



การวิเคราะห์หาสารเคมีกำจัดแมลงในกลุ่มคาร์บาเมตที่ตกค้างในตัวอย่างทางการเกษตรด้วยเทคนิค  
โครมาโทกราฟีของเหลวสมรรถนะสูง



โดย  
นายจตุรงค์ ผลประเสริฐ

วิทยานิพนธ์นี้เป็นส่วนหนึ่งของการศึกษาตามหลักสูตรวิทยาศาสตรมหาบัณฑิต

สาขาวิชาเคมี แผน ก แบบ ก 2 ปริญญามหาบัณฑิต

ภาควิชาเคมี

บัณฑิตวิทยาลัย มหาวิทยาลัยศิลปากร

ปีการศึกษา 2565

ลิขสิทธิ์ของมหาวิทยาลัยศิลปากร

การวิเคราะห์หาสารเคมีกำจัดแมลงในกลุ่มคาร์บาเมตที่ตกค้างในตัวอย่างทางการเกษตร  
ด้วยเทคนิคโครมาโทกราฟีของเหลวสมรรถนะสูง



วิทยานิพนธ์นี้เป็นส่วนหนึ่งของการศึกษาตามหลักสูตรวิทยาศาสตรมหาบัณฑิต  
สาขาวิชาเคมี แผน ก แบบ ก 2 ปริญญามหาบัณฑิต  
ภาควิชาเคมี  
บัณฑิตวิทยาลัย มหาวิทยาลัยศิลปากร  
ปีการศึกษา 2565  
ลิขสิทธิ์ของมหาวิทยาลัยศิลปากร

DETERMINATION OF CARBAMATE INSECTICIDE RESIDUES IN AGRICULTURAL  
SAMPLES BY HIGH PERFORMANCE LIQUID CHROMATOGRAPHY



By  
MR. Jaturong PHONPRASERT

A Thesis Submitted in Partial Fulfillment of the Requirements  
for Master of Science (CHEMISTRY)  
Department of CHEMISTRY  
Graduate School, Silpakorn University  
Academic Year 2022  
Copyright of Silpakorn University

หัวข้อ การวิเคราะห์หาสารเคมีกำจัดแมลงในกลุ่มคาร์บาเมตที่ตกค้างใน  
ตัวอย่างทางการเกษตรด้วยเทคนิคโครมาโทกราฟีของเหลว  
สมรรถนะสูง

โดย นายจาตุรงค์ ผลประเสริฐ

สาขาวิชา เคมี แผนก ก แบบ ก 2 ปริญญาโทบริหารธุรกิจ

อาจารย์ที่ปรึกษาหลัก ผู้ช่วยศาสตราจารย์ ดร. นิพนธ์ เทพสุภังค์

---

บัณฑิตวิทยาลัย มหาวิทยาลัยศิลปากร ได้รับพิจารณาอนุมัติให้เป็นส่วนหนึ่งของการศึกษา  
ตามหลักสูตรวิทยาศาสตรมหาบัณฑิต

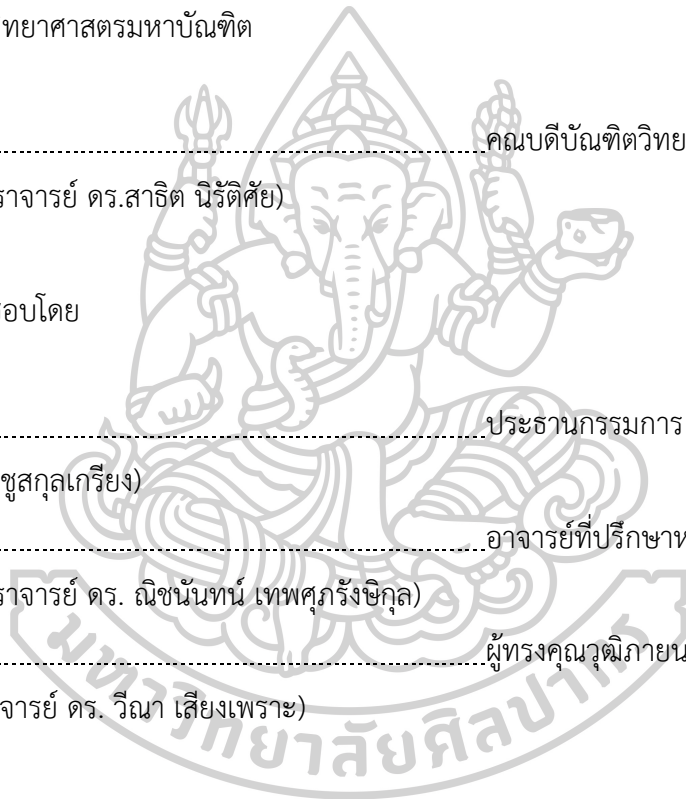
..... คณบดีบัณฑิตวิทยาลัย (ผู้รักษาการแทน)  
(ผู้ช่วยศาสตราจารย์ ดร.สาธิต นิรติศัย)

พิจารณาเห็นชอบโดย

..... ประธานกรรมการ  
(ดร. ศิริรัตน์ ชูสกุลเกรียง)

..... อาจารย์ที่ปรึกษาหลัก  
(ผู้ช่วยศาสตราจารย์ ดร. นิพนธ์ เทพสุภังค์)

..... ผู้ทรงคุณวุฒิภายนอก  
(รองศาสตราจารย์ ดร. วิณา เสียงเพราะ)



620720016 : เคมี แผน ก แบบ ก 2 ปริญญามหาบัณฑิต

คำสำคัญ : คาร์บาริล, คาร์โบฟูราน, โครมาโทกราฟีของเหลวสมรรถนะสูง, เมโทมิล, QuEChERS

นาย จาตุรงค์ ผลประเสริฐ: การวิเคราะห์หาสารเคมีกำจัดแมลงในกลุ่มคาร์บาเมตที่ตกค้างในตัวอย่างทางการเกษตรด้วยเทคนิคโครมาโทกราฟีของเหลวสมรรถนะสูง อาจารย์ที่ปรึกษาวิทยานิพนธ์หลัก : ผู้ช่วยศาสตราจารย์ ดร. นิชนันท์ เทพศุภรังษิกุล

ปัจจุบันผลผลิตทางการเกษตรของไทยมีการปนเปื้อนสารเคมีกำจัดศัตรูพืชสูง โดยที่นิยมใช้กันอย่างแพร่หลาย คือ สารเคมีกำจัดแมลง ในงานวิจัยนี้สนใจศึกษาหาปริมาณสารเคมีกำจัดแมลงในกลุ่มคาร์บาเมต ได้แก่ คาร์โบฟูราน คาร์บาริล และเมโทมิลที่ตกค้างในผักและผลไม้ โดยการสกัดด้วยวิธี Quick, Easy, Cheap, Effective, Rugged and Safe (QuEChERS) โดยศึกษาสภาวะที่เหมาะสม ได้แก่ ปริมาณของตัวอย่าง ปริมาตรของตัวทำละลาย และชนิดของเกลือ จากนั้นวิเคราะห์หาปริมาณคาร์โบฟูราน คาร์บาริล และเมโทมิลด้วยเทคนิคโครมาโทกราฟีของเหลวสมรรถนะสูง ซึ่งต่อกับตัวตรวจวัดชนิดไดโอดอาร์เรย์ รวมถึงศึกษาสภาวะที่เหมาะสม ได้แก่ อัตราส่วนตัวทำละลายผสม (อะซิโตนไตรล่อน้ำ) ที่ใช้เป็นเฟสเคลื่อนที่และอัตราการไหลของเฟสเคลื่อนที่ รวมทั้งศึกษาประสิทธิภาพของเครื่องมือ ผลการทดลองพบว่า สภาวะที่เหมาะสมของเทคนิค QuEChERS ได้แก่ ปริมาณของตัวอย่าง 10 กรัม ปริมาตรของ 1% กรดอะซิติกในอะซิโตนไตรล่อน้ำ 10 มิลลิลิตร และใช้เกลือ  $\text{Na}_2\text{SO}_4$  ในการสกัด ส่วนสภาวะที่เหมาะสมของเทคนิคโครมาโทกราฟีของเหลวสมรรถนะสูง ได้แก่ อัตราส่วนตัวทำละลายผสมระหว่างอะซิโตนไตรล่อน้ำกับน้ำ 50:50 (โดยปริมาตร) ที่อัตราการไหลเท่ากับ 1.75 มิลลิลิตร/นาที โดยคาร์โบฟูราน คาร์บาริล และเมโทมิลให้ความเป็นเส้นตรงในช่วงความเข้มข้น 100-1,000 50-1,000 และ 50-1,000 ไมโครกรัม/ลิตร ตามลำดับ ค่าขีดจำกัดของการตรวจพบของคาร์โบฟูราน คาร์บาริล และเมโทมิล เท่ากับ 56.32, 11.31 และ 11.80 ไมโครกรัม/ลิตร ตามลำดับ ค่าขีดจำกัดของการวัดเชิงปริมาณของคาร์โบฟูราน คาร์บาริล และเมโทมิล เท่ากับ 73.67, 14.60 และ 19.95 ไมโครกรัม/ลิตร ตามลำดับ ความเที่ยงตรงของวิธีมีค่า %RSD ของคาร์โบฟูราน คาร์บาริล และเมโทมิล น้อยกว่า 10% และร้อยละการกลับคืนของคาร์โบฟูราน คาร์บาริล และเมโทมิลอยู่ในช่วง 68.45-109.57% การวิเคราะห์หาปริมาณคาร์โบฟูราน คาร์บาริล และเมโทมิลในตัวอย่างผักและผลไม้ 30 ตัวอย่าง โดยตัวอย่างถั่วพู พริก กระชาย แอปเปิ้ล ฝรั่งกิมจู มะนาว หัวไชเท้า ตะไคร้ พริกทอง แครอท ขึ้นฉ่าย ถั่วฝักยาว ถั่วฝักยาว คะน้า โหระพา กะเพราขาว มะเขือเทศ ผักชีฝรั่ง ถั่วงอก ผักกาดแก้ว หอมใหญ่ ชিং ผักกาดขาว และข่า พบปริมาณคาร์โบฟูรานซึ่งเกินค่าปริมาณสารพิษตกค้างสูงสุด (0.02-2.00 มิลลิกรัม/ลิตร) ส่วนในตัวอย่างถั่วพู มะระขี้นก และกระชายพบเมโทมิลซึ่งเกินค่าปริมาณสารพิษตกค้างสูงสุด (0.02-2.00 มิลลิกรัม/ลิตร)

620720016 : Major (CHEMISTRY)

Keyword : Carbaryl, Carbofuran, High Performance Liquid Chromatography, Methomyl, QuEChERS

MR. JATURONG PHONPRASERT : DETERMINATION OF CARBAMATE INSECTICIDE RESIDUES IN AGRICULTURAL SAMPLES BY HIGH PERFORMANCE LIQUID CHROMATOGRAPHY THESIS ADVISOR : ASSISTANT PROFESSOR NICHANAN THEPSUPARUNGSIKUL, Ph.D.

Currently, Thai agricultural products are highly contaminated by pesticides, especially chemical insecticides which are widely used in agriculture. This research aims to determine carbamate insecticides including carbofuran, carbaryl and methomyl in vegetables and fruits by Quick, Easy, Cheap, Effective, Rugged and Safe (QuEChERS) method. The approach started from systematically investigating the optimal parameters of sample content, solvent volume as well as type of salt. To measure carbofuran, carbaryl and methomyl, the QuEChERS method and High Performance Liquid Chromatography (HPLC) with a diode array detector were used. In addition, optimal HPLC parameters including ratio of solvent mixture between acetonitrile and water, and flow rate of mobile phase, and instrumental performance were studied. As a result, the optimal parameters of QuEChERS were 10 g of sample and 10 mL of 1% acetic acid in acetonitrile with  $\text{Na}_2\text{SO}_4$ . The solvent ratio between acetonitrile and water (50:50) with flow rate 1.75 mL/min was used for HPLC operation. The linear ranges of carbofuran, carbaryl and methomyl were 100-1,000, 50-1,000 and 50-1,000  $\mu\text{g/L}$ , respectively. The limits of detection (LOD) were 56.32, 11.31 and 11.80  $\mu\text{g/L}$  for carbofuran, carbaryl and methomyl, respectively. Moreover, the limits of quantitation (LOQ) for carbofuran, carbaryl and methomyl were 73.67, 14.60 and 19.95  $\mu\text{g/L}$ , respectively. The accuracy of the method verified by %RSD of carbofuran, carbaryl and methomyl was less than 10%. The percent recovery range of carbofuran, carbaryl and methomyl was 68.45-109.57%. Based on 30 types of selected vegetable and fruit samples, carbofuran was contaminated in winged bean, squash, finger root, apple, guava kimju, lemon, radish, lemongrass, pumpkin, carrot, celery, banana, kale, basil, white cabbage, tomato, parsley, bean sprout, lettuce, onion, ginger, Chinese cabbage and galingale (more than the maximum residue limits; 0.02-2.00 mg/L). The amount of methomyl was found in winged bean, bitter gourd and finger root (greater than the maximum residue limits; 0.02-2.00 mg/L).

## กิตติกรรมประกาศ

ขอขอบพระคุณ ผู้ช่วยศาสตราจารย์ ดร.ณิชนันท์ เทพศุภรังษิกุล อาจารย์ที่ปรึกษาวิทยานิพนธ์ เป็นอย่างสูง สำหรับความกรุณาที่ให้โอกาส คำปรึกษา ความรู้ และคำแนะนำ รวมถึงความช่วยเหลืออันเป็นประโยชน์อย่างยิ่งต่อการทำวิทยานิพนธ์จนเสร็จสมบูรณ์

ขอขอบพระคุณ อาจารย์ ดร.ศิริรัตน์ ชูสกุลเกรียง ประธานกรรมการในการสอบวิทยานิพนธ์ รองศาสตราจารย์ ดร.วีณา เสียงเพราะ กรรมการผู้ทรงคุณวุฒิในการสอบวิทยานิพนธ์ และผู้ช่วยศาสตราจารย์หิรัญรัตน์ สุวรรณนที ที่ให้คำแนะนำต่าง ๆ อันเป็นประโยชน์ต่อวิทยานิพนธ์ ซึ่งทำให้มีความสมบูรณ์มากยิ่งขึ้น ตลอดจนตรวจทานแก้ไขข้อบกพร่องของวิทยานิพนธ์จนเสร็จสมบูรณ์

ขอขอบพระคุณ อาจารย์ และเจ้าหน้าที่ทุกท่านของภาควิชาเคมี คณะวิทยาศาสตร์ มหาวิทยาลัยศิลปากร วิทยาเขตพระราชวังสนามจันทร์ ที่กรุณาให้คำแนะนำ ความช่วยเหลือ ตลอดจนอำนวยความสะดวกในด้านเครื่องมือ อุปกรณ์ และสารเคมี ตลอดจนคำแนะนำต่าง ๆ ที่เป็นประโยชน์

ขอขอบพระคุณศูนย์เครื่องมือวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยี คณะวิทยาศาสตร์ มหาวิทยาลัยศิลปากร วิทยาเขตพระราชวังสนามจันทร์ ที่กรุณาอำนวยความสะดวกในด้านเครื่องมือและอุปกรณ์

ขอขอบพระคุณทุนวิจัยเพื่อสนับสนุนงานมูลฐาน (Fundamental Fund) จากกองทุนส่งเสริมวิทยาศาสตร์ วิจัยและนวัตกรรม ประจำปีงบประมาณ พ.ศ. 2565 เรื่อง การวิเคราะห์หาสารเคมีกำจัดแมลงที่ตกค้างในตัวอย่างผักและผลไม้จากตลาด Silpakorn Green Market ด้วยเทคนิคโครมาโทกราฟีของเหลวสมรรถนะสูงและชุดตรวจจีที (รหัสโครงการ 2356486) สำนักงานคณะกรรมการส่งเสริมวิทยาศาสตร์ วิจัยและนวัตกรรม (สทว.)

ขอขอบพระคุณทุนอุดหนุนการวิจัยเพื่อผลิตผลงานวิจัยตีพิมพ์ในวารสารวิชาการจากกองทุนสนับสนุนการวิจัย นวัตกรรมและการสร้างสรรค์ คณะวิทยาศาสตร์ มหาวิทยาลัยศิลปากร ประจำปีงบประมาณ พ.ศ. 2564 เรื่อง การวิเคราะห์หาสารเคมีกำจัดแมลงที่ตกค้างในตัวอย่างผักด้วยเทคนิคโครมาโทกราฟีของเหลวสมรรถนะสูง (สัญญาเลขที่ SRIF-JRG-2564-26)

สุดท้ายขอขอบพระคุณ คุณพ่อ คุณแม่ และทุกคนในครอบครัว ที่เป็นกำลังใจและให้การสนับสนุน ตลอดจนคำปรึกษาที่ดีในด้านต่าง ๆ จนทำให้วิทยานิพนธ์เล่มนี้สำเร็จไปได้ด้วยดี

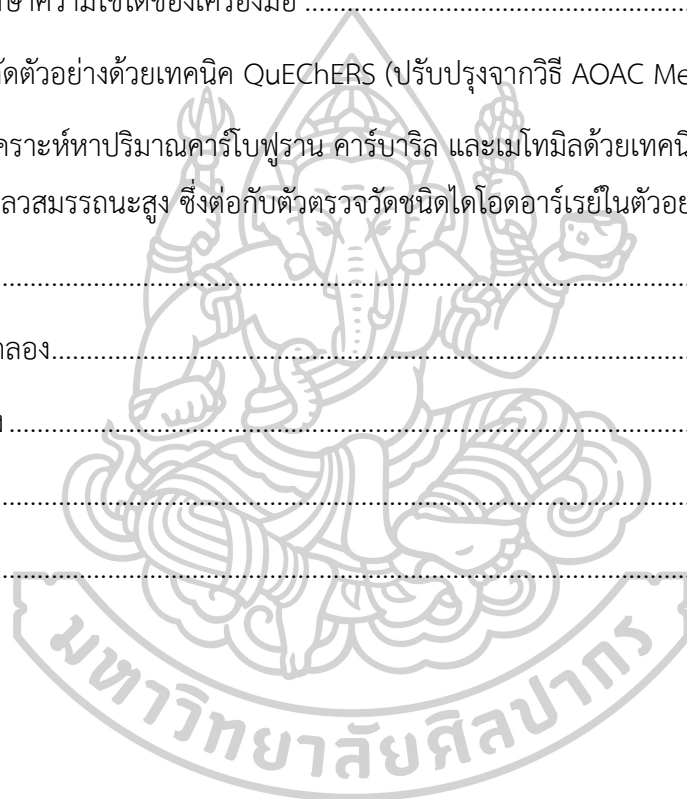
นาย จาตุรงค์ ผลประเสริฐ

## สารบัญ

	หน้า
บทคัดย่อภาษาไทย.....	ง
บทคัดย่อภาษาอังกฤษ.....	จ
กิตติกรรมประกาศ.....	ฉ
สารบัญ.....	ช
สารบัญตาราง.....	ฌ
สารบัญภาพ.....	ฎ
บทที่ 1.....	1
บทนำ.....	1
1.1 ที่มาและความสำคัญ.....	1
1.2 วัตถุประสงค์ของการวิจัย.....	3
1.3 สมมุติฐานของการวิจัย.....	4
1.4 ขอบเขตการวิจัย.....	4
บทที่ 2.....	5
ทฤษฎีและงานวิจัยที่เกี่ยวข้อง.....	5
2.1 คาร์โบฟูราน (Carbofuran).....	8
2.2 คาร์บาริล (Carbaryl).....	9
2.3 เมโทมิล (Methomyl).....	11
2.4 การสกัดด้วยเทคนิค Quick, Easy, Cheap, Effective, Rugged and Safe method (QuEChERS).....	17
2.5 เทคนิค High Performance Liquid Chromatography (HPLC).....	18
2.6 งานวิจัยที่เกี่ยวข้อง.....	26



บทที่ 4 .....	40
ผลการทดลองและอภิปรายผลการทดลอง.....	40
4.1 การศึกษาความยาวคลื่นที่เหมาะสมสำหรับการวิเคราะห์หาปริมาณคาร์โบฟูราน คาร์บาริล และเมโทมิลด้วยเครื่องอัลตราไวโอเลต-วิสิเบิลสเปกโตรโฟโตมิเตอร์.....	40
4.2 การศึกษาสภาวะที่เหมาะสมสำหรับการวิเคราะห์คาร์โบฟูราน คาร์บาริล และเมโทมิลด้วยเทคนิคโครมาโทกราฟีของเหลวสมรรถนะสูง ซึ่งต่อกับตัวตรวจวัดชนิดไดโอดอาร์เรย์.....	41
4.3 การศึกษาความใช้ได้ของเครื่องมือ .....	44
4.4 การสกัดตัวอย่างด้วยเทคนิค QuEChERS (ปรับปรุงจากวิธี AOAC Method 2007.01).....	48
4.5 การวิเคราะห์หาปริมาณคาร์โบฟูราน คาร์บาริล และเมโทมิลด้วยเทคนิคโครมาโทกราฟีของเหลวสมรรถนะสูง ซึ่งต่อกับตัวตรวจวัดชนิดไดโอดอาร์เรย์ในตัวอย่างผักและผลไม้.....	50
บทที่ 5 .....	63
สรุปผลการทดลอง.....	63
รายการอ้างอิง .....	67
ภาคผนวก.....	70
ประวัติผู้เขียน.....	82



## สารบัญตาราง

	หน้า
ตารางที่ 1 คุณสมบัติทางเคมีและทางกายภาพของคาร์โบฟูราน.....	9
ตารางที่ 2 คุณสมบัติทางเคมีและทางกายภาพของคาร์บาริล .....	10
ตารางที่ 3 คุณสมบัติทางเคมีและทางกายภาพของเมโทมิล .....	12
ตารางที่ 4 ค่า MRLs ของคาร์โบฟูรานสำหรับสินค้าทางการเกษตรในประเทศไทย .....	13
ตารางที่ 5 ค่า MRLs ของคาร์บาริลสำหรับสินค้าทางการเกษตรในประเทศไทย.....	14
ตารางที่ 6 ค่า MRLs ของเมโทมิลสำหรับสินค้าทางการเกษตรในประเทศไทย .....	15
ตารางที่ 7 คุณสมบัติของตัวตรวจวัดชนิดต่าง ๆ .....	22
ตารางที่ 8 รายชื่อสารเคมี สูตรโมเลกุล มวลโมเลกุล และบริษัทผู้ผลิต .....	33
ตารางที่ 9 สภาวะของเครื่องโครมาโทกราฟของเหลวสมรรถนะสูงในการวิเคราะห์คาร์โบฟูราน คาร์บาริล และเมโทมิล .....	35
ตารางที่ 10 ผลของอัตราส่วนตัวทำละลายผสมระหว่างอะซิโตนไตรล์ต่อน้ำ ต่อค่า Retention time ของสารละลายมาตรฐานคาร์โบฟูราน คาร์บาริล และเมโทมิล ความเข้มข้น 200 ไมโครกรัม/ ลิตร (n=3) .....	42
ตารางที่ 11 ผลของอัตราการไหลของเฟสเคลื่อนที่ต่อค่า Retention time ของสารละลายมาตรฐาน คาร์โบฟูราน คาร์บาริล และเมโทมิล ที่ความเข้มข้น 200 ไมโครกรัม/ลิตร (n=3).....	43
ตารางที่ 12 ผลของอัตราการไหลของเฟสเคลื่อนที่ต่อค่า Resolution ระหว่างสารละลายมาตรฐาน คาร์โบฟูราน และคาร์บาริล ที่ความเข้มข้น 200 ไมโครกรัม/ลิตร (n=3) .....	44
ตารางที่ 13 สภาวะที่เหมาะสมของเทคนิคโครมาโทกราฟีของเหลวสมรรถนะสูงในการวิเคราะห์ คาร์โบฟูราน คาร์บาริล และเมโทมิล .....	44
ตารางที่ 14 ความเที่ยงตรงของวิธีแบบ Intraday ที่มีผลต่อ %RSD ของพื้นที่ใต้พีค (n=10) .....	47
ตารางที่ 15 ความเที่ยงตรงของวิธีแบบ Interday ที่มีผลต่อ %RSD ของพื้นที่ใต้พีค (n=10) .....	47
ตารางที่ 16 ค่าร้อยละการกลับคืนของตัวอย่างผักกาดขาว ฝรั่ง มะเขือเทศ หัวไชเท้า และแอปเปิ้ล	48
ตารางที่ 17 ค่าร้อยละการกลับคืนของชนิดของเกลือที่ใช้ในการสกัดตัวอย่างแตงกวา .....	50

ตารางที่ 18 ปริมาณคาร์โบฟูราน คาร์บาริล และเมโทมิลที่ตรวจพบในตัวอย่างผักและผลไม้ ..... 51

ตารางที่ 19 สภาวะที่เหมาะสมของเครื่องโครมาโทกราฟของเหลวสมรรถนะสูง ซึ่งต่อกับตัวตรวจวัด  
ชนิดไดโอดอาร์เรย์ในการวิเคราะห์คาร์โบฟูราน คาร์บาริล และเมโทมิล ..... 63



## สารบัญภาพ

หน้า

ภาพที่ 1 สูตรโครงสร้างทางเคมีทั่วไปของสารเคมีกำจัดแมลงกลุ่มคาร์บาเมต.....	5
ภาพที่ 2 ปฏิกิริยาของเอนไซม์อะซิติลโคลีนเอสเทอเรสกับสารเคมีกำจัดแมลงกลุ่มคาร์บาเมตและกลุ่มออร์กาโนฟอสเฟต .....	6
ภาพที่ 3 โครงสร้างของ ordinary carbamate และ oxime carbamate .....	6
ภาพที่ 4 สูตรโครงสร้างของคาร์โบฟูราน .....	9
ภาพที่ 5 สูตรโครงสร้างของคาร์บาริล .....	10
ภาพที่ 6 สูตรโครงสร้างของเมโทมิล .....	11
ภาพที่ 7 ขั้นตอนการสกัด QuEChERS ด้วย AOAC method 2007.01.....	18
ภาพที่ 8 ขั้นตอนการสกัด QuEChERS ด้วย CEN method 15662.....	18
ภาพที่ 9 องค์ประกอบของเครื่องโครมาโทกราฟของเหลวสมรรถนะสูง .....	19
ภาพที่ 10 เครื่องโครมาโทกราฟของเหลวสมรรถนะสูง.....	30
ภาพที่ 11 เครื่องอัลตราไวโอเล็ต-วิสิเบิลสเปกโตรโฟโตมิเตอร์ .....	31
ภาพที่ 12 เครื่องปั่นเหวี่ยง .....	31
ภาพที่ 13 การกรองตัวทำละลายผสมด้วยเครื่องกรองระบบสุญญากาศ (Glass vacuum filter holder) .....	34
ภาพที่ 14 แผนภาพแสดงการวิเคราะห์หาปริมาณคาร์โบฟูราน คาร์บาริล และเมโทมิลในตัวอย่างผักและผลไม้ด้วยเทคนิค QuEChERS และเทคนิคโครมาโทกราฟฟีของเหลวสมรรถนะสูง ซึ่งต่อกับตัวตรวจวัดชนิดไดโอดอาร์เรย์.....	39
ภาพที่ 15 สเปกตรัมการดูดกลืนแสงของสารละลายมาตรฐานผสมระหว่างคาร์โบฟูราน คาร์บาริลและเมโทมิลที่ความเข้มข้น 200 ไมโครกรัม/ลิตร.....	40
ภาพที่ 16 กราฟความสัมพันธ์ระหว่างความเข้มข้นของสารละลายมาตรฐานคาร์โบฟูราน คาร์บาริล และเมโทมิล (ไมโครกรัม/ลิตร) แกน X และพื้นที่ใต้พีค (mAU) แกน Y .....	45
ภาพที่ 17 ผลของปริมาณของตัวอย่าง และปริมาตรของ 1% กรดอะซิติกในอะซิโตนไนไตรล์ .....	49

ภาพที่ 18 ผลของชนิดของเกลือต่อค่าร้อยละการกลับคืน (n=3)..... 50

ภาพที่ 19 Chromatograms ของตัวอย่าง AA) ฟ้าก, AB) ฟ้าทอง, AC) แครอท, AD) แอปเปิ้ล, AE) กะหล่ำปลี, AF) ขึ้นฉ่าย, AG) ผักบั้งจีน, AH) กล้วยน้ำว่า, AI) ต้นหอม, AJ) ค่ะน้า, AK) ผักชีไทย, AL) ถั่วฝักยาว, AM) ฝรั่งกิมจู, AN) มะนาว, AO) โหระพา, AP) กะเพราขาว, AQ) หัวไชเท้า, AR) มะเขือเทศ, AS) ผักชีฝรั่ง, AT) กระชาย, AU) ถั่วพู, AV) มะระขี้นก, AW) ถั่วงอก, AX) ผักกาดแก้ว, AY) หอมใหญ่, AZ) ขิง, BA) ตะไคร้, BB) ลองกอง, BC) ผักกาดขาว และ BD) ข่า..... 62



## บทที่ 1

### บทนำ

#### 1.1 ที่มาและความสำคัญ

ในปัจจุบันการใช้สารเคมีกำจัดศัตรูพืชของเกษตรกรในประเทศไทยมีปริมาณการใช้เพิ่มมากขึ้นทุกปี และพิษภัยของสารเคมีที่มีต่อผู้ใช้และต่อสิ่งแวดล้อมก็เป็นปัญหาที่สำคัญที่เพิ่มขึ้นเรื่อย ๆ โดยมีการปนเปื้อนของสารเคมีกำจัดศัตรูพืชในผลผลิตทางการเกษตร เช่น ผักและผลไม้ เนื่องจากเกษตรกรส่วนใหญ่ใช้สารเคมีกำจัดศัตรูพืชเพื่อเพิ่มผลผลิตทางการเกษตร อีกทั้งมีพฤติกรรมการใช้สารเคมีกำจัดศัตรูพืชที่ไม่ถูกต้อง ส่งผลให้เกษตรกร ผู้อาศัยในชุมชน และผู้บริโภคมีความเสี่ยงจากการได้รับอันตรายจากสารเคมีกำจัดศัตรูพืชเพิ่มขึ้น ส่งผลให้เกิดอันตรายต่อสุขภาพทั้งแบบเฉียบพลันและเรื้อรัง โดยขึ้นอยู่กับระดับความเข้มข้น ความเป็นพิษ และปริมาณที่ได้รับ สารเคมีกำจัดศัตรูพืชจะสะสมในระบบต่าง ๆ ของร่างกาย ทำให้เกิดความผิดปกติและโรคต่าง ๆ เช่น มะเร็ง เบาหวาน อัมพฤกษ์ อัมพาต โรคผิวหนังต่าง ๆ การเป็นหมัน ความพิการของทารกแรกเกิด การสูญเสียการได้ยิน และการเสื่อมสมรรถภาพทางเพศ เป็นต้น (เจาะลึกระบบสุขภาพ) สารเคมีกำจัดศัตรูพืชสามารถเข้าสู่ร่างกายได้หลายทาง เช่น การสัมผัสทางผิวหนัง การหายใจ และการรับประทานอาหารและเครื่องดื่มที่มีสารเคมีกำจัดศัตรูพืชปนเปื้อน สารเคมีกำจัดศัตรูพืช (Pesticide) สามารถแบ่งตามชนิดของสิ่งมีชีวิตที่ต้องการควบคุมและกำจัด ได้ดังนี้

##### 1. สารเคมีกำจัดแมลง (Insecticide)

สารเคมีกำจัดแมลงเป็นสารเคมีทางการเกษตรที่มีจำนวนชนิดมากที่สุด โดยสามารถแบ่งตามชนิดของสารเคมีได้ 4 กลุ่มใหญ่ ได้แก่

1.1 กลุ่มออร์กาโนคลอรีน (Organochlorine) เป็นกลุ่มของสารเคมีที่มีคลอรีนเป็นองค์ประกอบ สารเคมีกำจัดแมลงในกลุ่มนี้ที่นิยมใช้กันมาก ได้แก่ ดีดีที (DDT) ดีลดริน (Dieldrin) ออลดริน (Aldrin) ท็อกซาฟีน (Toxaphene) คลอเดน (Chlordane) และลินเดน (Lindane) เป็นต้น

1.2 กลุ่มออร์กาโนฟอสเฟต (Organophosphate) เป็นกลุ่มที่มีฟอสฟอรัสเป็นองค์ประกอบ เช่น มาลาไรออน (Malathion) และ เฟนนิโตรไรออน (Fenitrothion) เป็นต้น

1.3 กลุ่มคาร์บาเมต (Carbamate) มีคาร์บาริลเป็นองค์ประกอบสำคัญ เช่น คาร์บาริล (Carbaryl) คาร์โบฟูราน (Carbofuran) และเมโทมิล (Methomyl) เป็นต้น

1.4 กลุ่มไพรีทรอยด์ (Pyrethroid) เป็นสารเคมีกลุ่มที่สังเคราะห์ขึ้นโดยเลียนแบบโครงสร้างของไพรีทริน (Pyrethrin) ซึ่งเป็นสารธรรมชาติที่สกัดได้จากพืชไพรีทรัม (Pyrethum) ซึ่งเป็นไม้ดอกทรงพุ่ม มีดอกสีเหลือง/ขาว คล้ายดอกเดซี่หรือดอกเบญจมาศ มีการเจริญเติบโตคล้ายต้นผักกาดหอม

และเออร์ปี่ร่า เช่น เดลตาเมธริน (Deltamethrin) เพอร์เมธริน (Permethrin) เรสเมธริน (Resmethrin) และไบโอเรสเมธริน (Bioresmethrin) เป็นต้น

## 2. สารเคมีกำจัดวัชพืช (Herbicide)

สารเคมีกำจัดวัชพืชแบ่งได้เป็น 2 กลุ่มใหญ่ตามการเลือกทำลาย ได้แก่

2.1 สารชนิดเลือกทำลาย (Selective herbicide) โดยทำลายเฉพาะวัชพืช แต่ไม่เป็นอันตรายต่อพืชที่ปลูก เช่น 2,4-ไดคลอโรฟีนอกซีแอซีติก ((2,4-dichlorophenoxy) acetic acid) ใช้กำจัดวัชพืชใบกว้างโดยไม่เป็นพิษต่อต้นข้าวที่เป็นพืชใบแคบ เป็นต้น

2.2 สารชนิดไม่เลือกทำลาย (Non-selective herbicide) ทำลายวัชพืชใบแคบ ใบกว้าง หรือกก ซึ่งแนะนำให้ใช้กำจัดวัชพืชในที่ที่ไม่มีการปลูกพืช หรือถ้าจะใช้ในที่ที่มีพืชขึ้นอยู่หรืออยู่ใกล้เคียงจะต้องใช้อย่างระมัดระวัง เพราะสารชนิดนี้มีผลกระทบต่อสุขภาพหากดูดซึมเข้าสู่ร่างกาย และเป็นอันตรายแก่ชีวิตหากรับประทาน หรือสัมผัสกับผิวหนัง เช่น พาราควอท (Paraquat) และไกลโฟเสท (Glyphosate) เป็นต้น

## 3. สารเคมีกำจัดเชื้อรา (Fungicide) แบ่งได้หลายกลุ่ม ดังนี้

3.1 กลุ่ม Dimethyl dithiocarbamates เช่น ไซแรม (Ziram) เฟอแบม (Ferbam) และไธแรม (Thiram) เป็นต้น โดยมีฤทธิ์ยับยั้งเอนไซม์ Acetaldehyde dehydrogenase

3.2 กลุ่ม Ethylene bis(dithiocarbamates) เช่น มาเนบ (Maneb) แมนโคแซบ (Mancozeb) และไซแนบ (Zineb) เป็นต้น สารกลุ่มนี้จะถูก Metabolize เป็น Ethylene thiourea ซึ่งเป็นสารก่อมะเร็งในสัตว์

3.3 กลุ่ม Methyl mercury เช่น คาโลเมล (Calomel) คาโลกรีน (Calogreen) และซีรีแซน (Ceresan) เป็นต้น สามารถดูดซึมได้ดีทางผิวหนังและมีพิษต่อระบบประสาท (ไทยเกษตรศาสตร์, 2013)

3.4 กลุ่ม Hexachlorobenzene เช่น เทอราคลอร์ (Terrachlor) เป็นต้น สามารถยับยั้งเอนไซม์ Uroporphyrinogen decarboxylase ซึ่งมีพิษต่อดับ ผีวหนังสือ และส่งผลให้เกิดโรคข้อกระดูกอักเสบ

3.5 กลุ่ม Pentachlorophenol เช่น เตตระคลอโรฟีนอล (Tetrachlorophenol) และไตรคลอโรฟีนอล (Trichlorophenol) เป็นต้น เมื่อสัมผัสในปริมาณมากทำให้มีไข้ เหงื่อออกมาก และหัวใจเต้นเร็ว

## 4. สารเคมีกำจัดหนูและสัตว์ฟันแทะ (Rodenticide)

สารกำจัดหนูและสัตว์ฟันแทะที่นิยมใช้กัน ส่วนใหญ่เป็นสารกลุ่มที่มีฤทธิ์ต้านการแข็งตัวของเลือด เช่น วอฟฟาริน (Warfarin) เป็นต้น (กองโรคจากการประกอบอาชีพและสิ่งแวดล้อม กรมควบคุมโรค กระทรวงสาธารณสุข)

ในงานวิจัยนี้สนใจที่จะตรวจหาสารเคมีกำจัดแมลงในกลุ่มคาร์บาเมต (Carbamates) ชนิด คาร์บาริล (Carbaryl) คาร์โบฟูราน (Carbofuran) และเมโทมิล (Methomyl) ซึ่งเป็นสารเคมีกำจัดแมลงที่มีการใช้งานมาก หาซื้อได้ง่าย มีการเกิดพิษและอัตราการเสียชีวิตสูง อีกทั้งยังเป็นสารเคมีที่กรมวิชาการเกษตรจัดไว้ในข่ายของวัตถุอันตรายที่ต้องเฝ้าระวัง (สำนักโรคจากการประกอบอาชีพและสิ่งแวดล้อม & กรมควบคุมโรค, 2013) โดยสนใจที่จะตรวจหาสารเคมีกำจัดแมลงทั้ง 3 ชนิดนี้ที่อาจตกค้างในตัวอย่างผักและผลไม้ที่จำหน่ายตลาด Silpakorn Green Market จังหวัดนครปฐม โดยการสกัดตัวอย่างด้วยวิธี Quick, Easy Cheap, Effective, Rugged and Safe (QuEChERS) ซึ่งเป็นเทคนิคที่รวดเร็ว ง่าย ถูก มีประสิทธิภาพสูง และปลอดภัย โดยมีการรายงานการนำเทคนิค QuEChERS มาใช้สกัดสารเคมีกำจัดแมลงหลายชนิด เช่น ออร์กาโนฟอสเฟต (Alcântara et al., 2019) (Mao et al., 2020) คาร์บาเมต (Alcântara et al., 2019) และออร์กาโนคลอรีน (Alcântara et al., 2019) (Sharif et al., 2006) เป็นต้น นอกจากนี้เทคนิค QuEChERS ยังมีจุดเด่นในการกำจัดสารรบกวน (Interferences) ในตัวอย่างด้วยขั้นตอนหลัก ๆ 3 ขั้นตอน ได้แก่ การเตรียมตัวอย่าง (Sample preparation) การแบ่งละลาย (Partition) และการทำตัวอย่างให้บริสุทธิ์ (Clean-up) ส่งผลให้ต้องศึกษาปัจจัยที่เกี่ยวข้องกับการสกัด ได้แก่ ปริมาณของตัวอย่าง ปริมาตรของตัวทำละลาย และชนิดของเกลือ เป็นต้น จากนั้นวิเคราะห์หาปริมาณด้วยเทคนิค High Performance Liquid Chromatography (HPLC) ซึ่งต่อกับตัวตรวจวัดชนิด Diode array detector โดยศึกษาสถานะที่เหมาะสม ได้แก่ อัตราส่วนตัวทำละลายผสม (Acetonitrile:Water) ที่ใช้เป็น Mobile phase และอัตราการไหล (Flow rate) ของ Mobile phase รวมทั้งศึกษาความใช้ได้ของเครื่องมือ (Method validation) สุดท้ายวิเคราะห์หาปริมาณคาร์บาริล คาร์โบฟูราน และเมโทมิลในตัวอย่างผักและผลไม้

## 1.2 วัตถุประสงค์ของการวิจัย

1.2.1 เพื่อศึกษาสถานะที่เหมาะสมสำหรับการวิเคราะห์หาปริมาณคาร์โบฟูราน คาร์บาริล และเมโทมิล โดยใช้เทคนิค HPLC-Diode array detector ได้แก่ อัตราส่วนตัวทำละลายผสม (Acetonitrile:Water) ที่ใช้เป็น Mobile phase และอัตราการไหลของ Mobile phase

1.2.2 เพื่อศึกษาความใช้ได้ของเครื่องมือในการหาปริมาณคาร์โบฟูราน คาร์บาริล และเมโทมิล โดยใช้เทคนิค HPLC-Diode array detector ได้แก่ ช่วงความเป็นเส้นตรง (Linearity) ค่า Limit of detection (LOD) ค่า Limit of quantitation (LOQ) ความเที่ยงตรงของวิธี (Precision) และค่าร้อยละการกลับคืน (%Recovery)

1.2.3 เพื่อศึกษาสถานะการสกัดด้วยวิธี QuEChERS ที่เหมาะสมในการตรวจหาสารเคมีกำจัดแมลงคาร์โบฟูราน คาร์บาริล และเมโทมิลที่ตกค้างในตัวอย่างผักและผลไม้ ได้แก่ ปริมาณของตัวอย่าง ปริมาตรของตัวทำละลาย และชนิดของเกลือ



1.2.4 เพื่อศึกษาหาปริมาณสารเคมีกำจัดแมลงในกลุ่มคาร์บาเมตชนิดคาร์โบฟูราน คาร์บาริล และเมโทมิลที่ตกค้างในผักและผลไม้ โดยการสกัดด้วยวิธี QuEChERS และนำมาวิเคราะห์ด้วยเทคนิค HPLC-Diode array detector

### 1.3 สมมุติฐานของการวิจัย

1.3.1 ได้สภาวะที่เหมาะสมของเทคนิค HPLC-Diode array detector สำหรับการวิเคราะห์หาปริมาณคาร์โบฟูราน คาร์บาริล และเมโทมิล ในตัวอย่างผักและผลไม้

1.3.2 ได้สภาวะการทดลองที่เหมาะสมสำหรับวิธีการสกัด QuEChERS เพื่อวิเคราะห์หาคาร์โบฟูราน คาร์บาริล และเมโทมิล ในตัวอย่างผักและผลไม้

1.3.3 การสกัดด้วยวิธี QuEChERS และเทคนิค HPLC-Diode array detector สามารถวิเคราะห์หาปริมาณคาร์โบฟูราน คาร์บาริล และเมโทมิล ในตัวอย่างผักและผลไม้ได้อย่างถูกต้องและเที่ยงตรง

### 1.4 ขอบเขตการวิจัย

1.4.1 การวิเคราะห์หาปริมาณคาร์โบฟูราน คาร์บาริล และเมโทมิล ด้วยเทคนิค HPLC-Diode array detector โดยมีการศึกษาสภาวะที่เหมาะสม ได้แก่ อัตราส่วนตัวทำละลายผสม (Acetonitrile:Water) ที่ใช้เป็น Mobile phase และอัตราการไหลของ Mobile phase

1.4.2 ความใช้ได้ของเครื่องมือโดยมีการศึกษาช่วงความเป็นเส้นตรง ค่า Limit of detection ค่า Limit of quantitation ความเที่ยงตรงของวิธี และค่าร้อยละการกลับคืน

1.4.3 ศึกษาสภาวะที่เหมาะสมสำหรับการสกัดด้วยวิธี QuEChERS เพื่อวิเคราะห์หาคาร์โบฟูราน คาร์บาริล และเมโทมิล ในตัวอย่างผักและผลไม้ ได้แก่ ปริมาณของตัวอย่าง ปริมาตรของตัวทำละลาย และชนิดของเกลือ

1.4.4 ใช้เทคนิคการสกัดตัวอย่างด้วยวิธี QuEChERS ร่วมกับเทคนิค HPLC-Diode array detector ที่ได้ศึกษาสภาวะที่เหมาะสมและตรวจสอบความใช้ได้ของเครื่องมือในการวิเคราะห์หาปริมาณคาร์โบฟูราน คาร์บาริล และเมโทมิล ในตัวอย่างผักและผลไม้

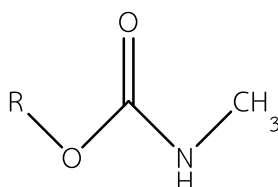
## บทที่ 2

### ทฤษฎีและงานวิจัยที่เกี่ยวข้อง

ประชากรไทยส่วนใหญ่ประกอบอาชีพเกษตรกรรม คิดเป็นร้อยละ 66 ของประชากรทั้งหมด โดยเป็นเกษตรกรประมาณ 17 ล้านคน ในอดีตเกษตรกรทำนาข้าว ปลูกพืชผักเพื่อการบริโภคภายในครัวเรือน ต่อมาการพัฒนาทางเศรษฐกิจและสังคมทำให้มีแนวโน้มการผลิตเพื่อการค้าขายและส่งออกมากขึ้น เกษตรกรมีการใช้สารเคมีเพื่อให้ได้ผลผลิตทางการเกษตรเพิ่มขึ้นและเป็นไปตามความต้องการของตลาด โดยมีการใช้สารเคมีกำจัดแมลงทดแทนสารไล่แมลงจากธรรมชาติ สอดคล้องกับข้อมูลการสำรวจขององค์การอาหารและเกษตรแห่งสหประชาชาติที่พบว่าประเทศไทยมีการใช้สารเคมีป้องกันและกำจัดศัตรูพืชมากเป็นอันดับ 5 ของโลก ((สวรส), 2015)

สารเคมีกำจัดแมลงที่เกษตรกรนิยมใช้ ได้แก่ สารเคมีกลุ่มออร์กาโนฟอสเฟต (Organophosphates) และคาร์บาเมต (Carbamates) โดยเป็นกลุ่มสารที่เกิดพิษและมีอัตราการเสียชีวิตที่สูง เนื่องจากหาซื้อได้ง่าย แต่ปัญหาที่พบคือ เกษตรกรจำนวนมากยังไม่มีความรู้และความเข้าใจในการใช้สารเคมีเหล่านี้ จึงมีการนำมาใช้ที่ไม่ถูกต้อง ขาดการป้องกัน มีการเก็บรักษาที่ไม่มิดชิดและไม่ปลอดภัย สารเคมีกำจัดแมลงทั้งสองกลุ่มที่กล่าวข้างต้นมีคุณสมบัติ สูตรโครงสร้างทางเคมี กลไกการออกฤทธิ์ รวมถึงความเป็นพิษที่คล้ายคลึงกัน โดยมีผลยับยั้งการทำงานของเอนไซม์โคลีนเอสเตอเรส (Cholinesterase) ทำให้ระบบประสาททำงานผิดปกติ มีอาการปวดเมื่อยกล้ามเนื้อ ปวดศีรษะ ตาพร่ามัว อ่อนเพลีย และปวดท้อง หากร่างกายได้รับในปริมาณสูงเกินไป อาจมีผลให้เกิดอาการชักและเสียชีวิต

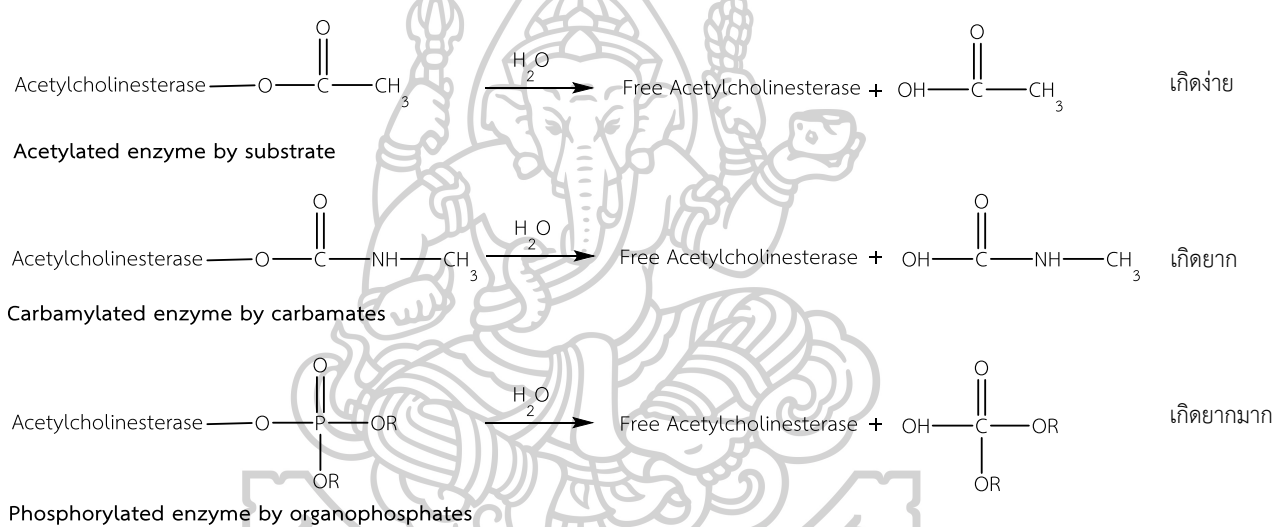
สำหรับสารเคมีกำจัดแมลงกลุ่มคาร์บาเมตนั้น สารเคมีในกลุ่มนี้ตัวแรกที่มีประวัติในการใช้คือ อีเซอรีน (Eserine) หรือ ฟิโซสติกมีน (Physostigmine) ซึ่งเป็นสารพิษที่พบในเมล็ดถั่วคาลาบาร์ (Calabar beans) ซึ่งเป็นพืชในวงศ์เลกูมิโนเซ (Leguminosae) จากแอฟริกาตะวันตก สูตรโครงสร้างทั่วไปของสารเคมีกำจัดแมลงกลุ่มคาร์บาเมต แสดงดังภาพที่ 1



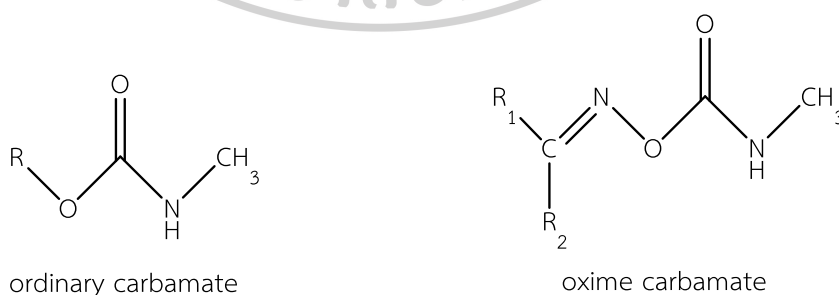
ภาพที่ 1 สูตรโครงสร้างทางเคมีทั่วไปของสารเคมีกำจัดแมลงกลุ่มคาร์บาเมต

คาร์บาเมตแบ่งออกได้เป็น 2 กลุ่ม คือ คาร์บาเมตธรรมดา (Ordinary carbamates) และ ออกซิมคาร์บาเมต (Oxime carbamates) แต่กลไกการออกฤทธิ์คล้ายกัน โดยสารประกอบออกซิมคาร์บาเมตเกิดจากปฏิกิริยาควบแน่น (Condensation) ระหว่างคาร์บาเมตธรรมดากับสารประกอบแอลดีไฮด์หรือคีโตน

คาร์บาเมตออกฤทธิ์โดยการทำให้ปฏิกิริยาที่ตำแหน่งออกฤทธิ์ (Active site) ที่เดียวกับสับสเตรต (Substrate) หรือสารตั้งต้นของเอนไซม์ โดยออกฤทธิ์เช่นเดียวกับสารเคมีกำจัดแมลงกลุ่มออร์กาโนฟอสเฟต แต่มีข้อแตกต่างที่สำคัญคือ เมื่อหมูแทนที่คาร์บาเมตไปจับกับเอนไซม์แล้ว จะเกิดไฮโดรไลซิส (Hydrolysis) หรือแยกสลายออกมาจากเอนไซม์ได้ง่ายกว่าออร์กาโนฟอสเฟต แต่ยากกว่าสับสเตรต (Tom.Ji42.Com, 2018)



ภาพที่ 2 ปฏิกิริยาของเอนไซม์อะซิติลโคลีนเอสเทอเรสกับสารเคมีกำจัดแมลงกลุ่มคาร์บาเมตและกลุ่มออร์กาโนฟอสเฟต



ภาพที่ 3 โครงสร้างของ ordinary carbamate และ oxime carbamate

### กลไกการออกฤทธิ์/การเกิดพิษของสารเคมีกำจัดแมลงกลุ่มคาร์บาเมต

สารเคมีกำจัดแมลงกลุ่มคาร์บาเมตจะยับยั้งการทำงานของอะซิติลโคลีนเอสเทอเรส (Acetylcholinesterase) ทำให้สารสื่อประสาทอะเซทิลโคลีน (Acetylcholine) ถูกทำลายลดลง จึงเกิดอาการพิษเนื่องจากการทำงานของระบบสื่อประสาทโคลิเนอร์จิก (Cholinergic neuro - transmission) ทำงานมากเกินไป

### อาการแสดงและการวินิจฉัยของสารเคมีกำจัดแมลงกลุ่มคาร์บาเมต

สารเคมีกำจัดแมลงกลุ่มคาร์บาเมตส่วนใหญ่มีพิษค่อนข้างรุนแรงสามารถดูดซึมผ่านทางผิวหนังได้ โดยเฉพาะรอยแผลหรือรอยข่วน ดังนั้นควรหลีกเลี่ยงการสัมผัสโดยตรง นอกจากนี้สารเคมีกำจัดแมลงในกลุ่มนี้ยังทำให้เกิดการระคายเคืองตา

คาร์บาเมตไม่ได้เป็นสารก่อมะเร็ง (Carcinogen) ยกเว้น คาร์บาริล (Carbaryl) และคาร์โบฟูราน (Carbofuran) ซึ่งหากได้รับการรับประทานจะเป็นสารก่อมะเร็งได้ นอกจากนี้คาร์โบฟูรานยังอาจทำให้ทารกในครรภ์เกิดความผิดปกติ

โดยทั่วไปอาการแสดงของความเป็นพิษที่เกิดขึ้นเนื่องจากสารเคมีกำจัดแมลงกลุ่มคาร์บาเมต ได้แก่ ปวดศีรษะ วิงเวียน กล้ามเนื้ออ่อนแรง กระจก หรือสั่น หัวใจเต้นช้าลง แน่นหน้าอก เหงื่อออก คลื่นไส้ นอกจากนี้ยังมีผลต่อตา คือ ระคายเคืองต่อตา ทำให้สายตาสั้นคมชัด ตาแดง น้ำตาไหล การควบคุมกล้ามเนื้อตาลำบาก และม่านตาหด

อาการและความรุนแรงของการเกิดพิษจะขึ้นอยู่กับ (1) ความเป็นพิษของชนิดของสารเคมีกำจัดแมลงที่ได้รับ (2) ปริมาณสารเคมีกำจัดแมลงที่ได้รับ (3) วิธีทางที่ได้รับ และ (4) ระยะเวลาที่ได้รับ อาการความรุนแรงของการเกิดพิษสามารถแบ่งออกได้เป็น 3 ระดับ คือ

1. ระดับไม่รุนแรง (สัมผัสเป็นเวลา 4-24 ชั่วโมง) มีอาการเหนื่อย อ่อนแรง วิงเวียน คลื่นไส้ และมองภาพไม่ชัด
2. ระดับรุนแรงปานกลาง (สัมผัสเป็นเวลา 4-24 ชั่วโมง) มีอาการปวดศีรษะ เหงื่อแตก น้ำตาไหล น้ำลายไหล อาเจียน การมองเห็นน้อยลง และกล้ามเนื้อกระตุก
3. ระดับรุนแรงมาก (หลังจากการดูดซึมเป็นเวลา 1 วัน) เป็นตะคริวที่ท้อง ปัสสาวะราด ท้องเสีย กล้ามเนื้อสั่น ม่านตาหด ความดันต่ำ หัวใจเต้นช้า และหายใจขัด ซึ่งหากไม่ได้รับการรักษาโดยทันทีจะเสียชีวิตได้ในที่สุด

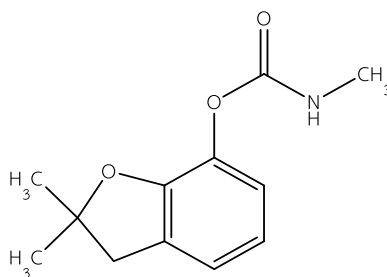
อาการเหล่านี้ มักมีอาการคล้ายกับโรคไข้หวัดใหญ่ เมาค้าง หมดแรง ระดับน้ำตาลในเลือดต่ำ หอบ ทางเดินอาหารอักเสบ ปอดบวม และเลือดคั่งในสมอง ซึ่งอาจเป็นอันตรายได้ถ้าละเลยหรือ

วินิจฉัยผิด ดังนั้นการวินิจฉัยสามารถทำได้โดยวัดระดับของโคลีนเอสเทอเรสเป็นประจำสำหรับผู้ที่มีความเสี่ยงจะได้รับหรือสัมผัสกับคาร์บาเมต (พรีนิลพอส & รัตนาพนนท์)

สารเคมีกำจัดแมลงกลุ่มคาร์บาเมตที่นิยมใช้ในการเกษตร ได้แก่ คาร์โบฟูราน (Carbofuran) เมโทมิล (Methomyl) และคาร์บาริล (Carbaryl) เนื่องจากมีฤทธิ์ในการกำจัดแมลงสูง ราคาไม่แพง และเป็นสารอันตรายทางการเกษตรที่มีผลต่อสุขภาพของผู้ใช้ ผู้บริโภค และสิ่งแวดล้อม ซึ่งกรมวิชาการเกษตรจัดไว้ในรายชื่อของวัตถุอันตรายที่ต้องเฝ้าระวัง

## 2.1 คาร์โบฟูราน (Carbofuran)

คาร์โบฟูราน หรือชื่อเรียกอื่น เช่น ฟูราดาน (Furadan) และคูราแธร์ (Curather) เป็นสารป้องกันและกำจัดแมลงจำพวกแมลงบั่วในนาข้าวหลังการหว่านข้าวหรือหลังการปักดำ รวมทั้งหนอนและด้วงหลายชนิดที่ทำลายพืชไร่ เช่น หนอนกระทู้ หนอนเจาะลำต้นข้าวโพด หนอนเจาะยอดข้าว ฟาง หนอนแมลงวันเจาะต้นกล้วยและกล้วยไม้ กว่างวงมันเทศ ด้วงหลอดยาวมันสำปะหลัง เป็นต้น (ชินะจิตร์, 2006) โดยคาร์โบฟูรานเป็นสารป้องกันและกำจัดแมลงในกลุ่มคาร์บาเมต (Carbamate) ซึ่งสารเคมีกลุ่มนี้จะมีไนโตรเจนเป็นองค์ประกอบ คาร์โบฟูรานมีคุณสมบัติทางเคมีคือสลายตัวได้เร็ว ส่วนใหญ่ละลายน้ำได้ สามารถซึมเข้าทางรากเคลื่อนย้ายไปทั่วลำต้นของพืช และเป็นพิษสูงต่อสัตว์เลือดอุ่น คาร์โบฟูรานไม่มีการผลิตในประเทศไทย จึงต้องนำเข้าจากต่างประเทศ เช่น สหรัฐอเมริกาและจีน นิยมใช้ในการเกษตรเนื่องจากมีฤทธิ์ในการกำจัดแมลงสูงและราคาไม่แพง อย่างไรก็ตามคาร์โบฟูรานสามารถสะสมในสิ่งแวดล้อมได้นานและมีค่าความเป็นพิษสูง ซึ่งคาร์โบฟูรานเป็นวัตถุอันตรายทางการเกษตรที่กรมวิชาการเกษตรเฝ้าระวัง (BioThai, 2015) และประกาศกระทรวงอุตสาหกรรมเรื่องบัญชีรายชื่อวัตถุอันตราย พ.ศ. 2556 ออกตามความในพระราชบัญญัติวัตถุอันตราย พ.ศ. 2535 กำหนดให้คาร์โบฟูรานเป็นวัตถุอันตรายชนิดที่ 3 หมายความว่า การผลิต การนำเข้า การส่งออก หรือมีไว้ในครอบครองต้องมีใบอนุญาต โดยกรมวิชาการเกษตรเป็นหน่วยงานรับผิดชอบ คาร์โบฟูรานสามารถดูดซึมได้ทั้งทางผิวหนังและระบบทางเดินอาหาร โดยความเป็นพิษเฉียบพลันคือ การยับยั้งอะซิติลโคลีนเอสเทอเรส (Acetylcholinesterase; AChE) ซึ่งมีหน้าที่ทำลายสารส่งผ่านประสาท (Neurotransmitter) Acetylcholine (ACh) ที่บริเวณต่าง ๆ ในระบบประสาท 4 แห่ง ผู้ที่ได้รับคาร์โบฟูรานมากอาจเสียชีวิตได้เนื่องจากการหายใจล้มเหลว กล้ามเนื้อของระบบหายใจเป็นอัมพาต และศูนย์ควบคุมการหายใจในสมองหยุดทำงาน (กรมควบคุมมลพิษ, 2006) คาร์โบฟูรานมีค่า LD<sub>50</sub> สำหรับหนู ประมาณ 8-14 mg/kg สำหรับสุนัข ประมาณ 19 mg/kg



ภาพที่ 4 สูตรโครงสร้างของคาร์โบฟูราน

คาร์โบฟูราน มีสูตรโมเลกุลคือ  $C_{12}H_{15}NO_3$  มวลโมเลกุล 221.26 g/mol เป็นผลึกสีขาวหรือสีเทา มีกลิ่นเฉพาะตัว ละลายน้ำได้เล็กน้อย คุณสมบัติทางเคมี และกายภาพของคาร์โบฟูราน แสดงดังตารางที่ 1

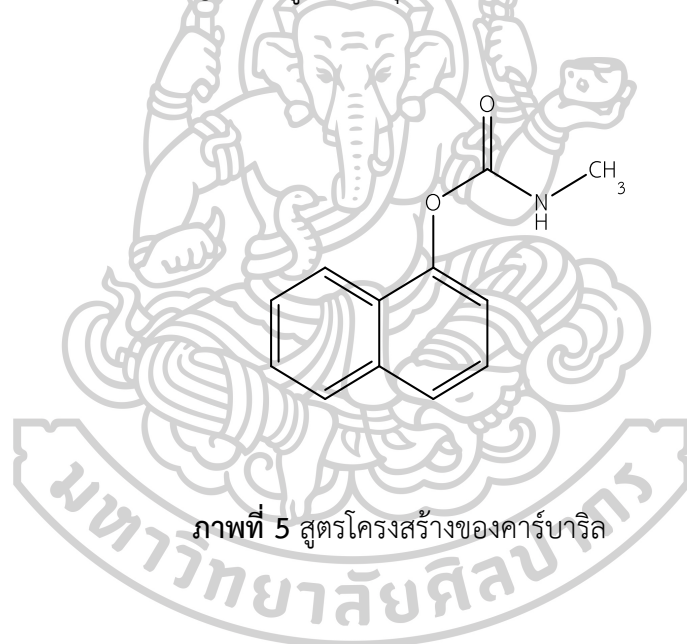
ตารางที่ 1 คุณสมบัติทางเคมีและทางกายภาพของคาร์โบฟูราน

คุณสมบัติของสาร	ค่าที่แสดง
จุดหลอมเหลว ( $^{\circ}C$ )	151
ความถ่วงจำเพาะ (ที่ $25^{\circ}C$ )	1.18
ความดันไอ (mmHg, ที่ $25^{\circ}C$ )	$8.7 \times 10^{-4}$
การละลาย (g/L, ที่ $25^{\circ}C$ )	
น้ำ	0.32
อะซิโตน (Acetone)	150
ไซรีน (Xylene)	10
เบนซีน (Benzene)	40
Henry's law constant (บรรยากาศ $\times m^3/mol$ )	$1.02 \times 10^{-10}$
n-octanol-water partition coefficient ( $K_{ow}$ )	26

## 2.2 คาร์บาริล (Carbaryl)

คาร์บาริลถูกนำมาใช้กำจัดแมลงกันอย่างแพร่หลายมากกว่า 30 ปี โดยมีลักษณะสัมผัสตาย และดูดซึมได้ดี สามารถกำจัดแมลงได้มากกว่าร้อยละ 90 ในฝ้าย ข้าวโพด และถั่วเหลือง เป็นต้น คาร์บาริลมีความเป็นพิษต่อการสัมผัสและระบบทางเดินหายใจ สามารถยับยั้งการทำงานของเอนไซม์ยับยั้งอะซิติลโคลีนเอสเตอเรส ซึ่งเป็นเอนไซม์ที่สำคัญชนิดหนึ่งในระบบประสาทของมนุษย์ สัตว์มีกระดูกสันหลัง แมลง และสิ่งมีชีวิตทั่วไป ทำให้เกิดอาการทางประสาท หลอดลมตีบ กล้ามเนื้อกระตุก

ผิวหนังซีด ชัก หมดสติ หรือเกิดการล้มเหลวของระบบทางเดินหายใจ การใช้สารกำจัดศัตรูพืชในปริมาณมาก ๆ ก่อให้เกิดปัญหาการตกค้าง และการแพร่กระจายในบริเวณกว้าง ส่วนหนึ่งมีการตกค้างในดินและลำต้นพืชหลังการฉีดพ่น บางส่วนฟุ้งกระจายไปในบรรยากาศ บางส่วนซึมลงไปในดินโดยมีความคงตัวอยู่ในดินได้มากถึง 0.5 ppm เป็นเวลานานกว่า 1 เดือน แต่ส่วนใหญ่จะถูกฝนชะและพัดพาไปกับน้ำไหลบ่าหน้าดิน ไหลลงสู่แหล่งน้ำและมีพิษเฉียบพลันกับสัตว์น้ำด้วยการยับยั้งการทำงานของเอนไซม์โคลีนเอสเตอเรสของสัตว์น้ำ โดยค่าครึ่งชีวิต (Half-life) คาร์บาริลในน้ำ คือ 21 วัน ค่า LD<sub>50</sub> (50 % lethal dose) จากการกินและการสัมผัสของหนู คือ 250-850 mg/kg ส่วนในมนุษย์ (ผู้ใหญ่) หากได้รับคาร์บาริลจากการกิน 250 mg ภายใน 20 นาที จะมีอาการปวดท้องเฉียบพลัน มีการขับเหงื่อมาก อาเจียน ปริมาณที่ยอมรับได้โดยไม่เป็นอันตรายกับมนุษย์ (Threshold limit value) จากการหายใจ คือ 5 mg/m<sup>3</sup> มีสูตรโมเลกุลคือ C<sub>12</sub>H<sub>11</sub>NO<sub>2</sub> มวลโมเลกุล 201.225 g/mol

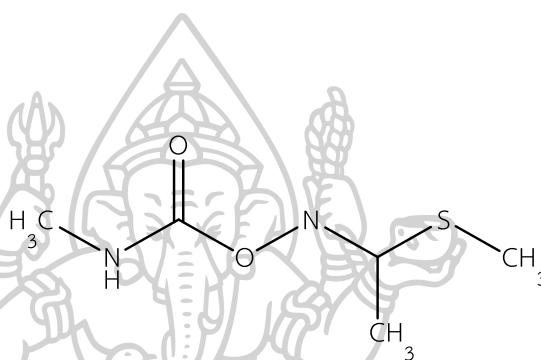


ตารางที่ 2 คุณสมบัติทางเคมีและทางกายภาพของคาร์บาริล

คุณสมบัติของสาร	ค่าที่แสดง
จุดหลอมเหลว (°C)	142
ความถ่วงจำเพาะ (ที่ 25 °C)	1.232
ความดันไอ (mmHg, ที่ 25 °C)	0.01
การละลายในน้ำ (g/100 mL ที่ 30°C)	0.04-0.012

### 2.3 เมโทมิล (Methomyl)

เมโทมิล เป็นสารกำจัดแมลงชนิดคาร์บาเมต (Carbamate) ที่มีไนโตรเจนเป็นองค์ประกอบที่สำคัญ ออกฤทธิ์กำจัดแมลงโดยยับยั้งการทำงานของเอนไซม์โคลีนเอสเตอเรส เมโทมิลเป็นสารกำจัดแมลงที่เกษตรกรนิยมใช้กันอย่างแพร่หลาย เพื่อใช้กำจัดศัตรูพืช หนอนผีเสื้อ เพลี้ยอ่อน เพลี้ยไฟ มวน และหนอนเจาะสมอฝ้าย โดยใช้ในการปลูกผักและผลไม้ เช่น ข้าวโพด ข้าวฟ่าง ถั่วลิสง ถั่วฝักยาว กระหล่ำปลี แตงกวา มะเขือเทศ หอมแดง พริก เมล็ดฝ้าย แตงโม มะม่วง ส้ม องุ่น และแอปเปิล นอกจากนี้ยังใช้เป็นสารกำจัดเห็บ และหมัดอีกด้วย เมโทมิลมีค่าความเป็นพิษ LD<sub>50</sub> อยู่ที่ 17-24 (mg/kg) (ธีรานุสนธิ, 2013)



ภาพที่ 6 สูตรโครงสร้างของเมโทมิล

เมโทมิล มีสูตรโมเลกุลคือ C<sub>5</sub>H<sub>10</sub>N<sub>2</sub>O<sub>2</sub>S มวลโมเลกุล 162.21 g/mol เป็นผลึกสีขาว มีกลิ่นคล้ายกำมะถัน ละลายน้ำได้ คุณสมบัติทางเคมี และกายภาพของเมโทมิล แสดงดังตารางที่ 3





ตารางที่ 3 คุณสมบัติทางเคมีและทางกายภาพของเมโทมิล

คุณสมบัติของสาร	ค่าที่แสดง
จุดหลอมเหลว (°C)	78-79
ความถ่วงจำเพาะ (ที่ 25 °C)	1.2946
ความดันไอ	
(mmHg, ที่ 25 °C)	$5.0 \times 10^{-5}$
(mmHg, ที่ 40 °C)	$1.6 \times 10^{-4}$
การละลาย (g/L, ที่ 25 °C)	
น้ำ	58
อะซิโตน (Acetone)	720
เอทานอล (Ethanol)	420
เมทานอล (Methanol)	1,000
โทลูอีน (Toluene)	30
ไอโซโพรพานอล (Isopropanol)	220

ในการตรวจสอบสารพิษตกค้างทางการเกษตรมีค่ามาตรฐานค่าหนึ่งที่ถูกใช้เป็นเกณฑ์ คือ ค่าปริมาณสารพิษตกค้างสูงสุด (Maximum Residue Limits; MRLs) ซึ่งค่า MRLs ที่ใช้ในแต่ละประเทศจะมีความแตกต่างกันขึ้นกับการกำหนดค่าของตนเองจากการเทียบกับค่ามาตรฐานของคณะกรรมการมาตรฐานอาหารระหว่างประเทศ (Codex Alimentarius Commission; CAC) ซึ่งค่า MRLs สำหรับสินค้าทางการเกษตรของประเทศไทยซึ่งกระทรวงสาธารณสุขกำหนดไว้ (พ.ศ. 2560) แสดงดังตาราง

ตารางที่ 4 ค่า MRLs ของคาร์โบฟูรานสำหรับสินค้าทางการเกษตรในประเทศไทย

สารเคมีกำจัดแมลง	ชนิดของอาหาร	ปริมาณสารพิษ ตกค้างสูงสุด (MRL) (mg/kg)
คาร์โบฟูราน (Carbofuran)	กระเจี๊ยบเขียว	0.15
	ยอดกระถิน	0.2
	ข้าวโพดฝักสด	0.01
	ข้าวโพดฝักอ่อน	0.01
	เงาะ	0.05
	ถั่วเขียว	0.2
	ถั่วฝักยาว	0.1
	ถั่วลันเตาฝักสด	0.15
	ถั่วเหลืองฝักสด	0.02
	ทุเรียน	0.02
	ฝักตระกูลกะหล่ำ	0.03
	ผลไม้ตระกูลส้ม	0.02
	พริก	0.5
	พริกแห้ง	2
	มะเขือและสินค้าเกษตร ที่คล้ายมะเขือ	0.1
	มะเขือเทศ	0.1
	มะพร้าว	0.02
	หน่อไม้ฝรั่ง	0.06
	องุ่น	0.02

ตารางที่ 5 ค่า MRLs ของคาร์บาริลสำหรับสินค้าทางการเกษตรในประเทศไทย

สารเคมีกำจัดแมลง	ชนิดของอาหาร	ปริมาณสารพิษ ตกค้างสูงสุด (MRL) (mg/kg)
คาร์บาริล (Carbaryl)	ยอดกระถิน	0.02
	ข้าวโพดฝักสด	0.1
	ข้าวโพดฝักอ่อน	0.1
	เงาะ	1
	แตงโม	1
	ทุเรียน	30
	ฝักตระกูลกะหล่ำ	1
	ฝักบรีโกลผลตระกูลแตง	2
	ยกเว้นแตงโม	
	พริก	0.5
	พริกแห้ง	2
	พริกหวาน	5
	มะพร้าว	1
	มะม่วง	3
	มังคุด	1
	ลำไย	20
	ลิ้นจี่	1
	ผลไม้ตระกูลส้ม	7
	องุ่น	0.5
	อ้อย	0.05

ตารางที่ 6 ค่า MRLs ของเมโทมิลสำหรับสินค้าทางการเกษตรในประเทศไทย

สารเคมีกำจัดแมลง	ชนิดของอาหาร	ปริมาณสารพิษ ตกค้างสูงสุด (MRL) (mg/kg)
เมโทมิล (Methomyl)	กระเจี๊ยบเขียว	0.5
	ข้าวโพดฝักสด	0.1
	ข้าวโพดฝักอ่อน	0.1
	ข้าวโพดเมล็ดแห้ง	0.02
	ข้าวฟ่าง	0.02
	ผักบร็อกโคลี่	0.1
	ถั่วเขียว	0.1
	ถั่วฝักยาว	0.05
	ถั่วเหลืองเมล็ดแห้ง	1
	ถั่วเหลืองฝักสด	0.2
	น้ำมันถั่วเหลือง	0.5
	น้ำมันเมล็ดฝ้าย	0.2
	ผลไม้ตระกูลส้ม	0.04
	พริกหรือสาหร่าย	1
	พริก	0.3
	พริกแห้ง	1
	มะเขือเทศ	10
	มะเขือและสินค้าเกษตรที่คล้าย	1
	มะเขือ ยกเว้นมะเขือเทศ	0.2
	มันฝรั่ง	0.02
	เมล็ดงา	0.2
	เมล็ดฝ้าย	0.1
	เมล็ดถั่วลิสง	0.1

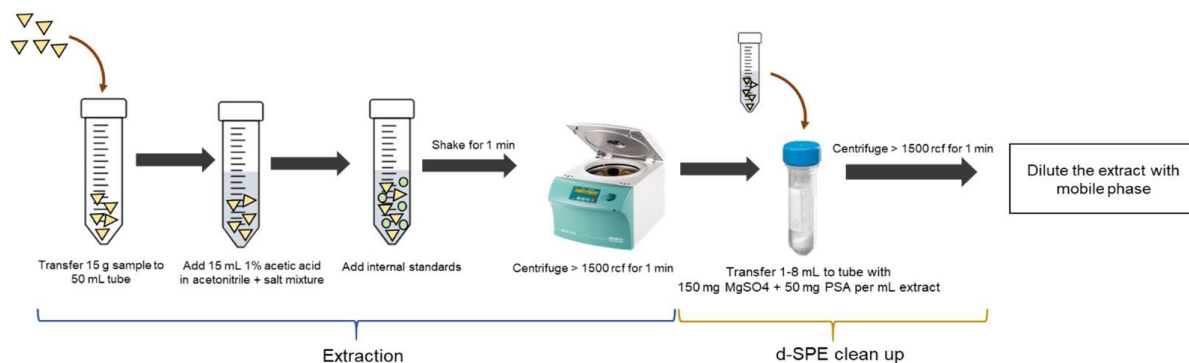
เครือข่ายเตือนภัยสารเคมีกำจัดศัตรูพืชได้รายงานผลการตรวจสอบผักและผลไม้ประจำปี 2563 โดยสุ่มตรวจผักผลไม้ทั้งหมด 509 ตัวอย่างจากทั่วประเทศ ซึ่งประกอบไปด้วยผลไม้จำนวน 9 ชนิด ได้แก่ ส้มโอ ส้มแมนดารินนำเข้า ลองกอง น้อยหน่า แก้วมังกร ฝรั่ง ส้มสายน้ำผึ้ง พุทราจีน และ องุ่นแดงนอก ผักจำนวน 18 ชนิด ได้แก่ ข้าวโพดหวาน มันฝรั่ง หน่อไม้ฝรั่ง กระเจี๊ยบเขียว แครอท ถั่วฝักยาว บร็อกโคลี หัวไชเท้า ผักบุ้ง มะระ กะเพรา กวางตุ้ง ผักชี มะเขือเทศผลเล็ก คื่นช่าย พริกแดง และพริกชี้หนู รวมทั้งของแห้ง 2 ชนิด ได้แก่ พริกแห้งและเห็ดหอม โดยส่งตัวอย่างทั้งหมด ไปตรวจที่ห้องปฏิบัติการในประเทศอังกฤษ ซึ่งสามารถวิเคราะห์ได้ทั้งสารเคมีกำจัดแมลงและเชื้อรา (ไม่รวมสารเคมีกำจัดวัชพืช) กว่า 500 ชนิด การตรวจวิเคราะห์พบว่า มีผักและผลไม้มากถึง 58.7 % ที่พบสารเคมีกำจัดศัตรูพืชตกค้างเกินมาตรฐานของกระทรวงสาธารณสุข โดยผักที่พบการตกค้างของ สารเคมีกำจัดศัตรูพืชเกินมาตรฐานมากที่สุดคือ มะเขือเทศผลเล็ก พริกชี้หนู พริกแดง ขึ้นฉ่าย และ คื่นช่าย พบสารเคมีกำจัดศัตรูพืชตกค้างเกินมาตรฐานทั้งหมดในทุกตัวอย่าง (100%) จากที่เก็บมาชนิด ละ 16 ตัวอย่าง ผักผลไม้ที่พบการตกค้างของสารเคมีกำจัดศัตรูพืชรองลงมา ได้แก่ กะเพรา (81%) มะระ (62%) ผักบุ้ง (62%) หัวไชเท้า (56%) บร็อกโคลี (50%) ถั่วฝักยาว (44%) แครอท (19%) กระเจี๊ยบเขียว (6%) และหน่อไม้ฝรั่ง (6%) โดยมันฝรั่งพบการตกค้างในระดับไม่เกินมาตรฐาน และ ข้าวโพดหวานไม่พบการตกค้างเลย ในส่วนของผลไม้ที่พบสารเคมีกำจัดศัตรูพืชตกค้างมากที่สุด ตามลำดับ ได้แก่ องุ่นแดงนอก (100%) พุทราจีน (100%) ส้มสายน้ำผึ้ง (81%) ฝรั่ง (60%) แก้ว มังกร (56%) และน้อยหน่า (43%) ผลไม้ที่พบการตกค้างของสารเคมีกำจัดศัตรูพืชน้อย ได้แก่ ลองกอง (14%) และส้มแมนดารินนำเข้า (13%) โดยส้มโอไม่พบการตกค้างของสารเคมีกำจัดศัตรูพืช เกินมาตรฐาน สำหรับของแห้ง ได้แก่ เห็ดหอมแห้งและพริกแห้ง พบการตกค้างของสารเคมีกำจัด ศัตรูพืชในระดับไม่ปลอดภัยมากถึง 94% และ 88% ตามลำดับ สำหรับแหล่งจำหน่ายเมื่อเปรียบเทียบ ระหว่างห้างสรรพสินค้ากับตลาดสดทั่วไปนั้น พบว่า ผักและผลไม้จากตลาดทั่วไป พบสารสารเคมี กำจัดศัตรูพืชตกค้าง 60.1% ส่วนห้างสรรพสินค้าพบการตกค้างของสารเคมีกำจัดศัตรูพืชน้อยกว่า เล็กน้อยที่ระดับ 56.7% ทั้งนี้โดยส่วนใหญ่ห้างสรรพสินค้าจะจำหน่ายผักผลไม้ราคาแพงกว่าตลาดสด ทั่วไป โดยในส่วนของตลาดสดทั่วไปนั้นมีการสุ่มตรวจผักจากตลาดทั่วประเทศใน 10 จังหวัด พบว่า ตลาดจังหวัดนนทบุรีมีการพบตัวอย่างการตกค้างของสารเคมีกำจัดศัตรูพืชเกินมาตรฐาน 72.4% และ ตลาดสดเชียงใหม่ตกค้างน้อยที่สุด 48.3% สำหรับห้างค้าปลีกและสมัยใหม่นั้น พบว่าห้างค้าปลีกที่ พบการตกค้างของสารเคมีกำจัดศัตรูพืชเกินมาตรฐานมากที่สุด เรียงลำดับ ได้แก่ แม็คโคร (69%) วิล ล่ามาร์เก็ต (65.4%) เทสโก้ (56%) บิ๊กซี (51.7%) กูร์เมต์มาร์เก็ต (51.7%) และท็อปส์ (41.4%) (นนทบุรี, 2020)

## 2.4 การสกัดด้วยเทคนิค Quick, Easy, Cheap, Effective, Rugged and Safe method (QuEChERS)

วิธีการของ QuEChERS ได้รับการพัฒนาโดย Michelangelo Anastassiades ในปี ค.ศ. 2001 และ 2002 ในกลุ่มวิจัยของ Steven Lehotay เริ่มแรกวิธีนี้ได้รับการพัฒนาขึ้นสำหรับการวิเคราะห์ยารักษาสัตว์และยาถ่ายพยาธิ (Anthelmintic) และไทรีโอสเตต (Thyreostats) ในเนื้อเยื่อของสัตว์ หลังจากนั้นได้พบถึงความสามารถในการสกัดสารที่มีขี้ได้ดี และประสบความสำเร็จในการวิเคราะห์สารกำจัดศัตรูพืชที่ตกค้างในพืช (Analysis, 2016)

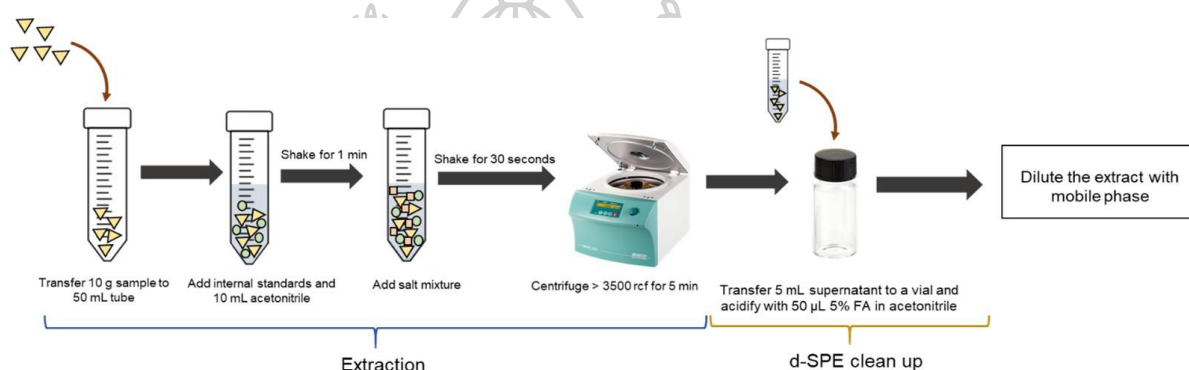
วิธี QuEChERS เป็นวิธีที่ทางห้องปฏิบัติการสำหรับการวิเคราะห์ยาฆ่าแมลงที่ทั่วโลกให้ความสนใจ และได้รับการยอมรับอย่างเป็นทางการจาก Association of Official Analytical Chemists (AOAC) และ Committee of European Normalization (CEN) โดยวิธีนี้นั้นจะใช้สารละลายอินทรีย์กับบัฟเฟอร์ปริมาณน้อยสำหรับการวิเคราะห์ในเฟสอินทรีย์ และใช้ dispersive solid-phase extraction (d-SPE) ในกระบวนการทำให้บริสุทธิ์ (Clean up) จากนั้นนำไปวิเคราะห์หาปริมาณต่อไปด้วยเครื่องแก๊สโครมาโทกราฟี (GC) หรือเครื่องโครมาโทกราฟีของเหลวสมรรถนะสูง (HPLC) โดยวิธีนี้สามารถเตรียมตัวอย่างยาฆ่าแมลงได้ง่าย รวดเร็ว มีค่าใช้จ่ายน้อย และมีประสิทธิภาพ อีกทั้งยังให้ค่าการกลับคืน (Recovery) ที่ดี (พัฒนาโพธิ์, 2012) การสกัดโดยใช้ QuEChERS ประกอบด้วย 2 ขั้นตอน ได้แก่ ขั้นตอน Extraction โดยใช้เกลือสำหรับการสกัดและตัวทำละลายผสมเข้ากับตัวอย่างให้เกิดการแยกชั้น และขั้นตอน Clean up เป็นการทำความสะอาดตัวอย่าง โดยใช้ตัวดูดซับที่จำเพาะผสมเข้ากับตัวอย่างเพื่อกำจัดน้ำและสิ่งรบกวน

ประสิทธิภาพของวิธีการสกัด QuEChERS ได้รับการปรับเปลี่ยนเพิ่มเติมให้เหมาะสม โดยเติมบัฟเฟอร์ในระหว่างการสกัดตัวอย่าง เพื่อปรับปรุงความเสถียรของการวิเคราะห์และคุณภาพการสกัด ปัจจุบันโดยทั่วไปไม่มีวิธีที่ใช้บัฟเฟอร์ในการสกัดร่วมด้วย 2 วิธี ได้แก่ European Committee for Standardization (CEN) Method 15662 ใช้ซีเตรตบัฟเฟอร์ในการสกัด และ Association of Official Analytical Chemists (AOAC) Official method 2007.01 ซึ่งจะใช้กรดอะซิติกเป็นบัฟเฟอร์สำหรับ AOAC method 2007.01 แสดงขั้นตอนดังภาพที่ 7 และภาพที่ 8 โดยในขั้นตอนการสกัด 1% กรดอะซิติกในอะซิโตไนโตรและอะซิโตไนโตรจะใช้เป็นตัวทำละลาย ส่วนแมกนีเซียมซัลเฟตและโซเดียมอะซิเตตเป็นบัฟเฟอร์เกลือที่ใช้สกัดเพื่อทำให้เกิดการแยกชั้นระหว่างสารละลายและตัวอย่าง ในขั้นตอนการทำให้บริสุทธิ์ (Clean up) จะใช้แมกนีเซียมซัลเฟตและ Primary secondary amine กำจัดองค์ประกอบต่าง ๆ ที่อยู่ในตัวอย่าง เช่น กรดไขมัน น้ำตาลและแคโรทีนอยด์หรือคลอโรฟิลล์



ภาพที่ 7 ขั้นตอนการสกัด QuEChERS ด้วย AOAC method 2007.01

ที่มา : <https://www.waters.com/webassets/cms/library/docs/720003643en.pdf>



ภาพที่ 8 ขั้นตอนการสกัด QuEChERS ด้วย CEN method 15662

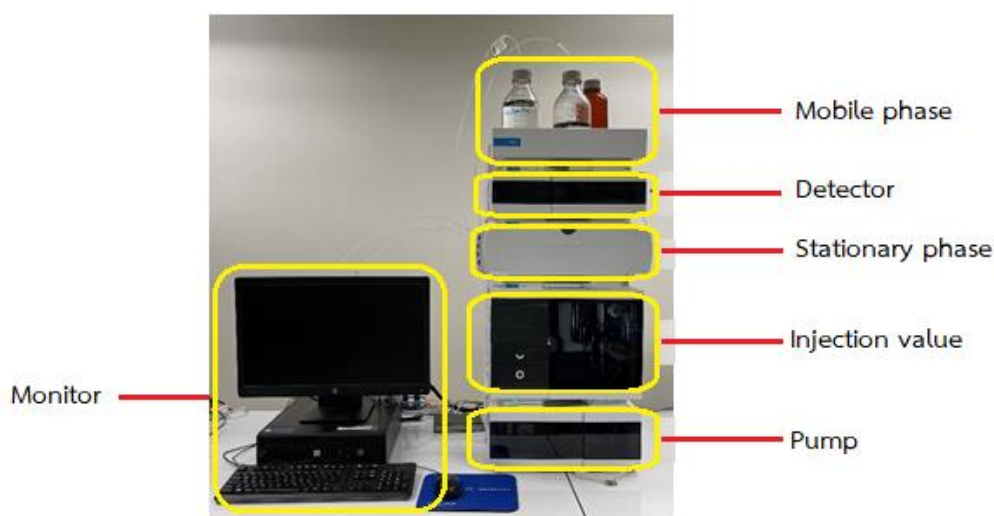
ที่มา : <https://www.waters.com/webassets/cms/library/docs/720003643en.pdf>

## 2.5 เทคนิค High Performance Liquid Chromatography (HPLC)

เทคนิค High Performance Liquid Chromatography (HPLC) เป็นเทคนิคที่ใช้ในการแยกสารออกจากกัน โดยอาศัยหลักการทางโครมาโทกราฟี (Chromatography) จากความแตกต่างในด้านสมบัติความมีขั้วที่ต่างกันของสารที่ต้องการแยก ซึ่งถือว่าเป็นเทคนิคการวิเคราะห์ทั้งในเชิงคุณภาพวิเคราะห์ (Qualitative) และปริมาณวิเคราะห์ (Quantitative) ที่นิยมใช้อีกวิธีหนึ่ง โดยสามารถใช้กับงานด้านต่าง ๆ ได้อย่างกว้างขวาง เช่น การวิเคราะห์อาหาร ยา สมุนไพร สารเคมีกำจัดแมลง ตัวอย่างสิ่งแฉดล่อม เลือด ปัสสาวะ เป็นต้น โดยสามารถตรวจวิเคราะห์ได้ในระดับไมโครกรัม ( $\mu\text{g}$ ) หรือระดับพิโคกรัม (pg) ได้ อีกทั้งยังสามารถนำเทคนิค HPLC มาใช้ในการแยกสารบริสุทธิ์ได้อีกด้วย

### 2.5.1 หลักการของ HPLC

เทคนิค HPLC เป็นการแยกของผสมโดยใช้เครื่องสูบแรงดันสูง (High pressure pump) ทำการสูบของเหลวหรือตัวทำละลายซึ่งทำหน้าที่เป็นเฟสเคลื่อนที่ (Mobile phase) ซึ่งจะพาสารตัวอย่างที่ถูกฉีดเข้ามาทางช่องฉีดสาร (Injector) เคลื่อนที่ผ่านเฟสอยู่นิ่ง (Stationary phase) ซึ่งบรรจุอยู่ในคอลัมน์ (Column) จากนั้นสารผสมจะเคลื่อนที่ผ่านคอลัมน์แล้วถูกแยกออกมาในเวลาที่แตกต่างกัน ซึ่งสารผสมที่อยู่ในตัวอย่างจะถูกแยกออกจากกันได้นั้น ขึ้นอยู่กับความสามารถในการเข้ากันได้ดีของสารนั้นกับ Mobile phase หรือ Stationary phase โดยสารประกอบตัวใดที่มีความมีขั้วเหมือนหรือละลายได้ดีกับ Mobile phase สารนั้นจะถูกแยกออกมาก่อน ส่วนที่มีความมีขั้วต่างกับ Mobile phase หรือสารที่มีความมีขั้วเหมือนกับ Stationary phase ก็จะถูกแยกออกมาภายหลัง จากนั้นผ่านเข้าสู่ส่วนตรวจวัด (Detector) ซึ่งสัญญาณที่ตรวจวัดได้จะอยู่ในรูปสัญญาณไฟฟ้าตามเวลาและปริมาณของสารแต่ละตัวที่ตรวจวัดได้ จากนั้นสัญญาณจะถูกส่งไปยังเครื่องบันทึกสัญญาณและแสดงผลออกมาเป็น Chromatogram ซึ่งประกอบไปด้วย peak ของสารที่เป็นองค์ประกอบของสารผสม



ภาพที่ 9 องค์ประกอบของเครื่องโครมาโทกราฟีของเหลวสมรรถนะสูง

### 2.5.2 องค์ประกอบของเครื่อง HPLC

2.5.2.1 ภาชนะบรรจุเฟสเคลื่อนที่ (Mobile phase Reservoir) : ภาชนะสำหรับบรรจุ Mobile phase ส่วนใหญ่จะทำมาจากแก้ว และสามารถบรรจุตัวทำละลายได้อย่างน้อย 500–1,000 mL โดย Mobile phase จะต้องทำการกรองด้วย Membrane ก่อนผ่านเข้าสู่ปั๊ม เพื่อกำจัดสิ่งปนเปื้อนต่าง ๆ (อาริจิตรานุสรณ์, 2001)



2.5.2.2 ส่วนกำจัดแก๊ส (Degasser) : ทำหน้าที่กำจัดอากาศที่มีอยู่ใน Mobile phase เพื่อไม่ให้มีฟองอากาศเข้าสู่ Column และ Detector ซึ่งถ้ามีฟองอากาศจะทำให้การแยกไม่ดี

2.5.2.3 เครื่องสูบ (Pump) : มีหน้าที่สูบล้างเคลื่อนที่ให้ไหลเข้าไปในคอลัมน์ด้วย อัตราเร็วที่คงที่ ป้อนที่นิยมใช้ใน HPLC มีอยู่ 3 ชนิด ได้แก่ ชนิดไซริงก์ (Syringe type) ชนิดแทนที่ของเหลว (Reciprocating piston type) และชนิดความดันคงที่ (Constant pressure pump) โดยคุณสมบัติของปั๊มที่ใช้ในระบบ HPLC ควรจะมีคุณสมบัติดังนี้ (อารีจิตราอนุสรณ์, 2001)

1. ให้ความดันได้สูงถึง 6,000 psi (400 bar)
2. ให้อัตราการไหล (Flow rate) อยู่ระหว่าง 0.100-10.000 mL/min
3. มีความทนทานต่อการกัดกร่อน
4. มีส่วนในการควบคุมอัตราการไหลและมีการไหลที่คงที่ตามกำหนด (คลาดเคลื่อน < 0.5%)
5. ต้องไม่มีพัลส์ (Pulse) หรือมีตัวที่ช่วยลดพัลส์ (Pulse damper) ซึ่งจะไม่ทำให้เกิด Detector noise

2.5.2.4 ตัวฉีด (injector) : เป็นอุปกรณ์ที่ใช้ควบคุมปริมาตรของสารละลาย ตัวอย่างหรือสารละลายมาตรฐานที่ไหลเข้าสู่คอลัมน์ ซึ่งส่วนใหญ่จะอยู่ในช่วง 0.5-10 ไมโครลิตร โดยแบ่งออกเป็น 2 ชนิดได้แก่

- ชนิดไซริงก์ (Syringe) เป็นชนิดที่ใช้ไซริงค์ขนาดเล็กดูดสารละลาย ตัวอย่างหรือสารละลายมาตรฐานตามปริมาตรที่ต้องการฉีดผ่านเยื่อกั้น (Septum) ซึ่งมักเป็นยางซิลิโคนด้านบนคอลัมน์ ซึ่งตัวฉีดชนิดนี้อาจมีรอยรั่วบริเวณรูฉีด เนื่องจากคอลัมน์มีความดันสูง

- ชนิดโรตารี (Rotary type) เป็นชนิดที่ใช้ลิ้นควบคุมการฉีดสารตัวอย่าง เข้าคอลัมน์ โดยในขั้นตอนแรกจะใช้ไซริงค์ฉีดสารตัวอย่างเข้าไปในทอพักสาร ตัวอย่าง (Sample loop) ซึ่งมีปริมาตรคงที่ (Fixed loop injector) หลังจากนั้น จึงหมุนลิ้นให้สารละลายซึ่งเป็นเฟสอยู่นิ่งชะของเหลวทั้งหมดลงสู่คอลัมน์ นอกจากนั้นยังสามารถดูดสารตัวอย่างเข้าไปในปริมาตรที่ต้องการฉีดเขา Sample loop ซึ่งมีสารละลายอยู่ก่อนแล้วบางส่วน เมื่อหมุนลิ้นไปที่ตำแหน่งฉีด สารละลายจะพาสารตัวอย่างทั้งหมดเขาไปในคอลัมน์ (Syringe loop injector)

2.5.2.5 คอลัมน์ (Column หรือ Stationary phase) เป็นส่วนของการแยกของผสมออกจากกัน โดยอาจทำจากแก้ว พลาสติก หรือเหล็กกล้าไร้สนิม มีความยาวในการใช้งาน ตั้งแต่ 10-150 เซนติเมตร มีเส้นผ่านศูนย์กลางตั้งแต่ < 1 มิลลิเมตร จนถึงหลายมิลลิเมตร ในกรณีที่มีความยาวมากเกินไป อาจทำการขดคอลัมน์เป็นวงได้ แต่มักทำให้ประสิทธิภาพในการแยกสารลดลง คอลัมน์ควรสามารถทนแรงดันได้สูงถึง 6,000 ปอนด์ต่อตารางนิ้ว ขึ้นอยู่กับชนิดของวัสดุที่ใช้ทำคอลัมน์และขนาดเส้นผ่านศูนย์กลางของคอลัมน์

2.5.2.6 การ์ดคอลัมน์ (Guard column) : การ์ดคอลัมน์มีลักษณะเป็นคอลัมน์สั้น ๆ ต่ออยู่ด้านหน้าของคอลัมน์ที่ใช้แยกสาร เพื่อเป็นตัวป้องกันคอลัมน์ที่ใช้แยกสารไม่ให้ถูกกระทบกระแทกจากเฟสเคลื่อนที่ และสารละลายตัวอย่างมากเกินไป รวมถึงใช้เป็นตัวดักจับสิ่งสกปรกต่าง ๆ ซึ่งอาจทำให้อุณหภูมิในคอลัมน์ที่ใช้แยกสารเสื่อมสมรรถนะได้

2.5.2.7 ส่วนตรวจวัด (Detector) : Detector ที่ใช้กับเครื่อง HPLC จะแบ่งออกเป็น 2 ประเภท คือ

1. Bulk property เป็นการวัดการเปลี่ยนแปลงสมบัติทางกายภาพของสารที่เคลื่อนที่ผ่าน detector เช่น ตัวตรวจวัดค่าดัชนีหักเหของสารละลาย (Refractive index)
2. Solute property หรือ Selective detector เป็นการวัดการเปลี่ยนแปลงที่เกิดจากสมบัติของสารที่ต้องการวิเคราะห์เพียงอย่างเดียว เช่น UV-Visible และ Fluorescence Detector ที่นิยมใช้ทั่วไปสำหรับ HPLC ได้แก่ UV-Visible detector, Fluorescence detector, Refractive index detector, Electrochemical detector, Diode array detector และ Mass detector ซึ่งจะแสดงคุณสมบัติของตัวตรวจวัดชนิดต่าง ๆ ไว้ดังตาราง

ตารางที่ 7 คุณสมบัติของตัวตรวจวัดชนิดต่าง ๆ

ชนิด	ความไว (g/mL)	ผลของอุณหภูมิ	ผลของอัตราการไหลของเฟสเคลื่อนที่	หมายเหตุ
UV absorption	$5 \times 10^{-5}$	น้อย	ไม่มีผล	นิยมใช้ในช่วง 254-280 นาโนเมตร
IR absorption	$10^{-6}$	น้อย	ไม่มีผล	-
Fluorometry	$10^{-10}$	น้อย	ไม่มีผล	-
Refractive index	$5 \times 10^{-7}$	-	ไม่มีผล	วัดความแตกต่างของดัชนีหักเหของสารตัวอย่างและเฟสเคลื่อนที่
Conductivity	$10^{-8}$	$\pm 1^{\circ}\text{C}$	มีผล	-
Diode array	$10^{-8}$	ไม่มีผล	มีผล	วัดได้ตั้งแต่ 190-850 นาโนเมตร
Mass spectrometry	$10^{-10}$	ไม่มีผล	ไม่มีผล	วิเคราะห์สารได้ถึง 0.2-1.0 นาโนกรัม

ที่มา : <https://home.kku.ac.th/chuare/12/HPLC.pdf>

2.5.2.8 ส่วนประมวลผล (Recorder and data processing) : ใช้สำหรับแสดงตำแหน่งของสารที่ออกมาจากคอลัมน์เพื่อประโยชน์ในการจำแนกชนิดของสารหรือคำนวณหาปริมาณสาร ซึ่งสามารถคำนวณได้จากความสูงของยอดพีค (Peak height) หรือพื้นที่ใต้พีค (Peak area)

### 2.5.3 ชนิดของการแยกด้วยเทคนิค HPLC

ประสิทธิภาพในการแยกของเทคนิค HPLC ขึ้นอยู่กับการเลือกชนิดของการแยกที่เหมาะสม (Modes of separation) โดยสามารถแบ่งชนิดของการแยกตามกลไกของการแยกซึ่งอาศัยอันตรกิริยาระหว่างสารที่สนใจหรือสารที่ต้องการวิเคราะห์กับเฟสอยู่หนึ่งดังนี้ (ชูชาติ อาริจิตรานุสรณ์. โครมาโทกราฟีของเหลวความดันสูง, 352-364)

2.5.3.1 Adsorption Chromatography : เป็นการแยกสารโดยที่จะใช้เฟสอยู่หนึ่งเป็นตัวดูดซับ (Adsorbent) ที่ไม่ทำปฏิกิริยากับสารตัวอย่างและไม่ละลายในเฟสเคลื่อนที่ การดูดซับจะอาศัยสภาพขั้ว (polarity) และจำนวนหมู่ที่ทำให้เกิดสภาพขั้ว (polarity group) ของเฟสอยู่หนึ่งและสารตัวอย่างส่วนการชะสารต่าง ๆ ออกจากคอลัมน์จะอาศัยการ

เปลี่ยนสภาพมีขั้วของเฟสเคลื่อนที่ โดยถ้าเฟสเคลื่อนที่มีสภาพขั้วสูง สารที่ละลายน้ำได้ดีกว่า จะเคลื่อนที่ออกมาจากคอลัมน์ได้เร็วกว่า สำหรับเฟสอยู่นิ่งที่นิยมใช้ ได้แก่ Silica ( $\text{SiO}_2 \cdot x\text{H}_2\text{O}$ ) (ขนาดอนุภาค 3-10 ไมโครเมตร) ซึ่งมีความสามารถในการดูดซับสารที่มีสภาพขั้วสูง

2.5.3.2 Partition Chromatography : มี 2 แบบ คือ Liquid-Liquid chromatography และ Bonded phase chromatography (ชูชาติ อารีจิตรานุสรณ์. โครมาโทกราฟีของเหลวความดันสูง, 352-364)

- Liquid-Liquid chromatography เฟสอยู่นิ่งเป็นของเหลวเคลือบติดบนอนุภาคโดยการเกาะติดทางกายภาพ นิยมใช้ในคอลัมน์ของ GC

- Bonded phase chromatography เฟสอยู่นิ่งเกิดพันธะทางเคมีกับอนุภาค นิยมใช้ในคอลัมน์ของ HPLC

ทั้ง Liquid-Liquid chromatography และ Bonded phase chromatography สองแบบนี้จะแตกต่างกันที่วิธีการที่เฟสอยู่นิ่งจับอยู่บนอนุภาคของ Supporting material สำหรับการแยกด้วยเทคนิค HPLC นิยมใช้ Bonded phase เพราะมีข้อดีกว่า Liquid-Liquid chromatography นั่นคือ ไม่มีการสูญเสียเฟสอยู่นิ่ง เนื่องจากการละลายหรือการหลุด สามารถใช้กับระบบ Gradient elution ได้ และใช้เฟสเคลื่อนที่ที่มีอัตราการไหลสูงขึ้นได้ โดย Bonded phase chromatography จะสามารถแบ่งตามสภาพขั้วของเฟสอยู่นิ่งได้ 2 แบบ คือ

1. Normal phase (Polar bonded phase) : เฟสอยู่นิ่งมีหมู่ฟังก์ชันที่มีสภาพขั้วมากกว่าเฟสเคลื่อนที่ เตรียมโดยอาศัยปฏิกิริยา Silanization คือ ให้หมู่ hydroxyl group ของ silica ทำปฏิกิริยากับสารเคมีจำพวก Organosilanes ซึ่งมีหมู่ฟังก์ชันที่มีสภาพขั้วเกิดพันธะ Si-O-Si-R หมู่ R ได้แก่ cyano-propyl, amino-propyl และ hydroxyl (diol) เป็นต้น สำหรับกลไกในการแยกจะเหมือนกับการแยกแบบ Adsorption chromatography ซึ่งอาศัยความแตกต่างของสภาพขั้วของสาร สารที่มีสภาพขั้วมากที่สุดจะถูกหน่วงให้อยู่ในคอลัมน์นาน และจะถูกชะออกมาภายหลัง

2. Reverse phase (Non-polar bonded phase) : เฟสอยู่นิ่งมีหมู่ฟังก์ชันที่ไม่มีขั้ว ซึ่งมีสภาพขั้วน้อยกว่าเฟสเคลื่อนที่ เตรียมโดยใช้ปฏิกิริยา Silanization คือ Hydroxyl group ของ Silica ทำปฏิกิริยากับสารเคมีจำพวก Alkylsilanes หรือ Arylsilanes เกิดพันธะ Si-O-Si-R บนผิว ของ Silica โดยที่ R เป็น Hydrocarbon ที่นิยมใช้ ได้แก่ Octadecyl (C18), Octyl (C8) และ Alkyl aromatic phenyl

2.5.3.3 Size Exclusion Chromatography : เป็นการแยกโดยอาศัยความแตกต่างของ ขนาดโมเลกุลของสาร สำหรับวัสดุในคอลัมน์จะเป็นอนุภาคของ polymer ที่มีรูพรุนเชื่อมต่อกันเป็นร่างแห ซึ่งรูพรุนนี้เป็นที่สำหรับโมเลกุลของสารและเฟสเคลื่อนที่แพร่กระจายเข้าไป โดยการแยกจะขึ้นอยู่กับการแพร่กระจายเข้าและออกจากรูพรุนของโมเลกุลของสาร ค่า Retention time จะขึ้นอยู่กับขนาดโมเลกุลของสาร โดยสารที่มีโมเลกุลขนาดเล็กจะสามารถเข้าไปในรูพรุนได้ทั้งหมด โมเลกุลขนาดกลางสามารถเข้ารูพรุนได้บางส่วน และโมเลกุลขนาดใหญ่ไม่สามารถผ่านเข้ารูพรุนได้ โดยการแยกชนิดนี้จะไม่เกิดอันตรกิริยาทางเคมีหรือทางกายภาพระหว่างสารตัวอย่างกับเฟสอยู่หนึ่ง โดยจะแบ่งการแยกออกเป็น 2 แบบ ดังนี้

1. Gel Filtration Chromatography เฟสอยู่หนึ่งจะเป็นพวก Hydrophilic หรือเม็ดเจลที่มีรูขนาดต่าง ๆ บรรจุอยู่ในคอลัมน์ และเฟสเคลื่อนที่เป็นน้ำ จะใช้ในการแยกโปรตีนออกจาก Amino acid และ Peptide ที่มีน้ำหนักโมเลกุลต่ำ โมเลกุลของสารที่มีขนาดเล็กเคลื่อนที่เข้าไปในโมเลกุลของเจล ทำให้เคลื่อนที่ออกมาจากคอลัมน์ได้ช้ากว่าสารตัวอย่างที่มีโมเลกุลใหญ่กว่า

2. Gel Permeation chromatography เฟสอยู่หนึ่งเป็นพวก Hydrophobic และเฟสเคลื่อนที่เป็นตัวทำละลายอินทรีย์ จะใช้น้ำหนักโมเลกุลของสารจำพวก Polymer ขนาดใหญ่ และพวก Natural product

2.5.3.4 Ion Exchange Chromatography : เป็นการแยกโดยอาศัยความแตกต่างของความแรงของประจุ (Charge) ของสารตัวอย่างกับ Ionic group ที่อยู่บนผิวของเฟสอยู่หนึ่ง ซึ่งจะมีประจุตรงกันข้ามกับสารตัวอย่างที่ต้องการวิเคราะห์ หากสารใดที่จับได้ดีหรือแรงกว่าจะถูกชะออกมาภายหลัง วิธีนี้นิยมใช้แยกสารประกอบไอออนิก (Ionic compounds) หรือสารที่สามารถแตกตัวเป็นไอออนได้ เช่น สารจำพวกกรด เบส Nucleotides, Inorganic ions, Amino acid และ Biological compounds (อารีจิตรานุสรณ์, 2001)

- เฟสอยู่หนึ่ง เป็น Resin หรือ Silica ที่มี Ionic group ต่อด้วยพันธะทางเคมี

- เฟสเคลื่อนที่ ปกติจะใช้สารละลาย Buffer มี Counter ion ที่มีประจุตรงกันข้ามกับ Ionic charge ของอนุภาค แต่ประจุเหมือนกับไอออนของสารตัวอย่าง

Ion Exchange Chromatography แบ่งออกเป็น 2 ประเภท ได้แก่

1. Cation Exchange เฟสอยู่หนึ่งมีประจุลบเป็น Active ionic group ใช้แยกสารที่มีประจุบวก

2. Anion Exchange เฟสอยู่หนึ่งมีประจุบวกเป็น Active ionic group ใช้แยกสารที่มีประจุลบ

2.5.3.5 Affinity Chromatography : เป็นการแยกสารผสมออกจากกัน โดยอาศัยความแตกต่างของความจำเพาะทางชีวภาพ (Biological specificity) โดยการให้เฟสอยู่หนึ่งที่มีความจำเพาะกับสารที่ต้องการแยก ตัวอย่างเช่น Enzyme-Substrate, Antigen-Antibody, Hormone-Receptor เป็นต้น เมื่อเฟสเคลื่อนที่พาโมเลกุลของสารที่ต้องการแยกผ่านมา เฟสอยู่หนึ่งจะจับเฉพาะโมเลกุลที่มีความจำเพาะไว้ หลังจากนั้นจึงจะเปลี่ยนคุณสมบัติของเฟสเคลื่อนที่ เช่น การเปลี่ยนค่า pH การเพิ่มความเข้มข้นของเกลือ หรือการเติมตัวแย่งจับเฟสอยู่หนึ่งลงไป ซึ่งจะทำให้โมเลกุลของสารที่ต้องการถูกชะออกมาจากคอลัมน์

2.5.3.6 Ion-pairing Chromatography : เป็นการวิเคราะห์สารที่เป็นไอออน โดยปกติจะไม่สามารถใช้ reverse phase column ได้ จึงต้องทำให้สารตัวอย่างที่เป็นไอออนกลายเป็น neutral species จึงจะสามารถวิเคราะห์ด้วย reverse phase column ได้ โดยหลักการของวิธีนี้ คือ ทำให้สารตัวอย่างที่เป็นไอออนกลายเป็น neutral species โดยการเกิด ion-pair กับ counter ion ที่มีอยู่ในเฟสอยู่หนึ่ง วิธีการนี้เหมาะกับการแยกสารตัวอย่างที่เป็นกรด-เบส (ทั้ง strong และ weak) รวมทั้ง amino acid ด้วย โดยการที่ทำให้กรดและเบสที่ต้องการแยกเกิดการแตกตัวได้น้อยลงหรือไม่แตกตัวเลย โดยการปรับ pH ทำให้สารตัวอย่างอยู่เป็นโมเลกุล ไม่แตกตัวเป็นไอออน แล้วแยกโดยใช้คอลัมน์ Reverse phase-Bonded phase chromatography เมื่อใช้ตัวทำละลายพวก Methanol หรือ Acetonitrile + Buffer solution ก็จะสามารถชะกรดหรือเบสนั้นออกจากคอลัมน์ได้ ถ้าเพิ่ม ion-pair ลงใน Mobile phase ให้มากขึ้น ค่า Retention time ของตัวถูกละลายหรือตัวอย่างก็จะเพิ่มมากขึ้น (ปัจจุบันนิยมใช้มากกว่า Ion Exchange Chromatography เพราะจะได้ประสิทธิภาพดีกว่า) (ศรีวิบูลย์, 2003)

## 2.5.4 Mobile phase/Eluent

สารละลายที่ใช้เป็นเฟสเคลื่อนที่ มีความจำเพาะแตกต่างกันขึ้นอยู่กับชนิดของสารที่ต้องการแยก แต่ควรมีคุณสมบัติพื้นฐานที่เหมือนกัน คือ มีความบริสุทธิ์สูงปราศจากสิ่งเจือปน และไม่ทำปฏิกิริยากับเฟสอยู่หนึ่ง คอลัมน์ ตัวฉีด ตัวตรวจวัด และสารที่ต้องการแยก จนทำให้สารที่ต้องการแยกเสื่อมสภาพไป นอกจากนี้ยังต้องคำนึงถึงความหนืดและความปลอดภัยของสารละลายด้วย การใช้สารละลายชะสารต่าง ๆ ออกจากคอลัมน์ อาจพบได้ใน 2 ลักษณะคือ

2.5.4.1 Isocratic elution เป็นการใส่สารละลายเพียง 1 ชนิด ชะสารต่าง ๆ ออกจากคอลัมน์

2.5.4.2 Gradient elution เป็นการใช้สารละลายมากกว่า 1 ชนิด หรือใช้สารละลายชนิดเดียว แต่มีความเข้มข้นต่างกันในการชะสารต่าง ๆ ออกจากคอลัมน์ ซึ่งการชะสารแบบนี้จะมี ประสิทธิภาพในการแยกสารออกจากกันได้ดีกว่าแบบแรก

## 2.6 งานวิจัยที่เกี่ยวข้อง

Zaidon, S. Z. *et al.* (2019) วิเคราะห์หาปริมาณสารกำจัดศัตรูพืช 30 ชนิดในตัวอย่างดินและน้ำ โดยในตัวอย่างดินทำการสกัดด้วยวิธี Quick, Easy Cheap, Effective, Rugged and safe (QuEChERS) ตามด้วยเทคนิคการแยกแบบ dispersive solid phase extraction (dSPE) ในตัวอย่างดินและน้ำกรองด้วย glass fiber และ nylon filtration สกัดด้วยวิธี solid phase extraction (SPE) และนำมาวิเคราะห์ด้วยเทคนิคอัลตราโครมาโทกราฟีของเหลวสมรรถนะสูงควบคู่กับแมสสเปกโตรเมตรี (UHPLC-MS/MS) ให้ขีดจำกัดการตรวจวัดของเครื่องมือ (IQL) เท่ากับ 500 นาโนกรัมต่อมิลลิลิตร  $R^2 = 0.9990$  ค่าขีดจำกัดการตรวจหา (MDL) เท่ากับ 0.03-0.4 นาโนกรัมต่อกรัมในดิน และ 0.1-10 นาโนกรัมต่อลิตรในน้ำ

Huang, Y. *et al.* (2019) ทำการสกัดตัวอย่างชาเขียวด้วยวิธี QuEChERS จากนั้นนำมาวิเคราะห์ด้วยเทคนิคโครมาโทกราฟีของเหลวสมรรถนะสูงควบคู่กับแมสสเปกโตรเมตรี (HPLC-MS/MS) สำหรับการวิเคราะห์สารกำจัดศัตรูพืช 102 ชนิด สำหรับการหาปริมาณที่ถูกต้องโดยการสร้างกราฟมาตรฐานจากเมทริกซ์เพื่อชดเชยผลของเมทริกซ์ ร้อยละการกลับคืนของสารกำจัดศัตรูพืชเหล่านี้อยู่ระหว่าง 62-125% โดยมี %RSD ต่ำกว่า 18% ขีดจำกัดของการตรวจพบและขีดจำกัดของการวัดเชิงปริมาณอยู่ระหว่าง 0.03-15 กรัมต่อกิโลกรัม และ 0.1-50 ไมโครกรัมต่อกิโลกรัม ตามลำดับ พบว่า 67% ของตัวอย่างชาเขียวมีสารเคมีตกค้างและส่วนใหญ่มีสารกำจัดศัตรูพืชมากกว่า 5 ชนิด (acetamiprid (51%) imidacloprid and buprofezin (49%) methomyl (40%) carbofuran (38%) isoprocarb (33%) fenobucarb (31%) triazophos (24%) carbendazim (22%) phoxim (13%) metolcarb and carbofuran-3-hydroxy (11%) tricyclazole isocarbophos and tebufenozide (9%) acephate dimethoate and prochloraz (4%) primicarb triadimefon และ profenofos (2%)) นอกจากนี้ระดับของสารเคมีตกค้าง 11 ชนิดใน 18 ตัวอย่างพบว่าสูงกว่าค่าที่อนุญาตใน EC Regulation No. 396/2005

Vera-Avila, L. E. *et al.* (2012) นำเทคนิคโครมาโทกราฟีของเหลวสมรรถนะสูง (HPLC) มาใช้ในการหาปริมาณคาร์โบฟูรานในตัวอย่างน้ำผิวดิน โดยนำตัวอย่างน้ำมาเติมสารละลายเมทานอลและ PBS เข้มข้น 0.4 โมลาร์ เพื่อให้ได้ความเข้มข้นสุดท้ายเป็น 2% (โดยปริมาตร) ตัวทำละลาย

อินทรีย์ และ 0.02 โมลาร์ บัฟเฟอร์ จากนั้นนำไปกรองผ่าน nylon membranes และเก็บไว้ในขวดสีชาที่อุณหภูมิ 4 °C นำไปวิเคราะห์ด้วยเทคนิคโครมาโทกราฟีของเหลวสมรรถนะสูง (HPLC) และ UV detector โดยใช้คอลัมน์ Hypersil ODS (150 มิลลิเมตร x 4.6 มิลลิเมตร I.D.) เฟสเคลื่อนที่เป็นอะซิโตนไตรลต์ต่อน้ำ 5:95 (โดยปริมาตร) ที่ pH 11 อัตราการไหล 1.00 มิลลิลิตรต่อนาที ที่ความยาวคลื่น 280 นาโนเมตร ผลการศึกษาพบว่าค่าขีดจำกัดของการตรวจพบของตัวอย่างน้ำ เท่ากับ 0.13 นาโนกรัมต่อมิลลิลิตร และมีค่า %RSD ของตัวอย่างน้ำเท่ากับ 10.1%

Dong, T. *et al.* (2010) ได้เตรียมตัวอย่างโดยการสกัดด้วยเมทานอลเป็นเวลา 2 นาทีและ Clean-up ด้วยวิธี Solid phase extraction (SPE) ซึ่งพัฒนา immunoassay ในการตรวจหาคาร์บาริลในตัวอย่างอาหารควบคู่กับการวิเคราะห์ด้วยเทคนิคโครมาโทกราฟีของเหลวสมรรถนะสูง โดยใช้คอลัมน์ C18 reverse phase อุณหภูมิ 30 องศาเซลเซียส เฟสเคลื่อนที่เป็นอะซิโตนไตรลต์ต่อน้ำ 40:60 (โดยปริมาตร) อัตราการไหล 1.0 มิลลิลิตรต่อนาที ที่ความยาวคลื่น 220 นาโนเมตร การทดสอบได้ค่า  $IC_{50}$  (ความเข้มข้นที่ก่อให้เกิดการยับยั้ง 50%) ที่ 2 ไมโครกรัมต่อกิโลกรัม ค่าร้อยละการกลับคืนอยู่ในช่วง 88.3–101.7% เทคนิคโครมาโทกราฟีของเหลวสมรรถนะสูง ( $R^2 = 0.989$ )

Tomasevic, A. *et al.* (2010) ศึกษาการย่อยสลาย Photo-Fenton ของเมโทมิลในตัวอย่างน้ำ โดยใช้ Fe-ZSM-5 zeolite และ AlFe-pillared montmorillonite เป็นตัวเร่งปฏิกิริยา ภายใต้ halogen lamp light โดยวัดด้วยเทคนิคอัลตราไวโอเลตสเปกโทรโฟโตมิเตอร์ (UV Spectrometry) และเทคนิคโครมาโทกราฟีของเหลวสมรรถนะสูง (HPLC) ซึ่งใช้คอลัมน์ Zorbax Eclipse XDB-C18 150 x 4.6 มิลลิเมตร (i.d.) x 5 ไมโครเมตร อุณหภูมิ 25 องศาเซลเซียส เฟสเคลื่อนที่เป็นอะซิโตนไตรลต์ต่อน้ำ 25:75 (โดยปริมาตร) อัตราการไหล 2.0 มิลลิลิตรต่อนาที ที่ความยาวคลื่น 234 นาโนเมตร เวลาในการเคลื่อนที่ของเมโทมิล เท่ากับ 2.0 นาที

Wei, G. *et al.* (2007) ประยุกต์ใช้การสกัดตัวอย่างด้วยวิธี Dispersive liquid – liquid microextraction (DLLME) ร่วมกับเทคนิคโครมาโทกราฟีของเหลวสมรรถนะสูงสำหรับการหาปริมาณเมโทมิลในตัวอย่างน้ำธรรมชาติ โดยใช้คอลัมน์ Eclipse XDB-C8 (4.6 มิลลิเมตร x 150 มิลลิเมตร, 5 ไมโครเมตร partical size) อุณหภูมิ  $25 \pm 1$  องศาเซลเซียส เฟสเคลื่อนที่เป็นเมทานอลต่อน้ำ 20:80 (โดยปริมาตร) อัตราการไหล 0.8 มิลลิลิตรต่อนาที ที่ความยาวคลื่น 235 นาโนเมตร ซึ่งมีความเป็นเส้นตรงในช่วง 3–5000 นาโนกรัม/มิลลิลิตร ค่าขีดจำกัดของการตรวจพบ ( $S/N = 3$ ) 1.0 นาโนกรัม/มิลลิลิตร และ %RSD ( $n = 6$ ) 2.6%



Cid, A. P. *et al.* (2006) วิเคราะห์หาสารเคมีกำจัดแมลงชนิดคาร์บาเมตชนิดคาร์บาริล คาร์โบฟูราน และเมโทมิล ในดินจากแปลงเกษตรและน้ำจากแม่น้ำ โดยตัวอย่างดินถูกสกัดด้วยอะซิโตน ไตรคลอโรเอเทน ตามด้วยการแยกด้วยซิลิกาเจลโดยใช้อะซิโตน ไตรคลอโรเอเทน 50:50 (โดยปริมาตร) คาร์บาริล คาร์โบฟูราน และเมโทมิล ในตัวอย่างน้ำถูกสกัดโดยใช้คาร์บอนแอกทีฟ และชะโดยใช้น้ำเมทานอล และไดคลอโรมีเทนต่อเมทานอล 80:20 (โดยปริมาตร) หลังจากนั้นวิเคราะห์ด้วยเทคนิคโครมาโทกราฟีของเหลวสมรรถนะสูง ซึ่งต่อกับตัวตรวจวัดชนิดอัลตราไวโอเล็ต-ฟลูออโรเมตริก โดยใช้คอลัมน์ C18 reverse phase อุณหภูมิ 35 องศาเซลเซียส เฟสเคลื่อนที่เป็น อะซิโตน ไตรคลอโรเอเทน 50:50 (โดยปริมาตร) อัตราการไหล 1.0 มิลลิลิตร/นาที ที่ความยาวคลื่น 220 นาโนเมตร โดยมีค่าขีดจำกัดของการตรวจพบ ในช่วง 2.30±0.20 ไมโครกรัม/ลิตร ถึง 3.90±0.36 ไมโครกรัม/ลิตร ของตัวอย่างน้ำ และ 0.04±0.01 ไมโครกรัม/ลิตร ถึง 0.27±0.01 ไมโครกรัม/ลิตร ของตัวอย่างดิน

Abad, A. *et al.* (1999) ตรวจสอบปริมาณคาร์บาริล คาร์โบฟูราน และเมธิโอคาร์บ ในแตงกวา และสตรอว์เบอร์รี่ หลังจากการสกัดโดยการผสมตัวตัวอย่างให้เข้ากันด้วยอะซิโตน แล้วทำการหมุนเหวี่ยงด้วยเครื่อง Ultra-turrax T-25 และ clean-up ด้วยวิธี Solid phase extraction (SPE) จากนั้นตัวอย่างจะถูกวิเคราะห์โดย Immunoassays และเทคนิคโครมาโทกราฟีของเหลวสมรรถนะสูง ซึ่งต่อกับตัวตรวจวัดชนิดฟลูออเรสเซนต์ ซึ่งใช้คอลัมน์ C18 อุณหภูมิ 30 องศาเซลเซียส เฟสเคลื่อนที่เป็น เมทานอลต่อน้ำ 10:90 (โดยปริมาตร) อัตราการไหล 1.5 มิลลิลิตร/นาที ที่ความยาวคลื่น 339 และ 445 นาโนเมตร โดยมี %RSD ของวิธี Immunoassays ในช่วง 2.1-25.4% และของเทคนิคโครมาโทกราฟีของเหลวสมรรถนะสูงในช่วง 3.2-19.6%

Ling, C. F. *et al.* (1993) ใช้เทคนิคโครมาโทกราฟีของเหลวสมรรถนะสูง (HPLC) หาปริมาณคาร์โบฟูรานที่ตกค้างในมะเขือเทศที่ปลูกในระบบไฮโดรโปนิกส์ (Hydroponics) โดยผู้วิจัยปลูกมะเขือเทศและมีการให้อาหารเสริมที่มีคาร์โบฟูรานที่ความเข้มข้นต่างกัน (36, 111 และ 222 มิลลิกรัม/ลิตร) เป็นจำนวน 3 ครั้ง โดยให้แบบวันเว้นวัน เมื่อครบจำนวน 3 ครั้ง ผู้วิจัยสุ่มมะเขือเทศมาวิเคราะห์หลังจากผ่านไป 0, 4, 6, 8, 11, 13, 15, 18, 20 และ 22 วัน โดยนำเนื้อมะเขือเทศ 30 กรัม เติมน้ำอะซิโตน 100 มิลลิลิตร นำไปปั่นเป็นเวลา 3 นาที จากนั้นกรอง นำของเหลวที่กรองได้ใส่กรวยแยก (Separation funnel) เติมน้ำเฮกเซนต่อไดคลอโรมีเทน 1:1 (โดยปริมาตร) 100 มิลลิลิตร และทำการสกัด นำชั้นสารละลาย (Aqueous phase) ใส่กรวยแยก (Separation funnel) อันใหม่ เติมน้ำอะซิโตน 15 มิลลิลิตร และสกัดอีกครั้งด้วย ไดคลอโรมีเทน 70 มิลลิลิตร จากนั้นนำสารละลายที่สกัดได้ไปกรอง และกำจัดน้ำออกด้วยโซเดียมซัลเฟตแอนไฮไดรอส (Sodium sulphate anhydrous) แล้วนำไประเหยที่อุณหภูมิ 30 °C เมื่อนำไปวิเคราะห์ให้ละลายด้วย

1 มิลลิลิตรของเฟสเคลื่อนที่ การวิเคราะห์ใช้คอลัมน์  $\mu$ Bondapak C18 (30 เซนติเมตร x 4 มิลลิเมตร) อัตราการไหล 1 มิลลิลิตร/นาที เฟสเคลื่อนที่เป็นอะซิโตนไตรล์ต่อน้ำ 40:60 (โดยปริมาตร) ผลการวิเคราะห์ได้ค่าร้อยละการกลับคืน เท่ากับ 91% ค่าขีดจำกัดของการตรวจพบ เท่ากับ 0.012 มิลลิกรัมต่อกิโลกรัม และไม่พบตัวอย่างมะเขือเทศที่มีปริมาณคาร์โบฟูรานตกค้างเกินกว่าที่ Codex Alimentarius กำหนด (0.1 มิลลิกรัม/กิโลกรัม)

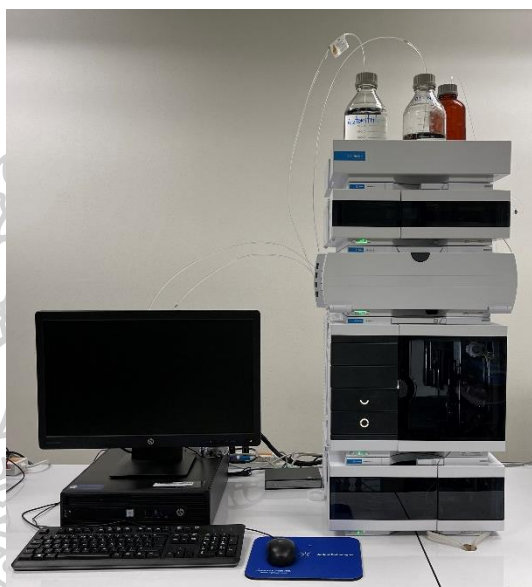


### บทที่ 3

#### วิธีการดำเนินงานวิจัย

##### 3.1 เครื่องมือ

3.1.1 เครื่องโครมาโทกราฟของเหลวสมรรถนะสูง (High Performance Liquid Chromatograph) (ยี่ห้อ Agilent Technologies รุ่น 1260 Infinity II Bio-Inert LC)

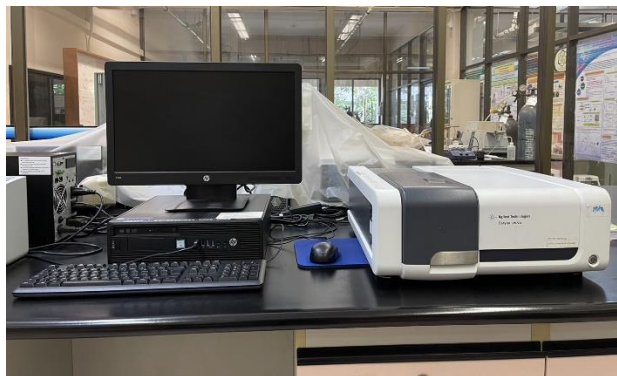


ภาพที่ 10 เครื่องโครมาโทกราฟของเหลวสมรรถนะสูง

- ปั๊ม (Pump) (ยี่ห้อ Agilent Technologies รุ่น 1260 Infinity II Bio-Inert)
- การ์ดคอลัมน์ (Guard column C-18) (4.6x12.5 มิลลิเมตร, 5 ไมโครเมตร, ยี่ห้อ Agilent Technologies)
- คอลัมน์ (Analytical column C-18) (4.6x150 มิลลิเมตร, 5 ไมโครเมตร, ยี่ห้อ Cosmosil)
- ตัวตรวจวัดชนิดไดโอดอาร์เรย์ (Diode array detector) (ยี่ห้อ Agilent Technologies รุ่น G7115A)

3.1.2 เครื่องชั่งทศนิยม 4 ตำแหน่ง (Analytical balance) (ยี่ห้อ Sartorius รุ่น BP2105)

3.1.3 เครื่องอัลตราไวโอเล็ต-วิสิเบิลสเปกโทรโฟโตมิเตอร์ (Ultraviolet-Visible spectrophotometer) (ยี่ห้อ Agilent Technologies รุ่น Cary60)



ภาพที่ 11 เครื่องอัลตราไวโอเล็ต-วิสิเบิลสเปกโทรโฟโตมิเตอร์

3.1.4 เครื่องปั่นเหวี่ยง (Centrifuge) (ยี่ห้อ Kubota รุ่น 3740)



ภาพที่ 12 เครื่องปั่นเหวี่ยง

3.1.5 เครื่องวอเทคมิกเซอร์ (Vortex mixer) (ยี่ห้อ Scientific Industries รุ่น G560E)

3.1.6 เครื่องปั่น (Blender) (ยี่ห้อ Sharp รุ่น EM-ICE)

3.2 วัสดุอุปกรณ์

3.2.1 กระจกตวง (Measuring cylinder) ขนาด 10.0 และ 100.0 mL

3.2.2 ขวดแก้วขนาดเล็ก (Vial) ขนาด 2 mL

3.2.3 ขวดปริมาตร (Volumetric flask) ขนาด 5.00, 10.00, 25.00 และ 100.00 mL  
(ยี่ห้อ Witeg)

3.2.4 ขวด Duran (ยี่ห้อ SCHOTT) ขนาด 1,000 mL

- 3.2.5 ขาตั้ง (Stand) และที่จับ (Clamp holder)
- 3.2.6 ชุดกรองสุญญากาศ (Glass vacuum filter holder) (ยี่ห้อ Pall Corporation)
- 3.2.7 ตัวกรองสารละลายเคมีขนาดเล็กสำหรับหลอดฉีดยา (Syringe filter) 0.45 ไมโครเมตร เส้นผ่านศูนย์กลาง 33 มิลลิเมตร (ยี่ห้อ Kima)
- 3.2.8 เมมเบรนชนิดไนลอน (Nylon membrane filter) 0.45 ไมโครเมตร เส้นผ่านศูนย์กลาง 47 มิลลิเมตร (ยี่ห้อ NS National Scientific)
- 3.2.9 ไมโครปิเปต (Micropipette) ขนาด 10.00, 100.00 และ 1000.00 ไมโครลิตร (ยี่ห้อ Sartorius)
- 3.2.10 หลอดทดลอง (Test tube)
- 3.2.11 หลอดหมุนเหวี่ยง (Centrifuge tube) ขนาด 50.0 mL
- 3.2.12 หลอดหยดสาร (Pasteur pipette)
- 3.2.13 DisQuE™ extraction tube ขนาด 2 mL (150 mg  $MgSO_4$  and 50 mg PSA)

### 3.3 สารเคมี

- 3.3.1 ชุดสกัดสารกำจัดศัตรูพืช (QuEChERS kit, AOAC Method 2007.01) (ยี่ห้อ Waters)
- แมกนีเซียมซัลเฟต (Magnesium sulfate,  $MgSO_4$ ) มวลโมเลกุล 120.37 กรัม/โมล
  - โซเดียมอะซิเตต (Sodium acetate,  $CH_3COONa$ ) มวลโมเลกุล 82.03 กรัม/โมล
  - พีเอสเอ (Primary secondary amine, PSA)
  - คาร์บอนแบล็ค (Carbon black)

ตารางที่ 8 รายชื่อสารเคมี สูตรโมเลกุล มวลโมเลกุล และบริษัทผู้ผลิต

ชื่อสารเคมี	สูตรโมเลกุล	มวลโมเลกุล (g/mol)	บริษัทผู้ผลิต
Acetic acid	CH <sub>3</sub> COOH	60.05	CARLO ERBA
Acetonitrile	CH <sub>3</sub> CN	41.05	RCI Labscan
Carbaryl	C <sub>12</sub> H <sub>11</sub> NO <sub>2</sub>	201.23	PCA Chem
Carbofuran	C <sub>12</sub> H <sub>15</sub> NO <sub>3</sub>	221.26	PCA Chem
Magnesium sulfate	MgSO <sub>4</sub>	120.37	DAEJUNG
Methomyl	C <sub>5</sub> H <sub>10</sub> N <sub>2</sub> O <sub>2</sub> S	162.21	PCA Chem
Sodium carbonate	Na <sub>2</sub> CO <sub>3</sub>	105.99	Ajax Finechem
Sodium sulphate	Na <sub>2</sub> SO <sub>4</sub>	142.04	RCI Labscan

### 3.4 วิธีการทดลองการเตรียมสารละลายมาตรฐานและเฟสเคลื่อนที่

#### 3.4.1.1 การเตรียมสารละลายมาตรฐานคาร์โบฟูราน คาร์บาริล และเมโทมิล 1,000 ไมโครกรัม/ลิตร

ปิเปตสารละลายมาตรฐานคาร์โบฟูราน คาร์บาริล และเมโทมิลความเข้มข้น 100 มิลลิกรัม/ลิตร มา 10.00 ไมโครลิตร ใส่ในขวดปริมาตรขนาด 10.00 มิลลิลิตร ปรับปริมาตรด้วยอะซิโตนไตรีกกับน้ำที่อัตราส่วน 50:50 (โดยปริมาตร) เขย่าให้เข้ากัน

#### 3.4.1.2 การเตรียมสารละลายมาตรฐานสำหรับใช้งาน (Working standard solution)

เตรียมสารละลายมาตรฐานคาร์โบฟูราน คาร์บาริล และเมโทมิลที่ความเข้มข้น 50, 100, 150, 200, 250, 300, 400, 500, 600, 700, 800, 900 และ 1,000 ไมโครกรัม/ลิตร โดยปิเปตสารละลายมาตรฐาน 1,000 ไมโครกรัม/ลิตร ปริมาตรคาร์โบฟูราน คาร์บาริล และเมโทมิล ปริมาตร 50, 100, 150, 200, 250, 300, 400, 500, 600, 700, 800, 900 และ 1,000 ไมโครลิตร ตามลำดับ ใส่ขวด Vial ขนาด 2 มิลลิลิตร จากนั้นปรับปริมาตรด้วยอะซิโตนไตรีกกับน้ำที่อัตราส่วน 50:50 (โดยปริมาตร) ให้มีปริมาตรสุดท้ายเป็น 1,000 ไมโครลิตร ยกเว้นขวด Vial ที่ปิเปตสารละลายมาตรฐาน 1,000 ไมโครลิตร ไม่ต้องปรับปริมาตร

### 3.4.1.3 การเตรียมเฟสเคลื่อนที่

นำอะซิโตนไฮดรอลิกรัด HPLC และน้ำที่มีความบริสุทธิ์สูง (Ultrapure water) ใส่ขวดแก้วดูแรนขนาด 1,000 มิลลิลิตร จากนั้นนำไปกรองด้วยเครื่องกรองระบบสุญญากาศ (Glass vacuum filtration holder) โดยใช้เมมเบรนชนิดไนลอน ขนาด 0.45 ไมโครเมตร



ภาพที่ 13 การกรองตัวทำละลายผสมด้วยเครื่องกรองระบบสุญญากาศ (Glass vacuum filter holder)

### 3.4.2 การศึกษาหาความยาวคลื่นที่เหมาะสมสำหรับการวิเคราะห์หาปริมาณคาร์โบฟูราน คาร์บาริล และเมโทมิลด้วยเครื่องอัลตราไวโอเลต-วิสิเบิลสเปกโตรโฟโตมิเตอร์

นำสารละลายมาตรฐานผสมคาร์โบฟูราน คาร์บาริล และเมโทมิลที่มีความเข้มข้น 200 ไมโครกรัม/ลิตร มาวิเคราะห์ด้วยเครื่องอัลตราไวโอเลต-วิสิเบิลสเปกโตรโฟโตมิเตอร์ โดยเลือกวิเคราะห์ที่ช่วงความยาวคลื่น 190-800 นาโนเมตร ที่อุณหภูมิ 25 องศาเซลเซียส โดยใช้ความกว้างของลำแสง (Spectral bandwidth, SBW) 1.5 นาโนเมตร คิวเวทควอตซ์ขนาด 1 เซนติเมตร แหล่งกำเนิดแสง (Light source) เป็นซีนอน ระบบลำแสง (Photo-metric system) เป็นระบบลำแสงคู่ (Double beam)

### 3.4.3 การศึกษาสภาวะที่เหมาะสมสำหรับการวิเคราะห์หาปริมาณคาร์โบฟูราน คาร์บาริล และเมโทมิลด้วยเทคนิคโครมาโทกราฟีของเหลวสมรรถนะสูง ซึ่งต่อกับตัวตรวจวัดชนิดไดโอดอาร์เรย์

- อัตราส่วนตัวทำละลายผสมระหว่างอะซิโตนไตรลกับน้ำที่ใช้เป็นเฟสเคลื่อนที่ ศึกษาที่อัตราส่วน 30:70, 35:65, 40:60, 45:55, 50:50, 55:45, 60:40, 65:35 และ 70:30 โดยปริมาตร
- อัตราการไหลของเฟสเคลื่อนที่ ศึกษาที่อัตราการไหล 1.00, 1.20, 1.25, 1.30, 1.40, 1.50, 1.60, 1.70, 1.75 และ 1.80 มิลลิลิตร/นาที

### 3.4.4 การศึกษาประสิทธิภาพของเครื่องโครมาโทกราฟีของเหลวสมรรถนะสูง

ใช้สภาวะของเครื่องโครมาโทกราฟีของเหลวสมรรถนะสูง ซึ่งต่อกับตัวตรวจวัดชนิดไดโอดอาร์เรย์ ดังตาราง

ตารางที่ 9 สภาวะของเครื่องโครมาโทกราฟีของเหลวสมรรถนะสูงในการวิเคราะห์คาร์โบฟูราน คาร์บาริล และเมโทมิล

สภาวะที่ใช้ทดลอง	
เฟสเคลื่อนที่ (อะซิโตนไตรล:น้ำ)	ศึกษาจากข้อ 3.4.3
อัตราการไหล (มิลลิลิตร/นาที)	ศึกษาจากข้อ 3.4.3
การ์ดคอลลัมน์	C-18 (4.6x12.5 มิลลิเมตร, 5 ไมโครเมตร)
คอลลัมน์	C18 (4.6x150 มิลลิเมตร, 5 ไมโครเมตร)
ความยาวคลื่น (นาโนเมตร)	ศึกษาจากข้อ 3.4.2

#### ● การศึกษาช่วงความเป็นเส้นตรง

นำสารละลายมาตรฐานสำหรับใช้งานของคาร์โบฟูราน คาร์บาริล และเมโทมิลไปวิเคราะห์ด้วยเครื่อง HPLC โดยฉีด 3 ซ้ำ และนำพื้นที่ใต้พีคและความเข้มข้นของสารละลายมาตรฐานคาร์โบฟูราน คาร์โบฟูราน และเมโทมิลมาพล็อตกราฟเพื่อสร้างกราฟมาตรฐาน (Calibration curve) โดยกราฟควรมีค่าสัมประสิทธิ์สหสัมพันธ์ (Correlation coefficient, r) ไม่น้อยกว่า 0.995



- การศึกษาค่าขีดจำกัดของการตรวจพบ (Limit of detection; LOD)  
อ้างอิง EURACHEM, 2<sup>nd</sup> Edition 2014

นำสารละลายมาตรฐานคาร์บาริล และเมโทมิลที่ความเข้มข้น 50 ไมโครกรัม/ลิตร เนื่องจากเป็นความเข้มข้นต่ำสุดที่เตรียมในหัวข้อ 3.4.1.2 นำสารละลายมาตรฐานคาร์โบฟูรานที่ความเข้มข้น 100 ไมโครกรัม/ลิตร ซึ่งเป็นความเข้มข้นต่ำสุดที่เตรียมในหัวข้อ 3.4.1.2 มาวิเคราะห์ด้วยเครื่อง HPLC โดยฉีดซ้ำ 10 ครั้ง จากนั้นนำพื้นที่ใต้พีคและความเข้มข้นของคาร์บาริล คาร์โบฟูราน และเมโทมิลมาคำนวณหาค่าขีดจำกัดของการตรวจพบ ดังสมการที่ 1

$$LOD = 3SD' \quad \text{สมการ 1}$$

โดยที่ SD คือ ส่วนเบี่ยงเบนมาตรฐานความเข้มข้นของสารละลายมาตรฐานคาร์บาริล คาร์โบฟูราน และเมโทมิล

$$SD = \sqrt{\frac{\sum(x-\bar{x})^2}{N-1}} \quad \text{สมการ 2}$$

โดยที่ N คือ จำนวนข้อมูลทั้งหมด

x คือ ข้อมูล (1, 2, 3..., n)

$\bar{X}$  คือ ค่าเฉลี่ยข้อมูล

หมายเหตุ ข้อมูล คือ พื้นที่ใต้พีค

$$SD' \text{ คือ } \frac{SD}{\sqrt{n}} \quad n = \text{จำนวนการวัดซ้ำ}$$

- การศึกษาค่าขีดจำกัดของการวัดเชิงปริมาณ (Limit of quantitation; LOQ)  
อ้างอิง EURACHEM 2<sup>nd</sup> Edition 2014

นำสารละลายมาตรฐานคาร์บาริล และเมโทมิลที่ความเข้มข้น 50 ไมโครกรัม/ลิตร เนื่องจากเป็นความเข้มข้นต่ำสุดที่เตรียมในหัวข้อ 3.4.1.2 นำสารละลายมาตรฐานคาร์โบฟูรานที่ความเข้มข้น 100 ไมโครกรัม/ลิตร ซึ่งเป็นความเข้มข้นต่ำสุดที่เตรียมในหัวข้อ 3.4.1.2 มาวิเคราะห์ด้วยเครื่อง HPLC โดยวิเคราะห์ซ้ำ 10 ครั้ง จากนั้นนำพื้นที่ใต้พีคและความเข้มข้นของคาร์โบฟูราน คาร์บาริล และ เมโทมิลมาคำนวณหาค่าขีดจำกัดของการวัดเชิงปริมาณ ดังสมการที่ 3

$$LOQ = 10SD'$$

สมการ 3

- การศึกษาความเที่ยงตรง (Precision)

นำสารละลายมาตรฐานคาร์โบฟูราน คาร์บาริล และเมโทมิลที่ความเข้มข้น 50, 500 และ 1,000 ไมโครกรัม/ลิตร เนื่องจากเป็นความเข้มข้นต่ำ กลาง สูง ของการศึกษา ช่วงความเป็นตรง มาวิเคราะห์ด้วยเครื่อง HPLC โดยวิเคราะห์ซ้ำ 10 ครั้ง ภายในวันเดียวกัน (Intraday) และระหว่างวัน (Interday) เป็นเวลา 7 วันติดต่อกัน โดยคำนวณค่า % Relative Standard Deviation (%RSD) ดังสมการที่ 4

$$\%RSD = \frac{SD}{\bar{x}} \times 100$$

สมการ 4

- การศึกษาค่าร้อยละการกลับคืน (%Recovery)

นำตัวอย่างผักกาดขาว ผรั่ง มะเขือเทศ หัวไชเท้า และแอปเปิ้ลที่บั่นละเอียดมา 10.0000 กรัม ใส่ในหลอดหมุนเหวี่ยงขนาด 50.0 มิลลิลิตร จากนั้นเติม (Spike) สารละลายมาตรฐานคาร์โบฟูราน คาร์บาริล และเมโทมิลที่ความเข้มข้น 100 มิลลิกรัม/ลิตร ปริมาตร 200 ไมโครกรัม/ลิตร ทำตามขั้นตอนการสกัดตัวอย่างด้วยเทคนิค QuEChERS ดังข้อ 3.4.6 แล้วนำสารที่สกัดได้ไปวิเคราะห์ด้วยเครื่อง HPLC โดยฉีดซ้ำ 3 ครั้ง และคำนวณหาค่าร้อยละการกลับคืน ดังสมการที่ 5

$$\%Recovery = \frac{Conc.spiked - Conc.sample}{Conc.standard} \times 100$$

สมการ 5

โดยที่ Conc.spiked คือ ความเข้มข้นของคาร์โบฟูราน คาร์บาริล และเมโทมิล ในตัวอย่างที่มีการเติมสารละลายมาตรฐานคาร์โบฟูราน คาร์บาริล และเมโทมิลลงไป

Conc.sample คือ ความเข้มข้นของคาร์โบฟูราน คาร์บาริล และเมโทมิล ในตัวอย่าง

Conc.standard คือ ความเข้มข้นของสารละลายมาตรฐานคาร์โบฟูราน คาร์บาริล และเมโทมิลที่เติมลงในตัวอย่าง

### 3.4.5 การศึกษาปัจจัยที่มีผลต่อการสกัดด้วยเทคนิค QuEChERS

การสกัดด้วยเทคนิค QuEChERS เป็นเทคนิคการสกัดที่รวดเร็ว ง่าย ถูก มีประสิทธิภาพสูง และปลอดภัย โดยเทคนิคนี้จะเป็นการสกัดเอาสารเคมีกำจัดแมลงออกมาโดยอาศัยตัวทำละลายที่ละลายในน้ำได้ จากนั้นเติมเกลือลงไป เพื่อช่วยในการละลายสารเคมีกำจัดแมลงหรือช่วยดูดน้ำส่วนเกินซึ่งเกี่ยวข้องกับกลไก Salting-out คือ การลดการละลายในน้ำด้วยการใช้เกลือที่มีความเข้มข้นสูง (รัตนานพน์) ตามด้วยขั้นตอนการกำจัดเมทริกซ์ของตัวอย่างโดยใช้ตัวดูดซับ (Clean-up) ซึ่งในงานวิจัยนี้ได้มีการศึกษาปัจจัยที่ส่งผลต่อวิธีการสกัดตัวอย่างด้วยเทคนิค QuEChERS ได้แก่ ปริมาตรตัวอย่าง ปริมาตรตัวทำละลาย และชนิดของเกลือ ( $MgSO_4$ ,  $Na_2SO_4$ ,  $Na_2CO_3$  และ  $MgSO_4+Na_2CO_3$ )

- ปริมาณตัวอย่าง และปริมาตรตัวทำละลาย

ศึกษาตามวิธีมาตรฐานของ AOAC Method 2007.01 ที่ใช้ปริมาณของตัวอย่าง 15 กรัม และปริมาตรของตัวทำละลาย 15 มิลลิลิตร และวิธีมาตรฐานของ CEN Method 15662 ที่ใช้ปริมาณของตัวอย่าง 10 กรัม และปริมาตรของตัวทำละลาย 10 มิลลิลิตร โดยใช้ตัวทำละลายเป็น 1% กรดอะซิติกในอะซิโตไนไตรล์ ในการทดลองศึกษาตัวอย่างที่ผ่านการสกัดตามหัวข้อ 3.4.6 และเปรียบเทียบประสิทธิภาพของเกลือจากค่าร้อยละการกลับคืน (%Recovery)

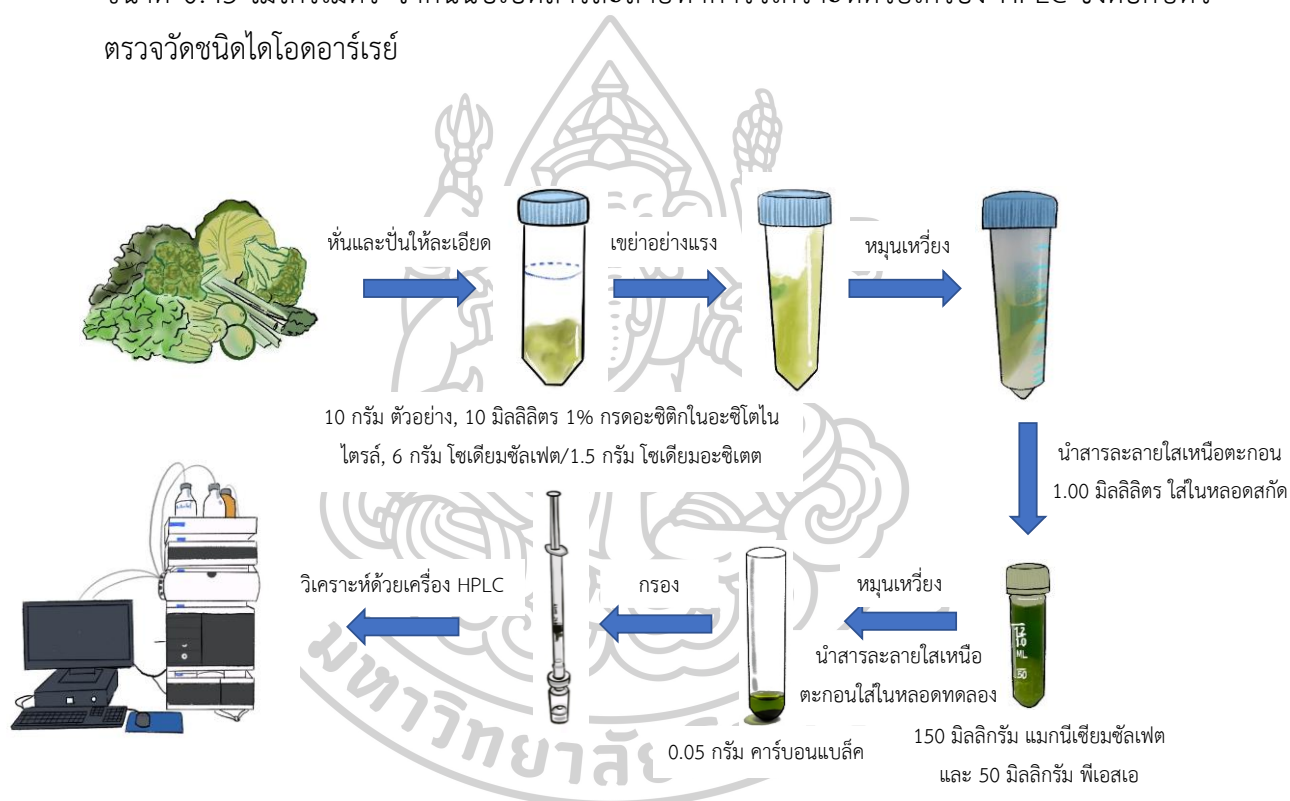
- ชนิดของเกลือที่ใช้ในการสกัดตัวอย่าง

ศึกษาชนิดของเกลือที่ช่วยในการแยกเฟสและขจัดน้ำออกจากตัวอย่าง โดยใช้เกลือ 3 ชนิดที่แตกต่างกัน ได้แก่  $MgSO_4$ ,  $Na_2SO_4$ ,  $Na_2CO_3$  และเกลือผสมระหว่าง  $MgSO_4$  กับ  $Na_2CO_3$  ในการทดลองศึกษาตัวอย่างที่ผ่านการสกัดตามหัวข้อ 3.4.6 และเปรียบเทียบประสิทธิภาพของเกลือจากค่าร้อยละการกลับคืน (%Recovery)

### 3.4.6 การสกัดตัวอย่างด้วยเทคนิค QuEChERS (ปรับปรุงจากวิธี AOAC Method 2007.01)

นำตัวอย่างผักและผลไม้ 33 ตัวอย่าง ได้แก่ กระชาย กล้วยน้ำว้า กะหล่ำปลี กะเพรา ขาว ข้าวโพดอ่อน ชিং ข่า ขึ้นฉ่าย คะน้า แครอท ตะไคร้ แตงกวา ต้นหอม ถั่วงอก ถั้วฝักยาว ถั้วพู่ ผักกาดแก้ว ผักกาดขาว ผักชีไทย ผักชีฝรั่ง ผักบั้งจีน ฝรั่งกิมจู พริก พริก พักทอง มะเขือเทศ มะนาว มะระขี้นก ลองกอง หอมใหญ่ หัวไชเท้า โหระพา และแอปเปิ้ล ซึ่งซื้อจากตลาด Silpakorn Green Market หั่นเป็นชิ้นและปั่นให้ละเอียดด้วยเครื่องปั่นนำตัวอย่าง 10.0000 กรัม ใส่ในหลอดหมุนเหวี่ยงขนาด 50.0 มิลลิลิตร เติม 1% กรดอะซิติกในอะซิโตไนไตรล์ 10.00 มิลลิลิตร, 6 กรัม (ศึกษาชนิดของเกลือ : แมกนีเซียม

ซัลเฟต โซเดียมซัลเฟต โซเดียมคาร์บอเนต และแมกนีเซียมซัลเฟต+โซเดียมคาร์บอเนต) และ 1.5 กรัม โซเดียมอะซิเตต จากนั้นเขย่าด้วยเครื่องวอเทคมิเซอร์ 1 นาที แล้วนำไปหมุนเหวี่ยงที่ความเร็ว 3,000 รอบ/นาที เป็นเวลา 10 นาที จากนั้นนำสารละลายชั้นบน (Supernatant) 1.00 มิลลิลิตร ใส่ลงในหลอดสกัดขนาด 2 มิลลิลิตร (150 มิลลิกรัม แมกนีเซียมซัลเฟตและ 50 มิลลิกรัม พีเอสเอ) เขย่าด้วยเครื่องวอเทคมิเซอร์ต่ออีก 1 นาที นำไปหมุนเหวี่ยงที่ความเร็ว 3,000 รอบ/นาที เป็นเวลา 10 นาที จากนั้นนำสารละลายชั้นบนใส่ในหลอดทดลองที่มี 0.05 กรัม คาร์บอนแบล็คเพื่อกำจัดคลอโรฟิลล์ออกจะได้สารละลายใสไม่มีสี สารละลายที่ได้ถูกกรองผ่านตัวกรองสำหรับหลอดฉีดยาขนาด 0.45 ไมโครเมตร จากนั้นปิเปตสารละลายทำการวิเคราะห์ด้วยเครื่อง HPLC ซึ่งต่อกับตัวตรวจวัดชนิดไดโอดอาร์เรย์

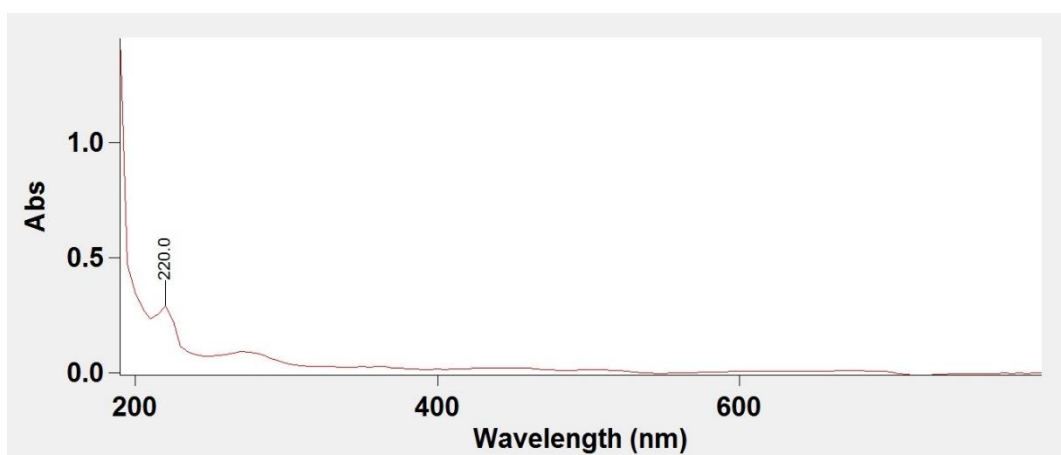


ภาพที่ 14 แผนภาพแสดงการวิเคราะห์หาปริมาณคาร์โบฟูราน คาร์บาริล และเมโทมิลในตัวอย่างผักและผลไม้ด้วยเทคนิค QUECHERS และเทคนิคโครมาโทกราฟีของเหลวสมรรถนะสูง ซึ่งต่อกับตัวตรวจวัดชนิดไดโอดอาร์เรย์

## บทที่ 4

### ผลการทดลองและอภิปรายผลการทดลอง

#### 4.1 การศึกษาความยาวคลื่นที่เหมาะสมสำหรับการวิเคราะห์หาปริมาณคาร์โบฟูราน คาร์บาริล และเมโทมิลด้วยเครื่องอัลตราไวโอเล็ต-วิสิเบิลสเปกโทรโฟโตมิเตอร์



ภาพที่ 15 สเปกตรัมการดูดกลืนแสงของสารละลายมาตรฐานผสมระหว่างคาร์โบฟูราน คาร์บาริล และเมโทมิลที่ความเข้มข้น 200 ไมโครกรัม/ลิตร

จากค่าความยาวคลื่นของการดูดกลืนแสงของสารละลายมาตรฐานผสมระหว่างคาร์โบฟูราน คาร์บาริล และเมโทมิลที่ความเข้มข้น 200 ไมโครกรัม/ลิตร พบว่าความยาวคลื่นที่เหมาะสมคือ 220 นาโนเมตร เนื่องจากให้ค่าการดูดกลืนแสงสูงที่สุด ดังนั้นในงานวิจัยนี้จึงใช้ความยาวคลื่นที่ 220 นาโนเมตรที่ส่วนของตัวตรวจวัดชนิดไดโอดอาร์เรย์ของเครื่องโครมาโทกราฟของเหลวสมรรถนะสูง ในการตรวจวัดหาปริมาณคาร์โบฟูราน คาร์บาริล และเมโทมิล ซึ่งในงานวิจัยของคุณ Cid, A. P. *et al.* (2006) ได้ทำการตรวจวัดหาปริมาณคาร์โบฟูราน คาร์บาริล และเมโทมิลในตัวอย่างดินจากแปลงเกษตรและน้ำจากแม่น้ำที่ความยาวคลื่น 220 นาโนเมตรเช่นกัน

หมายเหตุ UV Cut-offs ของน้ำ และอะซิโตนไตรล คือ 180 และ 190 นาโนเมตร ตามลำดับ

([https://www.chiralabsxl.com/UV-Vis\\_Solvents.html](https://www.chiralabsxl.com/UV-Vis_Solvents.html))

## 4.2 การศึกษาสภาวะที่เหมาะสมสำหรับการวิเคราะห์คาร์โบฟูราน คาร์บาริล และเมโทมิลด้วยเทคนิคโครมาโทกราฟีของเหลวสมรรถนะสูง ซึ่งต่อกับตัวตรวจวัดชนิดไดโอดอาร์เรย์

### 4.2.1 อัตราส่วนตัวทำละลายผสมระหว่างอะซิโตนไตรลต์่อน้ำ

การศึกษาอัตราส่วนตัวทำละลายผสมระหว่างอะซิโตนไตรลต์่อน้ำเพื่อใช้เป็นเฟสเคลื่อนที่ ทำการทดลองโดยเตรียมสารละลายมาตรฐานคาร์โบฟูราน คาร์บาริล และเมโทมิลที่ความเข้มข้น 200 ไมโครกรัม/ลิตร โดยศึกษาอัตราส่วนตัวทำละลายผสมระหว่างอะซิโตนไตรลต์่อน้ำ ดังนี้ 30:70, 35:65, 40:60, 45:55, 50:50, 55:45, 60:40, 65:35 และ 70:30 โดยปริมาตร หลังจากนั้นนำไปวิเคราะห์ด้วยเทคนิคโครมาโทกราฟีของเหลวสมรรถนะสูง ซึ่งต่อกับตัวตรวจวัดชนิดไดโอดอาร์เรย์ โดยฉีดซ้ำ 3 ครั้ง ที่อัตราการไหล 1.00 มิลลิลิตร/นาที จากนั้นพิจารณาโครมาโทแกรม (Chromatograms) และเวลาที่คาร์โบฟูราน คาร์บาริล และเมโทมิลเคลื่อนที่ออกจากคอลัมน์ (Retention time,  $t_R$ ) จากผลการทดลองพบว่า เวลาที่คาร์โบฟูราน คาร์บาริล และเมโทมิลเคลื่อนที่ออกจากคอลัมน์ที่อัตราส่วนตัวทำละลายผสมระหว่างอะซิโตนไตรลต์่อน้ำ 30:70, 35:65, 40:60 และ 45:55 สามารถแยกเมโทมิลได้ แต่สารใช้เวลาในการเคลื่อนที่ออกจากคอลัมน์นาน ทำให้เสียเวลาในการวิเคราะห์ และเมื่อพิจารณาเวลาที่เมโทมิลเคลื่อนที่ออกจากคอลัมน์ที่อัตราส่วนตัวทำละลายผสมระหว่างอะซิโตนไตรลต์่อน้ำ 55:45, 60:40 และ 65:35 ไม่สามารถแยกคาร์โบฟูรานกับคาร์บาริลได้ เนื่องจากพีคของคาร์โบฟูรานกับคาร์บาริลชิดกันมาก โดยมีค่า resolution เท่ากับ  $0.77 \pm 0.0058$ ,  $0.63 \pm 0.00$  และ  $0.87 \pm 0.0058$  ตามลำดับ และที่อัตราส่วนตัวทำละลายผสมระหว่างอะซิโตนไตรลต์่อน้ำ 70:30 สามารถแยกสารละลายมาตรฐานคาร์โบฟูราน คาร์บาริล และเมโทมิล แต่พีคของสารละลายมาตรฐานคาร์บาริลนั้นไม่สมมาตร โดยมีค่า Peak symmetry เท่ากับ  $1.67 \pm 0.00$  จึงเป็นอัตราส่วนของเฟสเคลื่อนที่ที่ไม่เหมาะสม ดังนั้นอัตราส่วนตัวทำละลายผสมระหว่างอะซิโตนไตรลต์่อน้ำที่ 50:50 จึงเป็นอัตราส่วนที่เหมาะสมในการแยกคาร์โบฟูราน คาร์บาริล และเมโทมิล สำหรับงานวิจัยนี้ โดยคาร์โบฟูราน คาร์บาริล และเมโทมิลใช้เวลาในการเคลื่อนที่ออกจากคอลัมน์ได้รวดเร็วที่  $t_R$  เท่ากับ  $2.197 \pm 0.001$ ,  $2.416 \pm 0.001$  และ  $1.150 \pm 0.000$  ตามลำดับ และมีค่า Resolution ของคาร์โบฟูรานกับคาร์บาริล เท่ากับ  $1.87 \pm 0.011$  (ค่า Resolution มีค่าเท่ากับ 1.5 พีคสามารถแยกออกจากกันได้สมบูรณ์, ธวัชชัย ศรีวิบูลย์ (2554)) ผลของอัตราส่วนตัวทำละลายผสมระหว่างอะซิโตนไตรลต์่อน้ำ ต่อค่า Retention time แสดงดังตารางที่ 10 และภาพที่ 16 ในงานวิจัยของคุณ Cid, A. P. *et al.* (2006) รายงานการหาปริมาณคาร์บาริล คาร์โบฟูราน และเมโทมิล ในตัวอย่างดินจากแปลงเกษตรและตัวอย่างน้ำจากแม่น้ำด้วยเทคนิค HPLC โดยใช้อัตราส่วนตัวทำละลายผสมระหว่างอะซิโตนไตรลต์่อน้ำ 50:50 (โดยปริมาตร) งานวิจัยของคุณ Abad, A. *et al.* (1999) รายงานการหา

ปริมาณคาร์บาริลและคาร์โบฟูรานด้วยเทคนิค HPLC ในตัวอย่างแตงกวาและสตรอว์เบอร์รี่ โดยใช้ อัตราส่วนตัวทำละลายผสมระหว่างเมทานอลต่อน้ำ 10:90 (โดยปริมาตร)

**ตารางที่ 10** ผลของอัตราส่วนตัวทำละลายผสมระหว่างอะซิโตไนไตรล์ต่อน้ำ ต่อค่า Retention time ของสารละลายมาตรฐานคาร์โบฟูราน คาร์บาริล และเมโทมิล ความเข้มข้น 200 ไมโครกรัม/ลิตร (n=3)

อัตราส่วนตัวทำละลายผสม ระหว่าง acetonitrile: water	ค่า Retention time ของคาร์โบฟูราน (min) $\pm$ SD	ค่า Retention time ของคาร์บาริล (min) $\pm$ SD	ค่า Retention time ของเมโทมิล (min) $\pm$ SD
30:70	7.228 $\pm$ 0.005	9.370 $\pm$ 0.005	1.541 $\pm$ 0.004
35:65	4.921 $\pm$ 0.004	6.031 $\pm$ 0.005	1.400 $\pm$ 0.000
40:60	3.594 $\pm$ 0.002	4.211 $\pm$ 0.002	1.296 $\pm$ 0.001
45:55	2.791 $\pm$ 0.002	3.161 $\pm$ 0.002	1.220 $\pm$ 0.000
50:50	2.197 $\pm$ 0.001	2.416 $\pm$ 0.001	1.150 $\pm$ 0.000
55:45	1.876 $\pm$ 0.000	2.013 $\pm$ 0.001	1.106 $\pm$ 0.000
60:40	1.646 $\pm$ 0.001	1.737 $\pm$ 0.001	1.070 $\pm$ 0.000
65:35	1.465 $\pm$ 0.001	1.541 $\pm$ 0.000	1.038 $\pm$ 0.000
70:30	1.014 $\pm$ 0.001	1.395 $\pm$ 0.001	0.782 $\pm$ 0.001

#### 4.2.2 อัตราการไหลของเฟสเคลื่อนที่

การศึกษาอัตราการไหลของตัวทำละลายผสมระหว่างอะซิโตไนไตรล์ต่อน้ำ (50:50 โดยปริมาตร) ซึ่งใช้เป็นเฟสเคลื่อนที่ ทำการทดลองโดยเตรียมสารละลายมาตรฐานคาร์โบฟูราน คาร์บาริล และเมโทมิลที่ความเข้มข้น 200 ไมโครกรัม/ลิตร โดยศึกษาอัตราการไหลที่ 1.00, 1.20, 1.25, 1.30, 1.40, 1.50, 1.60, 1.70, 1.75 และ 1.80 มิลลิลิตร/นาที หลังจากนั้นนำไปวิเคราะห์ด้วยเครื่องโครมาโทกราฟของเหลวสมรรถสูง โดยฉีด 3  $\mu$ l พิจารณาโครมาโทแกรมและเวลาที่คาร์โบฟูราน คาร์บาริล และเมโทมิลเคลื่อนที่ออกจากคอลัมน์ จากผลการทดลองพบว่าเมื่อเพิ่มอัตราการไหลของเฟสเคลื่อนที่ สารจะเคลื่อนที่ออกจากคอลัมน์เร็วขึ้น โดยที่อัตราการไหล 1.75 มิลลิลิตร/นาที มีค่า Resolution ระหว่างคาร์โบฟูราน และคาร์บาริลดีที่สุด ซึ่งมีค่าเท่ากับ  $2.00 \pm 0.015$  ส่วนที่อัตราการไหล 1.80 มิลลิลิตร/นาที ให้ค่า Resolution ระหว่างคาร์โบฟูรานและคาร์บาริล เท่ากับ  $1.50 \pm 0.0058$  ซึ่งพีคทั้งสองสามารถแยกออกกันได้สมบูรณ์ (Resolution มีค่าเท่ากับ 1.5 พีคจะสามารถแยกออกจากกันได้สมบูรณ์, (ศรีวิบูลย์, 2011)) โดยในงานวิจัยของคุณ Cid, A. P. *et al.*

(2006) ศึกษาการหาปริมาณคาร์บาริล คาร์โบฟูราน และเมโทมิล ในดินจากแปลงเกษตรและน้ำจากแม่น้ำ ด้วยอัตราการไหลของเฟสเคลื่อนที่ 1.0 มิลลิลิตร/นาที่ งานวิจัยของคุณ Abad, A. *et al.* (1999) ศึกษาการหาปริมาณคาร์บาริลและคาร์โบฟูราน ในแตงกวาและสตอร์เบอร์รี่ ด้วยอัตราการไหลของเฟสเคลื่อนที่ 1.5 มิลลิลิตร/นาที่ โดยอัตราการไหลมีผลต่อเวลาในการวิเคราะห์ตัวอย่าง ดังนั้นผู้วิจัยจึงเลือกอัตราการไหลของเฟสเคลื่อนที่ 1.75 มิลลิลิตร/นาที่ เป็นอัตราการไหลที่เหมาะสมสำหรับการแยกคาร์โบฟูราน คาร์บาริล และเมโทมิลสำหรับงานวิจัยนี้ ซึ่งใช้เวลาในการวิเคราะห์คาร์โบฟูราน คาร์บาริล และเมโทมิลน้อยกว่าในงานวิจัยของคุณ Cid, A. P. *et al.* (2006) และคุณ Abad, A. *et al.* (1999) โดยผลของอัตราการไหลของเฟสเคลื่อนที่ต่อค่า Retention time แสดงดังตารางที่ 11, 12 และภาพที่ 17

**ตารางที่ 11** ผลของอัตราการไหลของเฟสเคลื่อนที่ต่อค่า Retention time ของสารละลายมาตรฐาน คาร์โบฟูราน คาร์บาริล และเมโทมิล ที่ความเข้มข้น 200 ไมโครกรัม/ลิตร (n=3)

Flow rate (mL/min)	ค่า Retention time ของคาร์โบฟูราน (min) $\pm$ SD	ค่า Retention time ของคาร์บาริล (min) $\pm$ SD	ค่า Retention time ของเมโทมิล (min) $\pm$ SD
1.00	3.726 $\pm$ 0.003	4.085 $\pm$ 0.002	1.986 $\pm$ 0.001
1.20	3.112 $\pm$ 0.002	3.412 $\pm$ 0.001	1.658 $\pm$ 0.000
1.25	2.983 $\pm$ 0.001	3.269 $\pm$ 0.001	1.592 $\pm$ 0.000
1.30	2.871 $\pm$ 0.001	3.145 $\pm$ 0.001	1.531 $\pm$ 0.000
1.40	2.662 $\pm$ 0.001	2.917 $\pm$ 0.001	1.422 $\pm$ 0.000
1.50	2.477 $\pm$ 0.001	2.713 $\pm$ 0.001	1.326 $\pm$ 0.001
1.60	2.320 $\pm$ 0.000	2.540 $\pm$ 0.001	1.244 $\pm$ 0.000
1.70	2.225 $\pm$ 0.001	2.441 $\pm$ 0.001	1.179 $\pm$ 0.000
1.75	2.197 $\pm$ 0.001	2.416 $\pm$ 0.001	1.156 $\pm$ 0.000
1.80	2.099 $\pm$ 0.000	2.303 $\pm$ 0.001	1.113 $\pm$ 0.000



ตารางที่ 12 ผลของอัตราการไหลของเฟสเคลื่อนที่ต่อค่า Resolution ระหว่างสารละลายมาตรฐาน คาร์โบฟูราน และคาร์บาริล ที่ความเข้มข้น 200 ไมโครกรัม/ลิตร (n=3)

Flow rate (mL/min)	Resolution
1.00	1.45±0.02
1.20	1.57±0.01
1.25	1.58±0.01
1.30	1.58±0.01
1.40	1.56±0.01
1.50	1.54±0.01
1.60	1.51±0.01
1.70	1.51±0.01
1.75	2.00±0.01
1.80	1.50±0.01

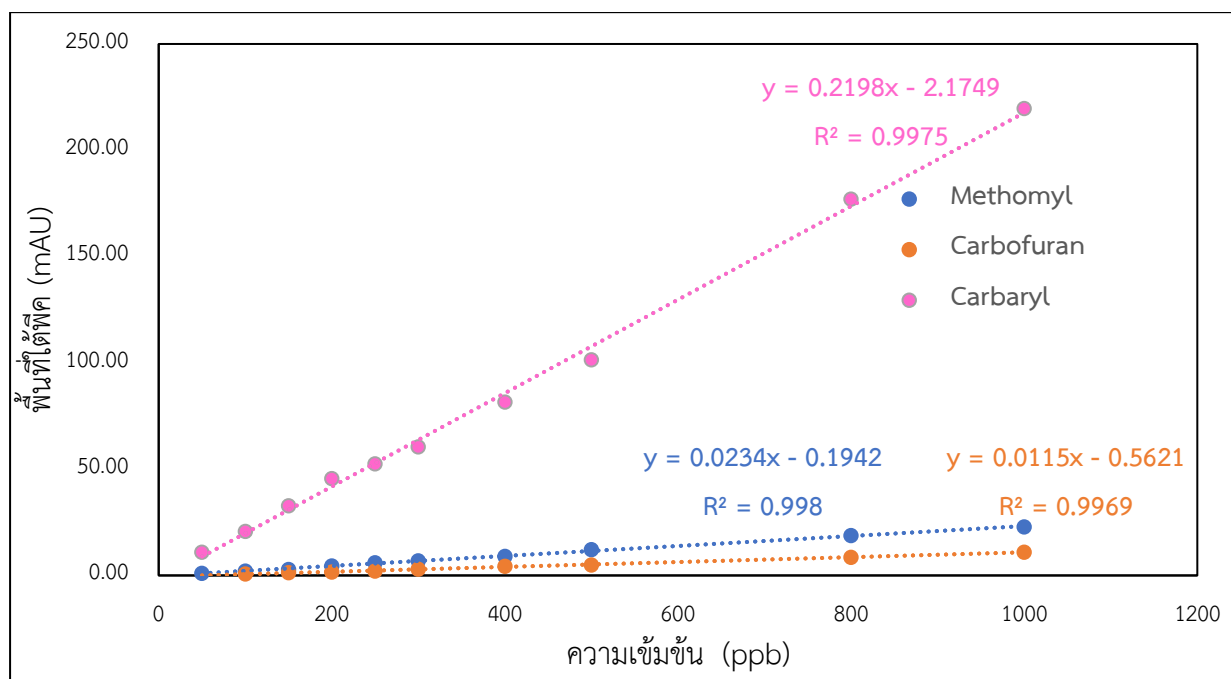
#### 4.3 การศึกษาความใช้ได้ของเครื่องมือ

ตารางที่ 13 สภาวะที่เหมาะสมของเทคนิคโครมาโทกราฟีของเหลวสมรรถนะสูงในการวิเคราะห์ คาร์โบฟูราน คาร์บาริล และเมโทมิล

สภาวะที่ใช้ทดลอง	
เฟสเคลื่อนที่ (อะซีโตนไนโตรล์ต่อน้ำ)	50:50 โดยปริมาตร
อัตราการไหล (มิลลิลิตร/นาที)	1.750
การ์ดคอลัมน์	C-18 (4.6x12.5 mm, 5 µm)
คอลัมน์	C18 (4.6x150 mm, 5 µm)
ความยาวคลื่น (นาโนเมตร) ของส่วนของตัวตรวจวัดชนิดไดโอดอาร์เรย์	220

### 4.3.1 การศึกษาช่วงความเป็นเส้นตรง (Linearity)

การศึกษาช่วงความเป็นเส้นตรง ทำการทดลองโดยเตรียมสารละลายมาตรฐานสำหรับใช้งาน จากนั้นนำไปวิเคราะห์ด้วยเครื่องโครมาโทกราฟของเหลวสมรรถนะสูง โดยฉีดซ้ำ 3 ครั้ง และนำค่าพื้นที่ใต้พีค และความเข้มข้นของสารละลายมาตรฐานคาร์โบฟูราน คาร์บาริล และเมโทมิลมาพล็อตกราฟ เพื่อสร้างกราฟมาตรฐาน ผลการทดลองแสดงดังภาพที่ 18



ภาพที่ 16 กราฟความสัมพันธ์ระหว่างความเข้มข้นของสารละลายมาตรฐานคาร์โบฟูราน คาร์บาริล และเมโทมิล (ไมโครกรัม/ลิตร) แกน X และพื้นที่ใต้พีค (mAU) แกน Y

จากผลการทดลองเมื่อพิจารณาภาพที่ 18 เป็นการพล็อตกราฟระหว่างความเข้มข้นของสารละลายมาตรฐานคาร์โบฟูราน คาร์บาริล และเมโทมิล (ไมโครกรัม/ลิตร) และพื้นที่ใต้พีค (mAU) ได้สมการเส้นตรงของคาร์โบฟูราน คือ  $y = 0.0115x - 0.5621$  มีค่า  $r^2 = 0.9969$  สมการเส้นตรงของคาร์บาริล คือ  $y = 0.2198x - 2.1749$  มีค่า  $r^2 = 0.9975$  และสมการเส้นตรงของเมโทมิล คือ  $y = 0.0234x - 0.1942$  มีค่า  $r^2 = 0.998$  ซึ่งแสดงช่วงความเป็นเส้นตรงที่ความเข้มข้น 100-1,000 ไมโครกรัม/ลิตร, 50-1,000 ไมโครกรัม/ลิตร และ 50-1,000 ไมโครกรัม/ลิตร ตามลำดับ โดยช่วงความเป็นเส้นตรงของคาร์โบฟูราน คาร์บาริล และเมโทมิลได้มีช่วงความเข้มข้นที่กว้าง และอยู่ในช่วงของปริมาณสารพิษตกค้างสูงสุดที่ประกาศโดยกระทรวงสาธารณสุข (2560) ซึ่งอยู่ในช่วง 0.02-5 มิลลิกรัม/ลิตร

#### 4.3.2 การศึกษาค่าขีดจำกัดของการตรวจพบ

นำสารละลายมาตรฐานคาร์บาซิลและเมโทมิลที่ความเข้มข้น 50 ไมโครกรัม/ลิตร และสารละลายมาตรฐานคาร์โบฟูรานที่ความเข้มข้น 100 ไมโครกรัม/ลิตร มาวิเคราะห์ด้วยเครื่องโครมาโทกราฟของเหลวสมรรถนะสูง โดยฉีดซ้ำ 10 ครั้ง จากนั้นนำพื้นที่ใต้พีคและความเข้มข้นของคาร์โบฟูราน คาร์บาซิล และเมโทมิลมาคำนวณหาค่าขีดจำกัดของการตรวจพบด้วยวิธีตามข้อ 3.4.4 จากผลการทดลองพบว่าค่าขีดจำกัดของการตรวจพบ มีค่าเท่ากับ 56.32, 11.31 และ 11.80 ไมโครกรัม/ลิตร ตามลำดับ ซึ่งมีค่าอยู่ในช่วงของปริมาณสารพิษตกค้างสูงสุดที่กำหนดโดยกระทรวงสาธารณสุข (2556) ซึ่งอยู่ในช่วง 0.02-5 มิลลิกรัม/ลิตร

#### 4.3.3 การศึกษาค่าขีดจำกัดของการวัดเชิงปริมาณ

นำสารละลายมาตรฐานคาร์บาซิลและเมโทมิลที่ความเข้มข้น 50 ไมโครกรัม/ลิตร และสารละลายมาตรฐานคาร์โบฟูรานที่ความเข้มข้น 100 ไมโครกรัม/ลิตร มาวิเคราะห์ด้วยเครื่องโครมาโทกราฟของเหลวสมรรถนะสูง โดยฉีดซ้ำ 10 ครั้ง จากนั้นนำพื้นที่ใต้พีคและความเข้มข้นของคาร์โบฟูราน คาร์บาซิล และเมโทมิลมาคำนวณหาค่าขีดจำกัดของการวัดเชิงปริมาณด้วยวิธีตามข้อ 3.4.4 ผลการทดลองพบว่าค่าขีดจำกัดของการวัดเชิงปริมาณ มีค่าเท่ากับ 73.67, 14.60 และ 19.95 ไมโครกรัม/ลิตร ตามลำดับ ซึ่งมีค่าอยู่ในช่วงของปริมาณสารพิษตกค้างสูงสุดที่กำหนดโดยกระทรวงสาธารณสุข (2560) ซึ่งอยู่ในช่วง 0.02-5 มิลลิกรัม/ลิตร

#### 4.3.4 การศึกษาความเที่ยงตรงของวิธี (Precision)

จากผลการทดลองเมื่อพิจารณาค่า %RSD ของพื้นที่ใต้พีคและ Retention time ของสารละลายมาตรฐานคาร์โบฟูราน คาร์บาซิล และเมโทมิลที่ความเข้มข้น 50, 500 และ 1,000 ไมโครกรัม/ลิตร ดังตารางที่ 14 และตารางที่ 15 โดยพบว่าค่า %RSD ที่ได้นั้นอยู่ในเกณฑ์ที่ยอมรับได้ โดยมีค่าน้อยกว่า 10 (Analysis, 2016) แสดงให้เห็นว่าการวิเคราะห์หาปริมาณคาร์โบฟูราน คาร์บาซิล และเมโทมิลโดยใช้เทคนิค HPLC มีความเที่ยงตรงสูง โดย %RSD จาก Intraday จะให้ค่าที่ต่ำกว่า Interday ซึ่งอาจเกิดจากการเตรียมสารมาตรฐานของผู้วิจัยที่ต้องเตรียมใหม่ทุกวัน (Human Error) โดยในงานวิจัยของคุณ Abad, A. *et al.* (1999) ตรวจหาปริมาณคาร์บาซิลและคาร์โบฟูรานในตัวอย่างแตงกวาและสตรอว์เบอร์รี่ ได้ %RSD ในช่วง 3.2-19.6% และงานวิจัยของคุณ Wei, G. *et al.* (2007) ตรวจหาปริมาณเมโทมิลในตัวอย่างน้ำธรรมชาติได้ %RSD เท่ากับ 2.6%

ตารางที่ 14 ความเที่ยงตรงของวิธีแบบ Intraday ที่มีผลต่อ %RSD ของพื้นที่ใต้พีค (n=10)

ความเข้มข้น (ppb)	พื้นที่ใต้พีคเฉลี่ย (mAU)			%RSD		
	คาร์โบฟูราน	คาร์บาริล	เมโทมิล	คาร์โบฟูราน	คาร์บาริล	เมโทมิล
50	-	10.69±0.56	0.86±0.046	-	5.24	5.35
500	6.60±0.29	93.81±2.39	8.44±0.41	4.38	2.55	4.84
1,000	10.15±0.40	174.37±3.63	17.00±.34	3.92	2.08	2.01

ตารางที่ 15 ความเที่ยงตรงของวิธีแบบ Interday ที่มีผลต่อ %RSD ของพื้นที่ใต้พีค (n=10)

ความเข้มข้น (ppb)	พื้นที่ใต้พีคเฉลี่ย (mAU)			%RSD		
	คาร์โบฟูราน	คาร์บาริล	เมโทมิล	คาร์โบฟูราน	คาร์บาริล	เมโทมิล
50	-	9.72±0.74	0.82±0.057	-	8.45±2.26	6.97±4.46
500	6.28±0.32	86.18±4.04	8.74±0.66	7.57±2.41	8.28±5.21	4.35±1.09
1,000	10.68±0.47	155.89±10.47	16.69±0.22	5.73±2.01	9.78±5.81	3.04±0.86

#### 4.3.5 การศึกษาค่าร้อยละการกลับคืน (%Recovery)

นำตัวอย่างผักกาดขาว ผรั่ง มะเขือเทศ หัวไชเท้า และแอปเปิ้ลที่ปั่นละเอียดมา 10.0000 กรัม ใส่ในหลอดหมุนเหวี่ยงขนาด 50.0 มิลลิลิตร จากนั้นเติม (Spike) สารละลายมาตรฐานคาร์บาริล คาร์โบฟูราน และเมโทมิลที่ความเข้มข้น 100 มิลลิกรัม/ลิตร ปริมาตร 200 ไมโครกรัม/ลิตร ทำตามขั้นตอนการสกัดตัวอย่างด้วยเทคนิค QuEChERS แล้วนำสารที่สกัดได้ไปวิเคราะห์ด้วยเครื่อง HPLC โดยฉีดซ้ำ 3 ครั้ง และคำนวณหาค่าร้อยละการกลับคืน จากผลการทดลองเมื่อพิจารณาค่า %Recovery ของตัวอย่างพบว่า มี %Recovery ของคาร์บาริล คาร์โบฟูราน และเมโทมิล อยู่ในช่วง 68.45±15.01-109.57±32.33% ซึ่งถือว่ามี %Recovery อยู่ในเกณฑ์ที่ดี เนื่องจากมีค่าอยู่ในช่วง 60-115% (Analysis, 2016) ค่าร้อยละการกลับคืนแสดงดังตารางที่ 16

ตารางที่ 16 ค่าร้อยละการกลับคืนของตัวอย่างผักกาดขาว ฝรั่ง มะเขือเทศ หัวไชเท้า และแอปเปิ้ล

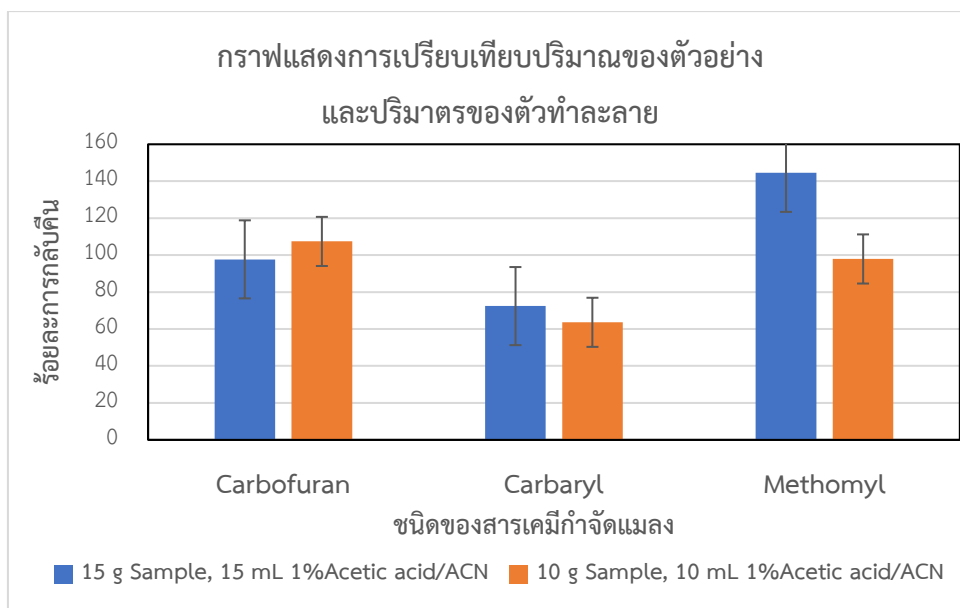
ชนิดของสารเคมีกำจัดแมลง ชนิดของผักและผลไม้	คาร์โบฟูราน	คาร์บาริล	เมโทมิล
ผักกาดขาว	106.86±6.34	99.69±6.66	106.20±10.62
ฝรั่ง	96.54±9.19	68.45±15.01	109.57±32.33
มะเขือเทศ	102.61±52.14	76.27±12.39	77.37±15.99
หัวไชเท้า	93.17±14.31	99.87±7.62	90.91±5.68
แอปเปิ้ล	102.51±3.60	75.48±1.15	100.65±23.77

#### 4.4 การสกัดตัวอย่างด้วยเทคนิค QuEChERS (ปรับปรุงจากวิธี AOAC Method 2007.01)

##### การศึกษาปัจจัยที่มีผลต่อการสกัดด้วยเทคนิค QuEChERS

- ปริมาณของตัวอย่างและปริมาตรของตัวทำละลาย

จากผลการทดลองภาพที่ 19 พบว่า %Recovery จากการศึกษ ปริมาณของตัวอย่าง และปริมาตรของ 1% กรดอะซิติกในอะซิโตไนไตรล์ของคาร์โบฟูราน คาร์บาริล และเมโทมิล พบว่า ในการหาปริมาณเมโทมิลที่ปริมาณของตัวอย่าง 15 กรัม และปริมาตรของ 1% กรดอะซิติกใน อะซิโตไนไตรล์ 15 มิลลิลิตรมีค่า %Recovery ที่สูงถึง 144.54±13.67% ในขณะที่ที่ปริมาณของ ตัวอย่าง 10 กรัม และปริมาตรของ 1% กรดอะซิติกในอะซิโตไนไตรล์ 10 มิลลิลิตรมีค่า %Recovery เท่ากับ 97.92±2.75% ซึ่งมีค่าที่ใกล้เคียง 100% และในส่วนของ การหาปริมาณคาร์บาริล และคาร์โบฟูรานที่ปริมาณของตัวอย่าง 15 กรัม และปริมาตรของ 1% กรดอะซิติกในอะซิโตไนไตรล์ 15 มิลลิลิตรมีค่า %Recovery เท่ากับ 72.41±2.90% และ 97.70±47.98% ตามลำดับ และที่ปริมาณ ของตัวอย่าง 10 กรัม และปริมาตรของ 1% กรดอะซิติกในอะซิโตไนไตรล์ 10 มิลลิลิตรมีค่า %Recovery เท่ากับ 63.63±1.87% และ 107.41±8.01% ตามลำดับ ดังนั้นงานวิจัยนี้เลือกปริมาณ ของตัวอย่าง 10 กรัม และปริมาตรของ 1% กรดอะซิติกในอะซิโตไนไตรล์ 10 มิลลิลิตร ในการสกัด ด้วยเทคนิค QuEChERS



ภาพที่ 17 ผลของปริมาณของตัวอย่าง และปริมาตรของ 1% กรดอะซิติกในอะซิโตนไตริล ต่อค่าร้อยละการกลับคืน (n=3)

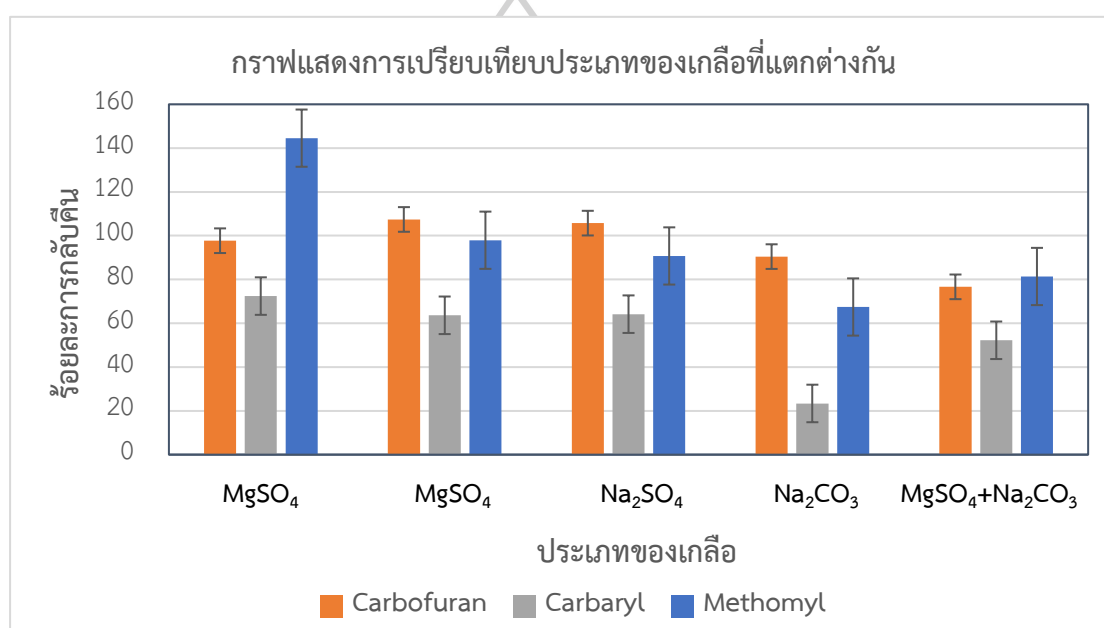
- ชนิดของเกลือที่ใช้ในการสกัดตัวอย่าง

เทคนิคการสกัดแบบ QuEChERS มีขั้นตอนหลัก ๆ 3 ขั้นตอน ได้แก่ ขั้นตอนการเตรียมตัวอย่าง (Sample preparation) การแบ่งละลาย (Partition) และการทำตัวอย่างให้บริสุทธิ์ (Clean-up) การเติมเกลือมีบทบาทสำคัญในขั้นตอนของ Partition ซึ่งจะเกี่ยวข้องกับกลไก Salting out คือ การลดการละลายของสารประกอบอินทรีย์ที่ละลายในน้ำได้ดีด้วยการใช้เกลือที่มีความเข้มข้นสูง ในการทดลองนี้จึงได้มีการศึกษาเกลือ 3 ชนิด ได้แก่  $MgSO_4$ ,  $Na_2SO_4$ ,  $Na_2CO_3$  และเกลือผสมระหว่าง  $MgSO_4$  กับ  $Na_2CO_3$  โดยเปรียบเทียบประสิทธิภาพของเกลือด้วยค่าร้อยละการกลับคืน (%Recovery)

จากผลการทดลองในภาพที่ 20 และตารางที่ 16 พบว่าเกลือ  $MgSO_4$  ให้ประสิทธิภาพการสกัดที่ดีที่สุด โดยมีค่าร้อยละการกลับคืนอยู่ในช่วง 63.81-107.41% เกลือ  $Na_2SO_4$  ให้ผลที่ดีในการสกัดคาร์โบฟูราน คาร์บาริล และเมโทมิลออกมาได้ไม่แตกต่างกับเกลือ  $MgSO_4$  อย่างมีนัยสำคัญที่ความเชื่อมั่น 95% โดยมีค่าร้อยละการกลับคืนอยู่ในช่วง 64.33-105.73% จึงสามารถใช้เกลือ  $Na_2SO_4$  แทนเกลือ  $MgSO_4$  ในการแยกคาร์โบฟูราน คาร์บาริล และเมโทมิลออกได้ ซึ่งใน AOAC Method 2007.01 ได้ใช้เกลือ  $MgSO_4$  ในการสกัด ซึ่งมีราคาที่สูงกว่าเกลือ  $Na_2SO_4$  (200 บาท/1 กก. , บริษัท ยูแอนตวี โฮลดิ้ง (ไทยแลนด์) จำกัด) ดังนั้นงานวิจัยนี้เลือกใช้เกลือ  $Na_2SO_4$  ในการสกัด

ตารางที่ 17 ค่าร้อยละการกลับคืนของชนิดของเกลือที่ใช้ในการสกัดตัวอย่างแตงกวา

ชนิดของสารเคมีกำจัดแมลง ชนิดของเกลือ	คาร์โบฟูราน	คาร์บาริล	เมโทมิล
MgSO <sub>4</sub>	107.41±8.01	63.81±1.86	97.92±2.75
Na <sub>2</sub> SO <sub>4</sub>	105.73±2.73	64.33±3.28	90.73±4.18
Na <sub>2</sub> CO <sub>3</sub>	90.44±12.92	23.62±0.89	67.42±2.32
MgSO <sub>4</sub> +Na <sub>2</sub> CO <sub>3</sub>	76.63±16.47	52.42±4.50	81.34±5.83



ภาพที่ 18 ผลของชนิดของเกลือต่อค่าร้อยละการกลับคืน (n=3)

#### 4.5 การวิเคราะห์หาปริมาณคาร์โบฟูราน คาร์บาริล และเมโทมิลด้วยเทคนิคโครมาโทกราฟีของเหลวสมรรถนะสูง ซึ่งต่อกับตัวตรวจวัดชนิดไดโอดอาร์เรย์ในตัวอย่างผักและผลไม้

การวิเคราะห์หาปริมาณคาร์โบฟูราน คาร์บาริล และเมโทมิลในตัวอย่างผักและผลไม้ 30 ตัวอย่างที่จำหน่ายในตลาด Silpakorn Green Market ได้แก่ กระชาย กล้วยน้ำว้า กะหล่ำปลี กะเพรา ขาว ชিং ข่า ขึ้นฉ่าย คื่นช่าย แครอท ตะไคร้ ต้นหอม ถั่วฝักยาว ถั่วพู ผักกาดแก้ว ผักกาดขาว ผักชีไทย ผักชีฝรั่ง ผักบุ้งจีน ฝรั่งกิมจู พริก พริกทอง มะเขือเทศ มะนาว มะระขี้นก ลองกอง หอมใหญ่ หัวไชเท้า โหระพา และแอปเปิ้ล ทำการทดลองโดยนำสารละลายตัวอย่างที่เตรียมผ่านการสกัดโดยวิธี QuEChERS ที่ศึกษา สภาวะที่เหมาะสมจากข้อ 3.4.6 มาวิเคราะห์ด้วยเทคนิคโครมาโทกราฟีของเหลวสมรรถนะสูงโดยใช้อัตรา ส่วนตัวทำละลายผสมระหว่างอะซิโตนไตริลต่อน้ำ เท่ากับ 50:50 ที่อัตราการไหลของเฟสเคลื่อนที่ 1.750

มิลลิลิตร/นาที่ และตรวจวัดสัญญาณที่ความยาวคลื่น 220 นาโนเมตร จากนั้นนำค่าพื้นที่ใต้พีคของตัวอย่างที่ได้ไปแทนค่าในสมการเส้นตรงของกราฟมาตรฐาน ผลการทดลองแสดงดังตารางที่ 18

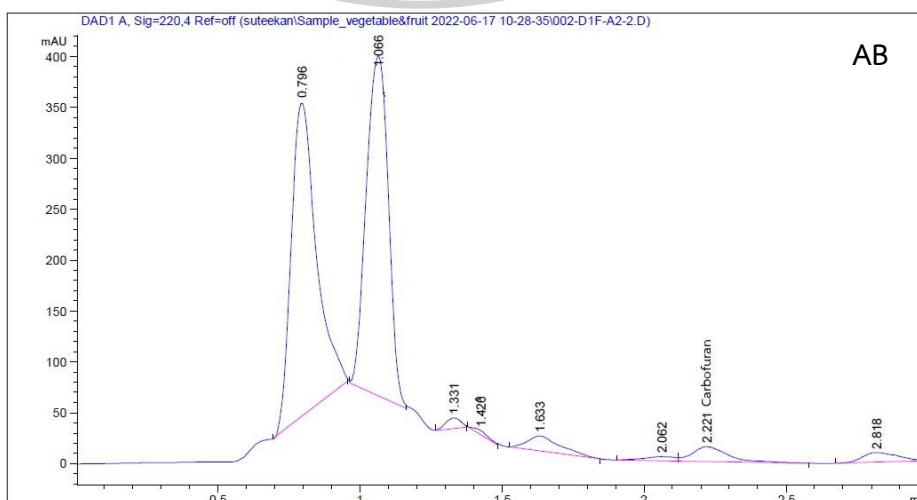
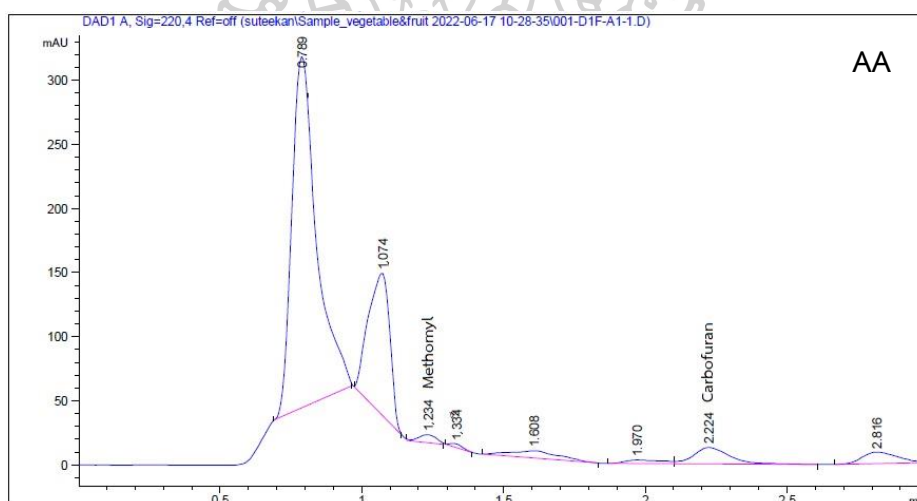
ตารางที่ 18 ปริมาณคาร์โบฟูราน คาร์บาริล และเมโทมิลที่ตรวจพบในตัวอย่างผักและผลไม้

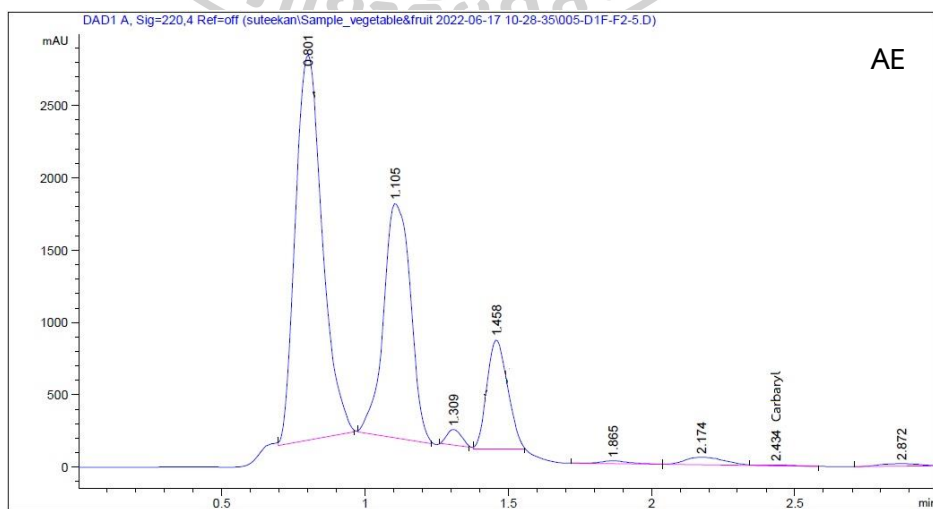
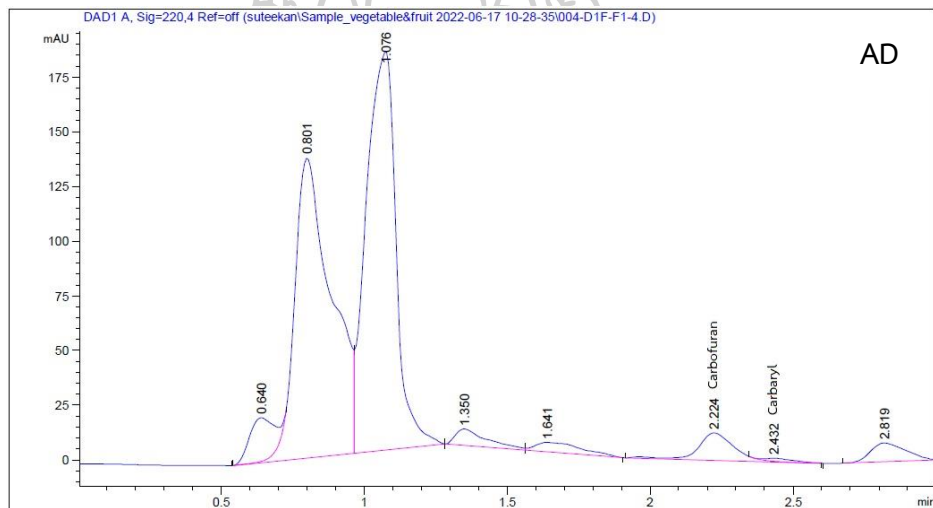
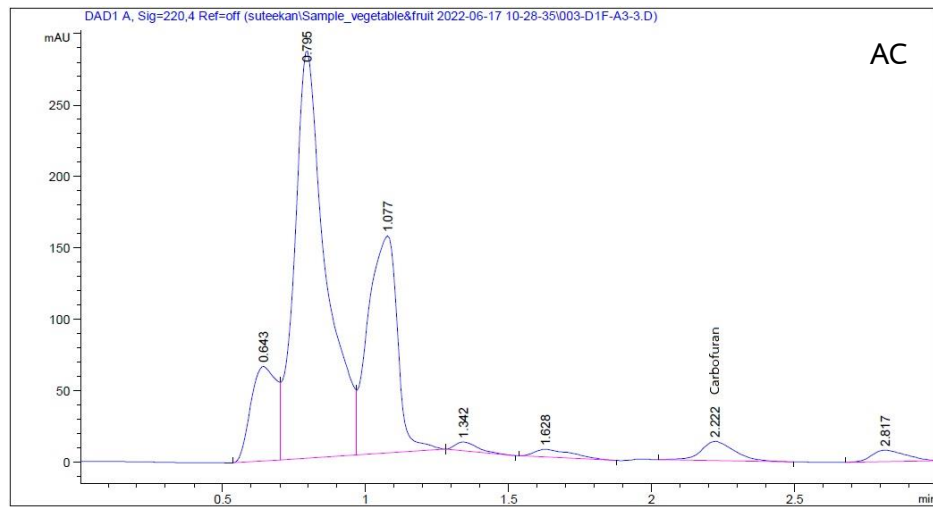
ชนิดของสารเคมีกำจัดแมลง	คาร์โบฟูราน	คาร์บาริล	เมโทมิล
ชนิดของผักและผลไม้			
ถั่วพู	17.45	0.49	99.91
แอปเปิ้ล	9.41	0.05	ND
ผักบุ้งจีน	18.28	0.72	ND
ฝรั่ง	22.75	0.04	ND
มะนาว	5.38	0.14	ND
หัวไชเท้า	5.15	0.18	ND
ตะไคร้	4.47	0.28	ND
ฟัก	10.00	ND	1.18
กระชาย	7.21	ND	69.13
ฟักทอง	11.04	ND	ND
แครอท	9.47	ND	ND
ขึ้นฉ่าย	9.59	ND	ND
กล้วย	24.62	ND	ND
คะน้า	15.03	ND	ND
โหระพา	10.45	ND	ND
กะเพรา	8.78	ND	ND
มะเขือเทศ	9.81	ND	ND
ผักชีฝรั่ง	11.44	ND	ND
ถั่วงอก	5.97	ND	ND
ผักกาดแก้ว	5.90	ND	ND
หอมใหญ่	8.04	ND	ND
ขิง	32.50	ND	ND
ผักกาดขาว	10.74	ND	ND
ข่า	8.51	ND	ND

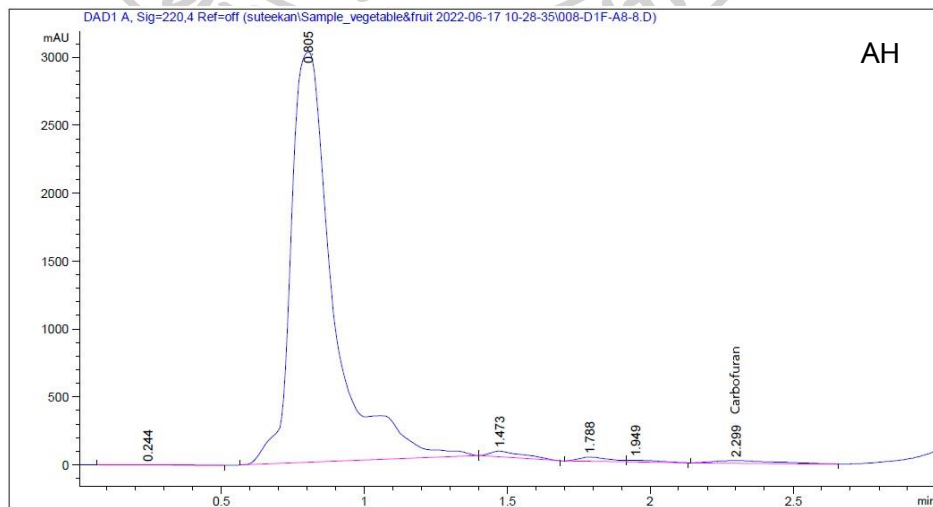
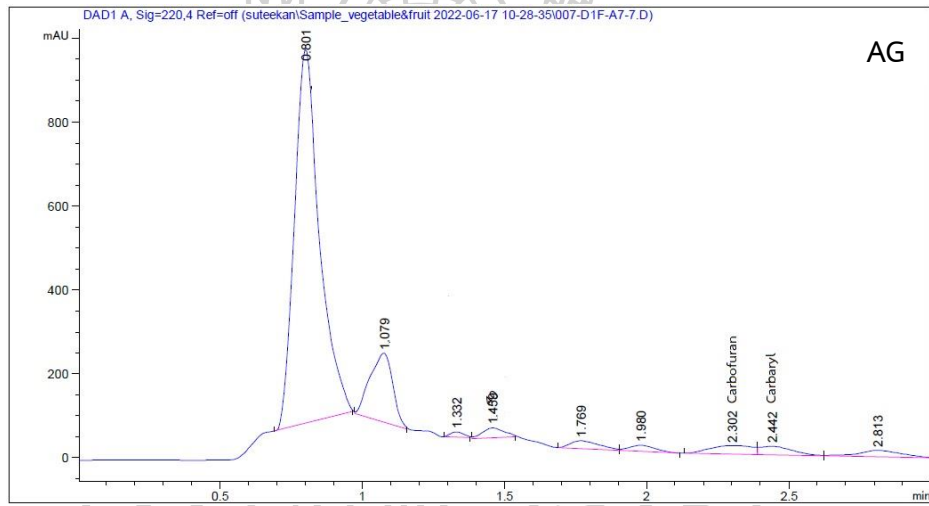
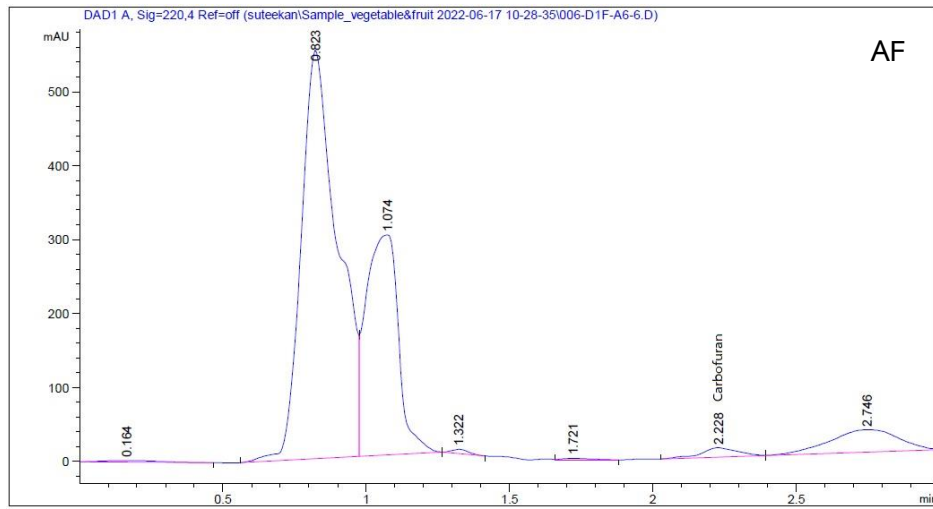


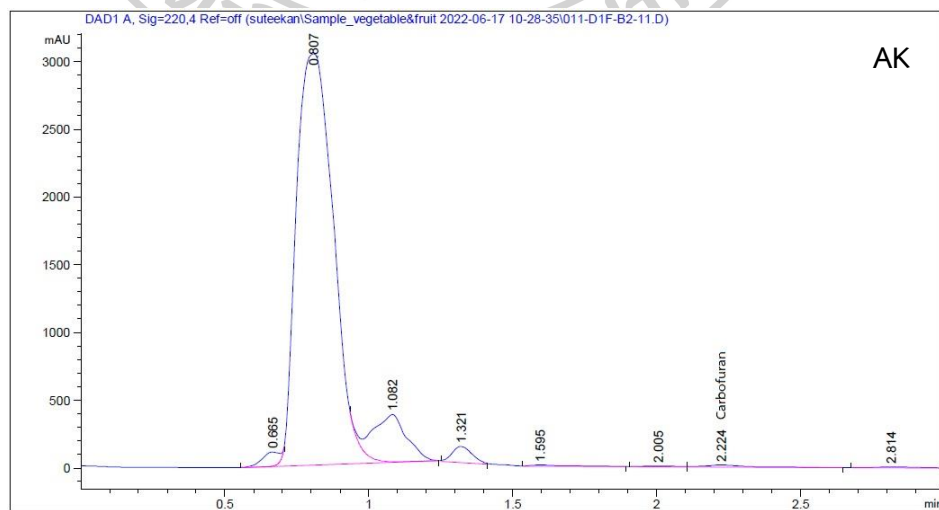
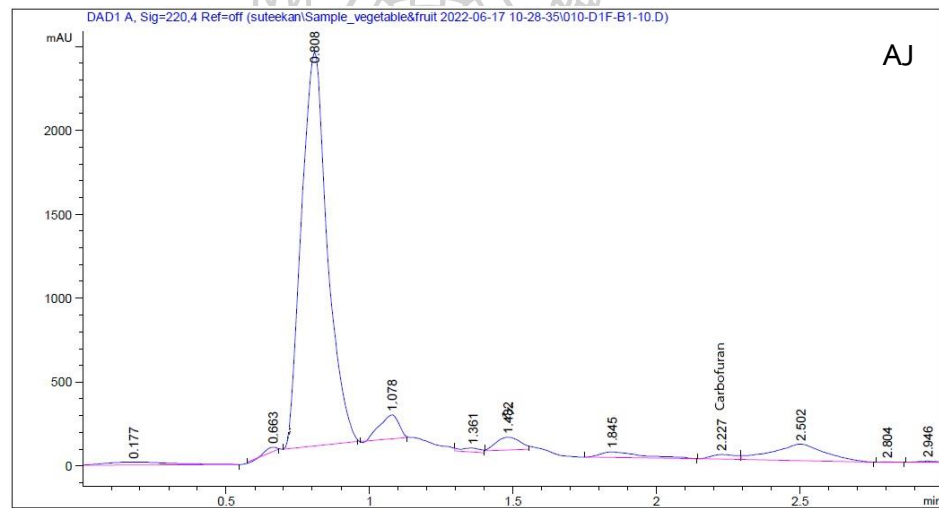
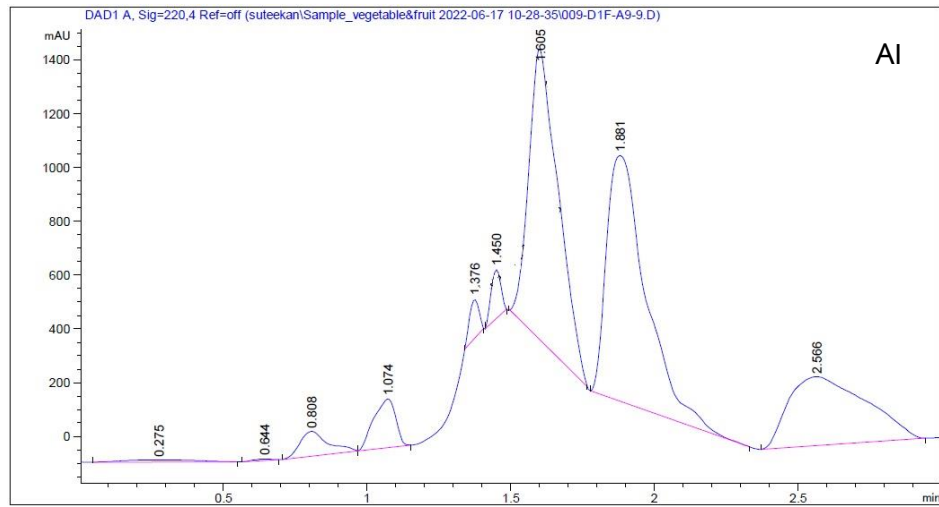
ชนิดของสารเคมีกำจัดแมลง ชนิดของผักและผลไม้	คาร์โบฟูราน	คาร์บาริล	เมโทมิล
กะหล่ำปลี	ND	0.19	ND
มะระขี้นก	ND	ND	53.64
ต้นหอม	ND	ND	ND
ผักชีไทย	ND	ND	ND
ถั่วฝักยาว	ND	ND	ND

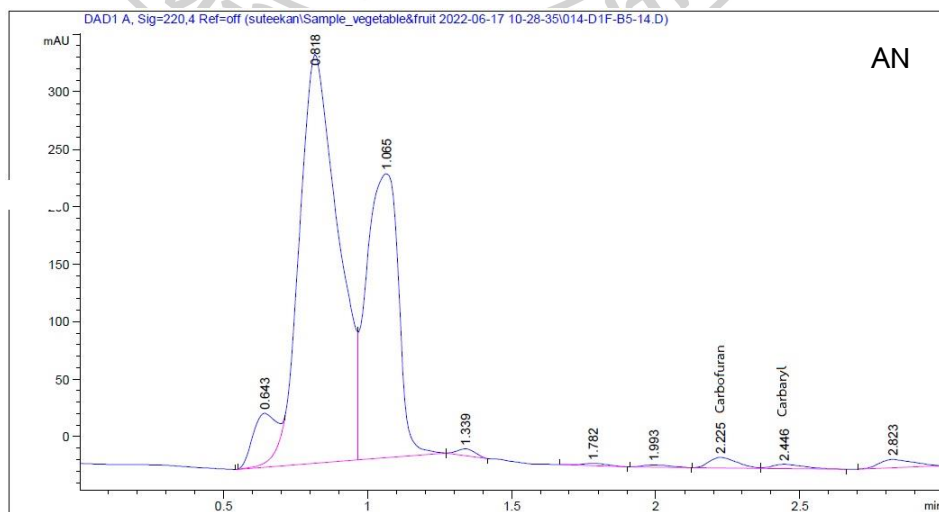
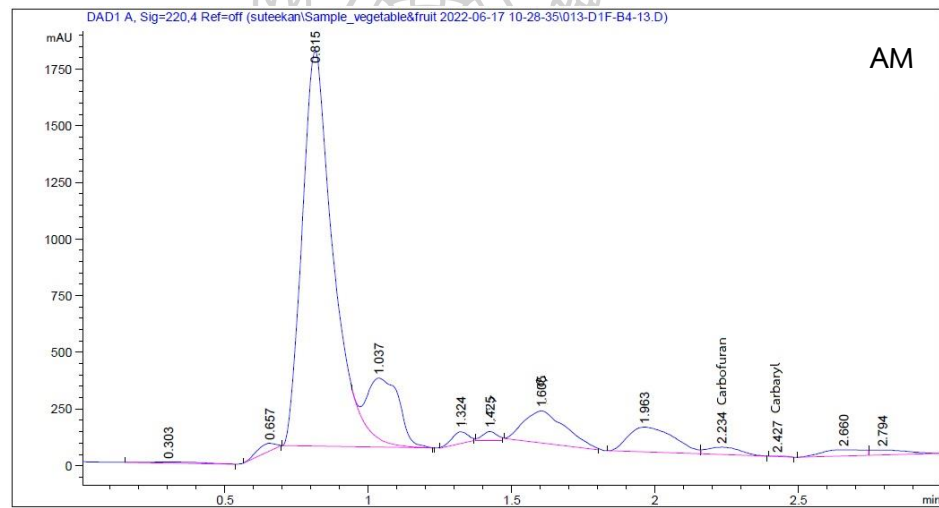
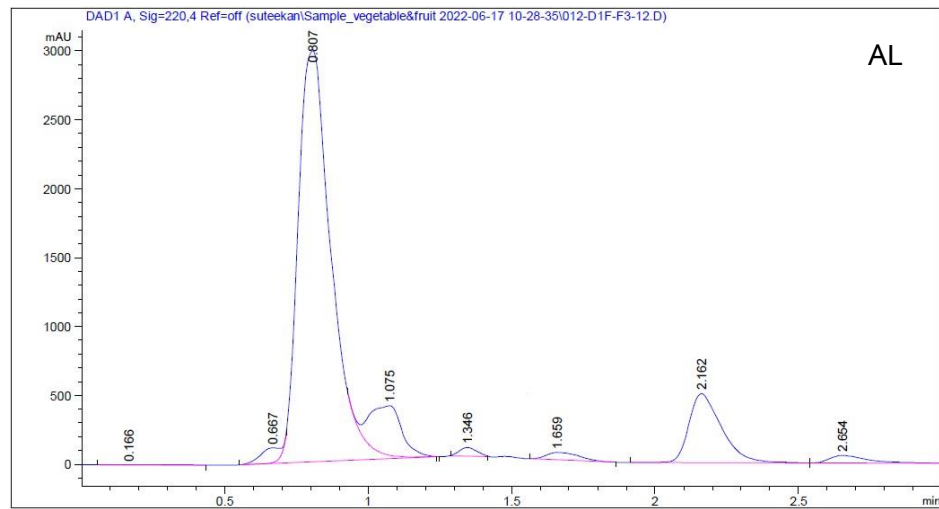
Chromatograms ของตัวอย่างผักและผลไม้ที่วิเคราะห์หาปริมาณคาร์โบฟูราน คาร์บาริล และเมโทมิลด้วยเทคนิคโครมาโทกราฟีของเหลวสมรรถนะสูง ซึ่งต่อกับตัวตรวจวัดชนิดไดโอดอาร์เรย์ แสดงดังภาพที่ 19

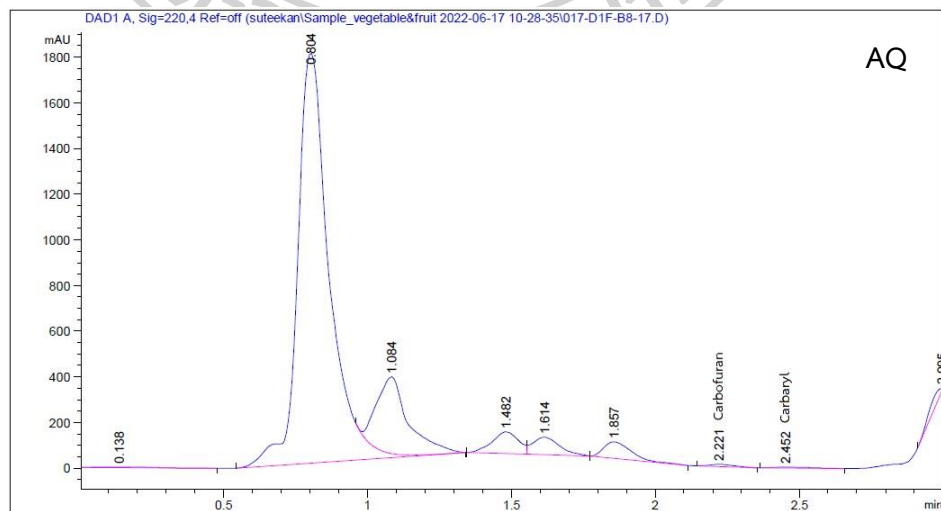
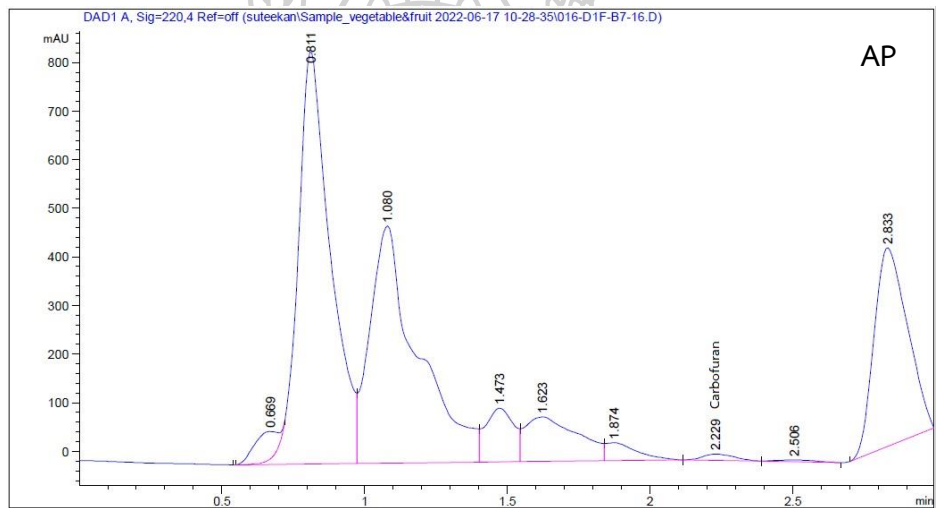
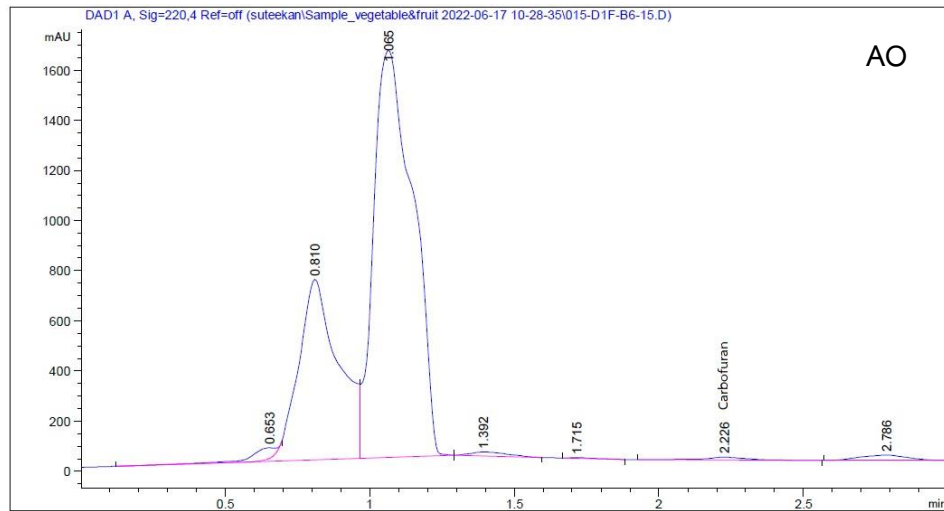


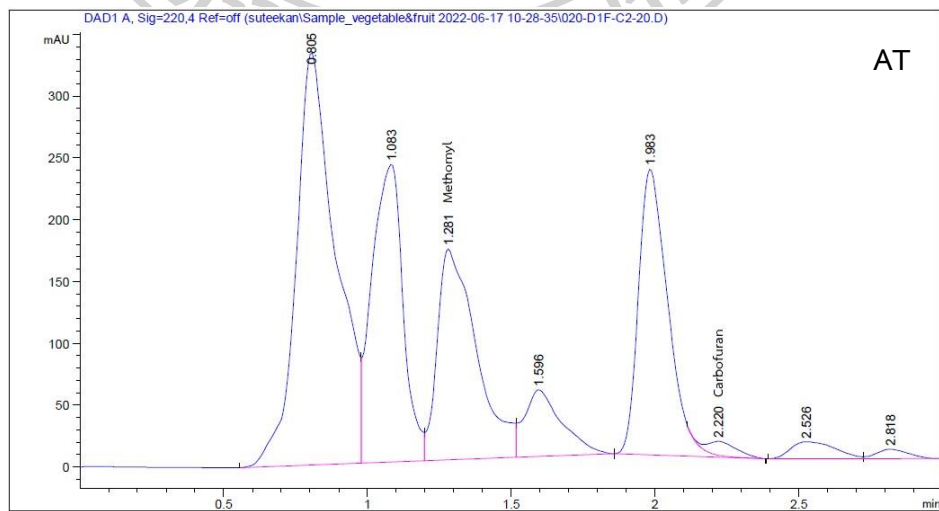
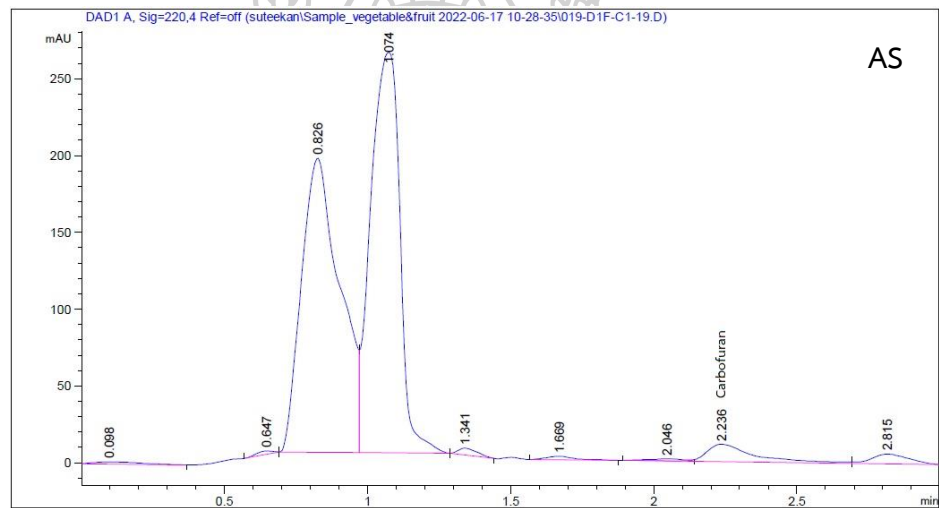
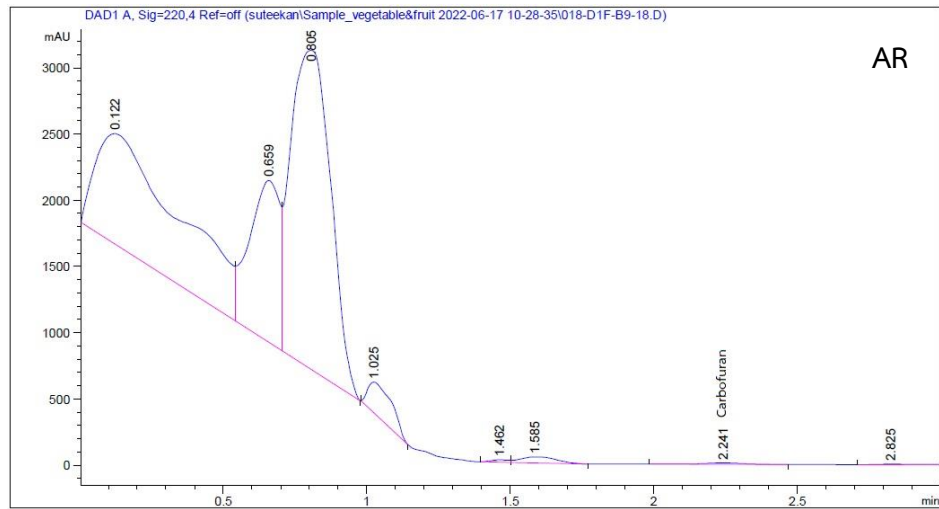


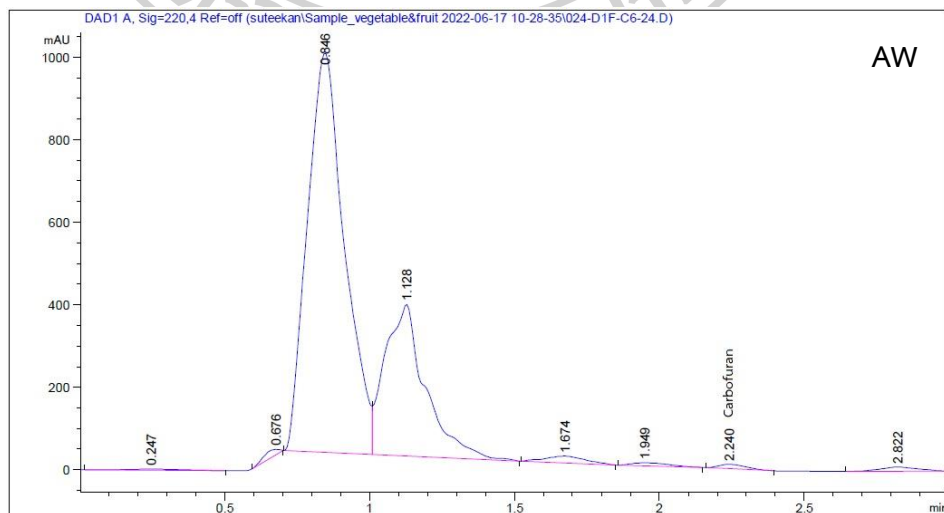
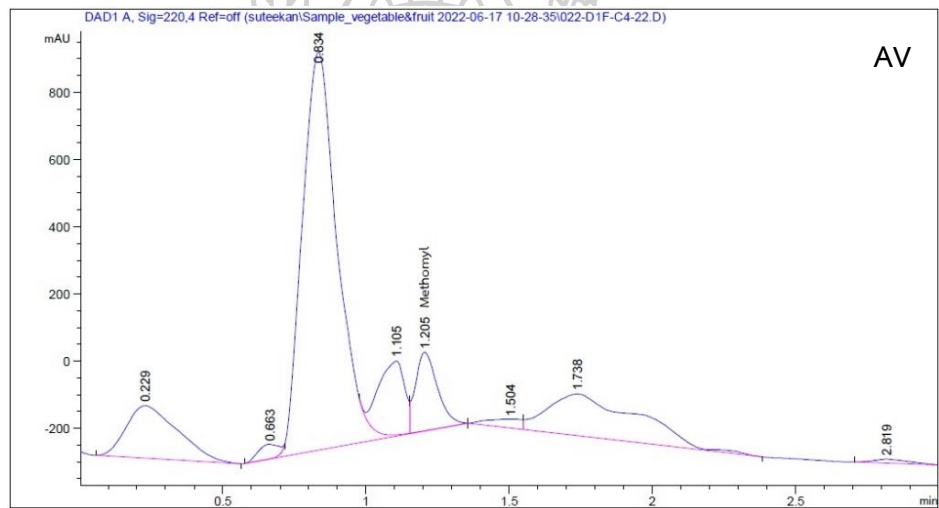
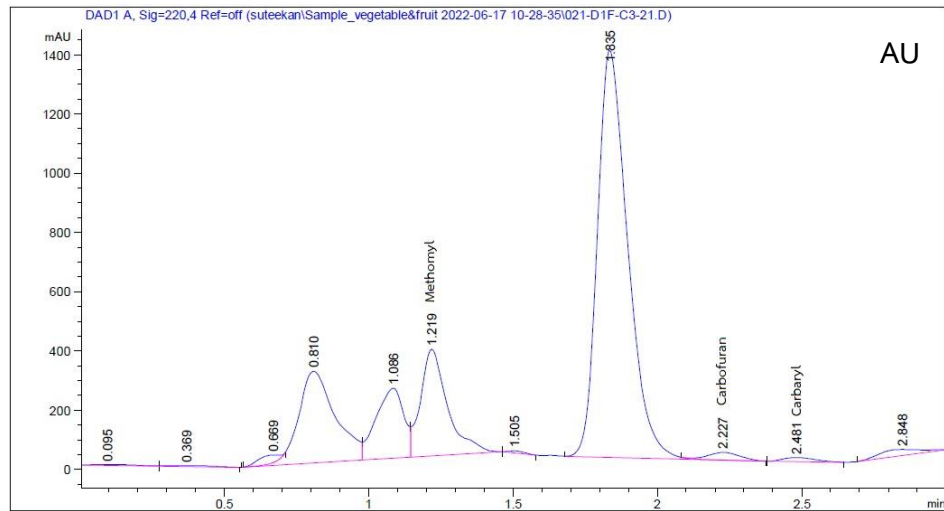




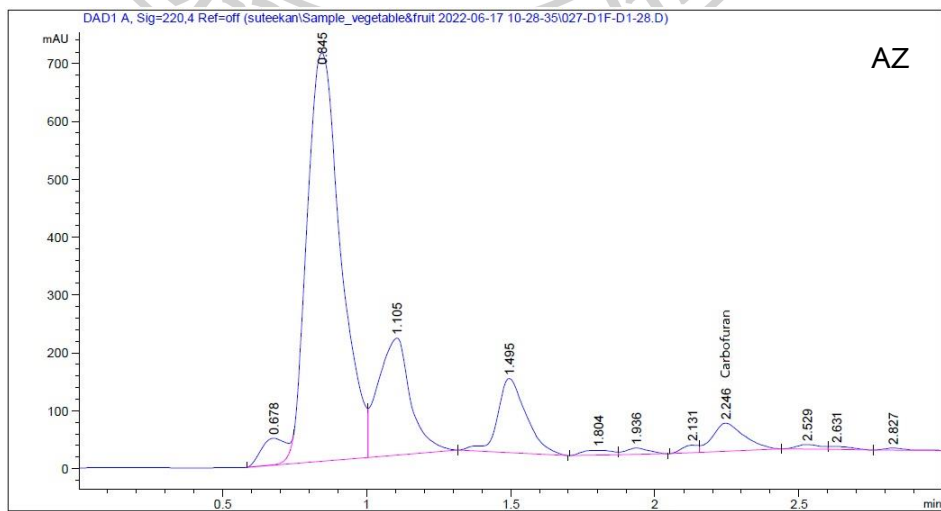
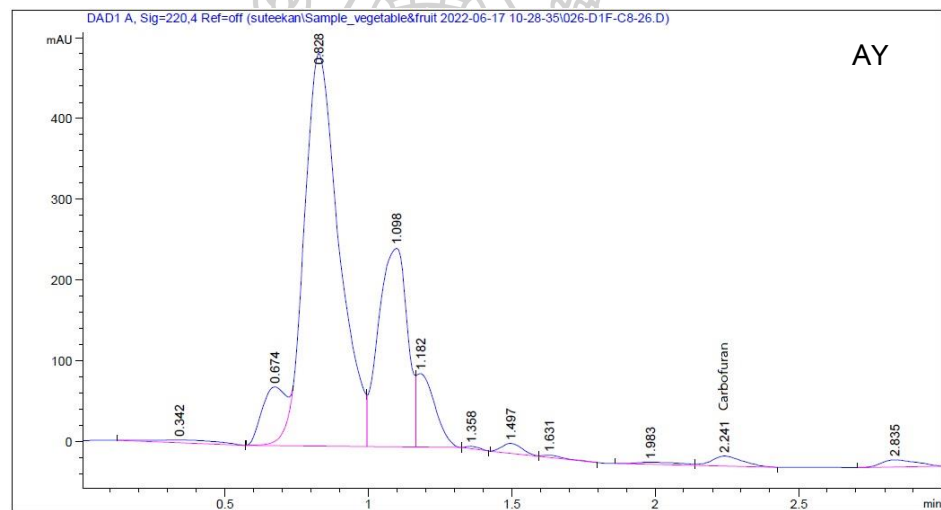
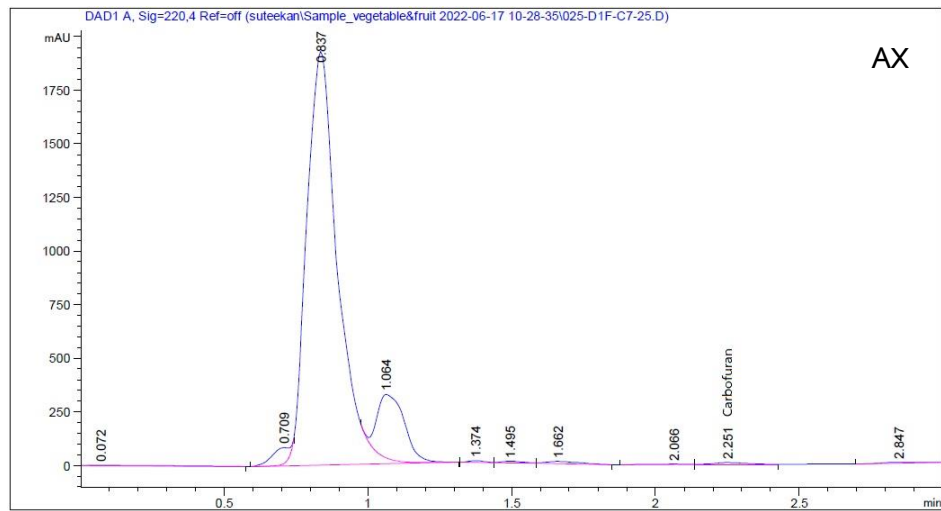


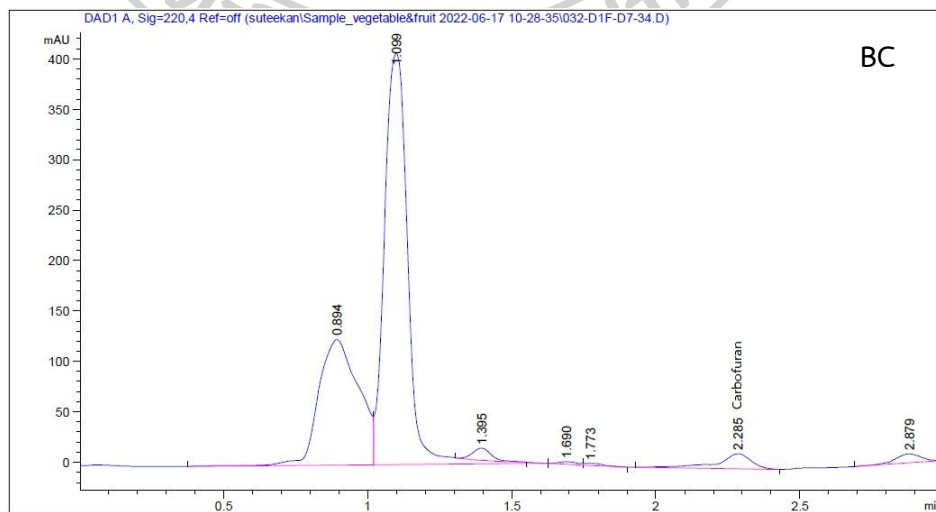
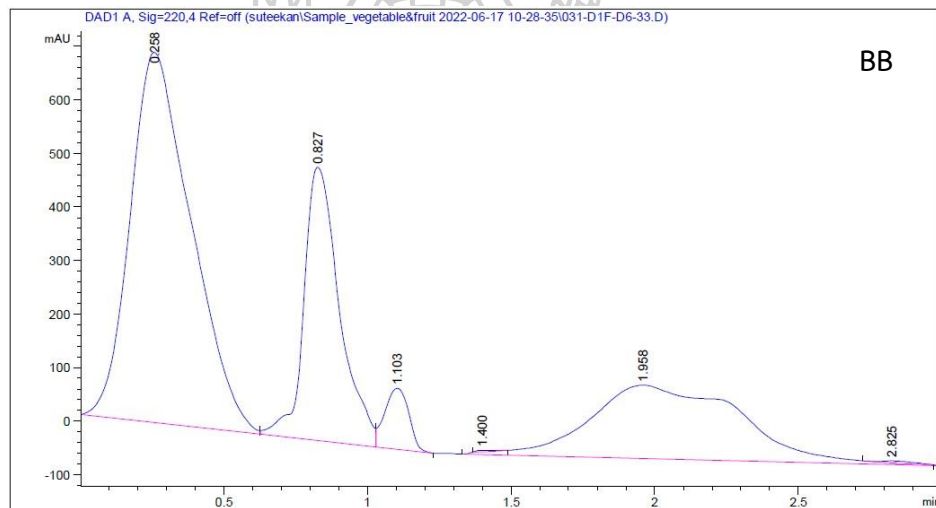
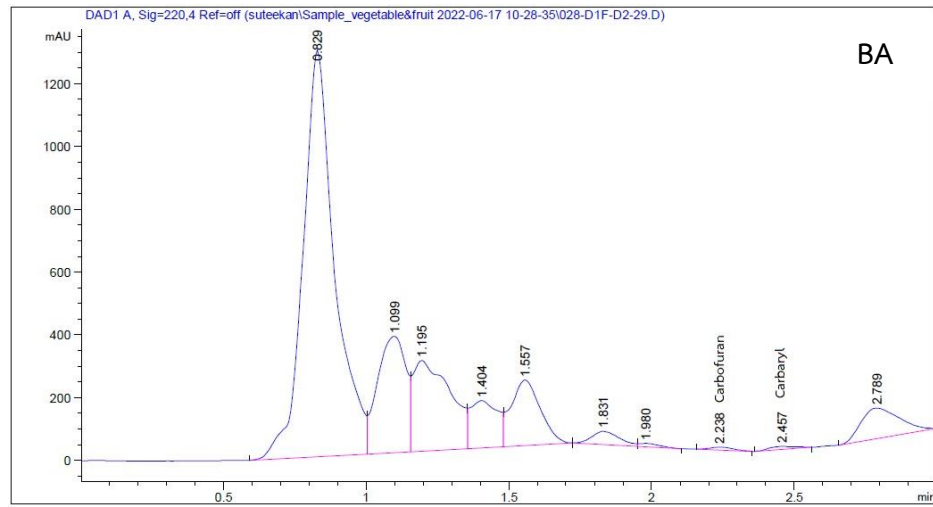


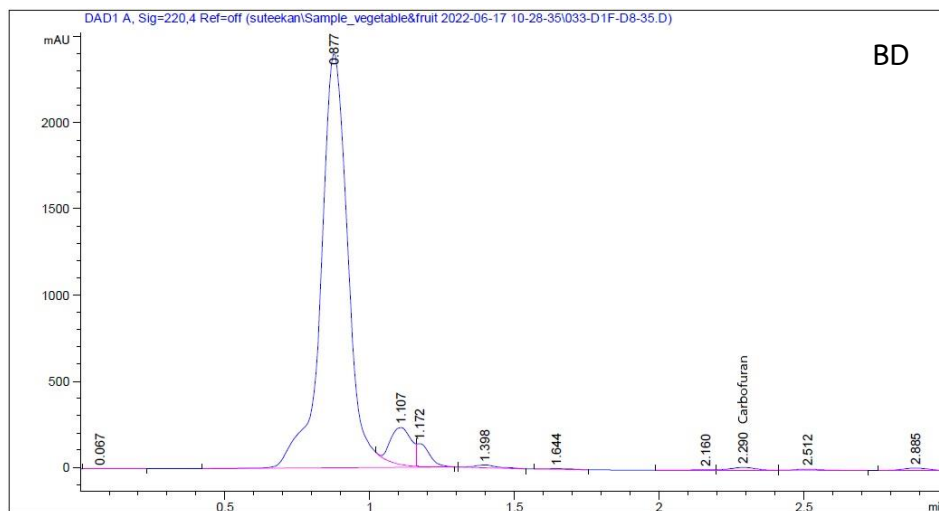




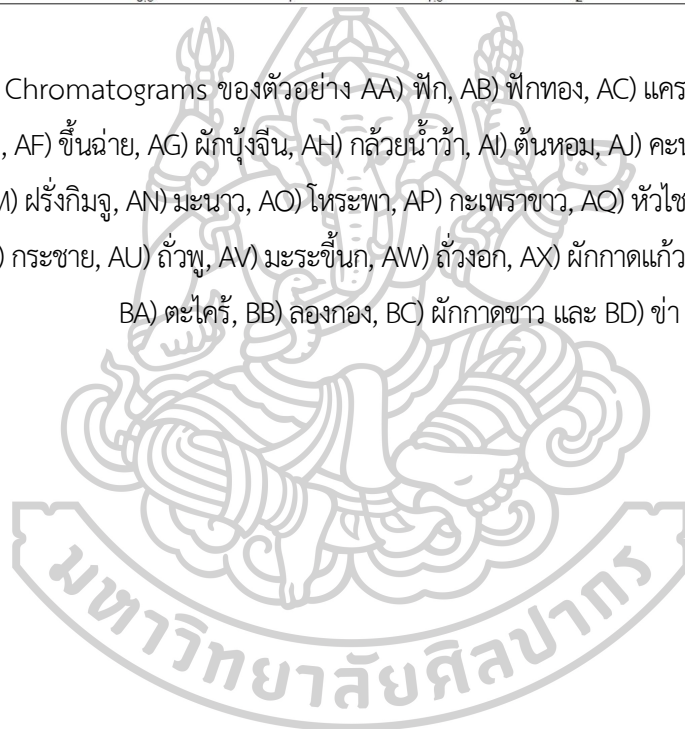








ภาพที่ 19 Chromatograms ของตัวอย่าง AA) ฟัก, AB) ฟักทอง, AC) แครอท, AD) แอปเปิ้ล, AE) กะหล่ำปลี, AF) ขึ้นฉ่าย, AG) ผักบุงจีน, AH) กล้วยน้ำว้า, AI) ต้นหอม, AJ) คื่นช่าย, AK) ผักชีไทย, AL) ถั่วฝักยาว, AM) ฟรุ้งกิมจู, AN) มะนาว, AO) โหระพา, AP) กะเพราขาว, AQ) หัวไชเท้า, AR) มะเขือเทศ, AS) ผักชีฝรั่ง, AT) กระชาย, AU) ถั่วพู, AV) มะระขี้นก, AW) ถั่วถั่ว, AX) ผักกาดแก้ว, AY) หอมใหญ่, AZ) ชিং, BA) ตะไคร้, BB) ลองกอง, BC) ผักกาดขาว และ BD) ข่า



## บทที่ 5

## สรุปผลการทดลอง

การวิเคราะห์หาปริมาณคาร์โบฟูราน คาร์บาริล และเมโทมิลโดยใช้เทคนิคโครมาโทกราฟีของเหลวสมรรถนะสูง ซึ่งต่อกับตัวตรวจวัดชนิดไดโอดอาร์เรย์ พบว่าสภาวะที่เหมาะสม ได้แก่ อัตราส่วนตัวทำละลายผสมระหว่างอะซิโตนไตรล่อน้ำ เท่ากับ 50:50 (โดยปริมาตร) และอัตราการไหลของเฟสเคลื่อนที่ เท่ากับ 1.75 มิลลิลิตร/นาที

**ตารางที่ 19** สภาวะที่เหมาะสมของเครื่องโครมาโทกราฟของเหลวสมรรถนะสูง ซึ่งต่อกับตัวตรวจวัดชนิดไดโอดอาร์เรย์ในการวิเคราะห์คาร์โบฟูราน คาร์บาริล และเมโทมิล

สภาวะที่ใช้ทดลอง	
เฟสเคลื่อนที่ (อะซิโตนไตรล่อน้ำ)	50:50 โดยปริมาตร
อัตราการไหล (มิลลิลิตร/นาที)	1.750
การ์ดคอลัมน์	C-18 (4.6x12.5 mm, 5 $\mu$ m)
คอลัมน์	C18 (4.6x150 mm, 5 $\mu$ m)
ความยาวคลื่น (นาโนเมตร)	220

การทดสอบความใช้ได้ของวิธีได้กราฟมาตรฐานของคาร์โบฟูราน คือ  $y = 0.0115x - 0.5621$  มีค่า  $r^2 = 0.9969$  แสดงช่วงความเป็นเส้นตรงที่ความเข้มข้น 100-1,000 ไมโครกรัม/ลิตร คาร์บาริล คือ  $y = 0.2198x - 2.1749$  มีค่า  $r^2 = 0.9975$  แสดงช่วงความเป็นเส้นตรงที่ความเข้มข้น 50-1,000 ไมโครกรัม/ลิตร และเมโทมิล คือ  $y = 0.0234x - 0.1942$  มีค่า  $r^2 = 0.998$  แสดงช่วงความเป็นเส้นตรงที่ความเข้มข้น 50-1,000 ไมโครกรัม/ลิตร ค่าขีดจำกัดของการตรวจพบของคาร์โบฟูราน คาร์บาริล และเมโทมิล เท่ากับ 56.32 11.31 และ 11.80 ไมโครกรัม/ลิตร ตามลำดับ ค่าขีดจำกัดของการวัดเชิงปริมาณของคาร์โบฟูราน คาร์บาริล และเมโทมิล เท่ากับ 73.67 14.60 และ 19.95 ไมโครกรัม/ลิตร ตามลำดับ ซึ่งค่าขีดจำกัดของการตรวจพบและค่าขีดจำกัดของการวัดเชิงปริมาณมีค่าที่ดี เนื่องจากมีค่าอยู่ในช่วงของปริมาณสารพิษตกค้างสูงสุดที่กำหนดโดยกระทรวงสาธารณสุข (2560) ความเที่ยงตรงของวิธีมีค่า %RSD ของสารละลายมาตรฐานคาร์โบฟูราน คาร์บาริล และเมโทมิล อยู่ในเกณฑ์ที่ยอมรับได้ โดยมีค่าน้อยกว่า 10 และร้อยละการกลับคืนของคาร์โบฟูราน คาร์บาริล และเมโทมิล เท่ากับ 105.73 64.15 และ 90.73 ตามลำดับ จากผลการทดลองแสดงให้เห็นว่าการวิเคราะห์หา

ปริมาณคาร์โบฟูราน คาร์บาริล และเมโทมิล โดยใช้เทคนิคโครมาโทกราฟีสมรรถนะสูง ซึ่งต่อกับตัวตรวจวัดชนิดไดโอดอาร์เรย์ ที่ได้ศึกษาให้ความถูกต้องและเที่ยงตรงสูง มี sensitivity ที่ดี และช่วงความเป็นเส้นตรงที่กว้าง

การศึกษาปัจจัยที่มีผลต่อการสกัดด้วยเทคนิค QuEChERS โดยได้ทำการศึกษาปริมาณของตัวอย่าง ปริมาตรของตัวทำละลาย และชนิดของเกลือที่ใช้ในการสกัดตัวอย่าง จากผลการทดลองสามารถลดปริมาณของตัวอย่าง และปริมาตรของตัวทำละลายจากน้ำหนักของตัวอย่าง 15 กรัม และปริมาตรของตัวทำละลาย 15 มิลลิลิตร เป็นน้ำหนักของตัวอย่าง 10 กรัม และปริมาตรของตัวทำละลาย 10 มิลลิลิตร โดยมีค่า %Recovery ของการหาปริมาณคาร์โบฟูราน คาร์บาริล และเมโทมิล เท่ากับ  $105.73 \pm 2.73$   $64.15 \pm 3.28$  และ  $90.73 \pm 4.18$  ตามลำดับ และชนิดของเกลือที่ใช้ในการสกัดตัวอย่างสามารถใช้เกลือ  $\text{Na}_2\text{SO}_4$  แทนเกลือ  $\text{MgSO}_4$  ที่ใช้ใน AOAC Method 2007.01

การวิเคราะห์หาปริมาณคาร์โบฟูราน คาร์บาริล และเมโทมิลในตัวอย่างผักและผลไม้ 30 ตัวอย่าง ได้แก่ กระชาย กล้วยน้ำว่า กะหล่ำปลี กะเพราขาว ชিং ข่า ขึ้นฉ่าย คะน้า แครอท ตะไคร้ ต้นหอม ถั่วฝักยาว ถั่วพู ผักกาดแก้ว ผักกาดขาว ผักชีไทย ผักชีฝรั่ง ผักบุงจีน ฝรั่งเศส ผัก พริก พริกทอง มะเขือเทศ มะนาว มะระขี้นก ลองกอง หอมใหญ่ หัวไชเท้า โหระพา และแอปเปิ้ล ทำการทดลองโดยฉีดสารละลายตัวอย่างที่เตรียมผ่านการสกัดโดยวิธี QuEChERS มาวิเคราะห์ด้วยเทคนิคโครมาโทกราฟีของเหลวสมรรถนะสูงโดยใช้อัตราส่วนตัวทำละลายผสมระหว่างอะซิโตนไตรลต่อน้ำ เท่ากับ 50:50 ที่อัตราการไหลของเฟสเคลื่อนที่ 1.750 มิลลิลิตร/นาที และตรวจวัดสัญญาณที่ความยาวคลื่น 220 นาโนเมตร จากนั้นนำค่าพื้นที่ใต้พีคของตัวอย่างที่ได้ไปแทนค่าในสมการเส้นตรงของกราฟมาตรฐาน ผลการทดลองพบว่าในตัวอย่าง ถั่วพูพบคาร์โบฟูราน คาร์บาริล และเมโทมิลที่ความเข้มข้น 17.45 0.49 และ 99.91 มิลลิกรัม/ลิตร ตามลำดับ กระชายพบเมโทมิล และคาร์โบฟูรานที่ความเข้มข้น 69.13 และ 7.21 มิลลิกรัม/ลิตร ตามลำดับ พริกพบเมโทมิลและคาร์โบฟูรานที่ความเข้มข้น 1.18 และ 10.00 มิลลิกรัม/ลิตร ตามลำดับ ตะไคร้พบคาร์โบฟูรานและคาร์บาริลที่ความเข้มข้น 4.47 และ 0.28 มิลลิกรัม/ลิตร ตามลำดับ ฝรั่งเศสพบคาร์โบฟูรานและคาร์บาริลที่ความเข้มข้น 22.75 และ 0.040 มิลลิกรัม/ลิตร ตามลำดับ มะนาวพบคาร์โบฟูรานและคาร์บาริลที่ความเข้มข้น 5.38 และ 0.14 มิลลิกรัม/ลิตร ตามลำดับ หัวไชเท้าพบคาร์โบฟูรานและคาร์บาริลที่ความเข้มข้น 5.15 และ 0.18 มิลลิกรัม/ลิตร ตามลำดับ แอปเปิ้ลพบคาร์โบฟูรานและคาร์บาริลที่ความเข้มข้น 9.41 และ 0.052 มิลลิกรัม/ลิตร ตามลำดับ ส่วนในตัวอย่าง กล้วยน้ำว่า กะเพราขาว ชিং ข่า ขึ้นฉ่าย คะน้า แครอท ถั่วฝักยาว ผักกาดแก้ว ผักกาดขาว ผักชีฝรั่ง พริกทอง มะเขือเทศ หอมใหญ่ และโหระพา พริกทอง แครอท ขึ้นฉ่าย กล้วยน้ำว่า คะน้า โหระพา กะเพราขาว มะเขือเทศ ผักชีฝรั่ง ถั่วฝักยาว ผักกาดแก้ว หอมใหญ่ ชিং ผักกาดขาว และข้าวพบคาร์โบฟูรานเพียงชนิด

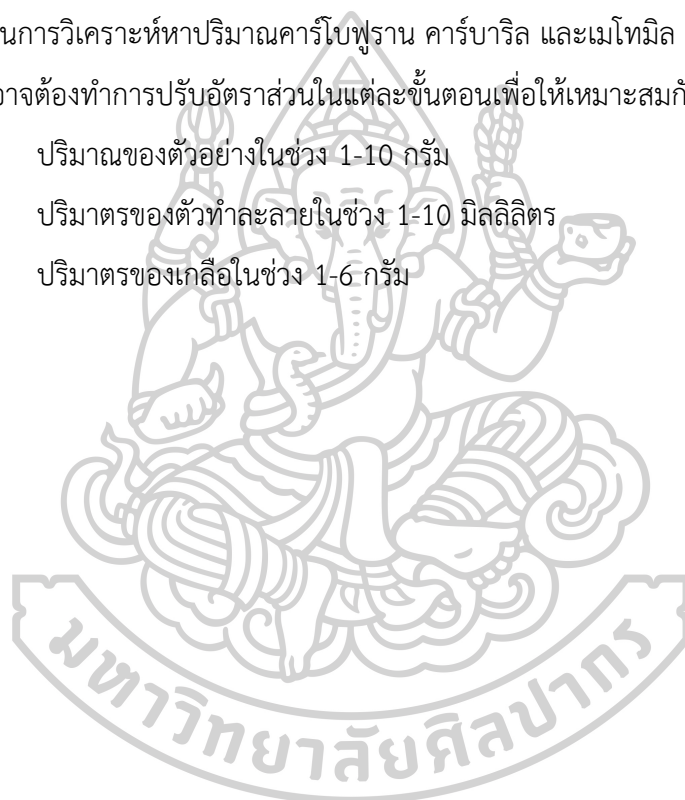


ข้อจำกัดของการวิเคราะห์หาปริมาณคาร์โบฟูราน คาร์บาริล และเมโทมิลด้วยเทคนิคโครมาโทกราฟีของเหลวสมรรถนะสูง ซึ่งต่อกับตัวตรวจวัดชนิดไดโอดอาร์เรย์

1. ต้องใช้ผู้เชี่ยวชาญในการวิเคราะห์
2. เครื่องมือมีราคาสูง

#### ข้อเสนอแนะ

1. ควรศึกษาตัวอย่างดินและน้ำบริเวณแวดล้อมที่ทำการเพาะปลูกผักและผลไม้ที่นำมาวิเคราะห์ เนื่องจากสภาพแวดล้อมโดยรอบอาจส่งต่อปริมาณสารเคมีกำจัดแมลง
2. ในการวิเคราะห์หาปริมาณคาร์โบฟูราน คาร์บาริล และเมโทมิล ด้วยเทคนิค QuEChERS อาจต้องทำการปรับอัตราส่วนในแต่ละขั้นตอนเพื่อให้เหมาะสมกับการทดลอง ได้แก่
  - ปริมาณของตัวอย่างในช่วง 1-10 กรัม
  - ปริมาตรของตัวทำละลายในช่วง 1-10 มิลลิลิตร
  - ปริมาตรของเกลือในช่วง 1-6 กรัม



## รายการอ้างอิง

(สวรส), ส. (2015). 4 สารพิษตกค้าง อันตรายที่ต้องระวัง.

<https://www.hsri.or.th/people/media/care/detail/6037>

Abad, A., Moreno, M. a. J., Pelegrí, R., Martínez, M. a. I., Sáez, A., Gamón, M., & Montoya, A. (1999). Determination of carbaryl, carbofuran and methiocarb in cucumbers and strawberries by monoclonal enzyme immunoassays and high-performance liquid chromatography with fluorescence detection: An analytical comparison. *Journal of Chromatography A*, 833(1), 3-12.

Alcântara, D. B., Fernandes, T. S., Nascimento, H. O., Lopes, A. F., Menezes, M. G., Lima, A. C., Carvalho, T. V., Grinberg, P., Milhome, M. A. L., & Oliveira, A. H. (2019). Diagnostic detection systems and QuEChERS methods for multiclass pesticide analyses in different types of fruits: An overview from the last decade. *Food chemistry*, 298, 124958.

Analysis, A. O. M. o. (2016). Appendix F: guidelines for standard method performance requirements. In: AOAC International Gaithersburg, MD.

BioThai. (2015). เตือนภัยสารเคมีเกษตร. <https://biothai.net/food-security-situation/pesticide/1113>

Cid, A. P., del Mundo, F. R., & Espino, M. P. B. (2006). A modified analytical procedure for the determination of carbaryl, carbofuran and methomyl residues in agricultural soil and river water samples from La Trinidad, Benguet and Aurora, Isabela, Philippines. *Philippine Agricultural Scientist*, 89(1), 71.

Dong, T., Sun, J., Liu, B., Zhang, Y., Song, Y., & Wang, S. (2010). Development of a sensitivity-improved immunoassay for the determination of carbaryl in food samples. *Journal of the Science of Food and Agriculture*, 90(7), 1106-1112.

Huang, Y., Shi, T., Luo, X., Xiong, H., Min, F., Chen, Y., Nie, S., & Xie, M. (2019). Determination of multi-pesticide residues in green tea with a modified QuEChERS protocol coupled to HPLC-MS/MS. *Food chemistry*, 275, 255-264.



- Ling, C. F., Melian, G. P., Jiminez-Conde, F., & Revilla, E. (1993). High-performance liquid chromatographic analysis of carbofuran residues in tomatoes grown in hydroponics. *Journal of Chromatography A*, 643(1-2), 351-355.
- Mao, X., Wan, Y., Li, Z., Chen, L., Lew, H., & Yang, H. (2020). Analysis of organophosphorus and pyrethroid pesticides in organic and conventional vegetables using QuEChERS combined with dispersive liquid-liquid microextraction based on the solidification of floating organic droplet. *Food chemistry*, 309, 125755.
- Sharif, Z., Man, Y. B. C., Hamid, N. S. A., & Keat, C. C. (2006). Determination of organochlorine and pyrethroid pesticides in fruit and vegetables using solid phase extraction clean-up cartridges. *Journal of Chromatography A*, 1127(1-2), 254-261.
- Tom.Ji42.Com. (2018). คาร์บามาต (Carbamates). <https://tom.ji42.com/?p=22633>
- Tomašević, A., Kiss, E., Petrović, S., & Mijin, D. (2010). Study on the photocatalytic degradation of insecticide methomyl in water. *Desalination*, 262(1-3), 228-234.
- Vera-Avila, L. E., Márquez-Lira, B. P., Villanueva, M., Covarrubias, R., Zelada, G., & Thibert, V. (2012). Determination of carbofuran in surface water and biological tissue by sol-gel immunoaffinity extraction and on-line preconcentration/HPLC/UV analysis. *Talanta*, 88, 553-560.
- Wei, G., Li, Y., & Wang, X. (2007). Application of dispersive liquid-liquid microextraction combined with high-performance liquid chromatography for the determination of methomyl in natural waters. *Journal of separation science*, 30(18), 3262-3267.
- Zaidon, S. Z., Ho, Y. B., Hamsan, H., Hashim, Z., Saari, N., & Praveena, S. M. (2019). Improved QuEChERS and solid phase extraction for multi-residue analysis of pesticides in paddy soil and water using ultra-high performance liquid chromatography tandem mass spectrometry. *Microchemical Journal*, 145, 614-621.
- กรมควบคุมมลพิษ. (2006). กองจัดการกากของเสียและสารอันตราย <https://www.pcd.go.th/publication/3609>

กองโรคจากการประกอบอาชีพและสิ่งแวดล้อม กรมควบคุมโรค กระทรวงสาธารณสุข.

<http://envocc.ddc.moph.go.th/contents/view/>

เจาะลึกระบบสุขภาพ. <https://www.hfocus.org>

ชินะจิตร, ส. (2006). พิษภัยใกล้ตัว. <http://www.chemtrack.org/News-Detail.asp?TID=1&ID=32>

ไทยเกษตรศาสตร์. (2013). สารเคมีที่ใช้ควบคุมโรคพืช. <https://www.thaikasetsart.com>

ธีรานุสนธิ, ม. (2013). คุณรู้หรือไม่ Methomyl คืออะไร. *จดหมายข่าว*, 12(6), 1-4.

นนทบุรี, ส. (2020). ข่าวร้ายปลายปี 2563 ไทยพบพบผักผลไม้ 58.7% พบสารพิษตกค้างเกินมาตรฐาน.

<https://thaipan.org/highlights/2283>

พรเฉลิมพงศ์, พ., & รัตนาปนนท์, น. คาร์บาเมต.

<https://www.foodnetworksolution.com/wiki/word/2173/carbamate-คาร์บาเมต>

พัฒนาโพธิ์, ว. (2012). ความสำคัญและเทคนิคการวิเคราะห์สารเคมีตกค้างในผลผลิตเกษตร.

<https://www.phtnet.org/2012/06/117/>

รัตนาปนนท์, พ. พ. น. *Salting out*.

<https://www.foodnetworksolution.com/wiki/word/1820/salting-out>

ศรีวิบูลย์, ช. (2003). การวิเคราะห์โดยเครื่องมือโครมาโทกราฟี. สำนักพิมพ์มหาวิทยาลัยรามคำแหง.

ศรีวิบูลย์, ช. (2011). *CM 334 เทคนิคการแยก Separation techniques*. สำนักพิมพ์มหาวิทยาลัยรามคำแหง.

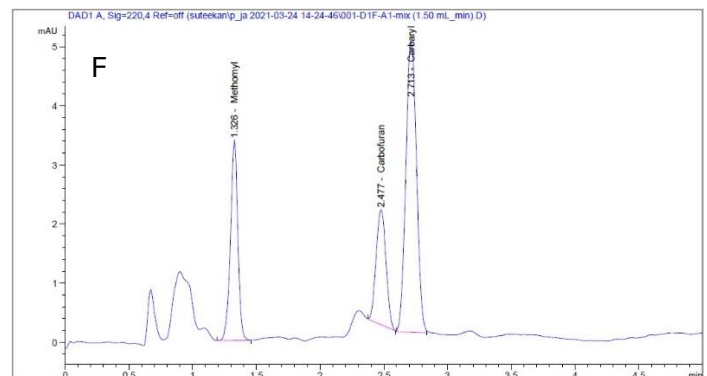
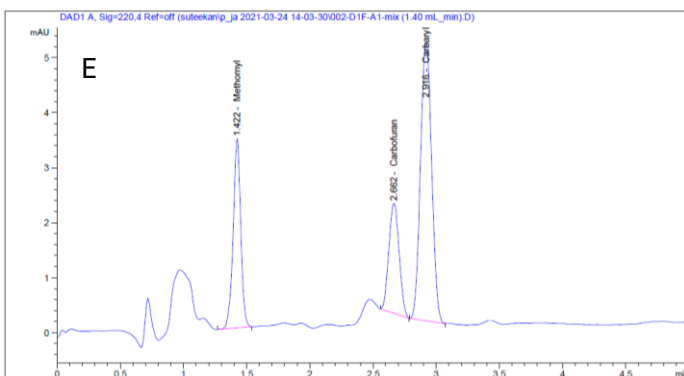
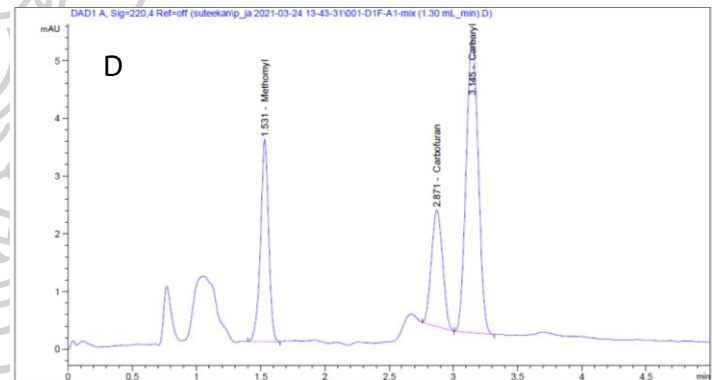
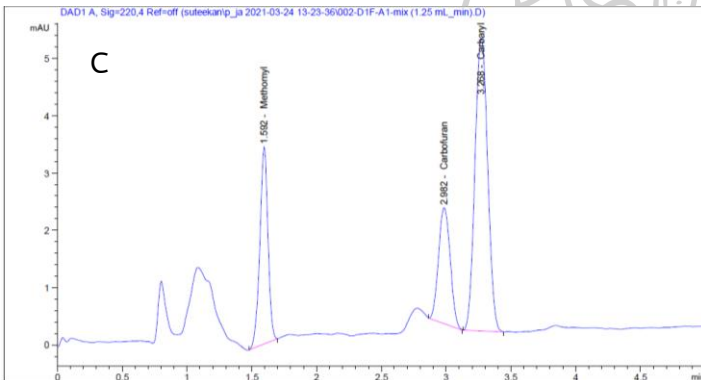
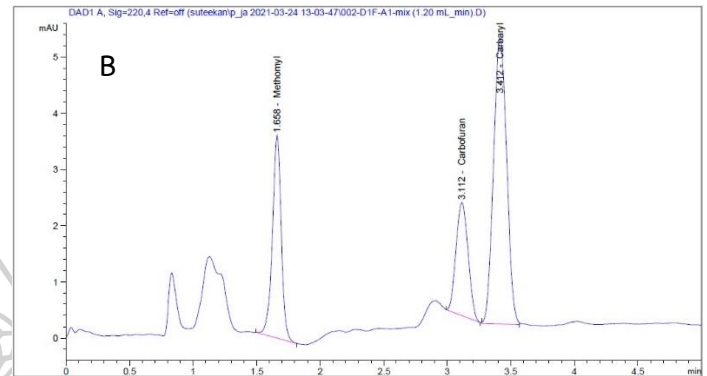
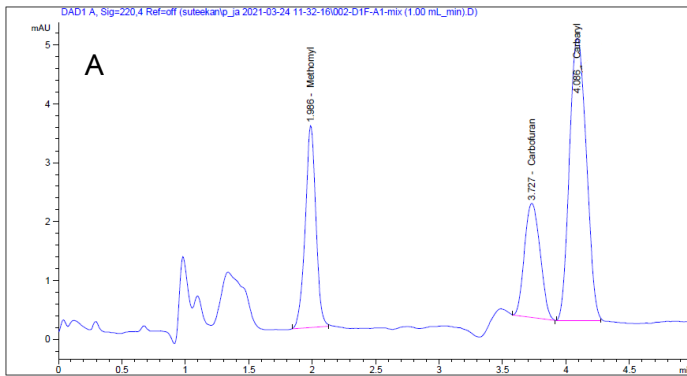
สำนักโรคจากการประกอบอาชีพและสิ่งแวดล้อม, & กรมควบคุมโรค. (2013). องค์ความรู้ด้านการก่ออันตรายของ

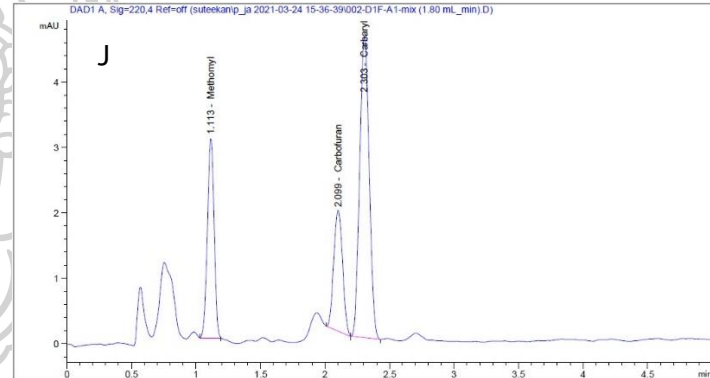
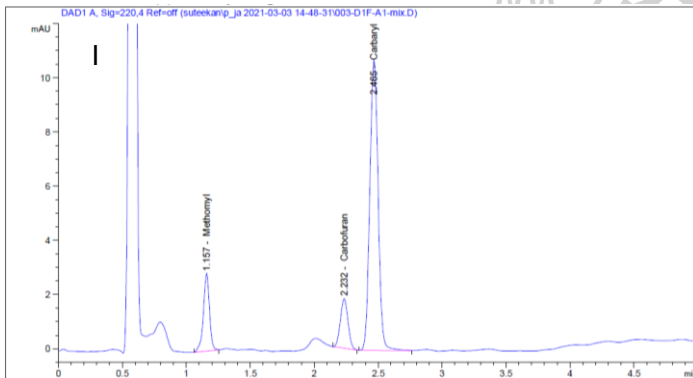
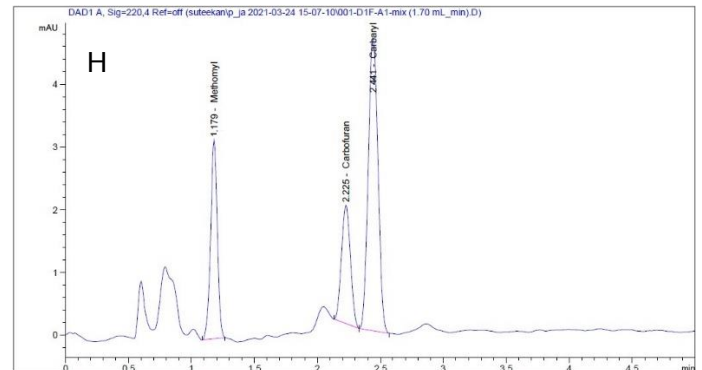
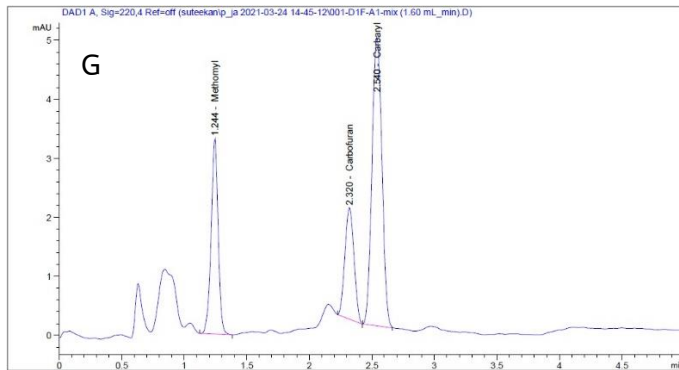
สารกำจัดศัตรูพืชที่ต้องเฝ้าระวัง. <http://envocc.ddc.moph.go.th/%20uploads/knowledge-disease/%20knowledmetil.pdf>

อารีจิตรานุสรณ์, ช. (2001). โครมาโทกราฟีเหลวความดันสูง. หจก.โรงพิมพ์คลังนานาวิทยา.

## ภาคผนวก

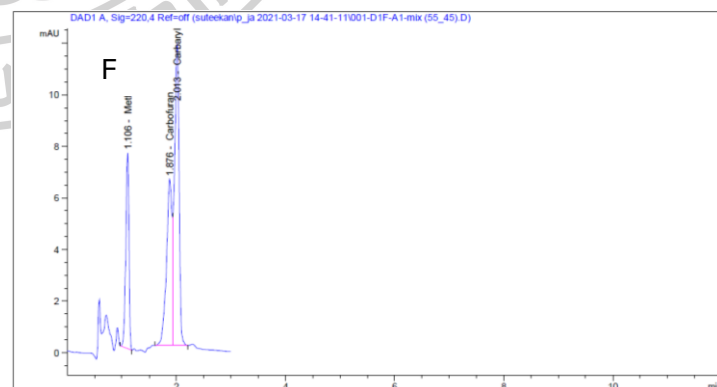
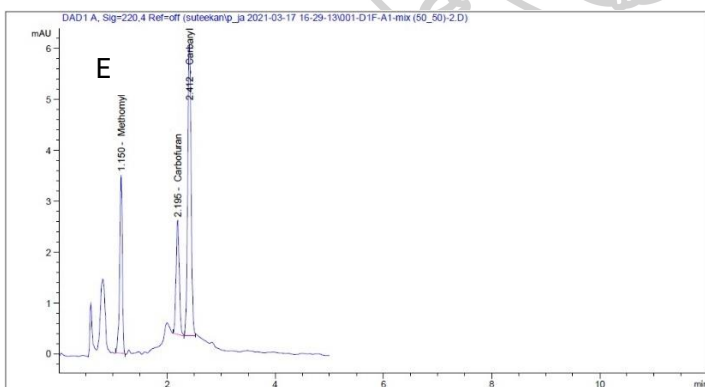
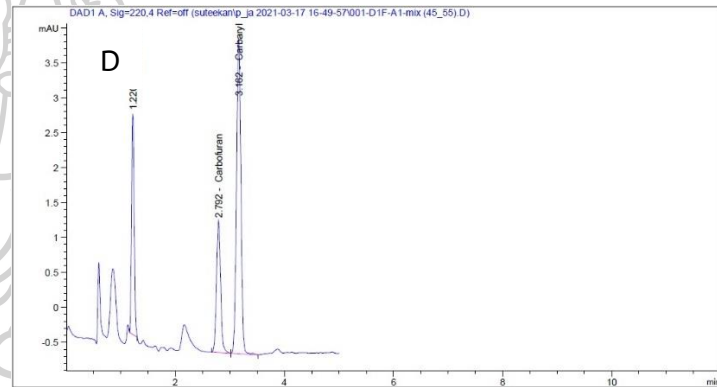
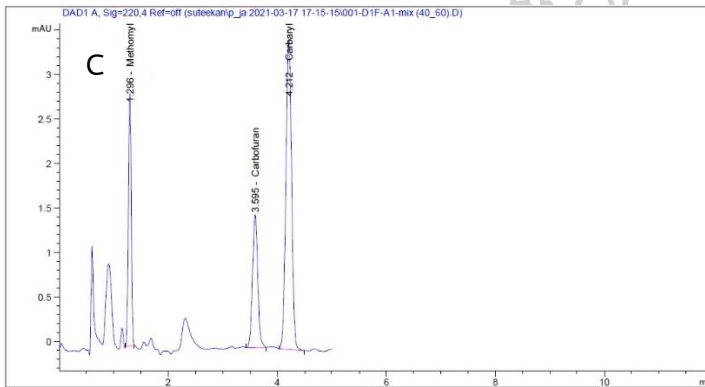
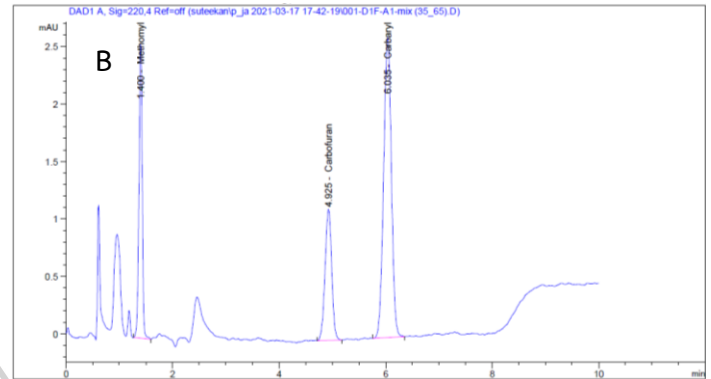
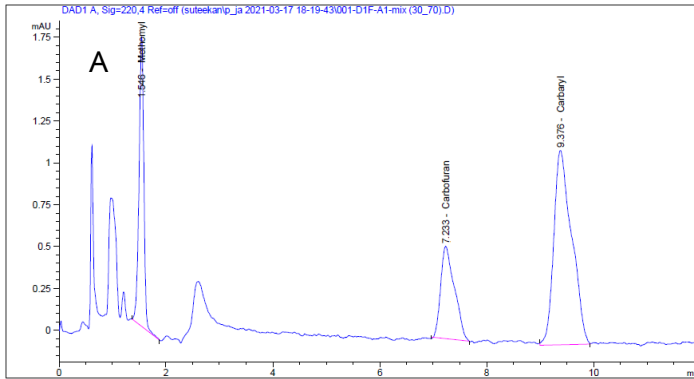
- Chromatograms ของสารละลายมาตรฐานคาร์โบฟูราน คาร์บาริล และเมโทมิลที่ความเข้มข้น 200 ไมโครกรัม/ลิตร ที่อัตราการไหลต่างกัน

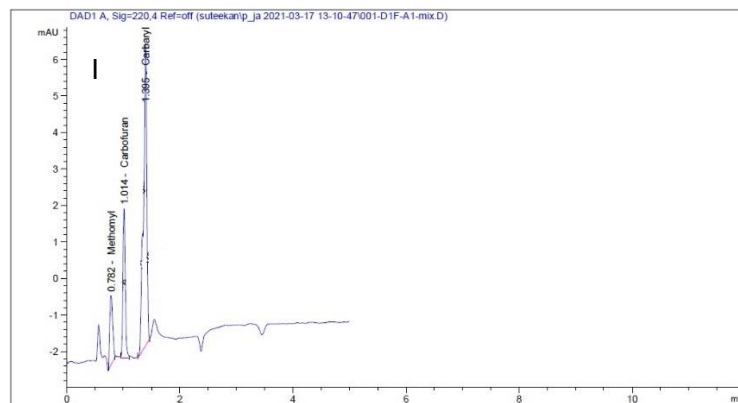
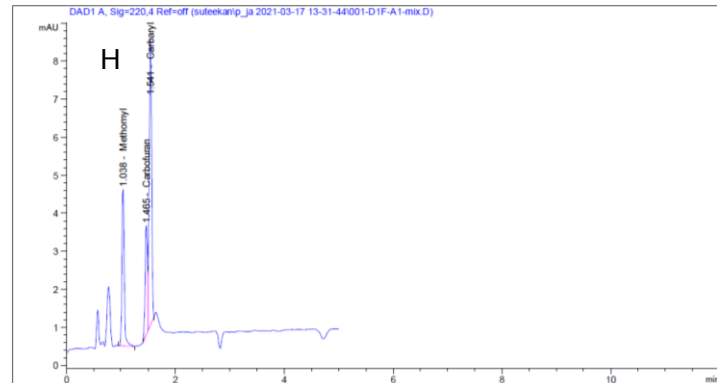
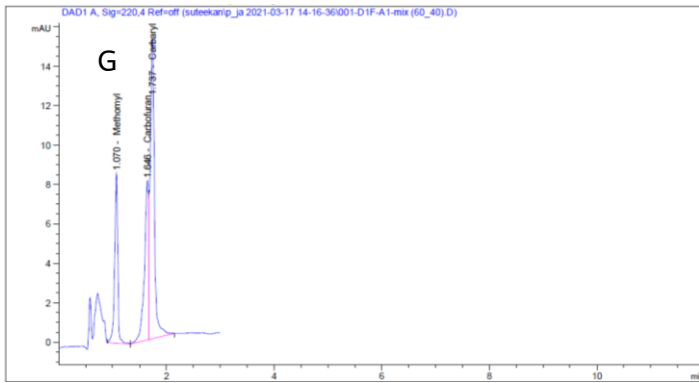




ภาพที่ 1 Chromatograms ของสารละลายมาตรฐานคาร์โบฟูราน คาร์บาริล และเมโทนิลที่ความเข้มข้น 200 ไมโครกรัม/ลิตร ที่อัตราการไหลต่างกัน (mL/min) A) 1.000, B) 1.200, C) 1.250, D) 1.300, E) 1.400, F) 1.500, G) 1.600, H) 1.700, I) 1.750 และ J) 1.800

- Chromatograms ของสารละลายมาตรฐานคาร์โบฟูราน คาร์บาริล และเมโทมิล ความเข้มข้น 200 ไมโครกรัม/ลิตร ที่อัตราส่วนตัวทำละลายผสมระหว่างอะซิโตนไตริลต่อน้ำต่างกัน





ภาพที่ 2 Chromatograms ของสารละลายมาตรฐานคาร์โบฟูราน คาร์บาริล และเมโทนิล ความเข้มข้น 200 ไมโครกรัม/ลิตร ที่อัตราส่วนตัวทำละลายผสมระหว่างอะซิโตนไตริลต่อน้ำต่างกัน A) 30:70, B) 35:65, C) 40:60, D) 45:55, E) 50:50, F) 55:45, G) 60:40, H) 65:35 และ I) 70:30 ที่อัตราการไหล 1.00 มิลลิลิตร/นาที

- ผักและผลไม้ที่นำมาวิเคราะห์หาปริมาณคาร์โบไฮเดรต คาร์บาริด และเมโทมิล



กระชาย



กล้วยน้ำว้า



กะหล่ำปลี



กะเพราขาว



ขิง



ข่า



ขึ้นฉ่าย



คะน้า



แครอท



ตะไคร้



ต้นหอม



ถั่วงอก



ถั้วฝักยาว



ถั้วพู



ผักกาดแก้ว



ผักกาดขาว



ผักชีไทย



ผักชีฝรั่ง

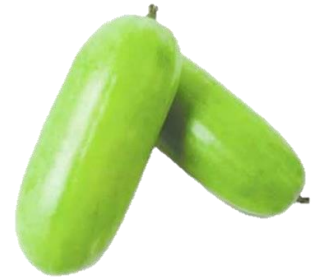




ผักบั้งจีน



ฝรั่งกิมจู



ฟัก



ฟักทอง



มะเขือเทศ



มะนาว



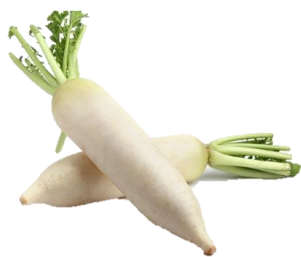
มะระขี้นก



ลองกอง



หอมใหญ่



หัวไชเท้า



โหระพา



แอปเปิ้ล

ภาพที่ 3 ตัวอย่างผักและผลไม้ที่นำมาวิเคราะห์หาสารเคมีกำจัดแมลงที่ตกค้าง

- ตัวอย่างการคำนวณ

1. การคำนวณหาร้อยละการกลับคืน (%Recovery)

ตารางที่ 1 ค่าพื้นที่ใต้พีคของคาร์โบฟูรานในตัวอย่างแตงกวา

ชนิดตัวอย่าง	ค่าพื้นที่ใต้พีคของคาร์โบฟูราน (mAU*s)			
	1	2	3	เฉลี่ย
แตงกวา	4.13	4.11	4.12	4.12

สมการเส้นตรงของคาร์โบฟูราน คือ  $y = 0.0115x - 0.5621$

ความเข้มข้นของคาร์โบฟูรานในตัวอย่างที่มีการ Spike สารละลายมาตรฐานคาร์โบฟูรานลงไป เท่ากับ 2,000 ไมโครกรัม/ลิตร

$$\text{จะได้} \quad 4.12 = 0.0115x - 0.5621$$

$$\text{ดังนั้น} \quad x = 406.98 \text{ ไมโครกรัม/ลิตร}$$

การเตรียมสารละลายตัวอย่างก่อนฉีดเข้าเครื่อง HPLC นั้นเตรียมโดยการปิเปตสารสกัดตัวอย่างแตงกวามาปริมาตร 0.10 มิลลิลิตร แล้วปรับปริมาตรด้วยเฟสเคลื่อนที่จนมีปริมาตร 0.50 มิลลิลิตร

$$\text{จากสูตร} \quad C_1V_1 = C_2V_2$$

$$C_1(0.10) = (406.98)(0.50)$$

$$C_1 = 2,034.90 \text{ ไมโครกรัม/ลิตร}$$

ดังนั้น ความเข้มข้นของสารละลายตัวอย่างที่มีการ Spike สารละลายมาตรฐานคาร์โบฟูรานลงไป

เท่ากับ 2,034.90 ไมโครกรัม/ลิตร #

จากนั้นนำมาคำนวณหา %Recovery ตามสมการที่ 1

$$\% \text{Recovery} = \frac{\text{Conc.spiked} - \text{Conc.sample}}{\text{Conc.standard}} \times 100 \quad \text{สมการที่ 1}$$

โดยที่ Conc.spiked คือ ความเข้มข้นของคาร์โบฟูรานในตัวอย่างที่มีการ Spike สารละลายมาตรฐานคาร์โบฟูรานลงไป

Conc.sample คือ ความเข้มข้นของคาร์โบฟูรานในตัวอย่าง

Conc.standard คือ ความเข้มข้นของสารละลายมาตรฐานคาร์โบฟูรานที่เติมลงไป

$$\% \text{Recovery} = \frac{2,034.90 - 0}{2,000} \times 100$$

$$= 101.75$$

ดังนั้น ตัวอย่างดังกล่าวมีค่าร้อยละการกลับคืน เท่ากับ 101.75% #

ตารางที่ 2 ค่าพื้นที่ใต้พีคของคาร์บาริลในตัวอย่างดังกล่าว

ชนิดตัวอย่าง	ค่าพื้นที่ใต้พีคของคาร์บาริล (mAU*s)			
	1	2	3	เฉลี่ย
ดังกล่าว	55.16	54.81	54.07	54.68

สมการเส้นตรงคาร์บาริล คือ  $y = 0.2194x - 1.918$

ความเข้มข้นของคาร์บาริลในตัวอย่างที่มีการ Spike สารละลายมาตรฐานคาร์บาริลลงไป เท่ากับ 2,000 ไมโครกรัม/ลิตร

$$\text{จะได้} \quad 54.68 = 0.2194x - 1.918$$

$$\text{ดังนั้น} \quad x = 257.97 \text{ ไมโครกรัม/ลิตร}$$

การเตรียมสารละลายตัวอย่างก่อนฉีดเข้าเครื่อง HPLC นั้นเตรียมโดยการปิเปตสารสกัดตัวอย่างดังกล่าวมาปริมาตร 0.10 มิลลิลิตร แล้วปรับปริมาตรด้วยเฟสเคลื่อนที่จนมีปริมาตร 0.50 มิลลิลิตร

$$\text{จากสูตร} \quad C_1V_1 = C_2V_2$$

$$C_1(0.10) = (257.97)(0.50)$$

$$C_1 = 1,289.85 \text{ ไมโครกรัม/ลิตร}$$

ดังนั้น ความเข้มข้นของสารละลายตัวอย่างที่มีการ Spike สารละลายมาตรฐานคาร์บาริลลงไป

เท่ากับ 1,289.85 ไมโครกรัม/ลิตร #

จากนั้นนำมาคำนวณหา %Recovery ตามสมการที่ 1

$$\%Recovery = \frac{1,289.95-0}{2,000} \times 100$$

$$= 64.50$$

ดังนั้น ตัวอย่างแดงความมีค่าร้อยละการกลับคืน เท่ากับ 64.50%

**ตารางที่ 3** ค่าพื้นที่ใต้พีคของเมโทมิลในตัวอย่างแดงกวาง

ชนิดตัวอย่าง	ค่าพื้นที่ใต้พีคของเมโทมิล (mAU*s)			
	1	2	3	เฉลี่ย
แดงกวาง	8.19	8.72	9.08	8.66

สมการเส้นตรงของเมโทมิล คือ  $y = 0.0234x - 0.1942$

เมโทมิลในตัวอย่างที่มีการ Spike สารละลายมาตรฐานเมโทมิลลงไป เท่ากับ 2,000 ไมโครกรัม/ลิตร

$$\text{จะได้} \quad 8.66 = 0.0234x - 0.1942$$

$$\text{ดังนั้น} \quad x = 378.38 \text{ ไมโครกรัม/ลิตร}$$

การเตรียมสารละลายตัวอย่างก่อนฉีดเข้าเครื่อง HPLC นั้นเตรียมโดยการปิเปตสารสกัดตัวอย่างแดงกวางมาปริมาตร 0.10 มิลลิลิตร แล้วปรับปริมาตรด้วยเฟสเคลื่อนที่จนมีปริมาตร 0.50 มิลลิลิตร

จากสูตร

$$C_1V_1 = C_2V_2$$

$$C_1(0.10) = (378.38)(0.50)$$

$$C_1 = 1,891.90 \text{ ไมโครกรัม/ลิตร}$$

ดังนั้น ความเข้มข้นของสารละลายตัวอย่างที่มีการ Spike สารละลายมาตรฐานเมโทมิลลงไป เท่ากับ 1,891.90 ไมโครกรัม/ลิตร #

จากนั้นนำมาคำนวณหา %Recovery ตามสมการที่ 1

$$\%Recovery = \frac{1,891.90-0}{2,000} \times 100$$

$$= 94.60$$

ดังนั้น ตัวอย่างแดงความมีค่าร้อยละการกลับคืน เท่ากับ 94.60% #

หมายเหตุ: การหา %Recovery ในชนิดของเกลืออื่น ๆ สามารถคำนวณได้ในทำนองเดียวกัน

## 2. การคำนวณหาความเข้มข้นของคาร์โบฟูราน คาร์บาริล และเมโทมิลในตัวอย่าง

ตารางที่ 4 ค่าพื้นที่ใต้พีคของตัวอย่างถั่วพู

ชนิดตัวอย่าง	ค่าพื้นที่ใต้พีคของคาร์โบฟูราน (mAU*s)	ค่าพื้นที่ใต้พีคของคาร์บาริล (mAU*s)	ค่าพื้นที่ใต้พีคของเมโทมิล (mAU*s)
ถั่วพู	200.13	105.23	2,337.69

- นำค่าพื้นที่ใต้พีค แทนในสมการเส้นตรงของคาร์โบฟูราน คือ  $y = 0.0115x - 0.5621$

$$\text{จะได้} \quad 200.13 = 0.0115x - 0.5621$$

$$x = 17,451.87 \text{ ไมโครกรัม/ลิตร}$$

ดังนั้น ตัวอย่างถั่วพูมีความเข้มข้นของคาร์โบฟูราน เท่ากับ 17.45 มิลลิกรัม/ลิตร #

- นำค่าพื้นที่ใต้พีค แทนในสมการเส้นตรงของคาร์บาริล คือ  $y = 0.2194x - 1.918$

$$\text{จะได้} \quad 105.23 = 0.2194x - 1.918$$

$$x = 488.37 \text{ ไมโครกรัม/ลิตร}$$

ดังนั้น ตัวอย่างถั่วพูมีความเข้มข้นของคาร์บาริล เท่ากับ 0.49 มิลลิกรัม/ลิตร #

- นำค่าพื้นที่ใต้พีค แทนในสมการเส้นตรงของเมโทมิล คือ  $y = 0.0234x - 0.1942$

$$\text{จะได้} \quad 2,337.69 = 0.0234x - 0.1942$$

$$x = 99,909.78 \text{ ไมโครกรัม/ลิตร}$$

ดังนั้น ตัวอย่างถั่วพูมีความเข้มข้นของเมโทมิล เท่ากับ 99.91 มิลลิกรัม/ลิตร #

หมายเหตุ: การคำนวณหาความเข้มข้นของคาร์โบฟูราน คาร์บาริล และเมโทมิลในตัวอย่างผักและผลไม้อื่น ๆ สามารถคำนวณได้ในทำนองเดียวกัน

3. การคำนวณความแตกต่างหรือไม่แตกต่างระหว่างเกลือ  $\text{MgSO}_4$  กับเกลือ  $\text{Na}_2\text{SO}_4$  โดยใช้  
Data analysis (t-Test: Paired Two Sample for Means) แสดงดังตารางที่ 5

ตารางที่ 5 t-Test: Paired Two Sample for Means

	Variable 1	Variable 2
Mean	89.65344997	86.87285634
Variance	530.397685	443.3223777
Observations	3	3
Pearson Correlation	0.987769358	
Hypothesized Mean Difference	0	
df	2	
t Stat	1.213061764	
P(T<=t) one-tail	0.174468398	
t Critical one-tail	2.91998558	
P(T<=t) two-tail	0.348936797	
t Critical two-tail	4.30265273	

จากตาราง ค่า  $t_{\text{Stat}} < t_{\text{Critical two-tail}}$  ( $1.21 < 4.30$ ) แสดงว่า ค่าร้อยละการกลับคืนของ  
เกลือ  $\text{MgSO}_4$  กับเกลือ  $\text{Na}_2\text{SO}_4$  ไม่แตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญที่ความเชื่อมั่น 95%

## ประวัติผู้เขียน

ชื่อ-สกุล	นายจาตุรงค์ ผลประเสริฐ
วัน เดือน ปี เกิด	15 กันยายน 2533
สถานที่เกิด	นครปฐม
วุฒิการศึกษา	พ.ศ. 2556 สำเร็จการศึกษาปริญญาวิทยาศาสตรบัณฑิต สาขาวิชาเคมี คณะวิทยาศาสตร์ มหาวิทยาลัยศิลปากร พ.ศ. 2562 ศึกษาต่อระดับปริญญาวิทยาศาสตรมหาบัณฑิต สาขาวิชาเคมี คณะวิทยาศาสตร์ มหาวิทยาลัยศิลปากร
ที่อยู่ปัจจุบัน	144/1 หมู่ 5 ตำบลธรรมศาลา อำเภอเมืองนครปฐม จังหวัดนครปฐม 73000
ผลงานตีพิมพ์	- 30 มิถุนายน - 1 กรกฎาคม 2565 เข้าร่วมประชุมวิชาการ Pure and Applied Chemistry International Conference 2022 (PACCON 2022) ณ KMITL Convention Hall สถาบันเทคโนโลยีพระจอมเกล้าเจ้าคุณทหารลาดกระบัง กรุงเทพมหานคร ได้นำเสนอผลงานแบบ Poster ในหัวข้อ Determination of carbaryl residues in vegetable by QuEChERS and high performance liquid chromatograph - 23 - 24 มิถุนายน 2565 เข้าร่วมโครงการประชุมวิชาการบัณฑิตศึกษาระดับชาติ ครั้งที่ 12 เรื่อง “บัณฑิตวิจัย สร้างสรรค์ และนวัตกรรม : การขับเคลื่อนสังคมเข้าสู่ยุคปกติใหม่ด้วยองค์ความรู้” โดยความร่วมมือระหว่างบัณฑิตวิทยาลัย มหาวิทยาลัยศิลปากร ร่วมกับ บัณฑิตวิทยาลัย มหาวิทยาลัยราชภัฏสวนสุนันทา บัณฑิตวิทยาลัย มหาวิทยาลัยมหามกุฏราชวิทยาลัย และศูนย์มานุษยวิทยาสิรินธร (องค์การมหาชน) ได้นำเสนอรูปแบบบทความวิจัย (Proceeding) ในหัวข้อ การหาปริมาณเมโทมิลที่ตกค้างในผักสดด้วยเทคนิค QuEChERS และโครมาโทกราฟีของเหลวสมรรถนะสูง