลอยด์และไฮเปอร์ดิพลอยด์

2.2.5 เปรียบเทียบชุดโครโมโซมไฮโปดิพลอยด์และไฮเปอร์ดิพลอยด์

เมื่อพิจารณาความแตกต่างของจำนวนเซลล์ที่มีชุดโครโมโซมแบบไฮโปดิพลอยด์และไฮเปอร์ดิพลอยด์ของการทดลองที่ได้รับสารละลายโพแทสเซียมไดโครเมตพบว่าเกิดไฮโปดิพลอยด์มากกว่าไฮเปอร์ดิพลอยด์ทุกความเข้มข้นทั้งการสำรวจเบื้องต้นและการทดลอง Full scale test เป็นการยืนยันว่าโพแทสเซียมไดโครเมตสามารถชักนำให้เกิดไฮโปดิพลอยด์ได้ดีกว่าไฮเปอร์ดิพลอยด์

Rao *et al*.(1999)พบว่าที่ความเข้มข้นของโพแทสเซียมไดโครเมตสูงสามารถชักนำให้เกิดการเปลี่ยนแปลงจำนวนโครโมโซมได้ซึ่งในการทดลองครั้งนี้ความเข้มข้นที่เริ่มทำให้เกิดการเปลี่ยนแปลงจำนวนโครโมโซมคือตั้งแต่ 0.05 ppm ขึ้นไปซึ่งเป็นความเข้มข้นที่กฎหมายกำหนดไม่ให้มีเกินในแหล่งน้ำธรรมชาติ แสดงว่าความเข้มข้นระดับนี้ยังไม่เป็นที่ปลอดภัยต่อสัตว์น้ำเนื่องจากการเกิดการเปลี่ยนแปลงจำนวนโครโมโซมอาจส่งผลให้เกิดเซลล์มะเร็งได้ (Oshima,2001) ควรมีการศึกษาต่อไปอีกเพื่อหาความเข้มข้นที่เหมาะสม นอกจากนี้ยังมีสารชนิด

ื่นที่พบว่าส่งผลให้เกิดการเปลี่ยนแปลงจำนวนโครโมโซมได้เช่นกันคือการทดลองของ Oshima (2001) ซึ่งศึกษาการเกิดการชักนำให้เกิดแอนยูพลอยด์โดย นิเกิลซัลเฟต ($NiSO_4$) ในเซลล์ V79 ของหนู พบว่านิเกิลส่วนใหญ่ชักนำให้เกิดไฮเปอร์ดิพลอยด์และยังพบความเสียหายของโครโมโซมชนิด lagging chromosome และ chromosome bridge พบว่าโครโมโซมไม่เคลื่อนเข้าสู่ขั้วเซลล์ทั้งหมดในระยะแอนาเฟสและเทโลเฟสซึ่งสาเหตุอาจเป็นเพราะมีความเสียหายของเส้นใยสปินเดิล

3. ผลต่อการเปลี่ยนแปลงโครงสร้างของโครโมโซม

3.1 ชนิดความเสียหายของโครโมโซม

จากการสำรวจเบื้องต้นพบความเสียหายของโครงสร้างโครโมโซม 3 แบบโดยการเกิดช่องว่างในโครมาติดพบมากที่สุด รองลงมาคือชิ้นส่วนโครโมโซมและโครโมโซมเป็นวงตามลำดับซึ่งเหมือนกับที่พบในการทดลอง Full scale test สำหรับความเข้มข้นที่เริ่มชักนำให้เกิดการเปลี่ยนแปลงโครงสร้างคือ 0.05 ppm โดยเปอร์เซนต์เซลล์เสียหายเพิ่มขึ้นเมื่อเมื่อความเข้มข้นของโพแทสเซียมไดโครเมตสูงขึ้น และยังพบว่าที่ความเข้มข้น 0.3 ppm มีค่าความเสียหายใกล้เคียงกันทั้งสองการทดลองอีกด้วยแต่ พบว่าที่ความเข้มข้น0.7 ppm มีเปอร์เซนต์ความเสียหายเท่ากับที่ความเข้มข้น 0.3 ppm แสดงว่าตั้งแต่ความเข้มข้น0.3 ppm ขึ้นไปการเปลี่ยนแปลงโครงสร้างอาจจะคงที่ ดังนั้นจึงควรศึกษาในช่วง 0.3-0.7 ppm เพื่อดูแนวโน้มการเปลี่ยนแปลงด้วย

การศึกษาครั้งนี้สามารถสรุปได้ว่าโพแทสเซียมไดโครเมตจัดเป็นสารก่อการหักของโครโมโซม (clastogen) ในปลาตะเพียนขาวซึ่งสอดคล้องกับหลายรายงานเช่น การศึกษาความเป็นพิษของโพแทสเซียมไดโครเมตต่อเซลล์เม็ดเลือดขาวในคนพบว่าก่อให้เกิดความเสียหายชนิดเกิดช่องว่างในโครมาติดและ โครมาติดฉีกขาดในความเข้มข้นช่วง 0.01 – 0.1 ppm (Botta *et al.*,1996) การตรวจสอบความผิดปกติของโครโมโซมในหนูที่กินสารสกัดจากผักที่ปนเปื้อนโครเมียมพบว่ามีความเสียหายชนิด chromosome type และ chromatid type ซึ่งรวมทั้งมีการเกิดช่องว่างบริเวณโครมาติดด้วย (Patra *et a*l.,2001) นอกจากนี้ยังพบว่า Cr^{6+} ชักนำให้เกิด mitotic recombination จากการทดลองของ Graf *et al*. (1992) ศึกษาถึงผลของสารประกอบ Cr^{6+} ออกไซด์และสารประกอบ Cr^{3+} คลอไรด์ ในการชักนำให้เกิด mitotic recombination ในเซลล์ปีกของแมลงหวี่ *Drosophila melanogaster* พบว่าโครเมียมรูปแบบสารประกอบ Cr^{6+} ออกไซด์มีผลในการชักนำให้เกิด mitotic recombination ขณะที่สารประกอบ Cr^{3+} คลอไรด์ ไม่มีผลต่อการเกิด mitotic recombination ในเซลล์พืชพบว่าสามารถก่อการหักได้เช่นกันได้แก่ การศึกษาผลของCr^{6+} ต่อการเปลี่ยนแปลงโครโมโซมของรากหอม (*Allium cepa*) พบว่าที่ความ

ข้นข้น ช่วง 0.003-0.750 ppm ทำให้โครโมโซมหัก (Liu *et al*.,1992) และมีการเชื่อมกับโครโมโซมแท่งอื่น (Sahi *et al*.,1998)

นอกจากส่งผลต่อการหักของโครโมโซมแล้ว มีรายงานว่าโพแทสเซียมไดโครเมตมีผลต่อการเพิ่มการแลกเปลี่ยนซิสเตอร์โครมาติดด้วย เช่นรายงานของ Rao *et al*.(1999) พบว่าที่ความเข้มข้น0.014 ppm และ 0.026 ppm จะทำให้เพิ่มการเกิดการแลกเปลี่ยนซิสเตอร์โครมาติด ต่อเซลล์และโครโมโซมในเซลล์เม็ดเลือดขาวของคนที่เพาะเลี้ยง การเพิ่มของการแลกเปลี่ยนซิสเตอร์โครมาติดในเซลล์ CHO ของหนูที่ได้รับโพแทสเซียมไดโครเมต(Kochhar and Howard,1993) และการเพิ่มของการแลกเปลี่ยนซิสเตอร์โครมาติด ในเซลล์ HEp ที่ได้รับ Cr^{6+} (Levis and Majone,1981) เป็นต้น ซึ่งการเกิดการแลกเปลี่ยนซิสเตอร์โครมาติดต้องมีการหักของโครมาติดเกิดขึ้นก่อนแล้วจึงมีการต่อสลับโครมาติดเกิดขึ้น สนับสนุนว่าโพแทสเซียมไดโครเมตเป็นสารที่ก่อให้เกิดการหักของโครมาติด

สำหรับการศึกษาในระดับ ดีเอ็นเอ เช่น การศึกษาเปรียบเทียบความเป็นพิษของโครเมียมชนิด Cr^{6+}และ Cr^{3+} โดยใช้สารโพแทสเซียมไดโครเมตและโครเมียมคลอไรด์เป็นตัวแทน ทดลองแบบ in vitro ในเซลล์เม็ดเลือดขาวของคนใช้วิธี comet assay พบว่าโพแทสเซียมไดโครเมตทำความเสียหายแก่ดีเอ็นเอ ทั้งนี้จะขึ้นอยู่กับความเข้มข้นด้วยซึ่งเซลล์มีการซ่อมแซมดีเอ็นเอ ภายใน 120 นาที ในขณะที่โครเมียมคลอไรด์ทำให้มีการเปลี่ยนตำแหน่งของหมู่เบส แต่ไม่พบการซ่อมแซม ดีเอ็นเอ นอกจากนี้ยังพบว่าวิตามินซีสามารถยับยั้งการทำลายดีเอ็นเอ ของ โพแทสเซียมไดโครเมตได้ด้วย (Blasiak and Kowalik,2000) สำหรับการศึกษาแบบ in vivo ของโพแทสเซียมไดโครเมตมีการศึกษาในเซลล์เม็ดเลือดขาวของหนูใช้วิธี comet assay เช่นเดียวกันโดยให้โพแทสเซียมไดโครเมตทางปากในปริมาณตั้งแต่ 0.59 - 76 มิลลิกรัม/กิโลกรัมของน้ำหนักตัวแล้วดูผลในระยะเวลาต่างๆ พบว่าทุกการทดลองทำความเสียหายแก่ ดีเอ็นเอ โดยที่ปริมาณ 9.5 มิลลิกรัม/กิโลกรัมของน้ำหนักตัวที่เวลา 48 ชั่วโมงมีความเสียหายมากที่สุด (Dana Devi *et al*.,2001)

3.2 การหักของโครโมโซม

ผลการทดลองแสดงว่าโพแทสเซียมไดโครเมตสามารถชักนำให้เกิดการเปลี่ยนแปลงโครงสร้างของโครโมโซมได้ที่ความเข้มข้น 0.05 ppm และค่อยๆเพิ่มขึ้นจนถึงความเข้มข้น0.3 ppm จนคงที่ที่ความเข้มข้น 0.7 ppm พิจารณาชนิดของความเสียหายที่ตรวจสอบได้ พบว่าการเกิดช่องว่างในโครมาติดซึ่งเกิดจากมีการหักของโครมาติดแต่ไม่ถึงกับทำให้ขาดออกจากกันเนื่องจากยังมี

ใยโครมาตินยึดอยู่มีมากกว่าชิ้นส่วนโครโมโซมซึ่งเกิดจากการขาดของโครมาติดโดยสิ้นเชิง แสดงว่าการเกิดช่องว่างในโครมาติดอาจเกิดได้ง่ายกว่าเนื่องจากก่อการหักน้อยกว่าการทำให้เกิดชิ้นส่วนโครโมโซม ส่วนการเกิดโครโมโซมเป็นวงเกิดน้อยที่สุดเพราะต้องก่อให้เกิดการหักบนโครมาติดถึงสองตำแหน่ง

3.3 สารชนิดอื่นที่ให้ผลเช่นเดียวกัน

สำหรับสารชนิดอื่นที่ส่งผลให้มีการเปลี่ยนแปลงโครงสร้างของโครโมโซมได้แก่การทดลองของSabti (1985) ซึ่งศึกษาความเสียหายของโครโมโซมของปลา rainbow trout (*Salmo gairdneri*) ที่เลี้ยงในสารละลายฟีนอล, decamethrine, neguyon, malathion และน้ำมันดิบ พบว่าสารละลายทุกชนิดทำให้โครโมโซมเสียหาย ความเสียหายที่พบได้แก่ โครโมโซมเป็นวง, โครโมโซมมีสองเซนโตรเมียร์ , โครมาติดหัก, โครโมโซมหักและเกิดแอนยูพลอยด์ โดยใช้เซลล์บริเวณเหงือกและบริเวณไตมาศึกษา พบว่าเซลล์บริเวณไตพบโครโมโซมระยะเมตาเฟสมากกว่าบริเวณเหงือกแต่เซลล์บริเวณเหงือกจะเกิดความเสียหายมากกว่า และยังพบว่าทุกสารละลายใช้ความเข้มข้นตามกฎหมายของของประเทศยูโกสลาเวียแสดงว่ายังไม่เป็นที่ปลอดภัยต่อสัตว์น้ำ สำหรับการตรวจสอบผลจากมลพิษในสิ่งแวดล้อมจริงโดยใช้วิธีทางไซโตเจเนติก ได้แก่การทดลองของ Ahmed *et al*.(1998) ศึกษาความเป็นพิษในระดับเซลล์ของควายที่เลี้ยงในที่ที่มีมลพิษจังหวัด Shoubra El-Kheima ประเทศอียิปต์ซึ่งมีโรงงานมากกว่า 750 โรงงานที่ปล่อยมลพิษทางอากาศและมีโครเมียมปนเปื้อนอยู่ด้วยวัดปริมาณได้ 0.15 ไมโครกรัมต่อลูกบาศก์เมตร โดยศึกษาจากเซลล์เม็ดเลือดขาวพบว่ามีความเสียหายต่อโครโมโซมและมีการแลกเปลี่ยนซิสเตอร์โครมาติดแตกต่างไปจากกลุ่มควบคุม โดยพบความเสียหายชนิดโครมาติดหัก,เกิดช่องว่างในโครมาติด และ centric fusion เกิดขึ้น

การทดลองครั้งนี้พบว่าความเข้มข้น 0.05 ppm ของโพแทสเซียมไดโครเมต ซึ่งเป็นความเข้มข้นที่กฎหมายกำหนดให้มีไม่เกินในแหล่งน้ำธรรมชาติได้ผลแตกต่างไปจากชุดควบคุมแสดงว่ายังเป็นความเข้มข้นที่ไม่ปลอดภัย อย่างไรก็ตามจำนวนเซลล์ที่นำมาศึกษามีจำนวนน้อยคือประมาณ 125 เซลล์ต่อความเข้มข้นเมื่อเทียบกับการทดลองของ Chauhan *et al*. (2000) ที่ใช้เซลล์มากกว่า 380 เซลล์ต่อความเข้มข้นแต่ศึกษาในเซลล์ไขกระดูกที่เพาะเลี้ยงของหนูซึ่งมีค่าไมโตติกอินเด็กซ์มากกว่าการทดลองครั้งนี้ ดังนั้นหากมีการศึกษาต่อควรใช้จำนวนเซลล์ให้มากกว่านี้เพื่อให้ผลการศึกษาแม่นยำขึ้น

4. ผลกระทบที่อาจตามมา

4.1 ผลต่อพฤติกรรมของปลาและสัตว์น้ำ

นอกจากสารประกอบโครเมียมจะมีผลต่อการเปลี่ยนแปลงจำนวนและโครงสร้างของโครโมโซมแล้วยังส่งผลกระทบต่อพฤติกรรมและการรอดตายของปลาและสัตว์น้ำด้วยได้แก่การทดลอง Patel และ Saxena (1983)โดยการให้สารละลายโพแทสเซียมไดโครเมตในปลา *Puntius ticto* ที่ระดับความเข้มข้น 0.5 ppm พบว่า ค่า LC_{50} ใช้เวลา 80 วัน และอัตราการปิดเปิดของแผ่นเหงือกจะเพิ่มขึ้นเมื่อความเข้มข้นเพิ่มขึ้น (10และ 15 ppm)

การทดลองของ Hutchinson *et al*.(1994)ศึกษาผลของแคดเมียม,โครเมียมชนิด Cr^{6+} และทองแดงต่อปลา*Cyprinodon variegatus* วัยอ่อนและโคพีปอด *Tisbe battagliai* สำหรับปลาศึกษาค่าLC_{50}ที่ 96ชั่วโมง พบว่าโครเมียมต้องใช้ความเข้มข้น 31.6 ppm ค่าความเป็นพิษกึ่งเรื้อรังที่เวลา 7 วัน (subchronic values) ใช้ความเข้มข้น 24 ppm สำหรับโคพีปอด ศึกษาในระยะนอเพลียสและตัวเต็มวัย พบว่าค่า LC_{50} ที่ 96 ชั่วโมงใช้ความเข้มข้น1.6 ppm และ 5.9 ppm ตามลำดับ สำหรับค่าความเป็นพิษกึ่งเรื้อรังที่เวลา 8 วันศึกษาในระยะนอเพลียส พบว่าต้องใช้โครเมียมที่ความเข้มข้น 0.42 ppm การทดลองของ Al -Akel(1996) ศึกษาผลของโครเมียมชนิด Cr^{6+} โดยวิธี static bioassay ต่อปลา *Cyprinus carpio* พบว่าค่า LC_{50} ที่ระดับความเข้มข้นที่ 93.6 ppm เวลา 96 ชั่วโมง ส่งผลให้ปลาตาย ในขณะที่ความเข้มข้น 15,25 และ 50 ppm ส่งผลให้ปลามีพฤติกรรมเปลี่ยนไป เช่น อ้าปากกว้างและพ่นน้ำตลอดเวลา, ว่ายน้ำผิดปรกติ ไม่สมดุล , กล้ามเนื้อกระตุกเป็นบางส่วน และพยายามจะขึ้นมาเหนือน้ำและถ้าเพิ่มความเข้มข้นเรื่อยๆจะแสดงพฤติกรรมเด่นชัดขึ้น

การทดลองของ Klein(2000) ศึกษาพิษฉับพลันของโพแทสเซียมไดโครเมตต่อไรแดง (*Daphnid magna*) วัยอ่อน ที่ความเข้มข้น 0.5 ppm เป็นเวลา 24 ชั่วโมง ที่ช่วงอายุของไรแดงต่างกัน พบว่าโพแทสเซียมไดโครเมตแสดงความเป็นพิษในไรแดงตั้งแต่ช่วงอายุ 0- 24 ชั่วโมง ช่วงที่แสดงความเป็นพิษรุนแรงที่สุดคือช่วงอายุ 22-24 ชั่วโมง พบว่าความเป็นพิษของโพแทสเซียมไดโครเมตขึ้นอยู่กับพีเอชและความกระด้างของน้ำด้วย การทดลองของ Khangarot *et al*. (1999) ศึกษากึ่งความเป็นพิษของโครเมียมต่อระบบภูมิคุ้มกัน,ลักษณะของเม็ดเลือดและการต่อต้านเชื้อโรคของปลา Catfish (*Saccorbranchus fossilis*) โดยเลี้ยงปลาที่ความเข้มข้น 0.1,1, และ 3.2 ppm เป็นเวลา 28 วัน พบว่า โครเมียมทำให้แอนติบอดีลดต่ำลงและส่งผลให้เม็ดเลือดแดงและ

ฮีโมโกลบินต่ำลงด้วย การทดลองสรุปว่าโครเมียมจะไปลดความต้านทานต่อการติดเชื้อของแบคทีเรียโดยไปลดความสามารถในการกำจัดสิ่งแปลกปลอมของเซลล์ฟาโกไซต์

4.2 การสะสมในตัวปลา

นอกจากนี้ยังพบการสะสมของโครเมียมในตัวปลาด้วย การทดลองของ Joseph (1987) ศึกษาความเข้มข้นของโลหะหนักในปลาจากแม่น้ำ Tungabhadra ประเทศอินเดียซึ่งได้รับน้ำเสียจากโรงงานพบว่ามีสารโครเมียมและสังกะสีตกค้างในกล้ามเนื้อปลา *Puntius kolus* ซึ่งเป็นปลาเศรษฐกิจแสดงว่าโครเมียมสามารถสะสมในตัวปลาได้ Gomma *et al*. (1995) พบว่าโครเมียมจะสะสมในสมองของปลาEgyptian fishมากที่สุดและพบในกล้ามเนื้อน้อยที่สุด ซึ่งปลาตะเพียนขาวเป็นปลาที่นิยมบริโภคดังนั้นหากมีการตกค้างอยู่ในเนื้อปลาก็จะส่งผลกระทบถึงผู้บริโภคด้วย การทดลองของ Zhou *et al*.(1998) ศึกษาโลหะหนัก 6 ชนิด ได้แก่ ทองแดง สังกะสี ตะกั่ว นิกเกิล แคดเมียม และโครเมียม ในตะกอนและในตัวอย่างปลาTilapia ในแม่น้ำ Shing Mun, แม่น้ำ Lam Tsuen และแม่น้ำ Tai Po ที่ฮ่องกง แล้วนำไปเปรียบเทียบกับตัวอย่างปลาในบ่อเลี้ยง พบว่าปริมาณโลหะหนักทั้งในตะกอนและในตัวอย่างปลาจากแม่น้ำทุกแห่งมากกว่าตัวอย่างที่เก็บจากบ่อเลี้ยง รูปแบบของโครเมียมในตะกอนจะอยู่ในรูปตะกอนของเสียมากที่สุด เมื่อศึกษาสารตกค้างจากอวัยวะต่างๆได้แก่ เหงือก ผิวหนัง อวัยวะภายใน และกล้ามเนื้อ พบโครเมียมตกค้างในกล้ามเนื้อมากที่สุด

แต่มีบางรายงานที่ไม่พบโครเมียมสะสมในตัวปลาเช่นการทดลองของ Balasubramanian *et al*.(1995) ศึกษาปริมาณของสังกะสี ตะกั่ว และโครเมียมในสิ่งมีชีวิตที่อยู่ในน้ำที่ได้รับการบำบัดน้ำเสียโดยการตกตะกอนในบ่อตกตะกอนขั้นต่างๆ ในเขตมหาวิทยาลัย Madurai Kamaraj ประเทศอินเดีย วัดความเข้มข้นของโลหะหนักในสิ่งปฏิกูลในน้ำ,แพลงก์ตอนพืช,แพลงก์ตอนสัตว์,ปลาและตะกอนจากก้นบ่อ ผลการศึกษาพบว่าที่ระดับขั้นของห่วงโซ่อาหารสูงๆความเข้มข้นของโครเมียมในตัวสิ่งมีชีวิตจะลดลงโดยเฉพาะในปลาไม่สามารถตรวจวัดได้ (<0.001ไมโครกรัม) การทดลองของ Rajan และคณะ (1995) ศึกษาการสะสมของโลหะหนักในปลาที่กินซากและสิ่งปฏิกูล ได้แก่ปลา *Hypophthalmichthys molitrix*, *Ctenopharyngodon idella, Cyprinus carpio* var. *communis*,*Catla catla* และ *Cirrhinus mrigala* ที่อยู่ในบริเวณบ่อบำบัดน้ำเสียในเขตมหาวิทยาลัย Madurai Kamaraj ประเทศอินเดีย โลหะหนักที่ศึกษาได้แก่ สังกะสี ทองแดง ตะกั่ว และโครเมียม พบว่าเมื่อค่า BOD สูงขึ้นความเข้มข้นของโลหะหนักในน้ำทุกชนิดจะเพิ่มขึ้นรวมทั้งตกค้างในตัวปลาด้วย ยกเว้นโครเมียมเท่านั้นที่ไม่พบว่าตกค้างในตัวปลา

ทุกชนิด นอกจากในปลาและสัตว์น้ำแล้วยังพบว่าโครเมียมมีผลต่อการสืบพันธุ์ของคนและสัตว์ด้วย จากการทดลองของ Li *et al*. (2001) ศึกษาผลของ Cr^{6+} ต่อคุณภาพของอสุจิของคนและหนู โดยนำน้ำเลี้ยงอสุจิมาแช่ใน CrO_3 พบว่าจำนวนและความสามารถในการเคลื่อนที่ของอสุจิลดลง ในหนูพบว่าทำให้จำนวน epidymis sperm ลดลง และทำให้มีความผิดปกติของอสุจิเกิดขึ้น

5. แนวทางในการจัดการคุณภาพน้ำ

5.1 การสำรวจคุณภาพน้ำ

จากการสำรวจน้ำทิ้งคุณภาพดีของกลุ่มโรงงานฟอกหนังบริเวณกิโลเมตรที่30 และ 34 จังหวัดสมุทรปราการ เมื่อพ.ศ. 2534-2535 พบว่ามีโครเมียมสูงถึง 0.7 ppm (สำนักงานเทคโนโลยีสิ่งแวดล้อมโรงงาน,2540) ซึ่งในการทดลองครั้งนี้พบว่าเป็นความเข้มข้นที่มีผลต่อการเปลี่ยนแปลงทั้งจำนวนและโครงสร้างของโครโมโซมแสดงว่าสัตว์น้ำที่อาศัยอยู่ในบริเวณนี้มีอัตราเสี่ยงต่อการเกิดกลายพันธุ์สูง ยิ่งถ้าหากบริเวณแหล่งน้ำทิ้งเป็นแหล่งน้ำนิ่งก็จะอัตราเสี่ยงสูงยิ่งขึ้นเนื่องจากมีการสะสมของโครเมียมเพิ่มขึ้น หากเป็นแหล่งน้ำไหลจะทำให้โครเมียมมีการกระจายออกไปกว้างขึ้น สำหรับโครเมียมเมื่ออยู่ในแหล่งน้ำจืดพบว่าที่ความเข้มข้นระดับต่ำสามารถเป็นพิษต่อสิ่งมีชีวิตได้และความเป็นพิษเพิ่มขึ้นตามความเข้มข้นจนถึงระดับหนึ่งจะคงที่เมื่อเปรียบเทียบกับในทะเลซึ่งความเป็นพิษเริ่มต้นในความเข้มข้นที่สูงกว่าแหล่งน้ำจืด สำหรับสิ่งมีชีวิตที่ตอบสนองต่อโครเมียมได้ดีทั้งในน้ำจืดและในทะเลคือปลาและพวกครัสเตเชียตามลำดับ (Leung *et al*.,2001) อย่างไรก็ตามพบว่าขณะนี้มีการกำหนดให้กลุ่มโรงงานมีการบำบัดน้ำเสียก่อนปล่อยลงสู่แหล่งน้ำให้มีปริมาณโครเมียมไม่เกิน 0.25 ppm ซึ่งเป็นมาตรฐานตามกฎหมายที่กำหนดให้โรงงานปล่อยน้ำเสียออกมาไม่เกินปริมาณนี้ (สำนักงานเทคโนโลยีสิ่งแวดล้อมโรงงาน,2540)

สำหรับการแสดงความเป็นพิษขึ้นอยู่กับความสามารถในการละลายของโพแทสเซียมไดโครเมตด้วยซึ่งปัจจัยสำคัญคือพีเอช (Langard,1982) และความกระด้างของน้ำ (Klein,2000) ซึ่งผลการวัดพีเอชของน้ำในการทดลองครั้งนี้พบว่าอยู่ในช่วง 6.9-7.1 จากการรายงานของ Bradford *et al*.(1968 อ้างโดย Langard,1982) พบว่าการสำรวจโครเมียมในน้ำทะเลสาบบนยอดเขา Sierra แคลิฟอเนียพบช่วงพีเอชของน้ำ 4.7-7.3 สามารถที่จะพบโครเมียมในน้ำได้แสดงว่าในการทดลองนี้โครเมียมสามารถที่จะละลายน้ำและแสดงความเป็นพิษออกมาได้

5.2 วิธีการบำบัดน้ำเสีย

5.2.1 วิธีที่ใช้ในปัจจุบัน

การบำบัดน้ำเสียจากโรงงานฟอกหนังที่ใช้อยู่ในปัจจุบันคือการทำให้โครเมียมที่ละลายในน้ำตกตะกอนโดยใช้สารเคมีที่เป็นด่างคือแมกนีเซียมออกไซด์ (MgO) ซึ่งสามารถนำตะกอนที่ได้นำกลับมาใช้ฟอกหนังต่อได้วิธีนี้สามารถลดโครเมียมในน้ำได้ 90 เปอร์เซ็นต์ นอกจากนี้มีการใช้ปูนขาว (CaO) ,โซเดียมคาร์บอเนต (Na_2CO_3) และโซดาไฟ (NaOH) ซึ่งมีราคาถูกกว่าแมกนีเซียมออกไซด์ตกตะกอนแทนซึ่งตะกอนที่ได้จะนำกลับมาใช้ฟอกหนังอีกไม่ได้แต่จะถูกนำไปกำจัดที่ศูนย์บริการกำจัดกากและตะกอน วิธีนี้สามารถลดโครเมียมได้ถึง 98 เปอร์เซนต์ (สำนักงานเทคโนโลยีสิ่งแวดล้อมโรงงาน,2540)

5.2.2 วิธีที่น่าจะนำมาใช้ในอนาคต

ปัจจุบันมีการศึกษาวิธีอื่นๆที่สามารถกำจัดโครเมียมได้และใช้ต้นทุนต่ำเช่น การใช้ถ่านคาร์บอนซึ่งทำจากกะลามะพร้าวดูดซับโครเมียมออกจากสารละลายแล้วจึงนำถ่านไปกำจัดทิ้ง นอกจากนี้ยังใช้ถ่านของเมล็ดมะกอก และเปลือกเมล็ดอัลมอนด์ได้อีกด้วย (Selvi *et al*.,2001) แต่พบว่าทั้งวิธีการตกตะกอนและการดูดซับโครเมียมด้วยถ่านคาร์บอนไม่สามารถบำบัดน้ำเสียที่ความเข้มข้นต่ำได้จึงมีการศึกษาการบำบัดด้วยวิธีชีววิธีโดยใช้สาหร่ายดูดซับโครเมียมในบ่อบำบัดซึ่งสามารถบำบัดโครเมียมที่ความเข้มข้นต่ำได้ (Cetinkaya Donmez *et al*.,1999) การบำบัดโดยชีววิธี เช่น การใช้สาหร่าย Spirogyra ดูดซับโครเมียมซึ่งพบว่ามีแนวโน้มที่จะใช้ได้ดีและกำลังมีการพัฒนาเพื่อใช้กำจัดโครเมียมอยู่ (Gupta *et al*.,2001) การนำสาหร่าย *Chlorella vulgaris, Scenedesmus obliquus* และ *Synechocystis* sp. มาบำบัด (Cetinkaya Donmez *et al*.,1999) ส่วนวิธีการอื่นๆที่สามารถนำมาใช้บำบัดได้ เช่น การใช้สารไคตินซึ่งเป็นสารที่อยู่ในเปลือกกุ้งหรือปูบำบัดโครเมียม (Sag and Aktay,2001) การบำบัดโดยใช้แร่อะตอมไมต์(atomite) (de Castro Dantas *et al*.,2001) การใช้สารลิกนิน ,เปลือกถั่วลิสง (Gupta *et al*.,2001) การใช้ฟางข้าว และเศษใบไม้เป็นต้น (Selvi *et al*.,2001)

จากการทดลองในครั้งนี้พบว่าโพแทสเซียมไดโครเมตมีผลทำให้จำนวนและโครงสร้างโครโมโซมของปลาตะเพียนขาวมีการเปลี่ยนแปลง โดยที่ความเข้มข้น 0.05 ppm ซึ่งเป็นความเข้มข้นตามที่กฎหมายกำหนดสามารถชักนำให้เกิดการเปลี่ยนแปลงได้ทั้งจำนวนและโครงสร้างของโครโมโซม แสดงว่ายังเป็นความเข้มข้นที่ไม่ปลอดภัยแม้ว่าลักษณะความผิดปกติของปลาจะไม่ปรากฏให้เห็นภายนอกทันทีแต่จะมีผลในระยะยาว ดังนั้นควรมีมาตรการในการควบคุม

น้ำเสียจากโรงงานรวมทั้งพิจารณาความเข้มข้นที่จะใช้เป็นเกณฑ์ในการควบคุมคุณภาพน้ำให้มีความเหมาะสมต่อไป