รายงานผลงานเรื่องเต็มการทดลองที่สิ้นสุด ปี พ.ศ 2560

แผนงานวิจัย : วิจัยและพัฒนาระบบการตรวจวิเคราะห์ปัจจัยการผลิตทางการเกษตรตามาตรฐานสากล

โครงการวิจัย : วิจัยและพัฒนาระบบการตรวจวิเคราะห์สารพิษตกค้างของสารป้องกันกำจัดศัตรูพืช

กิจกรรม : พัฒนาเทคนิคการวิเคราะห์สารพิษตกค้างเพื่อเพิ่มความสามารถของห้องปฏิบัติการ

ชื่อการทดลอง (ภาษาไทย) : การพัฒนาและตรวจสอบความใช้ได้ของวิธีการตรวจวิเคราะห์สารพิษตกค้างกลุ่มคาร์บาเมต (Carbamate) อย่างรวดเร็วในพริกโดยใช้วิธีวัดสี

ชื่อการทดลอง (ภาษาอังกฤษ) : Development and validation of rapid carbamate residue analysis in chili using colorimetric method.

คณะผู้ดำเนินงาน

หัวหน้าโครงการ : นางสาวพนิดา ไชยยันต์บูรณ์ ตำแหน่ง นักวิทยาศาสตร์ชำนาญการพิเศษ สังกัด สำนักวิจัยพัฒนาปัจจัยการผลิตทางการเกษตร

หัวหน้าการทดลอง : นางสุภาพร บ้งพรม ตำแหน่ง นักวิทยาศาสตร์ชำนาญการพิเศษ สังกัด สำนักวิจัยและพัฒนาการเกษตรเขตที่ 4

ผู้ร่วมงาน : นางนาตยา จันทร์ส่อง ตำแหน่ง นักวิทยาศาสตร์ชำนาญการพิเศษ

: นายอิทธิพล บ้งพรม ตำแหน่ง นักวิทยาศาสตร์ชำนาญการพิเศษ สังกัด สำนักวิจัยและพัฒนาการเกษตรเขตที่ 4

บทคัดย่อ/เรื่องย่อ

การพัฒนาวิธีการวิเคราะห์สารกลุ่มคาร์บาเมตในตัวอย่างพริก โดยศึกษาสภาวะที่เหมาะสมสำหรับการวิเคราะห์สารกลุ่มกลุ่มคาร์บาเมตด้วยวิธีวัดสี โดยอาศัยการทำปฏิกิริยาระหว่างสารกลุ่มคาร์บาเมตกับสารพาราไนโตรอะนิลีน (p-nitroaniline) ในสภาวะเบสที่เหมาะสม สำหรับค่าการดูดกลืนแสง (absorbance) ที่ λmax ของสารกลุ่มคาร์บาเมต จำนวน 4 ชนิดสาร (Carbofuran, Isoprocarb, Propoxur และ Fenobucarb) ด้วยเทคนิคการวัดสี พบว่า ค่า λmax อยู่ในช่วง 507-512 nm ปริมาตรที่เหมาะสมของสาร 2.0 M NaOH ในการปฏิกิริยา คือ 2.0 มิลลิลิตร pH เท่ากับ 12.37 สาร 0.05% PNA ปริมาตร 1.0 มิลลิลิตร pH เท่ากับ 12.42 สาร 0.2% $NaNO_2$ ปริมาตร 0.5 มิลลิลิตร pH เท่ากับ 12.42 และการตรวจสอบความใช้ได้ของวิธีทดสอบ พบว่าค่าความสัมพันธ์เชิงเส้นตรง (Linearity) อยู่ในช่วง 0.50 – 8.00 มิลลิกรัม/ลิตร ค่า R^2 เท่ากับ 0.999 (เกณฑ์มาตรฐาน > 0.995) การทดสอบหาค่า Limit of Determination (LOD) และ Limit of quantitation (LOQ) พบว่าค่า LOD = 0.01 mg/L และค่า LOQ = 0.5 mg/L การทดสอบความแม่น (Accuracy) และความเที่ยง (Precision) พบว่าผลการทดสอบผ่าน เกณฑ์การยอมรับ ตามเกณฑ์กำหนดโดยทั่วไปของ Precision, % RSD ของ AOAC Peer-Verified Methods. Nov. 1993 ตาม เกณฑ์ยอมรับค่า HORRAT (Horwitz' s ratio)

ข้อมูลผลการทดสอบ ของการพัฒนาเทคนิควิธีการตรวจวิเคราะห์สารพิษตกค้างกลุ่มคาร์บาเมตดังกล่าว สามารถเป็นทางเลือกสำหรับการวิเคราะห์หาสารกลุ่มคาร์บาเมตด้วยวิธีทดสอบที่ต้นทุนต่ำและรวดเร็ว แต่เหมาะสำหรับการวิเคราะห์ตัวอย่างที่มีการปนเปื้อนในปริมาณสูงจึงจะสมารถตรวจวิเคราะห์ได้

รหัสการทดลอง 03-06-59-03-01-00-08-59

Abstract / Synopsis

Development of carbamate compounds in chili samples. The optimum conditions for analysis of Carbamate group were determined by colorimetric method. The reaction between the carbamate and p-nitroaniline in suitable base conditions. The absorbance at λ_{max} of four carbamate groups (Carbofuran, Isoprocarb, Propoxur and Fenobucarb) was measured by colorimetric technique. The λ_{max} values ranged from 507-512 nm. The optimum volume of 2.0 M NaOH in the reaction was 2.0 ml. The pH was 12.37. The 0.05% PNA content was 1.0 ml. The pH was 12.42. The 0.2% NaNO2 was 0.5 ml. The pH was 12.42 and testing of test methods. Linearity is in the range of 0.50 - 8.00 mg/L, R^2 is 0.999 (standard criterion > 0.995). Limit of Determination (LOD) and Limit of quantitation (LOQ). LOD = 0.01 mg/L and LOQ = 0.5 mg/L. Precision and Accuracy found that the test results passed. Acceptance criteria According to the criteria set by the General Precision,% RSD of AOAC Peer-Verified Methods. Nov. 1993, according to the criteria established HORRAT (Horwitz 's ratio).

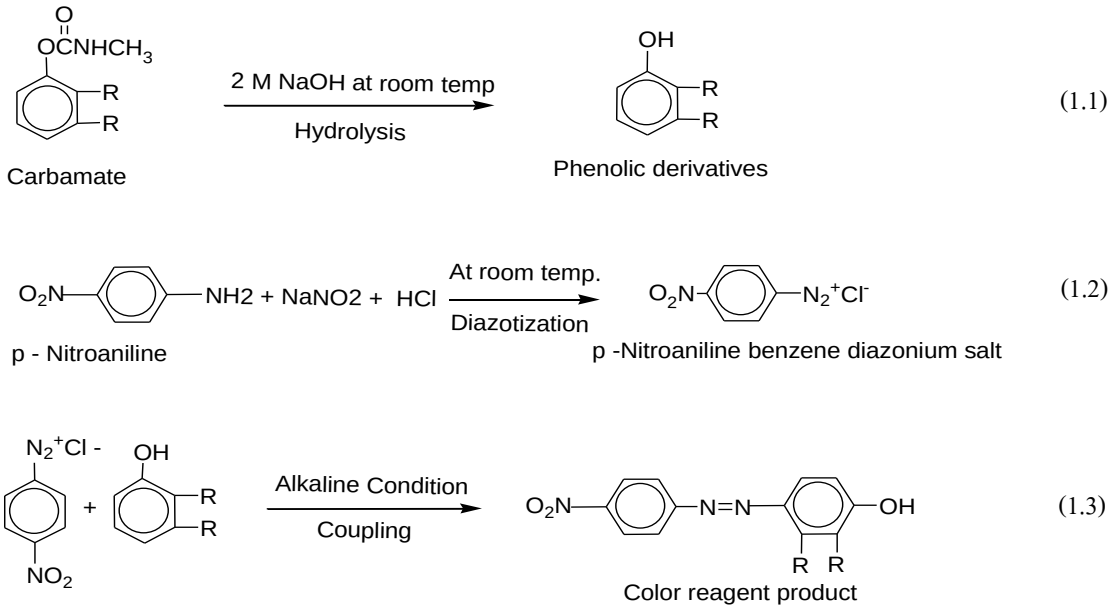
Test results The development of techniques for the analysis of residues of Carbamate residues. It can be used as an alternative for carbamate analysis using low cost and fast test methods. It is suitable for analyzing samples with high contamination and can be analyzed.

คำนำ

สารกลุ่มคาร์บาเมตเป็นกลุ่มสารกำจัดแมลงที่เกษตรกรนิยมใช้ในปัจจุบัน งานวิจัยนี้จึงได้คิดค้นพัฒนาเทคนิคที่ใช้ในการวิเคราะห์ปริมาณสารกลุ่มคาร์บาเมต ซึ่งเป็นสารกำจัดแมลงชนิดหนึ่งที่นิยมใช้ ส่วนเทคนิคที่นิยมใช้ในการตรวจวิเคราะห์หาสารกลุ่มคาร์บาเมต คือเทคนิคทางโครมาโทกราฟี ซึ่งเป็นวิธีที่มีความถูกต้องแม่นยำสูง แต่มีข้อด้อยคือใช้เวลานานในการวิเคราะห์ ค่าใช้จ่ายในการวิเคราะห์สูง และต้องใช้บุคลากรที่มีความเชี่ยวชาญในการวิเคราะห์ ดังนั้นการพัฒนาเทคนิคและวิธีการตรวจวิเคราะห์สารกลุ่มคาร์บาเมต ให้มีความถูกต้องแม่นยำเหมาะสม ทันต่อความต้องการ และเสียค่าใช้จ่ายน้อย จึงเป็นสิ่งที่สำคัญและจำเป็นอย่างยิ่ง ในงานวิจัยนี้จึงสนใจที่จะวิจัยและพัฒนาวิธีการทดสอบสารพิษตกค้างกลุ่มคาร์บาเมท เพื่อใช้ในการวิเคราะห์ในตัวอย่างผักและผลไม้

การทบทวนวรรณกรรม/ สารสนเทศ (information) ที่เกี่ยวข้อง

หลักการการวิเคราะห์ปริมาณคาร์บาเมตด้วยวิธีวัดสี อาศัยการทำปฏิกิริยาระหว่างสารคาร์บาเมตกับสารละลายพาราไนโตรอะนิลีน ในสภาวะเบส ซึ่งมีขั้นตอนของการวิเคราะห์ ดังนี้ ทำการไฮโดรไลซิส (hydrolysis) คาร์บาเมตในสภาวะเบสและที่อุณหภูมิห้อง เกิดผลิตภัณฑ์เป็นอนุพันธ์ของฟีนอล ดังสมการ 1.1 จากนั้นทำไดเอโซไทเซชัน (Diazotization) ที่อุณหภูมิห้องของ p-nitroaniline กับสารโซเดียมไนไตรท์ ($NaNO_2$) และกรดไฮโดรคลอริก (HCl) ที่อุณหภูมิห้อง ได้ผลิตภัณฑ์คือ p-Nitrobenzene diazonium salt ดังสมการ 1.2 ขั้นตอนต่อไปทำปฏิกิริยาคู่ควบ (Coupling) ระหว่างผลิตภัณฑ์ของสมการ 1.1 และ 1.2 เกิดผลิตภัณฑ์เป็นสารประกอบเชิงซ้อนที่มีสีดูดกลืนแสงสูงสุดที่ 525 นาโนเมตร ดังสมการ 1.3 ค่าการดูดกลืนแสงของสารสัมพันธ์กับปริมาณคาร์บาเมต นำหลักการนี้ไปวิเคราะห์หาปริมาณคาร์บาเมตในตัวอย่างได้



ภาพที่ 1 ปฏิกิริยาการเกิดสีของสารกลุ่มคาร์บาเมต (N. Chu and S. Fan, 2009)

เทคนิคการสกัดสารกลุ่มคาร์บาเมตของงานวิจัยที่ผ่านมาประกอบด้วยเทคนิค Liquid microextraction (LE) (N. Chu and S. Fan, 2009) Liquid-phase microextraction (LPME) (J. Zhang and H. K. Lee, 2006) Solid-phase microextraction (SPME) (B. Cavaliere et al., 2012 and Y. Gou, et al., 2000) Liquid–liquid extraction (LLE) (M. Liu et al., 2005 and J. Vichapong et al., 2011) ซึ่งเทคนิคที่ใช้ในการสกัดสารกลุ่มคาร์บาเมตค่อนข้างหลากหลาย การเลือกเทคนิคการสกัดให้เหมาะสมกับการวิเคราะห์สารกลุ่มคาร์บาเมตจึงเป็นสิ่งสำคัญ

สำหรับเทคนิคที่นิยมใช้ในการวิเคราะห์สารกลุ่มคาร์บาเมตในงานวิจัยที่ผ่านมาประกอบด้วยเทคนิค Sequential injection analysis (SIA) (N. Chu and S. Fan, 2009) เทคนิค High performance liquid chromatography (HPLC) (J. Vichapong et al., 2011) และเทคนิค UV–vis spectrophotometer (Y. Ni et al., 2009 and Z. M. Liu et al., 2009) ซึ่งมีมากมายหลากหลายเทคนิค พิจารณาตามความเหมาะสมในการวิเคราะห์สารกลุ่มคาร์บาเมตแต่ละชนิด

ในงานวิจัยที่ผ่านมาได้มีการศึกษาชนิดของสารกลุ่มคาร์บาเมตหลายชนิดซึ่งประกอบด้วย Carbofuran Propoxur Metolcarb Fenobucarb Methiocarb-sulfone Aldicarb Carbaryl Ethiofencarb Isoprocarb Baycarb Methiocarb Promecarb Propham Pirimicarb Methomyl Soprocarb Diethofencarb และ Metholcarb การเลือกศึกษาสารกลุ่มคาร์บาเมตชนิดใดนั้นขึ้นอยู่กับปัจจัยหลายประการ เช่น พื้นที่เพาะปลูก ชนิดตัวอย่าง การเกิดโรคและการระบาดของแมลง ชนิดของตัวอย่างที่นิยมศึกษาหาปริมาณการตกค้างของสาร

กลุ่มคาร์บาเมตในงานวิจัยที่ผ่านมาประกอบด้วย ตัวอย่างผัก ตัวอย่างผลไม้ ตัวอย่างน้ำจากแหล่งต่างๆ ตัวอย่างเนื้อเยื่อหมู และตัวอย่างดิน เป็นต้น

สารเคมีที่นิยมใช้ในการสกัดสารกลุ่มคาร์บาเมตในงานวิจัยที่ผ่านมาประกอบด้วยสาร EDTA, CH_2Cl_2, Hexane : Acetonitrile (v/v) (N. Chu and S. Fan, 2009) Methanol, Toluene, Hexane (J. Zhang and H. K. Lee, 2006) Acetonitrile, Methanol, Ethyl acetate (Y. Ni et al., 2009) Dichloromethane, Hexane : Acetonitrile (v/v) (Y. Ni et al., 2009) Acetonitrile, Trichloromethane (Z. M. Liu et al., 2009)

วัตถุประสงค์

1. เพื่อการพัฒนาเทคนิควิธีการวิเคราะห์สารพิษตกค้างในผักผลไม้และผลิตภัณฑ์ทางการเกษตรของสำนักวิจัยพัฒนาการเกษตรเขตที่ 4

2. เพื่อพัฒนาวิธีการวิเคราะห์สารพิษตกค้างกลุ่มคาร์บาเมตให้ได้วิธีการทดสอบที่เร็วความรวดเร็ว และมีความถูกต้องแม่นยำ และลดต้นทุนค่าใช้จ่ายในการวิเคราะห์สารกลุ่มคาร์บาเมต

วิธีดำเนินการ

อุปกรณ์และวิธีการ

1. เครื่องมือที่ใช้ในการทดลอง

เครื่องมือที่ใช้ในการทดลองประกอบด้วย

1.1 ยูวี-วิสิเบิลสเปกโทรโฟโตมิเตอร์ (UV-visible spectrophotometer)

1.2 เครื่องลดปริมาตร (Evaporator)

1.3 เครื่องชั่งทศนิยม 3 ตำแหน่ง (Balance)

1.4 เครื่องผสมสารความเร็วสูง (Homoginizer)

1.5 เครื่องวัดความเป็นกรด เบส (pH meter)

2. สารเคมี

สารเคมีที่ใช้ในการทดลองประกอบด้วย

2.1 กรดไฮโดรคลอริก (Hydrochloric acid)

2.2 สารมาตรฐานกลุ่มคาร์บาเมต (Standards carbamate)

2.3 อะซิโตไนไตรล์ (Acetonitrile)

2.4 เมทานอล (Methanol)

2.5 น้ำกลั่น (Water)

2.6 โซเดียมไฮดรอกไซด์ (Sodium hydroxide)

2.7 พารา-ไนโตรอะนิลีน (p-nitroaniline)

2.8 Supelclean ENVI-Carb (particle size, 120-400 mesh)

2.9 BONDESIL-PSA

3 วิธีการทดลอง

3.1 การเตรียมสารเคมี

3.1.1 สารละลายมาตรฐานกลุ่มคาร์บาเมตเข้มข้น 1000 มิลลิกรัมต่อลิตร

ชั่งสารมาตรฐานกลุ่มคาร์บาเมต 0.10 กรัม ละลายด้วยเมทานอล และปรับปริมาตรให้ได้ปริมาตรรวม 100 มิลลิลิตร เก็บในขวดแก้วที่มีฝาปิดมิดชิด ติดฉลากระบุชื่อ วันเดือน ปีที่เตรียม

3.1.2 สารละลายพาราไนโตรอะนิลีน (PNA) เข้มข้น 0.05% (ร้อยละโดยมวลต่อปริมาตร)

ชั่งสาร PNA 0.05 กรัม ละลายด้วยกรดไฮโดรคลอริกเข้มข้นปริมาตร 20 มิลลิลิตร ปรับปริมาตรด้วยน้ำกลั่นให้ได้ปริมาตรรวม 100 มิลลิลิตร

3.1.3 สารละลายโซเดียมไนไตรท์ ($NaNO_2$) เข้มข้น 0.20% (ร้อยละโดยมวลต่อปริมาตร)

ชั่งสาร $NaNO_2$ 0.20 กรัม ละลายด้วยน้ำกลั่น ปรับปริมาตรด้วยน้ำกลั่นให้ได้ปริมาตรรวม 100 มิลลิลิตร เท่ากับ 0.028 โมล

3.1.4 สารละลายโซเดียมไฮดรอกไซด์ (NaOH) เข้มข้น 2.0โมลาร์

ชั่ง NaOH 8.00 กรัม ละลายด้วยน้ำกลั่น และปรับปริมาตรด้วยน้ำกลั่นให้ปริมาตรรวม 100 มิลลิลิตร

3.1.5 สารเคมีผสม

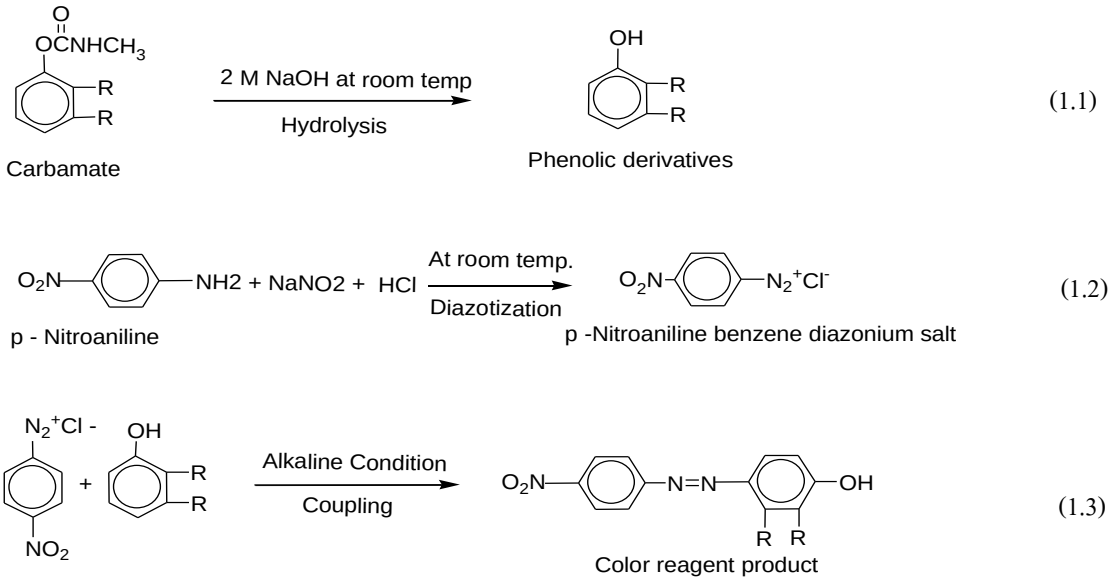
นำสารละลาย 0.05% (ร้อยละโดยมวลต่อปริมาตร) PNA จากการเตรียมข้อ 3.1.2 ปริมาตร 1.00 มิลลิลิตร และ 0.20% (ร้อยละโดยมวลต่อปริมาตร) $NaNO_2$ จากการเตรียมข้อ 3.1.3 ปริมาตร 0.50 มิลลิลิตร ผสมให้เข้ากัน (ควรเตรียมใหม่ทุกครั้งที่ทำการทดลอง)

ระยะเวลาดำเนินการ : เริ่มต้น กันยายน 2558 สิ้นสุด ตุลาคม 2560 รวม 2 ปี

สถานที่ดำเนินการ : ห้องปฏิบัติการกลุ่มพัฒนาการตรวจสอบพืชและปัจจัยการผลิต สำนักวิจัยและพัฒนาการเกษตรเขตที่ 4 จ.อุบลราชธานี

ผลการทดลองและวิจารณ์

ผลการดำเนินงานการตรวจสอบความใช้ได้ของวิธีการวิเคราะห์สารพิษตกค้างกลุ่มคาร์บาเมตด้วยเทคนิคการวัดสี โดยศึกษาสภาวะที่เหมาะสมของการวิเคราะห์สารกลุ่มคาร์บาเมตในตัวอย่างพริกด้วยวิธีวัดสี โดยอาศัยการทำปฏิกิริยาระหว่างสารกลุ่มคาร์บาเมตกับสารพาราไนโตรอะนิลีน (p-nitroaniline) ในสภาวะเบสที่เหมาะสม ดังปฏิกิริยาตามภาพที่ 1



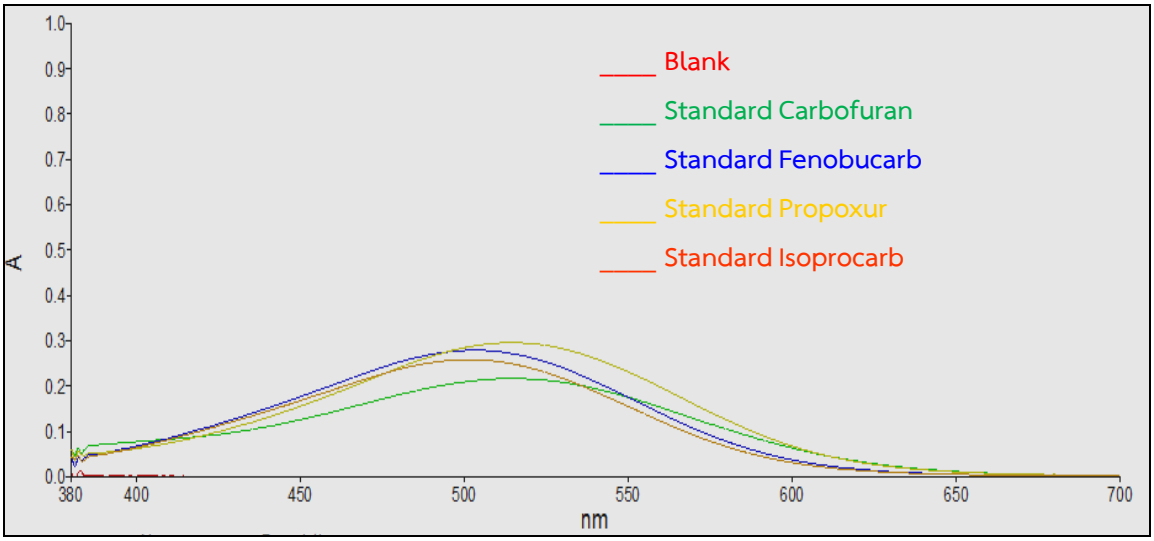
ภาพที่ 1 ปฏิกิริยาการเกิดสีของสารกลุ่มคาร์บาเมต (N. Chu and S. Fan, 2009)

1. ผลการศึกษาหาค่าการดูดกลืนแสง (absorbance) ที่ λmax ของสารกลุ่มคาร์บาเมต จำนวน 4 ชนิดสาร ด้วยเทคนิคการวัดสี

สเปกตราการดูดกลืนแสงของผลิตภัณฑ์ที่ได้จากปฏิกิริยาการเกิดสีของสารคาร์กลุ่มคาร์บาเมต จำนวน 4 ชนิดสาร นำไปวิเคราะห์ด้วยเครื่อง UV-Visible Spectrophotometer ที่ความยาวคลื่น 400 – 800 นาโนเมตร ค่าการดูดกลืนแสง (Absorbance) แสดงดังตารางที่ 1 และสเปกตราการดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่นต่างๆ แสดงดังภาพที่ 2

ตารางที่ 1 แสดงค่าการดูดกลืนแสงของสารกลุ่มคาร์บาเมตจำนวน 4 ชนิดสาร (ทำการทดลอง 3 ซ้ำ)

ชนิดสาร	(Absorbance) ที่ λmax				pH			
จำนวนซ้ำ	1	2	3	เฉลี่ย	1	2	3	เฉลี่ย
Carbofuran (515 nm)	0.213	0.213	0.213	**0.213**	12.38	12.39	12.39	**12.39**
Isoprocarb (507 nm)	0.285	0.285	0.285	**0.285**	12.38	12.39	12.39	**12.39**
Propoxur (512 nm)	0.305	0.305	0.305	**0.305**	12.36	12.37	12.38	**12.37**
Fenobucarb (507 nm)	0.305	0.305	0.305	**0.305**	12.36	12.38	12.39	**12.38**



ภาพที่ 2 สเปกตราการดูดกลืนแสงของสารกลุ่มคาร์บาเมต จำนวน 4 ชนิดสาร

2. ผลการศึกษาหาสภาวะที่เหมาะสมของปริมาณสารเคมีที่ใช้ในการเกิดปฏิกิริยา

2.1 ผลการศึกษาหาปริมาตรที่เหมาะสมของสาร 2.0 M NaOH

ศึกษาหาปริมาตรที่เหมาะสมของสารละลาย 2.0 M NaOH ปริมาตร 0.5, 1.0, 2.0, 3.0 และ 4.0 มิลลิลิตร ที่ทำปฏิกิริยากับ 0.05% PNA ปริมาตร 1.0 มิลลิลิตร และ 0.2%$NaNO_2$ ปริมาตร 0.5 มิลลิลิตร (ทำการทดลอง 3 ซ้ำ) ที่ความเข้มข้นของสารมาตรฐานกลุ่มคาร์บาเมต 4 มิลลิกรัมต่อกิโลกรัม นำไปวิเคราะห์หาค่าการดูดกลืนแสง ด้วยเครื่อง UV-Visible Spectrophotometer ณ ความยาวคลื่น 507 นาโนเมตร ผลการทดลองแสดงดังตารางที่ 2

ตารางที่ 2 ผลของปริมาตร 2.0 M NaOH (mL) ทำปฏิกิริยากับ 0.05% PNA ปริมาตร 1.0 มิลลิลิตร และ 0.2%$NaNO_2$ ปริมาตร 0.5 มิลลิลิตร (ทำการทดลอง 3 ซ้ำ)

ปริมาตร 2M NaOH (mL)	ค่าการดูดกลืนแสง				pH			
จำนวนซ้ำ	1	2	3	เฉลี่ย	1	2	3	เฉลี่ย
0.5	0.149	0.149	0.149	0.149	1.54	1.53	1.52	1.53
1.0	0.228	0.226	0.227	0.227	2.26	2.26	2.27	2.27
2.0	1.008	1.006	1.008	1.007	12.34	12.38	12.39	12.37
3.0	0.641	0.642	0.642	0.642	12.59	12.60	12.61	12.60
4.0	0.495	0.496	0.496	0.496	12.67	12.68	12.71	12.69

2.2 ผลการศึกษาหาปริมาตรที่เหมาะสมของสาร 0.05% PNA

ศึกษาหาปริมาตรที่เหมาะสมของสารละลาย 0.05% PNA ปริมาตร 0.5, 1.0, 2.0, 3.0 และ 4.0 มิลลิลิตร ที่ทำปฏิกิริยากับ 2.0 M NaOH ปริมาตร 2.0 มิลลิลิตร และ 0.2%$NaNO_2$ ปริมาตร 0.5 มิลลิลิตร (ทำการทดลอง 3 ซ้ำ) ที่ความเข้มข้นของสารมาตรฐานกลุ่มคาร์บาเมต 4 มิลลิกรัมต่อกิโลกรัม นำไปวิเคราะห์หาค่าการดูดกลืนแสง ด้วยเครื่อง UV-Visible Spectrophotometer ณ ความยาวคลื่น 507 นาโนเมตร ผลการทดลองแสดงดังตารางที่ 3

ตารางที่ 3 ผลของปริมาตร 0.05% PNA (mL) ทำปฏิกิริยากับ 2.0M NaOH ปริมาตร 2.00 มิลลิลิตร และ 0.2%$NaNO_2$ ปริมาตร 0.5 มิลลิลิตร (ทำการทดลอง 3 ซ้ำ)

ปริมาตร 0.05% PNA (mL)	ค่าการดูดกลืนแสง				pH			
จำนวนซ้ำ	1	2	3	เฉลี่ย	1	2	3	เฉลี่ย
0.5	0.3814	0.3812	0.3809	0.381	12.59	12.60	12.61	12.60
1.0	0.9730	0.9729	0.9730	0.973	12.41	12.42	12.43	12.42
2.0	0.2467	0.2412	0.2398	0.243	1.85	1.85	1.84	1.84
3.0	0.2266	0.2252	0.2239	0.225	1.11	1.10	1.10	1.10

4.0	0.2182	0.2210	0.2214	0.220	0.87	0.86	0.86	0.86

2.3 ผลการศึกษาหาปริมาตรที่เหมาะสมของสาร 0.2% $NaNO_2$

ศึกษาหาปริมาตรที่เหมาะสมของสารละลาย 0.2% $NaNO_2$ ปริมาตร 0.5, 1.0, 2.0, 3.0 และ 4.0 มิลลิลิตร ที่ทำปฏิกิริยากับ 2.0 M NaOH ปริมาตร 2.0 มิลลิลิตร และ 0.05% PNA ปริมาตร 1.0 มิลลิลิตร (ทำการทดลอง 3 ซ้ำ) ที่ความเข้มข้นของสารมาตรฐานกลุ่มคาร์บาเมต 4 มิลลิกรัมต่อกิโลกรัม นำไปวิเคราะห์หาค่าการดูดกลืนแสง ด้วยเครื่อง UV-Visible Spectrophotometer ณ ความยาวคลื่น 507 นาโนเมตร ผลการทดลองแสดงดังตารางที่ 4

ตารางที่ 4 ผลของปริมาตร 0.2%$NaNO_2$ (mL) ทำปฏิกิริยากับ 2.0M NaOH ปริมาตร 2 มิลลิลิตร และ 0.05% PNA ปริมาตร 1.0 มิลลิลิตร (ทำการทดลอง 3 ซ้ำ)

ปริมาตร 0.2%$NaNO_2$ (mL)	**ค่าการดูดกลืนแสง**				**pH**			
จำนวนซ้ำ	**1**	**2**	**3**	**เฉลี่ย**	**1**	**2**	**3**	**เฉลี่ย**
0.5	**1.071**	**1.070**	**1.071**	**1.070**	**12.41**	**12.42**	**12.43**	**12.42**
1.0	0.965	0.965	0.965	0.965	12.43	12.44	12.44	12.44
2.0	0.943	0.942	0.942	0.942	12.44	12.45	12.46	12.45
3.0	0.862	0.862	0.863	0.862	12.47	12.48	12.49	12.48
4.0	0.793	0.794	0.794	0.794	12.47	12.48	12.49	12.48

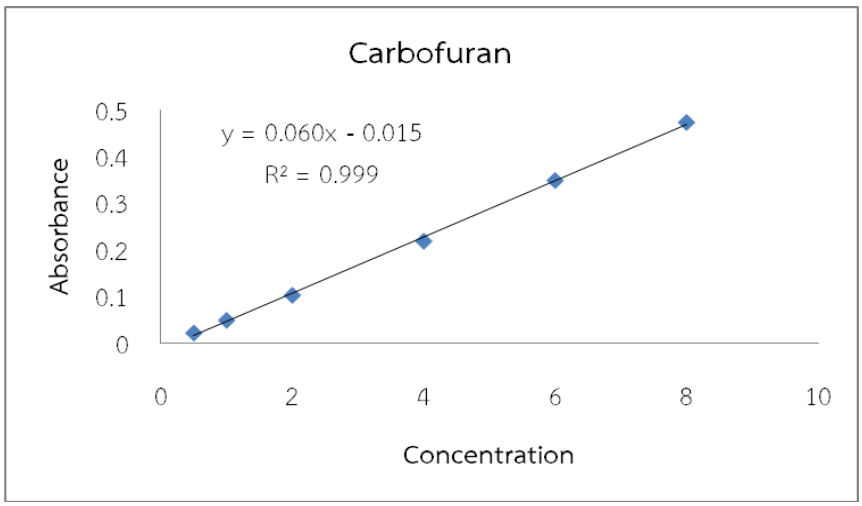
3. ผลการทดสอบความสัมพันธ์เชิงเส้นตรง (Linearity)

โดยปิเปตต์สารละลายมาตรฐานกลุ่มคาร์บาเมตเข้มข้น 100 มิลลิกรัมต่อลิตร ปริมาตร 0.125, 0.250, 0.500, 1.000, 1.500 และ 2.000 มิลลิลิตร ใส่ในขวดวัดปริมาตรขนาด 25 มิลลิลิตร ได้ความเข้มข้นคาร์โบฟูรานเท่ากับ 0.50 1.00 2.00 4.00 6.00 และ 8.00 มิลลิกรัมต่อลิตร ตามลำดับ หลังจากนั้นเติมสารละลาย 2.0M NaOH ปริมาตร 2.0 มิลลิลิตร เขย่าให้ผสมกัน หลังจากนั้นเติมสารละลายผสมระหว่าง 0.05% PNA และ 0.2% $NaNO_2$ อัตราส่วน 1 : 0.5 มิลลิลิตร ปรับปริมาตรด้วยน้ำกลั่นให้ได้ปริมาตรรวม 25 มิลลิลิตร นำไปวัดค่า

การดูดกลืนแสงของสารด้วยเครื่อง UV-Visible Spectrophotometer ใช้ Reagents เป็นตัว collect blank ได้ค่าการดูดกลืนแสงสูงสุดที่ความยาวคลื่น 515 นาโนเมตร ผลการทดลองแสดงดังตารางที่ 5 และภาพที่ 3 - 6

ตารางที่ 5 แสดงค่าการดูดกลืนแสงของสารละลาย Carbofuran ที่ความเข้มข้น 0.50 - 8.00 mg/L

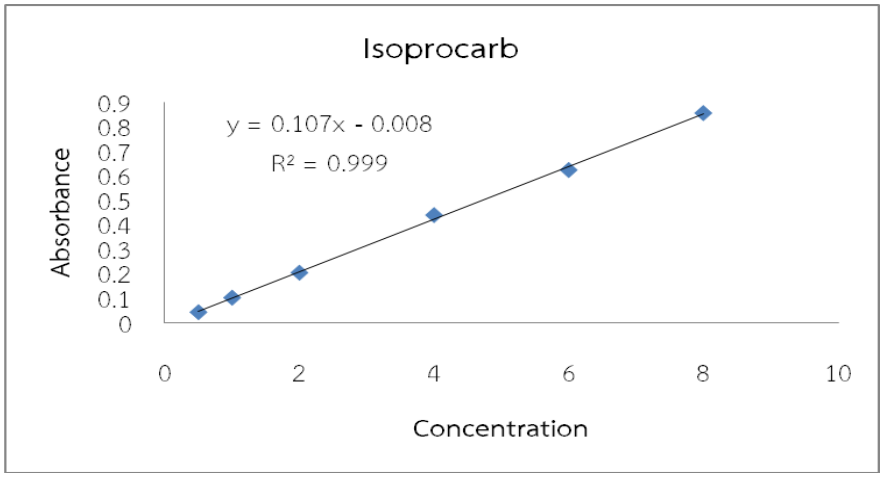
ความเข้มข้นของสาร Carbofuran (mg/L)	**ค่าการดูดกลืนแสง (absorbance) ณ λ = 515 nm**
0.50	0.0203
1.00	0.0475
2.00	0.1014
4.00	0.2179
6.00	0.3486
8.00	0.4736



ภาพที่ 3 แสดงค่าความสัมพันธ์เชิงเส้นของ Carbofuran ที่ระดับความเข้มข้น 0.50 - 8.00 mg/L (R^2 = 0.999)

ตารางที่ 6 แสดงค่าการดูดกลืนแสง ของสารละลาย Isoprocarb ที่ความเข้มข้น 0.50 - 8.00 mg/L

ความเข้มข้นของสาร Isoprocarb (mg/L)	ค่าการดูดกลืนแสง (absorbance) ณ λ = 507 nm
0.50	0.0419
1.00	0.1012
2.00	0.2033
4.00	0.4389
6.00	0.6233
8.00	0.8560

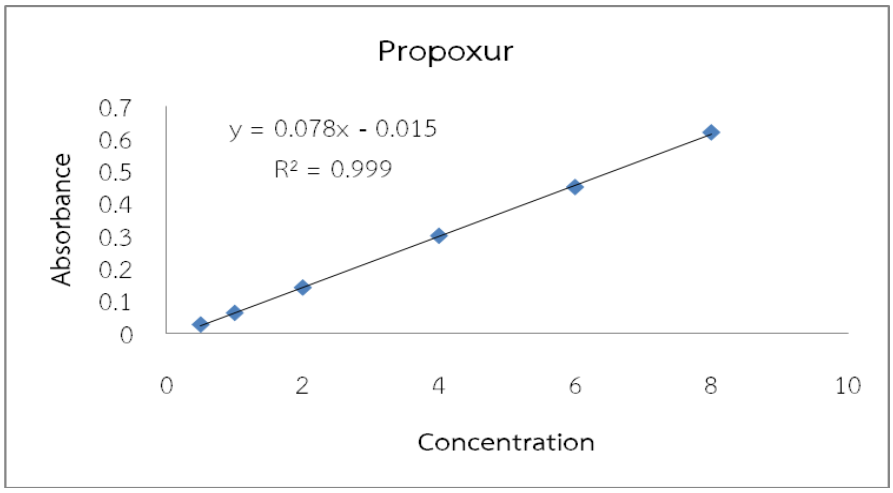


ภาพที่ 4 แสดงค่าความสัมพันธ์เชิงเส้นของ Isoprocarb ที่ระดับความเข้มข้น 0.50 - 8.00 mg/L (R^2 = 0.999)

ตารางที่ 7 แสดงค่าการดูดกลืนแสงของสารละลาย propoxur ที่ความเข้มข้น 0.50 - 8.00 mg/L

ความเข้มข้นของสาร propoxur (mg/L)	ค่าการดูดกลืนแสง (absorbance) ณ λmax = 512 nm
0.50	0.0263
1.00	0.0621
2.00	0.1402
4.00	0.2994
6.00	0.4493

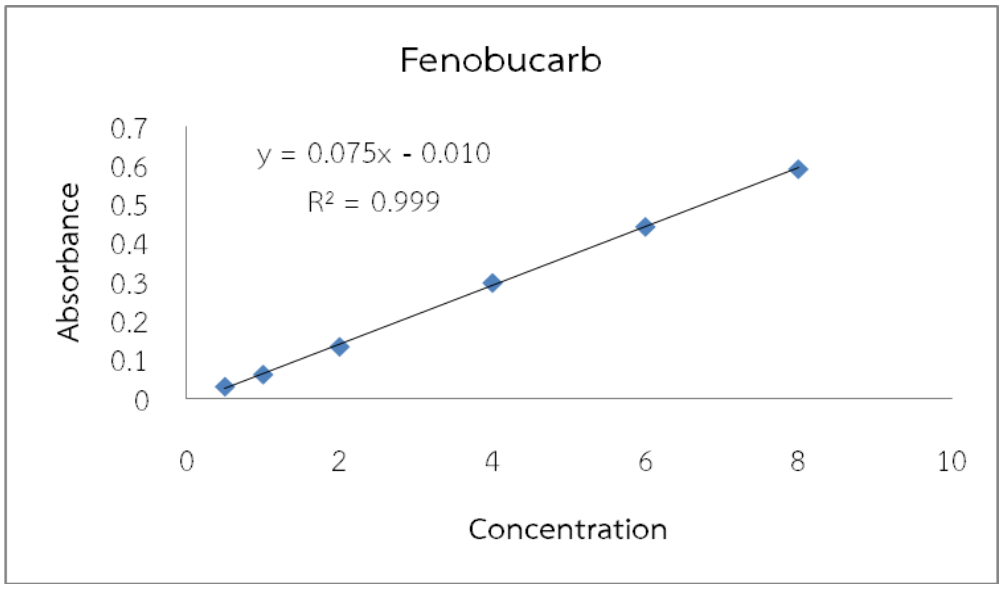
8.00	0.6176



ภาพที่ 5 แสดงค่าความสัมพันธ์เชิงเส้นของ Propoxur ที่ระดับความเข้มข้น 0.50 - 8.00 mg/L (R^2 = 0.999)

ตารางที่ 8 แสดงค่าการดูดกลืนแสงของสารละลาย fenobucarb 0.50 - 8.00 (mg/L)

ความเข้มข้นของสาร fenobucarb (mg/L)	**ค่าการดูดกลืนแสง (absorbance) ณ λ = 507 nm**
0.50	0.0308
1.00	0.0619
2.00	0.1333
4.00	0.2976
6.00	0.4418
8.00	0.5901



ภาพที่ 6 แสดงค่าความสัมพันธ์เชิงเส้นของ Fenobucarb ที่ระดับความเข้มข้น 0.50 - 8.00 mg/L (R^2 = 0.999)

4. ผลการทดสอบหาวิธีการสกัดตัวอย่างพริกสำหรับการตรวจวิเคราะห์สารพิษตกค้างกลุ่มคาร์บาเมตโดยวิธีการวิธีวัดสี

นำตัวอย่าพริกสดหั่นให้ละเอียดนำมาชั่งประมาณ 10 กรัม เติมสารมาตรฐานกลุ่มคาร์บาเมตที่ระดับความเข้มข้น 8 มิลลิกรัมต่อกิโลกรัม แล้วเติมสารละลายที่แตกต่างกัน จำนวน 6 ชนิด (Acetonitrine, Acetone, Methanol, Acetonitrine : H_2O; 1:1, Acetone : H_2O; 1:1, Methanol: H_2O; 1:1) เติมลงในตัวอย่าง ปริมาตร 20 มิลลิลิตร นำไปเขย่านาน 10 นาที นำสารละลายที่ได้กรองผ่านสารผสมระหว่าง carbon และ PAS อัตราส่วน 1:1 ได้สารละลายตัวอย่างใส หลังจากนั้นปิเปตสารละลายตัวอย่างมาปริมาตร 5 มิลลิลิตร ปิเปตสารละลายตัวอย่างมาปริมาตร 5 มิลลิลิตร ใส่ในขวดวัดปริมาตรขนาด 25 มิลลิลิตร หลังจากนั้นเติมสารละลาย 2.0M NaOH ปริมาตร 2.0 มิลลิลิตร เขย่าให้ผสมกัน หลังจากนั้นเติมสารละลายผสมระหว่าง 0.05% PNA และ 0.2% $NaNO_2$ อัตราส่วน 1 : 0.5 มิลลิลิตร ปรับปริมาตรด้วยน้ำกลั่นให้ได้ปริมาตรรวม 25 มิลลิลิตร นำไปวัดค่าการดูดกลืนแสงของสารด้วยเครื่อง UV-Visible Spectrophotometer ใช้ Reagents เป็นตัว collect blank ได้ค่าการดูดกลืนแสงสูงสุดที่ความยาวคลื่น 515 นาโนเมตร ผลการทดลองแสดงดังตารางที่ 9

ตารางที่ 9 แสดงค่าการดูดกลืนแสงของสารละลายแต่ละชนิด

ลำดับที่	ชนิดสารละลาย	ค่าการดูดกลืนแสง ณ λ = 515 nm	pH
1	Acetonitrine	0.590	12.481
2	Acetone	0.530	12.429
3	Methanol	0.460	12.284

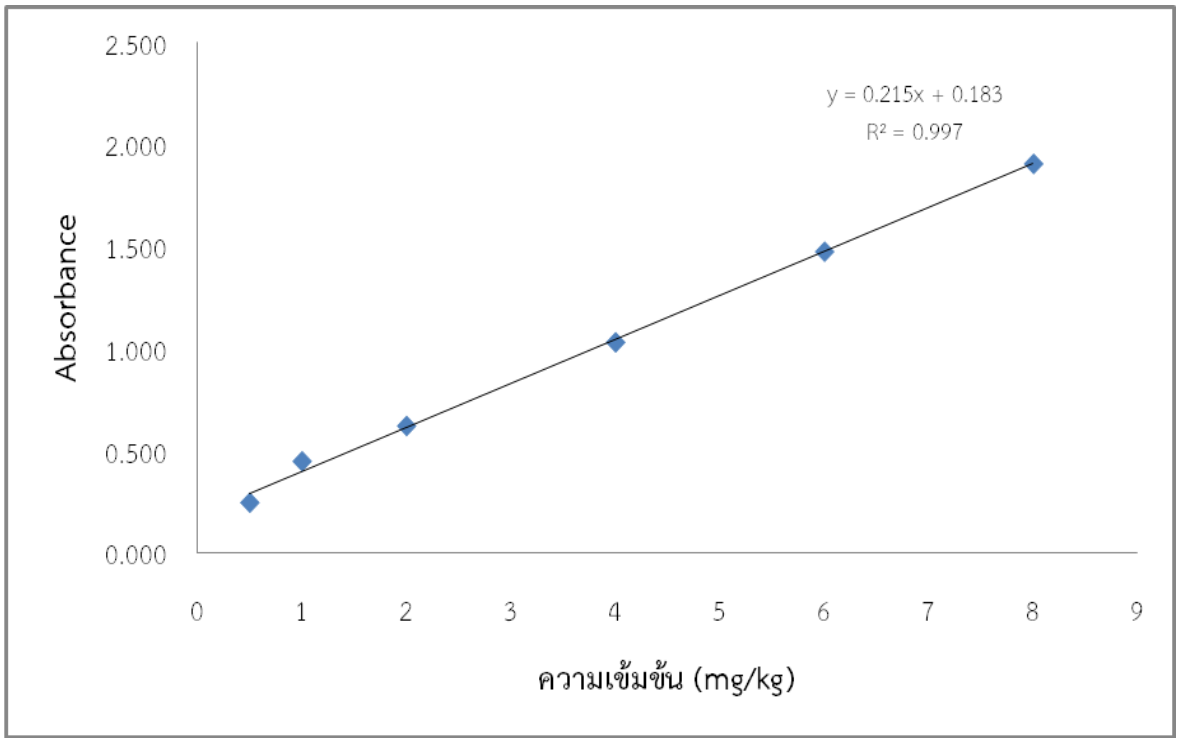
4	Acetonitrine : H_2O (1:1)	0.420	12.238
5	Acetone : H_2O (1:1)	0.440	12.211
6	Methanol: H_2O (1:1)	0.200	12.224

5. ผลการทดสอบหาปริมาณสารพิษตกค้างกลุ่มคาร์บาเมตในตัวอย่างพริกสด สกัดด้วยสารละลาย Acetonitrine โดยวิธีการวิธีวัดสี

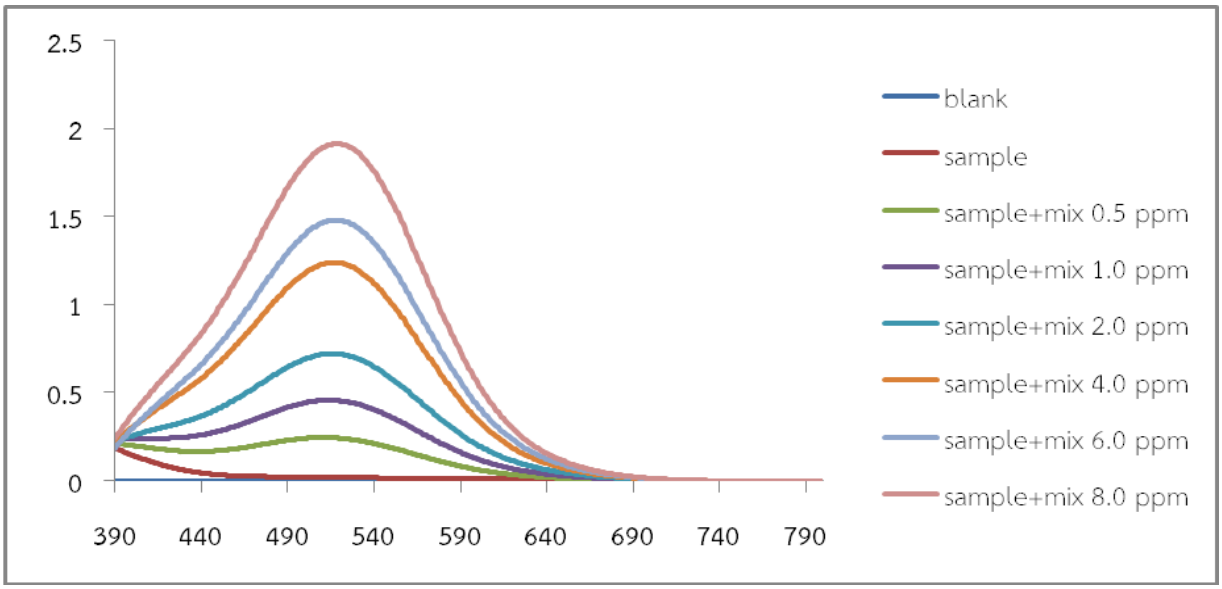
นำตัวอย่าพริกสดหั่นให้ละเอียดนำมาชั่งประมาณ 10 กรัม เติมสารมาตรฐานกลุ่มคาร์บาเมตที่ระดับความเข้มข้น 0.5 – 8.0 มิลลิกรัมต่อกิโลกรัม ตามวิธีการทำ Standardaddition แล้วเติมสารละลาย Acetonitrine เติมลงในตัวอย่างพริกสด ปริมาตร 20 มิลลิลิตร นำไปเขย่านาน 10 นาที นำสารละลายที่ได้กรองผ่านสารผสมระหว่าง carbon และ PAS อัตราส่วน 1:1 ได้สารละลายตัวอย่างใส หลังจากนั้นปิเปตสารละลายตัวอย่างมาปริมาตร 5 มิลลิลิตร ใส่ในขวดวัดปริมาตรขนาด 25 มิลลิลิตร หลังจากนั้นเติมสารละลาย 2.0M NaOH ปริมาตร 2.0 มิลลิลิตร เขย่าให้ผสมกัน หลังจากนั้นเติมสารละลายผสมระหว่าง 0.05% PNA และ 0.2% $NaNO_2$ อัตราส่วน 1 : 0.5 มิลลิลิตร ปรับปริมาตรด้วยน้ำกลั่นให้ได้ปริมาตรรวม 25 มิลลิลิตร นำไปวัดค่าการดูดกลืนแสงของสารด้วยเครื่อง UV-Visible Spectrophotometer ใช้ Reagents เป็นตัว collect blank ได้ค่าการดูดกลืนแสงสูงสุดที่ความยาวคลื่น 515 นาโนเมตร ผลการทดลองแสดงดังตารางที่ 10

ตารางที่ 10 ค่าการดูดกลืนแสงของสารละลายตัวอย่างพริก สกัดด้วยสารละลาย Acetonitrine

ความเข้มข้น (mg/kg)	**ค่าการดูดกลืนแสง (absorbance) ณ λ = 515 nm**				pH			
จำนวนซ้ำ	**1**	**2**	**3**	**เฉลี่ย**	**1**	**2**	**3**	**เฉลี่ย**
สารละลายตัวอย่างพริก	0.021	0.021	0.021	0.021	12.660	12.671	12.678	12.670
0.50	0.245	0.245	0.245	0.245	12.651	12.660	12.666	12.659
1.00	0.458	0.458	0.458	0.458	12.632	12.640	12.651	12.641
2.00	0.722	0.723	0.722	0.722	12.656	12.664	12.671	12.664
4.00	1.240	1.239	1.240	1.240	12.646	12.653	12.658	12.652
6.00	1.482	1.479	1.479	1.480	12.652	12.662	12.668	12.661
8.00	1.910	1.911	1.912	1.911	12.627	12.638	12.646	12.637



ภาพที่ 7 แสดงค่าความสัมพันธ์เชิงเส้นของสารละลายตัวอย่างและสารกลุ่มคาร์บาเมต ที่ระดับความเข้มข้น 0.50 - 8.00 mg/L (R^2 = 0.997)



ภาพที่ 8 สเปกตราการดูดกลืนแสงของสารละลายตัวอย่างและสารกลุ่มคาร์บาเมต จำนวน 4 ชนิดสาร

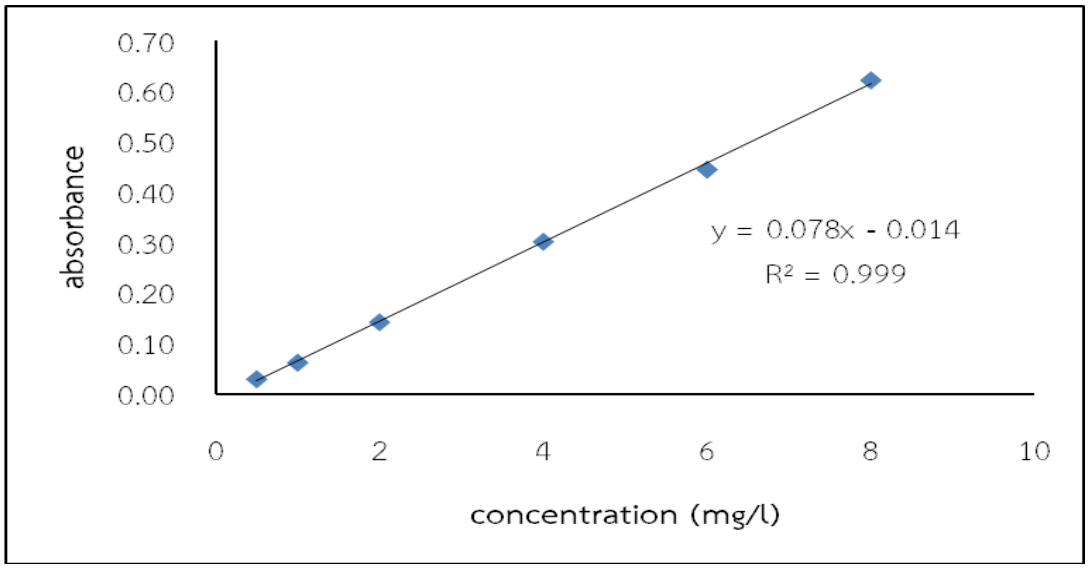
6. ผลการตรวจสอบความใช้ได้ของวิธีทดสอบ

6.1. ผลการทดสอบความเป็นเส้นตรง (linearity range) ของสารกลุ่มคาร์บาเมต จำนวน 4 ชนิด

เตรียมสารมาตรฐานแบบผสม จำนวน 4 ชนิดสาร (carbofuran, isoprocarb, propoxur, fenobucarb) ที่ระดับความเข้มข้น 0.5 – 8.0 มิลลิกรัมต่อลิตร โดยอาศัยการทำปฏิกิริยาระหว่างสารกลุ่มคาร์บาเมตกับสารพาราไนโตรอะนิลีน (p-nitroaniline) ในสภาวะเบสที่เหมาะสม ปรับปริมาตรด้วยน้ำกลั่นให้ได้ปริมาตรรวม 25 มิลลิลิตร ทดสอบความเข้มข้นละ 3 ซ้ำ นำไปวัดค่าการดูดกลืนแสงของสารด้วยเครื่อง UV-Visible Spectrophotometer ใช้ Reagents เป็นตัว collect blank ที่ความยาวคลื่น 515 นาโนเมตร ผลการทดลองแสดงดังตารางที่ 10 นำข้อมูลที่ได้มาสร้างกราฟระหว่างเข้มข้นกับค่าการดูดกลืนแสง พบว่าค่า R^2 เท่ากับ 0.999 (เกณฑ์มาตรฐาน > 0.995) ผลการทดสอบแสดงดัง ภาพที่ 9

ตารางที่ 10 ผลการทดสอบ linearity range ของสารกลุ่มคาร์บาเมตจำนวน 4 ชนิด จากการวัดค่าการดูดกลืนแสงสาร (ทำการทดลอง 3 ซ้ำ) ที่ระดับความเข้มข้น 0.50 - 8.00 mg/L

ความเข้มข้น (mg/L)	**ค่าการดูดกลืนแสง ณ λ = 515 nm (จำนวน 3 ซ้ำ)**			
	1	**2**	**3**	**เฉลี่ย**
0.50	0.030	0.031	0.028	0.030
1.00	0.063	0.062	0.062	0.062
2.00	0.145	0.143	0.140	0.143
4.00	0.310	0.298	0.299	0.302
6.00	0.445	0.442	0.449	0.445
8.00	0.630	0.620	0.618	0.623



ภาพที่ 9 แสดงผลการทดสอบ linearity range ของสารกลุ่มคาร์บาเมตจำนวน 4 ชนิด 6 level (0.50 - 8.0 mg/L)

6.2. ผลการทดสอบหาค่า Limit of Determination (LOD) และ Limit of quantitation (LOQ)

โดยนำสารละลาย Acetonitrine ปริมาตร 5 มิลลิลิตร เติมลงในขวดวัดปริมาตรขนาด 25 มิลลิลิตร หลังจากนั้นเติมสารละลาย 2.0M NaOH ปริมาตร 2.0 มิลลิลิตร เขย่าให้ผสมกัน เติมสารละลายผสมระหว่าง 0.05% PNA และ 0.2% $NaNO_2$ อัตราส่วน 1 : 0.5 มิลลิลิตร ปรับปริมาตรด้วยน้ำกลั่นให้ได้ปริมาตรรวม 25 มิลลิลิตร ทดสอบ 10 ซ้ำ นำไปวัดค่าการดูดกลืนแสงของสารด้วยเครื่อง UV-Visible Spectrophotometer ได้ค่าการดูดกลืนแสงสูงสุดที่ความยาวคลื่น 515 นาโนเมตร ผลการทดลองแสดงดังตารางที่ 11

ตารางที่ 11 ค่าการดูดกลืนแสง (absorbance) ของสารละลาย Reagents blank จำนวน 10 ซ้ำ

จำนวนซ้ำ	ค่าการดูดกลืนแสง ณ λ = 515 nm
1	0.0002
2	0.0001
3	0.0001
4	0.0001
5	0.0001
6	0.0002
7	0.0001
8	0.0001
9	0.0002
10	0.0002

Mean	**0.0002**
SD	**0.0000**

จากข้อมูลผลการทดสอบพบว่า ค่าเบี่ยงเบมาตรฐาน (SD) เท่ากับ 0 จึงไม่สามารถคำนวณค่า Limit of Determination (LOD) ได้ ดังนั้นจึงเติมสารมาตรฐานคาร์บาเมตที่ความเข้มข้น 0.5 mg/L จากนั้นทำปฏิกิริยาระหว่างสารกลุ่มคาร์บาเมตกับสารพาราไนโตรอะนิลีน (p-nitroaniline) ในสภาวะเบสที่เหมาะสม ปรับปริมาตรด้วยน้ำกลั่นให้ได้ปริมาตรรวม 25 มิลลิลิตร ทดสอบจำนวน 10 ซ้ำ นำไปวัดค่าการดูดกลืนแสงของสารด้วยเครื่อง UV-Visible Spectrophotometer ใช้ Reagents เป็นตัว collect blank ที่ความยาวคลื่น 515 นาโนเมตร ผลการทดลองแสดงดังตารางที่ 12 และพบว่าจากข้อมูลผลการทดสอบจากตารางที่ 3 คำนวณค่า LOD จากสูตร LOD = 3SD แสดงว่าจากการคำนวณค่า LOD = 0.01 mg/L

จากนั้นหาคำนวณหาค่า Limit of quantitation (LOQ) ที่ระดับความเข้มข้น 0.5 mg/L โดยประเมินจากค่า ตามเกณฑ์การยอมรับของมาตรฐาน Codex (1993) คือ HORRAT เกณฑ์ ≤ 2 ผลการทดสอบที่ได้พบว่าค่า HORRAT เท่ากับ 1.62 อยู่ในเกณฑ์ที่ยอมรับได้ แสดงว่าความเข้มข้นต่ำสุดที่สามารถหาปริมาณได้ (Limit of Quantitation ; LOQ) ของวิธีทดสอบ LOQ = 0.50 mg/L

ตารางที่ 12 ค่าการดูดกลืนแสง (absorbance) ของสารละลายมาตรฐานกลุ่มคาร์บาเมต จำนวน 4 ชนิดสาร ที่ความเข้มข้น 0.5 mg/L จำนวน 10 ซ้ำ

จำนวนซ้ำ	**ค่าการดูดกลืนแสง ณ λ = 515 nm**
1	0.030
2	0.031
3	0.028
4	0.030
5	0.032
6	0.026
7	0.030
8	0.033
9	0.029
10	0.027

Mean	**0.030**
SD	**0.002**
%RSD	**7.29**
Predicted Horvitz RSD	**4.49**
HORRAT	**1.62**

6.3. ผลการทดสอบหาค่า Accuracy และค่า Precision

การทดสอบความแม่น (Accuracy)

- ทดสอบ Reagent blank, Sample blank และ Fortified sample ที่ระดับความเข้มข้นภายในช่วงการทดสอบ 6 ระดับความเข้มข้น (0.05 – 8.00 mg/L) ความเข้มข้นละ 10 ซ้ำ

- หาค่าเฉลี่ยของผลการทดสอบค่าการดูดกลืนแสง (absorbance) (Mean; $\overline{x}$) และส่วนเบี่ยงเบนมาตรฐาน (SD) ของผลการทดสอบ

คำนวณ ส่วนเบี่ยงเบนมาตรฐานสัมพันธ์ (% RSD) โดยใช้สูตรดังนี้

$$\textbf{\% RSD} = \frac{SD}{\overline{x}} \times 100$$

ประเมิน Precision โดยใช้ HORRAT (Horwitz's ratio) หรือ จาก % RSD จากสูตร

$$\text{HORRAT (Horwitz's ratio)} = \frac{\text{\% RSD จากการทดลอง}}{\text{Predicted Horwitz RSD}}$$

คำนวณ Predicted Horwitz RSD ได้จาก Howitz equation แบบ Repeatability (RSD_r)

ตามสูตร

$$\text{Predicted Horwitz RSD} = 0.66 \times 2^{(1-0.5 \log C)}$$

เมื่อ C = Concentration ration

เกณฑ์การยอมรับ ตามเกณฑ์กำหนดโดยทั่วไปของ Precision, % RSD ของ AOAC Peer-Verified Methods. Nov. 1993 ตาม เกณฑ์ยอมรับค่า HORRAT (Horwitz' s ratio) ดังนี้

AOAC < 2

Codex , EU $\leq$ 2

การทดสอบความแม่น (Accuracy) และความเที่ยง (Precision) ของการทดลองนี้ดำเนินการโดยนำตัวอย่างพริกสดหั่นให้ละเอียดนำมาชั่งประมาณ 10 กรัม เติมสารมาตรฐานกลุ่มคาร์บาเมตที่ระดับความเข้มข้น

0.5 - 8.0 mg/L ตามวิธีการทำ Standardaddition แล้วเติมสารละลาย Acetonitrine เติมลงในตัวอย่างพริกสด ปริมาตร 20 มิลลิลิตร นำไปเขย่านาน 10 นาที นำสารละลายที่ได้กรองผ่านสารผสมระหว่าง carbon และ PAS อัตราส่วน 1:1 ได้สารละลายตัวอย่างใส หลังจากนั้นปิเปตสารละลายตัวอย่างมาปริมาตร 5 มิลลิลิตร ใส่ในขวดวัดปริมาตรขนาด 25 มิลลิลิตร หลังจากนั้นเติมสารละลาย 2.0M NaOH ปริมาตร 2.0 มิลลิลิตร เขย่าให้ผสมกัน จากนั้นเติมสารละลายผสมระหว่าง 0.05% PNA และ 0.2% $NaNO_2$ อัตราส่วน 1 : 0.5 มิลลิลิตร ปรับปริมาตรด้วยน้ำกลั่นให้ได้ปริมาตรรวม 25 มิลลิลิตร ทดสอบความเข้มข้นละ 10 ซ้ำ นำไปวัดค่าการดูดกลืนแสงของสารด้วยเครื่อง UV-Visible Spectrophotometer ใช้ Reagents เป็นตัว collect blank ได้ค่าการดูดกลืนแสงสูงสุดที่ความยาวคลื่น 515 นาโนเมตร ผลการทดสอบความแม่น (Accuracy) และ ความเที่ยง (Precision) แสดงดังตารางที่ 13 - 19 พบว่าผลการทดสอบอยู่ในเกณฑ์ที่กำหนดและสามารถยอมรับได้

ตารางที่ 13 ค่าการดูดกลืนแสงของสารละลายตัวอย่างพริก สกัดด้วยสารละลาย Acetonitrine จำนวน 10 ซ้ำ

จำนวนซ้ำ	**ค่าการดูดกลืนแสง ณ λ = 515 nm**				**pH**			
	1	**2**	**3**	**เฉลี่ย**	**1**	**2**	**3**	**เฉลี่ย**
1	0.021	0.021	0.021	0.021	12.66	12.67	12.67	12.67
2	0.021	0.020	0.021	0.021	12.65	12.66	12.66	12.66
3	0.020	0.021	0.022	0.021	12.65	12.66	12.66	12.66
4	0.021	0.021	0.020	0.021	12.63	12.64	12.65	12.64
5	0.022	0.021	0.021	0.021	12.66	12.66	12.67	12.66
6	0.021	0.020	0.022	0.021	12.65	12.65	12.66	12.65
7	0.021	0.020	0.020	0.020	12.65	12.66	12.66	12.66
8	0.021	0.021	0.021	0.021	12.63	12.64	12.65	12.64
9	0.022	0.021	0.020	0.021	12.65	12.66	12.66	12.66
10	0.021	0.021	0.021	0.021	12.63	12.64	12.65	12.64
Mean				**0.021**				
SD				**0.000**				
%RSD				**1.313**				
Predicted Horvitz RSD				**4.725**				
HORRAT				**0.278**				

ตารางที่ 14 ค่าการดูดกลืนแสงของสารละลายตัวอย่างพริก สกัดด้วยสารละลาย Acetonitrine เติมสารมาตรฐานกลุ่มคาร์บาเมตที่ระดับความเข้มข้น 0.5 mg/kg ทดสอบ จำนวน 10 ซ้ำ

จำนวนซ้ำ	ค่าการดูดกลืนแสง ณ λ = 515 nm				pH			
	1	2	3	เฉลี่ย	1	2	3	เฉลี่ย
1	0.242	0.244	0.245	0.244	12.66	12.66	12.65	12.65
2	0.245	0.245	0.242	0.244	12.66	12.66	12.65	12.66
3	0.245	0.243	0.245	0.244	12.65	12.65	12.63	12.64
4	0.243	0.245	0.242	0.243	12.66	12.66	12.65	12.66
5	0.245	0.244	0.245	0.245	12.65	12.65	12.63	12.64
6	0.243	0.245	0.242	0.243	12.66	12.67	12.67	12.67
7	0.246	0.245	0.244	0.245	12.65	12.66	12.66	12.66
8	0.245	0.245	0.243	0.244	12.63	12.64	12.65	12.64
9	0.245	0.241	0.244	0.243	12.66	12.66	12.67	12.66
10	0.244	0.242	0.244	0.243	12.65	12.65	12.66	12.65
Mean				0.244				
SD				0.001				
%RSD				0.256				
Predicted Horvitz RSD				3.265				
HORRAT				0.078				

ตารางที่ 15 ค่าการดูดกลืนแสงของสารละลายตัวอย่างพริก สกัดด้วยสารละลาย Acetonitrine เติมสารมาตรฐานกลุ่มคาร์บาเมตที่ระดับความเข้มข้น 1.00 mg/kg ทดสอบ จำนวน 10 ซ้ำ

จำนวนซ้ำ	ค่าการดูดกลืนแสง ณ λ = 515 nm				pH			
	1	2	3	เฉลี่ย	1	2	3	เฉลี่ย
1	0.459	0.458	0.460	0.458	12.66	12.66	12.65	12.66
2	0.458	0.457	0.458	0.458	12.65	12.65	12.63	12.64
3	0.458	0.462	0.458	0.459	12.67	12.67	12.66	12.66
4	0.458	0.458	0.458	0.458	12.66	12.66	12.65	12.65
5	0.458	0.458	0.458	0.458	12.66	12.66	12.65	12.66
6	0.461	0.458	0.458	0.459	12.65	12.65	12.63	12.64
7	0.458	0.461	0.458	0.459	12.66	12.66	12.65	12.66
8	0.458	0.458	0.460	0.459	12.65	12.65	12.63	12.64
9	0.455	0.456	0.458	0.456	12.66	12.67	12.67	12.67
10	0.458	0.458	0.454	0.457	12.65	12.66	12.66	12.66
Mean				0.458				
SD				0.001				
%RSD				0.216				
Predicted Horvitz RSD				2.969				
HORRAT				0.073				

ตารางที่ 16 ค่าการดูดกลืนแสงของสารละลายตัวอย่างพริก สกัดด้วยสารละลาย Acetonitrine เติมสารมาตรฐานกลุ่มคาร์บาเมตที่ระดับความเข้มข้น 2.00 mg/kg ทดสอบ จำนวน 10 ซ้ำ

จำนวนซ้ำ	ค่าการดูดกลืนแสง ณ λ = 515 nm				pH			
	1	2	3	เฉลี่ย	1	2	3	เฉลี่ย
1	0.722	0.723	0.724	0.723	12.66	12.66	12.65	12.66
2	0.722	0.722	0.722	0.722	12.65	12.65	12.63	12.64
3	0.722	0.723	0.722	0.722	12.67	12.67	12.66	12.66
4	0.722	0.724	0.723	0.723	12.66	12.66	12.65	12.65
5	0.724	0.723	0.722	0.723	12.66	12.66	12.65	12.66
6	0.722	0.721	0.722	0.722	12.65	12.65	12.63	12.64
7	0.722	0.723	0.722	0.722	12.66	12.66	12.65	12.66
8	0.723	0.723	0.722	0.723	12.65	12.65	12.63	12.64
9	0.722	0.72	0.722	0.721	12.66	12.67	12.67	12.67
10	0.722	0.723	0.722	0.722	12.65	12.66	12.66	12.66
Mean				**0.722**				
SD				**0.001**				
%RSD				**0.080**				
Predicted Horvitz RSD				**2.772**				
HORRAT				**0.029**				

ตารางที่ 17 ค่าการดูดกลืนแสงของสารละลายตัวอย่างพริก สกัดด้วยสารละลาย Acetonitrine เติมสารมาตรฐานกลุ่มคาร์บาเมตที่ระดับความเข้มข้น 4.00 mg/kg ทดสอบ จำนวน 10 ซ้ำ

จำนวนซ้ำ	ค่าการดูดกลืนแสง ณ λ = 515 nm				pH			
	1	2	3	เฉลี่ย	1	2	3	เฉลี่ย
1	1.240	1.241	1.240	1.240	12.66	12.66	12.65	12.66
2	1.240	1.239	1.240	1.240	12.65	12.65	12.63	12.64
3	1.240	1.242	1.240	1.241	12.67	12.67	12.66	12.66
4	1.240	1.239	1.238	1.239	12.66	12.66	12.65	12.65
5	1.240	1.239	1.240	1.240	12.66	12.66	12.65	12.66
6	1.240	1.238	1.239	1.239	12.65	12.65	12.63	12.64
7	1.240	1.239	1.240	1.240	12.66	12.66	12.65	12.66
8	1.240	1.241	1.242	1.241	12.65	12.65	12.63	12.64
9	1.240	1.239	1.240	1.240	12.66	12.67	12.67	12.67
10	1.240	1.239	1.241	1.240	12.65	12.66	12.66	12.66
Mean				**1.240**				
SD				**0.001**				
%RSD				**0.051**				
Predicted Horvitz RSD				**2.556**				
HORRAT				**0.020**				

ตารางที่ 18 ค่าการดูดกลืนแสงของสารละลายตัวอย่างพริก สกัดด้วยสารละลาย Acetonitrine เติมสารมาตรฐานกลุ่มคาร์บาเมตที่ระดับความเข้มข้น 6.00 mg/kg ทดสอบ จำนวน 10 ซ้ำ

จำนวนซ้ำ	ค่าการดูดกลืนแสง ณ λ = 515 nm				pH			
	1	2	3	เฉลี่ย	1	2	3	เฉลี่ย
1	1.480	1.479	1.479	1.480	12.66	12.66	12.65	12.66
2	1.482	1.480	1.481	1.481	12.66	12.66	12.65	12.65
3	1.480	1.479	1.479	1.479	12.65	12.65	12.63	12.64
4	1.482	1.482	1.480	1.481	12.66	12.66	12.65	12.66
5	1.482	1.479	1.479	1.480	12.65	12.65	12.63	12.64
6	1.482	1.479	1.479	1.480	12.66	12.67	12.67	12.67
7	1.482	1.482	1.481	1.482	12.66	12.66	12.65	12.66
8	1.482	1.479	1.481	1.481	12.65	12.65	12.63	12.64
9	1.482	1.481	1.481	1.481	12.66	12.67	12.67	12.67
10	1.480	1.479	1.479	1.479	12.65	12.66	12.66	12.66
Mean				1.480				
SD				0.001				
%RSD				0.057				

Predicted Horvitz RSD	2.489
HORRAT	0.023

ตารางที่ 19 ค่าการดูดกลืนแสงของสารละลายตัวอย่างพริก สกัดด้วยสารละลาย Acetonitrine เติมสารมาตรฐานกลุ่มคาร์บาเมตที่ระดับความเข้มข้น 8.00 mg/kg ทดสอบ จำนวน 10 ซ้ำ

จำนวนซ้ำ	ค่าการดูดกลืนแสง ณ λ = 515 nm				pH			
	1	2	3	เฉลี่ย	1	2	3	เฉลี่ย
1	1.911	1.912	1.912	1.911	12.66	12.66	12.65	12.65
2	1.912	1.911	1.912	1.912	12.66	12.66	12.65	12.66
3	1.911	1.911	1.911	1.911	12.65	12.65	12.63	12.64
4	1.910	1.911	1.912	1.910	12.66	12.66	12.65	12.66
5	1.910	1.910	1.912	1.910	12.66	12.66	12.65	12.65
6	1.912	1.911	1.912	1.912	12.65	12.65	12.63	12.64
7	1.911	1.911	1.913	1.911	12.66	12.66	12.65	12.66
8	1.910	1.911	1.912	1.910	12.65	12.65	12.63	12.64

9	1.911	1.913	1.912	1.911	12.66	12.67	12.67	12.67
10	1.911	1.911	1.912	1.911	12.65	12.66	12.66	12.66
Mean				**1.911**				
SD				**0.000**				
%RSD				**0.022**				
Predicted Horvitz RSD				**2.395**				
HORRAT				**0.009**				

สรุปผลการทดลองและข้อเสนอแนะ

1. ผลการศึกษาหาค่าการดูดกลืนแสง (absorbance) ที่ λmax ของสารกลุ่มคาร์บาเมต จำนวน 4 ชนิดสาร (Carbofuran, Isoprocarb, Propoxur และ Fenobucarb) ด้วยเทคนิคการวัดสี พบว่า ค่า λmax อยู่ในช่วง 507-512 nm

2. ผลการศึกษาหาสภาวะที่เหมาะสมของปริมาณสารเคมีที่ใช้ในการเกิดปฏิกิริยา

2.1 ผลการศึกษาหาปริมาตรที่เหมาะสมของสาร 2.0 M NaOH พบว่าปริมาตรที่เหมาะสมในการปฏิกิริยาคือ 2.0 มิลลิลิตร pH เท่ากับ 12.37

2.2 ผลการศึกษาหาปริมาตรที่เหมาะสมของสาร 0.05% PNA พบว่าปริมาตรที่เหมาะสมในการปฏิกิริยาคือ 1.0 มิลลิลิตร pH เท่ากับ 12.42

2.3 ผลการศึกษาหาปริมาตรที่เหมาะสมของสาร 0.2% $NaNO_2$ พบว่าปริมาตรที่เหมาะสมในการปฏิกิริยาคือ 0.5 มิลลิลิตร pH เท่ากับ 12.42

3. ผลการทดสอบความสัมพันธ์เชิงเส้นตรง (Linearity) พบว่าสารกลุ่มคาร์บาเมต ทั้ง 4 ชนิดสาร (Carbofuran, Isoprocarb, Propoxur และ Fenobucarb) มีความสัมพันธ์เชิงเส้นตรง (Linearity) อยู่ในช่วง 0.50 – 8.00 มิลลิกรัม/ลิตร และค่า R^2 เท่ากับ 0.999

4. ผลการทดสอบหาวิธีการสกัดตัวอย่างพริกสำหรับการตรวจวิเคราะห์สารพิษตกค้างกลุ่มคาร์บาเมตโดยวิธีการวิธีวัดสี พบว่าสารละลาย Acetonitrine สามารถสกัดสารพิษตกค้างกลุ่มคาร์บาเมตได้เหมาะสมที่สุด

5. ผลการทดสอบหาปริมาณสารพิษตกค้างกลุ่มคาร์บาเมตในตัวอย่างพริกสด สกัดด้วยสารละลาย Acetonitrine โดยวิธีการวิธีวัดสีด้วยวิธี standardaddition พบว่าไม่พบสารพิษตกค้างกลุ่มคาร์บาเมตในตัวอย่างพริกสดที่นำมาทดสอบ และพบว่าค่า R^2 เท่ากับ 0.997

6. ผลการตรวจสอบความใช้ได้ของวิธีทดสอบ

6.1. ผลการทดสอบความเป็นเส้นตรง (linearity range) ของสารกลุ่มคาร์บาเมต จำนวน 4 ชนิดสาร พบว่า (carbofuran, isoprocarb, propoxur, fenobucarb) ที่ระดับความเข้มข้น 0.5 – 8.0 มิลลิกรัมต่อลิตร ค่า R^2 เท่ากับ 0.999 (เกณฑ์มาตรฐาน > 0.995)

6.2. ผลการทดสอบหาค่า Limit of Determination (LOD) และ Limit of quantitation (LOQ) พบว่าค่า LOD = 0.01 mg/L และค่า LOQ = 0.5 mg/L

6.3 ผลการทดสอบความแม่น (Accuracy) และความเที่ยง (Precision) พบว่าผลการทดสอบผ่าน เกณฑ์การยอมรับ ตามเกณฑ์กำหนดโดยทั่วไปของ Precision, % RSD ของ AOAC Peer-Verified Methods. Nov. 1993 ตาม เกณฑ์ยอมรับค่า HORRAT (Horwitz' s ratio)

การนำผลงานวิจัยไปใช้ประโยชน์

1. นำไปใช้ข้อมูลพื้นฐานสำหรับผู้ที่จะพัฒนาเทคนิควิธีการตรวจวิเคราะห์สารพิษตกค้างกลุ่มคาร์บาเมต เพื่อให้ได้วิธีการทดสอบที่ประหยัด และรวดเร็วเหมาะสมกับการนำไปใช้งาน

2. นำไปถ่ายทอดให้แก่ห้องปฏิบัติการตรวจวิเคราะห์สารพิษตกค้าง เพื่อเป็นการพัฒนาและเพิ่มศักยภาพของห้องปฏิบัติการตรวจวิเคราะห์สารพิษตกค้างของกรมวิชาการเกษตร

3. จัดทำเป็นเอกสารเผยแพร่เพื่อให้ผู้ที่สนใจตรวจวิเคราะห์สารพิษตกค้างทั้งในภาครัฐและเอกชนนำไปทดสอบและใช้ในการปฏิบัติงานจริงได้

เอกสารอ้างอิง

[1] กรมวิชาการเกษตร, “พิษและกลไกลการออกฤทธิ์ของวัตถุมีพิษเกษตร”, เอกสารวิชาการกรมวิชาการเกษตร กรมวิชาการเกษตร กระทรวงเกษตรและสหกรณ์, 2548.

[2] N. Chu and S. Fan, “Sequential injection kinetic spectrophotometric determination of quaternary mixtures of carbamate pesticides in water and fruit samples using artificial neural networks for multivariate calibration”, Spectrochimica Acta Part A: Molecular and Biomolecular Spectroscopy, 74(5): 1173-1181, 2009.

[3] น.พ.วรวุฒิ เจริญศิริ, “ชุดตรวจสอบสารพิษตกค้าง”, ศูนย์ข้อมูลสุขภาพกรุงเทพ, 2551.

[4] M. Liu, Y. Hashi, Y. Song and J.-M. Lin, “Simultaneous determination of carbamate and organophosphorus pesticides in fruits and vegetables by liquid chromatography–mass spectrometry”, Journal of Chromatography A, 1097(1–2): 183-187, 2005.

[5] แม้น อมรสิทธิ์ และ อมร เพชรสม, “Principles and Thechniques of Instrumental Analysis”, ภาควิชาเคมีคณะวิทยาศาสตร์ จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย, 2535.

[6] พุทธรักษา วรานุศุภากุล, “เทคนิคการแยก การแยกสาร”, http://www.mis.sc.chula.ac.th/Chem ii10.ppt., มีนาคม 2553.

[7] J. Zhang and H. K. Lee, “Application of liquid-phase microextraction and on-column derivatization combined with gas chromatography–mass spectrometry to the determination of carbamate pesticides”, Journal of Chromatography A, 1117(1): 31-37, 2006.

[8] B. Cavaliere, M. Monteleone, A. Naccarato, G. Sindona and A. Tagarelli, “A solid-phase microextraction-gas chromatographic approach combined with triple quadrupole mass spectrometry for the assay of carbamate pesticides in water samples”, Journal of Chromatography A, 1257(0): 149-157, 2012.

[9] Y. Gou, R. Eisert and J. Pawliszyn, “Automated in-tube solid-phase microextraction–high-performance liquid chromatography for carbamate pesticide analysis”, Journal of Chromatography A, 873(1): 137-147, 2000.

[10] J. Vichapong, R. Burakham, S. Srijaranai and K. Grudpan, “Room temperature imidazolium ionic liquid: A solvent for extraction of carbamates prior to liquid chromatographic analysis”, Talanta, 84(5): 1253-1258, 2011.

[11] Y. Ni, W. Xiao and S. Kokot, “Application of chemometrics methods for the simultaneous kinetic spectrophotometric determination of aminocarb and carbaryl in vegetable and water samples”, Journal of Hazardous Materials, 168(2–3): 1239-1245, 2009.

[12] Z. M. Liu, X. H. Zang, W. H. Liu, C. Wang and Z. Wang, “Novel method for the determination of five carbamate pesticides in water samples by dispersive liquid–liquid

microextraction combined with high performance liquid chromatography", Chinese Chemical Letters, 20(2): 213-216, 2009.