

การวิเคราะห์หาปริมาณตะกั่วในเลือดโคโดยวิธี graphite furnace atomic absorption spectrometry

วิณา เชื้อเงิน* ศรุตฯ หวังอนุรักษ์กุล พรพรรณ เล่าลือ

ศูนย์วิจัยและพัฒนาการสัตวแพทย์ภาคตะวันออก กรมปศุสัตว์ อำเภอบ้านบึง จังหวัดชลบุรี 20220

* ผู้รับผิดชอบ โทรศัพท์ 0 3874 2116-9 โทรสาร 0 3874 2120 E-mail : vrd_ep@dld.go.th

บทคัดย่อ

การวิเคราะห์หาปริมาณตะกั่วในเลือดโคโดยวิธี graphite furnace atomic absorption spectrometry (GFAAS) จากตัวอย่างเลือดโคเนื้อ 355 ตัวอย่าง และเลือดโคนม 179 ตัวอย่างของภาคตะวันออก ระหว่างเดือนธันวาคม 2552 – เมษายน 2553 ความสัมพันธ์ของการวิเคราะห์เป็นเส้นตรงในช่วง 0.02-0.8 µg/mL ค่าความแม่นยำและความเที่ยงของการวิเคราะห์ตะกั่วในเลือดโคที่ความเข้มข้น 3 ระดับ (0.02, 0.4 และ 0.8 µg/mL) อยู่ในเกณฑ์มาตรฐาน(AOAC, 2003) ความเข้มข้นของตะกั่วในเลือดต่ำสุดที่วิเคราะห์ปริมาณได้ (LOQ) เท่ากับ 0.02 µg/mL จากผลการวิเคราะห์พบว่าความเข้มข้นเฉลี่ยของตะกั่วในเลือดโค เท่ากับ 0.037 ± 0.024 µg/mL ความเข้มข้นของตะกั่วในเลือดโคทุกตัวอย่างไม่เกินค่าปกติ คือ < 0.35 µg/mL พบว่าเพศไม่มีผลต่อปริมาณตะกั่วในเลือดโคเนื้ออย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p \geq 0.05$) ในขณะที่ความเข้มข้นของตะกั่วในเลือดโคเนื้อและโคนมมีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p < 0.05$)

คำสำคัญ : ตะกั่ว เลือด โค GFAAS

บทนำ

ตะกั่ว (lead, Pb) เป็นธาตุโลหะหนักที่ไม่มีประโยชน์ต่อพืชและสัตว์แต่มีพิษภัยร้ายแรงกับความเป็นพิษในมนุษย์และสัตว์ (Neathery and Miller, 1975) พบได้ทั่วไปในสิ่งแวดล้อมธรรมชาติและจากการนำมาใช้ประโยชน์ทางอุตสาหกรรม เช่น แบตเตอรี่ พลาสติก เม็ดสี ตะกั่วเข้าสู่ร่างกายโดยผ่านทางอาหาร การหายใจ และทางผิวหนัง ประมาณ 90% ของปริมาณตะกั่วจะไปยึดจับกับเม็ดเลือดแดงหมุนเวียนไปตามกระแสเลือดทำให้เกิดการสะสมในร่างกายและมีผลกระทบต่อระบบต่างๆในร่างกาย ได้แก่ ระบบโลหิต ระบบประสาท ระบบสืบสาวะ ระบบทางเดินอาหาร ระบบสืบพันธุ์ และยังเป็นสาเหตุที่เกี่ยวข้องกับการก่อมะเร็ง การพิการแต่กำเนิด (teratogenesis) และการกลายพันธุ์ในสัตว์ทดลอง (Pitot and Dragon, 1996) สัตว์อายุน้อยจะมีอาการพิษจากตะกั่วรุนแรงกว่าปกติ และจะแสดงอาการภายใน 24–48 ชั่วโมง (The Merck Veterinary Manual, 2008) ความเป็นพิษของตะกั่วในสัตว์มีทั้งชนิดเฉียบพลัน (acute) และกึ่งเฉียบพลัน (subacute) ขึ้นอยู่กับปริมาณตะกั่วที่ได้รับและความรุนแรงของอาการ กรณีที่เป็นพิษชนิดเฉียบพลันสัตว์อาจตายโดยไม่แสดงอาการ อาการที่มักพบ คือ เดี๋ยวเซเซ กล้ามเนื้อที่หัวและคออ่อน มีการกระตุกที่หน้าและใบหู บดเคี้ยวกราม ตาบอด เดินชนสิ่งกีดขวาง และชัก ส่วนในรายกึ่งเฉียบพลันมักพบอาการสมองบวม น้ำตาบอดหรือขาดการตอบสนองของกล้ามเนื้อตา กล้ามเนื้อทำงานไม่สัมพันธ์กัน เดี๋ยวเซเซ น้ำหนักลด ขบเคี้ยวฟัน และกระเพาะรูเมนหยุดการบีบตัว (rumen stasis) ในโคอาการระยะแรกมักท้องผูกและตามด้วยท้องเดิน (มลินี, 2527; The Merck Veterinary Manual, 2008) สัตว์ที่มีอาการพิษตะกั่วเรื้อรังมักพบอาการโลหิตจางและการสร้างฮีโมโกลบินลดลงแต่พบอาการนี้ได้น้อยในโค ร่างกายจะขับสารตะกั่วออกทางปัสสาวะ อุจจาระ น้ำนม และน้ำดี แต่มีบางส่วนสามารถซึมผ่านทางรกได้ (Checkley *et al.*, 2002) สัตว์เคี้ยวเอื้องจะมีความไวต่อความเป็นพิษจากตะกั่วมากที่สุด รองลงมา คือ ม้า สัตว์ปีก และสุกร ตามลำดับ (Blood and Henderson, 1968) การตกค้างสะสมของตะกั่วในสิ่งแวดล้อมทำให้มีโอกาสปนเปื้อนเข้าสู่ห่วงโซ่อาหารของมนุษย์ ส่วนหนึ่งมาจากการบริโภคเนื้อสัตว์หรือผลิตภัณฑ์จากสัตว์ที่ปนเปื้อน การตรวจหาตะกั่วในเลือดสัตว์เป็นการเฝ้าระวังป้องกันการได้รับสารพิษตะกั่วแก่ผู้บริโภคอีกทางหนึ่ง รวมทั้งใช้บ่งชี้สภาพแวดล้อมและสุขภาพของสัตว์ได้อีกด้วย

วัตถุประสงค์ของการศึกษานี้เพื่อตรวจหาปริมาณตะกั่วในเลือดโคโดยวิธี graphite furnace atomic absorption spectrometry (GFAAS) ซึ่งเป็นเทคนิคการวิเคราะห์ธาตุโดยการกระตุ้นด้วยความร้อนจากไฟฟ้าให้ธาตุแตกตัวเป็นอะตอมอิสระ (free atom) อะตอมของธาตุแต่ละชนิดจะดูดกลืนแสงที่มีความยาวคลื่นเฉพาะ GFAAS จึงมีความเฉพาะเจาะจงสูง ลดการรบกวนจากสารอื่นในตัวอย่าง มีความเที่ยง ความแม่นยำ และความไวสูง ตลอดจนใช้ปริมาณของสารตัวอย่างน้อย (แม่น, 2552) นอกจากนี้การควบคุมคุณภาพของการวิเคราะห์อย่างเหมาะสมจะทำให้ได้ข้อมูลทางวิชาการที่มีความถูกต้องในการประเมินการปนเปื้อนโลหะหนักในสภาพแวดล้อมและสุขภาพโคที่เกี่ยวข้องกับสารตะกั่วในภาคตะวันออก

อุปกรณ์และวิธีการ

เครื่องมือ

Graphite furnace atomic absorption spectrometer (GFAAS) : GBC รุ่น GF3000 พร้อม PAL3000 autosampler, Hollow cathode lamp, lamp current 8 mA, wavelength 283.3 nm, slit width 1.0 nm, graphite tube ชนิด pyrolytically coated integral platform furnace tubes, คำนวณแบบ linear least square, ตรวจวัดค่าพื้นที่ใต้พีค (peak area), ปริมาตรฉีด 10 μ L และใช้โปรแกรมสำหรับการวิเคราะห์ ดังนี้

PROGRAM STEP	FINAL TEMP ($^{\circ}$ C)	RAMP TIME (sec)	HOLD TIME (sec)	GAS TYPE	STAGE
1	150	20.0	20.0	argon	Drying
2	250	15.0	5.0	argon	
3	800	20.0	20.0	argon	Ashing
4	800	3.0	3.0	none	
5	2400	2.0	2.0	none	Atomization
6	2500	1.0	1.0	argon	Clean tube

ตัวอย่าง

เลือดแกะ สำหรับเตรียมสารละลายมาตรฐานตะกั่วเพื่อสร้างกราฟมาตรฐานที่มี matrix เหมือนตัวอย่าง เป็นเลือดที่ไม่มีการปนเปื้อนสารตะกั่วหรือมีปริมาณตะกั่วต่ำมาก

เลือดโค สำหรับวิเคราะห์หาปริมาณตะกั่ว เป็นเลือดโคเนื้อ 355 ตัวอย่าง (เพศผู้ 65 ตัวอย่าง เพศเมีย 290 ตัวอย่าง) และเลือดโคนม 179 ตัวอย่าง รวม 534 ตัวอย่าง ส่งตรวจระหว่างเดือนธันวาคม 2552 ถึง เมษายน 2553 เป็นตัวอย่างจากโคที่เลี้ยงใน 9 จังหวัดของภาคตะวันออก คือ จังหวัดจันทบุรี ฉะเชิงเทรา ชลบุรี ตราด นครนายก ปราจีนบุรี ระยอง สมุทรปราการ และสระแก้ว อายุโค 6 เดือน – 12 ปี เก็บรักษาตัวอย่างที่อุณหภูมิ 4–8 $^{\circ}$ C ไม่เกิน 30 วัน หรือ <-10 $^{\circ}$ C ไม่เกิน 90 วัน ตามวิธีของ Australian Standard (AS2636 - 1994)

ทั้งนี้ตัวอย่างเลือดทั้งสองเป็นเลือดใส่สารกันแข็ง ethylenediaminetetra acetic acid (EDTA)

การเตรียมสารละลายมาตรฐานตะกั่วในเลือดแกะ

นำสารละลายมาตรฐานตะกั่วความเข้มข้น 1,000 μ g/mL (Merck) มาเตรียมให้มีความเข้มข้น 1.0 และ 0.1 μ g/mL ปรับปริมาตรด้วย deionized water (≥ 18.0 megaohm/cm)

เตรียมสารละลายมาตรฐานตะกั่วในเลือดแกะความเข้มข้น 0.02-1.0 μ g/mL : ความเข้มข้น 0.02, 0.04 และ 0.08 μ g/ml เตรียมจากสารละลายมาตรฐานตะกั่วความเข้มข้น 0.1 μ g/mL ส่วนความเข้มข้น 0.1, 0.2, 0.5, 0.6, 0.8, 0.9 และ 1.0 μ g/mL เตรียมจากสารละลายมาตรฐานตะกั่วความเข้มข้น 1.0 μ g/mL

การตรวจสอบความถูกต้องของวิธี

ทดสอบความเป็นเส้นตรง และช่วงของการวิเคราะห์ (linear and range) : เจือจางเลือดแกะ (blank) และสารละลายมาตรฐานตะกั่วในเลือดแกะแต่ละความเข้มข้นที่เตรียมไว้ด้วย matrix modifiers (0.05% Triton X-100, 0.5% diammonium hydrogen phosphate ใน deionized water) ในอัตราส่วน 1:5 ผสมให้เข้ากันก่อนนำไปฉีดเข้าเครื่อง GFAAS สร้างกราฟความสัมพันธ์ระหว่างค่าพื้นที่ใต้พีคกับความเข้มข้นเพื่อหาช่วงความเข้มข้นที่กราฟมาตรฐานเป็นเส้นตรง ($r^2 \geq 0.9950$)

ทดสอบความแม่นยำ (accuracy) และความเที่ยง (precision) : เตรียมสารละลายมาตรฐานตะกั่วในเลือดโค (spiked sample) ความเข้มข้น 3 ระดับ (ต่ำ กลาง สูง) คือ 0.02, 0.4 และ 0.8 $\mu\text{g/mL}$ วิเคราะห์เลือดโคและ spiked sample เพื่อหาค่าความเข้มข้นโดยเทียบจากกราฟมาตรฐานที่ได้ข้างต้น วิเคราะห์แต่ละความเข้มข้นซ้ำ 7 ครั้ง ภายใน 1 วัน ประเมินค่าความแม่นยำจาก %recovery ประเมินค่าความเที่ยงด้วยค่าความทวนซ้ำได้ (repeatability) ของแต่ละความเข้มข้นจาก %RSD กำหนดเกณฑ์ยอมรับ %recovery อยู่ในช่วง 70 - 120%, %RSD ไม่เกิน 15% และวิเคราะห์ทั้ง 3 ความเข้มข้นซ้ำ 7 ครั้งในแต่ละวันเป็นเวลา 7 วัน ประเมินค่าความเที่ยงของการวิเคราะห์ซ้ำ (reproducibility) จากสมการ Horwitz โดยมีเกณฑ์ $\text{HORRAT}_r = 0.3 - 1.3$ (AOAC, 2003)

$$\text{HORRAT}_r = \text{RSD}_{\text{found}} / \text{RSD}_{\text{calculated}}$$

โดยที่ RSD_{cal} หรือ predicted Horwitz $\text{RSD}_r = 2C^{-0.15}$, C = mass fraction เช่น $1 \mu\text{g/mL} = 0.000001$

การทดสอบความเข้มข้นต่ำสุดของตะกั่วในเลือดโคที่สามารถวิเคราะห์ปริมาณได้

(Limit of Quantitation, LOQ) : โดยวัดค่าดูดกลืนแสง (absorbance, Abs) ของเลือดโคที่ไม่เติมสารตะกั่ว (sample blank) 7 ซ้ำ คำนวณค่า LOQ จากสูตร

$$\text{LOQ } (\mu\text{g/mL}) \quad \text{เมื่อ } m = \text{ความชันของกราฟมาตรฐาน}$$

ยืนยันค่าโดยวิเคราะห์ spiked sample ความเข้มข้นใกล้เคียงหรือเท่ากับค่า LOQ จำนวน 7 ซ้ำ ประเมินค่าความแม่นยำ และความเที่ยงให้อยู่ในเกณฑ์ยอมรับ

การวิเคราะห์ปริมาณตะกั่วในเลือดโคด้วย GFAAS (ดัดแปลงวิธีจาก Sinclair and Chapper, 1988)

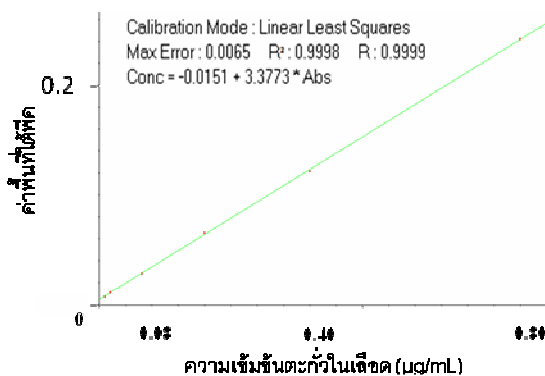
กราฟมาตรฐาน เจือจางสารละลายมาตรฐานตะกั่วในเลือดแกะ 5 ความเข้มข้นในช่วงที่กราฟมาตรฐานเป็นเส้นตรงด้วย matrix modifiers ในอัตราส่วน 1:5 ผสมให้เข้ากันก่อนนำไปฉีดเข้าเครื่อง GFAAS สร้างกราฟเส้นตรง ($r^2 \geq 0.9950$) ของความสัมพันธ์ระหว่างค่าพื้นที่ใต้พีคกับความเข้มข้น ตรวจสอบความถูกต้องโดยวิเคราะห์ตัวอย่างเลือดโคที่ทราบความเข้มข้น (spiked sample) อย่างน้อย 2 ความเข้มข้น คำนวณ %recovery ให้อยู่ในเกณฑ์ยอมรับ ก่อนนำกราฟมาตรฐานที่ได้ไปใช้งานต่อไป

เลือดโค เจือจางเลือดโคด้วย matrix modifiers ในอัตราส่วน 1:5 นำไปวิเคราะห์ปริมาณตะกั่ว เทียบกับกราฟมาตรฐาน

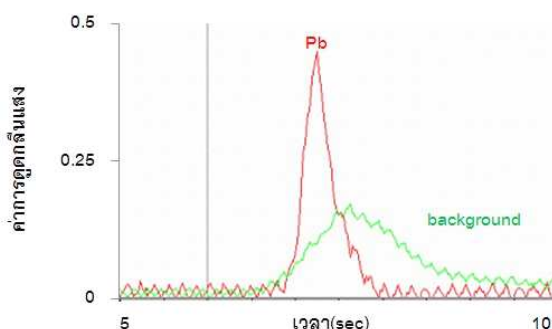
ผล

การทดสอบความเป็นเส้นตรงและช่วงของการวิเคราะห์ที่กราฟระหว่างค่าพื้นที่ใต้พีคกับความเข้มข้นของสารละลายมาตรฐานตะกั่วในเลือดมีความสัมพันธ์เป็นเส้นตรง ($r^2 \geq 0.9950$) คือ ช่วงความเข้มข้น 0.02 – 0.8 $\mu\text{g/mL}$ (รูปที่ 1 และรูปที่ 2) สร้างกราฟมาตรฐานที่ความเข้มข้น 0.02, 0.08, 0.2, 0.4 และ 0.8 $\mu\text{g/mL}$ จากการวิเคราะห์ตะกั่วในเลือดโคที่ความเข้มข้น 0.02, 0.4 และ 0.8 $\mu\text{g/mL}$ เพื่อประเมินความแม่นยำ (accuracy) จาก %recovery มีค่าเท่ากับ 107.8%, 113.7% และ 105.6% ตามลำดับ ประเมินความเที่ยง (precision) ของการวิเคราะห์เลือดโคทั้ง 3 ความเข้มข้นภายใน 1 วันด้วยค่า repeatability จาก %RSD มีค่า 4.3%, 0.9% และ 2.9% ตามลำดับ ประเมินความเที่ยงของการวิเคราะห์ซ้ำต่างวันจากค่า reproducibility ด้วยสมการ Horwitz มีค่า HORRAT_r เป็น 0.3, 0.5 และ 0.5 ตามลำดับ (ตารางที่ 1) ค่า LOQ ของวิธีวิเคราะห์เท่ากับ 0.020 $\mu\text{g/mL}$ โดยมีค่า %recovery จากการทดสอบ 7 ซ้ำ อยู่ในช่วง 98.2 – 115.1% และ %RSD เท่ากับ 4.3%

การวิเคราะห์ปริมาณตะกั่วด้วยวิธี GFAAS ในเลือดโคเนื้อและโคนมที่เลี้ยงในภาคตะวันออก รวม 534 ตัวอย่าง พบว่าปริมาณสารตะกั่วในเลือดโคเฉลี่ย ($\bar{x} \pm \text{SD}$) เท่ากับ $0.037 \pm 0.024 \mu\text{g/mL}$ โดยมีปริมาณตะกั่วเฉลี่ยในเลือดโคเนื้อ $0.039 \pm 0.024 \mu\text{g/mL}$ ในเลือดโคนม $0.031 \pm 0.021 \mu\text{g/mL}$ จำนวนโคเนื้อและโคนมที่พบปริมาณตะกั่วในช่วง 0.10 - 0.350 $\mu\text{g/mL}$ เท่ากับ 3.7% (13/355 ตัวอย่าง) และ 0.6% (1/179 ตัวอย่าง) ตามลำดับ พบปริมาณตะกั่วสูงสุดในเลือดโคเนื้อ 1 ตัวอย่าง คือ 0.296 $\mu\text{g/mL}$ และในเลือดโคนม 1 ตัวอย่าง คือ 0.215 $\mu\text{g/mL}$ (ตารางที่ 2) ทั้งนี้ปริมาณตะกั่วเฉลี่ยในเลือดโคเนื้อเมื่อจำแนกตามเพศ เพศผู้ เท่ากับ $0.041 \pm 0.038 \mu\text{g/mL}$ และเพศเมีย เท่ากับ $0.036 \pm 0.021 \mu\text{g/mL}$



รูปที่ 1 กราฟมาตรฐานระหว่างค่าพื้นที่ใต้พีคกับความเข้มข้นของตะกั่วในเลือดในช่วงความสัมพันธ์เป็นเส้นตรง



รูปที่ 2 การดูดกลืนแสงที่ wavelength 283.3 nm ของตะกั่วในเลือดโคความเข้มข้น 0.4 $\mu\text{g/mL}$

ตารางที่ 1 ค่าความแม่นยำและความเที่ยงของการวิเคราะห์ซ้ำต่างวัน (reproducibility) ของการวิเคราะห์หาปริมาณตะกั่วในเลือดโคที่ความเข้มข้น 3 ระดับ

วันที่	ความเข้มข้นตะกั่วในเลือดโค ($\mu\text{g/ml}$)		
	0.02 $\mu\text{g/mL}$ (%recovery)	0.4 $\mu\text{g/mL}$ (%recovery)	0.8 $\mu\text{g/mL}$ (%recovery)
1	0.017 (85.0%)	0.455 (113.7%)	0.920 (115.0%)
2	0.020 (100.0%)	0.422 (100.5%)	0.700 (87.5%)
3	0.021 (100.0%)	0.370 (92.5%)	0.745 (93.1%)
4	0.020 (100.0%)	0.405 (101.2%)	0.820 (102.5%)
5	0.017 (85.0%)	0.420 (105.0%)	0.816 (102.0%)
6	0.021 (105.0%)	0.350 (87.5%)	0.821 (102.6%)
7	0.021 (105.0%)	0.380 (95.0%)	0.847 (105.9%)
ค่าเฉลี่ย ($\bar{x}$)	0.020 (97.9%)	0.402 (100.5%)	0.810 (101.2%)
% RSD _r	9.26	9.61	8.74
predicted Horwitz RSD _r	28.57	18.21	16.40
Horrat _r	0.3	0.5	0.5

ตารางที่ 2 ผลการวิเคราะห์ปริมาณตะกั่ว ($\mu\text{g/mL}$) ในเลือดโคเนื้อและโคนมของภาคตะวันออก จำแนกรายจังหวัด

จังหวัด	จำนวน ตรวจ (ตัวอย่าง)	ค่าเฉลี่ย ปริมาณตะกั่ว ($\bar{x} \pm SD$)	โคเนื้อ (355 ตัวอย่าง)		โคนม (179 ตัวอย่าง)	
			< 0.10	0.10 - 0.350 (ปริมาณสูงสุด)	< 0.10	0.10 - 0.350 (ปริมาณสูงสุด)
จันทบุรี	39	0.026 $\pm$ 0.010	—	—	39	0
ฉะเชิงเทรา	89	0.041 $\pm$ 0.025	83	6 (0.115)	—	—
ชลบุรี	47	0.027 $\pm$ 0.013	—	—	47	0
ตราด	42	0.026 $\pm$ 0.010	19	0	23	0
นครนายก	80	0.042 $\pm$ 0.020	77	3 (0.117)	—	—
ปราจีนบุรี	30	0.019 $\pm$ 0.012	—	—	30	0
ระยอง	60	0.031 $\pm$ 0.038	58	2 (0.296)	—	—
สมุทรปราการ	72	0.041 $\pm$ 0.019	70	2 (0.112)	—	—
สระแก้ว	75	0.047 $\pm$ 0.023	35	0	39	1 (0.215)
รวม	534	0.037 $\pm$ 0.024	342 (96.3%)	13* (3.7%)	178 (99.4%)	1 (0.6%)

— = ไม่มีตัวอย่างวิเคราะห์; * พบปริมาณตะกั่วในช่วง 0.10 - < 0.20 $\mu\text{g/mL}$ 12 ตัวอย่าง, 0.20 - < 0.30 $\mu\text{g/mL}$ 1 ตัวอย่าง

วิจารณ์และสรุป

การตรวจสอบความเหมาะสมของวิธีการวิเคราะห์หาปริมาณตะกั่วในเลือดโคโดยวิธี GFAAS โดยการประเมินความแม่นยำ (accuracy) และความเที่ยง (precision) ของการวิเคราะห์จาก %recovery, %RSD และค่า HORRAT พบว่าทุกค่าผ่านเกณฑ์ยอมรับตามแนวทางที่ระบุใน AOAC (2003) ความเข้มข้นของตะกั่วในเลือดต่ำสุดที่วิเคราะห์ปริมาณได้ (Limit of Quantitation, LOQ) เท่ากับ 0.02 µg/mL (ppm) โดยมีการพิจารณาความสัมพันธ์ของค่าพื้นที่ใต้พีคกับความเข้มข้นของตะกั่วเป็นเส้นตรงในช่วง 0.02 – 0.8 µg/mL ซึ่งจะเป็นช่วงที่ยอมรับได้ว่าความเข้มข้นของตะกั่วในเลือดโคจากการวิเคราะห์มีความถูกต้อง ผลการวิเคราะห์ความเข้มข้นตะกั่วในเลือดโคที่เลี้ยงใน 9 จังหวัดของภาคตะวันออกเฉียงเหนือจากตัวอย่างส่งตรวจระหว่างเดือนธันวาคม 2552 ถึง เมษายน 2553 รวม 534 ตัวอย่าง ด้วยวิธี GFAAS พบว่าปริมาณตะกั่วในเลือดโคส่วนใหญ่มีความเข้มข้นน้อยกว่า 0.1 µg/mL โดยมีค่าเฉลี่ยและค่าเบี่ยงเบนมาตรฐาน ($\bar{x} \pm SD$) เท่ากับ 0.037 ± 0.024 µg/mL ซึ่งเป็นระดับที่ไม่เป็นอันตรายต่อโค ทั้งนี้ค่าปกติ (normal range) ของตะกั่วในเลือด (whole blood) คือ <0.35 ppm (NIAH, 1998) สัตว์ส่วนใหญ่จะแสดงอาการพิษจากตะกั่วเมื่อมีความเข้มข้นของตะกั่วในเลือด >0.35 ppm (The Merck Veterinary Manual, 2008) กมลชัย และคณะ (2530) รายงานการศึกษาปริมาณตะกั่วในเลือดโคนมที่แหล่งเลี้ยง 4 แหล่งในจังหวัดนครปฐม และสระบุรี มีค่าเฉลี่ยเท่ากับ 0.1822 ± 0.0097 ppm ซึ่งเป็นระดับต่ำกว่าระดับที่จะทำให้เกิดอาการพิษจากตะกั่วเช่นกัน Waldner *et al.* (2002) ได้ศึกษาระดับตะกั่วในเลือดโคที่ได้รับผลกระทบจากการเลี้ยงในทุ่งหญ้าที่มีการปนเปื้อนสารตะกั่ว พบว่าโคบางตัวไม่แสดงอาการป่วยแม้ว่ามีระดับตะกั่วในเลือด >0.35 ppm ซึ่งเป็นระดับ acute lead poisoning โคส่วนใหญ่มีตะกั่วในเลือด 0.1 – 0.35 ppm ซึ่งเป็นระดับ high-normal range และปริมาณตะกั่วในเลือดโคทั้งสองกลุ่มลดลงโดยเฉลี่ย 0.045 ppm/30วัน

การวิเคราะห์ตะกั่วในเลือดโคของภาคตะวันออกเฉียงเหนือ พบว่าค่าเฉลี่ยความเข้มข้นของตะกั่วในเลือดโคเนื้อและโคนมมีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติที่ระดับ 0.05 โดยพบปริมาณตะกั่วในช่วง high-normal range (0.10 - 0.350 µg/ml) ในเลือดโคเนื้อ 13 ตัวอย่าง (ค่าสูงสุด 0.296 µg/mL) คิดเป็น 3.7% (13/355 ตัวอย่าง) และในเลือดโคนม 1 ตัวอย่าง มีค่า 0.215 µg/mL คิดเป็น 0.6% (1/179 ตัวอย่าง) ทั้งนี้ลักษณะการเลี้ยงโคเนื้อในภาคตะวันออกเฉียงเหนือส่วนใหญ่เป็นการเลี้ยงแบบปล่อยทุ่งสาธารณะ และมีการเกี่ยวหญ้าจากข้างทางสาธารณะบ้าง น้ำที่ใช้เลี้ยงเป็นน้ำจากแหล่งน้ำธรรมชาติหรือแหล่งน้ำสาธารณะ ในขณะที่โคนมมักเลี้ยงแบบยืนโรงฟั่นปูน มีทุ่งหญ้าแบบปิดและเสริมอาหารข้น ให้น้ำผ่านถังพักหรือผ่านการบำบัดแล้ว เช่น น้ำประปา อย่างไรก็ตามพบว่าโคนมที่พบปริมาณตะกั่วสูงสุดมีการเลี้ยงแบบปล่อยคอกพื้นดิน นอกจากนี้พบว่าเพศของโคเนื้อในตัวอย่างที่ศึกษาครั้งนี้ไม่มีผลต่อความแตกต่างของปริมาณตะกั่วในเลือดอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติที่ระดับ 0.05 ทั้งนี้อาการป่วยที่เกิดจากตะกั่วเป็นพิษจะคล้ายคลึงกับการป่วยด้วยโรคอื่น เช่น polioencephalomalacia โรคพิษสุนัขบ้า (มาลินี, 2527; The Merck Veterinary Manual, 2008) โดยทั่วไปแล้วการตรวจระดับตะกั่วในเลือดและในเนื้อเยื่อเป็นที่

ยอมรับในการยืนยันการวินิจฉัยสัตว์รายตัวร่วมกับการแสดงอาการพิษตะกั่ว การศึกษาโลหะหนักในสัตว์จะบ่งชี้ความเป็นพิษต่อมนุษย์ได้ (Checkley *et al.*, 2002) ดังนั้นการวิเคราะห์หาปริมาณตะกั่วในสัตว์ก่อนจะนำไปบริโภคจึงเป็นการลดโอกาสการปนเปื้อนและเป็นการเฝ้าระวังการปนเปื้อนโลหะหนักในห่วงโซ่อาหารจากห้องปฏิบัติการเป็นการคุ้มครองผู้บริโภคให้ปลอดภัยอีกทางหนึ่ง ตลอดจนช่วยลดผลกระทบที่จะเกิดต่ออุตสาหกรรมการเลี้ยงสัตว์ได้ จากข้อมูลการวิเคราะห์ปริมาณตะกั่วในตัวอย่างเลือดโคของภาคตะวันออกเฉียงเหนือ ในช่วงเดือนธันวาคม 2552 ถึง เมษายน 2553 สามารถประเมินได้ส่วนหนึ่งว่าสิ่งแวดล้อมและปศุสัตว์ในภาคตะวันออกเฉียงเหนือมีความปลอดภัยจากมลพิษโลหะหนักประเภทตะกั่ว

กิตติกรรมประกาศ

ขอขอบคุณ น.สพ.สมชวน รัตนมังคลานนท์ ผู้อำนวยการศูนย์วิจัยและพัฒนาการสัตวแพทย์ภาคตะวันออกเฉียงเหนือ, เจ้าหน้าที่ของศวพ.ภาคตะวันออกเฉียงเหนือและสำนักงานปศุสัตว์จังหวัดในภาคตะวันออกเฉียงเหนือ

เอกสารอ้างอิง

- กมลชัย ตรวงวานิชนาม, พีระพล อยู่สวัสดิ์, พิบูลย์ เรืองสุภาภิชชาติ, ลูติยา แซ่ปั้ง และ สุเมธ เมษศาสตร์. 2530. การศึกษาปริมาณตะกั่วในเลือดโคนมที่ อ.กำแพงแสน อ.เมือง จ.นครปฐม ศูนย์วิจัยและบำรุงพันธุ์สัตว์ทับกวาง และ อ.มวกเหล็ก จ.สระบุรี. รายงานผลการวิจัยประจำปี 2530 มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์.
- มาลินี ลิ้มโศคา. 2527. โลหะหนัก. ใน พิษวิทยาและปัญหาที่พบในสัตว์. โรงพิมพ์จรัสสินทวงศ์ กรุงเทพฯ ๙. หน้า 195 – 205.
- แม่น อมรสิทธิ์. 2552. หลักการและเทคนิคการวิเคราะห์เชิงเครื่องมือ. พิมพ์ครั้งที่ 1 : ฉบับปรับปรุงใหม่ พฤษภาคม. บริษัท ชวนพิมพ์ 50 จำกัด กรุงเทพฯ ๙. หน้า 345 – 412.
- AOAC. 2003. Validation : An invisible component of measurement. [Online]. Available : <http://www.aoac.org/dietsupp6/Dietary-Supplement-web-site/HorwitzValid.pdf> (February 25, 2010).
- Australian Standard 2636. 1994. Sampling of venous and capillary blood for the determination of lead or cadmium concentration. p. 5.
- Blood, D.C. and Henderson, J.A. 1986. Veterinary medicine. 3rd ed., Williams and Wilkins, Baltimore, London. p 972.
- Checkley, S., Waldner, C. and Blakley, B. 2002. Lead poisoning in cattle : Implications for food safety. [Online]. Available : http://www.larounds.ca/crus/lav10_02_eng.pdf (March 9, 2009).

- National Institute of Animal Health (NIAH). 1998. Standard Diagnostic Manual for Livestock Diseases in Thailand. Sceond edition. Department of Livestock Development, Ministry of Agriculture and Cooperatives, Thailand. p. 229.
- Neathery, M.W. and Miller, W.J. 1975. Metabolism and Toxicity of Cadmium, Mercury, and Lead in Animals: A Review. [Online]. Available : <http://jds.fass.org/cgi/reprint/58/12/1767.pdf> (November 9, 2009).
- Pitot, C.H. and Dragon, P.Y. 1996. Chemical Carcinogenesis. In: Casarett and Doull's Toxicology. 5th ed., International Edn., Ed. Klaassen, C.D., MacGrow Hill, New York. p : 534–542.
- Sinclair, D. and Chapper, G. 1988. The Determination of Lead in Human Blood using Porcine Blood Standards. GBC AA applications Number 12, June. Australia.
- The Merck Veterinary Manual. 2008. Lead Poisoning : Introduction - [Online]. Available : <http://www.merckvetmanual.com/mvm/index.jsp?cfile=htm/bc/211800.htm> (March 10, 2010).
- Waldner, C., Checkley, S., Blakley, B., Pollock, C. and Mitchell, B. 2002. Managing lead exposure and toxicity in cow–calf herds to minimize the potential for food residues. J Vet Diagn Invest 14:481–486. [Online]. Available : <http://jvdi.org/cgi/reprint/14/6/481.pdf> (April 22, 2010).

Blood lead levels in cattle by graphite furnace atomic absorption spectrometry

Weena Choe-ngern* Saruda Wanganurakkul Pornphun Laolue

Veterinary Research and Development Center (Eastern Region), Department of Livestock Development,
Ban Bueng, Chonburi 20220, Thailand.

* Corresponding author Tel. +66 (0) 3874 2116-9 Fax. +66 (0) 3874 2120 E-mail : vrd_ep@dld.go.th

Abstract

Blood lead levels in cattle were analyzed by graphite furnace atomic absorption spectrometry (GFAAS). Blood samples were taken from 355 beef cattle and 179 dairy cattle in the eastern region of Thailand during December 2009 – April 2010. The linear range of analysis was 0.02 – 0.8 µg/mL. The accuracy and precision of blood lead analysis in cattle at 3 levels (0.02, 0.4 and 0.8 µg/mL) were within the acceptance criteria (AOAC, 2003). The limit of quantitation (LOQ) was 0.02 µg/mL. The analysis showed that the mean blood lead concentrations was 0.037 ± 0.024 µg/mL in cattle. All of the samples did not exceed the normal level for blood lead which is in 0.35 µg/mL. No significant difference in blood lead levels between sexes by the beef cattle ($p \geq 0.05$) was observed, whereas there was significant difference in blood lead levels between beef cattle and dairy cattle ($p < 0.05$).

Key words : lead, blood, cattle, GFAAS