



การพัฒนาและตรวจสอบความใช้ได้ของวิธีวิเคราะห์สารกำจัดวัชพืช 2,4-ดี ในน้ำและดิน

Development and validation method for 2,4-D herbicide in water and soil

จันทิมา ผลทอง^๑, อำนวย กะฐินเทศ^๑, นพดล มะโนเย็น^๑, สิริพร เหลืองสุขนกุล^๑
Jantima Phonkong^๑, Amnaj Katintet^๑, Noppadon Manoyen^๑, Siriporn Luengsuchonkul^๑

^๑กองวิจัยพัฒนาปัจจัยการผลิตทางการเกษตร ภาควิชาการเกษตร จังหวัดกรุงเทพมหานคร รหัสไปรษณีย์ 10900
^๑Agricultural Production Science Research and Development Division, Department of Agriculture, Bangkok 10900

บทคัดย่อ

2,4-ไดคลอโรฟีนอกซีอะซิติก (2,4-ดี) เป็นสารกำจัดวัชพืชที่ใช้กำจัดวัชพืชในข้าว อ้อย และข้าวโพด จากการใช้สารทำให้เกิดการปนเปื้อนในสิ่งแวดล้อม งานวิจัยนี้ จึงได้พัฒนาและตรวจสอบความใช้ได้ของวิธีวิเคราะห์ 2,4-D ในน้ำและดิน สกัดด้วยเทคนิค Solid-Phase Extraction และ Solid-Liquid Extraction ตรวจวัดด้วยเทคนิคลิควิดโครมาโทกราฟี ได้ขีดจำกัดของการตรวจพบ (Limit of detection) ในน้ำและดิน เท่ากับ 1.50 µg/L และ 0.05 mg/kg ตามลำดับ ขีดจำกัดของการวัดเชิงปริมาณ (Limit of quantitation) ในน้ำและในดิน เท่ากับ 2.50 µg/L และ 0.10 mg/kg ตามลำดับ วิธีการตรวจวิเคราะห์นี้มีความแม่นยำ (Accuracy) และความเที่ยง (Precision) สามารถนำไปใช้เป็นวิธีมาตรฐานสำหรับใช้ทดสอบในห้องปฏิบัติการได้

คำสำคัญ: 2,4-ดี, น้ำ, ดิน, การตรวจสอบความใช้ได้ของวิธีวิเคราะห์, โครมาโทกราฟีของเหลว



คำนำ

เป็นสารกำจัดวัชพืชแบบเลือกทำลาย ใช้ควบคุมวัชพืชใบกว้าง (broadleaf weed) หลังงอก

ปี พ.ศ. 2566 มีการนำเข้ามากกว่า 6,000 ตัน (ปริมาณสารสำคัญ) มูลค่ามากกว่า 500 ล้านบาท

มีความเป็นพิษอยู่ในระดับปานกลาง (WHO class II) ทำให้เกิดอันตรายรบกวนการทำงานของระบบต่อมไร้ท่อ

วิธีวิเคราะห์ใช้เทคนิค Solid-Phase Extraction กับ Solid-Liquid Extraction ตรวจวิเคราะห์ด้วย HPLC

งานวิจัยนี้ มุ่งเน้นการพัฒนาและศึกษาวิธีวิเคราะห์สารพิษตกค้าง 2,4-D ในน้ำและดิน เพื่อให้ได้วิธีที่มีประสิทธิภาพ ลดระยะเวลาและลดการใช้สารเคมี พร้อมทั้งทำการตรวจสอบความใช้ได้ของวิธี เพื่อให้ได้วิธีที่มีความถูกต้องและแม่นยำ น่าเชื่อถือ สามารถนำวิธีที่ได้นี้เป็นวิธีมาตรฐานสำหรับตรวจวิเคราะห์ปริมาณสารพิษตกค้าง 2,4-D ในน้ำและดินของห้องปฏิบัติการต่อไป

วิธีการ

01 ทดสอบสภาวะที่เหมาะสมของเครื่องมือในการตรวจวิเคราะห์

▶ ปรับสภาวะเครื่อง HPLC จัดสารละลายมาตรฐานที่ความเข้มข้นต่าง ๆ จากนั้นทดสอบ Linearity of calibration curve

02 ทดสอบ Matrix effect

▶ ใช้สารสกัด sample blank ของตัวอย่างน้ำและดิน เป็นตัวทำละลายในการเตรียมสารละลายมาตรฐาน (Matrix standard)

03 พัฒนาริธีวิเคราะห์ในตัวอย่างน้ำและดิน

▶ สกัดตัวอย่างน้ำ ด้วยเทคนิค Solid-Phase Extraction
▶ สกัดตัวอย่างดิน ด้วยเทคนิค Solid-Liquid Extraction

04 ตรวจสอบความใช้ได้ของวิธีวิเคราะห์

▶ Limit of detection: LOD
▶ Limit of quantitation: LOQ
▶ Linearity of working range
▶ Accuracy และ Precision

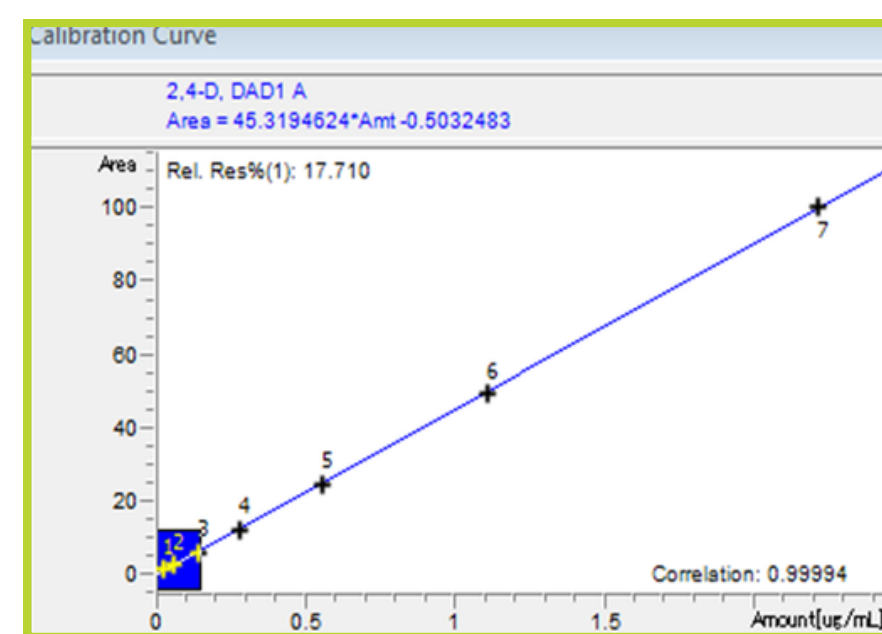
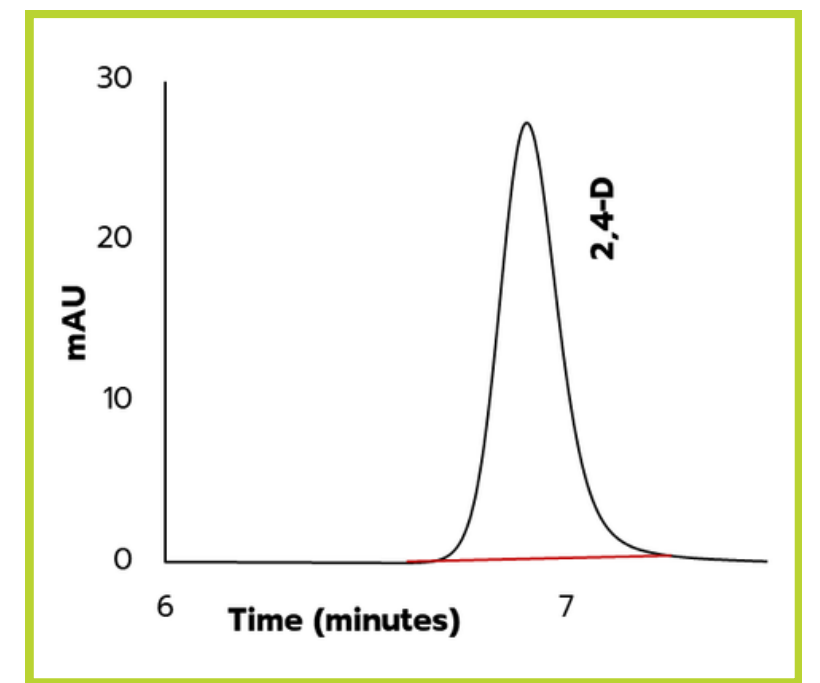


ผลและวิจารณ์ผลการทดลอง

ผลการทดสอบสภาวะที่เหมาะสมของเครื่องมือตรวจวิเคราะห์

ปรับสภาวะการทำงานของ HPLC

column C18 column
detector Diode array detector (DAD)
Mobile phase solvent A; 5mM ammonium formate solvent B; Methanol



Linearity of calibration curve ของสารละลายมาตรฐาน 2,4-D

จัดสารละลายมาตรฐาน 0.03 0.06 0.14 0.28 0.55 1.11 และ 2.22 µg/ml ได้ค่า Coefficient of Determination (R²) เท่ากับ 0.9999

ผลการทดสอบ Matrix effect

ค่า ME% < ±20 แสดงว่าสารอื่นในตัวอย่าง (matrix) ไม่ส่งผลต่อความเข้มข้นของสารที่ต้องการวิเคราะห์ (analyte) (SANTE/11312/2021 V2)

ผลการพัฒนาริธีวิเคราะห์ในตัวอย่างน้ำและดิน

ตัวอย่างน้ำ 100 mL ปรับ pH 1 โทลด์ตัวอย่างผ่าน C18 SPE cartridge tube ชนิดด้วยสารละลาย ammonium formate 5% v/v (in methanol) 5 mL ตรวจวัดด้วย HPLC-DAD



ตัวอย่างดิน 10 g เติม methanol:water:acetic acid (80:20:2.5 v/v) 10 mL sonication 30 นาที ปั่นเหวี่ยงตกตะกอน 10,000 rpm 10 นาที กรองและสกัดซ้ำอีกครั้ง ตรวจวัดด้วย HPLC-DAD

ผลการตรวจสอบความใช้ได้ของวิธีวิเคราะห์

Table Analytical performance of 2,4-D determination in water and soil samples.

Type of sample	LOD	LOQ	Working range	Accuracy and precision		
				Concentration	%Recovery (n=10)	%RSD (n=10)
Water	1.5	2.5	2.5-110.0	2.5	94.1	11
				5	85.9	13
				28	86.2	7
				110	82.4	4
Soil	0.05	0.1	0.1-4.0	0.1	97.7	7
				0.3	90.7	5
				1	89.5	5
				4	88.8	10

Unit of concentration in samples: water (µg/L) and soil (mg/kg)

สรุป

จากการพัฒนาริธีวิเคราะห์สารกำจัดวัชพืช 2,4-D ได้วิธีการสกัดตัวอย่างน้ำและดิน ด้วยเทคนิค Solid-Phase Extraction และ Solid-Liquid Extraction ตามลำดับ และตรวจวิเคราะห์ด้วยเทคนิค Liquid Chromatography ผลการทดสอบได้ working range ในตัวอย่างน้ำ 2.5 - 110.0 µg/L และในตัวอย่างดิน 0.1 - 4.0 mg/kg ค่า LOD ในตัวอย่างน้ำ 1.50 µg/L และดิน 0.05 mg/kg ค่า LOQ ในตัวอย่างน้ำ 2.5 µg/L และดิน 0.1 mg/kg วิธีการตรวจวิเคราะห์นี้มีความแม่นยำ และ precision จากผลการตรวจสอบความใช้ได้ของวิธี พบว่าวิธีนี้มีความเหมาะสมสำหรับการใช้ในการตรวจวิเคราะห์สารกำจัดวัชพืช 2,4-D ในน้ำและดิน สามารถนำไปใช้เป็นวิธีมาตรฐานของห้องปฏิบัติการได้

เอกสารอ้างอิง

- Amarante, D.O.P., N.M. Brito, T.C.R.D. Santos, G.S. Nunes, and M.L. Ribeiro. 2003. Determination of 2,4-dichlorophenoxyacetic acid and its major transformation product in soil samples by liquid chromatographic analysis. *Talanta* 60: 115-121.
- Association of Official Analysis Chemists. 2023. Guidelines for Standard Method Performance Requirements. AOAC Official Methods of Analysis. Available at: https://www.aoac.org/wp-content/uploads/2019/08/app_f.pdf. Assessment: April 17, 2025.
- European Commission Directorate – General for Health and Food Safety. 2024. Guidance SANTE/11312/2021 v2 – Analytical quality control and method validation procedures for pesticide residues analysis in food and feed SANTE 11312/2021 V2. Implemented by 01/01/2024. Available at: https://food.ec.europa.eu/system/files/2023-11/pesticides_mrl_guidelines_wrkdoc_2021_11312.pdf. Assessment: November 20, 2025.
- Hammami, B., M. Bihri, S.B. Hassine, and M.R. Driss. 2017. Development of Liquid Chromatography Separation and a Solid-Phase Extraction method for Phenoxy Alkanoic Acid Herbicides in Water. *Modern Chemistry & Application* 5:1-8.