

การพัฒนาวิธีทดสอบสารกลุ่มออร์กาโนคลอรีน ออร์กาโนฟอสเฟต และโพลีคลอรีเนตเต็ดไบฟีนิล ในน้ำมันดิบด้วยเทคนิค GC-MS/MS

ทิพย์สุตา วรรณอินทร์ ธาविดา ม่วงไตรรัตน์ วิภาดา สิริสมภพชัย

บทคัดย่อ

การศึกษาค้นคว้าวิธีทดสอบสารออร์กาโนคลอรีน ออร์กาโนฟอสเฟต และโพลีคลอรีเนตเต็ดไบฟีนิล ในน้ำมันดิบด้วยเทคนิค GC-MS/MS ได้ศึกษาวิธีการสกัดและการทำให้บริสุทธิ์ที่เหมาะสมสำหรับการตรวจวิเคราะห์สารกลุ่มออร์กาโนคลอรีน 13 ชนิด สารกลุ่มออร์กาโนฟอสเฟต 2 ชนิด และสารกลุ่มโพลีคลอรีเนตเต็ดไบฟีนิล 7 ชนิด โดยสกัดสารตัวอย่างน้ำมันด้วยสารละลายผสม 1% formic acid ใน acetonitrile และเปรียบเทียบประสิทธิภาพในขั้นตอนการ clean up ระหว่างเทคนิค QuEChERS กับ เทคนิค solid-phase extraction ชนิด silica (silica-SPE) จากนั้นทำการวิเคราะห์ชนิดสารด้วย GC-MS/MS (triple quadrupole) จากการศึกษาพบว่าวิธีการสกัดและการ clean up ด้วยวิธี QuEChERS ที่ใช้ปริมาณ PSA 100 มิลลิกรัม C18 100 มิลลิกรัม magnesium sulfate 100 มิลลิกรัม และactivated florisil 100 มิลลิกรัม มีประสิทธิภาพในการกำจัดไขมันได้ดีที่สุด และรองลงมาคือการ clean up ด้วย silica-SPE (500 mg/6 mL) ส่วนของการทดสอบ %recovery นั้น พบว่าการ clean up ด้วย silica-SPE มี %recovery อยู่ในช่วง 70-120% ซึ่งยอมรับได้ โดยวิธีนี้มีค่า limit of detection และ ค่า limit of quantification ของแต่ละชนิดสารเท่ากับ 1 และ 3 µg/kg ตามลำดับ

คำสำคัญ: ออร์กาโนคลอรีน ออร์กาโนฟอสเฟส โพลีคลอรีเนตเต็ดไบฟีนิล น้ำมันดิบ GC-MS/MS

กลุ่มตรวจสอบคุณภาพเนื้อสัตว์และผลผลิตจากสัตว์ สำนักตรวจสอบคุณภาพสินค้าปศุสัตว์ กรมปศุสัตว์

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

Method Development of the Determination of Organochlorine Organophosphates and Polychlorinated Biphenyls in Milk by GC-MS/MS

Tipsuda Wanna-im Thawida Muangtrirat Wiphada Sirisomphobchai

Abstract

The study method development of the determination of organochlorine (OCPs), organophosphates (OPPs) and polychlorinated biphenyls (PCBs) in milk by GC-MS/MS. A suitable extraction and clean up method was studied for 13 OCPs, 2 OPPs and 7 PCBs were studied. The raw milk samples were extracted with 1% formic acid in acetonitrile and compare the clean up methods between QuEChERS techniques and solid-phase extraction technique with silica type (silica-SPE) and analysis by GC-MS/MS (triple quadrupole). The study found that extraction and clean up by QuEChERS method using PSA 100 mg, C18 100 mg, magnesium sulfate 100 mg, activated florisil 100 mg were the most effective in fat removal, and followed by clean up with silica-SPE. As for the %recovery test, it was found that clean up with silica-SPE had %recovery in the range of 70-120% which was acceptable. The limit of detection and the limit of quantitation of each analytical was 1 and 3 µg/kg, respectively.

Keywords: organochlorine, organophosphates, polychlorinated biphenyls, raw milk,
GC-MS/MS

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

การพัฒนาวิธีทดสอบสารกลุ่มออร์กาโนคลอรีน ออร์กาโนฟอสเฟต และโพลีคลอรีเนเตดไบฟีนิลในน้ำมันดิบด้วยเทคนิค GC-MS/MS

บทนำ

วัตถุอันตรายทางการเกษตรหมายถึง สารเคมีที่มีการนำมาใช้โดยมีวัตถุประสงค์เพื่อควบคุม ป้องกัน และกำจัดศัตรูของพืชเช่น แมลงต่างๆ รวมถึงสัตว์ฟันแทะ และช่วยป้องกันโรคที่เกิดจากสัตว์เป็นพาหะได้อีกทางหนึ่งด้วย สารกำจัดศัตรูพืชกลุ่มออร์กาโนคลอรีน (organochlorine, OCPs) เป็นกลุ่มของสารเคมีที่มีความหลากหลายโดยมีส่วนประกอบของไฮโดรเจน คาร์บอนและคลอรีน ปัจจุบันสารในกลุ่มนี้หลายชนิดจัดเป็นวัตถุอันตรายชนิดที่ 4 ตามพระราชบัญญัติวัตถุอันตราย พ.ศ. 2535 คือ ห้ามมิให้มีการผลิต นำเข้า ส่งออก หรือมีไว้ในครอบครอง เพราะมีพิษต่อสัตว์เลี้ยงลูกด้วยนม ก่อให้เกิดโรคมะเร็ง ทั้งนี้สารกำจัดศัตรูพืชกลุ่มนี้มีคุณสมบัติในการละลายในไขมันได้ดีมากและเกิดการสลายตัวช้าจึงพบการสะสมในสิ่งแวดล้อมเป็นเวลานานและมีความเสี่ยงสูงในการปนเปื้อนในห่วงโซ่อาหาร สารกำจัดศัตรูพืชออร์กาโนฟอสเฟต (organophosphate, OPPs) เป็นกลุ่มของสารอินทรีย์จำพวกฟอสฟอรัส สารกลุ่มนี้สารสามารถระเหยได้เล็กน้อยและจะสลายตัวเมื่อถูกความร้อนสูง ละลายได้ดีในน้ำมันหรือแอลกอฮอล์ เกษตรกรมีการนำไปใช้เพื่อวัตถุประสงค์ที่หลากหลาย เช่น การใช้กำจัดแมลง ถ่ายพยาธิและกำจัดวัชพืช เป็นต้น

สารโพลีคลอรีเนเตดไบฟีนิล (polychlorinated biphenyls, PCBs) เป็นสารประกอบอินทรีย์ประเภทไฮโดรคาร์บอนที่มีคลอรีนเป็นองค์ประกอบ มีคุณสมบัติละลายน้ำได้น้อยและยังละลายได้น้อยลงเมื่อมีปริมาณคลอรีนเพิ่มขึ้น ละลายได้ในสารละลายอินทรีย์ น้ำมัน และไขมัน สลายตัวได้ยากและสามารถสะสมอยู่ได้ทั้งในสิ่งมีชีวิตและสิ่งแวดล้อม PCBs เข้าสู่ร่างกายโดยการหายใจ ทางผิวหนัง และการกิน สัตว์เลี้ยงที่สัมผัสหรือกินอาหารที่มี PCBs ปนอยู่จะถูกดูดซึมไปสะสมในเนื้อเยื่อไขมันเป็นส่วนใหญ่

การปนเปื้อนในน้ำมันดิบ ส่วนใหญ่มาจากการใช้สารฆ่าแมลงกำจัดพยาธิภายนอกร่างกายโคนม เช่น เหลือบ เห็บ แมลง และการใช้สารฆ่าแมลง กำจัดแมลงในคอก เช่น แมลงวัน มด สารฆ่าแมลงบางชนิดจะมีฤทธิ์คงอยู่นาน

1. วัตถุประสงค์

เพื่อพัฒนาวิธีการสกัดสารและวิเคราะห์สารพิษตกค้างกลุ่ม OCPs, OPPs, PCBs ในน้ำนมดิบด้วยเทคนิค GC-MS/MS ได้

2. ขอบข่าย

พัฒนาวิธีการสกัดสารและวิเคราะห์สารพิษตกค้าง ในน้ำนมดิบด้วยเทคนิค GC-MS/MS โดยสารที่ต้องการวิเคราะห์ได้แก่

- กลุ่ม OCPs จำนวน 13 ชนิด ได้แก่ alpha-HCH, beta-HCH, gamma-HCH (lindane), aldrin, dieldrin, heptachlor, cis-heptachlore epoxide, o,p'-DDD, o,p'-DDE, o,p'-DDT, p,p'DDD, p,p'DDE และ p,p'DDT

- กลุ่ม OPPs จำนวน 2 ชนิด ได้แก่ diazinon และ chlorpyrifos

- กลุ่ม PCBs จำนวน 7 ชนิด ได้แก่ PCB 28, PCB 52, PCB 101, PCB 138, PCB 153, PCB 180 และ PCB 118

3. ประโยชน์ที่คาดว่าจะได้รับ

3.1 ได้วิธีการสกัดสารกลุ่ม OCPs, OPPs และ PCBs ในน้ำนมดิบและสามารถวิเคราะห์ด้วยเทคนิค GC-MS/MS

3.2 เป็นข้อมูลเพื่อใช้ในการตรวจสอบความใช้ได้ของวิธีทดสอบสารพิษตกค้างกลุ่ม OCPs, OPPs และ PCBs ในน้ำนมดิบด้วยเทคนิค GC-MS/MS ต่อไป

4. อุปกรณ์และวิธีการ

4.1 อุปกรณ์และเครื่องมือ

4.1.1 Centrifuge tube แก้ว ขนาด 15 mL

4.1.2 Centrifuge tube พลาสติก ชนิด polypropylene (PP) ขนาด 50 mL

4.1.3 Adjustable pipette ขนาด 10-100 μ L, 100-1000 μ L, 500-5000 μ L

4.1.4 Pasture pipette

4.1.5 Syringe membrane ชนิด nylon (0.2 μ m)

4.1.6 Solid phase extraction (SPE) column ชนิด silica ปริมาณ 500 mg ขนาด 6 mL

4.1.7 Vacuum manifold

4.1.8 Volumetric flask

4.1.9 Vial ขนาด 2 mL สำหรับใช้กับ Automatic injector ของเครื่อง GC-MS/MS

4.1.10 เครื่อง GC-MS/MS (triple quadrupole)

4.1.11 เครื่องชั่งความละเอียด 0.001 กรัม

4.1.12 เครื่องปั่นเหวี่ยง (centrifuge)

4.1.13 อุปกรณ์ลดปริมาตรสารละลายโดยการเป่าด้วยแก๊สไนโตรเจน (N-Evap)

4.2 สารเคมี

4.2.1 Acetonitrile (AR grade)

4.2.2 Formic acid (AR grade)

4.2.3 Magnesium sulfate, MgSO_4 (AR grade)

4.2.4 Sodium acetate (AR grade)

4.2.5 Primary secondary amine (PSA)

4.2.6 Octadecylsilane (C18)

4.2.7 Florisil ขนาด 60-120 mesh, for residue analysis เตรียมเป็น activated florisil โดยเผา florisil ที่อุณหภูมิ 650 ± 20 °C เป็นเวลาไม่น้อยกว่า 4 ชั่วโมง แล้วปิดไฟเตาเผา ทิ้งขามระเหยไว้ในเตาเผาประมาณ 3 ชั่วโมง แล้วนำไปอบที่อุณหภูมิ 130 ± 10 °C ไม่น้อยกว่า 48 ชั่วโมง แล้วจึงถ่าย florisil ใส่ในขวดสีชาปิดจุก และเก็บไว้ใน desiccator จนอุณหภูมิของ florisil ลดลงเท่าอุณหภูมิห้องจึงสามารถใช้งานได้

4.2.8 สารละลายผสม 1% formic acid ใน acetonitrile เตรียมโดยการตวง acetonitrile ประมาณ 20 mL เติม formic acid 1 mL แล้วปรับปริมาตรด้วย acetonitrile จนครบ 100 mL ใน volumetric flask

4.2.9 Iso-octane (PR grade)

4.2.10 Argon gas (ultra high purity) 99.999%

4.2.11 Helium gas (ultra high purity) 99.999%

4.2.12 Nitrogen gas (oxygen free nitrogen, OFN) 99.995 %

4.3 สารมาตรฐาน

4.3.1 สารละลายมาตรฐานกลุ่ม OCPs เกรดวัสดุอ้างอิงรับรอง ยี่ห้อ Dr.Ehrenstorfer ได้แก่ o,p'-DDD, o,p'-DDE, o,p'-DDT, p,p'DDD, p,p'DDE, p,p'DDT, alpha-HCH, beta-HCH, lindane, aldrin, dieldrin, heptachlor และ cis-heptachlor epoxide

4.3.2 สารละลายมาตรฐานกลุ่ม OPPs เกรดวัสดุอ้างอิงรับรอง ยี่ห้อ Dr.Ehrenstorfer ได้แก่ diazinon และ chlorpyrifos

4.3.3 สารละลายมาตรฐานกลุ่ม PCBs เกรดวัสดุอ้างอิงรับรอง ยี่ห้อ Dr.Ehrenstorfer ได้แก่ PCB 28, PCB 52, PCB 101, PCB 138, PCB 153, PCB 180 และ PCB 118

5. การสกัดสารตัวอย่าง

การสกัดตัวอย่างน้ำมันได้ปรับปรุงจากวิธีของ (Kuang, et al., 2020) โดยทำการชั่งตัวอย่างน้ำมันดิบน้ำหนัก 1 กรัม ลงใน centrifuge tube ขนาด 50 mL เติมสารละลายผสม 1% formic acid ใน acetonitrile ปริมาตร 5 mL เขย่าด้วยเครื่องเขย่าโดยใช้ความเร็ว 300 รอบต่อนาที เวลา 15 นาที แล้วดูดส่วนใสลงใน centrifuge tube ใหม่ขนาด 50 mL และสกัดสารตัวอย่างซ้ำอีกรอบ

เติม MgSO_4 0.4 กรัม และ sodium acetate 0.1 กรัม ลงในสารละลายตัวอย่าง เขย่าด้วยเครื่องเขย่า โดยใช้ความเร็ว 300 รอบต่อนาที เวลา 1 นาทีแล้วนำไป centrifuge ความเร็ว 10,000 รอบต่อนาที อุณหภูมิ -20°C เวลา 15 นาที หลังจากนั้นดูดสารละลายทั้งหมดไป clean up ต่อไป

6. การ Clean up

6.1 การ Clean up ด้วยวิธี QuEChERS

นำสารละลายตัวอย่างจากข้อ 5 เติมน้ำมันลงใน centrifuge tube ขนาด 50 mL และนำไป clean up โดยการเติมด้วยตัวดูดซับ 3 รูปแบบ ดังนี้

6.1.1 PSA 250 mg, C18 250 mg, MgSO_4 250 mg (วิธี (a))

6.1.2 PSA 100 mg, C18 100 mg, MgSO_4 100 mg, Activated florisil 100 mg (วิธี (b))

6.1.3 PSA 150 mg, C18 150 mg, MgSO_4 150 mg (วิธี (c))

นำไปเขย่าใช้ความเร็ว 300 รอบต่อนาที เวลา 3 นาที แล้วนำไป centrifuge ที่ความเร็ว 10,000 รอบต่อนาที อุณหภูมิ -20°C เป็นเวลา 15 นาที แล้วนำสารละลายตัวอย่างที่ได้กรองผ่าน syringe membrane ชนิด nylon ลงใน centrifuge tube ขนาด 15 mL จนได้สารละลายตัวอย่าง 5 mL แล้วนำไประเหยแห้งด้วยเครื่อง N-Evap อุณหภูมิไม่เกิน 40°C

6.2 การ Clean up ด้วยวิธี SPE column

ต่อ SPE column ชนิด silica (วิธี (d)) เข้ากับชุด vacuum manifold ปรับสภาพ SPE ด้วยสารละลายผสม 1% formic acid ใน acetonitrile ปริมาตร 5 mL นำสารละลายตัวอย่างเหลวใน SPE column แล้วปล่อยให้สารละลายหยดลง centrifuge tube แก้วขนาด 15 mL ด้วยอัตราการไหล 1 หยดต่อวินาที แล้วนำไประเหยแห้งด้วยเครื่อง N-Evap อุณหภูมิไม่เกิน 40°C

7. การตรวจสอบประสิทธิภาพการกำจัดสิ่งรบกวนในขั้นตอนการสกัด

สิ่งรบกวนที่สำคัญที่ในขั้นตอนการสกัดสารตัวอย่างคือ ปริมาณไขมันที่เหลืออยู่หลังขั้นตอนการ clean up ดังนั้นการตรวจสอบประสิทธิภาพการกำจัดไขมันหลังขั้นตอนการ clean up จึงคำนวณดังนี้

$$\% \text{ประสิทธิภาพในการกำจัดไขมัน} = \frac{(\text{น้ำหนักหลอดแก้ว} + \text{ไขมันที่อบแห้ง}) - \text{น้ำหนักหลอดแก้ว}}{\text{น้ำหนักตัวอย่างน้ำมัน}} \times 100$$

8. การทดสอบร้อยละการกลับคืนเฉลี่ย (%recovery)

8.1 นำตัวอย่างที่ระเหยแห้งปรับปริมาตรด้วย iso-octane เป็น 1 mL แล้วนำไปวิเคราะห์ด้วยเครื่อง GC-MS/MS ตรวจสอบค่า %recovery และค่าเบี่ยงเบนมาตรฐานสัมพัทธ์ (relative standard deviation, %RSDr)

$$\text{โดย } \% \text{recovery} = \frac{CF - CU}{CA} \times 100$$

เมื่อ CF = ความเข้มข้นของสารที่วิเคราะห์ได้ใน spiked sample (conc found)

CU = ความเข้มข้นของสารใน sample blank (conc unspiked)

CA = ความเข้มข้นของสารที่เติมลงไป sample blank (conc added)

%RSDr = (standard deviation (SD) / mean conc) x 100

8.2 ปรับตั้งสภาวะของเครื่อง GC ดังนี้

ชนิดของ column : DB-5MS UI หรือเทียบเท่า

ขนาดของ GC column : เส้นผ่านศูนย์กลางภายใน 0.25 มิลลิเมตร
 ความยาว 30 เมตร

ชนิดของ carrier gas : Helium ชนิด Ultra High Purity

Flow rate ของ carrier gas : 1.0 mL/min

ชนิดของ injection port : PTV หรือ Split/Splitless

อุณหภูมิของ injection port : 290 °C

ปริมาตรที่ฉีด : 1 µL

อุณหภูมิของ column oven : 100 °C (0.50 min) , 20.0 °C/min to 280 °C (1.50 min), 10.0 °C /min to 300 °C (3.00 min)

8.3 ปรับตั้งสภาวะส่วน mass spectrometric detector ดังนี้

Ion source : EI+

Source temperature : 250 °C

Transfer line temperature : 290 °C

9. ทดสอบ Limit of Detection (LOD) Limit of Quantification (LOQ)

สกัด spiked sample ที่เติมสารมาตรฐานลงในตัวอย่างน้ำมันให้มีความเข้มข้น 10 µg/kg อย่างน้อย 5 ซ้ำ แล้ววิเคราะห์ด้วยเครื่อง GC-MS/MS และหาค่าความเข้มข้นสารโดยเทียบกับ matrix match standard solution ที่ความเข้มข้น 1, 5, 10, 15, 20 µg/kg คำนวณค่า LOD และ LOQ จากสูตร

$$\text{LOD} = 3S'_0 \quad \text{และ} \quad \text{LOQ} = 10S'_0$$

$$\text{เมื่อ } S'_0 = \frac{S_0}{\sqrt{n}} \quad \text{และ} \quad S_0 = \text{SD}$$

n = จำนวนซ้ำของตัวอย่างตามวิธีทดสอบในงานประจำ (n=1)

10. การยืนยันค่า LOD และค่า LOQ

ทำการทดสอบ spiked sample ตามค่า LOD และ LOQ ที่คำนวณได้ในข้อ 9 อย่างน้อยความเข้มข้นละ 5 ซ้ำ ประเมินผลการทดสอบค่า LOD โดยพิจารณาจากค่าสัญญาณของสารที่ตรวจเทียบกับสัญญาณรบกวน (signal to noise ratio, S/N) เกณฑ์ที่ยอมรับได้คือ $S/N \geq 3$ ในส่วนของค่า LOQ นั้นต้องมีค่าร้อยละการกลับคืนเฉลี่ย (%mean recovery, MR) และค่าเบี่ยงเบนมาตรฐานสัมพัทธ์ (%RSD_r) ตาม CODEX (2017) ดังตารางที่ 1

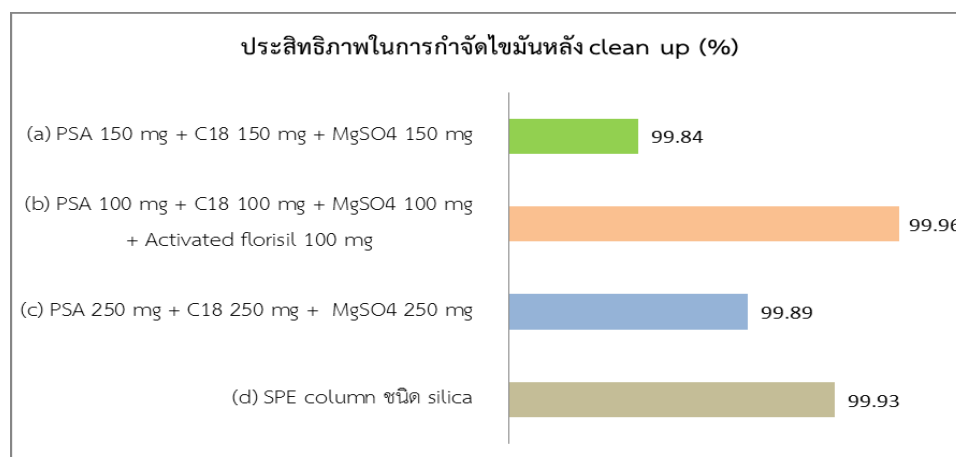
ตารางที่ 1 เกณฑ์ค่าร้อยละการกลับคืนเฉลี่ยและค่าเบี่ยงเบนมาตรฐานสัมพัทธ์ตาม CODEX (2017)

ปริมาณสารในตัวอย่าง (Concentration, mg/kg)	Relative standard deviation, %RSD _r	Range of mean% recovery
< 0.01	30	60-120
≥ 0.01	20	70-120

ผลการทดลอง

1. ประสิทธิภาพการกำจัดสิ่งรบกวนการวิเคราะห์

ในการตรวจสอบประสิทธิภาพในการกำจัดสิ่งรบกวนการวิเคราะห์ โดยประเมินที่ประสิทธิภาพในการกำจัดไขมันพบว่าการ clean up ด้วยวิธี (b) มีประสิทธิภาพในการกำจัดไขมันได้ดีที่สุดและรองลงมาคือการ clean up ด้วยวิธี (d) ดังรูปภาพที่ 1



รูปที่ 1 ประสิทธิภาพในการกำจัดสิ่งรบกวนการวิเคราะห์โดยประเมินที่ประสิทธิภาพในการกำจัดไขมันหลัง clean up

2. %recovery

ทดสอบ spiked sample สารกลุ่ม OCPs, OPPs และ PCBs ในตัวอย่างน้ำนมดิบที่ระดับความเข้มข้น 10 µg/kg และเปรียบเทียบผล %mean recovery หลังการ clean up ระหว่างการ clean up ด้วยวิธี (b) กับ วิธี (d) พบว่าผลวิธี (b) มีผล %recovery ของสาร heptachlor, dieldrin และ p,p'-DDT ไม่อยู่ในเกณฑ์ที่ยอมรับได้ ส่วนการ clean up ด้วยวิธี (d) นั้นได้ผล %recovery อยู่ในเกณฑ์ยอมรับได้ทุกสาร (70-120%) ตามตารางที่ 2 ดังนั้นจึงทำการทดสอบค่า LOD และ LOQ ด้วยการ clean up ด้วยวิธี (d) ต่อไป

ตารางที่ 2 เปรียบเทียบผลการทดสอบ %recovery ระหว่างการ clean up ด้วยวิธี (b) กับ วิธี (d)

Compound	% Mean Recovery	
	clean up วิธี (b)	clean up วิธี (d)
alpha-HCH	104.00	86.08
beta-HCH	90.00	93.22
Lindane	98.33	81.82
Diazinon	75.33	84.59
PCB28	88.00	97.29
Heptachlor	67.00	77.40
PCB52	97.00	82.93
Chlorpyrifos	94.00	91.34
Aldrin	94.00	83.60
dis-Heptachlor epoxide	95.33	84.23
o,p'-DDE	92.67	85.85
PCB101	108.00	91.81
p,p'-DDE	100.67	84.36
Dieldrin	149.67	89.39
o,p'-DDD	94.00	96.01
PCB118	89.33	103.36
p,p'-DDD+o,p'-DDT	109.67	97.82
PCB153	98.67	81.87
p,p'-DDT	120.33	87.11
PCB138	101.00	78.28
PCB180	111.00	79.43

3. ค่า Limit of Detection (LOD) Limit of Quantification (LOQ)

ผลการทดสอบ spiked sample ที่ความเข้มข้น 10 µg/kg จำนวน 5 ซ้ำ สามารถคำนวณค่า LOD และ LOQ ได้ตั้งแต่ 1.05 – 2.45 และ 3.52– 8.17 µg/kg ตามลำดับ ดังตารางที่ 3 จึงได้ทดสอบการยืนยันค่า LOD และ LOQ ที่ความเข้มข้น 1 และ 3 µg/kg ตามลำดับต่อไป

ตารางที่ 3 ผลทดสอบ Limit of Detection (LOD) และ Limit of Quantification (LOQ)

Compound	Conc mean (µg/kg)	SD	LOD	LOQ
alpha-HCH	9.113	0.817	2.45	8.17
beta-HCH	9.761	0.576	1.73	5.76
Lindane	8.375	0.352	1.05	3.52
Diazinon	8.841	0.724	2.17	7.24
PCB28	9.057	0.432	1.30	4.32
Heptachlor	8.447	0.694	2.08	6.94
PCB52	8.650	0.817	2.45	8.17
Chlorpyrifos	9.477	0.686	2.06	6.86
Aldrin	8.425	0.720	2.16	7.20
disHeptachlor epoxide	8.220	0.633	1.90	6.33
o,p'-DDE	8.773	0.571	1.71	5.71
PCB101	9.740	0.626	1.88	6.26
p,p'-DDE	8.951	0.715	2.15	7.15
Dieldrin	9.397	0.698	2.09	6.98
o,p'-DDD	9.208	0.650	1.95	6.50
PCB118	9.756	0.802	2.41	8.02
p,p'-DDD+o,p'-DDT	19.063	0.632	1.90	6.32
PCB153	7.904	0.521	1.56	5.21
p,p'-DDT	8.428	0.599	1.80	5.99
PCB138	8.082	0.708	2.12	7.08
PCB180	7.695	0.552	1.66	5.52

4. การยืนยันค่า LOD และค่า LOQ

ผลการทดสอบ spiked sample ที่ความเข้มข้น 1 และ 3 µg/kg จำนวน 5 ซ้ำ เพื่อยืนยันค่า LOD และค่า LOQ นั้น โดยเงื่อนไขของผลการทดสอบคือ S/N ของค่า LOD ต้องมีค่า ≥ 3 และ LOQ นั้นต้องมีค่า ≥ 10 ส่วน %MR ต้องอยู่ในช่วง 60-120 % และ %RSD_r ต้องไม่เกิน 20% ซึ่งผลการทดสอบอยู่ในเกณฑ์ที่ยอมรับได้ทุกสารตามตารางที่ 4

ตารางที่ 4 ผลทดสอบการยืนยันค่า LOD และ LOQ

Compound	LOD 1 µg/kg	LOQ 3 µg/kg		
	SN(เฉลี่ย)	%Recovery (เฉลี่ย)	%RSD _r	SN(เฉลี่ย)
alpha-HCH	114.57	105.99	11.47	134.01
beta-HCH	79.87	82.09	10.32	165.89
Lindane	107.49	87.59	13.33	170.42
Diazinon	194.53	78.83	19.74	442.65
PCB28	204.30	90.75	6.53	453.24
Heptachlor	32.78	79.67	16.75	69.20
PCB52	294.07	76.83	15.19	489.72
Chlorpyrifos	135.88	84.14	10.15	113.28
Aldrin	39.03	81.97	9.47	34.02
cis-Heptachlor epoxide	70.30	75.77	13.64	249.01
o,p'-DDE	251.91	85.95	11.56	205.01
PCB101	89.23	92.91	13.16	99.62
p,p'-DDE	178.53	89.63	11.60	348.39
Dieldrin	39.01	72.99	9.51	64.37
o,p'-DDD	139.09	71.93	10.66	201.42
PCB118	158.66	89.81	10.26	162.41
p,p'-DDD+o,p'-DDT	69.08	96.13	14.39	102.05
PCB153	162.72	72.15	17.60	270.58
p,p'-DDT	104.54	89.28	6.32	133.69
PCB138	116.80	73.92	9.49	115.81
PCB180	114.73	83.99	11.05	210.88

สรุปและวิจารณ์ผลการทดลอง

จากการพัฒนาวิธีการสกัดสารและวิเคราะห์สารพิษตกค้างกลุ่ม OCPs, OPPs, PCBs ในนํ้านมดิบด้วยวิธี GC-MS/MS นี้ได้วิธีการสกัดที่เหมาะสมโดยใช้สารละลายผสม 1% formic acid ใน acetonitrile เป็นตัวทำละลายและการ clean up ที่มีประสิทธิภาพในการกำจัดไขมันได้ดีคือวิธี QuEChERS ที่ใช้ปริมาณ PSA 100 mg, C18 100 mg, MgSO₄ 100 mg, activated florisil 100 mg และรองลงมาก็คือการ clean up ด้วย silica-SPE แต่เมื่อทำการ spiked สารลงในตัวอย่างนํ้านมดิบพบว่า % mean recovery ของการ clean up โดยใช้ silica-SPE นั้นอยู่ในเกณฑ์ที่ยอมรับได้ทุกสารที่ต้องการทดสอบตาม CODEX (2017) โดยมีค่า LOD คือ 1 µg/kg และค่า LOQ คือ 3 µg/kg

ข้อเสนอแนะ

1. ควรทำการทดสอบความใช้ได้ของวิธีทดสอบต่อไปในอนาคต เพื่อเพิ่มความเชื่อมั่นในวิธีทดสอบที่เลือกแล้วว่ามีประสิทธิภาพได้มาตรฐานเป็นที่ยอมรับในระดับสากล
2. ขอบข่ายของการพัฒนายังไม่ครอบคลุมครบทุกสารในกลุ่ม OCPs, OPPs, PCBs ซึ่งในอนาคตอาจเพิ่มชนิดสารที่ต้องการทดสอบต่อไปได้

กิตติกรรมประกาศ

ขอขอบคุณผู้อำนวยการสำนักตรวจสอบคุณภาพสินค้าปศุสัตว์ที่สนับสนุนการศึกษาในครั้งนี้รวมทั้งเจ้าหน้าที่ห้องปฏิบัติการงานเคมีอาหาร สารตกค้างและสารปนเปื้อน กลุ่มตรวจสอบคุณภาพเนื้อสัตว์และผลผลิตจากสัตว์ สำนักตรวจสอบคุณภาพสินค้าปศุสัตว์ ที่ให้ความช่วยเหลือ ให้คำปรึกษาด้านวิชาการ เทคนิค อุปกรณ์ ในการพัฒนาวิธีทดสอบสารออร์กาโนคลอรีน ออร์กาโนฟอสเฟตและโพลีคลอรีเนเตดไบฟีนิล ในนํ้านมดิบด้วยเทคนิค GC-MS/MS

เอกสารอ้างอิง

1. CODEX Alimentarius International Food Standard (CXG 90-2017), 2017
2. Lihong, K., Hou, Y., Huang, F., Guo, A., Deng, W., Sun, H., Shen, L., Lin, H., Hong, H., 2020. Pesticides in human milk collected from Jinhua, China: Levels, influencing factors and health risk assessment. Ecotoxicology and Environmental Safety 205 (2020) 111331