

รายงานผลงานเรื่องเต็มการทดลอง

1. **แผนงานวิจัย** : วิจัยและพัฒนาระบบการตรวจวิเคราะห์ปัจจัยการผลิตทางการเกษตรตามมาตรฐานสากล
: Research and Development on Analytical System for Agriculture Production Inputs.
2. **ระบุชื่อโครงการวิจัย** : การพัฒนาการตรวจวิเคราะห์สารพิษตกค้างของวัตถุอันตรายทางการเกษตรให้ถูกต้อง แม่นยำตามมาตรฐานสากล
กิจกรรม : การพัฒนาและตรวจสอบความใช้ได้ของวิธีวิเคราะห์สารพิษตกค้าง
กิจกรรมย่อย : การพัฒนาเทคนิคการวิเคราะห์สารพิษตกค้างในผัก ผลไม้และ ผลิตภัณฑ์ทางการเกษตร
3. **ระบุชื่อการทดลอง** : การตรวจสอบความใช้ได้ของวิธีวิเคราะห์ สารพิษตกค้าง กลุ่มออร์กาโนฟอสเฟต (Organophosphorus) ออร์กาโนคลอรีน (Organochlorine) ไพรีทรอยด์ (Pyrethroid) คาร์บาเมต (Carbamate) และ สารป้องกันกำจัดโรคพืช (Fungicide) ในมะม่วง ลำไย ทูเรียน และ มังคุด ด้วยวิธีการ QuEChERs และเทคนิคโครมาโทกราฟีแมสสเปกโตรเมตรีของห้องปฏิบัติการ สวพ. 6
: Validation of QuEChERs with GC-MS/MS and LC-MS/MS method for analyzed pesticide residue; organophosphorus, organochlorine, pyrethroid, carbamate, and fungicide group in mango longan durian and mangosteen in the east of Thailand.
4. **คณะผู้ดำเนินงาน**
หัวหน้าการทดลอง : นางเกษสิริ ฉันทพิริยะพูน นักวิทยาศาสตร์ชำนาญการพิเศษ
สำนักวิจัยและพัฒนาการเกษตรเขตที่ 6
ผู้ร่วมงาน : นางสาวดาวนภา ช่องวารินทร์ นักวิทยาศาสตร์ชำนาญการพิเศษ
นายสมชาย ฉันทพิริยะพูน นักวิทยาศาสตร์ชำนาญการพิเศษ
สำนักวิจัยและพัฒนาการเกษตรเขตที่ ๖

5. บทคัดย่อ

การตรวจสอบความใช้ได้ของวิธีทดสอบเป็นสิ่งสำคัญที่ต้องดำเนินการ เพื่อแสดงให้เห็นว่าวิธีการทดสอบที่นำมาใช้นั้นมีความถูกต้องและเหมาะสม ผ่านการทดสอบและประเมินผลทางสถิติของคุณลักษณะที่จำเป็นว่าอยู่ในเกณฑ์ที่เหมาะสมตามมาตรฐานสากลที่ห้องปฏิบัติการยอมรับ QuEChERS (AOAC, 2007.01) เป็นวิธีวิเคราะห์ที่ถูกพัฒนาขึ้นและมีการใช้กันอย่างแพร่หลาย เนื่องจากทำให้การวิเคราะห์สารพิษตกค้างซึ่งมีขั้นตอนที่ยากและใช้สารเคมีตัวทำละลายที่มีอันตรายสูง ได้เปลี่ยนแปลงไป โดยถูกทำให้การสกัดง่ายขึ้น ใช้ตัวทำละลายเพียงชนิดเดียวและลดปริมาณที่ใช้ลงอย่างมากทำให้ลดค่าใช้จ่ายและผู้วิเคราะห์มีความปลอดภัยมากขึ้น แต่อย่างไรก็ตามก่อนนำมาใช้ในการทดสอบต้องทำการตรวจสอบความใช้ได้ของวิธีทดสอบก่อนว่ามีความเหมาะสมต่อการทดสอบของห้องปฏิบัติการจากผลการตรวจสอบความใช้ได้ของวิธีทดสอบพบว่า วิธี QuEChERS มีความเหมาะสมต่อการวิเคราะห์หาปริมาณสารพิษตกค้างกลุ่มออร์กาโนฟอสฟอรัส (Organophosphorus) ออร์กาโนคลอรีน (Organochlorine) ไพรีทรอยด์ (Pyrethroid) คาร์บาเมต (Carbamate) และสารเคมีป้องกันกำจัดโรคพืช (Fungicide) ในมะม่วง ลำไย ทุเรียน และ มังคุด โดยสารพิษตกค้างกลุ่มออร์กาโนฟอสฟอรัส วิเคราะห์โดยเครื่อง GC-MS/MS ยกเว้น omethoate monocrotophos mevinphos pirimiphos-ethyl วิเคราะห์โดย LC-MS/MS กลุ่มออร์กาโนคลอรีนและไพรีทรอยด์ วิเคราะห์โดย GC-MS/MS ส่วนกลุ่มคาร์บาเมต และสารเคมีป้องกันกำจัดโรคพืช วิเคราะห์โดย LC-MS/MS

พารามิเตอร์และสถิติที่ใช้ในการทดสอบความเหมาะสมได้แก่ selectivity LOD LOQ accuracy precision linearity rang ผ่านตามเกณฑ์ที่กำหนด โดยค่า LOD ของสารกลุ่มที่วิเคราะห์โดยเครื่อง GC-MS/MS มีค่า LOD = 0.005 ค่า LOQ = 0.01 ,ช่วงของการวัด Range = 0.01 – 4 mg/kg ส่วนสารกลุ่มที่วิเคราะห์โดยเครื่อง LC-MS/MS ส่วนใหญ่ (รายละเอียดตามเอกสารแนบ) มีค่า LOD = 0.0005 ค่า LOQ = 0.001 ช่วงของการวัด Range = 0.001 – 1 mg/kg

6. คำนำ

การวิเคราะห์สารพิษตกค้างในพื้นที่ภาคตะวันออกจำเป็นต้องได้รับการพัฒนาและปรับปรุงวิธีการทดสอบให้มีประสิทธิภาพมากขึ้น มีการตรวจสอบความใช้ได้ของวิธีเพื่อพิสูจน์ให้เห็นว่าวิธีที่นำมาใช้ผ่านการประเมินผลทางสถิติมาอย่างเหมาะสม ทั้งนี้วิธีที่พัฒนาขึ้นนี้เป็นวิธีที่ลดขั้นตอนในการทดสอบ และให้ค่าความไม่แน่นอนในการวัดที่ต่ำกว่าวิธีที่ทดสอบทั่วไป

QuEChERS เป็นวิธีทดสอบหาชนิดและปริมาณสารพิษตกค้างกลุ่มต่างๆ ที่ใช้กันแพร่หลาย QuEChERS (Quick, easy, cheap, effective, rugged, and save) หมายถึง วิธีการทดสอบสารพิษตกค้างโดยใช้การสกัดด้วยตัวทำละลาย buffered เพียงขั้นตอนเดียว (Single-step buffered) ในวิธีทดสอบนี้ใช้ acetonitrile เป็นสารสกัด และ กำจัดน้ำออกจากระบบโดยใช้ $MgSO_4$ (Salting out liquid-liquid partition) กำจัดสิ่งปนเปื้อนด้วยเทคนิค dispersive-SPE โดยใช้ PSA และ $MgSO_4$ จากนั้นทำการวิเคราะห์ด้วยเครื่อง mass spectrometry (MS)

7. วิธีดำเนินการ :

7.1 เครื่องมือและอุปกรณ์

เครื่องมือ

1. เครื่อง LC-MS/MS, LC 1200 infinity series, MS triple quad 6460, Agilent
2. เครื่องชั่ง range 0.00001 g ถึง 82 g ความละเอียดทศนิยม 5 ตำแหน่ง
3. เครื่องชั่ง range 0.5 g ถึง 1,510 g ความละเอียดทศนิยม 2 ตำแหน่ง
4. เครื่องปั่นเหวี่ยงความเร็วสูงชนิดควบคุมอุณหภูมิได้ (Centrifuge refrigerator)ความเร็วในการปั่นไม่น้อยกว่า 4000 rpm
5. Freezer range 0 °C ถึง -25 °C
6. ตู้ควบคุมอุณหภูมิ range 4 °C ถึง 10 °C
7. เครื่องปั่นย่อยตัวอย่าง food processor

วัสดุ/อุปกรณ์

1. Volumetric flask, Class A ขนาด 5, 10, 25, 50, 100, 500 mL (Calibrated)
2. Volumetric pipette Class A ขนาด 1, 2, 5, 10, 50 mL (Calibrated)
3. Auto pipette ขนาด 1-10 µL, 10-100 µL, 100-1000 µL, 1-10 mL (Calibrated)
4. Centrifuge tube Teflon/PTFE ฝาเกลียว ขนาด 40-50 mL
5. Centrifuge tube ขนาด 1.5 mL
6. Eppendorf tube ขนาด 1 – 1.5 mL
7. Syringe แก้วขนาด 5 หรือ 10 mL
8. Syringe filter ขนาด 0.22 µm 25 mm ชนิด PTFE membrane
9. Auto sampler vial 2 mL
10. Zorbax Eclipse plus C-18 rapid resolution HD 2.1 x 150 mm 1.8 micron

7.2. สารเคมี

สารเคมีต่าง ๆ

- Acetonitrile (CH₃CN) LC-MS grade
- Water (H₂O) LC-MS grade
- Methanol (CH₃OH) LC-MS grade
- Ammonium formate 99% (NH₄HCO₂) AR grade
- Formic acid 98-100% (CH₂O₂) AR grade
- Acetic acid glacial 100% (CH₃COOH) AR grade
- Sodium acetate (CH₃COONa) AR grade
- Magnesium sulfate (Mg₂SO₄) AR

- Primary secondary amine (PSA)

7.3. สารมาตรฐาน

1. สารมาตรฐานความบริสุทธิ์สูงระบุตามใบรับรอง (Certificate)
2. การจัดเก็บสารมาตรฐาน

เมื่อได้รับสารมาตรฐานจัดทำบัญชีรายชื่อสารมาตรฐาน และจัดเก็บให้ถูกต้องตามคำแนะนำ
ของบริษัทผู้ผลิต

การเตรียมสารมาตรฐาน สารมาตรฐานที่ห้องปฏิบัติการใช้ประกอบด้วย สารมาตรฐาน 3
ระดับดังนี้

1. Stock standard solution ความเข้มข้นสูง 1,000 µg/mL
2. Intermediate mixed standard solution สารมาตรฐานความเข้มข้นระดับกลาง
ส่วนใหญ่เป็นสารละลายผสม ใช้ในการ fortified หรือ ใช้ในการจัดเตรียม working standard
3. Working standard ใช้สำหรับทำ calibration curve เพื่อใช้ในหารทดสอบ

7.4. การเตรียมตัวอย่าง

1. นำตัวอย่างมะม่วง มังคุด ทูเรียน ที่ส่งเข้าห้องปฏิบัติการ ทำการชั่งตัวอย่าง โดยใช้มีดปาด
แบ่งเป็น 4 ส่วน นำ 2 ส่วน ตรงกันข้ามหั่นเป็นชิ้นเล็กๆ จากนั้นนำไปปั่นให้ละเอียดด้วยเครื่องปั่นย่อย (Food
processor) นำเนื้อมะม่วงที่ปั่นแล้วทั้งหมดใส่ในภาชนะหรือภาชนะสเตนเลส เพื่อนำตัวอย่างไปชั่ง ในกรณีลำไยใช้
ลำไยทั้งผลทั้งส่วนที่เป็นเมล็ดแข็ง

2. นำตัวอย่างคลุกเคล้าให้เป็นเนื้อเดียวกัน ชั่ง 10 ± 0.1 g ด้วยเครื่องชั่งทศนิยม 2 ตำแหน่ง ใส่
ลงใน centrifuge tube (Teflon/PTFE) ขนาด 40-50 mL ติดป้ายระบุหมายเลขตัวอย่าง

7.5. การทดสอบ

1. นำตัวอย่างที่ชั่ง 10 ± 0.1 g เติม 1% acetic acid ใน acetonitrile 10 mL โดยใช้ auto-pipette
2. เติม sodium acetate 1 ± 0.01 g และ magnesium sulfate anhydrous 4 ± 0.04 g
3. เขย่าให้เข้ากันด้วยมือ จากนั้นนำไปเขย่าอย่างแรงโดยใช้ vortex mixer เป็นเวลา 1 นาที
4. นำไป centrifuge ด้วย centrifuge refrigerator ด้วยความเร็ว 4000 rpm เป็นเวลา
1 นาที อุณหภูมิที่ใช้ในการปั่น ไม่เกิน 25 °C
5. ชั่ง Magnesium sulfate 150 mg และ PSA 50 mg ลงใน eppendorf tube
6. นำสารสกัดตัวอย่างที่ผ่านการดำเนินการในข้อ 8.2.4 ปริมาตร 1 mL โดยใช้ auto pipette ถ่ายลง
ใน eppendorf tube ข้อ 8.2.5
7. เขย่าให้เข้ากันด้วยมือ จากนั้นนำไปเขย่าอย่างแรงโดยใช้ vortex mixer เป็นเวลา 30 sec
8. นำไป centrifuge ด้วย centrifuge refrigerator ด้วยความเร็ว 3000 rpm เป็นเวลา 1 นาที
อุณหภูมิที่ใช้ในการปั่น ไม่เกิน 25 °C

9. กรองสารสกัดตัวอย่างลงใน vial 1.5 mL โดยใช้ syringe ขนาด 5-10 mL syringe filter ขนาด 0.22 μm 25 mm PTFE membrane
10. นำไปวิเคราะห์ด้วยเครื่อง GC-MS/MS และ LC-MS/MS

7.6. วิธีดำเนินการตรวจสอบความใช้ได้ของวิธี

1. ความจำเพาะเจาะจง (Specificity / Selectivity)

วิเคราะห์ Matrix blank กับ Spike matrix blank โดยใช้ mass ตามตารางที่ 1 ทำการทดสอบความเฉพาะเจาะจง

2. ตรวจสอบ Range

- ทดสอบ Reagent blank, Sample blank และ Fortified sample blank อย่างน้อย 5 ความเข้มข้นๆละ 1 ซ้ำ
- Plot graph ระหว่างความเข้มข้นของ Fortified sample blank (แกน x) กับ Response (แกน Y)
- พิจารณาช่วงที่เป็นเส้นตรง ประเมินด้วยสายตา

3. การหา Linearity

- ทดสอบ Reagent blank , Sample blank และ Fortified sample blank ที่ความเข้มข้นภายใน
- Range ของการทดสอบ อย่างน้อย 5 ความเข้มข้นๆละอย่างน้อย 3 ซ้ำ
- Plot graph ระหว่างความเข้มข้นของ Fortified sample blank (แกน X) กับ Response (แกน Y) สร้าง Regression line และ สมการถดถอยเชิงเส้น (Linear regression equation)
- คำนวณหาค่า สัมประสิทธิ์การตัดสินใจ (Coefficient of determination : R^2) เกณฑ์การยอมรับ ≥ 0.995

4. ตรวจสอบ Accuracy

1. ทดสอบ Reagent blank, Sample blank และ Fortified sample ที่ระดับความเข้มข้นภายในช่วง การทดสอบไม่น้อยกว่า 3 ระดับความเข้มข้น (Low , Medium, High) อย่างน้อยความเข้มข้นละ 5 ซ้ำ ตามวิธีทดสอบ

1. Sample+ Low concentration	5	ซ้ำ
2. Sample+ Medium concentration	5	ซ้ำ
3. Sample + High concentration	5	ซ้ำ

2. หาค่าเฉลี่ยของผลการทดสอบ Fortified sample (X_2) และค่า Sample blank(X_1)

3. ประเมิน Accuracy จากค่า Recovery บันทึกค่า % Recovery

$$\% \text{ Recovery} = \frac{(X_2 - X_1)}{C} * 100$$

- โดยที่ C = ความเข้มข้นของสารมาตรฐานที่เติมลงในตัวอย่าง
 X₁ = ความเข้มข้นของสารในตัวอย่างที่ไม่เติมสารมาตรฐาน (Sample blank)
 X₂ = ความเข้มข้นเฉลี่ยของสารมาตรฐานที่วัดได้หลังจากเติมสารมาตรฐาน

4. เกณฑ์การยอมรับ Recovery ใช้เกณฑ์กำหนดโดยทั่วไปของ AOAC Peer-Verified Methods. Nov. 1993 ตามตารางที่ 1 ดังนี้

ตารางที่ 1 เกณฑ์ ค่า Recovery อ้างอิงตาม AOAC Peer-Verified Methods. Nov. 1993

ความเข้มข้นของ Analyte	Recovery , %
100%	98-102
> 10%	98-102
> 1%	97-103
> 0.1%	95-105
100 ppm	90-107
10 ppm	80-110
1 ppm	80-110
100 ppb	80-110
10 ppb	60-115
1 ppb	40-120

5. เกณฑ์การยอมรับ Recovery ตาม Analyte Recovery ของสารตกค้างจากยาฆ่าแมลง และยาสัตว์ตกค้างในอาหาร(ตาม CODEX) ดังตารางที่ 2

เกณฑ์การยอมรับ

1. ตามเกณฑ์กำหนดโดยทั่วไปของ Precision , % RSD ของ AOAC Peer-Verified Methods. Nov. 1993 ตามตารางที่ 3 ดังนี้

ตารางที่ 3 เกณฑ์ % RSD อ้างอิงตาม AOAC Peer-Verified Methods. Nov. 1993

ความเข้มข้นของ Analyte ในตัวอย่าง	RSD, %
100%	1.3
10%	2.8
1%	2.7
0.10%	3.7
100 ppm	5.3
10 ppm	7.3
1 ppm	11
100 ppb	15
10 ppb	21
1 ppb	30

2. เกณฑ์ยอมรับค่า HORRAT (Horwitz' s ratio) ดังนี้

2.1. AOAC < 2

2.2. Codex , EU \leq 2

6. การหาค่า Limit of Detection (LOD)

$$\text{LOD} = 3 \text{ SD}$$

1. วิเคราะห์ Fortified sample blank หรือ Fortified Sample ที่ระดับความเข้มข้นต่ำอย่างน้อย 5 ซ้ำ อ้างอิงตาม SANTE/11813/2017
2. ยืนยันค่า LOD จาก Signal/Noise ของแต่ละสาร $\geq 3 \text{ S/N}$
3. ค่า LOD = ความเข้มข้นที่วิเคราะห์

7. การหาค่า Limit of Quantitation (LOQ)

$$\text{ค่า LOQ} = 10 \text{ SD}$$

1. เตรียม Fortified sample blank หรือ Fortified Sample ที่มีความเข้มข้นต่ำ
2. วิเคราะห์ Fortified sample blank หรือ Fortified Sample อย่างน้อย 5 ซ้ำ
3. คำนวณค่า Accuracy และ Precision เกณฑ์การยอมรับ ต้องผ่านการประเมิน Accuracy และ Precision ตามข้อ 4 และ 5

การดำเนินการทดสอบ

ตารางที่ 1 การดำเนินการทดสอบ ตั้งแต่ 2559 ถึง 2561

รายละเอียด	2559	2560	2561
ชนิดพืช	มะม่วง	ลำไย	มะม่วง
		ทุเรียน	
		มังคุด	
Pesticide group	Organophosphorus Organochlorine pyrethroid	Organophosphorus	Organophosphorus Organochlorine Pyrethroid Carbamate Fungicide
เครื่องมือ	GC-MS/MS	GC-MS/MS	GC-MS/MS LC-MS/MS

- เวลาและสถานที่

1 ตุลาคม 2559 ถึง 30 กันยายน 2561

ห้องปฏิบัติการ สำนักวิจัยและพัฒนาการเกษตรเขตที่ 6 ต.ตะปอน อ.ขลุง จ.จันทบุรี

8. ผลการทดลองและวิจารณ์

8.1. ได้วิธีทดสอบโดยใช้เครื่อง GC-MS/MS และ LC-MS/MS ในสภาวะที่เหมาะสม ดังนี้

GC-MS/MS

Injector 250 ° C

Flow Helium 1 ml/min

Column RX 5 sil MS ยาว 30 เมตร ID 0.25 มม. 0.25 μ m

OVEN

Temp	rate	Hold	Time
80		2	2
150	10	1	10
220	10	1	10
250	10	2	27
280	15	4	34
300	20	1.67	37
320	40	2	39.5

LC-MS/MS

Solvent A

0.1 % formic acid + 5 mM ammonium formate ในน้ำ (Water LC-MS grade)

Solvent B

100 % Acetonitrile

อัตราการเปลี่ยนแปลงของ solvent ตามตารางที่ 2

ตารางที่ 2 แสดงสัดส่วนและอัตราการไหลของ solvent A และ B

Time (min)	Solvent A (%)	Solvent B (%)	Flow (mL/min)	Max. Pressure Limit (bar)
0.00	97.00	3.00	0.400	1000.00
3.00	97.00	3.00	0.500	-
4.00	80.00	20.00	0.600	-
7.00	60.00	40.00	0.400	-
35.00	50.00	50.00	-	-
40.00	3.00	97.00	-	-
45.00	97.00	3.00	-	-
45.50	97.00	3.00	-	-

Column

- ZORBAX Eclipse Plus C18 Rapid Resolution HD 2.1x150 mm 1.8-Micron
- ZORBAX SB-C18 Rapid Resolution HD 2.1x150 mm 1.8-Micron
- Poroshell 120 EC-C18 2.1x100 mm 2.7-Micron

Mass Triple Quad (QQQ)

Source: Source parameter รายละเอียดตามตารางที่ 2

ตารางที่ 3 MS parameters สำหรับการวิเคราะห์สารพิษตกค้าง

Type	Condition
Inlet	ESI with Agilent jet stream technology
Gas Temp.	300 °C
Gas Flow	5.00 L/min
Nebulizer	45.00 psi
Sheath Gas Temp.	250 °C
Sheath Gas Flow	11 L/min
Positive	Capacity 3500
	Nozzle voltage 500
	37 nA
Chamber current	0.20 µA

8.2. ผลการตรวจสอบความใช้ได้ของวิธี ให้ค่า Selectivity LOD LOQ Accuracy Precision ตาม ตารางที่ 4 ค่า linearity $R^2 \geq 995$

ตารางที่ 4 ผลการทดสอบ LOD LOQ

ลำดับที่	รายการวิเคราะห์	เครื่องมือ	LOD มก./ กก.	LOQ มก./กก.	Range มก./กก.	Accuracy (%)				Precision			
						LOQ	L	M	H	LOQ	L	M	H
1	acephate	GC-MS/MS	0.01	0.02	0.02-2	80.2	87.5	90.2	101	1.34	1.02	1.12	1.03
2	acetamiprid	LC-MS/MS	0.0005	0.001	0.001-1	90.2	90.7	101.4	98.5	0.57	0.65	0.59	0.58
3	acetochlor	GC-MS/MS	0.001	0.005	0.005-1	98.5	81.0	97.6	101.3	0.63	0.74	0.46	0.86
4	Alpha-endosulfan	GC-MS/MS	0.0005	0.001	0.001-1	86.4	87.6	88.3	89.1	0.80	0.91	0.74	0.79
5	alachlor	GC-MS/MS	0.005	0.01	0.01-1	90.3	91.5	90.4	97.5	0.53	0.68	0.65	0.48
6	aldicarb	LC-MS/MS	0.005	0.01	0.01-1	96.0	94.2	94.7	99.5	1.01	1.05	1.18	1.03
7	aldicarb-sulfone	LC-MS/MS	0.005	0.01	0.01-1	98.6	94.3	99.6	94.8	1.07	1.00	1.35	1.29
8	aldicarb-sulfoxide	LC-MS/MS	0.005	0.01	0.01-1	78.6	80.4	94.3	104.3	1.03	1.05	1.13	1.38
9	ametryn	GC-MS/MS	0.005	0.01	0.01-1	89.3	86.5	87.9	84.8	0.89	0.71	0.74	0.83
10	amitraz	GC-MS/MS	0.005	0.01	0.01-1	90.1	89.7	95.3	90.5	0.74	0.57	0.63	0.61
11	atrazine	GC-MS/MS	0.005	0.01	0.01-1	89.3	90.4	96.9	97.1	0.59	0.52	0.50	0.58
12	azinphos-ethyl (Guthion ethyl)	GC-MS/MS	0.005	0.01	0.01-1	90.6	89.3	90.3	87.6	0.48	0.46	0.42	0.37
13	azinphos-methyl (Guthion)	GC-MS/MS	0.005	0.01	0.01-1	87.5	90.1	96.7	101.4	0.54	0.59	0.51	0.57
14	azoxystrobin	LC-MS/MS	0.0005	0.001	0.001-1	99.0	98.6	109.2	103.7	0.48	0.51	0.53	0.51

ลำดับที่	รายการวิเคราะห์	เครื่องมือ	LOD มก./กก.	LOQ มก./กก.	Range มก./กก.	Accuracy				Precision			
						LOQ	L	M	H	LOQ	L	M	H
15	Beta-endosulfan	GC/MS-MS	0.0005	0.001	0.001-1	101.5	98.4	90.8	90.2	0.38	0.59	0.43	0.39
16	benomyl	LC-MS/MS	0.001	0.005	0.005-1	98.7	90.6	90.4	99.3	0.57	0.53	0.56	0.51
17	bifenthrin	GC/MS-MS	0.005	0.01	0.01-1	97.0	96.1	96.5	90.3	0.48	0.51	0.53	0.55
18	bromacil	LC-MS/MS	0.005	0.01	0.01-1	96.0	99.7	101.4	103.6	0.57	0.53	0.64	0.58
19	buprofezin	LC-MS/MS	0.005	0.01	0.01-1	90.7	91.5	92.8	93.9	0.74	0.81	0.84	0.65
20	butachlor	LC-MS/MS	0.005	0.01	0.01-1	85.3	91.4	96.3	92.4	0.83	0.85	0.81	0.69
21	carbaryl	LC-MS/MS	0.0005	0.001	0.001-1	90.7	94.8	97.5	101.7	0.74	0.85	0.75	0.63
22	carbendazim	LC-MS/MS	0.001	0.005	0.005-1	87.4	88.0	98.9	97.1	0.58	0.53	0.59	0.61
23	carbofuran	LC-MS/MS	0.005	0.01	0.01-1	79.3	98.1	87.4	98.3	0.67	0.75	0.63	0.68
24	carbofuran-3-hydroxy	LC-MS/MS	0.005	0.01	0.01-1	99.1	97.4	95.5	91.5	0.78	0.64	0.73	0.77
25	carbofuran-3-keto	LC-MS/MS	0.005	0.01	0.01-1	97.8	102.0	101.4	100.5	0.68	0.63	0.62	0.74
26	carbosulfan	LC-MS/MS	0.005	0.01	0.01-1	93.9	89.7	88.9	98.6	0.71	0.60	0.67	0.72
27	carfentrazone-ethyl	LC-MS/MS	0.005	0.01	0.01-1	90.5	91.8	90.5	99.2	0.81	0.85	0.80	0.93
28	chlorfenapyr	LC-MS/MS	0.005	0.01	0.01-1	91.3	95.6	91.3	101.5	1.04	0.85	0.62	0.86
29	chlorpyrifos	GC/MS-MS	0.005	0.01	0.01-1	90.8	91.5	89.3	91.3	0.56	0.49	0.84	0.74
30	chlorpyrifos-methyl	GC/MS-MS	0.005	0.01	0.01-1	89.5	97.1	98.4	100.7	0.86	0.45	0.87	0.71

ลำดับที่	รายการวิเคราะห์	เครื่องมือ	LOD มก./กก.	LOQ มก./กก.	Range	Accuracy				Precision			
						LOQ	L	M	H	LOQ	L	M	H
31	coumaphos	GC/MS-MS	0.005	0.01	0.01-1	77.3	80.6	81.3	86.5	1.43	0.93	0.98	0.91
32	cyfluthrin	GC/MS-MS	0.005	0.01	0.01-1	104.1	105.2	104.3	101.5	1.03	1.46	1.64	1.10
33	cypermethrin	GC/MS-MS	0.005	0.01	0.01-1	98.1	97.3	96.9	97.4	1.05	1.11	1.36	1.37
34	cyproconazole	LC-MS/MS	0.005	0.01	0.01-1	80.3	85.4	81.1	80.6	0.76	0.89	0.85	0.79
35	deltamethrin	GC/MS-MS	0.005	0.01	0.01-1	81.9	90.1	99.5	93.0	0.68	0.85	0.73	0.81
36	diazinon	GC/MS-MS	0.005	0.01	0.01-1	89.0	87.7	88.5	89.1	0.74	0.68	0.98	0.76
37	dichlorvos	GC/MS-MS	0.005	0.01	0.01-1	77.5	78.9	80.0	84.9	0.81	0.76	0.74	0.82
38	dicofol	GC/MS-MS	0.005	0.01	0.01-1	89.0	87.5	88.6	89.7	0.67	0.65	0.69	0.53
39	dicrotophos	GC/MS-MS	0.005	0.01	0.01-1	80.3	91.3	82.5	90.1	0.81	0.84	0.88	0.91
40	difenoconazole	LC-MS/MS	0.005	0.01	0.01-1	81.0	88.2	89.0	85.8	1.03	1.05	1.11	1.0
41	dimethoate	GC/MS-MS	0.005	0.01	0.01-1	90.0	101.4	103.5	102.4	0.88	0.74	0.57	0.81
42	dimethomorph	LC-MS/MS	0.005	0.01	0.01-1	91.3	90.8	91.0	89.9	0.70	0.81	0.71	0.77
43	dinotefuran	LC-MS/MS	0.001	0.005	0.005-1	88.9	83.1	85.2	86.7	0.76	0.95	0.87	0.78
44	Endosulfan-sulfate	GC/MS-MS	0.005	0.01	0.01-1	83.6	89.0	85.7	90.1	0.93	0.94	1.03	0.97
45	EPN	GC/MS-MS	0.005	0.01	0.01-1	90.1	89.3	78.3	90.1	0.86	0.78	0.93	0.83
46	epoxiconazole	LC-MS/MS	0.005	0.01	0.01-1	80.1	87.3	90.4	89.3	0.84	0.88	0.91	0.94
47	ethiofencarb	LC-MS/MS	0.005	0.01	0.01-1	96.3	92.9	84.8	90.0	0.40	0.67	0.75	0.81

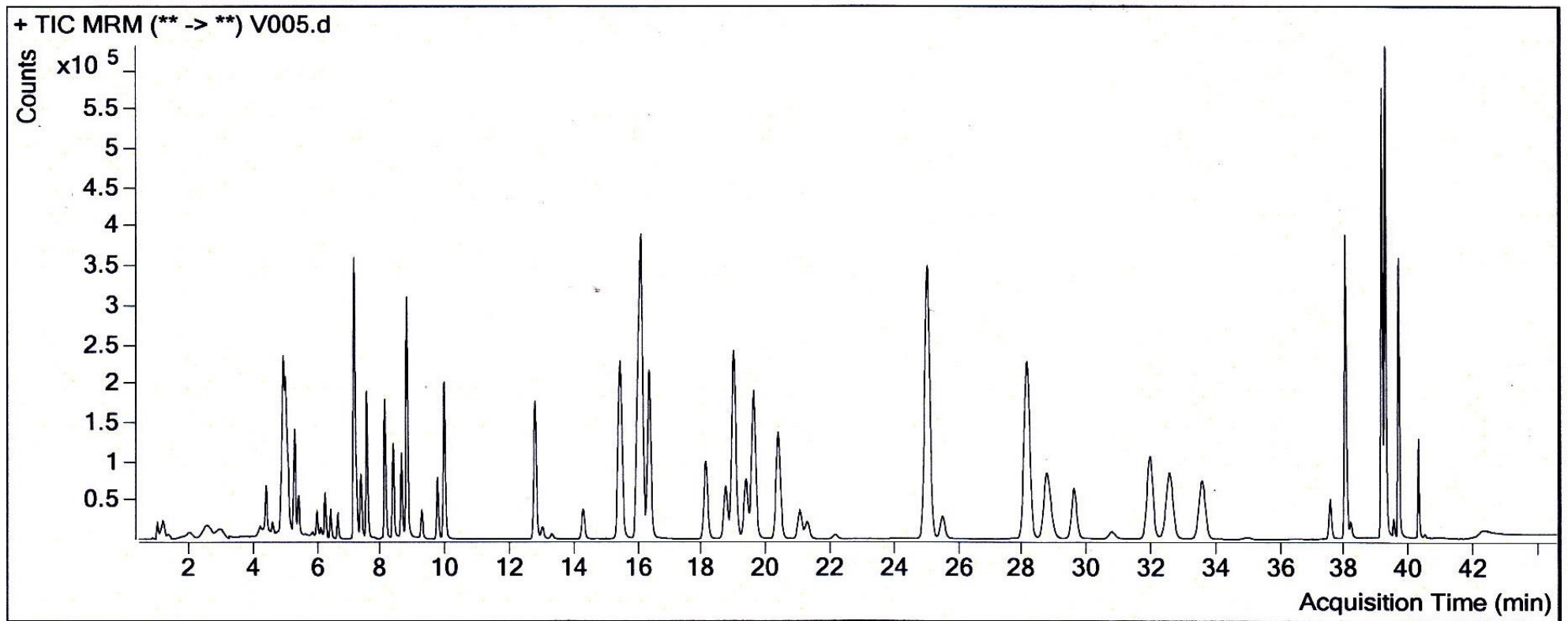
ลำดับที่	รายการวิเคราะห์	เครื่องมือ	LOD มก./กก.	LOQ มก./กก.	Range	Accuracy				Precision			
						LOQ	L	M	H	LOQ	L	M	H
48	ethion	GC/MS-MS	0.005	0.01	0.01-1	97.3	90.6	90.3	99.1	0.67	0.86	0.73	0.66
49	ethoprop(ethoprophos)	GC/MS-MS	0.005	0.01	0.01-1	90.4	91.3	92.7	93.5	0.88	0.83	0.79	0.81
50	etofenprox	LC-MS/MS	0.005	0.01	0.01-1	84.8	84.3	85.9	84.1	0.79	0.77	0.93	0.90
51	fenitrothion	GC/MS-MS	0.005	0.01	0.01-1	103.3	104.7	101.2	99.7	1.01	1.23	1.09	1.04
52	fenobucarb (Baycarb)	LC-MS/MS	0.005	0.01	0.01-1	76.5	76.4	77.3	88.2	0.97	0.91	0.99	0.93
53	Fenoxaprop- p ethyl	LC-MS/MS	0.005	0.01	0.01-1	79.3	75.1	77.5	78.4	1.02	1.07	1.11	1.24
54	fenpyroximate (E)	LC-MS/MS	0.005	0.01	0.01-1	80.1	79.5	90.0	89.7	0.75	0.71	0.74	0.61
55	fenthion	GC/MS-MS	0.005	0.01	0.01-1	90.5	91.3	99.7	98.2	0.89	0.91	0.76	0.68
56	fenvalerate	GC/MS-MS	0.005	0.01	0.01-1	91.3	90.6	91.7	93.5	0.79	0.61	0.85	0.83
57	fipronil	LC-MS/MS	0.005	0.01	0.01-1	90.8	91.8	90.5	91.6	0.60	0.72	0.81	0.94
58	hexaconazole	LC-MS/MS	0.005	0.01	0.01-1	89.4	87.3	86.0	83.2	0.80	0.86	0.79	1.05
59	imazalil	LC-MS/MS	0.005	0.01	0.01-1	81.5	79.9	80.5	88.1	0.98	0.68	0.57	0.66
60	imidacloprid	LC-MS/MS	0.0005	0.001	0.001-1	80.4	89.1	86.5	87.3	0.87	0.77	0.91	0.65
61	indoxacarb	LC-MS/MS	0.005	0.01	0.01-1	101.1	101.4	101.3	109.2	0.79	0.68	0.71	0.75
62	ipconazole	LC-MS/MS	0.005	0.01	0.01-1	98.1	97.5	101.4	99.0	0.63	0.81	0.71	0.60
63	iprodione	LC-MS/MS	0.005	0.01	0.01-1	97.1	96.2	87.3	95.5	1.03	0.75	0.86	0.93
64	iprovalicarb	LC-MS/MS	0.005	0.01	0.01-1	95.2	97.1	96.0	93.1	1.80	1.71	1.50	1.43

ลำดับที่	รายการวิเคราะห์	เครื่องมือ	LOD มก./กก.	LOQ มก./กก.	Range	Accuracy				Precision			
						LOQ	L	M	H	LOQ	L	M	H
65	isoprocarb	LC-MS/MS	0.005	0.01	0.01-1	101.4	98.1	99.2	98.4	1.07	1.26	1.55	1.03
66	isoprothiolane	LC-MS/MS	0.005	0.01	0.01-1	103.5	99.4	98.1	97.3	0.82	0.78	0.79	0.92
67	lambda-cyhalothrin	GC/MS-MS	0.005	0.01	0.01-1	98.3	94.8	93.7	94.8	0.91	0.85	0.83	0.97
68	malathion	GC/MS-MS	0.005	0.01	0.01-1	89.1	95.1	92.0	96.3	0.79	0.81	0.87	0.81
69	mefenacet	LC-MS/MS	0.005	0.01	0.01-1	90.2	92.4	95.3	101.3	0.59	0.61	0.63	0.56
70	mepanipyrim	LC-MS/MS	0.005	0.01	0.01-1	94.4	95.7	97.2	98.6	0.68	0.95	0.95	0.67
71	metalaxyl	LC-MS/MS	0.0005	0.001	0.001-1	89.6	79.0	81.7	92.3	0.85	0.74	0.69	0.69
72	methamidophos	GC/MS-MS	0.005	0.01	0.01-1	90.3	98.1	96.4	93.1	0.76	0.83	0.40	0.86
73	methidathion	GC/MS-MS	0.005	0.01	0.01-1	91.7	93.4	95.1	96.4	0.79	0.91	0.84	0.67
74	Methiocarb (Mercaptodimethur)	LC-MS/MS	0.005	0.01	0.01-1	92.6	93.5	96.3	97.5	0.80	0.92	0.87	0.81
75	methomyl	LC-MS/MS	0.0005	0.001	0.001-1	89.2	90.1	95.6	97.4	1.08	1.16	0.97	0.65
76	methoxychlor	LC-MS/MS	0.005	0.01	0.01-1	89.4	88.6	89.0	92.5	0.82	0.85	0.88	0.71
77	Mevinphos (phosdrin)	GC/MS-MS	0.005	0.01	0.01-1	90.1	95.5	97.8	100.6	0.77	0.80	0.94	0.77
78	monocrotophos(Azodrin)	GC/MS-MS	0.005	0.01	0.01-1	77.0	76.9	89.6	102.7	0.81	0.88	0.91	0.94
79	omethoate	GC/MS-MS	0.005	0.01	0.01-1	78.1	80.3	81.9	88.1	0.79	0.75	0.81	0.73
80	oxamyl	LC-MS/MS	0.005	0.01	0.01-1	90.7	87.6	88.4	90.3	0.89	0.81	0.77	0.65

ลำดับที่	รายการวิเคราะห์	เครื่องมือ	LOD มก./กก.	LOQ มก./กก.	Range	Accuracy				Precision			
						LOQ	L	M	H	LOQ	L	M	H
81	paclobutrazol	LC-MS/MS	0.005	0.01	0.01-1	79.7	80.7	81.3	82.5	1.07	1.11	1.45	0.94
82	Parathion (parathion-ethyl)	GC/MS-MS	0.005	0.01	0.01-1	75.1	77.4	78.9	90.3	0.99	0.81	0.70	0.68
83	Parathion-methyl	GC/MS-MS	0.005	0.01	0.01-1	78.4	79.5	77.3	89.1	0.57	0.81	0.86	0.83
84	penconazole	LC-MS/MS	0.005	0.01	0.01-1	80.5	86.2	87.5	89.3	1.23	1.76	1.04	0.96
85	pencycuron	LC-MS/MS	0.005	0.01	0.01-1	90.1	91.5	96.5	95.7	1.51	1.43	1.09	0.89
86	permethrin	GC/MS-MS	0.005	0.01	0.01-1	87.5	89.4	90.1	87.0	0.61	0.67	0.63	0.50
87	Phenthoate (Fenthoate)	GC/MS-MS	0.005	0.01	0.01-1	91.0	92.8	93.0	79.3	1.05	0.95	0.97	0.81
88	Phorate (Isothiorate)	GC/MS-MS	0.005	0.01	0.01-1	80.7	88.9	90.1	92.4	1.43	1.30	0.92	0.97
89	phosalone	GC/MS-MS	0.005	0.01	0.01-1	78.0	77.48	79.4	80.1	0.95	0.94	0.81	0.83
90	Phosmet (Imidan)	GC/MS-MS	0.005	0.01	0.01-1	81.0	82.3	84.6	87.6	1.06	1.24	0.95	0.80
91	phosphamidon	GC/MS-MS	0.005	0.01	0.01-1	90.1	92.3	94.7	95.8	1.09	0.80	0.84	0.78
92	picoxystrobin	LC-MS/MS	0.005	0.01	0.01-1	80.5	81.4	82.8	90.1	1.64	1.07	1.81	0.99
93	pirimicarb	LC-MS/MS	0.005	0.01	0.01-1	79.4	79.6	80.1	85.2	0.91	0.95	0.97	0.82
94	pirimiphos-ethyl	GC/MS-MS	0.005	0.01	0.01-1	80.1	81.7	89.5	90.8	0.87	0.83	1.04	0.84
95	pirimiphos-methyl	GC/MS-MS	0.005	0.01	0.01-1	90.3	91.5	89.1	93.4	1.05	0.97	0.93	0.81
96	prochloraz	LC-MS/MS	0.005	0.01	0.01-1	89.0	78.6	81.4	91.3	0.71	0.84	0.86	0.90
97	procymidone	LC-MS/MS	0.005	0.01	0.01-1	76.9	80.3	81.9	83.4	0.84	0.89	0.91	0.99

ลำดับที่	รายการวิเคราะห์	เครื่องมือ	LOD มก./กก.	LOQ มก./กก.	Range	Accuracy				Precision			
						LOQ	L	M	H	LOQ	L	M	H
98	profenofos	GC/MS-MS	0.005	0.01	0.01-1	90.7	81.3	90.5	91.6	0.89	0.76	0.85	0.70
99	promecarb	LC-MS/MS	0.005	0.01	0.01-1	89.0	76.1	78.9	80.2	1.02	0.86	0.82	0.54
100	prometon	LC-MS/MS	0.005	0.01	0.01-1	90.3	90.7	91.4	92.6	1.08	1.06	1.11	0.98
101	prometryn	LC-MS/MS	0.005	0.01	0.01-1	87.4	88.9	90.3	96.1	1.45	0.99	0.75	0.95
102	propanil	LC-MS/MS	0.005	0.01	0.01-1	78.1	90.4	88.5	92.7	0.85	0.82	0.91	0.68
103	propargite	LC-MS/MS	0.005	0.01	0.01-1	80.4	81.5	83.4	87.9	0.98	0.75	0.89	0.49
104	propiconazole	GC/MS-MS	0.005	0.01	0.01-1	89.1	80.4	75.2	77.6	0.79	0.85	0.69	0.81
105	propoxur	LC-MS/MS	0.005	0.01	0.01-1	105.0	90.9	104	107.1	0.91	0.85	0.89	0.93
106	prothiofos (prothiophos)	GC/MS-MS	0.005	0.01	0.01-1	89.1	90.3	91.5	97.0	0.94	0.79	0.83	0.91
107	pyraclostrobin	LC-MS/MS	0.001	0.005	0.005-1	76.0	89.2	87.5	89.9	0.81	0.90	0.95	0.94
108	pyrazosulfuron-ethyl	LC-MS/MS	0.005	0.01	0.01-1	90.1	94.3	86.9	90.4	0.72	0.76	0.79	0.96
109	pyridaben	LC-MS/MS	0.005	0.01	0.01-1	89.6	85.4	90.1	91.9	1.03	0.99	0.94	0.97
110	ptriproxyfen	LC-MS/MS	0.005	0.01	0.01-1	80.1	83.7	88.5	98.6	1.02	0.97	0.69	0.89
111	quinalofop-methyl	LC-MS/MS	0.005	0.01	0.01-1	90.8	101.5	103.4	102.7	0.70	0.86	0.98	0.59
112	quinalofop-P-ethyl	LC-MS/MS	0.005	0.01	0.01-1	91.0	92.3	90.5	91.6	0.83	0.96	0.72	0.71
113	spiromesifen	LC-MS/MS	0.005	0.01	0.01-1	89.4	90.1	92.6	93.4	0.79	0.98	0.68	0.86

ลำดับที่	รายการวิเคราะห์	เครื่องมือ	LOD มก./กก.	LOQ มก./กก.	Range	Accuracy				Precision			
						LOQ	L	M	H	LOQ	L	M	H
114	tebuconazole	LC-MS/MS	0.005	0.01	0.01-1	101.6	105.3	98.1	99.6	1.98	1.04	1.65	1.30
115	tebufenoxide	LC-MS/MS	0.005	0.01	0.01-1	105.6	89.5	88.0	91.0	0.90	0.89	0.86	0.89
116	tebufenpyrad	LC-MS/MS	0.005	0.01	0.01-1	103.3	101.5	108.2	109.1	0.97	1.01	0.68	0.75
117	temephos	GC/MS-MS	0.005	0.01	0.01-1	89.1	96.0	86.1	90.5	0.85	0.83	0.89	0.81
118	tetraconazole	LC-MS/MS	0.005	0.01	0.01-1	90.2	91.8	97.4	98.5	0.69	0.79	0.72	0.86
119	tetradifon	GC/MS-MS	0.005	0.01	0.01-1	89.3	80.6	88.0	97.3	0.51	0.46	0.78	0.61
120	tetramethrin	GC/MS-MS	0.005	0.01	0.01-1	90.5	90.7	91.2	93.6	0.89	0.93	0.71	0.75
121	thiabendazole	LC-MS/MS	0.005	0.01	0.01-1	89.0	79.4	98.7	95.1	0.84	0.93	0.83	0.73
122	thiacloprid	LC-MS/MS	0.005	0.01	0.01-1	101.8	109.1	89.3	90.5	0.83	0.84	0.89	0.73
123	thiamethoxam	LC-MS/MS	0.005	0.01	0.01-1	90.6	91.5	92.3	96.0	0.78	0.81	0.82	0.86
124	thiobencarb	LC-MS/MS	0.005	0.01	0.01-1	91.4	92.8	91.5	92.0	0.81	0.87	0.83	0.73
125	thiodicarb	LC-MS/MS	0.005	0.01	0.01-1	89.2	90.1	93.5	96.7	0.83	0.76	0.78	0.63
126	triadimefon	LC-MS/MS	0.005	0.01	0.01-1	90.4	91.3	90.6	91.0	0.91	0.80	0.67	0.61
127	triadimenol	LC-MS/MS	0.005	0.01	0.01-1	89.5	91.4	92.5	89.6	0.61	0.87	0.72	0.74
128	triazophos	GC-MS/MS	0.005	0.01	0.01-1	80.5	81.4	98.4	97.1	1.04	0.80	0.83	0.82
129	tricyclazole	LC-MS/MS	0.005	0.01	0.01-1	105.8	104.2	90.8	101.8	0.97	0.86	0.84	0.71
130	trifloxystrobin	LC-MS/MS	0.005	0.01	0.01-1	101.6	98.5	97.3	93.5	0.79	0.81	0.98	0.78



ภาพที่ 2 แสดงโครมาโตแกรมของสารพิษตกค้างที่วิเคราะห์โดย LC-MS/MS

9. สรุปผลการทดลองและข้อเสนอแนะ :

จากผลการทดลองในข้อ 8 จะเห็นว่าวิธีการทดสอบสารพิษตกค้าง QuEChERS มีความเหมาะสมในการทดสอบสารพิษตกค้างในมะม่วง ลำไย ด้วยความถูกต้องแม่นยำ ผ่านการตรวจสอบโดยสถิติที่เหมาะสมตามข้อ 8 ดังนั้นวิธีทดสอบนี้ สามารถนำมาใช้ในการทดสอบสารพิษตกค้างในมะม่วงและลำไย ให้แก่เกษตรกร นักวิชาการ และผู้ประกอบการส่งออกในพื้นที่ภาคตะวันออกได้ด้วยความถูกต้องแม่นยำเป็นที่ยอมรับในระดับสากล

10. การนำผลงานวิจัยไปใช้ประโยชน์ :

1. ใช้เป็นวิธีทดสอบสารพิษตกค้างในมะม่วง ลำไย ในพื้นที่ภาคตะวันออก โดยสามารถวิเคราะห์ได้ถึง 130 รายการ ด้วยความถูกต้องแม่นยำ เพิ่มรายการวิเคราะห์จากเดิม 47 รายการ ปัจจุบันวิเคราะห์ได้ 130 รายการ เพิ่มขึ้น 83 รายการ
2. สามารถใช้เป็นข้อมูลประกอบการยื่นขอการรับรอง ISO/IEC 17025:2017 ได้
3. เป็นวิธีทดสอบที่ผ่านการตรวจสอบความใช้ได้ตามหลักสากล ผลการทดสอบสามารถนำไปใช้ทางกฎหมายได้