ซึ่งเครื่องวิเคราะห์ทำการผสมสารละลายตะกั่วมาตรฐานให้ตามที่กำหนดความเข้มข้น มี 0.1% HNO_3 (trace element grade) เป็น blank สำหรับปรับศูนย์ กำหนด ค่า parameter ต่าง ๆ ดังนี้

bulk standard concentration	100 ppb
sample volume	10 µl
total volume	15 µl

โปรแกรมอุณหภูมิสำหรับการวิเคราะห์ปริมาณตะกั่วในสารสกัดอนุภาคฝุ่นรวมมีรายละเอียดในตารางที่ 1

วิธีวิเคราะห์ปริมาณแคดเมียมด้วย Zeeman-GFAAS

สร้างกราฟมาตรฐานจากสารละลายแคดเมียมมาตรฐานความเข้มข้นเดียวคือ 10 ppb ใช้โปรแกรม auto mix โดยเครื่องวิเคราะห์ทำการผสมสารละลายแคดเมียมมาตรฐานกับ modifier (10 % Triton X-100 25 ml, 20 % $NH_4H_2PO_4$ หรือ $[NH_4]_2HPO_4$ 5 ml, HNO_3 1 ml เติมน้ำบริสุทธิ์ปราศจากอิออนให้ได้ 500 ml) เพื่อให้ได้ความเข้มข้นตาม 1, 3, และ 5 ppb มี modifier เป็น blank สำหรับปรับศูนย์ โดยกำหนด parameter ต่าง ๆ ดังนี้

bulk standard concentration	10 ppb
sample volume	10 µl
total volume	12 µl

โปรแกรมอุณหภูมิสำหรับการวิเคราะห์ปริมาณแคดเมียมในสารสกัดอนุภาคฝุ่นรวมมีรายละเอียดในตารางที่ 2

ปริมาณความเข้มข้นของตะกั่วและแคดเมียมในอากาศสามารถคำนวณได้จากสูตรดังนี้

$$X = (25xBxA)/9\ xV$$

โดยที่ X = ความเข้มข้นของโลหะในอากาศ ($\mu g/mm^3$)

B = ความเข้มข้นของโลหะที่วัดได้จาก AAS ($\mu g/ml$)

A = พื้นที่กระดาษกรองทั้งหมด (in^2)

V = ปริมาตรอากาศที่ผ่านเครื่อง (mm^3)

ลิขสิทธิ์มหาวิทยาลัยเชียงใหม่
Copyright© by Chiang Mai University
All rights reserved

การทดสอบความผิดปกติของโครโมโซมโดยวิธี micronucleus assay

การเหนี่ยวนำการเกิดไมโครนิวเคลียสในเซลล์เม็ดเลือดขาวชนิดลิมโฟไซต์ ใช้เม็ดเลือดขาวที่แยกจากเลือดของอาสาสมัครชาย อายุ 20-30 ปี จำนวน 5 ราย ที่มีสุขภาพสมบูรณ์ ไม่เป็นโรคเรื้อรัง ไม่ได้รับยารักษาโรคเป็นประจำ ไม่เคยได้รับการฉายรังสี ไม่ติดเชื้อไวรัส และไม่เป็นโรคที่มี

ตารางที่ 1 โปรแกรมอุณหภูมิและเวลาสำหรับการวิเคราะห์ปริมาณ **ตะกั่ว**

Stage	Temperature (^{0}C)	Time (second)	Gas flow (second)	Read (l/min)
1	85	5	3.0	NO
2	95	40	3.0	NO
3	120	10	3.0	NO
4	400	5	3.0	NO
5	400	1	3.0	NO
6	400	2	0.0	NO
7	2100	1	0.0	Yes
8	2100	2	0.0	Yes
9	2100	2	3.0	NO

ตารางที่ 2 โปรแกรมอุณหภูมิและเวลาสำหรับการวิเคราะห์ปริมาณ **แคดเมียม**

Stage	Temperature (^{0}C)	Time (second)	Gas flow (second)	Read (l/min)
1	85	5	3.0	NO
2	95	40	3.0	NO
3	120	10	3.0	NO
4	250	5	3.0	NO
5	250	1	3.0	NO
6	250	2	0.0	NO
7	1800	0.8	0.0	Yes
8	1800	2	0.0	Yes
9	1800	2	3.0	NO

ลิขสิทธิ์มหาวิทยาลัยเชียงใหม่
Copyright© by Chiang Mai University
All rights reserved

ความผิดปกติของโครโมโซม โดยเจาะเลือดจากหลอดเลือดดำที่ข้อพับแขนด้านใดด้านหนึ่ง ประมาณ 5-10 ml มี heparin เป็นสารกันเลือดแข็งตัวเคลือบที่กระบอกฉีดยา เก็บเลือดที่อุณหภูมิ 0-4 ^{0}C ก่อนนำเม็ดเลือดไปเลี้ยงและแยกเม็ดเลือดขาวชนิดลิมโฟไซต์เพื่อทำ micronucleus assay ต่อไป

การเหนี่ยวนำการเกิดไมโครนิวเคลียสด้วย lead acetate

Lead acetate เป็นสารประกอบตะกั่วที่เลือกมาทดสอบการเหนี่ยวนำการเกิดไมโครนิวเคลียส เนื่องจากเกลืออะซีเตดไม่มีความเป็นพิษต่อเซลล์ การกำหนดความเข้มข้นของ lead acetate อิงตามผลการวิเคราะห์ปริมาณตะกั่วที่ตรวจวัดได้จากอากาศทั้งในเขตควบคุมคือบริเวณตลาดหางดง และเขตศึกษาคือบริเวณตลาดวโรรส ซึ่งมีปริมาณตะกั่วเฉลี่ยอยู่ระหว่าง 106.89 $\pm$ 6.94 ถึง 336.6 $\pm$ 4.24 µg/l จึงเลือกความเข้มข้นของ lead acetate ที่ 75, 150 และ 300 µg/l มาทดลอง

เตรียมสารละลาย lead acetate ตามความเข้มข้นที่ต้องการ โดยละลายด้วยน้ำกลั่นบริสุทธิ์ปราศจากอิออน เสร็จแล้วนำสารละลายกรองด้วย sterile filter ขนาด 0.2 ไมครอน เก็บที่อุณหภูมิ 4 ^{0}C ก่อนการทดสอบ โดยมีตัวอย่างที่ทำการทดสอบดังนี้

1 Negative control ใช้น้ำกลั่นบริสุทธิ์ปราศจากอิออน

2 Positive control ใช้ mitomycin C ซึ่งเป็น potent mutagen ความเข้มข้น 0.5 µg/ml

3 Lead acetate ความเข้มข้น 75 µg/l

4 Lead acetate ความเข้มข้น 150 µg/l

5 Lead acetate ความเข้มข้น 300 µg/l

การเหนี่ยวนำการเกิดไมโครนิวเคลียสด้วย cadmium acetate

Cadmium acetate เป็นสารประกอบแคดเมียมที่เลือกนำมาทดสอบการเหนี่ยวนำการเกิดไมโครนิวเคลียส โดยกำหนดความเข้มข้นของ cadmium acetate อิงตามผลการวิเคราะห์ปริมาณแคดเมียมที่ตรวจวัดได้จากอากาศทั้งในเขตควบคุมคือบริเวณตลาดหางดง และเขตศึกษาคือบริเวณตลาดวโรรสซึ่งมีปริมาณแคดเมียมเฉลี่ยอยู่ในช่วง 2.33 $\pm$ 0.19 ถึง 8.99 $\pm$ 0.12 µg/l ดังนั้นจึงใช้ cadmium acetate ความเข้มข้น 2, 4 และ 6 µg/l

เตรียมสารละลาย cadmium acetate ตามความเข้มข้นที่ต้องการ โดยละลายด้วยน้ำกลั่นบริสุทธิ์ปราศจากอิออน เสร็จแล้วนำสารละลายกรองด้วย sterile filter ขนาด 0.2 ไมครอน เก็บที่อุณหภูมิ 4 ^{0}C ก่อนการทดสอบ โดยมีตัวอย่างที่ทำการทดสอบดังนี้

1 Negative control ใช้น้ำกลั่นบริสุทธิ์ปราศจากอิออน

ลิขสิทธิ์มหาวิทยาลัยเชียงใหม่
Copyright© by Chiang Mai University
All rights reserved

2 Positive control ใช้ mitomycin C ซึ่งเป็น potent mutagen ความเข้มข้น 0.5 µg/ml

3 Cadmium acetate ความเข้มข้น 2 µg/l

4 Cadmium acetate ความเข้มข้น 4 µg/l

5 Cadmium acetate ความเข้มข้น 6 µg/l

การเหนี่ยวนำการเกิดไมโครนิวเคลียสด้วยสารสกัดอนุภาคฝุ่นรวม

สกัดตัวอย่างอนุภาคฝุ่นรวมจากกระดาษกรองที่เก็บอากาศโดยนำมาตัดให้ได้ขนาด 1x10 นิ้ว กระดาษกรอง 1 แผ่นตัดได้ 8 ชิ้น เลือก 2 ชิ้นกลางของทุกแผ่นนำมาสกัด ใช้กรรไกรซอยแผ่นกรองเป็นชิ้นเล็ก ๆ ใส่จานแก้ว นำกระดาษที่ซอยเป็นชิ้นเล็ก ๆ นี้ใส่ใน screw cap tube เติมน้ำกลั่นบริสุทธิ์ปราศจากอิออนพอท่วม ปิดฝา screw cap tube พอแน่น

ต้มเพื่อย่อยกระดาษกรองนานเป็นเวลา 1 ชั่วโมง ทิ้งไว้ให้เย็น นำสารสกัดกรองผ่านกระดาษกรอง Whatman เบอร์ 4 แล้วล้างตามด้วยน้ำกลั่นบริสุทธิ์ปราศจากอิออน 2 ครั้ง ๆ ละ 5 มิลลิลิตร นำสารสกัดอนุภาคฝุ่นรวมที่ได้ไประเหย ทำให้แห้ง แล้วนำไปละลายด้วยน้ำกลั่นบริสุทธิ์ปราศจากอิออน ให้ได้ความเข้มข้นที่ต้องการคือ 1, 2 และ 4 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร (การกำหนดความเข้มข้นนี้อิงจากผลการทดลองของ Hamfrey และคณะ, 1996) เสร็จแล้วนำสารสกัดที่ได้กรองด้วย sterile filter ขนาด 0.2 ไมครอน เพื่อกรองจุลชีพ เช่น แบคทีเรีย ออกจากตัวอย่างสารสกัดอนุภาคฝุ่นรวม และเก็บที่อุณหภูมิ 4 องศาเซลเซียส ก่อนการทดสอบ โดยมีตัวอย่างที่ทำการทดสอบดังนี้

1 Negative control ใช้น้ำกลั่นบริสุทธิ์ปราศจากอิออน

2 Positive control ใช้ mitomycin C ซึ่งเป็น potent mutagen ความเข้มข้น 0.5 µg/ml

3 สารสกัดอนุภาคฝุ่นรวมที่เก็บได้จากอากาศบริเวณตลาดหางดง ความเข้มข้น 1 µg/l

4 สารสกัดอนุภาคฝุ่นรวมที่เก็บได้จากอากาศบริเวณตลาดหางดง ความเข้มข้น 2 µg/l

5 สารสกัดอนุภาคฝุ่นรวมที่เก็บได้จากอากาศบริเวณตลาดหางดง ความเข้มข้น 4 µg/l

6 สารสกัดอนุภาคฝุ่นรวมที่เก็บได้จากอากาศบริเวณตลาดวโรรส ความเข้มข้น 1 µg/l

7 สารสกัดอนุภาคฝุ่นรวมที่เก็บได้จากอากาศบริเวณตลาดวโรรส ความเข้มข้น 2 µg/l

8 สารสกัดอนุภาคฝุ่นรวมที่เก็บได้จากอากาศบริเวณตลาดวโรรส ความเข้มข้น 4 µg/l

Micronucleus assay : ประยุกต์ใช้วิธีของ Vaglenov และคณะ, 2001 มีขั้นตอนการทดสอบดังนี้

- ใช้สารละลายเลี้ยงเชื้อประกอบด้วย RPMI 1640 ซึ่งมี fetal calf serum 20% และมี streptomycin และ penicillin เป็น antibiotics

ลิขสิทธิ์มหาวิทยาลัยเชียงใหม่
Copyright© by Chiang Mai University
All rights reserved

- เติมเลือดที่ได้จากอาสาสมัครลงในหลอดเลี้ยงเซลล์หลอดละ 0.5 มิลลิลิตร

- เติม phytohaemagglutinin เพื่อกระตุ้นให้ lymphocytes แบ่งตัว ปริมาตร 50 ไมโครลิตร

- เขย่าหลอดเลี้ยงเซลล์ให้เลือดและสารละลายต่าง ๆ เข้ากันดี ปิดจุกให้แน่นนำไปเก็บในตู้อบอุณหภูมิ 37 องศาเซลเซียส

- เมื่อครบ 24 ชั่วโมงเติมสารละลาย lead acetate หรือ cadmium acetate หรือสารสกัดอนุภาคฝุ่นรวมที่ต้องการทดสอบที่ระดับความเข้มข้นต่าง ๆ โดยมี mitomycin c ความเข้มข้น 0.5 มิลลิกรัมต่อลิตร เป็น positive control และ มีน้ำกลั่นบริสุทธิ์ปราศจากอิออน เป็น negative control

- หลังจากนั้นเขย่าหลอดเลี้ยงเซลล์ให้เลือดและสารละลายต่าง ๆ เข้ากันดี ปิดจุกให้แน่น นำไปเก็บในตู้อบอุณหภูมิ 37 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 44 ชั่วโมง

- เติม cytochalasin B 3 µg/ml ลงในหลอดเลี้ยงเซลล์เพื่อยับยั้งการแบ่งตัวของเซลล์ เสร็จแล้วปิดจุกนำไปเก็บในตู้อบอุณหภูมิ 37 องศาเซลเซียส นาน 72 ชั่วโมง

- นำเซลล์ที่ได้มาปั่นและเติม phosphate buffer saline solution (PBS) ประมาณ 3-4 มิลลิลิตร และนำไปปั่นที่ 1,000 รอบต่อนาที เป็นเวลา 10 นาที และเติม 0.075M KCl 3-4 มิลลิลิตรเพื่อทำให้เม็ดเลือดแดงแตก จากนั้นนำไปปั่นและดูดส่วนใสข้างบนทิ้งไป

- เติม 95% ethanol:acetic acid (3:1) 5 มิลลิลิตร (ก่อนใช้เก็บไว้ในตู้เย็นอุณหภูมิประมาณ –20 องศาเซลเซียส) เพื่อเป็น fixative จากนั้นนำไปปั่นที่ 1,000 รอบต่อนาที เป็นเวลา 10 นาที และดูดส่วนใสข้างบนทิ้งไป (ทำซ้ำอีก 2 ครั้ง) ผสมเซลล์ที่ก้นหลอดให้เข้ากัน

- นำเซลล์ที่ได้เตรียมบนสไลด์ เมื่อสไลด์แห้งนำไปย้อมด้วยสี Giemsa 10% นาน 10 นาที นำสไลด์ไปล้างด้วยน้ำกลั่นแล้วตั้งทิ้งไว้ให้แห้ง

- วิเคราะห์หาไมโครนิวเคลียส โดยใช้กล้องจุลทรรศน์ชนิด phase contrast กำลังขยาย 1,000 เท่า

- การตรวจวิเคราะห์ไมโครนิวเคลียสทำโดยนับจำนวนเซลล์เม็ดเลือดขาวชนิดลิมโฟไซต์จำนวน 1,000 เซลล์ โดยทำการนับเซลล์ดังต่อไปนี้ด้วยได้แก่ apoptotic, necrosis, mononucleated binucleated, trinucleated และ tetranucleated cells แล้วนำมาคำนวณหาค่า NDCI จากสูตรดังนี้

Nuclear division cytotoxicity index (NDCI) = (ap+nec+M1+2M2+3M3+4M4)/N

โดยที่ ap = apoptotic cell (ลักษณะเซลล์เม็ดเลือดขาวส่วนไซโตพลาสซึมจะติดสีไม่สม่ำเสมอเกาะกลุ่มกันเป็นจุด ๆ)

nec = necrosis cell (ลักษณะของเซลล์เม็ดเลือดขาวเห็นเฉพาะนิวเคลียสไม่พบไซโตพลาสซึม)

M1 = mononucleated cell (เซลล์เม็ดเลือดขาวที่มี 1 นิวเคลียส)

ลิขสิทธิ์มหาวิทยาลัยเชียงใหม่
Copyright© by Chiang Mai University
All rights reserved

M2 = binucleated cell (เซลล์เม็ดเลือดขาวที่มี 2 นิวเคลียส)

M3 = trinucleated cell (เซลล์เม็ดเลือดขาวที่มี 3 นิวเคลียส)

M4 = tetranucleated cell (เซลล์เม็ดเลือดขาวที่มี 4 นิวเคลียส)

แล้วนับจำนวน binucleated cell จำนวน 1,000 เซลล์เพื่อหาจำนวน micronucleus ซึ่งพบลักษณะกลม ขอบเขตชัดเจนและเรียบติดสีเช่นเดียวกับนิวเคลียสใหญ่ แต่มีลักษณะเล็กมาก ถ้าพบว่าสารที่ทดสอบมีผลทำให้จำนวน micronucleus เพิ่มขึ้นมากกว่ากลุ่มควบคุมอย่างมีนัยสำคัญ แสดงว่าสารนั้นเป็น human mutagen (Fenech, 2000)

การคำนวณหาปริมาณฝุ่นละอองในอากาศ

ข้อมูลที่ใช้ในการคำนวณ (ศิริกัลยา และคณะ, 2544)

1. อุณหภูมิของอากาศขณะเก็บตัวอย่าง (หน่วยองศาเซลเซียส)
2. ความดันของอากาศขณะเก็บตัวอย่าง (หน่วยมิลลิเมตรปรอท หรือมิลลิบาร์)
3. ระยะเวลาที่ใช้ในการเก็บตัวอย่าง (ชั่วโมงหรือนาที)
4. อัตราการไหลของอากาศ

สมการที่ใช้ในการคำนวณ

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

เมื่อ SP = ปริมาณอนุภาคฝุ่นละอองในอากาศ (ไมโครกรัม/ลูกบาศก์เมตร)

W_1 = น้ำหนักกระดาษกรองก่อนเก็บตัวอย่างอากาศ (กรัม)

W_2 = น้ำหนักกระดาษกรองหลังเก็บตัวอย่างอากาศ (กรัม)

Vs = ปริมาตรของอากาศที่มาตรฐาน อุณหภูมิ 298 องศาเคลวิน ความดัน 1,013.25 มิลลิบาร์ (ลูกบาศก์เมตร)

10^6 = เปลี่ยนหน่วยกรัม เป็น ไมโครกรัม

จากสมการข้างต้นจะยังไม่ทราบค่า Vs แต่สามารถหาได้จากสมการต่อไปนี้

$$Vs = \frac{PV}{T} \times \frac{Ts}{Ps}$$

เมื่อ Vs = ปริมาตรของอากาศที่มาตรฐาน อุณหภูมิ 298 องศาเคลวิน ความดัน 1,013.25 มิลลิบาร์ (ลูกบาศก์เมตร)

ลิขสิทธิ์มหาวิทยาลัยเชียงใหม่
Copyright© by Chiang Mai University
All rights reserved

V = ปริมาตรของอากาศขณะเก็บตัวอย่าง (ลูกบาศก์เมตร)

Ps = ความดันของบรรยากาศที่มาตรฐาน (1,013.25 มิลลิบาร์)

P = ความดันของบรรยากาศขณะเก็บตัวอย่าง (มิลลิบาร์)

Ts = อุณหภูมิที่มาตรฐาน (298 องศาเคลวิน)

T = อุณหภูมิขณะเก็บตัวอย่าง (องศาเคลวิน)

จากสมการข้างต้นจะเห็นว่ายังไม่ทราบค่า V แต่สามารถหาค่าได้จากสมการดังต่อไปนี้

$$V = \frac{\text{ระยะเวลาที่เก็บตัวอย่าง (นาที) x อัตราการไหลของอากาศ (actual air flow)}}{35.319}$$

เมื่อ 35.319 = เป็นแฟคเตอร์ที่เปลี่ยนจากลูกบาศก์ฟุตเป็นลูกบาศก์เมตร ถ้าอัตราการไหลของอากาศมีหน่วยเป็น ลูกบาศก์เมตรแล้ว ไม่ต้องหารด้วย 35.319

การวิเคราะห์ข้อมูล

ใช้โปรแกรมคอมพิวเตอร์ SPSS 8.0 for Window วิเคราะห์ข้อมูลเชิงพรรณนา (descriptive statistics) แสดงข้อมูลในรูปร้อยละ mean $\pm$ SD และเปรียบเทียบค่า mean $\pm$ SD ของปริมาณตะกั่วและแคดเมียมในอากาศของเขตศึกษาและเขตควบคุมโดยใช้ unpaired *t*-test

เปรียบเทียบความแตกต่างของการเกิด micronucleus ระหว่างหลอดทดสอบกับหลอดควบคุม และเปรียบเทียบความแตกต่างของการเกิด micronucleus ที่ถูกเหนี่ยวนำโดยอนุภาคฝุ่นรวมระหว่างเขตควบคุมและเขตศึกษาโดยใช้ paired *t*-test

ลิขสิทธิ์มหาวิทยาลัยเชียงใหม่
Copyright© by Chiang Mai University
All rights reserved

ผลการวิจัย

ผลการสำรวจการจราจรเพื่อกำหนดเขตศึกษาและเขตควบคุม

เขตควบคุม : คือบริเวณตลาดหางดง เป็นบริเวณที่มีการจราจรเบาบาง แต่มีสภาพและลักษณะการค้าขายหรือการอยู่อาศัยของประชากรคล้ายคลึงกับบริเวณตลาดวโรรส จำนวนรถที่วิ่งผ่านตลาดหางดงในช่วงเวลา 11.00-12.00 น. ตั้งแต่วันจันทร์ถึงวันอาทิตย์มีจำนวนเฉลี่ยเท่ากับ 2,484 ± 252 คันต่อชั่วโมง

เขตศึกษา : คือบริเวณตลาดวโรรส เป็นบริเวณที่มีการจราจรหนาแน่นกว่าบริเวณเขตควบคุม จำนวนรถที่วิ่งแล่นผ่านบริเวณรอบตลาดในช่วงเวลา 11.00-12.00 น. ตั้งแต่วันจันทร์ถึงวันอาทิตย์มีจำนวนโดยเฉลี่ย 5,280 ± 333 คันต่อชั่วโมง และเป็นบริเวณที่มีประชากรอยู่อย่างหนาแน่น มีความเสี่ยงสูงต่อการสัมผัสมลสารในอากาศ

ปริมาณอนุภาคฝุ่นรวมในตัวอย่างอากาศ

อากาศที่เก็บจากบริเวณตลาดหางดงและตลาดวโรรส จังหวัดเชียงใหม่ เป็นระยะเวลา 16 สัปดาห์ตั้งแต่สัปดาห์ที่ 3 ของเดือนธันวาคม 2545 ถึงสัปดาห์ที่ 2 ของเดือนเมษายน 2546 พบว่าปริมาณอนุภาคฝุ่นรวมที่เก็บได้จากอากาศบริเวณตลาดหางดง ซึ่งเป็นเขตควบคุมมีปริมาณสูงกว่าอนุภาคฝุ่นรวมที่เก็บจากอากาศบริเวณตลาดวโรรสซึ่งเป็นเขตศึกษา โดยมีปริมาณอนุภาคฝุ่นรวมเฉลี่ย ± ค่าเบี่ยงเบนมาตรฐาน จากเครื่องเก็บอากาศทั้ง 2 เครื่อง ณ บริเวณตลาดหางดงเท่ากับ 328.8 ± 55.16 ไมโครกรัมต่อลูกบาศก์เมตร และ ณ บริเวณตลาดวโรรสเท่ากับ 196.55 ± 74.31 ไมโครกรัมต่อลูกบาศก์เมตร ปริมาณอนุภาคฝุ่นรวมที่เก็บจากอากาศในแต่ละสัปดาห์ส่วนใหญ่มีค่าอยู่ในระดับที่ไม่เกินค่ามาตรฐานที่กำหนดตามมาตรฐานคุณภาพอากาศในบรรยากาศของประเทศไทย ซึ่งระบุว่าอนุภาคฝุ่นรวมในบรรยากาศในเวลา 24 ชั่วโมงมีได้ไม่เกิน 0.33 มิลลิกรัมหรือ 330 ไมโครกรัมต่อลูกบาศก์เมตร (กรมอนามัย, 2540) ในสัปดาห์ต้นเดือนมกราคม กุมภาพันธ์ และมีนาคม พบปริมาณอนุภาคฝุ่นรวมที่เก็บจากอากาศบริเวณตลาดหางดงเกินมาตรฐานในเครื่องเก็บอากาศเครื่องที่ 1 และในเดือนกุมภาพันธ์และเดือนมีนาคมพบอนุภาคฝุ่นรวมที่เก็บจากอากาศบริเวณตลาดหางดงเกินค่ามาตรฐานเมื่อใช้เครื่องเก็บอากาศเครื่องที่ 2 นอกนั้นปริมาณอนุภาคฝุ่นรวมต่ำกว่าค่ามาตรฐานทั้งหมด รายละเอียดแสดงในตารางที่ 3

ลิขสิทธิ์มหาวิทยาลัยเชียงใหม่
Copyright© by Chiang Mai University
All rights reserved

ตารางที่ 3 ปริมาณอนุภาคฝุ่นรวมที่เก็บอากาศจากบริเวณตลาดหางดง (เขตควบคุม) และบริเวณตลาดวโรรส (เขตศึกษา) โดยใช้เครื่องเก็บอากาศ high volume air sampler เป็นเวลา 24 ชั่วโมง ต่อตัวอย่างต่อวันต่อสัปดาห์ ทุกสัปดาห์เป็นเวลา 16 สัปดาห์ ตั้งแต่สัปดาห์ที่ 3 ของเดือนธันวาคม 2545 ถึง สัปดาห์ที่ 2 ของเดือนเมษายน 2546

สัปดาห์ที่เก็บอากาศ	วัน-เดือน-ปี	ปริมาณอนุภาคฝุ่นรวมในอากาศบริเวณตลาดหางดง ($\mu g/m^3$)		ปริมาณอนุภาคฝุ่นรวมในอากาศบริเวณตลาดวโรรส ($\mu g/m^3$)	
		เครื่องที่ 1	เครื่องที่ 2	เครื่องที่ 1	เครื่องที่ 2
1	16-12-45	308.48	224.75	-	-
2	25-12-45	-	-	63.83	177.18
3	7-1-46	**396.64**	249.66	-	-
4	13-1-46	-	-	187.88	267.05
5	20-1-46	321.84	ER	-	-
6	27-1-46	-	-	163.47	314.86
7	3-2-46	**356.66**	**349.20**	-	-
8	13-2-46	-	-	127.54	210.01
9	17-2- 46	**345.79**	ER	-	-
10	24-2-46	-	-	143.04	238.98
11	10-3-46	-	-	164.21	233.63
12	17-3-46	**425.23**	**374.49**	-	-
13	24-3-46	-	-	94.33	249.18
14	31-3-46	**343.58**	263.82	-	-
15	7-4-46	-	-	210.72	325.95
16	19-4-46	322.58	320.74	-	-
Mean $\pm$ SD		**352.36 $\pm$ 39.91**	297.11 $\pm$ 59.75	144.38 $\pm$ 48.29	252.10 $\pm$ 50.02*
Mean $\pm$ SD		328.81 $\pm$ 55.16		196.55 $\pm$ 74.31*	

*P< 0.05

ER (Error) : การเก็บตัวอย่างอากาศไม่ครบ 24 ชั่วโมง

ตัวเลขสีแดง : เป็นค่าอนุภาคฝุ่นรวมที่เกินค่ามาตรฐานตามคุณภาพอากาศในบรรยากาศของประเทศไทยซึ่งระบุมาตรฐานอนุภาคฝุ่นรวมในบรรยากาศ 24 ชั่วโมงมีได้ไม่เกิน 0.33 mg/m^3 หรือ 330 ($\mu g/m^3$)

ลิขสิทธิ์มหาวิทยาลัยเชียงใหม่
Copyright© by Chiang Mai University
All rights reserved

% Recovery ของการวิเคราะห์ตะกั่วและแคดเมียม

ความถูกต้องของการวิเคราะห์ปริมาณตะกั่วและแคดเมียมหลังการสกัดอนุภาคฝุ่นรวมจากกระดาษกรองที่เก็บ กระทำโดยการหา %recovery พบว่าเมื่อมีการสกัดกระดาษกรองเปล่าที่เติมสารละลายมาตรฐานตะกั่วและแคดเมียมที่ทราบค่าความเข้มข้นแน่นอน เป็นจำนวน 3 ครั้งในวันเดียวกันและต่างวันกัน ได้ค่าอยู่ในช่วง 60-80% แสดงผลในตารางที่ 4

ปริมาณตะกั่วในตัวอย่างอากาศ

ค่าเฉลี่ย $\pm$ ค่าเบี่ยงเบนมาตรฐาน ปริมาณตะกั่วในตัวอย่างกระดาษกรองที่เก็บจากอากาศบริเวณตลาดหางดง ต่ำกว่าปริมาณตะกั่วในตัวอย่างกระดาษกรองที่เก็บจากอากาศบริเวณตลาดวโรรส คือ 154.99 ± 34.50 และ 178.72 ± 83.99 ไมโครกรัมต่อลิตร ตามลำดับ และเมื่อเปรียบเทียบเป็นรายเดือนพบว่าในเดือนธันวาคมอากาศที่เก็บจากบริเวณตลาดหางดงมีตะกั่วปริมาณสูงกว่าบริเวณตลาดวโรรสอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($P<0.05$) ซึ่งเป็นตัวอย่างเดียวที่เก็บจากอากาศบริเวณตลาดหางดงที่มีปริมาณตะกั่วสูงกว่าบริเวณตลาดวโรรส ส่วนในเดือนมกราคมและกุมภาพันธ์ พบว่าอากาศที่เก็บจากบริเวณตลาดวโรรสมีปริมาณตะกั่วสูงกว่าบริเวณตลาดหางดง

เมื่อนำผลที่วิเคราะห์ได้มาคำนวณเป็นค่าตะกั่วที่มีอยู่ในบรรยากาศในหน่วยของไมโครกรัมต่อลูกบาศก์เมตร พบว่าปริมาณตะกั่วในตัวอย่างกระดาษกรองที่เก็บจากอากาศบริเวณตลาดหางดงและบริเวณตลาดวโรรสโดยมีค่าเฉลี่ย $\pm$ ค่าเบี่ยงเบนมาตรฐาน เท่ากับ 0.012 ± 0.003 และ 0.015 ± 0.008 ไมโครกรัมต่อลูกบาศก์เมตรตามลำดับ อยู่ในระดับที่ไม่เกินมาตรฐานของคณะกรรมการสิ่งแวดล้อมแห่งชาติ ปี 2538 ที่ระบุว่าค่าเฉลี่ยของตะกั่วในบรรยากาศ 1 เดือน ไม่ควรเกิน 1.5 ไมโครกรัมต่อลูกบาศก์เมตร รายละเอียดแสดงดังตารางที่ 5 และ รูปที่ 7 ซึ่งแสดงกราฟแท่งค่าเฉลี่ย $\pm$ ค่าเบี่ยงเบนมาตรฐานของปริมาณตะกั่วในตัวอย่างกระดาษกรองที่เก็บจากอากาศบริเวณตลาดหางดงเปรียบเทียบกับปริมาณตะกั่วในตัวอย่างกระดาษกรองที่เก็บจากอากาศบริเวณตลาดวโรรสในแต่ละเดือน

ปริมาณแคดเมียมในตัวอย่างอากาศ

ค่าเฉลี่ย $\pm$ ค่าเบี่ยงเบนมาตรฐาน ปริมาณแคดเมียมในตัวอย่างกระดาษกรองที่เก็บจากอากาศบริเวณตลาดหางดงต่ำกว่าปริมาณแคดเมียมในตัวอย่างกระดาษกรองที่เก็บจากอากาศบริเวณตลาดวโรรส อย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($P<0.05$) โดยที่บริเวณตลาดวโรรสพบค่าเฉลี่ยของปริมาณแคดเมียมที่วัดได้ 6.15 ± 1.85 ไมโครกรัมต่อลิตร และเมื่อเปรียบเทียบเป็นรายเดือน พบว่าในเดือน

ลิขสิทธิ์มหาวิทยาลัยเชียงใหม่
Copyright© by Chiang Mai University
All rights reserved

ธันวาคมปริมาณแคดเมียมในตัวอย่างกระดาษกรองที่เก็บจากอากาศบริเวณตลาดหางดงจะมีปริมาณแคดเมียมสูงกว่าตัวอย่างกระดาษกรองที่เก็บจากอากาศบริเวณตลาดวโรรสอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($P<0.05$) มีค่าเฉลี่ย $\pm$ ค่าเบี่ยงเบนมาตรฐานเท่ากับ 5.1 $\pm$ 0.14 ไมโครกรัมต่อลิตร ซึ่งเป็นตัวอย่างเดียว ที่พบปริมาณแคดเมียมในตัวอย่างกระดาษกรองที่เก็บจากอากาศบริเวณตลาดหางดงสูงกว่าปริมาณแคดเมียมในตัวอย่างกระดาษกรองที่เก็บจากอากาศบริเวณตลาดวโรรสอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ซึ่งสอดคล้องกับผลวิเคราะห์ของปริมาณตะกั่วที่พบ ส่วนในเดือนมกราคม กุมภาพันธ์ มีนาคม และเมษายน พบว่าปริมาณแคดเมียมในตัวอย่างกระดาษกรองที่เก็บจากอากาศบริเวณตลาดหางดงต่ำกว่าปริมาณแคดเมียมในตัวอย่างกระดาษกรองที่เก็บจากอากาศบริเวณตลาดวโรรส

เมื่อนำผลที่วิเคราะห์ได้มาคำนวณเป็นค่าแคดเมียมที่มีอยู่ในบรรยากาศในหน่วยของไมโครกรัมต่อลูกบาศก์เมตร ซึ่งยังไม่มีรายงานระบุค่าเฉลี่ยของแคดเมียมในบรรยากาศ 24 ชั่วโมงมาก่อน พบว่าปริมาณแคดเมียมในตัวอย่างกระดาษกรองที่เก็บจากอากาศบริเวณตลาดหางดงและบริเวณตลาดวโรรสโดยมีค่าเฉลี่ย $\pm$ ค่าเบี่ยงเบนมาตรฐาน เท่ากับ $34 \times 10^{-5} \pm 11 \times 10^{-5}$ และ $49 \times 10^{-5} \pm 15 \times 10^{-5}$ ไมโครกรัมต่อลูกบาศก์เมตร ตามลำดับ รายละเอียดแสดงในตารางที่ 6 และ รูปที่ 8

ตารางที่ 4 Percent recovery ของสารละลายมาตรฐานตะกั่วและแคดเมียมเมื่อผ่านการสกัดตัวอย่างกระดาษกรองด้วยวิธี hot acid extraction

สารที่ต้องการทดสอบ	ความเข้มข้น (ppb)	ความเข้มข้นที่วัดได้ (ppb)	% Recovery	n
ตะกั่ว	20 (ต่ำ)	12.93 $\pm$ 4.58	64.63 $\pm$ 22.90	6
	60 (สูง)	45.59 $\pm$ 6.63	75.99 $\pm$ 11.05	6
แคดเมียม	2 (ต่ำ)	1.21 $\pm$ 0.36	60.66 $\pm$ 18.36	6
	4 (สูง)	3.15 $\pm$ 0.29	78.69 $\pm$ 7.35	6

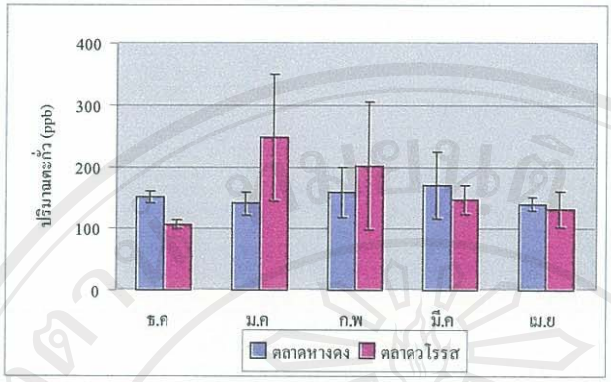
ลิขสิทธิ์มหาวิทยาลัยเชียงใหม่
Copyright© by Chiang Mai University
All rights reserved

ตารางที่ 5 ปริมาณ ตะกั่ว ในตัวอย่างอนุภาคฝุ่นรวมที่เก็บจากอากาศบริเวณตลาดหางดง (เขตควบคุม) และบริเวณตลาดวโรรส (เขตศึกษา) จังหวัดเชียงใหม่ตั้งแต่สัปดาห์ที่ 3 ของเดือนธันวาคม 2545 ถึง สัปดาห์ที่ 2 ของเดือนเมษายน 2546

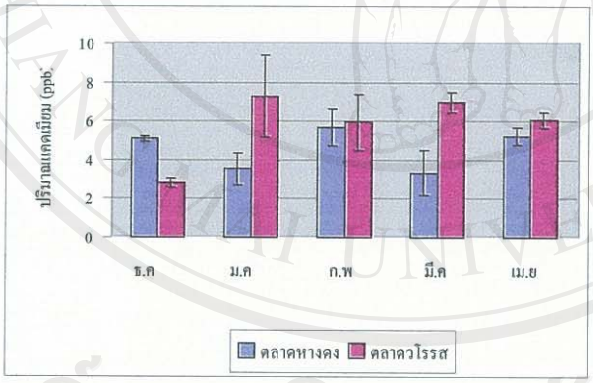
สัปดาห์ที่เก็บอากาศ	วัน-เดือน-ปี	ปริมาณตะกั่วในอากาศตลาดหางดง (ppb)	ปริมาณตะกั่วในอากาศตลาดหางดง ($\mu g/m^3$)	ปริมาณตะกั่วในอากาศตลาดหางดง ($\mu g/g$ (TSP))	ปริมาณตะกั่วในอากาศบริเวณตลาดวโรรส (ppb)	ปริมาณตะกั่วในอากาศบริเวณตลาดวโรรส ($\mu g/m^3$)	ปริมาณตะกั่วในอากาศบริเวณตลาดวโรรส ($\mu g/g$ (TSP))
1	16-12-45	150.84 ±10.40	0.010	44.49	-	-	-
2	25-12-45	-	-	-	106.89 ± 6.94	0.009	50.79
3	7-1-46	140.15 ± 19.11	0.009	36.05	-	-	-
4	13-1-46	-	-	-	336.6 ± 4.24	0.030	112.33
5	20-1-46	ER	ER	ER	-	-	-
6	27-1-46	-	-	-	158.04 ±1.18	0.012	38.11
7	3-2-46	158.45 ± 40.96	0.012	34.36	-	-	-
8	13-2-46	-	-	-	117.27 ± 2.02	0.008	38.09
9	17-2- 46	ER	ER	ER	-	-	-
10	24-2-46	-	-	-	285.40 ± 59.96	0.024	100.42
11	10-3-46	-	-	-	163.44 ± 17.50	0.012	51.36
12	17-3-46	124.01 ± 9.60	0.010	26.70	-	-	-
13	24-3-46	-	-	-	130.39 ± 12.62	0.010	40.130
14	31-3-46	216.6 ± 16.68	0.017	64.43	-	-	-
15	7-4-46	-	-	-	131.79 ± 28.52	0.012	36.82
16	19-4-46	139.92 ± 10.29	0.012	37.41	-	-	-
Mean ± SD		154.99 ± 34.50	0.012 ± 0.003	40.57 ± 13.00	178.72 ± 83.99	0.015 ±0.008	58.51 ± 30.24

ER(Error) : การเก็บตัวอย่างอากาศไม่ครบ 24 ชั่วโมง

ลิขสิทธิ์มหาวิทยาลัยเชียงใหม่
Copyright © by Chiang Mai University
All rights reserved



รูปที่ 7 เปรียบเทียบปริมาณ **ตะกั่ว** ในตัวอย่างอนุภาคฝุ่นรวมที่เก็บจากอากาศบริเวณตลาดหางดง (เขตควบคุม)และบริเวณตลาดวโรรส (เขตศึกษา) จังหวัดเชียงใหม่ ตั้งแต่สัปดาห์ที่ 3 ของเดือนธันวาคม 2545 ถึง สัปดาห์ที่ 2 ของเดือนเมษายน 2546



รูปที่ 8 เปรียบเทียบปริมาณ **แคดเมียม** ในตัวอย่างอนุภาคฝุ่นรวมที่เก็บจากอากาศบริเวณตลาดหางดงซึ่ง(เขตควบคุม) และบริเวณตลาดวโรรส (เขตศึกษา) จังหวัดเชียงใหม่ ตั้งแต่สัปดาห์ที่ 3 ของเดือนธันวาคม 2545 ถึง สัปดาห์ที่ 2 ของเดือนเมษายน 2546

ลิขสิทธิ์มหาวิทยาลัยเชียงใหม่
Copyright© by Chiang Mai University
All rights reserved

ตารางที่ 6 ปริมาณ **แคดเมียม** ในตัวอย่างอนุภาคฝุ่นรวมที่เก็บจากอากาศบริเวณตลาดหางดง (เขตควบคุม) และบริเวณตลาดวโรรส (เขตศึกษา) จังหวัดเชียงใหม่ตั้งแต่สัปดาห์ที่ 3 ของเดือนธันวาคม 2545 ถึง สัปดาห์ที่ 2 ของเดือนเมษายน 2546

สัปดาห์ที่เก็บอากาศ	วัน-เดือน-ปี	ปริมาณแคดเมียมในอากาศตลาดหางดง (ppb)	ปริมาณแคดเมียมในอากาศตลาดหางดง ($\mu g/m^3$)	ปริมาณแคดเมียมในอากาศตลาดหางดง ($\mu g/g$ (TSP))	ปริมาณแคดเมียมในอากาศบริเวณตลาดวโรรส (ppb)	ปริมาณแคดเมียมในอากาศบริเวณตลาด.วโรรส ($\mu g/m^3$)	ปริมาณแคดเมียมในอากาศบริเวณตลาด.วโรรส ($\mu g/g$ (TSP))
1	16-12-45	5.1 ± 0.14	37×10^{-5}	1.65	-	-	-
2	25-12-45	-	-	-	2.80 ± 0.23	20×10^{-5}	1.13
3	7-1-46	3.52 ± 0.8	22×10^{-5}	0.88	-	-	-
4	13-1-46	-	-	-	8.99 ± 0.12	69×10^{-5}	2.58
5	20-1-46	ER	ER	ER	-	-	-
6	27-1-46	-	-	-	5.55 ± 1.22	45×10^{-5}	1.43
7	3-2-46	5.67 ± 0.96	35×10^{-5}	1.00	-	-	-
8	13-2-46	-	-	-	5.24 ± 0.97	35×10^{-5}	1.66
9	17-2- 46	ER	ER	ER	-	-	-
10	24-2-46	-	-	-	6.63 ± 1.86	57×10^{-5}	2.39
11	10-3-46	-	-	-	7.36 ± 0.46	56×10^{-5}	2.40
12	17-3-46	4.34 ± 0.10	35×10^{-5}	0.93	-	-	-
13	24-3-46	-	-	-	6.60 ± 0.32	51×10^{-5}	2.05
14	31-3-46	2.33 ± 0.19	18×10^{-5}	0.68	-	-	-
15	7-4-46	-	-	-	6.06 ± 0.41	56×10^{-5}	1.72
16	19-4-46	5.21 ± 0.46	46×10^{-5}	1.43	-	-	-
Mean $\pm$ SD		4.36 ± 1.26	$34 \times 10^{-5} \pm 11 \times 10^{5}$	1.10 ± 0.37	6.15 ± 1.85*	$49 \times 10^{-5} \pm 15 \times 10^{-5}$	1.92 ± 0.52

* $P < 0.05$

ER (Error) : การเก็บตัวอย่างอากาศไม่ครบ 24 ชั่วโมง

ลิขสิทธิ์มหาวิทยาลัยเชียงใหม่
Copyright© by Chiang Mai University
All rights reserved

ผลการศึกษาการเหนี่ยวนำให้เกิดไมโครนิวเคลียส

การตรวจวิเคราะห์ความผิดปกติของโครโมโซมด้วยวิธีไมโครนิวเคลียส โดยใช้เซลล์เม็ดเลือดขาวชนิดลิมโฟไซต์หลังการได้รับสารที่เป็น clastogen หรือ aneugenic ซึ่งเป็น genotoxicity assay จะเห็นการแตกหักของดีเอนเอ พบไมโครนิวเคลียสเป็นลักษณะกลม ขอบเขตชัดเจน และเรียบ ติดสีเช่นเดียวกับนิวเคลียสใหญ่ แต่มีขนาดเล็กกว่ามาก

ลักษณะของเซลล์เม็ดเลือดขาวชนิดลิมโฟไซต์ที่พบมีหลายลักษณะ (Fenech, 2000) ซึ่งอาจพบไมโครนิวเคลียสหรือไม่ก็ได้ คือ

1. Mononucleated cell คือ เซลล์เม็ดเลือดขาวชนิดลิมโฟไซต์ที่มี 1 นิวเคลียส มีลักษณะของเซลล์เม็ดเลือดขาวชนิดลิมโฟไซต์ปกติ (รูปที่ 9)

2. Binucleated cell คือ เซลล์เม็ดเลือดขาวชนิดลิมโฟไซต์ที่มี 2 นิวเคลียส มีลักษณะของเซลล์เม็ดเลือดขาวชนิดลิมโฟไซต์ที่เกิดขึ้นเนื่องจากมีการใช้ cytochalasin B ยับยั้งการแบ่งตัวของเซลล์ขณะที่เซลล์กำลังแบ่งตัว 1 รอบ

3. Trinucleated cell คือ เซลล์เม็ดเลือดขาวชนิดลิมโฟไซต์ที่มี 3 นิวเคลียส มีลักษณะของเซลล์เม็ดเลือดขาวชนิดลิมโฟไซต์ที่เกิดขึ้นเนื่องจากมีการใช้ cytochalasin B ยับยั้งการแบ่งตัวของเซลล์ขณะที่นิวเคลียสใดนิวเคลียสนึงของ binucleated cell กำลังแบ่งตัวรอบสอง

4. Tetranucleated cell คือ เซลล์เม็ดเลือดขาวชนิดลิมโฟไซต์ที่มี 4 นิวเคลียส มีลักษณะของเซลล์เม็ดเลือดขาวชนิดลิมโฟไซต์ที่เกิดขึ้นเนื่องจากมีการใช้ cytochalasin B ยับยั้งการแบ่งตัวของเซลล์ขณะที่นิวเคลียสของ binucleated cell กำลังแบ่งตัวรอบสอง หรือนิวเคลียสใดนิวเคลียสหนึ่งของ trinucleated cell กำลังแบ่งตัวรอบสอง (รูปที่ 10)

5. Apoptotic cell คือ เซลล์เม็ดเลือดขาวชนิดลิมโฟไซต์ที่ตาย โดยเซลล์เม็ดเลือดขาวชนิดลิมโฟไซต์จะมีลักษณะของเซลล์ที่เหี่ยว ฝ่อ ไซโตพลาสซึมติดสีไม่สม่ำเสมอ ไม่พบขอบเขตที่ชัดเจนของเซลล์

6. Necrotic cell คือ เซลล์เม็ดเลือดขาวชนิดลิมโฟไซต์ที่ตาย เฉพาะนิวเคลียสใหญ่แสดงลักษณะของเซลล์เม็ดเลือดขาวที่มีการบวมและ แตกจนไม่สามารถพบไซโตพลาสซึมซึ่งเป็นขอบเขตของเซลล์ได้

การคำนวณหาค่าดัชนีการแบ่งตัวของเซลล์ (NDCI) จะต้องนับเซลล์ทั้ง 6 ชนิด

ผลการทดลองพบว่า เกิดการเหนี่ยวนำให้เกิดไมโครนิวเคลียสเพิ่มมากขึ้น เมื่อทดสอบด้วยสารละลายมาตรฐาน lead acetate, cadmium acetate และอนุภาคฝุ่นรวมที่เก็บตัวอย่างกระดาษกรองจากอากาศในเมืองเชียงใหม่

ลิขสิทธิ์มหาวิทยาลัยเชียงใหม่
Copyright© by Chiang Mai University
All rights reserved