3. ผลการทดลองและวิจารณ์ผลการทดลอง

1. ผลการศึกษาหาสภาวะที่เหมาะสมของเครื่องแก๊สโครมาโตกราฟ ซึ่งมีตัวตรวจวัดเป็นไนโตรเจน ฟอสฟอรัส (GC-NPD)

1.1 ผลการศึกษาอัตราการไหลของแก๊สพาที่เหมาะสม (Optimum flow rate)

ผลการทดลอง ศึกษาอัตราการไหลของแก๊สพาที่เหมาะสม แสดงดังรูป Figure2 จากทฤษฎี Van Demter Plot ต้องเลือกอัตราการไหลของแก๊สพา (flow rate) ที่ให้ค่า High Equivalent to a Theoretical Plate (HETP) ต่ำที่สุด เพื่อให้ได้ประสิทธิภาพในการแยกดีที่สุด จากผลการทดลองพบว่าที่อัตราการไหลของแก๊สพา 0.8 และ 1.2 มิลลิลิตรต่อนาที ให้ค่า HETP ของสารออร์กาโนฟอสฟอรัสทุกชนิดต่ำที่สุดยกเว้นไดคลอวอส แต่เนื่องจากงานวิจัยนี้เป็นการวิเคราะห์หาสารออร์กาโนฟอสฟอรัสทั้ง 6 ชนิดพร้อมๆกัน จากการทดสอบทางสถิติโดยใช้ t-test เปรียบเทียบค่า HETP ที่อัตราการไหลของแก๊สพา 0.8 และ 1.2 มิลลิลิตรต่อนาที พบว่าให้ค่าไม่แตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญ ดังนั้นจึงเลือกอัตราการไหลของแก๊สพาที่ 1.2 มิลลิลิตรต่อนาทีเป็นสภาวะที่เหมาะสม

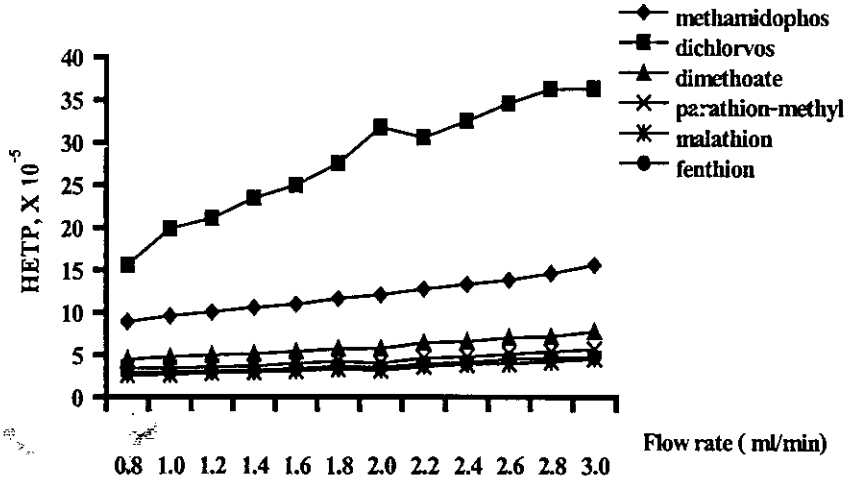

Figure 2. The van Deemter plot of six organophosphurus pesticides

1.2 ผลการศึกษาการทำโปรแกรมอุณหภูมิของตู้อบ (Optimum oven temperature)

อุณหภูมิของคอลัมน์เป็นปัจจัยสำคัญอย่างหนึ่งสำหรับการวิเคราะห์ด้วยเทคนิคแก๊สโครมาโตกราฟี สำหรับการทำโปรแกรมอุณหภูมิคอลัมน์เพื่อให้การแยกสารเคมีกำจัดศัตรูพืชชนิดออร์กาโนฟอสฟอรัสทั้ง 6 สารประกอบดีที่สุด ในระยะเวลาที่น้อยที่สุด

<u>ขั้นตอนที่ 1 อุณหภูมิเริ่มต้น</u>

ผลจากการหาสภาวะที่เหมาะสมสำหรับการทำโปรแกรมอุณหภูมิแสดงดังรูป Figure 3 จากกราฟแสดงให้เห็นว่าเมื่ออุณหภูมิเพิ่มขึ้นจาก 40 - 50 องศาเซลเซียส ค่าการตอบสนองของสารเคมีกำจัดแมลงศัตรูพืชชนิดออร์กาโนฟอสฟอรัสทั้ง 6 สารประกอบให้ค่าการตอบสนองลดลงและเมื่อเพิ่มอุณหภูมิเป็น 60-70 องศาเซลเซียส สารประกอบทั้ง 6 ชนิดให้ค่าการตอบสนองที่เพิ่มขึ้นด้วยแต่เมื่อเพิ่มอุณหภูมิต่อไปอีกจาก 80-100 องศาเซลเซียส ค่าการตอบสนองของสารประกอบทั้ง 6 ชนิดลดลง ทั้งนี้เนื่องจากอุณหภูมิที่ 70 องศาเซลเซียสเป็นค่าที่เหมาะใน

การควบแน่นกลับมาอีกครั้งหนึ่งของสารเคมีกำจัดแมลงทั้ง 6 ชนิดในคอลัมน์ ดังนั้นจึงเลือกอุณหภูมิที่ 70 องศาเซลเซียส เป็นอุณหภูมิเริ่มต้นที่เหมาะสม

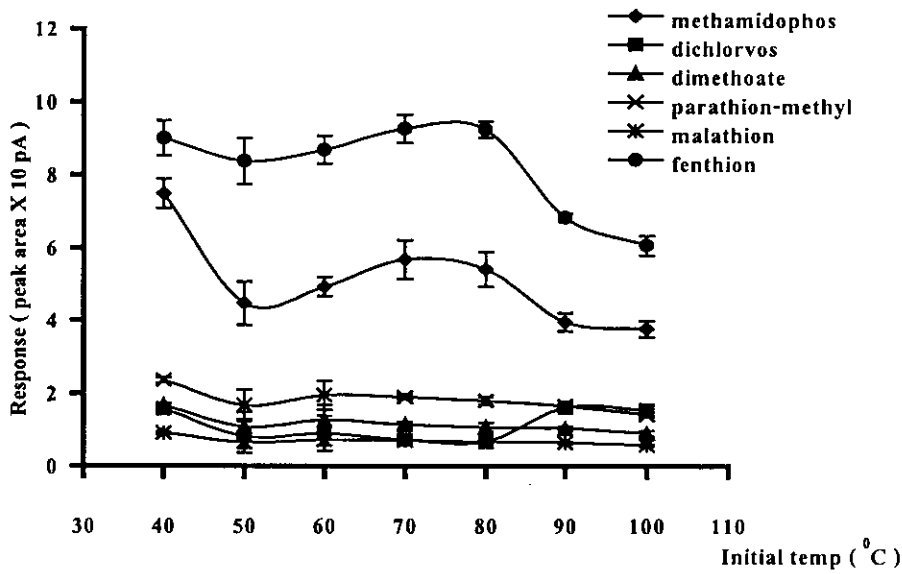

Figure 3. The responses of six organophosphorus pesticides at various initial temperatures

<u>ขั้นตอนที่ 2 ระยะเวลาที่อุณหภูมิเริ่มต้นคงที่</u>

ผลการทดลองพบว่า เมื่อเพิ่มระยะเวลาในการคงอุณหภูมิไว้ ค่าการตอบสนองของสารกำจัดแมลงศัตรูพืชชนิดออร์กาโนฟอสฟอรัสทั้ง 6 สารประกอบ จะเพิ่มขึ้นอย่างมีนัยสำคัญด้วย แต่เมื่อเปรียบเทียบระยะเวลาที่อุณหภูมิเริ่มต้นคงที่ที่เวลา 2 นาที และ 3 นาทีพบว่าค่าการตอบสนองไม่ได้แตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญ อีกทั้งที่เวลา 2 นาที ยังเป็นการลดเวลาในการวิเคราะห์อีกด้วย ดังนั้นจึงเลือกระยะเวลาอุณหภูมิเริ่มต้นคงที่ 2 นาที เป็นสภาวะที่เหมาะสม แสดงดังรูป Figure 4

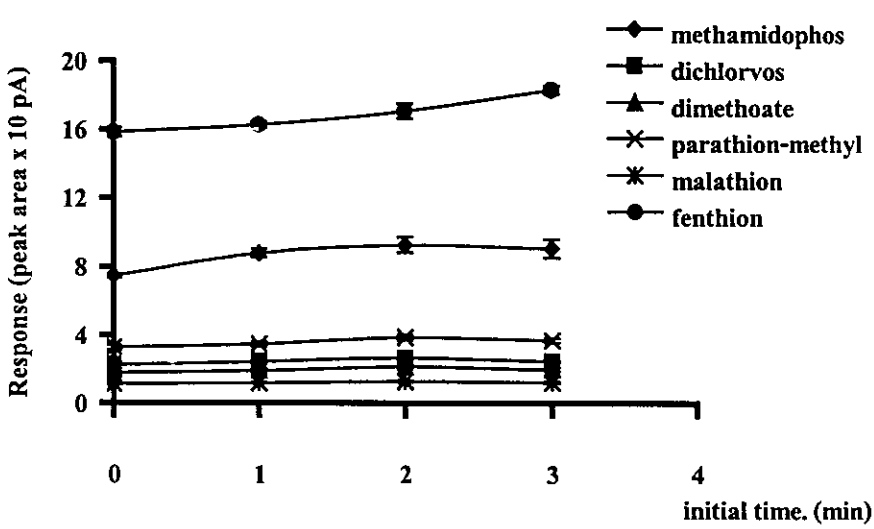

Figure 4. The responses of six organophosphorus pesticides at various hold times at initial temperature

ขั้นตอนที่ 3 อัตราการเพิ่มอุณหภูมิ

ผลการทดลองหลังจากคงอุณหภูมิเริ่มต้นที่ 70 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 2 นาที จะทำการโปรแกรมอุณหภูมิเพิ่มขึ้นถึงอุณหภูมิ 250 องศาเซลเซียส ด้วยอัตราการเพิ่มอุณหภูมิต่างๆกัน แสดงดังรูป Figure 5 พบว่าที่อัตราการเพิ่มอุณหภูมิ 9 องศาเซลเซียสต่อนาที ให้ค่าการตอบสนองดีที่สุดและให้ค่าเบี่ยงเบนมาตรฐานต่ำที่สุดเมื่อเทียบกับอัตราการเพิ่มอุณหภูมิอื่น ดังนั้นจึงเลือก อัตราการเพิ่มอุณหภูมิ 9 องศาเซลเซียสต่อนาที เป็นสภาวะที่เหมาะสม

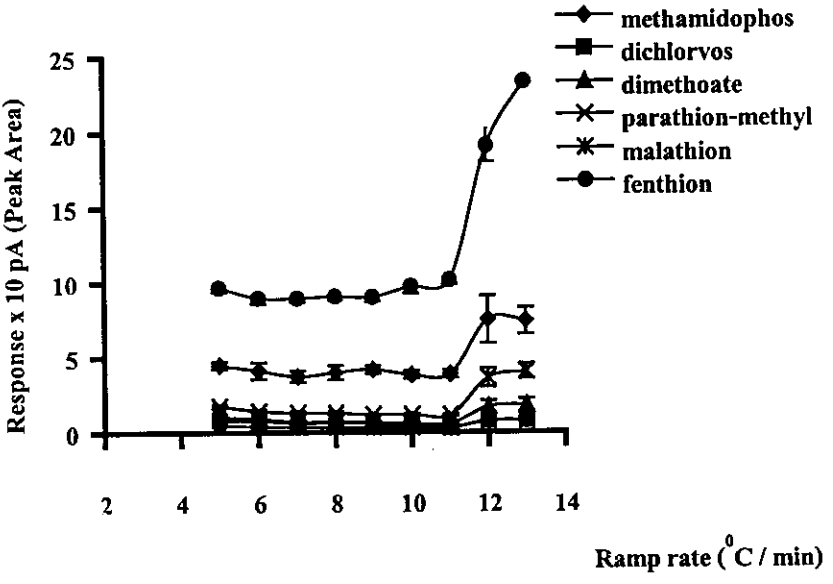

Figure 5. The responses of six organophosphorus pesticides at various ramp rates

ขั้นตอนที่ 4 ศึกษาอุณหภูมิสุดท้าย

ผลการทดลองหาสภาวะที่เหมาะสมของอุณหภูมิสุดท้ายแสดงดังรูป Figure 6 ผลการทดลองพบว่าเมื่อมีการเพิ่มอุณหภูมิสุดท้ายตั้งแต่ 220 - 300 องศาเซลเซียส จะให้ค่าการตอบสนองที่ลดลง โดยที่อุณหภูมิสุดท้ายที่ 220 และ 250 องศาเซลเซียสจะให้ค่าการตอบสนองดีที่สุดเป็นลำดับที่ 1 และ 2 แต่ที่อุณหภูมิ 220 องศาเซลเซียส จะให้ค่าเบี่ยงเบนมาตรฐานมีค่ามากเมื่อเทียบกับอุณหภูมิ 250 องศาเซลเซียส ดังนั้นจึงเลือกอุณหภูมิสุดท้ายที่ 250 องศาเซลเซียส ที่ยังคงให้ค่าการตอบสนองที่สูงและให้ค่าเบี่ยงเบนมาตรฐานที่มีค่าน้อย เป็นสภาวะที่เหมาะสม

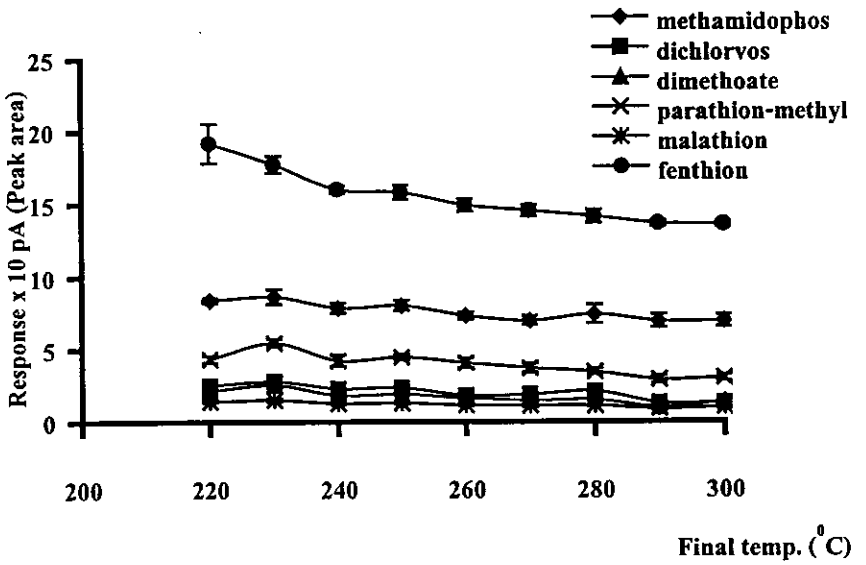

Figure 6. The responses of six organophosphorus pesticides at various column temperatures at final temperature

<u>ขั้นตอนที่ 5 ศึกษาระยะเวลาที่อุณหภูมิสุดท้ายคงที่</u>

ผลการทดลองหาสภาวะที่เหมาะสมของระยะเวลาที่อุณหภูมิสุดท้ายคงที่ แสดงดังรูป Figure 7 ผลการทดลองพบว่าเมื่อมีการเพิ่มระยะเวลาที่อุณหภูมิสุดท้ายคงที่ตั้งแต่ 0 – 6 นาที ให้ค่าการตอบสนองที่ไม่มีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ดังนั้นจึงเลือกระยะเวลาที่อุณหภูมิสุดท้ายคงที่ เป็น 0 นาที คือไม่มีการ คงอุณหภูมิสุดท้ายไว้ เป็นสภาวะที่เหมาะสม

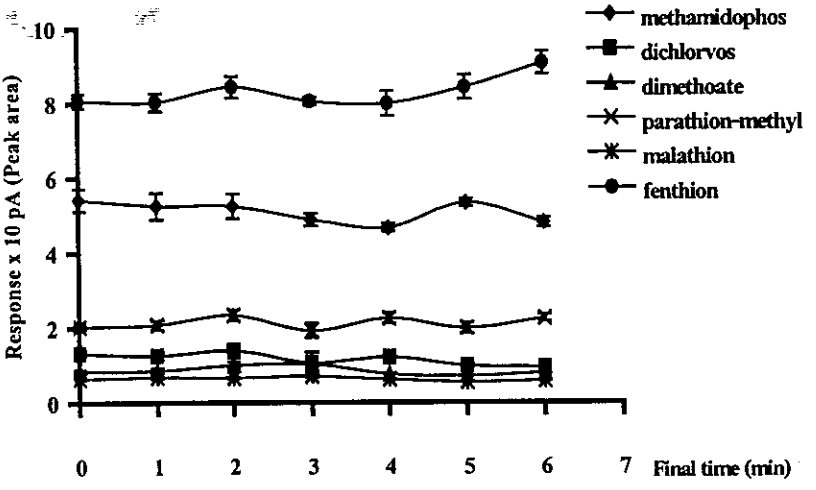

Figure 7. The responses of six organophosphorus pesticides at various hold times at final temperature

สรุปสภาวะที่เหมาะสมของการทำโปรแกรมของตู้ควบคุมอุณหภูมิคอลัมน์สำหรับการวิเคราะห์สารเคมีกำจัดแมลงศัตรูพืชชนิดออร์กาโนฟอสฟอรัสด้วยเครื่องแก๊สโครมาโตกราฟร่วมกับตัวตรวจวัดชนิดไนโตรเจนฟอสฟอรัสเป็นดังนี้ อุณหภูมิเริ่มต้น 70 องศาเซลเซียส คงอุณหภูมิไว้ 2 นาที จากนั้นเพิ่มอุณหภูมิด้วยอัตราเร็ว 9 องศาเซลเซียสต่อนาทีไปยังอุณหภูมิสุดท้ายที่ 250 องศาเซลเซียส โดยไม่คงอุณหภูมิสุดท้ายไว้

1.3 ผลการศึกษาอุณหภูมิหัวฉีด (Optimum inlet temperature)

ผลการทดลองหาสภาวะที่เหมาะสมของอุณหภูมิหัวฉีด แสดงดังรูป Figure 8 พบว่า เมื่อมีการเพิ่มอุณหภูมิที่หัวฉีดให้สูงขึ้นเรื่อยๆ จาก 240 – 270 องศาเซลเซียส ทำให้สารเคมีกำจัดแมลงศัตรูพืชชนิดออร์กาโนฟอสฟอรัสทั้ง 6 ชนิด มีค่าการตอบสนองที่เพิ่มขึ้นและเมื่อเพิ่มอุณหภูมิต่อไปจนถึง 300 องศาเซลเซียส ทำให้เฟนไทออน มีค่าการตอบสนองที่ลดลงอย่างมีนัยสำคัญ ในขณะที่อีก 5 สารประกอบ (เมทธามิโดฟอส ไดคลอวอส ไดเมทโทเอท พาราไทออน-เมทิล และ มาลาไทออน) มีค่าการตอบสนองเพิ่มขึ้น แต่เพื่อให้ได้สภาวะที่เหมาะสมสำหรับการวิเคราะห์สารประกอบทั้งหมดพร้อมกัน จึงเลือกอุณหภูมิที่หัวฉีด 270 องศาเซลเซียส เป็นสภาวะที่เหมาะสมเพื่อให้ได้ค่าการตอบสนองดีที่สุด

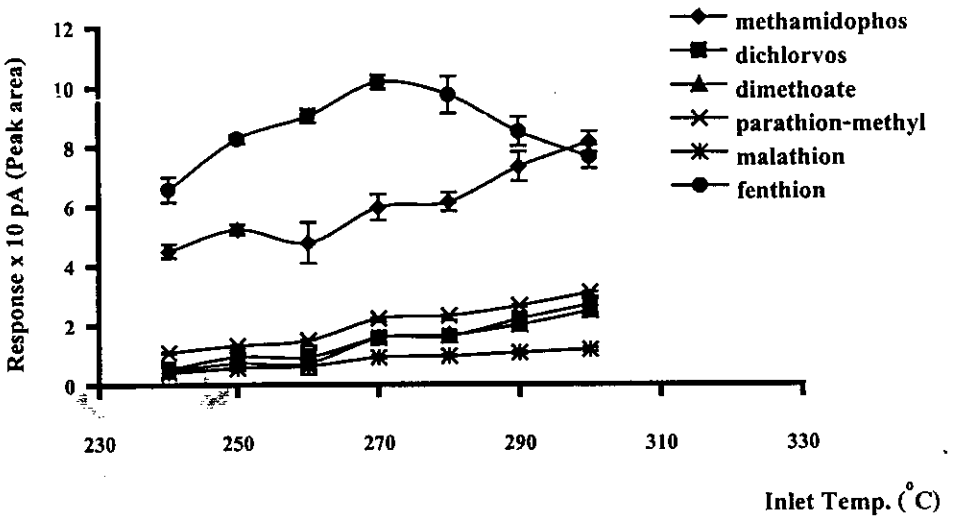

Figure 8. The responses of six organophosphorus pesticides at various injector temperatures

1.4 ผลการศึกษาอุณหภูมิที่เหมาะสมของตัวตรวจวัด (Optimum detector temperature)

ผลการทดลองหาสภาวะที่เหมาะสมของอุณหภูมิตัวตรวจวัด แสดงดังรูป Figure 9 การให้อุณหภูมิของตัวตรวจวัดที่ค่าต่างๆ ตั้งแต่ 260 – 300 องศาเซลเซียส พบว่าอุณหภูมิของตัวตรวจวัดที่ 280 และ 290 องศาเซลเซียส จะให้ค่าการตอบสนองที่ดีและให้ค่าเบี่ยงเบนมาตรฐานน้อยที่สุดเมื่อเทียบกับอุณหภูมิอื่นๆ และเมื่อเปรียบเทียบค่าทางสถิติพบว่าที่อุณหภูมิ 280 และ 290 องศาเซลเซียสไม่มีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญ ดังนั้นจึงเลือก อุณหภูมิของตัวตรวจวัดที่ 280 องศาเซลเซียสที่เป็นอุณหภูมิที่ต่ำกว่าเป็นสภาวะที่เหมาะสม

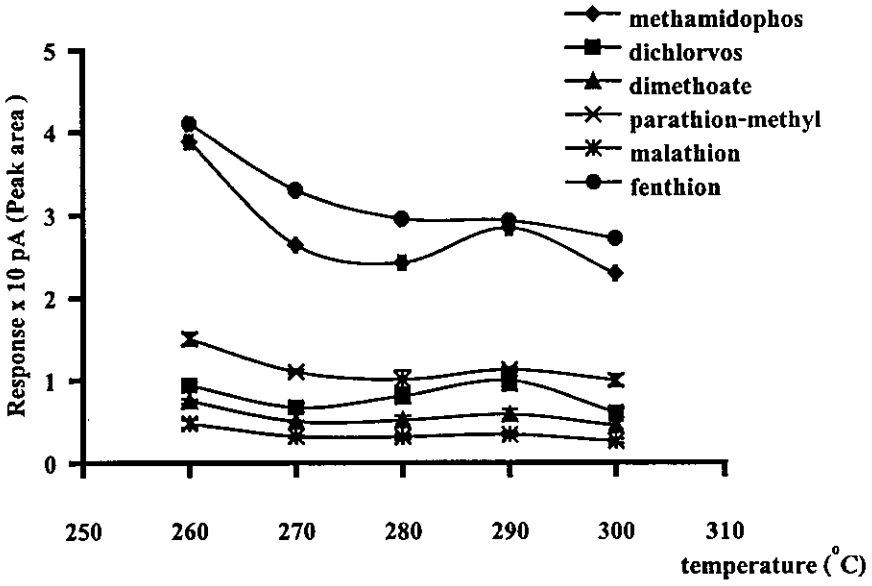

Figure 9. The responses of six organophosphorus pesticides at various detector temperatures

สรุปผลการศึกษาหาสภาวะที่เหมาะสมของเครื่องแก๊สโครมาโตกราฟสำหรับการวิเคราะห์สารเคมีกำจัดแมลงศัตรูพืชชนิดออร์กาโนฟอสฟอรัสทั้ง 6 สารประกอบในตัวอย่างน้ำมันปาล์มดิบโดยใช้คาปิลารีคอลัมน์ชนิด Rtx-5MS ความยาว 30 เมตร ขนาด เส้นผ่าศูนย์กลาง 0.25 มิลลิเมตรและความหนาของฟิล์ม 0.25 ไมโครเมตร (5% ฟีนิล-95% เมทิลโพลีไซลอกแซน) ร่วมกับตัวตรวจวัดชนิดไนโตรเจน ฟอสฟอรัสได้สภาวะดังนี้คือใช้อัตราการไหลของแก๊สพา (แก๊สฮีเลียม) 1.2 มิลลิลิตรต่อนาที โปรแกรมอุณหภูมิของตู้ควบคุมอุณหภูมิของคอลัมน์คือ อุณหภูมิเริ่มต้น 70 องศาเซลเซียส คงอุณหภูมิไว้ 2 นาที จากนั้นเพิ่มอุณหภูมิด้วยอัตราเร็ว 9 องศาเซลเซียสต่อนาที ไปยังอุณหภูมิสุดท้ายที่ 250 องศาเซลเซียส โดยไม่มีการคงอุณหภูมิไว้ สำหรับอุณหภูมิของหัวฉีดและตัวตรวจวัดเป็น 270 องศาเซลเซียสและ 280 องศาเซลเซียสตามลำดับ

2. ผลการศึกษาช่วงการตอบสนองความเป็นเส้นตรง (Linearity)

ผลการศึกษาช่วงการตอบสนองความเป็นเส้นตรง ของสารเคมีกำจัดแมลงศัตรูพืชชนิดออร์กาโนฟอสฟอรัส 6 สารประกอบ แสดงดังตาราง Table 1

Table 1. Linearity with correlation coefficients of six organophosphorus pesticides

Organophosphorus Pesticides	Concentration (mg/L), R^2
Methamidophos	1.50– 50.00, 0.9949
Dichlorvos	1.50– 50.00, 0.9967
Dimethoate	1.50– 50.00, 0.9918
Parathion-methyl	0.50– 50.00, 0.9964
Malathion	0.50– 50.00, 0.9973
Fenthion	0.50– 50.00, 0.9967

3. ผลการศึกษาขีดจำกัดการตรวจวัด (Limit of Detection)

ขีดจำกัดการตรวจวัดคือความเข้มข้นต่ำสุดของสารเคมีกำจัดแมลงศัตรูพืชชนิดออร์กาโนฟอสฟอรัส 6 สารประกอบซึ่งให้ค่าสัญญาณ signal-to-noise มากกว่า 3 เท่า แสดงดังตาราง Table 2

Table 2. Limit of detection of six organophosphorus pesticides

Organophosphorus Pesticides	Limit of detection (mg/L)
Methamidophos	1.5
Dichlorvos	0.05
Dimethoate	0.10
Parathion-methyl	0.10
Malathion	0.05
Fenthion	0.05

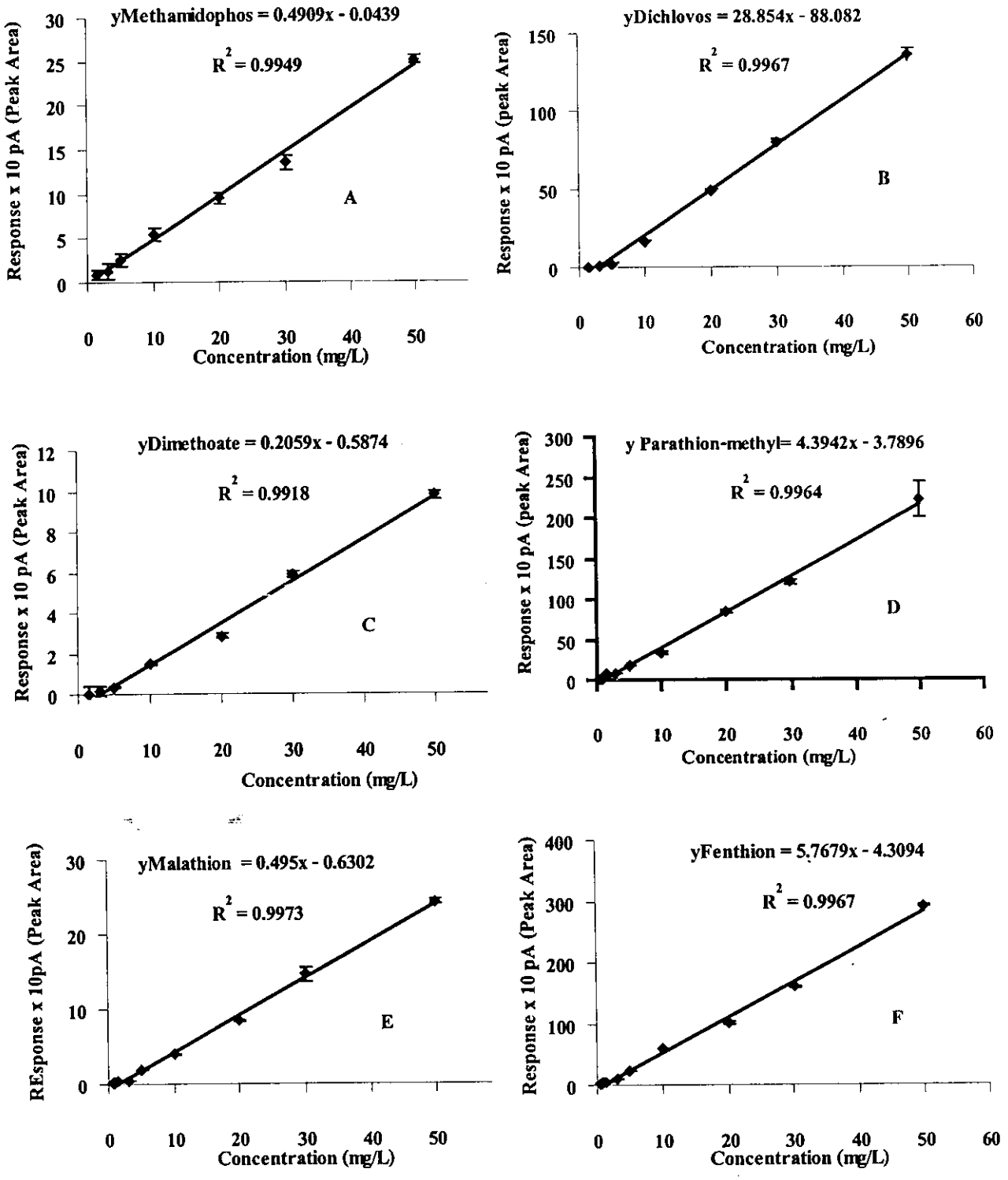

Figure 10. Linearity of 6 OPs : A= Methamidophos, B= Dichlorvos , C= Dimethoate, D= Parathion-methyl, E= Malthion and F= Fenthion

4. ผลศึกษาการสกัดตัวอย่างด้วยตัวทำละลาย (Liquid - liquid extraction) เปรียบเทียบกับการสกัดตัวอย่างด้วยเทคนิคอัลตราโซนิค (Ultrasonic extraction)

4.1 ผลการสกัดตัวอย่างด้วยตัวทำละลาย (Liquid - liquid extraction)

Lentza-Rizos และคณะ (2001) ได้ทำการศึกษาเปรียบเทียบตัวทำละลายหลายชนิดสำหรับการสกัดสารเคมีกำจัดแมลงศัตรูพืชชนิดออร์กาโนฟอสฟอรัสในตัวอย่างน้ำมันมะกอก ได้แก่ อะซิโตไนไตรล์ อะซิโตไนไตรล์ผสมเฮกเซน และ อะซิโตไนไตรล์ผสมอะซิโตน พบว่า อะซิโตไนไตรล์ ให้ผลการสกัดได้ดีที่สุด โดยที่อะซิโตไนไตรล์ผสมเฮกเซนจะส่งผลให้การตกตะกอนไขมันที่อุณหภูมิ –15 องศาเซลเซียส มีประสิทธิภาพลดลง ส่วนอะซิโตไนไตรล์ผสมอะซิโตนจะให้เปอร์เซ็นต์การได้คืนกลับที่ดีแต่ทำให้น้ำหนัก oil co-extracted มีค่าเพิ่มเป็น 2 เท่าเมื่อเทียบกับการใช้ อะซิโตไนไตรล์ เพียงอย่างเดียว ดังนั้นจึงเลือก อะซิโตไนไตรล์ เป็นตัวทำละลายที่ใช้ในการสกัดสารเคมีกำจัดแมลงศัตรูพืชชนิดออร์กาโนฟอสฟอรัสในตัวอย่างน้ำมันปาล์มดิบ

4.1.1 ผลการศึกษาปริมาตรที่เหมาะสมของตัวทำละลาย

ผลการทดลองศึกษาปริมาตรที่เหมาะสมของตัวทำละลาย แสดงดังรูป Figure 11 พบว่าปริมาตรของตัวทำละลาย คือ อะซิโตไนไตรล์ 30 มิลลิลิตร จะให้ค่าเปอร์เซ็นต์การได้คืนกลับที่ดีที่สุด (84 – 614 %) เมื่อเทียบกับปริมาตรอื่นๆ และยังให้ค่า oil co-extracted (0.03 กรัม, 0.54 %) น้อยที่สุดด้วย แต่จากการทดลองพบว่าเปอร์เซ็นต์การได้คืนกลับมีค่าเกิน 100 % เนื่องจากในส่วนสกัดยังคงมี เมทริกซ์(สารปนเปื้อน)ตกค้างอยู่อีกมาก ซึ่งจะดำเนินการกำจัดในส่วนถัดไป

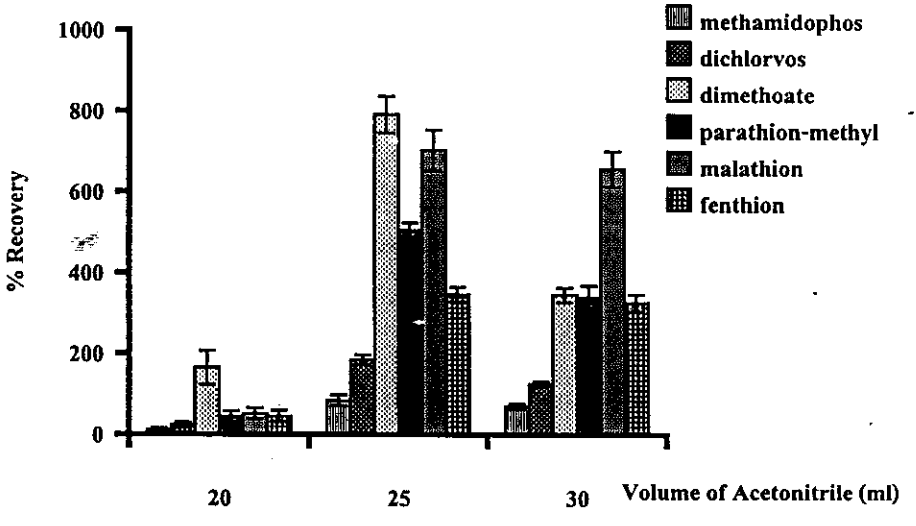

Figure 11. The percentage of recoveries of the six organophosphorus pesticides in crude palm oil using various amount of acetonitrile by liquid-liquid extraction

ฝ่ายหอสมุด
คุณหญิงหลง อรรถกระวีสุนทร

4.1.2 ผลการศึกษาระยะเวลาที่เหมาะสมที่ใช้ในการสกัด

ผลการศึกษาระยะเวลาที่เหมาะสมที่ใช้ในการสกัดตัวอย่างด้วยตัวทำละลาย แสดงดังรูป Figure 12 พบว่าระยะเวลาที่ใช้ในการสกัด 10 นาที เป็นเวลาที่ใช้ในการสกัดน้อยที่สุดและยังให้ค่าเปอร์เซ็นต์การได้คืนกลับอยู่ในช่วง 99-778 % และให้ค่าน้ำหนัก oil co-extracted เท่ากับ 0.04 กรัม นอกจากนี้ยังพบว่าเมื่อเพิ่มระยะเวลาการสกัดนานขึ้นไม่มีผลต่อเปอร์เซ็นต์การได้คืนกลับอย่างมีนัยสำคัญ ดังนั้นเวลาที่ 10 นาทีเป็นเวลาเหมาะสมสำหรับการสกัดสารเคมีกำจัดแมลงศัตรูพืชในตัวอย่างน้ำมันปาล์มดิบ

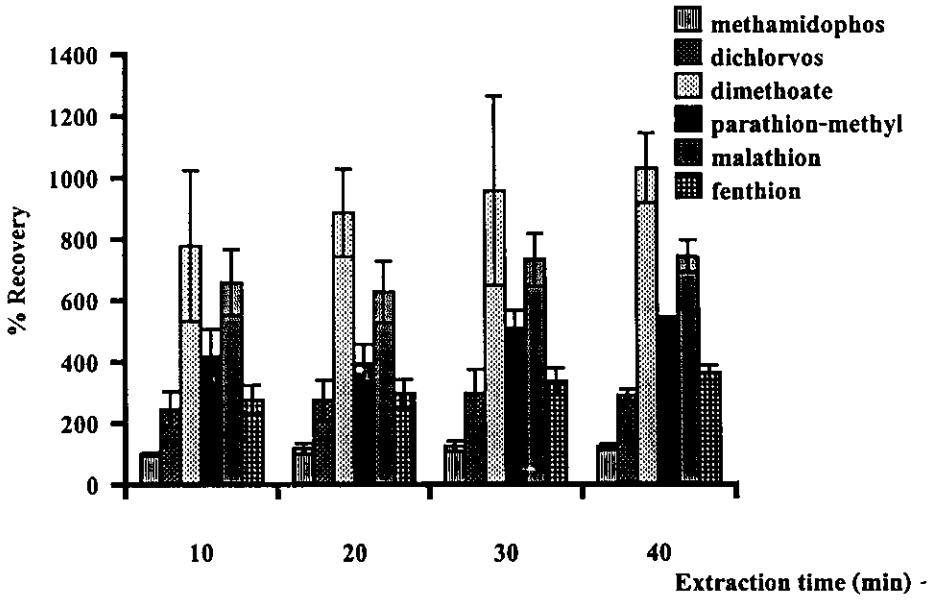

Figure 12. The percentage of recoveries of the six organophosphorus pesticides in crude palm oil using various extraction time by liquid-liquid extraction

4.2 ผลการศึกษาการสกัดตัวอย่างด้วยเทคนิคอัลตราโซนิค (Ultrasonic extraction)

4.2.1 ผลการศึกษาปริมาตรที่เหมาะสมของตัวทำละลาย

ผลการทดลองศึกษาปริมาตรที่เหมาะสมของตัวทำละลายด้วยเทคนิคอัลตราโซนิค แสดงดังรูป Figure 13 พบว่าเทคนิคอัลตราโซนิค ยังคงมีเมทริกซ์ตกค้างอยู่ในส่วนสกัดส่งผลให้เปอร์เซ็นต์การได้คืนกลับเกิน 100 % แต่พบว่าที่ปริมาตร 30 มิลลิลิตร มีเปอร์เซ็นต์การได้คืนกลับดีที่สุด ดังนั้นจึงเลือกปริมาตร 30 มิลลิลิตร เป็นปริมาตรที่เหมาะสมของตัวทำละลายที่ใช้ในการสกัดถึงแม้ว่าค่า SD สำหรับ Dichlorvos สูงมาก แต่เมื่อมีการหาสภาวะที่เหมาะสมอื่น ๆ แล้ว ค่า SD ดังกล่าวจะลดลง

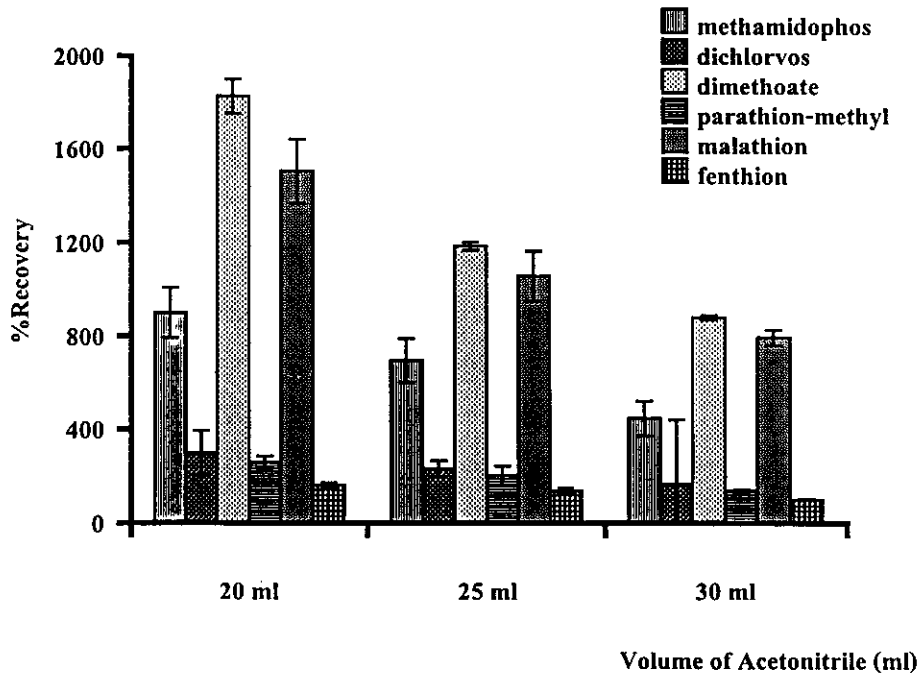

Figure 13. The percentage of recoveries of the six organophosphorus pesticides in crude palm oil using various amount of acetonitrile by ultrasonic extraction

4.2.2 ผลการศึกษาระยะเวลาที่เหมาะสมที่ใช้ในการสกัด

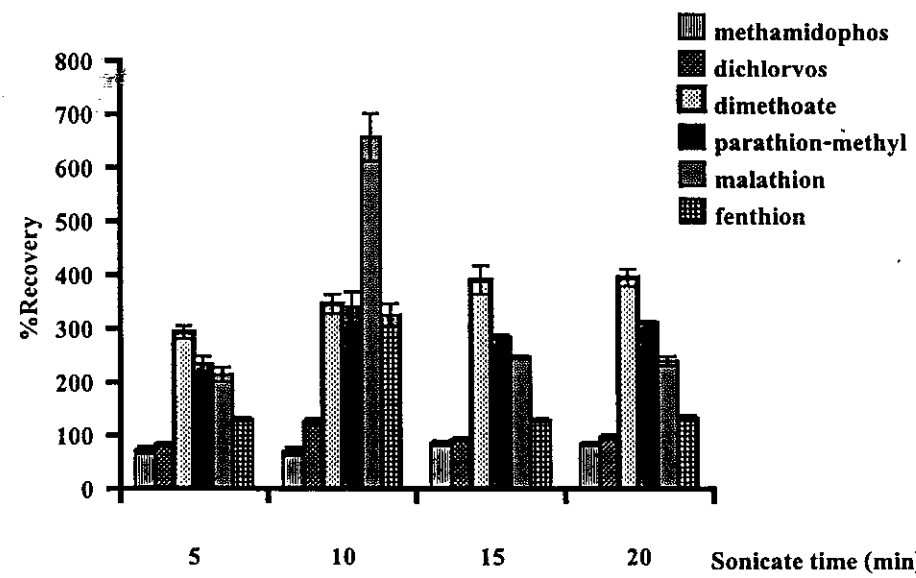

Figure 14. The percentage of recoveries of the six organophosphorus pesticides in crude palm oil using various extraction time by ultrasonic extraction

จากการตรวจสอบเอกสาร (Lentza – Rizos และ คณะ ปี 2001) พบว่าจะใช้เวลาในการสกัดตัวอย่างที่สั้น คือ 5-20 นาที ดังนั้นจึงเลือกทำการศึกษาในช่วงเวลาดังกล่าว ผลการศึกษาการสกัดด้วยเทคนิคอัลตราโซนิคแสดงดังรูป Figure 14 พบว่าที่เวลา 5 นาทีได้เปอร์เซ็นต์การคืนกลับใกล้เคียง 100 มากที่สุด (66-333%) และข้อดีอีกประการหนึ่งคือให้น้ำหนักของ oil-coextracted (0.04 กรัม) ซึ่งเป็นน้ำหนักที่น้อยสุดเมื่อเปรียบเทียบกับที่ระยะเวลาอื่นๆที่ใช้ในการสกัด

เมื่อเปรียบเทียบเปอร์เซ็นต์การได้คืนกลับที่ได้จากวิธีอัลตราโซนิคกับวิธีการสกัดด้วยตัวทำละลายพบว่าวิธีอัลตราโซนิคใช้เวลาในการสกัดน้อยกว่า และให้เปอร์เซ็นต์การได้คืนกลับใกล้เคียง 100% เมื่อ เทียบกับวิธีการสกัดด้วยตัวทำละลาย ดังนั้นจึงเลือกวิธีการสกัดตัวอย่างด้วยเทคนิคอัลตราโซนิคเป็นเวลา 5 นาที ด้วยตัวทำละลายอะซิโตไนไตร์ปริมาตร 30 มิลลิลิตร เป็นสภาวะที่เหมาะสมในการสกัดตัวอย่าง

5 ผลการศึกษาการทำความสะอาดส่วนสกัดด้วยการแช่ตัวอย่าง

5.1 ผลการศึกษาอุณหภูมิในการแช่ตัวอย่าง

จากงานวิจัยของ Lentza-Rizos และคณะ ปี 2001 ได้ทำการศึกษาหาปริมาณสารเคมีกำจัดศัตรูพืชชนิดออร์กาโนฟอสฟอรัสในตัวอย่างน้ำมันมะกอกได้มีการทำความสะอาดส่วนสกัดด้วยการแช่เย็นที่อุณหภูมิ –20 องศาเซลเซียส เพื่อให้เกิดการตกตะกอนของ oil co-extracted แต่จากงานวิจัยนี้ได้ทำการศึกษาการแช่ตัวอย่างที่ 2 อุณหภูมิคือ ที่ –60 และ –15 องศาเซลเซียส เนื่องจากประสิทธิภาพของตู้แช่เย็นสามารถควบคุมอุณหภูมิได้เฉพาะที่ –60 และ –15 องศาเซลเซียสเท่านั้น ผลการทดลองพบว่าที่ –60 องศาเซลเซียส ทำให้ส่วนสกัดอยู่ในสภาพที่เป็นของแข็ง ดังนั้นจึงต้องรอให้ส่วนสกัดหลอมละลายกลับมาอีกครั้งหนึ่งก่อน ส่งผลให้ oil co-extracted บางส่วนที่ตกตะกอนแล้ว หลอมเหลวกลับมารวมกับส่วนสกัดทำให้มีน้ำหนักของ oil co-extracted เพิ่มขึ้น ในขณะที่ –15 องศาเซลเซียส เป็นอุณหภูมิที่ต่ำเพียงพอที่ทำให้ oil co-extracted เท่านั้นถึงจุดเยือกแข็ง แต่ส่วนสกัดอยู่ในสภาพที่หลอมเหลวอยู่ ดังนั้นเมื่อปิเปตส่วนสกัดทำให้ไม่มีส่วนของ oil co-extracted ผสมอยู่ และจากการหาค่าเปอร์เซ็นต์การได้คืนกลับพบว่าที่ –60 องศาเซลเซียส มีค่าเท่ากับ 41-196% และให้ค่า oil co-extracted เท่ากับ 0.06 กรัม ในขณะที่ –15 องศาเซลเซียส ได้ค่าเปอร์เซ็นต์การได้คืนกลับเท่ากับ 48-231%และให้ค่า oil co-extracted เท่ากับ 0.05 กรัม ดังนั้นจึงเลือกที่อุณหภูมิ–15 องศาเซลเซียสเป็นอุณหภูมิที่เหมาะสมสำหรับการแช่ตัวอย่าง แสดงดังรูป Figure 15

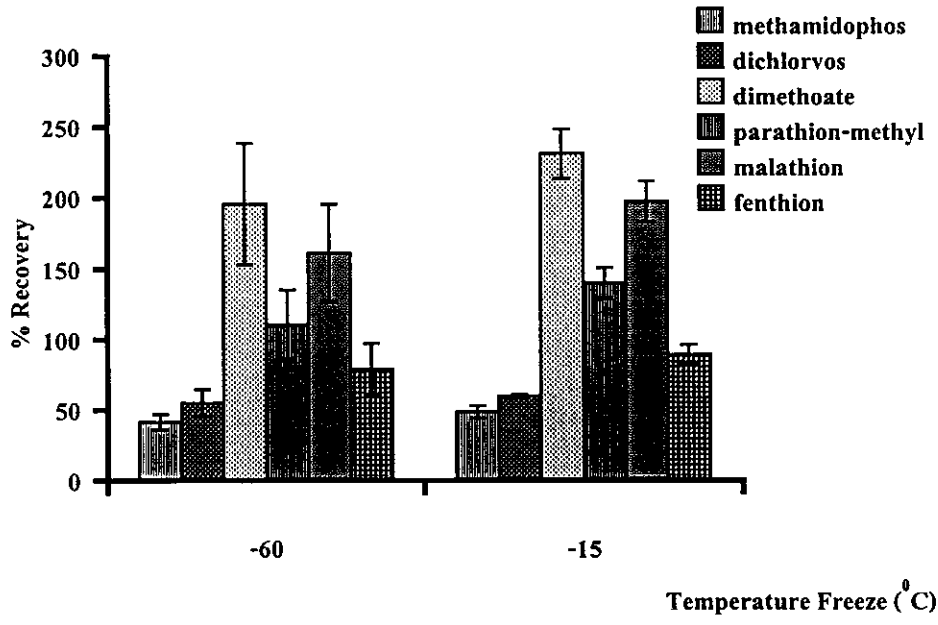

Figure 15. The percentage of recoveries of the six organophosphorus pesticides in crude palm oil using various temperature for freeze

5.2 ผลการศึกษาระยะเวลาในการแช่ตัวอย่าง

ผลการศึกษาระยะเวลาที่เหมาะสมในการแช่ตัวอย่าง แสดงดังรูป Figure16 พบว่าระยะเวลา 24 ชั่วโมง มีผลทำให้ oil co-extracted ถูกกำจัดออกไปมากที่สุดให้เปอร์เซ็นต์การได้คืนกลับมีค่าเท่ากับ 57-289% และให้ค่า SD ต่ำ ผลที่ได้สอดคล้องกับงานวิจัยของ Lentza-Rizos และคณะ ปี 2001 ในการกำจัด oil co-extracted ในส่วนสกัด ใช้เวลา 24 ชั่วโมงเช่นกัน

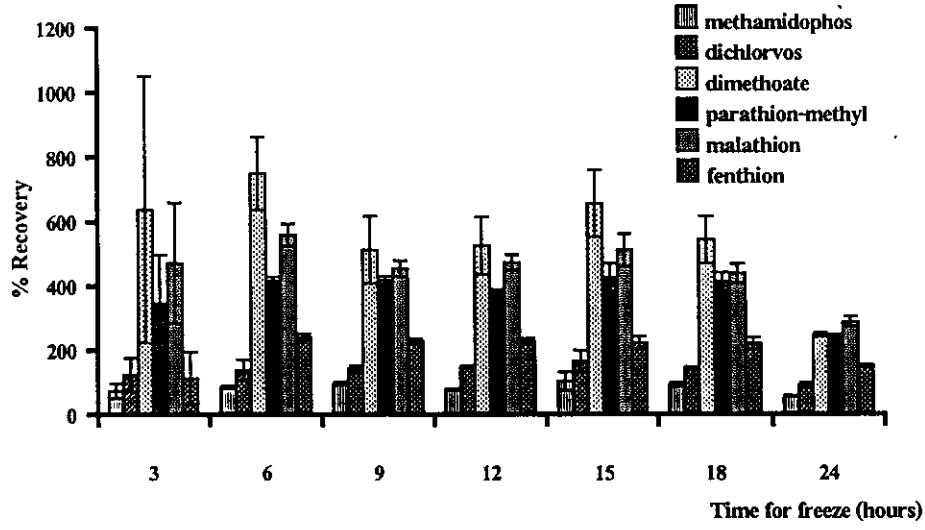

Figure 16. The percentage of recoveries of the six organophosphorus pesticides in crude palm oil using various time for freeze

6 ผลการศึกษาการทำความสะอาดส่วนสกัดด้วยชุดสกัดของแข็ง (Solid phase extraction)

6.1 ผลการศึกษาการทำความสะอาดส่วนสกัดด้วยชุดสกัดของแข็งโดยใช้ Florisil cartridge + C18 cartridge (3 mL, 500 mg) เปรียบเทียบกับ Florisil cartridge + C18 cartridge (6 mL, 1 g)

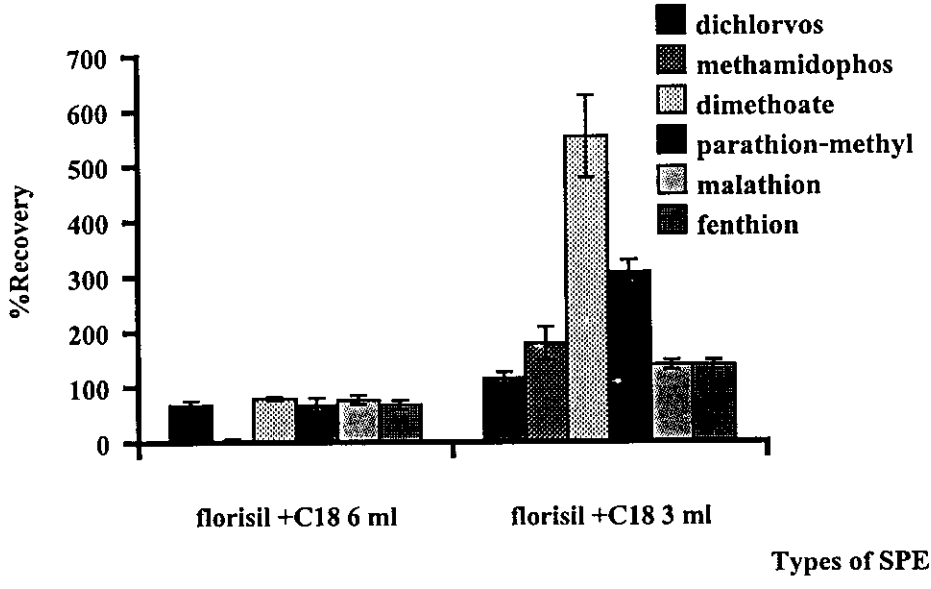

Figure 17. The percentage of recoveries of the six organophosphorus pesticides in crude palm oil using Florisil cartridge plus C18 cartridge (3 mL, 500 mg) and Florisil cartridge plus C18 cartridge (6 mL, 1 g) of Organophosphorus pesticides .

ผลการทดลองพบว่าการนำตัวอย่างน้ำหนัก 2 กรัม ผ่านกระบวนการสกัดและทำความสะอาด โดยใช้ multi - cartridges ชนิด Florisil cartridge + C18 cartridge (3 mL, 500 mg) ในการทำความสะอาดส่วนสกัด ด้วยอะซิโตไนไตรล์ที่อิ่มตัวด้วยเฮกเซน (acetonitrile saturated with hexane) เป็นตัวชะออร์กาโนฟอสฟอรัสทั้ง 6 ชนิด แสดงดังรูป Figure 17 พบว่าให้ค่าเปอร์เซ็นต์การได้คืนกลับอยู่ในช่วง 114-552 % มีค่าเบี่ยงเบนมาตรฐานอยู่ในช่วง 8-74 แสดงว่าชุดสกัดของแข็ง (Solid phase extraction สามารถกำจัด oil co-extracted ได้อย่างมี ประสิทธิภาพ แต่ก็ยังมีส่วนตกค้างอยู่ในส่วนสกัดอีก จึงได้ทำการศึกษาโดยการเพิ่มปริมาณ C18 cartridge ขนาด 6 mL, 1 g จากผลการทดลองพบว่าให้ค่าเปอร์เซ็นต์การได้คืนกลับของสารเคมีกำจัดแมลงศัตรูพืชชนิดออร์กาโนฟอสฟอรัส 5 สารประกอบ ยกเว้นเมทธามิโดฟอส อยู่ในช่วง 63-79% มีค่าเบี่ยงเบนมาตรฐานอยู่ในช่วง 3 – 13 ซึ่งสามารถกำจัด oil co-extracted ได้อย่างมีประสิทธิภาพ อีกทั้งยังให้ค่าเปอร์เซ็นต์การได้คืนกลับไม่เกิน 100% ดังนั้นการเลือกใช้ชุดสกัดของแข็งโดยใช้ multi - cartridges ชนิด Florisil cartridge + C18 cartridge (6 mL, 1 g) เหมาะสมที่สุดในการเลือกใช้เพื่อทำความสะอาดส่วนสกัดในขั้นตอนสุดท้ายก่อนฉีดตัวอย่างน้ำมันปาล์มดิบเข้าเครื่องแก๊สโครมาโตกราฟ สำหรับ เมทธามิโดฟอส จะให้ค่าเปอร์เซ็นต์การได้คืนกลับน้อยกว่า 50 % เมื่อได้กำจัด oil co-extracted ออกจากส่วนสกัดอย่างมีประสิทธิภาพแล้ว ซึ่งจะทำการศึกษาสภาวะที่เหมาะสมสำหรับ เมทธามิโดฟอส ต่อไป

6.2 จากการศึกษาชนิดของตัวชะที่เหมาะสม ระหว่าง 25 มิลลิลิตร อะซิโตไนไตรล์ที่อิ่มตัวด้วยเฮกเซน (acetonitrile saturated with hexane) กับ 15 มิลลิลิตร อะซิโตไนไตรล์ที่อิ่มตัวด้วยเฮกเซน (acetonitrile saturated with hexane) ตามด้วย 10 มิลลิลิตร เมธานอล (methanol)

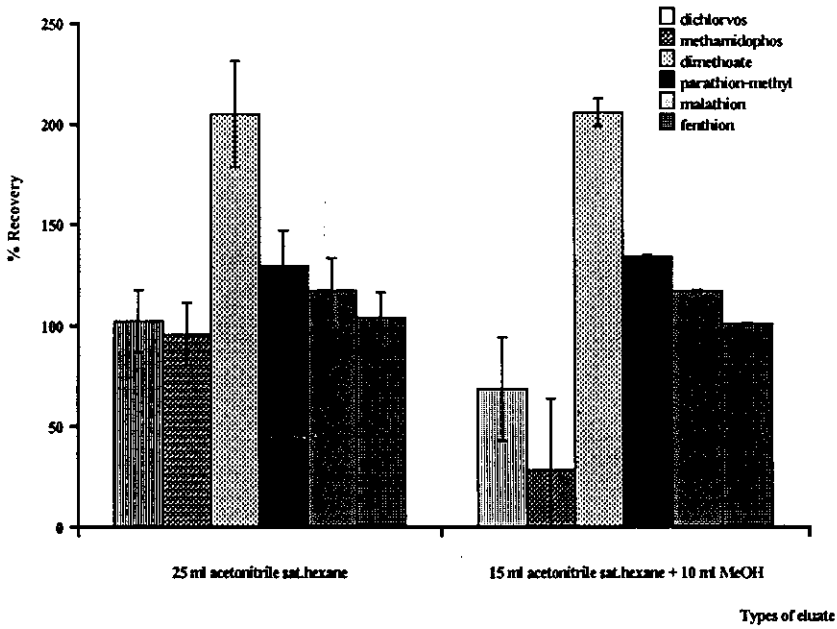

Figure 18. The percentage of recoveries of the six organophosphorus pesticides in crude palm oil elute with SPE between 25 ml acetonitrile saturated with hexane and 15 ml acetonitrile saturated with hexane follow 10 ml methanol

ผลการทดลองพบว่าเมื่อใช้ตัวชะเป็นอะซิโตไนไตรล์ที่อิ่มตัวด้วยเฮกเซน (acetonitrile saturated with hexane) อย่างเดียว แสดงดังรูป Figure 18 จะให้ค่าเปอร์เซ็นต์การได้คืนกลับ 95-205 % ซึ่งให้ค่าที่ดีกว่าเมื่อเปรียบเทียบกับการใช้ตัวชะเป็นอะซิโตไนไตรล์ที่อิ่มตัวด้วยเฮกเซน(acetonitrile saturated with hexane) ตามด้วย เมธานอล ที่ให้ค่าเปอร์เซ็นต์การได้คืนกลับเป็น 28-205 % ดังนั้นจึงเลือกตัวชะเป็นอะซิโตไนไตรล์ที่อิ่มตัวด้วยเฮกเซน (acetonitrile saturated with hexane) เป็นตัวชะที่เหมาะสม ซึ่งสอดคล้องกับงานวิจัยของ Di Muccio และ คณะปี 1990 ที่ใช้ อะซิโตไนไตรล์ที่อิ่มตัวด้วยเฮกเซนเป็นตัวชะที่เหมาะสมที่สุดในการเลือกใช้เพื่อชะส่วนสกัดออกจากชุดสกัดของแข็งเพื่อทำความสะอาดส่วนสกัดในขั้นตอนสุดท้ายก่อนฉีดตัวอย่างน้ำมันปาล์มดิบเข้าเครื่องแก๊สโครมาโตกราฟ

6.3 ศึกษาปริมาตรที่เหมาะสมของตัวชะ ระหว่าง 15 และ 25 มิลลิลิตร ของอะซิโตไนไตรล์ที่อิ่มตัวด้วยเฮกเซน (acetonitrile saturated with hexane)

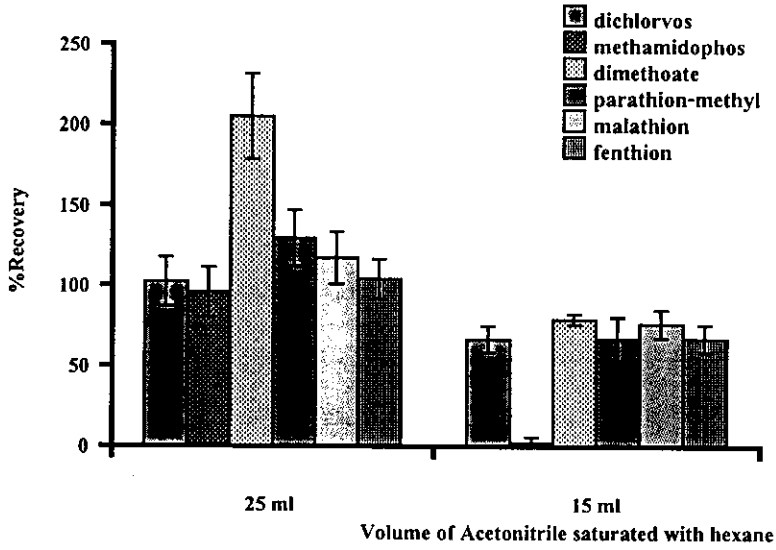

Figure 19. The percentage of recoveries of the six organophosphorus pesticides in crude palm oil eluted with SPE between 25 ml acetonitrile saturated with hexane and 15 ml acetonitrile saturated with hexane

ผลการศึกษาพบว่าเมื่อใช้ปริมาตร 15 มิลลิลิตร อะซิโตไนไตรล์ที่อิ่มตัวด้วยเฮกเซน (acetonitrile saturated with hexane) เป็นตัวชะจะให้ค่าเปอร์เซ็นต์การได้คืนกลับที่ดีกว่าเมื่อใช้ปริมาตรตัวชะเป็น 25 มิลลิลิตร แสดงดังรูป Figure 19 คือให้ค่าเปอร์เซ็นต์การได้คืนกลับสารเคมีกำจัดแมลงศัตรูพืชชนิดออร์กาโนฟอสฟอรัส 5 ชนิด เป็น 66-79 % ค่าเบี่ยงเบนมาตรฐาน 3-13 สำหรับเมทธามิโดฟอสให้ค่าเปอร์เซ็นต์การได้คืนกลับน้อยกว่า 50% เนื่องจากโครงสร้างของสารไม่สามารถถูกชะออกมาได้ด้วยอะซิโตไนไตรล์ที่อิ่มตัวด้วยเฮกเซนแต่ด้วยสภาวะดังกล่าวเหมาะสำหรับชะสารประกอบทั้ง 5 ชนิดได้ดี ในขณะที่ปริมาตรตัวชะเป็น 25 มิลลิลิตรให้ค่าเปอร์เซ็นต์การได้คืนกลับเป็น 95-205%ค่าเบี่ยงเบนมาตรฐาน12-26 ดังนั้นจึงเลือกตัวชะเป็น อะซิโตไนไตรล์ที่อิ่มตัวด้วยเฮกเซน (acetonitrile saturated with hexane) ปริมาตร 15 มิลลิลิตร เป็นปริมาตรที่เหมาะสม ซึ่งสอดคล้องกับงานวิจัยของ Di Muccio และ คณะปี 1990 สำหรับเมทธามิโดฟอสจากการตรวจเอกสารพบว่าสามารถถูกชะออกจากชุดสกัดของแข็งได้ด้วยเอทิลอะซิเตรท 10 มิลลิลิตรดังงานวิจัยของ Zhang Zulin และคณะ ปี 2002

Figure 20 แสดงการเปรียบเทียบโครมาโตแกรมของสารเคมีกำจัดแมลงศัตรูพืชที่ได้จากการทำความสะอาดส่วนสกัดด้วยการแช่เย็นอย่างเดียว (A) การทำความสะอาดส่วนสกัดด้วยชุดสกัดของแข็ง โดยใช้ Florisil cartridge + C18 cartridge 6 ml (B) และสารมาตรฐานออร์กาโนฟอสฟอรัสทั้ง 6 ชนิด (C) ณ สภาวะที่เหมาะสมของเครื่องแก๊สโครมาโตกราฟร่วมกับตัวตรวจวัดชนิดไนโตรเจน ฟอสฟอรัส จากการเปรียบเทียบพบว่าการทำความสะอาดส่วนสกัดด้วยการแช่เย็นเพียงอย่างเดียว (A) โครมาโตแกรมที่ได้ยังคงมีพีคของเมทริกต์ปรากฏอย่างเห็นได้ชัดเจน ในขณะที่การทำความสะอาดส่วนสกัดด้วยชุดสกัดของแข็ง โดยใช้ Florisil cartridge + C 18 cartridge 6 ml (B) พบว่าโครมาโตแกรมที่ได้ไม่มีพีคของเมทริกต์ปรากฏให้เห็น ซึ่งแสดงให้เห็นถึงประสิทธิภาพในการใช้ชุดสกัดของแข็งเพื่อกำจัดเมทริกต์ในส่วนสกัดได้อย่างมีประสิทธิภาพ

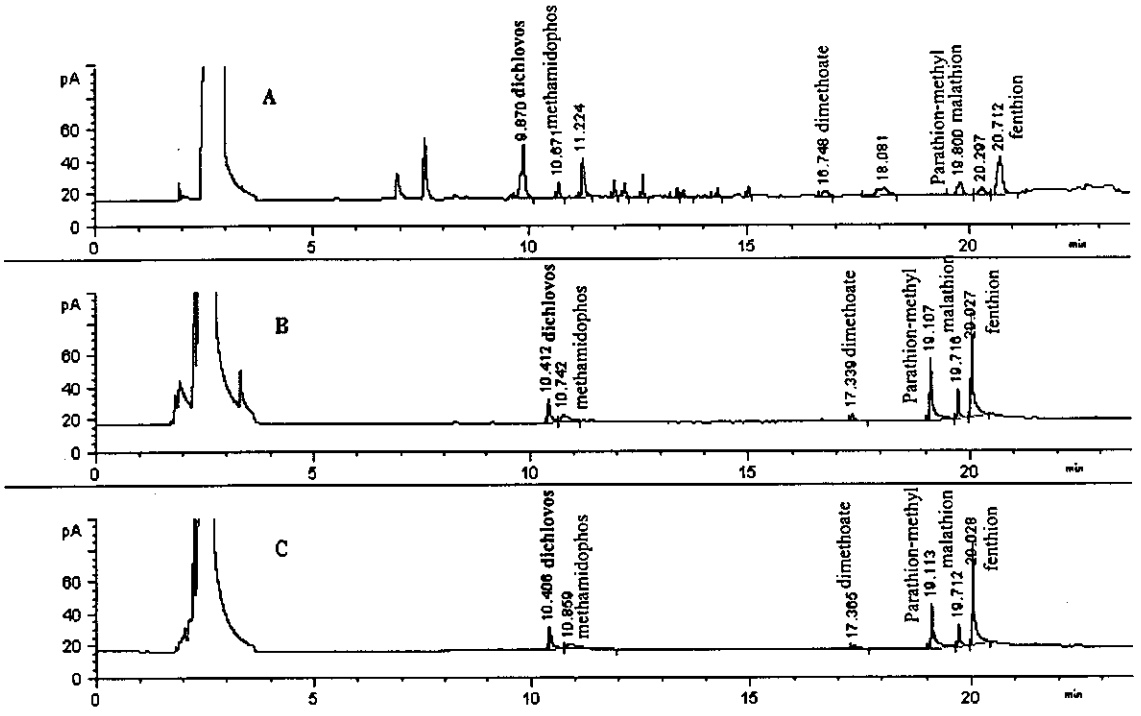

Figure 20 Chromatograms of organophosphorus pesticides from crude palm oil. A= low temperature without cartridge, B= low temperature with solid phase extraction clean up (Florisil plus C18 (6ml) cartridge) and C= standard of five organophosphorus pesticides