

การจำแนกชนิดของสารกำจัดศัตรูพืชตกค้างด้วยเนียร์อินฟราเรดสเปกโทรสโกปี Identification of pesticide residues by NIR spectroscopy

ปาริชาติ เทียนจุมพล^{1,2}, วรินทร์ มณีวรรณ^{1,2}, พิเชษฐ์ น้อยมณี^{1,2} และ ดนัย บุญเกียรติ^{1,2}
Parichat Theanjumpol^{1,2}, Warintorn Maneewan^{1,2}, Pichet Noimanee^{1,2} and Danai Boonyakiat^{1,2}

Abstract

This research was studied on the identification of pesticide residue by non-destructive technique, NIR spectroscopy. Two commercial grade of pesticides, chlorpyrifos and cypermethrin, were used in this study. The pesticides solution at various concentrations of 0, 50, 100 and 200 ppm were prepared in acetonitrile. Each solution was dropped on the glass fiber filter paper or Dry Extract Spectroscopy by infrared Reflection (DESIR) technique. The samples were dried in a hot air oven at 35 °C for 1 hour. Then, the NIR reflectance spectrum of samples was measured by NIRSystem 6500 with the wavelength range between 400 - 2500 nm. Prior to the measurement, the calibration equation was developed by a partial least square regression (PLSR) and analyzed by principle component analysis (PCA). It was found that the PLSR calibration result of both pesticides in long wavelength (1100 – 2500 nm) was high accuracy. The correlation of determination (R^2), standard error of calibration (SEC), standard error of prediction of chlorpyrifos calibration equation were 0.89, 24.28ppm and 24.41 ppm and 0.95, 17.30ppm and 22.54 ppm, respectively. Furthermore, PCA technique could distinguish the spectra of different kinds of substances at 200 ppm. However, these could not use to separate the pesticide spectrum at the different concentrations. NIR spectroscopy was alternative technique for pesticide identification.

Keywords: chlorpyrifos, cypermethrin, near infrared spectroscopy

บทคัดย่อ

ได้ศึกษาวิธีการตรวจสอบสารกำจัดศัตรูพืชตกค้างในผลิตผลเกษตรโดยไม่ทำลายด้วยเทคนิคเนียร์อินฟราเรดสเปกโทรสโกปี (NIR spectroscopy) โดยนำสารกำจัดศัตรูพืช ชนิด คือ คลอร์ไพริฟอส และ ไซเปอร์มีทริน ที่ใช้ในทางการค้า มาเตรียมเป็นสารละลายด้วย อะซิโตนไนไตรท์ที่ระดับความเข้มข้น 0, 50, 100 และ 200ppm แล้วจึงหยดลงบนบนกระดาษกรองชนิดใยแก้ว หรือเทคนิค DESIR ทำแห้งโดยอบในตู้อบลดความชื้นที่อุณหภูมิ 35 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 1 ชั่วโมง วัดสเปกตรัมการสะท้อนกลับของแสง NIR ด้วยเครื่อง NIRSystem 6500 และวิเคราะห์ข้อมูลด้วยเทคนิค principle component analysis (PCA) พัฒนาสมการเทียบมาตรฐานด้วยเทคนิค partial least square regression (PLSR) พบว่า สมการเทียบมาตรฐานของสารกำจัดศัตรูพืชทั้งสองชนิดในช่วงความยาวคลื่นยาว (1100 – 2500 นาโนเมตร) มีความแม่นยำค่อนข้างสูงซึ่งมีค่าสัมประสิทธิ์การตัดสินใจ (R^2) ค่าความคลาดเคลื่อนมาตรฐานในการทำนายปริมาณสารกำจัดศัตรูพืชในกลุ่มสร้างสมการ (SEC) และค่าความคลาดเคลื่อนมาตรฐานในการทำนายปริมาณสารกำจัดศัตรูพืชในกลุ่มทดสอบสมการ (SEP) มีค่าเท่ากับ 0.89, 24.28ppm, 24.41 ppm และ 0.95, 17.30ppm, 22.54 ppm ตามลำดับ นอกจากนี้เทคนิค PCA สามารถใช้จำแนกสเปกตรัมของสารกำจัดศัตรูพืชสองชนิดที่ระดับความเข้มข้น 200 ppm แต่ไม่สามารถใช้จำแนกสเปกตรัมของสารกำจัดศัตรูพืชที่ระดับความเข้มข้นต่างกันได้อย่างไรก็ตามเทคนิค NIR spectroscopy เป็นอีกหนึ่งเทคนิคสำหรับใช้จำแนกชนิดของสารกำจัดศัตรูพืช

คำสำคัญ: คลอร์ไพริฟอส ไซเปอร์มีทริน เนียร์อินฟราเรดสเปกโทรสโกปี

¹ สถาบันวิจัยเทคโนโลยีหลังการเก็บเกี่ยว มหาวิทยาลัยเชียงใหม่ เชียงใหม่ 50200

¹ Postharvest Technology Research Institute, Chiang Mai University, Chiang Mai 50200, Thailand

² ศูนย์นวัตกรรมเทคโนโลยีหลังการเก็บเกี่ยว สำนักงานคณะกรรมการอุดมศึกษา กรุงเทพฯ 10140

² Postharvest Technology Innovation Center, Commission on Higher Education, Bangkok 10400, Thailand

คำนำ

ปัญหาเรื่องสารพิษตกค้างเกินกว่ามาตรฐานกำหนดในผักและผลไม้ที่วางจำหน่าย ทั้งตลาดในประเทศและต่างประเทศ เป็นอันตรายต่อสิ่งมีชีวิตได้ทวีความรุนแรงเพิ่มมากยิ่งขึ้น เนื่องจากเพราะเกษตรกรมุ่งเน้นการผลิตเพื่อเพิ่มปริมาณและรักษาคุณภาพ ทำให้ละเลยค่า (ลักษณะทางกายภาพ) ความปลอดภัยของผู้บริโภค ทำให้มีสารพิษตกค้างในผักและผลไม้ในปริมาณที่เกินกว่ามาตรฐานกำหนด และการส่งออกผักและผลไม้ไปจำหน่ายยังตลาดต่างประเทศในบางกรณีตรวจไม่พบสารพิษตกค้างจากประเทศไทย แต่ไปตรวจพบที่ต่างประเทศทำให้ผลผลิตถูกกักจัดทิ้งทั้งหมด สร้างความเสียหายให้แก่ภาคการเกษตรอย่างมาก ในปัจจุบันวิธีการตรวจวิเคราะห์หาปริมาณสารกำจัดศัตรูพืช (pesticide) (ที่ใช้มีหลายวิธี อาทิ QuEChERS Method, PositiveList Method และ Steinwandter Method) ต้องทำลายผลิตผล ส่งผลให้ผลิตผลที่ใช้ในการตรวจวิเคราะห์เสียหาย การตรวจวิเคราะห์บางอย่างต้องใช้ระยะเวลาและใช้สารเคมีจำนวนมาก อีกทั้งมีค่าใช้จ่ายในการตรวจวิเคราะห์ค่อนข้างสูง มีขั้นตอนและกระบวนการที่ซับซ้อน และต้องใช้ผู้ที่มีความรู้และความชำนาญในการวิเคราะห์ ดังนั้นงานวิจัยนี้จึงได้ศึกษาและพัฒนาเทคนิคสำหรับตรวจวิเคราะห์สารพิษตกค้างในผลิตผลเกษตรเพื่อทดแทนวิธีการเดิม Near infrared spectroscopy (NIRS) เป็นเทคนิคที่ใช้คลื่นแสงแม่เหล็กไฟฟ้าในการตรวจสอบคุณภาพของตัวอย่างโดยไม่ทำลาย (Non-destructive) ใช้แสงช่วงความยาวคลื่น 700 – 2500 นาโนเมตร ซึ่งประหยัดเวลา แรงงาน และลดต้นทุนการผลิต (Osborne *et al.*, 1993) โดยการตรวจวัดความเข้มแสงที่ถูกดูดกลืนโดยโมเลกุลขององค์ประกอบทางเคมีในตัวอย่าง แล้วนำค่าการดูดกลืนแสงมาหาความสัมพันธ์กับค่าวิเคราะห์ทางเคมีโดยวิธีการ Chemometrics เพื่อให้ได้สมการในการทำนายปริมาณสารชนิดนั้นๆ ดังนั้นงานวิจัยนี้จึงได้นำเทคนิค NIRS มาประยุกต์ใช้เพื่อตรวจวัดปริมาณสารพิษตกค้างในผลิตผลเกษตร เพื่อทดแทนวิธีการตรวจวิเคราะห์สารกำจัดศัตรูพืชตกค้างในผลิตผลที่ใช้ในปัจจุบัน

อุปกรณ์และวิธีการ

นำสารกำจัดศัตรูพืชทั้งสองชนิด คือ คลอโรไพริฟอส และ ไซเปอร์มีทริน ที่ใช้ในทางการค้า (commercial grade) มาเตรียมเป็นสารละลายด้วยอะซีโตนไนไตรที่ระดับความเข้มข้น 0, 50, 100 และ 200ppm นำสารละลายที่ได้มาหยดบนกระดาษกรอง จากนั้นนำตัวอย่างเข้าอบด้วยตู้อบที่อุณหภูมิ 3 ชั่วโมง แล้วจึงนำตัวอย่างใส่ในโถดูดความชื้น 1 องศาเซลเซียส 35 (dessicator) เป็นเวลา 1 ชั่วโมง ก่อนนำไปวัดสเปกตรัมด้วยเครื่อง NIRSystem 6500 ในสองช่วงความยาวคลื่น คือ ช่วงความยาวคลื่นสั้น มีความยาวคลื่นระหว่าง 400 – 1100 นาโนเมตร และช่วงความยาวคลื่นยาว มีความยาวคลื่นระหว่าง 1100 – 2500 นาโนเมตร เพื่อศึกษาการตอบสนองของสารกำจัดศัตรูพืชแต่ละชนิดในแต่ละความเข้มข้นต่อแสง VIS/NIR โดยใช้ตัวอย่าง 30 ซ้ำต่อระดับความเข้มข้น จากนั้นวิเคราะห์ข้อมูลด้วยเทคนิค principle component analysis (PCA) และพัฒนาสมการเทียบมาตรฐานด้วยเทคนิค Partial least squares regression (PLSR) โดยใช้โปรแกรม Unscrambler[®] version 9.8 (Camo, Oslo, Norway)

ผลการทดลองและวิจารณ์

สมการเทียบมาตรฐานของสารกำจัดศัตรูพืช คลอโรไพริฟอส โดยการแปลงข้อมูลด้วยเทคนิคการปรับเรียบ (smoothing) และอนุพันธ์อันดับที่สอง (second derivative) พบว่า สมการเทียบมาตรฐานของคลอโรไพริฟอส มีค่าสัมประสิทธิ์การตัดสินใจ (correlation of determination: R^2) เท่ากับ 1100 ที่ช่วงความยาวคลื่นระหว่าง 0.89-นาโนเมตร ค่า 2400 ความคลาดเคลื่อนมาตรฐานในการทำนายปริมาณสารกำจัดศัตรูพืชในกลุ่มสร้างสมการ (standard error of calibration: SEC) เท่ากับ 24.28 ppm ค่าความคลาดเคลื่อนมาตรฐานในการทำนายปริมาณสารกำจัดศัตรูพืชในกลุ่มทดสอบสมการ (standard error of prediction: SEP) เท่ากับ 24.41ppm และ ค่าความแตกต่างเฉลี่ย (Bias) เท่ากับ 0.76ppm เมื่อพิจารณาความสัมพันธ์ของสมการถดถอยใน regression coefficient plot (Figure 1) พบความยาวคลื่นที่มีอิทธิพลต่อสมการ คือ 1766, 1854, 1914, 1970, 2252 และ นาโนเมตร 2370 ซึ่งที่ความยาวคลื่น นาโนเมตร เกิดจากการดูดกลืนแสงของหมู่ 1766 CH_2 สำหรับที่ความยาวคลื่น 2252 นาโนเมตร พบในสารที่มี OH เป็นองค์ประกอบ ที่ความยาวคลื่น นาโนเมตร พบใน 1854 สารที่มี CH-Cl_3 เป็นองค์ประกอบ ที่ความยาวคลื่น นาโน 1914 เมตร พบในสารที่มี POH เป็นองค์ประกอบ ที่ความยาวคลื่น นาโนเมตร พบในสารที่มี 1970NH เป็นองค์ประกอบ (Osborn *et al.*, 1993; Saranwong and Kawano, 2007)

ส่วนสมการเทียบมาตรฐานของไซเปอร์มีทรินสร้างจากข้อมูลสเปกตรัมที่แปลงด้วยเทคนิคการปรับแก้การกระเจิงแบบผลคูณ (multiplicative scatter correction: MSC) และอนุพันธ์อันดับสอง มีค่า R^2 เท่ากับ ที่ช่วงความยาวคลื่นระหว่าง 0.95 1360- นมตร ค่า นาโน 2460 SEC เท่ากับ 17.30ppm ค่า SEP เท่ากับ 22.54ppm และ ค่า Bias เท่ากับ 0.88-ppm และ จากค่าสัมประสิทธิ์ของสมการถดถอย พบที่ชัดเจนที่ความยาวคลื่น 1694, 1760, 1864, 1950, 2034 และ 2282 นาโนเมตร

(Figure 2) โดยพีกที่พบอาจต่างจากที่มีการอ้างอิงเล็กน้อย ทั้งนี้เป็นผลจากวิธีการแปลงข้อมูล ซึ่งพีกที่ความยาวคลื่น 1765 นาโนเมตร พบในสารที่มี CH₂ เป็นองค์ประกอบ ที่ความยาวคลื่น 1695 และ 2280 นาโนเมตร พบในสารที่มี CH₃ เป็นองค์ประกอบ ที่ความยาวคลื่น 1854 นาโนเมตร พบในสารที่มี CHCl₃ เป็นองค์ประกอบ และที่ความยาวคลื่น 1950 และ 2030 นาโนเมตร พบในสารที่มี CO เป็นองค์ประกอบ (Osborn *et al.*, 1993; Saranwong and Kawano, 2007)

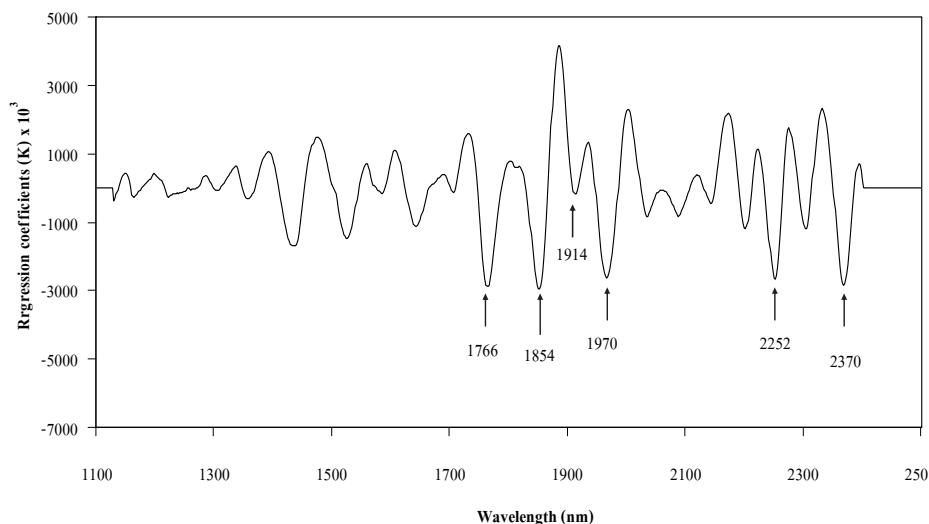


Figure 1 Regression coefficient plot of PLSR calibration equation of chlorpyrifos in long wavelength (1100-2500 nm).

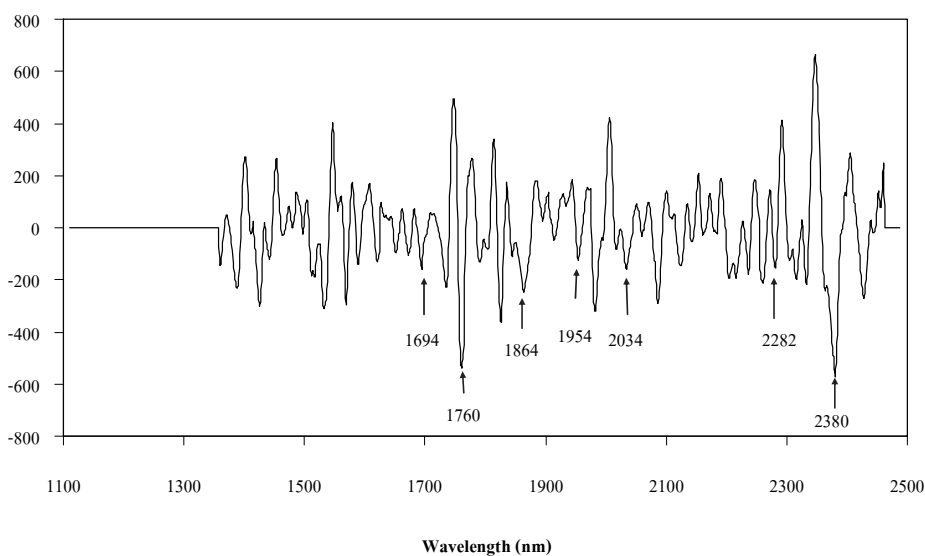


Figure 2 Regression coefficient plot of PLSR calibration equation of cypermethrin in long wavelength (1100-2500 nm).

และจากการวิเคราะห์ข้อมูลสเปกตรัมด้วยเทคนิค PCA ซึ่งเป็นเทคนิคการลดจำนวนตัวแปรอิสระด้วยการแบ่งกลุ่มตัวแปรที่มีความสัมพันธ์กันเพื่อสร้างตัวแปรขึ้นใหม่ที่เรียกว่าปัจจัย (factor or principle component: PC) (Williams and Norris, 2001) พบว่า สามารถใช้จำแนกสเปกตรัมของสารกำจัดศัตรูพืชทั้งสองชนิดที่ระดับความเข้มข้น 200 ppm ได้ด้วย PC1 และ PC2 (Figure 3) แต่ไม่สามารถใช้จำแนกสเปกตรัมของสารกำจัดศัตรูพืชชนิดเดียวกันที่ระดับความเข้มข้นต่างกันได้ (Figure 4)

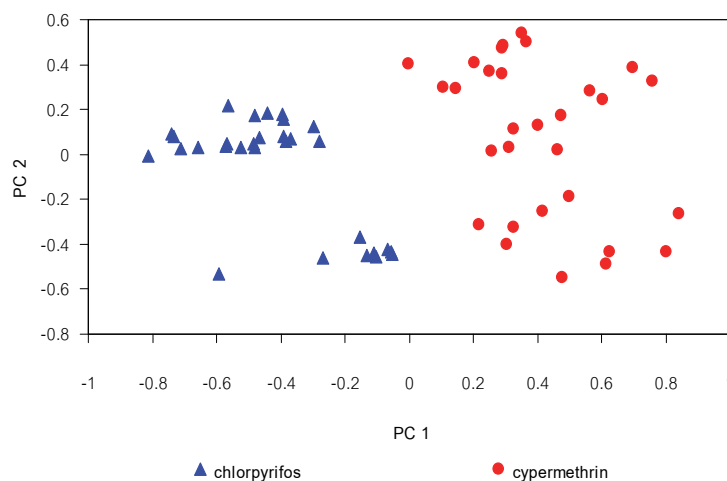


Figure 3 PCA score plot (PC1 vs. PC2) of chlorpyrifos and cypermethrin spectra at 200 ppm.

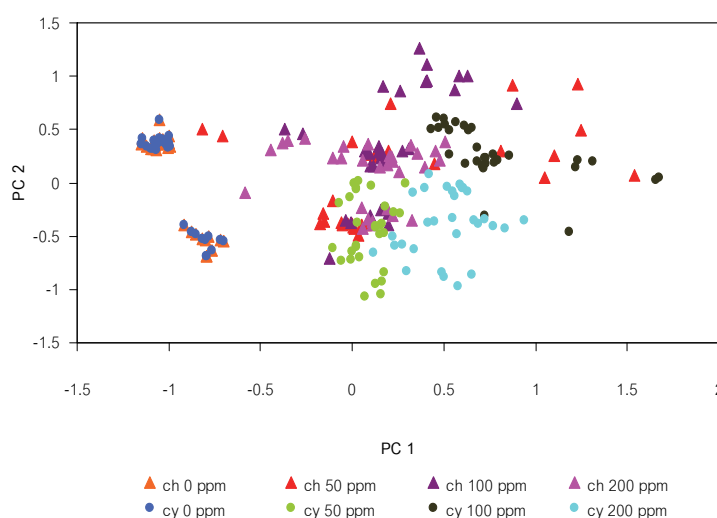


Figure 4 PCA score plot (PC1 vs. PC2) of chlorpyrifos and cypermethrin spectra at various concentration (0, 50, 100 and 200 ppm).

สรุป

NIRS เป็นเทคนิคที่มีศักยภาพค่อนข้างสูง สามารถนำมาประยุกต์ใช้เพื่อการจำแนก และตรวจวัดประเมินสารตกค้าง ในผลิตภัณฑ์เกษตร เพื่อทดแทนวิธีการตรวจวิเคราะห์ที่ใช้อยู่ในปัจจุบันได้

คำขอบคุณ

งานวิจัยนี้ได้รับการสนับสนุนจากศูนย์นวัตกรรมเทคโนโลยีหลังการเก็บเกี่ยว สำนักงานคณะกรรมการการอุดมศึกษา กทม .10400

เอกสารอ้างอิง

Osborne, B. G., T. Fearn and P. H. Hindle. 1993. Practical NIR spectroscopy with Applications in Food and Beverage Analysis. 2nd ed. Longman Singapore Publisher (Pte) Ltd, Singapore. 227 pp.

Saranwong, S. and S. Kawano. 2007. The reliability of pesticide determinations using near infrared spectroscopy and the dry-extract system for infrared (DESIR) technique. *Journal of Near Infrared Spectroscopy* 15:227-236.

Williams P. and K. Norris. 2001. Near-Infrared Technology in the Agricultural and Food Industries 2nd. American Association of Cereal Chemists, Inc. USA. 296.