

**การวิเคราะห์ปริมาณสารตกค้างคาร์เบนดาซิมและไทอะเบนดาโซลในผักจากตลาดสด
อำเภอเมือง จังหวัดเพชรบูรณ์ ด้วยเทคนิคโครมาโทกราฟีของเหลวสมรรถนะสูง**
**Determination of Carbendazim and Thiabendazole Residues in Vegetables from Fresh Markets
in Muang District, Phetchabun Province Using High-Performance Liquid Chromatography**

เสาวภา ชูมณี และ รุจิรา คุ่มทรัพย์*

Saowapa Chumanee and Ruchira Khoomsab*

สาขาวิชาเคมี คณะวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยี มหาวิทยาลัยราชภัฏเพชรบูรณ์

Division of Chemistry, Faculty of Science and Technology, Phetchabun Rajabhat University

*E-mail: rupinkaew13@pcru.ac.th

Received: May 16, 2023

Revised: Aug 13, 2023

Accepted: Aug 15, 2023

บทคัดย่อ

คาร์เบนดาซิม และไทอะเบนดาโซลเป็นสารกลุ่มเบนซิมิดาโซล นิยมใช้เป็นสารฆ่าเชื้อราในผัก และผลไม้ ทั้งก่อนหรือหลังการเก็บเกี่ยว อย่างไรก็ตามการได้รับสารเหล่านี้เป็นเวลานานส่งผลอันตรายต่อสุขภาพของมนุษย์ และสัตว์ งานวิจัยนี้มีวัตถุประสงค์เพื่อตรวจวัดปริมาณคาร์เบนดาซิม และไทอะเบนดาโซลในตัวอย่างผัก ด้วยเทคนิคโครมาโทกราฟีของเหลวสมรรถนะสูง การสกัดตัวอย่างใช้วิธีแบบแคชเชอร์ และทำให้บริสุทธิ์ด้วยการสกัดด้วยกรดของแข็งแบบกระจาย โดยใช้สภาวะการแยกด้วยคอลัมน์ C18 เฟสเคลื่อนที่ คือน้ำและเมทานอล (50 : 50 %v/v) แบบไอโซครีติก ใช้อัตราการไหล 1 มิลลิลิตรต่อนาที อุณหภูมิของคอลัมน์เท่ากับ 40 องศาเซลเซียส ปริมาตรฉีด 5 ไมโครลิตร และตรวจวัดด้วยเครื่องตรวจวัดแบบฟลูออเรสเซนซ์ โดยตั้งความยาวคลื่นในการกระตุ้นเท่ากับ 285 นาโนเมตร และความยาวคลื่นในการคายแสงเท่ากับ 340 นาโนเมตร จากการทดสอบความใช้ได้ของวิธีวิเคราะห์ โดยใช้สารละลายมาตรฐานคาร์เบนดาซิม และไทอะเบนดาโซล พบว่าวิธีการวิเคราะห์มีความจำเพาะเจาะจง มีกราฟมาตรฐานเป็นเส้นตรงที่ความเข้มข้นของสารเท่ากับ 0.050-3.00 มิลลิกรัมต่อกิโลกรัม ด้วยค่าสัมประสิทธิ์ของการตัดสินใจมากกว่า 0.995 มีขีดจำกัดในการตรวจวัดเชิงปริมาณที่ความเข้มข้นของสารเท่ากับ 0.065 และ 0.074 มิลลิกรัมต่อกิโลกรัมสำหรับคาร์เบนดาซิม และไทอะเบนดาโซล ตามลำดับ และมีความแม่นยำและความเที่ยงในเกณฑ์ที่ยอมรับได้ จากการนำตัวอย่างผักจากตลาดสด อำเภอเมือง จังหวัดเพชรบูรณ์จำนวน 50 ตัวอย่าง มาวิเคราะห์ปริมาณคาร์เบนดาซิม และไทอะเบนดาโซลตามวิธีที่ผ่านการทดสอบความใช้ได้แล้ว พบว่าไม่พบไทอะเบนดาโซลในตัวอย่างทั้งหมด แต่พบคาร์เบนดาซิมตรวจพบในตัวอย่างต้นหอม ในปริมาณที่ไม่เกินค่าปริมาณสารพิษตกค้างสูงสุด (MRL) ที่กำหนดโดยกระทรวงสาธารณสุข และพบสารดังกล่าวในผักสลัด และคะน้าในปริมาณที่เกินค่า MRL ซึ่งเป็นอันตรายต่อผู้บริโภค

คำสำคัญ: ผัก คาร์เบนดาซิม ไทอะเบนดาโซล โครมาโทกราฟีของเหลวสมรรถนะสูง

Abstract

Carbendazim and thiabendazole are substances of the benzimidazole group commonly used as fungicides in vegetables and fruits before or after harvest. However, long-term exposure to these substances is harmful to human and animal health. This research aimed to determine carbendazim and thiabendazole content in vegetable samples using high-performance liquid chromatography. The samples were extracted using a QuEChERS extraction and cleaned up with dispersive solid phase extraction. The chromatographic separation was performed on the C18 column with isocratic elution using water-methanol (50:50 %v/v) as mobile phase at a flow rate of 1.0 mL/min and the column temperature was 40°C. The injection volume was 5 µL. The fluorescence detector was set at 285 nm as an excitation wavelength and 340 nm as an emission wavelength. From the method validation

using carbendazim and thiabendazole standards, the analytical method had selectivity. The linear calibration curves were obtained at the concentration range of 0.050-3.00 mg/kg with good correlation coefficients of determination more than 0.995. The limits of quantitation of carbendazim and thiabendazole were at 0.065 and 0.074 mg/kg, respectively. The accuracy and precision of the analytical method were acceptable. Fifty samples of vegetables from fresh markets in Muang district, Phetchabun province were taken for analysis of carbendazim and thiabendazole content according to the validated method. It was found that thiabendazole was not detected in all samples. However, carbendazim was detected in onion samples but not exceeding the Maximum Residue Limit (MRL) set by the Ministry of Public Health. It was also detected in lettuce and kale in the amounts exceeding the MRL values that would be harmful to consumers.

Keywords: Vegetables, Carbendazim, Thiabendazole, High-performance liquid chromatography

1. บทนำ

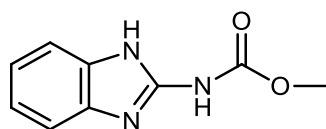
สารเคมีกลุ่มเบนซิมิดาโซล (Benzimidazole) ที่นิยมใช้กันอย่างแพร่หลาย ใช้สำหรับการควบคุม ป้องกัน หรือฆ่าเชื้อรา ก่อนการเก็บเกี่ยวและหลังเก็บเกี่ยว ในผักและผลไม้ ได้แก่ คาร์เบนดาซิม (Carbendazim) และไทอะเบนดาโซล (Thiabendazole) เป็นสารที่ตกค้างอยู่ในพืชได้นาน ออกฤทธิ์แบบจำเพาะเจาะจง ซึ่งจะเข้าไปจับกับโปรตีนทูบูลินทำให้เชื้อราไม่สามารถแบ่งตัวได้ตามปกติ มีผลในการควบคุมโรคที่ดีและรวดเร็ว [1], [2] สูตรโครงสร้างของสารทั้ง 2 ชนิดแสดงดัง Figure 1 ทั้งสารคาร์เบนดาซิม และไทอะเบนดาโซล เป็นสารอันตรายด้วยการไปทำลายเซลล์ของสัตว์เลี้ยงลูกด้วยนม [3] การใช้ยาฆ่าเชื้อรานอกจากมีประโยชน์ใช้ในการควบคุมโรคแต่ในขณะเดียวกันก็เป็นสารอันตรายต่อสุขภาพมนุษย์และสัตว์ หากบริโภคอาหารที่สะสมยาฆ่าเชื้อราเป็นเวลานาน ทำให้เกิดความเป็นพิษเรื้อรัง พิษต่อตับ เนื้องอกในตับ และมีพิษต่อการทำงานของการทำงานของตับของเพศชาย [4], [5] ด้วยเหตุนี้หลายประเทศ และองค์กรต่าง ๆ ตามโครงการมาตรฐานอาหารระหว่างประเทศ (Codex Alimentarius Commission) ซึ่งจัดขึ้นโดยองค์การอาหารและเกษตรแห่งสหประชาชาติ (Food and Agriculture Organization of the United Nations; FAO) และองค์การอนามัยโลก (World Health Organization; WHO) ได้กำหนดค่าปริมาณสารพิษตกค้างสูงสุด (Maximum residue limit; MRL) ในความปลอดภัยของผู้บริโภค [6] สำหรับประเทศไทย ตามราชกิจจานุเบกษา ประกาศกระทรวงสาธารณสุข เล่มที่ 134 ตอนพิเศษ 228 ง เลขที่ 387 พ.ศ. 2560 เรื่องอาหารที่มีสารพิษตกค้าง [7] สารคาร์เบนดาซิม ตามประกาศค่า MRL ขึ้นอยู่กับชนิดของผัก ตัวอย่างเช่น กำหนดค่า MRL ในต้นหอมเท่ากับ 3 มิลลิกรัมต่อกิโลกรัม และในพริกเท่ากับ 2 มิลลิกรัมต่อกิโลกรัม สำหรับผักที่ไม่ได้

ระบุค่า MRL เช่น ผักคะน้า กวางตุ้ง ผักกาดขาว และกะหล่ำปลี กำหนดเป็นค่าดีฟอลต์ลิมิต (Default limit) คือ ปริมาณสารพิษตกค้างที่มีได้ในอาหาร สำหรับวัตถุดิบทางการเกษตรที่ไม่ได้กำหนดปริมาณสารพิษตกค้างสูงสุด มีค่าเท่ากับ 0.1 มิลลิกรัมต่อกิโลกรัม ส่วนสารไทอะเบนดาโซล กำหนดค่าดีฟอลต์ลิมิตมีได้ในพืชเท่ากับ 0.1 มิลลิกรัมต่อกิโลกรัม สำหรับในต่างประเทศ เช่น ประเทศออสเตรเลีย และสหรัฐอเมริกา มีการห้ามใช้สารคาร์เบนดาซิม และประเทศส่วนใหญ่ในสหภาพยุโรปได้กำหนดค่า MRL ในผักมีค่าได้เท่ากับ 0.01 มิลลิกรัมต่อกิโลกรัม จากรายงานวิจัยพบว่ามีสารคาร์เบนดาซิมที่ตกค้างในผักหลายชนิดในประเทศจีน [8] แต่มีปริมาณค่อนข้างต่ำ หรือน้อยกว่า 0.01 มิลลิกรัมต่อกิโลกรัม

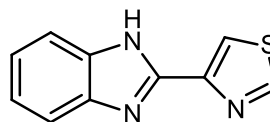
การวิเคราะห์ปริมาณสารพิษตกค้างคาร์เบนดาซิม และไทอะเบนดาโซล นิยมใช้เทคนิคทางโครมาโทกราฟีของเหลวสมรรถนะสูง (High-performance liquid chromatography; HPLC) ด้วยวิธีการตรวจวัดดังต่อไปนี้ อัลตราไวโอเลต (Ultraviolet; UV) [9] ฟลูออเรสเซนซ์ (Fluorescence; FLD) [10], [11] และแทนเดมแมสสเปกโตรเมตรี (Tandem mass spectrometry; MS/MS) [12], [13] สำหรับวิธีการเตรียมตัวอย่างมีหลากหลายวิธี แต่วิธีที่นิยมใช้คือวิธีแบบแคชเชอร์ (QuEChERS; quick, easy, cheap, effective, rugged, and safe) เนื่องจากเป็นวิธีการสกัดที่รวดเร็ว ง่าย มีประสิทธิภาพ ทนทาน และปลอดภัย [14]-[17] ใช้ตัวทำละลายในการสกัดน้อย การสกัดจะใช้ตัวทำละลายอินทรีย์ที่เข้ากับน้ำได้ ทำให้เกิดผลของการใช้เกลือแยก (Salting-out effect) โดยการเติมเกลือเข้าไปเป็นจำนวนมากเพื่อลดน้ำ ตามด้วยการทำสารสกัดให้บริสุทธิ์ (Clean-up) ด้วยการสกัดการกระจายตัวของวัฏภาคของแข็ง (Dispersive solid-phase extraction; d-SPE) เพื่อกำจัดเมทริกซ์หรือสิ่งรบกวนออกจากตัวอย่าง

สำหรับงานวิจัยนี้มีวัตถุประสงค์เพื่อทดสอบความใช้ได้ของวิธีวิเคราะห์ ตรวจวัดปริมาณสารพิษตกค้างคาร์เบนดาซิม และไทอะเบนดาโซลในตัวอย่างผัก ด้วยเทคนิคโครมาโทกราฟีของเหลวสมรรถนะสูงโดยใช้เครื่องตรวจวัดฟลูออเรสเซนซ์ (HPLC/FLD) และการเตรียมตัวอย่างการสกัดแบบแคชเชอร์ ตัวอย่างผักที่นำมาทดสอบได้มาจากตลาดสดอำเภอเมือง

จังหวัดเพชรบูรณ์ ได้แก่ ผักคะน้า ผักกวางตุ้ง กะหล่ำปลี ผักกาดขาว ต้นหอม ผักสลัด แตงกวา มะเขือเปราะ ถั่วฝักยาว หอมแดง กระเทียม และพริกแดงจินดา และสามารถใช้เป็นแนวทางในการศึกษา พัฒนาบุคลากรในระดับห้องปฏิบัติการ สำหรับการบริการวิชาการ และตรวจวัดคัดกรองเบื้องต้นของสารพิษตกค้างทั้ง 2 ชนิดให้กับท้องถิ่นในจังหวัดเพชรบูรณ์



Carbendazim



Thiabendazole

Figure 1 Chemical structures of carbendazim and thiabendazole

2. วัสดุ อุปกรณ์และวิธีการวิจัย

2.1. สารเคมี และการเตรียมสารละลายมาตรฐาน

สารมาตรฐานฆ่าเชื้อราในงานวิจัยนี้คือ สารมาตรฐานคาร์เบนดาซิม และไทอะเบนดาโซล ผลิตจากบริษัท Sigma-Aldrich ประเทศสหรัฐอเมริกา สารมาตรฐานแต่ละชนิดมีความบริสุทธิ์เท่ากับ 97.0% และ 98.6% ตามลำดับ เตรียมสารละลายมาตรฐาน (Standard solution) คาร์เบนดาซิม และไทอะเบนดาโซล แต่ละชนิดที่ความเข้มข้น 500 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร โดยละลายสารมาตรฐานด้วยอะซิโตไนไตรล์ (Acetonitrile; ACN) แล้วเก็บไว้ที่อุณหภูมิ 4 องศาเซลเซียส ในขวดสีชาก่อนใช้งาน สำหรับเจือจางเป็นสารละลายที่นำไปใช้ (Working standard solution) แต่ละความเข้มข้นก่อนใช้ใหม่ทุกครั้งโดยใช้อะซิโตไนไตรล์เป็นตัวทำละลาย

สารเคมีอื่น ๆ ได้แก่ อะซิโตไนไตรล์ และ เมทานอล (Methanol, MeOH) เกรด HPLC ผลิตจากบริษัท J.T.Baker ประเทศสหรัฐอเมริกา ชุดสกัดแคชเชอร์ตามวิธีของ EN (Part no. 5982-0650) ประกอบด้วย 4 กรัม แมกนีเซียมซัลเฟต (Magnesium sulfate) 1 กรัม โซเดียมคลอไรด์ (Sodium chloride) 1 กรัม โซเดียม ซิเตรตไดไฮเดรต (Sodium citrate dehydrate) และ 0.5 กรัม ไดโซเดียม ไฮโดรเจน ซิเตรต เซสควไฮเดรต (Disodium hydrogen citrate sesquihydrate) พร้อมด้วย Ceramic homogenizer part no. 5982-9313 ใส่ในหลอดทดลองขนาด 50 มิลลิลิตร ผลิตโดยบริษัท Agilent technologies ประเทศสหรัฐอเมริกา ชุด Clean up (d-SPE,

EN method part no. 5982-5386) ประกอบด้วย 150 มิลลิกรัม Primary secondary amine (PSA) 45 มิลลิกรัม Graphite carbon black (GCB) และ 855 มิลลิกรัม แมกนีเซียมซัลเฟต พร้อมด้วย Ceramic homogenizer part no. 5982-9312 ใส่ในหลอดทดลองขนาด 15 มิลลิลิตร ผลิตโดยบริษัท Agilent technologies ประเทศสหรัฐอเมริกา

2.2. เครื่องมือและอุปกรณ์

เครื่องมือที่ใช้ในการดำเนินการวิจัย และการวิเคราะห์ ปริมาณสารพิษตกค้างคาร์เบนดาซิม และไทอะเบนดาโซล ประกอบด้วยเครื่องชั่งไฟฟ้าทศนิยม 4 ตำแหน่ง และ 2 ตำแหน่ง ผลิตจากบริษัท Mettler Toledo เครื่องปั่นตัวอย่าง ผลิตจากบริษัท Electrolux เครื่องผสมสารสำหรับทดลอง (Vortex mixer) รุ่น GRNIE 2 ผลิตจากบริษัท Vortex-Genie เครื่องปั่นเหวี่ยงความเร็วสูงแบบควบคุมอุณหภูมิรุ่น Velocity 18R ที่ผลิตจากบริษัท Dynamica ประเทศจีน และเครื่องโครมาโทกราฟีของเหลวสมรรถนะสูงพร้อมด้วยตัวตรวจวัดฟลูออเรสเซนซ์ (HPLC/FLD) รุ่น Agilent 1260 Infinity HPLC ของบริษัท Agilent ประเทศสหรัฐอเมริกา ที่ประกอบด้วย Quaternary pump VL (G1311C), Degasser (G1322A), Autosampler (G1329B), Thermostatted column compartment (G1316A) และ Fluorescent detector (G1321C) ระบบการควบคุม และการประมวลผลใช้ซอฟต์แวร์ OpenLAB CDS ChemStation เวอร์ชัน C.01.07

2.3. สภาวะที่เหมาะสมสำหรับการแยกสารของเครื่อง HPLC

การวิเคราะห์ปริมาณคาร์เบนดาซิม และไทอะเบนดาโซล ด้วยเครื่อง HPLC/FLD ได้พัฒนาตั้งแต่ผลงานวิจัยของ Hazer et al. [11] การศึกษาสภาวะที่เหมาะสมสำหรับการแยกโดยใช้คอลัมน์ชนิด YMC-Triart C18 (250 มิลลิเมตร x 4.6 มิลลิเมตร, 5 ไมโครเมตร) เป็นแบบวัฏภาคแบบย้อนกลับ (Reverse phase column) เฟสเคลื่อนที่เป็นแบบไอโซคราติก (Isocratic elution) ประกอบด้วยน้ำต่อเมทานอล อัตราส่วนเท่ากับ 50 : 50 (%v/v) อัตราการไหลของเฟสเคลื่อนที่เท่ากับ 1 มิลลิลิตรต่อนาที ปริมาตรฉีดสาร 5 ไมโครลิตร ควบคุมอุณหภูมิของคอลัมน์เท่ากับ 40 องศาเซลเซียส และทำการตรวจวัดแบบฟลูออเรสเซนซ์ โดยตั้งความยาวคลื่นในการกระตุ้นเท่ากับ 285 นาโนเมตร และความยาวคลื่นในการคายแสงเท่ากับ 340 นาโนเมตร

2.4. การทดสอบความใช้ได้ของวิธีวิเคราะห์

การทดสอบความใช้ได้ของวิธีวิเคราะห์ (Method validation) เพื่อยืนยันวิธีวิเคราะห์ มีความน่าเชื่อถือได้ [18]-[21] พารามิเตอร์ที่ทดสอบมีดังต่อไปนี้ ความจำเพาะเจาะจง (Selectivity) ความเป็นเส้นตรง (Linearity) ขีดจำกัดของการตรวจวัด (Limit of detection; LOD) ขีดจำกัดของการตรวจวัดเชิงปริมาณ (Limit of quantification; LOQ) ความแม่นยำ (Accuracy) และความเที่ยง (Precision) สำหรับงานวิจัยนี้ เตรียม Matrix blank (ตัวอย่างที่ปราศจากสารที่สนใจวิเคราะห์) ใช้สำหรับการทดสอบพารามิเตอร์ตามที่กล่าวมาข้างต้น ในงานวิจัยนี้ ได้ใช้มะละกอดิบที่ปอกเปลือกแล้ว หั่นเป็นชิ้นเล็ก ๆ แล้วบดให้ละเอียดให้เป็นเนื้อเดียวกัน (มะละกอใช้เป็นตัวแทนของผักที่ไม่มีสารที่สนใจอยู่)

2.4.1. การทดสอบความจำเพาะเจาะจง

เตรียมสารละลายมาตรฐานผสมทั้งคาร์เบนดาซิม และ ไทอะเบนดาโซล ที่ระดับความเข้มข้น 20 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร แล้วเติม (Fortified) ลงใน Matrix blank ปริมาตร 1 มิลลิลิตร แล้วนำไปสกัดเช่นเดียวกันกับตัวอย่าง ตามหัวข้อที่ 2.5. ดังนั้นความเข้มข้นของสารสกัดคิดในหน่วยมิลลิกรัมของสารที่วิเคราะห์ต่อมิลลิกรัมของตัวอย่าง มีค่าเท่ากับ 1.0 มิลลิกรัมต่อมิลลิกรัม นำสารละลายที่สกัดได้ไปวิเคราะห์ด้วยเครื่อง HPLC/FLD ผลการวิเคราะห์จะต้องแยกออกจากกัน มี

ค่าเวลาที่เคลื่อนที่ (Retention time) ต่างกัน ไม่มีสิ่งรบกวน และพีคของสารทั้งสองจะต้องไม่ซ้อนทับกัน

2.4.2. การทดสอบความเป็นเส้นตรง

เตรียมกราฟมาตรฐานในเมทริกซ์ (Matrix-matched calibration) โดยเติมสารละลายมาตรฐานผสมคาร์เบนดาซิม และไทอะเบนดาโซลลงใน Matrix blank ที่ระดับความเข้มข้นต่าง ๆ ทั้งหมด 6 ระดับความเข้มข้น ได้แก่ 0.05, 0.07, 0.50, 1.00, 2.00 และ 3.00 มิลลิกรัมต่อมิลลิกรัม (เตรียม 3 ซ้ำ) ทำการสกัด และทำให้บริสุทธิ์เหมือนกับการสกัดตัวอย่าง แล้วฉีดเข้าเครื่อง HPLC/FLD นำค่าที่ได้สร้างกราฟมาตรฐานระหว่างแกน x คือความเข้มข้นของสารละลายมาตรฐานคาร์เบนดาซิม และสารไทอะเบนดาโซลในหน่วยความเข้มข้นมิลลิกรัมต่อมิลลิกรัม และแกน y คือพื้นที่ใต้กราฟ (Peak area) ของสารละลายมาตรฐานของสารแต่ละชนิด คำนวณค่า สัมประสิทธิ์การตัดสินใจ (Coefficient of determination; R^2) ต้องมีค่าอยู่ในช่วง 0.995-1.000

2.4.3. การทดสอบขีดจำกัดของการตรวจวัดและขีดจำกัดของการตรวจวัดเชิงปริมาณ

การทดสอบขีดจำกัดของการตรวจวัด และขีดจำกัดของการตรวจวัดเชิงปริมาณ ทดสอบโดยเติมสารละลายมาตรฐานผสมลงใน Matrix blank (วิเคราะห์ 9 ซ้ำ) ระดับความเข้มข้นที่เติมลงใน Matrix blank โดยพิจารณาความเข้มข้นที่ให้อัตราส่วนของสัญญาณของสารที่วัดได้ (S) กับสัญญาณรบกวน (N) ในการวิเคราะห์ขีดจำกัดของการตรวจวัด (LOD) จะต้องมีความมากกว่าหรือเท่ากับ 3 เท่าของสัญญาณรบกวน ($S/N \geq 3$) และขีดจำกัดของการตรวจวัดเชิงปริมาณ (LOQ) มีความมากกว่าหรือเท่ากับ 10 เท่า ($S/N \geq 10$) [18]-[21]

2.4.4. การทดสอบความแม่นยำและความเที่ยงของวิธีวิเคราะห์

ทำได้โดยเติมสารละลายมาตรฐานที่ระดับความเข้มข้น 0.06, 0.18 และ 0.60 มิลลิกรัมต่อมิลลิกรัมสำหรับคาร์เบนดาซิม และที่ระดับความเข้มข้น 0.07, 0.20 และ 0.70 มิลลิกรัมต่อมิลลิกรัมสำหรับไทอะเบนดาโซล แต่ละระดับความเข้มข้นทำการทดสอบ 10 ซ้ำ คำนวณเทียบกับกราฟมาตรฐานในเมทริกซ์ แล้วคำนวณค่าเฉลี่ย ร้อยละการกลับคืน

(%Recovery) ร้อยละส่วนเบี่ยงเบนมาตรฐานสัมพัทธ์ (%RSD) และ HORRAT เกณฑ์การตัดสินการยอมรับความแม่นยำในช่วงความเข้มข้นที่ศึกษา ร้อยละการกลับคืนของสารตกค้างจากยาฆ่าแมลงตาม Codex ระดับความเข้มข้นของสารที่สนใจวิเคราะห์ มากกว่า 0.1 มิลลิกรัมต่อกิโลกรัม แต่น้อยกว่า 1 มิลลิกรัมต่อกิโลกรัม จะอยู่ในช่วง 70-110% และเกณฑ์การประเมินความเที่ยงค่า HORRAT มีค่าน้อยกว่าหรือเท่ากับ 2 สามารถคำนวณได้จากสมการดังนี้

$$\text{HORRAT} = (\%RSD)/(\%PRSD)$$

เมื่อ

%RSD คือ ร้อยละค่าเบี่ยงเบนมาตรฐานสัมพัทธ์ (Relative standard deviation) ที่ได้จากการทำซ้ำ (Repeatability) ที่ความเข้มข้นนั้น ๆ

%PRSD คือ ร้อยละค่าเบี่ยงเบนมาตรฐานสัมพัทธ์ ที่ได้จากการคำนวณจากสมการ Horwitz's equation (Predicted relative standard deviation) โดย

$$\%PRSD = 0.66 \times 2^{(1-0.5\log C)}$$

เมื่อ C คือ อัตราส่วนความเข้มข้น (Concentration ratio) ไม่มีหน่วย [18]

2.5. การสกัดตัวอย่างผักและการวิเคราะห์เชิงปริมาณ

งานวิจัยนี้ ได้นำตัวอย่างผัก 12 ชนิด รวมทั้งหมด 50 ตัวอย่าง ประกอบด้วย ผักคะน้า ผักกาดขาว ผักสลัด ต้นหอม พริกแดงจินดา ผักกวางตุ้ง และกะหล่ำปลี อย่างละ 5 ตัวอย่าง แตงกวา มะเขือเปราะ ถั่วฝักยาว กระเทียมและหอมหัวแดง อย่างละ 3 ตัวอย่าง ที่ซื้อจากตลาดในอำเภอเมือง จังหวัดเพชรบูรณ์ จากนั้นดำเนินการชักตัวอย่างตามวิธีมาตรฐานของ Codex กล่าวโดยสังเขปคือ ชั่งน้ำหนักตัวอย่างจากตลาด 1 กิโลกรัม หั่นให้เป็นชิ้นเล็กประมาณ 1 เซนติเมตร แล้วนำไปบดให้เป็นเนื้อเดียวกันด้วยเครื่องปั่น จากนั้นทำการชั่งน้ำหนักตัวอย่าง โดยเครื่องชั่ง 2 ตำแหน่งจำนวน 10 กรัม (± 0.01) แต่ละตัวอย่างทำ 3 ซ้ำ ใส่ในหลอดปั่นเหวี่ยงขนาด 50 มิลลิลิตร เก็บในตู้เย็นควบคุมอุณหภูมิที่ -20°C ก่อนนำไปสกัดด้วยเทคนิคแคชเชอร์แบบ European Standard (EN) [22] ในการสกัดนำตัวอย่างที่บดพร้อมใช้งาน เติมชุดสกัดสารแบบวิธีแคชเชอร์ เติมตัวทำละลายอะซิโตนไตรเอทิล เท่ากับ 10 มิลลิลิตร จากนั้นนำไปเขย่าให้เป็นเนื้อเดียวกันด้วยเครื่อง Vortex mixer เป็นเวลา 2 นาที จากนั้นนำไปปั่นเหวี่ยงด้วยเครื่องปั่นเหวี่ยงความเร็วสูงที่ความเร็ว 7,000 รอบต่อวินาที

เป็นเวลา 10 นาที ที่อุณหภูมิ 20 องศาเซลเซียส ปิเปตสารละลายที่สกัดได้ 6 มิลลิลิตร ลงในหลอดเซนติฟิวจ์ (Centrifuge tube) ขนาด 15 มิลลิลิตร นำไปกำจัดสิ่งรบกวนด้วยชุด Clean up ตามวิธี European Standard (EN) [22] เขย่าเป็นเวลา 2 นาที และนำไปปั่นเหวี่ยงด้วยเครื่องปั่นเหวี่ยงความเร็วสูงที่ความเร็ว 7,000 รอบต่อวินาที เป็นเวลา 10 นาที ที่อุณหภูมิ 20 องศาเซลเซียส จากนั้นนำสารละลายผ่านการกำจัดสิ่งรบกวนแล้วมาจำนวน 2 มิลลิลิตร ไประเหยเพื่อลดปริมาตรให้แห้ง ด้วยแก๊สไนโตรเจน ปรับปริมาตรด้วยอะซิโตนไตรเอทิล 1 มิลลิลิตร และนำสารสกัดที่ได้มากรองด้วย Nylon filter syringe ขนาดรูพรุน (Pore size) 0.22 ไมโครเมตร เส้นผ่านศูนย์กลาง 13 มิลลิเมตร จากนั้นนำไปวิเคราะห์ด้วยเครื่อง HPLC/FLD ตามสภาวะที่เหมาะสมสำหรับการวิเคราะห์ การวิเคราะห์เชิงปริมาณของสารพิษตกค้างคาร์เบนดาซิม และไทอะเบนดาโซลในผัก ในหน่วยมิลลิกรัมต่อกิโลกรัม โดยคำนวณความเข้มข้นของสารที่ตรวจพบเทียบกับกราฟมาตรฐานที่ทำในเมทริกซ์

3. ผลการวิจัยและอภิปรายผลการวิจัย

3.1. ผลสภาวะที่เหมาะสมสำหรับการแยก

การศึกษาสภาวะที่เหมาะสมในการแยกคาร์เบนดาซิม และไทอะเบนดาโซลด้วยเครื่อง HPLC/FLD ได้ปรับเปลี่ยนเฟสเคลื่อนที่ด้วยตัวทำละลายคือ อะซิโตนไตรเอทิล เมทานอล และน้ำ ซึ่งพบว่าใช้ตัวทำละลายเมทานอลกับน้ำให้ผลดีที่สุด เช่นเดียวกับงานวิจัยของ Hazer et al. [11] สภาวะที่เหมาะสมสำหรับการแยกในงานวิจัยนี้ใช้ คอลัมน์ YMC-Triart C18 (250 มิลลิเมตร $\times$ 4.6 มิลลิเมตร, 5 ไมโครเมตร) เฟสเคลื่อนที่แบบไอโซเครติก ประกอบด้วยน้ำต่อเมทานอล อัตราส่วนเท่ากับ 50 : 50 (%v/v) อัตราการไหลของเฟสเคลื่อนที่เท่ากับ 1 มิลลิลิตรต่อนาที ปริมาตรฉีดสาร 5 ไมโครลิตร ควบคุมอุณหภูมิของคอลัมน์เท่ากับ 40 องศาเซลเซียส ตัวตรวจวัดแบบฟลูออเรสเซนซ์ โดยตั้งความยาวคลื่นในการกระตุ้นเท่ากับ 285 นาโนเมตร และความยาวคลื่นในการคายแสงเท่ากับ 340 นาโนเมตร ได้ตรวจสอบสมรรถนะของเครื่อง HPLC/FLD โดยการฉีดสารละลายมาตรฐานผสมในเมทริกซ์ที่ระดับความเข้มข้น 1 มิลลิกรัมต่อกิโลกรัม จำนวน 10 ซ้ำ โดยทดสอบความเหมาะสม (system suitability) ของระบบทางโครมาโทกราฟี [23] เกณฑ์การยอมรับประกอบด้วย Relative standard deviation (%RSD) of area $\leq 2\%$, %RSD ของ Retention time (R_t) $< 2\%$, Resolution (R_s) > 2 ,

Tailing factor (T) ≤ 2 , Theoretical plates (N) >2000 และ Capacity factor (k') >2 ผลการทดสอบของงานวิจัยนี้แสดงดัง Table 1 ซึ่งผ่านเกณฑ์ที่ได้กำหนดไว้

Table 1 System suitability test (SST) data

Parameter	Carbendazim	Thiabendazole
R_t	8.44	11.92
%RSD of area	0.73%	0.56%
%RSD of R_t	0.16%	0.54%
R_s	-	13.56
T	1.20	1.21
N	23,257	26,662
k'	3.82	5.81

3.2. ผลการทดสอบความใช้ได้ของวิธีวิเคราะห์

3.2.1. ผลการตรวจสอบความจำเพาะเจาะจง

จากตรวจสอบความจำเพาะเจาะจง พบว่าสารทั้งสองสามารถแยกออกจากกัน ไม่มีการรบกวนของสารอื่น แสดงผลการวิเคราะห์ ดัง Figure 2 (A) โครมาโทแกรมของสารละลาย Matrix blank (B) โครมาโทแกรมของสารละลายมาตรฐานคาร์เบนดาซิม และไทอะเบนดาโซล ที่เติมลงใน Matrix blank ความเข้มข้นเท่ากับ 1.00 มิลลิกรัมต่อกิโลกรัม มีค่า Retention time เท่ากับ 8.44 และ 11.92 นาที ตามลำดับ และ (C) โครมาโทแกรมของสารละลายตัวอย่างต้นหอม

3.2.2. ผลการทดสอบความเป็นเส้นตรง

ผลทดสอบความเป็นเส้นตรงของสารละลายมาตรฐานคาร์เบนดาซิม และไทอะเบนดาโซลจำนวน 6 ความเข้มข้น ช่วงความเข้มข้นของการวิเคราะห์เท่ากับ 0.050-3.00 มิลลิกรัมต่อกิโลกรัม พบว่ามีความสัมพันธ์เป็นเส้นตรง มีค่า $R^2 > 0.995$ แสดงดัง Figure 3 และ Table 2 ให้สมการเส้นตรง $y = 204.79x - 3.71$ ($R^2 = 0.9989$) และ $y = 197.50x - 4.23$ ($R^2 = 0.9986$) ของคาร์เบนดาซิม และ ไทอะเบนดาโซล ตามลำดับ

3.2.3. ผลของการทดสอบขีดจำกัดของการตรวจวัด และขีดจำกัดของการตรวจวัดเชิงปริมาณ

ผลการวิเคราะห์เติมสารละลายผสมใน Matrix blank พบว่าขีดจำกัดของการตรวจวัดมีค่าเท่ากับ 0.036 และ

0.065 มิลลิกรัมต่อกิโลกรัม และขีดจำกัดของการตรวจวัดเชิงปริมาณมีค่าเท่ากับ 0.056 และ 0.074 มิลลิกรัมต่อกิโลกรัม ของสารคาร์เบนดาซิมและไทอะเบนดาโซล ตามลำดับ แสดงผลการทดสอบดัง Table 2

3.2.4. ผลของการทดสอบความแม่นยำและความเที่ยง

ผลการทดสอบความแม่นยำและความเที่ยงแสดงดัง Table 3 ค่าที่ได้อยู่ในเกณฑ์การยอมรับ มีทั้งความแม่นยำและความเที่ยง การวิเคราะห์หาค่าสารละลายที่เติมสารมาตรฐานทั้งสองชนิดใน Matrix blank ที่ 3 ระดับความเข้มข้น คือ 0.060 0.18 และ 0.60 มิลลิกรัมต่อกิโลกรัมสำหรับคาร์เบนดาซิม และ 0.070 0.20 และ 0.70 มิลลิกรัมต่อกิโลกรัมสำหรับไทอะเบนดาโซล ตามลำดับ แต่ละระดับความเข้มข้นวิเคราะห์ 9 ซ้ำ พบว่ามีร้อยละการกลับคืน (%Recovery) อยู่ในช่วง 102.15-108.62 และ 87.19-105.63 และค่า HORRAT อยู่ในช่วง 0.43-0.64 และ 0.42-0.80 สำหรับคาร์เบนดาซิม และ ไทอะเบนดาโซล ตามลำดับ

3.3. ผลการตรวจวิเคราะห์ในตัวอย่างผัก

วิธีวิเคราะห์ดังกล่าวนี้ ได้นำมาประยุกต์ใช้งานสำหรับการตรวจวิเคราะห์ปริมาณคาร์เบนดาซิม และไทอะเบนดาโซล ในตัวอย่างผัก 12 ชนิด จำนวนทั้งหมด 50 ตัวอย่าง ผลการตรวจวิเคราะห์ไม่พบไทอะเบนดาโซลในตัวอย่างผัก แต่จะพบคาร์เบนดาซิมในตัวอย่างผักทั้ง 4 ตัวอย่าง พบในตัวอย่างต้นหอม 2 ตัวอย่าง มีปริมาณคาร์เบนดาซิมมีค่าเท่ากับ 0.69 และ 1.97 มิลลิกรัมต่อกิโลกรัม มีค่าน้อยกว่า MRL ตามประกาศกระทรวงสาธารณสุข [7] ตรวจพบในตัวอย่างคะน้า 1 ตัวอย่าง มีปริมาณเท่ากับ 2.25 มิลลิกรัมต่อกิโลกรัม และตรวจพบในตัวอย่างผักสลัด 1 ตัวอย่าง มีปริมาณเท่ากับ 0.49 มิลลิกรัมต่อกิโลกรัม ตามประกาศกระทรวงสาธารณสุข ไม่ได้กำหนดค่า MRL และไม่ได้กำหนดค่า MRL ตาม Codex [6] เช่นกัน ตามประกาศกระทรวงสาธารณสุข จึงกำหนดไว้ในบัญชีหมายเลข 3 กำหนดเป็นค่าดีพอลต์ลิมีตสำหรับพืช มีได้เท่ากับ 0.1 มิลลิกรัมต่อกิโลกรัม ดังนั้นจะเห็นว่า ทั้งคะน้าและผักสลัดมีคาร์เบนดาซิม เกินเกณฑ์มาตรฐานที่กำหนด ซึ่งเป็นอันตรายต่อผู้บริโภค สรุปผลการวิเคราะห์ดัง Table 4 และแสดงโครมาโทแกรมของตัวอย่างต้นหอม ดัง Figure 2 (C) สารกลุ่มยาฆ่าเชื้อราทุกวันนี้ สารบางชนิดเป็นสารต้องห้ามในสภาพยุโรป การใช้เครื่องมือ HPLC/FLD สามารถใช้ในระดับการคัดกรองเบื้องต้นเท่านั้น สารพิษอันตรายควรวัดได้ใน

ปริมาณที่ต่ำ ๆ สามารถยืนยันพิสูจน์เอกลักษณ์ และใช้ในการตรวจวัดควบคุมคุณภาพอาหารได้ตามกฎหมายได้อย่างชัดเจน ก็ต้องใช้เครื่อง HPLC-MS/MS [13], [24] แต่อย่างไรก็ตาม การตรวจวัดแบบคัดกรองเบื้องต้นก็ยังคงมีความจำเป็นในท้องถิ่น นั้น ๆ สำหรับการลดความเสี่ยงจากการบริโภคผัก มีรายงาน

วิจัยที่สามารถลดสารคาร์เบนดาซิมในใบกุยช่ายได้และมีประสิทธิภาพ [25] โดยวิธีการล้างน้ำไหลผ่านตะแกรงโดยไม่มี การขังของน้ำเป็นเวลา 60 นาที สามารถลดปริมาณสาร คาร์เบนดาซิมได้ถึงร้อยละ 72.3-94.9

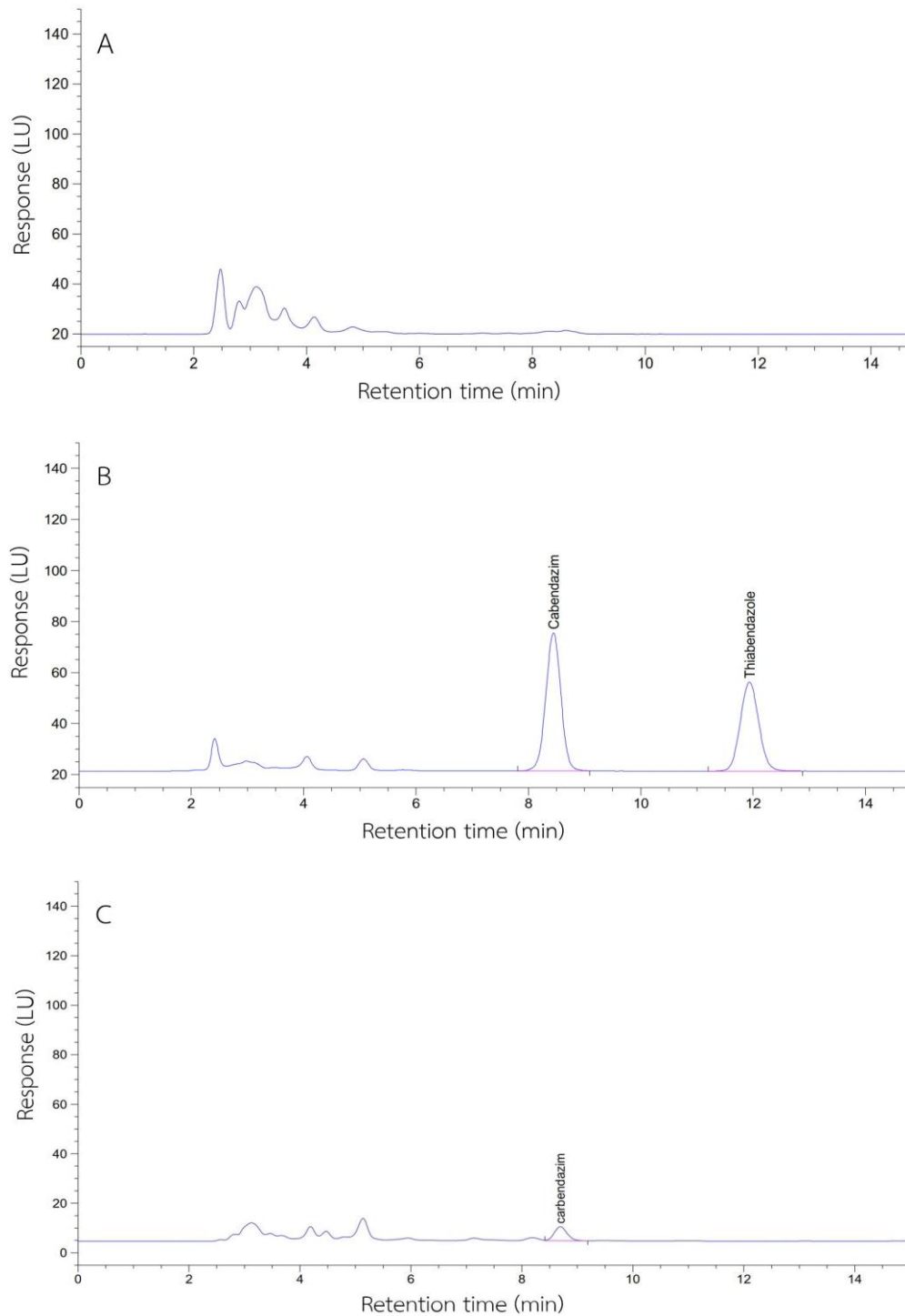


Figure 2 Chromatogram of (A) Matrix blank, (B) Carbendazim and thiabendazole in matrix blank at 1.00 mg/kg and (C) Green onion sample

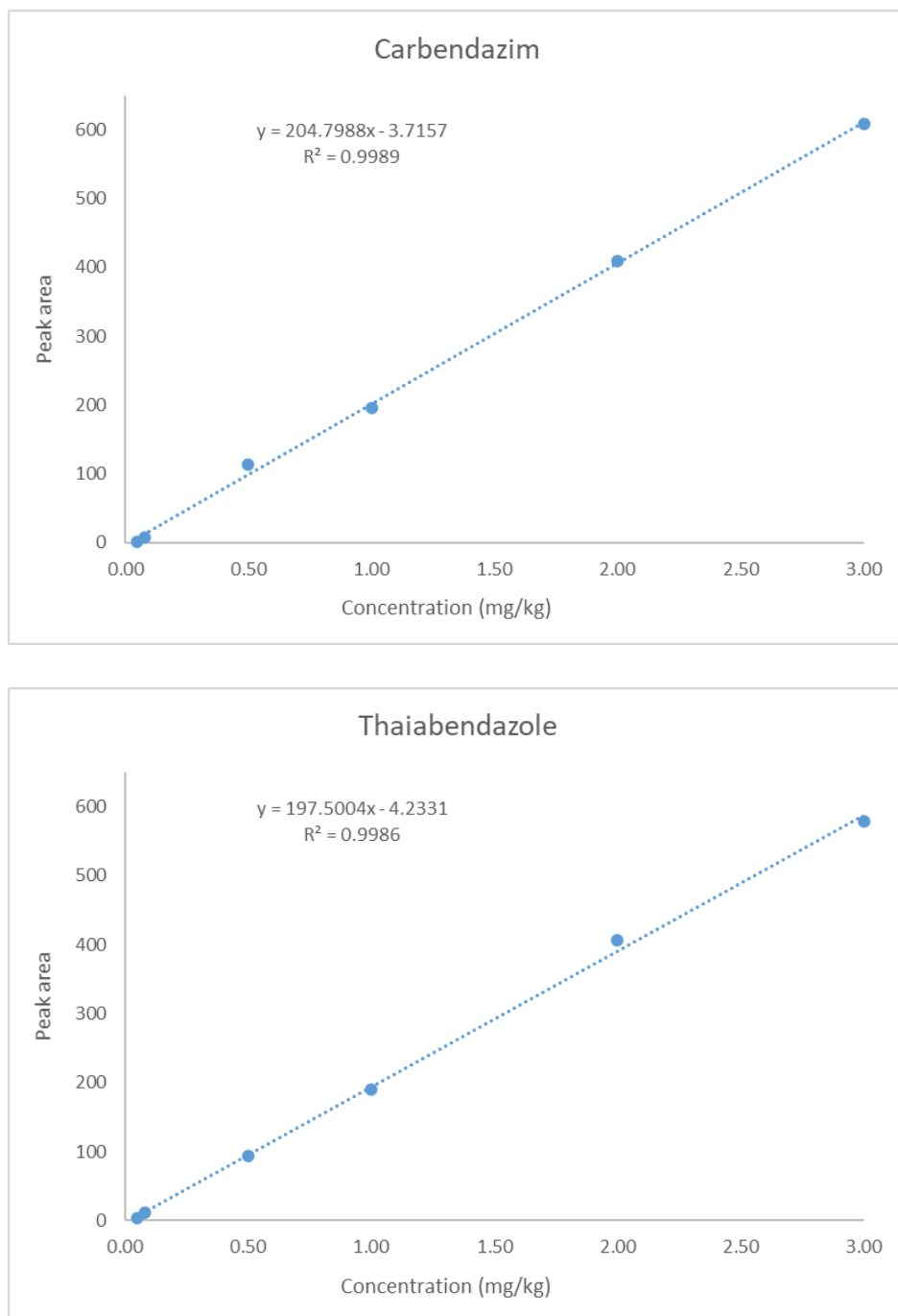


Figure 3 Matrix-matched calibration curves of carbendazim and thiabendazole

Table 2 Linear ranges, regression equations, coefficients of determination (R^2), limits of detection (LOD) and limits of quantitation (LOQ) of the carbendazim and thiabendazole analysis method

Residues	Linear range (mg/kg)	Regression equation	Coefficient of determination (R^2)	LOD (mg/kg)	LOQ (mg/kg)
Carbendazim	0.050-3.00	$y = 204.79x - 3.71$	0.9989	0.036	0.065
Thiabendazole	0.050-3.00	$y = 197.50x - 4.23$	0.9986	0.056	0.074

Table 3 The accuracy and precision of carbendazim and thiabendazole

Residues	Fortified level (mg/kg)	Mean amount found (mg/kg)	Recovery (%) Mean (%RSD) (n=9)	%PRSD	HORRAT
Carbendazim	0.060	0.065	107.67 (8.82%)	31.90	0.28
	0.18	0.18	102.15 (6.17%)	19.27	0.32
	0.60	0.71	108.62 (3.46%)	15.93	0.22
Thiabendazole	0.070	0.074	105.63 (6.63%)	31.26	0.21
	0.20	0.21	102.54 (5.33%)	18.96	0.40
	0.70	0.61	87.19 (5.14%)	16.09	0.32

Table 4 Carbendazim contents in vegetable samples

Vegetable samples	Number of positive samples	Carbendazim content (mg/kg)	Royal Gazette (mg/kg)
Green onion	2	0.69-1.97	MRL = 3
Kale	1	2.25	Default limit =0.1
Lettuce	1	0.49	Default limit =0.1

4. บทสรุป

วิธีวิเคราะห์ที่ได้ปรับปรุงและพัฒนาใช้ในการตรวจวัดสารพิษตกค้างคาร์เบนดาซิม และไทอะเบนดาโซลในผัก ด้วยเครื่อง HPLC/FLD และใช้เทคนิคการเตรียมตัวอย่างการสกัดแบบแคชเชอร์ ซึ่งเป็นวิธีที่สกัดง่าย รวดเร็ว มีประสิทธิภาพ และทนทาน พบว่า สามารถตรวจวิเคราะห์ปริมาณสารพิษตกค้างคาร์เบนดาซิม และไทอะเบนดาโซลได้อย่างแม่นยำเที่ยงตรง มีช่วงความเป็นเส้นตรง และสามารถตรวจวิเคราะห์เชิงปริมาณต่ำสุด (LOQ) ในระดับความเข้มข้นเท่ากับ 0.065 และ 0.075 มิลลิกรัมต่อกิโลกรัม สำหรับคาร์เบนดาซิม และไทอะเบนดาโซล ตามลำดับ วิธีดังกล่าวนี้ไม่ใช่วิธีวิเคราะห์สาร

ตกค้างที่ดีที่สุด แต่อย่างน้อยก็ใช้สำหรับการตรวจวัดคัดกรองเบื้องต้นได้ สามารถใช้ในการบริการวิชาการ ทำให้ทราบข้อมูลเบื้องต้นเพื่อสร้างความตระหนักถึงความปลอดภัยของผู้บริโภค

5. กิตติกรรมประกาศ

งานวิจัยนี้ได้รับทุนอุดหนุนงานวิจัย พัฒนาวิทยาศาสตร์วิจัยและนวัตกรรม ประจำปีงบประมาณ พ.ศ. 2565 (รหัสโครงการ 65A145000033) จากสถาบันวิจัยและพัฒนา มหาวิทยาลัยราชภัฏเพชรบูรณ์ และขอขอบคุณศูนย์วิทยาศาสตร์ คณะวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยี มหาวิทยาลัยราชภัฏเพชรบูรณ์ ที่ให้การสนับสนุนเครื่องมือและอุปกรณ์ตลอดการทำวิจัย

6. References

- [1] Nuchnuanrat, P. and Jitsatta, N. 2021. Evaluation of fungicide carbendazim resistance in *Colletotrichum gloeosporioides* causing anthracnose disease of mango cv. Aokrong in Chanthaburi province. **RMUTSB Academic Journal**. 9(2): 164-173. (in Thai)
- [2] Yu, Q.W. and et al. 2017. Monitoring of carbendazim and thiabendazole in fruits and vegetables by SiO₂@NiO-based solid-phase extraction coupled to high-performance liquid chromatography-fluorescence detector. **Food Analytical Methods**. 10(8): 2892-2901.
- [3] Zheng, D. and et al. 2022. Flowerlike Ni-NiO composite as magnetic solid-phase extraction sorbent for analysis of carbendazim and thiabendazole in edible vegetable oils by liquid chromatography-mass spectrometry. **Food Chemistry**. 374: 131761.
- [4] Rouabhi, R. 2010. **Introduction and Toxicology of Fungicides**. London: IntechOpen Limited.
- [5] Fares, N.V. and et al. 2021. Determination of fungicides' residues and their degradation kinetics in orange tree fruits using liquid chromatography-tandem mass spectrometry coupled with QuEChERS method. **Microchemical Journal**. 168: 106376.
- [6] Codex Alimentarius. 2022. **Pesticides**. <https://www.fao.org/fao-who-codexalimentarius/codex-texts/dbs/pestres/pesticides/en/>. Accessed 1 May 2023.
- [7] National Bureau of Agricultural Commodity and Food Standards, Ministry of Agriculture and Cooperatives. 2016. **Thai Agricultural Standard (TAS 9002-2016) Pesticide Residues: Maximum Residue Limits**. <https://www.acfs.go.th/standard/download/MAXIMUM-RESIDUE-LIMITS.pdf>. Accessed 5 March 2023. (in Thai)
- [8] Xu, X. and et al. 2018. Carbendazim residues in vegetables in China between 2014 and 2016 and a chronic carbendazim exposure risk assessment. **Food Control**. 91: 20-25.
- [9] Phansawan, B. and et al. 2015. A sensitive method for determination of carbendazim residue in vegetable samples using HPLC-UV and its application in health risk assessment. **Chiang Mai Journal of Science**. 42 (3): 681-690.
- [10] Chen, Y. and et al. 2022. Quantitative analysis of carbaryl and thiabendazole in complex matrices using excitation-emission fluorescence matrices with second-order calibration methods. **Spectrochimica Acta Part A: Molecular and Biomolecular Spectroscopy**. 264: 120267.
- [11] Hazer, O. and et al. 2017. Determination of carbendazim and chlorpyrifos in selected fruits and vegetables samples using QuEChERS-HPLC-FD. **Eurasian Journal of Analytical Chemistry**. 12(2): 17-30.
- [12] Ahn, S. and et al. 2021. Accurate determination of carbaryl, carbofuran and carbendazim in vegetables by isotope dilution liquid chromatography/tandem mass spectrometry. **Chromatographia**. 84: 27-35.
- [13] Pallavi, M.S. and et al. 2021. Simultaneous determination, dissipation and decontamination of fungicides applied on cabbage using LC-MS/MS. **Food Chemistry**. 355: 129523.
- [14] Krinsunthon, N., Khamthong, T. and Mapradit, P. 2021. Sample preparation for determination of steroids adulterated in herbal pills by high performance liquid chromatography. **Thai Food and Drug Journal**. 21(1): 59-66. (in Thai)
- [15] Chaimongkol, T. and Wittayanon, W. 2018. Development of sample preparation for pesticide residues analysis in difficult food matrices. **Burapha Science Journal**. 23(3): 1462-1437. (in Thai)
- [16] Varela-Martinez, D.A. and et al. 2020. Quick, easy, cheap, effective, rugged, and safe (QuEChERS) extraction. In: Poole, C.F. (ed.) **Liquid-Phase Extraction**. Amsterdam: Elsevier.

- [17] Fares, N.V. and et al. 2021. Determination of fungicides' residues and their degradation kinetics in orange tree fruits using liquid chromatography-tandem mass spectrometry coupled with QuEChERS method. **Microchemical Journal**. 168: 106376.
- [18] Ningnoi, T. 2006. **A Practical Guide for Single Laboratory. Method Validation of Chemical Methods**. Nonthaburi: Department of Medical Sciences, Ministry of Public Health. *(in Thai)*
- [19] Chandran, S. and Singh, R.S.P. 2007. Comparison of various international guidelines for analytical method validation. **Die Pharmazie**. 62(1): 4-14.
- [20] Eurachem. 2014. **The Fitness for Purpose of Analytical Methods: A Laboratory Guide to Method Validation and Related Topics. 2nd edition**. https://www.eurachem.org/images/stories/Guides/pdf/MV_guide_2nd_ed_EN.pdf. Accessed 18 June 2022.
- [21] Jitkaew, N. and Sinaviwat, S. 2022. Method validation for determination of sucralose in beverage by high performance liquid chromatography. **Bulletin of Applied Sciences**. 11(11): 35-44. *(in Thai)*
- [22] Zhang, Y. 2019. **Analysis of Organophosphorus and Organochlorine Pesticides in Fruit and Vegetables Using an Agilent 8890 GC with Four Detectors**. <https://www.agilent.com/cs/library/applications/application-organophosphorus-organochlorine-pesticides-5994-1215en-agilent.pdf>. Accessed 8 November 2022.
- [23] Bose, A. 2014. HPLC calibration process parameters in terms of system suitability test. **Austin Chromatography**. 1(2), 1-4.
- [24] Qin, G. and et al. 2021. Risk assessment of fungicide pesticide residues in vegetables and fruits in the mid-western region of China. **Journal of Food Composition and Analysis**. 95: 103663.
- [25] Ngamsakpasert, C. and et al. 2021. Reduction of carbendazim in Chinese chives and re-absorption from washing solution using methods of Department of Agriculture. **Thai Journal of Science and Technology**. 24(4): 629-640. *(in Thai)*