

การตรวจสอบความใช้ได้ของวิธีวิเคราะห์สารพิษตกค้างกลุ่ม Organophosphorus และ Pyrethroid
ในพืชผักและผลไม้ (แตงโม) โดยวิธี QuEChERS

Validation of QuEChERS method for determination of organophosphorus and pyrethroid
pesticide residues in fruit and vegetable (watermelon)

บทคัดย่อ/เรื่องย่อ

การตรวจสอบความใช้ได้ของวิธีวิเคราะห์สารพิษตกค้างกลุ่ม Organophosphorus และ Pyrethroid ในแตงโม ได้แก่ สารกลุ่ม Organophosphorus จำนวน 10 ชนิดสาร (dichlorvos diazinon pirimiphos-methyl chlorpyrifos malathion fenitrothion profenofos ethion triazophos EPN) และสารกลุ่ม Pyrethroid จำนวน 6 ชนิดสาร (lambdacyhalothrin, permethrin, cyfluthrin, cypermethrin, fenvalerate, deltamethrin) ณ ห้องปฏิบัติการกลุ่มพัฒนาการตรวจสอบพืชและปัจจัยการผลิต สำนักวิจัยและพัฒนาการเกษตรเขตที่ 4 โดยใช้วิธีที่พัฒนามาจากวิธี QuEChERS โดยสกัดสารด้วย Acetonitrile, Disodium hydrogen citrate sesquihydrate, Trisodium citrate dehydrate, anhydrous magnesium sulfate ($MgSO_4$) และ Sodium Chloride นำไปเขย่าและปั่นเหวี่ยง และกำจัดสิ่งรบกวนด้วยการกระจายวัฏภาคของแข็งในสารละลายโดยใช้ Primary-secondary-amine (PSA) และ anhydrous magnesium sulfate ซึ่งตัวดูดซับผสมระหว่างอะลูมินาที่ปนกลางรวมกับหมูฟงกชันเอมีน และทำการตรวจหาชนิดและปริมาณโดยใช้เครื่องมือเครื่อง Gas chromatography ซึ่งมีหัวตรวจวัดชนิด Flame Photometric Detector : FPD และ Electron Capture Detector: ECD

ผลการทดสอบ ตัวตรวจวัด FPD ใช้ตรวจวัดสารกลุ่ม Organophosphorus ทำการทดสอบในช่วงความเข้มข้น 0.01 - 4.00 mg/kg พบว่า สารกลุ่มออร์กาโนฟอสฟอรัส มีความเฉพาะเจาะจง (Specificity/Selectivity) ไม่พบสัญญาณรบกวนจาก Matrix ค่า LOD = 0.01 mg/kg มีจำนวน 6 ชนิดสาร (dichlorvos, diazinon, pirimiphos-methyl, chlorpyrifos, fenitrothion, ethion) และ LOD = 0.02 mg/kg จำนวน 3 ชนิดสาร (malathion, triazopho, EPN) และ profenofos LOD = 0.05 mg/kg พบว่าค่า LOQ = 0.02 mg/kg จำนวน 5 ชนิดสาร (dichlorvos, diazinon, pirimiphos-methyl, fenitrothion, ethion) และ LOQ = 0.05 mg/kg จำนวน 2 ชนิดสาร (chlorpyrifos, EPN) และ LOQ = 0.10 mg/kg จำนวน 3 ชนิดสาร (malathion, triazophos, profenofos) ช่วงการทดสอบ (Range) พบว่ามีค่า Range สอง ช่วงคือ 0.01 - 4.00 mg/kg และ 0.05 - 4.00 mg/kg การตรวจสอบความเป็นเส้นตรง (Linearity) ให้ค่าความสัมพันธ์เชิงเส้น (R^2) อยู่ในเกณฑ์การยอมรับ (ค่า $R^2 \geq 0.995$) ความถูกต้อง (Accuracy) และความเที่ยง (Precision) ของสารกลุ่มออร์กาโนฟอสฟอรัส จำนวน 10 ชนิดสาร พบว่าผลการทดสอบความถูกต้อง (Accuracy) ผ่านเกณฑ์ตามหลักสถิติที่กำหนด สำหรับผลการทดสอบ ตัวตรวจวัด ECD ใช้ตรวจวัดสารกลุ่ม Pyrethroid ทำการทดสอบในช่วง 0.005 - 4.00 mg/kg พบว่า สารกลุ่ม Pyrethroid มีความเฉพาะเจาะจง (Specificity/Selectivity) ไม่พบสัญญาณรบกวนจาก Matrix พบว่าค่า LOD = 0.005 mg/kg และค่า LOQ = 0.01 mg/kg มีค่า Range อยู่ในช่วง 0.005 - 4.00 mg/kg ความเป็นเส้นตรง (Linearity) ให้ค่าความสัมพันธ์เชิงเส้น (R^2)

อยู่ในเกณฑ์การยอมรับ (ค่า $R^2 \geq 0.995$) การพิสูจน์ความถูกต้อง (Accuracy) และความเที่ยง (Precision) ของสารกลุ่ม Pyrethroid จำนวน 6 ชนิดสาร พบว่าผลการทดสอบความถูกต้อง (Accuracy) ผ่านเกณฑ์ตามหลักสถิติที่กำหนด ผลจากการตรวจสอบความใช้ได้ของวิธีทดสอบดังกล่าวนี้ สามารถนำมาใช้เป็นวิธีมาตรฐานในการวิเคราะห์สารพิษตกค้างกลุ่ม Organophosphorus และกลุ่ม Pyrethroid ในตัวอย่างแดงโม สำหรับการปฏิบัติงานทดสอบแบบ Routine เนื่องจากเป็นวิธีการที่มีความถูกต้อง แม่นยำ และสามารถนำไปขยายขอบข่ายการรับรองความสามารถของห้องปฏิบัติการทดสอบสารพิษตกค้าง สำนักวิจัยและพัฒนาการเกษตรเขตที่ 4 ตามมาตรฐาน ISO/IEC 17025 : 2005 ต่อไป

คำนำ

ในปัจจุบันได้มีการคำนึงถึงเรื่องสุขภาพอนามัยและสิ่งแวดล้อมจากการใช้สาร chlorinated solvent จึงเกิดวิธีการวิเคราะห์ใหม่ๆ เพื่อหลีกเลี่ยงการใช้สารดังกล่าวในการสกัด โดยใช้สารอื่นที่เป็น non-halogen-containing และ solvent mixtures เช่น ethyl acetate : acetonitrile และ cyclohexane : ethyl acetate เป็นต้น จากความต้องการวิธีการตรวจวิเคราะห์ที่สะดวก รวดเร็ว ราคาไม่แพงสามารถใช้กับพืชและวัตถุดิบพืชหลายชนิดในการวิเคราะห์ครั้งเดียว รวมทั้งคุณภาพของผลการวิเคราะห์สูง ลดขั้นตอนและแรงงานคนในการสกัดตัวอย่าง ใช้สารเคมีและอุปกรณ์เครื่องแก้วน้อย ในปี 2002 Michelangelo Anastassiades และคณะ ได้พัฒนาวิธีการตรวจวิเคราะห์สารพิษตกค้างในผักและผลไม้และตั้งชื่อว่า QuEChERS method (Quick, Easy, Cheap, Effective, Rugged and Safe) ในปี 2003 ได้เผยแพร่ตีพิมพ์ในวารสาร Journal of AOAC International หลังจากนั้นห้องปฏิบัติการตรวจวิเคราะห์สารพิษตกค้าง CVUA Stuttgart ประเทศเยอรมัน (The pesticide residue laboratory of the CVUA Stuttgart, Germany) ได้นำวิธีนี้มาใช้สำหรับงานประจำในการตรวจวิเคราะห์สารพิษตกค้างในผักและผลไม้ และได้เข้าร่วมทดสอบความชำนาญ (proficiency test) กับ EU-PT 4 ในส้ม (2002) ซึ่งให้ผลทดสอบที่ดีเยี่ยมต่อมา Steven J. Lehotay และคณะ ได้มีการดัดแปลงและพัฒนาวิธีการตรวจวิเคราะห์นี้โดยการขยายขอบข่ายทั้งชนิดของสารและพืช โดยใช้ buffering salts เพื่อเพิ่มประสิทธิภาพการกลับคืนได้ของสารวิเคราะห์ (Recoveries) ที่ pH มีผลต่อสาร analytes โดยใช้ acetate buffering ในการปรับค่า pH ประมาณ 6 ในตัวอย่างที่ตรวจวิเคราะห์และได้ตีพิมพ์ในวารสาร AOAC 2007.01 Anastassiades และคณะได้พัฒนาวิธีการนี้โดยใช้ citrate salts สำหรับเป็น buffering ในการตรวจวิเคราะห์สารที่วิเคราะห์ได้ยากในพืชและได้ตีพิมพ์และเผยแพร่ใน the European Standard EN 15662 ปี 2008 ในปัจจุบันวิธี QuEChERS เป็นวิธีมาตรฐานที่รับการนิยมน้อยแพร่หลายในกลุ่มประเทศยุโรป สหรัฐอเมริกา และประเทศต่างๆนำมาใช้ทดสอบประสิทธิภาพการวิเคราะห์ และความสามารถของวิธีการในห้องปฏิบัติการตรวจวิเคราะห์สารพิษตกค้าง และใช้ตรวจวิเคราะห์ที่เป็นงานประจำทั้งภาครัฐและเอกชน

การดำเนินกิจกรรมต่างๆในยุคปัจจุบันหลายๆกรณี ต้องอาศัยผลการวัดจากห้องปฏิบัติการเป็นข้อมูลประกอบการตัดสินใจ เช่น การเฝ้าระวังขบวนการผลิต การควบคุมคุณภาพผลิตภัณฑ์การยืนยันความน่าเชื่อถือไปตามข้อกำหนดคุณลักษณะเฉพาะของสินค้า การเฝ้าระวังความเป็นอันตรายต่อคนและสภาวะแวดล้อม รวมถึงการใช้มาตรการสุขอนามัยทางการค้าในตลาดโลก ดังนั้นการตรวจวิเคราะห์ในห้องปฏิบัติการที่จะให้ผลถูกต้องและเป็นที่น่าเชื่อถือวิธีวิเคราะห์ที่นำมาใช้ต้องมีการทดสอบความถูกต้องของวิธีวิเคราะห์ (method validation) เพื่อแสดงให้เห็นว่าวิธีทดสอบนั้นมีความถูกต้อง แม่นยำ น่าเชื่อถือ และเหมาะสมตามวัตถุประสงค์ของการทำงาน (ทิพวรรณ, 2549) การพิสูจน์ความใช้ได้ของวิธีวิเคราะห์คุณลักษณะเฉพาะที่ต้องศึกษา ได้แก่ ช่วงความเป็นเส้นตรง

(linearity range) ช่วงของการใช้งาน (working range) ความแม่นยำ (accuracy) ความเที่ยง (precision) ค่าความเข้มข้นต่ำสุดของสารในตัวอย่างที่สามารถตรวจพบได้ (Limit of Detection, LOD) และค่าความเข้มข้นต่ำสุดของสารในตัวอย่างที่สามารถตรวจหาปริมาณได้โดยมีความแม่นยำและความเที่ยงอยู่ในเกณฑ์ที่ยอมรับได้ (Limit of Quantization, LOD) ภายใต้สภาวะการทดสอบที่กำหนด เนื่องจากห้องปฏิบัติการกลุ่มงานวิจัยสารพิษตกค้าง กรมวิชาการเกษตร จำเป็นต้องติดตามและเตรียมความพร้อมที่จะต้องปฏิบัติตามเกณฑ์ต่างๆ ดังนั้นจึงพิสูจน์ความใช้ได้ของวิธีการวิเคราะห์ QuEChERS ในการตรวจวิเคราะห์สารพิษตกค้างกลุ่มออร์กาโนฟอสเฟต และกลุ่มไพรีทรอยด์ในมะม่วง ด้วยเทคนิค chromatography GC เพื่อให้ได้วิธีการตรวจวิเคราะห์ที่เป็นมาตรฐาน สามารถในการตรวจวัดหาชนิดและปริมาณสารพิษตกค้างที่มีอยู่ปริมาณน้อยในตัวอย่างได้ถูกต้องแม่นยำและรวดเร็ว

วัตถุประสงค์

1. เพื่อเป็นข้อมูลพื้นฐานสำหรับผู้ที่จะทำการพัฒนาและปรับวิธีการตรวจวิเคราะห์เพื่อให้ได้วิธีการที่ดีและเหมาะสมและมีประสิทธิภาพดียิ่งขึ้น
2. เพื่อนำวิธีการวิเคราะห์ที่ผ่านการทดสอบความใช้ได้ของวิธีการวิเคราะห์ไปขยายขอบข่ายวิธีการตรวจวิเคราะห์และขอการรับรองมาตรฐาน ISO/IEC 17025
3. เพื่อเป็นการพัฒนาและเพิ่มศักยภาพของห้องปฏิบัติการตรวจวิเคราะห์สารพิษตกค้าง ของกรมวิชาการเกษตร
4. เพื่อนำวิธีการวิเคราะห์ไปใช้ในการตรวจวิเคราะห์สารพิษตกค้างที่ทำเป็นงานประจำ และต้องการผลการวิเคราะห์ที่รวดเร็ว
5. เพื่อจัดทำเป็นเอกสารเผยแพร่ให้กับห้องปฏิบัติการตรวจวิเคราะห์สารพิษตกค้างทั้งในภาครัฐและเอกชนนำไปทดสอบและใช้ในการปฏิบัติงานจริงได้

1. อุปกรณ์และวิธีการ

1.1 อุปกรณ์และเครื่องมือ

- Centrifuge tubes ขนาด 50 มิลลิเมตร (Polypropylene, LP, ITALIA)
- Centrifuge tubes ขนาด 10-15 มิลลิเมตร (Polypropylene, LP, ITALIA)
- Graduated centrifuge tubes ขนาด 10-15 มิลลิเมตร (Pyrex)
- เครื่องชั่งไฟฟ้าทศนิยม 2 และ 3 ตำแหน่ง
- ตู้อบ (Oven)
- เตาเผา (Furnace)
- เครื่องบดสับตัวอย่าง (Food processor)

- Vortex mixer
- เครื่องปั่นเหวี่ยง (Centrifuge) พร้อมด้วย adapter สำหรับ Tube ขนาด 50 มิลลิเมตร และ 10-15 มิลลิเมตร อุปกรณ์ดูดจ่ายสารละลาย (Dispenser) ขนาด 25 มิลลิเมตร
- เครื่องลดปริมาณโดยการเป่าด้วยแก๊สไนโตรเจน (Nitrogen evaporator)
- เครื่อง Gas chromatography ซึ่งมีหัวตรวจวัดชนิด Flame Photometric Detector : FPD และ Electron Capture Detector: ECD ยี่ห้อ Agilent รุ่น 6890
- คอลัมน์ที่ใช้สำหรับ FPD : capillary column DB-5ms ขนาดเส้นผ่าศูนย์กลางภายใน 0.25 มิลลิเมตร ความยาว 30 เมตร ความหนาของฟิล์มที่ใช้เคลือบในคอลัมน์ 0.25 ไมโครเมตร
- คอลัมน์ที่ใช้สำหรับ ECD : capillary column HP-ultra ขนาดเส้นผ่าศูนย์กลางภายใน 0.32 มิลลิเมตร ความยาว 25 เมตร ความหนาของฟิล์มที่ใช้เคลือบในคอลัมน์ 0.17 ไมโครเมตร

1.2 สารเคมี

- Acetonitrile, ชนิด pesticide grade J.T. Baker
- magnesium sulfate-dried (powder, Fisher) เพาที่ 500 องศาเซลเซียส นาน 5 ชั่วโมง และเก็บไว้ในตู้ดูดความชื้น
- Acetic acid (HOAc) : glacial
- Anhydrous sodium acetate (NaOAc) (powder-Merck)
- Primary-secondary-amine (PSA) sorbent : particle size 40 ไมโครเมตร Varian part No. 12213024)
- Toluene ชนิด pesticide grade J.T. Baker
- Helium gas (purity 99.999%)
- Nitrogen gas (purity 99.999%)

1.3 สารมาตรฐาน

- สารมาตรฐานของวัตถุพิษกลุ่มออร์กาโนฟอสฟอรัส 10 ชนิด ได้แก่ diazinon, chlorpyrifos, malathion, ethion, dichlorvos, fenitrothion, profenofos, triazophos, pirimiphos-methyl และ EPN
- สารมาตรฐานของวัตถุพิษกลุ่มไพรีทรอยด์ 6 ชนิด ได้แก่ lamda-cyhalothrin, permethrin, cyfluthrin, cypermethrin, fenvalerate และ deltamethrin

2. การเตรียมตัวอย่าง

2.1 เก็บตัวอย่างแดงโมจากแปลงเกษตรกรที่มีประวัติไม่ใช้สารเคมีในกระบวนการเพาะปลูก ประมาณ 10 กิโลกรัม โดยนำเนื้อและเปลือกมาหั่นเป็นชิ้นเล็กๆ จากนั้นนำมาปั่นให้ละเอียดด้วยเครื่องปั่น (food processor) คลุกเคล้าให้เข้ากันเป็นเนื้อเดียวกัน เพื่อนำมาเป็น analytical sample สำหรับนำไปสกัดหาสารพิษตกค้างในตัวอย่าง (blank) ที่จะนำไปทดสอบความใช้ได้ของวิธีวิเคราะห์ และเก็บตัวอย่างไว้ในตู้แช่แข็งอุณหภูมิ -20 ± 5 องศา สำหรับใช้ในครั้งต่อไป

2.2 การสกัดตัวอย่างโดยใช้วิธีวิเคราะห์ QuEChERS (Michelangelo Anastassiades, CVUA Stuttgart) ปฏิบัติตามขั้นตอนดังนี้

2.2.1 ชั่งตัวอย่าง 10 ± 0.1 กรัม ใส่ centrifuge tube ขนาด 50 มิลลิลิตร

2.2.2 เติมสารละลาย acetonitrile จำนวน 10 มิลลิลิตร

2.2.3 เติม Disodium hydrogen citrate sesquihydrate จำนวน 1 กรัม

2.2.4 เติม Trisodium citrate dehydrate จำนวน 1 กรัม

2.2.5 เติม anhydrous magnesium sulfate ($MgSO_4$) จำนวน 4 กรัม และ Sodium Chloride จำนวน 1 กรัม ปิดฝา

2.2.6 เขย่าด้วยมือและเขย่าด้วย vortex mixer ระดับความเร็วรอบสูงสุดนาน 1 นาที

2.2.7 นำไป Centrifuge ที่ความเร็วรอบ $> 3,500$ rpm นาน 3 นาที

2.3 การ clean up ทำความสะอาดตัวอย่างโดย Dispersive-SPE Cleanup

2.3.1 ดูดสารละลายส่วนบนตัวอย่าง จำนวน 5 มิลลิลิตร ด้วย autopipette ใส่ใน Centrifuge tube ขนาด 15 มิลลิลิตร ที่ใส่ anhydrous $MgSO_4$ 0.9 กรัม และ PSA 0.15 กรัม ไว้แล้ว ปิดฝาแล้วเขย่าด้วย vortex mixer ระดับความเร็วรอบสูงสุดนาน 1 นาที

2.3.2 นำไป Centrifuge ที่ความเร็วรอบ $> 3,500$ rpm นาน 3 นาที

2.3.2 ดูดสารละลายส่วนบนของตัวอย่างด้วย Auto pipette จำนวน 1 มิลลิลิตร ใส่ใน graduated Centrifuge tube ขนาด 15 มิลลิลิตร จำนวน 2 หลอด

2.3.3 นำไปเป่าลดปริมาณด้วยไนโตรเจน evaporator ที่อุณหภูมิ 50 องศาเซลเซียส จนเกือบแห้ง

2.3.4 หลอดที่ 1 ปรับปริมาตร ด้วย ethyl acetate (PR grade) ปริมาตร 1 มิลลิลิตร เขย่าด้วย vortex mixer ระดับความเร็วรอบสูงสุด แล้วดูดสารละลาย 1.0 มิลลิลิตร ใส่ใน GC-vial ขนาด 2 มิลลิลิตร นำไปฉีดเข้าเครื่อง GC - FPD ปริมาณ 1 ไมโครลิตร เพื่อตรวจหาชนิดและปริมาณของวัตถุมีพิษกลุ่มออร์กาโนฟอสเฟต

2.3.5 หลอดที่ 2 ปรับปริมาตร ด้วย hexane (PR grade) ปริมาตร 1 มิลลิลิตร เขย่าด้วย vortex mixer ระดับความเร็วรอบสูงสุด แล้วดูดสารละลาย 1.0 มิลลิลิตร ใส่ใน GC-vial ขนาด 2 มิลลิลิตร นำไปฉีดเข้าเครื่อง GC - ECD ปริมาณ 1 ไมโครลิตร เพื่อตรวจหาชนิดและปริมาณของวัตถุมีพิษกลุ่มไพรีทรอยด์และกลุ่มออร์กาโนคลอรีน

3. การวิเคราะห์สารพิษตกค้างด้วยเครื่อง GC/FPD : ECD

3.1 การตั้งสภาวะของเครื่อง GC/FPD: ECD 6890 โดยใช้

FPD Column: DB-5ms; 30 m. length (i.d) 0.25 mm 0.25 μ m. film thickness

ECD Column: HP-ultra 1; 25 m. length (i.d) 0.32 mm 0.25 μ m. film thickness ปรับสภาวะการทำงานของเครื่องดังนี้

- Oven: temperature: 100 °C initial temp ramped to 175 °C (25 °C/min), 225 °C (5 °C/min), 290 °C (25 °C/min runtime) hold 10 min, runtime = 21.6 min

- Carrier gas: Helium, flow 1.5 ml/min, Mode: Constant flow

- Injector: injector temperature 250 °C, inlet: EPC Mode: pulsed split less, injection pulse pressure 56 psi until 0.75 min, injection volume 2 µl

3.2 การทำ Calibration curve

ปรับสภาพเครื่องให้อยู่ในสภาพพร้อมจะใช้งาน นำสารละลาย working standard solution ที่ระดับความเข้มข้น 0.01 - 4.00 µg/ml ฉีดเข้าเครื่อง GC/FPD: ECD เพื่อทำ Calibration curve เทียบความเข้มข้นของสารละลายตัวอย่างกับสารละลายมาตรฐานโดย plot กราฟระหว่างพื้นที่ใต้ peak (peak area) ในแกน y และความเข้มข้นของสารในแกน x ซึ่ง Calibration curve เป็นกราฟเส้นตรง (linear line) มีค่า correlation ของ linear regression R^2 ไม่น้อยกว่า 0.995

3.3 การตรวจวิเคราะห์ชนิดของสารพิษตกค้าง

ฉีดสารสกัดตัวอย่างเพื่อวิเคราะห์ชนิดและปริมาณสารพิษตกค้าง วิเคราะห์ข้อมูลและเปรียบเทียบค่า Retention time ของ peak ของสารมาตรฐานเพื่อพิสูจน์ว่าเป็นสารชนิดเดียวกัน (qualitative data analysis) นำมาคำนวณหาปริมาณโดยเทียบพื้นที่ใต้ peak ระหว่างสารละลายมาตรฐานกับสารสกัดตัวอย่าง (quantitative data analysis)

4. การทดสอบความใช้ได้ของวิธีวิเคราะห์

การตรวจสอบความใช้ได้ของวิธีการวิเคราะห์สารพิษตกค้างกลุ่ม ออร์กาโนฟอสฟอรัส (Organophosphorus) และสารกลุ่มไพรีทรอยด์ (Pyrethroid) ในตัวอย่างแดงโม้ โดยวิธี QuEChERS โดยดำเนินการตรวจสอบความใช้ได้ของวิธีทดสอบตามคุณลักษณะ 7 คุณลักษณะ ซึ่งประกอบด้วย Specificity/Selectivity, Range, Linearity, Limit of Detection (LOD), limit of Quantitation (LOQ), Accuracy, Precision มีวิธีการทดสอบ ดังนี้

4.1. การหาค่าความจำเพาะ (Specificity/Selectivity) ของสารกลุ่มออร์กาโนฟอสฟอรัส จำนวน 10 ชนิดสาร (dichlorvos, diazinon, pirimiphos-methyl, chlorpyrifos, malathion, fenitrothion, profenofos, ethion, triazophos, EPN) และสารกลุ่มไพรีทรอยด์ จำนวน 6 ชนิดสาร (lamdacyhalothrin, permethrin, cyfluthrin, cypermethrin, fenvalerate, deltamethrin) ซึ่งค่าความจำเพาะของวิธีทดสอบเป็นคุณลักษณะที่แสดงความสามารถของวิธีที่จะตรวจวัด / ทดสอบได้อย่างมีความแม่นยำ ความเที่ยง และความไม่แน่นอนอยู่ในเกณฑ์ที่ยอมรับ หรือ ความสามารถของวิธีที่จะตรวจวัดได้เฉพาะสิ่งที่ต้องการ ตรวจวัดโดยไม่มีการรบกวนจากสารอื่นที่มีคุณสมบัติคล้ายกัน

4.2 การหาช่วงความเข้มข้นที่ทดสอบหรือช่วงการใช้งาน (Work Range) ช่วงความเข้มข้นที่ทดสอบหรือช่วงการใช้งาน หมายถึง ขอบข่ายของการทดสอบหรือ ช่วงใช้งานหรือช่วงของการวัด เป็นช่วงของความเข้มข้นที่วิธีนั้นๆ จะใช้ทดสอบได้ ช่วงของการใช้งานจะเริ่มต้นจากค่า LOD หรือ LOQ ช่วงการทดสอบไม่จำเป็นต้องมีความสัมพันธ์เชิงเส้นเสมอไป ช่วงการใช้งาน เป็นคุณสมบัติของวิธีที่แสดงถึงความสามารถในการวัดตัวอย่างที่ช่วงความเข้มข้นหรือปริมาณสารที่สนใจได้โดยมีความถูกต้องหรือความแม่นยำ ความเที่ยง และความไม่แน่นอนอยู่ในเกณฑ์ที่กำหนด

4.3 การตรวจสอบความสัมพันธ์เชิงเส้นตรง (Linearity) เป็นคุณลักษณะเฉพาะของวิธีวิเคราะห์ที่แสดงความสัมพันธ์อย่างเป็นสัดส่วนโดยตรงระหว่างสัญญาณจากเครื่องมือตรวจวัดและความเข้มข้นของสารในช่วงของการใช้งาน ความเป็นเส้นตรง (Linearity range) จะเป็นส่วนหนึ่งของช่วงของการใช้งาน และจะเริ่มต้นที่ค่า LOQ สำหรับความสัมพันธ์เชิงเส้นตรงหรือช่วงความเป็นเส้นตรง เป็นคุณลักษณะเฉพาะของวิธีทดสอบที่แสดงความสัมพันธ์อย่างเป็น

สัดส่วนโดยตรง ระหว่างปริมาณที่ทราบค่ากับปริมาณจากการวัด/ ทดสอบ จำเป็นต้องตรวจสอบสำหรับวิธีที่มีช่วงการทดสอบ หรือมีช่วงการใช้งานที่กว้าง การตรวจสอบ ความความสัมพันธ์เชิงเส้นตรงทำได้ 2 กรณี คือ

(1) ความสัมพันธ์เชิงเส้นตรงของเครื่องมือ เป็นคุณลักษณะที่แสดงความสัมพันธ์อย่าง เป็นสัดส่วน โดยตรง ระหว่างสัญญาณจากเครื่องมือวัด (response) และความเข้มข้นของสารในช่วงของ การใช้งาน โดยใช้กราฟมาตรฐาน (calibration curve) โดยตามทฤษฎีแล้วความสัมพันธ์ระหว่างปริมาณ กับสัญญาณจากเครื่องมือเป็นเส้นตรง ในการหาปริมาณความสัมพันธ์เชิงเส้นตรงของเครื่องมือเกี่ยวข้อง กับสภาพแวดล้อมที่เกี่ยวข้องกับ matrix effect ด้วย

(2) ความสัมพันธ์เชิงเส้นของวิธีทดสอบ เป็นความสัมพันธ์ระหว่างปริมาณของสาร มาตรฐานที่วัดกับ ปริมาณที่วัดได้ ทดสอบโดยใช้วัสดุอ้างอิงรับรองหรือวัสดุอ้างอิงที่มีเนื้อสารเดียวกัน หรือใกล้เคียงกับตัวอย่าง ความสัมพันธ์เชิงเส้นไม่ใช่คุณสมบัติเชิงปริมาณ หากการตรวจสอบพบว่าความสัมพันธ์ ไม่เป็นเส้นตรง อาจสามารถ แก้ไขได้ด้วยการใช้สมการอื่น หรือกำหนดช่วงให้แคบลงที่มีความสัมพันธ์ เชิงเส้นตรง

4.4 การพิสูจน์ค่า Limit of detection (LOD)

LOD เป็นความเข้มข้นต่ำสุดของสารในตัวอย่างที่สามารถตรวจวิเคราะห์ได้ ซึ่งผลการวิเคราะห์ต้องมี ค่าอัตราส่วนของ Signal/Noise ของแต่ละสารมากกว่า 3 ($LOD = 3 SD$ หรือ $LOD = 3 \text{ Signal/noise}$) โดยวิเคราะห์ Fortified sample blank หรือ Fortified Sample ที่ระดับความเข้มข้นต่ำ อย่างน้อย 10 ซ้ำ

4.5 การพิสูจน์ค่า Limit of quantization (LOQ)

LOQ เป็นค่าปริมาณต่ำสุดของวัตถุมีพิษในตัวอย่างที่สามารถตรวจวิเคราะห์ได้ ซึ่งผลการวิเคราะห์ต้อง มีความถูกต้อง (accuracy) และความเที่ยง (precision) ผ่านเกณฑ์ที่กำหนด โดยเตรียม Fortified sample blank ที่ ความเข้มข้นต่ำโดยพิจารณาจาก ค่า $LOQ = 10 SD$ หรือ $LOQ = 10 \text{ Signal/noise}$

4.6 การพิสูจน์ความถูกต้อง (Accuracy) เป็นการวัดความถูกต้องของวิธีวิเคราะห์โดยเติมสารมาตรฐานของ วัตถุมีพิษลงในตัวอย่างที่ไม่มีวัตถุมีพิษที่ต้องการตรวจวิเคราะห์ (sample blank) และทำการตรวจวิเคราะห์หา เปอร์เซ็นต์ของสารที่วิเคราะห์กลับคืนได้ (% recovery) ทำการทดลองในตัวอย่างแถมที่ระดับความเข้มข้นต่างๆ ของ วัตถุมีพิษอย่างน้อย 3 ระดับ โดยอยู่ในช่วงของ linearity (ต่ำ กลาง สูง) ระดับความเข้มข้นละไม่น้อยกว่า 7 ซ้ำ นำผล วิเคราะห์ซ้ำ มาหาค่าเฉลี่ยประเมิน accuracy จาก % recovery โดยเกณฑ์การยอมรับ Recovery ใช้เกณฑ์กำหนด ของ Codex, 1993

4.7 และความเที่ยง (Precision) เป็นการวัดความเที่ยงของวิธีวิเคราะห์ ซึ่งได้จากการวิเคราะห์ซ้ำ (repeatability) ในห้องปฏิบัติการเดียวกันโดยใช้ระยะเวลาอันสั้น ใช้วิธีวิเคราะห์ เครื่องมือและผู้วิเคราะห์ชุดเดียวกัน ซึ่งทำการทดลองอย่างน้อย 3 ระดับความเข้มข้น ระดับความเข้มข้นละไม่น้อยกว่า 7 ซ้ำ นำผลวิเคราะห์มาหา % RSD (relative standard deviation) และค่า HORRAT ค่า precision ที่อยู่ในเกณฑ์การยอมรับโดยทั่วไปของ Precision, %RSD ของ AOAC Peer – Verified Methods. Nov. 1993 และเกณฑ์ยอมรับค่า HORRAT (Horwitz's ratio) ($AOAC < 2$, Codex, $EU \leq 2$)

ระยะเวลา (เริ่มต้น-สิ้นสุด)

ตุลาคม 2557- กันยายน 2558

สถานที่ดำเนินงาน

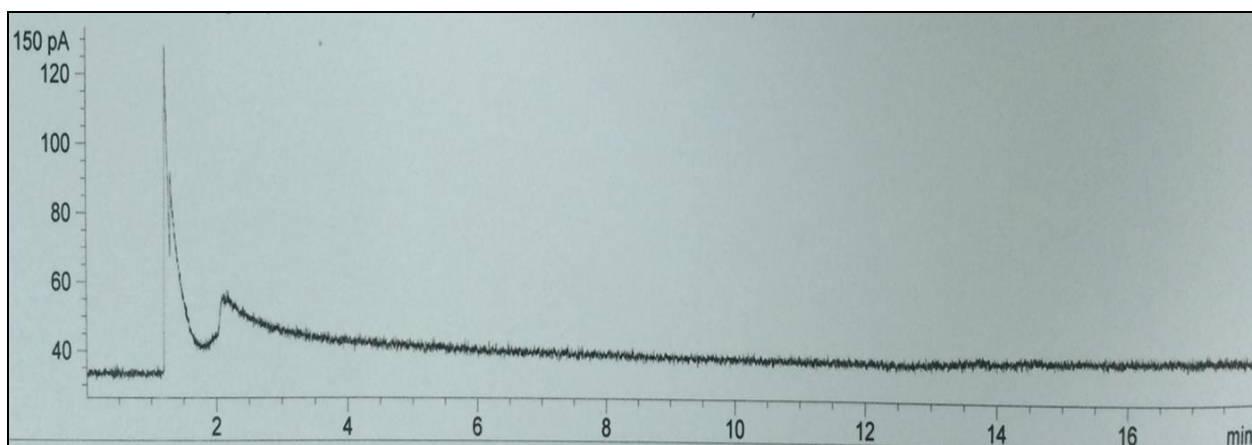
ห้องปฏิบัติการงานวิเคราะห์สารพิษตกค้าง กลุ่มพัฒนาการตรวจสอบพืชและปัจจัยการผลิต สำนักวิจัยและพัฒนาการเกษตรเขตที่ 4

ผลการทดลองและวิจารณ์

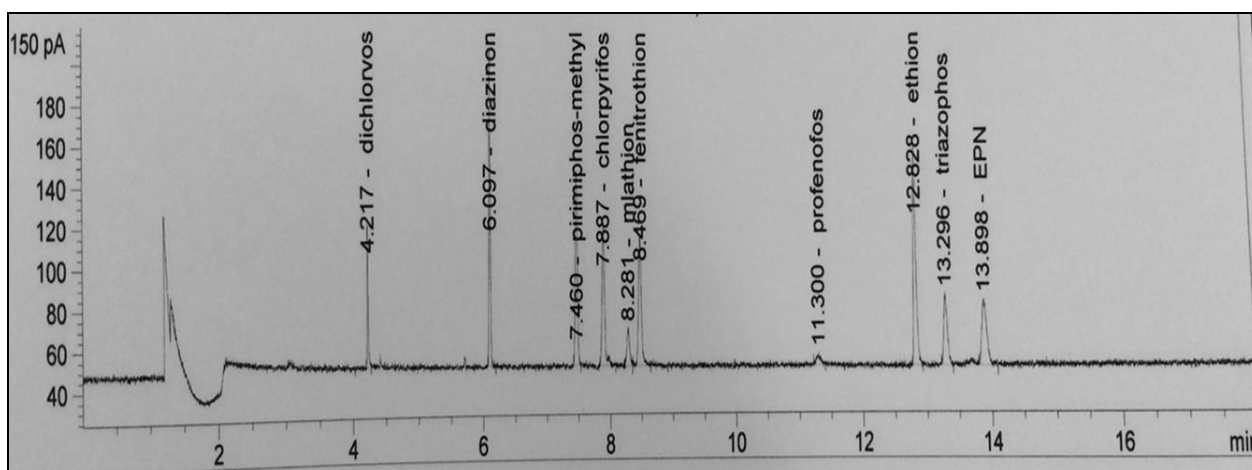
1. ผลการตรวจสอบความใช้ได้ของวิธีการวิเคราะห์สารพิษตกค้างกลุ่ม Organophosphorus (dichlorvos diazinon pirimiphos-methyl chlorpyrifos malathion fenitrothion profenofos ethion triazophos EPN) ในแตงโม โดยวิธี QuEChERS

1.1. ความเฉพาะเจาะจง (Specificity / Selectivity)

จากผลการวิเคราะห์ตัวอย่างแตงโม ซึ่งไม่มีสารเคมีป้องกันกำจัดศัตรูพืชตกค้าง (Matrix blank) ผลโครมาโตแกรมดังภาพที่ 1 เปรียบเทียบกับ Spike matrix blank ที่ระดับใกล้เคียง LOQ โครมาโตแกรมดังภาพที่ 2 พบว่าสัญญาณของ Matrix blank ไม่รบกวนหรือไม่ตรงสัญญาณของ Spike matrix blank ที่ค่า Retention Time (RT) ตามตารางที่ 1



ภาพที่ 1 สัญญาณโครมาโตแกรมของแตงโม ซึ่งไม่มีสารเคมีป้องกันกำจัดศัตรูพืชตกค้าง (Matrix blank)



ภาพที่ 2 สัญญาณโครมาโตแกรมของ Spike matrix blank ที่ระดับใกล้เคียง LOQ

ตารางที่ 1 แสดง Retention Time ของ Matrix blank และ Spike matrix blank

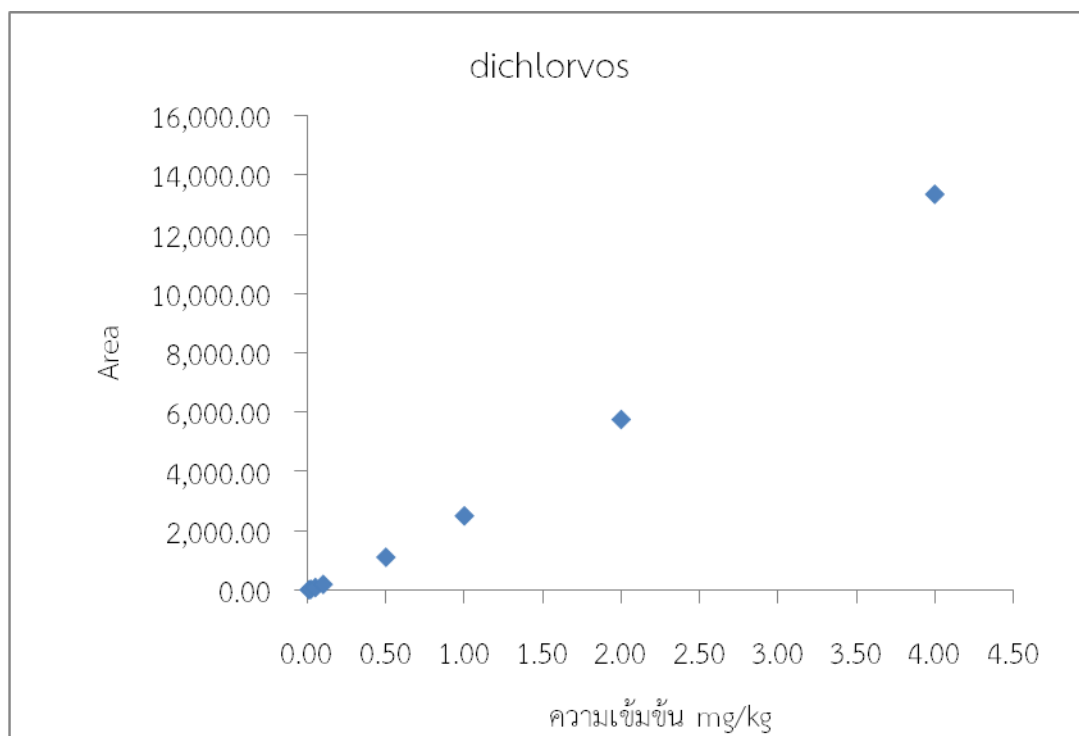
ชื่อสาร	Matrix blank Retention time (min)	Spike matrix blank Retention time (min)
dichlorvos	0	4.217 ± 0.001
diazinon	0	6.098 ± 0.001
pirimiphos-methyl	0	7.463 ± 0.002
chlorpyrifos	0	7.890 ± 0.002
malathion	0	8.284 ± 0.002
fenitrothion	0	8.471 ± 0.003
profenofos	0	11.301 ± 0.006
ethion	0	12.830 ± 0.002
triazophos	0	13.299 ± 0.003
EPN	0	13.904 ± 0.005
สารรบกวนอื่น ๆ	0	0

1.2. ช่วงของการวัด (Working range)

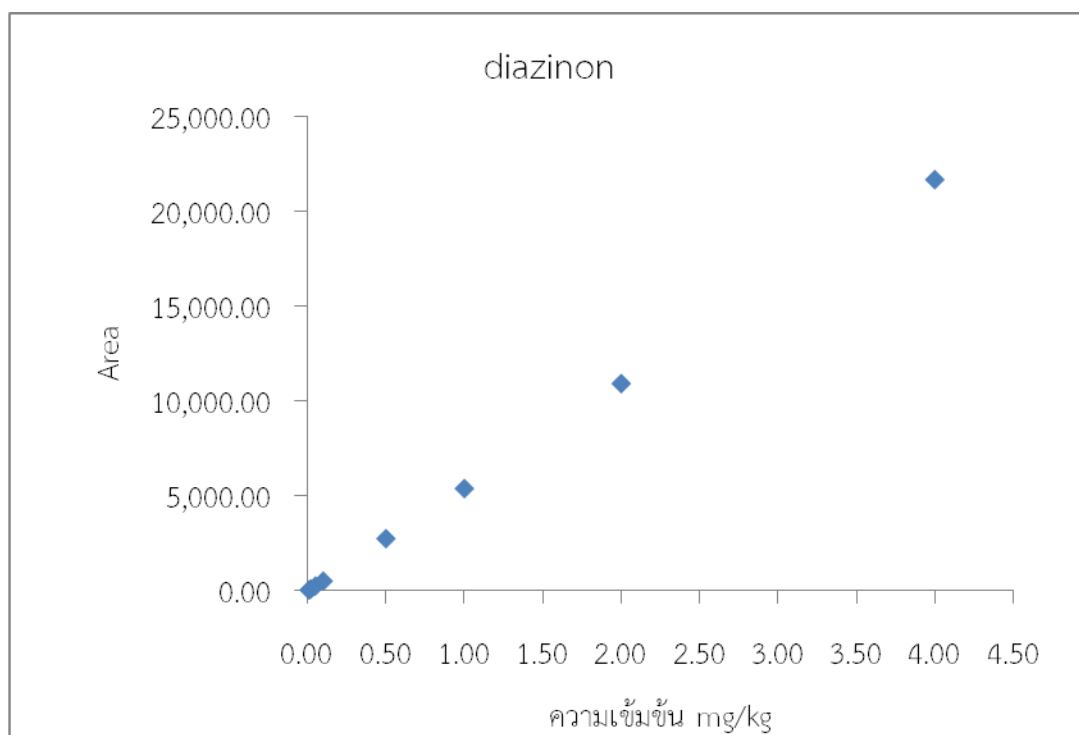
ทดสอบ Sample blank และ Spike/fortified sample blank อย่างน้อย 6 ความเข้มข้นๆ ละ 1 ซ้ำ ผลการทดลองดังตารางที่ 2 Plot graph ระหว่างความเข้มข้นของ Fortified sample blank (แกน x) กับ Area Response (แกน Y) พิจารณาช่วงที่เป็นเส้นตรง แสดงดังภาพที่ 3 – 12

ตารางที่ 2 ค่าความสัมพันธ์ระหว่างความเข้มข้นของ Fortified sample blank (แกน X) กับ Area Response (แกน Y) ของสารกลุ่มออร์กาโนฟอสฟอรัส จำนวน 10 ชนิดสาร

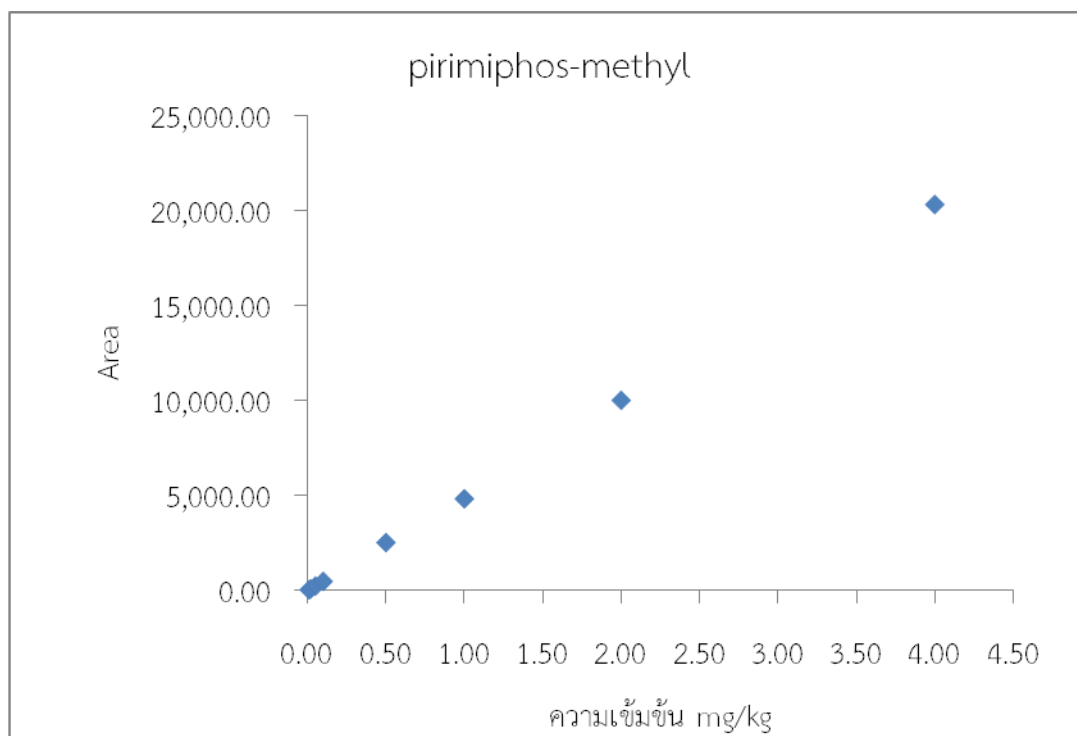
ความ เข้มข้น	dichlorvos	diazinon	pirimiphos- methyl	chlorpyrifos	malathion	fenitrothion	profenofos	ethion	triazophos	EPN
(mg/kg)	Area	Area	Area	Area	Area	Area	Area	Area	Area	Area
0.01	20.459	52.171	48.989	42.529	25.024	52.404	-	73.341	32.779	48.082
0.02	39.063	105.923	98.204	84.196	48.513	104.395	-	146.836	63.213	95.016
0.05	99.810	262.326	244.833	210.824	118.956	249.182	25.600	363.163	159.042	232.884
0.10	203.951	523.165	490.000	422.027	213.977	500.490	62.239	728.692	326.764	448.144
0.50	1118.513	2758.683	2534.200	2105.524	1049.095	2647.299	519.640	3753.230	1832.513	2160.099
1.00	2510.897	5394.018	4839.446	4246.718	1913.797	4837.015	1239.178	7226.105	3660.517	4388.697
2.00	5764.599	10917.100	10018.100	8623.579	4733.354	10425.500	3130.429	15519.040	8588.127	9094.995
4.00	13356.500	21653.000	20315.500	17638.500	11226.700	21238.200	7170.965	30459.000	18450.600	17669.100



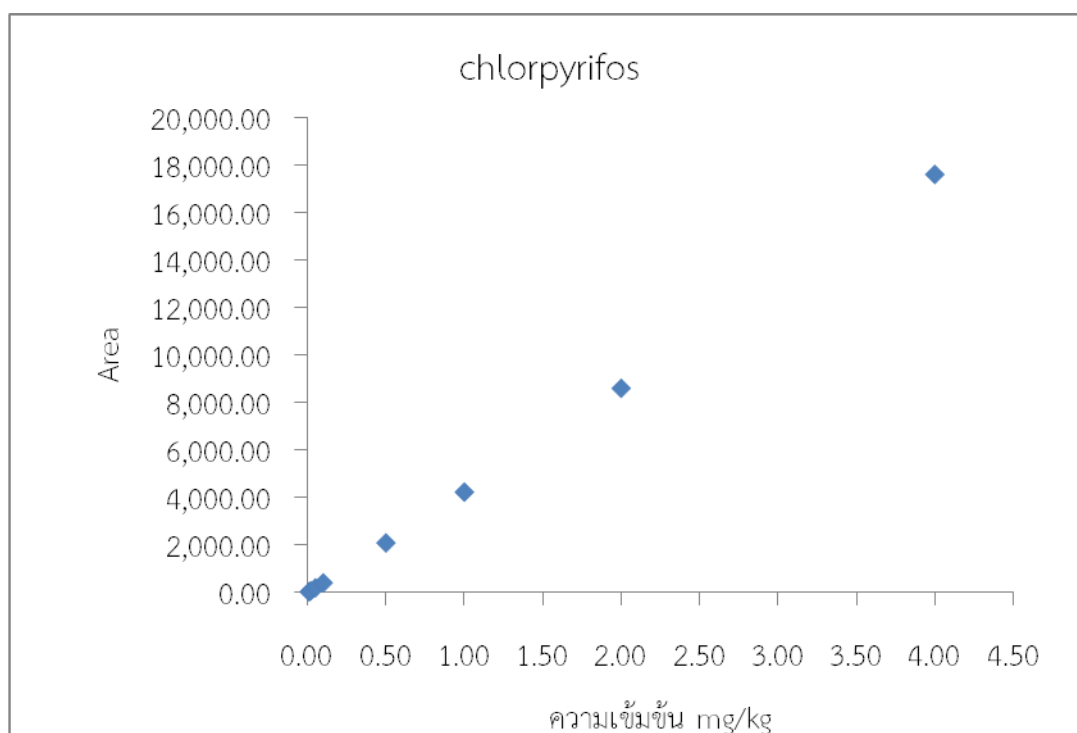
ภาพที่ 3 แสดงช่วงการวัด (Working range) ของ dichlorvos ที่ระดับความเข้มข้น 0.01 - 4.00 mg/kg



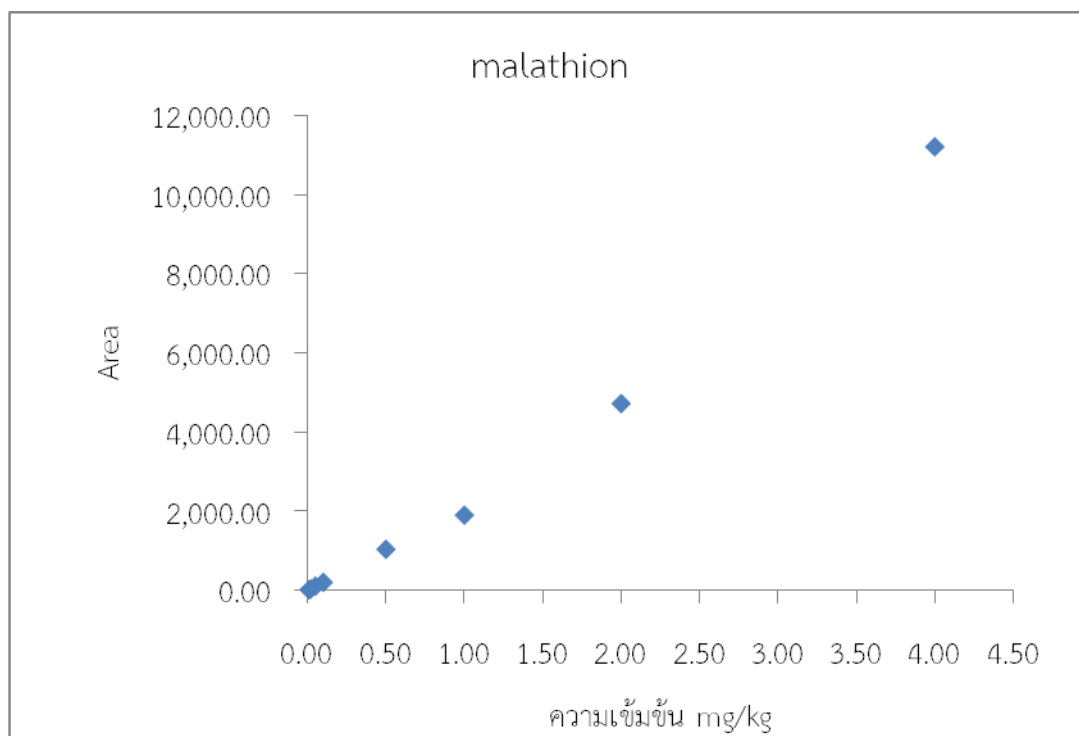
ภาพที่ 4 แสดงช่วงการวัด (Working range) ของ diazinon ที่ระดับความเข้มข้น 0.01 - 4.00 mg/kg



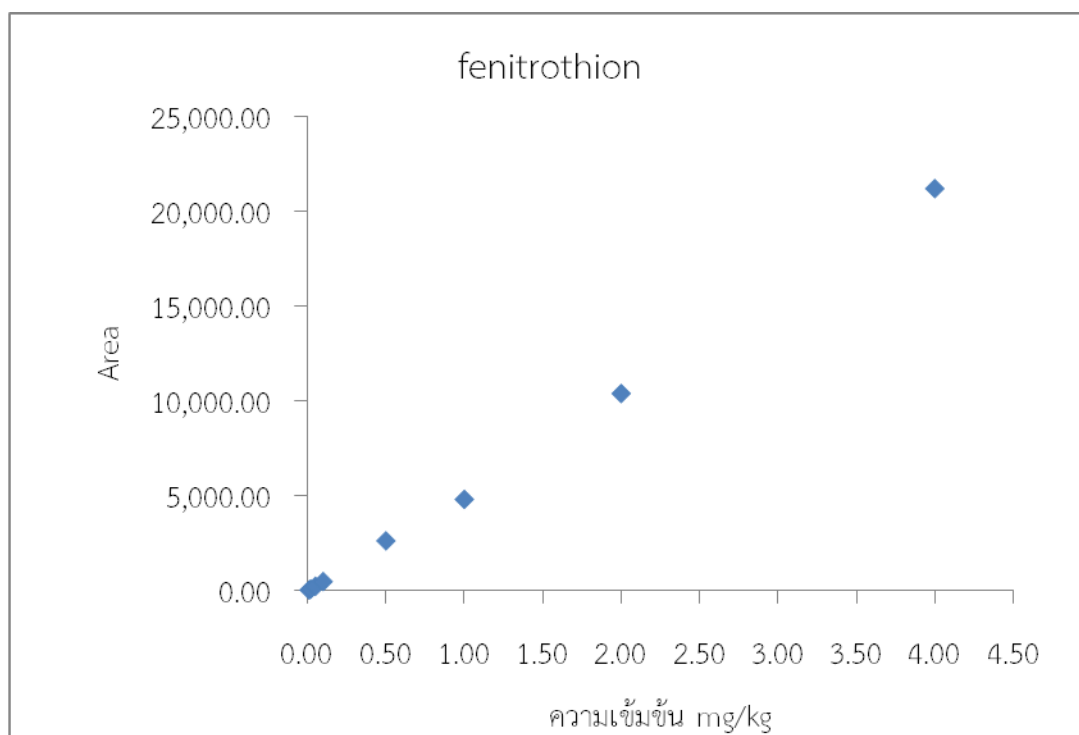
ภาพที่ 5 แสดงช่วงการวัด (Working range) ของ pirimiphos-methyl ที่ระดับความเข้มข้น 0.01 - 4.00 mg/kg



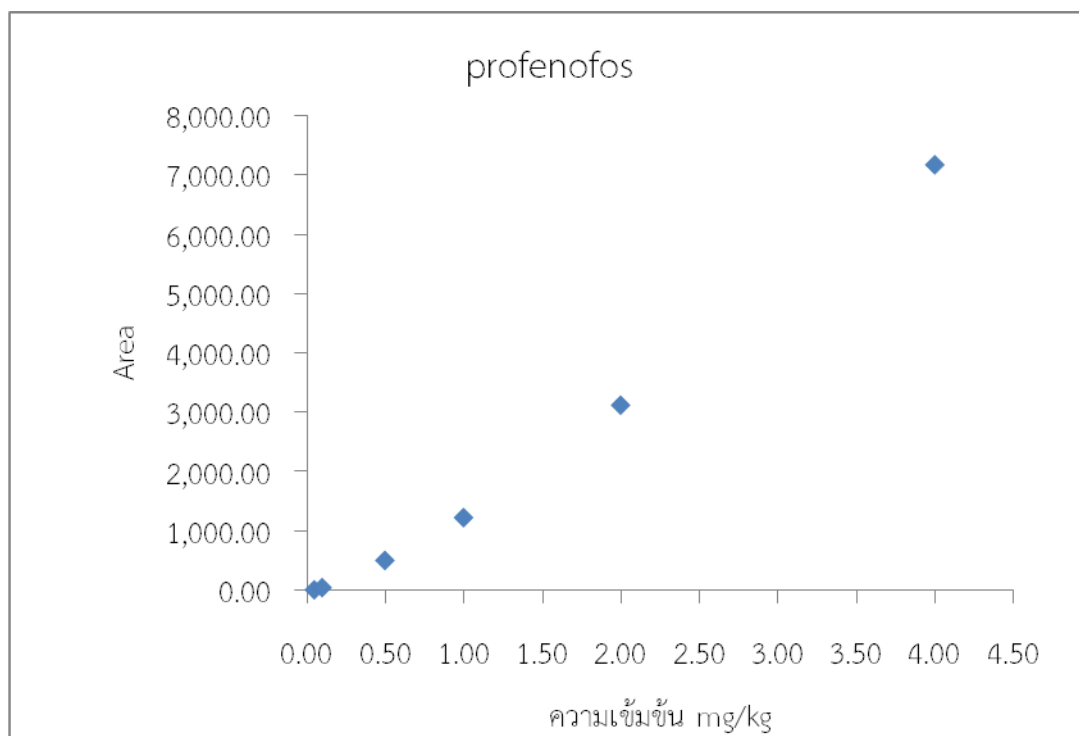
ภาพที่ 6 แสดงช่วงการวัด (Working range) ของ chlorpyrifos ที่ระดับความเข้มข้น 0.01 - 4.00 mg/kg



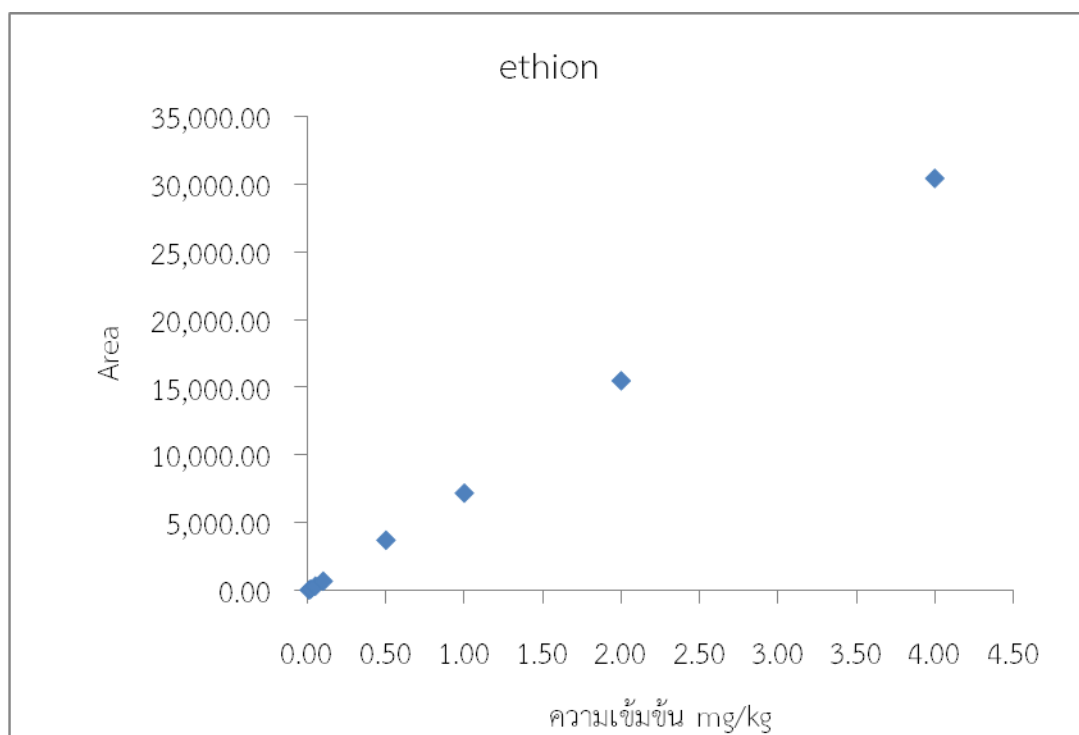
ภาพที่ 7 แสดงช่วงการวัด (Working range) ของ malathion ที่ระดับความเข้มข้น 0.01 - 4.00 mg/kg



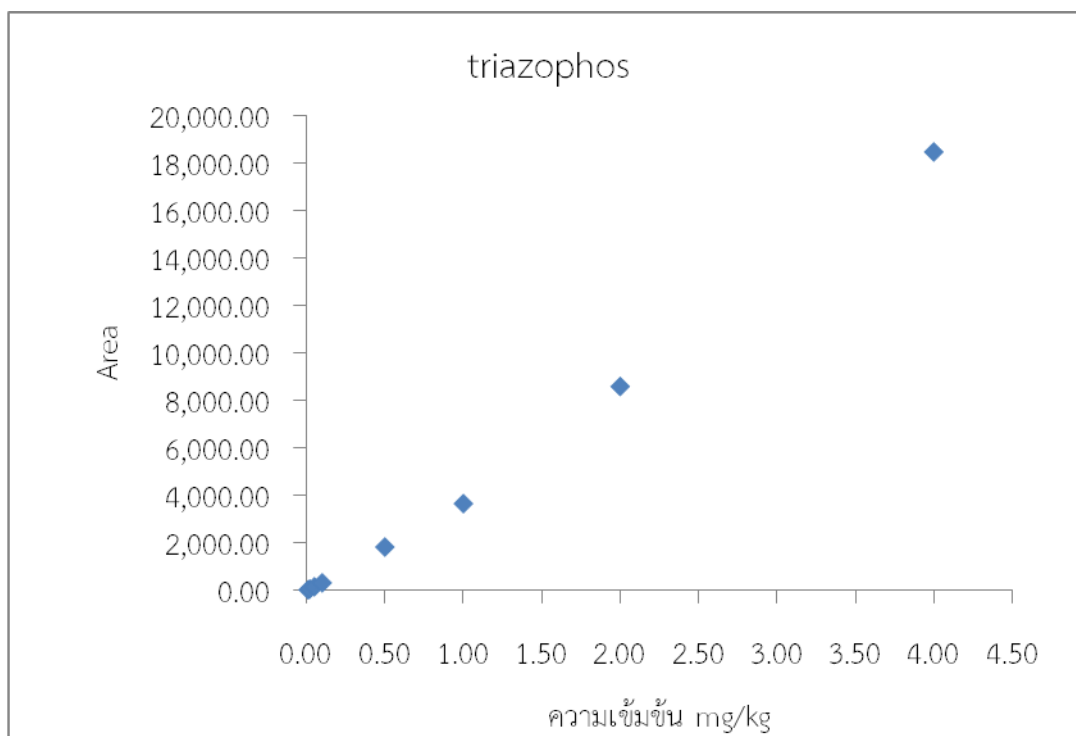
ภาพที่ 8 แสดงช่วงการวัด (Working range) ของ fenitrothion ที่ระดับความเข้มข้น 0.01 - 4.00 mg/kg



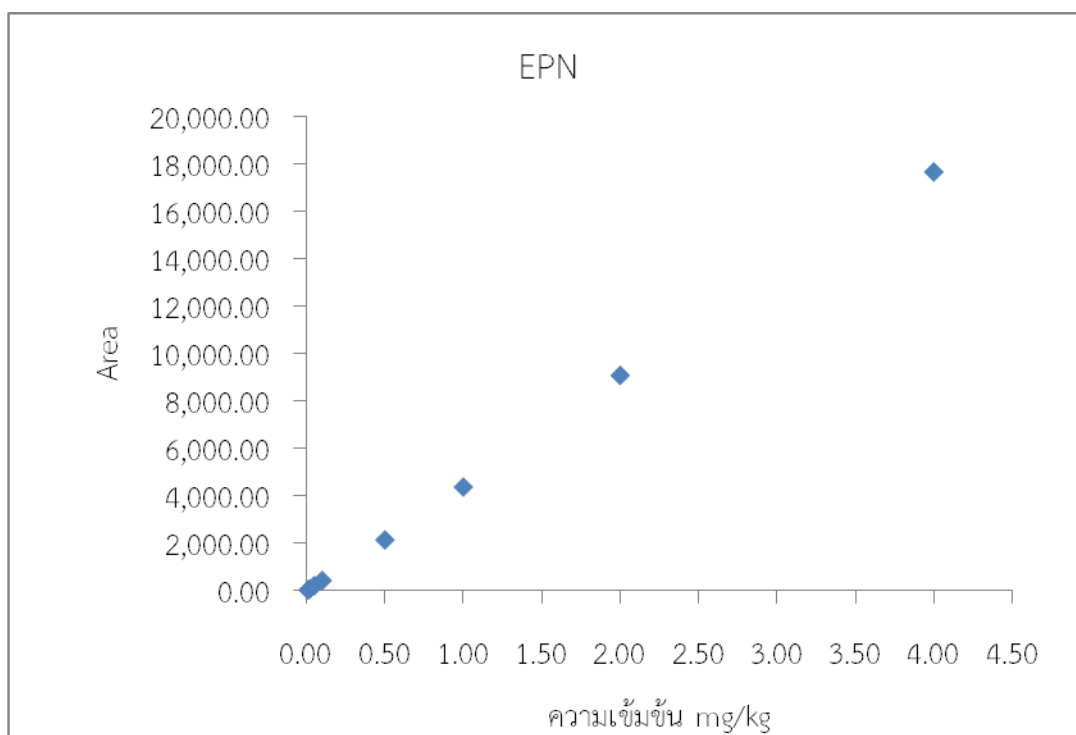
ภาพที่ 9 แสดงช่วงการวัด (Working range) ของ profenofos ที่ระดับความเข้มข้น 0.05 - 4.00 mg/kg



ภาพที่ 10 แสดงช่วงการวัด (Working range) ของ ethion ที่ระดับความเข้มข้น 0.01 - 4.00 mg/kg



ภาพที่ 11 แสดงช่วงการวัด (Working range) ของ triazophos ที่ระดับความเข้มข้น 0.01 - 4.00 mg/kg



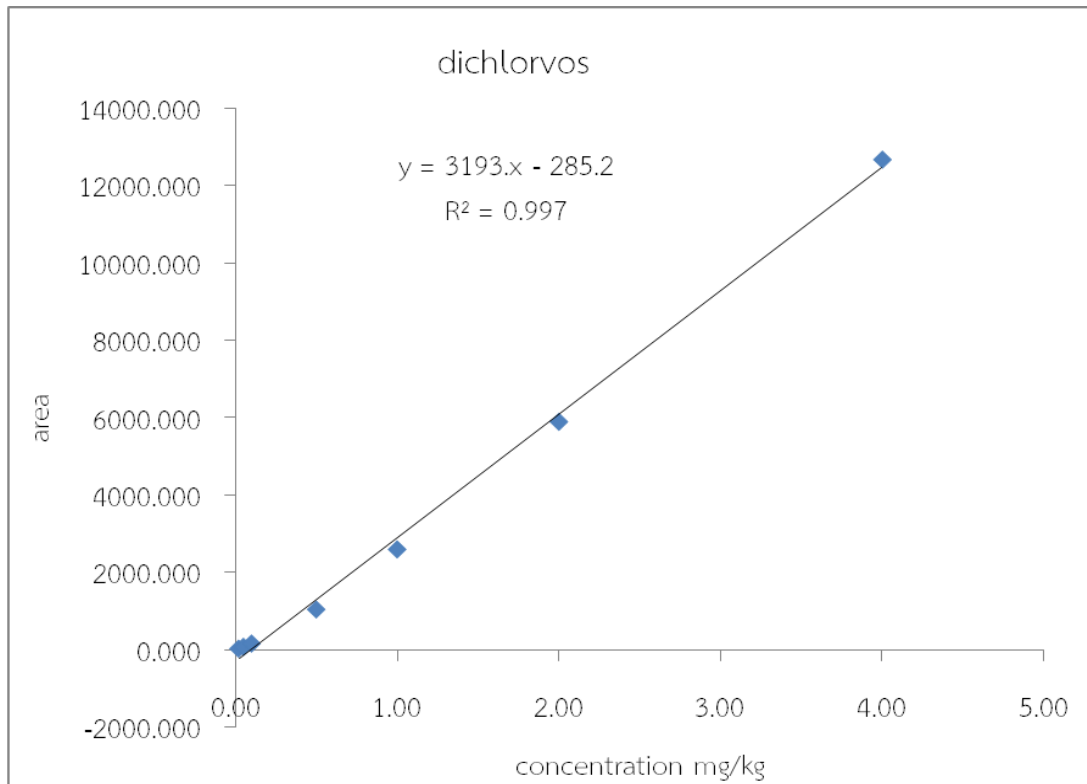
ภาพที่ 12 แสดงช่วงการวัด (Working range) ของ EPN ที่ระดับความเข้มข้น 0.01 - 4.00 mg/kg

1.3. ช่วงความเป็นเส้นตรง (Linearity)

จากการดำเนินการทดสอบ Reagent blank และ Fortified sample blank ที่ความเข้มข้นภายใน Range ของการทดสอบอย่างน้อย 5 ความเข้มข้นๆ ละ 3 ซ้ำ ผลตามตารางที่ 3 – 12 จากนั้น Plot graph ระหว่างความเข้มข้นของ Fortified sample blank (แกน X) กับ Area response (แกน Y) สร้าง Regression line โดยใช้ Method of least square ใช้ค่าความสัมพันธ์เชิงเส้น (Coefficient of determination : R^2) เป็นเกณฑ์สำหรับการยอมรับ (เกณฑ์ในการยอมรับค่า $R^2 \geq 0.995$) ผลการทดสอบของสารกลุ่มออร์กาโนฟอสฟอรัส จำนวน 10 ชนิดสาร ตามภาพที่ 13 – 22

ตารางที่ 3 แสดงค่าความเข้มข้นของ Fortified sample blank กับ Area Response ของ dichlorvos

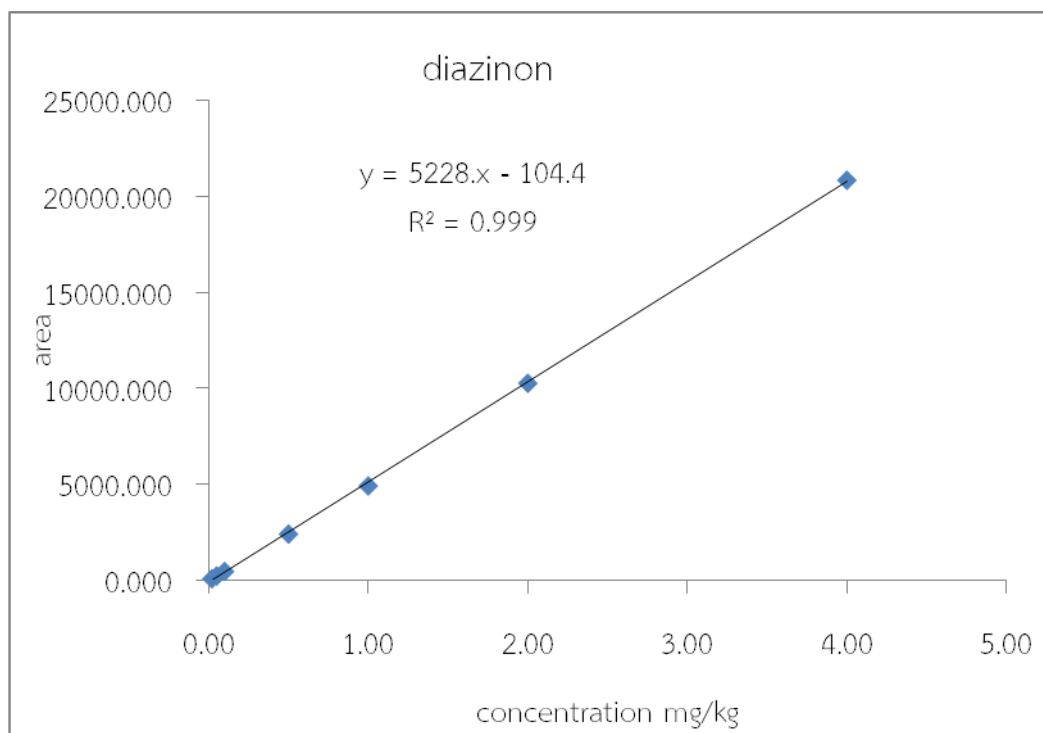
ความเข้มข้น mg/kg	dichlorvos			เฉลี่ย
	Area ครั้งที่ 1	Area ครั้งที่ 2	Area ครั้งที่ 3	
0.02	27.851	26.689	26.457	26.999
0.05	76.384	74.787	74.393	75.188
0.10	151.237	169.307	159.033	159.859
0.50	1043.565	1054.347	1028.609	1042.173
1.00	2556.965	2604.563	2630.147	2597.225
2.00	5865.773	5888.035	5953.674	5902.494
4.00	12516.400	12898.000	12659.200	12691.200



ภาพที่ 13 แสดงค่าความสัมพันธ์เชิงเส้นของ dichlorvos ที่ระดับความเข้มข้น 0.02 - 4.00 mg/kg ($R^2 = 0.997$)

ตารางที่ 4 แสดงค่าความเข้มข้นของ Fortified sample blank กับ Area Response ของ diazinon

ความเข้มข้น mg/kg	diazinon			เฉลี่ย
	Area ครั้งที่ 1	Area ครั้งที่ 2	Area ครั้งที่ 3	
0.02	94.535	97.689	97.634	96.619
0.05	246.610	235.990	242.432	241.677
0.10	479.666	486.687	466.587	477.647
0.50	2406.493	2448.236	2470.522	2427.365
1.00	4861.228	4963.678	4996.065	4940.324
2.00	10284.400	10294.500	10311.700	10296.867
4.00	20734.300	20899.100	21036.900	20890.100

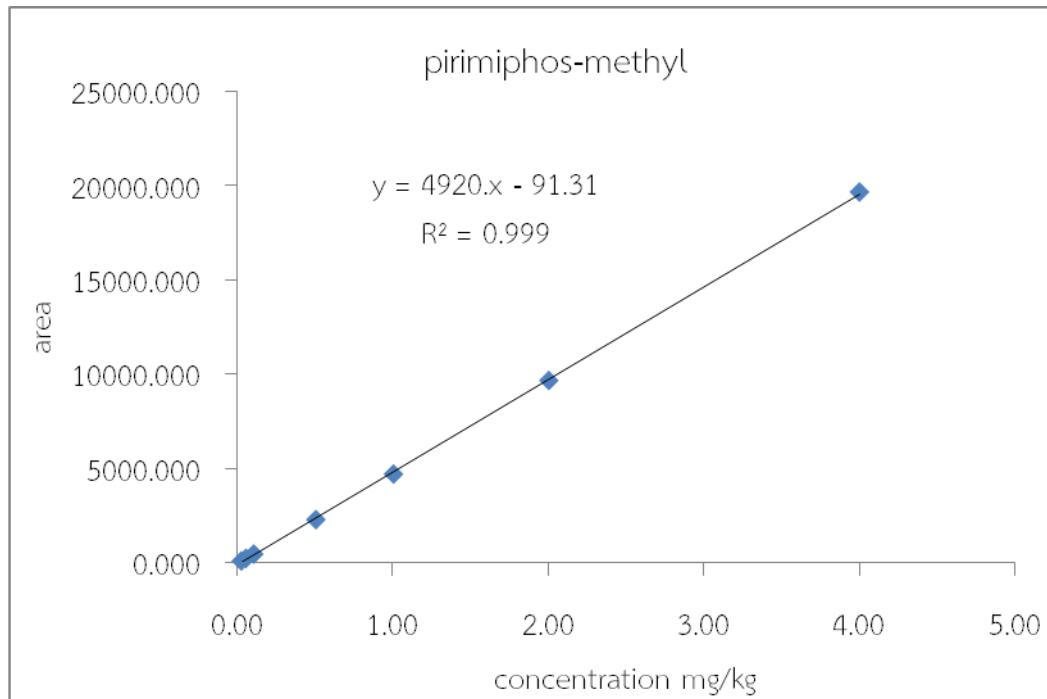


ภาพที่ 14 แสดงค่าความสัมพันธ์เชิงเส้นของ diazinon ที่ระดับความเข้มข้น 0.02 - 4.00 mg/kg ($R^2 = 0.999$)

ตารางที่ 5 แสดงค่าความเข้มข้นของ Fortified sample blank กับ Area Response ของ pirimiphos-methyl

ความเข้มข้น mg/kg	pirimiphos-methyl			เฉลี่ย
	Area ครั้งที่ 1	Area ครั้งที่ 2	Area ครั้งที่ 3	
0.02	87.190	91.401	90.102	89.564
0.05	233.855	222.900	229.991	228.915
0.10	459.665	459.421	444.195	454.427
0.50	2260.327	2286.045	2312.914	2286.429
1.00	4661.613	4715.234	4727.551	4701.466

2.00	9670.888	9665.881	9674.240	9670.336
4.00	19459.400	19629.300	19921.300	19670.000

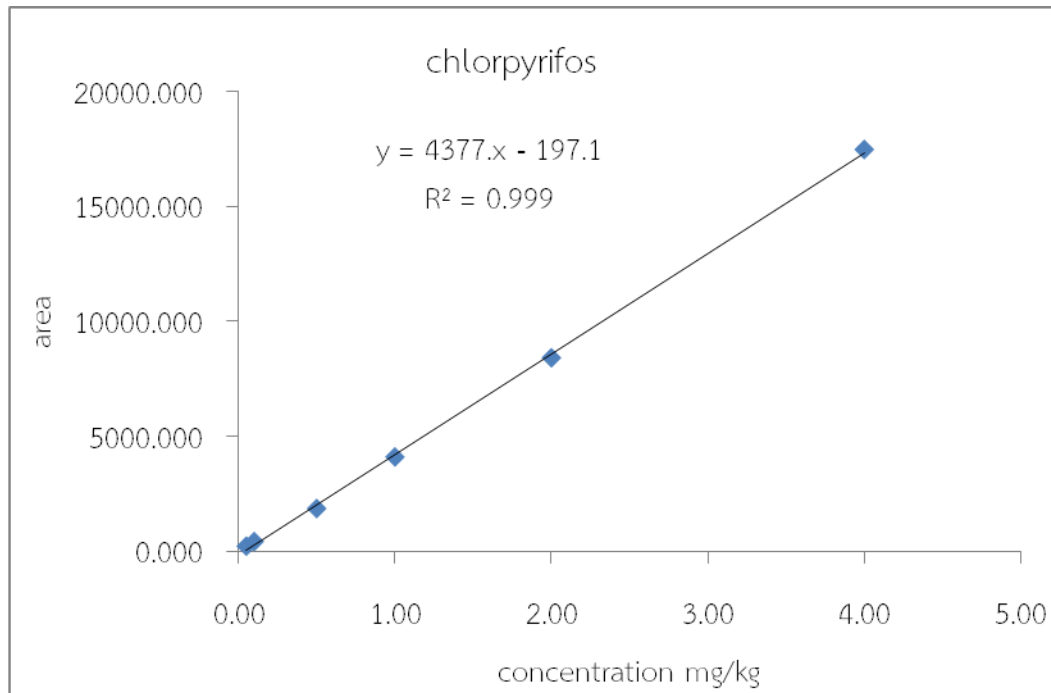


ภาพที่ 15 แสดงค่าความสัมพันธ์เชิงเส้นของ pirimiphos-methyl ที่ระดับความเข้มข้น 0.02 - 4.00 mg/kg ($R^2 = 0.999$)

ตารางที่ 6 แสดงค่าความเข้มข้นของ Fortified sample blank กับ Area Response ของ chlorpyrifos

ความเข้มข้น mg/kg	chlorpyrifos			เฉลี่ย
	Area ครั้งที่ 1	Area ครั้งที่ 2	Area ครั้งที่ 3	
0.05	199.799	184.134	188.765	190.899
0.10	397.843	402.502	367.658	389.334
0.50	1802.591	1836.771	1844.776	1828.046

1.00	4034.233	4090.329	4086.333	4070.298
2.00	8375.755	8387.304	8389.054	8384.037
4.00	17327.200	17516.200	17479.400	17440.933

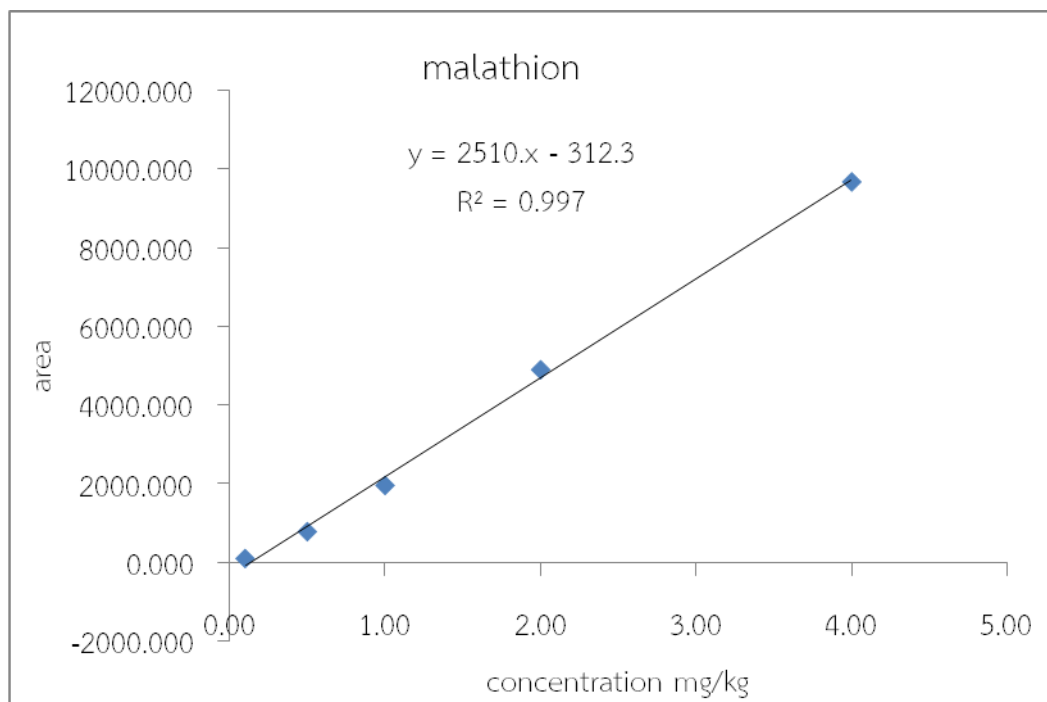


ภาพที่ 16 แสดงค่าความสัมพันธ์เชิงเส้นของ chlorpyrifos ที่ระดับความเข้มข้น 0.05 - 4.00 mg/kg ($R^2 = 0.999$)

ตารางที่ 7 แสดงค่าความเข้มข้นของ Fortified sample blank กับ Area Response ของ malathion

ความเข้มข้น mg/kg	malathion			เฉลี่ย
	Area ครั้งที่ 1	Area ครั้งที่ 2	Area ครั้งที่ 3	
0.10	114.107	123.395	129.017	122.173

0.50	770.901	794.562	847.306	804.256
1.00	1913.782	2015.265	2013.339	1980.795
2.00	4925.802	5119.98.96	4908.917	4917.360
4.00	9751.839	9632.347	9685.867	9690.018

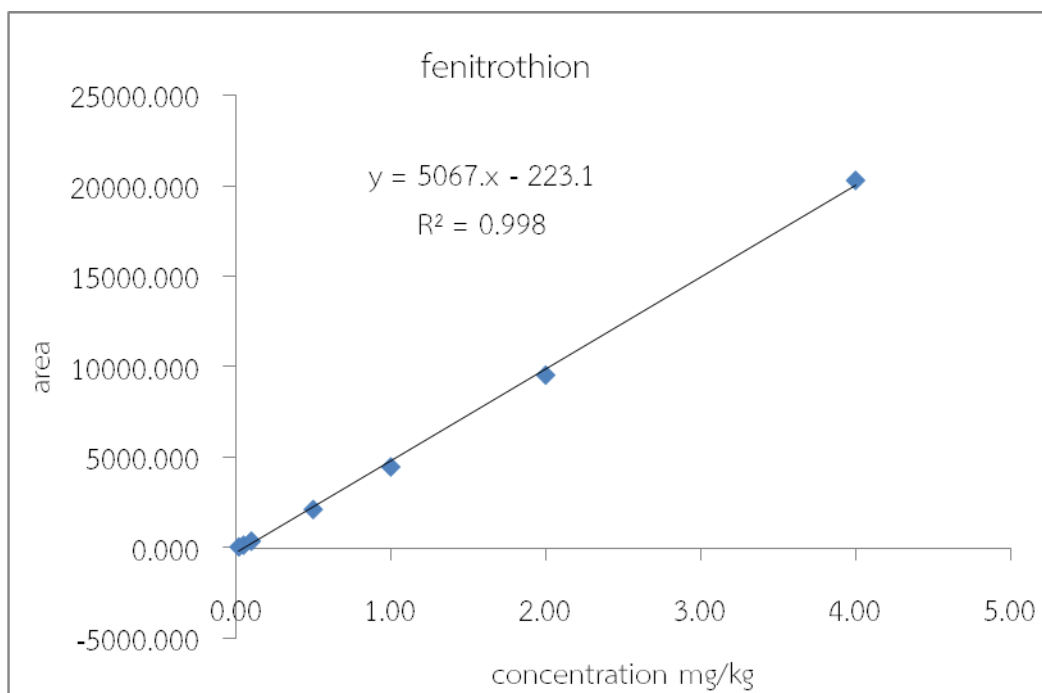


ภาพที่ 17 แสดงค่าความสัมพันธ์เชิงเส้นของ malathion ที่ระดับความเข้มข้น 0.10 - 4.00 mg/kg ($R^2 = 0.997$)

ตารางที่ 8 แสดงค่าความเข้มข้นของ Fortified sample blank กับ Area Response ของ fenitrothion

ความเข้มข้น	fenitrothion
-------------	--------------

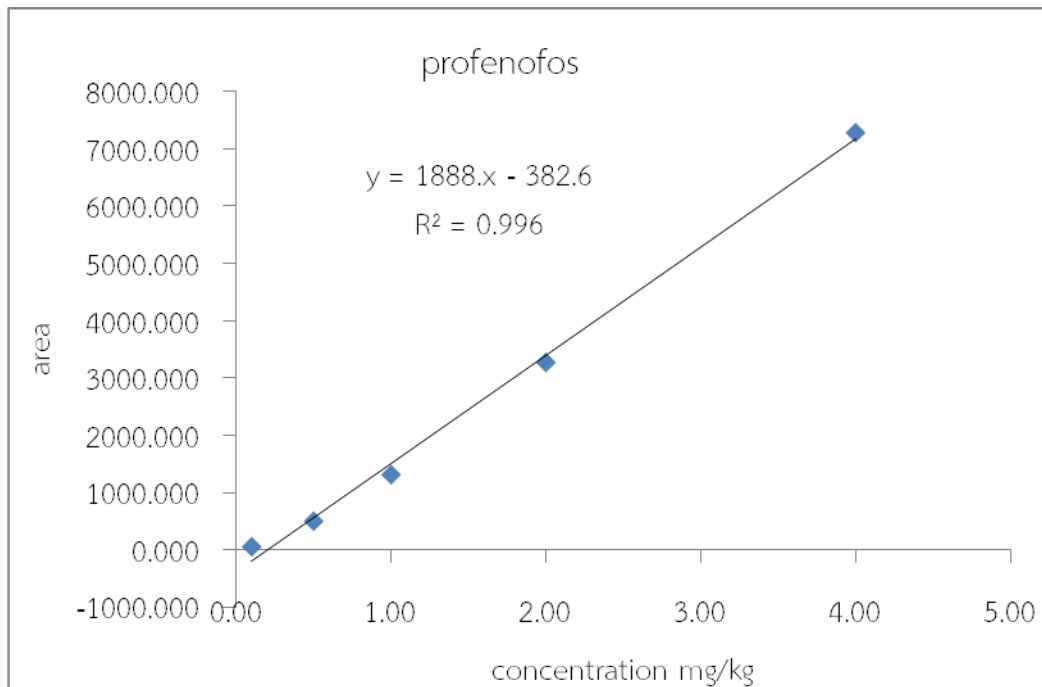
mg/kg	Area ครั้งที่ 1	Area ครั้งที่ 2	Area ครั้งที่ 3	เฉลี่ย
0.02	102.444	105.261	115.408	107.704
0.05	208.056	195.833	202.551	202.147
0.10	422.912	430.627	421.177	424.906
0.50	2167.530	2175.061	2175.061	2172.550
1.00	4497.534	4518.843	4525.887	4514.088
2.00	9573.264	9581.616	9573.942	9576.274
4.00	20429.000	20242.000	20250.600	20307.200



ภาพที่ 18 แสดงค่าความสัมพันธ์เชิงเส้นของ fenitrothion ที่ระดับความเข้มข้น 0.02 - 4.00 mg/kg ($R^2 = 0.998$)

ตารางที่ 9 แสดงค่าความเข้มข้นของ Fortified sample blank กับ Area Response ของ profenofos

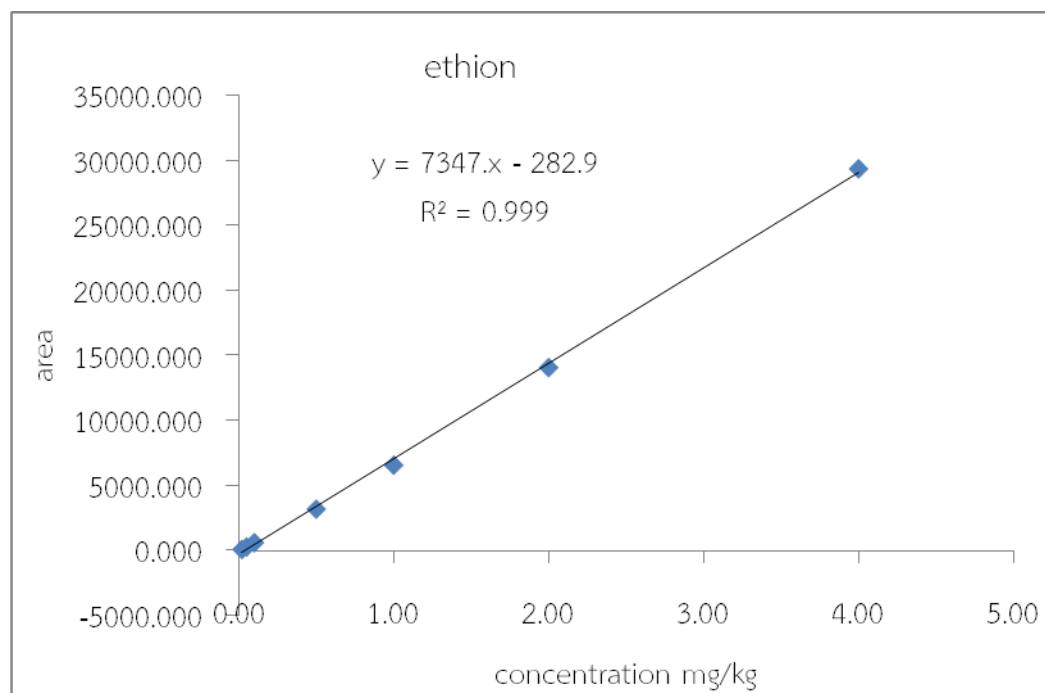
ความเข้มข้น mg/kg	profenofos			เฉลี่ย
	Area ครั้งที่ 1	Area ครั้งที่ 2	Area ครั้งที่ 3	
0.10	62.245	62.239	60.120	61.535
0.50	507.109	510.543	502.760	506.804
1.00	1323.632	1331.484	1298.323	1317.813
2.00	3194.214	3417.462	3213.288	3274.988
4.00	7291.988	7255.200	7290.041	7279.076



ภาพที่ 19 แสดงค่าความสัมพันธ์เชิงเส้นของ profenofos ที่ระดับความเข้มข้น 0.10 - 4.00 mg/kg ($R^2 = 0.996$)

ตารางที่ 10 แสดงค่าความเข้มข้นของ Fortified sample blank กับ Area Response ของ ethion

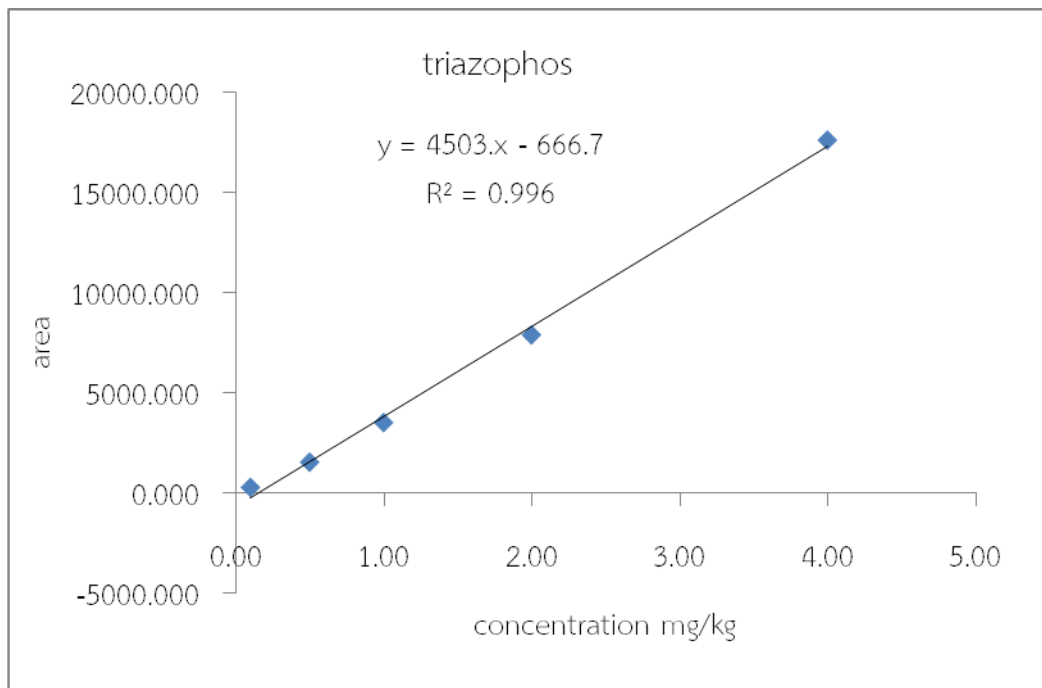
ความเข้มข้น	ethion			เฉลี่ย
mg/kg	Area ครั้งที่ 1	Area ครั้งที่ 2	Area ครั้งที่ 3	
0.02	118.764	117.656	118.120	118.180
0.05	309.518	305.942	306.778	307.413
0.10	639.787	642.751	621.210	634.583
0.50	3166.705	3218.388	3269.242	3218.112
1.00	6564.156	6607.122	6627.727	6599.669
2.00	14132.100	14109.600	14086.500	14109.400
4.00	29366.200	29481.200	29317.800	29388.400



ภาพที่ 20 แสดงค่าความสัมพันธ์เชิงเส้นของ ethion ที่ระดับความเข้มข้น 0.02 - 4.00 mg/kg ($R^2 = 0.999$)

ตารางที่ 11 แสดงค่าความเข้มข้นของ Fortified sample blank กับ Area Response ของ triazophos

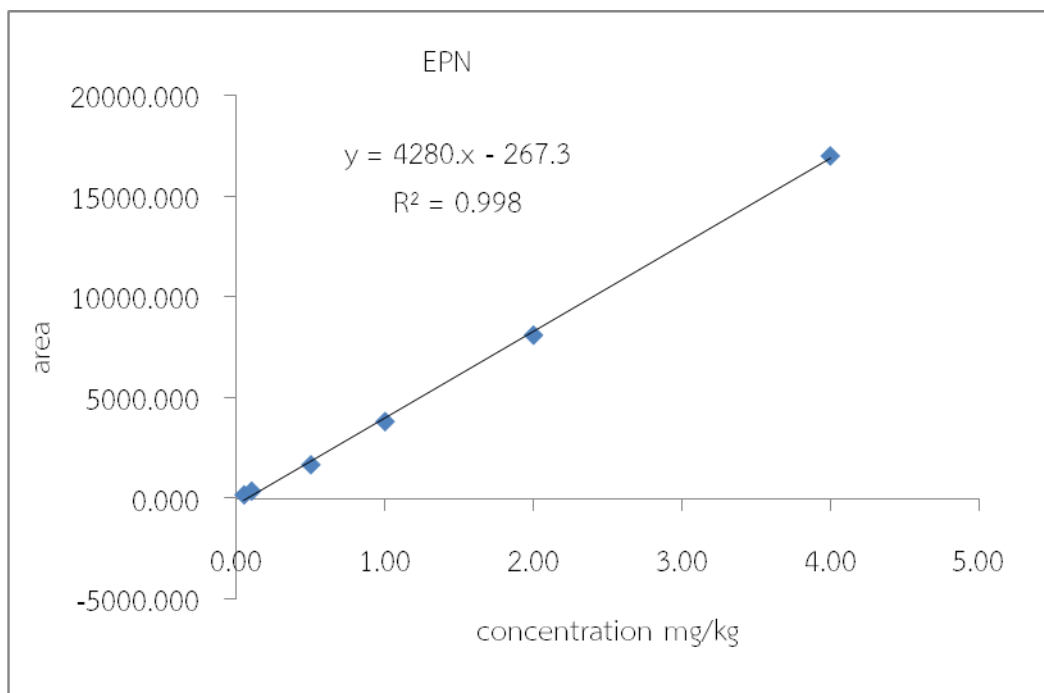
ความเข้มข้น mg/kg	triazophos			เฉลี่ย
	Area ครั้งที่ 1	Area ครั้งที่ 2	Area ครั้งที่ 3	
0.10	282.008	288.665	280.457	283.710
0.50	1523.068	1532.409	1576.618	1544.032
1.00	3510.310	3547.472	3514.020	3523.934
2.00	7835.106	7912.989	7968.332	7905.476
4.00	17402.400	17595.700	17906.100	17634.733



ภาพที่ 21 แสดงค่าความสัมพันธ์เชิงเส้นของ triazophos ที่ระดับความเข้มข้น 0.10 - 4.00 mg/kg ($R^2 = 0.996$)

ตารางที่ 12 แสดงค่าความเข้มข้นของ Fortified sample blank กับ Area Response ของ EPN

ความเข้มข้น mg/kg	EPN			เฉลี่ย
	Area ครั้งที่ 1	Area ครั้งที่ 2	Area ครั้งที่ 3	
0.05	176.328	178.461	168.782	174.523
0.10	356.295	376.449	342.508	358.417
0.50	1678.382	1691.630	1637.863	1669.292
1.00	3806.045	3813.933	3826.945	3815.641
2.00	8071.206	8081.657	8178.598	8110.487
4.00	16867.700	16800.400	17371.400	17013.167



ภาพที่ 22 แสดงค่าความสัมพันธ์เชิงเส้นของ EPN ที่ระดับความเข้มข้น 0.05 - 4.00 mg/kg ($R^2 = 0.998$)

1.4. Limit of detection (LOD)

$$\text{LOD} = 3 \text{ SD หรือ } \text{LOD} = 3 \text{ Signal/noise}$$

1.4.1 วิเคราะห์ Fortified sample blank หรือ Fortified Sample ที่ระดับความเข้มข้นต่ำ อย่างน้อย 10 ซ้ำ โดยดำเนินการพิสูจน์ LOD ที่ 0.01 mg/kg ของสารกลุ่มออร์กาโนฟอสฟอรัสจำนวน 6 ชนิดสาร (dichlorvos, diazinon, pirimiphos-methyl, chlorpyrifos, fenitrothion, ethion) และพิสูจน์ LOD ที่ 0.02 mg/kg จำนวน 3 ชนิดสาร (malathion, triazopho, EPN) และสาร profenofos พิสูจน์ LOD ที่ 0.05 mg/kg ผลการพิสูจน์ค่า LOD แต่ละระดับความเข้มข้นแสดงดังตารางที่ 13 - 14

ตารางที่ 13 แสดงผลการตรวจสอบ Accuracy และ Precision ของการทดสอบซ้ำ จำนวน 10 ซ้ำ ที่ความเข้มข้นระดับ LOD = 0.01 mg/kg ของสารกลุ่มออร์กาโนฟอสฟอรัส จำนวน 6 ชนิดสาร (%Recovery เกณฑ์ตาม Codex เท่ากับ 70–120)

จำนวนซ้ำ	dichlorvos		diazinon		pirimiphos-methyl		chlorpyrifos		fenitrothion		ethion	
	0.01 mg/kg		0.01 mg/kg		0.01 mg/kg		0.01 mg/kg		0.01 mg/kg		0.01 mg/kg	
	ความเข้มข้น (mg/kg)	Recovery (%)	ความเข้มข้น (mg/kg)	Recovery (%)	ความเข้มข้น (mg/kg)	Recovery (%)	ความเข้มข้น (mg/kg)	Recovery (%)	ความเข้มข้น (mg/kg)	Recovery (%)	ความเข้มข้น (mg/kg)	Recovery (%)
1	0.010	104.00	0.011	114.16	0.012	117.80	0.011	106.70	0.012	116.00	0.010	102.20
2	0.010	100.49	0.011	107.88	0.011	111.40	0.010	103.39	0.012	116.40	0.012	115.60
3	0.010	98.12	0.012	115.90	0.012	116.00	0.010	98.00	0.012	118.67	0.010	104.00
4	0.010	102.00	0.011	114.70	0.011	110.00	0.011	108.50	0.013	127.00	0.010	102.58
5	0.010	102.00	0.011	112.66	0.011	112.30	0.011	107.00	0.012	115.40	0.010	101.69
6	0.010	104.90	0.011	112.90	0.012	115.00	0.011	105.80	0.011	114.90	0.010	102.00
7	0.012	115.40	0.011	111.34	0.011	113.20	0.011	107.91	0.012	115.33	0.010	101.10
8	0.010	103.90	0.011	111.60	0.012	116.80	0.011	106.00	0.011	112.50	0.010	101.46
9	0.011	105.00	0.011	112.60	0.011	112.00	0.010	104.90	0.011	111.50	0.010	99.09
10	0.010	103.38	0.011	114.25	0.012	116.56	0.011	105.90	0.011	110.51	0.010	101.43
ค่าเฉลี่ย	0.010	103.92	0.011	112.80	0.011	114.11	0.011	105.41	0.012	115.82	0.010	103.11
ค่า SD	0.0005		0.000		0.0003		0.0003		0.0005		0.0005	
% RSD	4.386		1.983		2.337		2.828		3.994		4.420	
Predicted												
Horwitz												
%RSD	20.998		20.741		20.705		20.953		20.658		21.023	
Horrat												
(เกณฑ์ ≤ 2)	0.209		0.096		0.113		0.135		0.193		0.210	

ตารางที่ 14 แสดงผลการตรวจสอบ Accuracy และ Precision ของการทดสอบซ้ำ จำนวน 10 ซ้ำ ที่ความเข้มข้นระดับ LOD = 0.02 mg/kg ของสารกลุ่มออร์กาโนฟอสฟอรัส จำนวน 3 ชนิดสาร และ LOD = 0.05 mg/kg จำนวน 1 ชนิดสาร (%Recovery เหนือตาม Codex เท่ากับ 70–120)

จำนวนซ้ำ	malathion 0.02 mg/kg		triazophos 0.02 mg/kg		EPN 0.02 mg/kg		profenofos 0.05 mg/kg	
	ความเข้มข้น	Recovery	ความเข้มข้น	Recovery	ความเข้มข้น	Recovery	ความเข้มข้น	Recovery
	(mg/kg)	(%)	(mg/kg)	(%)	(mg/kg)	(%)	(mg/kg)	(%)
1	0.021	104.35	0.018	88.25	0.014	67.78	0.047	94.62
2	0.020	101.60	0.020	98.90	0.013	67.45	0.045	90.00
3	0.021	107.05	0.019	96.80	0.013	66.77	0.049	98.70
4	0.022	110.80	0.019	95.35	0.015	73.90	0.046	92.88
5	0.021	102.82	0.018	90.00	0.017	83.35	0.050	100.76
6	0.021	104.00	0.018	91.89	0.014	69.44	0.049	97.34
7	0.023	115.00	0.018	92.00	0.016	79.50	0.048	95.60
8	0.025	125.00	0.019	96.50	0.018	92.00	0.044	87.87
9	0.024	122.00	0.019	92.50	0.017	83.50	0.049	98.66
10	0.021	103.20	0.019	93.50	0.014	72.00	0.046	91.92
ค่าเฉลี่ย	0.022	109.58	0.019	93.57	0.015	75.57	0.047	94.83
ค่า SD	0.0017		0.0007		0.0017		0.0021	
% RSD	7.683		3.528		11.385		4.388	
Predicted Horwitz								
%RSD	18.767		19.219		19.847		16.709	

Horrat (เกณฑ์ ≤ 2)	0.409	0.184	0.574	0.263
--------------------------	-------	-------	-------	-------

1.4.2 ยืนยันค่า LOD จาก signal/Noise ของสารแต่ละชนิด เกณฑ์ยอมรับ signal/Noise ≥ 2 ผลการทดสอบจากเครื่องแก๊สโครมาโทกราฟี (GC) แสดงดังตารางที่ 15

ตารางที่ 15 แสดงค่า signal/Noise จากการทดสอบ 10 ซ้ำที่ระดับ LOD ของสารกลุ่มออร์กาโนฟอสฟอรัสแต่ละชนิด

ชื่อสาร	ความเข้มข้น (mg/kg)	Signal/noise (n=10)	
		ช่วง S/N (เกณฑ์ ≥ 2)	ค่าเฉลี่ย \pm SD
dichlorvos	0.010	2.60 - 3.70	3.32 \pm 0.39
diazinon	0.010	5.30 - 7.0	6.45 \pm 0.52
pirimiphos-methyl	0.010	2.90 - 4.20	3.54 \pm 0.39
chlorpyrifos	0.010	2.40 - 3.10	2.8 \pm 0.23
fenitrothion	0.010	2.70 - 3.80	3.32 \pm 0.37
ethion	0.010	4.10 - 5.80	4.87 \pm 0.48
malathion	0.020	2.00 - 2.40	2.23 \pm 0.15
triazophos	0.020	2.20 - 3.30	2.66 \pm 0.29
EPN	0.020	2.50 - 3.60	2.92 \pm 0.41
profenofos	0.050	2.00 - 2.60	2.32 \pm 0.22

1.5. Limit of Quantitation (LOQ)

เตรียม Fortified sample blank ที่ความเข้มข้นต่ำโดยพิจารณาจาก ค่า LOQ = 10 SD หรือ LOQ = 10 Signal/noise แสดงการคำนวณค่า LOQ จาก Signal/noise ของโครมาโทแกรมจากเครื่องมือที่ตรวจวิเคราะห์ (เครื่อง GC) พบว่าค่า LOQ = 0.02 mg/kg จำนวน 5 ชนิดสาร (dichlorvos, diazinon, pirimiphos-methyl, fenitrothion, ethion) และค่า LOQ = 0.05 mg/kg จำนวน 2 ชนิดสาร (chlorpyrifos, EPN) และค่า LOQ = 0.10 mg/kg จำนวน 3 ชนิดสาร คือ (malathion, triazopho, profenofos) รายละเอียดการคำนวณแสดงดังตารางที่ 16 และดำเนินการวิเคราะห์ Fortified sample blank หรือ Fortified sample ที่ระดับ LOQ จำนวน 10 ซ้ำ ผลการทดสอบตามตารางที่ 17 - 18 เพื่อพิสูจน์ Accuracy และ Precision

ตารางที่ 16 แสดงค่า LOQ จากการคำนวณ Signal/noise จากการทดสอบซ้ำที่ระดับ LOD ของสารกลุ่ม ออร์กาโนฟอสฟอรัสแต่ละชนิด

ชื่อสาร	ที่ระดับ LOD		ที่ระดับ LOQ	
	ความเข้มข้น (mg/kg)	Signal/noise (n=10) ค่าเฉลี่ย \pm SD	LOQ = 10 Signal/noise (mg/kg)	ความเข้มข้น (mg/kg) LOQ
dichlorvos	0.010	3.32 \pm 0.39	0.03 \pm 0.39	0.02
diazinon	0.010	6.45 \pm 0.52	0.02 \pm 0.52	0.02
pirimiphos-methyl	0.010	3.54 \pm 0.39	0.03 \pm 0.39	0.02
chlorpyrifos	0.010	2.8 \pm 0.23	0.04 \pm 0.23	0.05
fenitrothion	0.010	3.32 \pm 0.37	0.03 \pm 0.37	0.02
ethion	0.010	4.87 \pm 0.48	0.02 \pm 0.48	0.02
malathion	0.020	2.23 \pm 0.15	0.09 \pm 0.15	0.10
triazophos	0.020	2.66 \pm 0.29	0.08 \pm 0.29	0.10
EPN	0.020	2.92 \pm 0.41	0.07 \pm 0.41	0.05
profenofos	0.050	2.32 \pm 0.22	0.22 \pm 0.22	0.10

ตารางที่ 17 แสดงผลการตรวจสอบ Accuracy และ Precision ของการทดสอบซ้ำ จำนวน 10 ซ้ำ ที่ความเข้มข้นระดับ LOQ = 0.02 จำนวน 5 ชนิดสาร (%Recovery เกณฑ์ตาม Codex เท่ากับ 70–120)

จำนวนซ้ำ	dichlorvos		diazinon		pirimiphos-methyl		fenitrothion		ethion	
	0.02 mg/kg		0.02 mg/kg		0.02 mg/kg		0.02 mg/kg		0.02 mg/kg	
	ความเข้มข้น (mg/kg)	Recovery (%)	ความเข้มข้น (mg/kg)	Recovery (%)	ความเข้มข้น (mg/kg)	Recovery (%)	ความเข้มข้น (mg/kg)	Recovery (%)	ความเข้มข้น (mg/kg)	Recovery (%)
1	0.017	83.95	0.017	82.65	0.015	76.35	0.015	75.00	0.021	107.39
2	0.016	81.40	0.017	85.75	0.016	80.70	0.016	77.85	0.021	106.65
3	0.015	76.60	0.017	85.55	0.016	79.35	0.018	88.00	0.021	106.95
4	0.016	80.85	0.017	82.80	0.015	74.29	0.015	75.35	0.022	109.45
5	0.016	77.80	0.017	82.75	0.016	80.80	0.016	79.50	0.021	106.80
6	0.016	79.60	0.017	82.80	0.016	81.80	0.017	83.00	0.022	109.90
7	0.018	88.50	0.017	87.00	0.017	82.50	0.014	69.50	0.022	108.35
8	0.017	84.00	0.017	85.00	0.016	79.50	0.016	80.90	0.022	110.50
9	0.016	78.40	0.017	83.00	0.015	76.50	0.016	81.85	0.022	109.90
10	0.016	80.00	0.017	84.50	0.017	82.50	0.015	77.00	0.022	108.00
ค่าเฉลี่ย	0.016	81.11	0.017	84.18	0.016	79.43	0.016	78.80	0.022	108.39
ค่า SD	0.0007		0.0003		0.0006		0.0010		0.0003	
% RSD	4.375		1.885		3.572		6.464		1.338	
Predicted										
Horwitz										
%RSD	19.637		19.527		19.699		19.723		18.798	
Horrat										
(เกณฑ์ ≤ 2)	0.223		0.097		0.181		0.328		0.071	

ตารางที่ 18 แสดงผลการตรวจสอบ Accuracy และ Precision ของการทดสอบซ้ำ จำนวน 10 ซ้ำ ที่ความเข้มข้นระดับ LOQ = 0.05 mg/kg ของสารกลุ่มออร์กาโนฟอสฟอรัส จำนวน 2 ชนิดสาร และ LOQ = 0.10 mg/kg จำนวน 3 ชนิดสาร (%Recovery เกณฑ์ตาม Codex เท่ากับ 70–120)

จำนวนซ้ำ	Chlorpyrifos 0.05 mg/kg		EPN 0.05 mg/kg		malathion 0.10 mg/kg		triazophos 0.10 mg/kg		profenofos 0.10 mg/kg	
	ความเข้มข้น (mg/kg)	Recovery (%)	ความเข้มข้น (mg/kg)	Recovery (%)	ความเข้มข้น (mg/kg)	Recovery (%)	ความเข้มข้น (mg/kg)	Recovery (%)	ความเข้มข้น (mg/kg)	Recovery (%)
1	0.050	99.80	0.045	89.60	0.080	79.80	0.097	97.40	0.079	78.50
2	0.054	108.80	0.038	76.76	0.084	83.80	0.099	98.90	0.078	78.10
3	0.055	109.40	0.036	72.38	0.086	86.20	0.097	97.00	0.076	76.40
4	0.058	116.00	0.040	79.40	0.090	90.00	0.099	98.60	0.078	78.10
5	0.056	112.20	0.037	74.60	0.093	92.77	0.101	101.00	0.083	82.54
6	0.054	107.80	0.043	86.00	0.095	95.00	0.104	103.80	0.085	85.40
7	0.058	115.80	0.040	79.80	0.095	94.50	0.102	101.80	0.086	85.80
8	0.056	112.20	0.038	75.60	0.094	93.80	0.104	104.02	0.084	83.80
9	0.057	114.60	0.037	73.40	0.094	93.60	0.101	101.30	0.080	79.80
10	0.055	110.40	0.040	80.00	0.095	94.60	0.104	104.00	0.082	81.80
ค่าเฉลี่ย	0.055	110.70	0.039	78.75	0.090	90.41	0.101	100.78	0.081	81.02
ค่า SD	0.0024		0.0028		0.0053		0.0027	0.0027	0.0033	
% RSD	4.326		7.002		5.908		2.674		4.092	
Predicted Horwitz %RSD	16.325		17.183		15.163		14.917		15.415	

Horrat						
(เกณฑ์ ≤ 2)	0.265	0.407	0.390	0.179	0.265	

1.6. Accuracy

1.6.1 ทดสอบ Reagent blank, Sample blank และ Fortified sample ที่ระดับความเข้มข้นภายในช่วงการทดสอบ (Ranges) ความเข้มข้นตามค่า LOQ ดังนี้ 0.02 - 4.00 mg/kg ดำเนินการทดสอบระดับความเข้มข้นละ 10 ซ้ำ

1.6.2. หาค่าเฉลี่ยของผลทดสอบ Fortified Sample (X_2) และ Sample blank (X_1)

1.6.3 ประเมิน Accuracy จากค่า Recovery

$$\% \text{ Recovery} = \left(\frac{X_2 - X_1}{C} \right) * 100$$

โดยที่ C = ความเข้มข้นของสารมาตรฐานที่เติมลงในตัวอย่าง

X_1 = ความเข้มข้นของสารในตัวอย่างที่ไม่เติมสารมาตรฐาน (Sample blank)

X_2 = ความเข้มข้นเฉลี่ยของสารมาตรฐานที่วัดได้หลังจากเติมสารมาตรฐาน

1.6.4 เกณฑ์การยอมรับ Recovery ตาม Analyte recovery ของสารตกค้างจากยาฆ่าแมลง และยาสัตว์ตกค้างในอาหาร (Codex, 1993)

1.6.5 ผลการทดสอบรายละเอียดตามตารางที่ 19 - 25

1.7. ตรวจสอบ Precision

1.7.1 ทดสอบ Fortified sample ที่ระดับความเข้มข้นภายในช่วงการทดสอบ (Ranges) ความเข้มข้นตามค่า LOQ ดังนี้ 0.02 - 4.00 mg/kg ดำเนินการทดสอบระดับละ 10 ซ้ำ

1.7.2 บันทึกผลการทดสอบ คำนวณค่าเฉลี่ย \bar{X} และ SD ของผลการทดสอบ

1.7.3 คำนวณ %CV = %RSD

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

1.7.4 ประเมิน Precision โดยใช้ HORRAT (Horwitz' s ratio) หรือ จาก % RSD

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

Predicted Horwitz RSD คำนวณได้จาก Horwitz equation

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

เกณฑ์การยอมรับ

1. ตามเกณฑ์กำหนดโดยทั่วไปของ Precision, %RSD ของ AOAC Peer – Verified Methods. Nov. 1993

2. เกณฑ์ยอมรับค่า HORRAT (Horwitz's ratio) ดังนี้

2.1 AOAC < 2

2.2 Codex, EU ≤ 2

ผลการทดสอบตามตารางที่ 17 รายละเอียดตามตารางที่ 19-25

ตารางที่ 19 สรุปผลการทดสอบ Accuracy และ Precision ของสารกลุ่มออร์กาโนฟอสฟอรัส จำนวน 10 ชนิดสาร ที่ความเข้มข้นต่างๆ ในช่วงการใช้งาน (Range)

ชื่อสาร	ความเข้มข้น Spike (mg/kg)	$\bar{X} \pm SD$ (mg/kg)	Accuracy		Precision	
			Recovery (%)	เกณฑ์ Codex	% RSD	HORRAT เกณฑ์ ≤ 2
dichlorvos	0.02	0.021 ± 0.0011	81.11	70-120	4.375	0.223
	0.05	0.021 ± 0.0011	89.06	70-120	4.183	0.248
	0.10	0.108 ± 0.005	97.98	70-120	4.659	0.311
	0.50	0.532 ± 0.015	83.11	70-110	4.025	0.334
	1.00	1.082 ± 0.035	84.36	70-110	2.615	0.241
	2.00	2.138 ± 0.062	92.26	70-110	3.675	0.382
	4.00	4.242 ± 0.159	101.65	70-110	2.099	0.245
diazinon	0.02	0.023 ± 0.0020	84.18	70-120	1.885	0.097
	0.05	0.021 ± 0.0011	87.78	70-120	1.375	0.081
	0.10	0.105 ± 0.003	89.42	70-120	2.265	0.149
	0.50	0.367 ± 0.006	92.49	70-110	2.444	0.206
	1.00	1.077 ± 0.016	92.97	70-110	1.716	0.161
	2.00	2.135 ± 0.035	96.41	70-110	1.726	0.180
	4.00	4.161 ± 0.035	96.43	70-110	1.045	0.121
Pirimiphos - methyl	0.02	0.021 ± 0.002	79.43	70-120	3.572	0.181
	0.05	0.021 ± 0.0011	106.32	70-120	2.877	0.172
	0.10	0.105 ± 0.002	100.20	70-120	2.012	0.135
	0.50	0.530 ± 0.010	94.41	70-110	2.479	0.210
	1.00	1.069 ± 0.019	95.06	70-110	1.277	0.120
	2.00	2.101 ± 0.053	97.25	70-110	1.722	0.180

	4.00	4.062 ± 0.208	97.90	70-110	1.027	0.119
chlorpyrifos	0.05	0.021 ± 0.001	110.70	70-120	4.326	0.265
	0.10	0.104 ± 0.003	100.72	70-120	2.088	0.140
	0.50	0.508 ± 0.012	87.98	70-110	2.606	0.218
	1.00	1.066 ± 0.017	94.84	70-110	1.077	0.101
	2.00	2.071 ± 0.042	97.34	70-110	1.700	0.178
	4.00	4.053 ± 0.028	98.34	70-110	2.596	0.302

(ต่อ) ตารางที่ 19 สรุปผลการทดสอบ Accuracy และ Precision ของสารกลุ่มออร์กาโนฟอสฟอรัส จำนวน 10 ชนิดสาร ที่ความเข้มข้นต่างๆ ในช่วงการใช้งาน (Range)

ชื่อสาร	ความเข้มข้น Spike (mg/kg)	$\bar{X} \pm SD$ (mg/kg)	Accuracy		Precision	
			Recovery (%)	เกณฑ์ codex	% RSD	HORRAT เกณฑ์ ≤ 2
fenitrothion	0.02	0.021 ± 0.0011	78.80	70-120	6.464	0.328
	0.05	0.021 ± 0.0011	105.28	70-120	5.249	0.319
	0.10	0.101 ± 0.004	95.93	70-120	1.643	0.109
	0.50	0.528 ± 0.009	87.50	70-110	2.786	0.233
	1.00	1.048 ± 0.021	87.95	70-110	1.159	0.108
	2.00	2.086 ± 0.043	92.30	70-110	1.794	0.186
	4.00	4.038 ± 0.173	95.21	70-110	3.304	0.383
ethion	0.02	0.020 ± 0.0011	108.39	70-120	1.338	0.071
	0.50	0.528 ± 0.009	88.94	70-120	2.725	0.228
	0.10	0.103 ± 0.005	94.91	70-120	2.377	0.158
	0.50	0.529 ± 0.011	80.68	70-110	5.262	0.434
	1.00	1.043 ± 0.019	82.99	70-110	2.865	0.264
	2.00	2.134 ± 0.047	94.44	70-110	1.844	0.192
	4.00	4.082 ± 0.174	97.00	70-110	1.102	0.128
malathion	0.10	0.050 ± 0.005	90.41	70-120	5.908	0.390
	0.50	0.108 ± 0.006	80.68	70-110	5.262	0.434
	1.00	0.528 ± 0.008	82.99	70-110	2.865	0.264
	2.00	1.070 ± 0.045	91.19	70-110	3.077	0.319

	4.00	2.147 ± 0.057	104.56	70-110	1.469	0.173
triazophos	0.10	0.048 ± 0.003	100.78	70-120	2.674	0.179
	0.50	0.102 ± 0.005	82.25	70-110	3.456	0.286
	1.00	0.491 ± 0.013	81.68	70-110	1.899	0.174
	2.00	0.977 ± 0.024	91.25	70-110	2.553	0.265
	4.00	2.081 ± 0.040	101.33	70-110	2.831	0.331
EPN	0.05	0.050 ± 0.003	78.75	70-120	6.329	0.368
	0.10	0.106 ± 0.004	81.05	70-120	4.371	0.284
	0.50	0.480 ± 0.013	76.01	70-110	2.734	0.224
	1.00	1.034 ± 0.022	87.07	70-110	1.483	0.138
	2.00	2.093 ± 0.035	92.67	70-110	2.053	0.213
	4.00	4.079 ± 0.216	96.49	70-110	1.178	0.137

(ต่อ) ตารางที่ 19 สรุปผลการทดสอบ Accuracy และ Precision ของสารกลุ่มออร์กาโนฟอสฟอรัส จำนวน 10 ชนิดสาร ที่ความเข้มข้นต่างๆ ในช่วงการใช้งาน (Range)

ชื่อสาร	ความเข้มข้น Spike (mg/kg)	$\bar{X} \pm SD$ (mg/kg)	Accuracy		Precision	
			Recovery (%)	เกณฑ์ codex	% RSD	HORRAT เกณฑ์ ≤ 2
profenofos	0.10	0.084 ± 0.005	81.02	70-120	4.092	0.265
	0.50	0.470 ± 0.016	83.62	70-110	4.387	0.364
	1.00	1.056 ± 0.031	86.59	70-110	2.655	0.246
	2.00	2.140 ± 0.079	95.32	70-110	2.975	0.310
	4.00	4.187 ± 0.1069	105.22	70-110	3.272	0.385

ตารางที่ 20 แสดงผลการตรวจสอบ Accuracy และ Precision ของการทดสอบสารกลุ่มออร์กาโนฟอสฟอรัส จำนวน 10 ซ้ำ ที่ระดับความเข้มข้น 0.02 mg/kg (%Recovery เกณฑ์ตาม Codex เท่ากับ 70–120)

จำนวนซ้ำ	dichlorvos		diazinon		pirimiphos-methyl		fenitrothion		ethion	
	0.02 mg/kg		0.02 mg/kg		0.02 mg/kg		0.02 mg/kg		0.02 mg/kg	
	ความเข้มข้น (mg/kg)	Recovery (%)	ความเข้มข้น (mg/kg)	Recovery (%)	ความเข้มข้น (mg/kg)	Recovery (%)	ความเข้มข้น (mg/kg)	Recovery (%)	ความเข้มข้น (mg/kg)	Recovery (%)
1	0.017	83.95	0.017	82.65	0.015	76.35	0.015	75.00	0.021	107.39
2	0.016	81.40	0.017	85.75	0.016	80.70	0.016	77.85	0.021	106.65
3	0.015	76.60	0.017	85.55	0.016	79.35	0.018	88.00	0.021	106.95
4	0.016	80.85	0.017	82.80	0.015	74.29	0.015	75.35	0.022	109.45
5	0.016	77.80	0.017	82.75	0.016	80.80	0.016	79.50	0.021	106.80
6	0.016	79.60	0.017	82.80	0.016	81.80	0.017	83.00	0.022	109.90
7	0.018	88.50	0.017	87.00	0.017	82.50	0.014	69.50	0.022	108.35
8	0.017	84.00	0.017	85.00	0.016	79.50	0.016	80.90	0.022	110.50
9	0.016	78.40	0.017	83.00	0.015	76.50	0.016	81.85	0.022	109.90
10	0.016	80.00	0.017	84.50	0.017	82.50	0.015	77.00	0.022	108.00
ค่าเฉลี่ย	0.016	81.11	0.017	84.18	0.016	79.43	0.016	78.80	0.022	108.39
ค่า SD	0.0007		0.0003		0.0006		0.0010		0.0003	
% RSD	4.375		1.885		3.572		6.464		1.338	
Predicted										
Horwitz										
%RSD	19.637		19.527		19.699		19.723		18.798	
Horrat										
(เกณฑ์ ≤ 2)	0.223		0.097		0.181		0.328		0.071	

ตารางที่ 21 แสดงผลการตรวจสอบ Accuracy และ Precision ของการทดสอบสารกลุ่มออร์กาโนฟอสฟอรัส จำนวน 10 ซ้ำ ที่ระดับความเข้มข้น 0.05 mg/kg (% Recovery เกณฑ์ตาม Codex เท่ากับ 70–120)

จำนวนซ้ำ	dichlorvos		diazinon		pirimiphos- methyl		fenitrothion		ethion		chlorpyrifos		EPN	
	Conc.	%R	Conc.	%R	Conc.	%R	Conc.	%R	Conc.	%R	Conc.	%R	Conc.	%R
1	0.044	88.00	0.045	89.00	0.049	98.20	0.045	90.76	0.050	99.38	0.050	99.80	0.045	89.60
2	0.043	86.60	0.043	85.20	0.053	105.00	0.052	103.40	0.049	98.44	0.054	108.80	0.038	76.76
3	0.043	86.40	0.044	87.60	0.054	107.80	0.053	106.00	0.049	98.60	0.055	109.40	0.036	72.38
4	0.042	84.80	0.045	89.00	0.054	108.00	0.054	108.40	0.050	99.80	0.058	116.00	0.040	79.40
5	0.046	92.00	0.043	86.98	0.054	107.20	0.055	109.60	0.050	100.66	0.056	112.20	0.037	74.60
6	0.044	88.00	0.044	88.40	0.054	107.40	0.053	106.00	0.050	99.20	0.054	107.80	0.038	76.20
7	0.044	87.60	0.045	89.00	0.054	108.20	0.053	106.00	0.049	98.80	0.058	115.80	0.040	79.80
8	0.045	89.40	0.044	88.20	0.054	108.00	0.055	109.60	0.049	98.40	0.056	112.20	0.038	75.60
9	0.049	98.00	0.044	87.00	0.053	106.80	0.054	108.60	0.050	99.00	0.057	114.60	0.037	73.40
10	0.045	89.80	0.044	87.40	0.053	106.60	0.052	104.40	0.049	97.20	0.055	110.40	0.040	80.00
ค่าเฉลี่ย	0.045	89.06	0.044	87.78	0.053	106.32	0.053	105.28	0.049	98.95	0.055	110.70	0.039	77.77
ค่า SD	0.0019		0.001		0.0015		0.0028		0.0005		0.0024		0.0025	
% RSD	4.183		1.375		2.827		5.249		0.933		4.326		6.329	
Predicted	16.868		16.905		16.424		16.449		16.603		16.325		17.215	

Horwitz								
%RSD								
Horrat								
(เกณฑ์ ≤ 2)	0.248	0.081	0.172	0.319	0.056	0.265	0.368	

หมายเหตุ

Conc. = ความเข้มข้น (Concentration)

%R = Recovery

ตารางที่ 22 แสดงผลการตรวจสอบ Accuracy และ Precision ของการทดสอบสารกลุ่มออร์กาโนฟอสฟอรัส จำนวน 10 ชนิด ที่ระดับความเข้มข้น 0.10 mg/kg (% Recovery เกณฑ์ตาม Codex เท่ากับ 70–120)

จำนวน ซ้ำ	dichlorvos		diazinon		pirimiphos- methyl		chlorpyrifos		malathion		fenitrothion		profenofos		ethion		triazophos		EPN	
	Conc.	%R	Conc.	%R	Conc.	%R	Conc.	%R	Conc.	%R	Conc.	%R	Conc.	%R	Conc.	%R	Conc.	%R	Conc.	%R
1	0.090	90.10	0.088	87.50	0.099	99.20	0.102	102.00	0.080	79.80	0.095	94.60	0.079	78.50	0.093	92.90	0.097	97.40	0.078	78.40
2	0.096	96.40	0.089	88.80	0.099	99.10	0.103	103.30	0.084	83.80	0.096	96.00	0.078	78.10	0.093	93.40	0.099	98.90	0.083	83.00
3	0.093	92.80	0.085	85.10	0.096	96.10	0.095	95.40	0.086	86.20	0.094	94.30	0.076	76.40	0.091	90.60	0.097	97.00	0.075	75.30
4	0.095	94.90	0.088	88.10	0.098	98.40	0.102	102.40	0.090	90.00	0.094	94.20	0.078	78.10	0.093	93.30	0.099	98.60	0.078	77.80
5	0.102	102.10	0.091	91.00	0.102	101.70	0.100	100.40	0.093	92.77	0.096	96.08	0.083	82.54	0.096	95.60	0.101	101.00	0.079	79.10
6	0.099	99.30	0.091	90.80	0.102	101.50	0.101	100.80	0.095	95.00	0.096	96.40	0.085	85.40	0.097	96.70	0.104	103.80	0.079	79.00
7	0.105	104.70	0.090	90.30	0.101	100.60	0.101	100.80	0.095	94.50	0.097	96.70	0.086	85.80	0.097	96.90	0.102	101.80	0.086	85.80
8	0.100	100.40	0.091	90.80	0.103	102.50	0.101	100.60	0.094	93.80	0.099	98.80	0.084	83.80	0.097	97.40	0.104	104.02	0.083	83.10
9	0.097	97.11	0.090	90.20	0.101	100.50	0.100	100.40	0.094	93.60	0.094	94.39	0.080	79.80	0.095	95.30	0.101	101.30	0.085	84.60
10	0.102	102.00	0.092	91.60	0.102	102.40	0.101	101.10	0.095	94.60	0.098	97.80	0.082	81.80	0.097	96.99	0.104	104.00	0.084	84.39
ค่าเฉลี่ย	0.098	97.98	0.089	89.42	0.100	100.20	0.101	100.72	0.090	90.41	0.096	95.93	0.081	81.02	0.095	94.91	0.101	100.78	0.081	81.05
ค่า SD	0.0046		0.0020		0.0020		0.0021		0.0053		0.0016		0.0033		0.0023		0.0027		0.0035	

% RSD	4.659	2.265	2.012	2.088	5.908	1.643	4.092	2.377	2.674	4.371
Predicted										
Horwitz										
%RSD	14.980	15.188	14.930	14.918	15.163	15.028	15.415	15.052	14.917	15.414
Horrat										
(เกณฑ์≤2)	0.311	0.149	0.135	0.140	0.390	0.109	0.265	0.158	0.179	0.284

หมายเหตุ

Conc. = ความเข้มข้น (Concentration)

%R = Recovery

ตารางที่ 23 แสดงผลการตรวจสอบ Accuracy และ Precision ของการทดสอบสารกลุ่มออร์กาโนฟอสฟอรัส จำนวน 10 ชนิด ที่ระดับความเข้มข้น 0.50 mg/kg (% Recovery เกณฑ์ตาม Codex เท่ากับ 70–110)

จำนวน ซ้ำ	dichlorvos		diazinon		pirimiphos- methyl		chlorpyrifos		malathion		fenitrothion		profenofos		ethion		triazophos		EPN	
	Conc.	%R	Conc.	%R	Conc.	%R	Conc.	%R	Conc.	%R	Conc.	%R	Conc.	%R	Conc.	%R	Conc.	%R	Conc.	%R
1	0.382	80.84	0.443	90.14	0.454	91.88	0.422	85.86	0.363	74.32	0.424	85.08	0.385	78.02	0.425	86.32	0.391	78.50	0.376	75.88
2	0.404	79.20	0.451	90.96	0.459	92.94	0.429	86.22	0.372	78.14	0.425	85.80	0.390	80.65	0.432	87.66	0.393	80.43	0.379	73.46
3	0.396	80.20	0.455	91.00	0.465	92.54	0.431	85.94	0.391	78.14	0.429	84.78	0.403	82.02	0.438	86.86	0.402	80.19	0.367	73.83
4	0.401	83.46	0.455	91.32	0.463	93.00	0.430	86.20	0.391	78.80	0.424	85.80	0.410	81.80	0.434	87.20	0.401	79.80	0.369	74.40
5	0.417	85.40	0.457	94.00	0.465	96.74	0.431	90.30	0.394	83.52	0.429	89.58	0.409	86.56	0.436	91.14	0.399	84.96	0.372	77.56
6	0.427	87.24	0.470	96.42	0.484	98.32	0.452	91.44	0.418	85.00	0.448	92.02	0.433	86.92	0.456	92.86	0.425	86.23	0.388	80.70
7	0.436	85.36	0.482	94.10	0.492	96.06	0.457	89.40	0.425	83.22	0.460	89.08	0.435	86.08	0.464	90.18	0.431	84.21	0.404	76.24

8	0.427	83.46	0.471	92.40	0.480	94.28	0.447	88.38	0.416	82.84	0.445	87.82	0.430	85.58	0.451	89.32	0.421	83.16	0.381	76.00
9	0.417	83.46	0.462	92.40	0.471	94.28	0.442	88.38	0.414	82.84	0.439	87.82	0.428	85.58	0.447	89.32	0.416	83.16	0.380	76.04
10	0.417	82.49	0.462	92.13	0.471	94.09	0.442	87.64	0.414	79.94	0.439	87.26	0.428	83.02	0.447	88.58	0.416	81.87	0.380	75.94
ค่าเฉลี่ย	0.412	83.11	0.461	92.49	0.470	94.41	0.438	87.98	0.400	80.68	0.436	87.50	0.415	83.62	0.443	88.94	0.409	82.25	0.380	76.01
ค่า SD	0.0166		0.0113		0.0117		0.0114		0.0210		0.0122		0.0182		0.0121		0.0141		0.0104	
% RSD	4.025		2.444		2.479		2.606		5.262		2.786		4.387		2.725		3.456		2.734	
Predicted																				
Horwitz																				
%RSD	12.066		11.867		11.829		11.956		12.123		11.964		12.054		11.937		12.079		12.217	
Horrat																				
(เกณฑ์≤2)	0.334		0.206		0.210		0.218		0.434		0.233		0.364		0.228		0.286		0.224	

หมายเหตุ

Conc. = ความเข้มข้น (Concentration)

%R = Recovery

ตารางที่ 24 แสดงผลการตรวจสอบ Accuracy และ Precision ของการทดสอบสารกลุ่มออร์กาโนฟอสฟอรัส จำนวน 10 ชนิด ที่ระดับความเข้มข้น 1.00 mg/kg (% Recovery เกณฑ์ตาม Codex เท่ากับ 70–110)

จำนวน ซ้ำ	dichlorvos		diazinon		pirimiphos- methyl		chlorpyrifos		malathion		fenitrothion		profenofos		ethion		triazophos		EPN	
	Conc.	%R	Conc.	%R	Conc.	%R	Conc.	%R	Conc.	%R	Conc.	%R	Conc.	%R	Conc.	%R	Conc.	%R	Conc.	%R
1	0.827	82.70	0.895	89.50	0.928	92.80	0.929	92.87	0.778	77.77	0.864	86.38	0.807	80.72	0.871	87.09	0.783	78.28	0.856	85.60
2	0.842	84.24	0.915	91.48	0.939	93.86	0.941	94.14	0.815	81.45	0.868	86.78	0.863	86.33	0.877	87.65	0.803	80.30	0.858	85.78

3	0.842	84.20	0.921	92.08	0.941	94.10	0.941	94.05	0.814	81.38	0.869	86.92	0.855	85.50	0.879	87.92	0.806	80.58	0.861	86.07
4	0.820	81.96	0.928	92.83	0.948	94.83	0.948	94.83	0.834	83.44	0.876	87.62	0.883	88.27	0.894	89.44	0.823	82.31	0.870	87.02
5	0.825	82.48	0.937	93.74	0.961	96.14	0.960	96.03	0.853	85.31	0.891	89.14	0.887	88.70	0.907	90.74	0.831	83.11	0.866	86.63
6	0.859	85.93	0.939	93.87	0.958	95.76	0.953	95.33	0.849	84.89	0.884	88.38	0.868	86.80	0.901	90.10	0.824	82.39	0.863	86.31
7	0.882	88.15	0.942	94.18	0.959	95.87	0.952	95.24	0.845	84.47	0.887	88.65	0.870	86.99	0.901	90.05	0.824	82.41	0.880	87.95
8	0.874	87.37	0.945	94.52	0.963	96.26	0.961	96.13	0.852	85.23	0.887	88.71	0.882	88.23	0.903	90.30	0.830	83.04	0.890	89.02
9	0.846	84.62	0.946	94.57	0.964	96.40	0.956	95.56	0.840	84.04	0.892	89.22	0.879	87.89	0.905	90.51	0.830	82.95	0.893	89.27
10	0.820	81.96	0.929	92.93	0.946	94.62	0.942	94.21	0.819	81.91	0.877	87.69	0.865	86.50	0.890	89.03	0.815	81.48	0.871	87.07
ค่าเฉลี่ย	0.844	84.36	0.930	92.97	0.951	95.06	0.948	94.84	0.830	82.99	0.879	87.95	0.866	86.59	0.893	89.28	0.817	81.68	0.871	87.07
ค่า SD	0.0221		0.0160		0.0121		0.0102		0.0238		0.0102		0.0230		0.0131		0.0155		0.0129	
% RSD	2.615		1.716		1.277		1.077		2.865		1.159		2.655		1.462		1.899		1.483	
Predicted																				
Horwitz																				
%RSD	10.834		10.676		10.641		10.645		10.861		10.766		10.791		10.742		10.886		10.782	
Horrat																				
(เกณฑ์ ≤ 2)	0.241		0.161		0.120		0.101		0.264		0.108		0.246		0.136		0.174		0.138	

หมายเหตุ

Conc. = ความเข้มข้น (Concentration)

%R = Recovery

ตารางที่ 25 แสดงผลการตรวจสอบ Accuracy และ Precision ของการทดสอบสารกลุ่มออร์กาโนฟอสฟอรัส จำนวน 10 ชนิด ที่ระดับความเข้มข้น 2.00 mg/kg (% Recovery เกณฑ์ตาม Codex เท่ากับ 70–110)

จำนวน ซ้ำ	dichlorvos		diazinon		pirimiphos- methyl		chlorpyrifos		malathion		fenitrothion		profenofos		ethion		triazophos		EPN	
	Conc.	%R	Conc.	%R	Conc.	%R	Conc.	%R	Conc.	%R	Conc.	%R	Conc.	%R	Conc.	%R	Conc.	%R	Conc.	%R
1	1.769	88.44	1.897	94.83	1.916	95.80	1.915	95.77	1.753	87.66	1.822	91.10	1.834	91.70	1.865	93.23	1.765	88.23	1.817	90.87
2	1.794	89.71	1.898	94.92	1.915	95.75	1.918	95.90	1.777	88.87	1.824	91.18	1.872	93.59	1.862	93.08	1.782	89.08	1.820	90.99
3	1.728	86.42	1.902	95.08	1.917	95.84	1.918	95.92	1.792	89.61	1.822	91.11	1.876	93.79	1.859	92.93	1.794	89.68	1.842	92.08
4	1.809	90.44	1.899	94.96	1.914	95.68	1.918	95.91	1.777	88.86	1.819	90.96	1.858	92.92	1.851	92.56	1.785	89.23	1.840	91.98
5	1.877	93.87	1.962	98.11	1.980	99.01	1.981	99.04	1.823	91.13	1.866	93.28	1.912	95.62	1.924	96.21	1.854	92.68	1.904	95.18
6	1.862	93.08	1.978	98.89	1.997	99.85	2.002	100.10	1.871	93.53	1.915	95.75	1.947	97.37	1.952	97.59	1.900	95.01	1.932	96.59
7	1.888	94.41	1.908	95.39	1.927	96.34	1.931	96.57	1.806	90.28	1.822	91.10	1.890	94.50	1.870	93.50	1.824	91.18	1.844	92.20
8	1.868	93.41	1.936	96.79	1.949	97.43	1.951	97.55	1.834	91.68	1.866	93.32	1.914	95.68	1.890	94.50	1.838	91.91	1.859	92.95
9	1.914	95.69	1.978	98.88	1.993	99.65	1.991	99.54	1.941	97.05	1.877	93.86	2.037	101.83	1.930	96.49	1.893	94.66	1.862	93.08
10	1.943	97.16	1.925	96.24	1.943	97.16	1.942	97.11	1.864	93.22	1.826	91.30	1.924	96.20	1.887	94.33	1.817	90.85	1.816	90.78
ค่าเฉลี่ย	1.845	92.26	1.928	96.41	1.945	97.25	1.947	97.34	1.824	91.19	1.846	92.30	1.906	95.32	1.889	94.44	1.825	91.25	1.853	92.67
ค่า SD	0.0678		0.0333		0.0335		0.0331		0.0561		0.0331		0.0567		0.0348		0.0466		0.0381	
% RSD	3.675		1.726		1.722		1.700		3.077		1.794		2.975		1.844		2.553		2.053	
Predicted																				
Horwitz																				
%RSD	9.630		9.566		9.554		9.552		9.647		9.629		9.583		9.596		9.646		9.623	
Horrat																				
(เกณฑ์≤2)	0.382		0.180		0.180		0.178		0.319		0.186		0.310		0.192		0.265		0.213	

หมายเหตุ

Conc. = ความเข้มข้น (Concentration)

%R = Recovery

ตารางที่ 26 แสดงผลการตรวจสอบ Accuracy และ Precision ของการทดสอบสารกลุ่มออร์กาโนฟอสฟอรัส จำนวน 10 ชนิด ที่ระดับความเข้มข้น 4.00 mg/kg (% Recovery เกณฑ์ตาม Codex เท่ากับ 70–110)

จำนวน ซ้ำ	dichlorvos		diazinon		pirimiphos- methyl		chlorpyrifos		malathion		fenitrothion		profenofos		ethion		triazophos		EPN	
	Conc.	%R	Conc.	%R	Conc.	%R	Conc.	%R	Conc.	%R	Conc.	%R	Conc.	%R	Conc.	%R	Conc.	%R	Conc.	%R
1	4.177	104.42	3.824	95.61	3.890	97.24	3.693	92.33	4.188	104.70	3.563	89.07	4.126	103.15	3.792	94.81	4.143	103.56	3.782	94.55
2	4.209	105.22	3.855	96.37	3.927	98.18	3.851	96.28	4.211	105.28	3.626	90.66	4.164	104.09	3.836	95.90	4.188	104.71	3.803	95.07
3	3.929	98.23	3.880	97.01	3.938	98.45	3.984	99.61	4.240	105.99	3.913	97.82	4.264	106.61	3.904	97.60	4.296	107.39	3.903	97.58
4	3.989	99.73	3.866	96.65	3.942	98.56	4.016	100.41	4.092	102.31	3.871	96.79	4.171	104.26	3.865	96.62	3.957	98.92	3.864	96.60
5	4.036	100.91	3.898	97.45	3.927	98.17	3.967	99.18	4.170	104.26	3.894	97.36	4.104	102.59	3.880	97.00	3.978	99.44	3.892	97.29
6	4.123	103.08	3.913	97.82	3.978	99.45	4.040	101.01	4.292	107.31	3.928	98.20	4.027	100.68	3.915	97.87	4.004	100.11	3.911	97.77
7	4.081	102.02	3.876	96.89	3.941	98.53	4.009	100.22	4.155	103.88	3.838	95.94	4.296	107.41	3.925	98.11	3.976	99.41	3.899	97.48
8	4.067	101.68	3.904	97.60	3.895	97.37	3.948	98.69	4.104	102.61	3.852	96.30	4.139	103.47	3.900	97.50	4.016	100.41	3.876	96.90
9	4.035	100.88	3.864	96.59	3.886	97.16	3.933	98.34	4.222	105.56	3.869	96.73	4.518	112.95	3.925	98.11	3.996	99.89	3.849	96.23
10	4.012	100.31	3.777	94.43	3.835	95.86	3.895	97.39	4.149	103.73	3.731	93.27	4.279	106.99	3.858	96.46	3.979	99.47	3.817	95.42
ค่าเฉลี่ย	4.066	101.65	3.866	96.64	3.916	97.90	3.934	98.34	4.182	104.56	3.808	95.21	4.209	105.22	3.880	97.00	4.053	101.33	3.860	96.49
ค่า SD	0.0853		0.0404		0.0402		0.1021		0.0615		0.1258		0.1377		0.0427		0.1147		0.0455	
% RSD	2.099		1.045		1.027		2.596		1.469		3.304		3.272		1.102		2.831		1.178	
Predicted																				
Horwitz																				
%RSD	8.550		8.615		8.599		8.593		8.514		8.635		8.506		8.611		8.554		8.617	
Horrat																				
(เกณฑ์≤2)	0.245		0.121		0.119		0.302		0.173		0.383		0.385		0.128		0.331		0.137	

หมายเหตุ

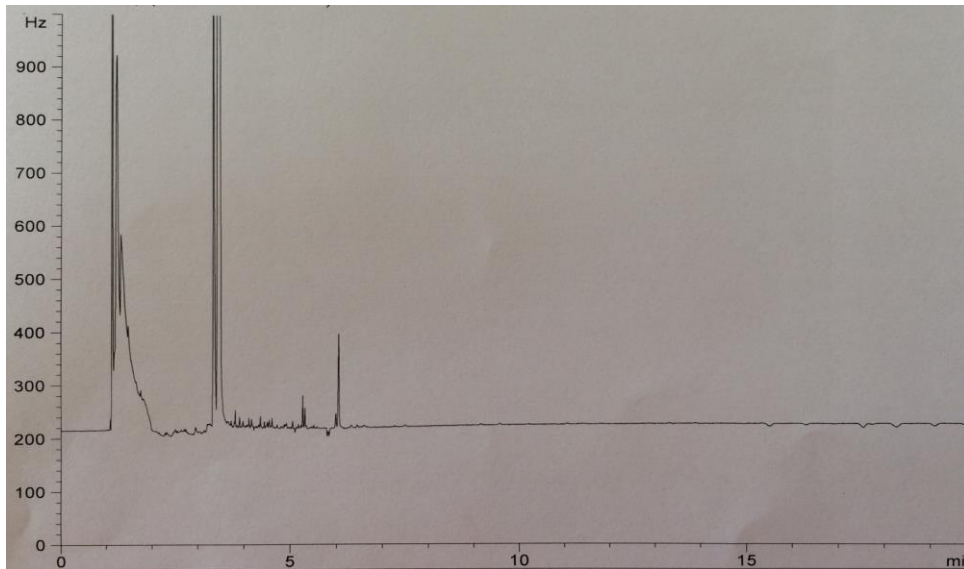
Conc. = ความเข้มข้น (Concentration)

%R = Recove

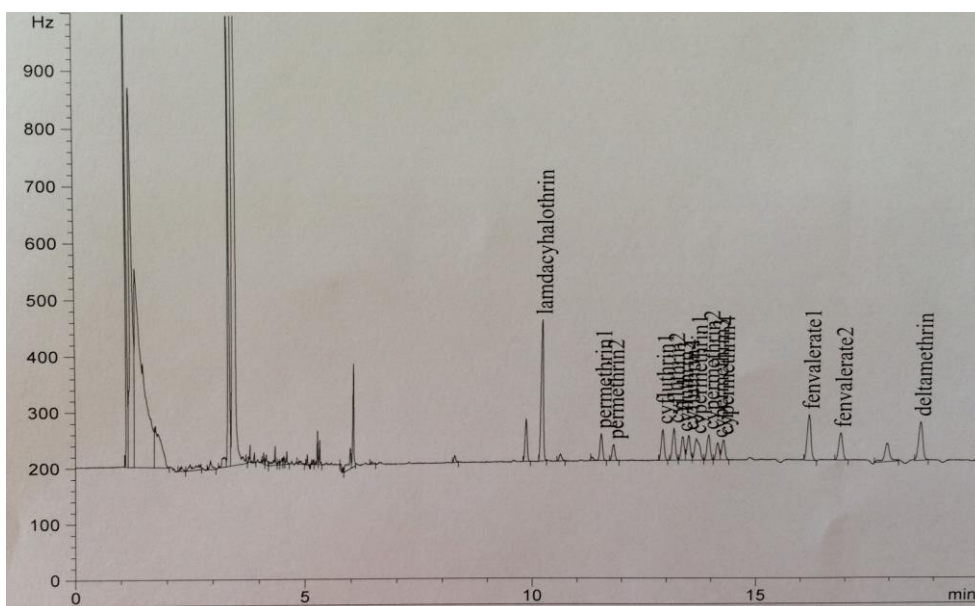
2. ผลการตรวจสอบความใช้ได้ของวิธีการวิเคราะห์สารพิษตกค้างกลุ่มไพรีทรอยด์ (Pyrethroid) จำนวน 6 ชนิดสาร (lamdacyhalothrin, permethrin, cyfluthrin, cypermethrin, fenvalerate, deltamethrin) ในแตงโม โดยวิธี QuEChERS

2.1. ความเฉพาะเจาะจง (Specificity / Selectivity)

จากผลการวิเคราะห์แตงโมด้วยเครื่อง GC-ECD พบว่าไม่มีสารเคมีป้องกันกำจัดศัตรูพืชตกค้าง (Matrix blank) ผลโครมาโตแกรมดังภาพที่ 23 เปรียบเทียบกับ Spike matrix blank ที่ระดับใกล้เคียง LOQ โครมาโตแกรม ดังภาพที่ 24 พบว่าสัญญาณของ Matrix blank ไม่รบกวนหรือไม่ตรงสัญญาณของ Spike matrix blank ที่ค่า Retention Time (RT) ตามตารางที่ 27



ภาพที่ 23 สัญญาณโครมาโตแกรมจากเครื่อง GC-ECD ของตัวอย่างแตงโม (Matrix blank)



ภาพที่ 24 สัญญาณโครมาโตแกรมจากเครื่อง GC-ECD ของตัวอย่างแดงโมที่ Spike matrix blank ที่ระดับใกล้เคียง LOQ

ตารางที่ 27 แสดง Retention Time ของ Matrix blank และ Spike matrix blank ของสารกลุ่มไพรีทรอยด์

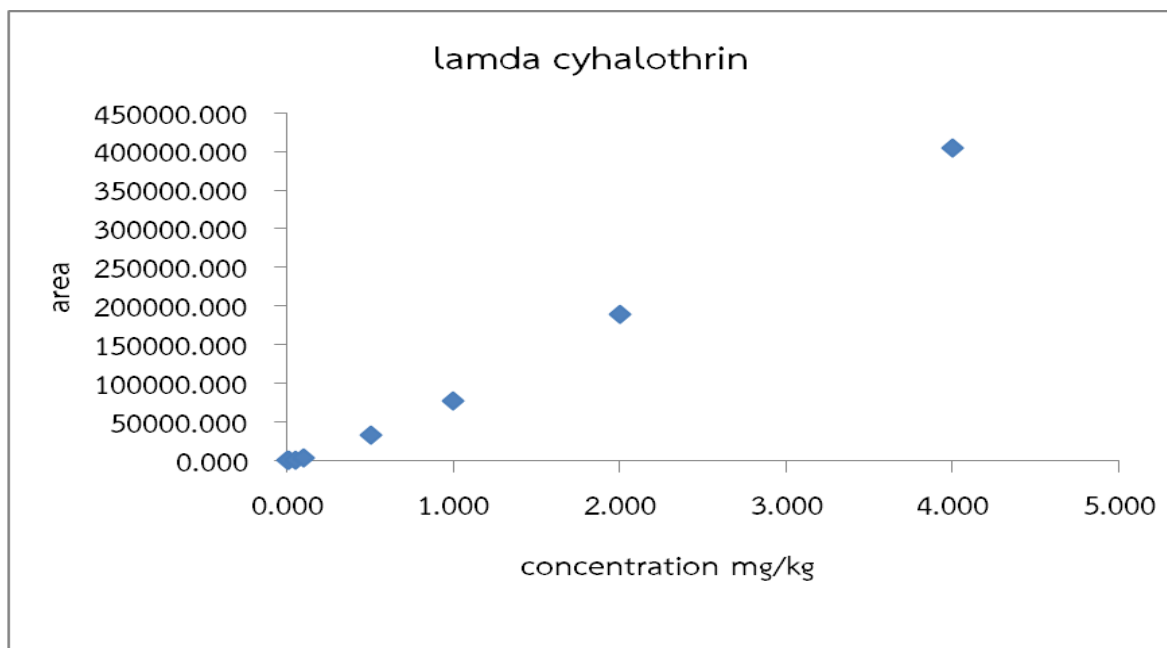
ชื่อสาร	Matrix blank	Spike matrix blank
	Retention time (min)	Retention time (min)
Lamda cyhalothrin	0	10.219 ± 0.003
permethrin1	0	11.555 ± 0.006
permethrin2	0	11.828 ± 0.005
cyfluthrin1	0	12.933 ± 0.005
cyfluthrin2	0	13.184 ± 0.006
cyfluthrin3	0	13.382 ± 0.005
cyfluthrin4	0	13.515 ± 0.005
cypermethrin1	0	13.723 ± 0.007
cypermethrin2	0	13.963 ± 0.008
cypermethrin3	0	14.165 ± 0.006
cypermethrin4	0	14.294 ± 0.010
fenvalerate1	0	16.195 ± 0.006
fenvalerate2	0	16.898 ± 0.006
deltamethrin	0	18.656 ± 0.011
สารรบกวนอื่นๆ	0	0

2.2. ช่วงของการวัด (Working range)

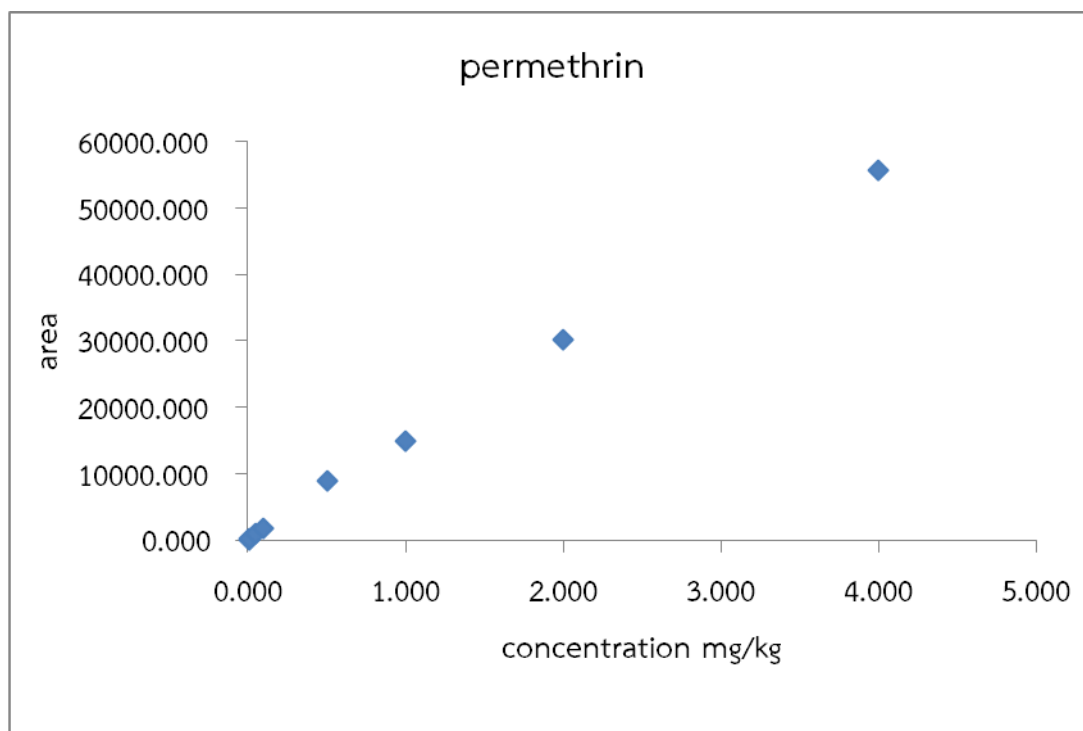
ทดสอบ Sample blank และ Spike/fortified sample blank อย่างน้อย 6 ความเข้มข้นๆ ละ 1 ซ้ำ ผลการทดลองดังตารางที่ 2 Plot graph ระหว่างความเข้มข้นของ Fortified sample blank (แกน x) กับ Area Response (แกน Y) พิจารณาช่วงที่เป็นเส้นตรง ของสารกลุ่มไพรีทรอยด์ จำนวน 6 ชนิดสาร แสดงดังภาพที่ 25 – 30

ตารางที่ 28 ค่าความสัมพันธ์ระหว่างความเข้มข้นของ Fortified sample blank (แกน X) กับ Area Response (แกน Y) ของสารกลุ่มไพรีทรอยด์ จำนวน 6 ชนิดสาร

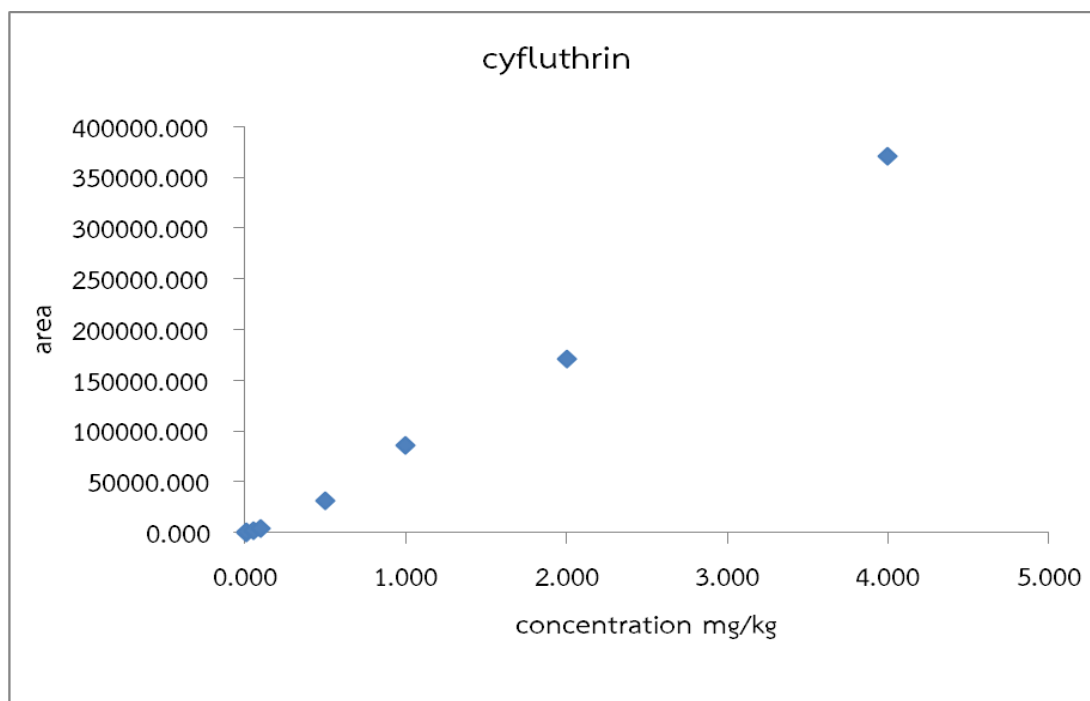
ความเข้มข้น (mg/kg)	Lamda cyhalothrin	permethrin	cyfluthrin	cypermethrin	fenvalerate	deltamethrin
0.005	193.635	110.050	96.234	134.060	95.139	69.484
0.010	374.054	218.707	301.781	335.983	281.800	150.874
0.050	1455.193	1006.686	1689.922	1385.171	1291.943	593.895
0.100	3735.660	1854.317	3658.251	3657.808	2773.361	1571.788
0.500	33984.600	9001.821	31850.600	27551.300	23156.600	15930.500
1.000	77875.800	14904.900	86057.400	69695.100	60533.100	45673.600
2.000	189141.000	30220.100	170977.000	147153.000	128294.000	103122.000
4.000	405098.000	55610.600	370305.000	311139.000	292309.000	212554.000



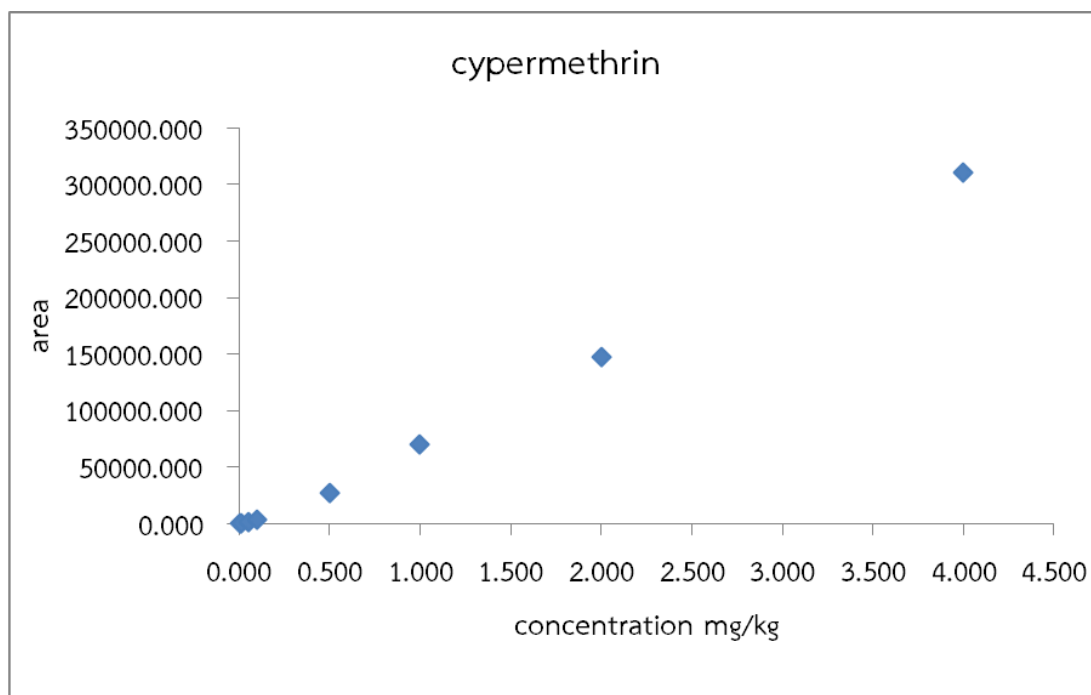
ภาพที่ 25 แสดงช่วงการวัด (Working range) ของ Lamda cyhalothrin ที่ระดับความเข้มข้น 0.005-4.00 mg/kg



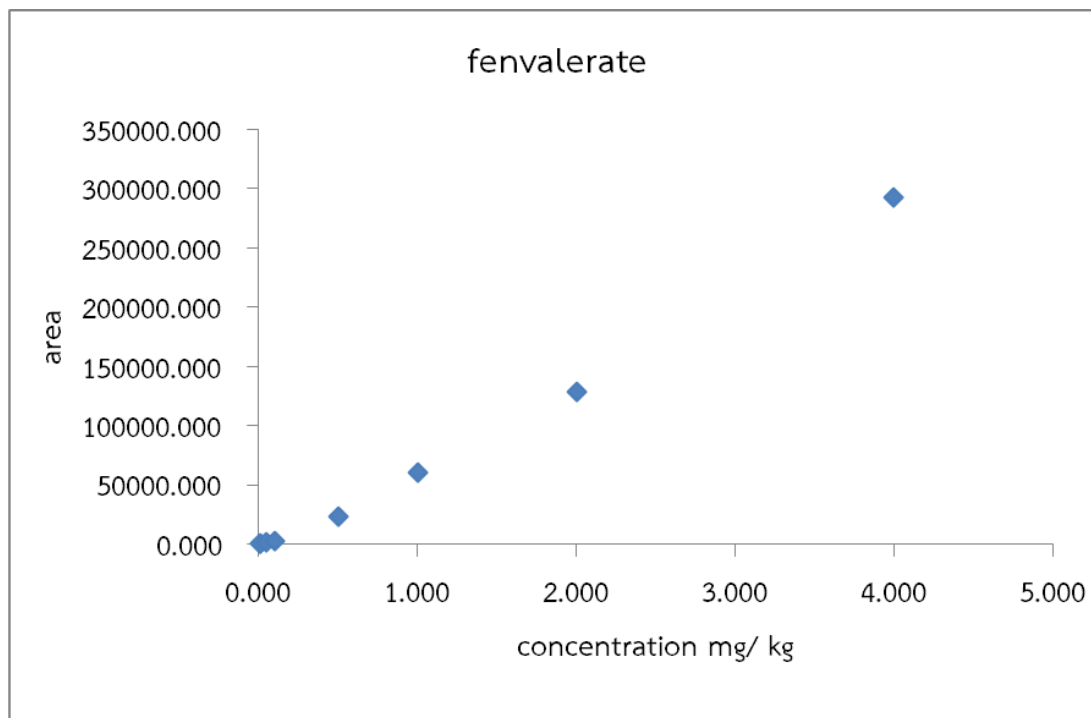
ภาพที่ 26 แสดงช่วงการวัด (Working range) ของ permethrin ที่ระดับความเข้มข้น 0.005 - 4.00 mg/kg



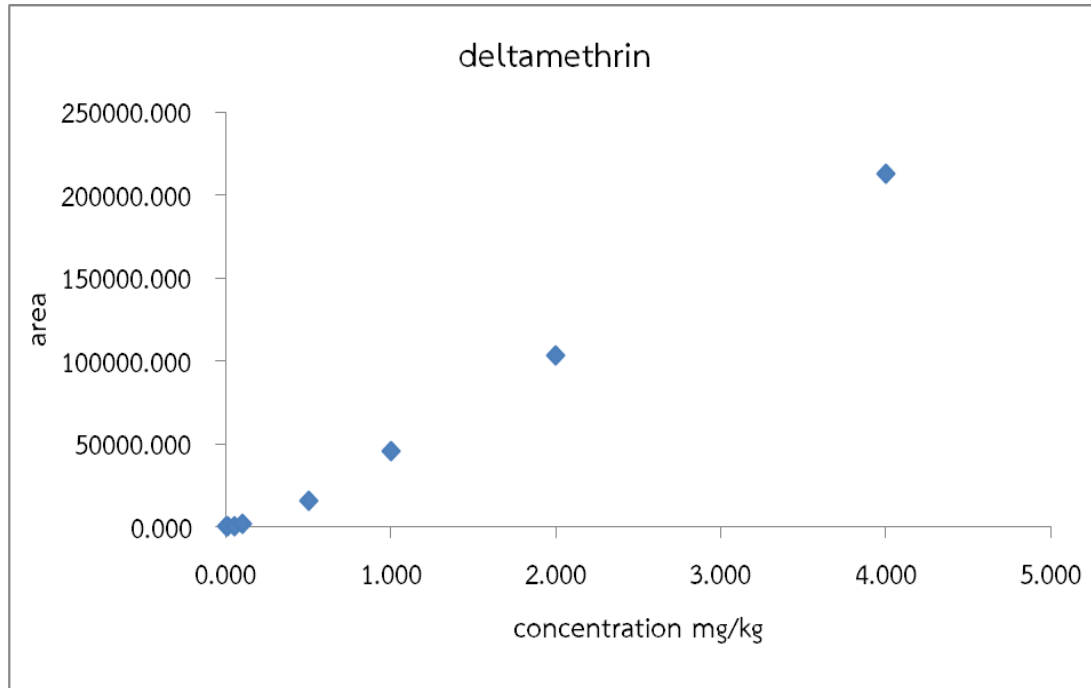
ภาพที่ 27 แสดงช่วงการวัด (Working range) ของ cyfluthrin ที่ระดับความเข้มข้น 0.005 - 4.00 mg/kg



ภาพที่ 28 แสดงช่วงการวัด (Working range) ของ cypermethrin ที่ระดับความเข้มข้น 0.005 - 4.00 mg/kg



ภาพที่ 29 แสดงช่วงการวัด (Working range) ของ fenvalerate ที่ระดับความเข้มข้น 0.005 - 4.00 mg/kg



ภาพที่ 30 แสดงช่วงการวัด (Working range) ของ deltamethrin ที่ระดับความเข้มข้น 0.005 - 4.00 mg/kg

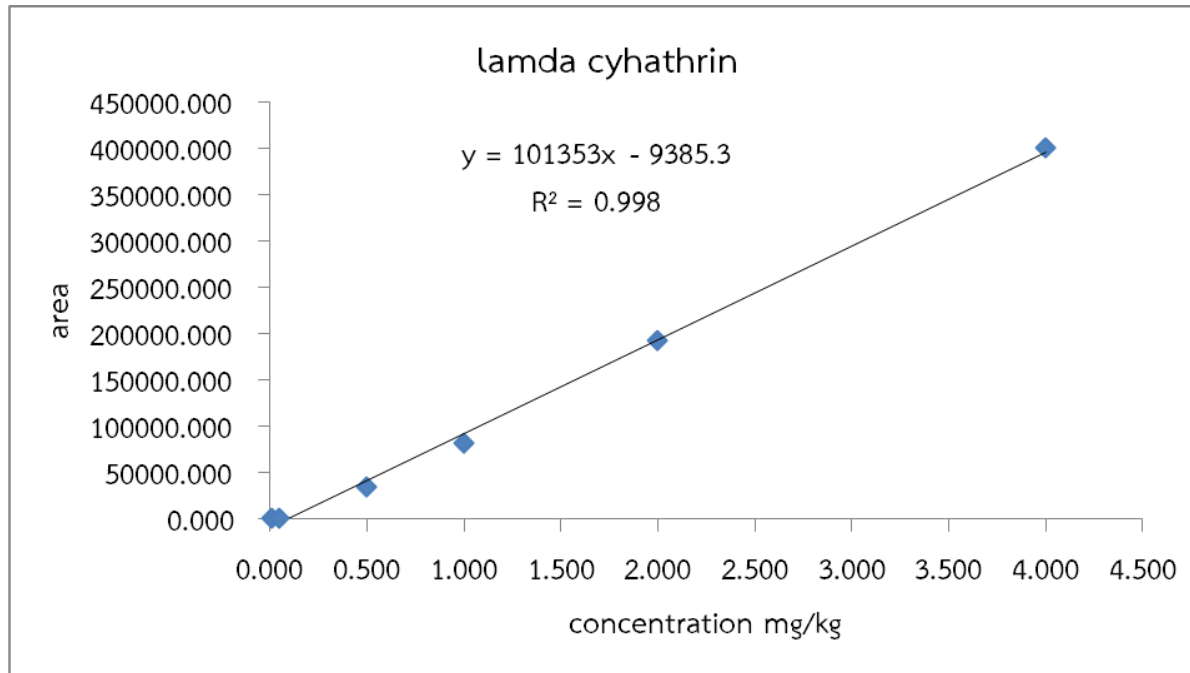
2.3. ช่วงความเป็นเส้นตรง (Linearity)

จากการดำเนินการทดสอบ Reagent blank และ Fortified sample blank ที่ความเข้มข้นภายใน Range ของการทดสอบอย่างน้อย 5 ความเข้มข้นๆ ละ 3 ซ้ำ ผลตามตารางที่ 29 – 34 จากนั้น Plot graph ระหว่างความเข้มข้นของ Fortified sample blank (แกน X) กับ Area response (แกน Y) สร้าง Regression line โดยใช้ Method of least square ใช้ค่าความสัมพันธ์เชิงเส้น (Coefficient of determination : R^2) เป็นเกณฑ์สำหรับการยอมรับ (เกณฑ์ในการยอมรับค่า $R^2 \geq 0.995$) ผลการทดสอบของสารกลุ่มไพรีทรอยด์ จำนวน 6 ชนิดสาร ตามภาพที่ 31 – 36

ตารางที่ 29 แสดงค่าความเข้มข้นของ Fortified sample blank กับ Area Response ของ lamda cyhalothrin

ความเข้มข้น mg/kg	lamda cyhalothrin			เฉลี่ย
	Area ครั้งที่ 1	Area ครั้งที่ 2	Area ครั้งที่ 3	
0.010	374.054	453.453	476.686	434.731
0.050	1455.193	1463.839	1482.429	1467.153
0.500	37356.599	31653.140	34666.462	34558.734
1.000	83029.500	80407.500	80407.500	81281.500
2.000	189141.000	194601.000	192665.000	192135.667

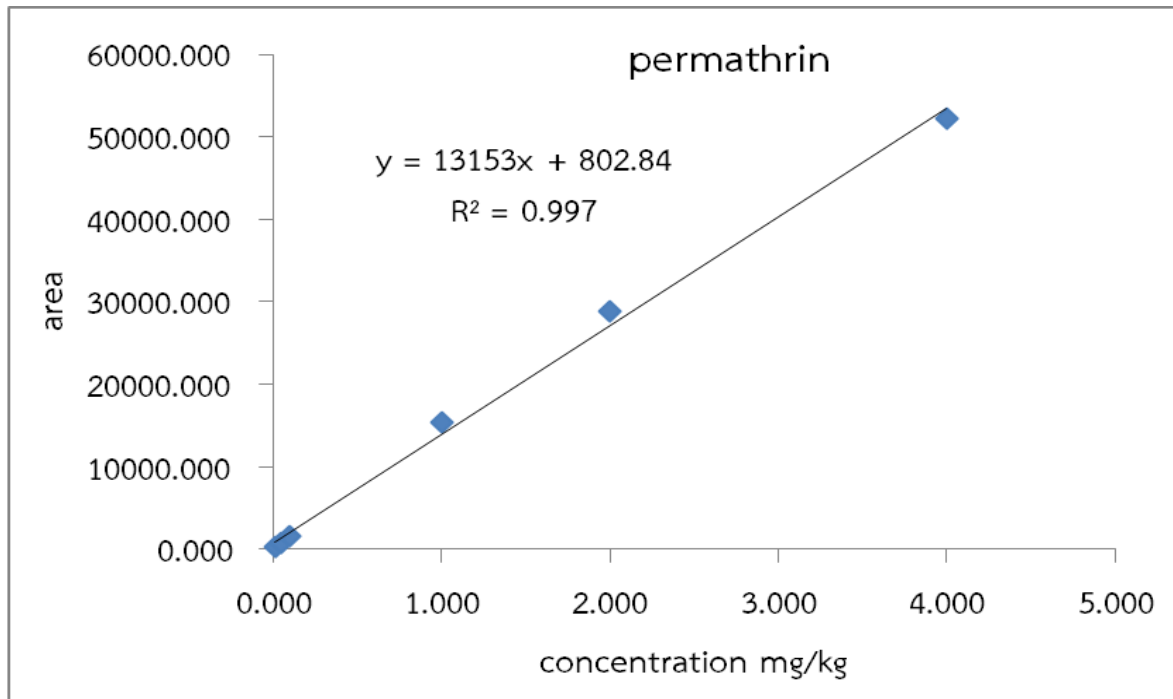
4.000	388844.000	406165.000	405098.000	400035.667
-------	------------	------------	------------	------------



ภาพที่ 31 แสดงค่าความสัมพันธ์เชิงเส้นของ lamda cyhalothrin ที่ระดับความเข้มข้น 0.01 - 4.00 mg/kg ($R^2 = 0.998$)

ตารางที่ 30 แสดงค่าความเข้มข้นของ Fortified sample blank กับ Area Response ของ permethrin

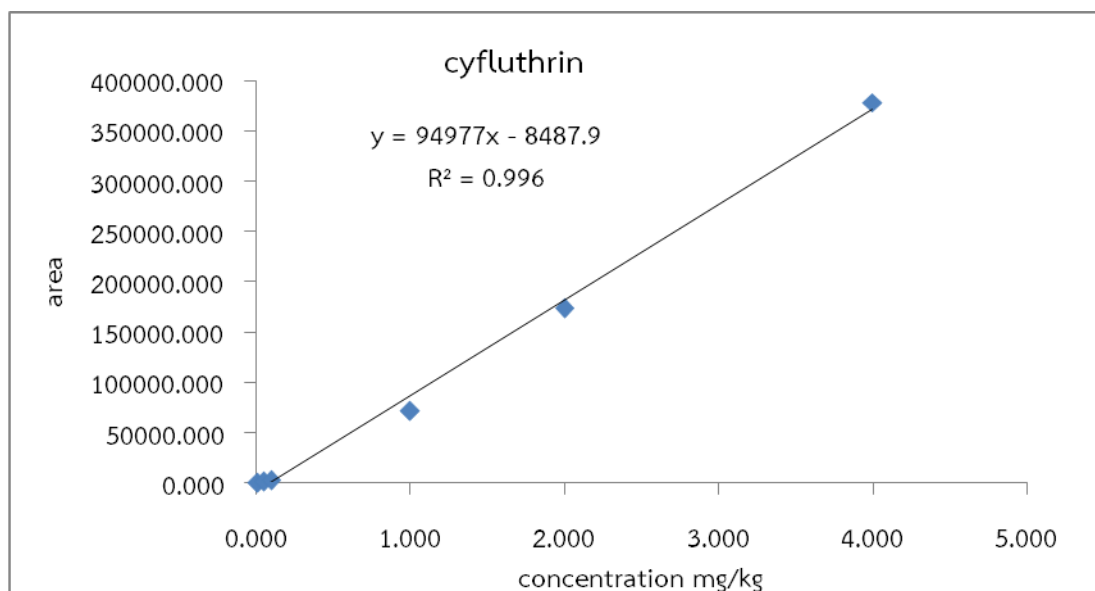
ความเข้มข้น mg/kg	permethrin			เฉลี่ย
	Area ครั้งที่ 1	Area ครั้งที่ 2	Area ครั้งที่ 3	
0.010	218.707	218.707	220.952	219.455
0.050	750.835	765.652	775.964	764.150
0.100	1623.132	1610.606	1570.152	1601.297
1.000	15683.000	15154.300	15154.300	15330.533
2.000	28681.600	28951.800	28938.700	28857.367
4.000	52073.600	52091.600	52500.700	52221.967



ภาพที่ 32 แสดงค่าความสัมพันธ์เชิงเส้นของ permethrin ที่ระดับความเข้มข้น 0.01 - 4.00 mg/kg ($R^2 = 0.997$)

ตารางที่ 31 แสดงค่าความเข้มข้นของ Fortified sample blank กับ Area Response ของ cyfluthrin

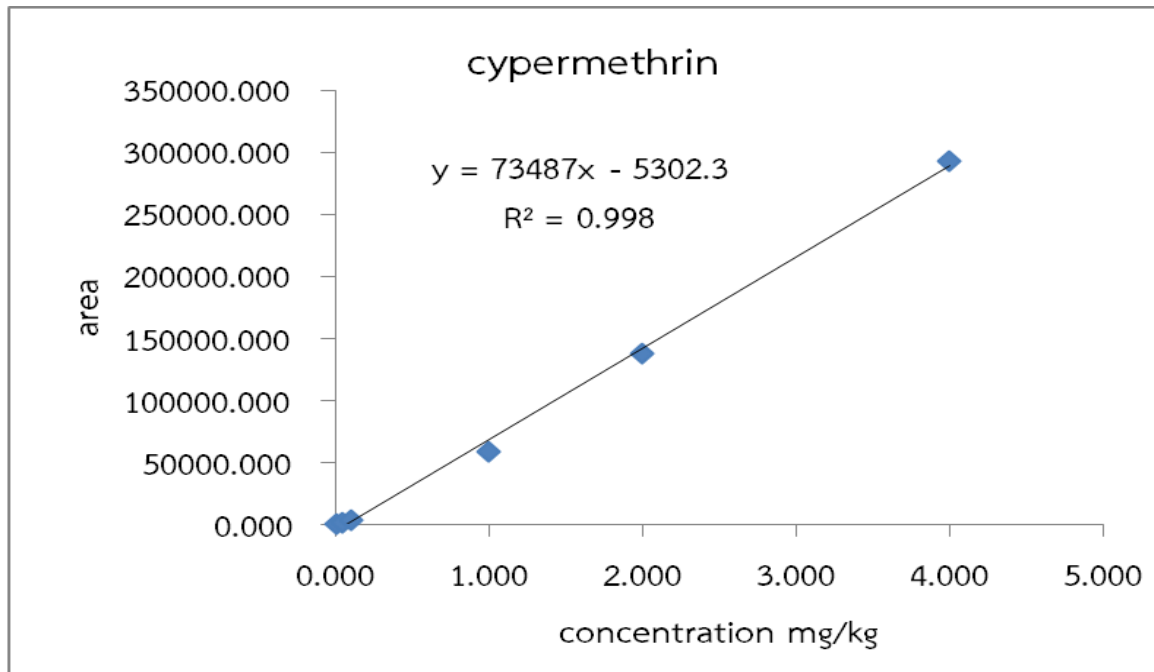
ความเข้มข้น mg/kg	cyfluthrin			เฉลี่ย
	Area ครั้งที่ 1	Area ครั้งที่ 2	Area ครั้งที่ 3	
0.010	403.369	403.369	377.358	394.699
0.050	1290.667	1255.333	1224.976	1256.992
0.100	3034.405	3139.136	2994.907	3056.149
1.000	73831.200	69345.100	71933.800	71703.367
2.000	170977.000	176159.000	174744.000	173960.000
4.000	378819.000	370305.000	387080.000	378734.667



ภาพที่ 33 แสดงค่าความสัมพันธ์เชิงเส้นของ cyfluthrin ที่ระดับความเข้มข้น 0.01 - 4.00 mg/kg ($R^2 = 0.996$)

ตารางที่ 32 แสดงค่าความเข้มข้นของ Fortified sample blank กับ Area Response ของ cypermethrin

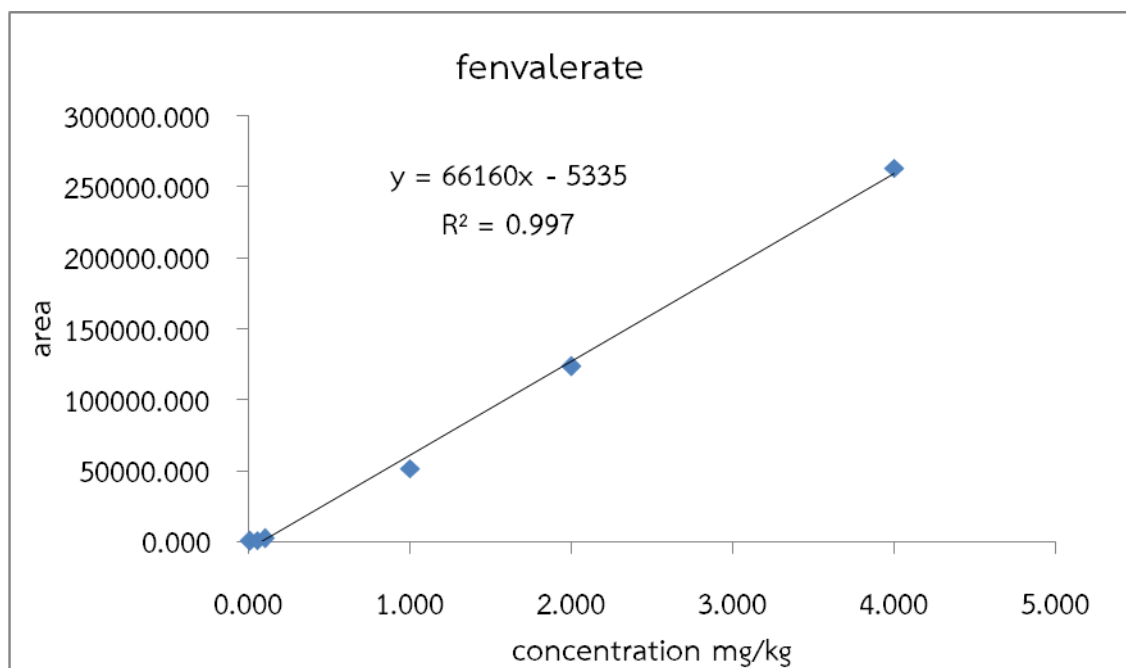
ความเข้มข้น mg/kg	cypermethrin			เฉลี่ย
	Area ครั้งที่ 1	Area ครั้งที่ 2	Area ครั้งที่ 3	
0.010	373.872	373.872	373.872	373.872
0.050	1257.515	1294.264	1294.264	1282.014
0.100	3252.731	3158.360	3164.566	3191.886
1.000	58468.400	58468.300	59980.900	58972.533
2.000	137807.000	137596.000	137549.000	137650.667
4.000	292404.000	292663.000	293578.000	292881.667



ภาพที่ 34 แสดงค่าความสัมพันธ์เชิงเส้นของ cypermethrin ที่ระดับความเข้มข้น 0.01 - 4.00 mg/kg ($R^2 = 0.998$)

ตารางที่ 33 แสดงค่าความเข้มข้นของ Fortified sample blank กับ Area Response ของ fenvalerate

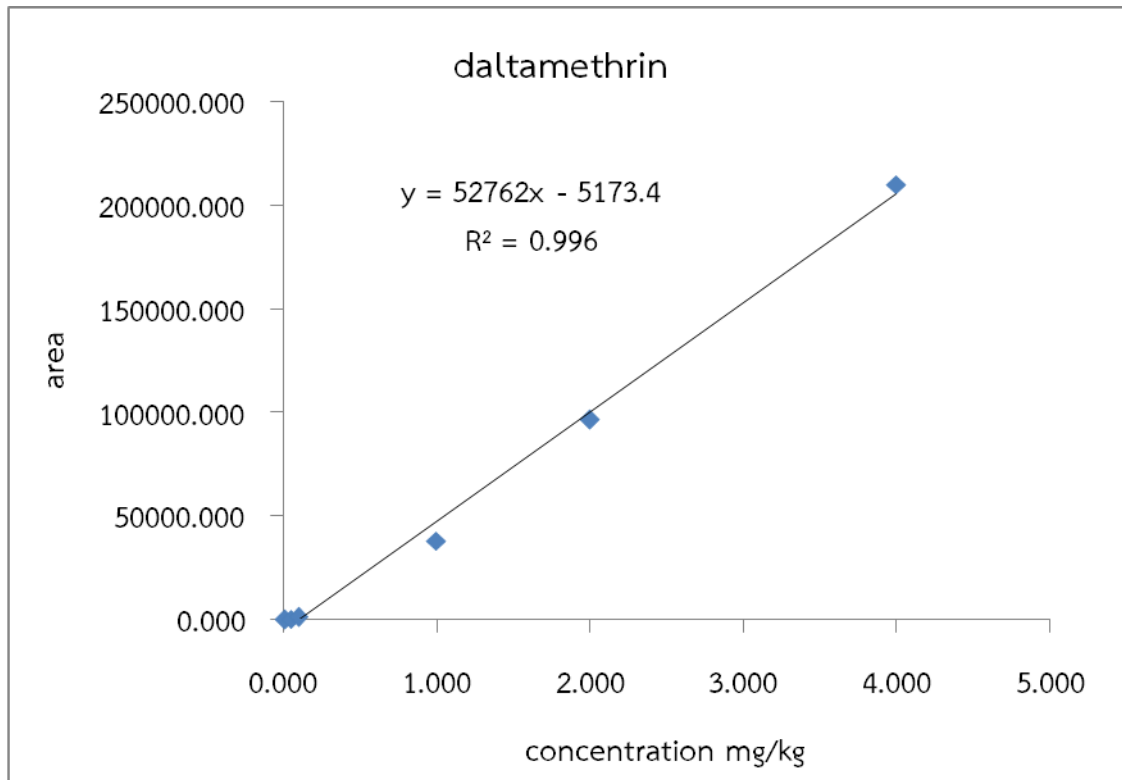
ความเข้มข้น mg/kg	fenvalerate			เฉลี่ย
	Area ครั้งที่ 1	Area ครั้งที่ 2	Area ครั้งที่ 3	
0.010	309.829	308.640	309.829	309.432
0.050	899.687	888.452	888.452	892.197
0.100	2222.131	2229.779	2229.779	2227.230
1.000	51315.100	51380.900	51380.900	51358.967
2.000	123161.000	124219.000	123518.000	123632.667
4.000	262905.000	262817.000	264104.000	263275.333



ภาพที่ 35 แสดงค่าความสัมพันธ์เชิงเส้นของ fenvalerate ที่ระดับความเข้มข้น 0.01 - 4.00 mg/kg ($R^2 = 0.997$)

ตารางที่ 34 แสดงค่าความเข้มข้นของ Fortified sample blank กับ Area Response ของ deltamethrin

ความเข้มข้น mg/kg	deltamethrin			เฉลี่ย
	Area ครั้งที่ 1	Area ครั้งที่ 2	Area ครั้งที่ 3	
0.010	150.874	150.452	151.930	151.085
0.050	489.341	452.003	452.003	464.449
0.100	1262.861	1234.573	1234.573	1244.002
1.000	38055.700	38658.500	38171.300	38295.167
2.000	96396.000	96659.800	96659.800	96571.867
4.000	208915.000	208915.000	212202.000	210010.667



ภาพที่ 36 แสดงค่าความสัมพันธ์เชิงเส้นของ deltamethrin ที่ระดับความเข้มข้น 0.01 - 4.00 mg/kg ($R^2 = 0.996$)

2.4. Limit of detection (LOD)

$$\text{LOD} = 3 \text{ SD} \text{ หรือ } \text{LOD} = 3 \text{ Signal/noise}$$

2.4.1 วิเคราะห์ Fortified sample blank หรือ Fortified Sample ที่ระดับความเข้มข้นต่ำ อย่างน้อย 10 ซ้ำ โดยดำเนินการพิสูจน์ LOD ที่ระดับความเข้มข้น 0.005 mg/kg ของสารกลุ่มไพรีทรอยด์ จำนวน 6 ชนิดสาร (lambdacyhalothrin, permethrin, cyfluthrin, cypermethrin, fenvalerate, deltamethrin) ผลการพิสูจน์ค่า LOD แต่ละระดับความเข้มข้นแสดงดังตารางที่ 35 - 36

ตารางที่ 35 แสดงผลการตรวจสอบ Accuracy และ Precision ของการทดสอบซ้ำ จำนวน 10 ซ้ำ ที่ความเข้มข้นระดับ LOD = 0.005 ของสารกลุ่มไพรีทรอยด์ จำนวน 6 ชนิด สาร (%Recovery เกณฑ์ตาม Codex เท่ากับ 50-120)

จำนวนซ้ำ	lamdacyhalothrin		permethrin		cyfluthrin		cypermethrin		fenvalerate		deltamethrin	
	0.005 mg/kg		0.005 mg/kg		0.005 mg/kg		0.005 mg/kg		0.005 mg/kg		0.005 mg/kg	
	ความเข้มข้น (mg/kg)	Recovery (%)	ความเข้มข้น (mg/kg)	Recovery (%)	ความเข้มข้น (mg/kg)	Recovery (%)	ความเข้มข้น (mg/kg)	Recovery (%)	ความเข้มข้น (mg/kg)	Recovery (%)	ความเข้มข้น (mg/kg)	Recovery (%)
1	0.0046	91.66	0.0060	119.69	0.0040	79.60	0.0050	100.85	0.0048	96.23	0.0040	79.23
2	0.0046	92.53	0.0056	112.22	0.0041	81.00	0.0048	96.56	0.0050	100.06	0.0041	81.31
3	0.0046	91.61	0.0060	120.00	0.0041	81.49	0.0054	108.41	0.0049	97.88	0.0039	78.96
4	0.0037	73.48	0.0050	99.17	0.0032	63.51	0.0045	89.99	0.0039	77.32	0.0040	79.39
5	0.0046	91.29	0.0059	117.70	0.0040	79.49	0.0057	113.93	0.0049	97.76	0.0038	75.86
6	0.0038	75.67	0.0049	98.13	0.0033	65.71	0.0044	87.50	0.0041	82.69	0.0033	66.55
7	0.0053	106.34	0.0056	112.18	0.0045	89.08	0.0052	103.88	0.0057	113.35	0.0046	92.34
8	0.0043	86.07	0.0048	96.22	0.0037	74.39	0.0048	96.42	0.0042	83.67	0.0035	69.35
9	0.0048	95.48	0.0050	100.17	0.0041	81.79	0.0055	110.58	0.0043	85.97	0.0038	75.51
10	0.0044	87.89	0.0051	102.21	0.0038	76.08	0.0051	101.21	0.0044	87.31	0.0035	70.23
ค่าเฉลี่ย	0.0045	89.20	0.0054	107.86	0.0039	77.21	0.0050	100.93	0.0046	92.22	0.0038	76.87
ค่า SD	0.0005		0.0005		0.0004		0.0004		0.0005		0.0004	
% RSD	10.585		8.960		9.985		8.524		11.632		9.554	
Predicted												
Horwitz												
%RSD	23.849		23.177		24.373		23.410		23.730		24.389	
Horrat												
(เกณฑ์ ≤ 2)	0.444		0.387		0.410		0.364		0.490		0.392	

2.4.2 ยืนยันค่า LOD จาก signal/Noise ของสารแต่ละชนิด เกณฑ์ยอมรับ signal/Noise ≥ 2 ผลการทดสอบจากเครื่องแก๊สโครมาโทกราฟี (GC) แสดงดังตารางที่ 15

ตารางที่ 36 แสดงค่า signal/Noise จากการทดสอบ 10 ซ้ำที่ระดับ LOD ของสารกลุ่มไพรีทรอยด์ แต่ละชนิด

ชื่อสาร	ความเข้มข้น (mg/kg)	Signal/noise (n=10)	
		ช่วง S/N	ค่าเฉลี่ย \pm SD
lamdacyhalothrin	0.0005	28.90 - 32.00	30.67 \pm 1.144
permethrin1	0.0005	8.00 - 8.70	8.37 \pm 0.206
permethrin2	0.0005	4.70 - 5.20	4.98 \pm 0.162
cyfluthrin1	0.0005	5.50 - 5.80	5.68 \pm 0.132
cyfluthrin2	0.0005	5.30 - 6.00	5.53 \pm 0.295
cyfluthrin3	0.0005	4.40 - 4.80	4.54 \pm 0.184
cyfluthrin4	0.0005	4.10 - 4.70	4.36 \pm 0.204
cypermethrin1	0.0005	5.30 - 5.90	5.70 \pm 0.226
cypermethrin2	0.0005	4.30 - 5.00	4.54 \pm 0.291
cypermethrin3	0.0005	3.00 - 3.40	3.18 \pm 0.155
cypermethrin4	0.0005	3.50 - 3.90	3.68 \pm 0.155
fenvalerate1	0.0005	9.00 - 10.10	9.52 \pm 0.499
fenvalerate2	0.0005	5.30 - 5.70	5.48 \pm 0.155
deltamethrin	0.0005	7.00 - 8.50	7.60 \pm 0.594

2.5. Limit of Quantitation (LOQ)

เตรียม Fortified sample blank ที่ความเข้มข้นต่ำโดยพิจารณาจาก ค่า LOQ = 10 SD หรือ LOQ = 10 Signal/noise แสดงการคำนวณค่า LOQ จาก Signal/noise ของโครมาโทแกรมจากเครื่องมือที่ตรวจวิเคราะห์ (เครื่อง GC-ECD) พบว่าสารกลุ่มไพรีทรอยด์ ทั้ง 6 ชนิดมีค่า LOQ = 0.01 mg/kg รายละเอียดการคำนวณแสดงดังตารางที่ 37 และดำเนินการวิเคราะห์ Fortified sample blank หรือ Fortified sample ที่ระดับ LOQ จำนวน 10 ซ้ำ ผลการทดสอบตามตารางที่ 38 - 39 เพื่อพิสูจน์ Accuracy และ Precision

ตารางที่ 38 แสดงค่า LOQ จากการคำนวณ Signal/noise จากการทดสอบซ้ำที่ระดับ LOD ของสารกลุ่มไพรีทรอยด์ แต่ละชนิด

ชื่อสาร	ที่ระดับ LOD		ที่ระดับ LOQ	
	ความเข้มข้น (mg/kg)	Signal/noise (n=10) ค่าเฉลี่ย \pm SD	LOQ = 10 Signal/noise (mg/kg)	ความเข้มข้น (mg/kg) LOQ
lamdacyhalothrin	0.005	30.67 \pm 1.144	0.016 \pm 1.144	0.01
permethrin1	0.005	8.37 \pm 0.206	0.016 \pm 0.206	0.01
permethrin2	0.005	4.98 \pm 0.162	0.016 \pm 0.162	0.01
cyfluthrin1	0.005	5.68 \pm 0.132	0.016 \pm 0.132	0.01
cyfluthrin2	0.005	5.53 \pm 0.295	0.016 \pm 0.295	0.01
cyfluthrin3	0.005	4.54 \pm 0.184	0.016 \pm 0.184	0.01
cyfluthrin4	0.005	4.36 \pm 0.204	0.016 \pm 0.204	0.01
cypermethrin1	0.005	5.70 \pm 0.226	0.016 \pm 0.226	0.01
cypermethrin2	0.005	4.54 \pm 0.291	0.016 \pm 0.291	0.01
cypermethrin3	0.005	3.18 \pm 0.155	0.016 \pm 0.155	0.01
cypermethrin4	0.005	3.68 \pm 0.155	0.016 \pm 0.155	0.01
fenvalerate1	0.005	9.52 \pm 0.499	0.016 \pm 0.499	0.01
fenvalerate2	0.005	5.48 \pm 0.155	0.016 \pm 0.155	0.01
deltamethrin	0.005	7.60 \pm 0.594	0.016 \pm 0.594	0.01

ตารางที่ 39 แสดงผลการตรวจสอบ Accuracy และ Precision ของการทดสอบซ้ำ จำนวน 10 ซ้ำ ที่ความเข้มข้นระดับ LOQ = 0.01 ของสารกลุ่มไพรีทรอยด์ จำนวน 6 ชนิดสาร (%Recovery เกณฑ์ตาม Codex เท่ากับ 50-120)

จำนวนซ้ำ	lamdacyhalothrin 0.01 mg/kg		permethrin 0.01 mg/kg		cyfluthrin 0.01 mg/kg		cypermethrin 0.01 mg/kg		fenvalerate 0.01 mg/kg		deltamethrin 0.01 mg/kg	
	ความเข้มข้น	Recovery	ความเข้มข้น	Recovery	ความเข้มข้น	Recovery	ความเข้มข้น	Recovery	ความเข้มข้น	Recovery	ความเข้มข้น	Recovery
	(mg/kg)	(%)	(mg/kg)	(%)	(mg/kg)	(%)	(mg/kg)	(%)	(mg/kg)	(%)	(mg/kg)	(%)
1	0.009	88.00	0.010	96.00	0.009	85.00	0.009	92.00	0.010	104.00	0.010	100.00
2	0.011	107.00	0.012	115.00	0.011	106.00	0.012	116.00	0.012	115.00	0.011	109.00
3	0.011	112.00	0.012	117.00	0.011	113.00	0.010	102.00	0.012	120.00	0.012	117.00
4	0.010	96.00	0.010	102.00	0.010	102.00	0.010	102.00	0.011	114.00	0.011	113.00
5	0.010	99.00	0.010	104.00	0.010	97.00	0.010	101.00	0.011	107.00	0.011	105.00
6	0.011	107.00	0.012	115.00	0.011	106.00	0.012	116.00	0.012	115.00	0.010	99.00
7	0.011	112.00	0.012	117.00	0.011	113.00	0.010	101.00	0.011	114.00	0.012	116.00
8	0.010	96.00	0.010	102.00	0.009	94.00	0.010	102.00	0.011	114.00	0.011	113.00
9	0.010	99.00	0.010	104.00	0.010	97.00	0.010	101.00	0.011	105.00	0.010	100.00
10	0.010	96.00	0.010	102.00	0.009	94.00	0.010	102.00	0.011	114.00	0.011	113.00
ค่าเฉลี่ย	0.010	101.20	0.011	107.40	0.010	100.70	0.010	103.50	0.011	112.20	0.011	108.50
ค่า SD	0.001		0.001		0.001		0.001		0.001		0.001	
% RSD	7.833		7.215		8.907		7.001		4.560		6.419	
Predicted												
Horwitz												
%RSD	21.082		20.894		21.098		21.011		20.757		20.862	
Horrat												
(เกณฑ์ ≤ 2)	0.372		0.345		0.422		0.333		0.220		0.308	

2.6. Accuracy

2.6.1 ทดสอบ Reagent blank, Sample blank และ Fortified sample ที่ระดับความเข้มข้นภายในช่วงการทดสอบ (Ranges) ที่ระดับความเข้มข้นตามค่า LOQ ของแต่ละชนิดสาร 0.01 - 4.00 mg/kg ดำเนินการทดสอบระดับละ 10 ซ้ำ

2.6.2. หาค่าเฉลี่ยของผลทดสอบ Fortified Sample (X_2) และ Sample blank (X_1)

2.6.3 ประเมิน Accuracy จากค่า Recovery

$$\% \text{ Recovery} = \left(\frac{X_2 - X_1}{C} \right) * 100$$

โดยที่ C = ความเข้มข้นของสารมาตรฐานที่เติมลงในตัวอย่าง

X_1 = ความเข้มข้นของสารในตัวอย่างที่ไม่เติมสารมาตรฐาน (Sample blank)

X_2 = ความเข้มข้นเฉลี่ยของสารมาตรฐานที่วัดได้หลังจากเติมสารมาตรฐาน

2.6.4 เกณฑ์การยอมรับ Recovery ตาม Analyte recovery ของสารตกค้างจากยาฆ่าแมลง และยาสัตว์ตกค้างในอาหาร (Codex)

2.6.5 ผลการตรวจสอบ Accuracy ของสารกลุ่มไพรีทรอยด์ รายละเอียดตามตารางที่ 40 - 47

ผลการทดสอบรายละเอียดตามตารางที่ 40 - 47

2.7. ตรวจสอบ Precision

2.7.1 ทดสอบ Fortified sample ที่ระดับความเข้มข้นภายในช่วงการทดสอบ (Ranges) ที่ระดับความเข้มข้นตามค่า LOQ ดังนี้ 0.01 - 4.00 mg/kg ดำเนินการทดสอบระดับละ 10 ซ้ำ

2.7.2 บันทึกผลการทดสอบ คำนวณค่าเฉลี่ย \bar{X} และ SD ของผลการทดสอบ

2.7.3 คำนวณ %CV = %RSD

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

2.7.4 ประเมิน Precision โดยใช้ HORRAT (Horwitz' s ratio) หรือ จาก % RSD

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

Predicted Horwitz RSD คำนวณได้จาก Horwitz equation

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

2.7.5 ผลการตรวจสอบ Precision ของสารกลุ่มไพรีทรอยด์ รายละเอียดตามตารางที่

40 - 47

เกณฑ์การยอมรับ

1. ตามเกณฑ์กำหนดโดยทั่วไปของ Precision, %RSD ของ AOAC Peer – Verified Methods. Nov. 1993

2. เกณฑ์ยอมรับค่า HORRAT (Horwitz's ratio) ดังนี้

2.1 AOAC < 2

2.2 Codex, EU ≤ 2

ตารางที่ 40 สรุปผลการทดสอบ Accuracy และ Precision ของสารกลุ่มไพรีทรอยด์ จำนวน 6 ชนิดสาร ที่ความเข้มข้นต่างๆ ในช่วงการใช้งาน (Range)

ชื่อสาร	ความเข้มข้น Spike (mg/kg)	$\bar{X} \pm SD$ (mg/kg)	Accuracy		Precision	
			Recovery (%)	เกณฑ์ (%)	% RSD	HORRAT เกณฑ์ ≤ 2
Lamda cyhalothrin	0.01	0.01 ± 0.001	101.20	70-120	7.833	0.372
	0.05	0.04 ± 0.002	73.45	70-120	6.768	0.390
	0.10	0.08 ± 0.004	81.93	70-120	4.894	0.318
	0.50	0.46 ± 0.007	92.87	70-110	1.470	0.124
	1.00	0.87 ± 0.033	87.28	70-110	3.762	0.349
	2.00	1.88 ± 0.049	93.87	70-110	2.597	0.270
	4.00	3.86 ± 0.104	96.54	70-110	2.694	0.313
permethrin	0.01	0.01 ± 0.001	107.40	70-120	7.215	0.345
	0.05	0.05 ± 0.001	92.66	70-120	2.134	0.127
	0.10	0.10 ± 0.003	95.59	70.120	3.425	0.228
	0.50	0.50 ± 0.005	99.52	70-110	0.990	0.084
	1.00	0.82 ± 0.022	82.36	70-110	2.631	0.242
	2.00	1.77 ± 0.026	88.53	70-110	1.491	0.154
	4.00	3.17 ± 0.129	79.24	70-110	4.073	0.459
cyfluthrin	0.01	0.01 ± 0.001	100.70	70-120	8.907	0.422
	0.05	0.04 ± 0.001	73.04	70-120	3.266	0.188
	0.10	0.08 ± 0.004	82.45	70-120	4.634	0.301
	0.50	0.47 ± 0.011	94.46	70-110	2.366	0.200
	1.00	0.87 ± 0.035	86.78	70-110	3.996	0.370
	2.00	1.82 ± 0.040	90.82	70-110	2.224	0.230
	4.00	3.92 ± 0.077	98.10	70-110	1.950	0.227

cypermethrin	0.01	0.01 ± 0.001	103.50	70-120	7.001	0.333
	0.05	0.04 ± 0.002	74.38	70-120	4.587	0.265
	0.10	0.08 ± 0.003	84.24	70-120	4.111	0.268
	0.50	0.40 ± 0.011	80.16	70-110	2.653	0.219
	1.00	0.85 ± 0.029	85.39	70-110	3.392	0.314
	2.00	1.88 ± 0.097	94.17	70-110	5.130	0.534
	4.00	3.94 ± 0.301	98.36	70-110	7.657	0.891

(ต่อ) ตารางที่ 40 สรุปผลการทดสอบ Accuracy และ Precision ของสารกลุ่มไพรีทรอยด์ จำนวน 6 ชนิดสาร ที่ความเข้มข้นต่างๆ ในช่วงการใช้งาน (Range)

ชื่อสาร	ความเข้มข้น Spike (mg/kg)	$\bar{X} \pm SD$ (mg/kg)	Accuracy		Precision	
			Recovery (%)	เกณฑ์ (%)	% RSD	HORRAT เกณฑ์ ≤ 2
fenvalerate	0.01	0.01 ± 0.001	112.20	70-120	4.560	0.220
	0.05	0.04 ± 0.001	71.24	70-120	1.514	0.087
	0.10	0.08 ± 0.006	79.41	70-120	7.377	0.477
	0.50	0.50 ± 0.012	94.38	70-110	2.534	0.214
	1.00	0.85 ± 0.033	85.28	70-110	3.825	0.354
	2.00	1.80 ± 0.113	89.49	70-110	6.303	0.651
	4.00	3.80 ± 0.077	95.07	70-110	2.027	0.235
deltamethrin	0.01	0.01 ± 0.001	108.50	70-120	6.419	0.308
	0.05	0.04 ± 0.001	73.67	70-120	3.951	0.228
	0.10	0.08 ± 0.004	80.05	70-120	4.979	0.322
	0.50	0.50 ± 0.018	96.94	70-110	3.677	0.312
	1.00	0.85 ± 0.033	85.00	70-110	3.843	0.355
	2.00	1.97 ± 0.051	98.24	70-110	2.586	0.271
	4.00	4.31 ± 0.082	107.77	70-110	1.914	0.226

ตารางที่ 41 แสดงผลการตรวจสอบ Accuracy และ Precision ของการทดสอบซ้ำ จำนวน 10 ซ้ำ ที่ความเข้มข้น 0.01 ของสารกลุ่มไพรีทรอยด์ จำนวน 6 ชนิดสาร (%Recovery เกณฑ์ตาม Codex เท่ากับ 70-120)

จำนวนซ้ำ	lamda cyhalothrin		permethrin		cyfluthrin		cypermethrin		fenvalerate		deltamethrin	
	0.01 mg/kg		0.01 mg/kg		0.01 mg/kg		0.01 mg/kg		0.01 mg/kg		0.01 mg/kg	
	ความเข้มข้น (mg/kg)	Recovery (%)	ความเข้มข้น (mg/kg)	Recovery (%)	ความเข้มข้น (mg/kg)	Recovery (%)	ความเข้มข้น (mg/kg)	Recovery (%)	ความเข้มข้น (mg/kg)	Recovery (%)	ความเข้มข้น (mg/kg)	Recovery (%)
1	0.009	88.00	0.010	96.00	0.009	85.00	0.009	92.00	0.010	104.00	0.010	100.00
2	0.011	107.00	0.012	115.00	0.011	106.00	0.012	116.00	0.012	115.00	0.011	109.00
3	0.011	112.00	0.012	117.00	0.011	113.00	0.010	102.00	0.012	120.00	0.012	117.00
4	0.010	96.00	0.010	102.00	0.010	102.00	0.010	102.00	0.011	114.00	0.011	113.00
5	0.010	99.00	0.010	104.00	0.010	97.00	0.010	101.00	0.011	107.00	0.011	105.00
6	0.011	107.00	0.012	115.00	0.011	106.00	0.012	116.00	0.012	115.00	0.010	99.00
7	0.011	112.00	0.012	117.00	0.011	113.00	0.010	101.00	0.011	114.00	0.012	116.00
8	0.010	96.00	0.010	102.00	0.009	94.00	0.010	102.00	0.011	114.00	0.011	113.00
9	0.010	99.00	0.010	104.00	0.010	97.00	0.010	101.00	0.011	105.00	0.010	100.00
10	0.010	96.00	0.010	102.00	0.009	94.00	0.010	102.00	0.011	114.00	0.011	113.00
ค่าเฉลี่ย	0.010	101.20	0.011	107.40	0.010	100.70	0.010	103.50	0.011	112.20	0.011	108.50
ค่า SD	0.001		0.001		0.001		0.001		0.001		0.001	
% RSD	7.833		7.215		8.907		7.001		4.560		6.419	
Predicted												
Horwitz												
%RSD	21.082		20.894		21.098		21.011		20.757		20.862	
Horrat												
(เกณฑ์ ≤ 2)	0.372		0.345		0.422		0.333		0.220		0.308	

ตารางที่ 42 แสดงผลการตรวจสอบ Accuracy และ Precision ของการทดสอบซ้ำจำนวน 10 ซ้ำ ที่ระดับความเข้มข้น 0.05 mg/kg ของสารกลุ่มไพรีทรอยด์ จำนวน 6 ชนิดสาร (%Recovery เกณฑ์ตาม Codex เท่ากับ 70-120)

จำนวนซ้ำ	lamda cyhalothrin		permethrin		cyfluthrin		cypermethrin		fenvalerate		deltamethrin	
	0.05 mg/kg		0.05 mg/kg		0.05 mg/kg		0.05 mg/kg		0.05 mg/kg		0.05 mg/kg	
	ความเข้มข้น (mg/kg)	Recovery (%)	ความเข้มข้น (mg/kg)	Recovery (%)	ความเข้มข้น (mg/kg)	Recovery (%)	ความเข้มข้น (mg/kg)	Recovery (%)	ความเข้มข้น (mg/kg)	Recovery (%)	ความเข้มข้น (mg/kg)	Recovery (%)
1	0.043	86.89	0.048	96.20	0.0354	70.80	0.038	76.00	0.036	71.60	0.037	74.67
2	0.036	71.50	0.047	94.80	0.0374	74.80	0.038	76.40	0.036	71.40	0.037	74.60
3	0.036	72.19	0.047	93.20	0.0354	70.80	0.038	76.80	0.037	73.40	0.039	77.00
4	0.035	70.18	0.047	93.60	0.0364	72.86	0.037	73.80	0.035	70.80	0.039	78.80
5	0.036	71.40	0.046	92.80	0.0394	78.80	0.037	74.20	0.035	70.00	0.038	75.00
6	0.038	75.63	0.045	90.60	0.0364	72.86	0.036	71.80	0.036	71.54	0.036	72.00
7	0.036	72.96	0.047	93.00	0.0364	72.80	0.041	81.60	0.035	70.00	0.035	70.80
8	0.036	71.39	0.045	89.60	0.0364	72.86	0.035	70.80	0.036	71.66	0.035	70.40
9	0.035	70.18	0.046	91.40	0.0365	72.92	0.036	71.20	0.035	70.00	0.037	73.47
10	0.036	72.19	0.046	91.40	0.0354	70.87	0.036	71.20	0.036	72.00	0.035	70.00
ค่าเฉลี่ย	0.03672	73.45	0.046	92.66	0.0365	73.04	0.037	74.38	0.036	71.24	0.037	73.67
ค่า SD	0.002		0.001		0.001		0.002		0.001		0.001	
% RSD	6.768		2.134		3.266		4.587		1.514		3.951	
Predicted												
Horwitz												
%RSD	17.364		16.768		17.379		17.332		17.444		17.356	
Horrat												
(เกณฑ์ ≤ 2)	0.390		0.127		0.188		0.265		0.087		0.228	

ตารางที่ 43 แสดงผลการตรวจสอบ Accuracy และ Precision ของการทดสอบซ้ำจำนวน 10 ซ้ำ ที่ระดับความเข้มข้น 0.10 mg/kg ของสารกลุ่มไพรีทรอยด์ จำนวน 6 ชนิดสาร (%Recovery เหนือตาม Codex เท่ากับ 70–120)

จำนวนซ้ำ	lamda cyhalothrin 0.10 mg/kg		permethrin 0.10 mg/kg		cyfluthrin 0.10 mg/kg		cypermethrin 0.10 mg/kg		fenvalerate 0.10 mg/kg		deltamethrin 0.10 mg/kg	
	ความเข้มข้น (mg/kg)	Recovery (%)	ความเข้มข้น (mg/kg)	Recovery (%)	ความเข้มข้น (mg/kg)	Recovery (%)	ความเข้มข้น (mg/kg)	Recovery (%)	ความเข้มข้น (mg/kg)	Recovery (%)	ความเข้มข้น (mg/kg)	Recovery (%)
	1	0.088	88.40	0.101	100.60	0.089	88.60	0.089	89.40	0.087	87.30	0.087
2	0.075	74.90	0.090	90.00	0.075	75.20	0.078	77.50	0.074	74.10	0.073	72.50
3	0.082	82.00	0.095	95.00	0.082	81.90	0.084	83.60	0.080	80.30	0.079	79.10
4	0.085	84.60	0.100	99.80	0.085	84.50	0.087	86.80	0.082	82.30	0.080	79.80
5	0.079	78.90	0.093	92.50	0.080	80.00	0.082	81.70	0.079	78.60	0.077	77.40
6	0.081	80.60	0.096	95.90	0.082	81.90	0.084	84.30	0.081	80.90	0.080	80.40
7	0.078	77.50	0.093	92.60	0.079	78.60	0.081	80.90	0.077	77.40	0.077	76.70
8	0.085	85.00	0.097	97.30	0.086	85.60	0.087	87.00	0.084	84.20	0.084	83.90
9	0.084	83.70	0.096	96.10	0.084	84.10	0.086	85.60	0.083	82.60	0.082	82.00
10	0.084	83.70	0.096	96.10	0.084	84.10	0.086	85.60	0.066	66.40	0.082	82.00
ค่าเฉลี่ย	0.082	81.93	0.096	95.59	0.082	82.45	0.084	84.24	0.079	79.41	0.080	80.05
ค่า SD	0.004		0.003		0.004		0.003		0.006		0.004	
% RSD	4.894		3.425		4.634		4.111		7.377		4.979	
Predicted												
Horwitz	15.389		15.036		15.374		15.325		15.461		15.443	

%RSD							
Horrat							
(เกณฑ์ ≤ 2)	0.318	0.228	0.301	0.268	0.477	0.322	

ตารางที่ 44 แสดงผลการตรวจสอบ Accuracy และ Precision ของการทดสอบซ้ำจำนวน 10 ซ้ำ ที่ระดับความเข้มข้น 0.50 mg/kg ของสารกลุ่มไพรีทรอยด์ จำนวน 6 ชนิดสาร (%Recovery เกณฑ์ตาม Codex เท่ากับ 70–110)

จำนวนซ้ำ	lamdacyhalothrin		permethrin		cyfluthrin		cypermethrin		fenvalerate		deltamethrin	
	0.50 mg/kg		0.50 mg/kg		0.50 mg/kg		0.50 mg/kg		0.50 mg/kg		0.50 mg/kg	
	ความเข้มข้น (mg/kg)	Recovery (%)	ความเข้มข้น (mg/kg)	Recovery (%)	ความเข้มข้น (mg/kg)	Recovery (%)	ความเข้มข้น (mg/kg)	Recovery (%)	ความเข้มข้น (mg/kg)	Recovery (%)	ความเข้มข้น (mg/kg)	Recovery (%)
1	0.456	91.12	0.500	100.00	0.458	91.60	0.394	78.80	0.460	92.00	0.465	93.00
2	0.455	91.00	0.494	98.80	0.455	91.00	0.386	77.20	0.450	90.00	0.450	90.00
3	0.460	92.00	0.492	98.40	0.465	93.00	0.383	76.60	0.464	92.80	0.478	95.60
4	0.458	91.60	0.492	98.40	0.463	92.60	0.407	81.40	0.462	92.40	0.473	94.60
5	0.473	94.60	0.508	101.60	0.481	96.20	0.408	81.60	0.478	95.60	0.487	97.40
6	0.465	93.00	0.497	99.40	0.476	95.20	0.396	79.20	0.477	95.40	0.492	98.40
7	0.465	93.00	0.494	98.80	0.474	94.80	0.402	80.40	0.477	95.40	0.497	99.40
8	0.471	94.20	0.499	99.80	0.484	96.80	0.408	81.60	0.484	96.80	0.503	100.60
9	0.470	94.00	0.501	100.20	0.483	96.60	0.415	83.00	0.483	96.60	0.499	99.80
10	0.471	94.20	0.499	99.80	0.484	96.80	0.409	81.80	0.484	96.80	0.503	100.60
ค่าเฉลี่ย	0.46	92.87	0.498	99.52	0.472	94.46	0.401	80.16	0.472	94.38	0.485	96.94
ค่า SD	0.007		0.005		0.011		0.011		0.012		0.018	
% RSD	1.470		0.990		2.366		2.653		2.534		3.677	

Predicted						
Horwitz						
%RSD	11.852	11.730	11.822	12.118	11.824	11.776
Horrat						
(เกณฑ์ ≤ 2)	0.124	0.084	0.200	0.219	0.214	0.312

ตารางที่ 45 แสดงผลการตรวจสอบ Accuracy และ Precision ของการทดสอบซ้ำจำนวน 10 ซ้ำ ที่ระดับความเข้มข้น 1.00 mg/kg ของสารกลุ่มไพรีทรอยด์ จำนวน 6 ชนิดสาร (%Recovery เกณฑ์ตาม Codex เท่ากับ 70–110)

จำนวนซ้ำ	lamdacyhalothrin		permethrin		cyfluthrin		cypermethrin		fenvalerate		deltamethrin	
	1.00 mg/kg		1.00 mg/kg		1.00 mg/kg		1.00 mg/kg		1.00 mg/kg		1.00 mg/kg	
	ความเข้มข้น (mg/kg)	Recovery (%)	ความเข้มข้น (mg/kg)	Recovery (%)	ความเข้มข้น (mg/kg)	Recovery (%)	ความเข้มข้น (mg/kg)	Recovery (%)	ความเข้มข้น (mg/kg)	Recovery (%)	ความเข้มข้น (mg/kg)	Recovery (%)
1	0.866	86.60	0.826	82.60	0.862	86.20	0.853	85.30	0.851	85.10	0.848	84.80
2	0.816	81.60	0.799	79.90	0.825	82.50	0.818	81.80	0.815	81.50	0.811	81.10
3	0.891	89.10	0.814	81.40	0.843	84.30	0.835	83.50	0.831	83.10	0.825	82.50
4	0.824	82.40	0.800	80.00	0.829	82.90	0.820	82.00	0.814	81.40	0.809	80.90
5	0.864	86.40	0.803	80.30	0.840	84.00	0.831	83.10	0.825	82.50	0.826	82.60
6	0.878	87.80	0.825	82.50	0.871	87.10	0.853	85.30	0.846	84.60	0.843	84.30
7	0.924	92.40	0.869	86.90	0.927	92.70	0.905	90.50	0.894	89.40	0.883	88.30
8	0.875	87.50	0.822	82.20	0.875	87.50	0.860	86.00	0.862	86.20	0.869	86.90
9	0.895	89.50	0.839	83.90	0.903	90.30	0.882	88.20	0.895	89.50	0.893	89.30
10	0.895	89.50	0.839	83.90	0.903	90.30	0.882	88.20	0.895	89.50	0.893	89.30

ค่าเฉลี่ย	0.873	87.28	0.824	82.36	0.868	86.78	0.854	85.39	0.853	85.28	0.850	85.00
ค่า SD	0.033		0.022		0.035		0.029		0.033		0.033	
% RSD	3.762		2.631		3.992		3.392		3.825		3.843	
Predicted												
Horwitz												
%RSD	10.778		10.873		10.788		10.814		10.816		10.821	
Horrat												
(เกณฑ์ ≤ 2)	0.349		0.242		0.370		0.314		0.354		0.355	

ตารางที่ 46 แสดงผลการตรวจสอบ Accuracy และ Precision ของการทดสอบซ้ำจำนวน 10 ซ้ำ ที่ระดับความเข้มข้น 2.00 mg/kg ของสารกลุ่มไพรีทรอยด์ จำนวน 6 ชนิดสาร (%Recovery เกณฑ์ตาม Codex เท่ากับ 70–110)

จำนวนซ้ำ	lamdacyhalothrin		permethrin		cyfluthrin		cypermethrin		fenvalerate		deltamethrin	
	2.00 mg/kg		2.00 mg/kg		2.00 mg/kg		2.00 mg/kg		2.00 mg/kg		2.00 mg/kg	
	ความเข้มข้น (mg/kg)	Recovery (%)	ความเข้มข้น (mg/kg)	Recovery (%)	ความเข้มข้น (mg/kg)	Recovery (%)	ความเข้มข้น (mg/kg)	Recovery (%)	ความเข้มข้น (mg/kg)	Recovery (%)	ความเข้มข้น (mg/kg)	Recovery (%)
1	1.828	91.40	1.761	88.05	1.765	88.25	1.770	88.50	1.703	85.15	1.912	95.60
2	1.881	94.05	1.793	89.65	1.818	90.90	1.665	83.25	1.793	89.65	1.982	99.10
3	1.862	93.10	1.767	88.35	1.804	90.20	1.926	96.30	1.761	88.05	1.974	98.70
4	1.839	91.95	1.745	87.25	1.767	88.35	1.882	94.10	1.693	84.65	1.896	94.80
5	1.872	93.60	1.762	88.10	1.808	90.40	1.919	95.95	1.751	87.55	1.967	98.35

6	1.902	95.10	1.779	88.95	1.837	91.85	1.951	97.55	1.783	89.15	2.004	100.20
7	1.987	99.35	1.833	91.65	1.911	95.55	1.997	99.85	1.833	91.65	2.077	103.85
8	1.896	94.80	1.761	88.05	1.819	90.95	1.920	96.00	2.089	104.45	1.941	97.05
9	1.892	94.60	1.763	88.15	1.817	90.85	1.923	96.15	1.746	87.30	1.947	97.35
10	1.814	90.70	1.742	87.10	1.817	90.85	1.881	94.05	1.746	87.30	1.947	97.35
ค่าเฉลี่ย	1.877	93.87	1.771	88.53	1.816	90.82	1.883	94.17	1.790	89.49	1.965	98.24
ค่า SD	0.049		0.026		0.040		0.097		0.113		0.051	
% RSD	2.597		1.491		2.224		5.130		6.303		2.586	
Predicted												
Horwitz												
%RSD	9.605		9.690		9.653		9.600		9.674		9.539	
Horrat												
(เกณฑ์ ≤ 2)	0.270		0.154		0.230		0.534		0.651		0.271	

ตารางที่ 47 แสดงผลการตรวจสอบ Accuracy และ Precision ของการทดสอบซ้ำจำนวน 10 ซ้ำ ที่ระดับความเข้มข้น 4.00 mg/kg ของสารกลุ่มไพรีทรอยด์ จำนวน 6 ชนิดสาร (%Recovery เกณฑ์ตาม Codex เท่ากับ 70–110)

จำนวนซ้ำ	lamdacyhalothrin		permethrin		cyfluthrin		cypermethrin		fenvalerate		deltamethrin	
	4.00 mg/kg		4.00 mg/kg		4.00 mg/kg		4.00 mg/kg		4.00 mg/kg		4.00 mg/kg	
	ความเข้มข้น (mg/kg)	Recovery (%)	ความเข้มข้น (mg/kg)	Recovery (%)	ความเข้มข้น (mg/kg)	Recovery (%)	ความเข้มข้น (mg/kg)	Recovery (%)	ความเข้มข้น (mg/kg)	Recovery (%)	ความเข้มข้น (mg/kg)	Recovery (%)
1	3.916	97.91	3.059	76.48	3.996	99.91	4.081	102.02	3.729	93.21	4.281	107.04
2	3.759	93.98	3.170	79.24	3.823	95.58	3.948	98.70	3.727	93.18	4.297	107.41

3	3.869	96.72	3.171	79.27	3.911	97.77	3.999	99.98	3.834	95.86	4.296	107.40
4	3.723	93.09	3.108	77.70	3.823	95.58	4.003	100.06	3.745	93.64	4.208	105.20
5	3.723	93.09	3.108	77.70	3.823	95.58	4.006	100.15	3.745	93.64	4.208	105.20
6	3.838	95.94	3.201	80.03	3.911	97.77	4.015	100.38	3.831	95.78	4.274	106.86
7	3.927	98.17	3.196	79.89	3.987	99.68	3.086	77.15	3.929	98.22	4.423	110.58
8	3.890	97.26	3.117	77.93	3.987	99.68	4.066	101.64	3.900	97.49	4.435	110.87
9	4.054	101.35	3.507	87.67	3.983	99.56	4.062	101.55	3.859	96.46	4.404	110.10
10	3.916	97.91	3.059	76.48	3.996	99.91	4.081	102.02	3.729	93.21	4.281	107.04
ค่าเฉลี่ย	3.862	96.54	3.170	79.24	3.924	98.10	3.935	98.36	3.803	95.07	4.311	107.77
ค่า SD	0.104		0.129		0.077		0.301		0.077		0.082	
% RSD	2.694		4.073		1.950		7.657		2.027		1.914	
Predicted												
Horwitz												
%RSD	8.617		8.877		8.596		8.593		8.637		8.475	
Horrat												
(เกณฑ์ ≤ 2)	0.313		0.459		0.227		0.891		0.235		0.226	

สรุปผลการทดลอง

1. ผลการดำเนินงานการตรวจสอบความใช้ได้ของวิธีการวิเคราะห์สารพิษตกค้างกลุ่ม ออร์กาโนฟอสฟอรัส (Organophosphorus) ในพืชผักและผลไม้โดยวิธี QuEChERS (แตงโม) โดยดำเนินการตรวจสอบความใช้ได้ของวิธีทดสอบตามคุณลักษณะทั้ง 7 คุณลักษณะ ซึ่งประกอบด้วย Specificity/Selectivity, Range, Linearity, Limit of Detection (LOD), limit of Quantitation (LOQ), Accuracy, Precision แสดงผลการทดสอบ ดังนี้

1.1. การหาค่า Specificity/Selectivity สารกลุ่มออร์กาโนฟอสฟอรัส จำนวน 10 ชนิดสาร (dichlorvos, diazinon, pirimiphos-methyl, chlorpyrifos, malathion, fenitrothion, profenofos, ethion, triazophos, EPN) ทุกชนิดที่ทำการตรวจสอบความใช้ได้ของวิธี มีความเฉพาะเจาะจงไม่พบสัญญาณรบกวนจาก Matrix

1.2. จากการพิสูจน์ค่า LOD พบว่าสาร สารกลุ่มออร์กาโนฟอสฟอรัสจำนวน 6 ชนิดสาร (dichlorvos, diazinon, pirimiphos-methyl, chlorpyrifos, fenitrothion, ethion) LOD = 0.01 mg/kg และพบว่า จำนวน 3 ชนิดสาร (malathion, triazopho, EPN) LOD = 0.02 mg/kg และ profenofos LOD = 0.05 mg/kg

1.3. การพิสูจน์ค่า LOQ ของสารกลุ่มออร์กาโนฟอสฟอรัส พบว่าค่า LOQ = 0.02 mg/kg จำนวน 5 ชนิดสาร (dichlorvos, diazinon, pirimiphos-methyl, fenitrothion, ethion) และระดับ LOQ = 0.05 mg/kg จำนวน 2 ชนิดสาร (chlorpyrifos, EPN) และระดับ LOQ = 0.10 mg/kg จำนวน 3 ชนิดสาร (malathion, triazophos, profenofos) LOQ

1.4. ช่วงการทดสอบ (Range) พบว่าสารกลุ่มออร์กาโนฟอสฟอรัส จำนวน 9 ชนิดสาร (dichlorvos, diazinon, pirimiphos-methyl, chlorpyrifos, malathion, fenitrothion, ethion, triazophos, EPN) พบว่ามีค่า Range เท่ากับ 0.01 – 4.00 mg/kg และพบว่าสาร profenofos มีค่า Range เท่ากับ 0.05 – 4.00 mg/kg

1.5 พบว่าสารกลุ่มออร์กาโนฟอสฟอรัส ทั้ง 10 ชนิดสาร ตรวจสอบความเป็นเส้นตรง (Linearity) ให้ค่าความสัมพันธ์เชิงเส้น (Coefficient of determination : R^2) อยู่ในเกณฑ์การยอมรับ (ค่า $R^2 \geq 0.995$)

1.6 ผลการพิสูจน์ความถูกต้อง (Accuracy) ของสารกลุ่มออร์กาโนฟอสฟอรัส จำนวน 10 ชนิดสาร (dichlorvos, diazinon, pirimiphos-methyl, chlorpyrifos, malathion, fenitrothion, profenofos, ethion, triazophos, EPN) พบว่าผลการทดสอบความถูกต้อง (Accuracy) พิจารณาจากค่า Recovery ทุกระดับความเข้มข้นที่ตรวจสอบผ่านตามเกณฑ์การยอมรับของ Codex, 1993

1.7 และความเที่ยง (Precision) ของสารกลุ่มออร์กาโนฟอสฟอรัส จำนวน 10 ชนิดสาร (dichlorvos, diazinon, pirimiphos-methyl, chlorpyrifos, malathion, fenitrothion, profenofos, ethion, triazophos, EPN) พบว่าความเที่ยง (Precision) ผ่านเกณฑ์ตามหลักสถิติที่กำหนด ตามเกณฑ์การยอมรับโดยทั่วไปของ Precision, %RSD ของ AOAC Peer – Verified Methods. Nov. 1993 และเกณฑ์ยอมรับค่า HORRAT (Horwitz's ratio) (AOAC < 2, Codex, EU ≤ 2)

จากการทดสอบกลุ่มออร์กาโนฟอสฟอรัส 7 พารามิเตอร์พบว่าผ่านเกณฑ์กำหนดทุกพารามิเตอร์ ดังนั้นผลการทดลองที่ได้สามารถนำไปใช้เป็นวิธีมาตรฐานสำหรับวิเคราะห์ทดสอบหาสารพิษตกค้างกลุ่มออร์แกโนฟอสฟอรัสในแตงโม โดยใช้แก๊สโครมาโตกราฟี และสามารถนำไปประยุกต์ใช้ในผักและผลไม้อื่นๆ ได้ ซึ่งสามารถวิเคราะห์ตัวอย่างได้อย่างถูกต้องและแม่นยำ ในช่วงความเข้มข้นระหว่าง 0.01 – 4.00 มิลลิกรัม/กิโลกรัม ซึ่งสามารถสรุปได้ว่าวิธีการสกัดสารพิษตกค้าง ด้วยวิธี QuEChERS (แตงโม) ที่กลุ่มพัฒนาการตรวจสอบพืชและปัจจัยการผลิต สำนักวิจัยและพัฒนาการเกษตรเขตที่ 4 ใช้ขณะนี้

สามารถให้ผลการวิเคราะห์ที่ถูกต้อง แม่นยำและเชื่อถือได้ และเตรียมยื่นขอขยายขอบข่ายการรับรองมาตรฐานห้องปฏิบัติการ ตามระบบ ISO/IEC 17025

2. ผลการดำเนินงานการตรวจสอบความใช้ได้ของวิธีการวิเคราะห์สารพิษตกค้างกลุ่มไพรีทรอยด์ (Pyrethroid) ในพืชผักและผลไม้โดยวิธี QuEChERS (แตงโม) โดยดำเนินการตรวจสอบความใช้ได้ของวิธีทดสอบตามคุณลักษณะทั้ง 7 คุณลักษณะ ซึ่งประกอบด้วย Specificity/Selectivity, Range, Linearity, Limit of Detection (LOD), limit of Quantitation (LOQ), Accuracy, Precision แสดงผลการทดสอบ ดังนี้

2.1. การหาค่า Specificity/Selectivity ของสารกลุ่มไพรีทรอยด์ จำนวน 6 ชนิดสาร (lambdacyhalothrin, permethrin, cyfluthrin, cypermethrin, fenvalerate, deltamethrin) ทุกชนิดสารที่ทำการตรวจสอบความใช้ได้ของวิธี มีความเฉพาะเจาะจงไม่พบสัญญาณรบกวนจาก Matrix

2.2. การพิสูจน์ค่า LOD พบว่าสารกลุ่มไพรีทรอยด์ จำนวน 6 ชนิดสาร (lambdacyhalothrin, permethrin, cyfluthrin, cypermethrin, fenvalerate, deltamethrin) LOD = 0.005 mg/kg

2.3. การพิสูจน์ค่า LOQ ของสารกลุ่มไพรีทรอยด์ จำนวน 6 ชนิดสาร (lambdacyhalothrin, permethrin, cyfluthrin, cypermethrin, fenvalerate, deltamethrin) พบว่า LOQ = 0.01 mg/kg

2.4. ช่วงการทดสอบ (Range) พบว่าสารกลุ่มไพรีทรอยด์ จำนวน 6 ชนิดสาร (lambdacyhalothrin, permethrin, cyfluthrin, cypermethrin, fenvalerate, deltamethrin) พบว่ามีค่า Range เท่ากับ 0.005 – 4.00 mg/kg

2.5 พบว่าสารกลุ่มไพรีทรอยด์ ทั้ง 6 ชนิดสาร ตรวจสอบความเป็นเส้นตรง (Linearity) ให้ค่าความสัมพันธ์เชิงเส้น (Coefficient of determination : R^2) อยู่ในเกณฑ์การยอมรับ (ค่า $R^2 \geq 0.995$)

2.6 ผลการพิสูจน์ความถูกต้อง (Accuracy) ของสารกลุ่มไพรีทรอยด์ จำนวน 6 ชนิดสาร (lambdacyhalothrin, permethrin, cyfluthrin, cypermethrin, fenvalerate, deltamethrin) พบว่าผลการทดสอบความถูกต้อง (Accuracy) พิจารณาจากค่า Recovery ทุกระดับความเข้มข้นที่ตรวจสอบผ่านตามเกณฑ์การยอมรับของ Codex, 1993

2.7 ผลการพิสูจน์ความเที่ยง (Precision) ของสารกลุ่มไพรีทรอยด์ จำนวน 6 ชนิดสาร (lambdacyhalothrin, permethrin, cyfluthrin, cypermethrin, fenvalerate, deltamethrin) พบว่าผลการทดสอบความเที่ยง (Precision) ผ่านเกณฑ์ตามหลักสถิติที่กำหนด ตามเกณฑ์การยอมรับโดยทั่วไปของ Precision, %RSD ของ AOAC Peer – Verified Methods. Nov. 1993 และเกณฑ์ยอมรับค่า HORRAT (Horwitz's ratio) (AOAC < 2, Codex, EU ≤ 2)

จากการทดสอบสารกลุ่มไพรีทรอยด์ 7 พารามิเตอร์พบว่าผ่านเกณฑ์กำหนดทุกพารามิเตอร์ ดังนั้นผลการทดลองที่ได้สามารถนำไปใช้เป็นวิธีมาตรฐานสำหรับวิเคราะห์ทดสอบหาสารพิษตกค้างกลุ่มไพรีทรอยด์ ในแตงโม โดยใช้แก๊สโครมาโตกราฟี และสามารถนำไปประยุกต์ใช้ในผักและผลไม้อื่นๆ ได้ ซึ่งสามารถวิเคราะห์ตัวอย่างได้อย่างถูกต้อง และแม่นยำ ในช่วงความเข้มข้นระหว่าง 0.01 – 4.00 มิลลิกรัม/กิโลกรัม แสดงว่าวิธีการสกัดสารพิษตกค้างกลุ่มไพรีทรอยด์ ด้วยวิธี QuEChERS (แตงโม) ที่กลุ่มพัฒนาการตรวจสอบพืชและปัจจัยการผลิต สำนักวิจัยและพัฒนาการเกษตรเขตที่ 4 ไซอุยนี้ สามารถให้ผลการวิเคราะห์ที่ถูกต้อง แม่นยำและเชื่อถือได้

การนำผลงานวิจัยไปใช้ประโยชน์

1. นำไปใช้ข้อมูลพื้นฐานสำหรับผู้ที่ จะทำการพัฒนาและปรับวิธีการตรวจวิเคราะห์เพื่อให้ได้วิธีการที่ดีและเหมาะสม และมีประสิทธิภาพดียิ่งขึ้น
2. สามารถนำวิธีวิเคราะห์ที่ผ่านการทดสอบความใช้ได้ของวิธีวิเคราะห์ไปขยายขอบข่ายวิธีการตรวจวิเคราะห์และขอการรับรองมาตรฐาน ISO/IEC 17025
3. นำไปถ่ายทอดให้แก่ห้องปฏิบัติการตรวจวิเคราะห์สารพิษตกค้าง เพื่อเป็นการพัฒนาและเพิ่มศักยภาพของห้องปฏิบัติการตรวจวิเคราะห์สารพิษตกค้างของกรมวิชาการเกษตร
4. นำวิธีการไปใช้ในการตรวจวิเคราะห์สารพิษตกค้างที่ทำเป็นงานประจำและต้องการผลการวิเคราะห์ที่รวดเร็ว
5. จัดทำเป็นเอกสารเผยแพร่เพื่อให้ห้องปฏิบัติการตรวจวิเคราะห์สารพิษตกค้างทั้งในภาครัฐและเอกชนนำไปทดสอบและใช้ในการปฏิบัติงานจริงได้

เอกสารอ้างอิง

- กนกพร อติสุข และ ทิพวรรณ นิ่งน้อย 2547. Method Validation, เอกสารการฝึกอบรมกรมวิทยาศาสตร์การแพทย์
ดุสิต มั่นความดี และอุมาพร สุขม่วง 2544. การพิสูจน์ความใช้ได้ของวิธีทดสอบทางเคมี (Chemical Method
Validation), เอกสารการฝึกอบรมกรมวิทยาศาสตร์บริการ
- ทิพวรรณ นิ่งน้อย 2549. แนวปฏิบัติการทดสอบความถูกต้องของวิธีวิเคราะห์ทางเคมีโดยห้องปฏิบัติการเดียว.
กรมวิทยาศาสตร์การแพทย์ กระทรวงสาธารณสุข. 124 หน้า
- Anastassiades, M., Lehotay, S.J., Stajnbaher, D., and Schenck, F.J. 2003. Fast and Easy Multiresidue
Method Employing Acetonitrile Extraction/Partitioning “Dispersive Solid-Phase Extraction”
for the Determination of Pesticide Residues in Predues. J. AOAC Int. 86, 412-431.
- Codex. 1993. Codex Alimentarius volume3. Residues of Veterinary Drugs in Food European
Commission (EC). 2000. Guidance Document on Residue Analysis Method. SANCO/825/00 rev.
620/06/00. 16p.
- Food Standard Agency . 2004. Food Standard Agency Information Bulletin on Method of Analysis
and Sampling For Foodstuffs. Institute of Food Research,UK. <http://www.food.gov.uk>
- Horwitz, W. 2000. The Potential Use of Quality Control Data to validate Pesticide Residue Method
Performance. In: Principle and Practice of Method Validation. A. Fajgeij and A. Ambrus (eds.),
the Royal Society of Chemistry 2000, UK. 305 p.
- Lehotay, S.J. 2007. Determination of Pesticide Residues in Foods by Acetonitrile Extraction and
Partition with Magnesium Sulfate: Collaborative Study. J. AOAC Int. 90, 48