

## การพัฒนาและตรวจสอบความใช้ได้ของวิธีวิเคราะห์สารกลุ่มออร์กาโนคลอรีน ออร์กาโนฟอสเฟตและโพลีคลอรีเนตเต็ดไปฟีนิลในน้ำมันโคดิบด้วยเทคนิค GC-MS/MS

ทิพย์สุดา วรรณอินทร์\* วิษุพันธ์ ลีวรรณ

### บทคัดย่อ

การศึกษานี้มีวัตถุประสงค์เพื่อพัฒนาและตรวจสอบความใช้ได้วิธีวิเคราะห์สารกลุ่มออร์กาโนคลอรีนจำนวน 13 ชนิด สารกลุ่มออร์กาโนฟอสเฟตจำนวน 2 ชนิด และสารโพลีคลอรีเนตเต็ดไปฟีนิลจำนวน 6 ชนิด ในน้ำมันโคดิบด้วยเทคนิค GC-MS/MS ผลการพัฒนาวิธีพบว่าการสกัดสารด้วยตัวทำละลายอะซีโตนไตรเอทิลร่วมกับการทำให้บริสุทธิ์ด้วยการผ่านสารสกัดลงใน thistle tube ที่มี activated florisol 5 กรัม และมีโซเดียมซัลเฟต 0.5 กรัม เป็นวิธีที่สกัดมีปริมาณไขมันคงเหลือน้อยที่สุด และเมื่อวิเคราะห์กับกราฟมาตรฐานในเมทริกซ์มีค่าร้อยละการกลับคืนอยู่ในช่วง 80.48 - 99.59 และร้อยละของค่าเบี่ยงเบนมาตรฐานสัมพัทธ์อยู่ในช่วง 1.78 - 14.93 จากนั้นตรวจสอบความใช้ได้ของวิธีวิเคราะห์ พบว่าความเป็นเส้นตรงของกราฟมาตรฐานในตัวทำละลายและในเมทริกซ์มีค่าสัมประสิทธิ์การตัดสิ้นใจ ( $r^2$ ) ที่ความเข้มข้น 0.5 - 100 ng/mL ทุกชนิดสารยกเว้นผลรวมของสาร p,p'-DDD และ o,p'-DDT ที่ความเข้มข้น 1 - 200 ng/mL สูงกว่า 0.99 มีขีดจำกัดของการตรวจพบและขีดจำกัดของการตรวจวัดเชิงปริมาณของทุกสารเท่ากับ 0.5 และ 1 µg/kg ส่วนผลรวมของสาร p,p'-DDD และ o,p'-DDT เท่ากับ 1 และ 2 µg/kg มีช่วงการวิเคราะห์อยู่ระหว่าง 1 - 100 µg/kg ทุกชนิดสาร ส่วนผลรวมของสาร p,p'-DDD และ p,p'-DDT มีช่วงการวิเคราะห์อยู่ระหว่าง 2 - 200 µg/kg โดยมีค่าความแม่นยำที่พิจารณาการร้อยละการกลับคืนอยู่ในเกณฑ์ 70-120 มีค่าความเที่ยงของการทวนซ้ำและการทำซ้ำโดยพิจารณาการร้อยละของค่าเบี่ยงเบนมาตรฐานสัมพัทธ์มีค่าน้อยกว่า 20 ทุกชนิดสารตามแนวทางของ SANTE/11312/2021 v2026 จากผลการตรวจสอบความใช้ได้แสดงว่ามีคุณลักษณะเฉพาะของวิธีอยู่ในเกณฑ์การยอมรับได้ ดังนั้นวิธีทดสอบนี้จึงมีความเหมาะสมสำหรับใช้วิเคราะห์สารกลุ่มออร์กาโนคลอรีน สารกลุ่มออร์กาโนฟอสเฟตและสารโพลีคลอรีเนตเต็ดไปฟีนิลในน้ำมันโคดิบด้วยเทคนิค GC-MS/MS

**คำสำคัญ:** การพัฒนาและตรวจสอบความใช้ได้ของวิธี, ออร์กาโนคลอรีน, ออร์กาโนฟอสเฟต, โพลีคลอรีเนตเต็ดไปฟีนิล, น้ำมันโคดิบ, GC-MS/MS

เลขทะเบียนวิชาการ : 69(2)-0304-022

กลุ่มตรวจสอบคุณภาพเนื้อสัตว์และผลผลิตจากสัตว์ สำนักตรวจสอบคุณภาพสินค้าปศุสัตว์ กรมปศุสัตว์  
91 หมู่ที่ 4 ถนนติวานนท์ ตำบลบางกะดี อำเภอเมืองปทุมธานี จังหวัดปทุมธานี 12000

\* ผู้รับผิดชอบ e-mail : tipsuda-w@hotmail.com

## Development and validation method for determination of organochlorine organophosphate and polychlorinated biphenyl in raw cow's milk by GC-MS/MS

Tipsuda Wanna-in\* Vichunun Leewan

### ABSTRACT

The aim of this study was to develop and validate method for 13 types of organochlorines, 2 types of organophosphates and 6 types of polychlorinated biphenyls in raw cow's milk by GC-MS/MS. The results showed that the sample was extracted with acetonitrile and clean up by passed the extract through a thistle tube contained 5 grams of activated florisil and 0.5 grams of sodium sulfate had the lowest residual fat content and analyzed with matrix matched calibration had mean recovery percentages in the range of 80.48 - 99.59 and relative standard deviation percentages in the range of 1.78 - 14.93. Then it was validated found that the standard calibration curve in solvent and in matrix extract, all compounds exhibited a coefficient of determination ( $r^2$ ) at the level of 0.5 - 100 ng/mL for all compounds, except summary of p,p'-DDD and o,p'-DDT at the level of 1.0 - 200 ng/mL was greater than 0.99. The limits of detection and quantitation were 0.5 and 1.0  $\mu\text{g}/\text{kg}$ , respectively. For the summary of p,p'-DDD and o,p'-DDT were 1.0 and 2.0  $\mu\text{g}/\text{kg}$ , respectively. The working range was between 1 - 100  $\mu\text{g}/\text{kg}$ , while summary of p,p'-DDD and o,p'-DDT had working range between 2 - 200  $\mu\text{g}/\text{kg}$ . Accuracy was considered by mean recovery percentages in the range of 70 - 120. Repeatability and within laboratory reproducibility were considered by relative standard deviation percentages below 20 for all compounds in accordance with the guidelines of SANTE/11312/2021 v2026. The results of the performance characteristic were within the acceptable criteria. Thus, this method was suitable for determination of organochlorines, organophosphates and polychlorinated biphenyls in raw cow's milk by GC-MS/MS.

**Keywords:** method development and validation, organochlorine, organophosphate  
polychlorinated biphenyl, raw cow's milk, GC-MS/MS

---

Registered No: 69(2)-0304-022

Veterinary Public Health Laboratory, Bureau of Quality Control of Livestock Products,  
Department of Livestock Development

91 Moo. 4 Tiwanon Bangkadi Muang Pathum Thani 12000

Corresponding author : e-mail: tipsuda-w@hotmail.com

## บทนำ

สารกลุ่มออร์กาโนคลอรีน (Organochlorine ; OCPs) เป็นสารเคมีสังเคราะห์กลุ่มใหญ่ที่มีการนำไปใช้งานที่หลากหลายเป็นสารประกอบอินทรีย์ที่มีความเสถียรละลายน้ำได้น้อยมากและมีความสามารถละลายในไขมันสูงบางชนิดคงสภาพได้ยาวนาน สาร OCPs มีสามกลุ่มหลัก ได้แก่ กลุ่ม dichloro-diphenyl- trichloroethane (DDT) สารประกอบที่เกี่ยวข้อง เช่น rhothane (DDD) และ methoxychlor กลุ่ม chlorinated cyclodienes เช่น aldrin, dieldrin และ chlordane กลุ่ม hexachlorocyclohexanes (HCHs) เช่น lindane ประเทศไทยมีการใช้สาร OCPs ในรูปแบบต่างๆ เพื่อวัตถุประสงค์ที่หลากหลาย ในปี พ.ศ. 2546 ระบุว่า DDT เข้ามาในประเทศไทยครั้งแรกในปี พ.ศ. 2492 เพื่อควบคุมโรคมาลาเรีย ในปี พ.ศ. 2496 DDT ถูกนำมาใช้เพื่อควบคุมศัตรูพืชเป็นครั้งแรกและเป็นที่ยอมรับอย่างกว้างขวางหลังจากปี พ.ศ. 2498 นำไปใช้ควบคุมการแพร่ระบาดของตั๊กแตนข้าวโพด หนอนสำลี และแมลงยาสูบ ประเทศไทยเคยมีการใช้สาร OCPs อย่างแพร่หลายในระหว่างปี พ.ศ. 2493 ถึง 2533 แม้ว่าสารฆ่าแมลงกลุ่มนี้ถูกห้ามนำเข้าและห้ามใช้ในปัจจุบัน แต่สารตกค้างของสารกลุ่มนี้ในสิ่งแวดล้อมยังสามารถตรวจพบอยู่ทั่วไป ทั้งในน้ำ ตะกอนดิน ดิน พืช สัตว์ และ มนุษย์ (Kumthorn *et al.*, 2006)

สารกลุ่มออร์กาโนฟอสเฟต (Organophosphates ; OPPs) เป็นสารประกอบอินทรีย์ที่มีธาตุฟอสฟอรัส (P) เป็นส่วนประกอบ สามารถระเหยได้เล็กน้อยและจะสลายตัวเมื่อถูกความร้อนสูง สามารถละลายได้ดีในน้ำมันหรือแอลกอฮอล์ แต่จะละลายได้เพียงเล็กน้อยในน้ำ ฤทธิ์ในการฆ่าแมลงเกิดจากการยับยั้งการทำงานของเอนไซม์โคลีนเอสเตอเรส (cholinesterase) ภายในเนื้อเยื่อประสาทและบริเวณรอยต่อระหว่างระบบประสาทและกล้ามเนื้อ (Ramesh and Robin, 2024) สาร OPPs มีคุณสมบัติทางเคมีเป็นของเหลวสีเหลืองหรือสีน้ำตาลเข้ม สารในกลุ่มนี้ เช่น ไดคลออร์วอส หรือดีดีวีพี (dichlorvos or DDVP) ไดอะซินอน (diazinon) มาลาไทออน (malathion) คลอร์ไพริฟอส (chlorpyrifos) เทเมฟอส (temephos) เป็นต้น การเป็นพิษในมนุษย์นั้นสารกลุ่มนี้จะไปยับยั้งการทำงานของเอนไซม์โคลีนเอสเตอเรสทำให้เกิดอาการ muscarinic เฉียบพลัน เช่น น้ำลายไหล น้ำตาไหล ปัสสาวะ ท้องเสีย อาเจียน หลอดลมตีบ หลอดลมหดเกร็ง หัวใจเต้นช้า และม่านตาหด (Gerald and Rika, 2025)

สารโพลีคลอรีเนตเต็ดไบฟีนีล (Polychlorinated biphenyls ; PCBs) เป็นสารประกอบอินทรีย์ไฮโดรคาร์บอน ที่มีคลอรีนเป็นองค์ประกอบ (chlorinated hydrocarbon) ซึ่งประกอบด้วยคลอรีนตั้งแต่ 1 ถึง 10 อะตอมอยู่ในวงของ biphenyl สาร PCBs เป็นสารประกอบเคมีสังเคราะห์ที่ถูกนำมาใช้อย่างแพร่หลายในอุตสาหกรรมต่างๆ โดยเฉพาะใช้ในการผลิตหม้อแปลงไฟฟ้าและตัวเก็บประจุไฟฟ้า เนื่องจากเป็นสารที่มีคุณสมบัติเป็นฉนวนไฟฟ้าที่ดี สาร PCBs มีคุณสมบัติละลายน้ำได้น้อยและยังละลายได้น้อยลงเมื่อมีปริมาณคลอรีนเพิ่มขึ้น สามารถละลายได้ในสารละลายอินทรีย์ น้ำมัน และไขมัน สลายตัวยาก สาร PCBs ถูกจัดเป็นสารเคมีอุตสาหกรรมและสารมลพิษที่ตกค้างยาวนานประเภทปลดปล่อยโดยไม่ตั้งใจ สาร PCBs สามารถเข้าสู่ร่างกายโดยการหายใจ การกิน และการสัมผัสทางผิวหนัง เมื่อเข้าสู่ร่างกายของสิ่งมีชีวิตจะสะสมอยู่ในส่วนที่เป็นเนื้อเยื่อไขมัน ดังนั้นอาหารที่มีไขมันได้แก่ นม เนย ไข่ และเนื้อจึงเป็นแหล่งสะสมสาร PCBs ที่สำคัญ (กรมควบคุมมลพิษ กระทรวงทรัพยากรธรรมชาติและสิ่งแวดล้อม, 2551) จากการวิจัย พบว่าสิ่งมีชีวิตที่อยู่ในห่วงโซ่อาหารจะสะสมสารประกอบเหล่านี้ในเนื้อเยื่อมากขึ้นเรื่อยๆ มนุษย์เป็นอันดับสุดท้ายในห่วงโซ่อาหาร ดังนั้นจึงมี

รายงานว่าเป็นเนื้อเยื่อของมนุษย์มีสาร PCBs ในระดับสูงสุด 0.8559 mg/kg (Pietrzak-Fiecko *et al.*, 2004)

สารฆ่าแมลงที่ปนเปื้อนในน้ำนมโคดิบมาจากการใช้สารฆ่าแมลงกำจัดพยาธิภายนอกร่างกายของโคนม เช่น เหลือบ เห็บ แมลง และการใช้สารฆ่าแมลงในคอก เช่น แมลงวัน มด สารฆ่าแมลงบางชนิดจะมีฤทธิ์อยู่ได้นาน (สถาบันสุขภาพสัตว์แห่งชาติ, 2539) ซึ่งการเกิดสารตกค้างในน้ำนมโคดิบเป็นปัญหาทางด้านสาธารณสุข เนื่องจากผลิตภัณฑ์นมถูกบริโภคกันอย่างแพร่หลายในทารก เด็ก และผู้ใหญ่จำนวนมากด้วยเหตุนี้หลายหน่วยงาน เช่น สำนักงานมาตรฐานสินค้าเกษตรและอาหารแห่งชาติ คณะกรรมาธิการยุโรป (The European Commission) และคณะกรรมการโคเด็กซ์ (Codex Alimentarius Commission) จึงได้ออกกฎระเบียบที่จำกัดค่าปริมาณสารตกค้างสูงสุดที่ยอมรับได้ (Maximum residue limits ; MRLs) หรือค่าปริมาณสารปนเปื้อนสูงสุดที่ยอมรับได้ (Maximum limits ; MLs) ในนม เพื่อความปลอดภัยต่อสุขภาพของประชาชน ดังตารางที่ 1

**ตารางที่ 1** ค่า MRL สารกลุ่ม OCPs OPPs และ ML สารกลุ่ม PCBs ในตัวอย่างน้ำนม

Compounds	MRL/ML (mg/kg)		
	มกษ. <sup>(a)</sup>	Codex <sup>(b)</sup>	EU <sup>(c)</sup>
Aldrin and Dieldrin	0.006F มกษ. 9003-2568	0.006F	0.006F Reg. (EU) No 839/2008
Hexachlorocyclohexane (HCH), alpha-isomer	NA	NA	0.01F Reg. (EU) 2017/978
Hexachlorocyclohexane (HCH), beta-isomer	ห้ามพบ มกษ. 9002-2568	NA	0.01F Reg. (EU) 2017/978
Lindane (Gamma-isomer of hexachlorocyclohexane (HCH))	0.001 มกษ. 9003-2568	0.001	0.01F Reg. (EU) 2017/978
Heptachlor (sum of heptachlor and heptachlor epoxide expressed as heptachlor)	0.006F มกษ. 9003-2568	0.006F	0.004F Reg. (EU) No 149/2008
DDT (sum of p,p'-DDT, o,p'-DDT, p-p'-DDE and p,p'-TDE (DDD) expressed as DDT)	0.02F มกษ. 9003-2568	0.02F	0.04F Reg. (EU) 2023/163
Diazinon	0.02F มกษ. 9002-2568	0.02	0.02F Reg. (EU) No 834/2013

## ตารางที่ 1 (ต่อ)

Compounds	MRL/ML (mg/kg)		
	มกษ. <sup>(a)</sup>	Codex <sup>(b)</sup>	EU <sup>(c)</sup>
Chlorpyrifos	ห้ามพบ มกษ. 9002-2568	0.02	0.01F Reg. (EU) 2018/686
PCBs (Sum of non dioxin-like PCBs is of PCB28, PCB52, PCB101, PCB138, PCB153 and PCB180)	NA	NA	0.04F Reg. (EU) No 2023/915

### หมายเหตุ

NA คือ Not Available (ไม่มีข้อมูลปรากฏ)

(a) คือ มาตรฐานสินค้าเกษตร (สำนักงานมาตรฐานสินค้าเกษตรและอาหารแห่งชาติ, 2568a, 2568b) อักษร F ที่ระบุตามหลัง EMRL หมายถึง สารพิษตกค้างที่ละลายได้ในไขมัน

(b) คือ Codex Maximum Residue Limits for Pesticides and Extraneous Maximum Residue Limits (Codex, 2024) F: The residue is fat soluble and MRLs for milk products.

(c) คือ European Commission Regulation (The European Commission, 2008a, 2008b, 2013, 2017, 2018, 2023a, 2023b) F: The residue is fat soluble.

ผลผลิตน้ำนมโคของไทยใช้สำหรับแปรรูปภายในประเทศทั้งหมด โดยใช้ในอุตสาหกรรมนมพร้อมดื่มและนมโรงเรียน การส่งออกผลิตภัณฑ์นม ไทยมีการส่งออกผลิตภัณฑ์นมหลายชนิด แต่ส่วนใหญ่มาจากการนำเข้าผลิตภัณฑ์นมเพื่อใช้ผลิตเป็นผลิตภัณฑ์นมประเภทอื่นๆ แล้วส่งออก สินค้าส่งออกที่สำคัญ ได้แก่ นมพร้อมดื่ม นมเปรี้ยว โยเกิร์ต เนยที่ได้จากนม และนมข้นหวาน เป็นต้น และเป็นการส่งออกไปยังประเทศใกล้เคียง เช่น กัมพูชา เมียนมาร์ สปป.ลาว มาเลเซีย สิงคโปร์ และฟิลิปปินส์ (คณะทำงานทบทวนยุทธศาสตร์พัฒนาโคนมและผลิตภัณฑ์นมฯ, 2564) นอกจากการส่งออกไปยังกลุ่มประเทศอาเซียนแล้ว ปี 2563 กรมปศุสัตว์ได้ขอเปิดตลาดผลิตภัณฑ์นม (เฉพาะผลิตภัณฑ์ไอศกรีม) ไปยังสาธารณรัฐเกาหลีอีกด้วย (Office of Agricultural Affairs, Royal Thai Embassy, Tokyo, 2568) ดังนั้น เพื่อยกระดับความปลอดภัยทางอาหารและคุ้มครองสุขภาพของผู้บริโภคภายในประเทศ ห้องปฏิบัติการสำนักตรวจสอบคุณภาพสินค้าปศุสัตว์ ในฐานะหน่วยงานที่มีหน้าที่รับผิดชอบด้านการตรวจวิเคราะห์คุณภาพและความปลอดภัยในสินค้าปศุสัตว์ จึงเล็งเห็นความสำคัญในการพัฒนาและตรวจสอบความใช้ได้ของวิธีวิเคราะห์สารกลุ่ม OCPs OPPs และ PCBs ในน้ำนมโคดิบด้วยเทคนิค GC-MS/MS โดยการศึกษาครั้งนี้ ได้มุ่งเน้นการพัฒนากระบวนการสกัดและการ Clean-up ให้สามารถวิเคราะห์สารทั้งสามกลุ่มได้พร้อมกัน (multi-residue analysis) เพื่อลดระยะเวลาในการปฏิบัติงานและลดปริมาณการใช้สารเคมี เป็นการเพิ่มขีดความสามารถ ในการรองรับตัวอย่างที่มีแนวโน้มเพิ่มสูงขึ้นในอนาคต ซึ่งจะเป็นวิธีทางเลือกวิธีหนึ่งที่มีประสิทธิภาพสำหรับทดแทนวิธีวิเคราะห์เดิมที่มีการใช้ตัวทำละลายอินทรีย์ในขั้นตอนการสกัดและขั้นตอนการ clean up โดยเครื่อง Gel Permeation Chromatography (GPC) ในปริมาณสูง ก่อให้เกิดของเสียเคมีจากตัวทำละลายในปริมาณมาก เป็นภาระและมีค่าใช้จ่ายในการกำจัด อีกทั้งการวิเคราะห์ ใช้เวลานาน ซึ่งอาจส่งผลกระทบต่อสุขภาพของผู้ปฏิบัติงานในระยะยาว วิธีวิเคราะห์ที่พัฒนาขึ้นจะได้รับการตรวจสอบความใช้ได้ตามแนวทาง SANTE 11312/2021 v2026 (European Commission, 2026) เพื่อทดสอบความจำเพาะของวิธีวิเคราะห์ (specificity) ผลกระทบจากเมทริกซ์ (matrix effect) ความแม่นยำ (accuracy) ความเที่ยง (precision) พร้อมทั้งดำเนินการตามแนวทางของ Eurachem (2025) ในการทดสอบความเป็นเส้นตรง (linearity) ของกราฟ

มาตรฐาน (calibration curve) ค่าความเข้มข้นต่ำสุดที่สามารถตรวจพบได้ (limit of detection ; LOD) ความเข้มข้นต่ำสุดที่สามารถหาปริมาณได้ (limit of quantitation ; LOQ) และช่วงการวิเคราะห์ (working range) ทั้งนี้เพื่อสร้างความเชื่อมั่นในผลการทดสอบและเสริมสร้างศักยภาพของห้องปฏิบัติการ และเพื่อรองรับการดำเนินงานตามแผนเฝ้าระวังสารตกค้าง (residue monitoring plan) อย่างมีประสิทธิภาพต่อไป

## อุปกรณ์และวิธีการ

### 1. อุปกรณ์และเครื่องมือ

เครื่องวิเคราะห์ GC-MS/MS (Triple Quadrupole) ยี่ห้อ Thermo scientific รุ่น TRACE 1310-TSQ 8000 Evo เครื่องปั่นเหวี่ยงตกตะกอน (centrifuge) เครื่องเขย่าแนวตั้ง เครื่องซังอิเล็กทริกส์ ความละเอียด 3 ตำแหน่ง เครื่องลดปริมาตรสารละลายโดยการเป่าด้วยแก๊สไนโตรเจน (N-Evap) เครื่องหมุนปั่นผสมสารละลาย (vortex) thistle tube และ micropipette ขนาด 0.5-10, 10-100, 20-200, 100-1,000  $\mu\text{L}$  และ 500-5,000  $\mu\text{L}$

### 2. สารเคมีและสารมาตรฐาน

#### 2.1 สารเคมี

- เกรด AR ได้แก่ acetonitrile, magnesium sulfate ( $\text{MgSO}_4$ ), sodium sulfate ( $\text{Na}_2\text{SO}_4$ ), primary secondary amine (PSA) และ octadecylsilane (C18)
- เกรด residue analysis ได้แก่ florisil ขนาด 60-120 mesh และ iso-octane

#### 2.2 สารมาตรฐานเกรดวัสดุอ้างอิง ยี่ห้อ Dr.Ehrenstorfer

- สารละลายมาตรฐานกลุ่ม OCPs จำนวน 13 ชนิด แต่ละชนิดความเข้มข้น 20  $\mu\text{g}/\text{mL}$  ประกอบด้วย alpha-HCH, beta-HCH, lindane, heptachlor, aldrin, cis-heptachlor epoxide, o,p'-DDE, p,p'-DDE, o,p'-DDD, dieldrin, o,p'-DDT, p,p'-DDD, p,p'-DDT ละลายใน iso-octane
- สารละลายมาตรฐานกลุ่ม OPPs จำนวน 2 ชนิด แต่ละชนิดความเข้มข้น 10  $\mu\text{g}/\text{mL}$  ประกอบด้วย diazinon และ chlorpyrifos ละลายใน iso-octane
- สารละลายมาตรฐานกลุ่ม PCBs จำนวน 6 ชนิด แต่ละชนิดความเข้มข้น 10  $\mu\text{g}/\text{mL}$  ประกอบด้วย PCB 28, PCB 52, PCB 101, PCB 138, PCB 153 และ PCB 180 ละลายใน iso-octane

#### 2.3 การเตรียมสารละลายมาตรฐาน

2.3.1 Mixed intermediate standard solution ความเข้มข้น 1  $\mu\text{g}/\text{mL}$  โดยดูดสารละลายมาตรฐานกลุ่ม OCPs ปริมาตร 500  $\mu\text{L}$  กลุ่ม OPPs และกลุ่ม PCBs ปริมาตรอย่างละ 1 mL รวมกันลงใน volumetric flask ขนาด 10 mL ปรับปริมาตรให้เป็น 10 mL ด้วย iso-octane

2.3.2 Mixed intermediate standard solution ความเข้มข้น 100  $\mu\text{g}/\text{L}$  โดยดูดสารละลายมาตรฐานกลุ่ม OCPs ปริมาตร 50  $\mu\text{L}$  กลุ่ม OPPs และกลุ่ม PCBs ปริมาตรอย่างละ 100  $\mu\text{L}$  รวมกันลงใน volumetric flask ขนาด 10 mL ปรับปริมาตรให้เป็น 10 mL ด้วย iso-octane

2.3.3 Standard in solvent calibration (SSC) เตรียมกราฟมาตรฐานที่ระดับความเข้มข้น 0.5, 1, 5, 10, 25, 50  $\mu\text{g}/\text{L}$  และ 100  $\mu\text{g}/\text{L}$  ในสารละลาย iso-octane ตามตารางที่ 2

2.3.4 Matrix matched calibration (MMC) เตรียมกราฟมาตรฐานที่ระดับความเข้มข้น 0.5, 1, 5, 10, 25, 50  $\mu\text{g/L}$  และ 100  $\mu\text{g/L}$  ในสารสกัด sample blank ตามตารางที่ 2 โดยเตรียม sample blank ตามวิธีการสกัดและ clean up วิธีที่เหมาะสมตามภาพที่ 1

**ตารางที่ 2** การเตรียม standard in solvent calibration (SSC) และ matrix matched calibration (MMC)

Conc. ( $\mu\text{g/L}$ )	Mixed intermediate standard solution		SSC	MMC
	Conc. ( $\mu\text{g/L}$ )	Volume ( $\mu\text{L}$ )	iso-octane ( $\mu\text{L}$ )	sample blank ( $\mu\text{L}$ )
0.5	100	5	995	995
1	100	10	990	990
5	100	50	950	950
10	1,000	10	990	990
25	1,000	25	975	975
50	1,000	50	950	950
100	1,000	100	900	900

### 3. การตรวจวิเคราะห์สารด้วย GC-MS/MS

สภาวะการวิเคราะห์สารกลุ่ม OCPs จำนวน 13 ชนิด สารกลุ่ม OPPs จำนวน 2 ชนิดและสารกลุ่ม PCBs จำนวน 6 ชนิดด้วยเครื่อง GC-MS/MS ที่ใช้ในการวิเคราะห์นี้เป็นสภาวะเดียวกับการวิเคราะห์สารกลุ่ม OCPs OPPs และ PCBs ในน้ำมันโคดีบิธีปัจจุบันตามตารางที่ 3 จากนั้นตรวจวัดปริมาณโดยใช้ MRM mode ดังแสดงในตารางที่ 4

**ตารางที่ 3** สภาวะการวิเคราะห์ของเครื่อง GC-MS/MS

Parameters	รายละเอียด/สภาวะการวิเคราะห์
GC column	DB-5MS UI ที่มี stationary phase เป็น 5% phenyl 95% dimethyl arylene siloxane ขนาด 0.25 mm. id., 30 m. film thickness 0.25 $\mu\text{m}$ . และ guard column 5 m.
ชนิดและ flow rate ของ carrier gas	Helium (He), UHP Grade, constant flow 1.0 mL/min
ชนิดและ injection port temperature	PTV / 290 °C
Oven temperature	70 °C (hold 1.0 min), rate 15 °C / min to 300 °C (hold 5.0 min)
Injection mode	Splitless
Injection volume	1 $\mu\text{L}$
Ion source / temperature	EI / 250 °C
Ion trap temperature	180 °C
Transfer line temperature	290 °C

**ตารางที่ 4** ค่า Mass transition ของสารกลุ่ม OCPs OPPs และ PCBs ที่ตรวจวิเคราะห์ด้วย GC-MS/MS

Compounds	RT	Transition 1		Transition 2		Transition 3	
		Quantifier (m/z)	CE (V)	Qualifier1 (m/z)	CE (V)	Qualifier2 (m/z)	CE (V)
alpha-HCH	8.49	218.9>182.9	5	218.9>180.9	5	182.9>147	15
beta-HCH	8.85	218.9>182.9	5	218.9>180.9	5	182.9>147	15
gamma-HCH (Lindane)	8.98	218.9>182.9	5	218.9>180.9	5	182.9>147	15
Diazinon	9.01	137.1>84.1	12	137.1>54.1	20	179.1>121.5	26
PCB 28	9.78	258>186	22	186>151.1	20	186>150.1	30
Heptachlor	10.00	271.8>236.8	15	236.9>142.9	25	236.9>118.9	25
PCB 52	10.23	291.9>221.9	25	291.9>219.9	25	220>150	35
Chlorpyrifos	10.36	313.9>257.9	12	196.7>107	36	196.7>168.9	12
Aldrin	10.51	262.9>192.9	30	262.9>190.9	30	292.9>258	10
cis-Heptachlor epoxide	11.02	352.9>262.8	15	352.9>281.9	15	236.8>142.9	25
o,p'-DDE	11.31	246>176	30	318>246	15	318>248	15
PCB 101	11.37	325.9>253.9	25	325.9>255.9	25	254>184	30
p,p'-DDE	11.72	318>248	20	318>246	20	246>176.1	30
o,p'-DDD	11.82	235>165.1	20	235>199.1	15	235>200.1	10
Dieldrin	11.87	276.9>241	10	276.9>172	40	276.9>205.9	10
p,p'-DDD	12.32	235>165.1	20	235>199.1	15	235>200.1	10
o,p'-DDT	12.32	235>165.1	20	235>199.1	15	235>200.1	10
PCB 153	12.43	359.9>289.8	25	359.8>287.9	25	289.9>219.9	30
p,p'-DDT	12.76	235>165.1	20	235>199.1	10	235>200	10
PCB 138	12.78	359.9>289.8	25	289.9>219.9	30	289.9>217.9	30
PCB 180	13.59	395.8>323.8	30	395.8>325.8	30	323.9>253.8	35

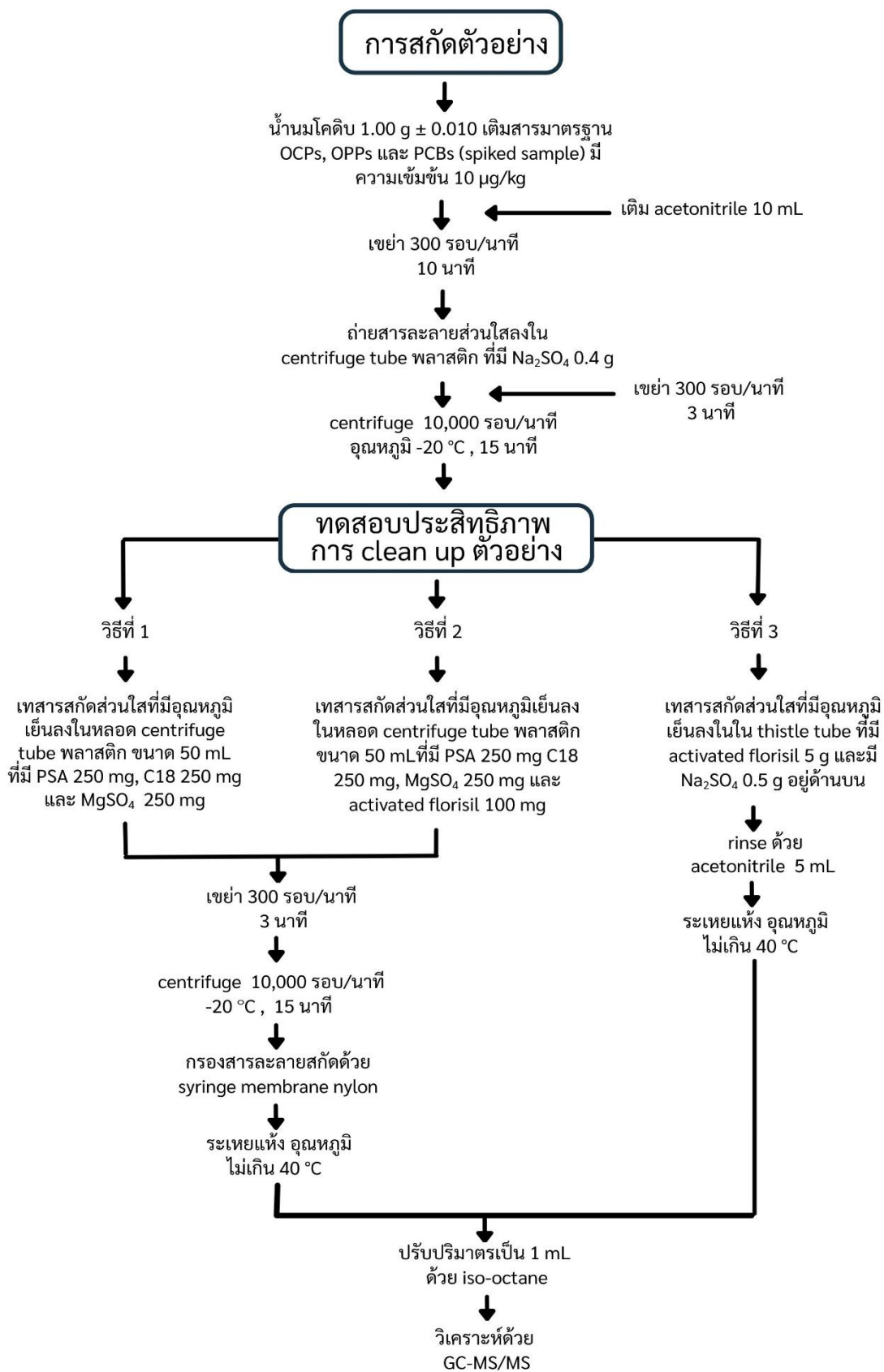
#### 4. การพัฒนาวิธีวิเคราะห์

##### 4.1 ตัวอย่างและการเตรียมตัวอย่าง

ตัวอย่างที่ใช้ในการพัฒนาวิธีวิเคราะห์และตรวจสอบความใช้ได้ของวิธีคือ ตัวอย่างน้ำมันโคดิบ โดยแหล่งที่มาของตัวอย่าง เป็นตัวอย่างน้ำมันโคดิบที่ส่งทดสอบสารตกค้างในกิจกรรมแผนฝัา ระวังสารตกค้างปี 2568 ซึ่งผ่านการทดสอบด้วยเทคนิค GPC ว่าไม่พบการตกค้างสารกลุ่ม OCPs OPPs และ PCBs โดยเก็บรักษาตัวอย่างไว้ที่ 0 - 4 °C

##### 4.2 การศึกษาประสิทธิภาพของการสกัดและการ clean up ตัวอย่าง

พัฒนาวิธีวิเคราะห์การสกัดและการ clean up ตัวอย่าง โดยการนำตัวอย่างน้ำมันโคดิบ ซึ่งเป็นตัวอย่าง sample blank (ข้อ 4.1) มาทำเป็น spiked sample โดยเติมสารมาตรฐานกลุ่ม OCPs OPPs และ PCBs แต่ละชนิดให้มีความเข้มข้น 10 µg/kg สกัดตัวอย่างและทำการ clean up ตัวอย่าง ตามภาพที่ 1 โดยทำการวิเคราะห์วิธีละ 3 ซ้ำ (n=3) ตรวจวัดสารด้วยเทคนิค GC-MS/MS โดยเทียบผลการทดสอบจาก SSC และ MMC ความเข้มข้นที่เตรียมไว้ตามข้อ 2.3.3 นำผลการวิเคราะห์ ทั้ง 3 วิธีมาเปรียบเทียบกัน โดยดูจากค่าร้อยละการกลับคืนเฉลี่ย (%mean recovery, %MR) และค่าเบี่ยงเบนมาตรฐานสัมพัทธ์ (%RSD) เมื่อได้วิธีการสกัดและ clean up ที่เหมาะสม จึงทำการตรวจสอบความใช้ได้ของวิธีวิเคราะห์ต่อไป



ภาพที่ 1 ขั้นตอนการศึกษาประสิทธิภาพของการสกัดและการ clean up ตัวอย่าง

## 5. การตรวจสอบความความใช้ได้ของวิธีวิเคราะห์

### 5.1 ความจำเพาะของวิธีวิเคราะห์ (specificity)

ทดสอบ reagent blank, sample blank และ spiked sample ในตัวอย่างน้ำนมโคดิบตามวิธีวิเคราะห์ที่พัฒนาขึ้น โดยมี spiked sample เติมสารมาตรฐานกลุ่ม OCPs OPPs และ PCBs จำนวน 21 ชนิด แต่ละชนิดความเข้มข้น 50 µg/kg เทียบกับ SSC ความเข้มข้น 50 µg/L เพื่อตรวจสอบสัญญาณรบกวน โดยพิจารณาจากพีคของสารที่ปรากฏใน reagent blank และ sample blank ต้องไม่พบพีคหรือถ้าพบพีคที่มีค่า RT และค่ามวลต่อประจุ (m/z) ใกล้เคียงกับ standard ต้องมีสัญญาณ signal-to-noise ratio (S/N) น้อยกว่า 3 ส่วน spiked sample ต้องมีค่า RT แตกต่างจาก standard ไม่เกิน ±0.1 นาที และมีค่า m/z ตรงกับ standard และมีค่า ion ratio แตกต่างจาก SSC ไม่เกิน 30% ถือว่าวิธีมีความจำเพาะปราศจากสารรบกวน ตามเกณฑ์ SANTE 11312/2021 v2026 (European Commission, 2026)

### 5.2 ความเป็นเส้นตรงของกราฟมาตรฐาน (Linearity of calibration curve) และผลกระทบจากเมทริกซ์ (matrix effect)

สร้างกราฟมาตรฐาน (calibration curve) ระหว่างความเข้มข้น (แกน x) กับ peak area (แกน y) นีตสารละลายมาตรฐาน SCC และ MMC ความเข้มข้น 0.5 - 100 µg/L ตามตารางที่ 2 เข้าเครื่อง GC-MS/MS วิเคราะห์ระดับละ 3 ซ้ำ (n=3) โดย คำนวณหาค่าสัมประสิทธิ์การตัดสินใจ (coefficient of determination,  $r^2$ ) เกณฑ์ค่า  $r^2$  ไม่ต่ำกว่า 0.990 (U.S. Food and Drug Administration, 2023) จากนั้นนำค่า slope (m) ของ calibration curve จากสมการ  $y = mx + c$  แล้วนำค่า slope ของ SSC และ MMC มาคำนวณค่า %matrix effect (%ME) (Kwon *et al.*, 2012) เกณฑ์ค่า %ME ต้องน้อยกว่า ±20 ตามเกณฑ์ SANTE 11312/2021 v2026 (European Commission, 2026) โดยมีสูตรการคำนวณดังนี้

$$\%ME = \frac{(\text{slope MMC} - \text{slope SSC})}{\text{slope SSC}} \times 100$$

### 5.3 ทดสอบค่าความเข้มข้นต่ำสุดที่สามารถตรวจพบได้ (limit of detection, LOD) และความเข้มข้นต่ำสุดที่สามารถหาปริมาณได้ (limit of quantitation, LOQ)

ทดสอบค่า LOD จำนวน 10 ซ้ำ (n=10) โดยเติมสารมาตรฐานสารกลุ่ม OCPs OPPs และ PCBs 21 ชนิด ลงใน spiked sample ที่ความเข้มข้น 0.5 µg/kg เกณฑ์ค่า LOD คือ S/N มากกว่าหรือเท่ากับ 3 (U.S. Food and Drug Administration, 2023) และทดสอบค่า LOQ จำนวน 10 ซ้ำ (n=10) โดยเติมสารมาตรฐานสารกลุ่ม OCPs OPPs และ PCBs 21 ชนิด ลงใน spiked sample ที่ความเข้มข้น 1 µg/kg เกณฑ์ค่า LOQ คือ %MR ต้องอยู่ในช่วง 70-120% และ %RSD ต้องไม่เกิน 20 ตามเกณฑ์ SANTE 11312/2021 v2026 (European Commission, 2026) ตามขั้นตอนวิธีวิเคราะห์ที่ได้พัฒนาขึ้นมา

### 5.4 ทดสอบความแม่นยำ (accuracy) และความเที่ยง (precision)

วิเคราะห์ spiked sample ที่เติมสารมาตรฐานกลุ่ม OCPs OPPs และ PCBs 21 ชนิด ทดสอบความแม่นยำและความเที่ยงแบบการทวนซ้ำ (repeatability) ได้ที่ระดับความเข้มข้น 1(LOQ) 5, 10, 25, 50 และ 100 µg/kg ความเข้มข้นละ 5 ซ้ำ (n=5) แต่ละชุดความเข้มข้นทดสอบภายในวันเดียวกันและ

ผู้วิเคราะห์คนเดียวกัน โดยเกณฑ์พิจารณาค่าความความแม่นยำคือ %MR ต้องอยู่ในช่วง 70-120% และค่าความเที่ยงแบบการทวนซ้ำได้คือ %RSD<sub>r</sub> ต้องไม่เกิน 20% ตามเกณฑ์ SANTE 11312/2021 v2026 (European Commission, 2026) และวิเคราะห์ spiked sample จำนวน 6 ความเข้มข้นตามข้างต้นเพิ่มอีก 1 ชุด โดยวิเคราะห์ต่างวัน และต่างผู้วิเคราะห์เพื่อประเมินความแม่นยำและความเที่ยงแบบการทำซ้ำได้ (within - laboratory reproducibility) โดยนำข้อมูลการทดสอบที่ได้ทั้ง 2 ชุด (n=10) มาคำนวณ %MR และ %RSD<sub>WR</sub> โดยเกณฑ์ยอมรับ %MR ต้องอยู่ในช่วง 70-120% และ %RSD<sub>WR</sub> ต้องไม่เกิน 20% ตามเกณฑ์ SANTE 11312/2021 v2026 (European Commission, 2026)

### 5.5 ทดสอบความเป็นเส้นตรงของช่วงการวิเคราะห์ (working range)

ศึกษาความเป็นเส้นตรงของช่วงการวิเคราะห์ โดยการเติมสารมาตรฐาน OCPs OPPs และ PCBs 21 ชนิดในน้ำมันโคดิบ ที่ระดับความเข้มข้น 1(LOQ), 5, 10, 25, 50 และ 100 µg/kg สกัดตามขั้นตอนวิธีวิเคราะห์ที่ได้พัฒนาขึ้น วิเคราะห์ระดับละ 3 ซ้ำ (n = 3) สร้างกราฟมาตรฐานระหว่างความเข้มข้นของสารที่เติมลงในตัวอย่างกับความเข้มข้นของสารที่ตรวจพบ คำนวณหาค่าสัมประสิทธิ์การตัดสินใจ เกณฑ์ค่า  $r^2$  ไม่ต่ำกว่า 0.990 (U.S. Food and Drug Administration, 2023)

## ผลและวิจารณ์

### ผลการพัฒนาวิธีวิเคราะห์

การสกัดสารกลุ่ม OCPs OPPs และ PCBs ในตัวอย่างน้ำมันโคดิบโดยใช้ acetonitrile เป็นตัวทำละลายร่วมกับ Na<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> นั้น โดยหลังจากเติม acetonitrile ปริมาตร 10 mL ลงใน centrifuge tube พลาสติกขนาด 50 mL ที่มีตัวอย่างน้ำมันโคดิบอยู่ 1 g และเขย่าด้วยเครื่องเขย่าโดยใช้ความเร็ว 300 รอบต่อนาที นาน 15 นาทีนั้น น้ำมันจะจับตัวเป็นก้อนตกอยู่ด้านล่างของ centrifuge tube เนื่องจากความสามารถในการละลายของโปรตีนจะเปลี่ยนแปลงไปจากการเติมสารตกตะกอน เช่น ตัวทำละลายอินทรีย์หรือเกลือลงในสารละลายตัวอย่าง แล้วทำให้โปรตีนตกตะกอนโดยการเขย่าหรือปั่นเหวี่ยง (Burgess, 2009) จึงทำให้ง่ายต่อการถ่ายสารสกัดของ acetonitrile ไปยัง centrifuge tube ที่มี Na<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> อยู่ซึ่งเป็นสารดูดความชื้นช่วยในการจับและดูดซับน้ำ (Bennett *et al.*, 1997) และการนำไป centrifuge ต่อที่ความเร็ว 10,000 รอบต่อนาที อุณหภูมิ -20 °C เวลา 15 นาทีนั้นเป็นขั้นตอน Freezing-out เพื่อให้ไขมันเกาะตัวกันและแยกออกมาจากสารสกัด (วิภาดา และสรารุช, 2565) แต่การถ่ายสารสกัดหลังจากขั้นตอน Freezing-out ไป clean up ด้วยวิธีที่ 1 วิธีที่ 2 (centrifuge tube) และวิธีที่ 3 (thistle tube) นั้นยังมีไขมันบางส่วนในตัวอย่างน้ำมันโคดิบปนมากับสารสกัดได้ เนื่องจากอุณหภูมิของสารสกัดจะสูงขึ้นเล็กน้อยเมื่อนำ centrifuge tube ออกจากเครื่อง centrifuge ที่อุณหภูมิในการปั่นเหวี่ยง -20 °C ดังนั้นจึงต้องรีบเทสารสกัดอย่างรวดเร็วหลังนำออกจากเครื่อง centrifuge เพื่อไม่ให้ไขมันที่เป็นชั้นแข็งอยู่ส่วนกลางของหลอด centrifuge tube พลาสติกละลายปนมากับสารสกัดได้ ซึ่งไขมันในนมนี้ถือว่าเป็นปัญหาสำคัญสำหรับการวิเคราะห์กลุ่ม OCPs OPPs และ PCBs ในตัวอย่างน้ำมันโคดิบด้วยเทคนิค GC-MS/MS ถ้าการ clean up สารสกัดตัวอย่างไม่สามารถกำจัดไขมันได้ดีพอ เมื่อฉีดสารสกัดที่มีไขมันปะปนอยู่เข้าเครื่อง GC-MS/MS จะส่งผลกระทบต่อให้ส่วนต่างๆของเครื่องมือเสื่อมสภาพเร็ว ความไวในการตรวจวัด (sensitivity) ลดลง อายุการใช้งานของคอลัมน์สั้นลง (Hajslova and Zrostlikova ,2003) ดังนั้นขั้นตอนการ clean up ตัวอย่างถือเป็นขั้นตอนสำคัญอย่างยิ่งในการพัฒนาวิธีวิเคราะห์ครั้งนี้ จากการเปรียบเทียบประสิทธิภาพการ

ของการ clean up สารสกัดระหว่างวิธีที่ 1 วิธีที่ 2 และวิธีที่ 3 โดยทดสอบวิธีละ 3 ซ้ำ (n=3) ตามภาพที่ 2 พบว่าการ clean up ด้วยวิธีที่ 1 เมื่อนำมาระเหยแห้งด้วยเครื่อง N-Evap แล้วมีประสิทธิภาพในการกำจัดไขมันน้อยที่สุดเพราะมีไขมันเหลืออยู่ปริมาณมากที่สุด สารสกัดจากการ clean up ด้วยวิธีที่ 1 จึงไม่ได้นำไปวิเคราะห์ต่อด้วยเครื่อง GC-MS/MS เพราะไขมันที่เหลือนั้นถือเป็นตัวรบกวน (interference) ในการตรวจด้วย GC-MS/MS ซึ่งเป็นสารที่มีจุดเดือดสูง และมีน้ำหนักโมเลกุลมาก เมื่อฉีดเข้าเครื่อง GC-MS/MS จะไปสะสมที่ liner, Inlet หรือ GC column ทำให้เกิดการ carbonize ใหม่เป็นคราบดำ เป็น active sites ซึ่งจะไปดูดซับสารวิเคราะห์ส่งผลให้ sensitivity และ % recovery ต่ำลง (Ucci, 2023) ส่วนการ clean up ด้วยวิธีที่ 2 ยังคงมีไขมันเหลืออยู่แต่ปริมาณน้อยกว่าวิธีที่ 1 เนื่องจากมีการใช้ activated florisil เพิ่มขึ้นมา 100 mg ซึ่งช่วยให้ประสิทธิภาพในการกำจัดไขมันดีขึ้น ส่วนการ clean up ด้วยวิธีที่ 3 นั้นที่ใช้ thistle tube ที่บรรจุด้วย activated florisil ปริมาณ 5 g และมี Na<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> 0.5 g อยู่ด้านบนมีประสิทธิภาพในการกำจัดไขมันได้ดีที่สุด เนื่องจากเมื่อระเหยแห้งด้วยเครื่อง N-Evap แล้วไม่สามารถสังเกตเห็นว่ามีไขมันเหลืออยู่อย่างชัดเจนแสดงว่า florisil มีประสิทธิภาพสำหรับใช้ในการ clean up สารตกค้างจากยาฆ่าแมลง (pesticide residues) และสาร PCBs ออกจากตัวอย่างที่มีไขมันสูงเพราะ florisil คือสารดูดซับประเภท magnesium silicate จะจับไขมันซึ่งเป็นโมเลกุลที่มีขั้วปานกลางถึงสูงไว้ โดยไขมันจะถูกดูดซับไว้ที่บริเวณ active sites ของ florisil ส่วนสารที่ต้องการวิเคราะห์นั้นมีขั้วน้อยกว่าไขมันจะถูกชะ (elute) ออกมาด้วยตัวทำละลายที่มีความเป็นขั้วต่ำถึงปานกลาง เช่น acetonitrile (U.S. EPA, 2007) จึงนำตัวอย่างจากการ clean up ด้วยวิธีที่ 2 และ 3 มาปรับปริมาตรเป็น 1 mL ด้วย iso-octane แล้วนำไปวิเคราะห์ด้วยเครื่อง GC-MS/MS โดยเทียบผลการวิเคราะห์ระหว่าง SSC และ MMC ต่อไป



ภาพที่ 2 ประสิทธิภาพในการกำจัดไขมันหลังการ clean up

การ clean up ด้วยวิธีที่ 1 และวิธีที่ 2 เป็นวิธีที่ง่าย สะดวกและรวดเร็ว โดย PSA และ C18 เป็นตัวดูดซับที่นิยมใช้กันอย่างแพร่หลายในกระบวนการเตรียมตัวอย่าง โดยเฉพาะเทคนิค dispersive solid phase extraction (d-SPE) ของ QuEChERS โดย PSA มีหน้าที่ในกำจัดกรดไขมัน กรดอินทรีย์ และเม็คดี ส่วน C18 มีหน้าที่กำจัดสารปนเปื้อนที่ไม่มีขั้วออกจากสารสกัดตัวอย่าง (Theurillat *et al.*, 2021) แต่ PSA และ C18 เป็นสารดูดซับที่มีราคาสูง ถึงแม้ว่าวิธีที่ 2 จะมีการเพิ่ม activated florisil

เข้ามาช่วยในการจับไขมันด้วยก็ตาม แต่เมื่อนำไปประเหยแห้งแล้วยังคงมีไขมันเหลืออยู่ ส่วนการ clean up วิธีที่ 3 เป็นวิธีที่ประหยัดเพราะ florisol ปริมาณ 5 g ที่ใช้นั้นยังมีราคาที่ถูกกว่า PSA และ C18 แต่อาจมีความยุ่งยากเพราะต้องบรรจุสารลงใน column ที่ใช้ในการ clean up เอง เนื่องจากไม่มี florisol SPE ปริมาณ 5 g แบบสำเร็จรูปจำหน่าย และเมื่อเปรียบเทียบการกำจัดไขมันในน้ำมันโคดิบตามภาพที่ 2 วิธีที่ 3 ถือว่ากำจัดไขมันได้ดีที่สุด

ผลการวิเคราะห์ตัวอย่างที่ clean up ด้วยวิธีที่ 2 เมื่อเปรียบเทียบผลระหว่าง SSC และ MMC สารที่วิเคราะห์ให้ค่า %MR อยู่ในช่วง 70.49-87.93% และ 74.26-89.91%, %RSD อยู่ในช่วง 2.21-15.53% และ 3.06-16.54% และผลการวิเคราะห์การ clean up ด้วยวิธีที่ 3 เมื่อเปรียบเทียบผลระหว่าง SSC กับ MMC ให้ค่า %MR อยู่ในช่วง 77.35-94.21% และ 80.48-99.59%, %RSD อยู่ในช่วง 2.82-14.31% และ 1.78-14.93% ดังแสดงในตารางที่ 5 ซึ่งผลการวิเคราะห์ทั้งสองวิธีมีค่าอยู่ในเกณฑ์ที่ยอมรับผลการวิเคราะห์ที่เปรียบเทียบกับ MMC จะให้ค่า %MR และ %RSD ที่ดีกว่า SSC เนื่องจากสามารถลดผลกระทบจากสารรบกวนในตัวอย่าง (matrix effect) ได้อย่างมีประสิทธิภาพ ตามแนวทางของ Food and Drug Administration (FDA) ได้แนะนำว่า การเตรียม calibration curve ควรเตรียมโดยการเติมสารมาตรฐานลงในเมทริกซ์ตัวอย่าง เนื่องจากมีสิ่งรบกวนจากเมทริกซ์ นอกจากนี้การใช้ MMC เหมาะสำหรับการวิเคราะห์ปริมาณสารในระดับที่ต่ำมากซึ่งจะได้ผลการทดสอบที่แม่นยำ (Ozcan *et al.*, 2024)

วิธีวิเคราะห์สารตกค้างกลุ่ม OCPs OPPs และ PCBs ในน้ำมันโคดิบที่พัฒนาขึ้นมาครั้งนี้มีขั้นตอนการสกัดและการ clean up ที่เร็วกว่าวิธี GPC และมีการใช้ตัวทำละลายอินทรีย์ปริมาตรที่น้อยกว่า เนื่องจากเทคนิค GPC ต้องใช้ตัวทำละลายอินทรีย์ปริมาตรมากในขั้นตอนการ clean up (Zheng *et al.*, 2014) วิธีการ clean up ด้วย activated florisol ปริมาณ 5 g และมี Na<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> 0.5 g เป็นวิธีทางเลือกอีกวิธีหนึ่งที่มีประสิทธิภาพ สามารถวิเคราะห์สารกลุ่ม OCPs OPPs และ PCBs รวม 21 ชนิดได้พร้อมกันในคราวเดียว (multiresidue analysis) ซึ่งช่วยลดระยะเวลาในการวิเคราะห์และลดปริมาณการใช้สารเคมีลงอย่างมีนัยสำคัญ ผู้วิจัยจึงเลือกการ clean up วิธีที่ 3 ที่มีผล %MR ที่ดีกว่าและลักษณะของตัวอย่างที่ผ่านการ clean up มีประสิทธิภาพในการกำจัดไขมันได้ดีที่สุดไปตรวจสอบความใช้ได้ของวิธีวิเคราะห์ต่อไป สำหรับสาร p,p'-DDD และ o,p'-DDT เนื่องจากสารคู่นี้มี m/z เหมือนกันมี RT ออกเวลาเดียวกัน และเป็นสารอนุพันธ์ของ DDT ที่เป็น isomer กัน การคำนวณ %MR และ %RSD จึงรวมสารทั้ง 2 ชนิดไว้ด้วยกัน

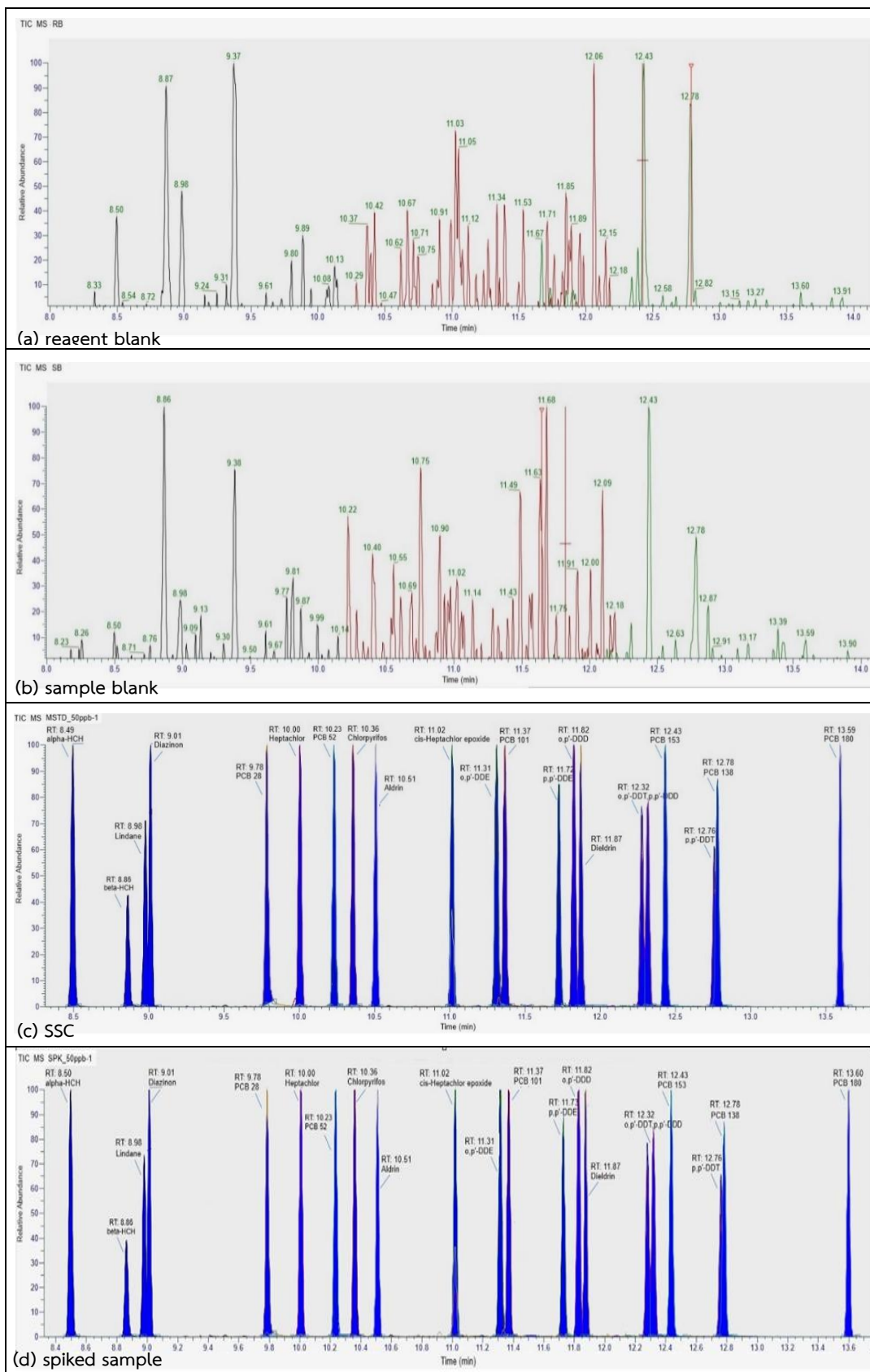
**ตารางที่ 5** %MR และ %RSD การ clean up ด้วยวิธีที่ 2 และ วิธีที่ 3

Compounds	Fortified (µg/kg)	วิธีที่ 2 (n=3)				วิธีที่ 3 (n=3)			
		SSC		MMC		SSC		MMC	
		%MR	%RSD	%MR	%RSD	%MR	%RSD	%MR	%RSD
alpha-HCH	10	78.89	8.07	80.80	5.72	91.33	10.78	92.74	5.66
beta-HCH	10	78.31	9.28	75.53	3.06	78.09	2.82	99.59	1.78
Lindane	10	75.24	15.53	75.57	7.35	79.50	8.22	88.34	11.35
Heptachlor	10	79.23	11.27	77.69	5.35	79.09	8.96	80.48	10.79
Aldrin	10	82.09	5.49	78.41	3.94	92.36	5.42	89.80	10.22
cis-Heptachlor epoxide	10	80.65	9.99	78.24	6.71	85.40	12.25	88.12	12.53
o,p'-DDE	10	78.61	14.08	83.67	11.46	85.08	11.05	95.99	3.93
p,p'-DDE	10	85.53	11.25	83.43	16.54	81.67	2.90	88.07	13.83
o,p'-DDD	10	80.49	2.21	85.83	7.16	89.58	14.31	84.50	9.24
Dieldrin	10	73.27	9.07	74.26	4.44	81.16	6.07	83.18	3.73
o,p'-DDT+p,p'-DDD	20	77.98	7.29	84.30	7.38	94.21	5.39	84.22	12.47
p,p'-DDT	10	80.09	6.85	84.12	16.04	91.25	4.23	92.24	4.41
PCB 28	10	81.09	6.89	89.91	8.38	78.94	8.34	88.66	3.03
PCB 52	10	85.87	6.87	84.73	6.80	79.54	7.52	89.82	3.73
PCB 101	10	83.15	4.54	85.87	13.23	93.47	4.28	94.81	14.25
PCB 138	10	76.63	3.66	85.68	8.93	80.58	7.70	98.41	14.93
PCB 153	10	83.70	7.38	86.59	6.37	90.96	6.72	96.75	8.59
PCB 180	10	87.93	5.58	81.34	3.81	83.61	12.54	99.45	9.02
Diazinon	10	70.49	10.50	86.57	4.98	89.49	6.11	92.75	6.40
Chlorpyrifos	10	71.54	3.41	84.58	6.84	77.35	11.66	93.83	3.06

## ผลการตรวจสอบความใช้ได้ของวิธีวิเคราะห์

### 1. ผลการทดสอบความจำเพาะ

จากการทดสอบ reagent blank และ sample blank ตรวจไม่พบพีคของสารรบกวนที่มีค่า RT และ m/z ตรงหรือใกล้เคียงกับ SSC ส่วน spiked sample ที่เติมสารมาตรฐานกลุ่ม OCPs OPPs และ PCBs ทั้ง 21 ชนิด ความเข้มข้น 50 µg/kg มีค่า RT ± ไม่เกิน 0.1 min และ m/z ตรงกับ SSC ทุกสาร แสดงในภาพที่ 3 แสดงว่าวิธีวิเคราะห์สารกลุ่ม OCPs OPPs และ PCBs นี้ปราศจากสารรบกวนและวิธีมีความจำเพาะ ยกเว้น o,p'-DDT+p,p'-DDD ที่สารออกในเวลาเดียวกัน และมี m/z เหมือนกัน



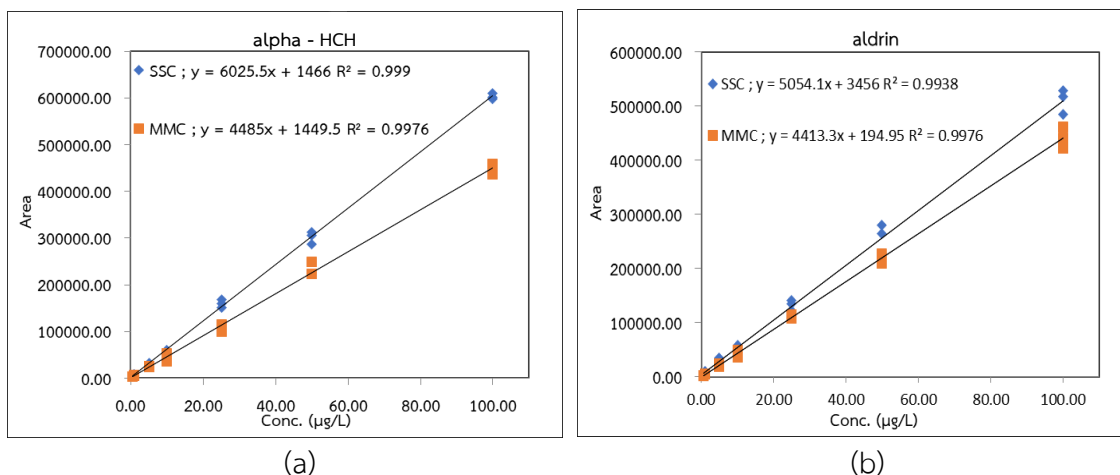
ภาพที่ 3 Total chromatograms (TIC) ของ (a) reagent blank, (b) sample blank  
(c) SCC ความเข้มข้น 50 µg/L, d) spiked sample ความเข้มข้น 50 µg/kg

## 2. ความเป็นเส้นตรงของกราฟมาตรฐานและผลกระทบจากเมทริกซ์

กราฟมาตรฐานสารกลุ่ม OCPs OPPs และ PCBs 21 ชนิด แบบ SSC และ MMC มีความเป็นเส้นตรงอยู่ในช่วงความเข้มข้น 0.5–100 ng/mL มีค่า  $r^2$  มากกว่า 0.990 ทุกสาร ตามตารางที่ 6 และเมื่อนำค่า slope ของ SSC และ MMC มาคำนวณค่า %ME พบว่ามีค่าตั้งแต่ -10.38% (chlorpyrifos) ถึง -43.32% (o,p'-DDD) โดยมีเพียง 5 สารที่มีค่า %ME น้อยกว่า  $\pm 20\%$  ได้แก่ heptachlor, aldrin, Hept.epoxide, PCB 180 และ chlorpyrifos ดังนั้น จึงต้องใช้ในการชดเชยผลกระทบจากเมทริกซ์ด้วยสร้างกราฟมาตรฐานแบบ MMC ในการตรวจสอบความใช้ได้ของวิธีต่อไป ลักษณะของกราฟมาตรฐานแบบ SSC และ MMC ที่มี %ME มากกว่า  $\pm 20\%$  (alpha-HCH) และน้อยกว่า  $\pm 20\%$  (aldrin) ดังภาพที่ 4

ตารางที่ 6 Calibration curve ค่า  $r^2$  ของ SSC และ MMC การวิเคราะห์สารกลุ่ม OCPs OPPs และ PCBs ในน้ำนมโคดิบ

Compounds	SSC		MMC		%ME
	calibration curve	$r^2$	calibration curve	$r^2$	
alpha-HCH	$y = 6025.5x + 1466$	0.9990	$y = 4485x + 1449.5$	0.9976	-25.57
beta-HCH	$y = 4049.2x - 2305.8$	0.9965	$y = 2746.7x + 1081$	0.9985	-32.17
Lindane	$y = 13573x + 112.38$	0.9920	$y = 10377x + 5749.7$	0.9971	-23.55
Heptachlor	$y = 22964x + 8126.1$	0.9960	$y = 18848x - 4049.7$	0.9940	-17.92
Aldrin	$y = 5054.1x + 3456$	0.9938	$y = 4413.3x + 194.95$	0.9976	-12.68
cis-Heptachlor epoxide	$y = 3992.2x + 2293.1$	0.9987	$y = 3380.5x - 1510.1$	0.9991	-15.32
o,p'-DDE	$y = 10912x - 2088.3$	0.9942	$y = 7810.2x + 2560$	0.9968	-28.43
p,p'-DDE	$y = 14026x + 6791.6$	0.9933	$y = 9880.6x + 3149.9$	0.9983	-29.56
o,p'-DDD	$y = 25565x - 3774.9$	0.9946	$y = 14491x + 3438.5$	0.998	-43.32
Dieldrin	$y = 1133.6x + 1162.1$	0.9947	$y = 795.82x + 49.986$	0.9988	-29.80
o,p'-DDT+p,p'-DDD	$y = 41658x + 1728.6$	0.9963	$y = 25561x + 4922.4$	0.9975	-38.64
p,p'-DDT	$y = 12462x - 11800$	0.9956	$y = 7583.2x - 241.68$	0.9941	-39.15
PCB 28	$y = 21467x - 9110.2$	0.9969	$y = 15094x + 4586$	0.9984	-29.69
PCB 101	$y = 16220x - 3184.8$	0.9964	$y = 10987x + 553.49$	0.9981	-32.26
PCB 138	$y = 9439.2x - 2166$	0.9940	$y = 5409.2x + 2251$	0.9958	-42.69
PCB 153	$y = 12957x - 9642.7$	0.9970	$y = 9511.1x - 3392.7$	0.9953	-26.59
PCB 180	$y = 9106.4x - 2034.2$	0.9980	$y = 7497.5x - 2556.5$	0.9956	-17.67
Diazinon	$y = 8667.1x - 322.39$	0.9961	$y = 6841.6x + 3829.7$	0.9982	-21.06
Chlorpyrifos	$y = 12554x - 3227.2$	0.9949	$y = 11251x + 484.44$	0.9994	-10.38



ภาพที่ 4 กราฟมาตรฐาน ของ SSC และ MMC ของสาร (a) alpha-HCH และ (b) aldrin

### 3.ผลการทดสอบค่า LOD และ LOQ

ผลการทดสอบค่า LOD สารกลุ่ม OCPs OPPs และ PCBs 21 ชนิด ที่ความเข้มข้น 0.5 µg/kg ยกเว้นผลรวม o,p'-DDT และ p,p'-DDD ความเข้มข้นรวม 1.0 µg/kg พบว่า มีค่า S/N ตั้งแต่ 50.6 (dieldrin) - 473.56 (heptachlor) ซึ่งอยู่ในเกณฑ์ยอมรับทุกสาร ตามตารางที่ 7 ผลการทดสอบค่า LOQ ที่ความเข้มข้น 1.0 µg/kg ยกเว้นผลรวม o,p'-DDT และ p,p'-DDD ความเข้มข้นรวม 2.0 µg/kg สำหรับค่า %MR นั้นพบว่ามีค่าตั้งแต่ 78.59 (dieldrin) - 95.91 (lindane และ diazinon) อยู่ในเกณฑ์การยอมรับที่ช่วง 70-120% ทุกชนิดสาร ส่วนค่า %RSD มีค่าน้อยกว่า 20% ทุกชนิดสาร ตามตารางที่ 7 แสดงว่าวิธีวิเคราะห์ที่ได้พัฒนาขึ้นนี้มีค่า LOD และ LOQ ของสารกลุ่ม OCPs OPPs และ PCBs ที่ความเข้มข้น 0.5 และ 1.0 µg/kg ส่วนสาร o,p'-DDT+p,p'-DDD มีค่า LOD และ LOQ ที่ความเข้มข้น 1.0 และ 2.0 µg/kg ตามลำดับ ซึ่งค่า LOQ มีความไวเพียงพอสามารถตรวจวัดได้ต่ำกว่าหรือเท่ากับค่า MRL ซึ่งสอดคล้องกับเกณฑ์ SANTE 11312/2021 v2026 (European Commission, 2026) ที่กำหนดเกณฑ์ LOQ ไว้ว่าต้องเท่ากับหรือน้อยกว่าค่า MRL เช่น ค่ามาตรฐานของมาตรฐานสินค้าเกษตรและอาหารแห่งชาติ และ Codex ที่กำหนดค่า MRL ของ lindane ไว้ที่ 0.001 mg/kg (1 µg/kg) ส่วนสารอื่น ๆ นั้นมีค่า LOQ ต่ำกว่า MRL ทุกสารตามตารางที่ 1

ตารางที่ 7 ค่า LOD และ LOQ ของการวิเคราะห์สารกลุ่ม OCPs OPPs และ PCBs ในน้ำนมโคดิบ

Compounds	LOD (n=10)		LOQ (n=10)		
	spiked conc. (µg/kg)	S/N (mean)	spiked conc. (µg/kg)	%MR (mean)	RSD (%)
alpha-HCH	0.5	168.59	1	95.62	12.36
beta-HCH	0.5	95.35	1	87.88	11.81
Lindane	0.5	96.96	1	95.91	7.71
Heptachlor	0.5	473.56	1	92.06	9.12
Aldrin	0.5	69.77	1	92.89	10.86
cis-Heptachlor epoxide	0.5	184.65	1	83.49	9.24

ตารางที่ 7 (ต่อ)

Compounds	LOD (n=10)		LOQ (n=10)		
	spiked conc. ( $\mu\text{g}/\text{kg}$ )	S/N (mean)	spiked conc. ( $\mu\text{g}/\text{kg}$ )	%MR (mean)	RSD (%)
	o,p'-DDE	0.5	249.54	1	89.14
p,p'-DDE	0.5	299.24	1	95.62	8.49
o,p'-DDD	0.5	141.10	1	85.81	8.88
Dieldrin	0.5	50.06	1	78.59	10.90
o,p'-DDT+p,p'-DDD	1.0	142.94	2	95.72	9.76
p,p'-DDT	0.5	193.09	1	89.89	16.37
PCB 28	0.5	370.42	1	81.99	7.63
PCB 52	0.5	346.37	1	92.39	6.05
PCB 101	0.5	71.27	1	94.31	9.77
PCB 138	0.5	166.24	1	92.02	12.13
PCB 153	0.5	182.79	1	90.86	10.57
PCB 180	0.5	222.12	1	88.21	6.20
Diazinon	0.5	239.94	1	95.91	12.36
Chlorpyrifos	0.5	62.14	1	84.45	12.11

#### 4. ผลการทดสอบความแม่นยำและความเที่ยง

ผลการทดสอบความแม่นยำของสารกลุ่ม OCPs OPPs และ PCBs พบว่า %MR อยู่ในช่วง 70-120% ทุกสาร และการทดสอบความเที่ยงแบบการทวนซ้ำได้และแบบทำซ้ำได้พบว่า %RSD<sub>r</sub> และ %RSD<sub>WR</sub> มีค่าน้อยกว่า 20% ทุกสารตามตารางที่ 8 ซึ่งอยู่ในเกณฑ์ยอมรับ ดังนั้นวิธีวิเคราะห์สารกลุ่ม OCPs OPPs และ PCBs นี้มีความแม่นยำและความเที่ยงเป็นไปตามเกณฑ์ SANTE 11312/2021 v2026 (European Commission, 2026)

ตารางที่ 8 %MR, %RSD<sub>r</sub> และ %RSD<sub>WR</sub> การวิเคราะห์สารกลุ่ม OCPs OPPs และ PCBs ในน้ำนมโคดิบ

Compounds	Spiked conc. ( $\mu\text{g}/\text{kg}$ )	Accuracy (%MR) / Repeatability (%RSD <sub>r</sub> )				Accuracy (%MR) / Within-laboratory Reproducibility (%RSD <sub>WR</sub> )	
		Day 1 (n=5)		Day 2 (n=5)		Reproducibility (%RSD <sub>WR</sub> ) (n=10)	
		%MR	%RSD <sub>r</sub>	%MR	%RSD <sub>r</sub>	%MR	%RSD <sub>WR</sub>
alpha-HCH	1(LOQ)	94.94	8.49	86.84	4.73	90.89	8.13
	5	95.27	3.93	89.13	7.05	92.20	6.35
	10	84.65	13.77	86.20	11.88	85.42	12.15
	25	90.73	6.66	93.31	6.23	92.02	6.25
	50	90.19	8.81	95.26	2.66	92.73	6.66
	100	80.01	6.53	96.47	3.81	88.24	10.95

ตารางที่ 8 (ต่อ)

Compounds	Spiked conc. ( $\mu\text{g}/\text{kg}$ )	Accuracy (%MR) / Repeatability (%RSD <sub>r</sub> )				Accuracy (%MR) / Within-laboratory Reproducibility (%RSD <sub>WR</sub> )	
		Day 1 (n=5)		Day 2 (n=5)		Reproducibility (%RSD <sub>WR</sub> ) (n=10)	
		%MR	%RSD <sub>r</sub>	%MR	%RSD <sub>r</sub>	%MR	%RSD <sub>r</sub>
beta-HCH	1(LOQ)	82.42	7.13	96.30	15.51	89.36	14.51
	5	86.30	13.23	93.05	4.84	89.68	9.95
	10	83.53	9.36	96.48	8.81	90.00	11.43
	25	81.27	6.28	86.85	10.00	84.06	8.72
	50	92.11	5.80	94.82	8.59	93.47	7.11
	100	89.14	5.02	83.39	11.64	86.26	8.98
Lindane	1(LOQ)	93.90	5.93	85.70	11.84	89.80	9.85
	5	80.96	12.50	86.89	5.65	83.93	9.68
	10	85.71	15.54	86.92	9.39	86.31	12.09
	25	81.31	14.60	95.51	2.96	88.32	12.57
	50	82.76	5.48	90.43	8.96	86.59	8.54
	100	79.24	6.23	96.77	2.07	88.00	11.24
Heptachlor	1(LOQ)	95.76	9.24	87.24	10.01	91.50	10.30
	5	82.72	11.93	82.41	8.43	82.56	9.75
	10	89.10	16.40	85.82	11.22	87.46	13.48
	25	89.66	5.64	97.94	2.89	93.80	6.21
	50	88.44	7.20	92.37	4.81	90.40	6.17
	100	81.03	5.74	98.28	2.75	89.65	10.90
Aldrin	1(LOQ)	92.80	13.26	96.30	6.83	94.55	10.03
	5	91.56	10.73	87.67	10.48	89.61	10.28
	10	94.55	14.46	85.22	12.24	89.88	13.88
	25	81.64	4.78	88.51	14.62	85.08	11.41
	50	84.19	4.99	91.13	6.00	87.66	6.70
	100	81.80	10.24	91.54	11.41	86.67	11.88
cis-Heptachlor epoxide	1(LOQ)	83.04	11.71	94.24	8.04	88.64	11.42
	5	78.06	8.71	88.23	6.09	83.15	9.48
	10	92.15	13.57	90.08	9.21	91.12	11.04
	25	88.18	9.31	93.37	10.81	90.77	10.02
	50	82.66	7.52	92.55	4.66	87.61	8.28
	100	81.82	7.04	91.63	11.88	86.73	11.19
o,p'-DDE	1(LOQ)	83.46	12.34	95.62	10.74	89.54	12.98
	5	90.35	15.26	97.36	3.64	93.85	10.85
	10	86.31	8.52	94.65	7.23	90.48	8.86
	25	86.19	7.63	92.62	8.24	89.41	8.41
	50	93.18	8.25	95.11	2.68	94.14	5.83
	100	88.80	5.38	94.45	4.70	91.62	5.75

ตารางที่ 8 (ต่อ)

Compounds	Spiked conc. (µg/kg)	Accuracy (%MR) / Repeatability (%RSD <sub>r</sub> )				Accuracy (%MR) / Within-laboratory Reproducibility (%RSD <sub>WR</sub> )	
		Day 1 (n=5)		Day 2 (n=5)		Reproducibility (%RSD <sub>WR</sub> ) (n=10)	
		%MR	%RSD <sub>r</sub>	%MR	%RSD <sub>r</sub>	%MR	%RSD <sub>r</sub>
p,p'-DDE	1(LOQ)	93.66	9.93	82.04	7.15	87.85	10.87
	5	86.57	8.78	86.98	6.86	86.78	7.43
	10	85.86	7.77	86.65	10.31	86.26	8.63
	25	80.28	1.73	93.76	5.90	87.02	9.26
	50	94.91	4.91	93.88	5.14	94.39	4.78
	100	75.12	3.42	90.89	10.61	83.00	12.83
o,p'-DDD	1(LOQ)	82.78	7.39	93.30	9.34	88.04	10.23
	5	89.02	11.88	84.97	5.03	86.99	9.08
	10	95.02	14.42	87.08	8.31	91.05	12.24
	25	82.17	2.82	95.39	4.90	88.78	8.77
	50	82.01	7.18	94.49	2.94	88.25	8.93
	100	79.42	7.89	96.46	1.42	87.94	11.31
Dieldrin	1(LOQ)	79.68	13.45	77.72	6.12	78.70	10.02
	5	77.22	7.80	80.84	4.56	79.03	6.43
	10	80.83	4.42	78.92	7.93	79.87	6.15
	25	77.69	5.78	96.17	2.73	86.93	11.89
	50	95.46	14.62	97.87	2.70	96.66	9.88
	100	90.64	9.04	94.52	2.30	92.58	6.49
o,p'-DDT+p,p'-DDD	2(LOQ)	89.00	9.70	98.53	7.36	93.77	9.64
	10	90.49	10.71	95.80	13.09	93.15	11.74
	20	95.38	4.12	90.20	12.47	92.79	9.05
	50	90.04	5.34	95.17	3.97	92.61	5.28
	100	86.67	12.54	95.42	6.13	91.04	10.36
	200	90.07	11.54	97.67	6.15	93.87	9.53
p,p'-DDT	1(LOQ)	89.88	14.66	88.78	13.33	89.33	13.24
	5	83.02	5.78	92.19	4.82	87.60	7.43
	10	85.70	9.96	88.22	7.18	86.96	8.29
	25	88.67	10.11	90.25	8.90	89.46	9.02
	50	88.32	14.17	97.77	0.97	93.04	10.47
	100	83.01	6.14	94.82	2.69	88.92	8.20
PCB 28	1(LOQ)	79.96	5.73	88.04	11.55	84.00	10.20
	5	80.38	6.06	90.16	8.69	85.27	9.41
	10	80.11	6.75	87.60	3.42	83.86	6.80
	25	88.93	6.95	99.55	5.49	94.24	8.33
	50	81.82	14.92	92.87	5.89	87.34	12.19
	100	88.06	11.72	92.45	2.92	90.25	8.28

ตารางที่ 8 (ต่อ)

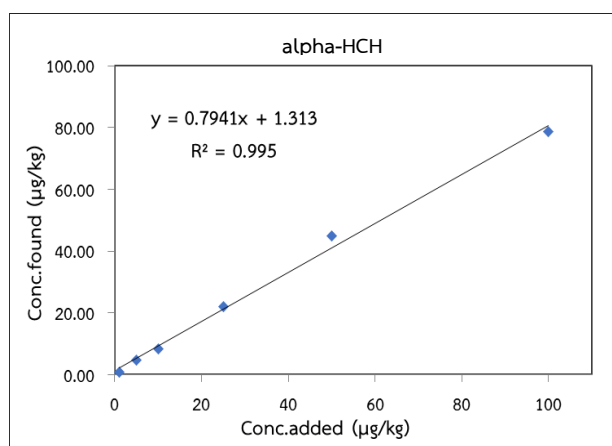
Compounds	Spiked conc. (µg/kg)	Accuracy (%MR) / Repeatability (%RSD <sub>r</sub> )				Accuracy (%MR) / Within-laboratory Reproducibility (%RSD <sub>WR</sub> ) (n=10)	
		Day 1 (n=5)		Day 2 (n=5)			
		%MR	%RSD <sub>r</sub>	%MR	%RSD <sub>r</sub>	%MR	%RSD <sub>r</sub>
PCB 52	1(LOQ)	95.10	6.41	89.04	10.11	92.07	8.61
	5	88.43	10.71	90.84	4.01	89.64	7.68
	10	80.20	5.52	82.96	11.68	81.58	8.89
	25	92.49	6.64	96.39	2.81	94.44	5.21
	50	85.25	15.72	95.52	4.12	90.39	11.92
	100	83.83	12.93	97.37	2.04	90.60	11.30
PCB 101	1(LOQ)	95.68	4.83	94.08	13.92	94.88	9.80
	5	96.27	4.94	84.10	5.91	90.19	8.74
	10	93.12	3.08	91.51	13.94	92.31	9.49
	25	91.55	9.52	97.62	2.40	94.59	7.21
	50	89.25	7.24	95.69	4.22	92.47	6.61
	100	76.52	3.90	95.79	3.79	86.15	12.34
PCB 138	1(LOQ)	88.34	9.65	88.24	8.96	88.29	8.78
	5	93.15	7.42	86.61	10.35	89.88	9.23
	10	87.51	12.18	92.04	14.82	89.77	13.13
	25	85.22	11.72	92.63	1.99	88.92	8.79
	50	92.87	7.99	96.48	2.67	94.67	5.89
	100	85.26	7.19	97.51	1.49	91.38	8.43
PCB 153	1(LOQ)	87.76	12.90	95.66	9.63	91.71	11.54
	5	87.34	9.60	89.85	6.23	88.59	7.73
	10	95.03	8.46	95.37	6.48	95.20	7.10
	25	88.57	9.51	97.18	4.90	92.88	8.49
	50	85.04	7.97	97.34	3.08	91.19	8.94
	100	84.18	7.98	91.09	8.63	87.63	8.90
PCB 180	1(LOQ)	86.68	6.23	95.08	6.81	90.88	7.87
	5	93.60	4.33	97.29	7.30	95.44	6.06
	10	88.09	11.18	95.80	9.08	91.94	10.50
	25	78.99	5.73	91.82	7.93	85.40	10.37
	50	93.50	10.25	96.70	2.50	95.10	7.15
	100	85.42	5.55	94.22	6.37	89.82	7.67
Diazinon	1(LOQ)	90.38	15.09	87.10	13.81	88.74	13.80
	5	76.94	10.49	86.90	6.31	81.92	10.20
	10	91.25	5.76	90.40	11.12	90.83	8.34
	25	83.28	11.70	87.61	7.77	85.44	9.65
	50	87.38	13.07	93.75	5.48	90.57	9.94
	100	87.04	2.05	98.34	1.33	92.69	6.62

ตารางที่ 8 (ต่อ)

Compounds	Spiked conc. ( $\mu\text{g}/\text{kg}$ )	Accuracy (%MR) / Repeatability (%RSD <sub>r</sub> )				Accuracy (%MR) / Within-laboratory Reproducibility (%RSD <sub>WR</sub> )	
		Day 1 (n=5)		Day 2 (n=5)		(n=10)	
		%MR	%RSD <sub>r</sub>	%MR	%RSD <sub>r</sub>	%MR	%RSD <sub>r</sub>
Chlorpyrifos	1(LOQ)	82.32	14.32	89.20	13.20	85.76	13.63
	5	85.55	4.02	91.50	6.90	88.53	6.47
	10	82.70	13.55	93.95	7.23	88.32	11.95
	25	86.80	8.08	94.85	7.11	90.82	8.53
	50	93.22	2.43	89.97	10.41	91.59	7.26
	100	84.96	8.40	96.66	2.37	90.81	8.74

### 5. ผลความเป็นเส้นตรงของช่วงการวิเคราะห์

ผลการทดสอบความเป็นเส้นตรงกราฟมาตรฐานช่วงวิเคราะห์ระหว่างความเข้มข้นของสารที่เติมลงในตัวอย่าง (แกน x) กับความเข้มข้นของสารที่ตรวจพบ (แกน y) พบว่า ค่า  $r^2$  ของการวิเคราะห์สาร OCPs OPPs และ PCBs ในน้ำนมโคดิบ มีค่า  $r^2$  มากกว่า 0.990 (U.S. Food and Drug Administration, 2023) ทุกสาร ตามตารางที่ 9 แสดงว่าวิธีวิเคราะห์นี้มีความเป็นเส้นตรงของช่วงวิเคราะห์ตั้งแต่ความเข้มข้น 1–100  $\mu\text{g}/\text{kg}$  ยกเว้นผลรวม o,p'-DDT และ p,p'-DDD มีความเป็นเส้นตรงของช่วงวิเคราะห์ ตั้งแต่ความเข้มข้น 2–200  $\mu\text{g}/\text{kg}$  ตัวอย่างของกราฟมาตรฐานตามภาพที่ 5



ภาพที่ 5 ตัวอย่างช่วงความเป็นเส้นตรงของช่วงการวิเคราะห์ (สาร alpha-HCH ในตัวอย่างน้ำนมโคดิบ ที่ความเข้มข้น 1 - 100  $\mu\text{g}/\text{kg}$ )

ตารางที่ 9 สมการเส้นตรงและค่า  $r^2$  ของผลการทดสอบช่วงการวิเคราะห์สารกลุ่ม OCPs OPPs และ PCBs ในน้ำนมโคดิบ

Compounds	Calibration curve	$r^2$
alpha-HCH	$y = 0.7941x + 1.313$	0.9950
beta-HCH	$y = 0.8952x - 0.1712$	0.9991
Lindane	$y = 0.7858x + 0.5037$	0.9973
Heptachlor	$y = 0.813x + 1.1871$	0.9979
Aldrin	$y = 0.7923x + 1.0924$	0.9977
cis-Heptachlor epoxide	$y = 0.832x + 0.4806$	0.9994
o,p'-DDE	$y = 0.9251x - 0.4178$	0.9995
p,p'-DDE	$y = 0.7623x + 1.3007$	0.9950
o,p'-DDD	$y = 0.7526x + 1.2168$	0.9984
Dieldrin	$y = 0.959x - 0.8929$	0.9955
o,p'-DDT+p,p'-DDD	$y = 0.903x - 0.1678$	0.9994
p,p'-DDT	$y = 0.8633x + 0.5746$	0.9962
PCB 28	$y = 0.8924x - 0.9078$	0.9957
PCB 52	$y = 0.8771x - 0.2339$	0.9979
PCB 101	$y = 0.7661x + 2.2067$	0.9912
PCB 138	$y = 0.8967x + 0.0774$	0.9974
PCB 153	$y = 0.8287x + 1.1317$	0.9989
PCB 180	$y = 0.8933x + 0.1285$	0.9955
Diazinon	$y = 0.870x - 0.7178$	0.9981
Chlorpyrifos	$y = 0.8472x + 0.7146$	0.9963

### สรุปผล

การพัฒนาวิธีการวิเคราะห์สารกลุ่ม OCPs OPPs และ PCBs ในน้ำนมโคดิบด้วยวิธี GC-MS/MS นี้ได้ใช้วิธีการสกัดที่เหมาะสมโดย acetonitrile 10 mL เขย่าด้วยเครื่องเขย่า แล้วถ่ายสารสกัดไปยัง centrifuge tube ที่มี  $\text{Na}_2\text{SO}_4$  เพื่อดูดซับน้ำแล้วนำตัวอย่างไป centrifuge ที่อุณหภูมิ  $-20^\circ\text{C}$  เพื่อแยกไขมันออกจากสารสกัด การ clean up ที่มีประสิทธิภาพในการกำจัดไขมันคือวิธี การ clean up ด้วย thistle tube ที่มี activated florisil 5 g และมี  $\text{Na}_2\text{SO}_4$  0.5 g อยู่ด้านบน ผลการตรวจสอบความใช้ได้ของวิธีวิเคราะห์ พบว่ามีความเป็นเส้นตรงของกราฟมาตรฐานในเมทริกซ์อยู่ในช่วงความเข้มข้น 0.5 - 100 ng/mL ทุกชนิดสาร ส่วนผลรวมสาร p,p'-DDD และ o,p'-DDT อยู่ในช่วงความเข้มข้น 1-200 ng/mL ค่า  $r^2$  มากกว่า 0.99 ตามเกณฑ์ U.S. Food and Drug Administration (2023) มีค่าความแม่นยำโดยพิจารณาจาก %MR อยู่ในช่วง 70-120% มีค่าความเที่ยงของการทวนซ้ำและการทำซ้ำโดยพิจารณาจากค่า %RSD<sub>r</sub> และ %RSD<sub>wr</sub> มีค่าน้อยกว่า 20% ทุกชนิดสาร มีค่า working range อยู่ในช่วง 1 - 100  $\mu\text{g}/\text{kg}$  ทุกชนิดสารส่วนผลรวมสาร p,p'-DDD และ o,p'-DDT อยู่ในช่วง 2 - 200  $\mu\text{g}/\text{kg}$  ค่า LOD และ LOQ เท่ากับ 0.5 และ 1  $\mu\text{g}/\text{kg}$  ยกเว้นผลรวมสาร p,p'-DDD และ o,p'-DDT เท่ากับ 1 และ 2  $\mu\text{g}/\text{kg}$  ตามลำดับ อยู่ในเกณฑ์ยอมรับตามเกณฑ์ SANTE 11312/2021 v2026 (European Commission, 2026) และวิธีวิเคราะห์ที่พัฒนาขึ้นมานี้จึงมีความเหมาะสมสำหรับใช้ในห้องปฏิบัติการ สามารถวิเคราะห์ตัวอย่างน้ำนมโคดิบในแผนผังสารตกค้าง เพื่อความเชื่อมั่นในคุณภาพน้ำนมโคดิบและผลิตภัณฑ์จากนมของประเทศ ไทยในการบริโภคภายในประเทศและเพื่อรองรับการส่งออกในอนาคต เพิ่มความน่าเชื่อถือเป็นที่ยอมรับในระดับสากล ใช้เป็นฐานข้อมูลการกำหนดทิศทางเชิงนโยบายเกี่ยวกับความปลอดภัยของสินค้าปศุสัตว์ของกรมปศุสัตว์

## ข้อเสนอแนะ

นอกจากการพัฒนาและตรวจสอบความใช้ได้ของวิธีวิเคราะห์สารกลุ่ม OCPs OPPs และ PCBs ในน้ำมันโคติบด้วยเทคนิค GC-MS/MS แล้วควรดำเนินการประเมินค่าความไม่แน่นอนของการวัด (measurement uncertainty) ของวิธีวิเคราะห์ดังกล่าวตามแนวทางของ SANTE/11312/2021 v2026 เพื่อใช้เป็นตัวชี้วัดความเชื่อมั่นของผลการวิเคราะห์และควรมีการประเมินประสิทธิภาพภายนอกห้องปฏิบัติการเพิ่มเติมคือ การเข้าร่วมโปรแกรมทดสอบความชำนาญ หากมีโปรแกรมทดสอบความชำนาญรายการทดสอบสารดังกล่าว หรืออาจมีการทำ Inter-laboratory comparison เพื่อเปรียบเทียบผลระหว่างห้องปฏิบัติการ และในอนาคตควรพัฒนาวิธีวิเคราะห์สารกลุ่ม OCPs OPPs และ PCBs ให้ครอบคลุมทุกชนิดสารตามมาตรฐานสากลที่ประเทศคู่ค้ากำหนด

## กิตติกรรมประกาศ

ขอขอบคุณนายสัตวแพทย์จิรภัทร อินทร์สุข ผู้อำนวยการสำนักตรวจสอบคุณภาพสินค้าปศุสัตว์ ที่ให้การสนับสนุนในการดำเนินงาน นางสาววิภาดา สิริสมภพชัย ผู้เชี่ยวชาญด้านการวิเคราะห์คุณภาพสินค้าปศุสัตว์ ที่ให้คำปรึกษาด้านวิชาการ นายสัตวแพทย์พิเชษฐ์ กุมภาวี หัวหน้ากลุ่มตรวจสอบคุณภาพเนื้อสัตว์และผลผลิตจากสัตว์ และนายสรารัฐ ชูกระชั้น หัวหน้างานเคมีอาหาร สารตกค้างและสารปนเปื้อน ที่ให้คำปรึกษาและสนับสนุนด้านวิชาการ เทคนิค อุปกรณ์ รวมทั้งเจ้าหน้าที่งานเคมีอาหาร สารตกค้างและสารปนเปื้อน ที่ช่วยให้การศึกษาในครั้งนี้สำเร็จลุล่วงด้วยดี

## เอกสารอ้างอิง

- กรมควบคุมมลพิษกระทรวงทรัพยากรธรรมชาติและสิ่งแวดล้อม. 2551. คู่มือแนวทางการจัดการสารพิษซีบี พีเอ็ม ครั้งที่ 1. สำนักจัดการกากของเสียและสารอันตราย กรมควบคุมมลพิษ. : หน้า 1-8.
- คณะทำงานทบทวนยุทธศาสตร์พัฒนาโคนมและผลิตภัณฑ์นมฯ. 2564. แผนปฏิบัติการด้านโคนมและผลิตภัณฑ์นมระยะที่ 1. แหล่งที่มา: [https://dld.go.th/th/images/stories/law/draft/biotech/25640607/final\\_plan25640607.pdf](https://dld.go.th/th/images/stories/law/draft/biotech/25640607/final_plan25640607.pdf). [10 กรกฎาคม 2568].
- วิภาดา สิริสมภพชัย, และ สรารัฐ ชูกระชั้น. 2565. การพัฒนาและพิสูจน์ความใช้ได้วิธีวิเคราะห์สารพิษตกค้างกลุ่มไพรีทรอยด์ในไขมันสัตว์ด้วยวิธี gas chromatography-tandem mass spectrometry. *วารสารอิเล็กทรอนิกส์สำนักตรวจสอบคุณภาพสินค้าปศุสัตว์ ประจำปี 2565 ฉบับที่ 1*.
- สำนักงานมาตรฐานสินค้าเกษตรและอาหารแห่งชาติ. 2568a. มาตรฐานสินค้าเกษตร มกษ.9002-2568 สารพิษตกค้าง:ปริมาณสารพิษตกค้างสูงสุด Pesticide Residues :Maximum Residue Limit. สำนักงานมาตรฐานสินค้าเกษตรและอาหารแห่งชาติ กระทรวงเกษตรและสหกรณ์. : หน้า 220-356.
- สำนักงานมาตรฐานสินค้าเกษตรและอาหารแห่งชาติ. 2568b. มาตรฐานสินค้าเกษตร มกษ.9003-2568 สารพิษตกค้าง:ปริมาณสารพิษตกค้างสูงสุดที่ปนเปื้อนจากสาเหตุที่ไม่อาจหลีกเลี่ยงได้ Pesticide Residues : Extraneous Maximum Residue Limits. สำนักงานมาตรฐานสินค้าเกษตรและอาหารแห่งชาติ กระทรวงเกษตรและสหกรณ์. : หน้า 6-17.

- สถาบันสุขภาพสัตว์แห่งชาติ. 2539. การอบรมเชิงปฏิบัติการเทคนิคทางอิมมูโนฮิสโตพยาธิวิทยา. แหล่งที่มา:<https://niah.dld.go.th/webnew/images/newsletter/2539/news2539v3.pdf>. [3 สิงหาคม 2568].
- Bennett, D. A., Chung, A. C., and Lee, S. M. 1997. Multiresidue method for analysis of pesticides in liquid whole milk. *Journal of AOAC International*, 80(5). [online]. Available: <https://doi.org/10.1093/jaoac/80.5.1065>. Accessed April 20, 2026.
- Burgess, R. R. 2009. Protein precipitation: Techniques, applications, and considerations. *Methods in Enzymology*, 463, 331-342. [online]. Available: <https://www.abcam.com/en-us/knowledge-center/proteins-and-protein-analysis/protein-precipitation>. Accessed April 20, 2026.
- Codex. 2024. Maximum Residue Limits for Pesticides and Extraneous Maximum Residue Limits adopted by the Codex Alimentarius Commission up to and including its 47th Session (November 2024). [online]. Available: <https://www.fao.org/fao-who-codexalimentarius/codex-texts/dbs/pestres/en/>. Accessed July 10, 2025.
- Eurachem Guide. The Fitness for Purpose of Analytical Method - A Laboratory Guide to Method Validation and Related Topics. 3<sup>rd</sup> ed. 2025
- European Commission. 2008a. COMMISSION REGULATION (EC) No 149/2008. REGULATION of 29 January 2008 amending Regulation (EC) No 396/2005 of the European Parliament and of the Council by establishing Annexes II, III and IV setting maximum residue levels for products covered by Annex I thereto. *Official Journal of the European Union*. L 58: 96-116.
- European Commission. 2008b. COMMISSION REGULATION (EC) No 839/2008. REGULATION of 31 July 2008 amending Regulation (EC) No 396/2005 of the European Parliament and of the Council as regards Annexes II, III and IV on maximum residue levels of pesticides in or on certain products. *Official Journal of the European Union*. L 234: 4-34.
- European Commission. 2013. COMMISSION REGULATION (EU) No 834/2013. REGULATION of 30 August 2013 amending Annexes II and III to Regulation (EC) No 396/2005 of the European Parliament and of the Council as regards maximum residue levels for acequinocyl, bixafen, diazinon, difenoconazole, etoxazole, fenhexamid, fludioxonil, isopyrazam, lambda-cyhalothrin, profenofos and prothioconazole in or on certain products. *Official Journal of the European Union*. L 233: 14-25.
- European Commission. 2017. COMMISSION REGULATION (EU) 2017/978. REGULATION of 9 June 2017 amending Annexes II, III and V to Regulation (EC) No 396/2005 of the European Parliament and of the Council as regards maximum residue levels for fluopyram; hexachlorocyclohexane (HCH), alpha-isomer; hexachlorocyclohexane (HCH), beta-isomer; hexachlorocyclohexane (HCH), sum of isomers, except the gamma isomer; lindane (hexachlorocyclohexane (HCH), gamma-isomer); nicotine and profenofos in or on certain products. *Official Journal of the European Union*. L 151: 28-37.

- European Commission. 2018. COMMISSION REGULATION (EU) 2018/686. REGULATION of 4 May 2018 amending Annexes II and III to Regulation (EC) No 396/2005 of the European Parliament and of the Council as regards maximum residue levels for chlorpyrifos, chlorpyrifos-methyl and triclopyr in or on certain products. *Official Journal of the European Union*. L 121: 33-43.
- European Commission. 2023a. COMMISSION REGULATION (EU) 2023/163. REGULATION of 18 January 2023 amending Annexes II and III to Regulation (EC) No 396/2005 of the European Parliament and of the Council as regards maximum residue levels for DDT and oxathiapiprolin in or on certain products. *Official Journal of the European Union*. L 23: 3-13.
- European Commission. 2023b. COMMISSION REGULATION (EU) 2023/915. REGULATION of 25 April 2023 on maximum levels for certain contaminants in food and repealing Regulation (EC) No 1881/2006. *Official Journal of the European Union*. L 119: 42.
- European Commission. 2026. Analytical quality control and method validation procedures for pesticide residues analysis in food and feed. SANTE 11312/2021 v2026). Supersedes Document No. SANTE/11312/2021. Implemented by 01/01/2026.
- Gerald, O.F and Rika, O. 2025. Organophosphate Poisoning and Carbamate Poisoning. MSD MANUAL professional Version. [online]. Available: <https://www.msmanuals.com/professional/injuries-poisoning/poisoning/organophosphate-poisoning-andcarbamate-poisoning>. Accessed July 15, 2025.
- Hajslova, J.; Zrostlikova, J. Matrix Effects in (Gas) Chromatography - Mass Spectrometry: A Review. *Food Addit. Contam.* 2003, 20 (2), 139–150.
- Kumthorn, T., Duangkhae, S., Sarun, K., and Wattasit, S. 2006. Organochlorine pesticides and their usages in Thailand: A review. Researchgate. [online]. Available: [https://www.researchgate.net/publication/281481030\\_Organochlorine\\_pesticides\\_and\\_their\\_usages\\_in\\_Thailand\\_A\\_review](https://www.researchgate.net/publication/281481030_Organochlorine_pesticides_and_their_usages_in_Thailand_A_review). Accessed July 17, 2025.
- Kwon, H., Lehotay, S. J., and Geis-Asteggiate, L. 2012. Variability of matrix effects in liquid and gaschromatography–mass spectrometry analysis of pesticide residues after QuEChERS sample preparation of different food crops.
- Office of Agricultural Affairs, Royal Thai Embassy, Tokyo. 2568. [online]. Available: <https://www.facebook.com/OAATOKYO/posts/>. Accessed August 4, 2025.
- Ozcan, S., Levent, S., and Can, N. O. 2024. Solvent-Based and Matrix-Matched Calibration Methods on Analysis of Ceftiofur Residues in Milk and Pharmaceutical Samples Using a Novel HPLC Method. *Journal of AOAC INTERNATIONAL*, 107(1).
- Pietrzak-Fiecko, R., Smoczynska, K. and Smoczynski, S.S. 2004. Polychlorinated Biphenyls in Human Milk, UHT Cow's Milk and Infant Formulas. Researchgate. Polish Journal of Environmental Studies.[online]. Available:<https://www.pjoes.com/pdf-87754-21613?filename=21613.pdf>. Accessed August 4, 2025.

- Ramesh, C. G. and Robin, B. D. 2024. Organophosphate Toxicosis in Animals. Toxicology – Merck Veterinary Manual. [online]. Available: <https://www.merckvetmanual.com/toxicology/insecticide-and-acaricide-organic-toxicity/organophosphate-toxicosis-in-animals>. Accessed August 3, 2025.
- Theurillat, X., Dubois, M., & Huertas-Perez, J. F. 2021. Multi-residue pesticide determination in fatty food commodities by modified QuEChERS approach and gas chromatography-tandem mass spectrometry. *Journal of Chromatography A*, 1652. [online]. Available: <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2021.129039>. Accessed May 9, 2025.
- Ucci, A. 2023. *How to keep a good thing going: Preventive and routine maintenance for your GC system*. Agilent Technologies. 62-65. [online]. Available: <https://www.agilent.com/cs/library/support/layouts/faq/HowtoKeepaGoodThingGoing.pdf>
- U.S. Environmental Protection Agency. 2007. *Method 3620C: Florisil cleanup* (Revision 3). Washington, DC: Office of Solid Waste.
- U.S. Food and Drug Administration. 2023. ORA laboratory manual, volume II: Methods, method verification and validation (ORA-LAB.5.4.5). Office of Regulatory Affairs.7.
- Zheng, G., Han, C., Liu, Y., Wang, J., Zhu, M., Wang, C. and Shen, Y. 2014. Multiresidue analysis of 30 organochlorine pesticides in milk and milk powder by gel permeation chromatography-solid phase extraction-gas chromatography-tandem mass spectrometry. *Journal of Dairy Science*, 97(10).