

การวิเคราะห์สารเคมีกำจัดศัตรูพืชประเภทออร์แกโนฟอสฟอรัสบางชนิดในแหล่งน้ำ
โดยการสกัดด้วยวัฏภาคของแข็งตามด้วยเทคนิคไฮเพอร์ฟอร์แมนซ์ลิควิดโครมาโทกราฟี

นางสาวปราณี เทศกะทีก



วิทยานิพนธ์นี้เป็นส่วนหนึ่งของการศึกษาตามหลักสูตรปริญญาวิทยาศาสตรมหาบัณฑิต

สหสาขาวิชาวิทยาศาสตร์สภาวะแวดล้อม

บัณฑิตวิทยาลัย จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

ปีการศึกษา 2539

ISBN 974-635-854-7

ลิขสิทธิ์ของบัณฑิตวิทยาลัย จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

I 17199335

**ANALYSIS OF ORGANOPHOSPHORUS PESTICIDES IN WATER USING
SOLID-PHASE EXTRACTION FOLLOWED BY
HIGH PERFORMANCE LIQUID CHROMATOGRAPHY**

Miss Pranee Tethgatak

**A thesis Submitted in Partial Fulfillment of the Requirements
for the Degree of Master of Science
Inter-Department of Environmental Science
Graduate School
Chulalongkorn University
Academic Year 1996
ISBN 974-635-854-7**

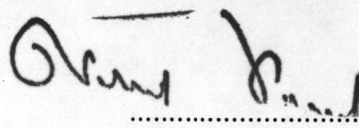
Thesis Title Analysis of organophosphorus pesticides in water using solid-phase
 extraction followed by high performance liquid chromatography

By Miss Pranee Tethgatuk

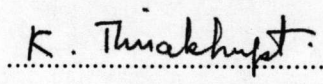
Inter-department Environmental Science

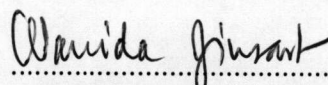
Thesis Advisor Assistant Professor Wanida Jinsart, Ph.D.

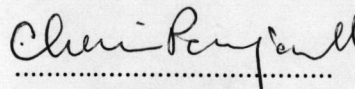
Accepted by the graduate School, Chulalongkorn University in Partial
 Fulfillment of the Requirements for the Master's Degree.

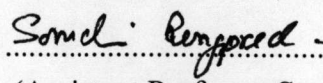

 Dean of Graduate School
 (Professor Supawat Chutivongse, M.D.)

Thesis Committee


 Chairman
 (Assistant Professor Kumthorn Thirakhupt, Ph.D.)


 Thesis Advisor
 (Assistant Professor Wanida Jinsart, Ph.D.)


 Member
 (Assistant Professor Charanai Panichajakul, Ph.D.)


 Member
 (Assistant Professor Somchai Pengprecha, Ph.D.)

พิมพ์ต้นฉบับบทคัดย่อวิทยานิพนธ์ภายในกรอบสี่เหลี่ยมนี้เพียงแผ่นเดียว



ปราวณี เทศกะทัก : การวิเคราะห์สารเคมีกำจัดศัตรูพืชประเภทออร์แกโนฟอสฟอรัสบางชนิดในแหล่งน้ำ
โดยการสกัดด้วยวัฏภาคของแข็งตามด้วยเทคนิคไฮเพอร์ฟอร์แมนซ์ลิควิดโครมาโทกราฟี
(ANALYSIS OF ORGANOPHOSPHORUS PESTICIDES IN WATER USING SOLID-PHASE
EXTRACTION FOLLOWED BY HIGH PERFORMANCE LIQUID CHROMATOGRAPHY)
อาจารย์ที่ปรึกษา : ผศ.ดร. วนิตา จินศาสตร์
89 หน้า ISBN 974-635-854-7

การวิเคราะห์สารเคมีกำจัดศัตรูพืชประเภทออร์แกโนฟอสฟอรัสในแหล่งน้ำโดยใช้การสกัดด้วยวัฏภาคของแข็ง
และไฮเพอร์ฟอร์แมนซ์ลิควิดโครมาโทกราฟี สภาวะการสกัดยามาแมลงด้วยออกตะเดคซิล ซิลิกาเป็นวัฏภาคของแข็ง ได้ถูก
ตรวจสอบและประเมินผลจากการทดลองปรับตัวแปรต่างๆ ได้แก่ ปริมาณวัฏภาคของแข็ง ปริมาณสารละลายที่นำมาสกัด
ชนิดและปริมาตรของตัวชะ ตลอดจนความดันปั๊มที่ใช้ในการสกัด โดยค่าสภาวะการสกัดที่ตรวจสอบแล้วนี้ ทำให้ได้ค่า
เปอร์เซ็นต์ได้คืนกลับของสารเมทิลพาราไรออน มาลาไรออน โพรเฟนโนฟอส และคลอไพริฟอส มีค่า เท่ากับ $99.06 \pm$
 0.67 , 98.04 ± 0.41 90.78 ± 0.75 และ 71.51 ± 0.73 ตามลำดับ ซึ่ดจำกัดวิธีการวิเคราะห์ด้วยเครื่องไฮเพอร์ฟอร์
แมนซ์ลิควิดโครมาโทกราฟี มีค่าเท่ากับ 25, 50, 25 และ 25 ไมโครกรัมต่อลิตร ของสารดังกล่าวตามลำดับ มีการตรวจ
พบสารโพรเฟนโนฟอสในตัวอย่างน้ำทิ้งในร่องฝัก จำนวน 27 ตัวอย่าง อยู่ในระดับความเข้มข้นเฉลี่ย 0.44 ± 0.07
ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร ในช่วงที่มีการเพาะปลูก สูตรโครงสร้างโพรเฟนโนฟอสได้ตรวจสอบและยืนยันด้วยข้อมูลวิเคราะห์ของ
แมสสเปกโทรสโคปี

ภาควิชา.....สหสาขา
สาขาวิชา.....วิทยาศาสตร์สุขภาพแอดล้อม
ปีการศึกษา.....2539

ลายมือชื่อนิสิต.....[Signature]
ลายมือชื่ออาจารย์ที่ปรึกษา.....วณิตา จินศาสตร์
ลายมือชื่ออาจารย์ที่ปรึกษาร่วม.....-

พิมพ์ต้นฉบับบทความวิทยานิพนธ์ภายในกรอบสี่เหลี่ยมนี้เพียงแผ่นเดียว

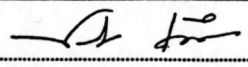
C726679 : MAJOR INTER-DEPARTMENT OF ENVIRONMENTAL SCIENCE
 KEY WORD: ORGANOPHOSPHORUS PESTICIDES / SOLID-PHASE EXTRACTION
 PRANEE TETHGATUK : ANALYSIS OF ORGANOPHOSPHORUS PESTICIDES
 IN WATER USING SOLID-PHASE EXTRACTION FOLLOWED BY HIGH
 PERFORMANCE LIQUID CHROMATOGRAPHY
 THESIS ADVISOR : ASSISTANT PROFESSOR WANIDA JINSART, Ph.D.
 89 pp. ISBN 974-635-854-7

Organophosphorus pesticides in water samples were analysed by solid-phase extraction (SPE) followed by high performance liquid chromatography (HPLC). The optimized condition of reversed-phase octadecyl bonded silica SPE was evaluated from a variety of the isolated parameters such as sorbent mass, volume of solution, type and volume of eluent and pressure of SPE Visiprep vacuum pump. Percent recovery experiments performed for methyl parathion, malathion, profenofos and chlorpyrifos were at 99.06 ± 0.67 , 98.04 ± 0.41 , 90.78 ± 0.75 and 71.51 ± 0.73 , respectively. The method detection limits for methyl parathion, malathion, profenofos and chlorpyrifos were 25, 50, 25 and 25 $\mu\text{g/l}$, respectively. Profenofos was detected in twenty-seven agricultured drain water samples at the average level of $0.44 \pm 0.07 \mu\text{g/ml}$ during the crop application period. The chemical structure of profenofos was also confirmed with mass spectral data analysis.

ภาควิชา INTER - DEPARTMENT

สาขาวิชา ENVIRONMENTAL SCIENCE

ปีการศึกษา 1996

ลายมือชื่อนิสิต 

ลายมือชื่ออาจารย์ที่ปรึกษา วณิดา จินสวัสดิ์

ลายมือชื่ออาจารย์ที่ปรึกษาร่วม -

ACKNOWLEDGEMENTS

The author wishes to express her deepest gratitude to her advisor, Assistant Professor Dr. Wanida Jinsart, for her kindness, guidance and assistance. Also, she is grateful to Assistant Professor Dr. Kumthorn Thirakhupt and Assistant Professor Dr. Charanai Panichajakul and Assistant Professor Dr. Somchai Pengpreecha for kindly accepting to be her thesis committees.

Sincere acknowledgements is due to Scientific and Technological Research Equipment centre (STREC), Chulalongkorn University for the facilities in using of chromatographic instruments.

The author would like to express Environment for Better Life Foundation of TPI group for providing her a master of science studies and research scholarship. She is also grateful to the Graduate School, Chulalongkorn University for the financial support.

The author wishes to appreciate Mr. Peter Arnold, Technical officer at Chemical Analysis Service Center, Hertfordshire University, UK for confirmation the pesticide chemical structures by MS data. Special thanks to Ciba-Geigy (Thailand), Bayer (Thailand) and Veterinary Medical Aquatic Animal Research Center, Faculty of Veterinary Science, Chulalongkorn University for supporting profenofos, methamidophos and methyl parathion standard pesticides. She also wishes to express her gratitude to all of her friends for their enormous assistance.

Finally, the author is greatly indebted and deeply grateful to her parents and family members for their encouragement and understanding throughout the entire course of study.

Contents

	Page
Thai Abstract	iv
English Abstract	v
Acknowledgements	vi
List of Tables	viii
List of Figures	ix
Chapter	
1. Introduction	
1.1 Problem definition	1
1.2 Hypothesis	4
1.3 The Purpose of the study	5
1.4 Anticipated Benefits	5
2. Literature Review	6
2.1 Principal type of organophosphorus pesticides	6
2.2 Mechanism of action	11
2.3 Detoxification	13
2.4 Toxicity	15
2.5 Introduction to HPLC	16
2.6 Solid-phase extraction (SPE)	24
2.7 Literature Review SPE technique	29
3. Materials and Methods	
3.1 SPE Optimum conditions.....	32
3.2 Analysis and Detection of OPs in water samples	38
4. Result and Discussion	
4.1 SPE Optimum conditions	40
4.2 Method detection limit	50
4.3 Analysis of OPs in water samples.....	51
4.4 Mass spectral analysis	54
4.5 Comparative method	60
5. Conclusion and Recommendation	62
References	64
Appendix -A The result of optimum condition.....	68
Appendix -B Characteristic of the four OPs pesticides.....	78
Appendix -C Glossary of terms.....	86
Biography	89

List of Table

Table		Page
1.1	Quantity of imported pesticides into Thailand in 1994	3
2.1	Rat oral toxicity of organophosphorus insecticides	15
2.2	Specification of two variable wavelength detectors	20
2.3	Summary of characteristics of normal and reverse phase chromatography	22
3.1	The protocol various SPE parameters	36
4.1	The optimum SPE analysis conditions for determination each OPs in aqueous solutions	41
4.2	The method of detection limit of each OPs	50
4.3	Contents of profenofos insecticides in real water samples	54
4.4	Characteristics Mass Ions of profenofos in real water sample I	55

List of Figures

Figure	Page
1.1 Environmental distribution and intercompartmental transfer of pesticides	1
2.1 Compares the chemical structure of six subclasses of OPs	7
2.2 The chemical structure of aliphatic derivatives	9
2.3 The chemical structure of phenyl derivatives.....	10
2.4 The chemical structure of heterocyclic derivatives.....	11
2.5 Acetylcholine- acetylcholinesterase interaction in a synapse or a neuromuscular junction.....	13
2.6 Hydrolase catalyzed degradation of methyl parathion and methyl paraoxon.....	14
2.7 Block diagram of high performance liquid chromatography system.....	19
2.8 Choice of an HPLC mode.....	23
2.9 Typical cartridge for SPE.....	24
2.10 Preparation of bonded phase . Reaction of silica with substituted chlorosilanes to form (I) monomeric (II) polymeric bonded phases	26
2.11 Structure of an ODS (C ₁₈) surface	27
3.1 Chemical structure of four selected pesticides	32
3.2 The HPLC system in the experiment	33
3.3 The general system of SPE	34
3.4 The full system of SPE using in the experiments	35
3.5 (a) sampling site locations (b) vegetable farm.....	39
4.1 The effect of sorbent mass on the percent recovery for each OPs in mixture solutions	42
4.2 The effect of volume of mixture solutions on the percent recovery for each OPs using 100 mg SPE cartridge	43
4.3 The effect of volume of mixture solutions on the percent recovery for each OPs using 500 mg SPE cartridge	44
4.4 The effect of ratio of elution solvents (MeOH/H ₂ O) on the percent recovery for each OPs in mixture solutions	45
4.5 The effect of ratio of elution solvents (ACN/H ₂ O) on the percent recovery for each OPs in mixture solutions	46
4.6 The effect of volume of elution solvent on the percent recovery for each OPs in mixture solutions	47

4.7	The effect of pressure of SPE vacuum pump on the percent recovery for each OPs in mixture solution	48
4.8	Standard calibration curves for the four OPs	49
4.9	HPLC chromatograms obtained by injecting a mixed working standard solution	52
4.10	HPLC chromatogram of extracting water samples from vegetable farm (a) farm I (b) farm II	53
4.11	Mass spectrum of water extracted from farm I	56
4.12	Mass spectrum of water extracted from farm II	57
4.13	Mass spectrum of water extracted from farm IV	58
4.14	Mass spectrum of diethyl phthalate	59