

รายงานผลงานเรื่องเต็มการทดลองที่สิ้นสุด ปี 2558

- 1. ชุดโครงการวิจัย** : วิจัยและพัฒนาปัจจัยการผลิตทางการเกษตร
- 2. โครงการวิจัย** : การพัฒนาการตรวจวิเคราะห์สารพิษตกค้างของวัตถุอันตรายให้ถูกต้องแม่นยำตามมาตรฐานสากล
กิจกรรม : การพัฒนาและตรวจสอบความใช้ได้ของวิธีวิเคราะห์สารพิษตกค้าง
กิจกรรมย่อย : พัฒนาเทคนิคการวิเคราะห์สารพิษตกค้างในผัก ผลไม้และผลิตภัณฑ์ทางการเกษตร
- 3. ชื่อการทดลอง(ภาษาไทย)** : การพัฒนาและตรวจสอบความใช้ได้ของวิธีวิเคราะห์สารพิษตกค้างกลุ่ม dithiocarbamate ในผักและผลไม้ โดยใช้เทคนิค Gas Chromatograph/Mass Spectrometry
ชื่อการทดลอง(ภาษาอังกฤษ) : Development of Method for Analysis dithiocarbamate in Fruit and vegetable by Gas Chromatograph/Mass Spectrometry
- 4. คณะผู้ดำเนินงาน**
หัวหน้าการทดลอง : นางสาวชนิตา ทองแถม กลุ่มวิจัยวัตถุมีพิษการเกษตร กปผ.
ผู้ร่วมงาน : นางสาวลมัย ชูเกียรติวัฒนา กลุ่มวิจัยวัตถุมีพิษการเกษตร กปผ.

5. บทคัดย่อ

กลุ่ม dithiocarbamate เป็นสารกำจัดโรคพืช (fungicide) เช่น mancozeb ที่นิยมใช้กันอย่างแพร่หลาย การตรวจวิเคราะห์หาปริมาณสารพิษตกค้างกลุ่ม dithiocarbamate ทำการตรวจวิเคราะห์หาปริมาณสารพิษตกค้างของสารในรูปของ CS_2 โดยใช้เทคนิค Gas Chromatograph/Mass Spectrometry ในมะม่วงและคะน้า เพื่อให้วิธีที่พัฒนาขึ้นมานี้เป็นที่น่าเชื่อถือมากขึ้นจึงจำเป็นต้องทำการตรวจสอบความใช้ได้ของวิธี (Method validation) โดยรายการที่ตรวจสอบได้แก่ ความเฉพาะเจาะจง (Specificity/Selectivity) ช่วงของการวัด (Working range) ความเป็นเส้นตรง (Linearity) ความแม่นยำ (Accuracy) ความเที่ยง (Precision) ขีดจำกัดของการตรวจพบ (Limit of detection, LOD) ขีดจำกัดของการวัดเชิงปริมาณ (Limit of quantitation, LOQ) จากผลการตรวจสอบความใช้ได้ของวิธีการตรวจวิเคราะห์ CS_2 ในมะม่วงและคะน้า พบว่าวิธีทดสอบมีความจำเพาะเจาะจงไม่มีสารอื่นรบกวน จากการทดสอบ Working Range อยู่ในช่วง 0.02 จนถึง 2.0 มิลลิกรัมต่อกิโลกรัม และ Linearity ในช่วง 0.02 จนถึง 2.0 มิลลิกรัมต่อกิโลกรัม มีค่า Correlation coefficient (R^2) มากกว่า 0.995 การพิสูจน์ Accuracy โดยประเมินจาก %Recovery ที่ช่วงความเข้มข้น 0.01 – 1.0 มิลลิกรัมต่อกิโลกรัม โดย CS_2 ใน

มะม่วง มี %recovery อยู่ในช่วง 84 ถึง 114 เปอร์เซ็นต์ และ CS₂ ในคะน้า อยู่ในช่วง 84 ถึง 107 เปอร์เซ็นต์ สำหรับ Precision ที่ระดับความเข้มข้นในช่วง 0.01- 1.0 มิลลิกรัมต่อกิโลกรัม จากการคำนวณค่า %RSD อยู่ระหว่าง 3.40-7.75 เปอร์เซ็นต์ และค่า LOQ สาร CS₂ ในมะม่วงและคะน้า ทั้ง 2 ชนิด เท่ากับ 0.02 มิลลิกรัมต่อกิโลกรัม

Abstract

A sensitivity and selective method for determination of CS₂ in mango and kale was developed by Gas Chromatograph/Mass Spectrometry. The method was validated in terms of specificity, working range, linearity, accuracy, precision, limit of detection (LOD) and limit quantitation (LOQ). The method was found to be specific against matrix interferences. Working range and linearity for both pesticides were obtained in the range 0.02-2.0 mg/kg and 0.02-2.0 mg/kg, respectively (Correlation coefficient (R²) > 0.995). The accuracy of the method were determined from recovery experiments at 0.02 – 1.0 mg/kg (n=7). The recoveries were obtained in the range of 84 – 114% for CS₂ in mango and 84 – 107 % for CS₂ in Chinese kale. Excellent precision for range 0.01-1.0 mg/kg was calculated (%RSD <10) and limit of quantitation were 0.02 mg/kg for both pesticides.

6. คำนำ

กลุ่ม ditiocarbamate เป็นสารกำจัดโรคพืช (fungicide) เช่น zineb, maneb, mancozeb, ziram propineb, triram เป็นต้น ซึ่งจากข้อมูลสถิติ พบ.วัตถุอันตราย 2535 mancozeb เป็นวัตถุอันตรายที่มีการนำเข้าสูงสุด 10 อันดับแรกโดยปริมาณสารสำคัญตั้งแต่ปี 2550 จนถึงปัจจุบันใน แสดงถึงการใช้วัตถุพิษทางการเกษตรของเกษตรกรได้มีการใช้กันอย่างแพร่หลายในสังคมเกษตรกรรม ผลกระทบที่ตามมาคือการตกค้างของสารพิษบนผลิตผลทางการเกษตร โดยผลิตผลที่ได้มีการบริโภคเองภายในประเทศและส่งออกไปยัง ประเทศต่างๆ โดยสิ่งจำเป็นที่ต้องเร่งพัฒนาในขณะนี้คือการพัฒนาวิธีการตรวจวิเคราะห์สารพิษตกค้างให้มีความถูกต้องและแม่นยำสูง และเป็นที่ยอมรับในระดับสากลเพื่อช่วยในการลดการกีดกันทางการค้าของประเทศปลายทาง โดยห้องปฏิบัติการสามารถพัฒนาวิธีการตรวจวิเคราะห์ขึ้นมาจากภายในห้องปฏิบัติการ (In-house Method) ได้ แต่เพื่อให้วิธีที่พัฒนาเป็นที่ยอมรับจึงจำเป็นต้องมีการตรวจสอบก่อนว่าสามารถใช้วิเคราะห์ตัวอย่างได้ถูกต้องตามวัตถุประสงค์ที่ตั้งไว้ การตรวจสอบความใช้ได้ของวิธีการตรวจวิเคราะห์ (Method Validation)

งานวิจัยนี้เป็นการตรวจสอบความใช้ได้ของวิธีการตรวจสอบของวิธีการตรวจวิเคราะห์สารพิษตกค้างกลุ่ม dithiocarbamate ในมะม่วงและคะน้า ซึ่งทำการตรวจวิเคราะห์หาปริมาณสารพิษตกค้างของสารในรูปของ CS₂ ใช้เทคนิค Gas Chromatograph/Mass Spectrometry จากการตรวจสอบความใช้ได้ของวิธีสามารถพิสูจน์ให้เห็นถึงความน่าเชื่อถือของวิธีการตรวจวิเคราะห์ และเป็นที่ยอมรับได้ตามมาตรฐานสากลตลอดจนยังสามารถนำไปใช้ในการขยายขอบข่ายในการตรวจวิเคราะห์สารพิษตกค้างในผักผลไม้ต่อไป

7. วิธีดำเนินการ

อุปกรณ์และสารเคมี

1. สารมาตรฐานวัตถุพิษ mancozeb ความบริสุทธิ์ 77%
2. สารเคมีได้แก่ Tin (II) chloride, Hydrochloric, CS₂ เป็นต้น
3. เครื่องมือในห้องปฏิบัติการ ได้แก่ เครื่องชั่งความละเอียด 2 ตำแหน่ง และ 5 ตำแหน่ง (ผ่านการสอบเทียบ), Food processor, Dispenser ขนาด 10 และ 50 มิลลิลิตร, Micro pipette ขนาด 100-1,000 ไมโครลิตร (ผ่านการสอบเทียบ)
4. เครื่องแก้วต่างๆในห้องปฏิบัติการเช่น ขวดวัดปริมาตร (ผ่านการสอบเทียบ) ปีกเกอร์ กระจกบอทวงขวดแก้วซึ่งมีปริมาตร 250 มล.ที่มีฝาปิดขนาดเส้นผ่าศูนย์กลาง 28 มม.พร้อมจุกยาง
5. เครื่องมือตรวจวัตถุพิษชนิด Gas Chromatograph Mass Spectrometry
6. ตัวอย่างผลไม้ที่นำมาทดลองได้แก่ มะม่วง และ คะน้า

วิธีการ

1. เตรียมสารละลายมาตรฐาน Carbon disulphide (CS₂) ใน isooctane
เตรียม Stock standard CS₂ ความเข้มข้น 1008 mg/ml
จาก CS₂ ความเข้มข้น 1260 mg/mL; CS₂ 100 µL ปริมาณ 100 mL ได้ 12.60 mg/mL
ดังนั้นถ้าต้องการเตรียม Stock standard CS₂ ความเข้มข้น 1008 mg/ml ปริมาตร 25 mL ต้องใช้ CS₂ ความเข้มข้น 1260 mg/mL ปริมาตร 2 mL
เตรียม Intermediate standard CS₂ ความเข้มข้น 20.16 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร
จากการคำนวณโดยใช้สูตร $m_1v_1 = m_2v_2$ จะต้องมี Stock standard CS₂ ความเข้มข้น 1008 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร ปริมาตร 200 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตรเตรียม CS₂ 20.16 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตรปริมาตร 10 มิลลิลิตร ใน iso-octane
เตรียม Working standard CS₂
ทำการ dilute จาก Intermediate standard CS₂ ความเข้มข้น 20.16 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร แสดงดังตารางที่ 1

ตารางที่ 1 แสดงความเข้มข้นของ working standard CS₂

ความเข้มข้น CS ₂ ที่ใช้ (mg/mL)	ปริมาตรที่ CS ₂ ที่ใช้ (μL)	ปริมาตรที่เตรียม (ml)	ความเข้มข้น (mg/ml)
20.16	20	10	0.04
20.16	40	10	0.08
20.16	80	10	0.16
20.16	160	10	0.32
20.16	320	10	0.645
20.16	640	10	1.29

คำนวณ mancozeb มาใช้ในกระบวนการตรวจสอบความใช้ได้ของวิธีการตรวจวิเคราะห์

Mancozeb มีน้ำมอลโมเลกุล 541.045g/mol

CS₂ มีน้ำมอลโมเลกุล 76.139 g/mol

ดังนั้น 1 g mancozeb มี CS₂ $(4 \times 76.139) / 541.045 = 0.5629$ g

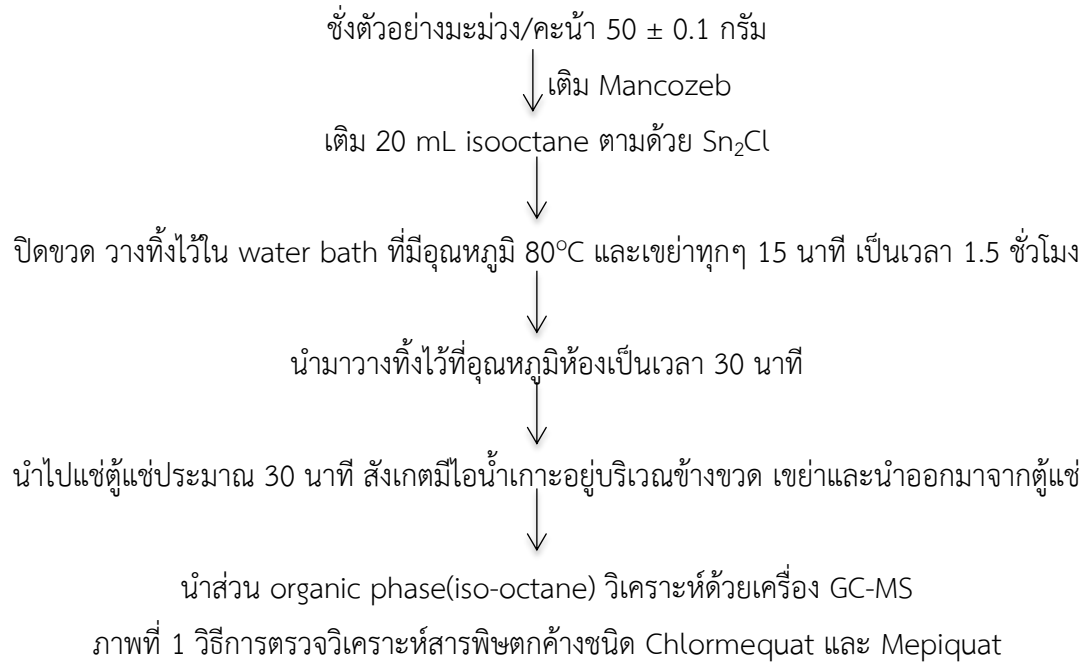
$$\text{Spike quantity} = \frac{(\text{Concentration to be achieve} * \text{weight of the sample})}{(0.5629 * \text{concentration of the stock solution})}$$

2. การเตรียมสารละลาย stannous (II) chloride

ละลาย 30 กรัม SnCl₂·H₂O ใน hydrochloric acid วางทิ้งไว้ให้เย็น ปรับปริมาตรให้ได้ 2 ลิตร ด้วยกระบอกตวง ผสมให้เข้ากัน

3. ขั้นตอนการสกัด

วิธีการสกัดสารพิษตกค้าง CS₂ ในมะม่วง และ ค่ะน้ำ แสดงดังภาพที่ 1



4. การตั้งสภาวะเครื่อง Gas Chromatograph/Mass Spectrometry

ตารางที่ 2 แสดง Parameter ต่างๆ ของ GC-MS ที่เหมาะสม

Injector temperature	250 °C
Injector type	Pulsed Splitless
Precolumn	2*0.25 mm
column	HP 5MS, 30mm*0.25 mm; film 0.25 μm
Temperature gradient	50 °C; 2.2 min 35 °C/min; 50°C to 270 °C 270 °C
Ion source temperature	230 °C
Auxiliary temperature	280 °C
Detector temperature	150 °C
Carriergas	Helium
Injection volume	1 μm
Detection	Selective Ion Monitoring; target ion 76/z

การตรวจสอบความใช้ได้ของวิธีการตรวจวิเคราะห์

1. ความเฉพาะเจาะจง (Specificity/Selectivity)

ทดสอบ matrix blank และ spiked matrix blank ที่ความเข้มข้น 0.05 มิลลิกรัมต่อกิโลกรัม เปรียบเทียบสัญญาณ matrix blank และ spiked matrix blank

2. ช่วงของการวัด (Working range)

ทำการ spike สารละลายมาตรฐานลงในตัวอย่างมะม่วงและคะน้า ให้มีความเข้มข้น 7 ระดับ ได้แก่ 0.02, 0.04, 0.08, 0.16, 0.5, 1, และ 2 มิลลิกรัมต่อกิโลกรัม แต่ละความเข้มข้นทำการทดสอบ 1 ซ้ำ ทำการสกัดตามขั้นตอนวิธีการที่พัฒนาขึ้นมา และตรวจวิเคราะห์ด้วยเครื่อง GC-MS สร้างกราฟมาตรฐานระหว่างอัตราส่วนของพื้นที่ใต้พีคของสารมาตรฐานกับ อัตราส่วนระหว่างความเข้มข้นของสารในตัวอย่างกับความเข้มข้นของ Internal standard (แกน x) และพิจารณาช่วงที่เป็นเส้นตรงซึ่งมีค่า correlation coefficient (R^2) ≥ 0.995

3. ความเป็นเส้นตรง (Linearity)

ทำการทดสอบเช่นเดียวกับ working range โดย spike ที่ความเข้มข้น 0.02, 0.04, 0.08, 0.16, 0.5, 1 และ 2 มิลลิกรัมต่อกิโลกรัม ทดสอบความเข้มข้นละ 3 ซ้ำ พิจารณาค่า correlation coefficient (R^2) จะต้องอยู่ในเกณฑ์มาตรฐานที่ยอมรับได้คือ 0.995

4. ความแม่นยำ (Accuracy)

ทำการทดสอบ reagent blank, sample blank และ fortified sample ที่ระดับความเข้มข้นในช่วงการทดสอบ 5 ระดับความเข้มข้นได้แก่ 0.02, 0.05, 0.1, 0.5 และ 1.0 มิลลิกรัมต่อกิโลกรัม ความเข้มข้นละ 7 ซ้ำ ตามวิธีการทดสอบ แล้วคำนวณร้อยละการกลับคืนของสารที่วิเคราะห์ (%Recovery) จากสมการ

$$\%Recovery = \frac{X1 - X2}{C} \times 100$$

เมื่อ X1 = ความเข้มข้นของสารที่เติมลงในตัวอย่างที่ตรวจพบ (มิลลิกรัมต่อกิโลกรัม)

X2 = ความเข้มข้นของสารที่ตรวจพบใน sample blank (มิลลิกรัมต่อกิโลกรัม)

C = ความเข้มข้นของสารที่เติมลงในตัวอย่าง (มิลลิกรัมต่อกิโลกรัม)

การประเมิน %recovery ใช้เกณฑ์กำหนดของ AOAC Peer-Verified Method (AOAC, 2002)

5. ความเที่ยง (Precision)

ทำการทดสอบ reagent blank, sample blank และ fortified sample ที่ระดับความเข้มข้นในช่วงการทดสอบ 5 ระดับความเข้มข้นได้แก่ 0.02, 0.05, 0.1, 0.5 และ 1.0 มิลลิกรัมต่อกิโลกรัม ความเข้มข้นละ 7 ซ้ำ การประเมิน precision โดยการหาค่าเฉลี่ยความเข้มข้นของสารในตัวอย่างที่วิเคราะห์ได้ (\bar{X}) และหาค่าเบี่ยงเบนมาตรฐานของความเข้มข้นของสารในตัวอย่างที่วิเคราะห์ได้ (SD) นำมาคำนวณหาค่าร้อยละความเบี่ยงเบนของค่าเฉลี่ย %RSD

$$\%RSD = \frac{SD}{\bar{X}} \times 100$$

\bar{X}

หลักเกณฑ์การยอมรับของ Precision คือมีค่า %RSD น้อยกว่า 20 (AOAC, 2002)

6. ขีดจำกัดของการตรวจพบ (Limit of detection)

ทำการวิเคราะห์ fortified sample blank ที่ความเข้มข้นต่ำสุดที่ตรวจวิเคราะห์ได้ ทดสอบ 7 ซ้ำ หาค่าเบี่ยงเบนมาตรฐาน (Standard deviation, SD) ประเมินค่า LOD เท่ากับ $3 \times SD$ นำค่า LOD ที่ได้จากการคำนวณมา fortified ลงในตัวอย่าง ทำการทดสอบ 7 ซ้ำ นำผลที่ได้มาคำนวณค่า signal/noise ของแต่ละสาร ซึ่งจะต้องมีค่า ≥ 3

7. ขีดจำกัดของการวัดเชิงปริมาณ (Limit of quantitation)

ทำการวิเคราะห์ fortified sample blank ที่ความเข้มข้นต่ำสุดที่ตรวจวิเคราะห์ได้ ทดสอบ 7 ซ้ำ หาค่าเบี่ยงเบนมาตรฐาน (Standard deviation, SD) ประเมินค่า LOQ เท่ากับ $10 \times SD$ โดยค่า LOQ เป็นค่าปริมาณต่ำสุดของวัตถุอันตรายในตัวอย่างที่สามารถวิเคราะห์ได้โดยใช้ค่า accuracy และ precision ผ่านเกณฑ์ที่กำหนด

ระยะเวลา

เริ่มต้นเดือนตุลาคม 2556 สิ้นสุด เดือนกันยายน 2558

สถานที่ดำเนินการ

กลุ่มงานวิจัยสารพิษตกค้าง กลุ่มวิจัยวัตถุเคมีพิษทางการเกษตร กองวิจัยพัฒนาปัจจัยการผลิตทางการเกษตร กรมวิชาการเกษตร

8. ผลการทดลองและวิจารณ์

1. ความเฉพาะเจาะจง (Specificity/Selectivity)

วิเคราะห์ matrix blank กับ spiked matrix blank เมื่อนำสัญญาณที่ตรวจพบได้มาเปรียบเทียบกับสัญญาณของ matrix blank น้อยมากเมื่อเทียบกับสัญญาณของ spiked matrix blank แสดงว่าไม่มีการรบกวนจากสารอื่นในตัวอย่าง

2. ช่วงของการวัด (Working range)

ผลการตรวจสอบ Working range โดยนำค่าอัตราส่วนของความเข้มข้น fortified sample 7 ระดับ ความเข้มข้นละ 1 ซ้ำ กับค่าอัตราส่วนพื้นที่ใต้พีคในแต่ละระดับความเข้มข้นมาเขียนกราฟแสดงดังภาพที่ 2 และคำนวณค่า correlation coefficient (R^2) พบว่าสามารถตรวจสอบสารชนิด CS_2 ในมะม่วง และคะน้า ได้ตั้งแต่ช่วง 0.02-2 มิลลิกรัมต่อกิโลกรัม (แสดงดังตารางที่ 3)

ตารางที่ 3 แสดงค่า Working Range, Correlation coefficient (R^2) ของ CS_2 ในมะม่วง และ คื่นฉ่ำ ที่ 7 ระดับความเข้มข้น ความเข้มข้นละ 1 ซ้ำ

Pesticides	Equation	R^2	conc. (mg/kg)
CS_2 ในมะม่วง	$y = 1.2102x - 0.0665$	0.999	0.02-2.0
CS_2 ในคื่นฉ่ำ	$y = 6.759x - 0.6781$	0.999	0.02-2.0

3. ความเป็นเส้นตรง (Linearity)

ผลการตรวจสอบ Linearity โดยนำค่าอัตราส่วนของความเข้มข้น fortified sample 7 ระดับความเข้มข้นละ 3 ซ้ำ กับค่าอัตราส่วนพื้นที่ใต้พีคในแต่ละระดับความเข้มข้นมาเขียนกราฟ แสดงดังภาพที่ 3 และคำนวณค่า correlation coefficient (R^2) ของสารทั้ง 2 ชนิด พบว่าค่า $R^2 \geq 0.995$ ซึ่งสรุปได้ว่า Linearity ของวิธีการตรวจวิเคราะห์อยู่ในช่วง 0.02-2.0 มิลลิกรัมต่อกิโลกรัม (แสดงดังตารางที่ 4)

ตารางที่ 4 แสดงค่า Linearity, Correlation coefficient (R^2) ของ CS_2 ในมะม่วง และ คื่นฉ่ำ ที่ 7 ระดับความเข้มข้น ความเข้มข้นละ 3 ซ้ำ

Pesticides	Equation	R^2	conc. (mg/kg)
CS_2 ในมะม่วง	$y = 1.14x + 0.0876$	0.999	0.02-2.0
CS_2 ในคื่นฉ่ำ	$y = 6.5288x - 0.0638$	0.999	0.02-2.0

4. ความแม่นยำ (Accuracy)

การตรวจสอบ accuracy โดยทำการ fortified sample ที่ระดับความเข้มข้น 5 ระดับ คือ 0.02, 0.05, 0.1, 0.5 และ 1.0 มิลลิกรัมต่อกิโลกรัม ทำความเข้มข้นละ 7 ซ้ำ ประเมิน accuracy จาก %recovery โดยเกณฑ์การยอมรับ recovery ใช้เกณฑ์กำหนดของ AOAC Peer-Verified Method (AOAC, 2002) โดยผลการทดสอบ %recovery แสดงดังตารางที่ 5

ตารางที่ 5 แสดง %Recovery ของการวิเคราะห์สารพิษตกค้างชนิด CS_2 ในมะม่วง และ คื่นฉ่ำ ที่ช่วงระดับความเข้มข้น 0.02-1.0 มิลลิกรัมต่อกิโลกรัม (7 ซ้ำ)

Pesticide	Sample blank	Fortified	% Recovery

	(mg/kg)	(mg/kg)	1	2	3	4	5	6	7	Average
CS ₂ ในมะม่วง	0.00	0.02	98	84	98	82	92	96	100	93
	0.00	0.05	91	92	83	94	84	98	90	90
	0.00	0.10	100	96	96	105	90	99	98	98
	0.00	0.50	100	98	104	100	107	103	107	103
	0.00	1.00	94	105	114	90	105	95	97	103
CS ₂ ในคะน้ำ	0.00	0.02	84	96	102	94	90	98	94	94
	0.00	0.05	104	100	81	94	104	93	99	96
	0.00	0.10	99	103	104	104	97	100	107	102
	0.00	0.50	100	95	105	102	102	101	94	100
	0.00	1.00	105	97	107	102	105	104	104	103

5. ความเที่ยง (Precision)

ผลการทดสอบความเที่ยงของวิธีวิเคราะห์ CS₂ ในมะม่วง และ คะน้ำ ที่ระดับความเข้มข้นในช่วง 0.02-1.0 มิลลิกรัมต่อกิโลกรัม แสดงดังตารางที่ 6 โดยค่า %RSD อยู่ระหว่าง 3.45-7.75 % ซึ่งอยู่เกณฑ์มาตรฐานที่ยอมรับได้ (AOAC, 2002)

ตารางที่ 6 แสดงค่า %RSD ของการวิเคราะห์สารพิษตกค้าง Chlormequat และ Mepiquat ในมะม่วง (7ซ้ำ)

Sample No.	Concentration (mg/kg)									
	มะม่วง					คะน้า				
1	0.020	0.046	0.100	0.500	0.940	0.017	0.052	0.099	0.500	1.050
2	0.017	0.046	0.096	0.490	1.050	0.019	0.050	0.103	0.475	0.970
3	0.020	0.042	0.096	0.520	1.010	0.020	0.041	0.104	0.525	1.140
4	0.016	0.047	0.105	0.500	0.900	0.019	0.047	0.104	0.510	1.020
5	0.018	0.042	0.090	0.535	1.050	0.018	0.052	0.097	0.510	1.050
6	0.019	0.049	0.099	0.515	0.950	0.020	0.047	0.100	0.505	1.040
7	0.020	0.045	0.098	0.535	0.970	0.019	0.050	0.107	0.470	1.040
Mean	0.019	0.045	0.098	0.514	0.981	0.019	0.048	0.102	0.499	1.044
SD	0.001	0.003	0.005	0.018	0.057	0.001	0.004	0.003	0.020	0.051
%RSD	7.752	5.886	4.679	3.452	5.836	6.142	8.358	3.396	3.982	4.847
Fortified	0.020	0.050	0.100	0.500	1.000	0.020	0.050	0.100	0.500	1.000

6. ขีดจำกัดของการตรวจพบ (Limit of detection, LOD)

ทดสอบ LOD ของวิธีการตรวจวิเคราะห์โดยประเมินจากค่า Signal/Noise (S/N) ต้องมีค่ามากกว่า 3 โดยทำการ fortified sample ที่ระดับความเข้มข้น 0.005 มิลลิกรัมต่อกิโลกรัม จากผลการทดสอบมะม่วง และ คะน้า ที่ความเข้มข้น 0.005 มิลลิกรัมต่อกิโลกรัม มีค่า S/N มากกว่า 3

7. ขีดจำกัดของการวัดเชิงปริมาณ (Limit of quantitation)

ทดสอบ LOQ ของวิธีการทดสอบที่ความเข้มข้น 0.02 มิลลิกรัมต่อกิโลกรัม โดยยืนยันผลการทดสอบจากค่า accuracy และ precision ซึ่ง มะม่วง และ คะน้า มีค่า accuracy อยู่ในช่วง 91- 100%, 84-105% และมีค่า %RSD เท่ากับ 7.75%, 6.14% ตามลำดับ ดังนั้นจากผลการทดสอบ CS₂ ในมะม่วง และ คะน้า สามารถยอมรับค่า LOQ ที่ระดับความเข้มข้น 0.02 มิลลิกรัมต่อกิโลกรัม

9. สรุปผลการทดลองและข้อเสนอแนะ

จากผลการตรวจสอบความใช้ได้ของวิธีการตรวจวิเคราะห์สารพิษตกค้าง CS₂ ในมะม่วง และ ค่ะน้ำ ใช้เทคนิค GC-MS พบว่าวิธีการทดสอบนี้มีความเหมาะสม โดยยืนยันความใช้ได้ของวิธีด้วยการพิสูจน์ในแต่ละพารามิเตอร์ซึ่งสามารถสรุปได้ดังนี้

1. Working range ของวิธีการตรวจวิเคราะห์อยู่ในช่วง 0.02 จนถึง 2.0 มิลลิกรัมต่อกิโลกรัม
2. Linearity ที่ทำการทดสอบอยู่ในช่วง 0.02 ถึง 2.0 มิลลิกรัมต่อกิโลกรัม โดยมีค่า R² มากกว่า 0.995
3. Accuracy (%Recovery) ที่ระดับความเข้มข้น 5 ระดับ CS₂ ในมะม่วง และ ค่ะน้ำ มี %recovery อยู่ในช่วง 83 ถึง 114 เปอร์เซ็นต์ และ 84 ถึง 107 ตามเปอร์เซ็นต์ ลำดับ
4. Precision ที่ระดับความเข้มข้นในช่วง 0.02 - 1.0 มิลลิกรัมต่อกิโลกรัม จากการคำนวณค่า %RSD อยู่ระหว่าง 3.40-7.75 เปอร์เซ็นต์
5. LOD ของ CS₂ ทั้งในมะม่วง และ ค่ะน้ำ มีค่าเท่ากันคือ 0.005 มิลลิกรัมต่อกิโลกรัม
6. LOQ โดยยืนยันผลการทดสอบจากค่า accuracy และ precision ทั้ง มะม่วงและค่ะน้ำมีค่า LOQ เท่ากับ 0.02 มิลลิกรัมต่อกิโลกรัม

10. การนำผลงานวิจัยไปใช้ประโยชน์

1. ห้องปฏิบัติการกลุ่มงานวิจัยสารพิษตกค้างสามารถนำวิธีที่ผ่านการตรวจสอบนี้ไปใช้เป็นวิธีมาตรฐานในการตรวจวิเคราะห์สารพิษตกค้าง กลุ่ม dithiocarbamate ในผักและ ผลไม้
2. สามารถนำวิธีการนี้ไปขยายขอบข่ายในการรับรองห้องปฏิบัติการตามมาตรฐาน ISO/IEC 17025 ไต3
3. ถ่ายทอดวิธีการตรวจวิเคราะห์ให้แก่เจ้าหน้าที่ของสำนักวิจัยและพัฒนาการเกษตรเขตที่ 1-8

11. เอกสารอ้างอิง

- ทิพวรรณ นิ่งน้อย. 2549. แนวปฏิบัติการทดสอบความถูกต้องของวิธีวิเคราะห์ทางเคมีโดยห้องปฏิบัติการเดี่ยว. กรมวิทยาศาสตร์การแพทย์ กระทรวงสาธารณสุข
- กนกพร อธิสุข และทิพวรรณ นิ่งน้อย. 2547. Method validation. เอกสารประกอบการฝึกอบรม. กรมวิทยาศาสตร์การแพทย์ กระทรวงสาธารณสุข
- Emmanuel Kaye¹ , Antony Nyombi¹ , Innocent Louis Mutambuze¹ , Ruth Muwesa.2015. Mancozeb Residue on Tomatoes in Central Uganda. Journal of Health & Pollution Vol. 5, No. 8-2015

World Health Organization. 2009. The WHO Recommended Classification of Pesticides by Hazard and Guidelines to Classification.

W. Horwitz and R. Alibert. 2006. The Horwitz ratio (Horrat) : a useful index of method performance with respect to precision. Journal of AOAC International. 89,4,2006, 1095-1108.

SANCO. 2013. Guidance document on analytical quality control and validation procedures for pesticide residues analysis in food and feed. European Union, Health and Consumer Protection Directorate General.