

รายงานความก้าวหน้า

ชื่อโครงการ การพิสูจน์ความใช้ได้ของวิธีวิเคราะห์สารตกค้างยาสัตว์ Multi-Class Residue Method (MRM) ในเนื้อสัตว์ปีก โดยวิธี LC-MS/MS

ผู้รับผิดชอบ	นางสาวปุษยาพร	สวัสดิสรณ์	นักวิทยาศาสตร์การแพทย์ปฏิบัติการ
	นางสาวพชร	เป้าน้อย	นักวิทยาศาสตร์การแพทย์ปฏิบัติการ
	นายปิยฉัตร	ชมภูคำ	นักวิทยาศาสตร์การแพทย์
	นางสาวสมใจ	ปากดี	นักวิทยาศาสตร์การแพทย์
	นายปกเขต	ดิษศรี	นักวิทยาศาสตร์การแพทย์
	นางสาวจอมขวัญ	ปิยดี	นักวิทยาศาสตร์การแพทย์
	นายธรา	ทิพมาน	นักวิชาการสัตวบาล

ผู้ควบคุมดูแลโครงการ นางสาวนรยา ตั้งศิริทรัพย์ ตำแหน่ง นายสัตวแพทย์ชำนาญการพิเศษ
หัวหน้างานวิเคราะห์สารตกค้างยาสัตว์และฮอร์โมน

วัตถุประสงค์

เพื่อพิสูจน์ความใช้ได้ของวิธีวิเคราะห์สารตกค้างยาสัตว์ Multi-Class Residues Method (MRM) ในเนื้อสัตว์ปีก โดยเทคนิค LC-MS/MS รวมทั้งยืนยันว่าวิธีมีความเหมาะสมสำหรับใช้เป็นวิธีคัดกรอง (Screening method) สารตกค้างยาสัตว์หลายกลุ่มสารในคราวเดียวกัน และผ่านเกณฑ์ตามแนวมติคณะกรรมการยุโรป Commission Implementing Regulation (EU) 2021/808

ขอบข่าย

ครอบคลุมการพิสูจน์ความใช้ได้ของวิธีวิเคราะห์สารตกค้างยาสัตว์ Multi-Class Residues Method (MRM) ในเนื้อสัตว์ปีก โดยเทคนิค LC-MS/MS จำนวน 6 กลุ่มสาร ได้แก่ กลุ่ม Sulphonamides and Trimethoprim จำนวน 19 สาร กลุ่ม Macrolides and Lincosamides จำนวน 5 สาร กลุ่ม Fluoroquinolones & Quinolones จำนวน 10 สาร กลุ่ม Tetracyclines จำนวน 4 สาร กลุ่ม Benzimidazoles จำนวน 3 สาร และ กลุ่ม Beta-lactams จำนวน 10 สาร ตามแนวมติคณะกรรมการยุโรป Commission Implementing Regulation (EU) 2021/808

ประโยชน์ที่คาดว่าจะได้รับ

1. ได้วิธีการวิเคราะห์สารตกค้างยาสัตว์ Multi-Class Residue Method (MRM) ในเนื้อสัตว์ปีก โดยเทคนิค LC-MS/MS ที่มีความเหมาะสมสำหรับใช้เป็นวิธีคัดกรอง (Screening method) สารตกค้างยาสัตว์หลายกลุ่มสารในคราวเดียวกัน และผ่านเกณฑ์ตามแนวมติคณะกรรมการยุโรป CIR(EU) 2021/808

2. สามารถนำวิธีวิเคราะห์ที่ผ่านการพิสูจน์ความใช้ได้แล้วไปใช้สำหรับการตรวจวิเคราะห์ตัวอย่างในกิจกรรมต่างๆ ของสำนักตรวจสอบคุณภาพสินค้าปศุสัตว์ได้อย่างถูกต้องและเหมาะสม

วิธีดำเนินการ

1. ศึกษาวิธีวิเคราะห์สารตกค้างยาสัตว์ Multi-Class Residue Method (MRM) ในเนื้อสัตว์ปีก โดยเทคนิค LC-MS/MS
2. จัดทำแผนการพิสูจน์ความใช้ได้ของวิธีวิเคราะห์ และจัดเตรียมตัวอย่าง สารเคมี สารมาตรฐาน และวัสดุอุปกรณ์ที่จำเป็น
3. ดำเนินการพิสูจน์ความใช้ได้ของวิธีวิเคราะห์สารตกค้างยาสัตว์ Multi-Class Residue Method (MRM) ในเนื้อสัตว์ปีก โดยเทคนิค LC-MS/MS ตามแผนที่จัดทำไว้
4. ประมวลผล สรุป และจัดทำรูปเล่ม

ความก้าวหน้าของโครงการ

1. อยู่ระหว่างดำเนินการเตรียมสารละลายมาตรฐาน Working standard และ Internal Standard เพื่อดำเนินการพิสูจน์ความใช้ได้ของวิธีวิเคราะห์สารตกค้างยาสัตว์ Multi-Class Residue Method (MRM) ในเนื้อสัตว์ปีก โดยเทคนิค LC-MS/MS ตามแผนที่จัดทำไว้ ดังตารางที่ 1 ตารางที่ 2 และ ตารางที่ 3

ตารางที่ 1 การเตรียมสารละลายมาตรฐาน (Working standard) Mixed 41 สาร เจือจางด้วย ACN (HPLC)

ลำดับ	ชื่อสาร	ความเข้มข้นเริ่มต้น(S0) (mg/ml) (C1)	ปริมาตรที่ใช้เตรียม (μ l) (V1)	ความเข้มข้นที่ต้องการ (ng/ μ l) (C2)	ปริมาตรที่เตรียม (ml) (V2)
กลุ่ม Sulphonamides (18) & Trimethoprim(1)					
1	Sulfaguanidine	1.0	25.0	2.5	10.0
2	Sufacetamide	1.0	25.0	2.5	10.0
3	Sulfadiazine	1.0	25.0	2.5	10.0
4	Sulfathiazole	1.0	25.0	2.5	10.0
5	Sulfapyridine	1.0	25.0	2.5	10.0
6	Sulfamerazine	1.0	25.0	2.5	10.0

ลำดับ	ชื่อสาร	ความเข้มข้นเริ่มต้น(S0) (mg/ml) (C1)	ปริมาตรที่ใช้เตรียม (μl) (V1)	ความเข้มข้นที่ต้องการ (ng/μl) (C2)	ปริมาตรที่เตรียม (ml) (V2)
7	Sulfamoxole	1.0	25.0	2.5	10.0
8	Sulfamethizole	1.0	25.0	2.5	10.0
9	Sulfamethoxypyridazine	1.0	25.0	2.5	10.0
10	Sulfamethazine	1.0	25.0	2.5	10.0
11	Sulfameter	1.0	25.0	2.5	10.0
12	Sulfamonomethoxine	1.0	25.0	2.5	10.0
13	Sulfachloropyridazine	1.0	25.0	2.5	10.0
14	Sulfadoxine	1.0	25.0	2.5	10.0
15	Sulfamethoxazole	1.0	25.0	2.5	10.0
16	Sulfisoxazole	1.0	25.0	2.5	10.0
17	Sulfaquinoxaline	1.0	25.0	2.5	10.0
18	Sulfadimethoxine	1.0	25.0	2.5	10.0
19	Trimethoprim	1.0	12.5	1.25	10.0
กลุ่ม Macrolides and Lincosamides(5)					
1	Josamycin	1.0	10.0	1.00	10.0
2	Tylosin A	1.0	25.0	2.50	10.0
3	Erythromycin A	1.0	50.0	5.00	10.0
4	Tilmicosin	1.0	12.5	1.25	10.0
5	Lincomycin	1.0	25.0	2.50	10.0
กลุ่ม Quinolone & Fluorquinolone(10)					
1	Ciprofloxacin	1.0	25.0	2.5	10.0
2	Enrofloxacin	1.0	25.0	2.5	10.0
3	Norfloxacin	1.0	20.0	2.0	10.0

ลำดับ	ชื่อสาร	ความเข้มข้นเริ่มต้น(S0) (mg/ml) (C1)	ปริมาตรที่ใช้เตรียม (μ l) (V1)	ความเข้มข้นที่ต้องการ (ng/ μ l) (C2)	ปริมาตรที่เตรียม (ml) (V2)
4	Danofloxacin	1.0	50.0	5.0	10.0
5	Difloxacin	1.0	75.0	7.5	10.0
6	Flumequine	1.0	100.0	10.0	10.0
7	Marbofloxacin	1.0	20.0	2.0	10.0
8	Nalidixic acid	1.0	20.0	2.0	10.0
9	Oxolinic acid	1.0	25.0	2.5	10.0
10	Sarafloxacin	1.0	20.0	2.0	10.0
กลุ่ม Tetracyclines(4)					
1	Oxytetracycline	1.0	25.0	2.5	10.0
2	Tetracycline	1.0	25.0	2.5	10.0
3	Chlortetracycline	1.0	25.0	2.5	10.0
4	Doxycycline	1.0	25.0	2.5	10.0
กลุ่ม Benzimidazoles (3)					
1	Levamisole	1.0	2.5	0.25	10.0
2	Flubendazole	1.0	12.5	1.25	10.0
3	Thiabendazole	1.0	2.0	0.2	10.0

ตารางที่ 2 การเตรียมสารละลายมาตรฐาน (Working standard) Mixed 10 สาร เจือจางด้วย Water

ลำดับ	ชื่อสาร	ความเข้มข้นเริ่มต้น(S0) (mg/ml) (C1)	ปริมาตรที่ใช้เตรียม (μ l) (V1)	ความเข้มข้นที่ต้องการ (ng/ μ l) (C2)	ปริมาตรที่เตรียม (ml) (V2)
กลุ่ม Beta-lactams(10)					
1	Amoxicillin	1.0	12.5	1.25	10.0
2	Ampicillin	1.0	12.5	1.25	10.0

ลำดับ	ชื่อสาร	ความเข้มข้นเริ่มต้น(S0) (mg/ml) (C1)	ปริมาตรที่ใช้เตรียม (μ l) (V1)	ความเข้มข้นที่ต้องการ (ng/ μ l) (C2)	ปริมาตรที่เตรียม (ml) (V2)
3	Cefazolin	1.0	12.5	1.25	10.0
4	Cefapirin	1.0	12.5	1.25	10.0
5	Cefalexin	1.0	12.5	1.25	10.0
6	Cloxacillin	1.0	75	7.5	10.0
7	Dicloxacillin	1.0	75	7.5	10.0
8	Oxacillin	1.0	75	7.5	10.0
9	Penicillin G	1.0	12.5	1.25	10.0
10	Penicillin V	1.0	6.3	0.625	10.0

ตารางที่ 3 การเตรียม Internal Standard Working Solution Mixed 4 สาร เจือจางด้วย ACN (HPLC)

ลำดับ	ชื่อสาร	ความเข้มข้นเริ่มต้น (S0)(mg/ml) (C1)	ปริมาตรที่ใช้เตรียม (μ l) (V1)	ความเข้มข้นที่ต้องการ (ng/ μ l) (C2)	ปริมาตรที่เตรียม (ml) (V2)
1	Sulfamethoxypyridazine-D ₃	1.0	50.0	5.0	10.0
2	Roxithromycin	1.0	50.0	5.0	10.0
3	Flubendazole-D ₃	1.0	25.0	2.5	10.0
4	Sulfadimethoxine-D ₆	1.0	50.0	5.0	10.0

ปัญหาอุปสรรค

ไม่สามารถดำเนินการพิสูจน์ความใช้ได้ของวิธีวิเคราะห์สารตกค้างยาสัตว์ Multi-Class Residues Method (MRM) ในเนื้อสัตว์ปีก โดยวิธี LC-MS/MS ให้แล้วเสร็จได้ในปีงบประมาณ 2567 เนื่องจากจัดซื้อและได้รับ Reversed phase media RP-18 (25-40 μ m) ซึ่งใช้สำหรับขั้นตอนการสกัดตัวอย่างล่าช้า (ได้รับเมื่อวันที่ 30 สิงหาคม 2567) ทั้งนี้จะดำเนินการพิสูจน์ความใช้ได้ของวิธีให้แล้วเสร็จภายในปีงบประมาณ 2568