บทที่ 3

ผลการวิจัย

การศึกษาความสามารถก่อกลายพันธุ์แบคทีเรียของน้ำทิ้งจากโรงงานอุตสาหกรรมผลิตถุงมือยางในจังหวัดสงขลา ด้วยการทดสอบการก่อกลายพันธุ์โดยวิธี Ames' test ซึ่งใช้แบคทีเรีย *Salmonella typhimurium* ในการทดสอบ โดยแบ่งรูปแบบของการศึกษาตาม 4 ตัวแปร คือ สายพันธุ์ของแบคทีเรีย *Salmonella typhimurium* ได้แก่ สายพันธุ์ TA 98 และ TA 100 สภาวะที่ใช้และไม่ใช้ S9 mixture ระดับความเข้มข้นของตัวอย่างที่ความเข้มข้นปกติและที่ความเข้มข้น 50-200 เท่า และฤดูกาลที่เก็บตัวอย่าง คือ ช่วงฤดูฝนและฤดูร้อน มีผลการศึกษา ดังนี้

1. ข้อมูลทั่วไปทางด้านกายภาพและเคมีของตัวอย่างน้ำที่ทำการศึกษา
2. การทดสอบโดยเชื้อ *Salmonella typhimurium* สายพันธุ์ TA 98 ในสภาวะที่ไม่ใช้ S9 mixture
3. การทดสอบโดยเชื้อ *Salmonella typhimurium* สายพันธุ์ TA 98 ในสภาวะที่ใช้ S9 mixture
4. การทดสอบโดยเชื้อ *Salmonella typhimurium* สายพันธุ์ TA 100 ในสภาวะที่ไม่ใช้ S9 mixture
5. การทดสอบโดยเชื้อ *Salmonella typhimurium* สายพันธุ์ TA 100 ในสภาวะที่ใช้ S9 mixture
6. ความสัมพันธ์ระหว่างความเข้มข้นของส่วนสกัดจากตัวอย่างน้ำและค่าเฉลี่ยจำนวนโคโลนีของเชื้อ *Salmonella typhimurium* (dose-response relationship)

โดยผลการวิจัยในแต่ละส่วนมีรายละเอียดดังนี้

1. ข้อมูลทั่วไปทางด้านกายภาพและเคมีของตัวอย่างน้ำที่ทำการศึกษา

คุณลักษณะทางด้านกายภาพและเคมีของตัวอย่างน้ำทิ้งจากโรงงานอุตสาหกรรมผลิตถุงมือยาง 5 แห่งที่ปล่อยน้ำทิ้งลงสู่คลองอู่ตะเภา น้ำดิบสำหรับการผลิตประปา และน้ำประปา แสดงในตาราง 1

ตาราง 1 ข้อมูลทั่วไปทางด้านกายภาพและเคมีของตัวอย่างน้ำที่ทำการศึกษา

ตัวอย่าง	อุณหภูมิ (°C)		ความเป็นกรด-ด่าง		ความขุ่น (NTU)		การนำไฟฟ้า(µS/cm)	
	ฤดูฝน	ฤดูร้อน	ฤดูฝน	ฤดูร้อน	ฤดูฝน	ฤดูร้อน	ฤดูฝน	ฤดูร้อน
โรงงาน 1	27	31	8.36	8.43	17.2	23.8	1,147	1,202
โรงงาน 2	28	32	7.64	8.24	18.7	24.6	1,184	1,634
โรงงาน 3	27	32	8.16	8.26	16.3	22.7	1,123	1,163
โรงงาน 4	29	32	6.64	8.45	17.2	18.2	1,180	1,710
โรงงาน 5	29	31	6.65	7.72	16.7	18.1	1,120	1,685
น้ำดิบ	28	28.5	6.31	6.65	15.2	16.1	121.2	207
น้ำประปา	28	29	6.17	6.66	1.43	2.81	90	199

จากข้อมูลทั่วไปทางด้านกายภาพและเคมีของตัวอย่างน้ำในตาราง 1 จะเห็นได้ว่า อุณหภูมิของตัวอย่างน้ำในช่วงฤดูฝน อยู่ในช่วง 27–29°C และในช่วงฤดูร้อน อุณหภูมิของตัวอย่างน้ำอยู่ในช่วง 28.5–32°C โดยอุณหภูมิของตัวอย่างน้ำในช่วงฤดูร้อนจะมีค่าสูงกว่าฤดูฝนเล็กน้อย ในขณะเดียวกันค่าความเป็นกรด-ด่างของตัวอย่างน้ำในช่วงฤดูฝนมีค่าระหว่าง 6.17–8.36 และในช่วงฤดูร้อนมีค่าระหว่าง 6.65–8.45 ซึ่งมีค่าที่ใกล้เคียงกัน

ค่าความขุ่นของตัวอย่างน้ำสามารถแบ่งได้เป็น 2 กลุ่ม ได้แก่ กลุ่มตัวอย่างน้ำที่เป็นน้ำทิ้งจากโรงงานอุตสาหกรรมและแหล่งน้ำดิบสำหรับการผลิตประปา ซึ่งมีค่าระหว่าง 15.2-24.6 NTU ส่วนอีกกลุ่มหนึ่งคือ น้ำประปา ซึ่งมีค่าระหว่าง 1.43-2.81 NTU จากข้อมูลพบว่าแนวโน้มค่าความขุ่นของน้ำตัวอย่างในฤดูร้อนจะมีค่าสูงกว่าฤดูฝนเล็กน้อย ค่าการนำไฟฟ้าของตัวอย่างน้ำสามารถแบ่งออกได้เป็น 2 กลุ่ม โดยกลุ่มแรก คือ กลุ่มตัวอย่างน้ำที่เป็นน้ำทิ้งจากโรงงานอุตสาหกรรม ซึ่งมีค่าระหว่าง 1,120-1,710 µS/cm ส่วนอีกกลุ่มหนึ่งคือกลุ่มที่เป็นน้ำดิบสำหรับการผลิตประปาและน้ำประปา ซึ่งมีค่าอยู่ระหว่าง 90-207 µS/cm โดยพบว่าค่าการนำไฟฟ้าของตัวอย่างน้ำในฤดูร้อนมีค่าสูงกว่าฤดูฝน

จากการวิเคราะห์ความแตกต่างโดยใช้สถิติ paired t-test เปรียบเทียบคุณลักษณะทางด้านกายภาพและเคมีของตัวอย่างน้ำทิ้งจากโรงงานอุตสาหกรรมผลิตถุงมือยาง 5 แห่ง น้ำดิบสำหรับการผลิตประปา และน้ำประปา ระหว่างฤดูร้อนและฤดูฝน พบว่าค่าอุณหภูมิ ความเป็นกรด-ด่าง ความขุ่น และการนำไฟฟ้าของตัวอย่างน้ำในช่วงฤดูร้อนจะมีค่าสูงกว่าช่วงฤดูฝนอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p < 0.05$)

2. การทดสอบด้วยเชื้อ *Salmonella typhimurium* สายพันธุ์ TA 98 ในสภาวะที่ไม่ใช้ S9 mixture

ผลการศึกษาความสามารถก่อกลายพันธุ์แบคทีเรียของตัวอย่างน้ำทิ้งจากโรงงานอุตสาหกรรมผลิตถุงมือยาง น้ำดิบสำหรับการผลิตประปา และน้ำประปา ในสภาวะที่ไม่ใช้ S9 mixture ทดสอบด้วยเชื้อ *Salmonella typhimurium* สายพันธุ์ TA 98

ตาราง 2 จำนวนโคโลนีของเชื้อ *Salmonella typhimurium* สายพันธุ์ TA 98 ที่กลายพันธุ์ในสภาวะที่ไม่ใช้ S9 mixture หลังจากการเติมตัวอย่างน้ำที่เก็บในช่วงฤดูฝนและฤดูร้อนที่ความเข้มข้นปกติและความเข้มข้น 100 เท่า

ตัวอย่าง	Revertant colonies (His+/plate)			
	ฤดูฝน		ฤดูร้อน	
	ความเข้มข้นปกติ	ความเข้มข้น 100 เท่า	ความเข้มข้นปกติ	ความเข้มข้น 100 เท่า
โรงงาน 1	18.17±2.48	19.00±1.79	21.00±2.61	50.00±4.20*
โรงงาน 2	17.67±1.63	22.50±4.09	17.83±1.94	37.33±2.59*
โรงงาน 3	17.00±2.37	18.17±2.23	17.50±1.88	21.33±2.73
โรงงาน 4	18.17±1.47	18.83±3.06	18.67±1.86	36.33±2.81*
โรงงาน 5	16.83±2.66	20.17±4.40	17.00±2.00	22.33±2.42
น้ำดิบ	16.67±2.66	20.00±1.27	19.17±2.32	20.83±3.66
น้ำประปา	17.33±1.86	18.00±1.79	17.33±1.63	19.00±2.83
SR	16.33±1.21	16.00±2.61	16.17±1.47	17.33±2.58

หมายเหตุ : 1) ผลที่แสดงเป็นค่าเฉลี่ยและค่าเบี่ยงเบนมาตรฐานจากการทดลอง 2 ครั้ง แต่ละครั้งทำ 3 ซ้ำ โดยไม่หักลบ spontaneous revertants (SR, negative control)

2) * หมายถึง จำนวนโคโลนีกลายพันธุ์เฉลี่ยมีค่ามากกว่า 2 เท่าของจำนวนกลายพันธุ์ตามธรรมชาติ (spontaneous revertants)

2.1 ตัวอย่างน้ำที่เก็บในช่วงฤดูฝน

2.1.1 ตัวอย่างน้ำที่ความเข้มข้นปกติ

จำนวน revertant colonies เฉลี่ยของเชื้อ *Salmonella typhimurium* สายพันธุ์ TA 98 สภาวะที่ไม่ใช้ S9 mixture ที่เกิดขึ้นเองตามธรรมชาติ คือ 16 โคโลนี ในขณะเดียวกันจำนวน revertant

colonies เฉลี่ยของเชื้อ *Salmonella typhimurium* สายพันธุ์ TA 98 ที่ถูกเหนี่ยวนำด้วยน้ำทิ้งจากโรงงานที่ 1, 2, 3, 4, 5, น้ำดิบสำหรับการผลิตประปา และน้ำประปา มีค่าเท่ากับ 18, 18, 17, 18, 17, 17 และ 17 โคโลนี ตามลำดับ (ตาราง 2) จากนั้นเมื่อนำค่า revertant colonies เฉลี่ยของเชื้อ *Salmonella typhimurium* สายพันธุ์ TA 98 ที่เกิดขึ้นเองตามธรรมชาติ มาหารกับจำนวน revertant colonies เฉลี่ยของน้ำแต่ละตัวอย่าง พบว่า มีจำนวนน้อยกว่า 2 เท่า ของจำนวนการกลายพันธุ์ของแบคทีเรียที่มีตามธรรมชาติ

2.1.2 ตัวอย่างน้ำที่ความเข้มข้น 100 เท่า

จำนวน revertant colonies เฉลี่ยของเชื้อ *Salmonella typhimurium* สายพันธุ์ TA 98 สภาวะที่ไม่ใช้ S9 mixture ที่เกิดขึ้นเองตามธรรมชาติ คือ 16 โคโลนี ในขณะเดียวกันจำนวน revertant colonies เฉลี่ยของเชื้อ *Salmonella typhimurium* สายพันธุ์ TA 98 ที่ถูกเหนี่ยวนำด้วยน้ำทิ้งจากโรงงานที่ 1, 2, 3, 4, 5, น้ำดิบสำหรับการผลิตประปา และน้ำประปา มีค่าเท่ากับ 19, 23, 18, 19, 20, 20 และ 18 โคโลนี ตามลำดับ (ตาราง 2) จากนั้นเมื่อนำค่า revertant colonies เฉลี่ยของเชื้อ *Salmonella typhimurium* สายพันธุ์ TA 98 ที่เกิดขึ้นเองตามธรรมชาติ มาหารกับจำนวน revertant colonies เฉลี่ยของน้ำแต่ละตัวอย่าง พบว่า มีจำนวนน้อยกว่า 2 เท่า ของจำนวนการกลายพันธุ์ของแบคทีเรียที่มีตามธรรมชาติ

2.2 ตัวอย่างน้ำที่เก็บในช่วงฤดูร้อน

2.2.1 ตัวอย่างน้ำที่ความเข้มข้นปกติ

จำนวน revertant colonies เฉลี่ยของเชื้อ *Salmonella typhimurium* สายพันธุ์ TA 98 สภาวะที่ไม่ใช้ S9 mixture ที่เกิดขึ้นเองตามธรรมชาติ คือ 16 โคโลนี ในขณะเดียวกันจำนวน revertant colonies เฉลี่ยของเชื้อ *Salmonella typhimurium* สายพันธุ์ TA 98 ที่ถูกเหนี่ยวนำด้วยน้ำทิ้งจากโรงงานที่ 1, 2, 3, 4, 5, น้ำดิบสำหรับการผลิตประปา และน้ำประปา มีค่าเท่ากับ 21, 18, 18, 19, 17, 19 และ 17 โคโลนี ตามลำดับ (ตาราง 2) จากนั้นเมื่อนำค่า revertant colonies เฉลี่ยของเชื้อ *Salmonella typhimurium* สายพันธุ์ TA 98 ที่เกิดขึ้นเองตามธรรมชาติ มาหารกับจำนวน revertant colonies เฉลี่ยของน้ำแต่ละตัวอย่าง พบว่า มีจำนวนน้อยกว่า 2 เท่า ของจำนวนการกลายพันธุ์ของแบคทีเรียที่มีตามธรรมชาติ

2.2.2 ตัวอย่างน้ำที่ความเข้มข้น 100 เท่า

จำนวน revertant colonies เฉลี่ยของเชื้อ *Salmonella typhimurium* สายพันธุ์ TA 98 สภาวะที่ไม่ใช้ S9 mixture ที่เกิดขึ้นเองตามธรรมชาติ คือ 17 โคโลนี ในขณะเดียวกันจำนวน revertant colonies เฉลี่ยของเชื้อ *Salmonella typhimurium* สายพันธุ์ TA 98 ที่ถูกเหนี่ยวนำด้วยน้ำทิ้งจาก

โรงงานที่ 1, 2, 3, 4, 5, น้ำดิบสำหรับการผลิตประปา และน้ำประปา มีค่าเท่ากับ 50, 37, 21, 36, 22, 21 และ 19 โคโลนี ตามลำดับ (ตาราง 2) จากนั้นเมื่อนำค่า revertant colonies เฉลี่ยของเชื้อ *Salmonella typhimurium* สายพันธุ์ TA 98 ที่เกิดขึ้นเองตามธรรมชาติ มาหารกับจำนวน revertant colonies เฉลี่ยของน้ำแต่ละตัวอย่าง พบว่า ตัวอย่างน้ำทิ้งจากโรงงานที่ 1, 2 และ 4 มี revertant colonies มากกว่า 2 เท่าของจำนวนการกลายพันธุ์ของแบคทีเรียที่มีตามธรรมชาติ

3. การทดสอบด้วยเชื้อ *Salmonella typhimurium* สายพันธุ์ TA 98 ในสภาวะที่ใช้ S9 mixture

ผลการศึกษาความสามารถก่อกลายพันธุ์แบคทีเรียของตัวอย่างน้ำทิ้งจากโรงงานอุตสาหกรรมผลิตถุงมือยาง น้ำดิบสำหรับการผลิตประปา และน้ำประปาในสภาวะที่ใช้ S9 mixture ทดสอบด้วยเชื้อ *Salmonella typhimurium* สายพันธุ์ TA 98

ตาราง 3 จำนวนโคโลนีของเชื้อ *Salmonella typhimurium* สายพันธุ์ TA 98 ที่กลายพันธุ์ในสภาวะที่ใช้ S9 mixture หลังจากการเติมตัวอย่างน้ำที่เก็บในช่วงฤดูฝนและฤดูร้อนที่ความเข้มข้นปกติและความเข้มข้น 100 เท่า

ตัวอย่าง	Revertant colonies (His+/plate)			
	ฤดูฝน		ฤดูร้อน	
	ความเข้มข้นปกติ	ความเข้มข้น 100 เท่า	ความเข้มข้นปกติ	ความเข้มข้น 100 เท่า
โรงงาน 1	45.50±4.64	49.50±4.64	51.67±4.18	64.33±4.46
โรงงาน 2	42.83±4.92	50.00±4.38	51.17±3.76	71.67±4.84
โรงงาน 3	41.17±4.71	51.00±3.74	56.00±3.90	63.33±4.59
โรงงาน 4	40.33±4.84	53.50±4.93	52.50±4.77	65.50±3.89
โรงงาน 5	40.17±4.31	50.33±2.94	51.33±4.03	64.67±4.03
น้ำดิบ	40.33±4.84	52.33±2.42	49.83±4.62	66.83±4.79
น้ำประปา	36.67±4.59	51.17±4.67	49.67±3.14	67.33±4.89
SR	36.67±3.08	46.67±4.37	49.00±4.73	57.83±4.96

หมายเหตุ : ผลที่แสดงเป็นค่าเฉลี่ยและค่าเบี่ยงเบนมาตรฐานจากการทดลอง 2 ครั้ง แต่ละครั้งทำ 3 ซ้ำ โดยไม่หักลบ spontaneous revertants (SR, negative control)

3.1 ตัวอย่างน้ำที่เก็บในช่วงฤดูฝน

3.1.1 ตัวอย่างน้ำที่ความเข้มข้นปกติ

จำนวน revertant colonies เฉลี่ยของเชื้อ *Salmonella typhimurium* สายพันธุ์ TA 98 สภาวะที่ใช้ S9 mixture ที่เกิดขึ้นเองตามธรรมชาติ คือ 37 โคโลนี ในขณะเดียวกันจำนวน revertant colonies เฉลี่ยของเชื้อ *Salmonella typhimurium* สายพันธุ์ TA 98 ที่ถูกเหนี่ยวนำด้วยน้ำทิ้งจากโรงงานที่ 1, 2, 3, 4, 5, น้ำดิบสำหรับการผลิตประปา และน้ำประปา มีค่าเท่ากับ 46, 43, 41, 40, 40, 40 และ 37 โคโลนี ตามลำดับ (ตาราง 3) จากนั้นเมื่อนำค่า revertant colonies เฉลี่ยของเชื้อ *Salmonella typhimurium* สายพันธุ์ TA 98 ที่เกิดขึ้นเองตามธรรมชาติ มาหารกับจำนวน revertant colonies เฉลี่ยของน้ำแต่ละตัวอย่าง พบว่า มีจำนวนน้อยกว่า 2 เท่า ของจำนวนการกลายพันธุ์ของแบคทีเรียที่มีตามธรรมชาติ

3.1.2 ตัวอย่างน้ำที่ความเข้มข้น 100 เท่า

จำนวน revertant colonies เฉลี่ยของเชื้อ *Salmonella typhimurium* สายพันธุ์ TA 98 สภาวะที่ใช้ S9 mixture ที่เกิดขึ้นเองตามธรรมชาติ คือ 47 โคโลนี ในขณะเดียวกันจำนวน revertant colonies เฉลี่ยของเชื้อ *Salmonella typhimurium* สายพันธุ์ TA 98 ที่ถูกเหนี่ยวนำด้วยน้ำทิ้งจากโรงงานที่ 1, 2, 3, 4, 5, น้ำดิบสำหรับการผลิตประปา และน้ำประปา มีค่าเท่ากับ 50, 50, 51, 54, 50, 52 และ 51 โคโลนี ตามลำดับ (ตาราง 3) จากนั้นเมื่อนำค่า revertant colonies เฉลี่ยของเชื้อ *Salmonella typhimurium* สายพันธุ์ TA 98 ที่เกิดขึ้นเองตามธรรมชาติ มาหารกับจำนวน revertant colonies เฉลี่ยของน้ำแต่ละตัวอย่าง พบว่า มีจำนวนน้อยกว่า 2 เท่า ของจำนวนการกลายพันธุ์ของแบคทีเรียที่มีตามธรรมชาติ

3.2 ตัวอย่างน้ำที่เก็บในช่วงฤดูร้อน

3.2.1 ตัวอย่างน้ำที่ความเข้มข้นปกติ

จำนวน revertant colonies เฉลี่ยของเชื้อ *Salmonella typhimurium* สายพันธุ์ TA 98 สภาวะที่ใช้ S9 mixture ที่เกิดขึ้นเองตามธรรมชาติ คือ 49 โคโลนี ในขณะเดียวกันจำนวน revertant colonies เฉลี่ยของเชื้อ *Salmonella typhimurium* สายพันธุ์ TA 98 ที่ถูกเหนี่ยวนำด้วยน้ำทิ้งจากโรงงานที่ 1, 2, 3, 4, 5, น้ำดิบสำหรับการผลิตประปา และน้ำประปา มีค่าเท่ากับ 52, 51, 56, 53, 51, 50 และ 50 โคโลนี ตามลำดับ (ตาราง 3) จากนั้นเมื่อนำค่า revertant colonies เฉลี่ยของเชื้อ *Salmonella typhimurium* สายพันธุ์ TA 98 ที่เกิดขึ้นเองตามธรรมชาติ มาหารกับจำนวน revertant colonies เฉลี่ยของน้ำแต่ละตัวอย่าง พบว่า มีจำนวนน้อยกว่า 2 เท่า ของจำนวนการกลายพันธุ์ของแบคทีเรียที่มีตามธรรมชาติ

3.2.2 ตัวอย่างน้ำที่ความเข้มข้น 100 เท่า

จำนวน revertant colonies เฉลี่ยของเชื้อ *Salmonella typhimurium* สายพันธุ์ TA 98 สภาวะที่ใช้ S9 mixture ที่เกิดขึ้นเองตามธรรมชาติ คือ 58 โคโลนี ในขณะเดียวกันจำนวน revertant colonies เฉลี่ยของเชื้อ *Salmonella typhimurium* สายพันธุ์ TA 98 ที่ถูกเหนี่ยวนำด้วยน้ำทิ้งจากโรงงานที่ 1, 2, 3, 4, 5, น้ำดิบสำหรับการผลิตประปา และน้ำประปา มีค่าเท่ากับ 64, 72, 63, 66, 65, 67 และ 67 โคโลนี ตามลำดับ (ตาราง 3) จากนั้นเมื่อนำค่า revertant colonies เฉลี่ยของเชื้อ *Salmonella typhimurium* สายพันธุ์ TA 98 ที่เกิดขึ้นเองตามธรรมชาติ มาหารกับจำนวน revertant colonies เฉลี่ยของน้ำแต่ละตัวอย่าง พบว่า มีจำนวนน้อยกว่า 2 เท่า ของจำนวนการกลายพันธุ์ของแบคทีเรียที่มีตามธรรมชาติ

4. การทดสอบด้วยเชื้อ *Salmonella typhimurium* สายพันธุ์ TA 100 ในสภาวะที่ไม่ใช้ S9 mixture

ผลการศึกษาความสามารถก่อกลายพันธุ์แบคทีเรียของตัวอย่างน้ำทิ้งจากโรงงานอุตสาหกรรมผลิตถุงมือยาง น้ำดิบสำหรับการผลิตประปา และน้ำประปาในสภาวะที่ไม่ใช้ S9 mixture ทดสอบด้วยเชื้อ *Salmonella typhimurium* สายพันธุ์ TA 100

ตาราง 4 จำนวนโคโลนีของเชื้อ *Salmonella typhimurium* สายพันธุ์ TA 100 ที่กลายพันธุ์ในสภาวะที่ไม่ใช้ S9 mixture หลังจากการเติมตัวอย่างน้ำที่เก็บในช่วงฤดูฝนและฤดูร้อนที่ความเข้มข้นปกติและความเข้มข้น 100 เท่า

ตัวอย่าง	Revertant colonies (His+/plate)			
	ฤดูฝน		ฤดูร้อน	
	ความเข้มข้นปกติ	ความเข้มข้น 100 เท่า	ความเข้มข้นปกติ	ความเข้มข้น 100 เท่า
โรงงาน 1	182.33±5.79	197.17±6.08	183.00±6.72	215.83±6.85
โรงงาน 2	191.83±6.74	204.83±6.18	198.67±6.44	218.33±2.86
โรงงาน 3	170.83±6.05	207.00±5.73	174.83±6.80	212.17±5.67
โรงงาน 4	173.17±5.91	198.67±6.22	194.33±6.25	199.00±6.10
โรงงาน 5	182.67±6.22	205.00±6.26	195.83±6.68	210.50±6.47
น้ำดิบ	169.83±6.74	193.00±4.60	172.67±6.77	213.83±5.42
น้ำประปา	158.67±6.31	204.50±5.43	190.50±6.47	218.00±5.59
SR	158.67±5.75	189.67±3.56	165.33±6.02	191.83±4.75

หมายเหตุ : ผลที่แสดงเป็นค่าเฉลี่ยและค่าเบี่ยงเบนมาตรฐานจากการทดลอง 2 ครั้ง แต่ละครั้งทำ 3 ซ้ำ โดยไม่หักลบ spontaneous revertants (SR, negative control)

4.1 ตัวอย่างน้ำที่เก็บในช่วงฤดูฝน

4.1.1 ตัวอย่างน้ำที่ความเข้มข้นปกติ

จำนวน revertant colonies เฉลี่ยของเชื้อ *Salmonella typhimurium* สายพันธุ์ TA 100 สภาวะที่ไม่ใช้ S9 mixture ที่เกิดขึ้นเองตามธรรมชาติ คือ 159 โคโลนี ในขณะเดียวกันจำนวน revertant colonies เฉลี่ยของเชื้อ *Salmonella typhimurium* สายพันธุ์ TA 100 ที่ถูกเหนี่ยวนำด้วยน้ำทิ้งจากโรงงานที่ 1, 2, 3, 4, 5, น้ำดิบสำหรับการผลิตประปา และน้ำประปา มีค่าเท่ากับ 182, 192, 171, 173, 183, 170 และ 159 โคโลนี ตามลำดับ (ตาราง 4) จากนั้นเมื่อนำค่า revertant colonies เฉลี่ยของเชื้อ *Salmonella typhimurium* สายพันธุ์ TA 100 ที่เกิดขึ้นเองตามธรรมชาติ มาหารกับจำนวน revertant colonies เฉลี่ยของน้ำแต่ละตัวอย่าง พบว่า มีจำนวนน้อยกว่า 2 เท่า ของจำนวนการกลายพันธุ์ของแบคทีเรียที่มีตามธรรมชาติ

4.1.2 ตัวอย่างน้ำที่ความเข้มข้น 100 เท่า

จำนวน revertant colonies เฉลี่ยของเชื้อ *Salmonella typhimurium* สายพันธุ์ TA 100 สภาวะที่ไม่ใช้ S9 mixture ที่เกิดขึ้นเองตามธรรมชาติ คือ 190 โคโลนี ในขณะเดียวกันจำนวน revertant colonies เฉลี่ยของเชื้อ *Salmonella typhimurium* สายพันธุ์ TA 100 ที่ถูกเหนี่ยวนำด้วยน้ำทิ้งจากโรงงานที่ 1, 2, 3, 4, 5, น้ำดิบสำหรับการผลิตประปา และน้ำประปา มีค่าเท่ากับ 197, 205, 207, 199, 205, 193 และ 205 โคโลนี ตามลำดับ (ตาราง 4) จากนั้นเมื่อนำค่า revertant colonies เฉลี่ยของเชื้อ *Salmonella typhimurium* สายพันธุ์ TA 100 ที่เกิดขึ้นเองตามธรรมชาติ มาหารกับจำนวน revertant colonies เฉลี่ยของน้ำแต่ละตัวอย่าง พบว่า มีจำนวนน้อยกว่า 2 เท่า ของจำนวนการกลายพันธุ์ของแบคทีเรียที่มีตามธรรมชาติ

4.2 ตัวอย่างน้ำที่เก็บในช่วงฤดูร้อน

4.2.1 ตัวอย่างน้ำที่ความเข้มข้นปกติ

จำนวน revertant colonies เฉลี่ยของเชื้อ *Salmonella typhimurium* สายพันธุ์ TA 100 สภาวะที่ไม่ใช้ S9 mixture ที่เกิดขึ้นเองตามธรรมชาติ คือ 165 โคโลนี ในขณะเดียวกันจำนวน revertant colonies เฉลี่ยของเชื้อ *Salmonella typhimurium* สายพันธุ์ TA 100 ที่ถูกเหนี่ยวนำด้วยน้ำทิ้งจากโรงงานที่ 1, 2, 3, 4, 5, น้ำดิบสำหรับการผลิตประปา และน้ำประปา มีค่าเท่ากับ 183, 199, 175, 194, 196, 173 และ 191 โคโลนี ตามลำดับ (ตาราง 4) จากนั้นเมื่อนำค่า revertant colonies เฉลี่ยของเชื้อ *Salmonella typhimurium* สายพันธุ์ TA 100 ที่เกิดขึ้นเองตามธรรมชาติ มาหารกับจำนวน revertant colonies เฉลี่ยของน้ำแต่ละตัวอย่าง พบว่า มีจำนวนน้อยกว่า 2 เท่า ของจำนวนการกลายพันธุ์ของแบคทีเรียที่มีตามธรรมชาติ

4.2.2 ตัวอย่างน้ำที่ความเข้มข้น 100 เท่า

จำนวน revertant colonies เฉลี่ยของเชื้อ *Salmonella typhimurium* สายพันธุ์ TA 100 สภาวะที่ไม่ใช้ S9 mixture ที่เกิดขึ้นเองตามธรรมชาติ คือ 192 โคโลนี ในขณะเดียวกันจำนวน revertant colonies เฉลี่ยของเชื้อ *Salmonella typhimurium* สายพันธุ์ TA 100 ที่ถูกเหนี่ยวนำด้วยน้ำทิ้งจากโรงงานที่ 1, 2, 3, 4, 5, น้ำดิบสำหรับการผลิตประปา และน้ำประปา มีค่าเท่ากับ 216, 218, 212, 199, 211, 214 และ 218 โคโลนี ตามลำดับ (ตาราง 4) จากนั้นเมื่อนำค่า revertant colonies เฉลี่ยของเชื้อ *Salmonella typhimurium* สายพันธุ์ TA 100 ที่เกิดขึ้นเองตามธรรมชาติ มาหารกับจำนวน revertant colonies เฉลี่ยของน้ำแต่ละตัวอย่าง พบว่า มีจำนวนน้อยกว่า 2 เท่า ของจำนวนการกลายพันธุ์ของแบคทีเรียที่มีตามธรรมชาติ

. การทดสอบด้วยเชื้อ *Salmonella typhimurium* สายพันธุ์ TA 100 ในสภาวะที่ใช้ S9 mixture

ผลการศึกษาความสามารถก่อกลายพันธุ์แบคทีเรียของตัวอย่างน้ำทิ้งจากโรงงานตสาหกรรมผลิตถุงมือยาง น้ำดิบสำหรับการผลิตประปา และน้ำประปาในสภาวะที่ใช้ S9 mixture ดสอบด้วยเชื้อ *Salmonella typhimurium* สายพันธุ์ TA 100

ารางที่ 5 จำนวนโคโลนีของเชื้อ *Salmonella typhimurium* สายพันธุ์ TA 100 ที่กลายพันธุ์ในสภาวะที่ใช้ S9 mixture หลังจากการเติมตัวอย่างน้ำที่เก็บในช่วงฤดูฝนและฤดูร้อนที่ความเข้มข้นปกติและความเข้มข้น 100 เท่า

ตัวอย่าง	Revertant colonies (His+/plate)			
	ฤดูฝน		ฤดูร้อน	
	ความเข้มข้นปกติ	ความเข้มข้น 100 เท่า	ความเข้มข้นปกติ	ความเข้มข้น 100 เท่า
โรงงาน 1	289.67±5.65	316.00±5.29	299.00±3.16	316.33±4.63
โรงงาน 2	258.67±6.47	310.00±6.90	300.17±4.58	313.67±5.09
โรงงาน 3	268.83±6.59	312.00±6.48	284.00±6.42	321.83±5.78
โรงงาน 4	249.67±5.61	298.33±5.79	296.00±5.10	315.50±5.68
โรงงาน 5	296.00±3.35	322.67±4.68	308.83±6.18	332.33±8.60
น้ำดิบ	289.50±6.54	313.67±5.09	289.17±5.91	319.33±6.65
น้ำประปา	253.67±6.89	303.17±5.78	291.83±4.75	325.67±4.55
SR	219.67±6.06	292.83±6.08	281.17±6.49	297.83±6.24

หมายเหตุ : ผลที่แสดงเป็นค่าเฉลี่ยและค่าเบี่ยงเบนมาตรฐานจากการทดลอง 2 ครั้ง แต่ละครั้งทำ 3 ซ้ำ โดยไม่หักลบ spontaneous revertants (SR, negative control)

5.1 ตัวอย่างน้ำที่เก็บในช่วงฤดูฝน

5.1.1 ตัวอย่างน้ำที่ความเข้มข้นปกติ

จำนวน revertant colonies เฉลี่ยของเชื้อ *Salmonella typhimurium* สายพันธุ์ TA 100 สภาวะที่ใช้ S9 mixture ที่เกิดขึ้นเองตามธรรมชาติ คือ 220 โคโลนี ในขณะเดียวกันจำนวน revertant colonies เฉลี่ยของเชื้อ *Salmonella typhimurium* สายพันธุ์ TA 100 ที่ถูกเหนี่ยวนำด้วยน้ำทิ้งจากโรงงานที่ 1, 2, 3, 4, 5, น้ำดิบสำหรับการผลิตประปาและน้ำประปา มีค่าเท่ากับ 290, 259, 269, 250, 296, 290 และ 254 โคโลนี ตามลำดับ (ตาราง 5) จากนั้นเมื่อนำค่า revertant colonies เฉลี่ยของเชื้อ *Salmonella typhimurium* สายพันธุ์ TA 100 ที่เกิดขึ้นเองตามธรรมชาติ มาหารกับจำนวน revertant colonies เฉลี่ยของน้ำแต่ละตัวอย่าง พบว่ามีจำนวนน้อยกว่า 2 เท่า ของจำนวนการกลายพันธุ์ของแบคทีเรียที่มีตามธรรมชาติ

5.1.2 ตัวอย่างน้ำที่ความเข้มข้น 100 เท่า

จำนวน revertant colonies เฉลี่ยของเชื้อ *Salmonella typhimurium* สายพันธุ์ TA 100 สภาวะที่ใช้ S9 mixture ที่เกิดขึ้นเองตามธรรมชาติ คือ 293 โคโลนี ในขณะเดียวกันจำนวน revertant colonies เฉลี่ยของเชื้อ *Salmonella typhimurium* สายพันธุ์ TA 100 ที่ถูกเหนี่ยวนำด้วยน้ำทิ้งจากโรงงานที่ 1, 2, 3, 4, 5, น้ำดิบสำหรับการผลิตประปา และน้ำประปา มีค่าเท่ากับ 316, 310, 312, 298, 323, 314 และ 303 โคโลนี ตามลำดับ (ตาราง 5) จากนั้นเมื่อนำค่า revertant colonies เฉลี่ยของเชื้อ *Salmonella typhimurium* สายพันธุ์ TA 100 ที่เกิดขึ้นเองตามธรรมชาติ มาหารกับจำนวน revertant colonies เฉลี่ยของน้ำแต่ละตัวอย่าง พบว่า มีจำนวนน้อยกว่า 2 เท่า ของจำนวนการกลายพันธุ์ของแบคทีเรียที่มีตามธรรมชาติ

5.2 ตัวอย่างน้ำที่เก็บในช่วงฤดูร้อน

5.2.1 ตัวอย่างน้ำที่ความเข้มข้นปกติ

จำนวน revertant colonies เฉลี่ยของเชื้อ *Salmonella typhimurium* สายพันธุ์ TA 100 สภาวะที่ใช้ S9 mixture ที่เกิดขึ้นเองตามธรรมชาติ คือ 281 โคโลนี ในขณะเดียวกันจำนวน revertant colonies เฉลี่ยของเชื้อ *Salmonella typhimurium* สายพันธุ์ TA 100 ที่ถูกเหนี่ยวนำด้วยน้ำทิ้งจากโรงงานที่ 1, 2, 3, 4, 5, น้ำดิบสำหรับการผลิตประปา และน้ำประปา มีค่าเท่ากับ 299, 300, 284, 296, 309, 289 และ 292 โคโลนี ตามลำดับ (ตาราง 5) จากนั้นเมื่อนำค่า revertant colonies เฉลี่ยของเชื้อ *Salmonella typhimurium* สายพันธุ์ TA 100 ที่เกิดขึ้นเองตามธรรมชาติ มาหารกับจำนวน revertant colonies เฉลี่ยของน้ำแต่ละตัวอย่าง พบว่ามีจำนวนน้อยกว่า 2 เท่า ของจำนวนการกลายพันธุ์ของแบคทีเรียที่มีตามธรรมชาติ

5.2.2 ตัวอย่างน้ำที่เก็บในช่วงฤดูร้อน

จำนวน revertant colonies เฉลี่ยของเชื้อ *Salmonella typhimurium* สายพันธุ์ TA 100 สภาวะที่ใช้ S9 mixture ที่เกิดขึ้นเองตามธรรมชาติ คือ 298 โคโลนี ในขณะเดียวกันจำนวน revertant colonies เฉลี่ยของเชื้อ *Salmonella typhimurium* สายพันธุ์ TA 100 ที่ถูกเหนี่ยวนำด้วยน้ำทิ้งจากโรงงานที่ 1, 2, 3, 4, 5, น้ำดิบสำหรับการผลิตประปา และน้ำประปา มีค่าเท่ากับ 316, 314, 322, 316, 332, 319 และ 326 โคโลนี ตามลำดับ (ตาราง 5) จากนั้นเมื่อนำค่า revertant colonies เฉลี่ยของเชื้อ *Salmonella typhimurium* สายพันธุ์ TA 100 ที่เกิดขึ้นเองตามธรรมชาติ มาหารกับจำนวน revertant colonies เฉลี่ยของน้ำแต่ละตัวอย่าง พบว่ามีจำนวนน้อยกว่า 2 เท่า ของจำนวนการกลายพันธุ์ของแบคทีเรียที่มีตามธรรมชาติ

6. ความสัมพันธ์ระหว่างความเข้มข้นของส่วนสกัดจากตัวอย่างน้ำและค่าเฉลี่ยจำนวนโคโลนีของเชื้อ *Salmonella typhimurium* (dose-response relationship)

จากผลการศึกษาความสามารถก่อกลายพันธุ์แบคทีเรียของตัวอย่างน้ำทิ้งจากโรงงานอุตสาหกรรมผลิตถุงมือยาง น้ำดิบสำหรับการผลิตประปา และน้ำประปาในสภาวะที่ไม่ใช้ S9 mixture ทดสอบด้วยเชื้อ *Salmonella typhimurium* สายพันธุ์ TA 98 (ตาราง 2) พบว่า จะมีตัวอย่างน้ำในช่วงฤดูร้อนที่ความเข้มข้น 100 เท่า จำนวน 3 ตัวอย่าง ได้แก่ น้ำทิ้งจากโรงงานที่ 1, 2 และ 4 ที่มีค่า revertant colonies เฉลี่ยมากกว่า 2 เท่า ของจำนวนการกลายพันธุ์ของแบคทีเรียที่มีตามธรรมชาติ แสดงว่าตัวอย่างน้ำดังกล่าวมีฤทธิ์ก่อกลายพันธุ์ (mutagenic activity) เนื่องจากมีค่า mutagenic activity ratio (MAR) มากกว่า 2

ดังนั้น จึงนำส่วนสกัดของตัวอย่างน้ำทั้ง 3 โรงงาน มาหาความสัมพันธ์ระหว่างความเข้มข้นของส่วนสกัดจากตัวอย่างน้ำและค่าเฉลี่ยจำนวนเชื้อที่ความเข้มข้น 50, 100 และ 200 เท่า มีรายละเอียดดังนี้

ตาราง 6 จำนวนโคโลนีของเชื้อ *Salmonella typhimurium* สายพันธุ์ TA 98 ที่กลายพันธุ์ในสภาวะที่ไม่ใช้ S9 mixture หลังจากการเติมตัวอย่างน้ำทิ้งจากโรงงานที่ 1, 2 และ 4 ที่เก็บในช่วงฤดูร้อนที่ความเข้มข้น 50, 100 และ 200 เท่า

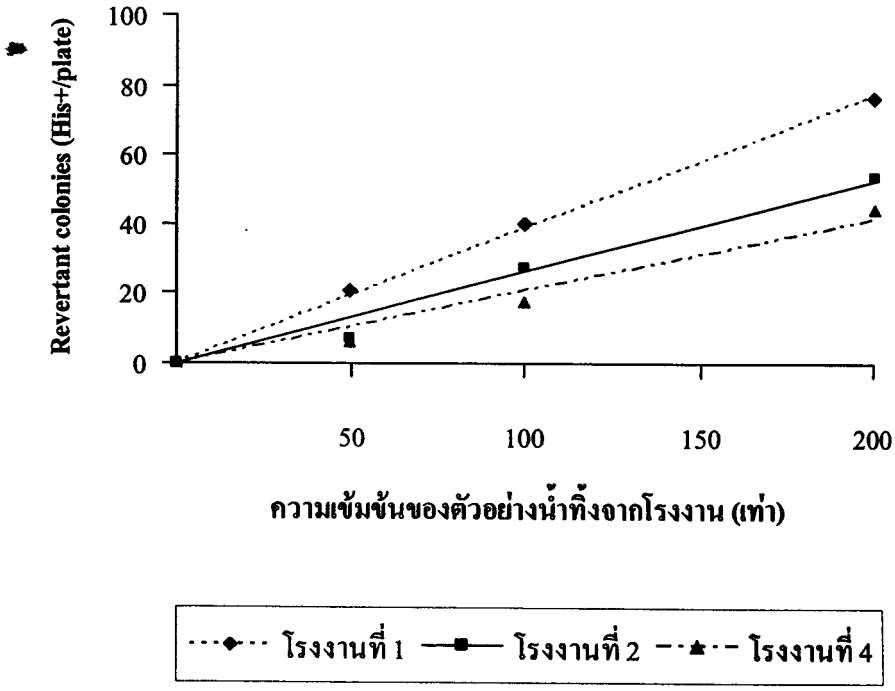
ความเข้มข้น (เท่า)	Revertant colonies (His+/plate)		
	ตัวอย่างที่ 1	ตัวอย่างที่ 2	ตัวอย่างที่ 4
50	37.50±4.97*	23.83±3.55	23.17±2.93
100	56.67±5.39*	44.00±4.60*	34.33±2.58*
200	93.50±6.38*	70.50±5.89*	60.83±4.75*
SR	16.83±2.79	16.83±2.79	16.83±2.79

หมายเหตุ : 1) ผลที่แสดงเป็นค่าเฉลี่ยและค่าเบี่ยงเบนมาตรฐานจากการทดลอง 2 ครั้ง แต่ละครั้งทำ 3 ซ้ำ โดยไม่หักลบ spontaneous revertants (SR, negative control)

2) * หมายถึง จำนวนโคโลนีกลายพันธุ์เฉลี่ยมีค่ามากกว่า 2 เท่าของจำนวนกลายพันธุ์ตามธรรมชาติ (spontaneous revertants)

จำนวน revertant colonies เฉลี่ยของเชื้อ *Salmonella typhimurium* สายพันธุ์ TA 98 สภาวะที่ไม่ใช้ S9 mixture ที่เกิดขึ้นเองตามธรรมชาติ คือ 17 โคโลนี ในขณะเดียวกันจำนวน revertant colonies เฉลี่ยของเชื้อ *Salmonella typhimurium* สายพันธุ์ TA 98 ที่ถูกเหนี่ยวนำด้วยส่วนสกัดของตัวอย่างน้ำทิ้งจากโรงงานที่ 1, 2 และ 4 ที่ระดับความเข้มข้นต่าง ๆ ได้แก่ 50, 100 และ 200 เท่า พบว่า จำนวน revertant colonies เฉลี่ยต่ำสุด คือ 23 โคโลนีที่ระดับความเข้มข้น 50 เท่า ของตัวอย่างน้ำที่เป็นน้ำทิ้งจากโรงงานที่ 4 และจำนวน revertant colonies เฉลี่ยสูงสุด คือ 94 โคโลนีที่ระดับความเข้มข้น 200 เท่า ของตัวอย่างน้ำที่เป็นน้ำทิ้งจากโรงงานที่ 1 (ตาราง 6) และเมื่อนำค่า revertant colonies เฉลี่ยของเชื้อ *Salmonella typhimurium* สายพันธุ์ TA 98 ที่เกิดขึ้นเองตามธรรมชาติมาหารกับจำนวน revertant colonies เฉลี่ยของตัวอย่างน้ำทิ้งจากโรงงานที่ 1, 2 และ 4 พบว่า ตัวอย่างน้ำทิ้งจากโรงงานที่ 1 มี revertant colonies มากกว่า 2 เท่าของจำนวนการกลายพันธุ์ของแบคทีเรียที่มีตามธรรมชาติที่ระดับความเข้มข้น 50, 100 และ 200 เท่า และตัวอย่างน้ำทิ้งจากโรงงานที่ 2 และ 4 มี revertant colonies มากกว่า 2 เท่าของจำนวนการกลายพันธุ์ของแบคทีเรียที่มีตามธรรมชาติที่ระดับความเข้มข้น 100 และ 200 เท่า

เมื่อนำผลการทดลองมาทดสอบหาความสัมพันธ์ระหว่างความเข้มข้นของส่วนสกัดจากตัวอย่างน้ำและจำนวน revertant colonies โดยใช้สัมประสิทธิ์สหสัมพันธ์ของเพียร์สัน (Pearson correlation coefficient) เพื่อหาค่าสัมประสิทธิ์สหสัมพันธ์ที่ระดับความเชื่อมั่น 95% ผลการทดสอบพบว่า โรงงานที่ 1, 2 และ 4 มีค่าสัมประสิทธิ์สหสัมพันธ์เท่ากับ 0.960 ($p < 0.001$), 0.968 ($p < 0.001$) และ 0.975 ($p < 0.001$) ตามลำดับ เมื่อ plot กราฟแสดงความสัมพันธ์ระหว่างความเข้มข้นของส่วนสกัดจากตัวอย่างน้ำและจำนวน revertant colonies พบว่า ลักษณะกราฟมีความสัมพันธ์เชิงบวก (positive correlation) ดังภาพประกอบ 5



ภาพประกอบ 4 ความสัมพันธ์เชิงเส้นตรงระหว่างจำนวนโคโลนีกลายพันธุ์ของเชื้อ *Salmonella typhimurium* สายพันธุ์ TA 98 และความเข้มข้นของส่วนสกัดจากตัวอย่างน้ำที่ระดับต่าง ๆ ในสภาวะที่ไม่ใช้ S9 mixture (dose-response relationship) โดยผลที่แสดงเป็นค่าเฉลี่ยจากการทดลอง 2 ครั้ง แต่ละครั้งทำ 3 ซ้ำ และหักลบ spontaneous revertants (SR, negative control) แล้ว

จากผลการทดลองในตัวอย่างน้ำทิ้งทั้งหมด 5 ตัวอย่าง ได้แก่ น้ำทิ้งจากโรงงานที่ 1, 2, 3, 4, และ 5 พบว่า ตัวอย่างน้ำทิ้งจากโรงงานที่เก็บในช่วงฤดูร้อน จำนวน 3 ตัวอย่าง (ร้อยละ 60) ได้แก่ ตัวอย่างน้ำทิ้งจากโรงงาน ที่ 1, 2 และ 4 ให้ผลเป็นบวก (positive) เมื่อทดสอบฤทธิ์ก่อกลายพันธุ์ด้วยวิธี Ames' test โดยใช้เชื้อ *Salmonella typhimurium* สายพันธุ์ TA 98 ในสภาวะที่ไม่ใช้ S9 mixture ส่วนน้ำดิบสำหรับการผลิตน้ำประปา และน้ำประปาไม่พบฤทธิ์ก่อกลายพันธุ์ทั้งในสภาวะที่ใช้และไม่ใช้ S9 mixture

เมื่อนำไปวิเคราะห์การถดถอย (regression analysis) เพื่อทำนายจำนวนโคโลนีกลายพันธุ์ของเชื้อ *Salmonella typhimurium* สายพันธุ์ TA 98 (ตัวแปรตาม; Y) ที่เป็นผลจากการเปลี่ยนแปลงของระดับความเข้มข้นของส่วนสกัดจากตัวอย่างน้ำทิ้งจากโรงงานที่ 1, 2 และ 4 ที่ระดับต่าง ๆ (ตัวแปรต้น; $\bar{X}$) ในสภาวะที่ไม่ใช้ S9 mixture โดยใช้สถิติ simple linear regression analysis พบว่าตัวแปรทั้งสองมีความสัมพันธ์เชิงเส้นตรงต่อกัน โดยมีค่า r เท่ากับ 0.9994, 0.9885 และ 0.9852 เมื่อทดสอบน้ำทิ้งจากโรงงานที่ 1, 2 และ 4 ตามลำดับ ซึ่งสามารถแสดงการทำนายได้ดังสมการ

6.1 น้ำทิ้งจากโรงงานที่ 1 จะได้สมการพยากรณ์ คือ

$$\hat{Y} = 0.3876X$$

มีค่าสัมประสิทธิ์การเปลี่ยนแปลงค่าของตัวแปรตาม (coefficient of determination, R^2) เท่ากับ 0.9989 ($p < 0.001$) แสดงว่าอิทธิพลของความเข้มข้นของน้ำทิ้งมีผลต่อจำนวนโคโลนีกลายพันธุ์ร้อยละ 99.89 ที่เหลืออีกร้อยละ 0.11 เป็นผลเนื่องมาจากตัวแปรอื่น

6.2 น้ำทิ้งจากโรงงานที่ 2 จะได้สมการพยากรณ์ คือ

$$\hat{Y} = 0.2629X$$

มีค่าสัมประสิทธิ์การเปลี่ยนแปลงค่าของตัวแปรตาม (coefficient of determination, R^2) เท่ากับ 0.9772 ($p < 0.001$) แสดงว่าอิทธิพลของความเข้มข้นของน้ำทิ้งมีผลต่อจำนวนโคโลนีกลายพันธุ์ร้อยละ 97.72 ที่เหลืออีกร้อยละ 2.28 เป็นผลเนื่องมาจากตัวแปรอื่น

6.3 น้ำทิ้งจากโรงงานที่ 4 จะได้สมการพยากรณ์ คือ

$$\hat{Y} = 0.207X$$

มีค่าสัมประสิทธิ์การเปลี่ยนแปลงค่าของตัวแปรตาม (coefficient of determination, R^2) เท่ากับ 0.9707 ($p < 0.001$) แสดงว่าอิทธิพลของความเข้มข้นของน้ำทิ้งมีผลต่อจำนวนโคโลนี กลายพันธุ์ร้อยละ 97.07 ที่เหลืออีกร้อยละ 2.93 เป็นผลเนื่องมาจากตัวแปรอื่น