

การสกัดคาร์เบนดาซิมตกค้างในผักกาดหอม ด้วยวิธีการกระจายตัวดูดซับของแข็งในเนื้อสาร

Extracting Carbendazim Residue in Lettuce Using Matrix Solid-Phase Dispersion

สมบุญ กิรีติประยูร และ ภาวดี ช้วยบำรุง*

Somboon Kiratiprayoon and Paradee Chuaybamroong*

สาขาวิชาวิทยาศาสตร์สิ่งแวดล้อม คณะวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยี มหาวิทยาลัยธรรมศาสตร์

Department of Environmental Science, Faculty of Science and Technology

Received : 26 December 2018

Revised : 22 February 2019

Accepted : 3 April 2019

บทคัดย่อ

การศึกษานี้ต้องการหาวิธีการสกัดและวิเคราะห์คาร์เบนดาซิมตกค้างในผลผลิตทางการเกษตรที่ง่าย ไม่ยุ่งยาก ซับซ้อน ประหยัดค่าใช้จ่ายและเวลา โดยใช้วิธีการกระจายตัวดูดซับของแข็งในเนื้อสารด้วยการตำตัวดูดซับชนิดไดอะตอม เมเชียส เอิร์ธร่วมกับผักกาดหอมที่เติมสารคาร์เบนดาซิมมาตรฐานความเข้มข้น 1, 3 และ 5 ไมโครกรัมต่อกรัม เพื่อให้เกิดพันธะระหว่างกัน โดยศึกษาปริมาณผักกาดหอม (0.5, 1, 3 และ 5 กรัม) ต่อปริมาณตัวดูดซับ (0.5, 1, 2, 4 และ 6 เท่าของผักกาดหอม) ที่เหมาะสม และชนิดและปริมาณตัวทำละลายที่เหมาะสม ได้แก่ ไดคลอโรมีเทน เมทานอล เอทิลอะซิเตท และไดคลอโรมีเทนผสมเมทานอลในอัตราส่วนร้อยละ 70 : 30 ละลายคาร์เบนดาซิมออกจากกระป๋องบรรจุ ระยะเวลาแห้งแล้วใช้เมทานอลละลายคาร์เบนดาซิมกลับขึ้นมาใหม่และนำไปวิเคราะห์ความเข้มข้นของคาร์เบนดาซิมที่สกัดได้เปรียบเทียบกับความเข้มข้นที่เติมลงไป โดยคำนวณเป็นร้อยละการคืนกลับ ซึ่งค่าที่ยอมรับได้ตามมาตรฐานของ The Association of Analytical Communities คือ ร้อยละ 80-110 ผลการศึกษาพบว่า ปริมาณผักกาดหอมที่เหมาะสมที่สุดในการนำมาสกัดและวิเคราะห์ คือ 1 กรัม สัดส่วนระหว่างผักกาดหอม : ตัวดูดซับไดอะตอมเมเชียส เอิร์ธที่ให้ร้อยละการคืนกลับที่ดีที่สุดคือ 1 : 4 กรัม และตัวทำละลายที่คาร์เบนดาซิมออกมาจากพันธะได้ดีที่สุดเรียงตามลำดับจากมากไปน้อย คือ เมทานอล > ไดคลอโรมีเทนผสมเมทานอล > เอทิลอะซิเตท > ไดคลอโรมีเทน ในปริมาตรตัวทำละลายที่เหมาะสมที่สุด คือ 40 มิลลิลิตร ผลที่ได้สามารถนำไปประยุกต์ใช้วิเคราะห์สารกำจัดศัตรูพืชตกค้างในผลผลิตทางการเกษตรอื่น ๆ ต่อไปได้ เนื่องจากวิธีที่ใช้มีขั้นตอนที่ไม่ยุ่งยากซับซ้อนและใช้สารเคมีในปริมาณน้อย

คำสำคัญ : คาร์เบนดาซิม, วิธีการสกัดและวิเคราะห์สารกำจัดศัตรูพืช, วิธีการกระจายตัวดูดซับของแข็งในเนื้อสาร

*Corresponding author. E-mail: paradee@tu.ac.th

Abstract

This study aimed for practically unsophisticated, less time- and cost-consuming techniques in extracting and analyzing carbendazim residue in lettuce. The used method was matrix solid-phase dispersion. By mechanically blended diatomaceous earth with the lettuce that spiked standard carbendazim concentrations of 1, 3, and 5 µg/g, by using mortar and pestle, a bonded-phase was induced between them. The amounts of lettuce were 0.5, 1.0, 3.0, and 5.0 g, while the amounts of the solid support were 0.5, 1.0, 2.0, 4.0, and 6.0 times those of the lettuce quantities. The mixtures were filled in plastic syringes and different solvents which were dichloromethane, methanol, ethyl acetate, and the 70:30 mixture of dichloromethane and methanol were poured one at the time to elute the carbendazim and then evaporated. The residual carbendazim was re-dissolved using methanol and determined its concentration. The obtained concentration was compared to the initial spiked concentration to determine the recovery percentage. The acceptable range is 80-110%, based on the Association of Analytical Communities. It was found that the appropriate amount of lettuce for this method was 1.0 g, with the ratio of 1 : 4 between lettuce and diatomaceous earth. The suitable solvent for eluting carbendazim in a descending order was methanol > a mixture between dichloromethane and methanol > ethyl acetate > dichloromethane. The suitable amount of solvent was 40 mL. The findings can be applied to other pesticide residue in agricultural products since it is not complicated and use small amount of chemical substances.

Keywords : carbendazim, pesticide extraction and analytical procedures, matrix solid-phase dispersion

บทนำ

ปัญหาสารกำจัดศัตรูพืชตกค้างในพืชผักทางการเกษตรเป็นปัญหาของประเทศไทยมาอย่างยาวนาน โดยสารพิษตกค้างชนิดหนึ่งที่พบได้บ่อยครั้งและเป็นอันตรายต่อสุขภาพคือ คาร์เบนดาซิม ซึ่งจัดอยู่ในกลุ่มของสารกำจัดเชื้อรา สารชนิดนี้เป็นอันตรายเมื่อถูกผิวหนัง สร้างความระคายเคืองดวงตา ระบบทางเดินหายใจ และผิวหนัง ก่อให้เกิดผลกระทบที่ไม่สามารถแก้กลับคืนได้และอาจก่อให้เกิดการกลายพันธุ์ (Chemtrack, n.d.)

สำนักงานมาตรฐานสินค้าเกษตรและอาหารแห่งชาติ (มกอช.) กำหนดปริมาณสารพิษตกค้างสูงสุด (Maximum Residue Limit: MRL) ของคาร์เบนดาซิมในผลผลิตทางการเกษตรถึง 16 รายการ สะท้อนให้เห็นว่าคาร์เบนดาซิมเป็นที่นิยมใช้กันโดยทั่วไป เช่น กุยช่าย เงาะ ต้นหอม ถั่วเหลืองฝักสด หอมใหญ่ องุ่น มีค่า MRL 3 มิลลิกรัมต่อกิโลกรัม ขณะที่ถั่วเขียว มะเขือเทศ ถั่วเหลือง มีค่า MRL 0.5 มิลลิกรัมต่อกิโลกรัม เป็นต้น (National Bureau of Agricultural Commodity and Food Standards, 2015) แม้ว่า มกอช. จะมีมาตรฐานดังกล่าว แต่ก็ไม่เพียงพอในการควบคุมสินค้าทางการเกษตรของประเทศไทยให้ปลอดภัยจากสารพิษตกค้างได้ ดังจะเห็นได้จากข่าวที่ปรากฏอย่างต่อเนื่อง เช่น ข่าวจากหนังสือพิมพ์ผู้จัดการฉบับวันที่ 4 มกราคม 2551 กระทรวงพาณิชย์แจ้งว่าสหภาพยุโรป (อียู) ตรวจพบสินค้าพืชและผลิตภัณฑ์จากพืชที่ไทยส่งออกไปยังอียูไม่ผ่านมาตรฐาน 22 รายการ โดยสารเคมีที่ถูกตรวจพบว่ามีมากเกินมาตรฐานชนิดหนึ่งก็คือ คาร์เบนดาซิม (Chemtrack, 2008) และเมื่อวันที่ 13 มีนาคม 2557 มูลนิธิเพื่อผู้บริโภคและเครือข่ายเตือนภัยสารเคมีกำจัดศัตรูพืช (Thai-PAN) ได้สุ่มตรวจผักผลไม้ที่จำหน่ายในห้างค้าปลีกและจากตลาดสดและพบคาร์เบนดาซิมในส้ม แอปเปิ้ล

และสตรอบอเรียในปริมาณที่สูงกว่าค่า MRL หลายเท่าตัว โดยมูลนิธิ ฯ ระบุเพิ่มเติมว่าคาร์เบนดาซิมเป็นสารเคมีกำจัดโรคพืชที่ไม่สามารถตรวจได้จากการสุ่มตรวจโดยทั่วไปและที่สำคัญคือคาร์เบนดาซิมเป็นสารชนิดดูดซึม จึงสามารถซึมเข้าไปในเนื้อเยื่อของผักผลไม้ ไม่สามารถขจัดออกด้วยการล้างได้ (MGR ONLINE, 2014) การสุ่มตรวจของมูลนิธิ ฯ ดังกล่าว มีการเก็บตัวอย่างเพียง 118 ตัวอย่าง เนื่องจากข้อจำกัดในเรื่องของงบประมาณ ซึ่งการตรวจสอบตกค้างต้องเสียค่าใช้จ่าย 8,000-11,000 บาทต่อตัวอย่าง รวมเป็นเงินที่ต้องใช้มากกว่า 1 ล้านบาท (Thai-PAN, 2014) ค่าใช้จ่ายในการสกัดและวิเคราะห์สารตกค้างที่สูงมากจึงเป็นข้อจำกัดหรืออุปสรรคที่สำคัญสำหรับการควบคุมและเฝ้าระวังคุณภาพของสินค้าเกษตรของประเทศไทย

การศึกษานี้จึงต้องการหาวิธีการสกัดและวิเคราะห์คาร์เบนดาซิมตกค้างในผลผลิตทางการเกษตรที่ประหยัดค่าใช้จ่ายและเวลาลงกว่าเดิม โดยการสกัดแบบเดิม เช่น วิธี liquid-liquid extraction ต้องใช้ตัวอย่าง 50 กรัม ใช้ตัวทำละลายอะซิโตน 200 มิลลิลิตร ร่วมกับปิโตรเลียม อีเธอร์ 50 มิลลิลิตร และไดคลอโรมีเทนอีก 130 มิลลิลิตร ต่อ 1 ตัวอย่าง (Narkjuetong *et al.*, 2011) ก่อให้เกิดความสิ้นเปลือง ใช้เวลาในการสกัดนาน และมีของเสียที่เป็นพิษออกสู่สิ่งแวดล้อมเป็นจำนวนมาก หรือวิธี QuEChERS ใช้ตัวอย่างจำนวน 15 กรัม ร่วมกับตัวทำละลายอะซิโตนไตรอล 15 มิลลิลิตร กรดอะซิติก แมกนีเซียมซัลเฟตปราศจากน้ำ (anhydrous magnesium sulfate) 4-5 กรัม และอื่น ๆ รวมถึงมีขั้นตอนการเขย่าให้เข้ากันและปั่นเหวี่ยงตกตะกอนอีกหลายรอบ (Prasopsuk *et al.*, 2014) เมื่อเทียบกับวิธีการสกัดแบบใหม่ที่เป็นการกระจายตัวดูดซับของแข็งในเนื้อสาร (matrix solid-phase dispersion: MSPD) ซึ่งใช้ตัวอย่างเพียง 0.5-5 กรัม และใช้ตัวทำละลาย 8-30 มิลลิลิตรเท่านั้น วิธี MSPD ใช้การตำตัวอย่างที่ปั่นละเอียดแล้วรวมกับตัวดูดซับเพื่อให้เกิดพันธะของสารอินทรีย์กระจายตัวไปทั่วบนพื้นผิวของตัวดูดซับ องค์ประกอบของสารตกค้างที่ไม่มีขั้วจะกระจายเข้าสู่ organic phase ในส่วนที่ไม่มีขั้วของตัวดูดซับ ขณะที่องค์ประกอบของสารตกค้างที่มีขั้วจะเกิดพันธะ silanol และพันธะไฮโดรเจนกับส่วนที่มีขั้วของตัวดูดซับ (Barker, 2000) ทำให้เกิดการกักสารกำจัดศัตรูพืชไว้บนผิวหน้าของตัวดูดซับ จากนั้นบรรจุในกระบอกฉีดยาแล้วใช้ตัวทำละลายเทลงไปเพื่อให้เกิดการแทนที่หรือไล่สารตกค้างให้หลุดออกจากพันธะ แล้วนำไปเพิ่มความเข้มข้นของสารตกค้างด้วยการระเหยแห้ง ก่อนใช้ตัวทำละลายชะล้างเฉพาะสารกำจัดศัตรูพืชที่สนใจแล้วนำไปวิเคราะห์ความเข้มข้นด้วยเครื่องโครมาโตกราฟีเหลวประสิทธิภาพสูงต่อไป ซึ่งตัวดูดซับที่นิยมใช้ได้แก่ ซิลิกา (SiO₂), ฟลอริซิล (Florisil), ถ่านกัมมันต์ (active carbon), C₈, C₁₈, แมกนีเซีย (magnesia), ไดอะตอมเมเชียส เอิร์ธ (diatomaceous earth) และอลูมินัมที่เป็นกรด (active acidic alumina) (Ling & Huang, 1995)

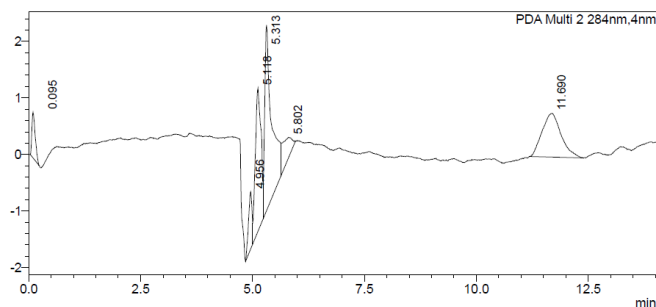
งานวิจัยนี้ศึกษาวิธีการสกัดคาร์เบนดาซิมตกค้างในผักกาดหอม เนื่องจากเป็นผักที่มีรายงานการตกค้างหรือยังคงมีการฉีดพ่นคาร์เบนดาซิมในการเพาะปลูกอยู่ โดยใช้ตัวดูดซับชนิด ไดอะตอมเมเชียส เอิร์ธ ในสัดส่วนตั้งแต่ 0.25 ถึง 20 กรัม ต่อผักกาดหอมจำนวน 0.5 ถึง 5 กรัม และเปรียบเทียบการใช้ตัวทำละลายต่าง ๆ ได้แก่ ไดคลอโรมีเทน เมทานอล เอทิลอะซิเตท และไดคลอโรมีเทนผสมเมทานอลในอัตราส่วนร้อยละ 70 : 30 ในปริมาตรต่าง ๆ กัน ผลการศึกษาที่ได้สามารถเป็นต้นแบบให้กับห้องปฏิบัติการต่าง ๆ ในการสกัดสารคาร์เบนดาซิมตกค้างในพืชผัก และสามารถขยายผลไปยังสารกำจัดศัตรูพืชชนิดอื่นในสินค้าการเกษตรที่นอกเหนือไปจากพืชผัก เพื่อประโยชน์ในการเฝ้าระวัง ควบคุม และป้องกันแก้ไขคุณภาพของสินค้าไทยให้มีความปลอดภัยและมีความสามารถในการแข่งขันในตลาดโลกต่อไป

วิธีดำเนินการวิจัย

การศึกษาใช้ผักกาดหอมที่ปลูกโดยไม่มีการใช้สารกำจัดศัตรูพืชใด ๆ นำมา 100 กรัม บดให้ละเอียดด้วยเครื่องปั่น (Waring, model 800BU) จากนั้นเติมสารละลายคาร์เบนดาซิมมาตรฐาน (ความบริสุทธิ์ร้อยละ 99) (Dr. Ehrenstorfer) ให้มีความเข้มข้นสอดคล้องกับค่า MRL ตามข้อกำหนดของประเทศต่าง ๆ กล่าวคือ เติม 5 ไมโครกรัมต่อกรัม ตาม MRL ของประเทศเกาหลี (the Korean Food and Drug Administration, 2017) และ CODEX (Codex Alimentarius, 2018) เติม 3 ไมโครกรัมต่อกรัม ตาม MRL ของประเทศญี่ปุ่น (the Japan Food Chemical Research Foundation, n.d.) และเพิ่มการเติมคาร์เบนดาซิมมาตรฐาน 1 ไมโครกรัมต่อกรัม เพื่อเป็นแนวทางถึงความสามารถในการสกัดพืชผักที่มีความเข้มข้นต่ำ ๆ ต่อไปในอนาคต แม้ว่าไม่มีข้อกำหนดของ MRL ในความเข้มข้นนี้ก็ตาม หลังจากเติมคาร์เบนดาซิมมาตรฐานนาน 1 ชั่วโมง จึงชั่งน้ำหนักผักกาดหอมในปริมาณ 0.5, 1, 3 และ 5 กรัม นำมาใส่ในโถงบดยาแล้วเติมตัวดูดซับไดอะตอมเมเชียส เอิร์ธ ในปริมาณ 0.5, 1, 2, 4 และ 6 เท่าของปริมาณผักกาดหอมที่ใช้ ในกรณีที่ใช้ผักกาดหอม 5 กรัม ตัวกลางดูดซับนั้นใช้ 0.5, 1, 2 และ 4 เท่า เนื่องจากไม่สามารถหากระบอกฉีดยาขนาดใหญ่มาบรรจุผักกาดหอมและตัวกลางสัดส่วน 5 : 30 กรัม จนหมดได้ รวมทั้งหมด 19 สัดส่วน ๆ ละ 5 ตัวอย่าง จากนั้นตำผักและตัวกลางให้เข้ากันเป็นเวลา 5 นาที ก่อนถ่ายลงกระบอกฉีดยาอัดให้แน่นพอประมาณ ใช้ตัวทำละลายค่อย ๆ เเทลงไปเพื่อไล่สารคาร์เบนดาซิมให้ออกมาโดยใช้ปั๊มสุญญากาศความดันต่ำ ๆ ช่วย ซึ่งตัวทำละลายที่ศึกษาได้แก่ ไดคลอโรมีเทน เมทานอล เอทิลอะซิเตท และไดคลอโรมีเทนผสมเมทานอลในอัตราส่วนร้อยละ 70 : 30

ในช่วงเริ่มต้น มีการศึกษาปริมาตรตัวทำละลายที่เหมาะสมกับจำนวนผักกาดหอม : ตัวดูดซับก่อน ด้วยการเทตัวทำละลายลงไปในกระบอกฉีดยาทีละ 10 มิลลิลิตร เพื่อชะไล่คาร์เบนดาซิมออกมาและนำไประเหยแห้งโดยกระทำ 8 รอบต่อ 1 ตัวอย่าง หรือ 80 มิลลิลิตรต่อตัวอย่าง เพื่อวิเคราะห์ว่าสารคาร์เบนดาซิมถูกไล่ออกมาจากกระบอกฉีดยาหมดหรือยัง จากนั้นจึงยึดปริมาตรที่สามารถชะคาร์เบนดาซิมออกมาได้มากที่สุดมาใช้ในการทดลองที่เหลือต่อไป

การระเหยแห้งใช้เครื่องกลั่นระเหยแบบหมุนภายใต้สุญญากาศ (rotary evaporator) จากนั้นใช้เมทานอลปริมาตร 5 มิลลิลิตร ละลายคาร์เบนดาซิมกลับขึ้นมาใหม่แล้วกรองผ่านแผ่นกรองในลอนขนาดรูพรุน 0.22 ไมครอนนำไปฉีดเข้าเครื่องโครมาโตกราฟเหลวประสิทธิภาพสูงพิเศษ (ultrahigh performance liquid chromatograph: UHPLC) ในปริมาตร 20 ไมโครลิตร ใช้คอลัมน์ C18 ขนาด 250 × 4.6 มิลลิเมตร หัววัด photodiode array detector ความยาวคลื่น 284 นาโนเมตร ตัวนำพาคือ เมทานอล : น้ำกลั่นปราศจากไอออน สัดส่วน 60 : 40 อัตราการไหล 0.45 มิลลิลิตรต่อนาที ในการวิเคราะห์ด้วยเครื่อง UHPLC ทุกครั้งมีการทำกราฟมาตรฐาน (calibration curve) โดยตัวอย่างของพีคคาร์เบนดาซิมมาตรฐานความเข้มข้น 0.15 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร ปรากฏที่เวลา 11.69 นาที แสดงดังภาพที่ 1



ภาพที่ 1 พีคคาร์เบนดาซิมความเข้มข้น 0.15 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร

หลังจากทราบความเข้มข้นของคาร์เบนดาซิมที่อยู่ในตัวอย่างในหน่วยของไมโครกรัมต่อมิลลิลิตรจากการเปรียบเทียบกับกราฟมาตรฐานแล้ว เมื่อคูณด้วยปริมาตรสุดท้ายของเมทานอลที่ใช้ก่อนฉีดเข้าเครื่อง UHPLC (5 มิลลิลิตร) จะได้เป็นสารคาร์เบนดาซิมในหน่วยของไมโครกรัม เมื่อนำปริมาณกรัมของผักที่ใช้ในการสกัดมาหาร จะได้เป็นความเข้มข้นของคาร์เบนดาซิมในตัวอย่างพืชผักที่สกัดได้ (ไมโครกรัมต่อกรัม) จากนั้นจึงคำนวณหาร้อยละการคืนกลับ (% recovery) ดังนี้

$$\text{ร้อยละการคืนกลับ} = \frac{\text{ไมโครกรัมต่อกรัมในตัวอย่างที่สกัดได้}}{\text{ไมโครกรัมต่อกรัมที่เติมในพืชผัก}} \times 100$$

ค่าร้อยละการคืนกลับที่ยอมรับได้ตาม the Association of Analytical Communities (AOAC) สำหรับการเติมสารมาตรฐานความเข้มข้น 100 ไมโครกรัมต่อกิโลกรัม จนถึง 10 มิลลิกรัมต่อกิโลกรัม คือ ร้อยละ 80-110 (AOAC International, 2016) สำหรับขีดจำกัดของการตรวจวัดหรือค่า limit of detection ใช้ค่า 3 เท่าของสัญญาณรบกวน (signal/noise ratio = 3) ซึ่งการเติมคาร์เบนดาซิมมาตรฐาน 0.1 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตรในการศึกษานี้ให้ค่า S/N = 2.97 ส่วน limit of quantitation หรือความเข้มข้นต่ำสุดที่เครื่องมือวิเคราะห์ได้แม่นยำ ใช้ค่า 10 เท่าของสัญญาณรบกวน ซึ่งการเติมคาร์เบนดาซิมมาตรฐาน 0.2 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตรในการศึกษานี้ให้ค่า S/N = 10.08

ผลการวิจัย

1. ปริมาตรของตัวทำละลายที่เหมาะสม

การศึกษานี้ใช้การเติมคาร์เบนดาซิมมาตรฐานในผักกาดหอม 5 ไมโครกรัมต่อกรัม โดยครั้งที่ 1 ใช้สัดส่วนผัก : ตัวดูดซับ 5 : 5 กรัม แล้วใช้ตัวทำละลายเมทานอล 80 มิลลิลิตร เเทربولละ 10 มิลลิลิตร รวมทั้งสิ้น 3 ตัวอย่าง ส่วนครั้งที่ 2 ใช้สัดส่วนผัก : ตัวดูดซับ 3 : 3 กรัม ใช้เมทานอล 50 มิลลิลิตร เเทربولละ 10 มิลลิลิตร อีก 3 ตัวอย่าง ได้ผลดังในตารางที่ 1

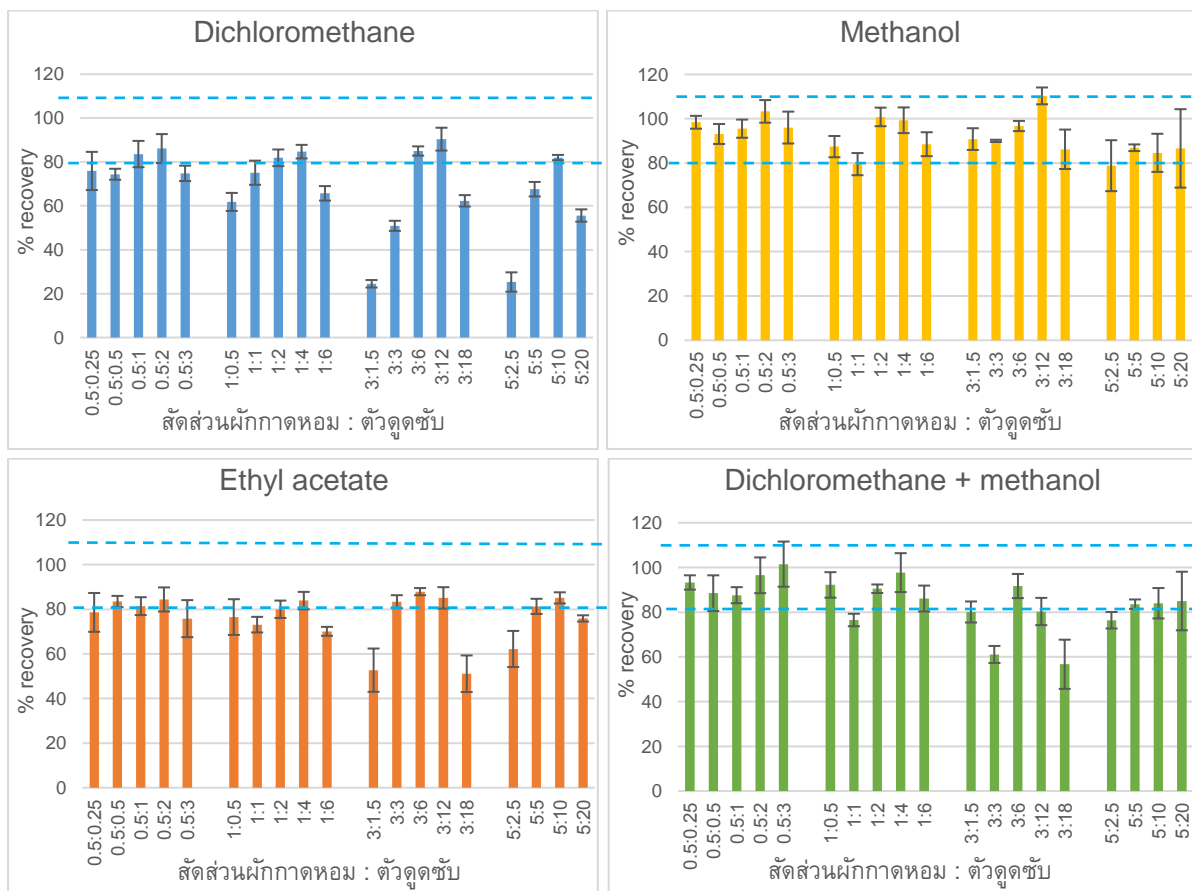
ตารางที่ 1 ร้อยละการคืนกลับคาร์เบนดาซิมจากการใช้เมทานอลชะโล่รอบละ 10 มิลลิลิตร

การชะด้วยเมทานอล		ครั้งที่ 1 (5 : 5 กรัม)			ครั้งที่ 2 (3 : 3 กรัม)		
รอบที่	ปริมาตร	ตัวอย่างที่ 1	ตัวอย่างที่ 2	ตัวอย่างที่ 3	ตัวอย่างที่ 1	ตัวอย่างที่ 2	ตัวอย่างที่ 3
1	10 mL	51.33	35.97	27.31	58.07	60.68	62.58
2	10 mL	16.63	20.65	37.34	28.04	12.73	8.34
3	10 mL	9.41	12.32	6.19	0.30	0	0
4	10 mL	0	1.78	0	0	0	0
5	10 mL	0	0	0	0	0	0
6	10 mL	0	0	0	-	-	-
7	10 mL	0	0	0	-	-	-
8	10 mL	0	0	0	-	-	-
	รวม	77.37	70.72	70.84	81.41	73.41	70.92

จากตารางจะเห็นว่า การใช้เมทานอล 30-40 มิลลิลิตรชะละลายจำนวน 3-4 รอบนั้นเพียงพอต่อการไล่คาร์เบนดาซิมให้หลุดออกมาจากพันธะได้ โดยการชะในรอบที่ 5-8 ในการศึกษาคั้งที่ 1 หรือรอบที่ 4-5 ในการศึกษาคั้งที่ 2 นั้นไม่ปรากฏว่ามีคาร์เบนดาซิมหลุดออกมาอีกต่อไป ในการศึกษานี้จึงเลือกใช้ปริมาตรตัวทำละลาย 40 มิลลิลิตร ซึ่งให้ร้อยละการคืนกลับที่คงที่แล้ว

2. การเติมคาร์เบนดาซิมมาตรฐาน 5 ไมโครกรัมต่อกรัมในผักกาดหอม

จากการใช้ตัวทำละลาย 4 ชนิด ชะละลายคาร์เบนดาซิมความเข้มข้น 5 ไมโครกรัมต่อกรัม ซึ่งเป็นค่า MRL ของประเทศเกาหลี และ Codex ออกมาจากการดูดซับกับไดอะตอมเมเซียส เอิร์ธ รวม 19 สัดส่วน ๗ ละ 5 ตัวอย่าง เมื่อนำค่าเฉลี่ยของร้อยละการคืนกลับพร้อมส่วนเบี่ยงเบนมาตรฐานมาพล็อตในรูปของกราฟแท่ง สามารถแสดงได้ดังภาพที่ 2 โดยแสดงเส้นประที่ร้อยละ 80 และ 110 ตามข้อกำหนดของ AOAC เอาไว้ด้วยเพื่อให้ง่ายต่อการพิจารณา



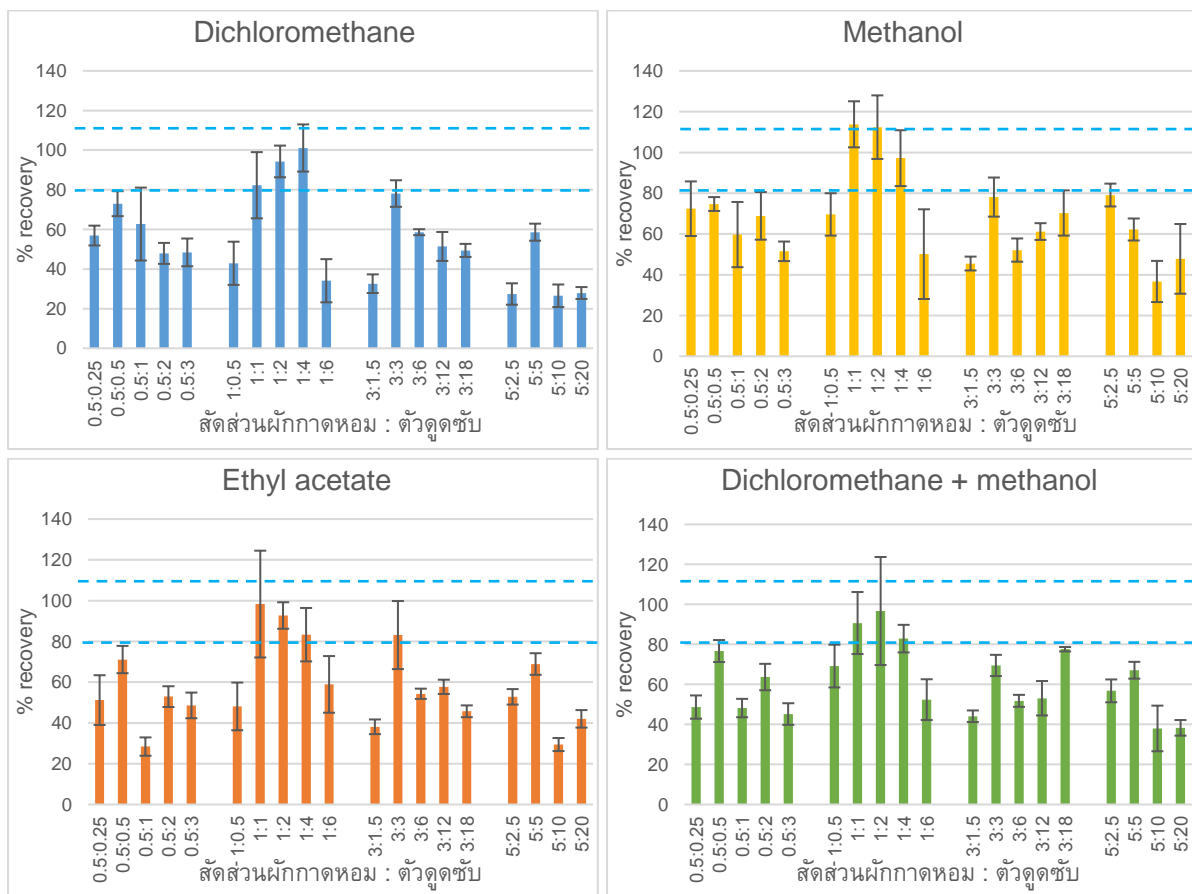
ภาพที่ 2 ประสิทธิภาพการสกัดคาร์เบนดาซิมความเข้มข้น 5 ไมโครกรัมต่อกรัม ออกจากผักกาดหอมด้วยวิธี MSPD

จากรูปพบว่าไดคลอโรมีเทนเป็นตัวทำละลายที่ให้ประสิทธิภาพในเรื่องของร้อยละการคืนกลับต่ำที่สุด โดยเฉพาะอย่างยิ่งเมื่อใช้ผักกาดหอม 3 และ 5 กรัม ขณะที่เมทานอลเป็นตัวทำละลายที่ให้ประสิทธิภาพสูงที่สุดไม่ว่าจะใช้ผักกี่กรัมก็ตาม (ประสิทธิภาพร้อยละ 93-103, 80-101, 86-110 และ 79-87 เมื่อใช้ผัก 0.5, 1, 3 และ 5 กรัม ตามลำดับ) โดยการใช้ผัก 3 กรัม ให้ร้อยละการคืนกลับต่ำที่สุดในทั้ง 3 ตัวทำละลาย คือ ไดคลอโรมีเทน เอทิลอะซิเตท และไดคลอโรมีเทนผสมเมทานอล โดยมีเฉพาะสัดส่วนผัก : ตัวดูดซับ เท่ากับ 3 : 6 กรัม และ 3 : 12 กรัมเท่านั้นที่ให้ร้อยละการคืนกลับ

ได้ตามเป้าหมายในทุกตัวทำละลาย (จำนวนตัวดูดซับเป็น 2 และ 4 เท่าของจำนวนผัก) ส่วนปริมาณผักที่ให้ร้อยละการคืนกลับต่ำรองลงมาคือผัก 5 กรัม ที่ใช้ตัวทำละลายไดคลอโรมีเทนและเอทิลอะซิเตท ขณะที่การใช้ผัก 0.5 กรัม ให้ประสิทธิภาพค่อนข้างสูงในเกือบทุกสัดส่วนและทุกตัวทำละลาย ประสิทธิภาพดีรองลงมาคือการใช้ผัก 1 กรัม ทั้งนี้ในทุกตัวทำละลายพบว่าการใช้จำนวนตัวดูดซับเป็น 2-4 เท่าของจำนวนผักให้ประสิทธิภาพสูงกว่าสัดส่วนอื่น ๆ อย่างชัดเจน ยกเว้นสัดส่วน 5 : 20 ที่ใช้ไดคลอโรมีเทนเท่านั้นที่ประสิทธิภาพต่ำ เนื่องจากมีเนื้อผักรวมกับตัวดูดซับมากเกินไป (รวม 25 กรัม) การชะล้างด้วยตัวทำละลายที่มีความมีขั้ว (polarity) ต่ำจึงไม่มีประสิทธิภาพเท่าที่ควร

3. การเติมคาร์เบนดาซิมมาตรฐาน 3 ไมโครกรัมต่อกรัมในผักกาดหอม

การใช้ตัวทำละลาย 4 ชนิด ชะล้างคาร์เบนดาซิมความเข้มข้น 3 ไมโครกรัมต่อกรัม ซึ่งเป็นค่า MRL ของประเทศ ญี่ปุ่นออกมาจากการดูดซับเมื่อใช้สัดส่วนผัก : ตัวดูดซับต่าง ๆ กัน สัดส่วนละ 5 ตัวอย่าง นำเสนอในรูปแบบของค่าเฉลี่ยพร้อมส่วนเบี่ยงเบนมาตรฐานของร้อยละการคืนกลับ แสดงผลได้ดังภาพที่ 3



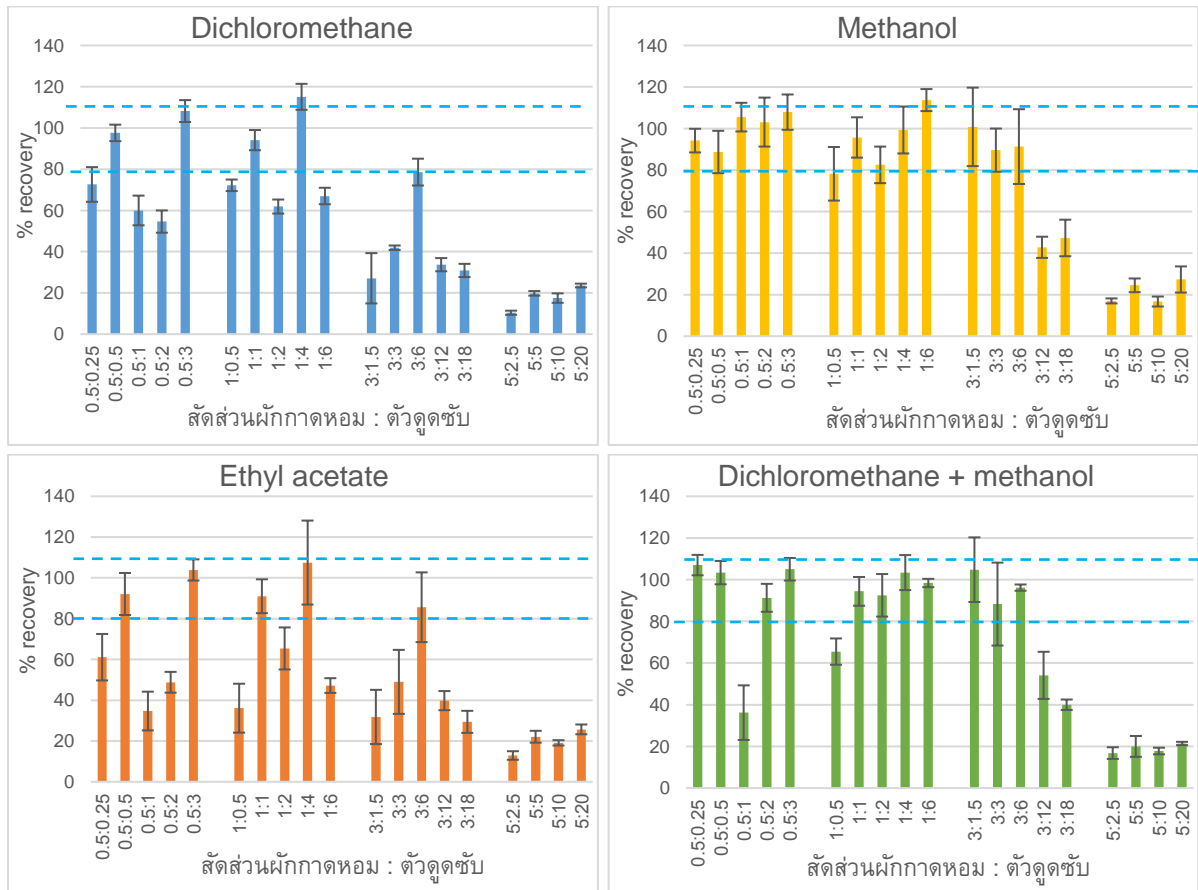
ภาพที่ 3 ประสิทธิภาพการสกัดคาร์เบนดาซิมความเข้มข้น 3 ไมโครกรัมต่อกรัม ออกจากผักกาดหอมด้วยวิธี MSPD

จากภาพที่ 3 พบว่า เมื่อลดความเข้มข้นของสารมาตรฐานคาร์เบนดาซิมที่เติมลงในผักกาดหอม จาก 5 ไมโครกรัมต่อกรัม เหลือ 3 ไมโครกรัมต่อกรัม มีเฉพาะการใช้ปริมาณผัก 1 กรัม ในทุกตัวทำละลายเท่านั้นที่เข้ามามาตรฐานร้อยละการคืนกลับที่ยอมรับได้ ขณะที่การใช้ผัก 0.5, 3 และ 5 กรัม มีค่าเฉลี่ยของร้อยละการคืนกลับที่ต่ำกว่าค่าที่ยอมรับได้ทั้งสิ้น โดยในกลุ่มของผัก 1 กรัม พบว่ามีเพียง 3 สัดส่วนที่เข้าเกณฑ์ ได้แก่ 1 : 1, 1 : 2 และ 1 : 4 กรัม สอดคล้องกันใน

ทุกตัวทำลาย โดยมีค่าการคืนกลับร้อยละ 82-101 จากไดคลอโรมีเทน ร้อยละ 97-112 จากเมทานอล ร้อยละ 83-98 จากเอทิลอะซิเตท และร้อยละ 83-97 จากไดคลอโรมีเทนผสมเมทานอล

4. การเติมคาร์เบนดาซิมมาตรฐาน 1 ไมโครกรัมต่อกรัมในผักกาดหอม

ลำดับต่อไปเป็นการลดความเข้มข้นของสารมาตรฐานคาร์เบนดาซิมที่เติมลงเหลือเพียง 1 ไมโครกรัมต่อกรัม แม้ว่าจะไม่มีค่ามาตรฐาน MRL ของประเทศใดกำหนดไว้ที่ความเข้มข้นนี้ก็ตาม แต่เพื่อตรวจสอบว่าวิธีการ MSPD นี้สามารถวิเคราะห์คาร์เบนดาซิมความเข้มข้นต่ำระดับ 1 ไมโครกรัม/กรัม ได้หรือไม่ จึงทำการศึกษานี้ขึ้น ผลการศึกษาจากการใช้ตัวทำลาย 4 ชนิด แสดงดังภาพที่ 4



ภาพที่ 4 ประสิทธิภาพการสกัดคาร์เบนดาซิมความเข้มข้น 1 ไมโครกรัมต่อกรัม ออกจากผักกาดหอมด้วยวิธี MSPD

จากภาพที่ 4 จะเห็นว่าการใช้ผักกาดหอม 5 กรัม ให้ร้อยละการคืนกลับที่ต่ำสุดไม่ว่าจะใช้ตัวทำลายชนิดใด หรือใช้ตัวดูดซับในปริมาณใด ซึ่งเป็นไปได้ว่าปริมาณพืชผักนั้นมากเกินไปขณะที่ความเข้มข้นของคาร์เบนดาซิมมาตรฐานที่เติมนั้นต่ำมาก เมื่อลดปริมาณพืชผักที่ใช้ลงเหลือ 3 กรัม พบว่ามีเฉพาะตัวทำลายเมทานอลและไดคลอโรมีเทนผสมเมทานอลในอัตราส่วน 70 : 30 ที่ให้ร้อยละการคืนกลับในช่วงที่ยอมรับได้ 3 สัดส่วน คือ 3 : 1.5, 3 : 3 และ 3 : 12 กรัม ขณะที่การใช้ตัวทำลายไดคลอโรมีเทนอย่างเดียวและเอทิลอะซิเตทให้ประสิทธิภาพดีเฉพาะสัดส่วน 3 : 6 กรัม ส่วนการใช้ผักกาดหอม 0.5-1 กรัม พบว่าเฉพาะการใช้เมทานอลเป็นตัวทำลายเท่านั้นที่ให้ร้อยละการคืนกลับในช่วงที่ยอมรับได้ในเกือบทุกสัดส่วน (ร้อยละ 89-108 จากการใช้ผัก 0.5 กรัม ร้อยละ 78-114 จากการใช้ผัก 1 กรัม) ส่วนตัวทำลายอื่น สัดส่วนที่เหมาะสมคือ 0.5 : 0.5, 0.5 : 3, 1 : 1 และ 1 : 4 กรัม แต่เมื่อพิจารณาในทุกความเข้มข้นของสารมาตรฐานคาร์เบนดาซิมที่เติมในผักกาดหอมแล้ว พบว่าการใช้ผักกาดหอม 1 กรัม ให้ร้อยละการคืนกลับในช่วงที่ยอมรับได้ค่อนข้าง

คงที่มากที่สุด โดยเฉพาะอย่างยิ่ง การใช้ผักกาดหอม : ตัวดูดซับ สัดส่วน 1 : 4 เป็นสัดส่วนที่เหมาะสมที่สุดไม่ว่าจะใช้ตัวทำละลายชนิดใด

วิจารณ์ผลการวิจัย

ในการศึกษานี้พบว่าตัวทำละลายเมทานอลให้ประสิทธิภาพในการสกัดคาร์เบนดาซิมสูงสุด เนื่องจากเมทานอลมีขั้ว (polarity) สูงสุดในตัวทำละลายทั้งหมด โดยสามารถเรียงลำดับความมีขั้วจากน้อยไปหามากได้คือ ไดคลอโรมีเทน < เอทิลอะซิเตท < เมทานอล ค่าดัชนีความมีขั้วของตัวทำละลายทั้งสาม (solvent polarity index) คือ 3.1, 4.4 และ 5.1 ตามลำดับ (FINAR, n.d) ดังนั้นการผสมไดคลอโรมีเทนกับเมทานอลในอัตราส่วน 70 : 30 จึงให้ประสิทธิภาพที่ดีกว่าการใช้ไดคลอโรมีเทนเพียงอย่างเดียว แต่ก็ดีกว่าการใช้เมทานอลเพียงอย่างเดียวเช่นกัน โดยคาร์เบนดาซิมเป็นสารมีขั้ว จึงต้องใช้ตัวทำละลายที่มีขั้วในการชะไล (Blasco *et al.*, 2002) เช่นเดียวกับ Viana *et al.* (1996) ที่ระบุว่าเมื่อความมีขั้วของตัวทำละลายลดลง จะส่งผลให้ร้อยละการคืนกลับลดลง แม้ว่าสารกำจัดศัตรูพืชที่สกัดออกมามีความสะอาดมากขึ้นก็ตาม ซึ่งหากสารกำจัดศัตรูพืชมีความมีขั้วต่ำถึงปานกลาง การเจือจางตัวทำละลาย (เช่น เมทานอล) ด้วยน้ำ จะช่วยกำจัดสารปนเปื้อนที่ชอบน้ำ (hydrophilic) ได้ โดยผลของการศึกษานี้สอดคล้องกับ Rubert *et al.* (2011) ที่ศึกษาสารไมโคท็อกซิน 16 ชนิด ทั้งที่มีขั้วและไม่มีขั้วที่ผลิตจากเชื้อราอะพลาท็อกซินและโอคราท็อกซิน เอ ในแป้งธัญพืชสำหรับทำขนมเบเกอรี่ด้วยการเติมสารมาตรฐานความเข้มข้นเท่ากับความเข้มข้นต่ำสุดที่เครื่องมือวิเคราะห์ได้อย่างแม่นยำ (0.25-85.24 นาโนกรัมต่อกรัม-- ขึ้นกับชนิดของท็อกซิน) และความเข้มข้นเป็น 10 เท่าของความเข้มข้นต่ำสุดดังกล่าว ใช้ตัวดูดซับชนิด C₁₈ และใช้ตัวทำละลาย 5 ชนิดในการชะไลไมโคท็อกซิน คือ อะซิโตไนโตรล เมทานอล เอทิลอะซิเตท และไดคลอโรมีเทน ผลการศึกษาพบว่า ไดคลอโรมีเทนสามารถชะไลไมโคท็อกซินออกมาได้เพียง 4 ชนิด โดยท็อกซินที่เหลือมีร้อยละการคืนกลับที่ต่ำมาก ส่วนเอทิลอะซิเตทสามารถชะไลได้ 3 ชนิดแต่มีร้อยละการคืนกลับน้อยกว่าร้อยละ 40 เช่นกัน ขณะที่การผสมอะซิโตไนโตรลกับเมทานอลให้ผลในการชะไลท็อกซินทุกชนิดดีที่สุด โดยเมทานอลช่วยเพิ่มการชะไลท็อกซินชนิดฟูโมนิซินได้อีกร้อยละ 20 นอกจากนี้ยังมีการศึกษาของ Da Silva *et al.* (2010) ที่ศึกษาสารกำจัดศัตรูพืช 6 ชนิดในผักกาดหอม ได้แก่ ไพริมีคาร์พ, เมธิล พาราไรออน, มาลาไรออน, โพรไซมิโดน, α -เอนโดซัลแฟน และ β -เอนโดซัลแฟน ในความเข้มข้น 0.5 ไมโครกรัมต่อกรัม โดยใช้ผักกาดหอม 4 กรัม ตำรวมกับตัวดูดซับซิลิกา 2 กรัม ในขั้นตอนผู้วิจัยใช้ตัวทำละลาย *n*-เฮกเซน : เอทิลอะซิเตท และไดคลอโรมีเทน : เอทิลอะซิเตท ในสัดส่วน 1 : 1, 1 : 4, และ 1 : 9 โดยปริมาตร ผลการศึกษาพบว่า ตัวทำละลายทั้ง 2 ชนิด ในทุกสัดส่วนไม่สามารถสกัดมาลาไรออน, ไพริมีคาร์พ และ โพรไซมิโดนออกมาได้ ส่วนที่สกัดได้คือ เมธิล พาราไรออน และ β -เอนโดซัลแฟน แต่พบร้อยละการคืนกลับที่มากกว่าร้อยละ 132 มีเฉพาะไดคลอโรมีเทน : เอทิลอะซิเตท ในสัดส่วน 1 : 9 เท่านั้นที่ให้ค่าการคืนกลับเมธิล พาราไรออนร้อยละ 90 ส่วนการสกัด α -เอนโดซัลแฟน พบร้อยละการคืนกลับที่ต่ำเกินไป (ร้อยละ 36-64) จากทั้ง 2 ตัวทำละลาย แม้ว่า *n*-เฮกเซน : เอทิลอะซิเตทให้สารสกัดที่สะอาดกว่าก็ตาม ผู้วิจัยจึงเปลี่ยนไปใช้อะซิโตไนโตรล พบว่าสามารถสกัดสารกำจัดศัตรูพืชออกมาได้ทุกชนิด แต่ร้อยละการคืนกลับยังไม่อยู่ในช่วงที่ยอมรับได้ โดยมีทั้งสูงเกินไปและต่ำเกินไป เฉพาะมาลาไรออนเท่านั้นที่ให้ค่าการคืนกลับร้อยละ 96 สุดท้ายผู้วิจัยจึงใช้การผสมถ่านกัมมันต์ 0.1 กรัมลงในกระบอกบรรจุ ร่วมกับแมกนีเซียมซัลเฟตปราศจากน้ำ 1 กรัม โดยอะซิโตไนโตรล 30 มิลลิลิตรสามารถชะไลไพริมีคาร์พ, เมธิล พาราไรออน และ โพรไซมิโดนให้อยู่ในช่วงที่ยอมรับได้ แม้ว่าชนิดที่เหลือยังคงให้ค่าการคืนกลับที่ต่ำหรือสูงกว่าค่าที่ยอมรับได้ก็ตาม ดังนั้นความมีขั้วที่เหมาะสมระหว่างตัวทำละลายและสารตัวอย่างจึงเป็นสิ่งสำคัญในการสกัด

สำหรับสัดส่วนระหว่างผักกาดหอม : ตัวดูดซับที่เหมาะสมที่สุดในการศึกษานี้คือ 1 : 4 กรัม สอดคล้องกับการศึกษาของ Rubert *et al.* (2011) ที่พบว่าสัดส่วนระหว่างแป้งธัญพืชและตัวดูดซับ C_{18} ทั้งหมด 3 สัดส่วนคือ 1 : 1, 1 : 2 และ 1 : 4 กรัมให้ผลแทบไม่แตกต่างกัน โดยการเปรียบเทียบผลของงานวิจัยดังกล่าวกับภาพที่ 3 ที่เดิมคาร์เบนดาซิมมาตรฐาน 3 ไมโครกรัมต่อกรัมในการศึกษานี้ให้ผลที่ชัดเจนที่สุด ขณะที่ Rodrigues *et al.* (2010) ศึกษาสัดส่วนระหว่างหอมหัวใหญ่และตัวดูดซับ C_{18} รวม 4 สัดส่วน โดยใช้หอมหัวใหญ่เพียง 0.5 กรัม คือ 0.5 : 0.5, 0.5 : 1, 0.5 : 1.5 และ 0.5 : 2 กรัม ในการสกัดสารกำจัดศัตรูพืชชนิด ไดเมโทเอต, เมทาแลกซิล-เอ็ม, ทีบูโคนาโซล, อะซ็อกซีสโตรบิน และ ไดฟิโนโคนาโซล ความเข้มข้น 0.01-1 ไมโครกรัมต่อกรัม พบว่าสัดส่วน 0.5 : 1 กรัม ให้อัตราการคืนกลับที่ดีที่สุด (ร้อยละ 78.7-120.4) จากการชะล้างด้วยอะซิโตนไตรล 10 มิลลิลิตร ขณะที่ในการศึกษานี้พบว่าสัดส่วน 0.5 : 1 กรัม ให้ผลดีเฉพาะการเติมคาร์เบนดาซิมมาตรฐาน 5 ไมโครกรัมต่อกรัม และ 1 ไมโครกรัมต่อกรัมที่ใช้เมทานอลเป็นตัวชะล้างเท่านั้น ซึ่งความมีขี้ของตัวดูดซับและความมีขี้ของสารกำจัดศัตรูพืชในแต่ละการศึกษาที่แตกต่างกัน น่าจะเป็นสาเหตุให้สัดส่วนระหว่างตัวอย่างและตัวดูดซับหรือการกระจายของตัวดูดซับในเนื้อสารที่เหมาะสมนั้นต่างกันไปด้วย

ในแง่ของปริมาณตัวทำละลาย Ling & Huang (1995) ใช้ตัวดูดซับ Florisil จำนวน 8 กรัม ใช้พืชผักจำนวน 5 กรัม ได้แก่ West Indian gherkin มะเขือยาว ผักกาดฮ่องเต้ กะหล่ำ และถั่วลันเตา ที่เติมสารกำจัดแมลงในกลุ่มของไพรีทรอยด์ แล้วใช้ตัวทำละลายเอทิลอะซิเตทเปรียบเทียบกับ *n*-เฮกเซน-อะซิโตน ผลปรากฏว่าตัวทำละลาย *n*-เฮกเซน-อะซิโตน ให้ประสิทธิภาพที่ดีกว่าโดยมีการคืนกลับร้อยละ 92 หลังจากเทตัวทำละลายลงไปเพียง 40 มิลลิลิตร และเพิ่มประสิทธิภาพอีกเล็กน้อยจนคงที่เมื่อเพิ่มปริมาตรตัวทำละลายเป็น 60 มิลลิลิตร ซึ่งสอดคล้องกับการศึกษานี้เช่นกัน

ส่วนประสิทธิภาพของการใช้ไดอะตอมเมเชียส เอิร์ธเป็นตัวดูดซับ มีการศึกษาของ Sicbaldi *et al.* (1997) ที่ใช้ไดอะตอมเมเชียส เอิร์ธ ในการสกัดสารกำจัดศัตรูพืชมากกว่า 90 ชนิด ความเข้มข้น 1-2 ไมโครกรัมต่อกรัม เติมน้ำลงในแอปเปิ้ลพร้อม ๆ กัน เช่น แอลดิคาร์บ, คาร์บาริล, คาร์โบฟูแรน, ไดอะซินอน, อีไรออน, มาลาไรออน, โฟเรต ฯลฯ โดยใช้สัดส่วนตัวอย่างแอปเปิ้ล 25 กรัมผสมกับตัวดูดซับ 25 กรัม และใช้เอทิลอะซิเตท 150 มิลลิลิตร เป็นตัวทำละลาย ผลการศึกษาพบการคืนกลับอยู่ในช่วงร้อยละ 75-116 ขณะที่การศึกษาของ Perret *et al.* (2002) ใช้น้ำผลไม้ 1 กรัม เติมน้ำกำจัดศัตรูพืช 10 ชนิด (รวมทั้งคาร์เบนดาซิม) ให้มีความเข้มข้น 2, 5, 10 และ 50 นาโนกรัมต่อกรัม ผสมกับไดอะตอมเมเชียส เอิร์ธ 1 กรัม ในเบื้องต้นใช้ตัวทำละลายเมทานอล อะซิโตนไตรล และเมทิลีนคลอไรด์ในการชะล้าง พบว่าเมทานอลให้ค่าการคืนกลับร้อยละ 89-105 อะซิโตนไตรลให้ค่าการคืนกลับร้อยละ 83-104 และเมทิลีนคลอไรด์ให้ค่าการคืนกลับร้อยละ 60-108 โดยเมทานอลและอะซิโตนไตรลมีข้อเสียคือพบการชะล้างสารอินทรีย์อื่น ๆ ในน้ำผลไม้ ออกมาด้วย ส่วนเมทิลีนคลอไรด์ให้ค่าการคืนกลับที่ต่ำ (ร้อยละ 60) ในการสกัดไธเมโทเอต รวมถึงในขั้นตอนการระเหยแห้ง ตัวทำละลายพบทำให้เกิดพันธะระหว่างเมทิลีนคลอไรด์กับน้ำซึ่งมีความคงตัวสูง ทำให้เป็นอุปสรรคของการระเหยแห้ง ดังนั้นผู้วิจัยจึงเลือกใช้เอทิลอะซิเตทแทนโดยให้ค่าการคืนกลับร้อยละ 75-102 นอกจากนี้ ยังมีการศึกษาของ Radišić *et al.* (2009) สกัดสารกำจัดศัตรูพืช 12 ชนิด (รวมคาร์เบนดาซิม) ที่เติมน้ำในแอปเปิ้ล น้ำลูกพีช น้ำส้ม และน้ำราสเบอรี่ ความเข้มข้น 10-500 นาโนกรัมต่อมิลลิลิตร ใช้น้ำผลไม้ 1 มิลลิลิตร ตำรวมกับไดอะตอมเมเชียส เอิร์ธ 1 กรัม ใช้ตัวทำละลายไดคลอโรมีเทน 10 มิลลิลิตรเป็นตัวชะล้าง ผู้วิจัยระบุว่าการใช้เอทิลอะซิเตทเป็นตัวทำละลายให้ผลไม่เป็นที่น่าพอใจ ขณะที่การใช้เมทานอลพบว่าสารสกัดที่ได้ไม่ใสและไม่สะอาดพอซึ่งต้องการขั้นตอนการสร้างความสะดวก (clean-up step) เพิ่มเติม ผู้วิจัยจึงเลือกใช้ไดคลอโรมีเทนแทน และความเป็นกรดต่างที่เหมาะสมในการสกัดคาร์เบนดาซิมคือ พีเอช 6 ผลการศึกษาพบว่าค่าการคืนกลับเฉลี่ยจากสารกำจัดศัตรูพืชทุกชนิดอยู่ในช่วงร้อยละ 71-118 แต่ถ้าพิจารณาเฉพาะคาร์เบนดาซิม พบค่าการคืนกลับร้อยละ 80-113

นอกจากนี้ ยังมีการวิเคราะห์คาร์เบนดาซิมในเมล็ดธัญพืช โดย Michel & Buszewski (2003) ใช้ตัวดูดซับซิลิกา เจลผสมกับกรดไฮโดรคลอริกในสัดส่วนเมล็ดธัญพืช 5 กรัม ต่อตัวดูดซับ 10 กรัม เติมน้ำมาตามมาตรฐานคาร์เบนดาซิมในเมล็ดธัญพืชความเข้มข้น 0.04-0.1 ไมโครกรัมต่อกรัม ตัวทำละลายคือ เมทานอลผสมไดคลอโรมีเทน (1:5 โดยปริมาตร) 120 มิลลิลิตร พบค่าการคืนกลับร้อยละ 84-91 ส่วนการศึกษาของ Blasco *et al.* (2002) ใช้ผลส้มที่ปั่นละเอียดแล้ว 0.5 กรัม เติมน้ำมาตามมาตรฐานคาร์เบนดาซิม 0.008-1 ไมโครกรัมต่อกรัม ตัวกลางดูดซับคือ C_8 จำนวน 0.5 กรัม ตัวทำละลายคือ ไดคลอโรมีเทน 10 มิลลิลิตร พบค่าการคืนกลับร้อยละ 47-53

ในแง่ของความเข้มข้นของสารกำจัดศัตรูพืชมาตรฐานที่เติมลงไปในตัวอย่าง Radišić *et al.* (2009) รายงานว่า ความเข้มข้น 10, 50, 100, 250 และ 500 นาโนกรัม/มิลลิลิตร ที่เติมในน้ำผลไม้ 1 มิลลิลิตรนั้น สร้างความแตกต่างในรูปของส่วนเบี่ยงเบนมาตรฐานสัมพัทธ์ร้อยละ 5-15 ซึ่งผู้วิจัยถือว่าไม่มีนัยสำคัญในงานดังกล่าว โดยในงานวิจัยนี้หากใช้สัดส่วนผักกาดหอม : ตัวดูดซับ 1 : 4 เปรียบเทียบระหว่างการเติมคาร์เบนดาซิมมาตรฐาน 5, 3 และ 1 ไมโครกรัมต่อกรัม ใช้ตัวทำละลายคือเมทานอล พบว่าค่าการคืนกลับคือ ร้อยละ 99.3, 97.2 และ 99.3 ตามลำดับ ซึ่งถือว่าใกล้เคียงกันมาก โดยการเติมน้ำมาตามมาตรฐานความเข้มข้นที่ต่ำลงไม่ได้หมายความว่าร้อยละการคืนกลับจะลดลงเสมอไป เช่น งานวิจัยของ Silva *et al.* (2008) เติมน้ำมาตามมาตรฐาน 0.25, 0.5 และ 1 ไมโครกรัมต่อกรัม ในเนื้อมะพร้าว 0.5 กรัม ตำรวมกับ C_{18} 1 กรัม พบว่าค่าการคืนกลับจากการชะล้างด้วยอะซิโตนไตรอิลผสม n-เฮกเซน คือ ร้อยละ 79.7, 71 และ 70.1 ตามลำดับ และค่าการคืนกลับของไตรคลอโรฟอนจากงานวิจัยเดียวกัน คือ ร้อยละ 87.7, 81.1 และ 70.2 จากการเติมน้ำมาตามมาตรฐานความเข้มข้นเรียงตามลำดับเดียวกัน หรืองานวิจัยของ Rubert *et al.* (2011) ที่ศึกษาสารไมโคท็อกซิน 16 ชนิดในแป้งเบเกอรี่ พบว่าการเติมน้ำมาตามมาตรฐาน AFG₁ 0.25 และ 2.5 นาโนกรัมต่อกรัม พบค่าการคืนกลับร้อยละ 80.3 และ 75.4 ตามลำดับ

อย่างไรก็ตาม การเปรียบเทียบผลการศึกษานี้กับงานวิจัยอื่นกระทำยาก เนื่องจากสารกำจัดศัตรูพืชแต่ละชนิดมีความจำเพาะในการเกิดพันธะกับตัวดูดซับแต่ละชนิดไม่เท่ากัน รวมถึงตัวทำละลายแต่ละชนิดก็มีความสามารถไปแย่งจับกับตัวดูดซับและไล่ให้สารกำจัดศัตรูพืชหลุดออกมาในอัตราที่แตกต่างกันขึ้นอยู่กับค่าความมีขั้วดังที่ยกตัวอย่างมาแล้ว พืชผักหรือลักษณะสมบัติของพืชผักแต่ละชนิด และปริมาณของตัวทำละลายที่ใช้ ล้วนแต่มีผลต่อประสิทธิภาพของการสกัดด้วยกันทั้งสิ้น (Ling & Huang, 1995) การนำวิธี MSPD ไปประยุกต์ใช้จึงควรต้องมีการทดสอบสภาวะที่เหมาะสมกับชนิดสารกำจัดศัตรูพืชที่ใช้ด้วย โดยข้อดีของวิธี MSPD อยู่ที่สามารสกัดสารกำจัดศัตรูพืชความเข้มข้นต่ำในระดับนาโนกรัมต่อกรัมได้ รวมถึงใช้ตัวอย่าง ตัวดูดซับ และตัวทำละลายในปริมาณที่น้อยมาก จึงช่วยประหยัดค่าใช้จ่าย เวลา และลดปริมาณของเสียที่เกิดขึ้น น่าจะเป็นวิธีที่เหมาะสมในการนำไปใช้ในห้องปฏิบัติการวิเคราะห์สารกำจัดศัตรูพืชต่อไป

สรุปผลการวิจัย

การสกัดคาร์เบนดาซิมด้วยวิธี MSPD ในการศึกษาครั้งนี้ พบว่าปริมาณผักกาดหอม : ตัวดูดซับไดอะตอมเมเชียส เอิร์ธ ที่เหมาะสมที่สุดจากการเติมคาร์เบนดาซิมมาตรฐาน 1-5 ไมโครกรัมต่อกรัม คือ สัดส่วน 1 : 4 กรัม สามารถให้ค่าการคืนกลับร้อยละ 97-99 จากการใช้เมทานอลเป็นตัวชะล้าง ซึ่งอยู่ในช่วงของร้อยละ 80-110 ตามมาตรฐาน the Association of Analytical Communities โดยปริมาตรของตัวทำละลายที่เหมาะสมในการชะล้างคาร์เบนดาซิมให้หลุดออกจากพันธะกับตัวดูดซับคือ 40 มิลลิลิตร และชนิดของตัวทำละลายที่สามารถชะล้างคาร์เบนดาซิมได้ดีที่สุด เรียงจากมากไปน้อย คือ เมทานอล > ไดคลอโรมีเทนผสมเมทานอล > เอทิลอะซิเตท > ไดคลอโรมีเทน โดยเมทานอลเป็นตัวทำละลายที่ดีที่สุด

ในทุกความเข้มข้นของสารมาตรฐานคาร์เบนดาซิมที่เติมลงไป วิธี MSPD มีขั้นตอนที่ไม่ยุ่งยากซับซ้อน ใช้ตัวอย่างและสารเคมีในปริมาณที่น้อย จึงมีค่าใช้จ่ายต่ำ มีของเสียที่ต้องกำจัดน้อย สามารถนำไปประยุกต์ใช้ในการควบคุมและเฝ้าระวังคุณภาพของสินค้าเกษตรของประเทศไทยต่อไปได้

กิตติกรรมประกาศ

การศึกษานี้ได้รับทุนสนับสนุนจากกองทุนวิจัยมหาวิทยาลัยธรรมศาสตร์ตามสัญญาเลขที่ ทป 2/7/2558 การวิเคราะห์ด้วยเครื่อง UHPLC ได้รับการสนับสนุนจากศูนย์เครื่องมือวิทยาศาสตร์ คณะวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยี มหาวิทยาลัยธรรมศาสตร์ การศึกษาในห้องปฏิบัติการได้รับความช่วยเหลือจากนางสาวชนิดตรา งามศักดิ์ประเสริฐ นางสาวสิริพัชร โภโยโกโดยสวรรค นายอรรถบุรณ วิฑูวิทยา นายวุฒินันท์ แสงพิทักษ์ และนางสาวณัฐชยา มีสม ผักกาดหอมปลอดสารพิษได้รับความอนุเคราะห์โดยไม่คิดมูลค่าจากคุณวรวิทย์ เสวีวัฒน์ (พนัสไฮโดรโปรดักส์)

เอกสารอ้างอิง

- AOAC International. (2016). *Guidelines for Standard Method Performance Requirements (Appendix F)*. Retrieved October 29, 2018, from http://www.eoma.aoac.org/app_f.pdf.
- Blasco, C., Font, G., & Picó, Y. (2002). Comparison of microextraction procedures to determine pesticides in oranges by liquid chromatography-mass spectrometry. *Journal of Chromatography A*, 970, 201-212.
- Chemtrack. (2008). *EU found contaminants in Thai food*. Retrieved October 29, 2018, from <http://www.chemtrack.org/News-Detail.asp?TID=7&ID=43>. (in Thai)
- Chemtrack. (n.d.). *Carbendazim*. Retrieved October 29, 2018, from <http://www.chemtrack.org/Chem-Detail.asp?ID=07513>. (in Thai)
- Codex Alimentarius. (2018). *Pesticides Database Search*. Retrieved October 29, 2018, from http://www.fao.org/fao-who-codexalimentarius/codex-texts/dbs/pestres/pesticide-detail/en/?p_id=72.
- Da Silva, R. L., Da Silva, C. P., & Navickiene, S. (2010). Multiresidue determination of carbamate, organochlorine, organophosphorus, and dicarboximide pesticides in lettuce by GC/MS. *Journal of Environmental Science and Health Part B*, 45, 589-594.
- FINAR. (n.d.). *HPLC Solvent Properties*. Retrieved October 29, 2018, from http://www.finarchemicals.com/pdf/hplc_solvent_properties_solvent_miscibility_table.pdf.
- Ling, Y-C & Huang, I-P. (1995). Multi-residue matrix solid-phase dispersion method for the determination of six synthetic pyrethroids in vegetables followed by gas chromatography with electron capture detection. *Journal of Chromatography A*, 695, 75-82.
- MGR ONLINE. (2014). *Supermarket customers are terrified by the residues in vegetable and fruits*. Retrieved October 29, 2018, from <https://mgronline.com/infographic/detail/9570000095873>. (in Thai)
- Michel, M. & Buszewski, B. (2003). Isolation and determination of carbendazim residue from wheat grain by matrix solid-phase dispersion and HPLC. *Journal of Separation Science*, 26, 1269-1272.

- Narkjuetong, P., Jaisue, S., Ngamsakpasert, C., & Chuaybamroong, P. (2011). Carbendazim residue in agricultural products and its removal using photocatalysis. *KKU Research Journal*, 16(5), 454-467. (in Thai)
- National Bureau of Agricultural Commodity and Food Standards. (2015). *Maximum Residue Limit; MRL*. Retrieved October 29, 2018, from http://www.acfs.go.th/showMRL.php?Product=0&Residue=4&out_style=by+Commodity. (in Thai)
- Perret, D., Gentili, A., Marchese, S., Sergi, M., & D'Ascenzo, G. (2002). Validation of a method for the determination of multiclass pesticide residues in fruit juices by liquid chromatograph/tandem mass spectrometry after extraction by matrix solid-phase dispersion. *Journal of AOAC International*, 85 (3), 724-730.
- Prasopsuk, J., Saisuphan, P., & Srisawangwong, W. (2014). Analysis of pesticide residues in vegetables and fruits for the certification of Good Agricultural Practice in upper Northeast Thailand. *Khon Kaen Agricultural Journal*, 42 (Suppl 2), 430-439. (in Thai)
- Radišić, M., Grujić, S., Vasiljević, T., & Laušević, M. (2009). Determination of selected pesticides in fruit juices by matrix solid-phase dispersion and liquid chromatography-tandem mass spectrometry. *Food Chemistry*, 113, 712-719.
- Rodrigues, S. A., Caldas, S. S., & Primel, E. G. (2010). A simple; efficient and environmentally friendly method for the extraction of pesticides from onion by matrix solid-phase dispersion with liquid chromatography-tandem mass spectrometric detection. *Analytica Chimica Acta*, 678, 82-89.
- Rubert, J., Soler, C., & Mañes, J. (2011). Evaluation of matrix solid-phase dispersion (MSPD) extraction for multi-mycotoxin determination in different flours using LC-MS/MS. *Talanta*, 85, 206-215.
- Sicbaldi, F., Sarra, A., & Copeta, G.L. (1997). Diatomaceous earth-assisted extraction for the multiresidue determination of pesticides. *Journal of Chromatography A*, 765, 23-30.
- Silva, M. G. D., Aquino, A., Dórea, H. S., & Navickiene, S. (2008). Simultaneous determination of eight pesticide residues in coconut using MSPD and GC/MS. *Talanta*, 76, 680-684.
- Thai-PAN. (2014). *Issue on the news of pesticide residues in vegetable and fruit samples*. Retrieved October 29, 2018, from <https://thaipan.org/data/604> (in Thai)
- the Japan Food Chemical Research Foundation. (n.d.). *Table of MRLs for Agricultural Chemicals: Carbendazim, Thiophanate, Thiophanate-Methyl and Benomyl*. Retrieved October 29, 2018, from http://db.ffcr.or.jp/front/pesticide_detail?id=16900.
- the Korean Food and Drug Administration. (2017). *Pesticide MRLs in Food*. Retrieved October 29, 2018, from http://www.mfds.go.kr/eng/brd/m_15/view.do?seq=72123.
- Viana, E., Moltó, J.C., & Font, G. (1996). Optimization of a matrix solid-phase dispersion method for the analysis of pesticide residues in vegetables. *Journal of Chromatography A*, 754, 437-444.