

การเปรียบเทียบวิธีการเตรียมตัวอย่างเพื่อประเมินสารตกค้างในผลส้มสายน้ำผึ้ง
ด้วยเทคนิคเนียร์อินฟราเรดสเปกโทรสโกปี
Comparison of Sample Preparation Methods to Evaluate Residue in Mandarin Fruit
cv. "Sai Nam Pueng" by Near Infrared Spectroscopy

दनय बुनयเกียรติ^{1,2,3} รุ่งนภา ไกลถิ่น^{2,3} พิเชษฐ์ น้อยมณี^{2,3} และ ปาริชาติ เทียนจุมพล^{2,3}
Danai Boonyakiat^{1,2,3}, Rungnapha Klaitthin^{2,3}, Pichet Noimanee^{2,3} and Parichat Theanjumpol^{2,3}

Abstract

To investigate the sample preparation method for evaluation of residue on mandarin fruit cv. "Sai Nam Pueng" by near infrared spectroscopy, three methods were examined. The first was pesticide standard solution at 0.1, 1.0, 10.0 and 50 ppm mixing in fruit juice, dropped the mixture on glass microfibre filters paper, let it dried and then packed in the standard cup. The second was juice mixture (juice+pesticide standard solution) same as the first method but it was packed in the pasting cell. And the third was pesticide standard solution dropping on the mandarin peel of at 37 mm diameter. They were left for drying and loaded into the standard cup. All samples were measured the spectra by NIRSystem 6500 in wavelength region 400-2500 nm. The data were used to develop the calibration equations for pesticide residue by partial least squares regression (PLSR). The result showed that cypermethrin and chlorpyrifos calibration equation of the first sample preparation method was the best. Their values of the multiple correlation coefficients (R) were 0.99. The standard errors of calibration (SEC), the standard errors of prediction (SEP) and the averages of difference between actual and NIR values (bias) were 2.06 and 2.37 ppm, 2.17 and 2.45 ppm, and -0.03 and -0.74 ppm, respectively. Therefore, near infrared spectroscopy was could be used to evaluate residue on mandarin cv. "Sai Nam Pueng" by dropping on glass microfibre filters paper.

Keywords: sample preparation, residues, near infrared spectroscopy

บทคัดย่อ

การหาวิธีเตรียมตัวอย่างในการตรวจหาสารตกค้างในผลส้มพันธุ์สายน้ำผึ้งด้วยเทคนิคเนียร์อินฟราเรดสเปกโทรสโกปี โดยเตรียมตัวอย่างด้วย 3 วิธี คือ วิธีที่ 1 นำสารละลายมาตรฐานสารกำจัดศัตรูพืชผสมในน้ำคั้นจากผลส้มที่ระดับความเข้มข้น 0.1, 1.0, 10 และ 50 ppm มาหยดบนกระดาษกรอง ผึ่งให้แห้ง แล้วบรรจุใน standard cup วิธีที่ 2 ของผสมน้ำคั้นผลส้มที่เตรียมเช่นเดียวกับวิธีที่ 1 บรรจุใน pasting cell และวิธีที่ 3 นำสารละลายมาตรฐานสารกำจัดศัตรูพืชที่ความเข้มข้นต่างๆ หยดลงบนเปลือกส้มที่ควั่นให้มีขนาดเส้นผ่านศูนย์กลาง 37 มิลลิเมตร ผึ่งให้แห้ง บรรจุใน standard cup แล้วจึงนำตัวอย่างที่เตรียมด้วย 3 วิธี ไปวัดสเปกตรัมด้วยเครื่อง NIRSystem 6500 ในช่วงความยาวคลื่น 400-2500 นาโนเมตร นำข้อมูลที่ได้ไปสร้างสมการเทียบมาตรฐานปริมาณสารตกค้างด้วยเทคนิค partial least squares regression (PLSR) พบว่า สมการเทียบมาตรฐานปริมาณสารไซเปอร์เมทรินและสารคลอไพริฟอสที่เตรียมด้วยวิธีที่ 1 ให้ผลดีที่สุด โดยมีค่าสัมประสิทธิ์สหสัมพันธ์ (R) เท่ากับ 0.99, ค่าผิดพลาดมาตรฐานในกลุ่มสร้างสมการ (SEC) เท่ากับ 2.06 และ 2.37 ppm ตามลำดับ, ค่าผิดพลาดมาตรฐานในกลุ่มทดสอบสมการ (SEP) เท่ากับ 2.17 และ 2.45 ppm ตามลำดับ, ค่าเฉลี่ยของผลต่างระหว่างค่าที่ได้จากวิธีอ้างอิงกับค่าที่ได้จาก NIR (bias) เท่ากับ -0.03 และ -0.74 ppm ตามลำดับ ดังนั้นเทคนิคเนียร์อินฟราเรดสเปกโทรสโกปีใช้ในการตรวจวัดปริมาณสารตกค้างในส้มพันธุ์สายน้ำผึ้งได้โดยการนำน้ำคั้นจากผลส้มหยดลงบนกระดาษกรอง

คำสำคัญ: การเตรียมตัวอย่าง, สารตกค้าง, เนียร์อินฟราเรดสเปกโทรสโกปี

¹ ภาควิชาพืชศาสตร์และทรัพยากรธรรมชาติ คณะเกษตรศาสตร์ มหาวิทยาลัยเชียงใหม่ เชียงใหม่ 50200

¹ Department of Plant Science and Natural Resources, Faculty of Agriculture, Chiang Mai University, Chiang Mai 50200

² สถาบันวิจัยเทคโนโลยีหลังการเก็บเกี่ยว มหาวิทยาลัยเชียงใหม่ เชียงใหม่ 50200

² Postharvest Technology Research Institute, Chiang Mai University, Chiang Mai 50200

³ ศูนย์นวัตกรรมเทคโนโลยีหลังการเก็บเกี่ยว สำนักงานคณะกรรมการการอุดมศึกษา กรุงเทพฯ 10400

³ Postharvest Technology Innovation Center, Commission on Higher Education, Bangkok 10400, Thailand

บทนำ

ในระยะเวลาที่ผ่านมาการผลิตส้มพันธุ์สายน้ำผึ้งของไทยประสบปัญหาค่อนข้างมาก ทั้งในด้านราคาส้มตกต่ำ ปัญหาเรื่องการระบาดของโรคและแมลง โดยเฉพาะโรคกรีนนิ่งที่ทำให้ต้นมีอายุการให้ผลสั้นโดยเกิดจากเชื้อแบคทีเรีย และโรคทริสเทซา ซึ่งเกิดจากเชื้อไวรัสและมีเพลี้ยไก่แจ้ส้มหรือเพลี้ยกระโดดส้มเป็นพาหะนำโรคกรีนนิ่ง และเพลี้ยอ่อนส้มเป็นพาหะนำโรคทริสเทซา (นิค, 2544) อีกทั้งผลจากการปรับตัวสูงขึ้นของราคาน้ำมันในตลาดโลก ซึ่งส่งผลโดยตรงถึงราคาปุ๋ยและสารเคมีกำจัดศัตรูพืช ทำให้ต้นทุนการผลิตสูงขึ้น (ปิยนุช, 2553) ส่งผลให้เกษตรกรต้องหาทางเลือกอื่นโดยการใช้สารเคมีกำจัดศัตรูพืชที่ไม่ได้มาตรฐาน ราคาถูก ไม่ได้ได้รับการรับรองจากกรมวิชาการเกษตร จากการสำรวจการใช้สารเคมีในสวนส้มพบว่าการใช้สาร cypermethrin เพื่อกำจัดเพลี้ยไฟ หนอนเจาะสมอฝ้าย เพลี้ยกระโดด เพลี้ยหอย ส่วนสาร chlorpyrifos ใช้กำจัดหนอนชอนใบ เพลี้ยหอย เป็นต้น สำหรับการตรวจวิเคราะห์หาปริมาณสารพิษตกค้างจากสารเคมีกำจัดศัตรูพืช (pesticide) ที่ใช้ในปัจจุบันได้แก่ วิธี QuEChERS Method, PositiveList Method (วิธีการวิเคราะห์ของประเทศญี่ปุ่น) และวิธี Steinwandter Method (วิธีการวิเคราะห์ของประเทศเยอรมัน) แต่มีข้อเสียคือ จำเป็นต้องใช้สารเคมีจำนวนมาก มีค่าใช้จ่ายในการตรวจวิเคราะห์ค่อนข้างสูง มีขั้นตอนและกระบวนการที่ซับซ้อน และต้องใช้ผู้ที่มีความรู้และความชำนาญในการวิเคราะห์ ดังนั้นจึงนำเทคนิคเนียร์อินฟราเรดสเปกโทรสโกปี (near infrared spectroscopy, NIRS) มาใช้ในการตรวจหาสารตกค้างในผลส้มพันธุ์สายน้ำผึ้ง เนื่องจากเป็นวิธีการที่ให้ผลที่ดีและรวดเร็ว ลดการใช้สารเคมีในการตรวจวิเคราะห์ ประหยัดเวลาและแรงงาน (Osborne *et al.*, 1993) ซึ่งเซลล์ที่ใช้สำหรับบรรจุตัวอย่างมีอยู่หลายชนิด โดยขึ้นอยู่กับลักษณะของตัวอย่างนั้นๆ และวิธีการเตรียมตัวอย่างเป็นอย่างดีหนึ่งที่มีผลต่อความแม่นยำของการตรวจวัด

อุปกรณ์และวิธีการ

นำผลส้มพันธุ์สายน้ำผึ้งมาทำการเตรียมตัวอย่างด้วย 3 วิธี คือ วิธีที่ 1 นำสารละลายมาตรฐานสารกำจัดศัตรูพืช (cypermethrin และ chlorpyrifos) ผสมในน้ำคั้นจากผลส้มที่ระดับความเข้มข้น 0.1, 1.0, 10 และ 50 ppm ปริมาตร 500 ไมโครลิตร มายหดยบบนกระดาษกรอง ฝึ่งให้แห้งในตู้อบลมร้อนที่อุณหภูมิ 35 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 6 ชั่วโมง แล้วบรรจุใน standard cup โดยประยุกต์จากวิธีของ Saranwong and Kawano (2007) วิธีที่ 2 ของผสมน้ำคั้นผลส้มที่เตรียมเช่นเดียวกับวิธีที่ 1 บรรจุใน pasting cell ปริมาตร 40 มิลลิลิตร และวิธีที่ 3 นำสารละลายมาตรฐานสารกำจัดศัตรูพืชที่ความเข้มข้น 0.1, 1.0, 10 และ 50 ppm ปริมาตร 500 ไมโครลิตร หยดลงบนเปลือกส้มที่ควั่นให้มีขนาดเส้นผ่านศูนย์กลาง 37 มิลลิเมตร ฝึ่งให้แห้งในตู้อบลมร้อน แล้วบรรจุใน standard cup จากนั้นจึงนำตัวอย่างที่เตรียมด้วย 3 วิธี ไปวัดสเปกตรัมด้วยเครื่อง NIRS System 6500 ในช่วงความยาวคลื่น 400-2500 นาโนเมตร โดยวัดความเข้มข้นละ 30 ตัวอย่าง นำข้อมูลที่ได้ไปสร้างสมการเทียบมาตรฐานปริมาณสารตกค้างด้วยเทคนิค partial least squares regression (PLSR) โดยใช้โปรแกรม The Unscrambler © version 7.6 (Camo, Oslo, Norway)

ผลการทดลองและวิจารณ์

สมการเทียบมาตรฐานปริมาณสาร cypermethrin และสาร chlorpyrifos ที่ได้จากวิธีที่ 1 คือ น้ำคั้นผลส้มที่เติมด้วยสารละลายมาตรฐานที่ความเข้มข้น 0.1, 1.0, 10 และ 50 ppm แล้วหยดบนกระดาษกรองให้ค่าทางสถิติที่ดีที่สุด โดยสเปกตรัมของกระดาษกรองที่มีน้ำคั้นผลส้มที่เติมด้วยสาร cypermethrin ถูกแปลงข้อมูลด้วยวิธี smoothing 5 ร่วมกับ 2^{nd} derivative 10 ที่ช่วงความยาวคลื่น 1440-2468 นาโนเมตร ให้ความแม่นยำของสมการเทียบมาตรฐานปริมาณสาร cypermethrin มากที่สุด โดยให้ค่าสัมประสิทธิ์สหสัมพันธ์ (R) เท่ากับ 0.99, ค่าผิดพลาดมาตรฐานในกลุ่มสร้างสมการ (SEC) เท่ากับ 2.06 ppm, ค่าผิดพลาดมาตรฐานในกลุ่มทดสอบสมการ (SEP) เท่ากับ 2.17 ppm, ค่าเฉลี่ยของผลต่างระหว่างค่าที่ได้จากวิธีอ้างอิงกับค่าที่ได้จาก NIR (bias) เท่ากับ -0.03 ppm ส่วนสาร chlorpyrifos ถูกแปลงข้อมูลด้วยวิธี MSC ร่วมกับ 2^{nd} derivative 10 ที่ช่วงความยาวคลื่น 1700-2436 นาโนเมตร ให้ความแม่นยำของสมการเทียบมาตรฐานปริมาณสาร chlorpyrifos มากที่สุด โดยให้ค่า R, SEC, SEP และ bias เท่ากับ 0.99, 2.37 ppm, 2.45 ppm, และ -0.74 ppm ตามลำดับ (Table 1)

เมื่อพิจารณาค่าสัมประสิทธิ์การถดถอย (regression coefficient) ของสมการเทียบมาตรฐานปริมาณสาร cypermethrin พบพิกัดเด่นชัดที่ความยาวคลื่น 1526, 1852, 2024, 2136 และ 2280 นาโนเมตร (Figure 1A) ส่วนสาร chlorpyrifos พบพิกัดเด่นชัดที่ความยาวคลื่น 1854, 1912, 2064, 2210, 2274, 2310 และ 2358 นาโนเมตร (Figure 1B) โดยพิกัด 1526 นาโนเมตร สัมพันธ์กับพันธะ O-H, พิกัดที่ความยาวคลื่น 1852 และ 1854 นาโนเมตร สัมพันธ์กับพันธะ O-H ที่มีโมเลกุลของสาร (Osborne *et al.*, 1993), พิกัดที่ 1912 นาโนเมตร สัมพันธ์กับพันธะ O-H ใน POH (Gowen *et al.*, 2011), พิกัด

2024 นาโนเมตร สัมพันธ์กับพันธะ C=O ของโมเลกุล CONH₂ (Osborne *et al.*, 1993), พีคที่ความยาวคลื่น 2064 และ 2136 นาโนเมตร สัมพันธ์กับพันธะ N-H stretching combined with C=O stretching (Armenta *et al.*, 2007), พีคที่ 2210 นาโนเมตร สัมพันธ์กับพันธะ C-H stretching combined with C=O stretching ในโมเลกุลของ -CHO (Osborne *et al.*, 1993), พีคที่ความยาวคลื่น 2274 และ 2280 นาโนเมตร สัมพันธ์กับพันธะ C-H ของ CH₃ (Osborne *et al.*, 1993; Gowen *et al.*, 2011), พีคที่ 2310 นาโนเมตร สัมพันธ์กับพันธะ C-H ในโมเลกุล CH₂ (Osborne *et al.*, 1993) และพีคที่ 2358 นาโนเมตร สัมพันธ์กับพันธะ C-H ในโมเลกุล CH₂ (Armenta *et al.*, 2007)

Table 1 PLSR calibration results for cypermethrin and chlorpyrifos prediction

Pesticide residue	Pre-treatment	Wavelength region (nm)	F	R	SEC (ppm)	SEP (ppm)	bias (ppm)
cypermethrin	Smoothing 5 + 2 nd Derivative10	1440-2468	5	0.99	2.06	2.17	-0.03
chlorpyrifos	MSC + 2 nd Derivative10	1700-2436	4	0.99	2.37	2.45	-0.74

F: number of factor used in the calibration equation, R: multiple correlation coefficient, SEC: standard error of calibration, SEP: standard error of validation, Bias: average of different between actual value and NIR value

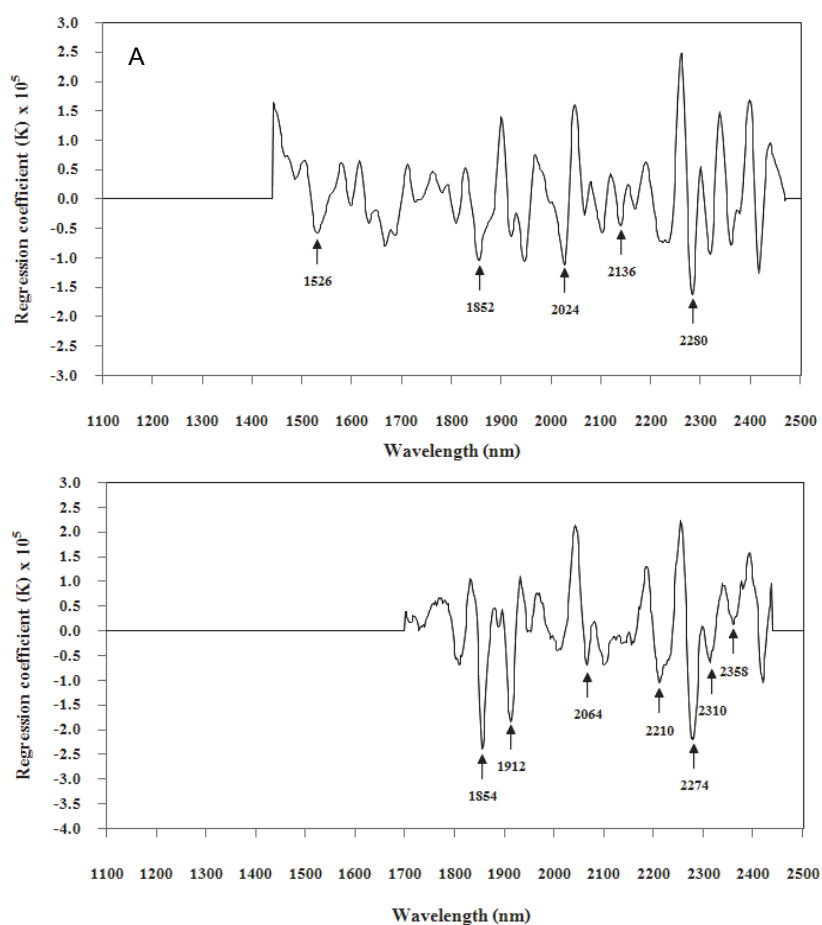


Figure 1 Regression coefficient plots of the calibration equations to predict cypermethrin (A) and chlorpyrifos (B) at 0.1, 1.0, 10 and 50 ppm in fruit juice were dropped on glass microfibre filters paper.

สรุป

วิธีเตรียมตัวอย่างโดยการนำน้ำคั้นจากผลส้มหยดลงบนกระดาษกรองเป็นวิธีที่เหมาะสมที่สุดสำหรับตรวจหาสารตกค้างในผลส้มพันธุ์สายน้ำผึ้งด้วยเทคนิคเนียร์อินฟราเรดสเปกโทรสโกปี

คำขอบคุณ

ขอขอบคุณศูนย์นวัตกรรมเทคโนโลยีหลังการเก็บเกี่ยว สำนักงานคณะกรรมการการอุดมศึกษา ที่สนับสนุนทุนวิจัย และสถาบันวิจัยเทคโนโลยีหลังการเก็บเกี่ยว มหาวิทยาลัยเชียงใหม่ ที่เอื้อเฟื้อห้องปฏิบัติการในการทำวิจัย

เอกสารอ้างอิง

- นิต ชากังราว. 2544. สัมปloedโรคในศตวรรษที่ ๒๑. บริษัทพิมพ์ดีด พรินต์ติ้ง เซ็นเตอร์ จำกัด, กรุงเทพฯ. 95 หน้า.
- ปิยนุช ตติปาณีเทพ. 2553. ผลกระทบของการเปิดเขตการค้าเสรีที่มีต่อผู้ประกอบการธุรกิจสวนส้มในเขตพื้นที่อำเภอฝาง จังหวัดเชียงใหม่. วิทยานิพนธ์ปริญญาโท. มหาวิทยาลัยเชียงใหม่. 82 หน้า.
- Armenta, S., S. Garrigues and M. de la Guardia. 2007. Partial least squares near infrared determination of pesticides in commercial formulations. *Vibrational Spectroscopy* 44: 273-278.
- Gowen, A. A., Y. Tsuchisaka, C. O'Donnell and R. Tsenkova. 2011. Investigation of the potential of near infrared spectroscopy for the detection and quantification of pesticides in aqueous solution. *American Journal of Analytical Chemistry* 2: 53-62.
- Osborne, B. G., T. Feam and P. T. Hindle. 1993. *Practical NIR Spectroscopy with Applications in Food and Beverage Analysis*. 2nd ed. Longman Scientific & Technology, Harlow. 227 pp.
- Saranwong, S. and S. Kawano. 2007. The reliability of pesticide determinations using near infrared spectroscopy and the dry-extract system for infrared (SESIR) technique. *Journal of Near Infrared Spectroscopy* 15: 227-236.