มาตรฐานผสมที่มีความเข้มข้นอยู่ในช่วง 50-200 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร และเตรียม working standard solution ให้ได้สารละลายของสารมาตรฐานผสมของแต่ละกลุ่มให้มีความเข้มข้นประมาณ 0.01-2.50 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร

4. วิธีการสกัดตัวอย่าง

4.1 การสกัดสารพิษในน้ำ

4.1.1 กลุ่มออร์กาโนคลอรีนและกลุ่มไพรีทรอยด์ ตวงน้ำปริมาตร 1,000 มิลลิลิตร ใส่ใน separatory funnel ขนาด 1,000 มิลลิลิตร เติม hexane (AR) 100 มิลลิลิตร นำไปเขย่าโดยใช้ separatory funnel shaker นาน 3 นาที ตั้งทิ้งไว้ให้แยกชั้น ไขชั้นบนซึ่งเป็นชั้น hexane กรองผ่าน sodium sulfate anhydrous เก็บใน round bottom flask ขนาด 250 มิลลิลิตร ชั้นล่างเป็นชั้นของน้ำ เติม hexane (AR) 50 มิลลิลิตร และนำไปเขย่าโดยใช้ separatory funnel shaker นาน 3 นาที ไขเก็บชั้น hexane กรองผ่าน sodium sulfate anhydrous เก็บรวมกับครั้งแรก ทำ 2 ครั้ง เมื่อกรองเสร็จแล้วกลั้ว (rinse) separatory funnel ด้วย hexane (AR) 10 มิลลิลิตร 2 ครั้ง นำไปลดปริมาตรโดยใช้ rotary evaporator จนเกือบแห้ง ปรับปริมาตรด้วย hexane (PR) ลดปริมาตรสารสกัดด้วย nitrogen evaporator และปรับปริมาตรให้ได้ 1 มิลลิลิตร นำไปฉีดเครื่อง GC ชนิดหัวตรวจวัด ECD

4.1.2 กลุ่มออร์กาโนฟอสฟอรัส กลุ่มคาร์บาเมท และกลุ่มไทรอาซีนใช้วิธีการสกัดเช่นเดียวกับวิธีการสกัดสารพิษกลุ่มออร์กาโนคลอรีนและไพรีทรอยด์ในน้ำในข้อ 4.1.1 แต่จะเปลี่ยนในส่วนของสารเคมีที่ใช้ในการสกัดจาก hexane เป็น ethyl acetate และนำสารสกัดที่ได้ฉีดเครื่อง GC ชนิดหัวตรวจวัด FPD เพื่อตรวจวิเคราะห์สารพิษกลุ่มออร์กาโนฟอสฟอรัส และฉีดเครื่อง GC ชนิดหัวตรวจวัด NPD เพื่อตรวจวิเคราะห์สารพิษกลุ่มคาร์บาเมทและกลุ่มไทรอาซีน

4.2 การสกัดสารพิษในตะกอน

4.2.1 การหาความชื้นในตะกอน ตัวอย่างตะกอนที่นำมาตรวจวิเคราะห์จะต้องคำนวณเปอร์เซนต์ความชื้นตามวิธีการ (Back C.A., 1965) เพื่อนำไปลบน้ำหนักตัวอย่างตะกอนที่มีความชื้นจะได้น้ำหนักตะกอนแห้งสุทธิ สำหรับใช้คำนวณในขั้นตอนการหาปริมาณสารพิษ ซึ่งจะแบ่งตัวอย่างส่วนหนึ่งสำหรับคำนวณเปอร์เซนต์ความชื้นพร้อม ๆ กับแบ่งไปทำการสกัด โดยชั่งและบันทึกน้ำหนัก petri dish และชั่งตัวอย่างตะกอนใส่ใน petri dish นี้ 50 กรัม นำไปอบในตู้อบอุณหภูมิ 100 องศาเซลเซียส นาน 24 ชั่วโมง นำไปใส่ใน desiccator ทิ้งให้เย็นที่อุณหภูมิห้อง ชั่งและบันทึกน้ำหนักตัวอย่างตะกอนพร้อม petri dish และนำตัวอย่างอบต่ออีกประมาณ 3 - 4 ชั่วโมง ชั่งและบันทึกน้ำหนักครั้งที่ 2 ถ้าน้ำหนักที่หายไปจากการอบครั้งที่ 1 และ 2 แตกต่างกันไม่เกิน 1 เปอร์เซนต์ แสดงว่าน้ำระเหยออกจากตัวอย่างหมดแล้ว ถ้ามากกว่า 1 เปอร์เซนต์ จะต้องนำไปอบต่ออีก 3 - 4 ชั่วโมง จนกระทั่งน้ำหนักที่หายไปแตกต่างกันไม่เกิน 1 เปอร์เซนต์ จึงจะนำไปคำนวณเปอร์เซ็นต์ความชื้นและน้ำหนักตะกอนแห้ง

4.2.2 วิธีการสกัด

ชั่งตัวอย่าง 20 กรัม ใส่ใน Erlenmeyer flask ขนาด 250 มิลลิลิตร เติม ethyl acetate (AR) 75 มิลลิลิตร ปิดฝาให้แน่น นำไปเขย่าด้วย shaker นาน 5 ชั่วโมง กรองสารสกัดผ่าน sodium sulfate anhydrous ใส่ใน round bottom flask ขนาด 250 มิลลิลิตร ล้างขวดใส่ตัวอย่างด้วย ethyl acetate 20 มิลลิลิตร 2 ครั้ง

กรองสารสกัดผ่าน sodium sulfate anhydrous เก็บใน round bottom flask ใบเดิม นำไปลดปริมาตรโดยใช้ rotary evaporator จนเกือบแห้ง ปรับปริมาตรด้วย ethyl acetate (PR) ลดปริมาตรสารสกัดด้วย nitrogen evaporator และปรับปริมาตรด้วย ethyl acetate (PR) ให้ได้ 2 มิลลิลิตร ดูดสารสกัด 1 มิลลิลิตร ใส่ vial for auto sampler ขนาด 2 มิลลิลิตร นำไปฉีดเครื่อง GC ชนิด FPD เพื่อตรวจวิเคราะห์สารพิษกลุ่มออร์กาโนฟอสฟอรัส และฉีดเครื่อง GC ชนิด NPD เพื่อตรวจวิเคราะห์สารพิษกลุ่มคาร์บาเมทและกลุ่มไทรอาซีน ส่วนสารสกัดที่เหลือ 1 มิลลิลิตร นำไปลดปริมาตรจนเกือบแห้งด้วย nitrogen evaporator และปรับปริมาตรด้วย hexane (PR) ให้ได้ 2.5 มิลลิลิตร นำไปฉีดเครื่อง GC ชนิด ECD เพื่อตรวจวิเคราะห์สารพิษกลุ่มออร์กาโนคลอรีนและกลุ่มไพรีทรอยด์

4.3 การสกัดสารพิษในพืชน้ำ (ปรับจากวิธีการของ steinwandter, 1985)

4.3.1 การสกัดตัวอย่าง ชั่งตัวอย่างพืชบด 25 กรัม ใส่ขวดปริมาตร 250 มิลลิลิตร เติม acetone 50 มิลลิลิตร ปั่นตัวอย่างโดยใช้ homogenizer นาน 1 นาที เติม dichloromethane 40 มิลลิลิตร และ sodium chloride 8 กรัม ปั่นต่อด้วย homogenizer อีก 1 นาที รินเก็บสารละลายส่วนที่ใสแล้วเติม sodium sulfate anhydrous 15 กรัม ตั้งทิ้งไว้ประมาณ 20 นาที กรองผ่านกระดาษกรองที่บรรจุ sodium sulfate anhydrous แบ่งสารละลาย 50 มิลลิลิตร ใส่ round bottom flask ขนาด 250 มิลลิลิตร นำไปลดปริมาตรด้วย rotary evaporator เกือบแห้ง ปรับปริมาตรสารสกัดด้วย ethyl acetate (PR) ให้ได้ 10 มิลลิลิตร แบ่งสารสกัด 2 มิลลิลิตร ไปตรวจวิเคราะห์หาชนิดและปริมาณสารพิษกลุ่มออร์กาโนฟอสฟอรัส กลุ่มคาร์บาเมท และกลุ่มไทรอาซีน สารสกัดที่เหลือ4 มิลลิลิตร เก็บไว้สำรอง ส่วนสารสกัดอีก 4 มิลลิลิตร นำไปขจัดสิ่งปนเปื้อน

4.3.2 การขจัดสิ่งปนเปื้อน (clean up)

ชั่ง siliga gel ที่ deactivated ด้วยน้ำ 10 เปอร์เซ็นต์ จำนวน 1 กรัม ใส่ในคอลัมน์เส้นผ่านศูนย์กลาง 10 มิลลิเมตร ปิดทับ siliga gel ด้วย sodium sulfate anhydrous สูงประมาณ 1 เซนติเมตร ล้างคอลัมน์ด้วยhexane 5 มิลลิลิตร ดูดสารสกัดตัวอย่างลงในคอลัมน์ ชะตัวอย่างในคอลัมน์ ด้วยสารผสมของ hexane : dichloromethane (4:1) 5 มิลลิลิตร และสารผสมของ hexane : dichloromethane (1:1) 10 มิลลิลิตร เก็บสารละลายที่ได้ใน round bottom flask นำไปลดปริมาตรจนเกือบแห้ง ปรับปริมาตรให้ได้ 2 มิลลิลิตรด้วย hexane (PR) ดูดสารสกัดใส่ vial นำไปฉีดเครื่อง GC ชนิดหัวตรวจวัด ECD เพื่อตรวจวิเคราะห์สารพิษกลุ่มออร์กาโนคลอรีนและกลุ่มไพรีทรอยด์

4.4 การสกัดสารพิษในเนื้อปลา ใช้วิธีการของ FEEI SUN (2000)

4.4.1 การสกัด ชั่งตัวอย่างเนื้อปลาบด 10 กรัม ใส่ขวดปริมาตร 125 มิลลิลิตร เติม acetonitrile 50 มิลลิลิตร สกัดโดยใช้ homogenizer 1 นาที กรองผ่านกระดาษกรองด้วยระบบสุญญากาศ (vacuum pump) ใส่ใน Erlenmeyer flask ล้างขวดใส่ตัวอย่างด้วย acetonitrile 100 มิลลิลิตร ตวงแบ่งสารสกัด 50 มิลลิลิตร ใส่ใน round bottom flask นำไปลดปริมาตรจนเกือบแห้ง เติม acetonitrile 15 มิลลิลิตร นำไปขจัดสิ่งปนเปื้อน (clean up)

4.4.2 การขจัดสิ่งปนเปื้อน (clean up) ใช้ SPE ชนิด C18 ต่อกับ SPE ชนิด florisil ที่บรรจุเพิ่มด้วย anh. sodium sulfate 2 กรัม เป็นคอลัมน์สำหรับขจัดสิ่งปนเปื้อน ล้างคอลัมน์ด้วย acetonitrile 6 มิลลิลิตร ดูดตัวอย่าง