รายงานผลงานเรื่องเต็มการทดลองที่สิ้นสุด

1. ชุดโครงการวิจัย วิจัยและพัฒนาปัจจัยการผลิตทางการเกษตร

2. โครงการวิจัย : การพัฒนาการตรวจวิเคราะห์สารพิษตกค้างของวัตถุอันตรายทางการเกษตรให้ถูกต้องแม่นยำตามมาตรฐานสากล

กิจกรรม : การพัฒนาเทคนิคการวิเคราะห์สารพิษตกค้าง

กิจกรรมย่อย : พัฒนาเทคนิคการวิเคราะห์สารพิษตกค้างในดินและน้ำ

3. การทดลอง (ภาษาไทย): การพัฒนาและตรวจสอบความใช้ได้ของวิธีวิเคราะห์สารกำจัดแมลงและสารกำจัดวัชพืชในดินและน้ำโดยใช้ Gas chromatography/Mass Spectrometry: พัฒนาวิธีวิเคราะห์สารกำจัดวัชพืช 2,4-D ในน้ำ

การทดลอง (ภาษาอังกฤษ) : Analytical Method Development of 2,4-D in water by Gas Chromatograph /Mass Spectrometry

4. คณะผู้ดำเนินงาน

หัวหน้าการทดลอง : นางมลิสา เวชยานนท์ กลุ่มวิจัยวัตถุมีพิษการเกษตร
กองวิจัยพัฒนาปัจจัยการผลิตทางการเกษตร

ผู้ร่วมงาน : นายนพดล มะโนเย็น และนางสาวจันทิมา ผลกอง
กลุ่มวิจัยวัตถุมีพิษการเกษตร กองวิจัยพัฒนาปัจจัยการผลิตทางการเกษตร

---

5. บทคัดย่อ

การวิธีตรวจวิเคราะห์สารกำจัดวัชพืชตกค้างชนิด 2,4-D น้ำ ที่รวดเร็ว และมีประสิทธิภาพ ได้ดัดแปลงวิธีการสกัดตัวอย่างและใช้ Gas Chromatography/Mass Spectrometry (GC/MS) เป็นเครื่องมือสำหรับการตรวจวัด โดยทำสกัดด้วยสารเคมี และสารเคมีผสมในแต่ละชนิด ได้แก่ hexne, ethyl acetate, dichloromethane สารผสม methanol:diethyl ether (2:8) พบว่าวิธีที่ให้ผลการทดสอบอยู่ในเกณฑ์การยอมรับ จะต้องปรับ pH ของตัวอย่างน้ำก่อนทำการสกัดให้ < 3 .ด้วย H_2SO_4 ปริมาตรตัวอย่างน้ำ 800 มิลลิลิตร เติมสารสกัดผสม methanol: diethyl ether (2:8) ปริมาตร 100 มิลลิลิตร กรองผ่าน anh. Na_2SO_4 สกัดซ้ำด้วยสารสกัดอีก 2 ครั้งๆ ละ 50 มิลลิลิตร นำไปทำปฏิกิริยา hydrolysis โดยเติม 10 M NaOH 10 มิลลิลิตร ให้ความร้อนใน water bath อุณหภูมิ 60 องศาเซลเซียส นาน 35 นาที นำไปสกัดด้วย dichloromethane สารละลายที่ได้เปลี่ยนให้อยู่ในรูป เอสเทอร์ โดยใช้ methylation mixture (methanol : conc H_2SO_4 (9:1)) ปรับปริมาตรสุดท้ายเป็น 5 มิลลิลิตรด้วย hexane นำไปตรวจวิเคราะห์ด้วยเครื่อง GC/MS ที่ให้ผลการทดสอบที่น่าเชื่อถือทั้งด้านปริมาณ และความถูกต้อง โดยผลการทดสอบ ที่ความเข้มข้น 0.5, 1.5 และ 3.5 ไมโครกรัมต่อลิตร มีค่า

recovery เฉลี่ย 75, 98 และ 105 เปอร์เซ็นต์ ตามลำดับ ซึ่งให้ผลการทดสอบอยู่ในเกณฑ์การยอมรับ รวมทั้งสามารถนำวิธีการนี้ไปใช้ตรวจวิเคราะห์สารกำจัดวัชพืชชนิด 2,4-D ที่ปนเปื้อนในแหล่งน้ำผิวดินได้

รหัส 03-06-54-06-01-01-02-54

Abstract

A fast and efficient method for the determination of 2,4-D-dichlorophenoxy acetic acid (2,4-D) residues in water is developed by selection of modified solvent extraction apparatus such as hexane, ethyl acetate dichloromethane, methanol : diethyl ether (2:8) for solvent mixture and using Gas Chromatography/Mass spectrometry (GC/MS). The sample must be adjust pH to <3 with sulfuric acid. The procedure involved initial liquid–liquid extraction of 800 ml sample with methanol: diethyl ether (2:8) 100 ml. Filter the extract phases through anh. Na_2SO_4 and repeat extraction procedure a second time with methanol: diethyl ether (2:8) 50 ml, collected the whole filtrate. And then the extract sample is hydrolyzed with 50 ml of 10M NaOH on the water bath at 60 ^{o}C 35 minutes. Transfer the aqueous phase and extract using diethyl ether, after that derivatization by methylating mixture, methanol: conc. H_2SO_4 (9:1). Final volume adjusts to 5 ml with hexane. Gas Chlromatyograph/Mass spectrometry is used for quantitative and confirmatory analysis of GC-amenable. For measured concentration of 2,4-D in spiked water sample are 0.5, 1.5 and 3.5 μg/L. The Recoveries obtained 75, 98 and 105%, respectively, for fortified sample. The result showed that acceptable. This method can be applied to analyze the 2,4-D herbicide contamination in surface water.

Keyword : 2,4-D, GC/MS, Herbicide, water

6. คำนำ

2,4-D ชื่อทางเคมี 2,4 dichlorophenoxy acetic acid สูตรโมเลกุล $C_8H_6Cl_2O_3$ น้ำหนักโมเลกุล 221.04 เป็นสารกำจัดวัชพืชชนิดดูดซึมเลือกทำลาย (Selective systemic herbicide) ใช้กำจัดวัชพืชใบกว้าง เช่น กก ผักขนาก ผักปอดนา (Floyd M. et al., 1973) สำหรับในประเทศไทยนิยมใช้กำจัดวัชพืชในข้าวนาหว่าน น้ำตมหลังจากข้าวงอกแล้วประมาณ 10 - 15 วัน ซึ่งหลังจากใช้ 2,4-D ในบริเวณพื้นที่ที่มีน้ำขังเพื่อกำจัดวัชพืชในแปลงแล้ว จะเกิดการเปลี่ยนแปลงและการสลายตัวทางเคมีด้วยสิ่งมีชีวิต microbial ส่วนมากจะอยู่ในรูปอิออน อิสระ และเกลือของอิออนที่ละลายน้ำได้ดี โดยอัตราการสลายตัวด้วยน้ำ ขึ้นอยู่กับสภาพความเป็นกรด-ด่าง ที่สภาวะ pH 9 จะมีการสลายตัวได้เร็วกว่าที่ pH 6 (MacBean, 2012)

ด้วยสูตรโครงสร้างของ 2,4-D ที่มีคลอรีนอะตอม (Cl^-) เป็นองค์ประกอบ การตรวจวิเคราะห์การตกค้างของสารพิษชนิดนี้ในตัวอย่างชนิดต่าง ๆ สามารถตรวจวิเคราะห์ด้วย Gas chromatograph ชนิดหัวตรวจวัด Electron Capture Detector (GC/ECD) ได้ แต่การวิเคราะห์ด้วย GC/ECD นี้มีขั้นตอนที่ยุ่งยากและใช้เวลานาน จะต้องเปลี่ยนรูปสารให้อยู่ในรูปเอสเทอร์ เพื่อกำจัดส่วนประกอบที่เป็นกรด จึงจะสามารถตรวจได้ สารเคมีที่ใช้ในขั้นตอนการสกัดจะมีความเป็นอันตรายสูง เช่น ซัลฟูริกเข้มข้น และ diazomethane pentafluorobenzyl bromide ค่าต่ำสุดที่สามารถวิเคราะห์ได้อย่างถูกต้อง (Limit Of Quantitation; LOQ) ของวิธีการวิเคราะห์ด้วย GC/ECD เท่ากับ 0.2 ไมโครกรัมกรัมต่อลิตร (EPA , 1996) ทั้งนี้คุณสมบัติของ 2,4-D เป็นกรดแก่ จะละลายน้ำได้ดี การตรวจวิเคราะห์ด้วยเครื่อง High performance Liquid Chromatograph (HPLC) จึงถือได้ว่ามีความเหมาะสม แต่ก็พบปัญหาในเรื่องและวิธีการสารสกัดที่สามารถละลายสารออกมาจากโครงสร้างการยึดเกาะกับน้ำจึงเป็นเรื่องที่สำคัญ ทำให้วิธีการวิเคราะห์ที่ได้จะต้องใช้ความเข้มข้นสูงที่ 0.5- 50 มิลลิกรัมต่อลิตร (William J. Connick et al,1982) สารที่มีความเหมาะสมในการสกัดจะเป็นสารผสมที่มีขั้วประเภทแอลกอฮอล์ (EPA , 1996) ฉะนั้นการเลือกใช้สารเคมีในการสกัด รวมทั้งเครื่องมือที่มีอยู่ในห้องปฏิบัติการในการวิเคราะห์ โดยจะต้องคำนึงถึงประสิทธิภาพในการสกัด ความเหมาะสมของสารเคมี และสิ่งแวดล้อมในการตรวจวิเคราะห์ จึงเป็นปัจจัยที่สำคัญในการพัฒนาวิธีการตรวจวิเคราะห์นี้

ในการพัฒนาวิธีการตรวจวิเคราะห์ 2,4-D ในน้ำของห้องปฏิบัติการนี้ จะเลือกใช้เครื่องมือสำหรับการตรวจวิเคราะห์เป็น GC/MS เลือกมวลโมเลกุลที่ใช้ในการทดสอบที่ 175, 177, 199, 207, 234 ดัดแปลงจากวิธีวิเคราะห์ด้วย GC/ECD มีการเปลี่ยนรูปสารให้อยู่ในรูปเอสเทอร์ ด้วยกรดซัลฟูริกและเมทานอล (Keller W., 1992) ซึ่งไม่ยุ่งยากนัก และการตรวจวิเคราะห์จะมีความถูกต้อง และแม่นยำ (AMADEO et al., 2004) รวมทั้งสามารถนำไปใช้เป็นวิธีทดสอบของห้องปฏิบัติการต่อไป

7. วิธีดำเนินการ

อุปกรณ์

1. เครื่องแก้วสกัดได้แก่ beaker, cylinder, separatory funnel, Erlenmeyer flask, round bottom flask, graduated tube, glass vial for auto sampler, volumetric pipette และ volumetric flask
2. เคมีภัณฑ์ชนิดต่าง ๆ
   2.1 สารเคมี analytical grade ได้แก่ water, anhydrous sodium sulfate, acetone, dichloromethane, diethyl ether, ethyl acetate, hexane, methanol, sodium hydrogen carbonate, sulfuric acid, sodium hydroxide และ sodium chloride สารเคมีชนิด pesticide grade และ HPLC grade ได้แก่ acetone, diethyl ether, ethyl acetate, hexane และ iso-octane
   2.2 สารพิษมาตรฐาน pesticide grade กลุ่ม chlorophenoxy compounds ชนิด 2,4-D
3. เครื่องมือวิทยาศาสตร์ ได้แก่ เครื่องชั่งละเอียด เครื่องสกัดชนิด Separatory funnel shaker เครื่องลดปริมาตรชนิด rotary evaporator เครื่อง Gas Chromatograph/Mass spectrometry รุ่น 5973

วิธีการ

1. เตรียมสารละลายของสารมาตรฐาน Stock standard solution ของสารพิษชนิด 2, 4-D ให้มีความเข้มข้นประมาณ 1,000 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร และเตรียม working standard solution ให้ในรูป ester ให้ได้สารละลายมีความเข้มข้นประมาณ 0.2 - 3.50 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร
2. การทดสอบตัวอย่าง
   2.1 การสกัดตัวอย่าง ดัดแปลงวิธีการสกัดจากวิธี W. Keller and S. Otto. BASF, 1992 ประเทศเยอรมนี โดยตวงตัวอย่างน้ำ 800 มิลลิลิตร ใส่ separatory funnel ปรับ pH ให้ได้ <3 ด้วย H_2SO_4 เติมสารสกัด 100 มิลลิลิตร เขย่าด้วย separatory funnel shaker นาน 3 นาที กรองผ่าน anh. Na_2SO_4 เก็บใน round bottom flask สกัดซ้ำด้วยสารสกัดอีก 2 ครั้งๆ ละ 50 มิลลิลิตร เติม 10 M NaOH 10 มิลลิลิตร นำไปให้ความร้อนด้วย water bath อุณหภูมิ 60 องศาเซลเซียส นาน 35 นาที เทตัวอย่างใส่ separatory funnel ล้าง round bottom flask ที่ใส่ตัวอย่างด้วยน้ำกลั่น 50 มิลลิลิตร เติม dichloromethane 25 มิลลิลิตรเขย่าเบา ๆ ทิ้งชั้น dichloromethane ปรับ pH ด้วย 3M H_2SO_4 ให้ได้ <3 เติม dichloromethane 25 มิลลิลิตร เขย่าเบา ๆ ชั้น dichloromethane กรองผ่าน anh. Na_2SO_4 ลงใน round bottom flask สกัดด้วย dichloromethane 25 มิลลิลิตร ซ้ำอีก 2 ครั้ง ล้าง separatory funnel ที่ใส่ตัวอย่างด้วย dichloromethane 10 มิลลิลิตร ลดปริมาตรด้วย rotary evaporator ให้เกือบแห้ง (อุณหภูมิ water bath 30 องศาเซลเซียส) เติม methanol : conc. H_2SO_4 (9:1) 5 มิลลิลิตร เขย่าเบา ๆ ตั้งทิ้งไว้ 10 นาที เทตัวอย่างลงใน separatory funnel(อันใหม่) ล้าง round bottom flask ด้วยน้ำกลั่น 15 มิลลิลิตร เติม hexane (PR) 5 มิลลิลิตร เขย่าและตั้งทิ้งไว้ประมาณ 3 นาที ทิ้งชั้นล่าง(ชั้นน้ำ) เติม 0.5 M $NaHCO_3$ 15 มิลลิลิตร เขย่าตั้งทิ้งไว้ให้แยกชั้น ทิ้งชั้นล่าง (ชั้น $NaHCO_3$) ชั้นบนกรองผ่าน anh. Na_2SO_4 ลงใน graduated tube นำไปตรวจวิเคราะห์ด้วยเครื่อง GC/MS
   2.2 เปลี่ยนสารเคมีที่นำมาใช้ในการทดสอบได้แก่ hexane, ethyl acetate, dichloromethane และ สารผสม methanol : diethyl ether (2:8) โดยใช้น้ำกลั่นเป็นตัวอย่าง sample blank
   2.3 ทดสอบความเป็นเส้นตรง (linearity) เตรียมสารละลายในสถานะ ester (2,4-D methyl ester) ที่ 5 ระดับความเข้มข้นคือ 0.2264, 0.7024,1.4048, 2.1072 และ 3.5202 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร
   2.4 เลือกวิธีการสกัดที่เหมาะสมจากการทดสอบในข้อ 2.2 โดยคำนวณผลการทดสอบจากเปอร์เซ็นต์การได้กลับคืนมาของสาร (% recovery) กำหนดเกณฑ์การยอมรับที่ 70-115 เปอร์เซ็นต์ นำวิธีการที่เลือกนี้ไปทดสอบกับน้ำผิวดิน ได้แก่ น้ำเขื่อน และน้ำจากแหล่งแม่น้ำ
3. การตรวจวิเคราะห์ด้วยเครื่อง Gas Chromatograph/Mass spectrometry (GC/MS)

   เครื่อง GC/MS ชนิด Single Quadrupole ยี่ห้อ Agilent รุ่น 5973 ควบคุมสภาวะการทำงานของเครื่องดังนี้

Mode	: pulsed splitless, SIM mode M/e 175, 177, 199, 207, 234
GC column	: column DB 5 - MS capillary, 30 m x 0.25 mm id, 0.25 μm film thickness
Injector	: 230 °C
MS Transfer Line	: 280 °C, MS Quad temperature: 150 °C, MS Source : 230 °C

Oven program : 65 °C (1 นาที) $\xrightarrow{15\ ^\circ C/นาที}$ 180 °C (1 นาที) $\xrightarrow{7\ ^\circ C/นาที}$ 220 °C (1 นาที) $\xrightarrow{7^\circ C/นาที}$ 280 °C (1 นาที)

Carrier gas : helium flow 1.4 มิลลิลิตร/นาที

Injection volume : 1 ไมโครลิตร

ระยะเวลา (เริ่มต้น – สิ้นสุด) ตุลาคม 2557 – กันยายน 2558

สถานที่ดำเนินงาน กลุ่มวิจัยวัตถุมีพิษการเกษตร กองวิจัยพัฒนาปัจจัยการผลิตทางการเกษตร

8. ผลการทดลองและวิจารณ์

การพัฒนาวิธีตรวจวิเคราะห์เพื่อให้ได้วิธีที่เหมาะสมในการสกัดและวิเคราะห์สารกำจัดวัชพืชชนิด 2,4-D . ในน้ำ โดยใช้ Gas Chromatography/Mass Spectrometry (GC/MS) จะใช้น้ำกลั่นเป็นตัวแทนของตัวอย่างทดสอบและสกัดด้วยสารเคมี รวมทั้งสารเคมีผสมชนิดต่าง ๆ หลังจากสกัดด้วยสารเคมีผสมในแต่ละชนิด จะนำสารละลายที่ได้เปลี่ยนให้อยู่ในรูป ester โดยใช้ methylation mixture (methanol:conc H_2SO_4 (9:1)) ทำการทดสอบที่ระดับความเข้มข้นในช่วงที่เป็นเส้นตรง วิธีการทดสอบนี้ดัดแปลงจากวิธีของ W. Keller and S. Otto ,BASF, 1992 ประเทศเยอรมนี ที่ใช้ในตรวจวิเคราะห์สารกำจัดวัชพืชชนิด2,4-D และ Dichloroprop (2,4-DP) ในธัญพืชและนำไปวิเคราะห์ด้วยเครื่อง Gas chromatograph ชนิดตัวตรวจวัด Electron Capture Detector (GC/ECD) โดยได้ทดลองเปลี่ยนมาใช้กับตัวอย่างน้ำและตรวจวิเคราะห์ด้วย GC/MS พบว่าสกัดด้วย methanol : diethyl ether (2:8) recovery มีค่าเฉลี่ย 75, 98 และ 105 เปอร์เซ็นต์ ที่ระดับความเข้มข้น 0.5, 1.5 และ 3.5 ไมโครกรัมต่อลิตร ตามลำดับ สำหรับการสกัดด้วย hexane ซึ่งเป็นสารเคมีที่มีความเป็น non-polar ทำให้ผลการทดสอบการสกัดสารพิษชนิด 2,4-D ในตัวอย่างน้ำไม่ผ่านเกณฑ์การยอมรับ โดยมีค่าเฉลี่ย recovery 40, 47 และ 44 เปอร์เซ็นต์ ตามลำดับ การสกัดด้วย ethyl acetate ที่มีคุณสมบัติค่อนไปทาง non-polar ถึงแม้ ethyl acetate จะสามารถละลายน้ำได้เล็กน้อย แต่เมื่อนำมาใช้ในการสกัดสารพิษ 2,4-D ที่มีความเป็น polar สูง ประสิทธิภาพของสารสกัดจึงไม่เพียงพอในทำลายการยึดเกาะระหว่างสารพิษกับโมเลกุลของน้ำได้ ทำให้ผลการทดสอบไม่ผ่านเกณฑ์การยอมรับเช่นเดียวกับ hexane มีค่า recovery 36, 32, 43 เปอร์เซ็นต์ ส่วนการสกัดด้วย dichloromethane ซึ่งเป็นสารที่มีคุณสมบัติในการทำละลายค่อนข้างดี สามารถละลายน้ำได้ 13 กรัมต่อลิตร มีความแรงการละลายค่อนข้างสูง ค่อนไปทาง non-polar แต่ยังไม่เพียงพอสำหรับการทำลายพันธะการยึดเกาะเช่นกัน ผลการทดสอบมีค่า recovery 65, 60, 69 เปอร์เซ็นต์ (ตารางที่ 1. และกราฟที่ 1.)

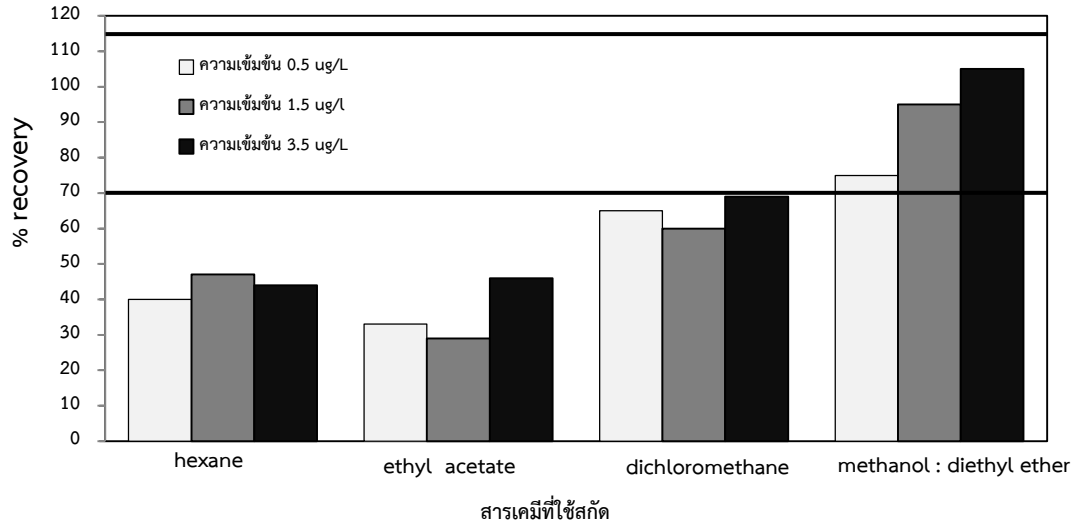
จากคุณสมบัติของสารกำจัดวัชพืช 2,4-D ที่เป็นกรดแก่ (strong acid) ละลายในน้ำได้ดีที่ 206 มิลลิกรัมต่อลิตร และละลายได้ดีที่สุดใน methanol 1250 กรัมต่อลิตร (MacBean C., 2012) ทำให้การสกัดด้วยทำละลายที่เป็นสารเคมีผสมระหว่าง methanol และ diethyl ether ที่มีคุณสมบัติความมีขั้วสูง (Polar) จึงให้ผลการทดสอบอยู่ในเกณฑ์การยอมรับ อย่างไรก็ตามการสกัดด้วยสารเคมีผสมนี้มีข้อจำกัดในเรื่องการเตรียมสารจะต้องใช้ในทันที เนื่องจาก diethyl ether เป็นสารที่มีความดันไอต่ำ เมื่อผสมแล้วอาจทำให้อัตราส่วนผสมเกิด

การเปลี่ยนแปลงตลอดเวลา ผลการทดสอบอาจเกิดความผิดพลาดได้ ซึ่งรวมไปถึงสารเคมีผสม methylation mixture ที่ใช้ในขั้นตอนการสกัดด้วยเช่นกัน

เลือกวิธีการสกัดด้วยสารเคมีผสม methanol : diethyl ether (2:8) ที่ให้ประสิทธิภาพผลการทดสอบที่อยู่ในเกณฑ์กำหนด ทดสอบกับน้ำผิวดิน ได้แก่ น้ำเขื่อน และน้ำจากแหล่งแม่น้ำ พบว่าเปอร์เซ็นต์ recovery ของการทดสอบในตัวอย่างน้ำเขื่อน ซึ่งเป็นตัวแทนของแหล่งน้ำตามธรรมที่มีความสะอาดอยู่ในระดับ 1 ที่ไม่มีสารปนเปื้อนและน้ำจากแหล่งแม่น้ำ ที่มีการปนเปื้อนจากสารต่าง ๆ ตามธรรมชาติ เป็นตัวแทนของน้ำจากแหล่งเกษตรกรรม จากการทดลองชนิดละ 7 ซ้ำ ให้ค่าเฉลี่ยเปอร์เซ็นต์ recovery 92 และ 88 เปอร์เซ็นต์ ตามลำดับ ซึ่งอยู่ในเกณฑ์กำหนดระหว่าง 70–115 เปอร์เซ็นต์ (ตารางที่ 2) นั่นคือวิธีการทดสอบนี้สามารถนำไปใช้ในการวิเคราะห์สารกำจัดวัชพืชชนิด 2,4-D ในตัวอย่างน้ำประเภทอื่น ๆ ได้

ตารางที่ 1. % Recovery จากการทดสอบสกัดด้วยสารเคมี และสารเคมีผสมชนิดต่าง ๆ

สารเคมี	ความเข้มข้น (μg/L)	recovery (%)								
		ซ้ำ 1	ซ้ำ 2	ซ้ำ 3	ซ้ำ 4	ซ้ำ 5	ซ้ำ 6	ซ้ำ 7	ค่าเฉลี่ย	% RSD
hexane	0.50	36	43	40	44	40	41	39	40	2.64
	1.50	47	53	39	48	48	47	45	47	4.19
	3.50	49	37	41	49	46	45	42	44	4.41
ethyl acetate	0.50	36	24	37	29	33	40	34	33	5.35
	1.50	17	27	29	31	29	35	33	29	5.82
	3.50	43	56	49	40	46	45	42	46	5.34
dichloromethane	0.50	67	64	61	68	67	66	63	65	2.54
	1.50	53	60	57	63	64	60	64	60	4.06
	3.50	67	76	65	69	69	68	67	69	3.50
methanol :diethyl ether (2:8)	0.50	77	72	73	78	79	76	69	75	3.63
	1.50	86	97	94	93	100	102	96	95	5.22
	3.50	113	97	105	106	100	107	108	105	5.27



กราฟที่ 1. % recovery ของการสกัดด้วยสารเคมีชนิดต่าง ๆ เกณฑ์การยอมรับที่ 70-115 เปอร์เซ็นต์

ตารางที่ 2. % Recovery การทดสอบสกัดด้วย methanol: diethyl ether (2:8) ในตัวอย่างน้ำผิวดิน ได้แก่ น้ำเขื่อน และ น้ำแม่น้ำ

น้ำ	recovery (%)								
	ซ้ำ 1	ซ้ำ 2	ซ้ำ 3	ซ้ำ 4	ซ้ำ 5	ซ้ำ 6	ซ้ำ 7	เฉลี่ย	%RSD
น้ำเขื่อน	90	88	73	99	103	94	97	92	9.83
น้ำผิวดิน	86	94	85	87	97	87	77	88	6.48

9. สรุปผลการทดลองและข้อเสนอแนะ

การพัฒนาวิธีการตรวจวิเคราะห์สารกำจัดวัชพืช 2,4-D ในน้ำ โดยใช้เครื่อง Gas chromatography/Mass spectrometry (GC/MS) พบว่าสกัดด้วยสารเคมีผสมชนิด methanol: diethyl ether (2:8) ให้ผลการทดสอบอยู่ในเกณฑ์กำหนดและยอมรับได้ รวมทั้งสามารถนำไปตรวจวิเคราะห์สารพิษชนิดนี้ในตัวอย่างน้ำชนิดอื่น ๆ ได้ อย่างไรก็ตาม การตรวจวิเคราะห์นี้จะมีข้อจำกัดในเรื่องของปริมาณความเข้มข้นที่สามารถตรวจวัดได้ในตัวอย่างจะต้องมีความเข้มข้นสูง ซึ่งหากต้องการให้สามารถตรวจวัดได้ในระดับความเข้มข้นต่ำ ๆ จะต้องใช้เครื่องมือขั้นสูง เช่น GC/MS/MS หรือ LC/MS/MS

10. การนำผลงานวิจัยไปใช้ประโยชน์

ใช้ตรวจวิเคราะห์สารกำจัดวัชพืชชนิด 2,4-D ในน้ำ ในห้องปฏิบัติการกลุ่มวิจัยวัตถุมีพิษการเกษตร เผยแพร่ให้กับนักศึกษาและภาคเอกชน

11. เอกสารอ้างอิง

AMADEO, R., and FERNANDEZ, A. 2004. Chromatographic–Mass spectrometric Food Analysis for Trace Determination of Pesticide residues. Comprehensive Analytical Chemistry volume XLIII. 287 p.

Environmental Protection Agency (EPA). 1996. Method 8151A-1 Chlorinated herbicides by GC using methylation or pentafluorobenzylation derivatization. 28 p.

Floyd, M. Ashton, and Alden, S. Crafts. 1973. Phenoxys. Mode of Action of Herbicides. United State of America. 504 p.

Keller, W., and Otto, S. 1992. 2,4-D, Dichloroprop (2,4-DP). Manual of Pesticide Residue Analysis Volume II BASF, Agricultural Research Station. Federal Republic of Germany. 481 p.

MacBean, C. 2012.The Pesticide Manual Sixteenth Edition. British Cr op Production Council.UK. 1439 p.

William J. Connick, Jr., Jacqueline M. Simoneaux. 1982. Determination of 2,4- dichlorophenoxy) acetic acid and of dichlobenil in water by high-performance liquid chromatography. *J. Agric. Food Chem.*, 1982, 30 (2), pp 258–260.

ภาคผนวก

ขั้นตอนการสกัด

น้ำ 800 ml (ปรับ pH < 3 ด้วย H_2SO_4)

↓ เติม methanol:diethyl ether (2:8) 100 ml

เขย่าด้วย separatory funnel shaker 3 นาที

↓

กรองผ่าน anh. Na_2SO_4 เก็บใน round bottom flask

↓ เติม 10M NaOH 10 ml

ให้ความร้อนใน water bath อุณหภูมิ 60 °C นาน 35 นาที

↓

เทตัวอย่างใส่ separatory funnel ล้างขวดใส่ตัวอย่างด้วยน้ำกลั่น 50 ml

↓

เติม dichloromethane 25 ml เขย่า เบา ๆ ทิ้งชั้น dichloromethane

↓

ปรับ pH ของสารสกัด < 3 ด้วย H_2SO_4

↓ เติม dichloromethane 25 ml เขย่า เบา ๆ

กรองผ่าน anh. Na_2SO_4 เก็บใน round bottom flask

↓

สกัดด้วย dichloromethane 25 ml อีก 2 ครั้ง เก็บสารสกัดรวมกัน

↓

ลดปริมาตรเกือบแห้งด้วย rotary evaporator อุณหภูมิ water bath 30 °C

↓

methylation

เติม methanol: conc. H_2SO_4 (9:1) 5 ml เขย่าเบ่า ๆ ตั้งทิ้งไว้ 10 นาที

↓

เทตัวอย่างใส่ separatory funnel ล้างขวดใส่ตัวอย่างด้วยน้ำกลั่น 15 ml

↓

เติม hexane 5 ml เขย่า ตั้งทิ้งไว้ประมาณ 3 นาที ไขชั้นน้ำทิ้ง

↓

เติม สารละลาย 0.5M $NaHCO_3$ 5 ml เขย่าเบ่า ๆ ตั้งทิ้งไว้ 10 นาที

↓

กรองผ่าน anh. Na_2SO_4 เก็บใน graduated tube

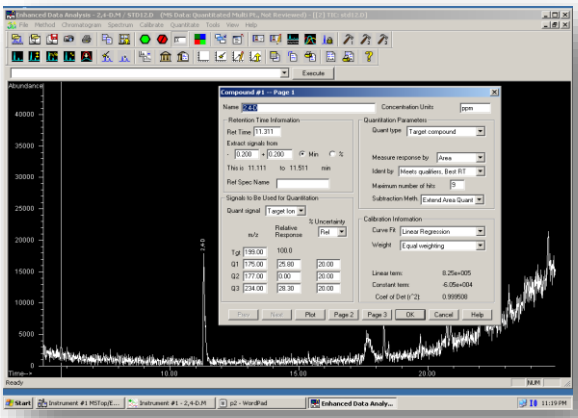
↓

GC/MS

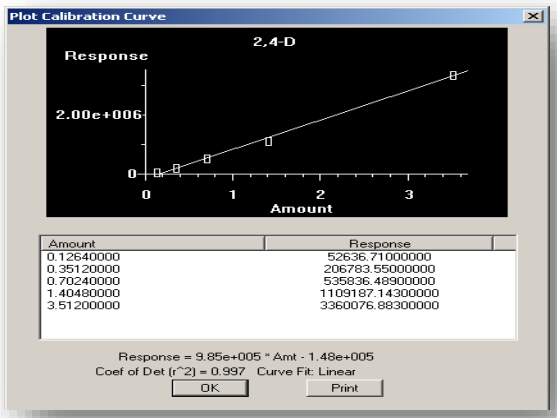
(Sim mode, m/Z 175, 177, 199, 207, 234)

ภาพที่ 1. ขั้นตอนการสกัดตัวอย่างน้ำ

ภาพที่ 2. เครื่อง Gas Chromatograph/Mass spectrometry (GC/MS)



ภาพที่ 3. Chromatogram และช่วงมวลโมเลกุลสำหรับการตรวจวัด



ภาพที่ 4. Calibration curve ของการทดสอบ