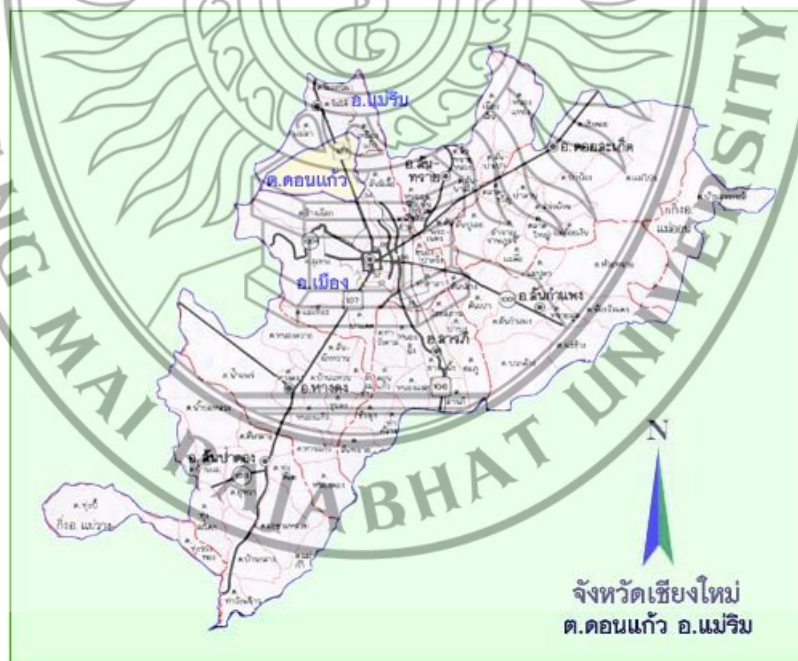


บทที่ 3

วิธีดำเนินการวิจัย

สถานที่เก็บอากาศ

ตำบลคอนแก้ว เดิมเป็นตำบลที่อยู่ในเขตของตำบลแม่สง ต่อมาปี พ.ศ.2474 ได้แยกออกมาตั้งเป็นตำบลคอนแก้ว โดยใช้บ้านคอนแก้วเป็นหมู่บ้านหลัก มีจำนวนประชากรในพื้นที่ประมาณ 13,557 คน และจำนวนหลังคาเรือน 4,932 หลังคาเรือน ตำบลคอนแก้วตั้งอยู่ทางทิศใต้ของอำเภอแมริม อาณาเขตติดต่อกับศาลากลางจังหวัดเชียงใหม่ ลักษณะพื้นที่โดยทั่วไปเป็นที่ราบด้านตะวันออกติดแม่น้ำปิง ด้านตะวันตกติดต่ออุทยานแห่งชาติสุเทพ-ปุย มีพื้นที่ทั้งหมด ประมาณ 34,953 ตรม. เป็นพื้นที่อยู่อาศัยของราษฎรหรือเขตชุมชน 1 ใน 4 ของพื้นที่ทั้งหมด เส้นทางคมนาคมจากกรุงเทพฯ ใช้ทางหลวงหมายเลข 1 (พหลโยธิน) ผ่านกำแพงเพชร ดาด และลำปาง ถึงเชียงใหม่ ระยะทางประมาณ 696 กิโลเมตร แล้วเดินทางต่อเข้าสู่ตำบลโดยใช้เส้นทางหลวงหมายเลข 107 (เชียงใหม่-แมริม)



รูปที่ 3.1 เส้นทางคมนาคมและการเดินทางสู่ตำบลคอนแก้ว

การวิจัยในครั้งนี้ได้เก็บตัวอย่างอากาศระหว่างเดือน ธันวาคม 2550 – สิงหาคม 2551 โดยเก็บตัวอย่างอากาศจาก 4 จุด ได้แก่ พื้นที่ใกล้กับเส้นทางการจราจรหลัก พื้นที่ย่านเตาเผาศพและเผาขยะ พื้นที่เกษตรกรรม และพื้นที่บริเวณที่พักอาศัยของชุมชน



ก) พื้นที่ใกล้กับเส้นทางการจราจรหลัก



ข) พื้นที่ย่านเตาเผาศพและเผาขยะ



ค) พื้นที่เกษตรกรรม



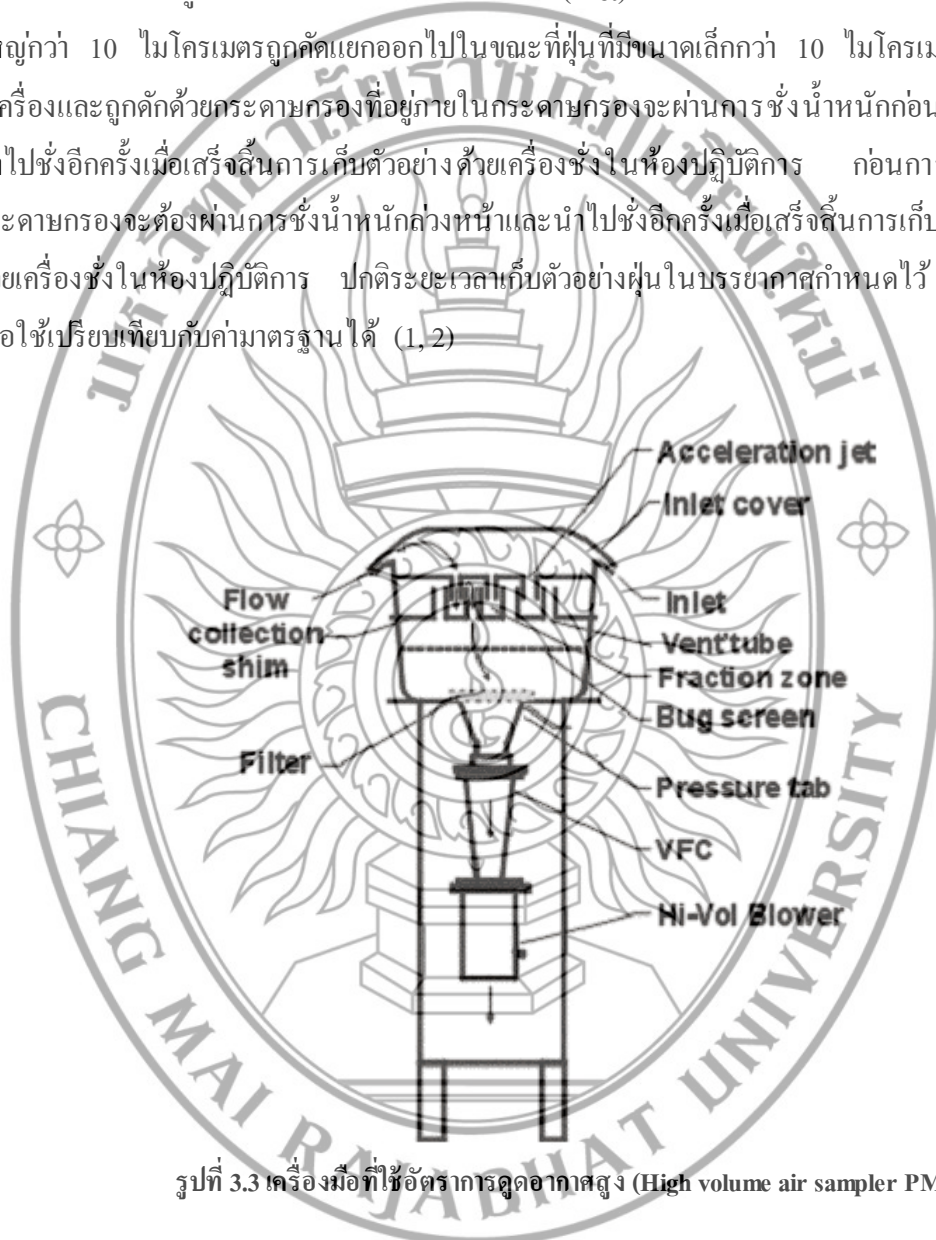
ง) พื้นที่บริเวณที่พักอาศัยของชุมชน

รูปที่ 3.2 จุดเก็บตัวอย่างอากาศในพื้นที่ตำบลดอนแก้ว อำเภอแมริ่ม จังหวัดเชียงใหม่

การตรวจวัดองค์ประกอบทางเคมีและฝุ่นขนาดเล็กกว่า 10 ไมโครเมตรในอากาศ

ฝุ่นอนุภาคขนาดเล็กมีโอกาสผ่านเข้าสู่ระบบทางเดินหายใจ ได้ง่ายกว่าฝุ่นที่มีอนุภาคขนาดใหญ่ มาตรฐานคุณภาพอากาศในบรรยากาศของหลายประเทศกำหนดให้มีฝุ่นละอองรวมและฝุ่นละอองขนาดเล็กกว่า 10 ไมโครเมตร เป็นสารมลพิษอากาศที่สำคัญ ในงานวิจัยนี้การเก็บตัวอย่างฝุ่นละอองขนาดเล็กกว่า 10 ไมโครเมตรในบรรยากาศด้วยเครื่องมือที่ใช้อัตราการดูดอากาศสูง (High volume air sampler PM10)

การใช้เครื่องเก็บตัวอย่างชนิดอัตราการดูดอากาศสูงหรือ Hi-Vol เป็นวิธีเก็บตัวอย่างฝุ่นตามที่ระบุในกฎหมาย ฝุ่นในบรรยากาศจะถูกดูดเข้าสู่เครื่องเก็บตัวอย่างด้วยอัตราการดูดตามที่ออกแบบไว้ อากาศจะถูกบังคับให้เคลื่อนที่ผ่านทางเข้า (inlet) เข้าสู่เครื่องและถูกดักด้วยกระดาษกรองที่อยู่ใน ภายใน อากาศจะถูกบังคับให้เคลื่อนที่ผ่านทางเข้า (inlet) ที่ออกแบบไว้ให้ผ่านเพื่อให้ฝุ่นที่มีขนาดใหญ่กว่า 10 ไมโครเมตรถูกคัดแยกออกไปในขณะที่ฝุ่นที่มีขนาดเล็กกว่า 10 ไมโครเมตรจะผ่านเข้าสู่เครื่องและถูกดักด้วยกระดาษกรองที่อยู่ในกระดาษกรองจะผ่านการซังน้ำหนักก่อนมาใช้และนำไปซังอีกครั้งเมื่อเสร็จสิ้นการเก็บตัวอย่างด้วยเครื่องซังในห้องปฏิบัติการ ก่อนการเก็บตัวอย่างกระดาษกรองจะต้องผ่านการซังน้ำหนักล่วงหน้าและนำไปซังอีกครั้งเมื่อเสร็จสิ้นการเก็บตัวอย่างด้วยเครื่องซังในห้องปฏิบัติการ ปกติระยะเวลาเก็บตัวอย่างฝุ่นในบรรยากาศกำหนดไว้ 24 ชั่วโมงเพื่อใช้เปรียบเทียบกับค่ามาตรฐานได้ (1,2)



รูปที่ 3.3 เครื่องมือที่ใช้อัตราการดูดอากาศสูง (High volume air sampler PM10)

การเก็บตัวอย่างฝุ่นละอองขนาดเล็กกว่า 10 ไมโครเมตรในบรรยากาศด้วยเครื่อง Hi-Vol จำเป็นต้องคำนึงถึงอัตราการไหลของอากาศที่เหมาะสม และการเก็บตัวอย่างต้องซังกระดาษกรองในห้องปฏิบัติการ จึงต้องควบคุมอุณหภูมิให้อยู่ในช่วง 15 – 30°C และการเปลี่ยนแปลงอุณหภูมิไม่ควรเกิน $\pm 30^{\circ}\text{C}$ การปรับสภาพกระดาษกรองควรควบคุมความชื้นสัมพัทธ์ให้ต่ำกว่าร้อยละ 50 และเปลี่ยนแปลงไม่เกินร้อยละ ± 5 เครื่องเก็บตัวอย่างฝุ่นขนาดเล็กกว่า 10 ไมโครเมตรมีหัวตัวอย่าง

ค่อนข้างใหญ่และหนัก เพื่อเป็นส่วนแยกขนาดฝุ่นที่ใหญ่กว่า 10 ไมโครเมตรไม่เข้าไปในส่วนที่ติดตั้งกระดาษกรอง นำกระดาษกรองไปปรับสภาพในตู้ควบคุมความชื้นอย่างน้อย 24 ชม. ก่อนนำมาชั่งน้ำหนัก บันทึกน้ำหนักที่ได้ คำนวณหาน้ำหนักฝุ่นขนาดเล็กกว่า 10 ไมโครเมตรในบรรยากาศ นอกจากนี้ได้ทำการตรวจวัด ก๊าซมีเทน (CH_4) ก๊าซนอ-มีเทน (Non- CH_4) และก๊าซไฮโดรคาร์บอน (THC) โดยใช้รถหน่วยตรวจวัดสิ่งแวดล้อมเคลื่อนที่ และได้นำข้อมูลคุณภาพอากาศจากสถานีตรวจวัดคุณภาพอากาศอัตโนมัติในจังหวัดเชียงใหม่ ได้แก่ ศูนย์ราชการจังหวัดเชียงใหม่ (CM35t) นำมาวิเคราะห์เปรียบเทียบ



รูปที่ 3.4 หน่วยตรวจวัดสิ่งแวดล้อมเคลื่อนที่

วิธีการสกัดสารจากกระดาษกรอง

ตัดกระดาษกรองที่เก็บตัวอย่างอากาศเป็นชิ้นเล็ก ๆ ใส่ลงในขวดแก้วรูปชมพู่ขนาด 250 มล. ทำการสกัดโดย ultrasonication กับ dichloromethane ที่อุณหภูมิห้อง ทำการสกัดทั้งหมด 3 ครั้ง; ครั้งที่ 1 100 มล. นาน 30 นาที ครั้งที่ 2, 50 มล. นาน 15 นาที และครั้งที่ 3, 50 มล. นาน 15 นาที ผสมสารสกัดทั้งหมดและเติมสารดูดความชื้น Na_2SO_4 แล้วกรองสารละลายทั้งหมดด้วยกระดาษกรอง

Whatman เบอร์ 41 นำสารละลายทั้งหมดไประเหยภายใต้ความดันจนแห้ง ซึ่งนำหน้ากระดาษสกัดแห้งที่ได้ นำสารสกัดมาละลายกลับด้วย DMSO โดยใช้ปริมาตรน้อยที่สุดเพื่อปรับความเข้มข้นให้มากที่สุด (ความเข้มข้นเท่ากับ 7 มก./มล.DMSO) เก็บสารละลายนี้ไว้ที่อุณหภูมิ - 20 องศาเซลเซียส ก่อนนำไปทดสอบฤทธิ์ก่อการกลายโดย Ames test

การทดสอบความเป็นพิษของสารสกัดจากกระดาดกรองเก็บอากาศโดยการทดสอบเอมส์

ใช้แบคทีเรีย *Salmonella typhimurium* สายพันธุ์ TA 98 และ TA 100 เป็นตัวทดสอบ ใช้ DMSO เป็นสารควบคุมผลลบ และ 2AA และ AF-2 เป็นตัวควบคุมผลบวก การตัดสินฤทธิ์ก่อการกลายหน่วยกรรมพันธุ์ของสารสกัดจากอนุภาคฝุ่น (PM 2.5) อาศัยจำนวน revertant colonies ที่เกิดจากการเหนี่ยวนำโดยสารสกัดต้องมากกว่าสารควบคุมผลลบ (DMSO) 2 เท่าขึ้นไป และมีความสัมพันธ์แบบเส้นตรงกับความเข้มข้นที่ใช้ทดสอบ สารสกัดแต่ละตัวอย่างจะถูกทดสอบฤทธิ์การกลายกับแบคทีเรียทั้ง 2 สายพันธุ์ 2 ครั้ง และผลการทดสอบจะเป็นค่าเฉลี่ยจากงานเลี้ยงเชื้อ 6 งาน

การแปลผลการวิจัย/การวิเคราะห์ผล

1. เปรียบเทียบระดับรายวันของอนุภาคฝุ่นขนาดเล็ก (พีเอ็ม10) กับเกณฑ์มาตรฐานที่กำหนดไว้โดยองค์การพิทักษ์สิ่งแวดล้อมของสหรัฐอเมริกา (Environmental Protection Agency, USA) และกรมควบคุมมลพิษ สำหรับ พีเอ็ม10 ในอากาศภายนอกและภายในอาคาร ไม่เกิน 120 ไมโครกรัม/ลบ.ม. ในเวลา 24 ชั่วโมง และค่าเฉลี่ยรายปี ไม่เกิน 50 ไมโครกรัม/ลบ.ม.
2. การตัดสินฤทธิ์ก่อกลายพันธุ์ของสารสกัดจากอนุภาคฝุ่น พีเอ็ม10 อาศัยจำนวนนิคมแบคทีเรียในงานเพาะเชื้อ ผลบวกคือได้จำนวนนิคมเชื้อจากการเหนี่ยวนำโดยสารสกัด (revertant colonies) มากกว่าในสารควบคุม (DMSO) 2 เท่าขึ้นไป และมีความสัมพันธ์แบบเส้นตรงกับความเข้มข้นที่ใช้ทดสอบ สารสกัดจากแต่ละตัวอย่างจะถูกทดสอบฤทธิ์ก่อกลายพันธุ์กับทั้งสายพันธุ์ตั้งแต่ 1 ครั้งขึ้นไป ขึ้นอยู่กับปริมาณสารสกัดหากมีมากพอผลการทดสอบใช้ค่าเฉลี่ยจากงานเลี้ยงเชื้อ 6 งาน
3. จากผลการศึกษาจะสรุปได้ว่าสารก่อกลายพันธุ์ในอนุภาคฝุ่นภายในและภายนอกอาคารเป็นแบบออกฤทธิ์ทางเมตะบอลิกทั้งโดยตรงหรือโดยทางอ้อม และหาความสัมพันธ์ระหว่างการกระจายของอนุภาคฝุ่นขนาดเล็กกับฤทธิ์ก่อกลายพันธุ์