

Thesis Title	Detection of Oral Mucosal Cell Micronuclei in Students Exposed to Embalming Solution Vapors	
Author	Miss Klintean Wunnapuk	
Degree	Master of Science (Toxicology)	
Thesis Advisory Committee		
	Asst. Prof. Dr. Werawan Ruangyuttikarn	Chairperson
	Asst. Prof. Yingpan Anusri	Member
	Dr. Tippawan Prapamontol	Member

ABSTRACT

Formaldehyde in embalming solution has been implicated as a cause of genotoxic agents associated with chromosomal aberration and micronucleus induction. Epithelial buccal cells from 47 dentistry students, who were taking a human gross anatomy course at the Faculty of Medicine, Chiang Mai University, were collected and stained to investigate micronucleus induction in order to study genotoxicity before, during and after exposure to embalming solution. The exposure time was 4 hours in each of 15 weeks. Formaldehyde, methanol and phenol, the major volatile substances in embalming solution found in the air inside the autopsy room, were collected and quantified in order to study whether their concentrations were over the permissible exposure limit.

The buccal cells were collected at 0, 10 and 15 week-exposure periods and stained with Feulgen plus Fast Green. The results showed a significant increase in micronucleus frequency ($P < 0.05$) during the study period, from 1.57 ± 1.51 micronuclei/1,500 buccal cells pre-exposure to

5.26 ± 3.92 micronuclei/1,500 buccal cells and 2.53 ± 1.72 micronuclei /1,500 buccal cells after 10 and 15 week-exposure periods, respectively.

The level of formaldehyde, methanol and phenol in the autopsy room was measured by using high performance liquid chromatography (HPLC) and gas chromatography/flame ionization detection (GC-FID) following the National Institute of Occupational Safety and Health (NIOSH) method. The formaldehyde level in the air was trapped by 2,4-dinitrophenyl hydrazine coated sorbents to form the formaldehyde-DNPH derivative, 2,4-dinitrophenyl hydrazone. The hydrazone was extracted and determined by UV-VIS HPLC at 360 nm using a C18 column and water:acetonitrile (55:45) as a mobile phase. The 2,4-dinitrophenyl hydrazone was synthesized and its purity determined before use as a standard. Formaldehyde levels in autopsy room were 0.19 ± 0.06 ppm. Methanol was collected by an XAD-7 sorbent tube before extraction using water and isopropanol, and determined by GC-FID using a BPX5 column with the temperature at 40°C for 5 min. The detector temperature was set at 250°C. Phenol was collected by silica gel sorbent before extraction using methanol, and determined by GC-FID using a BPX5 column with the optimized temperature program at 80°C for 1 min, and then increased up to 200°C (10°C/min) for 13 min. The detector temperature was set at 280°C. The level of methanol and phenol in the autopsy room was 39.72 ± 49.10 and 0.08 ± 0.05 ppm, respectively. Confirmatory identification of methanol and phenol was analyzed on an HP-5MS 5% phenyl methyl siloxane column under optimized GC-MS operating conditions.

This study showed that the level of formaldehyde, methanol and phenol in the autopsy room was lower than that of the Occupational Safety and Health Administration (OSHA)'s permissible exposure limit. However, the level of formaldehyde was higher than the NIOSH's recommended exposure limit of 0.016 ppm, with a high micronucleus frequency being observed. It was concluded that exposure to formaldehyde contained in the embalming solution used in the human gross anatomy course for dentistry students might be associated with micronucleus induction in the student's epithelial buccal cells.

ชื่อเรื่องวิทยานิพนธ์ การตรวจหาไมโครนิวเคลียสในเซลล์เยื่อบุกระพุ้งแก้มในนักศึกษาที่ได้รับไอระเหยจากน้ำยาคลองศพ

ผู้เขียน นางสาวกมลีนเทียน วรรณภักตร์

ปริญญา วิทยาศาสตร์มหาบัณฑิต (พิษวิทยา)

คณะกรรมการที่ปรึกษาวิทยานิพนธ์

ผศ. ดร. วีระวรรณ เรืองยุทธิการณ์

ประธานกรรมการ

ผศ. ยิ่งพันธ์ อนุศรี

กรรมการ

ดร. ทิพวรรณ ประภามณฑล

กรรมการ

บทคัดย่อ

ฟอร์มาลดีไฮด์ในน้ำยาคลองศพเป็นสารที่เกี่ยวข้องกับการเกิดพิษต่อหน่วยพันธุกรรมทำให้เกิดความผิดปกติของโครโมโซม และการเหนี่ยวนำให้เกิดไมโครนิวเคลียส เซลล์เยื่อบุกระพุ้งแก้มจากนักศึกษาทันตแพทย์จำนวน 47 คน ที่ลงเรียนกระบวนวิชามหากายวิภาคศาสตร์ของมนุษย์ ที่คณะแพทยศาสตร์ มหาวิทยาลัยเชียงใหม่ ได้ถูกเก็บและนำมาข้อมเพื่อศึกษาการเหนี่ยวนำไมโครนิวเคลียส ด้วยวัตถุประสงค์ต้องการศึกษาความเป็นพิษของไอระเหยจากน้ำยาคลองศพต่อหน่วยพันธุกรรม ก่อน ระหว่าง และ หลังการสัมผัสน้ำยาคลองศพในระหว่างการเรียนการสอน ระยะเวลาของการเรียนการสอนคือ 4 ชั่วโมงต่อสัปดาห์เป็นเวลา 15 สัปดาห์ งานวิจัยนี้ได้ทำการเก็บฟอร์มาลดีไฮด์ เมทานอล และฟีนอล ซึ่งเป็นสารระเหยหลักในน้ำยาคลองศพ และพบอยู่ในอากาศภายในห้องผ่าศพ เพื่อทำการวิเคราะห์หาปริมาณความเข้มข้นของสารระเหยเหล่านี้ว่ามีค่ามากเกินไปตามมาตรฐานที่ยอมให้สัมผัสได้หรือไม่

เซลล์เยื่อบุกระพุ้งแก้มถูกเก็บในสัปดาห์ที่ 0 10 และ 15 ของระยะเวลาการสัมผัส และย้อมด้วย Feulgen และ Fast Green ผลการวิจัยพบว่าจำนวนไมโครนิวเคลียสเพิ่มขึ้นอย่างมีนัยสำคัญ ($P < 0.05$) ในระหว่างที่มีการเรียนการสอน โดยเพิ่มจาก 1.57 ± 1.51 ไมโครนิวเคลียส/1,500 เซลล์เยื่อบุกระพุ้งแก้ม ก่อนเริ่มสัมผัสน้ำยาของศพเป็น 5.26 ± 3.92 ไมโครนิวเคลียส/1,500 เซลล์เยื่อบุกระพุ้งแก้ม และ 2.53 ± 1.72 ไมโครนิวเคลียส/1,500 เซลล์เยื่อบุกระพุ้งแก้ม หลังการสัมผัสน้ำยาของศพเป็นเวลา 10 และ 15 สัปดาห์ตามลำดับ

การวิเคราะห์ฟอร์มาลดีไฮด์ เมทานอล และฟีนอลในห้องผ่าศพ ทำโดยใช้ high performance liquid chromatography (HPLC) และ gas chromatography/flame ionization detection (GC-FID) ตามวิธีมาตรฐานของ National Institute of Occupational Safety and Health (NIOSH) ระดับฟอร์มาลดีไฮด์ในอากาศถูกเก็บโดยใช้ตัวดูดซับที่เคลือบด้วย 2,4 dimitrophenylhydrazine เกิดเป็นอนุพันธ์ของฟอร์มาลดีไฮด์ คือ 2,4 dimitrophenylhydrazone และสกัด hydrazone เพื่อตรวจวัดปริมาณโดยใช้ UV-VIS HPLC ที่ความยาวคลื่น 360 นาโนเมตร โดยใช้คอลัมน์ C_{18} และตัวทำละลายเคลื่อนที่เป็นน้ำต่อ acetonitrile (55:45) และใช้ 2,4 dimitrophenylhydrazone ที่สังเคราะห์ขึ้นเอง และได้ตรวจวัดความบริสุทธิ์แล้วเป็นสารมาตรฐาน ระดับฟอร์มาลดีไฮด์ในห้องผ่าศพวัดได้ 0.19 ± 0.06 ppm สำหรับเมทานอลในอากาศถูกเก็บโดยใช้ตัวดูดซับ XAD-7 ก่อนทำการสกัดด้วยน้ำและ isopropanol และตรวจวัดด้วย GC-FID กับคอลัมน์ BPX 5 ตั้งอุณหภูมิที่ 40°C เป็นเวลา 5 นาที อุณหภูมิของเครื่องตรวจวัดตั้งไว้ที่ 250°C ส่วนฟีนอลในอากาศถูกเก็บโดยใช้ตัวดูดซับที่เป็นซิลิกาเจลก่อนการสกัดด้วยเมทานอล และตรวจวัดด้วย GC-FID เช่นกัน ใช้คอลัมน์ BPX 5 และโปรแกรมอุณหภูมิที่เหมาะสมคือ 80°C เป็นเวลา 1 นาที จากนั้น โปรแกรมอุณหภูมิไปที่ 200°C ด้วยอัตราอุณหภูมิเพิ่มขึ้น 10°C ต่อนาที อุณหภูมิของเครื่องตรวจวัดตั้งไว้ที่ 280°C ผลการวิเคราะห์พบว่าระดับเมทานอลและฟีนอลในห้องผ่าศพเท่ากับ 39.72 ± 49.10 และ 0.08 ± 0.05 ppm ตามลำดับ การพิสูจน์เอกลักษณ์ของเมทานอลและฟีนอลในตัวอย่างทำโดยใช้ GC-MS พร้อมคอลัมน์ HP-5MS 5% phenyl methyl siloxane เพื่อยืนยันชนิดของสารระเหยในตัวอย่างให้ถูกต้อง

การศึกษาครั้งนี้แสดงให้เห็นว่าถึงแม้ระดับของฟอร์มาลดีไฮด์ เมทานอล และฟีนอลในห้องผ่าศพต่ำกว่าค่ามาตรฐานที่ยอมรับได้ของ Occupational Safety and Health Administration (OSHA) แต่ระดับของฟอร์มาลดีไฮด์ยังคงสูงกว่าค่ามาตรฐานที่ยอมรับได้ของ NIOSH ที่ระดับ 0.016 ppm พร้อมกับพบความถี่ของไมโครนิวเคลียสเพิ่มสูงขึ้น งานวิจัยนี้สรุปได้ว่าการสัมผัสฟอร์มาลดีไฮด์ที่เป็นส่วนประกอบในน้ำยาของศพที่ใช้ในการเรียนการสอนกระบวนวิชามหาวิทยาลัยของมนุษยศาสตร์สำหรับนักศึกษาทันตแพทย์นั้น อาจมีความสัมพันธ์กับการเหนี่ยวนำการเกิดไมโครนิวเคลียสในเซลล์เยื่อบุกระพุ้งแก้ม