บทที่ 1

บทนำ

บทนำต้นเรื่อง

โลหะหนักนับว่าเป็นสาเหตุหนึ่งที่ทำให้เกิดน้ำเสีย เนื่องจากเป็นสารที่มีความคงตัว ไม่สลายตัวง่ายจึงยังคงอยู่ในแหล่งน้ำนั้นๆ และก่อให้เกิดอันตรายต่อสัตว์น้ำ ปัจจุบันมีการนำโลหะหนักมาใช้ประโยชน์กันอย่างแพร่หลาย ทั้งในกิจการอุตสาหกรรมและเกษตรกรรม โลหะหนักจึงมีโอกาสเข้ามาเจือปนอยู่ในแหล่งน้ำได้มากขึ้น ประกอบกับประเทศไทยกำลังมีแผนพัฒนาอุตสาหกรรมอย่างกว้างขวาง จึงจำเป็นที่ควรศึกษาปัญหาเกี่ยวกับโลหะหนักเพื่อนำมาเตรียมการป้องกันแก้ไขผลเสียที่อาจจะเกิดขึ้นได้ในอนาคต(แววตา ทองระอา และ สมพงษ์ ดุลย์จินดาชบาพร,2531)

โครเมียมเป็นโลหะหนักชนิดหนึ่งซึ่งนิยมใช้ในโรงงานงานอุตสาหกรรมที่ใช้ในการชุบโลหะ มีประโยชน์ใช้ในการป้องกันการผุกร่อนและเพื่อความสวยงาม (ทบวงมหาวิทยาลัย, 2532) นอกจากนี้ยังใช้ในอุตสาหกรรมฟอกหนัง สารเคมีที่ใช้ในการฟอกหนังที่นิยม คือ เบสิกโครเมียมซัลเฟต [$Cr(OH)SO_4 . 2H_2O$] ปัจจุบันมีการผลิตเบสิกโครเมียมซัลเฟต สำหรับใช้ภายในประเทศได้แล้ว มีปริมาณโครเมียม (Cr_2O_3) ถึงร้อยละ 25 โดยน้ำหนักของสาร (สำนักงานมาตรฐานผลิตภัณฑ์อุตสาหกรรม, 2530) จากการสำรวจของปธาน บรรจงปรุ (2535) พบว่าปริมาณน้ำเสียของประเทศไทยในเขตอุตสาหกรรมฟอกหนังมีปริมาณน้ำทิ้ง 24.03 ลูกบาศก์เมตรต่อ น้ำหนักหนังดิบที่เข้าผลิต 1 ตัน พบปริมาณโครเมียมในน้ำทิ้งเฉลี่ย 1.41 กิโลกรัม โรงงานขนาดเล็กจะมีปริมาณน้ำทิ้งมากกว่าโรงงานขนาดใหญ่ถึงสองเท่า อย่างไรก็ตามจากการตรวจน้ำทิ้งคุณภาพดีของกลุ่มฟอกหนังที่กิโลเมตร 30 และ 34 จังหวัดสมุทรปราการ พ.ศ.2534-2535 พบว่ามีโครเมียมถึง 0.7 ppm (สำนักงานเทคโนโลยีสิ่งแวดล้อมโรงงาน,2540) ในขณะที่มาตรฐานน้ำทิ้งของกระทรวงวิทยาศาสตร์ เทคโนโลยีและสิ่งแวดล้อม พ.ศ. 2539 ประเภทโรงงานอุตสาหกรรมและนิคมอุตสาหกรรมกำหนดไว้ว่าจะต้องมีโครเมียม (Cr^{6+}) ในน้ำทิ้งไม่เกิน 0.25 ppm (กองจัดการคุณภาพน้ำ กรมควบคุมมลพิษ,2540) ในแหล่งน้ำจืดธรรมชาติไม่เกิน 0.05 ppmซึ่งเท่ากับมาตรฐานน้ำดื่มของอเมริกา (ธรรมนูญ โรจนะบุรานนท์และ คณะ,2526) สำหรับโพแทสเซียมไดโครเมตสามารถนำมาใช้ประโยชน์ในห้องปฏิบัติการได้โดยใช้ทำความสะอาดเครื่องแก้วในปฏิบัติการเคมีวิเคราะห์ร่วมกับกรดซัลฟูริกเข้มข้น(ทบวงมหาวิทยาลัย,2532)จัดเป็นสารที่ชักนำให้เกิดมะเร็ง(carcinogen)

ประเภทที่ 1 ตามที่ International Agency for Research on Cancer (IARC) แบ่งไว้ (สำนักงานคณะกรรมการสิ่งแวดล้อมแห่งชาติและคณะอนุกรรมการแก้ไขปัญหาการวิเคราะห์สารเป็นพิษ,2531)

ปลาตะเพียนขาว(*Puntius gonionotus* Bleeker) (Smith, 1945) เป็นปลาที่มีถิ่นกำเนิดในประเทศไทย อินโดนีเซีย มาเลเซีย อาศัยอยู่ตามแม่น้ำและหนองบึงมีอยู่ทุกภาคในประเทศไทย (เมฆ บุญพราหมณ์,2530) เป็นปลาน้ำจืดพื้นบ้าน กินพืช สามารถหาได้ง่ายพบได้ทั่วไป อยู่ได้ในที่ที่มีความเค็มไม่เกิน 7 ppt ลักษณะตัวมีสีเงิน แบนข้าง ขอบหลังยกสูง โค้ง หัวเล็ก ปากเล็ก ริมฝีปากบาง จงอยปากแหลม มีหนวดเล็กๆ 2 คู่ ก้านครีบแข็งอันที่ 4 ยาวที่สุด มีฟันเลื่อยหยักลง เกล็ดตามแนวเส้นข้างตัวมี29-31 เกล็ด ลำตัวส่วนหลังจะมีสีคล้ำ ส่วนท้องจะมีสีขาวนวล เกล็ดตอนโคนมีสีเทาจนเกือบดำ ตัวโตเต็มที่ประมาณ 50 เซนติเมตร (เฉลิมวิไล ชื่นสี,2527) การสำรวจจำนวนโครโมโซมของปลาตะเพียนขาวพบว่ามีจำนวนโครโมโซมที่เป็นดิพลอยด์(2n=50)ประกอบไปด้วยโครโมโซมชนิดเมตาเซนตริก 8 คู่ สับเมตาเซนตริก 4 คู่ และ เทโลเซนตริก 13 คู่ (ธวัช ดอนสกุล และวิเชียร มากตุ่น,2540)

ปัจจุบันนี้การศึกษาทางด้าน เซลล์พันธุศาสตร์ (cytogenetics) ในปลาเริ่มได้รับความสนใจมากขึ้นโดยเฉพาะเพื่อใช้วัดความเป็นพิษในระดับเซลล์ของปลาที่ได้รับการปนเปื้อนจากสารเคมีในแหล่งน้ำในธรรมชาติ (Sabti,1985) การที่ปลาตะเพียนขาวสามารถอยู่ได้ตามแหล่งน้ำทั่วไปทั้งในน้ำนิ่งและน้ำไหลจึงเป็นสัตว์น้ำที่มีการกระจายกว้าง ทำให้มีโอกาสได้รับผลกระทบจากสารประกอบโครเมียมได้ง่าย การวิจัยครั้งนี้จึงนำเอาปลาตะเพียนขาวเป็นสัตว์ทดลองเพื่อใช้เป็นเกณฑ์ ในการวัดความเป็นพิษในระดับเซลล์ของสารประกอบโครเมียม ส่วนใหญ่การศึกษาถึงความเป็นพิษของสารประกอบโครเมียมในปลาจะเป็นในระดับตัว (individual) และเนื้อเยื่อ (tissue) การศึกษาถึงระดับเซลล์พันธุศาสตร์ยังไม่เคยมีรายงานมาก่อนอีกทั้งจากการประกาศคุณภาพน้ำเพื่อคุ้มครองทรัพยากรสัตว์น้ำจืดฉบับที่ 75 พ.ศ. 2530 ของสถาบันประมงน้ำจืดแห่งประเทศไทยถึงระดับความเข้มข้นของสารพิษประเภทโลหะหนักที่ยินยอมให้มีในน้ำได้โดยไม่เป็นอันตรายต่อสัตว์น้ำไม่ได้ระบุถึงสารประกอบโครเมียม(กองจัดการคุณภาพน้ำ,2540) การศึกษาครั้งนี้จึงเป็นที่น่าสนใจศึกษาเพื่อที่จะเป็นข้อมูลในการพิจารณาคุณภาพน้ำให้มีโครเมียมปนเปื้อนอยู่ในน้ำในระดับที่จะปลอดภัยต่อสัตว์น้ำ

การตรวจเอกสาร

1. โครเมียม

เป็นโลหะที่มีความเงาใส สีขาวอมฟ้าอ่อนๆหรือสีเทาเป็นมันวาว แข็งและเปราะแต่มีความทนทานต่อการเสียดสีและการกัดกร่อน คงความเป็นมันเงาได้นานในอากาศจึงใช้ทำโลหะบริสุทธิ์และโลหะผสม บางครั้งอยู่ในรูปของผลึก สัญลักษณ์ทางเคมีที่ใช้คือ Cr อยู่ในตารางธาตุหมู่ Vlb เป็นธาตุที่พบในรูปของเฟอรัสโครไมต์ [ferrous chromite ($FeOCr_2O_3$)] และในธรรมชาติจะพบในรูป Cr^{3+} มากกว่า Cr^{6+} ซึ่งมีคุณสมบัติทางกายภาพและทางเคมีที่สำคัญดังนี้คือ น้ำหนักอะตอม 52 เลขอะตอม 24 วาเลนซี 2 3 และ 6 ความหนาแน่น 7.2 จุดหลอมเหลว 1857$\pm$ 20 $^{\circ}$C นิยมใช้ในการเคลือบผิวโลหะคือให้ความเงางามและเพื่อเพิ่มความทนทานต่อผิวโลหะ(สุภาพร จันทร์หอม, 2542)

2. การนำไปใช้ประโยชน์

โครเมียมสามารถนำไปใช้ในงานอุตสาหกรรมต่างๆ เช่นใช้ในกระบวนการชุบโลหะโครเมียม ใช้ในอุตสาหกรรมผลิตยา อาหาร การผลิตอุปกรณ์อิเลคโทรนิค การบิน ใช้ผสมกับเหล็กกล้า ทำให้เหนียว เป็นเงางามและป้องกันสนิมได้ เช่นเหล็กสเตนเลสหรือเหล็กผสมนิเกิลและโครเมียม ใช้ในเครื่องมือผ่าตัดและเครื่องมือแพทย์ ใช้เป็นส่วนผสมในสี ใช้ทำเซลล์ไฟฟ้าชนิดแห้ง ยาฆ่าเชื้อรา โครเมียมที่อยู่ในรูปโครเมต(chromate)และไดโครเมต(dichromate) นำมาใช้ในโรงงานพิมพ์ผ้า รวมถึงเกลือโครเมียม (chromium sulfate) ใช้ในการฟอกหนัง นอกจากนี้ยังใช้โครเมียมในอุตสาหกรรมการย้อมสี การพิมพ์ งานเชื่อม การถ่ายภาพ การทำเซรามิก เครื่องเคลือบดินเผา การขัดเงา การถนอมเนื้อไม้ ใช้ผสมในน้ำกรดแบตเตอรี การทำวัตถุระเบิด โครมิคออกไซด์และกรดโครมิคมีฤทธิ์กัดเนื้อเยื่อ จึงใช้เป็นยากัดหูดและยาทาภายนอกร่างกาย (สุภาพร จันทร์หอม,2542)

3. การลงสู่แหล่งน้ำในธรรมชาติ

การลงสู่แหล่งน้ำของโครเมียมจากโรงงานฟอกหนังและย้อมสี รูปแบบของโครเมียมเมื่อผ่านการฟอกหนังแล้วจะอยู่ในรูป โพแทสเซียมไดโครเมต ($K_2Cr_2O_7$) และโครมิคคลอไรด์ ($CrCl_3$)

ซึ่งจะปนรวมอยู่กับซากสารอินทรีย์ในน้ำทิ้ง(Ogawa *et al*.,1989) โดยโพแทสเซียมไดโครเมต อยู่ในรูปสารละลายส่วนโครมิคคลอไรด์ อยู่ในรูปตะกอน (Langard,1982) สำหรับโพแทสเซียมไดโครเมต เมื่อละลายน้ำอยู่ในรูปไอออนดังสมการ(Sadiq,1992)

$$K_2Cr_2O_7 + H_2O \Leftrightarrow 2K^+ + 2CrO_4^{2-} + 2H^+$$

โพแทสเซียมไดโครเมตจัดเป็นสารประกอบโครเมียมตระกูลไดโครเมต($Cr_2O_7^{2-}$)ชนิด Hexavalent ลักษณะเป็นผลึกสีส้มแดง ได้มาจากโครเมียมชนิดTrivalent (Cr^{3+}) ถูกออกซิไดส์ด้วยกรด (H^+) สามารถละลายน้ำได้ดีที่พีเอชประมาณ 0 จนถึงพีเอช 7 หลังจากพีเอช 7 ขึ้นไปจนถึงพีเอช 12 จะถูกรีดิวซ์และตกตะกอนกลับเป็นรูป Cr^{3+} อีกครั้ง(Langard,1982 ; James and Herbert,1988) นอกจากนี้ยังพบว่าถูกรีดิวซ์ได้ด้วยเหล็กเฟอรัส (ferrous iron),สารกลุ่มซัลไฟด์ที่สามารถละลายน้ำได้ (dissolved sulfide)และสารอินทรีย์กลุ่มซัลฟ์ไฮดริล (organic sulfhydryl group) ในธรรมชาติพบว่าสารอินทรีย์เป็นปัจจัยหนึ่งที่ทำให้โครเมียมตกตะกอนเนื่องจากโครเมียมส่วนใหญ่อยู่ในรูปตะกอนสารอินทรีย์ ความเค็มของน้ำก็มีผลต่อการตกตะกอนด้วย พบว่าที่ความเค็ม 2-10 % สามารถตกตะกอนโครเมียมได้ถึง 28 % จากรายงานของ Nivikov,(1959 อ้างโดย Langard (1982)) พบว่า Cr^{6+} สามารถตกตะกอนรวมกับอะลูมิเนียมไฮดรอกไซด์ (aluminium hydroxide) ได้ที่พีเอช 7-9.4 แต่จากการรวบรวมข้อมูลความเข้มข้นของโครเมียมในแม่น้ำทั่วโลกตั้งแต่ปี 1975-1980 โดย Langard (1982) พบว่าที่พีเอช 7.8-9 ก็ยังสามารถตรวจพบโครเมียมในน้ำได้ รวมถึงการศึกษาโครเมียมในทะเลสาบบนยอดเขา Sierra ที่แคลิฟอเนีย 170 แห่ง ก็สามารถตรวจพบโครเมียมที่ละลายน้ำได้ โดยมีพีเอช อยู่ในช่วง 4.7-7.3 ค่าเฉลี่ยพีเอช เท่ากับ 6 Bradford *et al* (1968 อ้างโดย Langard,1982) สรุปได้ว่าโครเมียมที่จะละลายในน้ำได้นั้นขึ้นอยู่กับพีเอชส่วนจะมีมากน้อยในน้ำเท่าใดขึ้นอยู่กับตัววิดิวซ์อื่นๆที่มีอยู่ในน้ำด้วย

4. กลไกการเข้าทำลายเซลล์ของโครเมียม

การเข้าสู่ร่างกายสามารถเข้าทางทางเดินอาหารโดยการกลืนกินเข้าไปและตรงบริเวณที่มีการแลกเปลี่ยนแก๊สได้แก่ เหงือก กลไกในการเข้าไปทำลายภายในเซลล์เกิดจากโครเมียมทั้งชนิด Cr^{6+} และ Cr^{3+} โดย Cr^{6+} จะแพร่จากนอกเซลล์เข้าสู่เซลล์ทางเยื่อหุ้มเซลล์โดยการแพร่แบบธรรมดาและแบบฟาซิลิเทต ส่วน Cr^{3+} จะถูกเมตาบอไลท์ให้กลายเป็นสารประกอบCr^{3+} เสียก่อน

จึงเข้าสู่เซลล์ได้โดยวิธีเอนโดไซโตซิส สำหรับCr^{6+}เมื่อเข้าสู่เซลล์แล้วจะถูกรีดิวซ์ให้กลายเป็นสารประกอบ Cr^{3+} ส่วนที่ไม่ถูกรีดิวซ์จะแพร่ผ่านเยื่อหุ้มนิวเคลียสสู่นิวเคลียสต่อไป

เมื่อโครเมียมทั้ง Cr^{6+} และสารประกอบ Cr^{3+} เข้าสู่เซลล์ได้แล้วก็จะเข้าสู่นิวเคลียส สำหรับ Cr^{6+} ที่ยังไม่ถูกรีดิวซ์ที่ไซโตพลาสซึมจะถูกรีดิวซ์เป็นสารประกอบ Cr^{3+} ซึ่งทั้ง Cr^{6+} และสารประกอบ Cr^{3+} จะเข้าไปทำลายการยึดระหว่างดีเอ็นเอและโปรตีน โดยจะเข้าไปจับกับส่วนที่เป็นอิเล็กโตรฟิลิก (electrophilic)ของดีเอ็นเอ เมื่อดีเอ็นเอถูกทำลายจะมีการซ่อมแซมตัวเองจนเมื่อไม่สามารถซ่อมแซมได้จึงเกิดการเสียหายตั้งแต่ระดับดีเอ็นเอและโครโมโซม ทำให้การทำงานของเซลล์ผิดปกติจนกลายเป็นเซลล์มะเร็งในที่สุด(Langard,1982)

5. การเปลี่ยนแปลงภายในเซลล์ที่อาจเกิดขึ้นจากสารก่อกลายพันธุ์

1. การเปลี่ยนแปลงจำนวนโครโมโซม

การเปลี่ยนแปลงจำนวนโครโมโซมอาจเกิดขึ้นได้เองตามธรรมชาติหรือจากการชักนำโดยรังสีและสารเคมีบางประเภท การเปลี่ยนแปลงนี้แบ่งออกได้เป็นสองประเภทคือยูพลอยด์(euploid) เป็นการเปลี่ยนที่เกี่ยวกับจำนวนชุดของโครโมโซมคือมีการเปลี่ยนแปลงทั้งจีโนม ตัวอย่างเช่นสิ่งมีชีวิตชนิดหนึ่งมีจำนวนโครโมโซมดิพลอยด์ เท่ากับ 10 จะมีเซลล์ที่เป็นแฮพลอยด์เท่ากับ 5 ถ้าจำนวนโครโมโซมเพิ่มอีกหนึ่งชุดกลายเป็นจำนวนเท่ากับ 15 เช่นนี้ถือว่าเป็นการเปลี่ยนแปลงแบบยูพลอยด์ การเปลี่ยนแปลงอีกประเภทหนึ่งคือแอนยูพลอยด์ (aneuploid) หมายถึงการเปลี่ยนแปลงจำนวนโครโมโซมภายในชุดของจำนวนโครโมโซมเช่นมีจำนวนโครโมโซมขาดหรือเกินจากจำนวนปกติโดยจำนวนขาดหรือเกินนี้จะต้องน้อยกว่าจำนวนโครโมโซมใน 1 ชุด (อมรา คัมภิรานนท์,2540) จำนวนโครโมโซมที่น้อยกว่าจำนวนดิพลอยด์ เรียกว่า ไฮโปดิพลอยด์ (hypodiploid) จำนวนโครโมโซมที่มากกว่าจำนวนดิพลอยด์ เรียกว่า ไฮเปอร์ดิพลอยด์ (hyperdiploid) (Ohsima,2001)

2. การเปลี่ยนแปลงโครงสร้างของโครโมโซม

การเปลี่ยนแปลงภายในแท่งโครโมโซมในจีโนม โดยจำนวนโครโมโซมเท่าเดิมแต่สารพันธุกรรม(genetic material) ภายในโครโมโซมอาจเปลี่ยนไปเนื่องจากการสูญเสีย หรือได้รับมาเพิ่มหรือมีการจัดเรียงตัวใหม่

การเปลี่ยนแปลงของแท่งโครโมโซมเป็นผลจากการหักของโครโมโซม โครโมโซมหรือโครมาติดเมื่อเกิดการหักแล้วปลายด้านหนึ่งที่ติดกับรอยหักจะมีความเหนียว และสามารถที่จะต่อกับปลายเหนียวของโครโมโซมอื่นได้ (ซึ่งโดยปกติแล้วปลายโครโมโซมที่ไม่มีการหักจะไม่มีความ

เหนียวจึงไม่สามารถเชื่อมต่อกับโครโมโซมอื่น เนื่องจากมีลำดับเบสเฉพาะที่เรียกว่าเทโลเมียร์ (telomere) ปิดปลายโครโมโซม) เมื่อเกิดการหักของโครโมโซมขึ้นผลที่ติดตามมาได้ 3 กรณีคือ กรณีแรกปลายหักทั้งสองคงอยู่เช่นนี้เรื่อยไป และส่วนของโครโมโซมที่ไม่มีเซนโทรเมียร์ (acentric piece) จะสูญหายไปด้วย กรณีที่สองเมื่อมีการหักเพียง 1 ตำแหน่งแล้วมีการเชื่อมต่อกันของปลายทั้งสองทันที(restitution) ผลคือจะได้โครโมโซมที่มีการเรียงตัวลำดับยีนเช่นเดิม กรณีที่สาม เมื่อมีการหักของโครโมโซมซึ่งอาจเป็น 1 หรือมากกว่า 1 ตำแหน่งก็ตาม แล้วมีการเชื่อมต่อของปลายที่มิใช่ตำแหน่งหักเดิม(non-restitutional หรือ exchange union) ทำให้การเรียงตัวของยีนต่างไปจากเดิม

3. การแบ่งเซลล์ผิดปกติ

นอกจากสารเคมีที่มีผลโดยตรงต่อดีเอ็นเอและโครโมโซมโดยตรงแล้ว ยังพบว่าสารเคมีบางชนิดส่งผลให้ การแบ่งตัวของเซลล์ผิดปกติเรียกสารเหล่านี้ว่า mitotic poison สารเหล่านี้จะยับยั้งการทำงานของ mitotic apparatus อาทิเช่น สายใยสปินเดิลและแอสเทอร์ผลดังกล่าวทำให้เกิดกระบวนการแบ่งเซลล์ผิดปกติ เช่นโครโมโซมไม่เคลื่อนสู่ขั้วเซลล์ ซึ่งมีผลทำให้เซลล์ลูกที่แบ่งได้มีความผิดปกติของโครโมโซมด้วย

6. การตรวจสอบสารก่อมะเร็งทางไซโตเจเนติค

สารก่อมะเร็ง มักเป็นทั้งสารก่อกลายพันธุ์ (mutagen) และสารก่อเกิดการหักของโครโมโซม (clastogen) ด้วย ดังนั้นจึงมีการตรวจสอบผลของสารเคมีต่อความผิดปกติของโครโมโซมโดยวิธีการวิเคราะห์ทางไซโตเจเนติกซึ่งแบ่งเป็น 4 แบบ คือ

1.ศึกษาความผิดปกติในจำนวนและการเปลี่ยนแปลงรูปร่างของโครโมโซม chromosome aberration)โดยการนับจำนวนและตรวจดูลักษณะของโครโมโซมในระยะเมตาเฟส

2. ศึกษาการสลับชิ้นส่วนของซิสเตอร์โครมาติด (sister chromatid exchange:SCE) จากเซลล์ในระยะเมตาเฟส

3.ศึกษาผลจากการปรากฏของชิ้นส่วนโครโมโซมและการเกิดสะพานเชื่อมของโครมาตินจากเซลล์ในระยะแอนาเฟส

4. ศึกษาความผิดปกติของโครโมโซมในรูปของไมโครนิวคลีไอ (MN) ที่ปรากฏในเซลล์ระยะอินเตอร์เฟส

เป็นที่ยอมรับว่า โครโมโซมในระยะเมตาเฟสเป็นระยะที่เหมาะสมในการศึกษามากที่สุด จึงนิยมทำกันแพร่หลายในแบบแรกและแบบที่สอง โดยเฉพาะแบบแรกนั้นนิยมทำมากที่สุด ทั้งนี้

เพราะมีเทคนิคที่สามารถชักนำให้เซลล์มาหยุดในระยะเมตาเฟส ได้จึงทำให้มีจำนวนเซลล์มากพอในการศึกษา อีกทั้งรูปร่างของโครโมโซมในระยะนี้ชัดเจนมากรอยหักและการแลกเปลี่ยนชิ้นส่วนของโครโมโซมจึงสังเกตดูได้ง่าย

7. **ความผิดปกติเนื่องจากการหักและการแลกเปลี่ยนของโครโมโซม**

การตรวจความผิดปกติของโครโมโซมนิยมตรวจจากเซลล์ในระยะเมตาเฟส แต่อย่างไรก็ตามก็ต้องคำนึงว่าการหักของโครโมโซมเกิดได้ในทุกระยะของวัฏจักรเซลล์ (G_1,S,G_2) เมื่อเซลล์ได้เคลื่อนตามวัฏจักรจนถึงระยะเมตาเฟสแล้วจึงจะนำมาศึกษารูปร่างของโครโมโซม ตลอดระยะที่เซลล์ได้ผ่านวงจรมานี้จะมีเหตุการณ์ต่างๆที่เกิดขึ้นคือ

1. โครโมโซมหักแล้วอาจมีการเชื่อมต่อกับรอยหักเดิม ทำให้โครโมโซมมีรูปร่างเหมือนเดิม
2. โครโมโซมหักแล้วอาจเชื่อมกับชิ้นส่วนหักอื่นๆที่มิใช่ชิ้นส่วนเดิมซึ่งอาจเป็นโครโมโซมเดิมหรือโครโมโซมใหม่ก็ได้ จึงทำให้เกิดเป็นรูปแบบของการแลกเปลี่ยนขึ้น ปรากฏรูปร่างของโครโมโซมที่ผิดแปลกออกไป
3. โครโมโซมหักแล้วไม่สามารถเชื่อมต่อกันได้อีกทำให้ปรากฏเป็นรอยขาดหรือหักของโครโมโซม

โครโมโซมประกอบด้วยโครมาติดเพียง 1 สายเมื่ออยู่ในวัฏจักรเซลล์ในระยะ G_1 และช่วงต้นของระยะ S และประกอบด้วยโครมาติด 2 สาย เมื่อเซลล์อยู่ในช่วงปลายของระยะ S และ G_2 การหักของโครโมโซมอาจเกิดขึ้นในระยะใดระยะหนึ่งดังกล่าวทำให้รูปร่างของโครโมโซมในระยะเมตาเฟสที่แตกต่างกันไปจากรูปร่างปกติเช่น โครโมโซมฉีกขาด โครโมโซมมีสองเซนโตรเมียร์ และโครโมโซมเป็นวง เป็นต้น

8. งานวิจัยที่เกี่ยวข้องและผลงานที่มีมาก่อน

ในการทดสอบผลของโครเมียมในสัตว์เลี้ยงลูกด้วยนม Howard *et al*. (1991) ทดสอบผลของ CrO_3 ต่อการเปลี่ยนแปลงโครโมโซมของ เซลล์รังไข่ของหนู (Chinese hamster ovary;CHO cells) พบว่าที่ความเข้มข้นสูงขึ้นความผิดปกติของโครโมโซมเพิ่มขึ้นและเกิดการแลกเปลี่ยนซิสเตอร์โครมาติดมากขึ้น ซึ่งต่อมา Kochhar and Howard (1993) ศึกษารูปแบบของโครเมียมที่เป็นสาเหตุของการเกิดการเปลี่ยนแปลงของโครโมโซมในเซลล์รังไข่ของหนู พบว่าโครเมียมรูป CrO_3 และ $K_2Cr_2O_7$ ทำให้ความผิดปกติของโครโมโซมและการแลกเปลี่ยนซิสเตอร์โครมาติดเพิ่มสูงขึ้น ขณะที่ $CrCl_2$ และ $Cr[NO_3]_3H_2O$ มีผลทำให้การแลกเปลี่ยนซิสเตอร์โครมาติดสูงขึ้นเล็กน้อยแต่ความผิดปกติไม่แตกต่างจากกลุ่มควบคุม

Patra *et al*. (2001) ศึกษาการเปลี่ยนแปลงของโครโมโซมและการแลกเปลี่ยนซิสเตอร์โครมาติด ในหนูที่ได้รับสารสกัดจากผักที่ปลูกในเขต Dhapa เมือง Culcatta ประเทศอินเดียซึ่งเป็นบริเวณที่มีมลพิษจากโรงงานฟอกหนังและมีโครเมียมตกค้างสูงโดยนำผักสามชนิดได้แก่ กะหล่ำปลี ผักขม และหัวผักกาด มาสกัดและนำสารสกัดที่มีความเข้มข้นโลหะหนักต่างกันมาเป็นอาหารของหนูพบการเปลี่ยนแปลงโครโมโซมเกิดขึ้นเฉพาะที่ความเข้มข้นสูงขณะที่การแลกเปลี่ยนซิสเตอร์โครมาติดพบในหนูที่เลี้ยงด้วยสารสกัดจากผักขมที่ความเข้มข้นปานกลางและสูง ส่วนสารสกัดจากกะหล่ำปลีและหัวผักกาดที่ความเข้มข้นสูงอย่างเดียวเท่านั้นที่ทำให้เกิดการแลกเปลี่ยนซิสเตอร์โครมาติด การศึกษาสรุปว่าที่ความเข้มข้นของโครเมียมต่ำเท่านั้นเป็นระดับที่คนบริโภคไม่ก่อให้เกิดการเปลี่ยนแปลงโครโมโซมและการแลกเปลี่ยนซิสเตอร์โครมาติด ดังนั้นจึงเป็นความเข้มข้นที่ปลอดภัยแต่ควรมีมาตรการในการลดมลพิษลงอีก

สำหรับคนส่วนใหญ่เป็นการศึกษาผลของโครเมียมต่อเซลล์ที่เพาะเลี้ยงเช่น Bakke *et al*. (1984) ศึกษาผลของโพแทสเซียมไดโครเมตต่อเซลล์ในการแบ่งตัวในระยะต่างๆพบว่าที่ความเข้มข้น 0.29 – 0.58 ppm ส่งผลให้ระยะเวลาในช่วง G_2 ,มีเวลานานขึ้นและเมื่อความเข้มข้นมากกว่า 0.58 ppm เซลล์จะหยุดการแบ่งตัว และยังพบอีกว่าสารประกอบพวกโครเมตนี้จะมีพิษและทำลายเซลล์ได้ดีในระยะ S และมีพิษสูงที่ความเข้มข้น 2.35 ppm ส่งผลให้เซลล์หยุดชะงักในช่วงต้นของระยะ S การศึกษาสรุปว่าโพแทสเซียมไดโครเมตมีผลต่อการสังเคราะห์ดีเอ็นเอ และอาร์เอ็นเอ ในระยะ S และไปรบกวนการแบ่งเซลล์ในระยะ G_2

Botta *et al*. (1996) รายงานว่าโครเมียมที่ใช้ในอุตสาหกรรมโลหะ อยู่ในรูป Cr^{3+} และ Cr^{6+} จากการศึกษาพบว่าโครเมียมชนิด Cr^{6+} สามารถผ่านเข้าสู่เซลล์ได้ ขณะที่โครเมียมชนิด Cr^{3+} ต้องผ่านการรีดิวซ์ในกระบวนการเมตาบอลิสมของเซลล์ก่อนเข้าจับกับกรดนิวคลีอิก การศึกษา

ครั้งนี้ดูผลทางความเป็นพิษของโพแทสเซียมไดโครเมตในเซลล์เม็ดเลือดขาวที่เพาะเลี้ยงของคน พบว่ามีความสัมพันธ์ระหว่างความเข้มข้นของโพแทสเซียมไดโครเมตในช่วง 0.01-0.1 ppm กับความเสียหายของโครโมโซม ความผิดปกติที่เกิดได้แก่การเกิดช่องว่างในโครโมโซม และ โครมาติดฉีกขาด

Rao *et al*. (1999) ศึกษาความเป็นพิษของโพแทสเซียมไดโครเมตต่อเซลล์เม็ดเลือดขาวของคนที่ความเข้มข้น 0.014 ppm และ 0.026 ppm โดยศึกษาการแลกเปลี่ยนซิสเตอร์โครมาติด (SCEs), cell cycle proliferative index (CCPI) และ Numerical Abberations (NAS) พบว่าเมื่อความเข้มข้นสูงขึ้นจะมีจำนวนการแลกเปลี่ยนซิสเตอร์โครมาติดต่อเซลล์และต่อโครโมโซมเพิ่มขึ้น,CCPI ไม่มีการเปลี่ยนแปลงและจะเกิดแอนยูพลอยด์ ที่ความเข้มข้นสูงๆด้วย

โพแทสเซียมไดโครเมตทำให้เกิดแอนยูพลอยด์ในเซลล์ MRC-5 ของคนที่เพาะเลี้ยงพบว่าที่ความเข้มข้น 0.07, 0.14 และ 0.29 ppm ทำให้เกิดแอนยูพลอยด์แตกต่างไปจากชุดควบคุมและพบว่ามีผลต่อไมโตติกอินเด็กซ์ด้วยทำให้หาจำนวนเซลล์ได้น้อย (Guerci *et al*.,2000) การศึกษาครั้งนี้พบว่าสอดคล้องกับรายงานก่อนหน้านี้ที่พบเซลล์ที่เป็นไฮโปดิพลอยด์มากกว่าไฮเปอร์ดิพลอยด์ซึ่งศึกษาต่อในเซลล์รังไข่ของหนูในระยะแอนาเฟสและเทโลเฟส พบว่ามีโครโมโซมหายไปและพบการย้อมติดสีของkinetochore ในไมโครนิวเคลียส การทดลองสรุปว่าสาเหตุที่แต่ละเซลล์มีจำนวนโครโมโซมไม่เท่ากันเกิดจากเส้นใยสปินเดิลไม่สามารถจับกับ kinetochore ตรงบริเวณเซนโตรเมียร์ได้ ทำให้โครโมโซมไม่เคลื่อนเข้าสู่ขั้วเซลล์ในระยะแอนาเฟส

ในพืชมีการศึกษาผลของโครเมียมต่อการเปลี่ยนแปลงโครโมโซมเช่นกัน เช่น การศึกษาของ Liu *et al*. (1992) พบว่าโครเมียมชนิด Cr^{3+} และ Cr^{6+} มีผลต่อการเติบโต,การแบ่งเซลล์และรูปร่างโครโมโซมในหอม *Allium cepa* โดยทั้งโพแทสเซียมไดโครเมต และโครเมียมไนเตรท ยับยั้งการเติบโตของรากและทำให้การแบ่งตัวของเซลล์ผิดปกติ ความผิดปกติที่พบได้แก่ โครโมโซมไม่เคลื่อนเข้าสู่ขั้วเซลล์,เกิด anaphase bridge และการแตกหักของโครโมโซมเป็นต้น โดยโพแทสเซียมไดโครเมต ยับยั้งการเติบโตของรากและการแบ่งเซลล์ได้มากกว่าโครเมียมไนเตรท

Sahi *et al*. (1998) ศึกษาผลของโครเมียมชนิด Cr^{6+} ในการชักนำให้เกิดการเปลี่ยนแปลงในเซลล์ร่างกายของพืชตระกูลหอม *Allium cepa* โดยนำรากที่เพาะในน้ำที่ปนเปื้อนโครเมียมชนิด Cr^{6+} ในความเข้มข้นระดับ0.003-0.750 ppm พบว่ามีความผิดปกติของโครโมโซมเกิดขึ้น ความผิดปกติส่วนใหญ่ได้แก่ โครโมโซมแตกหักแล้วไปเชื่อมติดกับโครโมโซมแท่งอื่น (bridges), เซนโตรเมียร์เสื่อมสภาพทำให้โครโมโซมไม่เคลื่อนเข้าสู่ขั้วเซลล์,เกิดการแตกของนิวเคลียส เป็นต้น

จากการตรวจเอกสารพบว่าการวิจัยถึงผลของโครเมียมในปลาและสัตว์น้ำส่วนใหญ่ ในระดับโครโมโซมยังไม่เคยมีการศึกษามาก่อน แต่มีรายงานในสิ่งมีชีวิตชนิดอื่นเช่นพืช มนุษย์ สัตว์เลี้ยงลูกด้วยนม และที่สำคัญการศึกษาผลของโพแทสเซียมไดโครเมต ต่อปลาตะเพียนขาว ยังไม่เคยมีการศึกษาถึงการเปลี่ยนแปลงในระดับโครโมโซมมาก่อน การศึกษาครั้งนี้จึงเป็นที่น่าสนใจและอาจได้ข้อมูลใหม่เพื่อใช้ในการพิจารณาคุณภาพน้ำทิ้งได้

วัตถุประสงค์

1. ศึกษาผลของโพแทสเซียมไดโครเมตต่อการเปลี่ยนแปลงการแบ่งเซลล์ในปลาตะเพียนขาว (*Puntius gonionotus* Bleeker)
2. ศึกษาผลของโพแทสเซียมไดโครเมตต่อการเปลี่ยนแปลงจำนวนโครโมโซม
3. ศึกษาผลของโพแทสเซียมไดโครเมตต่อการเปลี่ยนแปลงโครงสร้างของโครโมโซม
4. นำผลการทดลองเป็นข้อมูลในการพิจารณาคุณภาพน้ำทิ้งจากโรงงานฟอกหนัง