

การวิเคราะห์สารกำจัดแมลงกลุ่มคาร์บาเมตในตัวอย่างพริกด้วยเทคนิค ทางโครมาโทกราฟีและวัดสี

Determination of Carbamate Insecticides in Chili using Chromatographic and *Colorimetric* Techniques

สุภาพร บังพรม และสุวัฒน์ ผาบัณฑา*

ภาควิชาเคมี และศูนย์ความเป็นเลิศด้านนวัตกรรมทางเคมี (ศนค)

คณะวิทยาศาสตร์ มหาวิทยาลัยอุบลราชธานี

*E-mail : pabchanda@gmail.com

บทคัดย่อ

งานวิจัยนี้เป็นการพัฒนาวิธีวิเคราะห์สารกำจัดแมลงคาร์โบฟูรานในตัวอย่างพริกโดยใช้เทคนิคการสกัดตัวอย่าง และกำจัดตัวรบกวนด้วย Acetonitrile และ Hexane สารผสมระหว่าง Supelclean ENVI-Carb และ BONDESIL-PSA ตามลำดับ วิเคราะห์ด้วย UV-Vis spectrophotometer และ High Performance Liquid Chromatography (HPLC) โดยใช้คอลัมน์ Eclipse XDB-C18 Analysis HPLC อัตราส่วนเมทานอลต่อน้ำคั่งที่ตลอดการวิเคราะห์ ผลจากการวิเคราะห์พบว่าขีดจำกัดของการตรวจพบ (LOD) และขีดจำกัดของการวิเคราะห์ปริมาณ (LOQ) เท่ากับ 0.10 และ 0.50 มิลลิกรัมต่อลิตร ตามลำดับ วิเคราะห์คาร์โบฟูรานในตัวอย่างพริก 10 ตัวอย่าง มีค่าร้อยละการได้กลับคืนในช่วง 93-101% และค่าเบี่ยงเบนมาตรฐานสัมพัทธ์เท่ากับ 0.82% วิธีการวัดสีอาศัยการทำปฏิกิริยาระหว่างสารคาร์โบฟูรานกับสาร p-nitroaniline (PNA) ในสภาวะที่เหมาะสมได้สารละลายสีไวน์แดง มีค่าการดูดกลืนแสงสูงสุดที่ความยาวคลื่น 525 นาโนเมตร และค่าเบี่ยงเบนมาตรฐานเท่ากับ 0.06% ปริมาณสารคาร์โบฟูรานในพริก 10 ตัวอย่างใช้เปรียบเทียบความถูกต้องของวิธีตรวจวัดสีและ HPLC ด้วยการใช้การวิเคราะห์ทางสถิติแบบ t-test ซึ่งพบว่าวิธีการวิเคราะห์ด้วยวิธีวัดสีและ HPLC ไม่แตกต่างกันทางสถิติอย่างมีนัยสำคัญที่ระดับความเชื่อมั่น 95% วิธีวัดสีที่เสนอมีประสิทธิภาพในการตรวจวัดคาร์โบฟูรานเจือปนในพริก แต่อย่างไรก็ตามวิธีนี้จำเป็นต้องพัฒนาสำหรับการทดสอบภาคสนามและตรวจวัดคาร์โบฟูรานในตัวอย่างอาหารอื่น

คำสำคัญ : สารกำจัดแมลงคาร์บาเมต การวัดสี HPLC

Abstract

The method for the determination of carbofuran in chili products using UV-Vis spectrophotometer and HPLC has been developed. Chili products were extracted and cleaned with acetonitrile and a hexane mixture of supelclean ENVI-carb and BONDESIL-PSA respectively. Chromatographic separation was performed on an Eclipse XDB-C18 analytical column with isocratic of methanol: H₂O. The limits of detection (LOD) and limits of quantitation (LOQ) were found to be 0.10 mg/L and 0.50 mg/L respectively. The recoveries of carbofuran in 10 chili samples were achieved in the range of 93-101% with relative standard deviation of 0.82%. In the case of the *colorimetric method*, carbofuran was reacted with diazotized p-nitroaniline (PNA) in an alkaline medium to form the red wine colored complex ($\lambda_{max} = 525$ nm). The relative standard deviation for carbofuran investigated was 0.06%. The quantities of carbofuran in 10 chili samples were used to compare the accuracy of the colorimetric and HPLC

methods by t-test statistical analysis. It was found that there were no statistically significant differences (95% confidence interval) between the colorimetric and HPLC analysis. The proposed colorimetric method has the efficiency to detect carbofuran contaminated in chili. However it needs to be developed for field testing and the detection of carbofuran in other food.

Keywords: Carbamate pesticides; Colorimetry; HPLC

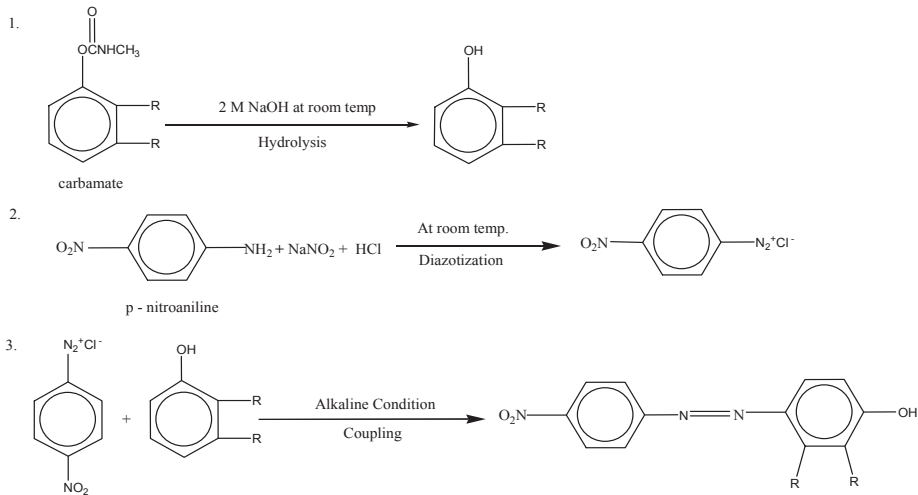
บทนำ

สารกลุ่มคาร์บาเมท (carbamate) เป็นอนุพันธ์ของกรดคาร์บาไมค (carbamic acid) เช่น carbofuran, propoxur และ fenobucarb สารคาร์บาเมทเป็นเอสเทอร์ (ester) ของกรดคาร์บาไมค สารกลุ่มนี้ออกฤทธิ์ทางชีวภาพคือยับยั้งการทำงานของเอนไซม์โคลีนเอสเตอเรสในระบบประสาททำให้เกิดการสะสมของอะเซทิลโคลีน (acetylcholine) ที่ปลายประสาทอันเป็นผลกระทบท่อระบบประสาท [1] และ [2] เช่น ทำให้กล้ามเนื้อกระตุก กลไกการออกฤทธิ์ของสารคาร์บาเมทคือยับยั้งเอนไซม์โคลีนเอสเตอเรส ซึ่งจะเลือกยับยั้งเฉพาะ aliesterase ที่มีหน้าที่แน่นอนและเฉพาะเจาะจง สารพิษกลุ่มนี้ส่งผลโดยตรงต่อระบบประสาทส่วนกลางของแมลง เนื่องจากกล้ามเนื้อในระบบประสาทส่วนกลางของแมลงซึ่งเชื่อมต่อกันมีลักษณะเหมือนกับกล้ามเนื้อของสัตว์เลี้ยงลูกด้วยนม โดยต้องใช้เอนไซม์โคลีนเอสเตอเรสเป็นตัวเชื่อมสัญญาณระหว่างประสาทส่วนกลางกับประสาทส่วนอื่นๆ

อาการเกิดพิษของสารพิษกลุ่มคาร์บาเมท ได้แก่ ท้องเสีย คลื่นไส้ อาเจียน ปวดท้อง เหงื่อออก น้ำลายไหล ตาพร่า หายใจขัด ตัวสั่น กล้ามเนื้อกระตุก แขนขาเป็นอัมพาตชั่วคราว จากรายงานส่วนมากพบว่า อาการเกิดพิษมักคงอยู่ประมาณ 2-3 ชั่วโมง สารกลุ่มคาร์บาเมท เช่น อัลดีคาร์บ (aldicarb) และคาร์โบฟูราน (carbofuran) มีพิษเฉียบพลันต่างๆกันอยู่ในช่วงกว้าง โดยเป็นสารกำจัดแมลงประเภทดูดซึม คงสภาพอยู่ได้นาน สามารถเข้าสู่

ร่างกายได้ทั้งทางการรับประทาน ทางผิวหนัง และการหายใจ และเนื่องจากเป็นสารอันตรายจึงมักผลิตออกมาในรูปแบบเม็ดเล็กๆ ที่ปราศจากฝุ่นหรือในรูปสารแขวนตะกอนเข้มข้น [3]

เนื่องจากความเป็นพิษของสารกลุ่มคาร์บาเมท จึงได้มีการคิดค้นเทคนิคที่เหมาะสมในการหาปริมาณของสารกลุ่มคาร์บาเมทที่ปนเปื้อนในผลผลิตทางการเกษตร ในปัจจุบันเทคนิคที่นิยมใช้ในการตรวจวิเคราะห์หาสารกลุ่มคาร์บาเมทคือเทคนิคทางโครมาโทกราฟี [4],[5],[6],[7],[8],[9], 2005; Teerakun, and Reungsang, 2005) ซึ่งเป็นวิธีที่มีความถูกต้องแม่นยำสูง แต่มีข้อด้อยคือใช้เวลาในการวิเคราะห์นาน ค่าใช้จ่ายในการวิเคราะห์สูง และมีขั้นตอนการเตรียมตัวอย่างยาก โดยเฉพาะตัวอย่างพืชที่มีสีซึ่งจะรบกวนการวิเคราะห์ การพัฒนาเทคนิคและวิธีการตรวจวิเคราะห์สารกลุ่มคาร์บาเมทในตัวอย่างพืชที่มีสีรบกวนการวิเคราะห์ให้มีความถูกต้องแม่นยำ ทนต่อความต้องการและเสียค่าใช้จ่ายน้อย จึงเป็นสิ่งสำคัญและจำเป็นอย่างยิ่งในงานวิจัยนี้จึงสนใจที่จะพัฒนาวิธีการกำจัดสีในตัวอย่างพืชที่รบกวนการวิเคราะห์สารกลุ่มคาร์บาเมท แล้วนำไปวิเคราะห์หาสารพิษตกค้างกลุ่มคาร์บาเมทในตัวอย่างพืชโดยเทคนิค HPLC และเทคนิคการวัดสี (colorimetric) ซึ่งเป็นเทคนิคที่ง่ายในการวิเคราะห์ และเสียค่าใช้จ่ายในการวิเคราะห์น้อย โดยอาศัยการทำปฏิกิริยาระหว่างสารกลุ่มคาร์บาเมทกับสาร p-nitroaniline ในสภาวะที่เหมาะสม ปฏิกิริยาที่เกิดขึ้นแสดงดังปฏิกิริยา 1-3 [10]



ภาพที่ 1 ปฏิกริยาการเกิดสีของสาร คาร์โบฟูรานสำหรับเทคนิคการวัดสี

ผลิตภัณฑ์ที่เกิดขึ้นจากปฏิกิริยาข้างต้นเป็นสารประกอบที่มีสีไวน์แดง นำไปวิเคราะห์ด้วยเทคนิคการวัดสี (Colorimetry) มีการดูดกลืนแสงสูงที่สุดที่ความยาวคลื่น 525 นาโนเมตร และเปรียบเทียบผลการวิเคราะห์ระหว่างเทคนิคการวัดสีกับเทคนิค HPLC ซึ่งเป็นวิธีมาตรฐาน

วัตถุประสงค์

1. เพื่อพัฒนาวิธีการเตรียมตัวอย่างพริกสำหรับวิเคราะห์หาปริมาณสารกลุ่มคาร์บาเมทที่ปนเปื้อนในตัวอย่างพริกด้วยวิธีวัดสี

2. เพื่อเปรียบเทียบผลการวิเคราะห์ปริมาณสารกลุ่มคาร์บาเมทในตัวอย่างพริกด้วยเทคนิคการวัดสี กับเทคนิคทางโครมาโทกราฟีที่ใช้ยืนยันปริมาณสารกำจัดศัตรูพืชในกลุ่มคาร์บาเมทแต่ละชนิดที่ปนเปื้อนในตัวอย่างพริก

อุปกรณ์และวิธีการ

1. อุปกรณ์

เครื่องมือและอุปกรณ์ที่นำมาใช้ในการวิเคราะห์หาสารกลุ่มคาร์บาเมท คือสารคาร์โบฟูราน ประกอบด้วย เครื่อง High Performance Liquid Chromatography (HPLC) ยี่ห้อ Agilent รุ่น HP1100

HPLC คอลัมน์ชนิด Eclipse XDB-C₁₈ Analysis HPLC (4.6x150 มิลลิเมตร) หัวตรวจวัดชนิด Diode Array Detector (DAD) และเครื่อง UV-Visible Spectrometer ยี่ห้อ PERKIN ELMER รุ่น Lambda 40

2. สารเคมี

สารมาตรฐานคาร์โบฟูราน (C₁₂H₁₅NO₃, 98.5%, Dr.Ehrenstorfer) Hexane (AR grade, 99.99%, J.T. Baker) Acetonitrile (AR grade, 99.99%, J.T. Baker) Methanol (HPLC grade, 99.999%, J.T. Baker) Sodium hydroxide, NaOH (99.0%, MERCK) Sodium nitrite, NaNO₂ (99.0%, MERCK) Hydrochloric acid, HCl (37.0%, CARLO ERBA) p-nitroaniline, PNA (≥99.0%, SIGMA-ALDRICH) Water (HPLC grade 99.999%, J.T. Baker) Supelclean ENVI- Carb (particle size 120-400 mesh, ≥99.0%, SIGMA - ALDRICH) BONDESIL - PSA (400 M, VARIAN)

3. วิธีการวิจัย

3.1 การเตรียมตัวอย่างด้วยการสกัดคาร์โบฟูรานจากตัวอย่างพริกสด

ซึ่งตัวอย่างพริกสดที่ปั่นละเอียด 20 กรัม ใส่ในขวดขนาด 250 มิลลิลิตร เติมสารละลาย hexane ที่อิ่มตัวด้วยสารละลาย acetonitrile จำนวน 80 มิลลิลิตร ปั่น

ให้เป็นเนื้อเดียวกันโดยเครื่อง Homoginizer ด้วยความเร็วรอบ 12,000 รอบต่อนาที นาน 1 นาที นำไปกรองผ่านกระดาษกรอง whatman no. 1 นำสารละลายที่กรองได้เติมสารละลาย acetonitrile ที่อิ่มตัวด้วยสารละลาย hexane ปริมาตร 50 มิลลิลิตร แล้วสกัดสารโดยการแยกด้วย separatory funnel นาน 15 นาที ทิ้งให้สารละลายแยกชั้น เก็บสารละลายชั้นล่างซึ่งเป็นชั้นของสารละลาย acetonitrile กรองผ่าน sodium sulfate นำสารละลายชั้นบนมาสกัดอีกครั้งโดยเติมสารละลาย acetonitrile ที่อิ่มตัวด้วยสารละลาย hexane จำนวน 50 มิลลิลิตร เก็บสารละลายชั้นล่างที่กรองได้ผ่าน sodium sulfate รวมกันใส่ในขวดกันกลมขนาด 250 มิลลิลิตร นำไประเหยแห้งด้วยเครื่อง Rotary evaporator [11] จากนั้นละลายสารตกค้างอยู่ในขวดกันกลมด้วย methanol 5.0 มิลลิลิตร นำสารละลายที่ได้กรองผ่านของผสมระหว่างสาร Envi-carb 0.1 กรัม กับ BONDASIL-PSA 0.1 กรัม นำสารละลายที่กรองได้ผ่าน membrane filter ขนาด 0.2 ไมโครเมตร และเก็บสารละลายตัวอย่างที่เตรียมได้ในขวดแก้วขนาดเล็กที่มีฝาปิดสนิท ณ อุณหภูมิประมาณ 7 องศาเซลเซียส

3.2 การสร้างกราฟเปรียบเทียบมาตรฐาน (Calibration curve) ของสารละลายมาตรฐานคาร์โบฟูรานด้วยเทคนิคการวัดสี

ปิเปตต์สารละลายมาตรฐานคาร์โบฟูรานความเข้มข้น 100 ppm ปริมาตร 0.00 0.05 0.10 0.20 0.40 0.60 และ 0.80 มิลลิลิตร ใส่ในขวดวัดปริมาตรขนาด 10 มิลลิลิตร ได้ความเข้มข้นคาร์โบฟูรานเท่ากับ 0.00 0.50 1.00 2.00 4.00 6.00 และ 8.00 ppm ตามลำดับเติมสารละลาย 2 M NaOH ปริมาตร 2.00 มิลลิลิตร เพื่อปรับความเป็นกรดเบส จากนั้นเติมสารละลายผสมระหว่าง 0.05%w/v PNA และ 0.2%w/v NaNO₂ ปริมาตร 1.50 มิลลิลิตร เกิดผลิตภัณฑ์เป็นสารละลายสีไวน์แดง เขย่าเพื่อให้เกิดการผสมและสุดท้ายปรับปริมาตรด้วยน้ำกลั่นนำไปวัดค่าการดูดกลืนแสง (Absorbance) ด้วยเครื่อง UV-Visible Spectrophotometer ที่ความยาวคลื่น 400 – 800 นาโนเมตร นำค่าการดูดกลืนแสงของคาร์โบฟูรานที่ปรากฏ ณ ความยาวคลื่น 525 นาโนเมตร ของสารละลายมาตรฐานคาร์โบฟูรานที่ความเข้มข้นต่าง ๆ มาสร้างกราฟเปรียบเทียบมาตรฐาน (Calibration curve)

3.3 การตรวจวัดสารคาร์โบฟูรานด้วยเทคนิคการวัดสีแบบการเติมสารมาตรฐาน (Standard addition)

ปิเปตต์สารละลายตัวอย่างพริกที่สกัดได้ (จาก 3.1) ปริมาตร 1 มิลลิลิตร ใส่ในขวดปรับปริมาตรขนาด 10 มิลลิลิตร จำนวน 5 ขวด เติมสารละลายมาตรฐานคาร์โบฟูรานความเข้มข้น 100 ppm ปริมาตร 0.00 0.05 0.10 0.20 0.40 0.60 และ 0.80 มิลลิลิตร ซึ่งได้ความเข้มข้นคาร์โบฟูรานแต่ละขวดเท่ากับ 0.00 0.50 1.00 2.00 4.00 6.00 และ 8.00 ppm ตามลำดับ เติมสารละลาย 2 M NaOH ปริมาตร 2.00 มิลลิลิตร และสารละลายผสมระหว่าง 0.05%w/v PNA และ 0.2%w/v NaNO₂ ปริมาตร 1.50 มิลลิลิตร เขย่าให้ผสมกันและสุดท้ายปรับปริมาตรด้วยน้ำกลั่น วัดค่าการดูดกลืนแสง (Absorbance) ของสารละลายสีไวน์แดงที่เตรียมได้ ด้วยเครื่อง UV-Visible Spectrophotometer ที่ความยาวคลื่น 400 – 800 นาโนเมตร นำค่าการดูดกลืนแสงของคาร์โบฟูรานที่ปรากฏ ณ ความยาวคลื่น 525 นาโนเมตร ของสารละลายมาตรฐานคาร์โบฟูรานที่ความเข้มข้นต่าง ๆ มาสร้างกราฟเปรียบเทียบมาตรฐานแบบการเติมสารมาตรฐาน (Standard addition curve)

3.4 การสร้างกราฟเปรียบเทียบมาตรฐาน (Calibration curve) ของสารละลายมาตรฐานคาร์โบฟูรานด้วยเทคนิค HPLC

ฉีดสารละลายมาตรฐานคาร์โบฟูรานความเข้มข้น 0.50 1.00 2.00 4.00 6.00 และ 8.00 ppm ปริมาตร 10 ไมโครลิตร จำนวน 3 ซ้ำ เข้าเครื่อง High Performance Liquid Chromatography (HPLC) โดยสภาวะที่เหมาะสมคือ คอลัมน์ Eclipse XDB-C₁₈ Analysis HPLC (4.6x150 มิลลิเมตร) อุณหภูมิ 50 องศาเซลเซียส อัตราการไหลของโมบายเฟส 1.2 มิลลิลิตรต่อนาที และใช้ระบบโมบายเฟสคงที่ คือเมทานอลต่อน้ำ (50:50 มิลลิลิตร) นำพื้นที่ใต้พีคของคาร์โบฟูรานที่ปรากฏ ณ เวลา 4.5 นาที ของสารละลายมาตรฐานคาร์โบฟูรานที่ความเข้มข้นต่าง ๆ มาสร้างกราฟเปรียบเทียบมาตรฐาน (Calibration curve)

3.5 การตรวจวัดสารคาร์โบฟูรานในตัวอย่างพริกด้วยเทคนิค HPLC

ฉีดสารละลายตัวอย่างพริกที่สกัดได้ (จาก 3.1) ปริมาตร 10 ไมโครลิตร จำนวน 3 ซ้ำ เข้าเครื่อง High Performance Liquid Chromatography (HPLC) โดยสภาวะที่เหมาะสมคือ คอลัมน์ Eclipse XDB-C₁₈ Analysis HPLC (4.6x150 มิลลิเมตร) อุณหภูมิ 50 องศาเซลเซียส อัตราการไหลของโมบายเฟส 1.2 มิลลิลิตรต่อนาที และใช้ระบบโมบายเฟสคงที่ คือเมทานอลต่อน้ำ (50:50 มิลลิลิตร) นำพื้นที่ใต้พีคของคาร์โบฟูรานที่ปรากฏ ณ เวลา 4.5 นาที เทียบหาปริมาณคาร์โบฟูรานจากกราฟเปรียบเทียบมาตรฐาน (Calibration curve) ที่ได้จาก 3.4

3.6 การหาร้อยยลผลการกลับคืนได้ (% Recovery)

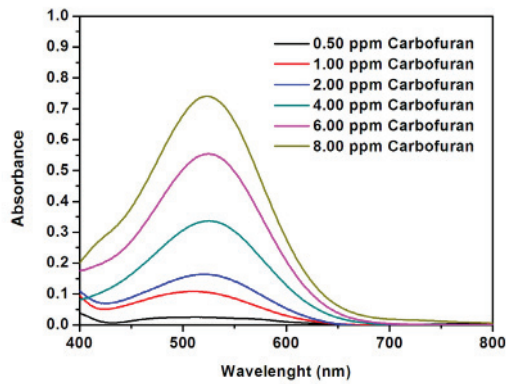
เติมสารละลายมาตรฐานคาร์โบฟูรานที่ระดับความเข้มข้น 2 ppm ลงในตัวอย่างพริกสดที่มีการเจือปนของคาร์โบฟูรานทั้ง 10 ตัวอย่าง แล้วทำการสกัดตามขั้นตอนการเตรียมตัวอย่างในหัวข้อ 3.1 จากนั้นนำสารละลายที่สกัดได้ไปวิเคราะห์ทั้งเทคนิคการวัดสีและ HPLC เปรียบเทียบปริมาณที่วิเคราะห์ได้กับตัวอย่างพริกสดที่ไม่ได้เติมสารละลายมาตรฐานคาร์โบฟูรานที่ระดับความเข้มข้น 2 ppm ก่อนการสกัด

ผลการวิจัย

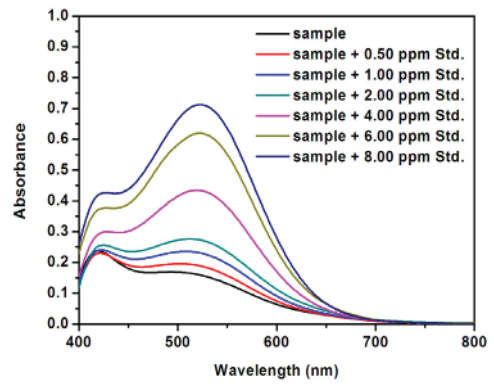
1. การเปรียบเทียบปริมาณสารคาร์โบฟูรานในตัวอย่างพริกด้วยเทคนิคการวัดสีแบบกราฟเปรียบเทียบมาตรฐาน (Calibration curve) กับการเติมสารมาตรฐาน (Standard addition)

การตรวจวัดสารคาร์โบฟูรานด้วยเทคนิคการวัดสีแบบการสร้างกราฟเปรียบเทียบมาตรฐาน (Calibration

curve) และการเติมสารมาตรฐาน (Standard addition) ตัวอย่างสเปกตรากการดูดกลืนแสงของสารมาตรฐานคาร์โบฟูรานและสารละลายตัวอย่างพริกที่สกัดได้ ดังแสดงในภาพที่ 2 พบว่า ณ ความยาวคลื่น 525 นาโนเมตร มีค่าการดูดกลืนแสงเพิ่มขึ้นตามปริมาณการเพิ่มความเข้มข้นของสารละลายมาตรฐานคาร์โบฟูราน แต่เมื่อเปรียบเทียบกราฟเปรียบเทียบมาตรฐาน (Calibration curve) เทียบกับวิธีการเติมสารมาตรฐาน (Standard addition) ดังแสดงในภาพที่ 3 พบว่าความชันของสมการเส้นตรงที่ได้จากกราฟเปรียบเทียบมาตรฐาน (Calibration curve) และวิธีการเติมสารมาตรฐาน (Standard addition) เท่ากับ 0.0928 และ 0.0716 ตามลำดับ ซึ่งความชันของสมการเส้นตรงที่ได้จากกราฟเปรียบเทียบมาตรฐาน (Calibration curve) สูงกว่าวิธีการเติมสารมาตรฐาน (Standard addition) คิดเป็นร้อยละ 29.61 ของวิธีการเติมสารมาตรฐาน แสดงว่าผลจากองค์ประกอบที่เจือปนในตัวอย่างพริกที่สกัดได้มีผลรบกวนต่อการวิเคราะห์อย่างมีนัยสำคัญ (matrix effect) นอกจากนี้เมื่อเปรียบเทียบผลการวิเคราะห์ปริมาณคาร์โบฟูรานในตัวอย่างพริกทั้ง 10 ตัวอย่าง จากการวัดสีทั้งแบบสร้างกราฟเปรียบเทียบมาตรฐาน (Calibration curve) และวิธีการเติมสารมาตรฐาน (Standard addition) ดังแสดงในภาพที่ 4 ซึ่งพบว่าค่าความชันและค่าสัมประสิทธิ์สหสัมพันธ์เท่ากับ 0.6753 และ 0.7252 ตามลำดับ แสดงว่าเทคนิคการวัดสีแบบสร้างกราฟเปรียบเทียบมาตรฐาน (Calibration curve) ให้ผลปริมาณคาร์โบฟูรานที่วิเคราะห์ได้สูงกว่าการวิเคราะห์แบบการเติมสารมาตรฐาน (Standard addition) ดังนั้นในงานวิจัยนี้จึงเลือกวิธีการวัดสีแบบการเติมสารมาตรฐาน (Standard addition) เพื่อแก้ไขปัญหาการรบกวนจากองค์ประกอบที่เจือปนในตัวอย่างพริกที่สกัดได้

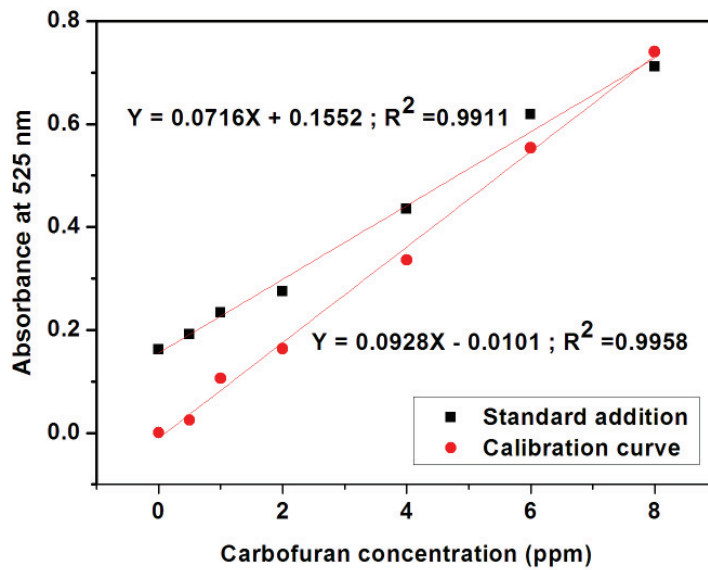


ก. Calibration curve

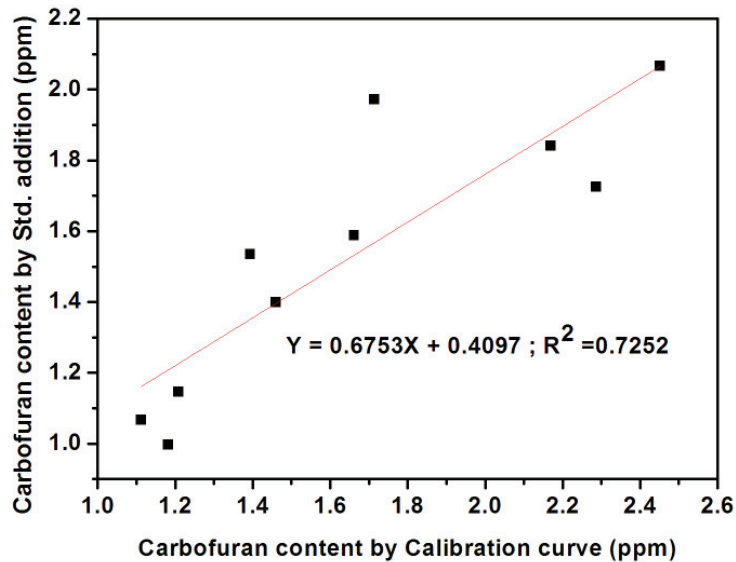


ข. Standard addition

ภาพที่ 2 ตัวอย่างสเปกตรากการดูดกลืนแสงของสารมาตรฐานคาร์โบฟูรานและตัวอย่างพริกจากการตรวจวัดสารคาร์โบฟูรานด้วยเทคนิคการวัดสีแบบสร้างกราฟเปรียบเทียบมาตรฐาน (Calibration curve) และการเติมสารมาตรฐาน (Standard addition)



ภาพที่ 3 กราฟเปรียบเทียบมาตรฐาน (Calibration curve) เทียบกับวิธีการเติมสารมาตรฐาน (Standard addition)

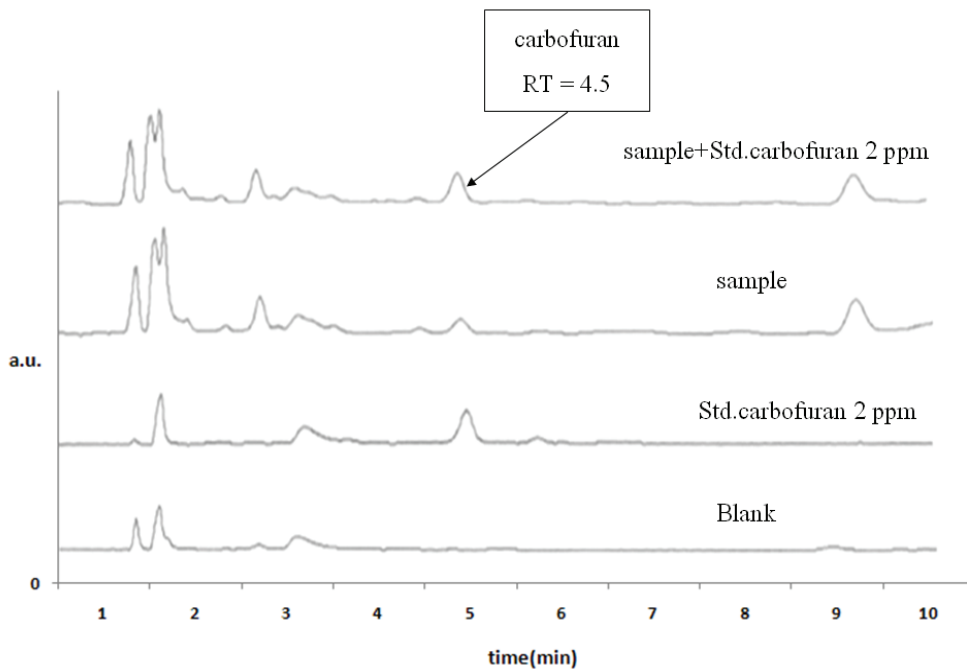


ภาพที่ 4 เปรียบเทียบปริมาณคาร์โบฟูรานในตัวอย่างพริกทั้ง 10 ตัวอย่าง จากการวัดสีทั้งแบบสร้างกราฟเปรียบเทียบมาตรฐาน (Calibration curve) และวิธีการเติมสารมาตรฐาน (Standard addition)

2. ผลการวิเคราะห์สารคาร์โบฟูรานในตัวอย่างพริก ด้วยเทคนิค HPLC

การวิเคราะห์ตัวอย่างพริกสด จำนวน 10 ตัวอย่าง ในพื้นที่จังหวัดอุบลราชธานี ด้วยเทคนิค HPLC สามารถแยกสารคาร์โบฟูรานได้ภายในเวลา 4.5 นาที ตัวอย่างโครมาโทแกรมของสารละลายมาตรฐานคาร์โบฟูรานเข้มข้น 2 ppm สารละลายพริกที่สกัดได้ และสารละลายพริกที่สกัดได้เติมสารละลายมาตรฐานคาร์โบฟูรานเข้มข้น 2 ppm แสดงดังภาพที่ 4 พบปริมาณสารคาร์โบฟูรานในพริกสด 10 ตัวอย่างในช่วง 0.989 – 2.171 ppm เมื่อศึกษาหาร้อยละการกลับคืนได้ (% Recovery)

ของพริกสด 10 ตัวอย่าง อยู่ในช่วง 93.25-101.30 %recovery และวิเคราะห์ความแม่นยำในการวิเคราะห์ให้ค่า %RSD เท่ากับ 0.82% ขีดจำกัดของการตรวจพบ (LOD) และขีดจำกัดของการวิเคราะห์ปริมาณ (LOQ) เท่ากับ 0.10 และ 0.50 ppm ตามลำดับ จากข้อมูลที่เคยมีการศึกษาสารกลุ่มคาร์บาเมตในตัวอย่างดิน [12] พบว่าค่าร้อยละการกลับคืนได้ (% Recovery) อยู่ในช่วง 82-99% ค่า %RSD อยู่ระหว่าง 0.4-10% และค่า LOD อยู่ระหว่าง 1.6- 3.7 ppm

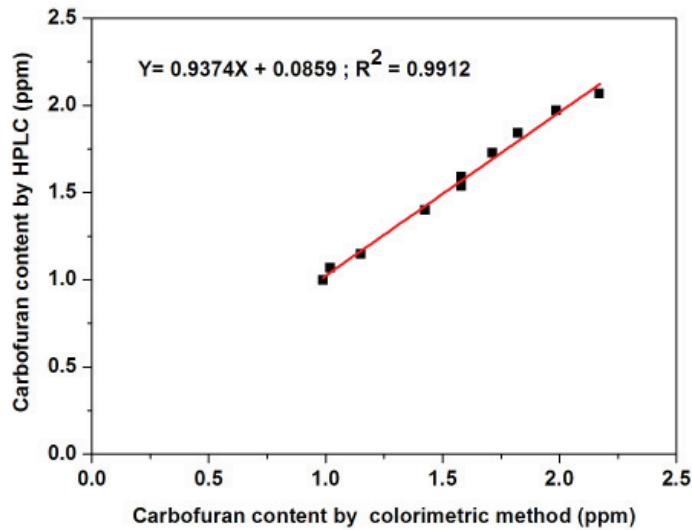


ภาพที่ 5 โครมาโทแกรมของ Blank สารละลายมาตรฐานคาร์โบฟูรานที่ระดับความเข้มข้น 2 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร ตัวอย่างพริก และตัวอย่างพริกสดที่เติมสารมาตรฐานคาร์โบฟูรานที่ระดับความเข้มข้น 2 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร

3. การเปรียบเทียบผลการวิเคราะห์สารคาร์โบฟูรานระหว่างเทคนิค HPLC และการวัดสีแบบการเติมสารมาตรฐาน

จากผลการวิเคราะห์หาสารคาร์โบฟูรานในพริกสด จำนวน 10 ตัวอย่าง ในพื้นที่จังหวัดอุบลราชธานี ด้วยเทคนิค HPLC และเทคนิคการวัดสีโดยใช้วิธีการเติมสารมาตรฐาน (standard addition) วิเคราะห์ตัวอย่างละ 3 ซ้ำ พบว่าปริมาณคาร์โบฟูรานที่วิเคราะห์ได้ทั้งสองเทคนิค ให้ผลการทดสอบทางสถิติ t-test ไม่แตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญที่ระดับความเชื่อมั่น 95% ($t_{\text{observed}} = 0.81$, $t_{\text{critical}} = 2.26$) นอกจากนี้ นำข้อมูลปริมาณคาร์โบฟูรานที่

วิเคราะห์ได้ทั้งสองวิธีมาสร้างกราฟเปรียบเทียบผลการวิเคราะห์จากเทคนิคการวัดสีแบบเติมสารมาตรฐานกับเทคนิค HPLC ดังแสดงในภาพที่ 6 พบว่าให้ค่าความชันและค่าสัมประสิทธิ์สหสัมพันธ์ (Correlation coefficient, R^2) เท่ากับ 0.9374 และ 0.9912 ตามลำดับ ซึ่งทั้งค่าความชันและค่าสัมประสิทธิ์สหสัมพันธ์เข้าใกล้ 1 แสดงว่าปริมาณคาร์โบฟูรานที่ตรวจพบในพริกสด 10 ตัวอย่างจากทั้งสองเทคนิคให้ผลการทดลองไม่แตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญ [13]



ภาพที่ 6 กราฟเปรียบเทียบปริมาณคาร์โบฟูรานในพริกสด 10 ตัวอย่างที่วิเคราะห์ได้จากเทคนิค HPLC กับเทคนิคการวัดสีแบบเติมสารมาตรฐาน

สรุปและอภิปรายผล

ในงานการวิจัยนี้พัฒนาวิธีการวัดสีสำหรับการวิเคราะห์สารคาร์โบฟูรานในตัวอย่างพริกชี้หนูสดจำนวน 10 ตัวอย่าง ในเขตพื้นที่จังหวัดอุบลราชธานี และยืนยันผลกับเทคนิค HPLC การวิเคราะห์ปริมาณคาร์โบฟูรานในตัวอย่างพริกสดด้วยเทคนิคการวัดสี โดยอาศัยปฏิกิริยาเคมีระหว่างสารคาร์โบฟูรานกับสารเคมีผสมซึ่งประกอบด้วยสาร p-nitroaniline NaOH และ NaNO₂ ได้ผลิตภัณฑ์เป็นสารละลายสีไวท์แดง มีค่าการดูดกลืนแสงสูงที่สุดที่ความยาวคลื่น 525 นาโนเมตร เทคนิคการวัดสีแบบสร้างกราฟเปรียบเทียบมาตรฐาน (Calibration curve) ให้ผลปริมาณคาร์โบฟูรานที่วิเคราะห์ได้สูงกว่าด้วยการวิเคราะห์แบบการเติมสารมาตรฐาน (Standard addition) ซึ่งเกิดจากปัญหาการรบกวนจากองค์ประกอบที่เจือปนในสารละลายตัวอย่างพริกที่สกัดได้ เมื่อเปรียบเทียบปริมาณคาร์โบฟูรานในตัวอย่างพริกชี้หนูสดจำนวน 10 ตัวอย่างระหว่างวิธีการวัดสีแบบการเติมสารมาตรฐาน (Standard addition) กับเทคนิค HPLC ให้ผลไม่แตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญ ดังนั้นเทคนิคการวัดสีแบบการเติมสารมาตรฐานสามารถพัฒนาต่อเป็นชุดทดสอบภาคสนามเบื้องต้นก่อนนำ

ตัวอย่างส่งมาวิเคราะห์ด้วยเทคนิคมาตรฐานในห้องปฏิบัติการต่อไป

เอกสารอ้างอิง

- [1] กรมวิชาการเกษตร กระทรวงเกษตรและสหกรณ์. 2548. **พืชและกลไกการออกฤทธิ์ของวัตถุมีพิษเกษตร**. เอกสารวิชาการ.
- [2] นพ.วรุฒิ เจริญศิริ. 2551. **ชุดตรวจสอบสารพิษตกค้าง**. ศูนย์ข้อมูลสุขภาพกรุงเทพ, 1-8.
- [3] ชวนพิศ บุญย้อย และคณะ. 2550. **การศึกษาความเสี่ยงต่อสุขภาพและอนามัยของเกษตรกรสวนส้มพื้นที่ลุ่มน้ำฝางจากการใช้สารกำจัดศัตรูพืช**. รายงานผลงานวิจัยศูนย์วิจัยและฝึกอบรมด้านสิ่งแวดล้อม.
- [4] Jan, M.R. et al. 2003. "Investigation of new indirect spectrophotometric method for the determination of carbofuran in carbamate pesticides," **Chemosphere**. 52: 1623–1626.

- [5] Fernandez, M. et al. 2000. "Determination of carbamate residues in fruits and vegetables by matrix solid-phase dispersion and liquid chromatography–mass spectrometry," **Journal of Chromatography A**, 871: 43–56.
- [6] Wu, J. et al. 2002. "Analysis of polar pesticides in water and wine samples by automated in-tube solid-phase micro extraction coupled with high-performance liquid chromatography–mass spectrometry," **Journal of Chromatography A**, 976: 357–367.
- [7] Jin, S. et al. 2004. "Determination of organophosphate and carbamate pesticides based on enzyme inhibition using a pH-sensitive fluorescence probe," **Analytica Chimica Acta**, 523: 117–123.
- [8] Liu, M. et al. 2005. "Simultaneous determination of carbamate and organophosphorus pesticides in fruits and vegetables by liquid chromatography–mass spectrometry," **Journal of Chromatography A**, 1097: 183–187.
- [9] Teerakun, M. and Reungsang, A. 2005. Determination of plant species for the phytoremediation of carbofuran residue in rice field soils, **Songklanakarin J. Sci. Technol**, 27: 967–97
- [10] Chu, N. and Fan, S. 2009. "Sequential injection kinetic spectrophotometric determination of quaternary mixtures of carbamate pesticides in water and fruit samples using artificial neural networks for multivariate calibration." **Spectrochimica Acta, Part A**, 74: 1173–1181.
- [11] รัชณี สุวภาพ, ประภัสสร่า พิมพ์พันธุ์ และยงยุทธ ไม้แก้ว. 2550. วิจัยปริมาณสารพิษตกค้างคาร์บาริลในพริกเพื่อกำหนดค่า ปริมาณสูงสุดของสารพิษตกค้าง ครั้งที่5 และครั้งที่6. กลุ่มวิจัยวัตถุมีพิษการเกษตร กรมวิชาการเกษตร,
- [12] Sanchez–Brunete, C. et al. 2003. Multiresidue analysis of carbamate pesticides in soil by sonicationq assisted extraction in small columns and liquid chromatography, **Journal of Chromatography A**, 1007: 85–91.
- [13] กรมวิทยาศาสตร์การแพทย์ กระทรวงสาธารณสุข. 2549. แนวปฏิบัติการทดสอบความถูกต้องของวิธีวิเคราะห์ทางเคมีโดยห้องปฏิบัติการเดี่ยว.