

## บทที่ 4

### บทวิจารณ์

จากผลการศึกษาความสามารถก่อกลายพันธุ์แบบทีเรียของตัวอย่างน้ำทิ้งจากโรงงานอุตสาหกรรมผลิตถุงมือยาง ซึ่งให้เห็นว่าการทดสอบด้วยวิธี Ames' test มีประสิทธิภาพและประสิทธิผลที่ดีในการวิเคราะห์หาสารที่มีฤทธิ์ทำให้เกิดการกลายพันธุ์ จนมีการใช้กันอย่างแพร่หลายในงานด้านสิ่งแวดล้อม เช่น การวิเคราะห์หาสารก่อกลายพันธุ์ในอากาศ แม่น้ำ ทะเลสาบ น้ำทิ้งจากโรงงานอุตสาหกรรม และน้ำดื่ม (Mamber *et al.*, 1993 ; Park *et al.*, 2000 ; Cerna *et al.*, 1998) โดยใช้แบคทีเรีย *Salmonella typhimurium* สายพันธุ์ TA 98 เพื่อทดสอบสารก่อกลายพันธุ์ที่ทำให้เกิดการเปลี่ยนแปลง (เพิ่มหรือลด) จำนวนคู่เบสในดีเอ็นเอ (frameshift mutagens) ทำให้ได้โปรตีนที่ผิดปกติ และสายพันธุ์ TA 100 เพื่อทดสอบสารก่อกลายพันธุ์ที่คู่เบสเดิมถูกแทนที่โดยคู่เบสคู่อื่น แต่จำนวนของคู่เบสยังคงเท่าเดิม (base-pair substitution mutagens) (U.S. Food and Drug Administration, 2000) ทั้งในสภาวะที่ถูกและไม่ถูกกระตุ้นโดยเอนไซม์จาก S9 fraction ของตับหนู (Vargas *et al.*, 1993) การทดสอบความสามารถก่อกลายพันธุ์ด้วยวิธีนี้ จัดเป็นการคัดกรองสารเคมีเบื้องต้น เนื่องจากเป็นการทดสอบความสามารถก่อกลายพันธุ์ของเซลล์ในแบคทีเรีย (prokaryote) จำเป็นต้องทดลองต่อไปในสัตว์เลี้ยงลูกด้วยนม (eukaryote) ทั้งระยะสั้นและระยะยาว ก่อนที่จะนำผลการศึกษามาใช้ประเมินความเสี่ยงในมนุษย์ (อุษณีย์ วิณิชเขตคานวม, 2534)

ผลจากการทดสอบตัวอย่างน้ำทิ้งทั้ง 5 ตัวอย่างที่ระดับความเข้มข้นปกติ ไม่พบฤทธิ์กระตุ้นการกลายพันธุ์ของเชื้อที่ใช้ทดสอบ แต่เมื่อนำตัวอย่างน้ำทิ้งไปประเหยแห้งและทดสอบส่วนสกัดของตัวอย่างน้ำที่ความเข้มข้น 50, 100 และ 200 เท่าของความเข้มข้นปกติ พบว่าทำให้เกิดการกลายพันธุ์ของเชื้อ *Salmonella typhimurium* สายพันธุ์ TA 98 เดิบโตเป็นโคโลนีในลักษณะที่มีความสัมพันธ์เชิงบวกต่อกัน คือ เมื่อระดับความเข้มข้นเพิ่มขึ้น จำนวน revertant colonies จะเพิ่มขึ้นตามไปด้วย ซึ่งในสภาพเป็นจริง เมื่อตัวอย่างน้ำทิ้งดังกล่าวถูกปล่อยลงสู่แหล่งน้ำสาธารณะจะถูกเจือจางด้วยน้ำธรรมชาติในลำคลอง ส่งผลให้ความเข้มข้นของสารก่อกลายพันธุ์ลดน้อยลงไปมาก แต่เนื่องจากสารก่อกลายพันธุ์สามารถสะสมอยู่ในธรรมชาติได้นาน จึงอาจเข้าไปสะสมอยู่ในร่างกายของสิ่งมีชีวิตที่อาศัยอยู่ในแหล่งน้ำได้โดยการดูดซึมโดยตรงจากน้ำและจากการกินอาหารที่มีสารเหล่านี้ตกค้างอยู่ ซึ่งจะเพิ่มปริมาณสูงขึ้นตามลำดับของห่วงโซ่อาหาร (food chain) และถ้ามีสารก่อกลายพันธุ์ปนเปื้อนอยู่ในผู้ผลิต สารเหล่านี้จะถูกถ่ายทอดไปยังผู้บริโภคได้ เรียกว่า การสะสมสารพิษใน

โซ่อาหาร (biomagnification) ซึ่งพืชน้ำและสัตว์น้ำมีโอกาสสะสมได้ในปริมาณที่สูงขึ้น ๆ ในช่วงชีวิต (วรรณณี เหมือนแก้ว และลีลา เรืองแป้น, 2540 ; Porto *et al.*, 2005)

ทั้งนี้ การแสดงฤทธิ์ก่อกลายพันธุ์ในตัวอย่างน้ำพบเฉพาะในสภาวะที่ไม่ใช่ S9 mixture หรือเอนไซม์จากตับหนู แสดงว่าสารก่อกลายพันธุ์ในตัวอย่างน้ำทั้งที่เป็นสารก่อกลายพันธุ์ที่สามารถออกฤทธิ์ได้โดยตรง (direct mutagen) ไม่จำเป็นต้องผ่านการเปลี่ยนแปลงโดยเอนไซม์ (metabolic activation) (Haider *et al.*, 2002) การทดสอบด้วยเชื้อ *Salmonella typhimurium* สายพันธุ์ TA 100 ให้ผลเป็นลบ แสดงว่า สารดังกล่าวไม่สามารถทำให้เกิดการกลายพันธุ์แบบการแทนที่คู่เบส (base-pair substitution mutation) แต่เมื่อทดสอบด้วยเชื้อ *Salmonella typhimurium* สายพันธุ์ TA 98 ให้ผลเป็นบวก แสดงว่า เป็นสารที่ก่อให้เกิดการกลายพันธุ์แบบเพิ่มหรือลดจำนวนคู่เบสในดีเอ็นเอ (frameshift mutation) ด้วยเหตุที่สารก่อมะเร็งส่วนใหญ่จะแสดงความสามารถของการก่อกลายพันธุ์ด้วย ดังนั้นเมื่อน้ำทิ้งที่ปนเปื้อนด้วยสารก่อกลายพันธุ์จากโรงงานผลิตถุงมือยางเหล่านี้ถูกปล่อยลงสู่คลองอยู่ตะเภาะซึ่งเป็นแหล่งน้ำดิบเพื่อการอุปโภคบริโภคของประชาชนส่วนใหญ่ในจังหวัดสงขลา จึงควรมีการเฝ้าระวังคุณภาพของแหล่งน้ำ รวมถึงควรมีการศึกษาและวิเคราะห์เพิ่มเติมเพื่อระบุชนิดของสารก่อกลายพันธุ์ที่พบในเซลล์เพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อ เพื่อประโยชน์ในการกำหนดแนวทางการป้องกันและแก้ไขที่เหมาะสมต่อไป

ในการศึกษาครั้งนี้ไม่พบฤทธิ์ก่อกลายพันธุ์โดยอ้อมในตัวอย่างน้ำที่ตรวจสอบ ทั้งนี้อาจเนื่องมาจากสารก่อกลายพันธุ์ถูกย่อยสลายด้วยเอนไซม์จากตับ ได้เมแทโบไลต์ที่ไม่สามารถก่อกลายพันธุ์ได้ ถูกเปลี่ยนเป็นสารตัวอื่นอย่างรวดเร็ว ทำให้ผลทดสอบฤทธิ์ก่อกลายพันธุ์เป็นลบ มีรายงานการตรวจพบฤทธิ์ก่อกลายพันธุ์ของสารเคมีหลายชนิดอย่างชัดเจนเมื่อทดสอบด้วยวิธีที่ดัดแปลงจาก Ames test ทั้ง ๆ ที่สารเหล่านี้ไม่แสดงฤทธิ์เมื่อทดสอบด้วยวิธีมาตรฐานของ Ames วิธีดัดแปลงนี้มีความยุ่งยากกว่าวิธีมาตรฐานแต่ก็มีความไวในการตรวจสอบฤทธิ์ก่อกลายพันธุ์มากกว่าเช่นกัน เช่น วิธีที่ใช้ delayed plating protocol และ Ames fluctuation test (Gatehouse, 1987) ซึ่งอาศัยหลักการปรับสภาพแวดล้อมให้แบคทีเรียที่ใช้ในการทดสอบแบ่งเซลล์อย่างต่อเนื่องโดยไม่ชะงักการเจริญเติบโตเหมือนที่เกิดขึ้นกับวิธีมาตรฐาน (lag phase ประมาณ 4-5 ชั่วโมง) ซึ่งมีผลทำให้เซลล์ตายไปบางส่วนด้วย เนื่องจากการเปลี่ยนอาหารที่ใช้เลี้ยงแบคทีเรียจาก rich medium เป็น minimal medium ดังนั้นหากใช้วิธีนี้ตรวจสอบสารที่ก่อกลายพันธุ์โดยอ้อมที่มี short life แล้วอาจพบการกระตุ้นให้แบคทีเรียกลายพันธุ์ที่สามารถตรวจวัดได้

นอกจากนี้ จากการศึกษาปัจจัยทางกายภาพและทางเคมีของตัวอย่างน้ำ พบว่า ค่าอุณหภูมิ ค่าความเป็นกรด-ด่าง ค่าความขุ่น และค่าการนำไฟฟ้า จะส่งผลต่อความสามารถในการก่อกลายพันธุ์ของตัวอย่างน้ำ โดยความสามารถในการละลายน้ำของสารก่อกลายพันธุ์จะมีค่าเพิ่มมากขึ้น เมื่อค่า

อุณหภูมิ ค่าความเป็นกรด-ด่าง และค่าการนำไฟฟ้าของตัวอย่างน้ำเพิ่มขึ้น ประกอบกับค่าความขุ่นที่สูงขึ้นบ่งชี้ถึงปริมาณของตะกอนแขวนลอยอยู่มาก (กรมควบคุมมลพิษ, 2547) ซึ่งจะทำให้รังสียูวีทะลุผ่านไปทำลายพันธะของสารก่อกลายพันธุ์ได้น้อยลง ส่งผลให้ตัวอย่างน้ำที่เก็บในช่วงฤดูร้อนสามารถทำให้เกิดการก่อกลายพันธุ์ได้มากกว่าตัวอย่างน้ำที่เก็บในช่วงฤดูฝน ทั้งนี้ยังพบว่าปริมาณน้ำฝนมีผลต่อความสามารถก่อกลายพันธุ์ เนื่องจากน้ำที่ทิ้งจากโรงงานอุตสาหกรรมผลิตถุงมือยางโดยส่วนใหญ่มีการบำบัดน้ำทิ้งแบบบ่อ ทำให้ปริมาณน้ำฝนที่ตกลงมาจะถูกเก็บรวบรวมเข้าไปในระบบบ่อบำบัดด้วย ส่งผลให้ระดับความเข้มข้นของสารมลพิษลดต่ำลง ซึ่งสอดคล้องกับผลการศึกษาของ Jolibois, Guerbet และ Vassal (2003) ที่ทำการทดสอบสารก่อกลายพันธุ์ในตัวอย่างน้ำที่ทิ้งจากโรงพยาบาลของมหาวิทยาลัย Rouen ในประเทศฝรั่งเศส พบว่าในช่วงที่มีปริมาณน้ำฝนน้อยที่สุด ตัวอย่างน้ำทิ้งจะมีฤทธิ์ก่อกลายพันธุ์สูงกว่า เนื่องจากน้ำฝนจะไปเจือจางทำให้สามารถลดความรุนแรงของสารก่อกลายพันธุ์ลง