การตรวจวัดระดับ Fipronil และ Fipronil Sulfone ในไข่ไก่ด้วยเทคนิค LC-MS/MS

ผู้จัดทำ: ทศพล อนุกูลวิทยา, นิรมล จิตต์สมหมาย, จิตนภา วรนิติกุล, บุณฑริกา วงษา

จากรายงานวันที่ 20 กรกฎาคม 2017 ที่ได้มีการเผยแพร่สู่สาธารณะไปกว่า 17 ประเทศว่า มีไข่ไก่จำนวนหลายล้านใบที่ปนเปื้อนยาฆ่าแมลงที่มีชื่อว่า Fipronil โดยสารดังกล่าวถูกผสมกับสารกำจัดศัตรูพืชชนิดอื่นๆ พ่นไปในเล้าไก่เพื่อใช้ในการกำจัดเห็บ หมัด และเหา ทำให้ระดับที่ตรวจพบสารดังกล่าวในบางแหล่งสูงถึง 1.2 mg/kg ซึ่งมากกว่าค่าขีดจำกัดปริมาณสารพิษตกค้างสูงสุด (Maximum Residue Limit, MRL) ที่กำหนดโดยสหภาพยุโรป (EU) ไว้ที่ 0.005 mg/kg สำหรับผลรวมความเข้มข้นของ Fipronil และ Fipronil Sulfone ซึ่งเป็นเมตาบอไลท์ของ Fipronil จึงมีความจำเป็นที่ต้องมีวิธีที่รวดเร็วและมีประสิทธิภาพสำหรับการตรวจหาสารทั้งสองชนิด ในไข่ไก่และเนื้อไก่

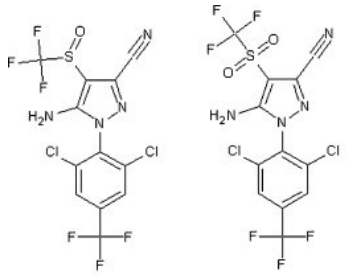
การเตรียมตัวอย่าง

การสกัดสาร Fipronil และ Fipronil Sulfone โดยใช้เทคนิค QuEChERS ตามขั้นตอนดังต่อไปนี้

Extraction
- Weigh 5 g homogenized eggs into 50 mL polypropylene tube and add 5 mL of water
- Add 10 mL acetonitrile, shake for 2 min
- Add 4 g $MgSO_4$ and 1 g NaCl (60105-340 HyperSep Mylar pouch 4000 mg Magnesium Sulfate and 1000 mg (NaCl)
- Shake for 2 min and centrifuge for 5 min at 4000 rpm

dSPE cleanup
- Transfer 4 mL of acetonitrile phase into empty 15 mL tube; avoid pipetting the hexane upper layer
- Add dSPE cleanup sorbent consisting of 600mg anhydrous $MgSO_4$ and 500 mg C18 (ACROS Organic, 413485000; C18 dSPE pouches – P/N 60105-367-SP)
- Shake for 2 min and centrifuge for 5 min at 4000 rpm

LC-MS/MS
- Transfer the supernatant into LC-MS vial
- Inject 1 µL into LC-MS system



รูปที่ 1 Fipronil (ซ้าย) และ Fipronil Sulfone (ขวา)

เครื่องมือวิเคราะห์ LC-MS/MS

- Thermo Scientific™ Ultimate 3000™ UHPLC
- Accucore™ aQ (2.6 µm, 2.1 x 100 mm) Column
- Thermo Scientific™ TSQ Quantis™ Mass Spectrometer

Column Temp.	**40 °C**		
Injection Vol.	1 µL		
Flow Rate	300 µL/min		
Mobile Phases	A: Water B: Methanol		
Gradient	Time(min)	%A	%B
	0.0	95	5
	0.2	95	5
	1.2	30	70
	3.0	0	100
	5.0	0	100
	5.1	95	5
	8.0	95	5

Compound	Retention Time (Min)	Polarity	Precursor (m/z)	Product (m/z)
Fipronil	3.46	Negative	434.93	249.96 329.99 398.85
Fipronil Sulfone	3.57	Negative	450.93	243.85 282.00 415.04

ผลการตรวจวิเคราะห์

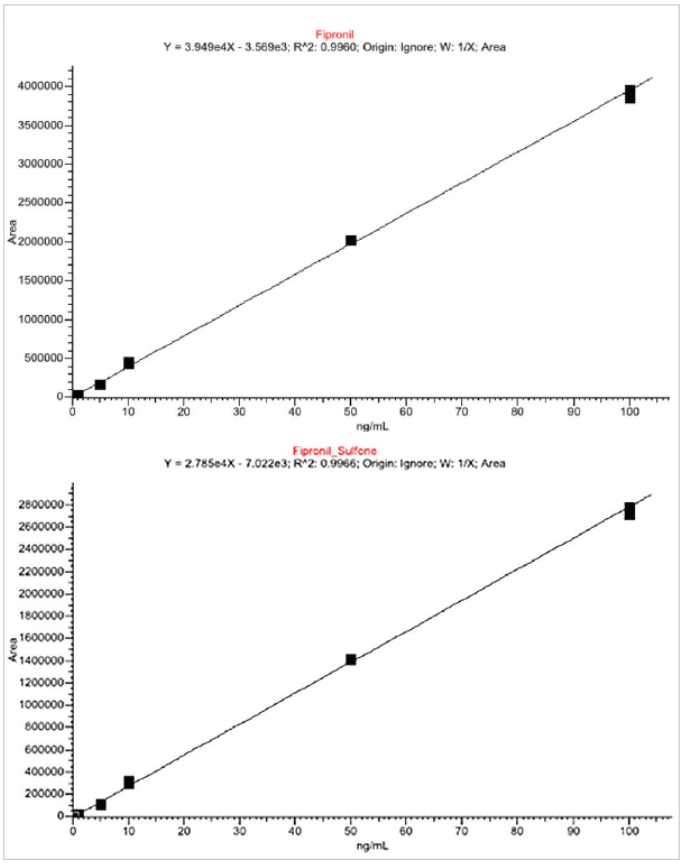
การใช้ Acetonitrile ในการสกัดตัวอย่างไข่ไก่ร่วมกับเทคนิค QuEChERS ใช้เวลาในการเตรียมเพียง 15 นาที และมีค่า %Recovery อยู่ในช่วง 80 - 110 สำหรับความเข้มข้น 0.5, 1 และ 5 ng/g

เส้นกราฟมาตรฐานของสารทั้ง 2 ชนิดครอบคลุมในช่วงความเข้มข้นตั้งแต่ 0.1 ถึง 100 ng/mL (รูปที่ 2) และจากการวิเคราะห์ด้วยโหมด Selected Reaction Monitoring (SRM) โดยใช้เวลาในวิเคราะห์เพียงตัวอย่างละ 8 นาที จะได้สัญญาณโครมาโทแกรมดังที่แสดงในรูปที่ 3 ซึ่งให้ความเสถียรของสัญญาณในการวิเคราะห์ (Signal Stability) ระหว่าง 100 ตัวอย่างอยู่ที่ RSD = 4.8 ถึง 5.9%

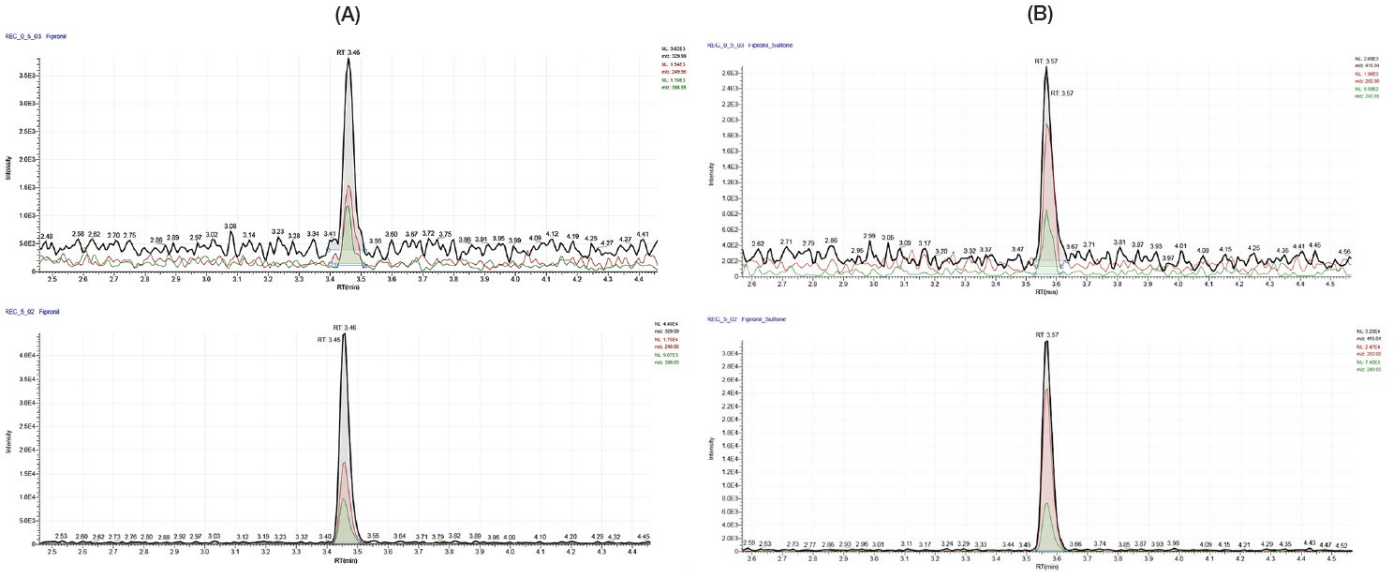
ทั้งนี้พบว่ามีค่า Lower Limits of Quantitation (LLOQ) เท่ากับ 0.0005 mg/kg สำหรับสารแต่ละตัว ซึ่งต่ำกว่าค่าที่ EU กำหนดไว้ถึง 5 เท่า และการควบคุมคุณภาพการวิเคราะห์ ยังเป็นไปตามหลักการของ SANTE11945/2015 จึงทำให้ระบบการวิเคราะห์ดังกล่าวเป็นระบบที่มีความรวดเร็ว และความน่าเชื่อถือสูงสำหรับการตรวจวัดสารตกค้างทั้ง 2 ชนิดในไข่ไก่

เอกสารอ้างอิง

Rapid analysis of fipronil and fipronil sulfone in eggs by liquid chromatography and triple quadrupole mass spectrometry (https://assets.thermofisher.com/TFS-Assets/CMD/Application-Notes/AB-72483-LC-MS-Fipronil-Residues-Eggs-AB72483-EN.pdf)



รูปที่ 2 Calibration Curve ของ Fipronil และ Fipronil Sulfone



รูปที่ 3 Chromatogram ของตัวอย่างไข่ไก่ที่มี Fipronil (A) และ Fipronil Sulfone (B) ความเข้มข้น 0.5 และ 5 ng/g

ติดตามแอพพลิเคชั่นอื่น ๆ ได้ที่ https://www.scispec.co.th

บริษัท ซายน์ สเปค จำกัด
10 กาญจนาภิเษก ซอย 0010 แยกสอง
เขตบางแค กทม. 10160
โทร 02-454-8533

/scispec
@scispec

ThermoFisher SCIENTIFIC