

Thesis Title	Analysis of Carbofuran and Parathion Methyl in Strawberries by Capillary Electrophoresis	
Author	Mrs. Dujdao Dechdamrongwut	
Degree	Master of Science (Pharmaceutical Sciences)	
Thesis Advisory	Asst.Prof.Dr.Surapol Natakankitkul	Chairperson
	Assoc.Prof.Dr.Prachya Kongtawelert	Member
	Assoc.Prof.Dr.Nuchnart Jonglaekha	Member

ABSTRACT

Analysis of pesticide residue in agricultural produce by using High performance liquid chromatography (HPLC) and Gas chromatography (GC) is well accepted as an international standard. But the two methods take a lot of organic solvents and leave much hazardous waste to the environment. Recently Capillary electrophoresis (CE) has been recognized as a reasonable method which can solve all the mentioned problems. In this study, CE was used for analysis of carbofuran and parathion methyl residues in strawberry fruits. The CE condition was tried and adjusted before doing analysis.

Split plot design with 2 treatments and 5 replications were used; insecticide rates were main plot and harvesting times were subplot, using carbofuran (metabolite of carbosulfan) at 20 ml./ 20 l of water and parathion methyl at 30 ml./20 l. Each insecticide was sprayed at strawberry plants during harvesting time once and the fruits were harvested at time intervals of 0, 1, 3, 5, 7, 10 and 14 days after spray. The samples were extracted using the method described by Steinwandter (20). Results showed that the optimum condition for analysis of two insecticides with CE by using

fused silica column at 75 μm ID, 50 cm total length and 40.2 cm to detection point at 25 °C with applied voltage of 20 KV at 205 nm UV detection. Before injecting the sample, the capillary was washed with 0.1 N NaOH for 1 min followed by borate buffer (5 mM $\text{Na}_2\text{B}_4\text{O}_7$ and 30 mM SDS) at pH 8 for 3 min. After the sample was injected for 7 sec the two insecticides were separated in 10 min.

Amounts of carbofuran and parathion methyl residues detected in strawberry fruits analyzed by HPLC and GC were compared with CE. The amounts of carbofuran residues analyzed from the fruits at 7 different harvesting day intervals after spray were 1.031, 0.733, 0.701, 0.609, 0.442, 0.263 and 0.130 ppm respectively by HPLC and 1.018, 0.721, 0.696, 0.601, ND, ND and ND ppm (ND = not detectable, LOQ = 0.308 ppm) by CE, while parathion methyl detected by GC were 5.898, 0.782, 0.284, 0.124, 0.079, 0.060 and 0.030 ppm respectively and by CE were 5.745, 0.755, 0.241, ND, ND, ND and ND ppm (LOQ = 0.187 ppm). It can be concluded that CE gave similar results to HPLC and GC; analytical figures were not statistically different ($p = 0.05$), except that CE could not detect trace amount of residue in the sample. However, FAO/WHO, Codex did not put MRL of the two insecticides for strawberry, but 0.5 ppm of carbofuran for orange and 0.2 ppm of parathion methyl for fruits.

The results obtained from this research are very useful: CE was proved to be and effective analytical method, and this study will be a good guide-line for analysis of other insecticides, besides recommendations can be given to the farmers on using the two insecticides i.e. for carbofuran the fruits should be harvested at least 7 days after last spray and at least 5 days for parathion methyl.

ชื่อเรื่องวิทยานิพนธ์	การวิเคราะห์สารคาร์โบฟูแรนและพาราไรออน เมทิล ในผลสตรอเบอร์รี่โดยวิธีแคปิลารีอิเล็กโทรโฟเรซิส	
ผู้เขียน	นาง คุณดาว เดชดำรงวุฒิ	
ปริญญา	วิทยาศาสตรมหาบัณฑิต (วิทยาศาสตร์เภสัชกรรม)	
คณะกรรมการที่ปรึกษาวิทยานิพนธ์	ผศ.ดร.สุรพล นชกรกิจกุล	ประธานกรรมการ
	รศ.ดร.ปรัชญา คงทวีเลิศ	กรรมการ
	รศ.ดร.นุชนารถ จงเลขา	กรรมการ
	บทคัดย่อ	

การวิเคราะห์สารพิษตกค้างในผลิตผลทางการเกษตร โดยการใช้ ไฮเพอร์ฟอร์แมนลิกวิด โครมาโทกราฟี (HPLC) และ แก๊สโครมาโทกราฟี (GC) เป็นที่ยอมรับในระดับสากล แต่การวิเคราะห์ด้วยเครื่องมือดังกล่าวจำเป็นต้องใช้สารละลายอินทรีย์ในปริมาณมากและทิ้งของเสียที่เป็นอันตรายต่อสิ่งแวดล้อม แคปิลารีอิเล็กโทรโฟเรซิส (CE) เป็นอีกวิธีการหนึ่งที่ได้รับการยอมรับและมีการนำมาใช้ในงานวิเคราะห์หลายด้านซึ่งสามารถแก้ปัญหาเรื่องของเสียที่เกิดขึ้นได้ ในการศึกษาครั้งนี้ ได้นำ CE มาใช้วิเคราะห์พิษตกค้างของคาร์โบฟูแรนและพาราไรออน เมทิลในผลสตรอเบอร์รี่โดยเปรียบเทียบผลการวิเคราะห์กับ HPLC และ GC ก่อนที่จะทำการวิเคราะห์ได้ทำการศึกษาสภาวะที่เหมาะสมในการแยกสารกำจัดแมลงทั้งสองชนิด ด้วย CE

วางแผนการทดลองแบบ split plot มี 2 กรรมวิธี ๆ ละ 5 ซ้ำ โดยให้อัตราการใช้สารกำจัดแมลงเป็น main plot และความแตกต่างของระยะเวลาหลังจากฉีดพ่นสารเป็น subplot ใช้คาร์โบฟูแรน (เปลี่ยนรูปจากคาร์โบซัลเฟน) ในอัตรา 20 มล.ต่อน้ำ 20 ลิตรและใช้พาราไรออน เมทิล ในอัตรา 30 มล.ต่อน้ำ 20 ลิตร ฉีดพ่นสารกำจัดแมลงทั้ง 2 ชนิด บนต้นสตรอเบอร์รี่ในช่วงเก็บเกี่ยว 1 ครั้ง ส่วน แปลงควบคุมใช้น้ำเปล่าฉีดพ่น ระยะเวลาที่เก็บสตรอเบอร์รี่ตรวจสอบตกค้างคือ 0, 1, 3, 5, 7, 10 และ 14 วัน หลังจากฉีดพ่นสาร ทำการสกัดตัวอย่างโดยใช้วิธีของ

Steinwandter (20) จากนั้นนำไปวิเคราะห์ด้วย HPLC, GC และ CE ผลจากการศึกษาหาสภาวะที่เหมาะสมในการแยกสารกำจัดแมลงทั้งสองชนิดด้วย CE พบว่า การใช้แคปิลารีที่มีขนาดเส้นผ่าศูนย์กลางภายใน 75 ไมครอน ความยาวทั้งหมดของแคปิลารีเท่ากับ 50 ซม. และความยาวถึงจุดจับวัดเท่ากับ 40.2 ซม. ควบคุมอุณหภูมิที่ 25 ° ซ และใช้เครื่องตรวจวัดแสงยูวีที่ความยาวคลื่น 205 นาโนเมตร ก่อนเริ่มฉีดตัวอย่าง ล้างแคปิลารีด้วย 0.1 N NaOH เป็นเวลา 1 นาที ตามด้วยบอเรตบัฟเฟอร์ (5 mM Na₂B₄O₇ และ 30 mM SDS) pH 8 เป็นเวลา 3 นาที ให้แรงดันไฟฟ้า 20 กิโลโวลต์ หลังจากฉีดตัวอย่างเป็นเวลา 7 วินาที สารกำจัดแมลงทั้งสองชนิดสามารถแยกได้ภายในเวลา 10 นาที

ผลการวิเคราะห์พิกัดค้ำของคาร์โบฟูแรนและพาราไรออน เมทิลในผลสตรอเบอร์รี่ด้วย HPLC และ GC เปรียบเทียบกับ CE ตามช่วงระยะเวลาเก็บเกี่ยวที่ต่างกันทั้ง 7 ระยะ ปรากฏว่าคาร์โบฟูแรน วิเคราะห์ด้วย HPLC ได้ค่า 1.031, 0.733, 0.701, 0.609, 0.442, 0.263 และ 0.130 ppm (มก./กก.) ตามลำดับ และ ด้วย CE ได้ค่า 1.018, 0.721, 0.696, 0.601, ตรวจไม่พบ, ตรวจไม่พบ และ ตรวจไม่พบ ppm (LOQ = 0.308 ppm) ส่วน พาราไรออน เมทิล วิเคราะห์ ด้วย GC ได้ค่า 5.898, 0.782, 0.284, 0.124, 0.079, 0.060 และ 0.030 ppm เมื่อวิเคราะห์ด้วย CE ได้ค่า 5.745, 0.755, 0.241, ND, ND, ND และ ND ppm (ND = ตรวจไม่พบ, LOQ = 0.187 ppm) จึงสามารถสรุปได้ว่าค่าที่วิเคราะห์ได้ด้วย CE ให้ผลใกล้เคียงกับ HPLC และ GC โดยค่าที่วิเคราะห์ได้ไม่แตกต่างกันทางสถิติ (ที่ระดับความเชื่อมั่น 95 %) เว้นแต่ว่า CE ไม่สามารถวัดค่าสารตกค้างในปริมาณน้อย ๆ ได้ อย่างไรก็ตาม FAO/WHO, Codex ไม่ได้กำหนดค่าสูงสุดที่ยอมให้มีได้ (MRL) ของคาร์โบฟูแรนและพาราไรออน เมทิล ในสตรอเบอร์รี่แต่กำหนดค่า MRL ของคาร์โบฟูแรนในส้มเท่ากับ 0.5 ppm และค่า MRL ของพาราไรออนเมทิล ในผลไม้เท่ากับ 0.2 ppm

ผลที่ได้รับจากงานวิจัยนี้มีประโยชน์มากพิสูจน์ได้ว่า CE เป็นวิธีวิเคราะห์ที่มีประสิทธิภาพวิธีหนึ่ง และการศึกษาครั้งนี้จะเป็นแนวทางสำหรับการวิเคราะห์สารกำจัดแมลงชนิดอื่นๆต่อไป นอกจากนี้สามารถให้คำแนะนำแก่เกษตรกรเกี่ยวกับการใช้สารกำจัดแมลงทั้งสองชนิดนี้คือ เมื่อฉีดพ่นคาร์โบฟูแรนควรเว้นระยะเวลาเก็บเกี่ยวอย่างน้อย 7 วันและเมื่อฉีดพ่นพาราไรออน เมทิล ควรเว้นระยะเวลาเก็บเกี่ยว อย่างน้อย 5 วัน