

การพัฒนาวิธีทดสอบดีทีทีอย่างง่ายสำหรับการหาค่าศักยภาพการเกิดออกซิเดชัน ของตัวอย่างฝุ่น PM_{2.5}

Development of a Simple DTT Assay for Determining the Oxidative Potential of PM_{2.5} Samples

ดวงเดือน เทพนวล^{*1} ปริมฤทัย ดอกคำใต้¹ และณัฏติพร ยะบึง²

Duangduean Thepnuan^{*1}, Primruthai Dokkhamtai¹, & Nuttipon Yabueng²

¹ภาควิชาเคมี คณะวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยี มหาวิทยาลัยราชภัฏเชียงใหม่

²ศูนย์วิจัยวิทยาศาสตร์สิ่งแวดล้อม คณะวิทยาศาสตร์ มหาวิทยาลัยเชียงใหม่

¹Department of Chemistry, Faculty of Science and Technology, Chiang Mai Rajabhat University

² Environmental Science Research Center, Faculty of Science, Chiang Mai University.

Submitted 11/07/2024 ; Revised 27/08/2022 ; Accepted 17/10/2024

บทคัดย่อ

งานวิจัยนี้ได้หาสภาวะที่เหมาะสมของวิธีทดสอบดีทีที (dithiothreitol assay: DTT assay) อย่างง่ายโดยการตรวจวัดด้วยเครื่องไมโครเพลทรีดเดอร์ สำหรับการหาค่าศักยภาพการเกิดออกซิเดชัน ในตัวอย่างฝุ่นละอองขนาดเล็กกว่า 2.5 ไมครอน (PM_{2.5}) โดยอาศัยหลักการวัดอัตราการลดลงของ ปริมาณสาร DTT ที่ทำปฏิกิริยากับสารอนุมูลอิสระออกซิเจน (reactive oxygen species: ROS) ที่มีใน ตัวอย่างฝุ่นที่เวลาต่าง ๆ โดยติดตามปริมาณ DTT ที่เหลือ จากค่าการดูดกลืนแสงเมื่อทำปฏิกิริยากับ 5,5'-dithio-bis-[2-nitrobenzoic acid] (DTNB) จากการศึกษาหาสภาวะที่เหมาะสมพบว่า การสกัด แผ่นกรองฝุ่นควอตซ์ไฟเบอร์ที่มีน้ำหนักฝุ่น PM_{2.5} ไม่เกิน 0.5 มิลลิกรัม ด้วยสารละลายฟอสเฟต บัฟเฟอร์ปริมาตร 4 มิลลิลิตร ด้วยเครื่องเขย่าที่อุณหภูมิห้อง เป็นเวลา 30 นาที แล้วนำสารละลาย ตัวอย่างสกัดที่ได้ปริมาตร 100 ไมโครลิตร ทำปฏิกิริยากับสารละลาย DTT ความเข้มข้น 0.10 มิลลิ-โมลาร์ ปริมาตร 50 ไมโครลิตร ที่เวลา 0, 5, 10, 15, 20, 25 และ 30 นาที ตามลำดับ จากนั้นเติม สารละลาย DTNB ความเข้มข้น 0.40 มิลลิโมลาร์ ปริมาตร 100 ไมโครลิตร ที่เวลาต่าง ๆ แล้ววัดค่าการ ดูดกลืนแสงที่ λ_{max} 410 นาโนเมตร ค่าความชันและจุดตัดแกนของกราฟการลดลงของค่าการดูดกลืน แสงเมื่อเทียบกับเวลาถูกนำไปคำนวณหาค่าศักยภาพการเกิดออกซิเดชันของตัวอย่างฝุ่น ได้ทดสอบกับ ตัวอย่างฝุ่น PM_{2.5} จำนวน 12 ตัวอย่าง ที่เก็บช่วงเวลากลางวันของเดือนมีนาคม-เมษายน ปี พ.ศ. 2565 ในจังหวัดเชียงใหม่ (57.8±14.4 ไมโครกรัมต่อลูกบาศก์เมตร) พบค่าเฉลี่ยของค่าศักยภาพการ ออกซิเดชันของฝุ่น เทียบกับปริมาตรอากาศ (OPv) และเทียบกับปริมาณฝุ่น (OPm) เป็น 0.304±0.133 นาโนโมลต่อเวลาที่ต่อลูกบาศก์เมตร และ 5.05±1.65 พิโคโมลต่อเวลาที่ต่อไมโครกรัม ตามลำดับ บ่งชี้ถึงความเป็นพิษจากการเกิดออกซิเดชันของสารที่อยู่ในตัวอย่างฝุ่นที่ต่ำ

คำสำคัญ: ศักยภาพการเกิดออกซิเดชัน วิธีทดสอบดีทีที ฝุ่นละอองขนาดเล็กกว่า 2.5 ไมครอน

***ผู้ประสานงานหลัก (Corresponding Author)**

E-mail: duangduean_the@cmru.ac.th

Abstract

The research aimed to determine the optimal conditions for a simplified dithiothreitol (DTT) assay using a microplate reader to assess the oxidative potential of PM_{2.5} samples. The method is based on measuring the rate of DTT consumption as it reacts with reactive oxygen species (ROS) present in the particulate matter over different time intervals. The remaining DTT is quantified by its absorbance after reacting with 5,5'-dithio-bis-[2-nitrobenzoic acid] (DTNB). The optimal conditions were as follows: PM_{2.5} samples, collected on quartz fiber filters (amount less than 0.5 mg), were extracted with 4 mL of phosphate buffer solution using a shaker at room temperature for 30 minutes. Subsequently, 100 μ L of the extracted solution was aliquoted to react with 50 μ L of 0.10 mM DTT solution at time intervals of 0, 5, 10, 15, 20, 25, and 30 minutes, respectively. Then, 100 μ L of 0.40 mM DTNB was added, and the absorbance was measured at λ_{max} 410 nm. The slope and intercept of the absorbance decline with reaction time were used to calculate the oxidative potential (OP). Twelve PM_{2.5} samples collected during the daytime in March–April 2022 in Chiang Mai Province ($57.8 \pm 14.4 \mu\text{g}/\text{m}^3$) were tested. The average oxidative potential of the particulate matter, calculated relative to air volume (OPv) and particulate mass (OPm), was $0.304 \pm 0.133 \text{ nmol}/\text{min}\cdot\text{m}^3$ and $5.05 \pm 1.65 \text{ pmol}/\text{min}\cdot\mu\text{g}$, respectively, indicating low oxidative toxicity of the substances in the dust samples.

Keywords: oxidative potential, DTT assay, PM_{2.5}

บทนำ

ประชาชนในจังหวัดเชียงใหม่และหลายจังหวัดในภาคเหนือตอนบนเผชิญกับปัญหาวิกฤตหมอกควันที่ทวีความรุนแรงมากขึ้นเรื่อย ๆ ตลอดระยะเวลากว่า 10 ปีที่ผ่านมา โดยพบว่าค่าดัชนีคุณภาพอากาศ AQI (air quality index) สูงเป็นอันดับต้น ๆ ของโลกในช่วงฤดูหมอกควัน (เดือนกุมภาพันธ์-เมษายน) [1] ประชาชนในพื้นที่ ต้องสูดหายใจสารก่อมลพิษทางอากาศเข้าไปเป็นระยะเวลายาวนานกว่า 3 เดือนอย่างต่อเนื่อง ทั้งอนุภาคฝุ่นที่มีขนาดเล็ก องค์กรประกอบทางเคมีที่เป็นพิษหรือสารก่อมะเร็งมีในตัวอย่างฝุ่น [2-4] ซึ่งส่งผลกระทบต่อสุขภาพของมนุษย์ได้ทั้งในภาวะเฉียบพลันและภาวะเรื้อรัง เช่น การเกิดโรคในระบบทางเดินหายใจ การเกิดโรคหัวใจและหลอดเลือด

กลไกสำคัญที่ก่อให้เกิดโรคจาก $PM_{2.5}$ เกี่ยวข้องกับการเหนี่ยวนำให้เกิดอนุมูลอิสระออกซิเจน (reactive oxygen species: ROS) ในร่างกายจากสารเคมีต่างๆที่เป็นองค์ประกอบของ $PM_{2.5}$ ได้แก่ สารอนุมูลอิสระ สารประกอบอินทรีย์และโลหะทรานซิชันที่จะสามารถก่อให้เกิดอนุมูลอิสระออกซิเจนที่แพร่ผ่านไปตามกระแสเลือด ทำให้เกิดภาวะเครียดออกซิเดชันขึ้น หากเกิดภาวะดังกล่าวเป็นเวลานานจะทำให้มีความเสี่ยงที่จะมีผลไปทำลายเนื้อเยื่อต่าง ๆ เยื่อหุ้มเซลล์ และจะนำไปสู่การเกิดโรคในหลายระบบและนำไปสู่ความเสื่อมของอวัยวะต่าง ๆ ได้ เช่น โรคในระบบหัวใจและหลอดเลือด โรคทางสมองและระบบประสาท [5] สำหรับประเมินความเป็นพิษหรือการก่อให้เกิดภาวะเครียดออกซิเดชันในร่างกายของฝุ่น $PM_{2.5}$ สามารถประเมินได้จากค่าศักยภาพการเกิดออกซิเดชัน (oxidation potential: OP) ของ $PM_{2.5}$ โดยอาศัยวิธี dithiothreitol (DTT) assay ซึ่งเป็นวิธีที่ใช้กันอย่างกว้างขวางโดยวัดอัตราการลดลงของปริมาณสาร DTT ที่ทำปฏิกิริยากับสารอนุมูลอิสระออกซิเจน (reactive oxygen species: ROS) ในตัวอย่างฝุ่นที่เวลาต่าง ๆ ตรวจวัดปริมาณ DTT ที่เหลือ โดยให้ทำปฏิกิริยากับ Ellman's reagent (5,5'-dithio-bis-[2-nitrobenzoic acid], DTNB) ได้สารผลิตภัณฑ์ที่มีสีเหลืองซึ่งสามารถตรวจวัดได้ด้วยเทคนิคการดูดกลืนแสง [6] ทั้งนี้การติดตามปริมาณ DTT ที่ลดลงเมื่อทำปฏิกิริยากับตัวอย่างฝุ่น ปัจจัยด้านเวลาที่ใช้ในการเกิดปฏิกิริยาก็มีความสำคัญอย่างยิ่ง วิธี DTT assay ที่ใช้ในงานวิจัยก่อนหน้านี้มีขั้นตอนที่ยากซับซ้อนหลายขั้นตอน ใช้สารเคมีจำนวนมากหลายชนิดในการทำปฏิกิริยาและยับยั้งการเกิดปฏิกิริยาในเวลาที่กำหนด ก่อนนำสารละลายไปตรวจวัดด้วยเครื่องยูวี-วิสิเบิลสเปกโตรมิเตอร์ [7-9] ซึ่งการตรวจวัดการดูดกลืนแสงได้ครั้งละตัวอย่างทำให้ใช้เวลานาน ไม่สะดวกในกรณีที่ต้องการวิเคราะห์ซ้ำหรือมีตัวอย่างจำนวนมาก ทั้งนี้มีการพัฒนาวิธีการวิเคราะห์โดยใช้สารเคมีปริมาณน้อยบนกระดาษแล้วตรวจวัดด้วยวิธีทางเคมีไฟฟ้า [10,11] ซึ่งยังคงมีความยุ่งยากในส่วนของการตรวจวัดและยังไม่มีมีการนำไปประยุกต์ใช้กับตัวอย่างจริงอย่างกว้างขวาง

งานวิจัยนี้จึงต้องการพัฒนาวิธีวิเคราะห์โดยวิธีทดสอบ DTT อย่างง่าย มีการใช้สารเคมีเท่าที่จำเป็นและปริมาณน้อย ทำการตรวจวัดอย่างรวดเร็วด้วยเครื่องมือโครเพลทรีดเดอร์ ซึ่งสามารถทำการตรวจวัดสารละลายปริมาตรน้อยที่บรรจุในไมโครเพลทได้ครั้งละหลายตัวอย่างพร้อมกัน โดยทำการศึกษาวิธีการทดสอบ หาสภาวะที่เหมาะสม ได้แก่ ความเข้มข้นและปริมาตรของสารรีเอเจนต์ ปริมาตรของสารละลายตัวอย่างฝุ่นสกัด $PM_{2.5}$ แล้วนำวิธีที่ได้ไปประยุกต์ใช้กับตัวอย่างฝุ่น $PM_{2.5}$ ที่เก็บในจังหวัดเชียงใหม่ ช่วงวิกฤตหมอกควันเพื่อให้ทราบถึงค่าความสามารถในการเกิดออกซิเดชันของฝุ่น $PM_{2.5}$ ซึ่งจะเป็นข้อมูลที่มีประโยชน์สำหรับการสร้างความตระหนักและป้องกันตนเองของประชาชนต่อไป

วัตถุประสงค์

เพื่อศึกษาหาสภาวะที่เหมาะสมของวิธีการทดสอบที่ดีที่ท๊อย่างง่ายและตรวจวัดด้วยเครื่องมือโครเพลทรีเตอร์ สำหรับการหาค่าศักยภาพการเกิดออกซิเดชันของฝุ่น $PM_{2.5}$ และนำไปประยุกต์ใช้กับตัวอย่างฝุ่นที่เก็บในช่วงหมอกควันของจังหวัดเชียงใหม่

วิธีดำเนินการวิจัย

การเก็บตัวอย่างฝุ่น

เก็บตัวอย่างฝุ่น $PM_{2.5}$ ในพื้นที่จังหวัดเชียงใหม่ ช่วงเดือนมีนาคม-เมษายน พ.ศ.2565 จำนวน 12 ตัวอย่าง โดยเก็บบนแผ่นกรองฝุ่นชนิดไฟเบอร์ควอทซ์ ขนาดรูปทรง 2.2 ไมครอน ขนาด 203×254 มิลลิเมตร ด้วยเครื่องเก็บตัวอย่างอากาศปริมาณสูง (high volume air sampler, HW-RW, Sibata, Japan) ที่อัตราการไหล 1,000 ลิตรต่อนาที ใช้เวลาในการสุ่มตัวอย่าง 12 ชั่วโมง ช่วงเวลา 07:00-19:00 นาฬิกา โดยแผ่นกรองฝุ่นจะถูกห่อด้วยอลูมิเนียมฟลอยด์แล้วบรรจุลงในถุงซิปล็อคทั้งก่อนและหลังจากการสุ่มตัวอย่าง และทำการชั่งน้ำหนักของแผ่นกรองฝุ่นทั้งก่อนและหลัง ทำการชั่ง 3 ครั้งโดยใช้เครื่องชั่งความละเอียดที่ทศนิยม 4 ตำแหน่ง (Analytical Balance, ML104, Mettler Toledo, Switzerland) จากนั้นนำตัดให้มีขนาดเส้นผ่านศูนย์กลาง 1 เซนติเมตรเก็บรักษาแผ่นกรองฝุ่นโดยการแช่แข็งก่อนนำไปวิเคราะห์ทดสอบ

การเตรียมสารละลายรีเอเจนต์และสารละลายตัวอย่าง

สารละลายตัวอย่างและสารละลายรีเอเจนต์ทุกตัวที่ใช้ในการทดลองนี้ เตรียมในสารละลายฟอสเฟตบัฟเฟอร์ (phosphate buffer saline, 10X PBS, ultra pure grade, Siam Bioscience) เจือจาง 10 เท่า pH 7.4 ดังนี้ สารละลาย DTT (dithiothreitol, $C_4H_{10}O_2S_2$, assay 99%, EMO millipore) ความเข้มข้น 1.00 มิลลิโมลาร์ เตรียมโดยการชั่งสาร DTT น้ก 0.0078 กรัม ละลายและปรับปริมาตรเป็น 50.00 มิลลิลิตร ด้วยสารละลายฟอสเฟตบัฟเฟอร์ สารละลาย DTNB (5,5'-Dithiobis 2-nitrobenzoic acid; Ellman's reagent, $C_{14}H_8N_2O_8S_2$, assay 99%, Sigma-Aldrich) ความเข้มข้น 0.40 มิลลิโมลาร์ เตรียมโดยการชั่งสาร DTNB น้ก 0.0080 กรัม ละลายและปรับปริมาตรเป็น 50.00 มิลลิลิตร ด้วยสารละลายฟอสเฟตบัฟเฟอร์ สำหรับสารละลายตัวอย่างฝุ่นและสารละลายแบลนด์ทำได้โดยการสกัดกระดาศกรองเก็บตัวอย่างที่เจาะเป็นวงกลมขนาดเส้นผ่านศูนย์กลาง 1 เซนติเมตรจำนวน 4 แผ่น ด้วยสารละลายฟอสเฟตบัฟเฟอร์ เจือจาง 10 เท่า ปริมาตร 4 มิลลิลิตร โดยใช้เครื่องเขย่าเป็นเวลา 30 นาที จากนั้นกรองสารละลายตัวอย่างด้วย polytetrafluoroethylene (PTFE) ขนาด 0.45 ไมครอน

การหาสภาวะที่เหมาะสมสำหรับการตรวจวัดด้วยวิธีทดสอบ DTT

การศึกษาความเข้มข้นและปริมาตรของสารละลาย DTT และ DTNB ที่เหมาะสม พิจารณาจากค่าการดูดกลืนแสงของสารละลายหลังเกิดปฏิกิริยาอยู่ในช่วงของการใช้งานที่เหมาะสม โดยกำหนดค่าความเข้มข้นและปริมาตรของสารละลาย DTT และ DTNB ที่ต้องการศึกษา แล้วปิเปตต์สารละลายทั้งสองผสมกันในไมโครเพลต ตามจำนวนที่วางแผนไว้ โดยทุกชุดการทดลองทำซ้ำ 3 ครั้ง

แล้วนำสารละลายไปตรวจวัดค่าการดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่นที่มีค่าการดูดกลืนสูงสุด ($\lambda_{\max}$) 410 นาโนเมตร ด้วยเครื่องไมโครเพลทรีดเดอร์ (microplate reader, spectrostar nano, BMG Labtech)

การหาสภาวะที่เหมาะสมของวิธีทดสอบ DTT เมื่อประยุกต์ใช้กับสารละลายตัวอย่างฝุ่นสกัดพิจารณาจากอัตราการลดลงของสารละลายตัวอย่างฝุ่นสกัดเทียบกับสารละลายแบลนด์สกัด และค่าการดูดกลืนแสงของสารละลายหลังเกิดปฏิกิริยาอยู่ในช่วงของการใช้งานที่เหมาะสม โดยกำหนดค่าต่าง ๆ ของปริมาตรสารละลายตัวอย่างฝุ่นสกัด ค่าความเข้มข้นและปริมาตรของสารละลาย DTT และ DTNB ที่ต้องการศึกษา ทำการทดลองโดยปิเปตต์สารละลายตัวอย่างฝุ่นสกัดและสารละลายแบลนด์สกัดลงในไมโครเพลต จำนวน 7 ชุด ๆ ละ 3 หลุม เติมสารละลาย DTT ความเข้มข้นและปริมาตรที่กำหนด โดยแต่ละชุด ให้เวลาในการทำปฏิกิริยากับสารละลาย DTT ที่ 0, 5, 10, 15, 20, 25 และ 30 นาที ตามลำดับ จากนั้นเติมสารละลาย DTNB เมื่อครบเวลาที่กำหนด แล้วนำสารละลายที่ได้ไปวัดค่าการดูดกลืนแสงที่ $\lambda_{\max}$ 410 นาโนเมตร ด้วยเครื่องไมโครเพลทรีดเดอร์ทันที

การหาค่าศักยภาพการออกซิเดชันของตัวอย่างฝุ่น $PM_{2.5}$ วิธีทดสอบดีที่ที่อย่างง่าย

นำวิธีการและสภาวะที่เหมาะสมของวิธีทดสอบ DTT อย่างง่ายที่พัฒนาขึ้น มาประยุกต์ใช้ตัวอย่างฝุ่น $PM_{2.5}$ จำนวน 12 ตัวอย่าง ที่เก็บในช่วงหมอกควันเดือนมีนาคม-เมษายน พ.ศ.2565 ในพื้นที่จังหวัดเชียงใหม่ ทำการวิเคราะห์ตัวอย่างแบลนด์และตัวอย่างฝุ่นพร้อมกันโดยใช้ความเข้มข้นและปริมาตรของสารละลาย DTT และ DTNB ที่ได้จากการศึกษาสภาวะที่เหมาะสมและเตรียมใหม่ทุกครั้งในการทดลองแต่ละวัน สารละลายสกัดที่ผ่านการกรองจะถูกปิเปตต์ลงในไมโครเพลตจำนวน 7 ชุด ๆ ละ 3 หลุมต่อตัวอย่าง สำหรับการทดลอง 3 ซ้ำ และกำหนดเวลาในการทำปฏิกิริยากับ DTT ที่ 0, 5, 10, 15, 20, 25 และ 30 นาที ตามลำดับ การควบคุมคุณภาพภายในของวิธีทดสอบดีที่ที่อย่างง่ายที่พัฒนาขึ้น ทำโดยการใช้แผนภูมิควบคุมเพื่อตรวจสอบค่าการดูดกลืนแสงของสารละลายตัวอย่างแบลนด์ให้อยู่ภายในเขตควบคุม และการวัดซ้ำค่าการดูดกลืนแสงของแต่ละตัวอย่างที่เวลาต่าง ๆ ($n=3$) อยู่ในเกณฑ์ยอมรับที่ %RSD ไม่เกิน 5

การคำนวณหาค่าศักยภาพการออกซิเดชันแสดงในเทอมของอัตราการลดลงของ DTT ทำได้โดยหาค่าเฉลี่ยค่าการดูดกลืนแสงของการทดลอง 3 ซ้ำ แล้วนำไปพล็อตกราฟเทียบกับเวลาที่ใช้ในการเกิดปฏิกิริยากับ DTT นำค่าความชันและค่าจุดตัดแกนของแต่ละตัวอย่างไปใช้ในการคำนวณค่าศักยภาพการออกซิเดชันโดยคิดต่อหน่วยปริมาตรอากาศที่บ่งชี้ถึงความเสี่ยงต่อการรับสัมผัสอากาศของมนุษย์ และคิดต่อหน่วยน้ำหนักฝุ่นที่บ่งชี้ถึงความเป็นพิษจากการเกิดออกซิเดชันของสารที่อยู่ในตัวอย่างฝุ่น คำนวณได้ดังสมการ [9]

$$OP_V = \frac{(\Delta DTT_{sample} - \Delta DTT_{blank})}{V_{air}}$$

หรือ

$$OP_m = \frac{(\Delta DTT_{sample} - \Delta DTT_{blank})}{m_{PM}}$$

- เมื่อ OP_V คือ ศักยภาพการออกซิเดชันของฝุ่นเทียบกับปริมาตรอากาศ (นาโนโมลต่อนาที่ต่อลูกบาศก์เมตร)
- OP_m คือ ศักยภาพการออกซิเดชันของฝุ่นเทียบกับปริมาณฝุ่น (พิโคโมลต่อนาที่ต่อไมโครกรัม)
- V_{air} คือ ปริมาตรอากาศ (ลูกบาศก์เมตร)
- m_{PM} คือ น้ำหนักของตัวอย่างฝุ่น (ไมโครกรัม)
- ΔDTT_{sample} คือ อัตราการลดลงของ DTT เมื่อทำปฏิกิริยากับตัวอย่างฝุ่น (นาโนโมลต่อนาที่)
- ΔDTT_{blank} คือ อัตราการลดลงของ DTT เมื่อทำปฏิกิริยากับแบลงค์ (นาโนโมลต่อนาที่)

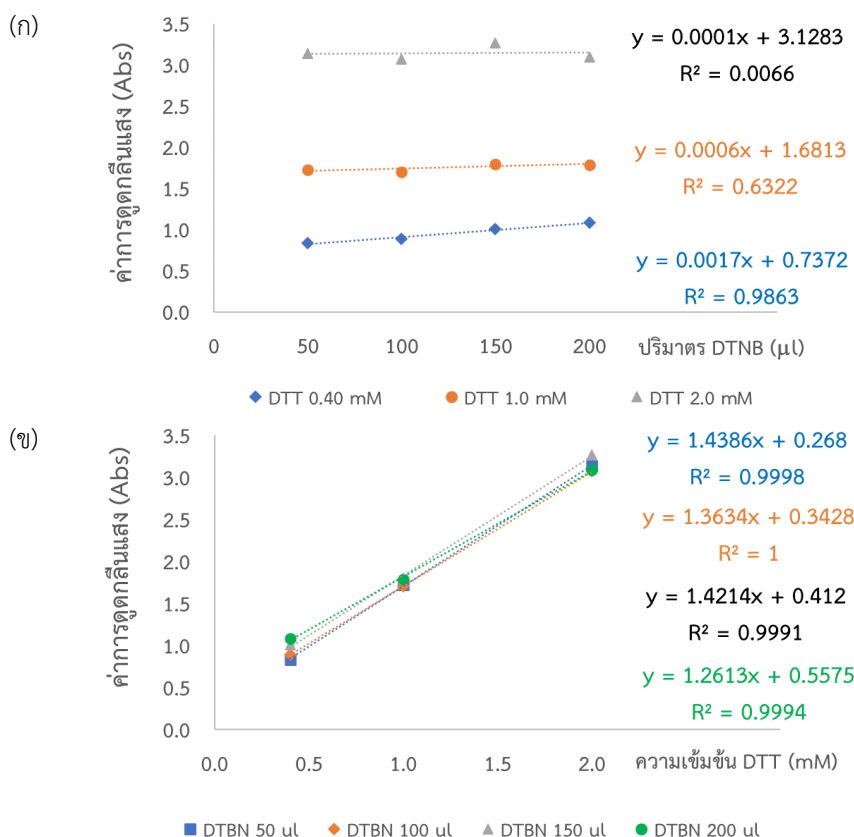
โดย
$$\Delta DTT = -\sigma Abs \frac{N_{DTT}}{Abs_0}$$

- เมื่อ σAbs คือ ค่าความชันของกราฟที่พล็อตระหว่างค่าการดูดกลืนแสงกับเวลา (ต่อนาที่)
- N_{DTT} คือ จำนวนโมลเริ่มต้นของสาร DTT ในสารละลาย (นาโนโมล)
- abs_0 คือ ค่าการดูดกลืนแสงเริ่มต้น ประมาณค่าจากจุดตัดแกนของกราฟ

ผลการวิจัย

ผลของความเข้มข้นและปริมาตรที่เหมาะสมของสารละลาย DTT และ DTNB

ทำการทดลองหาความเข้มข้นและปริมาตรที่เหมาะสมของสารละลาย DTT และ สารละลาย DTNB ที่ใช้ในการทำปฏิกิริยาสำหรับการทดสอบด้วยวิธีทดสอบ DTT โดยเริ่มจากการใช้สารละลาย DTT ความเข้มข้น 2.0, 1.0, 0.4 มิลลิโมลาร์ ปริมาตร 25 ไมโครลิตร และสารละลาย DTNB ความเข้มข้น 2.50 มิลลิโมลาร์ ปริมาตร 50, 100, 150 และ 200 ไมโครลิตร ตามลำดับ ผลการทดลองแสดงดังภาพที่ 1 จากข้อมูลค่าการดูดกลืนแสงพบว่าสารละลาย DTT ความเข้มข้น 2.0 และ 1.0 มิลลิโมลาร์ ให้ค่าการดูดกลืนแสงที่สูงกว่า 1 ซึ่งอยู่นอกเหนือจากค่าการดูดกลืนแสงในช่วงใช้งาน (0.1–0.8) ที่มีความคลาดเคลื่อนจากการตรวจวัดสูง การใช้สารละลาย DTT ความเข้มข้น 0.4 มิลลิโมลาร์ ปริมาตร 25 ไมโครลิตร ให้ค่าการดูดกลืนแสงอยู่ในช่วงที่ยอมรับได้ ทั้งนี้หากพิจารณาจากกราฟความสัมพันธ์ระหว่างปริมาตรของสารละลาย DTNB กับค่าการดูดกลืนแสง (ภาพที่ 1ก) พบว่าเมื่อเพิ่มปริมาตรของ DTNB ซึ่งเป็นการเพิ่มปริมาณของสาร DTNB ที่ใช้ในการเกิดปฏิกิริยา คือ 125, 250, 375 และ 500 นาโนโมลตามลำดับ ค่าการดูดกลืนแสงของสารละลายไม่ได้เพิ่มขึ้นมาก ซึ่งแตกต่างจากกรณีของการเพิ่มความเข้มข้นของสารละลาย DTT ตามภาพที่ 1ข (ปริมาณสาร DTT คิดเป็น 10, 25 และ 50 นาโนโมล ตามลำดับ) กราฟมีความชันสูงกว่าแสดงให้เห็นว่าค่าการดูดกลืนแสงขึ้นอยู่กับความเข้มข้นของสาร DTT มากกว่า DTNB ซึ่งสอดคล้องกับการนำเอาปฏิกิริยานี้มาใช้ในการตรวจวัดปริมาณด้วยวิธีทดสอบ DTT

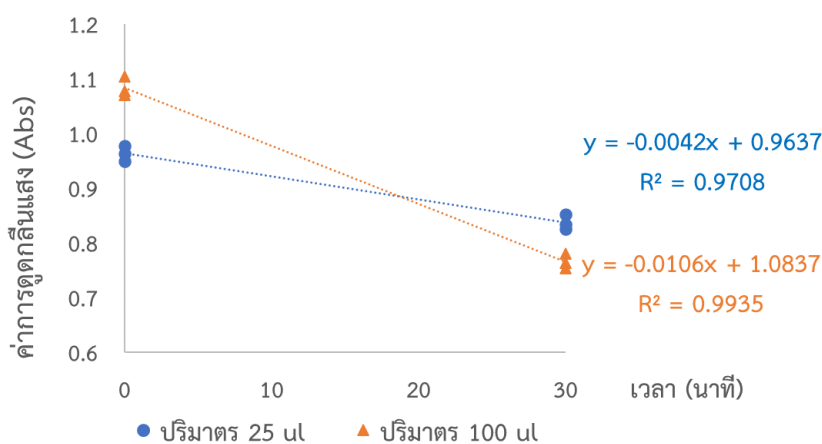


ภาพที่ 1 กราฟความสัมพันธ์ระหว่างค่าการดูดกลืนแสงของสารละลายที่ 410 นาโนเมตร เทียบกับ (ก) ปริมาตรสารละลาย DTNB และ (ข) ความเข้มข้นของ DTT เมื่อความเข้มข้นหรือปริมาตรของสารละลาย DTT และ DTNB แตกต่างกัน

ผลของปริมาตรของสารละลายตัวอย่างที่เหมาะสมสำหรับการวิเคราะห์

การหาปริมาตรที่เหมาะสมของสารละลายตัวอย่างที่สกัดสำหรับการวิเคราะห์ด้วยวิธีทดสอบ DTT กำหนดให้ปริมาตรสารละลายตัวอย่างที่ศึกษา คือ 25 และ 100 ไมโครลิตร โดยปิเปตต์สารละลายตัวอย่างที่สกัดและสารละลายตัวอย่างแบล็คสแตนด์ลงในไมโครเพลต จำนวน 2 ชุดๆ ละ 3 ซ้ำ จากนั้นเติมสารละลาย DTT ความเข้มข้น 0.4 มิลลิโมลาร์ ปริมาตร 25 ไมโครลิตร โดยชุดที่ 1 เติมสารละลาย DTNB ความเข้มข้น 2.50 มิลลิโมลาร์ ปริมาตร 100 ไมโครลิตร DTNB ทันที ในขณะที่ชุดที่ 2 ตั้งทิ้งไว้ให้สารสกัดในตัวอย่างทำปฏิกิริยากับละลาย DTT เป็นเวลา 30 นาที แล้วจึงเติมสารละลาย DTNB จากนั้นนำสารละลายทั้งหมดไปตรวจวัดค่าการดูดกลืนแสงที่ λ_{max} 410 นาโนเมตร พบว่าเมื่อปล่อยให้สารสกัดจากตัวอย่างทำปฏิกิริยากับสารละลาย DTT เป็นเวลา 30 นาที ปริมาณของ DTT ที่ตรวจพบมีน้อยกว่าตอนเริ่มต้น โดยการเพิ่มปริมาตรของสารละลายตัวอย่างมากขึ้น จะทำให้อัตราการลดลง

ของ DTT มากขึ้นตาม พิจารณาได้จากค่าความชันของกราฟคือ -0.0042 เมื่อใช้สารละลายตัวอย่าง ปริมาตร 25 ไมโครลิตร ในขณะที่ความชันของกราฟคือ -0.0106 เมื่อใช้สารละลายตัวอย่างปริมาตร 100 ไมโครลิตร อย่างไรก็ตามพบว่าการเติมสารละลายตัวอย่างปริมาณมาก จะมีค่าการดูดกลืนแสงของ สารละลายที่เวลาเริ่มต้นสูงมากกว่า ทั้งนี้เนื่องจากความขุ่นของสารละลายตัวอย่างที่เมื่อใช้ปริมาณ มากจะส่งผลให้ค่าแบคกราวด์ของการดูดกลืนแสงของสารละลายสูงไปด้วย ดังนั้นจึงจำเป็นต้องมี การกรองสารละลายตัวอย่างสกัดและสารละลายบัลลงค์สกัดด้วยตัวกรองชนิด PTFE ขนาด 0.45 ไมครอนก่อนนำไปทดสอบต่อไป



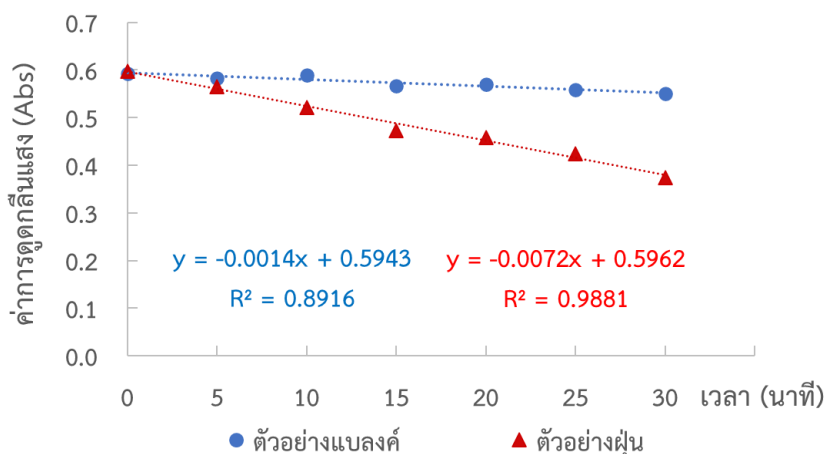
ภาพที่ 2 การค่าการดูดกลืนแสงของสารละลาย ที่เวลาในการทำปฏิกิริยา 0 และ 30 นาที เมื่อใช้ สารละลายตัวอย่างสกัดปริมาตร 25 ไมโครลิตร และ 100 ไมโครลิตร

ผลของเวลาที่มีต่อค่าการดูดกลืนแสงของสารละลายหลังการเกิดปฏิกิริยากับ DTNB

จากการศึกษาผลของเวลาที่มีต่อการเปลี่ยนแปลงของค่าการดูดกลืนแสงของสารละลาย หลังเกิดปฏิกิริยากับ DTNB โดยปิเปตต์สารละลายตัวอย่างสกัดหรือสารละลายบัลลงค์สกัด 100 ไมโครลิตร ลงในไมโครเพลทจำนวน 3 หลุม แล้วเติมสารละลาย DTT ความเข้มข้น 0.4 มิลลิโมลาร์ ปริมาตร 25 ไมโครลิตร ตามด้วยสารละลาย DTNB ความเข้มข้น 2.50 มิลลิโมลาร์ ปริมาตร 100 ไมโครลิตร แล้วนำสารละลายที่ได้ไปวัดค่าการดูดกลืนแสงที่ λ_{max} 410 นาโนเมตรทันที จากนั้น ตั้งสารละลายทิ้งไว้ที่อุณหภูมิห้องแล้วทำการวัดค่าการดูดกลืนแสงซ้ำที่เวลาต่าง ๆ พบว่าค่าการดูดกลืน- แสงของสารละลายทั้งสองหลังการทำการปฏิกิริยาการสาร DTNB มีแนวโน้มลดลงเมื่อเทียบกับ ค่าการดูดกลืนแสงเริ่มต้น โดยสารละลายตัวอย่างสกัดมีค่าการดูดกลืนแสงลดลงร้อยละ 1.8, 3.6, 5.9 และ 10.2 สารละลายบัลลงค์สกัดมีค่าการดูดกลืนแสงลดลงร้อยละ 0.7, 3.7, 6.6 และ 10.6 ที่เวลา 5, 15, 25 และ 45 นาที ตามลำดับ ดังนั้นในการทดลองควรทำการวัดค่าการดูดกลืนแสงทันทีหลัง การเติมสาร DTNB หรือ ต้องทำการตรวจวัดที่เวลาเดียวกันทุกครั้ง

ผลการค้าศักยภาพการเกิดออกซิเดชันของตัวอย่างฝุ่น PM_{2.5} ด้วยวิธีทดสอบดีดีทีอย่างง่าย

จากสถานะที่เหมาะสมของการทดสอบด้วยวิธีทดสอบ DTT ที่ได้ทำการศึกษา ถูกนำมาใช้ในการทดสอบตัวอย่างฝุ่น PM_{2.5} ที่เก็บตัวอย่างในช่วงหมอกควันของจังหวัดเชียงใหม่ โดยวิเคราะห์สารละลายแบลงค์สกัดและสารละลายตัวอย่างฝุ่นสกัดพร้อมกันดังนี้ ปิเปตต์สารละลายตัวอย่างสกัด ปริมาตร 100 ไมโครลิตร ลงในไมโครเพลทจำนวน 7 ชุดๆ ละ 3 หลุม เติมสารละลาย DTT ความเข้มข้น 0.10 มิลลิโมลาร์ ปริมาตร 50 ไมโครลิตร โดยกำหนดให้เวลาในการทำปฏิกิริยากับสารละลาย DTT ที่ 0, 5, 10, 15, 20, 25 และ 30 นาที ตามลำดับ เมื่อครบกำหนดเวลาของแต่ละชุด เติมสารละลาย DTNB ความเข้มข้น 0.40 มิลลิโมลาร์ ปริมาตร 100 ไมโครลิตร แล้วนำสารละลายที่ได้ไปวัดค่าการดูดกลืนแสงที่ $\lambda_{\max}$ 410 นาโนเมตรทันที ตัวอย่างกราฟความสัมพันธ์ระหว่างค่าการดูดกลืนแสงกับเวลาที่ใส่สารละลายแบลงค์สกัดและสารละลายตัวอย่างฝุ่นสกัดทำปฏิกิริยากับสารละลาย DTT เริ่มต้นปริมาณ 5 นาโนโมล แสดงดังภาพที่ 3 จะเห็นได้ว่าค่าความชันของกราฟสำหรับตัวอย่างแบลงค์มีค่า -0.0014 แสดงถึงอัตราการลดลงที่น้อยกว่าตัวอย่างฝุ่นสกัดที่มีค่าความชัน -0.0072 ซึ่งสอดคล้องกับหลักการของวิธีทดสอบ ซึ่งสามารถนำค่าความชันและจุดตัดแกน y ไปใช้ในการคำนวณค่าศักยภาพการออกซิเดชันของฝุ่นได้ แสดงผลการคำนวณดังตารางที่ 1 การควบคุมคุณภาพของการวิเคราะห์ภายใน ใช้แผนภูมิควบคุมเพื่อตรวจสอบค่าการดูดกลืนแสงของสารละลายตัวอย่างแบลงค์เริ่มต้นให้อยู่ในควบคุม 0.57 ± 0.083 ค่าการดูดกลืนแสงของ การวัดซ้ำค่าการดูดกลืนแสงของแต่ละตัวอย่างที่เวลาต่าง ๆ ($n=3$) มีค่า %RSD ไม่เกิน 5 ค่าความชันของกราฟอัตราการลดลงของสารละลายแบลงค์อยู่ในช่วง -0.0016 ± 0.0003 ($n=7$) และ ค่า R^2 ของกราฟอัตราการลดลงของค่าการดูดกลืนแสงสำหรับสารละลายตัวอย่างฝุ่นมีค่าไม่น้อยกว่า 0.95



ภาพที่ 3 ตัวอย่างกราฟความสัมพันธ์ระหว่างค่าการดูดกลืนแสงของสารละลายเทียบกับเวลาที่ใช้ในการทำปฏิกิริยา แสดงถึงอัตราการลดลงของ DTT เปรียบเทียบระหว่างตัวอย่างแบลงค์และตัวอย่างฝุ่น

ตารางที่ 1 แสดงค่าฝุ่น $PM_{2.5}$ และค่าศักยภาพการเกิดออกซิเดชันของฝุ่น $PM_{2.5}$ ของจังหวัดเชียงใหม่ ในช่วงเดือนมีนาคม-เมษายน ปี พ.ศ. 2565

ตัวอย่างที่	วันที่เก็บตัวอย่าง (9:00-21:00 น.)	$PM_{2.5}$ (ไมโครกรัมต่อ ลูกบาศก์เมตร)	OPv (นาโนโมลต่อนาที่ต่อ ลูกบาศก์เมตร)	OPm (พิโคโมลต่อนาที่ต่อ ไมโครกรัม)
1	24/2/2565	37.3	0.114	3.07
2	01/3/2565	64.4	0.386	6.00
3	06/3/2565	52.8	0.286	5.42
4	11/3/2565	58.1	0.265	4.57
5	16/3/2565	67.4	0.439	6.52
6	26/3/2565	68.1	0.368	5.41
7	31/3/2565	62.6	0.391	6.25
8	5/4/2565	39.9	0.282	7.05
9	10/4/2565	81.8	0.490	5.99
10	15/4/2565	68.9	0.390	5.66
11	20/4/2565	34.2	0.052	1.53
12	25/4/2565	58.8	0.187	3.17
ค่าเฉลี่ย $\pm$ ค่าเบี่ยงเบนมาตรฐาน		57.8 ± 14.4	0.304 ± 0.133	5.05 ± 1.65

อภิปรายผลการวิจัย

การหาสภาวะที่เหมาะสมของวิธีทดสอบ DTT ที่พัฒนาขึ้นสำหรับค่าศักยภาพการเกิดออกซิเดชันในตัวอย่างฝุ่น $PM_{2.5}$

การหาค่าศักยภาพการเกิดออกซิเดชันในตัวอย่างฝุ่นวัดด้วยวิธีทดสอบ DTT ของงานวิจัยที่มีก่อนหน้านี้เป็นการใช้เครื่องยูวี-วิสิเบิล สเปกโตรมิเตอร์ในการตรวจวัด ซึ่งใช้เวลาในการวิเคราะห์นาน ใช้สารปริมาณมาก หรือ ต้องใช้คิวเวตต์ชนิดพิเศษที่มีปริมาตรน้อย ในงานวิจัยนี้ได้ปรับเปลี่ยนวิธีการตรวจวัดด้วยเครื่องไมโครเพลทรีดเดอร์ ซึ่งใช้สารปริมาณน้อยกว่า เวลาที่ใช้ในการตรวจวัดน้อยกว่า เนื่องจากสามารถวัดค่าการดูดกลืนแสงของสารละลายที่บรรจุใน ไมโครเพลท 96 หลุม ได้พร้อมกัน ดังนั้นสามารถออกแบบการทดลองให้ทำซ้ำ หรือทำการวิเคราะห์หลายตัวอย่างพร้อมกันได้ใน การตรวจวัดครั้งเดียว ทั้งนี้ด้วยข้อจำกัดในเรื่องปริมาณของสารละลายที่บรรจุในไมโครเพลท ที่ปริมาตรรวมของสารละลายไม่ควรเกิน 300 ไมโครลิตร จึงจำเป็นต้องหาความเข้มข้นและปริมาตรที่เหมาะสมของสารละลาย DTT และ DTNB ที่ทำปฏิกิริยากันแล้วให้ค่าการดูดกลืนแสงของสารละลายในช่วงใช้งาน (0.1–0.8) ที่ยอมรับได้ตามหลักการของการวัดค่าการดูดกลืนแสงด้วยเทคนิคทางสเปกโทรสโกปี

จากการศึกษาผลของความเข้มข้นและปริมาตรที่เหมาะสมของสารละลายรีเอเจนต์ พบว่าค่าการดูดกลืนแสงของสารละลายหลังเกิดปฏิกิริยาเปลี่ยนแปลงตามความเข้มข้นของ DTT มากกว่า DTNB ซึ่งเป็นไปตามหลักการเลือกใช้ปฏิกิริยาในการตรวจวัดปริมาณด้วยวิธีทดสอบ DTT กล่าวคือค่าการดูดกลืนแสงควรแปรผันตามความเข้มข้นของสารที่ต้องการวิเคราะห์ที่ไม่เปลี่ยนแปลงตาม

สารรีเอเจนต์ ในขั้นตอนการศึกษาความเข้มข้นของสารรีเอเจนต์ที่เหมาะสม ได้ใช้สารละลาย DTT ความเข้มข้น 0.4 มิลลิโมลาร์ ปริมาตร 25 ไมโครลิตร คิดเป็นปริมาณสาร 10.0 นาโนโมล ซึ่งค่าการดูดกลืนสูงกว่า 1.0 จึงลดปริมาณลง 2 เท่า โดยกำหนดให้ใช้สารละลาย DTT 0.10 มิลลิโมลาร์ ปริมาตร 50 ไมโครลิตร คิดเป็นปริมาณสาร 5.0 นาโนโมล ซึ่งมีผลทำให้ค่าการดูดกลืนแสงของสารละลายตัวอย่างลดลงอยู่ในระดับ 0.6 ให้ค่าความน่าเชื่อถือของการตรวจวัดสูงกว่าการกรณีสารละลายมีค่าความเข้มข้นสูง นอกจากนี้ได้ลดปริมาณของสารละลาย DTNB จากเดิมใช้ 250 นาโนโมล จากสารละลายความเข้มข้น 2.50 มิลลิโมลาร์ ปริมาตร 100 ไมโครลิตร ซึ่งมากเกินไปความต้องการ ประกอบกับ DTNB เป็นสารที่ละลายยากต้องละลายในเอทานอล กรณีที่เตรียมความเข้มข้นสูง จึงลดปริมาณสาร DTNB ที่ใช้ลงเหลือเพียง 40 นาโนโมล ด้วยการใส่สารละลายความเข้มข้น 0.40 มิลลิโมลาร์ ปริมาตร 100 ไมโครลิตรแทน ซึ่งให้ค่าอัตราส่วนโดยโมลของสาร DTNB:DTT เป็น 8 เท่า ทั้งนี้จากรายงานวิจัยที่มีการใช้เทคนิคนี้ โดยส่วนใหญ่กำหนดให้อัตราส่วนโดยโมลของสาร DTNB:DTT ไม่น้อยกว่า 4 เท่า [5-9] ซึ่งถือว่าปริมาณสาร DTNB เพียงพอในการเกิดปฏิกิริยา จึงกำหนดให้ใช้ความเข้มข้นนี้ในการทดสอบตัวอย่างต่อไป

การหาค่าศักยภาพการเกิดออกซิเดชันในตัวอย่างฝุ่น $PM_{2.5}$ ด้วยวิธีทดสอบ DTT เป็นการวัดอัตราการลดลงของ DTT เทียบกับเวลาที่สารในตัวอย่างฝุ่นใช้ในการทำปฏิกิริยา แล้วจึงตรวจวัดหาปริมาณ DTT ที่เหลือด้วยการทำปฏิกิริยากับสาร DTNB โดยวัดค่าดูดกลืนแสงของสารผลิตภัณฑ์สีเหลืองที่เกิดขึ้น ทั้งนี้ปริมาณของสารตัวอย่างที่นำมาทดสอบ ต้องมีความเหมาะสม คือมีปริมาณมากพอให้เห็นการเปลี่ยนแปลงของปริมาณ DTT ในช่วงเวลาที่กำหนด ขณะเดียวกันต้องไม่มากเกินไปที่เข้าทำปฏิกิริยากับสาร DTT จนหมดไม่สามารถติดตามอัตราการลดลงได้ ทั้งนี้ขึ้นอยู่กับปริมาณสาร ROS ที่มีในตัวอย่างฝุ่นและค่าฝุ่นของแต่ละตัวอย่างนั้นๆด้วย ในกรณีของตัวอย่างฝุ่นที่นำมาทดสอบในงานวิจัยนี้ เป็นฝุ่นที่เก็บด้วยเครื่องเก็บตัวอย่างอากาศปริมาณสูง ที่อัตราการไหล 1000 ลิตรต่อนาที ใช้เวลาในการสุ่มตัวอย่าง 12 ชั่วโมง มีค่าฝุ่น $PM_{2.5}$ เฉลี่ย 57.8 ± 14.4 ไมโครกรัมต่อลูกบาศก์เมตร ซึ่งการใช้สารละลายตัวอย่างสกัดปริมาณ 100 ไมโครลิตร ที่ได้จากตัวอย่างฝุ่นขนาดเส้นผ่านศูนย์กลาง 1 เซนติเมตร จำนวน 4 แผ่น (น้ำหนักฝุ่น $PM_{2.5}$ อยู่ในช่วง 0.2–0.5 มิลลิกรัม) สกัดด้วยสารละลายฟอสเฟตบัฟเฟอร์ปริมาตร 4 มิลลิลิตร มีความเหมาะสมสำหรับการทดสอบ ดังจะเห็นได้จากผลการติดตามการลดลงของ DTT ในเวลา 30 นาที สามารถวัดค่าการดูดกลืนแสงได้ การลดลงของ DTT มีความสัมพันธ์เชิงเส้นตรง และค่าความชันที่ลดลงของกราฟจากผลของสารละลายตัวอย่างมีค่ามากกว่าความชันจากกราฟของสารละลายตัวอย่างแปลงค้อย่างมีนัยสำคัญ อย่างไรก็ตามหากตัวอย่างที่นำมาวิเคราะห์มีค่าฝุ่นสูงหรือต่ำไปจากที่ใช้ในการทดลองนี้ สามารถลดหรือเพิ่มปริมาณตัวอย่างฝุ่นหรือปริมาตรของสารละลายบัฟเฟอร์ที่ใช้ในการสกัดให้เหมาะสมได้ โดยพิจารณาจากความสัมพันธ์เชิงเส้นตรงของการลดลงของสาร DTT ที่ตรวจวัดได้ในเวลาที่กำหนด

ข้อดีของวิธีที่พัฒนาขึ้นในงานวิจัยนี้คือ ใช้สารรีเอเจนต์และสารละลายตัวอย่างปริมาณน้อยในระดับไมโครลิตร ลดขั้นตอนการวิเคราะห์ที่ยาก จากการใช้ไมโครเพลท 96 หลุม แล้วตรวจวัดด้วยเครื่องไมโครเพลทรีดเดอร์ ทำให้ได้วิธีทดสอบที่ง่าย สะดวก ทำการตรวจวัดได้อย่างรวดเร็ว สามารถวางแผนการทดลองให้สามารถวิเคราะห์สารละลายตัวอย่างฝุ่นสกัดจำนวน 3 ตัวอย่าง ๆ ละ 3 ซ้ำ พร้อมเทียบกับสารละลายแปลงค้สกัดได้ในเวลาเพียง 40 นาที ซึ่งช่วยลดผลของสภาวะแวดล้อมที่มีต่อ

การวิเคราะห์ที่ได้ดีกว่าการตรวจวัดด้วยเครื่องยูวี-วิสิเบิลสเปกโตรมิเตอร์ ที่ตรวจวัดสารละลายได้ทีละตัวอย่าง ทำให้ใช้เวลาในการตรวจวัดนานและมีผลกระทบจากปัจจัยทางสภาวะแวดล้อม เช่น อุณหภูมิ และแสง ซึ่งเป็นผลให้มีความคลาดเคลื่อนสูง

ค่าศักยภาพการเกิดออกซิเดชันของตัวอย่างฝุ่น $PM_{2.5}$ ช่วงวิกฤตหมอกควันของจังหวัดเชียงใหม่

วิธีทดสอบ DTT อย่างง่ายที่ได้พัฒนาขึ้น ได้นำมาทดสอบกับตัวอย่างฝุ่น $PM_{2.5}$ ที่เก็บช่วงเวลากลางวัน (07:00–19:00 นาฬิกา) ในเดือนมีนาคม-เมษายน ปี พ.ศ. 2565 จำนวน 12 ตัวอย่าง ซึ่งเป็นช่วงวิกฤตหมอกควันของจังหวัดเชียงใหม่รวมถึงหลายจังหวัดภาคเหนือตอนบนของประเทศไทย พบว่ามีค่าฝุ่น $PM_{2.5}$ เฉลี่ย 57.8 ± 14.4 ไมโครกรัมต่อลูกบาศก์เมตร มีค่าเฉลี่ยของค่าศักยภาพการออกซิเดชันของฝุ่นเทียบกับปริมาตรอากาศ (OPv) มีค่าเป็น 0.304 ± 0.133 นาโนโมลต่อนาที่ต่อลูกบาศก์เมตร โดยที่ค่า OPv ซึ่งบ่งชี้ถึงความเสี่ยงต่อการสัมผัสอากาศของมนุษย์ มีความสัมพันธ์เชิงเส้นตรงกับค่าฝุ่น $PM_{2.5}$ ($r = 0.879$) แสดงให้เห็นว่าอันตรายจากการสัมผัสมีความรุนแรงมากขึ้นเมื่อค่าฝุ่นสูงขึ้น ทั้งนี้ค่าที่วิเคราะห์ได้มีค่าใกล้เคียงกับผลการวิจัยที่ประเทศไต้หวันมีค่า 0.32 ± 0.13 และ 0.43 ± 0.11 นาโนโมลต่อนาที่ต่อลูกบาศก์เมตร สำหรับตัวอย่างที่เก็บในช่วงเวลา 10:00–15:00 และ 16:00–21:00 นาฬิกาตามลำดับ [9] มีค่าใกล้เคียงกับข้อมูลเฉลี่ยรายปีของงานวิจัยที่เก็บตัวอย่างในเมือง Beijing, Shanghai, Hangzhou ของประเทศจีนที่มีค่า OPv เป็น 0.19, 0.13, 0.62 นาโนโมลต่อนาที่ต่อลูกบาศก์เมตร ตามลำดับ แต่มีค่าต่ำกว่าข้อมูลเฉลี่ยรายปีที่รายงานไว้สำหรับเมือง Jinzhou และ Tianjin ที่มีค่า 4.4 และ 6.8 นาโนโมลต่อนาที่ต่อลูกบาศก์เมตร [7,8]

ค่าเฉลี่ยของค่าศักยภาพการออกซิเดชันของฝุ่นเทียบกับปริมาณฝุ่น (OPm) มีค่าเป็น 5.05 ± 1.65 พิโคโมลต่อนาที่ต่อไมโครกรัม ซึ่งมีค่าใกล้เคียงกับค่าเฉลี่ยรายปีของเมือง Hangzhou ของประเทศจีนที่มีค่า OPm เป็น 6.39 พิโคโมลต่อนาที่ต่อไมโครกรัม [8] ซึ่งถือว่าเป็นค่าที่ต่ำกว่าที่มีรายงานทั่วไป ทั้งนี้มีค่าน้อยกว่าผลการวิจัยที่มีรายงานไว้ของประเทศไต้หวันประมาณ 6–8 เท่า [9] จากค่าที่วิเคราะห์ได้พบว่ามีค่า OPm ต่ำบ่งชี้ถึงความเป็นพิษจากการเกิดออกซิเดชันของสารที่อยู่ในตัวอย่างฝุ่นที่ต่ำ เนื่องจากองค์ประกอบทางเคมีของฝุ่นในแต่ละพื้นที่ในแต่ละช่วงเวลามีความแตกต่างกัน จึงส่งผลให้ศักยภาพการเกิดออกซิเดชันมีค่าต่างกันไป ทั้งนี้ควรทำการเก็บตัวอย่างและทำการวิเคราะห์จำนวนมากขึ้นเพื่อเป็นตัวแทนข้อมูลที่ถูกต้องของพื้นที่ต่อไป

สรุปผลการวิจัย

วิธีทดสอบ DTT อย่างง่ายที่พัฒนาขึ้นสามารถนำไปใช้ในการประเมินศักยภาพการออกซิเดชันของตัวอย่างฝุ่นได้ โดยมีข้อดีคือ ใช้สารเคมีที่เกี่ยวข้องในการทดสอบเฉพาะที่จำเป็น เป็นการประหยัดค่าใช้จ่าย ใช้สารละลายตัวอย่างปริมาณน้อยในระดับไมโครลิตร ลดขั้นตอนการวิเคราะห์ที่ยุ่งยาก ทำการวิเคราะห์ได้อย่างสะดวก รวดเร็ว ลดผลกระทบจากสภาวะแวดล้อมที่มีต่อการวิเคราะห์ เป็นผลทำให้ค่าที่วิเคราะห์ได้มีความเที่ยง สามารถนำไปวิเคราะห์ตัวอย่างฝุ่น $PM_{2.5}$ ในช่วงหมอกควันของจังหวัดเชียงใหม่ได้ โดยให้ค่าศักยภาพการออกซิเดชันที่มีแนวโน้มเป็นไปในทิศทางเดียวกันกับค่าฝุ่น และค่าที่คำนวณได้อยู่ในช่วงเดียวกันกับผลงานวิจัยที่มีรายงานไว้ก่อนหน้านี้ อย่างไรก็ตามควรทำ

การเปรียบเทียบกับวิเคราะห์โดยวิธีมาตรฐานหรือวิธีที่มีการยอมรับด้วยจำนวนตัวอย่างที่มากพอ เพื่อความถูกต้องและความน่าเชื่อถือของข้อมูลมากยิ่งขึ้น

กิตติกรรมประกาศ

งานวิจัยนี้ได้รับทุนอุดหนุนจากมหาวิทยาลัยราชภัฏเชียงใหม่ ปีงบประมาณ พ.ศ.2567 ขอขอบคุณห้องปฏิบัติการวิจัยเคมีสิ่งแวดล้อม คณะวิทยาศาสตร์ มหาวิทยาลัยเชียงใหม่ สำหรับการสนับสนุนตัวอย่างฝุ่นและงบประมาณบางส่วนสำหรับอุปกรณ์ สารเคมีในการทำวิจัย

เอกสารอ้างอิง

- [1] เกวลิน อินทวง และ ชาคริต โชติอมรศักดิ์. (2565). ความสัมพันธ์ของจุดความร้อนในพื้นที่ภาคเหนือตอนบนของประเทศไทยและพื้นที่โดยรอบต่อค่าความเข้มข้น $PM_{2.5}$: กรณีศึกษาช่วงฤดูหมอกควัน พ.ศ.2562. *วารสารวิชาการพระจอมเกล้าพระนครเหนือ*, 33(2), 588–600.
- [2] Kraisitnitikul, P., Thepnuan, D., Chansuebsri, S., Yabueng, N., & Wiriya, W. (2024). Contrasting compositions of $PM_{2.5}$ in Northern Thailand during La Niña (2017) and El Niño (2019). *Journal of Environmental Sciences*, 135, 585–599.
- [3] Thepnuan, D., Chantara, S., Lee, C. Te, Lin, N. H., & Tsai, Y. I. (2019). Molecular markers for biomass burning associated with the characterization of $PM_{2.5}$ and component sources during dry season haze episodes in Upper South East Asia. *Science of the Total Environment*, 658, 708–722.
- [4] Thepnuan, D., & Chantara, S. (2020). Characterization of $PM_{2.5}$ -bound polycyclic aromatic hydrocarbons in Chiang Mai, Thailand during biomass open burning period of 2016. *Applied Environmental Research*, 42(3), 11–24.
- [5] Borlaza, L. J. S., Cosep, E. M. R., Kim, S., Lee, K., Joo, H., Park, M., Bate, D., Cayetano, M. G., & Park, K. (2018). Oxidative potential of fine ambient particles in various environments. *Environmental Pollution*, 243, 1–26.
- [6] Jiang, H., Ahmed, C. M. S., Canchola, A., Chen, J. Y., & Lin, Y. H. (2019). Use of dithiothreitol assay to evaluate the oxidative potential of atmospheric aerosols. *Atmosphere*, 10(10), 571, 1–21.
- [7] Liu, W. J., Xu, Y. S., Liu, W. X., Liu, Q. Y., Yu, S. Y., Liu, Y., Wang, X., & Tao, S. (2018). Oxidative potential of ambient $PM_{2.5}$ in the coastal cities of the Bohai Sea, northern China: seasonal variation and source apportionment. *Environmental Pollution*, 236, 514–528.
- [8] Wang, J., Lin, X., Lu, L., Wu, Y., Zhang, H., Lv, Q., Liu, W., Zhang, Y., & Zhuang, S. (2019). Temporal variation of oxidative potential of water-soluble components of ambient $PM_{2.5}$ measured by dithiothreitol (DTT) assay. *Science of The Total Environment*, 649, 969–978.

- [9] Hsiao, T. C., Chou, L. T., Pan, S. Y., Young, L. H., Chi, K. H., Chen, A. Y. (2021). Chemically and temporally resolved oxidative potential of urban fine particulate matter. *Environmental Pollution*, 291, 118206.
- [10] Mettakoonpitak, J., Sawatdichai, N., Thepnuan, D., Siripinyanond, A., Henry, C. S., & Chantara, S. (2023). Microfluidic paper-based analytical devices for simultaneous detection of oxidative potential and copper in aerosol samples. *Microchimica Acta*, 190(6), 241.
- [11] Sameenoi, Y., Panymeesamer, P., Supalakorn, N., Koehler, K., Chailapakul, O., Henry, C. S., & Volckens, J. (2012). A Microfluidic Paper-based Analytical Device (μ PAD) for Aerosol Oxidative Activity. *Environmental Science and Technology*, 47(2), 932–940.