

รายงานผลงานเรื่องเต็มการทดลองที่สิ้นสุด

- ชื่อชุดโครงการ** วิจัยและพัฒนาระบบการตรวจวิเคราะห์ปัจจัยการผลิตทางการเกษตรตามมาตรฐานสากล
- ชื่อโครงการ** วิจัยและพัฒนาระบบการตรวจวิเคราะห์สารพิษตกค้างของสารป้องกันกำจัดศัตรูพืช
Research and Development on Analytical System of Agricultural
Production Inputs.
กิจกรรมที่ 2 การตรวจสอบความใช้ได้ของวิธีวิเคราะห์เพื่อรับรองมาตรฐานห้องปฏิบัติการ
- ชื่อการทดลอง** การตรวจสอบความใช้ได้ของวิธีวิเคราะห์สารพิษตกค้างด้วยวิธีการ QuEChERS ของ
สารกลุ่มออร์กาโนฟอสเฟต (organophosphate) ออร์กาโนคลอรีน (organochlorine)
และไพรีทรอยด์(pyrethroid) คาร์บาเมต (carbamate) ในลำไย ของห้องปฏิบัติการ
สวพ.1 (59-60)
Method Validation of Pesticide Residues with QuEChERS Method for
Organophosphate Organochlorine Pyrethroid and Carbamate Group in
Longan by Laboratory of DOA1

4. คณะทำงาน

หัวหน้าการทดลอง	นางเนาวรัตน์ ตั้งมั่นคงวรกุล	สำนักวิจัยและพัฒนาการเกษตร เขตที่ 1
ผู้ร่วมงาน	นางนงพงา โอลเสน	สำนักวิจัยและพัฒนาการเกษตร เขตที่ 1

5. บทคัดย่อ

การวิเคราะห์สารพิษตกค้างในปัจจุบันมีหลายวิธี วิธี QuEChERS เป็นวิธีหนึ่งที่มีจุดเด่น คือ รวดเร็ว ง่าย ประหยัด มีประสิทธิภาพ ทนทาน และปลอดภัย การนำวิธีนี้มาใช้ในการวิเคราะห์สารพิษตกค้างกลุ่มออร์กาโนฟอสเฟต (organophosphate) ออร์กาโนคลอรีน (organochlorine) ไพรีทรอยด์ (pyrethroid) และคาร์บาเมต (carbamate) ในลำไย โดยทำการทดสอบด้วยเครื่องมือเครื่องแก๊สโครมาโตกราฟีชนิดแมสสเปกโตรเมตรี (GC/MS/MS) และเครื่องลิควิดโครมาโตกราฟีชนิดแมสสเปกโตรเมตรี (LC/MS/MS) จำเป็นต้องทำการทดสอบความใช้ได้ของวิธี เพื่อให้เกิดความเชื่อมั่นในความถูกต้องและแม่นยำของผลการทดสอบโดยทดสอบ 9 พารามิเตอร์ คือ ช่วงของการวัด ความเป็นเส้นตรง ความแม่นยำ ความเที่ยง ซีดจำกัดของการตรวจพบ ซีดจำกัดของการวัดเชิงปริมาณ ความจำเพาะเจาะจง ความคงทนต่อการเปลี่ยนแปลงสถานะของการทดสอบ จากการทดสอบสารกลุ่มออร์กาโนฟอสเฟต (organophosphate) ออร์กาโนคลอรีน (organochlorine) และไพรีทรอยด์(pyrethroid) พบว่า เป็นวิธีที่มีความจำเพาะเจาะจง (specificity) ไม่มีความคงทนต่อการลดเวลาในการหมუნเหวี่ยงครั้งแรกเป็น 3 นาที และที่ระดับความเข้มข้น 0.5 มิลลิกรัม/กิโลกรัม สารส่วนใหญ่มีคุณสมบัติของ reproducibility ภายใต้สภาวะการทดสอบปกติ (ruggedness) โดยเปลี่ยนผู้วิเคราะห์ และสามารถวิเคราะห์ตัวอย่างลำไยสดได้อย่าง

ถูกต้อง (accuracy) และแม่นยำ (precision) ในช่วงความเข้มข้นของ LOQ ส่วนการทดสอบสารกลุ่มคาร์บาเมต (carbamate) พบว่า วิธีที่มีความจำเพาะเจาะจง (specificity) มีความถูกต้องแม่นยำโดยเฉพาะที่ระดับความเข้มข้น 0.005 มิลลิกรัม/กิโลกรัม มีความคงทนต่อการลดเวลาในการหมุนเหวี่ยงครั้งแรกเป็น 3 นาที และที่ระดับความเข้มข้น 0.05 มิลลิกรัม/กิโลกรัม สารส่วนใหญ่มีคุณสมบัติของ reproducibility ภายใต้สภาวะการทดสอบปกติ (ruggedness) โดยเปลี่ยนผู้วิเคราะห์ และสามารถวิเคราะห์ตัวอย่างลำไยสดได้อย่างถูกต้อง (accuracy) และแม่นยำ (precision) ในช่วงความเข้มข้นของ LOQ

Abstract

Nowadays multi-residues method for pesticides residues determination are several methods. The advantages of the QuEChERS method are quick, easy, cheap, effective rugged and safe. Usage of the method to analysis of organophosphate, organochlorine, pyrethroid and carbamate group in longan by GC/MS/MS and LC/MS/MS must validates to give confidence of the accuracy and precision with testing 9 parameters (range, linearity, accuracy, precision, limit of detection, limit of quantitation, specificity, robustness and ruggedness). The result of testing in the organophosphate, organochlorine and pyrethroid group is find that the method have specificity but not rugged to reduce the first step of spinning time (3 minutes) when use the centrifuge at the concentration of 0.5 mg/kg. Most substances have the reproducibility and ruggedness by changing the analyst and able to analysis the fresh longan samples with the accuracy and precision at LOQ. For carbamate group, the result find that the method has specificity, accuracy and precision at the concentration of 0.005 mg/kg, rugged to reduce the first step of spinning time (3 minutes) when use the centrifuge at the concentration of 0.05 mg/kg. Most substances have the reproducibility and ruggedness by changing the analyst and able to analysis the fresh longan samples with the accuracy and precision at LOQ.

6. คำนำ

ลำไยเป็นผลไม้ส่งออกที่สำคัญของประเทศไทย ในปี 2557 มีปริมาณการส่งออกลำไยสด 357,185 ตัน คิดเป็นมูลค่า 7,934 ล้านบาท ปัญหาการตกค้างของวัตถุอันตรายทางการเกษตรเป็นปัญหาหนึ่งที่ทำให้เกิดความสนใจในเรื่องความปลอดภัยของผู้บริโภค และก่อให้เกิดการกีดกันทางการค้า การวิเคราะห์สารตกค้างในปัจจุบันมีการใช้เทคนิคในการวิเคราะห์ต่างๆ เช่น

เทคนิคที่ใช้ในการวิเคราะห์สารพิษตกค้างมีหลายวิธี ได้แก่ เทคนิคการตรวจหาการเปลี่ยนสีของสาร (colorimetric) เป็นการใส่สารที่สามารถทำปฏิกิริยากับสารที่ต้องการวิเคราะห์เพื่อให้เกิดสีได้ วิธีนี้สามารถใช้ในภาคสนามได้ในรูปแบบของชุดน้ำยา เช่น ชุดน้ำยาตรวจสอบยาฆ่าแมลง/สารพิษตกค้าง "จีที" (GT-Pesticide residual test kit) ชุดทดสอบสารพิษตกค้าง (pesticides residue test kit, PR) และ ชุดตรวจสอบสารพิษตกค้างในผักผลไม้ TM kit เป็นต้น ส่วนวิธีการทดสอบโดยใช้เครื่องมือโครมาโตกราฟี ได้แก่ ลิกวิดโครมาโตกราฟีสมรรถนะสูง (high performance liquid chromatography) และ ก๊าซโครมาโตกราฟี (gas

chromatography) เป็นวิธีที่มีความแม่นยำสูง สามารถตรวจวัดในระดับมิลลิกรัมต่อกิโลกรัม หรือต่ำกว่า นอกจากนี้ยังมีการใช้วิธีทางเคมีไฟฟ้า (electrochemical technique) ในการวิเคราะห์สารป้องกันกำจัดศัตรูพืช

การแบ่งส่วนด้วยของเหลว (liquid-liquid partition) เป็นวิธีที่เหมาะสมสำหรับสกัดสารที่อยู่ในเมทริกซ์ที่มีความแตกต่างของความมีขี้ ใน การสกัดสารป้องกันกำจัดศัตรูพืชวิธี multi-residues สารละลายที่ใช้กันแพร่หลาย เช่น อะซิโตน และอะซิโตนไนไตรล์ สารทั้งสองสามารถผสมเข้ากับน้ำได้ ข้อดีของอะซิโตนไนไตรล์ คือ กำจัดไขมันและแว็กซ์ที่อยู่ในเมทริกซ์ของพืชได้ดี แต่ข้อเสียคือมีความพิษสูงและราคาแพง ส่วนอะซิโตนสามารถละลายสารป้องกันกำจัดศัตรูพืชได้หลายชนิด แต่มีจุดเดือดต่ำ (56.5 องศาเซลเซียส) และทำให้เกิดความผิดพลาดเชิงปริมาณ จึงมักใช้ในการสกัดแบบแบ่งส่วน (partition) ร่วมกับไดคลอโรมีเทน (J.Takel and S.Hatrik, 1996)

การสกัดด้วยของแข็ง (solid phase extraction) เป็นเทคนิคที่ง่ายในการทำให้สารบริสุทธิ์และลดปริมาณการใช้ตัวทำละลายอินทรีย์ (A.Balinova et al., 2007) ตัวดูดซับที่ใช้กัน เช่น non-polar octadecyl (C18), primary secondary amine (PSA) และ amminopropyl (NH₂) เป็นต้น การสกัดด้วยของแข็งสำหรับสกัดสารป้องกันกำจัดศัตรูพืชมักทำใน normal phase mode

การใช้วิธี QuEChERS มีการพัฒนาอย่างต่อเนื่องเพื่อใช้ในการสกัดสารป้องกันกำจัดศัตรูพืชในวิธีวิเคราะห์แบบ multi-residues เช่น ในการหาปริมาณสารป้องกันกำจัดศัตรูพืช 115 ชนิดในส้มด้วย LC-MS/MS ร่วมกับการใช้วิธี QuEChERS มีการใช้ของอะซิโตนไนไตรล์ร่วมกับ primary secondary amine (PSA) ในการสกัดตัวอย่างส้ม (O.Golge and B.Kabak, 2015) การพัฒนาและทดสอบความใช้ได้ของวิธีวิเคราะห์ 3 สารป้องกันกำจัดศัตรูพืช 128 ชนิดในกล้วยด้วยวิธี QuEChERS ร่วมกับการใช้ UHPLC-MS/MS จากการทดลองพบว่าวิธีนี้มีความเป็นเส้นตรง (linearity) ในช่วงความเข้มข้น 10.0-100 ไมโครกรัมต่อกิโลกรัม สารป้องกันกำจัดศัตรูพืชส่วนใหญ่มีขีดจำกัดของการตรวจพบ (limit of detection, LOD) เท่ากับ 5.00 ไมโครกรัมต่อกิโลกรัม และขีดจำกัดของการวัดเชิงปริมาณ (limit of quantitation, LOQ) เท่ากับ 10.0 ไมโครกรัมต่อกิโลกรัม ยกเว้น fenamiphos and mevinphos (R.P.Carneiro, et al., 2007)

ดังนั้น เพื่อให้ได้วิธีการที่เป็นมาตรฐานในการตรวจวิเคราะห์สารกลุ่มออร์กาโนฟอสเฟต (organophosphate) ออร์กาโนคลอรีน (organochlorine) และไพรีทรอยด์ (pyrethroid) คาร์บาเมต (carbamate) ในลำไย สำนักวิจัยและพัฒนาการเกษตรเขตที่ 1 จึงทำการตรวจสอบความใช้ได้ของวิธีวิเคราะห์สารพิษตกค้างด้วยวิธีการ QuEChERS ของสารกลุ่มออร์กาโนฟอสเฟต (organophosphate) ออร์กาโนคลอรีน (organochlorine) และไพรีทรอยด์(pyrethroid) คาร์บาเมต (carbamate) ในลำไย เพื่อใช้เป็นข้อมูลในการขยายขอบข่ายการรับรองความสามารถห้องปฏิบัติการตามมาตรฐาน ISO/IEC 17025:2005 นอกจากนี้ยังเป็นการยกระดับห้องปฏิบัติการให้ได้ตามมาตรฐานสากล มีผลการวิเคราะห์ที่มีความถูกต้อง แม่นยำ น่าเชื่อถือ และสามารถตรวจย้อนกลับได้

7. วิธีดำเนินการ

- สารเคมี

1. อะซิโตนไนไตรล์ (acetonitrile) เกรด AR และ PR
2. แมกนีเซียมซัลเฟต

3. โซเดียมคลอไรด์
4. ไตรโซเดียมซิเตรท
5. ไดโซเดียมซิเตรท
7. แมกนีเซียมซัลเฟต
6. Dispersive SPE ชนิด primary second amine (PSA) 25 มิลลิกรัม
7. แก๊สไนโตรเจน เกรด ultra high purity (UHP)
8. แก๊สไนโตรเจน เกรด ultra high purity (HP)
9. แก๊สฮีเลียม เกรด ultra high purity (UHP)
10. สารมาตรฐานกลุ่มออร์กาโนฟอสเฟต (organophosphate) ออร์กาโนคลอรีน (organochlorine) ไพรีทรอยด์(pyrethroid) และคาร์บาเมต (carbamate)
11. เอธิลอะซิเตต (ethyl acetate)

- อุปกรณ์

1. เครื่องแก๊สโครมาโตกราฟีชนิดแมสสเปกโตรเมตรี (GC/MS/MS)
2. เครื่องลิควิดโครมาโตกราฟีชนิดแมสสเปกโตรเมตรี (LC/MS/MS)
3. เครื่องหมุนเหวี่ยง (centrifuge)
4. เครื่องชั่งไฟฟ้า 2 ตำแหน่ง
5. เครื่องระเหยด้วยไนโตรเจน (nitrogen evaporator)
6. เครื่องบดตัวอย่าง
7. ปิเปตต์ ขนาด 1-10 ไมโครลิตร และ 100-1000 ไมโครลิตร
8. เครื่องดูดจ่ายสารละลาย (dispenser) ขนาด 10-50 มิลลิลิตร
9. หลอดสำหรับใช้กับเครื่องหมุนเหวี่ยง (centrifuge) ขนาด 50 มิลลิลิตร และ 2 มิลลิลิตร
10. ขวดวัดปริมาตร (volumetric flask) ขนาด 10 มิลลิลิตร

7.1 การเตรียมสารเคมี

7.1.1 การเตรียมสารมาตรฐาน ใช้ตัวทำละลายที่เกรด PR หรือ ultra residue สำหรับการวิเคราะห์ด้วยเครื่องแก๊สโครมาโตกราฟีชนิดแมสสเปกโตรเมตรี (GC/MS/MS) หรือ HPLC grade สำหรับการวิเคราะห์ด้วยเครื่องลิควิดโครมาโตกราฟีชนิดแมสสเปกโตรเมตรี (LC/MS/MS)

7.1.1.1 Stock standard solution ความเข้มข้น 1,000 มิลลิกรัม/ลิตร

ชั่งสารมาตรฐานที่เป็น Primary Standard ให้ได้น้ำหนักเนื้อสาร 10 mg โดยประมาณใส่ลงในขวดวัดปริมาตร (volumetric flask) ขนาด 10 มิลลิลิตร เติมเอธิลอะซิเตต (ethyl acetate) ลงในขวดวัดปริมาตรที่ล้นแล้วเขย่าจน Primary Standard ละลายหมด จากนั้นเติมเอธิลอะซิเตตจนถึงขีดบอกปริมาตร เขย่าให้เข้ากัน ถ่ายสารละลายใส่ขวดฝาเกลียว ปิดให้แน่น ชิดเส้นระบุปริมาตรของสารละลาย ติดฉลากระบุชื่อสาร Batch Number ความเข้มข้น วันที่เตรียม ชื่อผู้เตรียม ตัวทำละลายที่ใช้ และวันหมดอายุ เก็บที่อุณหภูมิ -

15± 5 องศาเซลเซียส ความเข้มข้นของสารมาตรฐานคำนวณตามสูตรการคำนวณหาหน้าหนึ่งของสารมาตรฐานจาก ซึ่งสารมาตรฐาน (ภาคผนวก)

7.1.1.2 Mixed intermediate standard solution ความเข้มข้น 10 มิลลิกรัม/ลิตร

7.1.1.2.1 ใช้ปิเปตดูด stock standard solution ของแต่ละสารในปริมาณที่คำนวณตามสูตรการคำนวณหาความเข้มข้นของสารละลายมาตรฐาน (ในภาคผนวก) ใส่ลงในขวดวัดปริมาตร ขนาด 25 มิลลิลิตร ปรับปริมาตรด้วยเอทิลอะซิเตต เขย่าให้เป็นเนื้อเดียวกัน

7.1.1.2.2 ถ่ายสารละลายที่ได้เก็บไว้ในขวดขนาดใหญ่กว่าปริมาตรของสารละลายเล็กน้อยพันระหว่างฝาขวดกับตัวขวดให้แน่นด้วยพาราฟิล์ม พร้อมติดป้ายและซีตระดับสารละลายไว้ข้างขวด เก็บรักษาไว้ในตู้เย็นอุณหภูมิ 15± 5 องศาเซลเซียส

7.1.1.3 Mixed intermediate standard solution

7.1.1.3.1 ใช้ปิเปตดูด mixed intermediate standard solution ในปริมาณที่คำนวณตามสูตรการคำนวณหาความเข้มข้นของสารละลายมาตรฐาน (ในภาคผนวก) ใส่ลงในขวดวัดปริมาตร ขนาด 10 มิลลิลิตร ปรับปริมาตรด้วยเอทิลอะซิเตต เขย่าให้เป็นเนื้อเดียวกัน

7.1.1.3.2 ถ่ายสารละลายที่ได้เก็บไว้ในขวดขนาดใหญ่กว่าปริมาตรของสารละลายเล็กน้อยพันระหว่างฝาขวดกับตัวขวดให้แน่นด้วยพาราฟิล์ม พร้อมติดป้ายและซีตระดับสารละลายไว้ข้างขวด เก็บรักษาไว้ในตู้เย็นอุณหภูมิ 15± 5 องศาเซลเซียส

7.1.1.4 Calibration curve แบบ matrix-matched calibration standard

7.1.1.4.1 สกัดตัวอย่าง sample blank ที่ปราศจากสารตกค้างตามขั้นตอนการสกัดข้อ 7.2.2 จะได้สารละลาย longan matrix solution ที่ความเข้มข้น 0.005 0.01 0.05 0.5 และ 0.1 ppm เก็บสารละลายที่ได้รวมกันในขวดแก้วสีชาฝาเกลียว

7.1.1.4.2 ปิเปต mixed working standard solution ในปริมาณที่คำนวณตามสูตรการคำนวณหาความเข้มข้นของสารละลายมาตรฐาน (ในภาคผนวก) เติม matrix solution จนมีปริมาณรวมเท่ากับ 1000 ไมโครลิตร ใส่ลงในขวดปิดฝาเขย่าให้เข้ากัน นำไปฉีดเข้าเครื่องมือวิเคราะห์

7.2 วิธีการทดสอบ

7.2.1 การเตรียมตัวอย่างทดสอบ นำตัวอย่างแกะเอากิ่งและใบออก จากนั้นผ่ากลางลูกแยกเมล็ดออก เอาเนื้อครึ่งซีกของลูกทุกลูกมาปั่นเป็นชิ้นเล็กๆ ด้วยเครื่องบดให้ละเอียด กรณีไม่สามารถเตรียมตัวอย่างในวันเดียวกับที่รับตัวอย่าง ให้เก็บในตู้เย็นอุณหภูมิ 0 - 10 °C เป็นเวลา ไม่เกิน 3 วัน

7.2.2 การการสกัดตัวอย่าง

7.2.2.1 ชั่งตัวอย่างลำไยบดละเอียดหนัก 10.00 ± 0.1 กรัม ด้วยเครื่องชั่งไฟฟ้า 2 ตำแหน่ง ใส่ลงในหลอดสำหรับใช้กับเครื่องหมุนเหวี่ยง (centrifuge tube) ขนาด 50 มิลลิลิตร

7.2.2.2 เติม acetonitrile (AR grade) 10 mL ปิดฝาให้แน่น เขย่าด้วยมือแรงๆ ประมาณ 1 นาที

7.2.2.3 เติมแมกนีเซียมซัลเฟต ($MgSO_4$) 4 กรัม โซเดียมคลอไรด์ (NaCl) 1 กรัม ไตรโซเดียมซิเตรท 1 กรัม ไดโซเดียมซิเตรท 0.5 กรัม ตามลำดับ ปิดฝาให้แน่น เขย่าด้วยมือแรงๆ ประมาณ 1 หมุนเหวี่ยงให้ตกตะกอนด้วยเครื่องหมุนเหวี่ยงประมาณ 3,500 RCF เป็นเวลา 5 นาที

7.2.2.4 เติม PSA 25 มิลลิกรัม และ แมกนีเซียมซัลเฟต 150 มิลลิกรัม ในหลอดหมุนเหวี่ยงขนาด 2 มิลลิลิตร จากนั้นดูดสารละลายส่วนใสในข้อ 7.2.2.3 มาใส่ 1 มิลลิลิตร เขย่าด้วย Vortex mixer เป็นเวลาอย่างน้อย 30 วินาที

7.2.2.5 นำไปหมุนเหวี่ยงให้ตกตะกอนด้วยเครื่องหมุนเหวี่ยงประมาณ 3,500 RCF เป็นเวลา 5 นาที

7.2.2.6 ดูดสารละลายส่วนใสในข้อ 7.2.2.5 มาใส่ 0.5 มิลลิลิตร ใส่ลงใน vial ขนาด 2 มิลลิลิตร ระเหยเอาตัวทำละลายออกโดยใช้เครื่องระเหยด้วยไนโตรเจน (nitrogen evaporator) เติมเอธิลอะซิเตต (ethyl acetate) 0.5 มิลลิลิตร นำไปวิเคราะห์ด้วยเครื่องแก๊สโครมาโตกราฟีชนิดแมสสปีคเตเตอร์ (GC/MS/MS)

7.2.2.6 ดูดสารละลายส่วนใสในข้อ 7.2.2.5 มาใส่ 1 มิลลิลิตร ใส่ลงใน vial ขนาด 2 มิลลิลิตร ระเหยเอาตัวทำละลายออกโดยใช้เครื่องระเหยด้วยไนโตรเจน (nitrogen evaporator) เติมเมทานอล 1 มิลลิลิตร นำไปวิเคราะห์ด้วยเครื่องลิควิดโครมาโตกราฟีชนิดแมสสปีคเตเตอร์ (LC/MS/MS)

7.2.3 การทดสอบด้วยเครื่องแก๊สโครมาโตกราฟีชนิดแมสสปีคเตเตอร์ (GC/MS/MS) ตั้งค่าสภาวะของเครื่องดังนี้

7.2.3.1 Quench Gas : Helium Flow Rate 2.5ml/min

7.2.3.2 Collision Gas : Nitrogen Flow Rate 1.5 ml/min

7.2.3.3 Temperature Condition : Inlet 280 °C

7.2.3.4 Injection Mode : Splitless

7.2.3.5 Inject Volume 2 μ l

7.2.3.6 Column HP – 5MS UI ขนาดยาว 15 m, diameter 0.25 mm, film thickness 0.25 μ m ต่อกัน 2 column

7.2.3.7 Oven Programme Temperature;

Initial Temp : 60°C hold 1 min

Rate : 40°C /min to 170°C hold 0 min

Rate : 10°C /min to 310 °C hold 3 min

7.2.3.8 Column flow 1.011 ml/min

7.2.3.9 Source Temperature 300 °C

Quad.1 Temperature 150 °C

Quad.2 Temperature 150 °C

7.2.3.10 Ionization Mode EI+

7.2.4 การทดสอบความใช้ได้ของวิธีในการวิเคราะห์ ทำการทดสอบสารมาตรฐานกลุ่มออร์กาโนฟอสเฟต (organophosphate) ออร์กาโนคลอรีน (organochlorine) และไพรีทรอยด์(pyrethroid) ด้วยเครื่องแก๊สโครมาโตกราฟีชนิดแมสสปีคโตร (GC/MS/MS) ส่วนสารมาตรฐานกลุ่มคาร์บาเมต (carbamate) ทำการทดสอบด้วยลิควิดโครมาโตกราฟีชนิดแมสสปีคโตร (LC/MS/MS) โดยทดสอบพารามิเตอร์ ดังนี้

7.2.4.1 ทดสอบช่วงของการวัด (range)

7.2.4.2 ทดสอบความเป็นเส้นตรง (linearity)

7.2.4.3 ตรวจสอบความแม่นยำ (accuracy)

7.2.4.4 ตรวจสอบความเที่ยง (precision)

7.2.4.5 หาขีดจำกัดของการตรวจพบ (limit of detection, LOD)

7.2.4.6 หาขีดจำกัดของการวัดเชิงปริมาณ (limit of quantitation, LOQ)

7.2.4.7 ทดสอบความจำเพาะเจาะจง (specificity)

7.2.4.8 ทดสอบความคงทนต่อการเปลี่ยนแปลงสถานะของการทดสอบ (robustness)

7.2.4.9 ทดสอบคุณสมบัติของ Reproducibility ของการทดสอบ ภายใต้สภาวะการทดสอบปกติ (ruggedness) โดยเปลี่ยนผู้ทดสอบ

เวลาและสถานที่ ดำเนินการตั้งแต่ ตุลาคม 2558–กันยายน 2560 ที่ห้องปฏิบัติการกลุ่มพัฒนาการตรวจสอบพืชและปัจจัยการผลิต สวพ.1

8. ผลการทดลองและวิจารณ์

8.1 การทดสอบความใช้ได้ของวิธีในการวิเคราะห์ สารมาตรฐานกลุ่มออร์กาโนฟอสเฟต (organophosphate) ออร์กาโนคลอรีน (organochlorine) และไพรีทรอยด์(pyrethroid) ในการทดลองได้ มีการทดสอบ 9 พารามิเตอร์ในลำไยสดด้วยวิธีการ QuEChERs คือ ช่วงของการวัด (range) ความเป็นเส้นตรง (linearity) ความแม่นยำ (accuracy) ความเที่ยง (precision) ขีดจำกัดของการวัดเชิงปริมาณ (limit of quantitation, LOQ) ขีดจำกัดของการตรวจพบ (limit of detection, LOD) ความจำเพาะเจาะจง (specificity) ความคงทนต่อการเปลี่ยนแปลงสถานะของการทดสอบ (robustness) คุณสมบัติของ Reproducibility ของการทดสอบ ภายใต้สภาวะการทดสอบปกติ (ruggedness) โดยเปลี่ยนผู้ทดสอบ ส่วนสารมาตรฐานที่ใช้ คือ ออร์กาโนฟอสเฟต (organophosphate) ออร์กาโนคลอรีน (organochlorine) ไพรีทรอยด์ (pyrethroid) และคาร์บาเมต (carbamate)

8.1.1 การทดสอบช่วงของการวัด (range)

จากการทดสอบ reagent blank และ fortified sample ในความเข้มข้น 6 ระดับของสารพิษตกค้าง 40 ชนิด ดังแสดงในตารางที่ 1 โดยระดับความเข้มข้นตั้งแต่ 0.005 ถึง 2.0 mg/kg ความเข้มข้นละ 1 ซ้ำ ผลการตรวจสอบ range อยู่ในช่วง 0.005 - 2.00 mg/ kg

ตารางที่ 1 ชนิดสารที่ทดสอบ retention time, precursor ion และ product ion

Pesticides	Retention Time	Precursor ion	Product ion	
Methamidophos	4.5818	95	64	79
Dichlorvos	4.679	184.9		93
		144.9		109
Mevinphos	5.61	127		95
		192		127
Acephate	5.6582	142		96
		124.9		47
Omethoate	6.7499	155.9	79	110
Dicrotofos	7.2506	127		95
		193		127.1
Monocrotophos	7.3066	127.1		95
		97		82
Phorate	7.5041	121		47
		128.9		65
Dimethoate	7.7913	92.9		63
		86.9		86
Diazinon	8.285	137.1		54
		199.1		93
Parathion-methyl	9.139	125		47
Chlorpyrifos-methyl	9.1429	124.9		78.9
		285.9		92.9
Pirimiphos-methyl	9.5836	232.9	125	151
Fenitrothion	9.5871	125.1		79
		277		260.1
Malathion	9.7287	172.9		99
		157.8		125
Chlorpyrifos	9.9536	198.9		171
		313.8		257.8
Parathion	9.9717	290.9	81	109
		138.9		81
Pirimiphos	10.282	318.1	84	182
		152.1		84
Procymidone	10.8364	96		53.1
		282.8		96
Methidathion	10.9998	144.9	58	58.1
		85		58
alpha - endosulfan	11.2638	194.9	125	160
Prothiofos	11.4855	266.9		239
		308.9		238.9
Profenofos	11.5333	338.8		268.7
		296.8		268.7

Pesticides	Retention Time	Precursor ion	Product ion	
beta -endosulfan	12.2651	194.9	124.9	158.9
Ethion	12.4242	124.9		96.9
		230.9		175
Triazophos	12.6433	161.2	91	106.1
Endosulfan sulfate	13.0214	273.8	236.9	238.9
Phosmet	13.8985	160	105	133.1
Bifenthrin	13.9129	181.2		165.2
		166.2		165.2
EPN	13.9356	169		77.1
		185		157.1
Phosalone	14.5762	182	75.1	102.1
Azinphos-methyl	14.6031	132		77.1
		160		77.1
Cyhalothrin (lambda)	14.68	197		141
		181.1		152
Azinphos	15.2138	160	77.1	132.1
Permethrin I	15.6016	183.1	153.1	165.1
Permethrin II (trans)	15.7257	182.9		168.1
		162.9		91.1
Coumaphos	15.8532	361.9		109
		225.9		163.1
Cyfluthrin I	16.1715	162.9		127
		198.9		170.1
Cyfluthrin II	16.2527	162.9		127
		198.9		170.1
Cyfluthrin III	16.2543	162.9		127
		198.9		170.1
Cyfluthrin IV	16.3669	162.9		127
		198.9		170.1
Cypermethrin I	16.4834	163		127
		164.9		91
Cypermethrin II	16.5689	163.1		91
		165.1		91.1
Cypermethrin III	16.6536	163		127
		164.9		91
Cypermethrin IV	16.68	163.1		91
		165.1		91.1
Fenvalerate	17.4061	208.9		141.1
		181		152.1
Deltamethrin	18.1167	181		152.1
		250.7		172

8.1.2 การทดสอบความเป็นเส้นตรง (linearity)

เมื่อทดสอบ reagent blank และ fortified sample ในความเข้มข้น 6 ระดับ ที่ระดับความเข้มข้นตั้งแต่ 0.005 ถึง 1.0 mg/kg ความเข้มข้นละ 3 ซ้ำ แล้วนำค่าความเข้มข้นของ fortified sample และค่าของพื้นที่ใต้พีค มาสร้างกราฟแสดงความสัมพันธ์เชิงเส้น คำนวณค่า correlation coefficient (r)

เพื่อทดสอบ linearity ผลการทดสอบดังตารางที่ 2 ค่า r ของสารที่ทดสอบเกือบทั้งหมดมีค่ามากกว่า 0.995 ยกเว้น omethoater= 0.989, acephater= 0.9932 นั่นคือ การทดสอบ linearity ของสารที่ทดสอบเกือบทั้งหมดนี้ผ่านเกณฑ์ที่กำหนด ยกเว้น omethoater และ acephater

ตารางที่ 2 แสดงชนิดของสาร range และ ค่า correlation coefficient (r)

สาร	Range (ppm)	Correlation coefficient (r)	สาร	Range (ppm)	Correlation coefficient (r)
Acephate	0.005 - 1.0	0.9932	Fenitrothion	0.005 - 2.0	0.9993
Azinphos	0.005 - 1.0	0.9960	Fenvalerate	0.005 - 2.0	0.9959
Azinphos-methyl	0.005 - 1.0	0.9988	Malathion	0.005 - 2.0	0.9977
Bifenthrin	0.005 - 1.0	0.9993	Methamidophos	0.005 - 2.0	0.9959
Chlorpyrifos	0.005 - 1.0	0.9999	Methidathion	0.005 - 2.0	0.9960
Chlorpyrifos-methyl	0.005 - 1.0	0.9983	Mevinphos	0.005 - 2.0	0.9982
Coumaphos	0.005 - 1.0	0.9981	Monocrotophos	0.005 - 2.0	0.9960
Cyfluthrin	0.005 - 1.0	0.9981	Omethoate	0.005 - 2.0	0.9890
Cyhalothrin(lambda)	0.005 - 1.0	0.9958	Parathion	0.005 - 2.0	0.9972
Cypermethrin	0.005 - 1.0	0.9970	Parathion-methyl	0.005 - 2.0	0.9984
Deltamethrin	0.005 - 1.0	0.9976	Permethrin	0.005 - 2.0	0.9998
Diazinon	0.005 - 1.0	0.9997	Phorate	0.005 - 2.0	0.9999
Dichlorvos	0.005 - 1.0	0.9996	Phosalone	0.005 - 2.0	0.9972
Dicrotofos	0.005 - 1.0	0.9958	Phosmet	0.005 - 2.0	0.9962
Dimethoate	0.005 - 1.0	0.9969	Pirimiphos	0.005 - 2.0	0.9999
alpha-endosulfan	0.005 - 1.0	0.9998	Pirimiphos-methyl	0.005 - 2.0	0.9998
beta-endosulfan	0.005 - 1.0	0.9998	Procymidone	0.005 - 2.0	0.9996
Endosulfan sulfate	0.005 - 1.0	0.9970	Profenofos	0.005 - 2.0	0.9972
EPN	0.005 - 1.0	0.9997	Prothiofos	0.005 - 2.0	0.9999
Ethion	0.005 - 1.0	0.9996	Triazophos	0.005 - 2.0	0.9958

8.1.3 การทดสอบความแม่นยำ (accuracy)

เมื่อใช้ fortified sample ที่มีปริมาณสาร 4 ระดับ คือ ในช่วง 0.01 ถึง 0.5mg/kg ความเข้มข้นละ 10 ซ้ำ เพื่อประเมิน accuracy จาก% recovery โดยใช้เกณฑ์กำหนดของ AOAC Peer-Verified Method ที่ความเข้มข้น 0.01mg/kg %recovery จะเท่ากับ 60-115% และที่ 0.5mg/kg % recovery จะเท่ากับ 80-110 % ผลการทดสอบดังตารางที่ 2

สรุปผลการตรวจสอบ accuracy ของวิธีวิเคราะห์นี้ได้ดังนี้

1. %Recoveryของสารพิษตกค้างในลำไยสดที่ระดับต่ำ 0.01 mg/kg อยู่ในช่วง 65-115 %

2. %Recoveryของสารพิษตกค้างในลำไยสดที่ระดับต่ำ 0.05 mg/kg อยู่ในช่วง 65-115 %
3. %Recovery ของสารพิษตกค้างในลำไยสดที่ระดับกลาง 0.1 mg/kg อยู่ในช่วง 80 -110%
4. %Recovery ของสารพิษตกค้างในลำไยสดที่ระดับสูง 0.5 mg/kg อยู่ในช่วง 84-106%

ดังนั้น accuracy ของวิธีทดสอบที่ระดับความเข้มข้น 3 ระดับ คือ ระหว่าง 0.01 ถึง 0.5mg/kg อยู่ในเกณฑ์มาตรฐานและสามารถยอมรับได้ จำนวน 12 สาร ได้แก่ Dichlorvos, Mevinphos, Dicrotofos, Monocrotophos, Dimethoate, Malathion, Chlorpyrifos, Procymidone, beta-endosulfan, Endosulfan sulfate, Bifenthrin และ Phosalone

ตารางที่ 2 แสดงค่า% recovery ที่ระดับความเข้มข้น 0.01, 0.05 และ 0.5 mg/kg (10 ซ้ำ)

Pesticides	Percentage of Recovery		
	0.01 ppm	0.05 ppm	0.5 ppm
Methamidophos	92.39	74.74	82.10
Dichlorvos	91.47	86.44	87.50
Mevinphos	90.86	93.25	97.44
Acephate	18.72	74.81	94.50
Omethoate	84.92	82.78	112.60
Dicrotofos	79.26	93.38	105.39
Monocrotophos	114.93	93.54	100.63
Phorate	144.13	100.69	89.40
Dimethoate	109.07	95.16	95.66
Diazinon	118.51	99.66	91.57
Chlorpyrifos-methyl	139.42	99.66	94.75
Parathion-methyl	145.42	99.75	94.35
Pirimiphos-methyl	130.87	100.60	91.30
Fenitrothion	145.68	98.45	93.82
Malathion	110.30	94.82	102.44
Chlorpyrifos	108.72	96.16	91.95
Parathion	224.52	113.79	97.34
Pirimiphos-ethyl	147.46	100.29	92.67
Procymidone	106.74	98.87	92.63
Methidathion	159.59	100.70	97.00
alpha-Endosulfan	119.43	97.86	86.04
Prothiofos	120.48	92.31	89.77
beta-Endosulfan	110.83	95.93	96.39

Ethion	145.66	97.92	96.50
Triazophos	148.58	99.93	102.84
Endosulfan sulfate	113.42	96.20	98.41
Bifenthrin	101.86	92.81	94.68
phosmet	145.69	92.31	105.83
EPN	248.48	100.61	99.43
Phosalone	95.01	88.79	103.05
Azinphos-methyl	190.00	92.94	108.80
Cyhalothrin (lambda)	83.78	77.30	116.72
Azinphos-ethyl	161.19	95.82	108.66
Permethrin	35.68	84.84	100.19
Coumaphos	69.18	83.72	117.85
Cyfluthrin	15.92	83.68	125.69
Cypermethrin	309.90	32.92	119.50
Fenvalerate	2.10	78.52	121.57
Deltamethrin	0.00	65.78	159.05

8.1.4 การทดสอบความเที่ยง (precision)

เมื่อใช้ fortified sample ที่มีปริมาณสาร 3 ระดับในช่วง 0.01 ถึง 0.5 mg/kg ความเข้มข้นละ 10 ซ้ำ ประเมินโดยใช้ค่า %RSD และค่า HORRAT (Horwitz's Ratio) ตามเกณฑ์ %RSD ของ AOAC Peer-Verified Method, Nov. 1993 (ภาคผนวก)

ผลการทดสอบ precision ที่ระดับความเข้มข้น 3 ระดับ ในช่วง 0.01 ถึง 0.5 mg/kg แสดงในตารางที่ 3 สรุปผลการทดสอบ Precision ของวิธีทดสอบที่ระดับความเข้มข้น 3 ระดับในช่วง 0.01 ถึง 0.5 mg/kg อยู่ในเกณฑ์มาตรฐาน คือ Methamidophos, Phorate, Diazinon, Chlorpyrifos-methyl, Pirimiphos-methyl, Fenitrothion, Chlorpyrifos, Parathion, Pirimiphos-ethyl, Methidathion, alpha-Endosulfan, Prothiofos, beta-Endosulfan, Endosulfan sulfate และ Bifenthrin

ตารางที่ 3 แสดงค่า% RSD และ HORRAT ที่ระดับความเข้มข้น 0.01, 0.05 และ 0.5 mg/kg (10 ซ้ำ)

Pesticides	0.01 ppm		0.05 ppm		0.5 ppm	
	%RSD	HORRAT	%RSD	HORRAT	%RSD	HORRAT
Methamidophos	4.35	1.63	4.39	2.03	5.33	3.53
Dichlorvos	5.69	2.12	3.93	1.86	2.55	1.71
Mevinphos	3.81	1.42	4.20	2.00	3.16	2.15
Acephate	126.82	37.31	15.00	6.92	6.70	4.53
Omethoate	8.82	3.26	7.21	3.38	9.06	6.29

Pesticides	0.01 ppm		0.05 ppm		0.5 ppm	
	%RSD	HORRAT	%RSD	HORRAT	%RSD	HORRAT
Dicrotufos	12.34	4.51	8.96	4.28	16.16	11.03
Monocrotophos	12.59	4.87	7.63	3.64	5.09	3.50
Phorate	3.49	1.39	3.88	1.87	2.18	1.46
Dimethoate	3.19	1.22	4.64	2.22	2.90	1.97
Diazinon	2.29	0.89	3.85	1.86	2.02	1.36
Chlorpyrifos-methyl	1.76	0.70	3.82	1.84	2.23	1.51
Parathion-methyl	1.89	0.76	4.20	2.02	2.57	1.74
Pirimiphos-methyl	2.27	0.89	3.57	1.72	2.12	1.43
Fenitrothion	1.92	0.77	3.86	1.86	2.56	1.73
Malathion	2.50	0.96	4.22	2.02	2.56	1.75
Chlorpyrifos	3.43	1.32	3.92	1.88	2.31	1.55
Parathion	1.92	0.82	3.74	1.84	2.35	1.59
Pirimiphos-ethyl	1.99	0.80	3.69	1.78	2.06	1.39
Procymidone	7.57	2.89	4.17	2.01	2.14	1.44
Methidathion	1.49	0.60	4.04	1.95	2.65	1.80
alpha-Endosulfan	2.85	1.11	3.58	1.72	2.40	1.60
Prothiofos	2.93	1.14	3.56	1.70	2.32	1.56
beta-Endosulfan	2.52	0.97	3.15	1.35	2.67	1.83
Ethion	2.07	0.83	4.38	2.10	2.41	1.64
Triazophos	1.16	0.47	4.60	2.21	2.76	1.87
Endosulfan sulfate	2.95	1.14	3.36	1.62	2.57	1.76
Bifenthrin	2.72	1.03	3.98	1.91	2.24	1.52
phosmet	1.93	0.77	4.09	1.95	4.07	2.80
EPN	0.82	0.36	3.39	1.61	3.82	2.59
Phosalone	3.81	1.43	4.79	2.31	2.83	1.93
Azinphos-methyl	0.85	0.35	4.56	2.16	4.53	3.10
Cyhalothrin (lambda)	4.15	1.53	5.08	2.42	4.13	2.85
Azinphos-ethyl	2.96	1.20	5.50	2.55	3.53	2.46
Permethrin I	23.18	6.75	5.83	2.79	2.55	1.76
Permethrin	9.90	3.21	5.48	2.58	2.51	1.71
Coumaphos	10.38	3.72	8.10	3.81	4.54	3.09
Cyfluthrin	36.28	10.41	7.18	3.37	4.22	2.97
Cypermethrin	47.98	21.53	19.84	7.86	4.21	2.95
Fenvalerate	161.15	34.12	6.99	3.25	3.08	2.16
Deltamethrin	-	-	11.67	5.43	6.53	4.59

8.1.5 การทดสอบขีดจำกัดของการวัดเชิงปริมาณ (limit of quantitation, LOQ)

จากทดสอบ accuracy และ precision ของการทำ fortified samples เมื่อพิจารณาที่ระดับความเข้มข้น 3 ระดับ คือ 0.01, 0.05 และ 0.5 mg/kg ผลการทดสอบ accuracy และ precision (ตารางที่ 2 และ 4) ผ่านเกณฑ์มาตรฐานที่กำหนดที่ระดับความเข้มข้น 0.01 mg/kg คือ Methamidophos, Mevinphos, Dimethoate, Malathion, Chlorpyrifos, beta-Endosulfan, Endosulfan sulfate, Bifenthrin, Phosalone

Methamidophos	35	4	1.39	68	6	2.91	67	5	3.15
Dichlorvos	75	2	0.72	84	4	1.92	83	4	2.66
Mevinphos	49	6	1.89	89	5	2.37	91	4	2.67
Acephate	94	26	10.09	73	5	2.64	77	6	3.93
Omethoate	0	-	-	62	9	4.62	86	12	8.25
Monocrotophos	68	29	9.58	86	4	2.04	92	9	6.18
Dicrototos	4	173	-	76	7	3.37	95	9	5.91
Phorate	143	2	0.85	90	5	2.37	85	5	3.30
Dimethoate	88	1	0.45	86	5	2.40	87	6	4.32
Diazinon	104	2	0.71	91	5	2.56	87	5	3.51
Chlorpyrifos-methyl	123	2	0.67	88	5	2.56	86	6	3.79
Parathion-methyl	129	2	0.78	88	4	2.19	87	6	3.69
Pirimiphos-methyl	113	1	0.46	89	4	2.21	86	6	3.83
Fenitrothion	136	2	0.98	86	4	2.07	86	5	3.48
Malathion	17	18	5.06	86	6	3.19	93	5	3.59
Chlorpyrifos	93	2	0.75	87	5	2.51	85	6	3.67
Parathion	221	0	0.14	93	4	2.33	88	6	4.03
Pirimiphos-ethyl	131	2	0.98	89	5	2.42	86	5	3.52
Procymidone	100	4	1.47	90	5	2.80	87	5	3.48
Methidathion	116	1	0.42	88	5	2.48	91	7	4.53
alpha-endosulfan	109	2	0.84	85	5	2.64	80	5	3.15
Prothiofos	110	2	0.70	83	4	2.22	82	6	4.03
Profenofos	0	-	-	61	8	4.17	91	6	4.24
beta-endosulfan	100	4	1.39	88	6	3.09	84	6	3.82
Ethion	133	3	1.14	87	5	2.65	88	6	4.15
Triazophos	78	3	1.19	86	5	2.87	96	7	4.88
Endosulfan sulfate	52	6	1.96	86	5	2.83	86	6	3.99
phosmet	86	4	1.33	76	8	4.28	89	8	5.65
Bifenthrin	78	2	0.68	85	6	3.36	86	6	4.07
EPN	223	2	0.66	78	4	2.26	84	8	5.21
Phosalone	28	31	9.01	79	7	3.51	93	7	4.60
Azinphos-methyl	101	2	0.82	72	8	4.19	95	9	6.31
Cyhalothrin (lambda)	0	-	-	70	10	5.16	94	8	5.61
Azinphos-ethyl	114	3	1.21	82	8	3.94	100	7	4.89
Permethrin	1	75	10.94	78	7	3.43	91	7	4.49
Coumaphos	0	-	-	81	14	7.45	105	12	7.96
Cyfluthrin	0	-	-	48	47	22.36	203	86	65.30
Cypermethrin	849	30	15.59	53	15	7.10	98	7	5.01
Fenvalerate	0	-	-	73	11	5.61	103	6	4.12
Deltamethrin	0	-	-	71	14	7.26	115	7	4.80

8.1.9 การทดสอบคุณสมบัติของ reproducibility ของการทดสอบ ภายใต้สภาวะการทดสอบปกติ (ruggedness)

จากการวิเคราะห์ fortified samples ที่ระดับความเข้มข้น 0.01 0.05 และ 0.5 mg/kg ความเข้มข้นละ 5 ซ้ำ โดยเปลี่ยนผู้วิเคราะห์ ประเมิน accuracy และ precision ตามเกณฑ์กำหนดของ AOAC Peer-Verified Method ผลวิเคราะห์ดังตารางที่ 5

fortified samples ที่ระดับความเข้มข้น 0.5 mg/kg ผ่านเกณฑ์กำหนด จำนวน 27 สาร ส่วนระดับความเข้มข้น 0.05 mg/kg ผ่านเกณฑ์กำหนด จำนวน 5 สาร และระดับความเข้มข้น 0.01 mg/kg ผ่านเกณฑ์กำหนด จำนวน 8 สาร

ตารางที่ 5 แสดงการเปรียบเทียบค่าเฉลี่ยของ % recovery, % RSD และ HORRAT ที่ได้จากผู้วิเคราะห์ 2 คน ที่ระดับความเข้มข้น 0.01, 0.05 และ 0.5 mg/kg (5 ซ้ำ)

Pesticides	0.01 mg/kg						0.05 mg/kg						0.5 mg/kg					
	คนที่ 1			คนที่ 2			คนที่ 1			คนที่ 2			คนที่ 1			คนที่ 2		
	Average	%RSD	HORRAT	Average	%RSD	HORRAT	Average	%RSD	HORRAT	Average	%RSD	HORRAT	Average	%RSD	HORRAT	Average	%RSD	HORRAT
Methamidophos	93	5	2.01	92	3	1.29	76	6	2.71	74	2	1.08	79	6	3.03	85	2	1.14
Dichlorvos	94	6	2.39	89	5	1.71	85	4	1.95	88	2	1.18	87	3	1.43	88	2	1.20
Mevinphos	93	4	1.34	89	2	0.78	92	5	2.53	95	2	1.18	96	4	1.85	99	2	1.22
Acephate	16	137	39.60	21	130	38.89	69	16	7.19	80	12	5.55	91	9	4.24	98	3	1.37
Omethoate	89	6	2.41	81	9	3.13	83	7	3.48	82	8	3.68	106	10	5.44	119	2	1.23
Dicrtofos (Dicrtofophos)	85	8	3.09	73	12	4.19	92	10	4.91	95	9	4.08	107	9	4.48	104	23	11.87
Monocrotophos	114	16	6.12	116	11	4.08	94	6	2.95	93	10	4.65	98	5	2.87	104	3	1.62
Phorate	147	2	1.00	141	4	1.43	99	5	2.33	102	2	0.89	89	2	1.06	90	3	1.33
Dimethoate	111	4	1.34	108	3	1.01	94	6	2.73	97	3	1.57	94	3	1.68	97	2	0.92
Diazinon	120	3	1.02	117	1	0.35	98	5	2.24	101	2	1.03	91	2	0.98	92	2	1.23
Chlorpyrifos-methyl	141	2	0.89	138	1	0.33	98	5	2.29	101	2	0.93	94	2	1.17	96	2	1.18
Parathion-methyl	146	2	0.96	145	1	0.49	98	5	2.33	102	2	1.16	93	2	1.28	95	2	1.30
Pirimiphos-methyl	133	2	0.98	129	1	0.54	99	4	2.03	102	3	1.25	91	2	1.05	91	3	1.34
Fenitrothion	146	3	1.11	145	1	0.31	97	5	2.23	100	2	0.99	93	2	1.14	95	3	1.52
Malathion	111	3	1.25	109	2	0.61	93	5	2.57	96	3	1.31	101	3	1.45	103	2	1.19
Chlorpyrifos	111	3	1.29	106	2	0.80	95	5	2.34	98	2	1.13	91	2	1.26	92	2	1.27
Parathion	227	2	0.69	222	2	0.98	112	5	2.30	116	2	0.92	96	2	1.08	98	3	1.37
Pirimiphos-ethyl	149	2	0.98	146	1	0.39	99	4	2.17	102	3	1.25	92	2	1.09	93	2	1.17
Procymidone	106	11	4.24	108	3	1.22	97	5	2.45	100	3	1.43	92	2	1.12	93	2	1.24
Methidathion	160	2	0.81	159	1	0.27	99	5	2.47	102	2	1.15	96	2	1.31	98	3	1.56
alpha-Endosulfan	118	3	1.04	121	3	1.01	97	4	2.01	99	3	1.38	86	3	1.34	86	3	1.34
Prothiofos	122	4	1.38	119	2	0.76	91	5	2.18	93	2	1.08	89	3	1.33	90	2	1.22
beta-Endosulfan	112	3	1.26	109	1	0.32	95	4	1.59	96	3	1.22	95	3	1.62	98	2	1.02
Ethion	145	2	0.99	146	2	0.73	96	5	2.46	100	3	1.23	96	3	1.34	97	2	1.14
Triazophos	149	2	0.63	149	1	0.36	97	5	2.44	103	2	1.01	102	3	1.45	104	3	1.38
Endosulfan sulfate	115	4	1.43	112	1	0.34	95	4	1.97	97	3	1.34	98	3	1.60	99	2	1.10
Bifenthrin	103	3	1.28	100	0	0.19	92	5	2.57	94	2	1.10	94	3	1.42	95	2	1.02
phosmet	147	3	1.07	145	1	0.43	91	5	2.33	93	3	1.66	103	4	2.11	108	3	1.30
EPN	248	1	0.58	249	0	0.12	99	4	1.79	102	2	0.97	97	4	2.09	102	2	1.23
Phosalone	95	6	2.19	95	1	0.46	87	6	2.68	91	3	1.40	102	3	1.64	104	2	1.16

Pesticides	0.01 mg/kg						0.05 mg/kg						0.5 mg/kg					
	คนที่ 1			คนที่ 2			คนที่ 1			คนที่ 2			คนที่ 1			คนที่ 2		
	Average	%RSD	HORRAT	Average	%RSD	HORRAT	Average	%RSD	HORRAT	Average	%RSD	HORRAT	Average	%RSD	HORRAT	Average	%RSD	HORRAT
Azinphos-methyl	190	1	0.53	190	1	0.35	91	6	2.62	95	3	1.42	106	5	2.62	111	3	1.51
Cyhalothrin (lambda)	84	5	1.79	83	4	1.37	75	6	2.71	79	3	1.59	115	5	2.70	119	2	1.17
Azinphos-ethyl	161	4	1.67	161	2	0.66	93	6	2.97	98	3	1.51	107	4	1.98	111	3	1.40
Permethrin	36	15	4.75	35	3	1.00	83	7	3.47	87	3	1.43	100	3	1.58	101	2	1.10
Coumaphos	71	7	2.54	67	13	4.71	81	9	4.45	87	6	2.67	115	5	2.78	120	3	1.41
Cyfluthrin	16	41	11.72	16	36	10.41	82	8	3.89	85	6	2.93	123	5	2.38	128	3	1.67
Cypermethrin	350	51	23.29	270	43	19.08	31	22	10.51	35	18	8.30	117	5	2.53	122	2	0.99
Fenvalerate	3	137	30.38	1	224	44.24	77	10	3.93	80	4	1.69	120	4	1.96	123	2	1.12
Deltamethrin	0	-	-	0	-	-	64	13	6.10	68	11	5.09	152	6	3.20	166	3	1.49

8.2 การทดสอบความใช้ได้ของวิธีในการวิเคราะห์สารมาตรฐานกลุ่มคาร์บาเมต (carbamate)

8.2.1 การทดสอบช่วงของการวัด (range)

จากการทดสอบ reagent blank และ fortified sample ในความเข้มข้น 25 ระดับของคาร์บาเมต (carbamate) ดังแสดงในตารางที่ 6 โดยระดับความเข้มข้นตั้งแต่ 0.005 ถึง 8.0 mg/kg ความเข้มข้นละ 3 ซ้ำ ผลการตรวจสอบ range อยู่ในช่วง 0.005 – 0.5 mg/kg

8.2.2 การทดสอบความเป็นเส้นตรง (linearity)

เมื่อทดสอบ reagent blank และ fortified sample ในความเข้มข้น 25 ระดับ ที่ระดับความเข้มข้นตั้งแต่ 0.005 ถึง 0.5 mg/kg ความเข้มข้นละ 3 ซ้ำ แล้วนำค่าความเข้มข้นของ fortified sample และค่าของพื้นที่ใต้พีคมาสร้างกราฟแสดงความสัมพันธ์เชิงเส้น คำนวณค่า correlation coefficient (r)

เพื่อทดสอบ linearity ผลการทดสอบดังตารางที่ 6 ค่า r ของสารที่ทดสอบทั้งหมดมีค่ามากกว่า 0.995 นั่นคือ การทดสอบ linearity ของสารที่ทดสอบทั้งหมดนี้ผ่านเกณฑ์ที่กำหนด

ตารางที่ 6 แสดงชนิดของสาร range และ ค่า correlation coefficient (r)

สาร	Range (ppm)	Correlation coefficient (r)
aldicarb	0.005 - 0.5	0.99778
aldicarb sulfone	0.005 - 0.5	0.99560
aldicarb sulfoxide	0.005 - 0.5	0.99742
Befuracarb	0.005 - 0.2	0.99846
Benalaxyl	0.005 - 0.5	0.99978
Benomyl	0.005 - 0.5	0.99883
carbaryl	0.005 - 0.5	0.99962
carbendazim	0.005 - 0.5	0.99883

สาร	Range (ppm)	Correlation coefficient (r)
carbofuran	0.005 - 0.5	0.99930
Ethiofencarb	0.005 - 0.5	0.99936
Fenobucarb	0.005 - 0.5	0.99981
Indoxacarb	0.005 - 0.5	0.99962
Iprovalicarb Peak1	0.005 - 0.5	0.99982
Iprovalicarb Peak2	0.005 - 0.5	0.99982
Isoprocab	0.005 - 0.5	0.99982
Methiocarb	0.005 - 0.5	0.99983
Methomyl	0.005 - 0.5	0.99931
Pirimicarb	0.005 - 0.5	0.99938
Promecarb	0.005 - 0.5	0.99984
Thiobencarb	0.005 - 0.5	0.99989

8.2.3 การทดสอบความแม่นยำ (accuracy)

เมื่อใช้ fortified sample ที่มีปริมาณสาร 4 ระดับ คือ ในช่วง 0.005 ถึง 0.1mg/kg ความเข้มข้นละ 10 ซ้ำ เพื่อประเมิน accuracy จาก% recovery โดยใช้เกณฑ์กำหนดของ AOAC Peer-Verified Methods. Nov.1993 ผลการทดสอบดังตารางที่ 7

ตารางที่ 7 แสดงค่า% recovery ที่ระดับความเข้มข้น 0.005, 0.01, 0.05 และ 0.5 mg/kg (10 ซ้ำ)

Pesticides	Percentage of Recovery			
	0.005 ppm	0.01 ppm	0.05 ppm	0.1 ppm
aldicarb	91	84	99	105
aldicarb sulfone	-	99	86	111
aldicarb sulfoxide	-	-	66	95
Befuracarb	135	22	119	137
Benalaxyl	148	113	93	96
Benomyl	148	95	89	88
carbaryl	109	85	88	94
carbendazim	148	95	89	88
carbofuran	172	124	94	99
Ethiofencarb	121	85	80	85
Fenobucarb	138	105	89	93
Indoxacarb	130	116	110	115

Pesticides	Percentage of Recovery			
	0.005 ppm	0.01 ppm	0.05 ppm	0.1 ppm
Iprovalicarb Peak1	164	121	101	99
Iprovalicarb Peak2	164	121	101	99
Isoproc carb	155	111	89	92
Methiocarb	132	97	80	85
Methomyl	131	123	90	112
Pirimicarb	149	114	93	93
Promecarb	142	108	91	96
Thiobencarb	140	105	90	93

การทดสอบความแม่นยำ (accuracy) ของวิธีทดสอบพบว่า Aldicarb และ Carbaryl เท่านั้นที่ผ่านเกณฑ์ที่ระดับความเข้มข้น 0.005 mg/kg ส่วนที่ผ่านเกณฑ์ในระดับความเข้มข้น 0.01 mg/kg ได้แก่ Aldicarb, Aldicarb Sulfone, Benalaxyl, Benomyl, Carbaryl, Carbendazim, Ethiofencarb, Fenobucarb, Isoproc carb, Methiocarb, Pirimicarb, Promecarb และ Thiobencarb ที่ระดับความเข้มข้น 0.05 mg/kg ผ่านเกณฑ์ทุกสาร ที่ระดับความเข้มข้น 0.1 mg/kg มีสารที่ผ่านเกณฑ์ คือ Aldicarb, aldicarb sulfoxide, Benalaxyl, Benomyl, carbaryl, carbendazim, carbofuran, Ethiofencarb, Fenobucarb, Iprovalicarb Peak1, Iprovalicarb Peak2, Isoproc carb, Methiocarb, Pirimicarb, Promecarb และ Thiobencarb

8.2.4 การทดสอบความเที่ยง (precision)

เมื่อใช้ fortified sample ที่มีปริมาณสาร 3 ระดับในช่วง 0.01 ถึง 0.5 mg/kg ความเข้มข้นละ 10 ซ้ำ ประเมินโดยใช้ค่า %RSD และค่า HORRAT (Horwitz's Ratio) ตามเกณฑ์ %RSD ของ AOAC Peer-Verified Method, Nov. 1993 (ภาคผนวก)

สรุปผลการทดสอบ Precision ของวิธีทดสอบที่ระดับความเข้มข้น 4 ระดับในช่วง 0.05 ถึง 0.5 mg/kg ดังแสดงในตารางที่ 8

ตารางที่ 8 แสดงค่า% RSD และ HORRAT ที่ระดับความเข้มข้น 0.005, 0.01, 0.05 และ 0.5 mg/kg (10 ซ้ำ)

Pesticides	0.005 ppm		0.01 ppm		0.05 ppm		0.1 ppm	
	%RSD	HORRAT	%RSD	HORRAT	%RSD	HORRAT	%RSD	HORRAT
aldicarb	14.19	13.49	4.61	4.81	5.20	7.08	3.49	5.33
aldicarb sulfone	-	-	18.48	19.78	15.55	22.00	7.76	11.96
aldicarb sulfoxide	-	-	-	-	31.04	39.83	20.17	30.33
Befuracarb	46.14	46.58	55.03	46.98	30.48	42.74	32.59	51.77
Benalaxyl	5.16	5.28	6.02	6.56	3.15	4.25	5.07	7.63
Benomyl	16.80	17.19	13.83	14.69	14.80	19.86	9.69	14.40
carbaryl	17.85	17.47	5.64	5.89	4.69	6.27	5.28	7.92

Pesticides	0.005 ppm		0.01 ppm		0.05 ppm		0.1 ppm	
	%RSD	HORRAT	%RSD	HORRAT	%RSD	HORRAT	%RSD	HORRAT
carbendazim	16.80	17.19	13.83	14.69	14.80	19.86	9.69	14.40
carbofuran	3.72	3.89	3.03	3.36	4.57	6.18	4.57	6.92
Ethiofencarb	10.24	10.18	6.85	7.15	4.51	5.94	8.59	12.70
Fenobucarb	7.65	7.75	4.55	4.90	4.04	5.42	5.31	7.96
Indoxacarb	19.60	19.67	14.33	15.70	5.18	7.18	3.19	4.93
Iprovalicarb Peak1	7.70	8.01	5.64	6.22	5.30	7.24	4.96	7.50
Iprovalicarb Peak2	7.70	8.01	5.64	6.22	5.30	7.24	4.96	7.50
Isoprocarb	8.96	9.24	5.05	5.49	2.61	3.50	6.23	9.32
Methiocarb	7.67	7.72	4.05	4.32	3.35	4.42	8.18	12.09
Methomyl	13.95	14.80	16.58	18.33	21.77	29.27	9.98	15.38
Pirimicarb	15.61	15.99	11.75	12.84	6.07	8.20	4.14	6.20
Promecarb	6.87	6.99	4.20	4.56	4.52	6.09	5.05	7.60
Thiobencarb	7.01	7.12	7.89	8.51	3.35	4.51	5.97	8.95

8.2.5 การทดสอบขีดจำกัดของการวัดเชิงปริมาณ (limit of quantitation, LOQ) และ การทดสอบขีดจำกัดของการตรวจพบ (limit of detection, LOD) ผลการทดสอบดังตารางที่ 6

8.2.6 การทดสอบความจำเพาะเจาะจง (specificity)

เมื่อฉีดสารมาตรฐานในเครื่อง LC/MS/MS พบว่า สารแต่ละชนิดให้ Precursor ion และ Product ion ที่มีความจำเพาะเจาะจง

8.2.7 การทดสอบความคงทนต่อการเปลี่ยนแปลงสภาวะของการทดสอบ (robustness)

ผลการทดสอบความคงทนต่อการเปลี่ยนแปลงสภาวะโดยลดเวลาในการหมวนเหวี่ยงครั้งแรกเป็น 3 นาที และทดสอบที่ระดับความเข้มข้น 4 ระดับ คือ 0.005, 0.01, 0.1 และ 0.5 mg/kg ผลการทดสอบดังตารางที่ 9 และ 10

ตารางที่ 9 แสดงค่า% recovery ที่ระดับความเข้มข้น 0.005, 0.01, 0.05 และ 0.5 mg/kg (10 ซ้ำ)

เมื่อลดเวลาในการหมวนเหวี่ยงครั้งแรกเป็น 3 นาที

Pesticides	Percentage of Recovery			
	0.005 ppm	0.01 ppm	0.05 ppm	0.1 ppm
aldicarb	76	81	98	94
aldicarb sulfone	0	95	109	105
aldicarb sulfoxide	0	0	79	100
Befuracarb	32	0	90	21
Benalaxyl	129	103	95	84

Pesticides	Percentage of Recovery			
	0.005 ppm	0.01 ppm	0.05 ppm	0.1 ppm
Benomyl	109	83	86	80
carbaryl	91	82	90	84
carbendazim	109	83	86	80
carbofuran	164	125	98	92
Ethiofencarb	106	85	82	75
Fenobucarb	125	98	89	83
Indoxacarb	117	96	113	101
lprovalicarb Peak1	134	11	101	86
lprovalicarb Peak2	134	107	101	86
Isoproc carb	138	108	90	81
Methiocarb	116	91	83	73
Methomyl	185	115	102	104
Pirimicarb	148	96	89	85
Promecarb	128	104	93	85
Thiobencarb	124	94	93	82

ตารางที่ 10 แสดงค่า% RSD และ HORRAT ที่ระดับความเข้มข้น 0.005, 0.01, 0.05 และ 0.5 mg/kg (10 ซ้ำ)

Pesticides	0.005 ppm		0.01 ppm		0.05 ppm		0.1 ppm	
	%RSD	HORRAT	%RSD	HORRAT	%RSD	HORRAT	%RSD	HORRAT
aldicarb	18.89	17.49	8.85	9.19	5.45	7.42	1.59	2.39
aldicarb sulfone	-	-	30.70	32.66	7.24	10.01	8.82	13.46
aldicarb sulfoxide	-	-	-	-	28.80	37.93	24.63	37.32
Befuracarb	59.01	48.09	-	-	31.77	42.71	84.87	101.85
Benalaxyl	13.18	13.21	6.23	6.71	5.31	7.20	5.52	8.14
Benomyl	21.65	21.17	13.02	13.56	15.35	20.50	13.24	19.40
carbaryl	21.32	20.27	8.16	8.49	7.25	9.74	3.45	5.09
carbendazim	21.65	21.17	13.02	13.56	15.35	20.50	13.24	19.40
carbofuran	9.77	10.16	2.13	2.36	4.12	5.61	2.40	3.60
Ethiofencarb	21.94	21.36	11.62	12.16	6.11	8.09	3.43	4.99

Fenobucarb	11.78	11.76	6.29	6.72	4.63	6.21	3.08	4.53
Indoxacarb	31.60	31.24	13.34	14.20	7.14	9.92	2.82	4.29
Iprovalicarb Peak1	12.06	12.39	9.98	15.28	3.83	5.24	5.21	7.72
Iprovalicarb Peak2	12.06	12.39	9.98	10.81	3.83	5.24	5.21	7.72
Isoprocarb	12.23	12.40	4.16	4.50	4.87	6.55	2.71	3.97
Methiocarb	14.73	14.54	4.99	5.27	5.39	7.15	3.80	5.48
Methomyl	13.38	14.40	7.49	8.20	23.36	31.96	12.99	19.82
Pirimicarb	17.03	17.43	6.77	7.20	4.08	5.47	4.10	6.07
Promecarb	16.01	16.04	5.41	5.84	5.99	8.09	2.27	3.35
Thiobencarb	13.25	13.22	5.62	5.96	5.80	7.83	3.63	5.35

8.2.8 การทดสอบคุณสมบัติของ reproducibility ของการทดสอบ ภายใต้สภาวะการทดสอบปกติ (ruggedness)

จากการวิเคราะห์ fortified samples ที่ระดับความเข้มข้น 0.01 0.05 และ 0.5 mg/kg ความเข้มข้นละ 5 ซ้ำ โดยเปลี่ยนผู้วิเคราะห์ ประเมิน accuracy และ precision ตามเกณฑ์กำหนดของ AOAC Peer-Verified Method ผลวิเคราะห์ดังตารางที่ 11

fortified samples ที่ระดับความเข้มข้น 0.5 mg/kg ผ่านเกณฑ์กำหนด จำนวน 27 สาร ส่วนระดับความเข้มข้น 0.05 mg/kg ผ่านเกณฑ์กำหนด จำนวน 5 สาร และระดับความเข้มข้น 0.01 mg/kg ผ่านเกณฑ์กำหนด จำนวน 8 สาร

ตารางที่ 11 แสดงการเปรียบเทียบ ค่าเฉลี่ยของ % recovery, % RSD และ HORRAT ในการวิเคราะห์ carbaryl ที่ได้จากผู้วิเคราะห์ 2 คน ที่ระดับความเข้มข้น 0.05 mg/kg (5 ซ้ำ)

No.	คนที่ 1 (ppm)								คนที่ 2 (ppm)							
	0.005		0.01		0.05		0.1		0.05		0.01		0.05		0.1	
	%rec	conc	%rec	conc	%rec	conc	%rec	conc	%rec	conc	%rec	conc	%rec	conc	%rec	conc
1	111	5.53	84	8.40	109	5.47	93	9.28	109	5.47	93	9.28	93	46.5	96	96.19
2	90	4.48	90	8.95	99	4.95	82	8.15	99	4.95	82	8.15	92	46.1	88	88.39
3	128	6.39	77	7.65	97	4.86	82	8.20	97	4.86	82	8.20	88	44.22	91	91.39
4	119	5.97	81	8.14	95	4.73	85	8.48	95	4.73	85	8.48	85	42.36	89	88.61
5	153	7.64	88	8.76	94	4.69	88	8.83	94	4.69	88	8.83	84	42.11	85	84.94
av	120	6.00	84	8.38	99	4.94	86	8.59	99	4.94	86	8.59	89	44.26	90	89.90
SD		1.16		0.51		0.31		0.47		0.31		0.47		2.04		4.19

%RSD		19.31		6.14		6.35		5.50		6.35		5.50		4.61		4.66
HORRAT		19.16		6.41		6.12		5.76		6.12		5.76		6.18		6.95

9. สรุปผลการทดลองและข้อเสนอแนะ

9.1 การทดสอบความใช้ได้ของวิธีในการวิเคราะห์สารมาตรฐานกลุ่มออร์กาโนฟอสเฟต (organophosphate) ออร์กาโนคลอรีน (organochlorine) และไพรีทรอยด์(pyrethroid)

จากการตรวจสอบความใช้ได้ของวิธีนี้ พบว่า เป็นวิธีที่มีความจำเพาะเจาะจง (specificity) ไม่มีความคงทนต่อการลดเวลาในการหมუნเหวียงครั้งแรกเป็น 3 นาที และที่ระดับความเข้มข้น 0.5 mg/kg สารส่วนใหญ่มีคุณสมบัติของ reproducibility ภายใต้อาการทดสอบปกติ (ruggedness) โดยเปลี่ยนผู้วิเคราะห์ และสามารถวิเคราะห์ตัวอย่างลำไยสดได้อย่างถูกต้อง (accuracy) และแม่นยำ (precision) ในช่วงความเข้มข้นของ LOQ ส่วนค่า LOD และ LOQ ของวิธีนี้ดังสรุปในตารางที่ 12

ตารางที่ 12 สรุปผลการตรวจสอบความใช้ได้ของวิธีทดสอบ

Pesticides	LOD	LOQ	Working Range	Recovery %			HORRAT		
	mg/kg	mg/kg		0.01	0.05	0.5	0.01	0.05	0.5
Methamidophos	0.01	0.005	0.005 - 2.0	92	75	82	1.63	2.03	3.53
Dichlorvos	0.05	0.01	0.005 - 1.0	91	86	88	2.12	1.86	1.71
Mevinphos	0.01	0.005	0.005 - 2.0	91	93	97	1.42	2	2.15
Acephate	-	>0.5	0.005 - 1.0	19	75	95	37.31	6.92	4.53
Omethoate	-	>0.5	0.005 - 2.0	85	83	113	3.26	3.38	6.29
Monocrotophos	-	>0.5	0.005 - 2.0	115	94	101	4.87	3.64	3.5
Dicrotofos	-	>0.5	0.005 - 1.0	79	93	105	4.51	4.28	11.03
Phorate	0.05	0.01	0.005 - 2.0	144	101	89	1.39	1.87	1.46
Dimethoate	0.01	0.005	0.005 - 1.0	109	95	96	1.22	2.22	1.97
Diazinon	0.05	0.01	0.005 - 1.0	119	100	92	0.89	1.86	1.36
Chlorpyrifos-methyl	0.5	0.05	0.005 - 1.0	139	100	95	0.7	1.84	1.51
Parathion-methyl	0.05	0.01	0.005 - 2.0	145	100	94	0.76	2.02	1.74
Pirimiphos-methyl	0.05	0.01	0.005 - 2.0	131	101	91	0.89	1.72	1.43
Fenitrothion	0.5	0.05	0.005 - 2.0	146	98	94	0.77	1.86	1.73
Malathion	0.01	0.005	0.005 - 2.0	110	95	102	0.96	2.02	1.75
Chlorpyrifos	0.01	0.005	0.005 - 1.0	109	96	92	1.32	1.88	1.55
Parathion	0.05	0.01	0.005 - 2.0	225	114	97	0.82	1.84	1.59
Pirimiphos-ethyl	0.5	0.05	0.005 - 2.0	147	100	93	0.8	1.78	1.39
Procymidone	0.01	0.005	0.005 - 2.0	107	99	93	2.89	2.01	1.44
Methidathion	0.05	0.01	0.005 - 2.0	160	101	97	0.6	1.95	1.8

alpha-Endosulfan	0.05	0.01	0.005 - 1.0	119	98	86	1.11	1.72	1.6
Prothiofos	0.05	0.01	0.005 - 2.0	120	92	90	1.14	1.7	1.56
Profenofos	-	>0.5	0.005 - 2.0	-	-	-	-	-	-
beta-endosulfan	0.01	0.005	0.005 - 1.0	111	96	96	0.97	1.35	1.83
Ethion	0.5	0.05	0.005 - 1.0	146	98	97	0.83	2.1	1.64
Triazophos	0.05	0.01	0.005 - 2.0	149	100	103	0.47	2.21	1.87
Endosulfan sulfate	0.01	0.005	0.005 - 1.0	113	96	98	1.14	1.62	1.76
phosmet	0.05	0.01	0.005 - 2.0	146	92	106	0.77	1.95	2.8
Bifenthrin	0.01	0.005	0.005 - 1.0	102	93	95	1.03	1.91	1.52
EPN	0.5	0.05	0.005 - 1.0	248	101	99	0.36	1.61	2.59
Phosalone	0.01	0.005	0.005 - 2.0	95	89	103	1.43	2.31	1.93
Azinphos-methyl	-	>0.5	0.005 - 1.0	190	93	109	0.35	2.16	3.1
Cyhalothrin (lambda)	0.01	0.005	0.005 - 1.0	84	77	117	1.53	2.42	2.85
Azinphos-ethyl	-	>0.5	0.005 - 1.0	161	96	109	1.2	2.55	2.46
Permethrin	0.5	0.05	0.005 - 2.0	36	85	100	3.21	2.58	1.71
Coumaphos	-	>0.5	0.005 - 1.0	69	84	118	3.72	3.81	3.09
Cyfluthrin	-	>0.5	0.005 - 1.0	16	84	126	10.41	3.37	2.97
Cypermethrin	-	>0.5	0.005 - 1.0	310	33	120	21.53	7.86	2.95
Fenvalerate	-	>0.5	0.005 - 2.0	2	79	122	34.12	3.25	2.16
Deltamethrin	-	>0.5	0.005 - 1.0	-	66	159	-	5.43	4.59

9.2 การทดสอบความใช้ได้ของวิธีในการวิเคราะห์สารมาตรฐานกลุ่มคาร์บาเมต (carbamate)

จากการตรวจสอบความใช้ได้ของวิธีนี้ พบว่า เป็นวิธีที่มีความจำเพาะเจาะจง (specificity) มีความถูกต้องแม่นยำโดยเฉพาะที่ระดับความเข้มข้น 0.005 mg/kg มีความคงทนต่อการลดเวลาในการหมუნเหวียงครั้งแรกเป็น 3 นาที และที่ระดับความเข้มข้น 0.05 mg/kg สารส่วนใหญ่มีคุณสมบัติของ reproducibility ภายใต้อาการทดสอบปกติ (ruggedness) โดยเปลี่ยนผู้วิเคราะห์ และสามารถวิเคราะห์ตัวอย่างลำไยสดได้อย่างถูกต้อง (accuracy) และแม่นยำ (precision) ในช่วงความเข้มข้นของ LOQ ส่วนค่า LOD และ LOQ

10. การนำผลงานวิจัยไปใช้ประโยชน์

10.1 ห้องปฏิบัติการได้วิธีการที่เป็นมาตรฐานในการตรวจวิเคราะห์สารกลุ่มออร์กาโนฟอสเฟต (organophosphate) ออร์กาโนคลอรีน (organochlorine) และไพรีทรอยด์ (pyrethroid) คาร์บาเมต (carbamate) ในลำไย

10.2 เป็นข้อมูลในการขยายขอบข่ายการรับรองความสามารถห้องปฏิบัติการตามมาตรฐาน ISO/IEC 17025:2005

10.3 ห้องปฏิบัติการได้รับการรับรองตามมาตรฐาน ISO/IEC 17025:2005 ซึ่งเป็นการยกระดับห้องปฏิบัติการให้ได้ตามมาตรฐานสากล ผลการวิเคราะห์มีความถูกต้อง แม่นยำ น่าเชื่อถือ และสามารถตรวจย้อนกลับได้

11. คำขอบคุณ เจ้าหน้าที่ห้องปฏิบัติการสารพิษตกค้างและวัตถุอันตรายทางการเกษตร สำนักวิจัยและพัฒนา
การเกษตร เขตที่ 1

12. เอกสารอ้างอิง

J. Takel and S. Hatrik, Extraction methodology and chromatography for the determination of residual pesticides in water. *J.Chromatogr. A*, **733:1-2** (1996) 217-233.

A.Balinova et al., Solid-phase extraction on sorbents of different retention mechanisms followed by determination by gas chromatography–mass spectrometric and gas chromatography–electron capture detection of pesticide residues in crops. *J.Chromatogr. A*, **1150:1-2** (2007) 136-144.

O.Golge and B.Kabak, Determination of 115 pesticide residues in oranges by high-performance liquid chromatography–triple-quadrupole mass spectrometry in combination with QuEChERS method. *J. Food Compos. Anal.*, **41** (2015) 86-97.

R.P.Carneiro, Development and method validation for determination of 128 pesticides in bananas by modified QuEChERS and UHPLC–MS/MS analysis. *J.Food Control*, **33:2** (2013) 413-423.

ภาคผนวก

- สูตรการคำนวณหาน้ำหนักของสารมาตรฐานจากชั่งสารมาตรฐาน

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

- สูตรการคำนวณหาความเข้มข้นของสารละลายมาตรฐาน (standard solution)

$$N_1V_1 = N_2V_2$$

โดยที่ N_1 = ความเข้มข้นของ สารตั้งต้น (ไมโครกรัม/มิลลิลิตร)

N_2 = ความเข้มข้นของสารที่ต้องการเตรียม (ไมโครกรัม/มิลลิลิตร)

V_1 = ปริมาตรของสารตั้งต้นที่ต้องนำมา (มิลลิลิตร)

V_2 = ปริมาตรของสารที่ต้องการเตรียม (มิลลิลิตร)

- การประเมินค่า HORRAT (Horwitz's Ratio) ตามเกณฑ์ %RSD ของ AOAC Peer-Verified

Method, Nov. 1993 คำนวณโดยใช้ค่า %RSD และค่า HORRAT (Horwitz's Ratio) ตามเกณฑ์ %RSD ของ AOAC Peer-Verified Method, Nov. 1993

$$\text{HORRAT (Horwitz's ratio)} = \frac{\%RSD}{\text{PredictedHorwitzRSD}}$$

$$\text{Predicted Horwitz RSD} = 0.66 \times 2^{(1-0.5 \log C)}$$

C = concentration ratio

เกณฑ์ประเมิน precision : 1. HORRAT \leq 2 ; [AOAC]

2. % RSD \leq 21 ; [AOAC] ในช่วงความเข้มข้น 0.01 – 2 mg/kg

- ค่า %RSD ตามเกณฑ์กำหนดของ AOAC Peer-Verified Methods. Nov.1993

ความเข้มข้นของ Analyte ในตัวอย่าง	Concentration ratio (C)	RSD %
100%	1	1.3
10%	0.1	2.8
1%	0.01	2.7
0.10%	0.001	3.7
100 ppm	10^{-4}	5.3
10 ppm	10^{-5}	7.3
1 ppm	10^{-6}	11
100 ppb	10^{-7}	15
10 ppb	10^{-8}	21
1 ppb	10^{-9}	30

□ ค่า% recovery ตามเกณฑ์กำหนดของ AOAC Peer-Verified Methods. Nov.1993

ความเข้มข้นของ analyte ในตัวอย่าง	Recovery (%)
100%	98 - 102
10%	98 - 102
1%	97 - 103
0.10%	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