บทที่ 3
วิธีดำเนินการวิจัย

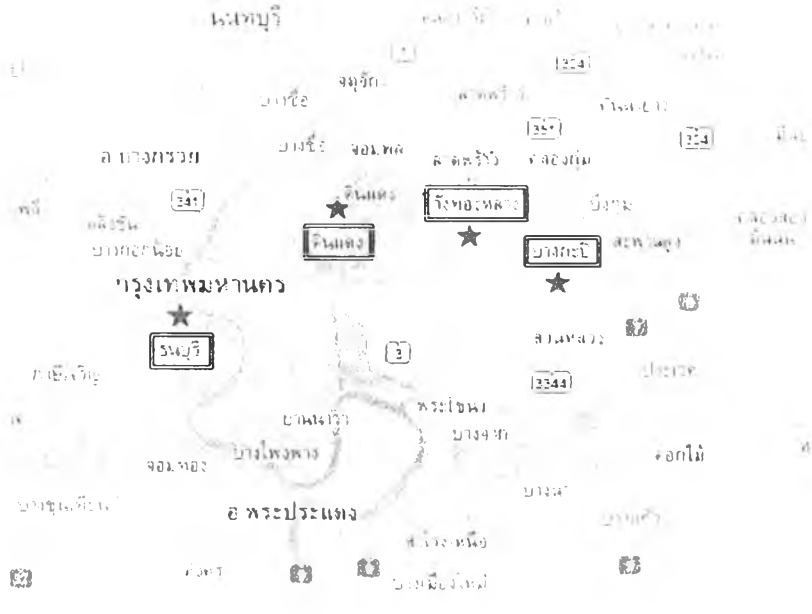
การวิจัยนี้ เป็นงานวิจัยเพื่อศึกษาศักยภาพการก่อการกลายพันธุ์ของสารโพลีไซคลิกอะโรมาติกไฮโดรคาร์บอนจากฝุ่นละอองในเขตกรุงเทพมหานครในช่วงปี พ.ศ.2549-2552 โดยในการวิจัยมีรายละเอียด ดังนี้

3.1 ตัวอย่างที่ใช้ในการวิจัย

ตัวอย่างแผ่นกรองอากาศฝุ่น PM_{10} ได้ความอนุเคราะห์มาจากสำนักจัดการคุณภาพอากาศและเสียง กรมควบคุมมลพิษ

3.1.1 สถานที่เก็บตัวอย่าง

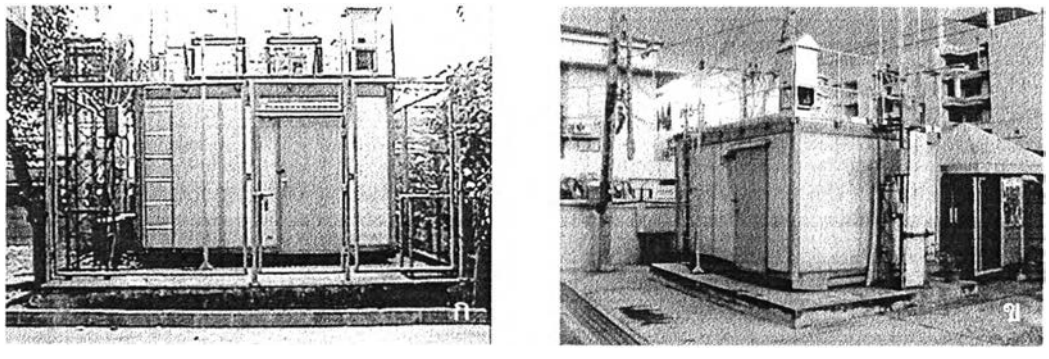
ตัวอย่างแผ่นกรองอากาศ ได้มาจากการเก็บตัวอย่างจากสถานีตรวจวัดคุณภาพอากาศในเขตกรุงเทพมหานคร 4 สถานี โดยแผนที่แสดงจุดเก็บตัวอย่างทั้ง 4 สถานี แสดงในภาพที่ 3.1



ภาพที่ 3.1 แผนที่แสดงจุดเก็บตัวอย่าง 4 สถานีในเขตกรุงเทพมหานคร

โดยแบ่งออกเป็น 2 ลักษณะคือ

1) สถานีตรวจวัดคุณภาพอากาศริมเส้นทางจราจร (Roadside site) ซึ่งจะอยู่ห่างจากถนนหลักไม่เกิน 10 เมตร จำนวน 2 สถานี ได้แก่ สถานีการไฟฟ้าย่อยธนบุรี เขตธนบุรี และสถานีการเคหะชุมชนดินแดง เขตดินแดง ดังแสดงในภาพที่ 3.2



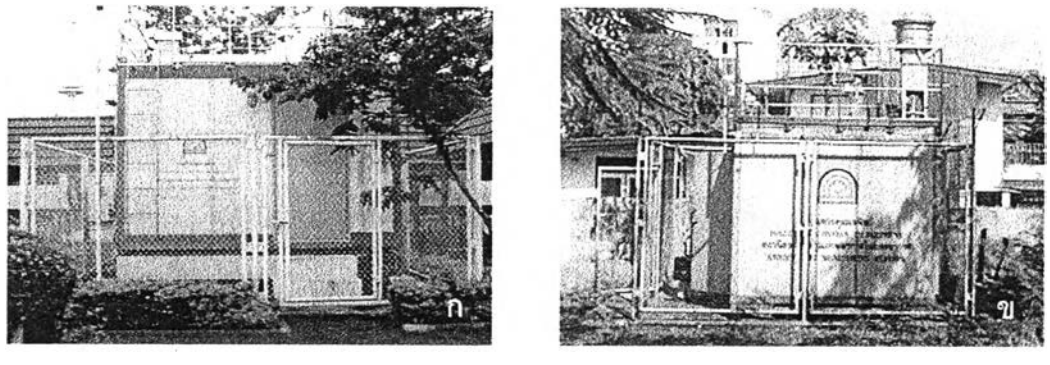
ภาพที่ 3.2 สถานีตรวจวัดคุณภาพอากาศริมเส้นทางจราจร

(ก) สถานีตรวจวัดคุณภาพอากาศการเคหะชุมชนดินแดง เขตดินแดง

(ข) สถานีตรวจวัดคุณภาพอากาศการไฟฟ้าย่อยธนบุรี เขตธนบุรี

ที่มา: กรมควบคุมมลพิษ (2554)

2) สถานีตรวจวัดคุณภาพอากาศในเขตชุมชน (Community site) ซึ่งจะอยู่ห่างจากถนนหลักประมาณ 50 เมตร ขึ้นไป จำนวน 2 สถานี ได้แก่ สถานีโรงเรียนบดินทรเดชา เขตวังทองหลาง และสถานีการเคหะชุมชนคลองจั่น เขตบางกะปิ ดังแสดงในภาพที่ 3.3



ภาพที่ 3.3 สถานีตรวจวัดคุณภาพอากาศในเขตชุมชน

(ก) สถานีตรวจวัดคุณภาพอากาศโรงเรียนบดินทรเดชา เขตวังทองหลาง

(ข) สถานีตรวจวัดคุณภาพอากาศการเคหะชุมชนคลองจั่น เขตบางกะปิ

ที่มา: กรมควบคุมมลพิษ (2554)

3.1.2 ระยะเวลาในการเก็บตัวอย่าง

ทำการคัดเลือกตัวอย่างแผ่นกรองอากาศ ที่ทำการเก็บฝุ่น PM_{10} จากสถานีตรวจวัดคุณภาพอากาศในช่วงระหว่างปี พ.ศ.2549-2552 โดยคำนึงถึงผลการเปลี่ยนแปลงตามฤดูกาล: ฤดูหนาว (เดือนพฤศจิกายน), ฤดูร้อน (เดือนมีนาคม) และฤดูฝน (เดือนกรกฎาคม) ตามช่วงเวลาที่ระบุในตารางที่ 3.1

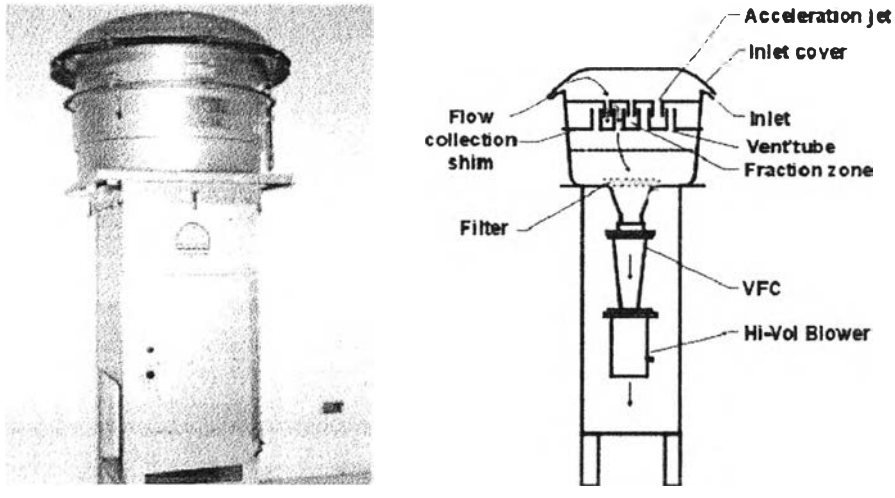
ตารางที่ 3.1 ช่วงเวลาที่ทำการเก็บตัวอย่างจากสถานีตรวจวัดคุณภาพอากาศ

สถานที่	สถานี	ช่วงเวลาที่เก็บตัวอย่าง
ริมเส้นทางจราจร (Roadside site)	• สถานีการเคหะชุมชนดินแดง • สถานีการไฟฟ้าย่อยธนบุรี	เดือนมีนาคม กรกฎาคม และพฤศจิกายน ปี พ.ศ.2549-2552
เขตชุมชน (Community site)	• สถานีโรงเรียนบดินทรเดชา • สถานีการเคหะชุมชนคลองจั่น	เดือนมีนาคม กรกฎาคม และพฤศจิกายน ปี พ.ศ.2549-2552

3.1.3 เครื่องมือที่ใช้ในการเก็บตัวอย่าง

ตัวอย่างแผ่นกรองอากาศได้มาจากการเก็บตัวอย่างฝุ่นละอองโดยใช้เครื่องเก็บตัวอย่างฝุ่นละอองขนาดไม่เกิน 10 ไมครอน (PM_{10} High Volume Air Sampler) ของสำนักจัดการคุณภาพอากาศและเสียง กรมควบคุมมลพิษ ที่ใช้สำหรับเก็บตัวอย่างฝุ่นละอองขนาดเล็ก PM_{10} โดยใช้เครื่องเก็บอากาศปริมาตรสูง ซึ่งติดหัวคัดแยกขนาด (Size Selective Inlet) ไว้ส่วนบน อากาศจะถูกดูดไหลผ่านเข้าสู่เครื่องโดยควบคุมอัตราการไหลของอากาศให้คงที่ ตัวอย่างอากาศจะถูกบังคับให้ไหลเข้าทาง inlet ซึ่งเป็นช่องเปิดที่ขอบด้านบนโดยรอบของหัวคัดแยกขนาดรูปโดม แล้วไหลเข้ารูเปิด acceleration jet ซึ่งเป็นช่องเปิดขนาดเล็กที่จะทำให้อากาศไหลผ่านเข้ารูเปิดด้วยความเร็วที่พอเหมาะทำให้ฝุ่นขนาดใหญ่กว่า 10 ไมครอน ที่มากับอากาศพุ่งเข้าชนและเกาะติดที่แผ่นดักฝุ่น collection shim เพื่อป้องกันไม่ให้ฝุ่นละอองที่ตกลงมาแล้วลอยฟุ้งขึ้นมาอีก จากนั้นฝุ่นละอองที่เหลือซึ่งมีขนาดต่ำกว่า 10 ไมครอน จะไหลผ่านเข้ารูเปิด vent tube ไหลเข้าไปเกาะติดที่กระดาษกรองที่ทราบน้ำหนักแน่นอนแล้ว โดยกระดาษที่ใช้เก็บตัวอย่างเป็นกระดาษ

กรองใยหิน (Quartz fiber filter) ขนาด 8x10 นิ้ว ทำการเก็บตัวอย่างต่อเนื่องเป็นเวลา 24 ชั่วโมง ชั่งน้ำหนักกระดาษกรองภายหลังจากผ่านการดูดอากาศดังกล่าว ผลต่างระหว่างน้ำหนักก่อนและหลังการเก็บตัวอย่างจะเป็นน้ำหนักของฝุ่นละอองต่อปริมาตรอากาศที่ถูกปั๊มดูดเข้าไป ดังแสดงในภาพที่ 3.4



ภาพที่ 3.4 เครื่องเก็บตัวอย่างอากาศ PM_{10} High Volume Air Sampler
ที่มา: กรมควบคุมมลพิษ (2546)

3.2 เครื่องมือ อุปกรณ์ และสารเคมี

3.2.1 เครื่องมือ อุปกรณ์

- Soxhlet extraction apparatus
- Spectrophotometer รุ่น Helios alpha (Thermo electron corporation, England)
- pH meter รุ่น C862 (Consort)
- Rotary vacuum evaporator รุ่น N-N Series (EYELA, Japan)
- Cooling bath รุ่น Cool Ace CA-1111 (EYELA, Japan)
- Hot plate stirrer รุ่น ARE (VELP SCIENTIFICA, Europe)
- Water bath รุ่น WNB 22 (MEMMERT, Germany)

- Hot air oven รุ่น UNB400 (MEMMERT, Germany)
- เครื่องชั่ง 4 ตำแหน่ง รุ่น AB204-S (Mettler-Toledo)
- Incubator รุ่น 1300C (Contherm)
- Incubator รุ่น BE700 (MEMMERT, Germany)
- Autoclave รุ่น SS-325 (Tomy, Japan)
- ตู้ดูดความชื้น รุ่น A.D. (F.G.E., Thailand)
- เครื่องดูดควัน (Laboratory fume hood) (Safety lab, Thailand)
- Larminar flow cabinets (Safety lab, Thailand)
- กล้องจุลทรรศน์ Microscope รุ่น E200 (Nikon, Japan)
- Vortex mixer รุ่น VSM-3 (Shelton sciencetific)
- High Performance Liquid Chromatography รุ่น Prostar (Varian, Inc., USA)
- คอลัมน์สำหรับวิเคราะห์ Alltima Reversed-Phase C18 (Alltech Associates, Australia)

3.2.2 **สารเคมี**

- Dichloromethane (Mallinckrodt Chemicals)
- Dimethylsulfoxide (Sigma-Aldrich)
- L-Histidine (Fluka)
- D-Biotin (Fluka)
- 2-aminoanthracene (2AA) (Fluka)
- Sodium azide (Carlo Erba)
- Sodium dihydrogen orthophosphate (Ajax Finechem)
- di-Sodium hydrogen orthophosphate (Ajax Finechem)
- pH buffer
- Sodium chloride (Carlo Erba)

- Sodium hydroxide (Mallinckrodt Chemicals)
- Magnesium sulphate, hydrated (Ajax Finechem)
- Citric acid (Ajax Finechem)
- di-Potassium hydrogen orthophosphate (Ajax Finechem)
- Ammonium dihydrogen orthophosphate (Ajax Finechem)
- D-Glucose, anhydrous (Ajax Finechem)
- Acetonitrile (Honeywell Burdick & Jackson)
- Acetone (Merck)

3.2.3 อาหารเลี้ยงเชื้อจุลินทรีย์

- Nutrient agar (Himedia)
- Nutrient broth (Himedia)
- Salmonella-Shigella agar (Difco)
- Agar Powder (Biomark)

3.2.4 จุลินทรีย์

จุลินทรีย์ที่ใช้ในการวิจัย คือ แบคทีเรีย *Salmonella typhimurium* 4 สายพันธุ์ ได้แก่

1) สายพันธุ์ TA98
2) สายพันธุ์ TA100
3) สายพันธุ์ DMST2069
4) สายพันธุ์ ATCC13311

3.2.5 **สารละลายมาตรฐาน**

1) สารละลายมาตรฐานของสารโพลีไซคลิกอะโรมาติกไฮโดรคาร์บอน 16 ชนิด (Restek Corporation) ประกอบด้วย

Naphthalene

Acenaphthylene

Acenaphthene

Fluorene

Phenanthrene

Anthracene

Fluoranthene

Pyrene

Benzo(a)anthracene

Chrysene

Benzo(b)fluoranthene

Benzo(k)fluoranthene

Benzo(a)pyrene

Indeno(1,2,3-cd)pyrene

Dibenzo(a,h)anthracene

Benzo(g,h,i)perylene

2) สารละลายมาตรฐาน ISTD ของสารโพลีไซคลิกอะโรมาติกไฮโดรคาร์บอน (Cambridge Isotope Laboratories, Inc) ประกอบด้วย

Fluorene-D_{10}

Perylene-D_{12}

3.3 การดำเนินการวิจัย

3.3.1 การสกัดสารโพลีไซคลิกอะโรมาติกไฮโดรคาร์บอนจากตัวอย่างฝุ่น PM_{10}

นำตัวอย่างแผ่นกรองอากาศมาทำการสกัดสารโพลีไซคลิกอะโรมาติกไฮโดรคาร์บอนด้วยชุดสกัด Soxhlet extraction apparatus ดังแสดงในภาพที่ 3.5 โดยมีขั้นตอนดังนี้

1) ทำการล้างชุดสกัด Soxhlet ด้วยน้ำยาล้างเครื่องแก้วและน้ำประปา หลังจากนั้นกลั้วด้วยน้ำกลั่น 3 ครั้ง

2) กลั้วเครื่องแก้วด้วย Acetone จากนั้นนำเครื่องแก้วเข้าตู้อบที่อุณหภูมิ 70°C ทิ้งไว้ 1 คืน

3) กลั้ว Dichloromethane ลงในเครื่องแก้วทั้งหมด 3 ครั้ง

4) ทำการตัดตัวอย่างแผ่นกรองอากาศเป็นชิ้นเล็กๆ ใส่ลงใน Extraction thimble

5) Spike Internal Standard ลงบนแผ่นกรองอากาศ ตัวอย่างละ 50 ไมโครลิตร

6) ทำการติดตั้ง Soxhlet และ Condenser ลงบน Hot plate stirrer

7) เท Dichloromethane ลงไปในขวดก้นกลม ปริมาตร 150 มิลลิลิตร

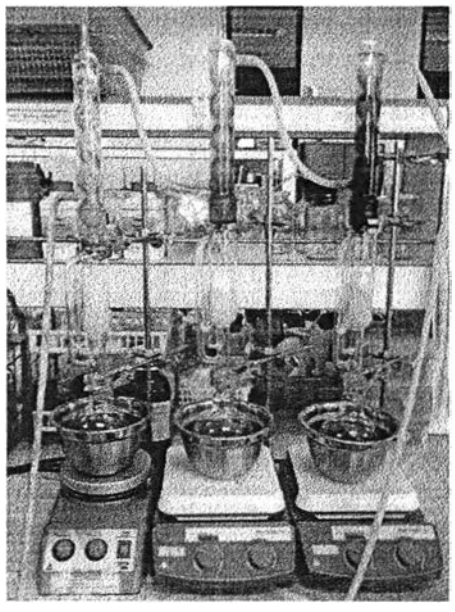
8) เปิดสวิตซ์ Hot plate stirrer และเครื่อง Cooling bath

9) ทำการสกัดต่อเนื่องเป็นเวลา 6 ชั่วโมง เมื่อครบตามกำหนดเวลา ปิดสวิตซ์ Hot plate stirrer รอจนกว่าเครื่องจะเย็น

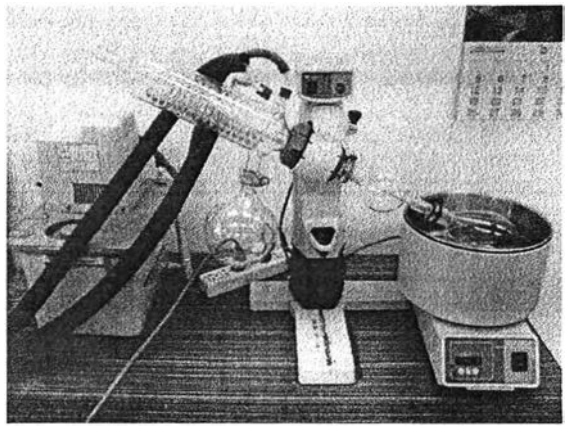
10) ใช้คีมคีบปากแบนคีบตัวอย่างแผ่นกรองอากาศออก แล้วนำ Dichloromethane ที่เหลืออยู่ในขวดไปทำการระเหยสารด้วยเครื่อง Rotary vacuum evaporator

11) ทำการระเหยสารไปจนกว่าปริมาตรของสารตัวทำละลาย Dichloromethane เหลืออยู่ประมาณ 5 มิลลิลิตร

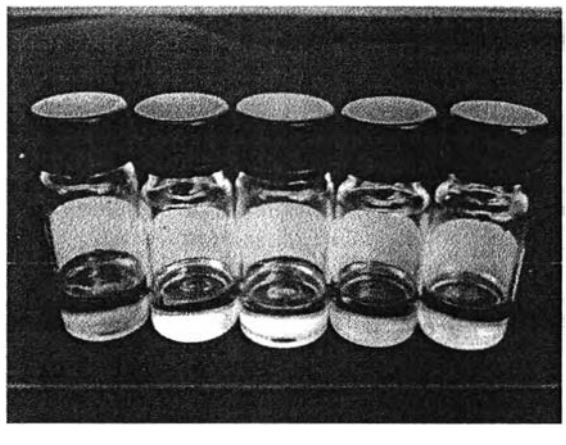
12) ใช้ปิเปตดูดสารใส่ลงในขวด vial โดยแบ่งออกเป็น 2 ขวดขวดละ 2.5 มิลลิลิตร ปิดฝาขวด แล้วนำไปเก็บในตู้เย็นที่มีอุณหภูมิ 4 องศาเซลเซียส เพื่อนำไปวิเคราะห์สารโพลีไซคลิกอะโรมาติกไฮโดรคาร์บอนในสารสกัดตัวอย่างและทดสอบเอมส์



ชุดสกัด Soxhlet extraction apparatus ใช้ในการสกัดสารโพลีไซคลิกอะโรมาติกไฮโดรคาร์บอนจากตัวอย่างแผ่นกรองอากาศ โดยใช้ Dichloromethane เป็นตัวทำละลาย



นำสารสกัดที่ได้ มาทำการระเหยเพื่อลดปริมาตรด้วยเครื่อง Rotary vacuum evaporator



ใช้ปิเปตทำการดูดสารสกัดที่ผ่านการระเหยใส่ในขวด vial เพื่อทำการวิเคราะห์ต่อไป

ภาพที่ 3.5 ขั้นตอนการสกัดสารโพลีไซคลิกอะโรมาติกไฮโดรคาร์บอนจากตัวอย่างแผ่นกรองอากาศ

3.3.2 การทดสอบความสามารถในการก่อการกลายพันธุ์ของสารโพลีไซคลิกอะโรมาติกไฮโดรคาร์บอนจากสารสกัดตัวอย่างฝุ่นละออง PM_{10} โดยวิธี Ames test

3.3.2.1 การตรวจลอบคุณสมบัติของเชื้อ *Salmonella typhimurium*

1) การตรวจสอบเชื้อเบื้องต้น

ทำการทดลอบเชื้อขั้นต้นโดยวิธีการขีดเชื้อบนอาหารเลี้ยงเชื้อ (streak plate) นำเข็มเขี่ยเชื้อปลายกลม (loop) ที่ปลอดเชื้อจุ่มลงใน overnight culture ของแบคทีเรีย แล้วนำมาขีดเชื้อลงบนจานอาหารเลี้ยงเชื้อ Salmonella-Shigella agar จากนั้นนำจานอาหารเลี้ยงเชื้อที่ทำการลงเชื้อไปบ่มในตู้บ่มเชื้อที่อุณหภูมิ 37 องศาเซลเซียสเป็นเวลา 24-48 ชั่วโมง

2) การตรวจสอบ histidine requirement

ทำการทดสอบโดยวิธีการเขี่ยเชื้อที่เป็น single colony แล้วนำมาขีดบนอาหารเลี้ยงเชื้อ Histidine+ plate และ Minimal glucose agar plate จากนั้นนำจานอาหารเลี้ยงเชื้อที่ทำการลงเชื้อไปบ่มในตู้บ่มเชื้อที่อุณหภูมิ 37 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 24-48 ชั่วโมงเปรียบเทียบการเจริญเติบโตของเชื้อระหว่างใน Histidine+ plate และ Minimal glucose agar plate

3) การตรวจสอบ rfa mutation

ทำการทดสอบโดยการเติมเชื้อ overnight culture ของแบคทีเรีย 0.1 มิลลิลิตร ลงในหลอดที่ปราศจากเชื้อ และเติมสารละลาย Top agar 2 มิลลิลิตร จากนั้นเทลงบน Minimal glucose agar plate หมุนให้สารละลายกระจายสม่ำเสมอ ทิ้งไว้ที่อุณหภูมิห้อง 30 นาที ใช้คีมคีบกระดาษกรองที่ตัดขนาดเส้นผ่านศูนย์กลาง 6-8 มิลลิเมตร วางลงบนอาหาร Minimal glucose agar plate ทำการหยดสารละลาย crystal violet 10 ไมโครลิตร ลงบนกระดาษกรอง จากนั้นนำจานอาหารเลี้ยงเชื้อไปบ่มในตู้บ่มเชื้อที่อุณหภูมิ 37 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 24-48 ชั่วโมง

4) การตรวจสอบ R-factor

ทำการทดสอบโดยการเติมเชื้อ overnight culture ของแบคทีเรีย 0.1 มิลลิลิตร ลงในหลอดที่ปราศจากเชื้อ และเติมสารละลาย Top agar 2 มิลลิลิตร จากนั้นเทลงบน Minimal glucose agar plate หมุนให้สารละลายกระจายสม่ำเสมอ ทิ้งไว้ที่อุณหภูมิห้อง 30 นาที ใช้คีมคีบกระดาษกรองที่ตัดขนาดเส้นผ่านศูนย์กลาง 6-8 มิลลิเมตร วางลงบนอาหาร Minimal glucose agar plate ทำการหยดสารละลาย ampicillin 10 ไมโครลิตร ลงบนกระดาษกรอง จากนั้นนำจานอาหารเลี้ยงเชื้อไปบ่มในตู้บ่มเชื้อที่อุณหภูมิ 37 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 24-48 ชั่วโมง

3.3.2.2 การทดสอบความสามารถในการก่อการกลายพันธุ์

นำสารที่ได้จากการสกัดตัวอย่างแผ่นกรองอากาศมาทำให้แห้งลนิท จากนั้นทำการชั่งน้ำหนักสารสกัดแห้ง แล้วนำมาละลายกลับด้วย DMSO ทำการเก็บสารละลายไว้ที่อุณหภูมิ -20 องศาเซลเซียส ก่อนนำไปทำการทดสอบความสามารถในการก่อการกลายพันธุ์

การทดสอบความสามารถในการก่อการกลายพันธุ์โดยวิธี Ames test เป็นวิธีที่ใช้คัดกรองหาฤทธิ์ก่อการกลายพันธุ์ของสารเคมี โดยใช้แบคทีเรีย *Salmonella typhimurium* สายพันธุ์ TA98, TA100, DMST2069 และ ATCC13311 เป็นตัวทดสอบ

นำสารที่ได้จากการสกัดตัวอย่างแผ่นกรองอากาศ 50 ไมโครลิตร ใส่ในหลอดทดลอง ใส่ 0.2 M sodium phosphate buffer ปริมาตร 0.5 มิลลิลิตร เติมเชื้อ overnight culture ของแบคทีเรีย 0.1 มิลลิลิตร และเติมสารละลาย Top agar 2 มิลลิลิตร จากนั้นเทลงบน Minimal glucose agar plate หมุนให้สารละลายกระจายสม่ำเสมอ ทิ้งไว้ที่อุณหภูมิห้อง 30 นาที จากนั้นนำจานอาหารเลี้ยงเชื้อไปบ่มในตู้บ่มเชื้อที่อุณหภูมิ 37 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 24-48 ชั่วโมง แล้วนำมานับจำนวนโคโลนี

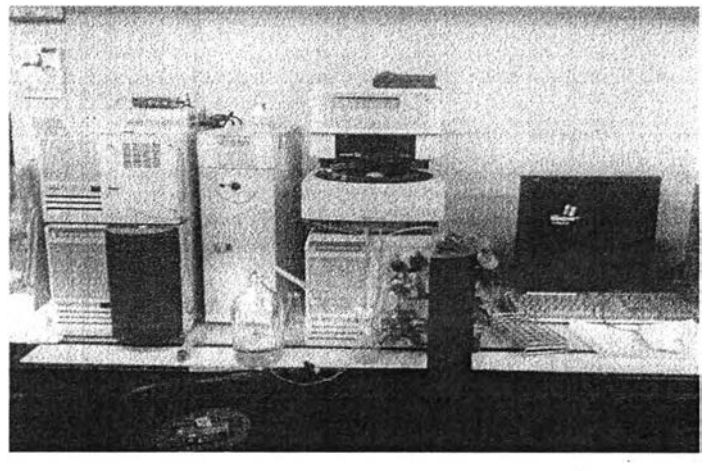
การทดสอบควบคุมบวก (positive control) ใช้สารก่อการกลายพันธุ์มาตรฐาน Sodium azide ที่ความเข้มข้น 0.1 ไมโครกรัมต่อจานอาหารเลี้ยงเชื้อ และใช้ DMSO ปริมาตร 50 ไมโครลิตร เป็นสารควบคุมผลลบ (negative control)

การตัดสินฤทธิ์ก่อการกลายพันธุ์ของสารโพลีไซคลิกอะโรมาติกไฮโดรคาร์บอนจากสารสกัดตัวอย่างแผ่นกรองอากาศ ตัดสินจากการที่จำนวน revertant colonies ที่เกิดจากการเหนี่ยวนำของสารสกัดมากกว่าสารควบคุมลบ (DMSO) 2 เท่าขึ้นไป สารสกัดแต่ละตัวอย่างจะถูกทดสอบฤทธิ์การกลายพันธุ์กับแบคทีเรียทั้ง 4 สายพันธุ์ ตัวอย่างละ 6 ซ้ำ ผลการทดสอบจะเป็นค่าเฉลี่ยจากจานเลี้ยงเชื้อ 6 จาน นำผลไปคำนวณหาค่าดัชนีการกลายพันธุ์ (MI) ของสารแต่ละตัวอย่าง (Santos และคณะ, 2008)

$$\text{ดัชนีการก่อการกลายพันธุ์ (MI)} = \frac{\text{จำนวนโคโลนีกลายพันธุ์ของแบคทีเรียต่อจานเลี้ยงเชื้อ}}{\text{จำนวนโคโลนีกลายพันธุ์ต่อจานเลี้ยงเชื้อที่เกิดตามธรรมชาติ}}$$

3.3.3 การวิเคราะห์สารโพลีไซคลิกอะโรมาติกไฮโดรคาร์บอนจากสารสกัดตัวอย่างฝุ่นละออง PM_{10}

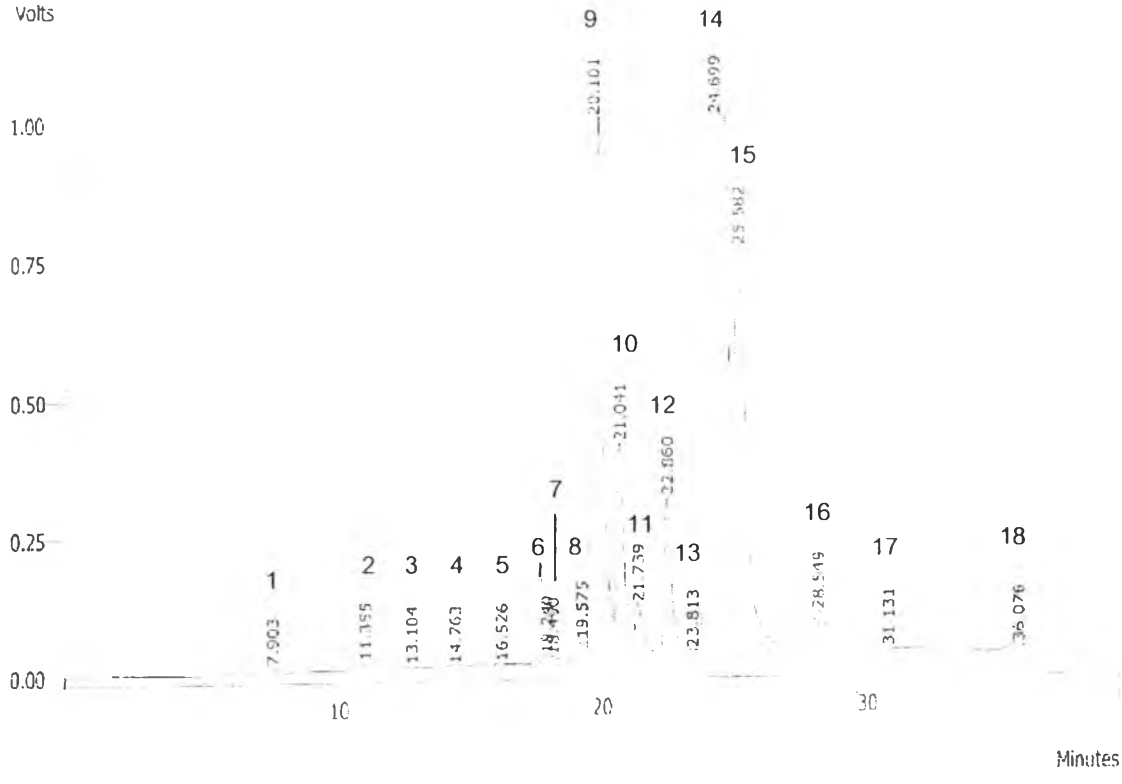
นำสารที่ได้จากการสกัดตัวอย่างแผ่นกรองอากาศมาวิเคราะห์สารโพลีไซคลิกอะโรมาติกไฮโดรคาร์บอนโดยใช้เทคนิคโครมาโตกราฟีชนิดของเหลวสมรรถนะสูง (High Performance Liquid Chromatography, HPLC) ดังแสดงในภาพที่ 3.6 ทำการวิเคราะห์สารโพลีไซคลิกอะโรมาติกไฮโดรคาร์บอน 16 ชนิด ได้แก่ Naphthalene, Acenaphthylene, Acenaphthene, Fluorene, Phenanthrene, Anthracene, Fluoranthene, Pyrene, Benzo(a)anthracene, Chrysene, Benzo(b)fluoranthene, Benzo(k)fluoranthene, Benzo(a)pyrene, Indeno(1,2,3-cd)pyrene, Dibenzo(a,h)anthracene และ Benzo(g,h,i)perylene และ Internal Standard 2 ชนิด ได้แก่ Fluorene-D_{10} และ Perylene-D_{12} โดยมีสภาวะการทำงานของเครื่องดังตารางที่ 3.2 และโครมาโตแกรมของสารละลายมาตรฐาน PAHs 16 ชนิด รวมถึงสาร Internal Standard 2 ชนิด ดังแสดงในภาพที่ 3.7 การคำนวณความเข้มข้นสาร PAHs ทำการคำนวณโดยเทียบกับสารมาตรฐาน 16 ชนิด



ภาพที่ 3.6 เครื่องโครมาโตกราฟีชนิดของเหลวสมรรถนะสูง (HPLC)

ตารางที่ 3.2 สภาวะการทำงานของเครื่อง HPLC ในการวิเคราะห์สาร PAHs

Column type	Reversed-Phase C18 (length 250 mm, diameter 4.6 mm, 5 µm)
Mobile phase	Acetonitrile : Water (40:60 v/v)
Detector	Fluorescence detector (Ex 260nm / Em 460 nm)
Flow rate	1.0 ml/min
Temperature	25 °C
Injection volume	5 µL



1. Naphthalene	7. Fluoranthene	13. Benzo(k)fluoranthene
2. Acenaphthylene	8. Fluorene-D_{10}	14. Perylene-D_{12}
3. Acenaphthene	9. Pyrene	15. Benzo(a)pyrene
4. Fluorene	10. Benzo(a)anthracene	16. Indeno(1,2,3-cd)pyrene
5. Phenanthrene	11. Chrysene	17. Dibenzo(a,h)anthracene
6. Anthracene	12. Benzo(b)fluoranthene	18. Benzo(g,h,i)perylene

ภาพที่ 3.7 โครมาโตแกรมของสารละลายมาตรฐาน PAHs 16 ชนิด และสาร Internal Standard 2 ชนิด

ตารางที่ 3.3 Retention time ของสารละลายมาตรฐาน PAHs 16 ชนิด และ Internal Standard PAHs 2 ชนิด

Compound	Retention time (min)
Naphthalene	7.903
Acenaphthylene	11.355
Acenaphthene	13.104
Fluorene	14.763
Phenanthrene	16.526
Anthracene	18.240
Fluoranthene	18.490
Pyrene	20.101
Benz(a)anthracene	21.041
Chrysene	21.739
Benzo(b)fluoranthene	22.860
Benzo(k)fluoranthene	23.813
Benzo(a)pyrene	25.582
Indeno(1,2,3cd)pyrene	28.549
Dibenz(a,h)anthracene	31.131
Benzo(g,h,i)perylene	36.076
Fluorene-D10	19.575
Perylene-D12	24.699

3.3.4 การคำนวณความเข้มข้นสารโพลีไซคลิกอะโรมาติกไฮโดรคาร์บอน

$$C = \frac{A_{Sample}}{A_{Standard}} \times C_{Standard} \times Vol. \times 2 \times \frac{1}{V}$$

เมื่อ C : ความเข้มข้นของ PAHs ในตัวอย่าง (ng/m^3)

A_{Sample} : พื้นที่ใต้กราฟของตัวอย่าง

$A_{Standard}$: พื้นที่ใต้กราฟของ STD-PAHs

$C_{Standard}$: ความเข้มข้นของ STD-PAHs (ng/ml)

Vol. : ปริมาตรสุดท้ายก่อนฉีดตัวอย่าง (ml)

V : ปริมาตรอากาศที่ทำการเก็บ (m^3)

3.3.5 การวิเคราะห์ข้อมูล

3.3.4.1 วิเคราะห์ปริมาณของฝุ่น PM_{10} ในแต่ละสถานี และเปรียบเทียบค่าเฉลี่ยความเข้มข้นฝุ่น PM_{10} ของสถานีตรวจวัดคุณภาพอากาศริมถนนและสถานีตรวจวัดคุณภาพอากาศเขตชุมชน โดยใช้สถิติ Independent samples T-test จากโปรแกรม SPSS 16.0

3.3.4.2 วิเคราะห์ปริมาณสารโพลีไซคลิกอะโรมาติกไฮโดรคาร์บอนทั้งหมดในแต่ละสถานี และเปรียบเทียบค่าเฉลี่ยความเข้มข้นสารโพลีไซคลิกอะโรมาติกไฮโดรคาร์บอนของสถานีตรวจวัดคุณภาพอากาศริมถนนและสถานีตรวจวัดคุณภาพอากาศเขตชุมชน โดยใช้สถิติ Independent samples T-test จากโปรแกรม SPSS 16.0

3.3.4.3 การทดสอบการก่อการกลายพันธุ์โดยวิธี Ames test ทำการวิเคราะห์ข้อมูลโดยการเปรียบเทียบค่าดัชนีการก่อการกลายพันธุ์ (MI)

3.3.4.4 วิเคราะห์สารโพลีไซคลิกอะโรมาติกไฮโดรคาร์บอนที่จัดเป็นสารก่อการกลายพันธุ์ โดยหาค่าสัมประสิทธิ์สหสัมพันธ์กับดัชนีการก่อการกลายพันธุ์ (MI) ที่ได้จากการทดสอบ Ames test

3.3.4.5 วิเคราะห์ผลของการเปลี่ยนแปลงปริมาณการใช้น้ำมันเชื้อเพลิงในช่วงปี พ.ศ.2549-2552 ต่อปริมาณฝุ่นละออง ปริมาณสารโพลีไซคลิกอะโรมาติกไฮโดรคาร์บอน และความสามารถในการก่อให้เกิดการกลายพันธุ์ของสารโพลีไซคลิกอะโรมาติกไฮโดรคาร์บอน