

## รายงานผลงานเรื่องเต็มการทดลองที่สิ้นสุด

ปีงบประมาณ 2561

1. แผนงานวิจัย -
2. โครงการวิจัย                      โครงการวิจัยและพัฒนาระบบการตรวจวิเคราะห์สารพิษตกค้างของสารป้องกันกำจัดศัตรูพืช  
    กิจกรรมที่ 1                      พัฒนาเทคนิคการวิเคราะห์สารพิษตกค้างเพื่อเพิ่มความสามารถของห้องปฏิบัติการ
3. ชื่อการทดลอง                      การพัฒนาและตรวจสอบความใช้ได้ของวิธีวิเคราะห์สารพิษตกค้างกลุ่ม ไอโซโพรคาร์บ (isoprocarb) ไอโพรวาลิคาร์บ (iprovalicarb) และไทโอเบนคาร์บ (thiobencarb) ในธัญพืชด้วยเทคนิคลิควิดโครมาโทกราฟี-แมสสเปกโตรเมตรี/แมสสเปกโตรเมตรี (LC-MS/MS)  
    ชื่อการทดลอง                      Development and method validation of isoprocarb iprovalicarb and thiobencarb in serial by Liquid chromatography–mass spectrometry/ mass spectrometry
4. คณะผู้ดำเนินงาน  
    หัวหน้าการทดลอง                      วีระสิงห์ แสงวรรณ                      กองวิจัยพัฒนาปัจจัยการผลิตทางการเกษตร  
    ผู้ร่วมงาน                      ชนิตา ทองแถม                      กองวิจัยพัฒนาปัจจัยการผลิตทางการเกษตร  
   วาเลนไทน์ เจือสกุล                      กองวิจัยพัฒนาปัจจัยการผลิตทางการเกษตร  
   วิชชุดา ควรหัตร์                      กองวิจัยพัฒนาปัจจัยการผลิตทางการเกษตร

### 5. บทคัดย่อ

พัฒนาและตรวจสอบความใช้ได้ของวิธีวิเคราะห์สารพิษตกค้างกลุ่มคาร์บาเมทในธัญพืช ด้วยเทคนิคลิควิดโครมาโทกราฟี-แมสสเปกโตรเมตรี/แมสสเปกโตรเมตรี ให้ได้สภาวะที่เหมาะสมในการวิเคราะห์สารพิษตกค้าง ไอโซโพรคาร์บ ไอโพรวาลิคาร์บ และไทโอเบนคาร์บ โดยพัฒนาวิธีวิเคราะห์ QuEChERS multiresidue method พิษตัวแทนคือ ข้าว และถั่วเหลือง ดำเนินการตรวจสอบความใช้ได้ของวิธีการตรวจวิเคราะห์ ผ่านเกณฑ์มาตรฐาน ดังนี้ ความเป็นเส้นตรง และช่วงของการวัด ของวิธีตรวจวิเคราะห์ที่อยู่ในช่วง 0.005 - 0.5 มิลลิกรัมต่อกิโลกรัม โดยมีค่า R<sup>2</sup> มากกว่า 0.990 และยืนยันผลการทดสอบด้วย ความแม่นยำ และความเที่ยงของทุกระดับความเข้มข้นผ่านเกณฑ์มาตรฐานกำหนด ความแม่นยำ (%recovery) ทุกระดับความเข้มข้น มีค่า %recovery อยู่ในช่วง 60 – 120 % ความเที่ยง ที่ระดับความเข้มข้น 0.005 - 0.5 มิลลิกรัมต่อกิโลกรัม % RSD มีค่า HORRAT < 2 LOD มีค่าเท่ากับ 0.005 มิลลิกรัมต่อกิโลกรัม และ LOQ มีค่าเท่ากับ 0.01 มิลลิกรัมต่อกิโลกรัม

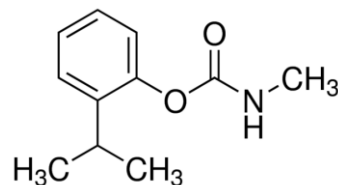
## Abstract

A Liquid Chromatography tandem mass spectrometry (LC-MS/MS) were used to develop and validate the determination of isoprocarb, iprovalicarb and thiobencarb in cereals. Three pesticide residue were determinate by developing analytical used to QuEChERS multiresidue method. Representative plant was rice and soybean. As the results, Linearity and Range were 0.005 - 0.5 mg/kg. The correlation coefficient ( $R^2$ ) was more than 0.990. The recoveries (isoprocarb, iprovalicarb and thiobencarb) were range 60 – 120 %. Precision at the concentration level 0.005 - 0.5 mg/kg expressed as relative standard deviation (% RSD) values, HORRAT<2. The limits of quantitation (LOQ) and the limits of detection (LOD) were 0.01 and 0.005 mg/kg respectively.

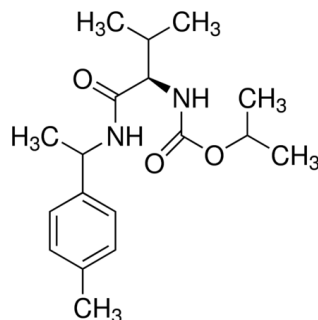
## 6. คำนำ

ไอโซโพรคาร์บ จัดในกลุ่มสารกำจัดแมลงนำมาใช้ป้องกันและกำจัดเพลี้ยต่างๆในนาข้าว พืชไร่ ไม้ผล ไอโพรวาลิคาร์บ จัดในกลุ่มสารกำจัดเชื้อรา ใช้กับเชื้อราไฟทอปทอรา (*Phytophthora* spp.) ซึ่งเป็นสาเหตุของโรคพืชทางดิน และไทโอเบนคาร์บจัดในกลุ่มสารกำจัดวัชพืช นำมาใช้กำจัดวัชพืชงอก (Post-emergence) ในนาข้าว หวานน้ำตม มีชื่อทางเคมี และสูตรโครงสร้าง ดังนี้

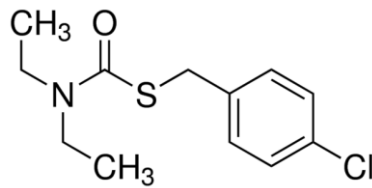
Isoprocarb : 2-(1-methylethyl) phenyl N-methylcarbamate



Iprovalicarb : Isopropyl-2-methyl-1-[(1-*p*-tolylethyl)carbamoyl]-(*S*)- propylcarbamate



Thiobencarb : S-[(4-chlorophenyl)methyl] N,N-diethylcarbamothioate



สารพิษตกค้างทั้งสามชนิดมีการใช้ในพื้นที่ปลูกข้าว นอกจากการเกิดสารตกค้างในข้าวและสิ่งแวดล้อม แล้วการสะสมของสารทั้งสามชนิด อาจทำให้เกิดการตกค้างกับพืชที่นิยมปลูกกันก่อนและหลังการทำนา เช่น ถั่วเขียว ถั่วลิสง ถั่วเหลือง ข้าวโพด อื่นๆ การตรวจวิเคราะห์สารพิษตกค้างในธัญพืช ส่วนใหญ่ใช้เทคนิค Gas Chromatography Tandem Mass Spectrometry (GC-MS/MS) และ Liquid Chromatography Tandem Mass Spectrometry (LC-MS/MS) โดยมีผู้ศึกษา และพัฒนาวิธีการตรวจวิเคราะห์อธิบายไว้ดังนี้ Susan Strange Herrmann และคณะ ( S.S.Herrmann et al., 2011) ได้พัฒนาและตรวจสอบความใช้ได้ของวิธีการตรวจวิเคราะห์ สาร 45 ชนิดในข้าว และข้าวสาลี ใช้วิธี QuEChERS ในการสกัด ซึ่งมีขั้นตอนนำตัวอย่างสกัดแช่แข็งที่ อุณหภูมิต่ำ -80 °c เป็นเวลา 1 ชั่วโมง หรือค้างคืน ก่อนนำมากำจัดสารปนเปื้อน (clean up) และตรวจวิเคราะห์ด้วยวิธี LC-MS/MS

Tseng SuHsiang และคณะ (T. Suttsiang et al., 2009) ได้พัฒนาเทคนิคการตรวจวิเคราะห์สารพิษตกค้างจำนวน 81 ชนิด รวมถึงสารอนุพันธ์ ในตัวอย่างผักและผลไม้ โดยใช้เทคนิค liquid chromatography tandem mass spectrometry (LC/MS/MS) การสกัดตัวอย่างใช้ Acetone และใช้คอลัมน์ชนิด Macroporous diatomaceous earth ในการกำจัดสิ่งปนเปื้อนซึ่งข้อดีคือช่วยลดเวลาในการเตรียมตัวอย่าง สิ้นเปลืองสารเคมี น้อย สะดวกและไม่มีผลกระทบต่อสิ่งแวดล้อม โดยสารที่ตรวจวิเคราะห์ 81 ชนิดประกอบด้วยสารกำจัดแมลง สารกำจัดไร สารกำจัดเชื้อรา สารกำจัดวัชพืช สารควบคุมการเจริญเติบโตของพืช โดยใช้คอลัมน์ Atlantis T3 ต่อกับเครื่อง LC-MS/MS สำหรับแยกสาร และชะสารออกจากคอลัมน์แบบ gradient เวลาในการวิเคราะห์ 25 นาที

จากการทบทวนบทวรรณกรรมที่เกี่ยวข้อง เพื่อนำมาเป็นแนวทางในการพัฒนาวิธีการตรวจวิเคราะห์สารพิษตกค้างกลุ่มคาร์บาเมททั้งสามชนิด เพื่อให้มีความไวสูงและเฉพาะเจาะจงมากขึ้นรวมถึงการหาวิธีการเตรียมตัวอย่างมีความสะดวกรวดเร็ว ประหยัดและให้ผลการทดสอบที่มีความถูกต้องและแม่นยำ และวิธีที่พัฒนาขึ้นนี้จะได้ใช้ในห้องปฏิบัติการกลุ่มงานวิจัยสารพิษตกค้าง และถ่ายทอดไปยังหน่วยงานที่เกี่ยวข้องภายใต้สังกัดกรมวิชาการเกษตรต่อไป

## 7. วิธีดำเนินการ

### อุปกรณ์และสารเคมี

1. สารมาตรฐานวัตถุพิษได้แก่ ไอโซโพรคาร์บ 98.5% ไอโพรวาลิคาร์บ 98.0% และไทโอเบนคาร์บ 98.0% เตรียมสารละลายมาตรฐานด้วยตัวทำละลาย ชนิด Pesticide Grade

2. สารเคมีได้แก่ Acetonitrile (HPLC grade), magnesium sulphate, sodium chloride, di-sodium hydrogen citrate, tri-sodium citrate dehydrate, Water (HPLC grade)
3. เครื่องมือในห้องปฏิบัติการ ได้แก่ เครื่องชั่งความละเอียด 2 ตำแหน่ง และ 5 ตำแหน่งที่ผ่านการสอบเทียบ, เครื่องเหวี่ยงหนีศูนย์กลาง Centrifuge, เครื่องสับตัวอย่าง (Food Processor), Micro pipette ขนาด 100-1,000 ไมโครลิตร หลอด centrifuge ขนาด 50 มิลลิลิตร
4. PTFE filter ขนาด 0.2 ไมโครเมตร
5. เครื่องตรวจวิเคราะห์ชนิดและปริมาณสารพิษตกค้างของวัตถุที่มีพิษชนิด Ultra Performance Liquid Chromatography (UPLC) ต่อกับเครื่อง Tandem mass spectrometry (LC-MS/MS)
6. ตัวอย่างพืชที่นำมาทดลองได้แก่ ข้าวสาร และเมล็ดถั่วเหลือง

## วิธีการ

1. ค้นคว้าเอกสารที่เกี่ยวข้องกับงานวิจัย และวางแผนการทดลอง
2. เตรียมสารละลายมาตรฐาน ที่ความเข้มข้นต่างๆ ได้แก่ 1,000 100 และ 10 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร ใน acetonitrile และนำสารมาตรฐานที่เตรียมแล้วมาผสม เพื่อใช้ในการเตรียมกราฟมาตรฐาน และ spike ลงในตัวอย่าง
3. วิเคราะห์ปริมาณสารพิษตกค้าง พัฒนาจากวิธี EN QuEChERS (Anastassiades *et al.*, 2003) โดยชั่งตัวอย่างบดละเอียด 5 กรัม ลงในหลอด centrifuge ขนาด 50 มิลลิลิตร เติมน้ำ 10 มิลลิลิตร ที่ไว้อย่างน้อย 30 นาที หลังจากนั้นเติม 10 มิลลิลิตร ของ acetonitrile ปิดฝาเขย่าเล็กน้อย vortex 30 วินาที เขย่าด้วยมืออย่างแรงนาน 1 นาที เติมหาผสมของ 4 กรัม magnesium sulphate, 1 กรัม sodium chloride, 0.5 กรัม di-sodium hydrogen citrate และ 1 กรัม tri-sodium citrate dehydrate เขย่าด้วยมืออย่างแรงนาน 1 นาที นำไป centrifuge ที่ความเร็วรอบ 4,000 rpm 5 นาที จากนั้นกรองสารละลายส่วนใสผ่าน PTFE filter ขนาด 0.2 ไมครอน ลงใน vial ขนาด 1.5 มิลลิลิตร นำไปตรวจวิเคราะห์ด้วยเครื่อง LC-MS/MS

สภาวะเครื่อง LC-MS/MS ที่ใช้

Agilent 6410 Triple Quad LC/MS, Agilent 1290 HPLC

HPLC Column: Kinetex 2.6u XB-C18 100A 100 x 2.1 mm.

Mobile phase A: 5 mM ammonium formate in water + 0.01 % FA. pH 4

Mobile phase B: acetonitrile ( LCMS grade )

Flow: 0.30 ml/min, Total run time: 7.00 min, posttime: 2.00 min

อัตราส่วนผสมของ Mobile phase แบบ Gradient

เวลา (นาที)	อัตราไหล (มิลลิลิตรต่อนาที)	สารละลาย A (เปอร์เซ็นต์)	สารละลาย B (เปอร์เซ็นต์)
0.00	0.30	50	50

3.00	0.30	10	90
4.00	0.30	10	90
6.00	0.30	90	10
7.00	0.30	90	10
7.10	0.30	50	50
8.00	0.30	50	50

**ระยะเวลา**

เริ่มต้นเดือนตุลาคม 2559 สิ้นสุด เดือนกันยายน 2561

**สถานที่ดำเนินการ**

ห้องปฏิบัติการวิจัยสารพิษตกค้าง กลุ่มวิจัยวัตถุมีพิษการเกษตร กองวิจัยพัฒนาปัจจัยการผลิตทางการเกษตร กรมวิชาการเกษตร กระทรวงเกษตรและสหกรณ์ กรุงเทพฯ

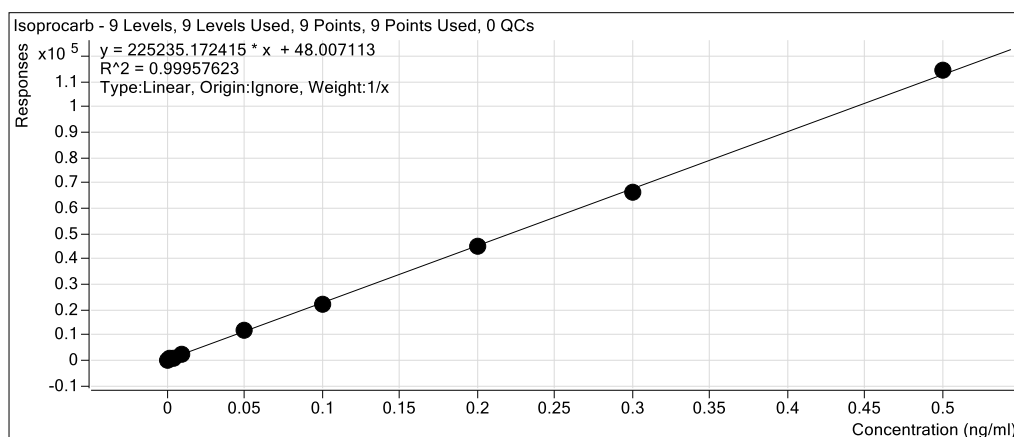
**8. ผลการทดลองและวิจารณ์**

**การตรวจสอบความใช้ได้ของวิธีการตรวจวิเคราะห์ตัวอย่างข้าว**

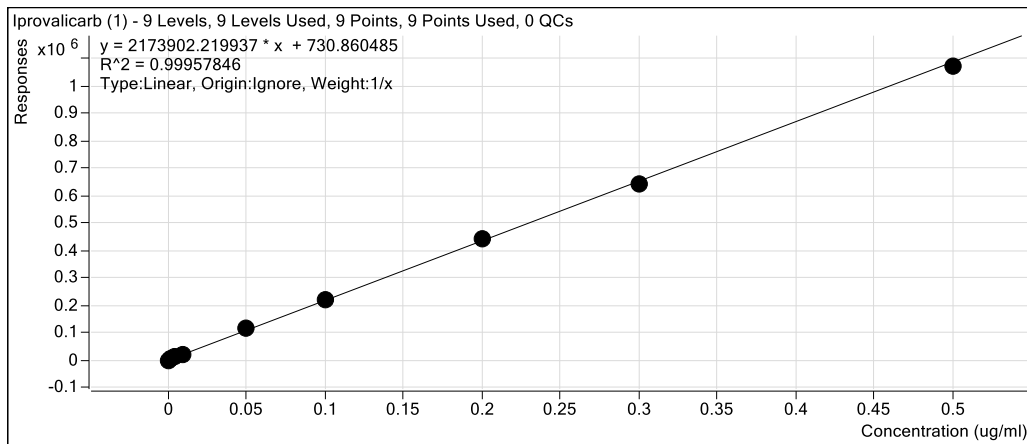
**1. ความเป็นเส้นตรง (Linearity) และช่วงของการวัด (Range)**

ทดสอบเติมสารมาตรฐานที่ทราบความเข้มข้นแน่นอนของสารผสม ไอโซโพรคาร์บ ไอโพรวาลิคาร์บ และไทโอเบนคาร์บลงในตัวอย่างข้าว ที่ไม่พบสารพิษตกค้างที่ทำการทดสอบ ที่ระดับความเข้มข้น 9 ระดับ คือ 0.001, 0.002, 0.005, 0.01, 0.05, 0.1, 0.2 และ 0.5 มิลลิกรัมต่อกิโลกรัม จำนวน 3 ซ้ำ Linearity และ Working range ของวิธีการตรวจวิเคราะห์อยู่ในช่วง 0.005 - 0.5 มิลลิกรัมต่อกิโลกรัม โดยมีค่า correlation coefficient ( $R^2$ ) มากกว่า 0.990

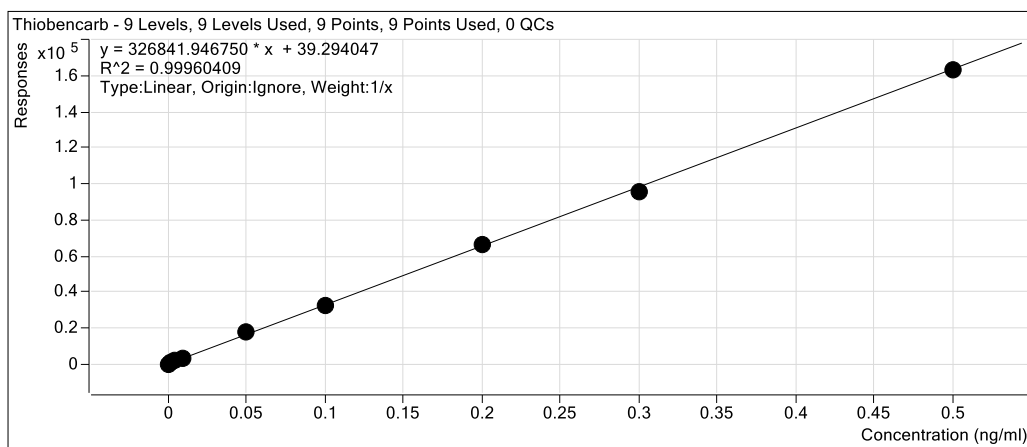
ไอโซโพรคาร์บ



### ไอโพรวาลิคาร์บ



### ไทโอเบนคาร์บ



## 2. ความแม่นยำ (Accuracy) / ความเที่ยง (Precision)

ตรวจสอบโดยทำการ fortified sample ที่ระดับความเข้มข้น 6 ระดับ คือ 0.005, 0.01, 0.05, 0.1, 0.2 และ 0.5 มิลลิกรัมต่อกิโลกรัม 8 ซ้ำ ประเมิน accuracy และ Precision จาก %recovery ซึ่งมีค่าอยู่ในช่วง 60 -120 % และ % RSD มีค่า HORRAT < 2

ไอโซโพรคาร์บ

No	% Recovery											
	0.005 mg/kg		0.01 mg/kg		0.05 mg/kg		0.1 mg/kg		0.2 mg/kg		0.5 mg/kg	
1	0.0043	86	0.0099	99	0.0504	101	0.0970	97	0.1805	90	0.4967	99
2	0.0048	96	0.0109	109	0.0480	96	0.0995	100	0.1849	92	0.4817	96
3	0.0040	80	0.0106	106	0.0511	102	0.0977	98	0.1832	92	0.4947	99
4	0.0041	82	0.0113	113	0.0493	99	0.0986	99	0.1832	92	0.5131	103
5	0.0041	82	0.0099	99	0.0497	99	0.0978	98	0.1867	93	0.5126	103
6	0.0047	94	0.0111	111	0.0476	95	0.0953	95	0.1797	90	0.4626	93
7	0.0043	86	0.0107	107	0.0488	98	0.0997	100	0.1821	91	0.4781	96
8	0.0046	92	0.0101	101	0.0486	97	0.0965	97	0.1879	94	0.4914	98
Mean	0.0044		0.0106		0.0492		0.0978		0.1890		0.4914	
SD	0.0003		0.0005		0.0012		0.0015		0.0029		0.0172	
%RSD <sub>R</sub>	6.92		5.13		2.41		1.53		1.51		3.49	
Horwitz %RSD <sub>R</sub>	36.25		31.73		25.17		22.70		20.56		17.80	
HORRAT	0.19		0.16		0.10		0.07		0.07		0.20	

ไอโพรวาติคาร์บ

No	% Recovery											
	0.005 mg/kg		0.01 mg/kg		0.05 mg/kg		0.1 mg/kg		0.2 mg/kg		0.5 mg/kg	
1	0.0049	98	0.0093	93	0.0487	97	0.0914	91	0.1864	93	0.4661	93
2	0.0049	98	0.0092	92	0.0486	97	0.0938	94	0.1897	95	0.4638	93
3	0.0047	94	0.0095	95	0.0491	98	0.0935	94	0.1853	93	0.4706	94
4	0.0046	92	0.0094	94	0.0458	92	0.0932	93	0.1928	96	0.4916	98
5	0.0045	90	0.0092	92	0.0489	98	0.0927	93	0.1936	97	0.4857	97
6	0.0046	92	0.0090	90	0.0478	96	0.0920	92	0.1906	95	0.4466	89
7	0.0044	88	0.0090	90	0.0491	98	0.0936	94	0.1901	95	0.4617	92
8	0.0042	84	0.0092	92	0.0470	94	0.0916	92	0.1949	97	0.4701	94
Mean	0.0046		0.0092		0.0481		0.0927		0.1890		0.4695	
SD	0.0002		0.0002		0.0012		0.0009		0.0034		0.0140	
%RSD <sub>R</sub>	5.20		1.90		2.46		1.02		1.78		2.99	
Horwitz %RSD <sub>R</sub>	35.96		32.38		25.25		22.88		20.56		17.92	
HORRAT	0.14		0.06		0.10		0.04		0.09		0.17	

ไทโอเบนคาร์บ

No	% Recovery											
	0.005 mg/kg		0.01 mg/kg		0.05 mg/kg		0.1 mg/kg		0.2 mg/kg		0.5 mg/kg	
1	0.0033	66	0.0087	87	0.0557	111	0.0829	83	0.1636	82	0.4108	82
2	0.0033	66	0.0092	92	0.0540	108	0.0840	84	0.1654	83	0.3680	74
3	0.0034	68	0.0091	91	0.0522	104	0.0825	83	0.1672	84	0.4098	82
4	0.0031	62	0.0086	86	0.0562	112	0.0844	84	0.1698	85	0.4049	81
5	0.0031	62	0.0084	84	0.051	102	0.0857	86	0.1655	83	0.3952	79
6	0.0030	60	0.0082	82	0.0531	106	0.0852	85	0.1706	85	0.3641	73
7	0.0030	60	0.0086	86	0.0538	108	0.0820	82	0.1675	84	0.3866	77
8	0.0031	62	0.0084	84	0.0517	103	0.0816	82	0.1680	84	0.3901	78
Mean	0.0032		0.0087		0.0535		0.0835		0.1890		0.3912	
SD	0.0002		0.0003		0.0018		0.0015		0.0023		0.0178	
%RSD <sub>R</sub>	4.76		4.00		3.45		1.81		1.24		4.56	
Horwitz %RSD <sub>R</sub>	38.04		32.70		24.86		23.24		20.56		18.42	
HORRAT	0.13		0.12		0.14		0.08		0.06		0.25	

LOD = 0.005 mg/kg

LOQ = 0.01 mg/kg

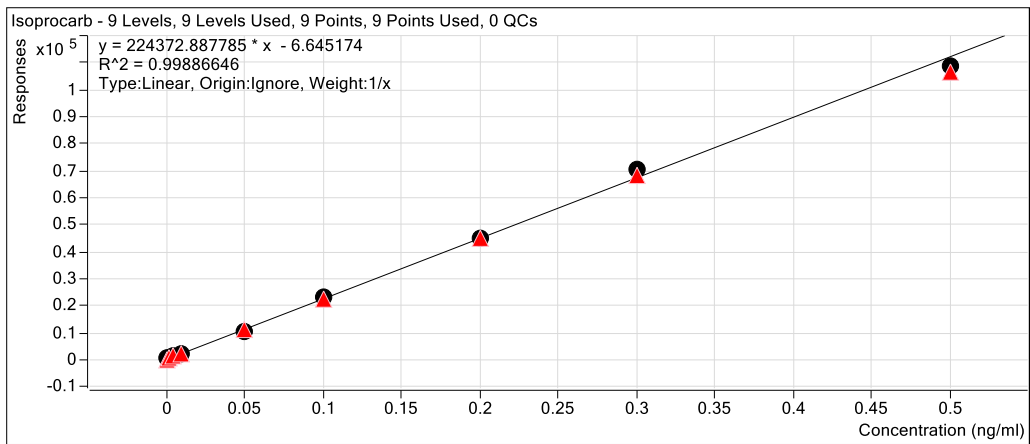
**การตรวจสอบความใช้ได้ของวิธีการตรวจวิเคราะห์ตัวอย่างถั่วเหลือง**

**1. ความเป็นเส้นตรง (Linearity) และช่วงของการวัด (Range)**

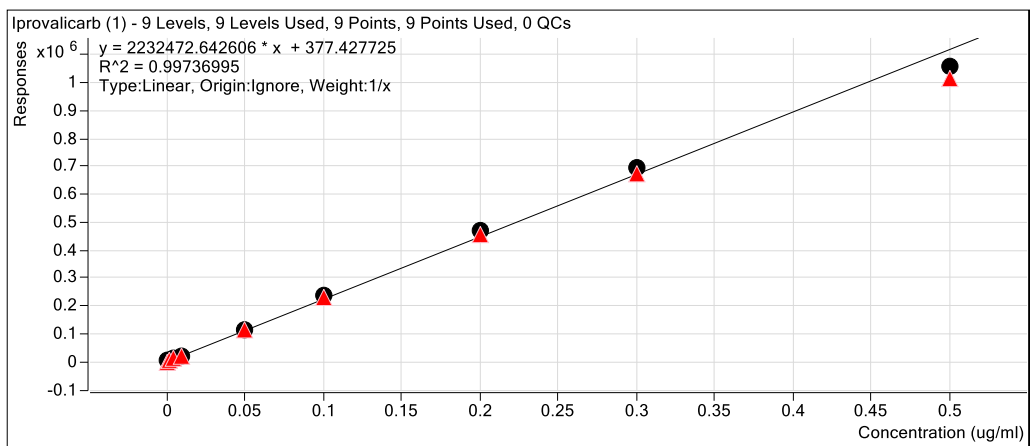
สรุปวิธี และทดสอบความถูกต้องของวิธีทดสอบ โดยเปลี่ยนชนิดของธัญพืชเป็นถั่วเหลือง เพื่อหาข้อจำกัดของวิธีตรวจวิเคราะห์ ซึ่งยังคงให้ผลการทดสอบความเป็นเส้นตรง (Linearity) และช่วงของการวัด (Range) อยู่ในช่วง 0.005 - 0.5 มิลลิกรัมต่อกิโลกรัม โดยมีค่า correlation coefficient ( $R^2$ ) มากกว่า 0.990

ไอโซโพรคาร์บ

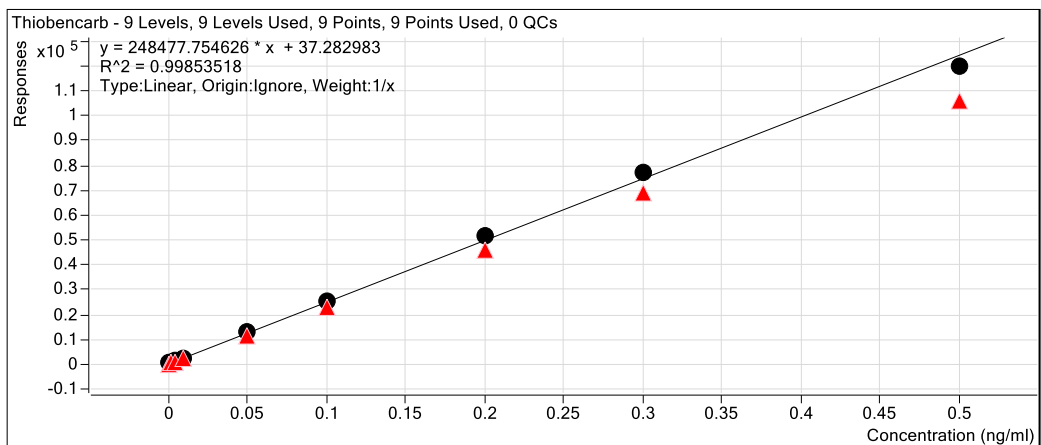




ไอโพรวาติคาร์บ



ไทโอเบนคาร์บ



2. ความแม่นยำ (Accuracy) / ความเที่ยง (Precision)

ตรวจสอบการทำ fortified sample ที่ระดับความเข้มข้น 4 ระดับ คือ 0.005, 0.01, 0.1 และ 0.5 มิลลิกรัมต่อกิโลกรัม 8 ซ้ำ ประเมิน accuracy และ Precision จาก %recovery ซึ่งมีค่าอยู่ในช่วง 60 -120 %และ % RSD มีค่า HORRAT < 2

ไอโซโพรคาร์บ

No	% Recovery							
	0.005 mg/kg		0.01 mg/kg		0.1 mg/kg		0.5 mg/kg	
1	0.0049	98	0.0091	91	0.0938	94	0.4859	97
2	0.0054	108	0.0090	90	0.0945	95	0.4892	98
3	0.0047	94	0.0096	96	0.0945	95	0.4879	98
4	0.0050	100	0.0090	90	0.0946	95	0.4553	91
5	0.0049	98	0.0092	92	0.0976	98	0.4638	93
6	0.0052	104	0.0094	94	0.0973	97	0.4871	97
7	0.0048	96	0.0094	94	0.0987	99	0.4795	96
8	0.0050	100	0.0091	91	0.0935	94	0.4634	93
Mean	0.0050		0.0092		0.0956		0.4765	
SD	0.0002		0.0002		0.0020		0.0135	
%RSD <sub>R</sub>	4.48		2.37		2.08		2.84	
Horwitz %RSD <sub>R</sub>	35.52		32.38		22.78		17.88	
HORRAT	0.13		0.07		0.09		0.16	

ไอโพรวาติคาร์บ

No	% Recovery							
	0.005 mg/kg		0.01 mg/kg		0.1 mg/kg		0.5 mg/kg	
1	0.0047	94	0.0097	97	0.0971	97	0.4856	97
2	0.0051	102	0.0099	99	0.0918	92	0.4844	97
3	0.0049	98	0.0095	95	0.0959	96	0.4895	98
4	0.0049	98	0.0097	97	0.0958	96	0.4732	95
5	0.0047	94	0.0092	92	0.0959	96	0.4724	94
6	0.0048	96	0.0094	94	0.0953	95	0.4829	97
7	0.0050	100	0.0098	98	0.0993	99	0.4632	93
8	0.0049	98	0.0096	96	0.0926	93	0.4439	89
Mean	0.0048		0.0096		0.0955		0.4744	
SD	0.0001		0.0002		0.0024		0.0151	
%RSD <sub>R</sub>	2.41		2.36		2.49		3.17	
Horwitz %RSD <sub>R</sub>	35.70		32.19		22.78		17.90	
HORRAT	0.07		0.07		0.11		0.18	

ไทโอเบนคาร์บ

No	% Recovery							
	0.005 mg/kg		0.01 mg/kg		0.1 mg/kg		0.5 mg/kg	
1	0.0041	82	0.0079	79	0.0736	74	0.3791	76
2	0.0038	76	0.0077	77	0.0701	70	0.3741	75
3	0.0037	74	0.0079	79	0.0699	70	0.3889	78
4	0.0037	74	0.0076	76	0.0738	74	0.3721	74
5	0.0038	76	0.0075	75	0.0732	73	0.3489	70
6	0.0036	72	0.0072	72	0.0727	73	0.3527	71
7	0.0037	74	0.0073	73	0.0732	73	0.3486	70
8	0.0038	76	0.0070	70	0.0721	72	0.3432	69
Mean	0.0038		0.0075		0.0723		0.3635	
SD	0.0001		0.0003		0.0015		0.0171	
%RSD <sub>R</sub>	3.94		4.35		2.11		4.70	
Horwitz %RSD <sub>R</sub>	8.00		8.00		8.00		8.00	
HORRAT	0.11		0.13		0.09		0.25	

3. ศึกษาขีดจำกัดของการวัดเชิงปริมาณ (Limit of quantitation, LOQ) และขีดจำกัดของการตรวจพบ (Limit of detection, LOD)

ทดสอบ LOQ ของวิธีการทดสอบ ที่ความเข้มข้น 0.01 มิลลิกรัมต่อกิโลกรัม โดยยืนยันผลการทดสอบจาก accuracy และ precision จากผลการศึกษาในตัวอย่างข้าวสาร และเมล็ดถั่วเหลือง ยอมรับค่า LOQ ที่ระดับความเข้มข้น 0.01 มิลลิกรัมต่อกิโลกรัม และยอมรับค่า LOD ที่ความเข้มข้น 0.005 มิลลิกรัมต่อกิโลกรัม ประเมินการทดสอบโดยการตรวจวิเคราะห์ตัวอย่างที่เติมสารมาตรฐานที่ระดับความเข้มข้น 0.005 มิลลิกรัมต่อกิโลกรัม 8 ซ้ำ ประเมินค่า peak area ของ Quantitative ion  $\geq 10$

**9. สรุปผลการทดลองและข้อเสนอแนะ**

1. ความเป็นเส้นตรง และช่วงของการวัด ของวิธีตรวจวิเคราะห์อยู่ในช่วง 0.005 - 0.5 มิลลิกรัมต่อกิโลกรัม โดยมี ค่า R<sup>2</sup> มากกว่า 0.990 และยืนยันผลการทดสอบด้วย ความแม่นยำ และความเที่ยง ของทุกระดับความเข้มข้นผ่านเกณฑ์มาตรฐานกำหนด
2. ความแม่นยำ (%recovery) ทุกระดับความเข้มข้น มีค่า %recovery มีค่าอยู่ในช่วง 60 - 120 %
3. ความเที่ยง ที่ระดับความเข้มข้น 0.005 - 0.5 มิลลิกรัมต่อกิโลกรัม % RSD มีค่า HORRAT < 2

4. LOD มีค่าเท่ากับ 0.005 มิลลิกรัมต่อกิโลกรัม
5. LOQ มีค่าเท่ากับ 0.01 มิลลิกรัมต่อกิโลกรัม

## 10. การนำผลงานวิจัยไปใช้ประโยชน์

1. ได้วิธีวิเคราะห์ ไอโซโทปคาร์บอน ไอโซโทปวาเลียมคาร์บอน และไทโอเบนคาร์บอน ในธัญพืช ที่ถูกต้องมีการตรวจวิเคราะห์เร็วและความแม่นยำสูง
2. เผยแพร่วิธีการวิเคราะห์แก่ห้องปฏิบัติการตรวจวิเคราะห์สารพิษตกค้างที่อยู่ภายใต้กรมวิชาการเกษตรและหน่วยงานที่สนใจ
3. ขยายขอบข่ายการรองรับมาตรฐานห้องปฏิบัติการ ISO/IEC 17025

## 11. เอกสารอ้างอิง

- M. Anastassiades, S. J. Lehotay, D. Stajnbaher, 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, 412-431.
- 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.
- S. S. Herrmann, M. E. Poulsen, H. B. Christensen (March 2011). Determination of pesticide residues in rice and wheat by GC-MS/MS and LC-MS/MS. EURL.
- T. SuHsiang, L. ChinCheng, L.YuJu and C. HsinChih (2009). Analysis of 81 pesticides and metabolite residue in fruits and vegetable by diatomaceous earth column extraction and LC-MS/MS determination. *J. Food Drug Anal.* Vol 17 No. 5: 319-332.