

รายงานผลงานเรื่องเติมการทดลองที่สิ้นสุด ปีงบประมาณ 2560

- 1. แผนงานวิจัย** แผนงานวิจัยและระบบการตรวจวิเคราะห์ปัจจัยการผลิตทางการเกษตรตามมาตรฐานสากล
- 2. โครงการวิจัย กิจกรรมที่ 2** วิจัยและพัฒนาระบบการตรวจวิเคราะห์สารพิษตกค้างของสารป้องกันกำจัดศัตรูพืช การจัดทำตัวอย่างอ้างอิงภายในและการทดสอบความสามารถระหว่างห้องปฏิบัติการ
- 3. ชื่อการทดลอง** การจัดทำตัวอย่างอ้างอิงภายในสำหรับการตรวจวิเคราะห์สารพิษตกค้างกลุ่ม Organophosphate, Organochlorine, Pyrethroid, Carbamate และสารป้องกันกำจัดโรคพืช (Fungicide) ในผลไม้ที่มีปริมาณน้ำสูง และการทดสอบความสามารถระหว่างห้องปฏิบัติการ
ชื่อการทดลอง Sample Preparation of Organophosphate, Organochlorine, Pyrethroid, Carbamate, and Fungicide in Fruits for QC Sample and Proficiency Test.

4. คณะผู้ดำเนินงาน

| | | |
|------------------------|---------------------------|---------------------------------------|
| หัวหน้าการทดลอง | นายบุญทวีศักดิ์ บุญทวี | กองวิจัยพัฒนาปัจจัยการผลิตทางการเกษตร |
| ผู้ร่วมงาน | นางสาวพนิดา ไชยยันต์บุรณ์ | กองวิจัยพัฒนาปัจจัยการผลิตทางการเกษตร |
| | นางสาวจินตนา ภู่มงกุฏชัย | กองวิจัยพัฒนาปัจจัยการผลิตทางการเกษตร |
| | นางสาวสุพัทธ์ หนูสังข์ | กองวิจัยพัฒนาปัจจัยการผลิตทางการเกษตร |

5. บทคัดย่อ

การทดสอบความสามารถระหว่างห้องปฏิบัติการ โปรแกรมการทดสอบสารพิษตกค้างทางการเกษตรในผลไม้ ได้ดำเนินการในช่วง ตุลาคม 2558 – กันยายน 2560 โดยแบ่งการทดสอบออกเป็นตุลาคม 2558 – กันยายน 2559 ทดสอบสารพิษตกค้างในแตงโม และตุลาคม 2559 – กันยายน 2560 ทดสอบสารพิษตกค้างในแอปเปิล สารพิษตกค้างในขบช่ายจำนวน 5 กลุ่มได้แก่ ออร์กาโนคลอรีน, ออร์กาโนฟอสฟอรัส, ไพรีทรอยด์, คาร์บาเมท และ สารป้องกันกำจัดโรคพืชและอื่นๆ รวมทั้งสิ้น 74 ชนิด การทดสอบสารพิษตกค้างในแตงโม มีห้องปฏิบัติการตอบรับเข้าร่วมการทดสอบ จำนวน 20 ห้องปฏิบัติการ เตรียม fortified sample โดยเติมสาร bifenthrin, pirimiphos ethyl, isoprocarb และ azoxystrobin ที่ความเข้มข้น 0.10-, 0.12 mg/kg ในตัวอย่างแตงโม ประเมินความเป็นเนื้อเดียวกันของตัวอย่าง โดยใช้สถิติ ISO 13528 (2005)) และสถิติ IUPAC (2006) พบว่าตัวอย่างมีความเป็นเนื้อเดียวกัน ทดสอบความคงตัวของสารตกค้างในตัวอย่าง โดยศึกษาที่อุณหภูมิห้อง (25 ± 5 °C) ที่ 1, 3, 5 และ 7 วัน ที่อุณหภูมิ freezer (ไม่น้อยกว่า -18 °C) ที่ 30 วัน (วันรายงานผลนับจากวันส่งตัวอย่าง) ทำการตรวจวิเคราะห์วันละอย่างน้อย 5 ซ้ำ เปรียบเทียบความแตกต่าง

(%RPD) ของความเข้มข้นเฉลี่ยที่ระยะเวลาต่างๆ กับความเข้มข้นเฉลี่ยที่ 0 วัน มีความคงทนที่ 0-7 วันทุกสาร มี %RPD เมื่อเทียบกับ ความเข้มข้นเฉลี่ยที่ 0 วันไม่เกิน 10 % เมื่อหาเปอร์เซ็นต์ของสาร ที่ระยะเวลาต่างๆ เทียบกับความเข้มข้นที่ 0 วัน พบว่า อยู่ในช่วง 84-110 % ยกเว้น pirimiphos methyl มีเปอร์เซ็นต์ของสาร 68 % อย่างไรก็ตามการส่งตัวอย่าง ห้องปฏิบัติการจะได้รับตัวอย่างภายใน 3 -5 วัน จึงไม่มีผลต่อการทดสอบ รายงานผลการทดสอบตามกำหนดจำนวน 20 ห้องปฏิบัติการ ผลการทดสอบที่คาดหวัง 80 ข้อมูล รายงานผลทั้งสิ้น 47 ข้อมูลคิดเป็น 59 % ของผลการทดสอบที่คาดหวัง สารที่มีการรายงานผลมากที่สุด ได้แก่ bifenthrin และ pirimiphos ethyl สารที่มีการรายงานผลน้อยที่สุด ได้แก่ azoxystrobin สารที่รายงานเป็น false negative ได้แก่ bifenthrin pirimiphos ethyl และ isoprocarb ส่วน azoxystrobin ไม่มีการรายงานผลเป็น false negative ผลการประเมินค่า z-Score ผลทดสอบอยู่ในเกณฑ์น่าพอใจ 81 % ($|z\text{-Score}| \leq 2$) ไม่พบผลทดสอบอยู่ในเกณฑ์น่าสงสัย ($2 < |z\text{-Score}| < 3$) และผลทดสอบไม่เป็นที่น่าพอใจ 19% ($|z\text{-Score}| \geq 3$) การทดสอบสารพิษตกค้างในแอปเปิล ห้องปฏิบัติการเข้าร่วมทดสอบ 21 ห้องปฏิบัติการ เตรียม fortified sample โดยเติม chlorpyrifos, fenvalerate, carbaryl และ difenoconazole ที่ความเข้มข้น 0.08 - 0.15 mg/kg ในตัวอย่างแอปเปิล ประเมินความเป็นเนื้อเดียวกันและทดสอบความคงทนของสารเช่นเดียวกับตัวอย่างแดงโม พบว่าสารมีความคงทนที่ 0-7 วัน มี %RPD ไม่เกิน 10 % เปอร์เซ็นต์ของสาร ที่ระยะเวลาต่างๆเทียบกับความเข้มข้นที่ 0 วัน อยู่ในช่วง 80-120 % รายงานผลการทดสอบตามวันเวลาที่กำหนดจำนวน 21 ห้องปฏิบัติการ และ 2 ห้องปฏิบัติการรายงานผลตัวอย่างละ 2 ชุดตามเทคนิคการตรวจวิเคราะห์ จึงประเมินเป็น 23 ห้องปฏิบัติการ ผลการทดสอบที่คาดหวัง 92 ข้อมูล รายงานผลทั้งสิ้น 61 ข้อมูลคิดเป็น 66 % ของผลการทดสอบที่คาดหวัง สารที่มีการรายงานผลมากที่สุด ได้แก่ chlorpyrifos และ fenvalerate สารที่รายงานผลน้อยที่สุด ได้แก่ difenoconazole สารที่รายงานเป็น false negative ได้แก่ carbaryl, chlorpyrifos และ difenoconazole ส่วน fenvalerate ไม่มีการรายงานผลเป็น false negative และไม่พบการรายงานผลเป็น False positives ผลการประเมินค่า z-Score ผลการทดสอบอยู่ในเกณฑ์น่าพอใจ 79 % ($|z\text{-Score}| \leq 2$) ผลทดสอบอยู่ในเกณฑ์น่าสงสัย 6 % ($2 < |z\text{-Score}| < 3$) และผลทดสอบไม่เป็นที่น่าพอใจ 14 % ($|z\text{-Score}| \geq 3$)

Abstract :

Inter laboratory proficiency testing program for pesticide residues in fruit was conducted during October 2015 - September 2017. The test is divided into October 2015 - September 2016 test the residue in watermelon and October 2016 - September 2017 test the residue in apple. There are 5 groups of residues in scope : Organochlorines, Organophosphorus, Pyrethroids, Carbamates and Fungicide groups, for a total of 74 pesticide residues. For watermelon the laboratories response participating in test 20 laboratories. The fortified sample prepared by fortified of bifenthrin, pirimiphos ethyl, isoprocarb and azoxystrobin into watermelon blank sample concentration of pesticides 0.10 - 0.12 mg/kg. Test the homogeneity of the

samples were analyzed by using ISO 13528 (2005) and IUPAC (2006) statistics for evaluation showed that the sample is homogeneous. Stability testing of pesticide residues on sample studied at room temperature ($25 \pm 5^\circ\text{C}$) 1,3,5 and 7 days and at freezer temperature (-18°C) 30 days (date of report) from date of sample submission and test 5 times per sample compare the difference (%RPD) of the average concentration at various time intervals with the average concentration at 0 day. Found that at room temperature all of pesticide residue are durability for 0-7 days %RPD does not exceed 10%, percentage of pesticide residues at various times compared to concentration at 0 day in the range of 84-110%, except for pirimiphos ethyl at room temperature at 7 days there was a percentage of 68%. However, sending samples the laboratory will receive sample within 3-5 days it does not affect to result of testing. Twenty test reports are available on a specified date expected 80 test results and 47 test results were reported, representing 59% of the expected test results. The most reported were bifenthrin and pyrimiphos ethyl the least reported is azoxystrobin reported as false negative were bifenthrin, pirimiphos ethyl and isoprocarb but azoxystrobin is not reported as false negative. The z-Score was found to be satisfactory at 81 % ($|z\text{-Score}| \leq 2$) in questionable 0 % ($2 < |z\text{-Score}| < 3$) and was not satisfactory 19 % ($|z\text{-Score}| \geq 3$). For apple pesticide residue testing the Laboratories response, participating in test 21 laboratories. The fortified sample prepared by fortified of chlorpyrifos, fenvalerate, carbaryl and difenoconazole into apple blank sample, concentration of pesticides 0.08 - 0.15 mg/kg. Test the homogeneity and stability testing of the samples were analyzed by using statistics for evaluation and condition the same as watermelon on above. Found that at room temperature all of pesticide residue are durability for 0-7 days %RPD compared to an average concentration at 0 day does not exceed 10% percentage of pesticide residues at various times compared to concentration at 0 day in the range of 80-120%. Twenty two test reports are available on a specified date and 2 laboratories reported two results according to analytical techniques so that expected 92 test results and 61 tested results were reported, representing 66% of the expected test results. The most reported were chlorpyrifos and fenvalerate the least reported is difenoconazole reported as false negative were carbaryl, chlorpyrifos and difenoconazole and not reported as false positive. The z-Score was found to be satisfactory at 79 % ($|z\text{-Score}| \leq 2$) in questionable 6 % ($2 < |z\text{-Score}| < 3$) and was not satisfactory 14% ($|z\text{-Score}| \geq 3$)

6. คำนำ

การประเมินคุณภาพการตรวจวิเคราะห์ หรือการทดสอบความชำนาญการตรวจวิเคราะห์ คือการประเมินความสามารถของห้องปฏิบัติการวิเคราะห์ โดยเปรียบเทียบผลระหว่างห้องปฏิบัติการ ซึ่งผู้จัดทำแผนการทดสอบความชำนาญจะจัดส่งตัวอย่างที่แบ่งมาจากตัวอย่างเดียวกัน ไปยังห้องปฏิบัติการที่เข้าร่วมในการทดสอบความชำนาญ เพื่อทำการวิเคราะห์ และส่งผลภายในเวลาที่กำหนด

การเข้าร่วมโครงการทดสอบความชำนาญ ซึ่งจัดว่าเป็นระบบการควบคุมจากภายนอก สามารถช่วยให้นักวิเคราะห์ มีความมั่นใจในคุณภาพ ของการวิเคราะห์ และข้อมูลที่ได้ยังช่วยชี้ให้เห็นถึงปัญหา ซึ่งนำไปสู่การปรับปรุงคุณภาพการวิเคราะห์ ของห้องปฏิบัติการ

ในการทดสอบนี้ ได้จัดทำตัวอย่างอ้างอิงภายใน สำหรับการตรวจวิเคราะห์สารพิษตกค้างกลุ่มออร์กาโนคลอรีน, ออร์กาโนฟอสฟอรัส, ไพรีทรอยด์, คาร์บาเมท และ สารป้องกันกำจัดโรคพืชและอื่นๆ รวมทั้งสิ้น 74 ชนิด ในผลไม้ซึ่งใช้ตัวอย่าง แดงโม และแอปเปิล เป็นตัวแทนเพื่อใช้ในการทดสอบความสามารถระหว่างห้องปฏิบัติการ จุดมุ่งหมายก็เพื่อให้ได้ข้อมูล การจัดทำตัวอย่างอ้างอิงภายใน และทดสอบความสามารถของห้องปฏิบัติการที่เข้าร่วมทดสอบ ซึ่งห้องปฏิบัติการที่เข้าร่วมโดยเฉพาะห้องปฏิบัติการ ที่สังกัดกรมวิชาการเกษตร สามารถนำข้อมูลที่ได้ ไปใช้ในการปรับปรุงคุณภาพของการตรวจวิเคราะห์ และเป็นการรับรองความสามารถของห้องปฏิบัติการ เมื่อเทียบกับห้องปฏิบัติการอื่นๆ และห้องปฏิบัติการกลุ่มงานวิจัยวัตถุมีพิษการเกษตร จะได้นำข้อมูลเกี่ยวกับสภาพตัวอย่าง ไปใช้ในการปรับปรุงการทำตัวอย่างอ้างอิงภายใน และปรับปรุงรูปแบบวิธีการจัดส่งตัวอย่าง ให้ห้องปฏิบัติการที่เข้าร่วมทดสอบให้มีความเหมาะสมในโอกาสต่อไป

7.วิธีดำเนินการ

1. อุปกรณ์

- 1.1 ตู้อบ และเตาเผา
- 1.2 centrifuge tubes ขนาด 15,50 มิลลิเมตร
- 1.3 autosampler vials for GC,HPLC ขนาด 1.8 มิลลิเมตร
- 1.4 เครื่องชั่งไฟฟ้าชนิดทศนิยม 2 ตำแหน่ง และ 5 ตำแหน่ง
- 1.5 เครื่องบดสับตัวอย่าง (food processor)
- 1.6 เครื่องผสมตัวอย่าง (Stephan)
- 1.7 เครื่องผสมตัวอย่าง (vortex mixer)
- 1.8 เครื่องปั่นเหวี่ยง (centrifuge)
- 1.9 อุปกรณ์ดูด-จ่ายสารละลาย (auto pipette) ขนาด 10-100 ไมโครลิตร , 20-200 ไมโครลิตร 100-1000 ไมโครลิตร
- 1.10 อุปกรณ์ดูด จ่ายสารเคมีจากขวด (dispenser) ขนาด 100 มิลลิเมตร
- 1.11 เครื่องแก้วชนิดและขนาดต่างๆ เช่น volumetric flask, beaker, cylinder
- 1.12 เครื่องชั่งไฟฟ้าชนิดทศนิยม 2 ตำแหน่ง และ 5 ตำแหน่ง

1.13 เครื่องตรวจวิเคราะห์ชนิด และปริมาณสารพิษตกค้าง Gas Chromatography (GC) Agilent technologies รุ่น 6890 ซึ่งมีหัวตรวจวัดชนิด Flame Photometric Detector (FPD) และ micro Electron Capture Detector (μ ECD)

1.14 เครื่องลดปริมาตรโดยการเป่าด้วยแก๊สไนโตรเจน (nitrogen evaporator)

1.15 เครื่องตรวจวิเคราะห์สารพิษตกค้างชนิด LC-MS/MS

1.16 แดงโม, แอปเปิล

2. สารเคมี

2.1 สารมาตรฐานของ Chlopyrifos 98%, Ethion 98.8%, Methiocarb 99.5%

2.2 Acetonitrile, Methanol และ Toluene ชนิด Pesticide grade (J.T baker)

2.3 Water HPLC grade

2.4 Anhydrous Magnesium sulfate (ACS powder-Fisher) เผาที่ 500°C นาน 5 ชั่วโมง

2.5 Sodium chloride ชนิด Analytical grade (Merck)

2.6 SPE sorbent ชนิด Primary-Secondary-Amine (PSA varian)

2.7 Sodium Hydroxide

2.8 Di Sodium Hydrogen Citrate

2.9 Tri Sodium Citrate Dihydrate

2.10 Sodium tetra Borate

2.11 2-Mercaptoethanol

2.12 Graphite Carbon black (GCB)

2.13 O-Phthaldehyde (OPA)

2.14 Formic acid

3. วิธีการ

3.1 ขั้นตอนและระยะเวลาดำเนินการ

การจัดทำตัวอย่างอ้างอิงภายในสำหรับการตรวจวิเคราะห์สารพิษตกค้างกลุ่ม Organophosphate Organochlorine, Pyrethroid, Carbamate, และ Fungicide ในผลไม้ และการทดสอบความสามารถระหว่างห้องปฏิบัติการ มีการดำเนินการดังนี้

3.1.1 แจ้งขอเชิญห้องปฏิบัติการเข้าร่วมการทดสอบในวันที่

3.1.2 กำหนดการตอบรับเข้าร่วมการทดสอบ ภายใน 25 วัน

3.1.3 กำหนดการรายงานผลการทดสอบ ส่งผลภายใน 30 วัน นับจากวันส่งตัวอย่าง ประกอบด้วย ข้อมูลสภาพตัวอย่าง รายงานผลการทดสอบ วิธีทดสอบและเครื่องมือตรวจวิเคราะห์ที่ใช้

3.1.4 จัดทำและจัดส่งรายงานเบื้องต้น

3.1.5 ประเมินผล จัดทำและจัดส่งรายงานฉบับสมบูรณ์ ใน

3.2 ชนิดของวัตถุดิบพิษและชนิดของตัวอย่างทดสอบ

รายชื่อวัตถุที่มีพิษที่ทดสอบได้แก่ สารกลุ่มออร์กาโนคลอรีน 3 ชนิด สารกลุ่มออร์กาโนฟอสฟอรัส 23 ชนิด สารกลุ่มไพรีทรอยด์ 7 ชนิด สารกลุ่มคาร์บาเมท 9 ชนิด และกลุ่มสารป้องกันกำจัดโรคพืชและอื่นๆ 32 ชนิด รวมทั้งสิ้น 74 ชนิด มีรายละเอียดดังนี้

3.2.1 สารกลุ่มออร์กาโนคลอรีน ได้แก่ α -endosulfan, β -endosulfan, endosulfan-sulphate

3.2.2 สารกลุ่มออร์กาโนฟอสฟอรัส ได้แก่ Azinphos ethyl, Chlorpyrifos, Diazinon, DDVP, Dicrotophos, Dimethoate, Ethion, EPN, Fenitrothion, Malathion, Methamidophos, Methidathion Methyl-Parathion, Mevinphos, Monocrotophos, Omethoate, Parathion, Triazophos, Pirimiphos ethyl, Pirimiphos-methyl, Profenofos, Prothiophos, Phosalone

3.2.3 สารกลุ่มไพรีทรอยด์ ได้แก่ Bifenthrin, Cyfluthrin, Cypermethrin, Fenvalerate, Deltamethrin, Lambda – Cyhalothrin, Permethrin

3.2.4 สารกลุ่มคาร์บาเมท ได้แก่ Aldicarb, Methomyl, Carbofuran, Fenobucarb, Isoprocarb, Methiocarb, Carbaryl

3.2.5 กลุ่มสารป้องกันกำจัดโรคพืชและอื่นๆ Acetameprid, Ametryn, Atrazine, Azoxystrobin, Benalaxyl, Carbendazim, Clothianidin, Cymoxanil, Cyproconazole, Diuron, Dimethomorph, Dinotefuran, Difenoconazole, Epoxiconazole, Etofenprox, Fenamedone, Flusilazole, Imazalil, kresoxim-methyl, Oxycarboxin, Penconazole, Procloraz, Propagite, Pyrimethanil, Metalaxyl, Spiromesifen, Tebuconazole, Thiamethoxam, Thiophanate-methyl, Triadimefon, Triadimenol, Trifloxystrobin

3.3 ชนิดของตัวอย่างทดสอบ

ตัวอย่างผลไม้ใช้ แดงโม และแอปเปิล ที่ไม่มีการเติมวัตถุที่มีพิษลงในตัวอย่าง (sample blank) อย่างละ 1 ตัวอย่าง รหัสตัวอย่าง BLM-WM และ BLM-AP ตามลำดับ และ ตัวอย่างแดงโม และแอปเปิล ที่มีการเติมวัตถุที่มีพิษที่ทราบความเข้มข้นแน่นอนลงในตัวอย่าง (fortified sample) จำนวนอย่างละ 1 ตัวอย่าง รหัสตัวอย่าง WM-S3 และ AP-S2 ตามลำดับ

3.4 การเตรียมตัวอย่าง

ใช้ตัวอย่างแดงโม และแอปเปิล ที่ตรวจวิเคราะห์ไม่พบสารพิษตกค้างในรายชื่อสารที่ทดสอบ โดยตรวจวิเคราะห์สารพิษตกค้าง ด้วยวิธีการตามข้อ (3.5.1) เตรียมตัวอย่างละ ประมาณ 7 kg โดยหั่นตัวอย่างให้เป็นชิ้นเล็กๆ แล้วปั่นกับ dry ice ให้ละเอียด เก็บไว้ในตู้แช่อุณหภูมิต่ำประมาณ -20°C เป็นเวลามากกว่า 12 ชั่วโมง แล้วนำมาเตรียมเพื่อจัดส่งให้ห้องปฏิบัติการที่เข้าร่วมทดสอบ ดังนี้

3.4.1 Blank sample รหัสตัวอย่าง BL-WM (แดงโม), BL-AP (แอปเปิล) เตรียมโดยแบ่งตัวอย่างที่ปั่นละเอียดแล้วปริมาณอย่างละ 3 kg กวนผสมให้เป็นเนื้อเดียวกัน แบ่งตัวอย่างใส่ขวดสีชา ตัวอย่างละ 50 g ตีปิดป้าย ปิดฝาขวดเก็บไว้ในตู้แช่ -20°C

3.4.2 Fortified sample รหัสตัวอย่าง WM-S2 และ AP-S2 เตรียมโดย แบ่งตัวอย่างที่ปั่นละเอียดแล้วปริมาณตัวอย่างละ 3 kg เติมสารละลายวัตถุที่มีพิษ ให้มีความเข้มข้นของสาร ดังตารางที่ 1 กวนผสมให้เป็นเนื้อเดียวกัน แบ่งตัวอย่างใส่ขวดสีชา ตัวอย่างละ 50 g ตีปิดป้าย ปิดฝาขวดเก็บไว้ในตู้แช่ -20°C

ตารางที่ 1 รายชื่อวัตถุมีพิษที่เติมลงในตัวอย่างและความเข้มข้นของสารในตัวอย่าง

| Sample | Sample code | Pesticide | Spiked concentration |
|-------------|-------------|------------------|----------------------|
| | | | (mg/kg) |
| Water melon | WM-S2 | bifenthrin | 0.11 |
| | | pirimiphos ethyl | 0.12 |
| | | isoprocarb | 0.12 |
| | | azoxystrobin | 0.10 |
| Apple | AP-S2 | carbaryl | 0.10 |
| | | chloryrifos | 0.08 |
| | | difenoconazole | 0.15 |
| | | fenvalerate | 0.13 |

3.5 วิธีวิเคราะห์

ตรวจวิเคราะห์สารพิษตกค้างในตัวอย่าง ก่อนนำมาเตรียมตัวอย่างเพื่อส่งให้กับห้องปฏิบัติการที่เข้าร่วมทดสอบ ทดสอบ homogeneity และทดสอบ stability ใช้วิธี QuEChERS method (EN 15662, 2008) ตรวจวิเคราะห์สารกลุ่มออร์กาโนคลอรีน และไพรีทรอยด์ ด้วยเครื่อง GC-ECD สารกลุ่มออร์กาโนฟอสฟอรัส กลุ่มคาร์บาเมท และ สารป้องกันกำจัดโรคพืชและอื่นๆ วิเคราะห์ด้วยเครื่อง LC-MS/MS

3.5.1 วิธี QuEChERS method (EN 15662, 2008) มีขั้นตอนดังนี้

3.5.1.1 ชั่งตัวอย่าง 10 กรัม ใส่ centrifuge tubes ขนาด 50 มิลลิลิตร

3.5.1.2 เติม acetonitrile ปริมาตร 10 มิลลิลิตร ปิดฝาเขย่าด้วย vortex mixer นาน 1 นาที

3.5.1.3 เติม sodium chloride 1.0 กรัม และ magnesium sulfate 4 กรัม Di Sodium Hydrogen Citrate 0.5 กรัม Tri Sodium Citrate Dihydrate 1 กรัม ปิดฝาแล้ว เขย่าด้วย vortex mixer นาน 1 นาที

3.5.1.4 นำไป centrifuge ที่ความเร็วรอบ 4,000 rpm นาน 5 นาที

3.5.1.5 ใช้ auto pipette ดูดสารละลายส่วนบน 5 มิลลิลิตร ใส่ centrifuge tube ขนาด 15 มิลลิลิตร ที่ใส่ PSA 0.125 กรัม และ magnesium sulfate 0.750 กรัม Graphite Carbon black (GCB) 0.050 กรัม ไว้แล้ว เขย่าด้วย vortex mixer นาน 1 นาที นำไป centrifuge ที่ความเร็วรอบ 4,000 rpm นาน 5 นาที

3.5.1.6 ดูดสารละลายส่วนบน ปริมาตร 1.8 มิลลิลิตร ใส่ autosampler vials เติม 5% Formic acid 18 ไมโครลิตร นำไปตรวจวิเคราะห์ สารกลุ่มออร์กาโนฟอสฟอรัส กลุ่ม คาร์บาเมท และ สารป้องกันกำจัดโรคพืชและอื่นๆ วิเคราะห์ด้วยเครื่อง LC-MS/MS

3.5.1.7 ดูดสารละลายส่วนบน ปริมาตร 1 มิลลิลิตร ใส่ autosampler vials นำไปเป่าลดปริมาตรด้วยแก๊สไนโตรเจนจนแห้งปรับปริมาตรด้วย hexane 1 มิลลิลิตร นำไปตรวจวิเคราะห์ สารกลุ่มออร์กาโนคลอรีน และสารกลุ่มไพรีทรอยด์ ด้วยเครื่อง GC- μ ECD

3.5.2 การตั้งค่าสถานะของเครื่อง Gas Chromatograph Flame Photometric Detector (FPD) และ Micro Electron Capture Detector (μ ECD)

3.5.2.1 Capillary Column ชนิด Ultra-1 ขนาดเส้นผ่าศูนย์กลางภายใน 0.32 มิลลิเมตร ความยาว 25 เมตร ความหนาของฟิล์ม (stationary phase) ที่ใช้เคลือบในคอลัมน์ 0.17 ไมโครเมตร (GC- μ ECD)

3.5.2.2 การตั้งค่าอุณหภูมิ Oven

| Oven Ramp | Rate ($^{\circ}$ C/min) | Temp ($^{\circ}$ C) | Hold (min) | Run Time (min) |
|-----------|--------------------------|----------------------|------------|----------------|
| Initial | | 70 | 3.00 | 3.00 |
| Ramp 1 | 15 | 120 | 1.00 | 7.33 |
| Ramp 2 | 15 | 250 | 6.33 | 22.33 |
| Ramp 3 | 15 | 260 | 10.00 | 33.33 |
| Post Run | | | | 33.33 |

อุณหภูมิ injector 250° C ฉีดแบบ splitless mode constant flow 2.2 mL/min อุณหภูมิ Detector 300° C , H_2 Flow 150 มิลลิลิตร/นาที , Air Flow 100 มิลลิลิตร/นาที , N_2 (Makeup Flow) 60 มิลลิลิตร/นาที, volume inject 1 ไมโครลิตร

3.5.3 การตั้งสถานะของเครื่อง LC-MS/MS: Agilent 1200HPLC และ Agilent 6410 Triple Quadrupole LC/MS/MS Column: KinetexTM 2.6 μ m XB-C18 100 A^o, LC Column 100 x 2.1 mm, Mobile phase : 5mM Ammonium formate in Water: Acetonitrile, Flow rate 0.4 mL/min, Injection Volume 2 μ L, ESI, Positive mode , Gas temperature 350° C, Gas flow 12 L/min, Nebilizer 40 PSI, Capillary 4000 V, mode MRM

เวลาและสถานที่ : ตุลาคม 2558 – กันยายน 2560

ห้องปฏิบัติการกลุ่มงานวิจัยสารพิษตกค้าง กลุ่มวิจัยวัตถุมีพิษการเกษตร

กองวิจัยพัฒนาปัจจัยการผลิตทางการเกษตร กรมวิชาการเกษตร

8. ผลการทดลองและวิจารณ์

1. Homogeneity Test

สุ่มตัวอย่าง fortified sample จำนวน 10 ขวด นำมาตรวจวิเคราะห์สารพิษตกค้างตามวิธีวิเคราะห์ (ข้อ 3.5.1) ขวดละ 2 ซ้ำ (จำนวนข้อมูล (n) =20) หาปริมาณสารพิษตกค้างด้วยเครื่อง GC- μ ECD , และ LC-MS/MS โดยใช้ calibration curve แบบ matrix-matched standards นำผลการตรวจวิเคราะห์มาประเมินความเป็นเนื้อเดียวกันโดยใช้สถิติ ISO 13528 (2005) (ตารางที่ 2 และ 3) พบว่า ค่า S_s น้อยกว่า ค่า $0.3*SD_p$ แสดงว่าตัวอย่าง มีความเป็นเนื้อเดียวกัน และจากการใช้สถิติ IUPAC (2006) ในการประเมิน พบว่า ค่า S^2_{sam} น้อยกว่าค่า C แสดงว่า ตัวอย่างมีความเป็นเนื้อเดียวกัน

ตารางที่ 2 ผลการทดสอบ Homogeneity test ตัวอย่างแตงโม (WM-S2)

| Homogeneity test | Water melon (WM-S2) | | | |
|------------------|---------------------|------------------|------------|--------------|
| | bifenthrin | Pirimiphos ethyl | isoprocarb | azoxystrobin |
| Mean,mg/kg | 0.109856 | 0.104652 | 0.111405 | 0.087625 |
| ISO 13528 (2005) | | | | |
| S_s ,mg/kg | 0.001965 | 0.002283 | 0.003716 | 0.001367 |
| SD_p | 0.024497 | 0.023033 | 0.024519 | 0.019822 |
| $0.3*SD_p$ | 0.007349 | 0.006910 | 0.007355 | 0.005947 |
| Pass/Failed | Pass | Pass | Pass | Pass |
| IUPAC (2006) | | | | |
| S^2_{sam} | 3.86E-06 | 5.89E-06 | 1.38E-05 | 1.87E-06 |
| C | 1.18 E-04 | 1.10E-04 | 1.61E-04 | 8.79E-05 |
| Pass/Failed | Pass | Pass | Pass | Pass |

ตารางที่ 3 ผลการทดสอบ Homogeneity test ตัวอย่างแอปเปิล (AP-S2)

| Homogeneity test | Apple (AP-S2) | | | |
|------------------|---------------|--------------|----------------|-------------|
| | carbaryl | chlorpyrifos | difenoconazole | fenvalerate |
| Mean,mg/kg | 0.0933 | 0.0837 | 0.1307 | 0.1138 |
| ISO 13528 (2005) | | | | |
| S_s ,mg/kg | 0.0001 | 0.0020 | 0.0024 | 0.0030 |
| SD_p | 0.0213 | 0.0193 | 0.0284 | 0.0252 |
| $0.3*SD_p$ | 0.0064 | 0.0058 | 0.0085 | 0.0076 |
| $S_s < 0.3*SD_p$ | √ | √ | √ | √ |
| Pass/Failed | Pass | Pass | Pass | Pass |
| IUPAC (2006) | | | | |
| S^2_{sam} | 9.889E-09 | 3.927E-06 | 5.917E-06 | 8.976E-06 |
| C | 7.716E-05 | 6.722E-05 | 1.425E-04 | 1.981E-04 |

| | | | | |
|-----------------|------|------|------|------|
| $S^2_{sam} < C$ | ✓ | ✓ | ✓ | ✓ |
| Pass/Failed | Pass | Pass | Pass | Pass |

2. Stability Test

สุ่มตัวอย่าง fortified sample มาทำการทดสอบความคงตัวของสารตกค้างในตัวอย่าง ที่ระยะเวลาต่างๆ โดยศึกษาที่ อุณหภูมิห้อง (25 ± 5 °C) ที่ 1, 3, 5 และ 7 วัน นับจากวันส่งตัวอย่าง และ ที่อุณหภูมิ freezer (-18 °C) ที่ 30 วัน (วันรายงานผล) นับจากวันส่งตัวอย่าง โดยทำการตรวจวิเคราะห์วันละ 5 ซ้ำ (n=5) ผลการตรวจวิเคราะห์ได้แก่ ความเข้มข้นเฉลี่ย และ % recovery ที่อุณหภูมิและระยะเวลาต่างๆ ของตัวอย่างแดงโมแสดงดังตารางที่ 4 และตัวอย่างแอปเปิล แสดงในตารางที่ 5 และ เปรียบเทียบความแตกต่าง (%RPD : Relative Percent Difference) ของผลการทดสอบที่ระยะเวลาต่างๆ กับผลการทดสอบที่ 0 วัน (ข้อมูลจากการทดสอบ Homogeneity) โดย % RPD เป็นค่าลบ (-) แสดงว่ามีการลดลงของสาร และทำการศึกษาเปอร์เซ็นต์ของปริมาณสารเทียบความเข้มข้นที่ 0 วัน เมื่อคิดความเข้มข้นที่ 0 วันเป็น 100 ของตัวอย่างแดงโมแสดงในตารางที่ 6 และตัวอย่างแอปเปิล แสดงในตารางที่ 7 และผลการศึกษารูปได้ดังนี้

ตัวอย่างแดงโม พบว่า % recovery ของการตรวจวิเคราะห์ อยู่ในช่วง 82.7-106.8 ผลการตรวจวิเคราะห์สารพิษตกค้างที่ระยะเวลาและ อุณหภูมิ ที่เก็บรักษาตัวอย่าง พบว่าทุกสารมี % RPD ของปริมาณสารเทียบกับความเข้มข้นที่ 0 วัน ไม่เกิน 10 % สรุปได้ว่าสารที่เติมในตัวอย่าง มีความคงทน ที่ 0-7 วัน เมื่อเก็บรักษาที่อุณหภูมิห้อง และมีความคงทนที่ 30 วันเมื่อเก็บรักษาที่อุณหภูมิ freezer โดยระยะเวลาการเก็บรักษา 0-7 วัน ที่อุณหภูมิห้องที่มี % RPD มีค่าอยู่ในช่วง -9.5 ถึง 1.7 และ ระยะเวลาการเก็บรักษา 30 วัน ที่อุณหภูมิ freezer มี % RPD อยู่ในช่วง -1.5 ถึง 2.1 อย่างไรก็ตามการส่งตัวอย่าง ห้องปฏิบัติการจะได้รับตัวอย่างภายใน 3-5 วันจึงไม่มีผลต่อการทดสอบ ส่วน เปอร์เซ็นต์ของปริมาณสารเทียบความเข้มข้นที่ 0 วัน เมื่อคิดความเข้มข้นที่ 0 วันเป็น 100 เปอร์เซ็นต์ พบว่าในช่วงระยะเวลาการเก็บรักษา มีปริมาณสาร 68 ถึง 108 % พบว่า pirimiphos ethyl ที่ 7 วัน มีเปอร์เซ็นต์ของปริมาณสารเทียบความเข้มข้นที่ 0 วัน น้อยกว่า 80 %

ตัวอย่างแอปเปิล พบว่า % recovery อยู่ในช่วง 75.6 ถึง 111.4 ความคงทนของสารในตัวอย่าง เมื่อเก็บรักษาตัวอย่างที่อุณหภูมิห้อง สารมีความคงทน ที่ 0 ถึง 7 วัน โดยมี % RPD อยู่ในช่วง -7.7 ถึง 16.5 (ยกเว้น chlorpyrifos คงทนที่ 0 ถึง 3 วัน) ส่วน เปอร์เซ็นต์ของปริมาณสารเทียบความเข้มข้นที่ 0 วัน พบว่าที่ 0 ถึง 7 วัน มีปริมาณสาร 93.5 ถึง 118 % (ยกเว้น chlorpyrifos ที่ 5 ถึง 7 วัน มีเปอร์เซ็นต์ของปริมาณสารเทียบความเข้มข้นที่ 0 วัน ในช่วง 77.9 ถึง 79.3% จึงมีความคงทนที่ 0 ถึง 3 วัน) ส่วนที่อุณหภูมิ freezer ตัวอย่างมีความคงทนที่ 30 วัน โดยมี % RPD อยู่ในช่วง -7.4 ถึง 5.7 มีปริมาณสารในช่วง 92.8 ถึง 105.9 %

ตารางที่ 4 ความเข้มข้นเฉลี่ยจากการตรวจวิเคราะห์ ตัวอย่างแดงโม (5 ซ้ำ) และ % concurrent recovery ที่อุณหภูมิและระยะเวลา ต่างๆ

Temp. Day

Watermelon (WM-S2)

| | | bifenthrin | | | pirimiphos ethyl | | | isoprocarb | | | azoxystrobin | | |
|---------|----|---------------------|---------|-------|---------------------|---------|------|---------------------|---------|-------|---------------------|---------|------|
| | | concurrent recovery | | | Concurrent recovery | | | concurrent recovery | | | concurrent recovery | | |
| | | Conc. | | | Conc. | | | Conc. | | | Conc. | | |
| | | (mg/kg) | conc. | % | (mg/kg) | conc. | % | (mg/kg) | conc | % | (mg/kg) | conc. | % |
| | | | (mg/kg) | Rec. | | (mg/kg) | Rec. | | (mg/kg) | Rec. | | (mg/kg) | Rec. |
| Room | 0 | 0.110 | 0.100 | 100.6 | 0.105 | 0.100 | 84.3 | 0.111 | 0.100 | 100.8 | 0.088 | 0.100 | 89.7 |
| temp. | 1 | 0.105 | 0.100 | 82.7 | 0.101 | 0.100 | 84.7 | 0.118 | 0.100 | 98.1 | 0.094 | 0.100 | 94.8 |
| | 3 | 0.104 | 0.100 | 87.0 | 0.098 | 0.100 | 84.9 | 0.093 | 0.100 | 100.1 | 0.093 | 0.100 | 81.5 |
| | 5 | 0.096 | 0.100 | 87.0 | 0.084 | 0.100 | 84.9 | 0.120 | 0.100 | 100.1 | 0.092 | 0.100 | 81.5 |
| | 7 | 0.098 | 0.100 | 90.7 | 0.071 | 0.100 | 86.0 | 0.120 | 0.100 | 105.1 | 0.093 | 0.100 | 87.8 |
| Freezer | 0 | 0.110 | 0.100 | 100.6 | 0.105 | 0.100 | 84.3 | 0.111 | 0.100 | 100.8 | 0.088 | 0.100 | 89.7 |
| | 30 | 0.104 | 0.100 | 106.8 | 0.099 | 0.100 | 86.8 | 0.121 | 0.100 | 94.4 | 0.091 | 0.100 | 90.4 |

ตารางที่ 5 ความเข้มข้นเฉลี่ยจากการตรวจวิเคราะห์ ตัวอย่างแอปเปิล (5 ซ้ำ) และ % concurrent recovery ที่
อุณหภูมิและระยะเวลา ต่างๆ

| | | Apple (AP-S2) | | | | | | | | | | | |
|------------|-----|---------------|----------|---------|--------------|----------|-------|----------------|----------|---------|-------------|----------|--------|
| Temp. | Day | carbaryl | | | chlorpyrifos | | | difenoconazole | | | fenvalerate | | |
| | | concurrent | | Conc. | Concurrent | | Conc. | concurrent | | Conc. | concurrent | | |
| | | Conc. | recovery | | Conc. | recovery | | Conc. | recovery | | Conc. | recovery | |
| | | (mg/kg) | conc. | % | (mg/kg) | conc. | % | (mg/kg) | conc | % | (mg/kg) | conc. | % Rec. |
| | | (mg/kg) | Rec. | (mg/kg) | Rec. | (mg/kg) | Rec. | (mg/kg) | Rec. | (mg/kg) | Rec. | | |
| Room temp. | 0 | 0.093 | 0.100 | 107.5 | 0.084 | 0.080 | 96.9 | 0.131 | 0.15 | 91.7 | 0.1138 | 0.130 | 76.1 |
| | 1 | 0.093 | 0.100 | 100.0 | 0.078 | 0.080 | 101.1 | 0.122 | 0.15 | 92.0 | 0.1343 | 0.130 | 101.2 |
| | 3 | 0.091 | 0.100 | 96.4 | 0.077 | 0.080 | 107.3 | 0.124 | 0.15 | 89.8 | 0.1222 | 0.130 | 110.8 |
| | 5 | 0.095 | 0.100 | 102.7 | 0.065 | 0.080 | 105.5 | 0.127 | 0.15 | 92.5 | 0.1247 | 0.130 | 101.9 |
| | 7 | 0.092 | 0.100 | 96.3 | 0.066 | 0.080 | 107.1 | 0.124 | 0.15 | 93.9 | 0.1100 | 0.130 | 96.1 |
| Freezer | 0 | 0.093 | 0.100 | 107.5 | 0.084 | 0.080 | 96.9 | 0.131 | 0.15 | 91.7 | 0.1138 | 0.130 | 76.1 |
| | 30 | 0.098 | 0.100 | 111.4 | 0.078 | 0.080 | 111.0 | 0.130 | 0.15 | 92.0 | 0.1205 | 0.130 | 75.6 |

ตารางที่ 6 การเปรียบเทียบความแตกต่าง (%RPD) และเปอร์เซ็นต์ของสาร ที่ระยะเวลาต่างๆ เทียบกับความ
เข้มข้นที่ 0 วัน ของตัวอย่างแดงโม

| | | Watermelon (WM-S2) | | | |
|------------|-----|--------------------|------------------|------------|--------------|
| Temp. | Day | %RPD | | | |
| | | bifenthrin | pirimiphos ethyl | isoprocarb | azoxystrobin |
| | | | | | |
| Room temp. | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 |
| | 1 | -1.1 | -1.1 | 1.5 | 1.7 |
| | 3 | -1.5 | -1.6 | -4.3 | 1.3 |
| | 5 | -3.5 | -5.6 | 1.8 | 1.1 |
| | 7 | -2.9 | -9.7 | 1.9 | 1.5 |
| Freezer | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 |
| | 30 | -1.5 | -1.5 | 2.1 | 0.9 |

| | | Watermelon (WM-S2) | | | |
|------------|-----|--------------------|------------------|------------|--------------|
| Temp. | Day | % Residue | | | |
| | | bifenthrin | pirimiphos ethyl | isoprocarb | azoxystrobin |
| | | | | | |
| Room temp. | 0 | 100 | 100 | 100 | 100 |
| | 1 | 96 | 96 | 106 | 107 |

| | | | | | |
|---------|-------|-----|-----|-----|-----|
| | 3 | 94 | 94 | 84 | 106 |
| | 5 | 87 | 80 | 107 | 105 |
| | 7 | 89 | 68 | 108 | 107 |
| | <hr/> | | | | |
| Freezer | 0 | 100 | 100 | 100 | 100 |
| | 30 | 94 | 94 | 108 | 104 |

ตารางที่ 7 การเปรียบเทียบความแตกต่าง (%RPD) และเปอร์เซ็นต์ของสาร ที่ระยะเวลาต่างๆ เทียบกับความเข้มข้นที่ 0 วัน ของตัวอย่างแอปเปิล

| | | Apple (AP-S2) | | | |
|------------|-----|---------------|--------------|----------------|-------------|
| Temp. | Day | %RPD | | | |
| | | carbaryl | chlorpyrifos | difenoconazole | fenvalerate |
| Room temp. | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 |
| | 1 | -0.2 | -7.6 | -6.7 | 16.5 |
| | 3 | -2.1 | -7.7 | -5.0 | 7.1 |
| | 5 | 1.8 | -24.8 | -3.2 | 9.2 |
| | 7 | -1.5 | -23.1 | -5.6 | -3.4 |
| Freezer | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 |
| | 30 | 5.3 | -7.4 | -0.4 | 5.7 |

| | | Apple (AP-S2) | | | |
|------------|-----|---------------|--------------|----------------|-------------|
| Temp. | Day | % Residue | | | |
| | | carbaryl | chlorpyrifos | difenoconazole | fenvalerate |
| Room temp. | 0 | 100 | 100 | 100 | 100 |
| | 1 | 99.8 | 92.7 | 93.5 | 118.0 |
| | 3 | 97.9 | 92.6 | 95.2 | 107.4 |
| | 5 | 101.8 | 77.9 | 96.9 | 109.6 |
| | 7 | 98.5 | 79.3 | 94.6 | 96.7 |
| Freezer | 0 | 100 | 100 | 100 | 100 |
| | 30 | 105.4 | 92.8 | 99.6 | 105.9 |

3. การประเมินผลการทดสอบ

3.1 False Positive and False Negative

3.1.1 False positives

การรายงานผลทดสอบว่า ตรวจพบสารพิษตกค้าง ชนิดที่ ไม่มีการตรวจพบ โดยห้องปฏิบัติการผู้จัดเตรียมตัวอย่างและไม่มีรายงานที่ตรวจพบโดย ห้องปฏิบัติการที่เข้าร่วมทดสอบส่วนใหญ่ และ ปริมาณสารที่รายงานที่ตรวจพบมีปริมาณมากกว่าหรือเท่ากับค่าปริมาณต่ำสุดที่ตรวจวิเคราะห์ (LOQ) (DG-SANCO, 2010) พบว่ามีห้องปฏิบัติการรายงานผลเป็น false positives ดังนี้ ตัวอย่างแดงโม BL-WM พบสาร EPN ตัวอย่างแดงโม WM-S2 พบสาร carbaryl, parathion methyl และ chlorpyrifos ซึ่งปริมาณที่พบสูงกว่าหรือเท่ากับค่า LOQ ส่วนตัวอย่างแอปเปิล BL-AP และ AP-S2 ไม่มีรายงานสารเป็น False positives

3.1.2 False Negatives

เป็นผลการทดสอบที่รายงานว่ามีพบสารพิษตกค้าง ชนิดที่มีการเติมลงในตัวอย่าง (DG-SANCO, 2010) พบว่าตัวอย่าง แตงโม WM-S2 มี 1 ห้องปฏิบัติการ ไม่พบสาร bifenthrin มี 3 ห้องปฏิบัติการ ไม่พบสาร pirimiphos ethyl และ มี 2 ห้องปฏิบัติการ ไม่พบสาร isoprocarb ตัวอย่าง ในตัวอย่างแอปเปิล AP-S2 ไม่รายงานว่ามีพบสาร carbaryl 1 ห้องปฏิบัติการ chlorpyrifos 1 ห้องปฏิบัติการ และ difenoconazole 1 ห้องปฏิบัติการ

4. การประเมิน Assigned (consensus) Values

การคำนวณค่า assigned values ที่ใช้ในการประเมินผลการทดสอบของห้องปฏิบัติการที่เข้าร่วมทดสอบ ตามแนวทางของ The International Harmonized Protocol for the Proficiency Testing of (Chemical) Analysis Laboratories และ ISO 13528 (2005) โดยใช้ robust mean (X^*) ที่คำนวณจากผลการตรวจวิเคราะห์ของห้องปฏิบัติการที่เข้าร่วมทดสอบ ผลดังตารางที่ 8 จะเห็นว่าความเข้มข้นของ robust mean มีค่าใกล้เคียง หรือเท่ากับ ค่า median ของความเข้มข้น ของผลการทดสอบของห้องปฏิบัติการที่เข้าร่วมทดสอบ

ตารางที่ 8 Assigned Values (Robust mean(X^*)) ที่ใช้ในการเปรียบเทียบผลวิเคราะห์ระหว่างห้องปฏิบัติการ (n : จำนวนข้อมูล)

| Sample | Sample code | Pesticide | Participants | | | Robust mean(X^*) (mg/kg) |
|------------|-------------|------------------|--------------|----------------|----|------------------------------|
| | | | Mean (mg/kg) | Median (mg/kg) | n | |
| Watermelon | WM-S2 | bifenthrin | 0.103 | 0.100 | 16 | 0.10 |
| | | pirimiphos ethyl | 0.130 | 0.130 | 16 | 0.12 |
| | | isoprocarb | 0.104 | 0.100 | 12 | 0.10 |
| | | azoxystrobin | 0.101 | 0.100 | 3 | 0.10 |
| Apple | AP-S2 | carbaryl | 0.093 | 0.089 | 15 | 0.078 |
| | | chlorpyrifos | 0.068 | 0.070 | 19 | 0.069 |
| | | difenoconazole | 0.125 | 0.110 | 8 | 0.112 |
| | | fenvalerate | 0.112 | 0.100 | 19 | 0.106 |

5. การประเมิน Target Standard Deviation

ใช้ค่าของ Horwitz predicted SD (SDp) ที่คำนวณจากความเข้มข้นของสารที่เป็นค่า assigned values หรือค่า robust mean (X^*) (ตารางที่ 8) โดยคำนวณ ตามสมการที่ 1 และ 2 (Horwitz and Albert, 2006) ผลการคำนวณดังตารางที่ 9 พบว่า ค่า % RSD ของผลการทดสอบจากห้องปฏิบัติการที่เข้าร่วมทดสอบ มีค่า สูงกว่า % RSDp จากการคำนวณ แต่เมื่อทำการตัด outline ของผลการทดสอบออก พบว่า % RSD จะมีค่าใกล้เคียงกับ % RSDp จึงใช้ค่า Horwitz predicted % RSDp โดยใช้สูตรการคำนวณสำหรับ reproducibility ดังสมการที่ 1 และหา Target Standard Deviation หรือ SDp สมการที่ 2

$$\text{สมการที่ 1} \quad \text{RSDp} = 2^{(1-0.5\log C)}$$

$$\text{สมการที่ 2} \quad \text{SDp} = (\text{RSDp} \times \text{mean}) / 100$$

ตารางที่ 9 ค่า Target Standard Deviation_ที่ใช้ในการเปรียบเทียบผลวิเคราะห์ระหว่างห้องปฏิบัติการ

| Sample | Sample code | Pesticide | Participants | | Evaluation | | |
|------------|-------------|------------------|--------------|------------|-------------------------|--------|-------------------------|
| | | | %RSD | SD (mg/kg) | Robust mean(X*) (mg/kg) | % RSDp | target SD (SDp) (mg/kg) |
| Watermelon | WM-S2 | bifenthrin | 27.9 | 0.029 | 0.10 | 22.6 | 0.023 |
| | | pirimiphos ethyl | 53.0 | 0.069 | 0.12 | 21.9 | 0.027 |
| | | isoprocarb | 28.3 | 0.029 | 0.10 | 22.6 | 0.023 |
| | | azoxystrobin | 11.5 | 0.012 | 0.10 * | 11.5 | 0.012 * |
| Apple | AP-S2 | carbaryl | 49.6 | 0.046 | 0.078 | 20 | 0.016 |
| | | chlorpyrifos | 32.4 | 0.022 | 0.069 | 20 | 0.014 |
| | | difenoconazole | 28.0 | 0.035 | 0.112 | 20 | 0.022 |
| | | fenvalerate | 49.9 | 0.056 | 0.106 | 20 | 0.021 |

* ใช้ค่า Robust mean(X*) และ target SD ของกลุ่ม

6. z-Scores

การประเมินผลการทดสอบ ที่ได้รับจากห้องปฏิบัติการที่เข้าร่วมทดสอบ โดยเปรียบเทียบกับค่า assigned value โดยใช้ z score ในการประเมินผล ตามสมการที่ 3

$$\text{สมการที่ 3} \quad z = \frac{(X - X^*)}{\sigma}$$

σ

X ผลวิเคราะห์ของห้องปฏิบัติการที่เข้าร่วมทดสอบ

X* assigned value ใช้ค่า robust mean ตามตารางที่ 6

σ target standard deviation .ใช้ค่า SDp ของแต่ละรายการวิเคราะห์ ตามตารางที่ 6
การประเมินผลค่า z-Scores ดังนี้

- |z| ≤ 2 ผลทดสอบเป็นที่น่าพอใจ (Satisfactory)
- 2 < |z| < 3 ผลทดสอบอยู่ในเกณฑ์น่าสงสัย (Questionable)
- |z| ≥ 3 ผลทดสอบไม่เป็นที่น่าพอใจ (Unsatisfactory)

6. ผลการทดสอบและการประเมินผล

6.1 ผลการทดสอบของห้องปฏิบัติการ

6.1.1 การประเมินตัวอย่าง Blank sample

ตัวอย่าง แดงโม (BL-WM) พบว่ามีห้องปฏิบัติการรายงานผลเป็น false positives จำนวน 1 ห้องปฏิบัติการ โดยพบสาร EPN ปริมาณสูงกว่าค่า LOQ ส่วนห้องปฏิบัติการอื่น รายงานไม่พบสารพิษตกค้าง สอดคล้องกับ ผลการทดสอบของห้องปฏิบัติการกลุ่มวิจัยสารพิษตกค้าง

ตัวอย่าง แอปเปิล (BL-AP) พบว่าไม่มีห้องปฏิบัติการรายงานผลเป็น false positives สอดคล้องกับ ผลการทดสอบของห้องปฏิบัติการกลุ่มวิจัยสารพิษตกค้าง ซึ่งรายงานไม่พบสารพิษตกค้าง

6.1.2 การประเมินตัวอย่าง fortified sample

ประเมิน z-Score โดยใช้ Assigned Values (ตารางที่ 8) และ ค่า Target Standard Deviation (ตารางที่ 9) คำนวณ z-Scores ตามสมการที่ 3 ผลการประเมินดังนี้

ตัวอย่างแดงโม (WM-S2)

สาร Bifenthrin มีการรายงานผลจำนวน 17 ห้องปฏิบัติการ $|z| \leq 2$ จำนวน 15 ห้องปฏิบัติการ คิดเป็น 88 % ของจำนวนข้อมูลที่ยังรายงานผล $|z| \geq 3$ จำนวน 2 ห้องปฏิบัติการ คิดเป็น 12 % ของจำนวนข้อมูลที่ยังรายงานผล และมี 3 ห้องปฏิบัติการ ชนิดสารไม่อยู่ในขอบข่ายของการทดสอบ

สาร Pirimiphos ethyl มีการรายงานผลจำนวน 19 ห้องปฏิบัติการ $|z| \leq 2$ จำนวน 14 ห้องปฏิบัติการ คิดเป็น 74 % ของจำนวนข้อมูลที่ยังรายงานผล $|z| \geq 3$ จำนวน 5 ห้องปฏิบัติการ คิดเป็น 26 % ของจำนวนข้อมูลที่ยังรายงานผล และมี 1 ห้องปฏิบัติการ ชนิดสารไม่อยู่ในขอบข่ายของการทดสอบ

สาร Isoprocarb มีการรายงานผลจำนวน 14 ห้องปฏิบัติการ $|z| \leq 2$ จำนวน 11 ห้องปฏิบัติการ คิดเป็น 79 % ของจำนวนข้อมูลที่ยังรายงานผล $|z| \geq 3$ จำนวน 3 ห้องปฏิบัติการ คิดเป็น 21 % ของจำนวนข้อมูลที่ยังรายงานผล และมี 6 ห้องปฏิบัติการ ชนิดสารไม่อยู่ในขอบข่ายของการทดสอบ

สาร Azoxystrobin มีการรายงานผลจำนวน 3 ห้องปฏิบัติการ และมีค่า $|z| \leq 2$ ทั้ง 3 ห้องปฏิบัติการ และมี 17 ห้องปฏิบัติการ ชนิดสารไม่อยู่ในขอบข่ายของการทดสอบ

ตัวอย่างแอปเปิล (AP-S2)

สาร Carbaryl มีการรายงานผลจำนวน 16 ห้องปฏิบัติการ $|z| \leq 2$ จำนวน 13 ห้องปฏิบัติการ คิดเป็น 81 % ของจำนวนข้อมูลที่ยังรายงานผล $|z| \geq 3$ จำนวน 3 ห้องปฏิบัติการ คิดเป็น 19 % ของจำนวนข้อมูลที่ยังรายงานผล และมี 7 ห้องปฏิบัติการ ชนิดสารไม่อยู่ในขอบข่ายของการทดสอบ

สาร Chlorpyrifos มีการรายงานผลจำนวน 20 ห้องปฏิบัติการ $|z| \leq 2$ จำนวน 16 ห้องปฏิบัติการ คิดเป็น 80 % ของจำนวนข้อมูลที่ยังรายงานผล $2 < |z| < 3$ จำนวน 1 ห้องปฏิบัติการ คิดเป็น 5 % ของจำนวนข้อมูลที่ยังรายงานผล $|z| \geq 3$ จำนวน 3 ห้องปฏิบัติการ คิดเป็น 15 % ของจำนวนข้อมูลที่ยังรายงานผล และมี 3 ห้องปฏิบัติการ ชนิดสารไม่อยู่ในขอบข่ายของการทดสอบ

สาร Difenoconazole มีการรายงานผลจำนวน 9 ห้องปฏิบัติการ $|z| \leq 2$ จำนวน 6 ห้องปฏิบัติการ คิดเป็น 67 % ของจำนวนข้อมูลที่ยังรายงานผล $2 < |z| < 3$ จำนวน 1 ห้องปฏิบัติการ คิดเป็น 11 % ของจำนวนข้อมูลที่ยังรายงานผล $|z| \geq 3$ จำนวน 2 ห้องปฏิบัติการ คิดเป็น 22 % ของจำนวนข้อมูลที่ยังรายงานผล และมี 14 ห้องปฏิบัติการ ชนิดสารไม่อยู่ในขอบข่ายของการทดสอบ

สาร Fenvalerate มีการรายงานผลจำนวน 19 ห้องปฏิบัติการ $|z| \leq 2$ จำนวน 13 ห้องปฏิบัติการ คิดเป็น 68 % ของจำนวนข้อมูลที่ยังรายงานผล $2 < |z| < 3$ จำนวน 2 ห้องปฏิบัติการ คิดเป็น 11 % ของจำนวนข้อมูลที่ยังรายงานผล $|z| \geq 3$ จำนวน 4 ห้องปฏิบัติการ คิดเป็น 21 % ของจำนวนข้อมูลที่ยังรายงานผล และมี 14 ห้องปฏิบัติการ ชนิดสารไม่อยู่ในขอบข่ายของการทดสอบ

9. สรุปผลการทดลองและข้อเสนอแนะ

การจัดทำตัวอย่างอ้างอิงภายในสำหรับการตรวจวิเคราะห์สารพิษตกค้าง ในผลไม้และการทดสอบความสามารถระหว่างห้องปฏิบัติการ โดยทดสอบสารพิษตกค้างในตัวอย่าง แดงโม และ แอปเปิล สารพิษตกค้างในขอบข่ายประกอบด้วยสารกลุ่ม ออร์กาโนคลอรีน, ออร์กาโนฟอสฟอรัส, ไพรีทรอยด์, คาร์บาเมท และ สารป้องกันกำจัดโรคพืชและอื่นๆ รวมทั้งสิ้น 74 ชนิด

การเตรียมตัวอย่าง fortified sample ตัวอย่างแดงโม รหัสตัวอย่าง WM-S2 เติมสาร bifenthrin, pirimiphos ethyl, isoprocarb และ azoxystrobin ทุกสารเติมที่ความเข้มข้น 0.10 mg/kg ตัวอย่างแอปเปิล รหัสตัวอย่าง AP-S2 เติมสาร carbaryl, chlorpyrifos, difenoconazole และ fenvalerate ให้มีความเข้มข้น 0.10, 0.08, 0.15 และ 0.13 mg/kg ตามลำดับ ประเมินความเป็นเนื้อเดียวกันของตัวอย่าง โดยใช้สถิติ ISO 13528 (2005) และ IUPAC (2006) พบว่าตัวอย่างมีความเป็นเนื้อเดียวกัน ส่วนการทดสอบความคงตัวของสารตกค้างในตัวอย่าง ที่ระยะเวลาและอุณหภูมิต่างๆ ดังนี้ ศึกษาที่อุณหภูมิห้อง (25 ± 5 °C) ที่ 1, 3, 5 และ 7 วัน นับจากวันส่งตัวอย่าง และ ที่อุณหภูมิ freezer (ไม่น้อยกว่า -18°C) ที่ 30 วัน (นับจากวันส่งตัวอย่าง) โดยใช้เกณฑ์ % RPD ของปริมาณสารเทียบกับความเข้มข้นที่ 0 วัน ไม่เกิน 10 % และเปอร์เซ็นต์ของปริมาณสารเทียบความเข้มข้นที่ 0 วัน เมื่อคิดความเข้มข้นที่ 0 วันเป็น 100 เปอร์เซ็นต์ไม่น้อยกว่า 80 % พบว่าสาร มีความคงทน ที่ 0 7-วัน ที่อุณหภูมิห้อง และมีความคงทนที่ 30 วัน ที่อุณหภูมิ freezer

ผลทดสอบสรุปได้ดังนี้ ตัวอย่างแดงโม ห้องปฏิบัติการที่เข้าร่วมทดสอบจำนวน 20 ห้องปฏิบัติการผลการทดสอบที่คาดหวังรวมทั้งสิ้น 80 ข้อมูล มีการรายงานผลทั้งสิ้น 47 ข้อมูลคิดเป็น 59 % ของผลการทดสอบที่คาดหวัง สารที่มีการรายงานผลมากที่สุด ได้แก่ bifenthrin และ pirimiphos ethyl สารที่มีการรายงานผลน้อยที่สุด ได้แก่ azoxystrobin สารที่รายงานเป็น false negative ได้แก่ bifenthrin pirimiphos ethyl และ isoprocarb ส่วน azoxystrobin ไม่มีการรายงานผลเป็น false negative ผลการประเมินค่า z-Score พบว่าผลการทดสอบอยู่ใน เกณฑ์น่าพอใจ 81 % ($|z\text{-Score}| \leq 2$) ไม่พบผลทดสอบอยู่ในเกณฑ์น่าสงสัย ($2 < |z\text{-Score}| < 3$) และผลทดสอบไม่เป็นที่น่าพอใจ 19 % ($|z\text{-Score}| \geq 3$)

ตัวอย่างแอปเปิล ห้องปฏิบัติการที่เข้าร่วมทดสอบจำนวน 22 ห้องปฏิบัติการ และมี 2 ห้องปฏิบัติการรายงานผลตัวอย่าง 2 ชุด ตามเทคนิคการตรวจวิเคราะห์จึงประเมินห้องปฏิบัติการเป็น 24 ห้อง ผลการทดสอบที่คาดหวังรวมทั้งสิ้น 92 ข้อมูล มีการรายงานผลทั้งสิ้น 61 ข้อมูลคิดเป็น 66 % ของผลการทดสอบที่คาดหวัง สารที่มีการรายงานผลมากที่สุด ได้แก่ chlorpyrifos และ fenvalerate สารที่มีการรายงานผลน้อยที่สุด ได้แก่ difenoconazole สารที่รายงานเป็น false negative ได้แก่ carbaryl, chlorpyrifos และ difenoconazole ส่วน fenvalerate ไม่มีการรายงานผลเป็น false negative และไม่พบการรายงานผลเป็น False positives ผลการประเมินค่า z-Score พบว่าผลการทดสอบอยู่ใน เกณฑ์น่าพอใจ 79 % ($|z\text{-Score}| \leq 2$) ผลทดสอบอยู่ในเกณฑ์น่าสงสัย 6 % ($2 < |z\text{-Score}| < 3$) และผลทดสอบไม่เป็นที่น่าพอใจ 14 % ($|z\text{-Score}| \geq 3$)

ตารางที่ 10 % ของผลการทดสอบ ที่มีค่า z-Score ในช่วงต่างๆ

| Sample | Pesticide | Reported data | $ z \leq 2$ | | $2 < z < 3$ | | $ z \geq 3$ | |
|--------|--------------------|---------------|--------------|--------------|---------------|------|--------------|------|
| | | | Result | % | Result | % | Result | % |
| | | | Watermelon | bifenthrin * | 17 | 15 | 88 | |
| | pirimiphos ethyl * | 19 | 14 | 74 | | | 5 | 26 |
| | isoprocarb * | 14 | 11 | 79 | | | 3 | 21 |
| | azoxystrobin | 3 | 3 | 100 | | | | |
| Apple | carbaryl | 15 | 13 | 86.7 | | | 2 | 13.3 |
| | chlorpyrifos* | 20 | 17 | 85.0 | | | 3 | 15.0 |
| | difenoconazole | 9 | 6 | 66.7 | 2 | 22.2 | 1 | 11.1 |
| | fenvalerate | 19 | 14 | 73.7 | 2 | 10.5 | 3 | 15.8 |

10. การนำผลงานวิจัยไปใช้ประโยชน์

1. ห้องปฏิบัติการที่ร่วมทดสอบความสามารถ โดยเฉพาะที่สังกัดกรมวิชาการเกษตร ได้ทดสอบความสามารถของห้องปฏิบัติการเปรียบเทียบกับห้องปฏิบัติการอื่น และนำผลที่ได้ไปวิเคราะห์ถึงปัญหาที่มีผลต่อผลการตรวจวิเคราะห์และหาทางแก้ไขปัญหที่เกิดขึ้น

2. ห้องปฏิบัติการที่เข้าร่วมทดสอบ ใช้เพื่อสร้างความมั่นใจ ให้กับลูกค้าของห้องปฏิบัติการ เพื่อชี้ให้เห็นความแตกต่างของการเปรียบเทียบ ผลระหว่างห้องปฏิบัติการ

3. ห้องปฏิบัติการกลุ่มงานวิจัยวัสดุพืชทางการเกษตร ได้ข้อมูลการเตรียมตัวอย่างอ้างอิง และนำไปพัฒนาการเตรียมตัวอย่างอ้างอิง และการจัดส่งตัวอย่างอ้างอิงในโอกาสต่อไป

11. คำขอบคุณ -

12. เอกสารอ้างอิง

DC-SANCO. 2010. General Protocol for EU Proficiency Tests for Pesticide Residues in Food and Feed. European Union, Health and Consumer Protection Directorate General.

EN 15662. 2008. Foods of plant origin - Determination of pesticide residues using GC-MS and/or LC-MS/MS following acetonitrile extraction/partitioning and clean-up by dispersive SPE - QuEChERS-method

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

ISO Guide 35. 2006. Reference materials- General and statistical principles for certification. International Organization for Standardization (ISO), Geneva, Switzerland.

- IUPAC. 2006. The International Harmonized Protocol for the Proficiency Testing of Analytical Chemistry Laboratories . Pure Appl. Chem., 78, 1 : 145-196. (2006)
- ISO 13528. 2005. Statistical methods for use in proficiency testing by interlaboratory comparisons.