



การวิเคราะห์หาปริมาณธาตุสังกะสี และธาตุฟอสฟอรัส จากสารเคมีกำจัดหนู Zinc Phosphide ในตัวอย่างอาหารจากกระเพาะอาหารของศพ ด้วยเทคนิค Inductively Coupled Plasma Optical Emission Spectrometer

Determination of Zinc and Phosphorus from Zinc Phosphide in Gastric Contents by Inductively Coupled Plasma Optical Emission Spectrometer

ลัดดาวลัย บันหาร¹ ธีรินทร์ สินไชย² และ มาลินี พงศ์เสวี^{1, 3}

¹บัณฑิตศึกษาศาขานิติวิทยาศาสตร์ คณะสหเวชศาสตร์ มหาวิทยาลัยธรรมศาสตร์ ศูนย์รังสิต

²สถาบันนิติเวชวิทยา โรงพยาบาลตำรวจ

³ภาควิชาเทคนิคการแพทย์ คณะสหเวชศาสตร์ มหาวิทยาลัยธรรมศาสตร์ ศูนย์รังสิต

Laddawan Banhan¹, Theerin Sinchai² and Malinee Pongsavee^{1, 3}

¹Graduate Program in Forensic Science, Faculty of Allied Health Sciences, Thammasat University, Rangsit Campus

²Institute of Forensic Medicine, Police General Hospital

³Department of Medical Technology, Faculty of Allied Health Sciences, Thammasat University, Rangsit Campus

Received March 15, 2020 | Revised June 2, 2020 | Accepted June 18, 2020

บทคัดย่อ

การวิเคราะห์หาปริมาณธาตุสังกะสี (Zn) และธาตุฟอสฟอรัส (P) จากสารเคมีกำจัดหนู Zinc Phosphide (Zn_3P_2) ในตัวอย่างอาหารจากกระเพาะอาหารของศพ เป็นเป้าหมายสำคัญในการวิเคราะห์ทางด้านนิติวิทยาศาสตร์ที่ใช้สนับสนุนหาสาเหตุการตายจากการได้รับสารเคมีกำจัดหนู Zinc Phosphide งานวิจัยนี้จึงพัฒนาวิธีวิเคราะห์หาปริมาณธาตุสังกะสีและธาตุฟอสฟอรัส เพื่อพิสูจน์หาสาเหตุการตายจากการได้รับสารเคมีกำจัดหนู Zinc Phosphide ให้มีความแม่นยำมากยิ่งขึ้น และการหาอัตราส่วนระหว่างปริมาณธาตุสังกะสีกับธาตุฟอสฟอรัสจากสารเคมีกำจัดหนู Zinc Phosphide ในตัวอย่างอาหารจำลองจากกระเพาะอาหาร ตัวอย่างอาหารทั่วไปที่มีปริมาณของธาตุสังกะสีและธาตุฟอสฟอรัสสูง และตัวอย่างอาหารจากกระเพาะอาหารของศพจำนวน 75 ตัวอย่าง ด้วยเทคนิค Inductively Coupled Plasma Optical Emission Spectrometer (ICP-OES)

จากการศึกษาพบว่า ช่วงการวิเคราะห์สารละลายมาตรฐานธาตุสังกะสีและธาตุฟอสฟอรัส ที่ระดับความเข้มข้น 0.5-30 $\mu\text{g/ml}$ และ 12.5-500 $\mu\text{g/ml}$ ตามลำดับ มีความสัมพันธ์เชิงเส้น โดยมีค่า R^2



เท่ากับ 0.9995 และ 0.9998 ตามลำดับ ค่าขีดจำกัดของการตรวจวัดเท่ากับ 0.05 $\mu\text{g/ml}$ และ 2.5 $\mu\text{g/ml}$ ตามลำดับ ค่าขีดจำกัดของการวิเคราะห์ปริมาณเท่ากับ 0.5 $\mu\text{g/ml}$ และ 15 $\mu\text{g/ml}$ ตามลำดับ ความแม่นยำของวิธีวิเคราะห์แสดงด้วยค่า %Recovery เท่ากับ 96.91 % และ 98.21 % ตามลำดับ ซึ่งอยู่ในเกณฑ์การยอมรับ 80-110 % ประเมินความเที่ยงแสดงด้วยค่า %RSD เท่ากับ 0.88 % และ 1.96 % ตามลำดับ ซึ่งอยู่ในเกณฑ์การยอมรับน้อยกว่าหรือเท่ากับ 11 % และผลการศึกษาอัตราส่วนระหว่างปริมาณธาตุสังกะสีกับธาตุฟอสฟอรัสจากสารเคมีกำจัดหนู Zinc Phosphide ในตัวอย่างอาหารจำลองจากกระเพาะอาหารมีค่าเท่ากับ 3:1 ซึ่งแตกต่างจากในตัวอย่างอาหารทั่วไปที่มีธาตุสังกะสีและธาตุฟอสฟอรัสสูง นอกจากนี้ในตัวอย่างอาหารจากกระเพาะอาหารของศพมีอัตราส่วนไม่คงที่ เนื่องจากปัจจัยชนิดของอาหารที่อยู่ในตัวอย่างมีผลต่อการวิเคราะห์อัตราส่วนระหว่างปริมาณธาตุสังกะสีกับธาตุฟอสฟอรัสจากสารเคมีกำจัดหนู Zinc Phosphide

คำสำคัญ: สารเคมีกำจัดหนู, ตัวอย่างอาหารจากกระเพาะอาหาร, เทคนิคอินดักทีฟ คัปเปิลพลาสมา ออปติคอล อิมิสชัน สเปกโตรมิเตอร์

Abstract

The ability to determine the concentration of Zn and P in Zinc Phosphide (Zn_3P_2) in gastric contents is therefore an important goal in forensic analysis to support the cause of death. In this research, a quantitative technique was developed to determine of Zn and P and investigated the ratio of Zn and P from zinc phosphide in artificial gastric contents, foods that contained high concentration of Zn and P and 75 gastric content samples. The application of Inductively Coupled Plasma Optical Emission Spectrometer (ICP-OES) was useful for the determination of Zn and P in the post-mortem material enabled ascertainment of the cause of poisoning.

According to the result of method validation, the linear and ranges of Zn and P were 0.5-30 $\mu\text{g/ml}$ and 12.5-500 $\mu\text{g/ml}$, respectively. The relative of determination (R^2) of Zn and P standard solutions were 0.9995 and 0.9998, respectively. The limits of detection (LOD) were found to be 0.05 $\mu\text{g/ml}$ and 2.5 $\mu\text{g/ml}$, while the limits of quantitation (LOQ) were found to be 0.5 $\mu\text{g/ml}$ and 15 $\mu\text{g/ml}$ for Zn and P, respectively. Mean percentage recoveries were in the range of 80–110. Precision of Zn and P analyzed by reproducibility precision (%RSD) were 0.88 and 1.96 respectively. The ratio of Zn and P concentration in zinc phosphide was 3:1 in artificial gastric contents compared to conventional foods containing both elements. The types of food affected the ratio of Zn and P from zinc phosphide in gastric contents.

Keywords: Zinc Phosphide Rodenticide, Gastric Contents, Inductively Coupled Plasma Optical Emission Spectrometer technique



บทนำ

สารเคมีกำจัดหนู Zinc Phosphide (Zn_3P_2) เป็นสารเคมีที่นิยมใช้กันอย่างแพร่หลายในประเทศไทย จัดเป็นสารประกอบ Phosphide มีลักษณะเป็นผงสีดำ กลิ่นคล้ายกระเทียม (Garlic Odor) (Bumrah et al., 2012) มีน้ำหนักโมเลกุล 258.12 คงตัวในสภาวะที่ปราศจากความชื้นและกรด หากถูกความชื้นหรือสัมผัสกับกรดในกระเพาะอาหารโดยการกินจะเกิดปฏิกิริยาให้แก๊สฟอสฟีน (Phosphine Gas: PH_3) ซึ่งเป็นแก๊สพิษและติดไฟง่าย อาการจะเกิดขึ้นภายในระยะเวลา 1 ถึง 2 ชั่วโมง โดยมีอาการคลื่นไส้ อาเจียน ปวดท้อง อูจาระร่วง อ่อนเพลีย และเสียชีวิตได้ (Lauterbach et al., 2005) สาเหตุของการเสียชีวิตมาจาก Phosphine Gas ไปยับยั้งกระบวนการหายใจระดับเซลล์ การเสียชีวิตส่วนใหญ่เกิดขึ้นในช่วงระยะเวลา 12 ถึง 24 ชั่วโมง อาการทางคลินิกจะตรวจพบว่า ผู้ป่วยมีภาวะความดันโลหิตต่ำและภาวะหัวใจล้มเหลว ส่วนการเสียชีวิตในช่วงระยะเวลามากกว่า 24 ชั่วโมง สาเหตุมาจากโรคทางเดินหายใจ ตับและไตวาย เป็นต้น (Yogendranathan et al., 2017) ผู้ป่วยที่เสียชีวิตจากการกิน Zinc Phosphide โดยวิเคราะห์ในตัวอย่างอาหารจากกระเพาะอาหาร พบว่ามีปริมาณประมาณ 3 - 5 กรัม (Sadlik, 2011) ในทางนิติวิทยาศาสตร์เพื่อหาสาเหตุความเป็นพิษที่เกิดจากสารเคมีกำจัดหนูกลุ่มนี้ต้องอาศัยการตรวจวัด Phosphine Gas ซึ่งเป็นแก๊สที่สลายตัวได้อย่างรวดเร็วภายในระยะเวลา 5 ชั่วโมง (Marashi, 2015) ทำให้การตรวจวัด Phosphine Gas ในสถานที่เกิดเหตุทำได้ยาก จึงต้องทำการตรวจหา Phosphine Gas จากอวัยวะอื่น ได้แก่ สมอ ตับ ไต และหัวใจร่วมด้วย (Anger et al., 2000)

การตรวจโดยวิเคราะห์ธาตุที่เป็นองค์ประกอบในสารเคมีกำจัดหนู Zinc Phosphide ได้แก่ ธาตุสังกะสี (Zn) และธาตุฟอสฟอรัส (P) ในตัวอย่างอาหารจากกระเพาะอาหารที่ได้รับสารเคมีกำจัดหนูกลุ่มนี้ เป็นวิธีการเชิงคุณภาพวิเคราะห์ (Qualitative Analysis) ในกรณีสงสัยว่าได้รับพิษจากสารเคมีกำจัดหนูกลุ่มนี้หรือไม่ แต่ปัญหาที่พบในการวิเคราะห์ธาตุสังกะสี และธาตุฟอสฟอรัส ในตัวอย่างอาหารจากกระเพาะอาหารที่สงสัยว่ามีสารเคมีกำจัดหนู Zinc Phosphide คือธาตุสังกะสี และธาตุฟอสฟอรัส เป็นองค์ประกอบในอาหารชนิดต่าง ๆ ด้วย เช่น ธาตุสังกะสี พบในหอยนางรม เนื้อสัตว์ ตับ วิตามิน เป็นต้น และธาตุฟอสฟอรัส พบในถั่วเมล็ดแห้ง ไข่แดง และอาหารที่บริโภคทั้งกระดูก เช่น กุ้งแห้ง เป็นต้น ทำให้อาจตรวจพบธาตุสังกะสี และธาตุฟอสฟอรัส เป็นผลบวกหลง (False Positive) แล้วทำให้การแปลผลหาสาเหตุการเกิดพิษเพื่อการรักษา หรือสรุปหาสาเหตุการเสียชีวิตผิดไปได้ ปัจจุบันเครื่องวิเคราะห์หาปริมาณธาตุโลหะหนักด้วยเทคนิค Inductively Coupled Plasma (ICP) จึงถูกนำมาใช้เพื่อยืนยันชนิดของธาตุในชีววัตถุ ซึ่งสามารถวิเคราะห์หาชนิดของธาตุได้มากกว่า 70 ชนิด ในการวิเคราะห์ครั้งเดียว และเทคนิคนี้เป็นการตรวจเบื้องต้นและยืนยันได้ในคราวเดียว โดยใช้ปริมาณตัวอย่างเพียง 5-10 ml แต่อย่างไรก็ตาม การวิเคราะห์หาปริมาณธาตุโลหะหนักด้วยเทคนิค ICP-OES ในตัวอย่างอาหารจากกระเพาะอาหารของศพไม่สามารถแยกได้ว่าธาตุสังกะสีและธาตุฟอสฟอรัส ที่ตรวจพบนั้นเป็นธาตุสังกะสี และธาตุฟอสฟอรัส ที่มาจากอาหารทั่วไปหรือมาจากสารเคมีกำจัดหนู Zinc Phosphide



งานวิจัยนี้ทำการศึกษาเพื่อพัฒนาวิธีวิเคราะห์หาปริมาณธาตุสังกะสีและธาตุฟอสฟอรัสในตัวอย่างอาหารจำลองจากกระเพาะอาหาร เปรียบเทียบกับในตัวอย่างอาหารทั่วไปที่มีธาตุสังกะสีและธาตุฟอสฟอรัส และหาอัตราส่วนระหว่างปริมาณธาตุสังกะสีกับธาตุฟอสฟอรัสในตัวอย่างอาหารจากกระเพาะอาหารของศพด้วยเทคนิค ICP-OES ผลการศึกษาที่ได้สามารถนำมาประยุกต์ใช้เป็นข้อมูลเบื้องต้นเพื่อช่วยในการแปลผลและหาสาเหตุการเสียชีวิตจากการได้รับพิษของสารเคมีกำจัดหนู Zinc Phosphide ในทางนิติวิทยาศาสตร์ต่อไป

บททวนวรรณกรรม

การวิเคราะห์สารเคมีกำจัดหนู Zinc Phosphide ในห้องปฏิบัติการพิษวิทยา สามารถใช้การวิเคราะห์เบื้องต้นด้วยวิธี Gutzeit's Test ซึ่งเป็นการไฮโดรไลสโลหะหนักด้วยกรด โดยมีสังกะสีเป็นตัวเร่งปฏิกิริยาทำปฏิกิริยากับสารละลายซิลเวอร์ไนเตรต (AgNO_3) กลายเป็นสารประกอบสีดำบนกระดาษกรองและวิธี Reinsch's Test เป็นการทำให้ปฏิกิริยาระหว่างแผ่นทองแดงกับโลหะหนัก โดยมีกรดเป็นตัวเร่งปฏิกิริยา ทำให้มีสารประกอบโลหะหนักสีดำมาเกาะอยู่ที่ผิวทองแดง (Braithwaite, 2004) ทั้ง 2 วิธีต้องทำควบคู่กันเพื่อดูผล ซึ่งสามารถวิเคราะห์หาชนิดของโลหะหนักได้ 5 ชนิดพร้อมกัน ได้แก่ สารหนู (As) พลวง (Sb) พรอท (Hg) บิสมัท (Bi) และสารประกอบฟอสฟอรัส (P) แต่ต้องมีความเข้มข้นของสารเคมีกำจัดหนู Zinc Phosphide อย่างน้อย 5 $\mu\text{g/ml}$ ขึ้นไป และใช้ปริมาณตัวอย่างมากถึง 20-30 ml โดยการตรวจวิเคราะห์ด้วยวิธี Gutzeit's Test และ วิธี Reinsch's Test หากให้ผลลบ (Negative) แสดงว่าตรวจไม่พบ สารหนู พลวง พรอท บิสมัท และสารประกอบฟอสฟอรัส แต่ถ้าให้ผลบวก (Positive) ในวิธีทดสอบใดวิธีหนึ่ง ต้องใช้วิธีการตรวจยืนยันผลด้วยวิธี Molybdenum Blue Test (Teeyapant and Chavalittumrong, 2013) และสำหรับการยืนยันผลด้วยการตรวจวัด Phosphine Gas ต้องใช้เทคนิคที่มีความจำเพาะ ได้แก่ เทคนิค Headspace Gas Chromatographic Procedure Nitrogen Phosphorous Detector (HS-GC/NPD) แต่ยังไม่สามารถยืนยันชนิดของสารประกอบ Phosphide เช่น Aluminium Phosphide, Magnesium Phosphide และ Zinc Phosphide ได้ (Musshoff et al., 2008)

Inductively Coupled Plasma Optical Emission Spectrometry (ICP-OES) เป็นเทคนิคในการทดสอบชนิดและหาปริมาณธาตุโลหะหนัก โดยใช้แก๊สอาร์กอนผลิตพลาสมา (Plasma) ที่เกิดในสภาพความดันบรรยากาศและคงอยู่ได้ด้วยพลังงานที่ถ่ายเทมาจากสนามแม่เหล็กไฟฟ้าที่เกิดจากการเหนี่ยวนำของคลื่นแม่เหล็กไฟฟ้าย่านความถี่วิทยุ (Radio Frequency) ในการทดสอบหาปริมาณธาตุสังกะสี และธาตุฟอสฟอรัส ที่มีการเตรียมตัวอย่างในรูปสารละลาย เมื่อนำสารละลายตัวอย่างเข้าเครื่อง ICP-OES จะถูกทำให้เป็นละอองขนาดเล็ก ๆ และแก๊สอาร์กอนเป็นตัวพาละอองตัวอย่างเข้าสู่กึ่งกลางของพลาสมาที่เป็นแหล่งให้พลังงานกระตุ้นความร้อนสูง โดยอะตอมของธาตุสังกะสีและธาตุฟอสฟอรัสเมื่อได้รับพลังงานจากพลาสมาจะทำให้อะตอมเปลี่ยนจากสภาวะพื้น (Ground State) ไปอยู่ในสภาวะกระตุ้น



(Excited State) ซึ่งเป็นสถานะที่ไม่เสถียร ดังนั้น อะตอมของธาตุจะคายพลังงานเพื่อกลับสู่สภาวะพื้น ซึ่งอะตอมของธาตุแต่ละชนิดจะคายพลังงานออกมาโดยการเปล่งแสง (Emission) ที่มีชุดความยาวคลื่น เฉพาะตัว ตัวตรวจวัดก็จะสามารถวัดชนิดและปริมาณสำหรับธาตุสังกะสี และธาตุฟอสฟอรัสได้ (Amornsit and Petsom, 1996)

Chan et al., (1983) ใช้เทคนิค Nitrogen-Phosphate Detector (HS GC/NPD) ซึ่งเป็นเทคนิคที่มีความจำเพาะในการตรวจวัด Phosphine Gas ในผู้ที่เสียชีวิตจากการได้รับพิษจากสารประกอบ Aluminium Phosphide ในตัวอย่างอาหารจากกระเพาะอาหาร ตับ และเลือด แต่เทคนิคที่ใช้ในการทดสอบ ไม่ได้ทำการ Validation Parameters ค่า Limit of Detection (LOD) และค่า Limit of Quantitation (LOQ) นอกจากนี้ เมื่อนำตัวอย่างไปทดสอบด้วยเทคนิค Gas Chromatography-Mass Spectrometry (GC/MS) พบว่า ตรวจไม่พบ Phosphine Gas

Musshoff et al., (2008) ใช้เทคนิค HS GC/NPD ตรวจวัด Phosphine Gas ในผู้ที่เสียชีวิตจากการได้รับพิษจากสารประกอบ Aluminium Phosphide ในตัวอย่างอาหารจากกระเพาะอาหาร ลำไส้เล็ก และจมูก (Nose Smear) แต่ตรวจไม่พบในปัสสาวะ เลือด ตับ ไต น้ำดี และสมอง อย่างไรก็ตาม การยืนยันผลด้วยการตรวจวัด Phosphine Gas ด้วยเทคนิค HS GC/NPD ก็ไม่สามารถยืนยันได้ว่า Phosphine Gas มาจาก Aluminium Phosphide, Magnesium Phosphide หรือ Zinc Phosphide ซึ่งงานวิจัยที่เกี่ยวกับการตรวจยืนยันสารประกอบ Phosphide มีค่อนข้างน้อย

Sadlik (2011) ใช้วิธี Gutzeit's Test และ Reinsch's Test ทดสอบหา Phosphine Gas และใช้เทคนิค ICP-OES ตรวจวัดหาปริมาณธาตุสังกะสี ธาตุแคลเซียม ธาตุแมกนีเซียม ธาตุอะลูมิเนียม และธาตุฟอสฟอรัส ในผู้ที่เสียชีวิตหลังจากกิน Zinc Phosphide ประมาณ 3 ชั่วโมง ในตัวอย่างอาหารจากกระเพาะอาหาร พบว่า มีปริมาณ Phosphine Gas ธาตุสังกะสีและธาตุฟอสฟอรัสสูงมาก ในขณะที่เดียวกันตรวจไม่พบธาตุอะลูมิเนียม และธาตุแคลเซียม มีปริมาณค่อนข้างต่ำ จึงสรุปได้ว่า ผู้ป่วยรายนี้เสียชีวิตจากการได้รับพิษจากสารเคมีกำจัดหนู Zinc Phosphide

วัตถุประสงค์

1. เพื่อพัฒนาวิธีวิเคราะห์หาปริมาณธาตุสังกะสี (Zn) และธาตุฟอสฟอรัส (P) ในตัวอย่างอาหาร จำลองจากกระเพาะอาหารด้วยเทคนิค ICP-OES
2. เพื่อหาอัตราส่วนระหว่างปริมาณธาตุสังกะสี (Zn) กับธาตุฟอสฟอรัส (P) จากสารเคมีกำจัดหนู Zinc Phosphide ในตัวอย่างอาหารจำลองจากกระเพาะอาหาร เปรียบเทียบกับในตัวอย่างอาหารทั่วไป ที่มีธาตุสังกะสี (Zn) และธาตุฟอสฟอรัส (P) ปริมาณสูงด้วยเทคนิค ICP-OES
3. เพื่อหาอัตราส่วนระหว่างปริมาณธาตุสังกะสี (Zn) กับธาตุฟอสฟอรัส (P) ในตัวอย่างอาหาร จากกระเพาะอาหารของศพด้วยเทคนิค ICP-OES



ระเบียบวิธีวิจัย

1. เครื่องมือ วัสดุ อุปกรณ์ และสารเคมีที่ใช้ในการทดลอง

ประกอบด้วย เครื่อง ICP-OES ยี่ห้อ Horiba Jobin Yvon รุ่น JY 2000 สารมาตรฐานธาตุสังกะสี (Zn) และสารมาตรฐานธาตุฟอสฟอรัส (P) ความเข้มข้น 1,000 $\mu\text{g/ml}$ ใน 2% กรดไนตริก (HNO_3 , High-Purity Standards) สารมาตรฐาน Zinc Phosphide 99.99% (Merck, Germany) กรดไฮโดรคลอริก (6 N HCl, Hydrochloric Acid Fuming 37%) (Merck, Germany)

2. การเตรียมสารละลายมาตรฐานและการเตรียมตัวอย่างอาหาร

ตัวอย่างอาหารที่ใช้ในการทดลองมี 3 ชนิด คือตัวอย่างอาหารจำลองจากกระเพาะอาหาร ตัวอย่างอาหารทั่วไปที่มีธาตุสังกะสี (Zn) และธาตุฟอสฟอรัส (P) ปริมาณสูง (หอยนางรม ไข่แดง และ หมูปิ้ง) และตัวอย่างอาหารจากกระเพาะอาหารของศพ

โดยทำการเตรียมสารละลายมาตรฐานในน้ำกลั่น และเตรียมตัวอย่างอาหารจำลองจากกระเพาะอาหาร (Artificial Gastric Contents) ตัวอย่างอาหารทั่วไปที่มีธาตุสังกะสีและธาตุฟอสฟอรัสปริมาณสูง และตัวอย่างอาหารจากกระเพาะอาหารของศพที่เสียชีวิตโดยไม่ทราบสาเหตุ จำนวน 75 ตัวอย่าง โดยนำตัวอย่างทั้ง 3 ชนิด มาตัวอย่างละ 5 ml ใส่ใน Centrifuge Tube ขนาด 15 ml เติม 6 N HCl จำนวน 5 ml ปิดฝาให้สนิท นำไปผสมให้เข้ากัน (Vortex) เป็นเวลา 1 นาที แล้วนำไปต้มในอ่างควบคุมอุณหภูมิ (Water Bath) ที่อุณหภูมิ 95 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 2 ชั่วโมง กรองเอาส่วนใส เก็บในหลอดพลาสติก ขนาด 15 ml

3. พัฒนารูปวิธีการวิเคราะห์ (Method Development)

เพื่อหาสภาวะที่เหมาะสมในการวิเคราะห์หาปริมาณธาตุสังกะสีและธาตุฟอสฟอรัส จากสารเคมีกำจัดหนู Zinc Phosphide ในตัวอย่างอาหารจำลองจากกระเพาะอาหารด้วยเทคนิค ICP-OES โดยเตรียมสารละลายมาตรฐานธาตุสังกะสี และธาตุฟอสฟอรัส ที่ความเข้มข้น 2 $\mu\text{g/ml}$ วิเคราะห์หาปริมาณธาตุสังกะสี ที่ความยาวคลื่น 202.551 nm, 206.191 nm, 206.200 nm, 213.856 nm และ 334.502 nm และวิเคราะห์หาปริมาณธาตุฟอสฟอรัส ที่ความยาวคลื่น 177.440 nm, 178.229 nm, 213.618 nm และ 214.914 nm

4. ทดสอบความถูกต้องของวิธีวิเคราะห์ (Method Validation)

ทำการหาปริมาณธาตุสังกะสีและธาตุฟอสฟอรัสจากสารเคมีกำจัดหนู Zinc Phosphide ในตัวอย่างอาหารจำลองจากกระเพาะอาหาร ด้วยเทคนิค ICP-OES ตามแนวทางมาตรฐานสากล โดยทดสอบลักษณะต่าง ๆ ตามแนวทางของ Scientific Working Group for Forensic Toxicology (SWGTOX, 2013) ดังนี้

4.1 การวัดความจำเพาะ (Specificity)

เพื่อทดสอบความสามารถในการแยกธาตุสังกะสี และธาตุฟอสฟอรัสออกจากกัน จาก Intensity ที่ความยาวคลื่นที่ใช้ในการวัดธาตุแต่ละชนิด โดยปราศจากสิ่งรบกวน (Interference)



4.2 การทดสอบความเป็นเส้นตรงและช่วงของการวิเคราะห์ (Linearity and Range)

เพื่อดูความสัมพันธ์อย่างเป็นสัดส่วนโดยตรงระหว่างปริมาณของสารละลายมาตรฐานธาตุสังกะสีและธาตุฟอสฟอรัส ที่ต้องการตรวจวัดกับปริมาณที่วัดได้ ซึ่งมีเกณฑ์การยอมรับ R^2 มากกว่าหรือเท่ากับ 0.995 (AOAC, 2012)

4.3 การทดสอบความแม่นยำ (Accuracy)

เพื่อทดสอบว่าผลการทดสอบมีความใกล้เคียงค่าจริงของวัสดุอ้างอิง คำนวณค่าร้อยละของการคืนกลับ (% Recovery) ของแต่ละความเข้มข้น โดยค่าที่ได้ควรอยู่ในช่วง 80-110% (AOAC, 2012)

4.4 การทดสอบความเที่ยง (Precision)

เพื่อแสดงความสามารถของวิธีทดสอบตัวอย่างซ้ำหลายครั้ง แล้วให้ผลใกล้เคียงกัน คำนวณ Relative standard deviation (%RSD) โดยค่า %RSD น้อยกว่าหรือเท่ากับ 11 (AOAC, 2012)

4.5 การทดสอบหาขีดจำกัดของการตรวจวัด (Limit of Detection, LOD)

เพื่อตรวจสอบปริมาณของธาตุสังกะสีและธาตุฟอสฟอรัสต่ำสุดที่วิธีวิเคราะห์สามารถตรวจพบได้ โดยวิเคราะห์หาความเข้มข้นต่ำสุด ที่วัดค่า Signal to Noise Ratio (S/N) มากกว่าหรือเท่ากับ 3 เมื่อวัดซ้ำทั้ง 10 ครั้ง (AOAC, 2012)

4.6 การทดสอบหาขีดจำกัดของการวิเคราะห์ปริมาณ (Limit of Quantitation, LOQ)

เพื่อตรวจสอบปริมาณต่ำสุดของธาตุสังกะสี และธาตุฟอสฟอรัส ที่สามารถวิเคราะห์และรายงานเป็นปริมาณได้ โดยวิเคราะห์หาความเข้มข้นต่ำสุด ที่วัดค่า Signal to Noise Ratio (S/N) มากกว่าหรือเท่ากับ 10 เมื่อวัดซ้ำทั้ง 10 ซ้ำ (AOAC, 2012)

เมื่อทดสอบความถูกต้องของวิธีวิเคราะห์ได้แล้ว จึงทำการวิเคราะห์หาปริมาณธาตุสังกะสีและธาตุฟอสฟอรัส และหาอัตราส่วนระหว่างปริมาณธาตุสังกะสี กับธาตุฟอสฟอรัส จากสารเคมีกำจัดหนู Zinc Phosphide ในตัวอย่างอาหารต่าง ๆ ต่อไป ด้วยเทคนิค ICP-OES

5. การวิเคราะห์หาปริมาณธาตุสังกะสี (Zn) และธาตุฟอสฟอรัส (P) ในตัวอย่างอาหารจำลองจากกระเพาะอาหาร ตัวอย่างอาหารทั่วไปที่มีธาตุสังกะสี และธาตุฟอสฟอรัสปริมาณสูง และตัวอย่างอาหารจากกระเพาะอาหารของศพด้วยเทคนิค ICP-OES

ทำการหาปริมาณธาตุสังกะสี และธาตุฟอสฟอรัส และหาอัตราส่วนระหว่างปริมาณธาตุสังกะสี กับธาตุฟอสฟอรัส ในตัวอย่างต่าง ๆ โดยมีขั้นตอนของการเตรียมตัวอย่างแล้ววิเคราะห์ด้วยเทคนิค ICP-OES ดังต่อไปนี้

5.1 วิเคราะห์หาอัตราส่วนระหว่างปริมาณธาตุสังกะสี กับธาตุฟอสฟอรัส จากสารเคมีกำจัดหนู Zinc Phosphide โดยการ Spiking สารมาตรฐาน Zinc Phosphide ลงในตัวอย่างอาหารจำลองจากกระเพาะอาหาร



5.2 วิเคราะห์หาอัตราส่วนระหว่างปริมาณธาตุสังกะสีกับธาตุฟอสฟอรัส ในตัวอย่างอาหารทั่วไปที่มีธาตุสังกะสีและธาตุฟอสฟอรัสปริมาณสูง โดยการนำตัวอย่างหอยนางรมไข่แดง และหมูπίงปั้นให้ละเอียด Spike สารมาตรฐาน Zinc Phosphide ลงในแต่ละตัวอย่าง ที่ความเข้มข้น 30, 125, 500 และ 5,000 µg/ml

5.3 วิเคราะห์หาอัตราส่วนระหว่างปริมาณธาตุสังกะสี กับธาตุฟอสฟอรัส ในตัวอย่างอาหารจากกระเพาะอาหารของศพจำนวน 75 ตัวอย่าง และหาอัตราส่วนระหว่างปริมาณธาตุสังกะสีกับธาตุฟอสฟอรัส ในตัวอย่างอาหารจากกระเพาะอาหารของศพที่มีการผสมอาหารที่มีธาตุสังกะสีสูงลงไป

6. การวิเคราะห์หาอัตราส่วนระหว่างปริมาณธาตุสังกะสี (Zn) กับธาตุฟอสฟอรัส (P) จากสารเคมีกำจัดหนู Zinc Phosphide ที่ช่วงระยะเวลาที่แตกต่างกัน

เพื่อทดสอบว่าอัตราส่วนระหว่างปริมาณธาตุสังกะสี (Zn) กับธาตุฟอสฟอรัส (P) ในสารเคมีกำจัดหนู Zinc Phosphide ที่อยู่ในตัวอย่างอาหารจำลองจากกระเพาะอาหารที่ใช้วิธีการเตรียมตัวอย่าง และวิธีการวิเคราะห์ด้วยเทคนิค ICP-OES จะมีการเปลี่ยนแปลงหรือไม่ในช่วงระยะเวลาต่าง ๆ โดยใช้สารมาตรฐาน Zinc Phosphide ที่ความเข้มข้น 300 และ 1,250 µg/ml และนำตัวอย่างที่เตรียมมาทำการวิเคราะห์ที่ระยะเวลา 0, 3, 6, 9, 12, 24, 48 และ 72 ชั่วโมงตามลำดับ

ผลการวิจัย

1. ผลพัฒนาวิธีการวิเคราะห์ (Method Development)

พัฒนาวิธีการวิเคราะห์หาปริมาณธาตุสังกะสี (Zn) และธาตุฟอสฟอรัส (P) จากสารเคมีกำจัดหนู Zinc Phosphide ในตัวอย่างอาหารจำลองจากกระเพาะอาหาร ด้วยเทคนิค ICP-OES จะได้สภาวะของเครื่องมือและช่วงความยาวคลื่นที่เหมาะสมในการวิเคราะห์ แสดงดังตารางที่ 1 และตารางที่ 2

ตารางที่ 1 สภาวะของเครื่องมือที่เหมาะสมในการวิเคราะห์ด้วยเทคนิค ICP-OES

ICP-OES: Horiba Jobin Yvon JY 2000			
Operating Conditions:			
RF Generator Power	1000 W	Pump Speed	20 r/min
Argon Gas Flow	14 L/min	Torch	Quartz Tube
Auxiliary Gas Flow	0.0 L/min	Plasma Gas	PL1
Nebulizer Gas Flow	0.6 L/min	Gainage	G1
Sample Flow Rates	1.0 mL/min		
Parameters:			
Number of Replicate	3	Detector Mode	Dual



ตารางที่ 2 ชนิดของธาตุและช่วงความยาวคลื่นที่เหมาะสมในการวิเคราะห์

ชนิดของธาตุ	ความยาวคลื่น (nm)
ธาตุสังกะสี (Zn)	213.856
ธาตุฟอสฟอรัส (P)	213.618

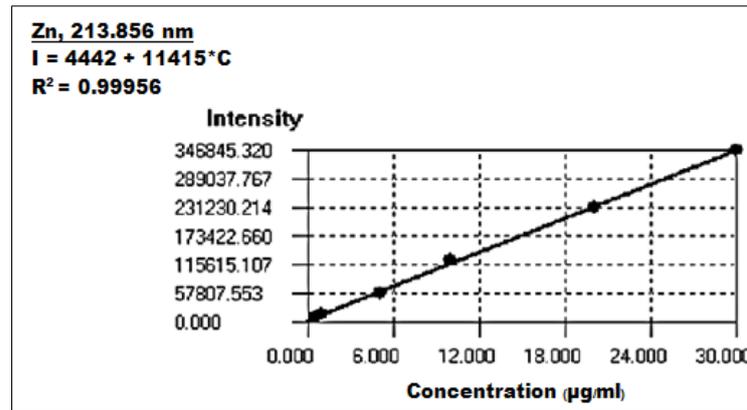
2. ผลการทดสอบความถูกต้องของวิธีวิเคราะห์ (Method Validation)

2.1 ผลการวัดความจำเพาะ (Specificity)

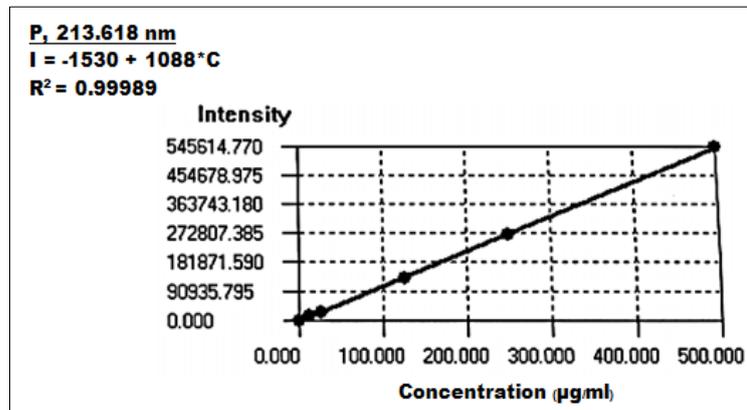
จากการทดสอบโดยเตรียมสารละลายผสมของสารละลายมาตรฐานธาตุสังกะสีและธาตุฟอสฟอรัส ที่ความเข้มข้น 5 µg/ml และที่ความเข้มข้น 10 µg/ml หลังจากนั้นนำสารละลายดังกล่าววิเคราะห์หาค่า Intensity ที่ความยาวคลื่นของธาตุสังกะสีและธาตุฟอสฟอรัส ที่ 213.856 nm และ 213.618 nm ตามลำดับ พบว่า Intensity ที่ความยาวคลื่น 213.856 nm ของธาตุสังกะสี ที่ความเข้มข้น 10 µg/ml มี Intensity สูงเป็นสองเท่าของสารละลายธาตุสังกะสี ที่ความเข้มข้น 5 µg/ml และ Intensity ที่ความยาวคลื่น 213.618 nm ของธาตุฟอสฟอรัส พบว่า สารละลายธาตุฟอสฟอรัส ที่ความเข้มข้น 10 µg/ml มี Intensity สูงเป็นสองเท่าของสารละลายธาตุฟอสฟอรัส ที่ความเข้มข้น 5 µg/ml ซึ่งไม่พบสิ่งรบกวน (Matrix) ในแต่ละความยาวคลื่นที่ใช้ในการทดสอบ

2.2 ผลการทดสอบความเป็นเส้นตรงและช่วงของการวิเคราะห์ (Linearity and Range)

จากการทดสอบการวัดช่วงความเข้มข้นของสารละลายมาตรฐานธาตุสังกะสีและธาตุฟอสฟอรัส ที่ความเข้มข้น 0, 0.5, 5, 10, 20 และ 30 µg/ml และ 0, 12.5, 25, 125, 250 และ 500 µg/ml ตามลำดับ แล้วนำมาสร้างกราฟมาตรฐาน ความสัมพันธ์ระหว่างความเข้มข้นของสารละลายมาตรฐานกับค่า Intensity พบว่าได้กราฟมาตรฐานเป็นเส้นตรง มีค่า R² ที่คำนวณจากกราฟมาตรฐานธาตุสังกะสีและธาตุฟอสฟอรัส เท่ากับ 0.9995 และ 0.9998 ตามลำดับ ซึ่งอยู่ในเกณฑ์การยอมรับ (R² มากกว่าหรือเท่ากับ 0.995) จากผลการทดสอบดังกล่าว แสดงว่าความเข้มข้นของสารละลายมาตรฐานธาตุสังกะสีและธาตุฟอสฟอรัส ที่ช่วง 0–30 µg/ml และ 0–500 µg/ml ตามลำดับ จะให้กราฟมาตรฐานเป็นเส้นตรง อยู่ในเกณฑ์การยอมรับได้ มีความเหมาะสมในการใช้เป็นกราฟมาตรฐานในการวิเคราะห์หาปริมาณธาตุสังกะสีและธาตุฟอสฟอรัส แสดงดังภาพที่ 1 และภาพที่ 2



ภาพที่ 1 กราฟมาตรฐานแสดงความสัมพันธ์ระหว่างความเข้มข้นของสารละลายมาตรฐานธาตุสังกะสี ที่ช่วงความเข้มข้น 0-30 µg/ml กับ Intensity ที่ความยาวคลื่น 213.856 nm



ภาพที่ 2 กราฟมาตรฐานแสดงความสัมพันธ์ระหว่างความเข้มข้นของสารละลายมาตรฐานธาตุฟอสฟอรัส ที่ช่วงความเข้มข้น 0-500 µg/ml กับ Intensity ที่ความยาวคลื่น 213.681 nm

2.3 ผลการทดสอบความแม่นยำ (Accuracy)

จากการทดสอบความแม่นยำ โดยวิเคราะห์ความเข้มข้นละ 10 ครั้ง จากสารละลายมาตรฐานธาตุสังกะสี ที่ความเข้มข้น 2.5, 15 และ 25 µg/ml และธาตุฟอสฟอรัส ที่ความเข้มข้น 35, 150 และ 300 µg/ml พบว่า ผลการวิเคราะห์เทียบกับค่าจริงของวัสดุอ้างอิงให้ค่า %Recovery ของค่าเฉลี่ยธาตุสังกะสี ที่ความเข้มข้น 2.5, 15 และ 25 µg/ml เท่ากับ 100.24, 96.91 และ 104.36 ตามลำดับ และธาตุฟอสฟอรัส ที่ความเข้มข้น 35, 150 และ 300 µg/ml เท่ากับ 98.21, 103.29 และ 102.40 ตามลำดับ ซึ่งผลการทดสอบธาตุสังกะสีและธาตุฟอสฟอรัส อยู่ในเกณฑ์การยอมรับ (80 - 110 %) ตามข้อกำหนด แสดงว่าวิธีวิเคราะห์มีความแม่นยำ แสดงดังตารางที่ 3

2.4 ผลการทดสอบความเที่ยง (Precision)

จากการทดสอบ Intraday Precision โดยการเตรียมสารละลายมาตรฐานธาตุสังกะสี ที่ความเข้มข้น 2.5, 15 และ 25 µg/ml และธาตุฟอสฟอรัส ที่ความเข้มข้น 35, 150 และ 300 µg/ml



ทดสอบความเข้มข้นละ 10 ครั้ง พบว่า ค่า %RSD ของค่าเฉลี่ยธาตุสังกะสี ที่ความเข้มข้น 2.5, 15 และ 25 µg/ml เท่ากับ 6.68, 8.37 และ 0.88 ตามลำดับ และธาตุฟอสฟอรัส ที่ความเข้มข้น 35, 150 และ 300 µg/ml เท่ากับ 3.27, 2.34 และ 1.96 ตามลำดับ อยู่ในเกณฑ์การยอมรับ (%RSD น้อยกว่าหรือเท่ากับ 11) แสดงว่าวิธีวิเคราะห์มีความเที่ยงเมื่อทำการทดลองในวันเดียวกัน แสดงดังตารางที่ 3

จากการทดสอบ Interday Precision โดยการเตรียมสารละลายมาตรฐานธาตุสังกะสี ที่ความเข้มข้น 2.5, 15 และ 25 µg/ml และธาตุฟอสฟอรัส ที่ความเข้มข้น 35, 150 และ 300 µg/ml ทดสอบความเข้มข้นละ 5 ครั้ง เป็นเวลา 3 วัน พบว่า ค่า %RSD ของค่าเฉลี่ยธาตุสังกะสี ที่ความเข้มข้น 2.5, 15 และ 25 µg/ml เท่ากับ 5.70, 3.06 และ 4.45 ตามลำดับ และธาตุฟอสฟอรัส ที่ความเข้มข้น 35, 150 และ 300 µg/ml เท่ากับ 5.50, 2.56 และ 2.49 ตามลำดับ อยู่ในเกณฑ์การยอมรับ (%RSD น้อยกว่าหรือเท่ากับ 11) แสดงว่าวิธีวิเคราะห์มีความเที่ยงในการวิเคราะห์ข้ามวันเช่นกัน แสดงว่าวิธีทดสอบมีความเที่ยง แสดงดังตารางที่ 3

2.5 ผลการทดสอบหาขีดจำกัดของการตรวจพบ (Limit of Detection, LOD)

จากการทดสอบหาค่า LOD ของธาตุสังกะสี และธาตุฟอสฟอรัส พบว่า มีค่า LOD เท่ากับ 0.05 µg/ml และ 2.5 µg/ml ตามลำดับ ซึ่งเมื่อนำมาวัดค่า S/N ความเข้มข้นละ 10 ครั้ง พบว่า อยู่ในเกณฑ์การยอมรับ (S/N มากกว่าหรือเท่ากับ 3) แสดงดังตารางที่ 3

2.6 ผลการทดสอบหาขีดจำกัดของการวัดปริมาณ (Limit of Quantitation, LOQ)

จากการทดสอบหาค่า LOQ ของธาตุสังกะสี และธาตุฟอสฟอรัส พบว่า มีค่า LOQ เท่ากับ 0.5 µg/ml และ 15 µg/ml ตามลำดับ ซึ่งเมื่อนำมาวัดค่า S/N ความเข้มข้นละ 10 ครั้ง พบว่า อยู่ในเกณฑ์การยอมรับ (S/N มากกว่าหรือเท่ากับ 10) แสดงดังตารางที่ 3

ตารางที่ 3 ผลการทดสอบความถูกต้องของวิธีวิเคราะห์ (Method Validation)

Characteristics	Criteria	Zinc (Zn)	Phosphorus (P)
		Value	Value
Linearity Range	$R^2 \geq 0.995$	$R^2 = 0.9995$ (0.5 - 30 µg/ml)	$R^2 = 0.9998$ (12.5 - 500 µg/ml)
Accuracy (%) (%Recovery)	80 - 110	96.91	98.21
Precision (%RSD)	≤ 11	0.88	1.96
LOD (µg/ml)	-	0.05	0.5
LOQ (µg/ml)	-	2.5	15

3. ผลการวิเคราะห์หาปริมาณธาตุสังกะสี (Zn) และธาตุฟอสฟอรัส (P) จากตัวอย่างอาหาร ด้วยเทคนิค ICP-OES

3.1 ผลการวิเคราะห์หาอัตราส่วนระหว่างปริมาณธาตุสังกะสี (Zn) กับธาตุฟอสฟอรัส (P) จากสารเคมีกำจัดหนู Zinc Phosphide ในตัวอย่างอาหารจำลองจากกระเพาะอาหาร

จากการวิเคราะห์หาอัตราส่วนระหว่างปริมาณธาตุสังกะสีกับธาตุฟอสฟอรัสจากสารเคมีกำจัดหนู Zinc Phosphide โดยการเติมสารมาตรฐาน Zinc Phosphide ในตัวอย่างอาหารจำลองจากกระเพาะอาหาร ที่ความเข้มข้น 50, 100, 150, 200, 250 และ 300 $\mu\text{g/ml}$ พบว่า อัตราส่วนระหว่างปริมาณธาตุสังกะสีกับธาตุฟอสฟอรัส เท่ากับ 3 : 1 ดังนั้น สามารถนำผลที่ได้จากการวิเคราะห์ มาเป็นข้อมูลประกอบการแปลผลเพื่อหาสาเหตุการเสียชีวิตจากการกินสารเคมีกำจัดหนู Zinc Phosphide ได้ แสดงดังตารางที่ 4

ตารางที่ 4 อัตราส่วนระหว่างปริมาณธาตุสังกะสี กับธาตุฟอสฟอรัส จากสารเคมีกำจัดหนู Zinc Phosphide ในตัวอย่างอาหารจำลองจากกระเพาะอาหาร

ความเข้มข้น Zn_3P_2 ($\mu\text{g/ml}$)	ปริมาณธาตุที่พบ ($\mu\text{g/ml}$)		อัตราส่วน Zn : P
	ธาตุสังกะสี (Zn)	ธาตุฟอสฟอรัส (P)	
50	16.94	5.03	3 : 1
100	33.83	9.74	3 : 1
150	59.13	17.62	3 : 1
200	84.08	24.14	3 : 1
250	88.68	27.31	3 : 1
300	117.56	40.91	3 : 1

3.2 ผลการวิเคราะห์หาอัตราส่วนระหว่างปริมาณธาตุสังกะสี (Zn) กับธาตุฟอสฟอรัส (P) จากตัวอย่างอาหารทั่วไปที่มีธาตุสังกะสี (Zn) และธาตุฟอสฟอรัส (P) ปริมาณสูง

จากการวิเคราะห์หาอัตราส่วนระหว่างปริมาณธาตุสังกะสีกับธาตุฟอสฟอรัส จากตัวอย่างอาหารทั่วไปที่มีธาตุสังกะสีและธาตุฟอสฟอรัสปริมาณสูง พบว่า มีอัตราส่วนปริมาณธาตุฟอสฟอรัสสูงกว่าธาตุสังกะสีหลายเท่า เนื่องจากในอาหารที่รับประทานทั่วไปมีสิ่งรบกวนการวิเคราะห์มาก อีกทั้งอาหารที่ใช้วิเคราะห์ไม่มีการควบคุมตัวอย่าง และไม่ได้ทำการสกัดเฉพาะธาตุสังกะสีและธาตุฟอสฟอรัสที่ต้องการวิเคราะห์ ดังนั้นสิ่งรบกวนเหล่านี้จึงมีผลในการวิเคราะห์ ทำให้อัตราส่วนระหว่างปริมาณธาตุสังกะสีกับธาตุฟอสฟอรัสไม่เป็น 3 : 1 แต่เมื่อทำการเติมสารมาตรฐาน Zinc Phosphide ที่ความเข้มข้น 30, 125, 500 และ 5,000 $\mu\text{g/ml}$ พบว่า อัตราส่วนระหว่างปริมาณ



ธาตุสังกะสีกับธาตุฟอสฟอรัสมีแนวโน้มใกล้เคียงกับ 3 : 1 เนื่องจากเมื่อปริมาณสารมาตรฐาน Zinc Phosphide เพิ่มขึ้น จะทำให้ผลกระทบจากสิ่งรบกวนลดลง อัตราส่วนปริมาณธาตุสังกะสีต่อธาตุฟอสฟอรัส จึงมีแนวโน้มใกล้เคียงกับค่าที่วิเคราะห์ได้ในตัวอย่างอาหารจำลอง แสดงดังตารางที่ 5

ตารางที่ 5 อัตราส่วนระหว่างปริมาณธาตุสังกะสี กับธาตุฟอสฟอรัส จากตัวอย่างอาหารทั่วไป ที่มีธาตุสังกะสี และธาตุฟอสฟอรัส ปริมาณสูง และ อัตราส่วนระหว่างปริมาณธาตุสังกะสี กับธาตุฟอสฟอรัส ที่ Spiking สารมาตรฐาน Zinc Phosphide ความเข้มข้น 30, 125, 500 และ 5,000 µg/ml ลงในตัวอย่างอาหารทั่วไปที่มีธาตุสังกะสี และธาตุฟอสฟอรัสปริมาณสูง

ความเข้มข้น Zn ₃ P ₂ (µg/ml)	ชนิดอาหาร		
	หอยนางรม Zn : P	ไข่แดง Zn : P	หมูบึ่ง Zn : P
0	1 : 18	1 : 82	1 : 101
30	1 : 12	1 : 35	1 : 9
125	1 : 3	1 : 10	1 : 3
500	1 : 1	1 : 5	1 : 2
5000	2 : 1	2 : 1	2 : 1

3.3 ผลการวิเคราะห์หาอัตราส่วนระหว่างปริมาณธาตุสังกะสี (Zn) กับธาตุฟอสฟอรัส (P) ในตัวอย่างอาหารจากกระเพาะอาหารของศพ

3.3.1 ตัวอย่างอาหารจากกระเพาะอาหารของศพ จำนวน 75 ตัวอย่าง

จากการวิเคราะห์หาอัตราส่วนระหว่างปริมาณธาตุสังกะสีกับธาตุฟอสฟอรัส ในตัวอย่างอาหารจากกระเพาะอาหารของศพ ทั้งหมด 75 ตัวอย่าง พบว่า มีปริมาณธาตุสังกะสี เฉลี่ย 1.68 µg/ml (ค่าต่ำสุด 0.527 µg/ml และ ค่าสูงสุด 5.5 µg/ml) และมีปริมาณธาตุฟอสฟอรัส เฉลี่ย 304.85 µg/ml (ค่าต่ำสุด 65.46 µg/ml และ ค่าสูงสุด 1592.78 µg/ml) จากการพิจารณา อัตราส่วนความเข้มข้นของธาตุ จะพบว่า ตัวอย่างอาหารจากกระเพาะอาหารของศพ มีอัตราส่วนระหว่าง ปริมาณธาตุสังกะสีกับธาตุฟอสฟอรัสไม่เท่ากับ 3 : 1 ซึ่งเป็นค่าที่ได้จากสิ่งรบกวน (Matrix) ที่มีอยู่เดิม ในกระเพาะอาหาร อย่างไรก็ตาม เมื่อทำการเติมสารมาตรฐาน Zinc Phosphide ที่ความเข้มข้น 500 µg/ml ลงในตัวอย่างอาหารจากกระเพาะอาหารของศพ พบว่า อัตราส่วนระหว่างปริมาณธาตุสังกะสี กับธาตุฟอสฟอรัสที่วิเคราะห์ได้จากแต่ละตัวอย่างมีแนวโน้มใกล้เคียง 3 : 1 และเป็นไปในทิศทางเดียวกัน แสดงให้เห็นว่าเทคนิคนี้สามารถใช้เป็นอีกทางเลือกหนึ่งในการวิเคราะห์หาสารเคมีกำจัดหนู Zinc Phosphide ในตัวอย่างอาหารจากกระเพาะอาหารของศพได้ แสดงดังตารางที่ 6



ตารางที่ 6 อัตราส่วนระหว่างปริมาณธาตุสังกะสี กับธาตุฟอสฟอรัส ในตัวอย่างอาหารจากกระเพาะอาหารของศพ และอัตราส่วนระหว่างปริมาณธาตุสังกะสีกับธาตุฟอสฟอรัส ที่ Spiking สารมาตรฐาน Zinc Phosphide ความเข้มข้น 500 µg/ml ลงในตัวอย่างอาหารจากกระเพาะอาหารของศพ

Zn ₃ P ₂ (µg/ml)	อาหารจากกระเพาะอาหารของศพหมายเลข (Zn : P)									
	66	67	68	69	70	71	72	73	74	75
0	1:94	1:86	1:119	1:78	1:213	1:90	1:115	1:113	1:73	1:94
500	1:2	1:1	1:1	1:1	1:2	1:1	1:1	1:2	1:1	1:2

3.3.2 ตัวอย่างอาหารจากกระเพาะอาหารของศพที่ผสมอาหารที่มีธาตุสังกะสี (Zn) สูง

จากการวิเคราะห์หาอัตราส่วนระหว่างปริมาณธาตุสังกะสีกับธาตุฟอสฟอรัสในตัวอย่างอาหารจากกระเพาะอาหารของศพที่ทำการผสมอาหารที่มีธาตุสังกะสีสูง (วิตามินผสมสังกะสีและเครื่องดื่มชูกำลัง) พบว่า อาหารที่มีธาตุสังกะสีสูงมีผลต่อการวิเคราะห์อัตราส่วนระหว่างปริมาณธาตุสังกะสีกับธาตุฟอสฟอรัสในตัวอย่างอาหารจากกระเพาะอาหารของศพ ทั้งนี้ พบว่า จากเดิมที่วิเคราะห์ได้อัตราส่วนของธาตุฟอสฟอรัสสูงกว่าธาตุสังกะสีมากนั้น หลังจากได้รับอาหารที่มีธาตุสังกะสีสูงในปริมาณมาก ส่งผลให้ปริมาณธาตุสังกะสีมีค่าสูงขึ้น ค่าของธาตุฟอสฟอรัสในอัตราส่วนความเข้มข้นระหว่างสองธาตุจึงลดลง อย่างไรก็ตาม ค่าอัตราส่วนยังมีแนวโน้มไม่เท่ากับ 3 : 1 และไม่เป็นทิศทางเดียวเมื่อพิจารณาจากการเติมวิตามินผสมสังกะสีและเครื่องดื่มชูกำลัง ดังนั้น เทคนิคนี้สามารถใช้วิเคราะห์สารเคมีกำจัดหนู Zinc Phosphide ในตัวอย่างอาหารจากกระเพาะอาหารของศพเพื่อประกอบการระบุสาเหตุการตายจากสารพิษได้ อย่างไรก็ตาม จำเป็นต้องคำนึงถึงข้อมูลอื่นประกอบด้วย เช่น ชนิดของอาหารที่เป็นส่วนประกอบในตัวอย่างอาหารที่นำมาจากกระเพาะอาหารของศพ และผลการตรวจชั้นสูตรทางร่างกายและการตรวจทางห้องปฏิบัติการด้านอื่นร่วมด้วย แสดงดังตารางที่ 7

ตารางที่ 7 อัตราส่วนระหว่างปริมาณธาตุสังกะสี (Zn) กับธาตุฟอสฟอรัส (P) ในตัวอย่างอาหารจากกระเพาะอาหารของศพ และตัวอย่างอาหารจากกระเพาะอาหารของศพที่ผสมอาหารที่มีธาตุสังกะสีสูง

ตัวอย่างอาหาร	อัตราส่วนระหว่างปริมาณธาตุ Zn กับธาตุ P
อาหารจากกระเพาะอาหารของศพหมายเลข 1	1 : 73
อาหารจากกระเพาะอาหารของศพหมายเลข 1+วิตามินผสม Zn	1 : 3
อาหารจากกระเพาะอาหารของศพหมายเลข 2	1 : 108
อาหารจากกระเพาะอาหารของศพหมายเลข 2+เครื่องดื่มชูกำลัง	1 : 8



4. ผลการวิเคราะห์หาอัตราส่วนระหว่างปริมาณธาตุสังกะสี (Zn) กับธาตุฟอสฟอรัส (P) จากสารเคมีกำจัดหนู Zinc Phosphide ที่ช่วงระยะเวลาต่าง ๆ

จากการวิเคราะห์หาอัตราส่วนระหว่างปริมาณธาตุสังกะสีกับธาตุฟอสฟอรัสจากสารเคมีกำจัดหนู Zinc Phosphide ที่ระยะเวลาที่แตกต่างกันหลังการเติมสารเคมีกำจัดหนู Zinc Phosphide พบว่าอัตราส่วนระหว่างปริมาณธาตุสังกะสีกับธาตุฟอสฟอรัส มีค่าเท่ากับ 3 : 1 ในทุกช่วงเวลาที่ทำการทดสอบ แสดงให้เห็นว่า ระยะเวลาหลังการเติมสารเคมีกำจัดหนู Zinc Phosphide ก่อนที่จะนำไปวิเคราะห์ ตัวอย่างไม่มีผลต่ออัตราส่วนระหว่างปริมาณธาตุสังกะสีกับธาตุฟอสฟอรัส ดังนั้น เทคนิคนี้สามารถนำมาใช้วิเคราะห์สารเคมีกำจัดหนู Zinc Phosphide ในตัวอย่างอาหารจากกระเพาะอาหารของศพที่เสียชีวิตในช่วงระยะเวลาแตกต่างกันได้ และพบว่าสามารถตรวจวิเคราะห์อัตราส่วนระหว่างปริมาณธาตุสังกะสีกับธาตุฟอสฟอรัสจากตัวอย่างที่เก็บไว้นานถึง 72 ชั่วโมง แสดงดังตารางที่ 8

ตารางที่ 8 อัตราส่วนระหว่างปริมาณธาตุสังกะสีกับธาตุฟอสฟอรัสจากสารเคมีกำจัดหนู Zinc Phosphide ที่ระยะเวลาต่าง ๆ หลังการเติมสารเคมีกำจัดหนู Zinc Phosphide

ความเข้มข้น Zn ₃ P ₂ (µg/ml)	อัตราส่วนระหว่างปริมาณธาตุ Zn : P ที่ระยะเวลาหลังการเติมสาร (ชั่วโมง)							
	0	3	6	9	12	24	48	72
300	3 : 1	3 : 1	3 : 1	3 : 1	3 : 1	3 : 1	3 : 1	3 : 1
1,250	3 : 1	3 : 1	3 : 1	3 : 1	3 : 1	3 : 1	3 : 1	3 : 1

สรุปและอภิปรายผล

จากการศึกษาพบว่า การพัฒนาวิธีวิเคราะห์หาปริมาณธาตุสังกะสีและธาตุฟอสฟอรัสในตัวอย่างอาหารจำลองจากกระเพาะอาหาร ด้วยเทคนิค ICP-OES สามารถนำวิธีวิเคราะห์นี้มาทำการวิเคราะห์หาอัตราส่วนระหว่างปริมาณธาตุสังกะสีกับธาตุฟอสฟอรัสจากสารเคมีกำจัดหนู Zinc Phosphide ในตัวอย่างอาหารจำลองจากกระเพาะอาหารได้ อัตราส่วนระหว่างปริมาณธาตุสังกะสีกับธาตุฟอสฟอรัสจากสารเคมีกำจัดหนู Zinc Phosphide ที่วิเคราะห์ได้เท่ากับ 3 : 1 และเมื่อวิเคราะห์ในตัวอย่างอาหารทั่วไปที่มีธาตุสังกะสีและธาตุฟอสฟอรัสสูง และวิเคราะห์ในตัวอย่างอาหารจากกระเพาะอาหารของศพพบว่า อัตราส่วนระหว่างปริมาณธาตุสังกะสีกับธาตุฟอสฟอรัสไม่เท่ากับ 3 : 1 เช่นเดียวกับในตัวอย่างอาหารจำลองจากกระเพาะอาหาร โดยพบว่าในตัวอย่างอาหารทั่วไปที่มีธาตุสังกะสีและธาตุฟอสฟอรัสปริมาณสูงและตัวอย่างอาหารจากกระเพาะอาหารของศพมีปริมาณของธาตุฟอสฟอรัสสูงกว่าธาตุสังกะสีหลายเท่า และจากการศึกษาพบผลกระทบจากสิ่งรบกวนที่อยู่ในตัวอย่างอาหารที่นำมาวิเคราะห์ แต่เมื่อมีการเติมสารเคมีกำจัดหนู Zinc Phosphide มาตรฐานที่ทราบปริมาณลงในตัวอย่างอาหารทั่วไปที่มีธาตุสังกะสีและธาตุฟอสฟอรัสปริมาณสูงและตัวอย่างอาหารจากกระเพาะอาหารของศพพบว่า อัตราส่วนระหว่างปริมาณธาตุสังกะสีกับธาตุฟอสฟอรัสมีแนวโน้มเท่ากับ 3 : 1 เนื่องจากผลกระทบ



จากสิ่งรบกวนในการวิเคราะห์ลดลง เทคนิคนี้สามารถเป็นอีกทางเลือกหนึ่งในการวิเคราะห์หาสารเคมี กำจัดหนู Zinc Phosphide ในตัวอย่างอาหารจากกระเพาะอาหารของศพ อย่างไรก็ตาม ต้องคำนึงถึง ข้อมูลและสิ่งที่มีผลในการวิเคราะห์อื่นประกอบ เช่น ชนิดของอาหารที่เป็นส่วนประกอบในตัวอย่างอาหาร ที่วิเคราะห์ ผลการตรวจชั้นสูตรทางร่างกาย และการตรวจทางห้องปฏิบัติการด้านอื่น เพื่อสามารถ เชื่อมโยงประกอบข้อสรุปของสาเหตุการตายได้อย่างถูกต้องยิ่งขึ้น

ข้อเสนอแนะ

1. ข้อเสนอแนะที่ได้จากการศึกษาวิจัย

1.1 การเตรียมตัวอย่างอาหารสำหรับวิเคราะห์หาปริมาณธาตุสังกะสีกับธาตุฟอสฟอรัส ควรมีการควบคุมตัวอย่างและใช้วิธีสกัดตัวอย่างเฉพาะธาตุที่ต้องการวิเคราะห์ เพื่อลดสิ่งรบกวน ในการวิเคราะห์

1.2 เทคนิคที่ใช้ในการวิเคราะห์สารเคมีกำจัดหนู Zinc Phosphide ต้องเป็นเทคนิค ที่มีความจำเพาะและสามารถแยกชนิดของสารประกอบ Phosphide ได้

2. ข้อเสนอแนะเพื่อการศึกษาวิจัยครั้งต่อไป

2.1 ควรทำการศึกษาจากตัวอย่างศพที่เสียชีวิตจากการได้รับสารเคมีกำจัดหนู Zinc Phosphide ตามจริง เพื่อให้ได้ข้อสรุปของสาเหตุการเสียชีวิตอย่างถูกต้องและแม่นยำยิ่งขึ้น

2.2 ควรศึกษาระยะเวลาที่วิเคราะห์หาอัตราส่วนระหว่างปริมาณธาตุสังกะสีกับธาตุฟอสฟอรัส จากสารเคมีกำจัดหนู Zinc Phosphide มากกว่า 72 ชั่วโมง เพื่อทดสอบเทคนิคการวิเคราะห์ ให้มีความถูกต้องและแม่นยำมากยิ่งขึ้น

เอกสารอ้างอิง

- Anger, F. et al. (2000). Fatal Aluminum Phosphide Poisoning, *Journal of Analytical Toxicology*, 24, 9–92.
- AOAC. (2012). **Official Methods of Analysis**. 19th Edition. Washington: Association of Official Analytical Chemists.
- Amornsit, M., and Petsom, A. (1996). **Principles and Techniques of Instrumental Analysis**. Bangkok Chuan Pim. (In Thai)
- Braithwaite R. A., (2004). **Metals and Anions. Clarke's Analysis of Drugs and Poisons**. London: Pharmaceutical Press.
- Bumrah, G. S., Krishan, K., Kanchan, T., Sharma, M., and Sodhi, G. S. (2012). Phosphide Poisoning: A Review of Literature. *Forensic Science International*, 214(1-3), 1-6.



- Chan L. T. F, Crowley R. J, Delliou D, Geyer R. (1983). Phosphine Analysis in Post Mortem Specimens Following Ingestion of Aluminium Phosphide. **Journal of Analytical Toxicology**, 7, 165–167.
- Lauterbach, M., et al. (2005). Epidemiology of Hydrogen Phosphide Exposures in Humans Reported to the Poison Center in Maintz, Germany, 1983–2003. **Clinical Toxicology**, 43(6), 575–581.
- Marashi, S. M. (2015). A Debate Against the Current Proposed Mechanism of Phosphine Liberation in Zinc Phosphide Poisoning. **Eur Rev Med Pharmacol Sci**, 19(22), 4210-4211.
- Musshoff, F., Preuss, J., Lignitz, E., and Madea, B. (2008). A Gas Chromatographic Analysis of Phosphine in Biological Material in A Case of Suicide. **Forensic Science International**, 177, e35–e37.
- Proudfoot AT. (2009). Aluminium and Zinc Phosphide Poisoning. **Journal of Clinical Toxicology**, 47(2), 89–100.
- Sadlik, J. (2011). A Case of Intoxication with Zinc Phosphide. **Problems of Forensic Sciences**, 88. 345–353.
- SWGTOX. (2013). Scientific Working Group for Forensic Toxicology (SWGTOX): Standard Practices for Method Validation in Forensic Toxicology. **Journal of Analytical Toxicology**, 37(7), 452-474.
- Trakulsrichai, S., Kosanyawat, N., Atiksawedparit, P., Sriapha, C., Tongpoo, A., Udomsubpayakul, U., Rittilert, P., and Wananukul. W., (2017). Clinical Characteristics of Zinc Phosphide Poisoning in Thailand. **Therapeutics and Clinical Risk Management**, 14(13), 335–340.
- Teeyapant, P. & Chavalittumrong, P. (2013). Guidelines Analytical Toxicology. **Department of Medical Sciences, Ministry of Public Health**, 1(1), 21-23.
- Yogendranathan, N. (2017). A Case Report of Zinc Phosphide Poisoning: Complicated by Acute Renal Failure and Tubulo Interstitial Nephritis. **BMC Pharmacology and Toxicology**, 18(37).



ผู้เขียน

คำนำหน้า ชื่อ-สกุล

หน่วยงาน/สังกัด

ที่อยู่หน่วยงาน/สังกัด

E-mail:

นางสาวลัดดาวัลย์ บันหาร

นักศึกษาหลักสูตรปริญญาวิทยาศาสตรมหาบัณฑิต

สาขานิติวิทยาศาสตร์ คณะสหเวชศาสตร์

มหาวิทยาลัยธรรมศาสตร์ ศูนย์รังสิต จังหวัดปทุมธานี

เลขที่ 99 หมู่ 18 ถนนพหลโยธิน ตำบลคลองหนึ่ง

อำเภอคลองหลวง จังหวัดปทุมธานี 12121

laddabanhan@gmail.com

คำนำหน้า ชื่อ-สกุล

หน่วยงาน/สังกัด

ที่อยู่หน่วยงาน/สังกัด

E-mail:

พันตำรวจเอกหญิง ดร.ธีรินทร์ สิ้นไชย

กลุ่มงานพิษวิทยา สถาบันนิติเวชวิทยา โรงพยาบาลตำรวจ

เลขที่ 492/1 ถนนอังรีดูนังต์ แขวงปทุมวัน เขตปทุมวัน

กรุงเทพมหานคร 10330

tsinchai@hotmail.com

คำนำหน้า ชื่อ-สกุล

หน่วยงาน/สังกัด

ที่อยู่หน่วยงาน/สังกัด

E-mail:

รองศาสตราจารย์ ดร.มาลินี พงศ์เสวี

ภาควิชาเทคนิคการแพทย์ คณะสหเวชศาสตร์

มหาวิทยาลัยธรรมศาสตร์ ศูนย์รังสิต จังหวัดปทุมธานี

เลขที่ 99 หมู่ 18 ถนนพหลโยธิน ตำบลคลองหนึ่ง

อำเภอคลองหลวง จังหวัดปทุมธานี 12121

mapongsa@gmail.com