

การพัฒนาวิธีวิเคราะห์ปริมาณสารเคมีกำจัดศัตรูพืช ตกค้างในเครื่องดื่มที่ทำจากผักผลไม้

รัตยากร ศรีโคตร และวีรวิทย์ วิทยานันท์

สำนักคุณภาพและความปลอดภัยอาหาร กรมวิทยาศาสตร์การแพทย์ ถนนติวานนท์ นนทบุรี 11000

บทคัดย่อ ได้ศึกษาและพัฒนาวิธีตรวจวิเคราะห์สารเคมีกำจัดศัตรูพืช ครอบคลุมสารกลุ่มออร์กาโนคลอรีน กลุ่มออร์กาโนฟอสฟอรัส และกลุ่มสารสังเคราะห์ไพรีทรอยด์ จำนวน 49 สาร ในตัวอย่างเครื่องดื่มที่ทำจากผักผลไม้ ซึ่งปรับปรุงจากวิธี AOAC Official Method 2007.01 และวิธีของ Anastassiades M. และคณะ ที่ตรวจวิเคราะห์ในตัวอย่างผักและผลไม้ โดยเพิ่มเทคนิค salting out ในขั้นตอนการสกัด ตรวจหาชนิดและปริมาณด้วยเครื่องแก๊สโครมาโทกราฟี ชนิดไมโครฮีลด์ และเอฟพีดี ในการทดสอบความใช้ได้ของวิธีที่พัฒนาขึ้น โดยใช้น้ำฝรั่งเป็นตัวแทนเครื่องดื่มที่ทำจากผักผลไม้ วิธีดังกล่าวมีขีดจำกัดของการตรวจพบเท่ากับ 0.01 มิลลิกรัมต่อกิโลกรัม และขีดจำกัดของการวัดเชิงปริมาณเท่ากับ 0.03 มิลลิกรัมต่อกิโลกรัม ช่วงความเป็นเส้นตรงของการวิเคราะห์ กลุ่มออร์กาโนคลอรีน กลุ่มออร์กาโนฟอสฟอรัส และกลุ่มสารสังเคราะห์ไพรีทรอยด์ อยู่ในช่วง 0.03-0.2 มิลลิกรัมต่อกิโลกรัม ความแม่นยำแสดงด้วย % recovery อยู่ในช่วง 64.2-118.6% ความเที่ยง แสดงด้วย HORRAT อยู่ในช่วง 0.1-1.3 นอกจากนั้น เพื่อให้ทราบสถานการณ์การตกค้าง ได้นำวิธีที่พัฒนาขึ้นไปใช้ตรวจวิเคราะห์สารเคมีกำจัดศัตรูพืชในเครื่องดื่มที่ทำจากผักและผลไม้ ได้แก่ น้ำส้ม น้ำฝรั่ง น้ำแครอท น้ำทับทิม และน้ำผักผลไม้ชนิดอื่นๆ ที่จำหน่ายในเขตกรุงเทพมหานครและปริมณฑล จำนวน 100 ตัวอย่าง ผลการสำรวจพบการตกค้างของสารในกลุ่มออร์กาโนฟอสฟอรัส มากที่สุด คือ chlorpyrifos, ethion, pirimiphos-methyl และ profenofos ปริมาณตั้งแต่น้อยกว่า 0.03-1.22 มิลลิกรัมต่อกิโลกรัม สารกลุ่มสารสังเคราะห์ไพรีทรอยด์ตรวจพบเพียงสารเดียวคือ cypermethrin ปริมาณ 0.04 มิลลิกรัมต่อกิโลกรัม และตรวจไม่พบสารในกลุ่มออร์กาโนคลอรีน

Accepted for publication, 20 August 2018

บทนำ

ผักผลไม้เป็นแหล่งของสารอาหารที่จำเป็นต่อร่างกาย อุดมไปด้วยเอนไซม์ที่ช่วยส่งเสริมและกระตุ้นปฏิกิริยาเคมีต่างๆ ภายในร่างกาย ทำให้ระบบย่อยอาหารมีประสิทธิภาพ ร่างกายสามารถดูดซึมสารอาหารที่จำเป็นได้ง่าย อีกทั้งยังเป็นแหล่งของสารต้านอนุมูลอิสระ ช่วยล้างพิษที่ตกค้างภายในร่างกายได้อย่างรวดเร็ว ช่วยลดระดับคอเลสเตอรอลในเลือด ช่วยบำรุงสายตา มีวิตามินซีและอี ช่วยให้ผิวพรรณเปล่งปลั่งสดใสอยู่เสมอ ทำให้ระบบขับถ่ายปกติ และป้องกันโรคมะเร็งบางชนิด⁽¹⁾ สำหรับคนที่ไม่ชอบรับประทานผักผลไม้โดยตรง ก็สามารถดื่มเครื่องดื่มที่ทำจากผักผลไม้แทนได้ ในปัจจุบันกระแสการดื่มน้ำผักผลไม้กำลังได้รับความนิยมเป็นอย่างมากกว่าให้คุณค่าทางโภชนาการไม่แตกต่างจากการรับประทานผักผลไม้ ความกังวลของผู้บริโภคเกี่ยวข้องกับความปลอดภัยในการบริโภคผักผลไม้สด คือ การตกค้างของสารเคมีกำจัดศัตรูพืช ดังนั้นเพื่อเป็นข้อมูลสำหรับผู้บริโภคและสร้างความมั่นใจว่าเครื่องดื่มที่ทำจากผักผลไม้ นั้น มีความปลอดภัยต่อสุขภาพ สำนักคุณภาพและความปลอดภัยอาหาร กรมวิทยาศาสตร์การแพทย์ กระทรวงสาธารณสุข ในช่วงปี พ.ศ. 2549 จึงได้รายงานผลการดำเนินการสำรวจเครื่องดื่มที่ทำจากผักและผลไม้ ทั้งหมด 54 ตัวอย่าง เป็นตัวอย่างคั้นสด 38 ตัวอย่าง และเป็นตัวอย่างที่ผ่านกระบวนการผลิตและบรรจุในภาชนะปิดสนิท 16 ตัวอย่าง เพื่อตรวจวิเคราะห์ปริมาณการตกค้างของสารเคมีกำจัดศัตรูพืช กลุ่มออร์กาโนคลอรีน กลุ่มออร์กาโนฟอสฟอรัส กลุ่มสารสังเคราะห์ไพรีทรอยด์ และกลุ่มคาร์บาเมต ผลพบสารตกค้าง 17 ตัวอย่าง ในเครื่องดื่มคั้นสด ได้แก่ สาร endosulfan, chlorpyrifos, parathion-methyl, ethion, cypermethrin, carbaryl และ carbofuran แต่ไม่พบการตกค้างในเครื่องดื่มที่ผ่านกระบวนการผลิตและบรรจุในภาชนะปิดสนิท หลังจากนั้นในปีเดียวกัน สำนักงานคณะกรรมการอาหารและยาได้เก็บตัวอย่างเครื่องดื่มที่ทำจากผักผลไม้ที่ผ่านกระบวนการผลิตและบรรจุในภาชนะปิดสนิท ส่งตรวจวิเคราะห์ที่สำนักคุณภาพและความปลอดภัยอาหาร จำนวน 21 ตัวอย่าง และตัวอย่างใบชา จำนวน 9 ตัวอย่าง ผลพบว่าไม่มีการตกค้างของสารเคมีกำจัดศัตรูพืชในเครื่องดื่ม น้ำผักผลไม้ทุกตัวอย่าง แต่พบการตกค้างในใบชาจำนวน 5 ตัวอย่าง หลังจากนั้นพบว่ายังไม่มีการรายงานข้อมูลการตกค้างของสารเคมีป้องกันกำจัดศัตรูพืชในเครื่องดื่มที่ทำจากผักผลไม้เลย ปัจจุบันสารเคมีป้องกันกำจัดศัตรูพืชเข้ามามีบทบาททางภาคเกษตรอย่างกว้างขวาง สิ่งที่จะต้องชัดเจนคือข้อมูลปริมาณการนำเข้าของสารเคมีป้องกันกำจัดศัตรูพืชที่มีแนวโน้มสูงขึ้นทุกปี จากข้อมูลของกรมวิชาการเกษตร กระทรวงเกษตรและสหกรณ์พบว่า ระหว่างปี 2540-2553 ประเทศไทยมีการนำเข้าของสารเคมีป้องกันกำจัดศัตรูพืชมากถึง 120,000 ตัน⁽²⁾ จากการประเมินของ World bank และ Food and Agriculture Organization of the United Nations (FAO) ชี้ให้เห็นว่าประเทศไทยมีการใช้สารเคมีป้องกันกำจัดศัตรูพืชมีค่าสูงกว่าประเทศที่พัฒนาแล้วถึงเท่าตัว และหลังจากปี 2553 ถัดมานั้นสถานะแวดล้อมของโลกเปลี่ยนแปลงไป แนวโน้มการใช้สารเคมีป้องกันกำจัดศัตรูพืชก็สูงขึ้น ประชากรเพิ่มขึ้นอย่างรวดเร็ว จึงต้องมีการพัฒนาด้านต่างๆ เพื่อให้เกิดความสมดุลกับความต้องการอาหารของประชากรที่เพิ่มมากขึ้น จึงมีการใช้ปุ๋ยเคมี มีการใช้สารเคมีเพื่อกำจัดแมลงศัตรูพืช เพื่อช่วยในการเพิ่มผลผลิตทางการเกษตร มีการใช้สาร deltamethrin⁽³⁾ ซึ่งเป็นสารเคมีกำจัดศัตรูพืชที่ใช้พ่นกำจัดยุงลายเพื่อป้องกันโรคไข้เลือดออกเป็นสิ่งจำเป็นทางด้านสาธารณสุข อาจเกิดการตกค้างในผลผลิตทางการเกษตรที่เราบริโภคได้ และอาจส่งผลกระทบต่อสุขภาพอนามัยของผู้บริโภค ผู้วิจัยจึงได้ตระหนักเห็นความสำคัญของปัญหาเหล่านี้ จึงได้มีการศึกษา ปรับและพัฒนาวิธีตรวจวิเคราะห์สารเคมีป้องกันกำจัดศัตรูพืชในเครื่องดื่มจากผักผลไม้ เพื่อทดแทนวิธีเดิมที่ใช้งานอยู่ ซึ่งวิธีเดิมที่ใช้ตรวจวิเคราะห์นั้น เป็นวิธี PAM 302 GC ECD, PAM 302 GC FPD⁽⁴⁾ สารเคมีและตัวทำละลายอินทรีย์ที่ใช้ในขั้นตอนการสกัดมีปริมาณค่อนข้างมาก อาจส่งผลกระทบต่อสุขภาพของผู้ปฏิบัติงานในระยะยาว ใช้เทคนิค liquid-liquid partition ต้องทำให้บริสุทธิ์โดยการผ่านคอลัมน์ florisil ขั้นตอนการสกัดยาวนาน อีกทั้ง waste solvent ที่เกิดจากการสกัดมีปริมาณมาก และใช้ chlorinated solvent เป็นภาระในการกำจัด ดังนั้นจึงได้พัฒนาวิธีโดยการปรับวิธี official method AOAC

2007.01 ขอบข่ายการตรวจวิเคราะห์สารเคมีป้องกันกำจัดศัตรูพืชได้ 29 ชนิด ใน matrix ผักผลไม้ด้วย เครื่อง GC/MS และวิธีของ Anastassiades M. และคณะ ในปี 2003 ให้สามารถตรวจวิเคราะห์สารรวม 49 ชนิด ได้แก่ กลุ่มออร์กาโนคลอรีน 20 ชนิด กลุ่มออร์กาโนฟอสฟอรัส 21 ชนิด และกลุ่มสารสังเคราะห์ไพรีทรอยด์ 8 ชนิด ใน matrix เครื่องดื่มที่ทำจากผักผลไม้โดยการเติมเกลือ NaCl ตรวจวิเคราะห์ด้วยเครื่อง GC- μ ECD และ GC-FPD ซึ่งเป็นเครื่องมือพื้นฐานที่มีอยู่ในห้องปฏิบัติการและดำเนินการทดสอบความถูกต้องของวิธีดังกล่าว เมื่อได้วิธีที่เหมาะสม จึงได้นำวิธีนี้ไปตรวจวิเคราะห์หาสารตกค้างของสารเคมีป้องกันกำจัดศัตรูพืชในเครื่องดื่มที่ทำจากผักผลไม้ทั้งชนิดคั้นสด และชนิดบรรจุในภาชนะปิดสนิท เพื่อให้ทราบสถานการณ์การตกค้างและศึกษาผลกระทบต่อการได้รับสารต่อไป โดยทำการสุ่มเก็บตัวอย่างในเขตกรุงเทพมหานครและปริมณฑล ในปี พ.ศ. 2558

วัสดุและวิธีการ

สารเคมีและสารมาตรฐาน

สารเคมี : acetonitrile PR, glacial acetic acid AR, n-hexane PR, ethyl acetate AR, magnesium sulfate anhydrous (MgSO_4) AR, sodium acetate (NaOAc) AR, sodium chloride (NaCl) AR, น้ำกลั่น, Dispersive SPE 2 ml; ชนิดที่ 1 Pigment sample AOAC Agilent Part Number: 5982-5222 (MgSO_4 150 mg, PSA 50 mg, bulk carbograph 50 mg) ชนิดที่ 2 Fat + Pigments AOAC Agilent Part Number: 5982-5421 (MgSO_4 150 mg, PSA 50 mg, bulk carbograph 50 mg, C18EC 50 mg)

สารมาตรฐาน : สารมาตรฐานทั้งหมดเป็นผลิตภัณฑ์ของ Dr. Ehrenstorfer ซึ่งเป็นชนิดเดียว

กลุ่มออร์กาโนคลอรีน (organochlorine compounds) OCs จำนวน 20 สาร ได้แก่ aldrin, α -BHC, α -chlordane, γ -chlordane, oxy-chlordane, pp'-DDE, pp'-TDE, pp'-DDT, dicofol, dieldrin, endrin, α -endosulfan, β -endosulfan, endosulfan sulfate, heptachlor, heptachlor epoxide, hexachlorobenzene, lindane, methoxychlor และ tetradifon

กลุ่มออร์กาโนฟอสฟอรัส (organophosphorus compounds) OPs จำนวน 21 สาร ได้แก่ acephate, azinphos-methyl, chlorpyrifos, dichlorvos, diazinon, dicrotophos, dimethoate, EPN, ethion, methamidophos, methidathion, mevinphos, monocrotophos, omethoate, parathion, parathion-methyl, phosalone, pirimiphos-methyl, profenofos, prothiophos และ triazophos

กลุ่มสารสังเคราะห์ไพรีทรอยด์ (synthetic pyrethroids) SPs จำนวน 8 สาร ได้แก่ bifenthrin, cyfluthrin, lambda-cyhalothrin, cypermethrin, deltamethrin, fenpropathrin, fenvalerate และ permethrin

เครื่องมือและอุปกรณ์

เครื่องชั่งความละเอียด 0.001 กรัม สำหรับชั่งตัวอย่าง เครื่องชั่งความละเอียด 0.01 มิลลิกรัม สำหรับชั่งสารมาตรฐาน เครื่องปั่นตกตะกอน (centrifuge) ความเร็วรอบ 3,500-4,000 รอบต่อนาที เครื่องระเหยสารละลายแบบ heating block และใช้แก๊สไนโตรเจนในการระเหยสารสกัด เครื่องหมุนปั่นผสมสารละลาย Vertex-2 Genie, micropipette ขนาด 2-20 μ l, micropipette ขนาด 20-200 μ l, micropipette ขนาด 1-10 ml, amber vial ขนาด 8 ml, centrifuge tube ขนาด 50 ml และ 15 ml, volumetric flask ขนาด 500 ml, 25 ml และ 10 ml และ pasteur pipette

เครื่องมือตรวจวัดชนิดและปริมาณ

เครื่องแก๊สโครมาโทกราฟ : GC- μ ECD Agilent Technologies 6890N ชนิด column: DB-5MS, 30 m, 0.25 mm id, 0.25 μ m film thickness ที่ temperature: inlet ที่ 200°C, splitless mode oven ที่ initial 80°C hold 1 min, rate 15°C/min to 180°C, rate 3°C/min to 205°C hold 5 min, rate 40°C/min to final 260°C hold 20 min, detector ที่ 300°C, flow rate: helium, constant column flow 1.5 ml/min, nitrogen (make up) 60 ml/min, injection volume: 1 μ l

เครื่องแก๊สโครมาโทกราฟ : GC-FPD Agilent Technologies 6890N ชนิด column: DB-1701, 30 m, 0.25 mm id, 0.25 μ m film thickness, temperature inlet ที่ 200°C, pulsed splitless mode: pressure 30 psi, purge flow 60 ml/min, purge time 0.8 min oven ที่ initial 80°C hold 1 min, rate 15°C/min to 180°C, rate 3°C/min to 205°C hold 5 min, rate 40°C/min to final 260°C hold 20 min, detector 220°C, flow rate: helium constant column flow 1.5 ml/min, nitrogen (make up) 60 ml/min, hydrogen 75 ml/min, air 100 ml/min injection volume: 2 μ l

ตัวอย่าง

ในการทดสอบความใช้ได้ของวิธี ใช้ตัวอย่างน้ำฝรั่งที่ไม่มีพีคบกพร่องหรือพีคที่ใกล้กับสารมาตรฐาน (blank sample) เป็นตัวแทนตัวอย่างกลุ่มน้ำผักผลไม้ (representative matrix) ใช้ตัวอย่างประมาณ 2 ลิตร ชั่งแบ่งตัวอย่างใน centrifuge tube ตัวอย่างละ 10 กรัม (analytical portion)

ในการสำรวจปริมาณการตกค้างของสารเคมีป้องกันกำจัดศัตรูพืช สุ่มเก็บตัวอย่างเครื่องดื่มคั้นสดเก็บจากร้านค้าริมถนนหรือตลาดนัด ชนิดละ 2 ตัวอย่าง และเครื่องดื่มที่ผ่านกระบวนการผลิตและบรรจุในภาชนะปิดสนิท เก็บตัวอย่างจากซูเปอร์มาร์เก็ตหรือร้านสะดวกซื้อ ชนิดละ 2 ตัวอย่าง จากเขตกรุงเทพฯ และปริมณฑล แบ่งออกเป็น 5 กลุ่มพื้นที่ กลุ่มพื้นที่ละ 20 ตัวอย่าง กลุ่มพื้นที่ประกอบด้วยเขตต่างๆ ดังนี้

กลุ่ม 1 ป้อมปราบศัตรูพ่าย สัมพันธวงศ์ พระนคร ดุสิต พญาไท ดินแดง ราชเทวี ปทุมวัน ห้วยขวาง วัฒนา คลองเตย สาทร ยานนาวา บางรัก บางคอแหลม และคลองสาน

กลุ่ม 2 บางพลัด ธนบุรี บางกอกน้อย บางกอกใหญ่ ราชบุรี ภาษีเจริญ ดลิ่งชัน จอมทอง ทุ่งครุ บางขุนเทียน บางบอน บางแค หนองแขม และทวีวัฒนา

กลุ่ม 3 ลาดพร้าว บึงกุ่ม บางกะปิ สะพานสูง สวนหลวง พระโขนง บางนา และประเวศ

กลุ่ม 4 สายไหม คลองสามวา หนองจอก มีนบุรี คันนายาว ลาดกระบัง และปทุมธานี (เฉพาะอำเภอเมือง คลองหลวง และธัญบุรี)

กลุ่ม 5 บางเขน หลักสี่ จตุจักร ดอนเมือง นนทบุรี (เฉพาะอำเภอเมือง ปากเกร็ด บางใหญ่ และบางบัวทอง)

ตัวอย่างเครื่องดื่มมี 5 ชนิด ได้แก่ น้ำฝรั่ง น้ำส้ม น้ำแครนเบอร์รี่ น้ำทับทิม และน้ำผักผลไม้ อื่นๆ (น้ำผักขาว น้ำมะเขือเทศ น้ำองุ่น และน้ำใบชา) รวมทั้งหมด 100 ตัวอย่าง ตัวอย่างละประมาณ 500 มิลลิลิตร

การพัฒนาวิธีและการทดสอบความใช้ได้ของวิธี

วิธีวิเคราะห์ (Extraction)

ชั่งตัวอย่างน้ำหนัก 10 กรัม ลงใน centrifuge tube ขนาด 50 มิลลิลิตร เติมน้ำ NaCl 1 กรัม เติมน้ำ acetonitrile + 1% acetic acid 10 มิลลิลิตร เขย่าอย่างแรง 1 นาที จากนั้นเติมน้ำ MgSO_4 4 กรัม และ NaOAc 1 กรัม แล้วเขย่า 1 นาที นำไปปั่นตกตะกอนด้วยความเร็วประมาณ 3,500-4,000 รอบต่อนาที นาน 5 นาที จากนั้นแบ่งสารสกัดส่วนใสที่ได้ประมาณ 6-7 มิลลิลิตร ใส่ใน centrifuge tube ขนาด 15 มิลลิลิตร แล้วนำไป clean up

โดยการเติม Dispersive SPE Pigment sample AOAC Agilent Part Number: 5982-5222 (MgSO_4 150 mg, PSA 50 mg, bulk carbograph 50 mg) (สำหรับตัวอย่างน้ำแครอทและน้ำใบบวบ) clean up โดยการเติม Dispersive SPE Fat + Pigments AOAC Agilent Part Number: 5982-5421 (MgSO_4 150 mg, PSA 50 mg, bulk carbograph 50 mg, C18EC 50 mg) จากนั้นเขย่า 1 นาที แล้วนำไปปั่นตกตะกอน ด้วยความเร็วประมาณ 3,500–4,000 รอบต่อนาที นาน 5 นาที เก็บสารสกัดส่วนใส (สารละลายชั้นบน) 5 มิลลิลิตร ใส่ใน amber vial ขนาด 8 มิลลิลิตร นำไประเหยลดปริมาตรจนเกือบแห้ง แล้วปรับปริมาตรด้วยสารละลายผสม n-hexane: ethyl acetate (3:1) จนครบ 1 มิลลิลิตร ได้ความเข้มข้นตัวอย่าง 5 กรัมต่อมิลลิลิตร แล้วนำไปวิเคราะห์ชนิดและปริมาณสารเคมีป้องกันกำจัดศัตรูพืชตกค้างด้วยเครื่อง GC โดยสารกลุ่ม OCs และสาร SPs ฉีดเข้าเครื่องแก๊สโครมาโทกราฟี : GC- μ ECD ส่วนสารกลุ่ม OPs ฉีดเข้าเครื่องแก๊สโครมาโทกราฟี : GC-FPD

การสร้างกราฟมาตรฐาน (Calibration curve) ⁽⁵⁾

สารมาตรฐานกลุ่ม OCs และ SPs เตรียมที่ความเข้มข้น 0.025, 0.05, 0.2, 0.8 และ 2.0 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตรใน n-hexane นำสารละลายไปฉีดเข้า GC- μ ECD สร้างกราฟมาตรฐานระหว่างความเข้มข้นกับพื้นที่ใต้พีค คำนวณค่าสัมประสิทธิ์สหสัมพันธ์ของเพียร์สัน (Pearson correlation coefficient: r)

สารมาตรฐานกลุ่ม OPs เตรียมที่ความเข้มข้น 0.025, 0.05, 0.2, 0.8 และ 2.0 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตรใน matrix น้ำฝรั่ง นำสารละลายไปฉีดเข้า GC-FPD สร้างกราฟมาตรฐานระหว่างความเข้มข้นกับพื้นที่ใต้พีค คำนวณค่า r

การวิเคราะห์ Method blank และ Matrix blank

Method blank: สกัดตามวิธีที่พัฒนาโดยใช้น้ำกลั่น 10 กรัม แทนตัวอย่าง และ matrix blank: สกัดตามวิธีที่พัฒนา (7 ข้าง) โดยนำน้ำฝรั่งที่ไม่มีการตกค้างของสารที่สนใจ ตรวจวิเคราะห์ method blank และ matrix blank เพื่อตรวจสอบสารรบกวนที่อาจมาจากสารเคมีหรือตัวอย่างที่อาจส่งผลกระทบต่อผลการวิเคราะห์ เพื่อป้องกันความผิดพลาดที่เกิดขึ้นในการจำแนกชนิดและปริมาณสาร

การหาขีดจำกัดของการตรวจพบ (Limit of detection, LOD)

ทดสอบโดยการเติมสารมาตรฐานกลุ่ม OCs, OPs และ SPs ที่ความเข้มข้นต่ำๆ ลงใน matrix blank คำนวณ Signal-to-noise (S/N) ของสารแต่ละชนิด คำนวณปริมาณสารมาตรฐานที่ทำให้พีคมีความสูงมากกว่า 3 เท่าของ S/N และคำนวณความเข้มข้นต่อน้ำหนักตัวอย่าง

การหาขีดจำกัดของการวัดเชิงปริมาณ (Limit of quantitation, LOQ)

ทดสอบโดยการเติมสารมาตรฐานกลุ่ม OCs, OPs และ SPs ที่ความเข้มข้นประมาณ 3 เท่าของค่า LOD ลงในตัวอย่าง blank sample ทำการสกัด และวิเคราะห์ชนิดและปริมาณจำนวน 7 ข้าง คำนวณหาปริมาณเทียบกับสารมาตรฐานแล้วคำนวณ % Recovery, % RSD และ HORRAT

การทดสอบช่วงความเป็นเส้นตรงและช่วงการวิเคราะห์ (Linearity and working range)

เติมสารละลายมาตรฐาน กลุ่ม OCs, OPs และ SPs ในตัวอย่าง blank sample ที่ระดับความเข้มข้น 0.01, 0.03, 0.08, 0.15 และ 0.2 มิลลิกรัมต่อกิโลกรัม ทำการสกัด และวิเคราะห์ชนิดและปริมาณระดับละ 3 ข้าง สร้างกราฟมาตรฐานระหว่างความเข้มข้นของสารมาตรฐานที่เติมลงในตัวอย่างกับความเข้มข้นของสารมาตรฐานที่ตรวจพบ คำนวณค่า r

การทดสอบความแม่นยำและความเที่ยง (Accuracy and precision)

ทดสอบความแม่นยำและความเที่ยงของวิธีโดยการเติมสารละลายมาตรฐาน กลุ่ม OCs, OPs และ SPs ในตัวอย่าง blank sample ที่ระดับความเข้มข้นเท่ากับ LOQ, 3 เท่าของ LOQ และ 5 เท่าของ LOQ ได้แก่ ที่ความเข้มข้น 0.03, 0.09 และ 0.15 มิลลิกรัมต่อกิโลกรัม ตามลำดับ ทำการวิเคราะห์ระดับละ 7 ซ้ำ คำนวณปริมาณ เทียบกับกราฟสารมาตรฐานแล้วคำนวณ % recovery, % RSD และ HORRAT ประเมินผลการทดสอบ ความแม่นยำ (accuracy) และความเที่ยง (precision) เทียบกับเกณฑ์ยอมรับ ค่าเฉลี่ยของ recovery ในช่วงร้อยละ 60–120⁽⁶⁾ และ HORRAT (Horwitz ratio) น้อยกว่า 2

การประมาณค่าความไม่แน่นอนของการตรวจวิเคราะห์ (Uncertainty)⁽⁷⁾

ความไม่แน่นอนของการวัดต้องคำนึงถึงแหล่งความไม่แน่นอนทุกแหล่งที่มีผลกระทบต่อการวิเคราะห์ เมื่อนำมารวมกันแล้ว คำนวณค่าความไม่แน่นอนขยายที่ระดับความเชื่อมั่น 95% คำนวณปริมาณสารที่วัด โดยใช้ค่าความเข้มข้น (Co) ที่อ่านได้จาก calibration curve ที่สร้างจากความสัมพันธ์ระหว่าง concentration กับ peak area

การควบคุมคุณภาพผลการวิเคราะห์

Internal quality control วิเคราะห์ method blank, duplicate analysis และ spiked sample ในระหว่างการวิเคราะห์ทุก 20 ตัวอย่าง โดยกำหนดเกณฑ์ยอมรับ method blank ต้องตรวจไม่พบสารเกิน LOD, duplicate analysis คำนวณค่า relative percent difference (RPD) ต้องน้อยกว่า 25% และ spiked sample ที่ระดับ 0.15 มิลลิกรัมต่อกิโลกรัม ต้องได้ % recovery อยู่ในช่วงเกณฑ์ยอมรับ (60–120%)

ผล

ผลการทดสอบความใช้ได้ของวิธีการตรวจวิเคราะห์สารเคมีกำจัดศัตรูพืชในเครื่องดื่มที่ทำจากผักผลไม้ โดยใช้น้ำฝรั่งเป็น representative matrix ครอบคลุมสารกลุ่ม OCs จำนวน 20 ชนิด สารกลุ่ม OPs จำนวน 21 ชนิด และสารกลุ่ม SPs จำนวน 8 ชนิด พบว่าการวิเคราะห์ method blank และ matrix blank ตรวจไม่พบสารรบกวนที่มีพีคใกล้กับสารมาตรฐาน จึงทำให้ไม่เกิดข้อผิดพลาดในการวิเคราะห์ ตรวจวิเคราะห์ด้วยเครื่อง GC ภายใต้สภาวะที่กำหนด พบว่าสารทั้ง 3 กลุ่ม สามารถสร้างกราฟมาตรฐานของสารในช่วงความเข้มข้น 0.025–2.0 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร มีค่า r เท่ากับ 0.990–1.000 ค่า LOD เท่ากับ 0.01 มิลลิกรัมต่อกิโลกรัม ค่า LOQ เท่ากับ 0.03 มิลลิกรัมต่อกิโลกรัม การทดสอบความแม่นยำและความเที่ยงของวิธีวิเคราะห์ในตัวอย่างที่เติมสารมาตรฐาน (spiked sample) ในตัวอย่างน้ำฝรั่งที่ระดับความเข้มข้น 0.03, 0.09 และ 0.15 มิลลิกรัมต่อกิโลกรัม ระดับละ 7 ซ้ำ ผลการทดสอบ ทุกกลุ่มสารมีช่วงความเป็นเส้นตรงและการใช้งานในช่วง 0.03–0.2 มิลลิกรัมต่อกิโลกรัม สารกลุ่ม OCs มีค่า r ในช่วง 0.991–0.999 ความแม่นยำจาก % recovery เฉลี่ยทั้ง 3 ระดับอยู่ในช่วง 84.0–123.3% ความเที่ยงประเมินด้วยค่า HORRAT ในช่วง 0.2–1.3 (ตารางที่ 1) สารกลุ่ม OPs พบว่า มีค่า r ในช่วง 0.990–1.000 ความแม่นยำจาก % recovery เฉลี่ยทั้ง 3 ระดับอยู่ในช่วง 84.0–116.7% ความเที่ยงประเมินด้วยค่า HORRAT ในช่วง 0.1–1.5 (ตารางที่ 2) ผลการทดสอบสารกลุ่ม SPs มีค่า r ในช่วง 0.993–1.000 ความแม่นยำจาก % recovery เฉลี่ยทั้ง 3 ระดับอยู่ในช่วง 81.1–116.7% ความเที่ยงประเมินด้วยค่า HORRAT ในช่วง 0.3–1.4 (ตารางที่ 3)

ตารางที่ 1 ความแม่นยำและความเที่ยงของวิธีวิเคราะห์สารเคมีกำจัดศัตรูพืชกลุ่มออร์กาโนคลอรีน 20 ชนิด วิเคราะห์ระดับละ 7 ซ้ำ

Compounds	Spiked level 0.03 mg/kg			Spiked level 0.09 mg/kg			Spiked level 0.15 mg/kg		
	mean	mean	HORRAT	mean	mean	HORRAT	mean	mean	HORRAT
	result	recovery		result	recovery		result	recovery	
	(mg/kg)	(%)		(mg/kg)	(%)		(mg/kg)	(%)	
1. α -BHC	0.034	113.3	0.5	0.105	116.7	0.9	0.157	104.7	0.5
2. hexachlorobenzene	0.027	90.0	0.5	0.090	100.0	0.6	0.143	95.3	0.5
3. γ -BHC	0.031	103.3	0.5	0.103	114.4	0.6	0.158	105.3	0.4
4. heptachlor	0.031	103.3	0.3	0.106	117.8	0.7	0.150	100.0	0.7
5. aldrin	0.029	96.7	0.8	0.101	112.2	1.2	0.158	105.3	0.5
6. dicofol	0.028	93.3	0.4	0.083	92.2	1.2	0.140	93.3	1.0
7. oxy-chlordane	0.032	106.7	0.3	0.097	107.8	1.0	0.149	99.3	0.5
8. t-heptachlor-epoxide	0.028	93.3	0.3	0.108	120.0	0.8	0.154	102.7	0.4
9. γ -chlordane	0.035	116.7	0.4	0.102	113.3	1.1	0.150	100.0	0.5
10. α -chlordane	0.031	103.3	0.6	0.097	107.8	0.8	0.153	102.0	0.4
11. α -cndosulfan	0.031	103.3	0.6	0.092	102.2	0.8	0.153	102.0	0.4
12. pp'-DDE	0.031	103.3	0.4	0.090	100.0	1.2	0.143	95.3	0.6
13. dieldrin	0.031	103.3	0.4	0.086	95.6	1.0	0.151	100.7	0.4
14. endrin	0.032	106.7	0.8	0.076	84.4	0.6	0.126	84.0	0.4
15. β -endosulfan	0.037	123.3	0.4	0.123	82.6	1.0	0.147	98.0	0.4
16. pp'-DDD	0.032	106.7	0.6	0.099	110.0	1.1	0.155	103.3	0.2
17. endosulfan sulfate	0.036	120.0	0.5	0.102	113.3	1.3	0.158	105.3	0.3
18. pp'-DDT	0.035	116.7	0.5	0.095	105.6	0.9	0.164	109.3	0.5
19. methoxychlor	0.035	116.7	0.3	0.092	102.2	0.9	0.166	110.7	0.5
20. tetradifon	0.034	113.3	0.5	0.089	98.9	0.8	0.166	110.7	0.5

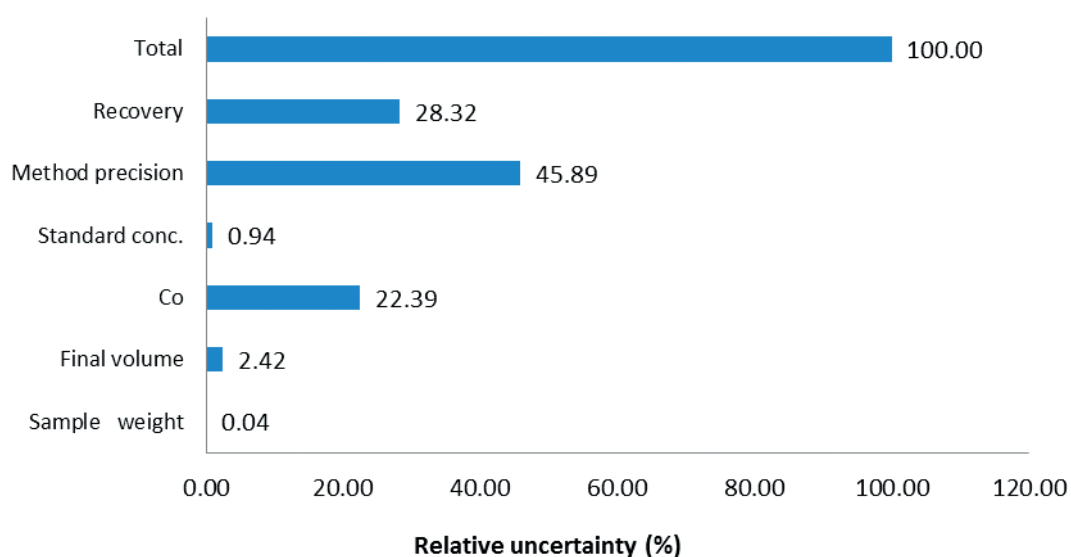
ตารางที่ 2 ความแม่นยำและความเที่ยงของวิธีวิเคราะห์สารเคมีกำจัดศัตรูพืชกลุ่มออร์กาโนฟอส 21 ชนิดวิเคราะห์ระดับละ 7 ซ้ำ

Compounds	Spiked level 0.03 mg/kg			Spiked level 0.09 mg/kg			Spiked level 0.15 mg/kg		
	mean	mean	HORRAT	mean	mean	HORRAT	mean	mean	HORRAT
	result (mg/kg)	recovery (%)		result (mg/kg)	recovery (%)		result (mg/kg)	recovery (%)	
1. dichlorvos	0.032	106.7	0.6	0.105	116.7	0.8	0.148	98.7	0.2
2. methamidophos	0.033	110.0	0.6	0.096	106.7	1.4	0.139	92.7	0.3
3. mevinphos -E & Z	0.035	116.7	0.1	0.097	107.8	1.5	0.151	100.7	0.2
4. acephate	0.034	113.3	0.5	0.100	111.1	1.2	0.144	96.0	0.4
5. omethoate	0.034	113.3	0.6	0.101	112.2	1.0	0.152	101.3	0.2
6. diazinon	0.028	93.3	0.4	0.089	98.9	1.4	0.147	98.0	0.2
7. dicrotophos	0.032	106.7	0.3	0.097	107.8	1.1	0.144	96.0	0.2
8. monocrotophos	0.032	106.7	0.3	0.104	115.6	0.8	0.149	99.3	0.3
9. dimethoate	0.035	116.7	0.4	0.101	112.2	1.1	0.144	96.0	0.3
10. pirimiphos- methyl	0.033	110.0	0.5	0.098	108.9	1.0	0.147	98.0	0.2
11. chlorpyrifos	0.032	106.7	0.5	0.100	111.1	1.1	0.148	98.7	0.2
12. parathion-methyl	0.033	110.0	0.4	0.102	113.3	0.8	0.140	93.3	0.2
13. parathion	0.030	100.0	0.3	0.094	104.4	1.1	0.148	98.7	0.3
14. prothiophos	0.033	110.0	0.8	0.094	104.4	1.1	0.126	84.0	0.4
15. methidathion	0.033	110.0	0.4	0.093	103.3	1.3	0.145	96.7	0.2
16. profenofos	0.033	110.0	0.6	0.096	106.7	1.0	0.153	102.0	0.2
17. ethion	0.033	110.0	0.5	0.095	105.6	1.1	0.156	104.0	0.3
18. triazophos	0.032	106.7	0.5	0.100	111.1	1.2	0.164	109.3	0.5
19. EPN	0.030	100.0	0.3	0.101	112.2	0.9	0.165	110.0	0.5
20. phosalone	0.033	110.0	0.5	0.105	116.7	0.8	0.164	109.3	0.2
21. azinphos-methyl	0.032	106.7	0.3	0.105	116.7	0.8	0.148	98.7	0.9

ตารางที่ 3 ความแม่นยำและความเที่ยงของวิธีวิเคราะห์สารเคมีกำจัดศัตรูพืชกลุ่มสารสังเคราะห์ไพรีทรอยด์ 8 ชนิด วิเคราะห์ ระดับละ 7 ซ้ำ

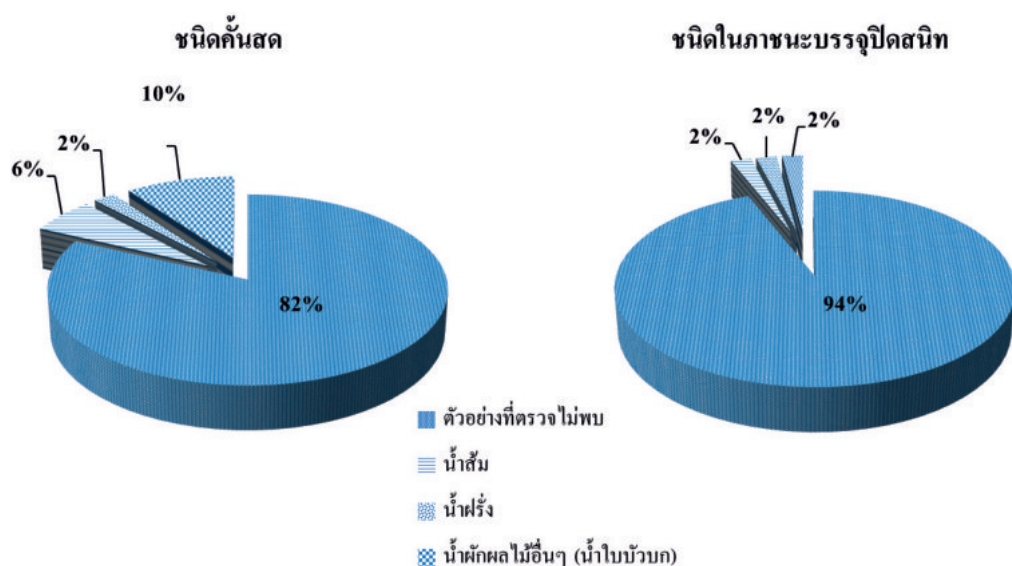
Compounds	Spiked level 0.03 mg/kg			Spiked level 0.09 mg/kg			Spiked level 0.15 mg/kg		
	mean	mean	HORRAT	mean	mean	HORRAT	mean	mean	HORRAT
	result	recovery		result	recovery		result	recovery	
	(mg/kg)	(%)		(mg/kg)	(%)		(mg/kg)	(%)	
1. bifenthrin	0.034	113.3	0.3	0.099	110.0	0.7	0.124	82.7	1.1
2. fenpropathrin	0.031	103.3	0.4	0.096	106.7	0.5	0.142	94.7	0.4
3. lambda-cyhalothrin	0.032	106.7	0.5	0.098	108.9	0.7	0.148	98.7	0.6
4. permethrin	0.026	86.7	0.4	0.094	104.4	1.0	0.145	96.7	1.0
5. cyfluthrin	0.025	83.3	1.3	0.073	81.1	1.3	0.163	108.7	1.4
6. cypermethrin	0.035	116.7	1.1	0.102	113.3	0.8	0.152	101.3	0.8
7. fenvalerate	0.033	110.0	1.0	0.075	83.3	1.0	0.123	82.0	0.7
8. deltamethrin	0.032	106.7	0.3	0.098	108.9	1.1	0.130	86.7	0.7

การประมาณค่าความไม่แน่นอนของการตรวจวิเคราะห์ แสดงให้เห็นถึงสายโซ่การสอบกลับได้ของการวัดนั้น ได้พิจารณาแหล่งความไม่แน่นอนที่จะมีผลกระทบต่อการตรวจวิเคราะห์ ได้แก่ ความไม่แน่นอนจากค่าความเข้มข้นของตัวอย่างที่อ่านได้จาก calibration curve สารมาตรฐาน ความเที่ยงของวิธีเมื่อทำซ้ำ รวมไปถึงประสิทธิภาพของวิธีที่ทำให้เกิด bias เมื่อประมาณค่าความไม่แน่นอนของการรายงานปริมาณที่ตรวจพบสาร chlorpyrifos ในน้ำฝรั่ง ปริมาณ 0.45 มิลลิกรัมต่อกิโลกรัม จะได้ค่าความไม่แน่นอนขยายที่ระดับความเชื่อมั่น 95% ($k=2$) เท่ากับ 0.11 มิลลิกรัมต่อกิโลกรัม สัดส่วนของแหล่งความไม่แน่นอนที่สำคัญที่มีผลต่อการตรวจวิเคราะห์ (ภาพที่ 1)



ภาพที่ 1 แหล่งความไม่แน่นอนที่สำคัญที่มีผลต่อการตรวจวิเคราะห์ สาร chlorpyrifos ในน้ำฝรั่งปริมาณที่ตรวจพบ 0.45 มิลลิกรัมต่อกิโลกรัม

ผลการสำรวจปริมาณการตกค้างของสารเคมีกำจัดศัตรูพืชจำนวน 49 ชนิด ในเครื่องดื่มน้ำผักผลไม้จำนวน 100 ตัวอย่าง เป็นชนิดคั้นสด 50 ตัวอย่าง และชนิดบรรจุในภาชนะปิดสนิท 50 ตัวอย่าง ในเขตกรุงเทพมหานคร และปริมาณผลแยกตามประเภทเครื่องดื่ม พบว่ามีการตกค้างของสารเคมีกำจัดศัตรูพืชในเครื่องดื่มคั้นสด 9 ตัวอย่าง (18%) และเครื่องดื่มภาชนะบรรจุปิดสนิท 3 ตัวอย่าง (6%) ดังรายละเอียดในภาพที่ 2



ภาพที่ 2 สัดส่วนการตรวจพบการตกค้างของสารเคมีกำจัดศัตรูพืชในเครื่องดื่มน้ำผักผลไม้ในเขตกรุงเทพฯ และปริมณฑล ปี พ.ศ. 2558 จำแนกตามชนิดเครื่องดื่ม

น้ำส้มชนิดคั้นสด พบการตกค้างของสาร chlorpyrifos, pirimiphos-methyl, profenofos และ ethion ชนิดละ 1 ตัวอย่าง ปริมาณ 0.05, น้อยกว่า 0.03, 0.08 และน้อยกว่า 0.03 มิลลิกรัมต่อกิโลกรัม ตามลำดับ น้ำส้มในภาชนะบรรจุปิดสนิทพบสาร ethion น้อยกว่า 0.03 มิลลิกรัมต่อกิโลกรัม น้ำฝรั่งชนิดคั้นสดและในภาชนะบรรจุปิดสนิทพบการตกค้างของสาร chlorpyrifos ชนิดละ 1 ตัวอย่าง ปริมาณน้อยกว่า 0.03 และ 0.05 มิลลิกรัมต่อกิโลกรัม ตามลำดับ น้ำแครอทและน้ำทับทิม ไม่พบการตกค้างในเครื่องดื่มทั้ง 2 ประเภท ในส่วนของน้ำผักผลไม้ชนิดอื่นๆ พบการตกค้างในน้ำใบบ๊วกชนิดคั้นสด เป็นสาร chlorpyrifos ตั้งแต่ 0.03 ถึง 0.18 มิลลิกรัมต่อกิโลกรัม 1 ตัวอย่าง พบสาร chlorpyrifos 0.34 และ profenofos 1.22 มิลลิกรัมต่อกิโลกรัม 1 ตัวอย่าง พบสาร chlorpyrifos 0.05, profenofos น้อยกว่า 0.03 และ cypermethrin 0.04 มิลลิกรัมต่อกิโลกรัม 1 ตัวอย่าง และน้ำใบบ๊วกในภาชนะบรรจุปิดสนิท พบสาร chlorpyrifos 0.06 มิลลิกรัมต่อกิโลกรัม 1 ตัวอย่าง (ตารางที่ 4)

ตารางที่ 4 การจำแนกชนิดและปริมาณสารเคมีกำจัดศัตรูพืชที่ตรวจพบในตัวอย่างแต่ละชนิด

ชนิดตัวอย่าง	ชนิดคั้นสด			ชนิดบรรจุในภาชนะปิดสนิท		
	จำนวนทั้งหมด	จำนวนที่ตรวจพบ	ชนิดและปริมาณ (mg/kg)	จำนวนทั้งหมด	จำนวนที่ตรวจพบ	ชนิดและปริมาณ (mg/kg)
น้ำส้ม	10	1	chlorpyrifos 0.05	10	1	ethion < 0.03
		1	ethion < 0.03			
		1	pirimiphos-methyl < 0.03			
		1	profenofos 0.08			
น้ำฝรั่ง	10	1	chlorpyrifos < 0.03	10	1	chlorpyrifos 0.05
น้ำแครรอต	10	ไม่พบ	-	10	ไม่พบ	-
น้ำทับทิม	10	ไม่พบ	-	10	ไม่พบ	-
น้ำผักผลไม้อื่นๆ						-
- น้ำฟักข้าว	1	ไม่พบ	-	1	ไม่พบ	-
- น้ำมะเขือเทศ	2	ไม่พบ	-	2	ไม่พบ	-
- น้ำองุ่น	2	ไม่พบ	-	2	ไม่พบ	-
- น้ำใบบับวก	5	3	chlorpyrifos 0.03-0.18	5	1	chlorpyrifos 0.06
		1	chlorpyrifos 0.34 และ profenofos 1.22			
		1	chlorpyrifos 0.05 profenofos < 0.03 และ cypermethrin 0.04			

หมายเหตุ : LOD เท่ากับ 0.01 mg/kg และ LOQ เท่ากับ 0.03 mg/kg

วิจารณ์

จากการศึกษาครั้งนี้พบว่าวิธี AOAC official method 2007.01 หรือ QuEChERS (Quick, Easy, Effective, Rugged and Safe)⁽⁸⁾ มีข้อบ่งชี้ของการตรวจวิเคราะห์สารเคมีกำจัดศัตรูพืชได้ 29 ชนิด ใน matrix ผักผลไม้ ได้แก่ ผักกาดหอม องุ่น และส้ม และตรวจวิเคราะห์ด้วยเครื่องแก๊สโครมาโทกราฟี แมสสเปกโตรมิเตอร์ (GC/MS) ซึ่งสกัดตัวอย่างด้วย acetonitrile และการทำ liquid-liquid partition ใช้ MgSO_4 4 กรัม ซึ่งเหมาะกับ matrix ผักผลไม้ แต่วิธีที่พัฒนาขึ้นนี้ได้ปรับปรุงโดยใช้ วิธีของ Anastassiades M. และคณะ⁽⁹⁾ เพิ่มการเติม NaCl 1 กรัม ซึ่งเหมาะสมกับ matrix เครื่องดื่มที่ทำจากผักผลไม้ โดยใช้หลักการ salting out เพิ่มเข้ามาในขั้นตอนการทำ liquid-liquid partition เนื่องจาก matrix เป็นเครื่องดื่มที่ทำจากผักผลไม้ ซึ่งมีน้ำมาก จะทำให้ปลด co-extraction ของสารเคมีกำจัดศัตรูพืชที่มีขั้ว (polar pesticides) ทำให้การแยกระหว่างชั้นน้ำ และชั้น pesticides ดีขึ้น คือแยกตกตะกอนออกมาทำให้เพิ่มประสิทธิภาพการสกัด (% recovery) สูงขึ้น และปรับเปลี่ยนมาใช้กับเครื่อง GC- μ ECD detector และ GC-FPD detector ซึ่งเป็นเครื่องมือพื้นฐานที่มีอยู่ในห้องปฏิบัติการ โดยมีข้อบ่งชี้ของการตรวจวิเคราะห์เป็นเครื่องดื่มจากผักผลไม้ โดยใช้น้ำฝรั่งเป็นตัวแทนของตัวอย่าง และเมื่อนำมาขยายทำการตรวจวิเคราะห์ในตัวอย่างเครื่องดื่ม ได้แก่ น้ำฝรั่ง น้ำส้ม น้ำแครรอต น้ำทับทิม และน้ำผักผลไม้อื่นๆ แล้ว สามารถให้ประสิทธิภาพการสกัดอยู่ในเกณฑ์การยอมรับ ไม่แตกต่างจากน้ำฝรั่ง ทำการตรวจวิเคราะห์

เครื่องต้มทั้งชนิดคั้นสดและบรรจุในภาชนะปิดสนิท โดยทำการสุ่มเก็บตัวอย่างในเขตกรุงเทพมหานครและปริมณฑล ในปี พ.ศ. 2558 สามารถตรวจวิเคราะห์สารเคมีป้องกันกำจัดศัตรูพืชในครั้งเดียวกัน (multiresidue method) รวม 49 ชนิด ได้แก่ OCs 20 ชนิด กลุ่ม OPs 21 ชนิด และกลุ่ม SPs 8 ชนิด ใช้สารเคมีและตัวทำละลายอินทรีย์ ในขั้นตอนการสกัดปริมาณน้อย สามารถสกัดได้จำนวนตัวอย่างมากกว่าวิธีเดิมถึง 4 เท่าเป็นวิธีที่รวดเร็ว ง่าย ประหยัด ค่าใช้จ่าย มีประสิทธิภาพ คงทน และปลอดภัยต่อผู้ทำการวิเคราะห์ เมื่อเทียบกับการสกัดแบบเดิม โดยวิธีสกัดแบบเดิมใช้ *n*-hexane, acetone และ dichloromethane เป็นตัวทำละลายอินทรีย์ในขั้นตอนการสกัด ต่อ 1 ตัวอย่าง ใช้ในปริมาณมาก ใช้เวลายาวนาน waste solvent ที่เกิดจากการสกัดที่กำจัดยาก โดยวิธีที่ปรับปรุงนี้มีขีดจำกัดของการตรวจพบสารเคมีกำจัดศัตรูพืชทั้ง 3 กลุ่ม มีค่าเท่ากับ 0.01 มิลลิกรัมต่อกิโลกรัม ขีดจำกัดของการวัดเชิงปริมาณ มีค่าเท่ากับ 0.03 มิลลิกรัมต่อกิโลกรัม โดยกลุ่ม OCs, OPs และกลุ่ม SPs มีช่วงความเป็นเส้นตรงและช่วงการใช้งานของการวิเคราะห์ตั้งแต่ 0.03–0.2 มิลลิกรัมต่อกิโลกรัม ในการฉีดสารสกัดตัวอย่างผักผลไม้สด โดยปกติความเข้มข้นสุดท้ายที่ฉีดเข้าเครื่อง GC คือ 1 กรัมต่อมิลลิลิตร แต่เนื่องจากสารสกัดเครื่องต้มที่ทำจากผักผลไม้มีความเจือจางกว่า ดังนั้นการฉีดสารสกัดที่มีความเข้มข้น 1 กรัมต่อมิลลิลิตร จะทำให้เห็นสัญญาณของสาร pesticides ไม่ครบทุกชนิด จึงทำการ concentrated สารสกัดให้มีความเข้มข้น 5 กรัมต่อมิลลิลิตรก่อนฉีด เป็นความเข้มข้นที่เหมาะสมที่จะเห็นสัญญาณของสารทุกชนิด มีการควบคุมคุณภาพภายใน (IQC) ทั้ง method blank, duplicate และ spiked sample ในทุกชนิดตัวอย่างเครื่องต้ม โดย recovery ที่ระดับ 0.2 มิลลิกรัมต่อกิโลกรัม อยู่ในช่วง 85.5–110.2% ในกรณีที่มีการตรวจพบการตกค้างมีการตรวจยืนยันผลการตรวจวิเคราะห์ด้วยเครื่อง GC-MS/MS ทำให้ผลการวิเคราะห์ในการระบุชนิดสารมีความถูกต้อง มั่นใจในคุณภาพผลการวิเคราะห์ยิ่งขึ้น นอกจากนั้นวัตถุประสงค์ของการตรวจวิเคราะห์ให้ถูกต้องแม่นยำ ผู้วิเคราะห์ยังต้องพิจารณาและหาวิธีลดค่าความไม่แน่นอนจากแหล่งที่ส่งผลกระทบต่อ การวิเคราะห์ด้วย เช่น การเพิ่มจำนวนซ้ำของการวิเคราะห์ เพื่อลดความไม่แน่นอนจากการทำซ้ำ ในการตรวจวิเคราะห์ ด้วยเทคนิค GC มีข้อจำกัด คือ ในการฉีดสารตัวอย่างที่สกัดด้วยวิธีที่พัฒนาขึ้นนี้ เนื่องจากเป็นวิธี multiresidue มีการลดขั้นตอนการสกัด ระบบจึงมีพีคครบถ้วน ต้องเปลี่ยนเฟสจากตัวทำละลายที่อยู่ในรูปของ acetonitrile มาเป็นสารละลายผสมที่ไม่มีขั้วและมีขั้วระหว่าง *n*-hexane : ethyl acetate (3:1) ก่อนฉีดเข้าเครื่อง GC เนื่องจาก acetonitrile มีผลต่อ analytical phase column ของเครื่อง GC ทำให้ resolution ของ column ลดลง เมื่อใช้ไปเป็นเวลานาน ต้องทำการบำรุงรักษาเครื่องมืออยู่บ่อยครั้ง โดยทำความสะอาดหรือเปลี่ยน syringe, inlet liner และ septum สม่ำเสมอทุก 100–150 ของจำนวนการฉีดสาร รวมถึงการตัดหรือเปลี่ยน column เพราะจะเกิดการสกปรก ได้ง่ายทำให้ส่งผลต่อการวิเคราะห์ ในอนาคตจะขยายขอบข่ายการตรวจวิเคราะห์ของชนิดสารเคมีป้องกันกำจัด ศัตรูพืชให้จำนวนสารเพิ่มมากขึ้น และจะปรับเปลี่ยนมาใช้กับเครื่องมือ GC-MS/MS หรือ LC-MS/MS ซึ่งเป็น เครื่องมือวิเคราะห์ที่มีประสิทธิภาพสูง มีความถูกต้องแม่นยำสูง จากการสำรวจปริมาณการตกค้างของสารเคมีกำจัดศัตรูพืช ในตัวอย่างเครื่องต้มที่ทำจากผักผลไม้ในเขตกรุงเทพฯ และปริมณฑล พบว่าการตกค้างมากที่สุดในกลุ่มออร์กาโน ฟอสฟอรัส รองลงมาคือกลุ่มสารสังเคราะห์ไพรีทรอยด์ และไม่พบการตกค้างในกลุ่มออร์กาโนคลอรีน จากประกาศ กระทรวงสาธารณสุข เรื่องอาหารที่มีสารพิษตกค้าง ฉบับที่ 387 พ.ศ. 2560⁽¹⁰⁾ ซึ่งมีการกำหนดปริมาณการตกค้างสูงสุด (Maximum Residue Limits, MRLs) ในวัตถุดิบสินค้าทางการเกษตร ได้แก่ ส้ม โดยสาร cypermethrin, profenofos และ ethion มีค่ากำหนดเท่ากับ 0.3, 0.1 และ 2 มิลลิกรัมต่อกิโลกรัม ตามลำดับ ซึ่งสะท้อนให้เห็นว่า มีการตรวจพบสารตกค้างจากการใช้ในผลส้มและปนเปื้อนมาในน้ำส้มได้ อย่างไรก็ตามมีการตรวจพบสารที่ไม่ได้ ระบุค่า MRLs เช่น chlorpyrifos และ pirimiphos-methyl ใน ส้ม ฝรั่ง และใบبابวก แต่ตรวจพบการตกค้าง ของสารเคมีกำจัดศัตรูพืชในตัวอย่างน้ำส้มและน้ำฝรั่งในปริมาณต่ำ ยกเว้นตัวอย่างน้ำใบبابวกซึ่งมีการรับประทานกัน อย่างแพร่หลายทั้งชนิดสดและน้ำคั้นจากใบبابวก เพราะมีสรรพคุณสามารถช่วยแก้ช้ำใน มีฤทธิ์สมานแผลและลดการ

อีกเสบต่าง ๆ⁽¹¹⁾ เป็นต้น ผลการศึกษาครั้งนี้ พบสาร profenofos มีการตกค้างสูงสุดในน้ำใบบวบ คือ 1.22 มิลลิกรัม ต่อ กิโลกรัม หากนำไปประเมินความเสี่ยงของการบริโภคน้ำใบบวบดังกล่าว โดยการเปรียบเทียบค่า Acceptable Daily Intake (ADI) คือปริมาณสูงสุดที่ร่างกายสามารถรับได้ต่อวัน สาร profenofos มีค่า ADI เท่ากับ 0.03 มิลลิกรัม ต่อ กิโลกรัม body weight⁽¹²⁾ จะพบว่าถ้าเป็นผู้ใหญ่ที่น้ำหนักตัวเท่ากับ 60 กิโลกรัม จะต้องดื่มน้ำใบบวบมากกว่า 6 แก้ว และถ้าเป็นเด็กน้ำหนักตัว 20 กิโลกรัม จะต้องดื่มน้ำมากกว่า 3 แก้ว (เมื่อคิด 1 แก้ว เท่ากับ 250 มิลลิตร) จึงจะได้รับ สาร profenofos มากกว่าค่า ADI จากการตรวจวิเคราะห์ปริมาณการตกค้างสารเคมีกำจัดศัตรูพืชในน้ำผักผลไม้ พบว่าเครื่องดื่มที่ผ่านกระบวนการผลิตและบรรจุในภาชนะบรรจุปิดสนิทโดยส่วนใหญ่พบอัตราการตกค้างน้อยกว่า เครื่องดื่มคั้นสดที่มีจำหน่ายตามท้องตลาด มีข้อสังเกตว่าเครื่องดื่มที่ผ่านกระบวนการผลิตและบรรจุในภาชนะบรรจุ ปิดสนิทหลากหลายยี่ห้อว่า “บรรจุด้วยระบบปลอดเชื้อ”⁽¹³⁾ (aseptic packages) ในภาวะ Ultra High Temperature (UHT) คือฆ่าเชื้อโดยใช้ความร้อนที่อุณหภูมิสูง ซึ่งอาจส่งผลทำให้สารเคมีกำจัดศัตรูพืชบางชนิด สลายตัวจึงพบการตกค้างต่ำ แต่ก็ยังพบว่าการตกค้างของสาร ethion และ chlorpyrifos อยู่ ในปี พ.ศ. 2557 มีการนำเข้าสาร chlorpyrifos มากกว่า 2 ล้านกิโลกรัม⁽¹⁴⁾ และยังพบว่าสาร chlorpyrifos นั้นเป็นสารเคมีกำจัดศัตรูพืช ที่นิยมใช้กันแพร่หลายที่สุดในประเทศไทย ถึงแม้ว่า สารกลุ่ม OPs โดยส่วนใหญ่จะสามารถสลายตัวได้เองตาม สภาพแวดล้อมที่ระยะเวลาประมาณ 24 ชั่วโมงถึง 1 สัปดาห์⁽¹⁵⁾ แต่ถ้าใช้ในปริมาณมากและติดต่อกันเป็นเวลานาน ก็สามารถตกค้างและสะสมในผลผลิตได้ จากข้อมูลการศึกษาสารเคมีป้องกันกำจัดศัตรูพืชตกค้างในผลส้มของสำนัก คุณภาพและความปลอดภัยอาหาร ได้มีการเก็บตัวอย่างส้ม ทั้งที่ปลูกภายในประเทศและนำเข้าจากต่างประเทศ รวมทั้งหมด 203 ตัวอย่างในช่วงเดือนตุลาคม 2555 ถึงเดือนกันยายน 2557 ที่ผ่านมามีการตกค้างของสาร ethion ถึง 82 ตัวอย่าง (40.4%) และสาร chlorpyrifos 94 ตัวอย่าง (46.3%)⁽¹⁶⁾ ซึ่งมีความสอดคล้องกับข้อมูลการตกค้าง ในเครื่องดื่มที่ทำจากผักผลไม้ จะเห็นว่าเครื่องดื่มน้ำผักผลไม้ชนิดคั้นสดพบอัตราการตกค้างมากกว่าเครื่องดื่ม ในภาชนะบรรจุปิดสนิท ทั้งนี้ในเครื่องดื่มชนิดคั้นสดโดยส่วนใหญ่มักจะคั้นทั้งเปลือก ซึ่งผู้บริโภคไม่ทราบว่า ผักผลไม้ที่นำมาคั้นเพื่อจำหน่ายได้ผ่านกระบวนการล้างทำความสะอาดแล้วหรือไม่ ดังนั้นการรับประทานผักผลไม้ แบบหลากหลายหมุนเวียน ไม่รับประทานชนิดเดิมติดต่อกันเป็นเวลานาน เป็นการลดการสะสมของปริมาณสารเคมี กำจัดศัตรูพืชที่จะเข้าสู่ร่างกายได้

สรุป

วิธีที่พัฒนาขึ้นจาก AOAC official method 2007.01 และวิธีของ Anastassiades M. และคณะ สามารถใช้ในการตรวจวิเคราะห์สารเคมีป้องกันกำจัดศัตรูพืช 49 ชนิดได้ ในเครื่องดื่มที่ทำจากผักผลไม้ ประกอบด้วย สารกลุ่มออร์กาโนคลอรีน 20 ชนิด กลุ่มออร์กาโนฟอสฟอรัส 21 ชนิด และกลุ่มสารสังเคราะห์ไพรีทรอยด์ 8 ชนิด วิธีดังกล่าวเป็นวิธีที่เหมาะสมกับการใช้งานและให้ผลผ่านเกณฑ์ยอมรับ ทำให้ผลการทดสอบถูกต้อง เชื่อถือได้ และได้แนววิธีที่พัฒนานี้มาสำรวจปริมาณการตกค้างของสารเคมีป้องกันกำจัดศัตรูพืชในเครื่องดื่มที่ทำจากผักผลไม้ พบว่าเครื่องดื่มทั้งชนิดคั้นสดและชนิดที่บรรจุในภาชนะปิดสนิทยังมีความปลอดภัยต่อผู้บริโภค

กิตติกรรมประกาศ

ขอขอบคุณ นางวิชาดา จงมีวาสนา นักวิทยาศาสตร์การแพทย์ชำนาญการพิเศษ สำนักคุณภาพ และความปลอดภัยอาหาร ที่ให้ข้อเสนอแนะในการทำวิจัย และนายธรณิศร ไซยมงคล นักวิทยาศาสตร์การแพทย์ ที่ช่วยในขั้นตอนการเก็บตัวอย่าง เตรียมตัวอย่าง และขั้นตอนการสกัดในการทำวิจัยครั้งนี้

เอกสารอ้างอิง

1. สถาบันโภชนาการ มหาวิทยาลัยมหิดล. ผักและผลไม้ กินเท่าไรในแต่ละวันให้ได้ใยอาหารต่อสุขภาพ. กรุงเทพฯ : สำนักงานกองทุนสนับสนุนการส่งเสริมสุขภาพ (สสส.); 2557.
2. แสงโถม ศิริพานิช. สถานการณ์และผลต่อสุขภาพจากสารเคมีป้องกันกำจัดศัตรูพืช ปี พ.ศ. 2556. รายงานการเฝ้าระวังทางระบาดวิทยาประจำสัปดาห์ 2556; 44: 689-92.
3. จอมสุตา อินทรกุล, ไกรชาติ ตันตระการอาภา, พงษ์ธร ชาดิพิทักษ์, ปัญจพร อินบำรุง, พรพิมล ประดิษฐ์, เอกพงษ์ ณ น่าน. ผลกระทบต่อสุขภาพของเจ้าหน้าที่องค์กรปกครองส่วนท้องถิ่นที่มีการใช้สารเคมีทำลายยุงพาหะนำโรคไข้เลือดออกในพื้นที่สำนักงานป้องกันควบคุมโรคที่ 4 จังหวัดราชบุรี. วารสารควบคุมโรค 2561; 44(1): 77-91.
4. Makovi CM, McMahon BM, editors. Pesticide analytical manual volume I: multiresidue methods. 3rd ed. Washington, DC.: U.S. Department of Health and Human Services; 1999.
5. How should methods be validated?. In: Eurachem Guide. The fitness for purpose of analytical methods: a laboratory guide to method validation and related topics. United Kingdom: LGC (Teddington) Ltd; 1998. p. 5-25.
6. SANTE/11945/2015. Guidance document on analytical quality control and method validation procedures for pesticides residues and analysis in food and feed. United Kingdom: European Commission; 2016.
7. Ellison SLR, Roesslein M, Williams A, editors. EURACHEM/CITAC Guide: Quantifying uncertainty in analytical measurement. 2nd ed. United Kingdom: EURACHEM; 2000.
8. AOAC Official Method 2007.01. Pesticide residues in foods by acetonitrile extraction and partitioning with Magnesium Sulfate. [Online]. 2007. [9 screens]. Available from: URL: http://www.weber.hu/Downloads/SPE/QuEChERS/AOAC_2007_01.pdf.
9. Anastassiades M, Lehotay SJ, Stajnbaher D, Schenck FJ. Fast and easy multiresidue method employing acetonitrile extraction/partitioning and “dispersive solid-phase extraction” for the determination of pesticides residues in produce. J AOAC Int 2003; 86(2): 412-31.
10. พระราชบัญญัติอาหาร พ.ศ. 2522 ประกาศกระทรวงสาธารณสุข เลขที่ 387 (พ.ศ. 2560) เรื่องอาหารที่มีสารพิษตกค้าง. ราชกิจจานุเบกษา เล่ม 134 ตอนพิเศษ 228 ง (วันที่ 18 กันยายน 2560).
11. จันทรพร ทองเอกแก้ว. บั๊วก : สมุนไพรมากคุณประโยชน์. วารสารวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยี มหาวิทยาลัยอุบลราชธานี 2556; 15(3): 70-5.
12. Agenda Item 6. In: Joint FAO/WHO Food Standards Programme. 48th session of Codex Committee on Pesticide Residues Chongqing, China. 25-30 April 2016. [Online]. 2016. [29 screens]. Available from: URL: https://ec.europa.eu/food/sites/food/files/safety/docs/codex_ccpr_48_agenda-item-06.pdf.
13. พระราชบัญญัติอาหาร พ.ศ. 2522 ประกาศกระทรวงสาธารณสุข ฉบับที่ 355 (พ.ศ. 2556) เรื่องอาหารในภาชนะบรรจุที่ปิดสนิท. ราชกิจจานุเบกษา เล่ม 130 ตอนพิเศษ 87 ง (วันที่ 24 กรกฎาคม 2556).
14. สำนักควบคุมพืชและวัสดุการเกษตร กรมวิชาการเกษตร. รายงานสรุปการนำเข้าวัตถุดิบอันตรายทางการเกษตร ปี พ.ศ. 2557. [ออนไลน์]. 2558; [สืบค้น 27 ก.ค. 2561]; [8 หน้า]. เข้าถึงได้ที่ : URL: http://www.thaipan.org/sites/default/files/file_info/StatisticsHazardName57.pdf.
15. สุทธิรักษ์ ผลเจริญ. สารเคมีตกค้างทางการเกษตร (ตอนที่ 1). ระบบการจัดการองค์ความรู้ มหาวิทยาลัยแม่โจ้-ชุมพร. [ออนไลน์]. 2560; [สืบค้น 27 ก.ค. 2561]; [1 หน้า]. เข้าถึงได้ที่ : URL: <http://www.chumphon2.mju.ac.th/km/?p=471>.
16. ทองสุข ปายะนันท์, จิตผกา สันติธร, วิชาดา จงมีวาสนา, รัตยากร ศรีโคตร, วีรวุฒิ วิทยานันท์. การศึกษาสารเคมีป้องกันกำจัดศัตรูพืชตกค้างในผลส้ม. ว. กรมวิทย์ พ 2558; 57(4): 391-400.

Development of An Analytical Method for Pesticide Residues in Fruit or Vegetable Juices

Rattiyakorn Srikote and Weerawut Wittayanan

Bureau of quality and safety of Food, Department of Medical Sciences, Tiwanond, Road, Nonthaburi 11000 Thailand

Abstract The method for analysis of 49 pesticides including Organochlorine compounds (OCs), Organophosphorus compounds (OPs) and Synthetic Pyrethroids (SPs) in fruit or vegetable juices was developed. The AOAC Official Method 2007.01 and the method of Anastassiades M. et al have been modified by using salting out technique in extraction step to improve the efficiency of extraction. Pesticide residues were detected and quantified by GC- μ ECD and GC-FPD. Guava juice was used as representative matrix for method validation. Performance characteristics of a developed method defined by Limit of detection was 0.01 mg/kg and Limit of quantitation was 0.03 mg/kg. The method showed linearity of working range for all pesticides between 0.03-0.2 mg/kg. The accuracy expressed as percentage of recovery and the precision expressed as HORRAT were 64.2-118.6% and 0.1-1.3, respectively. The validation data showed that the developed method was fit for purpose and can be used in routine work. To monitor pesticide residues in beverages made from fruits and vegetables sold in Bangkok and vicinity area, 100 samples of orange juice, guava juice, pomegranate juice, carrot juice and other vegetable juices were collected and analyzed. Among those pesticides analyzed, the OPs was most frequently detected which were chlorpyrifos, ethion, pirimiphos-methyl and profenofos were found in the range of less than 0.03-1.22 mg/kg. Only cypermethrin in SPs was found with the residual level of 0.04 mg/kg. OCs residue was, however, not detected.

Keywords: pesticide residues, multi-residue analysis, juices, gas chromatography