

การวิเคราะห์ปริมาณ BTEX และ MTBE ในปัสสาวะ ด้วยเทคนิคเฮดสเปซ-โซลิดเฟสไมโครเอกซ์แทรกชัน

ธนสร ต้นศฤงคาร^{1*} ภัณทิรา เกตุแก้ว² วรรณภา คุ่มจินดา² บุญเทียม เทพพิทักษ์ศักดิ์¹

บทคัดย่อ

การพัฒนาวิธีการวิเคราะห์ปริมาณสารอินทรีย์ระเหยง่ายเบนซีน โทลูอิน เอทิลเบนซีน ไชลีน (รวมเรียกว่า BTEX) และ MTBE (Methyl Tertiary Butyl Ether) ในปัสสาวะ ด้วยเทคนิคเฮดสเปซ-โซลิดเฟสไมโครเอกซ์แทรกชัน (HS-SPME) พบว่าวิธีการมีความจำเพาะ ความไว ความถูกต้อง และ ความแม่นยำในการวัดสูง ได้กราฟมาตรฐานเป็นเส้นตรงช่วงความเข้มข้น 1-25 นาโนกรัม/ลิตร ค่าสัมประสิทธิ์ความสัมพันธ์ (r) ของเบนซีน โทลูอิน เอทิลเบนซีน เมตา-, พารา-ไชลีน ออร์โธ-ไชลีน และ MTBE เท่ากับ 0.9930, 0.9960, 0.9974, 0.9970, 0.9953 และ 0.9968 ตามลำดับ ความถูกต้องในการวิเคราะห์สำหรับ BTEX และ MTBE มีค่าอยู่ในช่วงร้อยละ 94.1-105.6 และ ร้อยละ 97.4-98.0 ตามลำดับ การทดสอบความแม่นยำของวิธีการ ค่าเบี่ยงเบนมาตรฐานสัมพัทธ์ของการวิเคราะห์ซ้ำปริมาณ BTEX และ MTBE ในตัวอย่างปัสสาวะอยู่ในช่วงร้อยละ 4.9-12.8 และ 4.6-5.1 ตามลำดับ ค่าขีดต่ำสุดในการวัด (LODs) สารเบนซีน โทลูอิน เอทิลเบนซีน เมตา-, พารา-ไชลีน ออร์โธ-ไชลีน และ MTBE มีค่า 4.3, 4.6, 2.5, 5.4, 2.2 และ 3.6 พิโคกรัม/ลิตร ตามลำดับ ผลการหาปริมาณ BTEX และ MTBE ในปัสสาวะของอาสาสมัคร 2 กลุ่ม พบว่ากลุ่มพนักงานที่ทำงานในสถานบริการน้ำมันเชื้อเพลิงมีปริมาณสาร MTBE และเบนซีน สูงกว่ากลุ่มที่ไม่ได้ทำงานสัมผัสสารอินทรีย์ระเหยง่าย (VOCs) แต่ปริมาณสาร โทลูอิน, เอทิลเบนซีน และ ไชลีน ไม่มีความแตกต่างกัน ดังนั้นวิธีการนี้เป็นวิธีที่เชื่อถือได้ ง่าย สะดวก และ ไม่บาดเจ็บ จึงน่าจะเป็นประโยชน์ในการเฝ้าคุมทางชีวภาพและประเมินความเสี่ยง การรับสัมผัสสาร BTEX และ MTBE ในระดับต่ำจากการทำงานหรือจากสิ่งแวดล้อม เพื่อศึกษาติดตามผลกระทบของสารเหล่านี้ต่อสุขภาพ

คำสำคัญ: สารอินทรีย์ระเหยง่าย, การวิเคราะห์, เฮดสเปซ-โซลิดเฟสไมโครเอกซ์แทรกชัน, ปัสสาวะ

¹สถาบันวิจัยวิทยาศาสตร์การแพทย์ จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย กรุงเทพมหานคร 10330

²คณะวิทยาศาสตร์ มหาวิทยาลัยเทคโนโลยีพระจอมเกล้าธนบุรี กรุงเทพมหานคร 10140

*ติดต่อได้ที่ kalayaneet@chula.ac.th, โทรศัพท์ 0 2218 8156 โทรสาร 0 2 253 2395

QUANTITATIVE ANALYSIS OF BTEX AND MTBE IN URINE BY HEADSPACE-SOLID PHASE MICROEXTRACTION

Tanasorn Tunsaringkarn^{1,} Panthira Ketkaew² Vannapa Khumchinda² Boontiem Theppitaksak¹*

Abstract

This research was to develop quantitative analysis of volatile organic compounds: benzene, toluene, ethylbenzene, xylene (called BTEX) and methyl tertiary butyl ether (MTBE) in urine by headspace-solid phase microextraction (HS-SPME). The method showed high specificity, sensitivity, accuracy and precision. The standard curve was straight line between concentration range 1-25 ng/L. The coefficient of correlation (r) of them were 0.9930, 0.9960, 0.9974, 0.9970, 0.9953 and 0.9968 respectively. The accuracy of BTEX and MTBE analysis were 94.1-105.6 and 97.4-98.0 percent respectively. The precision of the method showed relative standard deviation (%RSD) range of urine BTEX and MTBE 4.9-12.8 and 4.6-5.1 percent respectively. The limit of detections (LODs) of benzene, toluene, ethylbenzene, xylene and MTBE were 4.3, 4.6, 2.5, 5.4, 2.2 and 3.6 pg/L respectively. The results of BTEX and MTBE analysis of two groups found that MTBE and benzene of the gasoline station workers were higher than the control group. Therefore, this method is reliable, simple, convenience and non-invasive. It is a useful alternative method for biological monitoring and assessing human risk of BTEX and MTBE due to occupational or environmental exposures.

Key Words: volatile organic compounds, analysis, headspace-solid phase microextraction, urine

¹Institute of Health Research, Chulalongkorn University, Bangkok 10330

²Faculty of science, King Mongkut's University of Technology Thunburi, Bangkok 10140

*To whom correspondence should be addressed. kalayanee.t@chula.ac.th, Tel. 0 2218 8156, Fax. 0 2253 2395

บทนำ

มลภาวะทางอากาศหมายถึงสภาพอากาศที่มีการปนเปื้อนด้วยสารอินทรีย์หรือสารอนินทรีย์ที่ทำอันตรายต่อผู้รับสัมผัส ประเทศไทยมีปัญหาด้านมลภาวะทางอากาศมากโดยเฉพาะอย่างยิ่งเกิดจากการปล่อยสารที่เป็นมลพิษจากยานพาหนะ โรงงานอุตสาหกรรม การจราจรแออัดที่เกิดจากการเพิ่มจำนวนยานพาหนะและการขนส่งอย่างรวดเร็ว ซึ่งส่งผลต่อสุขภาพของประชาชนทั้งสิ้น¹⁻³ สารอินทรีย์ระเหยง่ายเป็นสารสำคัญใช้ในโรงงานอุตสาหกรรมต่างๆ เช่น อุตสาหกรรมพลาสติกและอุตสาหกรรมน้ำมัน ซึ่งในปัจจุบันมีการศึกษาวิจัยความเป็นพิษของสารระเหยต่างๆ เหล่านี้ เพื่อหาทางแก้ไขและลดปัญหาที่เกิดขึ้นกับสุขภาพ เช่น การเกิดมะเร็ง สารอินทรีย์ระเหยง่ายต่างๆ สามารถรับสัมผัสทั้งทางหายใจ ทางปาก และทางผิวหนัง แต่ส่วนใหญ่จะได้รับทางหายใจมากที่สุด การรับสัมผัสทางปากเกิดจากการหยิบจับอาหารโดยไม่ได้ล้างมือ สำหรับทางผิวหนังมักเกิดขึ้นในกรณีที่มีน้ำมันหกขณะปฏิบัติงาน สารเคมีเหล่านี้ซึมผ่านทางผิวหนังได้ เมื่อสารเหล่านี้เข้าสู่ร่างกาย จะกระจายเข้าสู่ระบบไหลเวียนโลหิตอย่างรวดเร็ว จากการศึกษาของ Ashley และคณะ⁴ ในปี ค.ศ. 1996 พบว่าสารอินทรีย์ระเหยง่ายมีค่าครึ่งชีวิต (half-life) ในเลือด 3 ระดับ คือ 1.6 นาที (initial half-life), 10-60 นาที (intermediate half-life) และ 2-4 ชั่วโมง (longer half-life) สำหรับ MTBE จะมีค่าครึ่งชีวิตประมาณ 1.7-3.5 ชั่วโมง หลังจากนั้นสารต่างๆ จะกระจายไปสู่อวัยวะต่างๆ ได้แก่ สมอง ตับ ไต ไชกระดูก และกล้ามเนื้อ เป็นต้น ถ้าได้รับเป็นเวลานานสารเหล่านี้จะถูกสะสมในเซลล์ไขมัน ร้อยละ 25-50 จะถูกขับออกทางลมหายใจ ที่เหลือจะถูกขับออกทางไตปนมากับปัสสาวะประมาณร้อยละ 1⁵⁻⁷ การพัฒนาวิธีการวิเคราะห์สารอินทรีย์ระเหยง่ายจากสารคัดหลั่งของร่างกาย (biological fluid) เช่น ปัสสาวะโดยใช้เทคนิคเฮดสเปซ-โซลิดเฟสไมโครเอกซ์แทรกชัน (HS-SPME)⁸⁻¹⁰ จะมีประโยชน์ในการบ่งชี้ถึงการได้รับสัมผัสสารต่างๆ ที่เข้าสู่ร่างกาย โดยเฉพาะสารอินทรีย์ระเหยง่ายและมีผลเสียต่อร่างกาย ถึงแม้ว่าจะมีปริมาณสารอยู่ในระดับต่ำ ได้แก่ เบนซีน ซึ่งเป็นสารที่จัดอยู่ในกลุ่มสารก่อมะเร็ง¹¹ ตัวชี้วัดทางชีวภาพ (biological monitor) มีความสำคัญในการเชื่อมโยงถึงปริมาณสารที่ปนเปื้อนในสิ่งแวดล้อม¹²⁻¹³ ดังนั้นการวิเคราะห์สารอินทรีย์ระเหยง่ายในปัสสาวะน่าจะเป็นวิธีที่ดีเนื่องจากง่ายและสะดวกในการเก็บตัวอย่าง นอกจากนี้ยังไม่ทำให้เกิดความกลัวหรือบาดเจ็บเหมือนการเจาะเลือด ใต้เป็นอวัยวะที่กลั่นปัสสาวะก่อนที่จะถูกขับออกจากร่างกายจะเกิดสภาวะสมดุล (gas equilibrium) ระหว่างก๊าซหรือสารระเหยที่อยู่ในเลือดกับของเหลวหรือปัสสาวะที่อยู่ในไตทำให้ปริมาณสารต่างๆ ที่ถูกขับออกมาพร้อมกับปัสสาวะมีความสัมพันธ์กับปริมาณการได้รับสัมผัสสารนั้นๆ จากสิ่งแวดล้อม¹⁴⁻¹⁵

การศึกษาวินิจฉัยนี้เป็นการพัฒนาวิธีการวิเคราะห์ปริมาณสารเบนซีน โทลูอีน เอทิลเบนซีน ไชลีน และ MTBE ในปัสสาวะโดยใช้เทคนิคเฮดสเปซ-โซลิดเฟสไมโครเอกซ์แทรกชัน (Headspace solid phase microextraction, HS-SPME) และตรวจวัดด้วยเครื่อง Gas chromatograph จะเป็นประโยชน์นำมาใช้ในการศึกษาการรับสัมผัสและผลกระทบต่อสุขภาพของประชาชนจากสารต่างๆ ในสิ่งแวดล้อมหรือจากการทำงาน

วัสดุ อุปกรณ์ และวิธีการ

สารมาตรฐานและสารเคมี

สารมาตรฐานเบนซีน (benzene) โทลูอีน (toluene) เอทิลเบนซีน (ethylbenzene) เมตา-, พารา- และ ออร์โธ-ไซลีน (m-, p-, o- xylene) รวมเรียกว่า BTEX สารมาตรฐาน methyl tertiary butyl ether (MTBE) และไตรฟลูออโรโทลูอีน (α, α, α -Trifluorotoluene) ความเข้มข้นชนิดละ 2000 ไมโครกรัม/มิลลิลิตร ในเมทานอล ผลิตภัณฑ์ของบริษัท Supelco เมทานอล (Methanol, AR grade) โซเดียมคลอไรด์ (Sodium chloride, AR grade) และ โซเดียมเอไซด์ (Sodium azide, AR grade) ผลิตภัณฑ์ของบริษัท Merck

เครื่องมือและอุปกรณ์

Solid phase microextraction (SPME) fiber holder, fiber ชนิด Polydimethylsiloxane (PDMS) ขนาด 100 ไมโครเมตร ของบริษัท Supelco เครื่อง Gas chromatograph (GC) รุ่น Varian CP 3800 เครื่องตรวจวัดชนิดเปลวไอออไนเซชัน (Flame Ionization Detector, FID) คอลัมน์ชนิด CP-SIL 5 CB ขนาด 30 เมตร x 0.25 มิลลิเมตร x 0.25 ไมโครเมตร ของบริษัท Varian

ตัวอย่างปัสสาวะที่ใช้ศึกษา

1. เพื่อทำกราฟมาตรฐาน

เก็บปัสสาวะของอาสาสมัครซึ่งเป็นผู้ที่ไม่ได้ทำงานสัมผัสสารอินทรีย์ระเหยง่ายในขวดที่ใส่โซเดียมเอไซด์ประมาณ 0.1 มิลลิกรัมเพื่อป้องกันแบคทีเรีย ปริมาตรประมาณ 20 มิลลิลิตร ผสมให้เข้ากัน แล้วเก็บที่ -40 องศาเซลเซียส ก่อนนำมาวิเคราะห์

2. เพื่อหาปริมาณสาร BTEX และ MTBE ในกลุ่มอาสาสมัคร

เก็บปัสสาวะจากอาสาสมัคร 2 กลุ่ม ได้แก่ กลุ่มที่ไม่ได้ทำงานสัมผัสสารอินทรีย์ระเหยง่ายจำนวน 32 คน (กลุ่มควบคุม) และ กลุ่มที่ทำงานสัมผัสสารอินทรีย์ระเหยง่าย คือ พนักงานที่ทำงานในสถานบริการน้ำมันเชื้อเพลิง จำนวน 43 คน ในช่วงเช้าเวลา 8.00-10.30 น. ระหว่างเดือนมกราคม ถึง กุมภาพันธ์ พ.ศ. 2547 ใส่ขวดที่เติมโซเดียมเอไซด์ประมาณ 0.1 มิลลิกรัม เพื่อป้องกันแบคทีเรีย ปริมาตรประมาณ 10 มิลลิลิตร ผสมให้เข้ากัน แล้วเก็บที่ -40 องศาเซลเซียส ก่อนนำมาวิเคราะห์

การทำกราฟมาตรฐาน

การศึกษาใช้หลักการของ Fustinoni และคณะ¹⁶ โดยนำปัสสาวะที่เก็บได้ตั้งไว้ที่อุณหภูมิห้อง ผสมให้เข้ากัน แล้วดูด 0.5 มิลลิลิตร ลงในขวดแก้ว ขนาด 2 มิลลิลิตร เติมสารมาตรฐาน BTEX และ MTBE ให้มีความเข้มข้นชนิดละ 1, 5, 10 และ 25 นาโนกรัม/ลิตร และไตรฟลูออโรโทลูอีน (internal standard) 500 นาโนกรัม/ลิตร และเติมโซเดียมคลอไรด์ 0.2 กรัม ผสมให้เข้ากันแล้ว

นำไปควบคุมอุณหภูมิที่ 40 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 30 นาที แล้วใช้ SPME ไฟเบอร์ ดูดซับไอระเหยของสารแบบอัตโนมัติ ในเวลา 5 นาที พร้อมทั้งเขย่าขวด

การวิเคราะห์สาร BTEX และ MTBE ในปัสสาวะ

นำขวดปัสสาวะที่เตรียมโดยใช้ปัสสาวะ 0.5 มิลลิลิตร เติมไตรฟลูออโรโทลูอิน 500 นาโนกรัม/ลิตร และเติมเกลือโซเดียมคลอไรด์ 0.2 กรัมผสมให้เข้ากัน นำไปควบคุมอุณหภูมิในอ่างน้ำที่อุณหภูมิ 40 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 30 นาที โดยใช้ SPME ไฟเบอร์ ดูดซับไอระเหยของสารแบบอัตโนมัติ ในเวลา 5 นาที พร้อมทั้งเขย่าขวด

สภาวะของเครื่อง GC

วิเคราะห์สาร BTEX และ MTBE จาก SPME ไฟเบอร์ โดย thermal desorption อุณหภูมิหัวฉีดสาร (injection port) 220 องศาเซลเซียส อุณหภูมิเครื่องตรวจจับชนิด FID 220 องศาเซลเซียส ใช้คอลัมน์ชนิด CP-SIL 5 CB ขนาด 30 เมตร x 0.25 มิลลิเมตร x 0.25 ไมโครเมตร อัตราการไหลของแก๊สฮีเลียม 1 มิลลิเมตรต่อนาที อุณหภูมิของคอลัมน์เริ่มที่ 50 องศาเซลเซียส นาน 10 นาทีและ เพิ่มอุณหภูมิในอัตรา 5 องศาเซลเซียส ต่อนาที จนถึง 90 องศาเซลเซียส แล้วเพิ่มอุณหภูมิต่อในอัตรา 30 องศาเซลเซียส ต่อนาที จนถึง 250 องศาเซลเซียส และคงไว้ นาน 6.67 นาที ฉีดสารแบบ splitless ใช้เวลาในการวิเคราะห์ประมาณ 30 นาที

การทดสอบความเหมาะสมของระบบโครมาโตกราฟี (Chromatographic system suitability)

ฉีดสารละลายสำหรับกราฟมาตรฐานความเข้มข้น 10 นาโนกรัม/ลิตร ด้วยเครื่องแกสโครมาโตกราฟี โดยฉีดสารละลายซ้ำ 6 ครั้ง คำนวณร้อยละค่าเบี่ยงเบนมาตรฐานสัมพัทธ์ (% RSD)

การทดสอบความจำเพาะของวิธี (Specificity)

ฉีดสารละลายสำหรับกราฟมาตรฐานเพื่อดูการรบกวนของสารอื่น ๆ ในตัวอย่างปัสสาวะเพื่อ ดูว่าสารอื่น ๆ แยกออกจากพีคของ BTEX และ MTBE

การทดสอบความตรงและช่วงของการวิเคราะห์ (Linearity and Range)

ฉีดสารละลายสำหรับกราฟมาตรฐานความเข้มข้น 1, 5, 10 และ 25 นาโนกรัม/ลิตร วิเคราะห์ซ้ำความเข้มข้นละ 6 ครั้ง และหาความสัมพันธ์ คำนวณค่าสัมประสิทธิ์ความสัมพันธ์ (coefficient of correlation, r) ระหว่างอัตราส่วนพื้นที่ใต้พีคของสารมาตรฐานแต่ละชนิดต่อไตรฟลูออโรโทลูอินกับความเข้มข้นของสารมาตรฐาน

การหาค่าขีดต่ำสุดของการวัด (*Limit of Detection, LOD_s*)

ใช้หลักการของ Miller และ Miller¹⁷ จากกราฟมาตรฐานที่ทำการวิเคราะห์ซ้ำ 6 ครั้ง (inter-assay) นำมาหาค่า slope (m) และ intercept (b) จากสมการ

$$y = mx + b$$

เมื่อ y = relative intensity และ x = ความเข้มข้นของสารแต่ละชนิดในปัสสาวะ

หาค่า LOD_s จากสูตร

$$LOD_s = (3 SE_b + b)/m$$

เมื่อ SE_b = standard error of the intercept

การทดสอบความถูกต้อง (*Accuracy*) และ ความแม่นยำ (*Precision*)

การประเมินค่าความถูกต้องและแม่นยำในการวิเคราะห์สาร BTEX และ MTBE ในปัสสาวะ โดยการเติมสาร BTEX และ MTBE ลงในปัสสาวะควบคุม ที่ความเข้มข้น 5 และ 10 นาโนกรัม/ลิตร วิเคราะห์ซ้ำความเข้มข้นละ 6 ครั้ง หาค่าความถูกต้อง (accuracy) โดยคำนวณค่าร้อยละการคืนกลับ (% recovery) ซึ่งเท่ากับร้อยละของปริมาณสารที่วัดได้ต่อปริมาณสารที่เติมลงไป และหาค่าความแม่นยำ (precision) ในการวิเคราะห์ โดยคำนวณร้อยละค่าเบี่ยงเบนมาตรฐานสัมพัทธ์ (%RSD)

$$\text{ร้อยละการคืนกลับ (\% recovery)} = (\text{ปริมาณสารที่วัดได้} / \text{ปริมาณสารที่เติมลงไป}) \times 100$$

$$\text{ความแม่นยำ (\%RSD)} = (\text{ค่าเบี่ยงเบนมาตรฐาน} / \text{ค่าเฉลี่ย}) \times 100$$

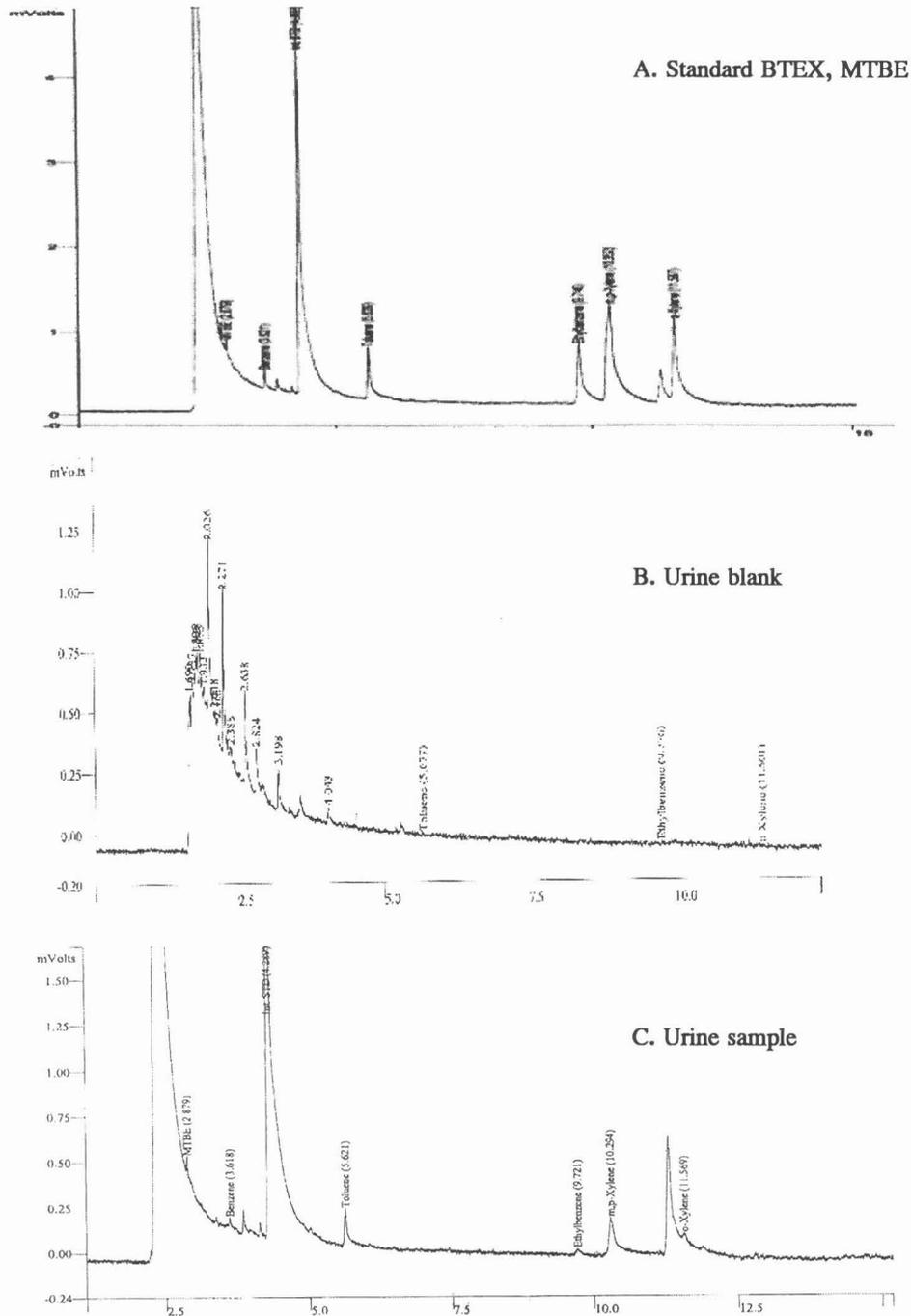
การวิเคราะห์สาร BTEX และ MTBE

นำขวดปัสสาวะที่เตรียมโดยใช้ปัสสาวะ 0.5 มิลลิลิตร เติมไตรฟลูออโรโทลูอิน 500 นาโนกรัม/ลิตร และเติมเกลือโซเดียมคลอไรด์ 0.2 กรัมผสมให้เข้ากัน นำไปควบคุมอุณหภูมิในอ่างน้ำที่อุณหภูมิ 40 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 30 นาที โดยใช้ SPME fiber ดูดซับไอระเหยของสาร (gas phase) และฉีดเข้าเครื่องแก๊สโครมาโตกราฟ

ผล

ความเหมาะสมของระบบโครมาโตกราฟีและความเฉพาะเจาะจงของวิธี

การแยกสาร BTEX และ MTBE ด้วยเครื่อง GC-FID โดยเทคนิค HS-SPME นี้ สามารถแยกสารดังกล่าวออกจากกันได้อย่างชัดเจน (รูปที่ 1) โดยมีค่า retention time (RT) และ % RSD ของสารมาตรฐาน BTEX และ MTBE ดังตารางที่ 1



รูปที่ 1 Chromatogram ของสารมาตรฐาน BTEX และ MTBE ในปัสสาวะ

ตารางที่ 1 ค่า Retention Time (RT) และ ค่าเบี่ยงเบนมาตรฐานสัมพัทธ์ (% RSD) ในการวิเคราะห์สาร BTEX และ MTBE

สารมาตรฐาน	Retention Time (นาที)	% RSD
MTBE	2.88	4.6
Benzene	3.62	6.5
α, α, α -Trifluorotoluene	4.30	-
Toluene	5.64	5.2
Ethylbenzene	9.73	5.0
m-, p-Xylene	10.35	8.5
o-Xylene	11.60	7.2

ความตรงและช่วงของการวิเคราะห์

จากการฉีดสารมาตรฐาน BTEX และ MTBE เพื่อทำกราฟมาตรฐานพบว่าความสัมพันธ์ระหว่างอัตราส่วนพื้นที่ใต้พีคของเบนซีน, โทลูอิน, เอทิลเบนซีน, เมตา-, พารา-ไซลีน, ออร์โธ-ไซลีน และ MTBE ต่อไตรฟลูออโรโทลูอิน กับ ความเข้มข้นของเบนซีน, โทลูอิน, เอทิลเบนซีน, เมตา-, พารา-ไซลีน, ออร์โธ-ไซลีน และ MTBE มีค่าสัมประสิทธิ์ความสัมพันธ์ (r) เท่ากับ 0.9930, 0.9960, 0.9974, 0.9970, 0.9953 และ 0.9968 ตามลำดับ (ตารางที่ 2)

ค่าขีดต่ำสุดของการวิเคราะห์

ผลการทำกราฟมาตรฐานที่ความเข้มข้น 1, 5, 10 และ 25 นาโนกรัม/ลิตร และนำมาคำนวณหาค่าขีดจำกัดต่ำสุดในการวัด (LOD_5) และ พบว่าค่าขีดจำกัดต่ำสุดในการวัดของเบนซีน, โทลูอิน, เอทิลเบนซีน, เอ็ม-, พี-ไซลีน, โอ-ไซลีน และ เอ็มทีบีอี มีค่า 4.3, 4.6, 2.5, 5.4 และ 3.6 พิโคกรัม/ลิตร ตามลำดับ (ตารางที่ 2)

ตารางที่ 2 ค่าขีดต่ำสุดในการตรวจวัดสัมประสิทธิ์ความสัมพันธ์ในการวัด BTEX และ MTBE

สารมาตรฐาน	Limit of Detection, LODs (pg/L)	Coefficient of correlation (r)
MTBE	3.6	0.9930
Benzene	4.3	0.9960
Toluene	4.6	0.9974
Ethylbenzene	2.5	0.9970
m-, p-Xylene	5.4	0.9953
o-Xylene	2.2	0.9968

ความถูกต้องและแม่นยำ

ผลการประเมินความถูกต้อง (accuracy) พบว่า ที่ระดับความเข้มข้นที่ 5 และ 10 นาโนกรัม/ลิตร ร้อยละการคืนกลับ (% recovery) สำหรับ BTEX และ MTBE อยู่ระหว่าง 94.1 ถึง 105.6 และร้อยละ 97.4 ถึง 98.0 ตามลำดับ (ตารางที่ 3)

ตารางที่ 3 ค่าความถูกต้องในการวิเคราะห์สาร BTEX และ MTBE ในปัสสาวะ

สารมาตรฐาน	% Recovery (ค่าเฉลี่ย \pm SD)	
	ความเข้มข้น 5 ng/L	ความเข้มข้น 10 ng/L
MTBE	98.0 \pm 5.0	97.4 \pm 4.5
Benzene	95.3 \pm 10.9	102.8 \pm 6.7
Toluene	99.6 \pm 8.3	104.9 \pm 5.5
Ethylbenzene	95.5 \pm 8.9	98.7 \pm 4.9
m-, p-Xylene	103.4 \pm 13.2	105.6 \pm 9.0
o-Xylene	96.4 \pm 4.7	94.1 \pm 6.8

ความแม่นยำในการวิเคราะห์ พบว่า ที่ความเข้มข้น 5 และ 10 นาโนกรัม/ลิตร มีค่าร้อยละค่าเบี่ยงเบนมาตรฐานสัมพัทธ์ (%RSD) สำหรับ BTEX และ MTBE อยู่ระหว่างร้อยละ 4.9 ถึง 12.8 และ 4.6 ถึง 5.1 ตามลำดับ (ตารางที่ 4)

ตารางที่ 4 ค่าความแม่นยำในการวิเคราะห์สาร BTEX และ MTBE ในปัสสาวะ

สารมาตรฐาน	% Relative Standard Deviation	
	ความเข้มข้น 5 ng/L	ความเข้มข้น 10 ng/L
MTBE	5.1	4.6
Benzene	11.4	6.5
Toluene	8.3	5.2
Ethylbenzene	9.3	5.0
m-, p-Xylene	12.8	8.5
o-Xylene	4.9	7.2

การหาปริมาณสาร BTEX และ MTBE ในปัสสาวะของอาสาสมัคร 2 กลุ่ม พบว่าปริมาณสาร MTBE ในกลุ่มพนักงานที่ทำงานในสถานบริการน้ำมันเชื้อเพลิงมีระดับสูงกว่าพนักงานที่ไม่ได้ทำงานสัมผัสกับสารอินทรีย์ระเหยง่าย (กลุ่มควบคุม) อย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p < 0.05$) และปริมาณสารเบนซีนในกลุ่มพนักงานที่ทำงานในสถานบริการน้ำมันเชื้อเพลิงมีแนวโน้มสูงกว่าพนักงานที่ไม่ได้ทำงานสัมผัสกับสารอินทรีย์ระเหยง่ายแต่ไม่มีนัยสำคัญทางสถิติ สำหรับสารโทลูอีน เอทิลเบนซีน และไซลีน ในอาสาสมัครทั้งสองกลุ่มไม่มีความแตกต่างกัน (ตารางที่ 5)

ตารางที่ 5 ระดับสาร BTEX และ MTBE ในอาสาสมัครกลุ่มควบคุมและกลุ่มพนักงานในสถานบริการน้ำมันเชื้อเพลิง

สารมาตรฐาน	ความเข้มข้น (ค่าเฉลี่ย \pm SD), ng/L	
	กลุ่มควบคุม	กลุ่มพนักงานสถานบริการ
MTBE	1.2 \pm 2.4 *	9.9 \pm 9.9 *
Benzene	0.5 \pm 0.6	1.9 \pm 5.5
Toluene	2.4 \pm 1.6	2.4 \pm 3.8
Ethylbenzene	1.0 \pm 0.5	1.0 \pm 1.0
m-, p-Xylene	5.6 \pm 9.8	4.3 \pm 8.1
o-Xylene	0.7 \pm 0.5	0.7 \pm 0.7

* มีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p < 0.05$)

วิจารณ์

การวิจัยนี้เป็นการพัฒนาการหาปริมาณเบนซีน โทลูอีน เอทิลเบนซีน ไซลีน (BTEX) และ MTBE ในปัสสาวะ ในระดับความเข้มข้นเป็นพิโคกรัมต่อมิลลิลิตร พบว่า การใช้ความร้อนที่อุณหภูมิ 40 องศาเซลเซียส ในเวลาที่เหมาะสม 30 นาที จะทำให้สาร BTEX และ MTBE ระเหยมาอยู่ในรูปของไอ และเกิดสภาวะสมดุลทางจลนศาสตร์ (kinetic equilibration) ระหว่าง gas phase SPME ไฟเบอร์ และแก๊สโครมาโตกราฟ โดยสารถูกดูดซับ (adsorbed) ด้วย SPME ไฟเบอร์จนถึงจุดสมดุลทางจลนศาสตร์ หลังจากนั้นเมื่อฉีด SPME ไฟเบอร์ เข้า GC injection port จะเกิดการคายสาร (desorbed) จากไฟเบอร์เมื่อได้รับความร้อนสูงขึ้น เข้าสู่คอลัมน์ของ GC¹⁸ (three phase system) นอกจากนี้การเติมเกลือโซเดียมคลอไรด์ ลงไปจะทำให้เกิดการเปลี่ยนแปลง pH และ เป็นการเพิ่ม ionic strength ของสารละลาย ทำให้ลดการละลายของสารที่ต้องการวิเคราะห์ในปัสสาวะ ให้กลับไปอยู่ในรูปของไอทำให้สามารถสกัดสารที่ต้องการวิเคราะห์ในปัสสาวะได้ดีขึ้น และทำให้อัตราส่วนของพื้นที่ใต้พีคของสารที่ต้องการวิเคราะห์และ internal standard สูงขึ้น และจากการศึกษาใช้โซเดียมคลอไรด์ 0.2 กรัม^{13,16} เติมลงในปัสสาวะที่เตรียมไว้ นอกจากนี้การเขย่าขวดสารตัวอย่างระหว่างควบคุมอุณหภูมิทำให้สารที่ต้องการวิเคราะห์อยู่ในรูปของไอมากขึ้นและถึงจุด

สมดุลทางจลนศาสตร์เร็วขึ้น ดังนั้นเมื่อเกิดสภาวะสมดุลทางจลนศาสตร์ของไอสารกับ SPME ไฟเบอร์ จะทำให้เพิ่มความเข้มข้นของสารในการดูดซับด้วย SPME ไฟเบอร์ มีผลทำให้เพิ่ม chromatographic signal ด้วย

การวิเคราะห์สาร BTEX และ MTBE ด้วยการสกัดแบบ SPME แล้ววิเคราะห์ด้วยเครื่องแก๊สโครมาโตกราฟ โดยไม่ต้องใช้ตัวทำละลายอินทรีย์สกัด (solvent extraction) นั้น ลดขั้นตอนในการวิเคราะห์ และทำให้สารที่ต้องการวิเคราะห์มีความเข้มข้นขึ้นภายในเวลารวดเร็ว¹⁶ และสามารถพัฒนาให้วิเคราะห์ได้ในช่วงความเข้มข้นต่ำ ขีดจำกัดต่ำสุดของการตรวจวัด (Limit of detection) ของสาร BTEX และ MTBE อยู่ในช่วง 5.0 ถึง 71.2 พิโคกรัม/ลิตร ความถูกต้องในการวิเคราะห์ มีค่าร้อยละของการคืนกลับ (% recovery) อยู่ในช่วงร้อยละ 94.1 ถึง 105.6 ซึ่งอยู่ในเกณฑ์เป็นที่ยอมรับได้ (ร้อยละ 90 ถึง 110) สำหรับค่าความแม่นยำ (% RSD) อยู่ในเกณฑ์ไม่เกินร้อยละ 10 ยกเว้นเบนซีนและเมตา-, พารา-ไซลีนที่ระดับ 5 นาโนกรัมต่อลิตร ซึ่งมีค่าเบี่ยงเบนมาตรฐานร้อยละ 11.4 และ 12.8 ตามลำดับ เมตา-, พารา-ไซลีนเป็นสารที่มีค่าขีดจำกัดในการวัดสูงกว่าสารตัวอื่นๆ เช่นเดียวกับผลการศึกษาในเลือดและการศึกษาในต่างประเทศ^{12,13} ซึ่งอาจเป็นไปได้ว่าไม่สามารถแยกไอโซเมอร์ ของ เมตา-และ พารา -ไซลีนออกจากกัน

ผลการวิเคราะห์สาร BTEX และ MTBE ในปัสสาวะของอาสาสมัคร 2 กลุ่มจะเห็นว่ากลุ่มที่เป็นพนักงานในสถานบริการน้ำมันเชื้อเพลิงจะมีปริมาณสารเบนซีน และ MTBE สูงกว่ากลุ่มควบคุม โดยระดับ MTBE ของกลุ่มพนักงานสูงกว่ากลุ่มควบคุมอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p < 0.05$) และมีค่าสูงกว่าค่าขีดจำกัดต่ำสุดของการตรวจวัด (LODs) นอกจากนี้ปริมาณสารต่างๆ ที่วิเคราะห์ได้มีระดับสูงกว่าค่าขีดจำกัดต่ำสุดของการตรวจวัดและขีดต่ำสุดวัดปริมาณสารนั้นๆ ดังนั้นผลการศึกษาแสดงให้เห็นว่าตัวชี้วัดทางชีวภาพมีแนวโน้มที่แสดงให้เห็นถึงการรับสัมผัสสารอินทรีย์ระเหยง่าย BTEX และ MTBE ซึ่งเบนซีนและ MTBE น่าจะเป็นตัวบ่งชี้การรับสัมผัสสารต่างๆ จากสิ่งแวดล้อมหรือการทำงานแต่ควรมีการศึกษาวิจัยในกลุ่มพนักงานและกลุ่มควบคุมที่มีจำนวนมากขึ้นเพื่อจะสามารถสรุปได้อย่างชัดเจนทางสถิติ

ดังนั้นสรุปการหาปริมาณเบนซีน โทลูอีน เอทิลเบนซีน ไซลีน และ MTBE ในปัสสาวะโดยใช้เทคนิคเฮดสเปซ-โซลิดเฟสไมโครเอกซ์แทรกชัน (HS-SPME) สามารถทำได้ในระดับต่ำถึงระดับนาโนกรัมต่อลิตร โดยวิธีการวิเคราะห์ที่เชื่อถือได้ มีความจำเพาะ ความถูกต้อง และแม่นยำ ซึ่งจักเป็นประโยชน์สำหรับนำมาใช้ในการศึกษาการรับสัมผัสสารของกลุ่มคนซึ่งเสี่ยงต่อการรับสัมผัสสารเหล่านี้จากสิ่งแวดล้อม^{4,19} ในระดับที่สูงกว่าค่าขีดจำกัดต่ำสุดของการวัด และสามารถนำไปใช้ในการศึกษาเชื่อมโยงถึงผลกระทบต่อสุขภาพได้¹⁹ นอกจากนี้อาจนำไปประยุกต์ใช้ในการตรวจวิเคราะห์สารอื่นๆ ในสารตัวอย่าง หรือใน matrix ต่างๆ เช่น อาหาร ยา หรือน้ำ โดยเป็นวิธีการที่ง่าย สะดวก ไม่ต้องใช้ตัวทำละลายอินทรีย์และลดขั้นตอนการสกัดสารด้วย

กิตติกรรมประกาศ

ผู้วิจัยขอขอบคุณ ส่วนส่งเสริมและพัฒนาวิจัย สำนักบริหารวิชาการ กองทุนรัชดาภิเษก สมโภช จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย ที่ให้ทุนสนับสนุนการวิจัยส่วนหนึ่ง ผู้บริหารสถานบริการน้ำมัน เชื้อเพลิงและอาสาสมัครทุกท่าน ตลอดจนเจ้าหน้าที่ทุกท่านที่ให้ความช่วยเหลือในการวิจัยให้สำเร็จ ลุล่วงเป็นอย่างดี

เอกสารอ้างอิง

1. กองควบคุมและจัดการคุณภาพสิ่งแวดล้อม สำนักปลัดกรุงเทพมหานคร. 2544. รายงานสถานการณ์คุณภาพสิ่งแวดล้อมของกรุงเทพมหานคร 2544. กรุงเทพฯ ฯ; หน้า 21-27.
2. กาญจนศักดิ์ ผลบูรณ์. 2543. การจัดการสิ่งแวดล้อมในระบบสุขภาพ ชุดสุขภาพคนไทย ปี พ.ศ.2543. สถาบันวิจัยระบบสาธารณสุข; 78 หน้า.
3. สมเกียรติ ศิริรัตนพฤษ. 2544. เอกสารประกอบการอบรมเทคโนโลยีควบคุมและป้องกันมลพิษจากสถานีบริการน้ำมันเชื้อเพลิง. 16-18 กรกฎาคม 2544; ณ โรงแรมจอมเทียน ปาล์มบีช พทยา.สำนักอนามัยสิ่งแวดล้อม กรมอนามัย กระทรวงสาธารณสุข หน้า 1-9.
4. Ashley DL., Bonin MA., Cardinali FL., McCraw JM. and Wooten JV. 1996 Measurement of volatile organic compounds in human blood. Environ Health Perspect 104 (suppl) : 871-77.
5. Ghittori S., Maestri L., Fiorentino ML. and Imbriani M. 1995. Evaluation of occupational exposure to benzene by urinalysis. Int Arch Occupat and Environ Health 67 (3): 195-200.
6. Amberg A., Rosner E. and Dekant W. 1999. Biotransformation and kinetics of excretion of methyl-tertiary-butyl ether in rats and humans. Toxicol Sci 51 (1): 1-8.
7. Minoia C., Mironi G., Aprea C., Oppezzo M., Managi S. , Sciarra G., *et al.* 1996. Environmental and urinary reference value as markers of exposure to hydrocarbon in urban areas. The Science of the Total Environ 192 (2): 163-82.
8. ศศิธร แทนทอง, สุรพล นวการกิจกุล, นุชนารถ จงเลขา และ ปรัชญา คงทวีเลิศ. 2545. เทคนิคการสกัดแบบโซลิดเฟสไมโครเอกซ์แทรกชัน. ว กรรมวิทย์ พ. 44 (4): 279-88.
9. ธนสร ต้นศฤงฆาร, นันทนา ชูฉัตร และ บุญเทียม เทพพิทักษ์ศักดิ์. 2547. การหาปริมาณเบนซีน โทลูอิน เอทิลเบนซีน ไซลีน และเอ็มทีบีอี ในเลือดโดยเทคนิคเฮดสเปซ-โซลิดเฟสไมโครเอกซ์แทรกชัน .วารสารวิจัยวิทยาศาสตร์การแพทย์ 18 (1): 49-59.

10. Supelco. 2003. A practical guide to quantitation with solid phase microextraction Bellefonte, PA: Sigma Aldrich Co. Available from: [http:// www. Supelco-reporter eu.com](http://www.Supelco-reporter.eu.com).
11. Yoon BI., Li AX., Kitada K., Kawasaki Y., Igarashi K., Kodama Y., *et al.* 2003. Mechanism of benzene induced hematotoxicity and leukomogenicity: DNA microarray analysis using mouse bone marrow tissue. *Environ Health Perspect* 111(11): 1411-20.
12. Perbellini L., Pasini F., Romani S., Princivalle A. And Brugnone F. 2002. Analysis of benzene, toluene, ethylbenzene and m-xylene in biological samples from the general population. *J Chromatogr B* 778: 199-210.
13. Ashley DL., Bonin MA., Cardinali FL., McCraw JM., Holler JS., Needham LL., *et al.* 1992. Determining volatile organic compounds in human blood from large sample population by us purge and trap gas chromatography-massspectrometry. *Anal Chem* 64 : 1021-29.
14. Ong CN., Kok PW., Ong HY., Shi EY., Lee BL., Phoon WH., *et al.* 1996 . Biomarkers of exposure to low concentrations of benzene: a field assessment. *Occup Environ Med* 53 (5): 328-33.
15. Ghittori S., Fiorentino L. and Maestri L. 1993. Urinary excetion of unmetabolized benzene as an indicator of benzene exposure. *J Toxicol Env Health* 38: 233-43.
16. Fustinoni S., Giampiccolo R., Pulvirenti S., Buratti M. and Colombi A. 1992. Headspace solid phase microextraction for the determination of benzene, toluene, ethylbenzene and xylene in urine. *J Chromatogr B* 723: 105-15.
17. Miller JC. and Miller JN. 1984. *Statistics for analytical chemistry*. Ellis Horwood, Chichester; Ch. 4 ; 496.
18. Zhang Z. and Pawliszyn J. 1996. Sampling volatile organic compounds using a modified solid phase microextraction device. *J High Anal Chem* 65: 1843.
19. Romieu I, Ramirec M. and Meneses F. 1999. Environmental exposure to volatile organic compounds among workers in Mexico City as assessed by personal monitors and blood concentrations. *Environ Health Perspect* 107 (7): 511-15.