

การตรวจวัดการปนเปื้อนของสารประกอบบิวทิลทิน (BTs) ในหอยแมลงภู่นิวตริค *Perna viridis*
บริเวณชายฝั่งทะเลของประเทศไทย

ชนพพล กลิ่นกลบ

วิทยานิพนธ์นี้เป็นส่วนหนึ่งของการศึกษาตามหลักสูตรวิทยาศาสตรมหาบัณฑิต
สาขาวิชาวิทยาศาสตร์สิ่งแวดล้อม
คณะวิทยาศาสตร์ มหาวิทยาลัยบูรพา
มกราคม 2562
ลิขสิทธิ์เป็นของมหาวิทยาลัยบูรพา

คณะกรรมการควบคุมวิทยานิพนธ์และคณะกรรมการสอบวิทยานิพนธ์ได้พิจารณา
วิทยานิพนธ์ของ ชนพพล กลิ่นกลบ ฉบับนี้แล้ว เห็นสมควรรับเป็นส่วนหนึ่งของการศึกษาตาม
หลักสูตรวิทยาศาสตรมหาบัณฑิต สาขาวิชาวิทยาศาสตร์สิ่งแวดล้อม ของมหาวิทยาลัยบูรพา

คณะกรรมการควบคุมวิทยานิพนธ์

.....อาจารย์ที่ปรึกษาหลัก

(ผู้ช่วยศาสตราจารย์ ดร.สุทิน กิ่งทอง)

.....อาจารย์ที่ปรึกษาร่วม

(ดร.กิตติยา เชียร์แมน)

.....อาจารย์ที่ปรึกษาร่วม

(ผู้ช่วยศาสตราจารย์ ดร.อาภาพร บุญมี)

คณะกรรมการสอบวิทยานิพนธ์

.....ประธาน

(ดร.ชุติมา ฉนวนสมสิทธิ์)

.....กรรมการ

(ผู้ช่วยศาสตราจารย์ ดร.สุทิน กิ่งทอง)

.....กรรมการ

(ดร.กิตติยา เชียร์แมน)

.....กรรมการ

(ผู้ช่วยศาสตราจารย์ ดร.อาภาพร บุญมี)

.....กรรมการ

(ดร.สาลิณี ขจรพิสิฐศักดิ์)

คณะวิทยาศาสตร์อนุมัติให้รับวิทยานิพนธ์ฉบับนี้เป็นส่วนหนึ่งของการศึกษาตาม
หลักสูตรวิทยาศาสตรมหาบัณฑิต สาขาวิชาวิทยาศาสตร์สิ่งแวดล้อมของมหาวิทยาลัยบูรพา

.....คณบดีคณะวิทยาศาสตร์

(ผู้ช่วยศาสตราจารย์ ดร.เอกรัฐ ศรีสุข)

วันที่ 8 เดือน มกราคม พ.ศ. 2562

กิตติกรรมประกาศ

วิทยานิพนธ์ฉบับนี้สำเร็จลุล่วงได้ด้วยดีด้วยคำแนะนำและความอนุเคราะห์อย่างดียิ่งจาก ผู้ช่วยศาสตราจารย์ ดร.สุทิน กิ่งทอง อาจารย์ที่ปรึกษาหลัก ดร.กิตติยา เชียร์แมน อาจารย์ที่ปรึกษา ร่วม ที่กรุณาให้คำปรึกษา ความรู้ ให้กำลังใจ และแนะนำวิธีการทดลองให้ถูกต้อง ตลอดจนแก้ไข ข้อบกพร่องต่าง ๆ และ ผู้ช่วยศาสตราจารย์ ดร.อาภาพร บุญมี อาจารย์ที่ปรึกษาร่วม ที่ช่วยปรับปรุง และตรวจสอบวิธีวิทยานิพนธ์ให้สมบูรณ์

ขอขอบพระคุณ ดร.ชุตินา ถนอมสิทธิ์ อาจารย์สาขาวิชาประมง คณะเกษตรศาสตร์และเทคโนโลยี มหาวิทยาลัยเทคโนโลยีราชมงคลธัญบุรี และ ดร.สาธิตา ขจรพิสิฐศักดิ์ ที่ให้ความกรุณา และความรู้ตรวจสอบแก้ไขตลอดจนงานวิจัยที่มีความสมบูรณ์มากขึ้น

ขอขอบคุณ คุณนิตยา สุกศิริ นักมาตรวิทยาชำนาญการ ห้องปฏิบัติการวิเคราะห์อินทรีย์ เคมี ฝ่ายมาตรวิทยาเคมีและชีวภาพ ที่ช่วยให้อุณหภูมิวิเคราะห์ผลสมบูรณ์และถูกต้อง

ขอขอบคุณ ฝ่ายมาตรวิทยาเคมีและชีวภาพ สถาบันมาตรวิทยาแห่งชาติ กระทรวงวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยี ต.คลองห้า อ.คลองหลวง จ.ปทุมธานี ที่ให้ความอนุเคราะห์ สถานที่ในการทำการทดลองและเครื่องมือวิเคราะห์ผลในงานวิจัยครั้งนี้

ขอขอบคุณ คุณภูมิภัทร ภัคดี ที่ให้กำลังใจและสนับสนุนการวิจัยครั้งนี้ให้สำเร็จลุล่วงลง ได้ คุณสุภัททา เฉื่อยฉ่ำ และคุณรัตนชาติ กวีสกุลกาญจน์ ที่ให้คำปรึกษาและสนับสนุนงานวิจัย

ขอขอบพระคุณ คุณพ่อพรนภ กลิ่นกลบ และคุณแม่รัชฎาภรณ์ กลิ่นกลบ ที่ให้กำลังใจ และให้การสนับสนุนทุนทรัพย์ในด้านการศึกษา ตลอดจนคุณยายเอ๊ย พรพมา ที่เป็นแรงผลักดันในการศึกษาครั้งนี้

คุณค่าและประโยชน์ของวิทยานิพนธ์ฉบับนี้ ผู้วิจัยขอมอบเป็นกตัญญูกตเวทิตาแด่ บพภริ บุรพจารย์ และผู้มีพระคุณทุกท่านทั้งในอดีตและปัจจุบัน ที่ทำให้ข้าพเจ้าเป็นผู้สำเร็จ การศึกษาและประสบความสำเร็จมาจนตราบเท่าทุกวันนี้

ชนพพล กลิ่นกลบ

57910013: สาขาวิชา: วิทยาศาสตร์สิ่งแวดล้อม; วท.ม. (วิทยาศาสตร์สิ่งแวดล้อม)

คำสำคัญ: สารประกอบบิวทิลทิน/ ไตรบิวทิลทิน/ ไดบิวทิลทิน/ โมโนบิวทิลทิน

ชนพพล กลิ่นกลบ: การตรวจวัดการปนเปื้อนของสารประกอบบิวทิลทิน (BTs) ในหอยแมลงภู่นชนิด *Perna viridis* บริเวณชายฝั่งทะเลของประเทศไทย (MEASUREMENT OF BUTYLTIN COMPOUNDS (BTs) CONTAMINATION IN GREEN MUSSEL (*Perna viridis*) FROM THAILAND'S COASTS) คณะกรรมการควบคุมวิทยานิพนธ์: สุทิน กิ่งทอง, ปร.ด., กิตติยา เขียวแมน, Ph.D., อากาศร บุญมี, วท.ด. 69 หน้า. ปี พ.ศ. 2562.

การศึกษานี้มีวัตถุประสงค์เพื่อศึกษาปริมาณสารประกอบบิวทิลทิน (butyltin compounds; BTs) ที่ประกอบด้วยไตรบิวทิลทิน (tributyltin; TBT) ไดบิวทิลทิน (dibutyltin; DBT) และโมโนบิวทิลทิน (monobutyltin; MBT) ในหอยแมลงภู่นชนิด *Perna viridis* ในบริเวณชายฝั่งทะเลของประเทศไทย เพื่อศึกษาแนวโน้มการปนเปื้อนสารประกอบบิวทิลทินในประเทศไทยจากอดีตจนถึงปัจจุบันว่ามีแนวโน้มเพิ่มขึ้นหรือลดลง โดยทำการเก็บตัวอย่างหอยแมลงภู่นและทำให้แห้งเพื่อนำไปวิเคราะห์หาปริมาณการสะสมของสารประกอบบิวทิลทินในเนื้อเยื่อโดยใช้เทคนิคการสกัดแบบ solid-liquid extraction (SLE) และใช้ sodium tetraethylborate ($\text{NaB}(\text{Et})_4$) เป็นตัวทำปฏิกิริยาเพื่อให้เกิดอนุพันธ์ของสารประกอบบิวทิลทิน และวิเคราะห์ปริมาณสารที่พบด้วยเครื่อง gas chromatography-mass spectrometry (GC-MS) ผลการศึกษาพบว่า ผลรวมของสารประกอบบิวทิลทินอยู่ระหว่าง 0.97 - 262.17 ng/g ของน้ำหนักแห้ง แบ่งเป็นอนุพันธ์ไตรบิวทิลทิน ไดบิวทิลทิน และโมโนบิวทิลทินอยู่ระหว่าง 0.68 - 4.49, 0.95 - 262.17 และ 1.85 ng/g dry wt. ตามลำดับ โดยพบการปนเปื้อนของอนุพันธ์ไดบิวทิลทินในเนื้อเยื่อสูงที่สุด เมื่อเปรียบเทียบกับผลการศึกษาครั้งนี้อย่างน้อยซึ่งเคยมีรายงานการปนเปื้อนของสารประกอบบิวทิลทินในหอยแมลงภู่นในปี พ.ศ. 2537-2538 พบว่าแนวโน้มการปนเปื้อนลดลง และพบว่าสารประกอบบิวทิลทินมีอัตราการสลายตัว (butyltin degradation index; BDI) สูงขึ้น ผลการศึกษานี้สอดคล้องกับรายงานการศึกษาในหลายภูมิภาคอื่น ที่มีแนวโน้มอัตราการสลายตัวเพิ่มขึ้น แต่อย่างไรก็ดียังสามารถตรวจพบการสะสมของสารประกอบบิวทิลทินในเนื้อเยื่อสัตว์ทะเลบริเวณชายฝั่งในบางภูมิภาคของโลกในปริมาณที่สูง ดังนั้นจึงควรมีการติดตามตรวจสอบต่อไปในอนาคต

57910013: MAJOR: ENVIRONMENTAL SCIENCE; M.Sc. (ENVIRONMENTAL SCIENCE)

KEYWORDS: BUTYLTIN COMPOUNDS/ TRIBUTYLTIN/ DIBUTYLTIN/ MONOBUTYLTIN

CHANOPPHOLM KLINKLOB: MEASUREMENT OF BUTYLTIN COMPOUNDS (BTs) CONTAMINATION IN GREEN MUSSEL (*Perna viridis*) FROM THAILAND'S COASTS. ADVISORY COMMITTEE: SUTIN KINGTONG, Ph.D., KITTIYA SHEARMAN, Ph.D., APAPORN BOONMEE, Ph.D. 69 P. 2019.

The main objectives of this research was to measure contaminations of butyltin compounds (BTs) include tributyltin (TBT), dibutyltin (DBT) and monobutyltin (MBT) in mussel, *Perna viridis* in the coasts of Thailand. This work also wanted to monitor situation of BTs contamination which could represent current trend of usage and bioaccumulation in the country. Green mussels were collected and freeze dried in order to analyze BTs concentration in tissue. BTs were extracted by solid-liquid extraction technique (SLE) and derivatized with sodium tetraethylborate ($\text{NaB}(\text{Et})_4$) followed by gas chromatography-mass spectrometry (GC-MS) analysis. Results showed that BTs concentration were in range of 0.97 – 262.17 ng/g dry weight. These included TBT, DBT and MBT in ranges of 0.68 – 4.49, 0.95 – 262.17 and 1.85 ng/g dry weight, respectively. DBT was the highest derivative found in mussel tissue. The current contamination levels in mussel tissue were decreased compared to the contamination in 1994-1995. The results also showed that butyltin degradation index (BDI) is increasing. This finding is similar to current reports from all over the world which indicating that BTs degradation is increasing. However, high levels of BTs bioaccumulation in marine organisms of some regions are still detected. Therefore, monitoring is still required in the future.

สารบัญ

	หน้า
บทคัดย่อภาษาไทย.....	ง
บทคัดย่อภาษาอังกฤษ.....	จ
สารบัญ.....	ฉ
สารบัญตาราง.....	ช
สารบัญภาพ.....	ฉ
บทที่	
1 บทนำ.....	1
ความเป็นมาและความสำคัญของปัญหา.....	1
วัตถุประสงค์ของการวิจัย.....	3
สมมติฐานของการวิจัย.....	3
ประโยชน์ที่คาดว่าจะได้รับจากการวิจัย.....	3
ขอบเขตของการวิจัย.....	3
2 เอกสารและงานวิจัยที่เกี่ยวข้อง.....	5
สารประกอบอินทรีย์ (organotin compounds).....	5
สารประกอบบิวทิลทิน (butyltin compound; BTs).....	7
การสะสมสารประกอบบิวทิลทินในมวลน้ำ.....	8
การสะสมสารประกอบบิวทิลทินในดินตะกอน.....	9
การสะสมสารประกอบบิวทิลทินในสิ่งมีชีวิต.....	11
ผลกระทบของสารประกอบบิวทิลทินต่อสิ่งมีชีวิต.....	13
การสร้างอนุพันธ์ของสารประกอบบิวทิลทิน.....	16
การย่อยสลายสารประกอบบิวทิลทิน.....	17
การปนเปื้อนสารประกอบบิวทิลทินตามแนวชายฝั่ง.....	18
กลไกการเกิดพิษของสารประกอบบิวทิลทิน.....	21
การใช้สารประกอบบิวทิลทินในประเทศไทย.....	22
การปนเปื้อนสารประกอบบิวทิลทินในประเทศไทย.....	23
Gas Chromatography-Mass Spectrometry (GC-MS).....	26

สารบัญ (ต่อ)

บทที่	หน้า
ชีววิทยาของหอยแมลงภู่มุ่.....	27
หอยแมลงภู่มุ่ในประเทศไทย.....	29
3 วิธีดำเนินการวิจัย.....	31
การตรวจวัดสารประกอบบิวทิลทินในเนื้อเยื่อหอยแมลงภู่มุ่.....	31
สถานที่ทำการเก็บตัวอย่าง.....	31
สถานที่ทำการสกัดและวิเคราะห์สารประกอบบิวทิลทิน.....	31
สารมาตรฐานและสารเคมี.....	34
การเตรียมสารละลายมาตรฐาน (stock standard solution).....	34
ขั้นตอนการทำแห้งแบบแช่เยือกแข็ง (freeze dehydration).....	35
ขั้นตอนการสกัดสารประกอบบิวทิลทิน.....	36
การวิเคราะห์ด้วยเครื่อง GC-MS.....	39
4 ผลการวิจัย.....	40
การวิเคราะห์ด้วย GC-MS และโครมาโตแกรมของสารประกอบบิวทิลทิน.....	40
ปริมาณสารประกอบบิวทิลทินที่ตรวจพบ.....	46
ปริมาณผลรวมสารประกอบบิวทิลทินเมื่อเทียบกับอดีต.....	48
5 อภิปรายและสรุปผล.....	50
เทคนิคการสกัดแบบ SLE และการวิเคราะห์ด้วยเครื่อง GC-MS.....	50
ปริมาณการปนเปื้อนที่ตรวจพบ.....	51
ข้อแตกต่างของการปนเปื้อนจากงานวิจัยในอดีตจนถึงปัจจุบัน.....	52
สถานการณ์ปริมาณการปนเปื้อนสารประกอบบิวทิลทินในระดับภูมิภาค.....	53
อัตราการสลายตัวของสารประกอบบิวทิลทิน.....	54
ความเสี่ยงต่อมนุษย์.....	56
สรุปผลการวิจัย.....	57
ข้อเสนอแนะ.....	57
บรรณานุกรม.....	58
ภาคผนวก.....	63
ภาคผนวก ก การเตรียมสารละลาย.....	64

ประวัติย่อของผู้วิจัย..... 69

สารบัญตาราง

ตารางที่	หน้า
2-1 การตรวจพบสารประกอบบิวทิลทินในมวลน้ำ (ng Sn l ⁻¹) จากบริเวณต่าง ๆ ทั่วโลก.....	9
2-2 การตรวจพบสารประกอบบิวทิลทินในดินตะกอน (ng Sn (g dw) ⁻¹) จากบริเวณต่าง ๆ ทั่วโลก.....	10
2-3 การตรวจพบสารประกอบบิวทิลทินในสิ่งมีชีวิต (ng Sn (g dw) ⁻¹) จากบริเวณต่าง ๆ ทั่วโลก.....	12
2-4 ข้อมูลการเป็นสารก่อการกลายพันธุ์ของเซลล์สืบพันธุ์.....	15
2-5 ข้อมูลการเกิดเนื้องอกของสัตว์ทดลอง.....	16
2-6 ลำดับการย่อยสลายสารประกอบบิวทิลทิน.....	19
2-7 ชนิดของสีกันเปรียงที่ใช้ในประเทศไทย.....	22
3-1 สถานที่และพิกัดในการเก็บตัวอย่างหอยแมลงภู่มหาสมุทรบริเวณชายฝั่งประเทศไทย.....	31
3-2 Biomass conversion factor (dry wt. / wet wt.).....	36
4-1 ไอออนและเวลาของสารประกอบบิวทิลทิน.....	41
4-2 ค่าคุณลักษณะของวิธีการวัดด้วยเครื่องแมสสเปกโตรมิเตอร์.....	46
4-3 ปริมาณสารประกอบบิวทิลทินที่ตรวจพบการสะสมในหอยแมลงภู่มหาสมุทรชนิด <i>P. viridis</i> บริเวณชายฝั่งประเทศไทย (มีหน่วยเป็น ng/g dry wt.).....	47
4-3 ปริมาณสารประกอบบิวทิลทินที่ตรวจพบการสะสมในหอยแมลงภู่มหาสมุทรชนิด <i>P. viridis</i> บริเวณชายฝั่งประเทศไทย (มีหน่วยเป็น ng/g wet wt.).....	48
5-1 การปนเปื้อนสารประกอบบิวทิลทินในสิ่งมีชีวิตชนิดต่าง ๆ.....	55

สารบัญภาพ

ภาพที่	หน้า
2-1 การใช้ประโยชน์จากสารประกอบดีบุกอินทรีย์.....	6
2-2 แหล่งที่มาและการปนเปื้อนของสารประกอบดีบุกอินทรีย์ในแหล่งน้ำ.....	7
2-3 โครงสร้างของสารประกอบบิวทิลทิน.....	8
2-4 ลักษณะการเปลี่ยนแปลงพิษของหอยฝ้าเดียว.....	14
2-5 ลักษณะเปลือกหอยนางรม.....	14
2-6 ปริมาณสารประกอบบิวทิลทินที่ปนเปื้อนในดินตะกอนบริเวณชายฝั่งประเทศไทย.....	24
2-7 การปนเปื้อนของสารประกอบบิวทิลทินในหอยแมลงภู่นิวชนิด <i>P. viridis</i> บริเวณชายฝั่งประเทศไทยในปี พ.ศ. 2537.....	25
2-8 Diagram of gas chromatograph mass spectrometry (GC-MS).....	26
2-9 ลักษณะภายนอกของหอยแมลงภู่นิวชนิด <i>P. viridis</i>	27
2-10 ลักษณะภายในของหอยแมลงภู่นิวชนิด <i>P. viridis</i>	28
2-11 การแพร่กระจายของหอยแมลงภู่นิวสกุล <i>Perma</i> ทั้ง 3 ชนิด ในบริเวณต่าง ๆ ทั่วโลก.....	29
2-12 การเพาะเลี้ยงหอยแมลงภู่นิวแบบต่าง ๆ.....	30
3-1 สถานที่เก็บตัวอย่างหอยแมลงภู่นิวบริเวณชายฝั่งประเทศไทย.....	33
4-1 โครมาโตแกรมของสารประกอบบิวทิลทินจากเครื่อง GC-MS ในโหมด SIM ทำการ derivatized โดย NaB(Et) ₄	42
4-2 mass spectra ของโมนิวบิวทิลทิน (MBT) จากเครื่อง GC-MS ในโหมด Scan.....	42
4-3 mass spectra ของไดนิวบิวทิลทิน (DBT) จากเครื่อง GC-MS ในโหมด Scan.....	43
4-4 mass spectra ของไตรนิวบิวทิลทิน (TBT) จากเครื่อง GC-MS ในโหมด Scan.....	43
4-5 ปริมาณผลรวมสารประกอบบิวทิลทิน \sum BTs (ng/g wet wt.) ที่พบระหว่างปี พ.ศ. 2557 และปี พ.ศ. 2538.....	49

บทที่ 1

บทนำ

ความเป็นมาและความสำคัญของปัญหา

สารประกอบบิวทิลทิน (butyltin compound; BTs) จัดเป็นอนุพันธ์ของดีบุกที่สังเคราะห์ขึ้นมาตั้งแต่ปี ค.ศ. 1960 เป็นสารอินทรีย์ที่ไม่สามารถเกิดขึ้นเองได้ตามธรรมชาติโดยกระบวนการทางชีววิทยา (Harino et al., 2004) ในอดีตมักพบสารประกอบบิวทิลทินเป็นส่วนประกอบของสารกำจัดแมลง สารรักษาเนื้อไม้ และสีทาเรือ เนื่องจากมีคุณสมบัติในการยับยั้งการลงเกาะของสิ่งมีชีวิตต่าง ๆ ที่อยู่ในทะเล โดยเฉพาะการสังเคราะห์ในรูปแบบของสารประกอบไตรบิวทิลทิน (tributyltin; TBT) ที่ผสมลงในสีกันเพรียง (antifouling paint) เป็นที่นิยมใช้มากในอดีต ไคบิวทิลทิน (dibutyltin; DBT) และโมโนบิวทิลทิน (monobutyltin; MBT) นิยมใช้ในอุตสาหกรรมการผลิตพลาสติกหรือ PVC เพื่อทำให้เกิดความยืดหยุ่นได้ดี (Cruz, Henriques, Correia, Susuki, & Mendo, 2010) ต่อมาพบว่าสารประกอบบิวทิลทินนั้นมีการปนเปื้อนและสะสมในสิ่งแวดล้อมเป็นจำนวนมาก ทำให้สิ่งมีชีวิตที่อาศัยอยู่ในระบบนิเวศแหล่งน้ำได้รับผลกระทบ (non-target organisms) (Laughlin & Linden, 1985) เช่น การพัฒนาอวัยวะเพศผู้ในหอยเพศเมียของหอยฝาเดียว (imposex) (Gibbs & Bryan, 1994) การสร้างเปลือกที่ผิดปกติของหอยนางรม (shell malformation) (Alzieu, Sanjuan, Deltreil, & Borel, 1986) และยังทำให้อัตราการตายของตัวอ่อนของหอยเพิ่มสูงขึ้น เป็นต้น (Blunden & Evans, 1990; Fent, 1996) การสลายตัวของไตรบิวทิลทินเป็นไคบิวทิลทินและโมโนบิวทิลทินตามลำดับลงในสิ่งแวดล้อมนั้นจะลดความเป็นพิษของสารประกอบบิวทิลทินด้วย แต่สารประกอบบิวทิลทินจัดเป็นสารกลุ่ม persistent organic pollutants (POPs) จึงสามารถปนเปื้อนอยู่ในสิ่งแวดล้อมได้ยาวนาน นอกจากนี้ยังมีคุณสมบัติเกาะติดกับอนุภาคสารอินทรีย์ได้ดี และสารบางส่วนสามารถแขวนลอยอยู่ในน้ำ จึงทำให้เข้าไปสะสมอยู่ในสัตว์น้ำ โดยการถ่ายทอดผ่านห่วงโซ่อาหาร (food chain) จากการสำรวจในปี ค.ศ. 1980 เป็นต้นมา พบการสะสมของสารประกอบบิวทิลทินปริมาณมากในสิ่งแวดล้อมบริเวณชายฝั่งทะเล รวมถึงสัตว์เลี้ยงลูกด้วยน้ำนมก็มีการตรวจพบด้วยเช่นกัน (Alzieu, 1998) และในปี ค.ศ. 1982 จากเหตุการณ์การปนเปื้อนที่รุนแรงของสารประกอบบิวทิลทินในอ่าว Arcachon ที่ประเทศฝรั่งเศส จึงเป็นชาติแรกที่มีข้อกำหนดของการใช้สีทาเรือที่ผสมสารประกอบไตรบิวทิลทิน โดยจะต้องมีขนาดลำเรือไม่ต่ำกว่า 25 เมตร (Alzieu et al., 1986) แต่ข้อกำหนดนี้ไม่ได้ทำให้ปริมาณของสารประกอบบิวทิลทินในแหล่งน้ำลดลง และหลายภูมิภาคทั่วโลกก็ประสบปัญหาดังกล่าว ดังนั้นจึงทำให้องค์กรทางทะเลระหว่างประเทศ (The International Maritime Organization; IMO) ที่ประเทศสมาชิกให้สัตยาบัน

เกี่ยวกับการใช้สารไตรบิวทิลทิน มีข้อกำหนดห้ามใช้สีที่มีส่วนผสมของไตรบิวทิลทินในการทาสีเรือ ตั้งแต่วันที่ 1 มกราคม พ.ศ. 2546 และห้ามมิให้ใช้สารไตรบิวทิลทินทาบนตัวเรือทุกประเภท ตั้งแต่วันที่ 1 มกราคม พ.ศ. 2551 เป็นต้นมา

ปัจจุบันมีการลักลอบใช้สีทาเรือที่ผสมสารประกอบไตรบิวทิลทินเป็นอย่างมาก โดยเฉพาะในภูมิภาคเอเชียตะวันออกเฉียงใต้ ยังคงมีการใช้สีที่ผสมสารไตรบิวทิลทินอยู่ (Antizar-Ladislao, 2008) ประเทศเพื่อนบ้าน เช่น ประเทศมาเลเซีย ประเทศสิงคโปร์ ประเทศอินโดนีเซีย และประเทศจีน ยังไม่มีข้อกำหนดหรือกฎหมายบังคับเกี่ยวกับการใช้สารไตรบิวทิลทินในสีกันเปรี้ยวอย่างชัดเจน (กรมควบคุมมลพิษ, 2549) แต่ประเทศไทยได้จัดให้สารประกอบบิวทิลทินเป็นวัตถุอันตรายประเภทที่ 3 ในปี พ.ศ. 2556 เป็นต้นมา การฟุ้งกระจายของดินตะกอนที่ผสมสารประกอบบิวทิลทินทำให้มีการปลดปล่อยสารประกอบบิวทิลทินออกมาอยู่ตลอดเวลา ส่งผลให้สารประกอบบิวทิลทินเข้าสู่สัตว์น้ำที่อยู่ในระบบนิเวศแหล่งน้ำนั้นได้ (Harino, O'Hara, Burt, Chesman, & Langston, 2005) โดยเฉพาะสัตว์น้ำเศรษฐกิจของประเทศไทย เช่น หอยแมลงภู่และหอยนางรม ซึ่งมีการเพาะเลี้ยงตามชายฝั่งของประเทศไทยเป็นจำนวนมาก (คเชนทร เกลิมวัฒน์, 2544) เป็นที่น่ากังวลเกี่ยวกับการปนเปื้อนสารประกอบบิวทิลทินในอาหารทะเล จึงได้มีการใช้หอยแมลงภู่ชนิด *Perna viridis* มาทำการตรวจวัดปริมาณสารประกอบบิวทิลทิน เนื่องจากหอยชนิดนี้เป็นที่นิยมของผู้บริโภคเป็นอย่างมาก สามารถพบการแพร่กระจายได้ตามแนวชายฝั่งทั่วไปในแถบภูมิภาคเอเชียตะวันออกเฉียงใต้ เป็นสิ่งมีชีวิตที่ไม่เคลื่อนที่ (sessile organisms) และอยู่ในน้ำตลอดเวลา

จากการสำรวจการปนเปื้อนสารประกอบบิวทิลทินในหอยแมลงภู่ชนิด *P. viridis* บริเวณชายฝั่งประเทศไทยในปี พ.ศ. 2537 พบการปนเปื้อนสารประกอบบิวทิลทินในน้ำหนักสด อยู่ในช่วง 4 - 800 ng/g wet wt. และสัดส่วนของไตรบิวทิลทินอยู่ในช่วง 3 - 680 ng/g wet wt. ซึ่งพบมากกว่าสัดส่วนของไดบิวทิลทินที่อยู่ในช่วง 1 - 80 ng/g wet wt. ส่วนโมโนบิวทิลทินมีสัดส่วนน้อยที่สุดอยู่ในช่วง 3 - 45 ng/g wet wt. โดยบริเวณชายฝั่งที่พบการปนเปื้อนสารประกอบบิวทิลทินมากที่สุดที่บริเวณอ่าวคุ้งกระเบน จังหวัดจันทบุรี และพบการปนเปื้อนน้อยที่สุดที่บริเวณอ่าวพังงา จังหวัดพังงา (Kan-Atireklap, Tanabe, & Sanguansin, 1997)

ดังนั้นวิทยานิพนธ์นี้จึงมีจุดมุ่งหมายที่จะศึกษาปริมาณของสารประกอบบิวทิลทินที่ประกอบด้วยไตรบิวทิลทิน ไดบิวทิลทิน และโมโนบิวทิลทิน ในหอยแมลงภู่ชนิด *P. viridis* บริเวณรอบชายฝั่งประเทศไทยทั้งฝั่งอันดามันและฝั่งอ่าวไทย โดยใช้เทคนิคการสกัดแบบ solid-liquid extraction (SLE) และทำการ derivatization ด้วย sodium tetraethylborate ($\text{NaB}(\text{Et})_4$) เพื่อให้เกิดอนุพันธ์ของสารประกอบบิวทิลทิน จากนั้นตรวจวัดด้วยเครื่อง gas chromatography-mass

spectrometry (GC-MS) ตลอดจนทำการศึกษาเทียบผลกับงานวิจัยอื่น ๆ ที่มีการตรวจสอบสารประกอบบิวทิลทินในสิ่งมีชีวิตและสิ่งแวดล้อมบริเวณต่าง ๆ ว่ามีแนวโน้มการเปลี่ยนแปลงอย่างไร อีกทั้งยังเป็นข้อมูลในการศึกษาต่อไปในอนาคตเพื่อตรวจวัด เฝ้าระวัง และติดตามสารประกอบบิวทิลทินที่พบในสิ่งมีชีวิตและสิ่งแวดล้อมของชายฝั่งประเทศไทยต่อไป

วัตถุประสงค์ของการวิจัย

1. เพื่อตรวจสอบปริมาณสารประกอบบิวทิลทินในหอยแมลงภู่นิวชนิด *P. viridis* ในบริเวณชายฝั่งประเทศไทย
2. เพื่อศึกษาการสะสมสารประกอบบิวทิลทินในหอยแมลงภู่นิวชนิด *P. viridis* ในบริเวณชายฝั่งประเทศไทยว่ามีแนวโน้มที่เพิ่มขึ้นหรือลดลง

สมมติฐานของการวิจัย

สารประกอบบิวทิลทินในเนื้อเยื่อหอยแมลงภู่นิวชนิด *P. viridis* ในบริเวณชายฝั่งของประเทศไทยมีแนวโน้มลดลง หลังจากองค์การทางทะเลระหว่างประเทศได้ประกาศห้ามไม่ให้ใช้สีที่มีส่วนผสมของสารประกอบบิวทิลทินทาเล็บบนตัวเรือ ตั้งแต่ปี ค.ศ. 2008 เป็นต้นมา

ประโยชน์ที่คาดว่าจะได้รับจากการวิจัย

1. เพื่อเป็นข้อมูลเกี่ยวกับแนวโน้มการปนเปื้อนของสารประกอบบิวทิลทินในสิ่งแวดล้อมชายฝั่ง อันจะเป็นประโยชน์ต่อการเฝ้าระวังและติดตามสารประกอบบิวทิลทินในประเทศไทย
2. เพื่อเป็นข้อมูลพื้นฐานในการประเมินความเสี่ยงในการถ่ายทอดสารประกอบบิวทิลทินในระบบสายใยอาหาร ซึ่งอาจเกิดการสะสมต่อไปในมนุษย์
3. เพื่อเป็นข้อมูลสนับสนุนในพระราชบัญญัติวัตถุอันตรายของสารประกอบบิวทิลทินที่จัดเป็นวัตถุอันตรายประเภทที่ 3 ซึ่งถือเป็นแนวทางที่เหมาะสมและก่อให้เกิดผลกระทบต่อกิจกรรมอื่น ๆ น้อยที่สุด

ขอบเขตของการวิจัย

ศึกษาการปนเปื้อนสารประกอบบิวทิลทินในเนื้อเยื่อหอยแมลงภู่นิวชนิด *P. viridis* ในบริเวณชายฝั่งของประเทศไทย โดยใช้เทคนิคการทำแห้งแบบแช่เยือกแข็ง (freeze dehydration) เนื้อเยื่อหอยแมลงภู่นิว จากนั้นใช้เทคนิคการสกัดแบบ solid-liquid extraction (SLE) โดยใช้ sodium

tetraethylborate ($\text{NaB}(\text{Et})_4$) ในการ derivatization เพื่อให้เกิดอนุพันธ์ของสารประกอบบิวทิลทิน และใช้เทคนิคการวิเคราะห์หาสารประกอบบิวทิลทินด้วยเครื่อง gas chromatography-mass spectrometry (GC-MS)

บทที่ 2

เอกสารและงานวิจัยที่เกี่ยวข้อง

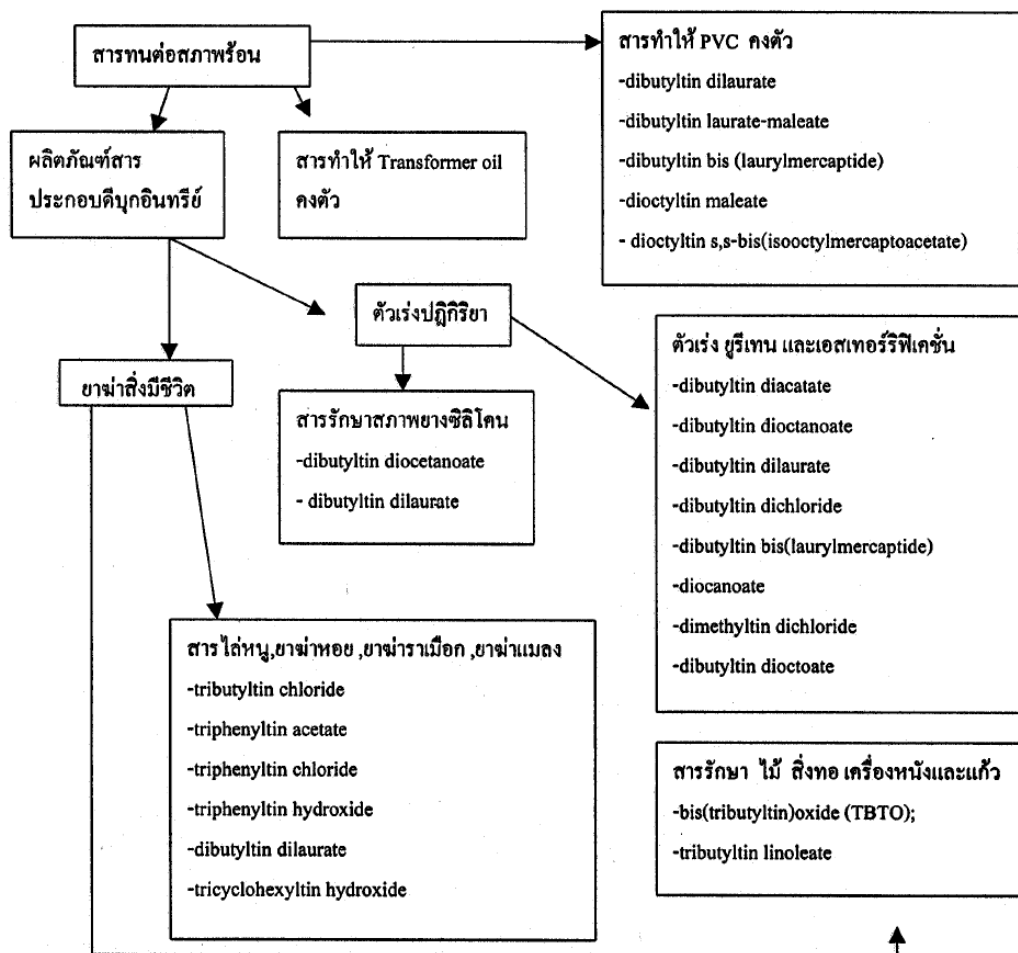
สารประกอบดีบุกอินทรีย์นั้นสามารถพบการใช้งานได้ในหลายอุตสาหกรรม ทั้งในอุตสาหกรรมการผลิตพลาสติก อุตสาหกรรมสีทาเรือ อุตสาหกรรมกระดาษ อุตสาหกรรมสิ่งทอ และอุตสาหกรรมไม้แปรรูป ผลของการใช้สารประกอบดีบุกอินทรีย์นั้นก็เพื่อที่จะยับยั้งการเจริญเติบโตของสิ่งมีชีวิตที่ไม่ต้องการ และเป็นตัวเร่งปฏิกิริยาในการผลิตพลาสติก ซึ่งผลที่ได้นั้นเป็นที่น่าพอใจจึงมีการนิยมใช้อย่างแพร่หลายในอดีต แต่การใช้อย่างแพร่หลายนั้นก็ทำให้เกิดการปนเปื้อนลงสู่สิ่งแวดล้อมมากขึ้นด้วยเช่นกัน และส่งผลกระทบต่อสิ่งมีชีวิตต่าง ๆ ที่อาศัยอยู่ในสิ่งแวดล้อมที่มีการปนเปื้อน รวมไปถึงการถ่ายทอดในรูปแบบสายใยอาหาร นอกจากนี้สารประกอบดีบุกอินทรีย์ยังสามารถสะสมอยู่ในสิ่งแวดล้อมได้เป็นระยะเวลายาวนาน

สารประกอบดีบุกอินทรีย์ (organotin compounds)

สารประกอบดีบุกอินทรีย์ที่สำคัญทั้งหมดอยู่ในรูป Sn^{IV} ซึ่งมีพันธะโคเวเลนต์ของคาร์บอน-ทินอยู่หนึ่งหรือมากกว่าหนึ่งตำแหน่ง โดยสารประกอบดีบุกอินทรีย์ทั้งหมดนั้นเกิดมาจากการสังเคราะห์ทั้งสิ้น และพันธะเคมีดังกล่าวมีผลต่อสมบัติเฉพาะของสารซึ่งมีสูตรโครงสร้างทั่วไปในรูปของ $\text{R}_n\text{SnX}_{4-n}$

เมื่อ R	คือ	หมู่อัลคิลหรืออัลลิล เช่น กลุ่ม phenyl, octyl หรือ butyl
Sn	คือ	อะตอมกลางดีบุกที่มีเลขออกซิเดชัน +4
X	คือ	ประจุลบหรือไอออนของสารประกอบอินทรีย์ เช่น กลุ่ม oxide, fluoride หรือ chloride

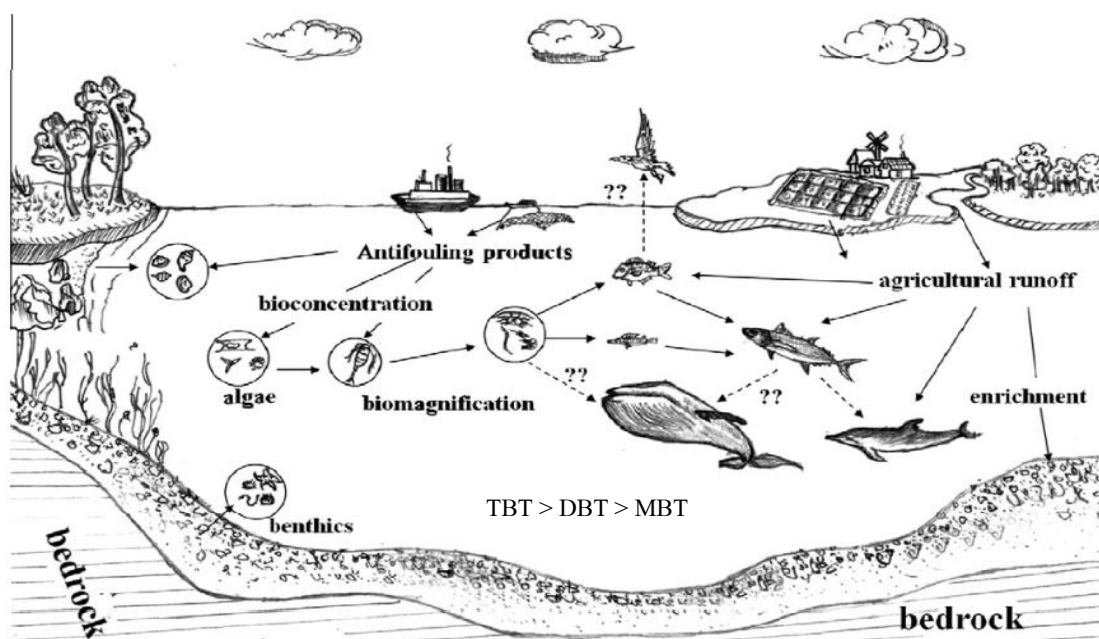
สามารถแบ่งได้เป็น 4 กลุ่ม คือ mono-, di-, tri- และ tetra- organotin ได้แก่ RSnX_3 , R_2SnX_2 , R_3SnX และ R_4Sn โดยการสังเคราะห์สารประกอบดีบุกอินทรีย์ขึ้นมานั้นก็เพื่อใช้ในประโยชน์ในอุตสาหกรรมต่าง ๆ เช่น สารประกอบ triorganotin ใช้ในอุตสาหกรรมที่ยับยั้งการเจริญเติบโตของสิ่งมีชีวิต ส่วน monoorganotin และ tetraorganotin ใช้เป็น stabilizer ในการผลิต polyvinylchloride (PVC) (กรมควบคุมมลพิษ, 2549) การใช้ประโยชน์ของสารประกอบดีบุกอินทรีย์ แสดงดังภาพที่



ภาพที่ 2-1 การใช้ประโยชน์จากสารประกอบดีบุกอินทรีย์ (ดัดแปลงจาก กรมควบคุมมลพิษ, 2549)

การปนเปื้อนสารประกอบดีบุกอินทรีย์ในน้ำทะเลโดยส่วนใหญ่แล้วเกิดจากสิทาเรือที่ผสมสารประกอบไตรบิวทิลทินที่ได้จากการสังเคราะห์ขึ้นมามากถึง 40-80,000 ตัน/ปี และมีปัจจัยอื่น ๆ ที่ส่งผลต่อการปนเปื้อน เช่น น้ำจืด น้ำลง มีผลทำให้ปริมาณสารประกอบดีบุกอินทรีย์ลดลงหรือแพร่กระจายได้มากขึ้น การสลายตัวของไตรบิวทิลทินในสิ่งแวดล้อมก็ทำให้การปนเปื้อนเปลี่ยนแปลงได้เช่นกัน ส่วนความเค็มของน้ำบริเวณปากแม่น้ำจะส่งผลให้คุณสมบัติของสารประกอบดีบุกอินทรีย์เปลี่ยนไปด้วย นอกจากนี้การดูดซับและปลดปล่อยสารประกอบดีบุกอินทรีย์ในดินตะกอนก็ยังเป็นปัจจัยที่สำคัญที่ส่งผลกระทบต่อสิ่งมีชีวิตโดยเฉพาะสัตว์จำพวกกรองกิน สัตว์หน้าดิน และสัตว์ที่ไม่เคลื่อนที่ ซึ่งจะได้รับผลกระทบจากสารประกอบดีบุกอินทรีย์มากที่สุดด้วยเช่นกัน (Cole et al., 2015) ดังภาพที่ 2-2 นอกจากนี้สารประกอบบิวทิลทินยังสามารถถ่ายทอดผ่านห่วงโซ่อาหารได้อีกด้วย โดยการละลายอย่างช้า ๆ จากผลิตภัณฑ์ที่ใช้สารประกอบ

บิวทิลทินลงสู่แหล่งน้ำ จากนั้นสิ่งมีชีวิตขนาดเล็กจำพวกแพลงก์ตอน (plankton) ก็จะดูดซับสารประกอบบิวทิลทินเข้าไป ทำให้เกิดการสะสมแบบ biomagnification ส่งผลให้ผู้บริโภคลำดับถัดไปมีปริมาณการสะสมของสารประกอบบิวทิลทินเพิ่มสูงขึ้นเป็นทวีคูณตามเวลาที่เพิ่มมากขึ้น ส่วนสารประกอบบิวทิลทินที่เหลืออยู่ในน้ำก็จะตกตะกอนลงสู่พื้นดินเบื้องล่าง และยึดเกาะกับสารอินทรีย์ที่อยู่ในดินได้ดีอีกด้วย จึงทำให้ยากต่อการสลายตัว และส่งผลให้สารประกอบบิวทิลมีโอกาสมากขึ้นในการปนเปื้อนในสิ่งแวดล้อมได้อีกครั้ง เมื่อเกิดการฟุ้งกระจายของดินตะกอน



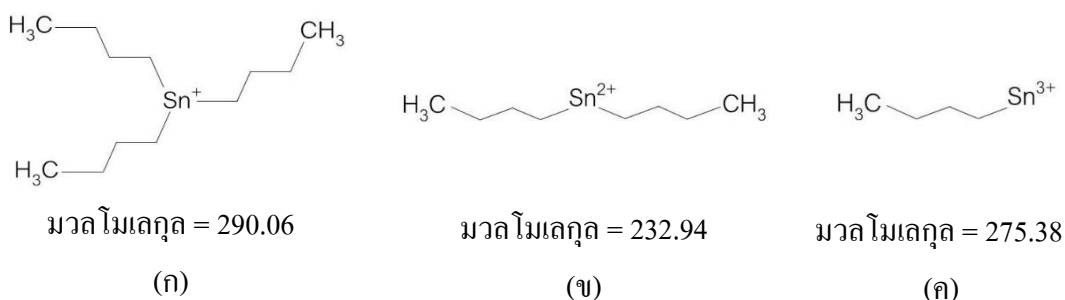
ภาพที่ 2-2 แหล่งที่มาและการปนเปื้อนของสารประกอบบิวทิลทินในแหล่งน้ำ

(ดัดแปลงจาก Cole et al., 2015)

สารประกอบบิวทิลทิน (butyltin compound; BTs)

สารประกอบบิวทิลทินเป็นสารที่ประกอบด้วยธาตุดีบุก (Sn) และมีหมู่บิวทิล (C_4H_9) เข้ามาจับด้วยพันธะโคเวเลนต์ แบ่งออกเป็น 3 แบบ (Ladislao, 2008) ได้แก่ ไตรบิวทิลทิน (tributyltin; TBT) ประกอบไปด้วยดีบุกและหมู่บิวทิล 3 หมู่ ตามสูตรโมเลกุล $(n-C_{12}H_{27})_3Sn^+$ มีน้ำหนักโมเลกุล 290.06 ดังภาพที่ 2-3 (ก) ซึ่งมีการสังเคราะห์ขึ้นครั้งแรกในปี ค.ศ. 1920 มีสมบัติละลายน้ำได้น้อย (hydrophobic) จึงมีค่า octanol-water partitioning (K_{ow}) อยู่ที่ 4.4 แต่ละลายได้ดีในตัวทำละลายที่มีขั้วต่ำ และมีความถ่วงจำเพาะที่ 1.2 กิโลกรัม/ลิตร ไตรบิวทิลทินนิยมใช้เป็นส่วนผสมของสีทาเรือที่มีคุณสมบัติป้องกันเฟรียง หรือใช้ในตาข่ายเลี้ยงสัตว์น้ำ เนื่องจากไตรบิวทิลทินมีสมบัติยับยั้งการลง

เกาะและเจริญเติบโตของสิ่งมีชีวิต (biocide) จึงทำให้มีการใช้ไตรบิวทิลทินในหลายวัตถุประสงค์ ทั้งใช้เป็นสารรักษาเนื้อไม้ (wood preservative) สารฆ่าแบคทีเรีย (bactericide) สารฆ่าแมลง (insecticide) และสารป้องกันราเมือก (slimicide) มีการประมาณการผลิตไตรบิวทิลทินในปี ค.ศ. 1985 ว่ามากถึง 40,000 ตัน/ปี และในปี ค.ศ. 1996 มีการผลิตเพิ่มขึ้นถึง 50,000 ตัน/ปี จึงทำให้เกิด การปนเปื้อนของไตรบิวทิลทินในสิ่งแวดล้อมทางทะเล โดยตกค้างมากถึง 91 ล้านตัน/ปี โดยเฉพาะ บริเวณเส้นทางเดินเรือ อู่ต่อเรือ แหล่งเพาะเลี้ยงสัตว์น้ำ หรือบริเวณที่มีกิจกรรมทางน้ำจำนวนมาก นอกจากนี้แล้วไดบิวทิลทิน (dibutyltin; DBT) และโมนอบิวทิลทิน (monobutyltin; MBT) ก็จัดอยู่ในสารประกอบบิวทิลทินด้วยเช่นกัน ซึ่งเกิดจากการสลายตัวของไตรบิวทิลทินในธรรมชาติจาก TBT เป็น DBT และ MBT ตามลำดับ สูตรโครงสร้างของไดบิวทิลทิน ประกอบด้วย ดีบุกและหมู่บิวทิล 2 หมู่ ตามสูตรโมเลกุล $(n-C_4H_9)_2Sn^{2+}$ มีน้ำหนักโมเลกุล 232.94 ดังภาพที่ 2-3 (ข) และสูตรโครงสร้างโมนอบิวทิลทิน ประกอบด้วยดีบุกและหมู่บิวทิล 1 หมู่ ตามสูตรโมเลกุล $(n-C_4H_9)Sn^{3+}$ มีน้ำหนักโมเลกุล 175.38 ดังภาพที่ 2-3 (ค) สารทั้งสองชนิดนี้ใช้เป็น stabilizer ในการผลิต polyvinylchloride (PVC) และใช้ในการเคลือบแก้วบางชนิด โดยมีการประมาณการใช้ ไตรบิวทิลทินและโมนอบิวทิลทินที่เป็นส่วนผสมในการผลิต PVC มากถึง 2 ใน 3 ของการผลิตขึ้นมา ใช้ทั่วโลก



ภาพที่ 2-3 โครงสร้างของสารประกอบบิวทิลทิน (ก) = ไตรบิวทิลทิน (tributyltin; TBT);

(ข) = ไดบิวทิลทิน (dibutyltin; DBT); (ค) = โมนอบิวทิลทิน (monobutyltin; MBT)

มวลโมเลกุลหน่วยเป็น คัลตัน (Da)

การสะสมสารประกอบบิวทิลทินในมวลน้ำ

การสะสมของสารประกอบบิวทิลทินในมวลน้ำนั้นจะมีปริมาณที่พบน้อยกว่าในดิน ตะกอนและสิ่งมีชีวิต เนื่องจากสารประกอบบิวทิลทินสามารถสลายตัวในมวลน้ำได้ง่ายกว่า นอกจากนี้ในบริเวณที่มีการไหลผ่านของน้ำเป็นอย่างดีจะทำให้ปริมาณที่พบน้อยกว่าบริเวณที่มี

การไหลเวียนของน้ำน้อย เช่น อ่าว ทะเลสาบ และลากูน สาเหตุหลักของการปนเปื้อนสารประกอบบิวทิลทินในน้ำเกิดจากบริเวณที่มีกิจกรรมเดินเรือมาก เช่น เส้นทางเดินเรือ ท่าเทียบเรือ อยู่น้ำนิ่ง อยู่ช่อมเรือ และแหล่งเพาะเลี้ยงชายฝั่ง รวมไปถึงอุตสาหกรรมหล่อเย็น การแพร่กระจายของสารประกอบบิวทิลทินในแหล่งน้ำมีความสัมพันธ์กับปริมาณเรือที่ท่าสักันเพียง โดยงานวิจัยในประเทศฝรั่งเศส พบว่าบริเวณชายฝั่งเมดิเตอร์เรเนียนซึ่งมีการหมุนเวียนของน้ำน้อยกว่าบริเวณชายฝั่งทะเลเมดิเตอร์เรเนียนทำให้พบการปนเปื้อนสูงกว่า (Alzieu et al., 1991) แต่ทั้งนี้การปนเปื้อนของสารประกอบบิวทิลทินบางส่วนอาจเกิดจากการที่ดินตะกอนมีการปลดปล่อยสารประกอบบิวทิลทินออกมา โดยมีรายงานการตรวจพบสารประกอบบิวทิลทินในมวลน้ำไว้ทั่วโลก ดังตารางที่ 2-1

ตารางที่ 2-1 การตรวจพบสารประกอบบิวทิลทินในมวลน้ำ (ng Sn l^{-1}) จากบริเวณต่าง ๆ ทั่วโลก (ดัดแปลงจาก Ladislao, 2008)

Sampling		Levels of organotin compounds		
Year	location	TBT	DBT	MBT
1997-1998	Coast, Korea	<d.l.-4.5	<d.l.-22.3	<d.l.-13.4
2003	North coast of Kyoto, Japan	3.9-27	2.1-13	2.5-23
1993	South west coast, Spain	9.1-79	6.8-20	<d.l.-51
1998	South east coast, France	<0.015-0.12	-	-
1998-1999	Coastal waters, Greece	<d.l.-70	<d.l.-159	<d.l.-19
1995	West and east coast, Canada	<d.l.-500	<d.l.-270	<d.l.-460
Not provided	North west coast, Spain	0.4-196.6	0.3-33.7	0.8-11.6

หมายเหตุ : MBT = monobutyltin; DBT= dibutyltin; TBT = tributyltin;

<d.l. = below detection limit

การสะสมสารประกอบบิวทิลทินในดินตะกอน

คุณสมบัติทางเคมีของสารประกอบบิวทิลทินสามารถละลายน้ำได้น้อยมาก แต่ละลายได้ดีในสารละลายที่มีไขมัน จึงทำให้สารประกอบบิวทิลทินสามารถจับกับอนุภาคของสารอินทรีย์ได้ดี ดังนั้นดินตะกอนจึงเป็นแหล่งสะสมของสารประกอบบิวทิลทินและยากต่อการสลายตัว จึงเป็นสาเหตุหลักที่ทำให้เกิดการปลดปล่อยสารประกอบบิวทิลทินออกสู่สิ่งแวดล้อมและสะสมใน

สิ่งมีชีวิตที่อาศัยอยู่ในน้ำเป็นระยะเวลานาน นอกจากนี้แล้วยังมีปัจจัยอื่นที่ทำให้พบการสะสมของสารประกอบบิวทิลทินในดินตะกอน เช่น ชนิดของดินตะกอน บริเวณของดินตะกอนในอู่ต่อเรือ และเส้นทางเดินเรือ ค่า pH หรืออุณหภูมิ ซึ่งผลการวิจัยจากทั่วโลกมีรายงานว่าตรวจพบสารประกอบบิวทิลทินมากในดินตะกอน เมื่อเปรียบเทียบปริมาณกับในน้ำและในสิ่งมีชีวิต (Ladislao, 2008) ดังตารางที่ 2-2

ตารางที่ 2-2 การตรวจพบสารประกอบบิวทิลทินในดินตะกอน (ng Sn (g dw)^{-1}) จากบริเวณต่าง ๆ ทั่วโลก (คัดแปลงจาก Ladislao, 2008)

Sampling		Levels of organotin compounds		
Year	location	TBT	DBT	MBT
1995-1996	Port of Osaka, Japan	10-2100	<d.l.	<d.l.
1997-1998	Coast, Malaysia	2.8-1100	3.8-310	5.0-360
2000-2001	Kochi harbour, India	16.4-16,816	n.a.	<d.l.-470
2000-2001	Mumbai harbour, India	4.5-1193	n.a.	<d.l.-131
2002-2003	West coast, India	5-2384	<d.l.-469	n.a.
2001-2004	Fishing harbours, Taiwan	2.4-8548	n.a.	n.a.
2003	North coast of Kyoto, Japan	1.2-19	2.3-23	4.3-22
2003	Coast, Vietnam	8.3-51	8.1-42.7	3.9-30
2005	Sanricu coast, Japan	2-14,000	<d.l.-3400	<d.l.-3300
1993	West coast, France	7-30	9-29	25-74
1994	River Thames, UK	1-60	12-219	12-172
1998	South west coast, Spain	1.2-130	2.1-284	2.5-95
1998-1999	Tagus Estuary, Portugal	5.4-35	n.a.	n.a.
1998-1999	Danish harbours and marinas, Denmark	100-5000	n.a.	n.a.
1999-2000	North west Sicilian coast, Italy	3-27	<d.l.	<d.l.
1999-2000	North east coast, Spain	51-7673	47-3519	5-1131
1999-2000	Coast, Portugal	<3.8-12.4	<5.3-65	<5.2-78
2000	North coast, Spain	50-5480	150-710	860-2870

ตารางที่ 2-2 (ต่อ) การตรวจพบสารประกอบบิวทิลทินในดินตะกอน (ng Sn (g dw)⁻¹) จากบริเวณต่าง ๆ ทั่วโลก (ดัดแปลงจาก Ladislao, 2008)

Sampling		Levels of organotin compounds		
Year	location	TBT	DBT	MBT
2001	South west, France	<d.l.-89	<d.l.-87	1.0-125
2002	Barcelona harbour, Spain	98-4702	67-2607	35-440
2005	North west coast, Spain	0.6-303	0.5-357	0.7-3.8
1999	Alexandria harbour, Egypt	1-2076	<0.1-379	<0.1-186
1995	West and east coast, Canada	<d.l.-5100	<d.l.-1100	<d.l.-330
2001-2003	Crystal Lake, US	1.5-14,000	59-350	21.3-320
1999	Great Barrier Reef World Heritage Area, Australia	<d.l.-1275	<d.l.-71	<d.l.-161

หมายเหตุ : MBT = monobutyltin; DBT = dibutyltin; TBT = tributyltin;

<d.l. = below detection limit; n.a. = no data available.

การสะสมสารประกอบบิวทิลทินในสิ่งมีชีวิต

การสะสมสารประกอบบิวทิลทินในสิ่งมีชีวิตมีปริมาณมากกว่าในดินตะกอน เนื่องจากสิ่งมีชีวิตนั้นอาศัยอยู่ในสิ่งแวดล้อมที่พบการปนเปื้อนสารประกอบบิวทิลทินตลอดเวลา และสิ่งมีชีวิตเหล่านี้มีไขมันซึ่งมีสมบัติความเป็นขั้วต่ำจึงทำให้สารประกอบบิวทิลทินสามารถสะสมอยู่ในสิ่งมีชีวิตได้ดี รวมไปถึงการได้รับสารประกอบบิวทิลทินเข้าสู่ร่างกายในรูปแบบห่วงโซ่อาหารแล้วเกิดการสะสมเมื่อได้รับในปริมาณที่สม่ำเสมอและกำจัดออกจากร่างกายไม่ทัน (Harino et al., 2008) โดยสามารถตรวจพบได้ในสิ่งมีชีวิตหลายชนิด เช่น สาหร่ายทะเล แพลงก์ตอน หอยทะเล หอยฝาเดียว หอยสองฝา ปูแมงมุม สัตว์หน้าดิน ปลาผิวน้ำ นกเพนกวิน นกทะเล แมวน้ำ โลมา และหงส์ (Ladislao, 2008) ดังตารางที่ 2-3 ซึ่งปริมาณที่ตรวจพบในสิ่งมีชีวิตจะสัมพันธ์กับแหล่งที่อยู่อาศัยของสิ่งมีชีวิตเหล่านั้น และถ้าได้รับในปริมาณที่มากเกินไปโดยที่สิ่งมีชีวิตนั้นกำจัดออกจากร่างกายไม่ทันจะก่อให้เกิดอาการผิดปกติ เช่น การเปลี่ยนแปลงเพศของหอยฝาเดียว (imposex) และการสร้างเปลือกที่ผิดปกติของหอยนางรม (shell malformation)

ตารางที่ 2-3 การตรวจพบสารประกอบบิวทิลทินในสิ่งมีชีวิต (ng Sn (g dw)⁻¹) จากบริเวณต่าง ๆ
ทั่วโลก (คัดแปลงจาก Ladislao, 2008)

Sampling		Levels of organotin compounds			
Year	location	Biological	TBT	DBT	MBT
1995	Coast, Canada	Mussel	20-1198	< d.l.-1062	< d.l.-708
1996	Saint Lawrence river, Canada	Mussel	<1440	-	-
1998	Baltic Sea, Poland	Mussel	2.2-39	<1.4-24	<1.4-4.7
1999-2000	Coast, Portugal	Mussel	<5.7-489	<2.5-18	<7.9-41
2000	West coast, Portugal	Mussel	11-789	<10-345	<10-605
2003	North coast of Kyoto, Japan	Mussel	0.8-11	0.8-3.1	0.8-2.9
2005	Sanricu coast, Japan	Mussel	3-287	3-92	4-32
2005	North west coast, Spain	Mussel	52.8-96	20.2-25.7	52.8-96.1
1993-1994	South west coast, Spain	Oyster	269±96	59.3±21.3	28.1±12.6
2002	Aquaculture area, Taiwan	Oyster	<3.8-417	<3.9-281	<3.3-407
2005	North west coast, Spain	Oyster	74-193	7.6-441	0.4-12.9
1997-1998	Coast, Korea	Bivalves	16-1610	23-699	<d.l.-461
1997	Strait between Denmark and Sweden	Bivalve	200-300	-	2.5-15
2001-2003	Aegean Sea, Greece	Bivalves	<d.l.-109	<d.l.-366	<d.l.-151
1993	The Netherlands	Fish	9.2-67	13-183	23-41
1993	River Elbe and North Sea	Fish	66-490	<d.l.-55	<d.l.-89
1994	Bangladesh	Fish	0.47-3	<0.36-15	<5.6-170
1996	Aomori, Japan	Fish	<d.l.-240	<d.l.-50	<d.l.-20
1998	Coast, Malaysia	Fish	2.4-190	<1.3-13	2.3-7.4
2003	Coast, Vietnam	Clam	3.8-15	4.4-27	2.8-18
2004	Coastline of Hong Kong, China	<i>Tritonia clavigera</i>	<d.l.-18	<d.l.-197	<d.l.-336

ตารางที่ 2-3 (ต่อ)

Sampling		Levels of organotin compounds			
Year	location	Biological	TBT	DBT	MBT
2004	Coastline of Hong Kong,	<i>Tritonia</i>	3.8-170	<d.l.-85	<d.l.-51
	China	<i>luteostoma</i>			
1997-1998	Coast, Korea	Starfish	7-323	8-139	51-2860
1991	Japan sea, Japan	<i>Walleye</i>	2.2-6.4	<2.5	<3
		<i>pollock</i>			
1996	Northwestern	Deep sea	1.0-52	4.0-67	<d.l.-54
	Mediterranean, Spain	fish			

หมายเหตุ MBT = monobutyltin; DBT = dibutyltin; TBT = tributyltin;

<d.l. = below detection limit

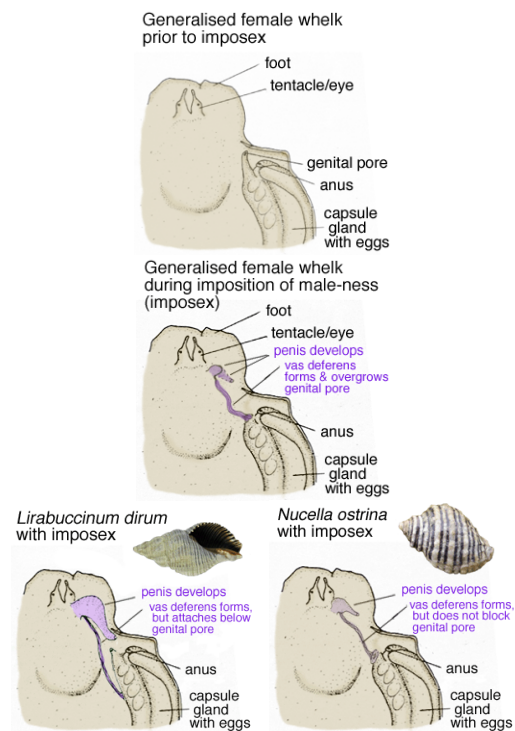
ผลกระทบของสารประกอบบิวทิลทินต่อสิ่งมีชีวิต

การเปลี่ยนแปลงของหอยฝาเดียวเป็นที่รู้จักกันในชื่อ “imposex” เกิดจากการได้รับพิษของไตรบิวทิลทินแบบเรื้อรัง ทำให้หอยฝาเดียวเพศเมียมีลักษณะของเพศผู้เกิดขึ้น (pseudopenis) โดยมีท่อนำสเปิร์ม (vas deferens) ปรากฏขึ้นมา เนื่องจากไตรบิวทิลทินจะกระตุ้นการขับ penial morphogenetic factor จาก pedal ganglia ซึ่งอยู่ภายใต้การควบคุมของ cerebropleural ทำให้ปล่อยฮอร์โมนเทสโทสเตอโรน (testosterone) ออกมาเพิ่มขนาดของอวัยวะเพศผู้ (penis) ในหอยเพศเมีย (Foale, 1993) ดังภาพที่ 2-4 ซึ่งอวัยวะที่เกิดขึ้นมาใหม่นี้จะไปอุดตันท่อนำไข่ ทำให้หอยเพศเมียไม่สามารถวางไข่ได้ และเมื่อมีการสะสมไข่มากขึ้นเรื่อย ๆ จะทำให้ท่อนำไข่แตก ซึ่งเป็นสาเหตุหลักของการตายของหอยฝาเดียว ส่งผลให้หอยฝาเดียวลดจำนวนลงอย่างรวดเร็ว โดยปริมาณความเข้มข้นที่ทำให้เกิดการเปลี่ยนแปลงนั้นอยู่ที่ 0.5-1 นาโนกรัม/ลิตร การวัดการเกิด imposex มีดัชนีที่บ่งชี้ได้ 2 แบบตามหลักการของ Wilson, Ahsanullah, and Thompson (1993) คือ แบบที่ 1 ร้อยละของหอยเพศเมียที่เกิด imposex และแบบที่ 2 คือ Relative penis size index (RPS) ใช้สูตรดังนี้

$$\text{Relative penis size index (RPS)} = \frac{\text{ความยาวของอวัยวะเพศผู้ในหอยเพศเมีย}}{\text{ความยาวเฉลี่ยของอวัยวะเพศในหอยเพศผู้}} \times 100$$



(ก)



(ข)

ภาพที่ 2-4 ลักษณะการเปลี่ยนเพศของหอยฝาเดียว (ก) ภาพจากการเกิดการเปลี่ยนเพศ

(ข) การเกิด imposex ในหอย (ดัดแปลงจาก Barter & Jones, 2015)

การสร้างเปลือกที่ผิดปกติของหอยนางรมก็เป็นผลจากการได้รับพิษของไตรบิวทิลทินแบบเรื้อรังอีกเช่นกัน โดยเกิดขึ้นในหอยนางรมชนิด *Crassostrea gigas* ซึ่งพบการสร้างชั้นของเปลือกหอยขึ้นมาใหม่หลายชั้น ดังภาพที่ 2-5 ทำให้เปลือกหอยเปลี่ยนแปลงไปจากเดิม ส่งผลให้โครงภายในมีขนาดเล็กและทำให้เนื้อเยื่อของหอยนางรมมีขนาดเล็กลงตามไปด้วย (Alzieu et al., 1986) มูลค่าทางการค้าของหอยนางรมจึงลดลง ส่งผลเสียต่อการเพาะเลี้ยงหอยนางรมเป็นอย่างมาก โดยเฉพาะในทวีปยุโรปที่นิยมการบริโภคหอยนางรม มีรายงานว่าพบการสร้างเปลือกที่ผิดปกติของหอยนางรมในบริเวณอ่าว Arcachon ทางทิศตะวันตกเฉียงใต้ของประเทศฝรั่งเศส (Stebbing, 1985)



(ก)



(ข)

ภาพที่ 2-5 ลักษณะเปลือกหอยนางรม (ก) ฝาเปลือกปกติ (ข) ฝาเปลือกที่สร้างผิดปกติ

(คัดแปลงจาก Alzieu et al., 1986)

การระคายเคืองต่อผิวหนังและการก่อโรคผิวหนัง (skin sensitisation) การศึกษาของ Elsea และ Paynter ในปี 1985 ได้ทำการป้ายสารไตรบิวทิลทินออกไซด์ (TBTO) ที่ผิวหนังกระต่ายเป็นเวลา 24 ชั่วโมง พบว่าผิวหนังกระต่ายมีอาการบวมแดง บางตัวมีผิวหนังซีดขาว (blanched area) พร้อมทั้งเกิดรอยไหม้ที่ผิวหนังกระต่ายบางตัว และมีบางตัวตายลง (IPCS EHC, 1990) ในส่วนของการศึกษาในผิวหนังมนุษย์ในช่วงทาสีที่ใช้สารไตรบิวทิลทินออกไซด์เป็นองค์ประกอบ พบว่ามีอาการผื่นแดงและมีตุ่มพองบริเวณผิวหนังที่มีการสัมผัสหลังจากเวลาผ่านไป 8-10 ชั่วโมง

การได้รับทางการหายใจ (respiratory sensitisation) พบว่าจากกลุ่มคนงานที่ใกล้ชิดการใช้สารประกอบบิวทิลทินในรูปของสารไตรบิวทิลทินออกไซด์ (TBTO) มีอาการระคายเคืองต่อระบบทางเดินหายใจและตา รู้สึกรีดร้อน รู้สึกได้รับบาดเจ็บบริเวณช่องท้องส่วนล่าง ปวดศีรษะ หนาวสั่น อ่อนเพลีย และเป็นผลที่เนื้อเยื่อปอดอักเสบ เป็นต้น

ความเป็นพิษต่อเซลล์สืบพันธุ์ (mutagenic) การศึกษาผลจากการใช้สารไตรบิวทิลทินทำให้เกิดการกลายพันธุ์ National Institute for Occupational Safety and Health (NIOSH) ได้รายงานเกี่ยวกับปริมาณสารที่ให้แก๊สตัวทดลองชนิดต่าง ๆ และผลกระทบที่เกิดขึ้น ดังตารางที่ 2-4 การเป็นสารก่อมะเร็ง (carcinogenicity) จากการศึกษาสารประกอบบิวทิลทินที่ก่อให้เกิดมะเร็งในหนูทดลอง พบว่ามีเนื้องอกในต่อมไธมัสหลังจากได้รับสารประกอบบิวทิลทินในรูปของสารไตรบิวทิลทินออกไซด์ในปริมาณที่สูงและยาวนาน จากการศึกษาของ National Institute for Occupational Safety and Health (NIOSH) โดยมีผลชี้ชัดเกี่ยวกับการเกิดเนื้องอกในสิ่งมีชีวิต ดังตารางที่ 2-5

ตารางที่ 2-4 ข้อมูลการเป็นสารก่อการกลายพันธุ์ของเซลล์สืบพันธุ์

ผลกระทบที่เกิดขึ้น	สัตว์ทดลอง	ปริมาณที่ได้รับ (Dose)
การเกิดการกลายพันธุ์และการพัฒนาของเซลล์สืบพันธุ์	ตัวอ่อนของ hamster	5 มิลลิกรัม/ลิตร
ทำลาย DNA	<i>Bacillus subtilis</i>	100 มิลลิกรัม/จานเลี้ยงเชื้อ
ทำลาย DNA (เซลล์มนุษย์)	Human other cell types	0.3 มิลลิโมล/ ลิตร
ยับยั้ง DNA	Other microorganisms	56,200 ppb
การกลายพันธุ์ของจุลินทรีย์	<i>Salmonella typhimurium</i>	10 นาโนกรัม/หลอดทดลอง
Micronucleus test	หนูถีบจักร (ทางปาก)	60 มิลลิกรัม/กิโลกรัม

(ที่มา : National Institute for Occupational Safety and Health (NIOSH))

ตารางที่ 2-5 ข้อมูลการเกิดเนื้องอกของสัตว์ทดลอง

สัตว์ทดลอง/การได้รับ	สัตว์ทดลอง	ผลกระทบ
หนูขาว/ปาก	ค่าความเข้มข้นต่ำที่สุดที่ก่อให้เกิดพิษ : 37,100 ไมโครกรัม/กิโลกรัม/2 ปี (ต่อเนื่อง)	ต่อมไร้ท่อ : เกิดเนื้องอก ต่อมไทรอยด์ : เกิดเนื้องอก
หนูขาว/ปาก	ค่าความเข้มข้นต่ำที่สุดที่ก่อให้เกิดพิษ : 36,500 ไมโครกรัม/กิโลกรัม/2 ปี (ต่อเนื่อง)	ต่อมไร้ท่อ : เกิดเนื้องอก

(ที่มา : National Institute for Occupational Safety and Health (NIOSH))

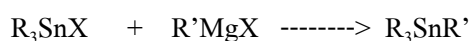
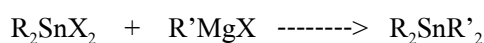
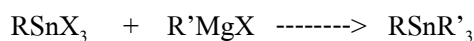
นอกจากนี้ องค์การอนามัยโลก (World Health Organization; WHO) มีการกำหนดปริมาณการได้รับสารประกอบบิวทิลทินเข้าสู่ร่างกายมนุษย์ โดยเฉลี่ยแล้วมนุษย์สามารถรับสารประกอบบิวทิลทินได้ 0.25 ไมโครกรัม จึงอยู่ในปริมาณที่สามารถกำจัดออกจากร่างกายได้หมดโดยไม่เหลือตกค้างภายในร่างกาย (IPCS, 1990) ส่วนเกณฑ์กำหนดมาตรฐานการปนเปื้อนในน้ำนั้น มีข้อกำหนดโดย US EPA ดังนี้

- น้ำจืด (fresh water) เกณฑ์ความเป็นพิษเรื้อรังของสารไตรบิวทิลทินเท่ากับ 0.072 ไมโครกรัม/ลิตร และเกณฑ์ความเป็นพิษเฉียบพลันของสารไตรบิวทิลทินเท่ากับ 0.46 ไมโครกรัม/ลิตร

- น้ำทะเล (salt water) เกณฑ์ความเป็นพิษเรื้อรังของสารไตรบิวทิลทินเท่ากับ 0.074 ไมโครกรัม/ลิตร และเกณฑ์ความเป็นพิษเฉียบพลันของสารไตรบิวทิลทินเท่ากับ 0.42 ไมโครกรัม/ลิตร

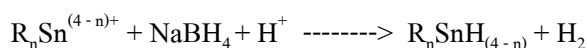
การสร้างอนุพันธ์ของสารประกอบบิวทิลทิน

กรินยาร์ดรีเอเจนต์ (Grignard reagent) เป็นอนุพันธ์ของออร์กาโนแมกนีเซียมที่ก่อให้เกิดนิวคลีโอไฟล์ในการเติมหมู่แอลคิล ปฏิกิริยาของดีบุกอินทรีย์ที่ใช้มีการเติมหมู่เอทิล โพรพิล และเพนทิล กรินยาร์ดรีเอเจนต์มีความไวในการเติมหมู่แอลคิลของดีบุกอินทรีย์ที่เป็น leaving group ที่ดี เช่น คลอไรด์ ไฮดรอกไซด์ และอะซิเตต แล้วหมู่แอลคิลที่เป็นแอนไอออนของกรินยาร์ดรีเอเจนต์เกิดปฏิกิริยากับอิลเล็กโตรไฟล์ R_nSn^+ ดังสมการ (ทินกร เตียนสิงห์, 2540)



เมื่อ R คือ หมู่แอลคิล และ X คือ คลอไรด์ ไฮดรอกไซด์ หรือ อะซิเตต

Hydride generation เป็นปฏิกิริยาที่ทำให้เกิดอนุพันธ์ของสารประกอบบิวทิลทิน เพื่อให้อนุพันธ์ที่เกิดขึ้นมานั้นสามารถระเหยได้ง่ายขึ้น และใช้ในการวิเคราะห์ด้วยวิธีการ gas chromatography โดยใช้โซเดียมโบโรไฮไดรด์ (sodium borohydride; $NaBH_4$) เพื่อให้เกิดปฏิกิริยาดังสมการ



เมื่อ R คือ หมู่บิวทิล และ n คือ จำนวนของหมู่บิวทิล

ในการทำปฏิกิริยา Hydride generation นั้นจะต้องมีการปรับค่า pH ให้เหมาะสมในแต่ละการสกัดทุกครั้ง เพื่อให้ได้สารสกัดที่มีประสิทธิภาพมากที่สุด เนื่องจากค่า pH มีผลต่อการเกิดปฏิกิริยา โดยทั่วไปการใช้ $NaBH_4$ จะทำให้ไฮโดรเจนระเหยออกไปได้ง่าย จึงต้องทำการละลาย $NaBH_4$ ในสารละลาย NaOH เพื่อป้องกันการระเหยของไฮโดรเจนก่อนที่จะทำปฏิกิริยา Hydride generation กับสารประกอบบิวทิลทิน นอกจากนี้แล้วการทำปฏิกิริยา Hydride generation จะต้องคำนึงถึงการปนเปื้อนโลหะหนักในตัวอย่างที่จะทำการวิเคราะห์ด้วย เพราะโลหะหนักจะเข้าไปรบกวนการเกิดปฏิกิริยา

การย่อยสลายสารประกอบบิวทิลทิน

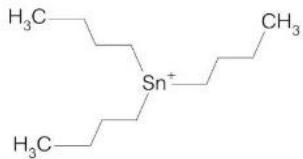
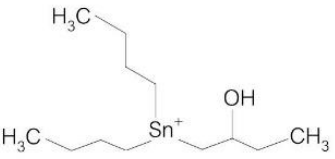
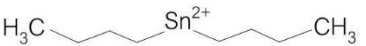
สารประกอบบิวทิลทินสามารถย่อยสลายได้ทั้งการย่อยสลายทางกายภาพ เช่น hydrolysis, photodegradation, volatilisation และ increasing temperature และการย่อยสลายทางชีวภาพโดยกระบวนการเมตาบอลิซึม การใช้แบคทีเรียและสาหร่าย โดยการย่อยสลายทั้งทางกายภาพและชีวภาพจะช่วยลดความเป็นพิษของสารประกอบบิวทิลทิน การย่อยสลายเริ่มจากไตรบิวทิลทินเกิดกระบวนการ debutylation ทำลายพันธะโควาเลนต์ที่เชื่อมหมู่บิวทิล ($n\text{-C}_4\text{H}_9$) ทำให้หมู่บิวทิลหลุดออกไปทีละ 1 หมู่ กลายเป็นไดบิวทิลทิน โมโนบิวทิลทิน และ inorganic Tn (Sn^+) ตามลำดับ ดังตารางที่ 2-6 การสลายตัวของสารประกอบบิวทิลทินในสิ่งแวดล้อมทั่วไปอาจใช้เวลานานมากตั้งแต่ 6 สัปดาห์ จนถึง 5 เดือน และการสลายตัวของสารประกอบบิวทิลทินจะช้าลงอีกถ้าสะสมอยู่ในชั้นดินตะกอน (Ladislao, 2008) ทำให้สารประกอบบิวทิลทินถูกปล่อยออกสู่สิ่งแวดล้อมภายนอกได้อีกครั้ง และส่งผลกระทบต่อสิ่งมีชีวิตที่อาศัยอยู่ในบริเวณนั้นได้ นอกจากนี้สารประกอบบิวทิลทินจะเข้าสู่สายใยอาหาร (food web) ซึ่งจะส่งผลกระทบต่อมนุษย์ที่เป็นผู้บริโภคอันดับสุดท้ายต่อไป

การปนเปื้อนสารประกอบบิวทิลทินตามแนวชายฝั่ง

การปนเปื้อนสารประกอบบิวทิลทินจะพบมากตามแนวชายฝั่ง โดยเฉพาะบริเวณท่าเทียบเรือ อู่ต่อเรือ และแหล่งเพาะเลี้ยง มีการรายงานจากทั่วโลกในเรื่องการปนเปื้อนสารประกอบบิวทิลทินทั้งในสิ่งแวดล้อมและสิ่งมีชีวิต ได้แก่ การสำรวจการแพร่กระจายและการปนเปื้อนสารประกอบบิวทิลทินในภูมิภาคเอเชียตะวันออกเฉียงใต้ เช่น การปนเปื้อนสารประกอบบิวทิลทินในบริเวณชายฝั่งประเทศไทย Kan-atireklap et al. (1997) ได้ตรวจวัดสารประกอบบิวทิลทินในหอยแมลงภู่ชนิด *P. viridis* พบปริมาณสารประกอบบิวทิลทินตามลำดับดังนี้ ไตรบิวทิลทิน > ไดบิวทิลทิน > โมโนบิวทิลทิน โดยตรวจพบได้มากในบริเวณที่มีการสัญจรทางน้ำ แหล่งเพาะเลี้ยงตามแนวชายฝั่ง และอู่ต่อเรือ ส่วนการตรวจวัดการปนเปื้อนสารประกอบบิวทิลทินในดินตะกอนพบว่าบริเวณปากแม่น้ำเจ้าพระยาตรวจพบสารประกอบบิวทิลทินสูงถึง 6,500 ng/g dry wt. รองลงมาคือบริเวณอ่าวมะขาม จังหวัดภูเก็ต 6,210 ng/g dry wt. และปากน้ำชุมพร จังหวัดชุมพร 4010 ng/g dry wt. ตามลำดับ เนื่องจากบริเวณดังกล่าวเป็นแหล่งเพาะเลี้ยงสัตว์น้ำชายฝั่งและเป็นเส้นทางเดินเรือที่สำคัญ โดยเฉพาะปากแม่น้ำเจ้าพระยาซึ่งเป็นเส้นทางขนส่งทางน้ำที่สำคัญ สัดส่วนของไตรบิวทิลทินคิดเป็นร้อยละ 52 ไดบิวทิลทินร้อยละ 21 และ โมโนบิวทิลทินร้อยละ 27 สำหรับประเทศอื่น ๆ ในภูมิภาคเอเชียตะวันออกเฉียงใต้ เช่น ประเทศมาเลเซียได้มีการสำรวจการปนเปื้อนของสารประกอบบิวทิลทิน โดย Sudaryanto, Takahashi, Iwata, Tanabe, and Ismail (2004) ศึกษาตรวจวัดปริมาณสารประกอบบิวทิลทินในดินตะกอน น้ำ และสิ่งมีชีวิตต่าง ๆ

ระหว่างปี ค.ศ. 1997-1998 พบว่าในสิ่งมีชีวิตต่าง ๆ สามารถตรวจวัดไตรบิวทิลทินได้มากที่สุด รองลงมาคือ โมโนบิวทิลทิน และไดบิวทิลทิน ตามลำดับ นอกจากนี้ในหอยจะพบปริมาณของ สารประกอบบิวทิลทินมากกว่าในปลา เนื่องจากปลามีกระบวนการเมตาบอลิซึมสูงกว่าหอย แต่พบว่าในหอยและปลามีแนวโน้มไปในทิศทางเดียวกันคือ ตรวจวัดปริมาณของสารประกอบ บิวทิลทินได้มากในบริเวณที่เป็นเส้นทางเดินเรือ ท่าเรือ อู่ต่อเรือ และแหล่งเพาะเลี้ยงชายฝั่ง Arai, Harino, and Ohji (2008) ได้สำรวจการปนเปื้อนสารประกอบบิวทิลทินในหอยสองฝาชนิด *Meretrix* ssp. และดินตะกอนรอบชายฝั่งของประเทศเวียดนาม พบว่าการปนเปื้อนอยู่ในระดับ เดียวกับปริมาณที่พบทั่วโลก โดยในหอยสองฝาชนิด *Meretrix* ssp. ตรวจพบระดับโมโนบิวทิลทิน 0.1-44 ng/g wet wt. ไดบิวทิลทิน 0.3-10 ng/g wet wt. และไตรบิวทิลทิน 0.4-56 ng/g wet wt. ผลรวมของสารประกอบบิวทิลทินที่พบอยู่ระหว่าง 2.1-63 ng/g wet wt. โดยสถานีที่เป็นท่าเรือจะ พบระดับการปนเปื้อนมากกว่าสถานีอื่น ๆ และการปนเปื้อนในดินตะกอนจะพบปริมาณของไตร บิวทิลทินมากกว่าไดบิวทิลทินและโมโนบิวทิลทิน นอกจากนี้ Sudaryanto et al. (2002) ได้ ตรวจสอบระดับการปนเปื้อนสารประกอบบิวทิลทินในหอยแมลงภู่ชนิด *P. viridis* ที่เกาะสุมาตรา และเกาะชวา พบปริมาณการปนเปื้อนสารประกอบบิวทิลทินอยู่ระหว่าง 3.7-62 ng/g wet wt. โดย ปริมาณของไตรบิวทิลทินจะมากกว่าไดบิวทิลทินและโมโนบิวทิลทินตามลำดับ

ตารางที่ 2-6 ลำดับการย่อยสลายสารประกอบบิวทิลทิน (ดัดแปลงจาก Ladislao, 2008)

Compound	Chemical Structure	Enzyme	Formula	Molecular weight
Tributyltin (TBT)			$C_{12}H_{27}Sn^+$	290.06
β - hydroxybutyl- dibutyltin		TBT dioxygenase	$C_{12}H_{27}OSn^+$	306.06
Dibutyltin (DBT)	 (+ Methyl ethyl ketone)		$C_8H_{18}Sn^{2+}$	232.94

β -hydroxybutyl- butyltin		DBT dioxygenase	$C_8H_{18}OSn^{2+}$	248.94
Monobutyltin (MBT)		(+ Methyl ethyl ketone)	$C_4H_9Sn^{3+}$	175.83
β -hydroxybutyl		MBT dioxygenase	$C_4H_{12}Sn^{3+}$	194.85
	Sn (+ Methyl ethyl ketone)		Sn^{4+}	118.71

นอกจากนี้แล้วยังมีการตรวจวัดการปนเปื้อนสารประกอบบิวทิลทินในบริเวณต่าง ๆ ทั่วโลก เช่น Shim et al. (2005) ได้ศึกษาปริมาณสารประกอบบิวทิลทินในเนื้อเยื่อหอยนางรมชนิด *C. gigas* หอยแมลงภู่ชนิด *Mytilus coruscus* และ *M. edulis* บริเวณชายฝั่งของประเทศเกาหลี ระหว่างปี ค.ศ. 1995-2001 พบว่าสถานที่ที่อยู่ใกล้กับท่าเรือและอุตสาหกรรมจะตรวจพบการสะสมของสารประกอบบิวทิลทินในเนื้อเยื่อหอยมากที่สุดถึง 6,020 ng Sn/g โดยที่ปริมาณไตรบิวทิลทินจะพบมากที่สุดถึง 2,800 ng Sn/g รองลงมาคือ ไดบิวทิลทิน 1,950 ng Sn/g และ โมโนบิวทิลทิน 1,270 ng Sn/g ตามลำดับ ที่ประเทศอังกฤษก็มีการศึกษาวิจัยที่พบการปนเปื้อน โดย Harino et al. (2005) ได้ศึกษาปริมาณสารประกอบบิวทิลทินในเนื้อเยื่ออวัยวะของหอยแมลงภู่ชนิด *M. edulis* และหอยกาบอ่อนชนิด *Mya arenaria* บริเวณปากแม่น้ำเมอร์ซี (Mersey) พบว่าบริเวณต่อมย่อยอาหาร (digestive gland) ตรวจพบปริมาณสารประกอบบิวทิลทินสูงสุด และพบการสะสมสารประกอบบิวทิลทินต่ำสุดที่บริเวณกล้ามเนื้อยึดเปลือก (adductor muscle) นอกจากนี้แล้วยังพบว่าปริมาณสารประกอบบิวทิลทินและไตรบิวทิลทินในหอยกาบอ่อนสูงกว่าในหอยแมลงภู่ เนื่องจากหอยกาบอ่อนอาศัยอยู่ในโคลน Alzieu et al. (1989) ได้ศึกษาเกี่ยวกับการเฝ้าระวังสารประกอบบิวทิลทินบริเวณชายฝั่งของประเทศฝรั่งเศสในช่วงปี ค.ศ. 1986-1987 โดยตรวจวัดจากเนื้อเยื่อหอยนางรมที่ได้จากการเพาะเลี้ยง พบว่าแหล่งเพาะเลี้ยงที่อยู่ใกล้ท่าเรือมีการตรวจพบไตรบิวทิลทิน 2-1,500 ng/l ไดบิวทิลทิน 1-194 ng/l และ โมโนบิวทิลทิน 1-200 ng/l นอกจากนี้ Berto et al. (2007) ได้ศึกษาปริมาณไตรบิวทิลทินและไดบิวทิลทินในแหล่งน้ำ ดินตะกอน และในหอยฝาเดียวชนิด *Nassarius nitidus* จากบริเวณ Southern Venice lagoon ประเทศอิตาลี มีการตรวจพบไตรบิวทิลทินในน้ำ บริเวณปากทะเลสาบ 273-572 ng Sn/l ท่าเทียบเรือทั่วไป 237-586 ng Sn/l และท่าเทียบเรือออร์ซ 10-24 ng Sn/l ส่วนไดบิวทิลทินในน้ำบริเวณปากทะเลสาบ 16-95 ng Sn/l ท่าเทียบเรือทั่วไป 5-139 ng Sn/l และท่าเทียบเรือออร์ซ 75-139 ng Sn/l การตรวจวัดดินตะกอนบริเวณท่าเทียบเรือออร์ซพบ

ไตรบิวทิลทิน 39,300 ng Sn/g และทำเทียบเรือทั่วไป 2,747 ng Sn/g ส่วนดินตะกอนบริเวณท่าเทียบเรือออร์ซพบไดบิวทิลทิน 12,623 ng Sn/g และทำเทียบเรือทั่วไป 44 ng Sn/g โดยเป็นไปตามหลักการของแหล่งสะสมสารประกอบบิวทิลทิน ส่วนในหอยฝาเดียวชนิด *N. nitidus* ตรวจพบไตรบิวทิลทิน 4-976 ng Sn/g และไดบิวทิลทิน 4-1,428 ng Sn/g

เมื่อสารประกอบบิวทิลทินมีการปนเปื้อนในสิ่งแวดล้อมก็เป็นเรื่องยากที่จะทำให้สารประกอบบิวทิลทินย่อยสลายได้หมดไปในเวลาอันสั้น เนื่องจากสารประกอบบิวทิลทินจัดเป็นสารกลุ่ม persistent organic pollutants (POPs) ซึ่งสามารถปนเปื้อนอยู่ในสิ่งแวดล้อมได้ยาวนาน จึงมีงานวิจัยจำนวนมากที่ศึกษาการย่อยสลายสารประกอบบิวทิลทินจากบริเวณต่าง ๆ ทั่วโลก เช่น Voulvoulis et al. (2000) ได้ศึกษาการย่อยสลายไตรบิวทิลทินในดินตะกอนที่บริเวณปากแม่น้ำ Deben, Tollesbury Marina และ Blackwater ในประเทศอังกฤษ พบว่าในดินตะกอนที่ไม่มีออกซิเจนจะไม่มีแบคทีเรียที่ช่วยในการย่อยสลายไตรบิวทิลทิน จึงทำให้เกิดการสะสมอยู่ได้เป็นเวลานานกว่าบริเวณผิวน้ำดิน นอกจากนี้ได้ทำการทดลองในชุดควบคุมที่มีดินตะกอนที่ผ่านการฆ่าเชื้อแล้ว เมื่อเวลาผ่านไป 360 วัน พบว่าปริมาณไตรบิวทิลทินที่ตรวจพบไม่ลดลง แสดงว่าแบคทีเรียมีส่วนช่วยในการย่อยสลายสารประกอบบิวทิลทิน แต่ถ้าไตรบิวทิลทินมีปริมาณมากจนเกินไปจะทำให้กลไกการย่อยสลายด้วยแบคทีเรียเกิดได้ช้า เนื่องจากความเป็นพิษของไตรบิวทิลทิน ในประเทศไทยก็มีการศึกษาด้วยเช่นกัน มณฑกานต์ วิสุทธิแพทย์ (2004) ได้ศึกษาการเปลี่ยนแปลงสภาพของสารประกอบบิวทิลทินในน้ำและดินตะกอน เมื่อผ่านไป 77 วัน พบว่าในดินตะกอนชั้นล่างตรวจพบสารประกอบบิวทิลทินมากกว่าดินตะกอนชั้นบน นอกจากนี้ยังตรวจพบปริมาณสารประกอบบิวทิลทินในดินตะกอนมากกว่าในน้ำ และมีแนวโน้มว่าสารประกอบบิวทิลทินจะสะสมมากขึ้นในดินตะกอนชั้นล่างอย่างต่อเนื่อง การศึกษาของ De Mora, Stewart and Philips (1995) ในดินตะกอนบริเวณใกล้ท่าเรือในเมือง Auckland ประเทศนิวซีแลนด์ เกี่ยวกับการย่อยสลายของสารประกอบบิวทิลทินในดิน พบว่าสารประกอบบิวทิลทินมีอัตราการสลายตัวช้ามากเมื่อเทียบกับการสลายตัวในมวลน้ำ ทำให้สารประกอบบิวทิลทินที่อยู่ในดินตะกอนสามารถฟุ้งกระจายขึ้นมาอยู่ในมวลน้ำได้ตลอดเวลา จากการศึกษาที่กล่าวมาข้างต้นจะเห็นได้ว่าบริเวณท่าเรืออู่ต่อเรือ และเส้นทางเดินเรือ จะมีการปนเปื้อนของสารประกอบบิวทิลทินมากกว่าบริเวณอื่น ๆ นอกจากนี้ การปนเปื้อนในดินตะกอนยังเป็นสาเหตุหลักของการปนเปื้อนสารประกอบบิวทิลทินต่อไปในอนาคต

กลไกการเกิดพิษของสารประกอบบิวทิลทิน

สารประกอบบิวทิลทินมีคุณสมบัติละลายน้ำได้น้อยแต่สามารถละลายในไขมันได้มาก ทำให้สามารถสะสมในเซลล์และเนื้อเยื่อของสิ่งมีชีวิตได้ สามารถพบการสะสมในเซลล์ทั่วไปของ สิ่งมีชีวิต แต่พบมากอย่างยิ่งในตับและไต สารประกอบบิวทิลทินทำหน้าที่เป็นสารตั้งต้นทำงาน ร่วมกับเอมไซม์ออกซิเดส โดยเอมไซม์เหล่านี้จะหยุดการทำงานเมื่อได้รับปริมาณสารประกอบ บิวทิลทินมากขึ้น การสลายตัวของสารประกอบบิวทิลทินในสิ่งมีชีวิตนั้นจะแตกต่างกันไปในแต่ละ ชนิดของสิ่งมีชีวิต จากการศึกษาการประเมินค่าครึ่งชีวิต (half - life) ในหอยสองฝาคือ 1.12 ปี Chen, Chen, Ju, and Dong (2016) กลไกการกำจัดสารประกอบบิวทิลทินในสิ่งมีชีวิตจะสามารถ กำจัดออกไปได้โดยการเปลี่ยนรูปให้สามารถละลายในน้ำได้ก่อนจึงจะช่วยลดความเป็นพิษลงได้ โดยอาศัยกระบวนการเมตาบอลิซึม สำหรับเมตาบอลิซึมของไตรบิวทิลทินเป็นไตรบิวทิลทิน โมโน บิวทิลทิน และธาตุดีบุก ตามลำดับ โดยโมโนบิวทิลทินและดีบุกจะถูกกำจัดออกไปได้ง่ายเนื่องจาก ละลายน้ำได้ดีกว่าอนุพันธ์ข้างต้น

การใช้สารประกอบบิวทิลทินในประเทศไทย

สำหรับประเทศไทยยังไม่มีข้อกำหนดที่ชัดเจนในการใช้สารประกอบบิวทิลทิน ภายในประเทศ แต่จากการสำรวจของกรมควบคุมมลพิษพบว่าโดยส่วนใหญ่แล้วจะมีการใช้ สารประกอบบิวทิลทินในรูปแบบสีกันเพรียง ซึ่งชนิดของสีกันเพรียงที่ใช้ในระบบ self-polishing copolymer (SPC) เป็นระบบสีที่สารฆ่าสิ่งมีชีวิตหรือกันเพรียงส่วนใหญ่ คือ คิวปรัสออกไซด์และ สารประกอบบิวทิลทิน ดังตารางที่ 2-7 โดยส่วนมากแล้วเรือประมง เรือยอร์ช และเรือสปีดโบ๊ทจะมีการ ใช้สีกันเพรียง โดยพบได้ทั้งสองฝั่งทะเลของประเทศไทย บริเวณอ่าวไทยมีปริมาณการใช้สีกัน เพรียง 7,656.18 แกลลอน/ปี ในขณะที่ฝั่งอันดามันมีการใช้สีกันเพรียง 22,173.74 แกลลอน/ปี (กรม ควบคุมมลพิษ, 2549)

ตารางที่ 2-7 ชนิดของสีกันเพรียงที่ใช้ในประเทศไทย (ดัดแปลงจาก กรมควบคุมมลพิษ, 2549)

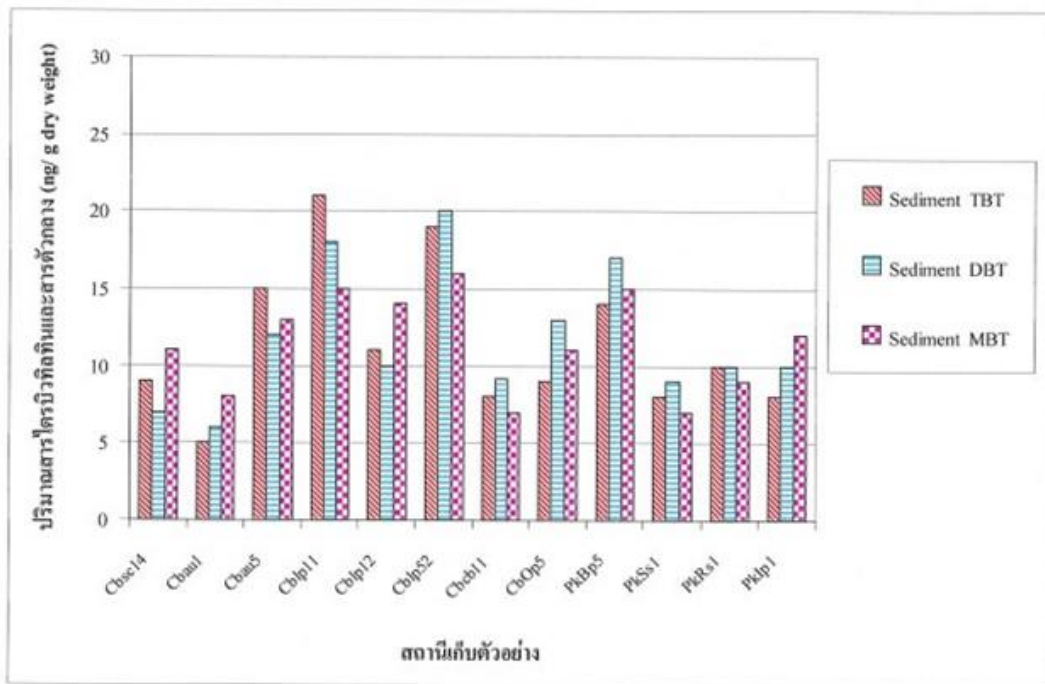
Generic type	Binder	Biocide package	Dry-dock interval
Conventional	Rosin	Cu ₂ O	9-12 years
Long Life A/F	Rosin/vinyl, Rosin/CR	Cu ₂ O	1-2 years
	Rosin/vinyl, Rosin/CR	Cu ₂ O/TBTO	3-5 years
Self-polishing	TBT-copolymer Low-built	Cu ₂ O/TBTO	3-5 years

	TBT-copolymer High-built	Cu ₂ O/TBTO	3-7 years
	TBT-copolymer Low tin	Cu ₂ O/TBTO	3-5 years
	Copolymer	Cu ₂ O/Org. Biocides	3-5 years
Ablative	Copolymer	Cu ₂ O/TBTO, Biocides	3-5 years

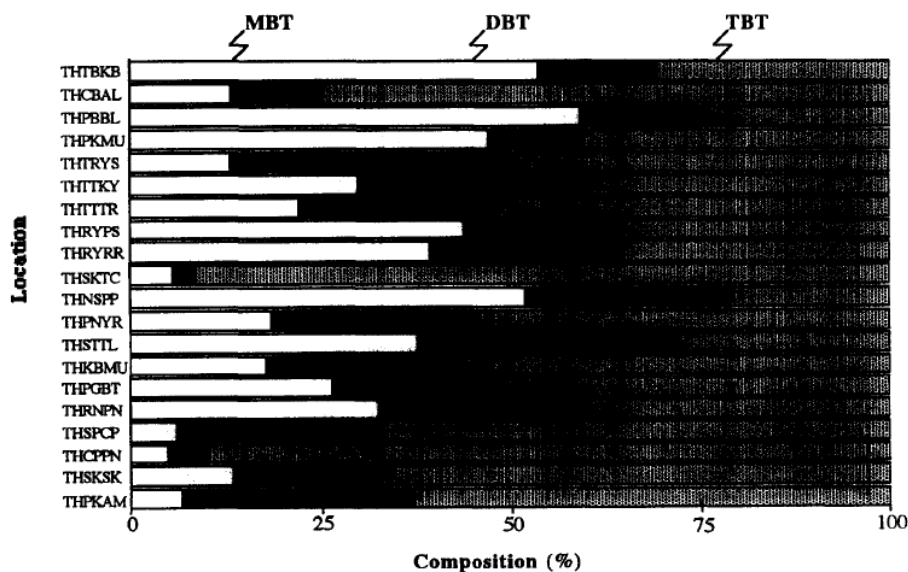
ในประเทศไทยนั้นไม่มีการผลิตสารประกอบบิวทิลทินเพื่อใช้ในเชิงพาณิชย์ แต่จะเป็นการนำเข้ามาในรูปแบบของสารเคมี (อนุพันธ์ของสารไตรบิวทิลทิน) หรือผลิตภัณฑ์ที่มีสารไตรบิวทิลทินเป็นองค์ประกอบจากต่างประเทศ ได้แก่ METATIN[®] 70-40 ซึ่งในเวลาต่อมากรมควบคุมมลพิษจึงได้มีแนวทางที่จะให้สารประกอบบิวทิลทินเป็นวัตถุอันตรายประเภทที่ 3 (วัตถุอันตรายที่การผลิต การนำเข้า การส่งออก หรือการมีไว้ในครอบครองต้องได้รับใบอนุญาต) และโดยส่วนใหญ่แล้วในประเทศไทยจะมีการใช้สารประกอบบิวทิลทินในรูปแบบของไตรบิวทิลทินฟลูออไรด์ (tributyltin fluoride) และไตรบิวทิลทินออกไซด์ (tributyltin oxide)

การปนเปื้อนสารประกอบบิวทิลทินในประเทศไทย

ในระหว่างปี พ.ศ. 2546-2548 สำนักจัดการสิ่งแวดล้อม กรมควบคุมมลพิษ ได้ติดตามตรวจสอบการปนเปื้อนของสารประกอบบิวทิลทินในสิ่งแวดล้อมและสิ่งมีชีวิตบริเวณชายฝั่งของประเทศไทย โดยตรวจสอบน้ำทะเล ดินตะกอน และหอย พบการปนเปื้อนในน้ำทะเลสูงที่สุดบริเวณแหลมฉบัง จังหวัดชลบุรี บริเวณท่าเทียบเรือ บริษัท ภูเก็ต โป๊ท ลากูน จำกัด จังหวัดภูเก็ต ซึ่งบริเวณดังกล่าวมีกิจกรรมทางเรือและเป็นเส้นทางเดินเรือที่สำคัญ ส่วนการปนเปื้อนในดินตะกอนจะพบการปนเปื้อนน้อยกว่าในน้ำทะเล ทำให้ทราบว่าแหล่งที่มาของสารประกอบบิวทิลทินนั้นอาจมาจากดินตะกอนเป็นส่วนใหญ่ เนื่องจากสารประกอบบิวทิลทินในแหล่งน้ำจะมีการหมุนเวียนเป็นวงจรทั้ง sedimentation, accumulation และ resuspension ซึ่งส่งผลกระทบต่อสิ่งมีชีวิต โดยเฉพาะสิ่งมีชีวิตแบบกรองกิน (filter feeding) นอกจากนี้ยังพบการปนเปื้อนในหอยหวานจากบริเวณเกาะสีชังสูงถึง 97 ng/g dry wt. แต่ไม่พบการเปลี่ยนแปลง อาจมาจากความทนทานของหอยหวานชนิดนั้น ๆ และจากการวิจัยนี้ทำให้ทราบปริมาณที่ปนเปื้อนในสิ่งแวดล้อมและสิ่งมีชีวิตบริเวณชายฝั่งของประเทศไทย โดยในดินตะกอนจะพบการปนเปื้อนสารประกอบบิวทิลทินอยู่ระหว่าง 42-103 ng/g dry wt. (กรมควบคุมมลพิษ, 2549) ดังภาพที่ 2-6



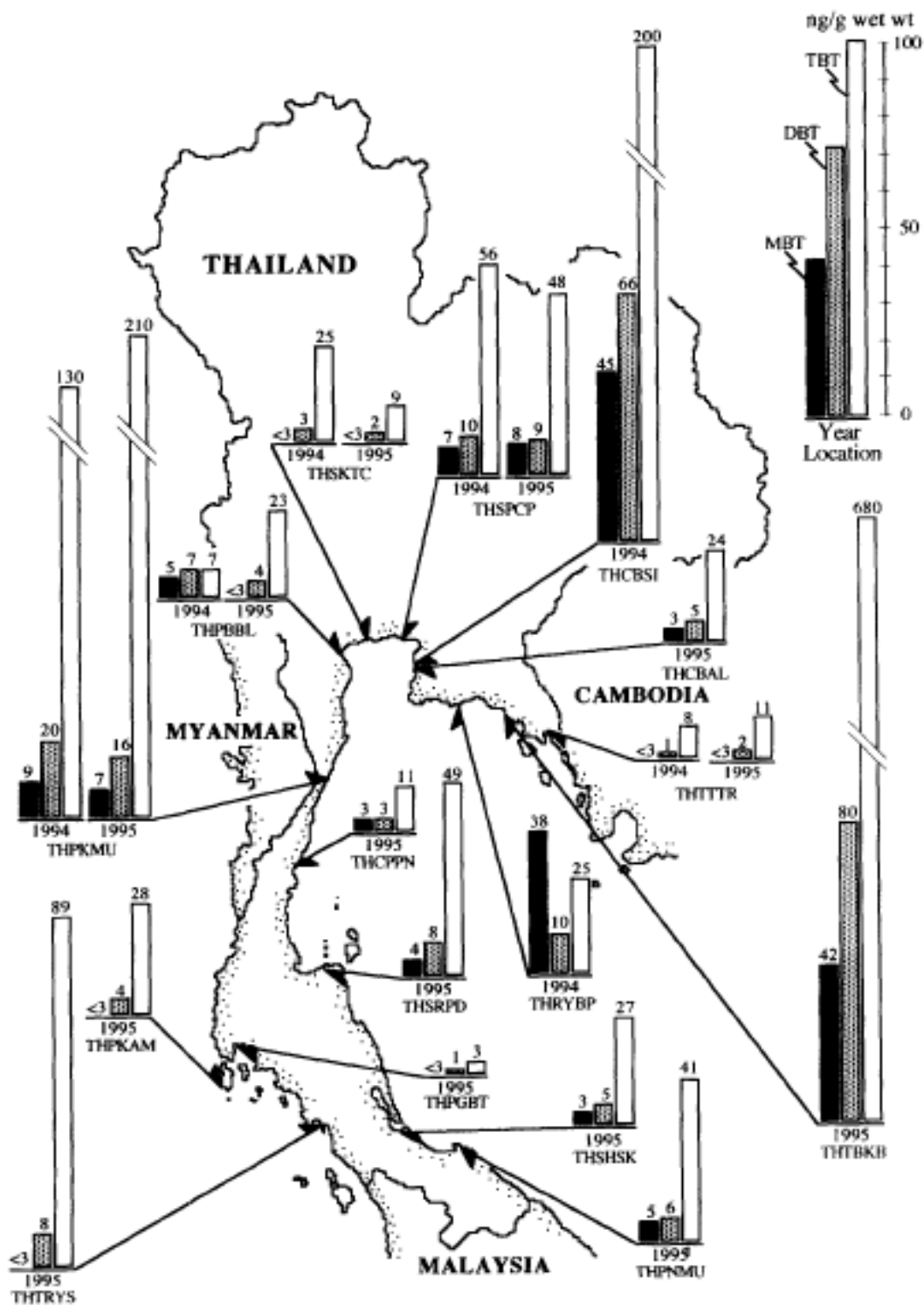
(ก)



(ข)

ภาพที่ 2-6 ปริมาณสารประกอบบิวทิลทินที่ปนเปื้อนในดินตะกอนบริเวณชายฝั่งประเทศไทย
 (ก) ปริมาณการปนเปื้อนในจังหวัดชลบุรีและจังหวัดภูเก็ตในปี พ.ศ. 2548 (กรมควบคุมมลพิษ, 2549) (ข) สัดส่วนปริมาณการปนเปื้อนในดินตะกอนตามแนวชายฝั่งประเทศไทยในปี พ.ศ. 2537 (Kan-atireklap et al., 1997)

นอกจากนี้แล้วการสำรวจการปนเปื้อนสารประกอบบิวทิลทินในหอยแมลงภู่นิคม *P. viridis* ในปี พ.ศ. 2537 พบการปนเปื้อนของสารประกอบบิวทิลทิน 4-800 ng/g wet wt. และพบสัดส่วนของไตรบิวทิลทินมากที่สุด 3-680 ng/g รองลงมาคือ ไดบิวทิลทิน 1-80 ng/g และ โมโนบิวทิลทิน <3-45 ng/g บริเวณที่มีกิจกรรมทางเรือ ท่าเทียบเรือ และแหล่งเพาะเลี้ยงชายฝั่ง จะตรวจพบการปนเปื้อนได้มากกว่าบริเวณอื่น ๆ โดยบริเวณอ่าวไทยทั้งหมดตรวจพบการปนเปื้อนทุกสถานี โดยเฉพาะที่อ่าวคุ้งกระเบน จังหวัดจันทบุรี พบไตรบิวทิลทินสูงที่สุดถึง 680 ng/g และผลรวมของสารประกอบบิวทิลทินเท่ากับ 802 ng/g รองลงมาคือ เกาะสีชัง จังหวัดชลบุรี พบไตรบิวทิลทิน 200 ng/g และผลรวมของสารประกอบบิวทิลทินเท่ากับ 311 ng/g บริเวณอ่าวประจวบ จังหวัดประจวบคีรีขันธ์ พบไตรบิวทิลทิน 210 ng/g และผลรวมของสารประกอบบิวทิลทิน 233 ng/g ส่วนฝั่งอันดามันก็พบการปนเปื้อนทุกสถานีด้วยเช่นกัน โดยเฉพาะที่กันตัง จังหวัดตรัง พบไตรบิวทิลทินสูงที่สุดถึง 89 ng/g และผลรวมของสารประกอบบิวทิลทินเท่ากับ 102 ng/g รองลงมาคือ อ่าวมะขาม จังหวัดภูเก็ต พบไตรบิวทิลทิน 28 ng/g และผลรวมของสารประกอบบิวทิลทินเท่ากับ 35 ng/g แต่อ่าวพังงา จังหวัดพังงา กลับพบการปนเปื้อนต่ำที่สุดเท่ากับ 3 ng/g ดังภาพที่

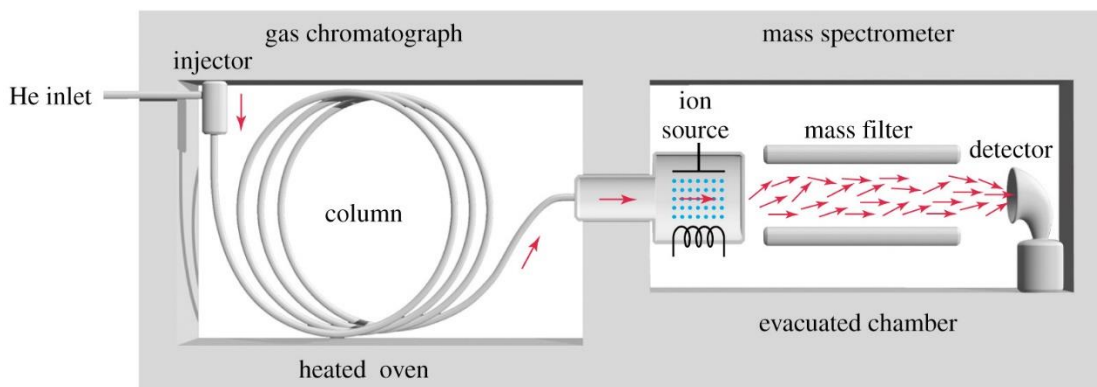


ภาพที่ 2-7 การปนเปื้อนของสารประกอบบิวทิลทินในหอยแมลงภู่นิวต P. viridis บริเวณชายฝั่งประเทศไทยในปี พ.ศ. 2537 (Kan-attireklap et al., 1997)

Gas Chromatography-Mass Spectrometry (GC-MS)

เทคนิคนี้สามารถใช้ได้กับสารประกอบที่สามารถระเหยเป็นแก๊สได้โดยไม่เสีรูปร่างของสารประกอบนั้น ๆ และเป็นเทคนิคที่นิยมใช้กันอย่างแพร่หลาย เนื่องจากมีประสิทธิภาพในการวิเคราะห์เชิงคุณภาพ (qualitative analysis) และเชิงปริมาณ (quantitative analysis) ที่พบอย่างถูกต้องและแม่นยำโดยอาศัยการเปรียบเทียบ fingerprint ของเลขมวล (mass number) ของสารประกอบนั้น ๆ กับฐานข้อมูล ส่วน mass spectrometry เป็นตัวตรวจจับ (detector) ที่ใช้ในการตรวจวัดองค์ประกอบของสารตัวอย่าง โดยอาศัยโมเลกุลที่แยกออกมาจากเครื่อง GC ซึ่งจะถูกละลายในสถานะสุญญากาศแล้วตรวจออกมาเป็นเลขมวล จากนั้นนำไปเทียบกับฐานข้อมูลของสารประกอบนั้น ๆ

หลักการทำงานของ GC-MS คือ การนำสารประกอบที่อยู่ในรูปสารละลายฉีดเข้าไปในเครื่อง GC จากนั้นสารละลายจะถูกทำให้กลายเป็นแก๊ส และไหลเข้าสู่ column ที่อยู่ใน oven จากนั้นองค์ประกอบของสารละลายจะแยกออกมาและผ่านเข้าไปสู่เครื่อง MS ซึ่งมีสถานะเป็นสุญญากาศ เพื่อเข้าไปสัมผัสกับ ion source ซึ่งทำหน้าที่ไอออไนซ์โมเลกุลที่ผ่านเข้ามาให้กลายเป็นประจุ จากนั้นประจุเหล่านี้จะผ่านเครื่องคัดเลือกและแยกขนาดของประจุ (mass analyzer) โดยโมเลกุลที่มีมวลและประจุน้อยกว่าจะเดินทางเข้าสู่ตัวตรวจจับก่อน โมเลกุลที่มีขนาดใหญ่และมีประจุมากกว่า เพื่อตรวจหาชนิดและปริมาณและแสดงผลออกมาในรูปแบบโครมาโตแกรม



ภาพที่ 2-8 Diagram of gas chromatograph mass spectrometry (GC-MS)

ชีววิทยาของหอยแมลงภู

อนุกรมวิธานของหอยแมลงภูชนิด *P. viridis* (Wood, Apte, MacAvoy, & Gardner, 2007)

Domain : Eukaryota

Kingdom : Metazoa

Phylum : Mollusca

Class : Bivalvia

Subclass : Pteriomorphia

Order : Mytiloidea

Superfamily : Mytiloidea

Family : Mytilidae

Genus : *Perna*

Species : *Perna viridis*



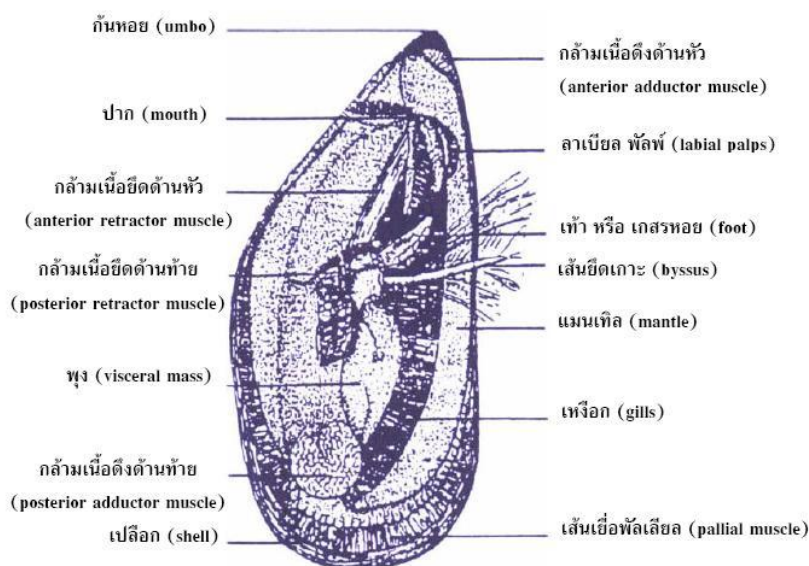
ภาพที่ 2-9 ลักษณะภายนอกของหอยแมลงภูชนิด *P. viridis*

ลักษณะโดยทั่วไป

ลักษณะภายนอกของหอยแมลงภูคือ เป็นหอยสองฝา ซึ่งฝามีขนาดและลักษณะเหมือนกันทั้งสองฝา ประกอบด้วยส่วนสำคัญ 2 ส่วน ส่วนแรกคือ ส่วนของเปลือกซึ่งยาวรีรูปไข่ ด้านหน้าแหลม ท้ายป้าน อัมโบ (umbo) อยู่ปลายหน้าสุด ฝาทั้งสองยึดติดกันด้วยบานพับ ฟันที่บานพับมีขนาดเล็กจำนวน 1-2 ซี่ หรือไม่มีเลย ผิวด้านนอกของเปลือกเรียบ มีสีเขียวเข้มหรือสีน้ำตาลไหม้ ด้านในเป็นสีมุก

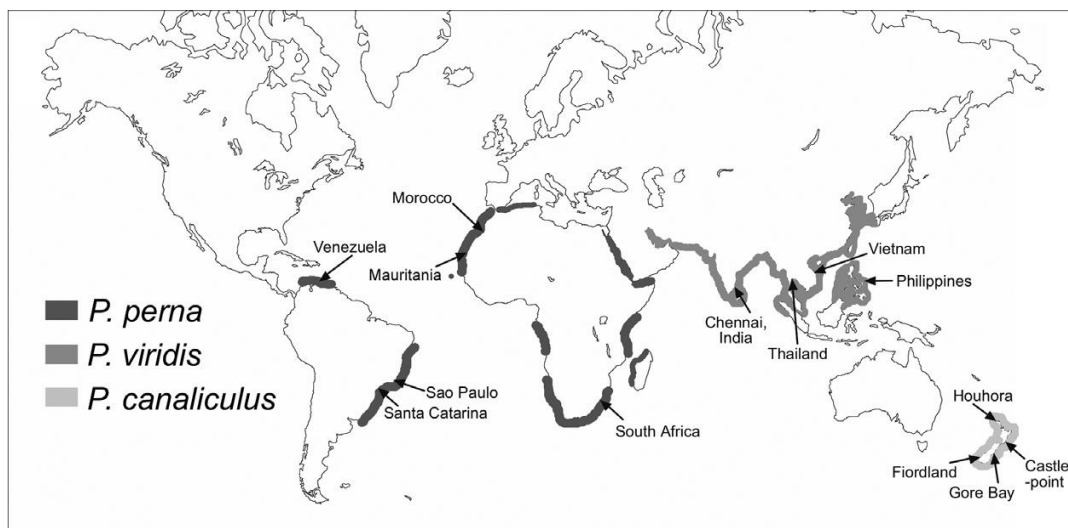
ลักษณะภายในของหอยแมลงภู่มักประกอบด้วยเยื่อหุ้มลำตัว (mantle) ซึ่งอยู่ติดกับฝาทั้งสองข้าง ขอบของแมนเทิลด้านซ้ายและขวาไม่เชื่อมติดกัน หรืออาจเชื่อมเฉพาะจุดที่ตอนท้ายตัว ส่วนพุง (visceral mass) ส่วนของเท้า (foot) มีขนาดเล็กมากเมื่อเทียบกับหอยชนิดอื่น และมีเส้นยึด (byssus) ซึ่งเป็นเส้นใยมีลักษณะเป็นเส้นสีน้ำตาลและเหนียวเกิดจากสารประกอบของควินโนนแทนโปรตีน (quinone tanned protein) อยู่บริเวณฐานของเท้าซึ่งหอยใช้สำหรับยึดเกาะกับเสาไม้ หิน หรือวัสดุอื่น ๆ ที่อยู่ในน้ำ ส่วนหัวเห็นไม่ชัด ไม่มีแผงฟัน (radula) ในช่องปาก เหงือกมีขนาดใหญ่ใช้สำหรับการหายใจและกรองอาหารเป็นแบบ lamellibranch (คเชนทร เฉลิมวัฒน์, 2544) ดังภาพที่ 2-10

หอยแมลงภู่มเป็นที่นิยมบริโภคกันมาก อีกทั้งยังเป็นสัตว์เศรษฐกิจในหลายประเทศ การแพร่กระจายของหอยแมลงภู่มักโดยส่วนใหญ่พบได้ทั่วโลกในบริเวณเขตร้อน (tropic) เช่น ประเทศไทย ฟิลิปปินส์ สิงคโปร์ มาเลเซีย อินโดนีเซีย สาธารณรัฐประชาชนจีน อินเดีย และบางส่วนของแอฟริกาใต้ (กรมประมง, 2536) ซึ่งหอยแมลงภู่มักสกุล *Perna* ที่พบทั่วโลกมี 3 ชนิดด้วยกัน ได้แก่ *P. viridis* พบในเขตชายฝั่งเอเชียตะวันออกเฉียงใต้ ชายฝั่งประเทศจีน และประเทศอินเดีย *P. canaliculus* พบที่ประเทศนิวซีแลนด์ และ *P. perna* พบในเขตทะเลแดง ชายฝั่งทวีปแอฟริกาใต้ ทะเลเมดิเตอร์เรเนียน ชายฝั่งทวีปอเมริกาใต้ (Wood et al., 2007) ดังภาพที่ 2-11



ภาพที่ 2-10 ลักษณะภายในของหอยแมลงภู่มิชนิด *P. viridis* (คเชนทร เฉลิมวัฒน์, 2544)

หอยแมลงภู่มีคุณค่าทางโภชนาการสูง ประกอบด้วยโปรตีนร้อยละ 18 ไกลโคเจน ร้อยละ 2 ไขมันร้อยละ 0.45 มีวิตามินและแร่ธาตุอื่น ๆ อีกมากมาย



ภาพที่ 2-11 การแพร่กระจายของหอยแมลงภู่มิสกุล *Perna* ทั้ง 3 ชนิด ในบริเวณต่าง ๆ ทั่วโลก

(Wood et al., 2007)

หอยแมลงภูในประเทศไทย

หอยแมลงภูที่อาศัยอยู่ในประเทศไทยพบได้บริเวณเขตน้ำตื้นและระดับน้ำลึก 6-8 เมตร สามารถขยายพันธุ์ได้เกือบตลอดทั้งปี หอยแมลงภูเพศเมียที่สามารถขยายพันธุ์ได้มีขนาดประมาณ 21.3 มิลลิเมตร และหอยเพศผู้ขนาด 23.9 มิลลิเมตร หรือมีอายุตั้งแต่ 2 เดือนขึ้นไป (คเชนทร เกลิมวัฒน์, 2544) แต่ขึ้นอยู่กับสภาพแวดล้อมและความสมบูรณ์ของอาหารบริเวณที่หอยอาศัยอยู่ด้วย ตัวอ่อนของหอยแมลงภูจะดำรงชีวิตแบบแพลงก์ตอนชั่วคราว โดยต้องลอยอยู่ในทะเล และลงเกาะกับวัตถุที่จมน้ำ เช่น ไม้ไผ่ เชือก โป๊ะ ที่ชาวประมงปักล่อไว้ ดังภาพที่ 2-12 ตัวอ่อนของหอยแมลงภูจะเริ่มลงเกาะที่เวลา 17-21 วัน โดยมีขนาด 220-340 ไมโครเมตร เมื่อลูกหอยลงเกาะจะสร้างเส้นใยยึดเกาะเกาะติดกับวัตถุที่จมน้ำ ปัจจุบันหอยแมลงภูที่เพาะเลี้ยงในประเทศไทยสามารถพบได้ทั่วไปบริเวณชายฝั่งของประเทศไทยทั้งหมดทั้งฝั่งอ่าวไทยและอันดามัน เนื่องจากหอยแมลงภูเป็นสัตว์น้ำเศรษฐกิจที่ให้ผลผลิตได้รวดเร็วและมีราคา จึงเป็นที่นิยมเพาะเลี้ยงกันมาก จากการที่หอยแมลงภูชอบอาศัยอยู่ในน้ำและบริโภคอาหารด้วยการกรองแพลงก์ตอนเป็นอาหารเช่นเดียวกับหอยสองฝาชนิดอื่น ๆ (คเชนทร เกลิมวัฒน์, 2544) จึงมีความเหมาะสมที่จะใช้เป็นตัวอย่าง (sample) เพื่อตรวจวัดสภาพแวดล้อมในบริเวณแหล่งนั้น ๆ ได้



(ก)



(ข)

ภาพที่ 2-12 การเพาะเลี้ยงหอยแมลงภู่มูลงภูแบบต่าง ๆ (ก) แบบแพเชือก (ข) แบบปักหลัก

บทที่ 3

วิธีดำเนินการวิจัย

การตรวจวัดสารประกอบบิวทิลทินในเนื้อเยื่อหอยแมลงภู

การศึกษาการสะสมของสารประกอบบิวทิลทินโดยใช้หอยแมลงภูชนิด *Perna viridis* ที่เก็บตัวอย่างจากบริเวณแนวชายฝั่งของประเทศไทย ภายใต้โครงการวิจัยของผู้ช่วยศาสตราจารย์ ดร.สุทิน กิ่งทอง เลขที่คำร้องขอรับใบอนุญาตใช้สัตว์ U1-01862-2558 โดยทำการเก็บตัวอย่างสิ่งมีชีวิตจากฟาร์มเพาะเลี้ยงหอยแมลงภูชนิด *P. viridis* โดยตรง

สถานที่ทำการเก็บตัวอย่าง

การเก็บตัวอย่างหอยแมลงภูชนิด *P. viridis* บริเวณแนวชายฝั่งของประเทศไทยทั้งหมด 11 จังหวัด โดยเลือกจังหวัดตามงานวิจัยในปี พ.ศ. 2537-2538 (Kan-attireklap et al., 1997) และเก็บหอยจากฟาร์มเพาะเลี้ยงโดยตรง และเลือกเก็บแต่หอยที่มีขนาดความยาวตั้งแต่ 5 เซนติเมตรขึ้นไป โดยเก็บหอยแมลงภูสดจำนวน 500 กรัม จากพื้นที่ดังตารางที่ 3-1 และภาพที่ 3-1

สถานที่ทำการสกัดและวิเคราะห์สารประกอบบิวทิลทิน

สถานที่ทำการเก็บรักษา ได้แก่ ห้องปฏิบัติการ BS 2110 ภาควิชาชีววิทยา อาคารวิทยาศาสตร์ชีวภาพ มหาวิทยาลัยบูรพา ที่อุณหภูมิต่ำ -20 องศาเซลเซียส

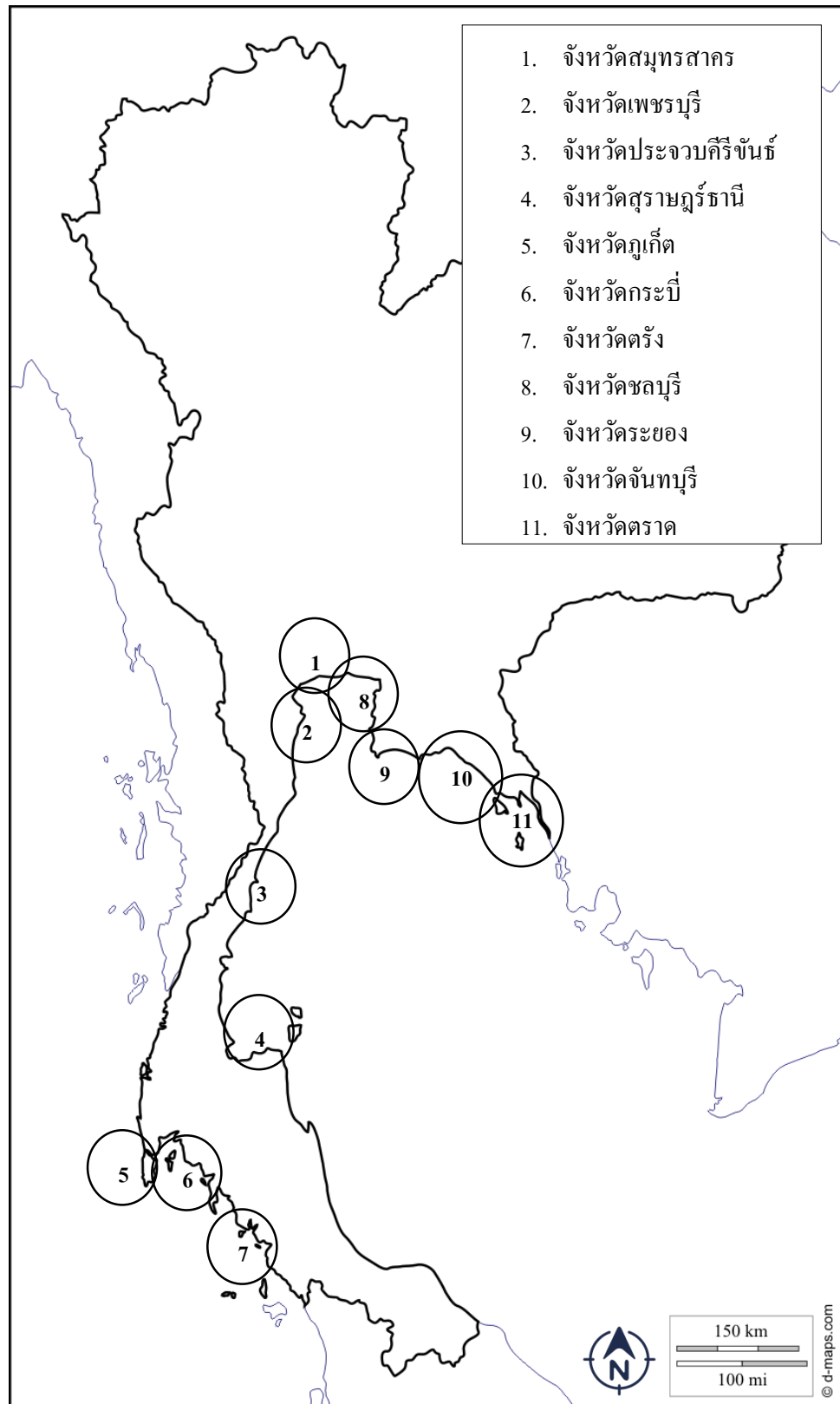
สถานที่ทำการสกัดและวิเคราะห์สาร ได้แก่ สถาบันมาตรวิทยาแห่งชาติ กระทรวงวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยี ต.คลองห้า อ.คลองหลวง จ.ปทุมธานี

ตารางที่ 3-1 สถานที่และพิกัดในการเก็บตัวอย่างหอยแมลงภูบริเวณชายฝั่งประเทศไทย

หมายเลข	รหัส	สถานที่	พิกัด	วันที่
1	THCSSK	จังหวัดสมุทรสาคร ปากคลองพิทยาลงกรณ์	Latitude: 13.48649 Longitude: 100.38725	8/7/2558
2	THCPTB	จังหวัดเพชรบุรี ปากแม่น้ำเพชรบุรี	Latitude: 13.27837 Longitude: 99.98296	8/7/2558

ตารางที่ 3-1 (ต่อ)

หมายเลข	รหัส	สถานที่	พิกัด	วันที่
3	THPCP	ประจวบคีรีขันธ์ ปากคลองบางนางรม	Latitude: 11.82175 Longitude: 99.79915	9/7/2558
4	THSSRT	จังหวัดสุราษฎร์ธานี ปากคลองกระแจะ	Latitude: 9.21971 Longitude: 99.47055	11/7/2558
5	THSPKT	จังหวัดภูเก็ต อำมชะม	Latitude: 7.85402 Longitude: 98.40462	17/7/2558
6	THSKRB	จังหวัดกระบี่ ปากน้ำกระบี่	Latitude: 8.02421 Longitude: 98.90922	18/7/2558
7	THSTRG	จังหวัดตรัง ปากน้ำปะเหลียน	Latitude: 7.28576 Longitude: 99.51261	18/7/2558
8	THECBR	จังหวัดชลบุรี อ่าวอ่างศิลา	Latitude: 13.329327 Longitude: 100.904132	4/8/2558
9	THERYG	จังหวัดระยอง นิคมอุตสาหกรรมมาบตาพุด	Latitude: 12.666802 Longitude: 101.167804	19/8/2558
10	THECTB	จังหวัดจันทบุรี อ่าวคุ้งกระเบน	Latitude: 12.583005 Longitude: 101.890519	5/11/2558
11	THETRT	จังหวัดตราด ปากแม่น้ำตราด	Latitude: 12.131474 Longitude: 102.570505	18/8/2558



ภาพที่ 3-1 สถานที่เก็บตัวอย่างหอยแมลงภู่มิวนิชบริเวณชายฝั่งประเทศไทย

สารมาตรฐานและสารเคมี

1. monobutyltin chloride ($[\text{CH}_3(\text{CH}_2)_3\text{SnCl}_3$, 95%), Sigma-Aldrich®.
2. dibutyltin chloride ($[\text{CH}_3(\text{CH}_2)_3\text{SnCl}_2$, 96%), Sigma-Aldrich®.
3. tributyltin chloride ($[\text{CH}_3(\text{CH}_2)_3\text{SnCl}$, 96%) Sigma-Aldrich®.
4. tripropyltin, TPrT ($(\text{CH}_3\text{CH}_2\text{CH}_2)_3\text{SnCl}$, 99%), ใช้เป็น internal standard (Sigma-Aldrich)
5. sodium tetraethylborate ($\text{NaB}(\text{Et})_4$), Sigma-Aldrich ใช้เป็น derivatizing agent
6. sodium diethyldithiocarbamate ($\text{C}_5\text{H}_{10}\text{NS}_2\text{Na} \cdot 3\text{H}_2\text{O}$, Sigma-Aldrich) ใช้เป็น organotin catching agent
7. acetone (HPLC grade)
8. hexane (HPLC grade)
9. tetrahydrofuran (HPLC grade)
10. methanol (HPLC grade, Merk)
11. acetic acid
12. MilliQ-water
13. sodium acetate
14. NaOH

การเตรียมสารละลายมาตรฐาน (stock standard solution)

เตรียมสารละลายมาตรฐาน monobutyltin chloride, dibutyltin chloride และ tributyltin chloride ในเมทานอลที่ระดับความเข้มข้น 1 กรัม/ลิตร และเตรียมสารละลายมาตรฐาน TPrT ซึ่งใช้เป็น internal standard ในเมทานอลที่ระดับความเข้มข้น 10 มิลลิกรัม/ลิตร แล้วเก็บสารละลายมาตรฐานที่เตรียมได้ไว้ในที่มืดที่อุณหภูมิ 4 องศาเซลเซียส จนกว่าจะทำการวิเคราะห์

เตรียมสารละลาย intermediate standard solutions จากระดับความเข้มข้น 1 กรัม/ลิตร ให้ได้ระดับความเข้มข้นที่ 0.1, 0.5, 1, 50 และ 100 ไมโครกรัม/ลิตร และเก็บในที่มืดที่อุณหภูมิ 4 องศาเซลเซียส ส่วนสารละลายมาตรฐาน working standard solutions จะต้องเตรียมใหม่ทุกครั้งที่ใช้งาน

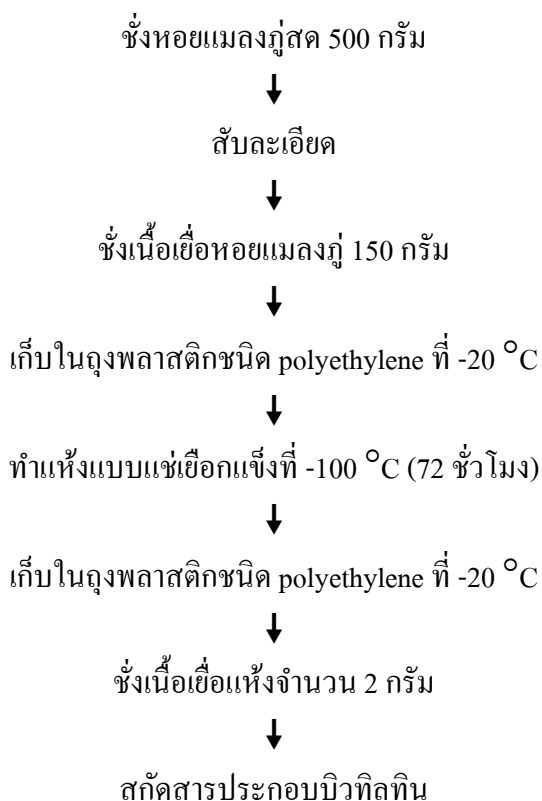
เตรียมสารละลายที่เป็น derivatization โดยละลาย sodium tetraethylborate 0.1 กรัม ใน tetrahydrofuran 1 มิลลิลิตร ส่วนสารละลายที่ทำหน้าที่เป็น organotin catching agent เตรียมโดยละลาย sodium diethyldithiocarbamate 1.5 กรัม ในเอทานอล 25 มิลลิลิตร

สารละลาย acetate buffer pH 4.5 ที่ความเข้มข้น 0.1 M เตรียมโดยละลาย sodium acetate ($C_2H_3NaO_2$) 41 กรัม ด้วย MilliQ-water 250 มิลลิลิตร ปรับ pH ให้ได้ $pH 4.5 \pm 0.3$ โดยใช้สารละลาย 1 M acetic acid และ 0.1 M NaOH แล้วปรับปริมาตรสุดท้ายให้ได้ 500 มิลลิลิตร โดยใช้ MilliQ-water

ขั้นตอนการทำแห้งแบบแช่เยือกแข็ง (freeze dehydration)

ทำการชั่งหอยแมลงภู่มัดจากแต่ละสถานี 500 กรัม จากนั้นแกะเนื้อเยื่อหอยแมลงภู่ออกมาล้างให้ละเอียด และชั่งเนื้อเยื่อหอยแมลงภู่มัดละเอียด 150 กรัม แล้วนำไปใส่ในถุงพลาสติกชนิด polyethylene เก็บไว้ที่อุณหภูมิ -20 องศาเซลเซียส จากนั้นทำแห้งแบบแช่เยือกแข็งที่อุณหภูมิ -100 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 72 ชั่วโมง จากนั้นชั่งน้ำหนักแห้งที่ได้ จดบันทึกน้ำหนัก ตารางที่ 3-2 แล้วเก็บไว้ในถุงพลาสติกชนิด polyethylene ที่อุณหภูมิ -20 องศาเซลเซียส เพื่อเตรียมนำไปสกัดสารประกอบบิวทิลทินในขั้นตอนต่อไป

สรุปขั้นตอนการทำแห้งแบบแช่เยือกแข็ง (freeze dehydration)



ตารางที่ 3-2 Biomass conversion factor (dry wt. / wet wt.)

Location	Fresh (g) wet wt.	Dry (g) dry wt.	Biomass conversion factor (dry wt. / wet wt.)
Samut Sakhon	150	32.87	0.22
Phetchaburi	150	26.74	0.18
Prachuap Khiri Khan	150	30.50	0.20
Surat Thani	150	27.42	0.18
Phuket	150	28.57	0.20
Krabi	150	34.16	0.23
Trang	150	21.93	0.15
Chonburi	150	29.26	0.19
Rayong	150	27.49	0.18
Chanthaburi	150	24.29	0.16
Trat	150	23.55	0.15

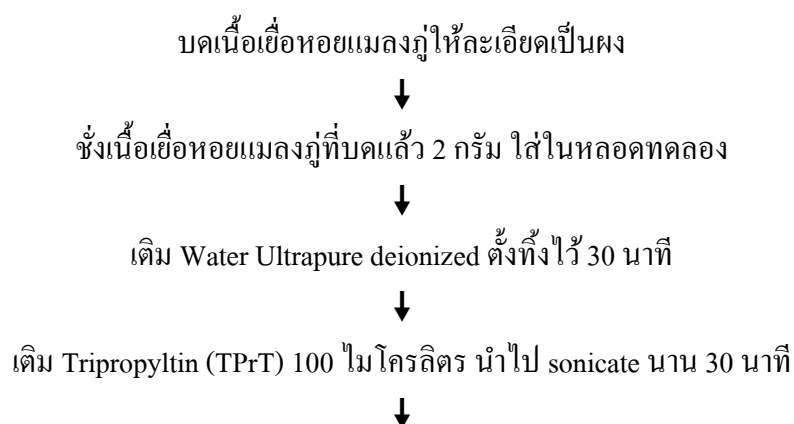
ขั้นตอนการสกัดสารประกอบบิวทิลทิน

เนื่องจากสารประกอบบิวทิลทินที่อยู่ในเนื้อเยื่อหอยแมลงภู่นั้นมีปริมาณน้อยมากในระดับ ng Sn (g dw)^{-1} ดังนั้นจึงต้องมีการทำแห้งเนื้อเยื่อหอยแมลงภู่ว่าแบบแช่เยือกแข็งก่อนทำการสกัดสารประกอบบิวทิลทิน จำนวนการทำซ้ำแต่ละสถานีคือ 2 ซ้ำ โดยใช้เทคนิคการสกัดแบบ solid-liquid extraction (SLE) ซึ่งเป็นการดึงสารประกอบบิวทิลทินที่อยู่ในตัวอย่างสิ่งมีชีวิตออกมาละลายในสารละลายที่มีจากนั้นใช้สารละลาย sodium tetraethylborate (NaB(Et)_4) เป็นตัว derivatization เพื่อทำให้เกิดอนุพันธ์ของสารประกอบบิวทิลทิน และใช้สารละลายที่ไม่มีไขมันสกัดต่อเพื่อให้เกิดการแยกชั้น แล้วนำมาวิเคราะห์ด้วยเครื่อง GC-MS ตามขั้นตอนต่อไปนี้ (ดัดแปลงวิธีการจาก Yáñez et al., 2016)

1. นำเนื้อเยื่อหอยแมลงภู่ว่าผ่านการทำแห้งแบบแช่เยือกแข็งมาบดให้ละเอียดเป็นผง
2. นำเนื้อเยื่อหอยแมลงภู่ว่าที่บดละเอียดแล้วมาทำการสกัดด้วยเทคนิค solid-liquid extraction (SLE) โดยใส่เนื้อเยื่อหอยแมลงภู่ว่า 2 กรัม ลงในหลอดสกัดขนาด 50 มิลลิลิตร
3. เติมน้ำ Ultrapure deionized ($18.2 \text{ M}\Omega/\text{cm}$) 5 มิลลิลิตร ตั้งทิ้งไว้ 30 นาที

4. เติม tripropyltin (TPrT) 100 ไมโครลิตร นำไป sonicate นาน 30 นาที เพื่อให้เนื้อเยื่อของตัว
5. เติม acetone 10 มิลลิลิตร และ sodium diethyldithiocarbamate 100 ไมโครลิตร นำไป sonicate นาน 20 นาที
6. เติม acetate buffer 10 มิลลิลิตร เขย่านาน 1 นาที เพื่อปรับสภาพของสารสกัดให้พร้อมในการทำ derivatize
7. เติม sodium tetraethylborate ($\text{NaB}(\text{Et})_4$) 100 ไมโครลิตร ลงในหลอดสกัดก่อนหน้านี้ เขย่านาน 30 นาที
8. เติม hexane 5 มิลลิลิตร เขย่านาน 10 นาที นำไปปั่นเหวี่ยงที่ความเร็ว 3500 rpm นาน 10 นาที ดูดสารละลายชั้น hexane มาใส่ในหลอดทดลองอันใหม่
9. ทำการสกัดซ้ำโดยเติม hexane 5 มิลลิลิตร เขย่านาน 10 นาที นำไปปั่นเหวี่ยงที่ความเร็ว 3500 rpm นาน 10 นาที และดูดสารละลาย hexane ใส่ในหลอดทดลองก่อนหน้า
10. ทำการบรรจุ Florisil 10 กรัม ลงในหลอดฉีดขนาด 20 มิลลิลิตร ทำการปรับสภาพด้วยการชะ hexane 10 มิลลิลิตร จากนั้นเทสารละลายที่สกัดได้จากขั้นตอนเบื้องต้น 1 มิลลิลิตร ตามด้วยการชะออกด้วย hexane 10 มิลลิลิตร เก็บสารละลายที่ชะได้ลงในหลอดทดลอง แล้วระเหยจนเหลือปริมาตร 1 มิลลิลิตร ภายใต้บรรยากาศไนโตรเจนที่อุณหภูมิ 45 องศาเซลเซียส จากนั้นกรองสารละลายด้วยแผ่นกรองในลอนขนาด 0.2 ไมครอน แล้วบรรจุลงในขวด Vials
11. นำไปวิเคราะห์หาชนิดและปริมาณอนุพันธ์ที่พบด้วยเครื่อง GC-MS

สรุปขั้นตอนการสกัดสารประกอบบิวทิลทิน



เติม acetone 10 มิลลิลิตร และ sodium diethyldithiocabamate 100 ไมโครลิตร นำไป sonicate นาน

20 นาที



เติม acetate buffer 10 มิลลิลิตร เขย่านาน 1 นาที



เติม sodium tetraethylborate ($\text{NaB}(\text{Et})_4$) 100 ไมโครลิตร เขย่านาน 30 นาที



เติม hexane 5 มิลลิลิตร เขย่านาน 10 นาที



นำไปปั่นเหวี่ยงที่ความเร็ว 3500 rpm นาน 10 นาที



ดูดสารละลายชั้น hexane ใส่ในหลอดทดลองอันใหม่



เติม hexane 5 มิลลิลิตร เขย่านาน 10 นาที



นำไปปั่นเหวี่ยงที่ความเร็ว 3500 rpm นาน 10 นาที



ดูดสารละลายชั้น hexane ใส่ในหลอดทดลองก่อนหน้านี้



นำไประเหยด้วยก๊าซไนโตรเจน (N_2) ให้เหลือ 1 มิลลิลิตร



ทำความสะอาดสารสกัดที่ได้ด้วย Florisil



นำไประเหยด้วยก๊าซไนโตรเจน (N_2) ให้เหลือ 1 มิลลิลิตร



กรองและใส่ขวดบรรจุ



วิเคราะห์ด้วยเครื่อง GC-MS

การวิเคราะห์ด้วยเครื่อง GC-MS

นำสารสกัด 2 ไมโครลิตร มาวิเคราะห์ด้วยเครื่อง gas chromatography (GC) รุ่น Agilent 5975C, Agilent Technologies, Santa Clara, CA, USA โดยใช้คอลัมน์ชนิด HP-5MS 5% phenyl ที่เคลือบด้วย methyl siloxane 95% ขนาด $30 \times 0.25 \times 0.25$ (m \times μ m \times mm) ยี่ห้อ Agilent Technologies อุณหภูมิเริ่มต้นที่ 50 องศาเซลเซียส พักเวลา 1.5 นาที จากนั้นเพิ่มอุณหภูมิ 20 องศาเซลเซียส ทุก ๆ 1 นาที จนถึงอุณหภูมิ 190 องศาเซลเซียส พักเวลา 1 นาที และเพิ่มอุณหภูมิอีก 30 องศาเซลเซียส ทุก ๆ 1 นาที จนถึงอุณหภูมิ 300 องศาเซลเซียส พักเวลา 4 นาที จากนั้นเริ่มฉีดสารตัวอย่างที่อุณหภูมิ 250 องศาเซลเซียส มีแก๊สฮีเลียม (He) ไหลผ่านที่อัตรา 50 มิลลิลิตร/นาที เป็นตัวนำพาสารตัวอย่างเข้าสู่คอลัมน์ และใช้ตัวตรวจวัด (detector) คือ mass spectrometer (MS) ทำการวิเคราะห์หาสารประกอบบิวทิลทินที่อยู่ในสารตัวอย่าง โดยเทียบกับปริมาณสารมาตรฐานตั้งต้น

สารมาตรฐานที่ใช้คือ ไตรบิวทิลทินคลอไรด์ ไดบิวทิลทินคลอไรด์ และ โมโนบิวทิลทินคลอไรด์ สามารถทำการวิเคราะห์ได้โดยเปรียบเทียบเวลาที่สารตัวอย่างถูกชะออกจากคอลัมน์กับ Retention Time (Rt) กับสารมาตรฐานกับที่แสดงในตัวอย่าง และการยืนยันด้วยมวลโมเลกุล (molecular mass) ของสารแต่ละชนิด แล้วทำการหาปริมาณ โดยสร้างกราฟมาตรฐานของสารมาตรฐานที่ความเข้มข้นต่าง ๆ 5 จุด ทำการสร้างกราฟเปรียบเทียบระหว่างค่าความเข้มข้นของสารมาตรฐานกับ peak area ratio ของสารมาตรฐานกับสาร internal standard แล้วใช้ความสัมพันธ์เชิงเส้นที่ได้มาคำนวณความเข้มข้นของตัวอย่าง โดยหน่วยของสารประกอบบิวทิลทินที่ตรวจพบมีหน่วยเป็นนาโนกรัมต่อกรัมในน้ำหนักแห้ง (ng/g dry wt.)

บทที่ 4

ผลการวิจัย

จากการวิเคราะห์ชนิดและปริมาณสารประกอบบิวทิลทินในหอยแมลงภู่นิวชนิด *Perna viridis* บริเวณชายฝั่งประเทศไทยทั้งหมด 11 จังหวัด สามารถตรวจพบสารประกอบบิวทิลทินได้ทุกจังหวัด โดยมีการปนเปื้อนสารประกอบบิวทิลทินอยู่ระหว่าง 0.97 - 262.17 ng/g dry wt. โดยแบ่งหัวข้อผลการทดลองดังต่อไปนี้

การวิเคราะห์ด้วย GC-MS และโครมาโตแกรมของสารประกอบบิวทิลทิน

การวิเคราะห์ด้วย GC-MS โดยใช้โหมด selection ion monitoring (SIM) และใช้ tripropyltin (TPrT) เป็นสาร internal standard เนื่องจากสารนี้ไม่พบอยู่ในตัวอย่างที่เป็นสัตว์น้ำ และมีคุณสมบัติทางกายภาพ (physical property) ใกล้เคียงกับสารประกอบบิวทิลทิน ทำให้มีพฤติกรรมในการสกัดและในคอลัมน์คล้ายกับสารที่สนใจ สามารถเช็คการสูญเสียสารระหว่างการสกัด ระหว่างการเตรียมตัวอย่าง ตลอดจนระหว่างกระบวนการวิเคราะห์ด้วยเครื่อง GC-MS

จากการทำ derivatize โดยใช้ sodium tetraethylborate ($\text{NaB}(\text{Et})_4$) และวิเคราะห์ข้อมูลตรวจพบสัญญาณของสารประกอบบิวทิลทินทั้ง 3 อนุพันธ์ ดังนี้คือ โมโนบิวทิลทิน (MBT) มี target ion คือ 235 (ภาพที่ 4-2) ปรากฏที่เวลา 7.52 นาที (ภาพที่ 4-1) ไดบิวทิลทิน (DBT) มี target ion คือ 263 (ภาพที่ 4-3) ปรากฏที่เวลา 8.65 นาที (ภาพที่ 4-1) และไตรบิวทิลทิน (TBT) มี target ion คือ 291 (ภาพที่ 4-4) ปรากฏที่เวลา 9.78 นาที (ภาพที่ 4-1) โดยค่ารีเทนชันไทม์ (Retention Time) คือเวลาที่ใช้ในการทำให้ตัวถูกละลายเคลื่อนที่ได้เท่ากับ 1 คอลัมน์ ซึ่งมีค่าเท่ากับความยาวของคอลัมน์หารด้วยอัตราความเร็วของการเคลื่อนที่ของตัวถูกละลาย ในโครมาโตแกรมสามารถหาค่าได้จากการวัดระยะทางตั้งแต่เริ่มใส่สารตัวอย่างลงไปบนคอลัมน์จนถึงส่วนยอดของพีค ปริมาณความเข้มข้นของสารมาตรฐานตั้งต้นคือ 0.1, 0.5, 1, 5 และ 10 ng Sn/g wet wt.

Internal standard คือ Tripropyltin; TPrT (internal standards) ที่มี target ion เท่ากับ 193 ปรากฏที่เวลา 7.98 นาที บนโครมาโตแกรมเดียวกันกับสารประกอบบิวทิลทิน (ภาพที่ 4-1)

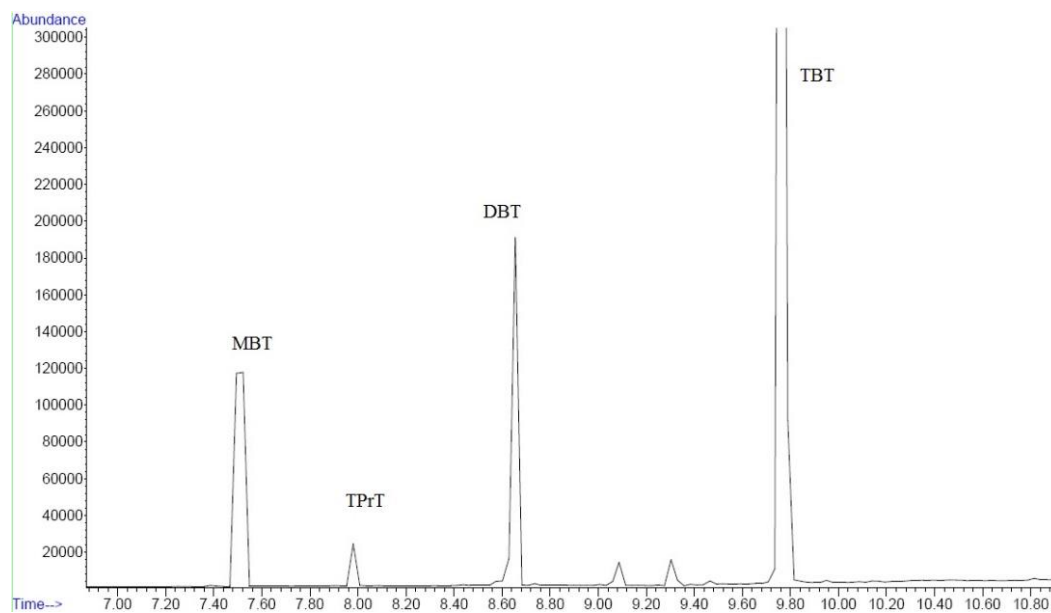
Target ion คือ มวลโมเลกุลของสารที่จะศึกษา เช่น ไตรบิวทิลทินมีมวลโมเลกุลเท่ากับ 290.06 คัดตัน และมี formula คือ $\text{C}_{12}\text{H}_{27}\text{Sn}^+$ อีกทั้งยังมีประจุอีก 1 จึงทำให้ target ion เป็น 291 ส่วน ไดบิวทิลทินมีมวลโมเลกุลเท่ากับ 232.94 และมี formula คือ $\text{C}_8\text{H}_{18}\text{Sn}^{2+}$ แต่มีประจุเป็น 2 จึงยังสามารถรับหมู่ไฮโดรคาร์บอนได้อีก 2 หมู่ ซึ่งหมู่ไฮโดรคาร์บอน 1 หมู่มีมวลโมเลกุลเท่ากับ

15 คัลตัน และมี formula คือ CH_3 จึงทำให้ไดบิวทิลทินต้องรับหมู่ไฮโดรคาร์บอนเข้ามา 2 หมู่จึงทำให้ target ion เท่ากับ 263 เช่นเดียวกันกับ โมโนบิวทิลทินมีมวลโมเลกุลเท่ากับ 175.83 คัลตัน มี formula คือ $\text{C}_4\text{H}_9\text{Sn}^{3+}$ จึงทำให้สามารถรับหมู่ไฮโดรคาร์บอนได้อีก 3 หมู่ และ target ion ของโมโนบิวทิลทินคือ 235

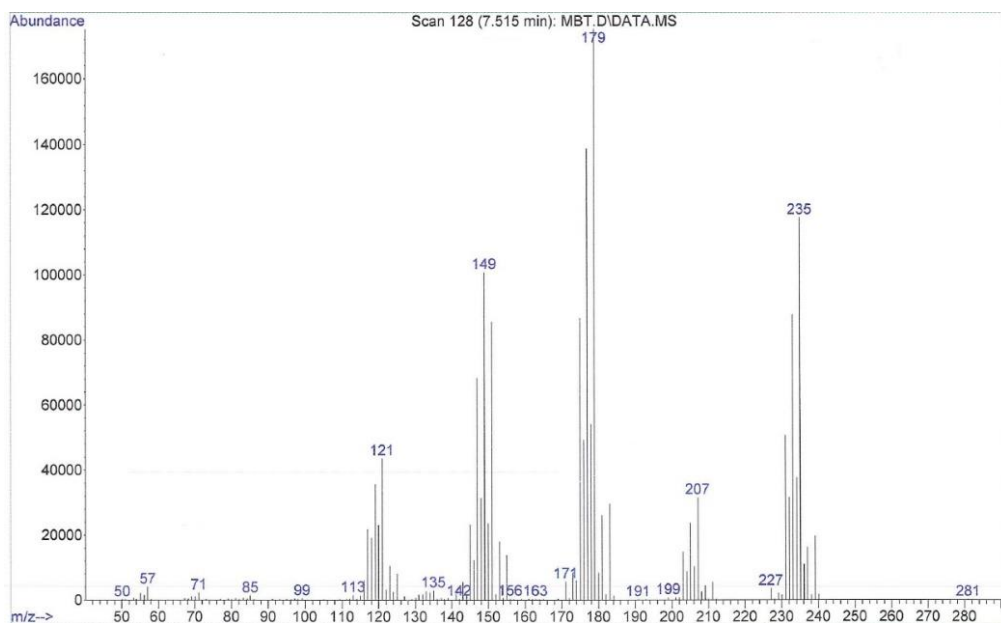
ตารางที่ 4-1 ไอออนและเวลาของสารประกอบบิวทิลทิน

Butyltin compounds	Ions (m/Z)	Target ion	Time (min)
Tributyltin (TBT)	207-177-151	291	9.78
Dibutyltin (DBT)	207-179-146	263	8.65
Monobutyltin (MBT)	179-149-207	235	7.52
Tripropyltin (TPrT)	191-249-247	193	7.98

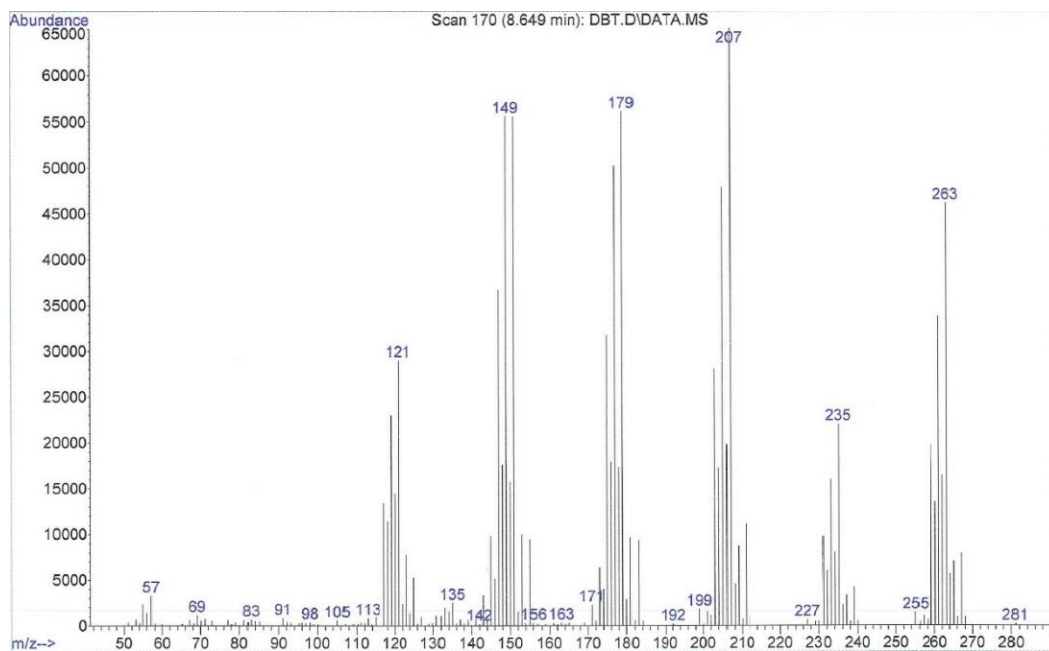
พิกในแมสสเปกตรัม เป็นกราฟที่มีแกน X เป็นค่า m/z และแกน Y เป็นค่าปริมาณ ไอออนที่ m/z ต่าง ๆ สัญญาณแอมพลิจูดที่ส่งมาจากดีเทกเตอร์จะถูกเปลี่ยนเป็นสัญญาณดิจิทัลเพื่อส่งไปคำนวณด้วยคอมพิวเตอร์ โดยทั่วไปจะมีการปรับปรุงข้อมูลประกอบอยู่ด้วย เช่น การทำให้พิกเรียบขึ้น (smoothing) การกรองเอาสัญญาณแบกกราวด์ออก (background subtracting) การคำนวณหาตำแหน่ง (m/z) ของพิก (peak centering) และการปรับเทียบมาตรฐาน (calibration) ของค่า m/z และความเข้มข้นของแต่ละพิก โดยปกติการปรับเทียบมาตรฐานค่า m/z มักทำโดยใช้สารมาตรฐานที่ให้พิกที่มี m/z อยู่ในช่วงที่ครอบคลุมค่า m/z ของสารตัวอย่างที่ทำการบันทึก นิยมเรียกลักษณะมาตรฐานเหล่านี้ว่า mass calibrant การปรับเทียบมาตรฐานเช่นนี้ทำโดยบันทึกแมสสเปกตรัมของสารมาตรฐานแล้วนำไปตรวจสอบตำแหน่ง m/z ที่ได้ว่าถูกต้องตามค่า m/z ที่ควรจะเป็นหรือไม่ หากมีความคลาดเคลื่อนไปจากค่าความจริงก็ต้องมีการปรับปรุงขั้นตอนการคำนวณหาตำแหน่ง m/z ให้ถูกต้อง ดังงานวิจัยชิ้นนี้ที่มีแมสสเปกตรัมของ MBT คือ 179-149-207 แมสสเปกตรัมของ DBT คือ 207-179-146 และแมสสเปกตรัมของ TBT คือ 207-177-151 เป็นต้น ดังภาพที่ 4-2, 4-3 และ 4-4 ตามลำดับ



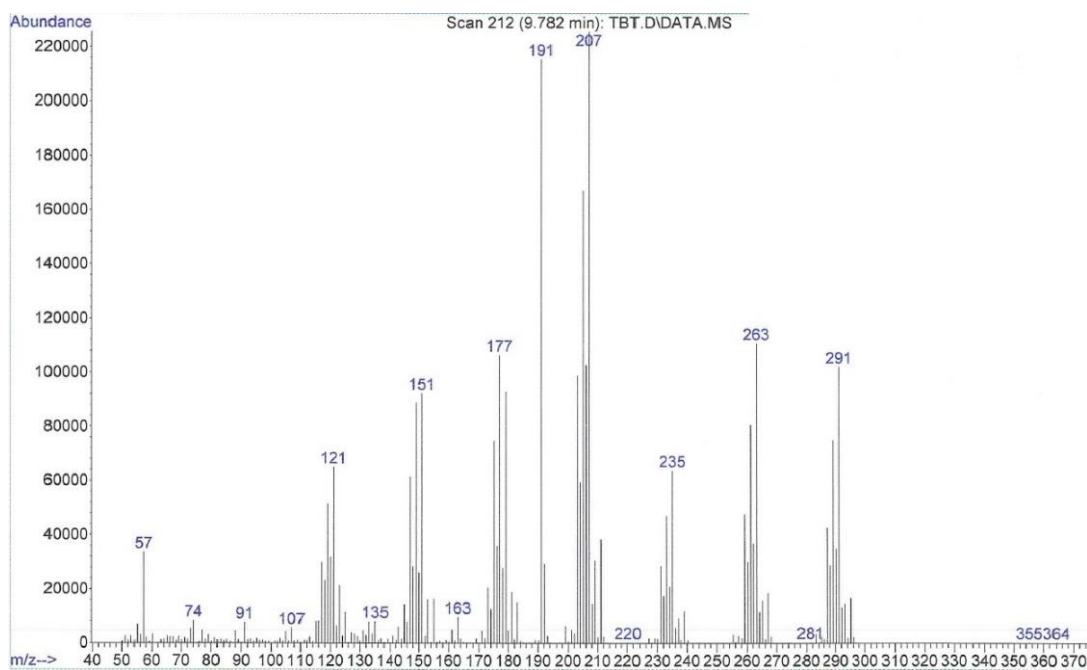
ภาพที่ 4-1 โครมาโตแกรมของสารประกอบบิวทิลทินจากเครื่อง GC-MS ในโหมด SIM ทำการ derivatized โดย $\text{NaB}(\text{Et})_4$



ภาพที่ 4-2 mass spectra ของโมโนบิวทิลทิน (MBT) จากเครื่อง GC-MS ในโหมด Scan



ภาพที่ 4-3 mass spectra ของไดบิวทิลทิน (DBT) จากเครื่อง GC-MS ในโหมด Scan



ภาพที่ 4-4 mass spectra ของไตรบิวทิลทิน (TBT) จากเครื่อง GC-MS ในโหมด Scan

ขีดจำกัดของการวิเคราะห์ปริมาณ (limit of quantification; LOQ) คือ ความเข้มข้นระดับแรกที่ใช้ในการสร้างกราฟมาตรฐานเพื่อการวิเคราะห์ตัวอย่าง มีค่าความเข้มข้นเท่ากับสัญญาณรบกวนเท่ากับ 10 ($S/N = 10$) หรือใช้สูตรการหา LOQ ดังสมการ

$$LOQ = 10 \left(\frac{s}{b} \right)$$

s คือ ค่าเบี่ยงเบนมาตรฐานของสัญญาณที่วัดได้

b คือ ความชันของกราฟมาตรฐาน

ความเข้มข้นที่ของสารที่จะวิเคราะห์ในตัวอย่างเมื่ออ่านค่าจากกราฟมาตรฐานต้องมีค่าไม่ต่ำกว่าความเข้มข้นระดับแรกของกราฟและไม่สูงกว่าระดับสุดท้ายของกราฟ ผลที่ได้จึงจะน่าเชื่อถือ โดยงานวิจัยครั้งนี้มีค่า LOQ คือ 0.5 $\mu\text{g/L}$ ดังตารางที่ 4-2 ซึ่งถ้าปริมาณการปนเปื้อนต่ำกว่าค่า LOQ จะระบุผลว่า ต่ำกว่า LOQ ซึ่งหมายความว่าเครื่องมือไม่สามารถวิเคราะห์ตัวอย่างได้ แต่ไม่ได้หมายความว่าไม่พบการปนเปื้อนสารที่ทำหาวเคราะห์

ขีดจำกัดของการตรวจวัด (limit of detection; LOD) คือ ค่าความเข้มข้นที่วัดสัญญาณได้เท่ากับสัญญาณของแบล็กกราวน์กัน 3 เท่า ของค่าเบี่ยงเบนมาตรฐานที่เกิดจากการวัดสัญญาณของแบล็กกราวน์ สามารถใช้สูตรการหา LOD ดังสมการ

$$y_L = \bar{y}_b + 3s_b$$

y_L คือ สัญญาณของค่าขีดจำกัดของการตรวจวัด

\bar{y}_b คือ ค่าเฉลี่ยของสัญญาณที่วัดได้ของแบล็กกราวน์

$3s_b$ คือ ค่าเบี่ยงเบนมาตรฐานของแบล็กกราวน์

เปลี่ยนค่าสัญญาณ y_L เป็นค่าความเข้มข้นที่เป็นขีดจำกัดของการตรวจวัดได้โดยหารด้วยค่าความชัน (b) ของกราฟมาตรฐาน ได้ดังสมการ

$$LOD = \frac{y_L}{b}$$

ขีดจำกัดของการตรวจวัดของไตรบิวทิลทิน ไดบิวทิลทิน และ โมโนบิวทิลทินของการ วิจัยครั้งนี้อยู่ที่ 0.1 µg/L ดังตารางที่ 4-2

ความเที่ยงของการวิเคราะห์ (precision) สามารถอธิบายได้ในแบบของค่าเบี่ยงเบน มาตรฐานในการวิเคราะห์ การวิเคราะห์ที่มีค่าเบี่ยงเบนน้อยคือมีความเที่ยงสูง โดยค่าเบี่ยงเบน มาตรฐานและเปอร์เซ็นต์ค่าเบี่ยงเบนมาตรฐานสัมพัทธ์ (%RSD) ที่ใช้แสดงความเที่ยงของการ วิเคราะห์ ได้ดังสมการ

$$s = \sqrt{\frac{\sum_{i=1}^n (x_i - \bar{x})^2}{n-1}}$$

หรือ
$$\%RSD = \frac{s}{x} \times 100$$

ความเที่ยงของการวิเคราะห์ของไตรบิวทิลทิน ไดบิวทิลทิน และ โมโนบิวทิลทินอยู่ที่ 16, 12 และ 13% ตามลำดับ ดังตารางที่ 4-2

เปอร์เซ็นต์ของการได้กลับคืน (recovery) จะเป็นการรายงานค่าที่ได้เป็นเปอร์เซ็นต์ ซึ่ง การหาค่า recovery ในการวิจัยครั้งนี้ทำโดยการ spike สารละลายมาตรฐานที่รู้ความเข้มข้นที่ แน่นอนใส่ลงไปในตัวอย่าง จากนั้นทำการสกัดและวิเคราะห์หาเปอร์เซ็นต์การกลับคืน โดยงานวิจัย ที่เกี่ยวข้องทางด้านสิ่งแวดล้อมต้องมีค่าอยู่ในช่วง 60-140% จึงสามารถยอมรับได้ และสามารถ คำนวณเปอร์เซ็นต์ของการได้กลับคืน ได้ดังสมการ

$$\%r = \frac{(x_f)}{(x_i)} \times 100$$

x_f คือ ผลที่วิเคราะห์ได้ (found content)

x_i คือ จำนวนสารมาตรฐานที่รู้ความเข้มข้นที่แน่นอนเดิมลงไป

โดยงานวิจัยครั้งนี้มีค่าเปอร์เซ็นต์ของการกลับคืนของไตรบิวทิลทิน ไดบิวทิลทิน และ โมโนบิวทิลทินอยู่ที่ 120, 135 และ 112% ตามลำดับ ดังตารางที่ 4-2

ตารางที่ 4-2 ค่าคุณลักษณะของวิธีการวัดด้วยเครื่องแมสสเปกโตรมิเตอร์

Butyltin compounds	LOD ($\mu\text{g/L}$)	LOQ ($\mu\text{g/L}$)	Precision (%RSD)	Recovery (%)	Linearity (r^2)
Monobutyltin (MBT)	0.1	0.5	13	112	0.991
Dibutyltin (DBT)	0.1	0.5	12	135	0.992
Tributyltin (TBT)	0.1	0.5	16	120	0.993

ปริมาณสารประกอบบิวทิลทินที่ตรวจพบ

ตัวอย่างหอยแมลงภู่นชนิด *P. viridis* บริเวณชายฝั่งประเทศไทยทั้งหมด 11 จังหวัด สามารถตรวจพบปริมาณสารประกอบบิวทิลทิน ($\sum\text{BTs}$) ที่ปนเปื้อนที่แตกต่างกัน และการคำนวณผลรวมสารประกอบบิวทิลทิน ($\sum\text{BTs}$) ที่จะแสดงถึงผลรวมปริมาณสุทธิของผลิตภัณฑ์สารประกอบบิวทิลทินที่พบทั้งหมด สามารถคำนวณจากสมการดังต่อไปนี้

$$\sum\text{BTs} = \text{TBT} + \text{DBT} + \text{MBT}$$

โดยปริมาณที่พบการปนเปื้อนในงานวิจัยครั้งนี้จะมีหน่วยเป็น ng/g dry wt. เพราะทำการสกัดสารประกอบบิวทิลทินในเนื้อแห้งของหอยแมลงภู่น มีปริมาณดังต่อไปนี้ ตารางที่ 4-3

1. จังหวัดสมุทรสาคร ตรวจพบ $\sum\text{BTs}$ มากกว่า LOD แต่ต่ำกว่า LOQ
2. จังหวัดเพชรบุรี ตรวจพบ $\sum\text{BTs}$ 26.37 ng/g dry wt. แบ่งเป็น TBT ต่ำกว่า LOQ และ DBT 26.27 ng/g dry wt.
3. จังหวัดประจวบคีรีขันธ์ ตรวจพบ $\sum\text{BTs}$ 8.54 ng/g dry wt. แบ่งเป็น TBT 4.49 ng/g dry wt. และ DBT 4.06 ng/g dry wt.
4. จังหวัดสุราษฎร์ธานี ตรวจพบ $\sum\text{BTs}$ 262.17 ng/g dry wt. พบเพียง DBT เท่านั้น
5. จังหวัดภูเก็ต ตรวจพบ $\sum\text{BTs}$ 8.85 ng/g dry wt. แบ่งเป็น TBT 2.48 ng/g dry wt. และ DBT 6.38 ng/g dry wt.
6. จังหวัดกระบี่ ตรวจพบ $\sum\text{BTs}$ 0.99 ng/g dry wt. พบเพียง DBT เท่านั้น
7. จังหวัดตรัง ตรวจพบ $\sum\text{BTs}$ 8.22 ng/g dry wt. แบ่งเป็น TBT 2.06 ng/g dry wt., DBT 4.31 ng/g dry wt. และ MBT 1.85 ng/g dry wt.

8. จังหวัดชลบุรี ตรวจพบ \sum BTs 1.04 ng/g dry wt. แบ่งเป็น TBT 0.68 ng/g dry wt. และ DBT ต่ำกว่า LOQ
9. จังหวัดระยอง ตรวจพบ \sum BTs 5.98 ng/g dry wt. พบเพียง DBT เท่านั้น
10. จังหวัดจันทบุรี ตรวจพบ \sum BTs มากกว่า LOD แต่ต่ำกว่า LOQ
11. จังหวัดตราด \sum BTs 0.97 ng/g dry wt. แบ่งเป็น DBT 0.95 ng/g dry wt. และ TBT ต่ำกว่า LOQ

ตารางที่ 4-3 ปริมาณสารประกอบบิวทิลทินที่ตรวจพบการสะสมในหอยแมลงภู่นิคม *P. viridis* บริเวณชายฝั่งประเทศไทย (มีหน่วยเป็น ng/g dry wt.)

Location	Tributyltin (TBT)	Dibutyltin (DBT)	Monobutyltin (MBT)	\sum BTs (TBT + DBT + MBT)
Samut Sakhon	<*	N.D.	N.D.	<*
Phetchaburi	<*	26.27	N.D.	26.37
Prachuap Khiri Khan	4.49	4.06	N.D.	8.54
Surat Thani	N.D.	262.17	N.D.	262.17
Phuket	2.48	6.38	N.D.	8.85
Krabi	N.D.	0.99	N.D.	0.99
Trang	2.06	4.31	1.85	8.22
Chonburi	0.68	<*	N.D.	1.04
Rayong	N.D.	5.98	N.D.	5.98
Chanthaburi	N.D.	<*	N.D.	<*
Trat	<*	0.95	N.D.	0.97

ND: below detection limit, <*: ต่ำกว่า LOQ

จากผลการศึกษาแสดงให้เห็นว่ามีการตรวจพบสารประกอบบิวทิลทินในหอยแมลงภู่นิคมทุกสถานี และมีปริมาณการสะสมที่ต่างกันไป โดยผลรวมของสารประกอบบิวทิลทินในปัจจุบันอยู่ระหว่าง 0.97 - 262.17 ng/g dry wt. ต่างจากปี พ.ศ. 2537-2538 ซึ่งพบสารประกอบบิวทิลทินอยู่ระหว่าง 4 - 800 ng/g wet wt. (ภาพที่ 4-8) ปริมาณการปนเปื้อนที่ตรวจพบได้มากที่สุดในงานวิจัย

ครั้งนี้อยู่ที่จังหวัดสุราษฎร์ธานี มีปริมาณ \sum BTs สูงถึง 262.17 ng/g dry wt. และปริมาณการปนเปื้อนที่น้อยที่สุดที่สามารถแสดงค่าได้มากกว่าค่า LOQ คือ จังหวัดตราด มีปริมาณ \sum BTs ที่ 0.97 ng/g dry wt. ส่วนจังหวัดที่ไม่สามารถรายงานปริมาณการปนเปื้อนได้เพราะมีค่าต่ำกว่า LOQ คือ จังหวัดสมุทรสาคร และจังหวัดจันทบุรี แต่หน่วยที่สามารถบอกปริมาณการปนเปื้อนในตัวอย่างที่แท้จริงจะต้องมีหน่วยเป็น wet wt. เนื่องจากในสภาพสิ่งแวดล้อมเนื้อหอยจะมีลักษณะที่เป็นสิ่งมีชีวิต มีน้ำเป็นองค์ประกอบภายในเซลล์ การใช้หน่วย dry wt. ก็เพื่อเป็นการเก็บรักษาเนื้อหอยไม่ให้เกิดการเน่าเสีย และสามารถทำการสกัดและวิเคราะห์สารประกอบบิวทิลทินเมื่อใดก็ได้ ตารางที่ 4-4

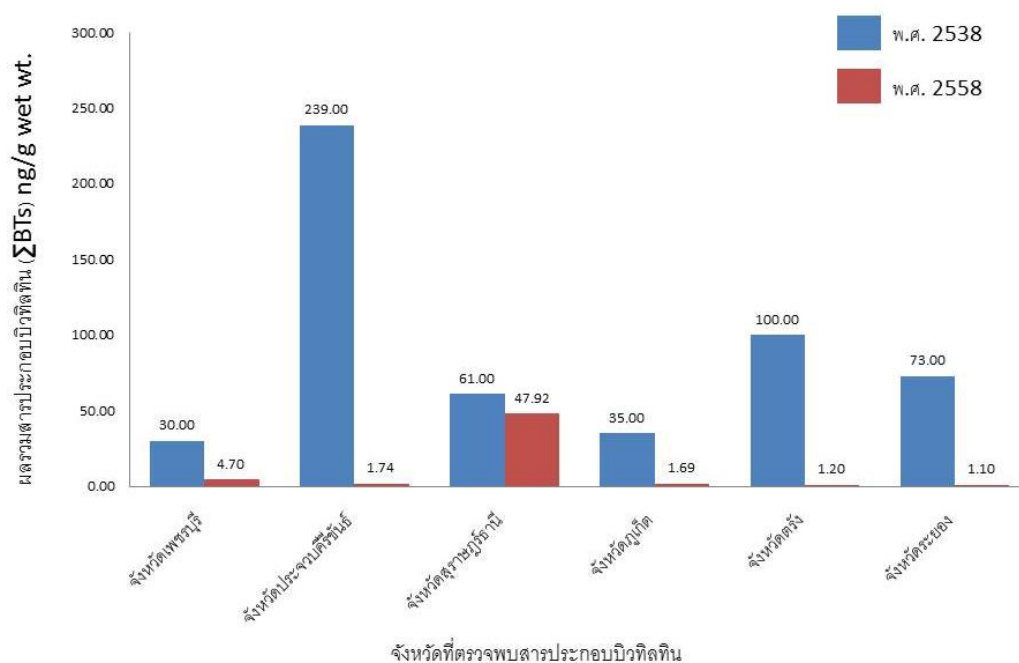
ตารางที่ 4-4 ปริมาณสารประกอบบิวทิลทินที่ตรวจพบการสะสมในหอยแมลงภู่นชนิด *P. viridis* บริเวณชายฝั่งประเทศไทย (มีหน่วยเป็น ng/g wet wt.)

Location	Tributyltin (TBT)	Dibutyltin (DBT)	Monobutyltin (MBT)	\sum BTs (TBT + DBT + MBT)
Samut Sakhon	0.08 ± 0.06	N.D.	N.D.	0.08
Phetchaburi	0.02 ± 0.02	4.68 ± 1.32	N.D.	4.70
Prachuap Khiri Khan	0.91 ± 0.04	0.82 ± 0.38	N.D.	1.74
Surat Thani	N.D.	47.92 ± 6.77	N.D.	47.92
Phuket	0.47 ± 0.07	1.21 ± 0.36	N.D.	1.69
Krabi	N.D.	0.23 ± 0.10	N.D.	0.23
Trang	0.30 ± 0.06	0.63 ± 0.40	0.27 ± 0.09	1.20
Chonburi	0.13 ± 0.03	0.07 ± 0.02	N.D.	0.20
Rayong	N.D.	1.10 ± 0.62	N.D.	1.10
Chanthaburi	N.D.	0.03 ± 0.04	N.D.	0.03
Trat	N.D.	0.15 ± 0.13	N.D.	0.15

ND: below detection limit

ปริมาณผลรวมสารประกอบบิวทิลทินเมื่อเทียบกับอดีต

ในปี พ.ศ. 2537-2538 ปริมาณสารประกอบบิวทิลทินที่ตรวจพบได้รายงานโดยใช้หน่วยนาโนกรัม/กรัม (น้ำหนักเปียก) ส่วนงานวิจัยครั้งนี้รายงานปริมาณสารประกอบบิวทิลทินที่ตรวจพบเป็น นาโนกรัม/กรัม (น้ำหนักแห้ง) จึงต้องมีการคำนวณปริมาณสารประกอบบิวทิลทินที่ตรวจพบในงานวิจัยครั้งนี้จากน้ำหนักแห้งเป็นน้ำหนักเปียก ตารางที่ 4-3 เพื่อที่จะสามารถเปรียบเทียบปริมาณผลรวมสารประกอบบิวทิลทิน (\sum BTs) ระหว่างปัจจุบันและอดีตได้ พบว่า จากทั้งหมด 11 จังหวัด มีเพียง 6 จังหวัดเท่านั้นที่สามารถทำการเทียบปริมาณที่พบได้ คือ จังหวัดเพชรบุรี จังหวัดประจวบคีรีขันธ์ จังหวัดสุราษฎร์ธานี จังหวัดภูเก็ต จังหวัดตรัง และจังหวัดระยอง ดังภาพที่ 4-8



ภาพที่ 4-5 ปริมาณผลรวมสารประกอบบิวทิลทิน \sum BTs (ng/g wet wt.) ที่พบระหว่างปี พ.ศ. 2558 และปี พ.ศ.2538

บทที่ 5

อภิปรายและสรุปผล

การวิเคราะห์สารประกอบบิวทิลทินในหอยแมลงภู่ชนิด *Perna viridis* บริเวณชายฝั่งประเทศไทย โดยใช้ sodium tetraethylborate ($\text{NaB}(\text{Et})_4$) เป็นตัว derivatize ในครั้งนี้ สามารถตรวจพบและรายงานปริมาณสารประกอบบิวทิลทินได้ครบทั้ง 3 อนุพันธ์ ซึ่งสามารถลดขั้นตอนและเวลาในการสกัดสารได้อย่างมีประสิทธิภาพ อีกทั้งยังลดปริมาณสารเคมีที่ใช้ในการสกัด และลดความเสี่ยงในการสัมผัสสารต่อผู้วิจัยได้อีกด้วย โดยผู้วิจัยได้อภิปรายผลดังกล่าวข้อต่อไปนี

เทคนิคการสกัดแบบ SLE และการวิเคราะห์ด้วยเครื่อง GC-MS

เมื่อวิเคราะห์ชนิดและปริมาณสารประกอบบิวทิลทินในสารละลายมาตรฐานตั้งต้นเทียบกับตัวอย่างสารสกัดด้วยเครื่อง GC-MS ในโหมด Scan และโหมด Selection ion monitoring (SIM) พบว่าสารประกอบบิวทิลทินแต่ละอนุพันธ์มี Ion (m/z) คือ ไตรบิวทิลทิน (TBT) 207-177-151 มี target ion 291 แสดงเวลาในโครมาโตแกรมที่ 9.78 นาที ไดบิวทิลทิน (DBT) 207-179-146 มี target ion 263 แสดงเวลาในโครมาโตแกรมที่ 8.65 นาที และโมโนบิวทิลทิน (MBT) 179-149-207 มี target ion 235 แสดงเวลาในโครมาโตแกรมที่ 7.52 นาที ช่วงเวลาที่แสดงในโครมาโตแกรมนั้นจะแสดงออกในเวลาที่แตกต่างกันตามมวลและประจุของโมเลกุลแต่ละชนิด โดยมวลโมเลกุลของโมโนบิวทิลทินจะปรากฏออกมาในแผนภาพโครมาโตแกรมก่อน เนื่องจากสภาพการมีขั้วของโมโนบิวทิลทินที่มีขั้วมากกว่าไดบิวทิลทินและไตรบิวทิลทิน และในการวิจัยครั้งนี้ได้มีการเติม internal standards โดยใช้สารมาตรฐาน tripropyltin (TPrT) เพื่อชดเชยการสูญเสียสารมาตรฐานในขั้นตอนการสกัดจนถึงขั้นตอนการวิเคราะห์โดยจะแสดง Ion (m/z) ที่ 191-249-247 มี target ion 193 แสดงเวลาในโครมาโตแกรมที่ 7.98 นาที ส่วนผลของการทำ recovery ของไตรบิวทิลทิน ไดบิวทิลทิน และ โมโนบิวทิลทิน อยู่ระหว่าง 120, 135 และ 112 % ตามลำดับ แสดงให้เห็นว่าเทคนิคการสกัดแบบ solid-liquid extraction (SLE) และใช้ sodium tetraethylborate ($\text{NaB}(\text{Et})_4$) เป็นตัวทำปฏิกิริยา สามารถทำการสกัดและวิเคราะห์ผลได้ทั้งในสารละลายมาตรฐานและสารที่อยู่ในตัวอย่างสิ่งมีชีวิต

ปริมาณการปนเปื้อนที่ตรวจพบ

ปริมาณผลรวมสารประกอบบิวทิลทินที่สะสมอยู่ในหอยแมลงภู่งูชนิด *P. viridis* บริเวณชายฝั่งประเทศไทยทั้งหมด 11 จังหวัด อยู่ระหว่าง 0.97 - 262.17 ng/g dry wt. แบ่งเป็นอนุพันธ์โมโนบิวทิลทินพบสูงสุด 1.85 ng/g dry wt. อนุพันธ์ไดบิวทิลทินพบสูงสุด 262.17 ng/g dry wt. และอนุพันธ์ไตรบิวทิลทินพบสูงสุด 4.49 ng/g dry wt. และเมื่อทำการเปลี่ยนหน่วยจาก ng/g dry wt. ไปเป็น ng/g wet wt. ทำให้พบปริมาณผลรวมสารประกอบบิวทิลทิน (Σ BTs) อยู่ระหว่าง 0.03 - 47.92 ng/g wet wt. ซึ่งมีปริมาณการปนเปื้อนที่ลดลงเมื่อเปรียบเทียบกับงานวิจัยในปี พ.ศ.2537-2538 ที่พบปริมาณการปนเปื้อนอยู่ระหว่าง 4 - 800ng/g wet wt.

บริเวณชายฝั่งทะเลอันดามัน จังหวัดตรังเป็นจังหวัดเดียวที่พบอนุพันธ์ของสารประกอบบิวทิลทินครบทั้ง 3 อนุพันธ์ เนื่องจากบริเวณดังกล่าวมีการเพาะเลี้ยงชายฝั่ง ทำเทียบเรือประมงขนาดเล็ก และการบำรุงรักษาเรือของชาวประมงพื้นบ้านที่ใช้สีทาเรือที่ผสมสารกันเฟรียง เพราะมีราคาถูกและขั้นตอนการบำรุงรักษาที่รวดเร็ว โดยความถี่ของการใช้สีทาเรือที่ผสมสารกันเฟรียงจะทำทุก ๆ 2 เดือน จึงเป็นสาเหตุที่ทำให้สามารถตรวจพบอนุพันธ์ทั้งสามได้ครบ ส่วนจังหวัดภูเก็ตเป็นแหล่งท่องเที่ยวที่สำคัญที่ได้รับความนิยม จึงทำให้มีเรือยอร์ช เรือประมงนำเที่ยว เรือประมงพื้นบ้านที่ยังคงมีการใช้สีทาเรือที่ผสมสารกันเฟรียงเช่นกัน ทำให้ตรวจพบผลรวมสารประกอบบิวทิลทินทั้งหมด 8.85 ng/g dry wt. หรือ 1.69 ng/g wet wt. และจังหวัดกระบี่ตรวจพบเพียงอนุพันธ์ไดบิลทิวทิน (DBT) เพียงอนุพันธ์เดียวเท่านั้น เนื่องจากบริเวณที่เก็บตัวอย่างนั้นอยู่ตามแนวป่าชายเลนปากน้ำกระบี่ และในอดีตบริเวณใกล้เคียงของสถานีนี้อีกคือ จังหวัดพังงา พบในปริมาณน้อยที่สุดของงานวิจัยในครั้งนั้น (Kan-atireklap et al., 1997)

บริเวณชายฝั่งอ่าวไทยตอนล่าง ตรวจพบผลรวมสารประกอบบิวทิลทินสูงที่สุดที่จังหวัดสุราษฎร์ธานีเท่ากับ 262.17 ng/g dry wt. หรือ 47.92 ng/g wet wt. ซึ่งยังคงน้อยกว่าในปี พ.ศ.2537-2538 ที่พบปริมาณการปนเปื้อน 63 ng/g wet wt. และมีเพียงอนุพันธ์ไดบิวทิลทินชนิดเดียวเท่านั้นที่ตรวจพบ เนื่องมาจากบริเวณดังกล่าวมีการเพาะเลี้ยงชายฝั่ง มีบ่อเลี้ยงกุ้งจำนวนมาก โดยการเพาะเลี้ยงชายฝั่งที่ใช้ตาข่ายเพาะเลี้ยงสัตว์น้ำทำจากพลาสติกที่มีส่วนผสมของอนุพันธ์ไดบิวทิลทิน เพื่อเพิ่มความใสและความยืดหยุ่นของตาข่ายกระชังเพาะเลี้ยง และตาข่ายเหล่านี้ยังคงเคลือบสารที่ป้องกันการเกาะของสิ่งมีชีวิตในน้ำ เพื่อลดการซ่อมบำรุงและยืดอายุให้สามารถใช้งานได้นานยิ่งขึ้น และไม่พบอนุพันธ์ไตรบิวทิลทินในบริเวณดังกล่าว แสดงให้เห็นว่าแหล่งของการปนเปื้อนนั้นไม่ได้มาจากการใช้สีทาเรือที่ผสมอนุพันธ์ไตรบิวทิลทิน

บริเวณชายฝั่งอ่าวไทยตอนบน ตรวจพบผลรวมสารประกอบบิวทิลทินมากที่สุดที่จังหวัดเพชรบุรี ปริมาณที่พบ 26.37 ng/g dry wt. หรือ 4.70 ng/g wet wt. สาเหตุหลักของการปนเปื้อน

สารประกอบบิวทิลทินในระบบนิเวศแหล่งน้ำมาจากบริเวณปากน้ำคลองบางตะนูนมีการเพาะเลี้ยงชายฝั่งเป็นจำนวนมาก ซึ่งมีลักษณะพื้นที่เช่นเดียวกับที่จังหวัดสุราษฎร์ธานี ส่วนพื้นที่จังหวัดประจวบคีรีขันธ์ตรวจพบผลรวมสารประกอบบิวทิลทินปริมาณ 8.54 ng/g dry wt. หรือ 1.74 ng/g wet wt. โดยบริเวณชายฝั่งอ่าวไทยตอนบนทั้งหมดในงานวิจัยครั้งนี้ตรวจพบปริมาณผลรวมสารประกอบบิวทิลทินลดลงเมื่อเทียบกับปี พ.ศ.2537-2538 ในทุกจังหวัด

บริเวณชายฝั่งอ่าวไทยฝั่งตะวันออก ตรวจพบปริมาณผลรวมสารประกอบบิวทิลทินสูงสุดที่จังหวัดระยอง 5.98 ng/g dry wt. หรือ 1.10 ng/g wet wt. เนื่องจากอยู่ในบริเวณอุตสาหกรรมขนาดใหญ่ และตรวจพบเพียงอนุพันธ์ไคบิวทิลทินเท่านั้น ซึ่งพบน้อยลงเมื่อเทียบกับปี พ.ศ.2537-2538 ที่ตรวจพบปริมาณผลรวมสารประกอบบิวทิลทิน 73 ng/g wet wt. ส่วนจังหวัดชลบุรี และจังหวัดตราดตรวจพบปริมาณผลรวมสารประกอบบิวทิลทิน 1.04 และ 0.97 ng/g wet wt. ตามลำดับ

ข้อแตกต่างของการปนเปื้อนจากงานวิจัยในอดีตจนถึงปัจจุบัน

งานวิจัยในปี พ.ศ.2537-2538 ใช้หน่วยปริมาณสารประกอบบิวทิลทินที่ตรวจพบเป็น นาโนกรัม/กรัม (น้ำหนักเปียก) แต่ในงานวิจัยครั้งนี้ใช้หน่วยปริมาณสารประกอบบิวทิลทินที่ตรวจพบเป็น นาโนกรัม/กรัม (น้ำหนักแห้ง) จึงต้องมีการคำนวณปริมาณสารประกอบบิวทิลทินที่ตรวจพบในงานวิจัยครั้งนี้จากน้ำหนักแห้งเป็นน้ำหนักเปียกก่อน จึงจะสามารถเปรียบเทียบปริมาณของผลรวมสารประกอบบิวทิลทินได้ จากผลการวิจัยพบว่ามีเพียง จังหวัดเพชรบุรี จังหวัดประจวบคีรีขันธ์ จังหวัดสุราษฎร์ธานี จังหวัดภูเก็ต จังหวัดตรัง และจังหวัดระยอง เท่านั้นที่สามารถรายงานผลได้เนื่องจากมีปริมาณที่สูงกว่าค่า LOQ ข้อแตกต่างจะทำการเทียบโดยนำปริมาณการปนเปื้อนที่ในอดีตนำมาหารปริมาณการปนเปื้อนในงานวิจัยครั้งนี้ จะได้ค่าความแตกต่างเป็นจำนวนเท่าตัวออกมา ซึ่งจะแสดงให้เห็นว่าปริมาณที่ปนเปื้อนในปัจจุบันต่างจากอดีตกี่เท่า

จังหวัดเพชรบุรี จังหวัดประจวบคีรีขันธ์ จังหวัดสุราษฎร์ธานี จังหวัดภูเก็ต จังหวัดตรัง และจังหวัดระยอง พบปริมาณผลรวมสารประกอบบิวทิลทิน 4.70, 1.74, 47.92, 1.69, 1.20, 1.10 ng/g wet wt. ตามลำดับ และเมื่อเทียบปริมาณผลรวมสารประกอบบิวทิลทินในอดีตในจังหวัดเดียวกันพบปริมาณ 30, 239, 61, 35, 100 และ 73 ng/g wet wt. ตามลำดับ จะทำให้ทราบถึงจำนวนเท่าที่ต่างกันถึง 6.38, 137.35, 1.27, 20.71, 83.33 และ 66.36 เท่า ตามลำดับ แสดงให้เห็นว่ามีแนวโน้มการปนเปื้อนลดลงอย่างชัดเจน และโอกาสที่สารประกอบบิวทิลทินจะเข้ามาปนเปื้อนในระบบนิเวศแหล่งน้ำก็ลดลงตามไปด้วย

สถานการณ์ปริมาณการปนเปื้อนสารประกอบบิวทิลทินในระดับภูมิภาค

ตั้งแต่ที่มีการตรวจพบสารประกอบบิวทิลทินในสิ่งมีชีวิตครั้งแรกในปี ค.ศ. 1982 ก็ทำให้มีการตรวจวัดการปนเปื้อนสารประกอบบิวทิลทินที่สะสมและแพร่กระจายในระบบนิเวศแหล่งน้ำอย่างสม่ำเสมอ ซึ่งทำให้ทราบถึงแนวโน้มการสะสมสารประกอบบิวทิลทินที่เพิ่มขึ้นอย่างต่อเนื่องและส่งผลกระทบต่อสิ่งมีชีวิตที่อาศัยอยู่ในระบบนิเวศแหล่งน้ำ นานาชาติจึงเริ่มกังวลเกี่ยวกับผลกระทบที่เกิดขึ้น และเริ่มมีการศึกษาการแพร่กระจาย การปนเปื้อน และอัตราการสลายตัวของสารประกอบบิวทิลทินในสิ่งมีชีวิตต่าง ๆ เรื่อยมา ส่วนในภูมิภาคเอเชียตะวันออกเฉียงใต้ได้มีการตรวจวัดครั้งแรกในปี ค.ศ. 1994 โดยประเทศไทยได้ริเริ่มการตรวจวัดในหอยแมลงภู่ หลังจากนั้นประเทศต่าง ๆ ที่อยู่ในภูมิภาคก็ได้มีการตรวจวัดในหอยแมลงภู่เช่นกัน ระหว่างปี ค.ศ. 1997-1998 ประเทศมาเลเซีย ประเทศกัมพูชา ประเทศเวียดนาม ประเทศอินโดนีเซีย และประเทศฟิลิปปินส์ ตรวจพบปริมาณสารประกอบบิวทิลทิน 960, 150, 84, 64 และ 74 ng/g wet wt. ตามลำดับ (Sudaryanto et al., 2002) เมื่อเปรียบเทียบกับประเทศไทยในช่วงเวลาดังกล่าว พบว่าประเทศไทยตรวจพบการปนเปื้อนสารประกอบบิวทิลทินที่สูงถึง 800 ng/g wet wt. ซึ่งสูงที่สุดในการตรวจวัดในหอยแมลงภู่ในภูมิภาคนี้ (Kan-atireklap et al., 1997) แต่ในปัจจุบันสามารถตรวจพบปริมาณสารประกอบบิวทิลทินรวมได้เพียง 59.04 ng/g dry wt. แบ่งเป็นอนุพันธ์ โมโนบิวทิลทิน (MBT) อยู่ที่ 0.30 ng Sn/g wet wt. ไดบิวทิลทิน (DBT) อยู่ที่ 0.63 - 47.92 ng Sn/g wet wt. และไตรบิวทิลทิน (TBT) อยู่ที่ 0.91 ng Sn/g wet wt.

นอกจากในหอยแมลงภู่ที่สามารถตรวจพบการปนเปื้อนแล้ว สิ่งมีชีวิตชนิดอื่นก็สามารถตรวจพบการปนเปื้อนได้ เช่น หอยตลับ (*Meretrix spp.*) ในประเทศเวียดนามมีปริมาณการปนเปื้อนสารประกอบบิวทิลทิน 2.96 - 82.1 ng Sn/g dry wt. (Midorikawa et al., 2004) ปูทะเล (*Scylla serrata*) ในประเทศอินเดียมีปริมาณการปนเปื้อนสารประกอบบิวทิลทิน 340.36 ng Sn/g dry wt. (Jadhav, Bhosale, & Bhosle, 2011) และดาวทะเล (*Asterias amurensis*) ในประเทศเกาหลีมีปริมาณการปนเปื้อนสารประกอบบิวทิลทิน 173 - 3,067 ng Sn/g dry wt. (Shim et al., 2005) เป็นต้น (ตารางที่ 5-1) โดยปริมาณการปนเปื้อนที่ตรวจพบในการศึกษาครั้งนี้ยังอยู่ในปริมาณที่น้อยเมื่อเทียบกับการศึกษาในบริเวณอื่น ซึ่งตัวอย่างที่ใช้ทำการวิเคราะห์นั้นเป็นเนื้อเยื่อแบบแห้ง เมื่อเทียบกับปริมาณของตัวอย่างในอดีตที่ใช้น้ำหนักเนื้อเยื่อแบบเปียก ก็ยังคงพบสารประกอบบิวทิลทินในสัดส่วนที่น้อยกว่ามาก (Kan-atireklap et al., 1997) และเมื่อเทียบปริมาณของอนุพันธ์ ไตรบิวทิลทิน ไดบิวทิลทิน และ โมโนบิวทิลทิน ที่ปนเปื้อนในตัวอย่างสิ่งมีชีวิตนั้น ก็พบว่ามีส่วนปริมาณ ไตรบิวทิลทิน น้อยกว่าปริมาณ ไดบิวทิลทิน และ โมโนบิวทิลทิน แสดงถึงสัญญาณที่ดีขึ้น เนื่องจากแหล่งกำเนิดการปนเปื้อน ไตรบิวทิลทิน นั้นลดลงจากอดีตเป็นอย่างมาก มาตรการที่ IMO

ประกาศใช้ตั้งแต่ปี ค.ศ. 2003 เป็นผลทำให้การปนเปื้อนลดลงอย่างชัดเจน ถึงแม้จะมีการลักลอบใช้ ไตรบิวทิลทินอยู่บ้าง แต่ก็ไม่แพร่หลายเหมือนในอดีต

อัตราการสลายตัวของสารประกอบบิวทิลทิน

สารประกอบบิวทิลทินสามารถปนเปื้อนอยู่ในสิ่งแวดล้อมได้นานเนื่องจากเป็นสารกลุ่ม POPs และมีอัตราการสลายตัวช้าเพราะสารมีความเสถียร โดยค่าครึ่งชีวิต (half-life) ของอนุพันธ์ ไตรบิวทิลทินในสิ่งมีชีวิตจำพวกหอยสองฝาเท่ากับ 1.12 ปี ในน้ำทะเล 0.78 ปี และในดินตะกอน 2.89 ปี (Chen et al., 2016) การสลายตัว (breakdown) จะเปลี่ยนจากไตรบิวทิลทินเป็นไดบิวทิลทิน และโมนิบิวทิลทิน ตามลำดับ ซึ่งการสลายตัวของไตรบิวทิลทินนั้นจะลดความเป็นพิษ และเพิ่มความสามารถในการสลายตัวในสิ่งแวดล้อมได้ดีมากขึ้น แต่ถึงอย่างไรก็ตามถ้าระบบนิเวศแหล่งน้ำ นั้นยังคงได้รับ ไตรบิวทิลทินเข้าสู่ระบบอย่างต่อเนื่องก็จะทำให้อัตราการสลายตัวลดลง และส่งผลกระทบต่อสิ่งมีชีวิตบริเวณแหล่งน้ำเหล่านั้นได้ อีกทั้งสารประกอบบิวทิลทินสามารถถ่ายทอดในรูปแบบห่วงโซ่อาหารได้ในลักษณะ biomagnification ทำให้ผู้บริโภคลำดับสุดท้ายได้รับปริมาณสารมากที่สุด นอกจากนี้แล้วสิ่งมีชีวิตจำพวก sessile organisms และ marine benthos มีโอกาสที่จะได้รับสารประกอบบิวทิลทินมากกว่าสัตว์จำพวกอื่น เพราะสัตว์เหล่านี้อาศัยและหากินในแหล่งที่มีการปนเปื้อนสารประกอบบิวทิลทินอยู่ตลอดเวลา

การสลายตัวโดยการเปลี่ยนรูปของสารประกอบบิวทิลทินนั้นสามารถคำนวณอัตราการสลายตัวได้ดังต่อไปนี้

$$BDI = \frac{DBT + MBT}{TBT}$$

TBT คือ ไตรบิวทิลทิน, DBT คือ ไดบิวทิลทิน, MBT คือ โมนิบิวทิลทิน

โดยค่าที่คำนวณได้นั้นจะไม่มีหน่วยแต่จะแสดงออกมาในรูปแบบค่าระหว่าง โดยค่าที่แสดงถึงอัตราการสลายตัวได้อย่างรวดเร็วจะต้องอยู่ระหว่าง 1 - 100 และค่าที่แสดงถึงอัตราการสลายตัวอย่างช้าจะมีค่าอยู่ระหว่าง 0.001 - 1 ซึ่งอัตราการสลายตัวจะมีแนวโน้มแสดงค่าอยู่ระหว่าง ช่วงใดก็ตามจะมีความสัมพันธ์กับปริมาณการปนเปื้อนสารประกอบบิวทิลทินที่พบอยู่เสมอ เช่น งานวิจัยครั้งนี้มีค่า BDI อยู่ระหว่าง 0.53 - 279.74 และมีค่าเฉลี่ยอยู่ที่ 30.78 จัดอยู่ในช่วงค่าอัตราการสลายตัวอย่างรวดเร็ว โดยสถานที่ที่สามารถคำนวณค่า BDI ได้มีเพียง 6 จังหวัดเท่านั้น ได้แก่ จังหวัดตรัง จังหวัดภูเก็ต จังหวัดประจวบคีรีขันธ์ จังหวัดสุราษฎร์ธานี จังหวัดชลบุรี และจังหวัดตราด มีค่า

BDI คือ 2.98, 2.57, 0.90, 279.74, 43.37 และ 0.53 ตามลำดับ ซึ่งค่า BDI ของงานวิจัยครั้งนี้ สอดคล้องกับปริมาณการปนเปื้อนในหอยแมลงภู่ง่ายๆ โดยจะแสดงถึงแนวโน้มที่ดีเกี่ยวกับการปนเปื้อนสารประกอบบิวทิลทินบริเวณชายฝั่งทะเลประเทศไทยว่ามีปริมาณลดลง ส่วนในภูมิภาคเอเชียงานวิจัยที่แสดงถึงค่า BDI เช่นกัน ได้แก่ ประเทศเกาหลีใต้มีการตรวจวัดการปนเปื้อนสารประกอบบิวทิลทินในหอยแมลงภู่ง่ายๆและสิ่งมีชีวิตทางทะเลบริเวณชายฝั่งระหว่างปี พ.ศ.2537-2538 และปี พ.ศ.2555-2557 มีค่า BDI อยู่ระหว่าง 1.1 - 5.9 และ 0.1 - 23.6 ตามลำดับ (Kim et al., 2017) ส่วนค่า BDI ใน พ.ศ.2537-2538 ไม่สามารถคำนวณได้เนื่องจากมีข้อมูลไม่เพียงพอ

ตารางที่ 5-1 การปนเปื้อนสารประกอบบิวทิลทินในสิ่งมีชีวิตชนิดต่าง ๆ (ng Sn/g dry wt.)

(ดัดแปลงจาก Chen et al., 2016)

location	organism	MBT	DBT	TBT
Vietnam Midorikawa et al. (2004)	Clam (<i>Meretrix</i> spp.)	0.86-29	0.7-6.1	1.4-47
Vietnam Nhan et al. (2005)	Clam (<i>M. metretrix</i>)	2.8-1.8	4.4-27	3.8-15
Malaysia Sudaryanto et al. (2004)	Fish	2.3-7.4 ^a	<1.3-13 ^a	2.4-190 ^a
	Oyster (<i>S. cucullata</i>)	NA	ND-88±8	124-732
India Bhosle et al. (2004)	Mussel (<i>P. viridis</i>)	NA	358	464
	Fish (<i>Mugil</i> sp.)	NA	134±3	96±3
	Clam (<i>P. malabarica</i>)	NA	215±46	64±7
India Jadhav et al. (2011)	Crab (<i>S. serrata</i>)	25.30±1.25	8.26±1.23	79.10±5.68
	Crab (<i>N. suguinolentus</i>)	16.12±0.56	10.03±0.54	85.23±2.18
	Crab (<i>N. pelagicu</i>)	18.20±0.52	8.90±0.52	15.18±1.13
	Starfish (<i>A. pectinifera</i>)	51-2860	8-139	ND-323
Korea Shim et al. (2005)	Starfish (<i>A. amurensis</i>)	103-1520	49-750	21-797
	Bivalves	ND-461	23-699	16-1610

ตารางที่ 5-1 (ต่อ)

location	organism	MBT	DBT	TBT
Hong Kong	Gastropod (<i>T. clavigera</i>)	ND-366	ND-197	ND-18
Leung et al. (2006)	Gastropod (<i>T. luteostoma</i>)	ND-51	ND-85	3.8-170
Taiwan	Crab (<i>T. crenata</i>)	11.8-410.0	9.3-271.2	1.2-75.2
Chen et al. (2016)				
Thailand (Present study)	Mussel (<i>P. viridis</i>)	1.85	0.95-262.17	0.68-4.49

^a ng organotin instead of Sn; ND: below detection limit; NA: no data available

ความเสี่ยงต่อมนุษย์

การประเมินค่าความเสี่ยงต่อมนุษย์ที่จะสามารถได้รับสารประกอบบิวทิลทินในอาหารสามารถคำนวณได้จากค่า tolerable average residue level (TARL) ดังสมการต่อไปนี้

$$TARL = \sum \frac{TDI (Tolerable daily intake) \times 60 (kgBW)}{average daily seafood consumption}$$

หมายเหตุ: TDI = 0.25 µg/kg body weight

60 kg = น้ำหนักเฉลี่ยของประชากรในประเทศไทย

โดยการคำนวณค่าดังกล่าวจะกำหนดค่า TDI = 0.25µg/kg body weight ตามค่ามาตรฐานที่ The World Health Organization (WHO) กำหนดไว้ และน้ำหนักเฉลี่ยของคนไทยอยู่ที่ 60 กิโลกรัม/คน ส่วนค่าเฉลี่ยการบริโภคอาหารทะเลของคนไทยอยู่ที่ 33.73 กิโลกรัม/วัน/คน เมื่อคำนวณเฉลี่ยเป็นวันจะได้ 0.092 กิโลกรัม/วัน/คน จากการคำนวณค่าประเมินความเสี่ยงต่อมนุษย์ที่จะสามารถได้รับสารประกอบบิวทิลทินในอาหารของประเทศไทยอยู่ที่ 163.04 ng/g wet wt. เมื่อนำผลดังกล่าวมาเปรียบเทียบกับปริมาณสารประกอบบิวทิลทินที่พบในงานวิจัยครั้งนี้พบว่า หอยแมลงภู่นิวบริเวณทะเลประเทศไทยยังคงสามารถบริโภคได้ โดยค่าดังกล่าวไม่เกินเกณฑ์ของค่า

TARL ที่คำนวณไว้ และการตรวจพบสารประกอบบิวทิลทินในหอยแมลงภู่งูก็มีแนวโน้มที่ลดลงอย่างชัดเจน

สรุปผลการวิจัย

1. การสกัดสารประกอบบิวทิลทินในตัวอย่างสิ่งมีชีวิตสามารถทำได้โดยอาศัยเทคนิค solid-liquid extraction (SLE) และใช้ sodium tetraethylborate ($\text{NaB}(\text{Et})_4$) เป็นตัว derivatization
2. การปนเปื้อนสารประกอบบิวทิลทินในหอยแมลงภู่งูชนิด *P. viridis* บริเวณชายฝั่งประเทศไทย ตรวจพบผลรวมสารประกอบบิวทิลทินอยู่ระหว่าง 0.97 - 262.17 ng/g dry wt. หรือคิดเป็นปริมาณ 0.03 - 47.92 ng/g wet wt.
3. การตรวจพบการปนเปื้อนอนุพันธ์ไคบิวทิลทินสูงสุดในจังหวัดที่มีการเพาะเลี้ยงชายฝั่งเป็นจำนวนมาก และยังสามารถตรวจพบการปนเปื้อนอนุพันธ์ไคบิวทิลทินได้แม้จะพบปริมาณน้อยก็ตามในบริเวณจังหวัดที่มีเส้นทางเดินเรือ ท่าเทียบเรือ อู่ต่อเรือ
4. ปริมาณผลรวมสารประกอบบิวทิลทินที่พบระหว่างปี พ.ศ.2537-2538 และปี พ.ศ. 2557 มีปริมาณการปนเปื้อนที่ต่างกันอย่างชัดเจน โดยการปนเปื้อนในปัจจุบันมีแนวโน้มที่ลดลง
5. ค่าอัตราการสลายตัวของสารประกอบบิวทิลทิน (BDI) มีการสลายตัวสูงขึ้น สอดคล้องกับงานวิจัยอื่น ๆ ในภูมิภาคเดียวกัน
6. อนุพันธ์ไคบิวทิลทินที่ปนเปื้อนในเนื้อเยื่อหอยแมลงภู่งูชนิด *P. viridis* บริเวณชายฝั่งประเทศไทยสามารถบริโภคได้อย่างปลอดภัย เนื่องจากไม่เกินปริมาณ TARL ที่คำนวณได้

ข้อเสนอแนะ

1. ควรทำการวิเคราะห์ด้วยเครื่อง GC-MS/MS เพราะมีประสิทธิภาพในการตรวจวัดที่แม่นยำมากกว่าเครื่อง GC-MS
2. ควรเพิ่มจำนวนการทำซ้ำมากกว่านี้ เพื่อความเที่ยงตรงของข้อมูล
3. ควรศึกษาปริมาณการปนเปื้อนในสิ่งแวดล้อมบริเวณเดียวกันกับตัวอย่างสิ่งมีชีวิต
4. ควรเพิ่มอายุของสิ่งมีชีวิตที่ศึกษาในแต่ละปี
5. ควรศึกษาสิ่งมีชีวิตอื่น ๆ ที่อยู่ในสิ่งแวดล้อมเดียวกัน เช่น สิ่งมีชีวิตที่อาศัยอยู่หน้าดิน ปลา และหญ้าทะเล เป็นต้น เพื่อเปรียบเทียบปริมาณการปนเปื้อนที่พบ

บรรณานุกรม

- กรมควบคุมมลพิษ กระทรวงทรัพยากรธรรมชาติและสิ่งแวดล้อม. (2549). *โครงการติดตามตรวจสอบคุณภาพน้ำทะเล มาตรการและแผนปฏิบัติการจัดการการใช้สารประกอบดีบุกอินทรีย์ชนิดไตรบิวทิลทินสำหรับประเทศไทย*. กรุงเทพฯ: กรมควบคุมมลพิษ.
- คเชนทร เฉลิมวัฒน์. (2544). *การเพาะเลี้ยงหอย*. กรุงเทพฯ: ไร่เขียว.
- ทินกร เตียนสิงห์. (2540). *การพัฒนาขั้นตอนการเตรียมตัวอย่างการวิเคราะห์สารประกอบดีบุกอินทรีย์ในตัวอย่างสิ่งมีชีวิต*. วิทยานิพนธ์วิทยาศาสตรมหาบัณฑิต, สาขาวิชาเคมีวิเคราะห์และเคมีอนินทรีย์ประยุกต์, บัณฑิตวิทยาลัย, มหาวิทยาลัยมหิดล.
- มนทกานต์ วิสุทธิแพทย์. (2547). *การเปลี่ยนแปลงสภาพของไตรบิวทิลทิน ไคบิวทิลทิน โมโนบิวทิลทินในน้ำและดินตะกอน*. วิทยานิพนธ์วิทยาศาสตรมหาบัณฑิต, สาขาวิชาวิทยาศาสตร์สิ่งแวดล้อม, บัณฑิตวิทยาลัย, มหาวิทยาลัยบูรพา.
- Alzieu, C. (1991). Environmental problems caused by TBT in France: Assessment, regulations, prospects. *Marine Environmental Research*, 32(1-4), 7-17.
- Alzieu, C. (1998). Tributyltin: Case study of a chronic contaminant in the coastal environment. *Ocean & Coastal Management*, 40(1), 23-36.
- Alzieu, C., Sanjuan, J., Deltreil, J. P., & Borel, M. (1986). Tin contamination in Arcachon Bay: Effects on oyster shell anomalies. *Marine Pollution Bulletin*, 17(11), 494-498.
- Alzieu, C. L., Sanjuan, J., Michel, P., Borel, M., & Dreno, J. P. (1989). Monitoring and assessment of butyltins in Atlantic coastal waters. *Marine Pollution Bulletin*, 20(1), 22-26.
- Alzieu, C., Michel, P., Tolosa, I., Bacci, E., Mee, L. D., & Readman, J. W. (1991). Organotin compounds in the Mediterranean: A continuing cause for concern. *Marine Environmental Research*, 32(1-4), 261-270.
- Antizar-Ladislao, B. (2008). Environmental levels, toxicity and human exposure to tributyltin (TBT) - contaminated marine environment. A review. *Environment international*, 34(2), 292-308.
- Arai, T., Harino, H., & Ohji, M. (2008). Organotin levels in coastal areas in Vietnam. *Coastal Marine Science*, 32(1), 127-130.

- Berto, D., Giani, M., Boscolo, R., Covelli, S., Giovanardi, O., Massironi, M., & Grassia, L. (2007). Organotins (TBT and DBT) in water, sediments, and gastropods of the southern Venice lagoon (Italy). *Marine Pollution Bulletin*, 55(10-12), 425-435.
- Bhosle, N. B., Garg, A., Jadhav, S., Harjee, R., Sawant, S. S., Venkat, K., & Anil, A. C. (2004). Butyltins in water, biofilm, animals and sediments of the west coast of India. *Chemosphere*, 57(8), 897-907.
- Blunden, S. J., & Evans, C. J. (1990). Organotin compounds. In O. Hutgiuger (Ed.), *The handbook of environmental chemistry: Volume 3. Part E Anthropogenic compounds* (pp. 1-44). Heidelberg: Springer-Verlag.
- Chen, C. W., Chen, C. F., Ju, Y. R., & Dong, C. D. (2016). Assessment of the bioaccumulation and biodegradation of butyltin compounds by *Thalamita crenata* in Kaohsiung Harbor, Taiwan. *International Biodeterioration & Biodegradation*, 113, 97-104.
- Cole, R. F., Mills, G. A., Parker, R., Bolam, T., Birchenough, A., Kröger, S., & Fones, G. R. (2015). Trends in the analysis and monitoring of organotins in the aquatic environment. *Trends in Environmental Analytical Chemistry*, 8, 1-11.
- Cruz, A., Henriques, I., Correia, A., Susuki, S., & Mendo, S. (2010). *Aeromonas molluscorum* Av27: A potential natural tool for TBT decontamination. *Interdisciplinary Studies on Environmental Chemistry*, 37-46.
- De Mora, S. J., Stewart, C., & Phillips, D. (1995). Sources and rate of degradation of tri (n-butyl) tin in marine sediments near Auckland, New Zealand. *Marine Pollution Bulletin*, 30(1), 50-57.
- Fent, K. (1996). Ecotoxicology of organotin compounds. *Critical Reviews in Toxicology*, 26(1), 1-117.
- Foale, S. (1993). An evaluation of the potential of gastropod imposex as a bioindicator of tributyltin pollution in Port Phillip Bay, Victoria. *Marine Pollution Bulletin*, 26(10), 546-552.
- Gibbs, P. E., & Bryan, G. W. (1994). Biomonitoring of tributyltin (TBT) pollution using the imposex response of neogastropod molluscs. *Biomonitoring of coastal waters and estuaries*, 54, 205-206.

- Gipperth, L. (2009). The legal design of the international and European Union ban on tributyltin antifouling paint: Direct and indirect effects. *Journal of Environmental Management*, 90, 86-95.
- Harino, H. (2004). Occurrence and degradation of representative TBT free-antifouling biocides in aquatic environment. *Journal of Coastal Marine Science*, 29, 28-39.
- Harino, H., Eguchi, S., Yamamoto, Y., Kurokawa, Y., Kawai, S. I., Arai, T., Ohji, M., Yamato, S., Kobayashi, N., & Miyazaki, N. (2008). Distribution of organotin compounds in representative coastal areas from Japan: A review. *Coastal Marine Science*, 32(1), 88-95.
- Harino, H., O'Hara, S. C., Burt, G. R., Chesman, B. S., & Langston, W. J. (2005). Distribution of organotin compounds in tissues of mussels *Mytilus edulis* and clams *Mya arenaria*. *Chemosphere*, 58(7), 877-881.
- Hong, H. K., Takahashi, S., Min, B. Y., & Tanabe, S. (2002). Butyltin residues in blue mussels (*Mytilus edulis*) and arkshells (*Scapharca broughtonii*) collected from Korean coastal waters. *Environmental Pollution*, 117(3), 475-486.
- Harino, H., Yamamoto, Y., Eguchi, S., Kurokawa, Y., Arai, T., Ohji, M., & Miyazaki, N. (2007). Concentrations of antifouling biocides in sediment and mussel samples collected from Otsuchi Bay, Japan. *Archives of Environmental Contamination and Toxicology*, 52(2), 179.
- International Marine Organisation. (2007). *International convention on the control of harmful antifouling systems on ships; 2001*. Retrieved from http://www.imo.org/conventions/mainframe.asptopic_id=529
- IPCS. (1990). *Environmental Health Criteria 116 - Tributyltin Compounds*, Geneva: WHO.
- IRIS. (1997). *Toxicological review - Tributyltin oxide (TBTO)*, U.S. Environmental Protection Agency, Integrated Risk Information System.
- Jadhav, S., Bhosale, D., & Bhosle, N. (2011). Baseline of organotin pollution in fishes, clams, shrimps, squids and crabs collected from the west coast of India. *Marine Pollution Bulletin*, 62(10), 2213-2219.
- Kan-Atireklap, S., Tanabe, S., & Sanguansin, J. (1997). Contamination by butyltin compounds in sediments from Thailand. *Marine Pollution Bulletin*, 34(11), 894-899.

- Kim, T., Jeon, S., Hong, S., Song, S. J., Kwon, B. O., Ryu, J., & Khim, J. S. (2017). Spatiotemporal distributions of butyltin compounds in various intertidal organisms along the Samcheok and Tongyeong coasts of Korea. *Chemosphere*, *172*, 268-277.
- Ladislao, B. A. (2008). Environmental levels, toxicity and human exposure to tributyltin (TBT)-contaminated marine environment. A review. *Environment International*, *34*(2), 292-308.
- Laughlin, R. B., & Lindén, O. (1985). Fate and effects of organotin compounds. *Ambio*, *14*(2), 88-94.
- Leung, K. M., Kwong, R. P., Ng, W. C., Horiguchi, T., Qiu, J. W., Yang, R., & Lam, P. K. (2006). Ecological risk assessments of endocrine disrupting organotin compounds using marine neogastropods in Hong Kong. *Chemosphere*, *65*(6), 922-938.
- Midorikawa, S., Arai, T., Harino, H., Ohji, M., Cu, N. D., & Miyazaki, N. (2004). Concentrations of organotin compounds in sediment and clams collected from coastal areas in Vietnam. *Environmental Pollution*, *131*(3), 401-408.
- Nhan, D. D., Loan, D. T., Tolosa, I., & De Mora, S. J. (2005). Occurrence of butyltin compounds in marine sediments and bivalves from three harbour areas (Saigon, Da Nang and Hai Phong) in Vietnam. *Applied Organometallic Chemistry*, *19*(7), 811-818.
- Paul, J. Barter & Matthew Jones (2015). *Imposex Investigation on Astrolare and Okaparu Reefs*. New Zealand: Cawthron Institute 2659.
- Qu, D., Ma, Y., Sun, W., Chen, Y., Zhou, J., Liu, C., & Huang, M. (2015). Microemulsion-based synergistic dual-drug codelivery system for enhanced apoptosis of tumor cells. *International Journal of Nanomedicine*, *10*, 1173-1187.
- Rumengan, I., Ohji, M., Arai, T., Harino, H., Arifin, Z., & Miyazaki, N. (2008). Contamination status of butyltin compounds in Indonesian coastal waters. *Coastal Marine Science*, *32*(1), 116-126.
- Shim, W. J., Yim, U. H., Kim, N. S., Hong, S. H., Oh, J. R., Jeon, J. K., & Okamura, H. (2005). Accumulation of butyl- and phenyltin compounds in starfish and bivalves from the coastal environment of Korea. *Environmental Pollution*, *133*(3), 489-499.
- Sousa, A. C., Pastorinho, M. R., Takahashi, S., & Tanabe, S. (2014). History on organotin compounds, from snails to humans. *Environmental Chemistry Letters*, *12*(1), 117-137.

- Stebbing, A. R. D. (1985). Organotins and water quality-Some lessons to be learned. *Marine Pollution Bulletin*, 16(10), 363-389.
- Sudaryanto, A., Takahashi, S., Iwata, H., Tanabe, S., & Ismail, A. (2004). Contamination of butyltin compounds in Malaysian marine environments. *Environmental Pollution*, 130(3), 347-358.
- Sudaryanto, A., Takahashi, S., Monirith, I., Ismail, A., Muchtar, M., Zheng, J., & Tanabe, S. (2002). Asia Pacific mussel watch: Monitoring of butyltin contamination in coastal waters of Asian developing countries. *Environmental Toxicology and Chemistry: An International Journal*, 21(10), 2119-2130.
- Sudaryanto, A., Takahashi, S., Monirith, I., Ismail, A., Muchtar, M., Zheng, J., & Tanabe, S. (2002). Asia-Pacific mussel watch: monitoring of butyltin contamination in coastal waters of Asian developing countries. *Environmental Toxicology and Chemistry*, 21(10), 2119-2130.
- Voulvoulis, N., Scrimshaw, M. D., & Lester, J. N. (2000). Occurrence of four biocides utilized in antifouling paints, as alternatives to organotin compounds, in waters and sediments of a commercial estuary in the UK. *Marine Pollution Bulletin*, 40(11), 938-946.
- Wilson, S. P., Ahsanullah, M., & Thompson, G. B. (1993). Imposex in neogastropods: An indicator of tributyltin contamination in eastern Australia. *Marine Pollution Bulletin*, 26(1), 44-48.
- Wood, A. R., Apte, S., MacAvoy, E. S., & Gardner, J. P. A. (2007). A molecular phylogeny of the marine mussel genus *Perna* (Bivalvia: Mytilidae) based on nuclear (ITS1&2) and mitochondrial (COI) DNA sequences. *Molecular Phylogenetics and Evolution*, 44(2), 685-698.
- Yáñez, J., Riffo, P., Mansilla, H. D., Bravo, M., Quiroz, W., & Santander, P. (2016). Speciation analysis of organotin compounds (OTCs) by a simultaneous hydride generation-liquid/liquid extraction and GC-MS determination. *Microchemical Journal*, 126, 460-465.

ภาคผนวก

ภาคผนวก ก

การเตรียมสารละลาย

การเตรียมสารละลายมาตรฐานสารประกอบบิวทิลทิน (Stock standard)

เตรียมสารละลายมาตรฐานโดยใช้ monobutyltin chloride ($[\text{CH}_3\text{CH}_2]_1\text{SnCl}_3$ 95%), dibutyltin chloride ($[\text{CH}_3(\text{CH}_2)_2]_2\text{SnCl}_2$ 96%) และ tributyltin chloride ($[\text{CH}_3(\text{CH}_2)_3]_3\text{SnCl}$ 96%) จาก Sigma-Aldrich® เตรียมลงในเมทานอลให้ได้ความเข้มข้น 1 กรัม/ลิตร และเก็บไว้ที่อุณหภูมิ 4 องศาเซลเซียส

ภาคผนวก ก-1 การเตรียม Stock standard ความเข้มข้น 1 กรัม/ลิตร

Butyltin	Weighing factor corrected for chloride	Amount (mg)	Final volume in Methanol (ml)
MBT	0.623	16.1	10
DBT	0.767	13.0	10
TBT	0.891	11.2	10

การเตรียม Internal standard

เตรียมโดยใช้ tripropyltin (TPrT) ($(\text{CH}_3\text{CH}_2\text{CH}_2)_3\text{SnCl}$ 99%) จาก Sigma-Aldrich ให้ได้ความเข้มข้น 10 มิลลิกรัม/ลิตร ในเมทานอลและเก็บไว้ที่อุณหภูมิ 4 องศาเซลเซียส

ภาคผนวก ก-2 การเตรียม Stock internal standard ความเข้มข้น 1 กรัมต่อลิตร

Butyltin	Weighing factor corrected for chloride	Amount (mg)	Final volume in Methanol (ml)
TPrT	0.875	11.4	10

ภาคผนวก ก-3 การเตรียม Intermediate mix standard 10 มิลลิกรัม/ลิตร จาก Stock standard 1 กรัม/ลิตร

Butyltin	Volume of individual 1 g/L Standard added (μL)	Final volum in methanol (ml)
MBT	100	10
DBT	100	10
TBT	100	10

การเตรียมสาร Organotin catching

เตรียมโดยใช้ sodium diethyldithiocarbamate ($\text{C}_5\text{H}_{10}\text{NS}_2\text{Na} \cdot 3\text{H}_2\text{O}$) จาก Sigma-Aldrich ให้ได้ความเข้มข้น 1.5 กรัม ในเอทานอล 25 มิลลิลิตร

การเตรียมสารละลาย Acetate buffer

เตรียมโดยใช้ sodium acetate ($\text{C}_2\text{H}_3\text{NaO}_2$) ละลายในน้ำ DI ปรับค่า pH 4.5 ± 0.3 โดยใช้สารละลาย 1 M acetic acid และสารละลาย 0.1 M NaOH

ความสัมพันธ์เชิงเส้น

ความเป็นเส้นตรง (linearity) ในการสร้างกราฟมาตรฐานในการวิเคราะห์ช่วงความเข้มข้นที่ต้องให้ความสัมพันธ์เชิงเส้น โดยให้ค่าสัมประสิทธิ์สหสัมพันธ์ (correlation coefficient) ไม่น้อยกว่า 0.990 ค่าสัมประสิทธิ์สหสัมพันธ์ สามารถคำนวณได้จากสมการ

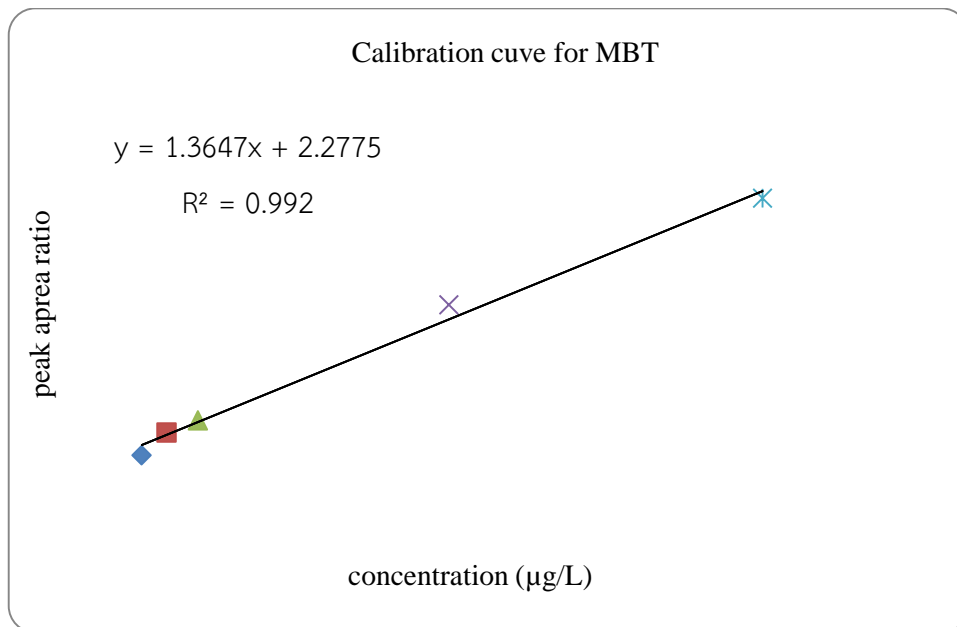
$$r = \frac{\sum_i [(x_i - \bar{x})(y_i - \bar{y})]}{\left\{ \left[\sum_i (x_i - \bar{x})^2 \right] \left[\sum_i (y_i - \bar{y})^2 \right] \right\}^{\frac{1}{2}}}$$

หรือ

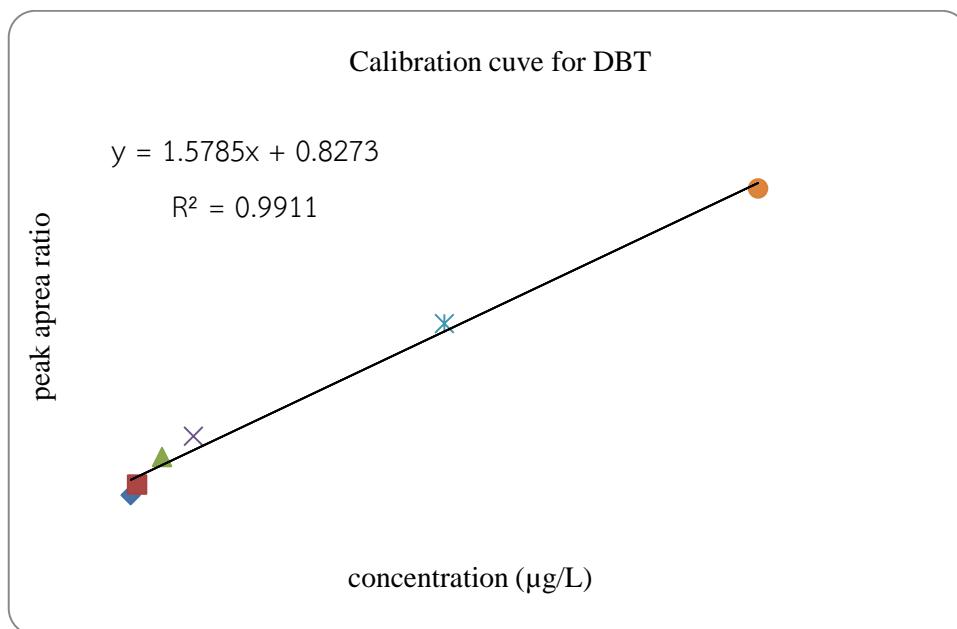
$$r = \frac{[n \sum xy - \sum x \sum y]}{\left[n \sum x^2 - (\sum x)^2 \right]^{\frac{1}{2}} \left[n \sum y^2 - (\sum y)^2 \right]^{\frac{1}{2}}}$$

ถ้า $r = \pm 1$ แสดงว่ามีความสัมพันธ์เชิงเส้นโดยสมบูรณ์ (complete correlation)

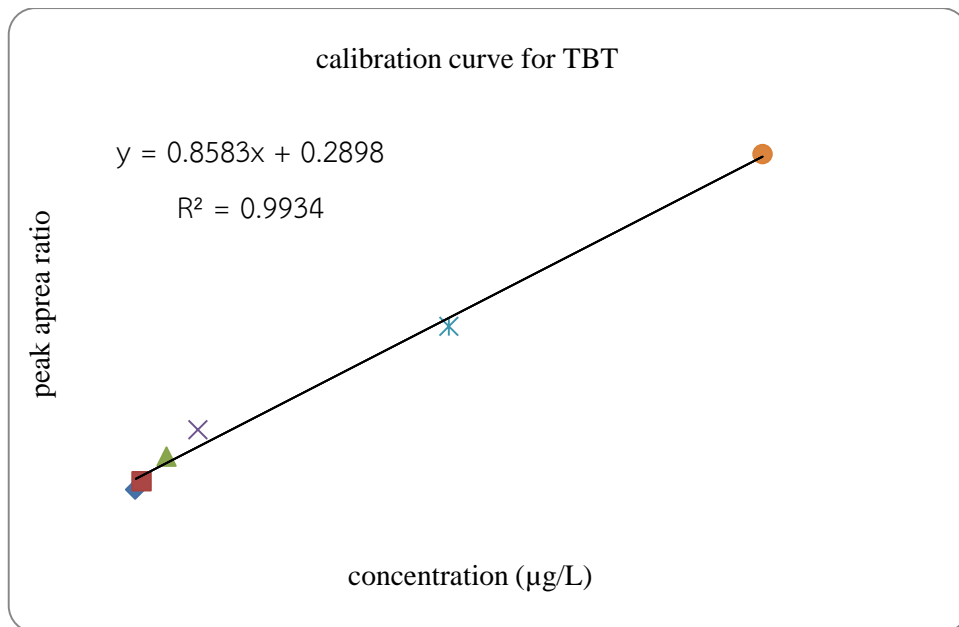
$r = 0$ แสดงว่าไม่มีความสัมพันธ์เชิงเส้นโดยสิ้นเชิง



ภาพที่ 1 กราฟมาตรฐานของ MBT สร้างจากการเตรียมสารมาตรฐานในตัวทำละลาย



ภาพที่ 2 กราฟมาตรฐานของ DBT สร้างจากการเตรียมสารมาตรฐานในตัวทำละลาย



ภาพที่ 3 กราฟมาตรฐานของ TBT สร้างจากการเตรียมสารมาตรฐานในตัวทำละลาย