

รายงานผลงานเรื่องเต็มการทดลองที่สิ้นสุด

- 1. แผนงานวิจัย** : วิจัยและพัฒนากระบวนการตรวจวิเคราะห์ปัจจัยการผลิตทางการเกษตรตามมาตรฐานสากล
- 2. โครงการวิจัย** : วิจัยและพัฒนากระบวนการตรวจวิเคราะห์ผลิตภัณฑ์วัตถุอันตรายทางการเกษตร
กิจกรรม : การตรวจสอบความใช้ได้ของวิธีวิเคราะห์ในผลิตภัณฑ์วัตถุอันตรายทางการเกษตร (ปีเริ่มต้น 2559-สิ้นสุด 2561)
3. ชื่อการทดลอง (ภาษาไทย) : การตรวจสอบความใช้ได้ของวิธีวิเคราะห์สารออกฤทธิ์กลุ่มสารกำจัดโรคพืช ในผลิตภัณฑ์สารป้องกันกำจัดศัตรูพืช
คาร์เบนดาซิมและโทลโคลฟอสเมทิล (2559)
อะซอกซิสโตรบิน และ เบนโนมิล (2560)
ทีบูโคนาโซล และ ไทโอฟาเนต-เมทิล (2561)
ชื่อการทดลอง (ภาษาอังกฤษ) : Method Validation for Determination the Active Ingredients in Fungicide Products ;
carbendazim and tolclofos-methyl (2016)
azoxystrobin and benonmyl (2017)
tebuconazole and thiophanate-methyl (2018)
- 4. คณะผู้ดำเนินงาน**
ผู้รวบรวมการทดลองสิ้นสุดงานวิจัย (2559-2561) : นายฉลองรัตน์ หมั่นขวา
หัวหน้าการทดลอง ปี2559: นายฉลองรัตน์ หมั่นขวา กลุ่มวิจัยวัตถุมีพิษการเกษตร กปผ.
ผู้ร่วมงาน : นางพินิตนันต์ สรวายเอี่ยม กลุ่มวิจัยวัตถุมีพิษการเกษตร กปผ.
นางสาวพินิตา มงคลวุฒิกุลกลุ่มวิจัยวัตถุมีพิษการเกษตร กปผ.
นางสาวดวงรัตน์ วิลาสินี กลุ่มวิจัยวัตถุมีพิษการเกษตร กปผ.
นางจิราพรรณ ทองหยอด กลุ่มวิจัยวัตถุมีพิษการเกษตร กปผ.

นางสาวสุกัญญา คำคง กลุ่มวิจัยวัฏภูมิพิษการเกษตร กปผ.

หัวหน้าการทดลอง ปี2560: นายอิสริยะ สืบพันธุ์ดี กลุ่มวิจัยวัฏภูมิพิษการเกษตร กปผ.

ผู้ร่วมงาน : นางสาวสุกัญญา คำคง กลุ่มวิจัยวัฏภูมิพิษการเกษตร กปผ.

นางสาวพนิดา มงคลวุฒิกุล กลุ่มวิจัยวัฏภูมิพิษการเกษตร กปผ.

นางสาวดวงรัตน์ วิลาสินี กลุ่มวิจัยวัฏภูมิพิษการเกษตร กปผ.

นางจิราพรรณ ทองหยอด กลุ่มวิจัยวัฏภูมิพิษการเกษตร กปผ.

นายฉลองรัตน์ หมื่นชวา กลุ่มวิจัยวัฏภูมิพิษการเกษตร กปผ.

นายอนุชา ผลไสว กลุ่มวิจัยวัฏภูมิพิษการเกษตร กปผ.

หัวหน้าการทดลอง ปี2561: นางสาวพนิดา มงคลวุฒิกุล กลุ่มวิจัยวัฏภูมิพิษการเกษตร กปผ.

ผู้ร่วมงาน : นางสาวสุกัญญา คำคง กลุ่มวิจัยวัฏภูมิพิษการเกษตร กปผ.

นางพินิตนันต์ สรวายเอี่ยม กลุ่มวิจัยวัฏภูมิพิษการเกษตร กปผ.

นางสาวดวงรัตน์ วิลาสินี กลุ่มวิจัยวัฏภูมิพิษการเกษตร กปผ.

นางจิราพรรณ ทองหยอด กลุ่มวิจัยวัฏภูมิพิษการเกษตร กปผ.

นายฉลองรัตน์ หมื่นชวา กลุ่มวิจัยวัฏภูมิพิษการเกษตร กปผ.

5. บทคัดย่อ

การตรวจสอบความใช้ได้ของวิธีวิเคราะห์กลุ่มสารป้องกันกำจัดโรคพืช carbendazim thiophanate-methyl benomyl เทคนิคโครมาโทกราฟีของเหลวสมรรถนะสูง (High Performance Liquid Chromatography, HPLC) และ tolcllofos-methyl tebuconazole azoxystrobin ทดสอบด้วยเทคนิคแก๊สลิควิดโครมาโทกราฟี (Gas Liquid Chromatography, GLC) ผลการทดลอง Working range และ Linearity ได้ค่า (correlation coefficient (r) เท่ากับ 0.99998 0.99996 (carbendazim) 0.99994 0.99991 (tolcllofos-methyl) 0.99964 0.99964 (tebuconazole) 0.99995 0.99995 (thiophanate-methyl) 0.99985 0.99949 (azoxystrobin) และ 0.99955 0.99835 (benomyl) ตามลำดับ (เกณฑ์ยอมรับ AOAC ≥ 0.995) ค่า Selectivity/Specificity ไม่มีการรบกวนจากสารปนเปื้อน Accuracy ที่ 3 ระดับความเข้มข้น ประเมินจาก %Recovery ได้เท่ากับ 99.9, 99.4 100.0 (carbendazim) 101.5, 99.5 99.5 (tolcllofos-methyl) 98.8 99.2 99.1 (tebuconazole) 99.9 99.7 99.1 (thiophanate-methyl) 98.4 98.7 98.0 (azoxystrobin) และ 99.1 100.3 100.1 (benomyl) ตามลำดับ (เกณฑ์ยอมรับ AOAC 98 - 102) Precision ที่ 3 ระดับความเข้มข้น ประเมินจาก repeatability, within laboratory reproducibility, robustness/ruggedness ได้ค่า HORRAT เท่ากับ 0.874 1.066 1.028, 1.028 0.779 0.986 และ 0.662 1.093 1.102 (carbendazim), 0.498, 0.325 0.504, 1.064 0.666 1.115 และ 0.355, 0.306 0.416 (tolcllofos-methyl) 0.26 0.79 0.30, 0.60 0.16 0.28 และ 0.52/0.59 0.34/0.35 0.39/0.51 (tebuconazole) 0.33 0.28 0.36, 0.22 0.28 0.41 และ 0.32/0.23 0.36/0.24 0.32/0.40 (thiophanate-methyl) 0.39 0.26 0.32, 0.36 0.34 0.59 และ 0.56 0.30 0.40

(azoxystrobin) และ 1.80 1.29 0.42, 0.86 1.26 0.42 และ 01.51 0.89 0.42 (benomyl) ตามลำดับ ผลการวิเคราะห์ผ่านเกณฑ์ยอมรับ (AOAC ค่า HORRAT ที่ยอมรับ < 2 และ Codex,EU ค่า HORRAT ที่ยอมรับ ≤ 2) และค่า Uncertainty เท่ากับ ±0.54(carbendazim) ± 0.30(tolclofos-methyl) ± 0.52(tebuconazole) ±1.01 (thiophanate-methyl) ± 0.27(azoxystrobin) และ ± 1.47(benomyl)

Abstract

Method validation of fungicide group, carbendazim thiophanate-methyl benomyl using High Performance Liquid Chromatography, HPLC and tolcllofos-metyly tebuconazole azoxystrobin using, Gas Liquid Chromatography, GLC. The results was described as follows: Working range and Linearity was correlation coefficient (r) as 0.99998, 0.99996 (carbendazim) and 0.99994, 0.99991 (tolcllofos-methyl) 0.99964 0.99964 (tebuconazole) 0.99995 0.99995 (thiophanate-methyl) 0.99985 0.99949 (azoxystrobin) และ 0.99955 0.99835 (benomyl), respectively (Accepted by AOAC $r \geq 0.995$). Then specificity, the both fo them did not interfere from impurity because methods have Specificity and selectivity. Accuracy considers %Recovery and the concentration using 3 level. %Recovery as 99.9, 99.4, 100.0% (carbendazim) 101.5, 99.5, 99.5% (tolcllofos-methyl) 98.8 99.2 99.1 (tebuconazole) 99.9 99.7 99.1 (thiophanate-methyl) 98.4 98.7 98.0 (azoxystrobin) and 99.1 100.3 100.1 (benomyl), respectively (Accepted by AOAC ,%Recovery of 98–102). Precision considers repeatability within laboratory reproducibility robustness/ruggedness and the concentration using 3 level thus the assessment using HORRAT value. The HORRAT value as 0.874 1.066 1.028, 1.028 0.779 0.986 and 0.662 1.093 1.102 (carbendazim), 0.498, 0.325 0.504, 1.064 0.666 1.115 and 0.355, 0.306 0.416 (tolcllofos-methyl) 0.26 0.79 0.30, 0.60 0.16 0.28 and 0.52/0.59 0.34/0.35 0.39/0.51 (tebuconazole) 0.33 0.28 0.36, 0.22 0.28 0.41 and 0.32/0.23 0.36/0.24 0.32/0.40 (thiophanate-methyl) 0.39 0.26 0.32, 0.36 0.34 0.59 annd 0.56 0.30 0.40 (azoxystrobin) and 1.80 1.29 0.42, 0.86 1.26 0.42 ฟีก 01.51 0.89 0.42 (benomyl), The results are accepted (Accepted by AOAC HORRAT < 2 and Codex, EU ≤ 2) Lastly, uncertainty value as ± 0.54 (carbendazim) ± 0.30 (tolcllofos-methyl) ± 0.52 (tebuconazole) ± 1.01 (thiophanate-methyl) ± 0.27 (azoxystrobin) and ± 1.47 (benomyl)

6. คำนำ

ประเทศไทยมีการใช้สารกำจัดเชื้อรา เชื้อโรคพืช (Fungicide) กันอย่างแพร่หลาย เนื่องจากประเทศไทยเป็นประเทศที่ประกอบอาชีพเกษตรกรรมเป็นหลัก สารกำจัดเชื้อรา เชื้อโรคพืชจึงมีการนำมาใช้ในการผลิตพืช เพื่อลดความเสียหายของผลิตผลที่เกษตรกรปลูก จากสถิติปริมาณการนำเข้าสารกำจัดเชื้อรา เชื้อโรคพืชระหว่างปี 2555-2559 พบว่าปริมาณการนำเข้ามีแนวโน้มเพิ่มสูงขึ้น ปี 2559 มีการนำเข้าสารกำจัดเชื้อรา เชื้อโรคพืชสูงถึง 12,915,972.25 กิโลกรัม คิดเป็นมูลค่า 4,503,371,999.98 บาท (สำนักควบคุมพืชและวัสดุการเกษตร ,2555-2559) สารป้องกันกำจัดโรคพืชมีหลายชนิดแต่ที่ศึกษาในงานวิจัยนี้เป็นการศึกษาสารที่มีการใช้แพร่หลาย ได้แก่ carbendazim tolcllofos-methyl tebuconazole thiophanate-methyl azoxystrobin และ benomyl carbendazim เป็นสารเคมีในกลุ่ม benzimidazole:MBC ใช้สำหรับกำจัดเชื้อราในพืชชนิดต่างๆ เป็นสารที่มีพิษปานกลาง มีพิษเฉียบพลัน (LD_{50}) ทางปาก 15,000 mg/kg ทางผิวหนัง (หนู) มากกว่า 10,000 mg/kg

ส่วน tolclofos-methyl เป็นสารกลุ่ม organophosphate ประเภทไม่ดูดซึม ออกฤทธิ์เมื่อสัมผัสผัก และให้ผลในการป้องกันโรคพืช มีพิษเฉียบพลัน (LD₅₀) ทางปาก 5,000 mg/kg ทางผิวหนัง มากกว่า 5,000 mg/kg ใช้กำจัดโรคพืชที่อยู่ในดิน tebuconazole เป็นสารกำจัดเชื้อรา triazole ใช้ในการรักษาเชื้อราที่ทำให้เกิดโรคพืช thiophanate-methyl เป็นสารเคมีในกลุ่ม benzimidazole, carbamate: MBC ประเภทดูดซึมออกฤทธิ์ให้ผลในการบำบัดและรักษาป้องกันโรคพืช มีฤทธิ์ในการกำจัดไรได้ด้วย มีพิษเฉียบพลัน (LD₅₀) ทางปาก 7,500 mg/kg ทางผิวหนัง (หนู) มากกว่า 10,000 mg/kg (ปรีชา, 2537) azoxystrobin เป็นสารป้องกันกำจัดเชื้อราเชื้อโรคพืชที่มีสเปกตรัมกว้างที่สุด คือสามารถป้องกันกำจัดเชื้อรา เชื้อโรคพืชได้ทั้ง 4 กลุ่มใหญ่ ถูกค้นพบระหว่างการวิจัยเกี่ยวกับ *Oudemansiella mucida* และ *Strobilurus tenacellus* ซึ่งเป็นเห็ดสีขาวหรือสีน้ำตาลขนาดเล็กที่พบได้ทั่วไปในป่ายุโรป azoxystrobin ถูกสังเคราะห์ครั้งแรกโดย ดร.คริสโตเฟอร์เพร์รี่ ที่ศูนย์วิจัยนานาชาติ Jealott's Hill ใน Bracknell (UK) สารพิษของ azoxystrobin คือส่วนของ β -methoxyacylate ซึ่งอยู่ในสารออกฤทธิ์จากทั้ง *oudemansiella mucida* และ *strobilurus tenacellus* และ benomyl เป็นสารป้องกันกำจัดเชื้อรา เชื้อโรคพืชที่นำมาใช้ในปี 1968 โดยคูปองท์ มีความเป็นพิษต่อจุลินทรีย์และสัตว์ไม่มีกระดูกสันหลัง โดยเฉพาะไส้เดือน มีความเป็นพิษต่อสัตว์เลี้ยงลูกด้วยนม โดยมีค่า LD₅₀ มากกว่า 10,000 มิลลิกรัม/กิโลกรัม/วัน สำหรับหนูทดลอง

เนื่องจากสารป้องกันและกำจัดโรคพืชทั้งหกชนิดมีการใช้ในท้องตลาดมาเป็นเวลานานแล้ว ปริมาณสารออกฤทธิ์ในผลิตภัณฑ์ต้องมีความเข้มข้นอยู่ในเกณฑ์ที่ถูกต้อง เพื่อให้ประโยชน์สูงสุดแก่เกษตรกรและไม่เป็นอันตรายต่อสิ่งแวดล้อม ตลอดจนทำให้เชื้อโรคไม่เกิดการต้านทาน การมีผลวิเคราะห์ที่ถูกต้องและมีมาตรฐานจึงเป็นเรื่องสำคัญ ดังนั้น การตรวจสอบความใช้ได้ของวิธีวิเคราะห์จะทำให้ผลวิเคราะห์มีความน่าเชื่อถือและถูกต้อง อีกทั้งยังทำให้ได้วิธีวิเคราะห์ที่ทันสมัย และปลอดภัย อย่างเช่น วิธีวิเคราะห์มาตรฐานของ carbendazim ตามวิธีที่มีการใช้สาร dioxane ในขั้นตอนการเตรียมสาร และเป็นที่น่าตกใจที่ทราบว่าสารชนิดนี้เป็นสารก่อมะเร็ง เป็นอันตรายต่อผู้ปฏิบัติงาน เพื่อหลีกเลี่ยงผลกระทบที่จะเกิดขึ้นกับผู้วิเคราะห์ จึงได้ใช้สารตัวทำละลายตัวใหม่ทดแทนสาร Dioxan ที่มีความปลอดภัยมากกว่า พบว่า carbendazim สามารถละลายได้ในน้ำ ที่ 24 °C dimethylformamide 5 g/L acetone และ ethanol 0.3 g/L ส่วนสารอื่นๆ ละลายได้น้อยกว่า 0.2 g/L (AgroChemical, 1993) จากการศึกษาสารละลายทั้งหมด พบว่า ethanol ดึงสารออกฤทธิ์ออกมาได้ดีที่สุด เทียบเท่าสารละลายตามวิธีมาตรฐาน ผู้วิจัยจึงได้นำสารละลายนี้มาเป็นตัวทำละลายในการทำวิจัยร่วมกับ methanol เป็นต้น และสำหรับสารชนิดอื่นๆ ผู้วิจัยได้ศึกษาสารที่ละลายง่ายและปลอดภัยเช่นกัน และดำเนินการตรวจสอบความใช้ได้ของวิธีทดสอบตามข้อกำหนดต่างๆ ของ Method Validation

7. วิธีดำเนินการ

- อุปกรณ์

1. เครื่อง High Performance Liquid Chromatograph มีตัวตรวจจับชนิด DAD หรือ UV
2. เครื่อง Gas Liquid Chromatograph มีตัวตรวจจับชนิด FID
3. คอลัมน์ชนิด C-18, Eclipse XPB-C18 ขนาด 5 μ m 4.6 x 150 mm

4. คอลัมน์ชนิด Capillary ภายในเคลือบด้วย 5 % phenyl methyl siloxane (HP-5) ความยาว 30 เมตร เส้นผ่านศูนย์กลางภายใน 0.32 มิลลิเมตร ความหนาของฟิล์ม 0.25 ไมโครเมตร
5. เครื่องชั่งละเอียด 4 ตำแหน่ง (ซึ่งได้ระดับ 0.1 มิลลิกรัม) ที่ผ่านการสอบเทียบ
6. Ultrasonic bath
7. ขวดวัดปริมาตร ขนาด 10 25 100 500 และ 1000 มิลลิลิตร (class A) ที่ผ่านการสอบเทียบ
8. ปิเปต ขนาด 2 3 4 5 และ 10 มิลลิลิตร (class A) ที่ผ่านการสอบเทียบ
9. Auto-pipette ขนาด 1-10 มิลลิลิตร ที่ผ่านการสอบเทียบ
10. บีกเกอร์ ขนาด 100 มิลลิลิตร
11. Vial ขนาด 2 มิลลิลิตร
12. กระจกชกรอง 0.22 ไมโครเมตร

- สารเคมี

1. สารมาตรฐาน carbendazim 99.0% tolclofos-methyl 98.7% tebuconazole 99.34% thiophanate-methyl 98.92% azoxystrobin 99.5% และ benomyl 98.0%
2. ตัวอย่างผลิตภัณฑ์ carbendazim 50% W/V SC tolclofos-methyl 50% WP tebuconazole 43% W/V SC thiophanate-methyl 70%WP azoxystrobin 25% W/V SC และ benomyl 50% WP
3. สารละลาย Methanol HPLC grade Ethanol Acetone และ Acetonitrile
4. น้ำปราศจากไอออน (Deionized water)

- วิธีการ

การปรับสภาวะเครื่องสำหรับศึกษาการตรวจสอบความใช้ได้ของวิธีวิเคราะห์สารออกฤทธิ์กลุ่มสารป้องกันกำจัดโรคพืชในผลิตภัณฑ์สารป้องกันกำจัดศัตรูพืช

1.1 สภาวะของเครื่อง HPLC ดังตาราง 1

Table 1 condition HPLC for analytical active ingredient of carbendazim thiophanate-methyl and benomyl

Active ingredient	Mobile phase	column	Mobile phase (ratio)	Temperature (°C)	Wave length	Flow rate (ml/min)	Stop time (min)
carbendazim	H ₂ O:MeOH	C-18	40:60	45	280	1.0	4
Thiophanate-methyl	H ₂ O:ACN	C-18	50:50	40	269	1.0	4
benomyl	H ₂ O:ACN	C-18	30:70	40	290	1.0	4

1.2 สภาวะเครื่อง GLC

ปรับค่าอัตราการไหลของก๊าซในการวิเคราะห์ดังนี้

- H₂ อัตราการไหล 40.0 มิลลิลิตรต่อนาที
Air อัตราการไหล 450.0 มิลลิลิตรต่อนาที
N₂ อัตราการไหล 45.0 มิลลิลิตรต่อนาที

และดำเนินการปรับสภาวะเครื่องในการวิเคราะห์สารออกฤทธิ์แต่ละชนิดแสดงดัง ตารางที่ 2

Table 2 condition GLC for analytical active ingredient of azoxystrobin tolcllofos-methyl and tebuclonazole

Active ingredient	column	Oven (°C)	Injector (°C)	Detector (°C)	Split ratio	Flow rate (mL/min)	Run time (min)
azoxystrobin	HP-5	240-280 (30°C/min)	275	290	50:1	2	8
tolclofos-methyl	HP-5	220	250	250	50:1	2	4
tebuconazole	HP-5	230	270	270	50:1	2	6

2. การตรวจสอบความใช้ได้ของปริมาณสารออกฤทธิ์

2.1 ตรวจสอบช่วงความเป็นเส้นตรง (Linearity) และช่วงของการวัด (Working Range)

2.1.1 Linearity/Working

2.1.1.1 เตรียมสารมาตรฐาน 5-6 ระดับความเข้มข้น carbendazim ใช้ 0.001 - 0.250 mg/ml thiophanate-methyl ใช้ 0.4- 1.40 mg/ml benomyl ใช้ 0.010 - 0.250 mg/ml tolcllofos-methyl ใช้ 0.001 - 2.500 mg/ml tebuconazole ใช้ 0.120- 0.280 mg/ml และ azoxystrobin ใช้ 0.10 - 2.50 mg/ml

2.1.1.2 นำสารละลายฉีดเข้าเครื่องมือวิเคราะห์ (GLC, HPLC) ใช้สถานะของเครื่องดังตารางที่ 1 และ 2

2.1.1.3 สร้างกราฟระหว่างความเข้มข้นของสารละลายมาตรฐาน (แกน X) กับค่า response (แกน Y) พิจารณาค่าความเป็นเส้นตรง และคำนวณค่า correlation coefficient (r) ≥ 0.995

2.2 การตรวจสอบความถูกต้อง (Accuracy)

2.2.1 การเตรียม stock standard

เตรียมสารละลายมาตรฐาน carbendazim 0.2 mg/ml thiophanate-methyl 0.5 mg/ml benomyl 1.0 mg/ml tolcllofos-methyl 5 mg/ml tebuclonazole 5 mg/ml และ azoxystrobin 5 mg/ml โดย ชั่งสารมาตรฐานลงในขวดวัดปริมาตร ละลายด้วยสารละลายประมาณ 3 ใน 4 ของปริมาตรขวด ปิดจุก และนำไปเขย่าด้วยเครื่อง ultrasonic bath 15 นาที โดย thiophanate- methyl ละลาย acetonitrile benomyl ละลาย methanol และ tolcllofos-methyl tebuconazole และ azoxystrobin ละลาย acetone สำหรับ carbendazim เติม ethanol 40 ml นำไปเขย่าด้วยเครื่อง ultrasonic bath 30 นาที และเติม methanol 40 ml เขย่าต่ออีก 10 นาที หรือจนกว่าจะละลายหมด ปล่อยให้สารละลายปรับตัวเข้าสู่อุณหภูมิห้อง และปรับปริมาตรเป็น 100 ml

2.2.2 การเตรียมสารละลาย stock sample

เตรียมสารละลายตัวอย่าง carbendazim 0.05 mg/ml thiophanate-methyl 0.5 mg/ml benomyl 1.0 mg/ml tolclofos-methyl 1 mg/ml tebuclonazole 1 mg/ml และ azoxystrobin 1 mg/ml โดยเตรียมสารละลายเช่นเดียวกับข้อ 2.2.1

2.2.3 การเตรียมสารละลายเพื่อหาปริมาณสารออกฤทธิ์

เตรียมสารละลายมาตรฐาน 3 - 6 ระดับความเข้มข้น ครอบคลุมช่วงใช้งาน จากนั้น ปิเปตสารละลาย Stock sample ข้อ 2.2.2 ใส่ใน volumetric flask ขนาด 25 มิลลิลิตร จำนวน 3 ชุด ชุดละ 10 ซีซี จากนั้นเติมสารละลาย Stock standard 3 ระดับความเข้มข้น ความเข้มข้นละ 10 ซีซี ปรับปริมาตรด้วย ตัวทำละลายจนถึงขีดปริมาตร เขย่าให้เข้ากัน แบ่งสารละลายใส่ลงใน vial ขนาด 2 มิลลิลิตร ฉีดสารละลายเข้าเครื่องโดยเทียบกับกราฟมาตรฐาน

2.2.5 การประเมินค่า accuracy จาก %Recovery

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

เมื่อ F คือ ปริมาณสารในสารละลาย fortified sample, mg/ml

O คือ ปริมาณสารในสารละลาย original sample, mg/ml

C คือ ปริมาณ added sample, mg

ค่าความถูกต้อง ต้องได้ %Recovery อยู่ในช่วง 98 - 102% ตามเกณฑ์ AOAC

2.3 การตรวจสอบความเที่ยง (Precision)

2.3.1 Repeatability

ตรวจสอบ Precision แบบ Repeatability ซึ่งเป็นการทดสอบจากห้องปฏิบัติการเดียวกัน ผู้ทดสอบคนเดียวกัน เครื่องมือชุดเดียวกัน ในเวลาเดียวกัน

ซึ่งสารมาตรฐาน 3 ระดับความเข้มข้น ระดับละ 2 ซีซี ใส่ลงใน volumetric flask เติมตัวทำละลายประมาณครึ่งขวด ปิดจุก นำไปเขย่าด้วยเครื่อง ultrasonic bath ประมาณ 15 นาที จากนั้นนำออกมาตั้งทิ้งให้เย็นที่อุณหภูมิห้อง แล้วเติมตัวทำละลายจนถึงขีดปริมาตร แบ่งสารละลายตัวอย่างใส่ลงใน vial ขนาด 2 มิลลิลิตร

นำตัวอย่างผลิตภัณฑ์วัตถุอันตรายทางการเกษตรที่เป็นของแข็งต้องคลุกผสมให้เข้ากัน ส่วนตัวอย่างที่เป็นของเหลวต้องเขย่าให้เป็นเนื้อเดียวกัน ซึ่งตัวอย่างที่ทราบปริมาณแน่นอน 3 ระดับความเข้มข้น ระดับละ 10 ซีซี ครอบคลุมช่วงที่ใช้งาน ใส่ลงใน volumetric flask เติมตัวทำละลายประมาณครึ่งขวด ปิดจุก นำไปเขย่าด้วยเครื่อง ultrasonic bath ประมาณ 15 นาที จากนั้นนำออกมาตั้งทิ้งให้เย็นที่อุณหภูมิห้อง แล้วเติมตัวทำละลายจนถึงขีดปริมาตร แบ่งสารละลายตัวอย่างใส่ลงใน vial ขนาด 2 มิลลิลิตร ฉีดสารละลายตัวอย่าง tebuconazole เข้าเครื่อง GC ส่วนสารละลายตัวอย่าง thiophanate-methyl กรองด้วย Syringe filter ขนาด 0.20 µm ก่อนฉีดเข้าเครื่อง HPLC โดยเทียบกับกราฟมาตรฐาน

2.3.2 Within laboratory reproducibility

ตรวจสอบ Precision แบบ Within laboratory reproducibility ซึ่งเป็นการทดสอบจากห้องปฏิบัติการเดียวกัน ผู้ทดสอบคนเดียวกัน เครื่องมือชุดเดียวกัน ในเวลาต่างวันกัน

วิเคราะห์ตัวอย่างเช่นเดียวกันกับข้อ 3.2.1 แต่จะวิเคราะห์ต่างวัน คำนวณหาค่าเฉลี่ย (mean) ส่วนเบี่ยงเบนมาตรฐาน (standard deviation, SD) ส่วนเบี่ยงเบนมาตรฐานสัมพัทธ์ (relative standard deviation,

%RSD) ที่คำนวณได้จากผลการทดลอง (%RSD_{exp.}) กับที่คำนวณได้จาก Horwitz's equation (%RSD_{Horwitz}) และประเมินด้วย HORRAT โดย HORRAT ต้องมีค่าไม่เกิน 2 ตามเกณฑ์พิจารณาของ AOAC, EU และ Codex

2.4 ตรวจสอบ Robustness/Ruggedness

วิเคราะห์ตัวอย่างเช่นเดียวกันกับข้อ 3.2.1 ทำการตรวจสอบ Robustness/Ruggedness โดยการเปลี่ยนแปลงเงื่อนไขบางอย่างในวิธี เช่น เปลี่ยนอุณหภูมิ, อัตราการไหล, เครื่องมือ และคอลัมน์ เป็นต้น คำนวณหาค่าเฉลี่ย (mean) ส่วนเบี่ยงเบนมาตรฐาน (standard deviation, SD) ส่วนเบี่ยงเบนมาตรฐานสัมพัทธ์ (relative standard deviation, %RSD) ที่คำนวณได้จากผลการทดลอง (%RSD_{exp.}) กับที่คำนวณได้จาก Horwitz's equation (%RSD_{Horwitz}) และประเมินด้วย HORRAT โดย HORRAT ต้องมีค่าไม่เกิน 2 ตามเกณฑ์พิจารณาของ AOAC, EU และ Codex

ประเมิน Precision โดยใช้ HORRAT

$$\text{HORRAT} = \%RSD_{\text{exp.}} / \%RSD_{\text{Horwitz}}$$

คำนวณ Predicted Horwitz RSD ตามสูตร

$$\%RSD_r = 0.66 \times 2^{(1-0.5 \log C)}$$

(สำหรับ repeatability)

$$\%RSD_R = 2^{(1-0.5 \log C)}$$

(สำหรับ reproducibility)

$$C = \text{Concentration ratio}$$

เกณฑ์ยอมรับค่า Precision

$$\text{AOAC} \quad \text{ยอมรับ} \quad \text{HORRAT} < 2$$

$$\text{EU, Codex} \quad \text{ยอมรับ} \quad \text{HORRAT} \leq 2$$

2.5 การตรวจสอบความเฉพาะเจาะจง (Specificity/selectivity)

ฉีด Blank สารละลายมาตรฐานและสารละลายตัวอย่างเข้าเครื่อง GC เพื่อวิเคราะห์สารออกฤทธิ์ tolclofos-methyl tebuconazole azoxystrobin และ HPLC เพื่อวิเคราะห์สารออกฤทธิ์ carbendazim thiophanate-methyl benomyl พิจารณาโครมาโทแกรมดูว่ามีสารอื่นแปลกปลอมรบกวนสารออกฤทธิ์หรือไม่

3.การประมาณค่าความไม่แน่นอนของการตรวจสอบความใช้ได้ของวิธีวิเคราะห์กลุ่มสารป้องกันกำจัดโรคพืชใน

ผลิตภัณฑ์สารป้องกันกำจัดศัตรูพืช carbendazim และ tolclofos-methyl

ประเมินที่ระดับความเชื่อมั่นที่ 95% (ทิพวรรณ, 2549)

ระยะเวลาและสถานที่ทำการทดลอง

ตุลาคม 2558 ถึง กันยายน 2561 ณ ห้องปฏิบัติการกลุ่มงานพัฒนาระบบตรวจสอบคุณภาพวัตถุพิษ การเกษตร กลุ่มวิจัยวัตถุพิษการเกษตร กองวิจัยพัฒนาปัจจัยการผลิตทางการเกษตร กรมวิชาการเกษตร

8. ผลการทดลองและวิจารณ์

ผลจากการการตรวจสอบความใช้ได้ของวิธีวิเคราะห์สารออกฤทธิ์กลุ่มสารป้องกันกำจัดโรคพืชในผลิตภัณฑ์สารป้องกันกำจัดศัตรูพืช carbendazim tolclofos-methyl tebuconazole thiophanate-methyl azoxystrobin และ benomyl โดยหา คุณลักษณะเฉพาะต่างๆ ได้แก่ Linearity/Working range, Precision, Robustness/Ruggedness, Accuracy และ Specificity นำมาหาค่าและประเมินการยอมรับดังนี้

1. ผลการตรวจสอบช่วงความเป็นเส้นตรง (Linearity/Working Range)

Linearity ได้จากกราฟความสัมพันธ์ระหว่างความเข้มข้นของสารที่ทดสอบกับสัญญาณที่ตรวจวัดได้ เมื่อเขียนกราฟจะได้เส้นที่มีแนวโน้มที่จะเส้นตรงให้ได้มากที่สุด โดยที่ช่วงของการทดสอบ carbendazim คือ 0.001 - 0.200 mg/ml ขยายความเข้มข้น ดังนี้ 0.001 0.050 0.100 0.150 และ 0.200 mg/ml ผลการทดสอบ ได้ค่า correlation coefficient (r) เท่ากับ 0.99996 และ tolclofos-methyl คือ 0.010 - 2.500 mg/ml ขยายความเข้มข้น ดังนี้ 0.010 0.500 1.000 1.500 และ 2.500 mg/ml ผลการทดสอบ ได้ค่า correlation coefficient (r) เท่ากับ 0.99991 ในส่วน Working Range เป็นการทดสอบช่วงความเป็นเส้นตรงในช่วงของการใช้งาน โดยที่ช่วงของการทดสอบ carbendazim คือ 0.050 - 0.150 mg/ml ขยายความเข้มข้น ดังนี้ 0.05 0.750 0.100 0.125 และ 0.150 mg/ml ผลการทดสอบ ได้ค่า correlation coefficient (r) เท่ากับ 0.99998 และ tolclofos-methyl คือ 0.50 - 1.50 mg/ml ขยายความเข้มข้น ดังนี้ 0.50 0.75 1.00 1.250 และ 1.50 mg/ml ผลการทดสอบ ได้ค่า correlation coefficient (r) เท่ากับ 0.99994 จากค่า (r) ที่ได้ของสารทั้งสองมีค่ามากกว่า 0.995 จึงผ่านเกณฑ์ยอมรับตามมาตรฐาน (สำหรับ AOAC , $r \geq 0.995$) และ Linearity/Working Range tebuconazole พบว่าช่วงความเป็นเส้นตรงของ อยู่ในช่วงความเข้มข้น 0.4 - 1.4 mg/ml และ thiophanate-methyl อยู่ในช่วงความเข้มข้น 0.12 - 0.28 mg/ml ได้ค่า correlation coefficient (r) ≥ 0.995 ดังรูปที่ 1 ซึ่งอยู่ในเกณฑ์ยอมรับ $r \geq 0.995$

Linearity ของ azoxystrobin ให้ความเป็นเส้นตรงในช่วงความเข้มข้น 0.10 - 2.5 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร โดยมีค่า correlation coefficient (r) เท่ากับ 0.99985 และ benomyl ให้ความเป็นเส้นตรงในช่วงความเข้มข้น 0.01 - 0.25 mg/ml โดยมีค่า correlation coefficient (r) เท่ากับ 0.99955 ส่วน Working Range ของ azoxystrobin ให้ช่วงความเป็นเส้นตรงในช่วงความเข้มข้น 0.25 - 1.5 mg/ml โดยมีค่า correlation coefficient (r) เท่ากับ 0.99949 และ benomyl ให้ความเป็นเส้นตรงในช่วงความเข้มข้น 0.02 - 0.20 mg/ml โดยมีค่า correlation coefficient (r) เท่ากับ 0.99835

2. ผลการตรวจสอบความถูกต้อง (Accuracy)

การตรวจสอบความถูกต้องหรือความแม่นยำนั้นทำได้จากการศึกษา CRM และศึกษา recovery ในช่วงต่างๆ ของการใช้งาน ในการทดสอบใช้ความเข้มข้น 3 ระดับ คือ carbendazim 0.02 0.10 0.14 mg/ml, tolclofos-methyl 0.20 1.00 1.40 mg/ml, tebuconazole 0.80 1.00 1.20 mg/ml, thiophanate-methyl 0.16 0.1 0.24 mg/ml, azoxystrobin 0.50 1.00 1.25 mg/ml และ benomyl 0.05 0.10 0.15 mg/ml จำนวนอย่างละ 10 ซ้ำ ทำการวิเคราะห์โดยฉีดเข้าเครื่องมือวิเคราะห์ ได้ผลการทดลอง ดังตารางที่ 3

ตารางที่ 3 การตรวจสอบ Accuracy ที่ 3 ระดับความเข้มข้น

Pesticide	AI content (mg/ml)	%Recovery
carbendazim	0.02	101.5
	0.10	99.5
	0.14	99.5
tolclofos-methyl	0.20	99.9
	1.20	99.4
	1.40	100.0
tebuconazole	0.80	98.83
	1.00	99.18
	1.20	99.07
thiophanate-methyl	0.16	99.90
	0.20	99.66
	0.24	99.11
azoxystrobin	0.50	98.4
	1.00	98.7
	1.25	98.0
benomyl	0.05	99.1
	0.10	100.3
	0.15	100.8

%recovery ความเข้มข้นสารละลายมาตรฐานที่เติมลงในสารละลายตัวอย่างมี 3 ระดับความเข้มข้น ระดับละ 10 ซ้ำ จากตารางที่ 3 พบว่า อยู่ในช่วงเกณฑ์การยอมรับที่ 98-102 % ตามเกณฑ์พิจารณาสำหรับสารที่มีปริมาณมากกว่า 10% ของ AOAC (AOAC, 1993) และ CIPAC (CIPAC, 2003)

3. การตรวจสอบความเที่ยง (Precision ศึกษา Repeatability และ Within Laboratory Reproducibility)

เป็นการศึกษาค่าความเข้มข้นระดับต่างๆ โดยการซ้ำ โดยที่ Repeatability ทำการศึกษาโดยวิเคราะห์ข้อมูลซ้ำในวันและเวลาเดียวกัน ส่วน Within Laboratory Reproducibility ศึกษาโดยเปลี่ยนวันเวลาที่ทดสอบ ในการทดสอบใช้ความเข้มข้น 3 ระดับ คือ carbendazim 0.05 0.10 0.15 mg/ml, tolclofos-methyl 0.50 1.00 1.40 mg/ml, tebuconazole 0.8 1.0 1.2 mg/ml, thiophanate-methyl 0.16 0.20 0.24 mg/ml ,azoxystrobin 0.50 1.00 1.50 mg/ml และ benomyl 0.05, 0.10 และ 0.15 mg/ml จากการทดลอง พบว่าส่วนเบี่ยงเบนมาตรฐานสัมพัทธ์ (Relative Standard Deviation,%RSD) ที่คำนวณได้จากการทดลอง (%RSD_{exp}) มีค่าน้อยกว่าที่คำนวณได้จาก Horwitz's equation (%RSD_{Horwitz}) ดังนั้นการประเมินด้วย HORRAT อยู่ในเกณฑ์การยอมรับตามเกณฑ์พิจารณาของ AOAC และ EU, Codex

ตารางที่ 4 การตรวจสอบ Precision ในตัวอย่างผลิตภัณฑ์สารป้องกันกำจัดโรคพืช

สารป้องกัน กำจัดศัตรูพืช	ความ เข้มข้น (mg/ml)	Repeatability				Within laboratory reproducibility			
		mean	%RSD _{exp}	%RSD _{horwitz}	HORRAT	mean	%RSD _{exp}	%RSD _{horwitz}	HORRAT

carbendazim	0.05	43.87	1.31	1.50	0.87	43.21	1.54	1.50	1.03
	0.10	44.40	1.59	1.50	1.06	43.51	1.16	1.50	0.77
	0.15	44.17	1.54	1.50	1.03	43.88	1.47	1.50	0.98
tolclofos-methyl	0.5	47.44	0.73	1.48	0.50	46.57	1.57	1.48	1.06
	1.0	47.16	0.48	1.48	0.32	46.95	0.98	1.48	0.66
	1.5	47.60	0.74	1.48	0.50	46.25	1.65	1.48	1.11
tebuconazole	0.8	43.67	0.39	1.50	0.26	43.87	1.36	2.27	0.60
	1.0	43.53	1.19	1.50	0.79	44.10	0.36	2.27	0.16
	1.2	43.47	0.45	1.50	0.30	43.92	0.62	2.27	0.28
thiophanate-methyl	0.16	69.34	0.46	1.39	0.33	0.16	69.65	0.47	0.22
	0.2	69.23	0.39	1.39	0.28	0.20	69.28	0.58	0.28
	0.24	69.32	0.50	1.39	0.36	0.24	68.83	0.86	0.41
azoxystrobin	0.5	25.28	0.173	1.87	0.39	24.57	0.16	1.87	0.36
	1.0	25.30	0.114	1.87	0.26	24.64	0.15	1.87	0.34
	1.5	24.96	0.138	1.87	0.32	24.96	0.15	1.87	0.59
benomyl	0.05	49.50	1.67	1.87	1.80	48.89	0.78	1.87	0.86
	0.10	50.59	1.22	1.87	1.29	50.92	1.20	1.87	1.26
	0.15	51.90	0.41	1.87	0.42	51.90	0.41	1.87	0.42

จากการทดลองที่ระดับความเข้มข้น 3 ระดับ ค่า Repeatability ของ carbendazim ได้ปริมาณสารออกฤทธิ์ร้อยละ 43.87 44.40 และ 44.17 (w/w) ตามลำดับ คำนวณค่า HORRAT เท่ากับ 0.847 1.066 และ 1.028 ตามลำดับ และของ tolclofos-methyl ได้ปริมาณสารออกฤทธิ์ร้อยละ 47.14 47.66 และ 47.60 (w/w) ตามลำดับ คำนวณค่า HORRAT เท่ากับ 0.498 0.352 และ 0.504 ตามลำดับ ส่วนการคำนวณค่า Within Laboratory Reproducibility ของ carbendazim ได้ปริมาณสารออกฤทธิ์ร้อยละ 43.21 43.51 และ 43.68 (w/w) ตามลำดับ คำนวณค่า HORRAT เท่ากับ 1.028 0.779 และ 0.989 ตามลำดับ และของ tolclofos-methyl ได้ปริมาณสารออกฤทธิ์ร้อยละ 46.38 46.95 และ 46.22 (w/w) ตามลำดับ คำนวณค่า HORRAT เท่ากับ 1.064 0.666 และ 1.115 ตามลำดับ ผลการทดสอบผ่านเกณฑ์การยอมรับทั้ง 2 มาตรฐาน (เกณฑ์ AOAC ค่า HORRAT ที่ยอมรับ < 2 และของ EU, Codex ค่า HORRAT ที่ยอมรับ ≤ 2)

ตรวจสอบความเที่ยง (Precision) สำหรับ Repeatability ความเข้มข้นที่ระดับ 0.8, 1.0 และ 1.2 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร (tebuconazole) และความเข้มข้นที่ระดับ 0.16, 0.20 และ 0.24 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร (thiophanate-methyl) ผลการทดสอบพบว่า ได้ค่าเฉลี่ย (mean) ของ tebuconazole เท่ากับ 43.67, 43.53, 43.47 %w/v และ thiophanate-methyl เท่ากับ 69.34, 69.23, 69.32 %w/w ส่วนเบี่ยงเบนมาตรฐานสัมพัทธ์ (relative standard deviation, %RSD) ที่คำนวณได้จากผลการทดลอง (%RSD_{exp}) มีค่าน้อยกว่าที่คำนวณได้จาก Horwitz's equation (%RSD_{Horwitz}) ดังนั้นการประเมินด้วย HORRAT ของ tebuconazole และ thiophanate-methyl มีค่า HORRAT ไม่เกิน 2 (ตารางที่ 4) อยู่ในเกณฑ์การยอมรับตามเกณฑ์พิจารณาของ AOAC, EU และ Codex วิธีวิเคราะห์ tebuconazole และ thiophanate-methyl ให้ผลการทดสอบ

Precision อยู่ในเกณฑ์ที่ยอมรับได้ สำหรับ Within laboratory reproducibility ได้ผลการทดสอบอยู่ในเกณฑ์การยอมรับเช่นเดียวกับ Repeatability

4. การตรวจสอบความคงทนของวิธีวิเคราะห์ Robustness/Ruggedness

Robustness /Ruggedness เป็นคุณสมบัติที่ทดสอบวิธีวิเคราะห์ว่ามีความคงทนต่อการเปลี่ยนแปลงสถานะของการทดสอบหรือไม่ ในการทดลองนี้ได้ทำการทดสอบโดยเปลี่ยนสถานะเล็กน้อย สำหรับ carbendazim เป็นอัตราการไหลจาก 1.0 ml/min เป็น 0.8 ml/min ส่วน tolclofos-methyl เปลี่ยนอุณหภูมิจาก 220 เป็น 230 องศาเซลเซียส และทำการวิเคราะห์โดยเครื่องมือวิเคราะห์อีกเครื่องทำการทดลองที่ 3 ระดับความเข้มข้น เช่นเดียวกับ การทำ precision (ตามข้อ 3) ผลการทดลองดังแสดงใน ตารางที่ 5

ตารางที่ 5 การตรวจสอบ Robustness/Ruggedness ในตัวอย่างผลิตภัณฑ์ carbendazim และ tolclofos-methyl

สารป้องกันกำจัดศัตรูพืช	ความเข้มข้น (mg/ml)	Robustness				Ruggedness			
		mean	%RSD _{exp}	%RSD _{horwitz}	HORRAT	mean	%RSD _{exp}	%RSD _{horwitz}	HORRAT
carbendazim	0.05	43.57	0.99	1.50	0.66	43.57	0.99	1.50	0.66
	0.10	44.28	1.63	1.50	1.09	44.28	1.63	1.50	1.09
	0.15	44.22	1.65	1.50	1.10	44.22	1.65	1.50	1.10
tolclofos-methyl	0.5	46.75	0.52	1.48	0.35	46.75	0.52	1.48	0.35
	1.0	47.57	0.45	1.48	0.30	47.57	0.45	1.48	0.30
	1.5	47.77	0.61	1.48	0.41	47.77	0.61	1.48	0.41
tebuconazole	0.8	44.10	1.19	2.27	0.52	43.72	1.34	2.27	0.59
	1.0	43.83	0.76	2.27	0.34	43.79	0.79	2.27	0.35
	1.2	43.58	0.88	2.27	0.39	43.68	1.16	2.27	0.51
thiophanate-methyl	0.16	68.69	0.67	2.11	0.32	69.77	0.48	2.11	0.23
	0.20	68.59	0.77	2.11	0.36	69.31	0.50	2.11	0.24
	0.24	68.76	0.68	2.11	0.32	68.92	0.85	2.11	0.40
azoxystrobin	0.5	23.60	0.13	1.87	0.56	25.11	0.24	1.87	0.56
	1.0	24.37	0.18	1.87	0.30	25.38	0.13	1.87	0.30
	1.5	24.64	0.14	1.87	0.40	24.77	0.17	1.87	0.40
benomyl	0.05	49.04	13.8	1.87	1.51	49.04	1.38	1.87	1.51
	0.10	50.59	1.22	1.87	0.89	50.97	0.85	1.87	0.89
	0.15	52.04	0.41	1.87	0.42	51.90	0.41	1.87	0.42

จากการทดลองที่ระดับความเข้มข้น 3 ระดับ ค่า Robustness/Ruggedness ของ carbendazim ได้ปริมาณสารออกฤทธิ์ร้อยละ 43.57 44.28 และ 44.22 (w/w) ตามลำดับ ค่าพารามิเตอร์ HORRAT เท่ากับ 0.662 1.093 และ 1.102 ตามลำดับ และของ tolclofos-methyl ได้ปริมาณสารออกฤทธิ์ร้อยละ 46.75 47.57 และ 47.83 (w/w) ตามลำดับ ค่าพารามิเตอร์ HORRAT เท่ากับ 0.355 0.306 และ 0.416 ตามลำดับ ผลการทดสอบผ่านเกณฑ์การยอมรับทั้ง 2 มาตรฐาน (เกณฑ์ AOAC ค่า HORRAT ที่ยอมรับ < 2 และของ EU, Codex ค่า HORRAT ที่ยอมรับ ≤ 2)

5. ผลการตรวจสอบความเฉพาะเจาะจง (Specificity/selectivity)

ศึกษาโดยฉีดสาร blank สารมาตรฐาน และตัวอย่างผลิตภัณฑ์ทั้ง 6 ชนิด มีความจำเพาะเจาะจงเนื่องจากโครมาโทแกรมของสารมาตรฐานมีพีคที่แยกออกจากกันชัดเจน และไม่มีพีคของสารอื่นมารบกวนการวิเคราะห์

a. ประเมินค่าความไม่แน่นอนของการหาปริมาณสารออกฤทธิ์กลุ่มสารกำจัดแมลงในผลิตภัณฑ์กลุ่มสารป้องกันกำจัดโรคพืช ได้ค่า Uncertainty ของ carbendazim tolclofos-methyl azoxystrobin benomyl tebuconazole และ thiophanate-methyl เท่ากับ ± 0.54 , ± 0.30 , ± 0.27 , 50.6 ± 1.47 ± 0.52 และ ± 1.01 ที่ระดับความเชื่อมั่น 95% ตามลำดับ

9. สรุปผลการทดลองและข้อเสนอแนะ

การตรวจสอบความใช้ได้ของวิธีวิเคราะห์กลุ่มสารป้องกันกำจัดโรคพืช ในผลิตภัณฑ์สารป้องกันกำจัดศัตรูพืช carbendazim tolclofos-methyl tebuconazole thiophanate-methyl azoxystrobin และ benomyl ซึ่งทดสอบด้วยเทคนิคแก๊สลิควิดโครมาโทกราฟี (Gas Liquid Chromatography, GLC) และเทคนิคโครมาโทกราฟีของเหลวสมรรถนะสูง (High Performance Liquid Chromatography, HPLC) ให้ผลการทดสอบที่มีความถูกต้องแม่นยำสูง จากการตรวจสอบช่วงความเป็นเส้นตรง (Linearity), ตรวจสอบช่วงของการวัด (Working range), ตรวจสอบความเที่ยง [Precision (Repeatability, Within laboratory reproducibility, Robustness และ Ruggedness), ตรวจสอบความถูกต้อง (Accuracy), ตรวจสอบความเฉพาะเจาะจง (Selectivity, Specificity) และตรวจสอบการประมาณค่าความไม่แน่นอนของการวิเคราะห์ จากผลการทดสอบดังกล่าว พบว่าคุณลักษณะเฉพาะของวิธีเป็นไปตามเกณฑ์การยอมรับ ดังนั้นวิธีนี้จึงมีความเหมาะสมที่จะนำไปใช้ในการวิเคราะห์ผลิตภัณฑ์วัตถุมีพิษการเกษตรได้อย่างถูกต้อง แม่นยำ สร้างความน่าเชื่อถือแก่ผลการทดสอบ อีกทั้งเป็นที่ยอมรับในระดับสากล และสามารถนำไปขอการรับรองห้องปฏิบัติการตามระบบ ISO/IEC 17025 ได้

10. การนำผลงานวิจัยไปใช้ประโยชน์

วิธีนี้สามารถใช้เป็นวิธีทดสอบของห้องปฏิบัติการในการให้บริการตรวจวิเคราะห์คุณภาพผลิตภัณฑ์วัตถุมีพิษการเกษตรตามพระราชบัญญัติวัตถุอันตราย พ.ศ. 2535 และใช้ในการขอรับรองห้องปฏิบัติการตามมาตรฐาน ISO/IEC 17025 รวมถึงเผยแพร่ให้กับห้องปฏิบัติการของกรมวิชาการเกษตรในส่วนภูมิภาคต่อไป

11. เอกสารอ้างอิง

ปรีชา พุทธิปรีชาพงศ์. 2537. สารกำจัดศัตรูพืชในประเทศไทย. ฝ่ายสารสารวัตรเกษตร.

กองควบคุมพืชและวัสดุการเกษตร กรมวิชาการเกษตร. 371 น.

ทิพวรรณ นิ่งน้อย. 2549. แนวปฏิบัติการทดสอบความถูกต้องของวิธีวิเคราะห์ทางเคมี โดยห้องปฏิบัติการเดี่ยว. กรมวิทยาศาสตร์การแพทย์. กระทรวงสาธารณสุข.124 น.

พินดา ไชยยันต์บุรณ์. 2560. การประเมินค่าความไม่แน่นอนของการวัด (UNCERTAINTY OF MEASUREMENT) : On the Job Training วันที่ 20 ธันวาคม 2560 ณ กลุ่มวิจัย วัตถุประสงค์การเกษตร กองวิจัยพัฒนาปัจจัยการผลิตทางการเกษตร กรมวิชาการเกษตร. สำนักควบคุมพืชและวัสดุการเกษตร กรมวิชาการเกษตร กระทรวงเกษตรและสหกรณ์. 2555-2559. “ข้อมูลสถิติการนำเข้าวัตถุอันตรายทางการเกษตร”. [ระบบออนไลน์]. แหล่งที่มา [http://www.doa.go.th/ard/FileUpload/hazzard/4.2/Summary%20of%20the%20import%20of%20hazardous%20\(B.E.%202559\)%20new.pdf](http://www.doa.go.th/ard/FileUpload/hazzard/4.2/Summary%20of%20the%20import%20of%20hazardous%20(B.E.%202559)%20new.pdf) (ธันวาคม 2560)

สำนักงานเศรษฐกิจการเกษตร กระทรวงเกษตรและสหกรณ์. 2556-2560. ปริมาณและมูลค่าการนำเข้าวัตถุอันตรายทางการเกษตร. สืบค้นจาก: <http://oldweb.oae.go.th/economicdata/pesticides.html> [ธันวาคม 2561].

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

AOAC official methods of analysis. 2012. Guidelines for standard method performance requirements Appendix F, p.9.

AOAC Peer Verified Methods Program. 1993. Manual on Policies and Procedures. Arlinton. Virginia.

APVMA. 2004. Guidelines for the Validation of Analytical Methods for Active Constituent, Agricultural and Veterinary Chemical Products. Australian Pesticides & Veterinary Medicines Authority. Kingston. Australia.

azoxystrobin. From Wikipedia, the free encyclopedia. [ระบบออนไลน์]. แหล่งที่มา <https://en.wikipedia.org/wiki/Azoxystrobin> (ธันวาคม 2560)

benomyl. From Wikipedia, the free encyclopedia. [ระบบออนไลน์]. แหล่งที่มา <https://en.wikipedia.org/wiki/Benomyl> (ธันวาคม 2560)

Collaborative International Pesticides Analytical Council Limited. 2003. Guidelines on method validation to be performed in support of analytical methods for agrochemical formulations. from <http://www.cipac.org/index.php/guidelines>

Dobrat W. and H A Martijn. 1998. CIPAC Handbook Vol.H : Analysis of Technical and Formulated Pesticides. Collaborative International Pesticides Analytical

Council Limited, The Black Bear Press, England.

EURACHEM Guide. 1998. The Fitness for Purpose of Analytical Method: A Laboratory Guide to Method Validation and Related Topics. EURACHEM Working Group. United Kingdom.

FAO/WHO Joint Meeting on Pesticide Specifications (JMPS). 2016. Manual on development and use of FAO and WHO Specifications for Pesticides 3rd. Pages 82 – 88, 153 -156. WORLD HEALTH ORGANIZATION FOOD AND AGRICULTURE ORGANIZATION OF THE UNITED NATIONS Rome .