

การพัฒนาชุดทดสอบพาราควอตแบบขั้นตอนเดียว

จินตนา กรดเต็ม¹ ศรีนยา ฤทธิเนียม¹ ธรรมวุฒิ ชูมาก¹ และลักขิกา ทองเรืองศรี²

¹ศูนย์วิทยาศาสตร์การแพทย์ที่ 12/1 ตรัง กรมวิทยาศาสตร์การแพทย์ อำเภอเมือง ตรัง 92000

²โรงพยาบาลปะเหลียน อำเภอปะเหลียน ตรัง 92120

บทคัดย่อ พาราควอต (paraquat) เป็นสารกำจัดวัชพืชที่ใช้กันอย่างแพร่หลายและมีฤทธิ์อันตรายร้ายแรงต่อคนและสัตว์ ตั้งแต่ปีงบประมาณ พ.ศ. 2541 ศูนย์วิทยาศาสตร์การแพทย์ที่ 12/1 ตรัง ได้จัดทำชุดน้ำยาทดสอบพาราควอตแบบ 2 ขั้นตอน และสนับสนุนให้โรงพยาบาลใช้ตรวจตัวอย่างผู้ป่วยที่สงสัยว่าจะได้รับสารพิษพาราควอต หลังจากนั้นปีงบประมาณ พ.ศ. 2562 ได้พัฒนาชุดทดสอบพาราควอตแบบขั้นตอนเดียวในรูปแบบแคปซูล โดยมีวัตถุประสงค์เพื่อเพิ่มความสะดวกในการใช้งาน โดยลดขั้นตอนการทดสอบจาก 2 ขั้นตอน ให้เหลือเพียงขั้นตอนเดียว และนำมาใช้ตรวจพิสูจน์หาพาราควอตเชิงคุณภาพในตัวอย่างน้ำดื่ม น้ำล้างกระเพาะเทียม และปัสสาวะ ผลการศึกษาพบว่าชุดทดสอบที่พัฒนาขึ้นนี้มีความจำเพาะกับสารพาราควอต โดยมีค่าขีดจำกัดของการตรวจพบพาราควอตในตัวอย่างน้ำดื่ม น้ำล้างกระเพาะเทียม และปัสสาวะ เท่ากับ 0.7, 1.0 และ 2.0 ug/ml ตามลำดับ ผลการประเมินประสิทธิภาพของชุดทดสอบ พบว่ามีค่าความไว ความจำเพาะ และความถูกต้อง ร้อยละ 100 เมื่อทดสอบอายุการใช้งานพบว่าชุดทดสอบนี้สามารถเก็บไว้ที่สภาวะอุณหภูมิห้องได้นาน 1 เดือน และเก็บไว้ในตู้เย็นความเย็นได้นาน 5 เดือน ผลจากการศึกษาครั้งนี้สรุปได้ว่าชุดทดสอบพาราควอตแบบขั้นตอนเดียวที่พัฒนาขึ้นนี้สามารถใช้งานได้ง่ายและสะดวก ทราบผลรวดเร็วเหมาะที่จะนำไปใช้ตรวจพิสูจน์พาราควอตในตัวอย่างน้ำดื่ม น้ำล้างกระเพาะเทียม และปัสสาวะได้

คำสำคัญ: พาราควอต, ชุดทดสอบ, สารกำจัดวัชพืช

Corresponding author E-mail: jintana.k@dmsc.mail.go.th

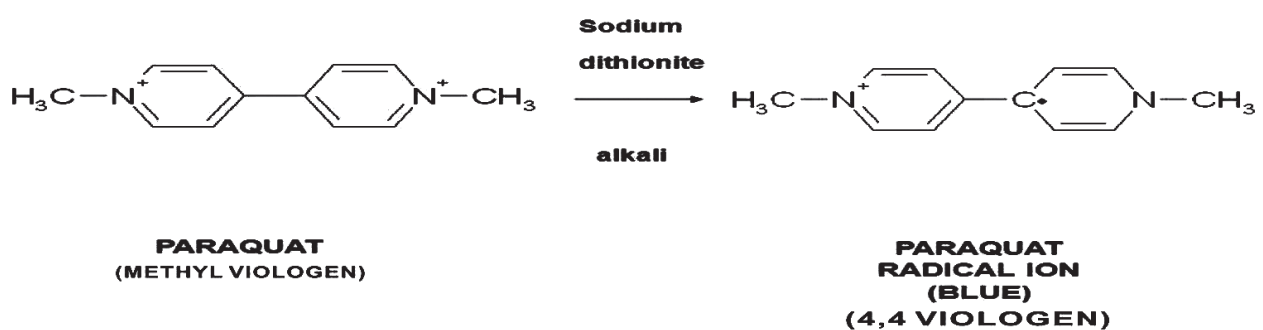
Received: 17 March 2021

Revised: 16 July 2021

Accepted: 30 July 2021

บทนำ

พาราควอต (paraquat) หรือยาฆ่าหญ้าเป็นสารเคมีกำจัดวัชพืชในกลุ่ม dipyridilium มีชื่อทางเคมีว่า 1,1' dimethyl 4,4' bipyridinium หรือเรียกอีกชื่อหนึ่งว่าเมทิลไวโอลเจน (methyl viologen) ผลิตภัณฑ์ที่วางจำหน่ายในท้องตลาดใช้ชื่อทางการค้า เช่น กรัสม็อกโซน^(1, 2) มีฤทธิ์อันตรายร้ายแรงและมีพิษเฉียบพลันสูงต่อมนุษย์ ไม่มียาถอนพิษ ถ้ากินเข้าไปเพียงปริมาณเล็กน้อยก็ทำให้เสียชีวิตได้⁽³⁾ ในภาคเกษตรกรรมมีการใช้พาราควอตอย่างแพร่หลายกับพืชไร่หลายชนิด ซึ่งในแต่ละปีมีผู้ป่วยหลายรายที่ได้รับพิษจากพาราควอตและเข้ารับการรักษานในโรงพยาบาลสาเหตุส่วนใหญ่เนื่องมาจากผู้ป่วยเจตนากินและนิยมใช้เพื่อฆ่าตัวตาย⁽⁴⁾ หรือกรณีประทุษร้ายหรือเกิดจากรู้เท่าไม่ถึงการณ์โดยนึกว่าเป็นเครื่องดื่มที่มีสี ผู้ป่วยที่ได้รับสารพิษชนิดนี้โดยตรงและไม่ได้รับการตรวจพิสูจน์แพทย์อาจจะไม่สามารถช่วยเหลือผู้ป่วยได้ทันทั่วทั้งที่ อาการพิษร้ายแรงมักพบในผู้ป่วยที่จงใจกินเพื่อฆ่าตัวตาย ถ้าได้รับสัมผัสสารที่มีความเข้มข้นสูงจะเกิดอาการระคายเคืองผิวหนัง ทางเดินหายใจ เนื้อเยื่อภายในปากและตา ส่วนอาการพิษแบบเฉียบพลันอาจรุนแรงถึงเสียชีวิตภายใน 2-3 วัน เนื่องจากเกิดพังผืดที่ปอดและเกิดอาการพิษต่อไต⁽⁵⁾ ขนาดที่เป็นพิษหรือปริมาณที่ทำให้ตายในผู้ใหญ่เท่ากับ 4 มิลลิกรัมต่อกิโลกรัมของน้ำหนักตัว⁽⁶⁾ ข้อมูลทางพิษวิทยามีรายงานการศึกษาในมนุษย์ มีค่า Oral LD₅₀ human เท่ากับ 40-60 มิลลิกรัม/กิโลกรัม⁽²⁾ หรือระดับที่เป็นพิษ ถ้ากินเข้าไปขนาดมากกว่า 40 มิลลิกรัม/กิโลกรัม จะทำให้เกิดพิษ เช่น อาเจียนทันที ท้องเสีย ปวดท้อง มีแผลในทางเดินอาหาร ไตวาย ตับวาย ตับอ่อนอักเสบ กล้ามเนื้อหัวใจอักเสบ ความดันโลหิตต่ำ หมดสติ และชัก ผู้ป่วยจะตายภายใน 1-4 วัน จากภาวะช็อกเนื่องจากหัวใจล้มเหลว หรือถ้ากินพาราควอตที่เป็นสารละลายความเข้มข้นประมาณ 20% เพียง 10-20 มิลลิลิตร ในผู้ใหญ่ หรือ 4-5 มิลลิลิตร ในเด็ก⁽⁵⁾ หรือได้รับเพียง 1-2 ช้อนชา ก็สามารถทำให้ตายได้⁽⁷⁾ สำหรับผลกระทบเรื้อรังต่อสุขภาพ ทำให้ก่อโรคมะเร็งปอดและโรคสมองเสื่อม⁽⁵⁾ จากการทบทวนวรรณกรรมมีรายงานการตายอันเนื่องจากสารเคมีกำจัดศัตรูพืช ซึ่งมีพาราควอตเป็นสาเหตุสำคัญจากอุบัติเหตุหรือจงใจฆ่าตัวตายในภูมิภาคเอเชียแปซิฟิกประมาณ 300,000 คนต่อปี และมีรายงานพบผู้ป่วยหญิงอายุ 18 ปี จำนวน 1 ราย ได้รับพาราควอตสาเหตุมาจากผู้ป่วยจงใจกินพาราควอตเพื่อฆ่าตัวตาย⁽⁸⁾ อวัยวะภายในถูกทำลายจนหมดและเสียชีวิตในเวลาต่อมา⁽⁹⁾ ซึ่งจากข้อมูลดังกล่าวข้างต้นจึงพอสรุปได้ว่าความเป็นพิษและอันตรายจากพาราควอตมีความรุนแรงมาก โดยเฉพาะอย่างยิ่งเมื่อมีการนำไปใช้ในทางที่ผิดหรือใช้อย่างไม่ระมัดระวัง ดังนั้นจะเห็นว่าพาราควอตยังคงส่งผลกระทบต่อคนหรือผู้บริโภคโดยตรง ห้องปฏิบัติการพิษวิทยา ศูนย์วิทยาศาสตร์การแพทย์ที่ 12/1 ตรัง ได้เปิดให้บริการทดสอบหาพาราควอตหรือเมทิลไวโอลเจน ด้วยใช้หลักการทางเคมีและทำปฏิกิริยารีดอกซ์ต่อกันของสารเคมี 2 ชนิด ที่มีความจำเพาะ เกิดปฏิกิริยาของสารไดไฮโอไนท์ในสภาพต่างเพื่อเปลี่ยนให้อยู่ในรูป reduced form หรือ free radical เกิดสารละลายสีน้ำเงินหรือสีฟ้าของ paraquat radical ion หรือ 4,4 viologen โดยมีกลไกการเกิดปฏิกิริยาดังแสดงในภาพที่ 1^(1, 3)



ภาพที่ 1 ปฏิกิริยาทางเคมีที่ใช้ในการทดสอบหาพาราควอต

ในปีงบประมาณ พ.ศ. 2541 ห้องปฏิบัติการพิษวิทยา ศูนย์วิทยาศาสตร์การแพทย์ที่ 12/1 ตรัง ได้พัฒนาชุดน้ำยาทดสอบเอกลักษณ์ของพาราควอตโดยใช้หลักการเดิม ทั้งนี้เพื่อเตรียมความพร้อมของห้องปฏิบัติการฯ ให้สามารถใช้งานได้ทันทีโดยไม่ต้องหาสารเคมี และเพื่อสนับสนุนให้ห้องปฏิบัติการชันสูตรของโรงพยาบาลในเขตรับผิดชอบ สามารถนำไปใช้ตรวจตัวอย่างหรือสิ่งส่งตรวจจากผู้ป่วยที่สงสัยว่าได้รับพาราควอตโดยจงใจและไม่จงใจฆ่าตัวตาย โดยไม่ต้องส่งตัวอย่าง สิ่งส่งตรวจที่ใช้ตรวจ เช่น น้ำล้างกระเพาะเศษอาหาร ปัสสาวะ และตัวอย่างของกลางที่สงสัยว่าปนเปื้อนสารพาราควอต มีความไวตั้งแต่ 1.0 ไมโครกรัม/มิลลิลิตร ($\mu\text{g}/\text{ml}$) ขึ้นไป จากนั้นได้ถ่ายทอดเทคโนโลยี เรื่องการใช้ชุดน้ำยาทดสอบพาราควอตโดยเตรียมตัวอย่างทดสอบพร้อมชุดทดสอบส่งให้กับห้องปฏิบัติการชันสูตรของโรงพยาบาลในเขตจังหวัดตรัง พบว่าเจ้าหน้าที่ห้องปฏิบัติการชันสูตรของโรงพยาบาลมีศักยภาพสามารถรายงานผลได้ถูกต้องและไม่แตกต่างจากผลทดสอบของเจ้าหน้าที่ห้องปฏิบัติการพิษวิทยาของศูนย์วิทยาศาสตร์การแพทย์ที่ 12/1 ตรัง⁽⁹⁾ แต่เนื่องจากชุดน้ำยาทดสอบดังกล่าวเป็นแบบ 2 ขั้นตอนการใช้งานค่อนข้างยุ่งยาก ไม่สะดวก และทำให้เสียเวลา ต่อมาในปีงบประมาณ พ.ศ. 2562 จึงได้ศึกษาค้นคว้าข้อมูลเพื่อให้การทดสอบพาราควอตมีขั้นตอนที่ง่ายขึ้นพัฒนาชุดทดสอบพาราควอตแบบขั้นตอนเดียวในรูปแบบแคปซูล⁽¹⁰⁾ โดยมีวัตถุประสงค์เพื่อลดขั้นตอนการทดสอบจาก 2 ขั้นตอน เป็นขั้นตอน 1 และใช้งานง่าย สะดวก และรวดเร็ว สามารถนำไปใช้ตรวจพิสูจน์พาราควอตในตัวอย่างน้ำดื่ม น้ำล้างกระเพาะเทียม และปัสสาวะได้

วัสดุและวิธีการ

เครื่องมือและอุปกรณ์

เครื่องชั่งไฟฟ้าชนิด 4 ตำแหน่ง, ขวดวัดปริมาตรขนาด 10 และ 1,000 มิลลิลิตร, ปิเปตอัตโนมัติ ขนาด 20–200 ไมโครลิตร, ขนาด 100–1,000 ไมโครลิตร และขนาด 10 มิลลิลิตร, แคปซูลยา เบอร์ 0, กระดาษกรองชนิดแผ่น ยี่ห้อ Whatman Cat No. 3001–917 เพื่อใช้เตรียมกระดาษเทียบผลบวก, ถังพลาสติกสำหรับบรรจุชุดทดสอบ และเครื่องซีลชนิดสุญญากาศ, โถดูดความชื้น (Desicator)

สารมาตรฐาน

พาราควอต Paraquat dichloride hydrate, (CHEM SERVICE) ความบริสุทธิ์ 99.5%, ไกลโฟเสท (Glyphosate), (Dr. Ehrenstorfer) ความบริสุทธิ์ 98.7%, 2,4-ดี (2,4-D Sodium salt), (Dr. Ehrenstorfer) ความบริสุทธิ์ 98.5%

สารเคมี

สารเคมีที่ใช้ในการทดลองครั้งนี้ทุกชนิดเป็น AR grade ได้แก่ Sodium dithionite (Merck), Disodium tetraborate (Merck), Sodium bicarbonate (Merck), Sodium chloride (Merck), Hydrochloric acid (conc., 37%), Methanol (Merck), Sodium azide (Merck), Pepsin from hog (Fluka), Silica blue

วิธีการ

การเตรียมสารละลายมาตรฐาน

สารละลายมาตรฐานพาราควอต (paraquat) 1,000 $\mu\text{g}/\text{ml}$ (Stock standard): ชั่งสารมาตรฐาน Paraquat dichloride hydrate 0.0107 กรัม ละลายด้วย 5% เมทานอล ปรับปริมาตรจนครบ 10 มิลลิลิตร

สารละลายมาตรฐานพาราควอต (paraquat) 500 $\mu\text{g}/\text{ml}$: ปิเปตสารมาตรฐานพาราควอต 1,000 $\mu\text{g}/\text{ml}$ ปริมาตร 5 มิลลิลิตร ปรับปริมาตรจนครบ 10 มิลลิลิตรด้วยน้ำกลั่น

สารละลายมาตรฐานไกลโฟเสท ความเข้มข้น 1,000 µg/ml (Stock standard): ชั่งสารมาตรฐานไกลโฟเสท 0.0102 กรัม ละลายด้วยเมทานอล และปรับปริมาตรจนครบ 10 มิลลิลิตร

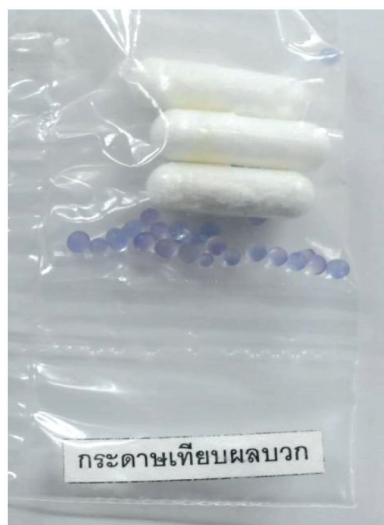
สารละลายมาตรฐาน 2,4-ดี-โซเดียม 1,000 µg/ml (Stock standard): ชั่งสารมาตรฐาน 2,4-ดี-โซเดียม 0.0112 กรัม ละลายด้วยเมทานอล และปรับปริมาตรจนครบ 10 มิลลิลิตร

การเตรียมชุดทดสอบพาราควอตชนิดแคปซูล

เตรียมแคปซูลชุดทดสอบ: ผสมสาร Disodium tetraborate, Sodium bicarbonate และ Sodium dithionite ให้เข้ากันและบรรจุในแคปซูล⁽¹⁰⁾

เตรียมกระดาศเทียบผลบวก 1.0 µg/ml: ปิเปตสารมาตรฐานพาราควอต 500 µg/ml ปริมาตร 10 ไมโครลิตร หยดบนกระดาศทรงขนาดประมาณ 3 × 1 เซนติเมตร ใช้เป็นตัวเทียบผลบวก (การนำไปใช้งาน ใส่กระดาศเทียบผลบวกลงในหลอด เติมน้ำกลั่น 5 มิลลิลิตร จะทำให้มีความเข้มข้นของพาราควอตเท่ากับ 1 µg/ml)

นำแคปซูลชุดทดสอบจำนวน 3 แคปซูล และกระดาศเทียบผลบวกจำนวน 1 ชิ้น บรรจุในถุงพลาสติกพร้อมสารดูดความชื้น (Silica blue) และปิดสนิทด้วยเครื่องซีลชนิดสุญญากาศ ดังแสดงในภาพที่ 2



ภาพที่ 2 ชุดทดสอบพาราควอตชนิดแคปซูล สำหรับทดสอบ 1 ตัวอย่าง

การเตรียมตัวอย่าง

ตัวอย่างน้ำดื่ม ได้แก่ ตัวอย่างน้ำดื่มที่บรรจุสนิทและจำหน่ายในท้องตลาด (ได้รับหมายเลขทะเบียนการผลิตจากคณะกรรมการอาหารและยา)

ตัวอย่างน้ำล้างกระเพาะเทียม เตรียมโดยละลาย Sodium chloride 2.0 กรัม และ Pepsin (Pepsin from hog) 3.2 กรัม ในน้ำกลั่นเติม Hydrochloric acid (conc.) ปริมาตร 7 มิลลิลิตร และปรับปริมาตรครบ 1,000 มิลลิลิตร ด้วยน้ำกลั่น⁽¹¹⁾

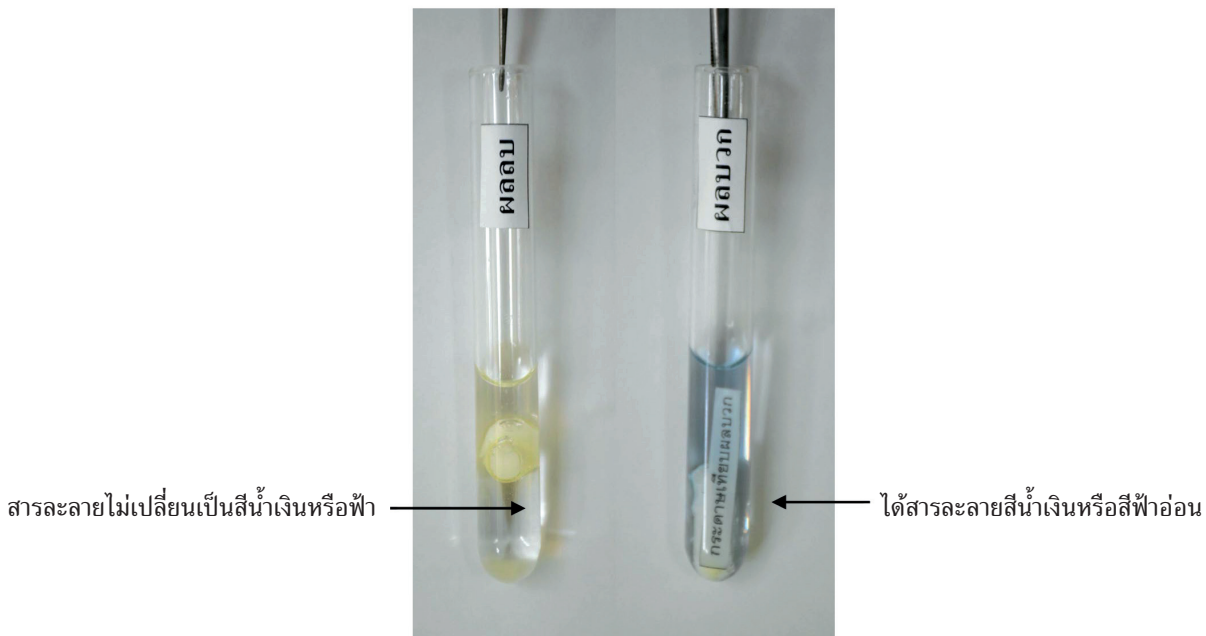
ตัวอย่างปัสสาวะ ได้แก่ ตัวอย่างปัสสาวะของผู้ที่ไม่ได้รับประทานยาชนิดใดเลยในระยะ 1 สัปดาห์ เติมน้ำกลั่น 0.1% Sodium azide เพื่อเป็นสารกันบูด

การทดสอบ

ปิเปตตัวอย่าง ได้แก่ ตัวอย่างน้ำดื่ม น้ำล้างกระเพาะเทียม และปัสสาวะใส่หลอดทดสอบ 5 มิลลิลิตร ปิเปตน้ำกลั่นใส่หลอดทดสอบ 2 หลอด หลอดละ 5 มิลลิลิตร คีบกระดาษเทียบผลบวกลงในหลอดเทียบผลบวกหลอดที่ 1 และหลอดที่ 2 เป็นหลอดเทียบผลลบ เติมชุดทดสอบพาราควอตชนิดแคปซูล หลอดละ 1 แคปซูล ตั้งทิ้งไว้ประมาณ 5 นาที หรือตั้งทิ้งไว้จนแคปซูลละลายและเขย่า สังเกตปฏิกิริยาที่เกิดขึ้น

การอ่านผล/แปลผล

ผลลบ (-) คือ สารละลายไม่เปลี่ยนเป็นสีน้ำเงินหรือสีฟ้าอ่อน ผลบวก (+) คือ สารละลายเปลี่ยนเป็นสีน้ำเงินหรือสีฟ้าอ่อน ดังแสดงในภาพที่ 3



ภาพที่ 3 การแปลผลการทดสอบพาราควอต

การทดสอบความใช้ได้ของชุดทดสอบ^(12, 13, 14)

การหาความจำเพาะ (Specificity)

เตรียมตัวอย่างน้ำดื่ม ที่มีความเข้มข้นพาราควอต 2 µg/ml ไกลโฟเสท 2 µg/ml และ 2,4-ดี 2 µg/ml เตรียมตัวอย่างน้ำล้างกระเพาะเทียม ที่มีความเข้มข้นพาราควอต 2 µg/ml ไกลโฟเสท 2 µg/ml และ 2,4-ดี 2 µg/ml และเตรียมตัวอย่างปัสสาวะที่มีความเข้มข้นพาราควอต 2 µg/ml ไกลโฟเสท 2 µg/ml และ 2,4-ดี 2 µg/ml จากนั้นเติมสารมาตรฐานพาราควอต ไกลโฟเสท และ 2, 4-ดี ที่ความเข้มข้น 100 µg/ml ปริมาตรขวดละ 200 ไมโครลิตร ลงในขวดวัดปริมาตรขนาด 10 มิลลิลิตร และปรับปริมาตรด้วยตัวอย่างน้ำดื่ม น้ำล้างกระเพาะเทียม และปัสสาวะตามลำดับ จะได้ตัวอย่างน้ำดื่มที่มีความเข้มข้นพาราควอต 2 µg/ml ไกลโฟเสท 2 µg/ml และ 2, 4-ดี 2 µg/ml เตรียมชนิดละ 3 ขั้ว รวม 9 ขวด ตัวอย่างน้ำล้างกระเพาะเทียมที่มีความเข้มข้นพาราควอต 2 µg/ml ไกลโฟเสท 2 µg/ml และ 2, 4-ดี 2 µg/ml เตรียมชนิดละ 3 ขั้ว รวม 9 ขวด และตัวอย่างปัสสาวะที่มีความเข้มข้นพาราควอต 2 µg/ml ไกลโฟเสท 2 µg/ml และ 2, 4-ดี 2 µg/ml เตรียมชนิดละ 3 ขั้ว รวม 9 ขวด ทดสอบด้วยชุดทดสอบพาราควอตชนิดแคปซูล ตัวอย่างละ 3 ขั้ว

การหาค่าขีดจำกัดของการตรวจพบพาราควอต (Limit of detection: LOD)

วิเคราะห์ blank matrix จำนวน 10 ขั้ว เตรียมตัวอย่างน้ำดื่ม น้ำล้างกระเพาะเทียม และปัสสาวะ ที่ระดับความเข้มข้นต่าง ๆ ได้แก่ 0.3, 0.5, 0.7, 1.0, 2.0, 3.0 และ 5.0 µg/ml ตามลำดับ ปิเปตสารมาตรฐานพาราควอตความเข้มข้น 100 µg/ml ปริมาตร 30, 50, 70, 100, 200, 300 และ 500 ไมโครลิตร ลงในขวดวัดปริมาตรขนาด 10 มิลลิลิตร และปรับปริมาตรจนถึงขีดด้วยน้ำดื่ม น้ำล้างกระเพาะเทียม และปัสสาวะ ตามลำดับ รวมตัวอย่างน้ำดื่ม 70 ขวด น้ำล้างกระเพาะเทียม 70 ขวด และปัสสาวะ 70 ขวด ทดสอบด้วยชุดทดสอบพาราควอตชนิดแคปซูล ความเข้มข้นละ 10 ขั้ว⁽¹³⁾

การทดสอบหาค่าขีดจำกัดของการตรวจพบพาราควอต ในตัวอย่างน้ำดื่ม น้ำล้างกระเพาะเทียม และปัสสาวะ ดำเนินการโดยทดสอบความเข้มข้นละ 10 ขั้ว นำผลที่ได้จากการทดสอบที่ให้ผลบวกทั้ง 10 ขั้ว ของค่าความเข้มข้นต่ำสุดที่ตรวจพบพาราควอตของแต่ละตัวอย่าง มาคำนวณหาค่าขีดจำกัดของการตรวจพบพาราควอต (LOD) ในตัวอย่างได้ดังนี้⁽¹³⁾ ค่าความถูกต้องหรือจำนวนซ้ำของตัวอย่างทดสอบที่ให้ผลบวก/ผลลบ (No. of positive/negative) ต้องได้ผลบวกทั้ง 10 ขั้ว และคำนวณหาอัตราการตอบสนองเชิงบวก หรือ Positive response rate (%) โดยการนำจำนวนซ้ำของตัวอย่างทดสอบคูณจำนวนซ้ำของตัวอย่างที่ให้ผลบวก ต้องได้เท่ากับ 100% จากนั้นนำค่าขีดจำกัดของการตรวจพบพาราควอตที่ได้ในตัวอย่างน้ำดื่ม น้ำล้างกระเพาะเทียม และปัสสาวะ ทำการพิสูจน์ 10 ขั้ว เพื่อความแม่นยำ

การทดสอบความแม่นยำ (Precision)

เตรียมตัวอย่างน้ำดื่ม น้ำล้างกระเพาะเทียม และปัสสาวะ (sample blank) จำนวนตัวอย่างละ 10 ขั้ว ทดสอบด้วยชุดทดสอบพาราควอตชนิดแคปซูล

เตรียมตัวอย่างน้ำดื่ม น้ำล้างกระเพาะเทียม และปัสสาวะ ที่ความเข้มข้นเท่ากับค่า LOD ของตัวอย่าง จำนวนตัวอย่างละ 10 ขวด เตรียมตัวอย่างที่ความเข้มข้นสูงกว่าค่า LOD จำนวนตัวอย่างละ 10 ขวด และความเข้มข้นต่ำกว่าค่า LOD จำนวนตัวอย่างละ 10 ขวด ดังนี้

เตรียมตัวอย่างน้ำดื่ม ที่ความเข้มข้น 0.3, 0.7 และ 1.0 µg/ml ปิเปตสารมาตรฐานพาราควอตความเข้มข้น 100 µg/ml ปริมาตร 30, 70 และ 100 ไมโครลิตร ลงในขวดวัดปริมาตรขนาด 10 มิลลิลิตร และปรับปริมาตรจนถึงขีดด้วยน้ำดื่ม เตรียมความเข้มข้นละ 10 ขั้ว รวม 30 ขวด ทดสอบด้วยชุดทดสอบพาราควอตชนิดแคปซูล

เตรียมตัวอย่างน้ำล้างกระเพาะเทียมที่ความเข้มข้น 0.7, 1.0 และ 1.5 µg/ml โดยปิเปตสารมาตรฐานพาราควอตความเข้มข้น 100 µg/ml ปริมาตร 70, 100 และ 150 ไมโครลิตร ลงในขวดวัดปริมาตรขนาด 10 มิลลิลิตร และปรับปริมาตรจนถึงขีดด้วยน้ำล้างกระเพาะเทียม เตรียมความเข้มข้นละ 10 ขั้ว รวม 30 ขวด ทดสอบด้วยชุดทดสอบพาราควอตชนิดแคปซูล

เตรียมตัวอย่างปัสสาวะที่ความเข้มข้น 1.5, 2.0 และ 3.0 µg/ml โดยปิเปตสารมาตรฐานพาราควอตความเข้มข้น 100 µg/ml ปริมาตร 150, 200 และ 300 ไมโครลิตร ลงในขวดวัดปริมาตรขนาด 10 มิลลิลิตร และปรับปริมาตรจนถึงขีดด้วยปัสสาวะ เตรียมความเข้มข้นละ 10 ขั้ว รวม 30 ขวด ทดสอบด้วยชุดทดสอบพาราควอตชนิดแคปซูล

ผลการศึกษานำมาคำนวณหาความไว ความจำเพาะ และความถูกต้อง จากสูตร^(13, 14) ดังนี้

ค่าความไว (Sensitivity, %) = (True positive sample/all positive samples) × 100

ค่าความจำเพาะ (Specificity, %) = (True negative sample/all negative samples) × 100

ค่าความถูกต้อง (Accuracy, %) = [(True positive sample + True negative sample)/Total samples] × 100

การทดสอบความคงตัวของชุดทดสอบ (Stability)

การเตรียมชุดทดสอบ

เตรียมชุดทดสอบจำนวน 8 รุ่น ได้แก่ รุ่นที่ 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7 และ 8 โดยแต่ละรุ่นห่างกัน 1 สัปดาห์ จากนั้นเก็บที่อุณหภูมิห้อง และในโถดูดความชื้น เปรียบเทียบเป็นรายสัปดาห์ รวม 2 เดือน จากนั้นทดสอบจนกว่าชุดทดสอบเริ่มเสื่อม โดยเปรียบเทียบเป็นรายเดือน (เดือนที่ 3-6) รวม 6 เดือน นำไปทดสอบเทียบกับกระดาษเทียบผลบวกที่ความเข้มข้น 1 µg/ml

ผล

การหาความจำเพาะของชุดทดสอบพาราควอตชนิดแคปซูล ในตัวอย่างน้ำดื่ม น้ำล้างกระเพาะเทียม และปัสสาวะ พบว่าวิธีดังกล่าวมีความจำเพาะสูงโดยให้ผลบวกกับพาราควอตเพียงชนิดเดียว และไม่พบปฏิกิริยาผลบวกที่เกิดจาก Dithionite กับไกลโฟเสท และ 2, 4-ดี ดังแสดงในตารางที่ 1

ตารางที่ 1 ผลการศึกษาค่าความจำเพาะของชุดทดสอบพาราควอตชนิดแคปซูล

ชนิดตัวอย่าง	สารมาตรฐาน		
	พาราควอต (positive/negative)	ไกลโฟเสท (positive/negative)	2, 4-ดี (positive/negative)
น้ำดื่ม 2.0 µg/ml	3/0	0/3	0/3
น้ำล้างกระเพาะเทียม 2.0 µg/ml	3/0	0/3	0/3
ปัสสาวะ 2.0 µg/ml	3/0	0/3	0/3
หลอดเทียบผลบวก	1/0	-	-
หลอดเทียบผลลบ	0/1	-	-

การศึกษาค่าขีดจำกัดของการตรวจพบพาราควอต (LOD) โดยทดสอบตัวอย่างน้ำดื่ม น้ำล้างกระเพาะเทียม และปัสสาวะ ที่ความเข้มข้น 0, 0.3, 0.5, 0.7, 1.0, 2.0, 3.0 และ 5.0 µg/ml และทดสอบด้วยชุดทดสอบพาราควอตชนิดแคปซูล พบว่า ค่า LOD ในตัวอย่างน้ำดื่ม น้ำล้างกระเพาะเทียม และปัสสาวะเท่ากับ 0.7, 1.0 และ 2.0 µg/ml ตามลำดับ ดังแสดงในตารางที่ 2

ตารางที่ 2 ผลการศึกษาค่าขีดจำกัดของการตรวจพบพาราควอต (LOD) ในตัวอย่างน้ำดื่ม น้ำล้างกระเพาะเทียม และปัสสาวะ

ความเข้มข้น พาราควอต (µg/ml)	No. of positive/negative			Positive response rate (%)		
	น้ำดื่ม	น้ำล้าง กระเพาะเทียม	ปัสสาวะ	น้ำดื่ม	น้ำล้าง กระเพาะเทียม	ปัสสาวะ
0.0	0/10	0/10	0/10	0	0	0
0.3	0/10	0/10	0/10	0	0	0
0.5	0/10	0/10	0/10	0	0	0
0.7	10/0	0/10	0/10	100	0	0
1.0	10/0	10/0	0/10	100	100	100
2.0	10/0	10/0	10/0	100	100	100
3.0	10/0	10/0	10/0	100	100	100
5.0	10/0	10/0	10/0	100	100	100
LOD (µg/ml)	0.7	1.0	2.0			

การศึกษาความแม่นยำ

การทดสอบตัวอย่าง 3 ชนิด คือ น้ำดื่ม น้ำล้างกระเพาะเทียม และปัสสาวะที่ให้ผลบวกจริงชนิดละ 20 ตัวอย่าง และผลลบจริงชนิดละ 20 ตัวอย่าง ผลการศึกษาไม่พบผลบวกหลง (False positive) และผลลบหลง (False negative) ในตัวอย่างทั้ง 3 ชนิด โดยมีค่าความไว ค่าความจำเพาะ และค่าความถูกต้อง เท่ากับร้อยละ 100 ดังแสดงในตารางที่ 3

ตารางที่ 3 ผลการศึกษาความแม่นยำ (Precision) ของชุดทดสอบพาราควอตชนิดแคปซูล ในตัวอย่างน้ำดื่ม น้ำล้างกระเพาะเทียม และปัสสาวะ

จำนวนตัวอย่าง	ทดสอบด้วยชุดทดสอบพาราควอตชนิดแคปซูล		
	ตรวจพบ	ตรวจไม่พบ	รวม
ผลบวก 20 ตัวอย่าง	20 (TP)	0 (FP)	20
ผลลบ 20 ตัวอย่าง	0 (FN)	20 (TN)	20
รวม	20	20	40
ค่าความไว (Sensitivity)	$= TP \times 100 / (TP + FN)$		$= 100\%$
ค่าความจำเพาะ (Specificity)	$= TN \times 100 / (FP + TN)$		$= 100\%$
ค่าความถูกต้อง (Accuracy)	$= (TP + TN) \times 100 / \text{Total sample}$		$= 100\%$

การศึกษาความคงตัวของชุดทดสอบ

โดยเก็บชุดทดสอบพาราควอตชนิดแคปซูลรุ่นที่ 1 ถึงรุ่นที่ 8 แบ่งเก็บที่ 2 สภาวะ ได้แก่ เก็บที่อุณหภูมิห้อง และเก็บในโถดูดความชื้น ผลการศึกษาพบว่าชุดทดสอบสามารถเก็บที่อุณหภูมิห้องได้นาน 1 เดือน ส่วนชุดทดสอบเก็บในโถดูดความชื้นได้นาน 5 เดือน โดยที่ยังให้ผลการทดสอบถูกต้อง ดังแสดงในตารางที่ 4

ตารางที่ 4 ผลการศึกษาความคงตัวของชุดทดสอบพาราควอตชนิดแคปซูล ในสภาวะเก็บที่อุณหภูมิห้องและเก็บในโถดูดความชื้นนาน 6 เดือน

รุ่นที่	ชุดทดสอบพาราควอตชนิดแคปซูล							
	เก็บที่อุณหภูมิห้อง		เก็บในโถดูดความชื้น					
	เดือนที่ 1 (สัปดาห์ 1-4)	เดือนที่ 2 (สัปดาห์ 1-4)	เดือนที่ 1 (สัปดาห์ 1-4)	เดือนที่ 2 (สัปดาห์ 1-4)	เดือนที่ 3	เดือนที่ 4	เดือนที่ 5	เดือนที่ 6
1	+	-	+	+	+	+	+	-
2	+	-	+	+	+	+	+	-
3	+	-	+	+	+	+	+	-
4	+	-	+	+	+	+	+	-
5	+	-	+	+	+	+	+	-
6	+	-	+	+	+	+	+	-
7	+	-	+	+	+	+	+	-
8	+	-	+	+	+	+	+	-

วิจารณ์

การพัฒนาชุดทดสอบพาราควอตในรูปแบบแคปซูลมีวัตถุประสงค์เพื่อลดขั้นตอนการทดสอบให้เหลือเพียงขั้นตอนเดียว และเพื่อใช้ตรวจพิสูจน์หาพาราควอตเชิงคุณภาพในตัวอย่างน้ำดื่ม น้ำล้างกระเพาะเทียม และปัสสาวะพบว่าวิธีมีความจำเพาะพบปฏิกิริยาที่เกิดจากสารไดไฮโดรอินท์ให้ผลบวกกับพาราควอตเพียงชนิดเดียวและไม่พบปฏิกิริยาที่เกิดจากสารไดไฮโดรอินท์ กับไกลโฟเสท และ 2,4-ดี ซึ่งสารทั้ง 2 ชนิด เป็นสารกำจัดวัชพืชเหมือนกัน แต่มีโครงสร้างโมเลกุลและน้ำหนักโมเลกุลแตกต่างกัน จึงสามารถใช้แทนไดควอตได้ ทั้งนี้เนื่องจากหน่วยงานไม่สามารถมาตรฐานดังกล่าว เมื่อนำค่าขีดจำกัดของการตรวจพบพาราควอตที่ระดับ LOD ในตัวอย่างน้ำดื่ม น้ำล้างกระเพาะเทียม และปัสสาวะ ที่ความเข้มข้นเท่ากับ 0.7, 1.0 และ 2.0 $\mu\text{g/ml}$ ตามลำดับ โดยทดสอบตัวอย่างละ 10 ข้ว พบว่าได้สารละลายสีฟ้าทุกหลอด ตรวจพบร้อยละ 100 จากนั้นได้ประเมินประสิทธิภาพของชุดทดสอบโดยการศึกษาความแม่นยำในตัวอย่างน้ำดื่ม น้ำล้างกระเพาะเทียม และปัสสาวะ ที่ให้ผลบวกจริงตัวอย่างละ 20 ตัวอย่าง และผลลบจริงตัวอย่างละ 20 ตัวอย่าง พบว่าไม่พบผลบวกหลงและผลลบหลง ได้ค่าความไว ความจำเพาะ และความถูกต้องร้อยละ 100 ทั้ง 3 ตัวอย่าง จากการศึกษาดังกล่าวพบว่าวิธีมีความถูกต้องและเชื่อถือได้ เนื่องจากมาตรฐานพาราควอตที่ใช้เตรียมตัวอย่างมีใบรับรอง เครื่องมือที่ใช้ เช่น ปีเปตอัตโนมัติ ขวดวัดปริมาตร ผ่านการสอบเทียบ ขั้นตอนการเตรียมตัวอย่างไม่ยุ่งยาก และ Blank matrix ไม่มีสิ่งรบกวนอื่นใด จึงทำให้ค่าที่ได้มีความถูกต้องสูง และในปีงบประมาณ พ.ศ. 2566 ผู้วิจัยมีแผนพัฒนาตรวจหาปริมาณพาราควอตในตัวอย่างน้ำดื่ม น้ำล้างกระเพาะเทียม และปัสสาวะ ด้วยเครื่องมือพิเศษ High performance liquid chromatography สำหรับผลการศึกษาความคงตัวของชุดทดสอบ (Stability) ได้เตรียมชุดทดสอบและเปรียบเทียบโดยแบ่งชุดทดสอบแต่ละรุ่นการผลิตเก็บที่อุณหภูมิห้อง และเก็บในโถดูดความชื้น พบว่าชุดทดสอบเก็บที่อุณหภูมิห้องเก็บได้ไม่นาน อาจเนื่องจากสารเคมีที่ใช้เตรียมชุดทดสอบ เช่น Sodium dithionite มีความเสถียรปานกลางเป็นสารดูดความชื้นได้ง่าย⁽¹⁵⁾ เพื่อป้องกันความชื้นโดยเก็บชุดทดสอบในโถดูดความชื้นทั้งนี้เพื่อให้มีอายุการใช้งานนาน จะเห็นว่าชุดทดสอบเก็บที่อุณหภูมิห้องได้นาน 1 เดือน ส่วนชุดทดสอบที่เก็บในโถดูดความชื้นสามารถเก็บได้นาน 5 เดือน จากการวิจัยครั้งนี้ผู้วิจัยต้องการเปรียบเทียบสารเคมีที่ใช้เตรียมในแต่ละรุ่นมีความแตกต่างกันหรือไม่ เนื่องจากสารเคมีบางชนิดขึ้นได้ง่าย แต่จากการเปรียบเทียบการเตรียมชุดทดสอบ จำนวน 8 รุ่น พบว่าไม่แตกต่าง เพราะฉะนั้นการศึกษา Stability ควรศึกษาหรือเตรียมชุดทดสอบพร้อมกันในครั้งเดียว

การพัฒนาชุดทดสอบพาราควอตแบบขั้นตอนเดียวในรูปแบบแคปซูล ใช้หลักการทางเคมี (Dithionite test) ทำปฏิกิริยาระหว่างพาราควอตกับ Sodium azide ในสภาพต่าง ซึ่งจากการเตรียมชุดทดสอบได้ผลสมสารที่ทำให้เป็นต่าง รวมในแคปซูลดังกล่าว⁽¹⁰⁾ ได้แก่ Sodium dithionite, Disodium tetraborate และ Sodium bicarbonate ซึ่งสารแต่ละชนิดมีคุณสมบัติทางเคมีเป็นต่าง ค่าความเป็นกรด-ด่าง เท่ากับ 8.5, 9.2 และ 8.6 ตามลำดับ^(15, 16, 17) จากการทดสอบความใช้ได้ของวิธี พบว่า วิธีมีค่าความถูกต้องเท่ากับ 100% แต่ด้วยข้อจำกัดของชุดทดสอบสามารถใช้ตรวจตัวอย่างที่มีลักษณะใสและไม่ขุ่น สำหรับตัวอย่างที่มีสีเข้มให้ตรวจด้วยเครื่องมือพิเศษ เช่น Ion exchange, High performance liquid chromatography เป็นต้น ส่วนตัวอย่างปัสสาวะของคนปกติสามารถตรวจหาพาราควอตด้วยวิธีนี้ได้ สีไม่รบกวนผลทดสอบ ได้ค่าความถูกต้องเท่ากับ 100% สำหรับตัวอย่างที่มีตะกอนให้ปั่นแยกตะกอนนำส่วนใสไปทดสอบทำให้การสังเกตสีของปฏิกิริยาชัดเจนขึ้น อย่างไรก็ตามปฏิกิริยาการเกิดสีฟ้าหรือสีน้ำเงินของพาราควอตหรือ เมทิลไวโอเลเจนกับสารไดไฮโดรอินท์ ในสภาวะต่างๆจะไม่คงตัวและจะจางหายไปในเวลาไม่นานเมื่อถูกแสง พาราควอตก็จะถูก reoxidized กลับมาสู่ oxidized form ที่ไม่มีสีได้โดยง่าย⁽³⁾ ดังนั้นจึงต้องสังเกตปฏิกิริยาการเกิดสีภายใน 5 นาที หลังจากทดสอบ สำหรับตัวเทียบผลบวกผู้วิจัยได้เลือกใช้กระดาศเทียบผลบวกที่มีความเข้มข้น 1 $\mu\text{g/ml}$ เนื่องจากเป็นค่าความไว หรือค่าขีดจำกัดของการตรวจพบพาราควอต ในตัวอย่างน้ำล้างกระเพาะเทียม กรณีที่สนับสนุนชุดทดสอบพาราควอตให้กับโรงพยาบาลเพื่อใช้ตรวจตัวอย่างผู้ป่วยซึ่งส่วนใหญ่เป็นตัวอย่างน้ำจากกระเพาะอาหาร จึงเป็นที่มาของการเลือกใช้กระดาศเทียบผลบวกที่มีความเข้มข้น 1 $\mu\text{g/ml}$ หลังจากพัฒนาชุดทดสอบดังกล่าวแล้วเสร็จ

ยังไม่มีตัวอย่างจริง มีเพียงแต่ได้เตรียมตัวอย่างทดสอบ (unknown) และเตรียมชุดทดสอบพาราควอตชนิดแคปซูล ส่งให้กับโรงพยาบาลที่เข้าร่วมโครงการรวม 20 แห่ง ทั้งนี้เพื่อให้เจ้าหน้าที่ห้องปฏิบัติการชั้นสูตรของโรงพยาบาล มีทักษะ และเตรียมความพร้อมทางห้องปฏิบัติการจึงมีความสำคัญยิ่ง แม้ว่าจะมีประกาศแบนพาราควอต จากประกาศ ในพระราชกฤษฎีกาเบกษา ซึ่งมีผลบังคับใช้ตั้งแต่ 1 มิถุนายน 2563 เป็นต้นไป⁽¹⁸⁾ แต่เมื่อวันที่ 25 กันยายน 2563 มีรายงานจากศูนย์ฉลาดข้อมูลนิธิต่อผู้บริโภค มีการตรวจพบพาราควอตในตัวอย่างปุ๋ยละลาย 33 จากตัวอย่าง 24 ตัวอย่าง ใน 6 จังหวัดภาคเหนือ⁽¹⁹⁾ แสดงว่าประเทศไทยยังคงมีการนำพาราควอตมาใช้งานหรืออาจจะมีการลักลอบเข้ามาและ นำมาใช้ในทางที่ผิด การเตรียมความพร้อมทางห้องปฏิบัติการและมีชุดทดสอบพาราควอตชนิดแคปซูล พร้อมใช้งาน ซึ่งเป็นวิธีที่พัฒนาขึ้นใหม่ การใช้งานง่าย สะดวก เหลือเพียงขั้นตอนเดียว ทราบผลเร็วภายใน 5 นาที อีกทั้งสามารถ นำไปทดสอบตัวอย่างน้ำในภาคสนามกรณีเร่งด่วนหรือเฝ้าระวัง ป้องกันการปนเปื้อนของสารพาราควอตได้ รวมทั้ง พกพาสะดวก ซึ่งแตกต่างกับชุดน้ำยาทดสอบพาราควอตแบบเดิมชนิด 2 ขั้นตอน วิธีการทดสอบต้องเติมน้ำยา ชนิด A และผงเคมี B การใช้งานค่อนข้างยุ่งยาก ไม่สะดวก และทำให้เสียเวลา การตรวจพิสูจน์พาราควอตให้รวดเร็วจึงมีความ สำคัญเป็นอย่างยิ่งโดยเฉพาะผู้ป่วยที่ได้รับโดยการกิน หากตรวจพบว่าได้รับสารพิษพาราควอตแพทย์สามารถช่วยเหลือ ผู้ป่วยและให้ยาแก้พิษได้ทันที

สรุป

การพัฒนาชุดทดสอบพาราควอตแบบขั้นตอนเดียวในรูปแบบแคปซูล พบว่าวิธีนี้มีความถูกต้อง ใช้งานง่าย ลดขั้นตอนการทดสอบเหลือเพียงขั้นตอนเดียว สะดวก รวดเร็ว และเหมาะสมที่จะนำไปใช้ตรวจพิสูจน์พาราควอต ในตัวอย่างน้ำดื่ม น้ำล้างกระเพาะเทียม และปัสสาวะได้

กิตติกรรมประกาศ

ผู้วิจัยขอขอบคุณ นายวิชัย ปราสาททอง ผู้อำนวยการศูนย์วิทยาศาสตร์การแพทย์ที่ 7 ขอนแก่น ที่ให้คำปรึกษา ข้อเสนอแนะรวมทั้งข้อคิดเห็นต่างๆ ขอขอบคุณนายวรศักดิ์ อินทร์ชัย ศูนย์วิทยาศาสตร์การแพทย์ที่ 9 นครราชสีมา, นายวัชรชัย รุจิโรจน์กุล ศูนย์วิทยาศาสตร์การแพทย์ที่ 6 ชลบุรี และนายราเมศ กรณีย ศูนย์วิทยาศาสตร์การแพทย์ที่ 3 นครสวรรค์ ที่สนับสนุนสารมาตรฐานสำหรับงานวิจัยครั้งนี้ และขอขอบคุณนางลักขิกา ทองเรืองศรี โรงพยาบาลปะเหลียน ที่ช่วยตรวจทานต้นฉบับ

เอกสารอ้างอิง

1. Watts M. Paraquat. Penang, Malaysia: Pesticide Action Network Asia and the Pacific. [online]. 2010; [cited 2021 Jun 25]; [44 screens]. Available from: URL: http://www.thaipan.org/sites/default/files/fileinter/monograph_paraquat_0.pdf.
2. พรพนธ์ พิเดช. เทคนิคการวิเคราะห์และความรู้เบื้องต้นสำหรับห้องปฏิบัติการพิษวิทยา. พิมพ์ครั้งที่ 2. กรุงเทพฯ: คณะเทคนิคการแพทย์ มหาวิทยาลัยมหิดล; 2530. หน้า 224-227.
3. Wikipedia, the free encyclopedia. Viologen. [online]. 2020; [cited 2021 Jun 10]; [5 screens]. Available from: URL: https://en.wikipedia.org/wiki/Viologen#Mechanism_of_action.
4. Addo E, Poon-King T. Leucocyte suppression in treatment of 72 patients with paraquat poisoning. Lancet 1986; 327(8490): 1117-20.
5. ดาริกา วอทอง. พาราควอต. [ออนไลน์]. 2561; [สืบค้น 21 พ.ค. 2564]; [5 หน้า]. เข้าถึงได้จาก: URL: <https://www.summacheeva.org/occtox/paraquat>.

6. Paraquat. In: Flanagan RJ, Braithwaite RA, Brown SS, Widdop B, de Wolff FA. Basic analytical toxicology. Geneva: World Health Organization; 1995. p. 195–196.
7. Raghu K, Mahesh V, Sasidhar P, Reddy PR, Venkataramaniah V, Agrawal A. Paraquat poisoning: a case report and review of literature. *J Family Community Med* 2013; 20(3): 198–200.
8. Reihani H, Zarmehri B. Multi-organ failure due to paraquat poisoning: case report and review of literature. *Asia Pac J Med Toxicol* 2016; 5: 98–100.
9. อุดมศักดิ์ สุตมาตร, จินตนา ปานทอง, ธรรมชนก พิทักษ์. การประเมินประสิทธิผลชุดทดสอบพาราควอตของห้องปฏิบัติการชันสูตรของโรงพยาบาลในจังหวัดตรัง. *ว กรมวิทย์ พ* 2542; 41(3): 343–8.
10. Clarke EGC, Moffat AC, Pharmaceutical Society of Great Britain. Department of Pharmaceutical Sciences. Clarke's isolation and identification of drugs in pharmaceuticals, body fluids, and post-mortem material. 2nd ed. London: The Pharmaceutical Press; 1986. p. 24–25.
11. United States Pharmacopeial Convention. USP 42–NF 37: The United States pharmacopeia and the national formulary. Rockville, MD: United States Pharmacopeia Convention; 2019. p. 6168.
12. AOAC International. Guidelines for standard method performance requirements: Annex C. In: AOAC official method of analysis. [online]. 2016; [cited 2021 May 24]; [2 screens]. Available from: URL: http://www.eoma.aoc.org/app_f.pdf.
13. Annex D – notes on qualitative analysis. In: Eurachem Guide. The fitness for purpose of analytical methods – a laboratory guide to method validation and related topics: 2nd ed. [online]. 2014; [cited 2021 May 20]; [3 screens]. Available from: URL: https://www.eurachem.org/images/stories/Guides/pdf/MV_guide_2nd_ed_EN.pdf.
14. National Association of Testing Authorities. General accreditation guidance – validation and verification of quantitative and qualitative test methods. [online]. 2018; [cited 2021 Jun 8]; [31 screens]. Available from: URL: <https://nata.com.au/files/2021/05/Validation-and-Verification-of-Quantitative-and-Qualitative-Test-Methods.pdf>.
15. Merck KGaA. Sodium dithionite. [online]. 2021; [cited 2021 Jun 21]; [1 screen]. Available from: URL: https://www.merckmillipore.com/TH/en/product/Sodium-dithionite,MDA_CHEM-106505?ReferrerURL=https%3A%2F%2Fwww.google.com%2F.
16. Merck KGaA. Disodium tetraborate. [online]. 2021; [cited 2021 Jun 21]; [1 screen]. Available from: URL: https://www.merckmillipore.com/TH/en/product/di-Sodium-tetraborate,MDA_CHEM-106306?ReferrerURL=https%3A%2F%2Fwww.google.com%2F.
17. Merck KGaA. Sodium hydrogen carbonate. [online]. 2021; [cited 2021 Jun 21]; [1 screen]. Available from: URL: https://www.merckmillipore.com/TH/en/product/Sodium-hydrogen-carbonate,MDA_CHEM-106329?ReferrerURL=https%3A%2F%2Fwww.google.com%2F.
18. ประกาศกระทรวงอุตสาหกรรม เรื่อง บัญชีรายชื่อวัตถุอันตราย ฉบับที่ 6 (พ.ศ. 2563). ราชกิจจานุเบกษา เล่ม 137 ตอนพิเศษ 117 ง (วันที่ 19 พฤษภาคม 2563). หน้า 56.
19. มูลนิธิเพื่อผู้บริโภค. ผลการตรวจพบสารพาราควอตในน้ำปู ร้อง คกก.วัตถุอันตรายแบบทันที. [ออนไลน์]. 2563; [สืบค้น 21 พ.ค. 2564]; [4 หน้า]. เข้าถึงได้จาก: URL: <https://www.consumerthai.org/consumers-news/food-and-drug/4511-paraquatcrappaste.html>.

Development of One-Step Paraquat Test Kit

Jintana Krodtem¹ Sarinya Rittinium¹ Thammawut Chumark¹ and Laksika Thongruangsri²

¹Regional Medical Sciences Center 12/1 Trang, Department of Medical Sciences, Amphoe Muang, Trang 92000

²Palian Hospital, Amphoe Palian, Trang 92120, Thailand

ABSTRACT Paraquat is a herbicide that is widely used and has serious harmful effects on humans and animals. Science 1998, The Regional Medical Sciences Center 12/1 Trang set up a 2-step paraquat test kit and supported to hospitals used for testing specimens derived from the patients that were suspected to be exposed to paraquat. In 2019, the one-step paraquat test kit was developed in capsule form in order to reduce process and time for testing in drinking water, simulated gastric content and urine samples. The results showed that the test kit could be used for testing paraquat with highly specific reaction. The limit of detection of paraquat in drinking water, simulated gastric content and urine samples were 0.7, 1.0 and 2.0 µg/ml, respectively. The test kit showed the perfect performance of sensitivity, specificity, and accuracy at 100 percent. The test kit could be stored at room temperature for 1 month and in a desiccator for 5 months. In conclusion, the one-step paraquat test kit developed in this study is easy to use with quick result and suitable for testing in drinking water, simulated gastric content and urine samples.

Keywords: Paraquat, Test kit, Herbicide