

การใช้กระดาษเป็นฐานสำหรับการตรวจวัดพาราควอตด้วยเทคนิคเปเปอร์สเปรย์แมสสเปกโตรเมตรี

Paper usage as a platform for paraquat detection by paper spray mass spectrometry

โดย

นางสาววรกานต์ ชูตะกุล

รายงานนี้เป็นส่วนหนึ่งของการศึกษาตามหลักสูตร

ปริญญาวิทยาศาสตรบัณฑิต

ภาควิชาเคมี คณะวิทยาศาสตร์

จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

ปีการศึกษา 2562

โครงการ การใช้กระดาษเป็นฐานสำหรับการตรวจวัดพาราควอตด้วยเทคนิคเปเปอร์สเปรย์
 แมสสเปกโตรเมตรี

โดย นางสาวรگانต์ ชูตะกูล

ได้รับอนุมัติให้เป็นส่วนหนึ่งของการศึกษาตามหลักสูตรปริญญาวิทยาศาสตรบัณฑิต สาขาวิชาเคมี ภาควิชาเคมี
คณะวิทยาศาสตร์ จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

คณะกรรมการสอบโครงการ

- | | |
|---|------------------|
| 1. รองศาสตราจารย์ ดร.ณรงค์ ประไพรัชสิทธิ์ | ประธานกรรมการ |
| 2. ผู้ช่วยศาสตราจารย์ ดร.ภาณุวัฒน์ ผดุงรส | กรรมการ |
| 3. รองศาสตราจารย์ ดร.ธนิชฐ์ ปราณีนรรัตน์ | อาจารย์ที่ปรึกษา |

รายงานฉบับนี้ได้รับความเห็นชอบและอนุมัติโดยหัวหน้าภาควิชาเคมี

(รองศาสตราจารย์ ดร.ธนิชฐ์ ปราณีนรรัตน์)

อาจารย์ที่ปรึกษา

(รองศาสตราจารย์ ดร.วุฒิชัย พาราสุข)

หัวหน้าภาควิชาเคมี

วันที่ 22 เดือนมิถุนายน พ.ศ. 2563

Project Title Paper usage as a platform for paraquat detection by paper spray mass spectrometry

Student Name Miss Worakan Chutakool Student ID 5933087323

Advisor Name Associate Professor Dr. Thanit Praneenarat, Ph.D.

Department of Chemistry, Faculty of Science, Chulalongkorn University, Academic Year 2019

Abstract

This research aims to the development of a new detection method for paraquat (PQ), a toxic and widely-used agrochemical, by paper spray mass spectrometry (PS-MS). In addition to the conventional method of PS-MS, the researcher also studied how to increase the detection efficiency by using chemical modifications on paper. Electrostatic interaction was expected to increase the binding level of the cationic PQ on a negatively-charged paper. The modifications to result in negative charges involved the sulfonate group ($R-SO_3^-$) via the (3-mercaptopropyl)trimethoxysilane (MPTS) bridge, and the carboxylate group ($R-COO^-$) via the succinic anhydride bridge, along with some other related conditions. Bromocresol green (BCG) indicated that all modified papers contained acidic functional groups. However, the modified papers showed no significant difference in binding efficiency to PQ. Therefore, the unmodified paper was preferred to reduce complication of the analytical process. The result indicated that the PQ detection in natural water by PS-MS without any sample preparation step exhibited high efficiency, thus having potential for real uses. This was evaluated mainly on rapidness, sensitivity, and accuracy. Moreover, this method has the limit of detection at 7.55 ng/mL, with the percent recovery in the range of 92-103%. Further applications can be done on other samples such as soil, vegetables or meats.

Keywords: paraquat, paper spray mass spectrometry, chemical modification, cellulose

กิตติกรรมประกาศ

ผู้วิจัยขอขอบพระคุณอาจารย์ทุกท่านตลอดจนคณะกรรมการผู้ทรงคุณวุฒิสำหรับความรู้และคำแนะนำที่ท่านมอบให้ โดยเฉพาะอย่างยิ่ง รองศาสตราจารย์ ดร. ธนิชัฐ ปราณีนรรัตน์ ผู้เป็นอาจารย์ที่ปรึกษาโครงการ ที่เสียสละเวลาอันมีค่าทุ่มเทร่างกายและแรงใจอบรมสั่งสอนผู้วิจัยจนเป็นนิสิตที่มีความรู้ความสามารถอย่างทุกวันนี้ อีกทั้งโครงการวิจัยนี้จะสำเร็จไม่ได้เลยหากไม่ได้รับเงินทุนสนับสนุนงานวิจัย จึงขอขอบคุณคณะวิทยาศาสตร์ จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย มา ณ ที่นี้ด้วย

นอกจากนี้ผู้วิจัยขอขอบคุณกำลังใจจากครอบครัว สมาชิก TP LAB (ทั้งอดีตและปัจจุบัน) รวมถึงเพื่อน ๆ ทุกคน ซึ่งบุคคลหนึ่งที่คุณวิจัยต้องแสดงความขอบคุณเป็นพิเศษคือนายกฤติน พุทธาไผ ผู้เป็นดั่งกัลยาณมิตรที่ดีที่สุดของคุณวิจัย สำหรับมิตรภาพ คำแนะนำ และการช่วยเหลือที่มีให้กันเสมอมา

และสุดท้ายนี้ผู้วิจัยต้องขอขอบคุณตัวเองสำหรับความพยายาม ความขยันหมั่นเพียร และความมุ่งมั่นที่มี เพราะสิ่งเหล่านี้คืออาวุธสำคัญที่นำมาซึ่งความสำเร็จที่คู่ควรแก่ความทุ่มเทที่คุณวิจัยมอบให้โครงการวิจัยนี้ อย่างสุดความสามารถตลอดปีการศึกษา 2562

สารบัญ

หน้า

บทคัดย่อภาษาไทย	ค
บทคัดย่อภาษาอังกฤษ	ง
กิตติกรรมประกาศ.....	จ
สารบัญ.....	ฉ
สารบัญตาราง	ช
สารบัญรูป	ซ
สัญลักษณ์และคำย่อ	ฌ
บทที่ 1 บทนำ	1
1.1 ความเป็นมาและมูลเหตุจูงใจในการเสนอโครงการ	1
1.2 วัตถุประสงค์และขอบเขตงานวิจัย	3
1.3 งานวิจัยที่เกี่ยวข้อง	3
บทที่ 2 การทดลอง	11
2.1 รายการเครื่องมือ อุปกรณ์.....	11
2.2 รายการสารเคมี	11
2.3 วิธีการทดลอง	12
บทที่ 3 ผลการทดลองและอภิปรายผลการทดลอง	15
บทที่ 4 สรุปผลการทดลอง	21
เอกสารอ้างอิง	23
เอกสารอ้างอิงสำหรับบทที่ 1	23
เอกสารอ้างอิงสำหรับบทที่ 3	27
ประวัติผู้วิจัย.....	28

สารบัญตาราง

หน้า

ตาราง 3.1 พารามิเตอร์ที่เหมาะสมต่อการแตกเป็นส่วนย่อยของ PQ และ $PQ-d_8$	16
ตาราง 3.2 ร้อยละการได้กลับคืนของการตรวจวัด PQ ในน้ำตัวอย่าง เมื่อใช้กระดาษที่ไม่ผ่านการตัดแปรใน การตรวจวัดสำหรับเทคนิค PS-MS.....	19

สารบัญรูป

หน้า

รูป 1.1 โครงสร้างทางเคมีของ PQ..... 1

รูป 1.2 ภาพรวมการทำงานของเทคนิค PS-MS..... 4

รูป 1.3 รูปแสดงการทำงานของ ESI-MS และ PS-MS โดยสังเขป..... 4

รูป 1.4 การทำงานของ TQMS 6

รูป 1.5 โครงสร้างเคมีของ Atrazine Diuron และ Methomyl 7

รูป 1.6 โครงสร้างทางเคมีของ methomyl thiabendiocarb imazalil aldicarb และ methiocarb..... 7

รูป 1.7 โครงสร้างเซลล์ไอเอส..... 8

รูป 1.8 ปฏิกิริยาในการเปลี่ยนหมู่ไทออลเป็นกรดซัลโฟนิก 9

รูป 1.9 สมมติฐานปฏิกิริยาการติดหมู่ฟังก์ชันซัลโฟเนตลงบนกระดาษ..... 9

รูป 1.10 การสังเคราะห์ BMS BMM และBMP 10

รูป 2.1 การเจือจางเป็นลำดับ (serial dilution) 13

รูป 3.1 โครงสร้างทางเคมีของ PQ (m/z 93 สำหรับ $[M]^{2+}$) และการแตกเป็นส่วนย่อย (m/z 171 สำหรับ $[M-CH_3]^+$)..... 15

รูป 3.2 โครงสร้างทางเคมีของ PQ- d_8 (m/z 93 สำหรับ $[M]^{2+}$) และการแตกเป็นส่วนย่อย (m/z 171 สำหรับ $[M-CH_3]^+$)..... 16

รูป 3.3 การทดสอบกระดาษที่ผ่านการตัดแปรด้วย BCG..... 17

รูป 3.4 สัญญาณ m/z ที่ 171 ของ PQ เมื่อใช้กระดาษที่ไม่ผ่านการตัดแปรและผ่านการตัดแปรด้วย MPTS ในการตรวจวัด 17

รูป 3.5 สัญญาณ m/z ที่ 171 ของ PQ เมื่อใช้กระดาษที่ไม่ผ่านการตัดแปรและผ่านการตัดแปรด้วย SA, SA+pyridine และ SA+DIEA ในการตรวจวัด 18

รูป 3.6 ปฏิกิริยาการติดหมู่ฟังก์ชันคาร์บอกซิเลตด้วย SA ที่มี pyridine เป็นตัวเร่งปฏิกิริยาชนิดนิวคลีโอไฟล์ 18

รูป 3.7 กราฟมาตรฐานของ PQ ในน้ำตัวอย่าง เมื่อใช้กระดาษที่ไม่ผ่านการตัดแปรในการตรวจวัดสำหรับเทคนิค PS-MS..... 20

สัญลักษณ์และคำย่อ

BCG	bromocresol green
BM	babassu mesocarp
BMM	babassu mesocarp maleate
BMP	babassu mesocarp phthalate
BMS	babassu mesocarp succinate
CE	capillary electrophoresis
CH ₂ Cl ₂	dichloromethane
CH ₃ COOH	acetic acid
CID	collisional induced dissociation
Cu	copper
DI	deionized water
DIEA	<i>N,N</i> -Diisopropylethylamine
DMF	<i>N,N</i> -dimethylformamide
DOB	2,5-dimethoxy-4-bromoamphetamine
DOC	2,5-dimethoxy-4-chloroamphetamine
ELISA	enzyme-linked immunosorbent assay
ESI	electrospray ionization
FIA	flow injection analysis
FTIR	Fourier-transform infrared spectroscopy
GC	gas chromatography
H ₂ O ₂	hydrogenperoxide
HPLC	high performance liquid chromatography
LC	liquid chromatography
LOD	limit of detection
LS	leaf spray
LSD	lysergic acid diethylamide
M	maleic

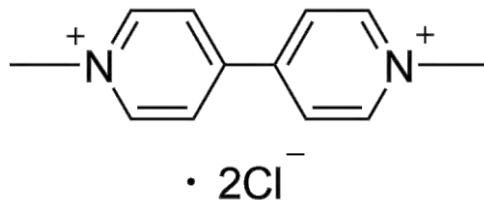
MeOH	methanol
MPTS	(3-mercaptopropyl)trimethoxysilane
MRLs	maximum residue limits
MS/MS	tandem mass spectrometry
P	phthalic
PQ	paraquat
PQ- d_8	paraquat- d_8
PS-MS	paper spray mass spectrometry
S, SA	succinic anhydride
SRM	selected reaction monitoring
TQMS	triple quadrupole mass spectrometry
XPS	X-ray photoelectron spectroscopy

บทที่ 1

บทนำ

1.1 ความเป็นมาและมูลเหตุจูงใจในการเสนอโครงการ

พาราควอต (paraquat, PQ) มีชื่อทาง IUPAC คือ 1,1'-dimethyl-4,4'-bipyridinium dichloride ($C_{12}H_{14}Cl_2N_2$) (รูปที่ 1.1) เป็นสารเคมีสำหรับการกำจัดวัชพืชที่สามารถละลายน้ำได้ดี (700 g/L ที่ 20°C) และระเหยกลายเป็นไอได้ยาก (ความดันไอ <0.1 mPa) PQ มักถูกฉีดพ่นระหว่างแถวแปลงเพาะปลูกหรือช่วงก่อนหรือหลังการเพาะปลูก โดย PQ เป็นสารออกฤทธิ์แบบไม่เลือกจำเพาะเมื่อสัมผัสโดยตรงกับวัชพืช (non-selective contact herbicide) ซึ่งสารเคมีดังกล่าวจะถูกดูดซึมทางใบของต้นอ่อนวัชพืชที่สูงไม่เกิน 30 cm แล้วถูกลำเลียงไปตามท่อลำเลียงน้ำและแร่ธาตุ (xylem) ดังนั้นจึงอาจตรวจพบ PQ ที่ตกค้างในผลผลิตทางการเกษตรได้ เช่นเดียวกับกับสิ่งแวดล้อมบริเวณใกล้เคียง นั่นคือ แหล่งน้ำและดิน และถึงแม้จะสามารถสลายตัวได้ภายใต้แสงยูวี¹ แต่ถ้าหากถูกดูดซับที่ผิวดินแล้วจะถูกชะล้างออกไปได้ยาก อันเนื่องมาจากการยึดติดที่แข็งแรงระหว่างประจุบวกจาก PQ กับประจุลบของแร่ธาตุหรือวัตถุอินทรีย์ในดิน²



รูป 1.1 โครงสร้างทางเคมีของ PQ

องค์การอนามัยโลก (World Health Organization, WHO) จัดให้สารเคมีทางการเกษตรดังกล่าวเป็นสารเคมีอันตรายระดับปานกลาง³ โดย PQ ถูกระบุไว้ว่าจะก่อให้เกิดความอันตรายที่รุนแรงหลังจากมีการดูดซึมเข้าสู่ร่างกายไปแล้วในช่วงระยะเวลาหนึ่ง และจะมีความอันตรายอย่างยิ่งหากร่างกายได้รับในปริมาณที่มีความเข้มข้นสูงผ่านทางปากหรือผิวหนัง ในทำนองเดียวกัน องค์การพิทักษ์สิ่งแวดล้อมแห่งประเทศสหรัฐอเมริกา (United States Environmental Protection Agency, U.S. EPA) ได้ประมาณค่า LD₅₀ (50% lethal dose) ในมนุษย์เท่ากับ 3–5 mg/kg หรือ 10–15 mL ของสารละลายเข้มข้น 20%⁴ พร้อมระบุว่า PQ เป็นพิษต่อมนุษย์อย่างมาก หากดื่มเข้าไปในปริมาณเพียงเล็กน้อยอาจทำให้ถึงแก่ชีวิต ไม่มียาถอนพิษ⁵ และเป็นสาเหตุของการเกิดโรคพาร์กินสัน (Parkinson's disease)⁶ อีกด้วย

ปัจจุบันหลายประเทศทั่วโลกมีนโยบายสนับสนุนการยกเลิกหรือจำกัดการใช้ ในขณะที่ประเทศไทย เพิ่งมีคำสั่งให้งดการกำจัดหญ้าและยกเลิกการใช้สารกำจัดวัชพืชดังกล่าวในปี 2562 โดยคำสั่งจะมีผลบังคับ

ใช้ตั้งแต่วันที่ 1 มิถุนายน 2563 เป็นต้นไป หลังจากที่มีการนำเข้าอย่างต่อเนื่อง⁷ และมีการใช้พาราควอตในเชิงการเกษตรอย่างแพร่หลาย

จากสถานการณ์ดังกล่าว การตรวจวัดพาราควอตที่ตกค้างอยู่ในผลิตผลทางการเกษตรหรือสิ่งแวดล้อมที่มีประสิทธิภาพสูงจึงมีความจำเป็นอย่างยิ่ง โดยทั่วไปแล้ว การวิเคราะห์ PQ ที่ตกค้างในสิ่งแวดล้อม อาหาร และผลิตผลทางการเกษตร นิยมวิเคราะห์ด้วยเทคนิคลิควิดโครมาโทกราฟี – แมสสเปกโตรเมตรี (liquid chromatography – mass spectrometry, LC-MS) อย่างไรก็ตาม PQ ที่มีประจุบวกถาวรจากหมู่ฟังก์ชันไบไพริดีเนียม (bipyridinium) มีผลทำให้วิเคราะห์ด้วยเทคนิค LC ได้อย่างยากลำบาก ถึงแม้การใช้เทคนิคไอออนแพร์ลิควิดโครมาโทกราฟี (ion-pair liquid chromatography) จะสามารถช่วยแก้ปัญหาเรื่องการแยกของสารได้ แต่กลับพบข้อจำกัดในการเลือกใช้ไอออนแพร์รีเอเจนต์ (ion-pair reagent) ซึ่งกระทบต่อการวิเคราะห์ในส่วนของ MS แทน ซึ่งเป็นผลมาจากไอออนแพร์รีเอเจนต์ที่ใช้ไม่ระเหยและมีความเข้มข้นสูง และแม้หากปรับไปใช้ไอออนแพร์รีเอเจนต์ที่ระเหยได้ง่ายขึ้น⁸⁻¹⁰ ใช้แทนแมสสเปกโตรเมตรี (tandem mass spectrometry, MS/MS)¹¹ หรือแม้แต่ใช้ลิควิดโครมาโทกราฟีความดันสูง (high performance liquid chromatography, HPLC)^{12, 13} แล้ว แต่เทคนิคนี้ก็ยังคงเป็นเทคนิคที่จำเป็นต้องใช้ตัวทำละลายปริมาณมากเช่นเดิม ทั้งในส่วนของ การวิเคราะห์ รวมถึงการทำความสะอาดคอลัมน์ทั้งก่อนและหลังการวิเคราะห์ นั่นหมายถึง จะเกิดของเสียปริมาณมากจากการใช้ระบบ LC-MS ในการตรวจวัดหาปริมาณ PQ

ด้วยเหตุนี้จึงได้มีความพยายามในการหลีกเลี่ยงไปใช้เทคนิคอื่นแทน เช่น แก๊สโครมาโทกราฟี (gas chromatography, GC)¹⁴ แคปิลลารีอิเล็กโตรโฟรีซิส (capillary electrophoresis, CE)^{15, 16} โฟลวอินเจกชันอนาลิซิส (flow injection analysis, FIA)^{17, 18} และเทคนิคทางเคมีไฟฟ้า (electrochemical techniques)¹⁹ รวมถึงการใช้วิธีการทางอิมมูโนแอสเสย์ (immunoassay)²⁰⁻²² แต่กลับพบข้อจำกัดบางประการเกี่ยวกับเทคนิคต่าง ๆ ข้างต้น เช่น การตรวจวัดด้วยเทคนิค GC PQ จะต้องถูกทำให้อยู่ในรูปดีวีซีเสียก่อน เพื่อให้สามารถระเหยได้ง่ายขึ้น ในขณะที่เทคนิค CE และ FIA มีความซับซ้อนในการวิเคราะห์ ส่วนเทคนิคทางเคมีไฟฟ้ามักมีการปรับแต่งขั้วไฟฟ้า (electrode)²³⁻²⁶ ร่วมด้วย นั่นคือมีความยุ่งยากในเชิงของการปรับแต่งขั้วไฟฟ้าที่เพิ่มเข้ามา อีกทั้งเทคนิคนี้เหมาะสมกับตัวอย่างของเหลวเป็นส่วนใหญ่ เช่น น้ำ นม และน้ำส้ม เป็นต้น เช่นเดียวกับกับเทคนิคทางอิมมูโนแอสเสย์แบบ ELISA (enzyme-linked immunosorbent assay) ที่วิเคราะห์โดยอาศัยการทำปฏิกิริยากันระหว่างแอนติเจน (antigen) กับแอนติบอดี (antibody) ซึ่งเป็นกลไกทางชีวเคมี และประกอบกับจำเป็นต้องเตรียม PQ และสถานะอื่น ๆ ให้เหมาะสมสำหรับการวิเคราะห์ ดังนั้นจึงมีข้อจำกัดทั้งเรื่องความซับซ้อนและการใช้เวลาในการเตรียมการทดลองที่ยาวนาน

ดังนั้นเทคนิคอื่นที่ช่วยแก้ไขปัญหาดังกล่าวอาจเป็นเทคนิคที่น่าสนใจในการพัฒนาขึ้นเพื่อใช้เป็นวิธีตรวจวัดมาตรฐานสำหรับสารกลุ่มนี้ เช่น เทคนิคเปเปอร์สเปรย์แมสสเปกโตรเมตรี (paper spray mass

spectrometry, PS-MS) ที่อาศัยการนำเข้าตัวอย่างในบรรยากาศปกติ โดยไม่ต้องมีการแยกสารก่อน ทำให้ใช้เวลาในการตรวจวัดและปริมาณสารเคมีรวมถึงตัวอย่างน้อยกว่า และอาจเหมาะสมกับการเก็บตัวอย่างในพื้นที่ห่างไกลมากขึ้นอีกด้วย^{27, 28}

โครงการวิจัยนี้ จึงมุ่งเน้นที่จะพัฒนาวิธีการวิเคราะห์พาราควอตด้วยเทคนิค PS-MS ในแหล่งน้ำทางการเกษตร โดยกองวิจัยและพัฒนาประมงน้ำจืด กรมประมงกำหนดความเข้มข้นสูงสุดของพาราควอตที่ยินยอมให้มีอยู่ในน้ำโดยไม่เป็นอันตรายต่อสัตว์น้ำอยู่ที่ 0.5 mg/L ยิ่งไปกว่านั้นผู้วิจัยยังต้องการพิจารณาความเป็นไปได้ในการเพิ่มสภาพไว (sensitivity) ในการวิเคราะห์ด้วยการตัดแปรกระดาษที่ใช้ในกระบวนการเพิ่มเติมอีกด้วย เช่น การตัดแปรให้กระดาษมีประจุลบเพื่อดึงดูดกับพาราควอตที่มีประจุบวก เป็นต้น

1.2 วัตถุประสงค์และขอบเขตงานวิจัย

1.2.1 วัตถุประสงค์

1.2.1.1 เพื่อพัฒนาการตัดแปรกระดาษด้วยวิธีทางเคมีให้มีประจุลบ

1.2.1.2 เพื่อพัฒนาวิธีตรวจวัด PQ ด้วยเทคนิค PS-MS

1.2.2 ขอบเขตงานวิจัย

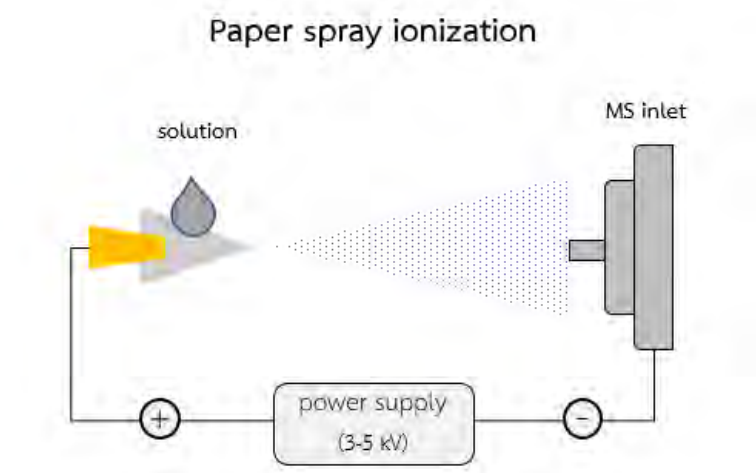
โครงการวิจัยนี้มุ่งเน้นพัฒนาวิธีการตรวจวัด PQ ในน้ำด้วยเทคนิค PS-MS ในพื้นที่ตัวอย่างน้ำถูกเก็บมาจากพื้นที่ทางการเกษตร เช่น นาข้าว หรือแหล่งน้ำที่เกี่ยวข้องกับพื้นที่ทำการเกษตร เช่น คลองชลประทาน แม่น้ำ เป็นต้น

1.3 งานวิจัยที่เกี่ยวข้อง

1) เทคนิคเปเปอร์สเปรย์แมสสเปกโตรเมตรี (paper spray mass spectrometry, PS-MS)

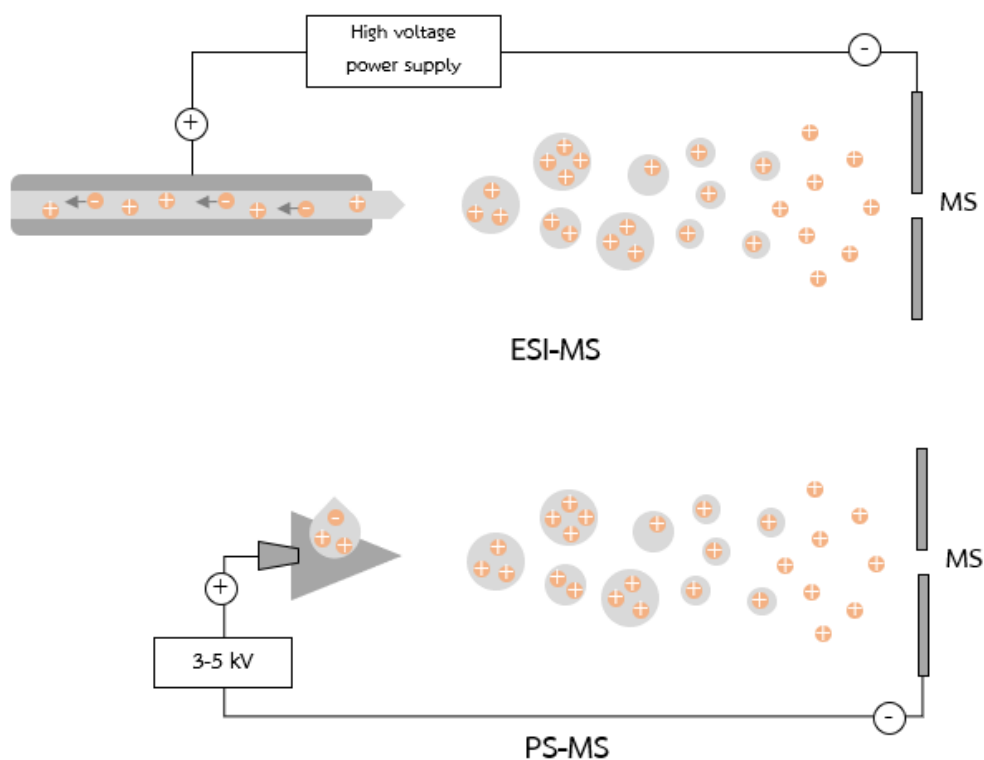
เทคนิค PS-MS ถูกพัฒนาครั้งแรกขึ้นเมื่อปี ค.ศ. 2010 โดยกลุ่มวิจัยของ Dr. Graham Cooks PS-MS²⁹ เป็นการวิเคราะห์สารประกอบที่ความดันปกติรูปแบบหนึ่งของเทคนิค MS ด้วยการทำให้สารที่ต้องการวิเคราะห์แตกตัวเป็นไอออนโดยตรงผ่านการให้ความต่างศักย์สูง 3-5 kV แก่กระดาษสามเหลี่ยมที่เปียกชื้น ซึ่งมีตัวอย่างที่ต้องการวิเคราะห์อยู่บนกระดาษนั้น ทั้งนี้สามารถหยดตัวอย่าง (<10 μ L) ก่อนวิเคราะห์ด้วย MS ได้ กล่าวคือ สามารถเก็บตัวอย่างลงบนกระดาษจากสถานที่อื่นก่อน แล้วจากนั้นจึงค่อยนำมาหยดตัวทำลายก่อนวิเคราะห์ในห้องปฏิบัติการ หรือการหยดตัวอย่างขณะทำการวิเคราะห์ก็สามารถทำได้เช่นเดียวกัน โดยของเหลวที่ถูกหยดลงตรงกลางจะแพร่ไปยังบริเวณอื่นบนกระดาษด้วยปรากฏการณ์แคพิลลารี (capillary effect) ทั้งนี้ไอออนของสารประกอบที่ไม่มีประจุสามารถถูกเปลี่ยนให้มีประจุได้ด้วยกลไกการเพิ่ม (protonation) หรือลดโปรตอน (deprotonation) รวมถึงการเปลี่ยนไอออนสารประกอบให้มีประจุบวก (cationization)

เป็นต้น ซึ่งละอองที่เกิดขึ้นหลังจากได้รับศักย์ไฟฟ้ามีทิศทางพุ่งออกจากปลายแหลมของกระดาษสามเหลี่ยมตรงเข้าสู่ทางเข้าของเครื่อง MS (รูปที่ 1.2)



รูป 1.2 ภาพรวมการทำงานของเทคนิค PS-MS

จะเห็นว่า PS มีความคล้ายคลึงกับการทำให้สารประกอบกลายเป็นไอออนด้วยอิเล็กโตรสเปรย์ (electrospray ionization, ESI) นั่นคือ ให้ศักย์ไฟฟ้าสูงแก่ของเหลวเพื่อทำให้เป็นละอองในอากาศ (aerosol) หลังจากตัวทำละลายระเหยออกไปในที่สุดก็จะได้ผลิตภัณฑ์ของกระบวนการนี้เป็นไอออนในสถานะแก๊สก่อนเข้าสู่ MS ในลำดับถัดไป (รูปที่ 1.3)

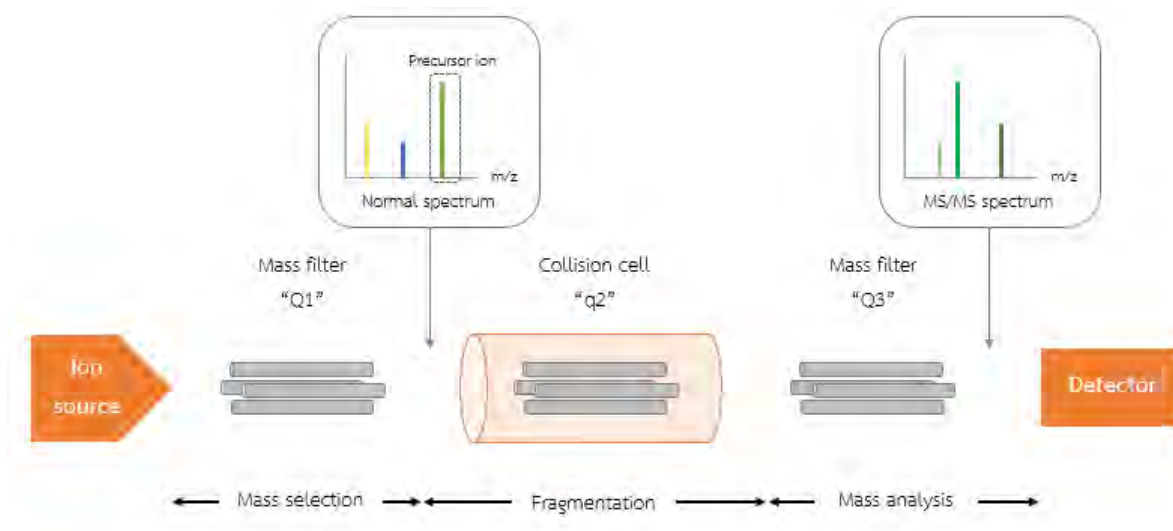


รูป 1.3 รูปแสดงการทำงานของ ESI-MS และ PS-MS โดยสังเขป

เทคนิคการวิเคราะห์ดังกล่าวเป็นเทคนิคหนึ่งที่มีประสิทธิภาพและความไวในการตรวจวัดสูง อีกทั้งยังสามารถวิเคราะห์ตัวอย่างได้หลายประเภท เช่น สารประกอบอินทรีย์ เปปไทด์ (peptide) และโปรตีน เป็นต้น ดังนั้นเทคนิคนี้จึงถูกนำไปใช้ประโยชน์ในงานหลากหลายด้าน เช่น Carvalho และคณะใช้เทคนิค PS-MS วิเคราะห์สารที่ถูกสังเคราะห์ขึ้นจำนวน 6 ชนิด เพื่อจุดประสงค์ในการหลีกเลี่ยงข้อกฎหมายเกี่ยวกับยาเสพติด (designer drugs) ซึ่งจะทำให้รอดพ้นจากการถูกหน่วยงานที่เกี่ยวข้องตรวจสอบและดำเนินคดีได้โดยสารเหล่านี้ถึงแม้จะถูกเปลี่ยนโครงสร้างบางส่วนไป แต่โครงสร้างหลักจะยังคงแสดงผลทางเภสัชวิทยา (pharmacological effects) เหมือนกับยาหรือสารต้นแบบดั้งเดิม สารทั้ง 6 ชนิดดังกล่าว ได้แก่ lysergic acid diethylamide (LSD), 2,5-dimethoxy-4-chloroamphetamine (DOC), 2,5-dimethoxy-4-bromoamphetamine (DOB), 25C-NBOMe, 25B-NBOMe และ 25I-NBOMe โดยการหยดเมทานอล (methanol) ลงไปเพื่อให้กระดาษที่มีสารที่ต้องการวิเคราะห์เปียกขึ้นสำหรับการตรวจวิเคราะห์ด้วยเทคนิค PS-MS ทั้งนี้ผู้วิจัยกล่าวว่าเทคนิคดังกล่าวมีประโยชน์และประสิทธิภาพอย่างยิ่งสำหรับห้องปฏิบัติการทางนิติวิทยาศาสตร์เมื่อต้องการวิเคราะห์หาสารประกอบกลุ่มนี้ในที่เกิดเหตุ³⁰ เช่นเดียวกันกับงานวิจัยของ Taverna และคณะที่ใช้เทคนิค PS-MS หาปริมาณคาเฟอีนในเครื่องดื่มและยาทันทีหลังจากหยดตัวอย่างที่เจือจางด้วยน้ำลงบนกระดาษ³¹ หรือสำหรับการวิเคราะห์หาสารกำจัดศัตรูพืช^{32, 33} ก็สามารถใช้เทคนิคนี้ในการวิเคราะห์ได้ด้วยเช่นกัน

ยิ่งไปกว่านั้น ในส่วนของ MS ยังสามารถเพิ่มความไว (sensitivity) และความแม่นยำ (accuracy) ได้ด้วยการใช้เครื่องมือแบบแทนเดมแมสสเปกโตรเมตรี (MS/MS) ซึ่งเป็นการผนวกการแยกและการตรวจวัดเข้าด้วยกันในเครื่องมือเดียว หนึ่งในนั้นคือการนำอุปกรณ์วิเคราะห์มวล (mass analyzer) ที่เรียกว่าควอดรูโพล (quadrupole) สามชุดมาเรียงต่อกันหรือที่เรียกว่าทริปเปิลควอดรูโพล (triple quadrupole mass spectrometry, TQMS)

หลักการทำงานของ TQMS แบ่งออกเป็นสามส่วนตามจำนวนชุดของควอดรูโพล โดยเมื่อมีไอออนเข้ามา ควอดรูโพลตัวแรก (Q1) จะทำหน้าที่แยกเฉพาะไอออนหลัก (parent ion) หรือไอออนใดก็ตามที่เลือก (precursor ion) ให้เข้าไปสู่ส่วนที่เหนี่ยวนำให้เกิดการแตกตัวจากการชน (collisional induced dissociation, CID) ในควอดรูโพลตัวถัดไป (q2) แล้วไอออนผลิตภัณฑ์ (product ion) จากการแตกเป็นส่วนย่อย (fragmentation) จะถูกวิเคราะห์ด้วยควอดรูโพลตัวสุดท้าย (Q3) ก่อนเข้าสู่ตัวตรวจวัดเป็นลำดับถัดไป (รูปที่ 1.4)

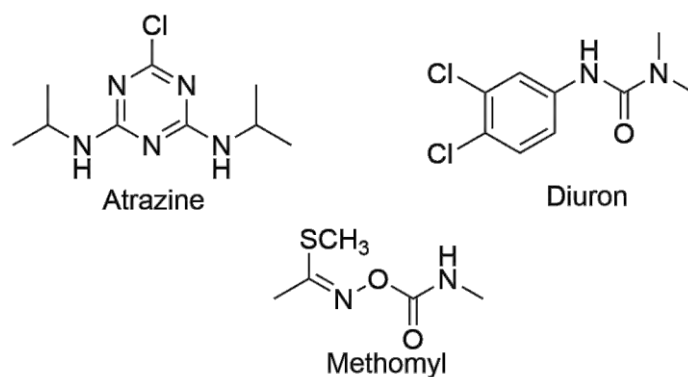


รูป 1.4 การทำงานของ TQMS

2) การตรวจวัดสารกำจัดศัตรูพืชด้วยเทคนิค PS-MS

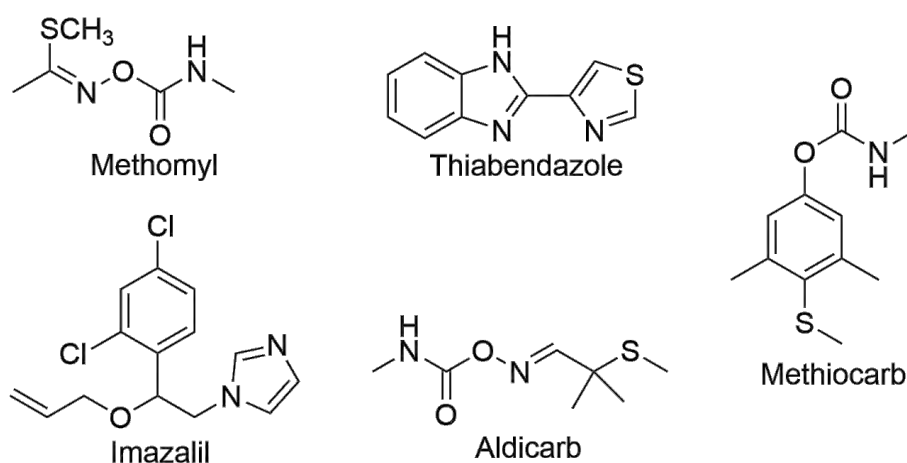
สารเคมีที่ใช้กำจัดศัตรูพืช (pesticide) สามารถแบ่งออกเป็นหลายประเภท เช่น สารกำจัดวัชพืช (herbicide) สารกำจัดแมลง (insecticide) สารกำจัดเชื้อรา (fungicide) สารไล่แมลง (insect repellent) และสารกำจัดสัตว์ฟันแทะ (rodenticide) เป็นต้น ทั้งนี้มีงานวิจัยมากมายที่ได้รายงานเกี่ยวกับการวิเคราะห์สารกลุ่มนี้ในตัวอย่างต่าง ๆ ด้วยเทคนิคทั่วไป เช่น LC และ GC เป็นต้น อย่างไรก็ตาม ยังคงมีบางงานวิจัยที่เลือกใช้เทคนิค PS-MS ซึ่งเป็นหนทางใหม่ที่เอื้อต่อการวิเคราะห์คัดกรองสารเหล่านี้ด้วยความรวดเร็ว (fast screening analysis)

งานวิจัยของ Pereira และคณะประสบความสำเร็จในการตรวจวัดสารเคมีทางการเกษตร 3 ชนิด ที่ตกค้างในอรูกูลา (arugula) ใบกะเพรา กะหล่ำ ผักกาด และเคล (kale) ด้วยเทคนิคที่มีประสิทธิภาพในการตรวจวัดใกล้เคียงกัน นั่นคือ เทคนิค PS-MS และเทคนิคที่ทำให้เกิดสเปรย์จากใบ (leaf spray, LS) ซึ่งสารเคมีตกค้างที่ต้องการวิเคราะห์ ได้แก่ สารกำจัดวัชพืชอะทราซีน (atrazine) และไดยูรอน (diuron) และสารกำจัดแมลงเมทโฮมิล (methomyl) โดยงานวิจัยนี้สามารถตรวจวัดการตกค้างได้ต่ำกว่าค่าสูงสุดที่ยอมให้มีในตัวอย่างได้ (maximum residue limits, MRLs)³² (รูปที่ 1.5)



รูป 1.5 โครงสร้างเคมีของ Atrazine Diuron และ Methomyl

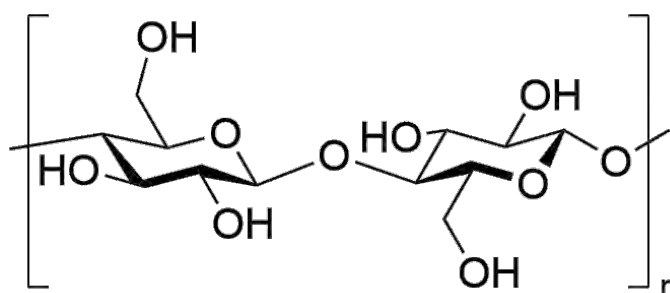
ในทำนองเดียวกัน Evard และคณะที่ได้พิสูจน์ว่าเทคนิคนี้เป็นวิธีการคัดกรองสารกำจัดศัตรูพืชที่มีราคาถูก ง่าย และรวดเร็ว โดยพวกเขาได้ทำการตรวจวัดหาสารที่ออกฤทธิ์หลากหลาย เช่น สารที่กำจัดทั้งเชื้อราและปรสิต (parasiticide) อย่างไธอะเบนดาโซล (thiabendazole) หรือกำจัดหอย แมลง เห็บไร และใช้ไล่กันอย่างเมทธิโอคาร์บ (methiocarb) และสารกลุ่มที่ออกฤทธิ์เชิงเดี่ยว ได้แก่ สารกำจัดแมลงแอลดีคาร์บ (aldicarb) และเมโทมิล (methomyl) รวมถึงอิมาซาลิล (imazalil) ที่ถูกใช้เพื่อกำจัดเฉพาะเชื้อราเท่านั้น ซึ่งตัวอย่างที่นำมาวิเคราะห์คือตัวอย่างส้ม มะเขือเทศ และองุ่น ผู้วิจัยพบว่าค่าขีดจำกัดการตรวจวัด (limit of detection, LOD) ที่ได้มีค่าต่ำกว่า MRLs³³ เช่นเดียวกับงานวิจัยของ Pereira และคณะในข้างต้น ซึ่งผลลัพธ์ข้างต้นเหล่านี้ชี้ให้เห็นถึงความประสิทธิภาพที่ดีเยี่ยมของเทคนิค PS-MS (รูปที่ 1.6)



รูป 1.6 โครงสร้างทางเคมีของ methomyl thiabendazole imazalil aldicarb และ methiocarb

3) การดัดแปรพื้นผิวด้วยวิธีการทางเคมี

องค์ประกอบสำคัญที่เป็นหัวใจอย่างหนึ่งของเทคนิค PS-MS ก็คือ กระจกตา ซึ่งมีองค์ประกอบหลักคือเซลลูโลสซึ่งเป็นพอลิเมอร์ชีวภาพที่สามารถพบได้ทั่วไปในผนังเซลล์ของพืช พอลิเมอร์เส้นตรงนี้มีหน่วยย่อยเป็นกลูโคสที่เชื่อมต่อกันด้วยพันธะ β -1,4-glycosidic โดยเซลลูโลสยังเป็นองค์ประกอบหลักของวัสดุธรรมชาติอื่นอีกหลายชนิด เช่น กะลามะพร้าว เปลือกไม้ ชานอ้อย ซึ่งวัสดุเหล่านี้สามารถหาได้ง่ายมีราคาถูก และบางครั้งก็มักพบเจอในรูปของเสียจากกระบวนการผลิต นั่นจึงเป็นสาเหตุให้วัสดุพวกนี้ได้รับความสนใจจากนักวิจัยจำนวนมาก มีงานวิจัยหลายฉบับนำวัสดุดังกล่าวมาเพิ่มคุณค่าและประสิทธิภาพในการทำงาน เช่น การดัดแปรเซลลูโลสด้วยวิธีการทางเคมี^{34, 35} เพื่อเพิ่มความสามารถในการทำหน้าที่เป็นวัสดุดูดซับโลหะหนัก³⁶ เป็นต้น เช่นเดียวกับกับโครงการวิจัยนี้ที่มุ่งหวังว่า PQ จะถูกดักจับได้ในปริมาณที่มากขึ้นเมื่อใช้การดัดแปรพื้นผิวกระจกตาดด้วยวิธีการทางเคมีให้มีประจุลบสำหรับการตรวจวัดด้วยเทคนิค PS-MS (รูปที่ 1.7)

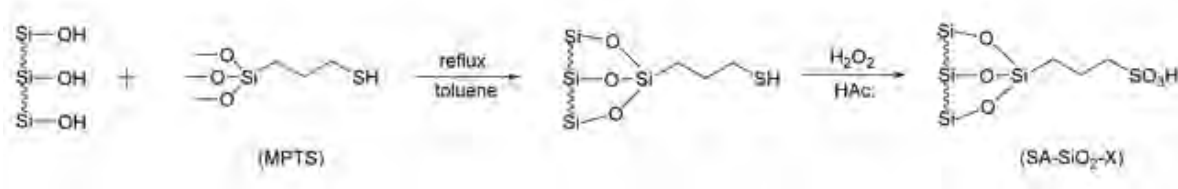


รูป 1.7 โครงสร้างเซลลูโลส

3.1) การดัดแปรหมู่ฟังก์ชันซัลโฟเนต (sulfonate functional group, (R-SO₃⁻))

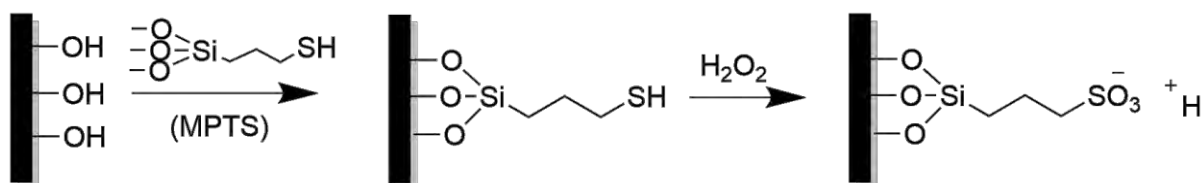
การดัดแปรให้พื้นผิวของกระจกตามีประจุบวกจากหมู่ฟังก์ชันซัลโฟเนตสามารถทำได้หลายวิธี และอีกหนทางหนึ่งที่ถูกวิจัยคาดว่าสามารถทำได้ นั่นคือ การติดสารประกอบกลุ่มซิลเลน (silane) ที่มีหมู่ฟังก์ชันไทออล (thiol functional group, R-SH) ลงบนกระจกตาแล้วจึงเปลี่ยนหมู่ฟังก์ชันดังกล่าวให้เป็นหมู่ฟังก์ชันซัลโฟเนต

งานวิจัยของ Jun และคณะที่ได้ศึกษาการติดหมู่ฟังก์ชันซัลโฟเนต ลงบนพื้นผิวของไมโครบีดที่เป็นซิลิกา (sulfonic acid-functionalized microbead silica) ด้วยการออกซิไดซ์หมู่ไทออล ที่เป็นส่วนหนึ่งในโครงสร้างของ (3-mercaptopropyl) trimethoxysilane (MPTS) ด้วยไฮโดรเจนเปอร์ออกไซด์ (hydrogenperoxide, H₂O₂)³⁸ (รูปที่ 1.8)



รูป 1.8 ปฏิกิริยาในการเปลี่ยนหมู่ไทออลเป็นกรดซัลโฟนิก

ดังนั้น ผู้วิจัยจึงคาดหวังว่าจะสามารถดัดแปรเซลลูโลสบนพื้นผิวของกระดาษให้มีหมู่ฟังก์ชันซัลโฟเนตเพื่อเพิ่มประสิทธิภาพการยึดจับกับ PQ ได้ด้วยการออกซิไดซ์ MPTS โดยประยุกต์มาจากงานวิจัยข้างต้น (รูปที่ 1.9)



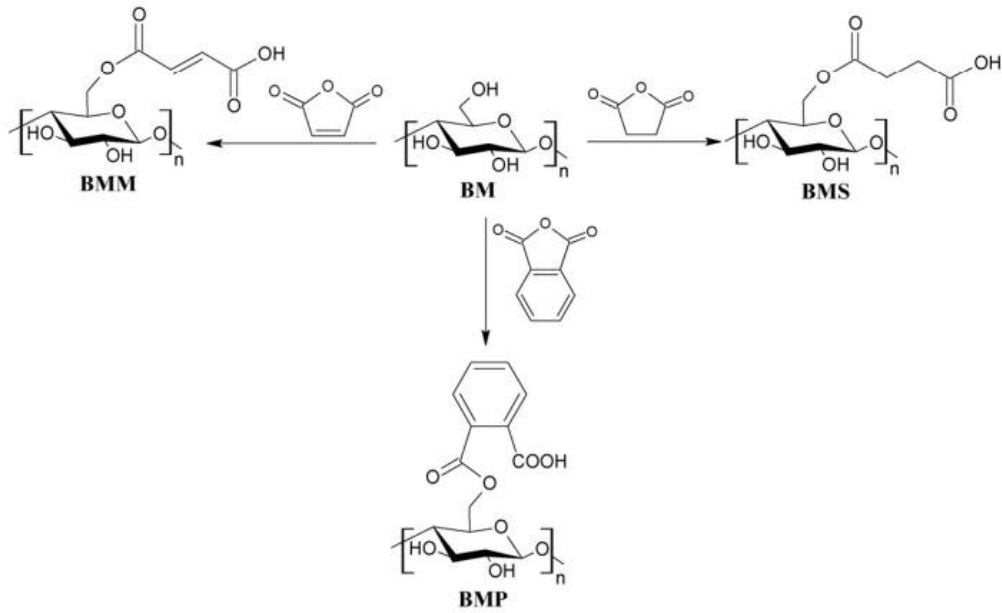
รูป 1.9 สมมติฐานปฏิกิริยาการติดหมู่ฟังก์ชันซัลโฟเนตลงบนกระดาษ

3.2) การดัดแปรหมู่ฟังก์ชันคาร์บอกซิเลต (carboxylate functional group, R-COO⁻)

นอกจากนี้ผู้วิจัยยังสนใจดัดแปลงหมู่ฟังก์ชันบนพื้นผิวเซลลูโลสให้กลายเป็นกรดคาร์บอกซิลิกที่สามารถยึดจับ PQ ได้ด้วยแรงไฟฟ้าสถิตย์ (electrostatic interaction) เช่นเดียวกับการใช้หมู่ฟังก์ชันซัลโฟเนตอีกด้วย

ในทำนองเดียวกัน Adriana และคณะเคยได้สังเคราะห์วัสดุดูดซับทองแดง (copper, Cu) ในน้ำและชานอ้อยจากการดัดแปรเปลือกชั้นกลาง (mesocarp) ของมะพร้าวพันธุ์ babassu (*Orbignya speciosa*) (BM) ซึ่งมีโครงสร้างหลักเป็นเซลลูโลสด้วยวิธีการทางเคมี ผ่านการทำปฏิกิริยากันระหว่างหมู่ OH ที่คาร์บอนตำแหน่งที่ 6 ของเซลลูโลสกับซัคซินิกแอนไฮไดรด์ (succinic anhydride, S) มาเลอิกแอนไฮไดรด์ (maleic anhydride, M) และทาลิกแอนไฮไดรด์ (phthalic anhydride, P) แล้วจึงได้ผลิตภัณฑ์เป็น BMS, BMM และ BMP ตามลำดับจากผลการศึกษาพบว่าวัสดุที่สังเคราะห์ขึ้นมีประสิทธิภาพการดูดซับดังนี้ BMS > BMP > BMM โดยที่ใช้วัสดุดูดซับ 1.0 g/dm³ สามารถลดปริมาณทองแดงในชานอ้อยให้มีค่าต่ำกว่า 5.0 mg/dm³ สำหรับวัสดุดูดซับทั้ง 3 ชนิด³⁶

ด้วยความสามารถในการยึดจับของวัสดุที่สังเคราะห์ขึ้นกับทองแดงที่ละลายอยู่ในน้ำ ในรูปของไอออน Cu^{2+} ซึ่งคล้ายกับ PQ จึงทำให้ผู้วิจัยสนใจใช้ซัคซินิกแอนไฮไดรด์เพื่อทำให้บนพื้นผิวกระดาษกลายเป็นหมู่ฟังก์ชันกรดคาร์บอกซิเลต (รูปที่ 1.10)



รูป 1.10 การสังเคราะห์ BMS BMM และBMP

บทที่ 2

การทดลอง

2.1 รายการเครื่องมือ อุปกรณ์

- กระดาษโครมาโตกราฟี
- หลอดเซนตริฟิวจ์
- ขวดสีชาพร้อมฝา
- ไมโครปิเปต
- เครื่องเขย่า (IKA KS 130 basic orbital shaker)
- เครื่อง MS (Thermo Scientific TSQ Quantum EMR triple quadrupole)

2.2 รายการสารเคมี

- พาราควอต (PQ)
- PQ- d_8
- (3-mercaptopropyl)trimethoxysilane (MPTS)
- ไฮโดรเจนเปอร์ออกไซด์ (H_2O_2)
- เมทานอล (methanol, MeOH)
- อะซิโตน (acetone)
- ไดเมทิลฟอร์มมาไมด์ (*N,N*-dimethylformamide, DMF)
- ไดคลอโรมีเทน (dichloromethane, CH_2Cl_2)
- กรดแอซิติค (acetic acid, CH_3COOH)
- ซักซินิกแอนไฮไดรด์ (succinic anhydride, SA)
- ไพริดีน (pyridine)
- ไดไอโซโพรพิลเอทิลลามีน (*N,N*-Diisopropylethylamine, DIEA)
- โบรมอครีซอลกรีน (bromocresol green, BCG)

2.3 วิธีการทดลอง

การหาพารามิเตอร์ที่เหมาะสมสำหรับการแตกตัวของ PQ และ PQ- d_8 (MS/MS)

- 1) เตรียมสารละลาย PQ เข้มข้น 500 ng/mL ด้วย MeOH
- 2) นำเข้าสารแบบปกติ โดยตั้งค่าพารามิเตอร์ต่าง ๆ ดังต่อไปนี้
 capillary temperature = 300 °C
 scan width = 1.000
 scan time = 0.100 s
 Q1 peak width = 0.70
 Q3 peak width = 0.50
 collision cell (q2) Ar pressure = 1.5 mTorr
- 3) หาพารามิเตอร์ต่าง ๆ ที่เหมาะสมต่อการแตกเป็นส่วนย่อยของสารประกอบด้วยโปรแกรม TSQ tune และดำเนินการเช่นเดียวกันนี้กับ PQ- d_8 ซึ่งถูกใช้เป็นสารมาตรฐานเทียบเคียง (internal standard)

การเตรียมกระดาษ

ทำความสะอาดกระดาษโครมาโตกราฟีขนาด 6x6 cm² ด้วย DMF, น้ำ DI, MeOH และ CH₂Cl₂ ตามลำดับ (อัตราการเขย่า 160 ppm นาน 5 นาที สำหรับแต่ละตัวทำละลาย) เมื่อผึ่งให้แห้งแล้วจึงนำกระดาษสะอาดมาตัดเป็นรูปสามเหลี่ยม (ฐานกว้าง 0.6 cm และสูง 1.2 cm)

การตัดแปรรูปกระดาษ

การติดหมูฟังก์ชันซิลิโพน

- 1) นำกระดาษที่เตรียมไว้แช่ลงใน MPTS/acetone โดยมีอัตราส่วนโดยปริมาตรเป็น 1:10 เขย่า นาน 5 ชั่วโมง ด้วยอัตราการเขย่า 160 ppm ที่อุณหภูมิห้อง แล้วล้างกระดาษด้วย acetone 2 ครั้ง
- 2) อบกระดาษที่ผ่านการกำจัดสารเคมีที่ไม่เกิดปฏิกิริยาออกแล้วนาน 2 ชั่วโมง ที่อุณหภูมิ 110 °C
- 3) จากนั้นนำกระดาษที่ติดหมูฟังก์ชันแล้วมาแช่ใน 8% H₂O₂ ที่อุณหภูมิห้อง เป็นระยะเวลา 16 ชั่วโมง (อัตราการเขย่า 160 ppm)

- 4) ล้างกระดาษด้วยน้ำ DI, MeOH และ CH_2Cl_2 ตามลำดับ (อัตราเขย่า 160 ppm นาน 5 นาที สำหรับการล้าง 1 ครั้ง) จากนั้นผึ่งให้แห้ง

การตีหมูฟังก์ชันคาร์บอกซิเลต

- นำกระดาษแช่ลงในสารละลายที่เตรียมไว้ที่อุณหภูมิห้องเป็นเวลา 1 ชั่วโมง ทั้งนี้กำหนดให้ละลาย SA ด้วย DMF ซึ่งสารละลายที่เตรียมไว้ ได้แก่
 - 1 M SA
 - 1 M SA + 2 M pyridine
 - 1 M SA + 2 M DIEA
- ล้างกระดาษที่ตัดแปรแล้วด้วย DMF และ MeOH สารละลายละ 2 ครั้ง ครั้งละ 5 นาที (อัตราเขย่า 160 ppm) จากนั้นผึ่งให้แห้ง

การทดสอบสภาพความเป็นกรดของกระดาษที่ผ่านการตัดแปรแล้ว

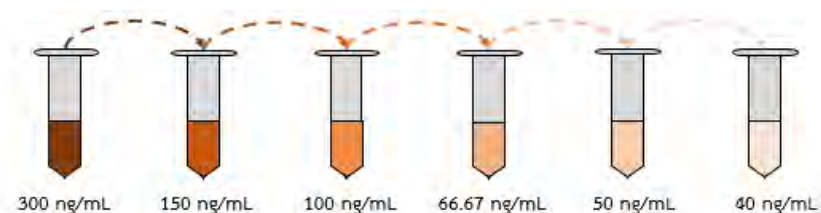
หยดอินดิเคเตอร์ BCG 5 μL ลงบนกระดาษที่ต้องการทดสอบแล้วทิ้งไว้ 5 นาที จากนั้นสังเกตสีที่เปลี่ยนไป โดย BCG สามารถใช้งานได้ในช่วง pH 4.0 (เหลือง) – 5.6 (ฟ้า)

การเก็บน้ำตัวอย่าง (surface water sampling) เพื่อการวิเคราะห์สารกำจัดวัชพืช

ใช้ขวดสีชาเก็บน้ำตัวอย่างโดยตรงโดยไม่ผ่านการกรอง และเก็บรักษาด้วยอุณหภูมิ 1-4 $^{\circ}\text{C}$

การสร้างกราฟมาตรฐานของ PQ จากการวิเคราะห์ด้วยเทคนิค PS-MS

- จำลองการปนเปื้อนของน้ำตัวอย่างด้วยการเติม PQ ให้มีความเข้มข้น 300 ng/mL ลงในตัวอย่าง
- จากนั้นเจือจาง (serial dilution) ให้มีความเข้มข้น 150, 100, 66.67, 50 และ 40 ng/mL ตามลำดับ



รูป 2.1 การเจือจางเป็นลำดับ (serial dilution)

- 3) นำน้ำที่เติม PQ ลงไปแล้วของแต่ละความเข้มข้นปริมาตร 200 μL มาเติม PQ- d_8 ให้มีความเข้มข้น 200 ng/mL ก่อนนำไปตรวจวัด โดยปราศจากกระบวนการบำบัดใด ๆ และทำการทดลองเช่นเดียวกันนี้อีก 2 ครั้ง

การตรวจวัดปริมาณ PQ ด้วยเทคนิค PS-MS (MS/MS)

โหมดการติดตามสัญญาณ : selected reaction monitoring (SRM)

ตัวทำละลายสำหรับการตรวจวัด (spray solvent): 0.5% CH_3COOH ใน 50% MeOH

- 1) เขย่าคีมปากจระเข้และหัวทองแดงใน MeOH นาน 10 นาที แล้วติดตั้งอุปกรณ์ดังรูปที่ 1.1 โดยต่อหัวลกับส่วนนำเข้าของ MS ในขณะที่หัวบวกต่อเข้ากับคีมปากจระเข้ที่ใช้หนีบกระดาษ ทั้งนี้ระยะห่างระหว่างปลายกระดาษกับส่วนนำเข้าต้องอยู่ในช่วง 0.5-1.0 cm
- 2) จากนั้นหยดตัวอย่างปริมาตร 5 μL แล้วปล่อยให้แห้ง ก่อนหยดตัวทำละลาย 20 μL ลงบนกระดาษเมื่อต้องการตรวจวัดตัวอย่างนั้น ๆ ทำการทดลองเช่นนี้ซ้ำกันทั้งหมด 5 ครั้ง/หนึ่งชุดการทดลอง พร้อมทั้งตรวจวัดกระดาษเปล่าคั่นแต่ละชุดการทดลองเพื่อลดผลกระทบจากการชุดการทดลองก่อนหน้าทีอาจก่อให้เกิดความคลาดเคลื่อนกับผลการทดลองชุดถัดมา
- 3) เก็บข้อมูลสัญญาณที่เกิดขึ้นในช่วง 1 นาทีแรก ด้วยโปรแกรม Xcalibur

บทที่ 3

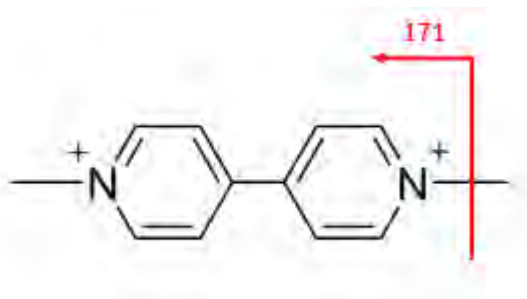
ผลการทดลองและอภิปรายผลการทดลอง

โครงการวิจัยการใช้กระดาษเป็นฐานสำหรับการตรวจวัด PQ ด้วยเทคนิค PS-MS ประกอบด้วยส่วนที่สำคัญทั้งหมด 3 ส่วนด้วยกัน

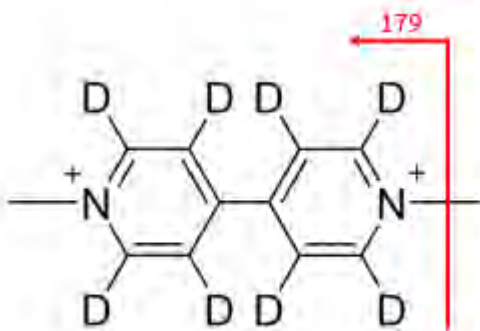
อันดับแรก คือ การศึกษาการแตกเป็นส่วนย่อยของสารที่ต้องการวิเคราะห์ที่จะนำมาซึ่งเงื่อนไขที่เหมาะสมต่อการแตกเป็นส่วนย่อยของโมเลกุลนั้น ๆ ซึ่งสารที่ต้องการวิเคราะห์ในที่นี่ประกอบด้วย PQ และ PQ- d_8

ทั้งนี้ เงื่อนไขที่เหมาะสมต่อการแตกเป็นส่วนย่อยของโมเลกุลดังกล่าวผ่านวิธีการนำเข้าแบบฉีดสารเข้าเครื่อง MS โดยตรง (direct injection) สามารถหาค่าที่เหมาะสมของแต่ละพารามิเตอร์ได้ด้วยโปรแกรม TSQ tune โดยกำหนดให้ศึกษาการแตกตัวของ PQ และ PQ- d_8 ในโหมด MS/MS เมื่อมี capillary temperature = 300 °C, scan width = 1.000, scan time = 0.100 s, Q1 peak width = 0.70, Q3 peak width = 0.50 และ collision cell (q2) Ar pressure = 1.5 mTorr ซึ่งทำให้ทราบว่าเงื่อนไขที่เหมาะสมต่อการแตกตัวของสารทั้งสองเป็นไปดังแสดงในตารางที่ 3.1

สำหรับ PQ สัญญาณ m/z 171.2 ที่เกิดขึ้นมาจากการสูญเสียโมเลกุล CH_3 จากโมเลกุล ($[M-CH_3]^+$) (รูปที่ 3.1) ซึ่งเป็นไอออนผลิตภัณฑ์ (product or daughter ion) ของสัญญาณ m/z ที่ 93 สำหรับ $[M]^{2+}$ และเกิดกลไกเช่นเดียวกันนี้กับโมเลกุล PQ- d_8 ที่ถูกใช้เป็นสารมาตรฐานเทียบเคียง ด้วยเหตุนี้ PQ- d_8 จึงแตกเป็นส่วนย่อยจาก m/z 97 ของ $[M]^{2+}$ เป็น 179.1 ของ $[M-CH_3]^+$ (รูปที่ 3.2)



รูป 3.1 โครงสร้างทางเคมีของ PQ (m/z 93 สำหรับ $[M]^{2+}$) และการแตกเป็นส่วนย่อย (m/z 171 สำหรับ $[M-CH_3]^+$)



รูป 3.2 โครงสร้างทางเคมีของ PQ- d_8 (m/z 93 สำหรับ $[M]^{2+}$) และการแตกเป็นส่วนย่อย (m/z 171 สำหรับ $[M-CH_3]^+$)

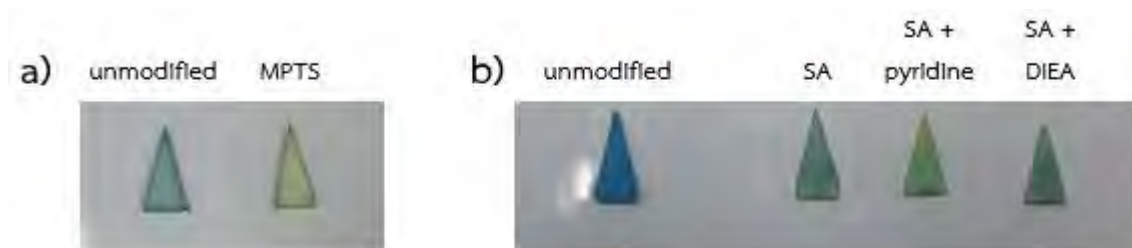
ตาราง 3.1 พารามิเตอร์ที่เหมาะสมต่อการแตกเป็นส่วนย่อยของ PQ และ PQ- d_8

	Parent ion m/z	Product ion m/z	Collision energy (V)	Tube lens (V)
PQ	93	171.2	14	69
PQ- d_8	97	179.1	16	80

และเมื่อทราบลักษณะและเงื่อนไขการแตกเป็นส่วนย่อยของสารทั้งสองแล้ว อันดับถัดไปคือการศึกษาการตรวจวัด PQ ด้วยกระดาษที่ถูกดัดแปรให้พื้นผิวเป็นลบจากหมู่ฟังก์ชันซิลโฟเนตและคาร์บอกซิเลต ซึ่งคาดว่า การใช้กระดาษดังกล่าวจะช่วยเพิ่มค่าสัญญาณของ PQ ที่สามารถตรวจวัดได้ หรืออีกนัยหนึ่งคือกระดาษที่มีพื้นผิวเป็นประจุลบจะสามารถดักจับ PQ ซึ่งเป็นสารที่มีประจุบวกได้มากขึ้น

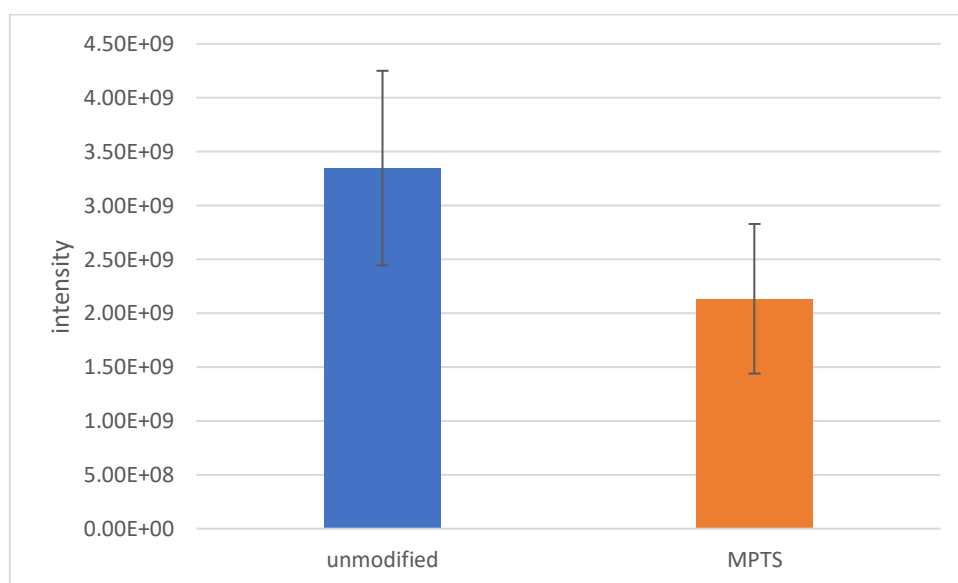
แต่ในขณะเดียวกัน การยืนยันหมู่ฟังก์ชันที่ติดลงบนกระดาษจำเป็นต้องใช้เทคนิคขั้นสูงในการตรวจสอบ เช่น X-ray photoelectron spectroscopy (XPS) หรือ Fourier-transform infrared spectroscopy (FTIR) เป็นต้น ซึ่งด้วยปัจจัยด้านทรัพยากร เช่น เครื่องมือ งบประมาณ และเวลา ทำให้ผู้วิจัยเล็งเห็นว่าหากนำตัวอย่างกระดาษที่ดัดแปรขึ้นไปพิสูจน์เอกลักษณ์โดยไม่ทราบประสิทธิภาพตามจุดประสงค์ที่ถูกดัดแปรขึ้นมาจะเป็นการสิ้นเปลืองทรัพยากรไปโดยเปล่าประโยชน์ ดังนั้นจึงไม่มีการระบุเอกลักษณ์ของกระดาษที่ผ่านการดัดแปรด้วย MPTS (สำหรับหมู่ฟังก์ชันซิลโฟเนต) และ SA (สำหรับหมู่ฟังก์ชันคาร์บอกซิเลต) ด้วยเทคนิคข้างต้น แต่ทว่ายังคงมีการทดสอบสมบัติทางเคมีเบื้องต้น นั่นคือ ทดสอบสภาพความเป็นกรดของกระดาษที่ผ่านการดัดแปรแล้วด้วย BCG ซึ่งเป็นอินดิเคเตอร์ที่เปลี่ยนสีในช่วง pH 4.0 - 5.6 จากสีเหลืองเป็นสีฟ้า เมื่อผ่านไป 5 นาทีกระดาษที่ผ่านการดัดแปรด้วย MPTS เปลี่ยนจากสีฟ้าเป็นสีเหลือง (รูปที่ 3.3 (a)) ในขณะที่กลุ่มของกระดาษที่ดัดแปรด้วย SA เปลี่ยนเป็นสีเขียว-ฟ้า (รูปที่ 3.3 (b)) ผลลัพธ์แสดงให้เห็นว่ากระดาษเหล่านี้มีสภาพความเป็นกรดเพิ่มขึ้น ทั้งนี้ในกรณีที่การดัดแปรด้วย SA ผสมเบส (pyridine และ

DIEA) ลงไป มีจุดประสงค์เพื่อใช้เบสข้างต้นที่มีบทบาทเป็นนิวคลีโอไฟล์เป็นตัวเร่งการเกิดปฏิกิริยาการติดหมู่ฟังก์ชันซิลโฟเนตลงบนพื้นผิวกระดาษ โดยมีสมมติฐานว่าการใช้สารละลายผสมดังกล่าวจะช่วยเพิ่มความสามารถในการดักจับ PQ ให้ดียิ่งขึ้นได้

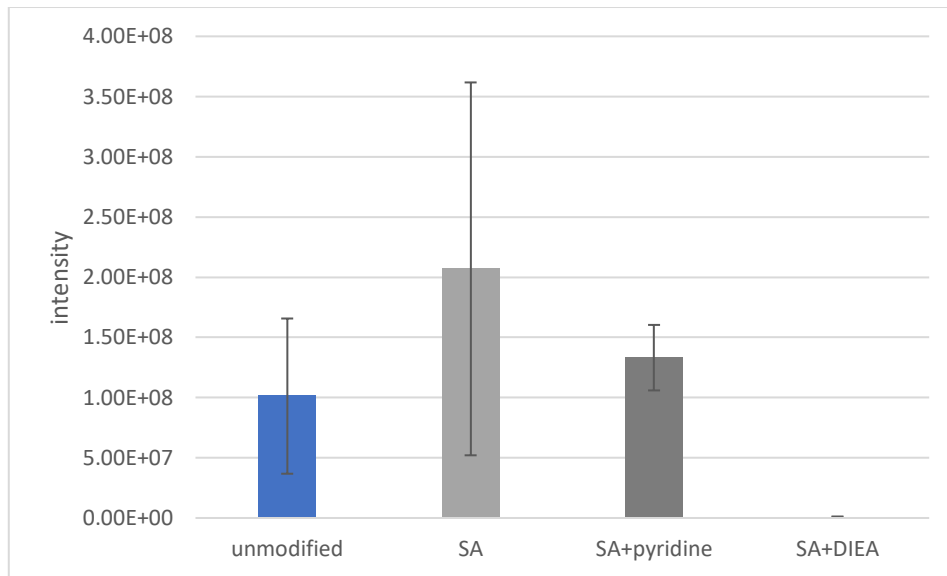


รูป 3.3 การทดสอบกระดาษที่ผ่านการดัดแปรด้วย BCG

อย่างไรก็ตาม เมื่อนำกระดาษที่ผ่านการดัดแปรทุกชนิดมาเปรียบเทียบในขั้นต้นถึงความสามารถในการยึดจับกับโมเลกุลของ PQ โดยเก็บข้อมูลจากสัญญาณ m/z ที่ 171 และใช้ 0.5% CH_3COOH ใน 50% MeOH เป็น spray solvent กลับพบว่ากระดาษที่ผ่านการดัดแปรมีความสามารถในการดักจับใกล้เคียงกับกระดาษที่ผ่านการดัดแปรแล้วทุกชนิด (รูปที่ 3.4 และ 3.5) และถึงแม้สำหรับการดัดแปรด้วย SA จะมีการเติมเบสลงไปเพื่อเป็นตัวเร่งปฏิกิริยาแล้วก็ตาม แต่นั่นก็ไม่ทำให้กระดาษที่ดัดแปรขึ้นสามารถดักจับ PQ เพิ่มขึ้นในทุกกรณี ซึ่งอาจเป็นผลมาจากวิธีการดัดแปรยังไม่เหมาะสมเพียงพอต่อการตรวจวัด PQ ด้วยเทคนิค PS-MS เช่น ระยะเวลาและอุณหภูมิในการดัดแปร เป็นต้น เพราะฉะนั้นการทดลองต่อจากนี้จึงใช้กระดาษที่ไม่ผ่านการดัดแปรในการทดลอง เนื่องด้วยประสิทธิภาพของกระดาษชนิดนี้สามารถใช้ตรวจวัดได้เช่นกัน จึงยังไม่มีแนวโน้มที่จะเพิ่มขึ้นตอนการทดลองที่ซับซ้อนขึ้น

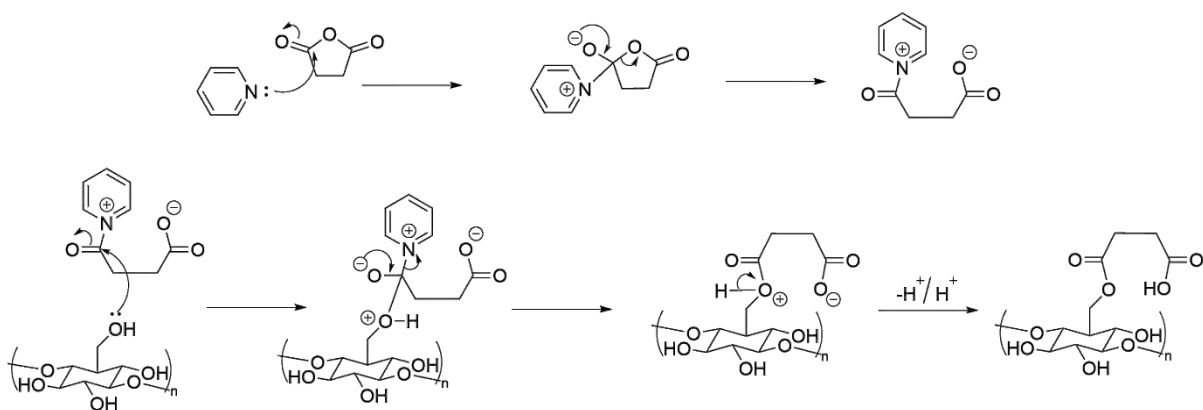


รูป 3.4 สัญญาณ m/z ที่ 171 ของ PQ เมื่อใช้กระดาษที่ไม่ผ่านการดัดแปรและผ่านการดัดแปรด้วย MPTS ในการตรวจวัด



รูป 3.5 สัญญาณ m/z ที่ 171 ของ PQ เมื่อใช้กระดาษที่ไม่ผ่านการตัดแปรและผ่านการตัดแปรด้วย SA, SA+pyridine และ SA+DIEA ในการตรวจวัด

โดยหากเกิดกระบวนการเร่งปฏิกิริยาขึ้นจริง คาดว่าจะมีเพียง pyridine เท่านั้นที่แสดงผลการเร่งปฏิกิริยาในระบบที่ตัวทำละลายเป็น DMF ผ่านกลไกการเร่งแบบ nucleophilic catalysis (รูปที่ 3.6) ในขณะที่ DIEA ไม่เอื้อต่อปฏิกิริยาดังกล่าวนี้เลยแม้แต่น้อย (รูปที่ 3.5) ซึ่งเมื่อก้าวถึงกรณีนี้ pyridine จะทำหน้าที่เป็นตัวเร่งชนิดนิวคลีโอไฟล์ (nucleophilic catalyst) ที่เข้าไปชนกับโมเลกุล SA เพื่อทำให้ผลิตภัณฑ์ที่เกิดขึ้นว่องไวและพร้อมทำปฏิกิริยากับหมู่ฟังก์ชันไฮดรอกซิล (hydroxyl functional group, R-OH) ของเซลลูโลส ที่ประพาดตัวเป็นนิวคลีโอไฟล์หลักของปฏิกิริยานี้ โดยเซลลูโลสจะเข้าชนที่ตำแหน่งพันธะคู่ของคาร์บอนและออกซิเจน (C=O) บน SA เหลืออยู่ เพื่อสร้างเซลลูโลสซัคซิเนต (cellulose succinate) ซึ่งเป็นผลิตภัณฑ์สุดท้ายของปฏิกิริยานี้



รูป 3.6 ปฏิกิริยาการติดหมู่ฟังก์ชันคาร์บอกซิเลตด้วย SA ที่มี pyridine เป็นตัวเร่งปฏิกิริยาชนิดนิวคลีโอไฟล์

ทั้งนี้ สาเหตุที่ใช้ระบบตัวทำละลายดังกล่าวเป็น spray solvent เนื่องจาก PQ สามารถละลายได้ดีในน้ำและ MeOH อีกทั้งในระบบสารละลายของ MeOH ผสมน้ำ (aqueous methanol solution) ที่เสริมสถานะ

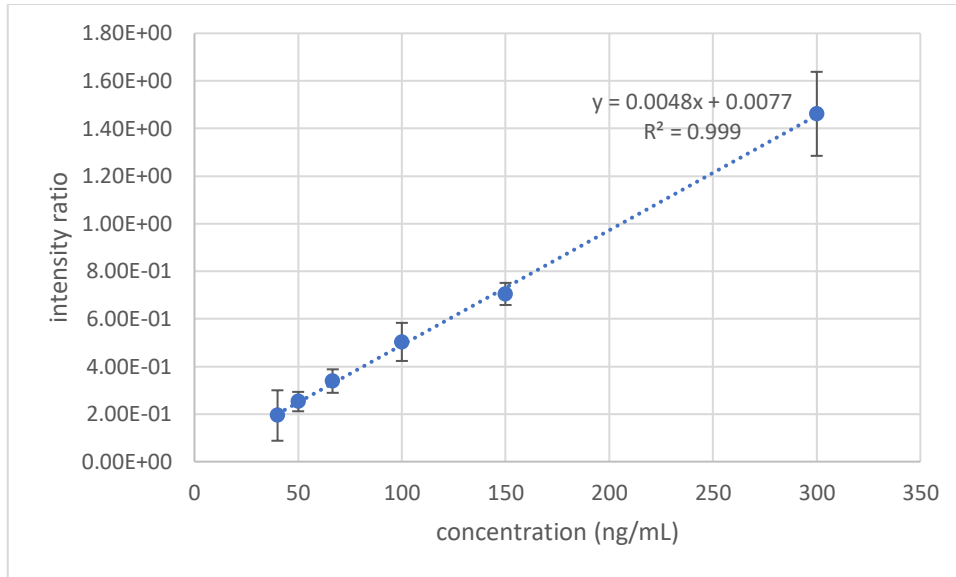
ความเป็นกรดด้วย CH_3COOH จะทำให้ PQ ถูกสกัดออกมาได้ดีขึ้น ดังนั้นในที่นี้ 0.5% CH_3COOH ใน 50% MeOH จึงทำหน้าที่เป็นทั้ง spray solvent และตัวทำละลายที่ใช้สกัด (extraction solvent) PQ ออกมาจากกระดาษในเวลาเดียวกัน^{1, 2}

และส่วนสำคัญอันดับสุดท้าย คือ การสร้างกราฟมาตรฐานเพื่อตรวจสอบประสิทธิภาพของวิธีการทดสอบ เนื่องจากการตรวจวัด PQ ในน้ำด้วยเทคนิค PS-MS เป็นวิธีตรวจวัดที่ผู้วิจัยพัฒนาขึ้นมาใหม่

กราฟมาตรฐานที่สร้างขึ้นจากการเติม PQ เข้มข้น 40, 50, 66.67, 100, 150 และ 300 ng/mL ลงในน้ำตัวอย่าง (รูปที่ 3.7) ให้สมการเส้นตรง $y = 0.0048x + 0.0077$ ที่มี $R^2 = 0.999$ ยิ่งไปกว่านั้นการตรวจวัดปริมาณ PQ ในน้ำตัวอย่างด้วยเทคนิค PS-MS ยังมีค่า LOD ต่ำถึง 7.55 ng/mL ซึ่งมีสูตรในการคำนวณคือ $\text{LOD} = 3.3s_b/m$ (เมื่อ s_b คือ ค่าคลาดเคลื่อนมาตรฐานของแบลงค์ (blank) และ m คือ ความชันของกราฟมาตรฐาน) โดยค่าเหล่านี้สามารถคำนวณได้จากการใช้สูตร LINEST ในโปรแกรม excel ทั้งนี้กราฟมาตรฐานได้ถูกสร้างขึ้นมาในเงื่อนไขเดียวกันทั้งหมด 3 ครั้ง เช่นเดียวกันกับการหาร้อยละการได้กลับคืน (%recovery) ที่หาจากความเข้มข้น 75, 125 และ 250 ng/mL โดยทั้งสามครั้งของการหาร้อยละการได้กลับคืนนี้แสดงค่าอยู่ในช่วงร้อยละ 92-103 (ตารางที่ 3.2) ซึ่งเป็นช่วงที่ยอมรับได้ (ร้อยละ 60-115 สำหรับ 10 ng/mL)³ ผลลัพธ์เหล่านี้บ่งชี้ว่าวิธีการดังกล่าวมีความเป็นเส้นตรงและความไวที่เหมาะสมแก่การวิเคราะห์จริง (7.55 ng/mL) และมีความเที่ยงตรง (accuracy) ในการตรวจวัดอยู่ในระดับที่ดี

ตาราง 3.2 ร้อยละการได้กลับคืนของการตรวจวัด PQ ในน้ำตัวอย่าง เมื่อใช้กระดาษที่ไม่ผ่านการดัดแปรในการตรวจวัดสำหรับเทคนิค PS-MS

ตัวอย่าง	ความเข้มข้นของ PQ ที่เติม (ng/mL)	ความเข้มข้นที่พบ \pm SD (ng/mL)	ร้อยละการได้กลับคืน
แหล่งน้ำธรรมชาติ	75	77.41 \pm 17.27	103
	125	125.52 \pm 17.69	100
	250	229.94 \pm 24.50	92



รูป 3.7 กราฟมาตรฐานของ PQ ในน้ำตัวอย่าง เมื่อใช้กระดาษที่ไม่ผ่านการดัดแปรในการตรวจวัดสำหรับเทคนิค PS-MS

บทที่ 4

สรุปผลการทดลอง

เนื่องด้วยประสิทธิภาพที่โดดเด่นของเทคนิค PS-MS ทำให้ผู้วิจัยสนใจใช้เทคนิค PS-MS ร่วมกับการตัดแปรกระดาษซึ่งเป็นส่วนสำคัญของเทคนิคนี้ด้วยวิธีการทางเคมีเพื่อเพิ่มประสิทธิภาพการตรวจวัดสารกำจัดวัชพืชอย่าง PQ ให้ดียิ่งขึ้น ดังนั้นจึงสามารถแบ่งการทดลองได้เป็นสองส่วน นั่นคือ ส่วนของการตัดแปรกระดาษด้วยวิธีการทางเคมีและส่วนของการตรวจวัด PQ ด้วยเทคนิค PS-MS

โดยโครงการวิจัยนี้ได้ทดลองศึกษาการตัดแปรกระดาษด้วยวิธีการทางเคมีเพื่อให้พื้นผิวมีประจุลบ 2 วิธีด้วยกัน นั่นคือ การตัดแปรให้มีหมู่ฟังก์ชันซัลโฟเนต ($R-SO_3^-$) และคาร์บอกซิเลต ($R-COO^-$) ทั้งนี้ก็เพื่อให้การเพิ่มประสิทธิภาพการตรวจวัดอยู่บนพื้นฐานของแรงระหว่างประจุ (electrostatic interaction force) ระหว่างประจุลบบนพื้นผิวกระดาษกับไอออนบวกของ PQ ที่ละลายอยู่ในน้ำ กล่าวคือ หากกระดาษที่ถูกตัดแปรขึ้นสามารถดักจับหรือเกิดแรงกระทำกับ PQ ได้มากกว่ากระดาษปกติ ก็จะสามารถช่วยเพิ่มความสามารถในการตรวจวัดให้ดียิ่งขึ้นได้ ซึ่งกระดาษที่ผ่านการตัดแปรด้วย MPTS (สำหรับ $R-SO_3^-$) รวมถึง SA, SA+pyridine และ SA+DIEA (สำหรับ $R-COO^-$) ล้วนถูกทดสอบสภาพความเป็นกรดด้วย BCG แล้วให้ผลในทำนองเดียวกัน นั่นคือ กระดาษเหล่านี้มีความเป็นกรดเพิ่มขึ้นจริง แต่ทว่าผลการทดลองเพื่อทดสอบวัตถุประสงค์ข้างต้นกลับแสดงให้เห็นว่าความสามารถของกระดาษไม่เป็นไปตามสมมติฐานที่ตั้งไว้ เนื่องจากกระดาษที่ถูกตัดแปรขึ้นทุกชนิดสามารถดักจับ PQ ได้ใกล้เคียงกับกระดาษที่ไม่ผ่านการตัดแปรถึงแม้จะตัดแปรเพื่อเพิ่มประสิทธิภาพแล้วก็ตาม ซึ่งเป็นหลักฐานสำคัญที่พิสูจน์ให้เห็นว่าการตัดแปรดังกล่าวไม่เพิ่มความสามารถในการดักจับ PQ ของกระดาษแต่อย่างใด

และแม้ว่าจะไม่สามารถใช้กระดาษที่ถูกตัดแปรขึ้นสำหรับเพิ่มประสิทธิภาพการตรวจวัดได้ แต่โครงการวิจัยนี้ยังคงสามารถใช้กระดาษที่ไม่ผ่านการตัดแปรสำหรับการตรวจวัด PQ ด้วยเทคนิค PS-MS ได้อยู่ เนื่องจากกระดาษชนิดนี้มีความสามารถในการดักจับ PQ เช่นเดียวกับกระดาษที่ตัดแปรแล้ว ซึ่งการใช้กระดาษที่ไม่ตัดแปรตรวจวัด PQ ในน้ำตัวอย่างด้วยเทคนิค PS-MS โดยปราศจากการบำบัดตัวอย่างได้แสดงให้เห็นถึงประสิทธิภาพที่ดีเยี่ยมของเทคนิคนี้ อันเป็นผลมาจากวิธีการตรวจวัดดังกล่าวมีความเป็นเส้นตรงสูง ($y = 0.0048x + 0.0077$, $R^2 = 0.999$) มีร้อยละการได้กลับคืนอยู่ในช่วงร้อยละ 92-103 และมีค่า LOD อยู่ที่ 7.55 ng/mL

ทั้งนี้ ผลลัพธ์ที่กล่าวไปในข้างต้นบ่งชี้ว่าผู้วิจัยสามารถพัฒนาวิธีการตรวจวัด PQ ที่มีประสิทธิภาพและสามารถใช้งานได้จริงขึ้นมาใหม่ได้สำเร็จ และยิ่งไปกว่านั้นสำหรับการวิเคราะห์ PQ ในน้ำตัวอย่างด้วยเทคนิค

PS-MS ที่ถูกพัฒนาขึ้นนี้ น้ำตัวอย่างไม่จำเป็นต้องผ่านขั้นตอนการบำบัดใด ๆ อีกทั้งวิธีการดังกล่าวให้ความเที่ยงตรงสูง วิเคราะห์ได้รวดเร็ว สะดวก ไม่ซับซ้อน ใช้ปริมาณตัวอย่างและตัวทำละลายเพียงเล็กน้อย และยังสามารถตรวจวัดได้ต่ำถึง 7.55 ng/mL อีกด้วย

เอกสารอ้างอิง

เอกสารอ้างอิงสำหรับบทที่ 1

1. Lock, E. A.; Wilks, M. F., *Hayes' Handbook of Pesticide Toxicology*. 2010.
2. ROBERTS, T. R.; DYSON, J. S.; LANE, M. C. G., Deactivation of the Biological Activity of Paraquat in the Soil Environment: a Review of Long-Term Environmental Fate. *Journal of Agricultural and Food Chemistry* **2002**, *50*, 3623-3631.
3. WHO The WHO Recommended Classification of Pesticides by Hazard and Guidelines to Classification 2009. https://www.who.int/ipcs/publications/pesticides_hazard_2009.pdf (accessed Mar 3, 2019).
4. U.S.EPA Recognition and Management of Pesticide Poisonings 6th Edition 2013. https://www.epa.gov/sites/production/files/201501/documents/rmpp_6thed_final_lowresopt.pdf (accessed Mar 3, 2019).
5. U.S.EPA Paraquat Dichloride. <https://www.epa.gov/ingredients-used-pesticide-products/paraquat-dichloride> (accessed Mar 10, 2019).
6. Couteur, D. G. L.; McLean, A. J.; Taylor, M. C.; Woodham, B. L.; 2, R. B., Pesticides and Parkinson's disease *Biomed & Pharmacother* **1999**, *55*, 122-130.
7. กรมวิชาการเกษตร, ส. ผลวิเคราะห์วัตถุอันตราย [รวม] ปี 2562 ที่ ออกแล้ว. <http://www.doa.go.th/ard/wpcontent/uploads/2019/02/zap62.pdf> (accessed 10 มีนาคม 2562).
8. R. Castro; E. Moyano; Galceran, M. T., Ion-pair liquid chromatography-atmospheric pressure ionization mass spectrometry for the determination of quaternary ammonium herbicides. *Journal of Chromatography A* **1999**, *830*, 145-154.
9. Ariffin, M. M.; Anderson, R. A., LC/MS/MS analysis of quaternary ammonium drugs and herbicides in whole blood. *J Chromatogr B Analyt Technol Biomed Life Sci* **2006**, *842* (2), 91-97.
10. Aramendía, M. A.; Borau, V.; Lafont, F.; Marinas, A.; Marinas, J. M.; Moreno, J. M.; Porras, J. M.; Urbano, F. J., Determination of diquat and paraquat in olive oil by ion-pair liquid chromatography-electrospray ionization mass spectrometry (MRM). *Food Chemistry* **2006**, *97* (1), 181-188.
11. Hao, C.; Zhao, X.; Morse, D.; Yang, P.; Taguchi, V.; Morra, F., Optimized liquid chromatography tandem mass spectrometry approach for the determination of diquat and paraquat herbicides. *J Chromatogr A* **2013**, *1304*, 169-76.

12. Pan, S.; Zhang, J.; He, Q.; Chen, X.; Jin, M., Fabrication of benzenesulfonic acid groups modified magnetic microspheres as an MSPE adsorbent for fast determination of paraquat and diquat in human urine combined with UPLC-HRMS. *J Chromatogr B Analyt Technol Biomed Life Sci* **2020**, *1136*, 121880.
13. Francesquett, J. Z.; Rizzetti, T. M.; Cadaval, T. R. S., Jr.; Prestes, O. D.; Adaime, M. B.; Zanella, R., Simultaneous determination of the quaternary ammonium pesticides paraquat, diquat, chlormequat, and mepiquat in barley and wheat using a modified quick polar pesticides method, diluted standard addition calibration and hydrophilic interaction liquid chromatography coupled to tandem mass spectrometry. *J Chromatogr A* **2019**, *1592*, 101-111.
14. de Almeida, R. M.; Yonamine, M., Gas chromatographic-mass spectrometric method for the determination of the herbicides paraquat and diquat in plasma and urine samples. *J Chromatogr B Analyt Technol Biomed Life Sci* **2007**, *853*(1-2), 260-4.
15. Vu, A. P.; Nguyen, T. N.; Do, T. T.; Doan, T. H.; Ha, T. H.; Ta, T. T.; Nguyen, H. L.; Hauser, P. C.; Nguyen, T. A. H.; Mai, T. D., Clinical screening of paraquat in plasma samples using capillary electrophoresis with contactless conductivity detection: Towards rapid diagnosis and therapeutic treatment of acute paraquat poisoning in Vietnam. *J Chromatogr B Analyt Technol Biomed Life Sci* **2017**, *1060*, 111-117.
16. Wuethrich, A.; Haddad, P. R.; Quirino, J. P., Simultaneous electrophoretic concentration and separation of herbicides in beer prior to stacking capillary electrophoresis UV and liquid chromatography-mass spectrometry. *Electrophoresis* **2016**, *37*(9), 1122-8.
17. Jain, A.; Verma, K. K.; AlanTownshend, Determination of paraquat by flow-injection spectrophotometry. *Analytica Chimica Acta* **1993**, *284*(2), 275-279.
18. Chuntib, P.; Jakmune, J., Simple flow injection colorimetric system for determination of paraquat in natural water. *Talanta* **2015**, *144*, 432-8.
19. Laghrib, F.; Bakasse, M.; Lahrich, S.; El Mhammedi, M. A., Electrochemical sensors for improved detection of paraquat in food samples: A review. *Mater Sci Eng C Mater Biol Appl* **2020**, *107*, 110349.
20. Z.Niewola; S.T.Walsh; G.E.Davies, Enzyme linked immunosorbent assay (ELISA) for paraquat. *International Journal of Immunopharmacology* **1983**, *5*(3), 211-218.
21. Caroline A. Spinks, B. W., E. N. Clare Mills and Michael R. A. Morgan Development of an ELISA for paraquat; improvement of antibody characteristics by reversed affinity chromatography. *Analyst* **1999**, *124*, 847-850.

22. Zbigniew Niewola; Benner, J. P.; Swaine, H., Determination of paraquat residues in soil by an enzyme linked immunosorbent assay. *Analytist* **1986**, *111*, 399-403.
23. Farahi, A.; Lahrich, S.; Achak, M.; El Gaini, L.; Bakasse, M.; El Mhammedi, M. A., Parameters affecting the determination of paraquat at silver rotating electrodes using differential pulse voltammetry. *Analytical Chemistry Research* **2014**, *1*, 16-21.
24. Farahi, A.; Achak, M.; El Gaini, L.; El Mhammedi, M. A.; Bakasse, M., Silver particles-modified carbon paste electrodes for differential pulse voltammetric determination of paraquat in ambient water samples. *Journal of the Association of Arab Universities for Basic and Applied Sciences* **2018**, *19* (1), 37-43.
25. Souza, D. D.; Machado, S. A. S., Study of the Electrochemical Behavior and Sensitive Detection of Pesticides Using Microelectrodes Allied to Square-Wave Voltammetry. *Electroanalysis* **2006**, *18* (862-872).
26. Li, J.; Lei, W.; Xu, Y.; Zhang, Y.; Xia, M.; Wang, F., Fabrication of polypyrrole-grafted nitrogen-doped graphene and its application for electrochemical detection of paraquat. *Electrochimica Acta* **2015**, *174*, 464-471.
27. Espy, R. D.; Muliadi, A. R.; Ouyang, Z.; Cooks, R. G., Spray mechanism in paper spray ionization. *International Journal of Mass Spectrometry* **2012**, *325-327*, 167-171.
28. Silva, L. C. d.; Pereira, I.; Carvalho, T. C. d.; Allochio Filho, J. F.; Romão, W.; Gontijo Vaz, B., Paper spray ionization and portable mass spectrometers: a review. *Analytical Methods* **2019**, *11* (8), 999-1013.
29. Liu, J.; Wang, H.; Manicke, N. E.; Lin, J.-M.; Cooks, R. G.; Ouyang, Z., Development, Characterization, and Application of Paper Spray Ionization. *Analytical Chemistry* **2010**, *82*, 2463-2471.
30. Carvalho, T. C.; Oliveira, I. F.; Tose, L. V.; Vanini, G.; Kill, J. B.; Neto, A. C.; Machado, L. F.; Ambrosio, J. C. L.; Lacerda, V.; Vaz, B. G.; Romão, W., Qualitative analysis of designer drugs by paper spray ionisation mass spectrometry (PSI-MS). *Analytical Methods* **2016**, *8* (3), 614-620.
31. Taverna, D.; Di Donna, L.; Bartella, L.; Napoli, A.; Sindona, G.; Mazzotti, F., Fast analysis of caffeine in beverages and drugs by paper spray tandem mass spectrometry. *Anal Bioanal Chem* **2016**, *408* (14), 3783-7.
32. Pereira, I.; Rodrigues, S. R. M.; de Carvalho, T. C.; Carvalho, V. V.; Lobón, G. S.; Bassane, J. F. P.; Domingos, E.; Romão, W.; Augusti, R.; Vaz, B. G., Rapid screening of

agrochemicals by paper spray ionization and leaf spray mass spectrometry: which technique is more appropriate? *Analytical Methods* **2016**, *8*(31), 6023-6029.

33. Evard, H.; Krueve, A.; Löhmus, R.; Leito, I., Paper spray ionization mass spectrometry: Study of a method for fast-screening analysis of pesticides in fruits and vegetables. *Journal of Food Composition and Analysis* **2015**, *41*, 221-225.

34. Kang, H.; Liu, R.; Huang, Y., Graft modification of cellulose: Methods, properties and applications. *Polymer* **2015**, *70*, A1-A16.

35. Lopez Duran, V.; Larsson, P. A.; Wagberg, L., Chemical modification of cellulose-rich fibres to clarify the influence of the chemical structure on the physical and mechanical properties of cellulose fibres and thereof made sheets. *Carbohydr Polym* **2018**, *182*, 1-7.

36. Vieira, A. P.; Santana, S. A. A.; Bezerra, C. W. B.; Silva, H. A. S.; de Melo, J. C. P.; da Silva Filho, E. C.; Airoidi, C., Copper sorption from aqueous solutions and sugar cane spirits by chemically modified babassu coconut (*Orbignya speciosa*) mesocarp. *Chemical Engineering Journal* **2010**, *161* (1-2), 99-105.

37. Rauythanapanit, M. synthesis and antibacterial activities of amino-containing cellulosic materials. Chulalongkorn University, 2015.

38. Shi, J.; Shan, Y.; Tian, Y.; Wan, Y.; Zheng, Y.; Feng, Y., Hydrophilic sulfonic acid-functionalized micro-bead silica for dehydration of sorbitol to isosorbide. *RSC Advances* **2016**, *6*(16), 13514-13521.

เอกสารอ้างอิงสำหรับบทที่ 3

1. Vahl, M.; , A. G.; Juhler, R. K., Analysis of Chlormequat residues in grain using liquid chromatography-mass spectrometry (LC-MS/MS). *Fresenius J Anal Chem* **1998**, *361*, 817–820.
2. Riediker, S.; Obrist, H.; Varga, N.; Stadler, R. H., Determination of chlormequat and mepiquat in pear, tomato, and wheat flour using on-line solid-phase extraction (Prospekt) coupled with liquid chromatography–electrospray ionization tandem mass spectrometry. *Journal of Chromatography A* **2002**, *966*, 15-23.
3. Huber, L., *Validation and Qualification in Analytical Laboratories*. Informa Healthcare USA, Inc.: New York, 2007.

ประวัติผู้วิจัย

นางสาววรกานต์ ชูตะกุล เกิดเมื่อวันที่ 1 ตุลาคม 2540 ที่จังหวัดพิจิตร สำเร็จการศึกษาชั้นมัธยมศึกษาตอนปลายจากโรงเรียนตะพานหิน จังหวัดพิจิตร เมื่อปีการศึกษา 2558 เข้าศึกษาต่อในหลักสูตรวิทยาศาสตรบัณฑิตสาขาวิชาเคมี ภาควิชาเคมี คณะวิทยาศาสตร์ จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย เมื่อปีการศึกษา 2558 ที่อยู่ที่สามารถติดต่อได้ บ้านเลขที่ 15/103 หมู่บ้านพฤษ์ลดา-ประชาอุทิศ ซอย 20 แขวงทุ่งครุ เขตทุ่งครุ จังหวัดกรุงเทพมหานคร รหัสไปรษณีย์ 10140 อีเมล worakanchutakool@gmail.com