

บทที่ 5

สรุปผล อภิปรายผลและข้อเสนอแนะ

สรุปและอภิปรายผลการทดลอง

1. การเตรียมสารมาตรฐานสารประกอบคีนุกอินทรีย์ ด้วยการทำปฏิกิริยากับ กรีนกัลยาร์ตรีเอเจนต์ คือ เพนทิลแมกนิเซียมโบรไมด์ พบว่า % Yield อยู่ในช่วง 67-77 ในการชะอนุพันธ์เพนทิลของสารประกอบคีนุกอินทรีย์ที่มีหมู่ฟีนิลจะถูกชะออกมาที่หลัง สารประกอบคีนุกอินทรีย์ที่มีหมู่ไพโรลิด และบิวทิล

ในการเลือกทำอนุพันธ์ด้วยกรีนกัลยาร์ตรีเอเจนต์นั้นมีข้อเสียคือ ใช้เวลานาน และสภาวะต้องปราศจากน้ำ และสารละลายที่ใช้ต้องเป็น Non-Protic ซึ่งถ้าเลือกใช้สารละลายมีขั้วสกัดตัวอย่าง จะต้องเพิ่มขั้นตอนการสกัดแบบ ลิกวิด-ลิกวิด แต่กรีนกัลยาร์ตรีเอเจนต์นั้นใช้ได้ดีในตัวอย่างที่มี Complex Matrix (Abalos et al., 1997)

2. การศึกษาสภาวะที่เหมาะสมในการวิเคราะห์สารประกอบคีนุกอินทรีย์ ผลการศึกษาโดยฉีดสารละลายอนุพันธ์เพนทิลของสารประกอบคีนุกอินทรีย์ ความเข้มข้น 50 ppb (น้ำหนักคีนุก) Internal Standard ไตรไพโรลิดเพนทิลทิน ความเข้มข้น 150 ppb (น้ำหนักคีนุก) ใช้โปรแกรมอุณหภูมิแบบ A, B และ C ซึ่งแบบ B เริ่มต้นที่ 60 องศาเซลเซียส คงที่ 1.5 นาที เพิ่มขึ้น 15 องศาเซลเซียสต่อนาที ถึง 290 องศาเซลเซียส คงที่ 10 นาที ให้ Abundance สูงที่สุด และเมื่อเปลี่ยนอัตราเร็วของโปรแกรมอุณหภูมิแบบ B เป็น 12, 15, 17, 20 และ 22 องศาเซลเซียสต่อนาที พบว่าที่อัตราเร็ว 20 องศาเซลเซียสต่อนาที ให้ Abundance สูงที่สุด

ดังนั้นสภาวะที่เหมาะสมในการทดลอง คือ เริ่มต้นที่ 60 องศาเซลเซียส คงที่ 1.5 นาที เพิ่มขึ้น 20 องศาเซลเซียสต่อนาที ถึง 290 องศาเซลเซียส คงที่ 10 นาที อุณหภูมิช่องฉีดสารเป็น 280 องศาเซลเซียส และอุณหภูมิเตาเผาเป็น 290 องศาเซลเซียส

3. ศึกษาความถูกต้องของวิธีวิเคราะห์ (Method Validation) โดยเลือกใช้สภาวะที่เหมาะสมจากข้อ 2

การศึกษาค่า Specificity โดยฉีดสารละลายอนุพันธ์เพนทิลของสารประกอบคีนุกอินทรีย์ ความเข้มข้น 50 ppb (น้ำหนักคีนุก) มี Internal Standard ไตรไพโรลิดเพนทิลทิน ความเข้มข้น 150 ppb (น้ำหนักคีนุก) ผลการศึกษาการแยก (Resolution) อยู่ในช่วง 27.74-84.78

การศึกษาลิมิตการตรวจวัด (LOD) และลิมิตการวิเคราะห์ปริมาณ (LOQ) พบว่าค่าที่ได้อยู่ในช่วง 0.1-1.0 และ 0.5-6.0 ppb ตามลำดับ

กราฟมาตรฐานเมื่อพิจารณาจากสมการ $y = mx + c$ ให้ค่าสัมประสิทธิ์สหสัมพันธ์ (r^2) ซึ่งมีค่าในช่วง 0.9991-0.9999 และเมื่อพิจารณาจากค่าจุดตัดแกน y เปรียบเทียบกับความเข้มข้นเป้าหมายอยู่ในช่วง 1.2163-5.4054 % ซึ่งมีค่าน้อยกว่า 10 % ของความเข้มข้นเป้าหมาย

การศึกษาช่วงความเข้มข้นที่เป็นเชิงเส้น (LDR) เมื่อเพิ่มเข้มข้นจนถึง 800 ppb พบว่าสัมประสิทธิ์สหสัมพันธ์ (r^2) มีค่าอยู่ในช่วง 0.9943-0.9976 แสดงให้เห็นว่ากราฟเริ่มไม่เป็นเส้นตรง ดังนั้นจึงเห็นว่าควรทำการทำกราฟมาตรฐานในช่วง 100 เท่าของความเข้มข้นเริ่มต้นที่ 2 ppb

ความเที่ยงในการวิเคราะห์พบว่าทั้งความเที่ยงระดับที่ 1 และ 2 ให้ค่า %RSD เท่ากับ 1.81-2.91 และ 0.98-6.19 ตามลำดับ ส่วนความแม่นยำของการกลับคืนอยู่ในช่วง 89.61-111.43 ซึ่งเป็นค่าที่ยอมรับได้ตามอ้างอิง ซึ่งกำหนดให้ค่าความเที่ยงระดับที่ 1 %RSD ต้องน้อยกว่า 5 และค่าความเที่ยงระดับที่ 2 %RSD ต้องน้อยกว่า 10 ความแม่นยำของการกลับคืนอยู่ในช่วง 80-120

4. ศึกษาสถานะในการเตรียมตัวอย่าง

ศึกษาประสิทธิภาพของตัวทำละลายที่ใช้ในการแยกส่วนที่อัตราส่วนตัวละ 80:20, 60:40 และ 40:60 (v/v) เฮกเซน/ไดเอทิลอีเธอร์ ในโหมด SIM พบว่าร้อยละการกลับคืนอนุพันธ์เพนทิลของสารประกอบไดบุกอินทรีย์ของตัวละทั้ง 3 แบบ สูงกว่า 80 และในโหมด SCAN พบว่าเมื่อชะด้วย 80:20 (v/v) เฮกเซน/ไดเอทิลอีเธอร์ ตรวจพบมีสิ่งเจือปนน้อยกว่าที่ชะด้วย 60:40 และ 40:60 (v/v) เฮกเซน/ไดเอทิลอีเธอร์ หลังจากผ่านคอลัมน์ที่บรรจุซิลิกาเจล และอะลูมินา ซึ่งไม่พบอนุพันธ์เพนทิลของสารประกอบไดบุกอินทรีย์ และไม่มีไขมันที่กำจัดไม่หมด จึงเลือกชะด้วย 80:20 (v/v) เฮกเซน/ไดเอทิลอีเธอร์ เนื่องจากจะไม่ทำอันตรายต่อคอลัมน์ GC ไม่ทำให้คอลัมน์สกปรกซึ่งจะเป็นสาเหตุให้ต้องตัดคอลัมน์ด้าน inlet และร้อยละการกลับคืนอยู่ในช่วง 84.31 ± 6.54 ถึง 92.91 ± 2.93

ศึกษาปริมาตรของตัวทำละลายที่เหมาะสมเมื่อใช้ 80:20 (v/v) เฮกเซน/ไดเอทิลอีเธอร์ ครั้งละ 8 มิลลิลิตร ด้วยคอลัมน์ที่บรรจุซิลิกาเจล 3 กรัม และอะลูมินา 3 กรัม พบอนุพันธ์เพนทิลของสารประกอบไดบุกอินทรีย์ใน Fraction ที่ 1-3 จึงเลือกชะที่ปริมาตร 25 มิลลิลิตร

ศึกษาการกำจัดสิ่งเจือปน โดยศึกษาอัตราส่วนซิลิกาเจล และอะลูมินาที่เหมาะสม โดยการสกัดตัวอย่างและผ่านการทำอนุพันธ์นำสารที่สกัดได้แล้วเติมในซิลิกาเจล 1 กรัม ผ่านการกำจัดสิ่งเจือปนและการแยกส่วน ซึ่งในการทดลองพบ โกลสเตอรอลที่รีเทนชันไทม์ที่ 16.21 เมื่อเทียบกับฐานข้อมูล Wiley เมื่อเปลี่ยนการบรรจุซิลิกาเจล และอะลูมินาเพื่อกำจัดสิ่งเจือปนเป็นอัตราส่วน 1:3, 2:2 และ 3:1 กรัม/กรัม เลือกอัตราส่วน 2:2 กรัม/กรัม ในการบรรจุคอลัมน์ เนื่องจากสามารถกำจัดสิ่งเจือปนได้มากกว่าอัตราส่วนอื่น ในการทดลองจริงใช้คอลัมน์ที่บรรจุด้วยซิลิกาเจล 3 กรัม และอะลูมินา 3 กรัม เนื่องจากในตัวอย่างจริงที่อาจมีสิ่งเจือปน และไขมัน

มากกว่า สอดคล้องกับโมราบิโท และคณะ (Morabito et al., 1995) ไม่ควรมีไขมันหลังจากผ่าน การกำจัดสิ่งเจือปน จะเป็นตัวรบกวนในการวิเคราะห์จะทำให้รีเทนชันไทม์เลื่อนไป เนื่องจาก เกิดการ Overload ของคอลัมน์

ศึกษาปริมาณของตัวอย่างที่นำไปกำจัดสิ่งเจือปนและการแยกส่วน ที่ปริมาตร 0.3, 0.4 และ 0.5 มิลลิลิตร พบว่าเมื่อเทียบกับแบลงค์ เลือกว่าปริมาตรที่ 0.5 มิลลิลิตร นำไปกำจัดสิ่งเจือปน และการแยกส่วน เนื่องจากในโหมด SIM พบไตรฟีนิลเพนทิลทิน แต่ไม่พบที่ปริมาตร 0.3 และ 0.4 มิลลิลิตร ส่วนในโหมด SCAN เมื่อเติมปริมาตรของตัวอย่างเป็น 0.3, 0.4, 0.5, 0.6 และ 0.7 มิลลิลิตร พบว่าปริมาตร ที่ 0.7 มิลลิลิตร ซึ่งเป็นปริมาตรที่คอลัมน์บรรจุด้วยซิลิกาเจล 3 กรัม และ อะลูมินา 3 กรัม ไม่สามารถกำจัดสิ่งเจือปนได้หมดเนื่องจาก พบกรดไขมันคือ 2-Propenoic Acid ที่รีเทนชันไทม์ที่ 12.16 นาที เมื่อเทียบกับฐานข้อมูล Wiley

5. ศึกษาการสกัดด้วยวิธี Sonication

ศึกษาอัตราส่วนของตัวทำละลายที่เหมาะสมในการสกัดตัวอย่าง พบว่า ไดเอทิลอีเธอร์/ เพนเทน/โทรโปโลน อัตราส่วน 80:20:0.1 (v/v/w) มีร้อยละการกลับคืนอนุพันธ์เพนทิลของสาร ประกอบดีบุกอินทรีย์ดีกว่าตัวทำละลายไดเอทิลอีเธอร์/เพนเทน/โทรโปโลน อัตราส่วน 100:0:0.1 (v/v/w) ทุกตัวยกเว้น มอนอิวทิลไตรเพนทิลทิน

ศึกษาปริมาณโทรโปโลนที่เหมาะสมในการสกัดตัวอย่าง ในกลุ่มมอนอิวทิลทิน และ มอนอฟีนทิลทิน โทรโปโลนจะช่วยในการสกัดให้ดีขึ้น แต่พบว่าไดเอทิลอีเธอร์/เพนเทน/ โทรโปโลน อัตราส่วน 80:20:0.1 (v/v/w) ให้ร้อยละการกลับคืนอนุพันธ์เพนทิลของสารประกอบ ดีบุกอินทรีย์ใกล้เคียงกับไดเอทิลอีเธอร์/เพนเทน/โทรโปโลน อัตราส่วน 80:20:0.2 (v/v/w) ซึ่ง สอดคล้องกับ อาบาลอส และคณะ (Abalos et al., 1997) ความเข้มข้นโทรโปโลนในไดเอทิลอีเธอร์ ในช่วง 0.01- 0.5 % ไม่มีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญ

ศึกษาเวลาการสกัดด้วยวิธี Sonication ระหว่าง 5 และ 10 นาที พบว่าที่เวลา 10 นาที ให้ผลดีกว่าเวลา 5 นาที โดยร้อยละการกลับคืนอนุพันธ์เพนทิลของสารประกอบดีบุกอินทรีย์ อยู่ในช่วง 85.22 ± 9.27 ถึง 111.60 ± 4.94 และ 59.84 ± 11.36 ถึง 106.23 ± 6.27 ตามลำดับ

ศึกษาจำนวนครั้งของการสกัดด้วยวิธี Sonication พบว่าการสกัดครั้งที่ 1-2 พบสาร ประกอบดีบุกอินทรีย์ แต่ครั้งที่ 3-5 พบอนุพันธ์ของสารประกอบดีบุกอินทรีย์แต่ถือว่าน้อยมาก จึงสกัดเพียงแค่ 2 ครั้ง

ศึกษาชนิดของตัวทำละลายกรีนกัซาร์ตรีเอเจนต์ส่วนเกิน พบว่าการทำละลายกรีนกัซาร์ตรีเอเจนต์ ส่วนเกินด้วยแอมโมเนียมคลอไรด์ ให้ร้อยละการกลับคืนอนุพันธ์เพนทิลของสารประกอบ

ดีบุกอินทรีย์ใกล้เคียงกับการทำลายกรีนกีย์คาร์บริเอเจนต์ส่วนเกินด้วยกรดไฮโดรคลอริก ยกเว้น มอนอฟินิลทินที่ร้อยละการกลับคืนต่ำกว่า คือ 62.70 ± 4.43 และในส่วนทำลายกรีนกีย์คาร์บริเอเจนต์ ส่วนเกินด้วยแอมโมเนียมคลอไรด์ คือ 83.3 ± 65.66 ตามลำดับ อาจเนื่องจากกรีนกีย์คาร์บริเอเจนต์ เป็นเบสอ่อน แต่ไฮโดรคลอริกเป็นกรดที่แรงกว่าแอมโมเนียมคลอไรด์ ซึ่งสามารถทำให้ มอนอฟินิลทิน สลายตัวได้ง่ายกว่าจึงให้ร้อยละการกลับคืนต่ำกว่าซึ่งสอดคล้องกับ โมราบิโท และคณะ (Morabito et al., 1995) ที่พบว่า พีเอช มีผลมากต่อมอนอฟินิลทิน

ศึกษาเวลาในการกำจัดไขมันในการกำจัดไขมันโดยวิธี Saponification พบว่าเวลาการ กำจัดไขมัน 20 นาที ซึ่งดีกว่าเวลาการกำจัดไขมัน 10 นาที ให้ร้อยละการกลับคืนอนุพันธ์เพนทิล ของสารประกอบดีบุกอินทรีย์อยู่ในช่วง 82.14 ± 11.10 ถึง 115.21 ± 4.66 และ 39.42 ± 16.50 ถึง 105.46 ± 11.18 ตามลำดับ

ศึกษาอุณหภูมิในการทำกรีนกีย์คาร์บริเอเจนต์ พบว่าอุณหภูมิ 40 องศาเซลเซียส พบอนุพันธ์ของสารประกอบดีบุกอินทรีย์มากกว่า อุณหภูมิ 32 องศาเซลเซียส ให้ร้อยละการ กลับคืนอนุพันธ์เพนทิลของสารประกอบดีบุกอินทรีย์อยู่ในช่วง 82.14 ± 11.10 ถึง 115.21 ± 4.66 และ 16.54 ± 4.93 ถึง 97.26 ± 6.30 ตามลำดับ ซึ่งสอดคล้องกับโมราบิโท และคณะ (Morabito et al., 1995) ในตัวอย่างที่สกปรกมาก การเพิ่มอุณหภูมิ จะช่วยในการเกิดอนุพันธ์ ได้ดีขึ้น

ศึกษาร้อยละการกลับคืนในการ spike สารประกอบดีบุกอินทรีย์ในตัวอย่างหอย ใน 3 ความเข้มข้น ที่ 25, 50 และ 75 ng/g น้ำหนักตัวอย่าง ร้อยละการกลับคืนอนุพันธ์เพนทิลของสาร ประกอบดีบุกอินทรีย์อยู่ในช่วง 82.14 ± 11.10 ถึง 115.21 ± 4.66 , 85.22 ± 9.27 ถึง 111.60 ± 4.94 และ 86.73 ± 6.09 ถึง 112.88 ± 4.92 ตามลำดับ

6. การวิเคราะห์ตัวอย่าง

การวิเคราะห์ตัวอย่างหอยแมลงภู่ทั้ง 3 สถานีพบว่า อ่าวทุ่งกระเบนพบไตรบิวทิลทิน สูงกว่าสถานีอื่นคือ 62.31 ± 8.54 ng/g น้ำหนักตัวอย่าง เนื่องจากบริเวณอ่าวทุ่งกระเบนมีกิจกรรม ทางเรือ และกิจกรรมทางน้ำตามแนวชายฝั่งสูง ส่วนสถานีอ่างศิลา และแหลมแท่น เป็นสถานี ใกล้กัน และพบไตรบิวทิลทินในปริมาณใกล้เคียงกัน คือ 27.18 ± 0.99 และ 18.12 ± 1.68 ng/g น้ำหนักตัวอย่าง ตามลำดับ ซึ่งในทั้ง 2 แห่งนี้ มีการใช้สитаเรือที่มีส่วนผสมของไตรบิวทิลทิน เป็นจำนวนมากจากเรือประมง ส่วนมอนอบิวทิลทิน และไดบิวทิลทิน พบปริมาณช่วง 5.87 ± 1.44 ถึง 10.31 ± 0.34 ng/g น้ำหนักตัวอย่าง ส่วนมอนอฟินิลทิน ไดฟินิลทิน และไตรฟินิลทิน พบปริมาณไม่มากนักอยู่ในช่วง 0.24 ± 0.38 ถึง 9.28 ± 0.45 ng/g น้ำหนักตัวอย่าง ซึ่งหอยแมลงภู่

นับว่าเป็น Bioindicator ที่ดีในการตรวจวัดความปนเปื้อนของสารประกอบคีนุกอินทรีย์ เนื่องจากธรรมชาติของหอยชนิดนี้ไม่เคลื่อนที่ไปไหน ราคาไม่แพง และพบได้โดยทั่วไปตามชายฝั่งของประเทศไทย

ข้อเสนอแนะ

1. ควรมีการศึกษาเปรียบเทียบ ขนาด และชนิดของหอย ว่ามีผลต่อการสะสมของสารประกอบคีนุกอินทรีย์หรือไม่
2. ควรมีการเก็บตัวอย่างหลากหลายชนิดมากขึ้น เพื่อหาความสัมพันธ์ในการสะสมในห่วงโซ่อาหาร เพื่อเป็นข้อมูลในการพิจารณาการสะสมในสิ่งแวดล้อม