

ภาคผนวก ก

วัสดุอุปกรณ์และสารเคมี

วัสดุอุปกรณ์

1. graphite furnace atomic absorption spectrometer แบบ Zeeman background correction (Zeeman GFAAS) รุ่น Varian SpectraA800Z, พร้อมทั้ง GTA-100 graphite tube atomizer และ autosampler โดยมี SpectraAA soft-ware ควบคุมร่วมกับ soft-ware OS/2 ผ่านระบบคอมพิวเตอร์ เพื่อวิเคราะห์และเก็บข้อมูล (Varian, Australia)
2. Hollow cathode lamp สำหรับตะกั่วและแคดเมียม (Varian, Australia)
3. Pyrolytically coated partition graphite tube (Varian, Germany)
4. hot plate (HS-115, Thailand)
5. automatic pipette ขนาด 1-10 ไมโครลิตร, 1-100 ไมโครลิตร, 100-1,000 ไมโครลิตร (Socorex, Switzerland)
6. screw cap tube ขนาด 50 มิลลิลิตร (Pyrex, USA)
7. beaker ขนาด 250 มิลลิลิตร (Pyrex, USA)
8. volumetric flask ขนาด 1,000 มิลลิลิตร (Pyrex, USA)
9. volumetric flask ขนาด 25 มิลลิลิตร (Pyrex, USA)
10. หลอดพลาสติกสำหรับเลี้ยงเซลล์ (centrifuge tube) ขนาด 15 มิลลิลิตร (TPP, Switzerland)
11. กระบอกฉีดพลาสติกขนาด 10 มิลลิลิตร พร้อมเข็มฉีดยาเบอร์ 22 (Nipro, Thailand)
12. สไลด์แก้วขนาด 1 x 3 นิ้ว (Soil Brand, China)
13. pasture pipette (Pyrex, USA)
14. couplin jar (Pyrex, USA)
15. laminar flow (NuAire, USA)
16. vortex (VM-300, Taiwan)
17. centrifuge (Kubota 5920, Japan)
18. CO₂ Incubator (NuAire, USA)

19. กล้องจุลทรรศน์ชนิด phase contrast (Olympus, Japan)

สารเคมี

1. Standard lead solution (E.Merck, Germany)
2. Standard cadmium solution (E.Merck, Germany)
3. Concentrated Nitric Acid (E.Merck, Germany), (trace metal analysis grade)
4. Ammonium dihydrogen phosphate (Sigma, USA)
5. Hydrogen peroxide (E.Merck, Germany)
6. Triton X-100 (E.Merck, Germany)
7. RPMI 1640 (Seromed, Germany)
8. Fetal calf serum (Starrate, Australia)
9. Phytoheamagglutinin (Seromed, Germany)
10. Mitomycin C (Kyowa, Japan)
11. Cytochalasin B (Sigma, USA)
12. Sodium chloride (Sigma, USA)
13. Potassium chloride (Sigma, USA)
14. Di-sodium hydrogenphosphate dihydrate (Sigma, USA)
15. Potassium dihydrogenphosphate (Sigma, USA)
16. Sodium bicarbonate (Sigma, USA)
17. Gracial acetic acid (E.Merck, Germany)
18. Penicilin (M & H, Thailand)
19. Streptomycin (M & H, Thailand)
20. heparin (Leo, Denmark)
21. 95% ethanol (E.Merck, Germany)
22. Giemsa stain (E.Merck, Germany)
23. Lead acetate (E.Merck, Germany)
24. Cadmium acetate (Ajax, Australia)

ภาคผนวก ข

การเตรียมสารละลาย

Working modifier

ใช้ 10 % Triton X-100 25 ml , 20 % $\text{NH}_4\text{H}_2\text{PO}_4$ หรือ 20% $(\text{NH}_4)_2\text{HPO}_4$ 5 ml, HNO_3 เข้มข้น 1 มิลลิลิตร เติมน้ำบริสุทธิ์ปราศจากไอออนให้ได้ 500 มิลลิลิตร

Rinse solution

ใช้ 0.01% HNO_3 ผสมกับ 0.005% Triton X-100

การเตรียมน้ำยาเพาะเลี้ยงเซลล์ และสารละลายที่ใช้ในการวิจัย

น้ำยาเพาะเลี้ยงเซลล์จะต้องมีการเตรียมโดยเทคนิคปราศจากเชื้อ (aseptic technique) ซึ่งน้ำยาเพาะเลี้ยงประกอบด้วยสารละลาย RPMI 1640 ผสมยาปฏิชีวนะคือ streptomycin และ penicilin และ fetal calf serum 20% ซึ่งมีวิธีเตรียมดังนี้

RPMI 1640

เตรียมผงสำเร็จรูป RPMI 1640 น้ำหนัก 10.4 กรัม ด้วยน้ำกลั่น 900 มิลลิลิตร เติม sodium bicarbonate 1.2 กรัม เติม penicillin 100,000 IU เติม Streptomycin 0.1 กรัม เติมน้ำกลั่นให้ครบ 1 ลิตร ผสมให้เข้ากัน กรองน้ำยาเลี้ยงเซลล์ด้วย sterile filter 0.2 ไมครอน เก็บไว้ที่อุณหภูมิ -20 องศาเซลเซียส

20% fetal calf serum

นำ fetal calf serum ปริมาตร 20 มิลลิลิตร มาผสมกับ RPMI 1640 ที่เตรียมเรียบร้อยแล้ว จำนวน 80 มิลลิลิตร

Phytohemagglutinin

เตรียมโดยละลายผง PHA-L 1 ขวด ขนาด 5 มิลลิกรัมด้วยน้ำกลั่น 5 มิลลิลิตร เก็บที่อุณหภูมิ

4 องศาเซลเซียส

Mitomycin C

เตรียมโดยละลายผง mitomycin C 1 ขวด ขนาด 10 มิลลิกรัมด้วยน้ำกลั่น sterile 10 มิลลิลิตร เพื่อเป็น stock solution เตรียม mitomycin C เพื่อให้ได้ความเข้มข้น 50 ไมโครกรัมต่อ มิลลิลิตร เพื่อที่จะใช้เป็น positive control สำหรับเติมในหลอดเลี้ยงเซลล์ 50 ไมโครลิตรเพื่อที่จะให้ ได้สาร mitomycin C ในน้ำยาเลี้ยงเซลล์มีความเข้มข้น 0.5 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร

Lead acetate

ละลายด้วยน้ำกลั่น เพื่อเตรียมสารละลายตามความเข้มข้นที่ต้องการ แล้วกรองด้วย sterile filter 0.2 ไมครอน เก็บที่อุณหภูมิ 4 องศาเซลเซียส

Cadmium acetate

ละลายด้วยน้ำกลั่น เพื่อเตรียมสารละลายตามความเข้มข้นที่ต้องการ แล้วกรองด้วย sterile filter 0.2 ไมครอน เก็บที่อุณหภูมิ 4 องศาเซลเซียส

Phosphate buffer solution (PBS)

เตรียมโดยละลายสารต่อไปนี้ในน้ำกลั่น 1,000 มิลลิลิตร

NaCl	8 กรัม
KCl	0.2 กรัม
Na ₂ HPO ₄ ·2H ₂ O	1.15 กรัม
KH ₂ PO ₄	0.2 กรัม

Hypotonic solution (0.075 M KCl)

เตรียมโดยละลายผง KCl 5.62 กรัม ในน้ำกลั่น 1,000 มิลลิลิตร

Cornoy fixative

เตรียมโดยผสม 95% ethanol กับ acetic acid อัตราส่วน 3: 1 เก็บในตู้เย็นอุณหภูมิ -20 องศาเซลเซียส

Weise buffer solution (สำหรับเซลล์)

เตรียมโดยละลายสารต่อไปนี้ในน้ำกลั่น 1,000 มิลลิลิตร

$\text{Na}_2\text{HPO}_4 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$ 1.14 กรัม

KH_2PO_4 0.49 กรัม

ลิขสิทธิ์มหาวิทยาลัยเชียงใหม่
Copyright© by Chiang Mai University
All rights reserved

ภาคผนวก ก

การคำนวณหาปริมาณฝุ่นละอองในอากาศ

ข้อมูลที่ใช้ในการคำนวณ (ศิริกัลยา และคณะ, 2544)

1. อุณหภูมิของอากาศขณะเก็บตัวอย่าง (หน่วยองศาเซลเซียส)
2. ความดันของอากาศขณะเก็บตัวอย่าง (หน่วยมิลลิเมตรปรอท หรือมิลลิบาร์)
3. ระยะเวลาที่ใช้ในการเก็บตัวอย่าง (ชั่วโมง หรือ นาที)
4. อัตราการไหลของอากาศ

สมการที่ใช้ในการคำนวณ

$$SP (\mu\text{g}/\text{m}^3) = \frac{(W_2(\text{g}) - W_1(\text{g})) \times 10^6}{V_s}$$

เมื่อ SP = ปริมาณอนุภาคฝุ่นละอองในอากาศ (หน่วยไมโครกรัม/ลูกบาศก์เมตร)

W_1 = น้ำหนักกระดาษกรองก่อนเก็บตัวอย่างอากาศ (หน่วย กรัม)

W_2 = น้ำหนักกระดาษกรองหลังเก็บตัวอย่างอากาศ (หน่วย กรัม)

V_s = ปริมาตรของอากาศที่มาตรฐาน อุณหภูมิ 298 องศาเซลวิน ความดัน 1,013.25 มิลลิบาร์ (หน่วย ลูกบาศก์เมตร)

10^6 = เปลี่ยนหน่วยกรัม เป็น ไมโครกรัม

จากสมการข้างต้นจะเห็นว่ายังไม่ทราบค่า V_s แต่สามารถหาได้จากสมการต่อไปนี้

$$V_s = \frac{PV}{T} \times T_s$$

เมื่อ V_s = ปริมาตรของอากาศที่มาตรฐาน อุณหภูมิ 298 องศาเซลวิน ความดัน 1,013.25 มิลลิบาร์

(หน่วย ลูกบาศก์เมตร)

V = ปริมาตรของอากาศขณะเก็บตัวอย่าง (หน่วยลูกบาศก์เมตร)

P_s = ความดันของบรรยากาศที่มาตรฐาน (1,013.25 มิลลิบาร์)

P = ความดันของบรรยากาศขณะเก็บตัวอย่าง (หน่วย มิลลิบาร์)

T_s = อุณหภูมิที่มาตรฐาน (298 องศาเซลเซียส)

T = อุณหภูมิขณะเก็บตัวอย่าง (หน่วยองศาเซลเซียส)

จากสมการข้างต้นจะเห็นว่ายังไม่ทราบค่า V แต่สามารถหาค่าได้จากสมการดังต่อไปนี้

$$V = \frac{\text{ระยะเวลาที่เก็บตัวอย่าง (นาที)} \times \text{อัตราการไหลของอากาศ (Actual Air Flow)}}{35.319}$$

เมื่อ

35.319 = เป็นแฟกเตอร์ที่เปลี่ยนจากลูกบาศก์ฟุตเป็นลูกบาศก์เมตร ถ้าอัตราการไหลของอากาศมีหน่วยเป็น ลูกบาศก์เมตรแล้ว ไม่ต้องหารด้วย 35.319

ประวัติผู้เขียน

ชื่อ และ ชื่อสกุล	นางสาวสุนิศา ทองहन	
วัน เดือน ปีเกิด	11 มิถุนายน 2521	
ประวัติการศึกษา	ชื่อสถาบัน	ปีการศึกษาที่จบ
วุฒิมัธยมศึกษาตอนต้น	โรงเรียนลือคำหาญวารินชำราบ	2535
	จังหวัดอุบลราชธานี	
มัธยมศึกษาตอนปลาย	โรงเรียนเบ็ญจะมะมหาราช	2538
	จังหวัดอุบลราชธานี	
วิทยาศาสตรบัณฑิต	มหาวิทยาลัยขอนแก่น	2542
(วิทยาศาสตรสิ่งแวดล้อม)	จังหวัดขอนแก่น	

ลิขสิทธิ์มหาวิทยาลัยเชียงใหม่
 Copyright© by Chiang Mai University
 All rights reserved