



รายงานการวิจัย

การพัฒนาและตรวจสอบความใช้ได้ของวิธีการตรวจวิเคราะห์
ปริมาณสารพิษตกค้างกลุ่มสารเชื้อราในผลผลิตทางการเกษตร
ด้วยเทคนิคโครมาโทกราฟีของเหลวสมรรถนะสูง

**Development and Validation for Determination Residues of
Mycotoxins in Agricultural Products
by High-Performance Liquid Chromatography**

เสาวภา ชุมณีและรุจิรา คุ่มทรัพย์
สาขาวิชาเคมี คณะวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยี
มหาวิทยาลัยราชภัฏเพชรบูรณ์

ประจำปีงบประมาณ 2565

รายงานวิจัยฉบับสมบูรณ์

การพัฒนาและตรวจสอบความใช้ได้ของวิธีการตรวจวิเคราะห์
ปริมาณสารพิษตกค้างกลุ่มสารเชื้อราในผลผลิตทางการเกษตร
ด้วยเทคนิคโครมาโทกราฟีของเหลวสมรรถนะสูง

**Development and Validation for Determination Residues of Mycotoxins
in Agricultural Products by High-Performance Liquid Chromatography**

เสาวภา ชุมณี

สาขาวิชาเคมี

คณะวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยี

รุจิรา คุ่มทรัพย์

สาขาวิชาเคมี

คณะวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยี

ทุนอุดหนุนงานวิจัย ด้านวิทยาศาสตร์ วิจัย และนวัตกรรม (ววน.)

ผ่านกองทุนส่งเสริมวิทยาศาสตร์ วิจัยและนวัตกรรม (สทว.)

ภายใต้แผนยุทธศาสตร์การวิจัยและนวัตกรรม

มหาวิทยาลัยราชภัฏเพชรบูรณ์

ประจำปีงบประมาณ 2565

(ก)

ชื่อโครงการวิจัย	การพัฒนาและตรวจสอบความใช้ได้ของวิธีการตรวจวิเคราะห์ ปริมาณสารพิษตกค้างกลุ่มสารเชื้อราในผลผลิตทางการเกษตร ด้วยเทคนิคโครมาโทกราฟีของเหลวสมรรถนะสูง
ชื่อผู้ทำการวิจัย	ผู้ช่วยศาสตราจารย์ ดร.เสาวภา ชุมณี
ผู้ร่วมวิจัย	ผู้ช่วยศาสตราจารย์ รุจิรา คุ่มทรัพย์
สาขาวิชา	เคมี คณะวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยี มหาวิทยาลัยราชภัฏเพชรบูรณ์ ปีเสร็จวิจัย 2565

บทคัดย่อ

งานวิจัยนี้ได้พัฒนาวิธีวิเคราะห์และตรวจสอบความใช้ได้ของวิธีวิเคราะห์หาปริมาณสารคาร์เบนดาซิม และไทอะเบนดาโซลโดยใช้เทคนิคโครมาโทกราฟีของเหลวสมรรถนะสูงในผลไม้และพืชผักตามตลาดทั่วไปในจังหวัดเพชรบูรณ์ จำนวน 55 ตัวอย่าง ในการทดลองนี้ได้ศึกษาสภาวะที่เหมาะสมสำหรับการสารทั้ง 2 ชนิด ซึ่งสภาวะที่เหมาะสมสำหรับการแยกสารทั้ง 2 ชนิดใช้คอลัมน์ YMC-C18 (4.6×250 mm, $5 \mu\text{m}$) ใช้เฟสเคลื่อนที่น้ำต่อเมทานอล ที่อัตราส่วน 50:50 อัตราการไหลของเฟสเคลื่อนที่ 1 มิลลิลิตรต่อนาที อุณหภูมิของคอลัมน์ 40 องศาเซลเซียส ตรวจวัดด้วยฟลูออเรสเซนซ์ ที่สภาวะการกระตุ้น 285 นาโนเมตร และการคายแสง 315 นาโนเมตร ผลของการตรวจสอบความใช้ได้ของวิธีวิเคราะห์นี้พบว่า สามารถแยกสารคาร์เบนดาซิม และสารไทอะเบนดาโซลภายในเวลา 15 นาที ช่วงความเป็นเส้นตรงของสารคาร์เบนดาซิม และไทอะเบนดาโซลคือ 0.025-2.5 มิลลิกรัมต่อกิโลกรัม ค่าสัมประสิทธิ์ของการตัดสี่ในใจ (r^2) ของคาร์เบนดาซิมเท่ากับ 0.9998 และไทอะเบนดาโซลเท่ากับ 0.9997 ตามลำดับ โขล ค่าความผลของร้อยละการทั้ง LOD และ LOQ นี้ 89.40 ถึง 102.64% ความแม่นยำของวิธีที่พัฒนาขึ้นนี้มีค่าร้อยละการกลับคืนอยู่ในช่วง 95.72 ถึง 101.45% และและค่าเบี่ยงเบนมาตรฐานสัมพัทธ์อยู่ในช่วง 2 ถึง 4.63% จากวิธีดังกล่าวนี้ได้ทำการวิเคราะห์สารพิษทั้ง 2 ชนิด พบว่า 53 ตัวอย่างไม่พบสารคาร์เบนดาซิม และไทอะเบนดาโซล จะมีเพียงตัวอย่าง 2 ชนิดที่พบสารแค่ชนิดเดียวคือ คาร์เบนดาซิม ซึ่งปริมาณที่ตรวจพบไม่เกินเกณฑ์มาตรฐาน

คำสำคัญ : โครมาโทกราฟีของเหลวสมรรถนะสูง, คาร์เบนดาซิม, ไทอะเบนดาโซล

Research Title	Development and Validation for Determination Residues of Mycotoxins in Agricultural Products by High-Performance Liquid Chromatography
Researcher	Saowapa Chumanee
Co-Researcher	Ruchira Khoomsab
Major	Chemistry
	Phetchabun Rajabhat University Year 2022

Abstract

This research developed analytical methods and validated the quantitative analysis of carbendazim and thiabendazole using high-performance liquid chromatography technique in fruits and vegetables at the market in Phetchabun Province, 55 samples. In this experiment, the optimum conditions for the two substances were studied the optimum conditions for the separation of the two substances were obtained using the YMC-C18 column (4.6 × 250 mm, 5 µm) using the water/methanol mobile phase (50:50%v/v), flow rate is 1 ml/min column temperature 40 °C, detected with fluorescent at excitation of 285 nm and an emission of 315 nm. . The results of method validation were found can separate carbendazim and, thiabendazole within 15 min and thiabendazole is 0.025-2.5 mg/kg. Coefficient of determination (r^2) of carbendazim was 0.9998 and thiabendazole was 0.9997, respectively. Recovery of LOD and LOQ was calculated from 89.40 to 102.64%. The accuracy of this developed method ranged from 95.72 to 101.45%, and the relative standard deviations in the range of 2 to 4.63%. Based on this method, both toxic substances were analyzed and found that 53 samples did not contain carbendazim. and thiabendazole Only two samples were found to contain only one substance, carbendazim, for which the amount detected did not exceed the norm.

Keywords: high performance liquid chromatography, carbendazim, thiabendazole

(ก)

กิตติกรรมประกาศ

รายงานรายงานวิจัยฉบับนี้สำเร็จลุล่วงได้ดีด้วยคำแนะนำต่าง ๆ จากคณาจารย์สาขาวิชาเคมี นักวิทยาศาสตร์ศูนย์วิทยาศาสตร์ คณะวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยี มหาวิทยาลัยราชภัฏเพชรบูรณ์ ซึ่งเสียสละเวลาให้คำปรึกษา และให้ข้อเสนอแนะกับคณะผู้วิจัยตลอดระยะเวลาการทำวิจัย

ผู้วิจัยขอขอบคุณงานศูนย์วิทยาศาสตร์ คณะวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยี มหาวิทยาลัยราชภัฏเพชรบูรณ์ ที่มีเครื่องมือชั้นสูงในการสนับสนุนในงานวิจัยครั้งนี้ และขอขอบคุณสถาบันวิจัยและพัฒนา มหาวิทยาลัยราชภัฏเพชรบูรณ์ที่ได้ทอดอุหนฺนงานวิจัยด้านวิทยาศาสตร์ วิจัย และนวัตกรรม (ววน.) ผ่านกองทุนส่งเสริมวิทยาศาสตร์ วิจัยและนวัตกรรม (สทสว.) ภายใต้แผนงานยุทธศาสตร์ การวิจัยและนวัตกรรม มหาวิทยาลัยราชภัฏเพชรบูรณ์ (65A145000033) มา ณ ที่นี้ด้วย

เสาวภา ชุมณีและรุจิรา คุ่มทรัพย์

31 สิงหาคม 2565

สารบัญ

	หน้า
บทคัดย่อ (ภาษาไทย).....	ก
บทคัดย่อ (ภาษาอังกฤษ).....	ข
กิตติกรรมประกาศ.....	ค
สารบัญ.....	ง
สารบัญตาราง	จ
สารบัญรูป	ช
บทที่ 1 บทนำ	1
1.1 ความเป็นมาและความสำคัญของปัญหา.....	2
1.2 วัตถุประสงค์การวิจัย.....	2
1.3 สมมุติฐานการวิจัย.....	2
1.4 ระเบียบวิธีวิจัย.....	3
1.5 ประโยชน์ของงานวิจัย	3
บทที่ 2 เอกสารและงานวิจัยที่เกี่ยวข้อง	4
2.1 สารพืษตกค้าง	4
2.2 คาร์เบนดาซิมและไทอะเบนดาโซล	6
2.3 เอกสารงานวิจัยที่เกี่ยวข้อง.....	7
บทที่ 3 วิธีการดำเนินการวิจัย	12
3.1 เครื่องมือ วัสดุ อุปกรณ์ สารเคมี และตัวอย่าง	12
3.2 วิธีการดำเนินการวิจัย	16
บทที่ 4 ผลการวิจัยและการอภิปรายผล	22
4.1 ผลการศึกษาสภาวะที่เหมาะสมสำหรับการแยกสารคาร์เบนดาซิม และไทอะเบนดาโซล	22
4.2 ผลการตรวจสอบความใช้ได้ของวิธีวิเคราะห์ (Method validation)	25
4.3 ผลการวิเคราะห์สารคาร์เบนดาซิม และไทอะเบนดาโซลจาก ตัวอย่างผัก และผลไม้.....	29

สารบัญ (ต่อ)

	หน้า
บทที่ 5 สรุปผลการวิจัยและข้อเสนอแนะ.....	31
5.1 สรุปผลการวิจัย	31
5.2 ข้อเสนอแนะ	31
บรรณานุกรม	33
ภาคผนวกงานวิจัย	36
ประวัติคณะผู้วิจัย.....	48

สารบัญตาราง

ตารางที่	หน้า
3.1 ตัวอย่างผัก และผลไม้ชนิดต่าง ๆ ที่สุ่มมาจากตลาดในจังหวัดเพชรบูรณ์	14
3.2 การศึกษาอัตราส่วนของเฟสเคลื่อนที่ที่เหมาะสมสำหรับการแยกสารคาร์เบนดาซิม และสารไทอะเบนดาโซล.....	18
4.1 ตารางแสดงพารามิเตอร์สำหรับผลการทดสอบความเหมาะสมของระบบการแยกโครมาโทกราฟีของสารละลายมาตรฐานเบนดาซิม และไทอะเบนดาโซล โดยใช้คอลัมน์ชนิดต่าง ๆ	22
4.2 ตารางแสดงพารามิเตอร์ผลการทดสอบความเหมาะสมของระบบการแยกความเหมาะสมของระบบการแยกโครมาโทกราฟีของสารละลายมาตรฐานคาร์เบนดาซิม และไทอะเบนดาโซลเฟสเคลื่อนที่ที่ต่างกัน ที่ความเข้มข้น 2 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร	24
4.3 สภาวะที่เหมาะสมสำหรับการแยกสารคาร์เบนดาซิม และไทอะเบนดาโซล.....	25
4.4 ผลแสดงการทดสอบความเป็นเส้นตรง และสมการเส้นตรงสารคาร์เบนดาซิม และไทอะเบนดาโซลแต่ละช่วงความเข้มข้น.....	26
4.5 ตารางแสดงผลการเติม (fortify) สารละลายมาตรฐานคาร์เบนดาซิม และไทอะเบนดาโซลลงในเบงก์ตัวอย่าง (sample blank) ในการทดสอบ LOD	27
4.6 ตารางแสดงผลการเติม (fortify) สารละลายมาตรฐานคาร์เบนดาซิม และไทอะเบนดาโซลลงในเบงก์ตัวอย่าง (sample blank) ในการทดสอบ LOQ.....	27
4.7 ตารางแสดงผลของความเข้มข้นที่ทดสอบได้เมื่อเติมสารละลายที่ความเข้มข้นต่าง ๆ	28
4.8 ผลการวิเคราะห์สารคาร์เบนดาซิม และไทอะเบนดาโซลในตัวอย่างผัก และผลไม้จากตลาดในอำเภอเมือง จังหวัดเพชรบูรณ์	29

สารบัญภาพ

ภาพที่	หน้า
1 โครงสร้างของ คาร์เบนดาซิม (carbendazim) และไทอะเบนดาโซล (thiabendazole)	6
2 ชุดกรองตัวทำละลายหรือสารละลายเฟสเคลื่อนที่ (Mobile phase) สำหรับวิเคราะห์ด้วยเทคนิค HPLC	16
3 โคโรมาโทแกรมของแบงก์ (A) สารละลายมาตรฐานผสมคาร์เบนดาซิม (1) และไทอะเบนดาโซล (2) (B)	25
ผก 1.1 โคโรมาโทแกรมของสารละลายมาตรฐานผสมคาร์เบนดาซิม และไทอะเบนดาโซล น้ำต่อเมทานอล (50:50% v/v)	38
ผก 1.2 โคโรมาโทแกรมของสารละลายมาตรฐานผสมคาร์เบนดาซิม และไทอะเบนดาโซล น้ำต่ออะซิโตไนไตรล์ (50:50% v/v)	38
ผก 1.3 โคโรมาโทแกรมของสารละลายมาตรฐานผสมคาร์เบนดาซิม และไทอะเบนดาโซล น้ำต่อเมทานอล (20:80% v/v)	39
ผก 1.4 โคโรมาโทแกรมของสารละลายมาตรฐานผสมคาร์เบนดาซิม และไทอะเบนดาโซล น้ำต่อเมทานอล (25:75% v/v)	39
ผก 1.5 โคโรมาโทแกรมของสารละลายมาตรฐานผสมคาร์เบนดาซิม และไทอะเบนดาโซล น้ำต่อเมทานอล (30:70% v/v)	40
ผก 1.6 โคโรมาโทแกรมของสารละลายมาตรฐานผสมคาร์เบนดาซิม และไทอะเบนดาโซล น้ำต่อเมทานอล (35:65% v/v)	40
ผก 1.7 โคโรมาโทแกรมของสารละลายมาตรฐานผสมคาร์เบนดาซิม และไทอะเบนดาโซล น้ำต่อเมทานอล (40:60% v/v)	41
ผก 2.1 โคโรมาโทแกรมของตัวอย่าง S01 เมล่อนเขียว ¹	41
ผก 2.2 โคโรมาโทแกรมของตัวอย่าง S02 เมล่อนเหลือง ¹	42
ผก 2.3 โคโรมาโทแกรมของตัวอย่าง S03 แคนตาลูป ²	42
ผก 2.4 โคโรมาโทแกรมของตัวอย่าง S04 ส้มโอแดง ²	43
ผก 2.5 โคโรมาโทแกรมของตัวอย่าง S05 ส้มโอขาว ²	43
ผก 2.6 โคโรมาโทแกรมของตัวอย่าง S06 อินทผลัมแดง ²	44
ผก 2.7 โคโรมาโทแกรมของตัวอย่าง S07 อินทผลัมเหลือง ³	44

สารบัญภาพ (ต่อ)

ภาพที่	หน้า
ผก 2.8 โครมาโทแกรมของตัวอย่าง S08 ฝรั่งเศส ²	45
ผก 2.9 โครมาโทแกรมของตัวอย่าง S09 แดงกวา ¹	45
ผก 2.10 โครมาโทแกรมของตัวอย่าง S10 แดงกวา ²	46
ผก 2.11 โครมาโทแกรมของตัวอย่าง S11 แดงกวา ⁴	46
ผก 2.12 โครมาโทแกรมของตัวอย่าง S12 ผักกาดขาว ¹	47
ผก 2.13 โครมาโทแกรมของตัวอย่าง S13 ผักกาดขาว ²	47
ผก 2.14 โครมาโทแกรมของตัวอย่าง S48 ต้นหอม ²	48
ผก 2.15 โครมาโทแกรมของตัวอย่าง S42 ผักสลัด (ฟิลเลย์ไอซ์เบิร์ก) ²	48

บทที่ 1

บทนำ

1.1 ความเป็นมาและความสำคัญของปัญหา

นโยบายการขับเคลื่อนเศรษฐกิจของจังหวัดเพชรบูรณ์ ประเด็นการเกษตร คือการผลิตสินค้าเกษตรมาตรฐานสูง สามารถสร้างมูลค่าเพิ่ม และส่งเสริมเกษตรปลอดภัย การยกระดับสินค้าเกษตรปลอดภัย ก็ต้องคำนึงถึงการปฏิบัติทางการเกษตรที่ดีและเหมาะสม (Good Agriculture Practices เรียกย่อๆว่า GAP) หมายถึง แนวทางในการทำการเกษตร เพื่อให้ได้ผลผลิตที่มีคุณภาพดีตรงตามมาตรฐานที่กำหนด ได้ผลผลิตสูงคุ้มค่าการลงทุนและกระบวนการผลิตจะต้องปลอดภัยต่อเกษตรกรและผู้บริโภค มีการใช้ทรัพยากรที่เกิดประโยชน์สูงสุด เกิดความยั่งยืนทางการเกษตรและไม่ทำให้เกิดมลพิษต่อสิ่งแวดล้อม โดยหลักการนี้ได้รับการกำหนดโดยองค์การอาหารและเกษตรแห่งสหประชาชาติ (FAO) ซึ่งกรมวิชาการเกษตร กระทรวงเกษตรและสหกรณ์ เป็นหน่วยงานที่มีหน้าที่ในการตรวจรับรองระบบการจัดการคุณภาพ : การปฏิบัติทางการเกษตรที่ดีสำหรับพืช (GAP) (สำนักงานมาตรฐานสินค้าเกษตรและอาหารแห่งชาติ (มกอช.), 2556) ได้มีงานวิจัยศึกษาความเสี่ยงจากสารเคมีกำจัดศัตรูพืชตกค้างในดินของเกษตรกรผู้ปลูกผักคะน้าในจังหวัดขอนแก่น โดยเก็บตัวอย่างดินจากแปลง GAP และ non-GAP พบสารพิษตกค้างทุกแปลง ทั้งสารกลุ่มออร์กาโนฟอสเฟต และสารกลุ่มคาร์บาเมต โดยที่ความถี่การตรวจพบสารเคมีกำจัดศัตรูพืชตกค้างในดินแปลง non-GAP มากกว่าแปลง GAP ดังนั้นจะเห็นได้ว่าเกษตรกร non-GAP มีความเสี่ยงสูงที่จะได้รับสารพิษเข้าสู่ร่างกาย (จารุพงศ์ ประสพสุข และคณะ, 2562) จังหวัดเพชรบูรณ์เป็นแหล่งผลิตสินค้าทางการเกษตรที่สำคัญ มีเกษตรกร ปลูกพืชผัก และผลไม้หลากหลายชนิด เป็นจำนวนมากเพื่อการจำหน่ายและเป็นเศรษฐกิจฐานรากของจังหวัด ดังนั้นการกำหนดนโยบายของจังหวัด มีเป้าประสงค์ยกระดับสินค้าเกษตรให้มีความปลอดภัยกับผู้บริโภค และเข้าสู่การรับรองมาตรฐานสินค้าเกษตรจึงเป็นเรื่องสำคัญ ดังนั้นการหาปริมาณสารกลุ่มสารเชื้อรา ในพืชผัก และผลไม้ จึงเป็นเรื่องจำเป็นและไม่ควรมีปริมาณที่ตกค้างเกินที่กระทรวงสาธารณสุขกำหนด

การตรวจหาปริมาณสารพิษกลุ่มสารเชื้อรา (คาร์เบนดาซิม และไธโออะเบนดาซอล) ในพืชผัก และผลไม้ มีความซับซ้อน ต้องมีการสกัดสารกำจัดศัตรูพืชตกค้างก่อนการวิเคราะห์ เทคนิคการสกัดก็มีหลายวิธี เช่นการสกัดของเหลวด้วยของเหลว (liquid-liquid extraction, LLE) การสกัดด้วยตัวดูดซับของแข็ง (Solid-phase extraction; SPE) สกัดด้วยเทคนิคอัลตราโซนิก แต่วิธีที่นิยมและเป็นที่ยอมรับในระดับสากลคือวิธี Quick, Easy Cheap, Effective, Rugged and Safe หรือ

QuEChERS ซึ่งเป็นเทคนิคที่ง่ายและรวดเร็ว (นฤพล วัฒนภาพ และ วิฑูรย์ บุญสูงำ, 2562) มีรายงานวิจัยจำนวนมากวิเคราะห์สารพิษในเชิงปริมาณมีเทคนิคเดียวที่มีความเฉพาะเจาะจง สามารถพิสูจน์เอกลักษณ์ได้ และมีความไวสูง คือเทคนิค Liquid chromatography tandem mass spectrometry (LC-MS/MS) แต่มีข้อเสียมีราคาค่อนข้างแพง

สำหรับงานวิจัยนี้ ผู้วิจัยและคณะได้การพัฒนาและตรวจสอบความใช้ได้ของวิธีวิเคราะห์ปริมาณ สารพิษตกค้างกลุ่มสารเชื้อรา (คาร์เบนดาซิม และ ไธโออะเบนดาซอล) ในพืชผัก ผลไม้ ที่มีขายในตลาดในเขตอำเภอเมืองของจังหวัดเพชรบูรณ์ ด้วยเทคนิคเครื่องโครมาโทกราฟีของเหลวสมรรถนะสูงและตรวจวัดด้วย Fluorescence (HPLC/FLD) ให้กับ งานศูนย์วิทยาศาสตร์ คณะวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยี มหาวิทยาลัยราชภัฏเพชรบูรณ์ มีศักยภาพเพื่อใช้ในการตรวจวิเคราะห์เชิงปริมาณกลุ่มสารดังกล่าวได้ให้กับท้องถิ่นหรือผู้มาขอรับบริการได้ ถึงแม้ว่าการตรวจสอบนี้ ห้องปฏิบัติการยังไม่ได้ระบบคุณภาพมาตรฐาน ISO 17025 แต่ก็อย่างน้อยก็ทำให้ทราบผลการทดสอบเบื้องต้น ซึ่งเป็นประโยชน์ให้กับท้องถิ่นของจังหวัดเพชรบูรณ์ ให้เกิดความตระหนักถึงการใช้จ่ายมาแมลง และความปลอดภัยของผู้บริโภค

1.2 วัตถุประสงค์การวิจัย

1.2.1 เพื่อพัฒนาและตรวจสอบใช้ได้ของวิธีวิเคราะห์สำหรับการวิเคราะห์ปริมาณสารพิษตกค้างกลุ่มสารเชื้อรา (คาร์เบนดาซิม และ ไธโออะเบนดาซอล) ด้วยเทคนิค HPLC/FLD และเตรียมตัวอย่างโดยใช้วิธีการสกัดแบบ QuEChERS

1.2.2 เพื่อหาปริมาณสารพิษตกค้างสารเชื้อรา (คาร์เบนดาซิม และ ไธโออะเบนดาซอล) ในตัวอย่างพืชผัก และผลไม้ที่ขายในตลาดอำเภอเมือง จังหวัดเพชรบูรณ์

1.3 สมมติฐานการวิจัย

1.3.1 มีวิธีทดสอบที่ได้ผ่านการตรวจสอบความใช้ได้ของวิธีวิเคราะห์ปริมาณ สารพิษตกค้างสารเชื้อรา (คาร์เบนดาซิม และ ไธโออะเบนดาซอล) ด้วยเทคนิค HPLC/FLD ในตัวอย่าง ได้อย่างถูกต้องและแม่นยำ ในห้องปฏิบัติการศูนย์วิทยาศาสตร์ คณะวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยี มหาวิทยาลัยราชภัฏเพชรบูรณ์ สำหรับการบริการด้านวิชาการให้กับท้องถิ่นในจังหวัดเพชรบูรณ์

1.3.2 มีสารสารเชื้อรา (คาร์เบนดาซิม และ ไธโออะเบนดาซอล) ตกค้างในตัวอย่างพืชผัก และผลไม้ ที่วางจำหน่ายในท้องตลาดของจังหวัดเพชรบูรณ์ ซึ่งอาจเกินมาตรฐานที่เกินกำหนดตามที่กระทรวงสาธารณสุขกำหนด

1.4 ระเบียบวิธีวิจัย

1.4.1 ทบทวนวรรณกรรมงานวิจัยที่เกี่ยวข้อง เพื่อเก็บรวบรวมข้อมูล แล้วนำไปปรับปรุงพัฒนาวิธีวิเคราะห์ปริมาณ สารพิษตกค้างสารเชื้อรา (คาร์เบนดาซิม และ ไธโออะเบนดาซอล) ด้วยเทคนิค HPLC/FLD ให้สอดคล้องกับทรัพยากรที่มีอยู่ในศูนย์วิทยาศาสตร์ และการสกัดสารกลุ่มคาร์บาเมต ออกจากตัวอย่างพืชผัก และผลไม้ ด้วยวิธีการสกัดแบบ QuEChERS

1.4.2 ศึกษาหาสถานะที่เหมาะสมสำหรับการวิเคราะห์ วิเคราะห์ปริมาณสารพิษตกค้างกลุ่มคาร์บาเมต ด้วยเทคนิค HPLC/FLD

1.4.3 ตรวจสอบความใช้ได้ของวิธีการวิเคราะห์ โดยทดสอบวิธีวิเคราะห์ ตาม parameter ต่างๆ ดังนี้

- Linearity/range ทดสอบโดยการวิเคราะห์ตัวอย่างที่เดิมมาตรฐานที่ทราบความเข้มข้นที่แน่นอนอย่างน้อย 3 ความเข้มข้น ความเข้มข้นละ 3 ซ้ำ ประเมินค่า correlation coefficient ($r \geq 0.995$) ของแต่ละชนิดของสารพิษตกค้าง

- Accuracy และ precision ทดสอบโดยตรวจวิเคราะห์ตัวอย่างที่เดิมมาตรฐานที่ทราบความเข้มข้นที่แน่นอน อย่างน้อย 3 ความเข้มข้นอย่างน้อย 10 ซ้ำ ประเมินผลการทดสอบจาก % recovery และ %RSD ตามเกณฑ์มาตรฐานการทดสอบ

- LOQ ทดสอบโดยการตรวจวิเคราะห์ตัวอย่างที่เดิมมาตรฐานที่ทราบความเข้มข้นแน่นอนอย่างน้อย 10 ซ้ำ ประเมินค่า % recovery และ %RSD

- LOD ทดสอบโดยการตรวจวิเคราะห์ตัวอย่างที่เดิมมาตรฐานที่ทราบความเข้มข้นแน่นอนอย่างน้อย 10 ซ้ำ ประเมินค่า % recovery recovery และ %RSD

- สรุปผลการตรวจสอบความใช้ได้ของวิธีการวิเคราะห์

1.4.4 นำวิธีการวิเคราะห์ที่พัฒนาได้นี้ นำไปวิเคราะห์ในตัวอย่างในพืชผัก และผลไม้ ที่มีจำหน่ายในจังหวัดเพชรบูรณ์

1.4.5 ถ่ายทอดความรู้ให้กับนักวิทยาศาสตร์และนักศึกษา

1.4.6 เผยแพร่ความรู้โดยการตีพิมพ์ในวารสารระดับชาติหรือนานาชาติ

1.5 ประโยชน์ของงานวิจัย

1.5.1 ศูนย์วิทยาศาสตร์มีวิธีการวิเคราะห์วิเคราะห์ปริมาณ สารพิษตกค้างกลุ่มสารเชื้อรา (คาร์เบนดาซิม และ ไธโออะเบนดาซอล) ด้วยเทคนิค HPLC/FLD ที่มีความถูกต้องและแม่นยำ สำหรับการบริการวิชาการ และจัดหารายได้ให้กับมหาวิทยาลัย

บทที่ 2

เอกสารและงานวิจัยที่เกี่ยวข้อง

การพัฒนาและตรวจสอบความใช้ได้ของวิธีวิเคราะห์ปริมาณสารพิษตกค้างกลุ่มเชื้อราด้วยเทคนิคโครมาโทกราฟีของเหลวสมรรถนะสูง รายละเอียดผลการศึกษาทฤษฎีและเอกสารงานวิจัยที่เกี่ยวข้องดังนี้

2.1 สารพิษตกค้าง

ตามประกาศกระทรวงสาธารณสุข (เล่มที่ 134 ตอนพิเศษ 228 ง) เลขที่ 387 พ.ศ. 2560 รายละเอียดที่ควรทราบ มีดังต่อไปนี้

วัตถุอันตรายทางการเกษตร (pesticide) หมายถึง สารที่มีจุดมุ่งหมายใช้เพื่อป้องกัน ทำลาย ดึงดูด ขับไล่ หรือควบคุม ศัตรูพืชและสัตว์หรือพืชและสัตว์ที่ไม่พึงประสงค์ ไม่ว่าจะเป็นการใช้ระหว่างการเพาะปลูก การเก็บรักษา การขนส่ง การจำหน่าย หรือระหว่างกระบวนการผลิตอาหาร หรือสารที่อาจใช้กับสัตว์เพื่อควบคุมปรสิตภายนอก (ectoparasites) และให้หมายความรวมถึง สารควบคุมการเจริญเติบโตของพืช สารทำให้ใบร่วง สารทำให้ผลร่วง สารยับยั้งการแตกยอดอ่อน และสารที่ใช้กับพืชผลก่อนหรือหลังการเก็บเกี่ยว เพื่อป้องกันการเสื่อมเสียระหว่างการเก็บรักษาและการขนส่ง แต่ทั้งนี้วัตถุอันตรายทางการเกษตรไม่รวมถึงปุ๋ย สารอาหารของพืชและสัตว์ วัตถุเจือปนอาหาร วัตถุที่เติม ในอาหารสัตว์ (feed additive) และยาสัตว์ (veterinary drug)

สารพิษตกค้าง (pesticide residue) หมายถึง สารตกค้างในอาหารที่เกิดจากการใช้ วัตถุอันตรายทางการเกษตร และให้หมายความรวมถึงกลุ่มอนุพันธ์ของวัตถุอันตรายทางการเกษตรนั้น ได้แก่ สารจากกระบวนการเปลี่ยนแปลง (conversion products) สารจากกระบวนการสร้างและสลาย (metabolites) สารจากการทำปฏิกิริยา (reaction products) และสารที่ปนอยู่ในวัตถุอันตรายทางการเกษตร (impurities) ที่มีความเป็นพิษอย่างมีนัยสำคัญ

ชนิดสารพิษตกค้าง (definition of residues) หมายความว่า สารพิษตกค้างชนิดที่กำหนดให้ตรวจวิเคราะห์ ซึ่งอาจเป็นชนิดเดียวหรือหลายชนิดรวมกัน

ปริมาณสารพิษตกค้างสูงสุด (Maximum Residue Limit; MRL) หมายความว่า ปริมาณสารพิษตกค้างสูงสุดที่มีได้ในอาหาร อันเนื่องมาจากการใช้วัตถุอันตรายทางการเกษตร มีหน่วยเป็น มิลลิกรัมสารพิษตกค้างต่อกิโลกรัมอาหาร รายชื่อสารพิษอันตรายได้กำหนด MRL ตามชนิดของอาหาร ปรากฏอยู่ในบัญชีหมายเลข 2

ปริมาณสารพิษตกค้างสูงสุดที่ปนเปื้อนจากสาเหตุที่ไม่อาจหลีกเลี่ยงได้ (Extraneous Maximum Residue Limit; EMRL) หมายถึง ปริมาณสารพิษตกค้างสูงสุดที่มีได้ในอาหาร อันเนื่องมาจากสารพิษตกค้างที่ปนเปื้อนจากสิ่งแวดล้อม รวมสารพิษตกค้างจากวัตถุดิบทางการเกษตรที่เคยใช้มาก่อนและถูกยกเลิกการขึ้นทะเบียนการใช้ในประเทศแล้ว แต่เป็นสารพิษที่สลายช้าจึงปนเปื้อนหรือสะสมในสิ่งแวดล้อมเป็นเวลานาน มีหน่วย มิลลิกรัมสารพิษตกค้างต่อกิโลกรัมอาหาร การตรวจพบปริมาณสารพิษกลุ่มนี้ ได้กำหนดไว้ในบัญชีหมายเลขที่ 4 รายชื่อวัตถุดิบได้กำหนดปริมาณสารพิษตกค้างสูงสุดตามชนิดของอาหาร อยู่ในบัญชีหมายเลข 4

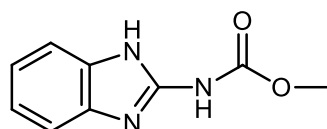
ดีฟอลต์ลิมิต (default limit) หมายความว่า ปริมาณสารพิษตกค้างที่มีได้ในอาหาร สำหรับวัตถุดิบทางการเกษตรที่ไม่ได้กำหนดปริมาณสารพิษตกค้างสูงสุด (MRL) ไว้ มีหน่วยเป็น มิลลิกรัมสารพิษตกค้างต่อกิโลกรัมอาหาร ปริมาณการตรวจพบที่กำหนดไว้ อยู่ในบัญชีหมายเลข 3

วัตถุดิบชนิดที่ 4 หมายความว่า วัตถุดิบที่ห้ามมิให้มีการผลิต การนำเข้า การส่งออก หรือการมีไว้ในครอบครอง โดยเป็นไปตามประกาศกระทรวงอุตสาหกรรม เรื่องบัญชีรายชื่อวัตถุดิบ ซึ่งชนิดของอาหาร ต้องไม่ตรวจพบวัตถุดิบทางการเกษตรนี้ รายชื่อของสารพิษกลุ่มนี้อยู่ในบัญชีหมายเลข 1

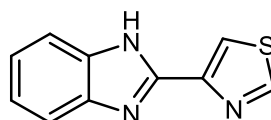
สารเคมีป้องกันกำจัดศัตรูพืช หรือยาฆ่าแมลง (ปนัดดา แทนสุโพธิ์ และคณะ, 2561) จัดเป็นวัตถุดิบทางการเกษตร แบ่งออกเป็น 4 กลุ่ม ได้แก่ กลุ่มออร์กาโนคลอรีน กลุ่มออร์กาโนฟอสเฟต กลุ่มคาร์บาเมต และกลุ่มไพรีทรีนและสารสังเคราะห์ไพรีทรอย์ จากบทความรายงานวิจัยของ สุธาสินี อึ้งสูงเนิน (2558) กล่าวถึงความหมายสารกำจัดศัตรูพืช คือสารเคมีที่ผลิตขึ้นเพื่อทำลายสิ่งมีชีวิตที่มาแย่งแย่งขัดขวางการผลิตอาหาร เป็นสารที่ใช้เพื่อป้องกันโรคพืช และสัตว์เลี้ยงที่เกิดจากสิ่งมีชีวิตอื่นๆ อาจเป็นสารกำจัดแมลง กำจัดเชื้อรา กำจัดหนูหรือกำจัดวัชพืช หนูกะรอก และสารเร่งการเจริญเติบโตพืช เป็นต้น โดยสามารถลดประชากรของศัตรูพืชลงได้อย่างรวดเร็ว ทำให้ความเสียหายของพืชอาจเกิดขึ้นจากศัตรูพืชลดลง สารเคมีกำจัดแมลง ชนิดของสารกำจัดศัตรูพืชที่มีการใช้เป็นปริมาณมาก และมักทำให้ผู้ใช้เกิดการเจ็บป่วย มี 4 กลุ่มใหญ่ คือ สารเคมีกำจัดแมลง สารป้องกันกำจัดวัชพืช สารกำจัดเชื้อรา และสารกำจัดหนูและสัตว์ฟันแทะ โดยสารเหล่านี้สามารถเข้าสู่ร่างกายได้ทั้งทางผิวหนัง การหายใจ และการกลืนกิน

2.2 คาร์เบนดาซิมและไทอะเบนดาโซล

สารกำจัดเชื้อรามีหลายชนิด วัตถุประสงค์การใช้เพื่อป้องกันและแก้ไขปัญหาคัดเชื้อราในพืชและผลผลิตจากพืช ช่วยเพิ่มมูลค่าให้กับการผลิต แต่ในขณะเดียวกันก็ก่อให้เกิดอันตรายต่อสิ่งแวดล้อม และอันตรายต่อสุขภาพของมนุษย์และสัตว์ การบริโภคอาหารที่ใช้สารกำจัดเชื้อราที่มีการสะสม ทำให้เกิดพิษเรื้อรัง พิษต่อตับ พิษต่อไต และก่อให้เกิดมะเร็ง (Fares et al., 2021) สำหรับงานวิจัยนี้จะกล่าวเฉพาะกลุ่มสารเชื้อรา 2 ชนิดเท่านั้น คือ คาร์เบนดาซิม (carbendazim) และไทอะเบนดาโซล (thiabendazole) มีสูตรโครงสร้างดังภาพที่ 1 ซึ่งตามประกาศตามประกาศกระทรวงสาธารณสุข คาร์เบนดาซิมเป็นสารพิษในบัญชีหมายเลข 2 และกำหนดค่า MRL ในกุยช่าย เงามะ ตันหอม ถั่วเหลืองฝักยาว หอมแดง องุ่น มีค่า MRL เท่ากับ 3 มิลลิกรัมต่อกิโลกรัม ในข้าวสาร พริก มะม่วง หอมใหญ่ กำหนดค่า MRL เท่ากับ 2 มิลลิกรัมต่อกิโลกรัม ใน ถั่วเขียว มะเขือเทศ ถั่วเหลืองเม็ดแห้ง กำหนดค่า MRL เท่ากับ 0.5 มิลลิกรัมต่อกิโลกรัม ใน อ้อย ใบหม่อน เมล็ดฝ้าย เมล็ดถั่วลิสง กำหนดค่า MRL เท่ากับ 0.1 มิลลิกรัมต่อกิโลกรัม สำหรับสารไทอะเบนดาโซล (thiabendazole) เป็นสารพิษในบัญชีหมายเลข 3 สำหรับพืช กำหนดค่า default limits เท่ากับ 0.1 มิลลิกรัมต่อกิโลกรัม



Carbendazim



Thiabendazole

ภาพที่ 1 โครงสร้างของ คาร์เบนดาซิม (carbendazim) และ ไทอะเบนดาโซล (thiabendazole)

คาร์เบนดาซิมและไทอะเบนดาโซล เป็นสารกำจัดเชื้อราในกลุ่มเบนซิมิดาโซล (benzimidazole) ซึ่งใช้ในการควบคุมโรคทั้งก่อนและหลังการเก็บเกี่ยว ซึ่งในประเทศจีนมีการใช้ในเมล็ดพืชที่ผลิตน้ำมัน (Zheng et al., 2022) คาร์เบนดาซิม มีชื่อทางเคมีว่า methyl benzimidazol-2-ylcarbamate มีสูตรโมเลกุล $C_9H_9N_3O_2$ น้ำหนักโมเลกุล 191.19 กรัมต่อโมล มีความสามารถในการละลายน้ำได้ถึง 29 มิลลิกรัมต่อลิตรที่อุณหภูมิ 24 องศาเซลเซียส ที่ pH 4 ละลายได้ 8 มิลลิกรัมต่อลิตร แต่มีความสามารถละลายได้ใน ethanol, ethyl acetate และ dichloromethane มีความเป็นพิษเฉียบพลัน โดยมีค่า LD_{50} ทางปากต่อหนู $> 15,000$ มิลลิกรัมต่อกิโลกรัม และทางผิวหนัง $> 10,000$ มิลลิกรัมต่อกิโลกรัม (ขงยุทธ ไม้แก้ว, 2548) สำหรับไทอะเบนดาโซล สูตรโมเลกุล $C_{10}H_7N_3S$ น้ำหนักโมเลกุล

201.25 กรัมต่อโมล (<https://en.wikipedia.org/wiki/Tiabendazole>, 2022) ชื่อทางการค้าว่า mintezol, tresaderm และ arbotect

การตรวจวิเคราะห์สารเคมีกลุ่มสารกำจัดเชื้อรา ถ้าต้องการตรวจวิเคราะห์เพื่อให้ได้ความเที่ยงและแม่นยำสูง ก็จำเป็นต้องใช้เครื่องมือขั้นสูงเช่น LC-MS/MS แต่อย่างไรก็ตามเครื่องมือมีต้นทุนราคาแพง ไม่มีในห้องปฏิบัติการทั่วไป ดังนั้นทางเลือกอีกทางหนึ่ง ใช้เทคนิค HPLC/FLD ซึ่งมีค่าใช้จ่ายถูกกว่าและหาได้ง่ายในห้องปฏิบัติการขนาดเล็ก สำหรับวิธีการสกัดกำจัดศัตรูพืชตกค้างออกจากตัวอย่างพืชผัก ผลไม้ ปัจจุบันนิยมใช้เทคนิคแคชเชอร์ (QuEChERS) หรือ Quick, Easy, Cheap, Effective, Rugged, และ Safe เป็นเทคนิคการสกัดด้วยตัวทำละลายอินทรีย์ที่เข้ากับน้ำได้ จากนั้นเติมเกลือจำนวนมากลงไปเพื่อคุดน้ำและทำให้เกิด salting-out effect ตามด้วยการกำจัดเมทริกซ์ในส่วนสกัดโดยใช้ dSPE (dispersive solid phase extraction) ซึ่งเป็นเทคนิคในการเตรียมตัวอย่างที่ง่าย รวดเร็ว มีประสิทธิภาพ และปลอดภัย (ไกรวุฒิ นวลขาว, 2562a; นันทนา กลิ่นสุนทร และคณะ, 2557)

2.3 เอกสารงานวิจัยที่เกี่ยวข้อง

งานวิจัยที่เกี่ยวข้องกับวิธีวิเคราะห์ปริมาณสารพิษตกค้างกลุ่มยาฆ่าเชื้อราที่มีดังต่อไปนี้

ชนิตศรา งามศักดิ์ประเสริฐ และคณะ (2559) ได้ทำการศึกษาการเปรียบเทียบวิธีการล้างผักตามคำแนะนำของกรมวิชาการเกษตร เพื่อลดสารตกค้างคาร์เบนดาซิมในใบกุยช่ายทั้งหมด 6 วิธี คือ การแช่น้ำประปา การแช่น้ำผสมน้ำส้มสายชู การแช่น้ำผสมน้ำยาล้างผัก St. Andrew การแช่น้ำผสมด่างทับทิม การแช่น้ำไหลสั้น และการล้างน้ำไหลผ่านตะแกรง นาน 5-60 นาที โดยศึกษาการสกัดคาร์เบนดาซิมใช้วิธี matrix solid phase dispersion (MSPD) และวิเคราะห์ความเข้มข้น ด้วยเครื่องโครมาโตกราฟของเหลวสมรรถภาพสูง โดยความเข้มข้นที่ได้นำมาเปรียบเทียบกับค่ามาตรฐานสารพิษตกค้างสูงสุดที่มีได้ (maximum residue limits, MRLs) ซึ่งประเทศไทยกำหนดความเข้มข้นคาร์เบนดาซิมในใบกุยช่ายไว้ไม่เกิน 3 มิลลิกรัมต่อกิโลกรัม (มก./กก.) ผลการศึกษาพบว่าวิธีการล้างน้ำไหลผ่านตะแกรงโดยไม่มีการขังของน้ำที่ใช้แช่ให้ประสิทธิภาพสูงสุดในการลดสารคาร์เบนดาซิม โดยสามารถลดเหลือเพียง 0.1-1.2 มก./กก.กุยช่ายในเวลา 60 นาที จากปริมาณคาร์เบนดาซิมเริ่มต้น 17.3-27.2 มก./กก.กุยช่าย คิดเป็นร้อยละ 72.3-94.9 ในขณะที่ วิธีที่เหลือสามารถลดสารคาร์เบนดาซิมได้ร้อยละ 54.1-99.1 โดยระยะเวลาของการแช่น้ำประปา การแช่น้ำผสมน้ำยาล้างผัก และการแช่น้ำผสมน้ำส้มสายชูที่เหมาะสมที่สุดคือ 10 นาที เมื่อแช่ 15 นาที กลับพบปริมาณคาร์เบนดาซิมเพิ่มขึ้น ในขณะที่การแช่น้ำไหลสั้น และน้ำผสมด่างทับทิม ระยะเวลาในการแช่ที่เหมาะสม คือ 5 นาที เมื่อแช่นาน 10 นาที พบว่ามีปริมาณคาร์เบนดาซิมเพิ่มขึ้นแสดงว่าอาจ

มีการดูดซึมกลับของสารคาร์เบนดาซิมเข้าสู่ใบกุยช่ายใหม่อีกครั้งหนึ่ง มีเพียงการล้างด้วยวิธีเปิดน้ำไหลผ่านตะแกรงเท่านั้นที่ไม่ พบการดูดซึมสารคาร์เบนดาซิมกลับเข้าสู่ใบกุยช่ายเมื่อเวลาผ่านไป

พัชรมัย เต็งชัยภูมิ (2561) ได้ทำการศึกษาหาสภาวะที่เหมาะสมในการสกัดปริมาณสารตกค้างของคลอร์ไพริฟอส และคาร์เบนดาซิมในหอมแดง และกระเทียมในจังหวัดพะเยา ซึ่งสภาวะที่เหมาะสมสำหรับการสกัดสารพิษทั้ง 2 ชนิดนั้นคือ ชั่งตัวอย่าง 10 กรัม เด็ดตัวทำลายเอทิลอะซิเตต 15 มิลลิลิตร สำหรับการแยกนี้ได้ดัดแปลงจากงานวิจัยของ Ata และคณะ โดยสารคลอร์ไพริฟอสใช้อะซิโตไนโตรลกับน้ำเป็นเฟสเคลื่อนที่ (90:10 %v/v) สำหรับคาร์เบนดาซิมใช้อะซิโตไนโตรลกับน้ำเป็นเฟสเคลื่อนที่ (50:50 %v/v) จากนั้นนำวิธีที่พัฒนาการสกัดขึ้นนี้วิเคราะห์หอมแดง และกระเทียม พบว่ามีสารตกค้างของคลอร์ไพริฟอส และคาร์เบนดาซิมในหอมแดง เฉลี่ย 0.2 ± 0.03 และ 0.2 ± 0.01 มิลลิกรัมต่อกิโลกรัมตามลำดับ ซึ่งมีค่าเกินค่ามาตรฐานของสหภาพยุโรป แต่ไม่เกินค่ามาตรฐานของไทย และในกระเทียมมีสารตกค้างของคลอร์ไพริฟอสเฉลี่ย 1.1 ± 0.02 มิลลิกรัมต่อกิโลกรัม ซึ่งมีค่าเกินค่ามาตรฐานของสหภาพยุโรป แต่ไม่เกินค่ามาตรฐานของไทย และคาร์เบนดาซิมเฉลี่ยและ 0.009 ± 0.01 มิลลิกรัมต่อกิโลกรัมตามลำดับ ตามลำดับ

อรรณพ วิทยวิทยา (2561) งานวิจัยนี้ได้ทำการศึกษาการกำจัดสารคาร์เบนดาซิมในผลผลิตทางการเกษตร 3 ชนิด (ต้นหอม ขึ้นฉ่าย และกุยช่าย) และผักปลอดสารพิษที่ได้มาตรฐาน “Q” ด้วยปฏิกิริยาโฟโตคะตะไลซิส โดยใช้ผง Dugussa P 25 ไทเทเนียมไดออกไซด์ ความเข้มข้น 0.05, 0.1, 0.5 และ 1 กรัม/ลิตร ร่วมกับการเติม ไฮโดรเจนเปอร์ออกไซด์ (H_2O_2) 40, 80 และ 120 มิลลิโมลาร์ และฉายรังสีอัลตราไวโอเลตเอความเข้ม 4.04 ± 0.1 มิลลิวัตต์ / ตารางเซนติเมตร โดยใช้วิธีการแช่ผลผลิตในกระบะทดลองเป็นเวลานานต่างกันคือ 5, 15, 30, 45 และ 60 นาที ผลการศึกษาพบว่า ผลผลิตการเกษตรทุกชนิดรวมทั้งผักปลอดสารพิษที่ได้มาตรฐาน “Q” มีปริมาณคาร์เบนดาซิมเกินมาตรฐานของสำนักงานมาตรฐานสินค้าเกษตร และอาหารแห่งชาติทั้งสิ้น ซึ่งการกำจัดคาร์เบนดาซิมให้ได้ประสิทธิภาพดีที่สุดมาจากการใช้ไทเทเนียมไดออกไซด์ 0.05-1 กรัม/ลิตร ร่วมกับ ไฮโดรเจนเปอร์ออกไซด์ 80-120 มิลลิโมลาร์ โดยเมื่อใช้ไฮโดรเจนเปอร์ออกไซด์ 120 มิลลิโมลาร์ และไทเทเนียมไดออกไซด์ 0.05 กรัม/ลิตร การกำจัดอย่างสมบูรณ์เกิดขึ้นเมื่อแช่ผลผลิตนาน 30 นาที แต่เมื่อเพิ่มความเข้มข้นของไทเทเนียมไดออกไซด์เป็น 0.1-1 กรัม/ลิตร ช่วยให้ได้สามารถลดเวลาลงเหลือ 5-15 นาทีได้ ในกรณีที่ใช้ไฮโดรเจนเปอร์ออกไซด์ 80 มิลลิโมลาร์ ร่วมกับไทเทเนียมไดออกไซด์ 0.5-1 กรัม/ลิตร การกำจัดคาร์เบนดาซิมอย่างสมบูรณ์ต้องใช้ระยะเวลาในการแช่ 15-30 นาทีขึ้นไป

สมบุญ กิรติประยูร และภาณี ช่วยบำรุง (2562) การศึกษานี้ได้ศึกษาวิธีการสกัด และวิเคราะห์คาร์เบนดาซิมตกค้างในผลผลิตทางการเกษตรที่ง่าย ไม่ยุ่งยาก ไม่ซับซ้อน ประหยัด

ค่าใช้จ่ายและเวลา โดยใช้วิธีการกระจายตัวดูดซับของแข็งในเนื้อสารด้วยการดูดซับชนิดไดอะตอม เมเชียส เอิร์ธ ร่วมกับผักกาดหอมที่เติมสารคาร์เบนดาซิมมาตรฐานความเข้มข้น 1, 3 และ 5 ไมโครกรัมต่อกรัม เพื่อให้เกิดพันธะระหว่างกันโดยศึกษาปริมาณผักกาดหอม (0.5, 1, 3 และ 5 กรัม) ต่อปริมาณตัวดูดซับ (0.5, 1, 2, 4 และ 6 เท่าของผักกาดหอม) ที่เหมาะสม และชนิดและปริมาณตัวทาลายที่เหมาะสม ได้แก่ ไคคลอโรมีเทน เมทานอล เอทิลอะซิเตท และ ไคคลอโรมีเทนผสมเมทานอลในอัตราส่วนร้อยละ 70 : 30 จะไล่คาร์เบนดาซิมออกจากกระบอกบรรจุระเหยแห้งแล้วใช้เมทานอลละลายคาร์เบนดาซิมกลับขึ้นมาใหม่ และนำไปวิเคราะห์ความเข้มข้นของคาร์เบนดาซิมที่สกัด ได้เปรียบเทียบกับความเข้มข้นที่เติมลงไป โดยคำนวณเป็นร้อยละการคืนกลับคืน ซึ่งค่าที่ยอมรับได้ตามมาตรฐานของ The Association of Analytical Communities คือ ร้อยละ 80-110 ผลการศึกษาพบว่าปริมาณผักกาดหอมที่เหมาะสมที่สุดในการนำมาสกัด และวิเคราะห์ คือ 1 กรัม สัดส่วนระหว่างผักกาดหอม : ตัวดูดซับไดอะตอมเมเชียส เอิร์ธที่ให้ร้อยละการคืนกลับคืนที่ดีที่สุดคือ 1 : 4 กรัม และตัวทาลายที่ชะคาร์เบนดาซิมออกมาจากพันธะได้ดีที่สุดเรียงตามลำดับจากมากไปน้อยคือ เมทานอล > ไคคลอโรมีเทนผสมเมทานอล > เอทิลอะซิเตท > ไคคลอโรมีเทน ในปริมาตรตัวทาลาย ที่เหมาะสมที่สุด คือ 40 มิลลิลิตร ผลที่ได้สามารถนำไปประยุกต์ใช้วิเคราะห์สารกำจัดศัตรูพืชตกค้างในผลผลิตทางการเกษตรอื่น ๆ ต่อไปได้ เนื่องจากวิธีที่ใช้มีขั้นตอนที่ไม่ยุ่งยาก ไม่ซับซ้อน และใช้สารเคมีในปริมาณน้อย

Karunambigai และคณะ (2012) ในงานวิจัยมีวัตถุประสงค์ศึกษาเทคนิค reverse phase HPLC สำหรับการวิเคราะห์ปริมาณสารตกค้างคาร์เบนดาซิมในธัญพืชจำพวกถั่วของอินเดีย ซึ่งสภาวะที่เหมาะสมการแยกของสารคาร์เบนดาซิม ใช้คอลัมน์แยกคือ Hypersill C18 (5 μ m 250 $\times$ 4.6 mm) เฟสเคลื่อนที่ใช้ฟอสเฟตบัฟเฟอร์ น้ำ และอะซิโตนในไตรล์ อัตราส่วน 17:37:46 %v/v ใช้ตัวตรวจวัดแบบ UV ที่ความยาวคลื่น 230 nm เวลาของสารคาร์เบนดาซิมที่อยู่ในคอลัมน์คือ 2.85 นาที ในการตรวจสอบความใช้ได้ของวิธีวิเคราะห์นั้นในการทดสอบความแม่นยำ ความเที่ยง ความละเอียดจะจงได้ทดสอบกับตัวอย่างทั้งหมด 15 ตัวอย่าง จากการทดลองพบว่าค่า MRL ของคาร์เบนดาซิมที่กำหนดไว้คือ 05 mg/kg ผลของคาร์เบนดาซิมที่วิเคราะห์ในตัวอย่างซีเรียล และพัลส์ดิบเฉลี่ยอยู่ในช่วง 0.0320-18.8171 mg/kg ช่วงการวิเคราะห์ของคาร์เบนดาซิมนั้นอยู่ในช่วง 0.1 ถึง 100 mg/mL ($r=0.9995$) ร้อยละการคืนกลับคืนของวิธีนี้อยู่ในช่วง 90.09-102.82 % ซึ่งแสดงให้เห็นว่าวิธีที่วิเคราะห์นี้ดี มีความแม่นยำและเที่ยง

Phansawan และ Chantara (2015) ได้พัฒนาวิธีการสกัด ตรวจสอบความใช้ได้ของวิธีวิเคราะห์สารคาร์เบนดาซิมในผักด้วยเทคนิค HPLC-UV และการนำวิธีที่พัฒนานี้ไปประยุกต์ใช้ในการ

ประเมินความเสี่ยงในด้านสุขภาพ ในการแยกใช้คอลัมน์ C18 จากบริษัท Supelco (250 mm x 4.6 mm i.d. 5 μ m) เฟสเคลื่อนที่เป็นเมทานอลกับน้ำ (25:75, v/v) อัตราการไหลของเฟสเคลื่อนที่ 1 mL/min ใช้ตัวตรวจวัดแบบ UV ที่ความยาวคลื่น 280 nm และปริมาตรในการฉีด 20 μ L. การพัฒนาวิธีการสกัดสารคาร์เบนดาซิมใช้การสกัดแบบ SPE โดยตัวแปลที่ศึกษามีดังต่อไปนี้ ปริมาณของตัวอย่างที่ใช้ในการสกัด, ปริมาตรของตัวทำละลายที่ใช้ในการสกัด และปริมาตรในการล้าง SPE ด้วยตัวทำละลาย จากการทดลองการพัฒนาวิธีการสกัดตามตัวแปลข้างต้น พบว่าปริมาณของตัวอย่างในการสกัด, ปริมาตรของตัวทำละลายที่ใช้ในการสกัด และปริมาตรในการล้าง SPE ด้วยตัวทำละลาย ที่เหมาะสมในงานวิจัยนี้คือ ชั่งตัวอย่างในการสกัด 5 กรัม ใช้ตัวทำละลายในการสกัดด้วย เอทิลอะซิเตต 15 mL และปริมาตรในการล้าง SPE ด้วยตัวทำละลาย 10 mL หลังจากนั้นการตรวจสอบความใช้ได้ของวิธีวิเคราะห์นี้ พบว่ามีความเหมาะสม มีความแม่นยำ เป็นวิธีที่เร็ว และง่าย ซึ่งการประยุกต์ใช้วิธีที่พัฒนาขึ้นสำหรับการประเมินความเสี่ยงในด้านของสุขภาพ จากการสำรวจการบริโภคมะเขือเทศ แดงกว่า คะน้า กะหล่ำดอก และจิง จากคนที่อาศัยอยู่ในตำบลสุเทพ เมืองเชียงใหม่ โดยสุ่มเฉพาะพื้นที่ตัวอย่าง และมีจำนวนผู้เข้าร่วมทุกหมู่บ้านทั้งหมด 244 คน ชาย 100 คน และหญิง 144 คน ซึ่งผู้เข้าร่วมในครั้งนี้มีตั้งแต่ ชาวนา ลูกจ้างทั่วไป พ่อค้า พนักงานออฟฟิศ ข้าราชการ และเจ้าของธุรกิจ ซึ่งในการประเมินการสัมผัสสารหรือ CDI ของสารคาร์เบนดาซิมจากการบริโภคมะเขือเทศ แดงกว่า คะน้า กะหล่ำดอก และจิง มีค่า ADI น้อยกว่า 100% (0.03 มก.-1) ผลจากการบริโภคผักทั้ง 5 ชนิดนั้นไม่มีส่งผลต่อสุขภาพของผู้บริโภค CDI ของคาร์เบนดาซิมตกค้างจากการบริโภคมะเขือเทศ (64.1%) แดงกว่า (59.6%) และกะน้า (56.7%) มีค่า ADI มากกว่า 50% ในขณะที่กะหล่ำดอก (19.3%) และจิง (0.9%) ต่ำกว่ามาก ถึงแม้ว่าในการสำรวจอาจแตกต่างกันไปในแต่ละฤดูกาล

Hazer และคณะ (2016) ได้พัฒนาสถานะที่เหมาะสมสำหรับการแยก และการตรวจสอบความใช้ได้ของวิธีวิเคราะห์ปริมาณคาร์เบนดาซิม และคลอร์ไพริฟอสที่ตกค้างในผัก และผลไม้ โดยเทคนิค HPLC-FD ใช้วิธีการสกัดแบบ QuEChERS ในการวิเคราะห์ครั้งนี้ใช้คอลัมน์ C18 (Inertsil ODS-3 250 mm x 4.6 mm, 5 μ m) ซึ่งในงานวิจัยนี้ศึกษาสถานะที่เหมาะสมในการแยก ดังพารามิเตอร์ต่อไปนี้ 1. อัตราส่วนเฟสเคลื่อนที่แบบ isocratic ใช้เมทานอลต่อน้ำ (65:35, 70:30, 75:25, 90:10, 95:5 และ 100:0 v/v) 2. สถานะการกระตุ้น (excitation) และการคายแสง (emission) (250-305, 275-350, 280-300, 280-315 และ 280-340 nm) 3. อัตราการไหลของเฟสเคลื่อนที่ (0.2 ถึง 1.2 mL/min) ผลการศึกษาสถานะที่เหมาะสมพบว่าอัตราส่วนเฟสเคลื่อนที่แบบ isocratic ใช้เมทานอลต่อน้ำที่ 95:5 v/v ที่สถานะกระตุ้น 280 nm การคายแสง 340 nm และอัตราการไหลของเฟสเคลื่อนที่ 0.8 mL/min เป็นสถานะที่เหมาะสมสำหรับการแยกคาร์เบนดาซิม และ

คลอร์ไพริฟอส ผลการตรวจสอบความใช้ได้ของวิธีในการวิเคราะห์ปริมาณสารทั้ง 2 ชนิด เช่น ความเป็นเส้นตรง ความแม่นยำ และความถูกต้อง ให้ผลการทดสอบเป็นที่น่าพอใจ % recovery ของสารทั้ง 2 ชนิด ที่ความเข้มข้น 0.1 และ 1 mg/kg อยู่ในช่วง 84.2, 106.5% และ 90.3, 85.7% และ ค่า %RSD ของสารทั้ง 2 ชนิด ไม่เกิน 10% ซึ่งแสดงให้เห็นว่าวิธีที่ได้พัฒนานี้สามารถแยกสาร ทั้ง 2 ชนิดได้ และเมื่อนำวิธีนี้มาวิเคราะห์สารพิษทั้ง 2 ชนิดนี้พบว่า ผัก และผลไม้ที่สุ่มมาจากพื้นที่ ต่าง ๆ ในประเทศสุรินทน์ต่ำกว่า MRLs ของ EU ที่กำหนดไว้

Ahn และคณะ (2021) ได้ศึกษาการวิเคราะห์ที่แม่นยำของในการหาปริมาณสารพิษตกค้าง 3 ชนิด (คาร์บาริล คาร์โบฟูแรน และคาร์เบนดาซิม) ในผักโดยเทคนิคโครมาโทกราฟีของเหลว เจือจางไอโซโทปควบคู่กับเทคนิคแมสสเปกโตรเมตรี (ID-LC/MS/MS) การทดลองนี้ได้ใช้ SPE ในการ Clean-up สีของตัวอย่างผัก และสภาวะที่เหมาะสมสำหรับการแยกของวิธีนี้คือ คอลัมน์ Waters Symmetry Shield C18 (2.1 mm i.d. × 150 mm, 3 m) พร้อมด้วย C18 guard column. เฟสเคลื่อนที่ใช้ระบบเกรเดียน โดยสาย A คือ 5 mM aqueous ammonium formate ที่ละลายอยู่ใน 0.1% กรดฟอर्मิก และ B คือ อะซิโตนไตรัท. และใช้สารไอโซโทป ($^{13}\text{C}_6$ -carbaryl, carbendazim- d_4 และ $^{13}\text{C}_6$ -carbofuran) เป็นสารมาตรฐานภายใน ผลการศึกษาพบว่า วิธีที่พัฒนาขึ้นนี้สามารถ พิสูจน์ได้ด้วยความแม่นยำ ซึ่งในการทำซ้ำมีค่าต่ำกว่า 2 % และได้นำวิธีที่พัฒนาขึ้นมาวิเคราะห์ ปริมาณสารพิษตกค้างในผักได้แก่ ผงกะหล่ำปลีเกาหลี่ แครอท โสม และแตงกวาที่ซื้อมาจากตลาด ในประเทศเกาหลี พบว่าปริมาณของสารพิษตกค้างทั้ง 3 ชนิดนั้นมีค่า MRLs ของประเทศเกาหลี และ EU ต่ำกว่า LOQ ทั้งหมด

บทที่ 3

วิธีการดำเนินการวิจัย

3.1 เครื่องมือ วัสดุ อุปกรณ์ สารเคมี และตัวอย่าง

3.1.1 เครื่องมือ วัสดุ และอุปกรณ์

1. เครื่องโครมาโทกราฟีของเหลวสมรรถนะสูง (High Performance Liquid Chromatography; HPLC) รุ่น Agilent series 1260 พร้อมด้วย Diode Array Detector ประกอบไปด้วย degasser (G1311C), Quaternary pump VL (G1311C), auto sample (G1329B), thermostate temperature (G1316A), fluorescent Detector (G1321C), ระบบการควบคุม และการประมวลผลใช้ซอฟต์แวร์ OpenLAB CDS ChemStation เวอร์ชัน C.01.07 ผลิตจาก บริษัท Agilent Technologies ประเทศสหรัฐอเมริกา

2. คอลัมน์รุ่น ZORBAX Eclipse Plus C18 (4.6×100 mm, 3.5 μm) ผลิตจาก บริษัท Agilent Technologies ประเทศสหรัฐอเมริกา

3. คอลัมน์รุ่น ZORBAX Eclipse Plus C18 (4.6×150 mm, 3.5 μm) ผลิตจาก บริษัท Agilent Technologies ประเทศสหรัฐอเมริกา

4. คอลัมน์รุ่น ZORBAX Eclipse Plus C8 (4.6×250 mm, 3.5 μm) ผลิตจาก บริษัท Agilent Technologies ประเทศสหรัฐอเมริกา

5. คอลัมน์รุ่น InfinityLab Poroshell 120 EC-C18 (4.6×150 mm, 2.7 μm) ผลิตจาก บริษัท Agilent Technologies ประเทศสหรัฐอเมริกา

6. คอลัมน์รุ่น Inertsil ODS-3 (4.6×250 mm, 5 μm) ผลิตจาก บริษัท GL Sciences ประเทศญี่ปุ่น

7. เครื่องชั่งไฟฟ้า 2 ตำแหน่ง โมเดล ME3002T ผลิตจากบริษัท Mettler Toledo ประเทศสวิตเซอร์แลนด์

8. เครื่องปั่นเหวี่ยงความเร็วสูงแบบควบคุมอุณหภูมิ (Centrifuge) ยี่ห้อ Dynamica รุ่น V18R ผลิตจากบริษัท Dynamica ประเทศจีน

9. เครื่องกลั่นระเหยสารสูญญากาศยี่ห้อ BUCHI รุ่น 9230 Flawil ที่ประกอบด้วย rotavapor R-300, vacuum pump V-300, Recirculating Chiller F-105, heating bath B-300 Base และ interface I-300 ผลิตจากบริษัท BUCHI Labortechnik AG ประเทศสวิตเซอร์แลนด์

10. ตู้เย็นสำหรับเก็บตัวอย่าง Direct Freezing -40 °C ยี่ห้อ Parasonic Model MDF-U5412

11. ตู้เย็นสำหรับเก็บสารละลายมาตรฐาน Mitsubishi Electric รุ่น MR-FC31EP

12. ตู้ดูดควัน (Hood) Model 252 ยี่ห้อ NEW LAB

13. Syringe filter Model FE1322, PTFE (Hydrophobic) ขนาด 0.22 μm x 13 mm

14. กระบอกฉีดยา (Disposable Syringe) ขนาด 3 มิลลิลิตร

15. ไมโครปิเปตขนาด 100 และ 1,000 ไมโครลิตร จากบริษัท Mettler Toledo ประเทศสหรัฐอเมริกา (ผ่านการสอบเทียบแล้ว)

16. ขวดวัดปริมาตรขนาด 1, 2, 5, 10, และ 25 มิลลิลิตร

17. ปีกเกอร์ขนาด 25, 50, 100, 250 และ 500 มิลลิลิตร

18. ขวดกั่นกลมขนาด 25, 250, และ 500 มิลลิลิตร

19. ขวดบรรจุสารขนาดเล็ก (Vial) ขนาด 2 มิลลิลิตร และ Insert ขนาด 400 ไมโครลิตร

20. ขวดสีชาสำหรับใส่สารละลายมาตรฐานขนาด 20 และ 60 มิลลิลิตร

21. เครื่องเขย่า (Vortex) รุ่น GRNIE 2

22. หลอดทดลองขนาด 15 มิลลิลิตร

23. หลอดหยดสาร

24. ช้อนตักสารเคมี

3.1.2 สารเคมี

1. อะซิโตไนไตรล์ (Acetonitrile; CH_3CN) เกรด HPLC ความบริสุทธิ์ 99.9 % มวลโมเลกุล 41.05 กรัมต่อโมล บริษัท CARLO ERBA ประเทศสหรัฐอเมริกา

2. เมทานอล (Methanol ; CH_3OH) เกรด HPLC ความบริสุทธิ์ 99.9 % มวลโมเลกุล 32.0 กรัมต่อโมล บริษัท J.T Baker ประเทศสหรัฐอเมริกา

3. สารมาตรฐานคาร์เบนดาซิม (Carbendazim; $\text{C}_9\text{H}_9\text{N}_3\text{O}_2$) เกรด HPLC ความบริสุทธิ์ 97% มวลโมเลกุล 191.19 กรัมต่อโมล บริษัท ALDRICH ประเทศสหรัฐอเมริกา

4. สารมาตรฐานไทอะเบนดาโซล (Thiabendazole; $\text{C}_{10}\text{H}_8\text{ClN}_3\text{S}$) เกรด HPLC ความบริสุทธิ์ 98.6 % มวลโมเลกุล 201.25 กรัมต่อโมล บริษัท CARLO ERBA ประเทศสหรัฐอเมริกา

5. ชุดสกัดแควชเชอร์ตามวิธีของ EN (QuEChERS Extraction Pouch, EN method) Part No. 5982-0650 ประกอบด้วย 4 g Magnesium sulfate, 1 g Sodium chloride, 1 g Sodium Citrate Dihydrate และ 0.5 g disodium Hydrogencitrate sesquihydrate พร้อมด้วย Ceramic Homogenizer

Part No. 5982-9313 สำหรับใส่ในหลอดทดลองขนาด 50 mL, ผลิตโดยบริษัท Agilent technologies ประเทศสหรัฐอเมริกา

6 ชุด Clean up: Dispersive SPE, EN method Part No. 5982-5386 ประกอบด้วย 150 mg Primary Secondary Amine (PSA), 45 mg Graphite Carbon Black (GCB) และ 855 mg Magnesium sulfate (MgSO_4) พร้อมด้วย Ceramic Homogenizer Part No. 5982-9312 สำหรับใส่ในหลอดทดลองขนาด 15 mL, ผลิตโดยบริษัท Agilent technologies ประเทศสหรัฐอเมริกา

3.1.3 ตัวอย่าง และการเตรียมตัวอย่าง

ตัวอย่างในงานวิจัยนี้จะประกอบไปด้วยผัก และผลไม้ชนิดต่าง ๆ ที่สุ่มจากตลาดในจังหวัดเพชรบูรณ์ ดังนี้ตารางที่ 3.1

ตารางที่ 3.1 ตัวอย่างผัก และผลไม้ชนิดต่าง ๆ ที่สุ่มมาจากตลาดในจังหวัดเพชรบูรณ์

รหัสตัวอย่าง	ชนิดผลไม้ และพืชผัก	รหัสตัวอย่าง	ชนิดผลไม้ และพืชผัก
S01	เมล่อนเขียว ¹	S19	ถั่วฝักยาว ¹
S02	เมล่อนเหลือง ¹	S20	ถั่วฝักยาว ²
S03	แคนตาลูป ²	S21	ถั่วฝักยาว ⁴
S04	ส้มโอขาว ²	S22	ข้าวโพดอ่อน ²
S05	ส้มโอแดง ²	S23	เห็ดนางฟ้าสีชมพู ¹
S06	อินทผลัมแดง ¹	S24	กระเทียม ¹
S07	อินทผลัมเหลือง ³	S25	กระเทียม ²
S08	ฝรั่ง ¹	S26	กระเทียม ⁴
S09	แตงกวา ¹	S27	หอมแดง ¹
S10	แตงกวา ²	S28	หอมแดงแขก ²
S11	แตงกวา ⁴	S29	หอมหัวใหญ่ ²
S12	ผักกาดขาว ¹	S30	หัวไชเท้า ²
S13	ผักกาดขาว ²	S31	ฟัก ²
S14	มะเขือเทศราชินี ¹	S32	แครอท ²
S15	มะเขือเทศ ²	S33	กะหล่ำปลี ²
S16	มะเขือเปราะ ¹	S34	กะหล่ำดอก ²
S17	มะเขือเปราะ ²	S35	บรอกโคลี ²
S18	มะเขือเปราะ ⁴	S36	ผักนึ่งจีน ²

ตารางที่ 3.1 (ต่อ)

รหัสตัวอย่าง	ชนิดผลไม้ และพืชผัก	รหัสตัวอย่าง	ชนิดผลไม้ และพืชผัก
S37	กวางตุ้งดอก ²	S47	ขึ้นฉ่าย ²
S38	คะน้า ²	S48	ต้นหอม ²
S39	ผักสลัด (ผักกาดหอม) ²	S49	กระชาย ²
S40	ผักสลัด (ผักกอส) ²	S50	จิงอ้อน ²
S41	ผักสลัด (กรีน โอ๊ค) ²	S51	ข่าอ้อน ²
S42	ผักสลัด (ฟิลเลย์ไอซ์เบิร์ก) ²	S52	พริกแดงจินดา ²
S43	ผักสลัด (ฟิลเลย์ไอซ์เบิร์ก) ⁴	S53	พริกหยวก ²
S44	ผักสลัด (เรด โอ๊ค) ²	S54	แรดิช ³
S45	ผักสลัด (เรด โอ๊ค) ⁴	S55	บัวหิมะ ³
S46	ผักชี ²		

หมายเหตุ 1 คือ ผักจากตลาดนัดร้านไนน์ แทมมะรินทร์ อำเภอเมือง จังหวัดเพชรบูรณ์,

2 คือ ผักจากตลาดเทศบาล อำเภอเมือง จังหวัดเพชรบูรณ์,

3 คือ ผักจากอำเภอเขาค้อ จังหวัดเพชรบูรณ์

4 คือ ผักจากหมู่บ้านวังซอง อำเภอท่าพล จังหวัดเพชรบูรณ์

จากผักและผลไม้ผู้วิจัยได้ทำการสุ่มมาจากตลาดตามวิธีของ (Phansawan & Chantara, 2015) โดยสุ่มผลไม้ และพืชผักอย่างละ 1 กิโลกรัม จำนวน 55 ตัวอย่าง และนำผักที่สุ่มแล้วมาบดให้ละเอียดแล้วชั่งน้ำหนักของตัวอย่าง 10 กรัมใส่ลงหลอดทดลองขนาด 50 mL จากนั้นนำไปเก็บที่ตู้เย็น -40 °C ของศูนย์วิทยาศาสตร์ คณะวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยี มหาวิทยาลัยราชภัฏเพชรบูรณ์ ก่อนการวิเคราะห์นั้น ผลไม้และพืชผักควรอยู่ในอุณหภูมิประมาณ 25 °C ทุกครั้งก่อนใช้งาน

3.1.4 การเตรียมสารละลาย

3.1.4.1. การเตรียมตัวทำละลายที่ใช้เป็นเฟสเคลื่อนที่

เฟสเคลื่อนที่ก่อนนำมาใช้ในระบบ HPLC จะต้องกรองผ่านแผ่นเมมเบรน ไนลอนขนาด 0.45 μm หรือ 0.22 μm ซึ่งมีเส้นผ่าศูนย์กลาง 47 mm ด้วยชุดกรองแสดงดังภาพที่ 3.1 เตรียมการกรองได้โดยกรองน้ำ และเมทานอลลงในขวดสีชา จากนั้นนำเฟสเคลื่อนที่ที่กรองแล้วนำไปใส่ฟองอากาศด้วยเครื่องความถี่สูงเป็นเวลา 30 นาที ก่อนใช้งาน



ภาพที่ 3 ชุดกรองตัวทำละลายหรือสารละลายเฟสเคลื่อนที่ (Mobile phase) สำหรับวิเคราะห์ด้วยเทคนิค HPLC

3.1.4.1 การเตรียมสารละลายมาตรฐาน

- (1). Stock standard solution ของสารคาร์เบนดาซิมที่ความเข้มข้น 200 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร เตรียมโดยชั่งสารมาตรฐาน 0.020 กรัม ละลายในตัวทำละลายอะซิโตนไครล์ ปริมาตร 100 มิลลิลิตร
- (2). Stock standard solution ของสารไทอะเบนดาโซลที่ความเข้มข้น 500 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร เตรียมโดยชั่งสารมาตรฐาน 0.050 กรัม ละลายในตัวทำละลายอะซิโตนไครล์ ปริมาตร 100 มิลลิลิตร
- (3). Intermediate standard solution ของสารไทอะเบนดาโซลที่ความเข้มข้น 200 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร เตรียมโดยปิเปตสารละลายมาตรฐานไทอะเบนดาโซล 4 มิลลิลิตร ละลายในตัวทำละลายอะซิโตนไครล์ ปริมาตร 10 มิลลิลิตร

3.2 วิธีการดำเนินการวิจัย

ขั้นตอนการดำเนินการวิจัย มีทั้งหมด 3 หัวข้อ ดังต่อไปนี้

1. พัฒนาวิธีวิเคราะห์ปริมาณสารคาร์เบนดาซิม และสารไทอะเบนดาโซล ด้วยเทคนิคลิควิดโครมาโทกราฟี ใช้ตัวตรวจวัดชนิด FLD
2. ตรวจสอบความใช้ได้ของวิธีวิเคราะห์ที่พัฒนาขึ้นสำหรับปริมาณสารคาร์เบนดาซิม และสารไทอะเบนดาโซล ด้วยเทคนิคลิควิดโครมาโทกราฟีใช้ตัวตรวจวัดชนิด FLD
3. วิเคราะห์ปริมาณสารกำจัดศัตรูพืชกลุ่มออร์กาโนฟอสเฟตทั้งหมด 21 ตัวในตัวอย่างผลไม้ และพืชผักจากตลาดในจังหวัดเพชรบูรณ์

3.2.1 พัฒนาวิธีวิเคราะห์ปริมาณสารคาร์เบนดาซิม และสารไธอะเบนดาโซล ด้วยเทคนิค ลิควิดโครมาโทกราฟี ใช้ตัวตรวจวัดชนิด FLD

3.2.1.1. การศึกษาชนิดของคอลัมน์ที่เหมาะสมสำหรับการแยกสารสารคาร์เบนดาซิม และสารไธอะเบนดาโซล

การศึกษานี้ของคอลัมน์ทั้งหมด 5 ชนิด ดังนี้

1. คอลัมน์รุ่น ZORBAX Eclipse Plus C18 (4.6×100 mm, 3.5 μ m)
2. คอลัมน์รุ่น ZORBAX Eclipse Plus C18 (4.6×150 mm, 3.5 μ m)
3. คอลัมน์รุ่น ZORBAX Eclipse Plus C8 (4.6×250 mm, 3.5 μ m)
4. คอลัมน์รุ่น Inertsil ODS-3 (4.6×250 mm, 5 μ m)
5. คอลัมน์ YMC-C18 (4.6 × 250 mm, 5 μ m)

โดยวิเคราะห์โดยใช้สารละลายมาตรฐานเบนดาซิม และไธอะเบนดาโซลที่ความเข้มข้น 2 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร ปริมาตรในการฉีด 5 ไมโครลิตร ใช้เฟสเคลื่อนที่อัตราส่วนระหว่างน้ำกับเมทานอล 40:60 อัตราการไหล 1 มิลลิลิตรต่อนาที ใช้ตัวตรวจวัด fluorescent Detector (Hazer และคณะ, 2016; Wang และคณะ, 2020) โดยทำให้เกิดสถานะกระตุ้น (Excited state) ที่ 285 นาโนเมตร และคายแสง (Emission) ที่ 315 นาโนเมตร แล้วพิจารณาความเหมาะสมของระบบ (System suitability test) ซึ่งพิจารณาพารามิเตอร์ดังต่อไปนี้ R_t (Retention time), Peak area, Width, N (theoretical plates), k' (Retention factor), α (Selectivity Factor), R_s (Resolution factor) และ T (Tailing factor) (เภสัชกรหญิง รองศาสตราจารย์ ลาวัลย์ ศรีพงษ์, 2553; Bose, 2014)

3.2.1.2 การศึกษาอัตราการไหลของเฟสเคลื่อนที่ที่เหมาะสมสำหรับการ แยกสารสารคาร์เบนดาซิม และสารไธอะเบนดาโซล

โดยเลือกศึกษาอัตราการไหลของเฟสเคลื่อนที่ที่เหมาะสมดังตาราง
ต่อไปนี้

ตารางที่ 3.3 การศึกษาอัตราส่วนของเฟสเคลื่อนที่ที่เหมาะสมสำหรับการแยกสารคาร์เบนดาซิมและสารไพอะเบนดาโซล

ตัวทำละลายของเฟสเคลื่อนที่ที่ศึกษา	อัตราส่วนของเฟสเคลื่อนที่ที่ศึกษา
น้ำกับอะซิโตนไตรัล	50:50
น้ำกับเมทานอล	50:50
น้ำกับเมทานอล	40:60
น้ำกับเมทานอล	35:65
น้ำกับเมทานอล	30:70
น้ำกับเมทานอล	25:75
น้ำกับเมทานอล	20:80

โดยวิเคราะห์โดยใช้สารละลายมาตรฐานเบนดาซิม และไพอะเบนดาโซลที่มีความเข้มข้น 2 ไมโครกรัมต่อมิลลิกรัม ปริมาตรในการฉีด 5 ไมโครลิตร ใช้ตัวตรวจวัด fluorescent Detector โดยทำให้เกิดสถานะกระตุ้น (Excited state) ที่ 285 นาโนเมตร และคายแสง (Emission) ที่ 315 นาโนเมตร แล้วพิจารณาความเหมาะสมของระบบ (System suitability test) ซึ่งพิจารณาพารามิเตอร์ดังต่อไปนี้ R_t (Retention time), Peak area, Width, N (theoretical plates), k' (Retention factor), α (Selectivity Factor), R_s (Resolution factor) และ T (Tailing factor) (เกศขกรหญิง รองศาสตราจารย์ ถาวลี ศรีพงษ์, 2553; Bose, 2014)

3.2.2 การตรวจสอบความใช้ได้ของวิธีที่พัฒนาขึ้นสำหรับการวิเคราะห์ปริมาณสารคาร์เบนดาซิม และสารไพอะเบนดาโซล

จากการพัฒนาวิธีวิเคราะห์ปริมาณสารคาร์เบนดาซิม และสารไพอะเบนดาโซลในตัวอย่างผลไม้ และพืชผักนั้นต้องทำการทดสอบความถูกต้องของวิธีวิเคราะห์ (Method Validation) เพื่อยืนยันถึงความถูกต้อง และความเหมาะสมของวิธีวิเคราะห์ ก่อนนำมาใช้ในการวิเคราะห์จะต้องแสดงคุณลักษณะ (Performance Characteristics) ที่ทดสอบได้แก่พารามิเตอร์ต่อไปนี้ การทดสอบความจำเพาะเจาะจง (Specification/Selectivity) การทดสอบความเป็นเส้นตรง และช่วงของการวิเคราะห์ (Linearity and range) การทดสอบความแม่นยำ (Accuracy) การทดสอบความเที่ยง (Precision) การทดสอบขีดจำกัดของการตรวจพบ (Limit of detection, LOD) และการทดสอบขีดจำกัดของการตรวจวัดเชิงปริมาณ (Limit of quantitation, LOQ) และเพื่อทดสอบพารามิเตอร์

เหล่านี้จะใช้สภาวะที่เหมาะสมทางโครมาโทกราฟีที่ได้จากการทดลองข้างต้น (สุวรรณราช และคณะ, 2018; The Fitness for Purpose of Analytical Methods, 2014)

3.2.2.1 การทดสอบความจำเพาะเจาะจง (Specification/Selectivity)

การทดสอบความจำเพาะเจาะจงของวิธีวิเคราะห์ทางปริมาณสารคาร์เบนดาซิม และสารไทอะเบนดาโซลกระทำโดยการฉีดสารละลายแบบลงค์, สารละลายมาตรฐานผสมคาร์เบนดาซิม และสารไทอะเบนดาโซลที่ระดับความเข้มข้น 2 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร และตัวอย่างผลไม้ และพืชผัก เพื่อศึกษาความแตกต่างของ Retention time ของสารคาร์เบนดาซิม และสารไทอะเบนดาโซล ซึ่งสารทั้ง 2 นี้จะต้องแยกออกจากสารอื่นโดยจะต้องไม่ถูกรบกวนจากสารอื่น

3.2.2.2 การทดสอบความเป็นเส้นตรง และช่วงของการวิเคราะห์

(Linearity and range)

เป็นการสร้างกราฟมาตรฐานแบบ Matrix-match calibration curve ประกอบด้วย 6 ความเข้มข้น โดยช่วงความเข้มข้นของสารละลายมาตรฐานผสมคาร์เบนดาซิมประกอบด้วย 0.025, 0.07, 0.25, 0.5, 1 และ 2.5 มิลลิกรัมต่อกิโลกรัม ช่วงความเข้มข้นของสารไทอะเบนดาโซลประกอบด้วย 0.025, 0.1, 0.125, 0.5, 1 และ 2.5 มิลลิกรัมต่อกิโลกรัม ตามลำดับ นำสารละลายที่ได้กรองผ่าน filter membrane Nylon ขนาด $0.22\ \mu\text{m} \times 13\ \text{mm}$ จากนั้นไปวิเคราะห์ด้วยเครื่อง HPLC-FLD โดยฉีดความเข้มข้นละ 3 μL โดยใช้สภาวะที่เหมาะสมสำหรับการแยก โดยกราฟมาตรฐานจะสร้างระหว่างแกน y คือพื้นที่ใต้กราฟ (Peak area) และแกน X คือความเข้มข้นของสารละลายมาตรฐานคาร์เบนดาซิม และสารไทอะเบนดาโซลคำนวณค่าสัมประสิทธิ์สหสัมพันธ์ (Correlation coefficient, r) จะต้องมากกว่า 0.995 ขึ้น (ไกรวุฒิ นวลขาว, 2562b)

3.2.2.2.1 การวิเคราะห์ Matrix sample

เป็นการตรวจสอบสารรบกวนที่อาจจะมาจากสารเคมีหรือตัวอย่างที่อาจส่งผลกระทบต่อ การวิเคราะห์ และเพื่อป้องกันความผิดพลาดที่จะเกิดขึ้นในการจำแนก และการวิเคราะห์ปริมาณสาร โดยการตรวจสอบ matrix sample: ใช้วิธีการสกัดสารโดยใช้ตัวอย่างผักที่ไม่มีสารพิษตกค้างคาร์เบนดาซิม และสารไทอะเบนดาโซล

3.2.2.3 การทดสอบขีดจำกัดของการตรวจพบ (Limit of detection, LOD) และการทดสอบ

ขีดจำกัดของการตรวจวัดเชิงปริมาณ (Limit of quantitation, LOQ)

ฉีดสารตัวอย่าง เติริมโดยเดิม (Spike) สารละลายมาตรฐานผสมคาร์เบนดาซิม และสารไทอะเบนดาโซลลงในตัวอย่างผลไม้หรือพืชผักที่ปราศจากสารพิษตกค้างที่ระดับความเข้มข้นต่ำสุดที่ให้ขนาดสัญญาณเป็น 3 เท่าของของขนาดสัญญาณรบกวน (Signal to noise ratio) วิเคราะห์ 7 ครั้ง คำนวณหา LOD เป็นความเข้มข้นของสารละลายมาตรฐานคาร์เบนดาซิม และสารไทอะเบนดา

โซลในหน่วยมิลลิกรัมต่อกิโลกรัม และการวิเคราะห์ LOQ วิเคราะห์ตัวอย่างโดยเติมสารละลายมาตรฐานผสมคาร์เบนดาซิม และสารไพอะเบนดาโซลลงในเบลกึ่งตัวอย่าง (Sample blank) ที่ระดับความเข้มข้นที่ให้ขนาดสัญญาณเป็น 10 เท่าของขนาดสัญญาณรบกวน (Signal to noise ratio) วิเคราะห์ 7 ครั้ง คำนวณร้อยละของการกลับคืน (%Recovery), ร้อยละของค่าเบี่ยงเบนมาตรฐานสัมพัทธ์ (%RSD) และ HORRAT คำนวณค่า LOQ เป็นความเข้มข้นสารละลายมาตรฐานผสมคาร์เบนดาซิม และสารไพอะเบนดาโซลในหน่วยมิลลิกรัมต่อกิโลกรัม

3.2.2.4 การทดสอบความแม่นยำและความแม่นยำของวิธีการวิเคราะห์

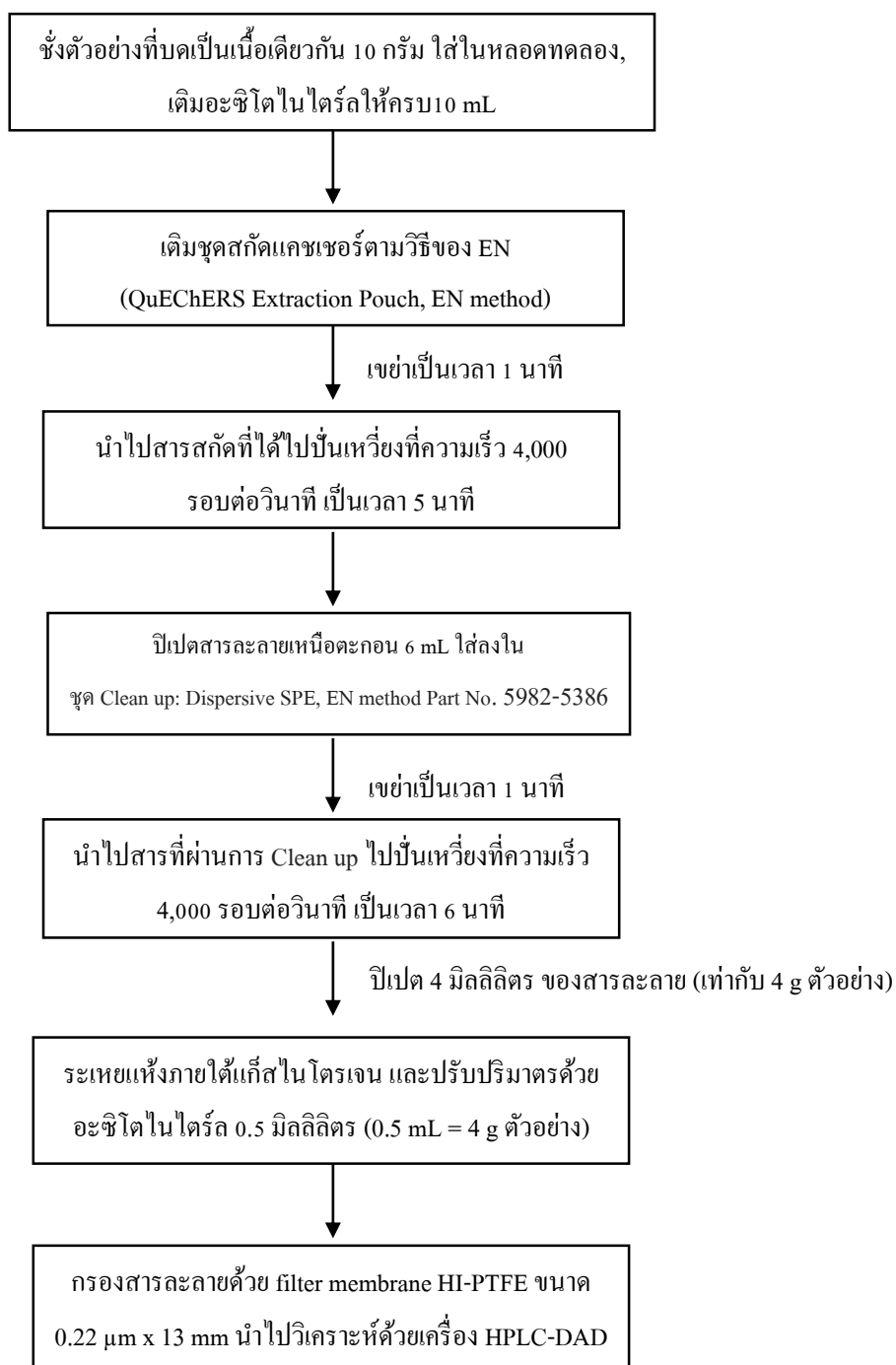
(Accuracy and Precision)

เกณฑ์การทดสอบความแม่นยำ และความเที่ยงคือ การคำนวณค่าร้อยละของการกลับคืน (%Recovery) ที่ความเข้มข้นอย่างน้อย 3 ระดับ ในช่วงของการทดสอบ ซึ่งการทดสอบความแม่นยำนี้ทำโดยการเติมสารละลายมาตรฐาน (Spiked sample) สารละลายมาตรฐานมาตรฐานผสมคาร์เบนดาซิม และสารไพอะเบนดาโซล ที่ระดับความเข้มข้นเท่ากับ LOQ, 3 เท่าของ LOQ และ 10 เท่าของ LOQ ในหน่วยมิลลิกรัมต่อกิโลกรัม ทดสอบความเข้มข้นละ 7 ซ้ำ คำนวณค่าร้อยละของการกลับคืนแต่ละความเข้มข้น หาค่าเฉลี่ยร้อยละของการกลับคืน ค่าร้อยละของค่าเบี่ยงเบนมาตรฐานสัมพัทธ์ (%RSD) และ HORRAT ประเมินผลการทดสอบความแม่นยำ และความเที่ยงนี้โดยค่าเฉลี่ยของร้อยละการกลับคืนจะต้องอยู่ในช่วง 80-110% ค่า HORRAT ต้องน้อยกว่าหรือเท่ากับ 2 (รัตติยากร ศรีโคตร & วิรุฒิ วิทยานันท์, 2561; Rivera และคณะ, 2011)

3.2.3 วิธีการสกัดตัวอย่าง และวิเคราะห์ปริมาณสารพิษตกค้างคาร์เบนดาซิม และสารไพอะเบนดาโซลในตัวอย่างผลไม้ และพืชผักตามท้องตลาดในจังหวัดเพชรบูรณ์

สำหรับงานวิจัยนี้ ได้ดัดแปลงวิธีการสกัดสารพิษตกค้างคาร์เบนดาซิม และสารไพอะเบนดาโซล โดยใช้วิธี QuEChERS แบบ EN method (Fares และคณะ, 2021; Kim และคณะ, 2019) นำตัวอย่างที่บดเตรียมพร้อมใช้งานแล้วเติมชุดสกัดสารแบบวิธีของอีเอ็น (Extraction kit, EN 15662 method) ตามด้วย 100% อะซิโตนไตรล์ 10 มิลลิลิตร จากนั้นนำไปเขย่าให้เป็นเนื้อเดียวกันด้วยเครื่อง Vortex mixer จากนั้นนำไปปั่นเหวี่ยงด้วยเครื่องปั่นเหวี่ยงความเร็วสูงที่ความเร็ว 4,000 รอบต่อวินาที เป็นเวลา 5 นาที ที่ 25 องศาเซลเซียส เปิดสารละลายที่สกัดได้ 6 มิลลิลิตร ลงในหลอดเซนติฟิวขนาด 15 มิลลิลิตร นำไปกำจัดสิ่งรบกวนตามวิธีของอีเอ็น (Clean up Dispersive kit, EN 15662 method) เขย่าเล็กน้อย และนำไปปั่นเหวี่ยงด้วยเครื่องปั่นเหวี่ยงความเร็วสูงที่ความเร็ว 4,000 รอบต่อวินาที เป็นเวลา 5 นาที ที่ 25 องศาเซลเซียส จากนั้นนำสารละลายผ่านการกำจัดสิ่งรบกวนแล้วมา 4 มิลลิลิตร ไประเหยแห้งด้วยแก๊สไนโตรเจน และปรับปริมาตรด้วย

อะซิโตไนไตรล์ 0.5 มิลลิลิตร และสุดท้ายสารสกัดที่ได้กรองด้วย filter membrane Nylon ขนาด $0.22\ \mu\text{m} \times 13\ \text{mm}$ จากนั้นนำไปวิเคราะห์ด้วยเครื่อง HPLC-FLD และสรุปเป็นแผนผังการเตรียมตัวอย่างผลไม้และพืชผักในการวิเคราะห์สารพิษตกค้างคาร์เบนดาซิม และสารไทอะเบนดาโซลได้ดังนี้



บทที่ 4

ผลการวิจัยและการอภิปรายผล

4.1 ผลการศึกษาสถานะที่เหมาะสมสำหรับการแยกสารคาร์เบนดาซิม และ ไทอะเบนดาโซล

4.1.1 ผลการศึกษานิตของเฟสคงที่ที่เหมาะสมสำหรับการแยกสารคาร์เบนดาซิม และ ไทอะเบนดาโซล

จากการศึกษาหาคอลัมน์ที่เหมาะสมของสารคาร์เบนดาซิม และ ไทอะเบนดาโซล มีทั้งหมด 5 คอลัมน์ โดยใช้เฟสเคลื่อนที่อัตราส่วนน้ำต่อเมทานอล 40:60 อัตราการไหล 1 มิลลิลิตรต่อนาที ปริมาตรในการฉีด 5 ไมโครลิตร ใช้ตัวตรวจวัด fluorescent Detector โดยทำให้เกิดสถานะกระตุ้น (Excited state) ที่ 285 นาโนเมตร และคายแสง (Emission) ที่ 315 นาโนเมตร ผลการทดสอบความเหมาะสมของระบบ (System suitability Testing) ของวิธีทางโครมาโทกราฟี แสดงดังตารางที่ 4.1

ตารางที่ 4.1 ตารางแสดงพารามิเตอร์สำหรับผลการทดสอบความเหมาะสมของระบบการแยก โครมาโทกราฟีของสารละลายมาตรฐานเบนดาซิม และ ไทอะเบนดาโซล โดยใช้ คอลัมน์ชนิดต่าง ๆ

สารเข้าเครื่อง	R_t	Peak Width	N	k'	α	R_s	T
ZORBAX Eclipse Plus C18 (4.6×100 mm, 3.5 μ m)							
คาร์เบนดาซิม	2.09	0.1240	4,554.07	1.55	-	-	1.14
ไทอะเบนดาโซล	3.56	0.2072	2,471.13	2.14	3.63	2.92	2.03
ZORBAX Eclipse Plus C18 (4.6×150 mm, 3.5 μ m)							
คาร์เบนดาซิม	2.86	0.1417	6,517.97	5.12	-	-	1.18
ไทอะเบนดาโซล	3.65	0.1780	6,727.69	6.82	4.03	4.94	1.30
ZORBAX Eclipse Plus C8 (4.6×250 mm, 3.5 μ m)							
คาร์เบนดาซิม	4.81	0.1391	19,163.64	2.52	-	-	1.22
ไทอะเบนดาโซล	5.42	0.1747	15,394.74	2.49	6.39	3.86	1.45

ตารางที่ 4.1 (ต่อ)

สารเข้าเครื่อง	R_t	Peak Width	N	k'	α	R_s	T
YMC-Triart C18 (4.6×250 mm, 5 μm)							
คาร์เบนดาซิม	6.59	0.1737	23,015.88	2.52	-	-	1.25
ไโทอะเบนดาโซล	8.16	0.2111	23,795.21	3.35	4.0	8.16	1.25
Inertsil ODS-3 (4.6×250 mm, 5 μm)							
คาร์เบนดาซิม	6.73	0.2247	14,335.99	5.38	-	-	1.31
ไโทอะเบนดาโซล	8.78	0.2966	13,066.51	7.04	4.24	6.71	1.39

หมายเหตุ R_t คือ Retention time, N คือ theoretical plates, k' คือ Retention factor, R_s คือ Resolution factor และ T คือ Tailing factor

จากการศึกษาหาคอลัมน์ที่เหมาะสมของนิวคลีโอไซด์ทั้ง 2 ชนิด ทั้ง 6 คอลัมน์นั้นพบว่าคอลัมน์ของ YMC-Triart C18 (4.6×250 mm, 5 μ m) พิกของสารพิษทั้ง 2 ชนิดที่ได้ เกิดการแยกออกอย่างชัดเจน และจากตารางที่ 4.1 แสดงให้เห็นว่าเมื่อเราพิจารณาค่า Retention time, Peak area, Theoretical plates, Retention factor, Selectivity factor, Resolution factor และ Tailing factor ตามเกณฑ์ในการพิจารณามาตรฐานของการทดสอบความเหมาะสมของพารามิเตอร์พื้นฐาน และการควบคุมกระบวนการแยกทางโครมาโทก อยู่ในเกณฑ์การยอมรับทั้งหมด ในงานวิจัยนี้จึงขอเลือก YMC-Triart C18 (4.6×250 mm, 5 μ m) เป็นคอลัมน์ที่ดีที่สุดของทั้ง 5 คอลัมน์ในการแยกสารคาร์เบนดาซิม และไโทอะเบนดาโซล

4.1.2 ผลการศึกษาอัตราการไหลของเฟสเคลื่อนที่สำหรับการแยกสารคาร์เบนดาซิม และไโทอะเบนดาโซล

จากการศึกษาหาเฟสเคลื่อนที่ที่เหมาะสมของสารคาร์เบนดาซิม และไโทอะเบนดาโซล โดยใช้คอลัมน์ YMC-Triart C18 (4.6×250 mm, 5 μ m) จากการศึกษาเฟสเคลื่อนที่ที่เหมาะสมการแยกของสารคาร์เบนดาซิม และไโทอะเบนดาโซลมีทั้งหมด 5 คอลัมน์ โดยใช้เฟสเคลื่อนที่ตามอัตราส่วนที่กล่าวไว้ข้างต้น โดยใช้อัตราการไหล 1 มิลลิลิตรต่อนาที ปริมาตรในการฉีด 5 ไมโครลิตร ใช้ตัวตรวจวัด fluorescent Detector โดยทำให้เกิดสภาวะกระตุ้น (Excited state) ที่ 285 นาโนเมตร และคายแสง (Emission) ที่ 315 นาโนเมตร ผลการทดสอบความเหมาะสมของระบบ (System suitability Testing) ของวิธีทางโครมาโทกราฟี แสดงดังตารางที่ 4.2

ตารางที่ 4.2 ตารางแสดงพารามิเตอร์ผลการทดสอบความเหมาะสมของระบบการแยกความเหมาะสมของระบบการแยกโครมาโทกราฟีของสารละลายมาตรฐานคาร์เบนดาซิมและไทอะเบนดาโซลเฟสเคลื่อนที่ที่ต่างกัน ที่ความเข้มข้น 2 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร

สารนำเข้า	R_t	Peak Width	N	k'	α	R_s	T
น้ำต่ออะซิโตนไตรัล 50:50							
คาร์เบนดาซิม	4.57	0.17	11,407.67	1.4			1.13
ไทอะเบนดาโซล	5.41	0.23	19,488.09	1.18	4.22	5.10	1.35
น้ำต่ออะเมทานอล 50:50							
คาร์เบนดาซิม	8.36	0.22	28,330.33	3.81			1.20
ไทอะเบนดาโซล	11.76	0.29	31,193.63	5.71	3.00	14.31	1.21
น้ำต่ออะเมทานอล 40:60							
คาร์เบนดาซิม	6.59	0.19	19,463.94	6.66			1.29
ไทอะเบนดาโซล	8.17	0.22	21,265.73	4.63	7.61	7.64	1.25
น้ำต่ออะเมทานอล 35:65							
คาร์เบนดาซิม	5.75	0.17	19,306.72	4.54			1.21
ไทอะเบนดาโซล	6.81	0.18	22,500.00	5.56	5.44	6.11	1.25
น้ำต่ออะเมทานอล 30:70							
คาร์เบนดาซิม	5.15	0.16	16,110.07	1.63			1.35
ไทอะเบนดาโซล	5.88	0.18	17,621.70	2.00	5.35	4.32	1.30
น้ำต่ออะเมทานอล 25:75							
คาร์เบนดาซิม	4.27	0.15	15,094.33	3.44			1.35
ไทอะเบนดาโซล	5.25	0.16	16,736.89	3.93	8.06	3.28	1.26
น้ำต่ออะเมทานอล 20:80							
คาร์เบนดาซิม	4.42	0.14	17,083.05	0.62			1.28
ไทอะเบนดาโซล	4.78	0.15	16,147.51	0.758	5.50	2.63	1.30

หมายเหตุ R_t คือ Retention time, N คือ theoretical plates, k' คือ Retention factor, R_s คือ Resolution factor และ T คือ Tailing factor

จากการศึกษาหาตัวทำละลายที่เหมาะสมของเฟสเคลื่อนที่ (Mobile phase) น้ำต่ออะเมทานอล 50:50 สามารถแยกพีคของสารทั้ง 2 ชนิดได้ดี และมีความเหมาะสมทางระบบโครมาโทกราฟี ดังนั้นจึงสรุปสภาวะการแยกของสารคาร์เบนดาซิม และสารไทอะเบนดาโซลได้ดังตารางที่ 4.3

ตารางที่ 4.3 สภาวะที่เหมาะสมสำหรับการแยกสารคาร์เบนดาซิม และไทอะเบนดาโซล

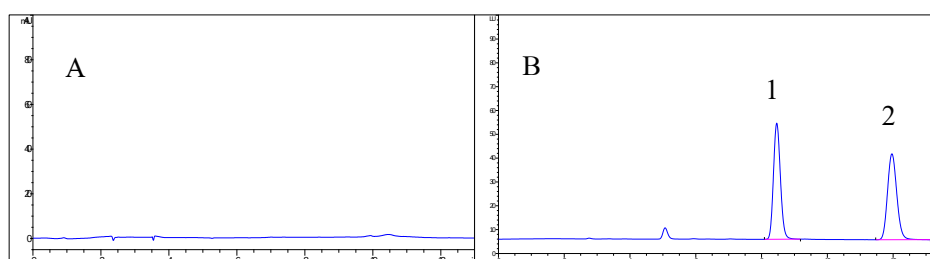
สภาวะที่เหมาะสมสำหรับการแยกสารคาร์เบนดาซิม และไทอะเบนดาโซลด้วยเทคนิค HPLC	
คอลัมน์	YMC-Triart C18 (4.6×250 mm, 5 µm)
เฟสเคลื่อนที่	น้ำต่อเมทานอล (50:50)
อัตราการไหล	1 มิลลิลิตรต่อนาที
ปริมาตรในการฉีด	5 ไมโครลิตร
อุณหภูมิของคอลัมน์	40 องศาเซลเซียส
เวลาของสารที่อยู่ในคอลัมน์	15 นาที
ความยาวคลื่น	การกระตุ้น 285 nm และการคายแสง 315 nm (ตัวตรวจวัดแบบ FLD)

4.2 ผลการตรวจสอบความใช้ได้ของวิธีวิเคราะห์ (Method validation)

จากการหาสภาวะที่เหมาะสมสำหรับการแยกของสารคาร์เบนดาซิม และสารไทอะเบนดาโซลแล้ว จะต้องทดสอบว่าสภาวะที่ได้พัฒนาขึ้นนี้มีความถูกต้อง แม่นยำ และมีความเสถียรต่อการวิเคราะห์หรือใหม่ โดยจะต้องตรวจสอบความใช้ได้ของวิธีวิเคราะห์ที่พัฒนาขึ้นเพื่อให้แน่ใจว่าวิธีที่พัฒนาขึ้นมานี้ มีความเหมาะสมกับการวิเคราะห์ครั้งนี้ ซึ่งผลของการตรวจสอบความใช้ได้ของวิธีวิเคราะห์แสดงจากหัวข้อต่อไปนี้

4.3.1 ผลของความจำเพาะเจาะจงของวิธีวิเคราะห์ (Specificity/Selectivity)

ผลของความจำเพาะเจาะจงของวิธีวิเคราะห์แสดงได้จากโครมาโทแกรมในภาพที่ 4.1 พบว่า คอลัมน์ YMC-Triart C18 (4.6×250 mm, 5 µm) ภายใต้สภาวะที่เหมาะสมของระบบของโครมาโทกราฟีที่พัฒนาขึ้นมา โดยการฉีดสารละลายเบงก์ (Blank) สารมาตรฐานผสมของสารคาร์เบนดาซิม และสารไทอะเบนดาโซลที่ความเข้มข้น 50 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร ได้พีคที่เวลาของสารทั้ง 2 ชนิด ประมาณ 8.34 และ 11.76 นาที จากการศึกษาความจำเพาะเจาะจงนี้ได้ทำการเปรียบเทียบโครมาโทแกรม จะเห็นได้ว่า พีคของสารทั้ง 2 ชนิดในตัวอย่างไม่ถูกรบกวนจากการวิเคราะห์สารอื่นแสดงภาพที่ 4.1



รูปที่ 4 โครมาโทแกรมของเบงก์ (A) สารละลายมาตรฐานผสมคาร์เบนดาซิม (1) และไทอะเบนดาโซล (2) (B)

4.3.2 ผลการทดสอบความเป็นเส้นตรงและช่วงการวิเคราะห์ (Linearity and range)

ในการสร้างกราฟมาตรฐานแบบ Matrix-match calibration curve ที่ 6 ความเข้มข้น ดังที่กล่าวไว้ข้างต้น ได้นำสารมาตรฐานผสมที่เตรียมไปวิเคราะห์ด้วยเครื่อง HPLC-FLD วัดความเข้มข้นละ 3 ซ้ำ นำผลที่ได้ไปสร้างกราฟมาตรฐาน ระหว่างความเข้มข้นของสารละลายมาตรฐานกับพื้นที่ใต้พีค ได้สมการเส้นตรง และค่าสัมประสิทธิ์การตัดสินใจ ($r^2 > 0.995$) ซึ่งผลการทดลองนี้แสดงดังตารางที่ 4.7

ตารางที่ 4.4 ผลแสดงการทดสอบความเป็นเส้นตรง และสมการเส้นตรงสารคาร์เบนดาซิม และไทอะเบนดาโซลแต่ละช่วงความเข้มข้น

ช่วงความเข้มข้น	ชนิดสารพืชผัก	
	Carbendazim (mg/kg)	Thiabendazole (mg/kg)
0.025	12.62±0.95	17.28±0.61
0.07	43.37±1.11	66.76±2.28
0.225	124.53±0.78	77.72±1.62
0.5	284.16±4.88	357.38±1.32
1	568.32±9.76	671.82±3.41
2.5	1466.42±13.61	1668.93±7.00
Equation regression	$y = 586.68x - 5.84$	$y = 667.41x + 3.90$
r^2	0.9998	0.9997

4.3.3 ผลการทดสอบทดสอบของขีดจำกัดของการตรวจพบ (Limit of detection, LOD) และผลการทดสอบของขีดจำกัดของการตรวจวัดเชิงปริมาณ (Limit of quantitation, LOQ)

การคำนวณค่า LOD และ LOQ ของคาร์เบนดาซิม และไทอะเบนดาโซลที่ได้จากการเติม (fortify) สารละลายมาตรฐานคาร์เบนดาซิม และไทอะเบนดาโซลลงในเบงก์ตัวอย่าง (sample blank) โดยเติม (fortify) สารละลายมาตรฐานคาร์เบนดาซิม และไทอะเบนดาโซลที่ระดับความเข้มข้น 0.025 มิลลิกรัมต่อกิโลกรัม ตามลำดับ แสดงดังตารางที่ 4.20

ตารางที่ 4.5 ตารางแสดงผลการเติม (fortify) สารละลายมาตรฐานคาร์เบนดาซิม และ ไทอะเบนดาโซลลงในเบงกัตัวอย่าง (sample blank) ในการทดสอบ LOD

ครั้งที่	ความเข้มข้นที่ทำการทดสอบ LOD			
	Carbendazim (0.025 mg/kg)	%Recovery	Thiabendazole (0.05mg/kg)	%Recovery
1	0.02587	103.5%	0.04135	82.7%
2	0.02721	108.8%	0.04710	94.2%
3	0.02399	96.0%	0.04739	94.8%
4	0.02163	86.5%	0.04748	95.0%
5	0.02370	94.8%	0.04401	88.0%
6	0.02736	109.4%	0.04391	87.8%
7	0.02565	102.6%	0.04440	88.8%
8	0.02905	116.2%	0.04363	87.3%
9	0.02480	99.2%	0.04370	87.4%
10	0.02736	109.4%	0.04403	88.1%
เฉลี่ย	0.0257	102.64%	0.0447	89.40%
SD	0.0022	0.0877	0.0020	0.0398
%RSD	8.55%	8.55%	4.5%	4.5%

ตารางที่ 4.6 ตารางแสดงผลการเติม (fortify) สารละลายมาตรฐานคาร์เบนดาซิม และ ไทอะเบนดาโซลลงในเบงกัตัวอย่าง (sample blank) ในการทดสอบ LOQ

ครั้งที่	ความเข้มข้นที่ทำการทดสอบ LOQ (mg/kg)			
	Carbendazim (0.05 mg/kg)	%Recovery	Thiabendazole (0.15mg/kg)	%Recovery
1	0.0713	101.9%	0.1365	91.0%
2	0.0645	92.1%	0.1538	102.5%
3	0.0631	90.2%	0.1546	103.1%
4	0.0730	104.3%	0.1549	103.3%
5	0.0665	94.9%	0.1445	96.3%
6	0.0684	97.7%	0.1442	96.1%
7	0.0650	92.8%	0.1457	97.1%
8	0.0667	95.2%	0.1434	95.6%
9	0.0667	95.3%	0.1436	95.7%
10	0.0650	92.8%	0.1445	96.4%
เฉลี่ย	0.0670	95.72%	0.1466	97.71%
SD	0.0031	0.0443	0.0060	0.0398
%RSD	4.63%	4.63%	4.1%	4.1%

4.3.4 ผลการทดสอบความแม่นยำ (Accuracy)

ผลการทดสอบความแม่นยำของวิธีวิเคราะห์นี้พิจารณาจากค่าร้อยละการกลับคืน (%Recovery) ต้องอยู่ในเกณฑ์ 70-120%

ตารางที่ 4.7 ตารางแสดงผลของความเข้มข้นที่ทดสอบได้เมื่อเติมสารละลายที่ความเข้มข้นต่าง ๆ

สารมาตรฐาน	ปริมาณสารที่พบ (mg/kg)	ความเข้มข้นที่เติม (mg/kg)	ปริมาณที่ตรวจพบ (mg/kg)	%RSD	%Recovery
Carbendazim	ไม่พบ	0.07	0.067±0.044	4.63%	95.72%
		0.2	0.197±0.019	2.00%	98.73%
		0.7	0.680±0.014	2.03%	97.27%
Thiabendazole	ไม่พบ	0.15	0.147±0.006	4.1%	97.71%
		0.45	0.452±0.0178	4.0%	100.48%
		1.5	1.521±0.040	3.93%	101.45%

จากการวิเคราะห์ตัวอย่างที่เติม (Spiked sample) สารละลายมาตรฐานผสมคาร์เบนดาซิม และ ไทอะเบนดาโซล ที่ระดับความเข้มข้นตามตารางที่ 4.21 โดยทำการฉีด 10 ซ้ำ พบว่าความแม่นยำที่ประเมินจากร้อยละการกลับคืน (%Recovery) เฉลี่ยทั้ง 3 ระดับอยู่ในช่วง 90-110 และความเที่ยง (Precision) ที่ประเมินไม่เกิน 5% ซึ่งถือได้ว่าวิธีนี้มีความแม่นยำ

4.3 ผลการวิเคราะห์สารคาร์เบนดาซิม และไทอะเบนดาโซลจากตัวอย่างผัก และผลไม้

ตารางที่ 4.8 ผลการวิเคราะห์สารคาร์เบนดาซิม และไทอะเบนดาโซลในตัวอย่างผัก และผลไม้ จากตลาดในอำเภอเมือง จังหวัดเพรบูรณ์

รหัสตัวอย่าง	ชนิดผักและผลไม้	ปริมาณสารกำจัดโรคที่ตรวจพบ (mg/kg±SD)	
		Carbendazim	Thiabendazole
S01	เมล่อนเขียว	ไม่พบ	ไม่พบ
S02	เมล่อนเหลือง	ไม่พบ	ไม่พบ
S03	แคนตาลูป	ไม่พบ	ไม่พบ
S04	ส้มโอขาว	ไม่พบ	ไม่พบ
S05	ส้มโอแดง	ไม่พบ	ไม่พบ
S06	อินทผลัมแดง	ไม่พบ	ไม่พบ
S07	อินทผลัมเหลือง	ไม่พบ	ไม่พบ
S08	ฝรั่ง	ไม่พบ	ไม่พบ
S09	แตงกวา	ไม่พบ	ไม่พบ
S10	แตงกวา	ไม่พบ	ไม่พบ
S11	แตงกวา	ไม่พบ	ไม่พบ
S12	ผักกาดขาว	ไม่พบ	ไม่พบ
S13	ผักกาดขาว	ไม่พบ	ไม่พบ
S14	มะเขือเทศราชินี	ไม่พบ	ไม่พบ
S15	มะเขือเทศ	ไม่พบ	ไม่พบ
S16	มะเขือเปราะ	ไม่พบ	ไม่พบ
S17	มะเขือเปราะ	ไม่พบ	ไม่พบ
S18	มะเขือเปราะ	ไม่พบ	ไม่พบ
S19	ถั่วฝักยาว	ไม่พบ	ไม่พบ
S20	ถั่วฝักยาว	ไม่พบ	ไม่พบ
S21	ถั่วฝักยาว	ไม่พบ	ไม่พบ
S22	ข้าวโพดอ่อน	ไม่พบ	ไม่พบ
S23	เห็ดนางฟ้าสีชมพู	ไม่พบ	ไม่พบ
S24	กระเทียม	ไม่พบ	ไม่พบ
S25	กระเทียม	ไม่พบ	ไม่พบ

ตารางที่ 4.8 (ต่อ)

รหัสตัวอย่าง	ชนิดผักและผลไม้	ปริมาณสารกำจัดโรคที่ตรวจพบ (mg/kg)	
		Carbendazim	Thiabendazole
S26	กระเทียม	ไม่พบ	ไม่พบ
S27	หอมแดง	ไม่พบ	ไม่พบ
S28	หอมแดงแขก	ไม่พบ	ไม่พบ
S29	หอมหัวใหญ่	ไม่พบ	ไม่พบ
S30	หัวไชเท้า	ไม่พบ	ไม่พบ
S31	ฟัก	ไม่พบ	ไม่พบ
S32	แครอท	ไม่พบ	ไม่พบ
S33	กะหล่ำปลี	ไม่พบ	ไม่พบ
S34	กะหล่ำดอก	ไม่พบ	ไม่พบ
S35	บรอกโคลี	ไม่พบ	ไม่พบ
S36	ผักบุ้งจีน	ไม่พบ	ไม่พบ
S37	กวางตุ้งดอก	ไม่พบ	ไม่พบ
S38	คะน้า	ไม่พบ	ไม่พบ
S39	ผักสลัด (ผักกาดหอม)	ไม่พบ	ไม่พบ
S40	ผักสลัด (ผักกอส)	ไม่พบ	ไม่พบ
S41	ผักสลัด (กรีน โอ๊ค)	ไม่พบ	ไม่พบ
S42	ผักสลัด (ฟิลเลย์ไอซ์เบิร์ก)	0.17	ไม่พบ
S43	ผักสลัด (ฟิลเลย์ไอซ์เบิร์ก)	ไม่พบ	ไม่พบ
S44	ผักสลัด (เรด โอ๊ค)	ไม่พบ	ไม่พบ
S45	ผักสลัด (เรด โอ๊ค)	ไม่พบ	ไม่พบ
S46	ผักชี	ไม่พบ	ไม่พบ
S47	ขึ้นฉ่าย	ไม่พบ	ไม่พบ
S48	ต้นหอม	0.25	ไม่พบ
S49	กระชาย	ไม่พบ	ไม่พบ
S50	จิงอ้อน	ไม่พบ	ไม่พบ
S51	ข้าอ้อน	ไม่พบ	ไม่พบ
S52	พริกแดงจินดา	ไม่พบ	ไม่พบ
S53	พริกหยวก	ไม่พบ	ไม่พบ
S54	แรดิช	ไม่พบ	ไม่พบ
S55	บัวหิมะ	ไม่พบ	ไม่พบ

หมายเหตุ : โครมาโทแกรมของตัวอย่างที่ไม่มีสารที่สนใจจะแสดงในภาคผนวกผลที่ 1 13 โครมาโทแกรม และจะแสดง
โครมาโทแกรมของตัวอย่างที่มี สารที่สนใจในภาคผนวกผลที่ 2 2 โครมาโทแกรม

บทที่ 5

สรุปผลการวิจัยและข้อเสนอแนะ

5.1 สรุปผลการวิจัย

การทดสอบนี้เป็นการวิเคราะห์คาร์เบนดาซิม และไทอะเบนดาโซลด้วยเทคนิค HPLC ซึ่งผู้วิจัยได้ทำการทดลองหาสภาวะที่เหมาะสมของเทคนิค HPLC ได้ผลดังนี้

สภาวะที่เหมาะสมสำหรับการแยกสารคาร์เบนดาซิม และไทอะเบนดาโซลด้วยเทคนิค HPLC	
คอลัมน์	YMC-Triart C18 (4.6×250 mm, 5 µm)
เฟสเคลื่อนที่	น้ำต่อเมทานอล (50:50)
อัตราการไหล	1 มิลลิเมตรต่อนาที
ปริมาตรในการฉีด	5 ไมโครลิตร
อุณหภูมิของคอลัมน์	40 องศาเซลเซียส
เวลาของสารที่อยู่ในคอลัมน์	15 นาที
ความยาวคลื่น	สภาวะการกระตุ้น 285 nm และการคายแสง 315 nm (ตัวตรวจวัดแบบ FLD)

จากการพัฒนาวิธีวิเคราะห์ และตรวจสอบความใช้ได้ของวิธีในการหาปริมาณคาร์เบนดาซิม และไทอะเบนดาโซลพบว่าความสัมพันธ์เชิงเส้น (Linearity) มีค่าสัมประสิทธิ์ของการตัดสนใจคือ 0.9998 และ 0.9997 ตามลำดับ ความแม่นยำของวิธีนี้ทั้ง 2 ชนิดมี %RSD ไม่เกิน 5% ค่า LOD LOQ ที่ได้คำนวณได้จากร้อยละการกลับคืนอยู่ในช่วง 70-120% และความถูกต้องของวิธีนี้มีร้อยละการกลับคืนตั้งแต่ช่วง 70-120% ถือว่าวิธีนี้มีความแม่นยำ มีความเที่ยง มีความจำเพาะเจาะจง จากวิธีที่พัฒนาขึ้นมานี้ไปใช้ในการตรวจวัดสารพิษตกค้างคาร์เบนดาซิมและไทอะเบนดาโซล พบว่ามีตัวอย่าง ผักสลัด (S42) และต้นหอม (S48) ตรวจพบสารคาร์เบนดาซิมมีค่าเท่ากับ 0.17 และ 0.25 มิลลิกรัมต่อกิโลกรัม ซึ่งไม่เกินค่า MRL ตามประกาศของกระทรวงสาธารณสุขที่กำหนดไว้

5.2 ข้อเสนอแนะ

การวิเคราะห์ปริมาณคาร์เบนดาซิม และไทอะเบนดาโซลด้วยเทคนิคโครมาโทกราฟีของเหลวประสิทธิภาพสูง จะต้องมีความถูกต้อง และแม่นยำเป็นอย่างมาก เนื่องจากในการวิเคราะห์เป็นสารที่อันตราย อาจทำให้เกิดข้อผิดพลาดในการวิเคราะห์หรือรายงานผลเป็นเท็จได้ และการวิเคราะห์นี้เป็นเพียงแค่การสกรีนว่าในตัวอย่างผลไม้นั้นมีสารพิษทั้ง 2 หรือไม่ เนื่องจากมีสิ่งรบกวนในการวิเคราะห์ ดังนั้นเพื่อที่จะให้เกิดความจำเพาะเจาะจงมากยิ่งขึ้น ต้องใช้ LC/MS หรือ

LC/MS-MS เท่านั้น เนื่องจากเทคนิคนี้สามารถ identify สารที่เราสนใจ และยังสามารถบอกค่า identification poin ของเครื่องมือว่ามีประสิทธิภาพมากเท่าใด ความน่าเชื่อถือของเครื่องมือในการวิเคราะห์นั้นเชื่อถือได้มากแค่ไหน ตามมาตรฐานของ EU และในการวิจัยนี้การวิเคราะห์พวกสารพิษตกค้างนี้มีค่าใช้จ่ายที่สูง ผู้วิจัยหรือผู้ที่นำวิธีนี้ไปประยุกต์ใช้ต้องคำนึงถึงค่าใช้จ่ายเป็นอย่างมาก

บรรณานุกรม

- ไกรวุฒิ นวลขาว. (2562a). การตรวจวิเคราะห์การปนเปื้อนของสารพิษจากเชื้อราหลายชนิดในอาหารสัตว์ ด้วยเทคนิค LC-MS/MS. มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์.
- ไกรวุฒิ นวลขาว. (2562b). การตรวจวิเคราะห์การปนเปื้อนของสารพิษจากเชื้อราหลายชนิดในอาหารสัตว์ ด้วยเทคนิค LC-MS/MS. มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์.
- จารุพงศ์ ประสพสุข, สุวิทย์ เลหาศิริวงศ์, อรุณี พรหมคำบุตร, & ชุติมาศ บุญไทย อิวาย. (2562). การประเมินความเสี่ยงสารเคมีกำจัดศัตรูพืชตกค้างในดินต่อสุขภาพของเกษตรกรผู้ปลูกคะน้าในจังหวัดขอนแก่น. *วารสารวิชาการเกษตร*, 37(3), 272–284.
- ชนิดสรา งามศักดิ์ประเสริฐ, อัจฉริยา สุริยะวงศ์, สิทธิสุนทร สุโพธิณะ, & ภารดี ช่วยบำรุง. (2559). การลดสารคาร์เบนดาซิมในใบกุยช่ายและการดูดสารกลับจากการล้างด้วยวิธีของกรมวิชาการเกษตร. *Thai Science and Technology Journal*, 628–640.
- นฤพล วัฒนภาพ & วิฑูรย์ บุญสง่า. (2562). การพัฒนาเครื่องเขย่าตัวอย่างในการสกัดสารป้องกันกำจัดแมลงตกค้าง [รายงานการวิจัย].
- นันทนา กลิ่นสุนทร, ดวงพร เข้มทอง, & ปรัชญา มาประดิษฐ์. (2557). การเตรียมตัวอย่างด้วยเทคนิคแคชเชอร์สำหรับหาปริมาณสเตียรอยด์ที่ปลอมปนในยาลูกกลอนสมุนไพร โดยโครมาโทกราฟีของเหลวสมรรถนะสูง. *วารสารอาหารและยา*, 21(1), 59–66.
- ปนัดดา แทนสุโพธิ์, ภิรมย์ สุวรรณสม, & ทองสุข พละมา. (2561). การหาปริมาณยาฆ่าแมลงตกค้างในผักและผลไม้สด และผลิตภัณฑ์แปรรูปจากผักและผลไม้ ในเขตจังหวัดมหาสารคาม. มหาวิทยาลัยราชภัฏมหาสารคาม.
- พัชรมัย เต็งชัยภูมิ. (2561). การหาปริมาณการตกค้างของสารคลอร์ไพริฟอสและคาร์เบนดาซิมในหอมแดงและกระเทียมในจังหวัดพะเยา. 142–147.
https://kukrdb.lib.ku.ac.th/proceedings/PSRC/search_detail/result/20005174
- เกศจักรหญิง รองศาสตราจารย์ ลาวัลย์ ศรีพงษ์. (2553). การทดสอบความเหมาะสมของระบบในวิธีทางโครมาโทกราฟี (System Suitability Test in Chromatographic Method. *วารสารไทยเภสัชนิพนธ์*, 1–19.
- ขงยุทธ ไผ่แก้ว. (2548). วิจัยปริมาณสารพิษตกค้างคาร์เบนดาซิมในพริกเพื่อกำหนดค่าปริมาณสูงสุดของสารพิษตกค้าง. กรมวิชาการเกษตร.
- รัตยากร ศรีโคตร, & วีรวุฒิ วิทยานันท์. (2561). การพัฒนาวิธีวิเคราะห์ปริมาณสารเคมีกำจัดศัตรูพืชตกค้างในเครื่องดื่มที่ทำจากผักผลไม้. *วารสารกรมวิทยาศาสตร์การแพทย์*, 60(3), 108–122.

บรรณานุกรม (ต่อ)

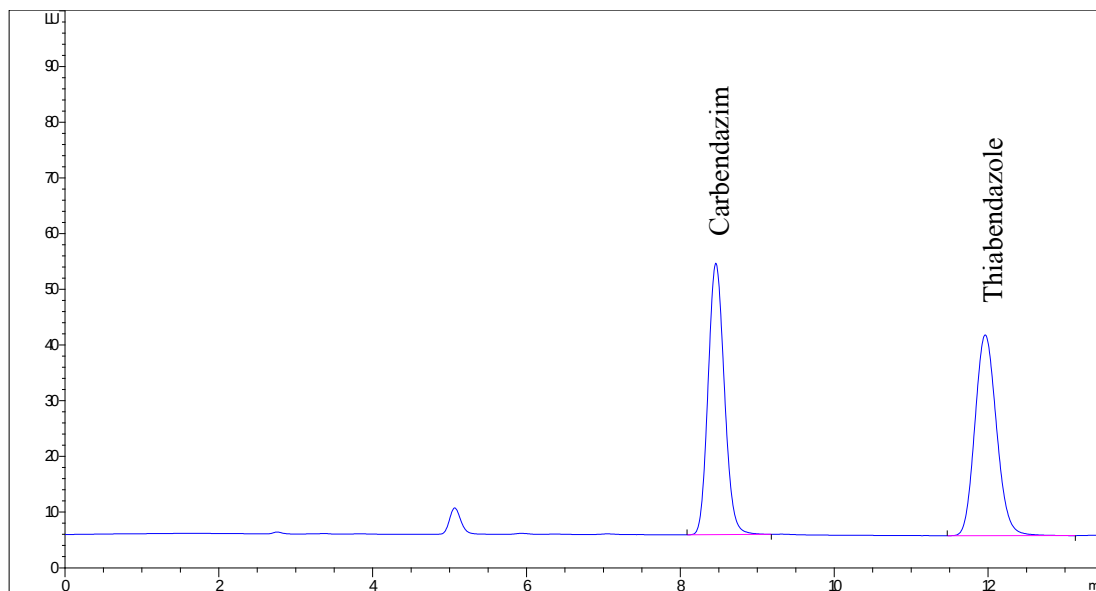
- สมบูรณ์ กิริติประยูร, & ภาวดี ช่วยบำรุง. (2562). การสกัดคาร์เบนดาซิมตกค้างในผักกาดหอมด้วยวิธีการกระจายตัวดูดซับของแข็งในเนื้อสาร. *วารสารวิทยาศาสตร์บูรพา*, 24(2), 631–643.
- สำนักงานมาตรฐานสินค้าเกษตรและอาหารแห่งชาติ (มกอช.). (2556). *การปฏิบัติทางการเกษตรที่ดีสำหรับพืชอาหาร*. กระทรวงเกษตรและสหกรณ์.
- สุชาตินี อึ้งสูงเนิน. (2558). ผลกระทบต่อสิ่งแวดล้อมจากการใช้ยากำจัดศัตรูพืช. *วารสารวิชาการมหาวิทยาลัยอีสเทิร์นเอเซีย*, 9(1), 50–63.
- สุวรรณราช, ก., กิตติพินิจนันท, ก., ศิลาอ่อน, ว., พัวเพิ่มพูลศิริ, อ., อ่อนละออ, ส., & พิชญาจิตติพงษ์, ช. (2018). Method Validation for Vancomycin Analysis in Extemporaneous Suspensions via HPLC. *Isan Journal of Pharmaceutical Sciences, IJPS (Isan J Pharm Sci)*, 14(4), 132–141. <https://doi.org/10.14456/ijps.2018.46>
- อรรถบูรณ์ วิฑูวิทยา. (2561). *การสลายสารปนเปื้อนคาร์เบนดาซิมในน้ำ โดยใช้ปฏิกิริยาโฟโตคะตะไลสิสนาฟิล์มบางไททานเนียมไดออกไซด์ ภายใต้แสงจากดวงอาทิตย์*. มหาวิทยาลัยธรรมศาสตร์.
- Ahn, S., Lee, J.-Y., & Kim, B. (2021). Accurate Determination of Carbaryl, Carbofuran and Carbendazim in Vegetables by Isotope Dilution Liquid Chromatography/Tandem Mass Spectrometry. *Chromatographia*, 84(1), 27–35. <https://doi.org/10.1007/s10337-020-03976-y>
- Bose, A. (2014). *HPLC Calibration Process Parameters in Terms of System Suitability Test*. 4.
- Fares, N. V., Hassan, Y. A. A., Hussein, L. A., & Ayad, M. F. (2021). Determination of fungicides' residues and their degradation kinetics in orange tree fruits using liquid chromatography – Tandem mass spectrometry coupled with QuEChERS method. *Microchemical Journal*, 168, 106376. <https://doi.org/10.1016/j.microc.2021.106376>
- Hazer, O., Akkbik, M., Demir, D., & Turhan, Y. (2016). Determination of Carbendazim and Chlorpyrifos in Selected Fruits and Vegetables Samples Using QuEChERS-HPLC-FD. *Eurasian Journal of Analytical Chemistry*, 12(2), 17–30. <https://doi.org/10.12973/ejac.2017.00151a>

บรรณานุกรม (ต่อ)

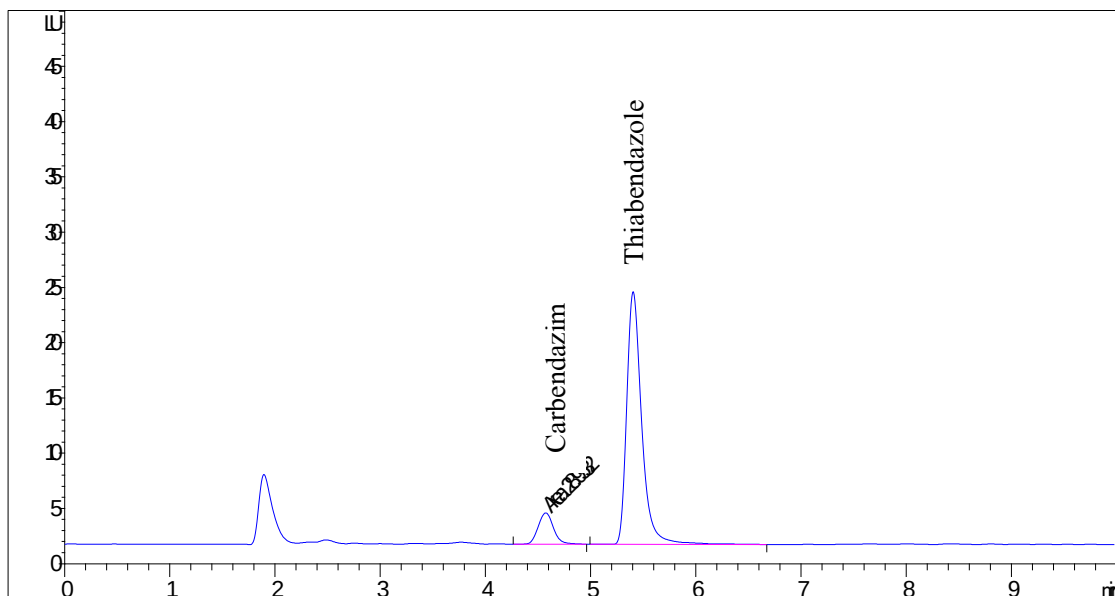
- Karunambigai, K., Saravanan, C., Sureshkumar, A., Kaveri, K., & Thamizhmozhi, M. (2012). Reverse phase High Performance Liquid Chromatographic determination of residual Carbendazim (fungicide) in raw and cooked Indian cereals and pulses. *Journal of Pharmaceutical and Biomedical Sciences*, 22(20).
- Kim, L., Lee, D., Cho, H.-K., & Choi, S.-D. (2019). Review of the QuEChERS method for the analysis of organic pollutants: Persistent organic pollutants, polycyclic aromatic hydrocarbons, and pharmaceuticals. *Trends in Environmental Analytical Chemistry*, 22, e00063. <https://doi.org/10.1016/j.teac.2019.e00063>
- Phansawan, B., & Chantara, S. (2015). A Sensitive Method for Determination of Carbendazim Residue in Vegetable Samples Using HPLC-UV and Its Application in Health Risk Assessment. *Chiang Mai J. Sci.*, 42(3), 681–690.
- Rivera, C., Rodríguez, R., & Pimentel, S. C. (2011). HORWITZ EQUATION AS QUALITY BENCHMARK IN ISO / IEC 17025 TESTING LABORATORY. *Undefined*. <https://www.semanticscholar.org/paper/HORWITZ-EQUATION-AS-QUALITY-BENCHMARK-IN-ISO-%2F-IEC-Rivera-Rodr%C3%ADguez/d6d6a38d1a9e01e526ca4e2b5b8d804670e5414f>
- The fitness for purpose of analytical methods: A laboratory guide to method validation and related topics*. (2014). https://www.eurachem.org/images/stories/Guides/pdf/MV_guide_2nd_ed_EN.pdf
- Tiabendazole. (2022). ใน *Wikipedia*. <https://en.wikipedia.org/w/index.php?title=Tiabendazole&oldid=1093355887>
- Wang, S.-Y., Shi, X.-C., Liu, F.-Q., & Laborda, P. (2020). Chromatographic Methods for Detection and Quantification of Carbendazim in Food. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 68(43), 11880–11894. <https://doi.org/10.1021/acs.jafc.0c04225>
- Zheng, D., Hu, X., Fu, X., Xia, Z., Zhou, Y., Peng, L., Yu, Q., & Peng, X. (2022). Flowerlike Ni–NiO composite as magnetic solid-phase extraction sorbent for analysis of carbendazim and thiabendazole in edible vegetable oils by liquid chromatography-mass spectrometry. *Food Chemistry*, 374, 131761. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2021.131761>

ภาคผนวกภาพงานวิจัย

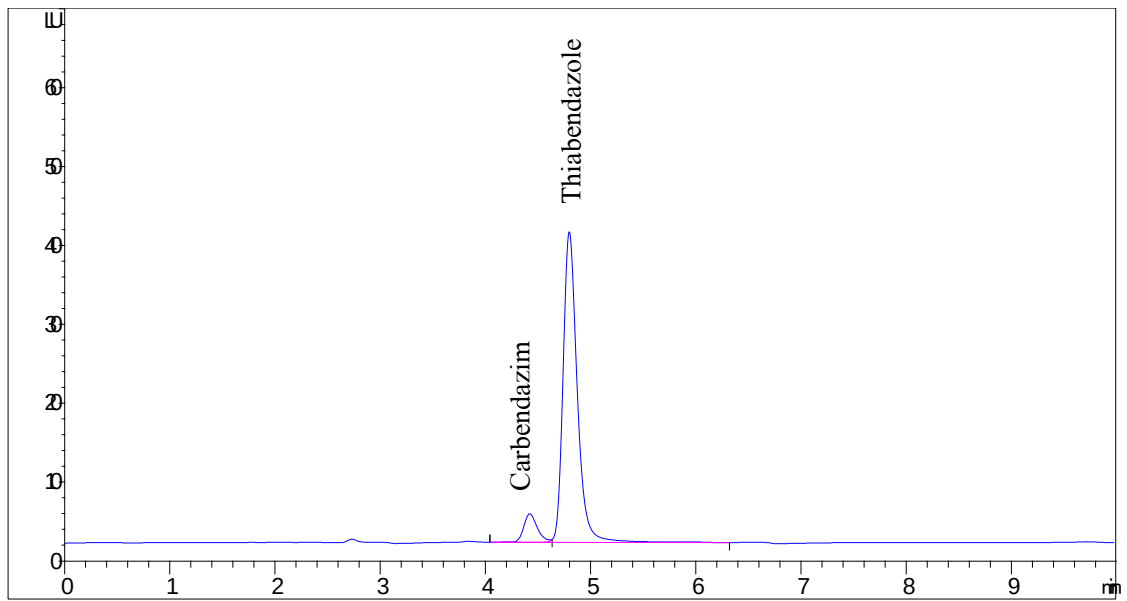
ผก 1 โครมาโทแกรมของสารละลายมาตรฐานผสมคาร์เบนดาซิม และไทอะเบนดาโซลของคอลัมน์ YMC-C18 (4.6×250 mm, $5 \mu\text{m}$) ที่ความเข้มข้น 2 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร โดยใช้เฟสเคลื่อนที่แตกต่างกัน ปริมาตรในการฉีด 5 ไมโครลิตร



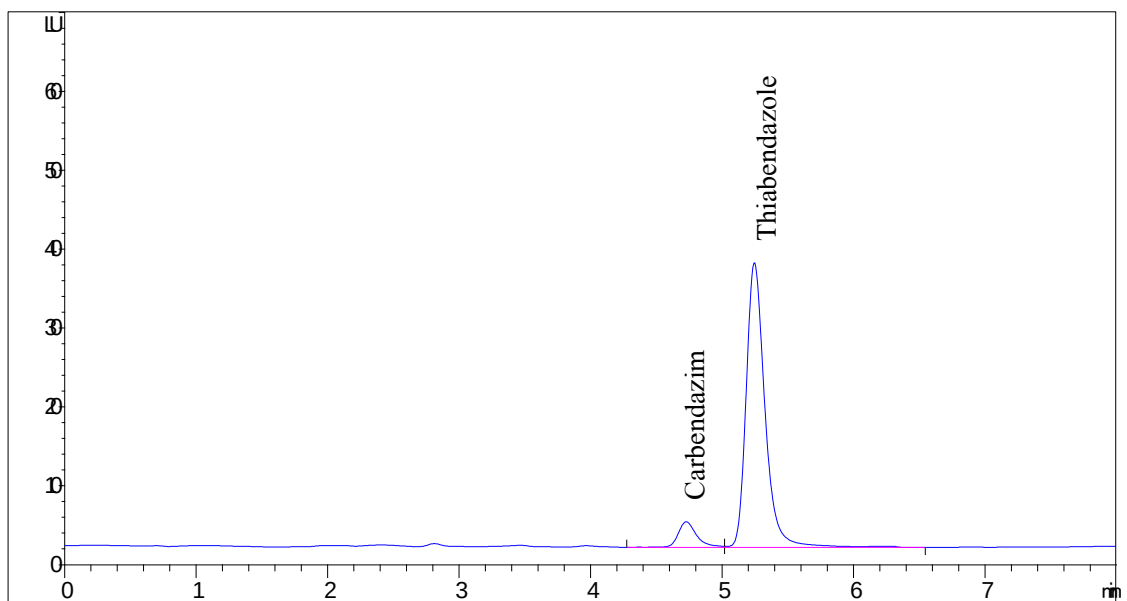
ภาพที่ ผก 1.1 โครมาโทแกรมของสารละลายมาตรฐานผสมคาร์เบนดาซิม และไทอะเบนดาโซล
น้ำต่อเมทานอล (50:50% v/v)



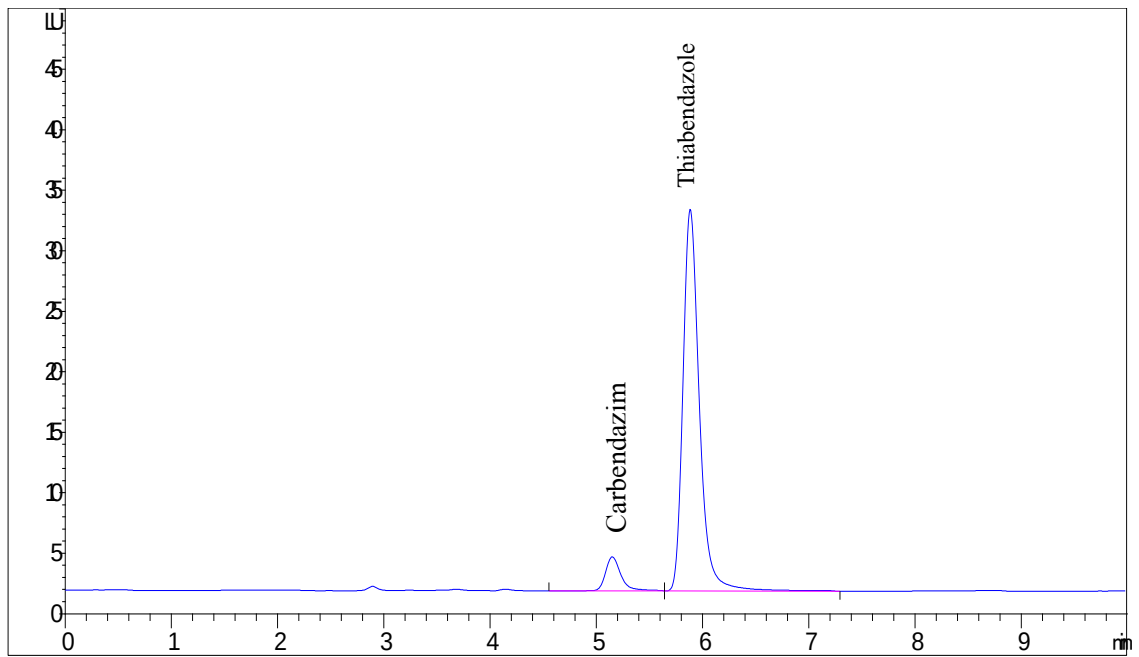
ภาพที่ ผก 1.2 โครมาโทแกรมของสารละลายมาตรฐานผสมคาร์เบนดาซิม และไทอะเบนดาโซล
น้ำต่ออะซิโตไนไตร์ล (50:50% v/v)



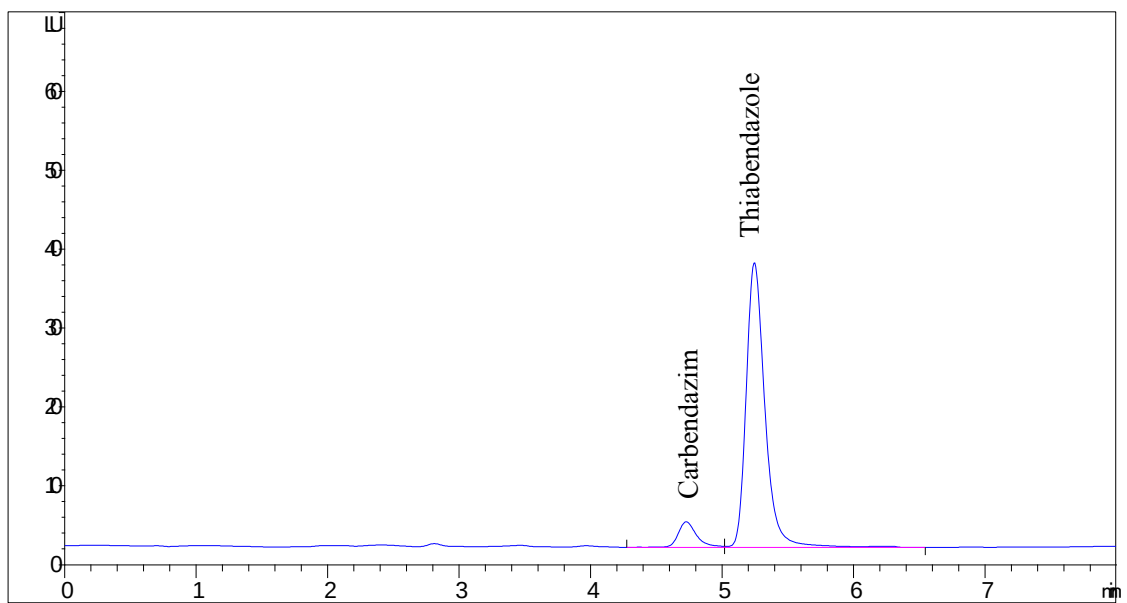
ภาพที่ ผก 1.3 โครมาโทแกรมของสารละลายมาตรฐานผสมคาร์เบนดาซิม และไทอะเบนดาโซล
น้ำต่อเมทานอล (20:80% v/v)



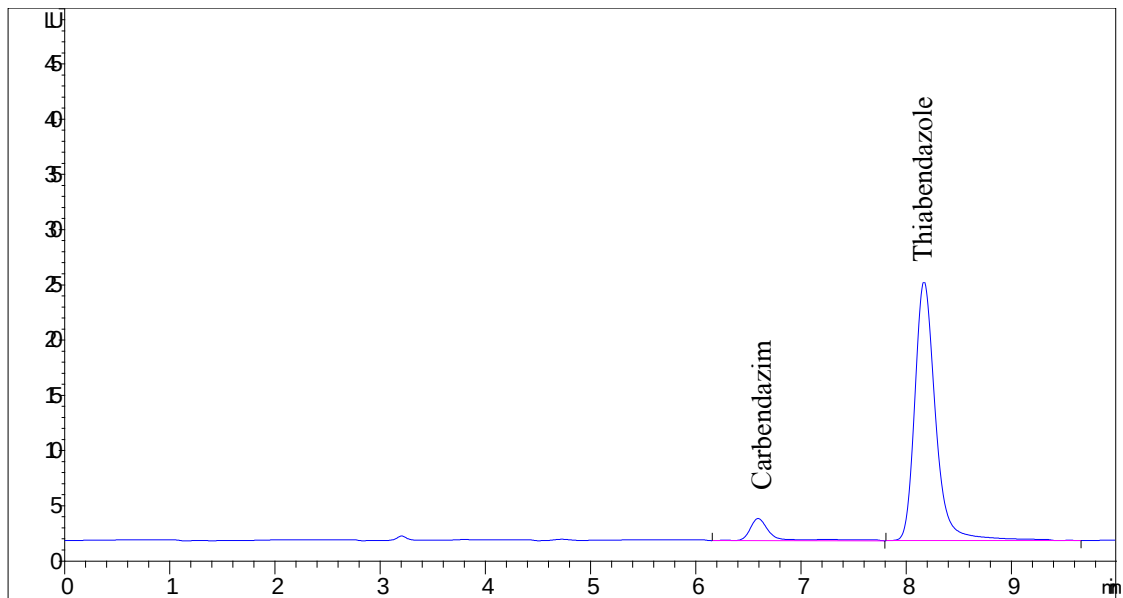
ภาพที่ ผก 1.4 โครมาโทแกรมของสารละลายมาตรฐานผสมคาร์เบนดาซิม และไทอะเบนดาโซล
น้ำต่อเมทานอล (25:75% v/v)



ภาพที่ ผก 1.5 โครมาโทแกรมของสารละลายมาตรฐานผสมคาร์เบนดาซิม และไทอะเบนดาโซล
น้ำต่อเมทานอล (30:70% v/v)

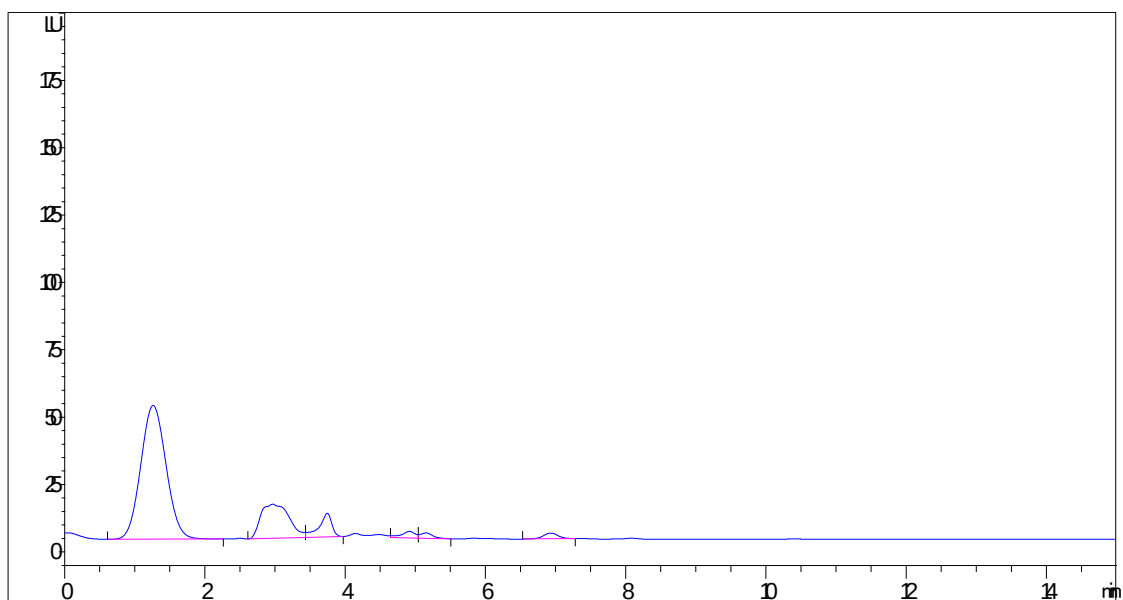


ภาพที่ ผก 1.6 โครมาโทแกรมของสารละลายมาตรฐานผสมคาร์เบนดาซิม และไทอะเบนดาโซล
น้ำต่อเมทานอล (35:65% v/v)

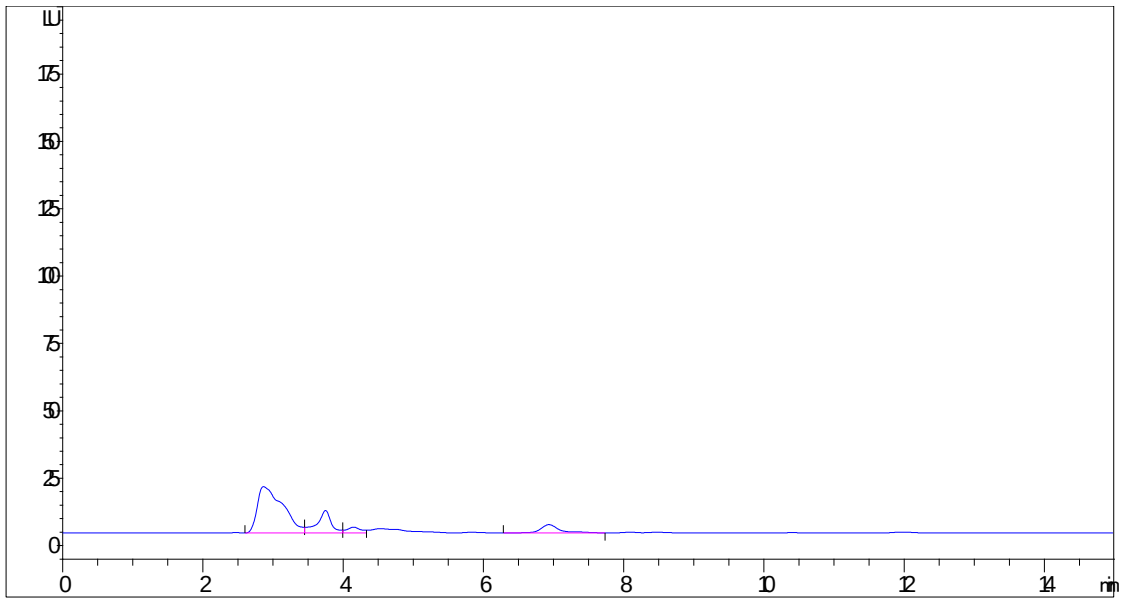


ภาพที่ ผก 1.7 โครมาโทแกรมของสารละลายมาตรฐานผสมคาร์เบนดาซิม และไทอะเบนดาโซล
น้ำต่อเมทานอล (40:60% v/v)

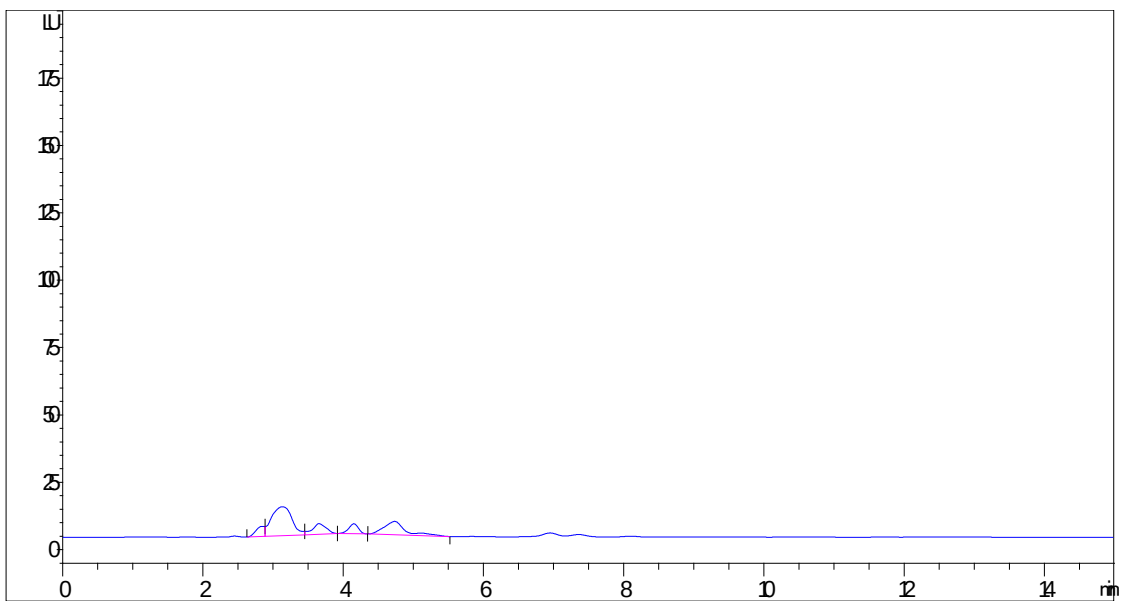
ผก 2 โครมาโทแกรมของตัวอย่างผลไม้ และพืชผัก โดยใช้สภาวะที่เหมาะสมสำหรับการวิเคราะห์
ปริมาณคาร์เบนดาซิม และไทอะเบนดาโซลดังตารางที่ 4.3



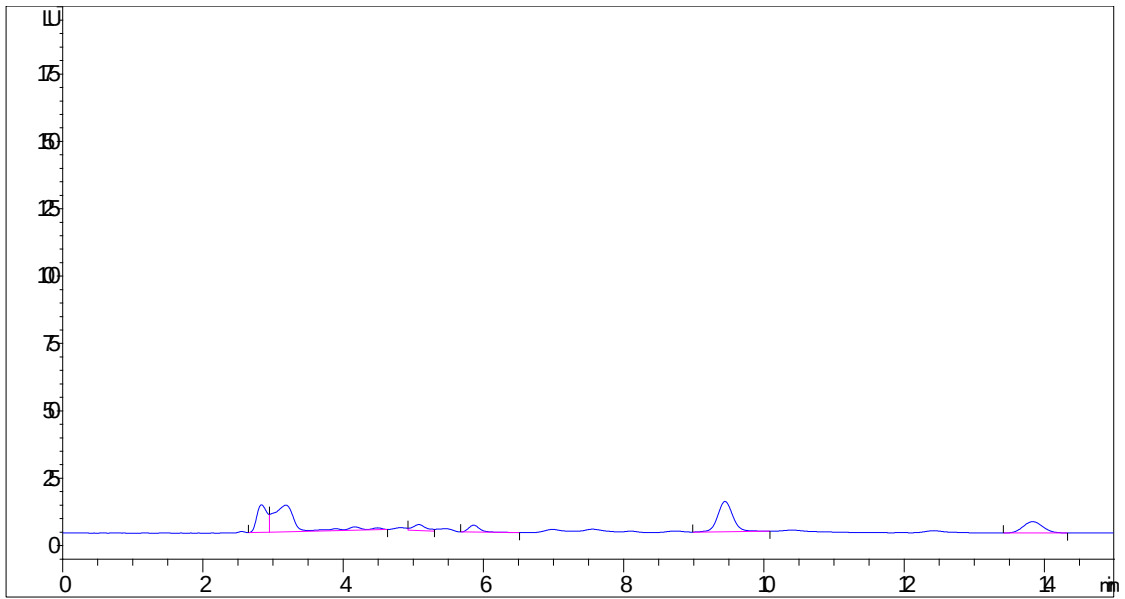
ภาพที่ ผก 2.1 โครมาโทแกรมของตัวอย่าง S01 เมล่อนเขียว¹



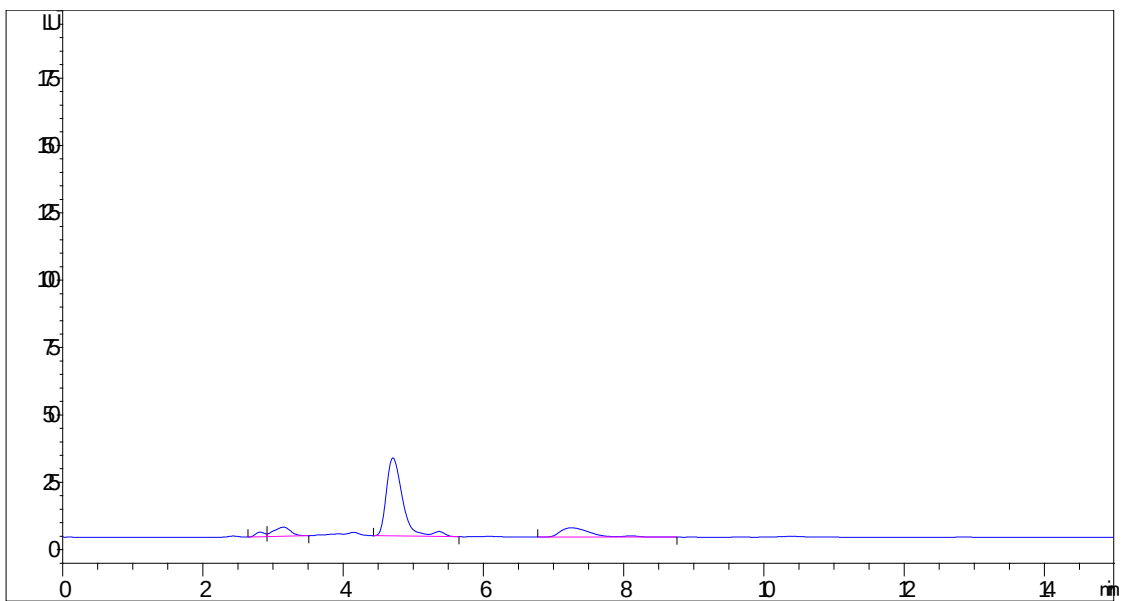
ภาพที่ ผก 2.2 โครมาโทแกรมของตัวอย่าง S02 เมล่อนเหลียง¹



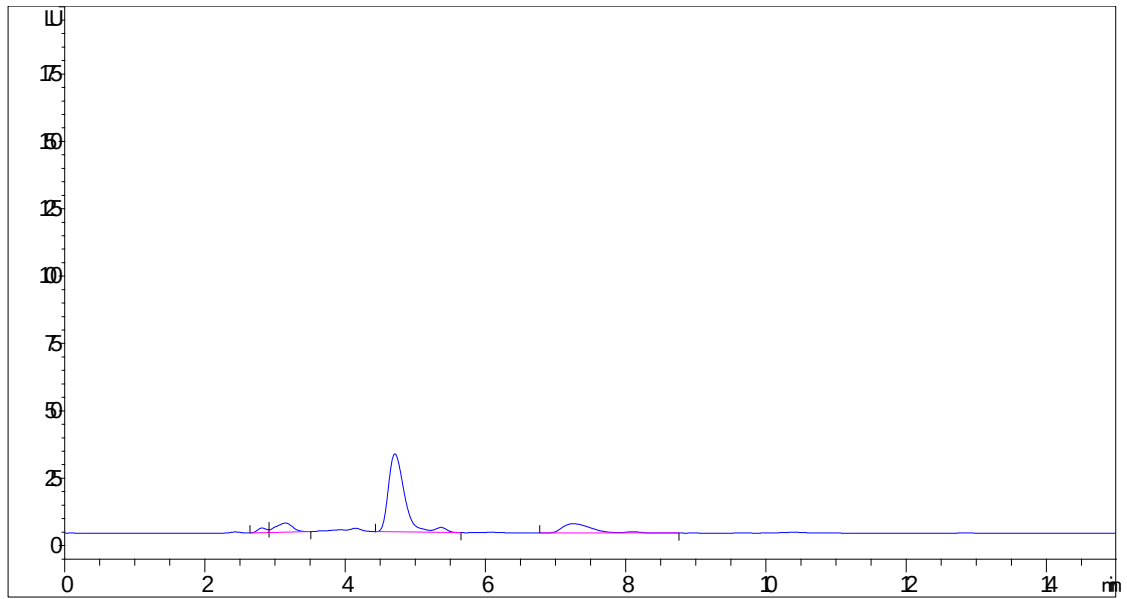
ภาพที่ ผก 2.3 โครมาโทแกรมของตัวอย่าง S03 แคนตาลูป²



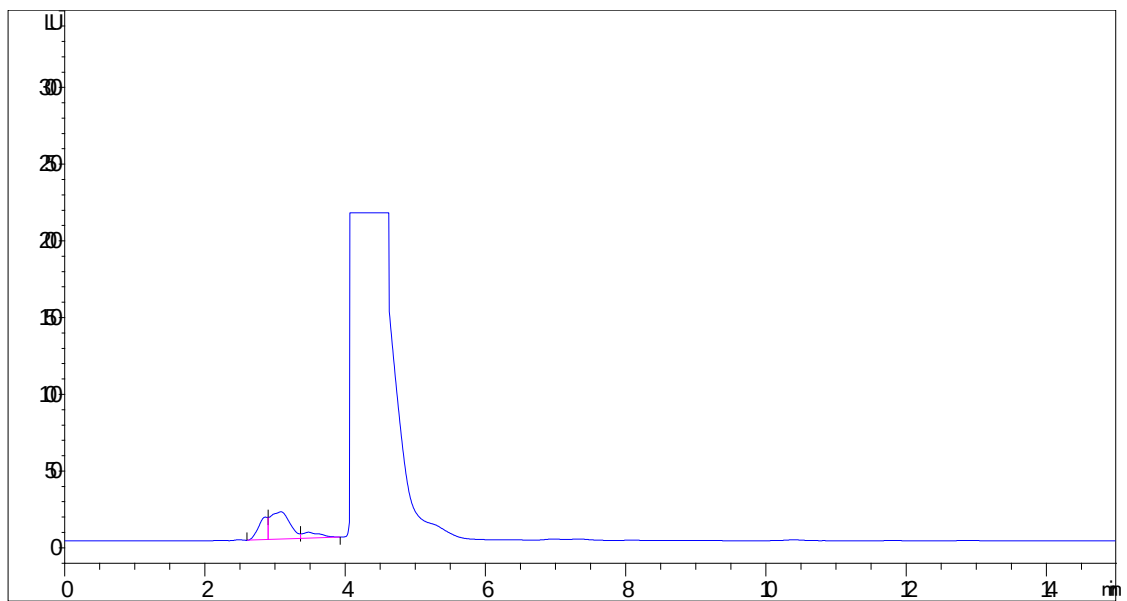
ภาพที่ ผก 2.4 โครมาโทแกรมของตัวอย่าง S04 สัมไอแดง²



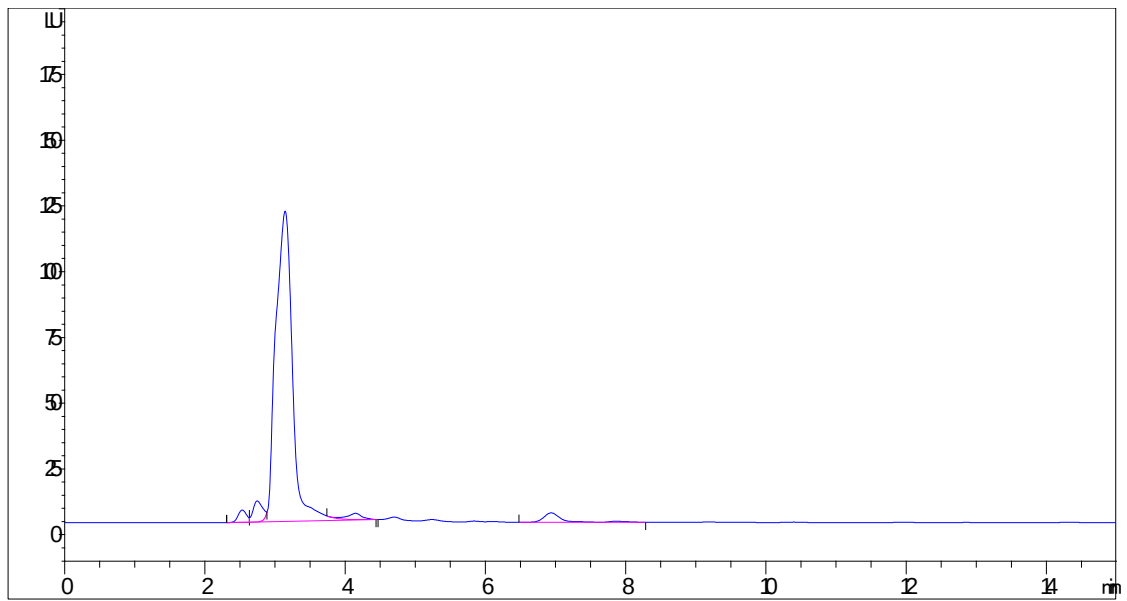
ภาพที่ ผก 2.5 โครมาโทแกรมของตัวอย่าง S05 สัมไอขาว²



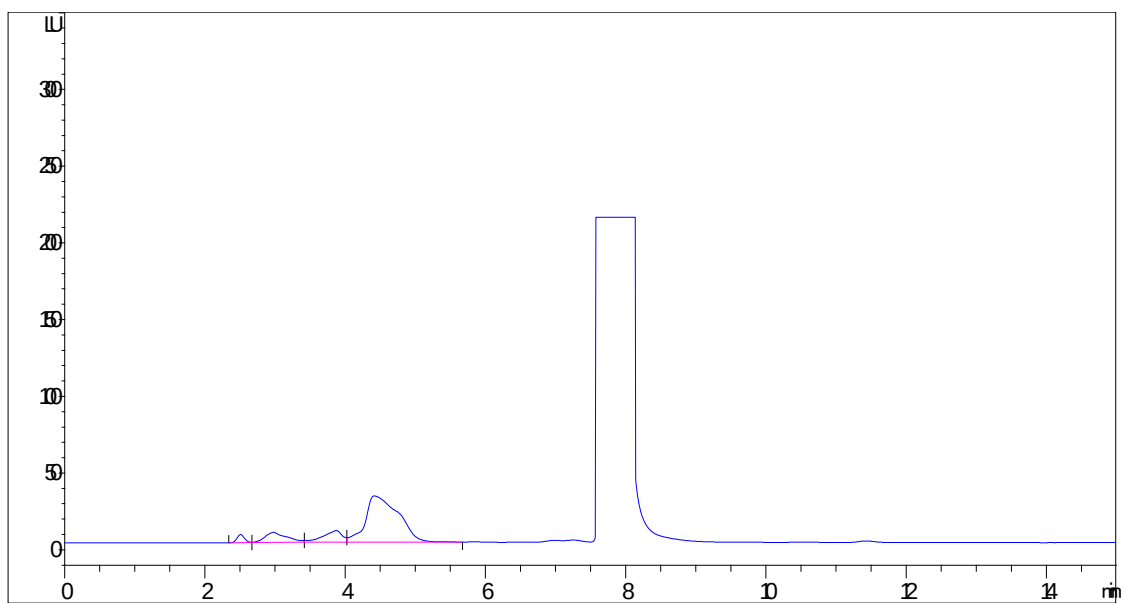
ภาพที่ ผก 2.6 โครมาโทแกรมของตัวอย่าง S06 อินทผาลัมแดง²



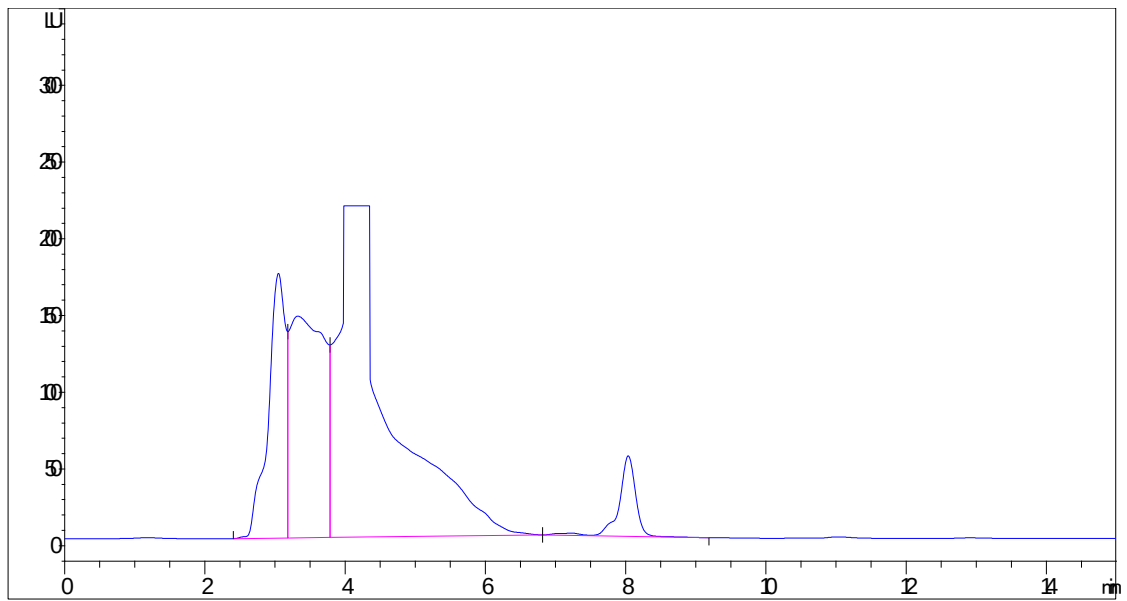
ภาพที่ ผก 2.7 โครมาโทแกรมของตัวอย่าง S07 อินทผาลัมเหลือง³



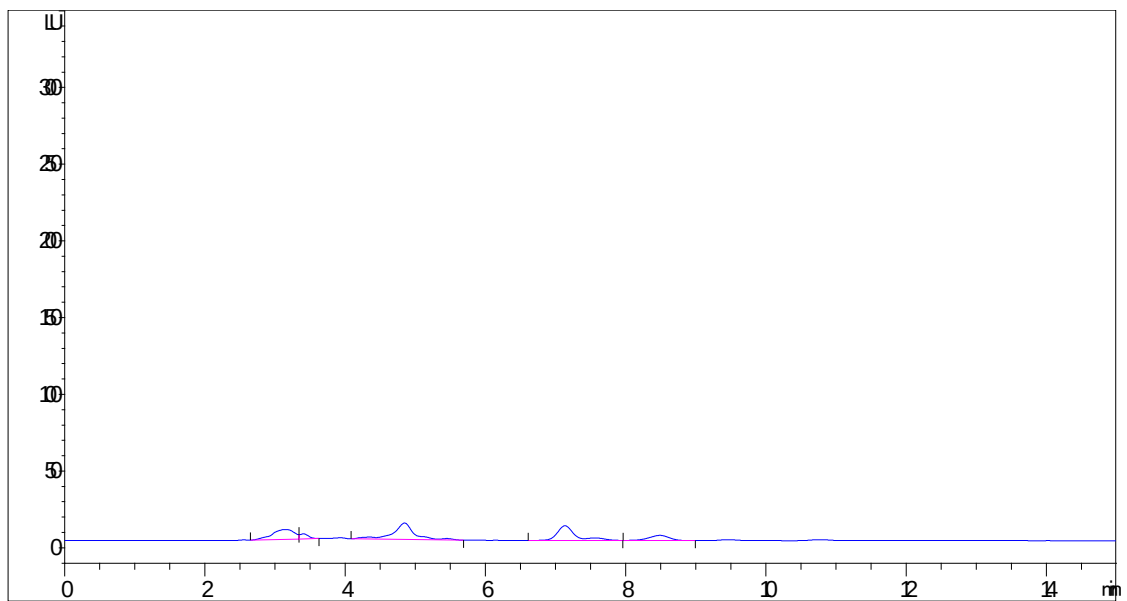
ภาพที่ ผก 2.8 โครมาโทแกรมของตัวอย่าง S08 ฝรั่ง²



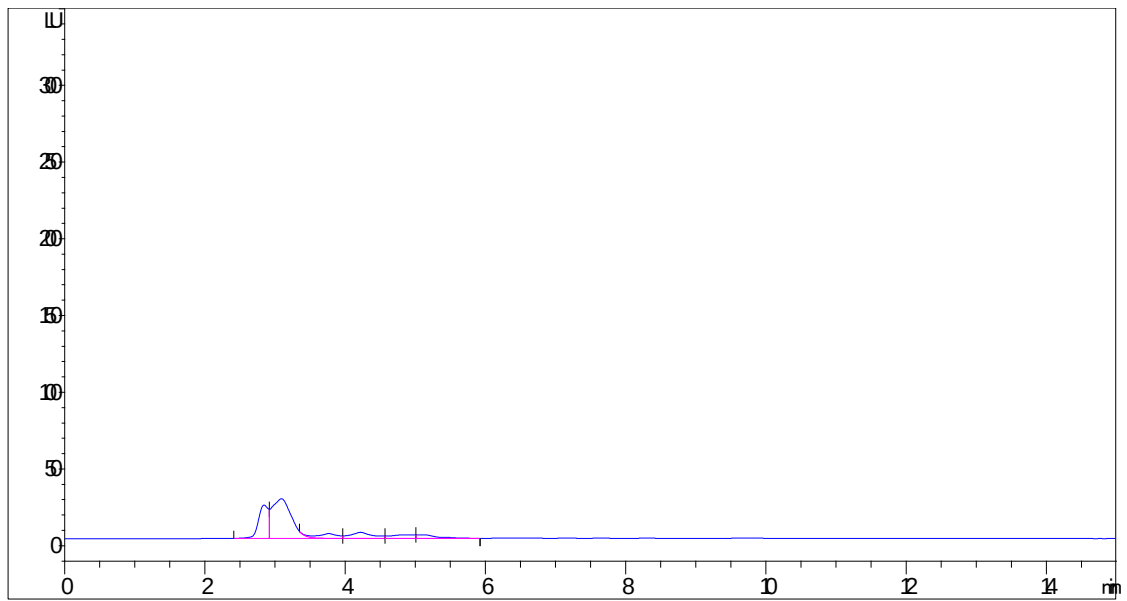
ภาพที่ ผก 2.9 โครมาโทแกรมของตัวอย่าง S09 แดงกวา¹



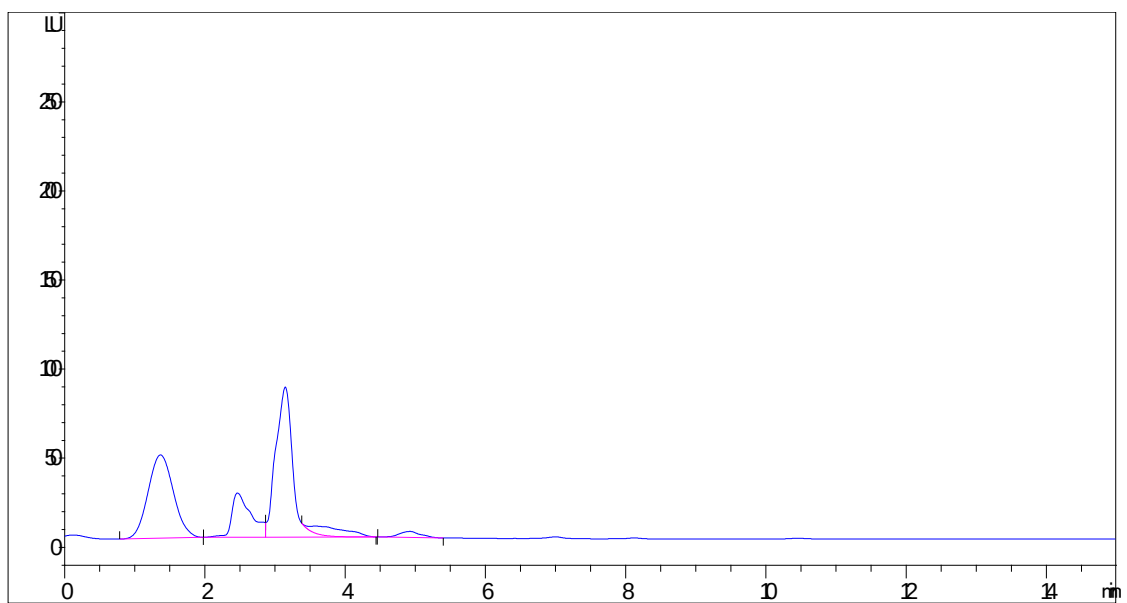
ภาพที่ ผก 2.10 โครมาโทแกรมของตัวอย่าง S10 แสดงกวา²



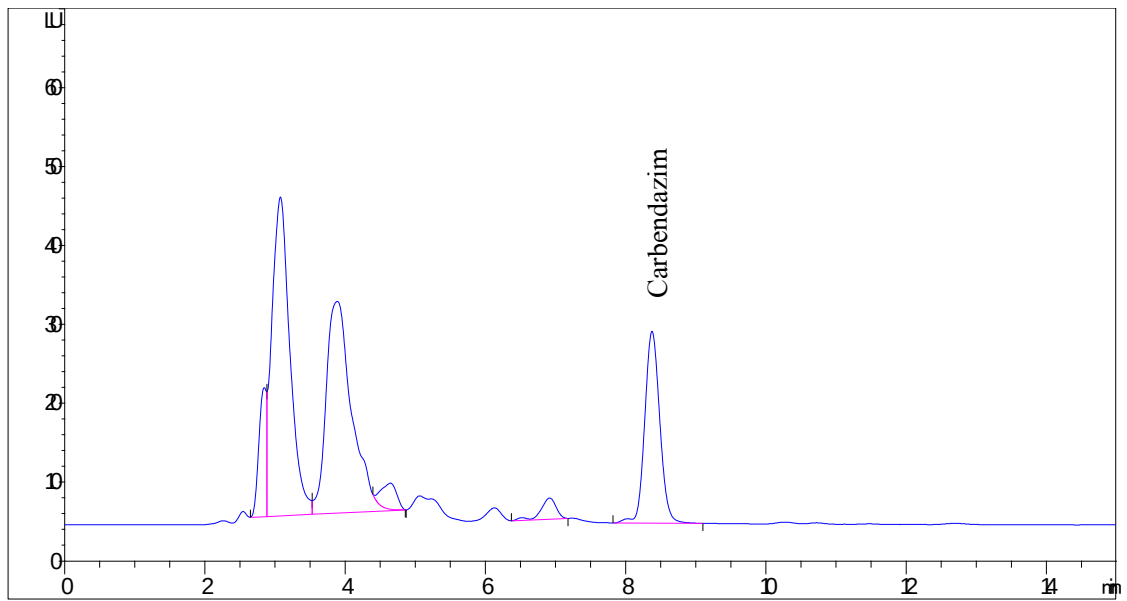
ภาพที่ ผก 2.11 โครมาโทแกรมของตัวอย่าง S11 แสดงกวา⁴



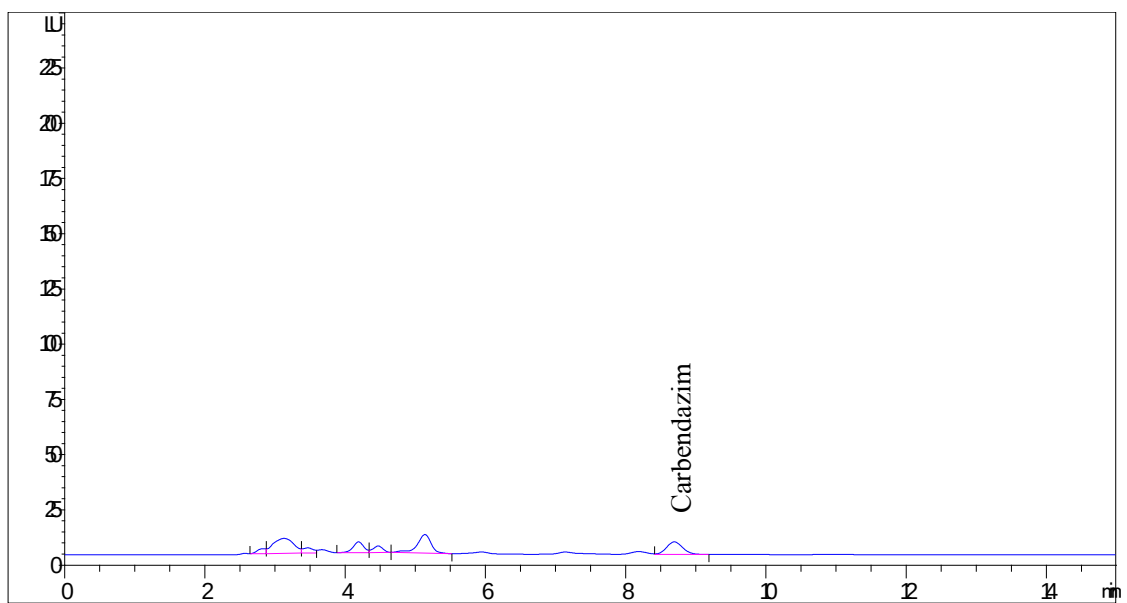
ภาพที่ ผก 2.12 โครมาโทแกรมของตัวอย่าง S12 ผักกาดขาว¹



ภาพที่ ผก 2.13 โครมาโทแกรมของตัวอย่าง S13 ผักกาดขาว²



ภาพที่ ผก 2.14 โครมาโทแกรมของตัวอย่าง S48 ดันหอม²



ภาพที่ ผก 2.15 โครมาโทแกรมของตัวอย่าง S42 ผักสลัด (ฟิลเลย์ไอซ์เบิร์ก)²

ประวัติคณะผู้วิจัย

หัวหน้าโครงการวิจัย

1. ชื่อ – นามสกุล (ภาษาไทย) นางสาวเสาวภา ชุมณี
ชื่อ – นามสกุล (ภาษาอังกฤษ) Miss Saowapa Chumanee
2. ตำแหน่งปัจจุบัน รองคณบดีฝ่ายศูนย์วิทยาศาสตร์
และอาจารย์ประจำหลักสูตรสาขาวิชาเคมี
3. ตำแหน่งทางวิชาการ ผู้ช่วยศาสตราจารย์
4. หน่วยงานและสถานที่ติดต่อได้สะดวก คณะวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยี 83 หมู่ 11 ถนนสระบุรี-หล่มสัก ตำบลสะเดียง อำเภอเมือง จังหวัดเพชรบูรณ์ 67000 โทรศัพท์ (056) 717100 ต่อ 1508
โทรสาร - โทรศัพท์มือถือ 08-8272-3349 e-mail : Saowapa@pcru.ac.th
5. ประวัติการศึกษา

ปริญญา	ชื่อสถาบัน	ปีที่สำเร็จ
วิทยาศาสตร์บัณฑิต (เคมี)	มหาวิทยาลัยรามคำแหง	2531
วิทยาศาสตรมหาบัณฑิต (เคมี)	จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย	2541
ปรัชญาดุษฎีบัณฑิต (เคมี)	มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์	2550

6. สาขาวิชาการที่มีความชำนาญพิเศษ

เคมีวิเคราะห์ เคมีสิ่งทอ และเคมีทั่วไป

7. ประสบการณ์ที่เกี่ยวข้องกับการบริหารงานวิจัย

7.1 หัวหน้าโครงการวิจัย:

พ.ศ. 2552 การพัฒนาวิธีการวิเคราะห์หาปริมาณสารกันเสีย (กรดเบนโซอิก กรดซอร์บิก เมทิลพาราเบน และโพรพิลพาราเบน) ในอาหาร และเครื่องสำอาง โดยเทคนิคโครมาโทกราฟีของเหลวแบบสมรรถนะสูง ได้รับทุนวิจัยจากสถาบันวิจัยและพัฒนา มหาวิทยาลัยราชภัฏเพชรบูรณ์

พ.ศ. 2552 การวิเคราะห์หาปริมาณธาตุอาหาร ในปุ๋ยน้ำชีวภาพและปุ๋ยอินทรีย์บ้านเม็ด ของกลุ่มเกษตรกรอินทรีย์และชีวภาพ

ได้รับทุนวิจัยจากสำนักงานกองทุนสนับสนุนการวิจัย (สกว.) โครงการ IRPUS ประจำปีงบประมาณ เลขที่โครงการ I152C02001

พ.ศ. 2553 ศึกษาผลกระทบจากการใช้ปุ๋ยในทางเกษตรกรรม ที่มีต่อคุณภาพน้ำและดินในพื้นที่ลุ่มน้ำป่าสักตอนบน อำเภอเมือง จังหวัดเพชรบูรณ์ ได้รับทุนวิจัยจากสถาบันวิจัยและพัฒนา มหาวิทยาลัยราชภัฏเพชรบูรณ์ ผ่านการพิจารณาจากสำนักงานคณะกรรมการวิจัยแห่งชาติ

พ.ศ. 2554 การศึกษากระบวนการผลิตและคุณภาพปุ๋ยน้ำหมักมูลสุกรของเกษตรกรอินทรีย์ ตำบลกองทุล อำเภอหนองไผ่ จังหวัดเพชรบูรณ์ ได้รับทุนวิจัยจากสถาบันวิจัยและพัฒนา มหาวิทยาลัยราชภัฏเพชรบูรณ์

พ.ศ. 2555 การศึกษาการย้อมสีผ้าจีวรด้วยสีธรรมชาติ ได้รับทุนวิจัยจากสถาบันวิจัยและพัฒนา มหาวิทยาลัยราชภัฏเพชรบูรณ์

พ.ศ. 2562 การศึกษาคุณค่าและการนำไปใช้ประโยชน์ของพืชหมัศจรรย์ "ถั่วดาวอินคา" เพื่อเพิ่มมูลค่าผลิตภัณฑ์และพัฒนาเศรษฐกิจชุมชนบ้านน้ำร้อน อำเภอเมือง จังหวัดเพชรบูรณ์ ได้รับทุนวิจัยจากสถาบันวิจัยและพัฒนา มหาวิทยาลัยราชภัฏเพชรบูรณ์ ผ่านการพิจารณาจากสำนักงานคณะกรรมการวิจัยแห่งชาติ

7.2 ผู้ร่วมวิจัย

พ.ศ. 2558 ศึกษาการสร้างสารหอม (2-อะเซทิล-1-ไพโรลีน) เพื่อเพิ่มมูลค่าผลผลิตข้าวไร้ลิ้มฟัว โดยการยับยั้งการทำงานของเอนไซม์ ได้รับทุนวิจัยจากสถาบันวิจัยและพัฒนา มหาวิทยาลัยราชภัฏเพชรบูรณ์ ผ่านการพิจารณาจากสำนักงานคณะกรรมการวิจัยแห่งชาติ

พ.ศ. 2562 การศึกษาการสกัดน้ำมัน ปริมาณ คาเฟอีน สารประกอบฟีนอลิก และฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระจากกากกาแฟในอำเภอเขาค้อ จังหวัดเพชรบูรณ์ ได้รับทุนวิจัยจากสถาบันวิจัยและพัฒนา มหาวิทยาลัยราชภัฏเพชรบูรณ์ ผ่านการพิจารณาจากสำนักงานคณะกรรมการวิจัยแห่งชาติ

7.2 งานวิจัยที่ทำเสร็จแล้ว: ชื่อผลงานวิจัย ปีที่พิมพ์ การเผยแพร่ และแหล่งทุน

1. วารสารนานาชาติ

1) P. Sutthivaiyakit, S. Achatz, J. Linlelmann, T. Aungpradit, R. Chanwirat, S. Chumanee, and A. Kettrup. (2005). LC-MS/MS method for the confirmatory determination of aromatic amines and its application in textile analysis. **Anal. Bioanal. Chem.**, 381: 268-276.

2) S. Chumanee, S. Suttivaiyakit, and P. Suttivaiyakit. (2009). New Reagent for Trace Determination of Protein-Bound Metabolites of Nitrofurans in Shrimp Using Liquid Chromatography with Diode Array Detector, **J. Agric. Food Chem.**, 57, 1752–1759.

- 3) Sansenya, S., Hua, Y., Chumanee, S., Phasai, K., & Sricheewin, C. (2017). Effect of Gamma Irradiation on 2-Acetyl-1-pyrroline Content, GABA Content and Volatile Compounds of Germinated Rice (Thai Upland Rice). **Plants**, 6(2), 18.
- 4) Sansenya, S., Hua, Y., Chumanee, S., & Winyakul, C. (2017). Effect of gamma irradiation on the 2-acetyl-1-pyrroline content during growth of Thai black glutinous rice (Upland rice). **Australian Journal of Crop Science**, 11(5), 631.
- 5) Sansenya, S., Hua, Y., & Chumanee, S. (2018). The Correlation between 2-Acetyl-1-pyrroline Content, Biological Compounds and Molecular Characterization to the Aroma Intensities of Thai Local Rice. **Journal of oleo science**, 67 (7), 893-904.
- 6) Sansenya, S., Hua, Y., Chumanee, S., & Sricheewin, C. (2019) The Combination Effect of Gamma Irradiation and Salt Concentration on 2-acetyl-1-pyrroline Content, Proline Content and Growth of Thai Fragrant Rice (KDML 105). **Oriental Journal of chemistry**, 35(3), 938-946.
- 7) Sansenya, S., Payaka, A., Wannasut, W., Hua, Y., & Chumanee, S. (2020) Biological activity of rice extract and the inhibition potential of rice extract, rice volatile compounds, and their combination against α -glucosidase, α -amylase, and tyrosinase. **International Journal of Food Science & Technology**.
- 8) Panpraneecharoen, S., & Chumanee, S. (2020). Optimization of the Oil Extraction, Study the Chemical and Physical Properties of Arabica Spent Coffee Grounds. **Science & Technology Asia**, 25(4), 12-19.

2. วารสารระดับชาติ

- 1) Chumanee, S., & Khoomsab, R. (2020). การหาปริมาณ สารพฤกษเคมีฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระ และแร่ธาตุ จากใบถั่วดาวอินคา. **PSRU Journal of Science and Technology**, 5(2), 98-113.

3. Proceedings

- 1) สมพงษ์ แสนเสนยา, หยานหลัง หัว, เสาวภา ชูมณี, ดลนภา แก้วภา, ชาคร ชินอมรวงศ์, และ กรรณิกา ภาไสย. ผลของรังสีแกมมาต่อปริมาณสารหอม (2-acetyl-1-pyrroline) และปริมาณกรดแกมมาอะมิโนบิวทิริก (กาบา) ในข้าวไร่พญาลิ้มแกง. Proceeding. การประชุมวิชาการระดับชาติ วิทยาศาสตร์และเทคโนโลยีระหว่างสถาบัน ครั้งที่ 4 ASTC2016: The 4th Academic Science and Technology Conference 2016 วันที่ 31 พฤษภาคม 2559.

2) วุฒิพงศ์ หอมหวล ปิยรัตน์ มูลศรี และ เสาวภา ชุมณี. การเปรียบเทียบผลสัมฤทธิ์ทางการเรียนและทักษะการคำนวณ วิชาเคมี เรื่องปริมาณสารสัมพันธ์ของนักเรียนชั้นมัธยมศึกษาปีที่ 4 ที่ได้รับวิธีการสอนและมีผลการเรียนต่างกัน. รายงานสืบเนื่องการประชุมวิชาการ (Proceedings) การนำเสนอผลงานวิจัยระดับชาติ เครือข่ายบัณฑิตศึกษา มหาวิทยาลัยราชภัฏภาคเหนือครั้งที่ 17 (21 กรกฎาคม 2560)

3) เสาวภา ชุมณี, วิไลพร ปองเพียร และ ศศิกานต์ ปานปราณี-เจริญ. การสกัดโดยใช้คลื่นเสียงความถี่สูงเพื่อการวิเคราะห์แคลเซียมในถั่วดาวอินคา โดยเทคนิคเฟรมอะตอมมิกแอบซอร์พชันสเปกโทรสโกปี การประชุมวิชาการระดับชาติ มหาวิทยาลัยราชภัฏเพชรบูรณ์ ครั้งที่ 5 “งานวิจัยเพื่อพัฒนาท้องถิ่น” วันที่ 8-9 เดือนมีนาคม พ.ศ. 2561

4) อาทิตยา จันที, เสาวภา ชุมณีและ ปิยรัตน์ มูลศรี. การพัฒนาแผนการจัดการเรียนรู้โดยใช้กิจกรรมการเรียนรู้แบบปัญหาเป็นฐาน เรื่อง ปริมาณสัมพันธ์ สำหรับนักเรียนชั้นมัธยมศึกษาปีที่ 4 โรงเรียนบึงสามพันวิทยาคม การประชุมวิชาการเทคโนโลยีอุตสาหกรรมระดับชาติ มหาวิทยาลัยราชภัฏกำแพงเพชร ครั้งที่ 4 “การพัฒนาเทคโนโลยีและนวัตกรรมในยุค 4.0 เพื่อท้องถิ่นเข้มแข็งอย่างยั่งยืน” วันที่ 12-13 เดือนกรกฎาคม พ.ศ. 2561, หน้า 505-510.

ผู้ร่วมวิจัย

1. ชื่อ - นามสกุล (ภาษาไทย) นางสาวรุจิรา คุ่มทรัพย์
ชื่อ - นามสกุล (ภาษาอังกฤษ) Miss Ruchira Khoomsab
2. ตำแหน่งปัจจุบัน พนักงานมหาวิทยาลัยสายวิชาการ
3. ตำแหน่งทางวิชาการ ผู้ช่วยศาสตราจารย์
4. หน่วยงานที่อยู่ที่สามารถติดต่อได้สะดวก พร้อมหมายเลขโทรศัพท์ โทรสาร และ e-mail
คณะวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยี มหาวิทยาลัยราชภัฏเพชรบูรณ์ อ.เมือง จ.เพชรบูรณ์ 67000

โทรศัพท์ (056) 717100 ต่อ 2713 โทรสาร (056) 717123

E - mail : rupinkaew13@pcru.ac.th

5. ประวัติการศึกษา

ปริญญา	ชื่อสถาบัน	ปีที่สำเร็จ
วิทยาศาสตร์บัณฑิต (เคมี)	มหาวิทยาลัยนเรศวร	2551
วิทยาศาสตรมหาบัณฑิต (เคมี)	มหาวิทยาลัยเชียงใหม่	2554

6. สาขาวิชาการที่มีความชำนาญพิเศษ (แตกต่างจากวุฒิการศึกษา) ระบุสาขาวิชาการ

การวิเคราะห์น้ำ เคมีวิเคราะห์ เคมีทั่วไป

7. ประสบการณ์ที่เกี่ยวข้องกับการบริหารงานวิจัยทั้งภายในและภายนอกประเทศ โดยระบุสถานภาพในการทำการวิจัยว่าเป็นหัวหน้าโครงการวิจัย หรือผู้ร่วมวิจัยในแต่ละผลงานวิจัย

7.1 งานวิจัยที่ทำเสร็จแล้ว: ชื่อโครงการวิจัย ปีที่ดำเนินโครงการ และแหล่งทุน

1. งานวิจัย เรื่อง Derivative Spectrophotometry for The Simultaneous Determination of Acetyl Salicylic Acid, Caffeine and Paracetamol, ด้วยเงินอุดหนุนงานวิจัย สาขาวิชาเคมี คณะวิทยาศาสตร์ มหาวิทยาลัยนเรศวร พิษณุโลก, 2550

2. วิทยานิพนธ์เรื่อง Exhaustive Separation of Fibroin, Sericin and Pigments from Yellow Thai Silk Cocoon, ตุลาคม 2554. ได้รับทุนจาก PERCH CIC และบัณฑิตวิทยาลัย มหาวิทยาลัยเชียงใหม่

3. งานวิจัยชั้นเรียน เรื่องการพัฒนาการเรียนการสอนวิชาเคมีที่เน้นผู้เรียนเป็นสำคัญกรณีศึกษา:การวิเคราะห์คุณภาพน้ำแม่น้ำป่าสัก เขตเทศบาลเมืองเพชรบูรณ์ในรายวิชาการวิเคราะห์น้ำ ได้รับทุนอุดหนุนการวิจัยจากคณะวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยีงบประมาณ พ.ศ. 2555

4. หัวหน้าโครงการงานวิจัย เรื่อง การผลิตและการเตรียมถ่านกัมมันต์จากขังข้าวโพด เพื่อใช้ในการดูดซับมีเทน แหล่งทุน ทุนอุดหนุนการวิจัยประเภททั่วไป มหาวิทยาลัยราชภัฏเพชรบูรณ์ ประจำปีงบประมาณ 2556

5. หัวหน้าโครงการงานวิจัย เรื่อง การพัฒนาความสามารถการเรียนรู้โดยใช้แผนผังมโนทัศน์ของนักศึกษาสาขาวิชาเคมี มหาวิทยาลัยราชภัฏเพชรบูรณ์ รายวิชา การวิเคราะห์น้ำ เรื่อง คุณภาพน้ำ ได้รับทุนอุดหนุนการวิจัยประเภทการเรียนการสอน มหาวิทยาลัยราชภัฏเพชรบูรณ์ ประจำปีงบประมาณ 2557

6. ผู้ร่วมวิจัยโครงการงานวิจัย เรื่อง การเพิ่มมูลค่าผลิตภัณฑ์อาหารสุขภาพข้าวสางอก “ข้าวไร้ลิ้มผิว” เพื่อพัฒนาเศรษฐกิจชุมชนอย่างยั่งยืน จังหวัดเพชรบูรณ์ ประจำปีงบประมาณ พ.ศ. 2557

7. หัวหน้าโครงการงานวิจัย เรื่อง ปริมาณธาตุอาหาร และคุณค่าทางโภชนาการในผลมะม่วงน้ำดอกไม้ในเขตเพาะปลูกตำบลคงมูลเหล็ก อำเภอเมือง จังหวัดเพชรบูรณ์ ประจำปีงบประมาณ พ.ศ. 2558

8. หัวหน้าโครงการงานวิจัยย่อย เรื่อง การพัฒนาผลิตภัณฑ์อาหารสุขภาพข้าวไร้ลิ้มผิวสำหรับผู้สูงอายุเพื่อเศรษฐกิจชุมชน ประจำปีงบประมาณ พ.ศ. 2558

9. หัวหน้าโครงการวิจัย เรื่อง “ความหลากหลายชนิดของแมลงกินได้ และ พฤติกรรมการบริโภคอาหารที่ปรุงจากแมลงกินได้ ตามภูมิปัญญาท้องถิ่น” ได้รับทุนอุดหนุนจาก โครงการส่งเสริมการวิจัยในอุดมศึกษาประจำปี งบประมาณ พ.ศ. 2559

10. หัวหน้าโครงการวิจัยย่อย เรื่อง พฤติกรรมการลดคาร์บอนฟุตพริ้นท์ใน ชีวิตประจำวันของประชาชนในจังหวัดเพชรบูรณ์ ได้รับทุนอุดหนุนงบประมาณแผ่นดิน งบประมาณ พ.ศ. 2559.

11. หัวหน้าโครงการวิจัย เรื่อง การหาวิธีที่เหมาะสมในการสกัดและการ วิเคราะห์ปริมาณสารแอนทราควิโนนและเมธิลแอนทรานิลเลทจากพืช ได้รับทุนอุดหนุน งบประมาณแผ่นดิน งบประมาณ พ.ศ. 2560

12. ผู้ร่วมวิจัยโครงการวิจัย เรื่อง การพัฒนาเทคนิคการจับไล่ล่าก่อก่อความรำคาญ ด้วยวิธีทางกายภาพและชีวเคมีได้รับทุนอุดหนุนงบประมาณแผ่นดิน งบประมาณ พ.ศ. 2561

13. หัวหน้าโครงการวิจัย เรื่อง การส่งเสริมเศรษฐกิจเชิงสร้างสรรค์วิสาหกิจ ชุมชน อำเภอเขาค้อ จังหวัดเพชรบูรณ์ด้วยดิจิทัลมาร์เก็ตติ้ง ได้รับทุนอุดหนุนงบประมาณแผ่นดิน งบประมาณ พ.ศ. 2562

14. ผู้ร่วมวิจัยโครงการวิจัย เรื่อง ปัญหาพัฒนาและส่งเสริมธุรกิจแหล่งน้ำพุร้อนเพื่อ สุขภาพ อำเภอ วิเชียรบุรี จังหวัดเพชรบูรณ์ ได้รับทุนอุดหนุนจากโครงการศึกษา ศักยภาพเพื่อ ยกระดับการพัฒนาเชิงพื้นที่ของเครือข่าย (Preliminary Research) มหาวิทยาลัยนเรศวร ประจำปี งบประมาณ พ.ศ.2564

7.2 การเผยแพร่งานวิจัย: ชื่อผลงานวิจัย ชื่อวารสารที่เผยแพร่ ปีที่พิมพ์

รุจิรา ปิ่นแก้ว เรื่องศรี วัฒนศักดิ์ และสุรศักดิ์ วัฒนศักดิ์. Effect of Solvent Systems on Reflux Extraction of Pigments in Yellow Thai Silk Cocoon. วารสารมหาวิทยาลัยศรี นครินทรวิโรฒ (สาขาวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยี). 3(2554): 226-233

Artit Hutem, Saowapa Chumanee, Wilaiporn Pongpian and Ruchira Khoomsab. Atomic Density Fluctuation of Harmonic Oscillator Cosine Asymmetric Potential via Numerical Shooting Method. **Advanced Studies in Theoretical Physics**. Vol. 8, 2014, no. 24, 1083 – 1088

รุจิรา คุ่มทรัพย์ วิไลพร ปองเพียร และปาริชาติ โนมเฉลา. การเตรียมและ วิเคราะห์ค่าการดูดซับของถ่านกัมมันต์จากขังข้าวโพดโดยวิธีการกระตุ้นทางเคมี, การประชุม วิชาการระดับชาติ มหาวิทยาลัยราชภัฏสวนสุนันทา“การวิจัยเพื่อการพัฒนาที่ยั่งยืน”. 2558, 1393-1400.

รุจิรา คุ่มทรัพย์, การพัฒนาความสามารถการเรียนรู้โดยใช้แผนผังมโนทัศน์ของนักศึกษาสาขาวิชาเคมี มหาวิทยาลัยราชภัฏเพชรบูรณ์ รายวิชา การวิเคราะห์น้ำ เรื่อง คุณภาพน้ำ ในวารสารวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยี ปีที่ 1 ฉบับที่ 2 วันที่ 1 กรกฎาคม – ธันวาคม พ.ศ. 2559.. หน้า 16-23

กาญจน์ คุ่มทรัพย์, พรทวิ กองร้อย, ธนาวรรณ สุขเกษม และรุจิรา คุ่มทรัพย์, การส่งเสริมการจัดทำคาร์บอนฟุตพริ้นท์ในจังหวัดเพชรบูรณ์ เพื่อมุ่งสู่การเป็นเมืองคาร์บอนต่ำ การนำเสนอผลงานวิจัยระดับชาติ เครือข่ายบัณฑิตศึกษา มหาวิทยาลัยราชภัฏภาคเหนือ ครั้งที่ 17, 2785-2791.

รุจิรา คุ่มทรัพย์, เสาวภา ชุมณี, วิไลพร ปองเพียร, กาญจน์ คุ่มทรัพย์, ปริมาณธาตุอาหาร และคุณค่าทางโภชนาการ ในผลมะม่วงน้ำดอกไม้สีทองในเขตเพาะปลูกตำบลดงมูลเหล็ก อำเภอเมือง จังหวัดเพชรบูรณ์, การประชุมวิชาการระดับชาติเครือข่ายวิจัยสถาบันอุดมศึกษาทั่วประเทศ ครั้งที่ ประจำปี 2559 เมื่อวันที่ 19-20 ธันวาคม 2560.

Saowapa Chumanee, Ruchira khoomsab, Chanai Munkalaratanasri, Sompng Sansenya. (2015) Effect of Cooking Methods on Gamma-Aminobutyric Acid (GABA) and Anthocyanin Content of Germinated Brown Rice (Leumpua Purple Sticky Rice. **TICST 2015**: The international Conference on Science and Technology.

รุจิรา คุ่มทรัพย์, ธนาวรรณ สุขเกษม และรุ่งนภา สนั่นดี (2561). พฤติกรรมการบริโภคแมลงกินได้ตามวิถีปัญญาท้องถิ่น กรณีศึกษา ตำบลปากช่อง อำเภอหล่มสัก จังหวัดเพชรบูรณ์. วารสารคณะวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยี. ปีที่ 3 ฉบับที่ 2

นันทักษ์ รอดเกตุ, ศศิกานต์ ปานปรางค์เจริญ, เสาวภา ชุมณี, วิไลพร ปองเพียร และรุจิรา คุ่มทรัพย์ (2561) การสกัดน้ำมัน และองค์ประกอบกรดไขมัน ของน้ำมันรำข้าวลิ้มฟัวในจังหวัดเพชรบูรณ์. วารสารคณะวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยี. ปีที่ 3 ฉบับที่ 2

ศศิกานต์ ปานปรางค์เจริญ, เสาวภา ชุมณี, วิไลพร ปองเพียร, รุจิรา คุ่มทรัพย์ และนันทักษ์ รอดเกตุ. (2561) การศึกษาสภาวะที่เหมาะสมในการผลิตไบโอดีเซลจากน้ำมันพืชใช้แล้ว ด้วยตัวเร่งปฏิกิริยาโพแทสเซียมไฮดรอกไซด์ วารสารวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยี มหาวิทยาลัยราชภัฏเพชรบูรณ์ ปีที่ 3 ฉบับที่ 1

Khoomsab, R. and Khoomsab, K. (2019). Extraction and Determination of Anthraquinone from Herbal Plant as Bird Repellent. **Science & Technology Asia**. 24(1), 14-20.

Khoomsab, R. and Khoomsab, K. (2019) Establishment of Methyl Anthranilate Quantification by UV-spectroscopy and Identification using FT-IR. **EAU Heritage Journal Science and Technology**.13(1).

Khoomsab, R. And Kratang, K. (2020). Quantitative Analysis of Anthraquinone From Plants Based On Reversed-Phase High Performance Liquid Chromatography. **PSRU Journal of Science and Technology**. 5(1): 52-65,

Chumanee, S., & Khoomsab, R. (2020). การหาปริมาณ สารพฤษเคมีฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระ และแร่ธาตุ จากใบถั่วดาวอินคา. **PSRU Journal of Science and Technology**, 5(2), 98-113.

Thaenthong, S., Patan, A., Rodkate, R., Deepanya, W., Khoomsab, R. (2021). Effect of Cooking Treatments on Resistant Starch Content in Local Rice Variety Grown in Phetchabun Province **PSRU Journal of Science and Technology**, 6(3) 135-146.