



โครมาโทกราฟีของเหลวประสิทธิภาพสูงพร้อมกับเครื่องตรวจวัดไดโอดอาร์เรย์ สำหรับการตรวจวัด
คัดกรองสารกำจัดแมลงกลุ่มคาร์บาเมตที่ตกค้างในตัวอย่างผักด้วยการสกัดแบบแคชเชอร์
High-Performance Liquid Chromatography with Diode-Array Detector for Screening
of Carbamate Insecticide Residues in Vegetable Samples Using QuEChERS Extraction

รุจิรา คุ่มทรัพย์ และเสาวภา ชูมณี*
Ruchira Khoomsab and Saowapa Chumanee*

สาขาวิชาเคมี คณะวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยี มหาวิทยาลัยราชภัฏเพชรบูรณ์ อำเภอเมือง จังหวัดเพชรบูรณ์ 67000
Division of Chemistry, Faculty of Science and Technology, Phetchabun Rajabhat University,
Mueang, Phetchabun 67000, Thailand

*Corresponding author, e-mail: Saowapa@pcru.ac.th

(Received: Nov 24, 2022; Revised: Mar 30, 2023; Accepted: Apr 7, 2023)

บทคัดย่อ

Aldicarb Carbofuran Methomyl และ Oxamyl เป็นสารกำจัดแมลงกลุ่มคาร์บาเมต มีพิษร้ายแรงไปยังการทำงานของเอ็นไซม์อะเซทิลโคลีนเอสเตอเรส หากมีปริมาณตกค้างสูงในตัวอย่างผักจะส่งผลกระทบต่อสุขภาพผู้บริโภค งานวิจัยนี้มีวัตถุประสงค์เพื่อตรวจวัดคัดกรองสารทั้ง 4 ชนิดด้วยวิธีโครมาโทกราฟีของเหลวประสิทธิภาพสูงพร้อมกับเครื่องตรวจวัดไดโอดอาร์เรย์ ใช้วิธีการสกัดตัวอย่างด้วยแบบแคชเชอร์และทำให้บริสุทธิ์ด้วยการสกัดด้วยวัฏภาคของแข็งแบบกระจายสถานะที่เหมาะสมสำหรับการแยกใช้คอลัมน์ C18 เฟสเคลื่อนที่แบบการปรับเปลี่ยนอัตราส่วนของตัวทำละลายประกอบด้วยเมทานอลและน้ำ อัตราการไหลของเฟสเคลื่อนที่เท่ากับ 1 มิลลิลิตรต่อนาที ปริมาตรฉีด 10 ไมโครลิตร อุณหภูมิคอลัมน์ควบคุมที่ 40 องศาเซลเซียส ความเป็นเชิงเส้นตรงในช่วงความเข้มข้น 0.04-2.50 มิลลิกรัมต่อกิโลกรัม ค่าสัมประสิทธิ์ของการตัดสินใจ (r^2) มากกว่า 0.995 และขีดจำกัดของการวัดเชิงปริมาณของสารทั้ง 4 ชนิดอยู่ในช่วงความเข้มข้นเท่ากับ 0.05-0.07 มิลลิกรัมต่อกิโลกรัม โดยแสดงความแม่นยำด้วยค่าร้อยละการคืนกลับในช่วง 79.25-118.57 ความเที่ยงของวิธีวิเคราะห์แสดงด้วยค่า HORRAT มีค่าไม่เกิน 2 วิธีวิเคราะห์นี้ได้นำไปใช้งานตรวจคัดกรองในตัวอย่างผักทั้งหมด 6 ชนิด ได้แก่ ผักคะน้า กะหล่ำปลี กวางตุ้ง ผักกาดขาว ต้นหอม และพริกชี้หนู ชนิดละ 5 ตัวอย่าง รวมทั้งหมด 30 ตัวอย่าง พบว่ามีปริมาณสารพิษตกค้างในผักเกินค่ามาตรฐานที่กำหนด ในต้นหอม และพริกชี้หนู มีปริมาณ Oxamyl เท่ากับ 0.15 และ 0.17-0.30 มิลลิกรัมต่อกิโลกรัม ตามลำดับ ในผักคะน้า และต้นหอม มีปริมาณ Methomyl 0.17 มิลลิกรัมต่อกิโลกรัม และในพริกชี้หนูมีปริมาณ Carbofuran 0.40-0.70 มิลลิกรัมต่อกิโลกรัม

คำสำคัญ : ผัก สารพิษตกค้าง สารกลุ่มคาร์บาเมต แคชเชอร์ HPLC/DAD

Abstract

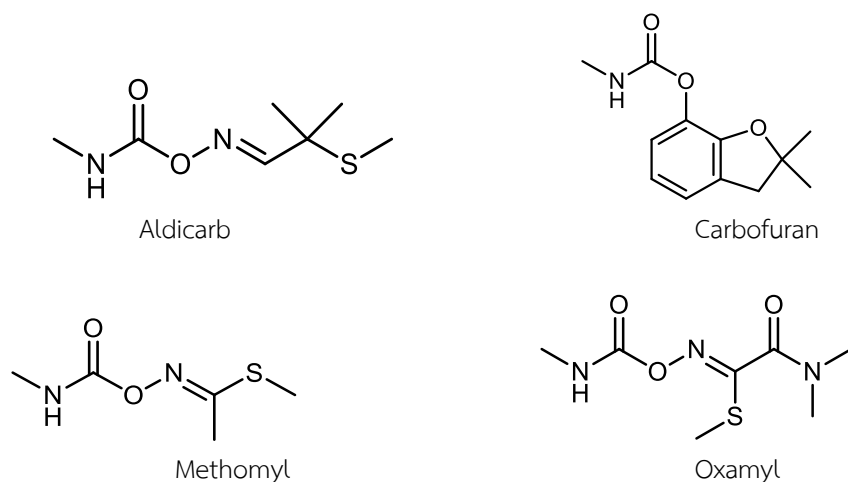
Aldicarb, carbofuran, methomyl and oxamyl are carbamates insecticides. They are highly toxic and inhibit the enzyme activity of acetylcholinesterase (AChE); therefore, high residual carbamate contents in vegetables may affect consumer health. This research aimed to determine for screening of 4 carbamate residues by high-performance liquid chromatography with a diode array detector using QuEChERS extraction and clean-up purification with dispersive solid phase extraction. The chromatographic separation was performed on the C18 column using gradient elution by water and methanol at a 1 mL/min flow rate. The column temperature was controlled at 40 °C. The injection volume was 10 μ L. The good linearity over a range of the concentration 0.04-2.50 mg/kg ($r^2 > 0.995$). The limit of quantification was 0.05-0.07 mg/kg. Accuracy was expressed as a percentage recovery in the range of 79.25-118.57, and the precision was described as a HORRAT value of no more than 2. The method was

applied for screening six vegetables, including kale, cabbage, Chinese cabbage, bog choy, green onion and chili which investigated each type for five samples, and the total conclusion was 30 samples. The scanning showed that the pesticide residues in vegetables exceeded pesticide residues, and oxamyl content was 0.15 and 0.17-0.30 mg/kg in green onion and chili, respectively. A methomyl content of 0.17 mg/kg was found in kale and green onion, and carbofuran was 0.40-0.70 mg/kg in chili.

Keywords: Vegetables, Pesticide residues, Carbamate, QuEChERS, HPLC/DAD

บทนำ

สารกลุ่มคาร์บาเมต (Carbamate) หรือเอ็นเมทิลคาร์บาเมตเอสเทอร์ (N-methyl carbamate ester) เป็นกลุ่มสารที่นิยมใช้กันอย่างแพร่หลายในการกำจัดแมลง เชื้อรา และวัชพืชในทางการเกษตร ซึ่งเป็นสารที่ออกฤทธิ์ทางชีวภาพยับยั้งการทำงานของเอนไซม์อะซิติลโคลีนเอสเทอเรส (AChE) (Bongphrom & Pabchanda, 2012; Zhou *et al.*, 2018) ซึ่งส่งผลโดยตรงต่อระบบประสาทส่วนกลางของแมลง สลายตัวได้เร็วภายใต้สภาวะธรรมชาติ การสะสมทางชีวภาพต่ำ และมีประสิทธิภาพสูงในการกำจัดแมลง แต่อย่างไรก็ตาม สารกลุ่มคาร์บาเมตบางชนิดเป็นอันตรายต่อสิ่งแวดล้อมและมนุษย์ และเป็นที่สงสัยว่าอาจจะเป็นสารก่อมะเร็ง และสารก่อการกลายพันธุ์ (Kongphonprom & Burakham, 2016) ในที่นี้จะกล่าวเฉพาะสารกลุ่มคาร์บาเมต 4 ชนิด คือ Aldicarb Carbofuran Methomyl และ Oxamyl โครงสร้างของสารประกอบกลุ่มคาร์บาเมตทั้ง 4 ชนิดนี้ แสดงดังภาพที่ 1 ซึ่งจัดอยู่ในกลุ่ม 1A มีพิษร้ายแรงมาก (Sparks *et al.*, 2020) และตามประกาศกระทรวงสาธารณสุข เล่มที่ 134 ตอนพิเศษ 228 ง เลขที่ 387 พ.ศ. 2560 เรื่องอาหารที่มีสารพิษตกค้าง สารพิษ Aldicarb Methomyl และ Oxamyl ไม่ได้กำหนดค่าปริมาณสารพิษตกค้างสูงสุด (Maximum residue limit ; MRL) ในประกาศแนบท้ายบัญชีหมายเลข 2 และไม่ได้กำหนดค่า MRL ตามข้อกำหนดของคณะกรรมการอาหารและยา กระทรวงสาธารณสุข เอเอฟ เอ โอ/ดับบลิว เอช โอ (Codex alimentarius commission, joint FAO/WHO food standards programme) จึงจัดเป็นค่าดีฟอลต์ลิมิต (Default limit) หมายถึง ปริมาณสารพิษตกค้างที่มีได้ในอาหาร สำหรับวัตถุอันตรายทางการเกษตรที่ไม่ได้กำหนดปริมาณสารพิษตกค้างสูงสุดไว้มีหน่วยเป็นมิลลิกรัมสารพิษตกค้างต่อกิโลกรัมอาหาร มีค่าได้ไม่เกิน 0.01 มิลลิกรัมสารพิษต่อกิโลกรัมอาหาร สารพิษ Carbofuran มีค่า MRL ที่กำหนดอยู่ในผักตระกูลกะหล่ำจะต้องไม่เกิน 0.03 มิลลิกรัมสารพิษต่อกิโลกรัมอาหาร ซึ่งผักตระกูลกะหล่ำในที่นี้คือผักที่ได้จากใบ ลำต้นหรือดอก เช่น กะหล่ำปลี คะน้า กวางตุ้ง ผักกาดขาว เป็นต้น นอกจากนี้สารพิษ Carbofuran กำหนดค่า MRL ในพริกเท่ากับ 0.5 มิลลิกรัมสารพิษต่อกิโลกรัมอาหาร แต่ในต้นหอม สารชนิดนี้ไม่ได้กำหนดค่า MRL (Codex alimentarius FAO-WHO, 2022; Pesticide residues in food, 2017)



ภาพที่ 1 โครงสร้างของสารกลุ่มคาร์บาเมตทั้ง 4 ชนิด ได้แก่ Aldicarb Carbofuran Methomyl และ Oxamyl



การเตรียมตัวอย่างเพื่อสกัดสารพิษคาร์บาเมตในตัวอย่าง และวิธีการกำจัดสารปนเปื้อนที่อาจจะบดบังการวิเคราะห์ เป็นสิ่งที่จำเป็น ดังนั้นจึงมีเทคนิคในการสกัดหลายวิธีเช่น การสกัดของเหลวออกจากของเหลว (Liquid-liquid extraction, LLE) การสกัดด้วยวัฏภาคของแข็ง (Solid phase extraction, SPE) การสกัดด้วยวัฏภาคของแข็งระดับจุลภาค (Solid phase microextraction, SPME) และการสกัดแบบแคชเซอร์ (Quick easy cheap effective rugged safe, QuEChERS) จากวิธีการสกัดที่กล่าวข้างต้น การสกัดแบบแคชเซอร์เป็นเทคนิคที่นิยมสำหรับการสกัดสารพิษอันตรายที่ตกค้างในอาหาร (Nur 'Aqilah *et al.*, 2022) และผักผลไม้ (KrinSunthon *et al.*, 2014) เนื่องจากเป็นวิธีที่รวดเร็ว ง่าย ราคาถูก มีประสิทธิภาพ ทนทานและปลอดภัย ใช้ตัวทำละลายน้อย เป็นการสกัดที่ใช้ตัวทำละลายอินทรีย์ที่เข้ากับน้ำได้ ทำให้เกิดผลของการใช้เกลือแยก (Salting-out effect) โดยการเติมเกลือเข้าไปเป็นจำนวนมากเพื่อลดน้ำ ตามด้วยการกำจัดเมทริกซ์ในส่วนสกัด เพื่อกำจัดสารเคมีที่รบกวนโดยใช้การสกัดด้วยการกระจายตัวของวัฏภาคของแข็ง (Dispersive solid phase extraction, d-SPE) และเครื่องมือสำหรับการวิเคราะห์เชิงปริมาณของสารพิษตกค้างกลุ่มคาร์บาเมตนี้ต้องมีความแม่นยำสูง ใช้กันอย่างแพร่หลายเป็นที่นิยมในระดับสากล และสามารถตรวจยืนยัน (Confirmatory) หรือการพิสูจน์เอกลักษณ์ (Identification) ของสารได้อย่างแน่ชัดคือ UHPLC-MS/MS (Kemmerich *et al.*, 2018) และ HPLC-QTOF-MS (Hinhumpatch & Wattanachaiyingcharoen, 2021)

แต่อย่างไรก็ตามเครื่องมือเหล่านี้มีต้นทุนราคาแพง ไม่มีในห้องปฏิบัติการทั่ว ๆ ไป สำหรับงานวิจัยนี้ได้ใช้เทคนิค รีเวิร์สเฟส โครมาโทกราฟีของเหลวประสิทธิภาพสูงพร้อมกับเครื่องตรวจวัดไดโอดอาร์เรย์ (RP-HPLC/DAD) มีราคาถูกมากกว่า และมีอยู่ในห้องปฏิบัติการศูนย์วิทยาศาสตร์ คณะวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยี มหาวิทยาลัยราชภัฏเพชรบูรณ์ ใช้สำหรับการตรวจวัดคัดกรองสารพิษตกค้างกลุ่มคาร์บาเมตทั้ง 4 ชนิด ผู้วิจัยได้ดำเนินการปรับปรุง พัฒนา ดัดแปลงหาสภาวะที่เหมาะสม สำหรับการแยก และการเตรียมตัวอย่างด้วยการสกัดแบบแคชเซอร์ และทำให้บริสุทธิ์ด้วย d-SPE วิธีดังกล่าวนี้ได้ทดสอบความถูกต้องของวิธีวิเคราะห์ และนำไปใช้สำหรับการตรวจวัดคัดกรองสารคาร์บาเมตทั้ง 4 ชนิดในตัวอย่างผัก 6 ชนิด ได้แก่ กะหล่ำปลี ผักกวางตุ้ง ผักกาดขาว ผักคะน้า ต้นหอม และพริกชี้หนู ที่ปลูกกันมากในจังหวัดเพชรบูรณ์ และขายอยู่ในอำเภอเมือง เพื่อเพิ่มศักยภาพของห้องปฏิบัติการห้องปฏิบัติการศูนย์วิทยาศาสตร์ คณะวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยี มหาวิทยาลัยราชภัฏเพชรบูรณ์ สามารถรับบริการตัวอย่างตรวจวัดคัดกรองสารพิษตกค้างกลุ่มคาร์บาเมตเบื้องต้น ซึ่งจะเป็นประโยชน์ให้กับท้องถิ่นในจังหวัดเพชรบูรณ์ เกิดความตระหนักถึงการใช้จ่ายกำจัดศัตรูพืช และความปลอดภัยของผู้บริโภค

วัตถุประสงค์ของการวิจัย

1. เพื่อพัฒนาวิธีการตรวจวัดสารกำจัดศัตรูพืชกลุ่มคาร์บาเมต (Aldicarb Carbofuran Methomyl และ Oxamyl) โดยเตรียมตัวอย่างด้วยการสกัดแบบแคชเซอร์และตรวจวัดปริมาณด้วยเทคนิค RP-HPLC/DAD
2. เพื่อวิเคราะห์ปริมาณสารกำจัดศัตรูพืชกลุ่มคาร์บาเมต (Aldicarb Carbofuran Methomyl และ Oxamyl) ที่ตกค้างในตัวอย่างผักที่จำหน่าย ณ ตลาด อำเภอเมือง จังหวัดเพชรบูรณ์

วิธีดำเนินการวิจัย

1. สารเคมีและการเตรียมสารละลายมาตรฐาน

สารเคมีที่ใช้ในงานวิจัยครั้งนี้ที่เป็นเกรด HPLC ได้แก่ อะซิโตนไนไตรล์ (Acetonitrile, ACN) และ เมทานอล (Methanol, MeOH) เป็นผลิตภัณฑ์จากบริษัท J. T. Baker ประเทศสหรัฐอเมริกา ชุดสกัดแคชเซอร์ตามวิธีของ EN (part no. 5982-0650) ประกอบด้วย 4 กรัม แมกนีเซียมซัลเฟต (Magnesium sulfate) 1 กรัม โซเดียมคลอไรด์ (Sodium chloride) 1 กรัม โซเดียม ซิเตรต ไดไฮเดรต (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 และสารมาตรฐานกลุ่มคาร์บาเมตทั้ง 4 ชนิดเป็นสารมาตรฐานอ้างอิง (Reference material) ผลิตจากบริษัท Dr. Ehrenstorfen GmbH ประเทศเยอรมนี ซึ่งสารแต่ละชนิดมีความบริสุทธิ์ดังต่อไปนี้ Aldicarb (99.08±0.95%) Carbofuran

(99.65±0.30%) Methomyl (99.66±0.57%) และ Oxamyl (98.97±0.53%)

การเตรียมสารละลายมาตรฐาน (Standard stock solution) เตรียมสารละลายของสารมาตรฐานกลุ่มคาร์บาเมตทั้ง 4 ชนิด โดยชั่งน้ำหนักที่แน่นอนด้วยเครื่องชั่ง 4 ตำแหน่ง ซึ่งเตรียมสารละลายมาตรฐานสารแต่ละชนิดมีความเข้มข้น 1,000 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร ละลายสารมาตรฐานเหล่านี้ในตัวทำละลายอะซิโตนไตรโอส แล้วเก็บไว้ตู้เย็นที่ควบคุมอุณหภูมิ -20 องศาเซลเซียส ในขวดสีชาก่อนใช้งาน

2. เครื่องมือและอุปกรณ์

การแยกทางโครมาโทกราฟี และการตรวจวัดปริมาณสารพิษตกค้างทั้ง 4 ชนิดด้วยเครื่อง HPLC/DAD ด้วยระบบรุ่น Agilent 1260 infinity HPLC ของบริษัท Agilent ประเทศสหรัฐอเมริกา ประกอบด้วย Quaternary pump VL (G1311C) Degasser (G1322A) Autosampler (G1329B) Thermostatted column compartment (G1316A) และ Diode array detector (G1315D) ระบบการควบคุม และการประมวลผลใช้ซอฟต์แวร์ OpenLAB CDS chemstation เวอร์ชัน C.01.07 การเตรียมตัวอย่างใช้เครื่องเขย่า (Vortex) รุ่น GRNIE 2 และเครื่องปั่นเหวี่ยงความเร็วสูงแบบควบคุมอุณหภูมิ รุ่น Dynamica ยี่ห้อ V18R ที่ผลิตจากบริษัท Dynamica ประเทศจีน

3. สภาพที่เหมาะสมของระบบโครมาโทกราฟี

การแยกสารละลายมาตรฐานทั้ง 4 ชนิด โดยใช้เทคนิค RP-HPLC/DAD มีรายละเอียดดังต่อไปนี้

HPLC คอลัมน์ : YMC-triart C18 (250 มิลลิเมตร × 4.6 มิลลิเมตร, 5 ไมโครเมตร)

เฟสเคลื่อนที่ : เมทานอล : น้ำ ใช้ระบบเกรเดียน คือการปรับเปลี่ยนอัตราส่วนของเฟสเคลื่อนที่ตามเวลาที่เปลี่ยนไปแสดงดังตารางที่ 1 โดยดัดแปลงจากงานวิจัยของ Ma *et al.* (2020)

ตั้งอัตราการไหลของเฟสเคลื่อนที่เท่ากับ 1 มิลลิลิตรต่อนาที ควบคุมอุณหภูมิคอลัมน์เท่ากับ 40 องศาเซลเซียส ปริมาตรฉีดสาร 10 ไมโครลิตร ตรวจวัดที่ความยาวคลื่น 220 นาโนเมตร สำหรับสาร Aldicarb และ Carbofuran ที่ความยาวคลื่น 234 นาโนเมตร สำหรับสาร Methomyl และ Oxamyl และการฉีดสารละลายตัวอย่าง 1 ครั้งต้องปรับสมดุลของคอลัมน์ 20 นาที ก่อนฉีดสารใหม่

ตารางที่ 1 อัตราส่วนของเฟสเคลื่อนที่ (A : B) ที่เวลาต่าง ๆ

| เวลา (นาที) | เฟสเคลื่อนที่ A (%) (น้ำ) | เฟสเคลื่อนที่ B (%) (MeOH) |
|-------------|---------------------------|----------------------------|
| 0 | 90 | 10 |
| 1 | 90 | 10 |
| 5 | 60 | 40 |
| 10 | 50 | 50 |
| 18 | 30 | 70 |
| 20 | 30 | 70 |

4. การทดสอบความใช้ได้ของวิธีการวิเคราะห์

การทดสอบความใช้ได้ของวิธี (Method validation) ตามแนวทางการปฏิบัติการทดสอบความถูกต้องของวิธีวิเคราะห์ (Akcaoot *et al.*, 2020; Ningnoi, 2006) พารามิเตอร์ที่ทดสอบมีดังต่อไปนี้ การทดสอบความจำเพาะเจาะจง (Selectivity) การทดสอบความเป็นเส้นตรง (Linearity) การทดสอบขีดจำกัดของการตรวจพบ (Limit of detection, LOD) การทดสอบขีดจำกัดของการตรวจวัดเชิงปริมาณ (Limit of quantification, LOQ) การทดสอบความแม่นยำ (Accuracy) และการทดสอบความเที่ยง (Precision)

4.1 การทดสอบความจำเพาะเจาะจง ศึกษาได้จากการเติมสารละลายมาตรฐานที่มีความเข้มข้น 60 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร ปริมาตร 1 มิลลิลิตร ลงใน Matrix blank หรือ Sample blank (ในที่นี้ได้เตรียมผักที่ผสม และหั่นเป็นชิ้นเล็ก ๆ ของผักนั้นคือ มะละกอดิบ และแตงกวา ในอัตราส่วนเท่า ๆ กัน) แล้วนำไปสกัดตามในหัวข้อที่ 5 ดังนั้นความเข้มข้นของสารในหน่วยมิลลิกรัมของสารที่วิเคราะห์ต่อกิโลกรัมของตัวอย่างสารละลายที่ได้มีค่าเท่ากับ 1.5 มิลลิกรัมต่อกิโลกรัม นำไปวิเคราะห์ด้วยเทคนิค RP-HPLC/DAD โดยเปรียบเทียบระหว่างโครมาโทแกรมของ Matrix blank และ Fortified sample



4.2 การทดสอบความเป็นเส้นตรง และช่วงของการวิเคราะห์ (Linearity and range) เตรียมสร้างกราฟมาตรฐานแบบ Matrix-matched โดยเติมสารละลายผสม Aldicarb Carbofuran Methomyl และ Oxamyl ลงใน Matrix blank 8 ระดับความเข้มข้น ได้แก่ 0.04 0.05 0.25 0.50 1.00 1.50 2.00 และ 2.50 มิลลิกรัมต่อกิโลกรัม ทำการสกัดตามขั้นตอนที่กล่าวไว้ในหัวข้อที่ 5 ด้วยวิธีแบบแคชเชอร์ แล้วฉีดเข้าเครื่อง HPLC/DAD สร้างกราฟมาตรฐานแต่ละชนิด ระหว่างความเข้มข้นของสารในหน่วยมิลลิกรัมต่อกิโลกรัมกับพื้นที่ใต้พีค และคำนวณค่าสัมประสิทธิ์ของการตัดสินใจ (Coefficient of determination) $r^2 \geq 0.995$ เป็นค่าตามเกณฑ์การยอมรับ

4.3 การทดสอบขีดจำกัดของการตรวจพบ (Limit of detection, LOD) และขีดจำกัดของการตรวจวัดเชิงปริมาณ (Limit of quantification, LOQ) ทำการวิเคราะห์โดย Fortified สารละลายมาตรฐานแต่ละชนิดลงใน Matrix blank และพิจารณาความเข้มข้นที่ได้อัตราส่วนระหว่างสัญญาณของสารที่วัดได้ และสัญญาณรบกวน (Signal to noise ratio, S/N) เท่ากับ 3 และ 10 ตามลำดับ

4.4 การทดสอบความแม่นยำ (Accuracy) และการทดสอบความเที่ยง (Precision) การทดสอบความแม่นยำของวิธีทำได้โดย Fortified สารละลายมาตรฐานผสมทั้ง 4 ชนิดลงใน Matrix blank 3 ระดับความเข้มข้น ได้แก่ความเข้มข้นที่ 0.07 0.20 และ 0.70 มิลลิกรัมต่อกิโลกรัมตามลำดับ วิเคราะห์แต่ละระดับความเข้มข้น 10 ครั้ง คำนวณหาค่าเฉลี่ย เปอร์เซ็นการกลับคืน (%recovery) เปอร์เซ็นการเบี่ยงเบนมาตรฐานสัมพัทธ์ (%RSD) และ HORRAT (Ningnoi, 2006; Srikote & Wittayanan, 2018) ซึ่งความแม่นยำกำหนดเกณฑ์การยอมรับโดยค่าเฉลี่ยของ %recovery จะต้องอยู่ในช่วง 70-120 เกณฑ์การประเมินความเที่ยงใช้สมการ HORRAT คือ อัตราส่วนระหว่างค่าส่วนเบี่ยงเบนมาตรฐานสัมพัทธ์ที่คำนวณได้จากผลการทดลองกับค่าส่วนเบี่ยงเบนมาตรฐานสัมพัทธ์ที่คำนวณจากสมการของ Horwitz โดยมีเกณฑ์ยอมรับ HORRAT ≤ 2 ได้จากสมการ

$$\text{HORRAT} = \frac{\%RSD}{\text{Predicted Horwitz RSD}}$$

$$\text{Predicted Horwitz RSD} = 0.66 \times C^{(1 - 0.5 \log C)}$$

C = อัตราส่วนความเข้มข้นของสารในตัวอย่างที่เติมในการวิเคราะห์

5. ตัวอย่างและการสกัดด้วยวิธีแบบแคชเชอร์

ผู้วิจัยได้สุ่มเก็บผักตัวอย่างกะหล่ำปลี ผักกวางตุ้ง ผักกาดขาว ผักคะน้า ต้นหอม และพริกชี้หนู จากตลาดในอำเภอเมือง จังหวัดเพชรบูรณ์ ชนิดละ 5 ตัวอย่าง รวมทั้งหมด 30 ตัวอย่าง จากนั้นดำเนินการชั่งตัวอย่างตามวิธีมาตรฐานในการสุ่มตัวอย่างของ Codex ตามงานวิจัยของ Polyiem *et al.*, (2018) กล่าวโดยสุ่มตัวอย่างผักซึ่งน้ำหนัก 0.5-1 กิโลกรัม หั่นให้เป็นชิ้นเล็ก ๆ แล้วนำไปบดให้เป็นเนื้อเดียวกันด้วยเครื่อง Homogenizer จากนั้นทำการชั่งน้ำหนักตัวอย่างโดยเครื่องชั่ง 2 ตำแหน่ง จำนวน 10.00 กรัม (± 0.01) ใส่ในหลอดปั่นเหวี่ยงขนาด 50 มิลลิลิตร เก็บในตู้เย็นควบคุมอุณหภูมิที่ -20 องศาเซลเซียส ก่อนนำไปสกัดด้วยเทคนิคแคชเชอร์ วิธีการสกัดได้ดัดแปลงวิธีการเตรียมตัวอย่างจาก Zhang (2019) ดังนั้นนำตัวอย่างที่ชั่งไว้แล้ว 10.00 กรัม (± 0.01) เติมตัวทำละลายอะซิโตนไทรล 1.0 มิลลิลิตร เขย่าด้วยเครื่อง Vortex เป็นเวลา 1 นาที จากนั้นเติม อะซิโตนไทรล ให้ครบ 10.0 มิลลิลิตร และใส่ Ceramic homogenizer (p/n 5982-9319) จำนวน 2 ชิ้น เติมเติมชุดสกัด QuEChERS (p/n 5982-0650) Vortex 1-2 นาที และนำไปปั่นเหวี่ยงเป็นเวลา 5 นาที ที่ 7000 รอบต่อนาที อุณหภูมิ 10 องศาเซลเซียส จากนั้นเปิดสารละลายส่วนใสจำนวน 6.0 มิลลิลิตร ลงในหลอด Clean up (d-SPE, p/n 5982-5386) และ Vortex 1-2 นาที นำสารละลายที่ได้ไปปั่นเหวี่ยงเป็นเวลา 5 นาที ที่ 7,000 รอบต่อนาที อุณหภูมิ 10 องศาเซลเซียส นำสารละลายที่ได้ไปเปิด 2.0 มิลลิลิตร ใส่ในหลอดทดลองขนาดเล็ก นำไปประเหยแห้งภายใต้แก๊สไนโตรเจน และปรับปริมาตรด้วยอะซิโตนไทรล 0.5 มิลลิลิตร (ความเข้มข้นของตัวอย่างเท่ากับ 2 กรัมต่อ 0.5 มิลลิลิตร) กรองสารละลายด้วย Filter membrane ชนิด HI-PTFE ขนาด 0.22 ไมโครเมตร x 13 มิลลิเมตร นำไปวิเคราะห์ด้วยเครื่อง HPLC/DAD

6. การประยุกต์ใช้ของวิธีสำหรับการหาปริมาณสารกลุ่มคาร์บาเมตในตัวอย่างผัก

วิธีการตรวจวิเคราะห์ที่ได้ปรับปรุงหรือพัฒนาขึ้นมา และผ่านการตรวจสอบความใช้ได้ของวิธีวิเคราะห์ ใช้สำหรับการตรวจวิเคราะห์แบบคัดกรองสารพิษตกค้างกลุ่มคาร์บาเมตทั้ง 4 ชนิด ในผักทั้งหมด 6 ชนิด ชนิดละ 5 ตัวอย่าง รวมทั้งหมด 30 ตัวอย่าง ที่จะนำเสนอในงานวิจัยนี้ ปริมาณสารที่พบมีหน่วยเป็นมิลลิกรัมต่อกิโลกรัม โดยคำนวณความเข้มข้น

ของสารที่ตรวจพบเทียบกับกราฟมาตรฐาน

ผลการวิจัย

1. การศึกษาสภาวะที่เหมาะสมทางโครมาโทกราฟี

การศึกษาสภาวะที่เหมาะสมสำหรับการแยกของสารทั้ง 4 ชนิด เริ่มต้นด้วยการศึกษาชนิดของคอลัมน์ทั้ง 2 ชนิด คือ ZORBAX eclipse plus C18 (100 มิลลิเมตร \times 4.6 มิลลิเมตร, 3.5 ไมโครเมตร) และ YMC-triart C18 (250 มิลลิเมตร \times 4.6 มิลลิเมตร, 5 ไมโครเมตร) และได้ปรับเปลี่ยนเฟสเคลื่อนที่ด้วยตัวทำละลาย ดังนี้ อะซิโตน ไนโตรล เมทานอล และน้ำ จากการทดลองพบว่า ใช้คอลัมน์ YMC-triart C18 (250 มิลลิเมตร \times 4.6 มิลลิเมตร, 5 ไมโครเมตร) และเฟสเคลื่อนที่ระบบ เกรเดียนระหว่างตัวทำละลายน้ำกับเมทานอล เป็นสภาวะที่เหมาะสมสำหรับการแยกที่ดีที่สุด ซึ่งสภาวะที่ได้กล่าวไว้ข้างต้น แล้วในหัวข้อที่ 3 เกณฑ์การพิจารณาการตัดสินใจในการเลือกคอลัมน์พิจารณาถึง Matrix ของตัวอย่าง และทดสอบความเหมาะสมของระบบ (System suitability) ของวิธีทางโครมาโทกราฟี (Bose, 2014) มีตัวแปรดังต่อไปนี้ Retention time (R_t) capacity factor (k') number of the theoretical plate (N) resolution (R_s), และ tailing factor (T) ผลการทดสอบแสดงดังตารางที่ 2

ตารางที่ 2 ผลการทดสอบความเหมาะสมของระบบ สำหรับการแยกสารกลุ่มคาร์บาเมต

| สารประกอบ | R_t (min) | k' | N | R_s | T |
|-----------------------------|-------------|----------|-------------|----------|----------|
| Oxamyl | 8.83 | 2.54 | 108358 | - | 1.08 |
| Methomyl | 9.73 | 2.90 | 106427 | 3.94 | 1.07 |
| Aldicarb | 15.97 | 5.40 | 166403 | 22.57 | 1.03 |
| Carbofuran | 18.51 | 6.42 | 267981 | 8.32 | 1.02 |
| เกณฑ์การยอมรับ (Bose, 2014) | | ≥ 2 | ≥ 2000 | ≥ 2 | ≤ 2 |

2. ผลการทดสอบความใช้ได้ของวิธีการวิเคราะห์

การทดสอบความเลือกเฉพาะ (Selectivity) โดยการเปรียบเทียบโครมาโทแกรมของสารละลาย Matrix blank (ภาพที่ 2, a) และโครมาโทแกรมของสารละลาย Fortified ที่เติมสารละลายมาตรฐานกลุ่มคาร์บาเมตทั้ง 4 ชนิดใน Matrix blank ที่ความเข้มข้น 1.50 มิลลิกรัมต่อกิโลกรัม โดยผลที่ได้ไม่มีสารอื่นมารบกวน (ภาพที่ 2, b) และโครมาโทแกรมของสารละลายตัวอย่างต้นหอม (ภาพที่ 2, c)

ผลของการทดสอบความเป็นเส้นตรงของสารละลายมาตรฐานคาร์บาเมตทั้ง 4 ชนิด ในช่วงความเข้มข้นเท่ากับ 0.04-2.5 มิลลิกรัมต่อกิโลกรัม จำนวน 8 ความเข้มข้น พบว่ามีความสัมพันธ์เป็นเส้นตรง มีค่า $r^2 > 0.995$ และสารคาร์บาเมตทั้ง 4 ชนิดนี้ มีค่าขีดจำกัดของการตรวจพบอยู่ในช่วงความเข้มข้นเท่ากับ 0.03-0.05 มิลลิกรัมต่อกิโลกรัม และการทดสอบขีดจำกัดของการตรวจวัดเชิงปริมาณอยู่ในช่วงความเข้มข้นเท่ากับ 0.05-0.07 มิลลิกรัมต่อกิโลกรัม แสดงผลดังตารางที่ 3

ตารางที่ 3 แสดงผลการทดสอบสมการเส้นตรง ช่วงความเป็นเส้นตรง r^2 LOD และ LOQ ของสารกลุ่มคาร์บาเมตทั้ง 4 ชนิด

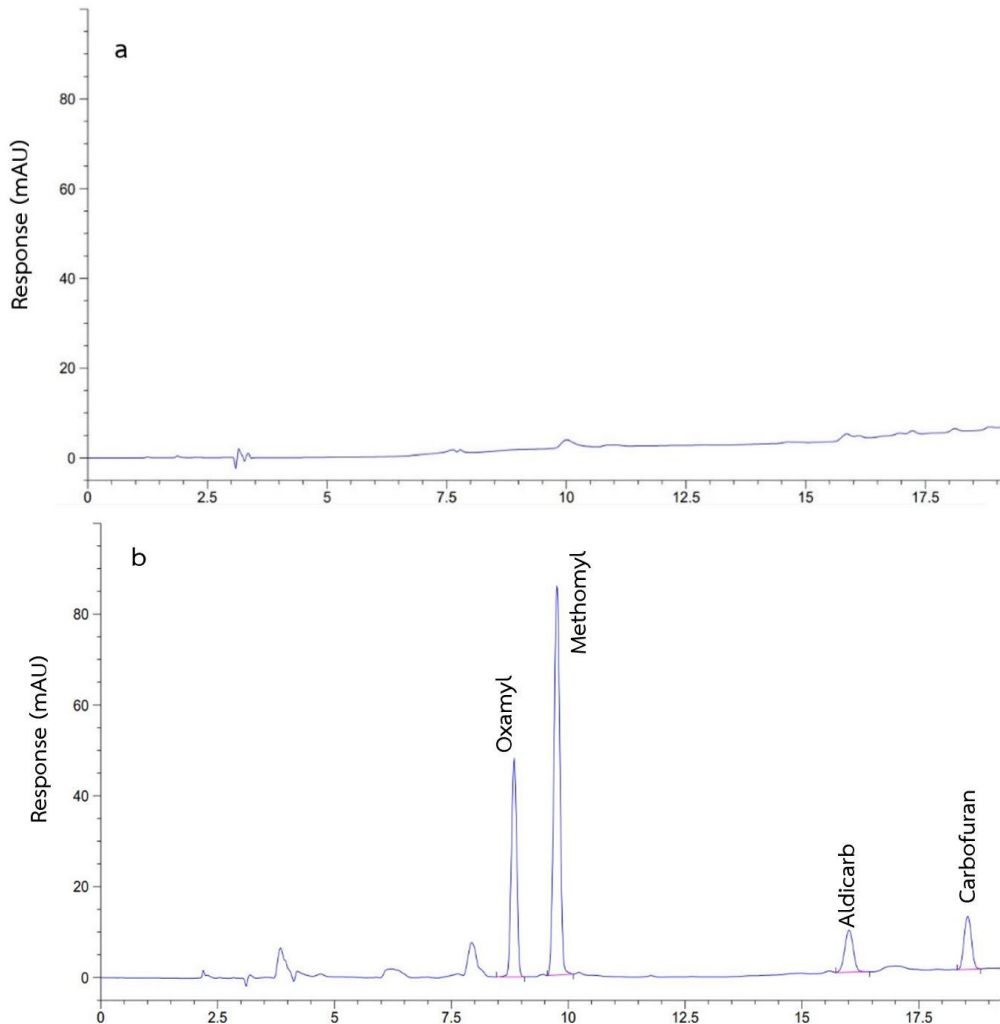
| สารประกอบ | สมการเส้นตรง | ช่วงความเป็นเส้นตรง | r^2 | LOD (mg/kg) | LOQ (mg/kg) |
|------------|-----------------------|---------------------|--------|-------------|-------------|
| Oxamyl | $y = 275.07x - 3.06$ | 0.04 - 2.50 | 0.9968 | 0.03 | 0.05 |
| Methomyl | $y = 493.73x - 15.03$ | 0.04 - 2.50 | 0.9989 | 0.04 | 0.05 |
| Aldicarb | $y = 127.24x + 10.70$ | 0.04 - 2.50 | 0.9997 | 0.05 | 0.06 |
| Carbofuran | $y = 233.07x - 3.65$ | 0.04 - 2.50 | 0.9974 | 0.04 | 0.07 |

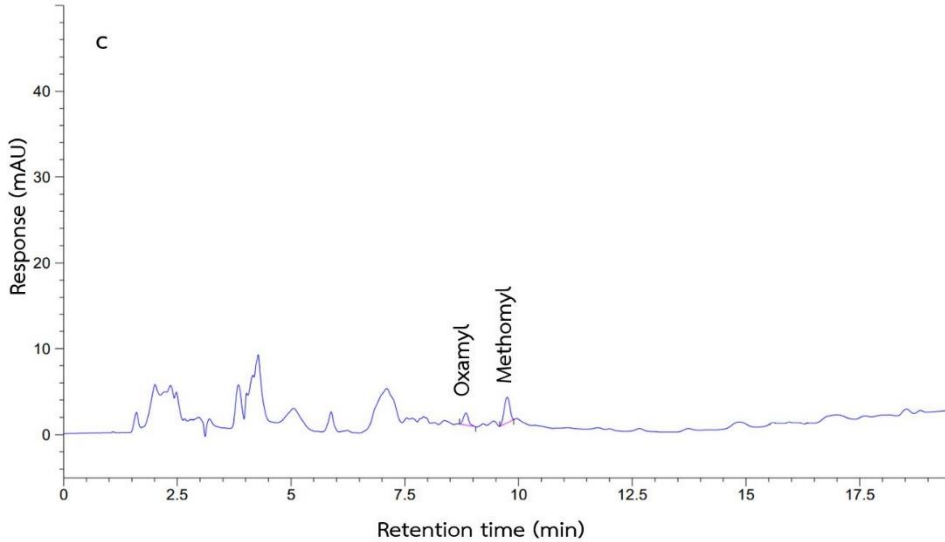
ตารางที่ 4 แสดงผลการทดสอบความแม่นยำ และความเที่ยงของวิธีวิเคราะห์ โดย Fortified สารละลายมาตรฐานผสมทั้ง 4 ชนิดที่ระดับความเข้มข้น 0.07 0.20 และ 0.70 มิลลิกรัมต่อกิโลกรัม พบว่ามีร้อยละการกลับคืน อยู่ในช่วง 70 - 120% (สำหรับความเข้มข้นที่ต่ำกว่า 10 มิลลิกรัมต่อกิโลกรัม) โดยคำนวณได้จากการเทียบกราฟมาตรฐาน และทดสอบ %RSD ของ

การวิเคราะห์ ทำซ้ำจำนวน 10 ซ้ำ และคำนวณค่า HORRAT พบว่าสารคาร์บาเมตที่วิเคราะห์นั้นมีค่าไม่เกิน 2% แสดงว่าวิธีนี้มีทั้งความแม่นยำ และความเที่ยงในการวิเคราะห์สารพิษตกค้างกลุ่มคาร์บาเมตทั้ง 4 ชนิด

ตารางที่ 4 แสดงผลค่าความแม่นยำและความเที่ยงของวิธีวิเคราะห์ของสารกลุ่มคาร์บาเมตทั้ง 4 ชนิด

| สารประกอบ | 0.07 mg/kg (n = 10) | | | 0.20 mg/kg (n = 10) | | | 0.70 mg/kg (n = 10) | | |
|------------|-------------------------|---------------------|--------|-------------------------|---------------------|--------|-------------------------|---------------------|--------|
| | ปริมาณ ที่ตรวจ พบ | % การ กลับคืน | HORRAT | ปริมาณ ที่ตรวจ พบ | % การ กลับคืน | HORRAT | ปริมาณ ที่ตรวจ พบ | % การ กลับคืน | HORRAT |
| | Oxamyl | 0.08 | 118.57 | 0.85 | 0.22 | 108.02 | 0.74 | 0.74 | 105.12 |
| Methomyl | 0.08 | 116.68 | 0.31 | 0.23 | 113.22 | 0.47 | 0.80 | 114.53 | 0.83 |
| Aldicarb | 0.06 | 79.25 | 1.09 | 0.18 | 91.75 | 0.56 | 0.74 | 105.62 | 0.60 |
| Carbofuran | 0.08 | 110.62 | 0.73 | 0.20 | 101.38 | 0.37 | 0.79 | 112.24 | 0.50 |





ภาพที่ 2 โครมาโทแกรมของสารละลาย (a) Matrix blank (b) Fortified สารละลายมาตรฐานกลุ่มคาร์บาเมตทั้ง 4 ชนิดใน Matrix blank ที่ความเข้มข้น 1.5 มิลลิกรัมต่อกิโลกรัม และ (c) ตัวอย่างต้นหอม

3. การประยุกต์ใช้ของวิธีสำหรับการหาปริมาณสารกลุ่มคาร์บาเมตทั้ง 4 ชนิดในตัวอย่างผัก

ได้นำวิธีที่พัฒนาดังกล่าวไปทดสอบกับตัวอย่างผักทั้งหมด 30 ชนิด ผลการทดสอบดังตารางที่ 5 จากการทดสอบพบว่า สาร Oxamyl ตรวจพบในตัวอย่างต้นหอม 1 ตัวอย่าง และพริกชี้หนู อีก 2 ตัวอย่าง มีปริมาณเท่ากับ 0.15 และ 0.17 - 0.30 มิลลิกรัมต่อกิโลกรัม ตามลำดับ สาร Methomyl ตรวจพบในตัวอย่างผักคะน้า และต้นหอม อย่างละ 1 ตัวอย่าง มีปริมาณ Methomyl เท่ากับ 0.17 มิลลิกรัมต่อกิโลกรัม และสาร Carbofuran ตรวจพบในพริกชี้หนู 2 ตัวอย่างมีปริมาณเท่ากับ 0.40 - 0.70 มิลลิกรัมต่อกิโลกรัม ซึ่งตามประกาศกระทรวงสาธารณสุข เล่มที่ 134 ที่กล่าวไว้ข้างต้น สารประเภทกลุ่มดีพอลต์ลิมีด (Aldicarb Methomyl และ Oxamyl) จะต้องไม่เกิน 0.01 มิลลิกรัมต่อกิโลกรัม ส่วน Carbofuran ต้องห้ามเกิน 0.03 มิลลิกรัมต่อกิโลกรัมในผักตระกูลกะหล่ำ และในพริกต้องห้ามเกิน 0.50 มิลลิกรัมต่อกิโลกรัม ซึ่งจากการทดสอบผักนี้มีปริมาณของสาร Carbofuran Methomyl และ Oxamyl ในตัวอย่างบางชนิดที่มีเกินค่า MRL แต่ Aldicarb ตรวจไม่พบในตัวอย่างที่นำมาทดสอบ

ตารางที่ 5 ปริมาณสารพิษตกค้างกลุ่มคาร์บาเมตทั้ง 4 ชนิดในตัวอย่างผักชนิดต่าง ๆ จากตลาดในอำเภอเมืองเพชรบูรณ์

| ชนิดผัก | จำนวนผักที่ สุ่มตรวจ | ตัวอย่างที่ ตรวจพบ | สารพิษตกค้างกลุ่มคาร์บาเมต (มิลลิกรัมต่อกิโลกรัม) | | | |
|------------|-------------------------|-----------------------|---|----------|----------|-------------|
| | | | Oxamyl | Methomyl | Aldicarb | Carbofuran |
| ผักวางตุ้ง | 5 | 0 | ND | ND | ND | ND |
| ผักคะน้า | 5 | 1 | ND | 0.17 | ND | ND |
| กะหล่ำปลี | 5 | 0 | ND | ND | ND | ND |
| ผักกาดขาว | 5 | 0 | ND | ND | ND | ND |
| ต้นหอม | 5 | 1 | 0.15 | 0.17 | ND | ND |
| พริกชี้หนู | 5 | 2 | 0.17 - 0.30 | ND | ND | 0.40 - 0.70 |

ND = Not detected (ตรวจไม่พบ)

อภิปรายผลการวิจัย

ในงานวิจัยนี้ได้ศึกษาเทคนิคโครมาโทกราฟีของเหลวประสิทธิภาพสูงพร้อมกับเครื่องตรวจวัดไดโอดอาร์เรย์ (HPLC/DAD) สำหรับการตรวจวัดคัดกรองปริมาณสารพิษตกค้างกลุ่มคาร์บาเมตทั้ง 4 ชนิด โดยใช้การสกัดสารพิษแบบแคชเชอร์ และทำให้บริสุทธิ์ด้วย d-SPE ในงานวิจัยนี้ได้ดัดแปลงการเตรียมตัวอย่างเล็กน้อยจากวิจัยของ Zhang (2019)



สามารถตรวจวัดขีดจำกัดของการวัดเชิงปริมาณสารพิษทั้ง 4 ชนิด ได้ถึงระดับความเข้มข้น 0.05 มิลลิกรัมต่อกิโลกรัมสำหรับ Oxamyl และ Methomyl 0.06 มิลลิกรัมต่อกิโลกรัมสำหรับ Aldicarb และ 0.07 มิลลิกรัมต่อกิโลกรัมสำหรับ Carbofuran ดังนั้นวิธีการวิเคราะห์นี้จึงไม่สามารถตรวจวัดเชิงปริมาณต่ำสุดตามข้อกำหนด ค่าดีฟอลต์ลิมิตสำหรับพีช (Aldicarb Methomyl และ Oxamyl) เท่ากับ 0.01 มิลลิกรัมต่อกิโลกรัมของสารพิษ และ ค่า MRL สำหรับ Carbofuran ในผักตระกูลกะหล่ำเท่ากับ 0.03 มิลลิกรัมต่อกิโลกรัมได้ แต่สามารถวัดเชิงปริมาณของสารพิษ Carbofuran ในพริกได้ เนื่องจากมีค่า MRL เท่ากับ 0.5 มิลลิกรัมต่อกิโลกรัม ซึ่งงานวิจัยของ Ma *et al.*, (2020) สามารถตรวจวิเคราะห์สารพิษ Aldicarb และ Carbofuran ได้ต่ำกว่าค่าที่กำหนด แต่ต้องใช้เทคนิค LC-MS/MS ในการตรวจวิเคราะห์ปริมาณสารเหล่านี้ ซึ่งเป็นเครื่องมือที่มีราคาสูง ไม่มีในห้องปฏิบัติการทั่วไป และเข้าถึงได้ยากสำหรับเกษตรกร ในงานวิจัยนี้จึงเป็นเพียงการตรวจวัดคัดกรองเบื้องต้นสำหรับสารพิษทั้ง 4 ชนิดเท่านั้น

สรุปผลการวิจัย

จากการวิจัยนี้ แสดงให้เห็นว่าการใช้เทคนิคโครมาโทกราฟีของเหลวประสิทธิภาพสูงพร้อมกับเครื่องตรวจวัดไดโอดอาร์เรย์ (HPLC/DAD) โดยใช้เทคนิคการเตรียมตัวอย่างการสกัดแบบแคชเชอร์พร้อมด้วยทำสารสกัดให้บริสุทธิ์ด้วย d-SPE สามารถตรวจวิเคราะห์เชิงปริมาณต่ำสุดของสารทั้ง 4 ชนิดอยู่ในช่วงความเข้มข้นเท่ากับ 0.05-0.07 มิลลิกรัมต่อกิโลกรัม และแสดงให้เห็นว่ามีความแม่นยำ และมีความเที่ยงของวิธี โดยทำการทดสอบที่ความเข้มข้น 3 ระดับ คือ 0.07 0.20 และ 0.70 มิลลิกรัมต่อกิโลกรัม พบว่าอยู่ในเกณฑ์ยอมรับตามมาตรฐาน AOAC คือ ร้อยละค่าการกลับคืนอยู่ระหว่าง 70 – 120% และมีค่า HORRAT ไม่เกิน 2% และสามารถนำวิธีดังกล่าวไปประยุกต์ใช้ในการตรวจวัดคัดกรองสารพิษตกค้างในตัวอย่างผักทั้ง 6 ชนิด ได้แก่ กะหล่ำปลี ผักกวางตุ้ง ผักกาดขาว ผักคะน้า ต้นหอม และพริกชี้หนู พบ Oxamyl ในต้นหอม และพริกชี้หนู พบ Methomyl ในต้นหอมและผักคะน้า และพบ Carbofuran ในพริกชี้หนู ซึ่งสารที่ตรวจพบทั้งหมดนี้มีปริมาณเกินเกณฑ์มาตรฐานของ Codex ทุกชนิด และไม่ปลอดภัยต่อผู้บริโภค

ข้อเสนอแนะการวิจัย

การวิจัยนี้ สามารถนำไปวิเคราะห์หรือใช้เป็นงานประจำสำหรับการตรวจวัดคัดกรองเบื้องต้นได้ เหมาะสำหรับห้องปฏิบัติการในห้องถิ่น เนื่องจากเกษตรกรเข้าถึงได้ง่าย ใกล้บ้าน และมีค่าใช้จ่ายให้การตรวจวิเคราะห์ที่ไม่สูงเกินไป แต่อย่างไรก็ตามถ้าต้องการผลการทดสอบที่มีการยืนยัน (Confirmatory) และพิสูจน์เอกลักษณ์ (Identification) ของสารพิษเหล่านี้ได้อย่างแน่ชัด และมีความจำเพาะเจาะจงมากกว่านี้ ก็จำเป็นต้องใช้เทคนิคขั้นสูงอย่าง LC-MS/MS หรือ HPLC-QTOF-MS ที่เป็นที่ยอมรับในระดับสากล

กิตติกรรมประกาศ

งานวิจัยนี้ได้รับทุนอุดหนุนงานวิจัย พัฒนาวิทยาศาสตร์ วิจัยและนวัตกรรม ประจำปีงบประมาณ พ.ศ. 2565 (รหัสโครงการ 65A145000033) จากสถาบันวิจัยและพัฒนา มหาวิทยาลัยราชภัฏเพชรบูรณ์

เอกสารอ้างอิง

- Akcaboot, P., Chukiatwatana, L. & Tongcham, C. (2020). Method validation of organophosphorus, organochlorine and pyrethroid in vegetable Oil. *The 58th Kasetsart University Annual Conference*, February 5-7, 2020 Bangkok: Kasetsart University. (in Thai)
- Bongphrom, S. & Pabchanda, S. (2012). Determination of carbamate insecticides in chili using chromatographic and colorimetric techniques. *Journal of Science and Technology, Ubon Ratchathani University*, 14(3), 45-54. (in Thai)
- Bose, A. (2014). HPLC calibration process parameters in terms of system suitability test. *Austin Chromatography*, 1(2), 1-4.
- Codex alimentarius FAO-WHO. (2022). *Pesticides* [Online]. Retrieved November 8, 2022, from: <https://www.fao.org/fao-who-codexalimentarius/codex-texts/dbs/pestres/pesticides/en/>.



- Hinhumpatch, P. & Wattanachaiyingcharoen, W. (2021). Evaluation of carbamate pesticide residues in melons. *Thai Science and Technology Journal*, 29(1), 62–72. (in Thai)
- Kemmerich, M., Bernardi, G., Prestes, O. D., Adaime, M. B., & Zanella, R. (2018). Comprehensive method validation for the determination of 170 pesticide residues in pear employing modified QuEChERS without clean-up and ultra-high performance liquid chromatography coupled to tandem mass spectrometry. *Food Analytical Methods*, 11(2), 556–577.
- Kongphonprom, K. & Burakham, R. (2016). Determination of carbamate insecticides in water, fruit, and vegetables by ultrasound-assisted dispersive liquid–liquid microextraction and high-performance liquid chromatography. *Analytical Letters*, 49(6), 753–767.
- Krinsunthon, N., Khamthong, T. & Mapradit, P. (2014). QuEChERS 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)
- Ma, L., Zhao, L., Wang, J., Pan, C., Liu, C., Wang, Y., et al. (2020). Determination of 12 carbamate insecticides in typical vegetables and fruits by rapid multi-plug filtration cleanup and ultra-performance liquid chromatography/tandem mass spectrometry detection. *Journal of Chromatographic Science*, 58(2), 109–116.
- Ningnoi, T. (2006). *A Practical guide for single laboratory. method validation of chemical method*. Nonthaburi: Department of medical sciences, ministry of public health. (in Thai)
- Nur 'Aqilah, N. M., Erna, K. H., Vonnice, J. M., Rovina, K., Nur 'Aqilah, N. M., Erna, K. H., Vonnice, J. M. & Rovina, K. (2022). *Extraction and identification techniques for quantification of carbamate pesticides in fruits and vegetables. in pesticides—updates on toxicity, efficacy and risk assessment* [Online]. Retrieved November 6, 2022, from: <https://www.intechopen.com/chapters/80551>.
- Pesticide residues in food. (2017, 18 September). *Royal Gazette*. 134(Special Part 228). 8-10. (in Thai)
- Polyiem, W., Naksen, W. & Prapamontol, T. (2018). Gas chromatographic- flame photometric detection of organophosphate pesticide residues and its application in real vegetable and fruit samples from Chiang Mai city, Thailand. *Chiang Mai Journal of Science.*, 45(4), 1933–1943.
- Sparks, T. C., Crossthwaite, A. J., Nauen, R., Banba, S., Cordova, D., Earley, F., et al. (2020). Insecticides, biologics and nematicides: Updates to IRAC's mode of action classification-a tool for resistance management. *Pesticide Biochemistry and Physiology*, 167, 104587.
- Srikote, R. & Wittayanan, W. (2018). Development of an analytical method for pesticide residues in fruit or vegetable juices. *Bulletin of the Department of Medical Sciences*, 60(3), 108-122. (in Thai)
- Zhang, Y. (2019). *Analysis of organophosphorus and organochlorine pesticides in fruit and vegetables using an Agilent 8890 GC with four detectors* [Online]. Retrieved November 8, 2022, from: <https://www.agilent.com/cs/library/applications/application-organophosphorus-organochlorine-pesticides-5994-1215en-agilent.pdf>
- Zhou, Y., Guan, J., Gao, W., Lv, S. & Ge, M. (2018). Quantification and confirmation of fifteen carbamate pesticide residues by multiple reaction monitoring and enhanced product ion scan modes via LC-MS/MS QTRAP system. *Molecules*, 23(10), 2496.