

บทที่ 3

วิธีดำเนินการวิจัย

รูปแบบการวิจัย

การศึกษานี้เป็นการศึกษาเพื่อเปรียบเทียบระดับโลหะแคดเมียม ทองแดง สังกะสี และตะกั่ว กับเมทิลโลทัยโอนินในเลือดในพนักงานเชื่อมที่รับสัมผัสฝุ่นของโลหะ ประเภท แคดเมียม ทองแดง สังกะสี และตะกั่ว โดยรูปแบบการศึกษาเชิงทดลอง

ประชากรศึกษาและตัวอย่าง

ประชากร

ประชากรในการศึกษานี้เป็นพนักงานที่มีการรับสัมผัสงานเชื่อมโลหะในบริษัทแห่งหนึ่ง ที่ปฏิบัติหน้าที่เชื่อมโลหะในแผนกเชื่อมโลหะ ซึ่งมีจำนวนทั้งสิ้น 45 คน

ตัวอย่าง

ในการศึกษานี้จะทำการศึกษาในพนักงานเชื่อมทั้งหมดจำนวน 45 คน อย่างไรก็ตาม เพื่อให้สามารถตอบวัตถุประสงค์ของงานวิจัยได้อย่างถูกต้องจึงทำการสุ่มตัวอย่างพนักงานที่ไม่ได้ปฏิบัติหน้าที่ในการเชื่อมอีก 37 คน

การเก็บรวบรวมข้อมูล

เครื่องมือที่ใช้ในการเก็บรวบรวมข้อมูล

1. แบบสัมภาษณ์พนักงานเชื่อม

เป็นเครื่องมือในการเก็บรวบรวมข้อมูลที่เกี่ยวข้องกับพนักงานเชื่อม โดยการสัมภาษณ์ ซึ่งเนื้อหาประกอบด้วย 4 ส่วน ดังแนบในภาคผนวก

ส่วนที่ 1 ลักษณะทางประชากรและสังคม

ส่วนที่ 2 สภาพการทำงานของพนักงานเชื่อมในปัจจุบันและประสบการณ์การ

ทำงานที่ผ่านมา

ส่วนที่ 3 การปฏิบัติตนเพื่อป้องกันโรคและการใช้อุปกรณ์ป้องกันอันตรายส่วนบุคคล

ส่วนที่ 4 ประวัติโรคระบบทางเดินหายใจ และประวัติการสูบบุหรี่

2. เครื่องมือการเก็บตัวอย่างเลือดและตรวจวัดระดับโลหะในเลือด

เครื่องมือใช้ในการตรวจวัดสารโลหะในเลือด เป็นเครื่องอะตอมมิกแอบซอร์พชัน

สเปกโตรโฟโตมิเตอร์ ซึ่งได้รับความอนุเคราะห์จากสถาบันพยาธิวิทยา กรมการแพทย์ กระทรวง

สาธารณสุข สำหรับอุปกรณ์ในการเจาะเลือดใช้หลอดสุญญากาศที่เคลือบด้วย Heparin สำลี แอลกอฮอล์ 70% และ พลาสเตอร์ปิดแผล

วิธีการเก็บรวบรวมข้อมูล

1. การสัมภาษณ์ผู้ปฏิบัติงาน

การสัมภาษณ์พนักงานเชื่อมในแผนกเชื่อมในโรงงานผลิตลิฟท์และบันไดเลื่อนใน จังหวัด ชลบุรี ตามแบบสัมภาษณ์ที่ผู้วิจัยสร้างขึ้น ใช้เวลาประมาณ 20-25 นาที และมีการสังเกต สภาพการทำงาน การปฏิบัติตนต่าง ๆ เพื่อตรวจสอบถูกต้อง

2. การเก็บตัวอย่างเลือดเพื่อทำการวิเคราะห์ระดับแคลเซียม สังกะสี ตะกั่วและทองแดง ในเลือดและตรวจหาเมทิล โลหัยโอนิน

ทำการเก็บตัวอย่างเลือดพนักงานที่ทำการสัมภาษณ์แล้ว โดยวิธีการเจาะที่เส้นเลือดดำที่ ข้อพับแขน ใช้เลือดปริมาณ 10 ซีซี ใส่ในหลอดแก้วที่เตรียมและใส่สาร Heparins ไว้เรียบร้อยแล้ว เป็นจำนวน 5 ซีซี เพื่อทำการตรวจระดับโลหะในเลือดและใส่ในหลอดหลอดสุญญากาศเปล่า 5 ซีซี เพื่อตรวจเมทิล โลหัยโอนิน ปิดฉลาก เขียนชื่อ และรายละเอียด และปิดผนึกให้เรียบร้อย เก็บรักษาที่อุณหภูมิ 4 องศาเซลเซียสก่อนนำมาทำการตรวจวิเคราะห์

อุปกรณ์ในการตรวจระดับโลหะในเลือด

1. บีกเกอร์ ขนาด 150 มิลลิลิตร
2. ขวดวัดปริมาตร (Volumetric Flask) ขนาด 10, 50, 100, 500, 1000 มิลลิลิตร
3. ปิเปตวัดปริมาตร (Transfer Pipette) ขนาดต่าง ๆ และ Automatic Pipette ขนาด 100 μ l 1,000 μ l และ 5,000 μ l
4. กระชอนาฬิกาที่มีความสามารถปิดปากบีกเกอร์ได้
5. ขวด Polyethylene ขนาด 50-125 ml
6. Parafilm ชนิด Thermoplastic ไม่มีสี
7. ขวดน้ำกลั่น
8. String Rod
9. หลอดพลาสติกที่มีฝาสำหรับ เครื่องปั่นเหวี่ยง (Polyethylene Centrifuge Tube)
10. เครื่องผสมสาร (Vortex Mixer)
11. เครื่องปั่นเหวี่ยง (Centrifuge)
12. เครื่องอะตอมมิคแอบซอร์พชั่น สเปกโตรมิเตอร์

สารเคมี

1. กรดไนตริกเข้มข้น (HNO_3) ซึ่งนำมากลั่นด้วยเครื่องกลั่นกรดอีกครั้งหนึ่ง เพื่อให้ปริมาณโลหะที่ต้องการวิเคราะห์มีสิ่งปนเปื้อนน้อยที่สุด

2. น้ำกลั่นปราศจากไอออน

3. สารละลายมาตรฐานของแคดเมียม ทองแดง และ สังกะสี และตะกั่ว

4. Modifier Solution (อาจใช้ $(\text{NH}_4)_2\text{HPO}_4$, $\text{NH}_4\text{H}_2\text{PO}_4$ หรือ Magnesium Nitrate)

5. 10% กรดไนตริก

6. 5% กลีเซอรอล

การทำความสะอาดเครื่องแก้วก่อนที่จะนำมาวิเคราะห์

เครื่องแก้วที่จะนำมาวิเคราะห์ต้องนำมาทำความสะอาดดังนี้

1. ล้างเครื่องแก้วด้วยน้ำยาทำความสะอาดเครื่องแก้วล้างด้วยน้ำประปา

2. แช่ในกรดไนตริกเข้มข้น 20 เปอร์เซ็นต์เป็นเวลา 24 ชั่วโมง

3. ล้างด้วยน้ำกลั่นปราศจากไอออน 3 ครั้ง

4. ล้างด้วยน้ำปราศจากไอออน 2 ครั้ง

5. นำเข้าไปในห้องปราศจากฝุ่น

การวิเคราะห์โลหะในเลือด

วิธีการวิเคราะห์สารแคดเมียมในเลือด โดยใช้วิธีของ (Anger & Schaller, 1985)

สารเคมีและสารมาตรฐาน

1. เตรียมสารละลายมาตรฐานแคดเมียม 10 mg/l จากสารละลายสต็อกที่มีความเข้มข้น 1000 mg/l โดยดูดสต็อก 1 ml เติมน้ำกลั่นให้ครบ 100 ml

2. เตรียมสารละลายมาตรฐาน 1 mg/l โดยดูดสารละลายมาตรฐาน 10 mg/l จำนวน 1 ml เติมน้ำกลั่นให้ครบ 10 ml

3. เตรียมสารละลายมาตรฐาน 10 µg/l โดยดูดสารละลายมาตรฐาน 1 µg/l จำนวน 1 ml เติมนอร์มัลกรดไนตริกให้ครบ 100 ml

4. เตรียมสารละลายมาตรฐานระดับความเข้มข้น 0.5, 1, 2, 4, 8 µg/l (Working Standard) โดยดูดสารละลายมาตรฐาน 10 µg/l 0.5, 1, 2, 4, 8 ml ตามลำดับ เติมนอร์มัลกรดไนตริกให้ครบ 10 ml

วิธีการ

1. ตัวอย่างเลือด สารละลายมาตรฐาน (Working Standard) และ 1 นอร์มัล กรดไนตริก ใช้เป็นแบล็ก (Blank) ใส่หลอดทดลองแยกกันอย่างละ 0.5 ml

2. เตรียมสารละลาย Matrix Modifier สำหรับเจือจาง 0.1 ml ทุกหลอด ผสมให้เข้ากันด้วยเครื่องผสมสาร เติม 1 นอร์มัล กรดไนตริก 0.5 ml ทุกหลอด ผสมให้เข้ากันด้วยเครื่องผสมสาร
3. นำไปปั่นด้วยเครื่องปั่นเหวี่ยงที่ 2,000 รอบ/ นาที นาน 10 นาที จล็ดส่วนใส 20 μ l เข้าเครื่องกราไฟท์เฟอร์ในสโตะตอมมิกแอบซอร์พชันสเปกโตรมิเตอร์
4. ทำกราฟมาตรฐาน (Calibration Curve) และตรวจวัดปริมาณโลหะในเลือด รวมทั้งมีการควบคุมคุณภาพโดยใช้เลือดซึ่งมีสารมาตรฐานแคดเมียมที่ทราบค่าแน่นอนเป็นตัวอย่างควบคุมคุณภาพการตรวจวิเคราะห์และตัวอย่างทุกตัวอย่างทำการตรวจวิเคราะห์สองครั้ง

วิธีการวิเคราะห์สารทองแดงในเลือด โดยใช้วิธีของ (Weinstock & Uhleman, 1981)

1. เตรียมสารละลายมาตรฐานทองแดง 10 mg/l จากสารละลายสต็อกที่มีความเข้มข้น 1000 mg/l โดยดูดสต็อก 1 ml เติม 10% กลีเซอรอลให้ครบ 100 ml
2. เตรียมสารละลายมาตรฐานระดับความเข้มข้น 1, 2, 4, μ g/l (Working Standard) โดยดูดสารละลายมาตรฐาน 10 μ g/l 10, 20, 40 ml ตามลำดับ เติม 10% กลีเซอรอลให้ครบ 100 ml

วิธีการ

1. นำพลาสมา มาตั้งทิ้งไว้ที่อุณหภูมิห้องจนละลาย เขย่าให้เข้ากัน
2. ดูดพลาสมา 1 ml ใส่ในหลอด
3. เติมน้ำกลั่น 1 ml ผสมให้เข้ากัน ด้วยเครื่องผสมสาร
4. นำตัวอย่างพลาสมา สารละลายมาตรฐาน (Working Standard) และ 10% กลีเซอรอล (ใช้เป็นแบล็ก) มาทำการตรวจวิเคราะห์หาปริมาณทองแดงด้วยเครื่องเฟลมอะตอมมิกแอบซอร์พชัน สเปกโตรมิเตอร์

การแปลผล

ค่าระดับปกติของทองแดงในพลาสมา 0.7-1.4 mg/l หรือ 70-140 ไมโครกรัมเปอร์เซ็นต์

การวิเคราะห์สังกะสีในเลือด โดยใช้วิธีของ (Smith, Boekx, Lyan & Spencer, 1979)

1. เตรียมสารละลายมาตรฐานสังกะสี 10 mg/l จากสารละลายสต็อก ที่มีความเข้มข้น 1000 mg/l โดยดูดสต็อก 1 ml เติม 5% กลีเซอรอลให้ครบ 100 ml
2. เตรียมสารละลายมาตรฐานระดับความเข้มข้น 0.1, 0.2, 0.3, 0.4 μ g/l (Working Standard) โดยดูดสารละลายมาตรฐาน 10 μ g/l 1, 2, 3, 4 ml ตามลำดับ เติม 5% กลีเซอรอลให้ครบ 100 ml

วิธีการ

1. นำพลาสมา มาตั้งทิ้งไว้ที่อุณหภูมิห้องจนละลาย เขย่าให้เข้ากัน
2. ดูดพลาสมา 0.5 ml ใส่ในหลอดพลาสติก

3. เติมน้ำกลั่น 2 ml ผสมให้เข้ากัน ด้วยเครื่องผสมสาร

4. นำตัวอย่างพลาสมา สารละลายมาตรฐาน (Working Standard) และ 5% กลีเซอรอล (ใช้เป็นแบล็ก) ทำการตรวจวิเคราะห์ปริมาณสังกะสี ด้วยเครื่องเฟลมอะตอมมิกแอบซอร์พชัน-สเปกโตรมิเตอร์

การแปลผล

ค่าระดับปกติของสังกะสีในพลาสมา 0.5-1.2 mg/l หรือ 50-120 ไมโครกรัม เปอร์เซ็นต์

การวิเคราะห์ตะกั่วในเลือด โดยใช้วิธีของ (Bosnak, Bradshaw, Hergenreder, & Kingston, 1993)

1. เตรียมสารละลายมาตรฐาน 10 mg/l (Intermediate Standard) จาก Standard Stock 1,000 mg/l โดยดูดสต็อก 1ml แล้วเติม 1% กรดไนตริก ให้ครบ 100 ml
2. เตรียมสารละลายมาตรฐาน 50, 100, 200, 400 µg/l (Working Standard) โดยดูดสารละลายมาตรฐาน 10 mg/l เติม 1% กรดไนตริกให้ครบ 10 ml แล้วเทใส่หลอดพลาสติก
3. เตรียมตัวอย่างควบคุม (Quality Control) ซึ่งเป็นชนิด Lyophilized นำมาเติมน้ำกลั่น 5 ml ตั้งทิ้งไว้ที่อุณหภูมิห้องเป็นเวลา 1 ชั่วโมง แล้วมาผสมให้เข้ากันด้วยเครื่องผสมสาร ใส่ในเครื่องล้างทำความสะอาดด้วยความถี่สูง 5 นาทีแล้วนำมาผสมให้เข้ากันด้วยเครื่องผสมสาร 10-15 นาที แบ่งใส่หลอดเล็ก ๆ หลอดละ 0.5 ml เก็บไว้ที่อุณหภูมิ -4 องศาเซลเซียส ตัวอย่างควบคุมใช้ต่อการวิเคราะห์ 1 ครั้ง

วิธีการ

การตรวจวิเคราะห์ตะกั่วในเลือดโดยนำตัวอย่างเลือด สารละลายมาตรฐาน และ 1% กรดไนตริก (ใช้เป็นแบล็ก, Blank) ใส่หลอดทดลองแยกกันอย่างละ 0.1ml เติมสารละลายเจือจาง $\text{NH}_4\text{H}_2\text{PO}_4 + 0.1\% \text{Triton X-100}$ ในน้ำกลั่น 0.9 ml ทุกหลอดผสมให้เข้าเป็นเนื้อเดียวด้วยเครื่องผสมสารชนิด 20 µl เข้าเครื่องกราฟิฟเฟอร์แนสอะตอมมิกแอบซอร์พชันสเปกโตรมิเตอร์ ทำกราฟมาตรฐานและตรวจวัดปริมาณตะกั่วในเลือด

การศึกษาปริมาณเมทัลโลทัยโอนินในเลือด

หลังจากที่นำเลือดที่ได้จากการเก็บตัวอย่างมาทำการปั่นแยกซีรัมและเก็บไว้ที่อุณหภูมิ -20 องศาเซลเซียส แล้วจะนำมาวิเคราะห์ด้วยวิธีการ Western Blot และ Sodium Dodecyl Sulfate Polyacrylamide Gel Electrophoresis (SDS-PAGE) ซึ่งมีขั้นตอนและวิธีการดังต่อไปนี้การศึกษาปริมาณ Metallothionein ที่สร้างขึ้นในเลือดเพื่อตอบสนองต่อการสัมผัสพุ่มโลหะ (SDS -PAGE/ Western Blot)

วัสดุและอุปกรณ์

1. อ่างน้ำแข็ง (Ice Bath)
2. Auto Pipette and Tip
3. ชุดอุปกรณ์อิเล็กโทรโฟริซิส (Gel Electrophoresis System)
4. ชุดอุปกรณ์ Western Blot
5. แผ่น Nitrocellulose

สารเคมี

1. Standard Protein of Bio –Rad
2. บัฟเฟอร์อิเล็กโตรโฟริซิส (คู่มือการเตรียมในภาคผนวก)
3. 4X Sample Buffer
4. 1.5 M Tris (Running Gel Buffer)
5. 0.5 M Tris (Stracking Gel Buffer)
6. 2X Electrode Buffer
7. 4X Electrode Buffer
8. เจล (คู่มือการเตรียมในภาคผนวก)
9. 4% Stack Acrylamide Gel
10. 15% Separating Acrylamide Gel
11. 30% Acrylamide Mix for SDS Gel
12. บัฟเฟอร์ Western Blot
13. Transfer Buffer
14. Tris Buffer
15. PBS
16. Primary Antibody สำหรับ Rabbit Anti Metallothionein
17. Secondary Antibody สำหรับ Metallothionein คือ Mouse Human Ig A
18. Substate BCIP/ NBT Solution
19. Washing Solution (PBS/ Tween20/ BSA)
20. Blocking Solution

Sodium Dodecyl Sulfate Polyacrylamide Gel Electrophoresis (SDS-PAGE)

วิธีการ

1. ประกอบแผ่นกระจกของชุดอิเล็กโตรโฟรีซิส แล้วนำไปวางบนที่ตั้ง (Stand) ที่ใช้แยก หรือ ในกรณีที่เป็นชุดประกอบสำเร็จให้ปฏิบัติตามคู่มือการใช้เตรียมส่วน ผสมของสารละลาย อะครีไมด์โดยให้ความเข้มข้นของอะครีลาไมด์ในส่วนของ Separating Gel เท่ากับ 15% เจลที่ เตรียมควรมีความหนาตั้งแต่ 0.75 มม. ขึ้นไป

2. เทสารละลายอะครีลาไมด์ลงในช่องระหว่างแผ่นกระจกของชุดอิเล็กโตรโฟรีซิสโดย เหลือส่วนของ Stacking Gel ไว้ประมาณ 1 ชั่วโมง จากนั้นเติมไอโซบิวทานอล (Isobutanol) หรือน้ำกลั่นบนเจลเพื่อป้องกันออกซิเจนยับยั้งการเกิดปฏิกิริยาโพลีเมอไรเซชันของอะครีลาไมด์เจล แล้ววางเจลในแนวตั้งที่อุณหภูมิห้องเพื่อให้เจลแข็งตัว ประมาณ 1 ชั่วโมง

3. เมื่อครบเวลา เทสารละลายด้านบนออก แล้วล้างด้วยน้ำกลั่น 3-4 ครั้ง และซับน้ำ ส่วนเกินออกด้วยกระดาษทิชชู

4. เตรียมสารละลาย อะครีลาไมด์ ในส่วนของ Stacking Gel เท่ากับ 8% เทส่วนของ Stacking Gel ลงบน Separating Gel ใส่ซีหัว ลงไปเพื่อให้เกิดช่องว่างที่จะเติมตัวอย่าง ระมัดระวังให้เกิดฟองอากาศ วางไว้ที่อุณหภูมิห้องให้เจลแข็งตัวประมาณ 30 นาที

5. เตรียมตัวอย่างและโปรตีนมาตรฐาน (Standard Protein) โดยผสมตัวอย่างกับ Sample Buffer และนำโปรตีนมาตรฐานไปต้มในน้ำเดือด เป็นเวลา 5 นาที

6. หลังจาก Stacking Gel แข็งตัวค่อย ๆ นำหัวออกจากเจล แล้วล้างช่องเติมตัวอย่าง ทันทีด้วย น้ำกลั่นเพื่อกำจัดส่วนเกินที่ไม่แข็งตัวออกไป แล้วประกอบเจลลงในชุด

อิเล็กโตรโฟรีซิสบัฟเฟอร์ (Electrophoresis Buffer) ในช่องด้านบนของชุดอุปกรณ์ ให้สารละลาย ท่วมช่องใส่ตัวอย่าง

7. เติมตัวอย่างหรือ Rabbit Anti MT ลงในช่องเติมตัวอย่างของเจลด้วยเข็มฉีดยาขนาดเล็ก (Micro Syringe) หรือปิเปตขนาดเล็ก (Micro Auto Pipette) โดยใช้ปลายเข็มหรือปลายทิวป์ (Tip) จุ่มผ่านชั้น บัฟเฟอร์และอยู่เหนือส่วนกั้นของช่องเติมตัวอย่าง ค่อย ๆ เติมตัวอย่างลงในแต่ละช่อง แล้วบันทึกตัวอย่างที่เติมลงในแต่ละช่อง

8. ต่ออุปกรณ์จ่ายไฟเข้ากับชุดทดลอง ตั้งกระแสไฟฟ้าที่ 100 โวลต์ ตรวจสอบขั้วไฟฟ้า ทั้งสองด้านให้ถูกต้องเนื่องจากโปรตีนในตัวอย่างจะเคลื่อนที่เข้าหาขั้วบวก Maker Bromophenol Blue จะเคลื่อนเข้าสู่ Separating Gel เมื่อสังเกตว่าสีของ Bromophenol Blue เคลื่อนที่ถึงส่วนล่าง ของเจลจึงหยุดจ่ายกระแสไฟฟ้าเข้าสู่ระบบ ค่อย ๆ แยกส่วนของ Stacking Gel ออกตัดมุมของเจล ใกล้บริเวณที่เติมตัวอย่างช่องแรก เพื่อเป็นสัญลักษณ์

9. ค่อย ๆ แกะเจลออกจากกระจกนำไปทดสอบด้วยวิธี Western Immunoblotting ทันที หรือสามารถเก็บไว้ได้ใน Electrophoresis Buffer ที่ 4 องศาเซลเซียส

Western Immunoblotting

หลังจากแยกโปรตีนตามน้ำหนักโมเลกุลด้วย SDS-PAGE แล้วทำการแยกโปรตีนตามแผ่นเจลเข้าสู่แผ่น Nitrocellulose เพื่อจะนำไปทำปฏิกิริยากับแอนติบอดี โดยมีขั้นตอนดังนี้

วิธีการ

1. ตัดแผ่น Nitrocellulose ให้มีขนาดพอดีกับแผ่นเจล แล้วแช่แผ่น Nitrocellulose, กระดาษกรอง และแผ่นฟองน้ำ หลังจากนั้นนำกระดาษและกระดาษกรองแช่ใน Semi Dry Transfer Buffer 20-60 นาที
2. นำแผ่น Nitrocellulose มาประกบกับแผ่นเจล โดยให้แผ่น Nitrocellulose และแผ่นเจลอยู่ด้านบนกระดาษ ประกบทั้ง 2 ด้านด้วยกระดาษกรอง รีดน้ำออก ให้ประกบกันอย่างเรียบสนิท
3. นำเจล และกระดาษกรองไปวางบน Trans-Blot Semi Dry โดยให้ จากนั้นวางกระดาษกรอง แผ่น Nitrocellulose เจลและกระดาษกรองวางชั้นบนสุด ต่ออุปกรณ์จ่ายไฟเข้ากับชุดทดลอง ตั้งกระแสไฟฟ้าที่ 15 โวลต์ เป็นเวลา 30 นาที
4. ถอดแผ่น Nitrocellulose ออกมาแล้วทำการ บล็อก แผ่น Nitrocellulose ด้วย Blocking Solution คือ 5 % Dry Milk ใน Tris Buffer เป็นเวลา 1 ชั่วโมง เพื่อลด Non-Specific Binding ของแอนติบอดี
5. ล้าง Blocking Solution ส่วนเกินออก 3 ครั้งด้วย Washing Solution (PBS/ Tween20/ BSA) 2 ครั้ง โดยแช่ 2-3 นาทีแล้วล้างออกด้วย PBS
6. ทำ Multi Screen Protein โดยเจือจางเลือดตัวอย่างกับ PBS ในอัตราส่วน 1: 10 เตรียม 1,000 ไมโครลิตร หลังจากนั้นหยอดตัวอย่างที่ผสมแล้วบนแผ่น Nitrocellulose บนเครื่อง Multi Screen Protein บ่มทิ้งไว้ 1 ชั่วโมง
7. แช่แผ่น Nitrocellulose ใน Mouse Human IgA (Dilution 1: 1000) วางไว้ที่อุณหภูมิห้อง เป็นเวลา 1 ชั่วโมง บน Rotator Primary Antibody
8. ล้างเอาแผ่นแอนติบอดีส่วนเกินออกด้วย Washing Solution (PBS/ Tween20/ BSA) 2 ครั้ง โดยแช่ 2-3 นาทีแล้วล้างออกด้วย PBS
9. ล้างเอาแอนติบอดีส่วนเกินออกด้วย Washing Solution (PBS/ Tween20/ BSA) 2 ครั้ง โดยแช่ 2-3 นาทีแล้วล้างออกด้วย PBS

10. แช่แผ่น Nitrocellulose ใน Substrate เพื่อให้เกิดสี Substrate ที่ใช้คือ BCIP/NBT Solution (AP Buffer 50 ml/ NBT 330 μ l/ BCIP 165 μ l) วางไว้ที่อุณหภูมิห้อง 15- 30 นาที
11. ครบเวลาหยุดปฏิกิริยด้วยน้ำกลั่น
12. อ่านผลการทดลอง ถ้ามีโปรตีนที่ต้องการ จะปรากฏแถบสีบนแผ่น Nitrocellulose โดยเทียบขนาดโมเลกุลกับแถบของโปรตีนมาตรฐาน

การวิเคราะห์ข้อมูล

การวิเคราะห์ข้อมูลตัวอย่างเชิงพรรณนาด้วยโปรแกรม SPSS for Window ได้ค่าเฉลี่ย เรขาคณิต, มัธยฐาน, ส่วนเบี่ยงเบนมาตรฐาน และ ค่า P-Value ของ Mann-Whitney U Test (กัลยา วาณิชยบัญชา, 2546) โดยตรวจสอบการกระจายของข้อมูลก่อนพบว่าการกระจายตัวแบบ ไม่ปกติ คือ กระจายแบบระฆังที่เอียงไปทางด้านขวาดังรูปฮิสโตแกรมที่ 7-8 เพื่อแก้ไขปัญหา การคำนวณทางสถิติที่ผิดพลาดได้มาก จึงทำการปรับข้อมูล (Transform) ระดับโลหะในเลือดเป็น Logarithm ซึ่งพบว่าหลังเปลี่ยนข้อมูลเป็น Logarithm แล้ว การกระจายตัวเป็นแบบ Normal Distribution ดังภาพฮิสโตแกรมที่ 9-10 ค่าเฉลี่ยที่ได้จึงนำเสนอในรูปของค่าเฉลี่ยเรขาคณิต (Geometric Mean) แทนค่าเฉลี่ยเลขคณิต (Arithmetic Mean) และส่วนเบี่ยงเบนมาตรฐาน (SD)

การวิเคราะห์ข้อมูลผลการเปรียบเทียบ Logarithm ระดับโลหะหนักในเลือดของตัวอย่าง ผู้ปฏิบัติงานในโรงงานอุตสาหกรรมประกอบลิฟต์และบันไดเลื่อนกับเพศด้วยวิธีทดสอบ Independent Sample t-Test

การเปรียบเทียบ Logarithm ระดับโลหะหนักในเลือดของตัวอย่างผู้ปฏิบัติงานในโรงงาน อุตสาหกรรมประกอบลิฟต์และบันไดเลื่อนกับลักษณะงานด้วยวิธีทดสอบ Independent Sample t-Test

การเปรียบเทียบ Logarithm ระดับโลหะหนักในเลือดของตัวอย่างผู้ปฏิบัติงานในโรงงาน อุตสาหกรรมประกอบลิฟต์และบันไดเลื่อนกับการใช้อุปกรณ์ป้องกันอันตรายส่วนบุคคลด้วยวิธี ทดสอบ Independent Sample t-Test

การเปรียบเทียบ Logarithm ระดับโลหะหนักในเลือดของตัวอย่างผู้ปฏิบัติงานในโรงงาน อุตสาหกรรมประกอบลิฟต์และบันไดเลื่อนกับการอบรมเกี่ยวกับอันตรายและการป้องกันอันตราย เนื่องจากฝุ่นและฟุ้งโลหะด้วยวิธีทดสอบ Independent Sample t-Test

การเปรียบเทียบ Logarithm ระดับโลหะหนักในเลือดของตัวอย่างผู้ปฏิบัติงานในโรงงาน อุตสาหกรรมประกอบลิฟต์และบันไดเลื่อนกับระดับโลหะหนักในเลือดกับการสูบบุหรี่ด้วยวิธี ทดสอบ Independent Sample t-Test

การเปรียบเทียบ Logarithm ระดับโลหะหนักในเลือดของตัวอย่างผู้ปฏิบัติงานในโรงงานอุตสาหกรรมประกอบลิฟต์และบันไดเลื่อนกับระดับโลหะหนักในเลือดกับอายุด้วยวิธีทดสอบ One Way ANOVA

การเปรียบเทียบ Logarithm ระดับโลหะหนักในเลือดของตัวอย่างผู้ปฏิบัติงานในโรงงานอุตสาหกรรมประกอบลิฟต์และบันไดเลื่อนกับระดับโลหะหนักในเลือดกับระยะเวลาทำงานด้วยวิธีทดสอบ One Way ANOVA และ ทดสอบนัยสำคัญทางสถิติโดย Kruskal Wallis Test

การวิเคราะห์ข้อมูลเมทิล โลหะอินเป็นจำนวนและร้อยละ และใช้ Crosstab