

รายงานผลงานเรื่องเติมการทดลองที่สิ้นสุด

1. **ชุดโครงการวิจัย :** วิจัยและพัฒนาระบบการตรวจสอบวิเคราะห์ปัจจัยการผลิตทางการเกษตรตามมาตรฐานสากล
2. **โครงการวิจัยกิจกรรม :** วิจัยและพัฒนาระบบการตรวจวิเคราะห์สารพิษตกค้างของสารป้องกันกำจัดศัตรูพืช
กิจกรรม : การตรวจสอบความใช้ได้ของวิธีวิเคราะห์เพื่อรับรองมาตรฐานห้องปฏิบัติการ
กิจกรรมย่อย (ถ้ามี) : -
3. **ชื่อการทดลอง (ภาษาไทย) :** การตรวจวิเคราะห์สารพิษตกค้างกลุ่มออร์กาโนฟอสเฟต ออร์กาโนคลอรีน ไพรีทรอยด์ คาร์บาเมท และสารป้องกันกำจัดโรคพืช ด้วยวิธีการ QuEChERS ในพืชที่มีปริมาณน้ำและคลอโรฟิลล์สูง โดยใช้เทคนิคโครมาโทกราฟีแมสสเปกโตรเมตรีของห้องปฏิบัติการสวพ.2

ชื่อการทดลอง (ภาษาอังกฤษ) : Detection of Organophosphates Organochlorines Pyrethroids Carbamates and Fungicides Pesticide Residues by QuEChERS to Chromatography coupled with Mass Spectrometer in High Water and Chlorophyll Vegetables

รหัสการทดลอง 03-06-59-03-03-00-11-61

4. คณะผู้ดำเนินงาน

หัวหน้าการทดลอง	นางพรศิริ สายะพันธ์	สังกัด	สวพ.2
ผู้ร่วมงาน	นายวิษณุ แจ้งใบ	สังกัด	สวพ.2
	นางสาวสุธินี สาสีลัง	สังกัด	สวพ.2
	นางเบญจมาศ ใจแก้ว	สังกัด	สวพ.2
	นางสาวบังอร แสนคาน	สังกัด	สวพ.2

5. บทคัดย่อ

การสกัดสารพิษตกค้างกลุ่มออร์แกโนฟอสฟอรัส ออร์กาโนคลอรีน ไพรีทรอยด์ คาร์บาเมท และสารป้องกันกำจัดโรคพืช มีจำนวนสารทั้งหมด 28 ชนิด ในตัวอย่างพืชที่มีปริมาณน้ำและคลอโรฟิลล์สูง โดยใช้เทคนิคการเตรียมตัวอย่างที่พัฒนามาจาก QuEChERS ร่วมด้วยเทคนิคโครมาโทกราฟีแมสสเปกโตรเมตรี มีการศึกษาพารามิเตอร์ต่างๆ ที่ผลต่อประสิทธิภาพการสกัดด้วยเทคนิคการเตรียมตัวอย่างแบบ QuEChERS เช่น ชนิดและปริมาณตัวทำละลายอินทรีย์ที่เป็นตัวสกัด, ชนิดและปริมาณสารสกัดและการทำความสะอาดตัวอย่าง เป็นต้น สภาวะที่เหมาะสมสำหรับการเตรียมตัวอย่างพืชที่มีปริมาณน้ำและคลอโรฟิลล์สูง คือ ใช้ acetonitrile 10 มิลลิลิตร เป็นตัวทำละลายอินทรีย์ เติมสารผสมสำหรับใช้สกัดสารพิษตกค้างที่ต้องการวิเคราะห์โดยใช้ปริมาณ magnesium sulfate (MgSO₄) 4.0 กรัม, sodium chloride (NaCl) 1.0 กรัม, trisodium citrate dihydrate (SCTD) 1.0 กรัม, และ disodium hydrogencitrate

sesquihydrate (SCDS) 0.5 กรัม และเติมสารผสมสำหรับทำความสะอาดตัวอย่างโดยใช้ปริมาณ primary secondary amine (PSA) 50.0 มิลลิกรัม, graphite carbon black (GCB) 7.7 มิลลิกรัม, C18EC 50 มิลลิกรัม, และ $MgSO_4$ 150.0 มิลลิกรัม ในงานวิจัยนี้ได้ทำงานศึกษาคุณลักษณะเฉพาะของวิธีในตัวอย่างกะหล่ำปลี ผักกาดหอม และถั่วฝักยาว พบว่า *กะหล่ำปลี* มีช่วงการใช้งาน ความสัมพันธ์เชิงเส้นตรงดี คือ ช่วง 0.005-0.7 ไมโครกรัมต่อกรัม ให้ค่าสัมประสิทธิ์สหสัมพันธ์ (r) มากกว่า 0.995 ขีดจำกัดของการตรวจพบ (LOD) มีค่าอยู่ในช่วง 0.003 ไมโครกรัมต่อกรัม ขีดจำกัดของการหาเชิงปริมาณ (LOQ) มีค่าอยู่ในช่วง 0.005-0.01 ไมโครกรัมต่อกรัม การหาค่าความแม่นยำให้ค่าการนำกลับคืนมาทุกสารพิษตกค้างที่ความเข้มข้นระดับต่ำมีค่าอยู่ในช่วง 68-110 %, ที่ความเข้มข้นระดับกลางให้ค่าการนำกลับคืนมาอยู่ในช่วง 64-113 %, และที่ความเข้มข้นระดับสูงให้ค่าการนำกลับคืนมาอยู่ในช่วง 68-109% ความเที่ยงโดยใช้ HORRAT ประเมินค่าอยู่ในช่วง 0.05-1.64 และมีสารพิษตกค้างบางชนิดที่ไม่สามารถประเมินค่าได้เนื่องจาก % recovery ไม่ผ่านเกณฑ์ในทุกพารามิเตอร์ที่ทำการทดสอบในตัวอย่างกะหล่ำปลี เช่น aldicarb-sulfoxide, aldicarb, carbofuran-3-keto, thiobencarb, indoxacarb, และ benfuracarb เป็นต้น *ผักกาดหอม* ช่วงการใช้งาน ความสัมพันธ์เชิงเส้นตรงดี คือ ช่วง 0.002-0.7 ไมโครกรัมต่อกรัม ให้ค่าสัมประสิทธิ์สหสัมพันธ์ (r) มากกว่า 0.995 ขีดจำกัดของการตรวจพบ (LOD) มีค่าอยู่ในช่วง 0.003 ไมโครกรัมต่อกรัม ขีดจำกัดของการหาเชิงปริมาณ (LOQ) มีค่าอยู่ในช่วง 0.005-0.01 ไมโครกรัมต่อกรัม การหาค่าความแม่นยำให้ค่าการนำกลับคืนมาทุกสารพิษตกค้างที่ความเข้มข้นระดับต่ำมีค่าอยู่ในช่วง 60-120 %, ที่ความเข้มข้นระดับกลางให้ค่าการนำกลับคืนมาอยู่ในช่วง 73-120 %, และที่ความเข้มข้นระดับสูงให้ค่าการนำกลับคืนมาอยู่ในช่วง 89-114% ความเที่ยงโดยใช้ HORRAT ประเมินค่าอยู่ในช่วง 0.20-1.80 และมีสารพิษตกค้างบางชนิดที่ไม่สามารถประเมินค่าได้เนื่องจาก % recovery ไม่ผ่านเกณฑ์ในทุกพารามิเตอร์ที่ทำการทดสอบในตัวอย่างผักกาดหอม เช่น carbofuran-3-keto, thiobencarb, และ benfuracarb เป็นต้น *ถั่วฝักยาว* ทำการศึกษาคุณลักษณะเฉพาะของวิธี 3 พารามิเตอร์ คือ การตรวจสอบ matrix effect ขีดจำกัดของการตรวจพบ(LOD) และ ขีดจำกัดของการหาเชิงปริมาณ (LOQ) พบว่า การตรวจสอบ matrix effect มีผลต่อสารพิษตกค้างบ้างตัว คือ tebuconazole และ thiobencarb เป็นต้น ขีดจำกัดของการตรวจพบ (LOD) มีค่าอยู่ในช่วง 0.003 ไมโครกรัมต่อกรัม ขีดจำกัดของการหาเชิงปริมาณ (LOQ) มีค่าอยู่ในช่วง 0.005-0.01 ไมโครกรัมต่อกรัม ถ้าเปรียบเทียบวิธีนี้กับวิธีการเตรียมตัวอย่างทั่วไปพบว่า วิธีที่เสนอนี้มีความได้เปรียบของการเป็นวิธีการสกัดที่รวดเร็ว และง่ายต่อการทำงานและมีการใช้ตัวทำละลายอินทรีย์ปริมาณน้อยกว่าทั่วไป

6. คำนำ

ปัจจุบันยาฆ่าแมลงได้เข้ามามีบทบาทอย่างมากในสินค้าเกษตรกรรมจำพวกผักผลไม้ เนื่องจากความต้องการสินค้าประเภทนี้มีมากขึ้น และประชาชนยังนิยมบริโภคผักหรือผลไม้ที่มีลักษณะสวยงามสมบูรณ์ จึงเป็นสาเหตุให้เกษตรกรมีการใช้สารเคมีกำจัดศัตรูพืชมากขึ้นและมีการเก็บเกี่ยวผลผลิตเร็วกว่าเวลาที่กำหนดภายหลังการใช้สารเคมีกำจัดศัตรูพืชในทางการเกษตรที่มีการจำหน่ายทางการค้ามีมากมายหลายชนิดซึ่งแบ่งออกเป็นกลุ่มใหญ่ๆ ตามชนิดของสิ่งมีชีวิตที่ใช้ในการควบคุมและกำจัด คือ สารกำจัดแมลง สารป้องกันกำจัดวัชพืช สารป้องกันกำจัดเชื้อรา สารกำจัดหนูและสัตว์ เป็นต้น แต่ในการจำแนกตามสูตรเคมี แบ่งประเภทใหญ่ๆ ดังนี้ กลุ่มสารประกอบคลอรีน เป็นกลุ่มสารที่มีการใช้มากในการเกษตรยุคแรกๆ แต่ต่อมาพบว่าสารกลุ่มนี้เป็นสารที่สลายตัวช้า มีพิษตกค้างปนเปื้อนอยู่ในสถานะแวดล้อมยาวนานจึงมีประกาศห้ามใช้ทางการเกษตร กลุ่มสารประกอบฟอสเฟต กลุ่มสารคาร์บาเมท มีการใช้มาก มีพิษค่อนข้างสูงแต่สลายตัวได้เร็วกว่ากลุ่มอื่น และกลุ่มสารสังเคราะห์ไพรีทรอยด์ สารในกลุ่มนี้ออกฤทธิ์เร็ว มีความเป็นพิษในสัตว์เลือดอุ่นค่อนข้างต่ำสลายตัวได้เร็ว ผู้ที่สัมผัสกับสารเคมีกำจัดศัตรูพืชโดยตรง เช่น เกษตรกรหรือผู้บริโภคจะได้รับพิษทางอ้อม ซึ่งเกิดจากการบริโภคผลผลิตทางการเกษตรที่มีสารเคมีปนเปื้อนหรือตกค้างอยู่ ซึ่งการได้รับสารพิษตกค้างในอาหารแม้ว่าจะได้รับในปริมาณต่ำ แต่การที่ได้รับเป็นประจำ สารพิษอาจสะสมเป็นปัญหาเรื้อรัง และส่งผลกระทบต่อระบบการทำงานต่างๆ ในร่างกาย ดังนั้นเพื่อให้ผู้บริโภคได้บริโภคอาหารอย่างปลอดภัย จึงต้องมีระบบการดูแลควบคุมและตรวจสอบคุณภาพความปลอดภัยในอาหารที่ผลิตทุกขั้นตอน ทั้งนี้มาตรฐานที่ใช้ในการควบคุมต้องมีความเท่าเทียมกับมาตรฐานสากล ทำให้ต้องมีการพัฒนาเทคโนโลยีและสร้างองค์ความรู้ที่หลากหลายเพื่อเพิ่มสมรรถนะกับการแข่งขันกับต่างประเทศ ตลอดจนกลุ่มประเทศ EU และประเทศญี่ปุ่น ได้ปรับเปลี่ยนระบบและมาตรฐานการควบคุมสารเคมีตกค้างในสินค้าเกษตรและอาหารนำเข้า โดยกำหนดค่าสูงสุดที่จำกัดให้มีในอาหาร (Maximum Residue Limits : MRLs) เป็น “Positive List System” ซึ่งครอบคลุมสารเคมีทุกชนิดทั้งที่มีการกำหนดค่า MRLs เป็นที่เรียบร้อยแล้วและที่ยังไม่ได้กำหนดค่า MRLs ให้มีค่า 0.01 ส่วนต่อล้านส่วน ส่งผลกระทบต่อส่งออกสินค้าเกษตรและอาหารของไทยหลังจากกลุ่มประเทศ EU และญี่ปุ่น นำระบบนี้มาใช้ คือ สินค้าอาหารของไทยจะถูกตรวจสอบสารเคมีตกค้างอย่างเข้มงวดขึ้นและใช้ระยะเวลาในการตรวจวิเคราะห์นานขึ้น เนื่องจากมีจำนวนสารเคมีที่ต้องตรวจสอบมากขึ้น

การเตรียมตัวอย่างสำหรับการวิเคราะห์สารพิษตกค้างทางการเกษตรเป็นขั้นตอนหนึ่งที่จะต้องรวดเร็ว ให้ผลการวิเคราะห์ที่ถูกต้องแม่นยำ และเพิ่มความเข้มข้นของสารที่สนใจวิเคราะห์ให้อยู่ในระดับที่เครื่องมือสามารถตรวจวัดได้วิธีทั่วไปสำหรับการเตรียมตัวอย่าง เช่น Liquid Liquid Extraction, Soxhlet Extraction, Chromatography ซึ่งมีข้อเสียในเรื่องของเวลาการเตรียม ใช้ปริมาณตัวทำละลายอินทรีย์มากและทำแบบอัตโนมัติได้ยาก ปัจจุบันมีงานวิจัยเกี่ยวข้องกับการพัฒนาเทคนิคการเตรียมตัวอย่างแบบใหม่ ซึ่งใช้เวลาการเตรียมตัวอย่างน้อย มีประสิทธิภาพสูงและใช้ปริมาณตัวอย่างและปริมาณตัวทำละลายอินทรีย์น้อยลง มีขั้นตอนที่ไม่ยุ่งยากมาก การเตรียมตัวอย่างการวิเคราะห์

สารพิษตกค้างทางการเกษตรที่ได้รับความนิยม เช่น Solid Phase Extraction (SPE), Solid Phase Micro Extraction (SPME), Single Drop Micro Extraction (SDME), และ Hollow Fiber Based Liquid Phase Micro Extraction (HF-LPME) เป็นต้นซึ่งแต่ละวิธีก็มีข้อดี ข้อด้อยแตกต่างกันไป เช่น SPE เป็นเทคนิคที่ได้รับความนิยม สามารถใช้กับระบบการเตรียมตัวอย่างแบบอัตโนมัติได้ แต่ยังมีการใช้ตัวทำละลายอินทรีย์ ปริมาณมาก มีหลายขั้นตอนในการทำ และผู้วิเคราะห์ต้องมีความชำนาญ เพราะต้องเลือกใช้ตัวทำละลายและกระบวนการที่เหมาะสม เทคนิค SPME มีข้อเสียในเรื่องของไฟเบอร์ที่มีราคาแพง บอบบางแตกหักง่าย และมีข้อจำกัดของอายุการใช้งาน ส่วนเทคนิค SDME มีข้อเสียในแง่ของการทำงานที่ต้องระมัดระวังหยดของตัวทำละลายให้คงที่ในแต่ละครั้ง เป็นต้น วิธี QuEChERS (Quick, Easy Cheap, Effectine Rugged and safe ซึ่งพัฒนาโดย S. J. Lehotay และคณะ (2005) และ M. Anastassiades และคณะ (2003) ตรวจวิเคราะห์สารพิษตกค้างในผลิตภัณฑ์และผลิตภัณฑ์ทางการเกษตร ที่ได้รับความนิยมเนื่องจากเป็นวิธีที่ง่าย รวดเร็ว ใช้สารเคมีและเครื่องมือน้อย

เนื่องจากการวิจัยที่เกี่ยวกับเทคนิค QuEChERs ส่วนใหญ่จะวิเคราะห์สารพิษตกค้างทางการเกษตรในตัวอย่างที่มีเนื้อสารที่ไม่ซับซ้อน และในเขตพื้นที่ภาคเหนือตอนล่างตัวอย่างที่วิเคราะห์เพื่อการรับรองระบบ ส่วนมากเป็นในพืชที่มีปริมาณน้ำและคลอโรฟิลสูง ดังนั้นในงานวิจัยนี้จึงได้พัฒนาเทคนิค QuEChERs มาใช้ในการเตรียมตัวอย่างสำหรับการวิเคราะห์สารพิษตกค้างทางการเกษตรในตัวอย่างที่มีส่วนประกอบดังกล่าว ในกะหล่ำปลี ผักกาดหอมและ ถั่วฝักยาว เพื่อเพิ่มความเข้มข้นหลังการสกัดสูง ลดขั้นตอนการสกัดตัวอย่างให้ง่ายรวดเร็ว และใช้ตัวทำละลายอินทรีย์น้อย โดยใช้เทคนิคโครมาโทกราฟีแมสสเปกโตรเมตรี

7. วิธีการดำเนินการ

7.1 อุปกรณ์และเครื่องมือหลัก

7.1.1 เครื่องลิกวิดโครมาโทกราฟี แทนเต็ม แมสสเปกโตรเมตรี (LC-MSMS) ยี่ห้อ Agilent technologies รุ่น 1290 Infinty Triple Quadrupole

7.1.2 เครื่องชั่งทศนิยม 2 ตำแหน่ง ยี่ห้อ Mettler Toledo ช่วงการใช้งาน 0.5 - 1500 กรัม

7.1.3 เครื่องชั่งทศนิยม 5 ตำแหน่ง ยี่ห้อ Mettler Toledo ช่วงการใช้งาน 10 มิลลิกรัม - 120 กรัม

7.1.4 เครื่องลดปริมาตรตัวทำละลายแบบ Nitrogen-Evaporator (N₂-Evaporator) ยี่ห้อ

Organomation Associates Inc.

7.1.5 เครื่องปั่นตัวอย่าง (Food chopper) ยี่ห้อ Robot coupe รุ่น R201 Ultra

7.1.6 เครื่องหมุนเหวี่ยงความเร็วรอบสูงชนิดควบคุมอุณหภูมิ (Centrifuge) ยี่ห้อ Napco millenium-2028R รุ่น 2028R

7.1.7 เครื่องผสมสารละลาย (Vortex Mixer) ยี่ห้อ Labnet รุ่น VX 100

7.1.8 อุปกรณ์ดูด-จ่ายสารละลายอัตโนมัติ (Solvent dispenser) ขนาด 10, 50, 100 มิลลิลิตร

7.1.9 ปิเปตดูด-จ่ายสารละลายอัตโนมัติชนิดปรับปริมาตรได้ (Automatic pipette) ช่วงการใช้งาน 10-100 ไมโครลิตร, 200-1000 ไมโครลิตร, 1-10 มิลลิลิตร

7.1.10 ขวดปรับปริมาตร (Volumetric flask) ขนาด 5, 25 มิลลิลิตร

7.1.11 ปีกเกอร์ (Beaker) ขนาด 50, 100 มิลลิลิตร

7.1.12 หลอดเซนติฟิวพลาสติกแบบมีฝาปิด (Centrifuge tube) ขนาด 15, 50 มิลลิลิตร

7.1.13 ขวดตัวอย่าง (Autosampler vial) ขนาด 2 มิลลิลิตร

7.2 สารเคมีและการเตรียมสารมาตรฐาน

7.2.1 สารมาตรฐานและสารเคมีที่ใช้ในการทดลองนี้ แสดงในตาราง 7.1 และ 7.2

ตาราง 7.1 รายการสารมาตรฐาน^a

Chemicals	%Purity
1) aldicarb	98.5
2) aldicarb-sulfone	98.5
3) aldicarb-sulfoxide	99.9
4) benfuracarb	98.0
5) carbaryl	99.0
6) carbofuran	98.5
7) carbofuran - 3 hydroxy	99.0
8) carbofuran-3-keto	98.8
9) cyproconazole	98.5
10) diazinon	99.0
11) dicrotophos	98.5
12) dimethomorph(E)	98.5
13) ethiofencarb	98.5

Chemicals	%Purity
14) ethion	98.5
15) fenobucarb	98.0
16) imazalil	99.5
17) indoxacarb	98.5
18) iprovalicarb	98.5
19) isoprocarb	98.0
20) methiocarb	99.0
21) methomyl	98.5
22) mevinphos	94.0
23) pirimicarb	98.5
24) promecarb	99.5
25) propoxur	99.5
26) tebuconazole	98.5
27) thiobencarb	98.0
28) triazophos	99.5

^a all pesticides were supplied from Dr. Ehrenstorfer (Germany)

ตาราง 7.2 รายการสารเคมี

Chemicals	Suppliers
1) acetonitrile (analytical grade)	J.T.Baker (USA)
2) acetic acid	Merck (Germany)
3) formic Acid	Merck (Germany)
4) ammonium formate	Merck (Germany)
5) สารผสมสำเร็จรูป magnesium sulfate ($MgSO_4$) 4.0 กรัม กับ sodium chloride (NaCl) 1.0 กรัม	Agilent
6) สารผสมสำเร็จรูป magnesium sulfate ($MgSO_4$) 6.0 กรัม กับ sodium acetate 1.5 กรัม	Agilent
7) สารผสมสำเร็จรูป magnesium sulfate ($MgSO_4$) 4.0 กรัม, sodium chloride (NaCl) 1.0 กรัม, trisodium citrate dihydrate (SCTD) 1.0	Agilent

Chemicals	Suppliers
กรัม, และ disodium hydrogencitrate sesquihydrate (SCDS) 0.5 กรัม	
8) สารผสมสำเร็จรูป primary secondary amine (PSA) 50 มิลลิกรัม, magnesium sulfate (MgSO ₄) 150 มิลลิกรัม	Agilent
9) สารผสมสำเร็จรูป primary secondary amine (PSA) 50 มิลลิกรัม, C18EC 50 มิลลิกรัม, graphite carbon black (GCB) 7.7 มิลลิกรัม, magnesium sulfate (MgSO ₄) 150 มิลลิกรัม	Agilent
10) สารผสมสำเร็จรูป primary secondary amine (PSA) 25 มิลลิกรัม, graphite carbon black (GCB) 7.5 มิลลิกรัม, magnesium sulfate (MgSO ₄) 150 มิลลิกรัม	Agilent
11) น้ำกลั่น (Type I มีค่า resistivity ระหว่าง 10-18 mΩ.cm)	-

7.2.1 การเตรียม Stock Standard Solution ความเข้มข้น 1,000 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร

ชั่งน้ำหนักสารมาตรฐานด้วยเครื่องชั่งละเอียด 4 ตำแหน่ง แล้วนำค่าร้อยละความบริสุทธิ์ของสารมาตรฐาน (% purity) มาคำนวณหาน้ำหนักที่แท้จริง โดยชั่งสารมาตรฐานประมาณ 25 มิลลิกรัม ใส่ในขวดวัดปริมาตร (volumetric flask) ขนาด 25 มิลลิลิตร เติมอะซีโตไนไตรล์ (PR Grade) ลงในขวดวัดปริมาตรที่ละน้อยแล้วเขย่า จนสารมาตรฐานละลายหมดจากนั้นเติมอะซีโตไนไตรล์จนถึงขีดปริมาตร

ความเข้มข้นของสารมาตรฐานคำนวณดังนี้

$$\text{ความเข้มข้นของสารมาตรฐาน } (\mu\text{g/ml}) = \frac{\text{น้ำหนักที่ชั่ง (mg)} \times \text{ความบริสุทธิ์ของสาร } (\%) \times 10^3}{\text{ปริมาตรที่เตรียม (ml)} \times 100}$$

7.2.2 การเตรียม Intermediate Mixed Standard Solution 10 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตรเพื่อใช้สำหรับ fortified ลงในตัวอย่างและใช้ในการเตรียม Working Mixed Standard Solution

เตรียมสารมาตรฐานผสมความเข้มข้นประมาณ 10 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร โดยใช้ปิเปตตูด stock standard solution 1,000 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร ของสารแต่ละชนิดในปริมาณที่คำนวณโดยการใส่สูตร $C_1V_1 = C_2V_2$ ใส่ในขวดวัดปริมาตรขนาด 25 มิลลิลิตร จากนั้นเติมอะซีโตไนไตรล์ (PR Grade) ลงในขวดวัดปริมาตรที่ละน้อยจนถึงขีดปริมาตร แล้วเขย่าให้เข้ากัน ถ่ายสารละลายมาตรฐานผสมลงในขวดแก้วเก็บสารละลาย (stock bottle)

7.2.4 การเตรียม Working Mixed Standard Solution ความเข้มข้นอยู่ในช่วง 0.002 – 0.7 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร

เตรียมสารมาตรฐานผสมความเข้มข้นมากกว่า 3 ระดับ (level) โดยกำหนดความเข้มข้นอยู่ในช่วง 0.002 – 0.7 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร ซึ่งใช้เป็น calibration curve โดยใช้ปิเปตดูด intermediate mixed standard solution 10 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร ในปริมาณที่คำนวณโดยการใช้สูตร $C_1V_1 = C_2V_2$ ใส่ลงในขวดวัดปริมาตรขนาด 5 มิลลิลิตร เติม matrix ลงในขวดวัดปริมาตรที่ละน้อยจนถึงขีดปริมาตร แล้วเขย่าให้เข้ากัน ถ่ายสารละลายมาตรฐานผสมในขวดแก้วเก็บสารละลาย (stock bottle)

7.3 วิธีการ

7.3.1 ทาสภาวะที่เหมาะสมในการวิเคราะห์สารพิษตกค้างกลุ่มคาร์บาเมท 19 ชนิด ได้แก่ aldicarb, aldicarb-sulfone, aldicarb-sulfoxide, benfuracarb, carbaryl, carbofuran, carbofuran-3 -hydroxy, carbofuran-3 -keto, ethiofencarb, fenobucarb, indoxacarb, iprovalicarb, isoprocarb, methiocarb, methomyl, pirimicarb, promecarb, propoxur, และ thiobencarb กลุ่มออร์กาโนฟอสเฟต 5 ชนิด ได้แก่ diazinon, dicrotophos, ethion, mevinphos, triazophos กลุ่มสารป้องกันกำจัดโรคพืช 4 ชนิด ได้แก่ cyproconazole, dimethomorph, imazalil, และ tebuconazol ด้วยเทคนิคลิควิดโครมาโทกราฟี แชนเต็มแมสสเปกโตรเมทรี (LC-MSMS)

7.3.2 ศึกษาปัจจัยที่มีผลต่อการเตรียมตัวอย่าง (กะหล่ำปลี) และประสิทธิภาพการสกัด ได้แก่

- ชนิดและปริมาณของ extraction solvent เช่น อะซีโตนไนไตรล์, แอซีโตน, เมทิลไดคลอโรมีเทน เป็นต้น
- ชนิดและปริมาณของสารสกัดสำเร็จรูป แบบ Original QuEChERs , AOAC 2007.01 QuEChERs , และ EN QuEChERs
- ชนิดและปริมาณสารการทำตัวอย่างบริสุทธิ์ (Clean- up)

โดยการประเมินค่าร้อยละการคืนกลับของสารที่ต้องการวิเคราะห์และปริมาณสารรบกวนที่สกัดได้

7.3.3 ศึกษาคุณลักษณะของวิธีและระดับความเข้มข้นในตัวอย่าง กะหล่ำปลี ผักกาดหอมและถั่วฝักยาว

7.3.3.1 ช่วงของการวัด (Working Range) และความเป็นเส้นตรง (Linearity)

ช่วงของการวัดเป็นช่วงของความเข้มข้นของสารที่วิเคราะห์ระหว่างค่าต่ำสุดและค่าสูงสุดที่เป็นเส้นตรงและให้ผลการทดสอบที่มีความเที่ยง ความแม่นยำตามเกณฑ์ที่ยอมรับ ความเป็นเส้นตรงเป็นความสามารถของวิธีที่ให้ผลการทดสอบเป็นสัดส่วนโดยตรงกับความเข้มข้นของสารที่วิเคราะห์

โดย fortified sample blank ทดสอบสารมาตรฐานระดับความเข้มข้น คือ 0.002, 0.005, 0.01, 0.03, 0.05, 0.1, 0.3, 0.5, และ 0.7 $\mu\text{g/g}$ ความเข้มข้นละ 3 ซ้ำ นำผลการวัดมาหาค่าเฉลี่ยและสร้างกราฟมาตรฐาน

ระหว่างความเข้มข้นของสารมาตรฐาน (ppm) กับ peak area และพิจารณาความเป็นเส้นตรงโดยการคำนวณหาค่าสัมประสิทธิ์สหสัมพันธ์ (r) โดยค่า r ที่อยู่ในเกณฑ์ยอมรับจะต้องมากกว่า 0.995

7.3.3.2 การหาค่าขีดจำกัดของการตรวจพบ (Limit of Detection, LOD) และ ขีดจำกัดของการหาเชิงปริมาณ (Limit of Quantitation, LOQ)

Limit of Detection (LOD) หมายถึง ค่าความเข้มข้นต่ำสุดที่วิธีทดสอบสามารถวิเคราะห์ได้

Limit of Quantitation (LOQ) หมายถึง ค่าความเข้มข้นต่ำสุดที่วิธีทดสอบสามารถวิเคราะห์ได้ในตัวอย่าง โดยมีความถูกต้องและความแม่นยำยอมรับได้

LOD และ LOQ หาได้โดย fortified sample blank ทดสอบสารมาตรฐานที่ระดับความเข้มข้นต่ำ ๆ มาวิเคราะห์อย่างน้อย 6 ซ้ำ หาค่าส่วนเบี่ยงเบนมาตรฐาน (SD) ของความเข้มข้นที่อ่านได้ แล้วหาค่า LOD และ LOQ ดังสมการที่ 1-2 ตามลำดับ

$$\text{LOD} = 3\text{SD} \quad (1)$$

$$\text{LOQ} = 10\text{SD} \quad (2)$$

7.3.3.3 การตรวจสอบความแม่นยำ (Accuracy)

ความแม่นยำหรือความถูกต้อง คือ ความสามารถของวิธีการวิเคราะห์ที่วัดค่าในสารตัวอย่างได้ออกมาตรงกันหรือใกล้เคียงกับค่าที่แท้จริงมากที่สุด

โดย fortified sample blank ทดสอบสารมาตรฐานที่ระดับความเข้มข้นภายในช่วงใช้งานต่ำ กลาง สูง ความเข้มข้นอย่างน้อย 6 ซ้ำที่สภาวะการทดสอบเดียวกัน ประเมินความแม่นยำ จากค่า mean % recovery (สมการที่ 3) และนำไปเปรียบเทียบกับเกณฑ์ของ codex การยอมรับทั่วไปของสารตกค้างจากยาฆ่าแมลงและยาสัตว์ในอาหาร (ตาราง 7.3)

$$\% \text{ Recovery} = \frac{(C_2 - C_1) \times 100}{C_3} \quad (3)$$

โดยที่ C_1 = ความเข้มข้นที่วัดได้ของสัญญาณของตัวอย่างที่ไม่ได้มีการ fortified ที่หาได้จาก calibration curve

C_2 = ความเข้มข้นที่วัดได้ของสัญญาณของตัวอย่างที่หาได้จาก calibration curve

C_3 = ความเข้มข้นจริงที่รู้แน่นอน (ความเข้มข้นที่ fortified ในตัวอย่าง)

ตาราง 7.3 การยอมรับทั่วไปของสารตกค้างจากยาฆ่าแมลงและยาสัตว์ในอาหาร ของ Codex

Concentrations of analyte	Range of mean % recovery
< 1 µg/kg	50-120
> 1 µg/kg ≤ 0.01 mg/kg	60-120
> 0.01 mg/kg ≤ 0.1 mg/kg	70 -120
> 0.1 mg/kg ≤ 1 mg/kg	70 – 110
> 1 mg/kg	70 – 110

7.3.3.4 การตรวจสอบความเที่ยง (Intermediate precision)

เป็นการหาความเที่ยงโดยทำการวิเคราะห์ตัวอย่างเดียวกันหลายๆ ครั้ง โดยวิเคราะห์คนละวัน ใช้วิธีเดียวกัน ในห้องปฏิบัติการเดียวกัน เครื่องมือวิเคราะห์เดียวกันและผู้วิเคราะห์คนเดียวกัน

โดย fortified sample blank ทดสอบสารมาตรฐานที่ระดับความเข้มข้นภายในช่วงใช้งาน ต่ำ กลาง สูง ความเข้มข้นอย่างน้อย 6 ค่า

ประเมินความเที่ยงโดยการเปรียบเทียบค่าร้อยละของค่าเบี่ยงเบนมาตรฐานสัมพัทธ์ที่ได้จากการทดลอง (% RSD_{obs}) กับค่าที่ถูกราคำนวณจาก Horwitz Equation (% RSD_r) ดังสมการที่ 4-6 ตามลำดับเกณฑ์การยอมรับคือ ค่า HORRAT (Horwitz's ratio) < 2

$$\% \text{RSD}_{\text{obs}} = \frac{SD}{X} \times 100 \quad (4)$$

$$\% \text{RSD}_r = 0.66 \times 2C^{(1-0.51\log C)} = 0.66 \times 2C^{-150} \quad (5)$$

$$\text{HORRAT} = \frac{\text{RSD}_{\text{obs}}}{\text{RSD}_r} \quad (6)$$

7.4 เวลาและสถานที่

ระยะเวลา (เริ่มต้น-สิ้นสุด) : 1 ตุลาคม 2560-30 กันยายน 2563
 สถานที่ทำการทดลอง : กลุ่มพัฒนาการตรวจสอบพืชและปัจจัยการผลิต
 สำนักวิจัยและพัฒนาการเกษตรเขตที่ 2 พิษณุโลก

8. ผลการทดลองและวิจารณ์

8.1 สภาวะที่เหมาะสมในการวิเคราะห์สารพิษตกค้างด้วยเครื่องลิควิดโครมาโทกราฟีแทนเต็มแมสสเปกโตรเมทรี (LC-MSMS)

8.1.1 เครื่อง Ultra Performance Liquid Chromatography (UPLC)

- 1) ปริมาณสารที่ฉีดเข้าเครื่อง 2 ไมโครลิตร
- 2) คอลัมน์ชนิด Zorbax C18 ความยาว 100 mm
- 3) การชะสารออกจากคอลัมน์เป็นแบบ gradient

ตาราง 8.1 แสดงอัตราส่วนการชะสารออกจากคอลัมน์แบบ gradient

เวลา (นาที)	อัตราไหล (ml/min)	%สารละลาย A (0.005M Ammonium Formate Buffer:0.01%Formic Acid)	%สารละลาย B (Acetonitrile)
0.00	0.3	95	5
3.00	0.3	70	30
8.00	0.3	50	50
13.00	0.3	20	80
16.00	0.3	0	100
18.00	0.3	0	100
22.00	0.3	95	5

8.1.2 การตั้งสภาวะเครื่อง Tandem mass spectrometry

- 1) Scan type: Multi Reaction Monitoring (MRM)
- 2) Ion mode: Electrospray Ionization (ESI)
- 3) Gas Temp 300 C
- 4) Gas Flow 7 μ /min

5) Nebulizer 45 psi

6) Capillary 4500 V

ตาราง 8.2 แสดงการเลือกไอออน ในการวิเคราะห์สารพิษตกค้าง

Compound name	Prec. Ion MS1	Prod. Ion MS2	Dwell	Frag (V)	CE (V)	Cell Acc (V)	Polarity
aldicarb	208.1	89.1,74.1	1	70	0,36	7	positive
aldicarb-sulfone	223.1	148, 86.1	1	80	8	7	positive
aldicarb-sulfoxide	207.1	131.9,89.1	1	65	8	7	positive
benfuracarb	411.2	252.1,162.1	1	95	8,40	7	positive
carbaryl	202.1	145.1,127.1	1	65	4,28	7	positive
carbofuran	222.1	165.1,123.1	1	80	20,30	7	positive
carbofuran-3-hydroxy	238.1	181.1,163.1	1	75	4,8	7	positive
carbofuran-3-keto	236.1	179.1,161.1	1	100	10,20	7	positive
ethiofencarb	226.09	107,77	1	70	12,48	7	positive
fenobucarb	208.1	152.1,95	1	65	8,0	7	positive
indoxacarb	528.1	190,150	1	110	28,20	7	positive
iprovalicarb	321.2	202.9,119	1	80	16	7	positive
isoprocarb	194.1	152.1,95	1	120	10	7	positive
methiocarb	226.1	169,121.1	1	70	4,12	7	positive
methomyl	163.1	106,88	1	50	4	7	positive
pirimicarb	239.15	182.1,72.1	1	100	12,20	7	positive
promecarb	208.1	151,109.1	1	80	0,10	7	positive
propoxur	210.11	168.1,153.1	1	55	0	7	positive
thiobencarb	258.07	100,89.1	1	100	25	7	positive
diazinon	305.1	169.1,97	1	105	32,40	7	positive
dicrotophos	238.09	112.1,72.1	1	75	8,25	7	positive
ethion	385	171,142.8	1	95	24	7	positive
mevinphos	225	193,127	1	65	12	7	positive
triazophos	314.1	162.1,119.1	1	110	16,36	7	positive

Compound name	Prec. Ion MS1	Prod. Ion MS2	Dwell	Frag (V)	CE (V)	Cell Acc (V)	Polarity
cyproconazole	292.1	125,70	1	100	32.16	7	positive
dimethomorph	388.1	301.1,165.1	1	145	20,32	7	positive
epoxiconazole	330.1	121,101.2	1	100	16,52	7	positive
tebuconazol	308.1	124.9,70	1	100	47,40	7	positive

8.2 ศึกษาปัจจัยที่มีผลต่อการเตรียมตัวอย่างและประสิทธิภาพการสกัด ได้แก่

- ชนิดและปริมาณของ extraction solvent เช่น acetonitrile, และ 1% acetic acid in acetonitrile เป็นต้น
- ชนิดและปริมาณของสารสกัดสำเร็จรูป แบบ Original QuEChERs , AOAC 2007.01 QuEChERs , และ EN QuEChERs
- ชนิดและปริมาณสารการ clean- up ตัวอย่าง

8.2.1 ทำการศึกษาชนิดของ extraction solvent ได้แก่ acetonitrile, และ 1% acetic acid in acetonitrile ทดสอบสารละลายแต่ละชนิด ๆ ละ 3 ซ้ำ การเลือกตัวทำละลายในการสกัดสารพิษตกค้างให้เหมาะสมมีความสำคัญมาก ซึ่งการเลือกใช้ตัวทำละลายขึ้นกับปัจจัยหลายอย่าง เช่น ความสามารถในการละลายสารพิษตกค้างในแมทริกซ์ต่างๆ ความยากง่ายในการระเหย ความเป็นพิษ และราคาเป็นต้น โดยชั่งตัวอย่าง 10 กรัม ลงในหลอด centrifuge ขนาด 50 มิลลิลิตร จากนั้นเติมสารละลายที่ใช้ในการสกัด จำนวน 10 มิลลิลิตร ปิดฝาแล้วเขย่าด้วยมือประมาณ 1 นาที นำไป centrifuge ที่ความเร็วรอบ 4,000 rpm นาน 5 นาที กรองสารละลายใส่ผ่าน syringe filter ขนาด 0.22 ไมครอน ลงในขวดขนาด 1.5 มิลลิลิตร และนำไปตรวจวัดด้วยเครื่อง LC-MSMS

ตาราง 8.3 แสดงค่าเฉลี่ย % Recoveries ของตัวทำละลายที่ใช้ในการสกัดกะหล่ำปลี โดยการเติมสารมาตรฐานผสม 0.01 ไมโครกรัมต่อกรัม (n=3)

compound name	% recoveries	
	acetonitrile	1% acetic acid in acetonitrile
aldicarb-sulfoxide	-	-
aldicarb-sulfone	75	67

compound name	% recoveries	
	acetonitrile	1% acetic acid in acetonitrile
methomyl	82	58
dicrotophos	62	50
carbofuran - 3 OH	80	73
mevinphos	80	64
aldicarb	83	121
carbofuran-3-keto	100	86
propoxur	89	78
pirimicarb	77	6
carbofuran	88	37
imazalil	71	57
carbaryl	94	86
ethiofencarb	89	66
isoprocarb	100	93
dimethomorph(E)	95	100
methiocarb	95	95
fenobucarb	96	89
cyproconazole	126	127
promecarb	97	85
iprovalicarb	95	98
tebuconazole	94	128
triazophos	91	97
diazinon	85	84
thiobencarb	99	72
indoxacarb	109	120
benfuracarb	-	-
ethion	90	93

8.2.2 ทำการศึกษาชนิดและปริมาณของสารสกัดสำเร็จรูป แบบ Original QuEChERs , AOAC 2007.01 QuEChERs , และ EN QuEChERs

8.2.2.1 สกัดด้วยสารสกัดสำเร็จรูปแบบ Original QuEChERs โดยชั่งตัวอย่างกะหล่ำปลี 10.00 กรัม ลงในหลอด centrifuge ขนาด 50 มิลลิลิตร เติมสารมาตรฐานผสมที่ความเข้มข้น 0.01 มิลลิกรัมต่อลิตร ทำการทดสอบ 6 ซ้ำ จากนั้นเติม acetonitrile 10.0 มิลลิลิตร ปิดฝาเขย่าด้วยมือประมาณ 30 วินาที เติมสารผสมของ $MgSO_4$ 4.0 กรัม กับ $NaCl$ 1.0 กรัม เขย่าด้วยมือและเครื่องเขย่า vortex ประมาณ 1 นาที นำไป centrifuge ที่ความเร็วรอบ 4000 rpm 5 นาที จากนั้นดูดส่วนใส 2.0 มิลลิลิตร ใส่ลงในหลอด centrifuge ขนาด 15 มิลลิลิตร เติมสารผสมระหว่าง PSA 50.0 มิลลิกรัม และ $MgSO_4$ 150.0 มิลลิกรัม เขย่าด้วยมือและเครื่องเขย่า vortex ประมาณ 1 นาที นำไป centrifuge ที่ความเร็วรอบ 4000 rpm 5 นาที กรองสารละลายส่วนที่ใสผ่าน syringe filter membrane ขนาด 0.2 ไมครอน ลงใน vial ขนาด 1.5 มิลลิลิตร นำไปตรวจวิเคราะห์ด้วยเครื่อง LC-MSMS

8.2.2.2 สกัดด้วยสารสกัดสำเร็จรูปแบบ AOAC 2007.01 QuEChERs โดยชั่งตัวอย่างกะหล่ำปลี 10.00 กรัม ลงในหลอด centrifuge ขนาด 50 มิลลิลิตร เติมสารมาตรฐานผสมที่ความเข้มข้น 0.01 มิลลิกรัมต่อลิตร ทำการทดสอบ 6 ซ้ำ จากนั้นเติม acetonitrile 10.0 มิลลิลิตร ปิดฝาเขย่าด้วยมือประมาณ 30 วินาที เติมสารผสมของ $MgSO_4$ 6.0 กรัม กับ CH_3COONa 1.5 กรัม เขย่าด้วยมือและเครื่องเขย่า vortex ประมาณ 1 นาที นำไป centrifuge ที่ความเร็วรอบ 4000 rpm 5 นาที จากนั้นดูดส่วนใส 2.0 มิลลิลิตร ใส่ลงในหลอด centrifuge ขนาด 15 มิลลิลิตร เติมสารผสมระหว่าง PSA 50.0 มิลลิกรัม และ $MgSO_4$ 150.0 มิลลิกรัม เขย่าด้วยมือและเครื่องเขย่า vortex ประมาณ 1 นาที นำไป centrifuge ที่ความเร็วรอบ 4000 rpm 5 นาที กรองสารละลายส่วนที่ใสผ่าน syringe filter membrane ขนาด 0.2 ไมครอน ลงใน vial ขนาด 1.5 มิลลิลิตร นำไปตรวจวิเคราะห์ด้วยเครื่อง LC-MSMS

8.2.2.3 สกัดด้วยสารสกัดสำเร็จรูปแบบ EN QuEChERs โดยชั่งตัวอย่างกะหล่ำปลี 10.00 กรัม ลงในหลอด centrifuge ขนาด 50 มิลลิลิตร เติมสารมาตรฐานผสมที่ความเข้มข้น 0.01 มิลลิกรัมต่อลิตร ทำการทดสอบ 6 ซ้ำ จากนั้นเติม acetonitrile 10.0 มิลลิลิตร ปิดฝาเขย่าด้วยมือประมาณ 30 วินาที เติมสารผสมของ $MgSO_4$ 4.0 กรัม, $NaCl$ 1.0 กรัม, SCTD 1.0 กรัม, และ SCDS 0.5 กรัม เขย่าด้วยมือและเครื่องเขย่า vortex ประมาณ 1 นาที นำไป centrifuge ที่ความเร็วรอบ 4000 rpm 5 นาที จากนั้นดูดส่วนใส 2.0 มิลลิลิตร ใส่ลงในหลอด centrifuge ขนาด 15 มิลลิลิตร เติมสารผสมระหว่าง PSA 50.0 มิลลิกรัม และ $MgSO_4$ 150.0 มิลลิกรัม เขย่าด้วยมือและเครื่องเขย่า vortex ประมาณ 1 นาที นำไป centrifuge ที่ความเร็วรอบ 4000 rpm 5 นาที กรองสารละลายส่วนที่ใสผ่าน syringe filter membrane ขนาด 0.2 ไมครอน ลงใน vial ขนาด 1.5 มิลลิลิตร นำไปตรวจวิเคราะห์ด้วยเครื่อง LC-MSMS

ตาราง 8.4 แสดงค่าเฉลี่ย Peak Area และ % Recoveries ของชนิดและปริมาณของสารสกัดสำเร็จรูป ที่ใช้ในการสกัดกะหล่ำปลี โดยการเติมสารมาตรฐานผสม 0.01 ไมโครกรัมต่อกรัม (n=6)

Compound name	% Recoveries		
	MgSO ₄ 4.0 กรัม กับ NaCl 1.0 กรัม	MgSO ₄ 6.0 กรัม กับ CH ₃ COONa 1.5 กรัม	MgSO ₄ 4.0 กรัม, NaCl 1.0 กรัม, SCTD 1.0 กรัม, และ SCDS 0.5 กรัม
aldicarb-sulfoxide	-	-	-
aldicarb-sulfone	75	73	73
methomyl	78	75	75
dicrotophos	57	57	59
carbofuran - 3 OH	84	80	76
mevinphos	82	81	84
aldicarb	79	66	88
carbofuran-3-keto	93	101	96
propoxur	83	88	89
pirimicarb	76	47	73
carbofuran	90	76	85
imazalil	73	67	72
carbaryl	97	95	94
ethiofencarb	84	77	77
isoprocarb	98	96	94
dimethomorph(E)	101	106	91
methiocarb	99	98	98
fenobucarb	100	93	92
cyproconazole	108	117	120
promecarb	98	91	91
iprovalicarb	90	99	94
tebuconazole	100	111	96
triazophos	94	93	91
diazinon	83	82	82
thiobencarb	84	51	82
indoxacarb	99	120	109
benfuracarb	-	-	-
ethion	92	91	91

8.2.3 ทำการศึกษานิตและปริมาณสารที่ใช้ในการกำจัดสิ่งปนเปื้อนในตัวอย่าง (cleanup)

8.2.3.1 ชั่งตัวอย่างกะหล่ำปลี 10.00 กรัม ลงในหลอด centrifuge ขนาด 50 มิลลิลิตร เติมสารมาตรฐานผสมที่ความเข้มข้น 0.01 มิลลิกรัมต่อลิตร ทำการทดสอบ 6 ซ้ำ จากนั้นเติม acetonitrile 10.0 มิลลิลิตร ปิดฝาเขย่าด้วยมือประมาณ 30 วินาที เติมสารผสมของ $MgSO_4$ 4.0 กรัม, NaCl 1.0 กรัม, SCTD 1.0 กรัม, และ SCDS 0.5 กรัม เขย่าด้วยมือและเครื่องเขย่า vortex ประมาณ 1 นาที นำไป centrifuge ที่ความเร็วรอบ 4000 rpm 5 นาที จากนั้นดูดส่วนใส 2.0 มิลลิลิตร ใส่ลงในหลอด centrifuge ขนาด 15 มิลลิลิตร เติมสารที่ใช้ในการกำจัดสิ่งปนเปื้อน ตามตาราง 5 เขย่าด้วยมือและเครื่องเขย่า vortex ประมาณ 1 นาที นำไป centrifuge ที่ความเร็วรอบ 4000 rpm 5 นาที กรองสารละลายส่วนที่ใสผ่าน syringe filter membrane ขนาด 0.2 ไมครอน ลงใน vial ขนาด 1.5 มิลลิลิตร นำไปตรวจวิเคราะห์ด้วยเครื่อง LC-MSMS

ตาราง 8.5 ชนิดและปริมาณสารที่ใช้ในการกำจัดสิ่งปนเปื้อน

ชนิดสาร cleanup	$MgSO_4$ (mg)	PSA (mg)	GCB (mg)	C18 EC (mg)
1	150	50	-	-
2	150	50	7.7	50
3	150	25	7.5	-

ตาราง 8.6 แสดงค่าเฉลี่ย Peak Area และ % Recoveries ของชนิดและปริมาณสารที่ใช้ในการกำจัดสิ่งปนเปื้อนในตัวอย่างกะหล่ำปลี (cleanup) โดยการเติมสารมาตรฐานผสม 0.01 ไมโครกรัมต่อกรัม (n=6)

Compound name	% Recoveries		
	cleanup 1	cleanup 2	cleanup 3
aldicarb-sulfoxide	-	-	-
aldicarb-sulfone	48	44	38
methomyl	73	73	63
dicrotophos	63	65	59
carbofuran - 3 OH	58	58	51
mevinphos	81	78	80
aldicarb	42	22	39
carbofuran-3-keto	71	64	58
propoxur	88	80	78
pirimicarb	36	31	22
carbofuran	69	63	54
imazalil	80	76	79
carbaryl	71	73	65
ethiofencarb	72	76	73
isoprocarb	64	61	61
dimethomorph(E)	92	89	93
methiocarb	80	78	81
fenobucarb	65	65	62
cyproconazole	103	103	115
promecarb	56	59	54
iprovalicarb	91	90	91
tebuconazole	109	104	121
triazophos	89	93	96
diazinon	95	80	89
thiobencarb	121	116	56
indoxacarb	113	114	125
benfuracarb	-	-	-
ethion	77	81	80

8.3 ศึกษาคุณลักษณะของวิธีวิเคราะห์ในตัวอย่างกะหล่ำปลี ได้แก่ linearity, working range, LOD, LOQ, accuracy, และ precision โดยการชั่งตัวอย่างกะหล่ำปลี 10.00 กรัม ลงในหลอด centrifuge ขนาด 50 มิลลิลิตร เติมสารมาตรฐานผสมที่ความเข้มข้น 0.01 มิลลิกรัมต่อลิตร ทำการทดสอบ 6 ซ้ำ จากนั้นเติม acetonitrile 10.0 มิลลิลิตร ปิดฝาเขย่าด้วยมือประมาณ 30 วินาที เติมสารผสมของ $MgSO_4$ 4.0 กรัม, $NaCl$ 1.0 กรัม, SCTD 1.0 กรัม, และ SCDS 0.5 กรัม เขย่าด้วยมือและเครื่องเขย่า vortex ประมาณ 1 นาที นำไป centrifuge ที่ความเร็วรอบ 4000 rpm 5 นาที จากนั้นดูดส่วนใส 2.0 มิลลิลิตร ใส่ลงในหลอด centrifuge ขนาด 15 มิลลิลิตร เติมสารผสมระหว่าง $MgSO_4$ 150.0 มิลลิกรัม PSA 50.0 มิลลิกรัม GCB 7.7 mg และ C_{18EC} 50 mg เขย่าด้วยมือและเครื่องเขย่า vortex ประมาณ 1 นาที นำไป centrifuge ที่ความเร็วรอบ 4000 rpm 5 นาที กรองสารละลายส่วนที่ใสผ่าน syringe filter membrane ขนาด 0.2 ไมครอน ลงใน vial ขนาด 1.5 มิลลิลิตร นำไปตรวจวิเคราะห์ด้วยเครื่อง LC-MSMS

8.3.1 วิเคราะห์หาช่วงการวิเคราะห์และความเป็นเส้นตรง (range / linearity)

fortified sample blank ทดสอบสารมาตรฐานผสมระดับความเข้มข้น คือ 0.005, 0.01, 0.05, 0.1, 0.2, และ 0.3 ไมโครกรัมต่อกรัม ความเข้มข้นละ 6 ซ้ำ นำผลการวัดมาหาค่าเฉลี่ยและสร้างกราฟมาตรฐาน ระหว่างความเข้มข้นของสารมาตรฐาน (ppm) กับการตอบสนองของเครื่อง (response) โดยใช้เครื่อง LC-MSMS และพิจารณาความเป็นเส้นตรงโดยการคำนวณหาค่าสัมประสิทธิ์สหสัมพันธ์ (r) โดยค่า r ที่อยู่ในเกณฑ์ยอมรับจะต้องมากกว่า 0.995 จากการลองทดสอบ พบว่า ค่า r อยู่ในช่วง 0.9950-0.9998 ระดับความเข้มข้น 0.005 – 0.7 ไมโครกรัมต่อกรัมของการวิเคราะห์ปริมาณสารตกค้าง ยกเว้น aldicarb, indoxacarb, และ thiobencarb ระดับความเข้มข้น 0.01-0.7 ไมโครกรัมต่อกรัม นอกจากนั้น aldicarb-sulfoxide, carbofuran-3-keto, และ benfuracarb ไม่สามารถประเมินความเป็นเส้นตรงได้เนื่องจาก % recovery ไม่ผ่านเกณฑ์

ตาราง 8.7 แสดงค่า Range / Linearity ของการวิเคราะห์สารพิษตกค้าง โดยใช้เครื่อง LC-MSMS ในกะหล่ำปลี

Substances to be analyzed	Range ($\mu\text{g/g}$)	R
aldicarb-sulfoxide	-	-
aldicarb-sulfone	0.005 – 0.7	0.9973
methomyl	0.005 – 0.7	0.9953
dicrotophos	0.005 – 0.7	0.9957
carbofuran - 3 OH	0.005 – 0.7	0.9995
mevinphos	0.005 – 0.7	0.9972
aldicarb	0.01 – 0.7	0.9951
carbofuran-3-keto	-	-
propoxur	0.005 – 0.7	0.9969
pirimicarb	0.005 – 0.7	0.9998
carbofuran	0.005 – 0.7	0.9950
imazalil	0.005 – 0.7	0.9948
carbaryl	0.005 – 0.7	0.9988
ethiofencarb	0.005 – 0.7	0.9988
isoprocarb	0.005 – 0.7	0.9994
dimethomorph(E)	0.005 – 0.7	0.9989
methiocarb	0.005 – 0.7	0.9961
fenobucarb	0.005 – 0.7	0.9990
cyproconazole	0.005 – 0.7	0.9991
promecarb	0.005 – 0.7	0.9991
iprovalicarb	0.005 – 0.7	0.9992
tebuconazole	0.005 – 0.7	0.9964
triazophos	0.005 – 0.7	0.9977
diazinon	0.005 – 0.7	0.9986
thiobencarb	0.01 – 0.7	0.9830
indoxacarb	0.01 – 0.7	0.9986
benfuracarb	-	-
ethion	0.005 – 0.7	0.9973

8.3.2 การตรวจสอบ limit of detection (LOD) และ limit of quantitation (LOQ)

เมื่อ fortified sample blank ที่ระดับความเข้มข้นต่ำสุดของ range อย่างน้อย 6 ซ้ำ จะได้ ค่า LOD ของสารพิษตกค้างแต่ละชนิด อยู่ในช่วง 0.003 mg/kg และค่า LOQ ที่ได้มีความเข้มข้นที่ 0.005-0.01 mg/kg ยกเว้น aldicarb-sulfoxide, carbofuran-3-keto, thiobencarb, indoxacarb, และ benfuracarb ไม่สามารถคำนวณค่า LOD และ LOQ ได้เนื่องจากให้ค่า %recovery ไม่ผ่านเกณฑ์ ดังแสดงในตาราง 8.8

ตาราง 8.8 ค่า LOD และ LOQ ของการวิเคราะห์สารพิษตกค้าง โดยใช้เครื่อง LC-MSMS ในตัวอย่างกะหล่ำปลี

Pesticides	Concentration (mg/kg)	
	LOD	LOQ
aldicarb-sulfoxide	-	-
aldicarb-sulfone	0.003	0.005
methomyl	0.003	0.005
dicrotophos	0.003	0.005
carbofuran - 3 OH	0.003	0.005
mevinphos	0.003	0.005
aldicarb	0.003	0.01
carbofuran-3-keto	-	-
propoxur	0.003	0.005
pirimicarb	0.003	0.005
carbofuran	0.003	0.005
imazalil	0.003	0.005
carbaryl	0.003	0.005
ethiofencarb	0.003	0.005
isoprocarb	0.003	0.005
dimethomorph(E)	0.003	0.005
methiocarb	0.003	0.005
fenobucarb	0.003	0.005
cyproconazole	0.003	0.005
promecarb	0.003	0.005

Pesticides	Concentration (mg/kg)	
	LOD	LOQ
iprovalicarb	0.003	0.005
tebuconazole	0.003	0.005
triazophos	0.003	0.005
diazinon	0.003	0.01
thiobencarb	-	-
indoxacarb	-	-
benfuracarb	-	-
ethion	0.003	0.005

8.3.3 การตรวจสอบ accuracy

เมื่อ fortified sample blank ที่ระดับความเข้มข้นภายใน range จำนวน 3 ระดับความเข้มข้น ได้แก่ ที่ระดับความเข้มข้น 0.005, 0.01 และ 0.1 mg/kg และจากผลการทดลองพบว่า ที่ระดับความเข้มข้น 0.005, 0.01 และ 0.1 mg/kg ได้ค่า mean % recovery อยู่ในช่วง 68-110, 64-113 และ 68-109 ตามลำดับ ยกเว้น aldicarb-sulfoxide, aldicarb, carbofuran-3-keto, thiobencarb, indoxacarb, และ benfuracarb ให้ค่า %RSD \geq 20 และ % recovery ไม่ผ่านเกณฑ์ ผลการทดลองที่ได้ดังตาราง 8.9-8.17

ตาราง 8.9 Mean % Recovery ของ aldicarb-sulfoxide, aldicarb-sulfone, และ methomyl โดยใช้เครื่อง LC-MSMS ในตัวอย่างกะหล่ำปลี

sample No.	found (mg/kg)								
	aldicarb-sulfoxide			aldicarb-sulfone			methomyl		
	0.005	0.01	0.1	0.005	0.01	0.1	0.005	0.01	0.1
1	0.0014	0.0021	0.0765	0.0046	0.0067	0.0862	0.0044	0.0080	0.0897
2	0.0030	0.0010	0.0696	0.0048	0.0074	0.0829	0.0047	0.0088	0.0911
3	0.0007	0.0013	0.0763	0.0044	0.0071	0.0861	0.0046	0.0086	0.0907
4	0.0042	ND	0.0771	0.0052	0.0070	0.0890	0.0043	0.0090	0.0914
5	0.0019	0.0027	0.0764	0.0039	0.0073	0.0892	0.0043	0.0092	0.0917
6	0.0023	ND	0.0664	0.0041	0.0065	0.0758	0.0043	0.0083	0.0854
7	0.0080	0.0004	0.0764	0.0044	0.0062	0.0876	0.0046	0.0080	0.0901
8	0.0080	ND	0.0768	0.0047	0.0081	0.0862	0.0044	0.0088	0.0904

sample No.	found (mg/kg)								
	aldicarb-sulfoxide			aldicarb-sulfone			methomyl		
	0.005	0.01	0.1	0.005	0.01	0.1	0.005	0.01	0.1
9	0.0029	ND	0.0690	0.0050	0.0075	0.0803	0.0043	0.0091	0.0879
10	0.0017	0.0080	0.0771	0.0039	0.0075	0.0890	0.0048	0.0087	0.0914
Average	0.0034	0.0026	0.0742	0.0045	0.0071	0.0852	0.0045	0.0086	0.0900
SD	0.0026	0.0028	0.0041	0.0004	0.0006	0.0044	0.0002	0.0004	0.0019
%RSD	77	107	6	10	8	5	4	5	2
Mean % Recovery	68	-	74	90	71	85	89	86	90

ตาราง 8.10 Mean % Recovery ของ dicrotophos, carbofuran - 3 OH, และ mevinphos โดยใช้เครื่อง LC-MSMS ในตัวอย่างกะหล่ำปลี

sample No.	found (mg/kg)								
	dicrotophos			carbofuran - 3 OH			mevinphos		
	0.005	0.01	0.1	0.005	0.01	0.1	0.005	0.01	0.1
1	0.0040	0.0074	0.0790	0.0034	0.0068	0.0723	0.0040	0.0080	0.0864
2	0.0040	0.0090	0.0856	0.0031	0.0012	0.0643	0.0037	0.0087	0.0891
3	0.0039	0.0088	0.0799	0.0033	0.0065	0.0712	0.0044	0.0088	0.0868
4	0.0040	0.0091	0.0797	0.0039	0.0064	0.0720	0.0040	0.0093	0.0889
5	0.0040	0.0090	0.0798	0.0038	0.0069	0.0723	0.0042	0.0097	0.0875
6	0.0042	0.0084	0.0835	0.0034	0.0062	0.0571	0.0038	0.0083	0.0870
7	0.0041	0.0082	0.0793	0.0033	0.0057	0.0704	0.0042	0.0078	0.0855
8	0.0039	0.0084	0.0800	0.0036	0.0079	0.0719	0.0043	0.0088	0.0880
9	0.0041	0.0082	0.0837	0.0036	0.0077	0.0571	0.0043	0.0086	0.0878
10	0.0041	0.0086	0.0797	0.0036	0.0092	0.0720	0.0040	0.0078	0.0889
Average	0.0040	0.0085	0.0810	0.0035	0.0064	0.0681	0.0041	0.0086	0.0876
SD	0.0001	0.0005	0.0023	0.0002	0.0021	0.0063	0.0002	0.0006	0.0012
%RSD	2	6	3	7	33	9	5	7	1
Mean % Recovery	81	85	81	70	64	68	82	86	88

ตาราง 8.11 Mean % Recovery ของ aldicarb, carbofuran-3-keto, และ propoxur โดยใช้เครื่อง LC-MSMS ในตัวอย่างกะหล่ำปลี

sample No.	found (mg/kg)								
	aldicarb			carbofuran-3-keto			propoxur		
	0.005	0.01	0.1	0.005	0.01	0.1	0.005	0.01	0.1
1	ND	0.0081	0.0846	0.0038	0.0310	0.2644	0.0045	0.0083	0.0922
2	ND	0.0094	0.0874	0.0071	0.0384	0.2734	0.0048	0.0099	0.0939
3	ND	0.0093	0.0865	0.0059	0.0363	0.2662	0.0049	0.0097	0.0927
4	ND	0.0094	0.0860	0.0050	0.0365	0.2702	0.0047	0.0098	0.0928
5	ND	0.0096	0.0864	0.0060	0.0357	0.2531	0.0041	0.0097	0.0930
6	ND	0.0085	0.0877	0.0055	0.0341	0.2654	0.0044	0.0090	0.0924
7	ND	0.0086	0.0862	0.0049	0.0326	0.2669	0.0045	0.0089	0.0919
8	ND	0.0090	0.0858	0.0047	0.0357	0.2628	0.0041	0.0096	0.0931
9	ND	0.0087	0.0854	0.0067	0.0344	0.2678	0.0044	0.0096	0.0939
10	ND	0.0086	0.0860	0.0054	0.0333	0.2702	0.0047	0.0092	0.0928
Average	-	0.0089	0.0862	0.0055	0.0348	0.2660	0.0045	0.0094	0.0929
SD	-	0.0005	0.0009	0.0010	0.0022	0.0055	0.0003	0.0005	0.0006
%RSD	-	6	1	18	6	2	6	6	1
Mean % Recovery	-	89	86	-	-	-	90	94	93

ตาราง 8.12 Mean % Recovery ของ carbofuran, pirimicarb, และ carbaryl โดยใช้เครื่อง LC-MSMS ในตัวอย่างกะหล่ำปลี

sample No.	found (mg/kg)								
	carbofuran			pirimicarb			carbaryl		
	0.005	0.01	0.1	0.005	0.01	0.1	0.005	0.01	0.1
1	0.0042	0.0056	0.0979	0.0042	0.0078	0.0822	0.0038	0.0060	0.1004
2	0.0042	0.0073	0.0996	0.0047	0.0090	0.0830	0.0047	0.0082	0.1091
3	0.0046	0.0071	0.0979	0.0046	0.0088	0.0818	0.0042	0.0076	0.1016
4	0.0041	0.0071	0.0988	0.0042	0.0091	0.0825	0.0041	0.0081	0.1021
5	0.0040	0.0071	0.0985	0.0040	0.0088	0.0829	0.0042	0.0074	0.1025
6	0.0041	0.0063	0.0968	0.0042	0.0082	0.0812	0.0044	0.0066	0.1053
7	0.0040	0.0061	0.0157	0.0043	0.0082	0.0825	0.0049	0.0069	0.1013
8	0.0041	0.0070	0.0991	0.0041	0.0069	0.0835	0.0044	0.0072	0.1016
9	0.0045	0.0071	0.0987	0.0042	0.0089	0.0836	0.0043	0.0071	0.1066
10	0.0041	0.0063	0.0988	0.0041	0.0087	0.0825	0.0044	0.0069	0.1021
Average	0.0042	0.0067	0.0902	0.0043	0.0084	0.0826	0.0043	0.0072	0.1033
SD	0.0002	0.0006	0.0262	0.0002	0.0007	0.0007	0.0003	0.0007	0.0028
%RSD	5	9	29	5	8	1	7	9	3
Mean % Recovery	83	67	90	85	84	83	87	72	103

ตาราง 8.13 Mean % Recovery ของ imazalil, ethiofencarb, และ isoprocarb โดยใช้เครื่อง LC-MSMS ในตัวอย่างกะหล่ำปลี

sample No.	found (mg/kg)								
	imazalil			ethiofencarb			isoprocarb		
	0.005	0.01	0.1	0.005	0.01	0.1	0.005	0.01	0.1
1	0.0043	0.0073	0.0839	0.0037	0.0087	0.0949	0.0037	0.0078	0.0862
2	0.0042	0.0092	0.0858	0.0041	0.0108	0.0994	0.0042	0.0092	0.0885
3	0.0041	0.0082	0.0398	0.0037	0.0105	0.0952	0.0047	0.0089	0.0863
4	0.0034	0.0089	0.0852	0.0035	0.0106	0.0950	0.0041	0.0090	0.0883
5	0.0040	0.0077	0.0844	0.0038	0.0105	0.0959	0.0046	0.0087	0.0873
6	0.0040	0.0078	0.0827	0.0041	0.0096	0.0976	0.0045	0.0082	0.0864
7	0.0035	0.0080	0.0849	0.0037	0.0097	0.0959	0.0040	0.0082	0.0874

sample No.	found (mg/kg)								
	imazalil			ethiofencarb			isoproc carb		
	0.005	0.01	0.1	0.005	0.01	0.1	0.005	0.01	0.1
8	0.0035	0.0087	0.0853	0.0035	0.0100	0.0968	0.0040	0.0087	0.0878
9	0.0041	0.0085	0.0833	0.0037	0.0101	0.0997	0.0047	0.0089	0.0884
10	0.0037	0.0089	0.0852	0.0037	0.0096	0.0950	0.0036	0.0089	0.0883
Average	0.0039	0.0083	0.0801	0.0037	0.0100	0.0966	0.0042	0.0087	0.0875
SD	0.0003	0.0006	0.0142	0.0002	0.0006	0.0018	0.0004	0.0004	0.0009
%RSD	8	7	18	6	6	2	10	5	1
Mean % Recovery	77	83	80	75	100	97	84	87	87

ตาราง 8.14 Mean % Recovery ของ dimethomorph, methiocarb, และ fenobucarb โดยใช้เครื่อง LC-MSMS ในตัวอย่างกะหล่ำปลี

sample No.	found (mg/kg)								
	dimethomorph			methiocarb			fenobucarb		
	0.005	0.01	0.1	0.005	0.01	0.1	0.005	0.01	0.1
1	0.0046	0.0083	0.0764	0.0049	0.0083	0.1046	0.0046	0.0077	0.0984
2	0.0048	0.0097	0.0929	0.0044	0.0099	0.1052	0.0044	0.0093	0.0990
3	0.0051	0.0096	0.0874	0.0041	0.0093	0.1053	0.0046	0.0088	0.0995
4	0.0042	0.0084	0.0870	0.0049	0.0100	0.1042	0.0048	0.0094	0.0986
5	0.0043	0.0091	0.0874	0.0035	0.0093	0.1051	0.0050	0.0087	0.0977
6	0.0047	0.0078	0.0879	0.0042	0.0087	0.1018	0.0053	0.0081	0.0949
7	0.0046	0.0041	0.0873	0.0040	0.0084	0.1036	0.0050	0.0083	0.0977
8	0.0042	0.0093	0.0869	0.0046	0.0097	0.1055	0.0049	0.0090	0.0986
9	0.0039	0.0096	0.0937	0.0047	0.0098	0.1053	0.0039	0.0090	0.0978
10	0.0043	0.0091	0.0870	0.0043	0.0100	0.1042	0.0044	0.0092	0.0986
Average	0.0045	0.0085	0.0874	0.0044	0.0093	0.1045	0.0047	0.0088	0.0981
SD	0.0004	0.0017	0.0046	0.0004	0.0006	0.0011	0.0004	0.0006	0.0013
%RSD	8	20	5	10	7	1	9	6	1
Mean % Recovery	89	85	87	88	93	104	94	88	98

ตาราง 8.15 Mean % Recovery ของ cyproconazole, promecarb, และ iprovalicarb โดยใช้เครื่อง LC-MSMS ในตัวอย่างกะหล่ำปลี

sample No.	found (mg/kg)								
	cyproconazole			promecarb			iprovalicarb		
	0.005	0.01	0.1	0.005	0.01	0.1	0.005	0.01	0.1
1	0.0041	0.0094	0.1128	0.0048	0.0078	0.0926	0.0043	0.0074	0.0808
2	0.0049	0.0117	0.1056	0.0048	0.0093	0.0954	0.0044	0.0088	0.0825
3	0.0044	0.0115	0.1141	0.0050	0.0092	0.0932	0.0045	0.0087	0.0811
4	0.0053	0.0111	0.1135	0.0051	0.0093	0.0946	0.0044	0.0086	0.0824
5	0.0045	0.0103	0.1157	0.0042	0.0089	0.0933	0.0044	0.0084	0.0823
6	0.0048	0.0097	0.0213	0.0044	0.0085	0.0912	0.0040	0.0078	0.0795
7	0.0047	0.0092	0.1138	0.0047	0.0082	0.0930	0.0044	0.0078	0.0815
8	0.0045	0.0111	0.1130	0.0044	0.0091	0.0934	0.0042	0.0086	0.0825
9	0.0050	0.0112	0.1272	0.0050	0.0091	0.0953	0.0047	0.0086	0.0822
10	0.0045	0.0108	0.1135	0.0046	0.0091	0.0946	0.0043	0.0084	0.0824
Average	0.0047	0.0106	0.1051	0.0047	0.0089	0.0937	0.0044	0.0083	0.0817
SD	0.0003	0.0009	0.0299	0.0003	0.0005	0.0013	0.0002	0.0005	0.0010
%RSD	7	8	28	6	6	1	4	6	1
Mean % Recovery	94	106	105	94	89	94	87	83	82

ตาราง 8.16 Mean % Recovery ของ tebuconazole, triazophos, และ diazinon โดยใช้เครื่อง LC-MSMS ในตัวอย่างกะหล่ำปลี

sample No.	found (mg/kg)								
	tebuconazole			triazophos			diazinon		
	0.005	0.01	0.1	0.005	0.01	0.1	0.005	0.01	0.1
1	0.0054	0.0115	0.1142	0.0047	0.0079	0.0869	0.0044	0.0075	0.0883
2	0.0053	0.0130	0.1022	0.0046	0.0098	0.0903	0.0026	0.0092	0.0916
3	0.0048	0.0110	0.1129	0.0048	0.0095	0.0872	0.0039	0.0091	0.0882
4	0.0050	0.0116	0.1150	0.0052	0.0094	0.0880	0.0056	0.0089	0.0880
5	0.0045	0.0108	0.1171	0.0046	0.0087	0.0863	0.0051	0.0084	0.0878
6	0.0049	0.0136	0.1048	0.0046	0.0083	0.0869	0.0051	0.0081	0.0884
7	0.0042	0.0126	0.1171	0.0045	0.0081	0.0876	0.0053	0.0078	0.0885

sample No.	found (mg/kg)								
	tebuconazole			triazophos			diazinon		
	0.005	0.01	0.1	0.005	0.01	0.1	0.005	0.01	0.1
8	0.0049	0.0081	0.1073	0.0049	0.0091	0.0870	0.0039	0.0087	0.0885
9	0.0044	0.0091	0.1061	0.0047	0.0093	0.0908	0.0047	0.0094	0.0891
10	0.0043	0.0112	0.0956	0.0044	0.0089	0.0880	0.0051	0.0090	0.0880
Average	0.0048	0.0113	0.1092	0.0047	0.0089	0.0879	0.0046	0.0086	0.0886
SD	0.0004	0.0017	0.0072	0.0002	0.0006	0.0015	0.0009	0.0007	0.0011
%RSD	9	15	7	5	7	2	20	8	1
Mean % Recovery	95	113	109	94	89	88	91	86	89

ตาราง 8.17 Mean % Recovery ของ thiobencarb, indoxacarb, benfuracarb และ ethion โดยใช้เครื่อง LC-MSMS ในตัวอย่างกะหล่ำปลี

sample No.	found (mg/kg)											
	thiobencarb			indoxacarb			benfuracarb			ethion		
	0.005	0.01	0.1	0.005	0.01	0.1	0.005	0.01	0.1	0.005	0.01	0.1
1	ND	0.0098	0.0919	0.0070	0.0128	0.0810	ND	ND	ND	0.0048	0.0069	0.0862
2	ND	0.0065	0.0919	0.0044	0.0165	0.1050	ND	ND	ND	0.0049	0.0090	0.0883
3	ND	0.0078	0.0905	0.0008	0.0170	0.0795	ND	ND	ND	0.0046	0.0087	0.0869
4	ND	0.0109	0.0938	0.0031	0.0165	0.0834	ND	ND	ND	0.0047	0.0089	0.0864
5	ND	0.0067	0.0956	0.0045	0.0166	0.0811	ND	ND	ND	0.0049	0.0085	0.0863
6	ND	0.0099	0.0918	0.0065	0.0168	0.0936	ND	ND	ND	0.0049	0.0082	0.0870
7	ND	0.0052	0.0960	0.0012	0.0159	0.0847	ND	ND	ND	0.0047	0.0083	0.0870
8	ND	0.0040	0.0911	0.0162	0.0143	0.0804	ND	ND	ND	0.0048	0.0087	0.0852
9	ND	0.0060	0.0843	0.0064	0.0144	0.1027	ND	ND	ND	0.0048	0.0082	0.0886
10	ND	0.0062	0.0938	0.0129	0.0159	0.0834	ND	ND	ND	0.0050	0.0085	0.0864
Average	-	0.0073	0.0921	0.0063	0.0157	0.0875	-	-	-	0.0048	0.0084	0.0868
SD	-	0.0023	0.0033	0.0049	0.0014	0.0095	-	-	-	0.0001	0.0006	0.0010
%RSD	-	31	4	78	9	11	-	-	-	2	7	1
Mean % Recovery	-	73	92	126	157	87	-	-	-	96	84	87

8.3.4 การตรวจสอบ precision (intermediate precision)

เมื่อฉีด reagent blank, sample blank และ fortified sample blank ที่ระดับความเข้มข้นภายใน Range จำนวน 3 ระดับความเข้มข้น ได้แก่ ที่ระดับความเข้มข้น 0.005, 0.01 และ 0.1 mg/kg จากผลการทดสอบแบบ intermediate precision ได้ค่า HORRAT อยู่ในระหว่าง 0.08-1.17 , 0.05-1.64 และ 0.11-1.06 ตามลำดับ ยกเว้น aldicarb-sulfoxide, aldicarb, carbofuran-3-keto, thiobencarb, indoxacarb, และ benfuracarb ให้ ค่า HORRAT > 2 หรือ % recovery ไม่ผ่านเกณฑ์ ดังตาราง 8.18-8.26

ตาราง 8.18 Precision แบบ intermediate precision ของ aldicarb-sulfoxide, aldicarb-sulfone, และ methomyl โดยใช้เครื่อง LC-MSMS ในตัวอย่างกะหล่ำปลี

sample No.	found (mg/kg)								
	aldicarb-sulfoxide			aldicarb-sulfone			methomyl		
	0.005	0.01	0.1	0.005	0.01	0.1	0.005	0.01	0.1
1	0.0116	0.0194	0.0852	0.0047	0.0092	0.0844	0.0043	0.0090	0.0847
2	0.0117	0.0140	0.0877	0.0046	0.0093	0.0860	0.0045	0.0090	0.0864
3	0.0119	0.0138	0.0788	0.0045	0.0095	0.0832	0.0044	0.0092	0.0825
4	0.0035	0.0144	0.0801	0.0047	0.0095	0.0878	0.0043	0.0094	0.0864
5	0.0053	0.0049	0.0836	0.0046	0.0095	0.0878	0.0047	0.0094	0.0873
6	0.0074	0.0138	0.0802	0.0046	0.0094	0.0884	0.0047	0.0091	0.0867
7	0.0026	0.0043	0.1418	0.0040	0.0092	0.0934	0.0043	0.0080	0.0919
8	0.0015	0.0092	0.1285	0.0038	0.0108	0.0969	0.0045	0.0090	0.0900
9	0.0012	0.0023	0.0931	0.0035	0.0097	0.0844	0.0040	0.0093	0.0913
10	0.0029	0.0080	0.0768	0.0050	0.0075	0.0862	0.0043	0.0087	0.0904
Average	0.0060	0.0104	0.0936	0.0044	0.0094	0.0878	0.0044	0.0090	0.0878
SD	0.0044	0.0055	0.0226	0.0005	0.0008	0.0043	0.0002	0.0004	0.0030
% RSD_{obs}	73	53	24	11	9	5	5	4	3
Mean % Recovery	119	104	94	88	94	88	88	90	88
Predicted Horwitz RSD_r	34.58	31.80	22.85	36.17	32.31	23.07	36.19	32.50	23.07
HORRAT	2.12	1.67	1.06	0.30	0.26	0.21	0.14	0.14	0.15

ตาราง 8.19 Precision แบบ intermediate precision ของ dicrotophos, carbofuran - 3 OH, และ mevinphos โดยใช้เครื่อง LC-MSMS ในตัวอย่างกะหล่ำปลี

sample No.	found (mg/kg)								
	dicrotophos			carbofuran - 3 OH			mevinphos		
	0.005	0.01	0.1	0.005	0.01	0.1	0.005	0.01	0.1
1	0.0047	0.0087	0.0779	0.0045	0.0086	0.0791	0.0050	0.0095	0.0815
2	0.0047	0.0088	0.0792	0.0048	0.0090	0.0811	0.0014	0.0100	0.0826
3	0.0047	0.0089	0.0764	0.0045	0.0089	0.0771	0.0055	0.0096	0.0816
4	0.0042	0.0078	0.0774	0.0040	0.0073	0.0727	0.0013	0.0083	0.0838
5	0.0040	0.0081	0.0783	0.0038	0.0080	0.0734	0.0043	0.0097	0.0848
6	0.0042	0.0079	0.0781	0.0039	0.0078	0.0698	0.0015	0.0093	0.0864
7	0.0040	0.0086	0.1027	0.0034	0.0077	0.0977	0.0038	0.0075	0.0948
8	0.0039	0.0090	0.1061	0.0034	0.0083	0.0942	0.0040	0.0081	0.0929
9	0.0036	0.0092	0.1006	0.0037	0.0078	0.0977	0.0038	0.0087	0.0914
10	0.0041	0.0086	0.0800	0.0036	0.0092	0.0719	0.0043	0.0078	0.0880
Average	0.0042	0.0086	0.0857	0.0040	0.0083	0.0815	0.0035	0.0089	0.0868
SD	0.0004	0.0005	0.0122	0.0005	0.0006	0.0110	0.0015	0.0009	0.0048
% RSD_{obs}	9	5	14	12	8	13	44	10	6
Mean % Recovery	84	86	86	79	83	81	70	89	87
Predicted Horwitz RSD_r	36.42	32.75	23.15	36.79	32.93	23.33	37.50	32.58	23.11
HORRAT	0.25	0.16	0.61	0.34	0.23	0.58	1.17	0.31	0.24

ตาราง 8.20 Precision แบบ intermediate precision ของ aldicarb, carbofuran-3-keto, และ propoxur โดยใช้เครื่อง LC-MSMS ในตัวอย่างกะหล่ำปลี

sample No.	found (mg/kg)								
	aldicarb			carbofuran-3-keto			propoxur		
	0.005	0.01	0.1	0.005	0.01	0.1	0.005	0.01	0.1
1	0.0047	0.0088	0.0804	0.0236	0.0335	0.2079	0.0048	0.0092	0.0843
2	0.0047	0.0089	0.0820	0.0234	0.0332	0.2088	0.0049	0.0093	0.0859
3	0.0047	0.0089	0.0779	0.0230	0.0324	0.1876	0.0047	0.0094	0.0825
4	0.0050	0.0099	0.0892	0.0212	0.0353	0.2647	0.0047	0.0095	0.0874
5	0.0051	0.0103	0.0881	0.0209	0.0371	0.2569	0.0048	0.0096	0.0875
6	0.0053	0.0101	0.0865	0.0216	0.0354	0.2561	0.0047	0.0097	0.0883
7	0.0056	0.0075	0.0711	0.0070	0.0120	0.1887	0.0042	0.0092	0.0936
8	0.0090	0.0095	0.0762	0.0045	0.0127	0.1917	0.0042	0.0087	0.0925
9	0.0078	0.0098	0.0794	0.0054	0.0124	0.1860	0.0041	0.0087	0.0904
10	0.0020	0.0086	0.0858	0.0067	0.0333	0.2628	0.0044	0.0092	0.0931
Average	0.0054	0.0092	0.0817	0.0157	0.0277	0.2211	0.0046	0.0093	0.0886
SD	0.0019	0.0009	0.0058	0.0085	0.0107	0.0345	0.0003	0.0003	0.0038
% RSD_{obs}	35	9	7	54	39	16	7	4	4
Mean % Recovery	108	92	82	-	-	-	91	93	89
Predicted Horwitz RSD_r	35.11	32.38	23.32	29.88	27.44	20.08	36.01	32.37	23.04
HORRAT	1.00	0.29	0.30	1.81	1.40	0.78	0.18	0.11	0.19

ตาราง 8.21 Precision แบบ intermediate precision ของ carbofuran, pirimicarb, และ carbaryl โดยใช้เครื่อง LC-MSMS ในตัวอย่างกะหล่ำปลี

sample No.	found (mg/kg)								
	carbofuran			pirimicarb			carbaryl		
	0.005	0.01	0.1	0.005	0.01	0.1	0.005	0.01	0.1
1	0.0048	0.0095	0.0878	0.0048	0.0087	0.0755	0.0045	0.0089	0.0846
2	0.0050	0.0093	0.0896	0.0049	0.0089	0.0776	0.0049	0.0088	0.0873
3	0.0048	0.0099	0.0860	0.0048	0.0090	0.0742	0.0045	0.0093	0.0830
4	0.0047	0.0101	0.0936	0.0047	0.0090	0.0799	0.0045	0.0091	0.0881
5	0.0048	0.0105	0.0934	0.0048	0.0091	0.0797	0.0043	0.0092	0.0888

sample No.	found (mg/kg)								
	carbofuran			pirimicarb			carbaryl		
	0.005	0.01	0.1	0.005	0.01	0.1	0.005	0.01	0.1
6	0.0049	0.0104	0.0942	0.0048	0.0091	0.0806	0.0045	0.0090	0.0897
7	0.0041	0.0089	0.1024	0.0039	0.0090	0.1020	0.0038	0.0086	0.1049
8	0.0039	0.0091	0.1016	0.0039	0.0090	0.1023	0.0043	0.0091	0.1082
9	0.0043	0.0088	0.0999	0.0038	0.0093	0.0974	0.0040	0.0093	0.1092
10	0.0045	0.0063	0.0991	0.0042	0.0087	0.0835	0.0043	0.0069	0.1016
Average	0.0046	0.0093	0.0947	0.0045	0.0090	0.0853	0.0044	0.0088	0.0945
SD	0.0004	0.0012	0.0058	0.0005	0.0002	0.0110	0.0003	0.0007	0.0102
% RSD_{obs}	8	13	6	10	2	13	7	8	11
Mean % Recovery	91	93	95	89	90	85	87	88	95
Predicted Horwitz RSD_r	35.99	32.35	22.81	36.12	32.52	23.17	36.24	32.59	22.81
HORRAT	0.23	0.40	0.27	0.28	0.07	0.55	0.19	0.25	0.47

ตาราง 8.22 Precision แบบ intermediate precision ของ imazalil, ethiofencarb, และ isoprocarb โดยใช้เครื่อง LC-MSMS ในตัวอย่างกะหล่ำปลี

sample No.	found (mg/kg)								
	imazalil			ethiofencarb			isoprocarb		
	0.005	0.01	0.1	0.005	0.01	0.1	0.005	0.01	0.1
1	0.0042	0.0082	0.0760	0.0048	0.0089	0.0796	0.0045	0.0085	0.0778
2	0.0044	0.0085	0.0786	0.0047	0.0091	0.0830	0.0045	0.0086	0.0813
3	0.0041	0.0080	0.0756	0.0047	0.0089	0.0780	0.0046	0.0088	0.0761
4	0.0045	0.0084	0.0801	0.0049	0.0097	0.0880	0.0047	0.0088	0.0832
5	0.0043	0.0083	0.0790	0.0051	0.0101	0.0883	0.0044	0.0090	0.0822
6	0.0044	0.0082	0.0797	0.0052	0.0100	0.0879	0.0047	0.0089	0.0834
7	0.0037	0.0081	0.0901	0.0036	0.0076	0.0807	0.0035	0.0083	0.0926
8	0.0036	0.0088	0.0955	0.0033	0.0083	0.0823	0.0046	0.0091	0.0952
9	0.0033	0.0081	0.0900	0.0032	0.0082	0.0722	0.0024	0.0089	0.0920
10	0.0041	0.0089	0.0853	0.0037	0.0096	0.0968	0.0047	0.0089	0.0878
Average	0.0041	0.0083	0.0830	0.0043	0.0090	0.0837	0.0043	0.0088	0.0852
SD	0.0004	0.0003	0.0068	0.0008	0.0008	0.0068	0.0008	0.0002	0.0065

sample No.	found (mg/kg)								
	imazalil			ethiofencarb			isoproc carb		
	0.005	0.01	0.1	0.005	0.01	0.1	0.005	0.01	0.1
% RSD _{obs}	10	4	8	18	9	8	18	3	8
Mean % Recovery	82	83	83	86	90	84	85	88	85
Predicted Horwitz RSD _r	36.61	32.88	23.27	36.31	32.49	23.24	36.37	32.63	23.18
HORRAT	0.26	0.11	0.35	0.50	0.28	0.35	0.48	0.08	0.33

ตาราง 8.23 Precision แบบ intermediate precision ของ dimethomorph, methiocarb, และ fenobucarb โดยใช้เครื่อง LC-MSMS ในตัวอย่างกะหล่ำปลี

sample No.	found (mg/kg)								
	dimethomorph			methiocarb			fenobucarb		
	0.005	0.01	0.1	0.005	0.01	0.1	0.005	0.01	0.1
1	0.0040	0.0080	0.0725	0.0044	0.0090	0.0906	0.0045	0.0087	0.0877
2	0.0041	0.0085	0.0760	0.0044	0.0091	0.0937	0.0043	0.0091	0.0893
3	0.0042	0.0084	0.0700	0.0043	0.0096	0.0884	0.0045	0.0092	0.0853
4	0.0050	0.0095	0.0888	0.0042	0.0089	0.0935	0.0042	0.0086	0.0894
5	0.0047	0.0094	0.0870	0.0041	0.0089	0.0951	0.0040	0.0087	0.0913
6	0.0050	0.0094	0.0907	0.0041	0.0091	0.0946	0.0042	0.0086	0.0917
7	0.0043	0.0090	0.0948	0.0046	0.0086	0.0961	0.0048	0.0093	0.0945
8	0.0045	0.0083	0.0928	0.0047	0.0100	0.0987	0.0047	0.0096	0.0951
9	0.0043	0.0089	0.0929	0.0043	0.0098	0.0977	0.0054	0.0096	0.0942
10	0.0039	0.0091	0.0869	0.0047	0.0100	0.1055	0.0039	0.0092	0.0986
Average	0.0044	0.0089	0.0852	0.0044	0.0093	0.0954	0.0044	0.0091	0.0917
SD	0.0004	0.0005	0.0091	0.0002	0.0005	0.0047	0.0004	0.0004	0.0040
% RSD_{obs}	9	6	11	5	5	5	10	4	4
Mean % Recovery	88	89	85	88	93	95	89	91	92
Predicted Horwitz RSD_r	36.20	32.58	23.17	36.22	32.35	22.78	36.14	32.46	22.92
HORRAT	0.24	0.18	0.46	0.15	0.16	0.22	0.28	0.14	0.19

ตาราง 8.24 Precision แบบ intermediate precision ของ cyproconazole, promecarb, และ iprovalicarb โดยใช้เครื่อง LC-MSMS ในตัวอย่างกะหล่ำปลี

sample No.	found (mg/kg)								
	cyproconazole			promecarb			iprovalicarb		
	0.005	0.01	0.1	0.005	0.01	0.1	0.005	0.01	0.1
1	0.0044	0.0093	0.0840	0.0047	0.0092	0.0826	0.0045	0.0083	0.0708
2	0.0045	0.0097	0.0870	0.0049	0.0092	0.0845	0.0046	0.0083	0.0721
3	0.0043	0.0097	0.0799	0.0048	0.0093	0.0810	0.0045	0.0082	0.0685
4	0.0041	0.0095	0.1097	0.0045	0.0092	0.0883	0.0046	0.0088	0.0778
5	0.0030	0.0097	0.1076	0.0047	0.0095	0.0881	0.0047	0.0089	0.0764
6	0.0031	0.0096	0.1114	0.0046	0.0089	0.0896	0.0048	0.0087	0.0781
7	0.0039	0.0088	0.0899	0.0039	0.0088	0.0930	0.0044	0.0091	0.0977
8	0.0047	0.0093	0.0888	0.0046	0.0089	0.0946	0.0045	0.0089	0.0946
9	0.0049	0.0093	0.0886	0.0045	0.0094	0.0924	0.0044	0.0089	0.0922
10	0.0050	0.0108	0.1130	0.0050	0.0091	0.0934	0.0047	0.0084	0.0825
Average	0.0042	0.0096	0.0960	0.0046	0.0092	0.0887	0.0046	0.0087	0.0811
SD	0.0007	0.0005	0.0128	0.0003	0.0002	0.0048	0.0001	0.0003	0.0104
% RSD_{obs}	16	5	13	7	3	5	3	4	13
Mean % Recovery	84	96	96	93	92	89	92	87	81
Predicted Horwitz RSD_r	36.46	32.20	22.76	35.92	32.42	23.03	35.98	32.68	23.35
HORRAT	0.45	0.17	0.59	0.19	0.08	0.23	0.09	0.11	0.55

ตาราง 8.25 Precision แบบ intermediate precision ของ tebuconazole, triazophos, และ diazinon โดยใช้เครื่อง LC-MSMS ในตัวอย่างกะหล่ำปลี

sample No.	found (mg/kg)								
	tebuconazole			triazophos			diazinon		
	0.005	0.01	0.1	0.005	0.01	0.1	0.005	0.01	0.1
1	0.0048	0.0101	0.0865	0.0046	0.0088	0.0777	0.0043	0.0084	0.0775
2	0.0050	0.0098	0.0908	0.0046	0.0090	0.0794	0.0044	0.0085	0.0799
3	0.0047	0.0102	0.0818	0.0044	0.0090	0.0757	0.0041	0.0087	0.0751
4	0.0057	0.0122	0.1143	0.0047	0.0091	0.0852	0.0046	0.0097	0.0845

sample No.	found (mg/kg)								
	tebuconazole			triazophos			diazinon		
	0.005	0.01	0.1	0.005	0.01	0.1	0.005	0.01	0.1
5	0.0055	0.0121	0.1105	0.0046	0.0092	0.0847	0.0047	0.0095	0.0863
6	0.0057	0.0120	0.1165	0.0047	0.0091	0.0861	0.0050	0.0094	0.0862
7	0.0054	0.0085	0.0943	0.0049	0.0090	0.0892	0.0028	0.0093	0.0930
8	0.0053	0.0082	0.0918	0.0048	0.0087	0.0879	0.0025	0.0043	0.0908
9	0.0047	0.0095	0.0929	0.0048	0.0089	0.0855	0.0031	0.0092	0.0927
10	0.0044	0.0112	0.1073	0.0047	0.0089	0.0870	0.0047	0.0090	0.0885
Average	0.0051	0.0104	0.0987	0.0047	0.0090	0.0838	0.0040	0.0086	0.0855
SD	0.0005	0.0015	0.0124	0.0001	0.0001	0.0046	0.0009	0.0016	0.0062
% RSD_{obs}	9	14	13	3	2	5	22	18	7
Mean % Recovery	102	104	99	94	90	84	80	86	85
Predicted Horwitz RSD_r	35.38	31.81	22.67	35.86	32.52	23.23	36.71	32.73	23.16
HORRAT	0.26	0.44	0.55	0.08	0.05	0.24	0.61	0.56	0.32

ตาราง 8.26 Precision แบบ intermediate precision ของ thiobencarb, indoxacarb, benfuracarb และ ethion โดยใช้เครื่อง LC-MSMS ในตัวอย่างกะหล่ำปลี

sample No.	found (mg/kg)											
	thiobencarb			indoxacarb			benfuracarb			ethion		
	0.005	0.01	0.1	0.005	0.01	0.1	0.005	0.01	0.1	0.005	0.01	0.1
1	0.0024	0.0093	0.0869	0.0116	0.0155	0.0727	1.3664	0.2927	1.0770	0.0047	0.0096	0.0817
2	0.0037	0.0120	0.0861	0.0117	0.0152	0.0763	0.4756	0.9834	1.2998	0.0049	0.0090	0.0811
3	0.0054	0.0073	0.0702	0.0118	0.0155	0.0666	0.0870	ND	0.0516	0.0046	0.0094	0.0786
4	0.0042	0.0013	0.0864	0.0110	0.0137	0.0863	0.1080	ND	ND	0.0046	0.0091	0.0823
5	0.0056	0.0097	0.0918	0.0103	0.0138	0.0822	0.4231	ND	0.2429	0.0045	0.0087	0.0817
6	0.0043	0.0062	0.0748	0.0102	0.0138	0.0893	0.0362	ND	0.2441	0.0045	0.0089	0.0824
7	ND	ND	0.1076	0.0093	0.0065	0.0970	ND	2.6830	ND	0.0045	0.0087	0.0855
8	ND	ND	0.0858	0.0094	0.0121	0.0940	2.6544	2.9089	0.4314	0.0042	0.0089	0.0829
9	0.0073	ND	0.0634	0.0031	0.0069	0.0975	0.8520	2.9889	1.2016	0.0049	0.0087	0.0848
10	ND	0.0062	0.0911	0.0064	0.0159	0.0804	ND	5.4552	0.3261	0.0048	0.0085	0.0852

sample No.	found (mg/kg)											
	thiobencarb			indoxacarb			benfuracarb			ethion		
	0.005	0.01	0.1	0.005	0.01	0.1	0.005	0.01	0.1	0.005	0.01	0.1
Average	0.0047	0.0074	0.0844	0.0095	0.0129	0.0842	0.7503	2.5520	0.6093	0.0046	0.0090	0.0826
SD	0.0016	0.0034	0.0124	0.0027	0.0035	0.0105	0.8913	1.8071	0.4981	0.0002	0.0003	0.0021
% RSD _{obs}	33	46	15	29	27	12	119	71	82	5	4	3
Mean % Recovery	94	74	84	-	-	84	-	-	-	92	90	83
Predicted Horwitz RSD _p	35.84	33.46	23.21	32.25	30.79	23.21	16.70	13.89	17.24	35.93	32.53	23.28
HORRAT	0.93	1.38	0.63	0.90	0.87	0.54	7.11	5.10	4.74	0.13	0.11	0.11

8.4 ศึกษาคุณลักษณะของวิธีวิเคราะห์ในตัวอย่างผักกาดหอม ได้แก่ matrix effect, linearity, working range, LOD, LOQ, accuracy, และ precision โดยการชั่งตัวอย่างผักกาดหอม 10.00 กรัม ลงในหลอด centrifuge ขนาด 50 มิลลิลิตร เติมน้ำมาตรฐานผสมที่ความเข้มข้น 0.01 มิลลิกรัมต่อลิตร ทำการทดสอบ 6 ซ้ำ จากนั้นเติม acetonitrile 10.0 มิลลิลิตร ปิดฝาเขย่าด้วยมือประมาณ 30 วินาที เติมน้ำผสมของ $MgSO_4$ 4.0 กรัม, $NaCl$ 1.0 กรัม, SCTD 1.0 กรัม, และ SCDS 0.5 กรัม เขย่าด้วยมือและเครื่องเขย่า vortex ประมาณ 1 นาที นำไป centrifuge ที่ความเร็วรอบ 4000 rpm 5 นาที จากนั้นดูดส่วนใส 2.0 มิลลิลิตร ใส่ลงในหลอด centrifuge ขนาด 15 มิลลิลิตร เติมน้ำผสมระหว่าง $MgSO_4$ 150.0 มิลลิกรัม PSA 50.0 มิลลิกรัม GCB 7.7 mg และ C18EC 50 mg เขย่าด้วยมือและเครื่องเขย่า vortex ประมาณ 1 นาที นำไป centrifuge ที่ความเร็วรอบ 4000 rpm 5 นาที กรองสารละลายส่วนที่ใสผ่าน syringe filter membrane ขนาด 0.2 ไมครอน ลงใน vial ขนาด 1.5 มิลลิลิตร นำไปตรวจวิเคราะห์ด้วยเครื่อง LC-MSMS

8.4.1 ดำเนินการวิเคราะห์ matrix effect โดยการเตรียม calibration curve ให้มีความเข้มข้นอยู่ในช่วง 0.002-0.8 mg/l โดยแบ่งออกเป็น 2 ชุด ชุดแรกเตรียมใน acetonitrile ชุดที่สองเตรียมใน matrix ผักกาดหอมผลจากการเขียนกราฟระหว่างพื้นที่ใต้พีคกับความเข้มข้น พบว่าได้ว่าเส้นกราฟที่ได้ทั้งสองชนิดที่เตรียมมีความชันไม่แตกต่างกัน และเมื่อนำค่าความชันที่ได้มาคำนวณค่าความแตกต่าง (%RPD) พบว่ามีค่าความแตกต่างของความชันเท่ากับ 0.07-8.57% ซึ่งมีค่า %RPD ไม่เกิน 10% (NATA, 2012) อยู่ในเกณฑ์ที่ยอมรับได้ แสดงว่า matrix ไม่มีผลต่อการทดสอบ ยกเว้น carbofuran-3-keto มีค่า มีค่าความแตกต่างของความชันเท่ากับ 18.82%

ตาราง 8.27 ผลการเปรียบเทียบความแตกต่างระหว่างความเข้มข้นของสารมาตรฐานที่เตรียมใน solvent (acetonitrile) และ matrix (ผักกาดหอม)

pesticides	solution in	equation	slope	%RPD
aldicarb-sulfoxide	solvent	$y = 4,470,844.5106x - 14,272.4638$	4,470,844.51	4.39
	matrix	$y = 4,671,659.8148x - 37,716.1569$	4,671,659.81	
aldicarb-sulfone	solvent	$y = 1,294,381.0900x + 11,046.7650$	1,294,381.09	1.84
	matrix	$y = 1,270,804.2183x + 2,375.8806$	1,270,804.22	
methomyl	solvent	$y = 6,429,919.9175x + 32,733.2709$	6,429,919.92	5.49
	matrix	$y = 6,086,256.0175x - 23,996.8275$	6,086,256.02	
dicrotophos	solvent	$y = 20,481,322.8277x - 32,090.8078$	20,481,322.83	3.03
	matrix	$y = 19,869,287.9859x - 107,463.5656$	19,869,287.99	
mevinphos	solvent	$y = 7,383,240.4503x - 43,478.0722$	7,383,240.45	0.98
	matrix	$y = 7,456,304.8098x - 53,822.7959$	7,456,304.81	
carbofuran, - 3 hydroxy	solvent	$y = 2,810,687.8255x + 44,010.5233$	2,810,687.83	0.48
	matrix	$y = 2,797,101.4529x + 30,411.7256$	2,797,101.45	
aldicarb	solvent	$y = 2,144,612.7847x + 12,596.2285$	2,144,612.78	0.43
	matrix	$y = 2,153,794.3173x + 13,327.6237$	2,153,794.32	
carbofuran-3-keto	solvent	$y = 508,327.1850x + 7,109.8461$	508,327.19	18.82
	matrix	$y = 420,905.5193x - 10,531.1941$	420,905.52	
propoxur	solvent	$y = 15,751,995.1096x + 15,073.1831$	15,751,995.11	1.11
	matrix	$y = 15,927,964.9837x - 26,486.0397$	15,927,964.98	
carbofuran	solvent	$y = 3,077,217.4460x + 30,514.9113$	3,077,217.45	0.16
	matrix	$y = 3,082,294.0729x + 24,622.7513$	3,082,294.07	
pirimicarb	solvent	$y = 35,714,193.7788x + 207,211.7375$	35,714,193.78	0.30
	matrix	$y = 35,607,535.2384x + 142,584.1316$	35,607,535.24	
imazalil	solvent	$y = 3,786,253.7477x + 7,595.1951$	3,786,253.75	0.34
	matrix	$y = 3,799,194.7766x + 846.1635$	3,799,194.78	
carbaryl	solvent	$y = 4,119,715.9302x + 103,580.6228$	4,119,715.93	0.07
	matrix	$y = 4,122,751.4896x + 103,948.4144$	4,122,751.49	
ethiofencarb	solvent	$y = 18,855,367.0923x - 3,837.7293$	18,855,367.09	0.25
	matrix	$y = 18,808,569.1928x - 22,404.0965$	18,808,569.19	
isoprocarb	solvent	$y = 5,257,549.1059x + 9,170.0509$	5,257,549.11	1.82

pesticides	solution in	equation	slope	%RPD
	matrix	$y = 5,353,989.1469x + 3,331.6254$	5,353,989.15	
dimethomorph(E)	solvent	$y = 11,546,556.8670x + 132,728.7258$	11,546,556.87	1.89
	matrix	$y = 11,330,710.9852x + 97,591.5217$	11,330,710.99	
methiocarb	solvent	$y = 3,558,239.6889x + 52,930.9574$	3,558,239.69	0.96
	matrix	$y = 3,524,072.0993x + 51,628.4134$	3,524,072.10	
fenobucarb	solvent	$y = 4,858,514.8610x + 46,133.3281$	4,858,514.86	0.90
	matrix	$y = 4,814,809.5417x + 36,889.8480$	4,814,809.54	
cyproconazole	solvent	$y = 14,783,812.3214x + 473,417.1629$	14,783,812.32	2.74
	matrix	$y = 14,384,029.1281x + 382,468.9231$	14,384,029.13	
promecarb	solvent	$y = 11,225,077.6651x + 32,765.8216$	11,225,077.67	1.02
	matrix	$y = 11,340,706.8047x + 17,293.2659$	11,340,706.80	
iprovalicarb	solvent	$y = 37,504,833.4089x + 281,633.5411$	37,504,833.41	0.39
	matrix	$y = 37,359,206.3414x + 178,496.4182$	37,359,206.34	
tebuconazole	solvent	$y = 11,292,611.7038x + 374,124.8321$	11,292,611.70	8.57
	matrix	$y = 10,364,781.4491x + 313,739.6626$	10,364,781.45	
triazophos	solvent	$y = 34,672,918.6938x + 600,783.4248$	34,672,918.69	0.40
	matrix	$y = 34,812,146.3737x + 504,399.5119$	34,812,146.37	
diazinon	solvent	$y = 11,982,016.6862x + 62,730.5784$	11,982,016.69	0.30
	matrix	$y = 11,945,808.7301x + 16,231.3169$	11,945,808.73	
thiobencarb	solvent	$y = 125,022.7079x + 216.2661$	125,022.71	1.58
	matrix	$y = 127,018.3645x - 590.9403$	127,018.36	
indoxacarb	solvent	$y = 3,420,181.7297x + 133,115.4366$	3,420,181.73	5.25
	matrix	$y = 3,245,103.0174x + 85,204.3662$	3,245,103.02	
benfuracarb	solvent	$y = 13,989,298.6290x + 179,472.8877$	13,989,298.63	0.74
	matrix	$y = 14,093,668.9009x + 137,105.9668$	14,093,668.90	
ethion	solvent	$y = 7,586,528.4708x + 96,592.0274$	7,586,528.47	2.82
	matrix	$y = 7,375,300.3945x + 55,939.5916$	7,375,300.39	

8.4.2 การหาค่า limit of detection (LOD) และ limit of quantitation (LOQ)

เมื่อ fortified sample blank ที่ระดับความเข้มข้นต่ำ 0.005 mg/kg อย่างน้อย 10 ซ้ำ จะได้ ค่า LOD ของสารพิษตกค้างแต่ละชนิด อยู่ในช่วง 0.003 mg/kg และค่า LOQ ที่ได้มีความเข้มข้นที่ 0.005 mg/kg ยกเว้น

aldicarb-sulfoxide ได้ค่า LOQ ที่ได้มีความเข้มข้นที่ 0.01 mg/kg นอกจากนั้นพบว่า carbofuran-3-keto, thiobencarb และ benfuracarb ไม่สามารถประเมินค่า LOD, และ LOQ ได้เนื่องจาก % recoveries ไม่ผ่านเกณฑ์

ตาราง 6.28 ค่า LOD และ LOQ ของการวิเคราะห์สารพิษตกค้าง โดยใช้เครื่อง LC-MSMS ในตัวอย่างผักกาดหอม

pesticides	concentration (mg/kg)		% recoveries	%RSD
	LOD	LOQ		
aldicarb-sulfoxide	0.003	0.01	112	18
aldicarb-sulfone	0.003	0.005	97	6
methomyl	0.003	0.005	114	4
dicrotophos	0.003	0.005	108	12
mevinphos	0.003	0.005	109	4
carbofuran, - 3 hydroxy	0.003	0.005	76	6
aldicarb	0.003	0.005	60	7
carbofuran-3-keto	-	-	50	15
propoxur	0.003	0.005	74	7
carbofuran	0.003	0.005	89	11
pirimicarb	0.003	0.005	114	3
imazalil	0.003	0.005	95	5
carbaryl	0.003	0.005	112	5
ethiofencarb	0.003	0.005	95	4
isoprocarb	0.003	0.005	104	5
dimethomorph(E)	0.003	0.005	102	4
methiocarb	0.003	0.005	109	5
fenobucarb	0.003	0.005	84	10
cyproconazole	0.003	0.005	112	6
promecarb	0.003	0.005	106	5
iprovalicarb	0.003	0.005	99	4
tebuconazole	0.003	0.005	114	4
triazophos	0.003	0.005	112	5

pesticides	concentration (mg/kg)		% recoveries	%RSD
	LOD	LOQ		
diazinon	0.003	0.005	67	10
thiobencarb	-	-	171	25
indoxacarb	0.003	0.005	120	6
benfuracarb	-	-	6	31
ethion	0.003	0.005	96	6

8.4.3 การหาช่วงการวิเคราะห์และความเป็นเส้นตรง (working range / linearity) โดยการ fortified sample blank ทดสอบสารมาตรฐานผสมระดับความเข้มข้น คือ 0.002, 0.005, 0.01, 0.03, 0.05, 0.1, 0.3, 0.5, และ 0.7 mg/kg ความเข้มข้นอย่างน้อย 3 ซ้ำ นำผลการวัดมาหาค่าเฉลี่ยและสร้างกราฟมาตรฐานระหว่างความเข้มข้นของสารมาตรฐาน (ppm) กับการตอบสนองของเครื่อง (response) โดยใช้เครื่อง LC-MSMS และพิจารณาความเป็นเส้นตรงโดยการคำนวณหาค่าสัมประสิทธิ์สหสัมพันธ์ (r) โดยค่า r ที่อยู่ในเกณฑ์ยอมรับจะต้องมากกว่า 0.995 พบว่าค่าสัมประสิทธิ์สหสัมพันธ์ (r) อยู่ในช่วง 0.9976-1.0000 ผลการตรวจสอบ working range พบว่าช่วงความเข้มข้นระหว่าง 0.002 – 0.1 mg/kg ของการวิเคราะห์ปริมาณสารตกค้าง ได้แก่ cyproconazole, tebuconazole, และ indoxacarb ช่วงความเข้มข้นระหว่าง 0.002 – 0.3 mg/kg ของการวิเคราะห์ปริมาณสารตกค้าง ได้แก่ carbaryl ช่วงความเข้มข้นระหว่าง 0.002 – 0.5 mg/kg ของการวิเคราะห์ปริมาณสารตกค้าง ได้แก่ aldicarb-sulfoxide, carbofuran, - 3 hydroxy, carbofuran, methiocarb, และ triazophos ช่วงความเข้มข้นระหว่าง 0.002 – 0.7 mg/kg ของการวิเคราะห์ปริมาณสารตกค้าง ได้แก่ aldicarb-sulfone, methomyl, dicrotophos, mevinphos, aldicarb, propoxur, pirimicarb, imazalil, ethiofencarb, isoprocarb, dimethomorph, fenobucarb, promecarb, iprovalicarb, diazinon, และ ethion ช่วงความเข้มข้นระหว่าง 0.005 – 0.5 mg/kg ของการวิเคราะห์ปริมาณสารตกค้าง ได้แก่ carbofuran-3-keto ช่วงความเข้มข้นระหว่าง 0.005 – 0.7 mg/kg ของการวิเคราะห์ปริมาณสารตกค้าง ได้แก่ thiobencarb ยกเว้น benfuracarb ไม่สามารถประเมินความเป็นเส้นตรงได้เนื่องจาก % recovery ไม่ผ่านเกณฑ์ ผลการทดสอบที่ได้ดังตาราง 8.29

ตาราง 8.29 แสดงค่าการประเมิน working range และ linearity ของการวิเคราะห์สารพิษตกค้าง โดยใช้เครื่อง LC-MSMS ในตัวอย่างผักกาดหอม (n=3)

pesticides	equation	r	working range (mg/kg)
aldicarb-sulfoxide	$y = 3,137,696.0743x + 4,942.5286$	0.9996	0.002-0.5
aldicarb-sulfone	$y = 979,241.2602x + 9,309.3527$	0.9983	0.002-0.7
methomyl	$y = 5,178,674.1976x + 21,669.4766$	0.9997	0.002-0.7
dicrotophos	$y = 14,081,014.3254x + 32,230.1815$	0.9999	0.002-0.7
mevinphos	$y = 6,131,046.2237x - 1,382.3499$	1.0000	0.002-0.7
carbofuran, - 3 hydroxy	$y = 2,313,789.3052x + 20,807.4085$	0.9976	0.002-0.5
aldicarb	$y = 1,734,017.7598x + 15,370.4151$	0.9978	0.002-0.7
carbofuran-3-keto	$y = 162,817.6270x + 1,568.8429$	0.9986	0.005-0.5
propoxur	$y = 11,765,008.2750x + 49,534.6055$	0.9997	0.002-0.7
carbofuran	$y = 3,547,305.0672x + 26,608.6495$	0.9982	0.002-0.5
pirimicarb	$y = 32,708,238.4090x + 44,948.9864$	0.9994	0.002-0.7
imazalil	$y = 2,663,404.3162x + 15,222.1072$	0.9994	0.002-0.7
carbaryl	$y = 3,963,467.5816x + 21,411.3972$	0.9980	0.002-0.3
ethiofencarb	$y = 15,260,766.7385x + 38,597.3142$	0.9998	0.002-0.7
isoprocarb	$y = 5,241,069.1761x + 22,657.2782$	0.9996	0.002-0.7
dimethomorph(E)	$y = 8,995,375.6803x + 83,785.7458$	0.9985	0.002-0.7
methiocarb	$y = 2,924,000.6497x + 26,496.6716$	0.9977	0.002-0.5
fenobucarb	$y = 3,515,397.7305x + 36,413.5699$	0.9982	0.002-0.7
cyproconazole	$y = 21,877,973.7343x + 18,386.2000$	0.9996	0.002-0.1
promecarb	$y = 8,304,102.3320x + 51,962.2852$	0.9994	0.002-0.7
iprovalicarb	$y = 38,361,825.6194x + 135,099.2252$	0.9990	0.002-0.7
tebuconazole	$y = 17,983,967.5191x + 22,692.8724$	0.9994	0.002-0.1
triazophos	$y = 34,733,934.2117x + 158,269.4400$	0.9996	0.002-0.5
diazinon	$y = 9,636,453.2264x + 60,277.1506$	0.9993	0.002-0.7
thiobencarb	$y = 113,550.1138x + 550.6099$	0.9995	0.005-0.7

pesticides	equation	r	working range (mg/kg)
indoxacarb	$y = 4,676,942.5924x + 4,788.8373$	0.9996	0.002-0.1
benfuracarb	-	-	-
ethion	$y = 6,163,964.6866x + 81,287.2110$	0.9984	0.002-0.7

8.4.4 การตรวจสอบ accuracy โดยการ fortified sample blank ที่ระดับความเข้มข้นภายใน range จำนวน 3 ระดับความเข้มข้น ได้แก่ ที่ระดับความเข้มข้น 0.005, 0.01 และ 0.1 mg/kg ความเข้มข้นอย่างน้อย 10 ซ้ำ ผลการตรวจสอบ พบว่า ที่ระดับความเข้มข้น 0.005, 0.01 และ 0.1 mg/kg ได้ค่า mean % recovery อยู่ในช่วง 60-120 , 73-120 และ 89-114 ตามลำดับ ยกเว้นที่ความเข้มข้นระดับต่ำ 0.005 mg/kg มีค่า % recovery ไม่ผ่านเกณฑ์ ได้แก่ carbofuran-3-keto, thiobencarb, และ benfuracarb ที่ความเข้มข้นระดับกลาง 0.01 mg/kg มีค่า % recovery ไม่ผ่านเกณฑ์ ได้แก่ carbofuran, thiobencarb, และ benfuracarb ความเข้มข้นระดับสูง 0.1 mg/kg มีค่า % recovery ไม่ผ่านเกณฑ์ ได้แก่ carbofuran, และ benfuracarb ผลการทดสอบที่ได้ดังตาราง 8.30-8.38

ตาราง 8.30 Mean % recovery ของ aldicarb-sulfoxide, aldicarb-sulfone, และ methomyl โดยใช้เครื่อง LC-MSMS ในตัวอย่างผักกาดหอม

sample No.	found (mg/kg)								
	aldicarb-sulfoxide			aldicarb-sulfone			methomyl		
	0.005	0.01	0.1	0.005	0.01	0.1	0.005	0.01	0.1
1	0.0051	0.0101	0.0991	0.0046	0.0099	0.1132	0.0058	0.0102	0.1043
2	0.0053	0.0097	0.0945	0.0050	0.0101	0.1139	0.0056	0.0110	0.1041
3	0.0050	0.0113	0.0840	0.0052	0.0099	0.1079	0.0059	0.0110	0.0999
4	0.0064	0.0109	0.0836	0.0048	0.0107	0.1071	0.0057	0.0114	0.1003
5	0.0082	0.0163	0.0872	0.0049	0.0101	0.1028	0.0056	0.0109	0.0941
6	0.0049	0.0107	0.0734	0.0044	0.0105	0.1094	0.0052	0.0103	0.1011
7	0.0055	0.0114	0.0955	0.0045	0.0108	0.1093	0.0056	0.0114	0.1002
8	0.0051	0.0100	0.0881	0.0049	0.0105	0.1074	0.0059	0.0107	0.0975
9	0.0055	0.0094	0.0876	0.0049	0.0097	0.1115	0.0058	0.0106	0.1029
10	0.0050	0.0099	0.0943	0.0053	0.0106	0.1115	0.0058	0.0110	0.1026
average	0.0056	0.0110	0.0887	0.0049	0.0103	0.1094	0.0057	0.0108	0.1007
SD	0.0010	0.0020	0.0075	0.0003	0.0004	0.0033	0.0002	0.0004	0.0031

sample No.	found (mg/kg)								
	aldicarb-sulfoxide			aldicarb-sulfone			methomyl		
	0.005	0.01	0.1	0.005	0.01	0.1	0.005	0.01	0.1
%RSD	18	18	8	6	4	3	4	4	3
mean % recovery	112	110	89	97	103	109	114	108	101

ตาราง 8.31 Mean % recovery ของ dicrotophos, mevinphos, และ carbofuran - 3 OH โดยใช้เครื่อง LC-MSMS ในตัวอย่างผักกาดหอม

sample No.	found (mg/kg)								
	dicrotophos			mevinphos			carbofuran - 3 OH		
	0.005	0.01	0.1	0.005	0.01	0.1	0.005	0.01	0.1
1	0.0055	0.0103	0.1026	0.0055	0.0098	0.1017	0.0037	0.0089	0.1156
2	0.0056	0.0109	0.1009	0.0056	0.0104	0.1028	0.0038	0.0096	0.1142
3	0.0059	0.0108	0.0983	0.0058	0.0105	0.1007	0.0040	0.0094	0.1092
4	0.0057	0.0112	0.0997	0.0055	0.0106	0.1000	0.0036	0.0107	0.1087
5	0.0056	0.0109	0.0903	0.0053	0.0103	0.0912	0.0039	0.0098	0.1009
6	0.0052	0.0103	0.0993	0.0051	0.0101	0.0989	0.0035	0.0092	0.1097
7	0.0056	0.0111	0.0980	0.0053	0.0104	0.0994	0.0036	0.0101	0.1100
8	0.0059	0.0105	0.0951	0.0055	0.0101	0.0945	0.0042	0.0096	0.1075
9	0.0058	0.0105	0.0994	0.0056	0.0100	0.0973	0.0040	0.0095	0.1110
10	0.0058	0.0110	0.1018	0.0056	0.0107	0.1006	0.0039	0.0100	0.1138
average	0.0057	0.0108	0.0985	0.0055	0.0103	0.0987	0.0038	0.0097	0.1101
SD	0.0002	0.0003	0.0036	0.0002	0.0003	0.0035	0.0002	0.0005	0.0042
%RSD	4	3	4	4	3	4	6	5	4
mean % recovery	114	108	99	109	103	99	76	97	110

ตาราง 8.32 Mean % recovery ของ aldicarb, carbofuran-3-keto, และ propoxur โดยใช้เครื่อง LC-MSMS ในตัวอย่างผักกาดหอม

sample No.	found (mg/kg)								
	aldicarb			carbofuran-3-keto			propoxur		
	0.005	0.01	0.1	0.005	0.01	0.1	0.005	0.01	0.1
1	0.0030	0.0083	0.1070	0.0028	0.0072	0.1063	0.0035	0.0083	0.1076
2	0.0029	0.0086	0.1049	0.0028	0.0075	0.1015	0.0039	0.0094	0.1098
3	0.0032	0.0092	0.0906	0.0024	0.0088	0.1117	0.0040	0.0089	0.1054
4	0.0032	0.0095	0.0978	0.0025	0.0104	0.0870	0.0037	0.0093	0.1047
5	0.0030	0.0086	0.0884	0.0020	0.0072	0.0723	0.0037	0.0094	0.0978
6	0.0027	0.0083	0.0953	0.0024	0.0075	0.0741	0.0033	0.0088	0.1047
7	0.0029	0.0091	0.0943	0.0029	0.0064	0.0927	0.0033	0.0095	0.1047
8	0.0028	0.0081	0.0946	0.0018	0.0064	0.0735	0.0039	0.0090	0.1005
9	0.0031	0.0081	0.0974	0.0028	0.0060	0.1027	0.0038	0.0090	0.1021
10	0.0035	0.0087	0.0957	0.0024	0.0059	0.1187	0.0040	0.0096	0.1068
average	0.0030	0.0087	0.0966	0.0025	0.0073	0.0940	0.0037	0.0091	0.1044
SD	0.0002	0.0005	0.0057	0.0004	0.0014	0.0168	0.0003	0.0004	0.0035
%RSD	7	6	6	15	19	18	7	4	3
mean % recovery	60	87	97	50	73	94	74	91	104

ตาราง 8.33 Mean % recovery ของ carbofuran, pirimicarb, และ imazalil โดยใช้เครื่อง LC-MSMS ในตัวอย่างผักกาดหอม

sample No.	found (mg/kg)								
	carbofuran			pirimicarb			imazalil		
	0.005	0.01	0.1	0.005	0.01	0.1	0.005	0.01	0.1
1	0.0044	0.0141	0.1376	0.0056	0.0099	0.1003	0.0048	0.0084	0.0992
2	0.0048	0.0143	0.1368	0.0058	0.0106	0.0996	0.0050	0.0090	0.1026
3	0.0052	0.0141	0.1325	0.0058	0.0107	0.0967	0.0050	0.0091	0.0989
4	0.0046	0.0140	0.1312	0.0058	0.0110	0.0976	0.0052	0.0096	0.0973
5	0.0044	0.0150	0.1183	0.0055	0.0107	0.0900	0.0047	0.0089	0.0866
6	0.0036	0.0136	0.1331	0.0053	0.0103	0.0958	0.0043	0.0084	0.0954
7	0.0038	0.0146	0.1304	0.0055	0.0108	0.0959	0.0046	0.0091	0.0948

sample No.	found (mg/kg)								
	carbofuran			pirimicarb			imazalil		
	0.005	0.01	0.1	0.005	0.01	0.1	0.005	0.01	0.1
8	0.0043	0.0141	0.1234	0.0058	0.0103	0.0933	0.0046	0.0088	0.0917
9	0.0046	0.0144	0.1287	0.0058	0.0102	0.0956	0.0049	0.0089	0.0947
10	0.0048	0.0146	0.1372	0.0059	0.0109	0.0980	0.0047	0.0092	0.0992
average	0.0044	0.0143	0.1309	0.0057	0.0105	0.0963	0.0048	0.0090	0.0960
SD	0.0005	0.0004	0.0062	0.0002	0.0003	0.0030	0.0002	0.0004	0.0045
%RSD	11	3	5	3	3	3	5	4	5
mean % recovery	89	143	131	114	105	96	95	90	96

ตาราง 8.34 Mean % recovery ของ carbaryl, ethiofencarb, และ isoprocarb โดยใช้เครื่อง LC-MSMS ในตัวอย่างผักกาดหอม

sample No.	found (mg/kg)								
	carbaryl			ethiofencarb			isoprocarb		
	0.005	0.01	0.1	0.005	0.01	0.1	0.005	0.01	0.1
1	0.0056	0.0109	0.1140	0.0046	0.0092	0.1040	0.0049	0.0102	0.1041
2	0.0059	0.0118	0.1129	0.0049	0.0098	0.1047	0.0051	0.0108	0.1025
3	0.0056	0.0120	0.1113	0.0049	0.0103	0.0998	0.0053	0.0104	0.1005
4	0.0060	0.0120	0.1092	0.0049	0.0104	0.1011	0.0054	0.0108	0.1037
5	0.0052	0.0116	0.0999	0.0047	0.0100	0.0942	0.0053	0.0109	0.0951
6	0.0053	0.0111	0.1087	0.0043	0.0093	0.1003	0.0047	0.0100	0.0996
7	0.0053	0.0115	0.1111	0.0047	0.0100	0.0999	0.0050	0.0112	0.1010
8	0.0056	0.0112	0.1070	0.0047	0.0098	0.0977	0.0056	0.0104	0.0961
9	0.0056	0.0110	0.1118	0.0047	0.0095	0.1030	0.0052	0.0104	0.1024
10	0.0056	0.0117	0.1120	0.0048	0.0100	0.1039	0.0055	0.0108	0.1047
average	0.0056	0.0115	0.1098	0.0047	0.0098	0.1009	0.0052	0.0106	0.1010
SD	0.0003	0.0004	0.0041	0.0002	0.0004	0.0032	0.0003	0.0004	0.0033
%RSD	5	4	4	4	4	3	5	3	3
mean % recovery	112	115	110	95	98	101	104	106	101

ตาราง 8.35 Mean % recovery ของ dimethomorph, methiocarb, และ fenobucarb โดยใช้เครื่อง LC-MSMS ในตัวอย่างผักกาดหอม

sample No.	found (mg/kg)								
	dimethomorph			methiocarb			fenobucarb		
	0.005	0.01	0.1	0.005	0.01	0.1	0.005	0.01	0.1
1	0.0050	0.0095	0.0971	0.0052	0.0101	0.1197	0.0038	0.0095	0.1130
2	0.0053	0.0098	0.1018	0.0055	0.0120	0.1116	0.0043	0.0100	0.1109
3	0.0052	0.0105	0.0975	0.0056	0.0119	0.1099	0.0046	0.0097	0.1062
4	0.0054	0.0103	0.0962	0.0053	0.0125	0.1101	0.0043	0.0104	0.1055
5	0.0052	0.0104	0.0899	0.0061	0.0115	0.0962	0.0045	0.0095	0.0966
6	0.0049	0.0099	0.0932	0.0052	0.0114	0.1068	0.0034	0.0088	0.1083
7	0.0048	0.0109	0.0967	0.0053	0.0116	0.1070	0.0039	0.0098	0.1082
8	0.0053	0.0095	0.0907	0.0057	0.0108	0.1036	0.0046	0.0095	0.1022
9	0.0051	0.0094	0.0964	0.0052	0.0114	0.1133	0.0041	0.0093	0.1051
10	0.0051	0.0104	0.0964	0.0054	0.0122	0.1114	0.0045	0.0096	0.1100
average	0.0051	0.0100	0.0956	0.0054	0.0116	0.1090	0.0042	0.0096	0.1066
SD	0.0002	0.0005	0.0035	0.0003	0.0007	0.0062	0.0004	0.0004	0.0047
%RSD	4	5	4	5	6	6	10	4	4
Mean % recovery	102	100	96	109	116	109	84	96	107

ตาราง 8.36 Mean % recovery ของ cyproconazole, promecarb, และ iprovalicarb โดยใช้เครื่อง LC-MSMS ในตัวอย่างผักกาดหอม

sample No.	found (mg/kg)								
	cyproconazole			promecarb			iprovalicarb		
	0.005	0.01	0.1	0.005	0.01	0.1	0.005	0.01	0.1
1	0.0057	0.0104	0.0952	0.0054	0.0102	0.1117	0.0047	0.0092	0.1022
2	0.0057	0.0112	0.0965	0.0052	0.0108	0.1058	0.0050	0.0096	0.1024
3	0.0059	0.0109	0.0944	0.0056	0.0104	0.1069	0.0052	0.0098	0.1016
4	0.0056	0.0110	0.0945	0.0051	0.0107	0.1087	0.0050	0.0102	0.1019
5	0.0055	0.0114	0.0856	0.0054	0.0107	0.0974	0.0050	0.0098	0.0901
6	0.0050	0.0108	0.0904	0.0050	0.0098	0.1079	0.0045	0.0094	0.0976
7	0.0051	0.0115	0.0941	0.0049	0.0112	0.1036	0.0049	0.0099	0.0948

sample No.	found (mg/kg)								
	cyproconazole			promecarb			iprovalicarb		
	0.005	0.01	0.1	0.005	0.01	0.1	0.005	0.01	0.1
8	0.0060	0.0104	0.0879	0.0055	0.0101	0.0994	0.0050	0.0094	0.0930
9	0.0058	0.0107	0.0932	0.0053	0.0102	0.1051	0.0051	0.0097	0.0975
10	0.0059	0.0112	0.0927	0.0056	0.0106	0.1065	0.0052	0.0101	0.1025
average	0.0056	0.0110	0.0925	0.0053	0.0105	0.1053	0.0050	0.0097	0.0984
SD	0.0003	0.0004	0.0035	0.0002	0.0004	0.0043	0.0002	0.0003	0.0045
%RSD	6	4	4	5	4	4	4	3	5
mean % recovery	112	110	92	106	105	105	99	97	98

ตาราง 8.37 Mean % recovery ของ tebuconazole, triazophos, และ diazinon โดยใช้เครื่อง LC-MSMS ในตัวอย่างผักกาดหอม

sample No.	found (mg/kg)								
	tebuconazole			triazophos			diazinon		
	0.005	0.01	0.1	0.005	0.01	0.1	0.005	0.01	0.1
1	0.0055	0.0110	0.1175	0.0056	0.0107	0.1112	0.0029	0.0083	0.1085
2	0.0059	0.0117	0.1181	0.0057	0.0115	0.1126	0.0032	0.0087	0.1098
3	0.0059	0.0118	0.1143	0.0059	0.0116	0.1074	0.0037	0.0087	0.1083
4	0.0058	0.0118	0.1149	0.0058	0.0122	0.1085	0.0034	0.0085	0.1074
5	0.0057	0.0114	0.1029	0.0056	0.0125	0.0969	0.0036	0.0084	0.0925
6	0.0053	0.0112	0.1124	0.0051	0.0116	0.1029	0.0030	0.0079	0.1015
7	0.0054	0.0122	0.1126	0.0053	0.0121	0.1024	0.0030	0.0092	0.1030
8	0.0060	0.0109	0.1094	0.0059	0.0114	0.0996	0.0037	0.0081	0.1001
9	0.0057	0.0117	0.1104	0.0058	0.0111	0.1010	0.0035	0.0081	0.1023
10	0.0058	0.0118	0.1142	0.0056	0.0121	0.1095	0.0038	0.0085	0.1082
average	0.0057	0.0116	0.1127	0.0056	0.0117	0.1052	0.0034	0.0084	0.1042
SD	0.0002	0.0004	0.0044	0.0003	0.0005	0.0053	0.0003	0.0004	0.0054
%RSD	4	3	4	5	5	5	10	4	5
mean % recovery	114	116	113	112	117	105	67	84	104

ตาราง 8.38 Mean % recovery ของ thiobencarb, indoxacarb, benfuracarb และ ethion โดยใช้เครื่อง LC-MSMS ในตัวอย่างผักกาดหอม

sample No.	found (mg/kg)											
	thiobencarb			indoxacarb			benfuracarb			ethion		
	0.005	0.01	0.1	0.005	0.01	0.1	0.005	0.01	0.1	0.005	0.01	0.1
1	0.0056	0.0200	0.1056	0.0063	0.0120	0.1058	0.0003	0.0003	0.0023	0.0048	0.0103	0.1244
2	0.0072	0.0141	0.1096	0.0062	0.0121	0.1071	0.0002	0.0006	0.0035	0.0051	0.0107	0.1177
3	0.0094	0.0126	0.0941	0.0060	0.0118	0.1038	0.0002	0.0005	0.0017	0.0046	0.0108	0.1178
4	0.0098	0.0156	0.1097	0.0062	0.0113	0.1016	0.0003	0.0004	0.0024	0.0048	0.0107	0.1151
5	0.0117	0.0187	0.0960	0.0061	0.0117	0.0966	0.0003	0.0004	0.0055	0.0045	0.0106	0.1043
6	0.0075	0.0213	0.0791	0.0058	0.0119	0.1009	0.0003	0.0004	0.0036	0.0050	0.0101	0.1089
7	0.0050	0.0125	0.1083	0.0058	0.0126	0.1064	0.0003	0.0009	0.0021	0.0042	0.0105	0.1158
8	0.0092	0.0162	0.0803	0.0062	0.0125	0.1013	0.0004	0.0003	0.0031	0.0050	0.0102	0.1125
9	0.0093	0.0135	0.0761	0.0056	0.0120	0.1044	0.0006	0.0003	0.0046	0.0050	0.0104	0.1110
10	0.0108	0.0065	0.0881	0.0058	0.0121	0.0999	0.0003	0.0003	0.0028	0.0050	0.0109	0.1137
average	0.0086	0.0151	0.0947	0.0060	0.0120	0.1028	0.0003	0.0004	0.0032	0.0048	0.0105	0.1141
SD	0.0022	0.0043	0.0133	0.0002	0.0004	0.0033	0.0001	0.0002	0.0012	0.0003	0.0003	0.0055
%RSD	25	29	14	4	3	3	31	46	37	6	3	5
mean % recovery	171	151	95	120	120	103	6	4	3	96	105	114

8.4.5 การตรวจสอบ precision (intermediate precision) โดยการ fortified sample blank ที่ระดับความเข้มข้นภายใน range จำนวน 3 ระดับความเข้มข้น ได้แก่ ที่ระดับความเข้มข้น 0.005, 0.01 และ 0.1 mg/kg ความเข้มข้นอย่างน้อย 10 ซ้ำ จากผลการทดสอบแบบ intermediate precision ได้ค่า HORRAT อยู่ในระหว่าง 0.2-1.8 , 0.2-1.8 และ 0.2-1.1 ตามลำดับ ดังตาราง 16-24 ยกเว้น carbofuran ที่ระดับความเข้มข้น 0.01 mg/kg และ 0.1 mg/kg ให้ค่า % recovery ไม่ผ่านเกณฑ์ benfuracarb ที่ระดับความเข้มข้น 0.1 mg/kg ให้ค่า HORRAT > 2 ที่ระดับความเข้มข้น 0.01 mg/kg และ 0.1 mg/kg ให้ค่า % recovery ไม่ผ่านเกณฑ์ รายละเอียดตาม ตาราง 8.39-8.47

ตาราง 8.39 Precision แบบ intermediate precision ของ aldicarb-sulfoxide, aldicarb-sulfone, และ methomyl โดยใช้เครื่อง LC-MSMS ในตัวอย่างผักกาดหอม

sample No.	found (mg/kg)								
	aldicarb-sulfoxide			aldicarb-sulfone			methomyl		
	0.005	0.01	0.1	0.005	0.01	0.1	0.005	0.01	0.1
1	0.0053	0.0081	0.0945	0.0050	0.0099	0.1139	0.0056	0.0102	0.1041
2	0.0049	0.0068	0.0734	0.0044	0.0101	0.1094	0.0052	0.0110	0.1011
3	0.0055	0.0084	0.0876	0.0049	0.0099	0.1115	0.0058	0.0110	0.1029
4	0.0044	0.0076	0.1146	0.0054	0.0097	0.1032	0.0049	0.0091	0.0973
5	0.0051	0.0092	0.0942	0.0046	0.0090	0.0991	0.0058	0.0093	0.0948
6	0.0049	0.0086	0.0898	0.0044	0.0096	0.1056	0.0052	0.0088	0.0967
7	0.0037	0.0097	0.0966	0.0047	0.0092	0.1096	0.0030	0.0079	0.1017
8	0.0045	0.0084	0.0747	0.0055	0.0109	0.1113	0.0036	0.0091	0.1046
9	0.0032	0.0071	0.1030	0.0052	0.0102	0.1084	0.0038	0.0082	0.1041
10	0.0037	0.0077	0.0977	0.0043	0.0104	0.1139	0.0032	0.0087	0.1049
average	0.0045	0.0081	0.0926	0.0048	0.0099	0.1086	0.0046	0.0093	0.1012
mean % recovery	90	81	93	97	99	109	92	93	101
SD	0.0008	0.0009	0.0123	0.0004	0.0006	0.0047	0.0011	0.0011	0.0037
% RSD _{obs}	17	11	13	9	6	4	24	11	4
Predicted Horwitz									
RSD _r	24	22	15	24	21	15	24	21	15
HORRAT	0.7	0.5	0.9	0.4	0.3	0.3	1.0	0.5	0.2

ตาราง 8.40 Precision แบบ intermediate precision ของ dicrotophos, mevinphos, และ carbofuran - 3 OH โดยใช้เครื่อง LC-MSMS ในตัวอย่างผักกาดหอม

sample No.	found (mg/kg)								
	dicrotophos			mevinphos			carbofuran - 3 OH		
	0.005	0.01	0.1	0.005	0.01	0.1	0.005	0.01	0.1
1	0.0057	0.0103	0.1009	0.0056	0.0098	0.1028	0.0038	0.0089	0.1142
2	0.0052	0.0109	0.0993	0.0051	0.0104	0.0989	0.0035	0.0096	0.1097
3	0.0058	0.0108	0.0994	0.0056	0.0105	0.0973	0.0040	0.0094	0.1110
4	0.0049	0.0090	0.0939	0.0049	0.0090	0.0928	0.0047	0.0095	0.1065

sample No.	found (mg/kg)								
	dicrotophos			mevinphos			carbofuran - 3 OH		
	0.005	0.01	0.1	0.005	0.01	0.1	0.005	0.01	0.1
5	0.0055	0.0090	0.0924	0.0055	0.0088	0.0919	0.0056	0.0094	0.1045
6	0.0052	0.0088	0.0946	0.0051	0.0087	0.0955	0.0054	0.0091	0.1054
7	0.0050	0.0094	0.0983	0.0047	0.0089	0.0948	0.0050	0.0099	0.1113
8	0.0056	0.0105	0.0996	0.0052	0.0100	0.0970	0.0051	0.0107	0.1121
9	0.0055	0.0099	0.0998	0.0052	0.0095	0.0952	0.0051	0.0106	0.1132
10	0.0049	0.0102	0.1014	0.0046	0.0095	0.0963	0.0047	0.0108	0.1151
average	0.0053	0.0099	0.0980	0.0051	0.0095	0.0963	0.0047	0.0098	0.1103
mean % recovery	106	99	98	103	95	96	94	98	110
SD	0.0003	0.0008	0.0032	0.0004	0.0007	0.0031	0.0007	0.0007	0.0037
% RSD _{obs}	6	8	3	7	7	3	15	7	3
Predicted									
Horwitz RSD _r	23	21	15	23	21	15	24	21	15
HORRAT	0.3	0.4	0.2	0.3	0.3	0.2	0.6	0.3	0.2

ตาราง 8.41 Precision แบบ intermediate precision ของ aldicarb, carbofuran-3-keto, และ propoxur โดยใช้เครื่อง LC-MSMS ในตัวอย่างผักกาดหอม

sample No.	found (mg/kg)								
	aldicarb			carbofuran-3-keto			propoxur		
	0.005	0.01	0.1	0.005	0.01	0.1	0.005	0.01	0.1
1	0.0029	0.0083	0.1049	0.0028	0.0072	0.1015	0.0039	0.0083	0.1098
2	0.0027	0.0086	0.0953	0.0024	0.0075	0.0741	0.0033	0.0094	0.1047
3	0.0031	0.0092	0.0974	0.0028	0.0088	0.1027	0.0038	0.0089	0.1021
4	0.0050	0.0085	0.1016	0.0028	0.0081	0.0631	0.0051	0.0094	0.0992
5	0.0056	0.0090	0.1003	0.0035	0.0079	0.0730	0.0055	0.0094	0.0977
6	0.0053	0.0081	0.1038	0.0032	0.0087	0.0607	0.0053	0.0091	0.1041
7	0.0045	0.0094	0.1122	0.0043	0.0085	0.0780	0.0048	0.0095	0.1009
8	0.0052	0.0116	0.1167	0.0051	0.0093	0.0828	0.0054	0.0103	0.1033
9	0.0052	0.0108	0.1190	0.0043	0.0076	0.0795	0.0051	0.0098	0.1007
10	0.0049	0.0106	0.1146	0.0039	0.0085	0.0882	0.0047	0.0099	0.1013

sample No.	found (mg/kg)								
	aldicarb			carbofuran-3-keto			propoxur		
	0.005	0.01	0.1	0.005	0.01	0.1	0.005	0.01	0.1
average	0.0044	0.0094	0.1066	0.0035	0.0082	0.0804	0.0047	0.0094	0.1024
mean % recovery	89	94	107	70	82	80	94	94	102
SD	0.0011	0.0012	0.0084	0.0009	0.0007	0.0141	0.0007	0.0005	0.0033
% RSD _{obs}	25	13	8	24	8	18	16	6	3
predicted horwitz RSD _r	24	21	15	25	22	15	24	21	15
HORRAT	1.0	0.6	0.5	1.0	0.4	1.1	0.7	0.3	0.2

ตาราง 8.42 Precision แบบ intermediate precision ของ carbofuran, pirimicarb, และ imazalil โดยใช้เครื่อง LC-MSMS ในตัวอย่างผักกาดหอม

sample No.	found (mg/kg)								
	carbofuran			pirimicarb			imazalil		
	0.005	0.01	0.1	0.005	0.01	0.1	0.005	0.01	0.1
1	0.0048	0.0141	0.1368	0.0058	0.0099	0.0996	0.0050	0.0084	0.1026
2	0.0036	0.0143	0.1331	0.0053	0.0106	0.0958	0.0043	0.0090	0.0954
3	0.0046	0.0141	0.1287	0.0058	0.0107	0.0956	0.0049	0.0091	0.0947
4	0.0064	0.0127	0.1354	0.0050	0.0088	0.0890	0.0045	0.0077	0.0853
5	0.0044	0.0131	0.1340	0.0056	0.0088	0.0891	0.0048	0.0082	0.0830
6	0.0036	0.0122	0.1394	0.0053	0.0085	0.0915	0.0043	0.0076	0.0899
7	0.0061	0.0127	0.1397	0.0047	0.0090	0.0983	0.0048	0.0102	0.1118
8	0.0072	0.0137	0.1396	0.0052	0.0102	0.0999	0.0054	0.0113	0.1132
9	0.0066	0.0127	0.1424	0.0053	0.0095	0.1004	0.0051	0.0103	0.1141
10	0.0060	0.0134	0.1417	0.0046	0.0097	0.1010	0.0045	0.0108	0.1169
average	0.0053	0.0133	0.1371	0.0053	0.0096	0.0960	0.0047	0.0093	0.1007
mean % recovery	107	133	137	105	96	96	95	93	101
SD	0.0013	0.0007	0.0043	0.0004	0.0008	0.0047	0.0004	0.0013	0.0127
% RSD _{obs}	24	5	3	8	8	5	8	14	13
predicted horwitz RSD _r	23	20	14	23	21	15	24	21	15
HORRAT	1.0	0.3	0.2	0.3	0.4	0.3	0.3	0.7	0.8

ตาราง 8.43 Precision แบบ intermediate precision ของ carbaryl, ethiofencarb, และ isoprocarb โดยใช้เครื่อง LC-MSMS ในตัวอย่างผักกาดหอม

sample No.	found (mg/kg)								
	carbaryl			ethiofencarb			isoprocarb		
	0.005	0.01	0.1	0.005	0.01	0.1	0.005	0.01	0.1
1	0.0059	0.0109	0.1129	0.0049	0.0092	0.1047	0.0051	0.0102	0.1025
2	0.0053	0.0118	0.1087	0.0043	0.0098	0.1003	0.0047	0.0108	0.0996
3	0.0056	0.0120	0.1118	0.0047	0.0103	0.1030	0.0052	0.0104	0.1024
4	0.0050	0.0098	0.0964	0.0046	0.0087	0.0943	0.0053	0.0087	0.1013
5	0.0056	0.0095	0.0952	0.0046	0.0091	0.0908	0.0049	0.0089	0.0993
6	0.0053	0.0098	0.0985	0.0043	0.0085	0.0959	0.0047	0.0086	0.1014
7	0.0046	0.0084	0.0945	0.0044	0.0088	0.0945	0.0048	0.0092	0.1085
8	0.0049	0.0096	0.0952	0.0049	0.0093	0.0962	0.0053	0.0104	0.1096
9	0.0049	0.0092	0.0969	0.0049	0.0090	0.0955	0.0050	0.0101	0.1103
10	0.0044	0.0094	0.0964	0.0043	0.0091	0.0972	0.0045	0.0102	0.1098
average	0.0051	0.0100	0.1006	0.0046	0.0092	0.0972	0.0050	0.0097	0.1045
mean % recovery	103	100	101	92	92	97	99	97	104
SD	0.0005	0.0012	0.0074	0.0003	0.0005	0.0042	0.0003	0.0008	0.0045
% RSD _{obs}	9	12	7	6	6	4	5	8	4
predicted horwitz									
RSD _r	23	21	15	24	21	15	23	21	15
HORRAT	0.4	0.6	0.5	0.2	0.3	0.3	0.2	0.4	0.3

ตาราง 8.44 Precision แบบ intermediate precision ของ dimethomorph, methiocarb, และ fenobucarb โดยใช้เครื่อง LC-MSMS ในตัวอย่างผักกาดหอม

sample No.	found (mg/kg)								
	dimethomorph			methiocarb			fenobucarb		
	0.005	0.01	0.1	0.005	0.01	0.1	0.005	0.01	0.1
1	0.0053	0.0095	0.1018	0.0055	0.0101	0.1116	0.0043	0.0095	0.1109
2	0.0049	0.0098	0.0932	0.0052	0.0120	0.1068	0.0034	0.0100	0.1083
3	0.0051	0.0105	0.0964	0.0052	0.0119	0.1133	0.0041	0.0097	0.1051
4	0.0048	0.0090	0.0987	0.0049	0.0103	0.1034	0.0053	0.0097	0.1065

sample No.	found (mg/kg)								
	dimethomorph			methiocarb			fenobucarb		
	0.005	0.01	0.1	0.005	0.01	0.1	0.005	0.01	0.1
5	0.0050	0.0088	0.0985	0.0052	0.0108	0.1096	0.0038	0.0097	0.1040
6	0.0049	0.0085	0.1043	0.0052	0.0099	0.1172	0.0034	0.0092	0.1108
7	0.0044	0.0090	0.1047	0.0050	0.0102	0.1138	0.0048	0.0101	0.1137
8	0.0050	0.0099	0.1062	0.0056	0.0112	0.1180	0.0050	0.0112	0.1141
9	0.0048	0.0095	0.1045	0.0049	0.0112	0.1183	0.0053	0.0100	0.1119
10	0.0042	0.0099	0.1047	0.0048	0.0118	0.1192	0.0047	0.0101	0.1179
average	0.0048	0.0094	0.1013	0.0051	0.0109	0.1131	0.0044	0.0099	0.1103
mean % recovery	97	94	101	103	109	113	88	99	110
SD	0.0003	0.0006	0.0044	0.0003	0.0008	0.0053	0.0007	0.0005	0.0044
% RSD _{obs}	7	7	4	5	7	5	16	5	4
predicted horwitz RSD _r	24	21	15	23	21	15	24	21	15
HORRAT	0.3	0.3	0.3	0.2	0.4	0.3	0.7	0.2	0.3

ตาราง 8.45 Precision แบบ intermediate precision ของ cyproconazole, promecarb, และ iprovalicarb โดยใช้เครื่อง LC-MSMS ในตัวอย่างผักกาดหอม

sample No.	found (mg/kg)								
	cyproconazole			promecarb			iprovalicarb		
	0.005	0.01	0.1	0.005	0.01	0.1	0.005	0.01	0.1
1	0.0057	0.0104	0.0965	0.0052	0.0102	0.1058	0.0050	0.0092	0.1024
2	0.0050	0.0112	0.0904	0.0050	0.0108	0.1079	0.0045	0.0096	0.0976
3	0.0058	0.0109	0.0932	0.0053	0.0104	0.1051	0.0051	0.0098	0.0975
4	0.0051	0.0097	0.0929	0.0053	0.0092	0.0999	0.0050	0.0089	0.0938
5	0.0055	0.0098	0.0921	0.0054	0.0087	0.0999	0.0047	0.0090	0.0908
6	0.0048	0.0094	0.0962	0.0050	0.0088	0.1073	0.0045	0.0086	0.0961
7	0.0045	0.0097	0.1062	0.0047	0.0096	0.1028	0.0046	0.0087	0.0924
8	0.0051	0.0105	0.1076	0.0053	0.0103	0.1088	0.0052	0.0094	0.0935
9	0.0050	0.0100	0.1050	0.0050	0.0098	0.1085	0.0051	0.0095	0.0958
10	0.0044	0.0104	0.1063	0.0045	0.0102	0.1080	0.0046	0.0093	0.0961
average	0.0051	0.0102	0.0986	0.0051	0.0098	0.1054	0.0048	0.0092	0.0956

sample No.	found (mg/kg)								
	cyproconazole			promecarb			iprovalicarb		
	0.005	0.01	0.1	0.005	0.01	0.1	0.005	0.01	0.1
mean % recovery	102	102	99	101	98	105	97	92	96
SD	0.0005	0.0006	0.0068	0.0003	0.0007	0.0034	0.0003	0.0004	0.0033
% RSD _{obs}	9	6	7	6	7	3	5	4	3
predicted horwitz									
RSD _r	23	21	15	23	21	15	24	21	15
HORRAT	0.4	0.3	0.5	0.3	0.3	0.2	0.2	0.2	0.2

ตาราง 8.46 Precision แบบ intermediate precision ของ tebuconazole, triazophos, และ diazinon โดยใช้เครื่อง LC-MSMS ในตัวอย่างผักกาดหอม

sample No.	found (mg/kg)								
	tebuconazole			triazophos			diazinon		
	0.005	0.01	0.1	0.005	0.01	0.1	0.005	0.01	0.1
1	0.0059	0.0110	0.1181	0.0057	0.0107	0.1126	0.0032	0.0083	0.1098
2	0.0053	0.0117	0.1124	0.0051	0.0115	0.1029	0.0030	0.0087	0.1015
3	0.0057	0.0118	0.1104	0.0058	0.0116	0.1010	0.0035	0.0087	0.1023
4	0.0056	0.0104	0.1001	0.0050	0.0102	0.1058	0.0054	0.0094	0.1010
5	0.0055	0.0104	0.0969	0.0056	0.0100	0.1037	0.0029	0.0096	0.0989
6	0.0053	0.0101	0.1021	0.0051	0.0098	0.1093	0.0030	0.0088	0.1030
7	0.0044	0.0090	0.0942	0.0049	0.0102	0.1032	0.0047	0.0088	0.0988
8	0.0048	0.0096	0.0948	0.0056	0.0106	0.1074	0.0049	0.0102	0.1010
9	0.0045	0.0093	0.0916	0.0052	0.0103	0.1079	0.0048	0.0093	0.1029
10	0.0041	0.0098	0.0932	0.0046	0.0104	0.1095	0.0044	0.0092	0.1040
average	0.0051	0.0103	0.1014	0.0053	0.0105	0.1063	0.0040	0.0091	0.1023
mean % recovery	102	103	101	105	105	106	79	91	102
SD	0.0006	0.0010	0.0092	0.0004	0.0006	0.0036	0.0010	0.0006	0.0031
% RSD _{obs}	12	9	9	8	6	3	24	6	3
predicted									
horwitz RSD _r	23	21	15	23	21	15	24	21	15
HORRAT	0.5	0.4	0.6	0.3	0.3	0.2	1.0	0.3	0.2

ตาราง 8.47 Precision แบบ intermediate precision ของ thiobencarb, indoxacarb, benfuracarb และ ethion โดยใช้เครื่อง LC-MSMS ในตัวอย่างผักกาดหอม

sample No.	found (mg/kg)											
	thiobencarb			indoxacarb			benfuracarb			ethion		
	0.005	0.01	0.1	0.005	0.01	0.1	0.005	0.01	0.1	0.005	0.01	0.1
1	0.0072	0.0200	0.1096	0.0062	0.0120	0.1071	0.0002	0.0003	0.0035	0.0051	0.0103	0.1177
2	0.0075	0.0141	0.0791	0.0058	0.0121	0.1009	0.0003	0.0006	0.0036	0.0050	0.0107	0.1089
3	0.0093	0.0126	0.0761	0.0056	0.0118	0.1044	0.0006	0.0005	0.0046	0.0050	0.0108	0.1110
4	0.0058	0.0080	0.1085	0.0056	0.0109	0.1142	0.0003	ND	0.0012	0.0050	0.0102	0.1084
5	0.0056	0.0083	0.0845	0.0063	0.0111	0.1115	0.0003	ND	0.0016	0.0048	0.0104	0.1059
6	0.0075	0.0107	0.0983	0.0058	0.0093	0.1156	0.0003	0.0003	0.0006	0.0050	0.0099	0.1111
7	0.0037	0.0093	0.0799	0.0045	0.0090	0.0899	ND	ND	ND	0.0044	0.0104	0.1093
8	0.0074	0.0083	0.0838	0.0055	0.0096	0.0917	ND	ND	ND	0.0049	0.0118	0.1108
9	0.0013	0.0083	0.1033	0.0050	0.0104	0.0909	ND	ND	ND	0.0047	0.0104	0.1149
10	0.0032	0.0073	0.1131	0.0048	0.0098	0.0842	ND	ND	ND	0.0043	0.0110	0.1107
average	0.0059	0.0107	0.0936	0.0055	0.0106	0.1010	0.0003	0.0004	0.0025	0.0048	0.0106	0.1109
mean % recovery	117	107	94	110	106	101	7	4	3	96	106	111
SD	0.0025	0.0039	0.0144	0.0006	0.0012	0.0113	0.0001	0.0002	0.0016	0.0003	0.0005	0.0033
% RSD_{obs}	42	37	15	11	11	11	36	42	64	6	5	3
predicted horwitz RSD_p	23	21	15	23	21	15	35	34	26	24	21	15
HORRAT	1.8	1.8	1.0	0.5	0.5	0.7	1.0	1.2	2.5	0.2	0.2	0.2

8.5 ศึกษาคุณลักษณะของวิธีวิเคราะห์ในตัวอย่างถั่วฝักยาว ได้แก่ matrix effect, LOD, และ LOQ โดยการชั่งตัวอย่างถั่วฝักยาว 10.00 กรัม ลงในหลอด centrifuge ขนาด 50 มิลลิลิตร เติมสารมาตรฐานผสมที่ความเข้มข้น 0.01 มิลลิกรัมต่อลิตร ทำการทดสอบ 6 ซ้ำ จากนั้นเติม acetonitrile 10.0 มิลลิลิตร ปิดฝาเขย่าด้วยมือประมาณ 30 วินาที เติมสารผสมของ $MgSO_4$ 4.0 กรัม, $NaCl$ 1.0 กรัม, SCTD 1.0 กรัม, และ SCDS 0.5 กรัม เขย่าด้วยมือและเครื่องเขย่า vortex ประมาณ 1 นาที นำไป centrifuge ที่ความเร็วรอบ 4000 rpm 5 นาที จากนั้นดูดส่วนใส 2.0 มิลลิลิตร ใส่ลงในหลอด centrifuge ขนาด 15 มิลลิลิตร เติมสารผสมระหว่าง $MgSO_4$ 150.0 มิลลิกรัม PSA 50.0 มิลลิกรัม GCB 7.7 mg และ C_{18EC} 50 mg เขย่าด้วยมือและเครื่องเขย่า vortex ประมาณ 1 นาที นำไป

centrifuge ที่ความเร็วรอบ 4000 rpm 5 นาที กรองสารละลายส่วนที่ใส่ผ่าน syringe filter membrane ขนาด 0.2 ไมครอน ลงใน vial ขนาด 1.5 มิลลิลิตร นำไปตรวจวิเคราะห์ด้วยเครื่อง LC-MSMS

8.5.1 ดำเนินการวิเคราะห์ matrix effect โดยการเตรียม calibration curve ให้มีความเข้มข้นอยู่ในช่วง 0.002-0.8 mg/l โดยแบ่งออกเป็น 2 ชุด ชุดแรกเตรียมใน acetonitrile ชุดที่สองเตรียมใน matrix ถั่วฝักยาว ผลจากการเขียนกราฟระหว่างพื้นที่ใต้พีคกับความเข้มข้น พบว่าได้ว่าเส้นกราฟที่ได้ทั้งสองชนิดที่เตรียมมีความชันไม่แตกต่างกัน และเมื่อนำค่าความชันที่ได้มาคำนวณค่าความแตกต่าง (%RPD) พบว่ามีค่าความแตกต่างของความชันเท่ากับ 0.00-9.91% ซึ่งมีค่า %RPD ไม่เกิน 10% (NATA, 2012) อยู่ในเกณฑ์ที่ยอมรับได้ แสดงว่า matrix ไม่มีผลต่อการทดสอบ ยกเว้น tebuconazole และ thiobencarb มีค่าความแตกต่างของความชันเท่ากับ 10.59-15.21% รายละเอียดตามตาราง 8.48

ตาราง 8.48 ผลการเปรียบเทียบความแตกต่างระหว่างความชันของสารมาตรฐานที่เตรียมใน solvent (acetonitrile) และ matrix (ถั่วฝักยาว)

pesticides	solution in	equation	slope	%RPD
aldicarb-sulfoxide	solvent	$y = 4,896,381.6262x - 26,048.3007$	4,896,381.63	0.82
	matrix	$y = 4,856,167.8343x - 11,144.8596$	4,856,167.83	
aldicarb-sulfone	solvent	$y = 1,235,095.1133x + 9,297.7764$	1,235,095.11	2.13
	matrix	$y = 1,209,073.7128x + 5,836.4035$	1,209,073.71	
methomyl	solvent	$y = 7,229,720.0811x + 29,689.2531$	7,229,720.08	2.32
	matrix	$y = 7,064,097.3498x + 11,205.8164$	7,064,097.35	
dicrotophos	solvent	$y = 18,901,828.9014x - 31,011.7792$	18,901,828.90	2.63
	matrix	$y = 18,411,783.9674x - 56,053.5440$	18,411,783.96	
mevinphos	solvent	$y = 6,984,558.3309x - 28,617.4060$	6,984,558.33	2.63
	matrix	$y = 6,803,396.7214x - 44,792.5447$	6,803,396.72	
carbofuran, - 3 hydroxy	solvent	$y = 2,891,118.7503x + 46,309.8577$	2,891,118.75	1.41
	matrix	$y = 2,932,115.5487x + 33,017.1866$	2,932,115.55	
aldicarb	solvent	$y = 1,919,324.9308x + 28,105.1546$	1,919,324.93	1.84
	matrix	$y = 1,884,387.9024x + 10,977.5854$	1,884,387.90	
carbofuran-3-keto	solvent	$y = 501,973.9167x + 11,885.2137$	501,973.92	7.82
	matrix	$y = 464,190.8668x + 2,861.0820$	464,190.87	

pesticides	solution in	equation	slope	%RPD
propoxur	solvent	$y = 14,274,817.3309x + 7,320.7396$	14,274,817.33	7.65
	matrix	$y = 13,222,456.4204x + 2,380.8989$	13,222,456.42	
carbofuran	solvent	$y = 3,145,268.0414x + 28,225.9545$	3,145,268.04	2.85
	matrix	$y = 3,056,874.4333x + 15,334.5390$	3,056,874.43	
pirimicarb	solvent	$y = 33,696,164.7797x + 142,965.1216$	33,696,164.78	1.26
	matrix	$y = 33,274,538.3019x + 36,895.9296$	33,274,538.30	
imazalil	solvent	$y = 3,946,323.9949x + 106,691.0095$	3,946,323.99	0.15
	matrix	$y = 3,952,126.6420x + 101,908.5745$	3,952,126.64	
carbaryl	solvent	$y = 3,486,321.4433x + 6,762.7574$	3,486,321.44	1.14
	matrix	$y = 3,446,895.6924x + 5,299.2579$	3,446,895.69	
ethiofencarb	solvent	$y = 17,759,381.9635x - 9,361.7042$	17,759,381.96	2.28
	matrix	$y = 18,169,386.8689x - 58,582.6625$	18,169,386.87	
isoprocarb	solvent	$y = 5,544,563.2742x + 10,594.9650$	5,544,563.27	0.03
	matrix	$y = 5,546,185.8505x - 5,376.0963$	5,546,185.85	
dimethomorph(E)	solvent	$y = 11,755,917.5809x + 159,555.0053$	11,755,917.58	6.24
	matrix	$y = 11,044,665.4869x + 79,420.8873$	11,044,665.49	
methiocarb	solvent	$y = 4,426,579.2600x + 58,993.7832$	4,426,579.26	3.86
	matrix	$y = 4,258,897.4833x + 50,623.8619$	4,258,897.48	
fenobucarb	solvent	$y = 4,956,528.0464x + 32,767.0073$	4,956,528.05	4.83
	matrix	$y = 4,722,805.7026x + 24,468.1421$	4,722,805.70	
cyproconazole	solvent	$y = 19,695,094.0162x + 522,312.5487$	19,695,094.02	7.39
	matrix	$y = 18,292,142.1286x + 125,099.7752$	18,292,142.13	
promecarb	solvent	$y = 11,767,530.0210x + 28,792.8039$	11,767,530.02	2.92
	matrix	$y = 11,428,781.6902x + 6,393.2116$	11,428,781.69	
iprovalicarb	solvent	$y = 41,159,971.3938x + 398,296.6709$	41,159,971.39	1.39
	matrix	$y = 40,591,345.2678x + 303,757.1483$	40,591,345.27	
tebuconazole	solvent	$y = 13,553,469.7964x + 540,489.9955$	13,553,469.80	10.59
	matrix	$y = 12,190,844.2576x + 184,958.9376$	12,190,844.26	

pesticides	solution in	equation	slope	%RPD
triazophos	solvent	$y = 36,728,233.4762x + 762,695.8169$	36,728,233.48	0.00
	matrix	$y = 36,728,784.0634x + 641,581.3045$	36,728,784.06	
diazinon	solvent	$y = 12,322,153.9202x + 56,391.6632$	12,322,153.92	4.22
	matrix	$y = 11,813,240.2333x + 34,888.0378$	11,813,240.23	
thiobencarb	solvent	$y = 145,598.7269x + 97.9286$	145,598.73	15.21
	matrix	$y = 125,017.6676x + 859.6256$	125,017.67	
indoxacarb	solvent	$y = 3,381,153.9098x + 142,570.2929$	3,381,153.91	9.91
	matrix	$y = 3,061,915.6669x + 18,972.4417$	3,061,915.67	
benfuracarb	solvent	$y = 15,005,233.4289x + 172,238.6500$	15,005,233.43	1.85
	matrix	$y = 15,284,857.2235x + 154,897.8853$	15,284,857.22	
ethion	solvent	$y = 8,819,721.4903x + 96,838.4446$	8,819,721.49	5.57
	matrix	$y = 8,341,809.0012x + 62,360.5753$	8,341,809.00	

8.5.2 การหาค่า limit of detection (LOD) และ limit of quantitation (LOQ) เมื่อ fortified sample blank ที่ระดับความเข้มข้นต่ำ 0.005 mg/kg อย่างน้อย 10 ซ้ำ จะได้ ค่า LOD ของสารพิษตกค้างแต่ละชนิด อยู่ในช่วง 0.003 mg/kg และค่า LOQ ที่ได้มีความเข้มข้นที่ 0.005 mg/kg ยกเว้น aldicarb-sulfoxide ได้ค่า LOQ ที่ได้มีความเข้มข้นที่ 0.01 mg/kg นอกจากนั้นพบว่า benfuracarb ไม่สามารถประเมินค่า LOD, และ LOQ ได้ เนื่องจาก % recoveries ไม่ผ่านเกณฑ์ รายละเอียดตามตาราง 8.49

ตาราง 8.49 ค่า LOD และ LOQ ของการวิเคราะห์สารพิษตกค้าง โดยใช้เครื่อง LC-MSMS ในตัวอย่างถั่วฝักยาว

pesticides	concentration (mg/kg)		% recoveries	%RSD
	LOD	LOQ		
aldicarb-sulfoxide	0.003	0.01	114	17
aldicarb-sulfone	0.003	0.005	97	7
methomyl	0.003	0.005	98	4
dicrotophos	0.003	0.005	97	4
mevinphos	0.003	0.005	100	3

pesticides	concentration (mg/kg)		% recoveries	%RSD
	LOD	LOQ		
carbofuran, - 3 hydroxy	0.003	0.005	96	3
aldicarb	0.003	0.005	96	8
carbofuran-3-keto	0.003	0.005	85	12
propoxur	0.003	0.005	92	3
carbofuran	0.003	0.005	116	4
pirimicarb	0.003	0.005	68	5
imazalil	0.003	0.005	98	6
carbaryl	0.003	0.005	86	5
ethiofencarb	0.003	0.005	75	5
isoprocarb	0.003	0.005	100	4
dimethomorph(E)	0.003	0.005	97	6
methiocarb	0.003	0.005	101	8
fenobucarb	0.003	0.005	99	6
cyproconazole	0.003	0.005	95	4
promecarb	0.003	0.005	88	6
iprovalicarb	0.003	0.005	100	5
tebuconazole	0.003	0.005	90	4
triazophos	0.003	0.005	71	8
diazinon	0.003	0.005	97	4
thiobencarb	0.003	0.005	113	17
indoxacarb	0.003	0.005	92	13
benfuracarb	-	-	-	-
ethion	0.003	0.005	101	6

9. สรุปผลการทดลองและข้อเสนอแนะ

ในปีงบประมาณ 2561-2563 ห้องปฏิบัติการกลุ่มพัฒนาการตรวจสอบพืชและปัจจัยการผลิต ได้ดำเนินการตรวจสอบความใช้ได้ของวิธีการวิเคราะห์สารพิษตกค้างกลุ่มคาร์บาเมท 19 ชนิด ได้แก่ aldicarb, aldicarb-sulfone, aldicarb-sulfoxide, benfuracarb, carbaryl, carbofuran, carbofuran-3-hydroxy, carbofuran-3-keto, ethiofencarb, fenobucarb, indoxacarb, iprovalicarb, isoprocarb, methiocarb, methomyl, pirimicarb, promecarb, propoxur, และ thiobencarb กลุ่มออร์กาโนฟอสเฟต 5 ชนิด ได้แก่ diazinon, dicrotophos, ethion, mevinphos, triazophos กลุ่มสารป้องกันกำจัดโรคพืช 4 ชนิด ได้แก่ cyproconazole, dimethomorph, imazalil, tebuconazol ในพืชที่มีปริมาณน้ำและคลอโรฟิลสูง ซึ่งในการงานวิจัยนี้ได้เลือกตัวอย่างกะหล่ำปลี ผักกาดหอม และถั่วฝักยาวในการทดสอบ โดยตัวอย่างกะหล่ำปลี และผักกาดหอม ทำการตรวจสอบคุณลักษณะ 7 พารามิเตอร์ ได้แก่ matrix effect, range (ช่วงใช้งาน), linearity (ความสัมพันธ์ที่เป็นเส้นตรง), limit of detection : LOD (ค่าต่ำสุดที่วิธีสามารถตรวจวัดได้), limit of quantitation : LOQ (ค่าต่ำสุดที่วิธีสามารถตรวจวัดได้โดยมีความแม่นยำและความเที่ยง), accuracy (ความแม่นยำ) และ precision (ความเที่ยง) แบบ intermediate precision ในตัวอย่างถั่วฝักยาว ทำการตรวจสอบคุณลักษณะ 3 พารามิเตอร์ ได้แก่ matrix effect), limit of detection : LOD (ค่าต่ำสุดที่วิธีสามารถตรวจวัดได้), limit of quantitation : LOQ (ค่าต่ำสุดที่วิธีสามารถตรวจวัดได้) โดยใช้เทคนิคโครมาโทกราฟีแมสสเปกโตรเมตรี

สกัดด้วยสารสกัดสำเร็จรูปแบบ EN QuEChERS โดยชั่งตัวอย่าง 10.00 กรัม ลงในหลอด centrifuge ขนาด 50 มิลลิลิตร เติมสารมาตรฐานผสมที่ความเข้มข้น 0.01 มิลลิกรัมต่อลิตร ทำการทดสอบ 6 ชั่วโมง เติม acetonitrile 10.0 มิลลิลิตร ปิดฝาเขย่าด้วยมือประมาณ 30 วินาที เติมสารผสมของ magnesium sulfate (MgSO₄) 4.0 กรัม, sodium chloride (NaCl) 1.0 กรัม, trisodium citrate dihydrate (SCTD) 1.0 กรัม, และ disodium hydrogencitrate sesquihydrate (SCDS) 0.5 กรัม เขย่าด้วยมือและเครื่องเขย่า vortex ประมาณ 1 นาที นำไป centrifuge ที่ความเร็วรอบ 4000 rpm 5 นาที จากนั้นดูดส่วนใส 2.0 มิลลิลิตร ใส่ลงในหลอด centrifuge ขนาด 15 มิลลิลิตร เติมสารผสมระหว่าง MgSO₄ 150.0 มิลลิกรัม PSA 50.0 มิลลิกรัม GCB 7.7 mg และ C18EC 50 mg เขย่าด้วยมือและเครื่องเขย่า vortex ประมาณ 1 นาที นำไป centrifuge ที่ความเร็วรอบ 4000 rpm 5 นาที กรองสารละลายส่วนที่ใสผ่าน syringe filter membrane ขนาด 0.2 ไมครอน ลงใน vial ขนาด 1.5 มิลลิลิตร นำไปตรวจวิเคราะห์ด้วยเครื่อง LC-MSMS ผลการทดสอบในแต่ละคุณลักษณะ มีรายละเอียดดังนี้

ตัวอย่างกะหล่ำปลี

1. ค่า range พบว่า อยู่ในช่วงความเข้มข้น 0.005-0.7 mg/kg ยกเว้น aldicarb, indoxacarb, และ thiobencarb ระดับความเข้มข้น 0.01-0.7 mg/kg และพบว่า aldicarb-sulfoxide, carbofuran-3-keto, และ benfuracarb ไม่สามารถประเมินได้เนื่องจาก % recovery ไม่ผ่านเกณฑ์

2. ค่า linearity ได้ค่าสัมประสิทธิ์สหสัมพันธ์ (r) อยู่ในช่วง 0.9950-0.9998 ผ่านเกณฑ์การยอมรับ ซึ่งแสดงความสัมพันธ์ที่เป็นเส้นตรง ยกเว้น aldicarb-sulfoxide, carbofuran-3-keto, และ benfuracarb ไม่สามารถประเมินความเป็นเส้นตรงได้เนื่องจาก % recovery ไม่ผ่านเกณฑ์

3. ค่า LOD คือ 0.003 mg/kg และ ค่า LOQ คือ 0.005 mg/kg ยกเว้น aldicarb, และ diazinon มีค่า LOQ คือ 0.01 mg/kg และ aldicarb-sulfoxide, carbofuran-3-keto, thiobencarb, indoxacarb, และ benfuracarb ไม่สามารถคำนวณค่า LOD และ LOQ ได้เนื่องจากให้ค่า %recovery ไม่ผ่านเกณฑ์

4. การตรวจสอบ accuracy จากการวิเคราะห์สารพิษตกค้างครอบคลุมระดับความเข้มข้น ต่ำ กลาง สูง คือ 0.005, 0.01 และ 0.1 mg/kg ให้ค่า mean % recovery อยู่ในช่วง 68-110 , 64-113 และ 68-109 ตามลำดับ ซึ่งผ่านเกณฑ์การยอมรับ แสดงให้เห็นว่าวิธีวิเคราะห์มีความแม่นยำ ยกเว้น aldicarb-sulfoxide, aldicarb, carbofuran-3-keto, thiobencarb, indoxacarb, และ benfuracarb ให้ค่า %RSD \geq 20 และ % recovery ไม่ผ่านเกณฑ์

5. การตรวจสอบ precision ทำการทดสอบแบบ intermediate precision ครอบคลุมระดับความเข้มข้น ต่ำ กลาง สูง คือ 0.005, 0.01 และ 0.1 mg/kg ได้ค่า HORRAT อยู่ในระหว่าง 0.08-1.17 , 0.05-1.64 และ 0.11-1.06 ตามลำดับ ซึ่งผ่านเกณฑ์การยอมรับ (HORRAT \leq 2) แสดงให้เห็นว่าวิธีวิเคราะห์มีความเที่ยง เมื่อทำการทดสอบที่สภาวะแวดล้อมวันเวลาแตกต่างกัน ยกเว้น aldicarb-sulfoxide, aldicarb, carbofuran-3-keto, thiobencarb, indoxacarb, และ benfuracarb ให้ค่า HORRAT $>$ 2 หรือ % recovery ไม่ผ่านเกณฑ์

ตัวอย่างผักกาดหอม

1. การตรวจสอบ matrix effect โดยการเตรียม calibration curve ให้มีความเข้มข้นอยู่ในช่วง 0.002-0.8 mg/l โดยแบ่งออกเป็น 2 ชุด ชุดแรกเตรียมใน acetonitrile ชุดที่สองเตรียมใน matrix ผักกาดหอมผลจากการเขียนกราฟระหว่างพื้นที่ใต้พีคกับความเข้มข้น พบว่าได้ว่าเส้นกราฟที่ได้ทั้งสองชนิดที่เตรียมมีความชันไม่แตกต่าง และเมื่อนำค่าความชันที่ได้มาคำนวณค่าความแตกต่าง (%RPD) พบว่ามีค่าความแตกต่างของความชันเท่ากับ 0.07-8.57% ซึ่งมีค่า %RPD ไม่เกิน 10% (NATA, 2012) อยู่ในเกณฑ์ที่ยอมรับได้ แสดงว่า matrix ไม่มีผลต่อการทดสอบ ยกเว้น carbofuran-3-keto มีค่า มีค่าความแตกต่างของความชันเท่ากับ 18.82%

2. ค่า range พบว่าช่วงความเข้มข้นระหว่าง 0.002 – 0.1 mg/kg ของการวิเคราะห์ปริมาณสารตกค้าง ได้แก่ cyproconazole, tebuconazole, และ indoxacarb ช่วงความเข้มข้นระหว่าง 0.002 – 0.3 mg/kg ของการวิเคราะห์ปริมาณสารตกค้าง ได้แก่ carbaryl ช่วงความเข้มข้นระหว่าง 0.002 – 0.5 mg/kg ของการวิเคราะห์ปริมาณสารตกค้าง ได้แก่ aldicarb-sulfoxide, carbofuran, - 3 hydroxy, carbofuran, methiocarb, และ triazophos ช่วงความเข้มข้นระหว่าง 0.002 – 0.7 mg/kg ของการวิเคราะห์ปริมาณสารตกค้าง ได้แก่ aldicarb-sulfone, methomyl, dicrotophos, mevinphos, aldicarb, propoxur, pirimicarb, imazalil, ethiofencarb,

isoprocarb, dimethomorph, fenobucarb, promecarb, iprovalicarb, diazinon, และ ethion ช่วงความเข้มข้นระหว่าง 0.005 – 0.5 mg/kg ของการวิเคราะห์ปริมาณสารตกค้าง ได้แก่ carbofuran-3-keto ช่วงความเข้มข้นระหว่าง 0.005 – 0.7 mg/kg ของการวิเคราะห์ปริมาณสารตกค้าง ได้แก่ thiobencarb ยกเว้น benfuracarb ไม่สามารถประเมินความเป็นเส้นตรงได้เนื่องจาก % recovery ไม่ผ่านเกณฑ์

3. ค่า linearity ได้ค่าสัมประสิทธิ์สหสัมพันธ์ (r) อยู่ในช่วง 0.9976-1.0000 ผ่านเกณฑ์การยอมรับ ซึ่งแสดงความสัมพันธ์ที่เป็นเส้นตรง ยกเว้น benfuracarb ไม่สามารถประเมินความเป็นเส้นตรงได้เนื่องจาก % recovery ไม่ผ่านเกณฑ์

4. ค่า LOD ของสารพิษตกค้างแต่ละชนิด มีค่าเท่ากับ 0.003 mg/kg และค่า LOQ ของสารพิษตกค้างแต่ละชนิด มีค่าเท่ากับ 0.005 mg/kg ยกเว้น aldicarb-sulfoxide ได้ค่า LOQ ที่ได้มีความเข้มข้นที่ 0.01 mg/kg นอกจากนั้นพบว่า carbofuran-3-keto, thiobencarb และ benfuracarb ไม่สามารถประเมินค่า LOD, และ LOQ ได้เนื่องจาก % recoveries ไม่ผ่านเกณฑ์

5. การตรวจสอบ accuracy จากการวิเคราะห์สารพิษตกค้างครอบคลุมระดับความเข้มข้น ต่ำ กลาง สูง คือ 0.005, 0.01 และ 0.1 mg/kg ได้ค่า mean % recovery อยู่ในช่วง 60-120 , 73-120 และ 89-114 ตามลำดับซึ่ง ผ่านเกณฑ์การยอมรับ แสดงให้เห็นว่าวิธีวิเคราะห์มีความแม่นยำ ยกเว้นที่ความเข้มข้นระดับต่ำ 0.005 mg/kg มีค่า % recovery ไม่ผ่านเกณฑ์ ได้แก่ carbofuran-3-keto, thiobencarb, และ benfuracarb ที่ความเข้มข้นระดับกลาง 0.01 mg/kg มีค่า % recovery ไม่ผ่านเกณฑ์ ได้แก่ carbofuran, thiobencarb, และ benfuracarb ความเข้มข้นระดับสูง 0.1 mg/kg มีค่า % recovery ไม่ผ่านเกณฑ์ ได้แก่ carbofuran, และ benfuracarb

6. การตรวจสอบ precision ทำการทดสอบแบบ intermediate precision ครอบคลุมระดับความเข้มข้น ต่ำ กลาง สูง คือ 0.005, 0.01 และ 0.1 mg/kg ได้ค่า HORRAT อยู่ในระหว่าง 0.2-1.8 , 0.2-1.8 และ 0.2-1.1 ตามลำดับ ตามลำดับ ซึ่ง ผ่านเกณฑ์การยอมรับ (HORRAT_≤ 2) แสดงให้เห็นว่าวิธีวิเคราะห์มีความเที่ยง เมื่อทำการทดสอบที่สภาวะแวดล้อมวันเวลาแตกต่างกัน ยกเว้น ยกเว้น carbofuran ที่ระดับความเข้มข้น 0.01 mg/kg และ 0.1 mg/kg ให้ค่า % recovery ไม่ผ่านเกณฑ์ benfuracarb ที่ระดับความเข้มข้น 0.1 mg/kg ให้ค่า HORRAT > 2 ที่ระดับความเข้มข้น 0.01 mg/kg และ 0.1 mg/kg ให้ค่า % recovery ไม่ผ่านเกณฑ์

ตัวอย่างถั่วฝักยาว

1. การตรวจสอบ matrix effect โดยการเตรียม calibration curve ให้มีความเข้มข้นอยู่ในช่วง 0.002-0.8 mg/l โดยแบ่งออกเป็น 2 ชุด ชุดแรกเตรียมใน acetonitrile ชุดที่สองเตรียมใน matrix ถั่วฝักยาว ผลจากการเขียนกราฟระหว่างพื้นที่ใต้พีคกับความเข้มข้น พบว่าได้ว่าเส้นกราฟที่ได้ทั้งสองชนิดที่เตรียมมีความชันไม่แตกต่าง และเมื่อนำค่าความชันที่ได้มาคำนวณค่าความแตกต่าง (%RPD) พบว่ามีค่าความแตกต่างของความชันเท่ากับ 0.00-

9.91% ซึ่งมีค่า %RPD ไม่เกิน 10% (NATA, 2012) อยู่ในเกณฑ์ที่ยอมรับได้ แสดงว่า matrix ไม่มีผลต่อการทดสอบ ยกเว้น tebuconazole และ thiobencarb มีค่าความแตกต่างของความชื้นเท่ากับ 10.59-15.21%

2. ค่า LOD ของสารพิษตกค้างแต่ละชนิด อยู่ในช่วง 0.003 mg/kg และค่า LOQ ที่ได้มีความเข้มข้นที่ 0.005 mg/kg ยกเว้น aldicarb-sulfoxide ได้ค่า LOQ ที่ได้มีความเข้มข้นที่ 0.01 mg/kg นอกจากนี้พบว่า benfuracarb ไม่สามารถประเมินค่า LOD, และ LOQ ได้เนื่องจาก % recoveries ไม่ผ่านเกณฑ์

10. การนำผลงานวิจัยไปใช้ประโยชน์

ได้วิธีการเตรียมตัวอย่างสำหรับการตรวจวัดสารพิษตกค้างในพืชที่มีปริมาณน้ำและคลอโรฟิลสูง โดยใช้เครื่องโครมาโทกราฟแมสสเปกโตรมิเตอร์ (LC-MS/MS) ข้อดีคือใช้สารเคมีน้อย มีการใช้อุปกรณ์วิทยาศาสตร์และเครื่องมือในการสกัดที่ไม่ยุ่งยาก มีการศึกษาคุณลักษณะของวิธีทำให้เกิดความมั่นใจว่าผลการวิเคราะห์ของห้องปฏิบัติการกลุ่มพัฒนาการตรวจสอบพืชและปัจจัยการผลิต สำนักวิจัยและพัฒนาการเกษตรเขตที่ 2 พิษณุโลกมีความถูกต้อง น่าเชื่อถือตามหลักวิชาการและสามารถนำไปใช้วิเคราะห์ได้จริงในห้องปฏิบัติการ

11. คำขอบคุณ (ถ้ามี)

คณะผู้ทำงานวิจัยขอขอบคุณ ผู้อำนวยการสำนักวิจัยและพัฒนาการเกษตรเขตที่ 2 พิษณุโลก และ ผู้อำนวยการกลุ่มพัฒนาการตรวจสอบพืชและปัจจัยการผลิต ที่ให้การสนับสนุนในการทำงานวิจัยครั้งนี้ และขอขอบคุณข้าราชการ และพนักงานราชการในกลุ่มที่ให้ความช่วยเหลือด้วยดีมาโดยตลอด

12. เอกสารอ้างอิง

ทิพวรรณ นิ่งน้อย, 2549, แนวปฏิบัติการทดสอบความถูกต้องของวิธีวิเคราะห์ทางเคมี โดยห้องปฏิบัติการเดี่ยว, กรมวิทยาศาสตร์การแพทย์ กระทรวงสาธารณสุข

Zweig, G. Chromatographic techniques for pesticide residue analysis. *Chromatographic Reviews* 6 (1964): 110–128.

Torres, C.M.; Pico, Y.; and Mafies, J. Determination of pesticide residues in fruit and vegetables: a review. *Journal of Chromatography A* 754 (1996): 301-331.

NATA. 1998. Requirements for the format and content of test methods and procedures for validation and verification of chemical test method, NATA Technical Note No. 17, December Australia.

- Kataoka, H.; Lord, H.L.; and Pawliszyn, J. Application of solid-phase microextraction in food analysis. Journal of Chromatography A 880 (2000): 35–62.
- Buldini, P.L.; Ricci, L.; and Sharma, J.L. Recent applications of sample preparation techniques in food analysis – a review. Journal of Chromatography A 975 (2002): 47-70.
- Arrebola, F.J.; J.L., Martinez Vidal, M.J.; Gonzalez-Rodriguez, A.; and Sanchez-Morito, N. Reduction of analysis time in gas chromatography application of low-pressure gas chromatography-tandem mass spectrometry to the determination of pesticide residues in vegetables. Journal of Chromatography A 1005 (2003) :131 - 141.
- Anastassiades, M., S. J. Lehotay, D.Stajhbaheer, and F. J. Schenck. 2003. Fast and Easy Multiresidue Method Employing Acetonitrile Extraction/Partitioning and 'Dispersive Solid-Phase Extraction' for the Determination of Pesticide Residues in Produce. J. AOAC Int., 86(2):412
- Anastassiades, M., K. Mastovska, S. J. Lehotay. 2003. Evaluation of Analyte Protectants to Improve Gas Chromatographic Analysis of Pesticides. J. Chromatogr. A, 1015 (1-2): 163
- Lehotay, S. J., K. Mastovska, and A. R. Lightfield. 2005. Use of Buffering and Other Means to Improve Results of Problematic Pesticides in a Fast and Easy Method for Residue Analysis of Fruits and Vegetables. J. AOAC Int., 88(2): 615
- Lehotay, S.J., A. de Kok, M. Hiemstra and P. van Bodegraven. 2005. Validation of a Fast and Easy Method for the Determination of 229 Pesticide Residues in Fruits and Vegetables Using Gas and Liquid Chromatography and Mass Spectrometric Detection. J. AOAC Int., 88(2): 595
- Pesticide residues in foods by acetonitrile extraction and partitioning with magnesium sulfate. AOAC International (2007).
- Lambropoulou, D. A.; and Albanis, T. A. Methods of sample preparation for determination of pesticide residues in food matrices by chromatography–mass spectrometry-based techniques: a review. Analytical and Bioanalytical Chemistry 389 (2007): 1663–1683.
- Beyer, A.; and Biziuk, M. Applications of sample preparation techniques in the analysis of pesticides and PCBs in food. Food Chemistry 108 (2008): 669–680.
- Silva, M.G.D.; Aquino, A.; Dorea, H.S.; and Navickiene, S. Simultaneous determination of eight pesticide residues in coconut using MSPD and GC/MS. Talanta 76 (2008): 680-684.

Menezes-Filho, A.; Santos, F.N.; and Paula-Pereira, P.A. Development validation and application of a methodology based on solid-phase micro extraction followed by gas chromatography coupled to mass spectrometry (SPME/GC-MS) for the determination of pesticide residues in mangoes. Talanta 81 (2010) : 346-354.

คณะวิทยาศาสตร์