

ชื่อเรื่องวิทยานิพนธ์      การพัฒนาวิธี อะตอมมิก แอบซอพชัน สเปกโทรเมตรี แบบ กราฟไฟท์  
เฟอรัส เพื่อวิเคราะห์ปริมาณตะกั่วในเลือดของเด็กไทย

ชื่อผู้เขียน                      นางสาว กัญญาถ กิ่งจันทร์

วิทยาศาสตร์มหาบัณฑิต      สาขาเภสัชวิทยา

คณะกรรมการสอบวิทยานิพนธ์ :

ผศ. ดร. วีระวรรณ	เรื่องยุติการณ์	ประธานกรรมการ
ดร. ทิพวรรณ	ประภามณฑล	กรรมการ
รศ. ดร. อัมพวัน	อภิสิทธิ์กุล	กรรมการ

### บทคัดย่อ

วิธีวิเคราะห์ปริมาณตะกั่วในเลือดที่นิยมใช้ในปัจจุบันคือ graphite furnace atomic absorption spectrometry (GFAAS) ซึ่งส่วนใหญ่จะเป็น GFAAS ที่มี deuterium background correction การใช้ Zeeman background correction ยังมีผู้น้อย งานวิจัยครั้งนี้มีวัตถุประสงค์เพื่อศึกษาและพัฒนาวิธี GFAAS ที่เป็น Zeeman background correction ให้ได้วิธีที่มีความไว ความเที่ยงตรง ความแม่นยำ และให้ค่าที่แน่นอนเชื่อถือได้เหมาะสำหรับการวิเคราะห์ตะกั่วในเลือด และใช้วิธี GFAAS ที่พัฒนาได้นี้วิเคราะห์ปริมาณตะกั่วในเลือดของเด็กอายุระหว่าง 6-72 เดือน ที่

## จ

อาศัยอยู่ในจังหวัดเชียงใหม่ ลำพูน และลำปาง จำนวน 500 ราย เพื่อศึกษาถึงความชุกของการปนเปื้อนตะกั่วในเด็กเหล่านี้

การวิเคราะห์ปริมาณตะกั่วในเลือดค่อนข้างยุ่งยากเนื่องจากมีตะกั่วปนเปื้อนในสิ่งแวดล้อมมากจึงต้องระมัดระวังตั้งแต่การเตรียมเครื่องมือและเครื่องแก้วที่ใช้จนถึงการเจาะเลือดจากเด็กซึ่งจะทำได้ยากกว่าการเจาะเลือดจากผู้ใหญ่มาก และปริมาณเลือดที่เจาะได้ก็น้อย การวิจัยครั้งนี้พบว่าอุณหภูมิระหว่าง 85-150 °C ในเวลา 40 วินาที เป็นอุณหภูมิและเวลาที่เหมาะสมสำหรับการเผาตัวอย่างเลือดให้แห้ง และอุณหภูมิระหว่าง 550-800 °C ในเวลา 32 วินาที เหมาะสำหรับการเผาตัวอย่างให้กลายเป็นเถ้า หลังจากนั้นจึงใช้อุณหภูมิสูงถึง 2200 °C ในเวลา 3 วินาที สำหรับเปลี่ยนสภาพตะกั่วในเลือดให้เป็นอะตอมอิสระ ซึ่งสามารถทำให้อ่าน peak ของตะกั่วได้เพียง peak เดียวและมีการสูญเสียตะกั่วน้อยที่สุดในระหว่างการเผาตัวอย่างเลือด

การวิเคราะห์ปริมาณตะกั่วใช้ pyrolytic coated partition graphite tube ใน GFAAS และ hollow cathode lamp สำหรับตะกั่วที่ 283.3 nm ใช้กระแสไฟฟ้า 5 mA ความกว้างของช่องแสงเข้าออก 0.5 nm ใช้ conventional method สร้างกราฟมาตรฐานแบบ pre-mix มี 20%  $\text{NH}_4\text{H}_2\text{PO}_4$  เป็น modifier และเลือดที่ทราบปริมาณตะกั่ว (BIO-RAD) ความเข้มข้น 3 ระดับเป็นเลือดที่ใช้เป็นสารมาตรฐาน คือความเข้มข้น 9.2, 28.4 และ 56.1  $\mu\text{g}/\text{dL}$  วิเคราะห์ปริมาณตะกั่วในเลือดที่ทราบปริมาณตะกั่วแน่นอนจาก 4 แหล่งคือ เตรียมขึ้นเอง จากมหาวิทยาลัยมหิดล จากศูนย์วิทยาศาสตร์การแพทย์ จังหวัดเชียงใหม่ และจากสถาบันวิจัยวิทยาศาสตร์สุขภาพ เพื่อทดสอบความไว ความเที่ยงตรง และความแม่นยำของวิธีการวิเคราะห์ ผลการทดลองพบว่าวิธีวิเคราะห์ตะกั่วในเลือดที่พัฒนาขึ้นนี้อ่านค่าดูดกลืนแสงของเลือดที่ทราบปริมาณตะกั่วที่ใช้เป็นสารมาตรฐาน 3 ความเข้มข้นคือ 9.2, 28.4 และ 56.1  $\mu\text{g}/\text{dL}$  ได้ค่าเฉลี่ยและค่าเบี่ยงเบนมาตรฐาน  $0.076 \pm$

## ณ

0.007,  $0.199 \pm 0.010$  และ  $0.374 \pm 0.013$  ตามลำดับ และปริมาณตะกั่วในเลือดที่ทราบปริมาณตะกั่ว 4 ระดับคือ ระดับปกติ ต่ำ กลาง และสูง เมื่อทำการวิเคราะห์ 20 ครั้งในเวลา 20 วัน (between-run) ค่าความได้ค่าสัมประสิทธิ์ความแปรปรวนของระดับตะกั่วทั้ง 20 ครั้งได้ ร้อยละ 8.88, 8.71, 6.26 และ 5.11 ตามลำดับ และเมื่อทำการวิเคราะห์ปริมาณตะกั่วในเลือดระดับต่ำ และสูงอย่างละ 10 ครั้งในวันเดียวกัน (within-run) ค่าความได้ค่าสัมประสิทธิ์ความแปรปรวนเป็น ร้อยละ 3.56 และ 3.03 ส่วนปริมาณตะกั่วที่วัดจากเลือดที่ทราบปริมาณตะกั่วจากมหาวิทยาลัยมหิดล และจาก BIO-RAD จำนวน 10 ตัวอย่าง ได้ค่าใกล้เคียงกับค่าเป้าหมายมาก

ผลการวิเคราะห์ปริมาณตะกั่วในเลือดของเด็กอายุระหว่าง 6-72 เดือน ที่อาศัยอยู่ในจังหวัดเชียงใหม่ ลำพูน และลำปาง จำนวน 500 ราย พบว่าค่าเฉลี่ยและค่าเบี่ยงเบนมาตรฐานของระดับตะกั่วในเลือดเด็กเป็น  $4.52 \pm 3.30$   $\mu\text{g}/\text{dL}$  มีเด็กที่มีปริมาณตะกั่วมากกว่า  $10$   $\mu\text{g}/\text{dL}$  จำนวน 14 ราย คิดเป็นร้อยละ 2.8 โดยมีปริมาณตะกั่วมากกว่า  $20$   $\mu\text{g}/\text{dL}$  จำนวน 2 ราย แบ่งเป็นเด็กชาย 1 ราย และเด็กหญิง 1 ราย เด็กทั้ง 14 รายที่มีปริมาณตะกั่วในเลือดสูงเป็นเด็กที่อาศัยอยู่ในจังหวัดเชียงใหม่

---

งานวิจัยนี้เป็นส่วนหนึ่งของโครงการการสำรวจหาระดับตะกั่วในเลือดของเด็กเล็ก ในเขตภาคเหนือของไทย ซึ่งได้รับทุนสนับสนุนโครงการวิจัยจากองค์การอนามัยโลก และกระทรวงสาธารณสุข

Thesis Title	Development of Graphite Furnace Atomic Absorption Spectrometric Method for Quantification of Blood Lead in Thai Children.		
Author	Miss Kanyanart Kingchan		
M.Sc.	Pharmacology		
Examining Committee :			
	Assistant Prof. Dr. Werawan Ruangyuttikarn		Chairman
	Dr. Tippawan Prapamontol		Member
	Associate Prof. Dr. Amphawan Apisariyakul		Member

### abstract

Graphite furnace atomic absorption spectrometry (GFAAS) is a widely used method for blood lead analysis. Nowadays most of the GFAAS has deuterium background correction rather than Zeeman background correction. The objective of this study is to develop a sensitive, accurate and precise Zeeman GFAAS method for quantification of blood lead in 500 children aged from 6 to 72 months who reside in Chiang Mai, Lamphun and Lampang provinces in order to observe the prevalence of lead contamination among these children.

Blood lead analysis is quite complicated because of an extreme contamination of lead in our environment. Therefore, it has to be very cautious on the cleanliness of all plastics and glasswares used for the analysis. Collection of blood is also has to be very careful. Blood sample collection from young children is more difficult and less amount of blood can be taken than from adults. This study found that a suitable temperature and time program for sample drying, ashing and atomizing was 85-150 °C for 40 sec, for 550-800 °C for 32 sec, and 2200 °C for 3 sec respectively. With this temperature and time program only one peak of lead was identified. Very little amount of lead in blood sample was lost during the process of drying and ashing.

The pyrolytic coated partition graphite tube was used in the GFAAS with hollow cathode lamp at wavelength of 283.3 nm, lamp current of 5 mA and 0.5 nm bandwidth. Each determination was carried out the conventional method and pre-mix technique for producing a calibration curve. Twenty percents of  $\text{NH}_4\text{H}_2\text{PO}_4$  was used to be a modifier and 3 levels of blood standard (BIO-RAD) with concentrations of 9.2, 28.4 and 56.1  $\mu\text{g}/\text{dL}$  were utilized. Blood control from 4 sources; inhouse preparation, Mahidol University, Regional Centre of Medical Science, Chiang Mai and Research Institute for Health Sciences were analysed to test sensitivity, accuracy and precision of the method. The results indicate that the absorbance of blood standards with concentrations of 9.2, 28.4 and 56.1  $\mu\text{g}/\text{dL}$  were  $0.076 \pm 0.007$ ,  $0.199 \pm 0.010$  and  $0.374 \pm 0.013$ , respectively (expressed in mean  $\pm$  S.D.). Between-run precision of blood control at normal, low, medium and high

concentration of lead were 8.88, 8.71, 6.26 and 5.11 % CV, respectively (n=20). Within-run precision of blood control at low and high concentrations of lead were 3.56 and 3.03 (n=10). The analysed data of lead concentrations in the control blood obtained from Mahidol University and BIO-RAD for 10 samples were closed to the target values.

Blood lead concentrations of 500 children aged from 6 to 72 months who reside in Chiang Mai, Lamphun and Lampang provinces was  $4.52 \pm 3.30$   $\mu\text{g/dL}$  (mean  $\pm$  S.D.). There are 14 children or 2.8 % who have blood lead level higher than 10  $\mu\text{g/dL}$  and only 2 children, 1 boy and 1 girl, have blood lead level higher than 20  $\mu\text{g/dL}$ . All of the 14 children who have high level of blood lead reside in Chiang Mai.

---

This study is part of a study of lead screening in young children from Northern Thailand funded by the World Health Organization and Royal Thai Ministry of Public Health.