

การทดสอบความใช้ได้ของวิธีทดสอบสารกลุ่ม Carbamate ในเนื้อสัตว์ ด้วยเทคนิค LC-MS/MS

ชัชวาลย์ โรจนทรัพย์ วิษุพันธ์ สิววรรณ วิภาดา สิริสมภพชัย

บทคัดย่อ

การศึกษานี้มีวัตถุประสงค์เพื่อทดสอบความใช้ได้ของวิธีทดสอบสารกลุ่ม carbamate จำนวน 9 ชนิด ในเนื้อสัตว์ด้วยเทคนิค LC-MS/MS ชนิด triple quadrupole ประกอบด้วย aldicarb, aldicarb sulfone, aldicarb sulfoxide, carbaryl, carbofuran, 3-hydroxy carbofuran, methiocarb, methomyl และ propoxur พบว่า การประเมินผลกระทบจากเมทริกซ์ อยู่ในช่วง 0.85 - 19.90% ช่วงความเป็นเส้นตรงของกราฟมาตรฐานตั้งแต่ 1 - 150 นาโนกรัมต่อ มิลลิลิตร มีค่าสัมประสิทธิ์การตัดสินใจ (R^2) อยู่ในช่วง 0.9973 - 0.9984 ช่วงความเป็นเส้นตรงของ วิธีทดสอบตั้งแต่ 1.5 - 75 ไมโครกรัมต่อกิโลกรัม มีค่าสัมประสิทธิ์การตัดสินใจ (R^2) อยู่ในช่วง 0.9976 - 0.9998 ค่าความเที่ยงโดยพิจารณาจาก %RSD อยู่ในช่วง 1.06 - 10.72% ค่าความแม่นยำ โดยพิจารณาจาก %recovery อยู่ในช่วง 71.04 - 104.35% ค่าความเข้มข้นต่ำสุดที่สามารถตรวจพบ ได้เท่ากับ 0.5 ไมโครกรัมต่อกิโลกรัมและความเข้มข้นต่ำสุดที่สามารถหาปริมาณได้เท่ากับ 1.5 ไมโครกรัมต่อกิโลกรัม วิธีทดสอบที่ได้ทดสอบความใช้ได้ของวิธีนี้ มีความสอดคล้องกับเกณฑ์ SANTE/11312/2021 สามารถนำไปตรวจสอบสารตกค้างสารกลุ่ม carbamate ในตัวอย่างเนื้อสัตว์ตาม แผนผังการตรวจสอบสารตกค้างประจำปีของกรมปศุสัตว์ได้ตรงตามวัตถุประสงค์

คำสำคัญ : Carbamate, LC-MS/MS, ทดสอบความใช้ได้ของวิธี

กลุ่มตรวจสอบคุณภาพเนื้อสัตว์และผลผลิตจากสัตว์ สำนักตรวจสอบคุณภาพสินค้าปศุสัตว์

กรมปศุสัตว์ ถ.ติวานนท์ ต.บางกะดี อ.เมือง จ.ปทุมธานี 12000; โทรศัพท์ 0-2967-9727

Method Validation of Carbamate in Meat by LC-MS/MS

Chatchawan Rodjanasap Vichunan Leewan Wiphada Sirisomphobchai

Abstract

The method validation of carbamate 9 substances in meat by LC-MS/MS triple quadrupole was conducted. This method was measured type and quantity of carbamate consist aldicarb, aldicarb sulfone, aldicarb sulfoxide, carbaryl, carbofuran 3-hydroxy carbofuran, methiocarb, methomyl and propoxur. Results of the method validation of carbamate had %matrix effect of standard solution compared with matrix standard was in the range 0.85 - 19.90%. The coefficient of determination (R^2) linearity of standard curve concentration 1 – 150 ng/mL was in the range 0.9973 - 0.9984. The coefficient of determination (R^2) linearity of carbamate analysis concentration 1.5 - 75 µg/kg was in the range 0.9976 - 0.9998. %RSD of precision was in the range 1.06 – 10.72%. The accuracy of carbamate analysis in term of mean recovery percentage was in the ranged 71.04 - 104.35%. The limit of detection (LOD) carbamate were 0.5 µg/kg and the limit of quantitation (LOQ) carbamate were 1.5 µg/kg. The method validation of carbamate in meat was consistent with the criteria SANTE/11312/2021. The method was used to detect carbamate residues in meat samples according to the department of livestock development's annual pesticide monitoring plan according to the objectives.

Keywords : Carbamate, LC-MS/MS, method validation

Veterinary Public Health Laboratory, Bureau of Quality Control of Livestock Products,
Department of Livestock Development, Tivanont Road, Bangkadi Subdistrict, Muang
District, Pathum Thani Province, 12000; Tel. 0 2967 9727

การทดสอบความใช้ได้ของวิธีทดสอบสารกลุ่ม Carbamate ในเนื้อสัตว์ ด้วยเทคนิค LC-MS/MS

บทนำ

Carbamate เป็นวัตถุอันตรายทางการเกษตรที่ใช้เป็นสารฆ่าแมลงที่มีใช้อยู่ในปัจจุบันอย่างแพร่หลาย เนื่องจากหาซื้อได้ง่ายตัวอย่างของสารฆ่าแมลงที่อยู่ในกลุ่ม carbamate ได้แก่ aldicarb, aldicarb sulfone, aldicarb sulfoxide, carbaryl, carbofuran, 3-hydroxy carbofuran, methiocarb, methomyl และ propoxur มีชื่อกลุ่มทางการค้าตามตารางที่ 1 ซึ่งสารฆ่าแมลงเหล่านี้ก่อให้เกิดสารพิษต่อคนได้ โดยยับยั้งการทำงานของแอซีทิลโคลีนเอสเตอเรส ทำให้สารสื่อประสาทแอซีทิลโคลีนถูกทำลายลง จึงเกิดอาการเป็นพิษเนื่องจากการทำงานของระบบสื่อประสาทโคลิเนอร์จิกทำงานมากเกินไป นอกจากนี้สารฆ่าแมลงชนิดนี้สามารถดูดซึมผ่านผิวหนังและยังอาจก่อให้เกิดอาการระคายเคืองที่ตาได้ โดยทั่วไป carbamate ไม่เป็นสารก่อมะเร็ง ยกเว้น carbofuran และ carbaryl ถ้าหากได้รับการรับประทานผลผลิตที่ใช้สารฆ่าแมลงชนิดนี้จะก่อให้เกิดสารก่อมะเร็งได้ ส่วนอาการทั่วไปเมื่อได้รับสารพิษ ได้แก่ ปวดศีรษะ กล้ามเนื้ออ่อนแรง หัวใจเต้นช้าลง แน่นหน้าอก เหงื่อออก เป็นต้น (พิมพ์เพ็ญ พรเฉลิมพงศ์ และนิธิยา รัตนานนท์, ม.ป.ป.)

ตารางที่ 1 สารกลุ่ม carbamate

ชื่อสามัญ	ชื่อทางการค้า
aldicarb	temic
aminocarb	matacil
oxamyl	vydate
isolan	isolan
carbofuran	furadan
methomyl	lannate
mexacarmate	zectran
propoxur	baygon
carbaryl	sevin

ที่มา : ประยงค์ มุลลอย (2534)

การทดสอบความใช้ได้ของวิธีทดสอบสารกลุ่ม carbamate ในเนื้อสัตว์ด้วยเทคนิค LC-MS/MS เพื่อพิสูจน์ว่าวิธีทดสอบนี้มีความถูกต้องแม่นยำและน่าเชื่อถือ เพื่อใช้สำหรับการทดสอบตัวอย่างในกิจกรรมเฝ้าระวังสารตกค้างประจำปีของกรมปศุสัตว์และเป็นส่วนหนึ่งในข้อกำหนดระบบคุณภาพ ISO/IEC 17025

1. วัตถุประสงค์

เพื่อทดสอบความใช้ได้ของวิธีทดสอบสารกลุ่ม carbamate ในเนื้อสัตว์ด้วยเทคนิค LC-MS/MS

2. ขอบข่าย

เพื่อทดสอบความใช้ได้ของวิธีทดสอบสารกลุ่ม carbamate ในเนื้อสัตว์ด้วยเทคนิค LC-MS/MS triple quadrupole จำนวน 9 ชนิด ประกอบไปด้วย aldicarb, aldicarb sulfone, aldicarb sulfoxide, carbaryl, carbofuran, 3-hydroxy carbofuran, methiocarb, methomyl และ propoxur ตามแนวทางของ SANTE/11312/2021 โดยทดสอบพารามิเตอร์ ได้แก่ ผลกระทบจากเมทริกซ์ (matrix effect) ความเป็นเส้นตรงของกราฟมาตรฐาน (linearity) ความเป็นเส้นตรงของวิธีทดสอบ (working range) ความเที่ยง (precision) ความแม่นยำ (trueness) ความเข้มข้นต่ำสุดที่สามารถตรวจพบได้ (limit of detection, LOD) และความเข้มข้นต่ำสุดที่สามารถหาปริมาณได้ (limit of quantitation, LOQ) เพื่อแสดงให้เห็นว่าวิธีทดสอบดังกล่าวถูกต้องและมีความน่าเชื่อถือ โดยตัวอย่างที่ใช้ศึกษาคือ เนื้อไก่ ค่าเป้าหมาย (target value) ในการทดสอบ คือ ระดับปริมาณสารที่ให้มีตกค้างได้สูงสุด (maximum residue limit, MRL) ในเนื้อสัตว์ดังตารางที่ 2 เป็นค่าที่ใช้ในการทดสอบความใช้ได้

ตารางที่ 2 ค่า MRL สารกลุ่ม carbamate ในเนื้อสัตว์

Pesticides	MRL in poultry and swine muscle (mg/kg)		
	มกอช ^(a)	Japan ^(b)	EU
aldicarb,	-	-	0.01*
aldicarb sulfoxide and aldicarb sulfone			(sum of aldicarb, its sulfoxide and its sulfone, expressed as aldicarb) (Reg. (EU) No. 310/2011)
carbaryl	0.05	0.05 (swine) 0.2 (chicken)	0.05* (Reg. (EU) No. 1096/2014)
carbofuran and 3-hydroxy carbofuran	0.05 (เนื้อสุกร) 0.01 (เนื้อสัตว์ปีก)	-	0.01* (sum of carbofuran (including any carbofuran generated from carbosulfan, benfuracarb or furathiocarb) and 3-OH carbofuran, expressed as carbofuran) (Reg. (EU) No. 2015/399)

ตารางที่ 2 ค่า MRL สารกลุ่ม carbamate ในเนื้อสัตว์ (ต่อ)

Pesticides	MRL in poultry and swine muscle (mg/kg)		
	มกอช ^(a)	Japan ^(b)	EU
methiocarb	-	-	0.03* (sum of methiocarb and methiocarb sulfoxide and sulfone, expressed as methiocarb) (Reg. (EU) No. 2021/155)
methomyl	0.02	0.02 (sum of thiodicarb and methomyl)	0.01* (Reg. (EU) No. 2016/1822)
propoxur	-	0.01* (swine) 0.03 (chicken) 0.05 (other poultry)	0.05 (Reg. (EU) No. 149/2008)

* คือ limit of determination

^(a) คือ ตาม Thai agricultural standard (TAS 9002-2016) notified on 13 december B.E. 2559 (2016)

^(b) คือ ตามประกาศ The japanese positive list system (updated on 25 December, 2017)

3. ประโยชน์ที่คาดว่าจะได้รับ

3.1 เพื่อใช้เป็นวิธีมาตรฐานในการทดสอบสารกลุ่ม carbamate ในเนื้อสัตว์ด้วยเทคนิค LC-MS/MS อย่างมีประสิทธิภาพด้วยวิธีที่ถูกต้องและแม่นยำของห้องปฏิบัติการงานเคมีอาหาร สारตกค้าง และสารปนเปื้อน กลุ่มตรวจสอบคุณภาพเนื้อสัตว์และผลผลิตจากสัตว์

3.2 เพื่อใช้เป็นข้อมูลสำหรับยื่นขอการรับรองความสามารถของห้องปฏิบัติการ ตามระบบคุณภาพ ISO/IEC 17025 รายการทดสอบสารกลุ่ม carbamate ในเนื้อสัตว์ด้วยเทคนิค LC-MS/MS

4. อุปกรณ์และสารเคมี

4.1 อุปกรณ์

- 4.1.1 เครื่อง LC-MS/MS thermo scientific รุ่น TSQ quantis
- 4.1.2 เครื่องชั่งน้ำหนักความละเอียด 0.001 กรัม
- 4.1.3 เครื่อง homogenizer พร้อมแกนปั่นผสมชนิดมีใบมีด ขนาด 1 เซนติเมตร
- 4.1.4 เครื่องปั่นเหวี่ยง (centrifuge)
- 4.1.5 เครื่องผสมสาร (vortex mixer)

- 4.1.6 อุปกรณ์ลดปริมาตรสารละลายโดยการเป่าด้วยแก๊สไนโตรเจน (N-evap)
- 4.2.7 centrifuge tube ชนิด PP ขนาด 50 mL พร้อมฝาเกลียว
- 4.2.8 disposable syringe ขนาด 3 mL ชนิดไม่มีหัวเข็ม
- 4.2.9 micropipette ขนาด 10 - 100 μ L, 100 - 1000 μ L และ 5000 μ L
- 4.2.10 syringe filter membrane ชนิด nylon ขนาด 0.2 μ m
- 4.2.11 vial ขนาด 2 mL พร้อมฝา สำหรับใช้กับเครื่อง HPLC
- 4.2.12 กรวยแยกสาร (Separating funnel) ขนาด 125 mL
- 4.2.13 column HPLC inertsil ODS-3 ขนาด 2.1 X 150 mm, 3 μ m
- 4.2.14 SPE ชนิด aminopropyl (NH_2)

4.2 สารเคมี

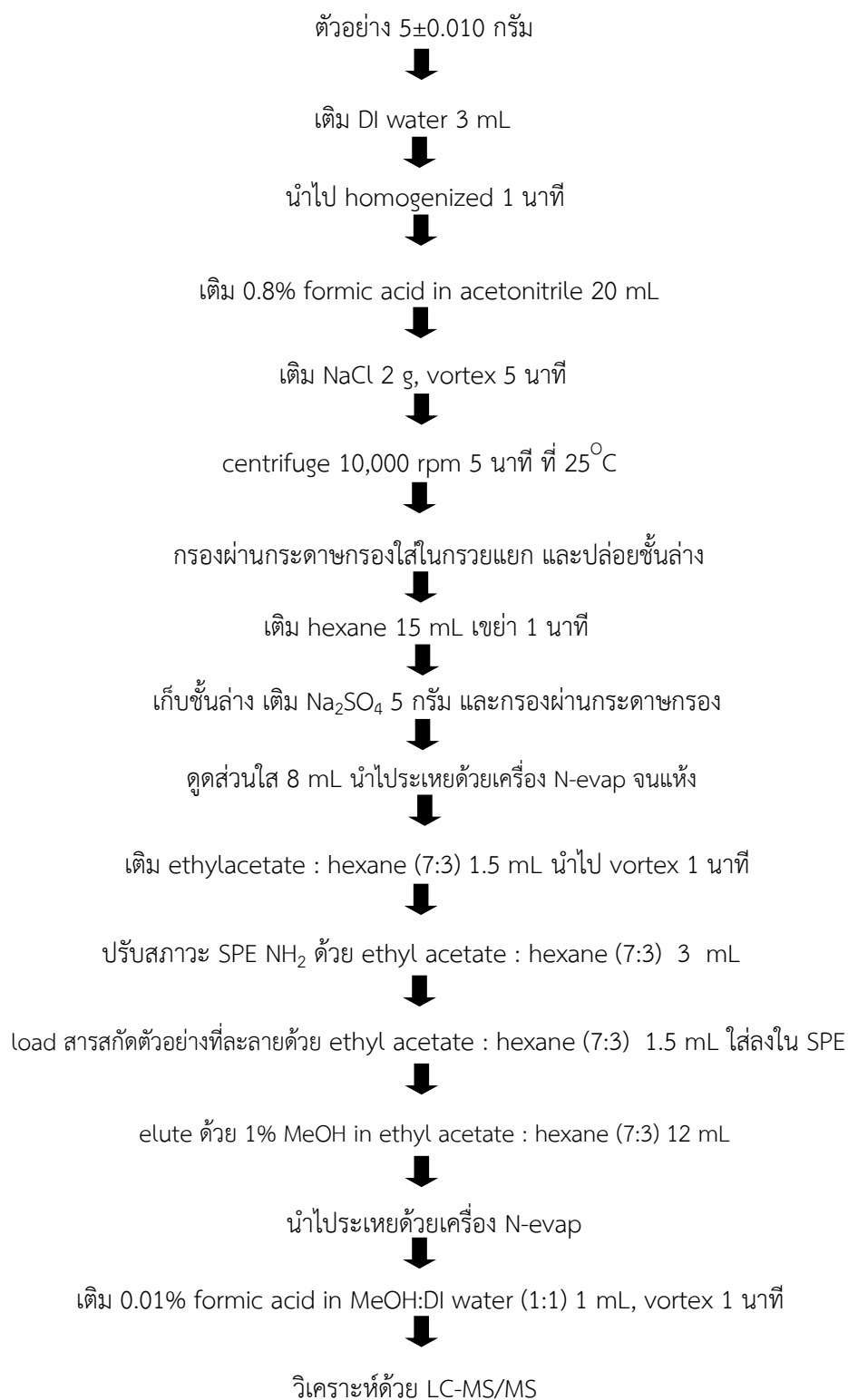
- 4.2.1 acetonitrile, AR grade
- 4.2.2 hexane, AR grade
- 4.2.3 formic acid, AR grade
- 4.2.4 sodium chloride, AR grade
- 4.2.5 sodium sulfate anhydrous
- 4.2.6 ethyl acetate, AR grade
- 4.2.7 methanol, HPLC grade
- 4.2.8 น้ำจืดไอออน (deionized, DI)

4.3 สารมาตรฐาน

สารมาตรฐาน carbamate ชนิดสารละลายผสม 11 ชนิด ความเข้มข้นชนิดละ 100 μ g/mL
ยี่ห้อ CL-chem lab Lot 29.2441005

5. วิธีดำเนินการ

5.1 ขั้นตอนวิธีการทดสอบ



5.2 สภาวะของเครื่อง LC-MS/MS

ตารางที่ 3 สภาวะที่ใช้ในส่วนของ liquid chromatograph

column	inertsil ODS-3 ขนาด 2.1 X 150 mm, 3 μ m		
mobile phase	A : 0.1% formic acid in water, B : 0.1% formic acid in methanol		
flow rate	0.25 mL/min.		
oven temp.	35 $^{\circ}$ C		
injection volume	10 μ L		
gradient conditions	time (min)	A (%)	B (%)
	0	60	40
	1	60	40
	7	0	100
	10	0	100
	11	60	40
	13	60	40

ตารางที่ 4 สภาวะที่ใช้ในส่วนของ dynamic MRM parameter

compound name	precursor ion	product ion	RF lens (V)	CE (V)	RT (min)	polarity
aldicarb	116.2	70.3	68	10	6.23	positive
		89.2	68	10		
		100.1	68	22		
aldicarb sulfone	143.1	55.3	36	18	2.03	positive
		86	52	12		
		148.1	52	10		
aldicarb sulfoxide	206.9	89	46	10	2.07	positive
		132.1	46	10		
		147	46	10		
carbaryl	202.1	115.1	58	35	7.29	positive
		127.1	58	26		
		145.1	58	10		
carbofuran	222	77.3	89	40	6.94	positive
		123	89	19		
		165.2	89	10		
3-hydroxy carbofuran	238.1	135.1	82	19	4.78	positive
		163.1	82	10		
		181.1	82	10		

ตารางที่ 4 สภาวะที่ใช้ในส่วน of dynamic MRM parameter (ต่อ)

compound name	precursor ion	product ion	RF lens (V)	CE (V)	RT (min)	polarity
methiocarb	226	107	69	35	8.45	positive
		121.1	69	16		
		169	69	10		
methomyl	163.1	88.1	40	10	2.97	positive
		106.1	40	10		
		131	40	10		
propoxur	210.2	111.1	53	10	6.89	positive
		153.1	53	10		
		168	53	10		

5.3 ขั้นตอนการทดสอบความใช้ได้ของวิธีทดสอบ

5.3.1 ผลกระทบจากเมทริกซ์ (matrix effect)

ตรวจวัดสารละลายมาตรฐานเทียบกับ matrix standard จำนวน 7 ระดับความเข้มข้น (1, 5, 10, 30, 50, 100 และ 150 ng/mL) ความเข้มข้นละ 3 ซ้ำ นำค่า response มาประเมิน matrix effect (ME) ดังนี้ เกณฑ์ที่ยอมรับคือ $\leq 20\%$

$$ME(\%) = \left(\frac{\text{Rstd in matrix extract}}{\text{Rstd in solvent}} - 1 \right) \times 100$$

โดยที่ R = detector response

5.3.2 ความเป็นเส้นตรงของกราฟมาตรฐาน (linearity)

ตรวจวัดสารละลายมาตรฐานกลุ่ม carbamate 7 ระดับความเข้มข้น (1, 5, 10, 30, 50, 100 และ 150 ng/mL) ความเข้มข้นละ 3 ซ้ำด้วยเทคนิค LC-MS/MS แล้วสร้างกราฟระหว่างค่าเฉลี่ยของ response และค่าความเข้มข้นโดยพิจารณาค่าสัมประสิทธิ์การตัดสินใจ (correlation of determination, R^2) โดยค่า $R^2 \geq 0.990$

5.3.3 ความเป็นเส้นตรงของวิธีทดสอบ (working range)

ทดสอบตัวอย่าง spike sample ที่มีความเข้มข้นของสารกลุ่ม carbamate ระดับความเข้มข้น 1.5, 5, 25, 50 และ 75 $\mu\text{g/kg}$ ความเข้มข้นละ 10 ซ้ำด้วยเทคนิค LC-MS/MS แล้วสร้างกราฟระหว่างค่าเฉลี่ยของ response และค่าความเข้มข้นโดยพิจารณาค่าสัมประสิทธิ์การตัดสินใจ (correlation of determination, R^2) โดยค่า $R^2 \geq 0.990$

5.3.4 ความเที่ยง (precision) และความแม่นยำ (trueness)

สกัดตัวอย่าง spike sample ที่มีความเข้มข้นของสารกลุ่ม carbamate ความเข้มข้น 5, 25, 50 และ 75 µg/kg ความเข้มข้นละ 10 ซ้ำและทดสอบด้วยเทคนิค LC-MS/MS เทียบผลกับกราฟมาตรฐาน ประเมินผลการทดสอบโดยพิจารณาความเที่ยงจาก %RSD เกณฑ์ที่ยอมรับคือ ≤20% และพิจารณาความแม่นยำจาก %recovery เกณฑ์ที่ยอมรับคือ 70 - 120%

5.3.5 หาค่า LOD และค่า LOQ

สกัดตัวอย่าง spike sample ที่มีความเข้มข้นของสารกลุ่ม carbamate ความเข้มข้น 2 µg/kg จำนวน 10 ซ้ำและทดสอบด้วยเทคนิค LC-MS/MS โดยเทียบผลกับกราฟมาตรฐาน นำผลที่ได้มาคำนวณหาค่า standard deviation (S_0) แล้วคำนวณหาค่า LOD จาก $3S_0'$ และค่า LOQ จาก $10S_0'$

$$S_0' = \frac{S_0}{\sqrt{n}}$$

n = จำนวนทดสอบซ้ำในงาน routine

S_0 = standard deviation จากการทดสอบซ้ำ

S_0' = standard deviation สำหรับคำนวณค่า LOD และ LOQ

5.3.6 ยืนยันค่า LOD และค่า LOQ

สกัดตัวอย่าง spike sample ที่มีความเข้มข้นของสารกลุ่ม carbamate ที่คำนวณค่า LOD และค่า LOQ ได้ตามข้อ 5.3.5 จำนวนความเข้มข้นละ 10 ซ้ำและทดสอบด้วยเทคนิค LC-MS/MS โดยเทียบผลกับกราฟมาตรฐาน ประเมินผลการทดสอบค่า LOD โดยพิจารณาจากค่าสัญญาณของสารที่ตรวจเทียบกับสัญญาณรบกวน (signal to noise ratio, S/N) เกณฑ์ที่ยอมรับคือ $S/N \geq 3$ และประเมินผลการทดสอบค่า LOQ โดยพิจารณาความเที่ยงจาก %RSD เกณฑ์ที่ยอมรับคือ ≤20% และพิจารณาความแม่นยำจาก %recovery เกณฑ์ที่ยอมรับคือ 70 - 120%

6. ผลการทดสอบ

6.1 ผลกระทบจากเมทริกซ์

ผลกระทบจากเมทริกซ์ เมื่อเปรียบเทียบ response ของสารละลายมาตรฐานมาเทียบกับ response ของ matrix standard พบว่า มีค่า response ที่แตกต่างกัน ตั้งแต่ 0.85 - 19.90% ซึ่งอยู่ในเกณฑ์ที่ยอมรับ คือ ≤20% ดังตารางที่ 5

ตารางที่ 5 %matrix effect ของสารละลายมาตรฐานเทียบกับ matrix standard จำนวน 7 ระดับ
ความเข้มข้น

Compound	%Matrix effect						
	1 ng/mL	5 ng/mL	10 ng/mL	30 ng/mL	50 ng/mL	100 ng/mL	150 ng/mL
aldicarb sulfoxide	13.27	19.88	13.19	13.94	12.82	3.81	10.45
aldicarb sulfone	18.59	18.89	4.87	7.58	12.16	5.59	7.30
methomyl	14.56	16.85	17.68	13.13	16.71	8.42	10.29
3-hydroxy carbofuran	12.48	17.14	19.70	19.87	19.54	19.69	15.34
aldicarb	18.68	19.90	12.30	11.77	12.05	9.39	7.13
propoxur	0.85	9.35	5.24	5.61	3.33	1.27	1.30
carbofuran	6.87	12.66	6.11	7.21	7.46	3.28	1.25
carbaryl	2.04	10.39	3.78	3.38	2.91	1.06	1.93
methiocarb	1.49	10.36	7.59	8.33	3.02	3.93	5.23

6.2 ความเป็นเส้นตรงของกราฟมาตรฐาน

ทดสอบความเป็นเส้นตรงของกราฟมาตรฐาน พบว่า ค่า R^2 อยู่ในช่วง 0.9973 - 0.9984 ซึ่งอยู่ในเกณฑ์ที่ยอมรับ คือ ≥ 0.990 ดังตารางที่ 6

ตารางที่ 6 ค่า slope, intercept และ R^2 ของสารมาตรฐานกลุ่ม carbamate

Compound	Slope	Intercept	R^2
aldicarb sulfoxide	45687	135797	0.9983
aldicarb sulfone	6262.5	22122	0.9982
methomyl	105192	232456	0.9983
3-hydroxy carbofuran	126009	363895	0.9975
aldicarb	55994	188767	0.9982
propoxur	116327	410809	0.9975
carbofuran	241767	853989	0.9981
carbaryl	100307	303707	0.9984
methiocarb	154855	655030	0.9973

6.3 ความเป็นเส้นตรงของวิธีทดสอบ

ทดสอบความเป็นเส้นตรงของวิธีทดสอบ พบว่า ค่า R^2 อยู่ในช่วง 0.9976 - 0.9998 ซึ่งอยู่ในเกณฑ์ที่ยอมรับ คือ ≥ 0.990 ดังตารางที่ 7

ตารางที่ 7 ค่า slope, intercept และ R^2 ของวิธีทดสอบสารกลุ่ม carbamate

Compound	Slope	Intercept	R^2
aldicarb sulfoxide	5207.3	-3290	0.9998
aldicarb sulfone	2696.4	-333.67	0.9998
methomyl	12757	6316.5	0.9994
3-hydroxy carbofuran	6771.2	-601.4	0.9984
aldicarb	9169.2	-8832.8	0.9985
propoxur	26962	18839	0.9992
carbofuran	44092	21261	0.9996
carbaryl	23471	8870.4	0.9986
methiocarb	14222	23027	0.9976

6.4 ความเที่ยง

ทดสอบความเที่ยง พบว่า %RSD มีค่าอยู่ในช่วง 1.06 – 10.72% ซึ่งอยู่ในเกณฑ์ที่ยอมรับ คือ $\leq 20\%$ ดังตารางที่ 8

ตารางที่ 8 %RSD ของวิธีทดสอบสารกลุ่ม carbamate

compound	%RSD			
	5 µg/kg	25 µg/kg	50 µg/kg	75 µg/kg
aldicarb sulfoxide	7.95	4.10	10.72	3.07
aldicarb sulfone	8.53	5.06	6.57	3.77
methomyl	3.77	4.05	3.93	5.00
3-hydroxy carbofuran	4.93	3.54	7.57	7.76
aldicarb	3.84	3.99	9.73	9.42
propoxur	3.44	4.55	6.82	5.17
carbofuran	5.57	5.62	7.33	4.35
carbaryl	4.40	4.12	5.30	6.18
methiocarb	6.59	1.06	6.08	6.76

6.5 ความแม่นยำ

ทดสอบความแม่นยำ พบว่า %recovery มีค่าอยู่ในช่วง 71.04 - 104.35% ซึ่งอยู่ในเกณฑ์ที่ยอมรับคือ 70 - 120% ดังตารางที่ 9

ตารางที่ 9 %recovery (เฉลี่ย) ของวิธีทดสอบสารกลุ่ม carbamate

compound	%Recovery (เฉลี่ย)			
	5 µg/kg	25 µg/kg	50 µg/kg	75 µg/kg
aldicarb sulfoxide	103.60	101.74	102.93	104.35
aldicarb sulfone	89.87	91.24	99.79	97.85
methomyl	101.79	99.66	102.99	100.29
3-hydroxy carbofuran	98.52	85.79	90.82	87.07
aldicarb	85.46	80.36	88.59	89.02
propoxur	95.80	86.26	96.27	95.28
carbofuran	87.77	85.63	91.65	90.96
carbaryl	85.58	83.62	90.72	85.76
methiocarb	84.98	71.04	84.55	84.67

6.6 หาค่า LOD และค่า LOQ

ตารางที่ 10 ผลทดสอบเพื่อหาค่า LOD และ LOQ ของวิธีทดสอบสารกลุ่ม carbamate

compound	conc. µg/kg)										average	SD (S ₀)	LOD (3S ₀)	LOQ (10S ₀)
	SP1	SP2	SP3	SP4	SP5	SP6	SP7	SP8	SP9	SP10				
aldicarb sulfoxide	1.99	2.137	2.263	1.998	1.846	1.804	1.955	1.861	1.859	1.715	1.943	0.163	0.490	1.633
aldicarb sulfone	2.044	2.246	2.225	2.104	1.945	1.860	1.946	2.121	2.057	1.804	2.035	0.147	0.440	1.466
methomyl	1.597	1.813	1.745	1.654	1.623	1.477	1.538	1.486	1.512	1.489	1.593	0.116	0.348	1.162
3-hydroxy carbofuran	1.681	1.951	1.958	1.664	1.740	1.540	1.518	1.514	1.561	1.581	1.671	0.167	0.501	1.670
aldicarb	1.483	1.569	1.621	1.376	1.481	1.333	1.328	1.341	1.346	1.271	1.415	0.116	0.349	1.164
propoxur	1.714	1.782	1.837	1.745	1.669	1.497	1.594	1.569	1.645	1.573	1.663	0.107	0.322	1.072
carbofuran	1.654	1.740	1.789	1.700	1.594	1.542	1.506	1.553	1.600	1.549	1.623	0.0944	0.283	0.944
carbaryl	1.640	1.873	2.023	1.642	1.585	1.603	1.608	1.616	1.66	1.557	1.681	0.148	0.445	1.482
methiocarb	1.578	1.652	1.668	1.604	1.510	1.488	1.432	1.52	1.541	1.454	1.545	0.0798	0.239	0.798

6.5 ยืนยันค่า LOD และค่า LOQ

ทดสอบเพื่อยืนยันค่า LOD พบว่า ค่า S/N (เฉลี่ย) อยู่ในช่วง 46.33 – 375.87 ซึ่งอยู่ในเกณฑ์ที่ยอมรับได้คือ ≥ 3 ผลทดสอบเพื่อยืนยันค่า LOQ พบว่า %RSD มีค่าอยู่ในช่วง 5.15 - 9.70% ซึ่งอยู่ในเกณฑ์ที่ยอมรับคือ $\leq 20\%$ และ %recovery (เฉลี่ย) อยู่ในช่วง 71.93 – 106.46% ซึ่งอยู่ในเกณฑ์ที่ยอมรับคือ 70 - 120% ดังตารางที่ 11

ตารางที่ 11 ผลทดสอบค่า LOD และ LOQ ของวิธีทดสอบสารกลุ่ม carbamate

compound	LOD 0.5 µg/kg	LOQ 1.5 µg/kg	
	S/N (เฉลี่ย)	%RSD	%recovery (เฉลี่ย)
aldicarb sulfoxide	124.02	6.23	100.57
aldicarb sulfone	46.33	9.70	106.46
methomyl	271.39	5.15	96.63
3-hydroxy carbofuran	79.36	5.47	96.39
aldicarb	167.14	7.91	75.59
propoxur	375.87	8.29	82.73
carbofuran	319.91	8.57	76.36
carbaryl	359.11	6.03	79.24
methiocarb	205.89	5.66	71.93

7. สรุปผลการทดลอง

วิธีทดสอบสารกลุ่ม carbamate ในเนื้อสัตว์ด้วยเทคนิค LC-MS/MS ได้ดำเนินการทดสอบความใช้ได้ของวิธีในหัวข้อ ผลกระทบจากเมทริกซ์ ความเป็นเส้นตรงของกราฟมาตรฐาน ความเป็นเส้นตรงของวิธีทดสอบ ความเที่ยง ความแม่นยำ LOD และ LOQ ได้ผลการทดสอบเป็นไปตามเกณฑ์การยอมรับ ดังนั้นวิธีทดสอบนี้มีประสิทธิภาพ สามารถนำวิธีดังกล่าวไปใช้ในการทดสอบสารกลุ่ม carbamate ในกิจกรรมการเฝ้าระวังสารตกค้างประจำปีของกรมปศุสัตว์ได้

8. ข้อเสนอแนะ

วิธีทดสอบที่ได้ผ่านการทดสอบความใช้ได้ของวิธีทดสอบนี้ เป็นการตรวจสอบความใช้ได้ของห้องปฏิบัติการเดียว ควรมีการเข้าร่วมทดสอบความชำนาญ (proficiency testing) หรือมีการเปรียบเทียบผลระหว่างห้องปฏิบัติการ (interlaboratory comparision) เพื่อให้วิธีทดสอบนี้สามารถตรวจวิเคราะห์ตัวอย่างได้ถูกต้อง

9. กิตติกรรมประกาศ

ขอขอบคุณผู้อำนวยการสำนักตรวจสอบคุณภาพสินค้าปศุสัตว์ ที่สนับสนุนการศึกษาในครั้งนี้ รวมทั้งเจ้าหน้าที่งานเคมีอาหาร สารตกค้างและสารปนเปื้อน กลุ่มตรวจสอบคุณภาพเนื้อสัตว์และผลผลิตจากสัตว์ สำนักตรวจสอบคุณภาพสินค้าปศุสัตว์ที่ช่วยในการศึกษาในครั้งนี้สำเร็จลุล่วงไปด้วยดี

10. เอกสารอ้างอิง

พิมพ์เพ็ญ พรเฉลิมพงศ์ และนิธิยา รัตนปนนท์. (ม.ป.ป.). **Carbamate/คาร์บาเมต**. สืบค้นจาก <https://www.foodnetworksolution.com/wiki/word/2173/carbamate> (7 กันยายน 2565).

ประยงค์ มุลลอย. (2534). **ยาฆ่าแมลง**. จุฬาลงกรณ์เวชสาร. 35(1):44-49.

Commission implementing regulation (EU) 2021/808. (2021). **On the performance of analytical methods for residues of pharmacologically active substances used in food-producing animals and on the interpretation of results as well as on the methods to be used for sampling and repealing decisions**. pp 105.

SANTE/11312/2021. (2022). **Analytical quality control and method validation procedures for pesticide residues and analysis in food and feed**. pp 6-55.