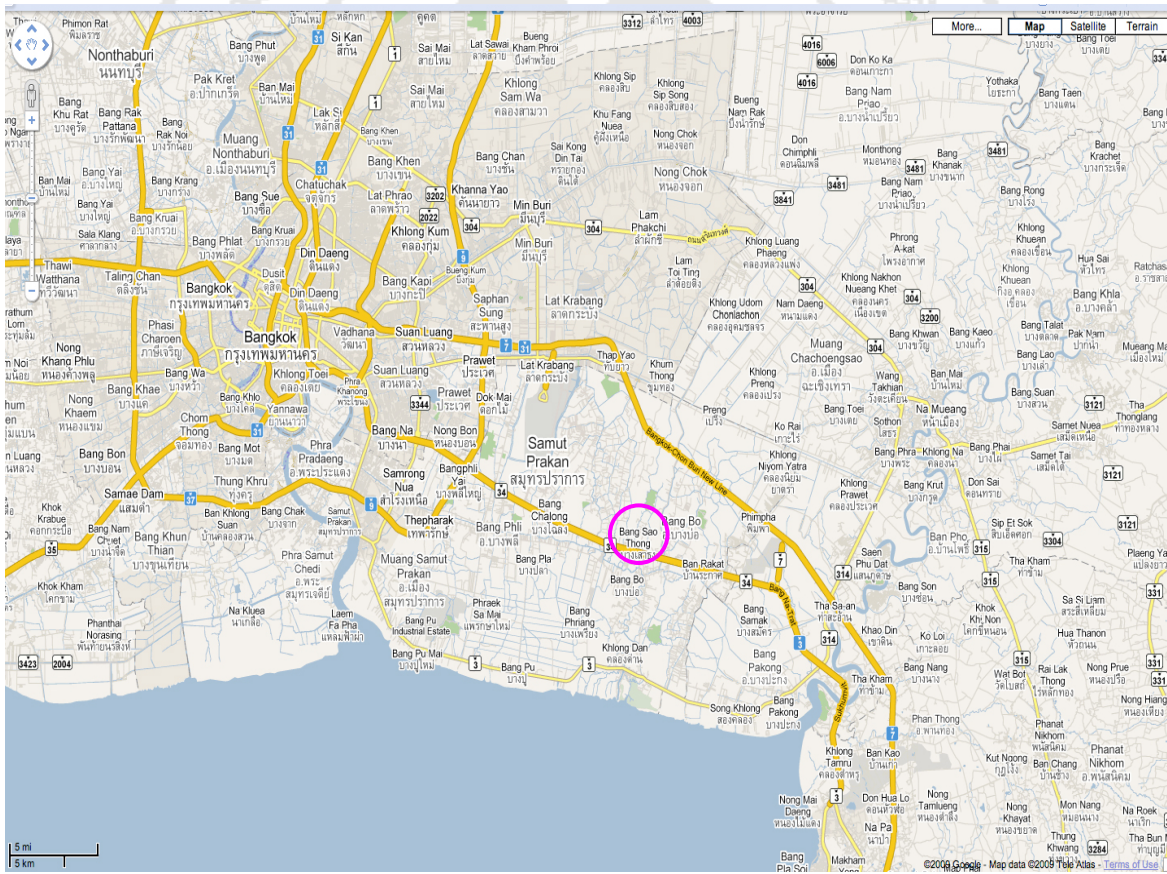


## บทที่ 2

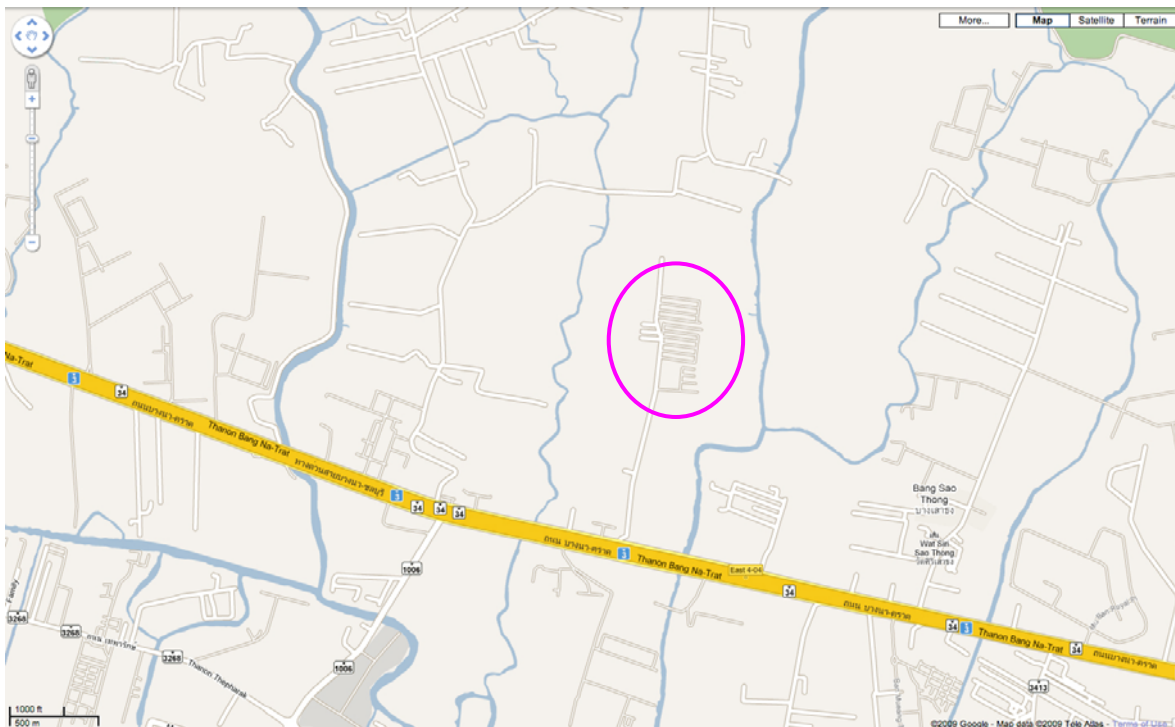
### ระเบียบวิธีวิจัย

#### ตำแหน่งที่เก็บตัวอย่าง

ที่ตั้งเครื่องมือวิจัยสำรวจสารก่อภูมิแพ้ในอากาศอยู่ที่ชุมชนนอกเขตใจกลางอำเภอบางเสาธง จังหวัดสมุทรปราการ พิกัดที่ เส้นรุ้งที่  $13^{\circ} 36' 14.95''$  เหนือ เส้นแวงที่  $100^{\circ} 49' 5.16''$  ตะวันออก ห่างจากอำเภอเมืองสมุทรปราการไปทางทิศตะวันตกเฉียงใต้ 34 กิโลเมตร มหาวิทยาลัยหัวเฉียวเฉลิมพระเกียรติไปทางทิศตะวันออก 7.8 กิโลเมตร ท่าอากาศยานสุวรรณภูมิไปทางทิศตะวันตกเฉียงเหนือ 27 กิโลเมตร (รูปที่ 1,2,3)<sup>26</sup>



รูปที่ 1 แผนที่แสดงตำแหน่งที่เก็บตัวอย่างสารก่อภูมิแพ้ในอากาศ



รูปที่ 2 แผนที่แสดงตำแหน่งชุมชนที่เก็บตัวอย่างสารก่อภูมิแพ้ในอากาศ



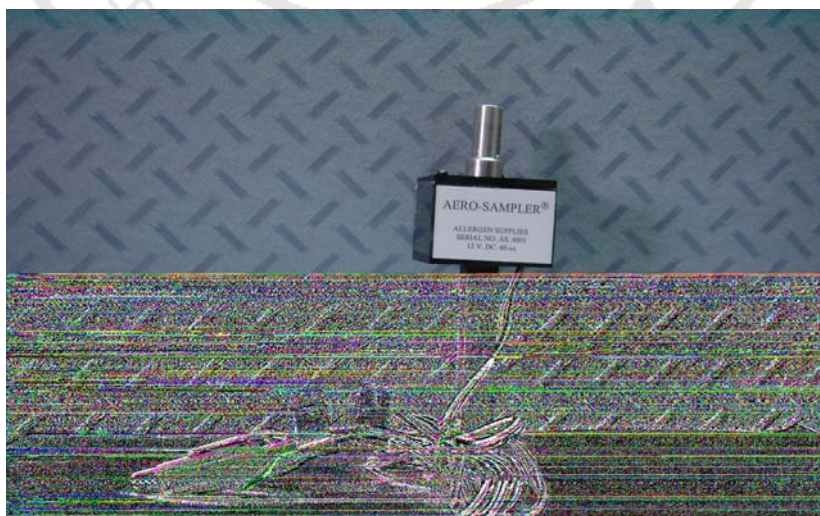
รูปที่ 3 ภาพถ่ายทางอากาศแสดงบริเวณโดยรอบสถานที่เก็บตัวอย่างสารก่อภูมิแพ้ในอากาศ





รูปที่ 4 ภาพถ่ายทางอากาศแสดงรายละเอียดของพื้นที่ชุมชนที่เก็บตัวอย่างสารก่อภูมิแพ้ในอากาศ  
 เครื่องมือที่ใช้ในการทดลอง  
 เครื่องมือเก็บตัวอย่างสารก่อภูมิแพ้ในอากาศ

**Aerosampler** - Allergen Supplies, Bangkok, Thailand (รูปที่ 5)  
 เป็นเครื่องมือที่ใช้พลังงานไฟฟ้ากระแสตรง 12 Volts ขับให้แกนกลางหมุนด้วยความเร็ว 2600 รอบ ต่อ  
 นาที



รูปที่ 5 Aerosampler

### Rotating arm และ collecting rods (รูปที่ 6)

แขนสำหรับประกอบเครื่อง Aerosampler ขนาดเส้นผ่าศูนย์กลางของแขน 85 เซนติเมตร ใช้ยึดติดกับแกนของ Aerosampler ในแนวตั้ง ทั้ง 2 ข้าง มีร่องสำหรับเสียบแท่ง collecting rods

**Collecting rods** เป็นแท่งพลาสติกใส สีเหลืองยาว ขนาด 1.5 x 1.5 x 55 มิลลิเมตร ใช้เสียบใน collecting arm ทั้ง 2 ข้าง

เมื่อเครื่องมือนี้ทำงาน จะมีอากาศผ่าน collecting rods ทั้ง 2 ข้าง 0.26 ลูกบาศก์เมตร ต่อ ชั่วโมง



รูปที่ 6 Rotating arm และ Collecting rods

**Microscopic stage adapter** เป็นแผ่นพลาสติกหนา มีขนาดเท่ากับ Glass slide ธรรมดา ด้านบนมีร่องสำหรับวาง collecting rods เพื่อส่องดูด้วยกล้องจุลทรรศน์

กล้องจุลทรรศน์ กำลังขยาย x 40, x 100 และ x 400 เท่า

**Digital Microscopic Camera รุ่น Moticam 1000** – Motic Inc. Ltd., Hong Kong

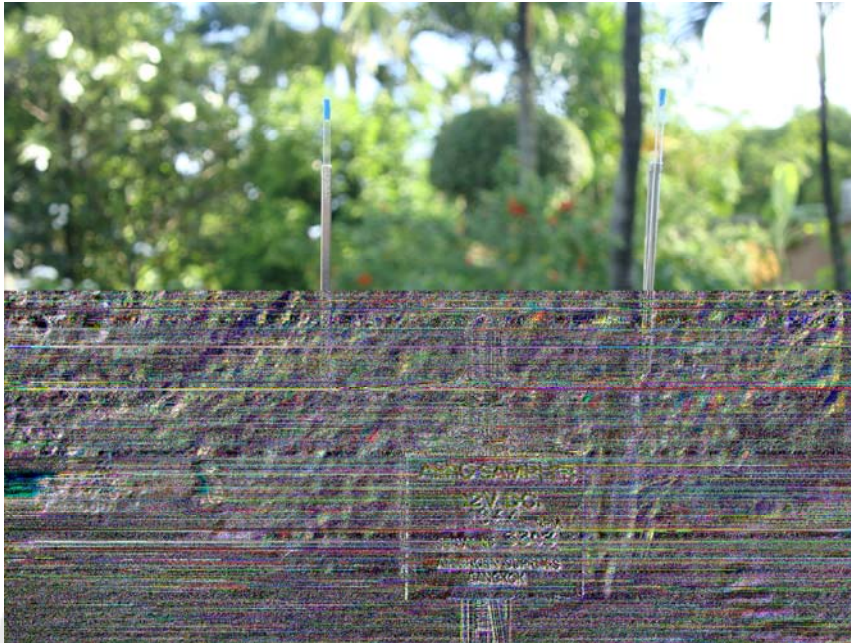
### สารเคมี

**Silicone grease** ใช้เคลือบผิว collecting rods เพื่อจับสารก่อภูมิแพ้ในอากาศ

**Calberla's solution** \* ใช้สำหรับย้อมสีเกสรพืชที่ติดอยู่บน collecting rods

\* Calberla's solution ส่วนผสม : Glycerin 5 ml., 95% Alcohol 10 ml., Distilled water 15 ml., Saturated aqueous solution of basic fuchsin 2 gtt.

## การเก็บตัวอย่างสารก่อภูมิแพ้ในอากาศ (รูปที่ 7)



รูปที่ 7 การเก็บตัวอย่างสารก่อภูมิแพ้ในอากาศ

เคลือบผิวของ collecting rods 2 แท่ง ด้วย silicone grease  
 เชื้อย collecting rods บน rotating arm ทั้ง 2 ข้าง ให้ด้านที่เคลือบ silicone grease อยู่ด้านนอก  
 ตั้งเครื่อง Aerosampler ให้อยู่สูงกว่าพื้นบริเวณที่จะสำรวจประมาณ 1.5-2 เมตร  
 ต่อแบตเตอรี่ให้เครื่องทำงาน collecting arm จะหมุนตามเข็มนาฬิกา ด้วยความเร็ว 2600 รอบ ต่อ นาที  
 เก็บตัวอย่าง ครั้งละ 60 นาที  
 การเก็บตัวอย่างทำในเวลาเดียวกันทุกครั้ง คือเวลา 08.00 – 09.00 น.  
 เก็บตัวอย่างสัปดาห์ละ 3 ครั้ง ในวันอังคาร พฤหัสบดี และวันเสาร์  
 ครบ 60 นาที หยุดเครื่อง แล้วรวบรวม collecting rods ที่มีตัวอย่างสารก่อภูมิแพ้ในอากาศไว้ใน  
 กล่อง ตามลำดับครั้ง บันทึกวัน เดือน ปี ที่เก็บตัวอย่าง พร้อมทั้งบันทึกสภาพอากาศ  
 เมื่อครบ 4 สัปดาห์ (1 เดือน) นำ collecting rods ทั้งหมดไปตรวจด้วยกล้องจุลทรรศน์ต่อไป

### การย้อมสี

วาง collecting rods บน stage adaptor ให้ด้านที่เคลือบ silicone grease อยู่ข้างบน  
 ย้อมด้วยน้ำยา Calberla เป็นเวลา 2 นาที  
 ล้างด้วยน้ำกลั่น ทิ้งให้แห้ง แล้วตรวจชนิดและปริมาณสารก่อภูมิแพ้ในอากาศโดยกล้องจุลทรรศน์



การย้อม collecting rods ด้วยน้ำยา Calberla ที่ basic fuchsin จะจับกับโปรตีนของเกสรพืชเห็นเป็นสีชมพู ส่วนสปอร์เชื้อราไม่ติดสี ยังคงมีสีเหลืองปนน้ำตาล หรือสีอื่นๆ ตามลักษณะเฉพาะของสปอร์เชื้อราแต่ละชนิด

#### การตรวจชนิดและปริมาณสารก่อภูมิแพ้ในอากาศ

วาง collecting rod บน stage adapter ที่สะอาดอีกแผ่นหนึ่ง แล้วตรวจดูด้วยกล้องจุลทรรศน์ ด้วยกำลังขยาย x 40, x 100 และ x 400 เท่า

ตรวจแยกชนิดเกสรพืช และสปอร์เชื้อราชนิดต่างๆ โดยเทียบกับ slide อ้างอิงที่รวบรวมไว้ และเทียบกับข้อมูลจากวารสารอ้างอิงต่างๆ นับจำนวนเกสรพืช และสปอร์เชื้อราแต่ละชนิด<sup>27,28,29,30,31,32,33</sup>

เลือกบันทึกภาพเกสรพืชและสปอร์เชื้อราแต่ละชนิดที่ชัดเจน เก็บเป็นตัวอย่างลงในคอมพิวเตอร์ โดยใช้ digital microscopic camera

