สารกำจัดศัตรูพืชตกค้างกับเทคนิคการสั่นของคลื่นพื้นผิวพลาสมอน

Pesticide residues and surface plasmon resonance technique

สุกัญญา เพชรศิริเวทย์[1*] และ อนันต์ อภิวันท์ตระกูล[2]

[1] สาขาวิชาวิทยาศาสตร์กายภาพ คณะวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยี มหาวิทยาลัยหัวเฉียวเฉลิมพระเกียรติ สมุทรปราการ 10540

[2] แผนกเภสัชกรรม โรงพยาบาลพญาไท 2 กรุงเทพมหานคร 10400

Sukanya Petchsirivej[1*] and Anon Aphiwantrakul[2]

[1] Division of Physical Science, Faculty of Science and Technology, Huachiew Chalermprakiet University, Samutprakarn 10540

[2] Department of Pharmacy, Phayathai Hospital 2, Bangkok 10400

บทคัดย่อ

ปริมาณสารเคมีกำจัดศัตรูพืชที่ตกค้างในพืชผลทางการเกษตร โดยเฉพาะสารในกลุ่มออร์กาโนฟอสเฟตและกลุ่มคาร์บาเมต เมื่อได้รับสะสมอย่างต่อเนื่องหรือได้รับในปริมาณมาก จะเกิดผลกระทบต่อสุขภาพโดยตรงกับระบบกล้ามเนื้อและระบบประสาท การตรวจหาปริมาณการตกค้างในเบื้องต้นจึงมีความสำคัญ เทคนิคทั่วไปที่ใช้ในการตรวจต้องอาศัยผู้เชี่ยวชาญและเครื่องมือในห้องปฏิบัติการ ส่งผลให้มีค่าใช้จ่ายในการตรวจสอบมากและทำได้ช้าถ้าปริมาณตัวอย่างมีมาก จึงมีการพัฒนาตัวตรวจวัดที่ใช้เวลาน้อยและค่าใช้จ่ายต่ำ การสั่นของคลื่นพื้นผิวพลาสมอน (surface plasmon resonance) เป็นเทคนิคหนึ่งที่ใช้แสงในกระตุ้นให้เกิดคลื่นพลาสมอนบนพื้นผิว และวัดค่ามุมตกกระทบที่ทำให้คลื่นพลาสมอนเกิดการเรโซแนนซ์ เมื่อมีการเปลี่ยนแปลงบนพื้นผิวของตัวตรวจวัดจะทำให้ค่าดัชนีหักเหของแสงเปลี่ยนไป ส่งผลให้ค่ามุมที่ทำให้เกิดการเรโซแนนซ์เปลี่ยนไปด้วย เทคนิคนี้จึงสามารถตรวจวัดได้ทันทีที่เกิดการเปลี่ยนแปลง และใช้เวลาและปริมาณสารตัวอย่างน้อย มีความเฉพาะเจาะจง แม่นยำ รวมไปถึงสามารถนำกลับมาตรวจวัดใหม่ได้ การเตรียมและกำหนดรูปแบบของพื้นผิวสำหรับตรวจวัด จึงมีความสำคัญและขึ้นอยู่กับสารที่จะทำการตรวจวัด สามารถทำได้หลายรูปแบบทั้งจากปฏิกิริยาระหว่างคู่ปฏิกิริยา (แอนติเจน-แอนติบอดี) หรือปฏิกิริยาจากคู่เอนไซม์ โดยเฉพาะสารในกลุ่มออร์กาโนฟอสเฟตและกลุ่มคาร์บาเมต

คำสำคัญ: คลื่นพื้นผิวพลาสมอน การกำจัดศัตรูพืชตกค้าง คาร์บาเมต ออร์กาโนฟอสเฟต

Corresponding author: yaisams@yahoo.com

Abstract

Pesticides are used to increase quality of crop production. The residues are effect to health such as carbamate and organophosphate groups which inhibited the function of acetylcholinesterase as neurotransmitter. The conventional methods for detecting the pesticides are necessary to use a specialist in a good laboratory practice. However, those methods are costly and take a long time. The sensor is developed to increase the sensitivity and decrease the cost and time detection. The surface plasmon resonance sensor is an optical technique which the free electrons on metal surface are excited by light to oscillate along the surface. These plasmon wave will resonance at a specific incident angle. The refractive index of the organic layer is changed when the mass on that layer changed so the resonance angle will change. The kinetic of the reaction can be monitored in a real time. The surfaces are designed to specify with each pesticide and to be reproducible. The bio-reaction on the surface are antigen-antibody reaction or enzymatic reaction.

Keywords: Surface plasmon resonance, Pesticide residues, Carbamate, Organophosphase

บทนำ

ประเทศไทยเป็นประเทศเกษตรกรรมมีสภาพภูมิประเทศและอากาศเหมาะกับการเพาะปลูก จึงมีการนำเข้าสารกำจัดศัตรูพืชเพื่อใช้ในการควบคุมและกำจัดศัตรูพืชเพื่อเพิ่มคุณภาพและมูลค่าของผลผลิต จากรายงานในช่วงปี พ.ศ. 2553-2557 ของกรมวิชาการเกษตร สำนักงานเศรษฐกิจการเกษตรพบว่า ปริมาณการนำเข้าสารกำจัดศัตรูพืชเฉลี่ยอยู่ที่ 147,406.8 ตันต่อปี ส่งผลให้ประเทศไทยเป็นประเทศที่ใช้สารกำจัดศัตรูพืชสูงเป็นอันดับที่ 4 จาก 15 ประเทศในอาเซียน และในปี พ.ศ. 2558 ระหว่างเดือนมกราคม - มิถุนายน พบปริมาณนำเข้าสารเคมีกำจัดศัตรูพืชอยู่ที่ 149,546 ตัน [1-3] ซึ่งสารเคมีกำจัดศัตรูพืชเหล่านี้อาจเกิดการตกค้างสะสมอยู่ในสิ่งแวดล้อมบริเวณโดยรอบการเพาะปลูก ทั้งในดิน น้ำ และผลผลิตทางการเกษตร รวมทั้งจากสภาวะการแข่งขันทางเศรษฐกิจและการเก็บเกี่ยวผลผลิตทางการเกษตรก่อนกำหนด อาจทำให้เกิดการตกค้างสะสมอยู่กับผลผลิตทางการเกษตร ผู้บริโภคที่ซื้อสินค้าการเกษตรดังกล่าวและบริโภคเป็นประจำ จะได้รับพิษจากสารกำจัดศัตรูพืช และอาจเกิดสะสมในร่างกาย ส่งผลให้เกิดปัญหาสุขภาพตามมา เนื่องจากสารเคมีกำจัดศัตรูพืชบางประเภทมีอายุการสลายตัวหรือมีค่าครึ่งชีวิตที่ยาวนาน ในปัจจุบันมีกระแสความนิยมบริโภคอาหารเพื่อสุขภาพหรือบริโภคผลผลิตทางการเกษตรที่ปลอดสารเคมีมากขึ้น แต่ในขณะเดียวกันเกษตรกรก็ยังคงใช้สารเคมีกำจัดศัตรูพืช เพื่อควบคุมการระบาดของศัตรูพืชในแปลงปลูก ดังนั้นขั้นตอนการตรวจวิเคราะห์หาปริมาณสารกำจัดศัตรูพืชตกค้างจึงมีความสำคัญ โดยการตรวจสอบจะทำทั้งเชิงคุณภาพและเชิงปริมาณ ซึ่งจะต้องอาศัยผู้เชี่ยวชาญ เครื่องมือ ห้องปฏิบัติการ และมีค่าใช้จ่ายจำนวนมากตามมา

ทั้งนี้จากการศึกษาและพัฒนาตัวตรวจวัดสารเคมีกำจัดศัตรูพืชด้วยเทคนิค surface plasmon resonance (SPR) พบว่ามีความสะดวก มีความละเอียดแม่นยำ ใช้งานง่าย ประหยัดค่าใช้จ่าย สามารถตรวจวัดตัวอย่างได้ในปริมาณมาก และสามารถนำกลับมาใช้ใหม่ได้ จึงนับว่าเป็นเทคนิคที่มีประสิทธิภาพและน่าสนใจต่อการประยุกต์ใช้

ประเภทและอันตรายจากสารกำจัดศัตรูพืช

สารกำจัดแมลงหรือสารกำจัดศัตรูพืช คือสารเคมีที่ใช้ในฆ่าแมลงและศัตรูพืช แบ่งออกเป็น 4 กลุ่ม ได้แก่ กลุ่มออร์กาโนฟอสเฟต (organophosphate) กลุ่มคาร์บาเมต

(carbamate) กลุ่มคลอริเนตเตต ไฮโดรคาร์บอน (chlorinated hydrocarbon compound) และกลุ่มไพรีทรัมและไพรีทรอยด์ส (pyrethrum and pyrethroides) ซึ่งแต่ละกลุ่มดังกล่าวมีส่วนประกอบหลักที่แตกต่างกัน และเมื่อได้รับสารเข้าสู่ร่างกายจะเกิดอาการและความรุนแรงที่แตกต่างกัน (ตารางที่ 1) กลุ่มของสารกำจัดแมลงและศัตรูพืชที่มีผลต่อสุขภาพและนิยมใช้กับพืชผลการเกษตร คือสารในกลุ่มออร์กาโนฟอสเฟสและกลุ่มคาร์บาเมต ซึ่งส่วนใหญ่ออกฤทธิ์ต่อระบบระบบหายใจและกล้ามเนื้อโดยระบบประสาท กลไกการทำงานจะไปมีผลยับยั้งการทำงานของเอนไซม์สำคัญในร่างกายได้แก่ เอนไซมอะซิติลคลอริเนสเทอเรส (acetylcholinesterase; AChE) ซึ่งเป็นเอนไซม์จำเป็นในการทำปฏิกิริยากับสารสื่อประสาทพวกอะซิติลคลอรีน (acetylcholine; ACh) ดังนั้นเมื่อได้สารในสองกลุ่มนี้สะสมในร่างกายเป็นจำนวนมากจะทำให้สารสื่อประสาทยังคงค้างอยู่ในปลายประสาท ซึ่งเมื่อเกิดการสะสมในปริมาณมากจะส่งผลต่อระบบประสาทอัตโนมัติ ทำให้กล้ามเนื้อเกิดการกระตุก ตะคริว ชักเกร็ง กล้ามเนื้อหัวใจทำให้เกิดหัวใจล้มเหลว ศูนย์ควบคุมการหายใจหยุดทำงาน เมื่อเกิดการสะสมสารเหล่านี้ในปริมาณที่มากขึ้นจะส่งผลต่อสุขภาพในระยะยาว เนื่องจากสารบางกลุ่มใช้เวลาในการสลายตัวนาน

ผลกระทบทางด้านสุขภาพและสิ่งแวดล้อม

การที่ประเทศไทยเป็นประเทศเกษตรกรรม ดังนั้นการใช้สารเคมีกำจัดศัตรูพืชจึงมีความจำเป็น ซึ่งผลจากการใช้สารดังกล่าวทั้งเกษตรกรและผู้บริโภคอาจได้รับสารเคมีกำจัดศัตรูพืช ทั้งที่เกิดจากขณะฉีดพ่นและการตกค้างในผลผลิตทางการเกษตรและสิ่งแวดล้อม จึงมีการศึกษาผลการสะสมจากการใช้สารเคมีเพื่อกำจัดศัตรูพืช โดยเฉพาะกลุ่มออร์กาโนคลอรีนและออร์กาโนฟอสเฟต พบว่ามีการตกค้างของสารดังกล่าวทั้งในดิน น้ำ ผลผลิตทางการเกษตร เมื่อเกษตรกรและผู้บริโภคสัมผัสกับสารตกค้างจะเกิดการสะสมและส่งผลต่อสุขภาพทั้งทางตรงและทางอ้อม เช่น ในปี พ.ศ. 2541 พบการสะสมสารเคมีกำจัดศัตรูพืชในน้ำนมแม่ของชาวเขาที่บ้านแม่สาใหม่ จังหวัดเชียงใหม่ เนื่องจากคนในหมู่บ้านมีอาชีพเกษตรกรรมเป็นหลัก และมีการฉีดพ่นสารกำจัดศัตรูพืช เช่น ยุงซึ่งเป็นพาหะของโรคมาเลเรีย ทำให้ชาวบ้านได้รับสารเหล่านี้ และส่งผ่านทางน้ำนมมารดาสู่ทารก [4] ปัจจุบันสารเคมีกำจัดแมลงบางกลุ่ม เช่น DDT ถูกประกาศอยู่ในรายชื่อวัตถุอันตรายที่ต้องมีการควบคุมการนำเข้าและส่งออกด้วยประกาศของกระทรวงอุตสาหกรรม เรื่องบัญชีรายชื่อวัตถุอันตราย พ.ศ. 2556 ทั้งนี้สุภาพร และคณะ [5] ได้ทำการศึกษาการใช้สารเคมีฆ่าแมลงในกลุ่มออร์กาโนฟอสเฟตและกลุ่มคาร์บาเมตในผักพื้นบ้านอีสาน อาหารท้องถิ่น ดินและน้ำในพื้นที่ 4 จังหวัดอีสานตอนล่าง พบว่าปริมาณสารเคมีกลุ่มคาร์บาเมตในดิน น้ำข้างคันนาและในบริเวณปลักควายมีระดับที่ไม่เกินมาตรฐาน [6] แต่จากการนิยมบริโภคผักและอาหารท้องถิ่นเป็นประจำ มีโอกาสที่จะเกิดการสะสมสารตกค้างเหล่านั้นในร่างกาย และในปี พ.ศ. 2555 จากการสำรวจตลาดในอำเภอเมือง จังหวัดสุราษฎร์ธานี พบมีผักที่มีสารกำจัดแมลงตกค้างอยู่ 10.6 เปอร์เซ็นต์ โดยจิราพร และคณะ [7] ในปัจจุบันผู้บริโภครวมถึงเกษตรกรมีความตระหนักต่อความปลอดภัยของสารตกค้างในพืชผักผลไม้อย่างมาก จึงมีการสำรวจสารกำจัดศัตรูพืชตกค้างในพืชผักผลไม้ที่จำหน่ายในท้องตลาดและตามห้างสรรพสินค้าทั้งที่มีสัญลักษณ์ความปลอดภัยและไม่มี โดยเครือข่ายเตือนภัยสารเคมีกำจัดศัตรูพืชหรือไทยแพนพบว่ายังคงมีสารตกค้างอยู่ในพืชผักที่มีเครื่องหมายมาตรฐานความปลอดภัย (ตรา Q) เกินมาตรฐานถึง 25 เปอร์เซ็นต์ หรือ 1 ใน 4 ของจำนวนตัวอย่าง [8] ดังนั้นการตรวจหาปริมาณสารกำจัดศัตรูพืชตกค้างในพืชผลทางการเกษตรในเบื้องต้นจึงมีความสำคัญและจำเป็นสำหรับผู้บริโภคเพื่อเป็นการคัดกรองพืชผักผลไม้เบื้องต้น เพื่อช่วยในการตัดสินใจเลือกซื้อมาบริโภค

ตารางที่ 1 เปรียบเทียบส่วนประกอบหลัก การออกฤทธิ์ และอาการของสารกำจัดแมลงในแต่ละกลุ่ม [9, 10]

กลุ่ม	ส่วนประกอบหลัก	ระยะเวลาการออกฤทธิ์	อาการเมื่อได้รับ	ตัวอย่างสารกำจัดแมลง
คาร์บาเมต (carbamate)	ไนโตรเจน (N)	ออกฤทธิ์สั้นและสลายตัวเร็ว	มึนงง ปวดศีรษะ อ่อนเพลีย กระวนกระวาย ม่านตาหรี่ คลื่นไส้-อาเจียน น้ำตา-น้ำลายไหล เหงื่อออกมาก ปวดเกร็งช่องท้อง ชีพจรเต้นช้า	Aldicarb, Bendiocarb, Benfuracarb, BPMC, Carbaryl, Carbofuran, Methiocarb, Methomyl, MIPC, MTNC, Oxamyl, Promecarb, Propoxur และ Thiodicarb
ออร์กาโนฟอสเฟต (organophosphate)	ฟอสฟอรัส (P)	ยับยั้งการทำงานของเอมไซม์อย่างถาวร	คลื่นไส้ วิงเวียนอ่อนเพลีย กล้ามเนื้อหดตัวเป็นหย่อม ๆ แน่นหน้าอก ท้องเดิน ตาพร่า น้ำลายออกมากกว่าปกติ ถ้ารุนแรงจะหมดสติ น้ำลายฟูมปาก อุจจาระ-ปัสสาวะราด ชัก หายใจลำบาก และหยุดหายใจ	Acephate, Azinphos-Methyl, Carbophenothion, Cholrfenvinphos, Chlorpyrifos, Demeton, Divhlovos, Disulfoton, EPN, Etrimfos, Fenitrothion, Fenthion, Formothion, Isozathion, Malathion, Methidathion, Naled, Methamidophos, etc.
คลอรินเตดไฮโดรคาร์บอน (chlorinated hydrocarbon compound)	คลอรีน (Cl)	ยังไม่ทราบชัด สลายตัวช้า	อาการพิษเฉียบพลันต่อระบบประสาทส่วนกลาง ไวต่อสิ่งเร้า กระวนกระวาย เวียนศีรษะ เสียการทรงตัว ชักเกร็ง อาจเสียชีวิตด้วยระบบหายใจล้มเหลว	Aldrin, Chlordane, Dieldrin, Endosulfan, Endrin, Heptachlor และ Lindane
ไพรีทรัมและไพรีทรอยด์ส (pyrethrum and pyrethroides)	เป็นสารสกัดจากดอกไม้ตระกูลเบญจมาศ (*Chrysanthemum* sp.)	ออกฤทธิ์ต่อเซลล์ประสาทโดยตรงเมื่อได้รับจำนวนมาก	ชักและเป็นอัมพาต (เมื่อได้รับในปริมาณมาก) ส่วนมากเกิดจากตัวทำละลาย เช่น น้ำมันก๊าด	Cypermethrin, Decamethrin, Deltamethrin และ Permethrin

วิธีการตรวจหาสารกำจัดศัตรูพืชตกค้าง

วิธีการตรวจเบื้องต้นเพื่อคัดกรองนิยมใช้ชุดทดสอบมาตรฐาน (test kit) และนำไปตรวจหาเชิงปริมาณด้วยเครื่องมือวิเคราะห์ในห้องปฏิบัติการได้หลายวิธี เช่น gas chromatography/mass spectroscopy (GC/MS), thin-layer chromatography (TLC), liquid chromatography (LC) หรือใช้ร่วมกับดูการดูดกลืนความยาวคลื่นแสง (wave spectrum) เช่น UV IR หรือ NMR และ electrochemical technique [11] การตรวจวิเคราะห์ข้างต้นเป็นการตรวจด้วยวิธีมาตรฐานในห้องปฏิบัติการมีความจำเป็นที่ต้องใช้ผู้เชี่ยวชาญ ห้องปฏิบัติการมาตรฐาน เครื่องมือ เวลา และค่าใช้จ่ายจำนวนมาก ดังนั้นจึงมีการพัฒนาเครื่องมือในการตรวจวิเคราะห์ให้มีความสะดวกในการพกพา ใช้งานง่าย มีความถูกต้อง ตรวจสอบตัวอย่างได้ในปริมาณมาก และลดขั้นตอนการตรวจสอบขั้นต้นลง การพัฒนาเครื่องมือตรวจวิเคราะห์ส่วนมากเป็นการพัฒนาโดยอาศัยหลักการทางชีวภาพ (biosensors) เป็นวิเคราะห์ปฏิกิริยาที่เกิดแบบจำเพาะเจาะจง เช่น ปฏิกิริยาที่เกิดขึ้นเนื่องจากสารกำจัดแมลงที่ไปยับยั้งการทำงานของเอนไซม์ (enzyme inhibition method - EIM) เช่น คู่ปฏิกิริยาระหว่าง acetyl cholinesterase กับ acetylcholine การเกิดปฏิกิริยาของคู่ antigen-antibody

การวิเคราะห์สัญญาณของการเกิดปฏิกิริยาทำได้หลายเทคนิค เช่น การวิเคราะห์เชิงเคมีไฟฟ้า (electrochemical immunosensors) เป็นการวิเคราะห์โดยยึดสมบัติทางไฟฟ้าระหว่างขั้วไฟฟ้า (electrode) ทั้งการเปลี่ยนแปลงความต่างศักย์ กระแส ความจุไฟฟ้า และความต้านทานเมื่อเกิดปฏิกิริยา ในปี ค.ศ. 1990 Tran-Minh และคณะ [12] ทำการพัฒนา ขั้วอิเล็กโทรดสำหรับเพิ่มประสิทธิภาพการตรวจวัด และต่อมาในปี ค.ศ. 1999 Bachmann และคณะ [13] มีการพัฒนาให้เป็นการตรวจวัดแบบหลายอิเล็กโทรด (multielectrode biosensor) การวิเคราะห์เชิงแสง (optical immunosensors) เป็นการวิเคราะห์การเปลี่ยนแปลงสมบัติการดูดกลืนแสง การสะท้อนแสง และการคายพลังงาน หรือการเปลี่ยนแปลงประจุบนพื้นผิวหลังเกิดการกระตุ้นด้วยความยาวคลื่นแสงเฉพาะ การวัดสเปกตรัมการดูดกลืนในช่วงที่ตามองเห็นได้ และช่วงแสงเหนือม่วง (UV-Vis) จะต้องเป็นปฏิกิริยาของเอนไซม์ที่ให้ผลที่สามารถดูดกลืนแสงได้ในช่วงความยาวคลื่นดังกล่าว ทั้งที่สามารถมองเห็นได้ด้วยตาเปล่าหรือใช้เครื่องมือในการตรวจวัด ในปี ค.ศ. 2001 Pogacnik และ Franko [14] ทำการวัดผลปฏิกิริยาเอนไซม์ที่ผลิตจากแหล่งต่าง ๆ (ปลาไหลไฟฟ้า เม็ดเลือดแดงของมนุษย์ เม็ดเลือดแดงของวัว และน้ำเลือด (serum) จากม้า) ด้วยเครื่อง UV spectrophotometer ซึ่งถูกยึดไว้บนพื้นผิวตัวตรวจวัด ในปี ค.ศ. 2007 No และคณะ [15] ศึกษาการวัดผลปฏิกิริยาของเอนไซม์กับสารกำจัดศัตรูพืชจากการดูสีที่เปลี่ยนไปด้วยตาเปล่าบนตัวตรวจวัดแบบกระดาษจุ่ม (dipstick) โดยกระดาษจะเคลือบเอนไซม์

ในปี ค.ศ. 2007 Vamvakaki และ Chaiotakis [16] ทำการวัดความยาวคลื่นแสงที่เปล่งออกมา (fluorescence) หลังจากการกระตุ้นโดยใช้ liposome ในระดับนาโนเมตร (nano-biosensor) หลังจากทำปฏิกิริยากับเอนไซม์ การวิเคราะห์เชิงไพอิโซอิเล็กทริก (piezoelectric immunosensors) เป็นการวิเคราะห์โดยดูการเปลี่ยนแปลงความถี่เรโซแนนซ์ที่เปลี่ยนไปบนผลึกควอทเนื่องจากมวลที่เปลี่ยนไป โดยอาศัยการให้คลื่นความถี่เท่ากับความถี่ธรรมชาติของพื้นผิวตัวตรวจวัดแล้วดูความถี่ที่เปลี่ยนไปเมื่อเกิดปฏิกิริยา (QCM) เทคนิคการตรวจหาปฏิกิริยาการยับยั้งการทำงานของเอนไซม์โดยการวัดความถี่ในการสั่นของผลึกควอทที่เปลี่ยนไป เนื่องจากมวลที่อยู่บนผลึกเกิดการเปลี่ยนแปลงหลังเกิดปฏิกิริยาได้ในระดับ 1.0×10^{-7} M ด้วยเทคนิค quartz crystal microbalbance (QCM) โดย Abad และคณะ [17, 18] Kim และคณะ [19] ได้ทำการพัฒนาเพิ่มความไวในการตรวจวิเคราะห์ โดยการยึดติดเอนไซม์ลงบนพื้นผิวของผลึกด้วยปฏิกิริยาเคมีกับหมู่ thiol ซึ่งสามารถตรวจวัด carbofuran ได้ในระดับ 1.30×10^{-9} M

การตรวจวัดโดยการดูปริมาณมวลที่เปลี่ยนแปลงบนพื้นผิวในขณะเกิดปฏิกิริยาอีกวิธีหนึ่งคือ การวัดการสั่นของคลื่นพลาสมอนที่พื้นผิวบนโลหะ เช่น ทองหรือเงิน เรียกว่า surface plasmon resonance technique (SPR) เป็นเทคนิคที่ใช้แสงความยาวคลื่นคงที่ไปกระตุ้นให้เกิดคลื่นพลาสมอนที่พื้นผิวโลหะ เมื่อเกิดปฏิกิริยาบนพื้นผิวที่ส่งผล

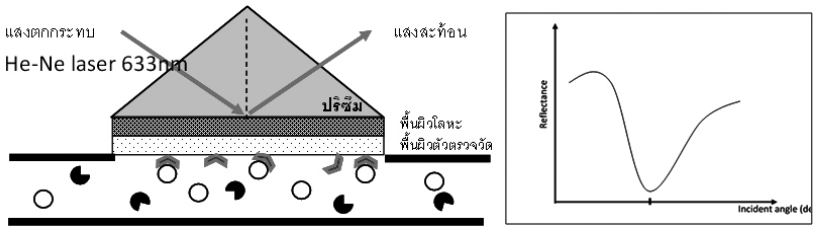
ให้มวล ความเป็นกรด-ด่างมีค่าเปลี่ยนไป ค่าดัชนีหักเหของพื้นผิวจะเปลี่ยนไปด้วย ส่งผลทำให้ค่าความถี่เรโซแนนซ์ของคลื่นพลาสมอนเกิดการเปลี่ยนแปลง เทคนิคนี้มีความถูกต้องแม่นยำ และสามารถดูผลขณะเกิดการเปลี่ยนแปลงได้ (real time) รวมทั้งสามารถตรวจวัดความเข้มข้นของสารกำจัดแมลงได้ในระดับต่ำ ๆ

Surface plasmon resonance

พลาสมอนที่พื้นผิว (surface plasmon) คือกลุ่มอิเล็กตรอนอิสระที่อยู่บริเวณโครงผลึกของโลหะ หรือคือคลื่นแม่เหล็กไฟฟ้าที่รอยต่อระหว่างพื้นผิวที่เป็นตัวนำจำพวกโลหะ (conducting material และ metal) พบว่าคลื่นพื้นผิวพลาสมอนจะเกิดการดูดกลืนพลังงานสูงสุด หรือเกิดการเรโซแนนซ์ เมื่อถูกกระตุ้นด้วยแสงความยาวคลื่นคงที่ที่มุมตกกระทบเฉพาะค่าหนึ่ง เทคนิค surface plasmon resonance จึงเป็นเทคนิคทางแสงที่ใช้ในการติดตามการเปลี่ยนแปลงที่เกิดขึ้นบริเวณรอยต่อของพื้นผิววัสดุ โดยดูจากมุมของการเกิดเรโซแนนซ์ของคลื่นพื้นผิวพลาสมอนที่เปลี่ยนไป ทำให้วิธีนี้เป็นวิธีที่สามารถตรวจสอบการเปลี่ยนแปลงที่เกิดขึ้นบริเวณรอยต่อได้ทันทีได้ทันที โดยไม่ต้องอาศัยติดตัวตามสัญญาณ (label free)

หลักการตรวจวิเคราะห์ด้วยเทคนิค SPR

เมื่อให้แสงผ่านปริซึมไปตกกระทบที่รอยต่อระหว่างโลหะ อิเล็กตรอนที่ผิวโลหะจะถูกกระตุ้นให้เกิดการเคลื่อนที่เป็นคลื่นพลาสมอน ซึ่งจะสั่นที่ความถี่ค่าหนึ่งและที่มุมตกกระทบค่าหนึ่ง ความถี่ของคลื่นพลาสมอนกับโฟตอนตรงกัน จะเกิดการดูดกลืนพลังงานได้สูงสุดที่เรียกว่าเกิดเรโซแนนซ์ขึ้น (ภาพที่ 1) โครงสร้างการทำงานของ SPR เป็นไปตาม The Kretschmann configuration [20] เมื่อแสงความยาวคลื่น 633 นาโนเมตร จากหลอด He-Ne laser ตกกระทบลงบนปริซึมที่มุมตกกระทบต่าง ๆ พบว่าที่มุมตกกระทบที่มีค่ามากกว่ามุมวิกฤติ (critical angle) จะเกิดการสะท้อนกลับหมด และมุมที่ความเข้มของแสงสะท้อนต่ำที่สุดเนื่องจากการเกิดเรโซแนนซ์ จะเรียกว่ามุมเรโซแนนซ์ (resonance angle) มุมนี้ทำให้เกิดการส่งผ่านพลังงานไปยังคลื่นพลาสมอนที่พื้นผิว ดังนั้นเมื่อพื้นผิวเกิดการเปลี่ยนแปลงของมวลทำให้ค่าดัชนีหักเหเปลี่ยนไป ค่ามุมเรโซแนนซ์ก็จะเปลี่ยนไป ซึ่งสามารถทำนายการเปลี่ยนแปลงที่เกิดขึ้นบนพื้นผิวได้



ภาพที่ 1 The Kretschmann configuration [21] แสดงโครงสร้างการทำงานของระบบ surface plasmon resonance

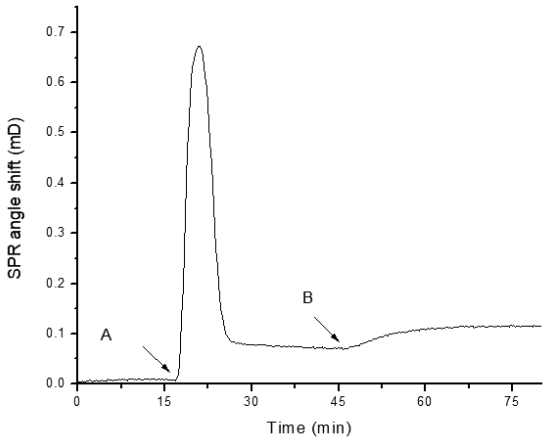
แทน antibody

แทน antigen

แทน non-specific substance

การพัฒนาการตรวจวิเคราะห์ด้วยเทคนิค SPR

สัญญาณการเปลี่ยนแปลงที่ได้จากเทคนิค SPR สามารถวิเคราะห์ได้จากมุมเรโซแนนซ์ที่เปลี่ยนไปเมื่อเกิดการเปลี่ยนแปลงบนพื้นผิว เนื่องจากการเปลี่ยนแปลงของพื้นผิวตัวตรวจวัด ดังนั้นเทคนิคนี้จึงสามารถดูการเปลี่ยนแปลงได้ตลอดเวลาของการเกิดปฏิกิริยา ระบบจะสามารถส่งสัญญาณแสดงให้เห็นถึงการเปลี่ยนแปลงในทันที เป็นการตรวจวิเคราะห์แบบ real time โดยกราฟแสดงตำแหน่งของมุมเรโซแนนซ์จะเปลี่ยนแปลงทันทีที่มีการเปลี่ยนมวล ความเข้มข้น ความเป็นกรด-ด่างบนพื้นผิวตัวตรวจวัด จากภาพที่ 2 แสดงการเปลี่ยนแปลงของมุมเรโซแนนซ์ที่เกิดขึ้นเมื่อพื้นผิวเกิดการเปลี่ยนแปลง จะเห็นว่าใช้ปริมาณสารในการตรวจสอบเพียงเล็กน้อย และเฉพาะเจาะจงกับสิ่งที่ต้องการตรวจวัด จากกราฟเป็นการยึดโปรตีนลงบนพื้นผิวพอลิเมอร์จะเห็นว่า EDC/NHS ทำปฏิกิริยากับพอลิเมอร์บนพื้นผิว จึงเห็นการเปลี่ยนแปลงของมุม SPR ขยับสูงขึ้นเช่นเดียวกับหลังใส่โปรตีน การเตรียมพื้นผิวสำหรับเทคนิคนี้จึงมีความสำคัญ โดยพื้นผิวจะต้องตรวจจับได้เฉพาะสิ่งที่ต้องการเท่านั้น (specific binding) สำหรับสิ่งเจือปนมากับสารตัวอย่าง (non-specific binding) ต้องไม่สามารถติดหรือเกิดปฏิกิริยากับพื้นผิวได้ ดังนั้นการพัฒนาเทคนิคนี้เพื่อการตรวจวิเคราะห์ จึงมีทั้งการเตรียมรูปแบบของพื้นผิวให้เหมาะสมกับการตรวจสอบปฏิกิริยาที่ต้องการตรวจสอบ การนำพื้นผิวกลับมาใช้ใหม่ (regenerated surface) รวมถึงสามารถกำหนดการตรวจสอบสารตัวอย่างได้หลายชนิด (multichannel) ในเวลาเดียวกัน



ภาพที่ 2 กราฟแสดงสัญญาณการเปลี่ยนแปลงของมุมเรโซแนนซ์เมื่อมีการเติมสารลงไปบนพื้นผิวพอลิเมอร์ (A) EDC/NHS 800 µl (B) Protein G 800 µl

การพัฒนาเทคนิค SPR กับการตรวจวัดสารกำจัดแมลงตกค้าง

การตรวจวิเคราะห์ส่วนมากจะศึกษาสารกำจัดศัตรูพืชในกลุ่มออร์กาโนฟอสเฟตและกลุ่มคาร์บาเมตอาศัยการเกิดปฏิกิริยาระหว่างคู่แอนติเจน-แอนติบอดี หรือปฏิกิริยาที่เกิดแบบเฉพาะเจาะจง และปฏิกิริยาระหว่างเอนไซม์ acetylcholinesterase (AChE) และ Butyrylcholinesterase (BuChE) ซึ่งเป็นเอนไซม์ที่ส่งผลต่อสารสื่อประสาทและมีความสำคัญต่อสุขภาพ เมื่อพบกับสารกำจัดศัตรูพืชในกลุ่มดังกล่าว การทำงานของเอนไซม์จะลดลง [22] ในปี ค.ศ. 1996 Ksenevich และคณะ [23] ใช้เทคนิค SPR ในการตรวจหาความเข้มข้นของสารกำจัดศัตรูพืช โดยเตรียมพื้นผิวในระดับชั้นของโมเลกุล (monolayer) อาศัยปฏิกิริยาแบบเฉพาะเจาะจง ระหว่างสารกำจัดศัตรูพืชกับควิโนน (quinone) บนพื้นผิวที่เตรียมขึ้น ซึ่งสามารถตรวจวัดได้ที่ความเข้มข้นระดับ 10^{-11} M สำหรับสาร Dinitrophenole และที่ความเข้มข้นระดับ 10^{-10} M สำหรับ Paraoxon เช่นเดียวกันในปี ค.ศ. 1998 Chegel และคณะ [24] ศึกษาการ

แทนที่แบบเฉพาะเจาะจงของ plastoquinone ใน D1 protein-plastoquinone complex ด้วย atrazine ซึ่งมีมวลโมเลกุลน้อยกว่า พบว่าเกิดการขยับไปของมุม SPR ไปทางซ้าย แสดงให้เห็นถึงการเปลี่ยนแปลงบนพื้นผิว และสามารถติดตามการเปลี่ยนแปลงที่เกิดขึ้นได้ตลอดเวลา

สำหรับการศึกษาจากปฏิกิริยาระหว่างคู่แอนติบอดี พบว่าในปี ค.ศ. 1993 Minunni และ Mascini [25] ได้ทำการเตรียมตัวตรวจวัดเพื่อหาปริมาณของสารกำจัดศัตรูพืชในกลุ่ม herbicide ในน้ำดื่ม โดยดูปฏิกิริยาระหว่างคู่แอนติบอดี (monoclonal antibodies) กับ atrazine ได้ที่ความเข้มข้น 0.05 ppb ในเวลา 15 นาที และยังสามารถล้างพื้นผิวเพื่อนำกลับมาใช้วิเคราะห์ใหม่ได้ (regenerated surface) เช่นเดียวกันในปี ค.ศ. 2015 Tomassetti และคณะ [26] ได้ทำการศึกษาสารตกค้างกลุ่ม triazine ในน้ำนมโดยใช้เทคนิค SPR เปรียบเทียบกับเทคนิค amperometric และ screen-printed พบว่าเทคนิค SPR ใช้เวลาในการวัดเพียงครึ่งเดียวของเทคนิคดั้งเดิม และการนำกลับมาใช้ใหม่พบว่ามีผลที่ใกล้เคียงกับ amperometric และ screen-printed ในขณะเดียวกันเทคนิค SPR สามารถตัดสารกำจัดแมลงที่ไม่ใช่กลุ่ม Triazine ได้ดีกว่า ในปี ค.ศ. 2009 Keegan และคณะ [27] ทำการหาปริมาณสารตกค้างของ benzimidazole carbamate ที่ตกค้างในน้ำนม โดยการพัฒนาพื้นผิวของตัวตรวจจับแบบ SPR เรียกวิธีการตรวจวัดแบบ QuEChERS คือ รวดเร็ว ง่าย ถูก มีประสิทธิภาพ ทนทาน และปลอดภัย เป็นการพัฒนาพื้นผิวเพื่อตรวจจับสารในกลุ่ม benzimidazole carbamate (BZT) 11 ตัวโดยใช้แอนติบอดีที่สร้างจากแกะจับกับโปรตีนของ Methyl 5(6)-[(carboxypentyl)-thio]-2-benzimidazole carbamate protein conjugate และสามารถล้างออกเพื่อตรวจวิเคราะห์ซ้ำได้ โดยความสามารถในการตรวจวัดสามารถวัดได้ถึง 5 μg/kg

Rajan และคณะ [28] ศึกษาการหาปริมาณ chlorphyrifos ซึ่งเป็นสารกำจัดศัตรูพืชในกลุ่มออร์กาโนฟอสเฟต ในปี ค.ศ. 2007 โดยการติดเอมไซม์อะซิติลคลอริเนสเทอเรส (AChE) ลงบนพื้นผิวของโลหะเงินที่ถูกเคลือบอยู่บนใยแก้วนำแสง (fiber optic) แล้วทำการเปลี่ยนแปลงความยาวคลื่นแสงที่ส่องผ่านเข้าไปในใยแก้วนำแสง เพื่อหาความยาวคลื่นที่ให้สัญญาณออกมาต่ำสุด เรียกว่าความยาวคลื่น SPR (SPR wavelength) พบว่าเมื่อเกิดปฏิกิริยาการยับยั้งการทำงานของ เอนไซม์ เนื่องจาก chlorphyrifos ค่าความยาวคลื่น SPR มีค่าลดลงเมื่อเพิ่มความเข้มข้นของสาร chlorphyrifos และใช้เวลาเพียง 6-8 นาที

บทสรุป

สารกำจัดศัตรูพืชเมื่อได้รับการสะสมเข้าสู่ร่างกายเป็นจำนวนมาก จะส่งผลต่อระบบกล้ามเนื้อและระบบประสาทในระยะยาว จึงควรเลือกบริโภคพืชผักผลไม้ที่มีปริมาณสารตกค้างน้อยหรือไม่มีเลย การตรวจหาปริมาณสารตกค้างต้องอาศัยห้องปฏิบัติการที่มีคุณภาพและผู้เชี่ยวชาญ ดังนั้นจึงมีการศึกษาการสร้างเครื่องมือตรวจวัดที่ใช้งานง่าย สะดวก รวดเร็วและราคาถูก การพัฒนาตัวตรวจวัดด้วยเทคนิค SPR ซึ่งเป็นเทคนิคการตรวจวัดแบบทันที เพื่อลดเวลา ค่าใช้จ่ายในการตรวจวัด ความสะดวกในการใช้งาน และยังสามารถนำกลับมาใช้ใหม่ได้ รูปแบบการพัฒนาตัวตรวจวัดนั้นขึ้นอยู่กับสิ่งที่ต้องการทำการตรวจสอบ เริ่มต้นจาก พื้นผิวต้องตรวจจับเฉพาะเจาะจงกับสิ่งที่ตรวจสอบเท่านั้น พื้นผิวที่เตรียมอาจตรวจวัดสารเคมีได้เพียงหนึ่งหรืออาจทำได้หลายชนิด ขึ้นอยู่กับการออกแบบพื้นผิวและการใช้งาน ปฏิกิริยาที่ใช้ในการตรวจสอบ ทำได้ทั้งปฏิกิริยาการจับคู่ระหว่างแอนติเจนและแอนติบอดี รวมทั้งปฏิกิริยาระหว่างคู่เอนไซม์

เอกสารอ้างอิง

1. Panuwet P, Siriwong W, Prapamontol T, Rayan PB, Fiedler N, Robson MG, et al. Agricultural pesticide management in Thailand: status and population health risk. Environ Sci Policy. 2012;17:72-81.
2. สำนักควบคุมพืชและวัสดุการเกษตร กรมวิชาการเกษตร. รายงานสรุปการนำเข้าวัตถุอันตรายทางการเกษตร ปี พ.ศ. 2558 (ม.ค.-มิ.ย.). [อินเตอร์เน็ต]. 2559 [เข้าถึงเมื่อ 6 มี.ค. 2559]. เข้าถึงได้จาก: http://www.thaipan.org/node/826
3. กรมวิชาการเกษตร. สำนักงานเศรษฐกิจการเกษตร. [อินเตอร์เน็ต]. 2559 [เข้าถึงเมื่อ 15 มี.ค. 2559]. เข้าถึงได้จาก: http://www.oae.go.th/ewt_news.php?nid=146
4. Stuetz W, Prapamontol T, Erhardt JG, Classen HG. Organochlorine pesticide residues in human milk of a Hmong hill tribe living in Northern Thailand. Sci Total Env 2001;273 (1-3):53-60.
5. สุภาพร ใจการุณ, สังวาล สมบูรณ์, สามารถ วันชะนะ. การตกค้างของสารเคมีฆ่าแมลงในผักพื้นบ้านอีสานและอาหารท้องถิ่น. วารสารวิจัยสาธารณสุขศาสตร์ ขอนแก่น 2556;6(3):122-29.
6. กระทรวงทรัพยากรธรรมชาติและสิ่งแวดล้อม. มาตรฐานคุณภาพดิน พ.ร.บ. กฎหมาย และมาตรฐานที่เกี่ยวกับการควบคุมมลพิษ. [อินเตอร์เน็ต]. 2559 [เข้าถึงเมื่อ 18 ก.ค. 2559]. เข้าถึงได้จาก: http://www.pcd.go.th/info_serv/reg_std_soil01.html#s1
7. จิราพร ใจเกลี้ยง, ศิริพร จันทร์มณี, อรพรรณ หนุแก้ว. การตรวจหายาฆ่าแมลงตกค้างในผักจากตลาดในอำเภอเมือง จังหวัดสุราษฎร์ธานี. ฐานข้อมูลการประชุมวิชาการ มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์ [อินเตอร์เน็ต]. 2555 [เข้าถึงเมื่อ 21 ก.ค. 2559]. เข้าถึงได้จาก: http://kucon.lib.ku.ac.th /cgibin/kucon.exe?rec_id=013160&database=kucon&search_type=link&table=mona&back_path=/agre/mona&lang=thai&format_name=TFMON
8. Manager Online. MGR Online. [อินเตอร์เน็ต]. 2559 [เข้าถึงเมื่อ 20 ก.ค. 2559]. เข้าถึงได้จาก: http://www.manager.co.th/Qol/ViewNews.aspx?NewsID=9590000045155
9. กิจชัย ศิริวัฒน์. ศูนย์ข้อมูลพิษวิทยา.[อินเตอร์เน็ต]. 2533 [เข้าถึงเมื่อ 12 ก.ค. 2559]. เข้าถึงได้จาก: http://webdb.dmsc.moph.go.th/ifc_toxic/a_tx_1_001c.asp?info_id=396
10. คณะกรรมการอาหารและยา. ความปลอดภัยด้านอาหาร Food Safety. [อินเตอร์เน็ต]. 2559 [เข้าถึงเมื่อ 15 มี.ค. 2559]. เข้าถึงได้จาก: http://www.fda.moph.go.th/project/foodsafety/fs2.htm
11. Li W, Sun M, Li M. A survey of determination for organophosphorus pesticide residue in agricultural products. Adv. J. Food Sci. Technol 2013;5(4):381-86.
12. Tran-Minh C, Pandey PC, Kumaran S. Studies on acetylcholine sensor and its analytical application based on the inhibition of cholinesterase. Biosens Bioelectron 1990;5:461-71.
13. Bachmann TT, Schmid RD. A disposable multielectrode biosensor for rapid simultaneous detection of the insecticides paraoxon and carbofuran at high resolution. Anal Chim Acta 1999;401:95-103.
14. Pogacnik L, Franko M. Optimisation of FIA system for detection of organophosphorus and carbamate pesticides based on cholinesterase inhibition. Talanta 2001;54:631-41.

15. No HY, Kim YA, Lee YT, Lee HS. Cholinesterase-based dipstick assayy for the detection of organophophate and carbamate pesticides. Anal Chim Acta 2007;594:37-43.
16. Vamvakaki V, Chaniotakis NA. Pesticide detection with a liposome-based nano-biosensor. Biosens Bioelectron 2007;22:2848-53.
17. Abad JM, Pariente F, Hemandez L, Abruna HD, Lorenzo E. Determination of organophosphorus and carbamate pesticides using a piezoelectric biosensor. Anal Chem 1998;70(14):2848-55.
18. Jiang X, Li D, Xu X, Ying Y, Li Y, Ye Z, et al. Review immunosensors for detection of pesticide residues. Biosens Bioelectron 2008;23:1577-87.
19. Kim N, Park IS, Kim DK. High-sensitivity detection for model organophosphorus and carbamate pesticide with quartz crystal microbalance-precipitation sensor. Biosens Bioelectron 2007;22(8):1593-99.
20. Narsaiah K, Jha SN, Bhardwaj R, Sharma R, Kumar R. Optical biosensors for food quality and safety assurance -a review. J Food Sci Technol 2012;49(4):383-406.
21. Kretschmann E. Die bestimmung optischr konstanten von metallen durch anregung von oberflachenplasmaschwingungen. Z. Physik 1971;241:313-24.
22. J SVD, Pletschke B. Review on the use of enzymes for the detection of organochlorine, organophosphate and carbamate pesticides in the environment. Chemosphere 2011;82:291-307.
23. Ksenevich TI, Beloglazov AA, Nikitin PI, Kalabina NA, Zaitsev SY. Studjy of biochemical reactions in thin organic films by means of evanescent optical wave. Appl Surf Sci 1996;92:426-30.
24. Cheqel VI, Shirshov YM, Piletskaya EV, Piletsky SA. Surface plasmon resonance sensor for pesticide detection. Sensor Actuator B 1998;48(1):456-60.
25. Minunni M, Mascini M. Detection of pesticide in drinking water using real-time biospecific interaction analysis (BIA). Anal Lett 1993;26(7):1441-60.
26. Tomassetti M, Martini E, Campanella L, Favero G, Sanzo G, Mazzei F. A New surface plasmon resonance immunosensor for triazine pesticide determiination in bovine Milk: a compariison with conventional amperometric and screen-printed immunodevices. Sensors 2015;15:10255-70.
27. Keegan J, Whelan M, Danaher M, Crooks S, Sayers R, Anastasio A, et al. Benzimidazole carbamate residues in milk: detection by surface plasmon resonance-biosensor, usiing a modified QuEChERS (quick, easy, cheap, effecive, rugged and safe) method for extraction. Anal Chim Acta 2009;654:111-19.
28. Rajan J, Chand S, Gupta BD. Surface plasmon resonance based fiber-optic sensor for the detectio of pesticide. Sensor Actuator B: Chemical 2007;123(2):661-66.