

การพัฒนาวิธีวิเคราะห์สารตกค้างยาต้านวัณโรคกลุ่ม Sulfonamides, Dapsone และ

Trimethoprim ในไข่ โดยเทคนิค LC-MS/MS

กิตติธัช แซ่วะ ปกเขต ดิษศรี ปารณีย์ เผ่าผาง

ภาณุกร บุญสละ นรยา ตั้งศิริทรัพย์

บทคัดย่อ

วิธีวิเคราะห์ถูกพัฒนาขึ้น เพื่อใช้เป็นวิธียืนยันผล (Confirmatory method) ของสารตกค้างยาต้านวัณโรคกลุ่ม Sulfonamides, Dapsone และ Trimethoprim ในไข่ โดยเทคนิค LC-MS/MS สารตกค้างจะถูกสกัดออกมาจากตัวอย่างไข่ โดยใช้ acetonitrile เติมลงในหลอดทดลอง นำไปผสมให้เข้ากันและปั่นเหวี่ยงตกตะกอนที่ความเร็วรอบ 4,000 rpm อุณหภูมิ 4°C เป็นเวลา 10 นาที จากนั้นนำสารละลายที่สกัดได้มากำจัดไขมันด้วย hexane ที่อิ่มตัวด้วย acetonitrile นำไปผสมให้เข้ากันและปั่นเหวี่ยงตกตะกอนที่ความเร็วรอบ 4,000 rpm อุณหภูมิ 4°C เป็นเวลา 10 นาที จากนั้นนำไประเหยจนแห้ง โดยใช้แก๊สไนโตรเจนที่อุณหภูมิ 40°C ละลายสารตกค้างที่เหลืออยู่ด้วยสารละลาย 0.2% formic acid ใน water: acetonitrile: methanol อัตราส่วน 6:3:1 นำไปผสมให้เข้ากันและปั่นเหวี่ยงตกตะกอนที่ความเร็วรอบ 14,000 rpm อุณหภูมิ 4°C เป็นเวลา 10 นาที และทำการกรองสารละลายโดยใช้ syringe membrane filter ชนิด nylon ขนาด 0.20 ไมโครเมตร แล้วนำไปวิเคราะห์แยกสารด้วยเทคนิค High-Performance Liquid Chromatography (HPLC) โดยใช้คอลัมน์ ชนิด C18 เฟสเคลื่อนที่เป็นสารละลายผสมแบบสัดส่วนไม่คงที่ ระหว่าง 0.1% formic acid ในน้ำ กับ 0.1% formic acid ใน acetonitrile และตรวจยืนยันชนิดและวัดปริมาณสารด้วย Triple Quadrupole Mass Spectrometer (MS/MS) โดยการตรวจวัดค่ามวลต่อประจุ (m/z) ที่เกิดจากแหล่งกำเนิดประจุบวกแบบอิเล็กโตรสเปร์รี่ (ESI+)

คำสำคัญ: การพัฒนาวิธีวิเคราะห์ Sulfonamides Dapsone Trimethoprim ไข่ LC-MS/MS

งานวิเคราะห์สารตกค้างยาต้านวัณโรคและฮอว์โมน กลุ่มตรวจสอบคุณภาพเนื้อสัตว์และผลผลิตจากสัตว์
สำนักตรวจสอบคุณภาพสินค้าปศุสัตว์ กรมปศุสัตว์

Method Development of Confirmatory Method for Sulfonamides, Dapsone and Trimethoprim in Egg with LC-MS/MS

Kittitus Saewa Pokkhate Dissari Paranee Phowphang

Panukorn Boonsala Naraya Tangsirirap

Abstract

Confirmatory method for analyzing sulfonamides, dapsone and trimethoprim in egg with LC-MS/MS was developed. The residues were extracted from egg by using acetonitrile, then vortex mixed and centrifuged at 4000 rpm, 4°C, 10 min, subsequently. Next, the extract was defatted by hexane saturated with acetonitrile, then vortex mixed and centrifuged at 4000 rpm, 4°C, 10 min, subsequently. The extract was evaporated to dryness using a mild stream of nitrogen gas at 40°C. Then, the residue was reconstituted in the mixture of 0.2% formic acid in water: acetonitrile: methanol (6:3:1), and after that, it was mixed and centrifuged at 14,000 rpm, 4°C, 10 min, subsequently. Finally, the extracted solution was filtered by using a 0.20 µm nylon syringe membrane filter. The high-performance liquid chromatography (HPLC) separation was performed on a C18 HPLC column with gradient mobile phase of 0.1% formic acid in water and 0.1% formic acid in acetonitrile. The triple quadrupole mass spectrometer (MS/MS) technique was used to identify and quantify analytes using mass per charge (m/z) in electrospray positive ionization mode (ESI+).

Keywords: method development, Sulfonamides, Dapsone, Trimethoprim, Egg, LC-MS/MS
Veterinary Public Health Laboratory, Bureau of Quality Control of Livestock Products,
Veterinary Drug and Hormone Residue Analysis Laboratory, Department of Livestock
Development

การพัฒนาวิธีวิเคราะห์สารตกค้างยาต้านจุลชีพกลุ่ม Sulfonamides, Dapsone และ

Trimethoprim ในไข่ โดยเทคนิค LC-MS/MS

กิตติธัช แซ่วะ ปกเขต ดิษศรี ปารณีย์ เผ่าผาง

ภาณุกร บุญสละ นรยา ตั้งศิริทรัพย์

บทนำ

สารกลุ่ม Sulfonamides เป็นยาต้านจุลชีพ (Antimicrobial substances) มีฤทธิ์ยับยั้งการเจริญเติบโตของเชื้อแบคทีเรียแกรมบวกและแกรมลบ หรือทำลายเชื้อจุลชีพที่ทำให้เกิดการติดเชื้อในร่างกายมนุษย์ ปัจจุบันมีการใช้ยาในกลุ่มนี้ในการรักษาสัตว์และผสมอาหารสัตว์เพื่อป้องกันโรค ทำให้มีการตกค้างในอาหาร เมื่อผู้บริโภคได้รับสารกลุ่มนี้บ้างรายเกิดอาการแพ้อย่างรุนแรงอาจถึงแก่ชีวิตและทำให้เกิดการดื้อยา (Galarini *et al.*, 2014)

กรมปศุสัตว์ สำนักตรวจสอบคุณภาพสินค้าปศุสัตว์ มีหน้าที่รับผิดชอบตรวจวิเคราะห์สารตกค้างยาในสินค้าปศุสัตว์ โดยอ้างอิงรายการสารตกค้างยาสัตว์ที่ต้องตรวจวิเคราะห์ตามข้อกำหนดของสหภาพยุโรป Commission Delegated Regulation (EU) 2022/1644 ซึ่งแบ่งประเภทของสารตกค้างเป็น 2 กลุ่ม ได้แก่ กลุ่ม A หมายถึง สารกลุ่มที่มีผลต่อกระบวนการทำงานของร่างกายของผู้บริโภค (Anabolic effect) และสารที่ห้ามใช้ในการผลิตปศุสัตว์ (Unauthorized substances) และกลุ่ม B เป็นสารประเภทยาสัตว์และสารที่อาจปนเปื้อนในกระบวนการผลิตปศุสัตว์ อนุญาตให้พบการตกค้างได้ แต่ต้องไม่เกินค่าที่กำหนดไว้สูงสุด หรือค่า Maximum Residues Limit (MRL) ซึ่งสารกลุ่ม Sulfonamides และสาร Trimethoprim เป็นยาต้านจุลชีพ อยู่ในกลุ่ม A ลำดับที่ 3c เป็นสารออกฤทธิ์ทางเภสัชวิทยาที่ไม่ได้ระบุในกฎระเบียบของสหภาพยุโรป Commission Regulation (EU) No 37/2010 ให้พบการตกค้างได้ไข่และห้ามใช้ในสัตว์ที่ผลิตไข่เพื่อการบริโภค นอกจากนี้กำหนดให้สาร Dapsone อยู่ในกลุ่ม A ลำดับที่ 2d เป็นสารห้ามใช้ในการผลิตปศุสัตว์

จากปัญหาและข้อกำหนดข้างต้น งานวิเคราะห์สารตกค้างยาสัตว์และฮอร์โมน กลุ่มตรวจสอบคุณภาพเนื้อสัตว์และผลผลิตจากสัตว์ ซึ่งมีหน้าที่รับผิดชอบตรวจวิเคราะห์ และพัฒนาวิธีเพื่อตรวจวิเคราะห์สารตกค้างยาสัตว์และฮอร์โมนในเนื้อสัตว์และผลผลิตจากสัตว์ จึงจำเป็นต้องพัฒนาวิธีวิเคราะห์

สารตกค้างยาสัตว์กลุ่ม Sulfonamides, Dapsone และ Trimethoprim ในไข่ โดยเทคนิค LC-MS/MS ตามแนวทางข้อกำหนดของสหภาพยุโรป และสามารถเฝ้าระวังสารตกค้างยาสัตว์กลุ่มนี้ได้ตามความต้องการของประเทศไทยและประเทศผู้นำเข้าเพื่อความปลอดภัยของผู้บริโภค โดยการศึกษาครั้งนี้เป็นการดัดแปลงวิธีมาจากวิธี Screening and Confirmation of Animal Drug Residues by UHPLC-MS-MS (United States Department of Agriculture, 2018)

1. วัตถุประสงค์

เพื่อพัฒนาวิธีวิเคราะห์สารตกค้างยาสัตว์กลุ่ม Sulfonamides, Dapsone และ Trimethoprim ในไข่ โดยเทคนิค LC-MS/MS

2. ขอบข่าย

พัฒนาวิธีวิเคราะห์สารตกค้างยาสัตว์ Trimethoprim, Dapsone และกลุ่ม Sulfonamides จำนวน 21 สาร ได้แก่ Sulfadiazine, Sulfathiazole, Sulfapyridine, Sulfamerazine, Sulfamethizole, Sulfamethoxypyridazine, Sulfameter, Sulfamonomethoxine, Sulfamethazine, Sulfachloropyridazine, Sulfadoxine, Sulfadimethoxine, Sulfamethoxazole, Sulfisoxazole, Sulfamoxole, Sulfamoxoline, Sulfaguanidine, Sulfacetamide, Sulfabenzamide, Sulfanilamide และ Sulfisomidine ในไข่ (ไข่ไก่ เป็นตัวแทน) โดยเทคนิค LC-MS/MS

3. ประโยชน์ที่คาดว่าจะได้รับ

ได้วิธีวิเคราะห์สารตกค้างยาสัตว์กลุ่ม Sulfonamides, Dapsone และ Trimethoprim ในไข่ โดยเทคนิค LC-MS/MS ที่สามารถวิเคราะห์สารตกค้างยาสัตว์กลุ่มดังกล่าว ที่ระดับความเข้มข้นต่ำสุดที่วิธีนี้วัดได้ (Lowest calibration level; LCL)

4. วิธีดำเนินการ

4.1 ศึกษาหาข้อมูลเกี่ยวกับวิธีวิเคราะห์สารตกค้างยาสัตว์กลุ่ม Sulfonamides, Dapsone และ Trimethoprim ในไข่ โดยเทคนิค LC-MS/MS

4.2 จัดเตรียมตัวอย่าง สารเคมี สารมาตรฐาน วัสดุอุปกรณ์ และเครื่องมือที่จำเป็น

4.3 ดำเนินการพัฒนาวิธีวิเคราะห์ ดังนี้

4.3.1 ศึกษาหาสภาวะที่เหมาะสมของเครื่อง LC-MS/MS ยี่ห้อ Sciex รุ่น 6500⁺

4.3.2 ทดลองสกัดสารตกค้างยาสัตว์กลุ่ม Sulfonamides, Dapsone และ Trimethoprim ในไข่ ตามวิธีอ้างอิงที่เลือกมา และปรับเปลี่ยนวิธีสกัดให้เหมาะสมผ่านเกณฑ์การยอมรับ

4.4 ประมวลผล สรุป และจัดทำรูปเล่ม

5. ผลการทดลอง

5.1 สามารถวิเคราะห์สารตกค้างยาสัตว์ Trimethoprim, Dapsone และกลุ่ม Sulfonamides จำนวน 19 สาร ได้แก่ Sulfadiazine, Sulfathiazole, Sulfapyridine, Sulfamerazine, Sulfamethizole, Sulfamethoxypyridazine, Sulfameter, Sulfamonomethoxine, Sulfamethazine, Sulfachloropyridazine, Sulfadoxine, Sulfadimethoxine, Sulfamethoxazole, Sulfoxazole, Sulfamoxole, Sulfaquinoxaline, Sulfaguanidine, Sulfacetamide และ Sulfabenzamide ในไข่ โดยเทคนิค LC-MS/MS

5.2 วิเคราะห์สารตกค้างยาตัวกลุ่ม Sulfonamides, Dapsone และ Trimethoprim ในไข่ (ไข่ไก่เป็นตัวแทน) โดยเทคนิค LC-MS/MS มีขั้นตอนดังนี้

สารตกค้างจะถูกสกัดออกมาจากตัวอย่างไข่ โดยเติม acetonitrile ปริมาตร 15 มิลลิลิตร ลงในหลอด centrifuge tube ขนาด 50 มิลลิลิตร และผสมให้เข้ากันด้วย vortex mixer ประมาณ 1-2 นาที แล้วนำไปปั่นเหวี่ยงตกตะกอนด้วยเครื่อง centrifuge ที่ความเร็วรอบ 4,000 rpm อุณหภูมิ 4°C เป็นเวลา 10 นาที เสร็จแล้วเทส่วนใสใส่หลอด centrifuge tube ขนาด 50 มิลลิลิตร จากนั้นนำมากำจัดไขมันด้วย hexane ที่อิ่มตัวด้วย acetonitrile ปริมาตร 10 มิลลิลิตร และผสมให้เข้ากันด้วย vortex mixer ประมาณ 1-2 นาที แล้วนำไปปั่นเหวี่ยงตกตะกอนด้วยเครื่อง centrifuge ที่ความเร็วรอบ 4,000 rpm อุณหภูมิ 4°C เป็นเวลา 10 นาที เสร็จแล้วดูดชั้น hexane ที่ใช้ pasture pipette แล้วเทสารละลายส่วนที่เหลือ ปริมาตรประมาณ 12 ml ใส่หลอด centrifuge tube ขนาด 15 มิลลิลิตร จากนั้นนำไประเหยจนแห้ง โดยใช้แก๊สไนโตรเจน ที่อุณหภูมิ 40°C เสร็จแล้วละลายสารตกค้างที่เหลืออยู่ด้วยสารละลาย 0.2% formic acid ใน water: acetonitrile: methanol อัตราส่วน 6:3:1 ปริมาตร 600 ไมโครลิตร และผสมให้เข้ากันด้วย vortex mixer ประมาณ 1 นาที จากนั้นเทใส่หลอด micro centrifuge tube แล้วนำไปปั่นเหวี่ยงตกตะกอนด้วยเครื่อง centrifuge ที่ความเร็วรอบ 14,000 rpm อุณหภูมิ 4°C เป็นเวลา 10 นาที เสร็จแล้วกรองสารละลายโดยใช้ syringe membrane filter ชนิด nylon ขนาด 0.20 ไมโครเมตร แล้วนำไปวิเคราะห์แยกสารด้วยเทคนิค High-Performance Liquid Chromatography (HPLC) โดยใช้คอลัมน์ ชนิด C18 เฟสเคลื่อนที่เป็นสารละลายผสมแบบสัดส่วนไม่คงที่

ระหว่าง 0.1% formic acid ในน้ำ กับ 0.1% formic acid ใน acetonitrile และตรวจยืนยันชนิดและวัดปริมาณสารด้วย Triple Quadrupole Mass Spectrometer (MS/MS) โดยการตรวจวัดค่ามวลต่อประจุ (m/z) ที่เกิดจากแหล่งกำเนิดประจุบวกแบบอิเล็กโตรสเปย์ (ESI+)

5.3 เครื่อง LC-MS/MS ที่ใช้ในการตรวจวิเคราะห์ ประกอบด้วย 2 ส่วน ได้แก่ High Performance Liquid Chromatography (HPLC) ยี่ห้อ Sciex รุ่น 40 และ detector ประเภท Triple Quadrupole Mass Spectrometer ยี่ห้อ Sciex รุ่น 6500⁺

5.4 HPLC Column ที่ใช้ ได้แก่ ยี่ห้อ Shimadzu Shim-pack HR-ODS ขนาด 3.0 x 150 mm, 3 µm with guard column

5.5 สภาพของเครื่อง HPLC และอัตราส่วนของสารละลายเฟสเคลื่อนที่ (ตารางที่ 1) มีดังนี้

Mobile phase A : 0.1% formic acid in water (H₂O)
Mobile phase B : 0.1% formic acid in acetonitrile (ACN)
Flow rate : 0.4 มิลลิลิตรต่อนาที
Run time : 13 นาที
Injection volume : 2 ไมโครลิตร
Column oven temperature : 40 องศาเซลเซียส
Auto Sampler temperature : 25 องศาเซลเซียส

ตารางที่ 1 อัตราส่วนของสารละลายเฟสเคลื่อนที่ (mobile phase)

Step	Total time (min)	Flow rate (mL/min)	Mobile phase Line A (%)	Mobile phase Line B (%)
1	0.0	0.4	85	15
2	0.5	0.4	80	20
3	3.0	0.4	70	30
4	4.0	0.4	70	30
5	8.0	0.4	5	95
6	9.5	0.4	5	95
7	10.0	0.4	85	15
8	13.0	0.4	85	15

5.6 เทคนิค LC-MS/MS เป็นการแยกสารด้วยเทคนิค High-Performance Liquid Chromatography (HPLC) (LC technique; ได้ identification point (IP) 1 คะแนน) หลังจากนั้นยืนยันชนิดสารด้วยเทคนิคที่ทำการวัดไอออนตั้งต้น (precursor ion; ได้ IP 1 คะแนน) และไอออนผลิตภัณฑ์ (product ion) 2 ไอออน (ได้ IP 1.5 คะแนน ต่อ ไอออน) คือ ไอออนที่แตกตัวแล้วให้ความเข้มสูงสุด (primary ion) และไอออนที่แตกตัวให้ความเข้มรองลงไป ซึ่งให้ความเข้มน้อยกว่า (secondary ion) รวมได้คะแนน IP 5 คะแนน ผ่านตามเกณฑ์ของแนวมติคณะกรรมการวิชาการยุโรป Commission Implementing Regulation (EU) 2021/808 สภาวะเครื่อง MS/MS, retention time, precursor ion และ product ion (ตารางที่ 2) มีดังนี้

MS Parameters ของการวิเคราะห์ด้วยเครื่อง LC-MS/MS

Polarity	: Positive
Scan Mode	: MRM
Interface Source type	: ESI
Curtain Gas (CUR)	: 45
Collision Gas (CAD)	: 8
Ion Spray Voltage (IS)	: 4500
Temperature (TEM)	: 450
Ion Source Gas (GS1)	: 65
Ion Source Gas (GS2)	: 50
Entrance potential (EP)	: 10

ตารางที่ 2 Retention time, precursor ion, product ion และ signal-to-noise ratio

ลำดับ	ชื่อสาร	ความเข้มข้น ต่ำสุดของ Calibration curve (µg/kg)	RT (min)	Precursor ion	Product ion		Internal Standard			S/N
					1°	2°	ชื่อสาร	RT (min)	Transition ion	
1	Sulfaguanidine	5	2.44±0.1	215.00	156.00	108.00	Sulfadimethoxine-D6	7.70±0.1	317.00>156.00	20.2
2	Trimethoprim	5	3.06±0.1	291.00	230.00	123.00	Sulfadimethoxine-D6	7.70±0.1	317.00>156.00	4793.1
3	Sulfanilamide	20	3.19±0.1	173.00	108.00	92.00	Sulfamethoxypyridazine-D3	5.74±0.1	284.00>156.00	N/A*
4	Sulfisomidine	5	3.21±0.1	279.00	124.00	186.00	Sulfamethoxypyridazine-D3	5.74±0.1	284.00>156.00	5424.4
5	Sulfacetamide	5	4.28±0.1	215.00	108.00	156.00	Sulfamethoxypyridazine-D3	5.74±0.1	284.00>156.00	136.2
6	Sulfathiazole	5	4.51±0.1	256.00	156.00	108.00	Sulfamethoxypyridazine-D3	5.74±0.1	284.00>156.00	1198.6
7	Sulfadiazine	5	4.58±0.1	251.00	156.00	108.00	Sulfamethoxypyridazine-D3	5.74±0.1	284.00>156.00	1756.9
8	Sulfapyridine	5	4.82±0.1	250.00	156.00	108.00	Sulfamerazine-13C6	5.27±0.1	271.00>98.00	1971.1
9	Sulfisoxazole	5	5.25±0.1	268.00	156.00	108.00	Sulfamethoxazole-13C6	6.70±0.1	260.00>98.00	345.9
10	Sulfamerazine	5	5.29±0.1	265.00	156.00	108.00	Sulfamerazine-13C6	5.27±0.1	271.00>98.00	1476.2
11	Sulfamethizole	5	5.68±0.1	271.00	156.00	108.00	Sulfamethoxypyridazine-D3	5.74±0.1	284.00>156.00	800.7
12	Sulfamethoxypyridazine	5	5.79±0.1	281.00	156.00	108.00	Sulfamethoxypyridazine-D3	5.74±0.1	284.00>156.00	103.4
13	Sulfamethazine	5	5.87±0.1	279.00	186.00	156.00	Sulfamethoxypyridazine-D3	5.74±0.1	284.00>156.00	990.8
14	Sulfameter	5	6.06±0.1	281.00	108.00	156.00	Sulfadimethoxine-D6	7.70±0.1	317.00>156.00	499.3
15	Sulfamonomethoxine	5	6.66±0.1	281.00	156.00	108.00	Sulfadimethoxine-D6	7.70±0.1	317.00>156.00	190.4
16	Dapsone	5	6.89±0.1	249.00	156.00	108.00	Sulfadimethoxine-D6	7.70±0.1	317.00>156.00	2126.4
17	Sulfachloropyridazine	5	7.03±0.1	285.00	156.00	108.00	Sulfamethoxazole-13C6	6.70±0.1	260.00>98.00	286.6
18	Sulfadoxine	5	7.23±0.1	311.00	156.00	108.00	Sulfadoxine-D3	7.20±0.1	314.00>156.00	324.0
19	Sulfamethoxazole	5	7.26±0.1	254.00	156.00	108.00	Sulfadimethoxine-D6	7.70±0.1	317.00>156.00	610.0
20	Sulfamoxole	5	7.40±0.1	268.00	156.00	92.00	Sulfamethoxazole-13C6	6.70±0.1	260.00>98.00	900.9

21	Sulfabenzamide	5	7.69±0.1	277.00	156.00	108.00	Sulfadimethoxine-D6	7.70±0.1	317.00>156.00	5.6
22	Sulfaquinoxaline	5	7.71±0.1	301.00	156.00	108.00	Sulfamerazine-13C6	5.27±0.1	271.00>98.00	856.9
23	Sulfadimethoxine	5	7.74±0.1	311.00	156.00	108.00	Sulfadimethoxine-D6	7.70±0.1	317.00>156.00	203.3

หมายเหตุ : * = ไม่สามารถคำนวณค่า S/N ได้ เนื่องจากสัญญาณรบกวน (noise) สูงมาก

6. สรุปผลการทดลอง

วิธีวิเคราะห์ที่พัฒนาขึ้นสามารถวิเคราะห์สารตกค้างยาสัตว์ Trimethoprim, Dapsone และกลุ่ม Sulfonamides จำนวน 19 สาร ได้แก่ Sulfadiazine, Sulfathiazole, Sulfapyridine, Sulfamerazine, Sulfamethizole, Sulfamethoxypyridazine, Sulfameter, Sulfamonomethoxine, Sulfamethazine, Sulfachloropyridazine, Sulfadoxine, Sulfadimethoxine, Sulfamethoxazole, Sulfisoxazole, Sulfamoxole, Sulfaquinoxaline, Sulfaguanidine, Sulfacetamide และ Sulfabenzamide ในไข่ โดยเทคนิค High Performance Liquid Chromatography (HPLC) โดยใช้คอลัมน์ ชนิด C18 เฟสเคลื่อนที่เป็นสารละลายผสมแบบสัดส่วนไม่คงที่ ระหว่าง 0.1% formic acid ในน้ำ กับ 0.1% formic acid ใน acetonitrile และตรวจยืนยันชนิดและวัดปริมาณสารด้วย Triple Quadrupole Mass Spectrometer (MS/MS) โดยการตรวจวัดค่ามวลต่อประจุ (m/z) ที่เกิดจากแหล่งกำเนิดประจุบวกแบบอิเล็กโตรสเปร์รี่ (ESI+) ซึ่งเทคนิค LC-MS/MS เป็นเทคนิคการยืนยันผลที่เป็นที่ยอมรับของสากล และได้คะแนน identification points 5 คะแนน ผ่านตามเกณฑ์ของแนวมติคณะกรรมการอาหารยุโรป Commission Implementing Regulation (EU) 2021/808 และวิธีที่พัฒนาขึ้นมีระดับความเข้มข้นต่ำสุดที่วิธีนี้วัดได้ (Lowest calibration level; LCL) เท่ากับ 5 $\mu\text{g/kg}$ ดังนั้นวิธีนี้จึงเป็นวิธีที่มีความไวเพียงพอ และบรรลุตามวัตถุประสงค์ที่ตั้งไว้

7. ข้อเสนอแนะ

7.1 วิธีที่พัฒนาได้นั้นยังไม่เหมาะสมสำหรับการวิเคราะห์

- สาร Sulfanilamide เนื่องจาก Sensitivity ต่ำ และค่า S/N ไม่ผ่านเกณฑ์
- สาร Sulfisomidine เนื่องจาก ค่า R ไม่ผ่านเกณฑ์

จึงควรปรับปรุงวิธีวิเคราะห์เพิ่มเติมในภายหลัง เพื่อให้สามารถตรวจวิเคราะห์ครอบคลุมสารตกค้างยาสัตว์กลุ่ม Sulfonamides ได้มากขึ้น

7.2 ควรทดสอบความใช้ได้ของวิธีเพื่อให้มีความเหมาะสมในการใช้ยืนยันชนิดและปริมาณสารตกค้าง สามารถนำไปใช้เป็นวิธีในการตรวจเพื่อเฝ้าระวังสารตกค้างยาสัตว์กลุ่ม Sulfonamides, Dapsone และ Trimethoprim ในไข่ได้

8. กิตติกรรมประกาศ

ขอขอบคุณ น.สพ.อุดม เจือจันทร์ ผู้อำนวยการสำนักตรวจสอบคุณภาพสินค้าปศุสัตว์ที่สนับสนุนการศึกษาในครั้งนี้ รวมทั้งเจ้าหน้าที่งานวิเคราะห์สารตกค้างยาสัตว์และฮอร์โมน กลุ่มตรวจสอบคุณภาพ

เนื้อสัตว์และผลผลิตจากสัตว์ สำนักตรวจสอบคุณภาพสินค้าปศุสัตว์ ที่ช่วยให้การศึกษาในครั้งนี้สำเร็จ
ลุล่วงไปด้วยดี

9. เอกสารอ้างอิง

9.1 European Commission. Commission Delegated Regulation (EU) 2022/1644 of 7 July 2022 supplementing Regulation (EU) 2017/625 of the European Parliament and of the Council with specific requirements for the performance of official controls on the use of pharmacologically active substances authorised as veterinary medicinal products or as feed additives and of prohibited or unauthorised pharmacologically active substances and residues thereof. “Official Journal of the European Union”, L248 (2022) p. 3-17.

9.2 European Commission. Commission Implementing Regulation (EU) 2021/808 of 22 March 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 2002/657/EC and 98/179/EC. “Official Journal of the European Union”, L180 (2021) p. 84-109.

9.3 European Commission. Commission Regulation (EU) No 37/2010 of 22 December 2009 on Pharmacologically active substances and their classification regarding maximum residue limits in foodstuffs of animal origin. “Official Journal of the European Union”, L15 (2009) p. 1-72.

9.4 Galarini, R., Diana, F., Moretti, S., Puppini, B., Saluti, G., & Persic, L. (2014). Development and validation of a new qualitative ELISA screening for multiresidue detection of sulfonamides in food and feed. *Food Control*, 35(1), 300-310.

9.5 United States Department of Agriculture. (2018). Screening and Confirmation of Animal Drug Residues by UHPLC-MS-MS. *SOP No. CLG-MRM1.08*(rev.08), p. 1-53.