

การทดสอบความใช้ได้ของวิธีวิเคราะห์สาร flumethrin ในน้ำผึ้งด้วยวิธี LC-MS/MS

วิภาดา สิริสมภพชัย สราวุธ ชูกระชั้น สุจิตรา ยศวันทา พนิดา ไกล่กลาง

บทคัดย่อ

การทดสอบความใช้ได้ของวิธีวิเคราะห์สาร flumethrin ในน้ำผึ้งด้วยวิธี LC-MS/MS (Triple Quadrupole) ซึ่งสกัดสารตกค้างจากตัวอย่างน้ำผึ้งด้วยน้ำและ acetonitrile ซึ่งสาร flumethrin จะละลายอยู่ในชั้น acetonitrile นำตัวอย่างไปปั่นเหวี่ยงเพื่อแยกชั้นและแล้วนำชั้นบนไประเหยในเครื่อง nitrogen evaporator ที่อุณหภูมิไม่เกิน 40 °C ให้เหลือ 1 มิลลิลิตร หลังจากนั้นนำสารละลายที่ได้ไปขจัดสิ่งรบกวนโดยการผ่านลงใน column ที่บรรจุ florisil ซึ่งสารออกจาก column ด้วย hexane : ethyl acetate (1:1) ได้สารละลายสกัดตัวอย่างที่สะอาด นำไประเหยและปรับปริมาตรเป็น 1 มิลลิลิตร ด้วย methanol ตรวจวิเคราะห์แยกสารด้วยเทคนิค HPLC โดยใช้คอลัมน์ชนิด Inertsil ODS เฟสเคลื่อนที่เป็นสารละลายผสมแบบสัดส่วนไม่คงที่ ระหว่าง 10 mM ammonium acetate in 0.01% formic acid : methanol และตรวจวัดชนิดและปริมาณสารด้วยเทคนิค triple quadrupole mass spectrometer (MS/MS) โดยการตรวจวัดค่ามวลต่อประจุ (m/z) ของสารที่เกิดจากแหล่งกำเนิดประจุแบบ Electrospray ionization (ESI) พบว่าผลการทดสอบความใช้ได้ของวิธีวิเคราะห์ดังกล่าวมีค่าสัมประสิทธิ์การตัดสินใจ (R^2) ของการทดสอบความเป็นเส้นตรงของกราฟมาตรฐานเท่ากับ 0.992 มีค่า LOD และ LOQ เท่ากับ 1 และ 2 $\mu\text{g/kg}$ ตามลำดับ

คำสำคัญ : Flumethrin, LC-MS/MS, ทดสอบความใช้ได้, น้ำผึ้ง

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

Method Validation of Flumethrin in Honey by LC-MS/MS

Wiphada Sirisompobchai Sarawut Chookrachun Sujittra Yoswantha Panida Klaiklang

ABSTRACT

A method for analysis of flumethrin in honey was developed by LC-MS/MS (Triple Quadrupole). The flumethrin in honey samples was extracted with acetonitrile and water. The sample extract was centrifuged and the supernatant was evaporated to 1 mL using a nitrogen evaporator at the temperature not exceeding 40°C. The extract was cleaned up by florisil column chromatography and eluted with hexane : ethyl acetate (1:1). The residued was evaporated and adjusted volume to 1 mL with methanol. The HPLC separation was performed on an Inertsil ODS column with gradient elution of 10 mM ammonium acetate in 0.01% formic acid : methanol as the mobile phase. The triple quadrupole mass spectrometer (MS/MS) technique was used to confirm and quantify analytes using mass per charge (m/z) in electrospray positive ionization mode (ESI+). The average recovery of flumethrin in spiked sample at 10 $\mu\text{g/kg}$ was 87.59%. Linearity ranging from 1 to 50 ng/mL of standard solution was obtained with coefficient of determination (R^2) equaled to 0.992. Limit of Detection (LOD) and Limit of Quantitation (LOQ) were 1 and 2 $\mu\text{g/kg}$, respectively.

Keywords : Flumethrin, LC-MS/MS, Method Validation, Honey

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

การทดสอบความใช้ได้วิธีวิเคราะห์สาร flumethrin ในน้ำผึ้งด้วยวิธี LC-MS/MS

วิภาดา สิริสมภพชัย สราวุธ ชูกระชั้น สุจิตรา ยศวันทา พนิดา ไกล่กลาง

บทนำ

ปัจจุบันประเทศไทยมีการส่งออกผลิตภัณฑ์ผึ้ง เช่น น้ำผึ้ง (honey) นมผึ้ง (royal jelly) ไปประเทศ เช่น กลุ่มสหภาพยุโรป จีน ไต้หวัน ญี่ปุ่น เป็นต้น ทั้งนี้สหภาพยุโรปมีกฎระเบียบ COUNCIL DIRECTIVE 96/23/EC (1996) กำหนดให้หน่วยงานที่มีอำนาจในการกำกับ ดูแลและรับรองการส่งออกของประเทศที่มีการส่งออกผลิตภัณฑ์สัตว์รวมทั้งน้ำผึ้ง ต้องมีการเฝ้าระวังสารตกค้างที่อาจมีในผลิตภัณฑ์ เนื่องจากในการเลี้ยงผึ้งจะมีโรคควาร์รว (Varroosis) ที่พบในผึ้ง ซึ่งเกิดจากการแพร่ของไรวาร์รว (varroa mite) ก่อให้เกิดปัญหาต่อรังผึ้งที่เลี้ยงไว้ ไรผึ้งจะเกาะอยู่ที่ลำตัวบริเวณช่องท้องของผึ้งตัวเต็มวัย เพื่อดูดกินน้ำเลี้ยง (haemelymph) ไรชนิดนี้จะเข้าไปในหลอดรวงก่อนที่ผึ้งงานจะปิดหลอดรวง จึงทำอันตรายแก่ผึ้งที่เกิดใหม่ได้ ผึ้งที่เกิดใหม่จะไม่สมบูรณ์ เช่น ปีกผึ้งฉีกขาด มีขนาดของปีกไม่เท่ากัน ช่องท้องมีขนาดสั้น (มนทกานต์ และ วันทนี, 2546) สาร flumethrin เป็นสารเคมีชนิดหนึ่งที่ใช้ในการควบคุมและกำจัดไรผึ้ง จึงเป็นสาเหตุที่ทำให้มีการตกค้างของสารเคมีที่ปนเข้าสู่น้ำผึ้งได้ ค่าของสารเคมีที่ยอมให้ตกค้างในน้ำผึ้ง (Maximum Residue Limits, MRLs) ตามมาตรฐานสินค้าเกษตรและอาหารของญี่ปุ่น (Maximum Residue Limits Under Positive List System Food Sanitation Law : Japan) กำหนดให้ flumethrin ตกค้างได้ไม่เกิน 0.005 มิลลิกรัมต่อกิโลกรัม

1. วัตถุประสงค์

เพื่อให้ได้วิธีทดสอบที่เชื่อถือได้และเหมาะสมสำหรับการทดสอบสารตกค้าง flumethrin ในน้ำผึ้งด้วยวิธี LC-MS/MS ของกลุ่มตรวจสอบคุณภาพเนื้อสัตว์และผลผลิตจากสัตว์ สำนักตรวจสอบคุณภาพสินค้าปศุสัตว์

2. ขอบข่าย

ดำเนินการพิสูจน์ความใช้ได้ของวิธีวิเคราะห์สาร Flumethrin ในน้ำผึ้ง ด้วยวิธี LC-MS/MS ตามแนวทางของ EURACHEM (2014) โดยทดสอบพารามิเตอร์ ได้แก่ ความเป็นเส้นตรง ความเข้มข้นต่ำสุดที่สามารถตรวจพบได้ ความเข้มข้นต่ำสุดที่สามารถหาปริมาณได้ เพื่อแสดงให้เห็นว่าวิธีวิเคราะห์ดังกล่าวมีความน่าเชื่อถือ

3. ประโยชน์ที่คาดว่าจะได้รับ

ได้วิธีวิเคราะห์สาร flumethrin ในน้ำผึ้งด้วยวิธี LC-MS/MS ที่ผ่านการทดสอบความใช้ได้ของวิเคราะห์ เป็นวิธีที่เหมาะสมใช้ในงานทดสอบประจำของห้องปฏิบัติการกลุ่มตรวจสอบคุณภาพเนื้อสัตว์และผลผลิตจากสัตว์ ในกิจกรรมแผนตรวจเฝ้าระวังสารตกค้างประจำปี ได้ผลทดสอบที่มีความถูกต้อง แม่นยำ ทำให้มาตรฐานสินค้าน้ำผึ้งของประเทศไทยที่ผ่านการวิเคราะห์ด้วยวิธีนี้มีความปลอดภัยต่อผู้บริโภคทั้งภายในและต่างประเทศ และช่วยเพิ่มมูลค่าการส่งออก

4. วิธีการดำเนินการ

4.1 อุปกรณ์

- เครื่องชั่งความละเอียด 0.001 กรัม
- ตู้อบความร้อน
- เตาเผา
- เครื่องปั่นเหวี่ยงตกตะกอน
- อุปกรณ์ลดปริมาตรสารละลายโดยการเป่าด้วยก๊าซไนโตรเจน (N-Evap)
- เครื่อง LC-MS/MS (Triple Quadrupole) ยี่ห้อ Thermo Scientific ประกอบด้วย LC รุ่น Ultimate 3000 และ Mass spectrometric detector รุ่น TSQ Endura
- LC column : Inertsil ODS 3 μ m, 2.1x150 mm.
- คอลัมน์โครมาโทกราฟี (column chromatography) ขนาดเส้นผ่านศูนย์กลางภายใน 1.0 เซนติเมตร ความยาว 30 เซนติเมตร
- หลอดปั่นเหวี่ยงแก้วชนิดมีขีดบอกปริมาตร ขนาด 15 มิลลิลิตร
- หลอดปั่นเหวี่ยงพลาสติกชนิดมีขีดบอกปริมาตร ขนาด 50 มิลลิลิตร
- ชามระเหยสาร
- Autosampler Vial ขนาด 2 มิลลิลิตร

4.2 สารเคมี

- สารกรดวิเคราะห์ (AR) ได้แก่ formic acid, ammonium acetate และ sodium chloride (NaCl)
- สารเกรด PR ได้แก่ acetone, acetonitrile, n-hexane, iso-octane, ethyl acetate, florisil ขนาดอนุภาค 60-100 mesh และ sodium sulfate (Na₂SO₄)
- สารเกรด HPLC ได้แก่ acetonitrile และ methanol

4.3 สารมาตรฐาน

- Flumethrin ยี่ห้อ Dr.Ehrenstorfer, Cat No. C13719000 ความบริสุทธิ์ 96.6%
ซึ่งเตรียมให้เป็นสารละลายมาตรฐานที่มีความเข้มข้น 200 μ g/mL และเจือจางให้มีความเข้มข้น 1, 2.5, 5, 10, 20, 30, 40 และ 50 ng/mL ใน methanol

4.4 การเตรียมสารเคมี

- การเตรียม florasil

ตัก florasil ลงในชามระเหยสาร แล้วนำไปเผาในเตาเผาที่อุณหภูมิ 650 ± 20 องศาเซลเซียส เป็นเวลาไม่น้อยกว่า 4 ชั่วโมง

- การเตรียม Na_2SO_4

ตัก Na_2SO_4 ลงในชามระเหยสาร แล้วนำไปอบในตู้อบที่อุณหภูมิ 130 ± 10 องศาเซลเซียส อย่างน้อย 16 ชั่วโมง

4.5 ขั้นตอนการสกัดสาร flumethrin ในน้ำผึ้ง

ชั่งตัวอย่างน้ำผึ้ง 5 ± 0.010 กรัม ใส่ลงใน centrifuge tube ขนาด 50 มิลลิลิตร เติมน้ำ DI 15 มิลลิลิตร ลงใน centrifuge tube ที่บรรจุตัวอย่าง เขย่าให้ตัวอย่างให้ละลาย แล้วเติม acetonitrile 15 มิลลิลิตร Na_2SO_4 ปริมาณ 4 กรัม และ NaCl 1 กรัม เขย่าผสมเข้าด้วยกัน บั่นเหวี่ยงตกตะกอนด้วยความเร็ว 2,500 รอบต่อนาที นาน 15 นาที ที่อุณหภูมิห้อง ดูดชั้น acetonitrile ซึ่งอยู่ส่วนบนมา 12 มิลลิลิตร ใส่ลงใน centrifuge tube ขนาด 15 มิลลิลิตร นำไประเหยในเครื่อง N-Evap เพื่อลดปริมาตรให้เหลือประมาณ 1 มิลลิลิตร นำสารสกัดที่ได้ไป clean up ด้วย florasil column และมี Na_2SO_4 อยู่เหนือ florasil สูงประมาณ 1 เซนติเมตร ทำการชะสารออกจาก column โดยใช้ ethyl acetate : hexane (1:1) ปริมาตร 20 มิลลิลิตร รองรับสารที่ชะได้ใส่ใน centrifuge tube ขนาด 15 มิลลิลิตร ระเหยสารจนแห้ง แล้วปรับปริมาตรเป็น 1 มิลลิลิตร ด้วย methanol แล้วนำไปตรวจวัดหาปริมาณด้วยเครื่อง LC-MS/MS

4.6 การตรวจสอบสภาวะที่เหมาะสมของเครื่อง LC-MS/MS

ทดสอบปรับตั้งค่าสภาวะต่างๆ ของเครื่อง LC-MS/MS ซึ่งได้แก่ อัตราการไหลของสารละลายเฟสเคลื่อนที่ อัตราส่วนในการผสมสารละลายเฟสเคลื่อนที่ ion transfer temperature, vaporizer temperature และศักย์ไฟฟ้าของ collision cell ในการตรวจวัดสาร flumethrin ซึ่งต้องสามารถวัดค่ามวลต่อประจุ (m/z) ของสาร flumethrin ได้ชัดเจน

4.7 ความไวของเครื่อง LC-MS/MS (Instrument Detection Limit; IDL) และการทดสอบความเป็นเส้นตรงของกราฟมาตรฐาน (Linearity)

ตรวจวัดสารละลายมาตรฐาน flumethrin 8 ระดับความเข้มข้น คือ 1, 2.5, 5, 10, 20, 30, 40 และ 50 ng/mL ความเข้มข้นละ 3 ซ้ำ สร้างกราฟมาตรฐาน คำนวณหาค่าสัมประสิทธิ์ของการถดถอย (R^2) เกณฑ์การยอมรับไม่น้อยกว่า 0.990 และความไวของเครื่อง

LC-MS/MS พิจารณาจากสารละลายมาตรฐานความเข้มข้นต่ำสุดที่มีค่า signal to noise ratio (S/N) ≥ 3

4.8 การทดสอบขีดจำกัดของการตรวจพบ (Limit of Detection, LOD) และขีดจำกัดของการวัดเชิงปริมาณ (Limit of Quantitation, LOQ)

ทดสอบ spiked sample blank ที่มีปริมาณสาร flumethrin เท่ากับ 5.0 $\mu\text{g/kg}$ จำนวน 10 ตัวอย่าง นำไปตรวจวัดหาปริมาณสาร flumethrin ด้วยเครื่อง LC-MS/MS คำนวณค่า LOD = $3 \times S'_0$ และค่า LOQ = $10 \times S'_0$

4.9 การทดสอบยืนยันค่า LOD

ทดสอบ spiked sample blank ที่มีปริมาณสาร flumethrin เท่ากับค่า LOD ที่ประมาณค่ามาได้ จำนวน 10 ตัวอย่าง ตรวจวัดหาปริมาณสาร flumethrin ด้วยเครื่อง LC-MS/MS แล้วคำนวณค่า signal to noise ratio ซึ่งต้องได้ค่ามากกว่า 3

4.10 การทดสอบยืนยันค่า LOQ

ทดสอบ spiked sample ที่มีปริมาณสาร flumethrin เท่ากับ LOQ ที่คำนวณค่ามาได้ จำนวน 10 ตัวอย่าง ตรวจวัดหาปริมาณสาร flumethrin แล้วคำนวณค่า signal to noise ratio (S/N) ซึ่งต้องได้ค่ามากกว่า 10 คำนวณค่าร้อยละการกลับคืน และ % RSD_r ซึ่งมีเกณฑ์ยอมรับความแม่นยำจากร้อยละการกลับคืนและความเที่ยงจากค่า % RSD_r ตามเกณฑ์ CODEX (2003) ดังตารางที่ 1

ตารางที่ 1 เกณฑ์การประเมินความแม่นยำและความเที่ยงตาม CODEX (2003)

ความเข้มข้น (ไมโครกรัมต่อกิโลกรัม)	Repeatability	Reproducibility	Range of mean
	% RSD _r	% RSD _R	% recovery
$>1 \leq 10$	30	45	60-120
$>10 \leq 100$	20	32	70-120
$>100 \leq 1000$	15	23	70-110

5. ผลการทดลอง

5.1 การตรวจสอบสภาวะที่เหมาะสมของเครื่อง LC-MS/MS (Triple Quadrupole)

จากการตรวจสอบ ได้สภาวะที่เหมาะสมในการตรวจวัดสาร flumethrin ของเครื่อง LC-MS/MS (Triple Quadrupole) ดังนี้

- สภาวะของส่วน LC

ชนิดและขนาดของ LC column : Inertsil ODS 3 μ m, 2.1x150 mm.

Injection volume : 10 μ L

Flow rate : 0.5 mL/min

Mobile phase A : 10 mM ammonium acetate in 0.01% formic acid

B : methanol

Gradient :	Time	%A	%B
	00.00	50	50
	01.00	50	50
	07.00	0	100
	11.00	0	100
	12.00	50	50
	15.00	50	50

- สภาวะของส่วน Mass Spectrometer

Ion Source : H-ESI (+)

Positive voltage : 3500 V

Sheath gas : 50 Arb

Auxiliary gas : 15 Arb

Sweep gas : 2 Arb

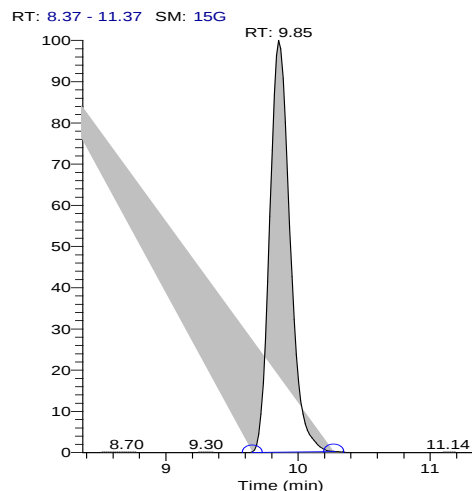
Ion transfer temperature: 350 °C

Vaporizer temperature : 400 °C

ซึ่งได้ผลการตรวจสอบค่า MS/MS transition ของสารให้สีที่ทำการวิเคราะห์ ดังตารางที่ 2 และโครมาโทแกรมดังรูปที่ 1

ตารางที่ 2 ค่า MS/MS transition ของสาร flumethrin ที่ทำการตรวจวิเคราะห์

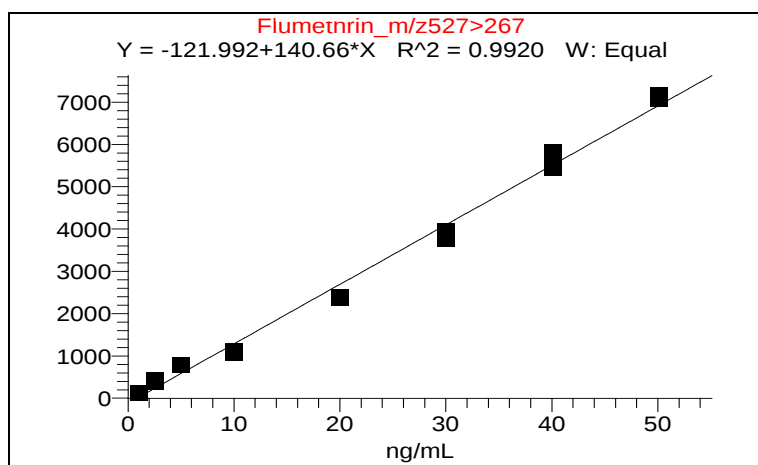
RT (min)	Analyte	Quantification transition (CE; V)	Confirmation transition 1 (CE; V)	Confirmation transition 2 (CE; V)
9.85	flumethrin	527>267 (13)	527>239 (27)	527>510 (7)



รูปที่ 1 โครมาโทแกรมของสาร flumethrin ที่ได้จากการตรวจวิเคราะห์ด้วยเครื่อง LC-MS/MS (triple quadrupole) โดยใช้ LC column ชนิด Inertsil ODS 3 μ m, 2.1x150 mm.

5.2 ความไวของเครื่อง LC-MS/MS (Instrument Detection Limit; IDL) และการทดสอบความเป็นเส้นตรงของกราฟมาตรฐาน (Linearity)

จากการตรวจวัดสารละลายมาตรฐาน flumethrin ที่ความเข้มข้น 1, 2.5, 5, 10, 20, 30, 40 และ 50 ng/mL พบว่าที่ความเข้มข้น 1 ng/mL ให้ค่า S/N เฉลี่ยเท่ากับ 152 ซึ่งมีค่า S/N มากกว่า 3 ตามเกณฑ์ที่กำหนดไว้ ดังนั้นเครื่อง LC-MS/MS ที่ใช้ในการทดสอบมีค่า IDL ที่ความเข้มข้น 1 ng/mL และจากการสร้างกราฟเส้นตรงได้กราฟเส้นตรงมีค่า R^2 เท่ากับ 0.992 ดังรูปที่ 2 ซึ่งช่วงความเข้มข้นที่ทดสอบดังกล่าวครอบคลุมค่าการตกค้างที่ยอมรับได้ ดังนั้นจึงมีความเหมาะสมในการใช้เป็นกราฟมาตรฐาน



รูปที่ 2 กราฟเส้นตรงของสารละลายมาตรฐาน flumethrin

5.3 ค่าความเข้มข้นต่ำสุดที่สามารถตรวจพบได้ (Limit of Detection; LOD) และความเข้มข้นต่ำสุดที่สามารถหาปริมาณได้ (Limit of Quantitation; LOQ)

จากการทดสอบ spiked sample ที่เติมสาร flumethrin 5.0 µg/kg จำนวน 10 ตัวอย่าง คำนวณค่า LOD และ LOQ ได้ 1 และ 2 µg/kg ตามลำดับ จึงได้ทดสอบยืนยันค่า LOD ที่ความเข้มข้นที่คำนวณได้ พบว่าจากการทดสอบ spiked sample blank ที่เติมสาร flumethrin 1 µg/kg นั้น พบว่ามีค่า S/N เฉลี่ยเท่ากับ 155 ซึ่งมีค่า S/N มากกว่า 3 ตามที่นิยามไว้ และจากการทดสอบยืนยันค่า LOQ โดยทดสอบ spiked sample ที่เติมสาร flumethrin 5.0 µg/kg พบว่ามีค่า S/N เฉลี่ยเท่ากับ 204 ซึ่งมีค่า S/N มากกว่า 10 ตามที่นิยามไว้ ได้ค่าร้อยละการกลับคืนเฉลี่ยเท่ากับ 92.15 และค่า % RSD, เท่ากับ 13.6 ซึ่งอยู่ในเกณฑ์ CODEX ดังนั้นวิธีที่พัฒนาขึ้นนี้มีค่า LOD และ LOQ เท่ากับ 1 และ 2 µg/kg ตามลำดับ

6. สรุปผลการทดลอง

จากการทดสอบความใช้ได้ของวิธีวิเคราะห์ตามแนวทางของ EURACHEM (2014) พบว่ามีประสิทธิภาพดีสามารถใช้ตรวจวิเคราะห์สาร flumethrin ในน้ำผึ้งด้วยวิธี LC-MS/MS ได้ โดยมีช่วงความเป็นเส้นตรงของกราฟมาตรฐานเป็นที่น่าพอใจ มีค่า LOD และ LOQ เท่ากับ 1 และ 2 µg/kg ตามลำดับ ดังนั้น วิธีนี้จึงมีสมรรถนะประสิทธิภาพบรรลุวัตถุประสงค์สามารถใช้เป็นวิธีวิเคราะห์สาร flumethrin ในน้ำผึ้งด้วยเทคนิค LC-MS/MS ในการเฝ้าระวังสารตกค้างของกรรมปศุสัตว์ได้

7. ข้อเสนอแนะ

วิธีวิเคราะห์ที่ได้ผ่านการทดสอบความใช้ได้ของวิธีวิเคราะห์ในครั้งนี้ ยังไม่ครอบคลุมการทดสอบช่วงความสามารถของการทดสอบ รวมทั้งควรมีการควบคุมคุณภาพภายนอกห้องปฏิบัติการ โดยการเข้าร่วมทดสอบความชำนาญ (Proficiency Testing) หรือจัดกิจกรรมเปรียบเทียบผลระหว่างห้องปฏิบัติการ (Interlaboratory comparision) เพื่อให้ทราบว่าวิธีนี้สามารถตรวจวิเคราะห์ตัวอย่างได้ถูกต้อง

8. กิตติกรรมประกาศ

ขอขอบคุณ นายสัตวแพทย์ไพโรจน์ อารังโสภาส ผู้อำนวยการสำนักตรวจสอบคุณภาพสินค้าปศุสัตว์ ที่สนับสนุนการศึกษาในครั้งนี้ รวมทั้งเจ้าหน้าที่งานเคมีอาหาร สารตกค้างและสารปนเปื้อน กลุ่มตรวจสอบคุณภาพเนื้อสัตว์และผลผลิตจากสัตว์ สำนักตรวจสอบคุณภาพสินค้าปศุสัตว์ที่ช่วยในการศึกษาในครั้งนี้สำเร็จลุล่วงไปด้วยดี

9. เอกสารอ้างอิง

มนทกานต์ วงศ์ภากร, วันทนีย์ เนรมิตมานสุข. 2546. การสำรวจเชื้อปรสิตของผึ้งในประเทศไทย.

สัตวแพทยสาร. ปีที่ 54 เล่มที่ 3 : 19-26.

Department of Food Safety. Ministry of Health, Labour and Welfare. (2006). Multiresidue Method for Agricultural Chemicals by GC/MS (Animal and Fishery Products). pp 32-42.

Zhen J., Zhuguang L., Meiyu C., Yu M., Jun T., Yulan F., Jiachen W., Zhaobin C., Fengzhang T. Determination of Multiple Pesticide Residues in Honey Using Gas Chromatography-Electron Impact Ionization-Mass Spectrometry. Chinese Journal of Chromatography (2006); Vol. 24(5), pp 440-446.