

การใช้เทคนิคเรดิโออิมมูโนเอสเสย์ เพื่อวิเคราะห์การปนเปื้อนอะทราซีนในสิ่งแวดล้อม

วิไลวรรณ ตันจ้อย* นาฏนลิน ศาสตรี ประไพพิศ สุปรารภ
สำนักงานปรมาณูเพื่อสันติ โทรศัพท์ 0-2579-5230 ต่อ 5811 โทรสาร 0-2561-3013

บทคัดย่อ

การวิจัยนี้มีวัตถุประสงค์เพื่อพัฒนาชุดตรวจวิเคราะห์สารกำจัดวัชพืชอะทราซีนในน้ำด้วยหลักการของเทคนิคเรดิโออิมมูโนเอสเสย์ โดยใช้แอนติบอดีชนิดโพลีโคลนอลเคลือบบนหลอดทดลอง และใช้อนุพันธ์ของอะทราซีนติดฉลากด้วยสารรังสี คือ ไอโอดีน-125 เป็นตัวติดตามผลการเกิดปฏิกิริยา พบว่าวิธีที่พัฒนาขึ้นใช้เวลาในการเกิดปฏิกิริยานาน 2 ชั่วโมง มีความไวในการวิเคราะห์ 0.15 ppb ซึ่งต่ำกว่าค่าที่ยอมให้มีได้ในน้ำดื่ม คือ ไม่เกิน 3 ppb และมีความถูกต้องแม่นยำในการวิเคราะห์สูง จึงเหมาะที่จะนำมาใช้ในการตรวจคัดกรองการปนเปื้อนของอะทราซีนในแหล่งน้ำทั่วไป ทำให้การใช้น้ำเพื่อการอุปโภคและบริโภคของประชาชนมีความปลอดภัยมากขึ้น

คำสำคัญ: เรดิโออิมมูโนเอสเสย์ อะทราซีน แอนติบอดี

Radioimmunoassay of Atrazine in Environment

Vilaivan Tanjoy* Natnalin Sastri Prapaipit Suprarop

Office of Atoms for Peace Tel. 0-2579-5230 ext. 5811 Fax. 0-2561-3013

Abstract

The objective of this study was to develop a rapid and reliable solid-phase radioimmunoassay for the determination of atrazine in water. The tubes were first coated with sheep IgG anti atrazine (Guildhay,U.K.). The reaction was performed by incubating 2 hours a mixture of 100 μ l of water and 200 μ l of atrazine tracer in antibody coated tubes. After washing, the tubes were counted in gamma counter. The minimum detectable concentration was 0.15 ppb, which below the limits permitted by the USEPA guidelines for drinking water (3 ppb). This assay allows accurate determination of atrazine in water with good specificity, precision and accuracy, and is suitable for the rapid screening of numerous surface and subsurface water samples, as well as for a variety of other analytical application.

Keywords: radioimmunoassay, atrazine, antibody

บทนำ

อะทราซีน (Atrazine) เป็นสารกำจัดวัชพืชในกลุ่มไตรอะซีน (Triazine) ที่ประกอบด้วย atrazine simazine และ cyanazine ประเทศไทยมีการนำเข้าอะทราซีนมากเป็นอันดับสองของสารกำจัดวัชพืชรองจาก 2,4 D (2,4 dichlorophenoxyacetic acid) จากข้อมูลของกรมวิชาการเกษตร ระบุว่าในปี 2542 มีการนำเข้าอะทราซีนถึง 1,030,320 กิโลกรัม (สารออกฤทธิ์ 824,256 กิโลกรัม) คิดเป็นมูลค่า 128,943,011 บาท ส่วนมากนำมาใช้กำจัดวัชพืชในไร่ข้าวโพด อ้อย และข้าวฟ่าง อัตราการใช้เฉลี่ยประมาณ 500-1,000 กิโลกรัมต่อตารางกิโลเมตร ขึ้นกับชนิดของดิน และสภาวะแวดล้อมอื่นๆ จึงทำให้เกิดการตกค้างของสารออกฤทธิ์ในสิ่งแวดล้อม เช่น ดิน และแหล่งน้ำผิวดิน เช่น แม่น้ำ ทะเลสาบ ลำธาร รวมทั้งแหล่งน้ำใต้ดิน เช่น บ่อน้ำบาดาล ส่งผลให้เกิดความเสียหายต่อระบบนิเวศและประชาชนโดยตรง ดังนั้นในปี 1991 หน่วยงานด้านสิ่งแวดล้อมของสหรัฐอเมริกา ได้แก่ Environmental Protection Agency (EPA) และ Office of Water (OW) ได้ร่วมกันกำหนดเกณฑ์ความปลอดภัย (Maximum Contaminant Level ; MCL) ในน้ำดื่มต้องมีสารอะทราซีนไม่เกิน 3 ppb และน้ำใช้ไม่เกิน 2 ppm ในปี 1989 มีการพัฒนาเทคนิคอิมมูโนเอสเซย์ที่เรียกว่า ELISA มาใช้ในการวิเคราะห์อะทราซีน และ hydroxyatrazine ในดินและน้ำเป็นครั้งแรก เนื่องจากเป็นเทคนิคที่มีความสะดวก รวดเร็ว และราคาถูกกว่าเทคนิคทางเคมี จึงเหมาะที่จะนำมาใช้ในการตรวจแบบคัดกรองในเบื้องต้น (screening) เพื่อเป็นการติดตามและเฝ้าระวังการปนเปื้อนของอะทราซีนในสิ่งแวดล้อม

วัสดุอุปกรณ์และวิธีการทดลอง

วัสดุอุปกรณ์

- เครื่องแยกบริสุทธิ์โดยใช้ความดันสูง, HPLC
- เครื่องชั่งไฟฟ้า
- เครื่องวัดความเป็นกรด ต่าง
- เครื่องเหวี่ยงตะกอน
- ไมโครปิเปต
- เครื่องปั่นผสมสารในหลอดทดลอง
- เครื่องเก็บสารละลายแบบแยกส่วน
- เครื่องวัดรังสีแกมมา
- หลอดทดลอง (NUNC Tubes) ขนาด 12 x 75 มิลลิเมตร

วิธีการ

1. การเตรียมอนุพันธ์ของอะทราซีน

1.1 4,6 Dichloro-N- (1 methylethyl)-1,3,5 triazin-2-amine

ชั่ง โซยานูริก แอซิด 9.22 กรัม ละลายในอีเทอร์ที่ทำให้เย็นอุณหภูมิ -20 องศาเซลเซียส 400 มิลลิลิตร เติมน้ำตาลละลายของ ไอโซโพรพิลเอมีน 3.07 กรัม และ เอ็น เอ็น ไดไอโซโพรพิลเอทิลเอมีน 6.72 กรัม ในอีเทอร์ 50 มิลลิลิตร ผสมให้เข้ากันเป็นเวลา 45 นาที กรองด้วยกระดาษกรอง สารละลายที่ได้ นำมาล้างด้วยสารละลายต่างๆ ตามลำดับดังนี้ กรด 1 M HCl; 5% NaHCO₃ และ Saturated NaCl อย่างละ 25 มิลลิลิตร ทำให้แห้งโดยเติม Na₂SO₄ นำไประเหยอีเทอร์ออกโดยใช้เครื่องระเหยแบบลดความดัน จะได้สารสีเหลืองอ่อน นำไปทดสอบคุณสมบัติด้วย TLC (THF:ethyl acetate:hexane อัตราส่วน 2:13:35)

1.2 6-{{4-chloro-6-[(1-methylethyl) amino]-1,3,5-triazin-2-y} amini} hexanoic acid

ชั่ง 6-อะมิโนเฮกซาโนอิก แอซิด 2.62 กรัม; 4,6 Dichloro-N- (1 methylethyl)-1,3,5 triazin-2-amine 4.13 กรัม และ เอ็น เอ็น ไดไอโซโพรพิลเอมีน 2.02 กรัม ละลายในเอทานอล 30 มิลลิลิตร ผสมให้เข้ากันและให้ความร้อน 60-67 องศาเซลเซียส นาน 9 ชั่วโมง และระเหยแอลกอฮอล์ออก โดยใช้เครื่องระเหยแบบลดความดัน จากนั้นละลายสารที่ได้ด้วย 5% NaHCO₃ 75 มิลลิลิตร ล้าง 2 ครั้งด้วย CH₂Cl₂ 20 มิลลิลิตร นำชั้นน้ำมาทำให้เป็นกรด ที่ pH 1 ด้วย กรด HCl เข้มข้น จะได้ผลึกสารที่ต้องการ ทดสอบคุณสมบัติด้วย TLC (THF-ethyl acetate-hexane 2:13:35)

2. การเตรียมสารติดฉลาก

2.1 การติดฉลากฮีสตามีน ปิเปตสารละลายฮีสตามีน 10 ไมโครลิตร ใส่ลงในหลอดพลาสติกเติม Na¹²⁵I 10 ไมโครลิตร (1 mCi) ผสมให้เข้ากัน เติมน้ำตาลละลายคลอรามีน-ที 10 ไมโครลิตร ปั่นผสม 20 วินาที เติมน้ำตาลละลายโซเดียมเมตาไบซัลไฟต์ 10 ไมโครลิตร ปั่นผสม แช่ไว้ในน้ำแข็ง

2.2 การเชื่อมโมเลกุลของอะทราซีนกับฮีสตามีน นำสารละลายอนุพันธ์ของอะทราซีน (6-{{4-chloro-6-[(1-methylethyl) amino]-1,3,5-triazin-2-y} amini} hexanoic acid) 50 ไมโครลิตร เติมน เอ็น-เมทิลมอร์โฟลีนในไดออกเซน 10 ไมโครลิตร และไอโซบิวทิลคลอโรฟอร์เมตในไดออกเซน 10 ไมโครลิตร ผสมให้เข้ากัน แช่ในน้ำเย็นที่อุณหภูมิประมาณ 10-12 องศาเซลเซียส นาน 45 นาที เติมน้ำไดออกเซน 200 ไมโครลิตร ผสมให้เข้ากัน ปิเปตสารละลายข้างต้น 50 ไมโครลิตร ใส่ลงในสารละลายฮีสตามีนติดฉลากด้วย ¹²⁵I ในข้อ 2.1 เติมน้ำโซเดียมไฮดรอกไซด์ 0.2 โมลาร์ 10 ไมโครลิตร ผสมให้เข้ากัน แช่ค้างคืนที่อุณหภูมิประมาณ 5-10 องศาเซลเซียส เติมน้ำไฮโดรคลอริก 0.1 โมลาร์ 1 มิลลิลิตร

2.3 การแยกบริสุทธิ์สารติดฉลาก นำสารละลายข้อ 2.2 ฉีดเข้าเครื่อง HPLC ที่มีคอลัมน์ชนิด Novapak C18 ขนาด 3.9 x 150 มิลลิเมตร และมีหัววัดรังสีแกมมา เป็น detector โดยมี acetonitrile และ 0.05 M sodium acetate pH 4.0 เป็น mobile phase

3. การเตรียมสารมาตรฐาน

ละลายสารมาตรฐานอะทราซีน จำนวน 5 มิลลิกรัม ด้วยเอทานอล 50 มิลลิตร จะได้สารมาตรฐานอะทราซีน ความเข้มข้น 100 ppm นำมาเจือจางด้วยบัฟเฟอร์ให้ได้สารมาตรฐานอะทราซีน ที่มีความเข้มข้น 0.5, 1, 5, 10, 50 และ 100 ppb เพื่อนำไปใช้งานต่อไป

4. การเตรียมแอนติบอดีเคลือบบนหลอดทดลอง

เจือจางแอนติบอดี จำนวน 12.5 ไมโครลิตร ด้วย coating buffer และปรับปริมาตรเป็น 50 มิลลิตร โดยใช้ขวดปรับปริมาตร ผสมให้เข้ากัน ปิเปตลงในหลอดพลาสติกชนิด NUNC Tube หลอดละ 300 ไมโครลิตร ทิ้งไว้ค้างคืนที่อุณหภูมิ 4 องศาเซลเซียส เทสารละลายทิ้ง เติมสารละลายสำหรับล้าง หลอดละ 500 ไมโครลิตร เทสารละลายทิ้ง และล้างซ้ำอีกครั้ง เก็บหลอดทดลองที่อุณหภูมิ 4 องศาเซลเซียส จนกระทั่งใช้งาน

5. พัฒนาวิธีการตรวจวิเคราะห์อะทราซีนในน้ำ

5.1 การหาสภาวะที่เหมาะสมในการตรวจวิเคราะห์

5.1.1 ปริมาณแอนติบอดี ละลายแอนติบอดีด้วย coating buffer ที่ อัตราส่วน 1:2000, 1:4000, 1:5000 และ 1:8000 เติมสารละลายแอนติบอดีลงในหลอด Nunc Star หลอดละ 300 ไมโครลิตร ล้าง 2 ครั้ง นำมาเติมสารมาตรฐาน 100 ไมโครลิตร และสารติดฉลาก 200 ไมโครลิตร บ่มปฏิกิริยาที่อุณหภูมิห้อง นาน 2 ชั่วโมง เทสารละลายทิ้ง และล้าง 2 ครั้ง ไปวัดความแรงรังสี ด้วยเครื่องวัดรังสีแกมมา นาน 1 นาที เปรียบเทียบผลที่ได้

5.1.2 ปริมาณสารตัวอย่าง เติมสารมาตรฐานอะทราซีน และสารควบคุมคุณภาพ 3 ระดับ (สูง กลาง ต่ำ) ลงใน coated tubes 3 ชุด ตามปริมาตรดังนี้ 25, 50 และ 100 ไมโครลิตร เติมสารติดฉลาก 200 ไมโครลิตร บ่มปฏิกิริยาค้างคืนที่อุณหภูมิ 4 องศาเซลเซียส จากนั้นเทสารละลายทิ้ง และล้าง 2 ครั้ง นำไปวัดความแรงรังสี ด้วยเครื่องวัดรังสีแกมมา นาน 1 นาที เปรียบเทียบผลที่ได้ และเลือกปริมาณสารที่เหมาะสมสำหรับการศึกษาต่อไป

5.1.3 ระยะเวลาในการบ่มปฏิกิริยา เติมสารมาตรฐานอะทราซีน และสารควบคุมคุณภาพ 100 ไมโครลิตร และสารติดฉลาก 200 ไมโครลิตร ลงใน coated tube 5 ชุด แต่ละชุดนำไปบ่มปฏิกิริยาที่อุณหภูมิ 4 องศาเซลเซียส นาน 1, 2, 3, 4 ชั่วโมง และค้างคืน (มากกว่า 12 ชั่วโมง) หลังจากแยกสารละลายทิ้ง นำหลอดทดลองไปวัดความแรงรังสี เปรียบเทียบผลที่ได้

5.1.4 อุณหภูมิในการบ่มปฏิกิริยา เติมสารมาตรฐานอะทราซีน และสารควบคุมคุณภาพ 100 ไมโครลิตร และสารติดฉลาก 200 ไมโครลิตร ลงใน coated tube 3 ชุด แต่ละชุดนำไป

บ่มปฏิบัติการเป็นเวลา 2 ชั่วโมง ที่อุณหภูมิ 4, 25 และ 37 องศาเซลเซียส เทสารละลายทิ้ง และล้าง 2 ครั้ง นำไปวัดความแรงรังสี ด้วยเครื่องวัดรังสีแกมมา นาน 1 นาที เปรียบเทียบผลที่ได้

5.1.5 ความแรงรังสีของสารติดฉลาก เติมสารมาตรฐานอะทราซีนและสารควบคุมคุณภาพ 100 ไมโครลิตร ในหลอดทดลอง 4 ชุด แต่ละชุดเติมสารติดฉลาก ที่มีความแรงรังสี 10000, 20000, 30000 และ 40000 CPM ต่อ 200 ไมโครลิตร นำไปบ่มปฏิบัติการที่อุณหภูมิห้อง เป็นเวลา 2 ชั่วโมง หลังจากล้าง 2 ครั้ง นำหลอดทดลองไปวัดความแรงรังสี เปรียบเทียบผลที่ได้

5.2 การประเมินผลการวิเคราะห์

5.2.1 ความไวในการวิเคราะห์ โดยวิเคราะห์สารมาตรฐานความเข้มข้น 0 ppb จำนวน 20 ครั้ง คำนวณค่าเฉลี่ย และค่าเบี่ยงเบนมาตรฐาน ของค่าความแรงรังสีที่วัดได้ทั้ง 20 ค่า ความไวของการวิเคราะห์หาได้จาก ความเข้มข้นของค่าความแรงรังสีเฉลี่ย บวกด้วย 2 เท่า ของค่าเบี่ยงเบนมาตรฐาน

5.2.2 ความถูกต้อง โดยใช้ตัวอย่างน้ำที่ทราบค่าความเข้มข้นของอะทราซีน นำมาเติมสารมาตรฐานความเข้มข้นที่ระบุไว้ จากนั้นนำตัวอย่างไปวิเคราะห์หาปริมาณอะทราซีน คำนวณค่า % recovery

5.2.3 ความแม่นยำ

- Intra-assay precision หาได้จากค่าสัมประสิทธิ์ความแปรปรวน (%CV) ของการวิเคราะห์ปริมาณอะทราซีนของสารควบคุมคุณภาพ 3 ระดับ คือระดับ สูง กลาง และต่ำ จำนวน 20 ค่า โดยการวิเคราะห์ครั้งเดียว

- Inter-assay precision ทำโดยการวิเคราะห์สารควบคุมคุณภาพ ทั้ง 3 ระดับ จำนวน 20 ครั้ง โดยแต่ละครั้งทำการวิเคราะห์ที่เวลาต่างกัน คำนวณค่า %CV

5.2.4 Parallelism test โดยการนำตัวอย่างน้ำที่มีปริมาณอะทราซีนสูง มาเจือจางให้มีความเข้มข้นต่างๆ ด้วยเอสเสย์บัฟเฟอร์ แล้วนำมาวิเคราะห์ปริมาณอะทราซีน นำค่าที่ได้มาเขียนกราฟ และหาความสัมพันธ์ระหว่างค่าที่ได้ กับค่าจากการคำนวณ

5.2.5 Cross reactivity โดยนำสารกำจัดวัชพืชที่มีสูตรโครงสร้างใกล้เคียงกับอะทราซีนมาเจือจางให้มีความเข้มข้นต่างๆ ด้วยเอสเสย์บัฟเฟอร์ แล้วนำมาวิเคราะห์ด้วยชุดน้ำยาที่พัฒนาขึ้น คำนวณค่า cross reactivity

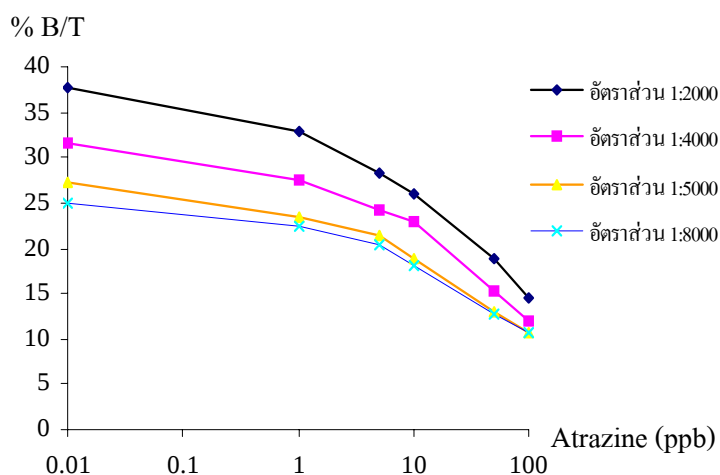
5.2.6 การศึกษาความคงตัว เตรียมแอนติบอดีเคลือบในหลอดทดลอง เก็บในอุณหภูมิต่ำที่อุณหภูมิ 4 องศาเซลเซียส นำมาวิเคราะห์ทุกสัปดาห์

ผลการทดลอง

1. การเตรียมสารติดฉลาก จากการทดลอง ได้ผลของการติดฉลาก ประมาณ 70-75%

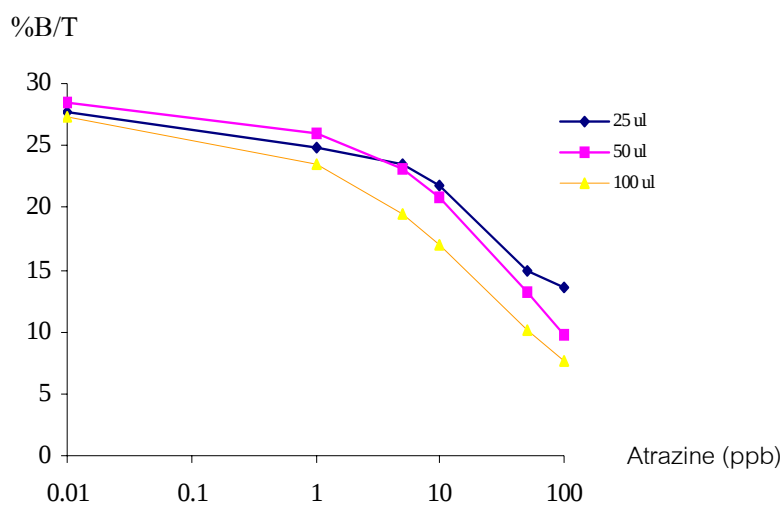
2. การหาสถานะที่เหมาะสมในการตรวจวิเคราะห์

2.1 ปริมาณแอนติบอดี จากการทดลอง (รูปที่ 1) พบว่าแอนติบอดีที่อัตราส่วน 1:4000 ให้ค่า binding ดีกว่า เมื่อเทียบกับอัตราส่วน 1:5000 และ 1:8000 ส่วนที่อัตราส่วน 1:2000 ถึงจะให้ค่า binding สูงกว่า แต่ใช้ปริมาณแอนติบอดีมาก ทำให้สิ้นเปลือง



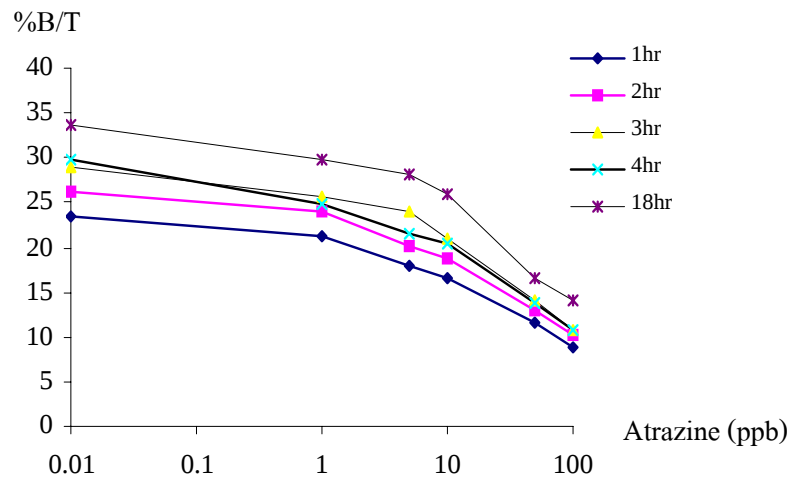
รูปที่ 1 กราฟมาตรฐานจากการใช้แอนติบอดีที่อัตราส่วนต่างๆ

2.2 ปริมาณสารตัวอย่าง จากการทดลอง (รูปที่ 2) พบว่าปริมาณสารตัวอย่าง 100 ไมโครลิตร เหมาะสมที่สุด เนื่องจากค่าความแตกต่างระหว่าง สารมาตรฐาน 0 และ 1 ppb มากที่สุด คือ 14 % ถึงแม้ว่าจะมีค่า maximum binding ต่ำกว่าเล็กน้อย



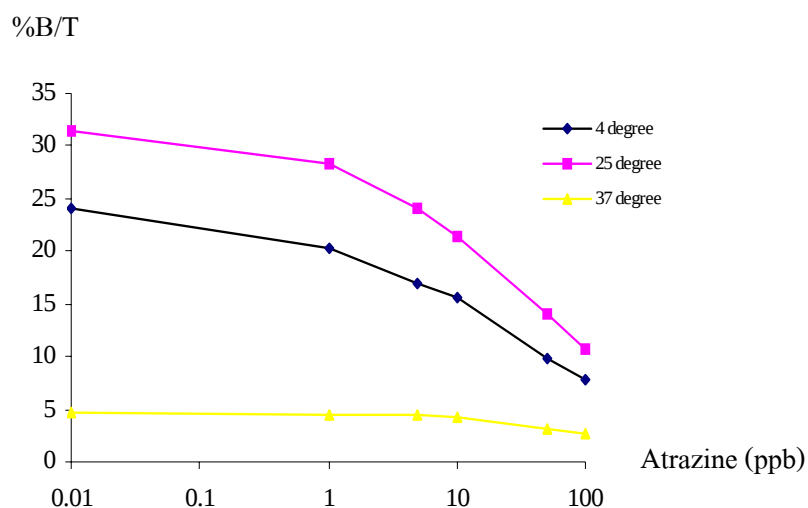
รูปที่ 2 กราฟมาตรฐานจากการใช้สารตัวอย่างปริมาณ 25, 50 และ 100 ไมโครลิตร

2.3 ระยะเวลาในการบ่มปฏิกิริยา จากการทดลอง (รูปที่ 3) พบว่าระยะเวลาที่เหมาะสมในการบ่มปฏิกิริยา คือ 2 ชั่วโมง เนื่องจากให้ค่า binding ใกล้เคียงกับการบ่มปฏิกิริยาค้างคืน แต่ใช้เวลาสั้นมากกว่า ทำให้การทดลองเสร็จภายใน 1 วัน และสามารถรายงานผลการตรวจวิเคราะห์ได้รวดเร็วกว่า



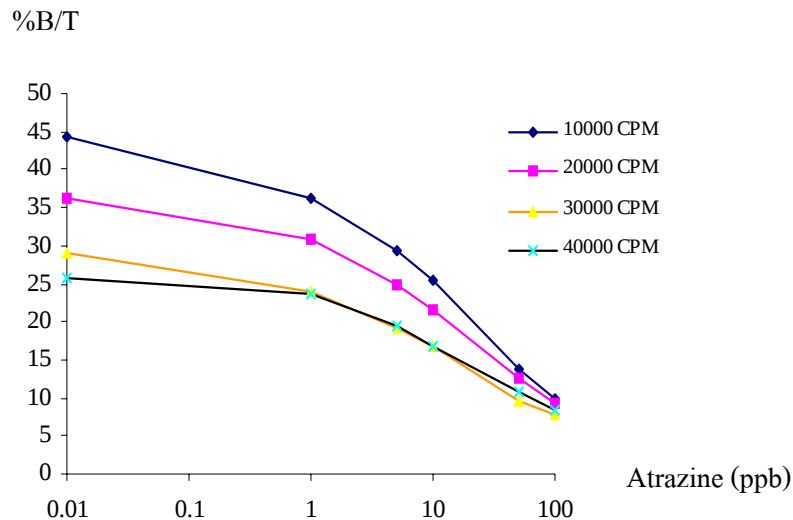
รูปที่ 3 กราฟมาตรฐานจากการบ่มปฏิกิริยาที่เวลาต่างๆกัน

2.4 อุณหภูมิในการบ่มปฏิกิริยา จากการทดลอง (รูปที่ 4) พบว่าอุณหภูมิที่เหมาะสม คือ 25 องศาเซลเซียส หรืออุณหภูมิห้อง เนื่องจากให้ค่า binding สูงที่สุด และสะดวกต่อการทำงาน ไม่จำเป็นต้องใช้เครื่องมือในการควบคุมอุณหภูมิ



รูปที่ 4 กราฟมาตรฐานจากการบ่มปฏิกิริยาที่อุณหภูมิต่างๆกัน

2.5 ความแรงรังสีของสารติดฉลาก จากการทดลอง (รูปที่ 5) พบว่าความแรงรังสี 10,000 cpm เหมาะสมที่สุด เนื่องจากให้ค่า binding สูงที่สุด และใช้ปริมาณสารติดฉลากน้อย ทำให้ไม่สิ้นเปลือง และมีความปลอดภัยในการปฏิบัติงานมากกว่า



รูปที่ 5 กราฟมาตรฐานจากการใช้สารติดฉลากที่มีความแรงรังสีต่างกัน

2.6 วิธีการตรวจวิเคราะห์ จากการทดลองพบว่าสถานะที่เหมาะสมที่ใช้ในการวิเคราะห์ ปริมาณอะทราซีนในน้ำ แสดงในตารางที่ 1

ตารางที่ 1 Typical assay protocol

Specimen	Anti atrazine coated tubes						Samples	Total
	S1	S2	S3	S4	S5	S6		
Standard 0	100	-	-	-	-	-	-	-
Standard 1	-	100	-	-	-	-	-	-
Standard 5	-	-	100	-	-	-	-	-
Standard 10	-	-	-	100	-	-	-	-
Standard 50	-	-	-	-	100	-	-	-
Standard 100	-	-	-	-	-	100	-	-
Water Samples	-	-	-	-	-	-	100	-
Tracer	200	200	200	200	200	200	200	200

Incubate the tubes for 2 hrs. at room temperature. Decant/wash twice with 0.5 ml washing solution. Count 1 min in gamma counter.

3. การประเมินผลการวิเคราะห์

3.1 ความไวของการวิเคราะห์ จากการทดสอบกับสารมาตรฐานความเข้มข้น 0 ppb พบว่ามีค่าความไว เท่ากับ 0.15 ppb

3.2 ความถูกต้องของการวิเคราะห์ พบว่าได้ค่า % recovery เฉลี่ยร้อยละ 105.85

3.3 ความแม่นยำของการวิเคราะห์ พบว่าทั้ง Intra assay และ Inter assay precision ของสารควบคุมคุณภาพ ทั้ง 3 ระดับ มีค่า %C.V. น้อยกว่า 10% โดย Intra assay precision มีค่า %C.V. 3.88-6.52 และ Inter assay precision มีค่า %C.V. 5.36-7.52

3.4 Parallelism test จากการวิเคราะห์ตัวอย่างน้ำ ที่นำมาเจือจางในอัตราส่วนต่างๆ กัน และเขียนกราฟเปรียบเทียบกับค่าที่วิเคราะห์ได้และค่าที่ได้จากการคำนวณ พบว่ากราฟที่ได้มีค่าสัมประสิทธิ์สหสัมพันธ์ 0.9934 แสดงว่าการเจือจางไม่มีผลต่อการวิเคราะห์

3.5 Cross reactivity จากการทดลองพบว่า ค่า % Cross reactivity ของสารต่างๆ ที่มีสูตรโครงสร้างใกล้เคียงกับอะทราซีนมีค่าน้อยมาก โดย simazine และ propazine มีผลต่อการวิเคราะห์อะทราซีนมากที่สุด แต่เนื่องจากสารทั้ง 2 ชนิดนี้ ไม่มีการนำเข้ามาใช้ในประเทศ ดังนั้นจึงไม่ส่งผลให้การวิเคราะห์อะทราซีนได้ค่าที่ผิดไปจากที่ควรจะเป็น

3.6 การศึกษาความคงตัว พบว่าหลอดทดลองที่เคลือบแอนติบอดีแล้ว สามารถเก็บไว้ใช้งานได้มากกว่า 3 เดือน ที่อุณหภูมิ 4 องศาเซลเซียส โดยไม่มีผลต่อค่าที่วิเคราะห์ได้

สรุปผลการทดลอง

เทคนิคที่ใช้ในการวิเคราะห์หาปริมาณอะทราซีน ในตัวอย่างน้ำ ที่ใช้ในงานวิจัยนี้ ได้แก่ เทคนิคเรดิโออิมมูโนเอสเซย์ (Radioimmunoassay ; RIA) โดยใช้สารอนุพันธ์ของอะทราซีนติดฉลากด้วยไอโอดีน¹²⁵ เป็นตัวติดตามผลการเกิดปฏิกิริยา และใช้โพลีไคนอลแอนติบอดีเคลือบบนหลอดทดลองเป็นตัวช่วยแยกปฏิกิริยา ทั้งนี้โมเลกุลของอะทราซีนในตัวอย่างและอะทราซีนติดฉลากจะแย่งจับกับแอนติบอดีในเวลาที่เหมาะสม คือ 2 ชั่วโมง

ชุดตรวจวิเคราะห์อะทราซีนที่พัฒนาขึ้น สามารถวิเคราะห์อะทราซีนในน้ำ ได้ตั้งแต่ 0-100 ppb โดยมีความไวในการวิเคราะห์ประมาณ 0.15 ppb ซึ่งมีค่าต่ำกว่าค่าที่ยอมให้มีได้ตามมาตรฐานสากล คือในน้ำดื่มไม่เกิน 3 ppb และในน้ำใช้ทั่วไป 2 ppm ดังนั้นจึงเหมาะที่จะนำไปใช้ในการตรวจคัดกรองเบื้องต้น ตามแหล่งน้ำธรรมชาติในบริเวณที่มีการใช้สารนี้กันอย่างแพร่หลาย เพื่อประเมินความปลอดภัยเบื้องต้น หากพบว่ามีค่าสูงเกินระดับที่ปลอดภัย จะนำมาตรวจยืนยันผลด้วยวิธีอื่นๆ เช่น GC/MS หรือ HPLC ต่อไป และเนื่องจากวิธีที่พัฒนาขึ้น สามารถวิเคราะห์ตัวอย่างได้ครั้งละหลายๆ โดยไม่ต้องมีการเตรียมตัวอย่างที่ยุ่งยากเหมือนวิธีทางเคมีอื่นๆ จึงทำให้ประหยัดทั้งเวลาและค่าใช้จ่ายหากมีการนำไปใช้โดยหน่วยงานด้านสิ่งแวดล้อมก็จะเป็นประโยชน์ต่อ

ประชาชนโดยตรง ที่จะเพิ่มความมั่นใจในการดื่มและใช้น้ำในแหล่งต่างๆได้มากขึ้น และจะมีการขยายผลการใช้ประโยชน์ของชุดน้ำยาดังกล่าวให้มากขึ้นโดยนำไปวิเคราะห์อะทราซีนในตัวอย่างดิน และแหล่งอาหารอื่นๆ เช่น ผัก ผลไม้ และน้ำมันโค เป็นต้น นอกจากนี้ยังสามารถนำเทคนิคนี้ไปประยุกต์ใช้กับสารกำจัดวัชพืชหรือสารกำจัดแมลงชนิดอื่นๆได้ เนื่องจากมีหลักการในการวิเคราะห์เหมือนกัน

เอกสารอ้างอิง

1. EPA Method : Triazine Herbicides as Atrazine in Water by Quantitative Immunoassay. CD-ROM 4670, Revision 0 January 1998. <http://www.epa.gov>.
2. Harrison, R.O, Goodrow,M.H., Hammock, B.D., 1991. Competitive Inhibition ELISA for the s-triazine herbicides : Assay Optimization and Antibody Characterization. J. Agric Food Chem. 39,122-128.
3. Hayes,M., Jourdan, S., Herzog,D., 1996. Determination of Atrazine in Water by Magnetic Particle Immunoassay : Collaborative Study. Journal of AOAC International. 79, 529-537.
4. Huber,J., 1985. Improved Solid-Phase Enzyme Immunoassay System in the ppt Range for Atrazine in Fresh Water. Chemosphere. 14, 1795-1803.
5. Jungbluth, F. , 1997. Analysis of Crop Protection Policy in Thailand. TDRI Quarterly Review. 12, 16-23.
6. Langone,J.,Vunakis,H.,1975. Radioimmunoassay for Dieldrin and Aldrin. Res, Common. Chem.Pathol.Pharmacol. 10,163-171.
7. Schlaeppli,J.M.,Werner,F.,Ramsteiner,K.,1989. Hydroxyatrazine and Atrazine Determination in Soil and Water by Enzyme- Linked Immunosorbent assay Using Specific Monoclonal Antibodies. J.Agric.Food Chem. 37, 1532-1538.
8. Stearman, G.K.,1993. Enzyme Immunoassay Determination of Atrazine Degradation in Soil : Moisture, Sterilization, and Storage Effects. Journal of Soil Contamination. 2, 131-140.
9. Steinheimer, T. ,1993. HPLC Determination of Atrazine and Principal Degradations in Agricultural Soils and Associated Surface and ground water. J. Agric Food Chem. 41, 588-595.