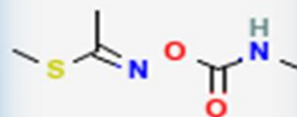
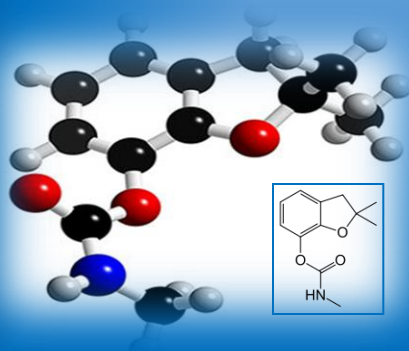




คู่มือ

วิธีตรวจวิเคราะห์เบื้องต้น พิษวิทยาทางสัตวแพทย์



มาลี ธีรานุสนธิ
อนุสรณ์ อยู่เย็น
กลุ่มชีวเคมีและพิษวิทยา สถาบันสุขภาพสัตว์แห่งชาติ
กรมปศุสัตว์ กระทรวงเกษตรและสหกรณ์

คู่มือวิธีตรวจวิเคราะห์เบื้องต้นพิษวิทยาทางสัตวแพทย์

Basic Analytical Method of Veterinary Toxicology

มาตี ชีรานุสนธิ

อนุสรณ์ อยู่เย็น

**กลุ่มชีวเคมีและพิษวิทยา
กรมปศุสัตว์**

**สถาบันสุขภาพสัตว์แห่งชาติ
กระทรวงเกษตรและสหกรณ์**

คำนำ

ประชากรโลกที่เพิ่มขึ้นทุกปีนั้น ย่อมต้องการอาหารเพิ่มมากขึ้น สำหรับประเทศไทยซึ่งได้ชื่อว่า เป็นครัวโลกที่สำคัญแห่งหนึ่ง จึงเป็นประเด็นหลักที่ประเทศต้องพัฒนาทั้งทางด้านการเกษตรและด้านอุตสาหกรรม เพื่อเตรียมความพร้อมด้านอาหารให้เพียงพอต่อความต้องการของประชากร ความก้าวหน้าทางวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยี ทำให้มีการใช้สารเคมีหลากหลายชนิดเพื่อให้ผลผลิตเพียงพอต่อความต้องการ จากการใช้สารเคมีที่มากเกินไปจนเกิดความจำเป็น การใช้ไม่ถูกวิธี หรือมีการนำไปใช้ผิดวัตถุประสงค์ ส่งผลให้เกิดการตกค้าง และปนเปื้อนในสิ่งแวดล้อม ทำให้มีผลกระทบต่อสุขภาพของเกษตรกร ผู้บริโภค แหล่งน้ำ ผืนดิน ตลอดจนสัตว์เลื้อย สัตว์ป่าและสัตว์เศรษฐกิจ จนเป็นปัญหาที่สำคัญอย่างหนึ่งทางปศุสัตว์ สารพิษเหล่านี้มีหลายชนิด เช่น สารเคมีกำจัดแมลง (Insecticides) สารกำจัดวัชพืช (Herbicides) สารเคมีกำจัดเชื้อรา (Fungicides) สารกำจัดหนูและสัตว์ฟันแทะ (Rodenticides) สารระเหยไซยาไนด์ (Cyanide) และโลหะเป็นพิษ เป็นต้น ดังนั้นการวิเคราะห์เบื้องต้นเพื่อหาสารพิษ จึงมีความสำคัญยิ่ง ซึ่งในการตรวจวิเคราะห์นั้นข้อมูลที่ได้จากประวัติของสัตว์ป่วยหรือตาย และอาการป่วยจะมีประโยชน์มาก เพราะสามารถใช้เป็นแนวทางในการตรวจหาสารพิษ นอกจากนี้ความเข้าใจในเรื่องการเก็บและส่งตัวอย่างที่ถูกวิธีและเหมาะสมจะทำให้ผู้รับบริการได้รับผลการตรวจวิเคราะห์ที่มีความน่าเชื่อถือและนำไปใช้ประโยชน์ได้

ในที่นี้จะขอกล่าวถึงเฉพาะ สารเคมีกำจัดแมลง (Insecticides) กลุ่ม Organophosphorus, Carbamate, Organochlorine และ Pyrethroid สารกำจัดหนูและสัตว์ฟันแทะ (Rodenticides) สารระเหยไซยาไนด์ (Cyanide) โลหะเป็นพิษ อาการการเกิดพิษและการตรวจวิเคราะห์

ดังนั้นผู้เขียนจึงได้ทำการเรียบเรียงองค์ความรู้ ทั้งในและต่างประเทศ รวมทั้งข้อมูลส่วนหนึ่งมาจากประสบการณ์ การทดลอง การปรับปรุงและพัฒนาจากงานประจำที่ปฏิบัติ เกี่ยวกับการวิเคราะห์สารพิษทางสัตวแพทย์ เพื่อเป็นคู่มือ แนวทางในการจัดการและประกอบ การวินิจฉัยและชันสูตรโรคสัตว์

ผู้เขียน หวังเป็นอย่างยิ่งว่า หนังสือนี้คงจะมีประโยชน์ไม่มากนักน้อย ขอขอบคุณเจ้าหน้าที่สถาบันสุขภาพสัตว์แห่งชาติทุกท่านที่ให้อำลัใจ สนับสนุนและช่วยทำให้หนังสือนี้เสร็จสมบูรณ์

มาลี ธีรานุสนธิ์

อนุสรณ์ อยู่เย็น

2556

สารบัญ

	หน้า
บทที่ 1 ความรู้ทั่วไปเกี่ยวกับพิษวิทยา	1
พิษวิทยา หมายถึง	1
คำศัพท์ที่ควรรู้	1
ประเภทของความเป็นพิษ	2
การแพร่กระจายของสารพิษ	3
ปัจจัยที่มีผลต่อการเกิดพิษเมื่อได้รับสารพิษ	5
บทที่ 2 การนำส่งตัวอย่างเพื่อตรวจสอบสารพิษ	6
ชนิดและปริมาณตัวอย่าง	6
การรักษาสภาพตัวอย่าง	7
ประวัติสัตว์ป่วยหรือตายเพื่อใช้เป็นแนวทางตรวจสอบสารพิษ	7
บทที่ 3 เครื่องมือ เทคนิคการตรวจวิเคราะห์สารพิษและสารเคมี	8
เครื่องมือพื้นฐานที่จำเป็น	8
เทคนิคการตรวจวิเคราะห์สารพิษ	9
สารเคมี	11
บทที่ 4 สารเคมีกำจัดแมลง (Insecticides)	12
เทคนิค Thin Layer Chromatography	13
การเตรียมเพลท TLC	14
สารเคมีกำจัดแมลงกลุ่ม Carbamate	16
อาการของการเกิดพิษ	16
การตรวจวิเคราะห์กลุ่ม Carbamate	17
สารเคมีกำจัดแมลงกลุ่ม Organophosphorus	22
อาการของการเกิดพิษ	23
การตรวจวิเคราะห์กลุ่ม Organophosphorus	23
สารเคมีกำจัดแมลงกลุ่ม Organochlorine และ Pyrethroid	24
อาการของการเกิดพิษ	25
การตรวจวิเคราะห์กลุ่ม Organochlorine และ Pyrethroid	25

บทที่ 5 สารกำจัดหนูและสัตว์ฟันแทะ (Rodenticides)	27
สารกำจัดหนูและสัตว์ฟันแทะ (Rodenticides)	27
สารกำจัดหนูสตริกนิน (Strychnine)	27
อาการของการเกิดพิษ	28
ความเป็นพิษ (Toxicity)	28
การตรวจวิเคราะห์หาเอกลักษณ์ Strychnine โดยวิธี	28
Thin Layer Chromatography (TLC)	
สารกำจัดหนูหรือยาเบื่อหนูชนิดกันการแข็งตัวของเลือด	30
(Anticoagulant Rodenticides)	
อาการของการเกิดพิษ	32
การตรวจวิเคราะห์หาเอกลักษณ์สารกำจัดหนูหรือยาเบื่อหนู	33
ชนิดกันการแข็งตัวของเลือดโดยวิธี Thin Layer Chromatography (TLC)	
สารกำจัดหนู Zinc phosphide	34
อาการของการเกิดพิษ	35
ความเป็นพิษ	35
การตรวจวิเคราะห์หาสารกำจัดหนู Zinc phosphide และโลหะพิษด้วย	36
Gutzeit's test	
Molybdenum blue test	37
Reinsch's test	37
Sublimation test	38
บทที่ 6 สารระเหยไซยาไนด์ (Cyanide)	40
ไซยาไนด์ (Cyanide)	40
อาการของการเกิดพิษ	40
ความเป็นพิษ (Toxicity)	40
ปัจจัยที่มีผลต่อความเป็นพิษมากหรือน้อย	41
การตรวจวิเคราะห์ไซยาไนด์ โดยวิธี Paper Strip Test	41
บทที่ 7 โลหะเป็นพิษ	44
ปรอท (Mercury , Hg)	44
อาการของการเกิดพิษ	46
ความเป็นพิษ (Toxicity)	46

สารหนู (Arsenic; As)	46
อาการของการเกิดพิษ	48
ความเป็นพิษ (Toxicity)	49
บรรณานุกรม	50
ภาคผนวก 1 ค่า LD 50 ของสารเคมีกำจัดแมลง	53
ภาคผนวก 2 การเตรียมสารเคมี	58

สารบัญตารางและรูป

หน้า

ตารางที่ 1	การจำแนกระดับความเป็นพิษของสารพิษตามองค์การอนามัยโลก โดยใช้ค่าความเป็นพิษเฉียบพลัน (LD ₅₀)	1
รูปที่ 2-1	ชนิดตัวอย่างสิ่งส่งตรวจ	6
รูปที่ 2-2	ฉลากบ่งชี้ตัวอย่าง	7
รูปที่ 3-1	เครื่องมือที่ใช้วิเคราะห์ด้วยเทคนิคต่างๆ	8
รูปที่ 3-2	แสดงขั้นตอนการวิเคราะห์โดยทั่วไป	10
รูปที่ 4-1	อุปกรณ์โkitเพลท TLC	15
รูปที่ 4-2	การโkitเพลทด้วยตนเอง	15
รูปที่ 4-3	สูตรโครงสร้างของ Carbamate	16
รูปที่ 4-4	แสดงปฏิกิริยาไฮโดรลีสซิสของ Acetylcholinesterase	17
รูปที่ 4-5	การเตรียมเพลทวิเคราะห์แบบ One-dimension	19
รูปที่ 4-6	การเตรียมเพลทวิเคราะห์แบบ Two-dimension	20
รูปที่ 4-7	TLC Chromatogram ของ สารมาตรฐาน (A) กลุ่ม Carbamate (B) กลุ่ม Organophosphorus	22
รูปที่ 4-8	สูตรโครงสร้างของ Organophosphorus	23
รูปที่ 4-9	สูตรโครงสร้างของ Organochlorine และ Pyrethroid	24
รูปที่ 4-10	TLC Chromatogram ของสารมาตรฐานกลุ่ม Organochlorine	26
ตารางที่ 5-1	แสดงขนาดของสถิติที่ทำให้สัตว์ตาย ถ้าได้รับสารนี้โดยการกิน (Oral lethal toxicity)	28
ตารางที่ 5-2	แสดงความเป็นพิษของวาร์ฟารินในสัตว์ชนิดต่างๆ	32
ตารางที่ 5-3	ตารางเปรียบเทียบผลการทดสอบแต่ละวิธี	39
รูปที่ 5-1	สูตรโครงสร้างสถิติ	27
รูปที่ 5-2	TLC Chromatogram ของสารละลายมาตรฐาน Strychnine	30
รูปที่ 5-3	สูตรโครงสร้างของ First-generation anticoagulant	31
รูปที่ 5-4	สูตรโครงสร้างของ Second-generation anticoagulant	31
รูปที่ 5-5	TLC Chromatogram ของสารละลายมาตรฐาน Warfarin	34
รูปที่ 5-6	สูตรโครงสร้างของ Zinc phosphide	34
รูปที่ 5-7	สมการการเกิดปฏิกิริยากับกรดในกระเพาะอาหารของ Zinc phosphide	34

รูปที่ 5-8	ผลบวกของสารมาตรฐาน Zinc phosphide และ As จากการตรวจวิเคราะห์หาสารกำจัดหนูโดย Gutzeit's test	36
รูปที่ 5-9	ผลบวกของสารมาตรฐาน As จากการตรวจวิเคราะห์โดย Reinsch's test	38
รูปที่ 6-1	อุปกรณ์สำหรับใช้ตรวจวิเคราะห์ไซยาไนด์ โดยวิธี Paper Strip Test	41
รูปที่ 6-2	แสดงผลการวิเคราะห์ Cyanide โดยวิธี Paper Strip Test	43
ตารางที่ 7-1	แสดงระดับปรอทในสิ่งแวดล้อมและสิ่งมีชีวิตที่อาศัยอยู่ในบริเวณอ่าว Minamata ประเทศญี่ปุ่น ในช่วงที่มีปัญหาปรอทปนเปื้อน	45
รูปที่ 7-1	Mercury cycle	44
รูปที่ 7-2	Biomagnification ของ Methylmercury ในระบบนิเวศน์	45
รูปที่ 7-3	สูตรโครงสร้างของ Arsenic trioxide	47
รูปที่ 7-4	สูตรโครงสร้างของ Monosodium methane arsonate (MSMA)	47
รูปที่ 7-5	สูตรโครงสร้างของ Disodium methane arsonate (DSMA)	48

ความรู้ทั่วไปเกี่ยวกับพิษวิทยา

พิษวิทยา หมายถึง การศึกษาถึงพิษของสารเคมีหรือพิษจากพืชและสัตว์ ที่เกี่ยวกับเรื่องผลของพิษที่มีต่อสิ่งมีชีวิตและสิ่งแวดล้อม โครงสร้างของสารเคมีที่ทำให้เกิดการเปลี่ยนแปลงและเป็นพิษ กลไกการเกิดพิษของสารเคมีในสิ่งมีชีวิต ตลอดจนสภาพแวดล้อมที่สารพิษปรากฏอยู่ ดังนั้น การศึกษาทางพิษวิทยาจำเป็นต้องนำหลักวิชาหลายด้านมาประกอบกันเช่น เคมีและชีวเคมีมาประกอบในเรื่องของโครงสร้างของสารพิษที่เปลี่ยนแปลง และกลไกที่ทำให้เกิดพิษ ชีววิทยาประกอบในเรื่องสรีรวิทยา เซลล์และเนื้อเยื่อภายในร่างกายของคนและสัตว์ ทางการแพทย์และทางสัตวแพทย์จะเกี่ยวกับการค้นหาสาเหตุ การบำบัดรักษา เป็นต้น สรุปเป็นความหมายสั้นๆคือ การศึกษาผลของสารพิษที่ทำให้เกิดการเปลี่ยนแปลงทางชีววิทยาและสรีรวิทยาต่อสิ่งมีชีวิตและผลกระทบต่อสิ่งแวดล้อม

ศัพท์ที่ควรรู้

Toxicity	ปริมาณของสารพิษที่เมื่อคนหรือสัตว์รับเข้าไปแล้วเกิดการทำลายเซลล์ เนื้อเยื่อจนไม่สามารถกลับมาทำงานได้อีก และแสดงอาการป่วยหรือตาย
Acute toxicity	การที่คนหรือสัตว์แสดงอาการป่วยหลังได้รับพิษเพียงครั้งเดียว หรือหลายครั้งภายใน 24 ชั่วโมง
Chronic toxicity	การที่คนหรือสัตว์ค่อยๆแสดงอาการป่วยหลังได้รับพิษปริมาณไม่มากนักแต่ได้รับติดต่อกันเป็นเวลานานมากกว่า 3 เดือนขึ้นไป
Hazard	อันตรายที่เกิดจากสารพิษ ที่ทำให้เซลล์ เนื้อเยื่อถูกทำลายจนการทำงานผิดปกติไปจากเดิม
Poison	สารใดๆเมื่อเข้าสู่ร่างกายคนหรือสัตว์แล้วยับยั้งการทำงานของเซลล์ ทำให้เกิดการเปลี่ยนแปลงทางร่างกายและเกิดพิษ
Risk	อันตราย ที่เป็นสถานะที่คนหรือสัตว์อาจมีโอกาสได้รับพิษ จนเกิดอันตราย
Safety	สถานะที่ได้รับหรือที่ใช้สารเคมีแล้ว ไม่ทำให้เกิดอันตรายต่อการทำงานของร่างกาย
Lethal dose (LD)	ปริมาณสารพิษที่ต่ำสุด ที่ทำให้คนหรือสัตว์ตาย เช่น ตายครึ่งหนึ่ง (50%) คือ LD ₅₀
Toxicosis	ภาวะผิดปกติ หรืออาการป่วยที่เกิดจากสารพิษ

No effect level	ปริมาณที่สัตว์ทดลองที่ไวที่สุดต่อสารนั้นได้รับอย่างต่อเนื่อง โดยไม่พบอาการผิดปกติ หน่วยเป็น mg/kg/d
Acceptable daily intake (ADI)	ปริมาณที่ยอมรับได้เมื่อได้รับในแต่ละวันแล้วจะไม่เป็นอันตราย
Maximum residue limit (MRL)	ปริมาณสูงสุดของสารที่ยอมให้ตกค้างในผลิตภัณฑ์ทางการเกษตรและอาหาร หน่วยเป็น mg/kg
No observed adverse effect level (NOAEL)	ความเข้มข้นสูงสุดของสารที่ไม่ทำให้เกิดผลข้างเคียงใดๆ
Lowest observed adverse effect level (LOAEL)	ความเข้มข้นต่ำสุดของสารที่ทำให้เกิดผลข้างเคียงอย่างใดอย่างหนึ่ง

ประเภทของความเป็นพิษ

ความเป็นพิษ โดยทั่วไปจะศึกษาในสัตว์ทดลอง และนำมาคำนวณหาขนาดและปริมาณที่ปลอดภัยของคนต่อสารพิษนั้นๆ โดยคำนึงถึงปัจจัยหลายอย่างประกอบกัน ก่อนนำมาเป็นบรรทัดฐานการเกิดพิษในคน อย่างไรก็ตาม ความเป็นพิษไม่ว่าจะเป็นคนหรือสัตว์สามารถเกิดได้เหมือนกัน แบ่งได้ดังนี้

1. ความเป็นพิษแบบเฉียบพลัน (Acute toxicity)

คือ การที่คนหรือสัตว์แสดงอาการป่วยหลังได้รับพิษเพียงครั้งเดียว หรือหลายครั้งภายใน 24 ชั่วโมง อาการความเป็นพิษมากหรือน้อย ขึ้นกับ ชนิดของสารพิษ ปริมาณที่ได้รับ ระยะเวลาที่ได้รับ สารพิษ และช่องทางการได้รับเช่น โดยการกิน โดยการสัมผัสทางผิวหนัง โดยการฉีดเข้าเส้นเลือด หากได้รับพิษรุนแรง อาจทำให้ตายได้

2. ความเป็นพิษแบบเรื้อรัง (Chronic toxicity)

คือ การที่คนหรือสัตว์แสดงความเป็นพิษในลักษณะต่างๆ หลังได้รับสารพิษเข้าไป ปริมาณน้อยๆติดต่อกันเป็นเวลามากกว่า 3 เดือนขึ้นไป จนเกิดความเป็นพิษและแสดงออก เช่น การเกิดเป็นมะเร็ง เนื้องอก (Tumor) การเกิดการผ่าเหล่า (Mutagenicity) การเกิดลูกวิรูป (Teratogenicity) การเกิดผิดปกติในระบบภูมิคุ้มกัน (Immune toxicity)

3. ความเป็นพิษแบบกึ่งเรื้อรัง (Sub chronic toxicity)

คือ การที่คนหรือสัตว์แสดงความเป็นพิษหลังได้รับสารพิษเข้าไป ในปริมาณน้อยติดต่อกันเป็นเวลาประมาณ 1-3 เดือน

หรือจำแนกระดับความเป็นพิษของสารพิษตามองค์การอนามัยโลก(WHO) ดังแสดงในตารางที่ 1

ตารางที่ 1 การจำแนกระดับความเป็นพิษของสารพิษตามองค์การอนามัยโลกโดยใช้ค่าความเป็นพิษเฉียบพลัน (LD_{50})

ขั้น	ชื่อ	LD_{50} สำหรับหนูทดลอง (มิลลิกรัม/กิโลกรัม ของน้ำหนักตัว)			
		ทางปาก		ทางผิวหนัง	
		ของแข็ง	ของเหลว	ของแข็ง	ของเหลว
1 เอ	พิษร้ายแรงมาก	$LD_{50} \leq 5$	$LD_{50} \leq 20$	$LD_{50} \leq 10$	$LD_{50} \leq 40$
1 บี	พิษร้ายแรง	$5 < LD_{50} \leq 50$	$20 < LD_{50} \leq 200$	$10 < LD_{50} \leq 100$	$40 < LD_{50} \leq 400$
2	พิษปานกลาง	$50 < LD_{50} \leq 500$	$200 < LD_{50} \leq 2,000$	$100 < LD_{50} \leq 1,000$	$400 < LD_{50} \leq 4,000$
3	พิษน้อย	$LD_{50} > 500$	$LD_{50} > 2,000$	$LD_{50} > 1,000$	$LD_{50} > 4,000$

ที่มา : พระราชบัญญัติวัตถุอันตราย พ.ศ. 2535

การแพร่กระจายของสารพิษ

ความเป็นพิษที่เกิดในคนและสัตว์นั้น ขึ้นอยู่กับกระบวนการหมุนเวียนของสารพิษในกระแสโลหิตและร่างกาย การแพร่กระจายของสารพิษ แบ่งเป็น 4 ขั้นตอนคือ

1. ขั้นตอนการดูดซึม จากส่วนต่างๆของร่างกายเข้าสู่กระแสโลหิต (Absorption)

ส่วนใหญ่จะดูดซึม ผ่านทางการหายใจ โดยผ่านทางปอดและผิวหนัง ทางการกินโดยผ่านทางเดินอาหาร ผ่านเยื่อหุ้มเซลล์ของเซลล์ต่างๆสู่กระแสโลหิต และออกฤทธิ์กับเซลล์เฉพาะ (special target cell)

2. ขั้นตอนการกระจายสารพิษไปสู่ส่วนต่างๆของร่างกาย (Distribution)

การกระจายหรือการเคลื่อนที่ของสารพิษ แบ่งเป็น 3 ลักษณะคือ

2.1 การกระจายของสารพิษแบบ Diffusion

2.1.1 การกระจายของสารพิษจากด้านความเข้มข้นสูง ไปด้านความเข้มข้นต่ำ

2.1.2 การกระจายของสารพิษแบบต่อเนื่องที่ต้องใช้ตัวพา (carrier) การกระจายจะมากหรือน้อยขึ้นกับ คุณสมบัติของสาร ขนาดของโมเลกุล อุณหภูมิ ความเป็นกรด-ด่าง

2.2 การกระจายของสารพิษแบบ Active

การกระจายของสารพิษบางชนิดสามารถเคลื่อนที่จากด้านที่มีความเข้มข้นต่ำไปสู่ด้านที่มีความเข้มข้นสูง โดยจับกับตัวพาและใช้พลังงาน ATP ในการขับเคลื่อน การจับสารด้วยตัวพาเป็นการดูดซึมที่สำคัญอย่างหนึ่งทางด้านพิษวิทยา เพราะเป็นการจับสารพิษออกจากร่างกายในรูปแบบหนึ่ง

2.3 การกระจายของสารพิษแบบกลืนกิน

สารพิษที่มีขนาดใหญ่ไม่สามารถเข้าสู่รูพรุนได้ เยื่อหุ้มเซลล์จะห่อหุ้มสารและกลืนเข้าสู่เซลล์ จากนั้นจะถูกทำลายด้วยเอนไซม์ และถูกดูดซึมเข้าสู่ร่างกาย

3. ขั้นตอนการเปลี่ยนแปลงโครงสร้าง (Biotransformation หรือ Metabolism)

สารพิษบางชนิดแตกตัวได้ยาก ละลายน้ำได้น้อย ร่างกายจึงพยายามเปลี่ยนแปลงโครงสร้างของสารพิษนั้นให้ละลายน้ำได้ดี ซึ่งนอกจากทำให้ละลายน้ำดีแล้วยังทำให้มีผลต่อการออกฤทธิ์หรือความเป็นพิษอีกด้วย สารบางตัวสามารถออกฤทธิ์ให้เกิดพิษได้ด้วยตัวเอง แต่เมื่อถูกเปลี่ยนแปลงโครงสร้าง จะทำให้ความเป็นพิษน้อยลง และบางชนิดกลับมีความเป็นพิษมากกว่าเดิม อวัยวะที่ทำหน้าที่เปลี่ยนแปลงโครงสร้างสารพิษนั้น คือ ตับไต ปอดและเซลล์บุผิวทางเดินอาหาร นอกจากนี้ยังทำหน้าที่จับหรือกำจัดสารพิษออกจากร่างกายอีกด้วย

4. ขั้นตอนการกำจัดสารพิษออกจากร่างกาย (Excretion)

เมื่อร่างกายได้รับพิษจะทำการกำจัดออก ซึ่งมีหลายทาง เช่น

4.1 การกำจัดสารพิษทางระบบทางเดินอาหาร

สารพิษที่ละลายไขมันได้ดี ส่วนใหญ่จะถูกกำจัดออกมากับน้ำย่อยทางเดินอาหาร เช่น สารกำจัดแมลงกลุ่มออร์กาโนคลอรีน ปกติสารเหล่านี้จะเข้าโดยการกิน เนื่องจากสามารถสะสมในห่วงโซ่อาหารได้ หากยังไม่มีการดูดซึมเข้าสู่กระแสโลหิต ความเป็นพิษยังไม่เกิด เราจึงสามารถป้องกันการเกิดพิษได้โดยทำให้อาเจียนออก ก่อนที่จะมีการดูดซึม

4.2 การกำจัดสารพิษทางน้ำนม

น้ำนมมีไขมันเป็นส่วนประกอบ สารพิษที่ละลายในไขมันก็จะถูกกำจัดออกทางนี้ ดังนั้น การเลี้ยงโคนม จึงควรคำนึงถึง การใช้สารเคมีกำจัดแมลง เพราะอาจเกิดการปนเปื้อนสารพิษเข้าสู่น้ำนมโค เป็นเหตุให้คนที่ดื่มน้ำมนั้น ได้รับสารพิษไปด้วย

4.3 การกำจัดสารพิษทางน้ำดี

ตับจะทำหน้าที่เปลี่ยนแปลงสารพิษเป็นเมตาโบไลต์ของสารพิษและกำจัดออกทางน้ำดี จากนั้นจะถูกส่งไปที่ลำไส้เล็กและขับออกทางอุจจาระ

4.4 การกำจัดสารพิษทางปัสสาวะ

สารพิษที่ละลายน้ำได้จะถูกขับหรือกำจัดออกทางปัสสาวะ โดยผ่านการกรองที่บริเวณโกลเมอรูลัส แล้วมาตามท่อไต

4.5 การกำจัดสารพิษทางปอด

สารพิษที่ระเหยได้ จะถูกกำจัดออกทางปอดขณะที่หายใจออก ปริมาณการขับออกขึ้นกับความสามารถของสารพิษที่ละลาย หรือจับเกาะในเลือด หากละลายได้มาก การกำจัดออกก็จะช้า

ปัจจัยที่มีผลต่อการเกิดพิษเมื่อได้รับสารพิษ

1. ปัจจัยทางสรีรวิทยา (Physiological factors)

การเกิดพิษของคนและสัตว์ จะมากหรือน้อย ขึ้นอยู่กับสรีรวิทยาหรือร่างกายของสัตว์แต่ละตัว เช่น ชนิดของสัตว์ทดลอง พันธุ์สัตว์ เพศ อายุ และน้ำหนักสัตว์ ช่องทางที่ได้รับพิษ พบว่าสัตว์ที่มีพันธุกรรมที่ไม่เคยได้รับพิษมาก่อน จะแสดงความเป็นพิษได้เร็วกว่าสัตว์ที่เคยได้รับสารพิษมาก่อน สัตว์ที่อายุน้อยเกิดความเป็นพิษได้เร็วกว่าสัตว์ที่มีอายุมาก เนื่องจากการทำงานและประสิทธิภาพของเอนไซม์ที่ใช้ในการเปลี่ยนแปลงสารพิษหรือการกำจัดสารพิษ ในสัตว์ที่อายุน้อยจะมีความแตกต่างกันกับสัตว์ที่แก่กว่า

2. ปัจจัยทางเคมีของสารพิษ (Chemical factors)

ความบริสุทธิ์ของสารพิษ คุณสมบัติความคงทนของสารพิษ ความเป็นกรด-ด่างของสารพิษ มีผลต่อการเกิดพิษแตกต่างกัน เช่น สารที่ไม่บริสุทธิ์จะมีสารอื่นปนเปื้อนทำให้ความเข้มข้นของสารพิษนั้นลดน้อยกว่าเดิม สารพิษที่มีตัวจับเกาะหรือตัวเคลือบ ย่อมทำให้การเกิดพิษช้าลง ปริมาณที่ได้รับและระยะเวลาที่ได้รับนานกว่า ย่อมมีผลต่อความเป็นพิษได้มากกว่า การได้รับสารหลายชนิดในเวลาเดียวกัน อาจเกิดการเสริมฤทธิ์หรือยับยั้ง ทำให้เกิดความเป็นพิษที่แตกต่างกัน อาจเกิดพิษมากขึ้นหรือลดลงก็ได้

3. ปัจจัยทางสภาพแวดล้อม (Environmental factors)

สิ่งแวดล้อมทำให้การตอบสนองต่อความเป็นพิษแตกต่างกันได้เช่น รังสี อุณหภูมิ มีผลต่อการแปรเปลี่ยนของสารพิษ เนื่องจากอุณหภูมิร้อนหรือเย็นทำให้การดูดซึม การกระจาย การเกิดเมตาโบไลต์ของสาร การขับออกของสารเปลี่ยนแปลงได้ การเกิดความเป็นพิษของสาร จึงขึ้นอยู่กับการตอบสนองของชนิดของสารพิษกับสภาพแวดล้อม ที่เป็นอยู่

การนำส่งตัวอย่างเพื่อตรวจสอบสารพิษ

ชนิดและปริมาณตัวอย่าง

ตัวอย่างที่เก็บเพื่อส่งตรวจสอบสารพิษทางห้องปฏิบัติการนั้น ควรส่งตามชนิดของตัวอย่างที่สงสัยว่าได้รับสารพิษ หรืออวัยวะที่จำเพาะต่อสารพิษ (Target organ) หรือ สิ่งที่สำคัญ ปริมาณของตัวอย่างที่ส่ง เช่น

อาหารในกระเพาะสัตว์ (Stomach content)	100 กรัม
ตับ (Liver)	100 กรัม
ไต (Kidney)	100 กรัม
ลำไส้เล็ก (Intestinal)	100 กรัม
อาหารสัตว์ (Feed)	100 กรัม
พืชอาหารสัตว์ (Forage)	100 กรัม
หญ้า (Grasses)	100 กรัม
น้ำ (Water)	1 ลิตร

กรณีสัตว์ปีก เนื่องจากปริมาณตัวอย่างมีน้อย สามารถรวมตัวอย่างของแต่ละชนิด เช่น อาหารในกระเพาะพักรวม ตับรวม ไตรวม ลำไส้รวม เป็นต้น ไม่ควรเก็บทุกชนิดของตัวอย่างรวมในถุงเดียวกัน เพราะจะทำให้เกิดการปนเปื้อน

นอกจากนี้สามารถเก็บสิ่งส่งตรวจที่สงสัย (ของกลาง) ที่อยู่บริเวณใกล้เคียง เพื่อเป็นข้อมูลประกอบการชันสูตรได้



รูปที่ 2-1 ชนิดตัวอย่างส่งตรวจ

การรักษาสภาพตัวอย่าง

ตัวอย่างที่เป็นอวัยวะภายในและอาหารในกระเพาะสัตว์ ให้บรรจุถุงพลาสติกแยกชนิดตัวอย่าง แข็งแข็งหรือแช่เย็น ส่วนตัวอย่างน้ำ อาหารสัตว์ ฟีชอาหารสัตว์ ให้แช่เย็น ในขณะนำส่งห้องปฏิบัติการ พร้อมบ่งชี้ตัวอย่าง ชื่อเจ้าของหรือผู้ส่ง สถานที่เก็บ วันเดือนปีที่เก็บ

หมายเลข Case No.	
ชื่อเจ้าของ/ฟาร์ม.....	ที่อยู่.....
ผู้ส่ง.....	ที่อยู่.....
ชนิดตัวอย่าง.....	หมายเลขตัวอย่าง.....
วันเดือนปีที่เก็บตัวอย่าง.....	

รูปที่ 2-2 ฉลากบ่งชี้ตัวอย่าง

ประวัติสัตว์ป่วยหรือตายเพื่อใช้เป็นแนวทางตรวจสอบหาสารพิษ

ในการตรวจวิเคราะห์ชนิดของสารพิษในตัวอย่างที่ส่งตรวจนั้น ต้องมีการคาดการณ์ว่าจะตรวจสอบหาสารพิษชนิดใด ควรมีข้อมูลทั่วไปของสัตว์ป่วยหรือตาย เหตุการณ์ที่เกิดขึ้น อาการพิษ เนื่องจากสารพิษแต่ละชนิดมีคุณสมบัติและอวัยวะเป้าหมาย (Target organ) แตกต่างกัน เมื่อสารพิษเข้าสู่ร่างกายจะทำให้เกิดอาการพิษที่แตกต่างกัน ข้อมูลเหล่านี้จึงมีความสำคัญ ทำให้ผู้ตรวจวิเคราะห์สามารถใช้เป็นแนวทางในการเลือกวิธีหรือเทคนิคที่ใช้ในการตรวจวิเคราะห์ได้อย่างถูกต้องเหมาะสม นอกจากนี้ตัวอย่างที่ส่งตรวจเพื่อการชันสูตรโรคหาสาเหตุการป่วยหรือตายนั้นเป็นตัวอย่างที่หาเพิ่มเติมหรือทดแทนไม่ได้ จึงต้องพิจารณาใช้อย่างระมัดระวังและเป็นการรักษาตัวอย่างส่งตรวจไว้เพื่อการตรวจพิสูจน์ยืนยันต่อไป

เครื่องมือ เทคนิคการตรวจวิเคราะห์สารพิษ และสารเคมี

เครื่องมือพื้นฐานที่จำเป็น

เครื่องมือสำหรับเตรียมตัวอย่าง

1. เครื่องซังสารเคมีและสารมาตรฐานชนิด 2 ตำแหน่งและ 4 ตำแหน่ง
2. เครื่องเขย่าตัวอย่างแบบแขนแกว่ง (Wrist action shaker)
3. เครื่องลดปริมาตร (Rotary evaporator)
4. ปั๊มสุญญากาศ (Vacuum pump)
5. ตู้ดูดไอระเหยสารเคมี (Chemical fume hood)
6. ตู้อบ (Oven)

เครื่องมือหรืออุปกรณ์สำหรับตรวจวัดตัวอย่าง (รูปที่ 3-1)

1. ชุดอุปกรณ์สำหรับตรวจด้วยวิธี Thin Layer Chromatography (TLC)
2. เครื่อง Spectrophotometer
3. เครื่อง Gas Chromatograph (GC)
4. เครื่อง High Performance Liquid Chromatograph (HPLC)



เครื่อง Spectrophotometer



เครื่อง High Performance Liquid Chromatograph (HPLC)



เครื่อง Gas Chromatograph (GC)

รูปที่ 3-1 เครื่องมือที่ใช้วิเคราะห์ด้วยเทคนิคต่างๆ

เทคนิคการตรวจวิเคราะห์สารพิษ

สารพิษมีหลากหลายชนิด มีสูตรโครงสร้างที่แตกต่างกัน และมีองค์ประกอบของสารที่ต่างกัน เช่น มีกลุ่ม halogen หรือกลุ่มที่ชอบ อิเล็กตรอน (Electronegativity) กลุ่มที่มี ฟอสฟอรัส ในโครเจน ซัลเฟอร์ เป็นต้น นักวิทยาศาสตร์จึงได้นำคุณสมบัติที่ต่างกันนี้มาใช้ในการเลือก เครื่องมือ อุปกรณ์และ เทคนิคเพื่อให้สอดคล้องกับการตรวจวัดสารพิษแต่ละชนิด ซึ่งมี หลายวิธี คือ

1. เทคนิค Chemical test หรือ Colorimetry เป็นวิธีที่ เหมาะกับสารที่สามารถทำปฏิกิริยากับ สารเคมีแล้วทำให้เกิดสี ซึ่งสามารถตรวจวัดได้ด้วยตาเปล่า และเปรียบเทียบกับสารมาตรฐาน

2. เทคนิค Spectrophotometry เป็นการวัดสารที่สามารถดูดกลืนแสงในช่วง ที่มีความยาวคลื่น ช่วง Ultraviolet; UV ซึ่งมีความยาวคลื่นในช่วง 180-380 นาโนเมตร หรือ Visible; VIS ซึ่งมีความยาว คลื่นในช่วง 380-780 นาโนเมตรได้ โดยใช้เครื่อง Spectrophotometer ที่มีแหล่งกำเนิดแสงเป็น คิวเทอร์ เลียม หรือ ทังสเตน แสงจะผ่าน Monochromater ซึ่งเป็นตัวควบคุมความยาวคลื่น ผ่าน cell ที่บรรจุ ตัวอย่าง ทำให้ตัวอย่างดูดกลืนแสงที่เหมาะสม จากนั้นตัวตรวจวัดจะวัดแสงที่ผ่านทะลุออกมา เปรียบเทียบกับแสงที่ไม่ผ่านตัวอย่าง อ่านผลและบันทึกผล ในการใช้งานจะต้องปรับตั้งค่าด้วย สารละลายที่ใช้และทำการ หาปริมาณ โดยเปรียบเทียบกับสารมาตรฐาน โดยใช้หลักการตามกฎของเบียร์ (Beer's law) คือ ค่าดูดกลืนแสง (Absorbance) ของสารละลายจะเป็นปฏิกิริยาโดยตรงกับความเข้มข้น

3. เทคนิค Chromatography เป็นเทคนิคการแยกสารผสมออกจากกันโดยอาศัยเฟส 2 เฟส คือ เฟสที่อยู่กับที่ (Stationary phase) และเฟสเคลื่อนที่ (Mobile phase) โดยมีขั้นตอนการวิเคราะห์ทั่วไป แสดงใน (รูปที่ 3-2) แล้วตรวจวัดสารด้วยตัวตรวจวัด (Detector) เช่น

3.1 Thin Layer Chromatography (TLC) เป็นเทคนิคการแยกสารผสมในลักษณะ แนวนราบ โดยมีเฟสอยู่กับที่ เช่น Silica gel G เป็นสารละลายแขวนลอยในตัวทำละลายและมีสารยึดเกาะ กับแผ่นกระจก หรือ แผ่นอลูมิเนียม เฟสเคลื่อนที่เป็น สารละลายอินทรีย์ เช่น Hexane, Methanol และ Acetone ทำการตรวจวัด ด้วยการ Spray ด้วยสารเคมีที่ทำปฏิกิริยาแล้วเกิดสี เทียบกับสารมาตรฐาน หรือ ทำให้สารที่ตรวจวิเคราะห์ ดูดซับสารเคมีแล้วเกิดเป็นสีที่มองเห็นได้หรือ ดูด้วยแสง UV เป็นต้น

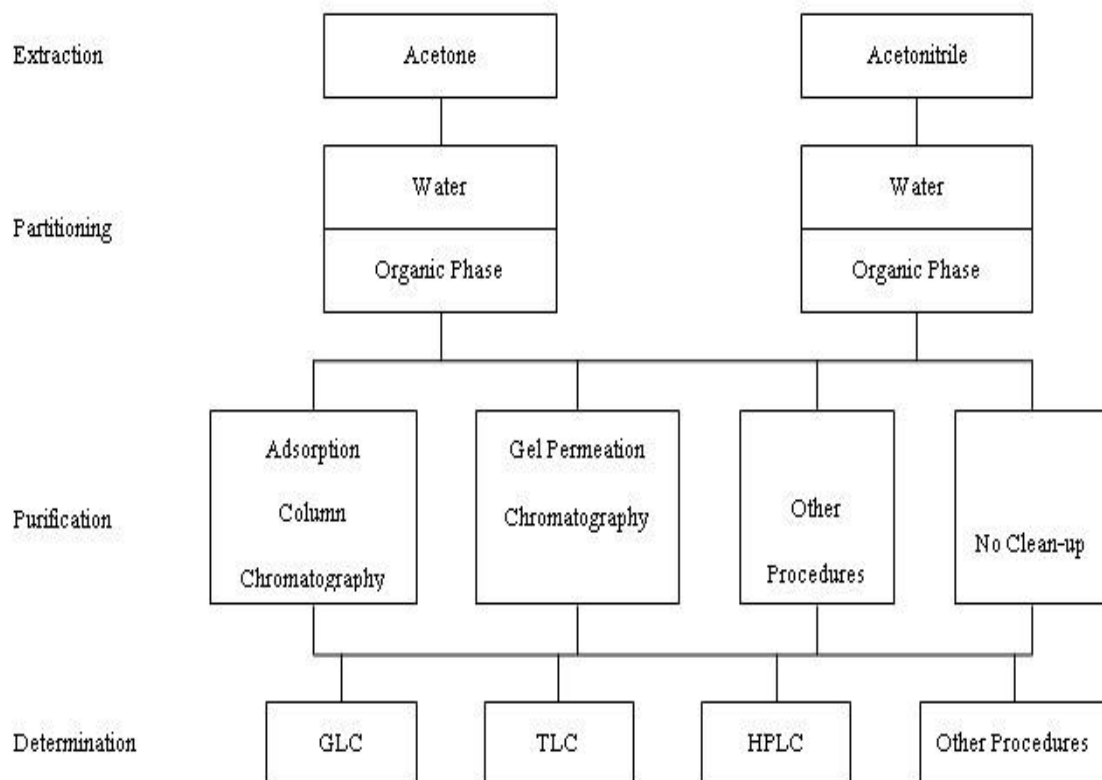
3.2 Gas Chromatography (GC) เป็นเทคนิคการแยกสารผสมที่สามารถทำให้กลายเป็นไอ หรือแก๊สเฟสได้ โดยผ่านเฟสอยู่กับที่ เช่น chromosorb และ dimethylpolysiloxane ที่เคลือบบนผิวของ คอลัมน์ และมีเฟสเคลื่อนที่เป็นแก๊ส ซึ่งเป็นตัวพาสาร เช่น hydrogen, helium และ nitrogen ทำให้เกิด การแยกตามคุณสมบัติของการดูดซับของสารกับเฟสเคลื่อนที่ จากนั้นจะมี Detector ชนิดต่างๆที่จะเป็น ตัววัด โดยขึ้นกับ คุณสมบัติของสารที่จะวิเคราะห์ และ โครงสร้างของสาร เช่น

- Electron capture detector (ECD) เหมาะกับสารกลุ่มที่มี Halogen หรือกลุ่มที่ชอบ อิเล็กตรอน เช่น สารที่มี หมู่ Chlorine, Bromine และ Iodine
- Flame photometer detector (FPD) เหมาะกับสารกลุ่มที่มี Phosphorus และ Sulfur

- Nitrogen phosphorus detector (NPD) เหมาะกับสารกลุ่มที่มี Nitrogen และ Phosphorus
- Flame ionization detector (FID) เหมาะกับสารกลุ่มที่มี Hydrogen และ Carbon ทั่วไป

3.3 High Performance Liquid Chromatography (HPLC) เป็นเทคนิคการแยกสารผสมที่มีขนาด โมเลกุลใหญ่ ผ่านเฟสอยู่กับที่ เช่น Lichrosorb และ Zorbax ซึ่งเป็นสารที่เคลือบบนผิวของคอลัมน์ โดยมีสารละลายอินทรีย์ สารละลายบัฟเฟอร์ เป็นตัวพาหรือเป็นเฟสเคลื่อนที่ มี Detector เป็นชนิดต่างๆ เช่น Fluorescence detector, UV detector และ Diode array detector เป็นต้น

4. เทคนิค Mass spectrometry (MSD) เป็นเทคนิคแยกสารผสมที่ต่อกับ GC หรือ HPLC และตรวจวัดด้วย หลักการของมวลสาร ต่อประจุ ปัจจุบันนิยมใช้ตรวจวัดทางสารพิษ เช่น Gas Chromatography / Mass Spectrometry (GC/MS), High Performance Liquid Chromatography / Mass Spectrometry (LC/MS) เนื่องจากสามารถตรวจหาชนิดและปริมาณสารพร้อมยืนยันผลได้อย่างถูกต้อง มีข้อจำกัดคือ ราคาแพง การบำรุงรักษามีต้นทุนสูง ผู้ปฏิบัติต้องมีความรู้และความชำนาญสูง



รูปที่ 3- 2 แสดงขั้นตอนการวิเคราะห์โดยทั่วไป

ที่มา : Ambrus *et al.* (1986)

สารเคมี

สารเคมีที่ใช้แบ่งเป็น 3 ชนิด คือ

1. สารเคมี ชนิด Analytical grade (A.R.) หรือ เทียบเท่า ใช้ในการเตรียมตัวอย่างในห้องปฏิบัติการทั่วไป เช่น Acetone, Hexane, Methylene chloride, Ethanol, Ammonium chloride, Diatomaceous earth, Sodium sulfate anhydrous granular, Florisil 60-100 mesh, Sodium chloride, Sodium hydroxide, Silica gel 60 GF 254 และ Phosphoric acid เป็นต้น

2. สารเคมี ชนิด Residue grade หรือ Pesticide grade ใช้ในขั้นตอนการการกำจัดสารปนเปื้อนเพื่อป้องกันการเกิดการรบกวนและใช้ในการปรับปริมาตรสารในขั้นตอนสุดท้าย ก่อนวิเคราะห์ด้วยเครื่องมือ เมื่อใช้เครื่องมือที่มีความไวสูง

3. สารมาตรฐานต่างๆ ที่มีความบริสุทธิ์ ไม่น้อยกว่า 96 % เช่น

สารกลุ่ม Organophosphorus ได้แก่ Dichlorvos, Mevinphos, Chlorpyrifos, Diazinon, Dimethoate, Malathion, Parathion และ Methyl-parathion เป็นต้น

สารกลุ่ม Carbamate ได้แก่ Carbofuran, Carbaryl, Methomyl, Bendiocarb, Metolcarb และ Propoxur เป็นต้น

สารกลุ่ม Organochlorine ได้แก่ Dieldrin, Heptachlor, Heptachlor epoxide, Endosulfan, Lindane, Chordane และ DDT เป็นต้น

สารกลุ่ม Pyrethroid ได้แก่ Cypermethrin, Permethrin และ Deltamethrin เป็นต้น

สารเคมีกำจัดแมลง (Insecticides)

สารเคมีกำจัดแมลง (Insecticides) เป็นสารเคมีที่ใช้ป้องกัน กำจัด ควบคุมศัตรูพืชและสัตว์ชนิดหนึ่ง แบ่งตามโครงสร้างของสารได้ดังนี้คือ กลุ่ม Organophosphorus, Carbamate, Organochlorine และ Pyrethroid สารเหล่านี้มีความสำคัญและยังคงมีการใช้กันอยู่จนทุกวันนี้ พบว่า 30% ของผลผลิตทางการเกษตรจะถูกทำลายโดยแมลงศัตรูพืช ดังนั้นจึงทำให้มีการใช้สารกำจัดศัตรูพืชอย่างกว้างขวาง ทำให้เกิดการปนเปื้อนและตกค้างในสิ่งแวดล้อม ซึ่งมีผลกระทบต่อคนและสัตว์ได้ โดยทั่วไปเกษตรกรมักจะเลี้ยงสัตว์แบบปล่อยตามธรรมชาติ หากบริเวณที่เลี้ยงสัตว์ มีการใช้สารกำจัดศัตรูพืช ก็จะทำให้สัตว์ได้รับสารพิษนั้นๆได้

การวิเคราะห์หาสารเคมีกำจัดศัตรูพืชและสัตว์ที่ตกค้างหรือปนเปื้อนในตัวอย่างที่สงสัยนั้น (Unknown sample) ทำได้ 2 ขั้นตอน คือ

1. การตรวจคัดกรอง (Screening test)
2. การตรวจยืนยันผล (Confirmation หรือ Identification)

ดังนั้นการวิเคราะห์หาสารเคมีกำจัดศัตรูพืชและสัตว์ที่มีมากมายหลายชนิดนั้น จึงไม่สามารถทำการสกัดและวิเคราะห์ครั้งเดียว ให้ครอบคลุมสารพิษทุกชนิดได้ ผู้วิเคราะห์สามารถทำการเลือกและออกแบบ การสกัดและการตรวจวัดให้ครอบคลุมสารที่สนใจ เพื่อให้เหมาะสม และตรงตามวัตถุประสงค์ที่ต้องการ

การวิเคราะห์สารเคมีกำจัดแมลง เพื่อตรวจหาสารพิษแต่ละกลุ่มจะแตกต่างกัน บางกลุ่มสามารถใช้วิธีอย่างง่าย เช่น Chemical test บางกลุ่มต้องอาศัยเทคนิคและเครื่องมือในการตรวจวัด เช่น เครื่อง Spectrophotometer, Thin Layer Chromatography และ Gas Chromatography บางกลุ่มต้องอาศัยเครื่องมือขั้นสูงที่ซับซ้อน เช่น GC/MS, LC/MS ดังนั้นการที่จะเลือกใช้เทคนิคใดนั้น ต้องคำนึงถึงวัตถุประสงค์ของการวิเคราะห์ องค์ประกอบ และชนิดของสารที่จะวิเคราะห์เพื่อให้ได้ตรงตามที่ต้องการ

ในที่นี้จะกล่าวถึง การวิเคราะห์สารกำจัดแมลง กลุ่ม Organophosphorus กลุ่ม Carbamate กลุ่ม Organochlorine และ Pyrethroid ในตัวอย่างที่หลากหลายประเภท เช่น อาหารในกระเพาะสัตว์ ดับ ใต้ อาหารสัตว์ พืชอาหารสัตว์ และน้ำ เพื่อการชันสูตร ซึ่งบางครั้งจะมีข้อจำกัด ในเรื่องตัวอย่างที่ส่งตรวจ และเป็นปัญหาการปฏิบัติงานด้านพิษวิทยาทางสัตวแพทย์ เนื่องจากตัวอย่างที่ส่งตรวจมีปริมาณน้อย แต่จำเป็นต้องตรวจหาสารพิษหลายชนิด ผู้เขียนจึงได้ทำการทดลองและพัฒนาวิธีการสกัด ที่สามารถสกัด

ครั้งเดียว แล้วนำผลการสกัดที่ได้ ไปตรวจหาสารพิษได้หลายชนิด โดยใช้เทคนิค TLC เป็นการตรวจคัดกรอง เบื้องต้น (Screening test)

เทคนิค Thin Layer Chromatography (TLC)

Thin Layer Chromatography (TLC) เป็นเทคนิคโครมาโตกราฟี ชนิดหนึ่ง ที่สามารถแยกสารผสมในปริมาณน้อยๆ ออกจากกันได้ โดยอาศัยหลักการแยกสาร 2 เฟส คือ เฟสที่อยู่กับที่ (Stationary phase) ซึ่งเป็นของแข็งเคลือบบนแผ่นรองรับ เช่น แผ่นกระจก แผ่นอลูมิเนียม อีกเฟสหนึ่งเป็นเฟสที่เคลื่อนที่ (Mobile phase) ซึ่งเป็นของเหลว สำหรับสารเคมีที่เคลือบบน แผ่นรองรับนั้น มีหลายชนิด เช่น Silica gel ที่มีแคลเซียมฟอสเฟตเป็นตัวยึดเกาะ (Silica gel G) หรือ มีสารเรืองแสงผสม (Silica GF 254) อลูมินา (Alumina) แต่ละชนิดจะมีคุณสมบัติและการใช้ที่แตกต่างกัน ขึ้นกับชนิดสารที่ต้องวิเคราะห์ ส่วนเฟสที่เคลื่อนที่ เป็นของเหลว ส่วนใหญ่จะเป็น สารละลายอินทรีย์ เช่น Hexane, Acetone, Methanol และ Benzene เป็นต้น

การตรวจวัดด้วยเทคนิค TLC สามารถใช้วิเคราะห์ในห้องปฏิบัติการได้ดี โดยเฉพาะกรณีที่ห้องปฏิบัติการยังไม่สามารถใช้เทคนิค GC และ HPLC เนื่องจากเทคนิค GC และ HPLC มีต้นทุนสูง ส่วนเทคนิค TLC มีต้นทุนต่ำ ประหยัด และรวดเร็ว สามารถใช้กับตัวอย่างที่หลากหลายชนิดได้ เช่น น้ำ ดิน หญ้า ชีววัตถุต่างๆ เช่น ดับ ไค อาหารในกระเพาะ เป็นต้น

เครื่องมือและอุปกรณ์สำหรับ TLC

1. ตู้อบ (Oven)
2. ตู้ดูดไอสารเคมี (Chemical fume hood)
3. UV Cabinet 254 nm
4. เครื่องถ่ายภาพสสารสีและขาวดำ
5. ตู้เก็บเพลท TLC
6. กระจกเรียบ ขนาด 20 × 20 เซนติเมตร หนา 2 มิลลิเมตร
7. Template สำหรับ TLC
8. แท่งแก้วสำหรับใส่สารละลายเฟสเคลื่อนที่
9. ชุดสำหรับ Spray สารเคมี
10. บั้มสุญญากาศ ขนาด ไม่น้อยกว่า 1/6 แรงม้า
11. กล้องสำหรับวางเพลท ขณะ Spray

การเตรียมเพลท TLC

เพลท TLC ที่ใช้ มี 2 แบบคือ

1. แบบสำเร็จรูป เป็นเพลทสำเร็จรูป หาซื้อได้ทั่วไป เป็นชนิด Silica gel ที่มีสารเรืองแสงผสมอยู่ เคลือบบนกระจก ขนาด 20 × 20 เซนติเมตร หรือเพลทที่เคลือบบนพลาสติก หรือแผ่นอลูมิเนียม สามารถตัดใช้ในขนาดที่ต้องการได้
2. แบบที่เตรียมเอง เป็นเพลทที่มี Silica gel GF 254 เคลือบบนกระจกเรียบหนา 2 มิลลิเมตร ขนาด 20 × 20 เซนติเมตร

วิธีเตรียมเพลท TLC

1. อุปกรณ์ (รูปที่ 4-1)

- 1.1 อุปกรณ์สำหรับโก๊ตเพลท
- 1.2 แผ่นกระดานรองรับกระจกขนาด 20 × 20 เซนติเมตร
- 1.3 Erlenmeyer flask พร้อมฝาปิด ขนาด 300 มิลลิลิตร
- 1.4 กระบอกตวง ขนาด 100 มิลลิลิตร
- 1.5 ผ้าสะอาดสำหรับเช็ดกระจก
- 1.6 Rack อลูมิเนียมใส่เพลท สำหรับอบ
- 1.7 ตู้เก็บเพลท TLC
- 1.8 ถังกรองกระดาษสำหรับ Spray สารเคมี

2. สารเคมีที่ใช้

- 2.1 Silica gel 60 GF 254
- 2.2 Acetone (AR grade)

3. วิธีโก๊ตเพลท (รูปที่ 4-2)

- 3.1 เตรียมแผ่นกระจกขนาด 20 × 20 เซนติเมตร ที่สะอาดจำนวน 5 แผ่น วางบนแผ่นรองสำหรับโก๊ตเพลท เช็ดกระจกด้วย Acetone
- 3.2 ชั่งสาร Silica gel GF 254 มา 45 กรัม เติมน้ำกลั่น 94 มิลลิลิตร เขย่าแรงๆ เป็นเวลา 5 นาที เทสารละลายลงในอุปกรณ์โก๊ตเพลท ที่ปรับตั้งความหนา 0.40 ไมโครเมตร
- 3.3 ค่อยๆ ถากตัวโก๊ตเพลทจนสุดทาง ตั้งทิ้งไว้ 20 นาที จากนั้นนำเพลทใส่ใน Rack สำหรับใส่เพลท
- 3.4 อบในตู้อบ อุณหภูมิ 110 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 30 นาที นำออกมาตั้งทิ้งไว้จนเพลทเย็น เก็บไว้ในตู้เก็บเพลทสำหรับใช้งานต่อไป



รูปที่ 4-1 อุปกรณ์โค้ทเพลท TLC

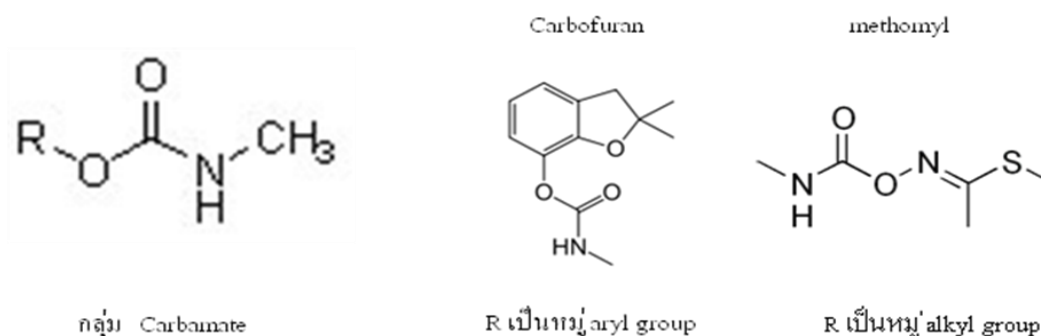


รูปที่ 4-2 การโค้ทเพลทด้วยตนเอง

สารเคมีกำจัดแมลงกลุ่ม Carbamate

Carbamate มีสูตรโครงสร้างที่มี ไนโตรเจน เป็นองค์ประกอบ และ เป็นอนุพันธ์ของ Carbamic acid หรือเป็น n-Methyl ester นิยมใช้กำจัดแมลงในบ้าน สวน และการเกษตร มีคุณสมบัติที่สลายตัวได้ง่าย บางชนิดเกิดเมตาโบไลต์ เมื่อได้รับแสง หรืออยู่ในสภาวะที่เป็นเบส หรือถูกทำลายด้วย จุลินทรีย์ จะทำให้สารเคมีสลาย เปลี่ยนรูปแบบ เช่น Carbofuran สลายเป็น Carbofuranphenol, Carbofuran-3-hydroxy, Carbofuran-3 keto, หรือ Carbaryl สลายเป็น 1-Naphthol ซึ่งมีความเป็นพิษมากกว่าสารหลัก ตัวอย่างสารเคมีกลุ่ม Carbamate ได้แก่ Carbofuran, Carbaryl, Methomyl, Bendiocarb, Methiocarb, Metolcarb, Baycarb และ Propoxur เป็นต้น

สูตรโครงสร้างของกลุ่ม Carbamate

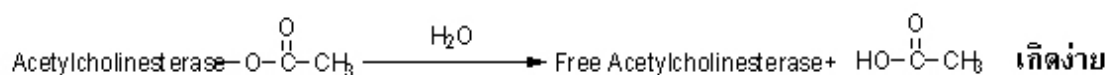


รูปที่ 4-3 สูตรโครงสร้างของ Carbamate

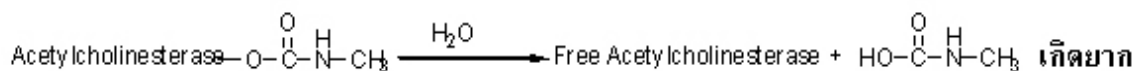
อาการของการเกิดพิษ

การเกิดพิษ เกิดจากการสะสมของ Acetylcholine ที่ปลายประสาท เนื่องจากสารเคมีกลุ่ม Carbamate มีหน้าที่ยับยั้งการทำงานของ เอนไซม์ Acetylcholinesterase จะเกิดปฏิกิริยา Acetylation เป็น Carbamylated enzyme จึงทำให้เกิดการสะสมของ Acetylcholine ที่ปลายประสาท สัตว์จะมีอาการ ชัก กล้ามเนื้อกระตุก เป็นอัมพาต ระบบหายใจล้มเหลวและอาจถึงตายได้ ขบวนการทำลาย Acetylcholine โดย เอนไซม์ Acetylcholinesterase เรียกว่า ขบวนการไฮโดรลัยซิส ซึ่งจะได้เป็น Choline และ Acetate ions สำหรับ Carbamate นั้น ปฏิกิริยาที่เกิดเป็นแบบไม่ถาวร จึงเกิดได้ง่าย คือ สลายได้ง่ายกว่า สารกลุ่ม Organophosphorus (รูปที่ 4-4)

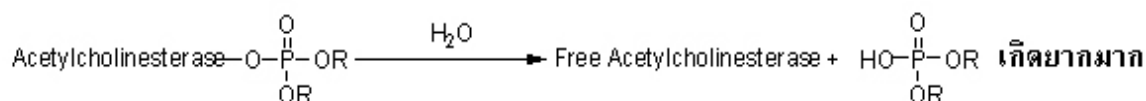
อาการพิษคือ น้ำตาไหล น้ำลายไหล กลืนปัสสาวะไม่อยู่ เป็นตะคริว ม่านตาหรี่ หากมีอาการรุนแรงจะชัก หัวใจเต้นเร็ว การหายใจล้มเหลว ตายในที่สุด



acetylated enzyme by substrate



carbamyated enzyme by carbamates



phosphorylated enzyme by organophosphorus

รูปที่ 4-4 แสดงปฏิกิริยาไฮโดรไลซิสของ Acetylcholinesterase

ที่มา : www.electon.rmutphysice.com

การตรวจวิเคราะห์ กลุ่ม Carbamate

1. การเตรียมตัวอย่างสิ่งส่งตรวจ

1.1 ตัวอย่างสิ่งส่งตรวจที่เป็นอวัยวะ และพืชอาหารสัตว์ เช่น ดับ ไต หนุ่ ฟาง เปลือกข้าวโพด ตัดเป็นชิ้นเล็กๆ

1.2 ชั่งตัวอย่าง 20 กรัม ใส่ใน Erlenmeyer flask ขนาด 500 มิลลิลิตร จากนั้นเติม Acetone 100 มิลลิลิตร และน้ำกลั่น 50 มิลลิลิตร เขย่าด้วย wrist action shaker ความเร็วรอบ 250 รอบต่อนาที เป็นเวลา 30 นาที

1.3 กรองแบบสุญญากาศด้วย Buchner funnel ล้างด้วยสารผสมของ Acetone : น้ำกลั่นใน อัตราส่วน 7 : 3 ปริมาณ 50 มิลลิลิตร

1.4 นำสารที่กรองได้ใส่ใน Separatory funnel ขนาด 1000 มิลลิลิตร เติม สารละลาย Coagulant 100 มิลลิลิตร เขย่าแรงๆเป็นเวลา 1 นาที เติม 5% Sodium chloride 100 มิลลิลิตร และ Methylene chloride 100 มิลลิลิตร เขย่าเบาๆ เป็นเวลา 1 นาที ตั้งทิ้งไว้ให้แยกชั้น จากนั้นเก็บสารชั้นล่าง ใส่ใน Erlenmeyer flask ขนาด 500 มิลลิลิตร สกัดส่วนบนซ้ำด้วย Methylene chloride 50 มิลลิลิตร อีก 2 ครั้ง และรวมชั้นล่างไว้ด้วยกัน จากนั้น เติม Sodium sulfate anhydrous 10 กรัม เขย่าไปมาทิ้งไว้ 10 นาที กรองด้วยกระดาษกรอง No. 1 ขนาดเส้นผ่านศูนย์กลาง 125 มิลลิเมตร นำไประเหยด้วย เครื่อง Rotary evaporator ให้เหลือประมาณ 5 มิลลิลิตร

1.5 Deactivated florasil ด้วย 2% น้ำกลั่น และบรรจุลงใน Column ขนาดเส้นผ่านศูนย์กลาง 22 มิลลิเมตร ความยาว 500 มิลลิเมตร ปริมาณ 20 กรัม ตามด้วย Sodium sulfate anhydrous 5 กรัม

1.6 Prewash ด้วย 50 มิลลิลิตรของสารละลายผสมระหว่าง Hexane : Acetone ในอัตราส่วน 95:5 เติมสารที่เตรียมไว้ในข้อ 1.4 ลงใน Column สะด้วยสารละลายผสมระหว่าง Hexane : Acetone ในอัตราส่วน 95:5 และ 75:25 อย่างละ 100 มิลลิลิตรตามลำดับ เก็บสารที่ชะได้นำไประเหยด้วยเครื่อง Rotary evaporator จนเกือบแห้ง แล้วเป่าแห้งด้วยแก๊สไนโตรเจนชนิด OFN ปรับปริมาตรด้วย Acetone ชนิด Pesticide grade 1 มิลลิลิตร

2. เตรียม Reagent blank

ใช้สารเคมี สารละลายต่างๆ และทำตามขั้นตอนการเตรียมตัวอย่างข้อ 1.2 – 1.6 โดยไม่มีการเติมสารตัวอย่าง

3. การเตรียมเพลท TLC เพื่อตรวจวิเคราะห์

นำเพลทที่เคลือบด้วย silica gel 60 GF 254 ขนาด 20×20 เซนติเมตร อบที่ 110 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 15 นาที ก่อนการใช้งาน ทำการแบ่งตามความกว้างของเพลทเป็นช่อง ช่องละ 2 เซนติเมตร ให้จุดเริ่มต้นห่างจากขอบล่าง 3 เซนติเมตร วัดระยะห่างจากจุดเริ่มต้นถึงขีดระดับที่กำหนดไว้ 12 เซนติเมตร เป็นการเตรียมเพลทสำหรับวิเคราะห์แบบ One-dimension (รูปที่ 4-5)

4. การตรวจวิเคราะห์

4.1 นำตัวอย่างที่เตรียมแล้วจากข้อ 1.6 มา spot ลงเพลท TLC ที่เตรียมไว้ในข้อ 3. โดย spot ตัวอย่างละ 20 ไมโครลิตร Reagent blank 20 ไมโครลิตร สลับกับ สารมาตรฐาน ที่มีความเข้มข้น 1000 ppm ชนิดละ 5-15 ไมโครลิตร

4.2 แช่เพลทใน Chromatography chamber ที่มีสารละลายผสมระหว่าง Hexane : Acetone ในอัตราส่วน 3:2 ปริมาตร 100 มิลลิลิตร รอจนสารละลายวิ่งขึ้นถึงระดับที่กำหนดไว้ จากนั้นนำเพลทออก ทำให้แห้งใน Chemical fume hood

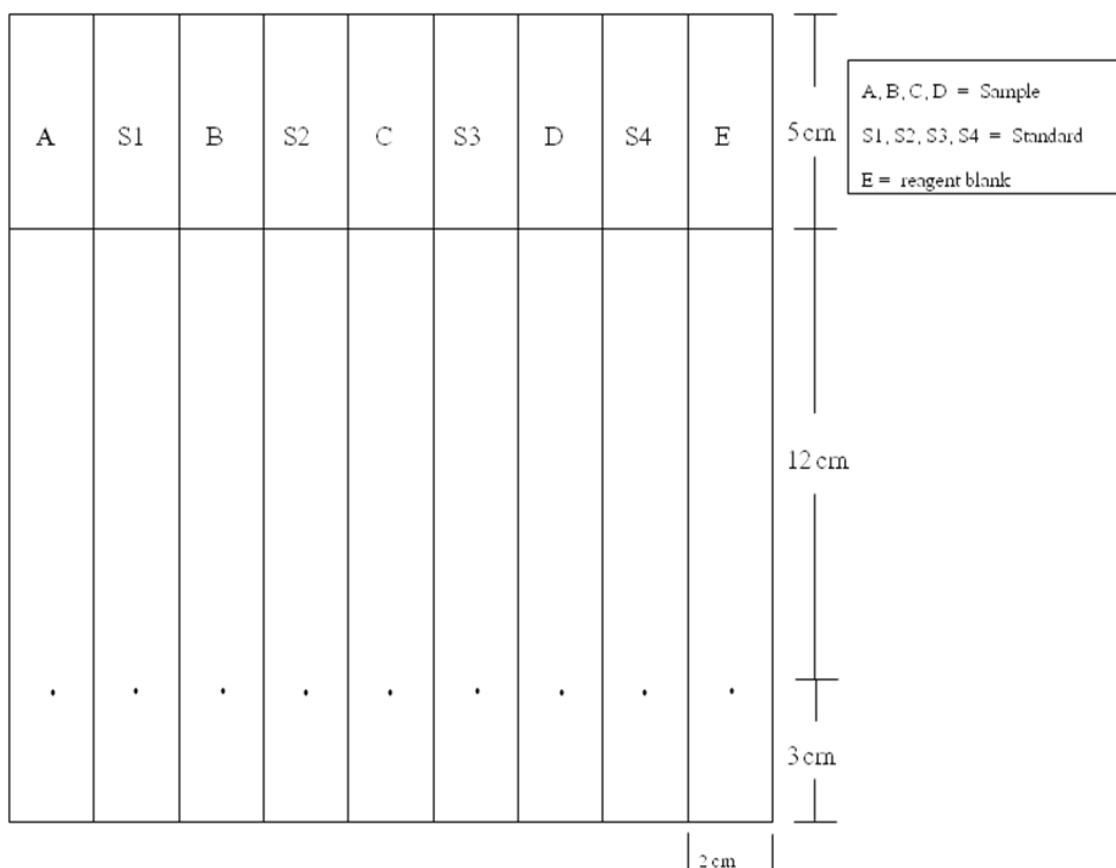
4.3 นำเพลทที่แห้งแล้วนั้นไปส่องดูใน UV cabinet ที่ความยาวคลื่น 254 นาโนเมตรเพื่อดู Spot และทำเครื่องหมายรอบ Spot

4.4 ตรวจวัดสารด้วยการ Spray ด้วย 10% Sodium hydroxide ทิ้งไว้ให้แห้งแล้ว Spray ทับด้วย 4-Nitrobenzene diazonium tetrafluoroborate (NBDTF) แล้วจึงอ่านผล

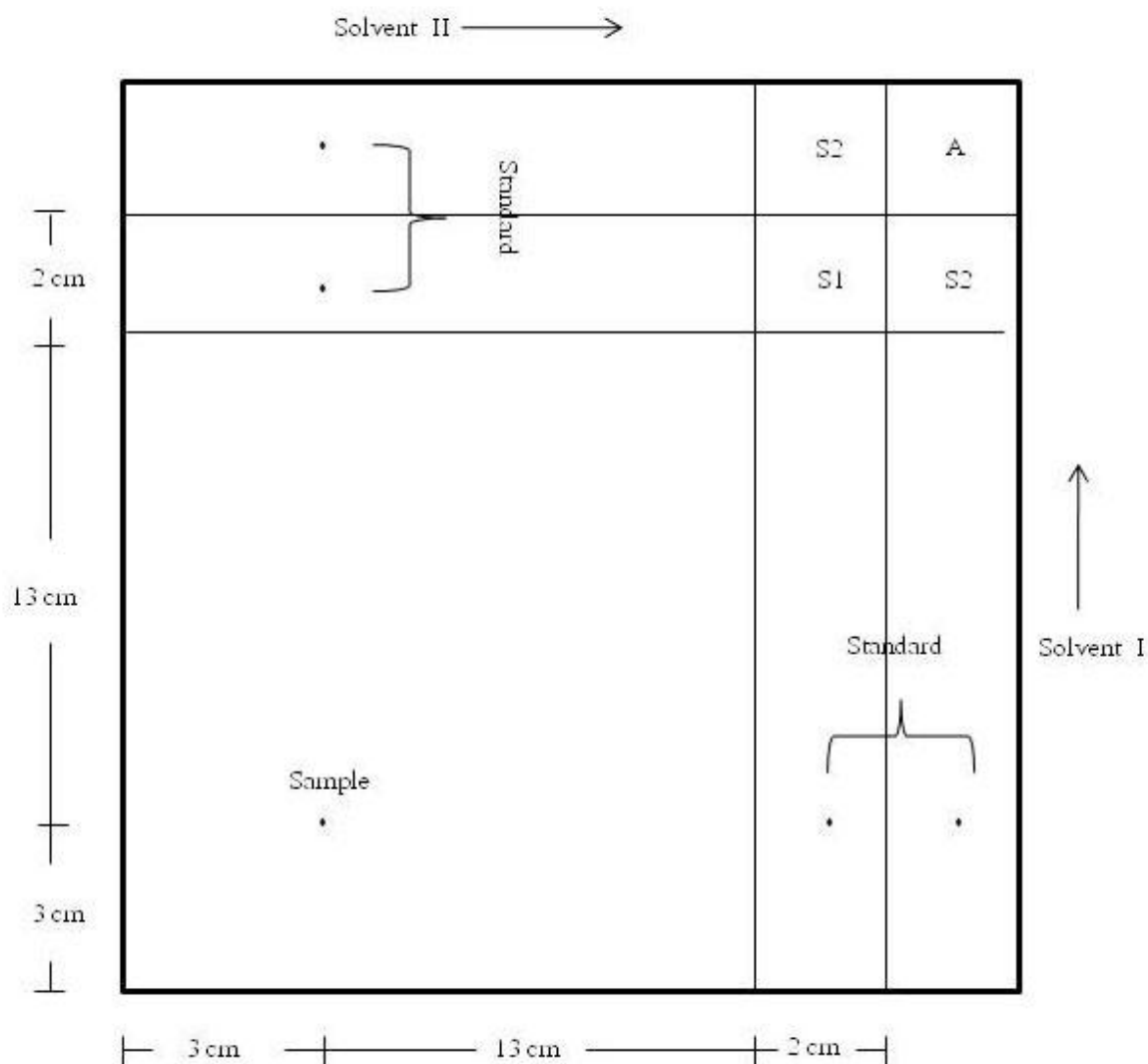
4.5 นำเพลทที่อ่านผลนั้น ไปถ่ายภาพ ด้วยเครื่องถ่ายภาพเอกสาร ที่นำมาประยุกต์ใช้กับงานในห้องปฏิบัติการเพื่อบันทึกผลภาพไว้

4.6 กรณีที่ให้ผลบวก ทำ Two dimension โดย spot ตัวอย่างละ 10-20 ไมโครลิตร และสารมาตรฐาน 10 - 15 ไมโครลิตร ตรงจุดที่กำหนดไว้ จากนั้นนำเพลทไปแช่ใน Chromatography chamber ที่เป็น Solvent I ซึ่งมีสารละลายผสมระหว่าง Hexane : Acetone ในอัตราส่วน 3:2 ปริมาตร 100 มิลลิลิตร

โดยวางเพลทให้ลูกศรชี้ขึ้น ร่อนสารละลายวิ่งถึงขีดระดับที่กำหนดไว้ ยกออกผึ่งให้แห้ง จากนั้นกลับเพลทด้านที่เป็น Solvent II ให้ลูกศรชี้ขึ้นและแช่ใน Chromatography chamber ที่เป็น Solvent II ซึ่งมีสารละลายผสมระหว่าง Chloroform : Benzene : Methanol ในอัตราส่วน 5:5:1 ปริมาตร 100 มิลลิลิตร ร่อนสารละลายวิ่งถึงขีดระดับที่กำหนดไว้ ยกออกผึ่งให้แห้ง Spray ด้วยสาร Spray ตามข้อ 4.4 ถ้าพบว่าสารตัวอย่างขึ้นในแนวตั้งฉากกับสารมาตรฐานทั้งสองทาง ถือว่าสารนั้นเป็นสารชนิดเดียวกันกับสารมาตรฐานที่เทียบ (รูปที่ 4-6)



รูปที่ 4-5 การเตรียมเพลท วิเคราะห์แบบ One- dimension



รูปที่ 4-6 การเตรียมเพลท วิเคราะห์แบบ Two – dimension

5. เกณฑ์การตัดสินและการอ่านผล

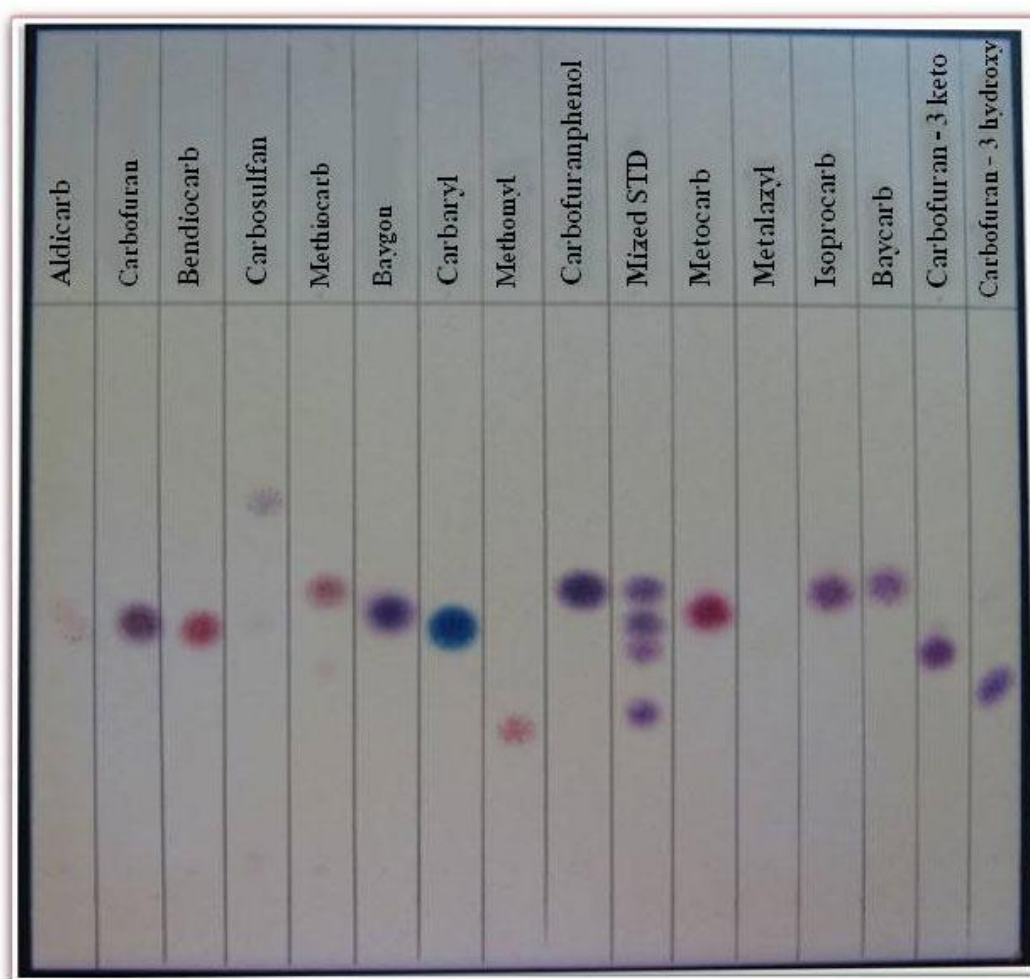
ความเข้มข้นต่ำสุดที่สามารถตรวจพบได้เท่ากับ 5 ppm อ่านผลหลังการ Spray ภายใน 5-10 นาที โดยดูสีและเปรียบเทียบระยะทาง จากจุดเริ่มต้นของสารมาตรฐานกับสารที่ตรวจวัด (Rf-value) ดังนี้ คือ ถ้าไม่เกิดสีหลัง Spray ถือว่าตรวจไม่พบ มีสีหลัง Spray แต่ไม่ตรงกับสารมาตรฐาน ถือว่าตรวจพบ แต่ไม่ทราบชนิด มีสีหลัง Spray ตรงกับสารมาตรฐาน ถือว่าตรวจพบและสีที่เห็นหลัง Spray จะจำเพาะต่อสารมาตรฐานแต่ละชนิดดังนี้ (รูปที่ 4-7)

Carbofuran	spot สีม่วงแดง
Carbofuran-3-keto	spot สีม่วงแดง ระดับต่ำกว่า Carbofuran 14-16 มิลลิเมตร
Carbofuran phenol	spot สีม่วงแดง ระดับใกล้กับ 4 -Methyl phenol
Carbofuran-3-hydroxy	spot สีม่วงแดง ระดับต่ำกว่า Carbofuran 11-13 มิลลิเมตร

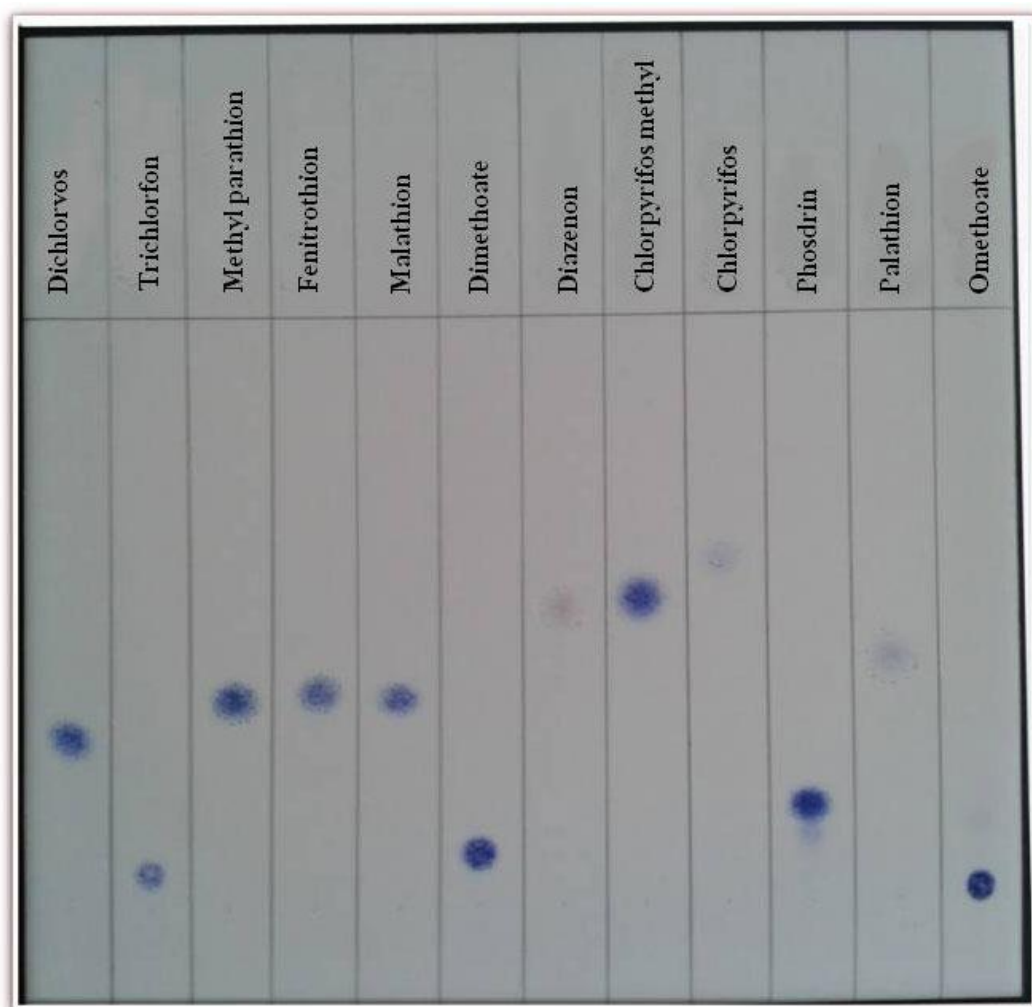
Carbaryl	spot สีน้ำเงิน
Carbosulfan	spot สีม่วงแดง 2 จุดระดับต่างกัน
Methomyl	spot สีส้ม
Methiocarb	spot สีส้ม ระดับต่างกับกับ Methomyl
Bendiocarb	spot สีส้มแสด
4 -Methyl phenol	spot สีม่วงแดง เหนือ Carbofuran 13-15 มิลลิเมตร
Metolcarb	spot สี ปูนแดง
Isoprocarb	spot สีม่วงอมน้ำเงิน อยู่เหนือ Carbofuran
Baycarb	spot สีม่วงอมน้ำเงิน ระดับต่างกับกับ Isoprocarb

6. การรายงานผล

รายงานผลเป็นพบหรือไม่พบสาร



(A) กลุ่ม Carbamate



(B) กลุ่ม Organophosphorus

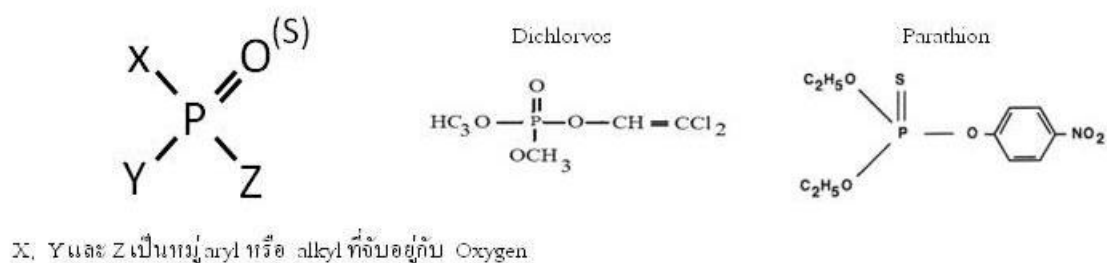
รูปที่ 4-7 TLC Chromatogram ของสารมาตรฐาน (A) กลุ่ม Carbamate และ (B) กลุ่ม Organophosphorus

สารเคมีกำจัดแมลง กลุ่ม Organophosphorus

Organophosphorus หรือ Organophosphate เป็นสารกลุ่มที่มี Phosphorus เป็นองค์ประกอบซึ่งเป็นเอสเทอร์ของกรดฟอสฟอริก เช่น ไดคลอวอส (Dichlorvos) เมวินฟอส (Mevinphos) คลอไพริฟอส (Chlorpyrifos) ไดอะซีนอน (Diazinon) พาราไทออน (Parathion) และ พาราไทออน-เมทิล (Parathion-methyl) เป็นต้น นิยมใช้ในการเกษตร เพื่อป้องกันและกำจัดแมลงศัตรูพืช Organophosphorus เป็นสารที่สลายได้เร็ว จึงไม่ค่อยมีการตกค้างในสิ่งแวดล้อมนาน แต่บางชนิดมีพิษเฉียบพลันสูงเนื่องจากมีผลต่อระบบประสาทเช่นเดียวกับ Carbamate คือออกฤทธิ์ยับยั้งการทำงานของ Acetylcholinesterase ทำให้

เกิดการสะสมของ Acetylcholine ที่ปลายประสาทเช่นกัน ทำให้กล้ามเนื้อกระตุก เกิดเป็นอัมพาต ปฏิกิริยาเกิดแบบถาวร จึงสลายได้ช้ากว่า Carbamate

สูตรโครงสร้างของกลุ่ม Organophosphorus



รูปที่ 4-8 สูตรโครงสร้างของ Organophosphorus

อาการของการเกิดพิษ

การเกิดพิษ จะเกิดคล้ายกับ Carbamate คือ เกิดจากการสะสมของ Acetylcholine ที่ปลายประสาท และเกิดเมทาโบไลต์ เมื่อได้รับแสง หรืออยู่ในสภาวะที่มีออกซิเจนมาก Organophosphorus ที่เป็น Organothiophosphate เช่น Malathion และ Parathion จะเปลี่ยนจาก Thion (P=S) เป็น Oxon (P=O) ทำให้ความเป็นพิษมีมากกว่า Organophosphorus บางชนิดสามารถละลายในไขมันและสะสมในร่างกาย ทำให้แสดงอาการพิษช้าๆ เช่น Diazinon และ Parathion-methyl สัตว์จะมีอาการชัก กล้ามเนื้อกระตุก เป็นอัมพาต ระบบหายใจล้มเหลวถึงตายได้ และปฏิกิริยาเกิดแบบถาวร เนื่องจากกลุ่ม Organophosphorus จะเกิดปฏิกิริยา Acetylation ได้ต้องเปลี่ยนเป็น Oxon ก่อน ดังนั้นการเกิดขบวนการไฮโดรไลซิสเพื่อสลายการสะสมของ Acetylcholine จึงเกิดได้ช้ากว่า กลุ่ม Carbamate

การตรวจวิเคราะห์กลุ่ม Organophosphorus

เตรียมตัวอย่างเช่นเดียวกับการวิเคราะห์กลุ่ม Carbamate สามารถนำตัวอย่างที่เตรียมสกัดแล้วมาใช้ spot เพื่อตรวจวัดได้ การเตรียมเพลทเพื่อตรวจวิเคราะห์ ทำเช่นเดียวกับกลุ่ม Carbamate ตามข้อ 3 จากนั้นนำเพลทที่เตรียมแล้ว แฉใน Chromatography chamber ที่มีสารละลายผสมระหว่าง Hexane : Acetone ในอัตราส่วน 3 : 2 ปริมาตร 100 มิลลิลิตร รอจนสารละลายวิ่งขึ้นถึงระดับที่กำหนดไว้ แล้วจึงนำเพลทออก ทำให้แห้งใน Chemical fume hood เช่นเดียวกับการวิเคราะห์ Carbamate

ตรวจวัด Organophosphorus โดยการ spray ด้วย 2% NBP (4-Nitrobenzene pyridine in acetone) อบที่ อุณหภูมิ 110 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 10 นาที จากนั้น spray ทับด้วย 10% TEP (Tetra ethylene pentamine in acetone)

เกณฑ์การตัดสิน อ่านผลโดยเทียบกับสารมาตรฐาน กลุ่ม Organophosphorus ผลบวก จะมี spot สีน้ำเงิน ผลลบไม่พบสีใดๆ

สารเคมีกำจัดแมลงกลุ่ม Organochlorine และ Pyrethroid

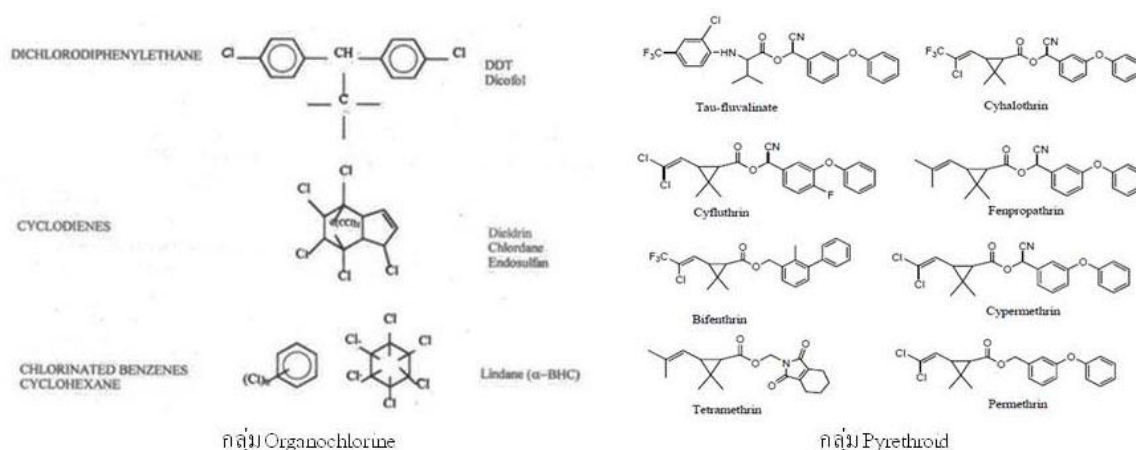
กลุ่ม Organochlorine หรือ Chlorinated hydrocarbon เป็นสารที่มีคลอรีนเป็นองค์ประกอบ แบ่งตามโครงสร้างได้เป็น

1. Dichlorodiphenyl ethanes เช่น DDT, Dicofol และ Methoxychlor
2. Cyclodienes เช่น Aldrin, Dieldrin, Chlordane, Endosulfan และ Heptachlor
3. Chlorinated benzenes cyclohexanes เช่น Lindane (Gamma-BHC และ HCH)

สารกลุ่ม Organochlorine เป็นสารเคมีที่สามารถสะสมในไขมันและสะสมในสิ่งแวดล้อมได้ดี จึงทำให้เกิดการตกค้างและปนเปื้อนเข้าสู่ห่วงโซ่อาหารไปยังคน และสัตว์ ได้ กลุ่ม Organochlorine มีพิษคงทนหลายปี ปัจจุบันทั่วโลกได้ยกเลิกการใช้ การนำเข้า หรือมีการควบคุมการใช้เท่าที่จำเป็น เพราะสารเคมีกลุ่มนี้ มีผลกระทบต่อสุขภาพและสิ่งแวดล้อม ทำให้ตกค้างในอาหารเมื่อคนหรือสัตว์ได้รับอาหารที่ปนเปื้อนเข้าไป อาจก่อให้เกิดมะเร็ง หรือโลหิตจางได้

สารกลุ่ม Pyrethroid เป็นสารสังเคราะห์ที่มีโครงสร้างของไพรีทรินซึ่งเป็นสารธรรมชาติ ที่สกัดจากพืช ไพรีทรัม สารนี้มีความเป็นพิษต่อแมลงสูงแต่มีความเป็นพิษต่อคนและสัตว์เลี้ยงลูกด้วยนมต่ำ สารเคมีกลุ่ม Pyrethroid ได้แก่ Deltamethrin, Permethrin และ Cypermethrin เป็นต้น พบว่ามีการใช้เป็นส่วนผสมของ สารกำจัดแมลงศัตรูสัตว์ สำหรับกำจัดเห็บ หมัด ในสัตว์เลี้ยง หรือกำจัดยุง ตามบ้านเรือน เป็นต้น

สูตรโครงสร้างของกลุ่ม Organochlorine และ Pyrethroid



รูปที่ 4-9 สูตรโครงสร้างของ Organochlorine และ Pyrethroid

อาการของการเกิดพิษ

การเกิดพิษ ของกลุ่ม Organochlorine จะเกิดพิษต่อระบบประสาทส่วนกลาง ทำให้เกิดการกระวนกระวาย ชักเกร็ง การหายใจไม่ปกติ ซึม อาเจียน

สำหรับการเกิดพิษของกลุ่ม Pyrethroid เนื่องจากเป็นสารที่สังเคราะห์เลียนแบบธรรมชาติ ไม่สะสมในร่างกาย จึงมีพิษต่อคนและสัตว์น้อยมาก อาการที่พบบ่อยคือ ระคายเคือง มีอาการคันผิวหนัง หากได้รับสารนี้ในปริมาณมาก จะมีอาการคล้าย กลุ่ม Organochlorine

การตรวจวิเคราะห์กลุ่ม Organochlorine และ Pyrethroid

1. การเตรียมตัวอย่าง

1.1 ชั่งตัวอย่างมา 20 กรัม เติม Petroleum ether 150 มิลลิลิตร เขย่า ด้วย เครื่อง Wrist action shaker เป็นเวลา 30 นาที

1.2 กรองแบบสุญญากาศด้วย Buchner funnel เทสารละลายลงใน Separatory funnel ขนาด 250 มิลลิลิตร สกัดด้วย Acetonitrile ที่ อิ่มตัวด้วย Petroleum ether 50 มิลลิลิตร เขย่าแรงๆ ตั้งทิ้งไว้ให้แยกชั้น เก็บส่วนล่างไว้ ทำการสกัดซ้ำ 2 ครั้ง

1.3 รวมส่วนล่างไว้ใน Separatory funnel ขนาด 1000 มิลลิลิตร (A) เติมน้ำกลั่น 500 มิลลิลิตร และ Sodium chloride ที่ อิ่มตัว 30 มิลลิลิตร ตามด้วย Petroleum ether 100 มิลลิลิตร เขย่า เบาๆ ตั้งให้แยกชั้นเก็บชั้นบนไว้

1.4 ส่วนชั้นล่างเก็บไว้ใน Separatory funnel ขนาด 1000 มิลลิลิตร (B) เติม Petroleum ether 100 มิลลิลิตร เขย่า แรงๆ ตั้งให้แยกชั้น เก็บชั้น Petroleum ether ใส่รวมใน (A)

1.5 นำชั้นบนจาก Separatory funnel (A) มาล้างด้วยน้ำกลั่น 2 ครั้ง เก็บชั้น Petroleum ether เติมด้วย Sodium sulfate เขย่า ไปมา 10-15 นาที กรองและระเหยแห้ง

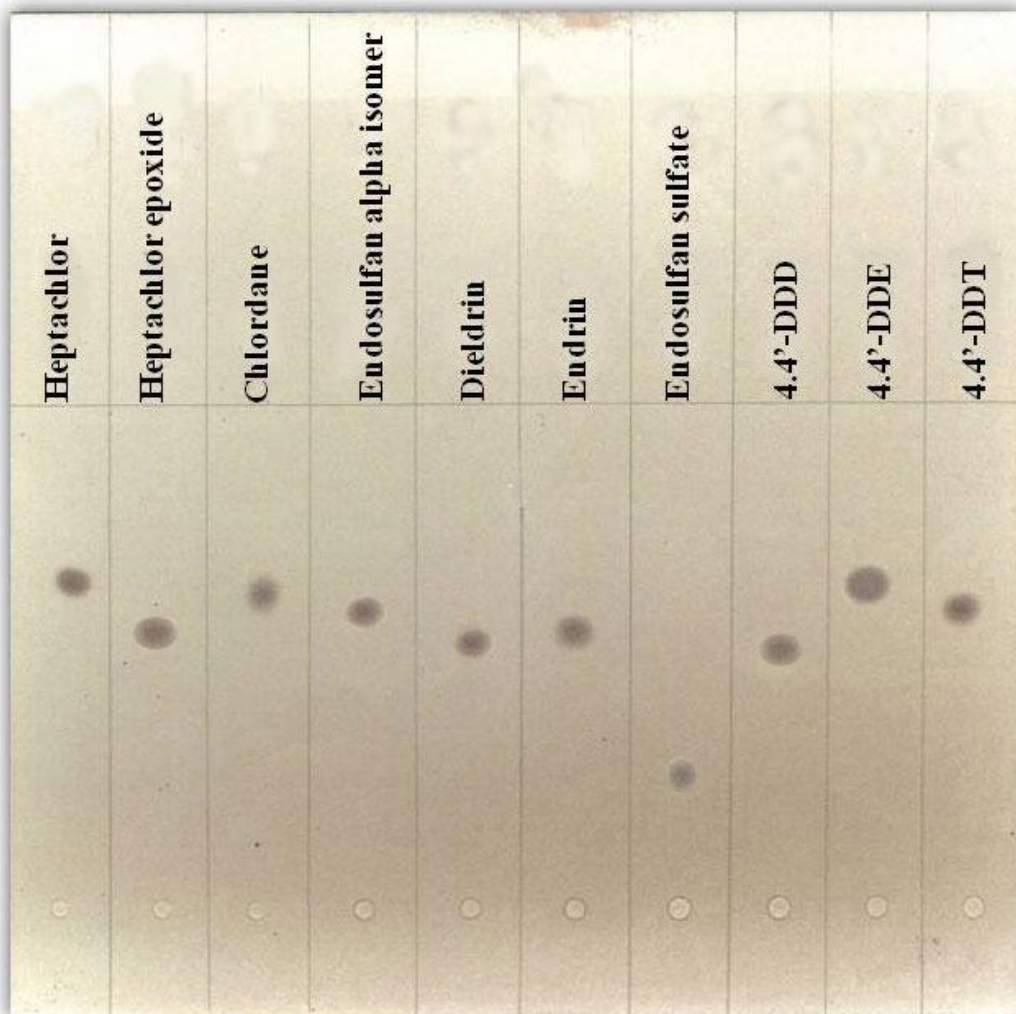
1.6 นำไปกำจัดสารปนเปื้อนโดยผ่าน Florisil column ซะด้วย 6%, 15% และ 50% ของ Diethyl ether ใน Petroleum ether ปรับปริมาตรด้วย Hexane 1 มิลลิลิตร นำไปวิเคราะห์ต่อไป

2. การวิเคราะห์และอ่านผล

2.1 ทำการ spot ตัวอย่างส่งตรวจ Reagent blank และ สารมาตรฐานของกลุ่ม Organochlorine และ Pyrethroid เช่นเดียวกับ Carbamate ทำการวิเคราะห์ One-dimension ในแท่ง Solvent I ที่มีสารละลาย Hexane : Acetone = 5 : 1 ปริมาตร 100 มิลลิลิตร ส่วนการวิเคราะห์ Two-dimension ให้เพิ่มสารละลาย Solvent II คือ Chloroform : Carbon tetrachloride = 1 : 3 ปริมาตร 100 มิลลิลิตร

2.2 spray ด้วย Chromogenic silver nitrate แล้วอังด้วย UV 254 นาโนเมตร เป็นเวลา 5-10 นาที

2.3 อ่านผล โดยดูสีเปรียบเทียบกับสารมาตรฐานของกลุ่ม Organochlorine และ Pyrethroid ผลบวก คือ สารที่ให้สีน้ำตาล ส่วนสารที่ให้ผลลบ ไม่เกิดสีใดๆ



รูปที่ 4-10 TLC Chromatogram ของสารมาตรฐานกลุ่ม Organochlorine

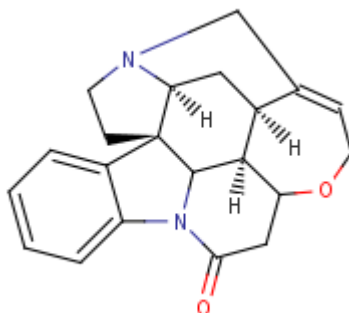
สารกำจัดหนูและสัตว์ฟันแทะ (Rodenticides)

Rodenticides หรือที่เรียกกันทั่วไปว่า สารกำจัดหนู จัดเป็นสารเคมีที่ใช้ในการควบคุมศัตรูพืช และสัตว์ประเภทหนึ่ง ซึ่งมีหลายชนิดด้วยกัน เช่น

- 5.1 สารกำจัดหนูสตริกนิน (Strychnine)
- 5.2 สารกำจัดหนูหรือยาเบื่อหนูชนิดกันการแข็งตัวของเลือด (Anticoagulant Rodenticides)
- 5.3 สารกำจัดหนูซิงค์ฟอสไฟด์ (Zinc phosphide)

5.1 สารกำจัดหนูสตริกนิน (Strychnine)

สตริกนินเป็นอัลคาลอยด์ชนิดหนึ่งสกัดได้จากเมล็ดและเปลือกของพืชชื่อ *Strychnos nux-vomica* เป็นพืชท้องถิ่นแถบเอเชียตะวันออกเฉียงใต้ เช่น อินโดจีน ศรีลังกา อินโดนีเซีย และออสเตรเลีย และยังพบในพืชชื่อ *Strychnus ignatii* สตริกนินมีลักษณะเป็นผงสีขาว ไม่มีกลิ่น มีสูตรทางเคมี คือ $C_{21}H_{22}N_2O_2$ น้ำหนักโมเลกุลเท่ากับ 334.41 และมีสูตรโครงสร้าง (รูปที่ 5-1)



รูปที่ 5-1 สูตรโครงสร้างสตริกนิน

สตริกนินเป็นอัลคาลอยด์ที่มีพิษสูงมาก มีรสขม ใช้เป็นสารกำจัดสัตว์ฟันแทะพวกหนู และใช้เป็นยาสำหรับป้องกันและกำจัดสัตว์รบกวนของสัตว์เลี้ยงลูกด้วยนมชนิดอื่นๆ

อาการของการเกิดพิษ

สัตว์เป็นพิษจากสตริกนินจะปรากฏอาการภายใน 15-30 นาที ถึง 1 ชั่วโมง หลังจากที่ได้รับสารพิษนี้เข้าไปโดยการกินขึ้นอยู่กับว่ากระเพาะอาหารว่างหรือเต็ม แสดงอาการทางระบบประสาทส่วนกลาง (Central Nervous System ; CNS) อาการที่พบ คือ กระสับกระส่าย กระวนกระวาย กล้ามเนื้อตึงต่อไปจะพบอาการชักแบบ Tetanic seizure เป็นครั้งคราว สัตว์จะมีความไวต่อการจับต้องตัว ไวต่อเสียงหรือการเปลี่ยนแปลงอย่างฉับพลันจากสิ่งแวดล้อมภายนอก ส่วนคอ ขาหน้าหรือขาหลังจะเหยียดตรงและแข็ง หรือเกร็งจนตัวแอ่น (Opisthotonus) ระยะเวลาของการชักแต่ละครั้งอาจนานเพียง 2-3 วินาทีจนถึง 2-3 นาที ระหว่างชักม่านตาจะขยายตัว เนื้อเยื่อเกิด Cyanosis เนื่องจากขาดออกซิเจน อาการชักจะรุนแรงมากขึ้น สัตว์จะหมดแรงและตายภายใน 1-2 ชั่วโมง เนื่องจากหายใจไม่ออกเพราะกล้ามเนื้อเกี่ยวกับการหายใจเป็นอัมพาต

ความเป็นพิษ (Toxicity)

สตริกนินเป็นสารที่มีพิษสูงต่อสัตว์เลี้ยงทุกชนิด เมื่อสัตว์ได้รับโดยการกิน (Oral lethal toxicity) อาจทำให้สัตว์ตายได้ในขนาดต่างๆตามชนิดของสัตว์ แสดงใน ตารางที่ 5-1

ตารางที่ 5-1 แสดงขนาดของสตริกนินที่ทำให้สัตว์ตายได้ ถ้าได้รับสารนี้โดยการกิน (Oral lethal toxicity)

ชนิดสัตว์	ขนาด (มิลลิกรัมต่อกิโลกรัม)
โค กระบือ	0.5
ม้า	0.5
สุกร	0.5-1.0
สุนัข	0.75
แมว	2.0
สัตว์ปีก	5.0
หนู	3.0

ที่มา : มอลินี (2523)

การตรวจวิเคราะห์หาเอกลักษณ์ Strychnine โดยวิธี TLC

หลักการ ตัวอย่างถูกสกัดในสถานะที่เป็นเบสด้วยตัวทำละลาย (Solvent) นำตัวทำละลายที่สกัดได้ไประเหยแห้ง ละลาย Residue แล้วนำไปตรวจแยกหาเอกลักษณ์ด้วยเทคนิค TLC โดยเทียบกับสารมาตรฐานสตริกนิน

ตัวอย่างที่ใช้ คือ อาหารในกระเพาะ หรือวัตถุที่ต้องสงสัย ที่เป็นของเหลวใช้ประมาณ 5-50 มิลลิลิตร ถ้าเป็นของแข็ง ใช้ประมาณ 5-50 กรัม นำมาตัดหรือบดให้ละเอียด

สารมาตรฐาน สารละลายมาตรฐาน Strychnine 1000 ไมโครกรัม/มิลลิลิตร ($\mu\text{g/ml}$) ในเมทานอล
เครื่องแก้ว อุปกรณ์ และสารเคมี ใช้เหมือนกับการสกัดตัวอย่างหาสารเคมีกำจัดแมลงกลุ่ม Carbamate และ Organophosphorus

วิธีเตรียมน้ำยาเคมี

Iodoplatinate reagent สำหรับ spray TLC plate

- ชั่ง Platinic chloride 0.25 กรัม และชั่ง Potassium iodide 5 กรัม ละลายผสมให้เข้ากันในน้ำกลั่น 100 มิลลิลิตร เติม Hydrochloric acid 2 มิลลิลิตร

วิธีตรวจวิเคราะห์

1. ชั่งตัวอย่าง 5 กรัมหรือ 5 มิลลิลิตร วัด pH ของตัวอย่างด้วยกระดาษ pH ถ้าตัวอย่างมีสภาพเป็นกลางหรือเป็นกรดให้ปรับ pH ตัวอย่างด้วยสารละลายแอมโมเนียมไฮดรอกไซด์จนเป็นเบสประมาณ 9-10
 2. สกัดด้วย Dichloromethane ปริมาตรเท่าตัวของตัวอย่าง ขณะสกัดหากเกิด Emulsion อาจใช้เครื่องปั่นแยก (Centrifuge) สกัด 2 ครั้ง ขณะสกัดตัวอย่างให้ทำการสกัด Blank (น้ำกลั่น) ควบคู่ไปด้วย
 3. นำชั้น Dichloromethane ที่สกัดได้ 2 ครั้งรวมกันแล้วเติม Sodium sulfate anhydrous เพื่อลดความชื้น กรองผ่านกระดาษกรองด้วย Funnel ใส่ลงใน Evaporating dish ทิ้งให้ระเหยที่อุณหภูมิห้อง (ใน Chemical fume hood) หรือใช้ N_2 gas เป่าให้แห้ง หรือใช้เครื่องระเหยสารช่วย
 4. ละลาย Residue ที่ได้ด้วย Methanol : Dichloromethane (1:1) ประมาณ 0.5 มิลลิลิตร เก็บไว้ในขวด สีชา
 5. Spot blank สารละลายมาตรฐาน Strychnine 1000 ไมโครกรัม/มิลลิลิตร และตัวอย่างที่สกัดลงบนช่องที่ขีดไว้บน เพลท TLC อย่างละ 20 ไมโครลิตร
 6. นำไปแช่ใน Tank ที่มีสารละลายผสมของเมทานอลต่อแอมโมเนียมไฮดรอกไซด์ในอัตราส่วน 100 ต่อ 1.5 (Developing solvent ; Methanol : Ammonium hydroxide 100 : 1.5)
 7. เมื่อสารละลายผสมเคลื่อนที่ถึง จี๊ดที่กำหนดไว้ นำออกมาผึ่งให้แห้งใน Chemical fume hood ให้แอมโมเนียระเหยไปให้หมด (อาจใช้ blower ช่วยเป่า โดยใช้ลมเย็นสลับลมร้อน)
 8. Spray เพลท ด้วย Iodoplatinate reagent
- ผลบวก จะได้ spot สีน้ำตาล (รูปที่ 5-2)



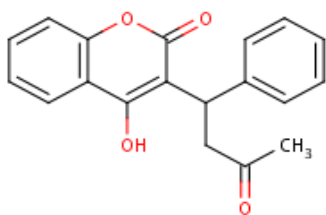
รูปที่ 5-2 TLC chromatogram ของสารละลายมาตรฐาน strychnine ที่ปริมาณต่าง ๆ กัน

5.2 สารกำจัดหนูหรือยาเบื่อหนูชนิดกันการแข็งตัวของเลือด (Anticoagulant Rodenticides)

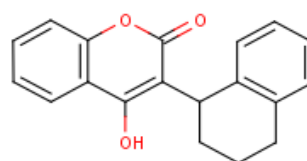
สารกำจัดหนูหรือยาเบื่อหนูชนิดกันการแข็งตัวของเลือด (Anticoagulant Rodenticides) โดยเฉพาะอย่างยิ่งชนิดอนุพันธ์คูมารินเป็นสาเหตุของความเป็นพิษที่พบมากที่สุดชนิดหนึ่งในสัตว์เลี้ยง แบ่งเป็น 2 กลุ่ม คือ

5.2.1 First-generation anticoagulant เป็นสารพิษที่หนูจะต้องกินติดต่อกันหลายครั้งหรือช่วงระยะเวลาหนึ่ง ร่างกายสัตว์จะสะสมสารพิษจนมีปริมาณมากพอทำให้หนูตายเพราะเกิดอาการเลือดไม่แข็งตัว และตกเลือดที่อวัยวะภายใน พบเลือดออกตามช่องเปิดต่าง ๆ ของร่างกายหนู เช่น หนู รุจมูก ปาก เป็นต้น หนูจะตายภายใน 2 สัปดาห์ ตัวอย่างของสารประเภทนี้ เช่น วาร์ฟาริน (Warfarin) คูมาเตตราลิ (Coumatetralyl) เป็นต้น (รูปที่ 5-3)

5.2.2 Second-generation anticoagulant เป็นสารเคมีกำจัดหนูประเภทออกฤทธิ์ช้าที่มีการพัฒนาและผลิตขึ้นมาใช้เพื่อใช้กับหนูที่ต้านทานต่อ Warfarin สารกลุ่มนี้มีความเป็นพิษสูงกว่าสารกำจัดหนูกลุ่มออกฤทธิ์ช้าในกลุ่มแรก และเป็นสารพิษที่หนูกินครั้งเดียวก็เพียงพอที่จะออกฤทธิ์ทำให้หนูตายได้ โดยหนูที่ได้รับสารกลุ่มนี้จะแสดงอาการป่วยและตายในระยะเวลาเดียวกันกับ สารออกฤทธิ์ช้าในกลุ่มแรก ตัวอย่างของสารประเภทนี้ เช่น Brodifacoum, Bromadiolone, Difenacoum และ Flocoumafen เป็นต้น (รูปที่ 5-4)

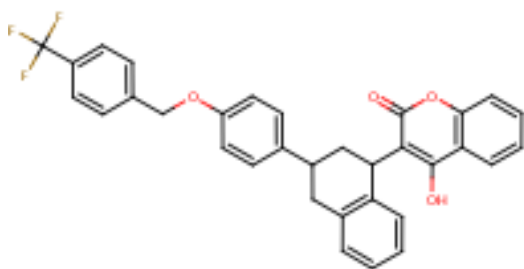


Warfarin
molecular weight : 308.33
molecular formula : $C_{19}H_{16}O_4$

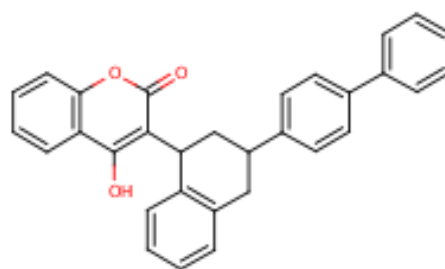


Coumatetralyl
molecular weight : 292.3
molecular formula : $C_{19}H_{16}O_3$

รูปที่ 5-3 สูตรโครงสร้างของ First-generation anticoagulant



Flocoumafen
molecular weight : 542.54
molecular formula : $C_{33}H_{25}F_3O_4$



Difenacoum
molecular weight : 444.55
molecular formula : $C_{31}H_{24}O_3$

รูปที่ 5-4 สูตรโครงสร้างของ Second-generation anticoagulant

ยาเบื่อหนูประเภทกันการแข็งตัวของเลือดชนิดอนุพันธ์คูมาริน ใช้กันมากในบ้านเรือน เพื่อกำจัดหรือเบื่อหนูเนื่องจากประสิทธิภาพของมัน และหาซื้อได้ง่ายตามท้องตลาด มีพิษต่อสัตว์เลี้ยงลูกด้วยนม

ทุกชนิด รวมทั้งสัตว์ปีก สุนัขและแมวเป็นสัตว์ที่พบว่าเป็นพิษอย่างรุนแรงกว่าสัตว์อื่นๆ ส่วนสุกรพบว่า เป็นพิษน้อยที่สุด สารกลุ่มนี้ยับยั้งการแข็งตัวของเลือด โดยมีกลไกในการออกฤทธิ์เกี่ยวกับการสร้าง clotting factors ของตับ ส่วนใหญ่จะไปขัดขวางสาร Prothrombin complex เป็นผลให้การทำงานของ วิตามิน K เปลี่ยนแปลงไป ปฏิกิริยานี้จะถูกสะสม ดังนั้นการเกิดพิษโดยปกติแล้วเป็นผลจากการได้รับ สารพิษนี้เป็นระยะเวลานาน ในทางกลับกันการเกิดพิษอย่างรุนแรงอาจเกิดหลังจากได้รับปริมาณมากๆ เพียงครั้งเดียวของสารเคมีกำจัดหนู Super-warfarin เช่น Difenacoum และความรุนแรงของการเป็นพิษ ของสารในกลุ่มนี้แต่ละตัวจะแตกต่างกันไปและขึ้นกับชนิดสัตว์ด้วย แสดงในตารางที่ 5-2

ตารางที่ 5-2 แสดงความเป็นพิษของวาร์ฟารินในสัตว์ชนิดต่างๆ

ชนิดสัตว์	ขนาดที่ให้ (มิลลิกรัม/กิโลกรัม)	Repeated dose (มิลลิกรัม/กิโลกรัม)
หนู	50-100	1 เป็นเวลา 5 วัน
สุนัข	50	5 เป็นเวลา 5-15 วัน
แมว	5-50	1 เป็นเวลา 5 วัน
หมู	3	0.05 เป็นเวลา 7 วัน
โค กระบือ	-	200 เป็นเวลา 12 วัน
สัตว์ปีก	50% ของน้ำหนักอาหารมีส่วนผสมของวาร์ฟาริน	
		-

ที่มา : มาลินี (2523)

อาการของการเกิดพิษ

อาการเด่นชัดคือมีจุดเลือดออก (Hemorrhage) ถ้าสัตว์เกิดอาการพิษแบบเฉียบพลัน (Acute) สัตว์จะตายโดยไม่แสดงอาการป่วย เนื่องจากเกิดเลือดออกจากเส้นเลือดที่ไปเลี้ยงสมอง หัวใจ หรือในหลอดลม ในกรณีพิษกึ่งเฉียบพลัน (Sub-acute) สัตว์จะอ่อนเพลียและโลหิตจาง เยื่อเมือกซีด หายใจไม่ออก อาเจียนและ ถ่ายเป็นเลือด เลือดกำเดาไหล อาจพบจุดเลือดออกที่ตาส่วน Sclera, Conjunctiva และภายในลูกตา เมื่อร่างกายเสียเลือดมากสัตว์จะอ่อนเพลีย หายใจไม่ออกเพราะเลือดออกที่ปอด หัวใจเต้นผิดปกติและอ่อน อาจพบก้อนเลือดคั่งตามตัว ข้อต่อต่างๆบวม ถ้าเกิดเลือดออกในสมองหรือไขสันหลัง จะพบอาการทางประสาท โดยสัตว์จะมีการชักและเป็นอัมพาต และตายในที่สุด

การตรวจวิเคราะห์หาเอกลักษณ์สารกำจัดหนูหรือยาเบื่อหนูชนิดกันการแข็งตัวของเลือดโดยวิธี TLC

หลักการ ตัวอย่างถูกสกัดด้วยตัวทำละลาย นำตัวทำละลายที่สกัดได้ไประเหยแห้ง ละลาย Residue แล้วนำไปตรวจแยกหาเอกลักษณ์ด้วยเทคนิค TLC โดยเทียบกับสารมาตรฐาน Warfarin และ Coumatetralyl ตัวอย่างที่ใช้ คือ อาหารในกระเพาะ หรือวัตถุที่ต้องสงสัย

วิธีสกัดตัวอย่าง สกัดเหมือนกันกับการสกัดหาสารกำจัดแมลงกลุ่ม Carbamate และ Organophosphorus ในบทที่ 4

สารมาตรฐาน : สารละลายมาตรฐาน Warfarin และ Coumatetralyl 1000 ไมโครกรัม/มิลลิลิตร

วิธีเตรียมน้ำยาเคมี

1% KMnO_4 ใน 0.025 M H_2SO_4 สารละลาย Acidified potassium permanganate สำหรับ spray TLC plate (เตรียมใหม่เสมอ)

- ชั่ง Potassium permanganate 0.2 กรัม ละลาย ในน้ำกลั่น 20 มิลลิลิตร เติม Sulfuric acid เข้มข้น 0.3 มิลลิลิตร ผสมให้เข้ากัน

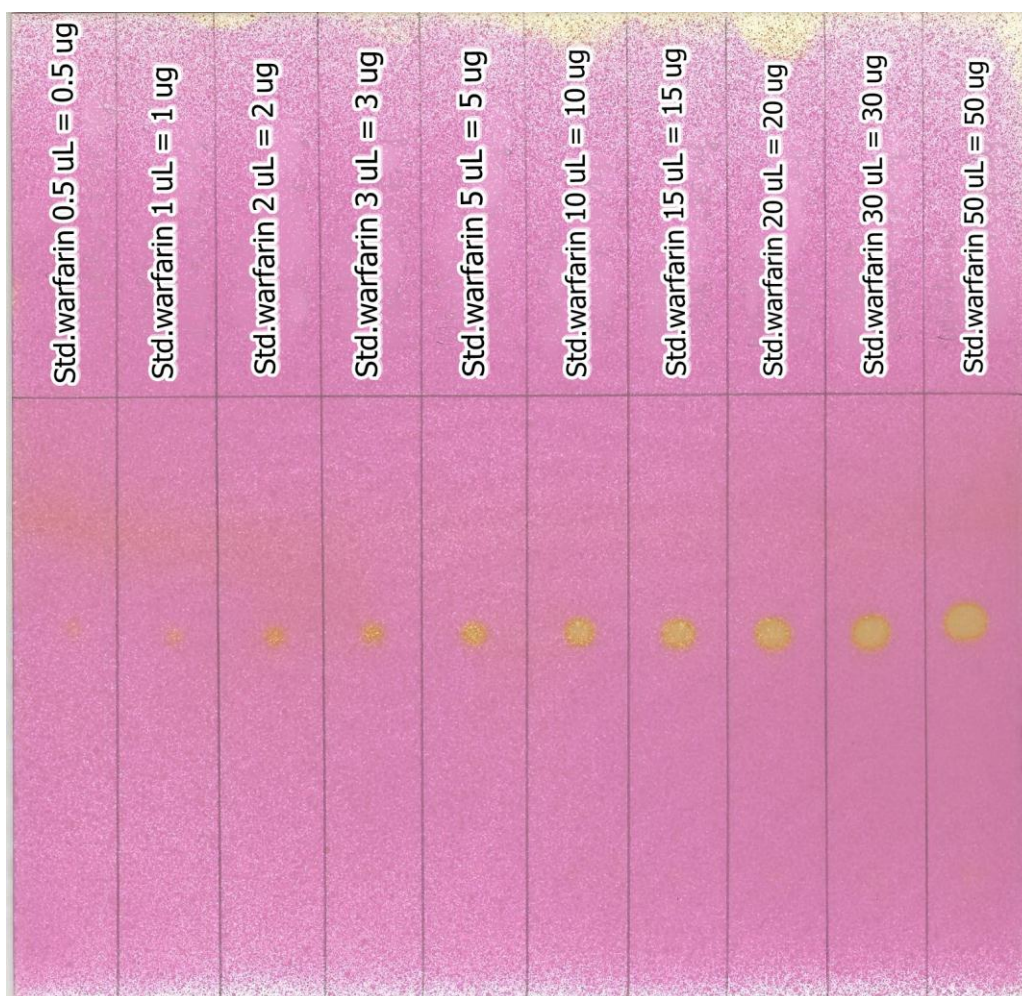
วิธีตรวจวิเคราะห์

1. นำ Residue ที่ได้จากการสกัดมา spot ลงบน TLC plate โดย spot blank สารละลายมาตรฐาน Warfarin 1000 ไมโครกรัม/มิลลิลิตร สารละลายมาตรฐาน Coumatetralyl 1000 ไมโครกรัม/มิลลิลิตร และตัวอย่างที่สกัดได้ ลงบนช่องที่ขีดไว้บน TLC plate อย่างละ 10 ไมโครลิตร

2. นำไปแช่ใน Tank ที่มีสารละลายผสมของคลอโรฟอร์มต่ออะซิโตนในอัตราส่วน 80 ต่อ 20 (Developing solvent ; Chloroform : Acetone = 80:20)

3. เมื่อสารละลายผสมเคลื่อนที่ถึง จี๊ดที่กำหนดไว้แล้ว นำออกมาผึ่งให้แห้งใน Chemical fume hood

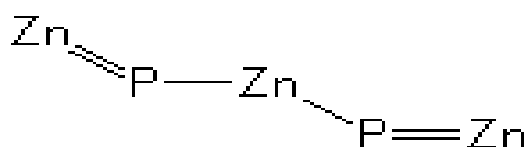
4. Spray plate ด้วย 1% KMnO_4 ใน 0.025 M H_2SO_4
ผลบวก จะได้ spot สีเหลืองบน Background สีม่วง (รูปที่ 5-5)



รูปที่ 5-5 TLC chromatogram ของสารละลายมาตรฐาน Warfarin ที่ปริมาณต่างกัน

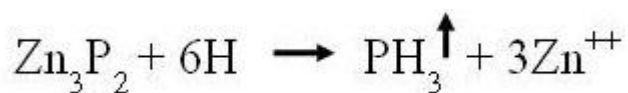
5.3 สารกำจัดหนู Zinc phosphide

Zinc phosphide (Zn_3P_2) เป็นสารประกอบอนินทรีย์ มีลักษณะเป็นผงสีดำ มีกลิ่นคล้ายกระเทียม มีน้ำหนักโมเลกุล 258.12 ไม่ละลายน้ำและแอลกอฮอล์ ใช้เป็นยาเบื่อหนูมาตั้งแต่ปี พ.ศ. 2473 มีสูตรโครงสร้าง (รูปที่ 5-6)



รูปที่ 5-6 สูตรโครงสร้างของ Zinc phosphide

Zinc phosphide สลายกลายเป็นแก๊สฟอสฟีน (Phosphine gas : PH_3) ได้เมื่อมีความชื้นหรือสภาพกรดในกระเพาะอาหาร ความเป็นพิษของ Zinc phosphide ขึ้นกับปริมาณการได้รับสัมผัส Phosphine gas และยังขึ้นอยู่กับชนิดของสัตว์และปริมาณกรดในกระเพาะอาหาร ปฏิกิริยาเคมีที่ทำให้เกิด Phosphine gas ตามสมการ (รูปที่ 5-7)



รูปที่ 5-7 สมการการเกิดปฏิกิริยากับกรดในกระเพาะอาหารของ Zinc phosphide

คุณสมบัติที่ตีประการหนึ่งของ Zinc phosphide คือ เมื่อใช้กำจัดหนูในบ้านเรือน หนูจะออกมาตายในที่โล่ง การเก็บหนูตายไปทิ้งทำได้ง่าย หนูไม่เข้าไปตายในซอกหรือรู

Aluminium phosphide และ Magnesium phosphide เมื่อทำปฏิกิริยากัน จะได้ Phosphine gas ด้วยเช่นกัน ซึ่งสารประกอบทั้งสองนี้มักใช้เป็นสารกำจัดแมลง (Insecticide) สารรมควัน (Fumigant) สำหรับเก็บเมล็ดพันธุ์พืช หรือขณะเดียวกันก็อาจใช้เป็นสารกำจัดหนูด้วย

อาการของการเกิดพิษ

อาการเกิดพิษเกิดขึ้นอย่างรวดเร็วภายใน 15 นาที ถึง 4 ชั่วโมง หลังจากกินขนาดที่ทำให้เกิดพิษได้ สัตว์มักตายภายใน 3-5 ชั่วโมง อาการพิษที่เกิดจาก Zinc phosphide จะไม่แสดงให้เห็นอย่างเด่นชัด สัตว์มีอาการโดยทั่วไป คือ เบื่ออาหารและตามด้วยอาการหายใจเร็วและลึก อาเจียนพร้อมกับแสดงอาการปวดหลัง พบอาการเสียดท้องในม้า และอาการท้องขึ้นในโคกระบือ ต่อมาสัตว์จะอ่อนเพลีย ล้มลงนอนไม่ขอมลุก อ้าปากหายใจ กระวนกระวายคล้ายกับขาดอากาศหายใจ อาจพบอาการชักเกิดขึ้นในสุนัขด้วย ซึ่งจะทำให้เกิดสับสนกับอาการพิษ ที่เกิดจากสารกำจัดหนูสตริกนินในสุนัขได้

ความเป็นพิษ (Toxicity)

LD_{50} (oral rats) 40.5 mg/kg bw

LD_{50} (oral poultry) 25 mg/kg bw

ปริมาณ Zinc phosphide ที่ทำให้สุนัขที่กระเพาะอาหารว่างตาย คือ 100 mg/kg bw

LD_{50} (oral sheep) 60-70 mg/kg bw

การตรวจวิเคราะห์หาสารกำจัดหนู Zinc phosphide และโลหะพิษ (Arsenic, Mercury, Antimony และBismuth) ด้วย Gutzeit's and Reinsch's test

Gutzeit's test

หลักการ เป็นการไฮโดรไลส์โลหะหนักด้วยกรด โดยมี Zn เป็น catalyst ทำปฏิกิริยากับ Silver nitrate (AgNO_3) กลายเป็นสารประกอบสีเหลืองหรือสีดำ

ตัวอย่างอาหารที่ใช้ คือ อาหารในกระเพาะและวัตถุดิบที่สงสัย

สารมาตรฐาน : ใช้สารละลาย Zinc phosphide 100 ppm และ Arsenic 5 ppm

1. ตัวอย่าง 1 กรัมหรือ 1 มิลลิลิตร (ถ้าเป็นผงแห้งให้เติมน้ำกลั่นลงไป 1 มิลลิลิตร) ใส่ลงในหลอดทดสอบ
2. เติม Activated zinc ประมาณ 1 กรัม
3. เติม 6 N Hydrochloric acid 1-2 มิลลิลิตร
4. นำสำลีที่ผ่านการชุบ 10% Lead acetate มาชุบน้ำกลั่นพอหมาดๆ แผ่นเป็นแผ่นบาง อดในหลอดทดสอบ ต่ำกว่าปากหลอดทดสอบประมาณ 1 เซนติเมตร เพื่อดักจับ Sulphur
5. นำกระดาษกรองที่หยดด้วยสารละลายอิมดัว Silver nitrate ใน Methanol มาปิดปากหลอดทดสอบ ทิ้งไว้ประมาณ 5 นาที

ผลบวก : เกิดสีน้ำตาล หรือ สีดำ บนกระดาษกรองตรงบริเวณที่หยดสารละลายอิมดัว Silver nitrate ใน Methanol แสดงว่าอาจมีโลหะ Arsenic, Antimony หรือมี Sulphide หรือ Phosphide อยู่ในตัวอย่าง (รูปที่ 5-8)



รูปที่ 5-8 ผลบวกของสารมาตรฐาน Zinc phosphide และ As จากการตรวจวิเคราะห์หาสารกำจัดหนู โดย Gutzeit's test

Confirmation of Gutzeit's test (Molybdenum blue test)

การแยก Arsenic, Antimony, Sulphide และ Phosphide โดยใช้วิธีการตรวจยืนยัน ด้วยวิธี Molybdenum blue test โดยนำผลที่ได้ positive (spot สีดำ บนกระดาษกรอง) จากการทำ Gutzeit's test มาแยกวิเคราะห์หาโลหะแต่ละตัวที่สงสัย ดังนี้

Molybdenum blue test

1. ฟอก spot สีดำบนกระดาษกรองด้วย Chlorine gas (เตรียมโดยใช้ปฏิกิริยาของ conc. Hydrochloric acid กับ Potassium permanganate) จนหมดสีดำเป่าไล่ Chlorine ออกให้หมดด้วย blower

2. วางกระดาษกรองลงบนกระจกนาฬิกา แล้วหยดสารละลายของ Ammonium molybdate 1 หยด ทิ้งไว้สักครู่ จึงเป่าด้วยลมร้อน นานประมาณ 3 นาที ตั้งทิ้งไว้ให้เย็น แล้วหยดสารละลายของ Benzidine ลงไป 1 หยด นำกระดาษกรองนี้ไปอังไฟ Ammonia แล้วดูผลที่เกิดขึ้น

ผลบวก : เกิด spot สีน้ำเงิน แสดงว่ามี Phosphide และ Arsenic อยู่ในตัวอย่าง ซึ่งการตรวจแยก Phosphide และ Arsenic นั้นใช้วิธีดูผลจากการทำ Reinsch's test มาประกอบการพิจารณา กล่าวคือ ถ้าเป็น Arsenic จะให้ผลบวกกับ Reinsch's test (รูปที่ 5-9) แต่ถ้าเป็น Phosphide ให้ผลลบ กับ Reinsch's test ตาม (ตารางที่ 5-3)

สำหรับโลหะ Antimony กับ Sulphide จะไม่ให้ spot สีน้ำเงินในการทำ Molybdenum blue test ถือว่าเป็น Negative test

Reinsch's test

หลักการ เป็นการทำปฏิกิริยาระหว่างแผ่นทองแดงกับโลหะหนัก โดยมีกรดเป็น Catalyst ทำให้โลหะหนักมาเกาะอยู่ที่ผิวทองแดง

สารมาตรฐาน : ใช้สารละลาย Arsenic 5 ppm

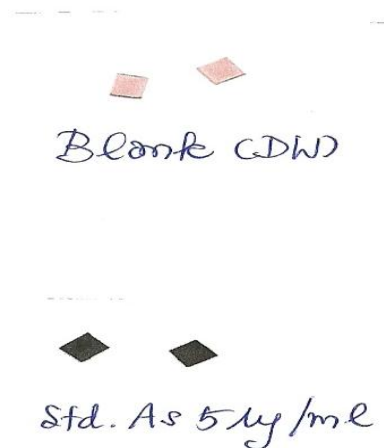
1. Sample 5-10 กรัม หรือ มิลลิลิตร (ถ้าเป็นผงแห้งให้เติมน้ำกลั่นลงไป 10 มิลลิลิตร) ใส่ใน Beaker ขนาด 50 มิลลิลิตร

2. ใส่แผ่นทองแดง ขนาดประมาณ 3x3 มิลลิเมตร 1-2 ชิ้น โดยแผ่นทองแดงที่ใช้ต้องผ่านการล้างด้วย Nitric acid : น้ำ (1:1) จนแผ่นทองแดงสะอาด และล้างน้ำกลั่นจนหมดกรด ซับให้แห้งด้วยกระดาษกรอง

3. เติมกรด Hydrochloric เข้มข้น ประมาณ 3 มิลลิลิตร

4. นำไปตั้งบน Water bath หรือตั้ง Hot plate โดยใช้ไฟอ่อนประมาณ 10 นาที

ผลบวก : ถ้ามีคราบสีดำติดบนแผ่นทองแดง แสดงว่าอาจมีโลหะ Arsenic, Antimony และ Bismuth อยู่ในตัวอย่าง แต่ถ้าบนแผ่นทองแดงมีสีเงินขาว แสดงว่าอาจมีโลหะ Hg อยู่ในตัวอย่าง จากนั้นให้นำแผ่นทองแดงที่ให้ผลบวกนี้ไปทำการตรวจยืนยันด้วยวิธี Sublimation test ต่อไป ดัง (ตารางที่ 5-3)



รูปที่ 5-9 ผลบวกของสารมาตรฐาน As จากการตรวจวิเคราะห์โดย Reinsch's test

Confirmation of Reinsch's test (Sublimation test)

หลักการ เป็นการให้ความร้อนเผาให้โลหะที่ติดอยู่บนผิวของแผ่นทองแดงระเหิดออกมา แล้วใช้ความเย็นควบแน่นไอของโลหะให้เป็นผลึกจับอยู่ที่ผิวภายในหลอดแก้ว

Sublimation test

1. นำแผ่นทองแดงที่ได้จากการอ่านผลบวก ใส่ลงในหลอดระเหิด 1-2 แผ่น
2. ใช้สำลีชุบน้ำหมาดๆ พันรอบๆ หลอดระเหิด เหนือกระเปาะที่บรรจุแผ่นทองแดงเล็กน้อย
3. นำหลอดระเหิดไปเผาไฟด้วยตะเกียง Bunsen เพื่อทำให้โลหะ As และ Hg ระเหิดไปเกาะอยู่ในบริเวณกระเปาะของหลอด
4. เมื่อหลอดระเหิดเย็นแล้ว เอาสำลีออก นำหลอดไปส่องดูผลึกของโลหะด้วยกล้องจุลทรรศน์

การแปลผล : - ถ้าผลึกที่เห็นเป็นรูปแปดเหลี่ยม แสดงว่ามีสารหนู (As) อยู่ในตัวอย่าง

- ถ้าผลึกที่เห็นเป็นรูปทรงกลม แสดงว่ามีปรอท (Hg) อยู่ในตัวอย่าง

- สำหรับพลวง (Sb) และ บิสมัท (Bi) จะไม่ระเหิด

หมายเหตุ : วิธีตรวจวิเคราะห์ Reinsch's และ Gutzeit's test ต้องทำคู่กันเสมอ หากให้ผล Negative แสดงว่าตรวจไม่พบ Arsenic, Antimony, Mercury, Bismuth และ Zinc phosphide แต่ถ้าให้ผล Positive ในวิธีทดสอบใดวิธีหนึ่ง ต้องทำการวิเคราะห์ด้วย Molybdenum blue test หรือ Sublimation test ต่อไปจากการทดสอบแต่ละวิธีสามารถเปรียบเทียบผลได้ ดัง (ตารางที่ 5-3)

ตารางที่ 5-3 ตารางเปรียบเทียบผลการทดสอบแต่ละวิธี

ชนิดของสารกำจัด หนูและไล่หะพืษ	วิธีการทดสอบ			
	Gutzeit's test	Molybdenum blue test	Reinsch's test	Sublimation test
Phosphide(Zn_3P_2)	pos	pos	negative	-
Arsenic (As)	pos	pos	pos (สีดำ)	ผลึกรูปแปดเหลี่ยม
Antimony (Sb)	pos	negative	pos (สีดำ)	-
Bismuth (Bi)	negative	negative	pos (สีดำ)	-
Mercury (Hg)	negative	negative	pos (สีเทา) หรือ เงินขาว	ผลึกรูปทรงกลม

ที่มา : อารี (2520)

การเตรียมน้ำยาเคมีสำหรับ test ต่างๆ

Gutzeit's test

- 10% (w/v) Copper sulphate : ชั่ง Copper sulphate 10 กรัม ละลายในน้ำกลั่น 100 มิลลิลิตร
- Activated Zinc : นำสังกะสีชนิดเป็นเม็ด (granule) ตามจำนวนที่ต้องการใส่ 10% Copper sulphate จนท่วม ตั้งทิ้งไว้ประมาณ 1 นาที เทน้ำทิ้ง อบแห้งเก็บใส่ขวด
- 6 N Hydrochloric acid : ตวง Hydrochloric acid 520 มิลลิลิตร เติมนลงในน้ำกลั่นจนครบ 1000 มิลลิลิตร
- 10% (w/v) Lead acetate : ชั่ง Lead acetate 10 กรัม ละลายในน้ำกลั่น 100 มิลลิลิตร
- 10 % (w/v) Silver nitrate : ชั่ง Silver nitrate 10 กรัม ละลายใน Methanol 100 มิลลิลิตร

molybdenum blue test

- Ammonium molybdate : ชั่ง Ammonium molybdate 5 กรัม ละลายในน้ำกลั่น 100 มิลลิลิตร เติมนกรด nitric เข้มข้น 35 มิลลิลิตร เก็บในตู้เย็น
- Benzidine : ละลาย Benzidine 0.5 กรัม ใน Glacial acetic acid 10 มิลลิลิตร แล้วเจือจางด้วยน้ำกลั่นให้ครบ 100 มิลลิลิตร

Reinsch's test

- 1:1 (v/v) Nitric acid : น้ำกลั่น : ตวง Nitric acid เข้มข้น 50 มิลลิลิตร เติมนลงในน้ำกลั่น 50 มิลลิลิตร
- แผ่นทองแดง : ล้างแผ่นทองแดงด้วย :1 (v/v) Nitric acid : น้ำกลั่น ให้แผ่นทองแดงสะอาด แล้วล้างออกด้วยน้ำกลั่นจนครบหมด ทำให้แห้ง เตรียมให้พอใช้กับการวิเคราะห์

สารระเหยไซยาไนด์ (Cyanide)

ไซยาไนด์ กรดไฮโดรไซยานิก (HCN) หรือกรดพริสซิก (Prussic acid) เป็นสารพิษที่เป็นอันตรายต่อคนและสัตว์ ออกฤทธิ์ได้รวดเร็วและร้ายแรงมาก พบได้ในรูปของเกลือ เช่น โซเดียมไซยาไนด์ (NaCN) และโพแทสเซียมไซยาไนด์ (KCN) ไซยาไนด์ใช้ในอุตสาหกรรมทำความสะอาดโลหะ ชุบโลหะ ใช้ในกระบวนการสังเคราะห์สารเคมีบางตัว ใช้เป็นปุ๋ย สารฆ่าเชื้อในดิน และสารกำจัดสัตว์ฟันแทะ (Rodenticide) เช่น Vermin killer และยังพบว่าใช้ HCN เป็นสารรมควัน

นอกจากนี้ยังพบไซยาไนด์อยู่ในรูปของไซนาโนเจนิกไกลโคไซด์ (Cyanogenic glycoside) ในพืชหลายชนิด เช่น มันสำปะหลัง ข้าวฟ่าง หนุ่ยปล้อง ฯลฯ ซึ่ง Glycoside นี้จะถูกเปลี่ยนไปอยู่ในรูปของกรดอิสระได้ (free HCN) จากกระบวนการ Hydrolysis โดยเอนไซม์เบต้า-ไกลโคซิเดส (β -glycosidase) ของพืชเอง หรือเกิดจากการที่โครงสร้างของเซลล์พืชเสียหายหรือถูกทำลายจากการแช่แข็ง การสับ การฟัน หรือจากการบดเคี้ยว การย่อยสลายพืชที่เกิดจากเชื้อจุลินทรีย์ในกระเพาะอาหาร (Rumen) ก็ทำให้เกิดไซยาไนด์อิสระได้ สัตว์เคี้ยวเอื้อง (Ruminants) มีความไวต่อไซยาไนด์มากกว่าสัตว์กระเพาะเดี่ยว (Monogastric animals)

อาการของการเกิดพิษ

พบเกิดอาการภายใน 15-20 นาที จนถึง 2-3 ชั่วโมง หลังจากที่สัตว์กินอาหารที่มีพิษชนิดนี้เข้าไป เริ่มแรกสัตว์จะแสดงอาการกระวนกระวาย ตามด้วยอาการหายใจเร็วและหายใจไม่ออก น้ำลายไหล น้ำตาไหล ออจาระและปัสสาวะ อาจพบอาเจียนร่วมด้วย โดยเฉพาะในหมู สัตว์จะล้มลงนอน อ้าปากหายใจ อาจพบอาการชักแบบ Clonic convulsion ด้วย เนื่องจากขาดออกซิเจน ม่านตาขยาย เนื้อเยื่อต่างๆ มีสีแดงสด อาการที่เด่นชัด คือ เลือดของสีค้ำจะมีสีแดงสด

ความเป็นพิษ (Toxicity)

- Minimal lethal dose ของกรดไฮโดรไซยานิกหรือโพแทสเซียมไซยาไนด์ในสัตว์ทุกชนิด เท่ากับ 2.0-2.3 มิลลิกรัมต่อน้ำหนัก 1 กิโลกรัม
- ปริมาณของไซยาไนด์ในพืชหากสูงเกิน 20 มิลลิกรัมต่อ 100 มิลลิลิตร (200 ppm) จะทำให้สัตว์เกิดอาการป่วยได้

ปัจจัยที่มีผลต่อความเป็นพิษมากหรือน้อย

1. ขนาดและชนิดสัตว์
2. ความเร็วที่สัตว์กินพืชชนิดนั้นเข้าไป
3. ชนิดของอาหารสัตว์ที่สัตว์กินร่วมกับการกินพืชพวกไซยาโนเจน
4. ปริมาณของเอนไซม์ที่มีอยู่ในพืชและสภาพความเป็นกรด-ด่าง ของกระเพาะอาหาร
5. ความสามารถในการทำลายพืช (Detoxify) ไซยาไนด์ ของร่างกาย

การตรวจวิเคราะห์ไซยาไนด์ โดยวิธี Paper Strip Test

หลักการ ไซยาไนด์ที่มีอยู่ในพืชจะอยู่ในรูปของ Glycoside ทำให้อยู่ในสถานะที่เป็นกรดและมีตัวเติมไฮโดรเจนอยู่ จะแตกตัวกลายเป็นก๊าซไฮโดรเจนไซยาไนด์ (HCN) เมื่อให้ผ่านกระดาษกรองชุบสารละลาย เฟอร์รัสคลอไรด์และโซเดียมไฮดรอกไซด์ จะเกิดเป็นโซเดียมไซยาไนด์ (NaCN) อยู่บนกระดาษกรองนั้น ซึ่งสามารถนำไปทดสอบหาไซยาไนด์ได้ต่อไป

ตัวอย่างที่ใช้ คือ อาหารในกระเพาะ พืชอาหารสัตว์ที่สงสัย

สารมาตรฐาน (Standard : Std.) สารละลายมาตรฐานไซยาไนด์ 10 ไมโครกรัม/มิลลิลิตร ($\mu\text{g/ml}$) หรือ พี พี เอ็ม (ppm)

1. เครื่องมือ (รูปที่ 6-1) ประกอบด้วย
 - แท่งหลอดแก้วกลางเสียบทะลุจุกยางสีดำ
 - กระดาษกรองแถบขาว
 - Erlenmeyer flask



รูปที่ 6-1 อุปกรณ์สำหรับใช้ตรวจวิเคราะห์ไซยาไนด์ โดยวิธี Paper Strip Test

2. สารเคมีและวิธีเตรียม

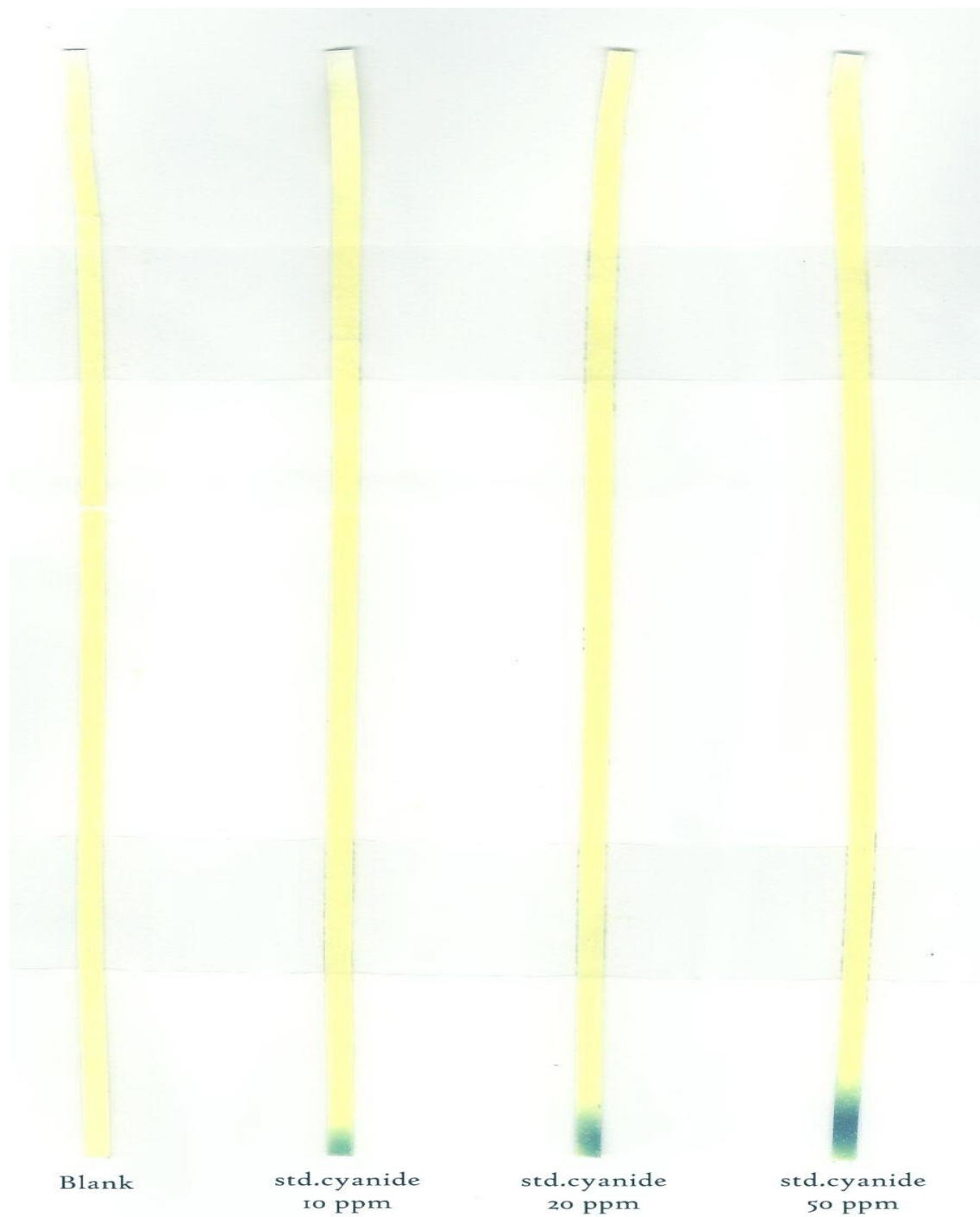
- 10% NaOH (ซึ่ง Sodium hydroxide 10 กรัม ละลายในน้ำกลั่น 100 มิลลิลิตร)
- สารละลาย Ferrous sulfate (เตรียมใหม่ทุกครั้งที่ใช้ โดยใช้ Ferrous sulfate ประมาณเท่าเม็ดถั่วเขียวละลายในน้ำกลั่น 1 มิลลิลิตร)
- 5% FeCl₃ (ซึ่ง Ferric chloride 5 กรัม ละลายในน้ำกลั่น 100 มิลลิลิตร)
- 6N HCl (ตวง Hydrochloric acid 520 มิลลิลิตร เติมน้ำกลั่นจนครบ 1000 มิลลิลิตร)

วิธีตรวจวิเคราะห์

1. เตรียม Paper strip โดยตัดกระดาษกรองเป็นแถบยาวกว้าง 2-3 มิลลิเมตร ชุบด้วย สารละลาย Ferrous sulfate เป่าแห้ง แล้วชุบต่อด้วย 10% Sodium hydroxide เป่าให้แห้งอีกครั้ง นำมาใช้ทันที โดยนำมาใส่ลงในแท่งหลอดแก้วกลวง ขนาดเส้นผ่านศูนย์กลางประมาณ 5 มิลลิเมตร (แท่งแก้วมีรูปร่างหักงอ (รูปที่ 6-1) เพื่อป้องกันการระเหยของ Cyanide
2. ตัวอย่าง 5-10 กรัม (ถ้าเป็นตัวอย่างพืช ให้ตัดเป็นชิ้นเล็กๆหรือบดละเอียด) เติมน้ำกลั่น 10 มิลลิลิตร ลงใน Erlenmeyer flask
3. เติมน้ำด่างกะสีประมาณ 2 กรัม
4. เติม 10% Sulfuric acid 3-5 มิลลิลิตร ปิดปาก Erlenmeyer flask ด้วยจุกยางที่มีแท่งหลอดแก้วเสียบอยู่พร้อมกับกระดาษกรองที่ผ่านการชุบดังรูปที่ 6-1
5. ตั้งบน Water bath ประมาณ 30 นาที
6. นำ Paper strip ออกมาราดด้วย 1 มิลลิลิตร 6 N Hydrochloric acid ซึ่งผสม 5% Ferric chloride ประมาณ 2-3 มิลลิลิตร

หมายเหตุ : ตัวอย่างทำควบคู่ไปกับ Blank (น้ำกลั่น) และสารละลายมาตรฐานไซยาไนด์

ผลบวก : จะได้สีน้ำเงินบน Paper strip (ถ้ามีน้อยจะได้สีเขียว) (รูปที่ 6-2)

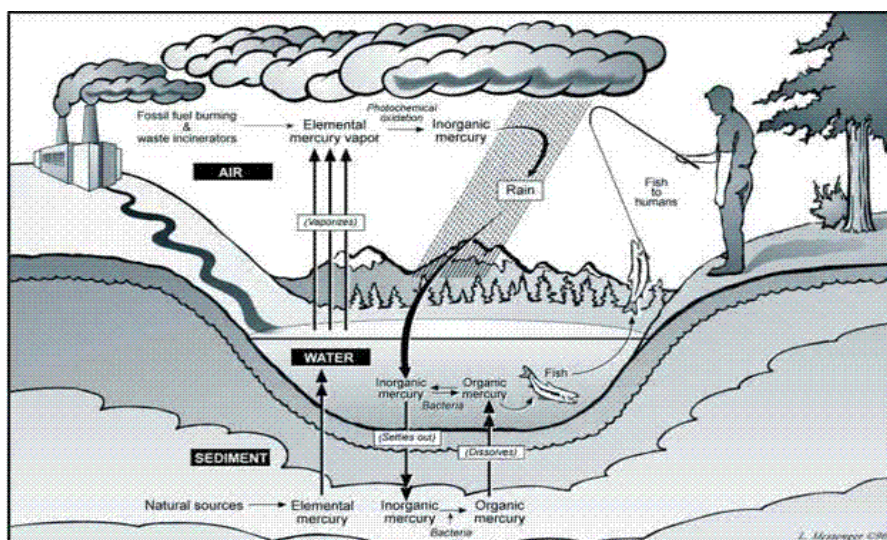


รูปที่ 6-2 แสดงผลการวิเคราะห์ Cyanide โดยวิธี Paper strip test

โลหะเป็นพิษ

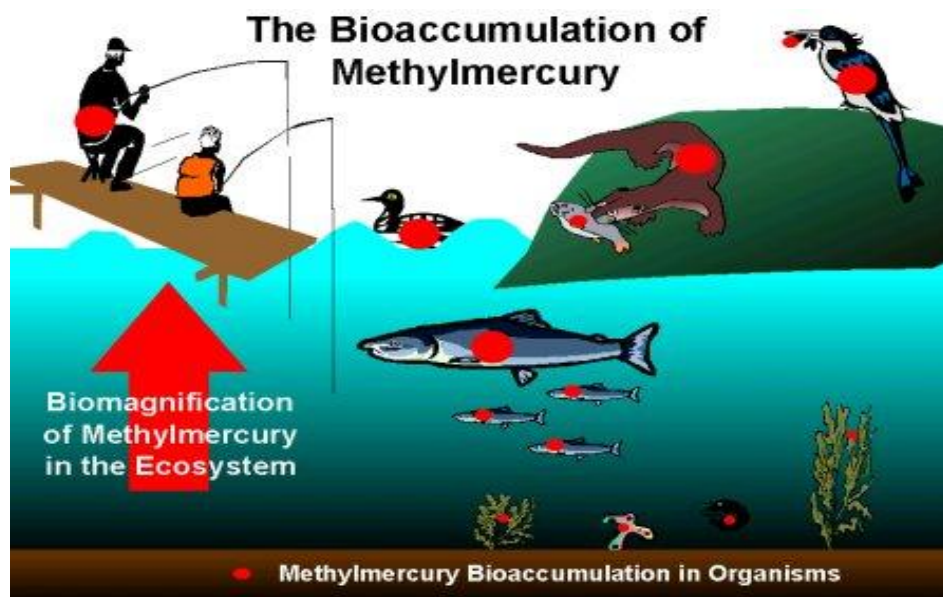
ปรอท (Mercury , Hg)

ปรอท มีน้ำหนักโมเลกุลเป็น 200.59 ในธรรมชาติอาจพบได้ทั้งชนิด Inorganic (ปรอทอนินทรีย์) และ Organic mercury (ปรอทอินทรีย์) และมีการนำมาใช้ในหลายรูปแบบ เช่น ในเทอร์โมมิเตอร์ และเป็นส่วนประกอบในสาร Preservatives หรือ Fixatives เป็นต้น การได้รับปรอทผ่านการปนเปื้อนที่พบอยู่ในอาหารและสิ่งแวดล้อม ซึ่งเป็นผลมาจากกิจกรรมเหมืองแร่ อุตสาหกรรมเครื่องไฟฟ้า การผลิตเชื้อกระดาษ และการผลิตคลอรีนและด่าง ยังคงเป็นประเด็น ปัญหาทั้งในทางสัตวแพทย์และการแพทย์ ปรอทอนินทรีย์ได้แก่ Elementary mercury เกลือของ Mercuric chloride (HgCl_2) และ Mercurous chloride (Hg_2Cl_2 ; calomel) ปรอทอินทรีย์ ในธรรมชาติจุลชีพที่อยู่ในตะกอนดินก้นแม่น้ำหรือใต้ทะเลจะทำหน้าที่เปลี่ยน Inorganic mercury ให้อยู่ในรูปของ Organic alkyl forms เช่น Methylmercury และ Ethylmercury ซึ่ง Methylmercury จัดเป็นปรอทที่มีความเป็นพิษมากที่สุด ในขณะที่เดียวกัน Organic mercury ก็สามารถสลายตัวเป็น Inorganic mercuric compounds ได้อย่างช้าๆเกิดเป็นวงจร “Mercury Cycle” (รูปที่ 7-1) ยิ่งไปกว่านั้นการส่งผ่านของปรอทจากสิ่งแวดล้อมเข้าสู่ห่วงโซ่อาหารยังเกิดขึ้นในลักษณะของ Biomagnification (รูปที่ 7-2) กล่าวคือ มีการสะสมเพิ่มขึ้นตามลำดับชั้นในห่วงโซ่อาหาร และมนุษย์เป็นผู้บริโภคขั้นสุดท้ายจะมีความเสี่ยงต่อการได้รับปรอทปริมาณสูงที่สุด



รูปที่ 7-1 Mercury Cycle

ที่มา : <http://www.csa.com/discoveryguides/mercury/review3.php>



รูปที่ 7-2 Biomagnification ของ Methylmercury ในระบบนิเวศน์

ที่มา : <http://www.csa.com/discoveryguides/mercury/review3.php>

โดยพบข้อมูลที่ได้มีการรวบรวมไว้ในคราวที่เกิดปัญหาพิษจากปรอทบริเวณอ่าว Minamata ประเทศญี่ปุ่น ในช่วงปี พ.ศ. 2475-2511 (ตารางที่ 7-1) เป็นตัวอย่างที่แสดงให้เห็นภาพในกรณีนี้ได้ดี

ตารางที่ 7-1 แสดงระดับของปรอทในสิ่งแวดล้อมและสิ่งมีชีวิตที่อาศัยอยู่ในบริเวณ Minamata ประเทศญี่ปุ่น ในช่วงที่มีปัญหาปรอทปนเปื้อน

ชนิดของตัวอย่าง	ระดับปรอท (ppm)	จำนวนเท่าของปริมาณที่พบในน้ำทะเล
น้ำทะเล	0.5×10^2	1
แพลงตอน	5	10,000
หอย	6	60,000
ปลา ปู	39	78,000
แมลงในน้ำ	100	200,000
ชิ้นเนื้อไตของผู้ป่วย	144	288,000
เส้นผมของผู้ป่วย	705	1,410,000
เลือดของผู้ป่วย	1300	2,600,000

ที่มา : <http://cce.vetcouncil.or.th/download/QI1/307540028.pdf>.

นอกจากนี้ยังพบการสะสมของ Methylmercury อยู่ในเนื้อเยื่อของปลาหลายชนิด เช่นปลาทูน่า และปลาคาบ มีรายงานพบว่าอาหารแมวที่ทำมาจากปลาทูน่าปนเปื้อนปรอท สามารถก่อพิษต่อระบบประสาทได้ หากแมวได้รับอาหารนั้นติดต่อกันเป็นเวลานาน 7-11 เดือน ปัญหาของปรอทในทางสัตวแพทย์ที่เกิดขึ้นกับสัตว์ มักเนื่องมาจากสัตว์ได้รับอาหารที่ใส่สารป้องกันเชื้อราที่มีปรอทเป็นส่วนผสมหรืออาจได้รับสัมผัสมาจากสิ่งแวดล้อมทั่วไป ซึ่งอาจมาจากโรงงานหรือน้ำดื่มก็ได้

อาการของการเกิดพิษ

อาการป่วยที่พบในโค กระบือ คือปากเป็นแผล ทำให้สัตว์มีอาการน้ำลายไหล กระเพาะอาหารและลำไส้อักเสบ ไอ หายใจไม่ออก พบอาการนิวมเนียของหลอดลมและอาการผิดปกติทางผิวหนัง คือเป็นตุ่ม เป็นแผล ขนจะร่วง ผิวหนังเกิด Keratinization สัตว์จะอ่อนเพลีย เบื่ออาหาร ซึม ผอมแห้ง ไตอักเสบ เลือดกำเดาไหล ถ่ายปัสสาวะและอุจจาระเป็นเลือด ตั้งแต่สัตว์เริ่มแสดงอาการป่วยจนถึงตายใช้เวลาประมาณ 20 วัน โดยเฉลี่ยจาก 1-43 วัน สัตว์บางตัวอาจมีอาการดีขึ้นหลังจากแสดงอาการป่วยนาน 3 ถึง 6 เดือน สัตว์ป่วยที่มีไข้สูง ผิวหนังอักเสบมากและเกิดเลือดออกแล้วสัตว์มักตายในที่สุด

ได้มีการทดลองในสุกรพบว่า สุกรที่ได้รับปรอทในรูปของ Methyl ด้วยขนาด 3.4-6.7 มิลลิกรัมต่อน้ำหนักตัว 1 กิโลกรัม สัตว์จะแสดงอาการป่วยคือ เบื่ออาหาร น้ำหนักลด ซึม อ่อนเพลีย และอาเจียน โดยแสดงอาการภายใน 6-21 วัน ต่อมาการเคลื่อนไหวของสัตว์จะผิดปกติ ขาจะแข็งและเดินขาลาก ผิวหนังจะตกสะเก็ด สัตว์จะแสดงอาการดีขึ้นหรือเลวลง ขึ้นกับปริมาณที่สัตว์ได้รับ สัตว์ที่ได้รับปริมาณสูงถึง 50-100 มิลลิกรัมต่อน้ำหนักตัว 1 กิโลกรัม พบอาการท้องเดิน อาเจียน ซึม เกิด Cyanosis อุณหภูมิลดต่ำกว่าปกติ หายใจหอบ โคม่า แล้วตายภายใน 12-24 ชั่วโมง

ความเป็นพิษ (Toxicity) ของ Methylmercury

Acute toxicity : LD₅₀ (oral rats) 29.9 mg/kg

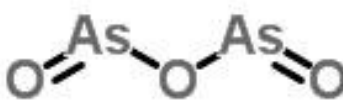
LD₅₀ (oral mice) 57.6 mg/kg

LD₅₀ (oral guinea pigs) 21 mg/kg

สารหนู (Arsenic; As)

สารหนู มีน้ำหนักโมเลกุลเป็น 74.92 สารหนูเป็นที่รู้จักและใช้กันมานาน โดยใช้เป็นทั้งยาพิษและยารักษาโรคปัจจุบัน สารประกอบของสารหนู ถูกนำมาใช้ประโยชน์สำหรับเบื่อหนู กำจัดปลวก กำจัดวัชพืช ป้องกันแมลงและเชื้อรา เป็นต้น สารหนูเป็นพิษทั้งพิษเฉียบพลันและพิษเรื้อรัง โดยทั่วไปแล้วแบ่งออกเป็น 2 กลุ่ม คือ สารหนูอนินทรีย์และอินทรีย์

สารหนูอนินทรีย์พบได้ทั่วไป ทั้งในดินและแร่ หรืออาจพบอยู่ในรูปที่ผสมกับโลหะหรือแร่ธาตุตัวอื่นๆ เช่น กำมะถัน (Sulfur; S) ที่พบมากในธรรมชาติอยู่ในรูปของ Pyrites (FeS_2 FeAs_2) หรือพบ Arsenic trioxide (As_2O_3) (รูปที่ 7-3) ได้จากกระบวนการทำแร่ให้บริสุทธิ์โดยใช้ความร้อน ซึ่งจะปะปนอยู่กับฝุ่นละอองหรือควันในสิ่งแวดล้อม สารหนูอนินทรีย์ส่วนใหญ่จะใช้เป็นส่วนผสมของสารเคมีกำจัดวัชพืช เช่น As_2O_3 (สารหนูขาว white arsenic) นอกจากนี้ยังพบสารหนูอนินทรีย์ในรูปของ Pentavalent และ Trivalent forms เช่น สารประกอบ Alkaline salts ของ Arsenates และ Arsenites ตามลำดับ (ส่วนใหญ่ใช้เป็นส่วนผสมของสารกำจัดวัชพืช ยาฆ่าแมลง ยาเบื่อหนู ผงซักฟอก รวมถึงยาบางชนิด) โดยพบว่า สารหนูอนินทรีย์ ชนิด Trivalent (As^{3+}) จะมีความเป็นพิษเฉียบพลันมากกว่า Pentavalent (As^{5+})

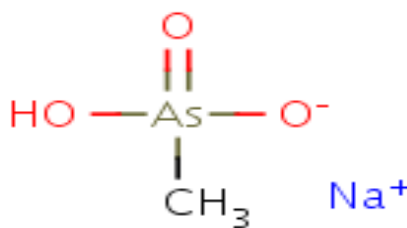


Molecular Formula: As_2O_3

Molecular Weight: 197.841

รูปที่ 7-3 สูตรโครงสร้างของ Arsenic trioxide

สารหนูอนินทรีย์อาจแบ่งย่อยได้หลายชนิด ได้แก่ Aliphatic, Trivalent, Pentavalent และ Phenylarsonic โดยชนิด Trivalent พบได้ในรูป Monosodium methanearsonate (MSMA) (รูปที่ 7-4) ใช้เป็นสารกำจัดวัชพืช และ Disodium methane arsonate (DSMA) (รูปที่ 7-5) เช่น Caparsolate ใช้สำหรับรักษาโรคพยาธิหัวใจในสุนัข ซึ่งพบว่าทั้ง MSMA และ DSMA อาจก่ออาการพิษคล้ายคลึงกับพิษที่เกิดจากสารหนูอนินทรีย์



Molecular Formula: $\text{C-H}_4\text{-As-Na-O}_3$

Molecular Weight: 161.95

รูปที่ 7-4 สูตรโครงสร้างของ Monosodium methane arsonate (MSMA)



Molecular Formula: C-H₃-As-O₃·2Na

Molecular Weight: 183.93

รูปที่ 7-5 สูตรโครงสร้างของ Disodium methane arsonate (DSMA)

ในทางพิษวิทยาของโลหะหนัก ปัญหาพิษที่เกิดจากการสารหนูจัดว่ามีความสำคัญเป็นอันดับสองรองจากตะกั่ว โดยมีรายงานการเกิดพิษทั้งในปศุสัตว์และสัตว์เลี้ยง สัตว์ในกลุ่มโค-กระบือ อาจได้รับผ่านทางดินและน้ำที่มีการปนเปื้อนสารหนู หรือจากยากำจัดวัชพืช ในกรณีของไก่และสุกรมักพบว่าปัญหาเกิดจากการใช้ Feed additives ปริมาณมากเกินไป ส่วนในสัตว์เลี้ยง เช่น สุนัขและแมวอาจเกิดขึ้นจากการได้รับยาเบื่อที่มีสารหนูเป็นส่วนผสมอยู่ ซึ่งเป็นที่ทราบกันดีว่าจลนศาสตร์และกลไกการเกิดพิษ รวมถึงความเป็นพิษของสารหนูค่อนข้างมีความซับซ้อน เนื่องจากความหลากหลายของรูปแบบ อีกทั้งระยะเวลาและปริมาณที่ได้รับเข้าสู่ร่างกาย ล้วนส่งผลให้สัตว์แสดงอาการพิษแตกต่างกันออกไป

อาการของการเกิดพิษ

สัตว์ที่ได้รับพิษจากสารหนูอนินทรีย์แบบเฉียบพลันมักตายภายใน 2-3 วันหลังจากได้รับสารนี้เข้าไป อาการที่พบได้คือ สัตว์จะแสดงอาการเจ็บปวด เดินวนเวียน กระสับกระส่าย สั่น น้ำลายไหล และพบอาเจียนในสุนัข แมว และสุกร สัตว์จะท้องเดิน หัวใจเต้นอ่อน อุณหภูมิอาจลดต่ำกว่าปกติ หดความรู้สึกแล้วตาย

ในรายที่เป็นพิษไม่รุนแรงสัตว์อาจมีชีวิตรอยู่ได้หลายวันโดยมีอาการซึม เบื่ออาหาร ท้องเสีย พบเยื่อเมือกของลำไส้และเลือดปนออกมาด้วย ถ่ายปัสสาวะมากกว่าปกติ สัตว์จะหิวน้ำ เกิดอาการขาดน้ำ ขาหลังเป็นอัมพาต สั่น ปลายเท้าเย็น อุณหภูมิของร่างกายต่ำกว่าปกติและตาย จะไม่ค่อยพบอาการเป็นพิษแบบเรื้อรังในสัตว์ แต่พบบ่อยในคน อาการผิดปกติที่อาจพบได้ในสัตว์คือ สัตว์มีสุขภาพไม่ดี ผิวหนังแห้งและหยาบ เนื้อเยื่อชนิดต่างๆจะมีสีแดงเห็นชัด

ส่วนอาการที่เกิดจากยากำจัดวัชพืชพวก MSMA และ DSMA จะพบอาการเบื่ออาหาร ถ่ายปัสสาวะเป็นเลือด ท้องเดิน และซึม พบอาการดังกล่าวในโคกระบือและแกะ ส่วนในสัตว์ปีกพบว่า น้ำหนักจะลดโดยไม่มีอาการผิดปกติดังเช่นที่พบในโคกระบือ

ความเป็นพิษ (Toxicity)

ความเป็นพิษของสารหนูจะมากหรือน้อยขึ้นอยู่กับ

1. ชนิดของสารหนูหรือส่วนประกอบของสาร
2. ชนิดของสัตว์
3. วิธีที่สัตว์ได้รับ
4. ปริมาณของสารหนูที่ได้รับ

LD₅₀ ของ As₂O₃ เช่น

- LD₅₀ Mice (several strains) gavage 26-47 mg/kg
- LD₅₀ Rat gavage 15 mg/kg
- LD₅₀ Rat oral (in food) 145 mg/kg
- LD₅₀ Rat ip 871 mg/kg
- LD₅₀ Mouse oral 31,500 ug/kg

LD₅₀ ของ Monosodium methanearsonate (MSMA) เช่น

- LD₅₀ Rat oral 900 mg/kg (young, albino)
- LD₅₀ Rat oral 700 mg/kg
- LD₅₀ Rabbit oral 102 mg/kg

LD₅₀ ของ Disodium methanearsonate (DSMA) เช่น

- LD₅₀ mouse iv 316 mg/kg
- LD₅₀ Rat oral 821 mg/kg
- LD₅₀ Mouse oral 1150 mg/kg

การตรวจวิเคราะห์หาโลหะพิษ Mercury และ Arsenic ใช้วิธี Gutzeit's and Reinsch's test เช่นเดียวกับการตรวจหาสารกำจัดหนู Zinc phosphide ในบทที่ 5

บรรณานุกรม

- กรมวิทยาศาสตร์การแพทย์. กระทรวงสาธารณสุข. 2545. คู่มือวิธีวิเคราะห์ทางพิษวิทยา. เอกสารประกอบการฝึกอบรมด้านพิษวิทยา วันที่ 28-30 สิงหาคม 2545. หน้า 6-14.
- กลุ่มควบคุมวัตถุอันตราย สำนักควบคุมเครื่องสำอางและวัตถุอันตราย สำนักงานคณะกรรมการอาหารและยา. 2013. สารเคมีกำจัดหนู. [Online]. Available : <http://www.fda.moph.go.th/psiond/download/km/factsheet/%E0%B8%AA%E0%B8%B2%E0%B8%A3%E0%B9%80%E0%B8%84%E0%B8%A1%E0%B8%B5%E0%B8%81%E0%B8%B3%E0%B8%88%E0%B8%B1%E0%B8%94%E0%B8%AB%E0%B8%99%E0%B8%B9.pdf>. [13 ตุลาคม 2556]
- เกริก รัตอากา และคณะ. 2531. คู่มือการตรวจสารพิษอย่างง่าย. กองพิษวิทยา กรมวิทยาศาสตร์การแพทย์. หน้า 18-58.
- ชัยวัฒน์ ต่อสกุลแก้ว ชีระยุทธ กลิ่นสุคนธ์ และปัญญา เต็มเจริญ. 2539. หลักการทางพิษวิทยา. ภาควิชาสรีรวิทยา คณะวิทยาศาสตร์ มหาวิทยาลัยมหิดล. พิมพ์ครั้งที่ 3. กรุงเทพฯ. 228 หน้า.
- มาลินี ลิ้มโกคา. 2523. พิษวิทยาและการวินิจฉัยโรคทางสัตวแพทย์. พิมพ์ครั้งที่ 1. โรงพิมพ์จรัสสินทวงศ์. กรุงเทพฯ. 276 หน้า.
- แม่น อมรสิทธิ์ และ อมร เพชรสม. 2535. หลักการและเทคนิคเชิงวิเคราะห์เครื่องมือ โรงพิมพ์ชวนพิมพ์ เขตพระนคร, กรุงเทพฯ. 886 หน้า.
- ศูนย์การศึกษาต่อเนื่องทางสัตวแพทย์. Arsenic. 2013. [Online]. Available: <http://cce.vetcouncil.or.th/download/Q11/307540029.pdf>. [13 ตุลาคม 2556]
- ศูนย์การศึกษาต่อเนื่องทางสัตวแพทย์. Mercury. 2013. [Online]. Available: <http://cce.vetcouncil.or.th/download/Q11/307540028.pdf>. [13 ตุลาคม 2556]
- สถาบันสุขภาพสัตว์แห่งชาติ กรมปศุสัตว์ กระทรวงเกษตรและสหกรณ์. 2556. คู่มือการเก็บตัวอย่าง. โครงการความร่วมมือไทย-สหรัฐอเมริกา สำนักงานตรวจสอบสุขภาพสัตว์และพืช กระทรวงเกษตรและสหกรณ์.
- สุรพล วิเศษสรรค์ ฌรรฐพล วลัยลักษณ์ มณฑนา มิลล์ John Mine วัชรภรณ์ รวมธรรม ปันรสี สงสังข์ทอง และ วสกร บัลลังก์โพธิ์. 2546. พิษวิทยาชีวภาพเบื้องต้น. ภาควิชาสัตววิทยา คณะวิทยาศาสตร์ มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์. 310 หน้า.
- โสภิตา เหม-มากม และ สมศักดิ์ ภูาราม. 2539. พระราชบัญญัติวัตถุอันตราย พ.ศ. 2535 พร้อมด้วยกฎกระทรวง ประกาศกระทรวงประกาศกรมที่เกี่ยวข้อง. กองควบคุมพืชและวัสดุการเกษตรและฝ่ายนิติกร. สำนักงานเลขาธิการกรม. กรมวิชาการการเกษตร. 207 หน้า.

- อารี สุขประเสริฐ พิมพ์พรณ เกิดอุดม และ วิไลลักษณ์ อิ่มอุดม. 2520. คู่มือปฏิบัติการวิชาพิษวิทยา. คณะเภสัชศาสตร์. จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย. 46-56.
- Afful, S., Dogbe, S., Ahmad, K. and Ewusie, A.T. 2008. Thin Layer Chromatographic Analysis of Pesticides in a Soil Ecosystem. *West African J. of Applied Ecology*. 14: 1-7.
- Ambrus, A. and Their, H. P. 1986. Application of Multiresidue Procedures in Pesticides Residues Analysis. *Pure & Appl. Chem.*, Vol.58, No.7: 1035-1062.
- Amdur, M.O., Doull, J. and Klaassen, C.D. 1991. Casarett and Doull's Toxicology : The Basic Science of Poisons. 4th ed. Pergamon Press, Inc., New York.
- Fukuto, T.R. 1990. Mechanism of action of organophosphorus and carbamate insecticides. *Environment Health Perspectives*. 8: 245-254.
- Gavrilescu, M. 2005. Fate of Pesticides in the Environment and its Bioremediation. *Eng. Life Sci.*, Vol.5, No.6: 497-526.
- Kandel, E.R. and Schwartz, J.H. 1985. Principles of Neural Science. 2nd ed. Elsevier Science Publishing Company Inc. New York USA. 979 p.
- Robert, K. 2010. Hayes' Hand book of Pesticides Toxicology. 3rd ed. Elsevier Science & Technology Books. USA. 2000 p.
- Lotti, M. 1998. Cholinesterase inhibition: Complexities in interpretation. *Clin. Chemi.*, 41: 1841-1818.
- Mineau, P. 1991. Cholinesterase-inhibiting Insecticides Their Impact on Wildlife and the Environment. Elsevier Science Publishing Company Inc. New York USA. 348 p.
- Osweiler, G.D., Carson, T.L., Buck, W.B. and Vangelder, G.A. 1985. Clinical and Diagnostic Veterinary Toxicology. 3rd ed. KENDALL/HUNT PUBLISHING Company. IOWA. U.S.A. 494 p.
- Ruchirawat, M. and Shank, R.C. 1996. Environment Toxicology .Volume 2. copy right by Chulabhorn Research Institute. United Expo Co. Ltd. Bangkok. Thailand. 456 p.
- Sasaki, K., Suzuki, T. and Saito, Y. 1987. Simplified clean up and gas chromatographic determination of organophosphorus pesticides in crops. *J. Assoc. off. Anal. Chem.* 70 (3) : 460-464.
- Sato, Y. and Ishikuro, E. 1987. Investigation of the simultaneous determination of organophosphorus pesticides in cereals by capillary gas chromatography. *Bulletin of National Fertilizer and Feed Inspection Station, Tokyo. Japan*. 12: 15-25.
- Terry, R. R., David, H. H., Philip, J. J., Philip, W. L., Peter, H. N. and Jack, R. P. 1999. Metabolic Pathways of Agrochemicals part 2: Insecticides and Fungicides. The Royal Society of Chemistry, UK. 740 p.

- The Merck Veterinary Manual. 2011. Cyanide Poisoning. [Online]. Available : <http://merckvetmanual.com/mum/index.jsp?cfile=htm/be/210800.htm>. Accessed Oct 30, 2012.
- United States Library of Medicine. 2013. Strychnine. [Online]. Available : <http://toxnet.nlm.nih.gov/cgi-bin/sis/search/f?./temp/~y7hPuf:1>. Accessed Oct 13, 2013.
- United States Library of Medicine Strychnine. 2013. Coumatetralyl. [Online]. Available : <http://toxnet.nlm.nih.gov/cgi-bin/sis/search/f?./temp/~WVYT2E:1>. Accessed Oct 13, 2013.
- United States Library of Medicine Strychnine. 2013. Warfarin. [Online]. Available : <http://toxnet.nlm.nih.gov/cgi-bin/sis/search/f?./temp/~WVYT2E:2>. Accessed Oct 13, 2013.
- Windholz, M., Budavari, S., Blumetti, R.F. and Otterbein, E.S. 1983. The Merck index. 10th ed. Rahway: Merck and Co. p.246-247.
- Yeboah, P. O., Lowor, S. T. and Akpabli, C. K. 2003. Comparison of thin layer chromatography and gas chromatography determination of propoxur residue in cocoa ecosystem. African J. Science Technol. 4: 24-28.

ภาคผนวก 1

ค่า LD 50 ของสารเคมีกำจัดแมลง

ชนิดสารมาตรฐาน	ค่า LD 50 (Oral)		ค่า LD 50 (Dermal)	
	ชนิดสัตว์	ปริมาณ mg/kg	ชนิดสัตว์	ปริมาณ mg/kg
Carbamete				
Methomyl	Rats	17	Rabbits	>2000
Aldicarb	Rats	0.9	Rabbits	5
Carbaryl	Rats	307	Rabbits	2000
Carbofuran	Rats	8	Rabbits	2550
	Dogs	19	Cattle	18
	Chickens	6.3	Sheep	19
	Ducks	0.415	-	-
	Pheasants	4.2	-	-
	Quails	5.0	-	-
	Birds	0.42	-	-
Propoxur	Rats	95	Rabbits	>1000
	Goats	>800	-	-
Azinphos-methyl(or-ethyl)	Rats	5	Rabbits	220
Carbophenothion	-	-	Rats (a daily)	~31
	-	-	Rats (for 90 day)	2.2
	-	-	Sheep	22
	-	-	Goats	8

ชนิดสารมาตรฐาน	ค่า LD 50 Oral		ค่า LD 50 Dermal	
	ชนิดสัตว์	ปริมาณ mg/kg	ชนิดสัตว์	ปริมาณ mg/kg
Organophosphorus				
Chlorfenwinphos	Rats	12	Rabbits	3200
	Cattle all ages	~22	-	-
Chlorpyrifos	Goats	500	-	-
	Rats	941	-	-
Coumaphos	Rats	13	-	-
Crotoxyphos	-	-	-	-
Dermeton	Goats	8	Rats	8
	Rats	2	Rabbits	8
Diazenon	Rats	300	Rabbits	379
	-	-	Young calves	0.88
	-	-	Cattle	22
	-	-	Sheep	26
Dichlovos	Rats	25	Sheep	25
	Rabbits	59	Horses	25
	-	-	Young calves	10
Dioxathion	-	-	Young calves	8.8
	-	-	Calves	5
Dimethoate	Rats	250	Rabbits	400
	-	-	Young dairy calves	48
	-	-	Cattle 1yr old	22
	-	-	Adult cattle	10
	-	-	Horses	60-80

ชนิดสารมาตรฐาน	ค่า LD 50 Oral		ค่า LD 50 Dermal	
	ชนิดสัตว์	ปริมาณ mg/kg	ชนิดสัตว์	ปริมาณ mg/kg
Disulfoton	Young calves	0.88	Rabbits	6
	Cattle	2.2	-	-
	Goats	2.2	-	-
	Sheep	4.8	-	-
	Rats	2	-	-
Ethyl 4-nitrophenylphosphonothioate	Rats	8-36	Dogs	>100
	-	-	Yearling cattle	25
	-	-	Calves	2.5
	-	-	Sheep	25
Famphur	Rats	35	Rabbits	2,730
Finitrothion	Rats	250	Rabbits	1300
Fenthion	Rats	255	Cattle	25
	-	-	Sheep	50
	-	-	Rabbits	330
Malathion	Rats	885	Rabbits	4000
	Calves	10-20	-	-
	Cattle	50-100	-	-
	Sheep	50-100	-	-
	Buffalo 6-9 month	0.5	-	-
	Calves 6-9 month	0.5	-	-
	Buffalo	53	-	-
Methyl parathion	Rats	9-25	Rabbits	63
	-	-	Cattle	100
Naled	Rats	191	Rabbits	390

ชนิดสารเคมี	ค่า LD 50 Oral		ค่า LD 50 Dermal	
	ชนิดสัตว์	ปริมาณ mg/kg	ชนิดสัตว์	ปริมาณ mg/kg
Parathion	Rats	3	Rabbits	6.8
	Cats	15	Calves	0.25-0.5
	Sheep	20	cattle	25-50
	Goats	50	-	-
	Dogs	23-35	-	-
Phorate	Rats	1.6	Rabbits	2.5
	-	-	Calves	0.25
	-	-	Sheep	0.75
	-	-	cattle	1
Phosmet	cattle	25	-	-
	Calves	25	-	-
	Sheep	50	-	-
Ronnel (fenchlorphos)	Rats	1250	Rabbits	2000
	-	-	Sheep	400
	-	-	cattle	132
Terbufos	Rats	1.6	-	-
	Sheep	~1.5	-	-
	cattle	~1.5	-	-
	Heifers	7.5	-	-
Temephos	Rats	≥1000	While	>400
	-	-	Cattle 1yr	1-1.5
Terbufos	Rats	1.6	-	-
	Sheep	~1.5	-	-
	cattle	~1.5	-	-
	Heifers	7.5	-	-

ชนิดสารมาตรฐาน	ค่า LD 50 Oral		ค่า LD 50 Dermal	
	ชนิดสัตว์	ปริมาณ mg/kg	ชนิดสัตว์	ปริมาณ mg/kg
Tetrachlovinphos	-	-	Pigs	100
Trichlorfon	Rats	630	Rabbits	>2000
	-	-	Young dairy calves	4.4-8.8
	-	-	cattle	44-88
	-	-	Sheep	44-88
	-	-	Horses	44-88
	-	-	Dogs	75

ชนิดสารมาตรฐาน	ค่า LD 50 Oral		ค่า LD 50 Dermal	
	ชนิดสัตว์	ปริมาณ mg/kg	ชนิดสัตว์	
Organochlorine				
Aldrin	Rats	39	Rabbits	65
Benzene hexachloride (BHC, HCH, hexachlorocyclohexane)	Rats	76	Rabbits	500
	Young calves	4.4	Adult cattle	13
	Sheep	100	-	-
	cattle	13	-	-
Chlordane	Rats	283	Rabbits	580
	-	-	cattle	~88
	-	-	Young calves	44
Dieldrin	Rats	40	Rabbits	65
	-	-	Young dairy calves	8.8
	-	-	Adult cattle	22
	-	-	Pigs	44
	-	-	Horses	22
Endosulfan	Rats	18	Rabbits	74
Heptachlor	Rats	40	Rabbits	119
	-	-	Young dairy calves	22
	-	-	Sheep	40
Methoxychlor	Rats	5000	Rabbits	2820
	-	-	Young calves(mild toxic)	1

ที่มา : <http://www.merckmanuals.com/vet/toxicology.html>

ภาคผนวก 2

การเตรียมสารเคมี

1. การเตรียม Diatomaceous earth

- ชั่ง Diatomaceous earth 500 กรัม ในบีกเกอร์ขนาด 500 มิลลิลิตร เติมน้ำกลั่นให้ท่วมสาร วางบนเตาที่มีแท่งแม่เหล็กคนสาร ตั้งอุณหภูมิให้ความร้อน พอให้น้ำอุ่นๆ เป็นเวลา 1 ชั่วโมง จากนั้น ตั้งทิ้งไว้ให้สารตกตะกอน เทน้ำทิ้งให้เหลือน้ำพอปริ่มๆ

- เติมด้วย methanol ให้เหนือสารเล็กน้อย คนสาร เป็นเวลา 1 ชั่วโมง นำไปกรองด้วยวิธี suction แล้วนำสารที่ได้ผึ่งแห้งในภาชนะอากาศ ที่อุณหภูมิห้องค้างคืน เก็บใส่ขวดที่มีฝาปิด บ่งชี้ชื่อสาร วันที่เตรียม และชื่อผู้เตรียม เก็บไว้ที่อุณหภูมิห้องเพื่อใช้ต่อไป

2. การเตรียม Coagulating solution

- ชั่ง ammonium chloride 10 กรัม ใส่ลงในบีกเกอร์ ขนาด 250 มิลลิลิตร เติมน้ำกลั่น 100 มิลลิลิตร คนให้สารละลาย เติม Phosphoric acid 20 มิลลิลิตร จากนั้นให้เติมน้ำ จนครบ 800 มิลลิลิตร เก็บใส่ขวดที่มีฝาปิด บ่งชี้ชื่อสาร วันที่เตรียม และชื่อผู้เตรียม เก็บไว้ที่อุณหภูมิห้องเพื่อใช้ต่อไป

3. การเตรียม Florisil

- เท Florisil ใส่ในบีกเกอร์ ขนาด 1000 มิลลิลิตร ประมาณ 800 สเตกของบีกเกอร์ ปิดครอบด้วย อลูมิเนียมฟอยล์ อบค้างคืนที่อุณหภูมิ 130 ± 10 องศาเซลเซียส บ่งชี้ชื่อสาร วันที่อบสาร เก็บไว้ในตู้ดูดความชื้นเพื่อใช้ต่อไป

- ก่อนใช้งานต้อง ทำ Deactivated โดยชั่ง Florisil ที่อบแล้ว 300 กรัม ใส่ในฟลาสที่มีฝาปิด เติมด้วย 2 % น้ำกลั่น เขย่าแรงๆ 10 นาที

4. การเตรียม Sodium sulfate

- เท Sodium sulfate ใส่ในบีกเกอร์ ขนาด 1000 มิลลิลิตร ประมาณ 800 สเตกของบีกเกอร์ ปิดครอบด้วย อลูมิเนียมฟอยล์ บ่งชี้ชื่อสาร วันที่อบ ก่อนใช้ อบค้างคืนที่อุณหภูมิ 130 ± 10 องศาเซลเซียส

5. การเตรียม 5 % Sodium chloride

- ชั่ง Sodium chloride 50 กรัม ลงในบีกเกอร์ ขนาด 1000 มิลลิลิตร

- ตวงน้ำกลั่น 1000 มิลลิลิตร คนให้สารละลาย จากนั้นเทลงในขวดที่มีฝาปิด บ่งชี้ชื่อสาร วันที่เตรียม และชื่อผู้เตรียม เก็บไว้ที่อุณหภูมิห้องเพื่อใช้ต่อไป

6. การเตรียม Hexane + Acetone (95+5) 200 มิลลิลิตร(เตรียมใหม่เสมอ)

- ตวง Hexane 190 มิลลิลิตร ด้วยกระบอกตวงขนาด 250 มิลลิลิตร และเติม Acetone 10

มิลลิลิตร เทรวมใน Erlenmeyer flask ขนาด 250 ผสมให้เข้ากัน ปิดครอบด้วยอลูมิเนียมฟอยล์ บ่งชี้ชื่อสาร

7. การเตรียม Hexane + Acetone (75+25) 200 มิลลิลิตร (เตรียมใหม่เสมอ)

- ตวง Hexane 150 มิลลิลิตร ด้วยกระบอกตวงขนาด 250 มิลลิลิตรและเติม Acetone 50 มิลลิลิตร เทรวมใน Erlenmeyer flask ขนาด 250 มิลลิลิตร ผสมให้เข้ากัน ปิดครอบด้วยอลูมิเนียมฟอยล์ บ่งชี้ชื่อสาร

8. การเตรียม Developing solvent

- เตรียม Solvent I โดย ตวง Hexane 60 มิลลิลิตร และ Acetone 40 มิลลิลิตร ผสมให้เข้ากัน แล้วเทลงใน chamber ที่บ่งชี้ Solvent I

- เตรียม Solvent II โดย ตวง Chloroform 50 มิลลิลิตร Benzene 50 มิลลิลิตรและ Methanol 10 มิลลิลิตร ผสมให้เข้ากัน แล้วเทลงใน chamber ที่บ่งชี้ Solvent II

9. การเตรียม 10% Sodium hydroxide (NaOH) ใน Ethanol

- เตรียมโดยชั่ง NaOH มา 10 กรัม เติมน้ำกลั่น 50 มิลลิลิตร คนจนละลาย เติม Ethanol จนครบ 100 มิลลิลิตร ผสมให้เข้ากัน เทลงในขวดพลาสติกปิดให้สนิท บ่งชี้ ชื่อสาร วันที่เตรียม และชื่อผู้เตรียม เก็บไว้ที่อุณหภูมิห้องเพื่อใช้ต่อไป

10. การเตรียม 10% Polyethylene glycol ใน Ethanol

- ชั่ง Polyethylene glycol มา 10 กรัม ละลายใน Ethanol 100 มิลลิลิตร บ่งชี้ ชื่อสาร วันที่เตรียม และชื่อผู้เตรียม เก็บไว้ที่อุณหภูมิห้องเพื่อใช้ต่อไป

11. การเตรียม 4-Nitrobenzene diazonium tetrafluoroborate (เตรียมใหม่เสมอ)

- ชั่ง 4-Nitrobenzene diazonium tetrafluoroborate 0.05 กรัม ในปิเก็ตเจอร์ขนาด 50 มิลลิลิตร เติม 10% Polyethylene glycol ใน Ethanol 10 มิลลิลิตร คนจนละลาย ผสมให้เข้ากัน บ่งชี้ ชื่อสาร

12. การเตรียม 2% NBP ใน Acetone (4-Nitrobenzyl-pyridin)

- ชั่ง 4-Nitrobenzyl-pyridin 2 กรัม ละลายด้วย Acetone 100 มิลลิลิตร บ่งชี้ ชื่อสาร วันที่เตรียม และชื่อผู้เตรียม เก็บไว้ที่อุณหภูมิห้องเพื่อใช้ต่อไป

13. การเตรียม 10% TEP ใน Acetone (Tetraethylene pentamine)

- ตวง Tetraethylene pentamine มา 10 มิลลิลิตร เติม Acetone 90 มิลลิลิตรผสมให้ละลายเข้ากัน บ่งชี้ชื่อสาร วันที่เตรียม และชื่อผู้เตรียม เก็บไว้ที่อุณหภูมิห้องเพื่อใช้ต่อไป

14. การเตรียม Chromogenic silver nitrate

- ชั่ง Silver nitrate มา 1.5 กรัม ละลายน้ำ 10 มิลลิลิตร เติม 2-Phenoxyethylene glycol mono ethyl ether 10 มิลลิลิตร เติม Acetone 200 มิลลิลิตร และ Hydrogen peroxide 2 หยด เทใส่ขวดสีชา

ปิดฝาให้สนิท บ่งชี้ ชื่อสาร วันที่เตรียม และชื่อผู้เตรียม เก็บไว้ที่อุณหภูมิห้องเพื่อใช้ต่อไป

15. การเตรียมสารมาตรฐานต่างๆ

- สารมาตรฐาน 1000 ppm เตรียมโดยชั่ง สารมาตรฐานมา 0.0100 กรัม ในปิเกตอร์ ขนาด 10 มิลลิลิตร เติม Methanol ประมาณ 3 มิลลิลิตร คนให้สารละลาย เติลงใน Volumetric flask ขนาด 10 มิลลิลิตร ล้างปิเกตอร์ ด้วย Methanol 2 ครั้ง จากนั้นเทสารละลายลงใน Volumetric flask แล้ว ปรับปริมาตร ด้วย Methanol จนถึงขีดปริมาตรปิดฝาให้สนิท เขย่าไปมาหลายๆครั้ง จนสารผสมกัน ดี เทสารลงในขวด vial สีชา บ่งชี้ชื่อสาร วันที่เตรียม จีบบอกปริมาณสาร เก็บที่ อุณหภูมิ ต่ำกว่า -17 องศาเซลเซียส

16. Iodoplatinate reagent

- ชั่ง Iodide 5 กรัม ละลายผสมให้เข้ากันในน้ำกลั่น 100 มิลลิลิตร เติม Hydrochloric acid 2 มิลลิลิตร

17. สารละลาย 1% KMnO_4 ใน 0.025 M H_2SO_4 (เตรียมใหม่เสมอ)

- ชั่ง Potassium permanganate 0.2 กรัม ละลาย ในน้ำกลั่น 20 ml เติม Sulfuric acid เข้มข้น 0.3 มิลลิลิตร ผสมให้เข้ากัน

18. สารละลาย 10% Copper sulphate

- ชั่ง Copper sulphate 10 กรัม ละลายในน้ำกลั่น 100 มิลลิลิตร เทใส่ขวดสีชา ปิดฝาให้สนิท บ่งชี้ ชื่อสาร วันที่เตรียม และชื่อผู้เตรียม เก็บไว้ที่อุณหภูมิห้องเพื่อใช้ต่อไป

19. Activated Zinc

- นำสังกะสีชนิดเป็นเม็ด (granule) ตามจำนวนที่ต้องการใส่ 10% Copper sulphate จนท่วม ตั้งทิ้งไว้ประมาณ 1 นาที เทน้ำทิ้ง อบแห้งเก็บใส่ขวด

20. สารละลาย 6 N Hydrochloric acid

- ตวง Hydrochloric acid 520 มิลลิลิตร เติกลงในน้ำกลั่นจนครบ 1000 มิลลิลิตร เก็บใส่ขวดปิดฝาให้สนิท บ่งชี้ ชื่อสาร วันที่เตรียม และชื่อผู้เตรียม เก็บไว้ที่อุณหภูมิห้องเพื่อใช้ต่อไป

21. สารละลาย 10% Lead acetate

- ชั่ง Lead acetate 10 กรัม ละลายในน้ำกลั่น 100 มิลลิลิตร เก็บใส่ขวดปิดฝาให้สนิท บ่งชี้ ชื่อสาร วันที่เตรียม และชื่อผู้เตรียม เก็บไว้ที่อุณหภูมิห้องเพื่อใช้ต่อไป

22. สารละลาย 10 % Silver nitrate

- ชั่ง Silver nitrate 10 กรัม ละลายใน Methanol 100 มิลลิลิตร เก็บใส่ขวดปิดฝาให้สนิท บ่งชี้ ชื่อสาร วันที่เตรียม และชื่อผู้เตรียม เก็บไว้ที่อุณหภูมิห้องเพื่อใช้ต่อไป

23. สารละลาย Ammonium molybdate

- ชั่ง Ammonium molybdate 5 กรัม ละลายในน้ำกลั่น 100 มิลลิลิตร เติมกรด nitric เข้มข้น 35 มิลลิลิตร เก็บใส่ขวดปิดฝาให้สนิท บ่งชี้ ชื่อสาร วันที่เตรียม และชื่อผู้เตรียม เก็บไว้ในตู้เย็น อุณหภูมิ 2-8 องศาเซลเซียส เพื่อใช้ต่อไป

24. Benzidine

- ละลาย Benzidine 0.5 กรัม ใน Glacial acetic acid 10 มิลลิลิตร แล้วเจือจางด้วยน้ำกลั่น ให้ครบ 100 มิลลิลิตร เก็บใส่ขวดปิดฝาให้สนิท บ่งชี้ ชื่อสาร วันที่เตรียม และชื่อผู้เตรียม เก็บไว้ในตู้เย็น อุณหภูมิห้องเพื่อใช้ต่อไป

25. 1:1 Nitric acid : น้ำกลั่น

- ตวง Nitric acid เข้มข้น 50 มิลลิลิตรค่อยๆเติมลงในน้ำกลั่น 50 มิลลิลิตรเก็บใส่ขวดปิดฝาให้สนิท บ่งชี้ ชื่อสาร วันที่เตรียม และชื่อผู้เตรียม เก็บไว้ในตู้เย็น อุณหภูมิห้องเพื่อใช้ต่อไป

26. การเตรียมแผ่นทองแดง

- ล้างแผ่นทองแดงด้วย 1:1 Nitric acid : น้ำกลั่น ให้แผ่นทองแดงสะอาด แล้วล้างออกด้วยน้ำกลั่นจนครบหมด ทำให้แห้ง เตรียมให้พอใช้กับการวิเคราะห์

27. สารละลาย Ferrous sulfate (เตรียมใหม่เสมอ)

- ชั่ง Ferrous sulfate 0.1 กรัมละลายในน้ำกลั่น 10 มิลลิลิตร

28. สารละลาย 5% FeCl₃

- ชั่ง Ferric chloride 5 กรัม ละลายในน้ำกลั่น 100 มิลลิลิตร เก็บใส่ขวดปิดฝาให้สนิท บ่งชี้ ชื่อสาร วันที่เตรียม และชื่อผู้เตรียม เก็บไว้ในตู้เย็น อุณหภูมิห้องเพื่อใช้ต่อไป

