บทคัดย่อ

T 151491

การวิเคราะห์โมโนโครโตฟอสโดยตรึงเอนไซม์อะซิติลโคลีนเอสเทอเรสบนเม็ดแก้ว (controlled pore glass) ในระบบ FIA โดยให้เอนไซม์อะซิติลโคลีนเอสเทอเรสไฮโดรไลซ์อะซิติลโคลีนคลอไรด์เป็นโคลีนและกรดอะซิติก ซึ่งกรดอะซิติกจะทำให้สีของ m-cresol purple เกิดการเปลี่ยนแปลงและทำการวัดค่าการดูดกลืนแสงด้วยเครื่องยูวี-วิสิเบิล สเปกโทรโฟโตมิเตอร์ ที่ความยาวคลื่น 436 nm ในการตรวจวัดโมโนโครโตฟอสใช้วิธีการยับยั้งการทำงานของเอนไซม์ทำให้เกิดกรดอะซิติกน้อยลง โดยกำหนดให้อะซิติลโคลีนคลอไรด์มีความเข้มข้นคงที่ นอกจากนี้ยังสามารถทำให้เอนไซม์กลับมาทำงานได้อีก โดยสาร 2-pyrimidine aldoxime methiodide (2-PAM) จากการศึกษาพบว่าสภาวะที่ใช้ในการวิเคราะห์ คือ 10 mM ฟอสเฟตบัฟเฟอร์ pH 8.0 และ 2.5×10^{-4} M m-cresol purple กำหนดให้อัตราการไหลเท่ากับ 0.33 mL/min ส่วนที่เกิดการผสมยาว 1.0 m ปริมาณของอะซิติลโคลีนคลอไรด์ โมโนโครโตฟอส และ 2-PAM เท่ากับ 450 µL ช่วงความเป็นเส้นตรงของการวิเคราะห์โมโนโครโตฟอสเท่ากับ 8.96×10^{-5}-8.96×10^{-4} M (r^2=0.9693) โดยใช้ 5 mM อะซิติลโคลีนคลอไรด์ ส่วนเบี่ยงเบนมาตรฐานสัมพัทธ์เท่ากับ 1.1% (n=10) ขีดจำกัดในการตรวจวัดโมโนโครโตฟอสเท่ากับ 9.84×10^{-5} M ระยะเวลาในการตอบสนองต่อการวิเคราะห์ 5 mM อะซิติลโคลีนคลอไรด์ คือ 10.85 นาที และสามารถนำเอนไซม์ตรึงกลับมาทำงานใหม่ได้โดยใช้ 6 mM 2-PAM ปริมาณ 450 µL

Flow injection method is developed for the determination of monocrotophos. They are based on immobilized acetylcholinesterase on controlled pore glass. The acetic acid and choline are generated by the reaction of the substrate acetylcholine chloride with acetylcholinesterase. The color changed of m-cresol purple due to the presence of acetic acid was measured spectrophotometrically at 436 nm. The determination of monocrotophos were carried out by inhibition of enzyme which decreasing of acetic acid at a fixed acetylcholine chloride concentration. The immobilized enzyme can be regenerated by 2-pyrimidine aldoxime methiodide (2-PAM). In this study an optimized conditions for determination of monocrotophos were 10 mM phosphate buffer pH 8.0, 2.5×10^{-4} M m-cresol purple, flow rate 0.33 mL/min, 1.0 m mixing coil and sample size 450 µL. The linear calibration range is from 8.96×10^{-5} to 8.96×10^{-4} M monocrotophos (r^2=0.9693) with a R.S.D. of 1.1% (n=10) at 5 mM acetylcholine chloride. The quantitative detection limit calculated at 3σ is 8.94×10^{-5} M monocrotophos. The response time of 5 mM acetylcholine chloride is 10.85 min/sample. A 6 mM 2-PAM at 450 µL is need to regenerated immobilized enzyme.