บทคัดย่อ

รหัสโครงการ: TRG5780060

ชื่อโครงการ: การพัฒนาระบบการเตรียมตัวอย่างที่เป็นมิตรกับสิ่งแวดล้อมสำหรับการวิเคราะห์สารกำจัดแมลงกลุ่มนีโอนิโคตินอยด์

ชื่อนักวิจัย: ผศ.ดร.จิตรลดา วิชาผง มหาวิทยาลัยมหาสารคาม

รศ.ดร.ศุภลักษณ์ ศรีจารนัย มหาวิทยาลัยขอนแก่น

อีเมล์: jitlada_v@yahoo.com; jitlada.v@msu.ac.th

ระยะเวลาโครงการ: 2 ปี (2 มิถุนายน 2557 ถึง 1 มิถุนายน 2559)

โครงการวิจัยนี้ได้พัฒนาระบบการเตรียมตัวอย่างสำหรับการเพิ่มความเข้มข้น และวิเคราะห์สารกำจัดศัตรูพืชกลุ่มนีโอนิโคตินอยด์ (ได้แก่ไดโนทฟูแรน ไนเทนไพแรน ไทอะเมทอกแซม คลอไทอะนิดิน อิมมิดาคลอพิด อะซิตามิพริด และไทอะคลอพริด) ในตัวอย่างอาหารและสิ่งแวดล้อม ศึกษาและหาสภาวะที่เหมาะสมของพารามิเตอร์ที่มีผลต่อประสิทธิภาพการสกัดของวิธีการสกัดและเพิ่มความเข้มข้นทั้งสี่วิธี โดยศึกษาภายใต้การแยกสารเป้าหมายโดยใช้การชะแบบไอโซเครติกน้ำและอะซิโทไนไตร์ล ใช้อัตราการไหลเป็น 1.0 มิลลิลิตรต่อนาที และการตรวจวัดแบบโฟโตไดโอดแอร์เรย์ที่ความยาวคลื่น 254 นาโนเมตร ภายใต้สภาวะการแยกนี้ สามารถแยกสารเป้าหมายได้สมบูรณ์ภายใน 18 นาที ซึ่งสภาวะการสกัดที่เหมาะสมและผลการวิเคราะห์ที่ได้จากวิธี In-coupled syringe assisted octanol–water partition microextraction, RTIL–VALLME, และ Ionic liquid-based cold-induced aggregation microextraction procedure, LDS-DLLME แสดงดังรายละเอียดต่อไปนี้

ระบบ In-coupled syringe assisted octanol–water partition microextraction เป็นระบบการสกัดอย่างง่ายโดยใช้การฉีดสารอย่างรวดเร็วโดยใช้เข็มฉีดยา 2 อัน ซึ่งโดยการฉีดนี้จะเกิดการกระจายตัวของสารเป้าหมายอย่างรวดเร็วและส่งผลถึงการเกิดการถ่ายโอนมวล ที่จะส่งผลถึงประสิทธิภาพการสกัดของวิธีการที่นำเสนอ โดยสภาวะที่เหมาะสมในการสกัดคือ สารตัวอย่าง 10.00 มิลลิลิตร เกลือโซเดียมซัลเฟต 1 เปอร์เซ็นต์โดยมวลต่อปริมาตร ใช้ตัวทำละลายสกัดคือ 1-ออกทานอล (100 ไมโครลิตร) จำนวนครั้งที่ฉีด 4 ครั้ง และเวลาในการสกัด 2 นาที โดยไม่ต้องมีการเติมตัวทำละลายประสานและไม่ต้องมีขั้นตอนการปั่นเหวี่ยง ภายใต้สภาวะดังกล่าวนี้ ความเป็นเส้นตรงอยู่ในช่วง 0.1 – 3000 นาโนกรัมต่อมิลลิลิตร และให้สัมประสิทธิ์การกำหนด (Coefficient of determination หรือ R^2) มากกว่า 0.99 แฟกเตอร์การเพิ่มความเข้มข้นได้สูงถึง 200 เท่า และสอดคล้องกับค่าขีดจำกัดการตรวจวัดในช่วง 0.25 – 0.50 นาโนกรัมต่อมิลลิลิตร วิธีการที่พัฒนานี้ประสบความสำเร็จในการใช้วิเคราะห์สารกำจัดศัตรูพืชกลุ่มนีโอนิโคตินอยด์ในตัวอย่างน้ำผึ้ง และให้ค่าร้อยละการได้กลับคืนที่สูงในช่วง 96.93–107.70 เปอร์เซ็นต์

ระบบ RTIL–VALLME เป็นระบบที่ใช้ของเหลวไอออนิก [C_4MIM][PF_6] เป็นตัวทำละลายสกัดที่เป็นมิตรต่อสิ่งแวดล้อมควบคู่กับการวิเคราะห์ด้วยระบบโครมาโทกราฟีของเหลวสมรรถนะสูง โดยสภาวะที่เหมาะสมในการสกัดคือ สารตัวอย่าง 10.00 มิลลิลิตร เกลือโซเดียมซัลเฟต 1.5 กรัม ใช้ตัวทำละลายสกัดคือ [C_4MIM][PF_6] เวลาในการวอร์เทกซ์ 30 นาที หลังจากนั้นสารเป้าหมายที่ศึกษาจะถูกสกัดเข้าไปในหยดเล็กๆของของเหลวไอออนิก เฟสของสารตัวอย่างจะถูกกำจัดโดยใช้เข็มฉีดยา จากนั้นเติมอะซิโทไนไตร์ล 50 ไมโครลิตร (ปริมาตรน้อยที่สุดที่สามารถละลายชั้นของของเหลวไอออนิกได้) เพื่อลดความหนืดก่อนฉีดเข้าสู่ระบบ HPLC ภายใต้สภาวะดังกล่าวนี้ แฟกเตอร์การเพิ่มความเข้มข้นได้สูงถึง 100 เท่า สอดคล้องกับค่าขีดจำกัดการตรวจวัดในช่วง 0.25 – 0.30 นาโนกรัมต่อมิลลิลิตร โดยให้ค่าเบี่ยงเบนมาตรฐานสัมพัทธ์สำหรับเวลาการคงที่ของสาร และพื้นที่ใต้พีค ต่ำกว่า 2.68 และ 5.38 เปอร์เซ็นต์ ตามลำดับ วิธีการที่พัฒนานี้ประสบความสำเร็จในการใช้วิเคราะห์สารกำจัดศัตรูพืชกลุ่มนีโอนิโคตินอยด์ในตัวอย่างน้ำผลไม้ และให้ค่าร้อยละการได้กลับคืนที่สูงในช่วง 95 ถึง 108 เปอร์เซ็นต์

ระบบ Ionic liquid-based cold-induced aggregation microextraction เป็นระบบการสกัดที่ใช้ของเหลวไอออนิกเป็นตัวทำละลายสกัดและใช้สารลดแรงตึงผิวคือโซเดียมโดเดคซิลซัลเฟตเป็นตัวทำละลายประสาน โดยสภาวะที่เหมาะสมในการสกัดคือ ของเหลวไอออนิก [C_4MIM][PF_6] 200 ไมโครลิตร โซเดียมโดเดคซิลซัลเฟต 0.05 โมลต่อลิตร เกลือโซเดียมคาร์บอเนต 0.75 กรัม วอร์เทกซ์ที่อัตราเร็ว 1800 รอบต่อนาที เป็นเวลา 30 วินาที และปั่นเหวี่ยงที่ 3500 รอบต่อนาที เป็นเวลา 10 นาที ภายใต้สภาวะดังกล่าวนี้แฟกเตอร์การเพิ่มความเข้มข้นได้สูงถึง 200 เท่า สอดคล้องกับค่าขีดจำกัดการตรวจวัด 0.01 นาโนกรัมต่อมิลลิลิตร (สำหรับสารเป้าหมายทุกตัว) โดยให้ค่าเบี่ยงเบนมาตรฐานสัมพัทธ์สำหรับเวลาการคงที่ของสาร และพื้นที่ใต้พีค ต่ำกว่า 2.68 และ 5.38 เปอร์เซ็นต์ ตามลำดับ วิธีการที่พัฒนานี้ประสบความสำเร็จในการใช้วิเคราะห์สารกำจัดศัตรูพืชกลุ่มนีโอนิโคตินอยด์ในตัวอย่างน้ำผึ้ง และให้ค่าร้อยละการได้กลับคืนที่สูงในช่วง 86 ถึง 100 เปอร์เซ็นต์ โดยให้ค่าเบี่ยงเบนมาตรฐานสัมพัทธ์น้อยกว่า 8.1 เปอร์เซ็นต์

ระบบ LDS-DLLME เป็นระบบการสกัดที่ใช้ 1-ออกทานอลเป็นตัวทำละลายสกัดและใช้อะซิโทไนไตร์ลเป็นตัวทำละลายประสาน โดยสภาวะที่เหมาะสมในการสกัดคือสารละลายตัวอย่าง 10 มิลลิลิตร โซเดียมซัลเฟต 2.5 กรัม จากนั้นฉีดสารละลายผสมระหว่าง 1-ออกทานอล (200 ไมโครลิตร) ใช้เป็นตัวทำละลายสกัด และอะซิโทไนไตร์ล (200 ไมโครลิตร) ใช้เป็นตัวทำละลายประสาน หลังจากนั้นจะเกิดอีมัลชัน แล้วนำไปปั่นเหวี่ยง ที่อัตราเร็ว 3,500 รอบต่อนาทีเป็นเวลา 10 นาที เพื่อให้เกิดการแยกชั้นอย่างสมบูรณ์ ชั้นของตัวทำละลายสกัดจะลอยอยู่ด้านบน เก็บชั้นที่ได้และนำไปวิเคราะห์ด้วยเทคนิคโครมาโทกราฟีของเหลวสมรรถนะสูง ภายใต้สภาวะดังกล่าวนี้ให้ค่าความเป็นเส้นตรงในช่วง 0.1 ถึง 1000 นาโนกรัมต่อกรัม และให้สัมประสิทธิ์การกำหนด (Coefficient of determination หรือ R^2) มากกว่า 0.999 แฟกเตอร์การเพิ่มความเข้มข้นได้สูงถึง 200 เท่า และสอดคล้องกับค่าขีดจำกัดการตรวจวัดในช่วง 0.25 – 0.80 นาโนกรัมต่อกรัม วิธีการที่พัฒนานี้ประสบความสำเร็จในการใช้วิเคราะห์สารกำจัดศัตรูพืช

กลุ่มนีโอนิโคตินอยด์ในตัวอย่างผลไม้ และให้ค่าร้อยละการได้กลับคืนที่สูงในช่วง 90.07–112.22 เปอร์เซ็นต์

กล่าวโดยสรุป วิธีที่นำเสนอนี้ทั้งวิธีการสกัดแบบ In-coupled syringe assisted octanol–water partition microextraction, RTIL–VALLME, Ionic liquid-based cold-induced aggregation microextraction procedure, และ LDS-DLLME ควบคู่กับการวิเคราะห์ด้วยเทคนิคโครมาโทกราฟีของเหลวสมรรถนะสูง และการตรวจวัดแบบโฟโตไดโอดแอร์เรย์ ได้แสดงให้เห็นว่า เป็นวิธีที่ง่าย มีประสิทธิภาพ และเชื่อถือได้สำหรับการสกัด เพิ่มความเข้มข้น และวิเคราะห์สารกำจัดศัตรูพืชกลุ่มนีโอนิโคตินอยด์ในตัวอย่างอาหาร

คำสำคัญ: การสกัด สารกำจัดศัตรูพืชกลุ่มนีโอนิโคตินอยด์ โครมาโทกราฟีของเหลวสมรรถนะสูง ตัวอย่างอาหาร

Abstract

Project Code: TRG5780060

Project Title: Green sample preparation methods for the determination of neonicotinoid pesticide residues

Investigators: 1) Asst. Prof. Dr. Jitlada Vichapong, Mahasarakham University
2) Assoc. Prof. Dr. Supalax Srijaranai, Khon Kaen University

E-mail Address: jitlada_v@yahoo.com; jitlada.v@msu.ac.th

Project Period: 2 years (2 June 2014 to 1 June 2016)

In this present project, four sample preparation systems for preconcentration and analysis of neonicotinoid pesticides (i.e., imidacloprid, acetamiprid, clothianidin, thiacloprid, thiamethoxam, dinotefuran, and nitenpyram) in food samples were investigated. Parameters affecting on the extraction performance of four extraction methods were also investigated and optimized. The separation of target analytes was carried out using isocratic elution of water and acetonitrile, at a flow rate of 1.0 mL min^{-1}, and photodiode array detection at 254 nm. Under this selected conditions, the target neonicotinoids was completely separated within 18 min. The optimum conditions and analytical results obtained from in-coupled syringe assisted octanol–water partition microextraction, vortex assisted liquid-liquid microextraction using room temperature ionic liquid (RTIL–VALLME), ionic liquid-based cold-induced aggregation microextraction procedure, and low density solvent with low toxic organic solvent-based dispersive liquid-liquid microextraction (LDS-DLLME) are described follow.

In-coupled syringe assisted octanol-water partition microextraction system was carried out by rapid shooting of two syringes. Therefore, rapid dispersion and mass transfer processes was created between phases, and thus affects the extraction efficiency of the proposed method. The optimum extraction conditions were 10.00 mL of aqueous sample, 1% (*w/v*) Na_2SO_4, 1-octanol (100 µL) as an extraction solvent, shooting 4 times and extraction time 2 min. No disperser solvent and centrifugation step was necessary. Linearity was obtained within the range of 0.1–3000 ng mL^{-1}, with the correlation coefficients greater than 0.99. The high enrichment factor of the target analytes was 200 fold and low limit of detection (0.25 to 0.50 ng mL^{-1}) could be obtained. This proposed method has been successfully applied in the analysis of

neonicotinoid residues in honey, and good recoveries in the range of 96.93–107.70% were obtained.

Vortex assisted liquid-liquid microextraction (VALLME) was carried out by using room temperature ionic liquids [C_4MIM][PF_6] as green extractant phases, being compatible with high performance liquid chromatographic systems. The optimum extraction conditions were a volume of 10.00 mL of the standard solution (or sample solution) and 1.5 g of Na_2SO_4, 150 µL of [C_4MIM][PF_6] RTIL, vortex the tube for 30 s. The aqueous phase was removed by using a syringe. Then, 50 µL of acetonitrile (the minimum amount necessary to completely dissolve the RTIL phase) is added to decrease viscosity and then injected into the HPLC column. Under the selected conditions, the high enrichment factors of 100 could be achieved with the limit of detection in the range of 0.25–0.30 ng mL^{-1}, and with the relative standard deviations of lower than 2.68 and 5.38% for retention time and peak area, respectively. The proposed method was applied to the analysis of fruit juice samples and the recoveries of the analytes ranged from 95 to 108%.

A preconcentration approach based on ionic liquid-based cold-induced aggregation microextraction was carried out by using room temperature ionic liquid [C_4MIM][PF_6] (extraction solvent) and SDS (emulsifier). The parameters affecting the extraction efficiency were optimized. The optimum microextraction conditions were 200 µL room temperature ionic liquids [C_4MIM][PF_6] containing 0.05 mol L^{-1} sodium dodecylsulphate, 0.75 g sodium carbonate, vortex agitation speed of 1800 rpm for 30 s and centrifugation at 3500 rpm for 10 min. Under optimum conditions, the high enrichment factors of 200 could be obtained, leading to low limit of detection (0.01 µg L^{-1} for all analytes) with the relative standard deviations lower than 2.68 and 5.38% for retention time and peak area, respectively. Good recoveries for the spiked target neonicotinoids at three different concentrations of honey samples were obtained in 86 to 100% and relative standard deviations were lower than 8.1%. The results demonstrated that the proposed method can be used as an alternative powerful method for the simultaneous determination of the studied insecticides in real honey samples.

LDS-DLLME procedures was carried out by using 1-octanol as extraction solvent and ACN as dispersive solvent. A 10-mL aliquot of sample (or standard solution) was mixed with 2.5 g of Na_2SO_4 and then subsequently transferring to a 10-mL screw cap test

tube. After that, a mixture of 200 μL extraction solvent (1-octanol) and 200 μL dispersive solvent (ACN) were injected rapidly into the sample solution. A cloudy solution because of the dispersion of 1-octanol in the solution was obtained. After that, the resulting emulsion was completely separated by centrifugation at 3,500 rpm for 10 min. The reconstituted solution floated on the top of the tube. The upper extraction solvent was collected by 1-mL syringe and then injected into the HPLC for analysis. Under the optimum condition, linearity was obtained within the range of 0.1 to 1000 ng g^{-1} with the correlation coefficient more than 0.999. The high enrichment factor of the target analytes was 125-200 folds and low limit of detection (0.25 to 0.80 ng g-1) could be obtained. The fruit samples were successfully analyzed, and the relative recoveries were obtained in the range of 90.07-112.22%.

In summary, the proposed In-coupled syringe assisted octanol–water partition microextraction, RTIL–VALLME, Ionic liquid-based cold-induced aggregation microextraction procedure, and LDS-DLLME, coupled with HPLC-PDA method have been demonstrated to be simple, effective, and reliable for the preconcentration and simultaneous analysis of target neonicotinoid pesticides in the food samples studied.

Keyword: extraction, neonicotinoid pesticides, high-performance liquid chromatography, food samples