



รายงานวิจัยฉบับสมบูรณ์

โครงการ “การพัฒนาการลดขนาดการเตรียมตัวอย่างแบบออนไลน์สำหรับการวิเคราะห์หัตถ์พิษทางสิ่งแวดล้อมด้วยโครมาโทกราฟี”

โดย ดร. รจนา บุระคำ และคณะ

ตุลาคม 2553

รายงานวิจัยฉบับสมบูรณ์

โครงการ “การพัฒนาการลดขนาดการเตรียมตัวอย่างแบบออนไลน์สำหรับ
การวิเคราะห์ห้มลพิษทางสิ่งแวดล้อมด้วยโครมาโทกราฟี”

คณะผู้วิจัย

สังกัด

1. ดร. รจนา บุระคำ ภาควิชาเคมี คณะวิทยาศาสตร์ มหาวิทยาลัยขอนแก่น
2. ศ.ดร. เกตุ กรุดพันธ์ ภาควิชาเคมี คณะวิทยาศาสตร์ มหาวิทยาลัยเชียงใหม่

สนับสนุนโดยสำนักงานคณะกรรมการการอุดมศึกษา และ สำนักงานกองทุนสนับสนุนการวิจัย

(ความเห็นในรายงานนี้เป็นของผู้วิจัย สกอ. และ สกว. ไม่จำเป็นต้องเห็นด้วยเสมอไป)

ABSTRACT

Development of Miniaturization on On-line Sample Preparation for Chromatographic Analysis of Some Environmental Pollutants

Principal investigator: Dr. Rodjana Burakham

Mentor: Professor Dr. Kate Grudpan

This project developed miniaturized sample preparation/preconcentration methods for carbamate insecticides prior to chromatographic analysis. The carbamates studied were isoprocab, methomyl, carbaryl, carbofuran, methiocarb, promecarb and propoxur. For liquid chromatographic separation, an Atlantis C18 reversed-phase column (4.6 x 150 mm, 5 μ m) was used with the gradient elution of acetonitrile and 0.1% acetic acid. The mobile phase flow rate was set at 1.0 mL min⁻¹ and the detection wavelength at 270 nm was monitored. Two developed sample pretreatment systems include the liquid-liquid microextraction using room temperature ionic liquid as alternative extraction solvent and the on-line micro-solid-phase extraction using sequential injection-lab-on-valve with bead injection.

In the first system, a simple and rapid method for preconcentration of carbamate insecticides has been developed. The method was based on a liquid-liquid microextraction using a 1-butyl-3-methylimidazolium hexafluorophosphate ([C₄MIM][PF₆]) room temperature ionic liquid as an extraction solvent prior to analysis by high performance liquid chromatography. Experimental parameters affecting the extraction performance, such as the volumes of sample, extractant and dissolving solvent, and extraction time, were optimized. Under the selected conditions, the enrichment factors were in the range between 10 and 25. The limits of detection of the method were in the range of 2-40 μ g L⁻¹. Good reproducibility was obtained with the relative standard deviations of lower than 0.62% and 10.17% for retention time and peak area, respectively. The method was successfully applied for determination of carbamate residues in fruit and natural surface water samples. The proposed method offers advantages in reduction of the exposure

danger to toxic solvents used in the conventional liquid-liquid extraction, simplicity of the extraction processes, rapidity, and sensitivity enhancement.

In the second system, a sequential injection-bead injection-lab-on-valve (SI-BI-LOV) system was hyphenated to HPLC for on-line renewable micro-solid phase extraction (MSPE) of carbamate pesticides. LiChroprep[®] RP-18 beads (25 – 40 μm) were employed as renewable sorbent packing in a micro-column situated inside the LOV platform mounted above the multiposition selection valve of the SI system. The analytes sorbed by the MSPE column were eluted using 300 μL of 80% acetonitrile in 0.1% acetic acid before on-line introduction to the HPLC system with the injection volume of 20 μL . The SI system offers the means of performing automated handling of sample pretreatment/preconcentration and matrix removal. The enrichment factors ranged between 20 – 125, using the sample volume of 6 mL and leading to limits of detection in the range of 1 – 20 $\mu\text{g L}^{-1}$. Good reproducibility was obtained with relative standard deviations of less than 0.7% and 5.4% for retention time and peak area, respectively. The developed method has been successfully applied to the determination of carbamate residues in fruit, vegetable and water samples. Acceptable recoveries ranging from 88 – 108% were obtained. The proposed method offers advantages of simplicity, ease of operation and reduced chemical consumption. The sample pretreatment and separation processes could be operated in parallel, therefore, advantages of better analysis time could be gained.

Keywords: carbamate, sample preparation, micro-extraction, ionic liquid,
sequential injection-lab-on-valve, HPLC

บทคัดย่อ

การพัฒนาการลดขนาดการเตรียมตัวอย่างแบบออนไลน์ สำหรับการวิเคราะห์มลพิษทางสิ่งแวดล้อมด้วยโครมาโทกราฟี

หัวหน้าโครงการ: ดร. รจนา บุระคำ

นักวิจัยที่ปรึกษา: ศาสตราจารย์ ดร. เกตุ กรุดพันธ์

โครงการวิจัยนี้ได้นำเสนอการพัฒนากระบวนการเตรียมตัวอย่าง/การเพิ่มความเข้มข้นสารกำจัดศัตรูพืชกลุ่มคาร์บาเมตก่อนการวิเคราะห์ด้วยเทคนิคโครมาโทกราฟีของเหลวสมรรถนะสูง สารกำจัดศัตรูพืชกลุ่มคาร์บาเมตที่ศึกษาได้แก่ isoprocab methomyl carbaryl carbofuran methiocarb promecarb และ propoxur ระบบโครมาโทกราฟีของเหลวสมรรถนะสูงที่ใช้สำหรับแยกสารกำจัดศัตรูพืชกลุ่มคาร์บาเมต ใช้คอลัมน์รีเวิร์สเฟส Atlantis C18 (4.6 x 150 มม., 50 ไมโครเมตร) การชะแบบเกรเดียนต์ด้วยเฟสเคลื่อนที่ที่ประกอบด้วย acetonitrile และ 0.1% acetic acid อัตราการไหลของเฟสเคลื่อนที่ 1.0 มิลลิลิตรต่อนาที และตรวจวัดที่ความยาวคลื่น 270 นาโนเมตร ระบบเตรียมตัวอย่างที่พัฒนาขึ้นมี 2 ระบบ คือ ระบบการสกัดระดับจุลภาคโดยใช้ของเหลวไอออนิกเป็นตัวทำละลายในการสกัดแทนตัวทำละลายอินทรีย์ที่มีความเป็นพิษสูง และระบบการสกัดด้วยวัฏภาคของแข็งระดับจุลภาคแบบออนไลน์โดยอาศัยเทคนิคซีเควนเชียลอินเจกชัน-แลปออนวาล์วและบีดอินเจกชัน

ระบบแรกเป็นการพัฒนาการสกัดอย่างง่ายและรวดเร็วเพื่อเพิ่มความเข้มข้นสารกำจัดศัตรูพืชกลุ่มคาร์บาเมต ซึ่งอาศัยการสกัดด้วยวัฏภาคของเหลวระดับจุลภาคโดยใช้ของเหลวไอออนิก อุณหภูมิห้อง 1-butyl-3-methylimidazolium hexafluorophosphate ($[C_4MIM][PF_6]$) เป็นตัวทำละลายในการสกัดก่อนที่จะวิเคราะห์ด้วยเทคนิคโครมาโทกราฟีของเหลวสมรรถนะสูง ในการวิจัยนี้ได้ศึกษาตัวแปรที่มีผลต่อประสิทธิภาพในการสกัด เช่น ปริมาตรของสารตัวอย่าง ปริมาตรของตัวทำละลายที่ใช้สกัด ปริมาตรของตัวทำละลายที่ใช้เพื่อลดความหนืดของสารสกัด และเวลาในการสกัดจากการทดลองภายใต้สภาวะที่เหมาะสม พบว่าระบบการสกัดนี้ให้ค่าสัมประสิทธิ์การเพิ่มความเข้มข้นระหว่าง 10 – 25 ค่าขีดจำกัดต่ำสุดของการวิเคราะห์อยู่ในช่วง 2 – 40 ไมโครกรัมต่อลิตร มีความแม่นยำโดยพิจารณาจากค่าเบี่ยงเบนมาตรฐานสัมพัทธ์ที่ต่ำกว่า 0.62% สำหรับค่าเวลาการคงอยู่ และ 10.17% สำหรับค่าพื้นที่ใต้พีค วิธีที่พัฒนาขึ้นนี้ได้นำไปประยุกต์ใช้สำหรับการวิเคราะห์สารกำจัดแมลงกลุ่มคาร์บาเมตในตัวอย่างผลไม้และน้ำผิวดิน ซึ่งมีข้อดีคือตัวทำละลายที่ใช้ในการสกัดไม่เป็นพิษ ขั้นตอนการสกัดรวดเร็ว ไม่ยุ่งยากและสามารถเพิ่มความเข้มข้นของสารเป้าหมายได้ดี

ระบบที่สองเป็นการเตรียมตัวอย่างแบบออนไลน์ก่อนการวิเคราะห์ด้วยเทคนิคโครมาโทกราฟีของเหลวสมรรถนะสูง โดยอาศัยเทคนิคซีเควนเชียลอินเจกชัน-ปีคอินเจกชัน-แลปออนวาล์ว ในการสกัดด้วยวัฏภาคของแข็งระดับจุลภาค วัฏภาคของแข็งที่ใช้ในการดูดซับสารกำจัดศัตรูพืชกลุ่มคาร์บาเมตในงานวิจัยนี้คือ LiChroprep® RP-18 (25 – 40 ไมโครเมตร) โดยบรรจุในไมโครคอลัมน์ ภายในชุดวิเคราะห์แลปออนวาล์ว และชะสารเป้าหมายที่ถูกดูดซับบนวัฏภาคของแข็งโดยใช้สารละลาย 80% acetonitrile ใน 0.1% acetic acid ปริมาตร 300 ไมโครลิตร ก่อนที่จะเข้าสู่ระบบการแยกและวิเคราะห์ด้วย HPLC ต่อไป โดยใช้ปริมาตรที่ฉีด 20 ไมโครลิตร พบว่า ค่าการเพิ่มความเข้มข้นของสารกำจัดแมลงกลุ่มคาร์บาเมตที่ศึกษาจากระบบที่สองนี้อยู่ระหว่าง 20 – 125 เมื่อใช้ปริมาตรตัวอย่างเริ่มต้น 6 มิลลิลิตร ค่าขีดจำกัดต่ำสุดของการตรวจวัด 1 – 20 ไมโครกรัมต่อลิตร ค่าเบี่ยงเบนมาตรฐานสัมพัทธ์ของเวลาการคงอยู่ 0.7% และพื้นที่ใต้พีค 5.4% ตามลำดับ ระบบที่พัฒนาขึ้นนี้ได้นำไปประยุกต์สำหรับการวิเคราะห์ตัวอย่างผลไม้ ผัก และน้ำจากแหล่งน้ำธรรมชาติ โดยมีค่าเปอร์เซ็นต์การกลับคืนอยู่ในช่วง 88 – 108% นอกจากนี้ ระบบการเตรียมตัวอย่างแบบออนไลน์ควบคู่กับเทคนิคการวิเคราะห์ด้วยโครมาโทกราฟีของเหลวสมรรถนะสูงนี้ สามารถช่วยประหยัดเวลาในการวิเคราะห์ได้ เนื่องจากสามารถทำขั้นตอนการเตรียมตัวอย่าง/เพิ่มความเข้มข้น และขั้นตอนการแยกไปพร้อมๆกันได้

คำสำคัญ: คาร์บาเมต การเตรียมตัวอย่าง การสกัดระดับจุลภาค ของเหลวไอออนิก
ซีเควนเชียลอินเจกชัน-แลปออนวาล์ว โครมาโทกราฟีของเหลวสมรรถนะสูง

Executive Summary

ทุนพัฒนาศักยภาพในการทำงานวิจัยของอาจารย์รุ่นใหม่ (MRG5080259)

1. ชื่อโครงการ (ภาษาไทย) การพัฒนาการลดขนาดการเตรียมตัวอย่างแบบออนไลน์สำหรับการวิเคราะห์ห้มลพิษทางสิ่งแวดล้อมด้วยโครมาโทกราฟี
- (ภาษาอังกฤษ) Development of Miniaturization on On-line Sample Preparation for Chromatographic Analysis of Some Environmental Pollutants

2. หัวหน้าโครงการ ดร. รจนา บุระคำ
ภาควิชาเคมี คณะวิทยาศาสตร์ มหาวิทยาลัยขอนแก่น
อ.เมือง จ.ขอนแก่น 40002
โทร. 0 4320 2222-41 ต่อ 12243
โทรสาร 0 4320 2373
e-mail: rburakham@yahoo.com
- นักวิจัยที่ปรึกษา ศาสตราจารย์ ดร. เกตุ กรุดพันธ์
ภาควิชาเคมี คณะวิทยาศาสตร์ มหาวิทยาลัยเชียงใหม่
อ.เมือง จ.เชียงใหม่ 50200
โทร. 0 5394 1910
โทรสาร 0 5322 2268
e-mail: kate@chiangmai.ac.th

3. สาขาวิชาที่ทำการวิจัย

เคมีวิเคราะห์ เน้นการพัฒนาเครื่องมือและระบบการวิเคราะห์แบบใหม่

5. ระยะเวลาดำเนินงาน

3 ปี 4 เดือน (2 กรกฎาคม 2550 – 31 ตุลาคม 2553)

6. วัตถุประสงค์ของโครงการ

เพื่อพัฒนาระบบการเตรียมตัวอย่าง/การเพิ่มความเข้มข้นสาร แบบออนไลน์แบบใหม่ที่ทำให้ขนาดเล็กลงสำหรับการวิเคราะห์ด้วยเทคนิคโครมาโทกราฟี ซึ่งสามารถทำงานได้ง่าย ใช้อุปกรณ์ราคาประหยัด และเหมาะสมกับการวิเคราะห์ตัวอย่างทางด้านสิ่งแวดล้อม โดยพัฒนาขึ้นจากเทคนิคที่อาศัยหลักการไหล และสามารถนำมาประยุกต์ใช้ได้กับการวิเคราะห์ตัวอย่างจริง

7. ขอบเขตของการวิจัย

(1) พัฒนาเทคนิค sequential injection-lab-at-valve และโครมาโทกราฟี เพื่อเตรียมตัวอย่างและเพิ่มความเข้มข้นของสารแบบออนไลน์ สำหรับการวิเคราะห์โลหะหนัก และ/หรือ pesticides เพื่อให้ได้ระบบที่สามารถวิเคราะห์สารปริมาณน้อยมาก (trace analysis) และวิเคราะห์สารหลายๆ ชนิดได้พร้อมกัน (simultaneous)

(2) พัฒนาระบบการวิเคราะห์ด้วยเทคนิคโครมาโทกราฟีที่มี on-line sample pretreatment/preconcentration โดยสนใจการปรับ/พัฒนาระบบ

8. Output

มีผลงานเป็นระบบการเตรียมตัวอย่างแบบใหม่ 2 ระบบ สำหรับการวิเคราะห์สารกำจัดศัตรูพืชกลุ่มคาร์บาเมตด้วยเทคนิคโครมาโทกราฟีของเหลวสมรรถนะสูง โดยระบบแรกพัฒนาการสกัดระดับจุลภาคโดยใช้ของเหลวไอออนิก (ionic liquid) แทนตัวทำละลายอินทรีย์ในการสกัด และระบบที่สองเป็นการเตรียมตัวอย่างแบบออนไลน์ โดยอาศัยเทคนิคซีเควนเชียลอินเจกชัน-แล็ปออนวาล์ว เพื่อการสกัดด้วยวัฏภาคของแข็งแบบย่อส่วน ทั้งสองระบบให้ประสิทธิภาพในการสกัดสูง ช่วยเพิ่มความสะดวกรวดเร็วในการวิเคราะห์ ช่วยลดปริมาณการใช้สารเคมีที่เป็นพิษ และเหมาะสำหรับการประยุกต์ใช้ในหน่วยงานวิเคราะห์ต่างๆ ได้

ผลงานบางส่วนของโครงการ ได้รับการตีพิมพ์ในวารสารวิชาการระดับนานาชาติ 1 เรื่อง และกำลังอยู่ในระหว่างการพิจารณาอีก 2 เรื่อง มีการนำเสนอผลงานในการประชุมวิชาการระดับนานาชาติ (ทั้งแบบบรรยายและโปสเตอร์) จำนวน 3 เรื่อง และ ในการประชุมวิชาการระดับชาติ จำนวน 2 เรื่อง (ดังรายละเอียดในภาคผนวก ก) นอกจากนี้ยังมีผลงานที่สัมพันธ์กับโครงการ ซึ่งได้รับการสนับสนุนบางส่วนจากแหล่งทุนอื่นๆ (ได้แก่ ทุนพัฒนากลุ่มวิจัยของสำนักงานคณะกรรมการการอุดมศึกษา “กลุ่มวิจัยเพื่อนวัตกรรมทางเครื่องมือวิเคราะห์เพื่อคุณภาพชีวิตที่ดีขึ้น” โดยมีศาสตราจารย์ ดร. เกตุ กรุดพันธ์ เป็นหัวหน้าโครงการ ทุนสนับสนุนจากศูนย์นวัตกรรมทางเคมี

(PERCH-CIC) และทุนสนับสนุนจาก Alexander von Humboldt Foundation ประเทศสหพันธ์สาธารณรัฐเยอรมนี) ซึ่งมีผลงานที่ได้รับการตีพิมพ์ในวารสารวิชาการนานาชาติจำนวน 4 เรื่อง และนำเสนอในการประชุมวิชาการทั้งระดับชาติและนานาชาติ จำนวน 22 เรื่อง (ดังรายละเอียดในภาคผนวก ข)

ชื่อโครงการ (ภาษาไทย) การพัฒนาการลดขนาดการเตรียมตัวอย่างแบบออนไลน์สำหรับการวิเคราะห์มลพิษทางสิ่งแวดล้อมด้วยโครมาโทกราฟี

(ภาษาอังกฤษ) Development of Miniaturization on On-line Sample Preparation for Chromatographic Analysis of Some Environmental Pollutants

1. ความสำคัญและที่มาของปัญหา

สิ่งแวดล้อมนับว่ามีความสำคัญและมีอิทธิพลอย่างมากต่อการดำรงชีวิตของมนุษย์และสัตว์ คุณภาพชีวิตที่ดีมักจะขึ้นกับสภาวะแวดล้อมที่มีคุณภาพ ปัจจุบันการพัฒนาและการขยายตัวด้านเศรษฐกิจและอุตสาหกรรมของประเทศก่อให้เกิดผลกระทบต่อสภาพแวดล้อมของชุมชน ทั้งโดยตรงและทางอ้อม การปนเปื้อนของสารพิษเป็นปัญหาส่งแวดล้อมอย่างหนึ่งที่จะได้รับความสนใจน้อย ยกเว้นเมื่อมีเหตุวิบัติหรือการเจ็บป่วย พิการ หรือ ล้มตาย เนื่องจากสารพิษขึ้นเป็นครั้งคราว ปัญหาการปนเปื้อนของสารพิษในสิ่งแวดล้อมที่สำคัญและใกล้ชิดกับชีวิตความเป็นอยู่ของประชากรในชุมชน ได้แก่ การปนเปื้อนของโลหะหนักจากโรงงานอุตสาหกรรมและรถยนต์ สารเคมีที่ใช้ในอาหาร และการปนเปื้อนของสารเคมีกำจัดศัตรูพืช (pesticides) เป็นต้น สารพิษเหล่านี้จะมีการตกค้างในอาหารจำพวกผัก ผลไม้ และ เนื้อสัตว์ รวมถึงดินที่ใช้เพาะปลูก และ แหล่งน้ำธรรมชาติ ซึ่งต้องใช้เวลาอันกว่าจะสลายตัว และ มีการสะสมเพิ่มมากขึ้นจนส่วนใหญ่อยู่ในระดับสูงเกินความปลอดภัยต่อชีวิต เมื่อมนุษย์ได้รับสารเหล่านี้เข้าสู่ร่างกายจากการบริโภคอาหาร หรือสัมผัสกับสิ่งแวดล้อมที่มีการปนเปื้อนของสารพิษ ถ้าได้รับในปริมาณมาก จะทำให้เกิดการเจ็บป่วยโดยเฉียบพลัน เช่น หน้ามืด เวียนศีรษะ ท้องร่วง อาจเกิดหัวใจวายและเสียชีวิต หากได้รับในปริมาณน้อยๆ ค่อยๆ สะสมในร่างกาย จะเป็นสาเหตุของโรคต่างๆ เช่น โรคมะเร็ง นอกจากอันตรายต่อมนุษย์โดยตรงแล้ว สารเคมีเหล่านี้ยังมีผลทำให้ภาวะสมดุลของธรรมชาติเสียไปด้วย ปัญหาเหล่านี้สามารถป้องกันและแก้ไขได้หากมีมาตรการด้านการจัดการสิ่งแวดล้อมที่ดี ซึ่งพื้นฐานของการจัดการสิ่งแวดล้อมที่ดี ส่วนหนึ่งมาจากการติดตามสถานการณ์การปนเปื้อนของสารพิษในสิ่งแวดล้อม ซึ่งต้องมีการวิเคราะห์สารพิษตกค้างในสิ่งแวดล้อมเป็นระยะๆ อย่างสม่ำเสมอ เพื่อจะหามาตรการแก้ไขได้ทันเวลา

เทคนิคการวิเคราะห์ที่นำมาใช้ในการวิเคราะห์สารพิษปนเปื้อน เป็นปัจจัยที่สำคัญอย่างยิ่งสำหรับการตรวจสอบการปนเปื้อนของสารพิษในสิ่งแวดล้อม หากเป็นเทคนิคที่สามารถทำได้ง่าย และลงทุนไม่มาก ก็จะสามารถวิเคราะห์ได้บ่อยๆ และได้ข้อมูลที่เป็นปัจจุบัน นอกจากนี้ การเตรียมตัวอย่าง (sample preparation) นับว่าเป็นขั้นตอนที่มีความสำคัญไม่น้อยไปกว่าขั้นตอนการวิเคราะห์ เพราะเป็นขั้นตอนที่ใช้เวลานาน และเป็นปัจจัยหนึ่งที่มีผลต่อความถูกต้องของข้อมูลที่ได้จากการวิเคราะห์ เทคนิคการเตรียมตัวอย่างจะแตกต่างกันไปขึ้นกับลักษณะและองค์ประกอบ

ของตัวอย่าง เช่น การสกัด (extraction) การย่อย (digestion) เป็นต้น นอกจากนี้บางครั้งยังต้องมีขั้นตอนการเพิ่มความเข้มข้นของสาร (preconcentration) ก่อนการวิเคราะห์ด้วย ซึ่งโดยปกติการเตรียมตัวอย่างและการเพิ่มความเข้มข้นของสารมักจะทำแบบ batch ต้องใช้สารตัวอย่างและรีเอเจนต์ที่เกี่ยวข้องในปริมาณมาก สิ้นเปลืองเวลาและแรงงาน การพัฒนาระบบให้มีขนาดเล็กลง (miniaturization) สำหรับการเตรียมตัวอย่างที่สามารถทำแบบออนไลน์ ใช้เวลาและสารเคมีในปริมาณน้อยและเป็นระบบอัตโนมัติ จึงน่าจะเป็นประโยชน์ต่อการเคมีวิเคราะห์เป็นอย่างมาก โดยเฉพาะอย่างยิ่ง ในงานด้านสิ่งแวดล้อม ซึ่งมีตัวอย่างที่ต้องวิเคราะห์เป็นจำนวนมาก

การลดขนาดของระบบการเตรียมตัวอย่าง/การเพิ่มความเข้มข้น และการวิเคราะห์ให้เล็กลง อาจพัฒนาได้โดยใช้เทคนิคการวิเคราะห์ที่อาศัยหลักการไหล (flow-based analysis) ซึ่งเป็นเทคนิคการวิเคราะห์แนวใหม่ที่ได้รับการยอมรับในเรื่องประสิทธิภาพ และเป็นที่นิยมใช้กันอย่างแพร่หลายในปัจจุบัน เนื่องจากการใช้สารตัวอย่าง/รีเอเจนต์ในปริมาณน้อย สามารถวิเคราะห์ได้อย่างรวดเร็ว ให้ผลการวิเคราะห์ที่ถูกต้อง แม่นยำ และช่วยเพิ่มความสะดวกในกรณีที่มีตัวอย่างจำนวนมาก เนื่องจากส่วนใหญ่การทำงานของระบบจะเป็นแบบอัตโนมัติ การพัฒนาเทคนิคเหล่านี้สำหรับการเตรียมตัวอย่างและการวิเคราะห์แบบออนไลน์ เช่น การสกัด การเพิ่มความเข้มข้นของสารก่อนการวิเคราะห์ และอื่นๆ เพื่อให้เหมาะสมกับสภาพเศรษฐกิจของประเทศไทย จึงน่าจะเกิดประโยชน์สำหรับการวิเคราะห์ ทำให้สามารถลดความสิ้นเปลืองเวลา แรงงาน ค่าใช้จ่าย ตลอดจนการใช้สารเคมีและตัวอย่างในการวิเคราะห์ ซึ่งนับว่าจำเป็นอย่างยิ่งสำหรับวงการเคมีวิเคราะห์ของเรา

เทคนิค Flow injection analysis (FIA) เป็นที่รู้จักในวงการเคมีวิเคราะห์ และได้รับความสนใจอย่างกว้างขวางในเวลาอันรวดเร็ว นับตั้งแต่ได้มีการนำเสนอเป็นครั้งแรกในปี ค.ศ. 1975¹ เนื่องจากเป็นเทคนิคที่สามารถพัฒนาและประยุกต์ใช้ได้กับการวิเคราะห์ในหลายๆ แขนง ซึ่งช่วยเพิ่มความสะดวก รวดเร็วและลดปริมาณการใช้สารเคมี เมื่อเทียบกับเทคนิคการวิเคราะห์ที่เคยใช้กันมาในอดีต

Sequential injection analysis (SIA)² เป็นเทคนิคที่ได้รับการพัฒนามาจาก FIA เพื่อปรับการทำงานให้เป็นระบบอัตโนมัติและมีความสามารถบางอย่างที่แตกต่างไปจากระบบ FIA เพื่อให้สามารถเลือกใช้ให้เหมาะสมกับงานแต่ละประเภท นอกจากนี้ยังเป็นเทคนิคที่ใช้สารเคมีในปริมาณน้อยมาก ปัจจุบัน SIA ยังได้รับการพัฒนาอย่างต่อเนื่องเพื่อให้เป็นระบบที่สามารถทำได้มากกว่าการวิเคราะห์สารเพียงอย่างเดียว เช่น มีการใช้ SIA สำหรับการทำ speciation³⁻⁴ เป็นต้น และได้มีการพัฒนาระบบการวิเคราะห์ให้มีขนาดเล็กลง เป็น micro-total analysis system (μ -TAS) เพื่อลดปริมาณการใช้สารตัวอย่างและรีเอเจนต์ เช่น SIA แบบ lab-on-valve (LOV)⁵ และ lab-at-valve (LAV)⁶⁻⁹ ซึ่งเหมาะสำหรับงานวิเคราะห์ที่ต้องใช้สารเคมีราคาแพงมากๆ หรือมีความเป็นพิษสูง หรือ งานที่มีปริมาณสารตัวอย่างจำกัด เช่น ในการวิเคราะห์ทางการแพทย์ โดยเฉพาะ SIA-LAV

ได้รับการพัฒนาให้ใช้อุปกรณ์ที่มีราคาประหยัด สามารถทำได้ง่ายและใช้สารเคมีในปริมาณน้อย ตัวอย่างการประยุกต์ของเทคนิค SIA-LAV ได้แก่ การวิเคราะห์ Cl^- ที่ได้นำเสนอเป็นครั้งแรกโดยกลุ่มวิจัยจากมหาวิทยาลัยเชียงใหม่ และการพัฒนาเทคนิค SIA-LAV สำหรับการทำ micro-extraction ซึ่งเป็นส่วนหนึ่งของวิทยานิพนธ์ที่ผู้วิจัยได้ศึกษาในระดับปริญญาเอก และได้พัฒนามาอย่างต่อเนื่องจนถึงปัจจุบัน นอกจากนี้ยังได้มีการพัฒนาเทคนิค SIA ให้มีความสามารถในการแยกสาร เรียกว่า sequential injection chromatography (SIC)¹⁰⁻¹¹ โดยอาศัยความก้าวหน้าด้านโครมาโทกราฟีในการหาเฟสในการแยกสารที่เหมาะสมสำหรับใช้กับระบบ SIA ซึ่งเมื่อเทียบกับระบบโครมาโทกราฟีแบบเดิมแล้ว SIC ถือว่ามีข้อได้เปรียบในด้านเครื่องมือที่มีความยุ่งยากซับซ้อนน้อยกว่า และ ลดการสิ้นเปลืองสารเคมีด้วย ซึ่งการเสนอแนวคิดของ FIA และ SIA รุ่นใหม่ ยังคงมีออกมาเรื่อยๆ อย่างต่อเนื่อง ทั้งที่เป็นการพัฒนาในส่วนของตัวเอง การลดขนาดของการวิเคราะห์ หรือ การนำไปใช้ร่วมกับเทคนิคการวิเคราะห์อื่นๆ ให้หลากหลาย

ในการวิเคราะห์เกี่ยวกับมลพิษทางสิ่งแวดล้อม ได้มีรายงานถึงการพัฒนาวิธีการวิเคราะห์ใหม่ๆ ได้แก่ การวิเคราะห์โลหะหนักด้วยเทคนิคโครมาโทกราฟีของเหลวสมรรถนะสูง โดยใช้เฟสของแข็งแบบใหม่ในการเตรียมตัวอย่างและเพิ่มความเข้มข้นสาร¹²⁻¹³ การวิเคราะห์ pesticides ที่ตกค้างในดินและแหล่งน้ำธรรมชาติ โดยอาศัยเทคนิคทางโครมาโทกราฟี ทั้งที่เป็น แก๊สโครมาโทกราฟี¹⁴ และ โครมาโทกราฟีแบบของเหลว¹⁵⁻¹⁶ การวิเคราะห์สารในกลุ่ม polycyclic aromatic hydrocarbons (PAHs) โดยใช้องค์การสกัดออนไลน์แบบใหม่ คู่ควบกับเทคนิคการวิเคราะห์ด้วยแก๊สโครมาโทกราฟี¹⁷ และ การวิเคราะห์สารในกลุ่ม volatile organic compounds (VOCs) ด้วยแก๊สโครมาโทกราฟี ร่วมกับการสกัดด้วย membrane¹⁸ เป็นต้น จะเห็นได้ว่าการวิเคราะห์ในยุคใหม่นี้ มักจะมีการทำขั้นตอนการเตรียมตัวอย่าง และ/หรือ การเพิ่มความเข้มข้น และ ขั้นตอนการวิเคราะห์แบบต่อเนื่อง เป็น total analytical system¹⁹⁻²⁰ เพื่อเพิ่มความสะดวกรวดเร็ว ในการทำงาน

การพัฒนาระบบการเตรียมตัวอย่างและการเพิ่มความเข้มข้นแบบออนไลน์ที่ทำให้ขนาดเล็กลง โดยอาศัยเทคนิคทาง micro-flow analysis ได้แก่ SI-LAV ก่อนการวิเคราะห์ด้วยเทคนิคโครมาโทกราฟี จึงเป็นเรื่องที่น่าสนใจและน่าจะเป็นประโยชน์อย่างมากต่อการเคมีวิเคราะห์ ซึ่งจะเป็นการรวมลักษณะเด่นของ SIA-LAV และโครมาโทกราฟี โดย SIA-LAV จะเป็นการเตรียมตัวอย่างที่ใช้สารเคมีในปริมาณน้อย ส่วนโครมาโทกราฟีมีข้อดีคือ สามารถวิเคราะห์สารหลายๆ ชนิดพร้อมกันได้ โดยงานวิจัยนี้มุ่งเน้นเพื่อการวิเคราะห์ตัวอย่างทางด้านสิ่งแวดล้อม เพื่อจะเป็นอีกทางเลือกหนึ่งของการวิเคราะห์ที่ปลอดภัย และ ราคาประหยัด ซึ่งเหมาะกับสภาพเศรษฐกิจของประเทศไทย

ในโครงการวิจัยนี้ได้พัฒนาระบบการเตรียมตัวอย่าง/การเพิ่มความเข้มข้นสารกำจัดแมลงกลุ่มคาร์บาเมต ก่อนการวิเคราะห์ด้วยเทคนิคโครมาโทกราฟีของเหลวสมรรถนะสูง ระบบที่

พัฒนาขึ้นสามารถนำมาประยุกต์ใช้ได้กับการวิเคราะห์ตัวอย่างจริง ซึ่งจะเน้นการวิเคราะห์ตัวอย่างทางด้านสิ่งแวดล้อมและอาหาร โดยได้พัฒนาขึ้น 2 ระบบ ดังนี้

1. ระบบการสกัดด้วยวิทยาของเหลวระดับจุลภาคโดยใช้ของเหลวไอออนิก ก่อนการวิเคราะห์ด้วยโครมาโทกราฟีของเหลวสมรรถนะสูง

2. ระบบเตรียมตัวอย่างแบบออนไลน์โดยอาศัยการสกัดด้วยวิทยาของแข็งระดับจุลภาคควบคู่กับการวิเคราะห์ด้วยโครมาโทกราฟีของเหลวสมรรถนะสูง

เอกสารอ้างอิง

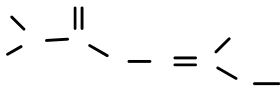
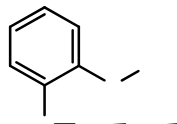
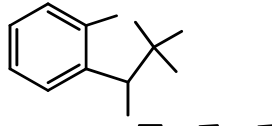
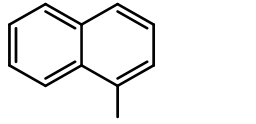
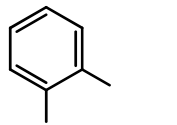
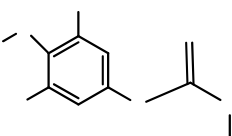
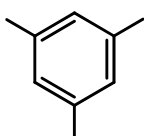
1. J. Ruzicka, E.H. Hansen, Anal. Chim. Acta, 78 (1975) 145.
2. J. Ruzicka, G.D. Marshall, Anal. Chim. Acta, 237 (1990) 329.
3. J.F. van Staden, L.V. Mulaudzi, R.I. Stefan, Anal. Chim. Acta, 499 (2003) 129.
4. L.V. Mulaudzi, J.F. van Staden, R.T. Stefan, Anal. Chim. Acta, 467 (2002) 35.
5. J. Ruzicka, Analyst, 125 (2000) 1053.
6. K. Grudpan, Talanta, 64 (2004) 1084.
7. J. Jakmunee, L. Patimapornlert, S. Suteerapataranon, K. Grudpan, Talanta, 65 (2005) 789.
8. R. Burakham, S. Lapanantnoppakhun, J. Jakmunee, K. Grudpan, Talanta, 68 (2005) 416.
9. R. Burakham, J. Jakmunee, K. Grudpan, Anal. Sci., 22 (2006) 137.
10. D. Satinsky, P. Solich, P. Chocholous, R. Karlicek, Anal. Chim. Acta, 499 (2003) 205.
11. J. Huclova, D. Satinsky, R. Karlicek, Anal. Chim. Acta, 494 (2003) 133.
12. A.K. Malik, V. Kaur, N. Verma, Talanta, 68 (2006) 842.
13. M. Soylak, M. Tuzen, J. Hazard. Mater. B, 137 (2006) 1496.
14. J. Wu, H.K. Lee, Anal. Chem., 78 (2006) 7292.
15. S. Moret, M. Hidalgo, J.M. Sanchez, Chromatographia, 63 (2006) 109.
16. M. Martinez Galera, M.D. Gil Garcia, R. Santiago Valverde, J. Chromatogr. A, 1113 (2006) 191.
17. A. El-Beqqali, A. Kussak, M. Abdel-Rehim, J. Chromatogr. A, 1114 (2006) 234.
18. M. Schellin, P. Popp, J. Chromatogr. A, 1103 (2006) 211.
19. X. Wang, S. Mitra, J. Chromatogr. A, 1068 (2005) 237.
20. N. Sadagopan, B. Pabst, L. Cohen, J. Chromatogr. B, 820 (2005) 59.

2. การพัฒนาระบบการสกัดสารกำจัดแมลงกลุ่มคาร์บาเมตด้วยวัฏภาคของเหลวระดับจุลภาคโดยใช้ของเหลวไอออนิก ก่อนการวิเคราะห์ด้วยโครมาโทกราฟีของเหลวสมรรถนะสูง

2.1 สภาวะการแยกสารกำจัดแมลงกลุ่มคาร์บาเมตด้วยเทคนิคโครมาโทกราฟีของเหลวสมรรถนะสูง

สารกำจัดแมลงกลุ่มคาร์บาเมตที่ศึกษามี 7 ชนิด ดังตารางที่ 1

ตารางที่ 1 แสดงสมบัติทางกายภาพของสารกำจัดแมลงกลุ่มคาร์บาเมตที่ศึกษา

Pesticide	Structure	Molecular weight (g/mol)	Formula	Aqueous solubility (mg/L)*
Methomyl (MTM)		162.21	C ₅ H ₁₀ N ₂ O ₂ S	5500
Propoxur (PPX)		209.24	C ₁₁ H ₁₅ NO ₃	1800
Carbofuran (CBF)		221.25	C ₁₂ H ₁₅ NO ₃	319
Carbaryl (CBR)		201.22	C ₁₂ H ₁₁ NO ₂	9.1
Isoproc carb (IPC)		193.24	C ₁₁ H ₁₅ NO ₂	270
Methiocarb (MTC)		225.31	C ₁₁ H ₁₅ NO ₂ S	27
Promecarb (PMC)		207.27	C ₁₂ H ₁₇ NO ₂	91

*IUPAC agrochemical information. <http://sitem.herts.ac.uk/aeru/iupac/115.htm>

H₃C

N

สภาวะโครมาโทกราฟีของเหลวสมรรถนะสูงสำหรับแยกสารกำจัดแมลงทั้ง 7 ชนิด มีดังนี้

HPLC system: Waters Tiger LC system (Waters, USA)

Column: Alantis C18 (4.6 mm i.d. x 150 mm, 5 μ m particle diameter)

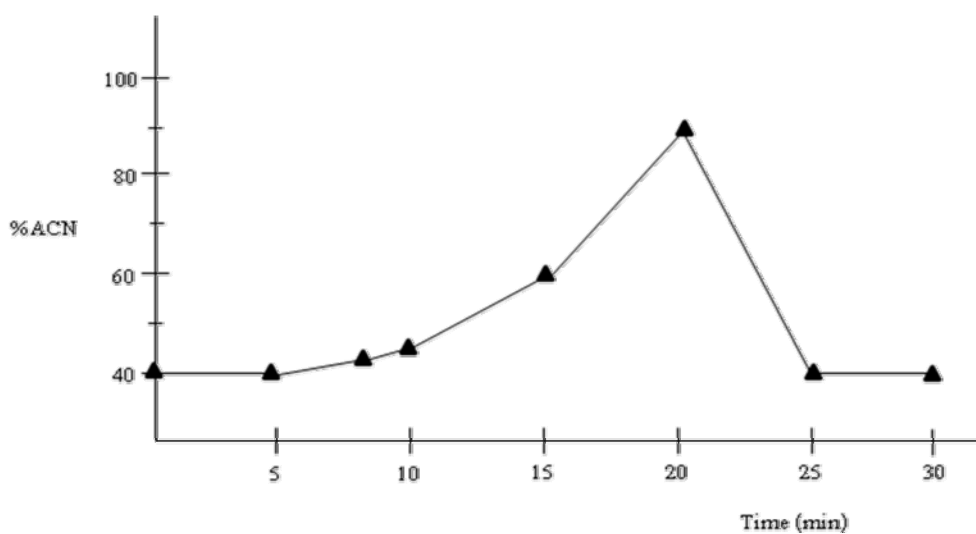
Detection: UV 270 nm

Injection volume: 20 μ L

Mobile phase: acetonitrile และ 0.1% acetic acid

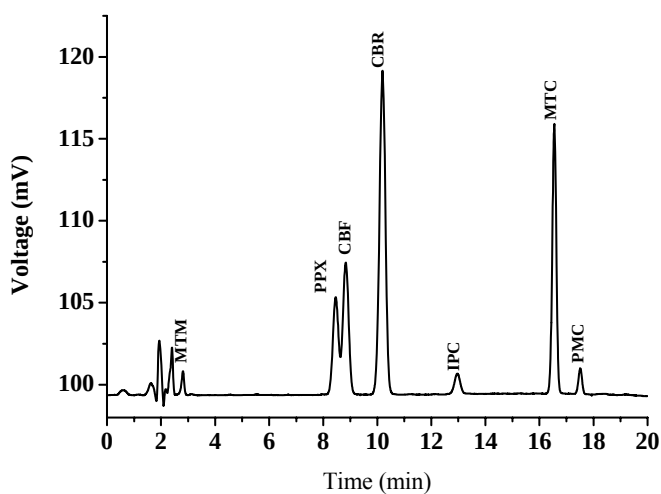
Flow rate: 1.0 mL min⁻¹

Gradient elution ดังแผนภาพ



รูปที่ 1 แสดง gradient program สำหรับการแยกสารกำจัดแมลงกลุ่มคาร์บาเมต

ภายใต้สภาวะดังกล่าว สามารถแยกสารกำจัดแมลงทั้ง 7 ชนิดได้ภายในเวลา 18 นาที ดังโครมาโทแกรมที่แสดงในรูปที่ 2 และค่าเวลาการคงอยู่ (retention time, t_R) ดังตารางที่ 2



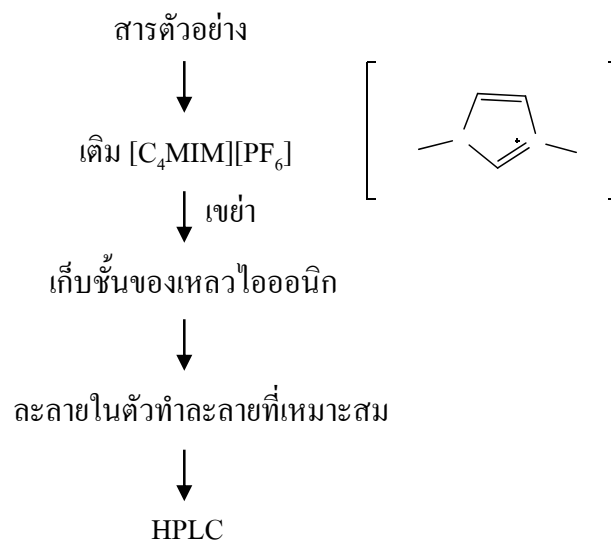
รูปที่ 2 แสดงโครมาโทแกรมที่ได้จากการแยกสารกำจัดแมลงกลุ่มคาร์บาเมต

ตารางที่ 2 ค่าเวลาการคงอยู่ของสารกำจัดแมลงกลุ่มคาร์บาเมตภายใต้สภาวะการทดลองที่ศึกษา

ลำดับ	สาร	t_R (min)	resolution
1	methomyl	2.827	-
2	propoxur	8.533	9.99
3	carbofuran	8.913	0.82
4	carbaryl	10.317	2.35
5	isoprocarb	13.063	4.84
6	methiocarb	16.683	6.65
7	promecarb	17.623	2.00

2.2 การสกัดระดับจุลภาคโดยใช้ของเหลวไอออนิก

ในงานวิจัยนี้ได้พัฒนาการระบบการสกัดระดับจุลภาคอย่างง่ายโดยใช้ของเหลวไอออนิกอุณหภูมิห้อง (room temperature ionic liquid) เป็นตัวทำละลายในการสกัด แทนการใช้ตัวทำละลายอินทรีย์ที่มีความเป็นพิษสูง โดยของเหลวไอออนิกที่ใช้ในการทดลอง คือ 1-butyl-3-methylimidazolium hexafluorophosphate หรือ $[C_4MIM][PF_6]$ มีขั้นตอนการสกัดอย่างง่ายดังแผนภาพ



รูปที่ 3 แสดงขั้นตอนการสกัดสารกำจัดแมลงกลุ่มคาร์บาเมตด้วยของเหลวไอออนิก

ได้มีการศึกษาสถานะที่เหมาะสมในการสกัดสารกำจัดแมลงกลุ่มคาร์บาเมต เพื่อให้มีประสิทธิภาพสูงที่สุด โดยศึกษาผลของตัวแปรต่างๆ ได้แก่ ปริมาตรของสารตัวอย่าง ปริมาตรของ $[C_4MIM][PF_6]$ ปริมาตรของตัวทำละลายที่เดิมเพื่อลดความหนืดของของเหลวไอออนิกก่อนฉีดเข้าสู่ระบบ HPLC และเวลาที่ใช้ในการสกัด เป็นต้น

ปริมาตรของสารตัวอย่างเป็นตัวแปรที่สำคัญที่มีผลต่อประสิทธิภาพในการสกัดเนื่องจากมีผลต่อค่า enrichment factor โดยได้ศึกษาปริมาตรของสารตัวอย่างในช่วง 1.00 – 5.00 มิลลิลิตร โดยให้ตัวแปรอื่นๆที่ คงนี้ ปริมาตรของของเหลวไอออนิก 100 ไมโครลิตร เวลาในการสกัด 7 นาที และปริมาตรของ acetonitrile (ใช้เป็นตัวทำละลายก่อนฉีดเข้าสู่ HPLC) 50 ไมโครลิตร พบว่า พื้นที่ใต้พีคของสารกำจัดแมลงกลุ่มคาร์บาเมตทุกชนิดเพิ่มขึ้นเมื่อเพิ่มปริมาตรของสารตัวอย่างในช่วง 1.00 – 3.00 มิลลิลิตร และเพิ่มขึ้นเล็กน้อยเมื่อเพิ่มปริมาตรของสารตัวอย่างถึง 5.00 มิลลิลิตร ดังนั้นจึงเลือกปริมาตรของสารตัวอย่าง 3.00 มิลลิลิตรสำหรับการทดลองต่อไป

ศึกษาผลของปริมาตรของของเหลวไอออนิก $[C_4MIM][PF_6]$ ในช่วง 50 – 200 ไมโครลิตร พบว่า การใช้ของเหลวไอออนิกปริมาตรน้อยๆ ทำให้ได้ค่า enrichment factor ที่สูง แต่อย่างไรก็ตาม หากใช้ปริมาตรน้อยมากๆ (น้อยกว่า 100 ไมโครลิตร) จะทำให้การแยกสัญญาณเกิดได้ยากและผลที่ได้มีค่าเบี่ยงเบนมาตรฐานสูง ดังนั้นในงานวิจัยนี้จึงเลือกใช้ปริมาตรของเหลวไอออนิก 100 ไมโครลิตรสำหรับการสกัดสารกำจัดแมลงกลุ่มคาร์บาเมตดังกล่าว

เวลาในการสกัด เป็นอีกตัวแปรหนึ่งที่มีผลต่อประสิทธิภาพของการสกัด ในงานวิจัยนี้ได้ศึกษาผลของเวลาในการสกัดระหว่าง 3 – 10 นาที พบว่า พื้นที่ใต้พีคของสารกำจัดแมลงกลุ่มคาร์บาเมตที่ศึกษาเพิ่มขึ้นเล็กน้อยเมื่อเพิ่มเวลาการสกัด และคงที่หลังจาก 7 นาที ดังนั้นในงานวิจัยนี้จึงใช้เวลาในการสกัดที่ 7 นาที

เนื่องจากในงานวิจัยนี้ เลือกใช้เทคนิคโครมาโทกราฟีของเหลวสมรรถนะสูงในการวิเคราะห์สารกำจัดแมลงกลุ่มคาร์บาเมต ดังนั้นหลังจากการสกัดด้วยของเหลวไอออนิกแล้ว จึงต้องมีการลดความหนืดของสารตัวอย่าง (ซึ่งอยู่ในวัฏภาคของเหลวไอออนิก) โดยการเติมตัวทำละลายที่เหมาะสมปริมาตรเล็กน้อยก่อนฉีดเข้าสู่ระบบ HPLC โดยตัวทำละลายที่เลือกใช้ คือ acetonitrile เนื่องจากเป็นตัวทำละลายที่เป็นองค์ประกอบในเฟสเคลื่อนที่ และได้ศึกษาผลของปริมาตรของ acetonitrile ในช่วง 50 – 150 ไมโครลิตร พบว่า พื้นที่ใต้พีคของสารกำจัดแมลงกลุ่มคาร์บาเมตทุกชนิดลดลงเมื่อปริมาตรของตัวทำละลายเพิ่มขึ้น เนื่องจากผลของการเจือจาง และหากใช้ตัวทำละลายน้อยกว่า 50 ไมโครลิตร พบว่า ไม่สามารถละลายวัฏภาคของเหลวไอออนิกได้หมด ดังนั้นจึงเลือกใช้ acetonitrile ปริมาตร 50 ไมโครลิตรสำหรับการทดลองต่อไป

สรุปสถานะของการสกัดระดับจุลภาคด้วยของเหลวไอออนิก $[C_4MIM][PF_6]$ เป็นดังนี้ ปริมาตรสารตัวอย่าง 3.00 มิลลิลิตร ปริมาตรของเหลวไอออนิก 100 ไมโครลิตร เวลาในการสกัด 7 นาที และปริมาตรของ acetonitrile 50 ไมโครลิตร

2.3 ประสิทธิภาพของระบบการวิเคราะห์

ภายใต้สภาวะการทดลองที่เหมาะสม ได้ทดสอบประสิทธิภาพของระบบการวิเคราะห์สารกำจัดแมลงกลุ่มคาร์บาเมตทั้ง 7 ชนิด ได้ผลดังตารางที่ 3

ตารางที่ 3 ประสิทธิภาพของระบบการวิเคราะห์สารกำจัดแมลงกลุ่มคาร์บาเมต

Carbamate pesticide	HPLC				RTIL-LLE				
	Linear range (µg mL ⁻¹)	LOD (µg mL ⁻¹)	% RSD (n=5)		Linear range (µg mL ⁻¹)	LOD (µg mL ⁻¹)	% RSD (n=5)		EF
			t _R	Area			t _R	Area	
Methomyl	2.0-15.0	1.00	0.32	2.52	-	-	-	-	-
Propoxur	0.2-10.0	0.10	0.18	3.50	0.02-5.00	0.005	0.52	10.17	20
Carbofuran	0.2-10.0	0.10	0.16	3.42	0.02-5.00	0.005	0.48	3.96	20
Carbaryl	0.1-10.0	0.02	0.28	3.28	0.01-5.00	0.002	0.32	5.89	10
Isoprocarb	2.0-15.0	0.50	0.40	4.10	0.04-8.00	0.02	0.62	6.56	25
Methiocarb	0.2-15.0	0.05	0.23	1.82	0.05-8.00	0.005	0.49	8.40	10
Promecarb	1.0-15.0	0.50	0.14	4.79	0.40-8.00	0.04	0.30	4.90	12.5

เนื่องจากหลังการสกัดด้วยของเหลวไอออนิก พบว่ามีฟิสิกของ $[\text{C}_4\text{MIM}][\text{PF}_6]$ ปรากฏในโครมาโทแกรมในช่วงเวลาการคงอยู่ใกล้เคียงกับ methomyl จึงทำให้ไม่สามารถวิเคราะห์ methomyl ได้

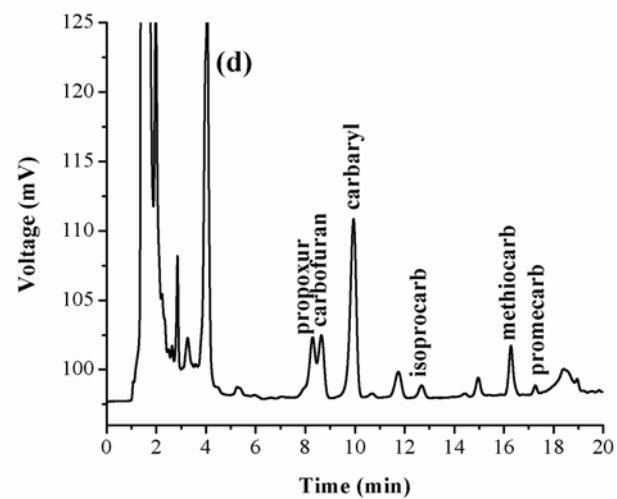
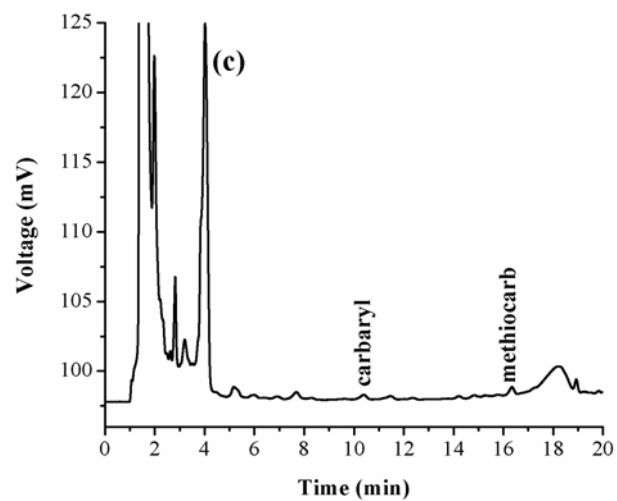
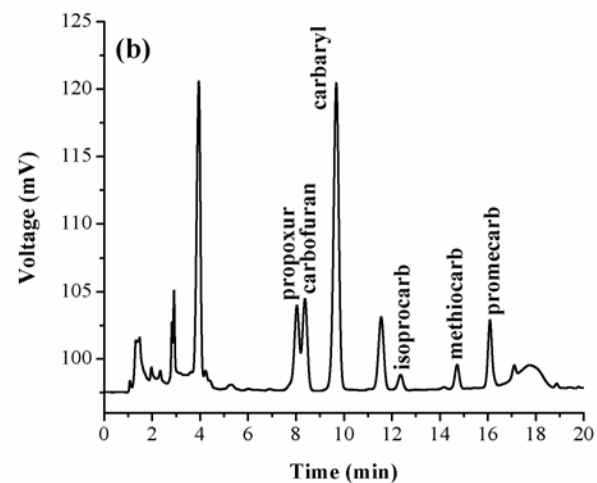
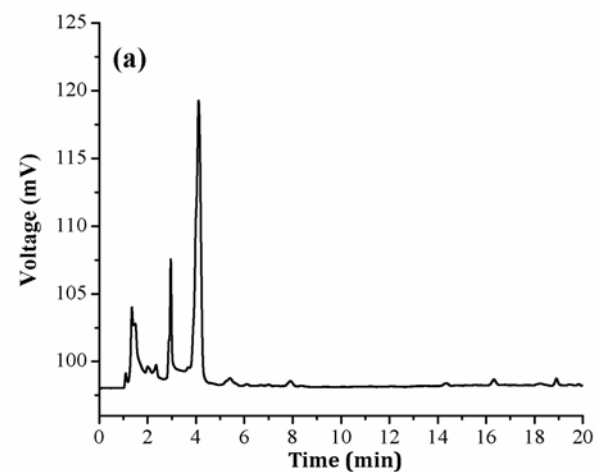
2.4 การประยุกต์

ได้มีการนำระบบการสกัดระดับจุลภาคด้วยของเหลวไอออนิกและการวิเคราะห์ด้วยเทคนิคโครมาโทกราฟีของเหลวสมรรถนะสูงที่พัฒนาขึ้นไปประยุกต์สำหรับการวิเคราะห์สารกำจัดแมลงกลุ่มคาร์บาเมตที่ปนเปื้อนในตัวอย่างจริง ได้แก่ ตัวอย่างน้ำ และตัวอย่างผลไม้ ได้ผลดังตารางที่ 4 และตัวอย่างโครมาโทแกรมที่ได้จากการวิเคราะห์ตัวอย่างแสดงดังรูปที่ 4

ตารางที่ 4 การประยุกต์ใช้ระบบการวิเคราะห์ที่พัฒนาขึ้นสำหรับการวิเคราะห์ตัวอย่างจริง

Sample	Market	Amount found, $\mu\text{g g}^{-1}$					
		PPX	CBF	CBR	IPC	MTC	PMC
Watermelon	Local Market	-	-	-	-	0.10	0.17
	Super Market I	-	-	-	1.28	0.60	1.34
	Super Market II	0.04	0.53	0.06	-	0.45	2.61
Cantaloupe1	Local Market	-	-	0.06	-	0.01	-
	Super Market I	-	-	-	-	0.37	-
	Super Market II	-	-	-	-	0.45	-
Cantaloupe2	Local Market	0.02	-	0.06	-	0.11	0.55
Strawberry	Local Market	-	-	-	-	-	-
	Super Market I	-	0.11	0.02	0.54	0.43	1.55
Orange	Local Market	-	-	0.07	0.18	4.50	-
	Super Market I	0.72	0.21	0.16	1.50	0.94	1.81
	Super Market II	0.22	0.18	-	0.9	0.38	21.25
Apple	Super Market I	0.03	-	-	-	0.45	1.24
	Super Market II	-	-	-	-	0.38	1.30

- not detected



รูปที่ 4 แสดงตัวอย่างโครมา

โทแกรมที่ได้จากการวิเคราะห์ตัวอย่าง (a) น้ำ (b) น้ำที่มีการเติมสารมาตรฐาน (c) แคนตาลูป (d) แคนตาลูปที่มีการเติมสารมาตรฐาน

ตารางที่ 5 แสดงค่าเปอร์เซ็นต์การกลับคืนของการวิเคราะห์ตัวอย่าง

Sample	Market	Recovery (%)					
		PPX	CBF	CBR	IPC	MTC	PMC
Water I ^a	-	90	99	102	98	98	89
Water II ^a	-	92	96	87	93	93	104
Water III ^a	-	100	95	103	100	116	94
Watermelon	Local Market ^b	115	88	81	90	93	85
	Super Market I ^c	96	100	106	92	104	101
	Super Market II ^c	96	100	103	103	93	88
Cantaloupe1	Local Market ^b	98	103	82	118	117	104
	Super Market I ^c	95	96	104	107	101	107
	Super Market II ^c	93	95	98	105	93	94
Cantaloupe2	Local Market ^b	83	99	93	101	88	86
Strawberry	Local Market ^b	93	102	82	92	103	92
	Super Market I ^c	107	103	99	101	107	82
Orange	Local Market ^b	83	98	85	107	102	110
	Super Market I ^c	89	110	106	106	99	98
	Super Market II ^c	100	99	99	98	108	97
Apple	Super Market I ^c	105	103	102	92	94	92
	Super Market II ^c	100	104	99	104	97	112

- not determined

^a spiked concentration, 1 µg mL⁻¹

^b spiked concentration, 1 µg g⁻¹

^c spiked concentration, 0.20 µg g⁻¹

3. การพัฒนาระบบการสกัดด้วยวัฏภาคของแข็งระดับจุลภาคแบบออนไลน์ควบคู่กับการวิเคราะห์ด้วยเทคนิคโครมาโทกราฟีของเหลวสมรรถนะสูง

3.1 สภาวะการแยกด้วยเทคนิคโครมาโทกราฟีของเหลวสมรรถนะสูง

ในงานวิจัยนี้ได้ศึกษาการวิเคราะห์สารกำจัดแมลงกลุ่มคาร์บาเมต 7 ชนิด ดังได้กล่าวไว้ในข้อ 2 พร้อมทั้งใช้สภาวะการแยกด้วยโครมาโทกราฟีของเหลวสมรรถนะสูงดังกล่าวข้างต้น

3.2 ระบบการสกัดแบบออนไลน์

การพัฒนาระบบการสกัดแบบออนไลน์ อาศัยเทคนิคซีเควนเชียลอินเจกชันอะนาลิซิสแบบปิดอินเจกชัน-แล็ปออนวาล์ว โดยได้บรรจุวัฏภาคของแข็ง LiChroprep® RP-18 beads (ขนาด 25 – 40 µm) ในไมโครคอลัมน์ชั่วคราวของชุดแล็ปออนวาล์ว โดยไมโครคอลัมน์มีปริมาตรประมาณ 30 ไมโครลิตร และมีการเปลี่ยนวัฏภาคของแข็งใหม่ทุกครั้งของการวิเคราะห์เพื่อป้องกันปัญหาการปนเปื้อนของสารตัวอย่างระหว่างการวิเคราะห์ ซึ่งระบบการวิเคราะห์ที่พัฒนาขึ้นแสดงดังรูปที่ 5 และขั้นตอนการทำงานของระบบแสดงในตารางที่ 6 โดยมีขั้นตอนดังนี้

ขั้นที่ 1: การบรรจุวัฏภาคของแข็ง

ขั้นที่ 2: การผ่านสารตัวอย่างเข้าในไมโครคอลัมน์ และการล้างสิ่งเจือปน

ขั้นที่ 3: การชะสารเป้าหมายออกจากวัฏภาคของแข็งโดยใช้ตัวทำละลายที่เหมาะสม และการวิเคราะห์ด้วยเทคนิคโครมาโทกราฟีของเหลวสมรรถนะสูง

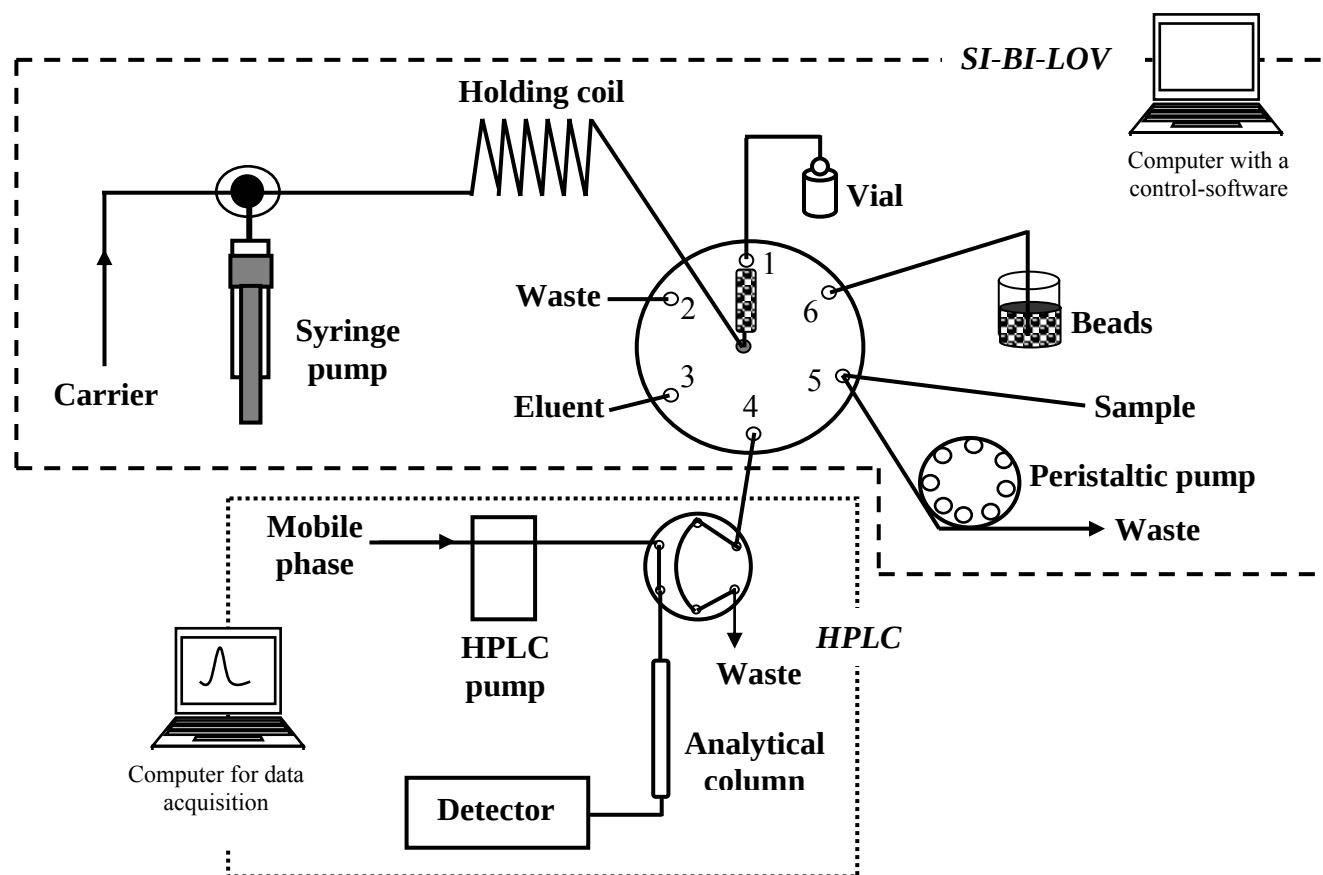
ขั้นที่ 4: การกำจัดวัฏภาคของแข็งออกจากไมโครคอลัมน์

ในงานวิจัยนี้ได้ศึกษาสภาวะที่เหมาะสมของระบบเพื่อให้มีประสิทธิภาพในการสกัดสารคาร์บาเมตได้ดีที่สุด โดยพบว่าได้สภาวะที่เหมาะสมดังนี้

ปริมาตรของสารตัวอย่าง 6.00 มิลลิลิตร

ตัวทำละลายที่ใช้ชะ คือ 80% acetonitrile ในสารละลาย 0.1% acetic acid ปริมาตร 250 ไมโครลิตร

อัตราการชะ 20 ไมโครลิตรต่อวินาที



รูปที่ 5 แสดงระบบ SI-BI-LOV-HPLC สำหรับการวิเคราะห์สารกำจัดแมลงกลุ่มคาร์บอนนาโน

ตารางที่ 6 แสดงขั้นตอนการทำงานของระบบการวิเคราะห์

Sequence	LOV position	Flow rate ($\mu\text{L sec}^{-1}$)	Volume (μL)
Aspirate beads into HC	6	50	250
Pack beads in micro-column	1	20	Empty
aspirate sample into HC	5	20	6 x 1000
load sample in column	1	20	6 x 1000
Wash with DI	1	20	1000
aspirate eluent into HC	3	20	700
dispense eluent into micro-column	1	20	300
aspirate eluate into HC	2	20	250
dispense eluate into HPLC injector	4	20	200

HC = Holding coil

3.3 สมรรถนะของระบบการวิเคราะห์

ภายใต้สภาวะที่เหมาะสมของระบบการวิเคราะห์ที่พัฒนาขึ้น ได้ศึกษาสมรรถนะของระบบ ได้ผลดังตารางที่ 7

ตารางที่ 7 แสดงสมรรถนะของการวิเคราะห์สารกำจัดแมลงกลุ่มคาร์บาเมตด้วยระบบ SI-BI-LOV-HPLC

Carbamate	HPLC				SI-BI-LOV-HPLC				EF
	Linear range ($\mu\text{g mL}^{-1}$)	LOD ($\mu\text{g mL}^{-1}$)	% RSD (n = 5)		Linear range ($\mu\text{g mL}^{-1}$)	LOD ($\mu\text{g mL}^{-1}$)	% RSD (n = 5)		
			t _R	Area			t _R	Area	
Methomyl	2.0 – 15.0	1.00	0.32	2.52	0.20 – 10.00	0.02	0.68	3.67	50
Propoxur	0.2 – 10.0	0.10	0.18	3.50	0.01 – 7.00	0.002	0.26	3.67	50
Cabofuran	0.2 – 10.0	0.10	0.16	3.42	0.01 – 7.00	0.002	0.66	3.48	50
Carbaryl	0.1 – 10.0	0.02	0.28	3.28	0.005 – 7.00	0.001	0.30	3.28	20
Isoprocarb	2.0 – 15.0	0.50	0.40	4.10	0.04 – 12.00	0.004	0.72	5.37	125
Methiocarb	0.2 – 10.0	0.05	0.23	1.82	0.01 – 6.00	0.001	0.25	2.61	50
Promecarb	1.0 – 15.0	0.20	0.14	4.79	0.10 -12.00	0.01	0.25	2.37	50

EF = Enrichment factor

3.4 การประยุกต์

ระบบการวิเคราะห์ที่พัฒนาขึ้นได้นำไปประยุกต์สำหรับการวิเคราะห์สารกำจัดแมลงกลุ่มคาร์บาเมตที่ปนเปื้อนในตัวอย่างจริง ได้แก่ ตัวอย่างน้ำจากธรรมชาติ ตัวอย่างผัก และตัวอย่างผลไม้ เป็นต้น ผลการวิเคราะห์แสดงดังตารางที่ 8 และตารางที่ 9 และตัวอย่างโครมาโทแกรมแสดงดังรูปที่ 6

ตารางที่ 8 การประยุกต์ใช้ระบบ SI-BI-LOV-HPLC สำหรับการวิเคราะห์ตัวอย่างจริง

Sample	Amount found						
	Methomyl	Propoxur	Carbofuran	Carbaryl	Isoprocarb	Methiocarb	Promecarb
Water I ^a	—	—	—	—	—	—	—
Water II ^a	—	—	—	—	—	—	—
Water III ^a	—	—	—	—	—	—	—
Watermelon ^b	—	0.02	0.01	0.10	0.39	0.26	0.29
Guava ^b	—	—	—	0.09	0.19	—	—
Cowpae ^b	—	—	0.16	0.10	—	—	—
Cabbage ^b	—	0.04	0.06	0.08	0.22	0.02	0.73

— not detected

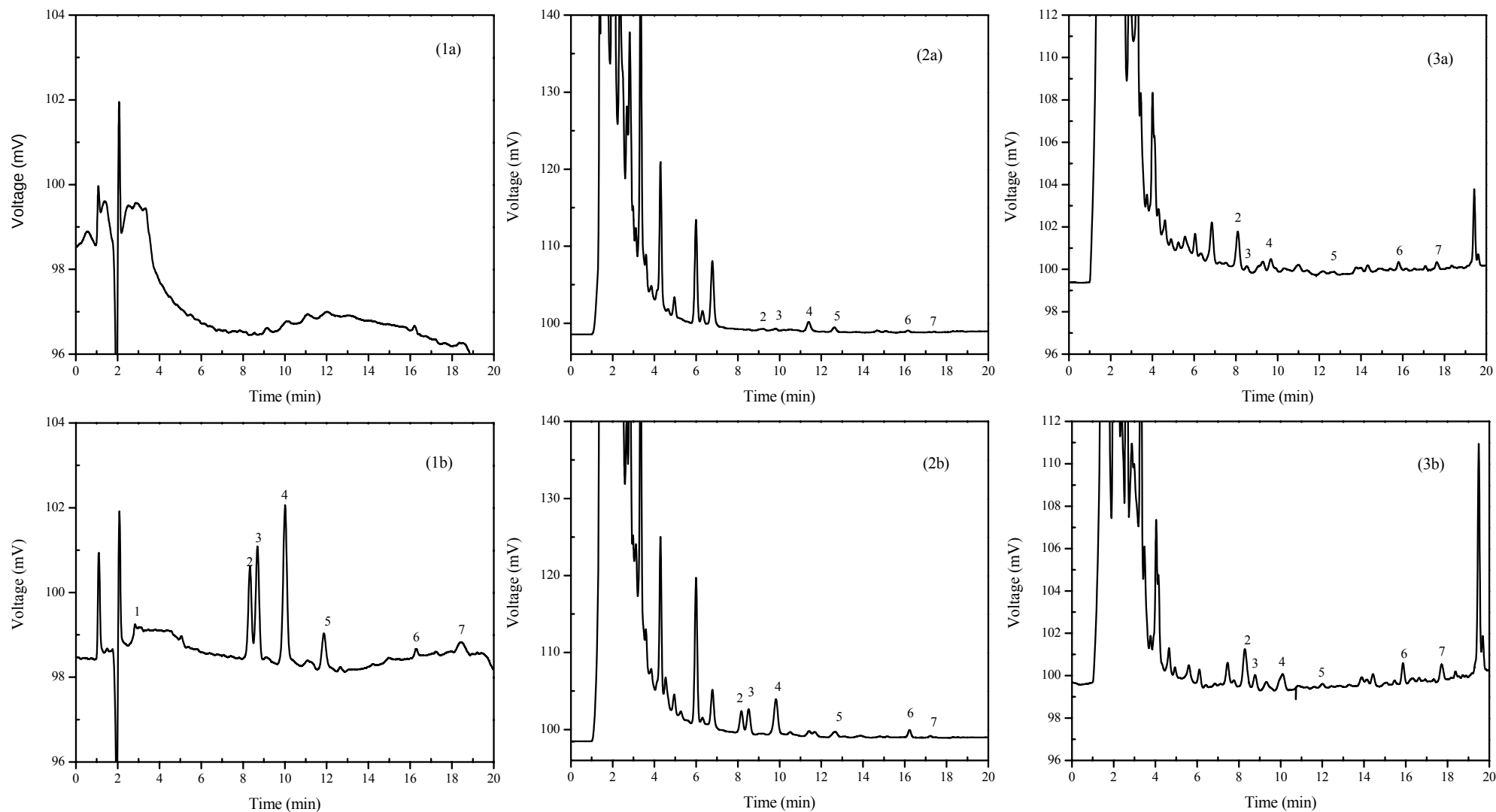
^a concentration in $\mu\text{g mL}^{-1}$

^b concentration in $\mu\text{g g}^{-1}$

ตารางที่ 9 แสดงเปอร์เซ็นต์การกลับคืนของการวิเคราะห์ตัวอย่าง

Sample	Spiked	Recovery (%)						
		Methomyl	Propoxur	Carbofuran	Carbaryl	Isoprocarb	Methiocarb	Promecarb
Water I	1 $\mu\text{g mL}^{-1}$	108	105	105	105	100	108	93
	2 $\mu\text{g mL}^{-1}$	88	93	96	103	98	104	93
Water II	1 $\mu\text{g mL}^{-1}$	108	107	103	103	106	102	95
	2 $\mu\text{g mL}^{-1}$	89	104	93	101	99	101	102
Water III	1 $\mu\text{g mL}^{-1}$	102	102	103	105	93	107	98
	2 $\mu\text{g mL}^{-1}$	88	93	96	103	105	104	94
Watermelon	1 $\mu\text{g g}^{-1}$	–	103	107	94	94	102	98
	2 $\mu\text{g g}^{-1}$	–	99	108	102	97	90	103
Guava	1 $\mu\text{g g}^{-1}$	–	105	105	100	96	105	102
	2 $\mu\text{g g}^{-1}$	–	101	101	102	98	104	102
Cowpae	1 $\mu\text{g g}^{-1}$	–	102	90	100	101	101	101
	2 $\mu\text{g g}^{-1}$	–	99	97	99	102	101	104
Cabbage	1 $\mu\text{g g}^{-1}$	–	98	97	101	92	100	103
	2 $\mu\text{g g}^{-1}$	–	105	100	96	92	100	93

– not determined



รูปที่ 6 ตัวอย่างโครมาโทแกรมของการวิเคราะห์ตัวอย่างจริง (1a) น้ำ (1b) น้ำที่มีการเติมสารมาตรฐาน (2a) แดงโม (2b) แดงโมที่มีการเติมสารมาตรฐาน (3a) กะหล่ำปลี (3b) กะหล่ำปลีที่มีการเติมสารมาตรฐาน

4. สรุปผลการวิจัย

ในงานวิจัยนี้ได้พัฒนาระบบการเตรียมตัวอย่างแบบใหม่ 2 ระบบ สำหรับการวิเคราะห์สารกำจัดศัตรูพืชกลุ่มคาร์บาเมตด้วยเทคนิคโครมาโทกราฟีของเหลวสมรรถนะสูง โดยระบบแรกเป็นการพัฒนาการสกัดระดับจุลภาคโดยใช้ของเหลวไอออนิกอุณหภูมิห้อง $[C_4MIM][PF_6]$ แทนตัวทำละลายอินทรีย์ในการสกัด และระบบที่สองเป็นการเตรียมตัวอย่างแบบออนไลน์ โดยอาศัยเทคนิคซีเควนเชียลอินเจกชัน-ปิดอินเจกชัน-แกลปออนวาล์ว เพื่อการสกัดด้วยวัฏภาคของแข็งแบบย่อส่วน และได้้นำระบบที่พัฒนาขึ้นไปประยุกต์ใช้สำหรับการวิเคราะห์ตัวอย่างจริง โดยศึกษาการวิเคราะห์ตัวอย่างทางสิ่งแวดล้อม ได้แก่ ตัวอย่างน้ำธรรมชาติ และตัวอย่างอาหาร ได้แก่ ตัวอย่างผัก และตัวอย่างผลไม้ พบว่าทั้งสองระบบให้ประสิทธิภาพในการสกัดสูง ช่วยเพิ่มความสะดวกรวดเร็วในการวิเคราะห์ ช่วยลดปริมาณการใช้สารเคมีที่เป็นพิษ ซึ่งหน่วยงานที่รับผิดชอบเกี่ยวกับการวิเคราะห์สารกลุ่มนี้สามารถนำไปประยุกต์ใช้กับการวิเคราะห์ตัวอย่างต่อไปได้

Output ที่ได้จากโครงการ

ผลงานตีพิมพ์ในวารสารวิชาการระดับนานาชาติ

1. **R. Burakham***, K. Grudpan, Flow Injection and Sequential Injection On-line Pre-column Derivatization for Liquid Chromatography, *J. Chromatogr. Sci.*, **47** (2009) 631 - 635.
(ภาคผนวก ก1)
2. J. Vichapong, **R. Burakham***, S. Srijaranai, K. Grudpan, Sequential injection-bead injection-lab-on-valve coupled to high performance liquid chromatography for on-line renewable micro-solid phase extraction of carbamate residues in food and environmental samples, *J. Chromatogr. A*, Submitted. (ภาคผนวก ก2)
3. J. Vichapong, **R. Burakham***, S. Srijaranai, K. Grudpan, Room temperature imidazolium ionic liquid: A solvent for extraction of carbamates prior to liquid chromatographic analysis, *Talanta*, Submitted. (ภาคผนวก ก3)

ผลงานที่นำเสนอในที่ประชุมวิชาการระดับนานาชาติ

1. J. Vichapong, S. Srijaranai, K. Grudpan, **R. Burakham**, On-line preconcentration and liquid chromatographic analysis of carbamate pesticides: a comparative study, *Poster presentation*, PACCON2010, 21-23 Jan 2010, Ubonratchathani, Thailand (ภาคผนวก ก4)
2. **R. Burakham**, J. Vichapong, S. Srijaranai, K. Grudpan, Sequential injection-lab-on-valve with high performance liquid chromatography for on-line renewable micro-solid phase extraction of carbamates, *Oral presentation (by R. Burakham)*, 16th ICFIA, 25-30 April 2010, Pattaya, Thailand (ภาคผนวก ก5)
3. J. Vichapong, **R. Burakham**, S. Srijaranai, K. Grudpan, Room temperature imidazolium ionic liquid: A solvent for extraction of carbamates prior to liquid chromatography, *Poster presentation*, 16th ICFIA, 25-30 April 2010, Pattaya, Thailand (ภาคผนวก ก6)

ผลงานที่นำเสนอในที่ประชุมวิชาการระดับชาติ

1. J. Vichapong, S. Srijaranai, K. Gruspan, **R. Burakham**, Sequential injection on-line preconcentration system coupled with high performance liquid chromatography for determination of some carbamate pesticides, 35th Congress on Science and Technology of Thailand, 15-17 Oct 2009, Chonburi, Thailand. (ภาคผนวก ก7)
2. **R. Burakham**, J. Vichapong, K. Grudpan, Sequential injection on-line extraction coupled with liquid chromatography for determination of some carbamate pesticides, TRF meeting, 15-17 Oct 2009, Petchburi, Thailand. (ภาคผนวก ก8)

Output อื่นๆ ที่สัมพันธ์กับโครงการ

ผลงานตีพิมพ์ในวารสารวิชาการระดับนานาชาติ

1. C. Kukusamude, A. Santalad, S. Boonchiangma, **R. Burakham**, S. Srijaranai, O. Chailapakul, Mixed micelle-cloud point extraction for the analysis of penicillin residues in bovine milk by high performance liquid chromatography, *Talanta*, **81** (2010) 486-492. (ภาคผนวก ข1)
2. N. Butwong, **R. Burakham**, S. Srijaranai, Use of surfactant as mobile phase additive in LC for simultaneous determination of metal-pyrrolidine dithiocarbamate chelates, *Chromatographia*, **71** (2010) 639 – 645. (ภาคผนวก ข2)
3. A. Santalad, S. Srijaranai, **R. Burakham**, J.D. Glennon, R.L. Deming, Cloud-point extraction and reversed phase high performance liquid chromatography for the determination of carbamate insecticide residues in fruits, *Anal. Bioanal. Chem.*, **394** (2009) 1307 - 1317. (ภาคผนวก ข3)
4. A. Santalad, L. Zhou, F. Shang, D. Fitzpatrick, **R. Burakham**, S. Srijaranai, J.D. Glennon, J.H.T. Luong, Micellar electrokinetic chromatography with amperometric detection and off-line solid-phase extraction for analysis of carbamate insecticides, *J. Chromatogr. A*, **1217** (2010) 5288 – 5297. (ภาคผนวก ข4)

ผลงานที่นำเสนอในที่ประชุมวิชาการระดับนานาชาติ

1. **R. Burakham**, C.M. Marquardt, F.W. Geyer, N.L. Banik, H. Geckeis, Development of capillary electrophoresis-inductively coupled plasma mass spectrometry for speciation of arsenic and selenium, *Poster Presentation*, 27th International Symposium on Chromatography, 21-25 September 2008, Muenster, Germany. (ภาคผนวก ข5)
2. **R. Burakham**, J. Vichapong, A. Santalad, S. Srijaranai, Direct determination of phenolic compounds and their antioxidant activities in fruit juices and local wines using high performance liquid chromatography, *Poster Presentation*, 27th International Symposium on Chromatography, 21-25 September 2008, Muenster, Germany. (ภาคผนวก ข6)
3. **R. Burakham**, A. Santalad, S. Srijaranai, Cloud point extraction and high performance liquid chromatography for the simultaneous determination of carbamate insecticide residues in fruit

samples, *Poster Presentation*, 27th International Symposium on Chromatography, 21-25

September 2008, Muenster, Germany. (ภาคผนวก ข7)

4. A. Santalad, S. Srijaranai, **R. Burakham**, Salt-induced enhancement cloud-point extraction method for high performance liquid chromatographic analysis of isoprocarb and promecarb in fruit juice and vegetable juice samples, *Oral Presentation (by A. Santalad)*, Pure and Applied Chemistry International Conference 2009 (PACCON 2009), 14 – 16 January 2009, Naresuan University, Phitsanulok, Thailand. (ภาคผนวก ข8)
5. A. Santalad, L. Zhou, F. Shang, **R. Burakham**, S. Srijaranai, J.H.T. Luong, D. Fitzpatrick, J.D. Glennon, Analysis of carbamate insecticides by capillary electrophoresis with amperometric detection, *Poster presentation*, 21st International Ion Chromatography Symposium (IICS2009), 21 – 24 September 2009, The Grand Hotel, Malahide, Dublin, Ireland. (ภาคผนวก ข9)
6. S. Srijaranai, A. Santalad, C. Kukusamude, S. Boonchiangma, **R. Burakham**, Analytical method development based on cloud-point extraction for carbamate insecticide and β -lactam antibiotic residues in food samples, *Oral presentation (by S. Srijaranai)*, PACCON2010, 21-23 Jan 2010, Ubonratchathani, Thailand (ภาคผนวก ข10)
7. S. Srijaranai, A. Santalad, **R. Burakham**, Reversed electrode polarity stacking mode with micellar electrokinetic chromatographic analysis of carbamate insecticide residues in fruit juices, *Poster presentation*, PACCON2010, 21-23 Jan 2010, Ubonratchathani, Thailand (ภาคผนวก ข11)
8. C. Kukusamude, **R. Burakham**, S. Srijaranai, Ionic liquid-based extraction and high performance liquid chromatography of some metal ions, *Poster presentation*, PACCON2010, 21-23 Jan 2010, Ubonratchathani, Thailand (ภาคผนวก ข12)
9. N. Butwong, S. Srijaranai, W. Ngeontae, **R. Burakham**, Functionalized CdS quantum dots as luminescent probes for arsenic determination by gas-diffusion flow injection analysis, *Oral presentation (by N. Butwong)*, PACCON2010, 21-23 Jan 2010, Ubonratchathani, Thailand (ภาคผนวก ข13)
10. P. Soisungnoen, S. Srijaranai, **R. Burakham**, On-line preconcentration in micellar electrokinetic chromatography for the determination of organophosphate insecticides in

vegetable samples, *Oral presentation (by P. Soisungnoen)*, PACCON2010, 21-23 Jan 2010, Ubonratchathani, Thailand (ภาคผนวก ข14)

11. A. Santalad, L. Zhou, F. Shang, J.H.T. Luong, J.D. Glennon, D. Fitzpatrick, S. Srijaranai, **R. Burakham**, Simultaneous determination of carbamate insecticides by micellar electrokinetic chromatography with amperometric detection, *Poster presentation*, 16th ICFIA, 25-30 April 2010, Pattaya, Thailand (ภาคผนวก ข15)

ผลงานที่นำเสนอในที่ประชุมวิชาการระดับชาติ

1. A. Santalad, S. Srijaranai, **R. Burakham**, Anionic and non-ionic micellar extractions for analysis of some carbamate insecticides by high performance liquid chromatography, *Poster Presentation*, Symposium for younger generation researchers, 29 August 2008, Chiang Mai University, Chiang Mai, Thailand. (ภาคผนวก ข16)
2. J. Vichapong, A. Santalad, **R. Burakham**, S. Srijaranai, Determination of antioxidant activity in fruit juices and local wines by on-line HPLC-DPPH° method, *Poster Presentation*, Symposium for younger generation researchers, 29 August 2008, Chiang Mai University, Chiang Mai, Thailand. (ภาคผนวก ข17)
3. A. Santalad, S. Srijaranai, **R. Burakham**, Analysis of some carbamate insecticide residues in fruit samples with cloud-point extraction and high performance liquid chromatography, *Poster Presentation*, The 34th Congress on Science and Technology of Thailand, 31 October – 2 November 2008, Queen Sirikit National Convention Center, Thailand. (ภาคผนวก ข18)
4. J. Vichapong, A. Santalad, S. Srijaranai, **R. Burakham**, Reversed phase high performance liquid chromatography for determination of phenolic compounds in fruit juices and local wines, *Oral Presentation (by J. Vichapong)*, The 34th Congress on Science and Technology of Thailand, 31 October – 2 November 2008, Queen Sirikit National Convention Center, Thailand. (ภาคผนวก ข19)
5. C. Kukusamude, A. Santalad, S. Srijaranai, **R. Burakham**, In-line reversed electrode polarity stacking preconcentration and capillary zone electrophoresis for the simultaneous analysis of antibiotics in commercial pharmaceutical samples, *Oral Presentation (by C. Kukusamude)*, The

34th Congress on Science and Technology of Thailand, 31 October – 2 November 2008, Queen Sirikit National Convention Center, Thailand. (ภาคผนวก ข20)

6. **R. Burakham**, F.W. Geyer, C.M. Marquardt, N.L. Banik, H. Geckeis, Hyphenation of capillary electrophoresis and inductively coupled plasma-mass spectrometry for simultaneous speciation of arsenic and selenium, Research for better life quality: Symposium on flow based analysis 2009, 23 – 24 April 2009, Chiang Mai University, Thailand. (ภาคผนวก ข21)
7. A. Santalad, S. Srijaranai, **R. Burakham**, In-line reversed electrode polarity stacking preconcentration and micellar electrokinetic chromatography for the analysis of carbamate insecticides, Research for better life quality: Symposium on flow based analysis 2009, 23 – 24 April 2009, Chiang Mai University, Thailand. (ภาคผนวก ข22)
8. J. Vichapong, A. Santalad, **R. Burakham**, S. Srijaranai, Cloud-point preconcentration and analysis of phenolic compounds by reversed-phase high performance liquid chromatography, Research for better life quality: Symposium on flow based analysis 2009, 23 – 24 April 2009, Chiang Mai University, Thailand. (ภาคผนวก ข23)
9. N. Butwong, S. Srijaranai, **R. Burakham**, Use of surfactant as mobile phase additive in RP-HPLC for the determination of Hg(II), PERCH-CIC Congress VI, 3 – 6 May 2009, Jomtien Palm Beach Hotel & Resort, Pattaya, Thailand. (ภาคผนวก ข24)
10. C. Kukusamude, S. Srijaranai, **R. Burakham**, Optimization of cloud point extraction of antibiotics from bovine milk, PERCH-CIC Congress VI, 3 – 6 May 2009, Jomtien Palm Beach Hotel & Resort, Pattaya, Thailand. (ภาคผนวก ข25)
11. P. Soisungnoen, S. Srijaranai, **R. Burakham**, Optimization of micellar electrokinetic chromatography for the analysis of organophosphate pesticides, 35th Congress on Science and Technology of Thailand, 15-17 Oct 2009, Chonburi, Thailand. (ภาคผนวก ข26)