คำขอรับสิทธิบัตร/อนุสิทธิบัตร

☐ การประดิษฐ์
☐ การออกแบบผลิตภัณฑ์
☑ อนุสิทธิบัตร

ข้าพเจ้าผู้ลงลายมือชื่อในคำขอรับสิทธิบัตร/อนุสิทธิบัตรนี้
ขอรับสิทธิบัตร/อนุสิทธิบัตร ตามพระราชบัญญัติสิทธิบัตร พ.ศ. 2522
แก้ไขเพิ่มเติมโดยพระราชบัญญัติสิทธิบัตร (ฉบับที่ 2) พ.ศ. 2535
และ พระราชบัญญัติสิทธิบัตร (ฉบับที่ 3) พ.ศ. 2542

สำหรับเจ้าหน้าที่	
วันรับคำขอ 25/12/2568	เลขที่คำขอ 2503005085
วันยื่นคำขอ	
สัญลักษณ์จำแนกการประดิษฐ์ระหว่างประเทศ	
ใช้กับแบบผลิตภัณฑ์ ประเภทผลิตภัณฑ์	
วันประกาศโฆษณา	เลขที่ประกาศโฆษณา
วันออกสิทธิบัตร/อนุสิทธิบัตร	เลขที่สิทธิบัตร/อนุสิทธิบัตร
ลายมือชื่อเจ้าหน้าที่	

1. ชื่อที่แสดงถึงการประดิษฐ์/การออกแบบผลิตภัณฑ์ ชุดทดสอบไพราโคลสโตรบินแบบไมโครสเกลและคัดกรองอย่างง่ายด้วยวิธีเทียบแถบสีมาตรฐาน

2. คำขอรับสิทธิบัตรการออกแบบผลิตภัณฑ์นี้เป็นคำขอสำหรับแบบผลิตภัณฑ์อย่างเดียวกันและเป็นคำขอลำดับที่ _____
ในจำนวน _____ คำขอ ที่ยื่นในคราวเดียวกัน

3. ผู้ขอรับสิทธิบัตร/อนุสิทธิบัตร ☐ บุคคลธรรมดา ☐ นิติบุคคล ☑ หน่วยงานรัฐ ☐ มูลนิธิ ☐ อื่นๆ _____
ชื่อ มหาวิทยาลัยนเรศวร
ที่อยู่ เลขที่ 99 หมู่ 9
ตำบล/แขวง ทาโพธิ์ อำเภอ/เขต เมืองพิษณุโลก จังหวัด พิษณุโลก รหัสไปรษณีย์ 65000 ประเทศ ไทย
อีเมล kanyaratp@nu.ac.th
☐ เลขประจำตัวประชาชน ☐ เลขทะเบียนนิติบุคคล ☑ เลขประจำตัวผู้เสียภาษีอากร 0 9 9 4 0 0 0 4 7 7 8 8 1 ☐ เพิ่มเติม (ดังแนบ)
ในกรณีที่กรมฯ สื่อสารกับท่าน ท่านสะดวกใช้ทาง ☐ อีเมลผู้ขอ ☑ อีเมลตัวแทน

3.1 สัญชาติ ไทย
3.2 โทรศัพท์ 055-968727
3.3 โทรสาร

4. สิทธิในการขอรับสิทธิบัตร/อนุสิทธิบัตร
☐ ผู้ประดิษฐ์/ผู้ออกแบบ ☑ ผู้รับโอน ☐ ผู้ขอรับสิทธิโดยเหตุอื่น

5. ตัวแทน (ถ้ามี)
ชื่อ นางสาวศุลีรัตน์ สงนรินทร์
ที่อยู่ มหาวิทยาลัยนเรศวร 99 หมู่ที่ 9 ถนนนครสวรรค์-พิษณุโลก
ตำบล/แขวง ทาโพธิ์ อำเภอ/เขต เมืองพิษณุโลก จังหวัด พิษณุโลก รหัสไปรษณีย์ 65000 ประเทศ ไทย
อีเมล suleeratc@nu.ac.th
เลขประจำตัวประชาชน 3 6 5 9 9 0 0 4 9 0 7 4 5 ☐ เพิ่มเติม (ดังแนบ)

5.1 ตัวแทนเลขที่ 2517
5.2 โทรศัพท์ 081-5342533
5.3 โทรสาร

6. ผู้ประดิษฐ์/ผู้ออกแบบผลิตภัณฑ์ ☐ ชื่อและที่อยู่เดียวกันกับผู้ขอ
ชื่อ รองศาสตราจารย์วิภารัตน์ เชื้อชวด ชัยสิทธิ์
ที่อยู่ คณะวิทยาศาสตร์ มหาวิทยาลัยนเรศวร เลขที่ 99 หมู่ 9
ตำบล/แขวง ทาโพธิ์ อำเภอ/เขต เมืองพิษณุโลก จังหวัด พิษณุโลก รหัสไปรษณีย์ 65000 ประเทศ ไทย
อีเมล _____
เลขประจำตัวประชาชน 3 6 1 0 4 0 0 4 5 0 4 0 1 ☑ เพิ่มเติม (ดังแนบ)

7. คำขอรับสิทธิบัตร/อนุสิทธิบัตรนี้แยกจากหรือเกี่ยวข้องกับคำขอเดิม
ผู้ขอรับสิทธิบัตร/อนุสิทธิบัตร ขอให้ถือว่าได้ยื่นคำขอรับสิทธิบัตร/อนุสิทธิบัตรนี้ ในวันเดียวกับคำขอรับสิทธิบัตร
เลขที่ _____ วันยื่น _____ เพราะคำขอรับสิทธิบัตร/อนุสิทธิบัตรนี้แยกจากหรือเกี่ยวข้องกับคำขอเดิมเพราะ
☐ คำขอเดิมมีการประดิษฐ์หลายอย่าง ☐ ถูกคัดค้านเนื่องจากผู้ขอไม่มีสิทธิ ☐ ขอเปลี่ยนแปลงประเภทของสิทธิ

หมายเหตุ ในกรณีที่ไม่อาจระบุรายละเอียดได้ครบถ้วน ให้จัดทำเป็นเอกสารแนบท้ายแบบพิมพ์นี้โดยระบุหมายเลขกำกับข้อและหัวข้อที่แสดงรายละเอียดเพิ่มเติมดังกล่าวด้วย

สำหรับเจ้าหน้าที่			
จำแนกประเภทสิทธิบัตร/อนุสิทธิบัตร		สิทธิบัตรการออกแบบ	อนุสิทธิบัตร
☐ กลุ่มวิศวกรรม	☐ กลุ่มเคมี	☐ สิทธิบัตรการออกแบบ (ออกแบบผลิตภัณฑ์ 1)	☐ อนุสิทธิบัตร (วิศวกรรม)
สิทธิบัตรการประดิษฐ์ (วิศวกรรม)	สิทธิบัตรการประดิษฐ์ (เคมีเทคนิค)	☐ สิทธิบัตรการออกแบบ (ออกแบบผลิตภัณฑ์ 2)	☐ อนุสิทธิบัตร (เคมี)
สิทธิบัตรการประดิษฐ์ (ไฟฟ้า)	สิทธิบัตรการประดิษฐ์ (ปิโตรเคมี)	☐ สิทธิบัตรการออกแบบ (ออกแบบผลิตภัณฑ์ 3)	
สิทธิบัตรการประดิษฐ์ (ฟิสิกส์)	สิทธิบัตรการประดิษฐ์ (เทคโนโลยีชีวภาพ)		
	สิทธิบัตรการประดิษฐ์ (เภสัชภัณฑ์)		

Seal by E-Filing

8. การยื่นคำขอนอกราชอาณาจักร ☐ PCT ☐ เพิ่มเติม (ดังแนบ)

วันยื่นคำขอ	เลขที่คำขอ	ประเทศ	สัญลักษณ์จำแนกการประดิษฐ์ระหว่างประเทศ	สถานะคำขอ
8.1				
8.2				
8.3				

8.4 ☐ ผู้ขอรับสิทธิบัตร/อนุสิทธิบัตรขอสิทธิให้ถือว่าได้ยื่นคำขอนี้ในวันที่ได้ยื่นคำขอรับสิทธิบัตร/อนุสิทธิบัตรในต่างประเทศเป็นครั้งแรกโดย
☐ ได้ยื่นเอกสารหลักฐานพร้อมคำขอนี้ ☐ ขอยื่นเอกสารหลักฐานหลังจากวันยื่นคำขอนี้

9. การแสดงการประดิษฐ์หรือการออกแบบผลิตภัณฑ์ผู้ขอรับสิทธิบัตร/อนุสิทธิบัตรได้แสดงการประดิษฐ์ที่หน่วยงานของรัฐเป็นผู้จัด
วันแสดง _____ วันเปิดงานแสดง _____ ผู้จัด _____

10. การประดิษฐ์เกี่ยวกับจุลชีพ

10.1 เลขทะเบียนฝากเก็บ	10.2 วันที่ฝากเก็บ	10.3 สถาบันฝากเก็บ/ประเทศ

11. ผู้ขอรับสิทธิบัตร/อนุสิทธิบัตร ขอยื่นเอกสารภาษาต่างประเทศก่อนในวันยื่นคำขอนี้ และจะจัดยื่นคำขอรับสิทธิบัตร/อนุสิทธิบัตรนี้ที่จัดทำเป็นภาษาไทยภายใน 90 วัน นับจากวันยื่นคำขอนี้
โดยขอยื่นเป็นภาษา
☐ อังกฤษ ☐ ฝรั่งเศส ☐ เยอรมัน ☐ ญี่ปุ่น ☐ อื่นๆ _____

12. ผู้ขอรับสิทธิบัตร/อนุสิทธิบัตร ขอให้อธิบดีประกาศโฆษณาคำขอรับสิทธิบัตร หรือรับจดทะเบียน และประกาศโฆษณาอนุสิทธิบัตรนี้ หลังจากวันที่ _____
☐ ผู้ขอรับสิทธิบัตร/อนุสิทธิบัตรขอให้ใช้รูปเขียนหมายเลข _____ ในการประกาศโฆษณา

13. คำขอรับสิทธิบัตร/อนุสิทธิบัตรนี้ประกอบด้วย
ก. แบบพิมพ์คำขอ 3 หน้า
ข. รายละเอียดการประดิษฐ์
หรือคำพรรณนาแบบผลิตภัณฑ์ 17 หน้า
ค. ข้อถือสิทธิ 2 หน้า
ง. รูปเขียน _____ รูป _____ หน้า
จ. ภาพแสดงแบบผลิตภัณฑ์
☐ รูปเขียน _____ รูป _____ หน้า
☐ ภาพถ่าย _____ รูป _____ หน้า
ฉ. บทสรุปการประดิษฐ์ 1 หน้า

14. เอกสารประกอบคำขอ
☑ เอกสารแสดงสิทธิในการขอรับสิทธิบัตร/อนุสิทธิบัตร
☐ หนังสือรับรองการแสดงการประดิษฐ์/การออกแบบผลิตภัณฑ์
☑ หนังสือมอบอำนาจ
☐ เอกสารรายละเอียดเกี่ยวกับจุลชีพ
☐ เอกสารการขอนับวันยื่นคำขอในต่างประเทศเป็นวันยื่นคำขอในประเทศไทย
☐ เอกสารขอเปลี่ยนแปลงประเภทของสิทธิ
☐ เอกสารอื่นๆ

15. ข้าพเจ้าขอรับรองว่า
☑ การประดิษฐ์นี้ไม่เคยยื่นขอรับสิทธิบัตร/อนุสิทธิบัตรมาก่อน
☐ การประดิษฐ์นี้ได้พัฒนาปรับปรุงมาจาก _____

16. ลายมือชื่อ
☐ ผู้ขอรับสิทธิบัตร/อนุสิทธิบัตร ☑ ตัวแทน
(นางสาวศุลีรัตน์ สงนรินทร์)

หมายเหตุ บุคคลใดยื่นขอรับสิทธิบัตรการประดิษฐ์หรือการออกแบบผลิตภัณฑ์ หรืออนุสิทธิบัตร โดยการแสดงข้อความอันเป็นเท็จแก่พนักงานเจ้าหน้าที่ เพื่อให้ได้ไปซึ่งสิทธิบัตรหรืออนุสิทธิบัตร ต้องระวางโทษจำคุกไม่เกินหกเดือน หรือปรับไม่เกินห้าพันบาท หรือทั้งจำทั้งปรับ

ใบแนบต่อท้าย สป/สผ/001-ก

6. ผู้ประดิษฐ์/ผู้ออกแบบผลิตภัณฑ์

2. ชื่อ ผู้ช่วยศาสตราจารย์อัจฉรา อิ่มคำ พุฒคำ
ที่อยู่ คณะวิทยาศาสตร์ มหาวิทยาลัยนเรศวร เลขที่ 99 หมู่ 9 ต.ท่าโพธิ์ อ.เมืองพิษณุโลก จ.พิษณุโลก 65000 ประเทศ ไทย
สัญชาติ ไทย
เลขประจำตัวประชาชน 3659900022148

3. ชื่อ ผู้ช่วยศาสตราจารย์วันวิสา เจนรุ่งโรจน์สกุล
ที่อยู่ คณะวิทยาศาสตร์ มหาวิทยาลัยนเรศวร เลขที่ 99 หมู่ 9 ต.ท่าโพธิ์ อ.เมืองพิษณุโลก จ.พิษณุโลก 65000 ประเทศ ไทย
สัญชาติ ไทย
เลขประจำตัวประชาชน 3640800021281

4. ชื่อ ผู้ช่วยศาสตราจารย์อัญชลี สิริกุลขจร
ที่อยู่ คณะวิทยาศาสตร์ มหาวิทยาลัยนเรศวร เลขที่ 99 หมู่ 9 ต.ท่าโพธิ์ อ.เมืองพิษณุโลก จ.พิษณุโลก 65000 ประเทศ ไทย
สัญชาติ ไทย
เลขประจำตัวประชาชน 3509900227085

5. ชื่อ นางสาวสกุลนา วงค์สายปัน
ที่อยู่ คณะวิทยาศาสตร์ มหาวิทยาลัยนเรศวร เลขที่ 99 หมู่ 9 ต.ท่าโพธิ์ อ.เมืองพิษณุโลก จ.พิษณุโลก 65000 ประเทศ ไทย
สัญชาติ ไทย
เลขประจำตัวประชาชน 1560100262507

Seal by E-Filing

รายละเอียดการประดิษฐ์

ชื่อที่แสดงถึงการประดิษฐ์

ชุดทดสอบไพราโคลสโตรบินแบบไมโครสเกลและคัดกรองอย่างง่ายด้วยวิธีเทียบแถบสีมาตรฐาน

สาขาวิทยาการที่เกี่ยวข้องกับการประดิษฐ์

สาขาเคมีสิ่งแวดล้อม และเคมีวิเคราะห์ ในส่วนที่เกี่ยวข้องกับชุดทดสอบไพราโคลสโตรบินแบบไมโครสเกลและคัดกรองอย่างง่ายด้วยวิธีเทียบแถบสีมาตรฐาน

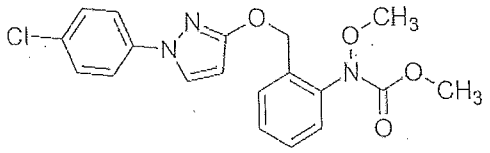
ภูมิหลังของศิลปะหรือวิทยาการที่เกี่ยวข้อง

สารไพราโคลสโตรบิน (pyraclostrobin) เป็นสารป้องกันและกำจัดเชื้อราในพืชที่ใช้กันอย่างแพร่หลาย อยู่ในกลุ่มสโตรบิลูริน (strobilurin) สารไพราโคลสโตรบินทำงานโดยการยับยั้งการหายใจของไมโตคอนเดรีย โดยการขัดขวางการถ่ายโอนอิเล็กตรอนในการหายใจซึ่งส่งผลให้การเจริญเติบโตของเชื้อราหยุดลง แม้ว่าจะมีประโยชน์ในการใช้งานทางการเกษตรแต่ยังสามารถคงอยู่ในสิ่งแวดล้อมเป็นเวลานาน สารไพราโคสโตรบินมีความสามารถในการละลายในไขมันได้ดี และเป็นอันตรายต่อสิ่งมีชีวิตในน้ำโดยเฉพาะปลา สารไพราโคสโตรบินมีการออกฤทธิ์กว้างขวาง ใช้ป้องกันกำจัดโรคพืช เช่น โรคกุ้งแห้งในพริก โรคใบติดในทุเรียน โรคต้นแตกยางไหลในพืชตระกูลแตง และโรคใบไหม้แผลใหญ่ในข้าวโพด เป็นต้น สามารถออกฤทธิ์ทั้งการป้องกัน การรักษา และยับยั้งการสร้างสปอร์ของเชื้อรา ดูดซึมเข้าสู่พืชได้อย่างรวดเร็ว โดยสามารถซึมผ่านผิวใบด้านบนสู่ใต้ใบได้ ปกติจะมีอัตราใช้ 10-15 ซีซี ต่อน้ำ 20 ลิตร ปัจจุบันสารไพราโคลสโตรบินเป็นสารกำจัดเชื้อราที่ใช้กันอย่างกว้างขวางโดยถูกนำมาใช้ในการผลิตทางการเกษตร การใช้สารกำจัดเชื้อราชนิดนี้อย่างไม่ถูกต้องหรือใช้ในปริมาณที่มากเกินไปสามารถเกิดการปนเปื้อนเข้าสู่สิ่งแวดล้อม ซึ่งส่งผลให้มีการสะสมของสารกำจัดเชื้อราในดินและในระบบนิเวศทางน้ำได้ การปนเปื้อนนี้ส่งผลกระทบต่อสิ่งมีชีวิตในน้ำ ความปลอดภัยของอาหาร และสุขภาพของมนุษย์ได้ ดังนั้นการพัฒนาชุดทดสอบสารไพราโคลสโตรบินจึงมีความน่าสนใจอย่างยิ่ง

สารไพราโคลสโตรบินเป็นสารประเภทดูดซึม การออกฤทธิ์ของสารคือ ยับยั้งการสร้างสปอร์ของเชื้อราทั้งภายในและภายนอก โดยจะเข้ากำจัดสปอร์ของเชื้อราที่อยู่บนผิวใบและแทรกซึมเข้าทำลายเส้นใยเชื้อราที่อยู่ภายใน มีประสิทธิภาพในการป้องกันกำจัดเชื้อราสาเหตุโรคพืชได้หลายชนิด เช่น ในนาข้าว ในไม้ผล เช่น ทุเรียน เงาะ มังคุด ลำไย มะม่วง เป็นต้น ในผัก เช่น คะน้า กวางตุ้ง ผักกาดขาว หอมหัวใหญ่ หอมแดง กระเทียม ผักชี ข้าวโพด พริก มะเขือเทศ พืชตระกูลแตง เป็นต้น ในนาข้าวใช้ป้องกันกำจัดโรคที่เกิดจากเชื้อราในข้าวได้ทุกชนิด เช่น โรคเมล็ดด่าง โรคใบจุดสีน้ำตาล โรคกาบใบแห้ง โรคใบขีดสีน้ำตาล เป็นต้น โดยเกษตรกรนิยมพ่นเมื่อพบอาการของโรคจำนวน 2 ครั้ง ทุก 7 วันหรือพ่น 2 ครั้ง ระยะข้าวตั้งท้อง และระยะข้าวออกรวงใช้อัตราการใช้ 10-15 ซีซีต่อน้ำ 20 ลิตร ในพืชผัก เช่น โรคแอนแทรคโนสในพริก โรคยอดเน่าเปียกในพริก โรคใบจุดสีม่วงในหอม กระเทียม โรคใบจุดในผักกินใบ โรคต้นแตกยางไหลในพืชตระกูลแตง โรคใบไหม้แผลใหญ่ในข้าวโพด เป็นต้น โดยใช้อัตราการใช้ 10-15 ซีซีต่อน้ำ 20 ลิตร พ่นเมื่อพบการระบาดของโรค ในไม้ผล เช่น โรคแอนแทรคโนสในมะม่วง ใช้อัตราการใช้ 10-15 ซีซีตอนนั้น 20 ลิตรพ่นเมื่อพบอาการระบาดของโรค ระยะปลอดฝนสั้น 1-2 ชั่วโมง [1]

Seal by E-Filing

สารไพราโคลสโตรบิน (Pyraclostrobin) หรือ methyl N-2-(1-(4-chlorophenyl)-1 h-pyrazol-3-yloxymethyl) phenyl Carbamate เป็นสารกำจัดเชื้อราที่ใช้อย่างแพร่หลายในการเกษตร เป็นสารในกลุ่ม strobilurin fungicides มีสูตรโมเลกุล $C_{19}H_{18}ClN_3O_4$ โครงสร้างทางเคมีของสารไพราโคลสโตรบินแสดงดังรูปที่ 1 ใช้ควบคุมโรคพืชที่เกิดจากเชื้อรา เช่น โรคใบจุด ราสนิม และโรคราแป้ง มีประสิทธิภาพสูงในการยับยั้งการงอกของสปอร์และการเจริญเติบโตของเส้นใยเชื้อรา การสัมผัสทางผิวหนังอาจทำให้เกิดการระคายเคือง การสูดดมอาจทำให้เกิดการระคายเคืองต่อระบบทางเดินหายใจ การกลืนกินอาจทำให้เกิดอาการคลื่นไส้ อาเจียน และท้องร่วง การได้รับในปริมาณสูงอาจส่งผลกระทบต่อระบบประสาทและตับ ผลกระทบต่อสิ่งแวดล้อม มีความเป็นพิษต่อสิ่งมีชีวิตในน้ำ อาจส่งผลกระทบต่อแมลงที่เป็นประโยชน์ เช่น ผึ้งและแมลงผสมเกสร มีความคงทนในดินปานกลาง โดยมีค่าครึ่งชีวิตประมาณ 32-73 วัน สามารถสลายตัวได้โดยแสงแดดและจุลินทรีย์ในดิน อาจปนเปื้อนในแหล่งน้ำผิวดินและน้ำใต้ดินหากใช้ในปริมาณมากหรือไม่ถูกวิธี ค่ามาตรฐาน MRL (Maximum Residue Limit) ปริมาณสารพิษตกค้างสูงสุดที่ยอมให้มีได้ในผลิตผลทางการเกษตร โดยมีหน่วยงานต่างๆ เช่น Codex Alimentarius Commission (CAC) กำหนดค่า MRL สำหรับสารไพราโคลสโตรบิน ในแอปเปิ้ล องุ่น มะเขือเทศ ส้ม ควรมีค่าไม่เกิน 0.5, 2 , 0.3 และ 2 มิลลิกรัมต่อกิโลกรัม ตามลำดับ [2] ค่า MRL อาจแตกต่างกันในแต่ละประเทศหรือภูมิภาค ขึ้นอยู่กับนโยบายและการประเมินความเสี่ยงของแต่ละหน่วยงาน สารไพราโคลสโตรบินเป็นสารกำจัดเชื้อราที่มีประสิทธิภาพสูง แต่ก็มีความเสี่ยงต่อสุขภาพมนุษย์และสิ่งแวดล้อมหากใช้อย่างไม่เหมาะสม การปฏิบัติตามคำแนะนำในการใช้ การกำหนดค่า MRL และการตรวจสอบการตกค้างอย่างสม่ำเสมอเป็นสิ่งสำคัญในการรักษาสมดุลระหว่างประโยชน์ทางการเกษตรและความปลอดภัยของผู้บริโภคและสิ่งแวดล้อม การศึกษาวิจัยเพิ่มเติมเกี่ยวกับผลกระทบระยะยาวและวิธีการลดการใช้สารเคมีกำจัดศัตรูพืชยังคงเป็นสิ่งจำเป็นเพื่อการพัฒนาการเกษตรที่ยั่งยืนในอนาคต



รูปที่ 1 โครงสร้างทางเคมีของไพราโคลสโตรบิน [3]

แม้ว่าไพราโคลสโตรบินจะมีความเป็นพิษปานกลางต่อมนุษย์เมื่อเทียบกับสารกำจัดศัตรูพืชบางชนิด แต่การสัมผัสในระยะยาวหรือการได้รับสารในปริมาณมากอาจก่อให้เกิดผลกระทบต่อสุขภาพได้ มีรายงานการเกิดอาการระคายเคืองต่อผิวหนังและดวงตา รวมถึงการระคายเคืองต่อระบบทางเดินหายใจเมื่อสูดดมละอองของสารนี้ นอกจากนี้ ยังมีข้อกังวลเกี่ยวกับผลกระทบระยะยาวที่อาจเกิดขึ้น แม้ว่าจะยังไม่มีหลักฐานชัดเจนว่าไพราโคลสโตรบินก่อให้เกิดมะเร็งหรือส่งผลกระทบต่อระบบสืบพันธุ์ในมนุษย์ แต่การศึกษาเพิ่มเติมในระยะยาวยังคงมีความจำเป็น การใช้สารกำจัดเชื้อราอย่างไม่เหมาะสมและต่อเนื่องอาจนำไปสู่การพัฒนาความต้านทานของเชื้อราต่อสารเคมี ซึ่งเป็นปัญหาที่พบได้บ่อยในการใช้สารกำจัดศัตรูพืช การเกิดความต้านทานนี้จะทำให้ประสิทธิภาพของสารลดลง นำไปสู่การใช้สารในปริมาณที่มากขึ้นหรือการเปลี่ยนไปใช้สารเคมีที่มีความเป็นพิษสูงขึ้น ซึ่งจะยิ่งเพิ่มความเสี่ยงต่อสุขภาพและสิ่งแวดล้อม การตกค้างของไพราโคลสโตรบินในผลผลิตทางการเกษตรเป็นอีกประเด็นที่ต้องให้

Seal by E-Filing

ความสำคัญ แม้ว่าสารนี้จะสลายตัวได้ในสิ่งแวดล้อม แต่การใช้ในปริมาณมากเกินไปหรือการเก็บเกี่ยวผลผลิตก่อนระยะเวลาปลอดภัย อาจทำให้มีสารตกค้างในระดับที่เกินมาตรฐานความปลอดภัย ซึ่งอาจส่งผลกระทบต่อผู้บริโภคและเป็นอุปสรรคในการส่งออกผลผลิตทางการเกษตรได้

การตรวจวิเคราะห์สารไพราโคลสโตรบินโดยทั่วไปต้องอาศัยการวิเคราะห์ด้วยเครื่องมือขั้นสูงในห้องปฏิบัติการ เช่น เทคนิคโครมาโตกราฟีของเหลวสมรรถนะสูง (HPLC) แก๊สโครมาโตกราฟี และเอนไซม์อิมมูโนเอสเสย์ เป็นต้น ซึ่งมีค่าใช้จ่ายในการวิเคราะห์ค่อนข้างสูง จำเป็นต้องทำในห้องปฏิบัติการ และยังต้องอาศัยความชำนาญในการวิเคราะห์อีกด้วย วิธีอ้างอิงมาตรฐานสำหรับการวิเคราะห์ไพราโคลสโตรบินโดยองค์การ FAO/WHO ได้ใช้วิธีวิเคราะห์ LC/MS/MS สำหรับไพราโคลสโตรบินและเมทาบอไลต์ในตัวอย่างพืช ซึ่งแม่นยำสูงแต่ใช้เครื่องมือราคาแพง บุคลากรเชี่ยวชาญ และใช้เวลาในการเตรียมตัวอย่างและการวิเคราะห์นาน ทำให้ไม่เหมาะต่อการทดสอบแบบคัดกรองภาคสนามแบบจำนวนมาก [4] ถึงแม้ว่าในปัจจุบันมีการผลิตชุดทดสอบสารไพราโคลสโตรบินจากบริษัทผู้ผลิตต่างประเทศ โดยอาศัยวิธีอิมมูโนโครมาโตกราฟี (immunochromatographic method) ซึ่งใช้เวลาในการทดสอบมากกว่า 15 นาทีต่อหนึ่งตัวอย่าง อย่างไรก็ตามชุดทดสอบดังกล่าวมีราคาค่อนข้างสูง และยังต้องอาศัยการนำเข้าจากต่างประเทศ จากปัญหาและความท้าทายดังกล่าว จึงมีความจำเป็นอย่างยิ่งในการพัฒนาเครื่องมือและวิธีการที่มีประสิทธิภาพ รวดเร็ว และประหยัดค่าใช้จ่ายในการตรวจสอบและติดตามปริมาณไพราโคลสโตรบินในสิ่งแวดล้อมและผลผลิตทางการเกษตร เทคนิคการวิเคราะห์โดยใช้เครื่องมือ เช่น โครมาโตกราฟีของเหลวสมรรถนะสูง (HPLC) หรือแก๊สโครมาโตกราฟี-แมสสเปกโตรเมตรี (GC-MS) แม้จะมีความแม่นยำสูง แต่เครื่องมือมีราคาแพง ใช้เวลานาน และต้องการผู้เชี่ยวชาญในการดำเนินการ ทำให้ไม่เหมาะสมสำหรับการตรวจสอบภาคสนามหรือการใช้งานในวงกว้าง ด้วยเหตุนี้การพัฒนาชุดทดสอบสารกำจัดเชื้อราไพราโคลสโตรบินแบบไมโครสเกลและเทียบแถบสีมาตรฐาน ร่วมกับการสกัดแบบจุลภาคสำหรับตัวอย่างสิ่งแวดล้อมและผลผลิตทางการเกษตร จึงเป็นแนวทางที่มีศักยภาพสูงในการแก้ไขปัญหาดังกล่าว โดยมีเป้าหมายหลักคือการพัฒนาชุดทดสอบที่มีสภาพไว ความจำเพาะเจาะจง และความแม่นยำ นอกจากนี้ขั้นตอนการใช้งานที่ง่าย รวดเร็ว และสามารถใช้งานได้ในภาคสนาม จากการศึกษาค้นคว้างานวิจัยที่เกี่ยวข้อง ยังไม่มีคณะวิจัยกลุ่มใดพัฒนาชุดทดสอบไพราโคลสโตรบินแบบไมโครสเกลและคัดกรองอย่างง่ายด้วยวิธีเทียบแถบสีมาตรฐานมาก่อน ดังนั้นการประดิษฐ์นี้จึงสนใจพัฒนาชุดทดสอบไพราโคลสโตรบิน เพื่อหาปริมาณสารไพราโคลสโตรบินที่ปนเปื้อนในผลผลิตทางการเกษตร ซึ่งสามารถนำไปใช้ในภาคสนาม และมีความสะดวกในการวิเคราะห์

จากการค้นคว้างานวิจัยที่เกี่ยวข้องพบว่าการวิเคราะห์สารไพราโคลสโตรบินโดยทั่วไปจะอาศัยการวิเคราะห์ด้วยเครื่องมือขั้นสูง จำเป็นต้องทำการวิเคราะห์ในห้องปฏิบัติการ และต้องอาศัยความชำนาญในการตรวจวิเคราะห์ เช่น เทคนิคโครมาโตกราฟีของเหลวสมรรถนสูง (HPLC) โดยใช้ตัวตรวจวัดเป็นแมสสเปคโตรมิเตอร์ และยูวีดีเทคเตอร์, เทคนิคแก๊สโครมาโตกราฟี-แมสสเปคโตรเมตรี, เทคนิคเคมีวิเคราะห์เชิงไฟฟ้า (Electrochemical analysis) และเทคนิคคาปิลราลีอิเล็กโตรฟอริซิส ถึงแม้ว่าเครื่องมือวิเคราะห์ดังกล่าวนี้จะให้สภาพไวในการวิเคราะห์สูงและขีดจำกัดต่ำสุดในการวิเคราะห์ที่ดี แต่มีข้อเสียคือมีค่าใช้จ่ายในการวิเคราะห์สูง ไม่เหมาะกับการนำไปใช้ในภาคสนามซึ่งต้องการผลการตรวจสอบแบบคัดกรองและรู้ผลเร็วได้ นอกจากนี้ยังต้อง

Seal by E-Filing

อาศัยความชำนาญในการเตรียมตัวอย่างและวิเคราะห์ในห้องปฏิบัติการอีกด้วย เทคนิคสเปคโตรโฟโตเมตรีและการวัดสีเป็นเทคนิคหนึ่งที่น่าสนใจในการนำมาใช้พัฒนาชุดทดสอบสารไพราโคลสโตรบินโดยอาศัยหลักการเกิดปฏิกิริยากับรีเอเจนต์ที่เฉพาะเจาะจงแล้วทำให้เกิดสีของผลิตภัณฑ์ จากการศึกษาค้นคว้างานวิจัยที่เกี่ยวข้องกับการวิเคราะห์ไพราโคลสโตรบิน สามารถสรุปได้ดังต่อไปนี้

Yule และคณะ [5] ได้เสนอวิธีตรวจวัดสารกำจัดเชื้อราตกค้างชนิดสโตรบิลูริน 7 ชนิดในสมุนไพรจีนโดยใช้เทคนิค LC-MS/MS ได้แก่ Z-metominostrobin, kresoxim-methyl, dimoxystrobin, picoxystrobin, pyraclostrobin, azoxystrobin และ trifloxystrobin โดยทำการสกัดตัวอย่างด้วยเอทิลอะซีเตท และทำความสะอาดตัวอย่างด้วยการสกัดด้วยเฟสของแข็ง สารฆ่าเชื้อรา 7 ชนิดถูกแยกด้วยคอลัมน์ C18 โดยใช้สารละลายกรดฟอร์มิก 1.0% และเมทานอลเป็นเฟสเคลื่อนที่ และตรวจวัดโดยเครื่อง ESI-MS พบว่าขีดจำกัดในการวิเคราะห์เชิงปริมาณ (LOQs) มีค่าเท่ากับ 2 ไมโครกรัมต่อกิโลกรัม สำหรับ dimoxystrobin, picoxystrobin และ trifloxystrobin, 4 ไมโครกรัมต่อกิโลกรัม สำหรับ pyraclostrobin และ azoxystrobin, 10 ไมโครกรัมต่อกิโลกรัมสำหรับ Z-metominostrobin และ kresoxim-methyl ค่าร้อยละการกลับคืนมีค่าระหว่าง 60.4% ถึง 110% โดยมีค่าความเบี่ยงเบนมาตรฐานสัมพัทธ์อยู่ในช่วง 1.2% ถึง 17% ได้นำวิธีที่พัฒนาขึ้นไปวิเคราะห์สารฆ่าเชื้อราตกค้างในสมุนไพรจีน

Martínez และคณะ [6] ได้เสนอวิธีวิเคราะห์สารกำจัดเชื้อรา ametoctradin, boscalid, cyazofamid, dimethomorph, fenhexamid, kresoxim-methyl, mepanipyrim, metrafenone และ pyraclostrobin ในองุ่นและไวน์ โดยใช้วิธีการสกัดแบบ QuEChERS (Quick, Easy, Cheap, Effective, Rugged, and Safe) การวิเคราะห์ทำโดยใช้เทคนิค LC/triple quadrupole-MS/MS โดยใช้คอลัมน์ Poroshell 120 EC-C18 และเฟสเคลื่อนที่แบบเกรเดียนเป็นอะซิโตไนไตรล์ผสมกรดฟอร์มิก 0.1% และ น้ำที่มีกรดฟอร์มิก 0.1% ผสมกับแอมโมเนียมฟอร์เมต ความเข้มข้น 2 mM วิธีที่พัฒนาขึ้นให้ช่วงความเป็นเส้นตรงเท่ากับ 5-100 ไมโครกรัมต่อลิตร โดยมีค่า R^2 สูงกว่า 0.998 และค่าเบี่ยงเบนมาตรฐานสัมพัทธ์ต่ำกว่า 18% ค่าร้อยละการกลับคืนมีค่ามากกว่า 73.2% ในองุ่นและ 76.7% ในไวน์ ได้นำวิธีนี้ไปตรวจวัดสารฆ่าเชื้อราในตัวอย่างองุ่นและไวน์เพื่อการตรวจสอบความปลอดภัยในอุตสาหกรรมอาหารและเครื่องดื่ม

Farha และคณะ [7] ได้พัฒนาวิธีวิเคราะห์สารไพราโคลสโตรบินในใบงาขี้ม้อน (perilla leaves) โดยใช้เทคนิคโครมาโทกราฟีของเหลวร่วมกับการตรวจวัดการดูดกลืนแสงอัลตราไวโอเลต (LC-UV) เนื่องจากใบงาขี้ม้อนมีสารรบกวนหลายชนิด ทำให้ยากต่อการวิเคราะห์และแยกสาร เพื่อแก้ปัญหาดังกล่าวจึงได้พัฒนาวิธีเตรียมตัวอย่างแบบใหม่ โดยใช้การสกัดด้วยเฟสของแข็ง (solid-phase extraction) ร่วมกับ dispersive solid-phase extraction พบว่าสามารถวิเคราะห์ปริมาณสารที่สนใจได้โดยใช้วิธีการเทียบกราฟมาตรฐาน (external calibration) ซึ่งให้ค่าสัมประสิทธิ์สหสัมพันธ์ (R^2) เท่ากับ 0.997 ได้ศึกษาความถูกต้องในการวิเคราะห์ โดยทำการทดลองซ้ำ 3 ครั้ง ที่ระดับความเข้มข้น 3 ระดับ พบว่าสามารถสกัดสารที่สนใจได้ 79.06-89.10% โดยมีค่าเบี่ยงเบนมาตรฐานสัมพัทธ์น้อยกว่า 4 ค่าขีดจำกัดต่ำสุดในการวิเคราะห์ (LOD) และขีดจำกัดในการวิเคราะห์เชิงปริมาณ (LOQ) อยู่ที่ 0.0033 และ 0.01 มิลลิกรัมต่อกิโลกรัม ตามลำดับ

Seal by E-Filing

You และคณะ [8] ได้การพัฒนาเทคนิคใหม่ในการสกัดแบบจุลภาคโดยใช้คลื่นเสียงความถี่สูงช่วยในการสกัดและใช้สารลดแรงตึงผิวทำให้เกิดการกระจายตัว โดยทำให้หยดของตัวทำละลายอินทรีย์เกิดการแข็งตัวและลอยอยู่ชั้นบน จากนั้นวิเคราะห์โดยใช้เทคนิคโครมาโทกราฟีของเหลวสมรรถนะสูงร่วมกับการตรวจวัดด้วยไดโอดอาเรย์ เพื่อวิเคราะห์สารกำจัดเชื้อราตกค้าง 6 ชนิดพร้อมกันในตัวอย่างน้ำผลไม้และไวน์แดง วิธีการนี้ใช้ 1-dodecanol เป็นตัวทำละลายอินทรีย์ซึ่งมีความเป็นพิษต่ำ เนื่องจากมีความหนาแน่นต่ำและมีจุดหลอมเหลวที่เหมาะสมใกล้อุณหภูมิห้อง ทำให้สามารถแยกหยดของตัวทำละลายอินทรีย์จากการสกัดได้ง่ายโดยการทำให้แข็งตัวที่อุณหภูมิต่ำ สารลดแรงตึงผิวที่ใช้คือ Tween 80 โดยทำหน้าที่เป็นสารอิมัลซิไฟเออร์เพื่อเพิ่มการกระจายตัวของสารสกัดที่ไม่ละลายได้ในน้ำเข้าสู่ชั้นน้ำ ซึ่งช่วยเร่งการถ่ายเทมวลของสารที่สนใจวิเคราะห์ในการสกัดได้ วิธีนี้ไม่จำเป็นต้องใช้ตัวทำละลายอินทรีย์สำหรับกระจายเฟส (Dispersive solvent) ได้ศึกษาสภาวะที่เหมาะสม และผลของพารามิเตอร์ต่อประสิทธิภาพในการสกัด เช่น ประเภทและปริมาตรของสารสกัด ประเภทและความเข้มข้นของสารลดแรงตึงผิว เวลาในการสกัดด้วยคลื่นเสียงความถี่สูง ผลของการเติมเกลือ และปริมาตรของตัวอย่าง วิธีที่นำเสนอมีช่วงความเป็นเส้นตรง 5-100 ไมโครกรัมต่อลิตร โดยมีค่าสัมประสิทธิ์สหสัมพันธ์ (R^2) มากกว่า 0.9969 ขีดจำกัดต่ำสุดในการวิเคราะห์อยู่ในช่วง 0.4 ถึง 1.4 ไมโครกรัมต่อลิตร วิธีนี้มีขั้นตอนที่ง่าย ใช้งานได้จริง ให้สภาพไวในการวิเคราะห์ที่ดี และเป็นมิตรต่อสิ่งแวดล้อม ได้นำไปใช้ในการวิเคราะห์สารกำจัดเชื้อราในตัวอย่างน้ำผลไม้และไวน์แดงได้ผลเป็นที่น่าพอใจ ค่าร้อยละการกลับคืนในตัวอย่างไวน์แดงและน้ำผลไม้อยู่ในช่วง 79.5%-113.4% และค่าความเบี่ยงเบนมาตรฐานสัมพัทธ์อยู่ในช่วง 0.4% ถึง 12.3%

Wu และคณะ [9] ได้พัฒนาวิธีวิเคราะห์สารกำจัดเชื้อรา 3 ชนิด ได้แก่ difenoconazole, propiconazole และ pyraclostrobin ในพริกและดิน โดยใช้เทคนิค Liquid chromatography–electrospray ionization tandem mass spectrometry (LC-ESI-MS/MS) โดยทำสกัดสารตกค้างจากตัวอย่างด้วยอะซิโตไนไตรล์ ทำความสะอาดสารสกัดด้วยวิธี dispersive solid-phase extraction จากนั้นทำการวิเคราะห์ด้วยเครื่อง LC-ESI-MS/MS ผลการศึกษาพบว่าขีดจำกัดในการวิเคราะห์เชิงปริมาณ (LOQ) อยู่ที่ 0.005 มิลลิกรัมต่อกิโลกรัม และขีดจำกัดต่ำสุดในการวิเคราะห์ (LOD) อยู่ที่ 0.0015 มิลลิกรัมต่อกิโลกรัม ในตัวอย่างพริกและดิน จากการทดสอบความแม่นยำและความถูกต้องของวิธีการวิเคราะห์ พบว่าค่าร้อยละการกลับคืนโดยเติมสารมาตรฐานลงในตัวอย่างพริกและดิน 3 ระดับ พบว่า Difenoconazole มีค่าร้อยละการกลับคืนอยู่ในช่วง 79.62–103.15% Propiconazole มีค่าร้อยละการคืนกลับอยู่ในช่วง 85.94–103.35% และ Pyraclostrobin มีค่าการคืนกลับอยู่ในช่วง 80.14–97.69% และมีค่าเบี่ยงเบนมาตรฐานสัมพัทธ์น้อยกว่า 6.5% ค่าครึ่งชีวิตของสารกำจัดเชื้อราทั้ง 3 ชนิดในพริกอยู่ในช่วง 5.3–11.5 วัน ค่าครึ่งชีวิตของสารกำจัดเชื้อราทั้ง 3 ชนิดในดินอยู่ในช่วง 6.1–32.5 วัน เมื่อเก็บเกี่ยวผลผลิตหลังจากการใช้สารตามคำแนะนำครั้งสุดท้าย 21 วัน พบว่าปริมาณสารตกค้างทั้ง 3 ชนิดในตัวอย่างพริกต่ำกว่าค่าปริมาณสารพิษตกค้างสูงสุด (MRL) ที่กำหนดโดยสหภาพยุโรป

Huang และคณะ [10] ได้พัฒนาเทคนิคการสกัดแบบจุลภาคด้วยของเหลว-ของเหลวกระจายตัว (Dispersive liquid–liquid microextraction) โดยอาศัยใช้การแข็งตัวของหยดตัวทำละลายอินทรีย์ที่ร่วมกับการวิเคราะห์ด้วยลิควิดโครมาโทกราฟี (DLLME-SFOD-HPLC) สำหรับการตรวจวัดสารกำจัดเชื้อรากลุ่มสตโรบิลูริน

Seal by E-Filing

(azoxystrobin, pyraclostrobin และ trifloxystrobin) ในธัญพืช โดยใช้กรดไขมันจากธรรมชาติเป็นตัวทำละลายในการสกัดเนื่องจากมีความเป็นพิษต่ำ ความหนาแน่นต่ำ และจุดเยือกแข็งต่ำ ในขั้นตอนการสกัดเริ่มด้วยการกระจายตัวเป็นหยดเล็กด้วย nonanoic acid ในสารละลายตัวอย่าง จากนั้นทำให้สารสกัดเกิดการแข็งตัวและลอยบนชั้นบนของสารละลายตัวอย่าง หลังจากผ่านการปั่นเหวี่ยงและจุ่มลงในอ่างน้ำแข็ง ได้ทำการศึกษาสภาวะที่เหมาะสมในการสกัดแบบ DLLME ด้วยวิธี Box-Behnken ได้สภาวะที่เหมาะสมดังนี้ ปริมาตรของ nonanoic acid เท่ากับ 82 ไมโครลิตร ปริมาตรของอะซิโตไนไตรล์เท่ากับ 620 ไมโครลิตร และปริมาณเกลือเท่ากับ 256 มิลลิกรัม ภายใต้สภาวะที่เหมาะสมวิธีที่พัฒนาขึ้นให้ค่าความเป็นเส้นตรงที่ดี และให้ค่าสัมประสิทธิ์สหสัมพันธ์มากกว่า 0.997 และขีดจำกัดต่ำสุดในการวิเคราะห์อยู่ในช่วง 2.57–4.87 ไมโครกรัมต่อกิโลกรัม ค่าร้อยละการกลับคืนในการวิเคราะห์ azoxystrobin, pyraclostrobin และ trifloxystrobin ในข้าวโพด และข้าวสาลีอยู่ในช่วง 82.0%-93.2% และค่าความเบี่ยงเบนมาตรฐานสัมพัทธ์อยู่ระหว่าง 1.6%-7.4% ดังนั้นวิธีนี้สามารถนำไปใช้ตรวจวิเคราะห์สารกำจัดเชื้อราในธัญพืชได้

Dost และคณะ [11] ได้พัฒนาเทคนิคการสกัดและการวิเคราะห์ด้วยเทคนิคโครมาโทกราฟีของเหลวสมรรถนะสูงร่วมกับการตรวจวัดด้วยยูวีดีเทคเตอร์สำหรับการตรวจวัดสารกำจัดเชื้อรา boscalid, pyraclostrobin และ trifloxystrobin โดยอาศัยการสกัดแบบของแข็ง-ของเหลว และของเหลว-ของเหลว พบว่าสารฆ่าเชื้อราและสารมาตรฐานภายใน (Internal standard) ถูกแยกออกจากกันได้ภายในเวลาไม่ถึง 6.5 นาที โดยใช้คอลัมน์ ODS และเฟสเคลื่อนที่ประกอบด้วยอะซิโตไนไตรล์และน้ำ ที่อัตราการไหล 1.5 มิลลิลิตรต่อนาที และตรวจวัดที่ความยาวคลื่น 265 นาโนเมตร พบว่าค่าขีดจำกัดต่ำสุดในการวิเคราะห์และขีดจำกัดในการวิเคราะห์เชิงปริมาณมีค่าเท่ากับ 0.0084 และ 0.0280 มิลลิกรัมต่อกิโลกรัม สำหรับ boscalid, 0.0032 และ 0.0106 มิลลิกรัมต่อกิโลกรัม สำหรับ pyraclostrobin และ 0.0113 และ 0.0377 มิลลิกรัมต่อกิโลกรัม สำหรับ trifloxystrobin ค่าเบี่ยงเบนมาตรฐานสัมพัทธ์ในวันเดียวกันและต่างวันเท่ากับ 0.6% และ 0.7% ความถูกต้องของวิธีการวิเคราะห์จากค่าความผิดพลาดสัมพัทธ์มีค่าต่ำกว่า 11%, 8%, และ 1% ที่ระดับความเข้มข้นต่ำ ปานกลาง และสูง ตามลำดับ ค่าร้อยละการกลับคืนอยู่ในช่วง 99–106% สำหรับ boscalid, 70–82% สำหรับ pyraclostrobin, และ 52–64% สำหรับ trifloxystrobin ได้นำวิธีที่พัฒนาขึ้นไปใช้ในการตรวจวิเคราะห์สารกำจัดเชื้อราในตัวอย่างองุ่นและแอปริคอตแห้ง

Gao และคณะ [12] ได้พัฒนาการวิเคราะห์สารตกค้าง pyraclostrobin, picoxystrobin และเมตาบอไลต์ BF-500-3 ในผลพริก โดยใช้วิธีการเตรียมตัวอย่างแบบ QuEChERS ร่วมกับการวิเคราะห์ด้วย UPLC-MS/MS ได้ค่าร้อยละการกลับคืนระหว่าง 91% ถึง 107% และค่าเบี่ยงเบนมาตรฐานสัมพัทธ์ระหว่าง 3.7% ถึง 9.6% ขีดจำกัดต่ำสุดในการวิเคราะห์อยู่ในช่วง 0.0360–0.272 ไมโครกรัมต่อกิโลกรัม และ 0.120–0.910 ไมโครกรัมต่อกิโลกรัม ตามลำดับ ระดับการตกค้างของสารกำจัดเชื้อราทั้งหมดอยู่ต่ำกว่าขีดจำกัดการตกค้างสูงสุด (MRLs) งานวิจัยนี้ไม่เพียงแต่สามารถให้แนวทางในการใช้สาร pyraclostrobin และ picoxystrobin อย่างเหมาะสมในด้านการเกษตร แต่ยังให้ข้อมูลอ้างอิงสำหรับรัฐบาลจีนในการกำหนดค่า MRL สำหรับสารไพราโคลสโตรบินในพริกอีกด้วย

Seal by E-Filing

González-Rodríguez และคณะ [13] ได้เสนอวิธีวิเคราะห์สารกำจัดเชื้อรา 11 ชนิดในองุ่นและไวน์โดยใช้เทคนิคแก๊สโครมาโตกราฟี-แมสสเปคโตรเมตรีแบบไอออนแทรป (GC-ITMS) โดยตัวอย่างถูกสกัดด้วยเอทิลอะซีเตทและเฮกเซนในอัตราส่วน 1:1 โดยปริมาตร และทำความสะอาดด้วยการสกัดด้วยเฟสของแข็ง (SPE) ชนิดคาร์บอน กราไฟต์/อะมีน (GCB/PSA) โดยใช้อะซิโตนิไตรล์และโทลูอีนในอัตราส่วน 3:1 โดยปริมาตร เป็นสารชะล้าง การเติมสารป้องกันสารที่สนใจวิเคราะห์ ได้แก่ 3-เอทอกซี-1,2-โพรพานไดออล, ดี-ซอร์บิทอล และ แอล-กูลอนิกแอซิด γ-แลคโตน สามารถช่วยลดผลกระทบจากการเพิ่มสัญญาณที่เกิดจากองค์ประกอบของตัวอย่างได้ พบว่าได้ค่าร้อยละการกลับคืนใกล้เคียง 100% ค่าความแม่นยำในรูปค่าความเบี่ยงเบนมาตรฐานสัมพัทธ์มีค่าน้อยกว่า 16% ขีดจำกัดต่ำสุดในการวิเคราะห์และขีดจำกัดในการวิเคราะห์เชิงปริมาณมีค่าต่ำกว่า 0.01 มิลลิกรัมต่อกิโลกรัม ซึ่งในทุกกรณีมีค่าต่ำกว่าระดับสารตกค้างสูงสุด (MRLs) ที่กำหนดโดยสหภาพยุโรปสำหรับองุ่นโดยสวิตเซอร์แลนด์ และอิตาลีสำหรับไวน์ ได้นำวิธีการมาใช้ในการตรวจวัดสารตกค้างของสารฆ่าเชื้อราในองุ่นขาว 3 สายพันธุ์ที่ใช้ในการผลิตไวน์ และในไวน์ที่ผลิตจากองุ่นเหล่านี้

Lagunas-Allué และคณะ [14] ได้พัฒนาวิธีการสกัดสารกำจัดเชื้อราโดยใช้ไมโครเวฟ (MAE) ได้ทำการศึกษาพารามิเตอร์ต่างๆ ที่มีผลต่อวิธีการสกัด เช่น อุณหภูมิ เวลาในการสกัด และชนิดและปริมาณของสารละลายสกัด และทำการวิเคราะห์โดยเทคนิคแก๊สโครมาโทกราฟีร่วมกับแมสสเปกโตรเมตรี (GC-MS) โดยสกัดสารกำจัดเชื้อราในตัวอย่างองุ่น 2.0 กรัม ซึ่งใช้ส่วนผสมของเฮกเซนต่ออะซิโตนอัตราส่วน 1:1 โดยปริมาตร 10 มิลลิลิตร ที่อุณหภูมิ 105 °C เป็นเวลา 10 นาที โดยใช้กำลังไมโครเวฟที่ 100% (600 วัตต์) ได้ศึกษาความถูกต้องและความแม่นยำในการวิเคราะห์ พบว่าค่าร้อยละการกลับคืนมีค่าระหว่าง 82% ถึง 107% และค่าความเบี่ยงเบนมาตรฐานสัมพัทธ์น้อยกว่า 10% ขีดจำกัดต่ำสุดในการวิเคราะห์และขีดจำกัดในการวิเคราะห์เชิงปริมาณมีค่าในช่วง 0.7 ถึง 1.7 ไมโครกรัมต่อกิโลกรัม และ 2.2 ถึง 5.8 ไมโครกรัมต่อกิโลกรัม ตามลำดับ ซึ่งต่ำกว่าระดับสารตกค้างสูงสุดที่กำหนดโดยสหภาพยุโรปสำหรับตัวอย่างองุ่น การประเมินความไม่แน่นอนของการวัดที่ได้จากวิธีนี้ได้คำนวณตามคู่มือ EURACHEM/CITAC ค่าความไม่แน่นอนมีค่าน้อยกว่า 26% และ 7% ที่ระดับความเข้มข้น 10 และ 50 ไมโครกรัมต่อกิโลกรัม ตามลำดับ

Lagunas-Allué และคณะ [15] ได้ศึกษาประสิทธิภาพในการสกัด vinclozolin, dichlofluanid, penconazole, captan, quinoxyfen, fluquincṇazol, boscalid และ pyraclostrobin จากองุ่น ทั้งหมด 4 วิธี ได้แก่ การสกัดด้วยคลื่นไมโครเวฟ (MAE), การกระจายตัวของเฟสของแข็งในแมทริกซ์ (MSPD), การสกัดของแข็ง-ของเหลว (SLE) และ QuEChERS โดยมีการเปรียบเทียบขีดจำกัดต่ำสุดในการวิเคราะห์และและขีดจำกัดในการตรวจวัดเชิงปริมาณ รวมทั้งค่าร้อยละการกลับคืน ได้ศึกษาหาสภาวะที่เหมาะสมของการสกัดแบบ MAE, MSPD และการสกัดด้วยเอทิลอะซิเตท และตรวจวิเคราะห์โดยใช้เทคนิคแก๊สโครมาโทกราฟี-แมสสเปกโตรเมตรี วิธีที่พัฒนาขึ้นให้สภาพไวในการวิเคราะห์ที่ดี ค่าขีดจำกัดในการหาปริมาณต่ำกว่าระดับสูงสุดที่ยอมรับได้ (MRLs) และมีความแม่นยำในรูปของค่าความเบี่ยงเบนมาตรฐานสัมพัทธ์อยู่ในช่วง 2.9% ถึง 11.1% ค่าร้อยละการกลับคืนที่ได้จากวิธีการสกัดแบบ MAE, MSPD, SLE และ QuEChERS มีค่าอยู่ในช่วง 78-100%, 66-102%, 58-88% และ 68-96% ตามลำดับ ได้ทดสอบและเปรียบเทียบทางสถิติเพื่อประเมินข้อมูลที่ได้จากการวิเคราะห์ตัวอย่างจริง

Seal by E-Filing

พบว่าวิธีทั้ง 4 วิธีในการสกัดสาร vinclozolin, dichofluanid, quinoxyfen, fluquinconazol และ pyraclostrobin ไม่พบความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญ อย่างไรก็ตามพบความแตกต่างในการวิเคราะห์สาร captan, boscalid และ penconazole

Viñas และคณะ [16] ได้รายงานวิธีวิเคราะห์ปริมาณสารกำจัดเชื้อรา azoxystrobin, metominostrobin, kresoxim-methyl, trifloxystrobin, picoxystrobin, dimoxystrobin และ pyraclostrobin ในตัวอย่างอาหารเด็ก โดยใช้เทคนิคการสกัดแบบจุลภาคด้วยเส้นใยไมโครที่มีของแข็งเคลือบด้วยวิธีแบบจุ่มโดยตรง (DI-SPME) ร่วมกับการตรวจวัดด้วยเทคนิคแก๊สโครมาโทกราฟี-แมสสเปกโตรเมตรี โดยทำการสกัดตัวอย่าง 2 กรัม ปริมาตรสารสกัด 14 มิลลิลิตร และปรับสภาวะสารสกัดให้มีค่าพีเอชเท่ากับ 5 สภาวะที่เหมาะสมสำหรับการสกัดคือที่อุณหภูมิ 60 °C เป็นเวลา 40 นาที โดยมีการกวนอย่างต่อเนื่องและใช้เส้นใยชนิด PDMS-DVB จากนั้นชะสารที่ดูดซับบนเส้นใยที่อุณหภูมิ 240 °C เป็นเวลา 4 นาที โดยมีค่าขีดจำกัดในการวิเคราะห์เชิงปริมาณอยู่ในช่วง 0.01 ถึง 0.4 นาโนกรัมต่อกรัม ขึ้นอยู่กับชนิดของสาร ผลการวิเคราะห์ตัวอย่างที่เติมสารมาตรฐานเป็นที่น่าพึงพอใจ วิธีการนี้ได้ผ่านการตรวจสอบตามมาตรฐานตาม Commission Decision 2002/657/EC และได้วิเคราะห์อาหารเด็กหลายชนิดโดยใช้วิธีนี้ โดยไม่พบตัวอย่างใดที่มีสารตกค้างเกินค่า MRL

Guo และคณะ [17] ได้พัฒนาวิธีการวิเคราะห์สารกำจัดเชื้อราในกลุ่มสโตรบิลูรินตกค้างในผักและผลไม้ โดยใช้เทคนิค Nonaqueous micellar electrokinetic capillary chromatography ร่วมกับการตรวจวัดแบบ indirect laser-induced fluorescence (LIF) วิธีการนี้ใช้อนุภาคควอนตัมดอท (quantum dots) ของแคดเมียมเทลลูไรด์ (CdTe) ที่มีคุณสมบัติไม่ชอบน้ำเป็นสารให้สัญญาณฟลูออเรสเซนต์ โดยได้ทำการปรับสภาวะต่างๆ เช่น ส่วนประกอบของสารละลายบัฟเฟอร์ ความเข้มข้นของอนุภาคควอนตัมดอท และแรงดันไฟฟ้าที่ใช้ในการแยกสาร เพื่อให้ได้ประสิทธิภาพในการแยกและความเข้มของสัญญาณที่ดีที่สุด ภายใต้สภาวะที่เหมาะสมวิธีนี้สามารถตรวจวัดสารกำจัดเชื้อรา 3 ชนิด ได้แก่ azoxystrobin, kresoxim-methyl และ pyraclostrobin ได้ที่ความเข้มข้นต่ำสุด 0.001 มิลลิกรัมต่อกิโลกรัม มีช่วงการวิเคราะห์เชิงปริมาณตั้งแต่ 0.005 ถึง 2.5 มิลลิกรัมต่อกิโลกรัม และให้ค่าร้อยละการกลับคืน อยู่ในช่วง 81.7-97.4% วิธีการนี้ให้สภาพไวในการวิเคราะห์เพียงพอที่จะตรวจวัดสารกำจัดเชื้อราดังกล่าวในผักและผลไม้ที่ระดับปริมาณสารพิษตกค้างสูงสุด (maximum residue limits) ที่กำหนดไว้

Dornellas และคณะ [18] ได้เสนอการเกิดปฏิกิริยาออกซิเดชันแบบกึ่งผันกลับ (quasi-reversible electrochemical oxidation) ของสารไพราโคลสโตรบินโดยใช้ขั้วไฟฟ้าเพชรเจือโบรอน (BDD electrode) โดยพบการเกิดออกซิเดชันที่ชัดเจน 2 ขั้นตอน ที่ศักย์ไฟฟ้าประมาณ +1300 ถึง +1650 mV ทำให้สามารถพัฒนาวิธีวิเคราะห์แบบสแควร์เวฟโวลแทมเมตรี (square-wave voltammetry) สำหรับการตรวจวัดสารไพราโคลสโตรบินได้ในปริมาณต่ำมากในแหล่งน้ำธรรมชาติและน้ำองุ่น โดยให้ศักย์ไฟฟ้าในช่วง +1050 ถึง +1500 mV ซึ่งให้สัญญาณสูงสุดที่ +1280 mV ใช้สารละลายบัฟเฟอร์อะซิเตทความเข้มข้น 0.050 โมลต่อลิตร ที่พีเอช 4 มีช่วงความเป็นเส้นตรงถึง 2.0×10^{-5} โมลต่อลิตร (7.8 มิลลิกรัมต่อลิตร) ค่าสัมประสิทธิ์สหสัมพันธ์ ($R^2 > 0.99$) ค่าขีดจำกัดในการหาปริมาณ มีค่าเท่ากับ 8.2×10^{-7} โมลต่อลิตร (0.32 มิลลิกรัมต่อลิตร) ค่าร้อยละการกลับคืนใน

Seal by E-Filing

ตัวอย่างน้ำอยู่ในช่วง 94 ถึง 102% นอกจากนี้ยังไม่พบการสลายตัวด้วยความร้อนอย่างมีนัยสำคัญของสารไพราโคลสโตรบินในสารละลายที่ถูกให้ความร้อนที่อุณหภูมิ 60 °C เป็นเวลา 2 ชั่วโมง

Jimenez-Lopez และคณะ [19] ได้เสนอวิธีการใหม่สำหรับการตรวจวัดสารกำจัดเชื้อรา โดยใช้เซ็นเซอร์เรืองแสงอัตโนมัติในการวิเคราะห์สารที่เฉพาะเจาะจง โดยศึกษาสารกำจัดเชื้อราที่ใช้กันอย่างแพร่หลายสองชนิด คือ nitenpyram และ pyraclostrobin เป็นสารเป้าหมาย ซึ่งอาศัยการวัดความเข้มของฟลูออเรสเซนส์ที่เกิดขึ้นจากการสลายตัวของสารที่สนใจด้วยแสงยูวี โดยทำการแยกและเพิ่มความเข้มข้นสารตัวอย่างแบบออนไลน์โดยใช้ซิลิกาเจล C18 ในโฟลวเซลล์และตรวจวัดสัญญาณ พบว่าค่าขีดจำกัดต่ำสุดในการวิเคราะห์เท่ากับ 0.2 มิลลิกรัมต่อกิโลกรัม ซึ่งสอดคล้องกับข้อกำหนดขีดจำกัดสารตกค้างสูงสุด (MRL) ในองุ่นและไวน์องุ่น ค่าร้อยละการกลับคืนในองุ่นและไวน์ มีค่าอยู่ในช่วง 96 ถึง 107% วิธีที่พัฒนาขึ้นนี้มีขั้นตอนง่าย ต้นทุนการวิเคราะห์ไม่สูงมาก และให้สภาพไวในการวิเคราะห์ที่ดี ซึ่งเป็นวิธีที่น่าสนใจสำหรับการวิเคราะห์สารกำจัดเชื้อราในอาหาร

Bhatt และคณะ [20] ได้พัฒนาวิธีที่ง่ายและให้สภาพไวในการวิเคราะห์ที่ดีในการหาปริมาณไพราโคลสโตรบิน ซึ่งเป็นสารฆ่าเชื้อราที่ใช้กันอย่างแพร่หลาย โดยอาศัยการเกิดปฏิกิริยาไดอะโซไทเซชัน และทำปฏิกิริยากับ 4-อะมิโนซัลโฟนิก ในสภาวะเบส ได้เป็นสารประกอบเอโซที่มีสีแดงซึ่งมีค่าการดูดกลืนแสงสูงสุดที่ 600 นาโนเมตร และมีค่าสัมประสิทธิ์การดูดกลืนแสง (Molar absorptivity) เท่ากับ 2.7×10^4 L mol^{-1} cm^{-1} ช่วงความเป็นเส้นตรงของกราฟมาตรฐาน ค่าขีดจำกัดต่ำสุดในการวิเคราะห์ ขีดจำกัดในการวิเคราะห์เชิงปริมาณ ค่าสัมประสิทธิ์สหสัมพันธ์ (R^2) และค่าร้อยละการกลับคืนมีค่าเท่ากับ 3-12 มิลลิกรัมต่อลิตร, 1.01 มิลลิกรัมต่อลิตร, 3.08 มิลลิกรัมต่อลิตร, 0.984 และ 93.5–99.3% ตามลำดับ ข้อดีของวิธีนี้คือ ขั้นตอนการวิเคราะห์ทำได้ง่าย มีความจำเพาะเจาะจงสูง และประหยัดค่าใช้จ่าย ได้นำวิธีดังกล่าวประยุกต์ไปใช้ในการวิเคราะห์ปริมาณสารไพราโคลสโตรบินในตัวอย่างสิ่งแวดล้อมประเภทต่างๆ

จากการสืบค้นสิทธิบัตรที่เกี่ยวข้องพบว่ายังไม่ปรากฏเอกสารสิทธิบัตรที่อ้างถึง การพัฒนาชุดทดสอบไพราโคลสโตรบินแบบคัดกรองและวัดค่าสีโดยอาศัยปฏิกิริยาไดอะโซไทเซชัน ขณะเดียวกันมีงานภูมิหลังเกี่ยวกับชุดทดสอบแบบอิมมูโนแอสเซย์สำหรับสารไพราโคลสโตรบิน [21] ซึ่งในการศึกษานี้ ได้พัฒนาชุดทดสอบอย่างรวดเร็วและเชื่อถือได้แบบแถบตรวจอิมมูโนโครมาโทกราฟีที่ใช้อนุภาคทองคำ (GNPs-ICS) โดยอาศัยแอนติบอดีรีคอมบิแนนต์ชนิดเต็มโมเลกุล (rAb) สำหรับการตรวจหาสารไพราโคลสโตรบินในตัวอย่างอาหาร เริ่มต้นด้วยการสร้างไฮบริโดมา (PY-C7) ที่สามารถสร้างแอนติบอดีโมโนโคลนอล (mAb) ที่จำเพาะต่อไพราโคลสโตรบิน จากนั้นนำลำดับยีนบริเวณตัวแปรของ PY-C7-mAb ที่ได้จากการทำ PCR และการหาลำดับเบสแบบ Sanger sequencing ไปใช้ในการสร้างแอนติบอดีรีคอมบิแนนต์ในเซลล์ HEK293(F) ผลการทดสอบด้วยแถบตรวจ GNPs-ICS พบว่าค่าขีดจำกัดการตรวจพบด้วยตาเปล่า (visual LOD) ของสารมาตรฐานไพราโคลสโตรบินคือ 0.1 มิลลิกรัมต่อลิตร สำหรับ rAb และ 0.2 มิลลิกรัมต่อลิตร สำหรับ mAb เมื่อผ่านการตรวจสอบความถูกต้องด้วยการทดสอบค่าร้อยละการกลับคืน (recovery test) พบว่าค่าขีดจำกัดการหาปริมาณ (LOQ) ของแถบตรวจสามารถสอดคล้องกับ ค่ามาตรฐานสารตกค้างสูงสุด (MRLs) ตามกฎหมายอาหารของจีนในตัวอย่างสตรอเบอร์รี กล้วย และกะหล่ำปลีจีน โดยแถบตรวจที่ใช้ rAb มีความไวและเสถียรภาพดีกว่า นอกจากนี้ ชุดทดสอบ

Seal by E-Filing

GNPs-rAb-ICS ยังให้ผลความน่าเชื่อถือใกล้เคียงกับการวิเคราะห์ด้วย LC-MS/MS ในการตรวจตัวอย่างจริง โดยสรุปชุดทดสอบ GNPs-ICS ที่พัฒนาจากแอนติบอดีรีคอมบิแนนต์ชนิดเต็มโมเลกุลนี้มีประสิทธิภาพและเหมาะสมสำหรับการตรวจหาสารไพราโคลสโตรบินในอาหารอย่างรวดเร็ว

นอกจากนี้ยังมีรายงานสิทธิบัตรที่เกี่ยวข้องกับการใช้ไดอะโซไทซ์รีเอเจนต์ ในการตรวจวัดเชิงสี ดังต่อไปนี้

สิทธิบัตรเลขที่ US4672041A "Method and stable diazo reagent for detecting bilirubin" ได้เสนอรีเอเจนต์ไดอะโซไทซ์ที่เสถียรและสภาวะสำหรับปฏิกิริยาการเกิดสี และหลักการเตรียม สภาวะ pH สำหรับการเกิดสีที่น่าเชื่อถือได้ โดยพัฒนาชุดรีเอเจนต์ (reagent combination) ให้มีประสิทธิภาพดีขึ้น ซึ่งประกอบด้วยสารละลาย 1 มีองค์ประกอบของ aryl amine และกรด สารละลาย 2 มี nitrite compound เป็นส่วนประกอบ ลักษณะเด่นของชุดรีเอเจนต์ที่พัฒนานี้คือ มีการเติมเกลือเข้าไปในระบบ โดยเกลือนี้สามารถกระจายอยู่ในสารละลายใดสารละลายหนึ่ง หรือทั้งสองสารละลายตามต้องการ นอกจากนี้ยังได้พัฒนาวิธีการตรวจวัดบิลิรูบิน (bilirubin) ในตัวอย่างด้วยวิธีเชิงสี (colorimetric method) โดยขั้นตอนประกอบด้วยผสมสารละลาย 1 กับสารละลาย 2 เพื่อให้เกิด diazo reagent ที่มีความคงตัวนำตัวอย่างที่จะทดสอบมาผสมกับ total bilirubin accelerator buffer เพื่อเตรียมเป็นสารละลายก่อนเกิดปฏิกิริยา (prereaction medium) นำ prereaction medium มาทำปฏิกิริยากับ diazo reagent ที่คงตัวของ azobilirubin ที่เกิดจากการจับคู่ (coupling reaction) ระหว่าง diazo reagent กับ bilirubin ในตัวอย่าง ซึ่งใช้เป็นตัวบ่งชี้ปริมาณบิลิรูบิน นอกจากนี้ยังมีการปรับปรุงกระบวนการผลิต diazo reagent โดยปฏิกิริยาระหว่าง aryl amine กับ nitrite compound ในสภาวะที่มีกรดพร้อมกับมีการเติมเกลือเข้าไปในระบบ ซึ่งการมีเกลือช่วยให้ปฏิกิริยาเกิดได้เสถียรมากขึ้นและให้รีเอเจนต์ที่มีความคงตัวสูงกว่าเดิม (US4672041A Chandra P. Jain Method and stable diazo reagent for detecting bilirubin https://patents.google.com/patent/US4672041A/en)

สิทธิบัตรเลขที่ US4069017A Colorimetric assay for bilirubin อธิบายการใช้ไดอะโซไทซ์รีเอเจนต์และการเกิดสีย้อมอาโซในการวัดสีโดยการอ่านสีด้วยตาและสเปกโตรโฟโตมิเตอร์ โดยพัฒนาวิธีตรวจวัดสารบิลิรูบิน (bilirubin) แบบเชิงสี (colorimetric assay) สำหรับตรวจในของเหลวหลายประเภท โดยเฉพาะของเหลวชีวภาพ เช่น ซีรัมหรือพลาสมา ทั้งนี้ยังได้เปิดเผยถึงการใช้แผ่นวิเคราะห์หลายโซน (multi-zone analytical element) ที่พัฒนาโดยอิงจากหลักการของวิธีนี้ด้วย หลักการของวิธีการตรวจนี้คือ การใช้สารมอร์แดนต์แบบเกิดปฏิกิริยา (interactive mordant composition) ซึ่งออกแบบมาเพื่อจับกับบิลิรูบินได้โดยตรง โดยสารมอร์แดนต์นี้ประกอบด้วยเมทริกซ์สารอินทรีย์ที่มีสมบัติไม่ชอบน้ำ (hydrophobic organic matrix) หมู่ประจุบวก (cationic group) อย่างน้อยหนึ่งหมู่ ซึ่งทำหน้าที่เป็นตำแหน่งจับ (binding site) สำหรับบิลิรูบิน เมื่อบิลิรูบินเกิดการจับกับสารมอร์แดนต์นี้ (เรียกว่า mordanting) จะทำให้บิลิรูบินที่ถูกจับเกิดการเปลี่ยนแปลงคุณสมบัติทางสเปกโตรสโกปี ได้แก่ การเลื่อนตำแหน่งของความยาวคลื่นในการดูดกลืนแสงสูงสุด (absorption peak shift) อย่างน้อย 10 นาโนเมตร การเพิ่มค่าความสามารถในการดูดกลืนต่อโมล (molar extinction coefficient) มากกว่า 50% (US4069017A Tai-Wing Wu Glen Marshall Dappen Colorimetric assay for bilirubin https://patents.google.com/patent/US4069017A/en)

Seal by E-Filing

สิทธิบัตรเลขที่ US3814586A Composition, method and device for determining bilirubin โดยอาศัยการรวมรูปแบบแพลตฟอร์มทดสอบและองค์ประกอบตัวพา สำหรับทำให้ปฏิกิริยาเกิดอย่างคงที่บนแผ่นดูดซับของแข็ง และออกแบบชุดตรวจโดยการเทียบสีมาตรฐาน โดยพัฒนาส่วนประกอบและอุปกรณ์ทดสอบที่ใช้เกลือ 4,4'-biphenyldiazonium สำหรับการตรวจวัดแบบจำแนกแยกได้ (differential determination) ทั้งบิลิรูบิน (bilirubin) และ ยูโรบิลิโนเจน (urobilinogen) ในสารละลายน้ำหรือของเหลวในร่างกาย เช่น ปัสสาวะ ในส่วนของสารประกอบทดสอบ (test composition) นอกจากจะมีเกลือ 4,4'-biphenyldiazonium แล้ว ยังมีการเติมสารที่ทำหน้าที่เป็นกรด (acid constituent) ซึ่งเมื่อสัมผัสกับสารละลายที่จะทดสอบ จะทำให้เกิดสภาวะ pH เป็นกรด (acidic pH) ที่เหมาะสมต่อปฏิกิริยาเคมี อุปกรณ์ทดสอบ (test device) ประกอบด้วยวัสดุที่ดูดซับได้ (bibulous carrier) เช่น กระดาษ ที่ได้แทรกซึมด้วยสารประกอบทดสอบในรูปแบบแห้ง (dry form) หลักการทำงานของวิธีนี้ คือ การนำอุปกรณ์หรือสารทดสอบไปสัมผัสกับสารละลายหรือของเหลวที่ต้องการตรวจ แล้วสังเกตการตอบสนองที่เกิดขึ้นได้ทั้งด้วยตาเปล่า (การเปลี่ยนสี) หรือด้วยเครื่องวัดการดูดกลืนแสง เพื่อแยกแยะและระบุปริมาณของบิลิรูบินและยูโรบิลิโนเจนในตัวอย่างนั้นได้ (US3814586A J.Fraser, C. Lam, and R. Mast Composition method and device for determining bilirubin and urobilinogen https://patents.google.com/patent/US3814586A/en)

จากงานวิจัยและสิทธิบัตรที่เกี่ยวข้องจะพบว่ายังไม่ปรากฏเอกสารสิทธิบัตรที่อ้างถึงชุดทดสอบไพราโคลสโตรบินแบบไมโครสเกลและคัดกรองอย่างง่ายด้วยวิธีเทียบแถบสีมาตรฐานโดยอาศัยการเกิดปฏิกิริยาไดอะโซไทเซชันและการคัพพลิงด้วย 4-อะมิโนซัลโฟนิก มาก่อน ซึ่งชุดทดสอบไพราโคลสโตรบินตามการประดิษฐ์นี้มีความรวดเร็วและใช้งานง่าย ปฏิกิริยาไดอะโซไทเซชัน ทำให้เกิดสีได้ภายในระยะเวลาไม่กี่นาที สามารถอ่านด้วยตาเปล่าหรืออุปกรณ์พกพา ลดเวลาในการตรวจในห้องปฏิบัติการ สามารถนำไปใช้ในภาคสนาม เช่น ตลาด ฟาร์ม หรือด่านตรวจได้ ชุดทดสอบนี้มีต้นทุนต่อการทดสอบต่ำ ผลิตง่าย สามารถบรรจุในซองสำเร็จรูป ทำให้คัดกรองตัวอย่างจำนวนมากได้อย่างคุ้มค่า สามารถการอ่านผลด้วยสเกลสีจากแถบสี สามารถนำไปปรับใช้กับตัวอย่างที่มีองค์ประกอบหลากหลาย ออกแบบให้เหมาะกับผัก ผลไม้ และน้ำ ด้วยการสกัดอย่างง่ายก่อนทำปฏิกิริยา ลดขั้นตอนซับซ้อนของปฏิบัติการในการตรวจแบบคัดกรอง ไม่จำเป็นต้องลงทุนซื้อเครื่องมือราคาแพงหรือจ้างบุคลากรที่มีความเชี่ยวชาญสูง ความสามารถในการพกพาและใช้งานง่าย ชุดทดสอบนี้เหมาะสำหรับการใช้งานอย่างกว้างขวางในสถานที่ต่าง ๆ โดยเฉพาะในพื้นที่ห่างไกลที่ไม่มีเครื่องมือวิเคราะห์ที่ซับซ้อน ช่วยส่งเสริมการตรวจสอบทางด้านสาธารณสุขและสิ่งแวดล้อม โดยการตรวจวัดยาหรือสารเคมีในตัวอย่างต่าง ๆ อย่างรวดเร็วและมีประสิทธิภาพ ช่วยให้สามารถติดตามและควบคุมปริมาณสารอย่างเหมาะสม ลดความเสี่ยงทางสุขภาพและสิ่งแวดล้อม ไม่ต้องพึ่งเครื่องมือราคาแพง เช่น LC MS/GC MS ในขั้นคัดกรองครั้งแรก ช่วยกรองตัวอย่างจำนวนมากก่อนคัดส่งตัวอย่างบวก ไปยืนยันผลเชิงปริมาณในห้องปฏิบัติการได้ภายหลัง มีขั้นตอนการทดสอบน้อย อาศัยการหยดผสมสารเคมีลงในตัวอย่างและเทียบแถบสีมาตรฐาน ซึ่งสามารถฝึกผู้ปฏิบัติงานได้รวดเร็วเมื่อเทียบวิธีโครมาโตกราฟี

Seal by E-Filing

ชุดทดสอบไพราโคลสโตรบินแบบไมโครสเกลและคัดกรองอย่างง่ายด้วยวิธีเทียบแถบสีมาตรฐานตามการประดิษฐ์นี้ช่วยแก้ปัญหาและข้อจำกัดหลายประการของเทคโนโลยีเดิม ดังนี้ 1) ลดการพึ่งพาเครื่องมือขั้นสูง ซึ่งวิธีมาตรฐานที่ใช้ HPLC และ LC MS/MS มีความแม่นยำสูงแต่ต้องใช้เครื่องมือราคาแพง บุคลากรเชี่ยวชาญ และเวลาวิเคราะห์ ทำให้ไม่เหมาะกับคัดกรองจำนวนมากในภาคสนามหรือห้องปฏิบัติการที่มีทรัพยากรจำกัด 2) ลดระยะเวลาและขั้นตอนเตรียมตัวอย่าง วิธีทางโครมาโทกราฟีมักมีขั้นตอนสกัด ทำความสะอาดตัวอย่าง และการวิเคราะห์นาน ขณะที่การตรวจวัดด้วยแถบสีสามารถอ่านผลด้วยตาเปล่าได้ภายในไม่กี่นาที ลดเวลารอโดยเฉพาะเมื่อต้องการทดสอบตัวอย่างจำนวนมาก 3) เป็นทางเลือกแทนชุดตรวจแบบอิมมูโนแอสเซย์ ซึ่งชุดทดสอบแบบแถบไหลด้านข้างต้องพึ่งแอนติบอดีซึ่งมีต้นทุนและความเสถียรจำกัดและอาจเกิด cross reactivity ซึ่งชุดตรวจไพราโคลสโตรบินที่ใช้ปฏิกิริยาไดอะโซไทเซชันและรีเอเจนต์ในการคัพพลิงตามการประดิษฐ์นี้ช่วยลดความเสี่ยงด้านความจำเพาะของแอนติบอดีและลดต้นทุนต่อการทดสอบ ปฏิกิริยาเคมีที่ทำให้เกิดสีเรียงตามความเข้มข้นของไพราโคลสโตรบิน ทำให้อ่านค่าความเข้มข้นได้โดยเทียบกับแถบสีมาตรฐานได้โดยไม่ต้องใช้เครื่องอ่านเฉพาะ ลดข้อจำกัดการเข้าถึงเครื่องมือ 4) สามารถบรรจุชุดทดสอบในแพคเกจแบบพกพา เก็บรักษาง่าย และทดสอบนอกห้องปฏิบัติการได้ เพิ่มความถี่การคัดกรองในจุดเก็บตัวอย่างจริง 5) ลดต้นทุนในการวิเคราะห์ต่อครั้งเมื่อเทียบกับค่าใช้จ่ายต่อครั้งของ LC MS/MS หรือ HPLC และค่าวัสดุสิ้นเปลือง ชุดทดสอบไพราโคลสโตรบินแบบคัดกรองตามการประดิษฐ์นี้มีต้นทุนวัสดุ และค่าใช้จ่ายต่ำ เหมาะกับโครงการสุ่มตรวจขนาดใหญ่ 6) เกษตรกร ผู้ตรวจตลาด และห้องปฏิบัติการท้องถิ่นสามารถใช้ชุดทดสอบตามการประดิษฐ์นี้ได้โดยไม่ต้องพึ่งนักวิเคราะห์เฉพาะทาง ช่วยเพิ่มความถี่การคัดกรองและคัดแยกตัวอย่างที่ต้องส่งยืนยันด้วยเครื่องมือขั้นสูง

<u>ลักษณะและความมุ่งหมายของการประดิษฐ์</u>

ชุดทดสอบไพราโคลสโตรบินแบบไมโครสเกลและคัดกรองอย่างง่ายด้วยวิธีเทียบแถบสีมาตรฐาน ตามการประดิษฐ์นี้สามารถใช้ทดสอบสารกำจัดเชื้อราพราโคลสโตรบินตกค้างในตัวอย่างน้ำ ผักและผลไม้ ประกอบด้วยสารที่ใช้ในการทดสอบ คือ สารละลายกรดซัลฟานิลิก ผงสารเคมีโซเดียมไนไตรท์ สารละลายกรดไฮโดรคลอริก สารละลายโซเดียมไฮดรอกไซด์ เมทานอล และ น้ำกลั่น อุปกรณ์ใช้ในชุดทดสอบ ประกอบด้วย หลุมไมโครเพลทชนิด 96 หลุม หลอดเซนตริฟิวจ์พลาสติก หลอดฉีดยาพลาสติก ขวดแก้วใส ตัวกรองแบบเสียบปลายหลอดฉีดยา (Syringe filter) ช้อนพลาสติกตักสารขนาดเล็ก ขวดพลาสติกสำหรับทิ้งของเสียสารเคมีในการทดสอบ แถบสีมาตรฐานสำหรับเทียบหาปริมาณไพราโคลสโตรบิน อุปกรณ์ป้องกันอันตรายสำหรับบุคคลประกอบด้วย ถุงมือและหน้ากากป้องกันสารเคมี

วัตถุประสงค์ของการประดิษฐ์นี้ เพื่อใช้ทดสอบไพราโคลสโตรบินแบบไมโครสเกลและคัดกรองอย่างง่ายด้วยวิธีเทียบแถบสีมาตรฐานสำหรับวิเคราะห์ปริมาณไพราโคลสโตรบิน ตกค้างในระดับ ND (ตรวจไม่พบ) ถึง 20 มิลลิกรัมต่อลิตร สามารถทราบปริมาณความเข้มข้นโดยทำการเทียบสีของสารละลายที่เกิดขึ้น สามารถทำการทดสอบได้ในระยะเวลาไม่เกิน 15 นาทีต่อหนึ่งตัวอย่าง นอกจากนี้การใช้ชุดทดสอบไพราโคลสโตรบินแบบไมโครสเกลและคัดกรองอย่างง่าย ดังกล่าวยังประหยัดค่าใช้จ่ายสำหรับเป็นค่าเครื่องมือวิเคราะห์ สารเคมี หรืออุปกรณ์ที่เกี่ยวข้อง โดยชุดทดสอบตามการประดิษฐ์นี้ มีราคาต้นทุนไม่สูงมากนัก สามารถวิเคราะห์ไพราโคลสโตรบินแบบคัดกรองอย่างง่ายได้ในระดับมิลลิกรัมต่อลิตร

Seal by E-Filing

การเปิดเผยการประดิษฐ์โดยสมบูรณ์

ชุดทดสอบไพราโคลสโตรบินแบบไมโครสเกลและคัดกรองอย่างง่ายด้วยวิธีเทียบแถบสีมาตรฐาน ประกอบด้วย

ส่วนที่ 1 สารที่ทำปฏิกิริยาและทำให้เกิดสีกับไพราโคลสโตรบิน ได้แก่

- สารละลายกรดซัลฟานิลิก ความเข้มข้นร้อยละ 0.5 ถึง 5 โดยมวลต่อปริมาตร
- ผงสารเคมีโซเดียมไนไตรท์
- สารละลายกรดไฮโดรคลอริก ความเข้มข้น 0.025 ถึง 1 โมลต่อลิตร
- สารละลายโซเดียมไฮดรอกไซด์ ความเข้มข้น 0.025 ถึง 1 โมลต่อลิตร
- เมทานอล สำหรับสกัดตัวอย่าง
- น้ำกลั่น

ส่วนที่ 2 อุปกรณ์จำเป็นขนาดเล็กที่ใช้ในชุดทดสอบ ประกอบด้วย

- หลุมไมโครเพลทชนิด 96 หลุม สำหรับใส่ตัวอย่างและสารเคมีสำหรับการทดสอบ
- หลอดเซนตริฟิวจ์พลาสติกขนาด 50 มิลลิลิตร สำหรับสกัดตัวอย่างพร้อมฝา
- หลอดฉีดยาพลาสติกขนาด 1 และ 5 มิลลิลิตร
- ขวดแก้วใสขนาด 5 มิลลิลิตร
- ตัวกรองแบบเสียบปลายหลอดฉีดยา (Syringe filter) ขนาด 0.45 ไมครอน
- ช้อนพลาสติกตักสารขนาดเล็ก
- ขวดพลาสติกสำหรับทิ้งของเสียสารเคมีในการทดสอบ

ส่วนที่ 3 แถบสีมาตรฐานสำหรับเทียบหาปริมาณไพราโคลสโตรบิน

ส่วนที่ 4 อุปกรณ์ป้องกันอันตรายสำหรับบุคคล ประกอบด้วย

- ถุงมือ จำนวน 3 คู่
- หน้ากากป้องกันสารเคมี จำนวน 3 ผืน

ชุดทดสอบไพราโคลสโตรบินแบบไมโครสเกลและคัดกรองอย่างง่ายด้วยวิธีเทียบแถบสีมาตรฐาน มีขั้นตอนการใช้ชุดทดสอบไพราโคลสโตรบินดังต่อไปนี้

ขั้นตอนการเตรียมสารละลายสำหรับการทดสอบ และขั้นตอนการทดสอบหาปริมาณไพราโคลสโตรบินในตัวอย่าง

ก. ใช้ช้อนตักสารพลาสติกขนาดเล็ก ตักผงโซเดียมไนไตรท์มาปริมาณเท่าหัวไม้ขีด ใส่ในขวดแก้วใสขนาด 5 มิลลิลิตร

ข. ใช้หลอดฉีดยาขนาด 5 มิลลิลิตร ดูดสารละลายกรดซัลฟานิลิก ความเข้มข้นร้อยละ 0.5 ถึง 5 โดยมวลต่อปริมาตร 2 มิลลิลิตร ใส่ลงในขวดแก้วตาม ข้อ ก. ปิดฝาแล้วเขย่าเป็นระยะเวลา 1 นาที ให้ละลาย แล้วนำไปแช่ในน้ำแข็งเป็นระยะเวลา 10 นาที

ค. ใช้หลอดฉีดยาพลาสติกขนาด 1 มิลลิลิตร ดูดสารละลายตัวอย่าง ใส่ลงในหลุมไมโครเพลท หลุมละ 0.1 มิลลิลิตร

Seal by E-Filing

ง. ใช้หลอดฉีดยาพลาสติกขนาด 5 มิลลิลิตร ดูดสารละลายสำหรับการทดสอบที่ได้ในข้อ ข. 2 มิลลิสิตร เติมลงในสารละลายตัวอย่างในหลุมไมโครเพลท หลุมละ 0.1 มิลลิลิตร ปิดฝาไมโครเพลท แล้วนำไปแช่ในน้ำแข็งเป็นเวลา 4 นาที

จ. นำไมโครเพลทออกจากน้ำแข็ง ใช้หลอดฉีดยาพลาสติกดูดสารละลายโซเดียมไฮดรอกไซด์ ความเข้มข้น 0.025 ถึง 1 โมลต่อลิตร เติมลงในสารละลายที่ได้จากข้อ ง. หลุมละ 0.1 มิลลิลิตร

ฉ. ใช้หลอดฉีดยาพลาสติกดูดสารละลายกรดไฮโดรคลอริค ความเข้มข้น 0.025 ถึง 1 โมลต่อลิตร เติมลงในสารละลายที่ได้จากข้อ จ. หลุมละ 0.1 มิลลิลิตร ผสมให้เข้ากันและทิ้งไว้ให้เกิดปฏิกิริยาเป็นเวลา 2 นาที

ช. เทียบสีของสารละลายที่ได้ในหลุมไมโครเพลท โดยมองจากด้านบนกับแถบสีมาตรฐานเพื่อหาแถบสีที่ตรงกับสีของสารละลาย อ่านค่าความเข้มข้นในหน่วยมิลลิกรัมต่อลิตรจากแถบสีมาตรฐาน

ซ. ทิ้งสารละลายทั้งหมดจากการทดสอบ ในขวดทิ้งของเสียสารเคมี

<u>ขั้นตอนการเตรียมตัวอย่างผักและผลไม้</u>

หั่นผักที่ต้องการทดสอบเป็นชิ้นขนาดเล็ก ชั่งตัวอย่างมา 5 ถึง 10 กรัม ใส่ลงในหลอดเซนตริฟิวจ์พลาสติกสำหรับสกัดตัวอย่าง จากนั้นเติมเมทานอล ปริมาตร 2 มิลลิลิตร ปิดฝาแล้วทำการเขย่าเป็นเวลา 1 นาที กรองสารละลายตัวอย่างที่สกัดได้โดยดูดสารละลายด้วยหลอดฉีดยาพลาสติกขนาด 5 มิลลิลิตร และกรองผ่านตัวกรองแบบเสียบปลายหลอดฉีดยา (Syringe filter) ขนาด 0.45 ไมครอน ก่อนนำไปวิเคราะห์ด้วยชุดทดสอบไพราโคลสโตรบินแบบไมโครสเกลและคัดกรองอย่างง่ายด้วยวิธีเทียบแถบสีมาตรฐาน ตามขั้นตอนการใช้ชุดทดสอบ

ชุดทดสอบไพราโคลสโตรบินแบบไมโครสเกลและคัดกรองอย่างง่ายด้วยวิธีเทียบแถบสีมาตรฐาน มีความเข้มสีและค่าสีอาร์จีบี (RGB) แตกต่างกันตามระดับความเข้มข้นของไพราโคลสโตรบินที่ตรวจพบ ซึ่งสามารถอ่านความเข้มข้นได้ในช่วง ND (ตรวจไม่พบ) ถึง 20 มิลลิกรัมต่อลิตร โดยมีค่า RGB ของแถบสีมาตรฐานดังต่อไปนี้

ตารางแสดงค่าสี RGB ของแถบสีมาตรฐานในการเทียบหาปริมาณไพราโคลสโตรบินโดยชุดทดสอบไพราโคลสโตรบินแบบไมโครสเกลและคัดกรองอย่างง่ายด้วยวิธีเทียบแถบสีมาตรฐาน

ความเข้มข้นของไพราโคลสโตรบิน (มิลลิกรัมต่อลิตร)	ค่าสีแดง (R)	ค่าสีเขียว (G)	ค่าสีน้ำเงิน (B)
ND (ตรวจไม่พบ)	230	218	119
1	231	195	0
5	219	168	0
10	205	149	0
15	177	126	0
20	163	103	0

Seal by E-Filing

ชุดทดสอบไพราโคลสโตรบินแบบไมโครสเกลและคัดกรองอย่างง่ายด้วยวิธีเทียบแถบสีมาตรฐาน สามารถแก้ไขปัญหาด้านใช้ระยะเวลาในการทดสอบไม่นาน ใช้สารตัวอย่างและรีเอเจนต์ทดสอบน้อย สามารถอ่านผลการทดสอบได้อย่างรวดเร็ว ไม่จำเป็นต้องใช้เครื่องมือวิเคราะห์ในห้องปฏิบัติการ มีค่าใช้จ่ายในการวิเคราะห์ไม่สูงมาก ไม่จำเป็นต้องทำการตรวจวิเคราะห์ในห้องปฏิบัติการ ไม่ต้องใช้เอนไซม์ สารแอนติเจน สารแอนติบอดีสามารถนำไปใช้แบบพกพาภาคสนามได้สะดวกและรวดเร็ว สามารถอ่านผลการทดสอบได้ง่ายโดยเทียบการเกิดสีกับแถบสีมาตรฐานได้ด้วยตาเปล่า และสามารถเก็บรักษาได้ที่อุณหภูมิห้อง ซึ่งเป็นทางเลือกใหม่ของการวิเคราะห์ไพราโคลสโตรบินตกค้างในตัวอย่างน้ำ ผักและผลไม้ สามารถวิเคราะห์ได้อย่างรวดเร็ว ใช้งานง่าย ผู้ใช้ไม่จำเป็นต้องมีความเชี่ยวชาญเฉพาะด้าน

<u>วิธีการในการประดิษฐ์ที่ดีที่สุด</u>

ได้กล่าวไว้แล้วในหัวข้อการเปิดเผยการประดิษฐ์โดยสมบูรณ์

<u>เอกสารอ้างอิง</u>

1. ทวิตไลน์, บริษัท ป.เคมีเทค https://www.pchemitech.com/ทวิตไลน์ สืบค้นเมื่อวันที่ 18 สิงหาคม 2567.

2. สำนักงานมาตรฐานสินค้าเกษตรและอาหารแห่งชาติกระทรวงเกษตรและสหกรณ์ มาตรฐานสินค้าเกษตร (มกษ. 9002-2556) สารพิษตกค้าง: ปริมาณสารพิษตกค้างสูงสุด (PESTICIDE RESIDUES: MAXIMUM RESIDUE LIMITS), 2556.

3. Pyraclostrobin, https://en.wikipedia.org/wiki/File:Pyraclostrobin.svg สืบค้นเมื่อวันที่ 18 สิงหาคม 2567.

4.Pyraclostrobin, FAO https://www.fao.org/fileadmin/templates/agphome/documents/Pests_Pesticides/JMPR/Evaluation11/Pyraclostrobin.pdf .

5. Yule. Z.; Chaoqun, H.; Xiaoyu, Z.; Xiaomei, C.; Weimin, M. Determination of seven strobilurin fungicide residues in chinese herbs by liquid chromatography-tandem mass spectrometry coupled with solid phase extraction. Chinese Journal of Chromatography. 2013, *31 (3),* 264 – 269.

6. Martínez, G.; Morales, A.; Maestro, A.; Cermeño, S.; Oliva, J.; Barba, A. Determination of nine fungicides in grape and wine using QuEChERS extraction and LC/MS/MS analysis. Journal of AOAC International. 2015, *98 (6),* 1745 – 1751.

7. Farha, W.; Rahman, M.M.; Abd El-Aty, A.M.; Jung, D. I.; Kabir, M. H.; Choi, J.H.; Kim, S.-W.; Jeong, Im S.; Lee, Y.J.; Shin, H. C.; Kwon, C. H.; Son, Y. W.; Lee, K. B.; Shim, J.-H. A combination of solid-phase extraction and dispersive solid-phase extraction effectively reduces the matrix interference in liquid chromatography-ultraviolet detection during pyraclostrobin analysis in perilla leaves. Biomedical Chromatography. 2015, *29 (12),*1932 – 1936.

Seal by E-Filing

8. You, X.; Wang, S.; Liu, F.; Shi, K. Ultrasound-assisted surfactant-enhanced emulsification microextraction based on the solidification of a floating organic droplet used for the simultaneous determination of six fungicide residues in juices and red wine. Journal of Chromatography A. 2013, *1300*, 64 – 69.

9. Wu, S.; Zhang, H.; Zheng, K.; Meng, B.; Wang, F.; Cui, Y.; Zeng, S.; Zhang, K.; Hu, D. Simultaneous determination and method validation of difenoconazole, propiconazole and pyraclostrobin in pepper and soil by LC–MS/MS in field trial samples from three provinces, China. Biomedical Chromatography. 2018, *32 (2),* e4052.

10. Huang, X.; Du, Z.; Wu, B.; Jia, L.; Wang, X.; Jing, X. Dispersive liquid–liquid microextraction based on the solidification of floating organic droplets for HPLC determination of three strobilurin fungicides in cereals. Food Additives and Contaminants - Part A Chemistry, Analysis, Control, Exposure and Risk Assessment. 2020, *37 (8),*1279 – 1288.

11. Dost, K.; Öksüz, M.; Cittan, M.; Mutlu, B.; Tural, B. Determination of boscalid, pyraclostrobin and trifloxystrobin in dried grape and apricot by HPLC/UV method. Journal of Food Composition and Analysis. 2023, *115*, 104926.

12. Gao, Y.; Yang, S.; Li, X.; He, L.; Zhu, J.; Mu, W.; Liu, F. Residue determination of pyraclostrobin, picoxystrobin and its metabolite in pepper fruit via UPLC-MS/MS under open field conditions. Ecotoxicology and Environmental Safety. 2019, *182*, 109445.

13. González-Rodríguez, R.M.; Cancho-Grande, B.; Simal-Gándara, J. Multiresidue determination of 11 new fungicides in grapes and wines by liquid-liquid extraction/clean-up and programmable temperature vaporization injection with analyte protectants/gas chromatography/ion trap mass spectrometry. Journal of Chromatography A. 2009, *1216 (32),* 6033-6042.

14. Lagunas-Allué, L.; Sanz-Asensio, J.; Martínez-Soria, M.T. Validation of a microwave-assisted extraction gas chromatography detection method for the determination of fungicides in grapes. Analytical Methods. 2011, *3 (12),* 2881-2892.

15. Lagunas-Allué, L.; Sanz-Asensio, J.; Martínez-Soria, M.T. Comparison of four extraction methods for the determination of fungicide residues in grapes through gas chromatography-mass spectrometry. Journal of Chromatography A. 2012, *1270*, 62-71.

16.Viñas, P.; Campillo, N.; Martínez-Castillo, N.; Hernández-Córdoba, M. Method development and validation for strobilurin fungicides in baby foods by solid-phase microextraction gas chromatography-mass spectrometry. Journal of Chromatography A. 2009, *1216 (1),*140-146.

Seal by E-Filing

17. Guo, X.; Wang, K.; Chen, G.H.; Shi, J.; Wu, X.; Di, L.L.; Wang, Y. Determination of strobilurin fungicide residues in fruits and vegetables by nonaqueous micellar electrokinetic capillary chromatography with indirect laser-induced fluorescence. Electrophoresis. 2017, *38(16),* 2004-2010.

18. Dornellas, R.M.; Nogueira, D.B.; Aucélio, R.Q. The boron-doped diamond electrode voltammetric method for ultra-trace determination of the fungicide pyraclostrobin and evaluation of its photodegradation and thermal degradation. Analytical Methods. 2014, *6(3),* 944-950.

19. Jimenez-Lopez, J.; Llorent-Martínez, E. J.; Ortega-Barrales, P.; Ruiz-Medina, A. Sensitive photochemically induced fluorescence sensor for the determination of nitenpyram and pyraclostrobin in grapes and wines. Food Analytical Methods. 2019, *12*, 1152-1159.

20. Bhatt, C.; Rai, M. K.; Rai, J. Colorimetric Determination of Pyraclostrobin Fungicide Using P-Amino-sulphonic Acid Coupling Reagent in Agricultural Soil/Environmental Samples by Spectrophotometric Analysis. Advances in Colorimetry, 2024, https://doi.org/10.5772/intechopen.111833.

21. Liu, Y.; Jiao, S.; Chang, Y.; Lu, X.; Liu, P.; Zhao, Y.; Zha, C.; Shen, L.; Guo, Y.; Zhu, J. High-affinity recombinant full-length antibodybased immunochromatographic strip assay for rapid and reliable detection of pyraclostrobin residues in food samples. Food and Agricultural Immunology. 2020, 31(1), 985–1003. https://doi.org/10.1080/09540105.2020.1797640 https://www.tandfonline.com/doi/pdf/10.1080/09540105.2020.1797640

Seal by E-Filing

ข้อถือสิทธิ

1. ชุดทดสอบไพราโคลสโตรบินแบบไมโครสเกลและคัดกรองอย่างง่ายด้วยวิธีเทียบแถบสีมาตรฐาน ซึ่งประกอบด้วย

- สารละลายกรดซัลฟานิลิก ความเข้มข้นร้อยละ 0.5 ถึง 5 โดยมวลต่อปริมาตร
- ผงสารเคมีโซเดียมไนไตรท์
- สารละลายกรดไฮโดรคลอริก ความเข้มข้น 0.025 ถึง 1 โมลต่อลิตร
- สารละลายโซเดียมไฮดรอกไซด์ ความเข้มข้น 0.025 ถึง 1 โมลต่อลิตร
- เมทานอล สำหรับสกัดตัวอย่าง
- น้ำกลั่น
- หลุมไมโครเพลทชนิด 96 หลุมสำหรับใส่ตัวอย่างและสารเคมีสำหรับการทดสอบ
- หลอดเซนตริฟิวจ์พลาสติกขนาด 50 มิลลิลิตร สำหรับสกัดตัวอย่างพร้อมฝา
- หลอดฉีดยาพลาสติกขนาด 1 และ 5 มิลลิลิตร
- ขวดแก้วใสขนาด 5 มิลลิลิตร
- ตัวกรองแบบเสียบปลายหลอดฉีดยา (Syringe filter) ขนาด 0.45 ไมครอน
- ช้อนพลาสติกตักสารขนาดเล็ก
- ขวดพลาสติกสำหรับทิ้งของเสียสารเคมีในการทดสอบ
- แถบสีมาตรฐานสำหรับเทียบหาปริมาณไพราโคลสโตรบิน
- อุปกรณ์ป้องกันอันตรายสำหรับบุคคล ประกอบด้วย ถุงมือ จำนวน 3 คู่ และหน้ากากป้องกันสารเคมี จำนวน 3 ผืน

2. ชุดทดสอบไพราโคลสโตรบินแบบไมโครสเกลและคัดกรองอย่างง่ายด้วยวิธีเทียบแถบสีมาตรฐานตามข้อถือสิทธิ 1 ที่ซึ่ง มีการใช้ชุดทดสอบดังนี้

ก. ใช้ช้อนตักสารพลาสติกขนาดเล็ก ตักผงโซเดียมไนไตรท์มาปริมาณเท่าหัวไม้ขีด ใส่ในขวดแก้วใสขนาด 5 มิลลิลิตร

ข. ใช้หลอดฉีดยาขนาด 5 มิลลิลิตร ดูดสารละลายกรดซัลฟานิลิก ความเข้มข้นร้อยละ 0.5 ถึง 5 โดยมวลต่อปริมาตร 2 มิลลิลิตร ใส่ลงในขวดแก้วตาม ข้อ ก. ปิดฝาแล้วเขย่าเป็นระยะเวลา 1 นาที ให้ละลาย แล้วนำไปแช่ในน้ำแข็งเป็นระยะเวลา 10 นาที

ค. ใช้หลอดฉีดยาพลาสติกขนาด 1 มิลลิลิตร ดูดสารละลายตัวอย่าง ใส่ลงในหลุมไมโครเพลท หลุมละ 0.1 มิลลิลิตร

ง. ใช้หลอดฉีดยาพลาสติกขนาด 5 มิลลิลิตร ดูดสารละลายสำหรับการทดสอบที่ได้ในข้อ ข. 2 มิลลิสิตร เติมลงในสารละลายตัวอย่างในหลุมไมโครเพลท หลุมละ 0.1 มิลลิลิตร ปิดฝาไมโครเพลท แล้วนำไปแช่ในน้ำแข็งเป็นเวลา 4 นาที

จ. นำไมโครเพลทออกจากน้ำแข็ง ใช้หลอดฉีดยาพลาสติกดูดสารละลายโซเดียมไฮดรอกไซด์ ความเข้มข้น 0.025 ถึง 1 โมลต่อลิตร เติมลงในสารละลายที่ได้จากข้อ ง. หลุมละ 0.1 มิลลิลิตร

Seal by E-Filing

ฉ. ใช้หลอดฉีดยาพลาสติกดูดสารละลายกรดไฮโดรคลอริค ความเข้มข้น 0.025 ถึง 1 โมลต่อลิตร เติมลงในสารละลายที่ได้จากข้อ จ. หลุมละ 0.1 มิลลิลิตร ผสมให้เข้ากันและทิ้งไว้ให้เกิดปฏิกิริยาเป็นเวลา 2 นาที

ช. เทียบสีของสารละลายที่ได้ในหลุมไมโครเพลท โดยมองจากด้านบนกับแถบสีมาตรฐานเพื่อหาแถบสีที่ตรงกับสีของสารละลาย อ่านค่าความเข้มข้นในหน่วยมิลลิกรัมต่อลิตรจากแถบสีมาตรฐาน

ซ. ทิ้งสารละลายทั้งหมดจากการทดสอบ ในขวดทิ้งของเสียสารเคมี

3. ชุดทดสอบไพราโคลสโตรบินแบบไมโครสเกลและคัดกรองอย่างง่ายด้วยวิธีเทียบแถบสีมาตรฐาน ตามข้อถือสิทธิ 1 หรือ 2 ที่ซึ่ง มีขั้นตอนการเตรียมตัวอย่างผักและผลไม้ดังนี้ หั่นผักที่ต้องการทดสอบเป็นชิ้นขนาดเล็ก ชั่งตัวอย่างมา 5 ถึง 10 กรัม ใส่ลงในหลอดเซนตริฟิวจ์พลาสติกสำหรับสกัดตัวอย่าง จากนั้นเติมเมทานอล ปริมาตร 2 มิลลิลิตร ปิดฝาแล้วทำการเขย่าเป็นเวลา 1 นาที กรองสารละลายตัวอย่างที่สกัดได้โดยดูดสารละลายด้วยหลอดฉีดยาพลาสติกขนาด 5 มิลลิลิตร และกรองผ่านตัวกรองแบบเสียบปลายหลอดฉีดยา (Syringe filter) ขนาด 0.45 ไมครอน ก่อนนำไปวิเคราะห์ด้วยชุดทดสอบไพราโคลสโตรบินแบบคัดกรองอย่างง่ายด้วยวิธีเทียบแถบสีมาตรฐาน ตามขั้นตอนการใช้ชุดทดสอบ

Seal by E-Filing

<u>บทสรุปการประดิษฐ์</u>

ชุดทดสอบไพราโคลสโตรบินแบบไมโครสเกลและคัดกรองอย่างง่ายด้วยวิธีเทียบแถบสีมาตรฐาน ตามการประดิษฐ์นี้สามารถใช้ทดสอบสารกำจัดเชื้อราพราโคลสโตรบินตกค้างในตัวอย่างน้ำ ผักและผลไม้ ประกอบด้วย สารที่ใช้ในการทดสอบ คือ สารละลายกรดซัลฟานิลิก ผงสารเคมีโซเดียมไนไตรท์ สารละลายกรดไฮโดรคลอริก สารละลายโซเดียมไฮดรอกไซด์ เมทานอล และ น้ำกลั่น อุปกรณ์ใช้ในชุดทดสอบประกอบด้วย หลุมไมโครเพลทชนิด 96 หลุม หลอดเซนตริฟิวจ์พลาสติก หลอดฉีดยาพลาสติก ขวดแก้วใส ตัวกรองแบบเสียบปลายหลอดฉีดยา (Syringe filter) ช้อนพลาสติกตักสารขนาดเล็ก ขวดพลาสติกสำหรับทิ้งของเสียสารเคมีในการทดสอบ แถบสีมาตรฐานสำหรับเทียบหาปริมาณไพราโคลสโตรบิน อุปกรณ์ป้องกันอันตรายสำหรับบุคคล ประกอบด้วย ถุงมือและหน้ากากป้องกันสารเคมี สามารถหาปริมาณไพราโคลสโตรบินตกค้างในระดับ ND (ตรวจไม่พบ) ถึง 20 มิลลิกรัมต่อลิตร ทราบปริมาณความเข้มข้นโดยทำการเทียบสีของสารละลายที่เกิดขึ้นกับแถบสีมาตรฐาน สามารถทำการทดสอบได้ในระยะเวลาไม่เกิน 15 นาทีต่อหนึ่งตัวอย่าง

Seal by E-Filing