

รายงานผลงานเรื่องเติมการทดลองที่สิ้นสุด ปีงบประมาณ 2558

1. ชื่อชุดโครงการ : วิจัยและพัฒนาปัจจัยการผลิตทางการเกษตร
2. ชื่อโครงการ : การพัฒนาระบบการตรวจวิเคราะห์พืชและปัจจัยการผลิตทางการเกษตร
กิจกรรมที่ 1 : การพัฒนาระบบการตรวจวิเคราะห์พืช ดิน น้ำ สารอินทรีย์ สารควบคุมการเจริญเติบโต สารสกัด และวัตถุอันตรายทางการเกษตร
กิจกรรมย่อย 1.5 : วิจัยและพัฒนาเทคนิคการตรวจรับรองผลิตภัณฑ์วัตถุพืชรักษานโรคพืช
3. ชื่อการทดลอง 1.5.5 : ตรวจสอบความใช้ได้ของวิธีวิเคราะห์วัตถุพืชรักษานโรคพืช diazinon
: Method Validation of diazinon in Pesticide Formulations
4. คณะผู้ดำเนินงาน
หัวหน้าการทดลอง : นางจิตตานันท์ สรวายเอี่ยม กลุ่มวิจัยวัตถุพืชรักษานโรคพืช สปผ.
ผู้ร่วมงาน : นางสาวสุกัญญา คำคง กลุ่มวิจัยวัตถุพืชรักษานโรคพืช สปผ.

5. บทคัดย่อ

การตรวจสอบความใช้ได้ของวิธีวิเคราะห์สารออกฤทธิ์ diazinon ในผลิตภัณฑ์สารกำจัดแมลง สูตรผสม 60% W/V EC ด้วยเทคนิค Gas Chromatography (GC) โดยมีตัวตรวจจับชนิด Flame ionization detector (FID) ด้วยแคปิลลารีคอลัมน์ DB-5 (30 m × 0.32 mm (id.) 0.25 μm film thickness) ใช้ He เป็นแก๊สตัวพา อัตราการไหล 2 ml/min อุณหภูมิคอลัมน์เริ่มต้นที่ 220 °C อุณหภูมิการฉีด 250 °C อุณหภูมิตัวตรวจจับ 250 °C โหมดการฉีด Split ratio 50 : 1 ปริมาณการฉีด 1 μl วิธีทดสอบนี้ ให้ผลการทดสอบปริมาณสาร diazinon ที่มีช่วงที่เป็นเส้นตรง (Linearity) ในช่วงความเข้มข้น 0.2-3.0 mg/ml ได้ค่า Correlation coefficient (r) เท่ากับ 0.99993 ให้ค่าช่วงการใช้งาน 0.3-2.5 mg/ml ได้ค่า Correlation coefficient (r) เท่ากับ 0.99992 เกณฑ์ยอมรับ AOAC ค่า $r \geq 0.995$

การตรวจสอบความแม่นยำ (Accuracy) ของปริมาณสาร diazinon เมื่อพิจารณาจาก % Recovery เท่ากับ 99.9 101.2 และ 99.9 ตามลำดับ เกณฑ์ยอมรับ AOAC % Recovery เท่ากับ 98 - 102 %

การทดสอบค่า Precision ประเมินแบบ Repeatability ที่ความเข้มข้น 0.5, 1.0 และ 1.5 มิลลิกรัมต่อ มิลลิลิตร ได้ค่า HORRAT เท่ากับ 0.420 0.401 และ 0.378 ประเมินแบบ Intra-laboratory Reproducibility ได้ค่า HORRAT เท่ากับ 0.488 0.426 และ 0.430 ค่า Ruggedness/Robustness ได้ค่า HORRAT เท่ากับ 0.582 0.535 และ 0.386 เกณฑ์ยอมรับ AOAC: HORRAT ≤ 2 จากการประเมินผลการทดสอบพารามิเตอร์ต่างๆ อยู่ในเกณฑ์ยอมรับได้ สามารถนำวิธีนี้ไปใช้เป็นวิธีมาตรฐานในการตรวจวิเคราะห์ได้ที่ให้ผลวิเคราะห์ถูกต้อง และแม่นยำ ยอมรับได้ในระดับสากล

A Gas Chromatographic (GC) method using Flame Ionization Detector (FID) was developed and validation for quantitative determination of 60% W/V EC diazinon content in insecticide pesticide formulations. The analysis was carried out on column DB-5 (30 m × 0.32

mm (id.) 0.25 μ m film thickness). The conditions using helium was 2 ml/min, Oven temperature 220 °C, Detector temperature 250 °C Injector temperature 250 °C, Split ratio 50:1 and Injection volume 1 μ l. The validation presented the concentration of linearity from 0.2 to 3.0 mg/ml (correlation coefficient 0.99993), the concentration of working range from 0.3 to 2.5 mg/ml (correlation coefficient 0.99992) AOAC accepted for $r \geq 0.995$

Accuracy was defined by % Recovery was 99.2 100.9 100.0 (AOAC accepted the % Recovery as 98-102%), precision was estimated the concentration level 0.5 1.0 1.5 mg/ml by Repeatability with the HORRAT as 0.327 0.335 0.374 and Intra-laboratory Reproducibility with the HORRAT as 0.325 0.408 0.386 and Ruggedness/Robustness with the HORRAT as 0.456 0.376 0.265 (AOAC accepted the HORRAT ≤ 2) The result obtained in this parameter was acceptable, this method can be used as standard method for determined the accuracy and precision of the analytical results is the International level.

6. คำนำ

สารกำจัดแมลง diazinon เป็นสารกลุ่มออร์กาโนฟอสฟอรัส ชนิดไม่ดูดซึม มีชื่อทางเคมีตาม IUPAC เป็น *O,O*-Diethyl *O*-[4-methyl-6-(propan-2-yl)pyrimidin-2-yl] phosphorothioate สารนี้นิยมใช้กันอย่างแพร่หลายทั้งทางด้านเกษตร และสาธารณสุข การวิเคราะห์ปริมาณสารออกฤทธิ์ diazinon มีวิธีมาตรฐานตาม CIPAC Handbook Vol.1A โดยการวิเคราะห์ด้วยเทคนิค GC ใช้คอลัมน์แก้วภายในบรรจุด้วย 10% silicone DC 200 ซึ่งคอลัมน์แก้วที่มีเส้นผ่านศูนย์กลางขนาดใหญ่ ทำให้ประสิทธิภาพการแยกสารไม่ดีเท่าแคลฟิลลารีคอลัมน์

ดังนั้นงานวิจัยนี้มุ่งที่จะพัฒนาวิธีวิเคราะห์ เพื่อให้เหมาะสมและสอดคล้องกับเครื่องมือที่มีในห้องปฏิบัติการ โดยดำเนินการตรวจสอบความใช้ได้ของวิธีทดสอบ (Method Validation) ของผลิตภัณฑ์ diazinon 60%W/V EC ที่สามารถให้ผลการวิเคราะห์น่าเชื่อถือ ถูกต้อง แม่นยำ ยอมรับได้ในระดับสากล

7. วิธีดำเนินการ

อุปกรณ์และสารเคมี

1. เครื่อง Gas Chromatograph (GC) มีตัวตรวจจับชนิด Flame Ionization Detector (FID)
2. คอลัมน์ชนิด Capillary ภายในเคลือบด้วย 5 % phenyl methyl siloxane (DB-5) ความยาว 30 เมตร ขนาดเส้นผ่านศูนย์กลางภายใน 0.32 มิลลิเมตร ความหนาของฟิล์ม 0.25 ไมโครเมตร
3. เครื่องชั่งละเอียด 4-5 ตำแหน่ง ที่ผ่านการสอบเทียบ
4. ขวดปริมาตร และปิเปต (class A) ที่ผ่านการสอบเทียบ
5. สารมาตรฐาน diazinon ความบริสุทธิ์ 98.9%
6. สารเข้มข้น diazinon 95% min. Tech.
7. ตัวอย่างผลิตภัณฑ์ของ diazinon 60% W/V EC

8. Acetone AR grade

9. Ultrasonic bath

วิธีการ

1. การตรวจสอบปริมาณที่แน่นอนของสารเข้มข้น diazinon

1.1 การปรับตั้งสถานะเครื่อง GC-FID

Capillary column : DB-5 (30 m × 0.25 mm (i.d.), 0.25 μm)

Oven temperature : 220 °C

Injector temperature : 250 °C

Detector temperature : 250 °C

Split injection : Split ratio 50 : 1

Carrier gas : Helium 2.0 ml/min

Injection volume : 1 μl

1.2 การเตรียมสารละลายมาตรฐาน diazinon โดยชั่งสารให้มีปริมาณสารออกฤทธิ์อย่างละ 10 มิลลิกรัม (± 2.0 มิลลิกรัม) จำนวนอย่างละ 2 ซ้ำ (C_A, C_B) ลงในขวดวัดปริมาตรขนาด 10 มิลลิลิตร ละลายด้วย acetone เขย่าให้เข้ากันด้วย ultrasonic bath 5 นาที ปรับปริมาตรด้วย acetone

1.3 การเตรียมสารละลายของสารเข้มข้น diazinon โดยชั่งสารเข้มข้น ให้มีปริมาณสารออกฤทธิ์อย่างละ 25 มิลลิกรัม (±2.0 มิลลิกรัม) จำนวนอย่างละ 10 ซ้ำ (TC₁-TC₁₀) ลงในขวดวัดปริมาตรขนาด 25 มิลลิลิตร ละลายด้วย acetone เขย่าให้เข้ากันด้วย ultrasonic bath 5 นาที ปรับปริมาตรด้วย acetone

1.4 การฉีดสารละลายเข้าเครื่อง GC-FID โดยฉีดสารละลายมาตรฐาน C_A และ C_B สลับกันหลายๆ ครั้ง จนได้ค่า response factor เฉลี่ยไม่เกิน 1 %

1.5 การคำนวณปริมาณสารออกฤทธิ์ diazinon ในสูตร

$$f = S \times P / H_S$$

$$\text{ปริมาณสารออกฤทธิ์ (\% W/W)} = \frac{f_{avr.} \times H_W}{W}$$

โดยที่ S = น้ำหนักสารมาตรฐาน หน่วยเป็นมิลลิกรัม

P = ความบริสุทธิ์ของสารมาตรฐาน หน่วยเป็น %

H_S = พื้นที่ใต้พีคของสารละลายมาตรฐาน

W = น้ำหนักสารละลายของสารเข้มข้น หน่วยเป็นมิลลิกรัม

f_{avr.} = ค่าเฉลี่ย response factor ของสารละลายมาตรฐานทั้ง 2 ซ้ำ

H_W = พื้นที่ใต้พีคของสารละลายของสารเข้มข้น

2. การตรวจสอบความใช้ได้ปริมาณสารออกฤทธิ์ diazinon 60%W/V EC

2.1 การตรวจสอบช่วงความเป็นเส้นตรง (Range/Linearity)

2.1.1 ตรวจสอบค่า Linearity

2.1.1.1 ซั่งสารเข้มข้น diazinon ที่ทราบเปอร์เซ็นต์แน่นอน ครอบคลุมความเข้มข้นช่วงการใช้งาน 6 ความเข้มข้น คือ 0.2 0.5 1.0 1.5 2.0 3.0 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร ละลายด้วย acetone

2.1.1.2 นำสารละลายฉีดเข้าเครื่อง GC-FID ที่เตรียมสถานะเครื่องตามข้อ 1(1.1)

2.1.1.3 วาดกราฟระหว่างความเข้มข้นของสารละลาย diazinon (แกน X) กับค่า response (แกน Y) พิจารณช่วงความเป็นเส้นตรง

2.1.2 ค่า Working Range

2.1.2.1 เลือกความเข้มข้นที่เป็นเส้นตรง 3 ช่วงความเข้มข้นจากข้อ 2.1.1 ให้อยู่ในช่วงใกล้เคียงการใช้งานจริง ความเข้มข้น 0.30 0.50 1.00 1.50 2.00 2.50 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร ละลายและปรับปริมาตรด้วย acetone ฉีดเข้าเครื่อง GC-FID

2.1.2.2 วาดกราฟระหว่างความเข้มข้นของสารละลาย diazinon (แกน X) กับค่า response (แกน Y) ต้องได้ค่า correlation coefficient (r) ≥ 0.995

2.2 การตรวจสอบความแม่นยำ (Accuracy)

2.2.1 การเตรียม Stock สารละลายของสารเข้มข้น diazinon ที่ทราบความบริสุทธิ์แน่นอน เพื่อทำ standard calibration curve

2.2.1.1 เตรียม stock ของสารเข้มข้น diazinon ที่ความเข้มข้น 5.02 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร โดยซั่งปริมาณ 567.8 มิลลิกรัม ใส่ลงในปิកเกอร์ขนาด 100 มิลลิลิตร ละลายด้วย acetone เทผ่านกรวยกรองสู่ขวดวัดปริมาตร 100 มิลลิลิตร กั้วด้วย acetone หลายๆครั้ง เขย่าให้เข้ากันด้วยเครื่อง ultrasonic bath 5 นาที ละลายและปรับปริมาตรด้วย acetone

2.2.1.2 ปีเปิดสารละลายจากข้อ 2.2.1.1 ปริมาตร 1.0 2.5 5.0 7.5 และ 10.0 มิลลิลิตร ลงในขวดวัดปริมาตรขนาด 25 มิลลิลิตร ปรับปริมาตรด้วย acetone เขย่าให้เข้ากัน นำสารละลายฉีดเข้าเครื่อง GC-FID

2.2.2 การเตรียมสารละลาย stock sample

ซั่งผลิตภัณฑ์ diazinon % W/V EC ปริมาณ 1674.1 มิลลิกรัม ใส่ลงในปิกเกอร์ขนาด 100 มิลลิลิตร ละลายด้วย acetone เทผ่านกรวยกรองสู่ขวดวัดปริมาตร 1,000 มิลลิลิตร เขย่าให้เข้ากันด้วยเครื่อง ultrasonic bath 5 นาที ปล่อยให้สารละลายปรับตัวเข้าสู่อุณหภูมิห้อง ปรับปริมาตรด้วย acetone

2.2.3 การเตรียมสารละลาย original sample

ปีเปิดสารละลาย stock sample จากข้อ 2.2.2 ปริมาตร 10 มิลลิลิตร ลงในแต่ละขวดวัดปริมาตรขนาด 25 มิลลิลิตร จำนวน 10 ซ้ำ ปรับปริมาตรด้วย acetone เขย่าให้เข้ากัน และแบ่งใส่ขวด vial ขนาด 2 มิลลิลิตร นำสารละลายฉีดเข้าเครื่อง GC-FID ได้ค่า 0

2.2.4 การเตรียมสารละลาย stock ของสารละลายเข้มข้น

ซังสารเข้มข้นปริมาณ 1,265.1 มิลลิกรัม ใส่ลงในปิอกเกอร์ขนาด 100 มิลลิลิตร ละลายด้วย acetone เทผ่านกรวยกรองสู่ขวดวัดปริมาตร 250 มิลลิลิตร เขย่าให้เข้ากันด้วยเครื่อง ultrasonic bath 5 นาที ปล่อยให้สารละลายปรับตัวเข้าสู่อุณหภูมิห้อง ปรับปริมาตรด้วย acetone

2.2.5 การเตรียมสารละลาย fortified sample

ทำ fortified sample โดยปิเปตสารละลาย stock ของสารเข้มข้น diazinon จากข้อ 2.2.1.1 ปริมาตร 2.5 5.0 และ 7.5 มิลลิลิตร ตามลำดับ ลงในขวดวัดปริมาตรขนาด 25 มิลลิลิตร ที่มี matrix ปริมาตร 10 มิลลิลิตร ความเข้มข้นละ 10 ซ้ำ ฉีดเข้าเครื่อง GC-FID ได้ค่า F

2.2.5 การประเมินค่า accuracy จาก % Recovery

$$\% \text{ Recovery} = \frac{F - O}{C} \times 100$$

เมื่อ F คือ ปริมาณสาร ในสารละลาย fortified sample (มก./25มล.)

O คือ ปริมาณสาร ในสารละลาย original sample (มก./25มล.)

C คือ ปริมาณ added sample (มก.)

ค่าความแม่นยำ ต้องได้ % Recovery อยู่ในช่วง 98 – 102 ตามเกณฑ์ AOAC

2.3 การตรวจสอบความเที่ยง (Precision)

ประเมินความเที่ยงแบบ Repeatability (การทำซ้ำ) และ Intra-laboratory reproducibility (การทำซ้ำ ต่างวันเวลา) โดยมีขั้นตอนดังนี้

2.3.1 การเตรียมสารละลายของสารเข้มข้น diazinon ที่ทราบความบริสุทธิ์แน่นอน เพื่อทำ standard calibration curve

2.3.1.1 เตรียม stock ของสารเข้มข้น มีขั้นตอนและความเข้มข้นตามข้อ 2.2.1.1

2.3.1.2 ปิเปตสารละลายจากข้อ 2.3.1.1 ปริมาตร 1.0 2.5 5.0 7.5 และ 10 มิลลิลิตร ลงในขวดวัดปริมาตรขนาด 25 มิลลิลิตร ปรับปริมาตรด้วย acetone เขย่าให้เข้ากัน จะได้ standard calibration curve ความเข้มข้น 0.2 0.5 1.0 1.5 และ 2.0 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร นำสารละลายฉีดเข้าเครื่อง GC-FID

2.3.2 การเตรียมสารละลายตัวอย่างของผลิตภัณฑ์ diazinon 60% W/V EC

ซังผลิตภัณฑ์ diazinon 60% W/V EC ที่เขย่าให้เป็นเนื้อเดียวกัน ปริมาณ 20, 40 และ 60 มิลลิกรัม (\pm 5.0 มิลลิกรัม) จำนวนความเข้มข้นละ 10 ซ้ำ ลงในขวดวัดปริมาตรขนาด 25 มิลลิลิตร ละลายด้วย acetone ปริมาตร 15 มิลลิลิตร เขย่าและปรับปริมาตรด้วย acetone

2.3.3 วิเคราะห์หาปริมาณสารออกฤทธิ์ diazinon เปรียบเทียบกับความเข้มข้นของ standard calibration curve ข้อ 2.3.1

2.3.4 การคำนวณค่าความเที่ยง ด้วยการประเมินค่า HORRAT ตามสูตร ดังนี้

$$\text{HORRAT (Horwitz's ratio)} = \frac{\% \text{ RSD ที่ได้จากวิธีการวิเคราะห์}}{\text{Predicted Horwitz RSD จากทฤษฎี}}$$

$$\text{เมื่อ \% RSD (relative standard deviation)} = \frac{\text{SD}}{\bar{X}} \times 100$$

$$\text{Predicted Horwitz RSD} = 0.66 \times 2^{(1-0.5 \log C)}$$

C คือ อัตราส่วนความเข้มข้นของ analyte

2.4 การตรวจสอบความแข็งแกร่ง Robustness/Ruggedness

ทำการเปลี่ยนเครื่องมืออีกเครื่องหนึ่ง ใช้คอลัมน์ชนิดเดียวกัน ดำเนินการตาม precision

ระยะเวลา เดือน ตุลาคม 2557 ถึงเดือน กันยายน 2558

สถานที่ทำการทดลอง

ห้องปฏิบัติการกลุ่มงานพัฒนาระบบตรวจสอบคุณภาพวัตถุที่มีพิษการเกษตร กลุ่มวิจัยวัตถุที่มีพิษการเกษตร สำนักวิจัยพัฒนาปัจจัยการผลิตทางการเกษตร

8. ผลและวิจารณ์ผลการทดลอง

การตรวจสอบความใช้ได้ของวิธีวิเคราะห์ เพื่อหาปริมาณสารออกฤทธิ์ diazinon ในผลิตภัณฑ์สารกำจัดแมลง diazinon 95 % min. Tech. เทียบกับสารละลายมาตรฐาน ได้ค่าเฉลี่ยร้อยละ 99.2 %W/W

พิจารณาการความป็นเส้นตรง (Linearity) ของวิธีวิเคราะห์ diazinon พบว่า มีช่วงความเป็นเส้นตรงครอบคลุมความเข้มข้น 0.2 – 3.0 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร พบว่า มีค่า correlation coefficient @ เท่ากับ 0.99993

ตรวจสอบช่วงการใช้งาน (Working Range) ของวิธีวิเคราะห์ diazinon ในช่วงความเข้มข้น 0.3 – 2.5 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร ที่ครอบคลุมช่วงการใช้งานอีกครั้ง พบว่า มีค่า correlation coefficient @ เท่ากับ 0.99992 เกณฑ์ยอมรับตามมาตรฐาน AOAC ต้องมีค่า $r \geq 0.995$

การตรวจสอบค่าความแม่นยำ (Accuracy) ที่ความเข้มข้น 3 ระดับของ diazinon คือ 0.497 0.995 และ 1.494 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร จำนวน 30 ซ้ำ คำนวณค่า % Recovery เท่ากับ 99.9 101.2 และ 99.9 (ตารางที่ 1) ผ่านเกณฑ์ยอมรับตามมาตรฐาน AOAC ในช่วง % Recovery เท่ากับ 98 – 102 ค่าความแม่นยำทั้ง 3 ระดับความเข้มข้นสามารถครอบคลุมช่วงที่ใช้งานการวิเคราะห์ปริมาณสารออกฤทธิ์ diazinon

การตรวจสอบความเที่ยง (Precision) ประเมินแบบ Repeatability ที่ความเข้มข้น 3 ระดับของ diazinon คือ 0.5 1.0 และ 1.5 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร จำนวนอย่างละ 10 ซ้ำ ได้ค่า HORRAT เท่ากับ 0.420 0.401 และ 0.378 (ตารางที่ 2) ประเมินแบบ Intra-laboratory reproducibility ที่ความเข้มข้น 3 ระดับของ diazinon คือ 0.5 1.0 และ 1.5 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร จำนวน 10 ซ้ำ ได้ค่า HORRAT เท่ากับ 0.488 0.426 และ 0.430 (ตารางที่ 3) ซึ่งผลการทดสอบผ่านเกณฑ์การยอมรับตาม AOAC ต้องได้ค่า HORRAT ≤ 2

การตรวจสอบความแข็ง (Robustness/Ruggedness) ที่ความเข้มข้น 3 ระดับของ diazinon คือ 0.5 1.0 และ 1.5 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร จำนวน 10 ซ้ำ ได้ค่า HORRAT เท่ากับ 0.582 0.535 และ 0.386 (ตารางที่ 4) ซึ่งผลการทดสอบผ่านเกณฑ์การยอมรับตาม AOAC ต้องได้ค่า HORRAT \leq 2

ตารางที่ 1 การตรวจสอบ % Recovery ของปริมาณ diazinon

Number	Active ingredient content (mg/25 ml)								
	ความเข้มข้นระดับต่ำ			ความเข้มข้นระดับกลาง			ความเข้มข้นระดับสูง		
	Origin	Spike	Added	Origin	Spike	Added	Origin	Spike	Added
1	10.31	23.01	12.54	10.31	35.57	25.09	10.31	47.94	37.65
2	10.31	22.99	12.54	10.31	35.65	25.09	10.31	47.71	37.65
3	10.31	22.60	12.54	10.31	35.69	25.09	10.31	48.15	37.65
4	10.31	23.02	12.54	10.31	35.74	25.09	10.31	47.86	37.65
5	10.31	22.70	12.54	10.31	35.75	25.09	10.31	47.51	37.65
6	10.31	22.65	12.54	10.31	35.63	25.09	10.31	48.06	37.65
7	10.31	22.83	12.54	10.31	35.66	25.09	10.31	48.13	37.65
8	10.31	22.88	12.54	10.31	35.42	25.09	10.31	48.13	37.65
9	10.31	22.82	12.54	10.31	35.78	25.09	10.31	47.92	37.65
10	10.31	22.88	12.54	10.31	36.19	25.09	10.31	47.84	37.65
% Recovery	99.9			101.2			99.9		

ตารางที่ 2 การตรวจสอบ Precision ประเมินแบบ Repeatability ของปริมาณ diazinon ในผลิตภัณฑ์

Number	Conc ⁿ (0.5 mg/ml)		Conc ⁿ (1.0 mg/ml)		Conc ⁿ (1.5 mg/ml)	
	Wt. of Sample (mg)	Al. Content % (W/W)	Wt. of Sample (mg)	Al. Content % (W/W)	Wt. of Sample (mg)	Al. Content % (W/W)
1	19.3	59.14	39.7	59.42	60.2	59.24
2	19.9	59.22	39.9	59.17	60.4	59.44
3	23.9	58.96	40.3	59.65	60.9	59.00
4	25.0	59.05	40.6	58.99	61.1	59.04
5	20.6	59.78	40.8	58.94	61.9	58.55
6	20.7	59.25	41.0	58.74	62.2	59.54
7	20.7	59.12	41.4	58.49	62.4	59.14
8	20.9	58.91	42.4	59.07	62.5	58.94
9	21.5	59.99	43.4	59.24	63.0	59.00
10	21.7	59.57	43.1	59.35	64.7	59.61

ตารางที่ 2 การตรวจสอบ Precision ประเมินแบบ Repeatability ของปริมาณ diazinon ในผลิตภัณฑ์ (ต่อ)

Number	Conc ⁿ (0.5 mg/ml)		Conc ⁿ (1.0 mg/ml)		Conc ⁿ (1.5 mg/ml)	
	Wt. of Sample (mg)	Al. Content % (W/W)	Wt. of Sample (mg)	Al. Content % (W/W)	Wt. of Sample (mg)	Al. Content % (W/W)
Mean	-	59.29	-	59.10	-	59.15
SD	-	0.3563	-	0.3385	-	0.3192
%RSD _{exp.}	-	0.601	-	0.573	-	0.540
Horwitz	-	1.429	-	1.429	-	1.429
HORRAT	-	0.420	-	0.401	-	0.378

ตารางที่ 3 การตรวจสอบ Precision ประเมินแบบ Intra-laboratory Reproducibility ของปริมาณ diazinon

Number	Conc ⁿ (0.5 mg/ml)		Conc ⁿ (1.0 mg/ml)		Conc ⁿ (1.5 mg/ml)	
	Wt. of Sample (mg)	Al. Content % (W/W)	Wt. of Sample (mg)	Al. Content % (W/W)	Wt. of Sample (mg)	Al. Content % (W/W)
1	19.3	59.27	39.9	59.41	60.4	59.54
2	20.3	58.05	40.3	59.10	60.6	59.33
3	20.5	59.11	40.6	58.80	60.7	59.32
4	20.6	59.15	40.8	58.69	62.0	58.99
5	20.7	59.09	41.4	59.00	62.2	58.71
6	20.9	58.90	42.4	59.18	62.4	58.87
7	21.0	58.86	43.1	59.44	62.4	58.77
8	21.5	58.48	44.3	59.02	62.5	58.39
9	21.7	58.58	44.3	59.71	62.6	58.60
10	22.3	59.39	43.4	59.76	64.7	58.78
Mean	-	58.88	-	59.21	-	58.93
SD	-	0.411	-	0.361	-	0.363
%RSD _{exp.}	-	0.698	-	0.609	-	0.615
Horwitz	-	1.429	-	1.429	-	1.429
HORRAT	-	0.488	-	0.426	-	0.430

ตารางที่ 4 การตรวจสอบ Robustness/ Ruggedness ของปริมาณ diazinon ในผลิตภัณฑ์

Number	Conc ⁿ (0.5 mg/ml)		Conc ⁿ (1.0 mg/ml)		Conc ⁿ (1.5 mg/ml)	
	Wt. of Sample (mg)	Al. Content % (W/W)	Wt. of Sample (mg)	Al. Content % (W/W)	Wt. of Sample (mg)	Al. Content % (W/W)
1	19.3	59.81	39.7	59.23	60.4	59.54
2	19.9	58.57	39.9	59.66	60.6	59.33
3	20.5	58.74	44.3	59.94	60.7	59.32
4	20.6	59.25	40.6	59.03	62.0	58.99
5	20.7	59.18	41.0	59.10	62.2	58.71
6	21.0	59.74	41.4	58.51	62.4	58.87
7	21.5	59.82	42.5	59.72	62.4	58.77
8	21.7	59.59	42.5	58.93	62.6	58.60
9	22.1	58.79	43.1	59.80	63.0	58.68
10	22.3	59.82	44.0	59.24	64.7	58.78
Mean	-	59.33	-	59.32	-	58.96
SD		0.493		0.453		0.325
%RSDexp.		0.831		0.764		0.551
Horwitz		1.429		1.429		1.429
HORRAT		0.582		0.535		0.386

9. สรุปผลการทดลองและข้อเสนอแนะ/คำแนะนำ

1. วิธีการวิเคราะห์ปริมาณสารออกฤทธิ์ diazinon ในผลิตภัณฑ์สารกำจัดแมลง โดยใช้เทคนิค Gas Chromatography (GC) มีตัวตรวจจับ (Detector) ชนิด Flame Ionization Detector (FID) ด้วย Capillary column ชนิด DB-5 (30 m × 0.32 mm (i.d.), 0.25 μm) มีสภาวะเครื่องการใช้งานที่ Oven 220 °C, Injector 250 °C, Detector 250 °C, Split ratio 50 : 1, Helium 2.0 ml/min, Injection volume 1 μl, Run time 4 min

2. การตรวจสอบความใช้ได้ของวิธีวิเคราะห์ ให้ค่า Linearity ของการวิเคราะห์ปริมาณ diazinon ในช่วงความเข้มข้น 0.2 – 3.0 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร มีค่า correlation coefficient (r) เท่ากับ 0.99993 สำหรับค่า Working range ในช่วงความเข้มข้น 0.3 – 2.5 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร ที่ครอบคลุมช่วงการใช้งานอีกครั้ง พบว่า มีค่า correlation coefficient (r) เท่ากับ 0.99992 ผ่านเกณฑ์ยอมรับตามมาตรฐาน AOAC ค่า r ≥ 0.995

3. การตรวจสอบความแม่นยำ (Accuracy) ของวิธีวิเคราะห์ปริมาณสารออกฤทธิ์ diazinon 60% W/V EC พบว่า ได้ค่า % recovery เท่ากับ 99.9 101.2 และ 99.9 อยู่ในช่วงการเกณฑ์การยอมรับตาม AOAC 98-102 % สำหรับปริมาณสารในตัวอย่าง 1-100%

4. การตรวจสอบความเที่ยง (Precision) ของวิธีวิเคราะห์ปริมาณสารออกฤทธิ์ diazinon 60% W/V EC ประเมินแบบ Repeatability ได้ค่า HORRAT เท่ากับ 0.420 0.401 และ 0.378 ประเมินแบบ Intra-laboratory reproducibility ได้ค่า HORRAT เท่ากับ 0.488 0.426 0.430 ซึ่งผลการทดสอบผ่านเกณฑ์การยอมรับ โดย

พิจารณา

ตาม AOAC ต้องได้ค่า HORRAT \leq 2

5. การตรวจสอบความแข็งแกร่ง (Robustness/Ruggedness) ของวิธีวิเคราะห์ปริมาณสารออกฤทธิ์ diazinon 60% W/V EC ได้ค่า HORRAT เท่ากับ 0.582 0.535 0.386 ซึ่งผลการทดสอบผ่านเกณฑ์การยอมรับ โดย

พิจารณาตาม AOAC ต้องได้ค่า HORRAT \leq 2

10. การนำไปใช้ประโยชน์

1. สามารถนำวิธีการตรวจวิเคราะห์ที่ผ่านการตรวจสอบความใช้ได้ของวิธี กำหนดเป็นวิธีมาตรฐาน ในห้องปฏิบัติการตามการขอรับรองมาตรฐานห้องปฏิบัติการ ISO/IEC17025 : 2005

2. เป็นการทดสอบศักยภาพของห้องปฏิบัติการ ในด้านบุคลากร เครื่องมือและอุปกรณ์ เปรียบเทียบกับวิธีตามมาตรฐาน

3. สามารถใช้เป็นวิธีตรวจวิเคราะห์ผลิตภัณฑ์สารกำจัดศัตรูพืชในสูตรผสม diazinon 60% W/V EC เพื่อควบคุมคุณภาพของผลิตภัณฑ์ ที่มีจำหน่ายในร้านค้าจำหน่ายทั่วประเทศไทย

11. เอกสารอ้างอิง

ทิพวรรณ นิ่งน้อย. 2549. *แนวทางการปฏิบัติการทดสอบความถูกต้องของวิธีวิเคราะห์*.

กรมวิทยาศาสตร์การแพทย์ กระทรวงสาธารณสุข.

Anonymous. 1993. *The Agrochemicals Handbook 3rd ed.* The Royal Society of Chemistry Cambridge, England.

Eurachem. 2014. *The Fitness for Purpose of Analytical Method.* 2nd ed. Available source:

WWW.Eurachem.org., October 12,2015. Ashworth R.DE B, J. Henriet, J.F.Lovett and

A. Martijn. 1980. *CIPAC Handbook Vol. 1A : Analysis of Technical and Formulated*

Pesticides. Collaborative International Pesticides Analytical Council, Heffers Printers

Ltd, Cambridge, England.