

### บทที่ 3

#### วิธีดำเนินการ

#### 3.1 เครื่องมือและอุปกรณ์

- (1) เครื่องเก็บอากาศแบบพกพา (MiniVol air sampler, AIRmetric, USA)
- (2) แผ่นกรองเก็บอากาศ ขนาดเส้นผ่าศูนย์กลาง 47 มิลลิเมตร (Fiberfilm filters, 47 mm T60A20, Pallflex, Pall Life Sciences, USA)
- (3) เครื่องชั่งแบบละเอียด ทศนิยม 6 ตำแหน่ง (Microbalance weight, Sartorius, M5P, Germany)
- (4) เครื่องล้างความถี่สูง (Ultrasonic cleaners, Crest Tru-Sweep 1875D, Crest Ultrasonics, USA)
- (5) เครื่องนึ่งความดันไอน้ำ (Autoclave SS-245, Tomy Seiko Co., Ltd., Japan)
- (6) ตู้เพาะเชื้อ (Incubator B5060, Heraeus, Germany)
- (7) เครื่องระเหยสาร (Rotary evaporator, Buchi Labortechnik AG, Switzerland)
- (8) อ่างน้ำควบคุมอุณหภูมิแบบเขย่า (Shaking water bath, Grant)
- (9) กล้องจุลทรรศน์แบบสเตอริโอ (Stereo Microscope, Olympus, Japan)
- (10) เครื่องดูดจ่ายสารละลายอัตโนมัติ ขนาด 10 มิลลิลิตร (Bottle top Dispenser, Walu, type simplex, Germany)
- (11) เครื่องดูดจ่ายสารละลายอัตโนมัติ ขนาด 2 มิลลิลิตร (Dispenser Dispet TM, Nichiyō Co., Ltd., Japan)
- (12) จานแก้วเลี้ยงเชื้อ (Petri dish) ขนาดเส้นผ่าศูนย์กลาง 13 มิลลิเมตร
- (13) Syringe Filter, 0.45  $\mu$ , MINISART, Taiwan

### 3.2 สารเคมี

- (1) Dichloromethane (AR grade), VWR International Ltd., England
- (2) D-Biotin, Sigma Co., USA
- (3) L-Histidine Monohydrochloride, Sigma Co., USA
- (4) Anhydrous sodium sulfate;  $\text{Na}_2\text{SO}_4$  (GR grade), Merck, Germany
- (5) Bacto agar, Difco laboratories, USA
- (6) Dimethylsulfoxide; DMSO (GC purity grade), VWR International Ltd., England
- (7) D-Glucose-6-phosphate sodium salt (Purity grade), Sigma Co., USA
- (8) Magnesium sulfate;  $\text{MgSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$  (AR grade), APS Chemicals Ltd., Australia
- (9) Citric acid monohydrate;  $\text{C}_6\text{H}_8\text{O}_7 \cdot \text{H}_2\text{O}$  (AR grade), Fisher Scientific, England
- (10) di-Potassium hydrogen phosphate anhydrous;  $\text{K}_2\text{HPO}_4$  (AR grade), Merck, Germany
- (11) Sodium hydroxide; NaOH (GR grade), Merck, Germany
- (12) di-Sodium hydrogen orthophosphate anhydrous;  $\text{Na}_2\text{HPO}_4$  (AR grade), APS Chemicals Ltd., Australia
- (13) Potassium chloride; KCl (GR grade), Merck, Germany
- (14) Magnesium chloride;  $\text{MgCl}_2$  (Ph. Eur, USP, BP grade), Merck, Germany
- (15)  $\beta$ -naphthoflavone, Aldrich Chemical Company Inc., USA
- (16)  $\beta$ -Nicotinamide adenine dinucleotide reduced form (b-NADH), Oriental yeast Co., Ltd., Japan
- (17)  $\beta$ -Nicotinamide adenine dinucleotide phosphate, reduce form ( $\beta$ -NADPH), Oriental yeast Co., Ltd., Japan
- (18) Oxoid nutrient broth No. 2, Oxide Ltd., England
- (19) Phenobarbital sodium, Wako Pure Chemical Industries, Ltd., Japan
- (20) Sodium chloride; NaCl (GR grade), Merck, Germany
- (21) D(+)-Glucose anhydrous (AnalaR NORMAPUR), VWR International Ltd., England
- (22) 2-Aminoanthracene (2-AA), Aldrich Chemical Company Inc., USA
- (23) 2-(2-Furyl-3-(5-nitro-2-furyl) acrylamide (AF-2), Ueno Fine Chemical Industries, Japan

### 3.3 น้ำมันเชื้อเพลิง

น้ำมันเชื้อเพลิงที่ใช้ในการทดสอบมี 3 ชนิด ได้แก่

**3.3.1 ไบโอดีเซลชุมชน (Community biodiesel; CB100)** เป็นน้ำมันไบโอดีเซล 100 เปอร์เซ็นต์ ได้รับความอนุเคราะห์จากเทศบาลตำบลอุโมงค์ อำเภอเมือง จังหวัดลำพูน ผลิตมาจากน้ำมันปาล์มที่ผ่านการใช้งานแล้วจากการทอดมันฝรั่งของโรงงานผลิตมันฝรั่งทอดกรอบเลย โดยนำน้ำมันไปผ่านกระบวนการทางเคมีที่เรียกว่า ทรานเอสเทอริฟิเคชัน น้ำมันไบโอดีเซลที่ผลิตได้ของชุมชนนี้ถูกนำไปใช้ในกิจการของเทศบาลฯ เท่านั้น เช่น ใช้กับรถยนต์ รถไถนา รถอีแต่น รถขนขยะ และเครื่องสูบน้ำ

**3.3.2 ไบโอดีเซล (Biodiesel; B3) หรือไบโอดีเซลเชิงพาณิชย์ (Commercial biodiesel)** เป็นน้ำมันไบโอดีเซลที่มีส่วนผสมของน้ำมันดีเซลปิโตรเลียมร้อยละ 97 และน้ำมันไบโอดีเซลร้อยละ 3 ซึ่งจากสถานีบริการน้ำมันของบริษัท ปตท. จำกัด (มหาชน) ในจังหวัดเชียงใหม่

**3.3.3 ดีเซลปิโตรเลียม (Petroleum diesel; B0) Conventional diesel** เป็นน้ำมันดีเซลปิโตรเลียมบริสุทธิ์ 100 เปอร์เซ็นต์ ได้รับความอนุเคราะห์จากคลังน้ำมัน ปตท. พระโขนง บริษัท ปตท. จำกัด (มหาชน) จังหวัดกรุงเทพมหานคร

### 3.4 การทดสอบสมบัติทางกายภาพและทางเคมีของน้ำมันเชื้อเพลิง

สมบัติทางกายภาพของน้ำมันเชื้อเพลิงที่ศึกษา ได้แก่ ความหนืด (kinematic viscosity) ความหนาแน่น (density) จุดขุ่นตัว (cloud point) และจุดไหลเท (pour point) สมบัติทางเคมีของน้ำมันเชื้อเพลิงที่ศึกษา ได้แก่ จุดวาบไฟ (flash point) และค่าความร้อน (heating value) ในการศึกษาทั้งหมดนี้ได้ทำการวิเคราะห์ตามวิธีมาตรฐานของ ASTM ดังตาราง 3.1

ตาราง 3.1 วิธีมาตรฐานที่ใช้ในการศึกษาสมบัติทางกายภาพและทางเคมีของน้ำมันเชื้อเพลิง

สมบัติ	วิธีทดสอบ
ความหนืด ที่ 40 °C (cSt)	ASTM D445
ความหนาแน่น ที่ 15 °C (kg/m <sup>3</sup> )	ASTM D 1298
จุดขุ่นตัว (°C)	ASTM D2500
จุดไหลเท (°C)	ASTM D5950
จุดวาบไฟ (°C)	ASTM D93
ค่าความร้อน (MJ/kg)	ASTM D240

### 3.5 เครื่องยนต์ดีเซลการเกษตร

เครื่องยนต์ดีเซลการเกษตรที่ใช้ทดสอบยี่ห้อยันมาร์ รุ่น TF 75-LM (Yanmar TF 75-LM, Yanmar S.P. Co., Ltd., Thailand) ดังภาพ 3.1 ส่วนรายละเอียดของเครื่องยนต์แสดงในตาราง 3.2



ภาพ 3.1 เครื่องยนต์ดีเซลการเกษตรที่ใช้ในการทดสอบ

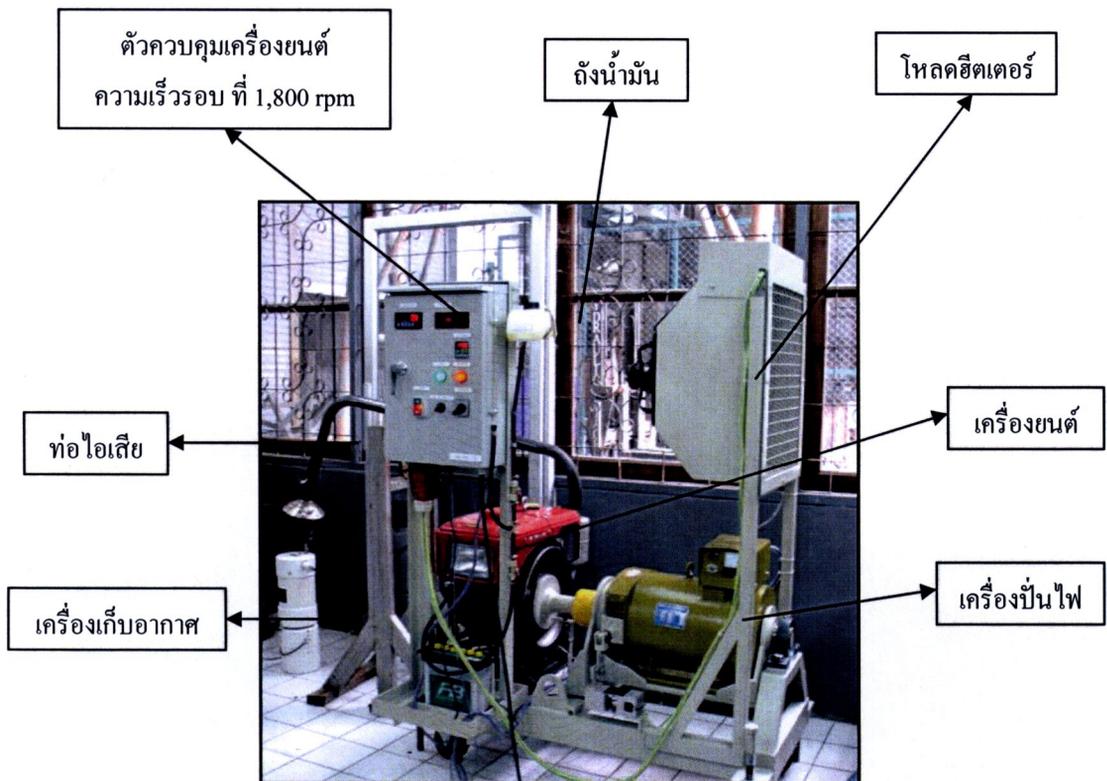


ตาราง 3.2 รายละเอียดของเครื่องยนต์ดีเซลการเกษตร

รายการ	รายละเอียด
รุ่นเครื่อง	Yanmar TF75-LM (รุ่นหม้อน้ำรังผึ้ง)
ชนิดเครื่องยนต์	ดีเซล 4 จังหวะ 1 สูบนอน ระบายความร้อนด้วยน้ำ
ชนิดหัวฉีด	Indirect injection (IDI)
ระบบเผาไหม้	มีห้องเผาไหม้ช่วย (Swirl Chamber)
ความกว้างกระบอกสูบ×ช่วงชัก	80×87 มิลลิเมตร
ปริมาตรความจุกระบอกสูบ	437 ซีซี
อัตราส่วนแรงอัด	23.0 : 1
กำลังแรงม้าสูงสุด	7.5 แรงม้า ที่ 2,200 รอบ/นาที (5.52 กิโลวัตต์ ที่ 2,200 รอบ/นาที)
กำลังแรงม้าต่อเนื่อง	6.5 แรงม้า ที่ 2,200 รอบ/นาที (4.78 กิโลวัตต์ ที่ 2,200 รอบ/นาที)
แรงบิดสูงสุด	2.7 กิโลกรัมเมตร ที่ 1,600 รอบ/นาที
อัตราสิ้นเปลืองน้ำมันเชื้อเพลิง	196 กรัม/แรงม้า-ชั่วโมง
ระบบระบายความร้อน	หม้อน้ำรังผึ้ง
การติดเครื่อง	ใช้เฟืองทดมือหมุนและไดร์สตาร์ท
ขนาดของเครื่องยนต์ (ก×ข×ส)	335.5×674.5×524 มิลลิเมตร
น้ำหนักสุทธิของเครื่องยนต์	92 กิโลกรัม

### 3.6 การเดินระบบเครื่องยนต์

ในการเดินเครื่องยนต์เพื่อทดสอบสมรรถนะของเครื่องยนต์และการเก็บอนุภาคไอเสีย ได้ทำการทดลองในห้องปฏิบัติการภาควิชาวิศวกรรมเครื่องกล คณะวิศวกรรมศาสตร์ มหาวิทยาลัยเทคโนโลยีราชมงคลธัญบุรี จังหวัดเชียงใหม่ โดยทำการวางระบบและตำแหน่งของเครื่องยนต์ ท่อไอเสีย เครื่องเก็บอนุภาคไอเสียไว้ในตำแหน่งเดิมตลอดการทดสอบ นอกจากนี้ได้ทำการต่อเครื่องยนต์เข้ากับระบบควบคุม ทำให้สามารถควบคุมความเร็วรอบของเครื่องยนต์ได้คงที่ โดยกำหนดให้เครื่องยนต์มีความเร็วรอบที่ 1,800 รอบต่อนาทีซึ่งเป็นความเร็วรอบเครื่องสูงสุด ภาระของเครื่องยนต์ 5-6 กิโลกรัม (ภาพ 3.2) ดังนั้นในการศึกษาสมรรถนะของเครื่องยนต์ได้ทำการทดสอบอัตราการสิ้นเปลืองน้ำมันเชื้อเพลิงจำเพาะเบรค และประสิทธิภาพเชิงความร้อน โดยได้อธิบายและรายงานผลการทดสอบไว้ในบทที่ 4



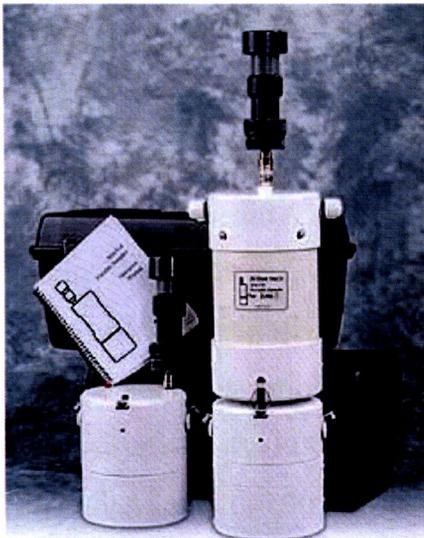
ภาพ 3.2 ระบบการเดินเครื่องยนต์และส่วนประกอบของชุดทดสอบสมรรถนะเครื่องยนต์ ณ ห้องปฏิบัติการภาควิชาเครื่องกล คณะวิทยาศาสตร์ มหาวิทยาลัยเทคโนโลยีราชมงคลธัญบุรี

### 3.7 การเก็บตัวอย่างอนุภาคไอเสียจากเครื่องยนต์ดีเซลการเกษตร

#### 3.7.1 เครื่องมือเก็บตัวอย่างอนุภาคไอเสีย

ใช้เครื่องมือเก็บอากาศ MiniVol (ภาพ 3.3) ในการเก็บตัวอย่างอนุภาคไอเสียจากเครื่องยนต์การเกษตรซึ่งเครื่องมือจะมีหลักการทำงานโดยการดูดอากาศเข้าทางด้านบนของเครื่องโดยอาศัยปั๊มดูดอากาศภายในมีนาฬิกาตั้งเวลาและเครื่องควบคุมอัตราการไหลเข้าของอากาศด้านบนมีตัวยึดแผ่นกรองอากาศ (filter holder) ขนาดเส้นผ่าศูนย์กลาง 47 มิลลิเมตรสามารถใส่แผ่นกรองเฉพาะที่จะใช้สำหรับจับอนุภาคไอเสียขนาดเล็กเฉพาะ  $PM_{2.5}$  หรือ  $PM_{10}$  อย่างไม่อย่างหนึ่ง โดยปั๊มจะถูกตั้งเวลาให้ทำงานโดยนาฬิกาจับเวลาและทำงานโดยอาศัยแบตเตอรี่ซึ่งเป็นฐานของเครื่องในตัวอากาศจะถูกดูดเข้าเครื่องด้วยอัตราการไหลคงที่ 5 ลิตรต่อนาทีณ สภาวะบรรยากาศ ซึ่งอากาศที่ไหลผ่านจะมีไอเสียขนาดต่างๆ ถูกคัดแยกออกและลงสู่แผ่นกรอง การคัดแยกขนาดของฝุ่นนั้นจะกระทำโดยวิธี Impaction หรือการกระแทก โดยชุด Impactors ซึ่งเป็นชุดคัดแยกฝุ่นสำหรับขนาด  $PM_{10}$  และ  $PM_{2.5}$  อนุภาคไอเสียขนาดใหญ่กว่า 2.5 หรือ 10 ไมโครเมตรจะถูกดักจับไว้ที่ตัวยึดเฉพาะอนุภาคขนาดเล็ก  $PM_{2.5}$  หรือ  $PM_{10}$  เท่านั้นที่จะผ่านเข้าไปถึงแผ่นกรองได้

เครื่องนี้จะต้องทำการสอบเทียบมาตรฐาน (calibration) เครื่องมือก่อนที่จะนำไปใช้ในการเก็บตัวอย่างอากาศเพื่อให้แน่ใจว่าอัตราการไหลของอากาศคงที่ที่ 5 ลิตรต่อนาที โดยใช้เครื่อง MiniFlo transfer standard (ภาพ 3.4)



ภาพ 3.3 เครื่องมือเก็บตัวอย่างอากาศแบบพกพา



ภาพ 3.4 เครื่องสอบเทียบมาตรฐาน  
(MiniFlo transfer standard)

### 3.7.2 วิธีการเก็บตัวอย่างอนุภาคไอเสีย

เก็บอนุภาคไอเสีย  $PM_{10}$  และ  $PM_{2.5}$  ที่ทดสอบด้วยน้ำมันต่างชนิดกัน ได้แก่ CB100, B3 และ B0 โดยใช้เครื่องเก็บอากาศแบบพกพา MiniVol โดยอากาศจะถูกดูดเข้าเครื่องด้วยอัตราการไหลคงที่ 5 ลิตรต่อนาที เป็นเวลา 10 ชั่วโมงต่อตัวอย่างทดสอบ แผ่นกรองที่ใช้เก็บอากาศมีขนาดเส้นผ่านศูนย์กลาง 47 มิลลิเมตร (Fiber-film filters, T60A20, Pallflex) ถูกเก็บไว้ในเครื่องควบคุมความชื้น (desiccators) ที่อุณหภูมิห้อง (ประมาณ  $25^{\circ}C$ ) ก่อนและหลังการเก็บตัวอย่างเป็นเวลา 24 ชั่วโมง แล้วจึงนำไปชั่งด้วยเครื่องชั่งแบบละเอียด ทศนิยม 6 ตำแหน่ง (Sartorius, MSP, Germany) ของศูนย์เครื่องมือคณะแพทยศาสตร์ มหาวิทยาลัยเชียงใหม่ หลังจากชั่งน้ำหนักแผ่นกรองที่ใช้เก็บตัวอย่างแล้วควรเก็บรักษาตัวอย่างไว้ในที่มืดและอุณหภูมิ  $-20^{\circ}C$  จนกระทั่งนำไปสกัด

น้ำหนักที่เปลี่ยนไปของกระดาษกรอง (ก่อนเก็บและหลังเก็บ) จะนำมาเข้าสู่รคำนวณ เพื่อคำนวณหาปริมาณอนุภาคไอเสียต่อปริมาตรอากาศ ในหน่วยมิลลิกรัมต่อลูกบาศก์เมตร ( $mg/m^3$ ) [31] ดังสมการ

$$[PM]_{act} = \frac{M_{PM}}{V_{act}}$$

$$[PM]_{act} = \text{ปริมาณอนุภาคไอเสีย (mg/m}^3\text{)}$$

$$M_{PM} = \text{น้ำหนักของอนุภาคไอเสีย (mg)}$$

$$V_{act} = \text{ปริมาตรอากาศ (m}^3\text{)}$$

### 3.8 วิธีการสกัดอนุภาคไอเสีย

ตัดแผ่นกรองที่ใช้เก็บไอเสียเป็นชิ้นเล็กๆ ขนาดประมาณ  $0.5 \times 0.5$  เซนติเมตร ใส่ลงในขวดแก้วสีชา ทำการสกัดด้วยสารตัวทำละลายไดคลอโรมีเทน และสั่นสะเทือนด้วยเครื่องล้างความถี่สูง (ultrasonic cleaners) ที่อุณหภูมิห้อง ทำการสกัดทั้งหมด 3 ครั้ง; ครั้งที่หนึ่งใช้ 100 มิลลิลิตร นาน 30 นาที ครั้งที่สองและสามใช้ 50 มิลลิลิตร นาน 30 นาที ผสมสารสกัดทั้งหมดและเติมสารดูดความชื้น โซเดียมซัลเฟต ( $Na_2SO_4$ ) แล้วกรองสารละลายทั้งหมดด้วยกระดาษกรอง Whatman เบอร์ 41 นำสารละลายทั้งหมดไประเหยด้วยเครื่องระเหยสาร (rotary evaporator) ภายใต้อุณหภูมิ  $40^{\circ}C$  จนกระทั่งแห้งสนิท หลังจากนั้นชั่งน้ำหนักสารสกัดแห้งที่ได้แล้วนำสารสกัดมาละลายกลับด้วย

DMSO โดยใช้ความเข้มข้นของสารสกัดสูงสุดเท่ากับ 2 มิลลิกรัม/มิลลิลิตร ของ DMSO เก็บสารละลายนี้ไว้ที่อุณหภูมิ 4°C ก่อนนำไปทดสอบฤทธิ์ก่อกลายพันธุ์โดยการทดสอบเอมส์ [32]

### 3.9 วิธีการทดสอบฤทธิ์ก่อกลายพันธุ์ของสารสกัดอนุภาคไอเสีย

ทดสอบฤทธิ์ก่อกลายพันธุ์โดยใช้วิธีเอมส์ [33] โดยใช้เชื้อแบคทีเรียชนิด *Salmonella typhimurium* สายพันธุ์ TA100 ในการศึกษาที่ใช้เทคนิค preincubation ซึ่งทำการทดสอบตามขั้นตอนของ Vinitketkumnuen *et al.* [32] ณ ห้องปฏิบัติการภาควิชาชีวเคมี คณะแพทยศาสตร์ มหาวิทยาลัยเชียงใหม่ โดยเชื้อ *S. typhimurium* ได้รับความอนุเคราะห์มาจาก ศาสตราจารย์ ดร. ไทจิโร มาสุชิมะ (Taijiro Matsushima) ผู้อำนวยการศูนย์วิจัยการทดสอบฤทธิ์ทางชีวภาพแห่งประเทศญี่ปุ่น (Bioassay Research Center, Japan) เก็บรักษาไว้ที่อุณหภูมิ -80°C ก่อนที่จะนำแบคทีเรียมาใช้ทดสอบต้องทำการเลี้ยงข้ามคืน (overnight culture) ก่อนโดยเลี้ยงแบคทีเรียใน oxid nutrient broth No.2 และเขย่าในอ่างน้ำควบคุมอุณหภูมิที่ 37°C เป็นเวลา 14 ชั่วโมง overnight culture ของแบคทีเรียนี้มีจำนวนแบคทีเรียประมาณ  $1-2 \times 10^9$  เซลล์/มิลลิลิตร

ทำการทดสอบโดยเลี้ยงเชื้อแบคทีเรียทั้งในสถานะที่มีและไม่มีสารกระตุ้นด้วยเอนไซม์ (S9 mix) เพื่อตรวจสอบว่าสารสกัดตัวอย่างมีฤทธิ์ก่อกลายพันธุ์แบบ โดยอ้อม (indirect-acting mutagenicity) หรือโดยตรง (direct-acting mutagenicity)

เตรียมหลอดทดลองสองชุด ชุดที่ 1 สำหรับทดสอบในสถานะที่ไม่มีเอนไซม์ (-S9) และชุดที่ 2 สำหรับทดสอบในสถานะที่มีเอนไซม์ (+S9) ในแต่ละชุดประกอบด้วย

- สารสกัดอนุภาคไอเสียที่ความเข้มข้นต่างๆ กัน ได้แก่ 50, 75 และ 100 ไมโครลิตรต่อจานเลี้ยงเชื้อ ( $\mu\text{l}/\text{plate}$ )
  - การควบคุมทางบวก (positive control) ใช้สารก่อกลายพันธุ์มาตรฐาน ได้แก่ 2-AA ( $0.1 \mu\text{g}/\text{plate}$ ) สำหรับสถานะ +S9 และ 2-AF ( $0.01 \mu\text{g}/\text{plate}$ ) สำหรับสถานะ -S9
  - การควบคุมทางลบ (negative control) หรือ Background ใช้ DMSO
- (เนื่องจากแบคทีเรียที่ใช้ในการทดสอบ อาจเกิดการกลายพันธุ์ได้เองตามธรรมชาติโดยไม่มีสาเหตุเห็นย่นมาจากสารเคมีใดๆ ทำให้สามารถเห็นเป็นโคโลนีได้ เรียกว่า spontaneous reversion colony ซึ่งสามารถนำไปหักลบจากค่าโคโลนีกลายพันธุ์ที่เกิดจากการเหนี่ยวนำของสารเคมี)

แบ่งทำการทดลองทีละชุด โดยชุดที่ทดสอบในสถานะ -S9 จะใช้ phosphate buffer แทน ทำไปทีละหลอด เริ่มจากใส่สารต่างๆ ข้างต้น (สารสกัดอนุภาคไอเสีย, สารก่อกลายพันธุ์มาตรฐาน และ DMSO) ลงในหลอดทดลอง หลอดละ 50 ไมโครลิตร ( $\mu\text{l}$ ) จากนั้นเติม 0.2 M sodium phosphate

buffer ปริมาตร 500  $\mu\text{l}$  และ overnight culture ของแบคทีเรีย ปริมาตร 100  $\mu\text{l}$  แล้วนำหลอดทดลองไปแช่ในอ่างน้ำอุณหภูมิ 30°C เป็นเวลา 30 นาที จากนั้นจึงเติม top agar (45°C) ปริมาตร 2 มิลลิลิตร (ml) หมุนด้วยฝ่ามือให้เข้ากัน เทส่วนผสมทั้งหมดลงบน minimal glucose agar plate โดยเอียงจานไปมาเล็กน้อยเพื่อให้ส่วนผสมกระจายสม่ำเสมอ ทั้ง plate ไว้ที่อุณหภูมิห้องเป็นเวลา 30 นาที เพื่อให้ agar แข็งตัว แล้วจึงนำ plate ทั้งหมดไปวางแบบพลิกกลับด้าน (inverted) ในตู้บออุณหภูมิ 37°C เป็นเวลา 48 ชั่วโมง แล้วจึงนับจำนวนโคโลนีกลายพันธุ์ที่ได้ การทดสอบทุกครั้งทำ 2 ซ้ำ (duplicate)

ในการทดสอบเบื้องต้น (preliminary test) นั้น ผู้วิจัยได้ทำการทดสอบฤทธิ์ก่อกลายพันธุ์กับแบคทีเรียสองสายพันธุ์ คือ TA98 และ TA100 โดยผลการทดสอบพบว่าแบคทีเรียสายพันธุ์ TA100 มีความไว (sensitive) ต่อสารสกัดตัวอย่างมากกว่าแบคทีเรีย TA98 ผู้วิจัยจึงทำการเลือกใช้แบคทีเรียเฉพาะสายพันธุ์ TA100 สำหรับการทดสอบเอมส์ในครั้งนี้

### 3.10 การแปรผลทดสอบฤทธิ์ก่อกลายพันธุ์และการวิเคราะห์ข้อมูล

ในการแปรผลการทดสอบฤทธิ์ก่อกลายพันธุ์กรณีให้ผลทางบวก หมายถึง จำนวนโคโลนีกลายพันธุ์ต่อจานเลี้ยงเชื้อ (revertant colonies/plate) ของสารสกัดที่ทดสอบสูงกว่าจำนวนโคโลนีกลายพันธุ์ที่เกิดขึ้นเองตามธรรมชาติ (spontaneous revertant) ของ background อย่างน้อย 2 เท่า และในการแสดงความสัมพันธ์ระหว่างปริมาณความเข้มข้นของสารสกัดอนุภาคไอเสียที่แบคทีเรียได้รับกับจำนวนโคโลนีกลายพันธุ์ของแบคทีเรีย (dose-response relationship) จะแสดงผลโดยค่าเฉลี่ยและค่าเบี่ยงเบนมาตรฐาน (SD) ของจำนวนโคโลนีกลายพันธุ์ของแบคทีเรียต่อจานเลี้ยงเชื้อจากการทดสอบ 2 ครั้ง ครั้งละ 3 จาน

นอกจากนี้ ในการแปรผลโดยการแสดงผลการทดสอบฤทธิ์ก่อกลายพันธุ์ของสารสกัดอนุภาคไอเสียด้วยค่าดัชนีการกลายพันธุ์ (Mutagenicity Index หรือ MI) ซึ่งคำนวณได้จากจำนวนโคโลนีกลายพันธุ์ของแบคทีเรียต่อจานเลี้ยงเชื้อที่เกิดจากสารสกัดอนุภาคไอเสียหารด้วยจำนวนโคโลนีกลายพันธุ์ของแบคทีเรียต่อจานเลี้ยงเชื้อที่เกิดตามธรรมชาติ [34] ดังสมการ

$$MI = \frac{\text{จำนวนโคโลนีกลายพันธุ์ต่อจานเลี้ยงเชื้อของสารสกัดอนุภาคไอเสีย}}{\text{จำนวนโคโลนีกลายพันธุ์ต่อจานเลี้ยงเชื้อที่เกิดตามธรรมชาติ}}$$

เมื่อค่า  $MI \geq 2.0$  แสดงว่าสารสกัดที่ทดสอบมีฤทธิ์ก่อกลายพันธุ์  
(mutagenic activity)

เมื่อค่า  $1.0 < MI < 2.0$  แสดงว่าสารสกัดที่ทดสอบเริ่มมีฤทธิ์ก่อกลายพันธุ์หรือมีฤทธิ์  
แบบอ่อนๆ (weak mutagenic activity)

ส่วนผลการทดสอบปริมาณอนุภาคไอเสีย ได้ทำการวิเคราะห์ค่าทางสถิติด้วย Kruskal Wallis และ Mann-Whitney โดยใช้โปรแกรม SPSS เวอร์ชัน 17.0 ในการเปรียบเทียบความแตกต่างทางสถิติที่ระดับความเชื่อมั่น 95% ( $p < 0.05$ )