

## รายงานเรื่องเต็มผลการทดลองที่สิ้นสุด ปีงบประมาณ 2558

1. ชุดโครงการวิจัย วิจัยและพัฒนาปัจจัยการผลิตทางการเกษตร

2. โครงการวิจัย การพัฒนาระบบการตรวจวิเคราะห์พืชและปัจจัยการผลิตทางการเกษตร

กิจกรรมที่ 1 การพัฒนาระบบการตรวจวิเคราะห์พืช ดิน น้ำ สารอินทรีย์สารควบคุมการเจริญเติบโตพืช สารสกัด และวัตถุอันตรายทางการเกษตร

กิจกรรมย่อยที่ 1.5 การวิจัยและพัฒนาเทคนิคการตรวจสอบรับรองผลิตภัณฑ์วัตถุมีพิษทางการเกษตร

3. ชื่อการทดลอง(ภาษาไทย) การตรวจสอบความใช้ได้ของวิธีวิเคราะห์วัตถุมีพิษทางการเกษตร กลุ่มสารกำจัดแมลง Fenitrothion

ชื่อการทดลอง(ภาษาอังกฤษ) Method validation of Fenitrothion in Insecticide Formulation

4. คณะผู้ดำเนินการ

ชื่อหัวหน้าโครงการ นางจิตติมา ขณภูพานนท์ สังกัด กลุ่มวิจัยเกษตรเคมี กองวิจัยพัฒนาปัจจัยการผลิตทางการเกษตร

หัวหน้าการทดลอง นางสาวทัศนีย์ จงกลาง สังกัด กลุ่มวิจัยวัตถุมีพิษทางการเกษตร กองวิจัยพัฒนาปัจจัยการผลิตทางการเกษตร

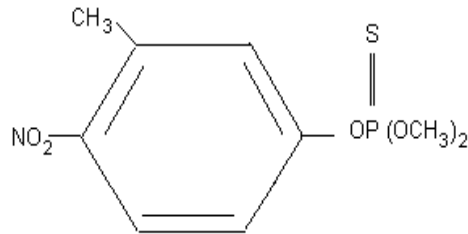
ผู้ร่วมงาน นายอนุชา ผลไสว กลุ่มวิจัยวัตถุมีพิษทางการเกษตร กองวิจัยพัฒนาปัจจัยการผลิตทางการเกษตร

### 5. Abstracts

From the studies used in the analysis of how the product is toxic to Fenitrothion, agricultural techniques, objects, Gas Liquid Chromatography (GLC) are as follows: appropriate conditions. The columns that are used in the analysis is the internal Capillary column coated with 5 % Phenyl Methyl Siloxane (HP-5) long, 30-meter diameter 0.32 mm film thickness 0.25. Split injection rate of micrometre is equal to 50 per volume of sample injection per microliter is equal to 1 the flow of gas (Helium) carry equal to 2.0 ml per minute. The type of character that is pouring good Flame ionization detector (FID) in conditions of temperature analysis are as follows: the temperature of the Oven is equal to 210. Degrees Celsius. Injection temperature of 250 degrees Celsius is equal to. Detector temperature of 250 degrees Celsius is equal to. Used to monitor the use of the method of analysis results by Fenitrothion is acceptable. Follows the value or quantity of the substance Fenitrothion Rang from the use of such conditions in the analysis can be in the range of 0.25 to analysis. 2.50 mg/ml. Correlation coefficient (r) value is equal to the 0.99991 Correlation coefficient values accepted criteria (r) must be greater than the value of value, or 0.995 and Linearity relation between the quantity of the substance Fenitrothion response method analysis can be done in the range of concentrations to 1.50 0.50 mg/ml are. Correlation coefficient (r) is equal to the 0.99994 Correlation coefficient values accepted criteria (r) must be

greater than 0.995 Precision values monitoring results or analysis method of the accuracy value of Fenitrothion EC weeding in the product, value value value. Repeatability HORRAT follows HORRAT value equal to 1.194, equal to 1.201 HORRAT Reproducibility. HORRAT value equal to Robustness, 0.832 HORRAT value equal to the Ruggedness and 1.748, all of which do not exceed 2, on the basis of consideration of EU and Codex, and AOAC check Accuracy of analysis method of % Recovery yield equivalent to 101.7%, which is in the range of 102% – 98, according to the criteria for a substance that is more than 10% of the AOAC.

### คำนำ



Fenitrothion มีชื่อทางเคมีตาม IUPAC ว่า *O,O*-dimethyl *O*-4-nitro-*m*-tolyl phosphorothioate มีสูตรโมเลกุลเป็น C<sub>9</sub>H<sub>12</sub>NO<sub>5</sub>PS มีน้ำหนักโมเลกุล 277.2 จุดหลอมเหลว 25 จุดเดือด: 275.4 องศาเซลเซียส เป็นของเหลวสีน้ำตาล ละลายในแอลกอฮอล์, เอสเทอร์, คีโตน, ไฮโดรคาร์บอนและสารไฮโดรคาร์บอนคลอรีน, เฮกเซน,, เป็นสารกำจัดแมลงใช้สำหรับการกำจัดแมลง ในอุน, ข้าว, อ้อย, ผัก ชนิดของสูตรผสมเช่น TC (Technical grade), EC (Emulsifiable concentrate) มีความเป็นพิษเฉียบพลันทางปากสำหรับหนู (LD<sub>50 rat<sup>o</sup>, oral<sup>o</sup> acute</sub>) 503 มิลลิกรัมต่อกิโลกรัม มีความเป็นพิษต่อปลาคาร์พ LD<sub>50</sub> (48hours)<sub>rainbow trout</sub> 4.1 มิลลิกรัมต่อลิตร มีความเป็นพิษต่อผึ้งค่อนข้างต่ำ (Agrochemicals Handbook, 1993)

การควบคุมคุณภาพของสารกำจัดวัชพืช ตามพระราชบัญญัติวัตถุอันตราย พ.ศ. 2535 นั้น จะต้องตรวจวิเคราะห์ชนิดและสารออกฤทธิ์ ว่าตรงตามข้อมูลที่ระบุไว้บนฉลากหรือข้อมูลที่แสดงไว้ก่อนการขึ้นทะเบียนหรือไม่ และป้องกันไม่ให้ศัตรูพืชสร้างความต้านทานต่อสารกำจัดศัตรูพืช วิธีการตรวจวิเคราะห์ Fenitrothion นั้น มีวิธีมาตรฐาน CIPAC (Collaborative International Pesticide Analytical Council) แต่วิธีมาตรฐานนั้นบางครั้งไม่สามารถทำตามได้ทั้งหมด และเพื่อเป็นการประหยัดงบประมาณ จึงจำเป็นต้องประยุกต์ให้เหมาะสมกับเครื่องมือและอุปกรณ์ที่มีใช้อยู่จริงในห้องปฏิบัติการ ทั้งนี้เพื่อทดสอบความใช้ได้ของวิธีตามข้อกำหนด ISO 17025 เพื่อยืนยันว่าวิธีทดสอบที่นำมาใช้มีความถูกต้อง แม่นยำ และเหมาะสมตามวัตถุประสงค์

## วิธีดำเนินการ

### อุปกรณ์

1. เครื่อง Gas Liquid Chromatography (GLC)
2. คอลัมน์ ชนิด Capillary ภายในเคลือบด้วย 5% phenyl methyl siloxane (HP-5) หน้า 0.25 ไมโครเมตรขนาดเส้นผ่าศูนย์กลางภายใน 0.32 มิลลิเมตร ยาว 30 เมตร หรือเทียบเท่า
3. เครื่องชั่งละเอียด 4 หรือ 5 ตำแหน่ง ( $\pm 0.1$  มิลลิกรัม) ที่ผ่านการสอบเทียบแล้ว
4. Ultrasonic bath
5. ขวดปริมาตร ขนาด 10,25,50,100,250,1000 มิลลิเมตร ที่ผ่านการสอบเทียบแล้ว
6. ปิเปต ขนาด 2,3,4,5,8,10 มิลลิเมตร ที่ผ่านการสอบเทียบแล้ว
7. vial ขนาด 2 มิลลิเมตร

### สารเคมี

1. สารมาตรฐาน Fenitrothion 95.5 %
2. สาร Fenitrothion ที่มีความเข้มข้นสูง (Technical grade)
3. ตัวอย่างผลิตภัณฑ์ Fenitrothion 50 %
4. Acetone AR grade

### วิธีการ

#### 1. พัฒนาวิธีการวิเคราะห์ Fenitrothion

##### 1.1 โดยปรับตั้งสภาวะการใช้งานเครื่อง GLC ในการหาปริมาณที่แน่นอนของสารเข้มข้น ดังนี้

Column : Capillary, HP-5 (5% Phenyl methyl siloxane) 30 m. x 0.32 mm. (id.),0.25  $\mu$ m, film thickness

Injector system : Split injection,

Split ratio : 50:1,

Split flow.: 100 ml/min,

Injection volume : 1  $\mu$ l.,

Detector : Flame ionization detector (FID)

Temperature : oven : 210  $^{\circ}$ C,

Injection port : 250  $^{\circ}$ C,

Detector : 250  $^{\circ}$ C

Gas flow rate: Helium (carrier) : 2.0 ml/min,

Hydrogen : about 30 ml/min,

Air : about 300 ml/min Nitrogen : about 30 ml/min

## 2. การหาปริมาณสารออกฤทธิ์ Fenitrothion

### 2.1 การเตรียมสารละลายมาตรฐาน

ชั่งสารมาตรฐาน Fenitrothion 2 ซ้ำ ( $C_1, C_2$ ) ให้ได้น้ำหนักที่แน่นอนประมาณ 26 มิลลิกรัม ใส่ใน Volumetric flask ขนาด 25 มิลลิลิตร เติม Acetone ประมาณครึ่งขวด เขย่าให้ละลายด้วย Ultrasonic bath ประมาณ 15 นาที จากนั้นนำออกมาตั้งทิ้งไว้ให้เย็นที่อุณหภูมิห้อง ปรับปริมาตรด้วย Acetone เขย่าให้เข้ากัน แบ่งใส่ Vial ขนาด 2 มิลลิลิตร

### 2.2 การเตรียมสารละลายของสารความเข้มข้นสูง (Technical grade)

ชั่งสาร Technical grade 10 ซ้ำ ( $T_1-T_{10}$ ) ให้ได้น้ำหนักที่แน่นอนประมาณ 26 มิลลิกรัม ใส่ใน Volumetric flask ขนาด 25 มิลลิลิตร เติม Acetone ประมาณครึ่งขวด เขย่าให้ละลายด้วย Ultrasonic bath ประมาณ 15 นาที จากนั้นนำออกมาตั้งทิ้งไว้ให้เย็นที่อุณหภูมิห้อง ปรับปริมาตรด้วย Acetone เขย่าให้เข้ากัน แบ่งใส่ Vial ขนาด 2 มิลลิลิตร

### 2.3 ตรวจสอบปริมาณที่แน่นอนของสาร Technical grade

ตรวจสอบความพร้อมของเครื่อง GLC ที่ปรับตั้งสภาวะการใช้งาน และรอจนกระทั่ง baseline เรียบ จึงทดลองฉีดสารละลายมาตรฐาน 1 ไมโครลิตร เข้าเครื่องซ้ำหลายๆครั้ง จนได้ค่าพื้นที่ใต้ peak หรือความสูง peak ต่างจากค่าเฉลี่ยของการฉีดติดต่อกัน 3 ครั้งไม่เกิน 1 % เครื่อง GLC จึงพร้อมใช้งาน แล้วฉีดสารละลายมาตรฐานและสารละลายของสารความเข้มข้นสูง เพื่อตรวจสอบหาปริมาณที่แน่นอน ตามลำดับ ดังนี้

$C_1, C_2, T_1, T_2, C_3, C_4, T_3, T_4, \dots$

สารละลายมาตรฐาน ทั้ง 2 ต้องมีค่า % Relative Percent Different (RPD) ไม่เกิน 3 %

$$\% = \frac{(\text{factor max} - \text{factor min})}{\text{factor mean}} \times 100$$

factor mean

### 2.4 การคำนวณ Response factor

$$\text{response factor} = \frac{\text{น้ำหนัก} \times \text{Purity}}{\text{Peak area}} \quad \text{หรือ} \quad f = \frac{S \times P}{H_s}$$

S = น้ำหนักของ Fenitrothion ในสารละลายมาตรฐาน (มิลลิกรัม)

P = เปอร์เซ็นต์ความบริสุทธิ์ของสารมาตรฐาน Fenitrothion (%)

$H_s$  = พื้นที่ใต้พีคของ Fenitrothion ในสารละลายมาตรฐาน

### 2.5 การคำนวณหา % สารออกฤทธิ์ Fenitrothion ในสารละลาย Technical grade ดังสมการต่อไปนี้

$$\text{Fenitrothion content} = \frac{HW \times f}{W}$$

W

HW = พื้นที่ใต้พีคของ Fenitrothion ในสารละลาย Technical grade

F = ค่าเฉลี่ย response factor

W = น้ำหนักของ Fenitrothion ในสารละลาย Technical grade

2.6 นำค่า % ของ Technical grade ที่ได้ทั้ง 10 ค่า หาค่าเฉลี่ยจะได้ % ที่แน่นอนของ Technical grade

3.ตรวจสอบช่วงความเป็นเส้นตรง (Range/Linear) ของวิธีการ

3.1 หาค่า Range

3.1.1 ชั่งสาร Technical grade ที่ทราบเปอร์เซ็นต์แน่นอน ให้มีความเข้มข้นต่างๆ 6 ความเข้มข้นๆละ 1 ช้ำ โดยชั่งน้ำหนักให้มีปริมาณ Fenitrothion ครอบคลุมช่วงที่ใช้งาน ได้แก่ 25,50,100,150,200 และ 250 มิลลิกรัม ใส่ใน Volumetric flask ขนาด 100 มิลลิลิตร เติม Acetone ประมาณครึ่งขวด เขย่าให้ละลายด้วย Ultrasonic bath ประมาณ 15 นาที จากนั้นนำออกมาตั้งทิ้งไว้ให้เย็นที่อุณหภูมิห้อง ปรับปริมาตรด้วย Acetone เขย่าให้เข้ากัน แบ่งใส่ Vial ขนาด 2 มิลลิลิตร

3.1.2 นิสสารละลายเรียงลำดับจากความเข้มข้นน้อยไปมาก

3.1.3 Plot กราฟ ระหว่างความเข้มข้นของสาร Technical grade ( แกน x ) กับ response ( แกน y )

3.1.4 พิจารณช่วงที่เป็นเส้นตรง

3.2 หาค่า Linearity

3.2.1 เลือกค่าจาก Range ที่เป็นเส้นตรง 3 ความเข้มข้น

3.2.2 ชั่งสาร Technical grade ที่ทราบเปอร์เซ็นต์แน่นอน ให้มี 6 ความเข้มข้น ตามที่เลือกดังนี้ 25,50,75,100,125 และ 150 มิลลิกรัม ใส่ใน Volumetric flask ขนาด 100 มิลลิลิตร เติม Acetone ประมาณครึ่งขวด เขย่าให้ละลายด้วย Ultrasonic bath ประมาณ 15 นาที จากนั้นนำออกมาตั้งทิ้งไว้ให้เย็นที่อุณหภูมิห้อง ปรับปริมาตรด้วย Acetone เขย่าให้เข้ากัน แบ่งใส่ Vial ขนาด 2 มิลลิลิตร

3.2.3 นิสสารละลายเรียงลำดับจากความเข้มข้นน้อยไปมาก

3.2.4 Plot กราฟ ระหว่างความเข้มข้นของสาร Technical grade ( แกน x ) กับ response ( แกน y )

3.2.5 คำนวณหาค่า Correlation coefficient ( r ) เกณฑ์ยอมรับที่  $r \geq 0.995$

4. ตรวจสอบความแม่นยำ (Precision) ของวิธีการ

4.1 Repeatability (เป็นการทำการทดลองหา Precision ในรูปของ Repeatability ซึ่งเป็นผลการทดสอบจากห้องปฏิบัติการเดียวกัน ผู้ทดสอบคนเดียวกัน เครื่องมือเดียวกัน)

4.1.1 ชั่งสาร Technical grade ที่ทราบเปอร์เซ็นต์แน่นอนที่ระดับความเข้มข้นภายในช่วงการใช้งาน (ภายใน range ที่หาได้ จากข้อ 3.1) จำนวน 3 ความเข้มข้นๆละ 1 ช้ำ ได้แก่ 50,100 และ 150 มิลลิกรัม. ใส่ใน Volumetric flask ขนาด 25 มิลลิลิตร เติม Acetone ประมาณครึ่งขวด เขย่าให้ละลายด้วย Ultrasonic bath ประมาณ 15 นาที จากนั้นนำออกมาตั้งทิ้งไว้ให้เย็นที่อุณหภูมิห้อง ปรับปริมาตรด้วย Acetone เขย่าให้เข้ากัน แบ่งใส่ Vial ขนาด 2 มิลลิลิตร

4.1.2 ชั่งสาร Fenitrothion ที่ทราบเปอร์เซ็นต์แน่นอนที่ระดับความเข้มข้นภายในช่วงการใช้งาน (ภายใน range ที่หาได้ จากข้อ 3.1) จำนวน 3 ความเข้มข้นๆละ 10 ช้ำ ได้แก่ 50,100 และ 150 มิลลิกรัม. ใส่ใน Volumetric flask ขนาด 25 มิลลิลิตร เติม Acetone ประมาณครึ่งขวด เขย่าให้ละลายด้วย Ultrasonic bath ประมาณ 15 นาที จากนั้นนำ

ออกมาตั้งทิ้งไว้ให้เย็นที่อุณหภูมิห้อง ปรับปริมาตรด้วย Acetone เขย่าให้เข้ากัน แบ่งใส่ Vial ขนาด 2 มิลลิลิตร จากนั้นฉีด ข้อ 4.1.1, 4.1.2 เพื่อวิเคราะห์หาปริมาณสารออกฤทธิ์ Fenitrothion ในสารละลายของผลิตภัณฑ์

4.2 Reproducibility (เป็นการทำการทดลองหา Precision ในรูปของ Reproducibility ซึ่งเป็นผลการทดสอบจากห้องปฏิบัติการในระยะเวลาที่แตกต่างกัน) ทำการทดลองเหมือนข้อ 4.1

#### 5. ตรวจสอบ Robustness/Ruggedness ของวิธีการ

5.1 Robustness (เป็นการทำการทดลองหา Precision ในรูปของ Robustness ซึ่งเป็นผลการทดสอบจากห้องปฏิบัติการแต่เปลี่ยน Oven) ทำการทดลองเหมือนข้อ 4.1

5.2 Ruggedness (เป็นการทำการทดลองหา Precision ในรูปของ Ruggedness ซึ่งเป็นผลการทดสอบจากห้องปฏิบัติการแต่เปลี่ยนเครื่อง) ทำการทดลองเหมือนข้อ 4.1

#### 6. ตรวจสอบความถูกต้อง (Accuracy) ของวิธีการ

6.1 เตรียมสารละลาย Stock Tech ให้มีความเข้มข้นที่แน่นอนประมาณ (5 mg AI/ml)

ชั่งสาร Technical grade ให้ทราบน้ำหนักแน่นอนประมาณ 1,255.02 มิลลิกรัม. ใส่ใน Volumetric flask ขนาด 250 มิลลิลิตร เติม Acetone ประมาณครึ่งขวด เขย่าให้ละลายด้วย Ultrasonic bath ประมาณ 15 นาที จากนั้นนำออกมาตั้งทิ้งไว้ให้เย็นที่อุณหภูมิห้อง ปรับปริมาตรด้วย Acetone เขย่าให้เข้ากัน

6.2 เตรียมสารละลาย Stock Sample ให้มีความเข้มข้นที่แน่นอนประมาณ (1 mg AI/ml)

เตรียมสารละลายเหมือนข้อ 6.1 โดยชั่งตัวอย่างผลิตภัณฑ์ Fenitrothion ให้ทราบน้ำหนักแน่นอนประมาณ 2,083.33 มิลลิกรัม ใส่ใน Volumetric flask ขนาด 1000 มิลลิลิตร

6.3 เตรียมสารละลายเพื่อ Plot กราฟ

ปิเปตสารละลาย Stock Tech (ข้อ 6.1) ปริมาตร 2, 5 และ 8 มิลลิลิตร ใส่ใน Volumetric flask ขนาด 25 มิลลิลิตร ปรับปริมาตรด้วย Acetone เขย่าให้เข้ากัน ได้สารละลายของ Technical grade ที่มีความเข้มข้นของ Fenitrothion เป็น 0.4, 1.0 และ 1.6 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร ตามลำดับ นำไปฉีดเข้าเครื่อง GLC โดยเรียงลำดับตามความเข้มข้น

6.4 เตรียมสารละลายเพื่อหาค่า Origin

ปิเปตสารละลาย Stock Sample (ข้อ 6.2) ปริมาตร 10 มิลลิลิตร ใส่ใน Volumetric flask ขนาด 25 มิลลิลิตร จำนวน 10 ซ้ำ ปรับปริมาตรด้วย Acetone เขย่าให้เข้ากัน นำไปฉีดเข้าเครื่อง GLC หาปริมาณ Fenitrothion เทียบกับกราฟ (ข้อ 6.3)

6.5 เตรียมสารละลายเพื่อหาค่า Spike

6.5.1 ปิเปตสารละลาย Stock Sample (ข้อ 6.2) ปริมาตร 10 มิลลิลิตร ใส่ใน Volumetric flask ขนาด 25 มิลลิลิตร จำนวน 30 ซ้ำ

6.5.2 ปิเปตสารละลาย Stock Tech (ข้อ 6.1) ปริมาตร 2, 3 และ 4 มิลลิลิตร ใส่ใน Volumetric flask ที่มี Stock Sample (ข้อ 6.5.1) ความเข้มข้นละ 10 ซีซี ปรับปริมาตรด้วย Acetone เขย่าให้เข้ากันนำไปฉีดเข้าเครื่อง GLC หาปริมาณ Fenitrothion เทียบกับกราฟ (ข้อ 6.3)

6.6 การประเมินค่า Accuracy จาก % Recovery

นำค่าปริมาณสารออกฤทธิ์ Fenitrothion ที่เป็นค่า Origin และ Spike (ข้อ 6.4-6.5) มาหาค่าเฉลี่ยและคำนวณค่า % Recovery โดยต้องอยู่ในช่วง 98 - 102 % ตามเกณฑ์พิจารณาสำหรับสารที่มีปริมาณมากกว่า 10 % ของ AOAC จากสูตร

$$\% \text{ Recovery} = \frac{(\text{Conc}_{\text{spiked sample}} - \text{Conc}_{\text{original sample}})}{\text{Conc}_{\text{added}}} \times 100$$

**ระยะเวลาดำเนินการ (เริ่มต้น-สิ้นสุด)**

ตุลาคม 2557 - กันยายน 2558

**สถานที่ดำเนินการ**

ห้องปฏิบัติการกลุ่มงานพัฒนาระบบตรวจสอบคุณภาพวัตถุดิบพืชการเกษตร กองวิจัยพัฒนาปัจจัยการผลิตทางการเกษตร กรมวิชาการเกษตร

## ผลการทดลองและวิจารณ์

ตารางที่ 1 ผลการประเมินค่า เปอร์เซ็นต์เฉลี่ยของสาร Technical grade และค่า % Relative Percent Different (RPD) ของสารมาตรฐาน

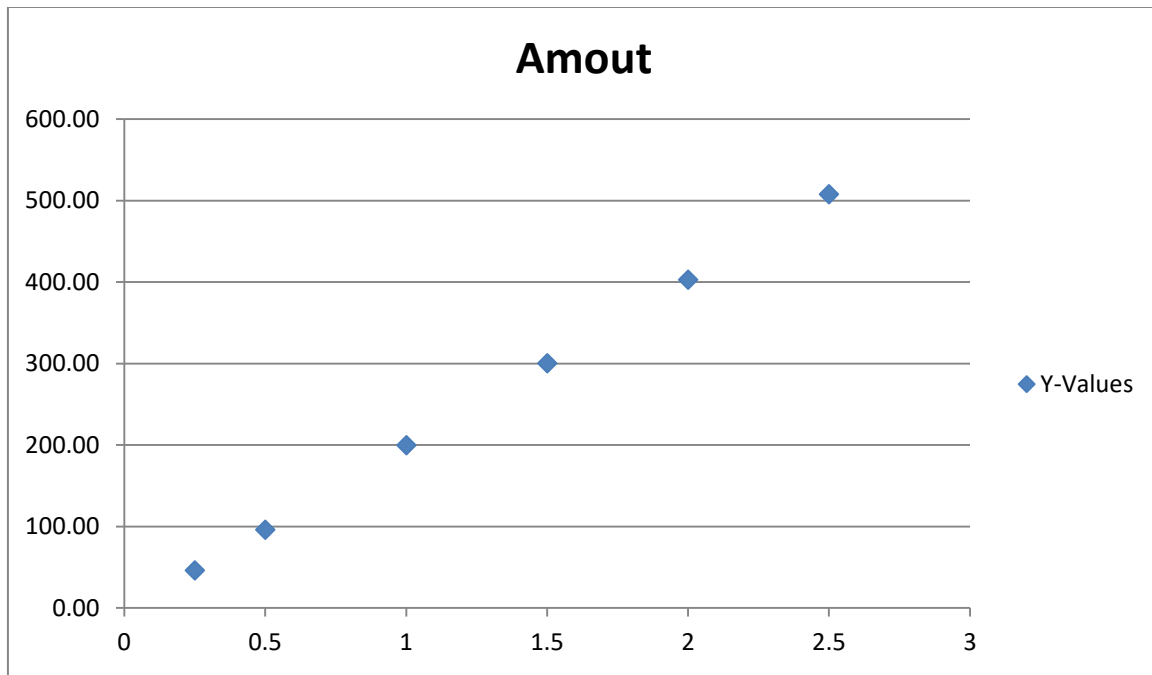
สารละลาย Technical grade	%ของสาร Technical grade	std.sol.	mg.	Area of STD	%RPD
T1	99.99	C 1	25.3	222.97653	0.573
		C 2	25.6	226.92027	
T2	99.92	C 1	25.3	223.34921	0.454
		C 2	25.6	227.03841	
T3	99.73	C 1	25.3	223.00333	0.110
		C 2	25.6	225.89865	
T4	99.54	C 1	25.3	222.69939	0.249
		C 2	25.6	225.89865	
T5	99.49	C 1	25.3	222.69939	1.326
		C 2	25.6	228.34103	
T6	99.66	C 1	25.3	221.08217	1.753
		C 2	25.6	227.64128	
T7	99.22	C 1	25.3	221.08217	1.725
		C 2	25.6	227.60172	
T8	99.84	C 1	25.3	222.31111	1.511
		C 2	25.6	228.36958	
T9	99.33	C 1	25.3	225.77821	0.239
		C 2	25.6	229.00037	
T10	99.38	C 1	25.3	224.98322	1.133
		C 2	25.6	230.24026	
เฉลี่ย	99.6				

จากตารางที่ 1 เมื่อหาค่าเฉลี่ยปริมาณของสาร Technical grade ที่ตรวจได้ทั้ง 10 ค่า จะได้เปอร์เซ็นต์ที่แน่นอนของสาร Technical grade เท่ากับ 99.6 % ได้ค่า SD เท่ากับ 0.261 ค่า %RSD เท่ากับ 0.262 และเมื่อหาค่า % Relative Percent Different (RPD) แล้ว พบว่าสารละลายมาตรฐานทั้ง 2 มีค่าไม่เกิน 3 %



ตารางที่ 3 การตรวจสอบช่วงของการวัด (Range)

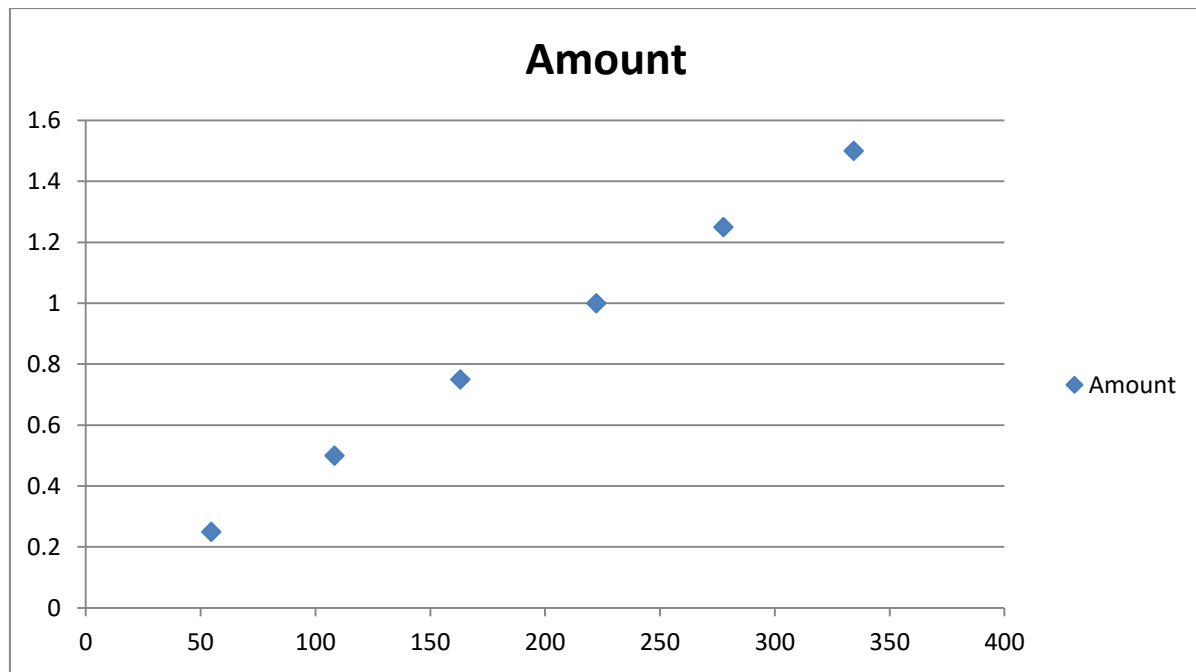
การหา Range ที่ความเข้มข้น 0.25 – 2.50 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร ของ Fenitrothion	
mg/ml	Area
0.25	45.92103
0.50	96.14136
1.00	199.76093
1.50	300.21976
2.00	402.80780
2.50	507.92905



จากการทดลองหาช่วงของการวัด Fenitrothion ได้ Range มีค่า 0.25 – 2.50 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร  
ได้ค่า Correlation coefficient (r) = 0.99991

ตารางที่ 4 การตรวจสอบความเป็นเส้นตรง (Linearity)

การหา Linearity ที่ความเข้มข้น 0.25 – 2.50 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร ของ Fenitrothion	
mg/ml	Area
0.25	54.64037
0.50	108.20332
0.75	163.02284
1.00	222.30299
1.25	277.63541
1.50	334.24759



จากการทดลองหา Linearity ได้ค่า Correlation coefficient (r) = 0.99994

ตารางที่ 5 การหา Precision ที่ 3 ความเข้มข้น ตรวจสอบการทวนซ้ำ (Repeatability)

ครั้งที่	ความเข้มข้น 0.5 mg/ml		ความเข้มข้น 1.0 mg/ml		ความเข้มข้น 1.5 mg/ml	
	นน.ตัวอย่างmg/ml	% ที่ตรวจพบ	นน.ตัวอย่าง mg/ml	% ที่ตรวจพบ	นน.ตัวอย่าง mg/ml	% ที่ตรวจพบ
1	26.2	47.12	52.2	46.98	78.2	46.96
2	26.3	47.54	52.3	48.64	78.3	47.32
3	26.4	46.86	52.5	47.07	78.3	47.99
4	26.4	46.77	52.6	47.18	78.4	48.11
5	26.6	46.45	52.9	46.32	78.5	47.98
6	26.6	45.84	52.9	46.26	78.6	47.26
7	26.6	45.10	52.9	47.08	78.6	48.39
8	26.7	46.33	53.1	46.25	78.6	47.49
9	26.8	45.90	53.6	46.20	78.7	47.86
10	26.9	46.99	53.6	46.51	78.9	47.91
mean		46.49		46.85		47.73
SD		0.722		0.742		0.447

การตรวจสอบ Precision ที่อยู่ในรูปของ Repeatability คือ การตรวจสอบความใกล้เคียงกันระหว่างข้อมูลที่ได้จากการวิเคราะห์ซ้ำ ซึ่งแสดงผลในรูปของ % RSD จากข้อมูลทั้งหมดของการทดลองได้ค่า ดังนี้

$$\bar{X} = 46.49 \quad \text{และได้ค่า} \quad SD = 0.821$$

คำนวณ % RSD ตามสูตร  $\% RSD = \frac{SD}{\bar{X}} \times 100$

$$\% RSD (\text{experimental}) = \frac{0.821 \times 100}{46.49} = 1.765$$

การประเมิน Precision โดยใช้ (HORRAT)  $HORRAT = \frac{\% RSD \text{ experimental}}{\text{Predicted Horwitz RSD}}$

คำนวณ Predicted Horwitz RSD ตามสูตร  $RSD = 0.66 \times 2^{(1-0.5 \log c)}$

เมื่อค่า C = Concentration ration ได้ค่า  $= 0.470$

$$RSD = 0.66 \times 2^{(1-0.5 \log c)} \quad \text{ได้ค่า} \quad = 1.478$$

$$\text{HORRAT} = \frac{1.765 \text{ ใ้ค่า}}{1.478} = 1.194$$

จากการทดลองหา Precision ที่อยู่ในรูปของ Repeatability ใ้ค่า HORRAT = 1.194  
 เกณฑ์ยอมรับค่า HORRAT มีดังนี้

AOAC ยอมรับ < 2

EU, Codex ยอมรับ < 2

ดังนั้นวิธีวิเคราะห์ Fenitrothion ให้ผลการทดสอบค่า HORRAT อยู่ในเกณฑ์ที่ยอมรับได้

ตารางที่ 6 การหา Precision ที่ 3 ความเข้มข้น ตรวจสอบการทวนซ้ำ (Reproducibility)

ครั้งที่	ความเข้มข้น 0.5 mg/ml		ความเข้มข้น 1.0 mg/ml		ความเข้มข้น 1.5 mg/ml	
	นน.ตัวอย่างmg/ml	% ที่ตรวจพบ	นน.ตัวอย่าง mg/ml	% ที่ตรวจพบ	นน.ตัวอย่าง mg/ml	% ที่ตรวจพบ
1	26.2	47.46	52.2	47.51	78.2	48.30
2	26.3	47.73	52.3	49.66	78.3	49.06
3	26.4	46.98	52.5	48.12	78.3	49.93
4	26.4	47.63	52.6	48.88	78.4	49.51
5	26.6	46.89	52.9	48.23	78.5	49.32
6	26.6	48.22	52.9	48.08	78.6	49.83
7	26.6	48.31	52.9	47.87	78.6	47.77
8	26.7	47.63	53.1	47.98	78.6	48.92
9	26.8	47.13	53.6	48.55	78.7	49.52
10	26.9	47.71	53.6	48.16	78.9	47.76
mean		47.57		48.30		48.99
SD		0.475		0.602		0.798

จากการทดลองหา Precision ที่อยู่ในรูปของ Reproducibility ใ้ค่า HORRAT = 1.201

ตารางที่ 6 การหา Precision ที่ 3 ความเข้มข้น ตรวจสอบการทวนซ้ำ (Robustness)

ครั้งที่	ความเข้มข้น 0.5 mg/ml		ความเข้มข้น 1.0 mg/ml		ความเข้มข้น 1.5 mg/ml	
	นน.ตัวอย่าง mg/ml	% ที่ตรวจพบ	นน.ตัวอย่าง mg/ml	% ที่ตรวจพบ	นน.ตัวอย่าง mg/ml	% ที่ตรวจพบ
1	26.2	46.16	52.2	47.53	78.2	49.17
2	26.3	46.60	52.3	49.31	78.3	49.05
3	26.4	46.34	52.5	47.04	78.3	50.17
4	26.4	46.68	52.6	48.22	78.4	49.50
5	26.6	46.05	52.9	48.08	78.5	49.40
6	26.6	46.40	52.9	48.27	78.6	49.07
7	26.6	47.25	52.9	48.52	78.6	49.02
8	26.7	47.10	53.1	47.66	78.6	50.31
9	26.8	46.63	53.6	48.10	78.7	49.08
10	26.9	46.94	53.6	48.22	78.9	48.65
mean		46.62		48.10		49.34
SD		0.393		0.609		0.526

จากการทดลองหา Precision ที่อยู่ในรูปของ Robustness ได้ค่า HORRAT = 0.832

ตารางที่ 8 การหา Precision ที่ 3 ความเข้มข้น ตรวจสอบการทวนซ้ำ (Ruggedness)

ครั้งที่	ความเข้มข้น 0.5 mg/ml		ความเข้มข้น 1.0 mg/ml		ความเข้มข้น 1.5 mg/ml	
	นน.ตัวอย่าง mg/ml	% ที่ตรวจพบ	นน.ตัวอย่าง mg/ml	% ที่ตรวจพบ	นน.ตัวอย่าง mg/ml	% ที่ตรวจพบ
1	26.2	47.87	52.2	48.15	78.2	47.83
2	26.3	47.96	52.3	50.08	78.3	47.65
3	26.4	47.67	52.5	47.98	78.3	48.09
4	26.4	47.74	52.6	48.03	78.4	47.16
5	26.6	47.62	52.9	47.65	78.5	47.92
6	26.6	48.26	52.9	47.92	78.6	48.12
7	26.6	47.55	52.9	47.58	78.6	48.03
8	26.7	48.36	53.1	47.67	78.6	49.52
9	26.8	47.87	53.6	47.43	78.7	48.21
10	26.9	47.82	53.6	47.49	78.9	48.16
mean		47.87		48.00		48.07
SD		0.263		0.770		0.598

จากการทดลองหา Precision ที่อยู่ในรูปของ Ruggedness ได้ค่า HORRAT = 1.748

ตารางที่ 9 ตรวจสอบ % Recovery ของ Fenitrothion

N	AI content (mg / 25 ml)								
	Conc.added(10.04mg/ml)			Conc.added(15.07 mg/ml)			Conc.added(20.09 mg/ml)		
	Origin	Spike	Added	Origin	Spike	Added	Origin	Spike	Added
1	9.84	20.08	10.04	9.82	25.11	15.07	9.85	30.21	20.09
2	9.81	20.17	10.04	9.83	25.31	15.07	9.82	30.30	20.09
3	9.87	20.02	10.04	9.83	25.28	15.07	9.84	30.32	20.09
4	9.83	20.01	10.04	9.85	25.14	15.07	9.81	30.14	20.09
5	9.82	20.15	10.04	9.84	25.24	15.07	9.84	30.31	20.09
6	9.84	20.16	10.04	9.82	25.19	15.07	9.82	30.24	20.09
7	9.82	20.08	10.04	9.87	25.10	15.07	9.81	30.15	20.09
8	9.83	20.13	10.04	9.81	25.11	15.07	9.80	30.21	20.09
9	9.81	20.04	10.04	9.86	25.16	15.07	9.83	30.12	20.09
10	9.83	20.05	10.04	9.86	25.14	15.07	9.79	30.27	20.09
mean	9.83	20.09	10.04	9.84	25.18	15.07	9.82	30.23	20.09
SD	0.018	0.060		0.020	0.074		0.019	0.073	
% RSD	0.183	0.298		0.203	0.294		0.193	0.241	
%Recovery			102.1			101.7			101.5

$$\% \text{ Recovery} = \left( \frac{\text{Conc Spiked sample} - \text{Conc original sample}}{\text{Conc added}} \right) \times 100$$

$$\% \text{ Recovery ที่มีความเข้มข้นต่ำ (มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร)} = \frac{20.09 - 9.83}{10.04} \times 100 = 102.1$$

$$\% \text{ Recovery ที่มีความเข้มข้นกลาง (มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร)} = \frac{25.18 - 9.84}{15.07} \times 100 = 101.7$$

$$\% \text{ Recovery ที่มีความเข้มข้นสูง (มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร)} = \frac{30.23 - 9.82}{20.09} \times 100 = 101.5$$

% Recovery เหนือ = 101.7

### สรุปผลการทดลองและข้อเสนอแนะ

จากการศึกษาวิธีการตรวจวิเคราะห์ **Fenitrothion** โดยวิธี Gas Liquid Chromatography (GLC) ได้สถานะที่เหมาะสม ดังนี้

Column : Capillary,HP-5(5% Phenyl methyl siloxane)

30 m. x 0.32 mm. (id.), 0.25  $\mu$ m, film thickness

Split injection : Split ratio : 50:1, Injection volume : 1  $\mu$ l.

Detector : Flame ionization

Temperature : Colum oven : 210  $^{\circ}$ C,

Injection port : 250  $^{\circ}$ C,

Detector : 250  $^{\circ}$ C

ได้ทำการตรวจสอบความใช้ได้ของวิธีการวิเคราะห์นี้ ผลอยู่ในเกณฑ์ที่ยอมรับได้ ดังนี้

ค่า Range หรือปริมาณของสารที่ใช้ทดสอบสามารถวิเคราะห์ได้อย่างถูกต้องและแม่นยำ อยู่ในช่วง 0.25 – 2.50 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร มีค่า Correlation coefficient (r) เท่ากับ 0.99991 เกณฑ์ยอมรับค่า Correlation coefficient (r) ต้องมากกว่า 0.995

ค่า Linearity หรือค่าความสัมพันธ์ระหว่าง response กับปริมาณของสารที่วิธีวิเคราะห์สามารถทำได้ อยู่ในช่วงความเข้มข้น 0.50 ถึง 1.50 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร โดยมีค่า Correlation coefficient (r) เท่ากับ 0.99994 เกณฑ์ยอมรับค่า Correlation coefficient (r) ต้องมากกว่า 0.995

การตรวจสอบค่า Precision ได้ผลดังนี้ ค่า Repeatability ได้ค่า HORRAT เท่ากับ

1.194, Reproducibility ได้ค่า HORRAT เท่ากับ 1.201, Robustness ได้ค่า HORRAT เท่ากับ 0.832 และ Ruggedness ได้ค่า HORRAT เท่ากับ 1.748 ซึ่งทั้งหมดไม่เกิน 2 ตามเกณฑ์พิจารณาของ AOAC และ EU,Codex

การตรวจสอบค่า Accuracy ของวิธีการวิเคราะห์ได้ % Recovery เท่ากับ 101.7 % ซึ่งอยู่ในช่วง

98 – 102 % ตามเกณฑ์พิจารณาดำหรับสารที่มีปริมาณมากกว่า 10% ของ AOAC ดังนั้นวิธีวิเคราะห์นี้สามารถนำไปวิเคราะห์เปอร์เซ็นต์ Fenitrothion ได้อย่างถูกต้อง

### การนำไปใช้ประโยชน์

ผลการทดลองที่ได้นำไปใช้ประโยชน์ในการวิเคราะห์ Fenitrothion ในผลิตภัณฑ์วัตถุมีพิษการเกษตร เพื่อการควบคุมคุณภาพตามพระราชบัญญัติวัตถุอันตราย พ.ศ.2535

วิธีวิเคราะห์ที่ได้ศึกษานี้ สามารถถ่ายทอดให้แก่หน่วยงานราชการอื่นๆ และหน่วยงานเอกชนที่จะนำไปใช้ในการตรวจ Fenitrothion เพื่อการควบคุมคุณภาพในการผลิตและจำหน่ายต่อไป

### เอกสารอ้างอิง

กนกพร อธิสุข และ ทิพวรรณ นิ่งน้อย (2547). Method Validation, เอกสารประกอบการฝึกอบรม  
กรมวิทยาศาสตร์การแพทย์.

กองควบคุมพืชและวัสดุการเกษตร.2537 การขึ้นทะเบียนวัตถุมีพิษการเกษตรในประเทศไทย.กรมวิชาการ  
เกษตร กระทรวงเกษตรและสหกรณ์. ซาลีรัฐกิจและโฆษณา, กรุงเทพฯ.

Kidd, H.and D.R.James (Eds).1993.The Agrochemicals Handbook.3<sup>rd</sup>.ed.Royal Society of chemistry, England

FAO/WHO joint meeting on Pesticide Specification(JMPS).2010 Manual on development and use of  
FAO and WHO specification for pesticide.Switzerland:PublicationsDivision,World Health Organization of the  
United Nations.