



# การพัฒนาวิธีวิเคราะห์สารพิษตกค้างกลุ่มออร์กาโนฟอสฟอรัสในมังคุด

## Development of Organophosphorous Residue Analysis Method in Mangosteen

วิสุทธิ เชาวศรี      ปิยะศักดิ์ อรรคนุต      ชนิดา ทองแซม

กลุ่มวิจัยวัตถุมีพิษการเกษตร

สำนักวิจัยพัฒนาปัจจัยการผลิตทางการเกษตร

### บทคัดย่อ

การพัฒนาวิธีวิเคราะห์สารพิษตกค้างกลุ่มออร์กาโนฟอสฟอรัส 19 ชนิด ในมังคุด โดยใช้เครื่อง Gas Chromatograph (GC) ชนิด Flame Photometric Detector (FPD) เพื่อให้ได้วิธีการตรวจวิเคราะห์ที่เหมาะสม รวดเร็วและมีประสิทธิภาพ โดยใช้วิธีวิเคราะห์ต่างๆ รวม 6 วิธีการ คือวิธีการที่ 1 เป็นวิธีประยุกต์ของ Steinwandter 1985 โดยใช้ acetone dichloromethane และ NaCl ในการสกัด วิธีการที่ 2 วิธีประยุกต์ของ Steinwandter (1985) และขจัดสิ่งปนเปื้อนโดยใช้ sorbent ชนิด SAX และ PSA และชะด้วย acetone : hexane (3:7) วิธีการที่ 3 สกัดวิธีเดียวกับวิธีที่ 1 ขจัดสิ่งปนเปื้อนโดยการเติม SAX , PSA และ MgSO<sub>4</sub> ลงในสารสกัด วิธีการที่ 4 สกัดด้วย acetonitrile และ Na<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> วิธีการที่ 5 ประยุกต์วิธี QuEChERS ของ Anatacedes, et al.,(2003) สกัดด้วย acetonitrile, MgSO<sub>4</sub> และ NaCl ขจัดสิ่งปนเปื้อนโดยใช้ PSA และ MgSO<sub>4</sub> วิธีการที่ 6 การประยุกต์วิธี QuEChERS ของ EN Method สกัดด้วย acetonitrile และ Simpli Q EN QuEChERS extraction packet ขจัดสิ่งปนเปื้อนด้วย Simpli Q EN dispersive SPE ผลการทดลอง พบว่า ทั้ง 6 วิธีการมีประสิทธิภาพในการตรวจสอบสารพิษตกค้างได้เป็นส่วนใหญ่ โดยวิธีการที่ 1, 2, 4 และ 6 มีประสิทธิภาพในการตรวจสอบสารพิษตกค้างได้ 18 ชนิด ยกเว้น azinphos ethyl วิธีการที่ 3 มีประสิทธิภาพในการตรวจสอบสารพิษตกค้างได้ 17 ชนิด ยกเว้น azinphos ethyl และ DDVP ส่วนวิธีการที่ 5 ตรวจสอบสารได้เพียง 16 ชนิด ยกเว้น parathion- ethyl, pirimiphos- ethyl และ ethion สำหรับวิธีที่ให้ผลการวิเคราะห์ที่รวดเร็วที่สุดคือวิธีการที่ 6

### คำนำ

จากการจัดตั้งองค์การการค้าโลก (WTO) ในปี พ.ศ.2538 มีความตกลงที่เกี่ยวข้องกับสุขอนามัยและคุณภาพของอาหาร 2 ฉบับ คือ ความตกลงว่าด้วยการบังคับใช้มาตรการสุขอนามัยและสุขอนามัยพืช (Agreement on the Application of Sanitary & Phytosanitary Measure) และความตกลงว่าด้วยอุปสรรคทางเทคนิคต่อการค้า (Agreement on Technical Barrier to Trade, TBT) ที่ให้ประเทศสมาชิกกำหนด หรือใช้บังคับมาตรการเท่าที่จำเป็นในการปกป้องชีวิตหรือสุขภาพของมนุษย์ สัตว์ และพืช ซึ่งประเทศสมาชิกได้มีการนำปัญหาสารพิษตกค้างในผลผลิต ผลิตภัณฑ์การเกษตรและสิ่งแวดล้อม มาใช้เป็นมาตรการกีดกันทางการค้าสำหรับประเทศที่ส่งสินค้าเกษตรเป็นสินค้าออก ดังนั้นประเทศผู้ส่งออกสินค้าเกษตร รวมทั้งประเทศไทยจำเป็นต้องปรับปรุงกฎ ระเบียบ และข้อกำหนดต่างๆ ที่เกี่ยวกับสุขอนามัย และมาตรการว่าด้วยอุปสรรค



ทางเทคนิคต่อการค้า ให้มีความสอดคล้องกับมาตรฐานขององค์การระหว่างประเทศ เช่น Codex, ISO เพื่อแสดงความเท่าเทียมกัน ห้องปฏิบัติการจึงจำเป็นต้องพัฒนาระบบห้องปฏิบัติการที่มีเป้าหมายใหญ่ คือ การวิจัยและพัฒนาวิธีการวิเคราะห์ (Method development) ให้เป็นมาตรฐาน ทำการตรวจสอบความใช้ได้ของวิธีวิเคราะห์ (Method validation) และทดสอบความสามารถระหว่างห้องปฏิบัติการ (Proficiency testing) เพื่อเป็นการยืนยันถึงวิธีการที่นำมาใช้ในการทดสอบว่ามีความถูกต้อง แม่นยำ น่าเชื่อถือ สามารถสอบกลับได้ เพื่อขอรับรองความสามารถของห้องปฏิบัติการ (Laboratory accreditation) ตามมาตรฐานสากล (ISO/IEC17025) ซึ่งจะทำให้ผลการวิเคราะห์เป็นที่น่าเชื่อถือ และยอมรับได้ตามมาตรฐานสากล เป็นผลดีต่อการส่งสินค้าเกษตรเป็นสินค้าส่งออกและปลอดภัยต่อผู้บริโภค

สำหรับงานวิจัยนี้ จะเป็นการพัฒนาวิธีวิเคราะห์สารกลุ่มออร์กาโนฟอสฟอรัสในมังคุด เพื่อให้ได้วิธีรวดเร็ว ประหยัด และมีประสิทธิภาพ และสามารถใช้ในการขยายขอบข่ายของการตรวจวิเคราะห์สารพิษตกค้างในมังคุดส่งออกต่อไป

## วิธีดำเนินการ

### อุปกรณ์

1. เครื่องมือวิทยาศาสตร์ ได้แก่ เครื่องสกัดชนิดปั่นความเร็วสูง (Homogenizer) เครื่องระเหยสารละลายชนิด Flash evaporator, Nitrogen evaporator ตู้อบอุณหภูมิสูง เครื่องชั่งชนิด 5 ตำแหน่ง และ 2 ตำแหน่ง เครื่องเขย่า shaker
2. เครื่องแก้วที่ใช้ในห้องปฏิบัติการ ได้แก่ volumetric flask, volumetric pipet, auto pipet, erlenmeyer flask, lab bottle, flat bottle flask และ glass syringe ขนาด 5 มิลลิลิตร
3. สารเคมีชนิด Analytical grade ได้แก่ acetone, dichloromethane, acetonitrile, NaCl, Na<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> anhydrous, acetic acid, MgSO<sub>4</sub> anhydrous
4. สารเคมีชนิด pesticide grade ได้แก่ ethyl acetate, dichloromethane, acetonitrile, trimethyl ammonium strong anion exchange (SAX) , Primary secondary amine ( PSA)
5. สารเคมีสำเร็จรูปได้แก่ Sampli Q EN QuEChERS extraction packet ประกอบด้วย MgSO<sub>4</sub> 4 กรัม NaCl 1 กรัม sodium citrate 1 กรัม disodium citrate sesquihydrate 0.5 กรัม และ Sampli Q EN dispersive SPE kit ประกอบด้วย PSA 150 มิลลิกรัม Mg SO<sub>4</sub> 900 มิลลิกรัม
6. สารมาตรฐานกลุ่มออร์กาโนฟอสฟอรัส 19 ชนิด ได้แก่ DDVP, mevinphos, dimethoate, diazinon, parathion-methyl, fenitrothion, pirimiphos- methyl, malathion, chlorpyrifos, parathion-ethyl, pirimiphos- ethyl, methidathion, prothiophos, profenophos, ethion, triazophos, EPN, phosalone และ aziphos-ethyl
7. เครื่องตรวจวิเคราะห์สารพิษตกค้าง Gas chromatograph (GC) ชนิด Flam Photometric detector (FPD)



## วิธีการ

1. เตรียมสารละลายเดี่ยวและสารละลายรวมของสารมาตรฐานกลุ่มออร์กาโนฟอสฟอรัส 19 ชนิด ให้มีความเข้มข้นที่เหมาะสม ทำการฉีดสารละลายมาตรฐานเดี่ยว และสารละลายมาตรฐานรวมด้วย GC ที่มีหัวตรวจวัดชนิด FPD เพื่อหาค่า Retention time ของสารแต่ละตัว และ sequence ของสารใน chromatogram ที่เป็นสารละลายมาตรฐานรวม และจะต้องปรับสภาวะของเครื่อง GC ให้สารแยกจากกันอย่างชัดเจน

2. เตรียมสารละลายมาตรฐานรวมของกลุ่มออร์กาโนฟอสฟอรัสเพื่อทำเป็น spike mixed standard solution และ matrix working mixed standard solution

### 3. การทดสอบวิธีการ

ทำการ spike mixed standard solution ให้มีความเข้มข้น 0.5 มิลลิกรัมต่อกิโลกรัม ลงในตัวอย่างมังคุดที่ไม่มีการปนเปื้อนของสารกลุ่มออร์กาโนฟอสฟอรัส ทำการทดลอง 6 วิธีการๆ ละ 5 ซ้ำ โดยมี control sample (ไม่ได้ spike สาร) และ control blank ทำควบคุมไปกับตัวอย่างที่ spike ทุกวิธีการ

### 4. วิธีการที่ใช้ในการทดสอบ ได้แก่

#### 4.1. วิธีการที่ 1

ใช้วิธีประยุกต์ของ Steinwandter (1985) ดังนี้

- 1) ชั่งตัวอย่างมังคุด 25 กรัม ใน lab bottle ขนาด 250 มิลลิลิตร
- 2) เติม acetone 50 มิลลิลิตร ปั่นด้วย homogenizer ความเร็วประมาณ 13,000 รอบต่อนาที นาน 1 นาที
- 3) เติม sodium chloride 8 กรัม และ dichloromethane 40 มิลลิลิตร ปั่นอีก 1 นาที
- 4) เทสารละลายส่วนใสใน lab bottle ที่มี  $\text{Na}_2\text{SO}_4$  anhydrous ประมาณ 30 กรัม ตั้งทิ้งไว้ประมาณ 10 นาที
- 5) แบ่งสารละลายตัวอย่างมา 50 มิลลิลิตร นำไปลดปริมาตรจนเกือบแห้ง ปรับปริมาตรเป็น 5 มิลลิลิตร ด้วย ethyl acetate (PR)
- 6) นำไปวิเคราะห์ผลโดยใช้เครื่อง Gas Chromatograph ชนิด Flame Photometric Detector (FPD)

#### 4.2. วิธีการที่ 2

การสกัดใช้วิธีประยุกต์ของ Steinwandter (1985) ขจัดสิ่งปนเปื้อนด้วยวิธีการประยุกต์ของ Kobe Quarantine Station, 2004

ก. การสกัดใช้วิธีประยุกต์ของ Steinwandter (1985) ตามข้อ 4.1 วิธีการที่ 1 ข้อ 1 ถึงข้อ 5

ข. การขจัดสิ่งปนเปื้อน (clean up)

- 1) นำ glass syring ซึ่งใส่กระดาษกรองที่ตัดเป็นวงกลมขนาดประมาณ