

บทคัดย่อ

รหัสโครงการ: TRG5780038

ชื่อโครงการ: การพัฒนาวิธีเคมีสีเขียวสำหรับการเพิ่มความเข้มข้น และวิเคราะห์สารกำจัด
เชื้อราในตัวอย่างอาหาร และสิ่งแวดล้อมด้วยโครมาโทกราฟีของเหลวสมรรถนะสูง

ชื่อนักวิจัย: ผศ.ดร.ญาณวรรณ แสนตลาดชัยกิตติ มหาวิทยาลัยเทคโนโลยีราชมงคลอีสาน
รศ.ดร.ศุภลักษณ์ ศรีจารนัย มหาวิทยาลัยขอนแก่น

อีเมล: sanyanawa@yahoo.com; sanyanawa@gmail.com

ระยะเวลาโครงการ: 2 ปี (2 มิถุนายน 2557 ถึง 2 มิถุนายน 2559)

โครงการวิจัยนี้ได้พัฒนาวิธีการสกัดในระดับจุลภาคโดยใช้สารเมทิลเบนโซเอท (วิธีที่ 1) และเมทิลซาลิไซเลท (วิธีที่ 2) ควบคู่กับเทคนิคโครมาโทกราฟีของเหลวสมรรถนะสูง สำหรับการเพิ่มความเข้มข้นและวิเคราะห์สารกำจัดเชื้อราในกลุ่มเบนซิมิดาโซลในตัวอย่างน้ำ ซึ่งสารกำจัดเชื้อราที่ศึกษาในครั้งนี้ ประกอบด้วย คาร์เบนดาซิม ไทอะเบนดาโซล และฟลูเบนดาโซล พารามิเตอร์ที่มีผลต่อประสิทธิภาพการสกัดของทั้งสองวิธีจะได้ทำการศึกษาและหาสภาวะที่เหมาะสม โดยการแยกสารเป้าหมายทำการแยกภายใต้สภาวะของการชะแบบเกรเดียนท์โดยใช้ กรดฟอร์มิกเข้มข้น 0.1% (v/v) และอะซิโตนไตรล์ อัตราการไหลเป็น 1.0 มิลลิลิตรต่อนาที และทำการตรวจวัดที่ความยาวคลื่น 280 และ 296 นาโนเมตร ภายใต้สภาวะการแยกนี้ สามารถแยกสารเป้าหมายทั้งสามชนิดได้ภายใน 5 นาที สำหรับสภาวะที่เหมาะสมและผลที่ได้จากเทคนิคการสกัดวิธีที่ 1 และวิธีที่ 2 สรุปได้ดังนี้

สภาวะการสกัดที่เหมาะสมของวิธีที่ 1 คือ ใช้สารเมทิลเบนโซเอท 250 ไมโครลิตรที่มีเอทานอลปริมาตร 300 ไมโครลิตร เกลือโซเดียมอะซิเตทเข้มข้น 1.0% (โดยน้ำหนัก) และวอร์เทกซ์ที่อัตราเร็ว 2100 รอบต่อนาที เป็นเวลา 30 วินาที ภายใต้สภาวะที่เหมาะสมนี้ ได้ช่วงความเป็นเส้นตรงในช่วงความเข้มข้น 1 – 200 ไมโครกรัมต่อลิตร ด้วยค่าสัมประสิทธิ์การกำหนด (R^2) มากกว่า 0.998 ให้แฟกเตอร์การเพิ่มความเข้มข้น 14.5 – 39 เท่า โดยให้ขีดจำกัดการตรวจวัดในช่วง 0.01- 0.05 ไมโครกรัมต่อลิตร ให้ความเที่ยงของวิธีที่ดีโดยค่าเบี่ยงเบนมาตรฐานสัมพัทธ์สำหรับเวลาในการคงอยู่ และพื้นที่ใต้พีคของสารมีค่าน้อยกว่า 2 และ 7.2 เปอร์เซ็นต์ ตามลำดับ ร้อยละการกลับคืนที่ระดับความเข้มข้น 5 30 และ 50 ไมโครกรัมต่อลิตร อยู่ในช่วง 77.4 – 110.9

สำหรับวิธีที่ 2 สภาวะการสกัด คือ ใช้เมทิลซาลิไซเลทปริมาตร 250 ไมโครลิตร โดยไม่มีการใช้ตัวทำละลายกระจายเฟส เกลือโซเดียมอะซิเตทเข้มข้น 1.0% (โดยน้ำหนัก) และปั่นเหวี่ยงที่อัตราเร็ว 3500 รอบต่อนาทีเป็นเวลา 3 นาที ภายใต้สภาวะที่เหมาะสมนี้ ได้ช่วงความเป็นเส้นตรงในช่วง 0.2 – 200 ไมโครกรัมต่อลิตร ด้วยค่า R^2 มากกว่า 0.997 ให้แฟกเตอร์การเพิ่มความเข้มข้นอยู่ในช่วง 24 – 38 ซึ่งได้ขีดจำกัดการตรวจวัดอยู่ในช่วง 0.03 – 0.05 ไมโครกรัมต่อลิตร ให้ความเที่ยงของ

วิธีให้ค่าเบี่ยงเบนมาตรฐานสัมพัทธ์สำหรับเวลาในการคงอยู่และพื้นที่ใต้พีคต่ำกว่า 1.9 และ 6.3 เปอร์เซ็นต์ ตามลำดับ ส่วนร้อยละการกลับคืนของความเข้มข้นต่างๆ (5 10 และ 50 ไมโครกรัมต่อลิตร) อยู่ในช่วง 74.1 – 118.4

กล่าวโดยสรุป วิธีที่นำเสนอนี้ทั้งวิธีการสกัดทั้งสองวิธี ควบคู่กับการวิเคราะห์ด้วยเทคนิคโครมาโทกราฟีของเหลวสมรรถนะสูง ได้แสดงให้เห็นว่า เป็นวิธีที่ง่าย มีประสิทธิภาพ และเชื่อถือได้สำหรับการสกัดและเพิ่มความเข้มข้น พร้อมทั้งวิเคราะห์พร้อมกันของสารกำจัดเชื้อราในกลุ่มเบนซิมิดาโซลในตัวอย่างน้ำชนิดต่างๆ

คำสำคัญ: สารกำจัดเชื้อราในกลุ่มเบนซิมิดาโซล เมทิลเบนโซเอท เมทิลซาลิไซเลท โครมาโทกราฟีของเหลวสมรรถนะสูง น้ำผิวดิน

Abstract

Project Code: TRG5780038

Project Title: Development of green analytical methodologies for sample preconcentration and high performance liquid chromatographic analysis of fungicide residues in food and environmental samples

Investigators: 1) Asst.Prof. Dr. Yanawath Santaladchaiyakit, Rajamangala University of Technology Isan, Khon Kaen Campus
2) Assoc. Prof. Dr. Supalax Srijaranai, Khon Kaen University

E-mail Address: sanyanawa@yahoo.com; sanyanawa@gmail.com

Project Period: 2 years (2 June 2014 to 2 June 2016)

In this research project, methyl benzoate-based vortex-assisted dispersive liquid-liquid microextraction (Method #1) and methyl salicylate-based dispersive liquid-liquid microextraction (Method #2) coupled with high performance liquid chromatography have been developed for the preconcentration and analysis of benzimidazole fungicides in water samples. Three target fungicides include carbendazim, thiabendazole, and fuberidazole. Parameters affecting the extraction performance of both proposed preconcentration techniques were also investigated and optimized. The separation of target analytes was carried out using gradient condition of 0.1% (v/v) formic acid and acetonitrile, a flow rate of 1.0 mL/min, and photodiode array detection at 280, and 296 nm. Under this separation conditions, the target benzimidazole fungicides was completely separated within 5 min. The optimum conditions and analytical results obtained from Method#1 and Method#2 are described below.

The optimum conditions of Method#1 were 250 μ L methyl benzoate containing 300 μ L ethanol, 1.0% (w/v) sodium acetate, and vortex at 2100 rpm for 30 s. Under these conditions, linearity was obtained in the range of 1 – 200 μ g/L with the determination coefficients (R^2) higher than 0.998. A preconcentration factor was obtained in the range of 14.5 – 39. Limits of detection (LODs) in the range of 0.01 – 0.05 μ g/L were achieved. Intra-day ($n=10$) and inter-day ($n=6\times 3$) precisions were obtained with relative standard deviation (RSD) for retention time and peak area lower than 2.0 and 7.2%, respectively. The recoveries for the spiked target fungicides at different concentrations (i.e., 5, 30 and 50 μ g/L) in water samples were in the range of 77.4 – 110.9%.

For Method#2, the extraction conditions were 250 μ L methyl salicylate without disperser solvent, 1.0% (w/v) sodium acetate, and 3-min centrifugation at 3500 rpm. Under the optimum

conditions, linearity was in the range from 0.2 to 200 µg/L with good R^2 higher than 0.997. Pre-concentration factors were obtained in the range of 24 – 38, corresponding to LODs in the range of 0.03 – 0.05 µg/L. Intra-day (n=6) and inter-day (n=6×3) precisions were obtained with RSD of retention time and peak area below 1.9 and 6.3%, respectively. Good recoveries for the spiked target anthelmintics at various concentrations (i.e., 5, 10, and 50 µg/L) in water samples were obtained in the 74.1 – 118.4%.

In summary, the proposed preconcentration methods coupled with HPLC have been demonstrated to be simple, effective, and reliable for the preconcentration and simultaneous analysis of target benzimidazole fungicides in the environmental water samples.

Keywords: Benzimidazole fungicide, methyl benzoate, methyl salicylate, high-performance liquid chromatography, surface water