

บทที่ 4

ผลและวิจารณ์การทดลอง

1. สภาพภาวะที่ดีที่สุดในการตรวจหาสารกำจัดแมลง โดยทดสอบกับสารกำจัดแมลงโดยตรง

1.1 หาความเข้มข้นของ NBP ที่ดีที่สุดในการตรวจหาสารกำจัดแมลงมาตรฐาน

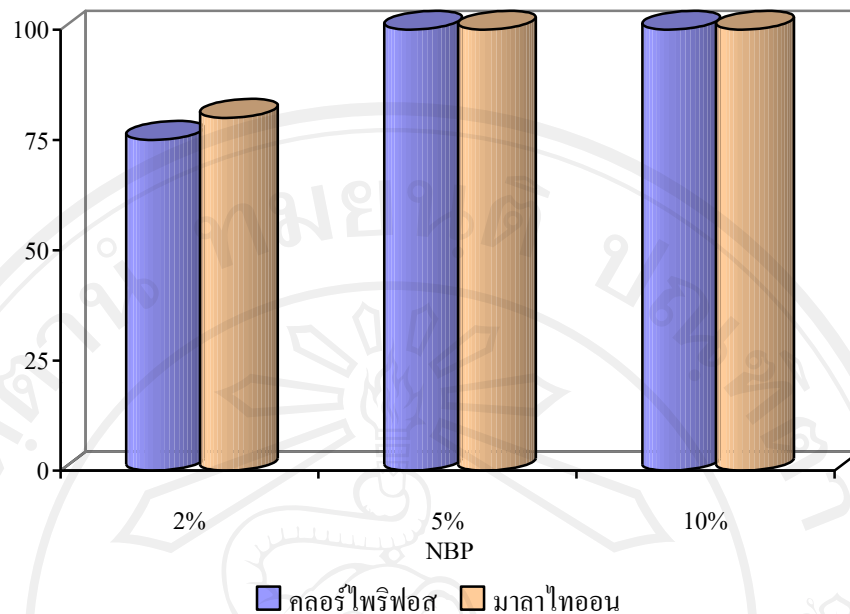
จากการหาความเข้มข้นของสาร NBP ที่เหมาะสมที่สุดในการทดสอบหาสารกำจัดแมลงในกลุ่มออร์กาโนฟอสเฟต โดยใช้สารคลอร์ไพริฟอสและมาลาไทออนความเข้มข้น 1 mg/L ในการทดสอบพบว่าการใช้ NBP ที่เข้มข้น 2, 5 และ 10% ในการทดสอบหาสารคลอร์ไพริฟอสมีค่าการดูดกลืนแสง ($\lambda=520$) 0.0228, 0.0811 และ 0.0934 ตามลำดับ และมาลาไทออนมีค่าการดูดกลืนแสง ($\lambda=520$) 0.0418, 0.1237 และ 0.1514 ตามลำดับ (ตาราง 4.1) จะเห็นได้ว่าค่าการดูดกลืนแสงจะเพิ่มขึ้นเมื่อใช้สาร NBP ที่ความเข้มข้นสูงขึ้น แต่เมื่อเปรียบเทียบกับผลการอ่านผลด้วยสายตา โดยสังเกตจากสีม่วงที่เกิดขึ้นเมื่อพบสารกำจัดแมลง และไม่มีการเกิดสีม่วงเมื่อไม่มีการตรวจพบสารกำจัดแมลง พบว่า การใช้ NBP ที่เข้มข้น 2, 5 และ 10 % มีเปอร์เซ็นต์การตรวจพบสารคลอร์ไพริฟอสเป็น 75, 100 และ 100% ตามลำดับ และสารมาลาไทออนมีการตรวจพบเป็น 80, 100, และ 100% ตามลำดับ จากผลการทดลองที่ได้ผู้ทดลองจึงได้เลือกใช้สาร NBP ที่ความเข้มข้น 5% เป็นความเข้มข้นที่ดีที่สุดที่จะใช้ในการทดลองต่อไป

ตาราง 4.1 แสดงค่าการดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 520 nm ของสารในหลอดทดลอง เมื่อมีการใช้สาร NBP ที่ความเข้มข้นต่างกันร่วมกับ TEP 10%

ความเข้มข้นของ NBP(%)	ค่าการดูดกลืนแสงที่ 520 nm (Mean; n=20) ^{1/}	
	คลอร์ไพริฟอส 1 mg/L	มาลาไทออน 1 mg/L
0	0.0189a	0.0174a
2	0.0228b	0.0418b
5	0.0811c	0.1237c
10	0.0934d	0.1514d

^{1/}ค่าเฉลี่ยในสดมภ์เดียวกันตามด้วยตัวอักษรที่เหมือนกัน ไม่มีความแตกต่างกันที่ระดับความเชื่อมั่น 95% โดยวิธี

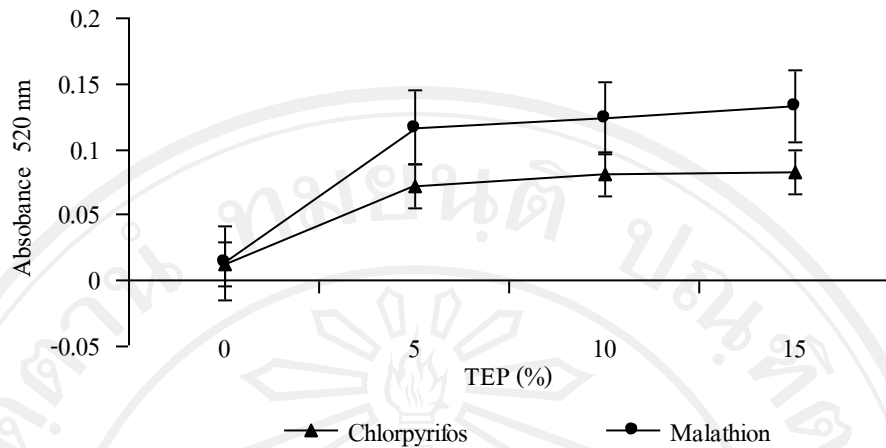
LSD



ภาพ 4.1 การอ่านผลพบสารกำจัดแมลงจากสีม่วงเกิดขึ้นในการใช้สาร NBP ที่ความเข้มข้น 2, 5 และ 10% ทดสอบหาสารกำจัดแมลงคลอโรไฟริฟอสและมาลาไทออน 1 mg/L (แกน Y = เปอร์เซ็นต์การตรวจพบสารกำจัดแมลง)

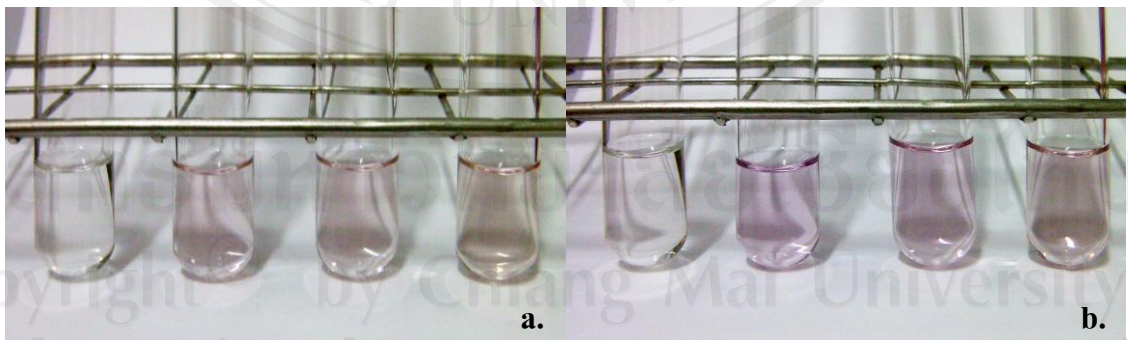
1.2 หาความเข้มข้นของ TEP ที่ดีที่สุดในการตรวจหาสารกำจัดแมลงมาตรฐาน

จากการทดลองหาความเข้มข้นของสาร TEP ที่เหมาะสมสำหรับการตรวจหาสารกำจัดแมลงกลุ่ม ออร์กาโนฟอสเฟต ในการทดลองจะใช้สาร TEP ที่ความเข้มข้น 5, 10 และ 15% โดยใช้ร่วมกับสาร NBP เข้มข้น 5% (จากผลการทดลองที่ 1.1) โดยทำการตรวจสอบสารในกลุ่มออร์กาโนฟอสเฟตคือ สารคลอโรไฟริฟอสและมาลาไทออนความเข้มข้น 1 mg/L ผลการทดลองพบว่า เมื่อมีการใช้สาร TEP ที่ความเข้มข้นเพิ่มขึ้นจะทำให้ค่าการดูดกลืนแสงเพิ่มมากขึ้น ในการตรวจสอบสารคลอโรไฟริฟอสมีค่าการดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 520 nm อยู่ที่ 0.0724, 0.0811 และ 0.0822 และสารมาลาไทออน มีค่า 0.1166, 0.1237 และ 0.1300 ตามลำดับ



ภาพ 4.2 แสดงแนวโน้มค่าการดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 520 nm ของสารในหลอดทดลอง เมื่อใช้สาร TEP ที่ความเข้มข้นต่างกันร่วมกับ NBP 5%

จากภาพ 4.2 ค่าการดูดกลืนแสงของสารมีค่าเพิ่มขึ้นเพียงเล็กน้อยเนื่องจากการเกิดความเข้มของสีม่วงที่เกิดขึ้นจากสาร TEP นั้นต้องขึ้นอยู่กับการทำปฏิกิริยาของสาร NBP ที่ทำกับสารกำจัดแมลงนั้นๆ สาร TEP จะทำหน้าที่เหมือนเป็นสารที่ใช้วัดการทำปฏิกิริยาของสาร NBP กับสารกำจัดแมลงว่าเกิดขึ้นมากน้อยเพียงใด ปฏิกิริยาที่เกิดขึ้น (ภาพ 2.3) จะเริ่มจากสาร NBP เข้าไปกับฟอสเฟตในสูตรโครงสร้างของสารกำจัดแมลง โดยให้ความร้อนเป็นตัวช่วยในการเกิดปฏิกิริยาเกิดเป็นสารใหม่ (X) จากนั้นสาร TEP จะเข้าไปจับกับสารดังกล่าวทำให้เกิดเป็นสารละลายที่มีสีม่วง ซึ่งจะสามารถดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 520 nm (Namera *et al.*, 2000)



ภาพ 4.3 แสดงผลการทดสอบหาสารกำจัดแมลงโดยใช้ TEP ที่ความเข้มข้น 0, 5, 10 และ 15% ตามลำดับจากซ้ายไปขวา

- ผลการทดสอบของสารกำจัดแมลงคลอร์ไพริฟอสที่ความเข้มข้น 1 mg/L
- ผลการทดสอบของสารกำจัดแมลงมาลาไทออนที่ความเข้มข้น 1 mg/L

1.3 ทดสอบสถานะที่ได้จากการทดลอง 1.1 และ 1.2 ในการตรวจหาสารกำจัดแมลงที่ใช้ในการเกษตร

ผลการตรวจสอบสารกำจัดแมลงออร์กาโนฟอสเฟตที่ใช้ในการเกษตรโดยใช้สาร NBP และ สาร TEP 5% การอ่านผลจากสีม่วงที่เกิดขึ้นพบว่า ในการตรวจสอบสารคลอร์ไพริฟอสเข้มข้น 1.0 และ 5.0 mg/L และสารมาลาไทออนเข้มข้น 0.5, 1.0 และ 5.0 mg/L สารละลายในหลอดทดลองมีสีม่วงให้ผลพบสารกำจัดแมลง 100% แต่ในการตรวจสอบสารคลอร์ไพริฟอสเข้มข้น 0.5 mg/L สารละลายในหลอดทดลองไม่เกิดสีม่วง ให้ผลไม่พบสารกำจัดแมลง เมื่อดูผลการวัดค่าการดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 520 nm พบว่า การตรวจสอบสารกำจัดแมลงที่มีความเข้มข้นเพิ่มขึ้นจะมีผลทำให้ค่าการดูดกลืนแสงจะมีแนวโน้มเพิ่มขึ้น โดยที่ผลการตรวจสอบสารคลอร์ไพริฟอสจะมีค่าการดูดกลืนแสง 0.0023, 0.0806 และ 0.15467 ตามลำดับ เช่นเดียวกับผลการตรวจสอบสารมาลาไทออนมีค่าการดูดกลืนแสง 0.0611, 0.1434 และ 0.6227 จากตาราง 4.2 ค่าการดูดกลืนของผลการตรวจสอบคลอร์ไพริฟอสเข้มข้น 0.5 mg/L มีค่าการดูดกลืนแสงใกล้เคียงกับชุดควบคุม (0 mg/L) จึงทำให้ไม่สามารถอ่านผลการทดสอบด้วยสายตา

ตาราง 4.2 แสดงค่าการดูดกลืนแสงในการทดสอบสารกำจัดแมลงที่ใช้ในการเกษตร และผลการวิเคราะห์ด้วยเทคนิค GC

สารกำจัดแมลง (mg/L)	ผลการทดสอบ	
	ค่าการดูดกลืนแสง	GC(mg/L)±SE ^{1/}
คลอร์ไพริฟอส		
0	0.0016a	Nd*
0.5	0.0223b	0.322±0.002a
1.0	0.0806c	0.905±0.019b
5.0	0.1547d	5.905±0.073c
มาลาไทออน		
0	0.0018a	Nd*
0.5	0.0611b	0.511±0.003a
1.0	0.1434c	0.894±0.009b
5.0	0.6227d	4.943±0.005c

^{1/} ค่าเฉลี่ยในสดมภ์เดียวกันตามด้วยตัวอักษรที่เหมือนกัน ไม่มีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญที่ระดับความเชื่อมั่น 95% โดยวิธี LSD

*Nd (Not Detection) หมายถึง ไม่มีการตรวจพบ

ผลการทดลองได้สอดคล้องกับงานวิจัยของ Turner (1974) ที่ได้ใช้สาร NPB ในการตรวจสอบสารกำจัดแมลง malathion, dichlorvos, tetrachlorvinphos และ fenchorphos ซึ่งเป็นสารในกลุ่มออร์กาโนฟอสเฟต ความเข้มข้นเท่าๆกัน เมื่อนำไปวัดค่าการดูดกลืนแสงหลังจากทดสอบ โดยให้ความร้อน 5 นาที พบว่าสารแต่ละชนิดมีค่าไม่เท่ากัน คือ 0.345, 0.900, 0.575 และ 0.750 ตามลำดับ Turner (1974) กว้างถึงค่าการดูดกลืนแสงของสารแต่ละชนิดที่มีค่าไม่เท่ากันนั้น มีผลมาจากลักษณะ โครงสร้างของสารแต่ละชนิดที่แตกต่างกัน มีผลต่อการจับกับฟอสเฟตใน โครงสร้างสารของสาร NBP การที่ค่าการดูดกลืนแสงของสารคลอร์ไพริฟอสและมาลาไทออนมีค่า ต่างกันน่าจะมีผลมาตักษณะ โครงสร้างสารที่มีองค์ประกอบทางเคมีที่แตกต่างกัน

2. ทดสอบประสิทธิภาพการตรวจหาสารกำจัดแมลงตกค้างในผัก โดยใช้สารกำจัดแมลงมาตรฐาน ในการทดสอบ

จากการทดสอบความสามารถในการตรวจหาสารกำจัดแมลงมาตรฐานด้วยวิธีการ จากผลการทดลองที่ พบว่าที่ชุดการทดลองคลอร์ไพริฟอสเข้มข้น 1.0 และ 5.0 mg/L และมาลาไทออนเข้มข้น 0.5, 1.0 และ 5.0 mg/L สามารถตรวจพบสารกำจัดแมลงได้ 100% สารละลายในหลอดทดลองมีสีม่วง แต่ในชุดการทดลองคลอร์ไพริฟอสเข้มข้น 0.5 mg/L ไม่สามารถพบสารกำจัดแมลงได้ จากตาราง 4.3 ผลการวิเคราะห์สารกำจัดแมลงมาตรฐานด้วยเทคนิค GC พบว่า สารสกัดของชุดทดลอง คลอร์ไพริฟอสเข้มข้น 0.5, 1.0 และ 5.0 mg/L มีความเข้มข้นของคลอร์ไพริฟอสมาตรฐานอยู่ที่ 0.336, 0.879 และ 3.946 mg/L ตามลำดับ และมีเปอร์เซ็นต์ recovery อยู่ในช่วง 67.21-87.89 เช่นเดียวกับสารสกัดของชุดทดลองมาลาไทออนเข้มข้น 0.5, 1.0 และ 5.0 mg/L มีความเข้มข้นของ มาลาไทออนมาตรฐานอยู่ที่ 0.373, 0.815 และ 3.990 mg/L ตามลำดับ และมีเปอร์เซ็นต์ recovery อยู่ในช่วง 74.52-81.46%

ตาราง 4.3 แสดงผลการตรวจหาสารกำจัดแมลงมาตรฐานตกค้างในผักตัวอย่าง

สารกำจัดแมลง (mg/L)	ผลการตรวจสอบ		
	ค่าการดูดกลืนแสง	GC(mg/L) ± SE ^{1/}	%Recovery ± SE ^{1/}
คลอรีไพริฟอส			
0	0.0018a	Nd*	-
0.5	0.0254b	0.336±0.002a	67.21±0.43a
1.0	0.0634c	0.879±0.008b	87.89±0.76c
5.0	0.1280d	3.946±0.019c	78.91±0.38b
มาลาไทออน			
0	0.0018a	Nd*	-
0.5	0.0463b	0.373±0.006a	74.52±1.28a
1.0	0.1139c	0.815±0.009b	81.46±0.86b
5.0	0.4962d	3.990±0.040c	79.80±0.80b

^{1/} ค่าเฉลี่ยในสดมภ์เดียวกันตามด้วยตัวอักษรที่เหมือนกัน ไม่มีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญที่ระดับความเชื่อมั่น 95% โดยวิธี LSD

*Nd (Not Detection) หมายถึง ไม่มีการตรวจพบ

3. การพัฒนาชุดทดสอบสารพิษตกค้าง และทดสอบคุณภาพและประสิทธิภาพของชุดทดสอบ

ผู้วิจัยต้องการพัฒนาชุดทดสอบที่สามารถใช้งานได้ง่ายและพกพาออกไปใช้ภาคสนามได้สะดวก โดยมีอุปกรณ์ และวิธีการทดสอบดังนี้

อุปกรณ์

- | | |
|----------------------|---------------------|
| 1. กระจกนาฬิกา | 7. ตะเกียงแอลกอฮอล์ |
| 2. ขวดสกัดขนาด 60 ml | 8. ปากคืบ |
| 3. หลอดหยด ขนาด 1 ml | 9. กระดาษกรอง |
| 4. สาร NBP 5% | 10. มีด |
| 5. สาร TEP 5% | 11. เขียง |
| 6. Dichloromethane | 12. ตราซั้ง |

วิธีการทดสอบ



1. ชั่งตัวอย่าง 10 กรัม



2. หั่นให้ละเอียด



3. บรรจุลงในขวดที่มี Dichloromethane 20 ml และเขย่า



4. เตรียมกระเจกนาฟิกาสะอาด 1 แผ่น



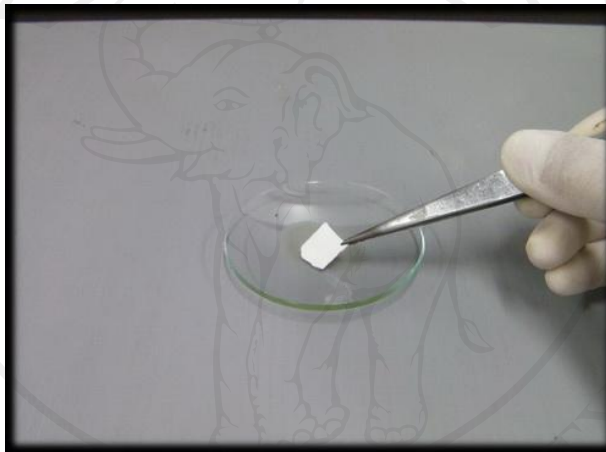
5. ดูดตัวอย่างจากขวดสกัด ใส่ลงบนกระเจกนาฟิกา 0.25 ml



6. หยด NBP 5% 1 หยด



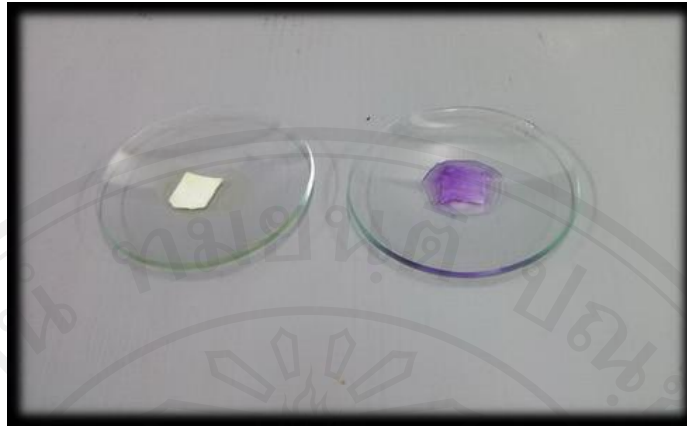
7. นำไปผ่านเปลวไฟให้แห้ง



8. ทิ้งไว้ให้เย็น และวางกระดาษกรองลงไป 1 แผ่น



9. คูด TEP 5% ใส่ลงบนกระดาษกรอง 0.25 ml



10. อ่านผลการทดสอบ พบ และไม่พบสารกำจัดแมลง เรียงจากซ้ายไปขวา



ภาพ 4.4 แสดงตัวอย่างชุดทดสอบสารพิษตกค้างที่พัฒนาขึ้น

ชุดทดสอบที่พัฒนาขึ้น เมื่อทำการผสมสารต่าง ๆ แล้วสามารถเก็บรักษาไว้ที่อุณหภูมิห้องได้นาน 1 สัปดาห์ หลังจากนั้นสาร TEP ที่เตรียมไว้จะเริ่มมีการเสื่อมสภาพลง จากสารละลายที่ไม่มีสีเปลี่ยนไปเป็นสารละลายที่มีสีเหลืองและหนืด มีผลทำให้การอ่านผลการทดสอบผิดพลาดได้

4. การหาการสลายตัวของสารกำจัดแมลงมาตรฐานในตัวอย่างผักคะน้าหลังจากการเก็บรักษาด้วยชุดทดสอบที่พัฒนาขึ้น

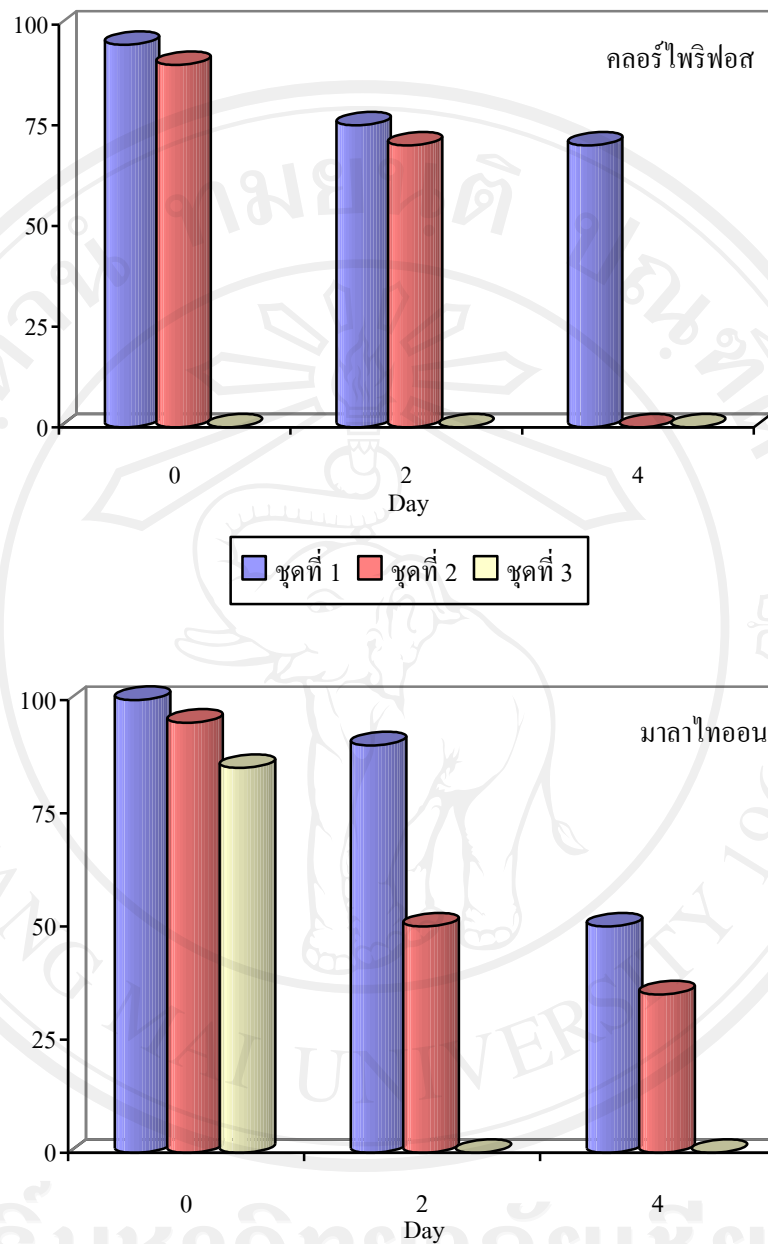
การวิเคราะห์ค่าการสลายตัวของสารกำจัดแมลงมาตรฐาน สารคลอร์ไพริฟอส และมาลาไธออนมีการสลายตัวไป 60-70% (ตาราง 4.4) ในช่วงวันที่ 0 ถึง วันที่ 2 สาร ของปริมาณสารเริ่มต้นจากนั้นในวันที่ 4 การสลายตัวของสารคลอร์ไพริฟอสมีค่าลดลงไม่มากนักอยู่ที่ประมาณ 65% แต่สารมาลาไธออนมีค่าการสลายตัวของสารสูงถึง 90.80% จากผลการวิเคราะห์จะเห็นได้ว่าอัตราการสลายตัวของสารมีค่าค่อนข้างสูงทั้งนี้เนื่องมาจากสารในกลุ่มออร์กาโนฟอสเฟตมีความคงทนปานกลาง เป็นสารที่ออกฤทธิ์โดยการสัมผัส สามารถซึมผ่านเข้าไปในผิวพืชได้เพียงเล็กน้อย และมีการเสื่อมสภาพของสารได้รวดเร็ว โดยเฉพาะอย่างยิ่งสารมาลาไธออน (สุภานี, 2540) จากค่าการวิเคราะห์ความเข้มข้นด้วยเทคนิค GC ความเข้มข้นของสารมีแนวโน้มลดลงเมื่อทำการเก็บรักษานานขึ้น ซึ่งคาดว่าหากมีการเก็บรักษาไว้ต่อไปสารอาจมีการสลายตัวไปได้อย่างสมบูรณ์

ตาราง 4.4 แสดงค่าความเข้มข้นและค่าการสลายตัวของสารกำจัดแมลงมาตรฐานในตัวอย่างหลังจากการเก็บรักษาเป็นเวลา 0, 2 และ 4 วัน

ชุดการทดลอง	ค่าความเข้มข้น (mg/L) และค่าการสลายตัว (%) ของสารกำจัดแมลง \pm SE ^{1/}					
	วันที่ 0		วันที่ 2		วันที่ 4	
	(mg/L)	(%)	(mg/L)	(%)	(mg/L)	(%)
ผักไม่ได้ล้าง						
คลอร์ไพริฟอส	1.59 \pm .002	-	.791 \pm .001	60.40 \pm .90	.697 \pm .003	65.14 \pm .17
มาลาไธออน	2.55 \pm .009	-	.621 \pm .014	70.05 \pm .49	.286 \pm .012	90.38 \pm .42
ผักล้าง						
คลอร์ไพริฟอส	1.32 \pm .008	-	.870 \pm .005	-	.311 \pm .000	-
มาลาไธออน	1.38 \pm .022	-	.676 \pm .021	-	.072 \pm .003	-
น้ำล้างผัก						
คลอร์ไพริฟอส	Nd*	-	Nd*	-	Nd*	-
มาลาไธออน	.170 \pm .093	-	Nd*	-	Nd*	-

^{1/} ค่าเฉลี่ยในสดมภ์เดียวกันตามด้วยตัวอักษรที่เหมือนกัน ไม่มีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญที่ระดับความเชื่อมั่น 95% โดยวิธี LSD

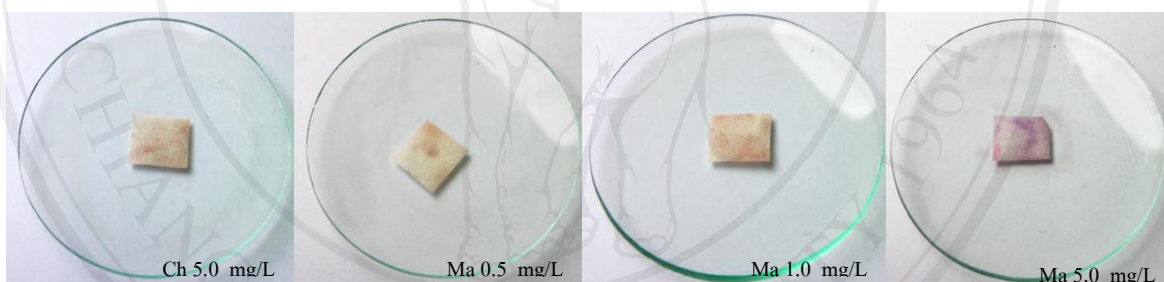
*Nd (Not Detection) หมายถึง ไม่มีการตรวจพบ



ภาพ 4.5 แสดงการอ่านผลการทดสอบกับสารกำจัดแมลงคลอโรไฟลอส และมาลาไทออนด้วยชุดทดสอบที่พัฒนาขึ้นในชุดการทดลอง 1. ตัวอย่างผักที่ไม่ได้ผ่านการล้าง 2. ตัวอย่างผักที่ผ่านการล้าง และ 3. น้ำล้างผักจากชุดการทดลอง 2 (แกน Y = เปอร์เซ็นต์การตรวจพบสารกำจัดแมลง)

การทดสอบหาสารกำจัดแมลงโดยใช้ชุดทดสอบที่พัฒนาขึ้น (ภาพ 4.5) ผลการทดสอบวันที่ 0 ในชุดทดลองที่ 1 และ 2 ชุดทดสอบสามารถตรวจพบสารกำจัดแมลงได้ 100% ทั้งในสาร

คลอรีนไฟรฟอสและมาลาไทออน ซึ่งจากการวิเคราะห์หาความเข้มข้นด้วยเทคนิค GC สารกำจัดแมลงมีความเข้มข้นอยู่ในช่วง 1.32-2.55 mg/L จากนั้นหลังจากเก็บรักษานาน 2 วัน ในการตรวจสอบของสารมาลาไทออนในชุดทดลองที่ 1 และ 2 ชุดทดสอบยังสามารถตรวจพบสารกำจัดแมลงได้ค่อนข้างคืออยู่ในช่วง 90-100% แต่ในการตรวจสอบของสารคลอรีนไฟรฟอส ชุดทดสอบมีผลการตรวจพบสารกำจัดแมลงในช่วง 65-70% เนื่องจากสารมีการสลายตัวซึ่งจากการวิเคราะห์ ความเข้มข้นของสารคลอรีนไฟรฟอสอยู่ในช่วง 0.68-0.87 mg/L จากผลการทดลองที่ผ่านมาคาดว่าความสามารถของชุดทดสอบที่พัฒนาขึ้นในการตรวจหาสารคลอรีนไฟรฟอสที่ความเข้มข้นต่ำที่สุดน่าจะอยู่ในช่วง 0.68-0.87 mg/L ในการตรวจหาสารมาลาไทออนของชุดทดสอบที่พัฒนาขึ้นให้ผลตรวจพบที่ 50% ซึ่งอยู่ในชุดการทดลองที่ 1 เป็นผลหลังจากการเก็บรักษาเป็นเวลา 4 วัน จากการวิเคราะห์พบว่าสารมาลาไทออนมีความเข้มข้นในช่วง 0.286 mg/L และจากผลการทดลองที่ผ่านมามีความสามารถของชุดทดสอบที่พัฒนาขึ้นในการตรวจหาสารมาลาไทออนที่ความเข้มข้นต่ำที่สุด น่าจะอยู่ในช่วง 0.286-0.51 mg/L



ภาพ 4.6 ตัวอย่างผลการพบสารกำจัดแมลง โดยใช้ชุดทดสอบที่พัฒนาขึ้น