

วิธีที่รวดเร็วสำหรับการวิเคราะห์ปริมาณสารกำจัดศัตรูพืชกลุ่มออร์กาโนคลอรีนในตัวอย่างน้ำ
โดยเทคนิคมลิตคาฟิลลารีคอลัมน์แก๊สโครมาโทกราฟี

ปริญญาานิพนธ์
ของ
ปุลพร เหว่าสำเนียง

เสนอต่อบัณฑิตวิทยาลัย มหาวิทยาลัยศรีนครินทรวิโรฒ เพื่อเป็นส่วนหนึ่งของการศึกษา
ตามหลักสูตรปริญญาวิทยาศาสตรมหาบัณฑิต สาขาวิชาเคมีชีวภาพ
พฤษภาคม 2548
ลิขสิทธิ์เป็นของมหาวิทยาลัยศรีนครินทรวิโรฒ

632.๙5

๗๖๗๗

๙.3

วิธีที่รวดเร็วสำหรับการวิเคราะห์ปริมาณสารกำจัดศัตรูพืชกลุ่มออร์กาโนคลอรีนในตัวอย่างน้ำ
โดยเทคนิคมลติคาพิลลารีคอลัมน์แก๊สโครมาโทกราฟี

๒๓ ส.ค. 2548

บทคัดย่อ
ของ
ปุลพร เหว้าสำเนียง

เสนอต่อบัณฑิตวิทยาลัย มหาวิทยาลัยศรีนครินทรวิโรฒ เพื่อเป็นส่วนหนึ่งของการศึกษา
ตามหลักสูตรปริญญาวิทยาศาสตรมหาบัณฑิต สาขาวิชาเคมีชีวภาพ
พฤษภาคม 2548

h ๒๖๖๖๕๕

ปลุพร เหว้าสำเนียง. (2548). *วิธีที่รวดเร็วสำหรับการวิเคราะห์ปริมาณสารกำจัดศัตรูพืชกลุ่มออร์กาโน-คลอรีนในตัวอย่างน้ำโดยเทคนิคมลติคาพิลลารีคอลัมน์แก๊สโครมาโทกราฟี*. ปรินญานิพนธ์ วท.ม. (เคมีชีวภาพ). กรุงเทพฯ: บัณฑิตวิทยาลัย มหาวิทยาลัยศรีนครินทรวิโรฒ. คณะกรรมการควบคุม: ดร.ธีรยุทธ ลีพรเจริญวงศ์, อาจารย์นิรันดร์ พงษ์พันธุ์.

งานวิจัยนี้ได้พัฒนาวิธีการที่รวดเร็วสำหรับการวิเคราะห์ปริมาณสารกำจัดศัตรูพืชกลุ่มออร์กาโนคลอรีน 5 ชนิด ได้แก่ ลินเดน อัลดริน ดีลดริน เบต้า-เอนโดซัลเฟน และพารา-พารา ดีดีที ในตัวอย่างน้ำ โดยใช้เทคนิคแก๊สโครมาโทกราฟีด้วยตัวตรวจวัดแบบอิเล็กตรอนแคปเจอร์ ซึ่งได้ทำการทดลองเปรียบเทียบประสิทธิภาพและความรวดเร็วในการวิเคราะห์ระหว่างคอลัมน์ 2 ชนิด คือ คาพิลลารีคอลัมน์แบบธรรมดาและมลติคาพิลลารีคอลัมน์ โดยใช้เพนตะคลอโรไนโตรเบนซีนเป็นสารมาตรฐานภายใน พบว่าสภาวะการทดลองที่เหมาะสมในการใช้คาพิลลารีคอลัมน์แบบธรรมดา คือ ใช้อุณหภูมิของคอลัมน์แบบตั้งโปรแกรมอุณหภูมิโดยเริ่มต้นที่ 165 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 17 นาที จากนั้นเพิ่มอุณหภูมิด้วยอัตรา 120 องศาเซลเซียสต่อนาที เป็น 250 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 8 นาที และมีอัตราการไหลของแก๊สพา 1.0 มิลลิลิตรต่อนาที ซึ่งใช้ระยะเวลาในการแยกสารนาน 24 นาที โดยเปรียบเทียบการเตรียมตัวอย่างด้วยการสกัด 3 แบบคือ การสกัดด้วยตัวทำละลายแบบหลายขั้นตอน การสกัดด้วยตัวทำละลายแบบขั้นตอนเดียว และการสกัดด้วยวัฏภาคของแข็ง พบว่าให้ผลการทดลองที่ดีใกล้เคียงกัน โดยมีค่าร้อยละการกลับคืนอยู่ในช่วง 97.31 ± 0.92 ถึง 106.41 ± 6.01 , 94.83 ± 2.40 ถึง 102.79 ± 3.02 และ 97.16 ± 2.37 ถึง 104.32 ± 1.88 ค่าเบี่ยงเบนมาตรฐานสัมพัทธ์มีค่าระหว่าง 1.04 - 3.61, 1.10 - 4.61 และ 3.38 - 4.03% ค่าสัมประสิทธิ์สหสัมพันธ์ในช่วง 0.9993 - 0.9999, 0.9923 - 0.9991 และ 0.9968 - 0.9999 และค่าความเข้มข้นต่ำสุดที่สามารถตรวจวัดสัญญาณได้อยู่ในช่วง 0.020 - 0.237, 0.048 - 0.162 และ 0.016 - 0.297 มิลลิกรัมต่อลิตร สำหรับการสกัดทั้ง 3 แบบตามลำดับ และพบว่าเทคนิคการเตรียมตัวอย่างโดยการสกัดด้วยตัวทำละลายแบบขั้นตอนเดียว มีความสะดวก รวดเร็ว ประหยัดตัวทำละลาย และให้ผลการวิเคราะห์ที่ดีใกล้เคียงกับเทคนิคการสกัดแบบอื่นๆ ดังนั้นจึงนำมาพัฒนาใช้ร่วมกับมลติคาพิลลารีคอลัมน์ ซึ่งเป็นคอลัมน์ชนิดใหม่ที่มีประสิทธิภาพและความรวดเร็วในการวิเคราะห์สูง พบว่าสามารถแยกสารกลุ่มดังกล่าวได้ดียกเว้นลินเดน โดยใช้อุณหภูมิแบบเท่ากันตลอดการวิเคราะห์ที่ 190 องศาเซลเซียส และมีอัตราการไหลของแก๊สพา 60 มิลลิลิตรต่อนาที ซึ่งใช้ระยะเวลาในการแยกสารเพียง 4 นาที โดยมีร้อยละการกลับคืนและค่าเบี่ยงเบนมาตรฐานสัมพัทธ์ที่ดีในช่วง 95.05 ± 5.89 ถึง 102.46 ± 4.48 และ 2.16 - 6.73% ตามลำดับ ค่าสัมประสิทธิ์สหสัมพันธ์อยู่ในช่วง 0.9968 - 0.9995 และมีค่าความเข้มข้นต่ำสุดที่สามารถตรวจวัดสัญญาณได้อยู่ในช่วง 0.106 - 0.153 มิลลิกรัมต่อลิตร

A RAPID METHOD FOR DETERMINATION OF ORGANOCHLORINE PESTICIDES IN WATER
SAMPLES BY MULTICAPILLARY COLUMN GAS CHROMATOGRAPHY

AN ABSTRACT
BY
PUNLAPORN WOASAMNEANG

Presented in partial fulfillment of the requirements
for the Master of Science degree in Biological Chemistry
at Srinakharinwirot University
May 2005

Punlaporn Woasamneang. (2005). *A Rapid Method for Determination of Organochlorine Pesticides in Water Samples by Multicapillary Column Gas Chromatography*. Master thesis, M.Sc. (Biological Chemistry). Bangkok: Graduate School, Srinakharinwirot University. Advisor Committee: Dr. Teerayuth Liwporcharoenvong, Mrs. Nirand Pongpun.

A rapid analytical method for determination of 5 organochlorine pesticides (OCPs); lindane, aldrin, dieldrin, β -endosulfan and *p,p'*-DDT in water samples has been developed employing gas chromatography with electron capture detection (GC-ECD). The efficiency and speed of analysis were investigated using a conventional HP-5 capillary column and a multicapillary column. Pentachloronitrobenzene was used as an internal standard. The optimum conditions for conventional capillary column were initial column temperature 165°C (held for 17 min) increased at 120°C/min to 250°C (held for 8 min) with carrier gas flow rate of 1.0 mL/min. The chromatographic analysis time was 24 minutes. The extraction techniques; liquid liquid extraction (LLE), single step extraction (SSE) and solid phase extraction (SPE) were evaluated. The results obtained from these extraction methods were comparable which percent recoveries were in the range of 97.31 ± 0.92 to 106.41 ± 6.01 , 94.83 ± 2.40 to 102.79 ± 3.02 and 97.16 ± 2.37 to 104.32 ± 1.88 and relative standard deviations (RSD) were between 1.04 – 3.61, 1.10 – 4.61 and 3.38 – 4.03% while correlation coefficients were 0.9993 – 0.9999, 0.9923 – 0.9991 and 0.9968 – 0.9999 and limit of detection (LOD) were found to be 0.020 – 0.237, 0.048 – 0.162 and 0.016 – 0.297 mg/L, respectively. In this work, SSE was used as the sample preparation technique for the analysis utilizing high efficiency and high speed multicapillary column according to the advantages of simple extraction method, short extraction time and less consumable of solvent. The 4 OCPs except lindane and pentachloronitrobenzene were well separated within 4 minutes with isothermal condition at 190°C and carrier gas flow rate of 60 mL/min. The developed method has shown good recoveries in the range of 95.05 ± 5.89 to $102.46 \pm 4.48\%$ and precision of 2.16 to 6.73% RSD with the correlation coefficients of 0.9968 – 0.9995 and LOD was between 0.106 – 0.153 mg/L.

ปริญญานิพนธ์

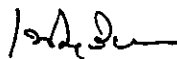
เรื่อง

วิธีที่รวดเร็วสำหรับการวิเคราะห์ปริมาณสารกำจัดศัตรูพืชกลุ่มออร์กาโนคลอรีนในตัวอย่างน้ำ
โดยเทคนิคมัลติคาพิลลารีคอลัมน์แก๊สโครมาโทกราฟี

ของ

ปุลพร เหว่าสำเนียง

ได้รับอนุมัติจากบัณฑิตวิทยาลัยให้เป็นส่วนหนึ่งของการศึกษาตามหลักสูตร
ปริญญาวิทยาศาสตรมหาบัณฑิต สาขาวิชาเคมีชีวภาพ
ของมหาวิทยาลัยศรีนครินทรวิโรฒ

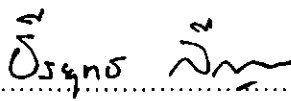


..... คณบดีบัณฑิตวิทยาลัย

(ผู้ช่วยศาสตราจารย์ ดร.เพ็ญศิริ จีระเดชากุล)

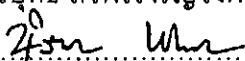
วันที่ 14 เดือนพฤษภาคม พ.ศ. 2548

คณะกรรมการสอบปริญญานิพนธ์



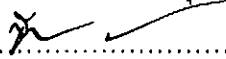
..... ประธาน

(ดร.ธีรยุทธ ลีพรเจริญวงศ์)



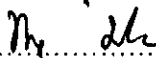
..... กรรมการ

(อาจารย์นิรันดร์ พงษ์พันธุ์)



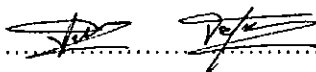
..... กรรมการที่แต่งตั้งเพิ่มเติม

(รองศาสตราจารย์ ดร.สุภาลักษณ์ ปรัชญาสิทธิกุล)



..... กรรมการที่แต่งตั้งเพิ่มเติม

(รองศาสตราจารย์ ดร.พรพิมล ม่วงไทย)



..... กรรมการที่แต่งตั้งเพิ่มเติม

(ดร.ปรินทร์ ชัยวิสุทธิราษฎร์)

ประกาศคุณูปการ

ปริญญานิพนธ์ฉบับนี้สำเร็จสมบูรณ์ได้ด้วยดี เนื่องจากได้รับคำแนะนำ ความช่วยเหลือ และความอนุเคราะห์ในด้านต่างๆเป็นอย่างดีตลอดการวิจัยจากคณาจารย์หลายท่าน ผู้วิจัยขอกราบขอบพระคุณ ดร.ธีรยุทธ ลีพรเจริญวงศ์ ประธานกรรมการควบคุมปริญญานิพนธ์ และอาจารย์นิรันดร์ พงษ์พันธุ์ กรรมการควบคุมปริญญานิพนธ์ ที่กรุณาให้คำปรึกษา คำแนะนำ ตลอดจนการแก้ไขปัญหาและข้อบกพร่องต่างๆอันเกิดขึ้นในงานวิจัยและการเขียนปริญญานิพนธ์

ขอกราบขอบพระคุณรองศาสตราจารย์ ดร.สุภาลักษณ์ ปรัชญาสิทธิกุล รองศาสตราจารย์ ดร.พรพิมล ม่วงไทย และดร.ปรินทร์ ชัยวิสุทธิธำรง ในการเป็นกรรมการสอบปากเปล่าปริญญานิพนธ์ ตลอดจนการให้คำแนะนำต่างๆเพื่อให้ปริญญานิพนธ์ฉบับนี้สมบูรณ์ยิ่งขึ้น และขอขอบพระคุณคณาจารย์ภาควิชาเคมีทุกท่าน ที่ได้ประสิทธิ์ประสาทวิชาความรู้ ให้ความเมตตาและเอาใจใส่แก่ผู้วิจัย

ขอขอบพระคุณคุณไพบุลย์ จันทะวงษา นักวิทยาศาสตร์อาวุโส บริษัทบีเจที วอเตอร์ จำกัด ที่ให้ความช่วยเหลือ คำแนะนำ และเป็นกำลังใจแก่ผู้วิจัยและขอขอบคุณคุณพยนต์ศักดิ์ ตั้งหลักมงคล เจ้าหน้าที่จากบริษัทบรูเกอร์ ไบโอสปิน เอเชีย ที่ให้ความอนุเคราะห์และแนะนำเกี่ยวกับเครื่องมือที่ใช้ในการทำวิจัย ตลอดจนเจ้าหน้าที่ห้องปฏิบัติการภาควิชาเคมี เพื่อน พี่ น้องๆ และนิสิตปริญญาโททุกท่านที่ได้ให้คำแนะนำ ช่วยเหลือ อำนวยความสะดวกและให้กำลังใจแก่ผู้วิจัยตลอดการศึกษาและการทำวิจัย ผู้วิจัยรู้สึกซาบซึ้งในความกรุณาและขอขอบพระคุณทุกท่านไว้ ณ โอกาสนี้

ผู้วิจัยขอน้อมรำลึกถึงพระคุณบิดา มารดา ที่ได้อบรมเลี้ยงดู ให้โอกาสทางการศึกษาที่ดี ให้กำลังใจและการสนับสนุนด้านการวิจัยแก่ผู้วิจัยด้วยดีตลอดมา และขอขอบพระคุณทุกท่านที่มีได้กล่าวนาม ณ ที่นี้ ที่มีส่วนช่วยให้การวิจัยครั้งนี้สำเร็จลุล่วงด้วยดี

ปุลพร เหว่าสำเนียง

งานวิจัยนี้ได้รับทุนอุดหนุนการวิจัย

จาก

บัณฑิตวิทยาลัย มหาวิทยาลัยศรีนครินทรวิโรฒ

สารบัญ

บทที่	หน้า
1 บทนำ.....	1
ภูมิหลัง.....	1
ความมุ่งหมายของการวิจัย.....	5
ความสำคัญของการวิจัย.....	5
ขอบเขตของการวิจัย.....	5
นิยามศัพท์เฉพาะ.....	6
2 เอกสารและงานวิจัยที่เกี่ยวข้อง.....	8
สารกำจัดศัตรูพืชกลุ่มออร์กาโนคลอรีน.....	8
เทคนิคการเตรียมสารตัวอย่างสำหรับการวิเคราะห์สารกำจัดศัตรูพืช	
กลุ่มออร์กาโนคลอรีน.....	12
แก๊สโครมาโทกราฟี.....	13
การพัฒนาเทคนิคแก๊สโครมาโทกราฟีที่มีความเร็วและงานวิจัยที่เกี่ยวข้อง.....	18
การวิเคราะห์ชนิดและปริมาณสารกำจัดศัตรูพืชกลุ่มออร์กาโนคลอรีนในน้ำ	
โดยใช้เทคนิคแก๊สโครมาโทกราฟีและงานวิจัยที่เกี่ยวข้อง.....	22
3 วิธีการดำเนินการวิจัย.....	26
เครื่องมือ อุปกรณ์และสารเคมีที่ใช้ในการวิจัย.....	26
วิธีดำเนินการวิจัย.....	28
4 ผลการวิจัย.....	38
สภาวะที่เหมาะสมของเครื่องแก๊สโครมาโทกราฟีที่มีตัวตรวจวัดแบบ	
อิเล็กตรอนแคปเจอร์ในการวิเคราะห์ชนิดและปริมาณของสารกำจัดศัตรูพืช	
กลุ่มออร์กาโนคลอรีน.....	38

สารบัญ (ต่อ)

บทที่	หน้า
4 (ต่อ)	
กราฟมาตรฐานของสารกำจัดศัตรูพืชกลุ่มออร์กาโนคลอรีน.....	50
การสกัดสารกำจัดศัตรูพืชกลุ่มออร์กาโนคลอรีนจากตัวอย่างน้ำ.....	54
ความถูกต้องและความแม่นยำของวิธีวิเคราะห์ในตัวอย่างน้ำ.....	57
5 สรุปผล อภิปรายผลการวิจัยและข้อเสนอแนะ.....	61
การวิเคราะห์สารกำจัดศัตรูพืชกลุ่มออร์กาโนคลอรีนในตัวอย่างน้ำด้วยเทคนิค	
แก๊สโครมาโทกราฟีที่ใช้คอลัมน์แบบธรรมดา.....	61
การวิเคราะห์สารกำจัดศัตรูพืชกลุ่มออร์กาโนคลอรีนในตัวอย่างน้ำด้วยเทคนิค	
แก๊สโครมาโทกราฟีที่ใช้คอลัมน์แบบธรรมดา.....	64
การเปรียบเทียบการใช้คอลัมน์ชนิดคอลัมน์แบบธรรมดาและคอลัมน์-	
คอลัมน์ในการวิเคราะห์สารกำจัดศัตรูพืชกลุ่มออร์กาโนคลอรีน.....	67
ข้อเสนอแนะ.....	68
บรรณานุกรม.....	70
ภาคผนวก.....	78
ภาคผนวก ก เครื่องมือและอุปกรณ์ที่ใช้ในงานวิจัย.....	79
ภาคผนวก ข เทคนิคการสกัดด้วยตัวทำละลายแบบขั้นตอนเดียว.....	81
ภาคผนวก ค การวิเคราะห์ผลทางสถิติและค่าพารามิเตอร์ทางโครมาโทกราฟีสำหรับ	
สมการแวนดีมเตอร์ (van Deemter equation)	82
ภาคผนวก ง อัตราส่วนพื้นที่ใต้พีคของสารกำจัดศัตรูพืชกลุ่มออร์กาโนคลอรีน.....	90
ภาคผนวก จ รายชื่อวัตถุมีพิษทางการเกษตรที่ห้ามนำเข้า.....	93
ภาคผนวก ฉ การละลายและความดันไอของสารกำจัดศัตรูพืชกลุ่มออร์กาโนคลอรีน.....	94
ภาคผนวก ช กลไกการสลายตัวของสารกำจัดศัตรูพืชกลุ่มออร์กาโนคลอรีน.....	95

สารบัญ (ต่อ)

บทที่	หน้า
ภาคผนวก (ต่อ)	
ภาคผนวก ข CERTIFICATE OF ALDRIN ANALYSIS	98
ภาคผนวก ฉ CERTIFICATE OF DIELDRIN ANALYSIS	99
ภาคผนวก ญ CERTIFICATE OF ENDOSULFAN (BETA ISOMER) ANALYSIS	100
ภาคผนวก ฎ CERTIFICATE OF LINDANE ANALYSIS	101
ภาคผนวก ฏ CERTIFICATE OF <i>p,p'</i> -DDT ANALYSIS	102
ประวัติย่อผู้วิจัย.....	103

บัญชีตาราง

ตาราง	หน้า
1 ตัวอย่างสารกำจัดศัตรูพืชกลุ่มออร์กาโนคลอรีน.....	2
2 ระดับความคงทนของสารกำจัดศัตรูพืช.....	10
3 ปริมาณสารกำจัดศัตรูพืชที่กำหนดให้มีได้ในแหล่งน้ำธรรมชาติในประเทศไทย.....	12
4 การเปรียบเทียบวิธีฉีดสารตัวอย่างแบบ spilt splitless และ cool on-column injection.....	16
5 ระดับความเร็วของเทคนิคแก๊สโครมาโทกราฟีชนิดคาปิลลารีคอลัมน์.....	19
6 ระบบอุณหภูมิที่ทดลองใช้ในการหาอุณหภูมิของคอลัมน์ที่เหมาะสมสำหรับ การวิเคราะห์ชนิดและปริมาณสารกำจัดศัตรูพืชกลุ่มออร์กาโนคลอรีนทั้ง 5 ชนิด...	29
7 ค่า H ที่ได้จากคอลัมน์ชนิดคาปิลลารีคอลัมน์แบบธรรมดาและ มัลติคาปิลลารีคอลัมน์ ที่อัตราการไหลของแก๊สพาต่าง ๆ.....	39
8 อุณหภูมิของคอลัมน์ที่เหมาะสมในการวิเคราะห์สารกำจัดศัตรูพืชกลุ่มออร์กาโนคลอรีน..	41
9 เวลารีเทนชันและค่าเบี่ยงเบนมาตรฐานสัมพัทธ์ของสารกำจัดศัตรูพืช กลุ่มออร์กาโนคลอรีน.....	43
10 สภาพการทดลองของเครื่องแก๊สโครมาโทกราฟด้วยคอลัมน์ชนิดคาปิลลารีคอลัมน์ แบบธรรมดาและมัลติคาปิลลารีคอลัมน์	44
11 ช่วงความเข้มข้นของสารกลุ่มออร์กาโนคลอรีนที่ให้กราฟเป็นเส้นตรง.....	45
12 ค่า LOD และ LOQ ของสารกลุ่มออร์กาโนคลอรีนทั้ง 5 ชนิด ที่ผ่านการสกัดด้วย เทคนิคการสกัดทั้ง 3 แบบ แล้ววิเคราะห์ด้วยคาปิลลารีคอลัมน์แบบธรรมดา.....	49
13 ค่า LOD และ LOQ ของสารกลุ่มออร์กาโนคลอรีนทั้ง 4 ชนิด ที่ผ่านการสกัดด้วย เทคนิคการสกัดด้วยตัวทำละลายแบบขั้นตอนเดียว (SSE) แล้ววิเคราะห์ด้วย มัลติคาปิลลารีคอลัมน์.....	49
14 ค่าสัมประสิทธิ์สหสัมพันธ์และสมการเส้นตรงการถดถอยของกราฟมาตรฐานของ สารกำจัดศัตรูพืชทั้ง 5 ชนิด ที่ได้จากคอลัมน์ชนิดคาปิลลารีคอลัมน์แบบธรรมดา....	50

บัญชีตาราง (ต่อ)

ตาราง	หน้า
15 ค่าสัมประสิทธิ์สหสัมพันธ์และสมการเส้นตรงการถดถอยของกราฟมาตรฐานของ สารกำจัดศัตรูพืชทั้ง 4 ชนิด ที่ได้จากคอลัมน์ชนิดมัลติคาพิลลารีคอลัมน์.....	51
16 ค่าร้อยละการกลับคืนและค่าเบี่ยงเบนมาตรฐานสัมพัทธ์ของสารกำจัดศัตรูพืช กลุ่มออร์กาโนคลอรีนจากคอลัมน์ชนิดคาพิลลารีคอลัมน์แบบธรรมดา.....	59
17 ค่าร้อยละการกลับคืนและค่าเบี่ยงเบนมาตรฐานสัมพัทธ์ของสารกำจัดศัตรูพืช กลุ่มออร์กาโนคลอรีนจากคอลัมน์ชนิดมัลติคาพิลลารีคอลัมน์.....	60
18 ตัวอย่างการคำนวณค่า LOD ของอัลตริน ที่ได้จากการวิเคราะห์ด้วย คาพิลลารีคอลัมน์แบบธรรมดา.....	85
19 ตัวอย่างการคำนวณค่า LOD ของอัลตริน ที่ได้จากการวิเคราะห์ด้วย มัลติคาพิลลารีคอลัมน์.....	85
20 ตัวอย่างการคำนวณค่า LOQ ของอัลตริน ที่ได้จากการวิเคราะห์ด้วย คาพิลลารีคอลัมน์แบบธรรมดา.....	87
21 ตัวอย่างการคำนวณค่า LOQ ของอัลตริน ที่ได้จากการวิเคราะห์ด้วย มัลติคาพิลลารีคอลัมน์.....	87
22 อัตราส่วนพื้นที่ใต้พีคของสารกำจัดศัตรูพืชกลุ่มออร์กาโนคลอรีนที่ได้จากการ วิเคราะห์ด้วยเครื่องแก๊สโครมาโทกราฟโดยใช้คาพิลลารีคอลัมน์แบบธรรมดา.....	90
23 อัตราส่วนพื้นที่ใต้พีคของสารกำจัดศัตรูพืชกลุ่มออร์กาโนคลอรีนที่ได้จากการ วิเคราะห์ด้วยเครื่องแก๊สโครมาโทกราฟโดยใช้มัลติคาพิลลารีคอลัมน์.....	92
24 รายชื่อวัตถุมีพิษทางการเกษตรที่ห้ามนำเข้าตามพระราชบัญญัติวัตถุมีพิษ พ.ศ. 2510 และ พ.ศ. 2516.....	93
25 ค่าการละลายและความดันไอของสารกำจัดศัตรูพืชกลุ่มออร์กาโนคลอรีน ที่อุณหภูมิ 20 -25 องศาเซลเซียส.....	94

บัญชีภาพประกอบ

ภาพประกอบ	หน้า
1 ส่วนประกอบของเครื่องแก๊สโครมาโทกราฟ.....	15
2 ลักษณะของตัวตรวจวัดชนิดอิเล็กตรอนแคพเจอร์.....	18
3 กราฟแสดงความสัมพันธ์ระหว่างค่า H กับอัตราการไหลของแก๊สพา ที่ได้จากสมการแวนดีมเตอร์ของคอลัมน์ชนิดคาพิลลารีคอลัมน์แบบธรรมดา.....	40
4 กราฟแสดงความสัมพันธ์ระหว่างค่า H กับอัตราการไหลของแก๊สพา ที่ได้จากสมการแวนดีมเตอร์ของคอลัมน์ชนิดมัลติคาพิลลารีคอลัมน์.....	40
5 โครมาโทแกรมของสารกำจัดศัตรูพืชทั้ง 5 ชนิด ที่ความเข้มข้น 1.0 มิลลิกรัมต่อลิตร จากคาพิลลารีคอลัมน์แบบธรรมดา.....	42
6 โครมาโทแกรมของสารกำจัดศัตรูพืชทั้ง 4 ชนิด ที่ความเข้มข้น 1.0 มิลลิกรัมต่อลิตร จากมัลติคาพิลลารีคอลัมน์.....	42
7 กราฟแสดงความสัมพันธ์ของอัตราส่วนพื้นที่ใต้พีคกับความเข้มข้นของสารกำจัดศัตรูพืช 5 ชนิดที่ผ่านการสกัดด้วยเทคนิคการสกัดด้วยตัวทำละลายแบบหลายขั้นตอน แล้ววิเคราะห์ด้วยคอลัมน์ชนิดคาพิลลารีคอลัมน์แบบธรรมดา	46
8 กราฟแสดงความสัมพันธ์ของอัตราส่วนพื้นที่ใต้พีคกับความเข้มข้นของสารกำจัดศัตรูพืช 5 ชนิดที่ผ่านการสกัดด้วยเทคนิคการสกัดด้วยตัวทำละลายแบบขั้นตอนเดียว แล้ววิเคราะห์ด้วยคอลัมน์ชนิดคาพิลลารีคอลัมน์แบบธรรมดา.....	46
9 กราฟแสดงความสัมพันธ์ของอัตราส่วนพื้นที่ใต้พีคกับความเข้มข้นของสารกำจัดศัตรูพืช 5 ชนิดที่ผ่านการสกัดด้วยเทคนิคการสกัดด้วยวิทยาของแข็ง แล้ววิเคราะห์ด้วย คอลัมน์ชนิดคาพิลลารีคอลัมน์แบบธรรมดา.....	47
10 กราฟแสดงความสัมพันธ์ของอัตราส่วนพื้นที่ใต้พีคกับความเข้มข้นของ สารกำจัดศัตรูพืช 4 ชนิดที่ผ่านการสกัดด้วยเทคนิคการสกัดด้วยตัวทำละลาย แบบขั้นตอนเดียวแล้ววิเคราะห์ด้วยคอลัมน์ชนิดมัลติคาพิลลารีคอลัมน์.....	47

บัญชีภาพประกอบ (ต่อ)

ภาพประกอบ

หน้า

11 กราฟมาตรฐานของสารกำจัดศัตรูพืชทั้ง 5 ชนิด ที่ผ่านการสกัดด้วยเทคนิคการสกัดด้วยตัวทำละลายแบบหลายขั้นตอน แล้ววิเคราะห์ด้วยคอลัมน์ชนิดคาพิลลารีคอลัมน์แบบธรรมดา.....	52
12 กราฟมาตรฐานของสารกำจัดศัตรูพืชทั้ง 5 ชนิด ที่ผ่านการสกัดด้วยเทคนิคการสกัดด้วยตัวทำละลายแบบขั้นตอนเดียว แล้ววิเคราะห์ด้วยคอลัมน์ชนิดมัลติคาพิลลารีคอลัมน์.....	52
13 กราฟมาตรฐานของสารกำจัดศัตรูพืชทั้ง 5 ชนิด ที่ผ่านการสกัดด้วยเทคนิคการสกัดด้วยวัฏภาคของแข็ง แล้ววิเคราะห์ด้วยคอลัมน์ชนิดคาพิลลารีคอลัมน์แบบธรรมดา..	53
14 กราฟมาตรฐานของสารกำจัดศัตรูพืชทั้ง 4 ชนิด ที่ผ่านการสกัดด้วยเทคนิคการสกัดด้วยตัวทำละลายแบบขั้นตอนเดียว แล้ววิเคราะห์ด้วยคอลัมน์ชนิดมัลติคาพิลลารีคอลัมน์.....	53
15 โครมาโทแกรมของตัวอย่างน้ำจากพื้นที่สวนผลไม้หลังผ่านการสกัดด้วยเทคนิคการสกัดด้วยตัวทำละลายแบบขั้นตอนเดียวจากเครื่องแก๊สโครมาโทกราฟกับคอลัมน์ชนิดคาพิลลารีคอลัมน์แบบธรรมดา.....	55
16 โครมาโทแกรมของตัวอย่างน้ำจากพื้นที่สวนผลไม้ที่เดิมสารละลายมาตรฐานภายในความเข้มข้น 2.0 มิลลิกรัมต่อลิตร หลังผ่านการสกัดด้วยเทคนิคการสกัดด้วยตัวทำละลายแบบขั้นตอนเดียวจากเครื่องแก๊สโครมาโทกราฟกับคอลัมน์ชนิดคาพิลลารีคอลัมน์แบบธรรมดา.....	55
17 โครมาโทแกรมของตัวอย่างน้ำจากพื้นที่สวนผลไม้หลังผ่านการสกัดด้วยเทคนิคการสกัดด้วยตัวทำละลายแบบขั้นตอนเดียวจากเครื่องแก๊สโครมาโทกราฟกับคอลัมน์ชนิดมัลติคาพิลลารีคอลัมน์	56

บัญชีภาพประกอบ (ต่อ)

ภาพประกอบ

หน้า

18	โครมาโทแกรมของตัวอย่างน้ำจากพื้นที่สวนผลไม้ที่เดิมสารละลายมาตรฐานภายในความเข้มข้น 2.0 มิลลิกรัมต่อลิตร หลังผ่านการสกัดด้วยเทคนิคการสกัดด้วยตัวทำละลายแบบขั้นตอนเดียว จากเครื่องแก๊สโครมาโทกราฟกับคอลัมน์ชนิดมัลติคาพิลลารีคอลัมน์	56
19	โครมาโทแกรมของตัวอย่างน้ำจากพื้นที่สวนผลไม้ที่เดิมสารกลุ่มออร์กาโนคลอรีนทั้ง 5 ชนิดและสารมาตรฐานภายในหลังผ่านการสกัดด้วยเทคนิคการสกัดด้วยตัวทำละลายแบบขั้นตอนเดียวจากเครื่องแก๊สโครมาโทกราฟกับคอลัมน์ชนิดคาพิลลารีคอลัมน์แบบธรรมดา	57
20	ภาพแสดงภาคตัดขวางของคอลัมน์ชนิดมัลติคาพิลลารีคอลัมน์.....	79
21	การต่ออุปกรณ์สำหรับการสกัดด้วยวัฏภาคของแข็ง.....	80
22	ภาพแหล่งเก็บตัวอย่างน้ำ.....	80
23	ลักษณะน้ำตัวอย่าง.....	80
24	ขั้นตอนการสกัดตัวอย่างน้ำด้วยเทคนิคการสกัดด้วยตัวทำละลายแบบขั้นตอนเดียว....	81

บทที่ 1

บทนำ

ภูมิหลัง

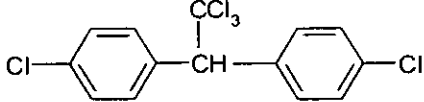
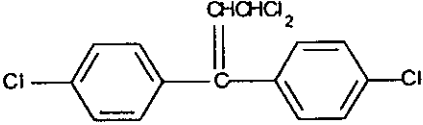
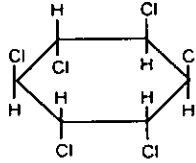
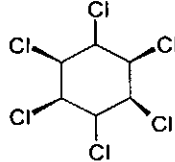
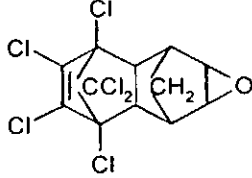
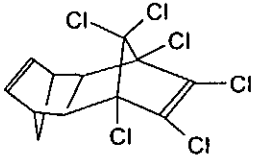
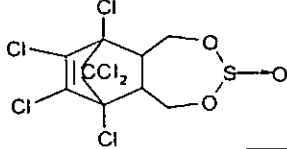
สารกำจัดศัตรูพืชกลุ่มออร์กาโนคลอรีน (organochlorine pesticides; OCPs) หรือเรียกอีกอย่างหนึ่งว่าคลอรีเนตเต็ดไฮโดรคาร์บอน (chlorinated hydrocarbon) ถูกสังเคราะห์ขึ้นครั้งแรกในปี ค.ศ.1874 โดยออตมาร์ ไซด์เลอร์ (Otmar Zeidler) ต่อมาปี ค.ศ.1939 พอล มุลเลอร์ (Paul Muller) นักเคมีชาวสวิสเซอร์แลนด์ได้ค้นพบคุณสมบัติในการเป็นสารกำจัดแมลงของดีดีที (Durhan. 1974 : 387) สารกำจัดศัตรูพืชกลุ่มออร์กาโนคลอรีนเป็นสารที่ไม่มีสภาพขั้ว ละลายได้ดีในไขมัน และเกิดปฏิกิริยาทางเคมีได้ยาก จึงทำให้สารประเภทนี้มีความคงทนและสลายตัวได้ช้าในสิ่งแวดล้อม (ขวัญชัย สมบัติศิริ. 2528 : 256) ปกติแล้วสารกลุ่มดังกล่าวมักถูกนำมาใช้ในการปราบศัตรูพืชเพื่อเพิ่มผลผลิตทางการเกษตร นิยมใช้ฉีดพ่นบนพืชเพื่อป้องกันแมลงกัดกินรวมทั้งควบคุมและกำจัดแมลงที่เป็นพาหะนำโรคมาสู่คนและสัตว์เลี้ยง เช่น การใช้ดีดีทีในการควบคุมจำนวนยุงกันป้องกันที่เป็นพาหะนำไข้มาลาเรีย และลินเดนใช้กำจัดหมัด เหา หอย และตัวหาคได้อย่างมีประสิทธิภาพ นอกจากนี้สารกลุ่มนี้ยังมีราคาถูก มีประสิทธิภาพสูงและกำจัดแมลงได้หลากหลายประเภท จึงนิยมใช้กันอย่างแพร่หลายนับตั้งแต่สงครามโลกครั้งที่ 2 เป็นต้นมา (Jager. 1970 : 234)

ประเภทของสารกำจัดศัตรูพืชกลุ่มออร์กาโนคลอรีน (Matsumura. 1980 : 47-64) แบ่งออกเป็น 4 กลุ่ม ดังนี้ คือ

1. ดีดีทีและอนุพันธ์ (DDT analogues) ได้แก่ ดีดีที ดีดีดี (DDD) ดีซีพีซี (DCPC) ไดโคโฟล (Dicofol) เมทอกซีคลอร์ (Methoxychlor) และคลอโรเบนซิลเลท (Chlorobenzilate)
2. เบนซีนเฮกซะคลอไรด์ (Benzene hexachloride) ได้แก่ บีเอชซี (BHC) และ ลินเดน (Lindane)
3. สารประกอบไซโคลไดเอิน (Cyclodiene compounds) ได้แก่ คลอร์เดน (Chlordane) เฮปตะคลอร์ (Heptachlor) ดีลด์ริน (Dieldrin) อัลดริน (Aldrin) เอนดริน (Endrin) และไอโซดริน (Isodrin)
4. สารประกอบเทอร์ปีน (Terpene compounds) ได้แก่ ทอกซาฟีน (Toxaphene) และ เอนโดซัลเฟน (Endosulfan)

โครงสร้างของสารกำจัดศัตรูพืชกลุ่มออร์กาโนคลอรีนกลุ่มต่างๆแสดงในตาราง 1

ตาราง 1 ตัวอย่างสารกำจัดศัตรูพืชกลุ่มออร์กาโนคลอรีน

สาร	สูตรโครงสร้าง
1. กลุ่มดีดีที	
1.1 พารา-พารา ดีดีที (1,1,1-trichloro-2,2-bis(p-chlorophenyl) ethane)	
1.2 พารา-พารา ดีดีดี (1,1-dichloro-2,2-bis(p-chlorophenyl) ethane)	
2. กลุ่มเบนซีนเฮกซะคลอไรด์	
2.1 อัลฟา-บีเอซี (α -1,2,3,4,5,6-hexachlorocyclohexane)	
2.2 แกมมา-บีเอซีหรือลินเดน (γ -1,2,3,4,5,6-hexachlorocyclohexane)	
3. กลุ่มสารประกอบไฮโดรไดอิน	
3.1 ดีลดริน (1,2,3,4,10,10-hexachloro-6,7-epoxy-1,4,4a,5,6,7,8,8a-octahydro-1,4-endo,exo-5,8-dimethanonaphthalene)	
3.2 อัลดริน (1,2,3,4,10,10-hexachloro-1,4,4a,5,8,8a-hexahydro-1,4-endo,exo-5,8-dimethanonaphthalene)	
4. กลุ่มสารประกอบเทอร์ปีน	
4.1 เอนโดซัลเฟน (6,7,8,9,10,10-hexachloro-1,5,5a,6,9,9a-hexahydro-6,9-methano-2,3,4-benzodioxathiepin-3-oxide)	

ที่มา : Montgomery, J.H. (1993). *Agrochemical Desk Reference Environmental Data*.

จากการศึกษาพบว่าสารกำจัดศัตรูพืชในกลุ่มนี้มีฤทธิ์ในการฆ่าแมลงในระยะเริ่มแรกค่อนข้างช้า แต่สามารถป้องกันแมลงได้เป็นเวลานานโดยเฉพาะกรณีที่ไม่ถูกแสงแดด อาจป้องกันการทำลายของแมลง ได้นานถึง 10 ปี (ขวัญชัย สมบัติศิริ. 2540 : 215) ประเทศไทยได้นำดีดีทีมาใช้ในการกำจัด ไข้มาลาเรียตั้งแต่ปี พ.ศ.2493 (เปี่ยมศักดิ์ มานะเศวต. 2525 : 290) ในขณะเดียวกันดีดีทีก็ถูกนำมาใช้ในการปราบศัตรูพืชอย่างแพร่หลายและทำให้เกิดปัญหาการปนเปื้อนของสารชนิดนี้ในสิ่งแวดล้อม สาเหตุ สำคัญที่ก่อให้เกิดปัญหาดังกล่าวคือ การแพร่กระจายของสารจากแหล่งที่มีการใช้ไปสู่ดิน น้ำ อากาศ และ ร่างกายของสัตว์หรือมนุษย์ (Wauchope; & Leonard. 1980 : 665-672) สารกำจัดศัตรูพืชกลุ่มออร์กาโน- คลอรีนที่ใช้ฉีดบนพืชบางส่วนจะมีการแพร่กระจายไปในอากาศและประมาณร้อยละ 80 ตกลงสู่พื้นดินโดย การชะล้างด้วยน้ำฝนและในที่สุดก็จะถูกชะลงสู่แหล่งน้ำ ทำให้เกิดการสะสมในสิ่งแวดล้อมต่างๆและมี แนวโน้มการสะสมเพิ่มขึ้นในห่วงโซ่อาหาร อีกทั้งยังแพร่กระจายในสิ่งมีชีวิตอย่างต่อเนื่อง (Fries. 1974 : 542) ซึ่งความสามารถของการกระจายตัวในสิ่งแวดล้อมจะพิจารณาจากสมบัติทางเคมีและทางกายภาพ ต่างๆ ดังนี้

1. ความสามารถในการละลายน้ำ (water solubility) เนื่องจากสารกำจัดศัตรูพืชในกลุ่ม ออร์กาโนคลอรีนมีความสามารถในการละลายน้ำน้อยมาก ทำให้มีความคงทนในน้ำสูง โดยสารจะจับกับ อนุภาคของดินและสารแขวนลอยในน้ำ ส่วนใหญ่จะจมลงสู่ท้องน้ำเกิดการสะสมในดินตะกอน โดยมี รายงานว่าจำนวนคลอรีนอะตอมในสารประกอบออร์กาโนคลอรีนมีผลต่อการละลายน้ำ (Haque; et al. 1977 : 257)

2. การดูดซับ (adsorption) โดยอนุภาคดินขึ้นกับคุณสมบัติทางเคมีของสาร ปริมาณอนุภาค ของดินเหนียว สารอินทรีย์ในดิน ความเป็นกรด-ด่าง ขนาดของอนุภาคดิน และความสามารถในการแลกเปลี่ยนไอออนของดินและอุณหภูมิ ซึ่งเบรซและชิมป์ (Brace; & Shimp. 1973 : 833-838) ได้ศึกษาพบว่า ปริมาณสารพิษจะสะสมเป็นปริมาณสูงในดินตะกอนที่มีอนุภาคดินเหนียวและมีสารอินทรีย์อยู่มาก

3. การระเหย (volatilization) อัตราการระเหยของสารกลุ่มนี้ขึ้นสู่บรรยากาศพบว่ามีปริมาณ น้อยมาก เนื่องจากสารส่วนใหญ่มีค่าความดันไอต่ำและมักอยู่ในรูปสารแขวนลอย อย่างไรก็ตามสารกลุ่มนี้ บางชนิดที่มีความดันไอบากกว่า 1.0×10^{-6} มิลลิเมตรปรอท ที่อุณหภูมิ 20 องศาเซลเซียสจะสามารถ ระเหยออกจากแหล่งน้ำได้ (Moor. 1984 : 140)

4. การสลายตัว (pyrolysis) สารกำจัดศัตรูพืชกลุ่มออร์กาโนคลอรีนสามารถสลายตัวได้ใน ธรรมชาติ อันเนื่องมาจากปฏิกิริยาโฟโตไลซิสทั้งทางตรงและทางอ้อมโดยเฉพาะกับแสงอัลตราไวโอเล็ต (UV) ช่วงความยาวคลื่น 290 - 450 นาโนเมตร ซึ่งการเกิดปฏิกิริยาการสลายตัวขึ้นอยู่กับระยะเวลาที่ได้

รับแสง ความเข้มแสง ความยาวคลื่น คุณสมบัติของสาร คุณสมบัติของตัวกลางที่สารกำจัดศัตรูพืชกลุ่มออร์กาโนคลอรีนยึดเกาะ ตัวทำละลายของสาร และสภาพความเป็นกรด-ด่างของตัวทำละลาย (พนิดา ไชยันต์บุรณ์. 2538 : 190-196)

การแพร่กระจายของสารกำจัดศัตรูพืชกลุ่มออร์กาโนคลอรีนในแหล่งน้ำเกิดจากหลายสาเหตุ ได้แก่ การใช้สารกำจัดศัตรูพืชกลุ่มออร์กาโนคลอรีนกับแหล่งน้ำโดยตรง การทิ้งเศษวัสดุที่ใช้บรรจุสาร การระบายน้ำทิ้งจากโรงงานอุตสาหกรรมและแหล่งชุมชน การพังทลายของหน้าดินและการพัดพาของน้ำไหลบ่าชะหน้าดิน (Edward. 1973 : 542) โดยเฉพาะอย่างยิ่งในบริเวณที่เป็นพื้นที่การเกษตรมักพบว่ามีการตกค้างของสารกลุ่มนี้สูงกว่าในพื้นที่อื่นๆ นอกจากนี้ปัจจัยทางสภาวะแวดล้อมของแหล่งน้ำก็มีผลให้มีการปนเปื้อนในแหล่งน้ำแตกต่างกัน เช่น สภาวะความเป็นกรด-ด่าง อุณหภูมิของแหล่งน้ำ สิ่งมีชีวิตในน้ำ สารอินทรีย์และสารอนินทรีย์ที่แขวนลอยอยู่ในแหล่งน้ำ เป็นต้น (ขวัญชัย สมบัติศิริ. 2528 : 256) และมีรายงานศึกษาพบว่าสารกำจัดศัตรูพืชที่สร้างมลพิษทางน้ำมากที่สุดคือสารกลุ่มออร์กาโนคลอรีน โดยส่วนใหญ่สารจะรวมตัวกับสารอินทรีย์ในดินโคลน ดินตะกอน และแขวนลอยอยู่ในน้ำ (Edwards. 1977 : 257)

ผู้วิจัยจึงมีความสนใจที่จะศึกษาและพัฒนาวิธีการตรวจวัดปริมาณสารกำจัดศัตรูพืชกลุ่มออร์กาโนคลอรีนในแหล่งน้ำ โดยเฉพาะแหล่งน้ำในพื้นที่การเกษตรให้มีความถูกต้อง แม่นยำ และรวดเร็วขึ้น โดยการใช้เทคนิคแก๊สโครมาโทกราฟี (gas chromatography; GC) ซึ่งเป็นเทคนิคที่นิยมใช้กันอย่างแพร่หลายในการวิเคราะห์สารกลุ่มนี้และได้มีการพัฒนาวิธีการวิเคราะห์มาโดยตลอด แต่เนื่องจากพบว่าการใช้คาพิลลารีคอลัมน์แบบธรรมดา (conventional capillary column) ใช้เวลาในการวิเคราะห์นานมาก ผู้วิจัยจึงสนใจที่จะพัฒนาวิธีการวิเคราะห์ให้รวดเร็วขึ้นด้วยการใช้มัลติคาพิลลารีคอลัมน์ (multicapillary column) ที่สามารถวิเคราะห์สารได้อย่างรวดเร็ว มีประสิทธิภาพในการแยกสูง และมีความสามารถในการรับสารตัวอย่างได้มาก นอกจากนี้ผู้วิจัยยังมีความสนใจที่จะทำการพัฒนาวิธีการเตรียมสารตัวอย่างก่อนการวิเคราะห์ด้วยเครื่องแก๊สโครมาโทกราฟีด้วยวิธีต่างๆ ได้แก่ การสกัดด้วยตัวทำละลายแบบหลายขั้นตอน (liquid liquid extraction; LLE) การสกัดด้วยตัวทำละลายแบบขั้นตอนเดียว (single step extraction; SSE) และการสกัดด้วยวัฏภาคของแข็ง (solid phase extraction; SPE) เพื่อให้ได้วิธีที่สะดวกและรวดเร็วในการเตรียมตัวอย่างก่อนการวิเคราะห์ โดยเปรียบเทียบประสิทธิภาพในการแยกสารกำจัดศัตรูพืชกลุ่มออร์กาโนคลอรีนที่สนใจออกจากตัวอย่างน้ำและสารแขวนลอยอื่นๆ

ถึงแม้ว่าในปัจจุบันรัฐบาลจะมีประกาศให้เลิกใช้สารกำจัดศัตรูพืชกลุ่มออร์กาโนคลอรีนบางชนิดไปแล้ว เช่น กลุ่มดีดีที กลุ่มเบนซีนเฮกซะคลอไรด์ และกลุ่มสารประกอบไซโคลไดอิน (สำนักงานคณะกรรมการสิ่งแวดล้อมแห่งชาติ. 2534 : 8) แต่ก็ยังมีการรายงานพบการปนเปื้อนของสารกำจัดศัตรูพืชกลุ่ม

ออร์กาโนคลอรีนชนิดต่างๆในสิ่งแวดล้อม ผู้วิจัยคาดหวังว่าเทคนิคการวิเคราะห์ที่พัฒนาขึ้นมาจะมีประโยชน์ต่อการตรวจวัดชนิดและปริมาณสารกำจัดศัตรูพืชกลุ่มออร์กาโนคลอรีนในแหล่งน้ำได้อย่างถูกต้องและรวดเร็ว อีกทั้งยังเป็นแนวทางในการนำไปประยุกต์ใช้กับตัวอย่างประเภทอื่นๆ ในสิ่งแวดล้อมได้อีกด้วย

ความมุ่งหมายของการวิจัย

1. เพื่อพัฒนาเทคนิคการเตรียมสารตัวอย่างก่อนการวิเคราะห์ด้วยเครื่องแก๊สโครมาโทกราฟี โดยวิธีการสกัดด้วยตัวทำละลายแบบหลายขั้นตอน การสกัดด้วยตัวทำละลายแบบขั้นตอนเดียว และการสกัดด้วยวิทยาของแข็ง สำหรับแยกสารกำจัดศัตรูพืชกลุ่มออร์กาโนคลอรีนที่สนใจออกจากตัวอย่างน้ำ
2. เพื่อพัฒนาเทคนิคการวิเคราะห์ชนิดและปริมาณสารกำจัดศัตรูพืชกลุ่มออร์กาโนคลอรีนในตัวอย่างน้ำด้วยเครื่องแก๊สโครมาโทกราฟี - อิเล็กตรอนแคปเจอร์ ดีเทคเตอร์ (gas chromatograph-electron capture detector, GC-ECD) โดยการใช้คอลัมน์แบบธรรมดาและคอลัมน์ฟิลลารีคอลลัมน์เพื่อเปรียบเทียบประสิทธิภาพและความรวดเร็วในการแยกสารกำจัดศัตรูพืชกลุ่มออร์กาโนคลอรีนที่สนใจ

ความสำคัญของการวิจัย

1. เพื่อพัฒนาเทคนิคใหม่ที่ใช้ในการวิเคราะห์ชนิดและปริมาณของสารกำจัดศัตรูพืชกลุ่มออร์กาโนคลอรีนได้อย่างรวดเร็ว ถูกต้องและแม่นยำ
2. สามารถนำเทคนิคการวิเคราะห์ที่พัฒนาขึ้นมาไปใช้วิเคราะห์ชนิดและปริมาณสารกำจัดศัตรูพืชกลุ่มออร์กาโนคลอรีนในตัวอย่างน้ำจากแหล่งต่างๆได้อย่างมีประสิทธิภาพ
3. เทคนิคที่พัฒนาขึ้นมาแล้วยังมีประโยชน์ต่อการนำไปประยุกต์ใช้วิเคราะห์หาชนิดและ ปริมาณของสารกำจัดศัตรูพืชกลุ่มออร์กาโนคลอรีนในตัวอย่างประเภทอื่นๆ เช่น ตัวอย่างทางชีวภาพ ดิน และพืช เป็นต้น

ขอบเขตของการวิจัย

1. ตัวอย่างน้ำที่ใช้ประเภทแรกคือ ตัวอย่างน้ำผิวดินสังเคราะห์ที่เตรียมในห้องปฏิบัติการและประเภทที่สองคือ ตัวอย่างน้ำที่เก็บจากบริเวณพื้นที่สวนผลไม้ (สวนฝรั่งแป้นสีทองและสวนชมพูเพชรสามพราน) ในเขตอำเภอสสามพราน จังหวัดนครปฐม โดยเก็บตัวอย่างน้ำจากคูน้ำหรือร่องน้ำที่ระบายออก

จากพื้นที่สวนผลไม้ที่จุดกึ่งกลางความกว้างของคูน้ำหรือร่องน้ำที่ระดับกึ่งกลางความลึก (ประกาศกระทรวงวิทยาศาสตร์ เทคโนโลยีและการพลังงาน 2528 เรื่อง กำหนดมาตรฐานแหล่งน้ำผิวดินที่ไม่ใช่ทะเล; ราชกิจจานุเบกษา ฉบับที่ 103 ตอน 60 ลงวันที่ 15 เมษายน 2529) ด้วยขวดพลาสติกชนิดโพลีเอทิลีนขนาดความจุ 500 มิลลิลิตร จากนั้นปิดฝาให้สนิท ในระหว่างการขนส่งตัวอย่างให้แช่น้ำแข็งที่อุณหภูมิประมาณ 4 องศาเซลเซียส เก็บให้พ้นแสงและความร้อน และทำการวิเคราะห์ตัวอย่างน้ำภายใน 14 วันหลังจากเก็บตัวอย่าง

2. ศึกษาประสิทธิภาพและความรวดเร็วในการสกัดสารกำจัดศัตรูพืชกลุ่มออร์กาโนคลอรีนทั้ง 5 ชนิด ได้แก่ ลินเดนหรือแกมมา-บีเอชซี อัลดริน ดีลด์ริน เบต้า-เอนโดซัลเฟน และพารา-พารา ดีดีที ที่ถูกเติมลงในตัวอย่างน้ำทั้ง 2 ประเภท ด้วยเทคนิคการสกัดด้วยตัวทำละลายแบบหลายขั้นตอน เทคนิคการสกัดด้วยตัวทำละลายแบบขั้นตอนเดียวโดยใช้เฮกเซนเป็นตัวทำละลาย และเทคนิคการสกัดด้วยวัฏภาคของแข็งที่ใช้ C_{18} cartridge เป็นวัฏภาคของแข็ง

3. ทำการทดลองหาสภาวะที่เหมาะสมสำหรับการวิเคราะห์สารกำจัดศัตรูพืชกลุ่มออร์กาโนคลอรีนด้วยเครื่องแก๊สโครมาโทกราฟี – อิเล็กตรอนแคปเจอร์ ดีเทคเตอร์ โดยทำการศึกษาค่าความเข้มข้นของสารน้อยที่สุดที่เครื่องมือสามารถตรวจวัดสัญญาณได้ (limit of detection; LOD) ค่าความเข้มข้นของสารน้อยที่สุดที่ใช้ในการทำปริมาณวิเคราะห์ (limit of quantification; LOQ) ช่วงปริมาณความเข้มข้นของสารที่ให้กราฟมาตรฐานเป็นเส้นตรง (linearity range) ของวิธีการวิเคราะห์ที่พัฒนาขึ้น ด้วยการเปรียบเทียบประสิทธิภาพการแยกและความรวดเร็วในการตรวจวัดระหว่างคอลัมน์ 2 ชนิด คือ คาพิลลารีคอลัมน์แบบธรรมดาและมัลติคาพิลลารีคอลัมน์ โดยใช้เพนตะคลอโรไนโตรเบนซีน (Pentachloronitrobenzene) เป็นสารมาตรฐานภายใน

4. ศึกษาหาความถูกต้อง (accuracy) และความแม่นยำ (precision) ของวิธีวิเคราะห์ที่พัฒนาขึ้นโดยทำการตรวจวัดชนิดและปริมาณของสารกำจัดศัตรูพืชกลุ่มออร์กาโนคลอรีนที่ถูกเติมลงใน ตัวอย่างน้ำทั้ง 2 ประเภท ด้วยสภาวะการทดลองที่เหมาะสมของเครื่องแก๊สโครมาโทกราฟีที่มีตัวตรวจวัดแบบอิเล็กตรอนแคปเจอร์

นิยามศัพท์เฉพาะ

1. มัลติคาพิลลารีคอลัมน์ (multicapillary column) หมายถึงคอลัมน์ที่ใช้ในเทคนิคแก๊สโครมาโทกราฟี ซึ่งประกอบด้วยท่อคาพิลลารีขนาดเส้นผ่านศูนย์กลางภายในเล็กมาก (40 ไมโครเมตร) ยาว 1 เมตร ที่เคลือบด้วยวัฏภาคของเหลว จำนวนมากกว่า 900 อัน รวมไว้ด้วยกันและทำงานพร้อมกัน

2. การสกัดด้วยตัวทำละลายแบบหลายขั้นตอน (liquid liquid extraction; LLE) หมายถึงเทคนิคการสกัดสารตัวอย่างโดยอาศัยความสามารถในการละลายของสารในตัวทำละลายที่แตกต่างกัน เกิดการแบ่งส่วนการละลายของสารตัวอย่างในวัฏภาคของเหลวที่ไม่รวมกันเป็นเนื้อเดียว 2 วัฏภาค ทำให้สามารถแยกสารออกจากกันได้ โดยทำการสกัดหลายครั้ง

3. การสกัดด้วยตัวทำละลายแบบขั้นตอนเดียว (single step extraction; SSE) หมายถึงเทคนิคการสกัดสารตัวอย่างที่มีปริมาณน้อยๆภายในหลอดทดลอง โดยใช้หลักการแบ่งส่วนการละลายของสารตัวอย่างในวัฏภาคของเหลวที่ไม่รวมกันเป็นเนื้อเดียว 2 วัฏภาค ทำให้สามารถแยกสารออกจากกันได้ โดยทำการสกัดเพียงครั้งเดียว

4. การสกัดด้วยวัฏภาคของแข็ง (solid phase extraction; SPE) หมายถึงเทคนิคการสกัดสารตัวอย่างโดยอาศัยหลักการแบ่งส่วนการละลายของสารในวัฏภาคที่แตกต่างกัน 2 วัฏภาคคือ วัฏภาคของแข็งที่ใช้ตัวดูดซับเป็นของแข็งบรรจุอยู่ในคอลัมน์หรือ cartridge และวัฏภาคของเหลว ที่เป็นตัวทำละลายอินทรีย์สำหรับชะสารตัวอย่าง เทคนิคนี้สามารถใช้เป็นทั้งเทคนิคการสกัดสารตัวอย่างและเทคนิคการกำจัดสิ่งเจือปนได้

5. ความเข้มข้นต่ำสุดที่เครื่องมือสามารถตรวจวัดสัญญาณได้ (limit of detection; LOD) หมายถึงค่าความเข้มข้นน้อยที่สุดของสารที่เครื่องมือสามารถตรวจวัดสัญญาณได้ ซึ่งมีสัญญาณเป็นสามเท่าของสัญญาณรบกวน (noise)

6. ความเข้มข้นต่ำสุดที่ใช้ในการทำปริมาณวิเคราะห์ (limit of quantification; LOQ) หมายถึงค่าความเข้มข้นน้อยที่สุดของสารที่ใช้ในการทำปริมาณวิเคราะห์ ซึ่งมีสัญญาณเป็นสิบเท่าของสัญญาณรบกวน (noise)

บทที่ 2

เอกสารและงานวิจัยที่เกี่ยวข้อง

ในงานวิจัยนี้ผู้วิจัยได้ทำการศึกษาค้นคว้าข้อมูลและงานวิจัยที่เกี่ยวข้องต่างๆ ได้แก่

1. สารกำจัดศัตรูพืชกลุ่มออร์กาโนคลอรีน
2. เทคนิคการเตรียมสารตัวอย่างสำหรับการวิเคราะห์สารกำจัดศัตรูพืชกลุ่มออร์กาโนคลอรีนและงานวิจัยที่เกี่ยวข้อง
3. แก๊สโครมาโทกราฟี
4. การพัฒนาเทคนิคแก๊สโครมาโทกราฟีที่มีความเร็วและงานวิจัยที่เกี่ยวข้อง
5. การวิเคราะห์ชนิดและปริมาณสารกำจัดศัตรูพืชกลุ่มออร์กาโนคลอรีนในน้ำโดยใช้เทคนิคแก๊สโครมาโทกราฟีและงานวิจัยที่เกี่ยวข้อง

1. สารกำจัดศัตรูพืชกลุ่มออร์กาโนคลอรีน

สารกำจัดศัตรูพืชกลุ่มออร์กาโนคลอรีนเป็นสารอินทรีย์สังเคราะห์ โมเลกุลประกอบด้วยธาตุคาร์บอน คลอรีน ไฮโดรเจน และออกซิเจนเป็นองค์ประกอบ โดยสารประกอบออร์กาโนคลอรีนจำแนกออกเป็นกลุ่มต่างๆ ดังนี้ (Matsumura, 1980 : 47-64)

1.1 กลุ่มดีดีทีและอนุพันธ์ ได้แก่ ดีดีที ดีดีดี ไดโคพอล คลอโรเบนซีเลท และเมทอกซีคลอร์ เป็นต้น ดีดีทีเป็นสารกำจัดแมลงที่เคยใช้กันมากในอดีต เพื่อควบคุมแมลงในบ้านเรือน เช่น แมลงวัน ยุง เหย็บ และเหา ซึ่งเป็นพาหะนำโรคมาลูมนุश्य นอกจากนี้ยังเคยใช้ควบคุมแมลงศัตรูพืชทางการเกษตร และบางชนิดยังมีคุณสมบัติเป็นสารฆ่าไร เช่น คลอโรเบนซีเลท และไดโคพอล โดยออกฤทธิ์แบบถูกตัวตาย แต่ปัจจุบันมีการประกาศห้ามใช้สารกลุ่มนี้แล้วในประเทศต่างๆ รวมทั้งประเทศไทยที่ห้ามใช้ดีดีทีเพื่อการเกษตรตั้งแต่ปี พ.ศ. 2526 เนื่องจากเป็นสารก่อมะเร็ง สะสมได้ดีในชั้นไขมันของพืชและสัตว์ และมีพิษตกค้างนานในสิ่งแวดล้อม

1.2 กลุ่มเบนซีนเฮกซะคลอไรด์ ได้แก่ เฮกซ์เฮกซ์ บีเฮกซ์ เพนตะคลอโรฟีนอล และลินเดน เป็นต้น โดยในปี ค.ศ.1940 นักกีฏวิทยาชาวฝรั่งเศสและอังกฤษ ได้พบว่าสารบีเฮกซ์มีคุณสมบัติเป็นสารกำจัดแมลง ซึ่งเป็นสารประกอบที่มีไฮโดรเจนมากถึง 5 ไฮโดรเจนคือ อัลฟา เบต้า แกมมา เดลต้า และเอปซิลอน แต่มีเพียงไฮโดรเจนชนิดแกมมาเท่านั้นที่มีคุณสมบัติเป็นสารกำจัดแมลง สารดังกล่าวผลิตและจำหน่ายในชื่อสารลินเดน และเนื่องจากมีราคาถูก ปัจจุบันจึงยังคงมีการใช้กันอย่างแพร่หลายในประเทศที่

กำลังพัฒนา กลไกการออกฤทธิ์ของสารบีเอชซีคล้ายกับสารดีดีทีแต่ออกฤทธิ์ได้เร็วกว่า ปัจจุบันสารบีเอชซีและเพนตะคลอโรฟีนอลถูกห้ามใช้ในประเทศไทยแล้ว เนื่องจากสารบีเอชซีมีพิษตกค้างนานและเป็นสารก่อมะเร็ง ส่วนสารเพนตะคลอโรฟีนอลมีพิษสูง มีอันตรายต่อผิวหนัง สามารถดูดซึมเข้าสู่ร่างกายได้อย่างรวดเร็ว พิษตกค้างนานและสลายตัวได้ยาก

1.3 กลุ่มสารประกอบไซโคลไดอิน ได้แก่ คลอร์เดน เฮปตะคลอร์ ดีลทริน เอนทริน และอัลทริน เป็นต้น ซึ่งสารกลุ่มนี้ถูกสังเคราะห์ขึ้นหลังสงครามโลกครั้งที่ 2 โดยคลอร์เดนเป็นสารชนิดแรกในกลุ่มที่ถูกสังเคราะห์ขึ้น ปกติแล้วสารกลุ่มนี้นิยมใช้ควบคุมแมลงปีกแข็งและปลวก เนื่องจากมีพิษตกค้างในดินนานและทนต่อการสลายตัวด้วยแสง แต่ปัจจุบันสารในกลุ่มนี้หลายชนิดถูกห้ามใช้เนื่องจากการสร้างความต้านทานของแมลง นอกจากนี้ยังมีพิษต่อปลาและสิ่งแวดล้อมอย่างรุนแรง

1.4 กลุ่มสารประกอบเทอร์ปีน ได้แก่ ทอกซาฟีน และเอนโดซัลเฟน ซึ่งใช้กันมากในการควบคุมแมลงศัตรูพืชทางการเกษตร เช่น สารทอกซาฟีน ใช้ควบคุมแมลงศัตรูฝ้าย โดยครั้งแรกๆถูกใช้ผสมกับสารดีดีที เนื่องจากหากใช้สารทอกซาฟีนเพียงชนิดเดียวจะมีประสิทธิภาพต่ำ ต่อมานิยมใช้ผสมกับสารเมทิลพาราไรออน (methyl parathion) ซึ่งสารทอกซาฟีนตกค้างในดินนาน แต่ระยะเวลาสั้นกว่ากลุ่มสารประกอบไซโคลไดอิน และหากตกบนใบพืชจะสามารถสลายตัวได้ภายใน 3 - 4 อาทิตย์ โดยสูญเสียไปกับการกลายเป็นไอน้ำมากกว่าการสลายตัวด้วยแสงและถูกย่อยสลายได้ง่ายในสัตว์เลือดอุ่นและนก สะสมในชั้นไขมันน้อยกว่าทั้ง 3 กลุ่มแรก แต่มีพิษสูงต่อปลา ซึ่งประเทศไทยประกาศห้ามใช้สารกลุ่มนี้บางชนิดแล้วตั้งแต่ปี พ.ศ.2526 ยกเว้นเอนโดซัลเฟนที่ยังคงอนุญาตให้ใช้ในการควบคุมแมลงศัตรูพืชอยู่ในปัจจุบัน เช่น การกำจัดหอยเชอรี่ในนาข้าว

สารกำจัดศัตรูพืชกลุ่มออร์กาโนคลอรีนนี้มีความเป็นพิษสูงมากทั้งกับมนุษย์ สัตว์และสิ่งแวดล้อม โดยกลุ่มของประชากรที่มีความเสี่ยงต่อการสัมผัสกับสารดังกล่าว ได้แก่ เกษตรกร และผู้ที่อาศัยในบริเวณใกล้เคียงกับพื้นที่ที่มีการใช้สารกำจัดศัตรูพืช ซึ่งสารกำจัดศัตรูพืชเหล่านี้สามารถเข้าสู่ร่างกายได้ 3 ทาง คือ ทางผิวหนัง ทางหายใจ และการกลืนกินสารโดยตรง ผลกระทบที่เกิดจากการได้รับพิษจากสารกำจัดศัตรูพืชจะแสดงอาการ 2 แบบคือ พิษแบบเฉียบพลัน อาการที่เกิดขึ้น เช่น ปวดศีรษะ มึนงง อาเจียน ท้องร่วง หรือตาย และพิษแบบเรื้อรังจะแสดงอาการช้า เช่น การเป็นหมัน การเสื่อมสมรรถภาพทางเพศ อัมพฤกษ์ อัมพาต และมะเร็ง เป็นต้น (ศักดิ์ดา ศรีนิเวศน์. 2546 : 1-4)

ความสามารถในการละลายน้ำพิจารณาได้จากจากสูตรโครงสร้างของสารกลุ่มออร์กาโนคลอรีน กล่าวคือ ถ้ามีจำนวนอะตอมของคลอรีนมากอัตราการละลายน้ำจะลดลง (Haque; Kearney; & Freed. 1977 : 257) และสารกำจัดศัตรูพืชที่มีความดันไอต่ำจะมีอัตราการระเหยต่ำกว่าสารกำจัดศัตรูพืชที่มี

ความดันไอสูง (Spencer; Farmer; & Cliath. 1973 : 1-47) นอกจากนี้ความคงทนของสารกำจัดศัตรูพืช (persistence) ซึ่งหมายถึงระยะเวลาที่สารสามารถสลายตัวอย่างสมบูรณ์ในสภาวะแวดล้อมปกติได้ในอัตราส่วนต่ำสุดร้อยละ 95 (Stoker; & Seager. 1976 : 231) สามารถแบ่งออกเป็น 4 ระดับ ดังแสดงในตาราง 2

ตาราง 2 แสดงระดับความคงทนของสารกำจัดศัตรูพืช

ระดับความคงทน (persistence)	ระยะเวลาที่คงอยู่ในสิ่งแวดล้อม
ระดับไม่คงทน (non persistence)	1 - 2 สัปดาห์
ระดับคงทนปานกลาง (moderate persistence)	1 - 18 เดือน
ระดับที่มีความคงทน (persistence)	2 ปีขึ้นไป
ระดับไม่สลายตัว (permanent persistence)	มากกว่า 2 ปี

ที่มา: Stoker, H.S.; & Seager, S.L. (1976). *Environment Chemistry*. p 231.

จากการศึกษาของเอ็ดเวิร์ด (Edwards. 1976 : 138) พบว่าดีดีทีที่มีความคงทนในดินได้นานที่สุด โดยสามารถสลายตัวในอัตราส่วนร้อยละ 95 ในระยะเวลาประมาณ 4 - 30 ปี รองลงมาคือ ดีลดริน สลายตัวร้อยละ 95 ในระยะเวลาประมาณ 5 - 25 ปี นอกจากนี้คุณสมบัติของน้ำในแหล่งน้ำก็มีผลต่อการกระจายตัวซึ่งได้แก่ อุณหภูมิ ความเป็นกรด-ด่าง และจุลินทรีย์ในน้ำ เนื่องจากเป็นปัจจัยสำคัญต่อการย่อยสลายของสารกำจัดศัตรูพืชในน้ำธรรมชาติ (Edwards. 1973 : 542; Walker. 1975 : 72) และงานวิจัยของเบเบอร์พบว่า ถ้าอุณหภูมิสูงขึ้นจะมีผลทำให้การระเหยและการละลายน้ำของสารกำจัดศัตรูพืชสูงขึ้นด้วย (Babers. 1955 : 4666) นอกจากนี้ค่าความเป็นกรด-ด่างซึ่งเกิดจากกิจกรรมของจุลินทรีย์ในดิน มีผลต่อความสามารถในการแตกตัวขององค์ประกอบของสารกำจัดศัตรูพืช ในขณะที่จุลินทรีย์ในน้ำจะมีผลต่ออัตราการย่อยสลายสารกำจัดศัตรูพืช (Parr. 1974 : 315-340) การปนเปื้อนของสารกำจัดศัตรูพืชในแหล่งน้ำและดินตะกอนมักพบว่าเกิดจากการใช้ประโยชน์ที่ดินในทางเกษตรกรรมเป็นส่วนใหญ่ รองลงมาคือพื้นที่อยู่อาศัย ส่วนพื้นที่หนองน้ำและลุ่มน้ำตามธรรมชาติจะตรวจพบในปริมาณน้อยที่สุด (Harold. 1975

: 106 -114) สำหรับในประเทศไทยได้มีการศึกษาถึงการตกค้างของสารกำจัดศัตรูพืชกลุ่มออร์กาโนคลอรีน ในลำธารซึ่งระบายมาจากพื้นที่การใช้ประโยชน์ที่ดินแตกต่างกัน 3 ลักษณะ คือ ป่าดิบแล้งธรรมชาติ ไร่ร้าง และพื้นที่เกษตรกรรมกับที่อยู่อาศัย ณ บริเวณสถานีวิจัยสิ่งแวดล้อมสะแกกราช จังหวัดนครราชสีมาพบว่า ในพื้นที่เกษตรกรรมกับที่อยู่อาศัยมีการปนเปื้อนของดีลดรินมากที่สุด รองลงมาคือไร่ร้างและพบน้อยมาก ในป่าดิบแล้งธรรมชาติ (วิภา เมฆสุด. 2523 : 70)

จากการใช้สารกำจัดศัตรูพืชในการเกษตรพบว่าก่อให้เกิดการตกค้างและปนเปื้อนในสิ่งแวดล้อม ดิน น้ำ อากาศและเข้าสู่วัฏจักรของระบบนิเวศทางห่วงโซ่อาหารได้ เนื่องจากเมื่อทำการฉีดพ่นสารกำจัดศัตรูพืชร้อยละ 20 ของสารจะติดค้างอยู่บนพืช และอีกร้อยละ 80 จะตกลงบนผิวดิน (กองป้องกันและกำจัดศัตรูพืช. 2526 : 120) หรือถ้าทำการพ่นสารกำจัดศัตรูพืชโดยใช้เครื่องบินประมาณร้อยละ 25 จะตกถึงพืชที่ต้องการ ส่วนอีกร้อยละ 75 จะกระจายไปในอากาศ และอาจมีบางส่วนไปตกอยู่ในบริเวณที่ไม่ต้องการให้กระจายไปถึง เช่น อาคารบ้านเรือน โรงเรียนสัตว์เลี้ยง เป็นต้น (อุแก้ว ประกอบไวยกิจ บัณฑิต. 2531 : 248) และเมื่อฝนตก น้ำฝนจะชะล้างสารกำจัดศัตรูพืชจากผิวดิน อากาศ อาคารบ้านเรือนลงสู่แหล่งน้ำทำให้เกิดการตกค้างของสารกำจัดศัตรูพืชในแหล่งน้ำธรรมชาติ จากการศึกษาการตกค้างของสารกำจัดศัตรูพืชในทะเลสาบมิชิแกน ประเทศสหรัฐอเมริกา พบดีลดรินและดีดีทีรวมเท่ากับ 0.001 และ 0.003 ไมโครกรัมต่อลิตร ตามลำดับ (Johnson; & Ball. 1972 : 280) เวกแมนและเกรฟ (Wegman; & Greve. 1978 : 149-162) พบว่าวัตถุมีพิษถูกสะสมเพิ่มขึ้นตามห่วงโซ่อาหาร หรือที่เรียกว่าเป็นการเพิ่มขยายแบบชีวภาพ (biological magnification) เนื่องจากสารตกค้างในธรรมชาติปริมาณสูงจึงสามารถทำลายสภาพสมดุลในระบบนิเวศนี้ได้ ก่อให้เกิดความเสียหายต่อเศรษฐกิจของประเทศเป็นอย่างมาก เช่น ในปี พ.ศ.2524 - 2526 เกิดโรคระบาดของปลาในประเทศไทย (นวลศรี ทยาพัชร. 2526 : 45) ทำให้ต้องมีการประกาศเลิกใช้สารกำจัดศัตรูพืชกลุ่มออร์กาโนคลอรีนบางชนิด เช่น ดีดีที แต่อนุญาตให้มีการใช้เฉพาะกองควบคุมโรคติดต่อ กระทรวงสาธารณสุข เพื่อควบคุมยุงที่เป็นพาหะของโรคมาลาเรียเท่านั้น (กองมาลาเรีย. 2537 : 15)

จะเห็นได้ว่าสารกำจัดศัตรูพืชมีอันตรายต่อมนุษย์และสิ่งแวดล้อมมากและยังตกค้างอยู่ได้นานในสิ่งแวดล้อมโดยเฉพาะในแหล่งน้ำธรรมชาติ ดังนั้นกองมาตรฐานคุณภาพสิ่งแวดล้อม สำนักงานคณะกรรมการสิ่งแวดล้อมแห่งชาติ (สำนักงานคณะกรรมการสิ่งแวดล้อมแห่งชาติ. 2534 : 8-96) จึงได้กำหนดมาตรฐานคุณภาพน้ำในประเทศไทย โดยใช้เทคนิคแก๊สโครมาโทกราฟีเป็นวิธีมาตรฐานในการวิเคราะห์ชนิดและปริมาณของสารเคมีที่ใช้ในการกำจัดศัตรูพืชและสัตว์ในแหล่งน้ำ ซึ่งชนิดและปริมาณที่อนุญาตให้มีได้ในแหล่งน้ำธรรมชาติ แสดงไว้ในตาราง 3

ตาราง 3 แสดงปริมาณสารกำจัดศัตรูพืชที่กำหนดให้มีได้ในแหล่งน้ำธรรมชาติในประเทศไทย

ชนิดของสารป้องกันและกำจัดศัตรูพืช	น้ำทะเล	น้ำผิวดินซึ่งมีไโซทะเล
สารกำจัดศัตรูพืชกลุ่มออร์กาโนคลอรีนรวม	ไม่เกิน 0.05 มิลลิกรัมต่อลิตร	-
สารกำจัดศัตรูพืชรวม	-	ไม่เกิน 0.05 มิลลิกรัมต่อลิตร
ดีดีที	-	ไม่เกิน 1.0 ไมโครกรัมต่อลิตร
บีเอชซีชนิดอัลฟา	-	ไม่เกิน 0.02 ไมโครกรัมต่อลิตร
ดีลดริน	-	ไม่เกิน 0.1 ไมโครกรัมต่อลิตร
อัลดริน	-	ไม่เกิน 0.1 ไมโครกรัมต่อลิตร
เฮปตะคลอร์และเฮปตะคลอร์อีพอกไซด์	-	ไม่เกิน 0.2 ไมโครกรัมต่อลิตร

ที่มา : กองมาตรฐานคุณภาพสิ่งแวดล้อม สำนักงานคณะกรรมการสิ่งแวดล้อมแห่งชาติ. (2534).

มาตรฐานคุณภาพน้ำประเทศไทย. หน้า 8-96.

2. เทคนิคการเตรียมสารตัวอย่างสำหรับการวิเคราะห์สารกำจัดศัตรูพืชกลุ่มออร์กาโนคลอรีน

เนื่องจากสารกำจัดศัตรูพืชส่วนใหญ่มีความคงทนในสิ่งแวดล้อมสูงและเป็นพิษต่อสิ่งมีชีวิตจึงมีการนำเทคนิคทางโครมาโทกราฟีมาใช้ในการวิเคราะห์การปนเปื้อนของสารเหล่านี้ในสิ่งแวดล้อมเพื่อประเมินความเสี่ยง โดยมีขั้นตอนสำคัญในการวิเคราะห์ ได้แก่ การเก็บตัวอย่าง การสกัดสารกำจัดศัตรูพืชออกจากตัวอย่างการกำจัดสิ่งปนเปื้อนและ/หรือการเตรียมอนุพันธ์ของสารที่สกัดได้จากตัวอย่าง และการวิเคราะห์ชนิดและปริมาณของสารกำจัดศัตรูพืช โดยเทคนิคการสกัดที่นิยมใช้กับสารกลุ่มออร์กาโนคลอรีนมีดังนี้คือ

2.1 การสกัดด้วยตัวทำละลายแบบหลายขั้นตอน เป็นเทคนิคการสกัดสารตัวอย่างที่

อาศัยความสามารถในการละลายของสารในตัวทำละลาย 2 ชนิดที่ไม่ละลายเป็นเนื้อเดียวกัน ทำให้เกิดการแบ่งส่วนการละลายของสารตัวอย่างในตัวทำละลายนั้นๆ ตัวทำละลายที่นิยมใช้ ได้แก่ เฮกเซน อีเธอร์ อะซีโตน แอลกอฮอล์ หรือตัวทำละลายผสม เป็นต้น (Gunther, 1962 : 191) การสกัดตัวอย่างน้ำนิยมใช้ตัวทำละลายอินทรีย์เรียกว่า liquid-liquid partitioning สารตัวอย่างที่มีไขมันเป็นองค์ประกอบในปริมาณน้อยจะสามารถสกัดด้วยตัวทำละลายได้โดยตรงและวิเคราะห์ชนิดและปริมาณด้วยเทคนิคแก๊สโครมา-

โทกราฟี ส่วนตัวอย่างประเภทอาหารที่มีไขมันในปริมาณสูงนิยมใช้การสกัดด้วยอะซีโตนไตรล์ และกำจัดสิ่งเจือปนด้วยเทคนิคคอลัมน์โครมาโทกราฟี นอกจากนี้ตัวอย่างพืชผักและผลไม้ไม่นิยมสกัดด้วยตัวทำละลายเบนซีน แล้ววิเคราะห์ด้วยเทคนิคแก๊สโครมาโทกราฟี (Mukherjee; & Gopal. 1993 : 61,67) จะเห็นได้ว่าเมื่อทำการสกัดสารกำจัดศัตรูพืชออกจากตัวอย่างแล้ว ในบางกรณีจำเป็นต้องมีขั้นตอนการกำจัดสิ่งเจือปนออกจากสารที่สกัดได้ วิธีที่นิยมใช้กับตัวอย่างในธรรมชาติ ได้แก่ ลิกวิด-ลิกวิดพาธิชั่น คอลัมน์โครมาโทกราฟี อินเลเยอร์โครมาโทกราฟี และการกลั่นด้วยไอน้ำ ส่วนตัวอย่างทางชีวภาพเช่น เลือดหรือเนื้อเยื่อไขมัน นิยมใช้เทคนิคเจลเพอร์มิเอชันโครมาโทกราฟี (gel permeation chromatography; GPC)

2.2 การสกัดด้วยวัฏภาคของแข็ง เป็นเทคนิคการสกัดที่ขึ้นอยู่กับความสามารถในการละลายของสารบนวัฏภาคที่แตกต่างกัน 2 วัฏภาคคือ วัฏภาคของแข็งซึ่งอยู่ภายใน SPE cartridge บรรจุด้วยวัฏภาคคงที่ (stationary phase) และวัฏภาคของเหลวคือตัวทำละลายที่ใช้ชะสารตัวอย่างเรียกว่าวัฏภาคเคลื่อนที่ (mobile phase) มักนิยมใช้ตัวทำละลายอินทรีย์ที่มีสภาพขั้วใกล้เคียงกับสารที่ต้องการสกัด โดยมีหลักการสำคัญคือทำสภาวะภายใน cartridge ให้เหมาะสมโดยการผ่านตัวทำละลายลงไปก่อน จากนั้นจึงผ่านสารละลายตัวอย่างลงไป สารกำจัดศัตรูพืชจะถูกยึดไว้ภายใน cartridge และต้องถูกชะออกด้วยตัวทำละลาย ซึ่งใช้ปริมาณตัวทำละลายน้อยมาก เทคนิคนี้มีข้อดีคือประหยัดตัวทำละลาย สะดวกและรวดเร็ว (Beney; et al. 1996 : 1-5)

2.3 การสกัดด้วยตัวทำละลายแบบขั้นตอนเดียว เป็นเทคนิคการสกัดสารตัวอย่างที่ง่ายและรวดเร็วมาก โดยขั้นตอนการสกัดมีเพียงขั้นตอนสำคัญเพียงขั้นตอนเดียวคือ การเติมตัวทำละลายลงในสารตัวอย่างแล้วเขย่าให้เกิดสมดุลเพียงครั้งเดียว นิยมใช้กับสารตัวอย่างทางชีวภาพ เช่น ดีเอ็นเอ อาร์เอ็นเอ พลาสมา ปัสสาวะ เป็นต้น โดยนิยมทำการสกัดในหลอดทดลอง สารตัวอย่างจะถูกผสมเข้ากับตัวทำละลายที่ใช้สกัดด้วยการเขย่าที่ความเร็วสูง แล้วเกิดการแบ่งส่วนการละลายในตัวทำละลาย ทำให้สามารถแยกสารที่ต้องการได้ (Garside; et al. 1997 : 61-65) เทคนิคนี้นิยมใช้ในการเตรียมตัวอย่างเพื่อวิเคราะห์ชนิดและปริมาณอย่างคร่าวๆ (kankaanpaa; et al. 2004 : 57-68)

3. แก๊สโครมาโทกราฟี (gas chromatography; GC)

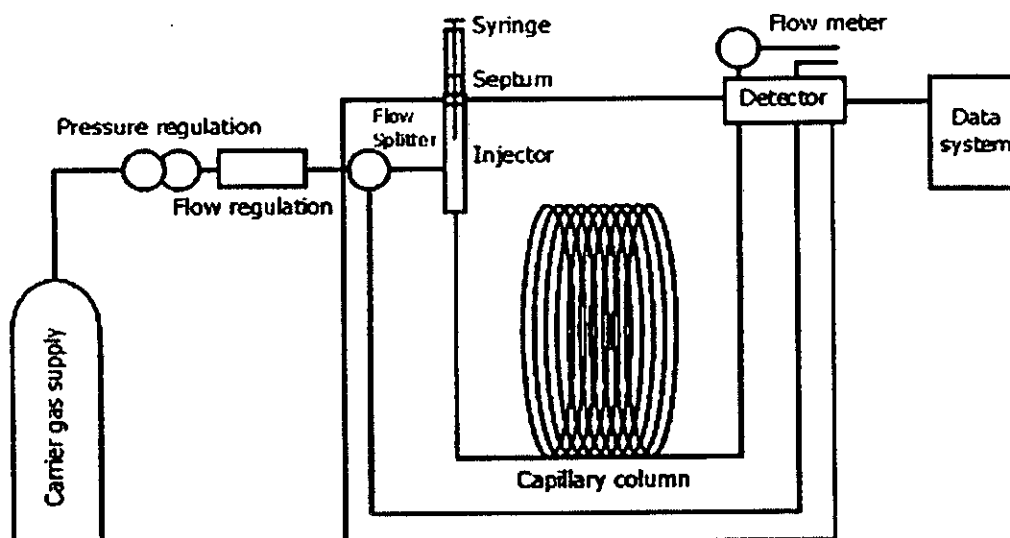
แก๊สโครมาโทกราฟี (gas chromatography) หรือที่นิยมเรียกชื่อย่อว่า GC เป็นวิธีที่ใช้ในการแยกสารผสมโดยอาศัยหลักการกระจายตัว (distribution) ของสารระหว่างวัฏภาคที่แตกต่างกันคือ วัฏภาคเคลื่อนที่ (mobile phase) และวัฏภาคคงที่ (stationary phase) โดยวัฏภาคคงที่เป็นของแข็งหรือของเหลวเคลือบอยู่บนของแข็งบรรจุในคอลัมน์หรือของเหลวเคลือบอยู่ที่ผนังด้านในของคอลัมน์ ส่วนวัฏภาคเคลื่อน

ที่เป็นแก๊สเรียกว่าแก๊สตัวพา (carrier gas) ซึ่งจะไหลผ่านคอลัมน์ตลอดเวลาขณะทำการวิเคราะห์สารตัวอย่างที่วิเคราะห์ด้วยเทคนิคนี้ต้องเป็นสารที่สามารถเปลี่ยนสถานะเป็นแก๊สได้ ซึ่งเทคนิคแก๊สโครมาโทกราฟีสามารถแบ่งออกเป็น 2 เทคนิคตามชนิดของวัฏภาคคงที่ คือ

- แก๊ส-โซลิดโครมาโทกราฟี (gas solid chromatography; GSC) วัฏภาคคงที่เป็นของแข็งที่สามารถดูดซับ (adsorption) สารที่ต้องการแยกได้ เช่น molecular sieves, porous polymers, silica gel, alumina และ activated carbon
- แก๊ส-ลิกวิดโครมาโทกราฟี (gas liquid chromatography; GLC) วัฏภาคคงที่เป็นของเหลวซึ่งเคลือบหรือยึดอยู่บนของแข็ง (supporting material) หรือของเหลวเคลือบบนผนังของคอลัมน์ การแยกสารผสมใช้หลักการกระจายตัวของสารในวัฏภาคคงที่ของเหลวได้แตกต่างกัน โดยการวิเคราะห์สารด้วยแก๊สโครมาโทกราฟีนิยมใช้เทคนิคแก๊ส-ลิกวิดโครมาโทกราฟีมากกว่า เนื่องจากสารที่ใช้เป็นวัฏภาคคงที่มีให้เลือกใช้งานได้กว้าง นอกจากนี้ของเหลวยังสามารถเคลือบภายในคอลัมน์ชนิดคาปิลลารีได้ง่าย ซึ่งเป็นคอลัมน์ชนิดที่นิยมใช้กันในปัจจุบัน (Willett. 1991: 1-3)

3.1 หลักการทำงานของเครื่อง

สารตัวอย่างถูกฉีด (inject) โดยเข็มฉีดระดับไมโครลิตรผ่านเซ็ปทัม (septum) เข้าเครื่องแก๊สโครมาโทกราฟีที่บริเวณช่องฉีดสาร (injection port) แล้วกลายเป็นไอทันทีด้วยความร้อนจากเครื่องให้ความร้อน (heater) หรือเครื่องระเหยสาร (vaporizer) ไอของสารจะถูกพาเข้าสู่คอลัมน์โดยแก๊สพาซึ่งไหลผ่านคอลัมน์อยู่ตลอดเวลา องค์ประกอบของสารในตัวอย่างจะแพร่กระจายในวัฏภาคคงที่ตามคุณสมบัติเฉพาะตัวของสาร สารจึงเคลื่อนที่ผ่านคอลัมน์ด้วยอัตราเร็วที่แตกต่างกัน ทำให้สารผสมแยกออกจากกัน แล้วเคลื่อนที่เข้าสู่ดีเทคเตอร์ (detector) ด้วยเวลาที่แตกต่างกันตามลำดับ แล้วรายงานผลเป็นกราฟระหว่างสัญญาณไฟฟ้าเทียบกับเวลาเรียกว่าโครมาโทแกรม ซึ่งขนาดของสัญญาณจะแปรผันโดยตรงกับปริมาณของสาร ในเทคนิคแก๊สโครมาโทกราฟีตัวแปรสำคัญที่มีผลต่อการแยกสารได้แก่ อุณหภูมิ อัตราการไหลของแก๊สพา และชนิดของคอลัมน์ โดยส่วนประกอบของเครื่องแก๊สโครมาโทกราฟีแสดงในภาพประกอบ 1



ภาพประกอบ 1 แสดงส่วนประกอบของเครื่องแก๊สโครมาโทกราฟ

ที่มา: Kellner, R.; et al. (1997). *Analytical chemistry*. p 225.

รายละเอียดส่วนประกอบต่างๆของเครื่องแก๊สโครมาโทกราฟเป็นดังนี้

3.1.1 แก๊สพา นิยมใช้ฮีเลียม ไฮโดรเจน หรือไนโตรเจน ทำหน้าที่เป็นวัฏภาคเคลื่อนที่บรรจุอยู่ในถังแก๊สซึ่งทนแรงดันได้สูงและมีอุปกรณ์วัดความดันและควบคุมอัตราการไหลของแก๊ส (pressure regulator) โดยอัตราการไหลของแก๊สพามีส่วนสำคัญต่อการวิเคราะห์ทั้งเชิงคุณภาพและเชิงปริมาณ ดังนั้นจึงมีความจำเป็นที่ต้องควบคุมให้คงที่ขณะทำการวิเคราะห์ แก๊สพาที่ใช้ควรมีคุณสมบัติดังนี้คือไม่ทำปฏิกิริยากับสารตัวอย่างรวมถึงตัวทำละลายและสารที่เคลือบภายในคอลัมน์ มีอัตราการแพร่ต่ำและมีมวลโมเลกุลต่ำ ง่าย ราคาไม่แพง มีความบริสุทธิ์สูง และเหมาะสมกับดีเทคเตอร์ที่ใช้

3.1.2 ระบบการฉีดสารตัวอย่าง โดยทั่วไปส่วนที่ฉีดสารตัวอย่างเข้าจะมีเครื่องให้ความร้อน (heater) หรือเครื่องระเหย (vaporizer) ประกอบอยู่ด้วยเพื่อให้สารตัวอย่างกลายเป็นไอ ปริมาณสารตัวอย่างที่ใช้มีความสัมพันธ์กับขนาดของคอลัมน์ สารตัวอย่างที่อยู่ในสถานะแก๊สมักใช้การฉีดด้วย gas tight syringes หรือ gas sampling valve ซึ่งวิธีนี้จะให้ค่าความแม่นยำดีกว่าวิธีแรก ส่วนสารตัวอย่างที่เป็นของเหลวนิยมใช้ microsyringe ฉีดผ่านเข็มที่ทำจากซิลิโคน หรืออาจใช้วิธีการฉีดเข้าไปที่ตำแหน่ง flash vaporizer และสารตัวอย่างที่เป็นของแข็งจำเป็นต้องทำให้ละลายก่อนด้วยตัวทำละลายที่

เหมาะสม หรือใช้อุปกรณ์ที่สามารถเปลี่ยนให้กลายเป็นแก๊ส โดยการเผาที่อุณหภูมิสูงถึง 1000 องศาเซลเซียส ซึ่งเทคนิคต่างๆที่ใช้ฉีดสารเข้าไปขึ้นอยู่กับสถานะของสารตัวอย่างและชนิดคอลัมน์ โดยทั่วไปอุณหภูมิบริเวณช่องฉีดสาร ควรต้องสูงพอที่จะทำให้สารตัวอย่างกลายเป็นไอ วิธีการฉีดสารตัวอย่างในเทคนิคแก๊สโครมาโทกราฟีที่นิยมใช้ได้แก่ split splitless และ cool on-column ดังแสดงในตาราง 4

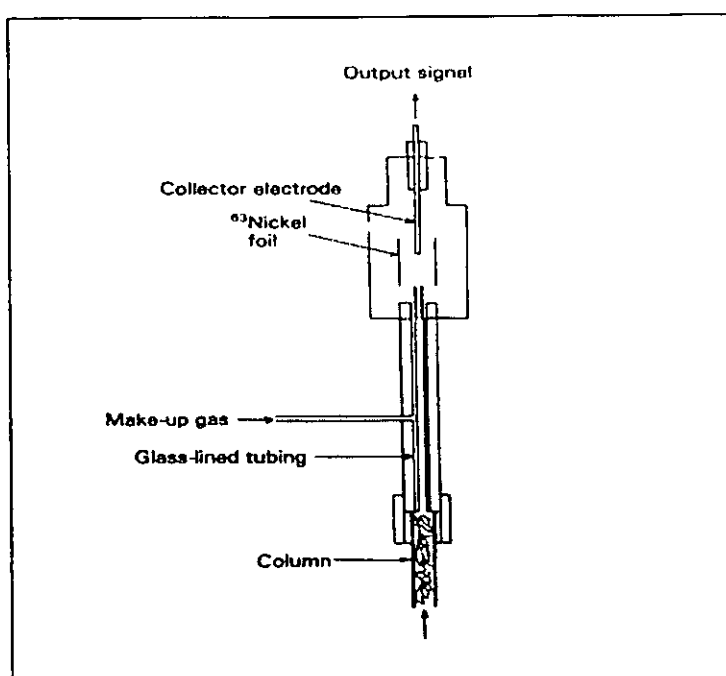
ตาราง 4 แสดงการเปรียบเทียบวิธีฉีดสารตัวอย่างแบบ split, splitless และ cool on-column injection

split injection	splitless injection	cool on-column injection
วิเคราะห์สารปริมาณมาก	วิเคราะห์สารปริมาณน้อยๆ	วิเคราะห์สารปริมาณน้อยๆ
ใช้อัตโนมัติได้	ใช้อัตโนมัติได้	ใช้การฉีดด้วยมือ
เป็นการระเหยสารตัวอย่าง (250 - 320 องศาเซลเซียส)	เป็นการระเหยสารตัวอย่าง (200 - 280 องศาเซลเซียส)	เป็นการฉีดสารตัวอย่างแบบเย็น (ที่อุณหภูมิห้อง)
ฉีดสารตัวอย่างรวดเร็ว	ฉีดสารตัวอย่างช้า	ฉีดสารตัวอย่างรวดเร็ว
เหมาะกับสารตัวอย่างที่เสถียรต่อ ความร้อน	เหมาะกับสารตัวอย่างที่เสถียรต่อ ความร้อน	เหมาะกับสารตัวอย่างที่ไม่เสถียร ต่อความร้อน
ไม่มีสารตัวอย่างตกค้างสะสมที่ หัวคอลัมน์	ไม่มีสารตัวอย่างตกค้างสะสม ที่หัวคอลัมน์	สารที่ไม่กลายเป็นไอจะตกค้าง สะสมที่หัวคอลัมน์
ถูกต้อง แม่นยำพอสมควร	ถูกต้อง แม่นยำกว่าวิธีแรก	ถูกต้อง แม่นยำที่สุด

3.1.3 **ตู้อบและคอลัมน์** ตู้อบเป็นส่วนประกอบของเครื่องแก๊สโครมาโทกราฟที่ใช้ควบคุมอุณหภูมิของคอลัมน์จึงต้องสามารถควบคุมอุณหภูมิได้ถูกต้องและคงที่ มีระบบการเพิ่ม-ลดอุณหภูมิได้อย่างรวดเร็ว คอลัมน์บรรจุอยู่ในตู้อบ โดยปลายข้างหนึ่งต่อกับระบบการฉีดสารและปลายอีกด้านหนึ่งต่อเข้ากับดีเทคเตอร์ วัสดุที่ใช้ทำคอลัมน์มีหลายชนิดเช่น เหล็กไร้สนิม แก้ว และพอลิซิลิกา คอลัมน์ที่ใช้ในเทคนิคแก๊สโครมาโทกราฟีมีหลากหลายชนิด โดยแตกต่างกันในเรื่องของขนาดและชนิดของสารวิเคราะห์ คอลัมน์ที่บรรจุอยู่ในคอลัมน์ ที่ใช้กันโดยทั่วไปมี 2 ประเภทคือแพ็คคอลัมน์ ซึ่งมีเส้นผ่านศูนย์กลางคอลัมน์ขนาดใหญ่ประมาณ $1/4 - 1/8$ นิ้ว และยาว 4 – 6 ฟุต และคาพิลลารีคอลัมน์ ซึ่งมีเส้นผ่านศูนย์กลางภายในประมาณ 0.25 – 0.53 มิลลิเมตร ภายในฉาบด้วยวัสดุของเหลวเป็นฟิล์มบางๆตลอดความยาวของคอลัมน์ ซึ่งยาวประมาณ 25 – 50 เมตร จึงมีประสิทธิภาพการแยกสูงเมื่อใช้ที่สภาวะการทดลองเหมาะสม

3.1.4 **ดีเทคเตอร์** เป็นเครื่องมือวัดปริมาณสารที่ออกจากคอลัมน์ โดยรายงานผลเป็นสัญญาณทางไฟฟ้า ที่ใช้กันมากได้แก่ เฟลมไอออไนเซชัน ดีเทคเตอร์ (flame ionization detector; FID) เทอร์มัล คอนดักทิวิตี ดีเทคเตอร์ (thermal conductivity detector; TCD) และอิเล็กตรอน แคปเจอร์ ดีเทคเตอร์ (electron capture detector; ECD) ซึ่งตัวตรวจวัดชนิดนี้นิยมใช้ในการวิเคราะห์ชนิดและปริมาณสารกำจัดศัตรูพืชกลุ่มออร์กาโนคลอรีน เนื่องจากมีความเหมาะสมกับสารตัวอย่างที่มีอะตอมของฮาโลเจนเป็นองค์ประกอบ โดยภายในตัวตรวจวัดจะมีสารกัมมันตรังสีที่ให้อนุภาคเบต้า ซึ่งที่นิยมใช้คือ นิเกิล 63 หรือทริเทียมบรรจุอยู่ ซึ่งทำให้มีอิเล็กตรอนจำนวนมากเกิดขึ้นและเมื่อมีอะตอมของสารตัวอย่างที่มีความสามารถในการจับอิเล็กตรอน (มีค่าอิเล็กโตรเนกาติวิตีสูง) เช่น อะตอมของคลอรีนผ่านเข้ามาจะเข้าจับกับอิเล็กตรอนที่อยู่ภายในตัวตรวจวัด ทำให้จำนวนอิเล็กตรอนลดลง ซึ่งเป็นผลให้กระแสไฟฟ้าลดลงด้วย โดยจำนวนอิเล็กตรอนที่ถูกจับจะเป็นสัดส่วนโดยตรงกับปริมาณสารจึงสามารถวิเคราะห์ปริมาณสารตัวอย่างได้ ซึ่งลักษณะของตัวตรวจวัดชนิดนี้แสดงไว้ในภาพประกอบ 2

3.1.5 **ระบบประมวลผลและรายงานผล** เป็นส่วนประกอบของเครื่องที่ทำหน้าที่บันทึกและรายงานผลมีหลายแบบ เช่น เครื่องบันทึกผล (recorder) ทำหน้าที่บันทึกโครมาโทแกรมเพียงอย่างเดียว เครื่องบันทึกและประมวลผล (integrator) บันทึกโครมาโทแกรม คำนวณผลและให้ข้อมูลต่างๆ เช่น พื้นที่ ได้พีค ความสูงของพีค เวลารีเทนชัน และสามารถเก็บข้อมูลได้ ปัจจุบันนิยมใช้คอมพิวเตอร์ในการควบคุมการทำงานของเครื่องแก๊สโครมาโทกราฟ รวมทั้งบันทึกและประมวลผล



ภาพประกอบ 2 แสดงลักษณะของตัวตรวจวัดชนิดอิเล็กตรอนแคปเจอร์

ที่มา: Braithwaite, A.; & Smith, F.J. (1990). *Chromatographic method*. p 172.

4. การพัฒนาเทคนิคแก๊สโครมาโทกราฟีที่มีความเร็วและงานวิจัยที่เกี่ยวข้อง

เทคนิคแก๊สโครมาโทกราฟีได้มีการเริ่มใช้ในปี ค.ศ.1952 โดยเจมส์และมาร์ติน (James; & Martin. 1952 : 679) และมีการพัฒนาอย่างต่อเนื่อง ต่อมาโกเลย์ได้ประดิษฐ์คอลัมน์ชนิดปลายเปิด (open tubular column) (Golay; et al. 1957 : 1) และนำไปสู่การพัฒนาเป็นคาพิลลารีคอลัมน์ที่ใช้วิเคราะห์สารประกอบชนิดต่างๆได้อย่างมีประสิทธิภาพในปัจจุบัน ซึ่งการพัฒนาเทคนิคแก๊สโครมาโทกราฟีที่มีความเร็ว นั้นมุ่งเน้นไปที่การลดระยะเวลาในการวิเคราะห์ซึ่งขึ้นอยู่กับชนิดและจำนวนของสารตัวอย่างในของผสม นั้นๆและการเลือกสภาวะการทดลอง ส่วนใหญ่ของผสมที่ประกอบด้วยสารมากกว่า 12 ชนิดขึ้นไปจะใช้ เวลาในการวิเคราะห์เป็นนาที (Korytar; et al. 2002 : 558) แต่ในเทคนิคแก๊สโครมาโทกราฟีที่มีความเร็ว การแยกสารผสมออกจากกันจะใช้เวลาอยู่ในช่วงวินาทีเท่านั้น ปัจจัยที่มีผลต่อความเร็วคือการใช้คอลัมน์ที่

มีขนาดสั้นและอัตราการไหลของแก๊สพาสูง ซึ่งสามารถแบ่งระดับความเร็วของเทคนิคออกเป็น 3 ระดับ (Dagan; & Amirav. 1996 : 737) ดังแสดงในตาราง 5

ตาราง 5 แสดงระดับความเร็วของเทคนิคแก๊สโครมาโทกราฟีชนิดคาพิลลารีคอลัมน์

ลักษณะการวิเคราะห์	ช่วงเวลาในการวิเคราะห์	ความกว้างที่ครึ่งหนึ่งของความสูงพีค
Fast	นาที	1-3 นาที
Very fast	วินาที	30-200 วินาที
Ultra fast	ส่วนของวินาที	5-30 วินาที

ที่มา : Matisova, E.; & Domotorova, M. (2003). *Review: Fast gas Chromatography and its use in trace analysis*: pp 199-221.

ในการวิเคราะห์สารตัวอย่างด้วยเทคนิคแก๊สโครมาโทกราฟีที่มีความเร็วขึ้นต้องการที่จะให้มีความรวดเร็ว ถูกต้องและแม่นยำ จึงได้มีการพัฒนาส่วนประกอบต่างๆของเครื่องให้มีประสิทธิภาพมากขึ้น ดังนี้

4.1 คอลัมน์ เป็นส่วนประกอบของเครื่องแก๊สโครมาโทกราฟีที่มีความสำคัญมากต่อการแยกองค์ประกอบต่างๆของสารในตัวอย่าง แต่เดิมนิยมใช้คอลัมน์ชนิดแพ็คคอลัมน์และคาพิลลารีคอลัมน์แบบธรรมดา จนกระทั่งในปี ค.ศ. 1962 เดสตี โกลด์อัฟ และสวานตัน ได้พัฒนาลดขนาดของเส้นผ่านศูนย์กลางภายในคอลัมน์ (narrow-bore capillary column) ให้มีขนาดเท่ากับ 35 ไมโครเมตร และยาวเพียง 1.2 เมตรเท่านั้น (Desty; Goldup; & Swanton. 1962 : 105) เพื่อใช้แยกสารประกอบ 15 ชนิด ด้วยเวลาเพียง 2 นาที

นอกจากนี้ยังมีการพัฒนาลดความหนาของสารเคลือบภายในคอลัมน์ลง ซึ่งนิยมใช้กันมากในปัจจุบัน เช่น งานวิจัยของฮาดะและคนอื่นๆ (Hada; et al. 2000 : 81-90) ได้พัฒนาการวิเคราะห์ปริมาณสารกำจัดศัตรูพืชที่ถูกเติมลงในตัวอย่างน้ำจากแม่น้ำ โดยเลือกใช้เทคนิคแก๊สโครมาโทกราฟีที่มีความเร็วโดยเปรียบเทียบการใช้คอลัมน์แบบ high-speed narrow-bore capillary column (ขนาด 10

เมตร x 0.1 มิลลิเมตร i.d.) กับ HP-1 capillary column (ขนาด 30 เมตร x 0.25 มิลลิเมตร i.d., 0.25 ไมโครเมตร film thickness) โดยใช้แมสสเปกโตรเมตรีเป็นตัวตรวจวัด พบว่าเมื่อใช้ high-speed narrow-bore capillary column จะใช้เวลาในการตรวจวัดน้อยกว่าการใช้ HP-1 capillary column ถึงร้อยละ 50 ส่วนโควาซีและคนอื่นๆ (Covaci; et al. 2002 : 790-798) ได้พัฒนาเทคนิคการวิเคราะห์สารโพลีโบรมิเนเตดไดฟีนิลอีเธอร์และโพลีคลอรีเนเตดไบฟีนิลในตัวอย่างเนื้อเยื่อสะสมไขมันของมนุษย์ด้วยการสกัดแบบ soxhlet extraction แล้ววิเคราะห์ด้วยเทคนิค large-volume injection narrow-bore capillary column GC-MS พบว่าใช้ระยะเวลาในการวิเคราะห์เพียง 10 นาทีเท่านั้น ซึ่งน้อยกว่าการใช้คอลัมน์ชนิด standard-bore column ถึงร้อยละ 50

เนื่องจากขีดความสามารถในการรับสารตัวอย่างนั้นขึ้นอยู่กับขนาดเส้นผ่านศูนย์กลางและความหนาของสารที่เคลือบภายในคอลัมน์ จึงได้มีการพัฒนาคอลัมน์ชนิดใหม่ขึ้นมาคือ มัลติคาพิลลารีคอลัมน์ (เป็นคอลัมน์ขนาดยาว 1 เมตร ภายในประกอบด้วยคาพิลลารีคอลัมน์จำนวน 919 อัน โดยแต่ละอันมีขนาดเส้นผ่านศูนย์กลางภายในเท่ากับ 40 ไมโครเมตร) ซึ่งสามารถรับปริมาณสารตัวอย่างได้มากกว่าคอลัมน์ชนิดอื่นที่มีความยาวเท่ากัน และมีประสิทธิภาพในการแยกที่ดีและรวดเร็วมาก เนื่องจากคอลัมน์มีขนาดสั้นแต่มีจำนวนเพลททางทฤษฎี (number of theoretical plates; N) สูง (Cramers; & Leclercq. 1999 : 3) เช่น งานวิจัยของลีสเฮาท์และคนอื่นๆ (Lieshout; et al. 1999 : 155-162) ที่พัฒนาเทคนิคแก๊สโครมาโทกราฟีให้มีความรวดเร็วขึ้นโดยทำการเปรียบเทียบคอลัมน์ 4 ชนิดคือ packed capillary column, multicapillary column, narrow-bore column และ standard-bore column โดยใช้เทคนิคแก๊สโครมาโทกราฟีที่มีตัวตรวจวัดแบบเฟลมไอออนเซชัน เพื่อวิเคราะห์สารผสมกลุ่มอัลเคนสายโซ่ตรง ที่มีคาร์บอนอะตอมในช่วง C_8 - C_{16} และ fatty acid methyl ester (FAME) ที่มีคาร์บอนอะตอมในช่วง C_{12} - C_{18} ผลการทดลองพบว่าคอลัมน์ชนิด packed capillary column, multicapillary column และ narrow-bore column มีประสิทธิภาพในการแยกสารผสมได้ดีใกล้เคียงกัน และดีกว่าคอลัมน์ชนิด standard-bore column ส่วนระยะเวลาในการวิเคราะห์พบว่าคอลัมน์ชนิด multicapillary column ใช้เวลาน้อยที่สุด

นอกจากนี้ในงานวิจัยของนิรันดร์ พงษ์พันธุ์และคนอื่นๆ (Pongpun, N.; et al. 2000 : 1105-1111) ได้พัฒนาเครื่องแก๊สโครมาโทกราฟีที่ใช้ในภาคสนามให้มีประสิทธิภาพสูงและสามารถวิเคราะห์สารตัวอย่างได้รวดเร็ว โดยเปรียบเทียบประสิทธิภาพของการเป็นอินเตอร์เฟสซึ่งทำหน้าที่เชื่อมต่อระบบเครื่องแก๊สโครมาโทกราฟีเข้ากับ Time-of-flight mass spectrometer (TOF-MS) ระหว่างเจ็ทเซพาราเรเตอร์ที่สร้างขึ้นเองกับไอเพนสปลิทเตอร์ พบว่าการทำงานของเจ็ทเซพาราเรเตอร์มีประสิทธิภาพสูงกว่าไอเพนสปลิทเตอร์ และการใช้คอลัมน์ชนิดมัลติคาพิลลารีคอลัมน์เป็นตัวแยกสารประกอบอินทรีย์ที่สามารถระเหยได้ที่มีมวล

โมเลกุลช่วง 85 - 166 สามารถเลือกใช้อัตราการไหลของแก๊สพาได้ช่วงกว้างคือ 20 - 60 มิลลิลิตรต่อนาที นอกจากนี้ยังใช้ระยะเวลาในการวิเคราะห์ที่รวดเร็วขึ้นกว่าการใช้คอลัมน์ปกติ 5 - 10 เท่า

4.2 อุณหภูมิ ในการวิเคราะห์ด้วยเทคนิคแก๊สโครมาโทกราฟีอุณหภูมิมีผลต่อการทำให้กลายเป็นไอและอัตราการเคลื่อนที่ขององค์ประกอบที่อยู่ในสารตัวอย่าง ดังนั้นการปรับเพิ่มอุณหภูมิในสภาวะการทดลองแบบอุณหภูมิคงที่ให้อุณหภูมิสูงขึ้นกว่าเดิม หรือเปลี่ยนจากสภาวะการวิเคราะห์แบบอุณหภูมิคงที่เป็นแบบการตั้งโปรแกรมอุณหภูมิ โดยปรับอัตราการเพิ่มอุณหภูมิให้สูงขึ้นประมาณ 20 - 40 องศาเซลเซียสต่อนาที จะสามารถลดระยะเวลาในการวิเคราะห์ได้ (Fatoki; & Awofolu, 2003 : 225-236) ซึ่งการตั้งโปรแกรมอุณหภูมิหรือเรียกกันโดยย่อว่า PTGC (programmed-temperature gas chromatography) เป็นเทคนิคเพื่อช่วยให้การแยกดีขึ้นและลดระยะเวลาในการวิเคราะห์ โดยเฉพาะกับสารตัวอย่างที่มีองค์ประกอบซับซ้อนและมีช่วงจุดเดือดแตกต่างกันมาก

4.3 เทคนิคแก๊สโครมาโทกราฟีแบบ 2 มิติ (Two-dimensional gas chromatography; 2D-GC) หรือเรียกว่า GC x GC เป็นประโยชน์มากสำหรับการวิเคราะห์สารตัวอย่างที่มีองค์ประกอบซับซ้อนและมีปริมาณน้อย โดยการเพิ่มความสามารถในการแยกสารของเทคนิคแก๊สโครมาโทกราฟีที่มีความเร็วด้วยการเชื่อมต่อกอลัมน์ 2 อันเข้าด้วยกัน นิยมใช้ในกรณีที่ต้องประกอบของสารเมื่อผ่านจากคอลัมน์แรกแล้วเกิดการแยกที่ไม่สมบูรณ์ เช่น มีการซ้อนทับกันของพีค สารจะถูกชะออกมาเข้าสู่คอลัมน์ที่สองที่เคลือบด้วยวัสดุภาคคงที่ที่แตกต่างกับในคอลัมน์แรก เพื่อแยกพีคที่ซ้อนทับออกจากกัน (Shellie; & Marriott, 2002 : 5426-5430) เช่น ในงานวิจัยของโจทิงและแซค (Whiting; & Sacks, 2002 : 246-252) ที่ประดิษฐ์เครื่องแก๊สโครมาโทกราฟสำหรับออกภาคสนามขนาดเล็ก ซึ่งสามารถใช้อากาศที่ความดันบรรยากาศเป็นแก๊สพาได้ ด้วยการใช้ปั๊มดูดอากาศขนาดเล็ก (50.5 kPa) เป็นตัวจ่ายแก๊สพาเพื่อวิเคราะห์สารประกอบอินทรีย์ที่สามารถระเหยได้ โดยใช้คอลัมน์ที่เคลือบด้วยวัสดุภาคคงที่ที่แตกต่างกัน 2 ชนิดคือ non-polar dimethyl polysiloxane ขนาด 4.5 เมตร x 0.25 มิลลิเมตร i.d., 0.50 ไมโครเมตร film thickness เชื่อมต่อกับ polar trifluoropropylmethyl polysiloxane ขนาด 4.5 เมตร x 0.25 มิลลิเมตร i.d., 0.25 ไมโครเมตร film thickness ซึ่งวิธีการวิเคราะห์ที่พัฒนามานี้สามารถวิเคราะห์สารจำนวน 18 ชนิดได้ภายในเวลา 3.5 นาที ส่วนซานเชซและแซค (Sanchez; & Sacks, 2003 : 978-985) ศึกษาวิธีการวิเคราะห์สารอินทรีย์ที่สามารถระเหยได้ในตัวอย่างอากาศปริมาตรสูง (large-volume air samples) โดยใช้ dual column GC-FID ที่ประกอบด้วย Rtx-WAX capillary column ขนาด 10 เมตร x 0.25 มิลลิเมตร i.d., 0.25 ไมโครเมตร film thickness ต่อกับ Rtx-5 capillary column (5% phenyl dimethyl polysiloxane) ขนาด 15 เมตร x 0.25 มิลลิเมตร i.d., 0.5 ไมโครเมตร film thickness ผลการทดลองพบว่า

สามารถวิเคราะห์สารอินทรีย์ที่สามารถระเหยได้จำนวน 42 ชนิด ที่มีจำนวนคาร์บอนอะตอมในช่วง nC_5 - nC_{12} ได้อย่างถูกต้อง แม่นยำ โดยใช้เวลาในการวิเคราะห์เพียง 9.17 นาที

4.4 การวิเคราะห์ในสภาวะสุญญากาศ (vacuum-outlet condition) เป็นวิธีการวิเคราะห์ที่ทำการทดลองภายใต้สภาวะสุญญากาศ โดยการใช้ปั๊มดูดอากาศออกจากบริเวณคอลัมน์ ซึ่งวิธีนี้จะสามารถเพิ่มประสิทธิภาพการแยกองค์ประกอบของสารตัวอย่างสำหรับคอลัมน์ที่มีขนาดสั้นได้มากกว่าการวิเคราะห์ที่ความดันปกติถึงร้อยละ 12.5 ปัจจุบันมีการนำวิธีนี้มาใช้ในการวิเคราะห์สารกำจัดศัตรูพืชตกค้างในอาหาร โดยการเชื่อมต่อเครื่องแก๊สโครมาโทกราฟีกับเครื่องแมสสเปกโตรมิเตอร์และใช้งานคอลัมน์ภายใต้สภาวะสุญญากาศ (Mastovska; Lehotay; & Hajslova. 2001 : 291)

4.5 ระบบการฉีดสารตัวอย่าง เป็นส่วนสำคัญที่มีผลต่อความกว้างของพีคซึ่งจะส่งผลถึงประสิทธิภาพในการแยกสาร โดยการเลือกให้ระบบ split flow ในอัตราส่วนสูงๆ ข้อเสียของเทคนิค split คือให้ค่า LOD ที่ไม่ดีและไม่เหมาะกับการวิเคราะห์สารตัวอย่างที่มีปริมาณน้อย จึงมีการพัฒนาการฉีดสารสำหรับเทคนิคแก๊สโครมาโทกราฟีที่มีความเร็วเป็นแบบต่างๆเพื่อใช้กับเทคนิค split ได้แก่ injection valves และ cryofocusing inlets ซึ่งค่อนข้างยุ่งยาก ดังนั้นเทคนิค splitless แบบ cool on-column injection และ programmable temperature vaporizer (PTV) จึงเข้ามามีบทบาทมากในเทคนิคแก๊สโครมาโทกราฟีที่มีความเร็ว โดยเฉพาะการวิเคราะห์สารตัวอย่างปริมาณน้อยในสิ่งแวดล้อม (Bertsch; et al. 1992 : 126)

5. การวิเคราะห์ชนิดและปริมาณสารกำจัดศัตรูพืชกลุ่มออร์กาโนคลอรีนในน้ำโดยใช้เทคนิคแก๊สโครมาโทกราฟีและงานวิจัยที่เกี่ยวข้อง

นพดล พักอังกูร (Noppadon Fackangkong. 1991 : 26-29) ทำการวิเคราะห์ชนิดและปริมาณของสารมีพิษกลุ่มออร์กาโนคลอรีนในน้ำจากบริเวณลุ่มแม่น้ำจันทบุรี โดยเตรียมตัวอย่างด้วยเทคนิคการสกัดด้วยตัวทำละลายคือเฮกเซน จากนั้นกำจัดสิ่งเจือปนด้วยเทคนิคคอลัมน์โครมาโทกราฟีที่ใช้ตัวดูดซับเป็นฟลอริซิล (florisil) แล้ววิเคราะห์ชนิดและปริมาณด้วยเทคนิคแก๊สโครมาโทกราฟีที่มีตัวตรวจวัดเป็นแบบอิเล็กตรอนแคปเจอร์ ผลการศึกษาพบสารมีพิษกลุ่มออร์กาโนคลอรีน 10 ชนิดโดยชนิดที่ตรวจพบในปริมาณมากได้แก่ ดีดีทีรวม 70% ดีลตริน 63% และ อัลตริน 60% จากจำนวน 30 ตัวอย่าง

ประวดี อุดลสุทธานนท์ (Prawat adulsuttanon. 1994 : 28-38) ศึกษาชนิดและปริมาณของสารกำจัดศัตรูพืชกลุ่มออร์กาโนคลอรีนจำนวน 10 ชนิด ในน้ำบริเวณลุ่มน้ำแม่กลองช่วงเดือนตุลาคม 2532 – สิงหาคม 2533 จำนวน 15 ลุ่มน้ำย่อย ด้วยเทคนิคแก๊สโครมาโทกราฟี ที่มีตัวตรวจวัดเป็นแบบอิเล็กตรอนแคปเจอร์ ซึ่งการเตรียมตัวอย่างก่อนการวิเคราะห์ด้วยเครื่องใช้เทคนิคการสกัดด้วยตัวทำละลายโดยใช้

เฮกเซน จากนั้นกำจัดสิ่งเจือปนด้วยเทคนิคคอลัมน์โครมาโทกราฟีที่ใช้ตัวดูดซับเป็นฟลอริซิล แล้วนำสารที่สกัดได้ไปวิเคราะห์ ผลการวิเคราะห์พบสารกำจัดศัตรูพืชกลุ่มออร์กาโนคลอรีนในน้ำ 9 ชนิด คือ อัลฟา-บีเอซี เบต้า-บีเอซี แกมมา-บีเอซี เฮปตะคลอร์ เฮปตะคลอร์อีพอกไซด์ อัลดริน ดีลดริน เอนดริน และ ดีดีทีรวม ซึ่งปริมาณที่พบอยู่ในช่วง 0.062 - 0.385 ไมโครกรัมต่อลิตร

ชี หว่องและลี (Chee; Wong; & Lee. 1996 : 211-218) ได้ศึกษาหาชนิดและปริมาณสารกำจัดศัตรูพืชกลุ่มออร์กาโนคลอรีนจากตัวอย่างน้ำบริเวณเกาะสิงคโปร์โดยใช้เทคนิคการสกัดแบบ membranous solid phase extraction โดยตัวทำละลายที่ใช้สกัดเป็นเอทิลอะซีเตทและเฮกเซน ส่วนเมมเบรนที่ใช้คือ C_{18} -bonded silica Bakerbond แล้วตรวจวัดด้วยเทคนิคแก๊สโครมาโทกราฟีที่มีตัวตรวจวัดแบบอิเล็กตรอนแคพเจอร์และแบบแมสสเปกโตรเมตรี ผลการศึกษาพบว่าเทคนิคการสกัดที่เลือกใช้มีความเหมาะสมกับตัวอย่างน้ำจากคำร้อยละการกลับคืนอยู่ในช่วง 69 - 100

เวียนาและคนอื่นๆ (Viana; et al. 1996 : 267-274) ทำการเปรียบเทียบเทคนิคการสกัดสารกำจัดศัตรูพืชกลุ่มออร์กาโนคลอรีนที่ถูกเติมลงในตัวอย่างน้ำกลั่น ระหว่างเทคนิค disk solid phase extraction กับเทคนิค column solid phase extraction ที่ใช้ C_8 และ C_{18} เป็นตัวดูดซับแล้วชะด้วยเอทิลอะซีเตท จากนั้นวิเคราะห์ชนิดและปริมาณสารด้วยเทคนิคแก๊สโครมาโทกราฟีที่มีตัวตรวจวัดแบบอิเล็กตรอนแคพเจอร์ และไนโตรเจน-ฟอสฟอรัส ผลการทดลองพบว่าการใช้ตัวดูดซับ เป็น C_8 และ C_{18} ให้ค่าร้อยละการกลับคืนที่ดีใกล้เคียงกัน คือ C_8 column อยู่ในช่วง 65 - 95 C_8 disk อยู่ในช่วง 37 - 97 C_{18} column อยู่ในช่วง 51 - 101 และ C_{18} disk อยู่ในช่วง 19 - 90

ซิงค์ สแพสโซวาและไวท์ (Singh; Spassova; & White. 1998 : 231-244) ทำการศึกษารายการกำจัดศัตรูพืชกลุ่มออร์กาโนคลอรีนและสารกลุ่มอื่นๆ ที่ถูกเติมลงในตัวอย่างน้ำด้วยเทคนิคแก๊สโครมาโทกราฟีที่มีตัวตรวจวัดแบบแมสสเปกโตรเมตรี โดยทำการสกัดตัวอย่างด้วยเทคนิคการสกัดด้วยวัฏภาคของแข็งโดยใช้ตัวดูดซับเป็นฟลอริซิล และใช้สารประกอบที่ติดฉลากดีวีที่เตรียมเป็นสารมาตรฐานภายใน จากนั้นนำสารสกัดที่ได้มาวิเคราะห์ด้วยเทคนิคแก๊สโครมาโทกราฟีที่มีตัวตรวจวัดแบบอิเล็กตรอนแคพเจอร์ เปรียบเทียบกับแบบแมสสเปกโตรเมตรี พบว่าเทคนิคที่ใช้ตัวตรวจวัดเป็นอิเล็กตรอนแคพเจอร์ มีความไวในการตรวจวัดและให้ผลการวิเคราะห์ที่ดีต่อสารพิษกลุ่มดังกล่าวมากกว่าการใช้แมสสเปกโตรเมตรี และการใช้สารมาตรฐานภายใน จะทำให้ร้อยละการกลับคืนและค่าขีดจำกัดของความเข้มข้นต่ำสุดของวิธีการวิเคราะห์ดีขึ้น

วาสซิลากีส ทิสปี และสคูลลอส (Vassilakis; Tsipi; & Scoullas 1998 : 49-58) วิเคราะห์สารกำจัดศัตรูพืชกลุ่มออร์กาโนคลอรีนในตัวอย่างน้ำผิวดินจากประเทศกรีซโดยวิเคราะห์ด้วยเทคนิคแก๊ส

โครมาโทกราฟีที่ใช้ตัวตรวจวัดแบบต่างๆ คือ อิเลคตรอนแคพเจอร์ แมสสเปกโตรเมตรี และไนโตรเจน-ฟอสฟอรัส ภายหลังจากการสกัดด้วยเทคนิคการสกัดด้วยวัฏภาคของแข็ง (C_{18} cartridges) ที่ใช้ตัวทำละลายในการชะเป็นนอร์มัลเฮกเซน ผลการวิเคราะห์ในตัวอย่างน้ำผิวดิน พบสารกลุ่มออร์กาโนคลอรีน คือ ลินเดน (0.002 ไมโครกรัมต่อลิตร) และเอนโดซัลเฟน (0.001 ไมโครกรัมต่อลิตร) และเทคนิคที่เลือกใช้ในการสกัดให้ค่าร้อยละการกลับคืนอยู่ในช่วง 59.7 - 94.7 และค่าขีดจำกัดของความเข้มข้นต่ำสุดที่เครื่องมือสามารถวิเคราะห์ได้อยู่ในช่วง 0.001 - 0.06 ไมโครกรัมต่อลิตร

ซูและคนอื่นๆ (Zhou; et al. 2001 : 373-384) ทำการตรวจหาสารกำจัดศัตรูพืชกลุ่มออร์กาโนคลอรีนและโพลีคลอรีเนเตดไฮโดรคาร์บอนจากตัวอย่างน้ำบริเวณอ่าวตงตง ประเทศจีน โดยการสกัดด้วยเทคนิคการสกัดด้วยวัฏภาคของแข็ง ที่ใช้เอทิลอะซีเตตเป็นตัวชะ จากนั้นนำสารสกัดที่ได้มาวิเคราะห์ชนิดและปริมาณสารกำจัดศัตรูพืชทั้ง 2 กลุ่มด้วยเทคนิคแก๊สโครมาโทกราฟีที่มีตัวตรวจวัดแบบอิเล็กตรอนแคพเจอร์ ผลการวิเคราะห์พบปริมาณสารกลุ่มออร์กาโนคลอรีนในน้ำอยู่ในช่วง 143.3 - 5104.8 นาโนกรัมต่อลิตร ซึ่งชนิดที่พบมากได้แก่ ดีดีทีรวมและสารโพลีคลอรีเนเตดไฮโดรคาร์บอน โดยมีปริมาณอยู่ในช่วง 91.1 - 1355.3 นาโนกรัมต่อลิตร และตรวจไม่พบสารทั้งสองกลุ่มในตัวอย่างอนุภาคสารแขวนลอย

วินาสและคนอื่นๆ (Vinas; et al. 2002 : 249-256) ทำการวิเคราะห์สารกำจัดศัตรูพืชกลุ่มออร์กาโนคลอรีนในตัวอย่างน้ำ โดยใช้เทคนิคการสกัดด้วยตัวทำละลายคือเอทิลอะซีเตต ซึ่งให้ค่าร้อยละการกลับคืนอยู่ในช่วง 76 - 113 และยังพบว่าการเติมสารละลายโซเดียมคลอไรด์ลงไปในตัวอย่งน้ำเล็กน้อยในขั้นตอนการสกัดจะช่วยเพิ่มประสิทธิภาพในการสกัดได้ดียิ่งขึ้น โดยไม่ขึ้นกับความเข้มข้นของสารละลายโซเดียมคลอไรด์ จากนั้นวิเคราะห์ชนิดและปริมาณด้วยเทคนิคแก๊สโครมาโทกราฟีที่มีตัวตรวจวัดแบบอะตอมมิก-อิมิสชัน ซึ่งระยะเวลาในการวิเคราะห์ตัวอย่างแต่ละตัวจะใช้เวลาประมาณ 1 ชั่วโมง แต่วิธีที่ใช้มีความถูกต้องและแม่นยำดี (ค่าเบี่ยงเบนมาตรฐานสัมพัทธ์อยู่ในช่วง 5.6 - 6.7%) ช่วงความเข้มข้นของสารที่ให้กราฟมาตรฐานเป็นเส้นตรงและค่าขีดจำกัดของความเข้มข้นต่ำสุดที่เครื่องมือสามารถวิเคราะห์ได้อยู่ในช่วง 5 - 1500 นาโนกรัมต่อมิลลิลิตร และ 22 - 100 พิโคกรัมต่อมิลลิลิตร ตามลำดับ

ฟาโตกิและอโหวโฟลู (Fatoki; & Awofolu. 2003 : 225-236) พัฒนาวิธีวิเคราะห์สารกำจัดศัตรูพืชกลุ่มออร์กาโนคลอรีนที่ตกค้างในน้ำ ซึ่งเลือกใช้เทคนิคการสกัดแบบการสกัดด้วยตัวทำละลาย โดยเปรียบเทียบตัวทำละลาย 3 ชนิดคือ ไดคลอโรมีเทน เฮกเซน และปิโตรเลียม พบว่าไดคลอโรมีเทนให้ค่าร้อยละการกลับคืนสูงที่สุดในช่วง 71.03 - 100.13 จากนั้นนำสารที่สกัดได้มาวิเคราะห์ด้วยเทคนิคแก๊สโครมาโทกราฟีที่มีตัวตรวจวัดแบบอิเล็กตรอนแคพเจอร์ และใช้เพนตะคลอโรไนโตรเบนซีนเป็นสารมาตรฐานภายใน

ใน ซึ่งให้ค่าขีดจำกัดของความเข้มข้นต่ำสุดที่เครื่องมือสามารถวิเคราะห์ได้อยู่ในช่วง 5.5 - 20.6 นาโนกรัมต่อลิตร ปริมาณที่ตรวจพบอยู่ในช่วง 5.5 - 450 นาโนกรัมต่อลิตร ชนิดที่ตรวจพบในปริมาณมากได้แก่ ดีดีที ดีดีอี เฮปตะคลอร์ เอนโดซัลเฟน และคลอร์เดน

เฮอนานเดส-โรมีโรและคนอื่นๆ (Hernandez-Romero; et al. 2004 : 1-12) ทำการตรวจสอบคุณภาพน้ำบริเวณพื้นที่ลุ่มน้ำในประเทศเม็กซิโก โดยวิเคราะห์ชนิดและปริมาณสารกำจัดศัตรูพืชกลุ่มออร์กาโนคลอรีนตกค้าง ด้วยการสกัดด้วยตัวทำละลายผสมคือ อีเธอร์ : เฮกเซน แล้วกำจัดสิ่งเจือปนด้วยเทคนิคคอลัมน์โครมาโทกราฟีที่ใช้ตัวดูดซับเป็นฟลอริซิลเปรียบเทียบกับเทคนิคการสกัดแบบ solid phase microextraction (SPME) จากนั้นวิเคราะห์ชนิดและปริมาณด้วยเทคนิคแก๊สโครมาโทกราฟีที่มีตัวตรวจวัดแบบเฟลมไฮออไนเซชันและแบบแมสสเปกโตรเมตรี พบสารตกค้างคือดีดีดี จำนวน 2.0 ไมโครกรัมต่อลิตร และเทคนิคการสกัดแบบ solid phase microextraction ใช้ระยะเวลาในการสกัดน้อยกว่าเทคนิคการสกัดด้วยตัวทำละลาย อีกทั้งเทคนิคนี้ยังมีความสะดวก รวดเร็ว และถูกต้องเหมาะสมกับงานวิเคราะห์สารตัวอย่างปริมาณน้อย

บทที่ 3

วิธีการดำเนินการวิจัย

ในการดำเนินงานวิจัยนี้ผู้วิจัยได้ทำการแบ่งหัวข้อออกเป็น 2 ส่วนคือ

1. เครื่องมือ อุปกรณ์และสารเคมีที่ใช้ในการวิจัย
2. วิธีดำเนินการวิจัย ซึ่งมีขั้นตอนดำเนินการวิจัยดังนี้
 - การหาสภาวะที่เหมาะสมของเครื่องแก๊สโครมาโทกราฟที่มีตัวตรวจวัดแบบอิเล็กตรอนแคปเจอร์ในการวิเคราะห์ชนิดและปริมาณของสารกำจัดศัตรูพืชกลุ่มออร์กาโนคลอรีน
 - การสร้างกราฟมาตรฐานของสารกำจัดศัตรูพืชกลุ่มออร์กาโนคลอรีน
 - การเตรียมตัวอย่างน้ำผิวดินสังเคราะห์
 - การสกัดสารกำจัดศัตรูพืชกลุ่มออร์กาโนคลอรีนจากตัวอย่างน้ำ
 - การวิเคราะห์หาค่าร้อยละการกลับคืนและความแม่นยำของวิธีวิเคราะห์
 - สรุปสภาวะการทดลองสำหรับการวิเคราะห์ชนิดและปริมาณสารกำจัดศัตรูพืชกลุ่มออร์กาโนคลอรีนในตัวอย่างน้ำด้วยเทคนิค GC-ECD

1. เครื่องมือ อุปกรณ์และสารเคมีที่ใช้ในการวิจัย

1.1 เครื่องมือที่ใช้ในการวิจัย

- เครื่องแก๊สโครมาโทกราฟ (gas chromatograph) จากบริษัท Hewlett-Packard รุ่น HP 6890 ประกอบด้วย ตัวตรวจวัดชนิดอิเล็กตรอนแคปเจอร์ (electron capture detector; ECD) และระบบการฉีดสารตัวอย่าง (injection system) แบบ split/splitless mode
- เครื่องผลิตน้ำปราศจากไอออน (deionized water) จากบริษัท Millipore รุ่น Milli-Q
- เครื่องชั่งอย่างละเอียด (analytical balance) จากบริษัท PRECISA รุ่น 202A
- ถังบรรจุแก๊สตัวพา (carrier gas tank) พร้อมมาตรปรับความดันและอัตราการไหลของแก๊สพา (pressure regulator)
- ชุดอุปกรณ์ระบบสูญญากาศและปั๊มดูดอากาศหรือลดความดัน สำหรับเทคนิคการสกัดด้วยวัฏภาคของแข็ง จากบริษัท Alltech รุ่น Air Cardet[®]

1.2 อุปกรณ์และสารเคมีที่ใช้ในการวิจัย

- คอลัมน์ชนิด HP-5 capillary column (methylsiloxane) ขนาดยาว 30.0 เมตร เส้นผ่านศูนย์กลางภายในคอลัมน์เท่ากับ 0.32 มิลลิเมตร และมีความหนาของฟิล์มที่เคลือบเท่ากับ 0.25 ไมโครเมตร จากบริษัท Hewlett-Packard
- คอลัมน์ชนิด MC-5 Multi-Cap™ capillary column (5% diphenyl + 95% dimethylpolysiloxane) ขนาดยาว 1.0 เมตร และมีความหนาของฟิล์มที่เคลือบเท่ากับ 0.20 ไมโครเมตร จำนวน 919 คอลัมน์ โดยแต่ละคอลัมน์มีขนาดเส้นผ่านศูนย์กลางภายในเท่ากับ 40 ไมโครเมตร จากบริษัท Alltech
- สารมาตรฐานกลุ่มออร์กาโนคลอรีน 5 ชนิด ได้แก่ ลินเดนหรือแกมมา-บีเอชซี อัลดริน ดีลดริน เบต้า-เอนโดซัลเฟนและพารา-พารา ดีดีที ชนิด standard grade reference material จากบริษัท Chem Service
- สารมาตรฐานภายใน คือ เพนตะคลอโรไนโตรเบนซีน (Pentachloronitrobenzene) ชนิด เกรด AR จากบริษัท Sigma-Aldrich
- ตัวทำละลายอินทรีย์ ได้แก่ อะซีโตน เฮกเซน และเอทิลอะซีเตต ชนิด เกรด AR และ เมทานอล ชนิด เกรด HPLC จากบริษัท Merck
- น้ำปราศจากอิออน จากระบบ Milli-Q water purification systems
- เยื่อกรองชนิดไนลอน ขนาดรูพรุน 0.20 ไมโครเมตร
- แอนไฮดรัสโซเดียมซัลเฟต
- โซเดียมคลอไรด์
- แก๊สดำพา ได้แก่ แก๊สไนโตรเจน และแก๊สฮีเลียม
- C₁₈ cartridge จากบริษัท Chromabound® รุ่น C18 ec ขนาดความจุ 3.0 มิลลิลิตร สำหรับเทคนิคการสกัดด้วยวัฏภาคของแข็ง
- เข็มฉีดสารตัวอย่างสำหรับเครื่องแก๊สโครมาโทกราฟี ขนาด 1 และ 10 ไมโครลิตร
- ไมโครปิเปต ขนาด 1, 100 และ 1000 ไมโครลิตร
- ขวดเก็บตัวอย่างน้ำ ชนิดโพลีเอทิลีนแบบขุ่น ขนาด 500 มิลลิลิตร

2. วิธีดำเนินการวิจัย

2.1 การหาสภาวะที่เหมาะสมของเครื่องแก๊สโครมาโทกราฟีที่มีตัวตรวจวัดแบบอิเล็กตรอนแคปเจอร์ในการวิเคราะห์ชนิดและปริมาณของสารกำจัดศัตรูพืชกลุ่มออร์กาโนคลอรีน

ในการวิจัยครั้งนี้ผู้วิจัยได้ทำการศึกษาหาสภาวะที่เหมาะสมสำหรับการวิเคราะห์ชนิดและปริมาณของสารกำจัดศัตรูพืชกลุ่มออร์กาโนคลอรีนทั้ง 5 ชนิดด้วยเครื่องแก๊สโครมาโทกราฟี โดยทำการศึกษาพารามิเตอร์ต่างๆดังนี้คือ

2.1.1 การศึกษาหาอัตราการไหลของแก๊สพาที่เหมาะสมจากกราฟของแวนดีมเตอร์* (van Deemter plot)

ในการวิจัยได้ทำการศึกษาหาอัตราการไหลของแก๊สพาที่เหมาะสมสำหรับคอลัมน์ 2 ชนิดคือ คาร์ปิลลารีคอลัมน์แบบธรรมดา (HP-5 Capillary column) และมัลติคาร์ปิลลารีคอลัมน์ (Multi-Cap™ Capillary column) โดยทำการทดลองดังนี้

- ตั้งสภาวะของเครื่องแก๊สโครมาโทกราฟีที่ใช้คอลัมน์ชนิดคาร์ปิลลารีคอลัมน์แบบธรรมดา เป็นดังนี้คือ อุณหภูมิของระบบการฉีดสารตัวอย่าง คอลัมน์ และตัวตรวจวัด เท่ากับ 250 200 และ 320 องศาเซลเซียส ตามลำดับ
- ใช้แก๊สฮีเลียมเป็นแก๊สพา โดยเลือกอัตราการไหลของแก๊สพาที่ทำการศึกษหาสภาวะที่เหมาะสมในช่วง 0.1–1.5 มิลลิลิตรต่อนาที และใช้แก๊สไนโตรเจนเป็น make up gas
- ฉีดสารละลายมาตรฐานอัลดรินที่เตรียมในตัวทำละลายเฮกเซน ที่ความเข้มข้น 10 มิลลิกรัมต่อลิตร จำนวน 3 ครั้ง สำหรับแต่ละอัตราการไหลของแก๊สพา
- นำค่าเวลารีเทนชัน และค่าความกว้างที่ครึ่งหนึ่งของความสูงพีค (peak width at half height) ที่ได้จากเครื่องไปคำนวณหาความสูงของเพลททางทฤษฎี (height equivalent to a theoretical plate; HETP หรือ H) แล้วนำไปสร้างกราฟระหว่างค่า H กับอัตราการไหลของแก๊สพา
- เลือกอัตราการไหลของแก๊สพาที่เหมาะสมจากกราฟของแวนดีมเตอร์* (สมการแวนดีมเตอร์อธิบายไว้ในภาคผนวก ค)
- ทำการทดลองเช่นเดียวกัน โดยเปลี่ยนคอลัมน์เป็นชนิดมัลติคาร์ปิลลารีคอลัมน์ และตั้งสภาวะของเครื่องแก๊สโครมาโทกราฟีเป็นดังนี้คือ อุณหภูมิของระบบการฉีดสารตัวอย่าง คอลัมน์ และตัวตรวจวัด เท่ากับ 250 190 และ 260 องศาเซลเซียส ตามลำดับ ใช้แก๊สไนโตรเจนเป็นแก๊สพา โดยไม่ใช้ make up gas ที่อัตราการไหลของแก๊สพาในช่วง 10 – 60 มิลลิลิตรต่อนาที

2.1.2 การหาอุณหภูมิของคอลัมน์ที่เหมาะสมในการแยกสารกำจัดศัตรูพืชกลุ่มออร์กาโนคลอรีนจากเครื่องแก๊สโครมาโทกราฟี

การศึกษาหาอุณหภูมิของคอลัมน์ที่เหมาะสมสำหรับคอลัมน์ทั้ง 2 ชนิด ที่นำมาใช้กับเทคนิคแก๊สโครมาโทกราฟีโดยมีตัวตรวจวัดแบบอิเล็กตรอนแคปเจอร์ มีขั้นตอนการทดลองดังนี้

- เลือกใช้อัตราการไหลของแก๊สพาที่เหมาะสมสำหรับคอลัมน์ ที่ได้จากการทดลองในข้อ 2.1.1
- ตั้งอุณหภูมิบริเวณระบบการฉีดสารตัวอย่าง และตัวตรวจวัดของคอลัมน์ชนิดคาพิลลารีคอลัมน์แบบธรรมดาเท่ากับ 250 และ 320 องศาเซลเซียส ตามลำดับ
- ฉีดสารละลายมาตรฐานผสมของสารกำจัดศัตรูพืชทั้ง 5 ชนิดความเข้มข้นเท่ากับ 1.0 มิลลิกรัมต่อลิตร และมีความเข้มข้นของสารละลายมาตรฐานภายในเท่ากับ 2.0 มิลลิกรัมต่อลิตร ซึ่งเตรียมในตัวทำละลายเฮกเซน โดยมีระบบการเปลี่ยนแปลงอุณหภูมิแสดงในตาราง 6
- เลือกระบบอุณหภูมิที่เหมาะสม โดยพิจารณาจากการแยกกันของพีค ลักษณะของพีค และเวลาริเทนชันของสารทั้ง 5 ชนิดและสารมาตรฐานภายใน
- ทำการทดลองซ้ำ โดยเปลี่ยนคอลัมน์เป็นชนิดมัลติคาพิลลารีคอลัมน์ โดยตั้งสภาวะของเครื่องแก๊สโครมาโทกราฟีเป็นดังนี้คือ อุณหภูมิของระบบการฉีดสารตัวอย่าง และตัวตรวจวัดเท่ากับ 250 และ 260 องศาเซลเซียส ตามลำดับ และเลือกอัตราการไหลของแก๊สพาที่เหมาะสมจากข้อ 2.1.1 เช่นเดียวกัน

ตาราง 6 ระบบอุณหภูมิที่ทดลองใช้ในการหาอุณหภูมิของคอลัมน์ที่เหมาะสมสำหรับการวิเคราะห์ชนิดและปริมาณสารกำจัดศัตรูพืชกลุ่มออร์กาโนคลอรีนทั้ง 5 ชนิด

ระบบที่ใช้แยก	ช่วงอุณหภูมิของคอลัมน์	ชนิดคอลัมน์
isothermal	200 °C	1**
isothermal	180 °C	1
isothermal	150 °C	1
temperature programmed	initial : 140°C, hold 20 min ramp : 80°C/min to 250°C, hold 10 min	1
temperature programmed	initial : 150°C, hold 20 min ramp : 100°C/min to 250°C, hold 10 min	1

ตาราง 6 (ต่อ)

ระบบที่ใช้แยก	ช่วงอุณหภูมิของคอลัมน์	ชนิดคอลัมน์
temperature programmed	initial : 165°C, hold 17 min ramp : 120°C/min to 250°C, hold 8 min	1
temperature programmed	initial : 170°C, hold 15 min ramp : 120°C/min to 250°C, hold 8 min	1
isothermal	190 °C	2 ^{***}
isothermal	180 °C	2
isothermal	150 °C	2
temperature programmed	initial : 120°C, hold 1 min ramp : 5°C/min to 180°C, hold 8 min	2
temperature programmed	initial : 120°C, hold 1 min ramp : 15°C/min to 180°C, hold 8 min	2
temperature programmed	initial : 120°C ramp1 : 40°C/min to 140°C, hold 3 min ramp2 : 100°C/min to 190°C, hold 4 min	2
temperature programmed	initial : 130°C ramp1 : 2°C/min to 140°C, hold 2 min ramp2 : 100°C/min to 190°C, hold 4 min	2

** หมายถึง HP-5 Capillary column (30.0 m x 0.32 mm x 0.25 μ m film thickness)

*** หมายถึง Multi-CapTM Capillary column (1.0 m x 0.40 mm; 919 อัน x 0.20 μ m film thickness)

2.1.3 การศึกษาหาเวลาริเทนชันของสารกำจัดศัตรูพืชกลุ่มออร์กาโนคลอรีนจากเครื่องแก๊สโครมาโทกราฟ

วิธีดำเนินการวิจัยสำหรับการศึกษาเวลาริเทนชันของสารกำจัดศัตรูพืชกลุ่มออร์กาโนคลอรีนทั้ง 5 ชนิด จากการใช้คาพิลลารีคอลัมน์แบบธรรมดาและมัลติคาพิลลารีคอลัมน์ เป็นดังนี้

- เลือกใช้อัตราการไหลของแก๊สพาและอุณหภูมิของคอลัมน์ที่เหมาะสมสำหรับคาพิลลารีคอลัมน์แบบธรรมดา จากการทดลองในข้อ 2.1.1 และ 2.1.2 ตามลำดับ
- ตั้งอุณหภูมิบริเวณระบบการฉีดสารตัวอย่าง และตัวตรวจวัด เท่ากับ 250 และ 320 องศาเซลเซียส ตามลำดับ
- ฉีดสารละลายมาตรฐานผสมของสารกำจัดศัตรูพืชทั้ง 5 ชนิด ที่ความเข้มข้นเท่ากับ 1.0 มิลลิกรัมต่อลิตรและมีความเข้มข้นของสารละลายมาตรฐานภายในเท่ากับ 2.0 มิลลิกรัมต่อลิตร ซึ่งเตรียมในตัวอย่างละลายเฮกเซน จำนวน 6 ครั้ง
- นำค่าเวลาริเทนชันที่ได้จากการตรวจวัดของเครื่องแก๊สโครมาโทกราฟในแต่ละครั้งของสารกำจัดศัตรูพืชแต่ละชนิดไปหาค่าเฉลี่ย แล้วคำนวณหาค่าเบี่ยงเบนมาตรฐานและค่าเบี่ยงเบนมาตรฐานสัมพัทธ์
- ทำการทดลองซ้ำ โดยใช้คอลัมน์ชนิดมัลติคาพิลลารีคอลัมน์ เลือกอัตราการไหลของแก๊สพาและอุณหภูมิของคอลัมน์ที่เหมาะสม จากการทดลองในข้อ 2.1.1 และ 2.1.2 ตามลำดับ และตั้งอุณหภูมิบริเวณระบบการฉีดสารตัวอย่าง และตัวตรวจวัด เท่ากับ 250 และ 260 องศาเซลเซียส ตามลำดับ

2.1.4 การเตรียมสารละลายมาตรฐาน

- การเตรียม stock standard solution เข้มข้น 1000 มิลลิกรัมต่อลิตร ทำได้โดยนำสารมาตรฐานกลุ่มออร์กาโนคลอรีนทั้ง 5 ชนิด ได้แก่ ลินเดนหรือแกมมา-บีเอซี อัลดริน ดีลดริน เบต้า-เฮนโดซิลเฟน และพารา-พารา ดีดีที ซึ่งให้สารแต่ละตัวมีน้ำหนักเท่ากับ 0.0100 กรัม ละลายและปรับปริมาตรด้วยเอทิลอะซีเตทให้มีปริมาตรเท่ากับ 10 มิลลิลิตรสำหรับสารแต่ละชนิด สารละลายที่ได้จะมีความเข้มข้นเท่ากับ 1000 มิลลิกรัมต่อลิตร
- การเตรียม stock internal standard solution เข้มข้น 1000 มิลลิกรัมต่อลิตร ทำได้โดยนำสารมาตรฐานภายในเพนตะคลอโรไนโตรเบนซีน ซึ่งมีน้ำหนักเท่ากับ 0.0250 กรัม ละลายและปรับปริมาตรด้วยเอทิลอะซีเตทให้มีปริมาตรเท่ากับ 25 มิลลิลิตร สารละลายที่ได้จะมีความเข้มข้นเท่ากับ 1000 มิลลิกรัมต่อลิตร

2.1.5 การหาช่วงความเข้มข้นของสารมาตรฐานที่ให้กราฟเป็นเส้นตรง

- เตรียมสารละลายมาตรฐานผสมจาก stock standard solution ให้มีความเข้มข้นของสารแต่ละตัวเท่ากับ 0.05, 0.1, 0.2, 0.5, 1.0, 1.5, 2.0, 2.5 และ 3.0 มิลลิกรัมต่อลิตร และในแต่ละความเข้มข้นมีความเข้มข้นของสารละลายมาตรฐานภายในเท่ากับ 2.0 มิลลิกรัมต่อลิตร โดยปรับปริมาตรด้วยน้ำปราศจากไอออน
- นำสารละลายที่เตรียมได้ไปสกัดด้วยเทคนิคการสกัดทั้ง 3 แบบ คือ การสกัดด้วยตัวทำละลายแบบหลายขั้นตอน การสกัดด้วยตัวทำละลายแบบขั้นตอนเดียว และการสกัดด้วยวัฏภาคของแข็ง (รายละเอียดเทคนิคการสกัดแบบต่างๆอยู่ในข้อที่ 2.4)
- สารละลายมาตรฐานผสมที่ความเข้มข้นต่างๆที่ได้ผ่านการสกัดแล้ว นำมาฉีดเข้าเครื่องแก๊สโครมาโทกราฟตามสภาวะเหมาะสมที่ได้จากข้อ 2.1.1 และ 2.1.2 (ความเข้มข้นละ 3 ครั้ง) โดยใช้คอลัมน์ชนิดทั้ง 2 ชนิดคือ คาพิลลารีคอลัมน์แบบธรรมดาและมัลติคาพิลลารีคอลัมน์
- นำพื้นที่ใต้พีคของสารกำจัดศัตรูพืชแต่ละชนิดและสารมาตรฐานภายในมาคำนวณหาค่าอัตราส่วนของพื้นที่ใต้พีค (peak area ratio) ซึ่งสูตรการคำนวณอยู่ในภาคผนวก ค แล้วนำค่าที่ได้ไปสร้างกราฟมาตรฐานระหว่างอัตราส่วนพื้นที่ใต้พีคกับความเข้มข้นของสารละลายมาตรฐาน เพื่อศึกษาช่วงความเข้มข้นที่ให้กราฟมาตรฐานเป็นเส้นตรง

2.1.6 การหาความเข้มข้นต่ำสุดที่เครื่องมือสามารถตรวจวัดสัญญาณได้และความเข้มข้นต่ำสุดที่ใช้ในการทำปริมาณวิเคราะห์

- เตรียมสารละลายมาตรฐานผสมจาก stock standard solution ให้มีความเข้มข้นของสารแต่ละตัวเท่ากับ 0.5 มิลลิกรัมต่อลิตร และมีความเข้มข้นของสารละลายมาตรฐานภายในเท่ากับ 2.0 มิลลิกรัมต่อลิตร โดยปรับปริมาตรด้วยน้ำปราศจากไอออน
- นำสารละลายที่เตรียมได้ไปสกัดด้วยเทคนิคการสกัดทั้ง 3 แบบ
- นำสารละลายมาตรฐานผสมที่ได้ผ่านการสกัดแล้ว ฉีดเข้าเครื่องแก๊สโครมาโทกราฟตามสภาวะเหมาะสมที่ได้จากข้อ 2.1.1 และ 2.1.2 จำนวน 6 ครั้ง โดยใช้คอลัมน์ทั้ง 2 ชนิด
- นำอัตราส่วนพื้นที่ใต้พีคที่ได้จากการฉีด 6 ครั้งไปคำนวณหาค่าเบี่ยงเบนมาตรฐาน โดยค่าสัญญาณที่สามเท่าของค่าเบี่ยงเบนมาตรฐานจะสามารถคำนวณกลับเป็นความเข้มข้นต่ำสุดที่เครื่องมือสามารถตรวจวัดได้ และค่าสัญญาณที่สิบเท่าของค่าเบี่ยงเบนมาตรฐานสามารถคำนวณกลับเป็นความเข้มข้นต่ำสุดที่ใช้ในการทำปริมาณวิเคราะห์ได้เช่นกัน ซึ่งวิธีการคำนวณแสดงในภาคผนวก ค

2.2 การสร้างกราฟมาตรฐานของสารกำจัดศัตรูพืชกลุ่มออร์กาโนคลอรีน

การสร้างกราฟมาตรฐานเพื่อใช้ในการวิเคราะห์ปริมาณสารกำจัดศัตรูพืชกลุ่มออร์กาโนคลอรีน ทำได้โดย

- เตรียมสารละลายมาตรฐานผสมจาก stock standard solution ให้มีความเข้มข้นของสารแต่ละตัวเท่ากับ 0.5, 1.0, 1.5, 2.0 และ 2.5 มิลลิกรัมต่อลิตร และในแต่ละความเข้มข้นมีความเข้มข้นของสารละลายมาตรฐานภายในเท่ากับ 2.0 มิลลิกรัมต่อลิตร โดยปรับปริมาตรด้วยน้ำปราศจากอ็อกโซน
- นำสารละลายที่เตรียมได้ที่ความเข้มข้นต่างๆไปผ่านการสกัดด้วยเทคนิคการสกัดทั้ง 3 แบบ
- นำสารละลายมาตรฐานผสมที่ได้ผ่านขั้นตอนการสกัดแล้วฉีดเข้าเครื่องแก๊สโครมาโทกราฟที่ใช้คาพิลลารีคอลัมน์แบบธรรมดา ตามสภาวะเหมาะสมที่ได้จากข้อ 2.1.1 และ 2.1.2 ความเข้มข้นละ 3 ครั้ง ปริมาตรที่ฉีดครั้งละ 1.0 ไมโครลิตร
- นำพื้นที่ใต้พีคของสารกำจัดศัตรูพืชแต่ละชนิด และสารมาตรฐานภายในมาคำนวณค่าอัตราส่วนของพื้นที่ใต้พีค (peak area ratio) แล้วนำไปสร้างกราฟมาตรฐานระหว่างอัตราส่วนพื้นที่ใต้พีคกับความเข้มข้นของสารละลายมาตรฐาน เพื่อหาสมการเส้นตรงการถดถอยของกราฟมาตรฐานและคำนวณค่าสัมประสิทธิ์สหสัมพันธ์
- ทำการทดลองซ้ำ โดยเปลี่ยนคอลัมน์เป็นชนิดมัลติคาพิลลารีคอลัมน์ และใช้ปริมาตรของสารละลายมาตรฐานผสมที่ฉีดเท่ากับ 0.1 ไมโครลิตร

2.3 การเตรียมตัวอย่างน้ำผิวดินสังเคราะห์

การเตรียมตัวอย่างน้ำผิวดินสังเคราะห์ ใช้วิธีการเตรียมตามแบบ American Society for Testing and Material (ASTM) "model" ground water โดยการชั่งโซเดียมคลอไรด์ 1.6400 กรัม และ แอนไฮดรัสโซเดียมซัลเฟต 1.4800 กรัม นำไปละลายและปรับปริมาตรด้วยน้ำปราศจากอ็อกโซนให้มีปริมาตรเป็น 1000 มิลลิลิตร จากนั้นตวงสารละลายที่เตรียมได้จำนวน 100 มิลลิลิตร มาปรับปริมาตรอีกครั้งด้วยน้ำปราศจากอ็อกโซน ให้มีปริมาตรเป็น 1000 มิลลิลิตร

2.4 การสกัดสารกำจัดศัตรูพืชกลุ่มออร์กาโนคลอรีนทั้ง 5 ชนิดจากตัวอย่างน้ำ

ตัวอย่างน้ำที่ใช้ในการวิจัยครั้งนี้ มีทั้งหมด 3 ชนิดได้แก่ น้ำปราศจากอ็อกโซน น้ำผิวดินสังเคราะห์ และน้ำจากพื้นที่สวนผลไม้ ซึ่งนำมาใช้ในการวิเคราะห์ต่างๆดังนี้คือ

- การสร้างกราฟมาตรฐานเพื่อใช้ในการวิเคราะห์ปริมาณสารกำจัดศัตรูพืชกลุ่มออร์กาโนคลอรีน จะใช้สารละลายมาตรฐานผสมที่เตรียมในตัวอย่างน้ำปราศจากอีออน (ความเข้มข้นในช่วง 0.5 - 2.5 มิลลิกรัมต่อลิตร)
- การศึกษาร้อยละการกลับคืนของวิธีวิเคราะห์ ใช้สารละลายมาตรฐานผสมที่เตรียมในตัวอย่างน้ำผิวดินสังเคราะห์และตัวอย่างน้ำจากพื้นที่สวนผลไม้ (ความเข้มข้นเท่ากับ 0.5, 1.5 และ 2.5 มิลลิกรัมต่อลิตร)
- การศึกษาหาความแม่นยำของวิธีวิเคราะห์ ใช้สารละลายมาตรฐานผสมที่เตรียมในตัวอย่างน้ำจากพื้นที่สวนผลไม้ (ความเข้มข้นเท่ากับ 2.0 มิลลิกรัมต่อลิตร)

ซึ่งในแต่ละความเข้มข้นที่เตรียมจะมีสารละลายมาตรฐานภายในเข้มข้นเท่ากับ 2.0 มิลลิกรัมต่อลิตร วิธีการสกัดสารกำจัดศัตรูพืชกลุ่มออร์กาโนคลอรีนที่ได้ทำการศึกษาในงานวิจัยนี้มี 3 แบบ คือ การสกัดด้วยตัวทำละลายแบบหลายขั้นตอน การสกัดด้วยตัวทำละลายแบบขั้นตอนเดียว และการสกัดด้วยวัฏภาคของแข็ง โดยมีวิธีการสกัดดังนี้

2.4.1 การสกัดด้วยตัวทำละลายแบบหลายขั้นตอน

นำตัวอย่างน้ำปริมาตร 500 มิลลิลิตร ใส่ลงในกรวยแยกขนาด 1000 มิลลิลิตร แล้วสกัดด้วยเฮกเซนครั้งละ 20 มิลลิลิตร จำนวน 3 ครั้ง ในระหว่างเขย่าให้เติมสารละลายโซเดียมคลอไรด์อิมิตัลลงเล็กน้อย (ประมาณ 1 - 2 มิลลิลิตร) เขย่านาน 5 นาที แล้วตั้งทิ้งไว้ให้แยกชั้น รวมสารละลายที่สกัดได้จากชั้นของเฮกเซนไว้ด้วยกัน นำมาเติมแอนไฮดรัสโซเดียมซัลเฟตเพื่อดูดความชื้น แล้วกรองผ่านกระดาษกรองเบอร์ 1 นำสารละลายที่ได้ไปปรับปริมาตรเป็น 100 มิลลิลิตรด้วยเฮกเซน (Fatoki; & Awofolu. 2003 : 225-236) วิเคราะห์ด้วยเทคนิคแก๊สโครมาโทกราฟี โดยฉีดเข้าจำนวน 3 ครั้ง

2.4.2 การสกัดด้วยตัวทำละลายแบบขั้นตอนเดียว

นำตัวอย่างน้ำปริมาตร 5 มิลลิลิตร ใส่ลงในหลอดทดลองขนาดกลางที่มีฝาปิด จากนั้นเติมเฮกเซนปริมาตร 2 มิลลิลิตร แล้วนำไปเขย่าด้วยความเร็ว 3000 รอบต่อนาที เป็นเวลา 2 นาที เติมสารละลายโซเดียมคลอไรด์อิมิตัลลงเล็กน้อย (1-2 หยด) ตั้งทิ้งไว้ให้แยกชั้น ดูดเอาสารละลายชั้นเฮกเซนเก็บไว้ในขวดเก็บสารตัวอย่างสีชา (vial) วิเคราะห์ด้วยเทคนิคแก๊สโครมาโทกราฟี โดยฉีดเข้าจำนวน 3 ครั้ง

2.4.3 การสกัดด้วยวัฏภาคของแข็ง

ตัวอย่างน้ำที่ใช้สำหรับการสกัดมีปริมาตรเท่ากับ 50 มิลลิลิตร

- ปรับสภาวะ C_{18} cartridge ด้วยเมทานอลจำนวน 5 มิลลิลิตร และน้ำปราศจากไอออนจำนวน 10 มิลลิลิตร
- นำตัวอย่างน้ำปริมาตร 50 มิลลิลิตร ผ่านลงใน cartridge ด้วยอัตราการไหล 20 -30 มิลลิลิตรต่อนาที โดยใช้ปั๊มดูดอากาศ
- ชะด้วยเฮกเซน 8 มิลลิลิตร
- เติมน้ำมันไฮดรอสโตเรียมซัลเฟตจำนวนเล็กน้อยเพื่ออุดความชื้น แล้วกรองผ่านเยื่อกรองชนิดไนลอน ขนาดรูพรุน 0.2 ไมโครเมตร
- นำสารละลายที่สกัดได้มาปรับปริมาตรเป็น 10 มิลลิลิตร ด้วยเฮกเซน
- วิเคราะห์ด้วยเทคนิคแก๊สโครมาโทกราฟี โดยฉีดซ้ำ 3 ครั้ง

2.5 การวิเคราะห์ความถูกต้องและความแม่นยำของวิธีวิเคราะห์

ในงานวิจัยนี้ได้ทำการศึกษาค้นหาความถูกต้องและความแม่นยำของวิธีวิเคราะห์ที่ได้พัฒนาขึ้น สำหรับการวิเคราะห์ชนิดและปริมาณสารกำจัดศัตรูพืชกลุ่มออร์กาโนคลอรีนในตัวอย่างน้ำ โดยพิจารณาจากค่าร้อยละการกลับคืนและค่าเบี่ยงเบนมาตรฐานสัมพัทธ์ของวิธีวิเคราะห์ ดังนี้

2.5.1 การวิเคราะห์ความถูกต้องของวิธีการวิเคราะห์

- การวิเคราะห์ทำได้โดยการเติมน้ำสารละลายมาตรฐานผสมให้มีความเข้มข้นของสารแต่ละตัวเท่ากับ 0.5 มิลลิกรัมต่อลิตรและสารละลายมาตรฐานภายในความเข้มข้น 2.0 มิลลิกรัมต่อลิตรลงในตัวอย่างน้ำ 2 ประเภทคือ น้ำผิวดินสังเคราะห์และน้ำจากพื้นที่สวนผลไม้

- นำไปสกัดด้วยเทคนิคการสกัดทั้ง 3 แบบ
- นำสารละลายที่สกัดได้ไปวิเคราะห์ด้วยเทคนิคแก๊สโครมาโทกราฟี โดยฉีดซ้ำจำนวน 3 ครั้ง
- คำนวณหาอัตราส่วนพื้นที่ใต้พีคระหว่างสารมาตรฐานกับสารมาตรฐานภายใน แล้วเปรียบเทียบกับค่าที่ได้จากกราฟมาตรฐาน เพื่อหาประสิทธิภาพของวิธีวิเคราะห์นี้โดยดูจากค่าร้อยละการกลับคืน

หมายเหตุ : ทำซ้ำอีก 2 การทดลองโดยเปลี่ยนความเข้มข้นของสารละลายมาตรฐานผสมเป็น 1.5 และ 2.5 มิลลิกรัมต่อลิตร ตามลำดับสำหรับตัวอย่างน้ำแต่ละชนิดแล้วนำมาหาค่าเฉลี่ย

2.5.2 การวิเคราะห์หาความแม่นยำของวิธีวิเคราะห์

การวิเคราะห์ทำได้โดยการเตรียมสารละลายมาตรฐานผสมให้มีความเข้มข้นของสารแต่ละตัวเท่ากับ 2.0 มิลลิกรัมต่อลิตรและมีความเข้มข้นของสารละลายมาตรฐานภายในเท่ากับ 2.0 มิลลิกรัมต่อลิตร แล้วปรับปริมาตรด้วยตัวอย่างน้ำจากพื้นที่สวนผลไม้ จนมีปริมาตรเท่ากับ 5, 50 และ 500 มิลลิลิตร สำหรับนำไปสกัดด้วยเทคนิคการสกัดด้วยตัวทำละลายแบบขั้นตอนเดียว การสกัดด้วยวัฏภาคของแข็ง และการสกัดด้วยตัวทำละลายแบบหลายขั้นตอนตามลำดับ โดยทำการสกัดเทคนิคละ 6 การทดลอง แล้ววิเคราะห์ด้วยเทคนิคแก๊สโครมาโทกราฟี ฉีดซ้ำจำนวน 3 ครั้ง นำอัตราส่วนพื้นที่ใต้พีคที่ได้ไปคำนวณหาค่าเบี่ยงเบนมาตรฐานสัมพัทธ์

2.6 สรุปสภาวะการทดลองในการวิเคราะห์ชนิดและปริมาณสารกำจัดศัตรูพืชกลุ่มออร์กาโนคลอรีนในตัวอย่างน้ำด้วยเทคนิค GC-ECD

ในงานวิจัยนี้ได้ทำการทดลองเปรียบเทียบประสิทธิภาพในการแยกและความรวดเร็วในการตรวจวัดชนิดและปริมาณของสารกำจัดศัตรูพืชกลุ่มออร์กาโนคลอรีน ระหว่างคอลัมน์ 2 ชนิด ได้แก่ คาร์บิลารีคอลัมน์แบบธรรมดา และมัลติคาร์บิลารีคอลัมน์ โดยมีสภาวะการทดลองของเครื่องแก๊สโครมาโทกราฟีเป็นดังนี้

2.6.1 การวิเคราะห์ด้วยเทคนิคแก๊สโครมาโทกราฟีที่มีตัวตรวจวัดแบบอิเล็กตรอนแคปเจอร์ โดยใช้คาร์บิลารีคอลัมน์แบบธรรมดา มีสภาวะการทดลอง ดังนี้

- เครื่องแก๊สโครมาโทกราฟี จากบริษัท Hewlett-Packard รุ่น HP 6890
- เครื่องตรวจวัดชนิดอิเล็กตรอนแคปเจอร์ อุณหภูมิ 320 องศาเซลเซียส
- คอลัมน์ชนิด HP-5 Capillary column (methylsiloxane) ขนาดยาว 30.0 เมตร เส้นผ่านศูนย์กลางภายในคอลัมน์เท่ากับ 0.32 มิลลิเมตร และมีความหนาของฟิล์มที่เคลือบเท่ากับ 0.25 ไมโครเมตร
- อุณหภูมิของคอลัมน์ : แบบโปรแกรมอุณหภูมิ เริ่มต้น 165 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 17 นาที และเพิ่มอุณหภูมิด้วยอัตรา 120 องศาเซลเซียสต่อนาที เป็น 250 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 8 นาที
- แก๊สพา : แก๊สฮีเลียม ที่อัตราการไหลเท่ากับ 1 มิลลิลิตรต่อนาที
- make-up gas : แก๊สไนโตรเจน
- อุณหภูมิบริเวณระบบการฉีดสารตัวอย่าง : 250 องศาเซลเซียส
- Split mode : split ratio 64.4 :1, split flow 64.4 มิลลิลิตรต่อนาที
- ปริมาตรสารตัวอย่างที่ฉีด : 1.0 ไมโครลิตร

2.6.2 การวิเคราะห์ด้วยเทคนิคแก๊สโครมาโทกราฟีที่มีตัวตรวจวัดแบบอิเล็กตรอนแคปเจอร์ โดยใช้มัลติคาพิลลารีคอลัมน์ มีสภาวะการทดลอง ดังนี้

- เครื่องแก๊สโครมาโทกราฟี จากบริษัท Hewlett-Packard รุ่น HP 6890
- เครื่องตรวจวัดชนิดอิเล็กตรอนแคปเจอร์ อุณหภูมิ 260 องศาเซลเซียส
- คอลัมน์ชนิด MC-5 Multi-Cap™ Capillary column (5% diphenyl + 95% dimethylpolysiloxane) ขนาดยาว 1.0 เมตร และมีความหนาของฟิล์มที่เคลือบเท่ากับ 0.2 ไมโครเมตร จำนวน 919 คอลัมน์ โดยแต่ละคอลัมน์มีขนาดเส้นผ่านศูนย์กลางภายในเท่ากับ 40 ไมโครเมตร
- อุณหภูมิของคอลัมน์ : แบบอุณหภูมิคงที่ 190 องศาเซลเซียส
- แก๊สพา : แก๊สไนโตรเจน ที่อัตราการไหลเท่ากับ 60 มิลลิลิตรต่อนาที
- อุณหภูมิบริเวณระบบการฉีดสารตัวอย่าง : 250 องศาเซลเซียส
- Split mode : split ratio 2 :1, split flow 100 มิลลิลิตรต่อนาที
- ปริมาตรสารตัวอย่างที่ฉีด : 0.1 ไมโครลิตร

บทที่ 4

ผลการวิจัย

การศึกษาวิจัยครั้งนี้ ผู้วิจัยได้เสนอผลการวิจัยไว้ตามหัวข้อต่างๆดังนี้

1. สภาวะที่เหมาะสมของเครื่องแก๊สโครมาโทกราฟที่มีตัวตรวจวัดแบบอิเล็กตรอนแคปเจอร์ ในการวิเคราะห์ชนิดและปริมาณของสารกำจัดศัตรูพืชกลุ่มออร์กาโนคลอรีน
2. กราฟมาตรฐานของสารกำจัดศัตรูพืชกลุ่มออร์กาโนคลอรีน
3. การสกัดสารกำจัดศัตรูพืชกลุ่มออร์กาโนคลอรีนจากตัวอย่างน้ำ
4. ความถูกต้องและความแม่นยำของวิธีวิเคราะห์ในตัวอย่างน้ำ

1. สภาวะที่เหมาะสมของเครื่องแก๊สโครมาโทกราฟที่มีตัวตรวจวัดแบบอิเล็กตรอนแคปเจอร์ในการวิเคราะห์ชนิดและปริมาณของสารกำจัดศัตรูพืชกลุ่มออร์กาโนคลอรีน

การหาสภาวะการทดลองที่เหมาะสมของเครื่องแก๊สโครมาโทกราฟเพื่อใช้ในการวิเคราะห์ชนิดและปริมาณของสารกำจัดศัตรูพืชกลุ่มออร์กาโนคลอรีนนี้ ผู้วิจัยได้ดำเนินการวิจัยศึกษาพารามิเตอร์ต่างๆดังนี้

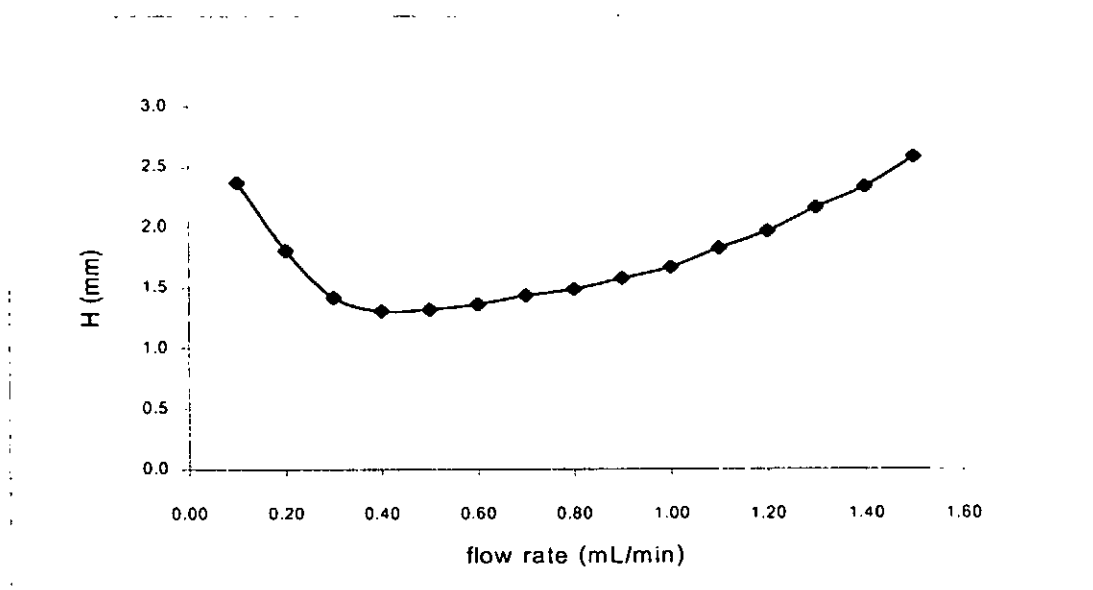
1.1 อัตราการไหลของแก๊สพาที่เหมาะสม

อัตราการไหลของแก๊สพาที่เหมาะสมสามารถหาได้จากการสร้างกราฟแสดงความสัมพันธ์ของค่าต่างๆในสมการแวนดีมเตอร์ ซึ่งในการศึกษานี้ผู้วิจัยเลือกใช้แก๊สฮีเลียมและแก๊สไนโตรเจนเป็นแก๊สพา สำหรับคอลัมน์ชนิดคาพิลลารีคอลัมน์แบบธรรมดา (HP-5 capillary column) และชนิดมัลติคาพิลลารีคอลัมน์ (Multi-CapTM Capillary column) ตามลำดับ และทำการควบคุมอุณหภูมิของระบบการฉีดสารตัวอย่าง คอลัมน์ และตัวตรวจวัดให้คงที่ สำหรับคอลัมน์ชนิดคาพิลลารีคอลัมน์แบบธรรมดาใช้อุณหภูมิ 250 200 และ 320 องศาเซลเซียส ตามลำดับ และคอลัมน์ชนิดมัลติคาพิลลารีคอลัมน์ใช้อุณหภูมิ 250 190 และ 260 องศาเซลเซียส ตามลำดับ แล้วเปลี่ยนแปลงอัตราการไหลของแก๊สพาในช่วงที่กำหนดไว้ในข้อ 2.1.1 โดยในการทดลองนี้เลือกใช้สารละลายมาตรฐานอัลดรินที่เตรียมในตัวทำละลายเฮกเซน ความเข้มข้น 10 มิลลิกรัมต่อลิตร ฉีดเข้าเครื่องตามสภาวะการทดลองที่ได้กล่าวมาแล้ว พบว่าเมื่อนำค่าเวลาริเทนชันและความกว้างที่ครึ่งหนึ่งของความสูงพีคไปคำนวณหาจำนวนเพลททางทฤษฎี (number of

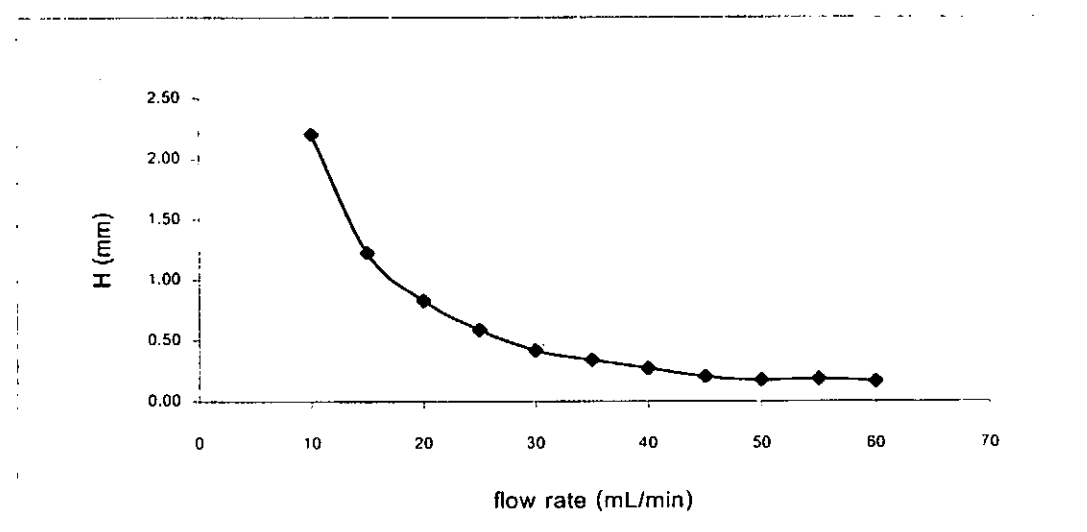
theoretical plates; N) และค่าความสูงของเพลททางทฤษฎี ดังแสดงค่าในตาราง 7 จากนั้นสร้างกราฟมาตรฐานระหว่างค่า H กับค่าอัตราการไหลของแก๊สพา จะได้อัตราการไหลของแก๊สพาที่เหมาะสมในช่วง 0.4 – 1.0 และ 45 - 60 มิลลิลิตรต่อนาที สำหรับคาพิลลารีคอลัมน์แบบธรรมดาและมัลติคาพิลลารีคอลัมน์ตามลำดับ ดังแสดงในภาพประกอบ 3 และ 4

ตาราง 7 แสดงค่า H ที่ได้จากคอลัมน์ชนิดคาพิลลารีคอลัมน์และมัลติคาพิลลารีคอลัมน์ ที่อัตราการไหลของแก๊สพาต่างๆ

คาพิลลารีคอลัมน์แบบธรรมดา		มัลติคาพิลลารีคอลัมน์	
อัตราการไหลของแก๊สพา	H	อัตราการไหลของแก๊สพา	H
(มิลลิลิตรต่อนาที)	(มิลลิเมตร)	(มิลลิลิตรต่อนาที)	(มิลลิเมตร)
0.1	2.37	10	2.20
0.2	1.80	15	1.22
0.3	1.42	20	0.83
0.4	1.31	25	0.59
0.5	1.32	30	0.41
0.6	1.36	35	0.34
0.7	1.43	40	0.27
0.8	1.49	45	0.20
0.9	1.57	50	0.17
1.0	1.66	55	0.18
1.1	1.82	60	0.16
1.2	1.96		
1.3	2.15		
1.4	2.32		
1.5	2.57		



ภาพประกอบ 3 กราฟแสดงความสัมพันธ์ระหว่างค่า H กับอัตราการไหลของแก๊สที่ได้จากสมการเวนต์เรเตอร์ของคอลัมน์ชนิดคาพิลลารีคอลัมน์แบบธรรมดา



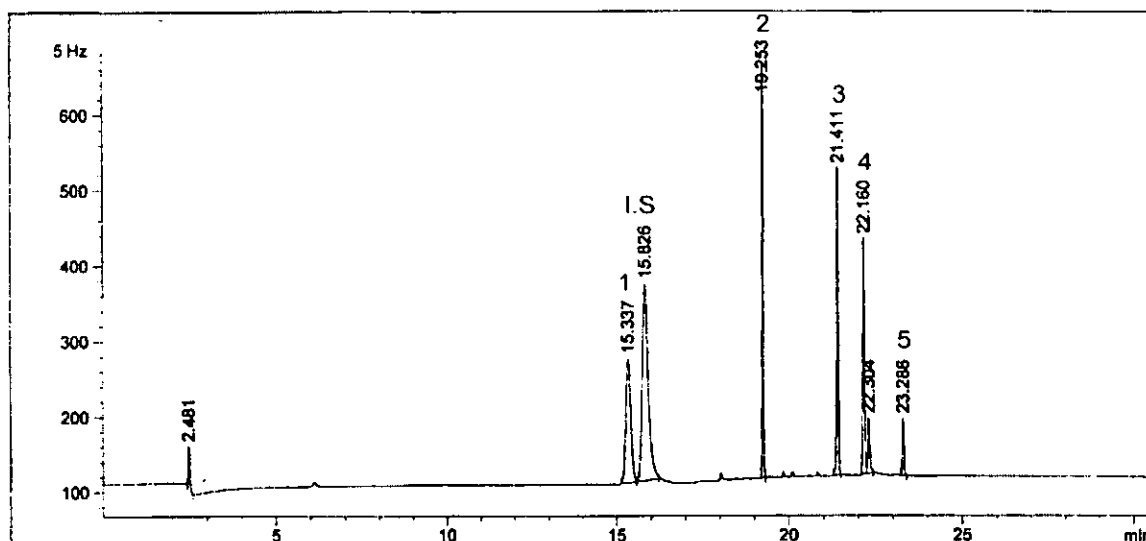
ภาพประกอบ 4 กราฟแสดงความสัมพันธ์ระหว่างค่า H กับอัตราการไหลของแก๊สที่ได้จากสมการเวนต์เรเตอร์ของคอลัมน์ชนิดมัดติคาพิลลารีคอลัมน์

1.2 อุณหภูมิของคอลัมน์ที่เหมาะสมในการแยกสารกำจัดศัตรูพืชทั้ง 5 ชนิด

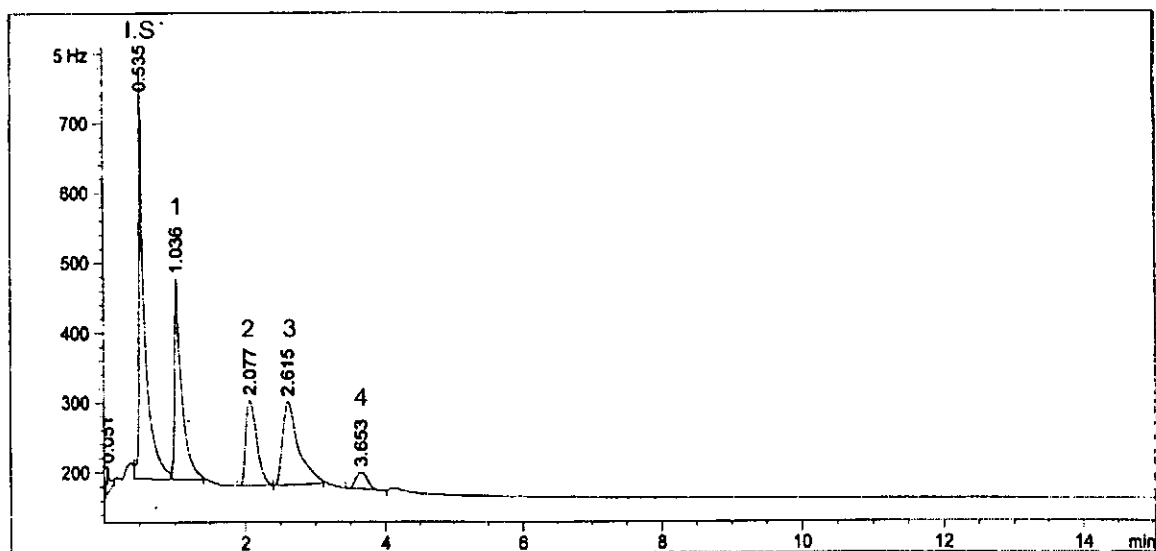
จากการทดลองฉีดสารละลายมาตรฐานผสมที่ความเข้มข้น 1.0 มิลลิกรัมต่อลิตร (มีสารละลายมาตรฐานภายในความเข้มข้นเท่ากับ 2.0 มิลลิกรัมต่อลิตร) ตามสภาวะการทดลองดังที่ได้กล่าวมาแล้วในข้อ 2.1.2 พบว่าอุณหภูมิเหมาะสมที่สามารถแยกสารกำจัดศัตรูพืชทั้ง 5 ชนิด รวมทั้งสารมาตรฐานภายในออกจากกันได้อย่างมีประสิทธิภาพ สำหรับคอลัมน์ชนิดคาพิลลารีคอลัมน์แบบธรรมดาเป็นแบบการตั้งโปรแกรมอุณหภูมิ (temperature programmed) ส่วนการศึกษาในมัลติคาพิลลารีคอลัมน์พบว่าไม่สามารถแยกสารมาตรฐานลินเดนออกจากสารมาตรฐานภายในได้ไม่ว่าจะใช้ระบบอุณหภูมิในการวิเคราะห์แบบใด (ค่า resolution น้อยกว่า 1.0) ดังนั้นในการวิเคราะห์สารกำจัดศัตรูพืชกลุ่มออร์กาโนคลอรีนด้วยคอลัมน์ชนิดนี้จึงตัดสารมาตรฐานลินเดนออกจากกลุ่ม และเลือกใช้อุณหภูมิแบบเท่ากันตลอดการวิเคราะห์ (isothermal) ดังแสดงในตาราง 8 และโครมาโทแกรมแสดงการแยกของสารมาตรฐานแต่ละชนิดและสารมาตรฐานภายในจากการใช้คอลัมน์ทั้ง 2 ชนิด แสดงในภาพประกอบ 5 และ 6

ตาราง 8 แสดงอุณหภูมิของคอลัมน์ที่เหมาะสมในการวิเคราะห์สารกำจัดศัตรูพืชกลุ่มออร์กาโนคลอรีน

ชนิดของคอลัมน์	ระบบของอุณหภูมิ	อุณหภูมิ
คาพิลลารีคอลัมน์แบบธรรมดา	การตั้งโปรแกรมอุณหภูมิ	เริ่มต้นที่ 165 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 17 นาที แล้วเพิ่มอุณหภูมิในอัตรา 120 องศาเซลเซียส จนมีอุณหภูมิเท่ากับ 250 องศาเซลเซียส แล้วคงที่เป็นเวลา 8 นาที
มัลติคาพิลลารีคอลัมน์	อุณหภูมิเท่ากัน ตลอดการวิเคราะห์	190 องศาเซลเซียส



ภาพประกอบ 5 แสดงโครมาโทแกรมของสารกำจัดศัตรูพืชทั้ง 5 ชนิด ที่ความเข้มข้น 1.0 มิลลิกรัมต่อลิตร จากคาพิลลารีคอลัมน์แบบธรรมดา (ลินเดน; 1, สารมาตรฐานภายใน; I.S., อัลดริน; 2, ดีลดริน; 3, เบต้า-เอนโดซัลเฟน; 4 และ พารา-พารา ดีดีที; 5)



ภาพประกอบ 6 แสดงโครมาโทแกรมของสารกำจัดศัตรูพืชทั้ง 4 ชนิด ที่ความเข้มข้น 1.0 มิลลิกรัมต่อลิตร จากคอลัมน์คาพิลลารีคอลัมน์ (สารมาตรฐานภายใน; I.S., อัลดริน; 1, ดีลดริน; 2, เบต้า-เอนโดซัลเฟน; 3 และ พารา-พารา ดีดีที; 4)

1.3 เวลาาริเเทนชั้นของสารกำจัดศัตรูพืชกลุ่มออร์กาโนคลอรีน

จากการศึกษาแยกสารกำจัดศัตรูพืชทั้ง 5 ชนิดได้แก่ ลินเดน อัลดริน ดีลดริน เบต้า-เอนโดซัลเฟน พารา-พารา ดีดีที และสารมาตรฐานภายในเพนตะคลอโรไนโตรเบนซีนออกจากกัน โดยการใช้อุณหภูมิคอลัมน์และอัตราการไหลของแก๊สพาที่เหมาะสมสำหรับคอลัมน์ทั้ง 2 ชนิด ตามสภาวะการทดลองข้อ 2.1.1 และ 2.1.2 พบว่าสารจะให้ค่าเวลาาริเเทนชั้นที่เป็นค่าเฉพาะของสารแต่ละชนิด เมื่อนำสารละลายมาตรฐานผสมที่มีความเข้มข้น 1.0 มิลลิกรัมต่อลิตร (มีสารละลายมาตรฐานภายในเข้มข้น 2.0 มิลลิกรัมต่อลิตร) ฉีดเข้าเครื่องแก๊สโครมาโทกราฟที่สภาวะการทดลองดังกล่าว เป็นจำนวน 6 ครั้ง แล้วนำค่าเวลาาริเเทนชั้นของสารแต่ละชนิดไปหาค่าเบี่ยงเบนมาตรฐาน (standard deviation; SD) และค่าเบี่ยงเบนมาตรฐานสัมพัทธ์ (relative standard deviation; RSD) ได้ผลการทดลองดังแสดงในตาราง 9

ตาราง 9 แสดงเวลาาริเเทนชั้นและค่าเบี่ยงเบนมาตรฐานสัมพัทธ์ของสารกำจัดศัตรูพืชกลุ่มออร์กาโนคลอรีน

สารกำจัดศัตรูพืช	ค่าพิลลารีคอลัมน์แบบธรรมดา		มัลติคาพิลลารีคอลัมน์	
	เวลาาริเเทนชั้น ^{****} (นาทื)	%RSD ^{****}	เวลาาริเเทนชั้น ^{****} (นาทื)	%RSD ^{****}
ลินเดน	15.326 ± 0.003	0.02	-	-
อัลดริน	19.233 ± 0.002	0.01	1.037 ± 0.001	0.06
ดีลดริน	21.391 ± 0.002	0.01	2.025 ± 0.001	0.03
เบต้า-เอนโดซัลเฟน	22.136 ± 0.001	0.01	2.522 ± 0.001	0.05
พารา-พารา ดีดีที	23.269 ± 0.004	0.02	3.577 ± 0.003	0.09

**** แทน ค่าเฉลี่ยเวลาาริเเทนชั้นจากการฉีด 6 ครั้ง ± ค่าเบี่ยงเบนมาตรฐาน (n=6)

***** แทน ร้อยละของค่าเบี่ยงเบนมาตรฐานสัมพัทธ์ (n = 6)

จากการศึกษาหาสภาวะการทดลองที่เหมาะสมสำหรับการวิเคราะห์สารกำจัดศัตรูพืชกลุ่มออร์กาโนคลอรีนทั้ง 5 ชนิดในตัวอย่างน้ำจากข้อ 2.1 สามารถสรุปสภาวะของเครื่องแก๊สโครมาโท-

กราฟที่มีตัวตรวจวัดชนิดอิเล็กตรอนแคพเจอร์กับการใช้คอลัมน์ 2 ชนิดคือ คาร์บอนิลคอลัมน์แบบธรรมดา และคอลัมน์คาร์บอนิลคอลัมน์ ได้ดังตาราง 10

ตาราง 10 แสดงสภาวะการทดลองของเครื่องแก๊สโครมาโทกราฟีด้วยคอลัมน์ชนิดคาร์บอนิลคอลัมน์แบบธรรมดาและคอลัมน์คาร์บอนิลคอลัมน์

พารามิเตอร์	สภาวะการทดลอง	
	คาร์บอนิลคอลัมน์แบบธรรมดา	คอลัมน์คาร์บอนิลคอลัมน์
อุณหภูมิของคอลัมน์	แบบตั้งโปรแกรมอุณหภูมิ เริ่มต้นที่ 165 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 17 นาที และเพิ่มอุณหภูมิด้วยอัตรา 120 องศาเซลเซียสต่อนาที เป็น 250 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 8 นาที	แบบอุณหภูมิคงที่ตลอดการวิเคราะห์ ที่ 190 องศาเซลเซียส
อุณหภูมิตัวตรวจวัด	320 องศาเซลเซียส	260 องศาเซลเซียส
ระบบการฉีดสารตัวอย่าง	Split mode : split ratio 64.4 :1	Split mode : split ratio 2 :1
อุณหภูมิระบบการฉีดสาร	250 องศาเซลเซียส	250 องศาเซลเซียส
ปริมาตรการฉีด	1.0 ไมโครลิตร	0.1 ไมโครลิตร
ชนิดของแก๊สพา	แก๊สฮีเลียม	แก๊สไนโตรเจน
อัตราการไหลของแก๊สพา	1 มิลลิลิตรต่อนาที	60 มิลลิลิตรต่อนาที
ชนิดของ make up gas	แก๊สไนโตรเจน	ไม่ใช้ make up gas

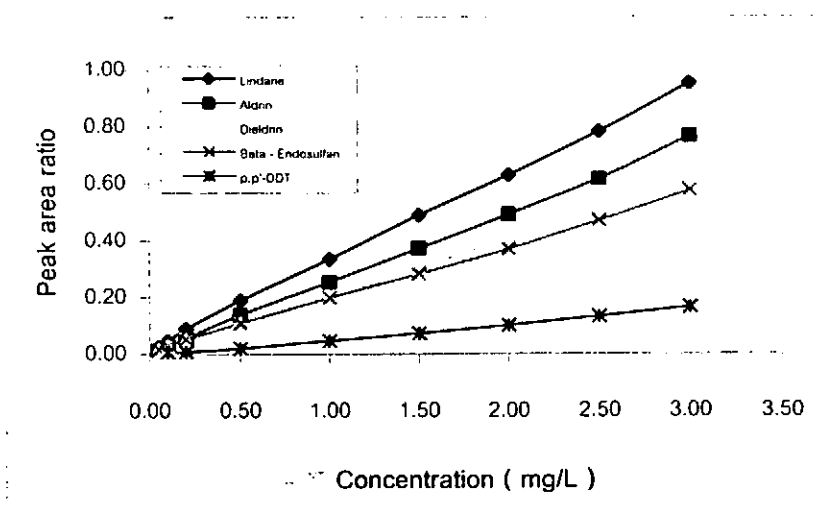
1.4 ช่วงความเข้มข้นของสารมาตรฐานที่ให้กราฟเป็นเส้นตรง

จากการศึกษาหาช่วงความเข้มข้นของสารละลายมาตรฐานที่ให้กราฟเป็นเส้นตรงด้วยการฉีดสารละลายมาตรฐานผสมที่มีความเข้มข้นต่างๆ (0.05 – 3.00 มิลลิกรัมต่อลิตร) หลังผ่านการสกัดด้วยเทคนิคการสกัดทั้ง 3 แบบคือ การสกัดด้วยตัวทำละลายแบบหลายขั้นตอน การสกัดด้วยตัวทำละลายแบบขั้นตอนเดียว และการสกัดด้วยวัฏภาคของแข็ง โดยใช้คาพิลลารีคอลัมน์แบบธรรมดา ส่วนมูลค่าพิลลารีคอลัมน์จะเลือกใช้เทคนิคการสกัดเพียงแบบเดียวคือ การสกัดด้วยตัวทำละลายแบบขั้นตอนเดียว เนื่องจากให้ผลการวิเคราะห์ที่ดีใกล้เคียงกับเทคนิคการสกัดแบบอื่นๆ อีกทั้งยังมีความสะดวกและรวดเร็วกว่า แล้วนำอัตราส่วนพื้นที่ใต้พีคและความเข้มข้นของสาร มาสร้างกราฟแสดงความสัมพันธ์เป็นเส้นตรงดังแสดงในภาพประกอบ 7 - 10 ซึ่งพบว่าความเข้มข้นของสารมาตรฐานที่ให้กราฟเป็นเส้นตรงของคาพิลลารีคอลัมน์แบบธรรมดาและมูลค่าพิลลารีคอลัมน์ มีค่าแสดงในตาราง 11

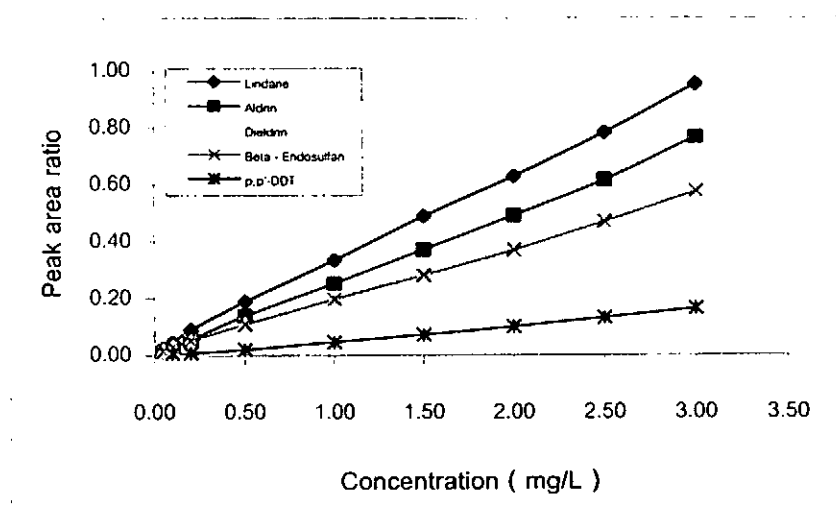
ตาราง 11 ช่วงความเข้มข้นของสารกลุ่มออร์กาโนคลอรีนที่ให้กราฟเป็นเส้นตรง

เทคนิคการสกัด	ช่วงความเข้มข้นที่ให้กราฟเป็นเส้นตรง (มิลลิกรัมต่อลิตร)	
	คาพิลลารีคอลัมน์แบบธรรมดา	มูลค่าพิลลารีคอลัมน์
การสกัดด้วยตัวทำละลายแบบหลายขั้นตอน	0.05 – 3.00	-
การสกัดด้วยตัวทำละลายแบบขั้นตอนเดียว	0.05 – 2.50	0.05 – 2.50
การสกัดด้วยวัฏภาคของแข็ง	0.05 – 3.00	-

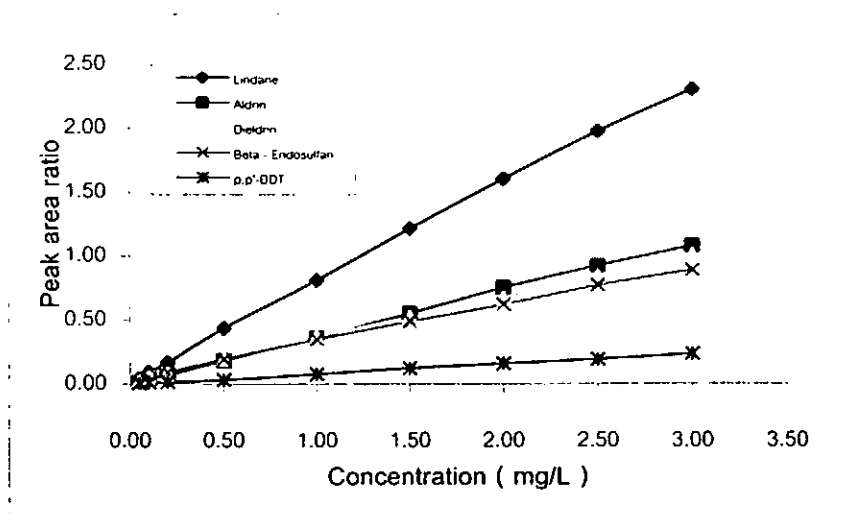
หมายเหตุ: ยกเว้นพารา-พารา ดีดีที อยู่ในช่วง 0.50 – 3.00, 0.05 – 2.00 และ 0.50 – 3.00 มิลลิกรัมต่อลิตร สำหรับเทคนิคการสกัดทั้ง 3 แบบ ตามลำดับ เมื่อใช้คาพิลลารีคอลัมน์แบบธรรมดา และอยู่ในช่วง 0.50 – 2.50 มิลลิกรัมต่อลิตร สำหรับการสกัดด้วยตัวทำละลายแบบขั้นตอนเดียว เมื่อใช้มูลค่าพิลลารีคอลัมน์



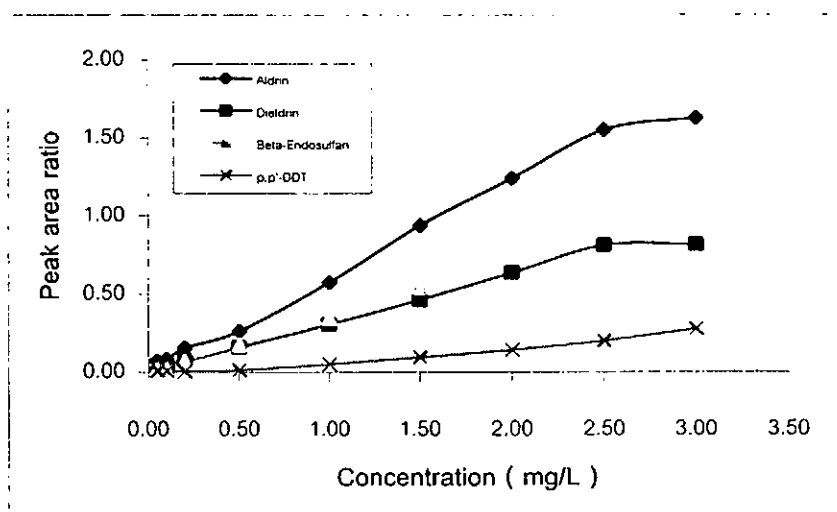
ภาพประกอบ 7 กราฟแสดงความสัมพันธ์ระหว่างอัตราส่วนพื้นที่ใต้พีคกับความเข้มข้นของสารกำจัดศัตรูพืช 5 ชนิดที่ผ่านการสกัดด้วยเทคนิคการสกัดด้วยตัวทำละลายแบบหลายขั้นตอน แล้ววิเคราะห์ด้วยคอลัมน์ชนิดคาปิลลารีคอลัมน์แบบธรรมดา



ภาพประกอบ 8 กราฟแสดงความสัมพันธ์ระหว่างอัตราส่วนพื้นที่ใต้พีคกับความเข้มข้นของสารกำจัดศัตรูพืช 5 ชนิดที่ผ่านการสกัดด้วยเทคนิคการสกัดด้วยตัวทำละลายแบบขั้นตอนเดียว แล้ววิเคราะห์ด้วยคอลัมน์ชนิดคาปิลลารีคอลัมน์แบบธรรมดา



ภาพประกอบ 9 กราฟแสดงความสัมพันธ์ระหว่างอัตราส่วนพื้นที่ใต้พีคกับความเข้มข้นของสารกำจัดศัตรูพืช 5 ชนิดที่ผ่านการสกัดด้วยเทคนิคการสกัดด้วยวัฏภาคของแข็ง แล้ววิเคราะห์ด้วยคอลัมน์ชนิดคาปิลลารีคอลัมน์แบบธรรมดา



ภาพประกอบ 10 กราฟแสดงความสัมพันธ์ระหว่างอัตราส่วนพื้นที่ใต้พีคกับความเข้มข้นของสารกำจัดศัตรูพืช 4 ชนิดที่ผ่านการสกัดด้วยเทคนิคการสกัดด้วยตัวทำละลายแบบขั้นตอนเดียว แล้ววิเคราะห์ด้วยคอลัมน์ชนิดมัลติคาปิลลารีคอลัมน์

1.5 ความเข้มข้นต่ำสุดที่เครื่องมือสามารถตรวจวัดสัญญาณได้และความเข้มข้นต่ำสุดที่ใช้ในการทำปริมาณวิเคราะห์

ค่าความเข้มข้นต่ำสุดที่เครื่องมือสามารถตรวจวัดสัญญาณได้หรือค่า LOD เป็นค่าที่ได้จากวิธีการวิเคราะห์ เมื่อนำสารละลายมาตรฐานผสมของสารกำจัดศัตรูพืชกลุ่มออร์กาโนคลอรีนที่เตรียมในน้ำปราศจากไขมันที่ความเข้มข้นต่ำสุดที่ใช้ในการทดลองคือ 0.50 มิลลิกรัมต่อลิตรไปผ่านการสกัดแล้วนำมาฉีดเข้าเครื่องแก๊สโครมาโทกราฟตามสภาวะการทดลองที่เหมาะสม จำนวน 6 ครั้ง เพื่อคำนวณหาค่าเบี่ยงเบนมาตรฐานของอัตราส่วนพื้นที่ใต้พีคของสารกำจัดศัตรูพืชแต่ละชนิด จากนั้นคำนวณความเข้มข้นต่ำสุดที่เครื่องมือสามารถตรวจวัดสัญญาณได้โดยใช้สัญญาณที่สามเท่าของค่าเบี่ยงเบนมาตรฐานดังแสดงตัวอย่างวิธีการคำนวณในภาคผนวก ค ซึ่งค่า LOD ของสารกำจัดศัตรูพืชทั้ง 5 ชนิดจากการสกัดทั้ง 3 แบบ และใช้คอลัมน์ชนิดคาพิลลารีคอลัมน์แบบธรรมดา พบว่าอยู่ในช่วง 0.016 – 0.297 มิลลิกรัมต่อลิตร ส่วนค่า LOD ของสารกำจัดศัตรูพืชทั้ง 4 ชนิดจากการสกัดด้วยตัวทำละลายแบบขั้นตอนเดียวและใช้คอลัมน์ชนิดมัลติคาพิลลารีคอลัมน์ พบว่าอยู่ในช่วง 0.106 – 0.153 มิลลิกรัมต่อลิตร ดังแสดงในตาราง 12 และ 13 ตามลำดับ

ค่าความเข้มข้นต่ำสุดที่ใช้ในการทำปริมาณวิเคราะห์หรือค่า LOQ เป็นค่าความเข้มข้นน้อยที่สุดที่สามารถนำมาใช้ในการวิเคราะห์ปริมาณได้อย่างถูกต้อง การหาค่า LOQ คำนวณโดยใช้ค่าสัญญาณที่สิบเท่าของค่าเบี่ยงเบนมาตรฐานของพื้นที่ใต้พีค ดังแสดงสูตรและตัวอย่างวิธีการคำนวณในภาคผนวก ค จากการสกัดทั้ง 3 แบบ แล้ววิเคราะห์ด้วยคอลัมน์ชนิดคาพิลลารีคอลัมน์แบบธรรมดา พบว่าค่า LOQ ของสารกำจัดศัตรูพืชทั้ง 5 ชนิดอยู่ในช่วง 0.052 – 0.991 มิลลิกรัมต่อลิตร และจากการสกัดด้วยตัวทำละลายแบบขั้นตอนเดียว แล้ววิเคราะห์ด้วยคอลัมน์ชนิดมัลติคาพิลลารีคอลัมน์ จะได้ค่า LOQ ของสารกำจัดศัตรูพืชทั้ง 4 ชนิดอยู่ในช่วง 0.352 – 0.510 มิลลิกรัมต่อลิตร ดังแสดงในตาราง 12 และ 13 ตามลำดับ

ตาราง 12 แสดงค่า LOD และ LOQ ของสารกลุ่มฮอร์โมนคลอโรนทั้ง 5 ชนิด ที่ผ่านการสกัดด้วยเทคนิคการสกัดทั้ง 3 แบบ แล้ววิเคราะห์ด้วยคาพิลลารีคอลัมน์แบบธรรมดา

สารกำจัดศัตรูพืช	ค่า LOD (มิลลิกรัมต่อลิตร)			ค่า LOQ (มิลลิกรัมต่อลิตร)		
	LLE	SSE	SPE	LLE	SSE	SPE
ลินเดน	0.020	0.048	0.016	0.068	0.160	0.052
อัลดริน	0.025	0.108	0.081	0.085	0.361	0.269
ดีลดริน	0.023	0.089	0.106	0.078	0.297	0.352
เบต้า-เอนโดซัลเฟน	0.025	0.063	0.075	0.082	0.210	0.251
พารา-พารา ดีดีที	0.237	0.162	0.297	0.791	0.539	0.991

หมายเหตุ: เทคนิคการสกัดทั้ง 3 แบบ คือ การสกัดด้วยตัวทำละลายแบบหลายขั้นตอน (LLE) การสกัดด้วยตัวทำละลายแบบขั้นตอนเดียว (SSE) และการสกัดด้วยวัฏภาคของแข็ง (SPE)

ตาราง 13 แสดงค่า LOD และ LOQ ของสารกลุ่มฮอร์โมนคลอโรนทั้ง 4 ชนิด ที่ผ่านการสกัดด้วยเทคนิคการสกัดด้วยตัวทำละลายแบบขั้นตอนเดียว (SSE) แล้ววิเคราะห์ด้วยมัลติคาพิลลารีคอลัมน์

สารกำจัดศัตรูพืช	ค่า LOD (มิลลิกรัมต่อลิตร)	ค่า LOQ (มิลลิกรัมต่อลิตร)
อัลดริน	0.131	0.436
ดีลดริน	0.134	0.446
เบต้า-เอนโดซัลเฟน	0.153	0.510
พารา-พารา ดีดีที	0.106	0.352

2. กราฟมาตรฐานของสารกำจัดศัตรูพืชกลุ่มออร์กาโนคลอรีน

ในการวิเคราะห์ปริมาณสารกำจัดศัตรูพืชจะต้องสร้างกราฟมาตรฐานของสารแต่ละชนิดเพื่อนำสมการเส้นตรงที่ได้จากกราฟมาคำนวณหาปริมาณของสารในตัวอย่างน้ำ ซึ่งทำได้โดยการเตรียมสารละลายมาตรฐานผสมในน้ำปราศจากไขมันที่ความเข้มข้นต่างๆ คือ 0.50 1.00 1.50 2.00 และ 2.50 มิลลิกรัมต่อลิตร แล้วนำไปผ่านการสกัด จากนั้นฉีดเข้าเครื่องแก๊สโครมาโทกราฟที่สภาวะการทดลองที่เหมาะสม โดยใช้คอลัมน์ 2 ชนิดคือ คอปิลลารีคอลัมน์แบบธรรมดาและมัลติคอปิลลารีคอลัมน์ แล้วนำอัตราส่วนพื้นที่ใต้พีคของสารกำจัดศัตรูพืชแต่ละชนิดกับค่าความเข้มข้นที่เตรียมขึ้น มาสร้างกราฟมาตรฐานดังแสดงในภาพประกอบ 11 - 14 โดยมีค่าสัมประสิทธิ์สหสัมพันธ์ (correlation coefficient; r) และสมการเส้นตรงแสดงการถดถอยของกราฟมาตรฐานที่ได้จากการทดลองแสดงในตาราง 14 และ 15

ตาราง 14 แสดงค่าสัมประสิทธิ์สหสัมพันธ์และสมการเส้นตรงการถดถอยของกราฟมาตรฐานของสารกำจัดศัตรูพืชทั้ง 5 ชนิดที่ได้จากคอลัมน์ชนิดคอปิลลารีคอลัมน์แบบธรรมดา

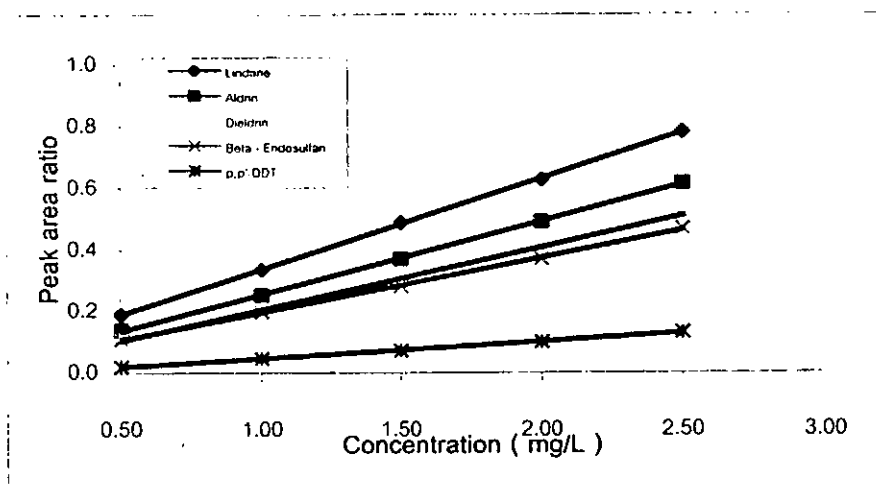
เทคนิคการ สกัด	ชนิดของสารกำจัด ศัตรูพืช	ค่าสัมประสิทธิ์สหสัมพันธ์ (r)	สมการเส้นตรงการถดถอย ของกราฟมาตรฐาน
LLE	ลินเดน	0.9999	$y = 0.2959x + 0.0394$
	อัลดริน	0.9999	$y = 0.2387x + 0.0146$
	ดีลดริน	0.9996	$y = 0.2034x + 0.0006$
	เบต้า-เฮนโดซิลเฟน	0.9995	$y = 0.1787x + 0.0160$
	พารา-พารา ดีดีที	0.9993	$y = 0.0551x - 0.0097$
SSE	ลินเดน	0.9990	$y = 0.3057x + 0.3630$
	อัลดริน	0.9982	$y = 0.2793x + 0.0644$
	ดีลดริน	0.9986	$y = 0.2451x + 0.2269$
	เบต้า-เฮนโดซิลเฟน	0.9991	$y = 0.2063x + 0.1845$
	พารา-พารา ดีดีที	0.9923	$y = 0.0526x - 0.0040$

ตาราง 14 (ต่อ)

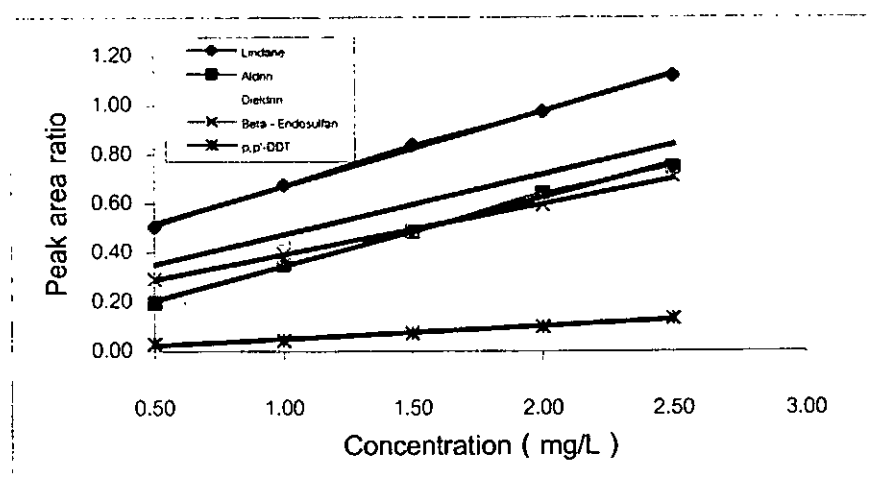
เทคนิคการ สกัด	ชนิดของสารกำจัด ศัตรูพืช	ค่าสัมประสิทธิ์สหสัมพันธ์ (r)	สมการเส้นตรงการถดถอย ของกราฟมาตรฐาน
SPE			
	ลินเดน	0.9999	$y = 0.7723x + 0.0450$
	อัลดริน	0.9998	$y = 0.3722x - 0.0073$
	ดีลดริน	0.9996	$y = 0.3167x + 0.0414$
	เบต้า-เอนโดซัลเฟน	0.9997	$y = 0.2840x + 0.0534$
	พารา-พารา ดีดีที	0.9968	$y = 0.0801x - 0.0063$

ตาราง 15 แสดงค่าสัมประสิทธิ์สหสัมพันธ์และสมการเส้นตรงการถดถอยของกราฟมาตรฐานของสาร
กำจัดศัตรูพืชทั้ง 4 ชนิด ที่ได้จากคอลัมน์ชนิดมลติคาพิลลารีคอลัมน์

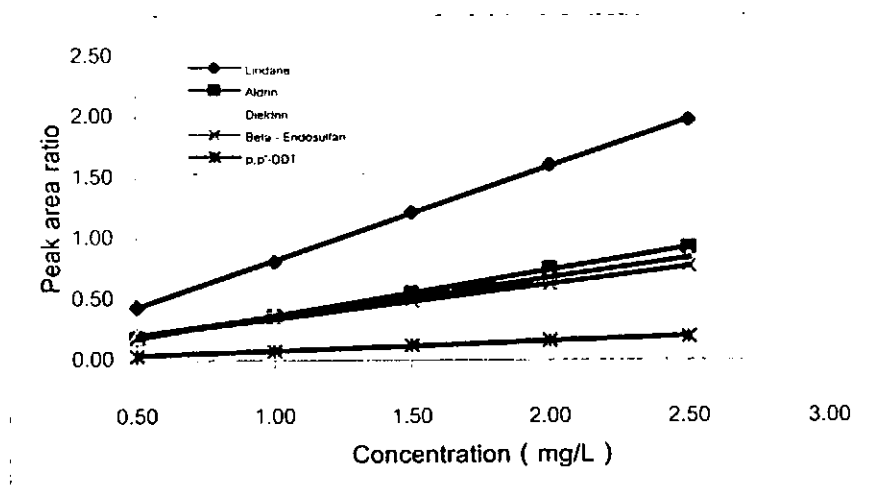
เทคนิคการ สกัด	ชนิดของสารกำจัด ศัตรูพืช	ค่าสัมประสิทธิ์สหสัมพันธ์ (r)	สมการเส้นตรงการถดถอย ของกราฟมาตรฐาน
SSE			
	อัลดริน	0.9995	$y = 0.6469x - 0.0601$
	ดีลดริน	0.9993	$y = 0.3273x - 0.0179$
	เบต้า-เอนโดซัลเฟน	0.9968	$y = 0.4347x - 0.0721$
	พารา-พารา ดีดีที	0.9968	$y = 0.0924x - 0.0403$



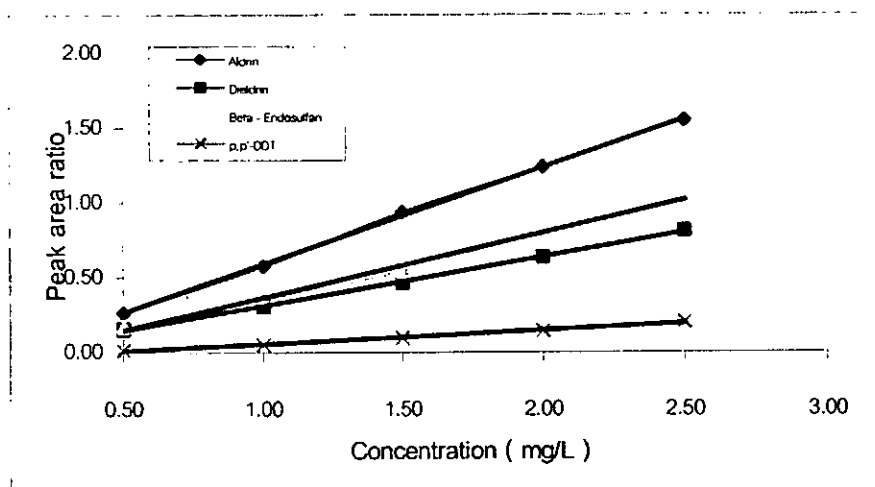
ภาพประกอบ 11 แสดงกราฟมาตรฐานของสารกำจัดศัตรูพืชทั้ง 5 ชนิดที่ผ่านการสกัดด้วยเทคนิคการสกัดด้วยตัวทำละลายแบบหลายขั้นตอน แล้ววิเคราะห์ด้วยคอลัมน์ชนิดคาปิลลารีคอลัมน์แบบธรรมดา



ภาพประกอบ 12 แสดงกราฟมาตรฐานของสารกำจัดศัตรูพืชทั้ง 5 ชนิดที่ผ่านการสกัดด้วยเทคนิคการสกัดด้วยตัวทำละลายแบบขั้นตอนเดียว แล้ววิเคราะห์ด้วยคอลัมน์ชนิดคาปิลลารีคอลัมน์แบบธรรมดา



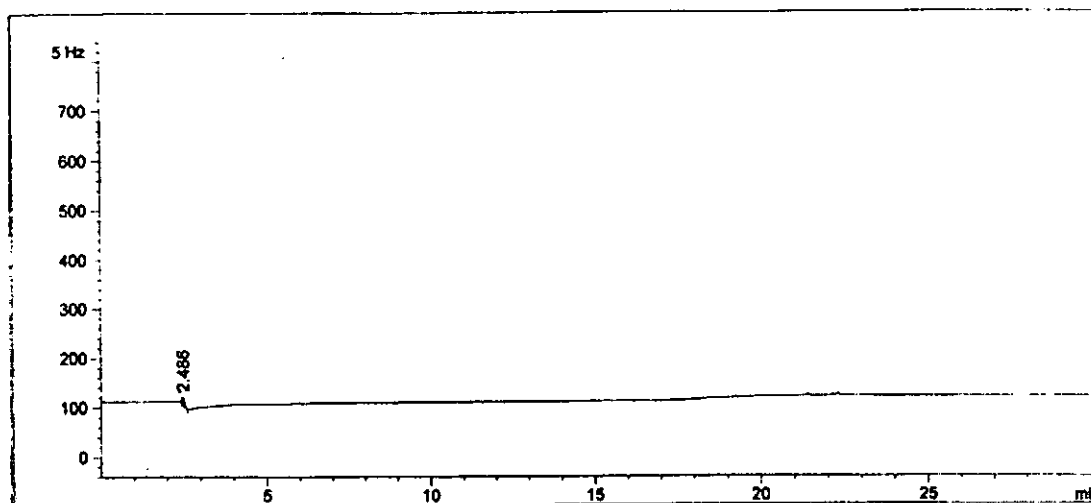
ภาพประกอบ 13 แสดงกราฟมาตรฐานของสารกำจัดศัตรูพืชทั้ง 5 ชนิด ที่ผ่านการสกัดด้วยเทคนิคการสกัดด้วยวัฏภาคของแข็ง แล้ววิเคราะห์ด้วยคอลัมน์ชนิดคาปิลลารีคอลัมน์แบบธรรมดา



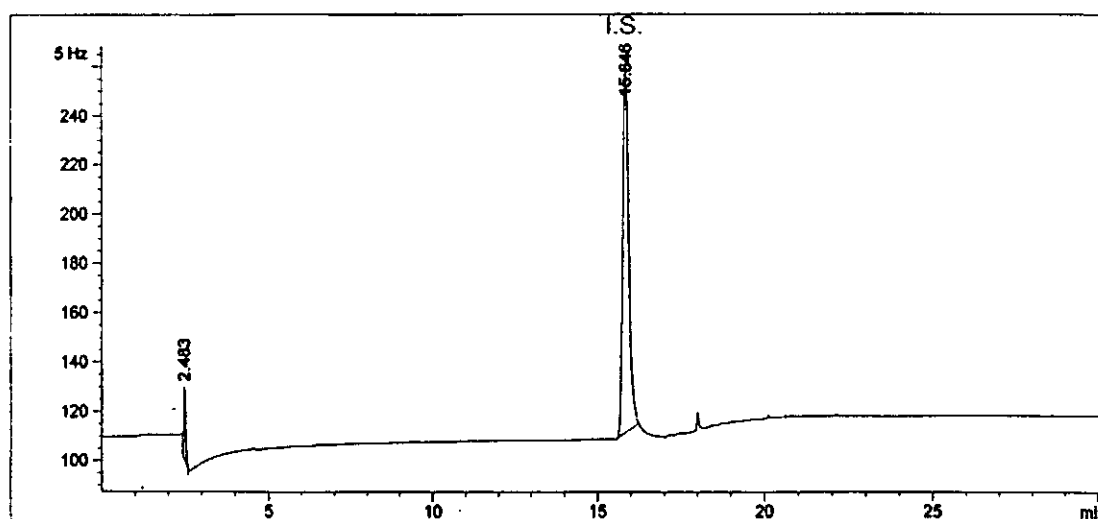
ภาพประกอบ 14 แสดงกราฟมาตรฐานของสารกำจัดศัตรูพืชทั้ง 4 ชนิด ที่ผ่านการสกัดด้วยเทคนิคการสกัดด้วยตัวทำละลายแบบขั้นตอนเดียว แล้ววิเคราะห์ด้วยคอลัมน์ชนิดมัลติคาปิลลารีคอลัมน์

3. การสกัดสารกำจัดศัตรูพืชกลุ่มออร์กาโนคลอรีนจากตัวอย่างน้ำ

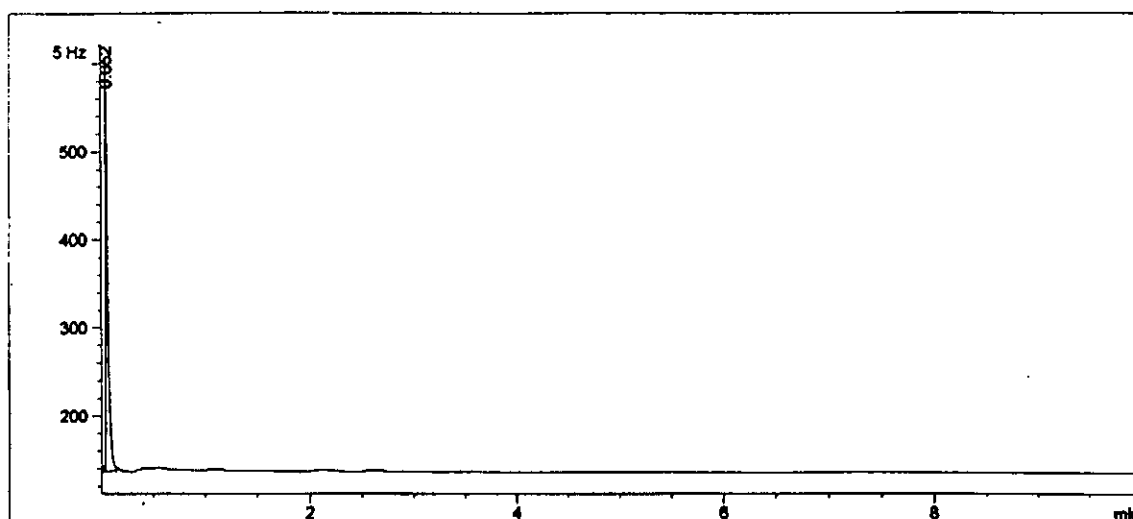
เทคนิคการสกัดสารกำจัดศัตรูพืชในตัวอย่างน้ำที่เลือกศึกษาในงานวิจัยนี้มี 3 แบบคือการสกัดด้วยตัวทำละลายแบบหลายขั้นตอน (LLE) การสกัดด้วยตัวทำละลายแบบขั้นตอนเดียว (SSE) และการสกัดด้วยวัฏภาคของแข็ง (SPE) เพื่อเปรียบเทียบถึงความสะดวก รวดเร็วและประสิทธิภาพในการกำจัดสิ่งเจือปนที่อยู่ในตัวอย่างน้ำ โดยเลือกใช้เฮกเซนเป็นตัวทำละลายในการสกัด และ C_{18} cartridge เป็นวัฏภาคของแข็ง พบว่าเทคนิคการสกัดด้วยตัวทำละลายแบบหลายขั้นตอน ใช้เวลานาน สิ้นเปลืองตัวทำละลายมาก และมีขั้นตอนยุ่งยาก ส่วนเทคนิคการสกัดด้วยตัวทำละลายแบบขั้นตอนเดียว ใช้เวลาและปริมาณตัวทำละลายในการสกัดน้อยมาก (ใช้เวลาประมาณ 2 - 5 นาที) และมีขั้นตอนการสกัดแบบง่าย นอกจากนี้ยังมีความถูกต้องและแม่นยำดี และเทคนิคการสกัดด้วยวัฏภาคของแข็ง ประหยัดตัวทำละลายและรวดเร็วกว่าเทคนิคแรก แต่มีขั้นตอนยุ่งยากและค่าใช้จ่ายสูง ซึ่งผู้วิจัยได้ทำการทดลองสกัดตัวอย่างน้ำจากพื้นที่สวนผลไม้ที่ไม่ได้เดิมและเดิมเฉพาะสารละลายมาตรฐานภายในด้วยเทคนิคการสกัดทั้ง 3 แบบ เพื่อเปรียบเทียบประสิทธิภาพในการกำจัดสิ่งเจือปนของเทคนิคการสกัดแบบต่างๆ พบว่าให้ผลการวิเคราะห์ที่ใกล้เคียงกัน โดยมีประสิทธิภาพในการกำจัดสิ่งเจือปน ตะกอนแขวนลอย และสีของน้ำตัวอย่างได้ดี ซึ่งตัวอย่างผลการวิเคราะห์เมื่อใช้คอลัมน์ทั้ง 2 ชนิด แสดงในภาพประกอบ 15 – 18 จากนั้นได้ทำการทดลองสกัดตัวอย่างน้ำจากพื้นที่สวนผลไม้ที่เดิมสารละลายมาตรฐานภายในและสารมาตรฐานกลุ่มออร์กาโนคลอรีนทั้ง 5 ชนิดเพื่อนำไปวิเคราะห์ชนิดและปริมาณ โดยมีตัวอย่างผลการวิเคราะห์แสดงในภาพประกอบ 19



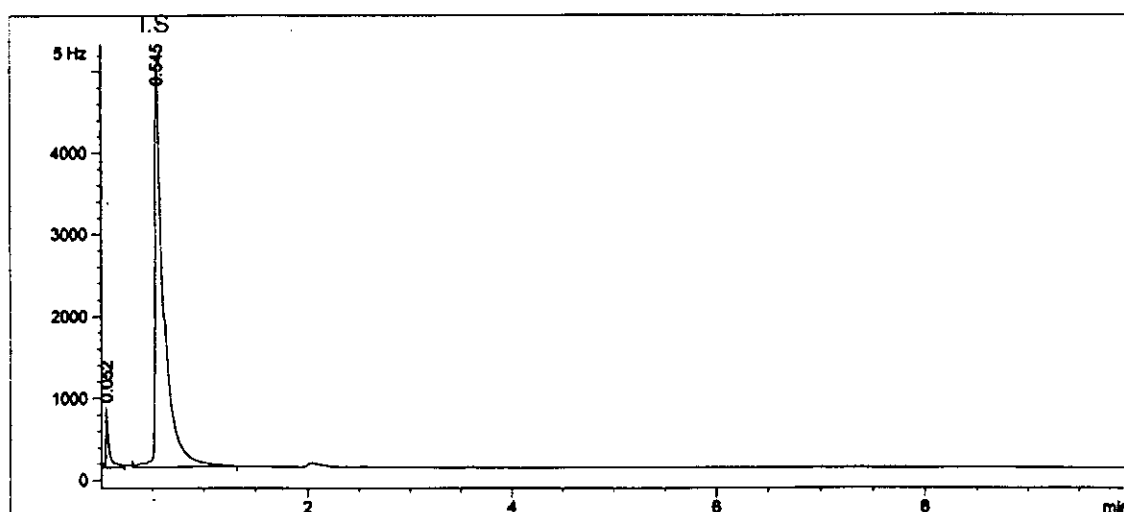
ภาพประกอบ 15 แสดงโครมาโทแกรมของตัวอย่างน้ำจากพื้นที่สวนผลไม้หลังผ่านการสกัดด้วยเทคนิคการสกัดด้วยตัวทำละลายแบบขั้นตอนเดียวจากเครื่องแก๊สโครมาโทกราฟกับคอลัมน์ชนิดคาปิลลารี คอลัมน์แบบธรรมดา



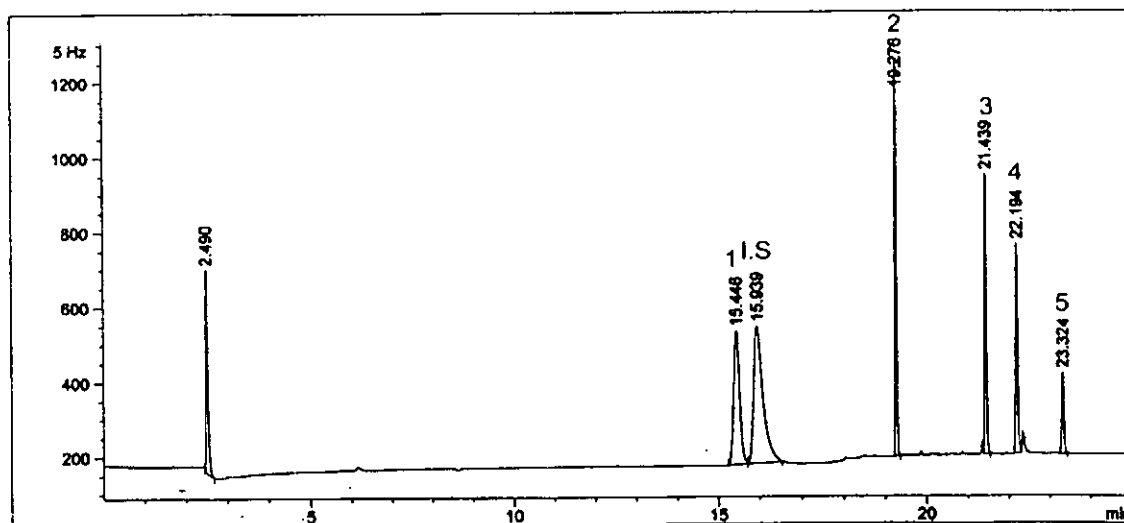
ภาพประกอบ 16 แสดงโครมาโทแกรมของตัวอย่างน้ำจากพื้นที่สวนผลไม้ที่เติมสารละลายมาตรฐาน ภายในความเข้มข้น 2.0 มิลลิกรัมต่อลิตร หลังผ่านการสกัดด้วยเทคนิคการสกัดด้วยตัวทำละลายแบบขั้นตอนเดียว จากเครื่องแก๊สโครมาโทกราฟกับคอลัมน์ชนิดคาปิลลารีคอลัมน์แบบธรรมดา (สารมาตรฐานภายใน; I.S.)



ภาพประกอบ 17 แสดงโครมาโทแกรมของตัวอย่างน้ำจากพื้นที่สวนผลไม้หลังผ่านการสกัดด้วยเทคนิคการสกัดด้วยตัวทำละลายแบบขั้นตอนเดียว จากเครื่องแก๊สโครมาโทกราฟกับคอลัมน์ชนิดมัลติคาพิลลารีคอลัมน์



ภาพประกอบ 18 แสดงโครมาโทแกรมของตัวอย่างน้ำจากพื้นที่สวนผลไม้ที่เติมสารละลายมาตรฐานภายในความเข้มข้น 2.0 มิลลิกรัมต่อลิตร หลังผ่านการสกัดด้วยเทคนิคการสกัดด้วยตัวทำละลายแบบขั้นตอนเดียว จากเครื่องแก๊สโครมาโทกราฟกับคอลัมน์ชนิดมัลติคาพิลลารีคอลัมน์ (สารมาตรฐานภายใน; I.S.)



ภาพประกอบ 19 แสดงโครมาโทแกรมของตัวอย่างน้ำจากพื้นที่สวนผลไม้ที่เดิมสารกลุ่มออร์กาโนคลอรีน ทั้ง 5 ชนิดและสารมาตรฐานภายในหลังจากการสกัดด้วยเทคนิคการสกัดด้วยตัวทำละลายแบบ ขั้นตอนเดียวจากเครื่องแก๊สโครมาโทกราฟกับคอลัมน์ชนิดคาพิลลารีคอลัมน์แบบธรรมดา (ลินเดน; 1, สารมาตรฐานภายใน; I.S., อัลดริน; 2, ดีลดริน; 3, เบต้า-เฮนโดซิลเฟน; 4 และ พารา-พารา ดีดีที; 5)

4. ความถูกต้องและความแม่นยำของวิธีวิเคราะห์ในตัวอย่างน้ำ

งานวิจัยนี้ได้พัฒนาวิธีการวิเคราะห์สารกำจัดศัตรูพืชกลุ่มออร์กาโนคลอรีนในตัวอย่างน้ำโดย เทคนิคแก๊สโครมาโทกราฟีที่ใช้คอลัมน์ 2 ชนิดคือ คาพิลลารีคอลัมน์แบบธรรมดาและมัลติคาพิลลารี คอลัมน์ กับเทคนิคการสกัดทั้ง 3 แบบ ได้แก่ การสกัดด้วยตัวทำละลายแบบหลายขั้นตอน (LLE) การสกัด ด้วยตัวทำละลายแบบขั้นตอนเดียว (SSE) และการสกัดด้วยวัฏภาคของแข็ง (SPE) ซึ่งได้ทำการทดลอง เปรียบเทียบถึงความถูกต้องและความแม่นยำของวิธีวิเคราะห์ โดยการคำนวณหาค่าร้อยละการกลับคืน และค่าเบี่ยงเบนมาตรฐานสัมพัทธ์ดังนี้

4.1 ความถูกต้องของวิธีวิเคราะห์สารกำจัดศัตรูพืชกลุ่มออร์กาโนคลอรีนในตัวอย่างน้ำ

การหาความถูกต้องของวิธีการวิเคราะห์ที่พัฒนาขึ้น สามารถแสดงได้ด้วยร้อยละการกลับคืน โดยการเตรียมสารละลายมาตรฐานผสมในตัวอย่างน้ำผิวดินสังเคราะห์และตัวอย่างน้ำที่เก็บจากพื้นที่สวนผลไม้ ที่ความเข้มข้น 0.50, 1.50 และ 2.50 มิลลิกรัมต่อลิตร แล้วนำมาผ่านการสกัดด้วยเทคนิคการสกัดทั้ง 3 แบบแล้ววิเคราะห์โดยใช้คอลัมน์ชนิดคาพิลลารีคอลัมน์แบบธรรมดา ส่วนคอลัมน์ชนิดมัลติคาพิลลารีคอลัมน์ จะเลือกใช้เทคนิคการสกัดแบบการสกัดด้วยตัวทำละลายแบบขั้นตอนเดียว เนื่องจากให้ผลวิเคราะห์ที่ดีใกล้เคียงกับเทคนิคการสกัดแบบอื่นๆ แต่มีความสะดวก รวดเร็วที่สุด จากนั้นวิเคราะห์ปริมาณด้วยเครื่องแก๊สโครมาโทกราฟที่สภาวะการทดลองที่เหมาะสม แล้วนำอัตราส่วนพื้นที่ได้พีคเฉลี่ยจากการฉีดความเข้มข้นละ 3 ครั้งของสารกำจัดศัตรูพืชแต่ละชนิดมาคำนวณเปรียบเทียบกับค่าที่ได้จากกราฟมาตรฐาน พบว่าได้ค่าร้อยละการกลับคืนที่ดี ทั้งในตัวอย่างน้ำผิวดินสังเคราะห์และตัวอย่างน้ำที่เก็บจากพื้นที่สวนผลไม้ ดังแสดงในตาราง 16 และ 17

4.2 ความแม่นยำของวิธีวิเคราะห์สารกำจัดศัตรูพืชกลุ่มออร์กาโนคลอรีนในตัวอย่างน้ำ

ความแม่นยำของวิธีวิเคราะห์สารกำจัดศัตรูพืชกลุ่มออร์กาโนคลอรีนในตัวอย่างน้ำที่พัฒนาขึ้นนี้พิจารณาได้จากค่าเบี่ยงเบนมาตรฐานสัมพัทธ์ โดยทำการทดลองเตรียมสารละลายมาตรฐานผสมของสารกำจัดศัตรูพืชในตัวอย่างน้ำที่เก็บจากพื้นที่สวนผลไม้ ที่ความเข้มข้นเท่ากับ 1.0 มิลลิกรัมต่อลิตร จากนั้นนำไปสกัดแล้ววิเคราะห์ปริมาณด้วยเครื่องแก๊สโครมาโทกราฟด้วยคอลัมน์ทั้ง 2 ชนิด โดยทำการทดลองทั้งหมด 6 ครั้งสำหรับวิธีการสกัดแต่ละแบบ พบว่าวิธีวิเคราะห์ที่พัฒนาขึ้นนี้มีความแม่นยำดีด้วยค่าเบี่ยงเบนมาตรฐานสัมพัทธ์อยู่ในช่วง 1.04 – 6.73% ดังแสดงในตาราง 16 และ 17

ตาราง 16 แสดงค่าร้อยละการกลับคืนและค่าเบี่ยงเบนมาตรฐานสัมพัทธ์ของสารกำจัดศัตรูพืชกลุ่ม
ออร์กาโนคลอรีนจากคอลัมน์ชนิดคาพิลลารีคอลัมน์แบบธรรมดา

เทคนิคการสกัด	สารกำจัดศัตรูพืช	ร้อยละการกลับคืน*****		% RSD (n = 6)
		น้ำผิวดินสังเคราะห์	น้ำจากพื้นที่สวนผลไม้	
LLE				
	ลินเดน	98.42 ± 1.23	97.86 ± 1.19	1.95
	อัลดริน	98.65 ± 2.55	97.92 ± 0.59	1.83
	ดีลดริน	99.78 ± 0.21	98.06 ± 4.71	1.04
	เบต้า-เอนโดซัลเฟน	100.02 ± 3.86	97.31 ± 0.92	2.85
	พารา-พารา ดีดีที	103.13 ± 0.44	106.41 ± 6.01	3.61
SSE				
	ลินเดน	96.16 ± 2.76	94.83 ± 2.40	1.10
	อัลดริน	95.88 ± 1.54	96.80 ± 5.00	3.55
	ดีลดริน	97.11 ± 2.09	98.09 ± 1.11	3.77
	เบต้า-เอนโดซัลเฟน	99.00 ± 2.98	97.82 ± 0.31	3.52
	พารา-พารา ดีดีที	102.79 ± 3.02	102.34 ± 1.14	4.61
SPE				
	ลินเดน	99.07 ± 0.85	97.16 ± 2.88	3.97
	อัลดริน	98.64 ± 1.13	98.61 ± 2.09	4.03
	ดีลดริน	98.16 ± 2.37	97.99 ± 3.34	3.38
	เบต้า-เอนโดซัลเฟน	100.70 ± 2.47	99.99 ± 4.85	3.76
	พารา-พารา ดีดีที	104.32 ± 1.88	103.07 ± 0.87	4.03

***** แทน ค่าเฉลี่ยร้อยละการกลับคืนจากการสกัด 3 ครั้ง ± ค่าเบี่ยงเบนมาตรฐาน (n=3)

ตาราง 17 แสดงค่าร้อยละการกลับคืนและค่าเบี่ยงเบนมาตรฐานสัมพัทธ์ของสารกำจัดศัตรูพืชกลุ่ม
ออร์กาโนคลอรีนจากคอลัมน์ชนิดมัลติคาพิลลารีคอลัมน์

เทคนิคการสกัด	สารกำจัดศัตรูพืช	ร้อยละการกลับคืน*****		% RSD (n = 6)
		น้ำผิวดินสังเคราะห์	น้ำจากพื้นที่สวนผลไม้	
SSE				
	อัลดริน	98.03 ± 5.33	100.90 ± 1.77	2.16
	ดีลดริน	97.54 ± 1.51	95.05 ± 5.89	4.91
	เบต้า-เฮนโดซัลเฟน	96.23 ± 6.39	95.70 ± 3.60	4.02
	พารา-พารา ดีดีที	102.46 ± 4.48	102.08 ± 7.15	6.73

***** แทน ค่าเฉลี่ยร้อยละการกลับคืนจากการสกัด 3 ครั้ง ± ค่าเบี่ยงเบนมาตรฐาน (n=3)

บทที่ 5

สรุปผล อภิปรายผลการวิจัยและข้อเสนอแนะ

งานวิจัยนี้ได้ทำการพัฒนาเทคนิคการเตรียมสารตัวอย่างและเทคนิคการวิเคราะห์ชนิดและปริมาณของสารกำจัดศัตรูพืชกลุ่มออร์กาโนคลอรีนในตัวอย่างน้ำโดยได้ทำการทดลองหาสภาวะที่เหมาะสมและได้วิธีการวิเคราะห์ที่มีความถูกต้อง แม่นยำและรวดเร็ว ซึ่งจะสรุปผล อภิปรายผลและให้ข้อเสนอแนะเป็นหัวข้อต่าง ๆ ดังนี้

1. การวิเคราะห์สารกำจัดศัตรูพืชกลุ่มออร์กาโนคลอรีนด้วยเทคนิคแก๊สโครมาโทกราฟีที่ใช้คอลัมน์แบบธรรมดา (HP-5 Capillary column)
2. การวิเคราะห์สารกำจัดศัตรูพืชกลุ่มออร์กาโนคลอรีนด้วยเทคนิคแก๊สโครมาโทกราฟีที่ใช้คอลัมน์แบบ Multi-Cap™ (Multi-Cap™ Capillary column)
3. การเปรียบเทียบการใช้คอลัมน์ชนิดคอลัมน์แบบธรรมดาและคอลัมน์แบบ Multi-Cap™ ในการวิเคราะห์สารกำจัดศัตรูพืชกลุ่มออร์กาโนคลอรีน
4. ข้อเสนอแนะ

1. การวิเคราะห์สารกำจัดศัตรูพืชกลุ่มออร์กาโนคลอรีนในตัวอย่างน้ำด้วยเทคนิคแก๊สโครมาโทกราฟีที่ใช้คอลัมน์แบบธรรมดา

1.1 สภาวะการทดลองที่เหมาะสมของเครื่องแก๊สโครมาโทกราฟีที่ใช้คอลัมน์แบบธรรมดา

จากการศึกษาหาสภาวะของเครื่องแก๊สโครมาโทกราฟีที่เหมาะสมสำหรับการวิเคราะห์ชนิดและปริมาณสารกำจัดศัตรูพืชกลุ่มออร์กาโนคลอรีนทั้ง 5 ชนิด ได้แก่ ลินเดน อัลดริน ดีลดริน เบต้า-เฮนโดซัลเฟนและพารา-พารา ดีดีที โดยเลือกใช้เพนตะคลอโรไนโตรเบนซีนเป็นสารมาตรฐานภายในพบว่าสภาวะการทดลองที่เหมาะสมเป็นดังนี้คือ อุณหภูมิของคอลัมน์แบบตั้งโปรแกรมอุณหภูมิ (temperature programmed) โดยเริ่มต้นที่ 165 องศาเซลเซียสและคงที่นาน 17 นาที จากนั้นเพิ่มอุณหภูมิในอัตรา 120 องศาเซลเซียสต่อนาทีจนมีอุณหภูมิเท่ากับ 250 องศาเซลเซียสแล้วคงที่เป็นเวลา 8 นาที ส่วนอุณหภูมิของบริเวณระบบการฉีดสารตัวอย่างและตัวตรวจวัดเท่ากับ 250 และ 320 องศาเซลเซียสตามลำดับ (Sun; et al. 2002: 9-14) ระบบการฉีดสารตัวอย่างแบบ split ที่อัตราการ split เท่ากับ 64.4 : 1

ปริมาตรการฉีดสารตัวอย่าง 1.0 ไมโครลิตร ใช้แก๊สฮีเลียมเป็นแก๊สพาที่อัตราการไหลของแก๊สพา 1.0 มิลลิเมตรต่อนาที และมีแก๊สไนโตรเจนเป็น make up gas ซึ่งสภาวะการทดลองที่ใช้สามารถแยกสารออกจากกันได้อย่างชัดเจนด้วยระยะเวลาในการตรวจวัดจากเครื่องแก๊สโครมาโทกราฟประมาณ 24 นาที โดยมีเวลารีเทนชันของสารกำจัดศัตรูพืชกลุ่มออร์กาโนคลอรีนทั้ง 5 ชนิดอยู่ในช่วง 15.326 ± 0.003 ถึง 23.269 ± 0.004 นาที (สารมาตรฐานภายในเพนตะคลอโรไนโตรเบนซีน 15.885 ± 0.003 นาที) และมีค่าเบี่ยงเบนมาตรฐานสัมพัทธ์ของเวลารีเทนชันในช่วง 0.01 – 0.02% ดังโครมาโทแกรมที่แสดงในภาพประกอบ 5

จะเห็นได้ว่าสภาวะการทดลองนี้มีความเหมาะสมต่อการวิเคราะห์สารกลุ่มดังกล่าว โดยมีระยะเวลาในการตรวจวัดด้วยเครื่องแก๊สโครมาโทกราฟที่ใกล้เคียงกับงานวิจัยของทอมกินส์และบาร์นาร์ด (Tomkins; & Barnard. 2002 : 21-33) ที่ใช้เวลาในการตรวจวัดประมาณ 25 นาที และรวดเร็วกว่าเมื่อเปรียบเทียบกับงานวิจัยของซิงค์ สแพสโซวา และไวท์ (Singh; Spassova; & White. 1998 : 231-244) ที่ใช้เวลาในการตรวจวัดนานถึง 50 นาที อย่างไรก็ตามเวลารีเทนชันของสารนอกจากจะขึ้นอยู่กับสภาวะการทดลองแล้วยังมีปัจจัยที่มีผลอีกหลายประการ เช่น ชนิดและประสิทธิภาพการกระจายตัวของสารชนิดและอัตราการไหลของแก๊สพา ตลอดจนชนิดและความยาวคอลัมน์ จากการวิจัยด้วยการใช้คาพิลลารีคอลัมน์แบบธรรมดาเพื่อวิเคราะห์สารกลุ่มนี้ พบว่าเวลารีเทนชันของสารแต่ละชนิดมีค่าสูง เป็นผลมาจากคอลัมน์ที่มีขนาดยาว (ความยาวคอลัมน์ 25.0 เมตร) และใช้อัตราการไหลของแก๊สพาต่ำ (1.0 มิลลิเมตรต่อนาที) ทำให้สารเคลื่อนที่ภายในคอลัมน์ได้ช้า และในงานวิจัยนี้ไม่สามารถเลือกอัตราการไหลของแก๊สพาให้สูงกว่า 1.0 มิลลิเมตรต่อนาทีได้ เนื่องจากไม่อยู่ในช่วงอัตราการไหลของแก๊สพาที่เหมาะสมที่พิจารณาจากกราฟของแวนดีมเตอร์ดังแสดงในภาพประกอบ 3

1.2 ช่วงความเข้มข้นของสารมาตรฐานที่ให้กราฟเป็นเส้นตรงและกราฟมาตรฐานของสารกำจัดศัตรูพืชกลุ่มออร์กาโนคลอรีนทั้ง 5 ชนิด

จากการศึกษาหาช่วงความเข้มข้นของสารมาตรฐานที่ให้กราฟเป็นเส้นตรงจากสารละลายมาตรฐานผสมทั้ง 5 ชนิด ได้แก่ ลินเดน อัลดริน ดีลดริน เบต้า-เฮนโดซิลเฟน และพารา-พารา ดีดีที ที่ผ่านขั้นตอนการสกัดทั้ง 3 แบบ แล้วนำมาวิเคราะห์ด้วยเครื่องแก๊สโครมาโทกราฟที่ใช้คาพิลลารีคอลัมน์แบบธรรมดา พบว่าช่วงความเข้มข้นของสารมาตรฐานที่ให้กราฟเป็นเส้นตรงอยู่ในช่วง 0.05 – 3.00, 0.05 – 2.50 และ 0.05 – 3.00 มิลลิกรัมต่อลิตร สำหรับเทคนิคการสกัดด้วยตัวทำละลายแบบหลายขั้นตอน การสกัดด้วยตัวทำละลายแบบขั้นตอนเดียว และการสกัดด้วยวัฏภาคของแข็งตามลำดับ ยกเว้นพารา-พารา

ดีดีที (0.50 – 3.00, 0.05 – 2.00 และ 0.50 – 3.00 มิลลิกรัมต่อลิตรตามลำดับ) ดังกราฟที่แสดงในภาพประกอบ 7 – 9 และตาราง 11 โดยเมื่อเตรียมสารละลายมาตรฐานผสมในช่วงความเข้มข้น 0.50 – 2.50 มิลลิกรัมต่อลิตร จะได้กราฟมาตรฐานที่มีค่าสัมประสิทธิ์สหสัมพันธ์อยู่ในช่วง 0.9993 – 0.9999, 0.9923 – 0.9991 และ 0.9968 – 0.9999 สำหรับการสกัดด้วยตัวทำละลายแบบหลายขั้นตอน การสกัดด้วยตัวทำละลายแบบขั้นตอนเดียว และการสกัดด้วยวัฏภาคของแข็งตามลำดับ ดังแสดงไว้ในภาพประกอบ 11 – 13 และตาราง 14 ตามลำดับ ซึ่งกราฟมาตรฐานที่ได้มีความถูกต้องสูงและมีความเข้มข้นที่ใหกราฟเป็นเส้นตรงเป็นช่วงกว้าง ยกเว้นพารา-พารา ดีดีที เนื่องจากสารมีความไวในการตอบสนองต่อตัวตรวจวัดต่ำโดยพิจารณาได้จากค่า LOD ของสาร ดังแสดงในตาราง 12 นอกจากนี้ยังพบว่าค่าสัมประสิทธิ์สหสัมพันธ์ของสารแต่ละชนิดที่ได้จากการวิเคราะห์โดยใช้คาพิลลารีคอลัมน์แบบธรรมดา มีค่าสูงกว่าในงานวิจัยของเฮอนานเดส-โรมีโร และคนอื่นๆ (Hernandez-Romero; et al. 2004 : 1-12) ที่มีค่าสัมประสิทธิ์สหสัมพันธ์อยู่ในช่วง 0.7943 – 0.9959

1.3 ความเข้มข้นต่ำสุดที่เครื่องมือสามารถตรวจวัดสัญญาณได้ (LOD) และความเข้มข้นต่ำสุดที่ใช้ในการทำปริมาณวิเคราะห์ (LOQ)

จากการพัฒนาวิธีวิเคราะห์สารกำจัดศัตรูพืชกลุ่มออร์กาโนคลอรีนด้วยเครื่องแก๊สโครมาโทกราฟที่ใช้คาพิลลารีคอลัมน์แบบธรรมดา พบว่าค่า LOD อยู่ในช่วง 0.020 – 0.237, 0.048 – 0.162 และ 0.016 – 0.297 มิลลิกรัมต่อลิตร และค่า LOQ อยู่ในช่วง 0.068 – 0.791, 0.160 – 0.539 และ 0.052 – 0.991 มิลลิกรัมต่อลิตร สำหรับการสกัดด้วยเทคนิคการสกัดด้วยตัวทำละลายแบบหลายขั้นตอน การสกัดด้วยตัวทำละลายแบบขั้นตอนเดียว และการสกัดด้วยวัฏภาคของแข็งตามลำดับ จะเห็นได้ว่าค่า LOD ที่ได้มีค่าค่อนข้างสูงกว่างานวิจัยอื่นๆ เช่น งานวิจัยของชี ห่วง และลี (Chee; Wong; & Lee. 1996 : 211-218) ที่สามารถวิเคราะห์สารกลุ่มนี้ได้ต่ำในระดับไมโครกรัม (0.05 – 0.36 ไมโครกรัมต่อลิตร) จึงควรมีการพัฒนาขั้นตอนการเตรียมสารตัวอย่างโดยทำให้สารที่สกัดได้มีความเข้มข้นสูงขึ้นก่อนนำไปวิเคราะห์ด้วยเครื่องแก๊สโครมาโทกราฟ

1.4 ความถูกต้องและความแม่นยำของวิธีวิเคราะห์ในตัวอย่างน้ำ

จากการศึกษาความถูกต้องและความแม่นยำ โดยพิจารณาจากร้อยละการกลับคืนและค่าเบี่ยงเบนมาตรฐานสัมพัทธ์ของการทดลองในตัวอย่างน้ำผิวดินสังเคราะห์และน้ำที่เก็บจากพื้นที่สวนผลไม้ โดยใช้เทคนิคการสกัดทั้ง 3 แบบ พบว่าเทคนิคการสกัดด้วยตัวทำละลายแบบหลายขั้นตอนให้ร้อยละการ

กลับคืนอยู่ในช่วง 98.42 ± 1.23 ถึง 103.13 ± 0.44 และ 97.31 ± 0.92 ถึง 106.41 ± 6.01 เทคนิคการสกัดด้วยตัวทำละลายแบบขั้นตอนเดียวให้ร้อยละการกลับคืนอยู่ในช่วง 95.88 ± 1.54 ถึง 102.79 ± 3.02 และ 94.83 ± 2.40 ถึง 102.34 ± 1.14 และเทคนิคการสกัดด้วยวัฏภาคของแข็งให้ร้อยละการกลับคืนอยู่ในช่วง 98.16 ± 2.37 ถึง 104.32 ± 1.88 และ 97.16 ± 2.88 ถึง 103.07 ± 0.87 สำหรับในตัวอย่างน้ำผิวดินสังเคราะห์และตัวอย่างน้ำที่เก็บจากพื้นที่สวนผลไม้ตามลำดับ จะเห็นได้ว่าให้ผลการวิเคราะห์ที่ดีใกล้เคียงกันและสอดคล้องกับงานวิจัยของฟาโตกิและอวอฟลู (Fatoki; & Awofolu, 2003 : 225-236) ที่ใช้วิธีการสกัดแบบการสกัดด้วยตัวทำละลายแบบหลายขั้นตอน ซึ่งให้ร้อยละการกลับคืนอยู่ในช่วง 71.03 – 101.25 และดีกว่าในงานวิจัยของวาสซิลากิส ทิซปี และสคูลโลส (Vassilakis; Tsipi; & Scoulllos 1998 : 49-58) ซึ่งใช้เทคนิคการสกัดแบบการสกัดด้วยวัฏภาคของแข็งแล้วได้ค่าร้อยละการกลับคืนในช่วง 59.7 – 94.7 และยังพบว่าเนื้อสารของน้ำตัวอย่าง (matrix) ไม่มีผลกระทบต่อวิธีการวิเคราะห์พิจารณาได้จากค่าร้อยละการกลับคืนที่ได้จากการวิเคราะห์ในน้ำผิวดินสังเคราะห์และน้ำที่เก็บจากพื้นที่สวนผลไม้มีค่าใกล้เคียงกัน

ความแม่นยำของวิธีวิเคราะห์ซึ่งพิจารณาจากค่าเบี่ยงเบนมาตรฐานสัมพัทธ์ พบว่าอยู่ในช่วง 1.04 – 3.61, 1.10 – 4.61 และ 3.38 – 4.03% สำหรับการสกัดด้วยตัวทำละลายแบบหลายขั้นตอน การสกัดด้วยตัวทำละลายแบบขั้นตอนเดียว และการสกัดด้วยวัฏภาคของแข็งตามลำดับ ซึ่งมีความแม่นยำดีเมื่อเปรียบเทียบกับงานวิจัยของวินาสและคนอื่นๆ (Vinas; et al. 2002 : 249-256) ที่ได้ค่าเบี่ยงเบนมาตรฐานสัมพัทธ์อยู่ในช่วง 5.6 – 6.7% และงานวิจัยของวาสซิลากิส ทิซปี และสคูลโลส (Vassilakis; Tsipi; & Scoulllos. 1998 : 49-58) ที่มีค่าเบี่ยงเบนมาตรฐานสัมพัทธ์อยู่ในช่วง 3.9 – 8.9%

2. การวิเคราะห์สารกำจัดศัตรูพืชกลุ่มออร์กาโนคลอรีนในตัวอย่างน้ำด้วยเทคนิคแก๊สโครมาโทกราฟีที่ใช้มวลติคาลิลลารีคอลลิมน์

2.1 สภาวะการทดลองที่เหมาะสมของเครื่องแก๊สโครมาโทกราฟีที่ใช้มวลติคาลิลลารีคอลลิมน์

จากการศึกษาหาสภาวะการทดลองที่เหมาะสมของเครื่องแก๊สโครมาโทกราฟีที่ใช้มวลติคาลิลลารีคอลลิมน์สำหรับการวิเคราะห์สารกำจัดศัตรูพืชกลุ่มออร์กาโนคลอรีนทั้ง 4 ชนิดได้แก่ อัลดริน ดีลดริน เบต้า-เอนโดซัลเฟน และพารา-พารา ดีดีที โดยเลือกใช้เพนตะคลอโรไนโตรเบนซีนเป็นสารมาตรฐานภายใน พบว่าสภาวะการทดลองที่เหมาะสมเป็นดังนี้คือ อุณหภูมิคอลลิมน์แบบตั้งอุณหภูมิให้เท่ากัน

ตลอดการวิเคราะห์ (isothermal) ที่ 190 องศาเซลเซียส อุณหภูมิของบริเวณระบบการฉีดสารตัวอย่างและตัวตรวจวัดเท่ากับ 250 และ 260 องศาเซลเซียสตามลำดับ ระบบการฉีดสารตัวอย่างแบบ split ที่อัตราการ split เท่ากับ 2 : 1 ปริมาณการฉีดสารตัวอย่าง 0.1 ไมโครลิตร และเลือกใช้แก๊สไนโตรเจนเป็นแก๊สพาที่อัตราการไหลของแก๊สพาเท่ากับ 60 มิลลิลิตรต่อนาที ซึ่งสภาวะการทดลองที่ใช้สามารถแยกสารออกจากกันได้อย่างชัดเจนและใช้เวลาในการตรวจวัดจากเครื่องแก๊สโครมาโทกราฟีเพียง 4 นาที โดยมีเวลารีเทนชันของสารกำจัดศัตรูพืชกลุ่มออร์กาโนคลอรีนทั้ง 4 ชนิดอยู่ในช่วง 1.037 ± 0.001 ถึง 3.577 ± 0.003 นาที (สารมาตรฐานภายในเพนตะคลอโรไนโตรเบนซีน 0.535 ± 0.001 นาที) และมีค่าเบี่ยงเบนมาตรฐานสัมพัทธ์ของเวลารีเทนชันในช่วง 0.03 – 0.09% ดังโครมาโทแกรมในภาพประกอบ 6

จากกราฟของแวนดีมเดอร์ดังแสดงในภาพประกอบ 4 พบว่าแก๊สไนโตรเจนที่เลือกใช้เป็นแก๊สพามีอัตราการไหลที่เหมาะสมอยู่ในช่วง 45 - 60 มิลลิลิตรต่อนาที และในงานวิจัยนี้เลือกใช้อัตราการไหลของแก๊สพาที่ 60 มิลลิลิตรต่อนาที เนื่องจากมีประสิทธิภาพในการแยกที่ดีเพราะมีค่าความสูงของเพลททางทฤษฎีต่ำ นอกจากนี้การใช้อัตราการไหลของแก๊สพาส่งจะทำให้ระยะเวลาในการตรวจวัดด้วยเครื่องแก๊สโครมาโทกราฟีรวดเร็วขึ้น (ใช้เวลาในการตรวจวัดเพียง 4 นาที) และไม่จำเป็นต้องใช้ make up gas สำหรับการวิเคราะห์โดยใช้คอลัมน์ชนิดมัลติคาพิลลารีได้ทำการทดลองหาะบบอุณหภูมิเพื่อแยกสารกำจัดศัตรูพืชกลุ่มออร์กาโนคลอรีนทั้ง 5 ชนิดได้แก่ ลินเดน อัลดริน ดีลดริน เบต้า-เอนโดซัลเฟน และพารา-พารา ดีดีที รวมทั้งสารมาตรฐานภายในเพนตะคลอโรไนโตรเบนซีนออกจากกัน ดังระบบอุณหภูมิที่ได้เสนอไว้ในตาราง 6 พบว่าไม่มีระบบอุณหภูมิแบบใดที่สามารถแยกสารลินเดนกับสารเพนตะคลอโรไนโตรเบนซีนออกจากกันได้อย่างชัดเจน เนื่องจากอัตราการไหลของแก๊สพาส่งและคอลัมน์มีขนาดสั้นมาก (1.0 เมตร) อีกทั้งสาร 2 ชนิดยังมีประสิทธิภาพในการกระจายตัวในวัฏภาคคงที่ที่ใกล้เคียงกัน ดังนั้นในการวิจัยเพื่อพัฒนาวิธีการวิเคราะห์โดยใช้มัลติคาพิลลารีคอลัมน์จึงทำการศึกษาสารกลุ่มนี้เพียง 4 ชนิดคือ อัลดริน ดีลดริน เบต้า-เอนโดซัลเฟน และพารา-พารา ดีดีที และใช้เพนตะคลอโรไนโตรเบนซีนเป็นสารมาตรฐานภายใน

2.2 ช่วงความเข้มข้นของสารมาตรฐานที่ให้กราฟเป็นเส้นตรงและกราฟมาตรฐานของสารกำจัดศัตรูพืชกลุ่มออร์กาโนคลอรีนทั้ง 4 ชนิด

จากการศึกษาเบื้องต้นโดยใช้เทคนิคการสกัดทั้ง 3 แบบคือ การสกัดด้วยตัวทำละลายแบบหลายขั้นตอน การสกัดด้วยตัวทำละลายแบบขั้นตอนเดียว และการสกัดด้วยวัฏภาคของแข็ง พบว่าเทคนิคการสกัดทั้ง 3 แบบให้ผลการวิเคราะห์ที่ดีใกล้เคียงกัน ดังนั้นในส่วนของงานวิเคราะห์โดยใช้คอลัมน์ชนิด

มัลติคาพิลลารีจึงเลือกเทคนิคการสกัดด้วยตัวทำละลายแบบขั้นตอนเดียวมาใช้ เนื่องจากมีความสะดวก รวดเร็ว ประหยัดค่าใช้จ่าย มีความถูกต้อง แม่นยำและมีขั้นตอนการสกัดแบบง่าย เพื่อให้สอดคล้องกับ ความมุ่งหมายของงานวิจัย พบว่าวิธีการวิเคราะห์ที่พัฒนาขึ้นให้ช่วงความเข้มข้นที่ให้กราฟมาตรฐานเป็น เส้นตรงในช่วง 0.05 – 2.50 มิลลิกรัมต่อลิตร ยกเว้นพารา-พารา ดีดีทีอยู่ในช่วง 0.50 – 2.50 มิลลิกรัมต่อ ลิตร ซึ่งกราฟมาตรฐานแสดงความเป็นเส้นตรงอยู่ในภาพประกอบ 10

การสร้างกราฟมาตรฐานของสารกำจัดศัตรูพืชกลุ่มออร์กาโนคลอรีนทั้ง 4 ชนิดจากการ วิเคราะห์ด้วยเครื่องแก๊สโครมาโทกราฟีที่ใช้มัลติคาพิลลารีคอลัมน์ โดยเลือกความเข้มข้นของสารมาตร- ฐานในช่วง 0.50 – 2.50 มิลลิกรัมต่อลิตร แล้วนำไปผ่านการสกัดด้วยเทคนิคการสกัดด้วยตัวทำละลาย แบบขั้นตอนเดียวพบว่าให้กราฟมาตรฐานเป็นเส้นตรงและมีค่าสัมประสิทธิ์สหสัมพันธ์อยู่ในช่วง 0.9968 – 0.9995 จะเห็นได้ว่าค่าที่ได้มีความใกล้เคียงกับการวิเคราะห์โดยใช้คาพิลลารีคอลัมน์แบบธรรมดา ดังแสดงไว้ในภาพประกอบ 14 และตาราง 15 ตามลำดับ

2.3 ความเข้มข้นต่ำสุดที่เครื่องมือสามารถตรวจวัดสัญญาณได้ (LOD) และความเข้มข้น ต่ำสุดที่ใช้ในการทำปริมาณวิเคราะห์ (LOQ)

จากการวิเคราะห์สารกำจัดศัตรูพืชกลุ่มออร์กาโนคลอรีนทั้ง 4 ชนิดได้แก่ อัลดริน ดีลด์ริน เบต้า-เฮนโดซิลเฟน และพารา-พารา ดีดีที ที่ใช้มัลติคาพิลลารีคอลัมน์และการสกัดด้วยตัวทำละลายแบบ ขั้นตอนเดียวพบว่าค่า LOD และ ค่า LOQ อยู่ในช่วง 0.106 – 0.153 และ 0.352 – 0.510 มิลลิกรัมต่อลิตร ซึ่งมีค่าสูงกว่าการวิเคราะห์ด้วยคาพิลลารีคอลัมน์แบบธรรมดาเล็กน้อยเมื่อเปรียบเทียบจากเทคนิคการ สกัดแบบเดียวกัน แสดงให้ทราบว่าชนิดของคอลัมน์และสภาวะการทดลองมีผลต่อค่า LOD และ LOQ แต่ อย่างไรก็ตามการวิเคราะห์สารกำจัดศัตรูพืชกลุ่มออร์กาโนคลอรีนโดยใช้เทคนิคแก๊สโครมาโทกราฟีกับ มัลติคาพิลลารีคอลัมน์ก็มีความรวดเร็วกว่าการใช้คาพิลลารีคอลัมน์แบบธรรมดาถึง 6 เท่า

2.4 ความถูกต้องและความแม่นยำของวิธีวิเคราะห์ในตัวอย่างน้ำ

✓ จากการศึกษาความถูกต้องและความแม่นยำ โดยพิจารณาจากร้อยละการกลับคืนและค่า เบี่ยงเบนมาตรฐานสัมพัทธ์ โดยทำการทดลองในตัวอย่างน้ำผิวดินสังเคราะห์และน้ำที่เก็บจากพื้นที่สวน ผลไม้ พบว่ามีร้อยละการกลับคืนที่ดีอยู่ในช่วง 96.23 ± 6.39 ถึง 102.46 ± 4.48 และ 95.05 ± 5.89 ถึง 102.08 ± 7.15 สำหรับในตัวอย่างน้ำผิวดินสังเคราะห์และตัวอย่างน้ำที่เก็บจากพื้นที่สวนผลไม้ตามลำดับ และเนื้อสารของน้ำตัวอย่างไม่มีผลกระทบต่อวิธีการวิเคราะห์ เนื่องจากให้ค่าร้อยละการกลับคืนที่ใกล้เคียง

กัน ส่วนความแม่นยำของวิธีวิเคราะห์ซึ่งพิจารณาได้จากค่าเบี่ยงเบนมาตรฐานสัมพัทธ์ พบว่ามีความแม่นยำดีโดยให้ค่าเบี่ยงเบนมาตรฐานสัมพัทธ์อยู่ในช่วง 2.16 – 4.91% ยกเว้นพารา-พารา ดีดีทีให้ค่าเบี่ยงเบนมาตรฐานสัมพัทธ์เท่ากับ 6.73% อาจเนื่องมาจากสารมีความสามารถในการตอบสนองต่อตัวตรวจวัดไม่สม่ำเสมอ แต่อย่างไรก็ตามค่าที่ได้ยังอยู่ในช่วงที่สามารถยอมรับได้ในการวิเคราะห์เชิงปริมาณเมื่อเปรียบเทียบกับงานวิจัยของวินาสและคนอื่นๆ (Vinas; et al. 2002 : 249-256) ที่มีค่าเบี่ยงเบนมาตรฐานสัมพัทธ์ของพารา-พารา ดีดีทีเท่ากับ 6.7% เช่นเดียวกัน

3. การเปรียบเทียบการใช้คอลัมน์ชนิดคาพิลลารีคอลัมน์แบบธรรมดาและมัลติคาพิลลารีคอลัมน์ในการวิเคราะห์สารกำจัดศัตรูพืชกลุ่มออร์กาโนคลอรีน

จากการพัฒนาวิธีวิเคราะห์สารกำจัดศัตรูพืชกลุ่มออร์กาโนคลอรีนด้วยเทคนิคแก๊สโครมาโทกราฟีโดยใช้คาพิลลารีคอลัมน์แบบธรรมดาและมัลติคาพิลลารีคอลัมน์ พบว่าทั้งสองวิธีมีความถูกต้องแม่นยำ ค่า LOD และ LOQ ใกล้เคียงกัน โดยเมื่อใช้คาพิลลารีคอลัมน์แบบธรรมดามีประสิทธิภาพในการแยกสารกำจัดศัตรูพืชกลุ่มออร์กาโนคลอรีนทั้ง 5 ชนิดและสารมาตรฐานภายในเพนตะคลอโรไนโตรเบนซีนออกจากกันได้ดีเมื่อใช้อุณหภูมิของคอลัมน์เป็นแบบการตั้งโปรแกรมอุณหภูมิ แต่ใช้ระยะเวลาในการตรวจวัดนานถึง 24 นาที ส่วนการใช้มัลติคาพิลลารีคอลัมน์ไม่สามารถวิเคราะห์ปริมาณของสารลิเนเดนได้ เนื่องจากมีพีคซ้อนทับกับสารมาตรฐานภายใน (เพนตะคลอโรไนโตรเบนซีน) แต่อย่างไรก็ตามการใช้คอลัมน์ชนิดนี้จะใช้ระยะเวลาในการตรวจวัดที่รวดเร็วกว่าถึง 6 เท่า อีกทั้งยังใช้ระบบอุณหภูมิคอลัมน์แบบเท่ากันตลอดการวิเคราะห์ซึ่งสะดวกและรวดเร็วกว่า ดังนั้นการใช้มัลติคาพิลลารีคอลัมน์จึงมีความเหมาะสมในการใช้วิเคราะห์โดยทั่วไป และหากต้องการวิเคราะห์สารลิเนเดนมีความจำเป็นต้องเลือกใช้สารมาตรฐานภายในชนิดอื่น

จากการศึกษาเทคนิคการสกัดสารตัวอย่างประเภทน้ำด้วยเทคนิคการสกัด 3 แบบคือการสกัดด้วยตัวทำละลายแบบหลายขั้นตอน การสกัดด้วยตัวทำละลายแบบขั้นตอนเดียว และการสกัดด้วยวัฏภาคของแข็ง พบว่าเทคนิคการสกัดด้วยตัวทำละลายแบบหลายขั้นตอนมีความสามารถในการสกัดสารกลุ่มนี้ได้ดี แต่ใช้ระยะเวลาในการสกัดนาน อีกทั้งสิ้นเปลืองตัวทำละลายและมีขั้นตอนยุ่งยาก ส่วนเทคนิคการสกัดด้วยวัฏภาคของแข็งเป็นเทคนิคการสกัดที่นิยมใช้กับตัวอย่างที่มีสิ่งเจือปนมาก (Beney; et al. 1996 : 1-5) เมื่อนำมาใช้ในงานวิจัยนี้พบว่ามีประสิทธิภาพในการกำจัดสิ่งเจือปน ตะกอนแขวนลอยและสีของน้ำตัวอย่างได้ดี สิ้นเปลืองตัวทำละลายน้อย มีความถูกต้องและรวดเร็วกว่าการสกัดด้วยตัวทำละลายแบบหลายขั้นตอน แต่มีขั้นตอนการสกัดค่อนข้างยุ่งยากและค่าใช้จ่ายสูง ส่วนเทคนิคการสกัดด้วยตัวทำละลาย

แบบขั้นตอนเดียวซึ่งเป็นวิธีการสกัดที่ค่อนข้างใหม่ที่นำมาพัฒนาใช้กับการวิเคราะห์สารกำจัดศัตรูพืชกลุ่มออร์กาโนคลอรีนในตัวอย่างน้ำ พบว่าให้ผลการสกัดที่ดีใกล้เคียงกับเทคนิคการสกัดแบบแรกแต่ใช้ระยะเวลาในการสกัดน้อยมากเมื่อเทียบกับเทคนิคการสกัดด้วยตัวทำละลายแบบหลายขั้นตอนและการสกัดด้วยวัฏภาคของแข็ง (ใช้ระยะเวลาการสกัดประมาณ 2 - 3 นาที) อีกทั้งยังประหยัดตัวทำละลายและมีขั้นตอนการสกัดแบบง่าย อีกทั้งมีความถูกต้อง แม่นยำดี เมื่อเปรียบเทียบกับงานวิจัยของการใช้ไฮดรอกไซด์และคนอื่นๆ (Garside; et al. 1997 : 61-65) ที่วิเคราะห์สารโคเคอีนโดยใช้เทคนิคการสกัดด้วยตัวทำละลายแบบขั้นตอนเดียวแล้ววิเคราะห์ชนิดและปริมาณโดยเทคนิคแก๊สโครมาโทกราฟีที่มีตัวตรวจวัดแบบแมสสเปกโตรเมตรีที่ได้ร้อยละการกลับคืนและค่าเบี่ยงเบนมาตรฐานสัมพัทธ์อยู่ในช่วง 98.6 – 101.7 และ 1.94 – 6.59% ตามลำดับ และงานวิจัยของมุกชิโอและคนอื่นๆ (Muccio; et al. 1997 : 61-68) ที่ทำการวิเคราะห์สารกลุ่มออร์กาโนคลอรีน 15 ชนิดในตัวอย่างน้ำมันและไขมันด้วยการใช้เทคนิคการสกัดด้วยวัฏภาคของแข็งแบบขั้นตอนเดียว โดยใช้เทคนิค solid matrix partition และ C₁₈ cartridge ภายในขั้นตอนเดียว ซึ่งใช้ตัวทำละลายในการชะเป็นเฮกเซนและอะซีโตรไนไตรล์ จากนั้นตรวจวัดชนิดและปริมาณสารด้วยเทคนิคแก๊สโครมาโทกราฟีที่มีตัวตรวจวัดแบบอิเล็กตรอนแคปเจอร์ พบว่าให้ค่าร้อยละการกลับคืนในช่วง 70 - 103

งานวิจัยนี้มีความมุ่งหมายเพื่อพัฒนาวิธีการวิเคราะห์สารกำจัดศัตรูพืชกลุ่มออร์กาโนคลอรีนในตัวอย่างน้ำให้มีความสะดวก รวดเร็ว ประหยัดค่าใช้จ่าย และมีความถูกต้อง แม่นยำ ซึ่งพบว่าวิธีการเตรียมตัวอย่างก่อนการวิเคราะห์โดยใช้เทคนิคการสกัดด้วยตัวทำละลายแบบขั้นตอนเดียวด้วยการเติมสารมาตรฐานภายในลงในสารตัวอย่างก่อน แล้วจึงสกัดออกมาพร้อมกับสารที่ต้องการวิเคราะห์ จะช่วยให้ผลการวิเคราะห์มีความถูกต้องมากขึ้น และเมื่อนำไปวิเคราะห์ชนิดและปริมาณด้วยเทคนิคแก๊สโครมาโทกราฟีที่ใช้มวลตติภาพลลารี่คอลัมน์ จะใช้ระยะเวลาในการตรวจวัดที่รวดเร็วมาก จึงนับว่าวิธีที่พัฒนาขึ้นมานี้มีความเหมาะสมในการวิเคราะห์ชนิดและปริมาณของสารกำจัดศัตรูพืชกลุ่มออร์กาโนคลอรีนในตัวอย่างน้ำ

4 ข้อเสนอแนะ

4.1 ควรพิจารณาเลือกสารมาตรฐานภายในชนิดอื่นสำหรับการวิเคราะห์สารกำจัดศัตรูพืชกลุ่มออร์กาโนคลอรีนด้วยเทคนิคแก๊สโครมาโทกราฟีที่ใช้มวลติคาลิลลารีคอลัมน์เพื่อให้สามารถวิเคราะห์ชนิดและปริมาณของสารลินเดนได้

4.2 ควรพัฒนาขั้นตอนการเตรียมสารตัวอย่างก่อนการวิเคราะห์ด้วยเครื่องแก๊สโครมาโทกราฟีโดยการทำให้สารตัวอย่างเข้มข้นมากขึ้น (preconcentration) เพื่อสามารถวิเคราะห์ปริมาณสารตัวอย่างที่มีความเข้มข้นต่ำๆได้

4.3 ควรนำวิธีการวิเคราะห์สารกำจัดศัตรูพืชกลุ่มออร์กาโนคลอรีนโดยใช้เทคนิคแก๊สโครมาโทกราฟีที่ใช้มวลติคาลิลลารีคอลัมน์ไปพัฒนาใช้วิเคราะห์กับตัวอย่างประเภทอื่นๆ เช่น ตัวอย่างทางชีวภาพ ดิน และอากาศ เป็นต้น

บรรณานุกรม

บรรณานุกรม

- กองป้องกันและกำจัดศัตรูพืช. (2526). สรุปผลการสัมมนาเรื่องการป้องกันอุบัติเหตุจากสารเคมีการเกษตร ณ.สถาบันประมงน้ำจืดแห่งชาติ 9-11 กุมภาพันธ์ 2526. กรุงเทพฯ. กรมส่งเสริมการเกษตร : หน้า 120.
- กองมาลาเรีย. (2537). การจัดซื้อดีดีที ร้อยละ 75 WDP ปีงบประมาณ 2514-2535. กรุงเทพฯ. ฝ่ายควบคุมแมลงนำโรค : หน้า 15.
- ขวัญชัย สมบัติศิริ. (2528). สารฆ่าแมลง. กรุงเทพฯ: ภาควิชากีฏวิทยา. มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์. : หน้า 256.
- (2540). สะเดา มิติใหม่ของการป้องกันและกำจัดแมลง. กรุงเทพฯ: ภาควิชากีฏวิทยา. มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์. : หน้า 215.
- นวลศรี ทายพัชร. (2526). ปัญหาที่เกิดจากวัฏธุมิพิษที่ใช้ในทางการเกษตร. กรุงเทพฯ. กองวัฏธุมิพิษการเกษตร กรมวิชาการเกษตร. หน้า 45.
- ประวัติ อุดลสุทธานนท์. (2537). ชนิดและปริมาณของสารฆ่าแมลงกลุ่มออร์กาโนคลอรีนที่ตกค้างในน้ำและดินตะกอนตามชั้นคุณภาพลุ่มน้ำ บริเวณลุ่มน้ำแม่กลอง. ปรินญานิพนธ์วิทยาศาสตร์มหาบัณฑิต (วิทยาศาสตร์สิ่งแวดล้อม). กรุงเทพฯ: บัณฑิตวิทยาลัย มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์. ถ่ายเอกสาร.
- เปี่ยมศักดิ์ มานะเศวต. (2525). แหล่งน้ำกับปัญหามลภาวะ. กรุงเทพฯ: จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย : หน้า 290.
- พนิดา ไชยันต์บุรณ์. (2538). ความเป็นไปและพฤติกรรมของวัฏธุมิพิษในดิน. วารสารข่าวสารวัฏธุมิพิษ. 22(1): หน้า 190-196.
- นพดล พักอังกร. (2534). ชนิดและปริมาณของสารฆ่าแมลงกลุ่มออร์กาโนคลอรีนในดิน น้ำ และดินตะกอนตามสภาพการใช้ที่ดินบริเวณลุ่มน้ำจันทบุรี. ปรินญานิพนธ์วิทยาศาสตร์มหาบัณฑิต (วิทยาศาสตร์สิ่งแวดล้อม). กรุงเทพฯ: บัณฑิตวิทยาลัย มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์. ถ่ายเอกสาร.
- วิภา เมฆสุด. (2523). การวิเคราะห์คุณภาพและปริมาณวัฏธุมิพิษในแหล่งน้ำจากสภาพการใช้ที่ดินแบบต่างๆบริเวณสถานีวิจัยสิ่งแวดล้อมสะแกราช. ปรินญานิพนธ์วิทยาศาสตร์มหาบัณฑิต. (วิทยาศาสตร์สิ่งแวดล้อม). กรุงเทพฯ: บัณฑิตวิทยาลัย มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์. ถ่ายเอกสาร.

- ศักดิ์ดา ศรีนิเวศน์. (2546). พิษภัยของสารเคมีกำจัดศัตรูพืช. กรมส่งเสริมการเกษตร. สำนักพัฒนาคุณภาพสินค้าการเกษตร. กรุงเทพฯ: หน้า 1-4.
- สำนักงานคณะกรรมการสิ่งแวดล้อมแห่งชาติ. (2530). คู่มือการเก็บและรักษาตัวอย่างเพื่อวิเคราะห์สารป้องกันและกำจัดศัตรูพืชและสัตว์. กรุงเทพฯ. งานสารพิษ กองมาตรฐานคุณภาพสิ่งแวดล้อม. : หน้า 1-3.
- (2534). มาตรฐานคุณภาพน้ำประเทศไทย. กรุงเทพฯ.ฝ่ายคุณภาพน้ำ กองมาตรฐานคุณภาพสิ่งแวดล้อม. สิงหาคม : หน้า 8-96.
- อุ๊แก้ว ประกอบไวยกิจ บีเวอร์. (2531). มนุษย์ระบบนิเวศและสภาพนิเวศในประเทศไทย. กรุงเทพฯ. โรงพิมพ์ไทยวัฒนาพานิชย์ : หน้า 248.
- Babers, F.H. (1955). The solubility of DDT in water determined radiometrically. *Journal of American Chemicals Society*. 77 : p 4666.
- Beny, P.J.; et al. (1996). *Review : Evaluation and application of solid phase extraction methods*. Hotline. 35(6) : pp 1-5.
- Bertsch, W.; et al. (1992). *High speed narrow bore capillary gas chromatography*. Huthig, Heidelberg. p 126.
- Brace, W.N.; & Shimp, N.F. (1973). Chlorinated hydrocarbon insecticides in Sediments of Southern lake Michigan. *Science and Technology*. 7(9) : pp 833-838.
- Braithwaite, A.; & Smith, F.J. (1990). *Chromatographic method*. Fourth edition. Chapman and Hall. New York. p 172.
- Brown, A.W.A. (1978). *Ecology of Pesticides*. John Wiley & Sons, Inc, New York. p 525.
- Chee, K.K.; Wong, M.K.; & Lee, H.K. (1996). Determination of organochlorine pesticides in water by membranous solid-phase extraction and in sediment by microwave-assisted solvent extraction with gas chromatography and electron-capture and mass spectrometric detection. *Journal of Chromatography A*. 736 : pp 211-218.
- Covaci, Adrian.; et al. (2002). Determination of polybrominated diphenyl ethers and polychlorinated biphenyls in human adipose tissue by large-volume injection-narrow-bore capillary gas chromatography/electro impact low-resolution mass spectrometry. *Journal of Analytical Chemistry*. 74 : pp 790-798.

- Cramers, C.A.; & Leclercq, P.A. (1999). Strategies for speed optimisation in gas chromatography: an overview. *Journal of Chromatography A*. 842 : p 3.
- Cramers, C.A.; et al. (1999). High-speed gas chromatography: an overview of various concepts. *Journal of Chromatography A*. 856 : p 315.
- Dagan, S.; & Amirav, A. (1996). Fast, very fast, and ultra-fast gas chromatography-mass spectrometry of thermally labile steroids, carbamates, and drugs in supersonic molecular beams. *Journal of American Society for Mass Spectrometry*. 7 : p 737.
- Desty, D.H.; Goldup, A.; & Swanton, W.T. (1962). *Gas chromatography*. New York : Academic Press : p 105.
- Durhan, N.R. (1974). *Pesticides residues in the environment*. New York : Van Nostand Reinhold Company : p 387.
- (1974). *Pesticides in the environment .industrial pollution*. New York : Van Nostand Reinhold Company : p 568.
- Edward, C.A. (1973). *Pesticides residues in soil and water : environmental pollution by pesticides*. London : Plenum Press : p 542.
- (1976). *Persistent pesticides in the environment*. 2d ed., Ohio : CRC Press : p 138.
- (1977). Natural and organic of pollution of origins of aquatic system by pesticides. *Pesticides in Aquatic Environment*. New York : Plenum Press : p 257.
- Fatoki, O.S.; & Awofolu, R.O. (2003). Methods for selective determination of persistent organochlorine pesticide residues in water and sediments by capillary gas chromatography and electron-capture detection. *Journal of Chromatography A*. 983 : pp 225-236.
- Fries, G.F. (1974). *Degradation of chlorinated hydrocabons under anaerobic condition : environmental dynamic of pesticides*. New York : Plenum Press : p 542.
- Garside, D.; et al. (1997). Rapid liquid-liquid extraction of cocaine from urine for gas chromatographic-mass spectrometric analysis. *Journal of Chromatography B*. 692 : pp 61-65.
- Golay, M.J.E.; et al. (1957). *Gas Chromatography*. New York : Academic Press : p 1.

- Gunther, F.A. (1962). *Advances of Pesticides Control Residues*. 5th ed : p 191.
- Hada, M.; et al. (2000). Trace analysis of pesticide residues in water by high-speed narrow-bore capillary gas chromatography-mass spectrometry with programmable temperature vaporizer. *Journal of Chromatography A*. 874 : pp 81-90.
- Haque, R., Kearney, P.C.; & Freed, V.H. (1977). *Dynamic of Pesticides in Aquatic Environment*. Plenum Press, New York : p 257.
- Harold, G.M.Jr. (1975). Occurrence of chlorinated hydrocarbon insecticides, southern florida : 1698-1972. *Journal of Pesticides Technology Monitoring*. 9 : pp 106-114.
- Hernandez-Romero, A.H.; et al. (2004). Water quality and presence of pesticides in a tropical coastal wetland in southern Mexico. *Marine Pollution Bulletin* : pp 1-12.
- Jager, K.W. (1970). *Aldrin Deildrin Endrin & Telodrin*. New York : Elsvien Pulishing Company, : p 234.
- James, A.T.; & Martin, J.A.P., Gas Chromatography. *Journal of Biochemistry*. 50 : p 679.
- Johnson, H.E.; & Ball, R.C. (1972). *Organic Pesticides Pollution in and Aquatic Environment*. American Chemicals Society, Wachington, D.C. : p 280.
- Kankaanpaa, A.; et al. (2004). Single-step procedure for gas chromatography-mass spectrometry screening and quantitative determination of amphetamine-type stimulants and related drugs in blood, serum, oral fluid and urine samples. *Journal of Chromatography B*. 810 : pp 57-68.
- Kellner, R.; et al. (1997). *Analytical chemistry.*, VCH, Weinheim, Germany. p 225.
- Korytar, P.; et al. (2002). Fast Capillary GC. *Analytical Chemistry*. 21 : p 558.
- Leclercq, P.A.; & Cramers, C.A. (1998). Review: High-Speed GC-MS. *Journal of Mass Spectrometry Review*. 17 : pp 37-49.
- Lieshout, M.V.; et al. (1999). A practical comparison of two recent strategies for fast gas chromatography: packed capillary columns and multicapillary columns. *Journal of Microcolumn Separations*. 11(2) : pp 155-162.

- Mastovska, K.; Lehotay, S.J.; & Hajslova, J. (2001). Optimization and evaluation of low-pressure gas chromatography–mass spectrometry for the fast analysis of multiple pesticide residues in a food commodity. *Journal of Chromatography A*. 926 : p 291.
- Matisova, E.; & Domotorova, M. (2003). Review: fast gas chromatography and its use in trace analysis. *Journal of Chromatography A*. 1000 : pp 199-221.
- Matsumura, F. (1980). *Toxicology of Insecticides*. New York : Plenum Press : pp 47-64.
-& Benezet, H.J. (1978). *Microbial Degradation of Insecticides*. Academic Press, London. 542 p.
- Montgomery, J.H. (1993). *Agrochemical Desk Reference Environmental Data*. Lewis Publ. Michigan : p 625.
- Moor, J.W.; & Romamoorthy, S. (1984). *Organic Chemical in Nature Waters*. Springer Ltd., New York. p 140.
- Muccio, A.D.; et al. (1997). Single-step separation of organochlorine pesticide residues from fatty materials by combined use of solid-matrix partition and C₁₈ cartridges. *Journal of Chromatography A*. 765 : pp 61-68.
- Mukherjee, I.; & Gopal, M. (1993). *Pesticides Sciences*. 37 : p 61,67.
- (1996). Review: Chromatographic techniques in the analysis of organochlorine pesticide residues. *Journal of Chromatography A*. 754 : pp 33-42.
- Parr, J.F. (1974). *Effect of pesticides on microorganism in soil and water*. Soil science Society of America, Inc., Publishers, Wisconsin : pp 315-340.
- Pongpun, N.; et al. (2000). Comparison of a jet separator and an open splitter as an interface between a multi-capillary gas chromatographic column and a time-of-flight mass spectrometer. *Journal of Mass Spectrometry*. 35 : pp 1105-1111.
- Sanchez, J.M.; & Sacks.R.D. (2003). On-line multibed sorption trap and injector for the GC analysis of organic vapors in large-volume air samples. *Journal of Analytical Chemistry*. 75 : pp 978-985.
- Santos, F.J.; & Galceran, M.T. (2002). The application of gas chromatography to environmental analysis. *Trends in analytical chemistry*. 21 : pp 672-685.

- Shelli, R.; & Marriott, P.J. (2002). Comprehensive two-dimensional gas chromatography with fast enantioseparation. *Journal of analytical chemistry*. 74 : pp 5426-5430.
- Singh, A.K.; Spassova, D.; & White, T. (1998). Quantitative analysis of polychlorinated biphenyls, organochlorine insecticides, polycyclic aromatic hydrocarbons, polychlorinated hydrocarbons and polynitrohydrocarbons in spiked samples of soil, water and plasma by selected-ion monitoring gas chromatography-mass spectrometry. *Journal of Chromatography B*. 706 : pp 231-244.
- Skoog, A.D. (1972). Principles of Instrument Analysis. 4th Edition., Saunders College Publishing. United State. pp 9-15.
- Spencer, W.F.; Farmer, W.J.; & Clith, M.M. (1973). *Pesticides volatilization residues Rev.* 49 : pp 1-47.
- Stoker, H.S.; & Seager, S.L. (1976). *Environment Chemistry*. 2nd ed., Scott. Foreman. Illinois : p 231.
- Sun, C.; et al. (2002). Trace analysis of dissolved polychlorinated organic compounds in the water of the Yangtse River (Nanjing, China). *Journal of environmental pollution*. 117 : pp 9-14.
- Vassilakis, I.; Tsipi, D.; & Scoullou, M. (1998). Determination of a variety of chemical classes of pesticides in surface and ground waters by off-line solid-phase extraction, gas chromatography with electron-capture and nitrogen-phosphorus detection, and high-performance liquid chromatography with post-column derivatization and fluorescence detection. *Journal of Chromatography B*. 823 : pp 49-58.
- Viana, E.; et al. (1996). Disks versus columns in the solid-phase extraction of pesticides from water. *Journal of Chromatography A*. 733 : pp 267-274.
- Vinas, P.; et al. (2002). Determination of pesticides in water by capillary gas chromatography with atomic emission detection. *Journal of Chromatography A*. 978 : pp 249-256.
- Walker, C. (1975). *Environmental Pollution by Chemicals*. London : Hushison & Co. (Publishers) Ltd. : p 72.

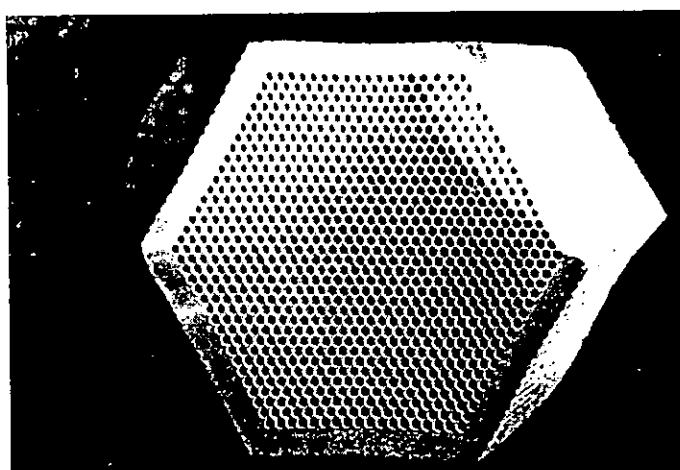
- Wauchope, R.D.; & Leonard, R.A. (1980). Maximum pesticides concentration in agricultural runoff : A semiempirical prediction formula. *Journal of Environmental Quality*. 9(4) : pp 665-672.
- Wegman, R.C.C.; & Greve, P.A. (1978). Organochlorine, cholinesterase inhibitors, and aromatic amines in dutch water sample september 1969-december 1975. *Journal of Pesticides Technology Monitoring*. 12(3) : pp 149-162.
- Whiting, J.; & Sacks, R. (2002). Selectivity enhancement for high-speed GC analysis of volatile organic compounds with portable instruments designed for vacuum-outlet and atmospheric-pressure inlet operation using air as the carrier gas. *Journal of Analytical Chemistry*. 74 : pp 246-252.
- Willett, J.E. (1991). *Gas Chromatography*. John Wiley & Sonc, Inc. Singapore. pp 1-3.
- Zhou, J.L.; et al. (2001). Polychlorinated biphenyl congeners and organochlorine insecticides in the water column and sediments of Daya Bay, China. *Environmental Pollution*. 113 : pp 373-384.

ภาคผนวก

ภาคผนวก ก เครื่องมือและอุปกรณ์ที่ใช้ในงานวิจัย

1. มัลติคาพิลลารีคอลัมน์ (Multi-Cap™ Capillary column)

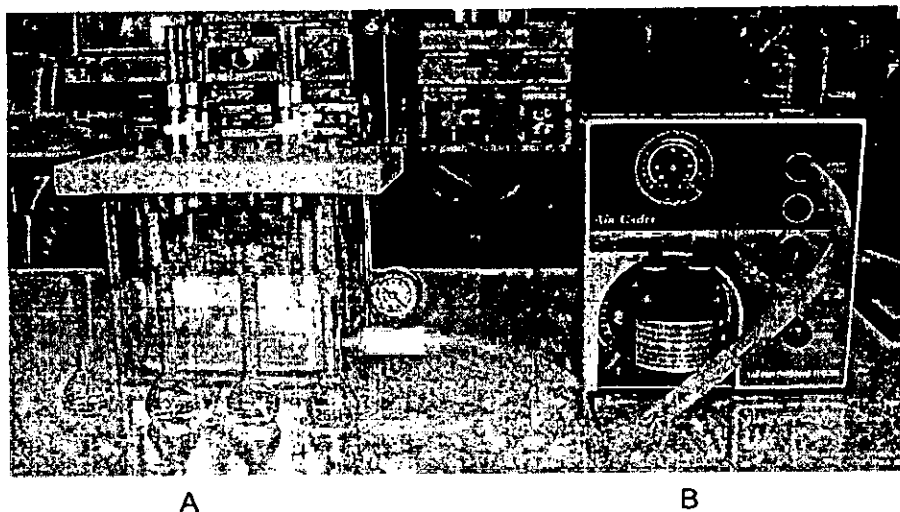
เป็นคอลัมน์ที่ใช้ในเทคนิคแก๊สโครมาโทกราฟีประกอบด้วยท่อคาพิลลารีขนาดเส้นผ่านศูนย์กลางภายในเท่ากับ 40 ไมโครเมตร ยาว 1.0 เมตร เคลือบด้วยวัฏภาคของเหลวชนิดหนึ่ง จำนวน 919 อัน รวมไว้ด้วยกัน มีประสิทธิภาพและความรวดเร็วสูงในการแยกสารตัวอย่างผสม เนื่องจากคอลัมน์มีขนาดสั้น แต่มีจำนวนเพลททางทฤษฎีสูง ซึ่งลักษณะของคอลัมน์ชนิดนี้แสดงไว้ในภาพประกอบ 20



ภาพประกอบ 20 ภาพแสดงภาคตัดขวางของคอลัมน์ชนิดมัลติคาพิลลารีคอลัมน์

ที่มา: Alltech Associates, Inc., Deerfield, IL

2. ชุดอุปกรณ์ระบบสุญญากาศและปั๊มดูดอากาศหรือลดความดัน สำหรับการสกัดด้วยวัฏภาคของแข็ง



ภาพประกอบ 21 แสดงการต่ออุปกรณ์สำหรับการสกัดด้วยวัฏภาคของแข็ง (A คือ ชุดอุปกรณ์ระบบสุญญากาศ และ B คือ ปั๊มดูดอากาศหรือลดความดัน)

3. แหล่งเก็บตัวอย่างน้ำและลักษณะตัวอย่างน้ำจากพื้นที่สวนผลไม้

แหล่งเก็บตัวอย่างน้ำ คือ สวนฝรั่งแป้นสีทองและสวนชมพูเพชรสามพราน ในเขตอำเภอสามพราน จังหวัดนครปฐม โดยภาพของร่องน้ำและลักษณะของน้ำตัวอย่างที่ทำการเก็บจากพื้นที่สวนผลไม้แสดงไว้ในภาพประกอบ 22 และ 23 ตามลำดับ



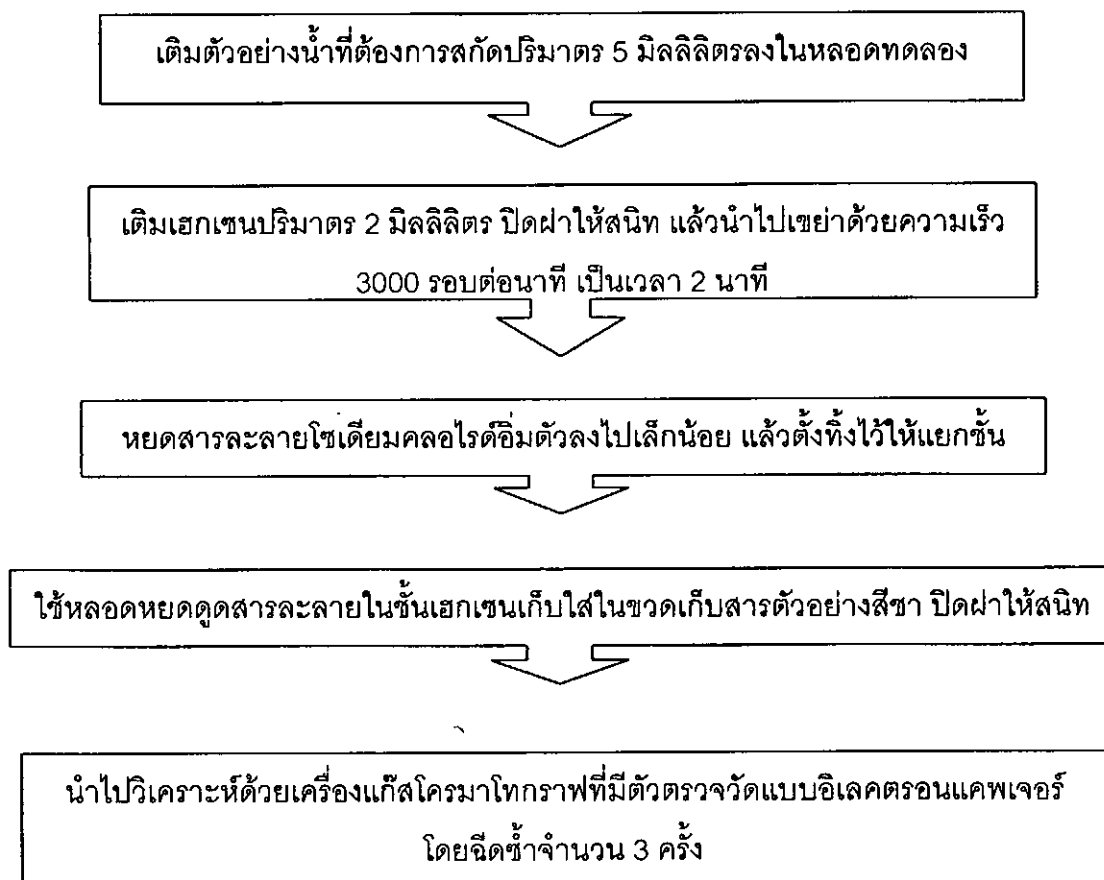
ภาพประกอบ 22 แสดงภาพแหล่งเก็บตัวอย่างน้ำ



ภาพประกอบ 23 แสดงลักษณะน้ำตัวอย่าง

ภาคผนวก ข
เทคนิคการสกัดด้วยตัวทำละลายแบบขั้นตอนเดียว
 (single step extraction; SSE)

การสกัดด้วยตัวทำละลายแบบขั้นตอนเดียว หรือเรียกย่อๆว่าเทคนิค SSE เป็นเทคนิคการสกัดที่พัฒนาขึ้นสำหรับการสกัดสารตัวอย่างที่อยู่ในสถานะของเหลวและมีปริมาณน้อย เนื่องจากการสกัดภายในหลอดทดลอง ปริมาณสารตัวอย่างและตัวทำละลายที่ใช้ในการสกัดจึงน้อยมาก ซึ่งวิธีการสกัดแสดงในแผนภาพประกอบ 24



ภาพประกอบ 24 แสดงขั้นตอนการสกัดตัวอย่างน้ำด้วยเทคนิคการสกัดด้วยตัวทำละลายแบบขั้นตอนเดียว

ภาคผนวก ค

การวิเคราะห์ผลทางสถิติ และค่าพารามิเตอร์ทางโครมาโทกราฟีสำหรับ สมการแวนเดอมเตอร์ (van Deemter equation)

การวิเคราะห์ผลทางสถิติ และการคำนวณค่าพารามิเตอร์ต่างๆ ที่มีผลต่อสมการแวนเดอมเตอร์ที่ใช้ในงานวิจัย ได้แก่ การคำนวณอัตราส่วนพื้นที่ใต้พีค ร้อยละการกลับคืนของวิธีวิเคราะห์ ค่าเฉลี่ย ค่าเบี่ยงเบนมาตรฐาน ค่าเบี่ยงเบนมาตรฐานสัมพัทธ์/ค่าสัมประสิทธิ์สหสัมพันธ์ ค่าความเข้มข้นของสารน้อยที่สุดที่เครื่องมือสามารถตรวจวัดสัญญาณได้ ค่าความเข้มข้นของสารน้อยที่สุดที่ใช้ในการทำปริมาณวิเคราะห์ จำนวนเพลททางทฤษฎี ความสูงของเพลททางทฤษฎี และสมการแวนเดอมเตอร์ มีสูตรในการคำนวณดังนี้

1) อัตราส่วนพื้นที่ใต้พีค (peak area ratio)

$$\text{peak area ratio} = \frac{\text{peak area of standard}}{\text{peak area of internal standard}}$$

เมื่อ peak area ratio แทนอัตราส่วนของพื้นที่ใต้พีค
peak area of standard แทนพื้นที่ใต้พีคของสารละลายมาตรฐาน
peak area of internal standard แทนพื้นที่ใต้พีคของสารละลายมาตรฐานภายใน

2) ร้อยละการกลับคืนของวิธีวิเคราะห์ (% recovery)

$$\% \text{ recovery} = \frac{\text{amount found} \times 100}{\text{amount taken}}$$

เมื่อ % recovery แทนร้อยละการกลับคืนของวิธีวิเคราะห์
amount found แทนปริมาณของสารที่ตรวจพบ
amount taken แทนปริมาณสารที่เติมลงไป

3. ค่าเฉลี่ย (mean; $\bar{X}$)

$$\bar{X} = \frac{\sum_{i=1}^N X_i}{N}$$

เมื่อ $\bar{X}$ แทนค่าเฉลี่ย
 X_i แทนค่าที่ได้จากการทดลองในแต่ละครั้ง
 N แทนจำนวนครั้งในการทดลอง

4. ค่าเบี่ยงเบนมาตรฐาน (standard deviation; SD)

$$SD = \sqrt{\frac{\sum (X_i - \bar{X})^2}{N-1}}$$

เมื่อ SD แทนค่าเบี่ยงเบนมาตรฐาน
 $\bar{X}$ แทนค่าเฉลี่ย
 X_i แทนค่าที่ได้จากการทดลอง
 N แทนจำนวนครั้งที่ทำการทดลอง

5. ค่าเบี่ยงเบนมาตรฐานสัมพัทธ์ (relative of standard deviation; % RSD)

$$\% RSD = \frac{SD}{\bar{X}} \times 100$$

เมื่อ % RSD แทนค่าเบี่ยงเบนมาตรฐานสัมพัทธ์
 SD แทนค่าเบี่ยงเบนมาตรฐาน
 $\bar{X}$ แทนค่าเฉลี่ย

6. ค่าสัมประสิทธิ์สหสัมพันธ์ (correlation coefficient; r)

$$r = \frac{\sum (X - \bar{X})(Y - \bar{Y})}{\sqrt{\sum (X - \bar{X})^2 \sum (Y - \bar{Y})^2}}$$

เมื่อ	X	แทนความเข้มข้นของสารละลายมาตรฐาน
	$\bar{X}$	แทนค่าเฉลี่ยของตัวแปร X
	Y	แทนอัตราส่วนพื้นที่ใต้พีคของสารละลายมาตรฐาน
	$\bar{Y}$	แทนค่าเฉลี่ยของตัวแปร Y

7. ค่าความเข้มข้นต่ำสุดที่เครื่องสามารถตรวจวัดสัญญาณได้ (limit of detection; LOD)

$$\text{LOD} = \frac{(3 \times \text{SD}) \times \text{conc.}}{\text{peak area ratio av.}}$$

เมื่อ	LOD	แทนค่าความเข้มข้นต่ำสุดที่เครื่องสามารถตรวจวัดได้
	SD	แทนค่าเบี่ยงเบนมาตรฐานอัตราส่วนพื้นที่ใต้พีคของสาร
	conc.	แทนความเข้มข้นของสารละลาย
	peak area ratio av.	แทนอัตราส่วนพื้นที่ใต้พีคเฉลี่ยของสาร

ซึ่งวิธีการคำนวณได้แสดงไว้ในตาราง 18 และ 19 สำหรับการวิเคราะห์ด้วยคอลัมน์ทั้ง 2 ชนิดคือ คอลัมน์แบบธรรมดาและคอลัมน์แบบรีversed-phase ตามลำดับ

ตาราง 18 แสดงตัวอย่างการคำนวณค่า LOD ของอัลตรีน ที่ได้จากการวิเคราะห์ด้วยคาพิลลารีคอลัมน์
แบบธรรมดา

ความเข้มข้น (มิลลิกรัมต่อลิตร)	อัตราส่วนพื้นที่ใต้พีค	ค่าเฉลี่ยอัตราส่วน พื้นที่ใต้พีค	ค่าเบี่ยงเบน มาตรฐาน (N=6)	LOD (มิลลิกรัม ต่อลิตร)
0.50	0.2138 0.1877 0.1825 0.1774 0.1782 0.1842	0.1873	0.0135	0.108

$$\begin{aligned}
 \text{ค่า LOD} &= \frac{(3 \times 0.0135) \times 0.5}{0.1873} \\
 &= 0.108 \text{ มิลลิกรัมต่อลิตร}
 \end{aligned}$$

ตาราง 19 แสดงตัวอย่างการคำนวณค่า LOD ของอัลตรีน ที่ได้จากการวิเคราะห์ด้วยมัลติคาพิลลารี
คอลัมน์

ความเข้มข้น (มิลลิกรัมต่อลิตร)	อัตราส่วนพื้นที่ใต้พีค	ค่าเฉลี่ยอัตราส่วน พื้นที่ใต้พีค	ค่าเบี่ยงเบน มาตรฐาน (N=6)	LOD (มิลลิกรัม ต่อลิตร)
0.50	0.2370 0.2341 0.2231	0.2226	0.0194	0.131

ตาราง 19 (ต่อ)

ความเข้มข้น (มิลลิกรัมต่อลิตร)	อัตราส่วนพื้นที่ใต้พีค	ค่าเฉลี่ยอัตราส่วน พื้นที่ใต้พีค	ค่าเบี่ยงเบน มาตรฐาน (N=6)	LOD (มิลลิกรัม ต่อลิตร)
0.50	0.1965			
	0.2017			
	0.2433			

$$\begin{aligned}
 \text{ค่า LOD} &= \frac{(3 \times 0.0194) \times 0.5}{0.2226} \\
 &= 0.131 \text{ มิลลิกรัมต่อลิตร}
 \end{aligned}$$

8. การคำนวณค่าความเข้มข้นต่ำสุดที่ใช้ในการทำปริมาณวิเคราะห์ (limit of quantification; LOQ)

$$\text{LOQ} = \frac{(10 \times \text{SD}) \times \text{conc.}}{\text{peak area ratio av.}}$$

เมื่อ	LOQ	แทนค่าความเข้มข้นต่ำสุดที่ใช้ในการทำปริมาณวิเคราะห์
	SD	แทนค่าเบี่ยงเบนมาตรฐานอัตราส่วนพื้นที่ใต้พีคของสาร
	conc.	แทนความเข้มข้นของสารละลาย
	peak area ratio av.	แทนอัตราส่วนพื้นที่ใต้พีคเฉลี่ยของสาร

ซึ่งวิธีการคำนวณได้แสดงไว้ในตาราง 20 และ 21 สำหรับการวิเคราะห์ด้วยคอลัมน์ทั้ง 2 ชนิดคือ คาลิลลารีคอลัมน์แบบธรรมดาและมัลติคาลิลลารีคอลัมน์ ตามลำดับ

ตาราง 20 แสดงตัวอย่างการคำนวณค่า LOQ ของอัลตริน ที่ได้จากการวิเคราะห์ด้วยคาพิลลารีคอลัมน์
แบบธรรมดา

ความเข้มข้น (มิลลิกรัมต่อลิตร)	อัตราส่วนพื้นที่ใต้พีค	ค่าเฉลี่ยอัตราส่วน พื้นที่ใต้พีค	ค่าเบี่ยงเบน มาตรฐาน (N=6)	LOQ (มิลลิกรัม ต่อลิตร)
0.50	0.2138 0.1877 0.1825 0.1774 0.1782 0.1842	0.1873	0.0135	0.361

$$\begin{aligned}
 \text{ค่า LOQ} &= \frac{(10 \times 0.0135) \times 0.5}{0.1873} \\
 &= 0.361 \text{ มิลลิกรัมต่อลิตร}
 \end{aligned}$$

ตาราง 21 แสดงตัวอย่างการคำนวณค่า LOQ ของอัลตริน ที่ได้จากการวิเคราะห์ด้วยมัลติคาพิลลารี
คอลัมน์

ความเข้มข้น (มิลลิกรัมต่อลิตร)	อัตราส่วนพื้นที่ใต้พีค	ค่าเฉลี่ยอัตราส่วน พื้นที่ใต้พีค	ค่าเบี่ยงเบน มาตรฐาน (N=6)	LOQ (มิลลิกรัม ต่อลิตร)
0.50	0.2370 0.2341 0.2231	0.2226	0.0194	0.436

ตาราง 21 (ต่อ)

ความเข้มข้น (มิลลิกรัมต่อลิตร)	อัตราส่วนพื้นที่ที่ได้พิก	ค่าเฉลี่ยอัตราส่วน พื้นที่ที่ได้พิก	ค่าเบี่ยงเบน มาตรฐาน (N=6)	LOQ (มิลลิกรัม ต่อลิตร)
0.50	0.1965			
	0.2017			
	0.2433			

$$\begin{aligned}
 \text{ค่า LOQ} &= \frac{(10 \times 0.0194) \times 0.5}{0.2226} \\
 &= 0.436 \text{ มิลลิกรัมต่อลิตร}
 \end{aligned}$$

9. จำนวนเพลททางทฤษฎี (number of theoretical plates; N)

$$N = 5.54(t_R / W_{1/2})^2$$

เมื่อ

N	แทนจำนวนเพลททางทฤษฎี
t_R	แทนเวลารีเทนชันของสาร
$W_{1/2}$	แทนความกว้างที่ครึ่งหนึ่งของความสูงพีก

10. ความสูงของเพลททางทฤษฎี (height equivalent to a theoretical plate; HETP หรือ H)

$$\text{HETP} = L / N$$

เมื่อ	HETP	แทนความสูงของเพลททางทฤษฎี
	L	แทนความยาวของคอลัมน์
	N	แทนจำนวนเพลททางทฤษฎี

11. สมการแวนดีมเตอร์ (van Deemter equation)

สมการแวนดีมเตอร์ เป็นสมการที่อธิบายกระบวนการที่เกิดขึ้นภายในคอลัมน์ในรูปแบบของตัวแปรต่างๆ โดยแวนดีมเตอร์และคณะได้ทำการทดลองเปลี่ยนแปลงอัตราการไหลของแก๊สพาในการวิเคราะห์สารประกอบชนิดหนึ่ง แล้วนำมาคำนวณค่าเพื่อสร้างกราฟระหว่างประสิทธิภาพของคอลัมน์ (height equivalent to a theoretical plate; HETP) เทียบกับอัตราเร็วเชิงเส้นของแก๊สพา (carrier gas average linear velocity; μ) ดังสมการ

$$\text{HETP} = A + B/\mu + C\mu$$

เมื่อ	HETP	แทน height equivalent to a theoretical plate
	A	แทน Eddy diffusion
	B	แทน coefficient of longitudinal diffusion
	C	แทน coefficient of mass transfer
	μ	แทน linear velocity of carrier gas

ภาคผนวก ง
อัตราส่วนพื้นที่ได้พืชของสารกำจัดศัตรูพืชกลุ่มออร์กาโนคลอรีน

ตาราง 22 แสดงอัตราส่วนพื้นที่ได้พืชของสารกำจัดศัตรูพืชกลุ่มออร์กาโนคลอรีนที่ได้จากการวิเคราะห์ด้วยเครื่องแก๊สโครมาโทกราฟีโดยใช้คาพิลลารีคอลัมน์แบบธรรมดา

เทคนิคการ สกัด	ความเข้มข้นของสาร ละลายมาตรฐาน (มิลลิกรัมต่อลิตร)	อัตราส่วนพื้นที่ได้พืช				
		ลินเดน	อัลดริน	ดีลดริน	เบต้า-เฮน โดซิลเฟน	พารา- พารา ดีดีที
LLE	0.05	0.024	0.014	0.016	0.014	-
	0.10	0.045	0.027	0.028	0.030	0.005
	0.20	0.088	0.054	0.047	0.051	0.007
	0.50	0.187	0.137	0.108	0.107	0.019
	1.00	0.334	0.252	0.199	0.196	0.046
	1.50	0.488	0.370	0.301	0.280	0.071
	2.00	0.627	0.490	0.408	0.369	0.099
	2.50	0.780	0.614	0.512	0.468	0.130
	3.00	0.949	0.764	0.627	0.574	0.163
SSE	0.05	0.333	0.039	0.241	0.216	0.007
	0.10	0.346	0.076	0.252	0.223	0.010
	0.20	0.394	0.110	0.281	0.249	0.014
	0.50	0.504	0.195	0.356	0.291	0.028
	1.00	0.674	0.350	0.460	0.394	0.043
	1.50	0.838	0.484	0.594	0.486	0.073
	2.00	0.973	0.642	0.731	0.591	0.098

ตาราง 22 (ต่อ)

เทคนิคการ สกัด	ความเข้มข้นของสาร ละลายมาตรฐาน (มิลลิกรัมต่อลิตร)	อัตราส่วนพื้นที่ที่ได้พิก				
		ลินเดน	อัลดริน	ดีลดริน	เบต้า-เฮน โดซิลเฟน	พารา- พารา ดีดีที
SSE (ต่อ)	2.50	1.119	0.747	0.833	0.708	0.132
	3.00	1.168	0.810	0.826	0.705	0.124
SPE	0.05	0.042	0.016	0.017	0.020	0.005
	0.10	0.092	0.043	0.051	0.055	0.014
	0.20	0.166	0.070	0.084	0.090	0.014
	0.50	0.432	0.182	0.192	0.191	0.030
	1.00	0.808	0.359	0.367	0.349	0.073
	1.50	1.212	0.549	0.521	0.484	0.121
	2.00	1.598	0.746	0.668	0.615	0.156
	2.50	1.968	0.919	0.834	0.764	0.189
	3.00	2.295	1.072	1.004	0.883	0.232

ตาราง 23 แสดงอัตราส่วนพื้นที่ใต้พีคของสารกำจัดศัตรูพืชกลุ่มออร์กาโนคลอรีนที่ได้จากการวิเคราะห์ด้วยเครื่องแก๊สโครมาโทกราฟีโดยใช้มวลตึกาพิลลารีคอลัมน์

เทคนิคการ สกัด	ความเข้มข้นของสาร ละลายมาตรฐาน (มิลลิกรัมต่อลิตร)	อัตราส่วนพื้นที่ใต้พีค				
		ลินเดน	อัลดริน	ดีลดริน	เบต้า-เฮน โดซิลเฟน	พารา- พารา ดีดีที
SSE	0.05	-	0.070	0.043	0.018	0.008
	0.10	-	0.083	0.041	0.019	0.009
	0.20	-	0.153	0.071	0.071	0.005
	0.50	-	0.262	0.156	0.175	0.012
	1.00	-	0.571	0.304	0.349	0.049
	1.50	-	0.935	0.461	0.542	0.093
	2.00	-	1.237	0.634	0.797	0.140
	2.50	-	1.546	0.809	1.038	0.197
	3.00	-	1.623	0.813	1.042	0.275

ภาคผนวก จ
รายชื่อวัตถุมีพิษทางการเกษตรที่ห้ามนำเข้า

ตาราง 24 รายชื่อวัตถุมีพิษทางการเกษตรที่ห้ามนำเข้าตามพระราชบัญญัติวัตถุมีพิษ พ.ศ. 2510 และ พ.ศ. 2516

ลำดับ	ชื่อวัตถุมีพิษ	วันที่มีผลบังคับใช้
1	Chofimeform	22 เมษายน พ.ศ. 2520
2	Leptophos	22 เมษายน พ.ศ. 2520
3	Lindane (BHC)	6 มีนาคม พ.ศ. 2523
4	Sodium arsenite	15 มีนาคม พ.ศ. 2524
5	Endrin	23 กรกฎาคม พ.ศ. 2524
6	DDT	4 มีนาคม พ.ศ. 2526
7	Toxaphene	4 มีนาคม พ.ศ. 2526
8	Sodium chorate	30 กรกฎาคม พ.ศ. 2529
9	Dinoseb	24 พฤศจิกายน พ.ศ. 2529
10	Captofol	2 เมษายน พ.ศ. 2530
11	Fluoroacetamide	28 กรกฎาคม พ.ศ. 2530
12	Cyhexatin	16 พฤษภาคม พ.ศ. 2531
13	Parathion	16 พฤษภาคม พ.ศ. 2531
14	Dieldrin	16 พฤษภาคม พ.ศ. 2531
15	Aldrin	23 กันยายน พ.ศ. 2531
16	Heptachlor	23 กันยายน พ.ศ. 2531
17	Binopacryl	- เมษายน พ.ศ. 2532
18	Diminozide	- กุมภาพันธ์ พ.ศ. 2534

ที่มา: สำนักคณะกรรมการสิ่งแวดล้อมแห่งชาติ. (2534). *มาตรฐานคุณภาพน้ำประปาประเทศไทย*.

ภาคผนวก จ
การละลาย และความดันไอของสารกำจัดศัตรูพืชกลุ่มออร์กาโนคลอรีน

ตาราง 25 แสดงค่าการละลาย และความดันไอของสารกำจัดศัตรูพืชกลุ่มออร์กาโนคลอรีน ที่อุณหภูมิ
 20 -25 องศาเซลเซียส

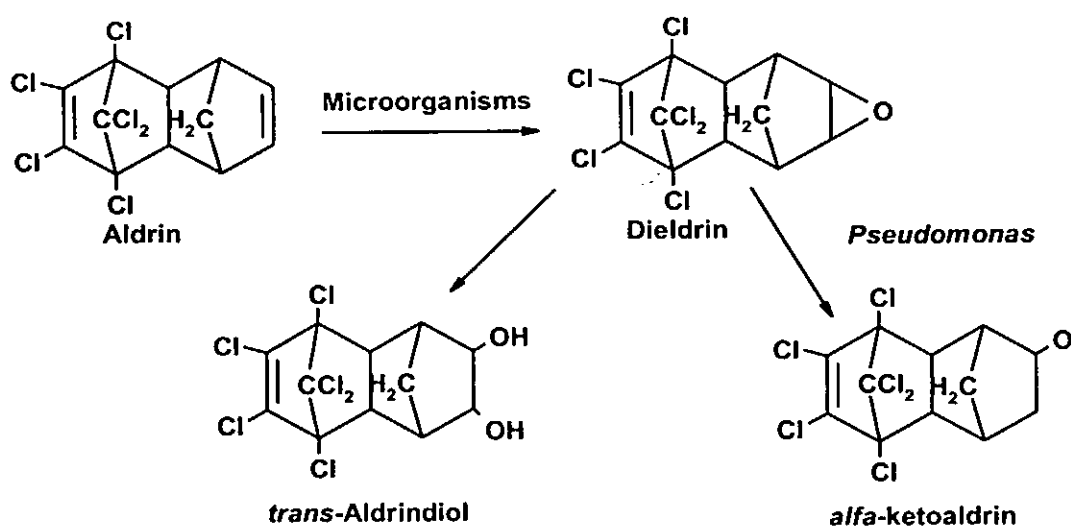
ชนิดของสารกำจัดศัตรูพืช	สูตรทางเคมี	การละลายในน้ำ (มิลลิกรัมต่อลิตร)	ความดันไอ (มิลลิเมตรปรอท)
DDT	$C_{14}H_9Cl_5$	0.0012	1.9×10^{-7}
DDD	$C_{14}H_{10}Cl_{14}$	0.0020	-
DDE	$C_{14}H_8Cl_{14}$	0.0130	4.0×10^{-5}
Aldrin	$C_{12}H_8Cl_{16}$	0.0270 - 0.2000	1.8×10^{-7}
Dieldrin	$C_{12}H_8Cl_{16}O$	0.0500 - 0.2500	2.0×10^{-7}
Endrin	$C_{12}H^8Cl_{16}O$	0.0600 - 0.2300	3.0×10^{-4}
Heptachlor	$C_{10}H_5Cl_{17}$	0.0560	-
Heptachlor epoxide	$C_{10}H_5Cl_7O$	0.3500	1.0×10^{-5}
Lindane	$C_6H_6Cl_6$	7.3000	-

ที่มา: Brown, A.W.A. (1978). *Ecology of Pesticides*. p 525.

ภาคผนวก ข

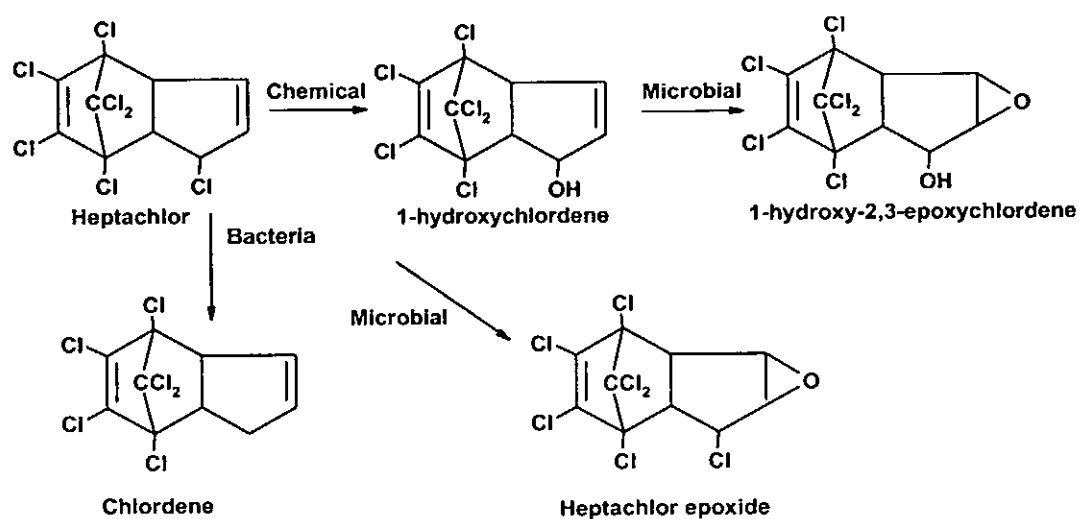
กลไกการสลายตัวของสารกำจัดศัตรูพืชกลุ่มออร์กาโนคลอรีน

1. กลไกการสลายตัวของอัลดริน และดีลดริน โดยจุลินทรีย์



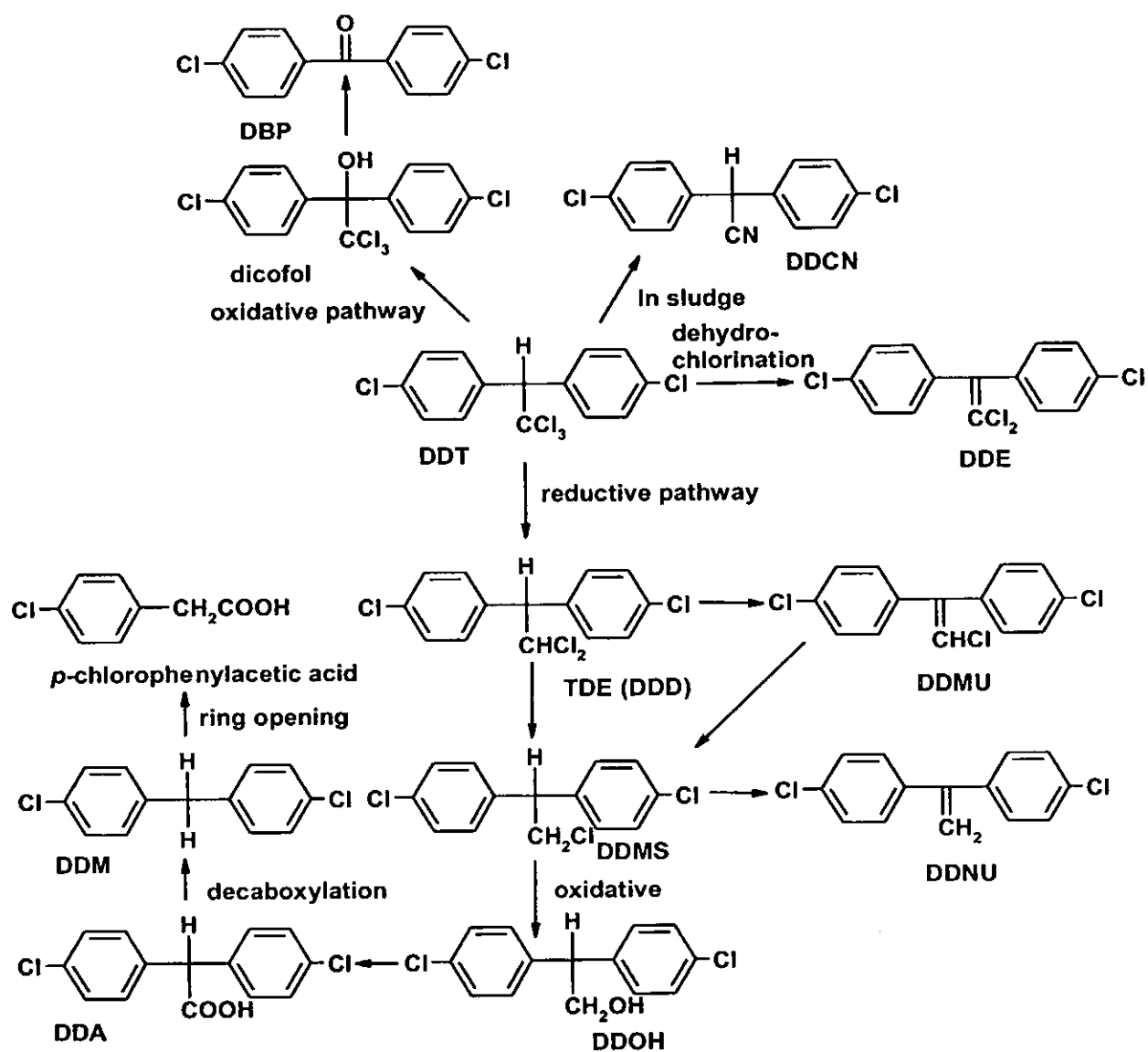
ที่มา: Brown, A.W.A. (1978). *Ecology of Pesticides*. p 525.

2. กลไกการสลายตัวของเฮปตะคลอร์โดยจุลินทรีย์



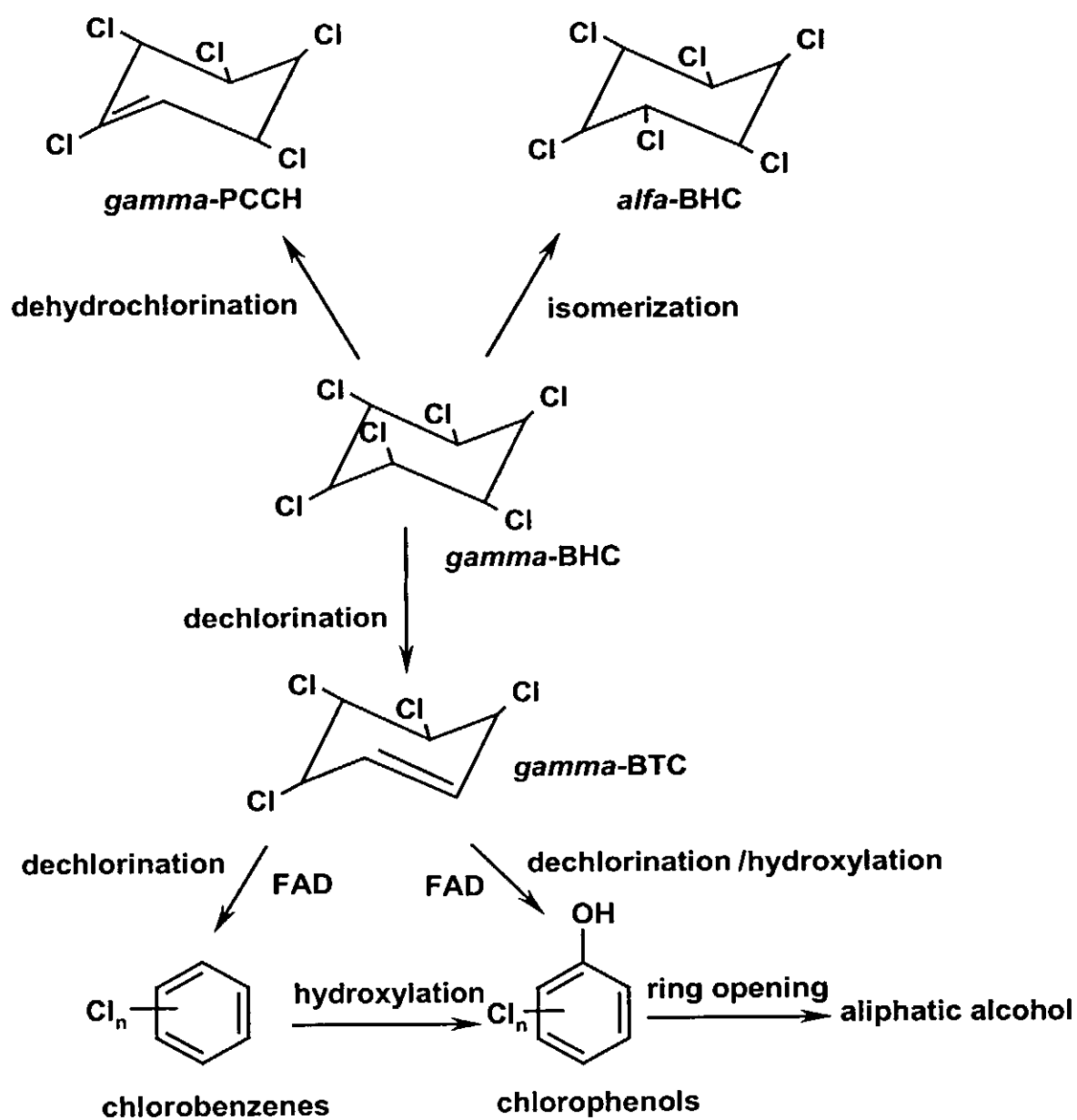
ที่มา: Brown, A.W.A. (1978). *Ecology of Pesticides*. p 525.

3. กลไกการสลายตัวของดีดีทีโดยจุลินทรีย์



ที่มา: Matsumura, F.; & Benezet, H.J. (1978). *Microbial Degradation of Insecticides*.

4. กลไกการสลายตัวของลินเดนโดยจุลินทรีย์



ที่มา: Matsumura, F.; & Benezet, H.J. (1978). *Microbial Degradation of Insecticides*.

ภาคผนวก ข

CERTIFICATE OF ALDRIN ANALYSIS



660 Tower Lane • P.O. Box 5073 • West Chester, PA 19381-0569
1-800-452-9994 • 1-610-592-3026 • Fax 1-610-692-8729
info@chemservice.com • www.chemservice.com

CERTIFICATE OF ANALYSIS

INVOICE #: CS250352
PO #: 4759

CATALOG #: PS-69

CAS #: 309-00-2

DESCRIPTION: Aldrin (TM)

LOT #: 302-149A

PURITY: 98.6%

EXPIRATION DATE: 09/07

Chem Service, Inc. guarantees the purity of this chemical $\pm 0.5\%$ deviation prior to the expiration date shown on the label and exclusive of any customer contamination.

Two or more of the following methods of analysis are used to determine purity: Melting point, refractive index, titration, FTIR, IR, TLC, GC/FID, GC/TCD, GC/ECD, GC/MS, HPLC or DSC.

Our standards are suitable for use with all EPA methods.

This product meets or exceeds the specifications for Standard-Grade Reference Material set forth by the American Chemical Society's Reagents Committee.

Certified By:

John Conrad
CSM/TC



ISO 9001
2000

ภาคผนวก ฅ

CERTIFICATE OF DIELDRIN ANALYSIS



890 Tower Lane • P.O. Box 598 • West Chester, PA 19381-0598
1-800-452-9994 • 1-610-692-3026 • Fax 1-610-692-8729
info@chemservice.com • www.chemservice.com

CERTIFICATE OF ANALYSIS

INVOICE #: CS250352
PO #: 4759

CATALOG #: PS-76

CAS #: 60-57-1

DESCRIPTION: Dieldrin

LOT #: 311-44B

PURITY: 98.7%

EXPIRATION DATE: 10/06

Chem Service, Inc. guarantees the purity of this chemical $\pm 0.5\%$ deviation prior to the expiration date shown on the label and exclusive of any customer contamination.

Two or more of the following methods of analysis are used to determine purity: Melting point, refractive index, titration, FTIR, IR, TLC, GC/FID, GC/TCD, GC/ECD, GC/MS, HPLC or DSC.

Our standards are suitable for use with all EPA methods.

This product meets or exceeds the specifications for Standard-Grade Reference Material set forth by the American Chemical Society's Reagents Committee.

Certified By:

John Conrad
CSM/TC



ภาคผนวก ก

CERTIFICATE OF ENDOSULFAN (BETA ISOMER) ANALYSIS



660 Tower Lane • P.O. Box 589 • West Chester, PA 19381-0599
1-800-452-9994 • 1-810-692-3026 • Fax 1-810-692-8729
info@chemservice.com • www.chemservice.com

CERTIFICATE OF ANALYSIS

INVOICE #: CS250352
PO #: 4759

CATALOG #: PS-81-2

CAS #: 33213-65-9

DESCRIPTION: Endosulfan (beta isomer)

LOT #: 293-73B

PURITY: 99.2%

EXPIRATION DATE: 12/08

Chem Service, Inc. guarantees the purity of this chemical $\pm 0.5\%$ deviation prior to the expiration date shown on the label and exclusive of any customer contamination.

Two or more of the following methods of analysis are used to determine purity: Melting point, refractive index, titration, FTIR, IR, TLC, GC/FID, GC/TCD, GC/ECD, GC/MS, HPLC or DSC.

Our standards are suitable for use with all EPA methods.

This product meets or exceeds the specifications for Standard-Grade Reference Material set forth by the American Chemical Society's Reagents Committee.

Certified By:

John Conrad
CSM/TC



ISO 9001
Quality Management System

ภาคผนวก ก
CERTIFICATE OF LINDANE ANALYSIS



880 Tower Lane • P.O. Box 599 • West Chester, PA 19381-0599
1-800-452-9994 • 1-610-692-3026 • Fax 1-610-692-8729
info@chemservice.com • www.chemservice.com

CERTIFICATE OF ANALYSIS

INVOICE #: CS250352
PO #: 4759

CATALOG #: PS-71

CAS #: 58-89-9

DESCRIPTION: Lindane

LOT #: 323-59B

PURITY: 99.5%

EXPIRATION DATE: 05/07

Chem Service, Inc. guarantees the purity of this chemical $\pm 0.5\%$ deviation prior to the expiration date shown on the label and exclusive of any customer contamination.

Two or more of the following methods of analysis are used to determine purity: Melting point, refractive index, titration, FTIR, IR, TLC, GC/FID, GC/TCD, GC/ECD, GC/MS, HPLC or DSC.

Our standards are suitable for use with all EPA methods.

This product meets or exceeds the specifications for Standard-Grade Reference Material set forth by the American Chemical Society's Reagents Committee.

Certified By:

John Conrad
CSM/TC



ISO 9001
ISO 14001
ISO 13485

ภาคผนวก ก
CERTIFICATE OF *p,p'*-DDT ANALYSIS



800 Tower Lane • P.O. Box 599 • West Chester, PA 18381-0599
1-800-452-9094 • 1-610-692-3026 • Fax 1-610-692-8729
info@chemservice.com • www.chemservice.com

CERTIFICATE OF ANALYSIS

INVOICE #: CS250352
PO #: 4759

CATALOG #: PS-699

CAS #: 50-29-3

DESCRIPTION: *p,p'*-DDT

LOT #: 312-145C

PURITY: 99.1%

EXPIRATION DATE: 12/06

Chem Service, Inc. guarantees the purity of this chemical $\pm 0.5\%$ deviation prior to the expiration date shown on the label and exclusive of any customer contamination.

Two or more of the following methods of analysis are used to determine purity: Melting point, refractive index, titration, FTIR, IR, TLC, GC/FID, GC/TCD, GC/ECD, GC/MS, HPLC or DSC.

Our standards are suitable for use with all EPA methods.

This product meets or exceeds the specifications for Standard-Grade Reference Material set forth by the American Chemical Society's Reagents Committee.

Certified By:

John Conrad
CSM/TC



ISO 9001
ISO 14001
ISO 18001

ប្រវត្តិខ្ញុំផ្ទាល់

ประวัติย่อผู้วิจัย

ชื่อ ชื่อสกุล	นางสาวปุลพร เหว้าสำเนียง
วันเดือนปีเกิด	วันที่ 5 เดือนธันวาคม ปีพุทธศักราช 2522
สถานที่เกิด	โรงพยาบาลสมเด็จพระปิ่นเกล้า เขตสำเหร่ กรุงเทพมหานคร
สถานที่อยู่ปัจจุบัน	บ้านเลขที่ 61/159 หมู่ 2 ซอยแสงเพชร ตำบลท่าตลาด อำเภอสามพราน จังหวัดนครปฐม รหัสไปรษณีย์ 73110
ตำแหน่งหน้าที่การงานปัจจุบัน	-
สถานที่ทำงานปัจจุบัน	-
ประวัติการศึกษา	
พ.ศ. 2536 – 2538	มัธยมศึกษาตอนต้น จากโรงเรียนศรีวิชัยวิทยา นครปฐม
พ.ศ. 2538 – 2540	มัธยมศึกษาตอนปลาย จากโรงเรียนมหิดลวิทยานุสรณ์ นครปฐม
พ.ศ. 2542 – 2545	วิทยาศาสตร์ สาขาวิชาเคมี ระดับบัณฑิต จากสถาบันราชภัฏสวนดุสิต กรุงเทพมหานคร
พ.ศ. 2545 – 2548	วิทยาศาสตร์ สาขาวิชาเคมีชีวภาพ ระดับมหาบัณฑิต จากมหาวิทยาลัยศรีนครินทรวิโรฒ กรุงเทพมหานคร