

แบบรายงานเรื่องเติมผลการทดลองที่สิ้นสุด ปีงบประมาณ 2561

1. **แผนงานวิจัย** วิจัยและพัฒนาระบบการตรวจวิเคราะห์ผลิตภัณฑ์วัตถุอันตรายทางการเกษตร

2. **โครงการวิจัย** วิจัยและพัฒนาระบบการตรวจวิเคราะห์ผลิตภัณฑ์วัตถุอันตรายทางการเกษตร
 กิจกรรม การตรวจสอบความใช้ได้ของวิธีวิเคราะห์ในผลิตภัณฑ์วัตถุอันตรายทางการเกษตร
 กิจกรรมย่อย -

3. **ชื่อการทดลอง (ภาษาไทย)**
 การตรวจสอบความใช้ได้ของวิธีวิเคราะห์สารออกฤทธิ์ในผลิตภัณฑ์สารป้องกันกำจัดศัตรูพืชของห้องปฏิบัติการ
 พื้นที่ภาคตะวันออกเฉียงเหนือตอนล่าง (ปี 2559 – 2561)

4. **ชื่อการทดลอง (ภาษาอังกฤษ)**
 Validation of the method of analyzing the active ingredient in pesticide products of
 laboratories in the lower northeastern region, In the fiscal year 2016-2018

5. **คณะผู้ดำเนินงาน**
 - หัวหน้าการทดลอง** นายอิทธิพล บังพรหม (Mr. Ittipon Bongprom)
 กลุ่มพัฒนาการตรวจสอบพืชและปัจจัยการผลิต สำนักวิจัยและพัฒนาการเกษตรเขตที่ 4
 - ผู้ร่วมงาน** นางสุภาพร บังพรหม (Mrs. Supapron Bongprom)
 กลุ่มพัฒนาการตรวจสอบพืชและปัจจัยการผลิต สำนักวิจัยและพัฒนาการเกษตรเขตที่ 4
 - ผู้ร่วมงาน** นางนัตยา จันทร์ส่อง (Mrs. Nattaya Jansong)
 กลุ่มพัฒนาการตรวจสอบพืชและปัจจัยการผลิต สำนักวิจัยและพัฒนาการเกษตรเขตที่ 4

บทคัดย่อ/เรื่องย่อ

ห้องปฏิบัติการวิเคราะห์วัตถุอันตรายทางการเกษตร สำนักวิจัยและพัฒนาการเกษตรเขตที่ 4 มีภารกิจด้านการวิเคราะห์คุณภาพผลิตภัณฑ์วัตถุมีพิษการเกษตรในส่วนภูมิภาค โดยรับผิดชอบพื้นที่ภาคตะวันออกเฉียงเหนือตอนล่าง 9 จังหวัด เพื่อยืนยันคุณลักษณะของวิธีวิเคราะห์ทดสอบ มีความถูกต้อง แม่นยำ และมีความน่าเชื่อถือตามมาตรฐานสากล

ผลการตรวจสอบความใช้ได้ของวิธีวิเคราะห์หาปริมาณสารออกฤทธิ์ จำนวน 12 ชนิดสาร ได้แก่ lamda-cyhalothrin, deltamethrin, carbaryl, carbosulfan, triazophoa, dimethoate, diazinon, benomyl, pirimiphos-methyl, ethion, carbendazim, และ glyphosate ซึ่งวิเคราะห์ด้วยเทคนิค Gas Chromatograph (GC) และเทคนิค High Performance Liquid Chromatography (HPLC) พบว่า ค่า range อยู่ในช่วง 0.01 - 2.00 mg/ml ค่า linearity อยู่ใน 0.5 - 2.0 mg/ml ($R^2 = 0.999$) ความแม่นยำ (precision) ของวิธีวิเคราะห์ประเมินด้วยค่า HORRAT ทดสอบหา 2 วิธีการพบว่าค่า HORRAT < 2 และตรวจสอบความถูกต้อง (accuracy) ของวิธีการจากค่า %recovery อยู่ในช่วง 98 - 102% ตามเกณฑ์ (ปริมาณสาร $\geq 10\%$ ของ AOAC 1993) และตรวจสอบ robustness/ruggedness ของวิธีการ พบว่ามีค่า HORRAT อยู่ในเกณฑ์ HORRAT < 2 ของ AOAC 1993

ผลการตรวจสอบความใช้ได้ของวิธีวิเคราะห์สารออกฤทธิ์ทั้ง 12 ชนิดสารที่กล่าวมาข้างต้น แสดงถึงวิธีการวิเคราะห์หาปริมาณสารออกฤทธิ์ที่ให้ผลการทดสอบ มีความถูกต้องและแม่นยำ เป็นที่ยอมรับตามเกณฑ์มาตรฐานสากล และห้องปฏิบัติการวิเคราะห์วัตถุอันตรายทางการเกษตร สำนักวิจัยและพัฒนาการเกษตรเขตที่ 4 สามารถนำไปใช้เป็นวิธีมาตรฐานในการวิเคราะห์หาปริมาณสารออกฤทธิ์ดังกล่าว และเป็นข้อมูลประกอบสำหรับยื่นขอขยายขอบข่ายการรับรองมาตรฐาน ISO/IEC 17025 ต่อไป

กลุ่มพัฒนาการตรวจสอบพืชและปัจจัยการผลิต สำนักวิจัยและพัฒนาการเกษตร เขตที่ 4 ตู้ ปณ. 79 อ.เมือง
จ.อุบลราชธานี 3400

Abstract / Synopsis

Agricultural Hazardous Substances Analysis Laboratory Office of Agricultural Research and Development Region 4 has a mission to analyze the quality of toxic agricultural products in the region. Responsible for 9 lower northeastern regions to confirm the characteristics of the test method With accuracy and reliability according to international standards.

The results of validation of the method for determining the amount of active ingredients in 12 types of substances, namely lamda-cyhalothrin, deltamethrin, carbayl, carbosulfan, triazophoa, dimethoate, diazinon, benomyl, pirimiphos-methyl, ethion, carbendazim, and glyphosate, which were analyzed by technique Gas Chromatograph (GC) and High Performance Liquid Chlormatography (HPLC) techniques have found that the range is in the range of 0.01 - 2.00 mg / ml. The linearity is in 0.5 - 2.0 mg / ml ($R^2 = 0.999$). Evaluated with HORRAT test for 2 methods. HORRAT <2 and validation (accuracy) of methods from% recovery values in the range of 98 - 102% according to the criteria ($\geq 10\%$ of AOAC 1993) and examining the robustness / ruggedness of the method. It is found that HORRAT values are in HORRAT <2 of AOAC. 1993

The results of validation of the method used to analyze all 12 active substances, the substances mentioned above Shows how to analyze the amount of active ingredients that provide test results With accuracy and accuracy Accepted according to international standards And laboratory analysis of agricultural hazardous substances The Office of Agricultural Research and Development Region 4 can be used as a standard method for determining the amount of active ingredient. And is a supplementary information for applying to extend the scope of ISO / IEC 17025 certification.

Plant Inspection and Production Development Group. Office of Agricultural Research and Development Region 4. PO Box 79, Muang District, Ubon Ratchathani Province 34000

คำนำ

การตรวจสอบความใช้ได้ของวิธีวิเคราะห์ (method validation) เป็นกระบวนการที่เกิดขึ้นภายหลังการพัฒนาปรับปรุง หรือดัดแปลงวิธีที่เหมาะสมแล้ว และมีจุดมุ่งหมายเพื่อแสดงให้เห็นว่าวิธีที่พัฒนาขึ้นนั้นหรือเลือกมานั้นมีความเหมาะสมที่จะนำไปใช้งานวิเคราะห์ที่มีความถูกต้อง เพื่อนำมาใช้วิเคราะห์ตัวอย่างในห้องปฏิบัติการ ซึ่งจะช่วยให้ทราบถึงคุณสมบัติและเงื่อนไข หรือข้อจำกัดของวิธีการวิเคราะห์นั้นๆ ก่อนที่จะนำวิธีการวิเคราะห์ดังกล่าวมาใช้วิเคราะห์ตัวอย่าง การทำ method validation จึงมีความจำเป็นเพื่อยืนยันความถูกต้องของวิธีการวิเคราะห์ที่ผู้วิเคราะห์พัฒนาขึ้น หรือดัดแปลงมาจาก reference method เพื่อให้เหมาะสมกับความต้องการของห้องปฏิบัติการ เป็นการยืนยันว่าวิธีวิเคราะห์ให้ผลการวิเคราะห์ที่มีความถูกต้อง แม่นยำ ยอมรับได้ตามมาตรฐานสากล ตัวแปรที่จำเป็นต้องศึกษาตามวิธีการตรวจสอบความใช้ได้ของวิธีวิเคราะห์ (method validation) ดังนั้นห้องปฏิบัติการวิเคราะห์วัตถุอันตรายทางการเกษตร กลุ่มพัฒนาการตรวจสอบพืชและปัจจัยการผลิต สำนักวิจัยและพัฒนาการเกษตรเขตที่ 4 ได้มองเห็นความสำคัญในการ ศึกษาหาวิธีการทดสอบที่เหมาะสมกับแต่ละชนิดสาร คือ การตรวจสอบความใช้ได้ของวิธีวิเคราะห์สารออกฤทธิ์ในผลิตภัณฑ์วัตถุอันตรายทางการเกษตร โดยดำเนินการทดสอบตามคุณลักษณะของวิธีที่เกี่ยวข้องกับการใช้งานดังต่อไปนี้

1) ช่วงของการวัด (Working rang) และความเป็นเส้นตรง (linearity) ช่วงของการใช้งานหรือช่วงของการวัด (Working rang) เป็นช่วงของความเข้มข้นของสารซึ่งวิธีวิเคราะห์นั้นใช้ได้ ความเป็นเส้นตรง (linearity) เป็นคุณสมบัติ

ลักษณะเฉพาะของวิธีวิเคราะห์ที่แสดงความสัมพันธ์อย่างเป็นสัดส่วนโดยตรงระหว่างสัญญาณจากเครื่องมือตรวจวัด และความเข้มข้นของสารในช่วงของการใช้งาน ช่วงของการใช้งานจะเริ่มต้นจาก LOD หรือ LOQ ช่วงความเป็นเส้นตรงจะเป็นส่วนหนึ่งของช่วงการใช้งาน และจะเริ่มต้นที่ LOQ ทั้งช่วงการใช้งานและช่วงความเป็นเส้นตรงเป็นช่วงที่วัดได้ในสารละลายที่วัดค่าด้วยเครื่องมือวัด (final solution) ไม่ใช่ตัวอย่างตั้งต้น (original sample) การทดสอบความเป็นเส้นตรงของวิธีวิเคราะห์ ทำได้โดยทดสอบความเป็นเส้นตรงของกราฟมาตรฐาน (calibration curve) และทดสอบ matrix effect (matrix effect หมายถึง การเพิ่มขึ้นหรือลดลงของสัญญาณจากเครื่องมือวัดอันเป็นผลมาจากส่วนประกอบอื่น ๆ ที่มีในตัวอย่างแต่ไม่ใช่จากสารที่กำลังศึกษา)

2) ความถูกต้องหรือความแม่นยำ (accuracy) หมายถึง คุณลักษณะของวิธีที่แสดงความใกล้เคียงของผลการทดสอบต่อค่าจริงหรือค่าอ้างอิง การทดสอบความถูกต้องทำได้โดยการประเมินทั้ง systematic และ random effect ที่มีผลต่อการทดสอบ ความถูกต้องของวิธีการวิเคราะห์ที่วัดได้ค่าใกล้เคียงกับค่าที่แท้จริงมากที่สุด การหา accuracy ทำได้โดยวิเคราะห์ CRM (Certified Reference Material) อย่างน้อย 7 ซ้ำ และ นำมาคำนวณหาระดับความถูกต้อง ในรูปของความผิดพลาดสัมพัทธ์ (relative error) หรือ ความถูกต้องสัมพัทธ์ (relative accuracy) และการหาค่าเปอร์เซ็นต์การคืนกลับ (%recovery) การหาเปอร์เซ็นต์การคืนกลับมีทั้งในกรณีที่ไม่สามารถหา CRM ที่เหมาะสมในการวิเคราะห์ได้โดยใช้ตัวอย่างที่เติมสารมาตรฐาน (spiked sample) ซึ่งจะมีข้อจำกัดว่า accuracy ที่ได้นั้นครอบคลุมเฉพาะขั้นตอนที่วิเคราะห์ spiked sample เท่านั้น การทำ recovery จะทำ 3 ระดับความเข้มข้น และอย่างน้อยความเข้มข้นละ 7 ซ้ำ

3) การตรวจสอบความแม่นยำหรือความเที่ยง (precision) หมายถึง คุณลักษณะเฉพาะของวิธีวิเคราะห์ที่แสดงถึงความใกล้เคียงของการวิเคราะห์ซ้ำภายใต้สภาวะที่กำหนด ความแม่นยำบ่งบอกถึงความคลาดเคลื่อนสุ่ม (random error) ที่เกิดขึ้นซึ่ง precision ของวิธีการวิเคราะห์มี 2 ลักษณะคือ repeatability หมายถึง ความแม่นยำที่เกิดจากการวิเคราะห์ซ้ำๆ ในสภาวะเดียวกันโดยใช้วิธีเดียวกันในห้องปฏิบัติการเดียวกันเครื่องมือชุดเดียวกันและผู้วิเคราะห์คนเดียวกัน และ Within laboratory reproducibility หมายถึง ความแม่นยำที่เกิดจากการวิเคราะห์ซ้ำ ๆ โดยนักวิเคราะห์คนเดียวกัน หรือมากกว่า 1 คน ในช่วงเวลาต่างวันกันอาจเป็นเวลาหลายสัปดาห์

4) ruggedness/robustness คือ การทดสอบความคงทนของวิธีการทดสอบ จากการเปลี่ยนสภาวะและสิ่งแวดล้อมของวิธีที่เกิดขึ้นในการทำงานปกติ การทดสอบหา ruggedness ของวิธีการวิเคราะห์ทำโดยการเปลี่ยนแปลงวิธีการวิเคราะห์ให้ต่างไปจากเดิมเล็กน้อยและสังเกตการเปลี่ยนแปลงที่เกิดขึ้น

ห้องปฏิบัติการวิเคราะห์สารพิษตกค้างและวัตถุอันตรายทางการเกษตร กลุ่มพัฒนาการตรวจสอบพืชและปัจจัยการผลิต สำนักวิจัยและพัฒนาการเกษตรเขตที่ 4 เป็นห้องปฏิบัติการที่ให้บริการตรวจสอบและวิเคราะห์คุณภาพตัวอย่างผลิตภัณฑ์สารกำจัดศัตรูพืชในพื้นที่ภาคตะวันออกเฉียงตอนล่างจำเป็นต้องพัฒนาวิธีวิเคราะห์ให้ได้ผลการวิเคราะห์ที่ถูกต้อง แม่นยำเป็นที่น่าเชื่อถือ และใช้ผลการวิเคราะห์เพื่อขอการรับรองมาตรฐาน ISO/IEC 17025 รองรับภารกิจในการรับตัวอย่างวิเคราะห์ตาม พ.ร.บ.วัตถุอันตรายทางการเกษตรเป็นการสนับสนุนการเพิ่มประสิทธิภาพการทำงานในพื้นที่ภาคตะวันออกเฉียงเหนือตอนล่าง โดยเริ่มจากการดำเนินการตรวจสอบความใช้ได้ของวิธีวิเคราะห์สารออกฤทธิ์ในปี 2559 กลุ่มสาร : แลมบ์ดา-ไซฮาโลทริน (lambda-cyhalothrin), เดลตามิทริน (deltamethrin), คาร์บาริล (carbaryl), และคาร์โบซัลแฟน (carbosulfan) ปี 2560 กลุ่มสาร : ไตรอะโซฟอส (triazophos), ไดเมโทเอต

(dimethoate), ไดอะซินอน (diazinon), สารป้องกันกำจัดโรคพืช : เบนโนมิล (benomyl) และปี 2561 กลุ่มสาร : พิริมีฟอส-เมทิล (pirimiphos-methyl), อีไทออน (ethion), คาร์เบนดาซิม (carbendazim), และกลุ่มสารกำจัดวัชพืช : ไกลโฟเสต (glyphosate) ด้วยเทคนิค Gas Chromatograph (GC) และเทคนิค High Performance Liquid Chromatography (HPLC) สารออกฤทธิ์ที่ดำเนินการทดสอบเป็นสารกำจัดศัตรูแมลงและกำจัดวัชพืชที่ใช้อย่างแพร่หลายในพื้นที่และพบการตกค้างมากในพืชผลทางการเกษตรในพื้นที่ภาคตะวันออกเฉียงเหนือตอนล่าง (นาตยา และคณะ, 2553) ผลิตภัณฑ์สารกำจัดแมลงที่วางจำหน่ายมีหลากหลายยี่ห้อ จำเป็นต้องมีการตรวจสอบชนิด และเปอร์เซ็นต์สารออกฤทธิ์ว่าตรงตามข้อมูลที่ระบุในฉลากหรือไม่ เพื่อให้เกษตรกรได้ใช้ผลิตภัณฑ์ที่มีคุณภาพและเป็นไปตามการควบคุมใน พ.ร.บ. วัตถุอันตราย 2535 การตรวจสอบสารออกฤทธิ์ มีวิธีวิเคราะห์ตามมาตรฐาน CIPAC Handbook และตามวารสารวิชาการ โดยผู้ดำเนินงานวิจัยมีการประยุกต์วิธีการทดสอบให้ทันสมัยเหมาะสมกับเครื่องมือและอุปกรณ์ที่มีในห้องปฏิบัติการวัตถุอันตรายทางการเกษตร สำนักวิจัยและพัฒนาการเกษตรเขตที่ 4 ดังนั้นห้องปฏิบัติการจึงจำเป็นต้องดำเนินการตรวจสอบความใช้ได้ของวิธีวิเคราะห์สารออกฤทธิ์ชนิดต่างๆ ที่กล่าวมาข้างต้นเพื่อใช้เป็นวิธีมาตรฐานของห้องปฏิบัติการ มีคุณลักษณะของวิธีที่เกี่ยวข้องกับการใช้งานที่จำเป็นต้องศึกษาสำหรับการดำเนินการตรวจสอบความใช้ได้ของวิธีวิเคราะห์สารออกฤทธิ์ ได้แก่ การหาค่าช่วงการวัด (range), การหาค่า linearity, การตรวจสอบความแม่นยำ (precision) จากค่า HORRAT ของ repeatability และ reproducibility, robustness และ ruggedness, การตรวจสอบความถูกต้อง (accuracy) ซึ่งประเมินจาก HORRAT ของ % recovery โดยเทียบกับเกณฑ์มาตรฐานสากล

วัตถุประสงค์

1. เพื่อสร้างหลักประกันคุณภาพผลการทดสอบวัตถุพิษทางการเกษตร สารออกฤทธิ์ มีความถูกต้องแม่นยำ และน่าเชื่อถือตามหลักวิชาการ และใช้เป็นวิธีมาตรฐานของห้องปฏิบัติการวัตถุอันตรายทางการเกษตร สว.พ.4
2. เพื่อเตรียมความพร้อมของห้องปฏิบัติการทดสอบวัตถุอันตรายทางการเกษตรในการยื่นขอขยายขอบข่ายรับการรับรองความสามารถของห้องปฏิบัติการทดสอบตามมาตรฐาน ISO/IEC 17025

วัสดุอุปกรณ์และสารเคมี

อุปกรณ์

1. เครื่อง Gas Chromatograph (GC) หัวตรวจวัดชนิด Flame Ionization Detector (FID)
2. capillary column ชนิด 5% Phenyl Methyl Siloxane (HP-5) ยาว 30 เมตร เส้นผ่าศูนย์กลาง 0.32 มิลลิเมตร หนา 0.25 ไมโครเมตร (30m x 0.32mm ID, 0.25 μ m film thickness)

3. เครื่อง High Performance Liquid Chromatography (HPLC) หัวตรวจวัดชนิด Diode Array Detectors (DAD)
4. column Lichrospher 100 RP-18 (5 μ m) ความยาว 250 X 4.0 (i.d.mm)
5. column IC-PAK TM Anion HC4 ความยาว 250 X 4.6 mm
6. เครื่องชั่งละเอียด 4 ตำแหน่ง
7. ultrasonic bath
8. ขวดวัดปริมาตร ขนาด 10, 25, 50, 250 และ1000 มิลลิลิตร (ml)
9. ปิเปต ขนาด 2,3,4,5,8 และ10 ml
10. vial ขนาด 2 ml

สารเคมี

1. สารมาตรฐาน lamda-cyhalothrin, deltamethrin, carbayl, carbosulfan, triazophoa, dimethoate, diazinon, benomyl, pirimiphos-methyl, ethion, carbendazim, และ glyphosate
2. ผลิตภัณฑ์สารกำจัดศัตรูพืช ชนิดต่างๆ ประกอบด้วย lamda-cyhalothrin, deltamethrin, carbayl, carbosulfan, triazophoa, dimethoate, diazinon, benomyl, pirimiphos-methyl, ethion, carbendazim, และ glyphosate
3. acetone AR grade
4. methanol HPLC grade
5. acetonitrile HPLC grade
6. deionized water
7. sulfuric acid (H₂SO₄)
8. potassium dihydrogen phosphate (KH₂PO₄)

วิธีการดำเนินงาน

การดำเนินงานสำหรับการตรวจสอบความใช้ได้ของวิธีวิเคราะห์สารออกฤทธิ์ในผลิตภัณฑ์สารป้องกันกำจัดศัตรูพืชของห้องปฏิบัติการพื้นที่ภาคตะวันออกเฉียงเหนือตอนล่าง แบ่งการดำเนินงานออกเป็น 3 ปีงบประมาณ (2559-2561) ทั้งหมด 12 ชนิดสาร มีวิธีการทดสอบดังรายละเอียดต่อไปนี้

1. ทดสอบหาสภาวะที่เหมาะสมของเครื่องมือที่ใช้สำหรับการวิเคราะห์สารออกฤทธิ์แต่ละชนิด
2. การหาปริมาณสารออกฤทธิ์

2.1 การเตรียมสารละลายมาตรฐาน โดยชั่งสารมาตรฐาน 2 ซ้ำ (C_1 , C_2) ให้ได้น้ำหนักที่แน่นอน ประมาณ 10 มิลลิกรัม (mg) ใส่ใน volumetric flask ขนาด 10 ml เติมสารตัวทำละลายที่เหมาะสมประมาณ 10 ml เขย่าให้ละลายด้วย ultrasonic bath ประมาณ 15 นาที จากนั้นนำมาตั้งทิ้งไว้ให้เย็นที่อุณหภูมิห้อง ปรับปริมาตรด้วยสารตัวทำละลายเขย่าให้เข้ากัน นำใส่ vial ขนาด 2 ml

2.2 การตรวจสอบความพร้อมของเครื่องมือ โดยเปิดเครื่องตามที่กำหนดโปรแกรมควบคุมสภาวะการใช้งานไว้ เมื่อ baseline คงที่ ทดสอบฉีดสารละลายมาตรฐานเข้าเครื่องประมาณ 4 ซ้ำ เมื่อค่าพื้นที่ใต้ peak หรือความสูงของ peak แตกต่างจากค่าเฉลี่ยของการฉีดติดต่อกัน 3 ครั้งไม่เกิน 1 % จึงถือว่าเครื่องพร้อมใช้งาน เมื่อเครื่องมือพร้อมใช้งานฉีดสารละลายมาตรฐาน C_1 , C_2 ต้องมีค่า % Relative Percent Different (%RPD) ไม่เกิน 3%

$$\%RPD = \left[\frac{(\text{factor max} - \text{factor min})}{\text{factor mean}} \right] \times 100$$

2.3 การคำนวณหา Response factor

$$\text{Response factor} = \frac{\text{weigh} \times \text{purity}}{\text{peak area}}$$

$$\text{หรือ} \quad f = \frac{(S \times P)}{H_s}$$

S = น้ำหนักของสารมาตรฐานในสารละลาย (mg)

P = % ความบริสุทธิ์ของสารมาตรฐาน

H_s = พื้นที่ใต้ peak ของสารมาตรฐานในสารละลาย

2.4 การคำนวณหา % สารออกฤทธิ์ ในสารละลายตัวอย่าง

$$\text{สารมาตรฐาน content} = \frac{H_w \times f}{w}$$

H_w = พื้นที่ใต้ peak ของสารมาตรฐาน ในสารละลายตัวอย่าง

f = ค่าเฉลี่ย Response factor

w = น้ำหนักของสารตัวอย่าง ในสารละลาย (mg)

2.5 นำค่า % ของสารตัวอย่าง ที่คำนวณได้ทั้ง 10 ค่า หาค่าเฉลี่ยจะได้ % ที่แน่นอน

3. การตรวจสอบความเป็นเส้นตรง (range/linearity)

3.1 ทดสอบช่วงการวัด range

ซึ่งสารมาตรฐานที่ทราบเปอร์เซ็นต์แน่นอน ให้มีความเข้มข้นต่างๆ ไม่น้อยกว่า 5 ระดับความเข้มข้น ความเข้มข้นละ 1 ซ้ำ โดยชั่งน้ำหนักให้มีปริมาณครอบคลุมช่วงที่ใช้งาน (mg/ml) เติมสารตัวทำละลาย และเขย่าให้ละลายด้วย ultrasonic bath ปรับปริมาตรด้วยสารตัวทำละลาย นำใส่ vial ขนาด 2 ml นำไปฉีดสารละลายที่เตรียมไว้เรียงลำดับจากความเข้มข้นน้อยไปมาก นำข้อมูลที่ได้มา Plot กราฟ ระหว่างความเข้มข้นของสารมาตรฐาน (แกน x) กับ response (แกน y) พิจารณาช่วงที่เป็นเส้นตรง

3.2 หาค่า linearity

เลือกค่าความเข้มข้นจาก range ที่เป็นเส้นตรงอย่างน้อยระดับ 3 ความเข้มข้น ซึ่งสารมาตรฐานที่ทราบเปอร์เซ็นต์แน่นอน ให้มีความเข้มข้นต่างๆ ไม่น้อยกว่า 5 ระดับความเข้มข้น ความเข้มข้นละ 1 ซ้ำ โดยชั่งน้ำหนักให้มีปริมาณครอบคลุมช่วงที่ใช้งาน (mg/ml) เติมสารตัวทำละลาย และเขย่าให้ละลายด้วย ultrasonic bath ปรับปริมาตรด้วยสารตัวทำละลาย นำใส่ vial ขนาด 2 ml นำไปฉีดสารละลายที่เตรียมไว้เรียงลำดับจากความเข้มข้นน้อยไปมาก นำข้อมูลที่ได้มา Plot กราฟ ระหว่างความเข้มข้นของสารมาตรฐาน (แกน x) กับ response (แกน y) พิจารณาช่วงที่เป็นเส้นตรง คำนวณหาค่า correlation coefficient (r) เกณฑ์ยอมรับที่ $r \geq 0.995$ (AOAC Peer- Verified methods, 1993)

4. ตรวจสอบความแม่นยำ (precision)

4.1 repeatability คือการตรวจสอบความใกล้เคียงกันระหว่างข้อมูลที่วิเคราะห์ซ้ำ ในเครื่องมือห้องปฏิบัติการ ผู้ทดลองเดียวกัน ในระยะเวลาเดียวกัน แสดงผลในรูปของ % RSD จากข้อมูลทั้งหมดของการทดลอง

- ซึ่งสารมาตรฐาน 2 ซ้ำ ให้ได้น้ำหนักที่แน่นอนประมาณ 10 mg

- ซึ่งสารตัวอย่างที่ทราบเปอร์เซ็นต์แน่นอน ให้ได้ระดับความเข้มข้นในช่วงการใช้งาน 3 ระดับความเข้มข้น (mg/ml) ตามวิธีการคำนวณดังนี้

$$\text{น้ำหนักซัง (mg)} = \frac{\text{ความเข้มข้นที่เตรียม (mg/ml)} \times \text{ปริมาตรที่เตรียม} \times 100\%}{\% \text{ สารตัวอย่าง}}$$

- ทดสอบความเข้มข้นละ 10 ซ้ำ นำไปวิเคราะห์ด้วยเครื่อง GC ตามสภาวะที่เหมาะสม เพื่อวิเคราะห์หาปริมาณสารออกฤทธิ์ ในสารละลายตัวอย่าง

4.2 within laboratory reproducibility คือ การตรวจสอบความใกล้เคียงกันระหว่างข้อมูลที่วิเคราะห์ซ้ำ ในเครื่องมือ ห้องปฏิบัติการ ผู้ทดลองเดียวกัน ในช่วงเวลาที่แตกต่างกัน ทำการทดลองเช่นเดียวกับข้อ 4.1

4.3 หาค่า HORRAT ของ repeatability และ reproducibility โดยเกณฑ์การยอมรับค่า Precision ของ AOAC (1993) ยอมรับที่ < 2 คำนวณโดยใช้สูตรการคำนวณ HORRAT ดังนี้

$$\text{HORRAT} = \frac{\% \text{ RSD experimental}}{\text{Predicted Horwitz RSD}}$$

คำนวณ Predicted Horwitz RSD ตามสูตร

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

เมื่อค่า C = concentration ration

5. การตรวจสอบความถูกต้อง (accuracy)

5.1 เตรียมสารละลายมาตรฐานให้มีความเข้มข้นที่แน่นอน (4.00 mg/ml)

5.2 เตรียมสารละลาย stock sample ให้มีความเข้มข้นที่แน่นอน (1.00 mg/ml)

5.3 สร้างกราฟมาตรฐาน เตรียมสารละลาย 3 ระดับที่มีความเข้มข้น 0.4, 1.0 และ 1.6 mg/ml ครอบคลุม

ช่วงการใช้งาน

1.5.4 เตรียมสารละลายเพื่อหาค่า origin โดย ปิเปตสารละลาย stock sample ปริมาตร 5 ml ลงใน volumetric flask ขนาด 10 ml จำนวน 10 ซ้ำ ปรับปริมาตรด้วยตัวทำละลาย เขย่าให้เข้ากัน แล้วนำไปฉีดเข้าเครื่อง GC หรือ HPLC เทียบกับกราฟมาตรฐานเพื่อวิเคราะห์หาปริมาณสารออกฤทธิ์

1.5.5 เตรียมสารละลายเพื่อหาค่า recovery

- ปิเปต สารละลาย stock sample ปริมาตร 5 ml ลงใน volumetric flask ขนาด 10 ml จำนวน 30 ซ้ำ

- ปิเปต สารละลาย stock tech (4 mg/ml) ปริมาณ 1, 2 และ 3 ml ลงใน sample origin 5 ml ที่เตรียมไว้ใน volumetric flask ขนาด 10 ml อย่างละ 10 ซ้ำ ปรับปริมาตรด้วยตัวทำละลาย เขย่าให้เข้ากัน แล้วนำไปฉีดเข้าเครื่อง GC หรือ HPLC เทียบกับกราฟมาตรฐานเพื่อวิเคราะห์หาปริมาณสารออกฤทธิ์

- การประเมินค่า accuracy จาก % recovery โดยนำค่าปริมาณสารออกฤทธิ์ คือค่า origin และ spike (5.5 และ 5.5.2) มาหาค่าเฉลี่ยและคำนวณค่า %recovery โดยค่าต้องอยู่ในช่วง 98-102% ตามเกณฑ์การพิจารณาสำหรับสารที่มีปริมาณมากกว่า 10% ของ AOAC (1993) การคำนวณตามสมการดังนี้

$$\% \text{ Recovery} = \left[\frac{\text{Conc. spike sample} - \text{Conc. Original sample}}{\text{Conc. added}} \right] \times 100$$

6. ตรวจสอบ robustness และ ruggedness

1.6.1 robustness ทดสอบจากการเปลี่ยนเครื่องมือวิเคราะห์โดยเปลี่ยน capillary column จาก HP-5 (30 m. x 0.32mm.(ID.),0.25 μ m, film thickness) เป็น DB-5ms (30 m. x 0.25 mm. (ID.), 0.25 μ m, film thickness) ทำการทดลองเช่นเดียวกับที่กล่าวมาข้างต้น

1.6.2 ruggedness ทดสอบโดยเปลี่ยนผู้ทำการทดสอบ โดยใช้วิธีการทดสอบและเครื่องมือในการวิเคราะห์เดียวกัน ทำการทดลองเช่นเดียวกับที่กล่าวมาข้างต้น เหมือนกันทุกขั้นตอน

1.6.3 หาค่า HORRAT ของ robustness และ ruggedness โดยเกณฑ์การยอมรับค่า Precision ของ AOAC (1993) ยอมรับที่ < 2

7. การประมาณค่าความไม่แน่นอน (Uncertainty) ของสารออกฤทธิ์

ระยะเวลา

ตุลาคม 2559 – ตุลาคม 2561

สถานที่ทำการทดลอง

ห้องปฏิบัติการตรวจสอบวัตถุอันตรายทางการเกษตร กลุ่มพัฒนาการตรวจสอบพืชและปัจจัยการผลิต สำนักวิจัยและพัฒนาการเกษตรเขตที่ 4

ผลการดำเนินงาน

ผลการดำเนินงานสำหรับการตรวจสอบความใช้ได้ของวิธีวิเคราะห์สารออกฤทธิ์ในผลิตภัณฑ์สารป้องกันกำจัดศัตรูพืชของห้องปฏิบัติการพื้นที่ภาคตะวันออกเฉียงเหนือตอนล่าง แบ่งการดำเนินงานออกเป็น 3 ปีงบประมาณ (2559-2561) ทั้งหมด 12 ชนิดสาร มีรายละเอียดดังต่อไปนี้

1. ปีงบประมาณ 2559 กลุ่มสาร : แลมบ์ดา-ไซฮาโลทริน (lamda-cyhalothrin), เดลตาเมทริท (deltamethrin), คาร์บาริล (carbaryl), และคาร์โบซัลแฟน (carbosulfan)

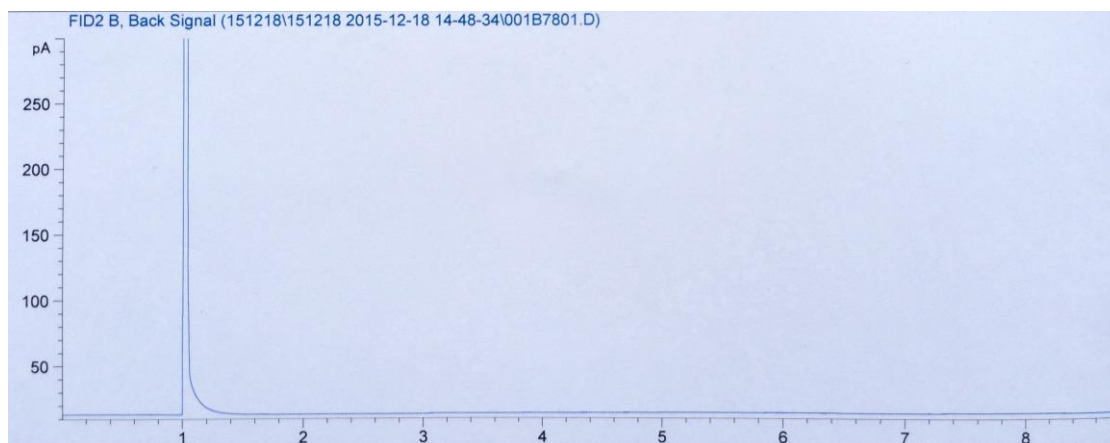
1.1 ผลการวิเคราะห์หาปริมาณสารออกฤทธิ์แลมบ์ดา-ไซฮาโลทริน (lamda-cyhalothrin)

1.1.1 ผลการพัฒนาวิธีการวิเคราะห์สาร lamda-cyhalothrin สภาวะที่เหมาะสมของเครื่อง GC-FID ในห้องปฏิบัติการวิเคราะห์วัตถุอันตรายทางการเกษตร สำนักวิจัยและพัฒนาการเกษตรเขตที่ 4 คือ

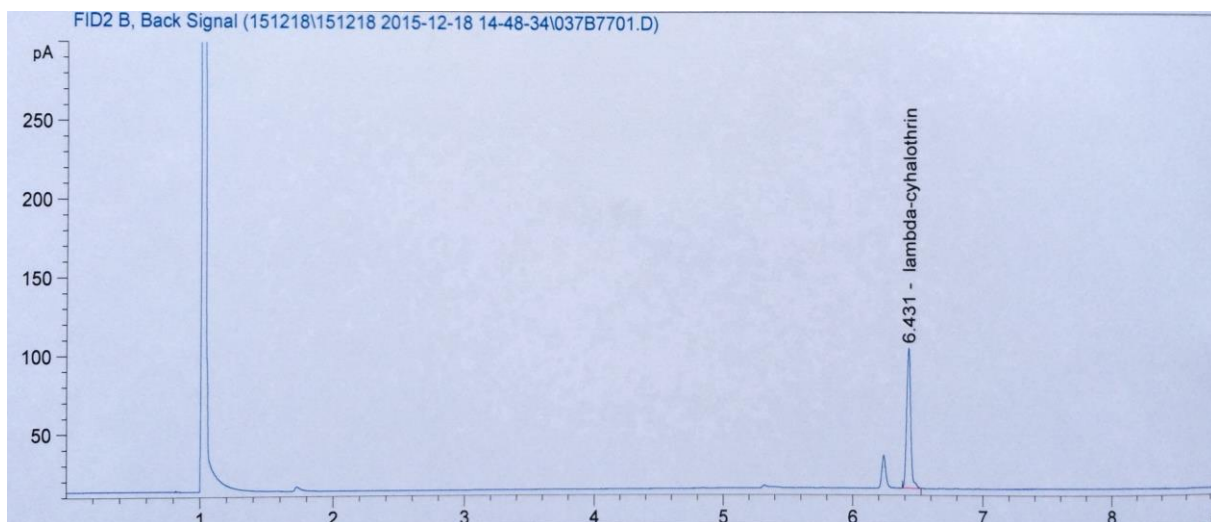
Column : capillary, HP-5 (30m x 0.32mm ID, 0.25 μ m film thickness)

Gas flow rate : Helium (carrier gas) 3 ml/min, Hydrogen 30 ml/min,
Air 300 ml/min
Split injection : Split ratio 50:1, Split flow 130 ml/min
Injection volume : 1 μ l
Temperature : Oven 220°C, Inlet 260 °C, Detector 250 °C
Detector : Flame Ionization Detector
Run Time : 9 min

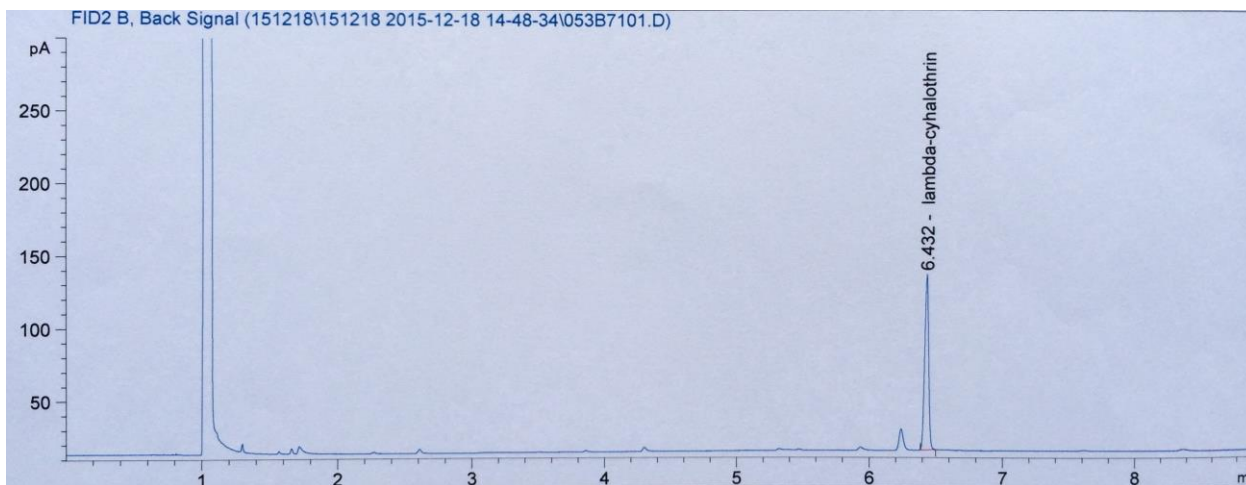
สภาวะที่เหมาะสมของเครื่อง GC-FID สำหรับการวิเคราะห์สาร lamda-cyhalothrin ผลการทดสอบ พบว่าสัญญาณของ Sovent blank ไม่มีสารอื่นรบกวนแสดงดังภาพที่ 1 สัญญาณของสารมาตรฐาน lamda-cyhalothrin และสัญญาณของสารตัวอย่าง lamda-cyhalothrin 2.5% w/v EC ไม่มีสารอื่นรบกวนแสดงดังภาพที่ 2-3



ภาพที่ 1 สัญญาณโครมาโตแกรมของ Sovent blank สำหรับการวิเคราะห์สาร lamda-cyhalothrin



ภาพที่ 2 สัญญาณโครมาโตแกรมของสัญญาณของสารมาตรฐาน lamda-cyhalothrin



ภาพที่ 3 สัญญาณโครมาโตแกรมของสัญญาณของตัวอย่าง lamda-cyhalothrin 2.5% w/v EC

1.1.2 ผลการหาปริมาณสารออกฤทธิ์ lamda-cyhalothrin

1) ค่า %RPD ของ peak area สารละลายสารมาตรฐาน C1 และ C2 มีค่าไม่เกิน 3% ผลการทดสอบแสดงดังตารางที่ 1

ตารางที่ 1 การประเมินค่า %Relative Percent Different (%RPD) ของสารมาตรฐาน lamda-cyhalothrin

สารมาตรฐาน	น้ำหนัก	peak area	average	%RPD
lamda-cyhalothrin	(mg)			
C1	10.1	234.97118	234.553	0.356
C2	10.1	234.13559		
C1	10.1	234.81293	234.611	0.172

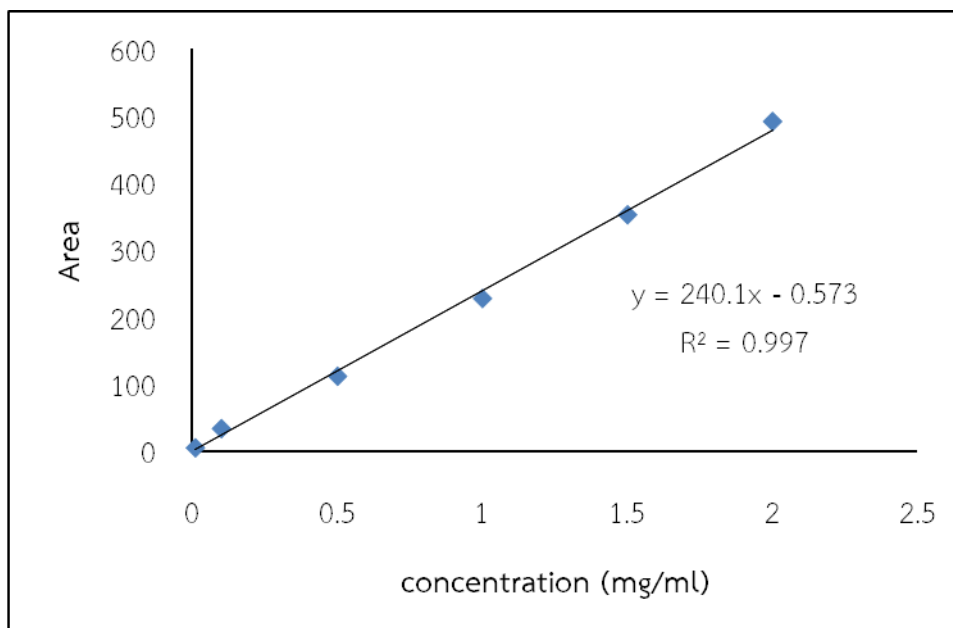
C2	10.1	234.40837		
C1	10.1	240.54567		
C2	10.1	239.33643	239.941	0.504
C1	10.1	236.15710		
C2	10.1	235.91084	236.034	0.104
C1	10.1	238.49738		
C2	10.1	238.21558	238.356	0.118
C1	10.1	237.97403		
C2	10.1	237.21519	237.595	0.319

1.1.3 ผลการตรวจสอบช่วงความเป็นเส้นตรง (range) ของสารออกฤทธิ์ lamda-cyhalothrin

การตรวจสอบช่วงของการวัด (range) ที่ระดับความเข้มข้น 0.01 - 2.00 mg/ml ผลการทดสอบแสดงดังตารางที่ 2 และนำข้อมูลผลการตรวจสอบช่วงของการวัด (range) จากตารางที่ 2 มาสร้างกราฟระหว่างความเข้มข้นกับค่า area พบว่าค่า Correlation coefficient (r^2) เท่ากับ 0.997 (เกณฑ์มาตรฐาน > 0.995) ผลการทดสอบแสดงดังตารางที่ 2 และภาพที่ 4

ตารางที่ 2 ผลการทดสอบช่วงของการวัด (range) ของสาร lamda-cyhalothrin ที่ระดับความเข้มข้น 0.01 - 2.00 mg/ml

ความเข้มข้น (mg/ml)	Peak area	level
0.01	5.152	1
0.10	33.834	2
0.50	111.971	3
1.00	227.967	4
1.50	352.791	5
2.00	492.060	6



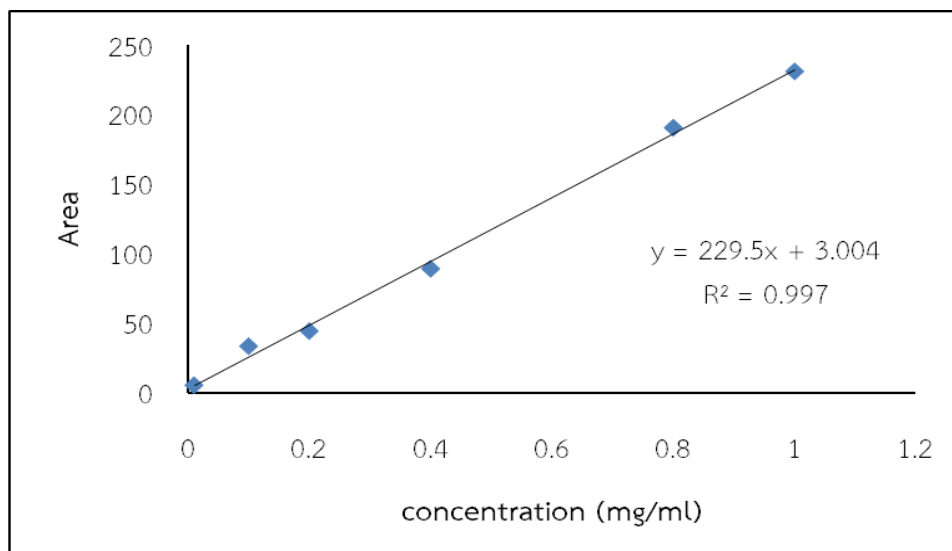
ภาพที่ 4 แสดง Calibration curves สารละลาย lamda-cyhalothrin 6 level (0.01 - 2.0 mg/ml)

1.1.4 ผลการตรวจสอบความสัมพันธ์เชิงเส้นตรง (linearity) ของสารออกฤทธิ์ lamda-cyhalothrin

การตรวจสอบความเป็นเส้นตรง (linearity) ที่ความเข้มข้น 0.01 – 1.00 mg/ml ผลการทดสอบแสดงดังตารางที่ 3 และนำข้อมูลผลการตรวจสอบความเป็นเส้นตรง (linearity) จากตารางที่ 3 มาสร้างกราฟระหว่างความเข้มข้นกับค่า area พบว่าค่า Correlation coefficient (r^2) เท่ากับ 0.997 (เกณฑ์มาตรฐาน > 0.995) ผลการวิเคราะห์แสดงดังตารางที่ 3 และภาพที่ 5

ตารางที่ 3 ผลการทดสอบความเป็นเส้นตรง (linearity) ของสาร lamda-cyhalothrin ที่ระดับความเข้มข้น 0.01 - 1.00 mg/ml

ความเข้มข้น (mg/ml)	Peak area	Level
0.01	5.175	1
0.10	32.788	2
0.20	44.213	3
0.40	89.750	4
0.80	186.958	5
1.00	229.851	6



ภาพที่ 5 แสดง Calibration curves สารละลาย lamda-cyhalothrin 6 level (0.01 - 1.0 mg/ml)

1.1.5 ตรวจสอบความเที่ยง (precision) ของสารออกฤทธิ์ lamda-cyhalothrin

การตรวจสอบความเที่ยง ของวิธีวิเคราะห์ปริมาณสารออกฤทธิ์ lamda-cyhalothrin ที่ 3 ระดับความเข้มข้น คือ 0.5, 1.0 และ 2.0 mg/ml ตามลำดับ แสดงดังตารางที่ 4

ตารางที่ 4 การตรวจสอบ precision ในผลิตภัณฑ์สารกำจัดแมลง lamda-cyhalothrin 2.5% w/v EC

จำนวน ซ้ำ	ความเข้มข้น 0.5 mg/ml		ความเข้มข้น 1.0 mg/ml		ความเข้มข้น 2.0 mg/ml	
	น้ำหนัก (mg)	%ที่ตรวจพบ	น้ำหนัก (mg)	%ที่ตรวจพบ	น้ำหนัก (mg)	%ที่ตรวจพบ
1	500.00	2.77	1000.00	2.73	2000.00	2.72
2	500.00	2.77	1000.00	2.74	2000.00	2.70
3	500.00	2.75	1000.00	2.75	2000.00	2.68
4	500.00	2.76	1000.00	2.74	2000.00	2.70
5	500.00	2.81	1000.00	2.73	2000.00	2.66
6	500.00	2.82	1000.00	2.72	2000.00	2.65
7	500.00	2.82	1000.00	2.70	2000.00	2.68
8	500.00	2.81	1000.00	2.71	2000.00	2.64
9	500.00	2.83	1000.00	2.70	2000.00	2.63
10	500.00	2.79	1000.00	2.71	2000.00	2.65
Mean	2.79		Mean	2.72	Mean	2.67
SD	0.03		SD	0.02	SD	0.03

%RSD	1.06	%RSD	0.61	%RSD	1.13
Predicted		Predicted		Predicted	
Horvitz RSD	1.64	Horvitz RSD	1.64	Horvitz RSD	1.64
HORRAT	0.65	HORRAT	0.37	HORRAT	0.69

1.1.6 ตรวจสอบความแม่นยำ (Accuracy) ของสารออกฤทธิ์ lamda-cyhalothrin

ตรวจสอบ Accuracy ในรูปของ %Recovery โดยพิจารณาตามเกณฑ์กำหนดของ AOAC สำหรับสารที่มีปริมาณมากกว่า 10% ค่า %Recovery ต้องอยู่ในช่วง 98 - 102% ทำการทดสอบที่ 3 ระดับความเข้มข้น คือ 0.5, 1.0, 2.0 mg/ml โดยเติมสารละลายมาตรฐาน lamda-cyhalothrin (10 mg/ml) ปริมาตร 0.5, 1.0 และ 2.0 ml ลงใน sample origin ปริมาตร 5 ml (0.5 mg/ml) ที่เตรียมไว้ใน volumetric flask ขนาด 10 ml จำนวน 10 ซ้ำ ปรับปริมาตรด้วย acetone ผลการวิเคราะห์ดังแสดงในตารางที่ 5 การประเมินค่า accuracy จาก %Recovery โดยการนำค่าปริมาณสารออกฤทธิ์ lamda-cyhalothrin ที่เป็นค่า origin และ spike มาหาค่าเฉลี่ยและคำนวณค่า %Recovery โดยค่าต้องอยู่ในช่วง 98 -102% ตามเกณฑ์การพิจารณาสำหรับสารที่มีปริมาณมากกว่า 10% ของ AOAC (1993) พบว่า %Recovery ของสาร lamda-cyhalothrin เท่ากับ 101.13%, 100.51% และ 100.13% ตามลำดับ ค่าที่ได้อยู่ในช่วง 98 -102% ตามเกณฑ์กำหนดของ AOAC ผลการทดสอบแสดงดังตารางที่ 5

ตารางที่ 5 ผลการทำ %Recovery ของ lamda-cyhalothrin ที่ 3 ระดับความเข้มข้น (0.5, 1.0, 2.0 mg/ml)

จำนวนซ้ำ	ตัวอย่าง เข้มข้น	Spike 1 ml (0.5 mg/ml)		Spike 2 ml (1.0 mg/ml)		Spike 3 ml (2.0 mg/ml)	
		mg/ml	%R	mg/ml	%R	mg/ml	%R
1	0.495	0.997	100.52	1.496	100.17	2.537	102.11
2	0.507	1.010	100.41	1.490	99.60	2.544	101.83
3	0.493	1.002	101.76	1.495	100.22	2.528	100.64
4	0.478	0.989	102.28	1.504	101.21	2.514	98.49
5	0.481	0.993	102.38	1.498	101.69	2.506	98.05
6	0.482	0.988	101.20	1.508	101.45	2.498	100.78
7	0.486	0.987	100.12	1.511	102.44	2.465	98.91
8	0.524	1.022	99.59	1.492	99.42	2.503	98.98
9	0.490	1.001	102.02	1.518	100.17	2.447	101.17
10	0.520	1.025	101.02	1.496	98.73	2.442	100.39
Mean	0.496	1.001	101.13	1.501	100.51	2.498	100.13

SD	0.016	0.014	0.96	0.009	1.15	0.036	1.43
%RSD	3.28	1.362	0.95	0.597	1.15	1.442	1.43

1.1.7 ผลการตรวจสอบความทน (Robustness/Ruggedness) ของวิธีทดสอบสารออกฤทธิ์ lamda-cyhalothrin ซึ่งการตรวจสอบความทน (Robustness/Ruggedness) ดำเนินการอยู่ 2 วิธีการคือ

1) ดำเนินการทดสอบตัวอย่างสารออกฤทธิ์ lamda-cyhalothrin 2.5% w/v EC ภายใต้สภาวะการทดลองเดียวกันแต่เจ้าหน้าที่ทดสอบแตกต่างกัน ผลการทดลองดังแสดงในตารางที่ 6 และจากข้อมูลผลการทดสอบพบว่า ค่า Precision ของผู้ทดสอบทั้งสองคน ได้ค่า %RSD เท่ากับ 0.99 และ 0.87 และค่า HORRAT เท่ากับ 0.60 และ 0.53 ซึ่งเกณฑ์ยอมรับทั้งสองคน (เกณฑ์ HORRAT \leq 2; AOAC) และยังพบว่าข้อมูลผลการทดสอบของเจ้าหน้าที่ทดสอบทั้งสองคนประเมินด้วยสถิติ t-test ไม่แตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญที่ระดับความเชื่อมั่น 95% ($t_{\text{stat}} = 0.11$, $t_{\text{critical}} = 2.12$) ผลการทดสอบแสดงดังตารางที่ 7

ตารางที่ 6 เปรียบเทียบผลการทดสอบสารออกฤทธิ์ lamda-cyhalothrin ระหว่างผู้ทดสอบที่ 1 และ 2

จำนวนซ้ำ	ความเข้มข้น 1.0 mg/ml			
	ผู้ทดสอบที่ 1		ผู้ทดสอบที่ 2	
	น้ำหนัก (mg)	%ที่ตรวจพบ	น้ำหนัก (mg)	%ที่ตรวจพบ
1	1000.0	2.55	1000.3	2.55
2	1000.0	2.56	1000.3	2.53
3	1000.0	2.54	1000.3	2.56
4	1000.0	2.53	1000.3	2.53
5	1000.0	2.49	1000.3	2.50
6	1000.0	2.49	1000.3	2.52
7	1000.0	2.51	1000.3	2.50
8	1000.0	2.53	1000.3	2.52
9	1000.0	2.57	1000.3	2.55
10	1000.0	2.53	1000.3	2.55
	Mean	2.53	Mean	2.53
	SD	0.03	SD	0.02
	%RSD	0.99	%RSD	0.87

Predicted Horvitz RSD	1.65	Predicted Horvitz RSD	1.65
HORRAT	0.60	HORRAT	0.53

ตารางที่ 7 t-Test: Two-Sample Assuming Equal Variances

Mean	2.53	t Stat	0.11
Variance	0.00	P(T<=t) one-tail	0.46
Observations	9.00	t Critical one-tail	1.75
Pooled Variance	0.00	P(T<=t) two-tail	0.92
Hypothesized Mean Difference	0.00	t Critical two-tail	2.12
df	16.00		

2) ดำเนินการทดสอบตัวอย่างสารออกฤทธิ์ lamda-cyhalothrin 2.5% w/v EC โดยนำไปทดสอบในห้องปฏิบัติการคนละแห่ง (ห้องปฏิบัติการ สวพ.7) เครื่องมือ GC อีกเครื่องหนึ่ง ใช้คอลัมน์ชนิดเดียวกันอีกอันหนึ่ง และภายใต้สภาวะเงื่อนไขอีกสภาวะ ผลการทดลองดังแสดงในตารางที่ 8 พบว่า ค่า Precision ของห้องปฏิบัติการ สวพ.4 และ สวพ.7 ได้ค่า %RSD เท่ากับ 1.36 และ 0.73 ตามลำดับ และยังพบว่าข้อมูลผลการทดสอบของทั้งสองห้องปฏิบัติการประเมินด้วยสถิติ t-test ไม่แตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญที่ระดับความเชื่อมั่น 95% ($t_{\text{observed}} = 1.11$, $t_{\text{critical}} = 2.12$) ผลการทดสอบแสดงดังตารางที่ 9

ตารางที่ 8 เปรียบเทียบปริมาณที่ตรวจพบของสารออกฤทธิ์ lamda-cyhalothrin 2.5% w/v EC ระหว่าง สวพ.4 และ สวพ.7

จำนวนซ้ำ	ความเข้มข้น 1.0 mg/ml			
	สวพ.4		สวพ.7	
	น้ำหนัก (mg)	%ที่ตรวจพบ	น้ำหนัก (mg)	%ที่ตรวจพบ
1	1000.0	2.73	1000.0	2.86
2	1000.0	2.74	1000.0	2.84
3	1000.0	2.75	1000.3	2.83
4	1000.0	2.74	1000.3	2.66
5	1000.0	2.73	1000.0	2.68
6	1000.0	2.72	1000.0	2.67
7	1000.0	2.70	1000.0	2.64
8	1000.0	2.71	1000.0	2.64

9	1000.0	2.70	1000.0	2.64
10	1000.0	2.71	1000.0	2.61
	Mean	2.72	Mean	2.71
	SD	0.02	SD	0.10
	%RSD	0.65	%RSD	3.56

ตารางที่ 9 t-Test: Two-Sample Assuming Equal Variances

Mean	2.72	t Stat	1.11
Variance	0.00	P(T<=t) one-tail	0.14
Observations	9.00	t Critical one-tail	1.75
Pooled Variance	0.00	P(T<=t) two-tail	0.28
Hypothesized Mean Difference	0.00	t Critical two-tail	2.12
df	16.00		

1.1.8 ผลการประมาณค่าความไม่แน่นอน (Uncertainty) ของสารออกฤทธิ์ lamda-cyhalothrin 2.5% w/v EC

ตารางที่ 10 สรุปการหาค่า Relative Standard Deviation (RSD)

Source	Value (X)	Std. Unc (U _x)	RSD (U _x /x)	RSD ²
Balance (std. w)	10 mg	0.120200	0.0120200000	0.0001444804
Balance (sample. s)	1000 mg	0.120200	0.0001202000	0.0000000144
Purity (std. p)	98.7	0.005800	0.0058763931	0.0000345320
Vol. flask (std. Ds)	10 ml	0.029000	0.0029000000	0.0000084100
Vol. flask (sample. Dw)	25 ml	0.072269	0.0028907600	0.0000083565
Area (std. Hs)	200.489545	1.098356	0.0054783706	0.0000300125
Area (sample. Hw)	252.060136	1.544324	0.0061268071	0.0000375378
Density (SG)	0.878	0.000000	0.0000000000	0.0000000000

$$\sum RSD^2$$

0.0002633436

$$U_C = C_{\text{sam}} \sqrt{RSD_w^2 + RSD_s^2 + RSD_p^2 + RSD_{D_s}^2 + RSD_{D_w}^2 + RSD_{H_s}^2 + RSD_{H_w}^2 + RSD_{SG}^2}$$

$$= 2.5 \times 0.0002633436 = 0.0405696660$$

$$U_C = 0.0405696660$$

$$U_E = 2 \times U_C$$

$$= 2 \times 0.0405696660$$

$$= 0.08$$

$$\text{รายงานค่าความไม่แน่นอน \% lamda-cyhalothrin} = 2.72 \pm 0.08$$

ค่าความไม่แน่นอนในการวัดที่รายงานเป็นค่าความไม่แน่นอนมาตรฐาน คูณแฟคเตอร์ k=2 ซึ่งมีระดับความมั่นใจประมาณ 95% ตามการกระจายแบบปกติ การประเมินค่าความไม่แน่นอนพิจารณาตาม NAMAS-NIS Guide to the Expression of Uncertainty in Testing, 1st ed. 1994 England และรายงานค่าความไม่แน่นอนเป็นเลขนัยสำคัญ 2 ตำแหน่ง

1.2 ผลการวิเคราะห์หาปริมาณสารออกฤทธิ์เดลตามาทริน (deltamethrin)

1.2.1 ผลการพัฒนาวิธีการวิเคราะห์สาร deltamethrin สภาวะที่เหมาะสมของเครื่อง GC-FID ในห้องปฏิบัติการวิเคราะห์วัตถุอันตรายทางการเกษตร สำนักวิจัยและพัฒนาการเกษตรเขตที่ 4 คือ

Column : capillary, HP-5 (30m x 0.32mm ID, 0.25 μ m film thickness)

Gas flow rate : Helium (carrier gas) 3 ml/min, Hydrogen 30 ml/min,
Air 300 ml/min

Split injection : Split ratio 50:1, Split flow 130 ml/min

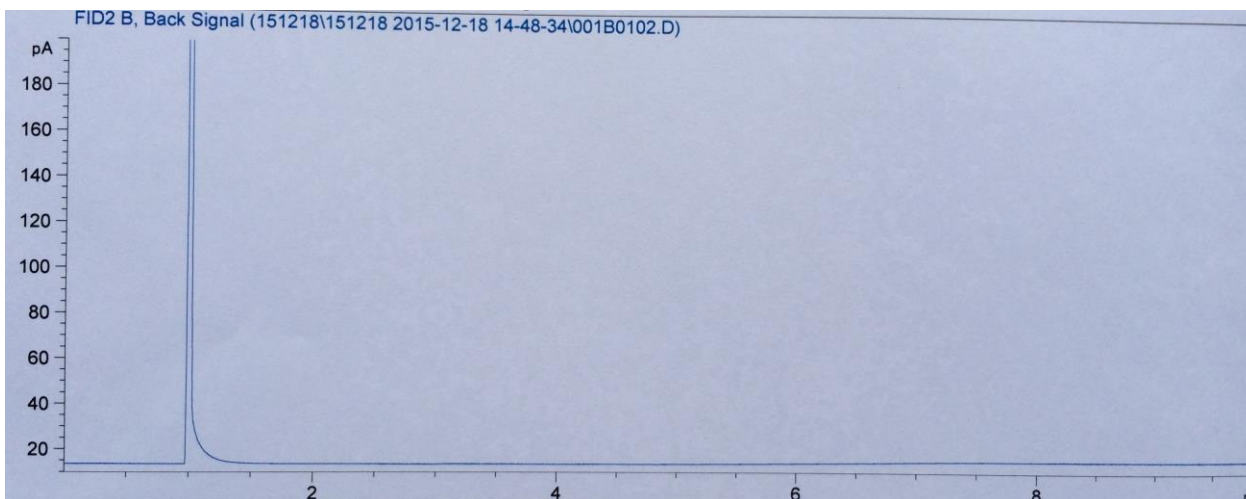
Injection volume : 1 μ l

Temperature : Oven 250°C, Inlet 250 °C, Detector 260 °C

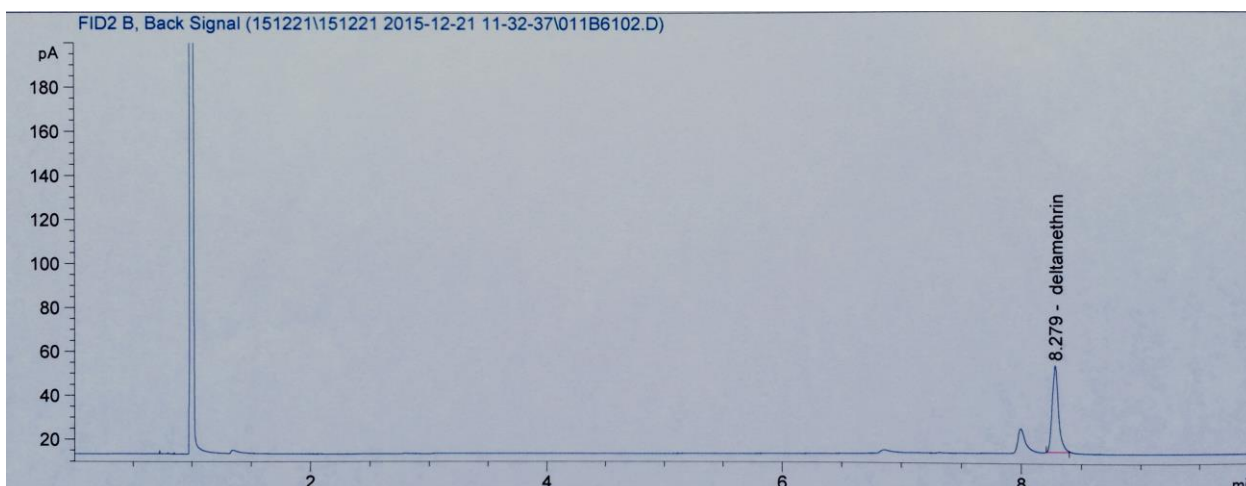
Detector : Flame Ionization Detector

Run Time : 10 min

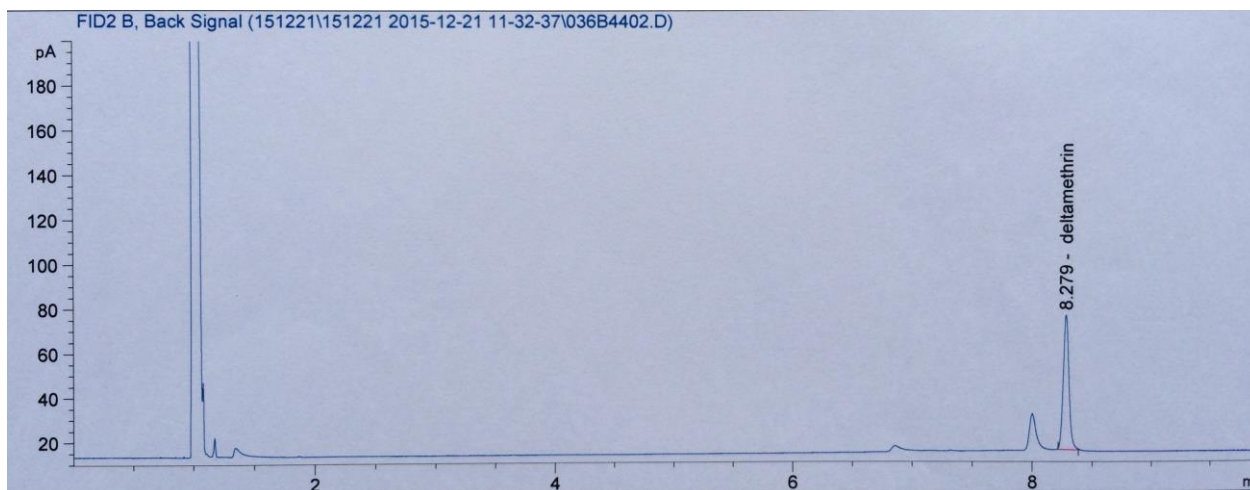
สภาวะที่เหมาะสมของเครื่อง GC-FID สำหรับการวิเคราะห์สาร deltamethrin ผลการทดสอบพบว่าสัญญาณของ Solvent blank ไม่มีสารอื่นรบกวนแสดงดังภาพที่ 6 สัญญาณของสารมาตรฐาน deltamethrin และสัญญาณของสารตัวอย่าง deltamethrin 3% w/v EC ไม่มีสารอื่นรบกวนแสดงดังภาพที่ 7- 8



ภาพที่ 6 สัญญาณโครมาโตแกรมของ Solvent blank สำหรับการวิเคราะห์สาร deltamethrin



ภาพที่ 7 สัญญาณโครมาโตแกรมของสัญญาณของสารมาตรฐาน deltamethrin



ภาพที่ 8 สัญญาณโครมาโตแกรมของสัญญาณของตัวอย่าง deltamethrin 3% w/v EC

1.2.2 ผลการหาปริมาณสารออกฤทธิ์ deltamethrin

1) ค่า %RPD ของ peak area สารละลายสารมาตรฐาน C1 และ C2 มีค่าไม่เกิน 3% ผลการทดสอบแสดงดังตารางที่ 11

ตารางที่ 11 การประเมินค่า %Relative Percent Different (%RPD) ของสารมาตรฐาน deltamethrin

สารมาตรฐาน	น้ำหนัก	peak area	average	%RPD
deltamethrin	(mg)			
C1	10.6	172.70201		
C2	10.6	172.74664	172.724	0.026
C1	10.6	171.84627		
C2	10.6	172.54124	172.194	0.404

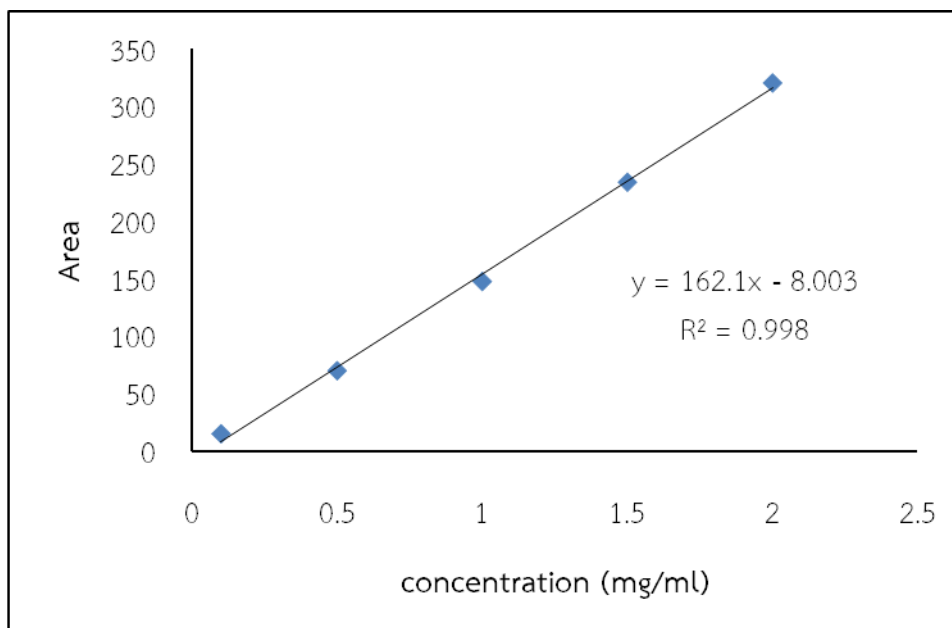
C1	10.6	171.74489		
C2	10.6	172.70201	172.223	0.556
C1	10.6	174.33099		
C2	10.6	172.74664	173.539	0.913
C1	10.6	171.64706		
C2	10.6	173.16266	172.405	0.879
C1	10.6	172.75098		
C2	10.6	173.59818	173.175	0.489

1.2.3 ผลการตรวจสอบความเป็นเส้นตรง (range/linearity)

1) การตรวจสอบช่วงของการวัด (range) ที่ระดับความเข้มข้น 0.10 - 2.00 mg/ml ผลการทดสอบแสดงดังตารางที่ 12 และนำข้อมูลผลการตรวจสอบช่วงของการวัด (range) จากตารางที่ 12 มาสร้างกราฟระหว่างความเข้มข้นกับค่า area พบว่าค่า Correlation coefficient (r^2) เท่ากับ 0.998 (เกณฑ์มาตรฐาน > 0.995) ผลการทดสอบแสดงดังตารางที่ 12 และภาพที่ 9

ตารางที่ 12 ผลการทดสอบช่วงของการวัด (range) ของสาร deltamethrin ที่ระดับความเข้มข้น 0.10 - 2.00 mg/ml

ความเข้มข้น (mg/ml)	Peak area	level
0.10	14.617	1
0.50	69.646	2
1.00	147.547	3
1.50	234.187	4
2.00	320.788	5

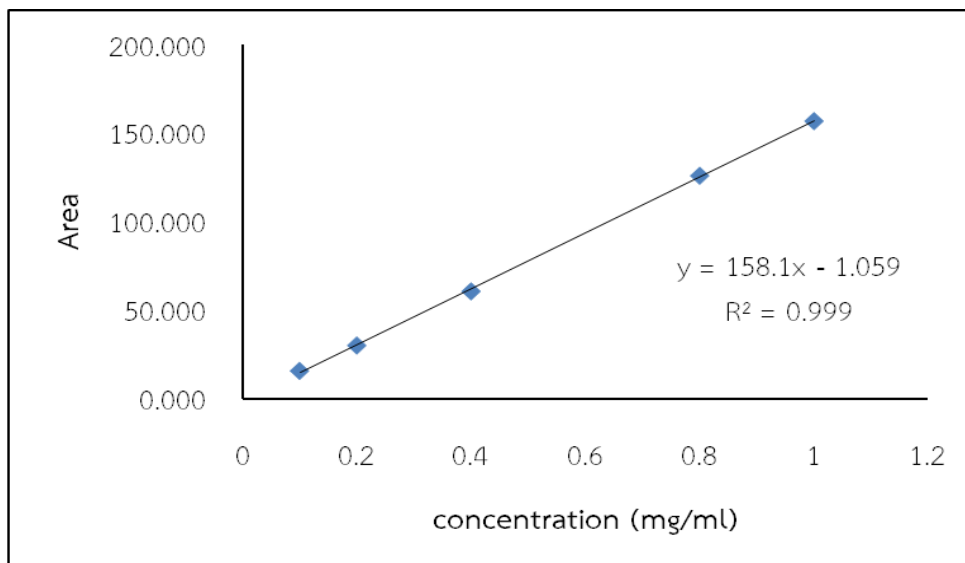


ภาพที่ 9 แสดง Calibration curves สารละลาย deltamethrin 5 level (0.10 - 2.0 mg/ml)

2) การตรวจสอบความเป็นเส้นตรง (linearity) ที่ความเข้มข้น 0.10 – 1.00 mg/ml ผลการทดสอบแสดงดังตารางที่ 13 และนำข้อมูลผลการตรวจสอบความเป็นเส้นตรง (linearity) จากตารางที่ 13 มาสร้างกราฟระหว่างความเข้มข้นกับค่า area พบว่าค่า Correlation coefficient (r^2) เท่ากับ 0.999 (เกณฑ์มาตรฐาน > 0.995) ผลการวิเคราะห์แสดงดังตารางที่ 13 และภาพที่ 10

ตารางที่ 13 ผลการทดสอบความเป็นเส้นตรง (linearity) ของสาร deltamethrin ที่ระดับความเข้มข้น 0.01 - 1.00 mg/ml

ความเข้มข้น (mg/ml)	Peak area	Level
0.10	15.847	1
0.20	30.189	2
0.40	60.793	3
0.80	126.148	4
1.00	156.987	5



ภาพที่ 10 แสดง Calibration curves สารละลาย deltamethrin 5 level (0.10 - 1.00 mg/ml)

1.2.4 ตรวจสอบความเที่ยง (precision)

การตรวจสอบความเที่ยง ของวิธีวิเคราะห์ปริมาณสารออกฤทธิ์ deltamethrin ที่ 3 ระดับความเข้มข้น คือ 0.50, 1.00 และ 2.00 mg/ml ตามลำดับ แสดงดังตารางที่ 14

ตารางที่ 14 การตรวจสอบ precision ในผลิตภัณฑ์สารกำจัดแมลง deltamethrin 3% w/v CE

จำนวนซ้ำ	ความเข้มข้น 0.5 mg/ml		ความเข้มข้น 1.0 mg/ml		ความเข้มข้น 2.0 mg/ml	
	น้ำหนัก (mg)	%ที่ตรวจพบ	น้ำหนัก (mg)	%ที่ตรวจพบ	น้ำหนัก (mg)	%ที่ตรวจพบ
1	416.60	3.13	833.30	3.04	1666.60	3.03
2	416.60	3.18	833.30	3.10	1666.60	2.96
3	416.60	3.21	833.30	3.16	1666.60	2.98
4	416.60	3.16	833.30	3.11	1666.60	3.02
5	416.60	3.11	833.30	3.02	1666.60	3.00
6	416.60	3.09	833.30	3.13	1666.60	2.94
7	416.60	3.07	833.30	3.00	1666.60	2.91
8	416.60	3.10	833.30	2.98	1666.60	2.90
9	416.60	3.09	833.30	3.03	1666.60	2.90
10	416.60	3.10	833.30	3.00	1666.60	2.92
	Mean	3.12	Mean	3.06	Mean	2.96
	SD	0.04	SD	0.06	SD	0.05

%RSD	1.38	%RSD	2.00	%RSD	1.68
Predicted		Predicted		Predicted	
Horvitz RSD	1.63	Horvitz RSD	1.63	Horvitz RSD	1.63
HORRAT	0.85	HORRAT	1.23	HORRAT	1.03

1.2.6 ตรวจสอบความแม่นยำ (Accuracy) ของสารออกฤทธิ์ deltamethrin 3% w/v EC

ตรวจสอบ Accuracy ในรูปของ %Recovery โดยพิจารณาตามเกณฑ์กำหนดของ AOAC สำหรับสารที่มีปริมาณมากกว่า 10% ค่า % Recovery ต้องอยู่ในช่วง 98 - 102% ทำการทดสอบที่ 3 ระดับความเข้มข้น คือ 0.5, 1.0, 2.0 mg/ml โดยเติมสารละลายมาตรฐาน deltamethrin (10 mg/ml) ปริมาตร 0.5, 1.0 และ 2.0 ml ลงใน sample origin ปริมาตร 5 ml (0.5 mg/ml) ที่เตรียมไว้ใน volumetric flask ขนาด 10 ml จำนวน 10 ซ้ำ ปรับปริมาตรด้วย acetone ผลการวิเคราะห์ดังแสดงในตารางที่ 15 การประเมินค่า accuracy จาก %Recovery โดยการนำค่าปริมาณสารออกฤทธิ์ deltamethrin ที่เป็นค่า origin และ spike มาหาค่าเฉลี่ยและคำนวณค่า %Recovery โดยค่าต้องอยู่ในช่วง 98 -102% ตามเกณฑ์การพิจารณาสำหรับสารที่มีปริมาณมากกว่า 10% ของ AOAC (1993) พบว่า %Recovery ของสาร deltamethrin เท่ากับ 100.03%, 100.69% และ 100.90% ตามลำดับ ค่าที่ได้อยู่ในช่วง 98 - 102% ตามเกณฑ์กำหนดของ AOAC ผลการทดสอบแสดงดังตารางที่ 15

ตารางที่ 15 ผลการทำ %Recovery ของ deltamethrin ที่ 3 ระดับความเข้มข้น (0.5, 1.0, 2.0 mg/ml)

จำนวนซ้ำ	ตัวอย่าง เข้มข้น	Spike 1 ml (0.5 mg/ml)		Spike 2 ml (1.0 mg/ml)		Spike 3 ml (2.0 mg/ml)	
		mg/ml	%R	mg/ml	%R	mg/ml	%R
1	0.514	1.005	98.19	1.529	101.53	2.561	102.37
2	0.512	1.005	98.55	1.515	100.36	2.568	102.80
3	0.515	1.009	98.72	1.523	100.76	2.560	102.22
4	0.508	1.005	99.30	1.528	101.96	2.482	98.67
5	0.497	0.996	99.83	1.506	100.90	2.480	99.16
6	0.497	1.004	101.42	1.487	99.00	2.535	101.91
7	0.497	0.996	99.80	1.498	100.13	2.533	101.83
8	0.498	1.000	100.48	1.509	101.06	2.524	101.31
9	0.485	0.994	101.84	1.492	100.68	2.472	99.33
10	0.483	0.994	102.21	1.489	100.55	2.472	99.42
Mean	0.501	1.001	100.03	1.508	100.69	2.519	100.90

SD	0.011	0.005	1.42	0.016	0.80	0.039	1.57
%RSD	2.27	0.528	0.53	1.063	0.80	1.547	1.56

1.2.7 ผลการตรวจสอบความทน (Robustness/Ruggedness) ของวิธีทดสอบสารออกฤทธิ์ deltamethrin ซึ่งการตรวจสอบความทน (Robustness/Ruggedness) ดำเนินการอยู่ 2 วิธีการคือ

1) ดำเนินการทดสอบตัวอย่างสารออกฤทธิ์ deltamethrin 3% w/v EC ภายใต้สภาวะการทดลองเดียวกันแต่เจ้าหน้าที่ทดสอบแตกต่างกัน ผลการทดลองดังแสดงในตารางที่ 16 และจากข้อมูลผลการทดสอบพบว่า ค่า Precision ของผู้ทดสอบทั้งสองคน ได้ค่า %RSD เท่ากับ 2.54 และ 1.24 และค่า HORRAT เท่ากับ 1.56 และ 0.76 ซึ่งเกณฑ์ยอมรับทั้งสองคน (เกณฑ์ HORRAT \leq 2; AOAC) และยังพบว่าข้อมูลผลการทดสอบของเจ้าหน้าที่ทดสอบทั้งสองคนประเมินด้วยสถิติ t-test ไม่แตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญที่ระดับความเชื่อมั่น 95% ($t_{\text{observed}} = 0.36$, $t_{\text{critical}} = 2.12$) ผลการทดสอบแสดงดังตารางที่ 17

ตารางที่ 16 เปรียบเทียบผลการทดสอบสารออกฤทธิ์ deltamethrin 3% w/v EC ระหว่างผู้ทดสอบที่ 1 และ 2

จำนวนซ้ำ	ความเข้มข้น 1.0 mg/ml			
	ผู้ทดสอบที่ 1		ผู้ทดสอบที่ 2	
	น้ำหนัก (mg)	%ที่ตรวจพบ	น้ำหนัก (mg)	%ที่ตรวจพบ
1	833.3	2.94	833.3	2.92
2	833.3	2.86	833.3	2.89
3	833.3	2.97	833.3	2.82
4	833.3	2.90	833.3	2.90
5	833.3	2.90	833.3	2.86
6	833.3	2.80	833.3	2.81
7	833.3	2.80	833.3	2.85
8	833.3	2.84	833.3	2.89
9	833.3	2.79	833.3	2.85
10	833.3	2.99	833.3	2.88
	Mean	2.88	Mean	2.87
	SD	0.07	SD	0.04

%RSD	2.54	%RSD	1.24
Predicted Horvitz RSD	1.63	Predicted Horvitz RSD	1.64
HORRAT	1.56	HORRAT	0.76

ตารางที่ 17 t-Test: Two-Sample Assuming Equal Variances

Mean	2.87	t Stat	0.36
Variance	0.01	P(T<=t) one-tail	0.36
Observations	9.00	t Critical one-tail	1.75
Pooled Variance	0.00	P(T<=t) two-tail	0.72
Hypothesized Mean Difference	0.00	t Critical two-tail	2.12
df	16.00		

2) ดำเนินการทดสอบตัวอย่างสารออกฤทธิ์ deltamethrin 3% w/v EC โดยนำไปทดสอบในห้องปฏิบัติการคนละแห่ง (ห้องปฏิบัติการ สวพ.7) เครื่องมือ GC อีกเครื่องหนึ่ง ใช้คอลัมน์ชนิดเดียวกันอีกอันหนึ่ง และภายใต้สภาวะเงื่อนไขอีกสภาวะ ผลการทดลองดังแสดงในตารางที่ 18 พบว่า ค่า Precision ของห้องปฏิบัติการ สวพ.4 และ สวพ.7 ได้ค่า %RSD เท่ากับ 1.36 และ 0.73 ตามลำดับ และยังพบว่าข้อมูลผลการทดสอบของทั้งสองห้องปฏิบัติการประเมินด้วยสถิติ t-test ไม่แตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญที่ระดับความเชื่อมั่น 95% ($t_{\text{observed}} = 0.58$, $t_{\text{critical}} = 2.12$) ผลการทดสอบแสดงดังตารางที่ 19

ตารางที่ 18 เปรียบเทียบปริมาณที่ตรวจพบของสารออกฤทธิ์ deltamethrin 3% w/v EC ระหว่าง สวพ.4 และ สวพ.7

จำนวนซ้ำ	ความเข้มข้น 1.0 (mg/ml)			
	สวพ.4		สวพ.7	
	น้ำหนัก (mg)	%ที่ตรวจพบ	น้ำหนัก (mg)	%ที่ตรวจพบ
1	833.3	3.04	833.3	2.98
2	833.3	3.10	833.2	2.97
3	833.3	3.16	833.3	2.99
4	833.3	3.11	833.3	2.95
5	833.3	3.02	833.3	2.91
6	833.3	3.13	833.3	2.90
7	833.3	3.00	833.3	3.16
8	833.3	2.98	833.3	3.14

9	833.3	3.03	833.2	3.14
10	833.3	3.00	833.3	3.14
	Mean	3.06	Mean	3.03
	SD	0.06	SD	0.10
	%RSD	2.00	%RSD	3.45

ตารางที่ 19 t-Test: Two-Sample Assuming Equal Variances

Mean	3.06	t Stat	0.58
Variance	0.00	P(T<=t) one-tail	0.29
Observations	9.00	t Critical one-tail	1.75
Pooled Variance	0.01	P(T<=t) two-tail	0.57
Hypothesized Mean Difference	0.00	t Critical two-tail	2.12
df	16.00		

1.2.8 ผลการประมาณค่าความไม่แน่นอน (Uncertainty) ของสารออกฤทธิ์ deltamethrin
3% w/v EC

ตารางที่ 20 สรุปการหาค่า Relative Standard Deviation (RSD)

Source	Value (X)	Std. Unc (U _x)	RSD (U _x /x)	RSD ²
Balance (std. w)	10 mg	0.120200	0.0114476190	0.0001310480
Balance (sample. s)	833.3 mg	0.120200	0.0001442458	0.0000000208
Purity (std. p)	99.5	0.005800	0.0058291457	0.0000339789
Vol. flask (std. Ds)	10 ml	0.029000	0.0029000000	0.0000084100
Vol. flask (sample. Dw)	25 ml	0.072269	0.0028907600	0.0000083565
Area (std. Hs)	143.037375	1.098356	0.0076788045	0.0000589640
Area (sample. Hw)	156.570962	1.544324	0.0098634115	0.0000972869
Density (SG)	0.891	0.000000	0.0000000000	0.0000000000
$\sum RSD^2$				0.0000403947

$$\begin{aligned}
 U_C &= C_{\text{sam}} \sqrt{RSD_w^2 + RSD_s^2 + RSD_p^2 + RSD_{D_s}^2 + RSD_{D_w}^2 + RSD_{H_s}^2 + RSD_{H_w}^2 + RSD_{SG}^2} \\
 &= 3 \times 0.0000403947 = 0.0551596439 \\
 U_C &= 0.0551596439 \\
 U_E &= 2 \times U_C \\
 &= 2 \times 0.0551596439 \\
 &= 0.11
 \end{aligned}$$

$$\text{รายงานค่าความไม่แน่นอน } \% \text{ deltamethrin} = 3.06 \pm 0.11$$

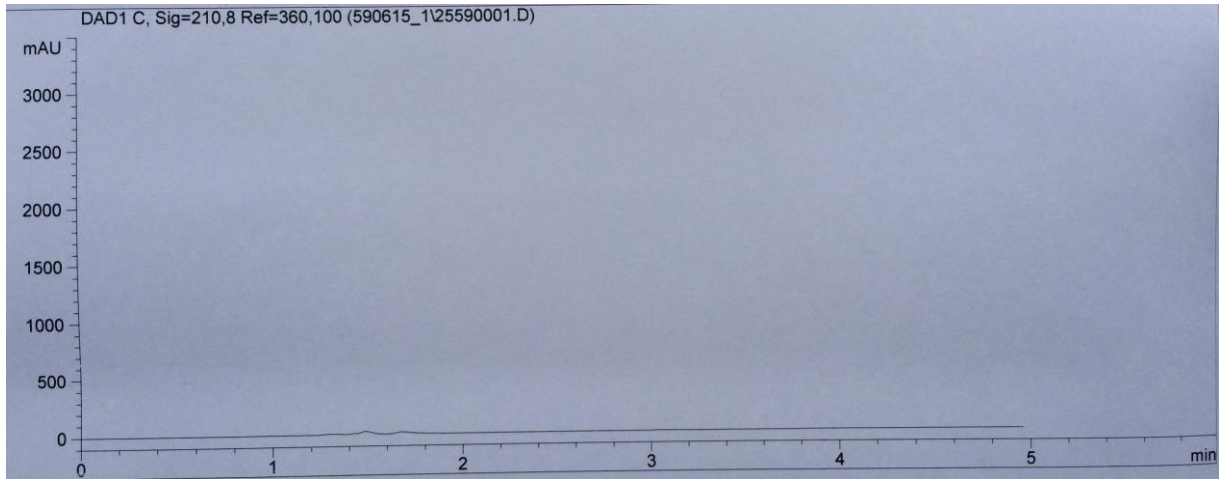
ค่าความไม่แน่นอนในการวัดที่รายงานเป็นค่าความไม่แน่นอนมาตรฐาน คูณแฟคเตอร์ $k=2$ ซึ่งมีระดับความมั่นใจประมาณ 95% ตามการกระจายแบบปกติ การประเมินค่าความไม่แน่นอนพิจารณาตาม NAMAS-NIS Guide to the Expression of Uncertainty in Testing, 1st ed. 1994 England และรายงานค่าความไม่แน่นอนเป็นเลขนัยสำคัญ 2 ตำแหน่ง

1.3. ผลการวิเคราะห์หาปริมาณสารออกฤทธิ์คาร์บาริล (carbaryl)

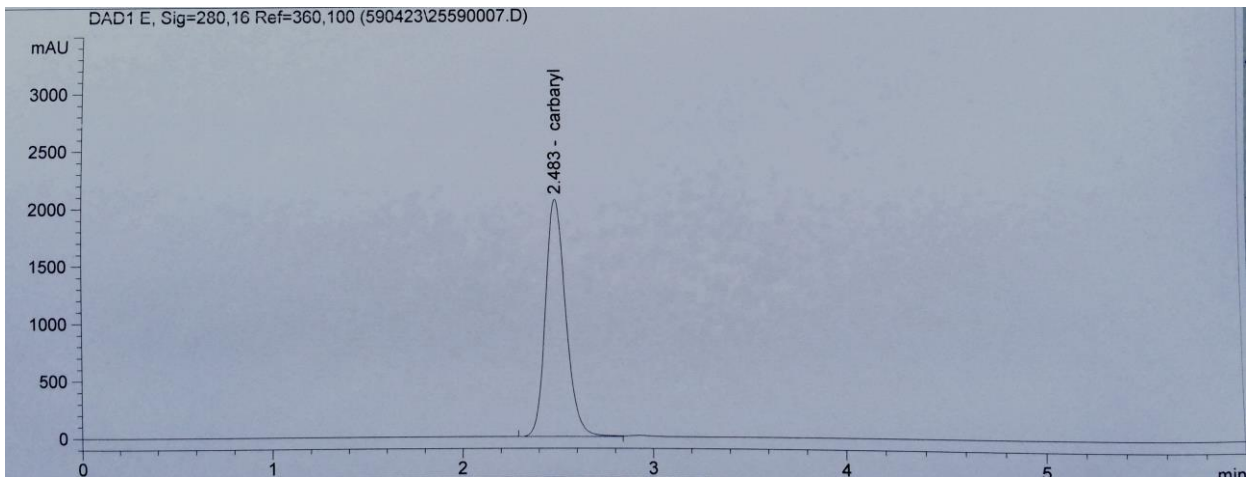
1.3.1 ผลการพัฒนาวิธีการวิเคราะห์สาร carbaryl สภาวะที่เหมาะสมของเครื่อง HPLC ในห้องปฏิบัติการวิเคราะห์วัตถุอันตรายทางการเกษตร สำนักวิจัยและพัฒนาการเกษตรเขตที่ 4 คือ

Column :	Lichrospher 100 RP-18 (5 μ m) ความยาว 250 X 4.0 (i.d.mm)
Mobile phase :	methanol : water (70 :30)
Injection volume :	10 μ l
Detector :	Diodearray Detector (254 nm)
Run Time :	5.0 min

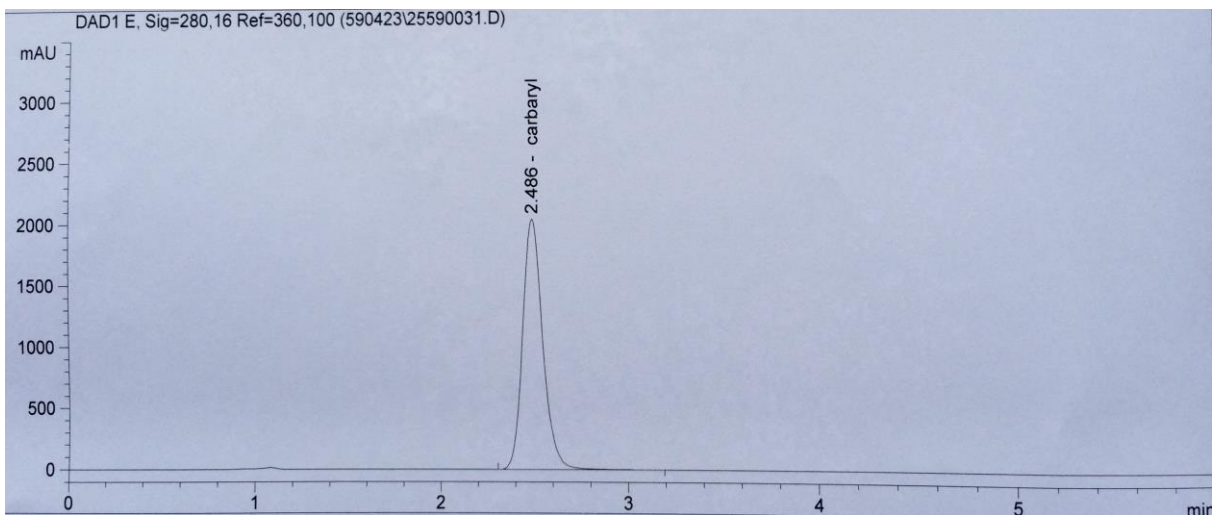
สภาวะที่เหมาะสมของเครื่อง HPLC-DAD สำหรับการวิเคราะห์สาร carbaryl ผลการทดสอบพบว่าสัญญาณของ Solvent blank ไม่มีสารอื่นรบกวนแสดงดังภาพที่ 11 สัญญาณของสารมาตรฐาน carbaryl และสัญญาณของสารตัวอย่าง carbaryl 85% ไม่มีสารอื่นรบกวนแสดงดังภาพที่ 12-13



ภาพที่ 11 สัญญาณโครมาโตแกรมของ Solvent blank สำหรับการวิเคราะห์สาร carbaryl



ภาพที่ 12 สัญญาณโครมาโตแกรมของสัญญาณของสารมาตรฐาน carbaryl



ภาพที่ 13 สัญญาณโครมาโตแกรมของสัญญาณของตัวอย่าง carbaryl 85%

1.3.2 ผลการหาปริมาณสารออกฤทธิ์ carbaryl

1) ค่า %RPD ของ peak area สารละลายสารมาตรฐาน C1 และ C2 มีค่าไม่เกิน 3% ผลการทดสอบแสดงดังตารางที่ 21

ตารางที่ 21 การประเมินค่า %Relative Percent Different (%RPD) ของสารมาตรฐาน carbaryl

สารมาตรฐาน carbaryl	น้ำหนัก (mg)	peak area	average	%RPD
C1	10.7	26147.80000		
C2	10.6	26054.40000	26101.100	0.358
C1	10.7	25704.10000		
C2	10.6	25684.50000	25694.300	0.076
C1	10.7	25822.60000		
C2	10.6	25828.70000	25825.650	0.024
C1	10.7	25697.80000		
C2	10.6	25704.40000	25701.100	0.026
C1	10.7	25856.80000		
C2	10.6	25892.40000	25874.600	0.138
C1	10.7	25836.10000		
C2	10.6	25876.50000	25856.300	0.156

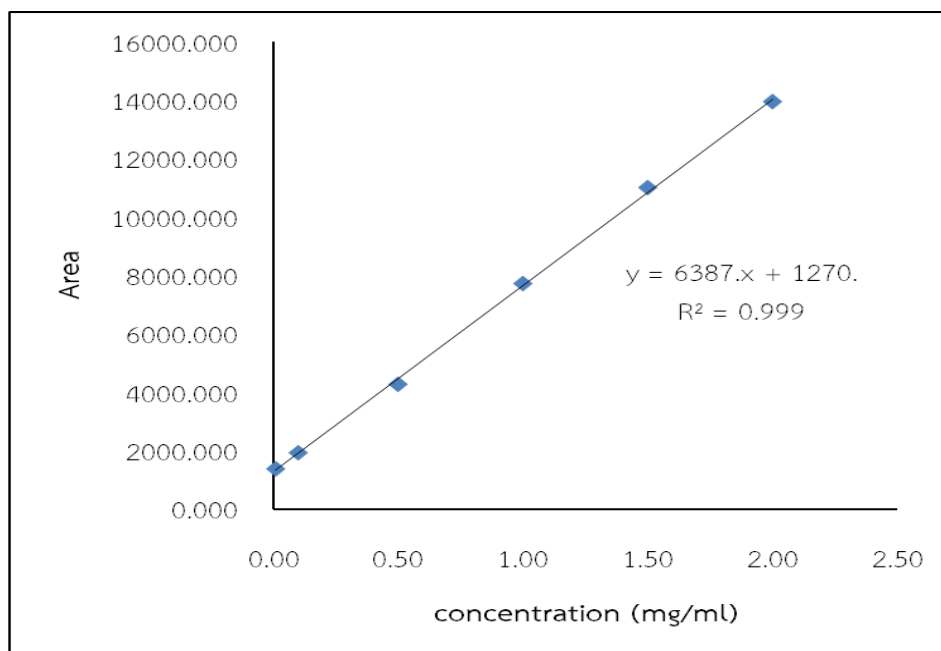
1.3.3 ผลการตรวจสอบความเป็นเส้นตรง (range/linearity)

1) การตรวจสอบช่วงของการวัด (range) ที่ระดับความเข้มข้น 0.01 - 2.0 mg/ml ผลการทดสอบแสดงดังตารางที่ 22 และนำข้อมูลผลการตรวจสอบช่วงของการวัด (range) จากตารางที่ 22 มาสร้างกราฟระหว่างความเข้มข้นกับค่า area พบว่าค่า Correlation coefficient (r^2) เท่ากับ 0.999 (เกณฑ์มาตรฐาน > 0.995) ผลการทดสอบแสดงดังตารางที่ 22 และภาพที่ 14

ตารางที่ 22 ผลการทดสอบช่วงของการวัด (range) ของสาร carbaryl ที่ระดับความเข้มข้น 0.01 - 2.0 mg/ml

ความเข้มข้น (mg/ml)	Peak area	level
---------------------	-----------	-------

0.01	1383.330	1
0.10	1933.036	2
0.50	4275.592	3
1.00	7721.603	4
1.50	11003.450	5
2.00	13944.100	6



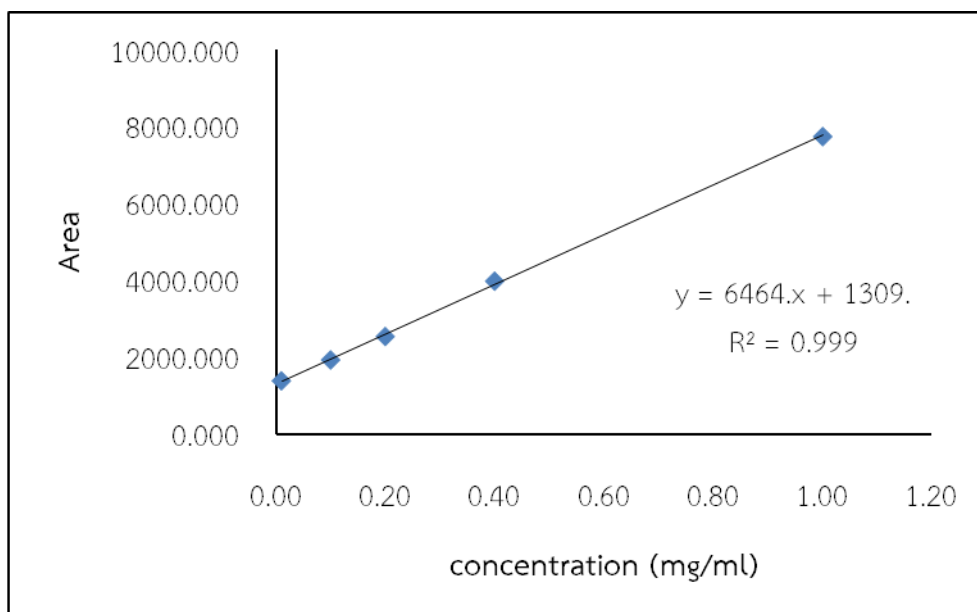
ภาพที่ 14 แสดง Calibration curves สารละลาย carbaryl 6 level (0.01 - 2.00 mg/ml)

2) การตรวจสอบความเป็นเส้นตรง (linearity) ที่ความเข้มข้น 0.01 – 1.00 mg/ml ผลการทดสอบแสดงดังตารางที่ 23 และนำข้อมูลผลการตรวจสอบความเป็นเส้นตรง (linearity) จากตารางที่ 23 มาสร้างกราฟระหว่างความเข้มข้นกับค่า area พบว่าค่า Correlation coefficient (r^2) เท่ากับ 0.999 (เกณฑ์มาตรฐาน > 0.995) ผลการวิเคราะห์แสดงดังตารางที่ 23 และภาพที่ 15

ตารางที่ 23 ผลการทดสอบความเป็นเส้นตรง (linearity) ของสาร carbaryl ที่ระดับความเข้มข้น 0.01 - 1.00 mg/ml

ความเข้มข้น (mg/ml)	Peak area	Level
---------------------	-----------	-------

0.01	1388.220	1
0.10	1933.036	2
0.20	2543.58	3
0.40	3985.592	4
1.00	7751.603	5



ภาพที่ 15 แสดง Calibration curves สารละลาย carbaryl 5 level (0.01 - 1.00 mg/ml)

1.3.5 ตรวจสอบความเที่ยง (precision)

การตรวจสอบความเที่ยง ของวิธีวิเคราะห์ปริมาณสารออกฤทธิ์ carbaryl ที่ 3 ระดับความเข้มข้น คือ 0.3, 0.5 และ 1.0 mg/ml ตามลำดับ แสดงดังตารางที่ 24

ตารางที่ 24 การตรวจสอบ precision ในผลิตภัณฑ์สารกำจัดแมลง carbaryl 85%

จำนวน ซ้ำ	ความเข้มข้น 0.3 mg/ml		ความเข้มข้น 0.5 mg/ml		ความเข้มข้น 1.0 mg/ml	
	น้ำหนัก (mg)	%ที่ตรวจพบ	น้ำหนัก (mg)	%ที่ตรวจพบ	น้ำหนัก (mg)	%ที่ตรวจพบ
1	8.80	91.93	14.70	92.77	29.40	91.42
2	8.80	90.54	14.70	92.84	29.40	91.70
3	8.80	90.47	14.70	92.09	29.40	91.49
4	8.80	90.44	14.70	91.95	29.40	91.53
5	8.80	90.74	14.70	91.61	29.40	91.57
6	8.80	91.29	14.70	91.38	29.40	91.42
7	8.80	90.49	14.70	91.37	29.40	91.95
8	8.80	90.45	14.70	91.94	29.40	91.48
9	8.80	91.49	14.70	91.27	29.40	91.79
10	8.80	90.45	14.70	91.94	29.40	91.82
Mean	90.83		Mean	91.92	Mean	91.62
SD	0.54		SD	0.55	SD	0.19
%RSD	0.60		%RSD	0.60	%RSD	0.20
Predicted			Predicted		Predicted	
Horvitz RSD	1.33		Horvitz RSD	1.33	Horvitz RSD	1.33
HORRAT	0.45		HORRAT	0.45	HORRAT	0.15

1.3.6 ตรวจสอบความแม่นยำ (Accuracy) ของสารออกฤทธิ์ carbaryl

ตรวจสอบ Accuracy ในรูปของ %Recovery โดยพิจารณาตามเกณฑ์กำหนดของ AOAC สำหรับสารที่มีปริมาณมากกว่า 10% ค่า % Recovery ต้องอยู่ในช่วง 98 - 102% ทำการทดสอบที่ 3 ระดับความเข้มข้น คือ 0.3, 0.5 และ 0.7 mg/ml โดยเติมสารละลายมาตรฐาน carbaryl (10 mg/ml) ปริมาตร 0.3, 0.5 และ 0.7 ml ลงใน sample origin ปริมาตร 5 ml (0.1 mg/ml) ที่เตรียมไว้ใน volumetric flask ขนาด 10 ml จำนวน 10 ซ้ำ ปรับปริมาตรด้วย methanol ผลการวิเคราะห์ดังแสดงในตารางที่ 25 การประเมินค่า accuracy จาก % recovery โดยการนำค่าปริมาณสารออกฤทธิ์ carbaryl ที่เป็นค่า origin และ spike มาหาค่าเฉลี่ยและคำนวณค่า % recovery โดยค่าต้องอยู่ในช่วง 98 -102 % ตามเกณฑ์การพิจารณาสำหรับสารที่มีปริมาณมากกว่า 10% ของ AOAC (1993) พบว่า %Recovery ของสาร carbaryl เท่ากับ 101.53%, 101.23% และ 101.04% ตามลำดับ ค่าที่ได้อยู่ในช่วง 98 -102 % ตามเกณฑ์กำหนดของ AOAC

ตารางที่ 25 ผลการหา %Recovery ของ carbaryl ที่ 3 ระดับความเข้มข้น (0.3, 0.5, 0.7 mg/ml)

จำนวนซ้ำ	ตัวอย่าง เข้มข้น	Spike 0.3 ml		Spike 0.5 ml		Spike 0.7 ml	
		(0.3 mg/ml)		(0.5 mg/ml)		(0.7 mg/ml)	
		mg/ml	%R	mg/ml	%R	mg/ml	%R
1	0.098	0.402	101.53	0.604	101.29	0.802	100.63
2	0.097	0.401	101.16	0.606	101.66	0.800	100.43
3	0.097	0.402	101.57	0.604	101.42	0.800	100.46
4	0.097	0.401	101.08	0.605	101.60	0.797	100.02
5	0.097	0.402	101.69	0.601	100.82	0.792	99.28
6	0.097	0.402	101.79	0.607	102.02	0.799	100.34
7	0.097	0.401	101.43	0.599	100.46	0.795	99.75
8	0.098	0.403	101.78	0.604	101.37	0.798	100.06
9	0.097	0.401	101.45	0.603	101.17	0.797	100.00
10	0.097	0.403	101.87	0.600	100.53	0.793	99.45
Mean	0.097	0.402	101.53	0.603	101.23	0.797	100.04
SD	0.000	0.001	0.26	0.003	0.50	0.003	0.44
%RSD	0.34	0.194	0.26	0.432	0.49	0.411	0.44

1.3.7 ผลการตรวจสอบความทน (Robustness/Ruggedness) ของวิธีทดสอบสารออกฤทธิ์ carbaryl ซึ่งการตรวจสอบความทน (Robustness/Ruggedness) ดำเนินการอยู่ 2 วิธีการคือ

1) ดำเนินการทดสอบตัวอย่างสารออกฤทธิ์ carbaryl 85% W.P. ภายใต้สภาวะการทดลองเดียวกันแต่เจ้าหน้าที่ทดสอบแตกต่างกัน ผลการทดลองดังแสดงในตารางที่ 26 และจากข้อมูลผลการทดสอบพบว่า ค่า Precision ของผู้ทดสอบทั้งสองคน ได้ค่า %RSD เท่ากับ 0.54 และ 0.49 และค่า HORRAT เท่ากับ 0.41 และ 0.36 ซึ่งเกณฑ์ยอมรับทั้งสองคน (เกณฑ์ HORRAT \leq 2; AOAC) และยังพบว่าข้อมูลผลการทดสอบของเจ้าหน้าที่ทดสอบทั้งสองคนประเมินด้วยสถิติ t-test ไม่แตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญที่ระดับความเชื่อมั่น 95%

($t_{stat} = 0.44$, $t_{critical} = 2.12$) ผลการทดสอบแสดงดังตารางที่ 27

ตารางที่ 26 เปรียบเทียบผลการทดสอบสารออกฤทธิ์ carbaryl 85% w/v EC ระหว่างผู้ทดสอบที่ 1 และ 2

จำนวนซ้ำ	ความเข้มข้น 1.0 mg/ml			
	ผู้ทดสอบที่ 1		ผู้ทดสอบที่ 2	
	น้ำหนัก (mg)	%ที่ตรวจพบ	น้ำหนัก (mg)	%ที่ตรวจพบ
1	29.40	84.33	29.40	84.32
2	29.40	84.67	29.40	84.47
3	29.40	84.48	29.40	84.79
4	29.40	84.52	29.40	84.41
5	29.40	84.56	29.40	84.26
6	29.40	84.38	29.40	84.41
7	29.40	84.91	29.40	84.19
8	29.40	84.15	29.40	84.15
9	29.40	85.68	29.40	85.54
10	29.40	84.05	29.40	84.32
	Mean	84.57	Mean	84.49
	SD	0.46	SD	0.41
	%RSD	0.54	%RSD	0.49
	Predicted Horvitz RSD	1.33	Predicted Horvitz RSD	1.33
	HORRAT	0.41	HORRAT	0.36

ตารางที่ 27 t-Test: Two-Sample Assuming Equal Variances

Mean	84.60	t Stat	0.44
Variance	0.23	P(T<=t) one-tail	0.33
Observations	9.00	t Critical one-tail	1.75
Pooled Variance	0.21	P(T<=t) two-tail	0.66
Hypothesized Mean Difference	0.00	t Critical two-tail	2.12
df	16.00		

2) ดำเนินการทดสอบตัวอย่างสารออกฤทธิ์ carbaryl 85% W.P. โดยทำการเปลี่ยนเครื่องมือ HPLC อีกเครื่องหนึ่ง ใช้คอลัมน์ชนิดเดียวกันอีกอันหนึ่ง และภายใต้สภาวะเงื่อนไขอีกสภาวะ ผลการทดลองดังแสดงในตารางที่ 28 พบว่า ค่า Precision ของเครื่อง HPLC ยี่ห้อ Agilent รุ่น HPLC 1100 และ เครื่อง HPLC ยี่ห้อ Agilent รุ่น HPLC 1260 ได้ค่า %RSD เท่ากับ 0.49 และ 1.13 ตามลำดับ และยังพบว่าข้อมูลผลการทดสอบของเครื่อง HPLC ทั้งสองเครื่องประเมินด้วยสถิติ t-test ไม่แตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญที่ระดับความเชื่อมั่น 95% ($t_{\text{observed}} = 0.58$, $t_{\text{critical}} = 2.12$) ผลการทดสอบแสดงดังตารางที่ 29

ตารางที่ 28 เปรียบเทียบปริมาณที่ตรวจพบของสารออกฤทธิ์ carbaryl 85% W.P. ระหว่าง เครื่อง HPLC ยี่ห้อ Agilent รุ่น HPLC 1100 และ เครื่อง HPLC ยี่ห้อ Agilent รุ่น HPLC 1260

จำนวนซ้ำ	ความเข้มข้น 1.0 (mg/ml)			
	เครื่อง HPLC 1100 (1.0 mg/ml)		เครื่อง HPLC 1260 (1.0 mg/ml)	
	น้ำหนัก (mg)	%ที่ตรวจพบ	น้ำหนัก (mg)	%ที่ตรวจพบ
1	29.40	84.32	29.30	84.91
2	29.40	84.47	29.30	84.63
3	29.40	84.79	29.30	84.62
4	29.40	84.41	29.30	83.48
5	29.40	84.26	29.30	83.54
6	29.40	84.41	29.30	86.69
7	29.40	84.19	29.30	83.67
8	29.40	84.15	29.30	84.20
9	29.40	85.54	29.30	84.03
10	29.40	84.32	29.30	83.83

Mean	84.49	Mean	84.36
SD	0.41	SD	0.95
%RSD	0.49	%RSD	1.13
Predicted Horvitz RSD	1.33	Predicted Horvitz RSD	1.33
HORRAT	0.36	HORRAT	0.85

ตารางที่ 29 t-Test: Two-Sample Assuming Equal Variances

Mean	84.51	t Stat	0.58
Variance	0.19	P(T<=t) one-tail	0.29
Observations	9.00	t Critical one-tail	1.75
Pooled Variance	0.58	P(T<=t) two-tail	0.57
Hypothesized Mean Difference	0.00	t Critical two-tail	2.12
df	16.00		

1.3.8 ผลการประมาณค่าความไม่แน่นอน (Uncertainty) ของสารออกฤทธิ์ carbaryl 85% W.P.

ตารางที่ 30 สรุปการหาค่า Relative Standard Deviation (RSD)

Source	Value (X)	Std. Unc (U_x)	RSD (U_x/x)	RSD ²
Balance (std. w)	10.2 mg	0.120200	0.0117843137	0.0001388700
Balance (sample. s)	29.4 mg	0.120200	0.0040884354	0.0000167153
Purity (std. p)	98	0.005800	0.0059183673	0.0000350271
Vol. flask (std. Ds)	10 ml	0.029000	0.0029000000	0.0000084100
Vol. flask (sample. Dw)	25 ml	0.072269	0.0028907600	0.0000083565
Area (std. Hs)	1416.585	2.382950	0.0016821792	0.0000028297

Area (sample. Hw)	1521.316	6.895040	0.0045322868	0.0000205416
$\sum RSD^2$				0.0002307503

$$U_C = C_{\text{sam}} \sqrt{RSD_w^2 + RSD_s^2 + RSD_p^2 + RSD_{Ds}^2 + RSD_{Dw}^2 + RSD_{Hs}^2 + RSD_{Hw}^2 + RSD_{SG}^2}$$

$$= 85 \times 0.0002307503 = 1.2911896447$$

$$U_C = 1.2911896447$$

$$U_E = 2 \times U_C$$

$$= 2 \times 1.2911896447$$

$$= 2.58$$

รายงานค่าความไม่แน่นอน % carbaryl = 91.62 ± 2.58

ค่าความไม่แน่นอนในการวัดที่รายงานเป็นค่าความไม่แน่นอนมาตรฐาน คูณแฟคเตอร์ $k=2$ ซึ่งมีระดับความมั่นใจประมาณ 95% ตามการกระจายแบบปกติ การประเมินค่าความไม่แน่นอนพิจารณาตาม NAMAS-NIS Guide to the Expression of Uncertainty in Testing, 1st ed. 1994 England และรายงานค่าความไม่แน่นอนเป็นเลขนัยสำคัญ 2 ตำแหน่ง

1.4. ผลการวิเคราะห์หาปริมาณสารออกฤทธิ์คาร์โบซัลแฟน (carbosulfan)

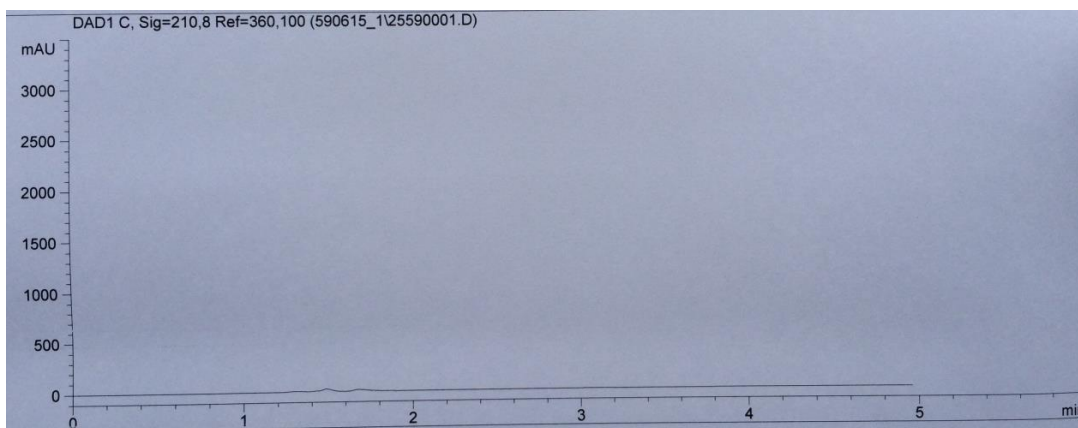
1.4.1 ผลการพัฒนาวิธีการวิเคราะห์สาร carbosulfan

sulfan สภาวะที่เหมาะสมของเครื่อง HPLC ในห้องปฏิบัติการวิเคราะห์วัตถุอันตรายทางการเกษตร สำนักวิจัยและพัฒนาการเกษตรเขตที่ 4 คือ

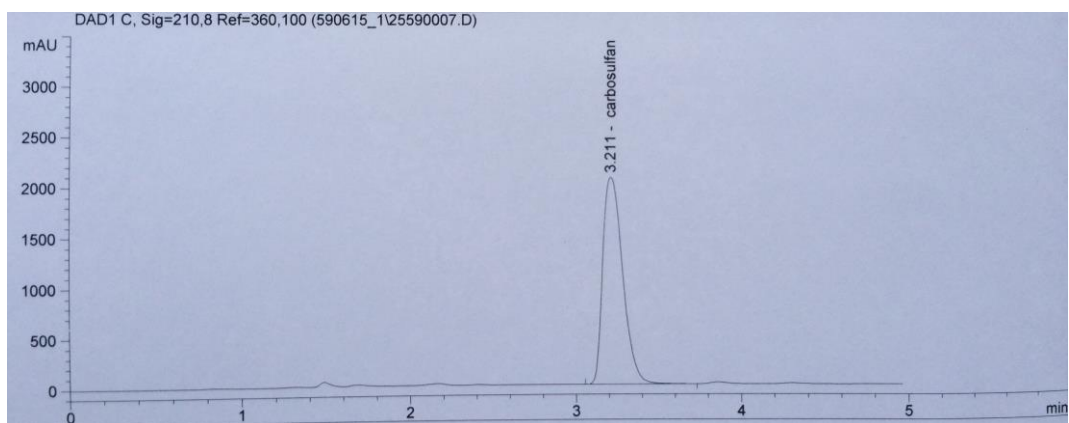
Column : Lichrospher 100 RP-18 (5 μ m) ความยาว 250 X 4.0 (i.d.mm)

Mobile phase : methanol : water (90 :10)
Injectionvolume : 10 µl
Detector : Diodearray Detector (210 nm)
Run Time : 8 min

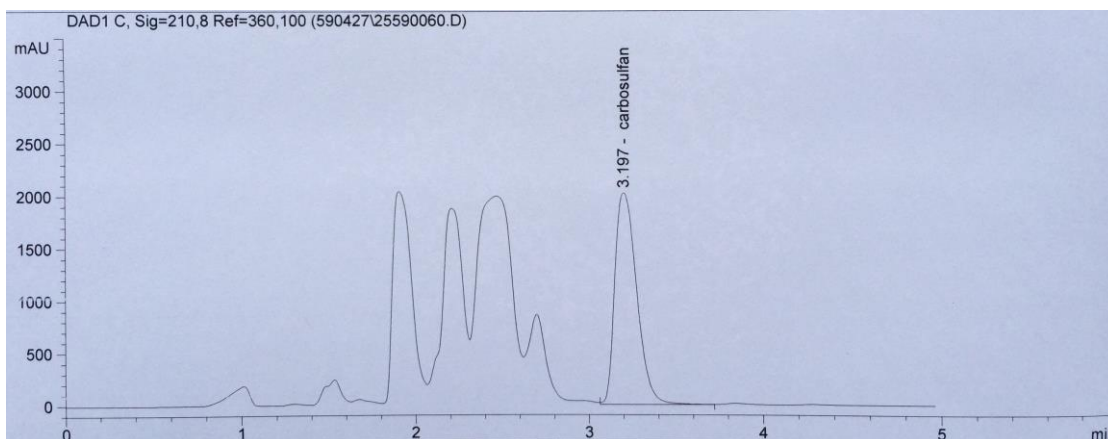
สภาวะที่เหมาะสมของเครื่อง HPLC-DAD สำหรับการวิเคราะห์สาร carbosulfan ผลการทดสอบพบว่าสัญญาณของ Solvent blank ไม่มีสารอื่นรบกวนแสดงดังภาพที่ 16 สัญญาณของสารมาตรฐาน carbosulfan และสัญญาณของสารตัวอย่าง carbosulfan 20% ไม่มีสารอื่นรบกวนแสดงดังภาพที่ 17-18



ภาพที่ 16 สัญญาณโครมาโตแกรมของ Solvent blank สำหรับการวิเคราะห์สาร carbosulfan



ภาพที่ 17 สัญญาณโครมาโตแกรมของสัญญาณของสารมาตรฐาน carbosulfan



ภาพที่ 18 สัญญาณโครมาโตแกรมของสัญญาณของตัวอย่าง carbosulfan 20%

1.4.2 ผลการหาปริมาณสารออกฤทธิ์ carbosulfan

1) ค่า %RPD ของ peak area สารละลายสารมาตรฐาน C1 และ C2 มีค่าไม่เกิน 3% ผลการทดสอบแสดงดังตารางที่ 31

ตารางที่ 31 การประเมินค่า %Relative Percent Different (%RPD) ของสารมาตรฐาน carbosulfan

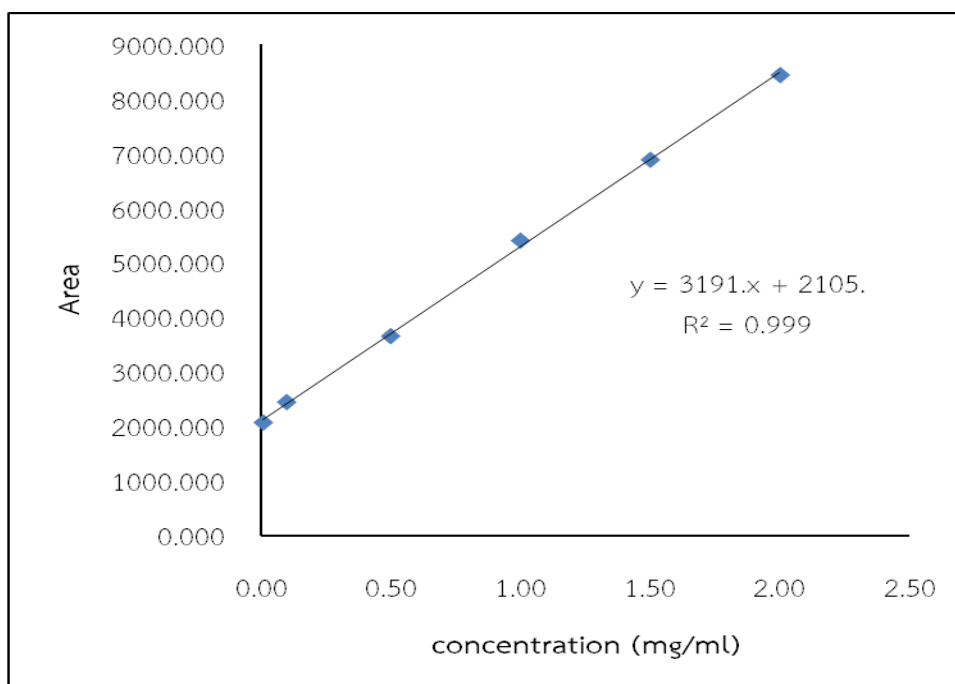
สารมาตรฐาน	น้ำหนัก	peak area	average	%RPD
carbosulfan	(mg)			
C1	10.3	17924.10000		
C2	10.8	17820.80000	17872.450	0.578
C1	10.3	17887.70000		
C2	10.8	17824.00000	17855.850	0.357
C1	10.3	17723.80000		
C2	10.8	17874.40000	17799.100	0.846
C1	10.3	17853.20000		
C2	10.8	18012.50000	17932.850	0.888
C1	10.3	17895.50000		
C2	10.8	17983.30000	17939.400	0.489
C1	10.3	17893.60000		
C2	10.8	17901.10000	17897.350	0.042

1.4.3 ผลการตรวจสอบความเป็นเส้นตรง (range/linearity)

1) การตรวจสอบช่วงของการวัด (range) ที่ระดับความเข้มข้น 0.01 - 2.0 mg/ml ผลการทดสอบแสดงดังตารางที่ 32 และนำข้อมูลผลการตรวจสอบช่วงของการวัด (range) จากตารางที่ 32 มาสร้างกราฟระหว่างความเข้มข้นกับค่า area พบว่าค่า Correlation coefficient (r^2) เท่ากับ 0.999 (เกณฑ์มาตรฐาน > 0.995) ผลการทดสอบแสดงดังตารางที่ 32 และภาพที่ 19

ตารางที่ 32 ผลการทดสอบช่วงของการวัด (range) ของสาร carbosulfan ที่ระดับความเข้มข้น 0.01 - 2.00 mg/ml

ความเข้มข้น (mg/ml)	Peak area	level
0.01	2080.075	1
0.10	2455.031	2
0.50	3661.650	3
1.00	5411.350	4
1.50	6891.300	5
2.00	8441.100	6



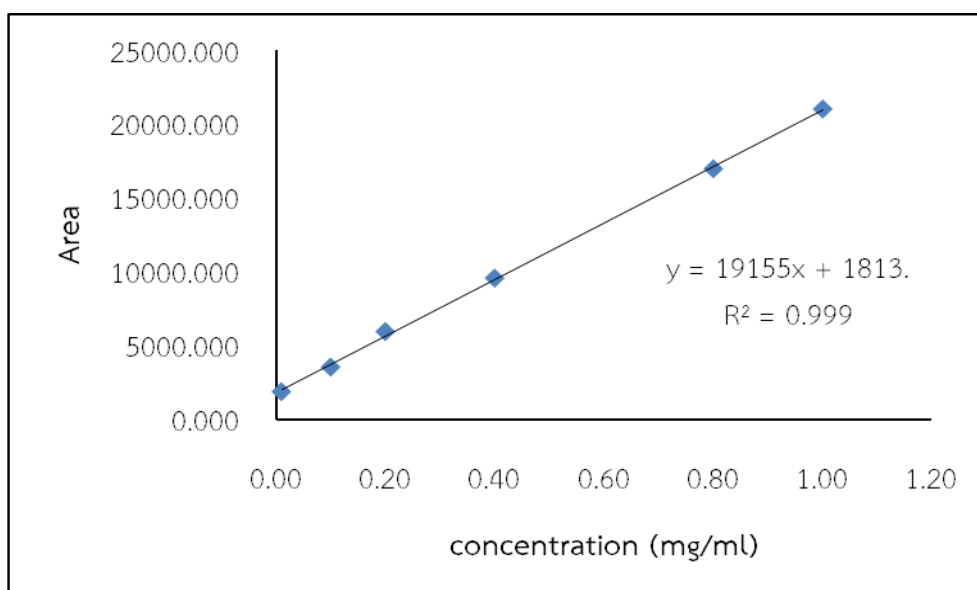
ภาพที่ 19 แสดง Calibration curves สารละลาย carbosulfan 6 level (0.01 - 2.00 mg/ml)

2) การตรวจสอบความเป็นเส้นตรง (linearity) ที่ความเข้มข้น 0.01 - 1.00 mg/ml ผลการทดสอบแสดงดังตารางที่ 33 และนำข้อมูลผลการตรวจสอบความเป็นเส้นตรง (linearity) จากตารางที่ 33 มาสร้าง

กราฟระหว่างความเข้มข้นกับค่า area พบว่าค่า Correlation coefficient (r^2) เท่ากับ 0.999 (เกณฑ์มาตรฐาน > 0.995) ผลการวิเคราะห์แสดงดังตารางที่ 33 และภาพที่ 20

ตารางที่ 33 ผลการทดสอบความเป็นเส้นตรง (linearity) ของสาร carbosulfan ที่ระดับความเข้มข้น 0.01 - 1.00 mg/ml

ความเข้มข้น (mg/ml)	Peak area	Level
0.01	1888.896	1
0.10	3553.269	2
0.20	5950.624	3
0.40	9575.300	4
0.80	16973.300	5
1.00	21015.950	6



ภาพที่ 20 แสดง Calibration curves สารละลาย carbosulfan 6 level (0.01 - 1.00 mg/ml)

1.4.5 ตรวจสอบความเที่ยง (precision)

การตรวจสอบความเที่ยง ของวิธีวิเคราะห์ปริมาณสารออกฤทธิ์ carbosulfan ที่ 3 ระดับความเข้มข้น คือ 0.3, 0.5 และ 1.0 mg/ml ตามลำดับ แสดงดังตารางที่ 34

ตารางที่ 34 การตรวจสอบ precision ในผลิตภัณฑ์สารกำจัดแมลง carbosulfan 20%

จำนวน ซ้ำ	ความเข้มข้น 0.3 mg/ml		ความเข้มข้น 0.5 mg/ml		ความเข้มข้น 1.0 mg/ml	
	น้ำหนัก (mg)	%ที่ตรวจพบ	น้ำหนัก (mg)	%ที่ตรวจพบ	น้ำหนัก (mg)	%ที่ตรวจพบ
1	37.50	24.83	62.50	23.61	125.00	17.90
2	37.50	24.79	62.50	23.60	125.00	18.00
3	37.50	24.83	62.50	23.59	125.00	18.08
4	37.50	24.83	62.50	23.74	125.00	18.18
5	37.50	24.84	62.50	23.66	125.00	18.11
6	37.50	24.73	62.50	23.47	125.00	18.28
7	37.50	24.86	62.50	23.58	125.00	18.32
8	37.50	24.78	62.50	23.68	125.00	18.32
9	37.50	24.96	62.50	24.96	125.00	18.29
10	37.50	24.81	62.50	23.43	125.00	18.26
Mean	24.82		Mean	23.73	Mean	18.17
SD	0.06		SD	0.44	SD	0.15
%RSD	0.24		%RSD	1.86	%RSD	0.81
Predicted			Predicted		Predicted	
Horvitz RSD	1.44		Horvitz RSD	1.44	Horvitz RSD	1.46

HORRAT	0.17	HORRAT	1.29	HORRAT	0.55
--------	------	--------	------	--------	------

1.4.6 ตรวจสอบความแม่นยำ (Accuracy) ของสารออกฤทธิ์ carbosulfan

ตรวจสอบ Accuracy ในรูปของ %Recovery โดยพิจารณาตามเกณฑ์กำหนดของ AOAC สำหรับสารที่มีปริมาณมากกว่า 10% ค่า % Recovery ต้องอยู่ในช่วง 98 - 102% ทำการทดสอบที่ 3 ระดับความเข้มข้น คือ 0.3, 0.5 และ 0.7 mg/ml โดยเติมสารละลายมาตรฐาน carbosulfan (10 mg/ml) ปริมาตร 0.3, 0.5 และ 0.7 ml ลงใน sample origin ปริมาตร 5 ml (0.1 mg/ml) ที่เตรียมไว้ใน volumetric flask ขนาด 10 ml จำนวน 10 ซ้ำ ปรับปริมาตรด้วย methanol ผลการทดสอบดังแสดงในตารางที่ 35 การประเมินค่า accuracy จาก % recovery โดยการนำค่าปริมาณสารออกฤทธิ์ carbosulfan ที่เป็นค่า origin และ spike มาหาค่าเฉลี่ยและคำนวณค่า % recovery โดยค่าต้องอยู่ในช่วง 98 -102 % ตามเกณฑ์การพิจารณาสำหรับสารที่มีปริมาณมากกว่า 10% ของ AOAC (1993) พบว่า %Recovery ของสาร carbosulfan เท่ากับ 100.11%, 100.73% และ 100.83% ตามลำดับค่าที่ได้อยู่ในช่วง 98 -102 % ตามเกณฑ์กำหนดของ AOAC

ตารางที่ 35 ผลการทำ %Recovery ของ carbosulfan ที่ 3 ระดับความเข้มข้น (0.3, 0.5, 0.7 mg/ml)

จำนวนซ้ำ	ตัวอย่าง	Spike 1 ml		Spike 2 ml		Spike 3 ml	
	เข้มข้น	(0.3 mg/ml)		(0.5 mg/ml)		(0.7 mg/ml)	
	(0.1 mg/ml)	เข้มข้น	%R	เข้มข้น	%R	เข้มข้น	%R
		mg/ml		mg/ml		mg/ml	
1	0.100	0.399	99.85	0.602	100.43	0.800	100.00
2	0.100	0.401	100.31	0.604	100.92	0.810	101.42
3	0.101	0.401	100.10	0.601	100.10	0.807	100.98
4	0.100	0.400	100.00	0.606	101.05	0.802	100.23
5	0.099	0.400	100.14	0.604	100.88	0.807	101.15
6	0.099	0.401	100.48	0.605	101.03	0.803	100.57
7	0.100	0.400	100.03	0.603	100.67	0.806	100.91
8	0.100	0.401	100.23	0.605	101.01	0.808	101.06

9	0.101	0.400	99.66	0.603	100.46	0.809	101.14
10	0.100	0.401	100.32	0.604	100.76	0.806	100.86
Mean	0.100	0.400	100.11	0.604	100.73	0.806	100.83
SD	0.000	0.001	0.24	0.001	0.32	0.003	0.44
%RSD	0.84	0.110	0.24	0.154	0.31	0.059	0.44

1.4.7 ผลการตรวจสอบความทน (Robustness/Ruggedness) ของวิธีทดสอบสารออกฤทธิ์ carbosulfan ซึ่งการตรวจสอบความทน (Robustness/Ruggedness) ดำเนินการอยู่ 2 วิธีการคือ

1) ดำเนินการทดสอบตัวอย่างสารออกฤทธิ์ carbosulfan 20% w/v EC ภายใต้สภาวะการทดลองเดียวกันแต่เจ้าหน้าที่ทดสอบแตกต่างกัน ผลการทดลองดังแสดงในตารางที่ 36 และจากข้อมูลผลการทดสอบพบว่า ค่า Precision ของผู้ทดสอบทั้งสองคน ได้ค่า %RSD เท่ากับ 0.98 และ 0.93 และค่า HORRAT เท่ากับ 0.67 และ 0.64 ซึ่งเกณฑ์ยอมรับทั้งสองคน (เกณฑ์ HORRAT \leq 2; AOAC) และยังพบว่าข้อมูลผลการทดสอบของเจ้าหน้าที่ทดสอบทั้งสองคนประเมินด้วยสถิติ t-test ไม่แตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญที่ระดับความเชื่อมั่น 95% ($t_{stat} = 0.35$, $t_{critical} = 2.12$) ผลการทดสอบแสดงดังตารางที่ 37

ตารางที่ 36 เปรียบเทียบผลการทดสอบสารออกฤทธิ์ carbosulfan 20% w/v EC ระหว่างผู้ทดสอบที่ 1 และ 2

จำนวนซ้ำ	ความเข้มข้น 1.0 mg/ml			
	ผู้ทดสอบที่ 1		ผู้ทดสอบที่ 2	
	น้ำหนัก (mg)	%ที่ตรวจพบ	น้ำหนัก (mg)	%ที่ตรวจพบ
1	125.00	17.91	125.00	17.89
2	125.00	18.11	125.00	17.90
3	125.00	18.02	125.00	18.14

4	125.00	18.15	125.00	18.21
5	125.00	18.08	125.00	18.14
6	125.00	18.14	125.00	18.43
7	125.00	18.35	125.00	18.30
8	125.00	18.42	125.00	18.23
9	125.00	18.46	125.00	18.14
10	125.00	18.25	125.00	18.27
	Mean	18.19	Mean	18.16
	SD	0.18	SD	0.17
	%RSD	0.98	%RSD	0.93
	Predicted Horvitz RSD	1.46	Predicted Horvitz RSD	1.46
	HORRAT	0.67	HORRAT	0.64

ตารางที่ 37 t-Test: Two-Sample Assuming Equal Variances

Mean	19.32	t Stat	0.35
Variance	0.03	P(T<=t) one-tail	0.37
Observations	9.00	t Critical one-tail	1.75
Pooled Variance	0.03	P(T<=t) two-tail	0.73
Hypothesized Mean Difference	0.00	t Critical two-tail	2.12
df	16.00		

2) ดำเนินการทดสอบตัวอย่างสารออกฤทธิ์ carbosulfan 20% w/v EC โดยทำการเปลี่ยนเครื่องมือ HPLC อีกเครื่องหนึ่ง ใช้คอลัมน์ชนิดเดียวกันอีกอันหนึ่ง และภายใต้สภาวะเงื่อนไขอีกสภาวะ ผลการทดลองดังแสดงในตารางที่ 38 พบว่า ค่า Precision ของเครื่อง HPLC ยี่ห้อ Agilent รุ่น HPLC 1100 และ เครื่อง HPLC ยี่ห้อ Agilent รุ่น HPLC 1260 ได้ค่า %RSD เท่ากับ 0.81 และ 1.13 ตามลำดับ และยังพบว่าข้อมูลผลการทดสอบของเครื่อง HPLC ทั้งสองเครื่องประเมินด้วยสถิติ t-test ไม่แตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญที่ระดับความเชื่อมั่น 95% ($t_{\text{observed}} = 0.29$, $t_{\text{critical}} = 2.12$) ผลการทดสอบแสดงดังตารางที่ 39

ตารางที่ 38 เปรียบเทียบปริมาณที่ตรวจพบของสารออกฤทธิ์ carbosulfan 20% w/v EC ระหว่าง เครื่อง HPLC ยี่ห้อ Agilent รุ่น HPLC 1100 และ เครื่อง HPLC ยี่ห้อ Agilent รุ่น HPLC 1260

จำนวนซ้ำ	ความเข้มข้น 1.0 (mg/ml)			
	เครื่อง HPLC 1100 (1.0 mg/ml)		เครื่อง HPLC 1260 (1.0 mg/ml)	
	น้ำหนัก (mg)	%ที่ตรวจพบ	น้ำหนัก (mg)	%ที่ตรวจพบ
1	125.00	17.90	125.00	19.71
2	125.00	18.00	125.00	17.16
3	125.00	18.08	125.00	18.38
4	125.00	18.18	125.00	18.39
5	125.00	18.11	125.00	18.36
6	125.00	18.28	125.00	18.45
7	125.00	18.32	125.00	18.46
8	125.00	18.32	125.00	18.39
9	125.00	18.29	125.00	18.32
10	125.00	18.26	125.00	18.30
	Mean	18.17	Mean	18.39
	SD	0.15	SD	0.60
	%RSD	0.81	%RSD	3.28
	Predicted Horvitz RSD	1.46	Predicted Horvitz RSD	1.46
	HORRAT	0.55	HORRAT	2.25

ตารางที่ 39 t-Test: Two-Sample Assuming Equal Variances

Mean	18.20	t Stat	0.29
Variance	0.01	P(T<=t) one-tail	0.39
Observations	9.00	t Critical one-tail	1.75
Pooled Variance	0.09	P(T<=t) two-tail	0.77
Hypothesized Mean Difference	0.00	t Critical two-tail	2.12
df	16.00		

1.4.8 ผลการประมาณค่าความไม่แน่นอน (Uncertainty) ของสารออกฤทธิ์ carbosulfan 20% w/v EC

ตารางที่ 40 สรุปการหาค่า Relative Standard Deviation (RSD)

Source	Value (X)	Std. Unc (U _x)	RSD (U _x /x)	RSD ²
Balance (std. w)	10.2 mg	0.120200	0.0117843137	0.0001388700
Balance (sample. s)	125.0 mg	0.120200	0.0009616000	0.0000009247
Purity (std. p)	98	0.005700	0.0058163265	0.0000338297
Vol. flask (std. D _s)	10 ml	0.029000	0.0029000000	0.0000084100
Vol. flask (sample. D _w)	25 ml	0.072269	0.0028907600	0.0000083565
Area (std. H _s)	1883.435	0.700036	0.0003716803	0.0000001381
Area (sample. H _w)	1810.04	5.477453	0.0217307380	0.0004722250
Density (SG)	0.943	0.000000	0.0000000000	0.0000000000
$\sum RSD^2$				0.0006627540

$$U_C = C_{\text{sam}} \sqrt{RSD_w^2 + RSD_s^2 + RSD_p^2 + RSD_{D_s}^2 + RSD_{D_w}^2 + RSD_{H_s}^2 + RSD_{H_w}^2 + RSD_{SG}^2}$$

$$= 20 \times 0.0006627540 = 0.5148801772$$

$$U_C = 0.5148801772$$

$$U_E = 2 \times U_C$$

$$= 2 \times 0.5148801772$$

$$= 1.03$$

รายงานค่าความไม่แน่นอน % carbosulfan = 18.17 ± 1.03

ค่าความไม่แน่นอนในการวัดที่รายงานเป็นค่าความไม่แน่นอนมาตรฐาน คูณแฟคเตอร์ k=2 ซึ่งมีระดับความมั่นใจประมาณ 95% ตามการกระจายแบบปกติ การประเมินค่าความไม่แน่นอนพิจารณาตาม NAMAS-NIS Guide to the Expression of Uncertainty in Testing, 1st ed. 1994 England และรายงานค่าความไม่แน่นอนเป็นเลขนัยสำคัญ 2 ตำแหน่ง

2. ปืงบประมาณ 2560 กลุ่มสาร : ไตรอะโซฟอส (triazophoa), ไดเมโทเอต (dimethoate), ไดอะซินอน (diazinon), และกลุ่มสารป้องกันกำจัดโรคพืช : เบนอมิล (benomyl)

2.1 ผลการวิเคราะห์หาปริมาณสารออกฤทธิ์ไตรอะโซฟอส (triazophos)

2.1.1 ผลการพัฒนาวิธีการวิเคราะห์สาร triazophos สภาวะที่เหมาะสมของเครื่อง GC-FID ในห้องปฏิบัติการวิเคราะห์วัตถุอันตรายทางการเกษตร สำนักวิจัยและพัฒนาการเกษตรเขตที่ 4 คือ

Column :	capillary, HP-5 (30m x 0.32mm ID, 0.25 μ m film thickness)
Gas flow rate :	Helium (carrier gas) 50 ml/min, Hydrogen 30 ml/min, Air 300 ml/min
Split injection :	Split ratio 50:1, Split flow 150 ml/min
Injection volume :	1 μ l
Temperature :	Oven 250°C, Inlet 250 °C, Detector 250 °C
Detector :	Flame Ionization Detector
Run Time :	5 min

2.1.2 ผลการหาปริมาณสารออกฤทธิ์ triazophos

1) ค่า %RPD ของ peak area สารละลายสารมาตรฐาน C1 และ C2 มีค่าไม่เกิน 3% ผลการทดสอบแสดงดังตารางที่ 41

ตารางที่ 41 การประเมินค่า %Relative Percent Different (%RPD) ของสารมาตรฐาน triazophos

สารมาตรฐาน	น้ำหนัก	peak area	average	%RPD
triazophos	(mg)			
C1	12.5	133.78275		
C2	12.5	133.77859	133.781	0.003

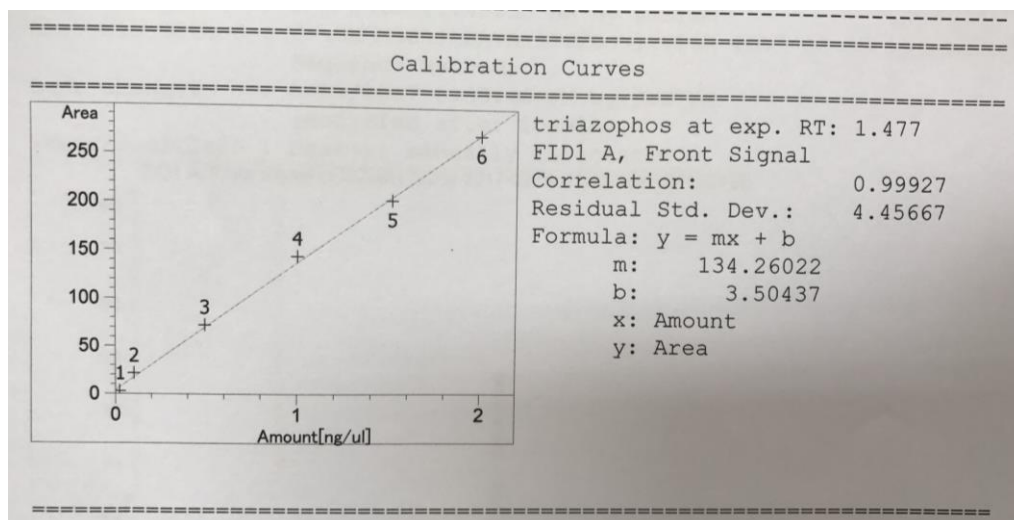
C1	12.5	135.81236		
C2	12.5	134.74023	135.276	0.793
C1	12.5	135.30788		
C2	12.5	135.57683	135.442	0.199
C1	12.5	133.61285		
C2	12.5	133.91147	133.762	0.223
C1	12.5	135.41916		
C2	12.5	135.48729	135.453	0.050
C1	12.5	134.07791		
C2	12.5	135.33148	217.911	0.931

2.1.3 ผลการตรวจสอบความเป็นเส้นตรง (Linearity) ของสารมาตรฐาน triazophos

การตรวจสอบความเป็นเส้นตรง (Linearity) ที่ระดับความเข้มข้น 0.01 - 2.0 มิลลิกรัม/มิลลิลิตร ผลการทดสอบแสดงดังตารางที่ 42 และนำข้อมูลผลการตรวจสอบจากตารางมาสร้างกราฟระหว่างความเข้มข้นกับค่า area จากการประเมินด้วยสายตา (Visual inspection) พบว่ามีความเป็นเส้นตรง และพบว่าค่า Correlation coefficient (r) เท่ากับ 0.99927 (เกณฑ์มาตรฐาน > 0.995) ผลการทดสอบแสดงดังตารางที่ 42 และภาพที่ 21

ตารางที่ 42 ผลการทดสอบช่วงของการวัด (range) ของสาร triazophos ที่ระดับความเข้มข้น 0.01 - 2.00 mg/ml

ความเข้มข้น (mg/ml)	Peak area	level
0.01	2.64784	1
0.10	21.6899	2
0.50	72.14320	3
1.00	143.85326	4
1.50	203.05487	5
2.00	270.92291	6



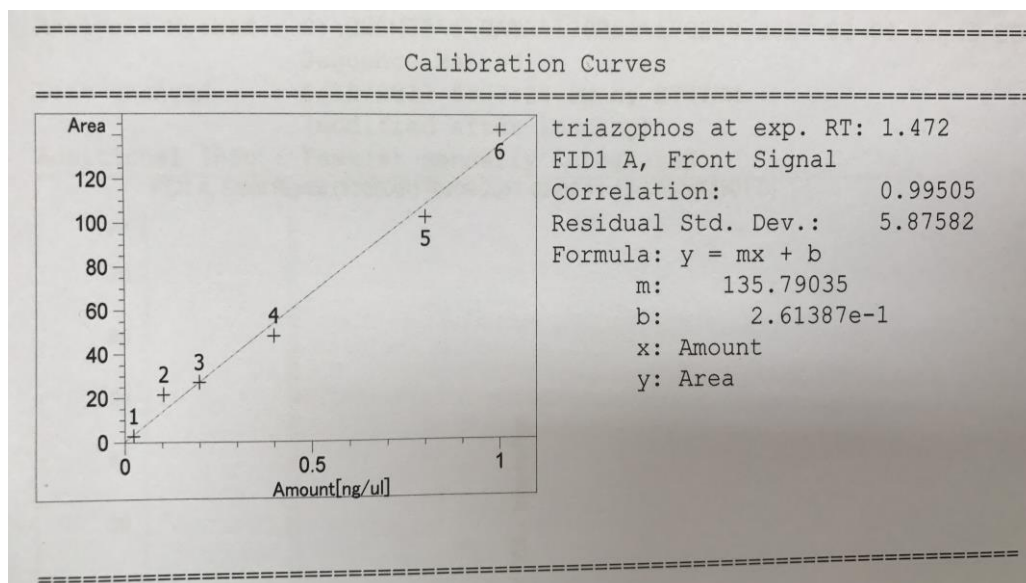
ภาพที่ 21 แสดงช่วงของการวัด (range) สารละลาย triazophos 6 level (0.01 - 2.0 mg/ml)

2.1.4 ผลการตรวจสอบช่วงของการวัด (Working range) ของสารมาตรฐาน triazophos

การตรวจสอบช่วงของการวัด (Working range) ที่ความเข้มข้น 0.10 – 1.00 มิลลิกรัม/มิลลิลิตร ผลการทดสอบแสดงดังตารางที่ 43 และนำข้อมูลผลการตรวจสอบช่วงของการวัด (Working range) จากตารางที่ 43 มาสร้างกราฟระหว่างความเข้มข้นกับค่า area พบว่าค่า Correlation coefficient (r) เท่ากับ 0.99505 (เกณฑ์มาตรฐาน > 0.995) ผลการวิเคราะห์แสดงดังตารางที่ 43 และภาพที่ 22

ตารางที่ 43 ผลการทดสอบความเป็นเส้นตรง (linearity) ของสาร triazophos ที่ระดับความเข้มข้น 0.01 - 1.00 mg/ml

ความเข้มข้น (mg/ml)	Peak area	Level
0.01	2.61352	1
0.10	21.48869	2
0.20	27.11190	3
0.40	48.31276	4
0.80	102.81961	5
1.00	142.76123	6



ภาพที่ 22 แสดง ความเป็นเส้นตรง (linearity) สารละลาย triazophos 6 level (0.10 - 1.00 mg/ml)

2.1.5 ผลการตรวจสอบค่า Precision ของสารออกฤทธิ์ triazophos

โดยดำเนินการทดสอบ จำนวน 3 ระดับความเข้มข้น คือที่ระดับ 0.5, 1.0 และ 2.0 mg/ml ระดับความเข้มข้นละ 10 ซ้ำ ผลการทดสอบค่า Precision ที่ 3 ระดับความเข้มข้นจากการตรวจสอบการทวนซ้ำ (Repeatability) ดังแสดงในตารางที่ 44

ตารางที่ 44 เปอร์เซนต์ที่ตรวจพบที่ 3 ความเข้มข้น จากการทวนซ้ำ (Repeatability)

n	ความเข้มข้น 0.5 (mg/ml)		ความเข้มข้น 1.0 (mg/ml)		ความเข้มข้น 2.0 (mg/ml)	
	น้ำหนัก (mg)	%ที่ตรวจพบ	น้ำหนัก (mg)	%ที่ตรวจพบ	น้ำหนัก (mg)	%ที่ตรวจพบ
1	31.30	36.02	62.50	36.14	125.00	35.64
2	31.30	35.90	62.50	36.10	125.00	35.81
3	31.30	35.88	62.50	36.32	125.00	35.72

4	31.30	35.92	62.50	36.14	125.00	35.72
5	31.30	35.91	62.50	36.31	125.00	35.74
6	31.30	35.87	62.50	36.16	125.00	35.96
7	31.30	35.86	62.50	36.19	125.00	36.10
8	31.30	36.05	62.50	36.29	125.00	35.51
9	31.30	35.97	62.50	36.06	125.00	35.84
10	31.30	35.74	62.50	36.16	125.00	35.95
Mean		35.91	Mean	36.19	Mean	35.80
SD		0.09	SD	0.09	SD	0.17
%RSD		0.25	%RSD	0.25	%RSD	0.48
Predicted	Horvitz		Predicted		Predicted	
RSD		1.54	Horvitz RSD	1.54	Horvitz RSD	1.54
HORRAT		0.16	HORRAT	0.16	HORRAT	0.31

การตรวจสอบ Precision ที่อยู่ในรูปของ Repeatability คือ การตรวจสอบความใกล้เคียงกันระหว่างข้อมูลที่วิเคราะห์ซ้ำแสดงผลในรูปของ %RSD จากการทดลองหา Precision ที่อยู่ในรูปของ Repeatability ได้ค่า HORRAT เท่ากับ 0.16 0.16 และ 0.31 ซึ่งเกณฑ์ยอมรับ HORRAT \leq 2 (AOAC)

2.1.6 ผลการตรวจสอบค่า Accuracy ของสารออกฤทธิ์ triazophos

การตรวจสอบ Accuracy ในรูปของ %Recovery ตามเกณฑ์การพิจารณาของ AOAC สำหรับสารที่มีปริมาณมากกว่า 10% ค่า %Recovery ต้องอยู่ในช่วง 98 - 102 โดยเตรียมสารละลาย stock sample ให้ความเข้มข้นที่แน่นอน (1 mg/ml) จากนั้นเตรียมสารละลายเพื่อหาค่า origin โดยปิเปตสารละลาย stock sample ปริมาตร 10 ml ลงใน volumetric flask ขนาด 25 ml จำนวน 10 ซ้ำ ปรับปริมาตรด้วยตัวทำละลายเข้าให้เข้ากัน แล้วนำไปฉีดเข้าเครื่อง GC เทียบกับกราฟมาตรฐานเพื่อวิเคราะห์หาปริมาณสารออกฤทธิ์ triazophos ข้อมูลผลการทดสอบ Origin แสดงดังตารางที่ 45

ตารางที่ 45 แสดงค่า Origin ของสารออกฤทธิ์ triazophos

จำนวนซ้ำ	Origin (0.5mg/ml)
1	0.508
2	0.506
3	0.505
4	0.509
5	0.507
6	0.504
7	0.509
8	0.505
9	0.505
10	0.504
Mean	0.506
SD	0.002
%RSD	0.39

เมื่อหาค่า origin ที่แน่นอนแล้ว จากนั้นเตรียมสารละลายเพื่อหาค่า recovery โดยปิเปตสารละลาย stock sample ปริมาตร 10 ml ลงใน volumetric flask ขนาด 25 ml ระดับความเข้มข้นละ 10 ซ้ำ จากนั้นเติมสารละลายมาตรฐานที่ระดับความเข้มข้น 0.5 mg/ml และ 1.0 mg/ml ลงใน sample origin 10 ml ที่เตรียมไว้ใน volumetric flask ขนาด 25 ml (ระดับความเข้มข้นละ 10 ซ้ำ) ปรับปริมาตรด้วยตัวทำละลายเข้าให้เข้ากัน แล้วนำไปวิเคราะห์ด้วยเครื่อง GC เทียบกับกราฟมาตรฐานเพื่อวิเคราะห์หาปริมาณสารออกฤทธิ์ triazophos และประเมินค่า accuracy จาก % recovery โดยนำค่าปริมาณสารออกฤทธิ์ triazophos ที่เป็นค่า origin มาหาค่าเฉลี่ย และเทียบกับค่าที่ได้จากการ spike แล้วคำนวณค่า % recovery โดยค่าต้องอยู่ในช่วงตามเกณฑ์การพิจารณาของ AOAC (1993) การคำนวณตามสมการข้างล่างนี้

$$\% \text{ Recovery} = \frac{\text{Conc. spike sample} - \text{Conc. Original sample}}{\text{Conc. added}} \times 100$$

ข้อมูลผลการทดสอบหา Accuracy ในรูปของ %Recovery ดังแสดงในตารางที่ 46

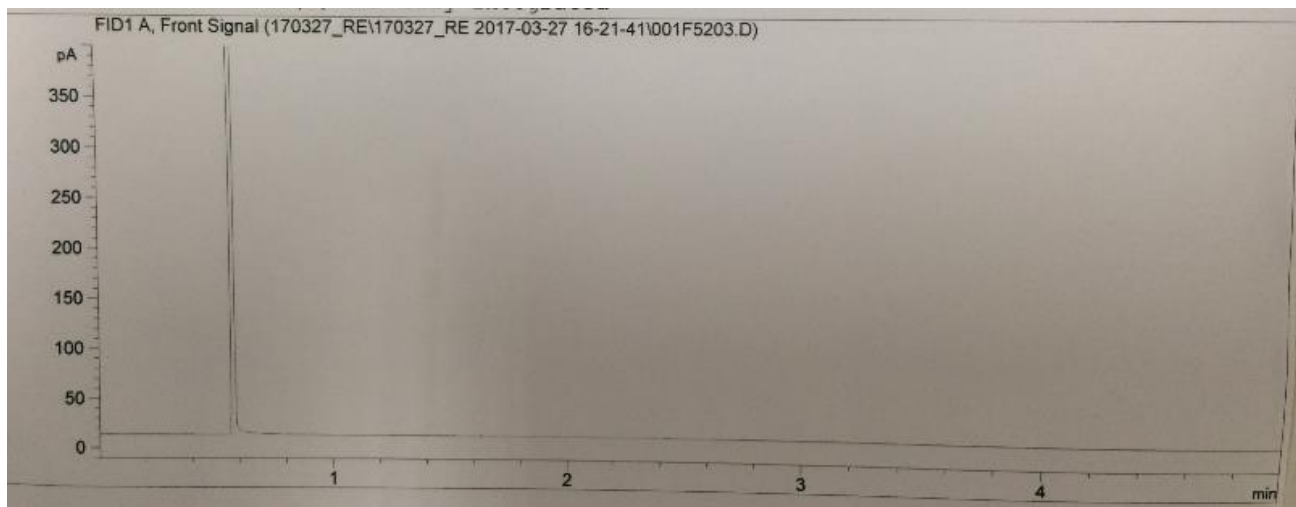
ตารางที่ 46 แสดงค่า % Recovery ของสารออกฤทธิ์ triazophos

จำนวนซ้ำ	Origin Mean (mg/ml)	Cone. Added 0.5 mg/ml		Cone. Added 1.0 mg/ml	
		Cone.	% Recovery	Cone.	% Recovery
1	0.506	1.007	98.68	1.515	100.98
2		1.004	98.76	1.509	98.98
3		0.994	100.60	1.507	98.77
4		0.998	99.62	1.507	98.48
5		1.009	99.14	1.513	98.41
6		0.998	99.56	1.503	98.40
7		1.010	98.69	1.504	98.67
8		0.995	98.80	1.500	98.39
9		1.000	98.75	1.492	98.12
10		0.997	99.56	1.494	99.16
Mean	-	1.001	99.22	1.504	98.84
SD	-	0.006	-	0.007	-
%RSD	-	0.589	-	0.497	-

การตรวจสอบ Accuracy ในรูปของ %Recovery ตามเกณฑ์การพิจารณาของ AOAC สำหรับสารที่มีปริมาณมากกว่า 10% ค่า %Recovery ต้องอยู่ในช่วง 98 - 102 จากการทดลองหา Accuracy พบว่าจากการเติมสารมาตรฐานที่ระดับความเข้มข้น 0.5 และ 1.0 mg/ml ได้ค่า %Recovery เท่ากับ 99.22 และ 98.84 ตามลำดับ ซึ่งอยู่ในเกณฑ์ยอมรับ ของ AOAC ที่กำหนดไว้

2.1.7 ผลการตรวจสอบค่า Specificity ของสารออกฤทธิ์ triazophos

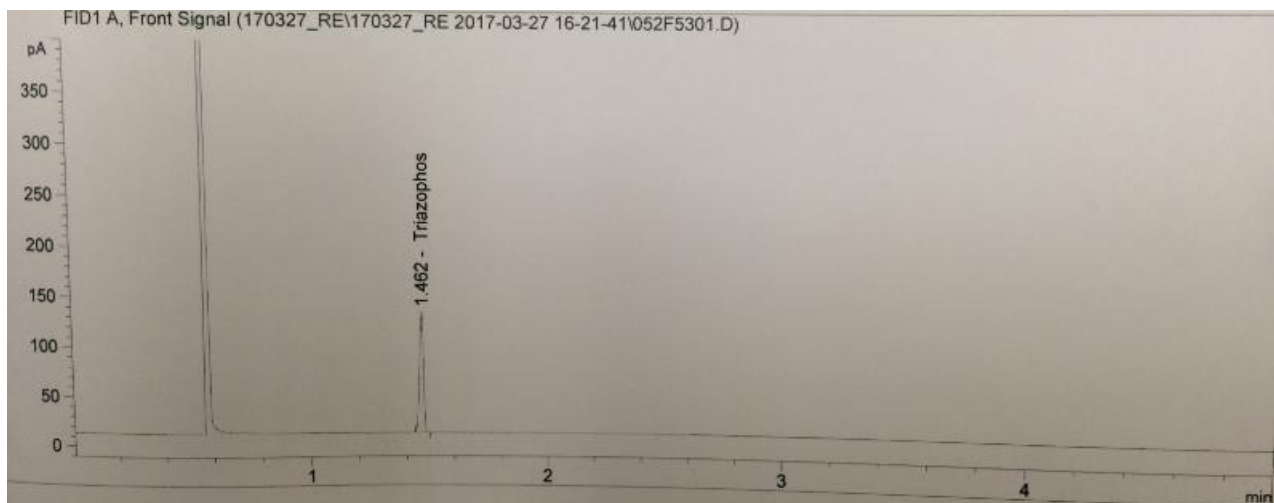
ผลการทดสอบการทดลองหา Specificity ของสารตัวอย่างนั้นสามารถตรวจวัดได้อย่างถูกต้องดังการแสดงผลภาพที่ 23



ภาพที่ 23 แสดงการแยกของสารละลาย Blank

2.1.8 ผลการตรวจสอบค่า Selectivity ของสารออกฤทธิ์ triazophos

ผลการทดสอบการทดลองหา Selectivity ของสารตัวอย่างนั้นสามารถแยกสาร triazophos ได้อย่างถูกต้องดังการแสดงภาพที่ 24



ภาพที่ 24 แสดงการแยกของสารละลายมาตรฐาน triazophos

2.1.9 ผลการตรวจสอบค่า Ruggedness ของสารออกฤทธิ์ triazophos

ผลการตรวจสอบ Ruggedness จากการทดลองในสภาวะการทดสอบเดียวกัน แต่เปลี่ยนผู้ทดสอบ ข้อมูลแสดงดังตารางที่ 47

ตารางที่ 47 เปรียบเทียบเปอร์เซ็นต์ที่ตรวจพบระหว่างผู้ทดสอบที่ 1 และ 2

n	ความเข้มข้น 1.0 mg/ml			
	ผู้ทดสอบที่ 1		ผู้ทดสอบที่ 2	
	น้ำหนัก (mg)	%ที่ตรวจพบ	น้ำหนัก (mg)	%ที่ตรวจพบ
1	62.1	40.28	62.7	40.21
2	62.1	40.35	62.7	40.42
3	62.1	40.11	62.7	40.61
4	62.1	40.12	62.7	40.76
5	62.1	40.50	62.7	40.65
6	62.1	40.25	62.7	40.79
7	62.1	40.32	62.7	40.54
8	62.1	40.32	62.7	40.59
9	62.1	40.38	62.7	40.69
10	62.1	40.20	62.7	40.70
Mean		40.28	Mean	40.60
SD		0.12	SD	0.17
%RSD		0.30	%RSD	0.43
Predicted Horwitz RSD		1.51	Predicted Horwitz RSD	1.49
HORRAT		0.20	HORRAT	0.28

การตรวจสอบ Ruggedness คือ การตรวจสอบความใกล้เคียงกันระหว่างข้อมูลที่วิเคราะห์ซ้ำจากการเปรียบเทียบผู้ทดสอบ ซึ่งแสดงผลในรูปแบบของ %RSD ได้ค่าดังนี้ 0.30 และ 0.43 จากการทดลองพบว่าได้ค่า HORRAT เท่ากับ 0.20 และ 0.28 ซึ่งผ่านตามเกณฑ์ยอมรับ HORRAT ≤ 2 (AOAC)

2.1.10 ผลการตรวจสอบค่า Robustness ของสารออกฤทธิ์ triazophos

ผลการตรวจสอบ Robustness จากการทดลองในสภาวะการทดสอบเดียวกัน แต่เปลี่ยน Column ในการวิเคราะห์จาก Capillary Column HP-5 เป็น HP-1 ดังแสดงในตารางที่ 48

ตารางที่ 48 เปรียบเทียบเปอร์เซ็นต์ที่ตรวจพบระหว่าง Column HP-5 และ HP-1

n	ความเข้มข้น 1.0 mg/ml			
	HP-5		HP-1	
	น้ำหนัก (mg)	%ที่ตรวจพบ	น้ำหนัก (mg)	%ที่ตรวจพบ
1	63.9	36.7	63.9	36.53
2	63.0	36.65	63.0	36.74
3	63.9	36.97	63.9	37.15
4	63.0	36.79	63.0	37.81
5	63.9	36.48	63.9	37.87
6	63.9	36.49	63.9	37.75
7	63.9	36.56	63.9	38.10
8	63.0	36.41	63.0	37.75
9	63.0	36.43	63.0	38.01
10	63.1	36.60	63.1	37.55
Mean		3.10	Mean	37.53
SD		0.07	SD	0.54
%RSD		2.33	%RSD	1.44
Predicted Horwitz RSD		2.23	Predicted Horwitz RSD	1.53

HORRAT	1.05	HORRAT	0.94
--------	------	--------	------

การตรวจสอบ Robustness คือการตรวจสอบความใกล้เคียงกันระหว่างข้อมูลทีวิเคราะห์ซ้ำจากการเปรียบเทียบ Column ซึ่งแสดงผลในรูปของ %RSD ได้ค่าดังนี้ 2.33 และ 1.44 จากการทดลองพบว่าได้ค่า HORRAT เท่ากับ 1.05 และ 0.94 ซึ่งเกณฑ์ยอมรับ HORRAT ≤ 2 (AOAC)

2.1.11 ผลการประมาณค่าความไม่แน่นอน (Uncertainty) ของสารออกฤทธิ์ triazophos 40% w/v EC

ตารางที่ 49 สรุปการหาค่า Relative Standard Deviation (RSD)

Source	Value (X)	Std. Unc (U_x)	RSD (U_x/x)	RSD ²
Balance (std. w)	12.5 mg	0.00025456	0.0000203646	0.0000000004
Balance (sample. s)	62.5 mg	0.00025456	0.0000040729	0.0000000000
Purity (std. p)	80%	0.00290000	0.0036250000	0.0000131406
Vol. flask (std. Ds)	10 ml	0.02900000	0.0029000000	0.0000084100
Vol. flask (sample. Dw)	25 ml	0.07226900	0.0028907600	0.0000083565
Area (std. Hs)	121.453	0.63987507	0.0052684882	0.0000277570
Area (sample. Hw)	181.495	0.98801820	0.0054437649	0.0000296346

Density (SG)	1.053	0.00000000	0.0000000000	0.0000000000
$\sum RSD^2$				0.0093433984

$$\begin{aligned}
 U_C &= C_{\text{sam}} \sqrt{RSD_w^2 + RSD_s^2 + RSD_p^2 + RSD_{D_s}^2 + RSD_{D_w}^2 + RSD_{H_s}^2 + RSD_{H_w}^2 + RSD_{SG}^2} \\
 &= 40 \times \sqrt{0.0093433984} \\
 &= 40.0 \times 0.009 \\
 &= 0.374 \\
 U_C &= 0.374 \\
 U_E &= 2 \times U_C \\
 &= 2 \times 0.374 \\
 &= 0.75
 \end{aligned}$$

การรายงานค่าความไม่แน่นอนในการวัด ของ % triazophos = 40 ± 0.75

ค่าความไม่แน่นอนในการวัดที่รายงานเป็นค่าความไม่แน่นอนมาตรฐาน คูณแฟคเตอร์ k=2 ซึ่งมีระดับความมั่นใจประมาณ 95% ตามการกระจายแบบปกติ การประเมินค่าความไม่แน่นอนพิจารณาตาม NAMAS-NIS Guide to the Expression of Uncertainty in Testing, 1st ed. 1994 England และรายงานค่าความไม่แน่นอนเป็นเลขนัยสำคัญ 2 ตำแหน่ง

2.2 ผลการวิเคราะห์หาปริมาณสารออกฤทธิ์ไดเมโทเอต (dimethoate)

2.2.1 ผลการพัฒนาวิธีการวิเคราะห์สาร dimethoate สภาวะที่เหมาะสมของเครื่อง GC-FID ในห้องปฏิบัติการวิเคราะห์วัตถุอันตรายทางการเกษตร สำนักวิจัยและพัฒนาการเกษตรเขตที่ 4 คือ

- Column : capillary, HP-5 (30m x 0.32mm ID, 0.25 μ m film thickness)
- Gas flow rate : Helium (carrier gas) 50 ml/min, Hydrogen 40 ml/min, Air 400 ml/min
- Split injection : Split ratio 50:1, Split flow 100 ml/min

Injection volume : 1 μ l
 Temperature : Oven 230°C, Inlet 230 °C, Detector 260 °C
 Detector : Flame Ionization Detector
 Run Time : 5 min

2.2.2 ผลการหาปริมาณสารออกฤทธิ์ dimethoate

1) ค่า %RPD ของ peak area สารละลายสารมาตรฐาน C1 และ C2 มีค่าไม่เกิน 3% ผลการทดสอบแสดงดังตารางที่ 50

ตารางที่ 50 การประเมินค่า %Relative Percent Different (%RPD) ของสารมาตรฐาน dimethoate

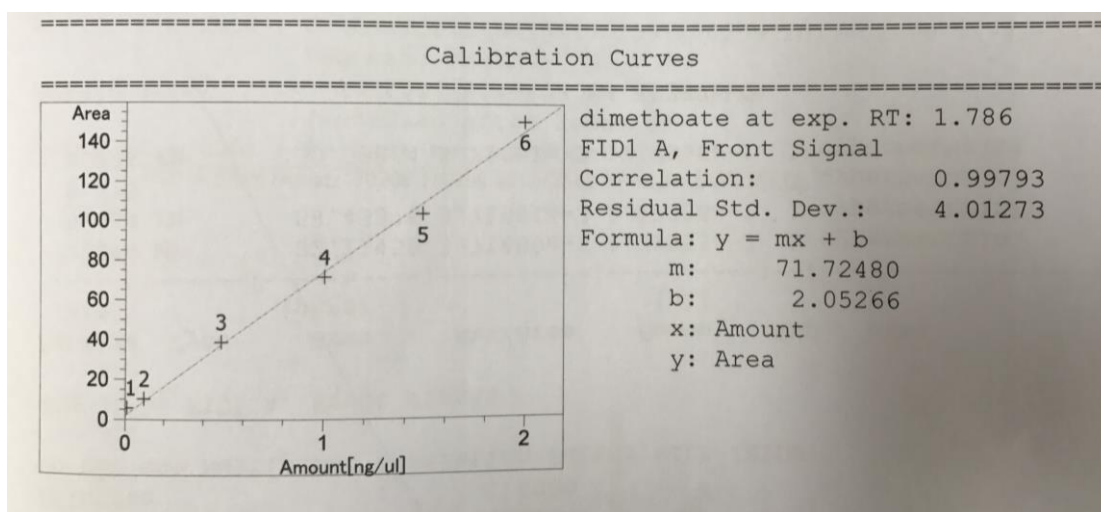
สารมาตรฐาน	น้ำหนัก	peak area	average	%RPD
dimethoate	(mg)			
C1	10.1	77.03770	77.022	0.041
C2	10.1	77.00617		
C1	10.1	77.73681	77.637	0.256
C2	10.1	77.53786		
C1	10.1	77.26230	77.262	0.002
C2	10.1	77.26092		
C1	10.1	77.91919	78.052	0.341
C2	10.1	78.18515		
C1	10.1	78.82968	78.880	0.127
C2	10.1	78.92981		
C1	10.1	77.30710	77.343	0.092
C2	10.1	77.37820		

2.2.3 ผลการตรวจสอบความเป็นเส้นตรง (Linearity) ของสารมาตรฐาน dimethoate

การตรวจสอบความเป็นเส้นตรง (Linearity) ที่ระดับความเข้มข้น 0.01 - 2.0 มิลลิกรัม/มิลลิลิตร ผลการทดสอบแสดงดังตารางที่ 51 และนำข้อมูลผลการตรวจสอบจากตารางมาสร้างกราฟระหว่างความเข้มข้นกับค่า area จากการประเมินด้วยสายตา (Visual inspection) พบว่ามีความเป็นเส้นตรง และพบว่าค่า Correlation coefficient (r) เท่ากับ 0.99793 (เกณฑ์มาตรฐาน > 0.995) ผลการทดสอบแสดงดังตารางที่ 51 และภาพที่ 25

ตารางที่ 51 ผลการทดสอบช่วงของการวัด (range) ของสาร dimethoate ที่ระดับความเข้มข้น 0.10 - 1.50 mg/ml

ความเข้มข้น (mg/ml)	Peak area	level
0.01	5.65925	1
0.10	10.21101	2
0.50	38.69930	3
1.00	71.17947	4
1.50	103.25547	5
2.00	150.64780	6



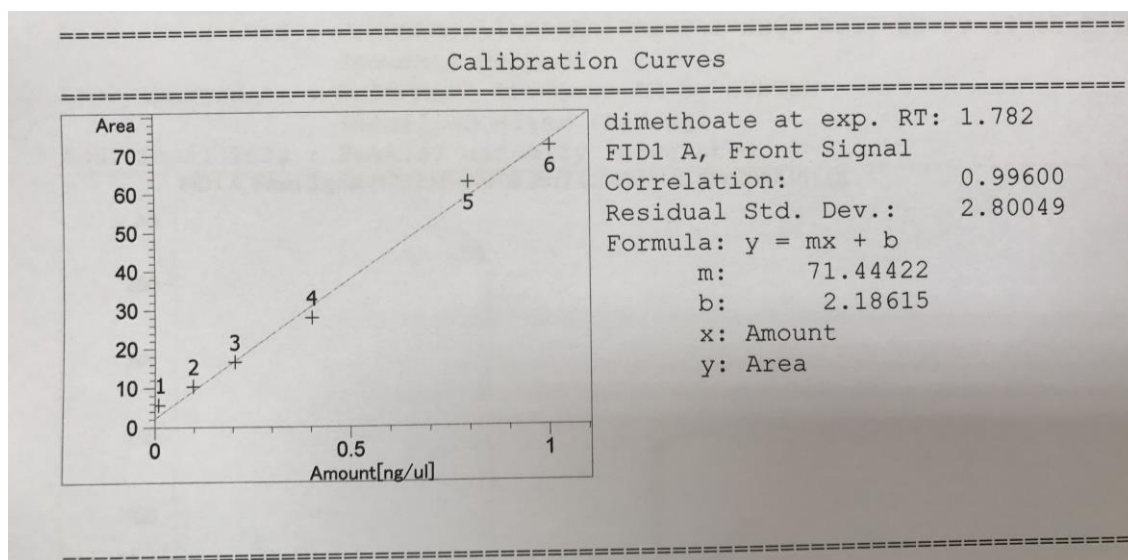
ภาพที่ 25 แสดงช่วงของการวัด (range) สารละลาย dimethoate 6 level (0.01 - 2.0 mg/ml)

2.2.4 ผลการตรวจสอบช่วงของการวัด (Working range) ของสารมาตรฐาน dimethoate

การตรวจสอบความเป็นเส้นตรง (linearity) ที่ความเข้มข้น 0.1 – 1.00 มิลลิกรัม/มิลลิลิตร ผลการทดสอบแสดงดังตารางที่ 52 และนำข้อมูลผลการตรวจสอบช่วงของการวัด (Working range) จากตารางมาสร้างกราฟระหว่างความเข้มข้นกับค่า area พบว่าค่า Correlation coefficient (r) เท่ากับ 0.99600 (เกณฑ์มาตรฐาน > 0.995) ผลการวิเคราะห์แสดงดังตารางที่ 52 และภาพที่ 26

ตารางที่ 52 ผลการทดสอบความเป็นเส้นตรง (linearity) ของสาร dimethoate ที่ระดับความเข้มข้น 0.01 - 1.00 mg/ml

ความเข้มข้น (mg/ml)	Peak area	Level
0.01	5.61329	1
0.10	10.27824	2
0.20	16.55375	3
0.40	27.89269	4
0.80	60.04470	5
1.00	72.33296	6



ภาพที่ 26 แสดงความเป็นเส้นตรง (linearity) สารละลาย dimethoate 6 level (0.01 - 1.00 mg/ml)

2.2.5 ผลการตรวจสอบค่า Precision ของสารออกฤทธิ์ dimethoate

โดยดำเนินการทดสอบ จำนวน 3 ระดับความเข้มข้น คือที่ระดับ 0.5, 1.0 และ 2.0 mg/ml ระดับความเข้มข้นละ 10 ซ้ำ ผลการทดลองค่า Precision ที่ 3 ระดับความเข้มข้นจากการตรวจสอบการทวนซ้ำ (Repeatability) ดังแสดงในตารางที่ 53

ตารางที่ 53 เปอร์เซ็นต์ที่ตรวจพบที่ 3 ความเข้มข้น จากการทวนซ้ำ (Repeatability)

n	ความเข้มข้น 0.5 (mg/ml)		ความเข้มข้น 1.0 (mg/ml)		ความเข้มข้น 2.0 (mg/ml)	
	น้ำหนัก (mg)	%ที่ตรวจพบ	น้ำหนัก (mg)	%ที่ตรวจพบ	น้ำหนัก (mg)	%ที่ตรวจพบ
1	31.40	43.81	65.90	43.57	124.80	43.42
2	29.70	43.56	67.20	43.81	128.80	43.24
3	29.70	43.53	60.60	42.45	124.80	43.03
4	31.40	43.69	62.40	43.28	124.80	43.54
5	31.40	43.81	68.70	43.06	125.10	43.12
6	31.40	43.59	61.00	43.22	125.10	43.11
7	31.40	43.50	62.40	43.11	124.80	43.49
8	29.70	43.47	67.20	43.91	124.80	43.23
9	29.70	43.44	65.90	43.57	124.80	43.44
10	31.40	43.95	61.10	42.85	124.80	43.27
Mean		43.63	Mean	43.28	Mean	43.29
SD		0.17	SD	0.45	SD	0.17
%RSD		0.40	%RSD	1.03	%RSD	0.40
Predicted			Predicted		Predicted	
Horvitz RSD		1.50	Horvitz RSD	1.50	Horvitz RSD	1.50
HORRAT		0.26	HORRAT	0.69	HORRAT	0.27

การตรวจสอบ Precision ที่อยู่ในรูปของ Repeatability คือ การตรวจสอบความใกล้เคียงกันระหว่างข้อมูลที่วิเคราะห์ซ้ำแสดงผลในรูปของ %RSD จากการทดลองหา Precision ที่อยู่ในรูปของ Repeatability ได้ค่า HORRAT เท่ากับ 0.26 0.69 และ 0.27 ซึ่งเกณฑ์ยอมรับ HORRAT ≤ 2 (AOAC)

2.2.6 ผลการตรวจสอบค่า Accuracy ของสารออกฤทธิ์ dimethoate

การตรวจสอบ Accuracy ในรูปของ %Recovery ตามเกณฑ์การพิจารณาของ AOAC สำหรับสารที่มีปริมาณมากกว่า 10% ค่า %Recovery ต้องอยู่ในช่วง 98 - 102 โดยเตรียมสารละลาย stock sample ให้มี

ความเข้มข้นที่แน่นอน (1 mg/ml) จากนั้นเตรียมสารละลายเพื่อหาค่า origin โดยปิเปตสารละลาย stock sample ปริมาตร 10 ml ลงใน volumetric flask ขนาด 25 ml จำนวน 10 ซ้ำ ปรับปริมาตรด้วยตัวทำละลายเข้าให้เข้ากัน แล้วนำไปฉีดเข้าเครื่อง GC เทียบกับกราฟมาตรฐานเพื่อวิเคราะห์หาปริมาณสารออกฤทธิ์ dimethoate ข้อมูลผลการทดสอบ Origin แสดงดังตารางที่ 54

ตารางที่ 54 แสดงค่า Origin ของสารออกฤทธิ์ dimethoate

จำนวนซ้ำ	Origin (0.5mg/ml)
1	0.497
2	0.494
3	0.495
4	0.495
5	0.494
6	0.495
7	0.496
8	0.495
9	0.495
10	0.495
Mean	0.495
SD	0.001
%RSD	0.17

เมื่อหาค่า origin ที่แน่นอนแล้ว จากนั้นเตรียมสารละลายเพื่อหาค่า recovery โดยปิเปตสารละลาย stock sample ปริมาตร 10 ml ลงใน volumetric flask ขนาด 25 ml ระดับความเข้มข้นละ 10 ซ้ำ จากนั้นเติมสารละลายมาตรฐานที่ระดับความเข้มข้น 0.5 mg/ml และ 1.0 mg/ml ลงใน sample origin 10 ml ที่เตรียมไว้ใน volumetric flask ขนาด 25 ml (ระดับความเข้มข้นละ 10 ซ้ำ) ปรับปริมาตรด้วยตัวทำละลายเข้าให้เข้ากัน แล้วนำไปวิเคราะห์ด้วยเครื่อง GC เทียบกับกราฟมาตรฐานเพื่อวิเคราะห์หาปริมาณสารออกฤทธิ์ dimethoate

และประเมินค่า accuracy จาก % recovery โดยนำค่าปริมาณสารออกฤทธิ์ dimethoate ที่เป็นค่า origin มาหาค่าเฉลี่ยและเทียบกับค่าที่ได้จากการ spike แล้วคำนวณค่า % recovery โดยค่าต้องอยู่ในช่วงตามเกณฑ์การพิจารณาของ AOAC (1993) การคำนวณตามสมการข้างล่างนี้

$$\% \text{ Recovery} = \frac{\text{Conc. spike sample} - \text{Conc. Original sample}}{\text{Conc. added}} \times 100$$

ข้อมูลผลการทดสอบหา Accuracy ในรูปของ %Recovery ดังแสดงในตารางที่ 55

การตรวจสอบ Accuracy ในรูปของ %Recovery ตามเกณฑ์การพิจารณาของ AOAC สำหรับสารที่มีปริมาณมากกว่า 10% ค่า %Recovery ต้องอยู่ในช่วง 98 - 102 จากการทดลองหา Accuracy พบว่าจากการเติมสารมาตรฐานที่ระดับความเข้มข้น 0.5 และ 1.0 mg/ml ได้ค่า %Recovery เท่ากับ 100.49 และ 99.69 ตามลำดับ ซึ่งอยู่ในเกณฑ์ยอมรับ ของ AOAC ที่กำหนดไว้

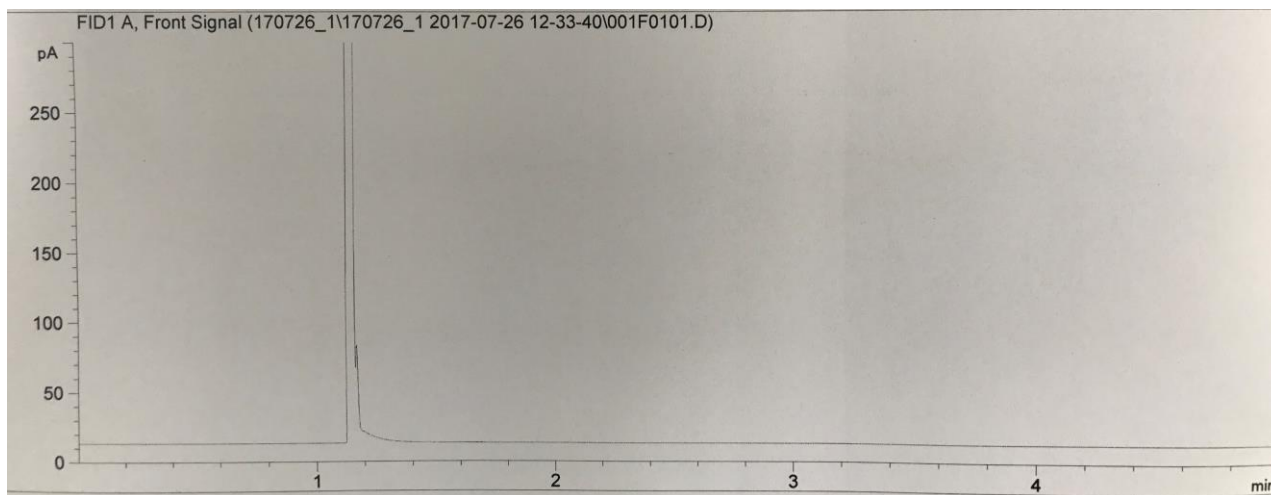
ตารางที่ 55 แสดงค่า % Recovery ของสารออกฤทธิ์ dimethoate

จำนวนซ้ำ	Origin Mean (mg/ml)	Cone. Added 0.5 mg/ml		Cone. Added 1.0 mg/ml	
		Cone.	% Recovery	Cone.	% Recovery
1	0.495	0.999	100.54	1.491	99.41
2		0.999	101.09	1.494	100.00
3		0.995	99.88	1.489	99.34
4		0.994	99.85	1.497	100.22
5		1.000	101.07	1.487	99.27
6		0.997	100.47	1.493	99.82
7		0.997	100.09	1.488	99.14
8		1.000	100.96	1.487	99.16
9		0.998	100.53	1.496	100.08
10		0.997	100.42	1.499	100.43
Mean	-	0.998	100.49	1.492	99.69
SD	-	0.002	-	0.004	-

%RSD	-	0.196	-	0.301	-
------	---	-------	---	-------	---

2.2.7 ผลการตรวจสอบค่า Specificity ของสารออกฤทธิ์ dimethoate

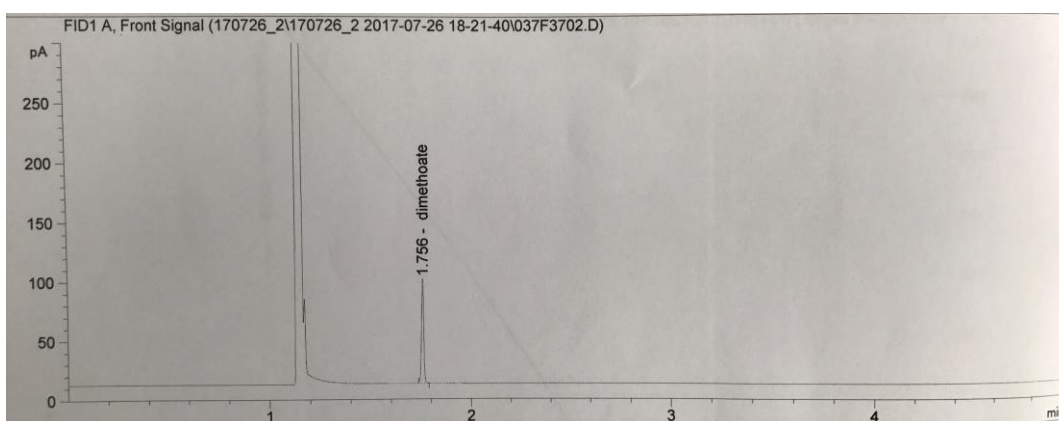
ผลการทดสอบการทดลองหา Specificity ของสารตัวอย่างนั้นสามารถตรวจวัดได้อย่างถูกต้องดังการแสดงผลภาพที่ 27



ภาพที่ 27 แสดงการแยกของสารละลาย Blank

2.2.8 ผลการตรวจสอบค่า Selectivity ของสารออกฤทธิ์ dimethoate

ผลการทดสอบการทดลองหา Selectivity ของสารตัวอย่างนั้นสามารถแยกสาร dimethoate ได้ถูกต้องดังการแสดงผลภาพที่ 28



ภาพที่ 28 แสดงการแยกของสารละลายมาตรฐาน dimethoate

2.2.9 ผลการตรวจสอบค่า Ruggedness ของสารออกฤทธิ์ dimethoate

ผลการตรวจสอบ Ruggedness จากการทดลองในสภาวะการทดสอบเดียวกัน แต่เปลี่ยนผู้ทดสอบ ข้อมูลแสดงดังตารางที่ 56

ตารางที่ 56 เปรียบเทียบเปอร์เซ็นต์ที่ตรวจพบระหว่างผู้ทดสอบที่ 1 และ 2

n	ความเข้มข้น 1.0 mg/ml			
	ผู้ทดสอบที่ 1		ผู้ทดสอบที่ 2	
	น้ำหนัก (mg)	%ที่ตรวจพบ	น้ำหนัก (mg)	%ที่ตรวจพบ
1	62.9	43.88	63.0	43.9
2	62.5	43.65	63.0	43.8
3	61.8	43.92	62.4	43.8
4	63.0	43.13	62.8	43.9
5	63.0	43.37	62.9	43.7
6	62.4	43.62	63.8	43.7
7	62.8	43.89	62.5	43.8
8	62.9	43.87	62.4	44.0
9	63.8	43.68	62.4	43.7
10	63.8	43.54	62.8	43.7
Mean		43.66	Mean	43.80
SD		0.26	SD	0.11
%RSD		0.59	%RSD	0.25
Predicted Horwitz RSD		1.50	Predicted Horwitz RSD	1.49
HORRAT		0.39	HORRAT	0.17

การตรวจสอบ Ruggedness คือ การตรวจสอบความใกล้เคียงกันระหว่างข้อมูลวิเคราะห์ซ้ำจากการเปรียบเทียบผู้ทดสอบ ซึ่งแสดงผลในรูปของ %RSD ได้ค่าดังนี้ 0.59 และ 0.25 จากการทดลองพบว่าได้ค่า HORRAT เท่ากับ 0.39 และ 0.17 ซึ่งผ่านตามเกณฑ์ยอมรับ HORRAT ≤ 2 (AOAC)

2.2.10 ผลการตรวจสอบค่า Robustness ของสารออกฤทธิ์ dimethoate

ผลการตรวจสอบ Robustness จากการทดลองในสภาวะการทดสอบเดียวกัน แต่เปลี่ยน Column ในการวิเคราะห์จาก Capillary Column HP-5 เป็น HP-1 ดังแสดงในตารางที่ 57

ตารางที่ 57 เปรียบเทียบเปอร์เซ็นต์ที่ตรวจพบระหว่าง Column HP-5 และ HP-1

n	ความเข้มข้น 1.0 mg/ml			
	HP-5		HP-1	
	น้ำหนัก (mg)	%ที่ตรวจพบ	น้ำหนัก (mg)	%ที่ตรวจพบ
1	62.9	43.88	62.9	43.88
2	62.5	43.65	62.5	43.58
3	62.5	43.41	62.5	43.54
4	61.8	43.92	62.4	43.77
5	63.0	43.13	63.0	43.83
6	63.0	43.37	62.4	43.78
7	62.4	43.62	62.9	43.92
8	62.8	43.89	63.0	43.99
9	63.8	43.68	63.8	43.91
10	62.9	43.87	62.9	43.69
Mean		43.64	Mean	43.79
SD		0.27	SD	0.15
%RSD		0.61	%RSD	0.34
Predicted Horwitz RSD		1.50	Predicted Horwitz RSD	1.49
HORRAT		0.41	HORRAT	0.23

การตรวจสอบ Robustness คือการตรวจสอบความใกล้เคียงกันระหว่างข้อมูลทีวิเคราะห์ซ้ำจากการเปรียบเทียบ Column ซึ่งแสดงผลในรูปของ %RSD ได้ค่าดังนี้ 0.61 และ 0.34 จากการทดลองพบว่าได้ค่า HORRAT เท่ากับ 0.41 และ 0.23 ซึ่งเกณฑ์ยอมรับ HORRAT ≤ 2 (AOAC)

2.2.11 ผลการประมาณค่าความไม่แน่นอน (Uncertainty) ของสารออกฤทธิ์ dimethoate 40% w/v EC

ตารางที่ 58 สรุปการหาค่า Relative Standard Deviation (RSD)

Source	Value (X)	Std. (U _x)	Unc	RSD (U _x /x)	RSD ²
Balance (std. w)	10.3 mg	0.00025456		0.000024714	0.0000000006
Balance (sample. s)	25.1 mg	0.00018000		0.000007171	0.0000000001
Purity (std. p)	98.0%	0.00290000		0.002959184	0.0000087568
Vol. flask (std. D _s)	10 ml	0.02900000		0.002900000	0.0000084100
Vol. flask (sample. D _w)	25 ml	0.07226900		0.002890760	0.0000083565
Area (std. H _s)	66.779625	0.26976831		0.004039680	0.0000163190
Area (sample. H _w)	72.50776	0.66328517		0.009147782	0.0000836819
Density (SG)	1.028	0.00000000		0.000000000	0.0000000000
$\sum RSD^2$					0.0001255249

$$\begin{aligned}
 U_C &= C_{\text{sam}} \sqrt{RSD_w^2 + RSD_s^2 + RSD_p^2 + RSD_{D_s}^2 + RSD_{D_w}^2 + RSD_{H_s}^2 + RSD_{H_w}^2 + RSD_{SG}^2} \\
 &= 40 \times \sqrt{0.0001255249} \\
 &= 40.0 \times 0.011 \\
 &= 0.448 \\
 U_C &= 0.448 \\
 U_E &= 2 \times U_C \\
 &= 2 \times 0.448 \\
 &= 0.90
 \end{aligned}$$

การรายงานค่าความไม่แน่นอนในการวัด ของ % dimethoate = 40 ± 0.90

ค่าความไม่แน่นอนในการวัดที่รายงานเป็นค่าความไม่แน่นอนมาตรฐาน คูณแฟคเตอร์ k=2 ซึ่งมีระดับความมั่นใจประมาณ %95ตามการกระจายแบบปกติ การประเมินค่าความไม่แน่นอนพิจารณาตาม NAMAS-NIS Guide to the Expression of Uncertainty in Testing, 1st ed. 1994 England และรายงานค่าความไม่แน่นอนเป็นเลขนัยสำคัญ 2 ตำแหน่ง

2.3 ผลการวิเคราะห์หาปริมาณสารออกฤทธิ์ไดอะซินอน (diazinon)

2.3.1 ผลการพัฒนาวิธีการวิเคราะห์สาร diazinon สภาวะที่เหมาะสมของเครื่อง GC-FID ในห้องปฏิบัติการวิเคราะห์วัตถุอันตรายทางการเกษตร สำนักวิจัยและพัฒนาการเกษตรเขตที่ 4 คือ

Column :	capillary, HP-5 (30m x 0.32mm ID, 0.25 μ m film thickness)
Gas flow rate :	Helium (carrier gas) 15 mL/min, Hydrogen 40 mL/min, Air 400 mL/min
Split injection :	Split ratio 45:1, Split flow 67.5 mL/min
Injection volume :	1 μ l
Temperature :	Oven 260°C, Inlet 260 °C, Detector 260 °C
Detector :	Flame Ionization Detector
Run Time :	5 min

2.3.2 ผลการหาปริมาณสารออกฤทธิ์ diazinon

1) ค่า %RPD ของ peak area สารละลายสารมาตรฐาน C1 และ C2 มีค่าไม่เกิน 3% ผลทดสอบแสดงดังตารางที่ 59

ตารางที่ 59 การประเมินค่า %Relative Percent Different (%RPD) ของสารมาตรฐาน diazinon

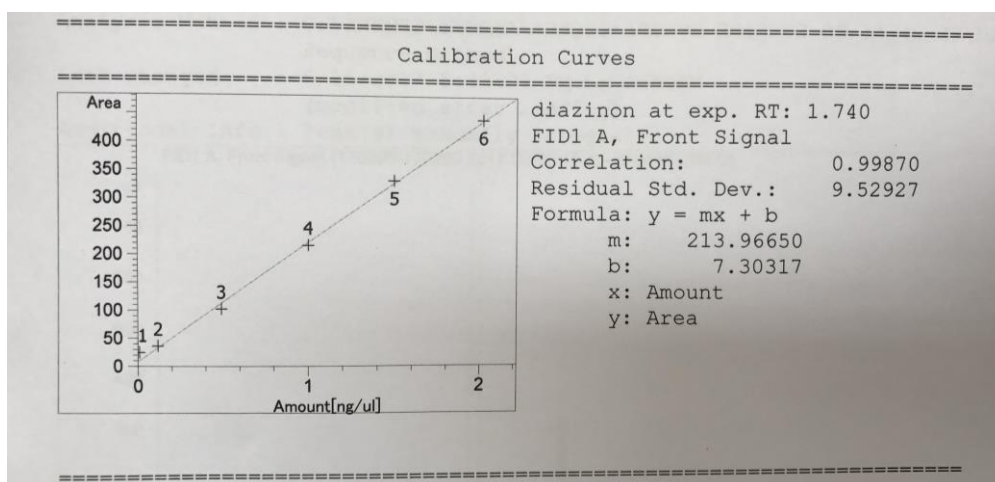
สารมาตรฐาน diazinon	น้ำหนัก (mg)	peak area	average	%RPD
C1	10.1	219.55763	219.486	0.065
C2	10.1	219.41455		
C1	10.1	219.93999	219.087	0.779
C2	10.1	218.23418		
C1	10.1	218.00465	218.344	0.311
C2	10.1	218.68428		
C1	10.1	217.57381	218.045	0.432
C2	10.1	218.51576		
C1	10.1	220.15770	220.562	0.366
C2	10.1	220.96538		
C1	10.1	217.64284	217.911	0.246

2.3.3 ผลการตรวจสอบความเป็นเส้นตรง (Linearity) ของสารมาตรฐาน diazinon

การตรวจสอบความเป็นเส้นตรง (Linearity) ที่ระดับความเข้มข้น 0.01 - 2.0 มิลลิกรัม/มิลลิลิตร ผลการทดสอบแสดงดังตารางที่ 60 และนำข้อมูลผลการตรวจสอบจากตารางมาสร้างกราฟระหว่างความเข้มข้นกับค่า area จากการประเมินด้วยสายตา (Visual inspection) พบว่ามีความเป็นเส้นตรง และพบว่าค่า Correlation coefficient (r) เท่ากับ 0.99870 (เกณฑ์มาตรฐาน > 0.995) ผลการทดสอบแสดงดังตารางที่ 60 และภาพที่ 29

ตารางที่ 60 ผลการทดสอบช่วงของการวัด (range) ของสาร diazinon ที่ระดับความเข้มข้น 0.10 - 2.00 mg/ml

ความเข้มข้น (mg/ml)	Peak area	level
0.01	24.22360	1
0.10	35.38638	2
0.50	102.20237	3
1.00	215.76976	4
1.50	331.60046	5
2.00	441.42789	6



ภาพที่ 29 แสดงช่วงของการวัด (range) สารละลาย diazinon 6 level (0.10 - 2.00 mg/ml)

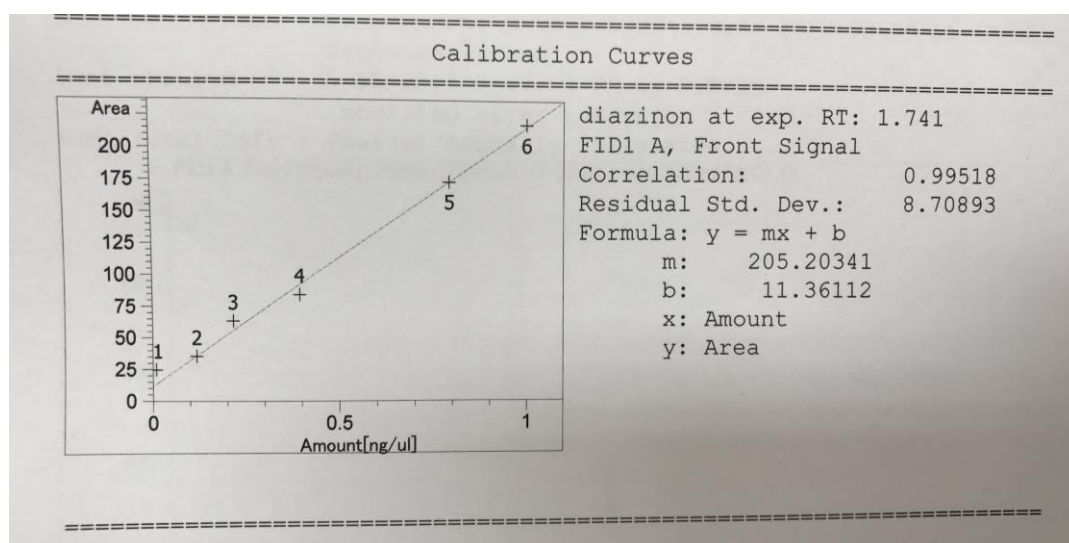
2.3.4 ผลการตรวจสอบช่วงของการวัด (Working range) ของสารมาตรฐาน diazinon

การตรวจสอบความเป็นเส้นตรง (linearity) ที่ความเข้มข้น 0.01 - 1.00 มิลลิกรัม/มิลลิลิตร ผลการทดสอบแสดงดังตารางที่ 61 และนำข้อมูลผลการตรวจสอบช่วงของการวัด (Working range) จากตารางมาสร้าง

กราฟระหว่างความเข้มข้นกับค่า area พบว่าค่า Correlation coefficient (r) เท่ากับ 0.99518 (เกณฑ์มาตรฐาน > 0.995) ผลการวิเคราะห์แสดงดังตารางที่ 61 และภาพที่ 30

ตารางที่ 61 ผลการทดสอบความเป็นเส้นตรง (linearity) ของสาร diazinon ที่ระดับความเข้มข้น 0.01 - 1.00 mg/ml

ความเข้มข้น (mg/ml)	Peak area	Level
0.01	24.52382	1
0.10	35.33448	2
0.20	63.40800	3
0.40	90.34709	4
0.80	173.64476	5
1.00	218.35057	6



ภาพที่ 30 แสดงความเป็นเส้นตรง (linearity) สารละลาย diazinon 6 level (0.10 - 1.00 mg/ml)

2.3.5 ผลการตรวจสอบค่า Precision ของสารออกฤทธิ์ diazinon

โดยดำเนินการทดสอบ จำนวน 3 ระดับความเข้มข้น คือที่ระดับ 0.5, 1.0 และ 2.0 mg/ml ระดับความเข้มข้นละ 10 ซ้ำ ผลการทดสอบค่า Precision ที่ 3 ระดับความเข้มข้นจากการตรวจสอบการทวนซ้ำ (Repeatability) ดังแสดงในตารางที่ 62

ตารางที่ 62 เปอร์เซ็นต์ที่ตรวจพบที่ 3 ความเข้มข้น จากการทวนซ้ำ (Repeatability)

n	ความเข้มข้น 0.5 (mg/ml)		ความเข้มข้น 1.0 (mg/ml)		ความเข้มข้น 2.0 (mg/ml)	
	น้ำหนัก (mg)	%ที่ตรวจพบ	น้ำหนัก (mg)	%ที่ตรวจพบ	น้ำหนัก (mg)	%ที่ตรวจพบ
1	20.70	56.71	41.80	56.13	83.50	55.65
2	20.70	56.28	41.80	56.03	83.50	55.43
3	20.70	56.05	41.80	55.80	83.50	55.47
4	20.70	55.95	41.80	56.00	83.50	55.40
5	20.70	56.67	41.80	55.85	83.50	55.45
6	20.70	56.96	41.80	55.99	83.50	55.40
7	20.70	56.04	41.80	56.70	83.50	55.31
8	20.70	56.22	41.80	55.85	83.50	55.31
9	20.70	56.62	41.80	55.90	83.50	55.42
10	20.70	55.94	41.80	55.96	83.50	55.59
Mean		56.34	Mean	56.02	Mean	55.44
SD		0.37	SD	0.26	SD	0.11
%RSD		0.65	%RSD	0.46	%RSD	0.20
Predicted	Horvitz		Predicted		Predicted	
RSD		1.44	Horvitz RSD	1.44	Horvitz RSD	1.44

HORRAT	0.45	HORRAT	0.32	HORRAT	0.14
--------	------	--------	------	--------	------

การตรวจสอบ Precision ที่อยู่ในรูปของ Repeatability คือ การตรวจสอบความใกล้เคียงกันระหว่างข้อมูลที่วิเคราะห์ซ้ำแสดงผลในรูปของ %RSD จากการทดลองหา Precision ที่อยู่ในรูปของ Repeatability ได้ค่า HORRAT เท่ากับ 0.45 0.32 และ 0.14 ซึ่งผ่านตามเกณฑ์ยอมรับ HORRAT \leq 2 (AOAC)

2.3.6 ผลการตรวจสอบค่า Accuracy ของสารออกฤทธิ์ diazinon

การตรวจสอบ Accuracy ในรูปของ %Recovery ตามเกณฑ์การพิจารณาของ AOAC สำหรับสารที่มีปริมาณมากกว่า 10% ค่า %Recovery ต้องอยู่ในช่วง 98 - 102 โดยเตรียมสารละลาย stock sample ให้มีความเข้มข้นที่แน่นอน (1 mg/ml) จากนั้นเตรียมสารละลายเพื่อหาค่า origin โดยปิเปตสารละลาย stock sample ปริมาตร 10 ml ลงใน volumetric flask ขนาด 25 ml จำนวน 10 ซ้ำ ปรับปริมาตรด้วยตัวทำละลายเย้าให้เข้ากันแล้วนำไปฉีดเข้าเครื่อง GC เทียบกับกราฟมาตรฐานเพื่อวิเคราะห์หาปริมาณสารออกฤทธิ์ diazinon ข้อมูลผลการทดสอบ Origin แสดงดังตารางที่ 63

ตารางที่ 63 แสดงค่า Origin ของสารออกฤทธิ์ diazinon

จำนวนซ้ำ	Origin (0.5mg/ml)
1	0.513
2	0.517
3	0.517
4	0.517
5	0.519
6	0.520
7	0.519
8	0.520
9	0.515
10	0.514

Mean	0.517
SD	0.002
%RSD	0.44

เมื่อหาค่า origin ที่แน่นอนแล้ว จากนั้นเตรียมสารละลายเพื่อหาค่า recovery โดยปิเปตสารละลาย stock sample ปริมาตร 10 ml ลงใน volumetric flask ขนาด 25 ml ระดับความเข้มข้นละ 10 ซ้ำ จากนั้นเติมสารละลายมาตรฐานที่ระดับความเข้มข้น 0.5 mg/ml และ 1.0 mg/ml ลงใน sample origin 10 ml ที่เตรียมไว้ใน volumetric flask ขนาด 25 ml (ระดับความเข้มข้นละ 10 ซ้ำ) ปรับปริมาตรด้วยตัวทำละลายเข้าให้เข้ากัน แล้วนำไปวิเคราะห์ด้วยเครื่อง GC เทียบกับกราฟมาตรฐานเพื่อวิเคราะห์หาปริมาณสารออกฤทธิ์ diazinon และประเมินค่า accuracy จาก % recovery โดยนำค่าปริมาณสารออกฤทธิ์ diazinon ที่เป็นค่า origin มาหาค่าเฉลี่ยและเทียบกับค่าที่ได้จากการ spike แล้วคำนวณค่า % recovery โดยค่าต้องอยู่ในช่วงตามเกณฑ์การพิจารณาของ AOAC (1993) การคำนวณตามสมการข้างล่างนี้

$$\% \text{ Recovery} = \frac{\text{Conc. spike sample} - \text{Conc. Original sample}}{\text{Conc. added}} \times 100$$

ข้อมูลผลการทดสอบหา Accuracy ในรูปของ %Recovery ดังแสดงในตารางที่ 64

ตารางที่ 64 แสดงค่า % Recovery ของสารออกฤทธิ์ diazinon

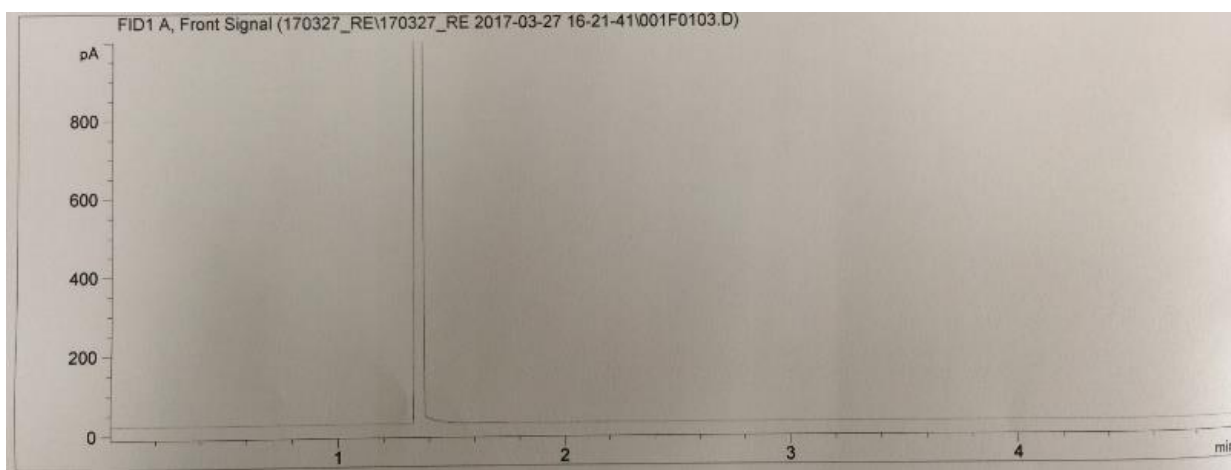
จำนวนซ้ำ	Origin Mean (mg/ml)	Cone. Added 0.5 mg/ml		Cone. Added 1.0 mg/ml	
		Cone.	% Recovery	Cone.	% Recovery
1		1.022	101.06	1.506	98.94
2	0.517	1.024	101.37	1.512	99.51
3		1.017	99.92	1.514	99.66

4		1.017	99.95	1.513	99.59
5		1.018	100.11	1.519	100.25
6		1.021	100.87	1.518	100.11
7		1.021	100.73	1.518	100.15
8		1.015	99.57	1.512	99.55
9		1.020	100.53	1.519	100.23
10		1.020	100.62	1.522	100.51
Mean	-	1.019	100.47	1.515	99.85
SD	-	0.003	-	0.005	-
%RSD	-	0.279	-	0.313	-

การตรวจสอบ Accuracy ในรูปของ %Recovery ตามเกณฑ์การพิจารณาของ AOAC สำหรับสารที่มีปริมาณมากกว่า 10% ค่า %Recovery ต้องอยู่ในช่วง 98 - 102 จากการทดลองหา Accuracy พบว่าจากการเติมสารมาตรฐานที่ระดับความเข้มข้น 0.5 และ 1.0 mg/ml ได้ค่า %Recovery เท่ากับ 100.47 และ 99.85 ตามลำดับ ซึ่งอยู่ในเกณฑ์ยอมรับ ของ AOAC ที่กำหนดไว้

2.3.7 ผลการตรวจสอบค่า Specificity ของสารออกฤทธิ์ diazinon

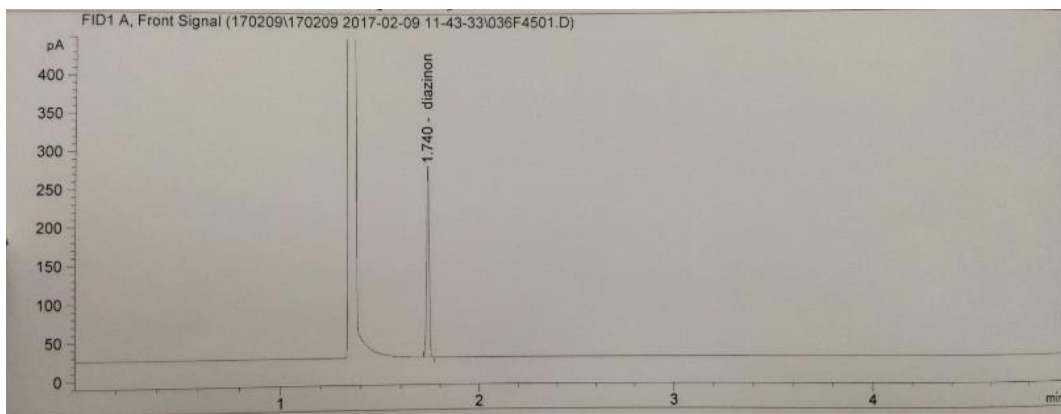
ผลการทดสอบการทดลองหา Specificity ของสารตัวอย่างนั้นสามารถตรวจวัดได้อย่างถูกต้องดังการแสดงผลภาพที่ 31



ภาพที่ 31 แสดงการแยกของสารละลาย Blank

2.3.8 ผลการตรวจสอบค่า Selectivity ของสารออกฤทธิ์ diazinon

ผลการทดสอบการทดลองหา Selectivity ของสารตัวอย่างนั้นสามารถแยกสาร diazinon ได้ อย่างถูกต้องดังการแสดงผลภาพที่ 32



ภาพที่ 32 แสดงการแยกของสารละลายมาตรฐาน diazinon

2.3.9 ผลการตรวจสอบค่า Ruggedness ของสารออกฤทธิ์ diazinon

ผลการตรวจสอบ Ruggedness จากการทดลองในสภาวะการทดสอบเดียวกัน แต่เปลี่ยนผู้ทดสอบ ข้อมูลแสดงดังตารางที่ 65
 ตารางที่ 65 เปรียบเทียบเปอร์เซ็นต์ที่ตรวจพบระหว่างผู้ทดสอบที่ 1 และ 2

n	ความเข้มข้น 1.0 mg/ml			
	ผู้ทดสอบที่ 1		ผู้ทดสอบที่ 2	
	น้ำหนัก (mg)	%ที่ตรวจพบ	น้ำหนัก (mg)	%ที่ตรวจพบ
1	41.3	58.45	41.6	58.28
2	41.3	58.43	41.6	58.35
3	41.3	58.58	41.6	58.15
4	41.3	58.76	41.6	58.26
5	41.3	58.61	41.6	58.48
6	41.3	58.65	41.6	58.31
7	41.3	58.70	41.6	58.43
8	41.3	58.27	41.6	58.27
9	41.3	58.35	41.6	58.24
10	41.3	58.74	41.6	58.33
Mean		58.55	Mean	58.31
SD		0.17	SD	0.09
%RSD		0.29	%RSD	0.16
Predicted Horwitz RSD		1.43	Predicted Horwitz RSD	1.43

HORRAT	0.20	HORRAT	0.11
--------	------	--------	------

2.3.10 ผลการตรวจสอบค่า Robustness ของสารออกฤทธิ์ diazinon

ผลการตรวจสอบ Robustness จากการทดลองในสภาวะการทดสอบเดียวกัน แต่เปลี่ยน Column ในการวิเคราะห์จาก Capillary Column HP-5 เป็น HP-1 ดังแสดงในตารางที่ 66

ตารางที่ 66 เปรียบเทียบเปอร์เซ็นต์ที่ตรวจพบระหว่าง Column HP-5 และ HP-1

n	ความเข้มข้น 1.0 mg/ml			
	HP-5		HP-1	
	น้ำหนัก (mg)	%ที่ตรวจพบ	น้ำหนัก (mg)	%ที่ตรวจพบ
1	45.3	55.75	44.8	56.17
2	44.7	56.04	45.3	56.64
3	44.8	55.88	44.8	55.80
4	45.3	56.05	45.3	56.24
5	45.3	55.75	44.8	55.76
6	45.3	55.73	45.3	55.57
7	44.8	55.83	45.3	56.43
8	45.3	55.81	44.8	55.85
9	44.7	55.76	45.3	56.45
10	45.3	55.88	45.3	56.59
Mean		55.85	Mean	56.15
SD		0.12	SD	0.38
%RSD		0.21	%RSD	0.68
Predicted Horwitz RSD		1.44	Predicted Horwitz RSD	1.44
HORRAT		0.14	HORRAT	0.47

การตรวจสอบ Robustness คือการตรวจสอบความใกล้เคียงกันระหว่างข้อมูลที่วิเคราะห์ซ้ำจากการเปรียบเทียบ Column ซึ่งแสดงผลในรูปของ %RSD ได้ค่าดังนี้ 0.30 และ 0.73 จากการทดลองพบว่าได้ค่า HORRAT เท่ากับ 0.14 และ 0.47 ซึ่งเกณฑ์ยอมรับ HORRAT ≤ 2 (AOAC)

2.3.11 ผลการประมาณค่าความไม่แน่นอน (Uncertainty) ของสารออกฤทธิ์ diazinon = 60% w/v

EC

ตารางที่ 67 สรุปการหาค่า Relative Standard Deviation (RSD)

Source	Value (X)	Std. Unc (U _x)	RSD (U _x /x)	RSD ²
Balance (std. w)	10.1 mg	0.00025456	0.0000252038	0.0000000006
Balance (sample. s)	41.8 mg	0.00025456	0.0000060899	0.0000000000
Purity (std. p)	99.0%	0.00290000	0.0029292929	0.0000085808
Vol. flask (std. D _s)	10 ml	0.02900000	0.0029000000	0.0000084100
Vol. flask (sample. D _w)	25 ml	0.07226900	0.0028907600	0.0000083565
Area (std. H _s)	215.273	0.70844321	0.0032909017	0.0000108300
Area (sample. H _w)	326.276	1.92948975	0.0059136786	0.0000349716
Density (SG)	1.028	0.00000000	0.0000000000	0.0000000000
$\sum RSD^2$				0.0000711496

$$\begin{aligned}
 U_C &= C_{\text{sam}} \sqrt{RSD_w^2 + RSD_s^2 + RSD_p^2 + RSD_{D_s}^2 + RSD_{D_w}^2 + RSD_{H_s}^2 + RSD_{H_w}^2 + RSD_{SG}^2} \\
 &= 60 \times \sqrt{0.0000711496} \\
 &= 60 \times 0.008 \\
 U_C &= 0.506 \\
 U_E &= 2 \times U_C \\
 &= 2 \times 0.506 \\
 &= 1.01
 \end{aligned}$$

การรายงานค่าความไม่แน่นอนในการวัดของ % Diazinon = 60 ± 1.01

ค่าความไม่แน่นอนในการวัดที่รายงานเป็นค่าความไม่แน่นอนมาตรฐาน คูณแฟคเตอร์ $k=2$ ซึ่งมีระดับความมั่นใจประมาณ 95% ตามการกระจายแบบปกติ การประเมินค่าความไม่แน่นอนพิจารณาตาม NAMAS-NIS Guide to the Expression of Uncertainty in Testing, 1st ed. 1994 England และรายงานค่าความไม่แน่นอนเป็นเลขนัยสำคัญ 2 ตำแหน่ง

2.4 ผลการวิเคราะห์หาปริมาณสารออกฤทธิ์เบนอิมิล (benomyl)

2.4.1 ผลการพัฒนาวิธีการวิเคราะห์สาร benomyl สภาวะที่เหมาะสมของเครื่อง HPLC ในห้องปฏิบัติการวิเคราะห์วัตถุอันตรายทางการเกษตร สำนักวิจัยและพัฒนาการเกษตรเขตที่ 4 คือ

Column :	Lichrospher 100 RP-18 (5 μ m) ความยาว 250 X 4.0 (i.d.mm)
Mobile phase :	acetonitrile : water (70 :30)
Injection volume :	10 μ l
Detector :	Diodarray Detector (280 nm)
Run Time :	5 min

2.4.2 ผลการหาปริมาณสารออกฤทธิ์ benomyl

1) ค่า %RPD ของ peak area สารละลายสารมาตรฐาน C1 และ C2 มีค่าไม่เกิน 3% ผลการทดสอบแสดงดังตารางที่ 68

ตารางที่ 68 การประเมินค่า %Relative Percent Different (%RPD) ของสารมาตรฐาน benomyl

สารมาตรฐาน	น้ำหนัก	peak area	average	%RPD
benomyl	(mg)			
C1	10.3	13742954.00	13730169.80	0.186

C2	10.3	13717385.60		
C1	10.3	13728400.60		
C2	10.3	13728160.60	13728280.60	0.002
C1	10.3	13729342.00		
C2	10.3	13759889.00	13744615.50	0.222
C1	10.3	13728300.60		
C2	10.3	13729342.00	13728821.30	0.008
C1	10.3	13817670.30		
C2	10.3	13717385.60	13767527.95	0.728
C1	10.3	13759889.00		
C2	10.3	13742954.00	13751421.50	0.123

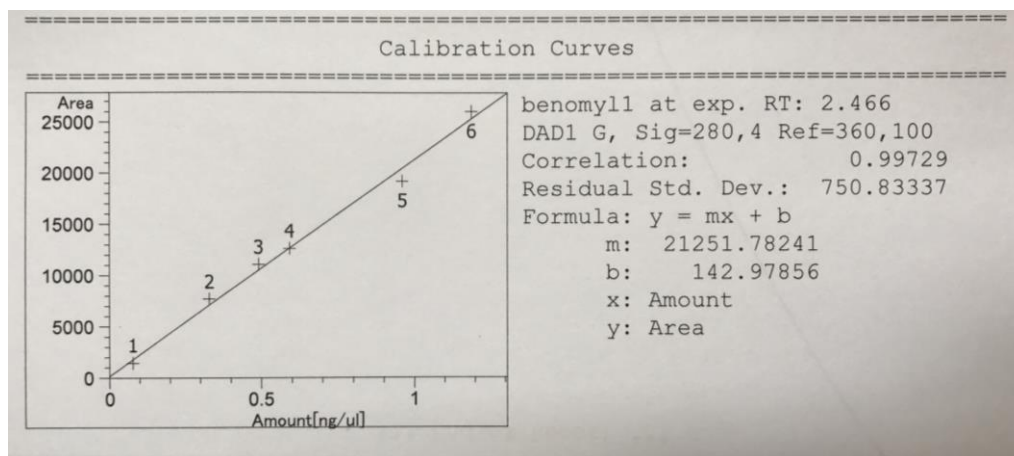
2.4.3 ผลการตรวจสอบความเป็นเส้นตรง (Linearity) ของสารมาตรฐาน benomyl

การตรวจสอบความเป็นเส้นตรง (Linearity) ที่ระดับความเข้มข้น 0.10 - 2.0 มิลลิกรัม/มิลลิลิตร ผลการทดสอบแสดงดังตารางที่ 69 และนำข้อมูลผลการตรวจสอบจากตารางมาสร้างกราฟระหว่างความเข้มข้นกับค่า area จากการประเมินด้วยสายตา (Visual inspection) พบว่ามีความเป็นเส้นตรง และพบว่าค่า Correlation coefficient (r) เท่ากับ 0.99729 และ 0.99765 (เกณฑ์มาตรฐาน > 0.995) ผลการทดสอบแสดงดังตารางที่ 69 และภาพที่ 33 - 34

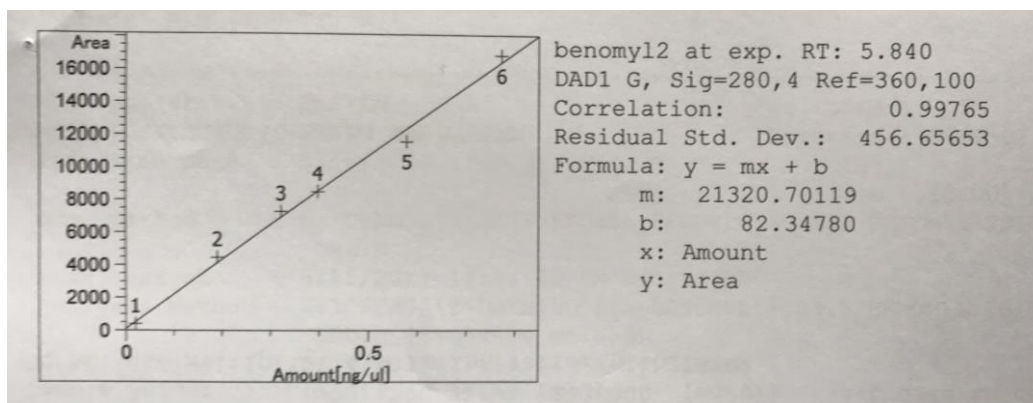
ตารางที่ 69 ผลการทดสอบช่วงของการวัด (range) ของสาร benomyl ที่ระดับความเข้มข้น 0.01 - 2.0 mg/ml

ความเข้มข้น (mg/ml)	Peak area (benomyl 1)	Peak area (benomyl 2)	level
0.10	1460.72217	379.46185	1
0.50	7717.60400	4471.47854	2
0.80	11098.70000	7289.30762	3
1.00	12666.600000	8498.49805	4

1.50	19297.100000	11622.00000	5
2.00	26080.80000	16954.00000	6



ภาพที่ 33 แสดงช่วงของการวัด (range) สารละลาย benomy1 6 level (0.10 - 2.00 mg/ml)



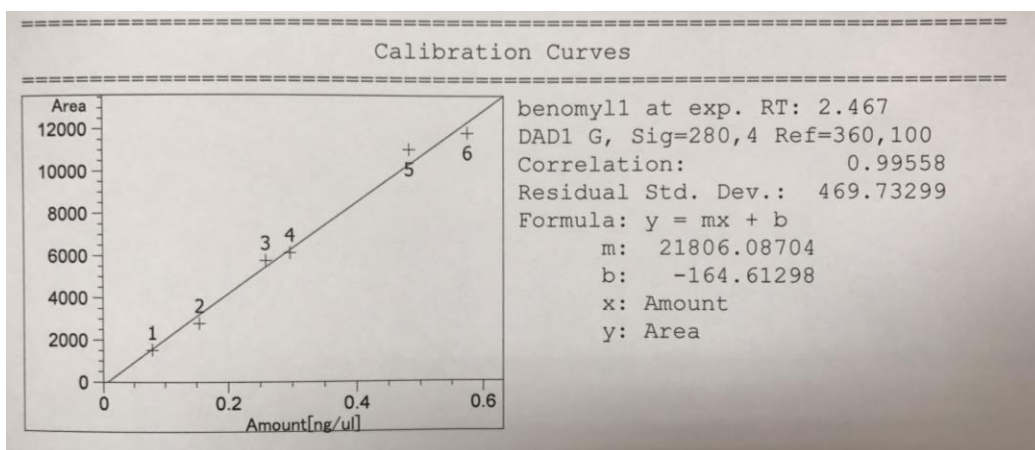
ภาพที่ 44 แสดงช่วงของการวัด (range) สารละลาย benomy2 6 level (0.10 - 2.00 mg/ml)

2.3.4 ผลการตรวจสอบช่วงของการวัด (Working range) ของสารมาตรฐาน diazinon

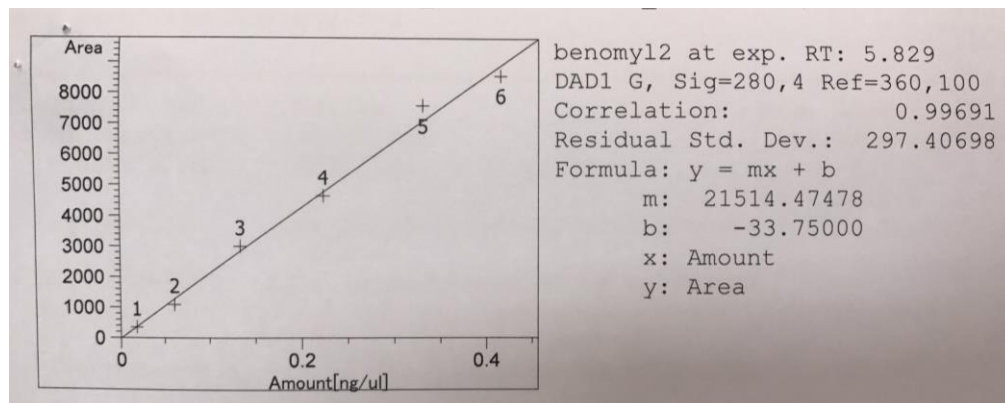
การตรวจสอบความเป็นเส้นตรง (linearity) ที่ความเข้มข้น 0.10 – 1.00 มิลลิกรัม/มิลลิลิตร ผลการทดสอบแสดงดังตารางที่ 70 และนำข้อมูลผลการตรวจทดสอบช่วงของการวัด (Working range) จากตารางมาสร้างกราฟระหว่างความเข้มข้นกับค่า area พบว่าค่า Correlation coefficient (r) เท่ากับ 0.99558 และ 0.99691 (เกณฑ์มาตรฐาน > 0.995) ผลการวิเคราะห์แสดงดังตารางที่ 70 และภาพที่ 35 - 36

ตารางที่ 70 ผลการทดสอบความเป็นเส้นตรง (linearity) ของสาร benomyl ที่ระดับความเข้มข้น 0.01 - 1.00 mg/ml

ความเข้มข้น (mg/ml)	Peak area (benomyl 1)	Peak area (benomyl 2)	level
0.10	1508.44287	346.85388	1
0.20	2774.73364	1092.17871	2
0.40	5773.98633	2984.63892	3
0.50	6146.41309	4632.36670	4
0.80	11059.10000	7585.53369	5
1.00	11838.30000	8557.40527	6



ภาพที่ 35 แสดงความเป็นเส้นตรง (linearity) สารละลาย benomyl 1 6 level (0.10 - 1.00 mg/ml)



ภาพที่ 36 แสดงความเป็นเส้นตรง (linearity) สารละลาย benomyl 2 6 level (0.10 - 1.00 mg/ml)

2.4.5 ผลการตรวจสอบค่า Precision ของสารออกฤทธิ์ benomyl

โดยดำเนินการทดสอบ จำนวน 3 ระดับความเข้มข้น คือที่ระดับ 0.5, 1.0 และ 2.0 mg/ml ระดับความเข้มข้นละ 10 ซ้ำ ผลการทดสอบค่า Precision ที่ 3 ระดับความเข้มข้นจากการตรวจสอบการทวนซ้ำ (Repeatability) ดังแสดงในตารางที่ 71

ตารางที่ 71 เปอร์เซ็นต์ที่ตรวจพบที่ 3 ความเข้มข้น จากการทวนซ้ำ (Repeatability)

n	ความเข้มข้น 0.5 (mg/ml)		ความเข้มข้น 1.0 (mg/ml)		ความเข้มข้น 2.0 (mg/ml)	
	น้ำหนัก (mg)	%ที่ตรวจพบ	น้ำหนัก (mg)	%ที่ตรวจพบ	น้ำหนัก (mg)	%ที่ตรวจพบ
1	15.1	48.00	25.1	48.62	50.6	48.52
2	15.1	48.20	25.1	48.69	50.6	48.42
3	15.1	48.40	25.1	48.40	50.6	48.59
4	15.1	48.20	25.1	48.44	50.6	48.60
5	15.1	48.90	25.1	48.69	50.6	48.52
6	15.1	48.60	25.1	48.52	50.6	48.10
7	15.1	48.20	25.1	48.42	50.6	48.50
8	15.1	48.10	25.1	48.59	50.6	48.30
9	15.1	48.50	25.1	48.60	50.6	48.40
10	15.1	48.30	25.1	48.52	50.6	48.44
Mean		48.34	Mean	48.55	Mean	48.44
SD		0.27	SD	0.11	SD	0.15
%RSD		0.55	%RSD	0.22	%RSD	0.31

Predicted Horvitz		Predicted		Predicted	
RSD	1.47	Horvitz RSD	1.47	Horvitz RSD	1.47
HORRAT	0.38	HORRAT	0.15	HORRAT	0.21

การตรวจสอบ Precision ที่อยู่ในรูปของ Repeatability คือ การตรวจสอบความใกล้เคียงกันระหว่างข้อมูลที่วิเคราะห์ซ้ำแสดงผลในรูปของ %RSD จากการทดลองหา Precision ที่อยู่ในรูปของ Repeatability ได้ค่า HORRAT เท่ากับ 0.38 0.15 และ 0.21 ซึ่งผ่านตามเกณฑ์ยอมรับ HORRAT ≤ 2 (AOAC)

2.4.6 ผลการตรวจสอบค่า Accuracy ของสารออกฤทธิ์ benomyl

การตรวจสอบ Accuracy ในรูปของ %Recovery ตามเกณฑ์การพิจารณาของ AOAC สำหรับสารที่มีปริมาณมากกว่า 10% ค่า %Recovery ต้องอยู่ในช่วง 98 - 102 โดยเตรียมสารละลาย stock sample ให้มีความเข้มข้นที่แน่นอน (1 mg/ml) จากนั้นเตรียมสารละลายเพื่อหาค่า origin โดยปิเปตสารละลาย stock sample ปริมาตร 2.5 ml ลงใน volumetric flask ขนาด 25 ml จำนวน 10 ซ้ำ ปรับปริมาตรด้วยตัวทำละลายขยำให้เข้ากันแล้วนำไปฉีดเข้าเครื่อง HPLC เทียบกับกราฟมาตรฐานเพื่อวิเคราะห์หาปริมาณสารออกฤทธิ์ benomyl ข้อมูลผลการทดสอบ Origin แสดงดังตารางที่ 72

ตารางที่ 72 แสดงค่า Origin ของสารออกฤทธิ์ benomyl

จำนวนซ้ำ	Origin (0.10 mg/ml)
1	0.099
2	0.098
3	0.098
4	0.099
5	0.099
6	0.100
7	0.100
8	0.100

9	0.100
10	0.100
Mean	0.099
SD	0.001
%RSD	0.70

เมื่อหาค่า origin ที่แน่นอนแล้ว จากนั้นเตรียมสารละลายเพื่อหาค่า recovery โดยปิเปตสารละลาย stock sample ปริมาตร 2.5 ml ลงใน volumetric flask ขนาด 25 ml ระดับความเข้มข้นละ 10 ซ้ำ จากนั้นเติมสารละลายมาตรฐานที่ระดับความเข้มข้น 0.3 mg/ml และ 0.7 mg/ml ลงใน sample origin 2.5 ml ที่เตรียมไว้ใน volumetric flask ขนาด 25 ml (ระดับความเข้มข้นละ 10 ซ้ำ) ปรับปริมาตรด้วยตัวทำละลายเข้าให้เข้ากัน แล้วนำไปวิเคราะห์ด้วยเครื่อง HPLC เทียบกับกราฟมาตรฐานเพื่อวิเคราะห์หาปริมาณสารออกฤทธิ์ carbaryl และประเมินค่า accuracy จาก % recovery โดยนำค่าปริมาณสารออกฤทธิ์ carbaryl ที่เป็นค่า origin มาหาค่าเฉลี่ยและเทียบกับค่าที่ได้จากการ spike แล้วคำนวณค่า % recovery โดยค่าต้องอยู่ในช่วงตามเกณฑ์การพิจารณาของ AOAC (1993) การคำนวณตามสมการข้างล่างนี้

$$\% \text{ Recovery} = \frac{\text{Conc. spike sample} - \text{Conc. Original sample}}{\text{Conc. added}} \times 100$$

ข้อมูลผลการทดสอบหา Accuracy ในรูปของ %Recovery ดังแสดงในตารางที่ 73

ตารางที่ 73 แสดงค่า % Recovery ของสารออกฤทธิ์ benomyl

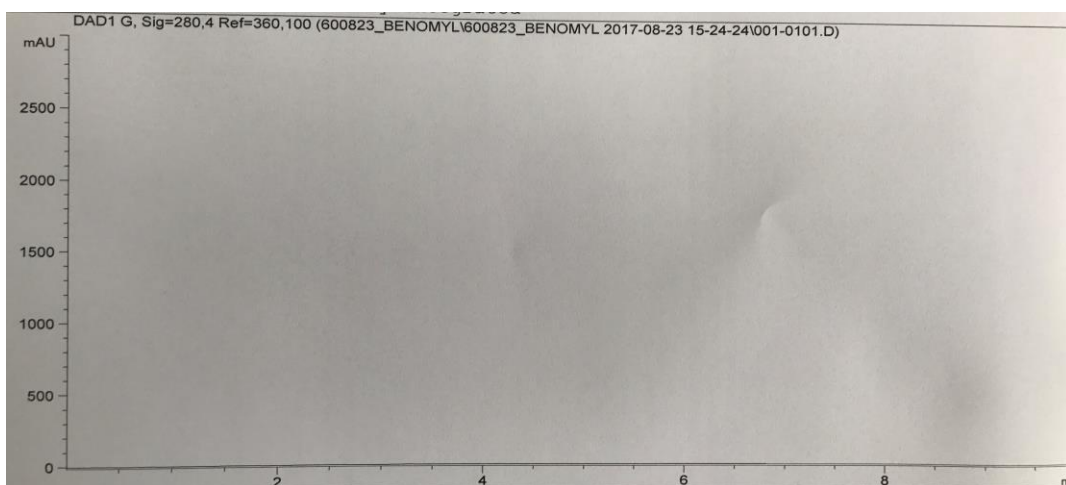
จำนวนซ้ำ	Origin Mean (mg/ml)	Cone. Added 0.3 mg/ml		Cone. Added 0.7 mg/ml	
		Cone.	% Recovery	Cone.	% Recovery
1	0.099	0.399	99.91	0.793	99.10

2		0.399	99.91	0.794	99.25
3		0.399	99.91	0.795	99.39
4		0.400	100.24	0.798	99.82
5		0.400	100.24	0.797	99.67
6		0.400	100.24	0.800	100.10
7		0.401	100.57	0.798	99.82
8		0.402	100.91	0.800	100.10
9		0.400	100.24	0.799	99.96
10		0.400	100.24	0.801	100.25
Mean	-	0.400	100.24	0.798	99.75
SD	-	0.001	-	0.003	-
%RSD	-	0.236	-	0.341	-

การตรวจสอบ Accuracy ในรูปของ %Recovery ตามเกณฑ์การพิจารณาของ AOAC สำหรับสารที่มีปริมาณมากกว่า 10% ค่า %Recovery ต้องอยู่ในช่วง 98 - 102 จากการทดลองหา Accuracy พบว่าจากการเติมสารมาตรฐานที่ระดับความเข้มข้น 0.3 และ 0.7 mg/ml ได้ค่า %Recovery เท่ากับ 100.24 และ 99.75 ตามลำดับ ซึ่งอยู่ในเกณฑ์ยอมรับ ของ AOAC ที่กำหนดไว้

2.4.7 ผลการตรวจสอบค่า Specificity ของสารออกฤทธิ์ benomyl

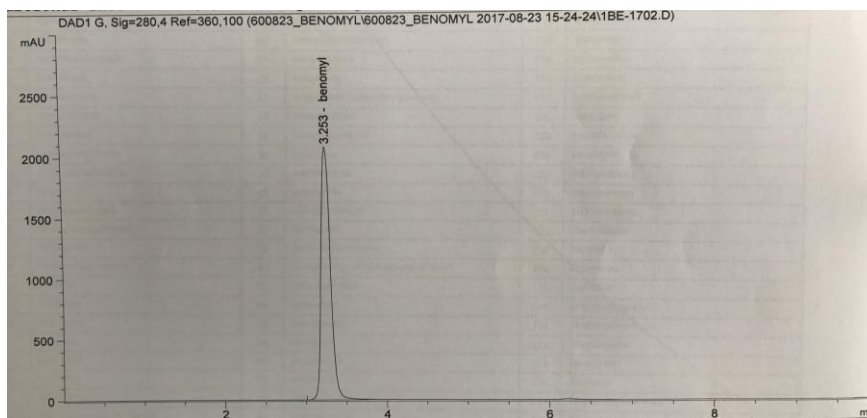
ผลการทดสอบการทดลองหา Specificity ของสารตัวอย่างนั้นสามารถตรวจวัดได้อย่างถูกต้อง ดังการแสดงผลภาพที่ 37



ภาพที่ 37 แสดงการแยกของสารละลาย Blank

2.4.8 ผลการตรวจสอบค่า Selectivity ของสารออกฤทธิ์ benomyl

ผลการทดสอบการทดลอง Selectivity ของสารตัวอย่างนั้นสามารถแยกสาร diazinon ได้
อย่างถูกต้องดังการแสดงผลภาพที่ 38



ภาพที่ 38 แสดงการแยกของสารละลายมาตรฐาน benomyl

2.4.9 ผลการตรวจสอบค่า Ruggedness ของสารออกฤทธิ์ benomyl

ผลการตรวจสอบ Ruggedness จากการทดลองในสภาวะการทดสอบเดียวกัน แต่เปลี่ยนผู้
ทดสอบ ข้อมูลแสดงดังตารางที่ 74

ตารางที่ 74 เปรียบเทียบเปอร์เซ็นต์ที่ตรวจพบระหว่างผู้ทดสอบที่ 1 และ 2

n	ความเข้มข้น 1.0 mg/ml			
	ผู้ทดสอบที่ 1		ผู้ทดสอบที่ 2	
	น้ำหนัก (mg)	%ที่ตรวจพบ	น้ำหนัก (mg)	%ที่ตรวจพบ
1	52.3	51.49	51.7	50.07
2	52.3	51.59	51.7	50.02
3	52.3	51.77	51.7	50.21
4	52.3	52.08	51.7	49.99
5	52.3	52.14	51.7	50.10
6	52.3	51.49	51.7	50.07
7	52.3	51.69	51.7	50.01
8	52.3	51.86	51.7	50.04
9	52.3	52.12	51.7	50.01
10	52.3	52.18	51.7	50.00
Mean		51.84	Mean	50.05
SD		0.27	SD	0.07

%RSD	0.53	%RSD	0.13
Predicted Horwitz RSD	1.46	Predicted Horwitz RSD	1.46
HORRAT	0.36	HORRAT	0.09

การตรวจสอบ Ruggedness คือ การตรวจสอบความใกล้เคียงกันระหว่างข้อมูลทีวิเคราะห์ซ้ำจากการเปรียบเทียบผู้ทดสอบ ซึ่งแสดงผลในรูปของ %RSD ได้ค่าดังนี้ 0.53 และ 0.13 จากการทดลองพบว่าได้ค่า HORRAT เท่ากับ 0.36 และ 0.09 ซึ่งผ่านตามเกณฑ์ยอมรับ HORRAT ≤ 2 (AOAC)

2.4.10 ผลการตรวจสอบค่า Robustness ของสารออกฤทธิ์ benomyl

ผลการตรวจสอบ Robustness จากการทดลองด้วยวิธีการเปลี่ยนเครื่องมือวิเคราะห์ระหว่างเครื่อง HPLC-FID/DAD ยี่ห้อ Agilent รุ่น 1100 series (HPLC-2) ใช้ Column C₈ และ เครื่อง HPLC – DAD/FLD ยี่ห้อ Agilent รุ่น 1290 infinity (HPLC-1) ใช้ Column C₁₈ รายละเอียดดังแสดงในตารางที่ 75

ตารางที่ 75 เปรียบเทียบเปอร์เซ็นต์ที่ตรวจพบระหว่างเครื่อง HPLC-2 ใช้ Column C₈ และ เครื่อง HPLC-1 ใช้ Column C₁₈

n	ความเข้มข้น 1.0 (mg/ml)			
	HPLC-2 ใช้ Column C ₈		HPLC-1 ใช้ Column C ₁₈	
	น้ำหนัก (mg)	% ที่ตรวจพบ	น้ำหนัก (mg)	% ที่ตรวจพบ
1	51.3	51.5	51.3	51.22
2	51.3	51.61	51.3	50.59
3	51.3	51.68	51.3	51.07
4	51.3	51.45	51.3	50.38
5	51.3	51.17	51.3	50.41
6	51.3	51.21	51.3	51.33
7	51.3	51.06	51.3	51.35
8	51.3	51.94	51.3	51.78
9	51.3	51.08	51.3	50.22
10	51.3	50.98	51.3	50.08
Mean		51.37	Mean	50.84
SD		0.32	SD	0.58
%RSD		0.62	%RSD	1.14
Predicted Horvitz RSD		1.46	Predicted Horvitz RSD	1.46

HORRAT	0.42	HORRAT	0.78
--------	------	--------	------

การตรวจสอบ Robustness คือการตรวจสอบความใกล้เคียงกันระหว่างข้อมูลทีวิเคราะห์ซ้ำจากการเปรียบเทียบระหว่างเครื่องมือ และ Column ซึ่งแสดงผลในรูปของ %RSD ได้ค่าดังนี้ 0.62 และ 1.14 จากการทดลองพบว่าได้ค่า HORRAT เท่ากับ 0.42 และ 0.78 ซึ่งเกณฑ์ยอมรับ HORRAT ≤ 2 (AOAC)

2.4.11 ผลการประมาณค่าความไม่แน่นอน (Uncertainty) ของสารออกฤทธิ์ benomyl = 50% w/v EC

ตารางที่ 76 สรุปการหาค่า Relative Standard Deviation (RSD)

Source	Value (X)	Std. Unc (U _x)	RSD (U _x /x)	RSD ²
Balance (std. w)	10.3 mg	0.00025456	0.000024714	0.0000000006
Balance (sample. s)	25.1 mg	0.00018000	0.000007171	0.0000000001
Purity (std. p)	98.0%	0.00290000	0.002959184	0.0000087568
Vol. flask (std. Ds)	10 ml	0.02900000	0.002900000	0.0000084100
Vol. flask (sample. Dw)	25 ml	0.07226900	0.002890760	0.0000083565
Area (std. Hs)	1.57775	0.00131522	0.000833604	0.0000006949
Area (sample. Hw)	1.63461	0.01221854	0.007084820	0.0000501947
Density (SG)	-	0.00000000	0.000000000	0.0000000000
$\sum RSD^2$				0.0000764135

$$U_C = C_{\text{sam}}$$

$$\begin{aligned}
 & \sqrt{RSD_w^2 + RSD_s^2 + RSD_p^2 + RSD_{Ds}^2 + RSD_{Dw}^2 + RSD_{Hs}^2 + RSD_{Hw}^2 + RSD_{SG}^2} \\
 = & 50 \times \sqrt{0.0000764135} \\
 = & 50 \times 0.0087 \\
 U_C = & 0.437 \\
 U_E = & 2 \times U_C \\
 = & 2 \times 0.437
 \end{aligned}$$

= 0.87

การรายงานค่าความไม่แน่นอนในการวัดของ % benomyl = 50 ± 0.87

ค่าความไม่แน่นอนในการวัดที่รายงานเป็นค่าความไม่แน่นอนมาตรฐาน คูณแฟคเตอร์ $k=2$ ซึ่งมีระดับความมั่นใจประมาณ %95ตามการกระจายแบบปกติ การประเมินค่าความไม่แน่นอนพิจารณาตาม NAMAS-NIS Guide to the Expression of Uncertainty in Testing, 1st ed. 1994 England และรายงานค่าความไม่แน่นอนเป็นเลขนัยสำคัญ 2 ตำแหน่ง

3. ปืงบประมาณ 2561 กลุ่มสาร : พิริมิฟอส-เมทิล (pirimiphos-methyl), อีไทออน (ethion), คาร์เบนดาซิม (carbendazim), และกลุ่มสารกำจัดวัชพืช : ไกลโฟเสต (glyphosate)

3.1. ผลการวิเคราะห์หาปริมาณสารออกฤทธิ์พิริมิฟอส-เมทิล (pirimiphos-methyl)

3.1.1 ผลการพัฒนาวิธีการวิเคราะห์สาร pirimiphos-methyl สภาวะที่เหมาะสมของเครื่อง GC-FID ในห้องปฏิบัติการวิเคราะห์วัตถุอันตรายทางการเกษตร สำนักวิจัยและพัฒนาการเกษตรเขตที่ 4 คือ

Column :	capillary, HP-5 (30m x 0.32mm ID, 0.25 μ m film thickness)
Gas flow rate :	Helium (carrier gas) 15 ml/min, Hydrogen 40 ml/min, Air 400 ml/min
Split injection :	Split ratio 45, Split flow 90 ml/min
Injection volume :	1 μ l
Temperature :	Oven 240°C, Inlet 270 °C, Detector 260 °C
Detector :	Flame Ionization Detector
Run Time :	4 min

3.1.2 ผลการหาปริมาณสารออกฤทธิ์ pirimiphos-methyl

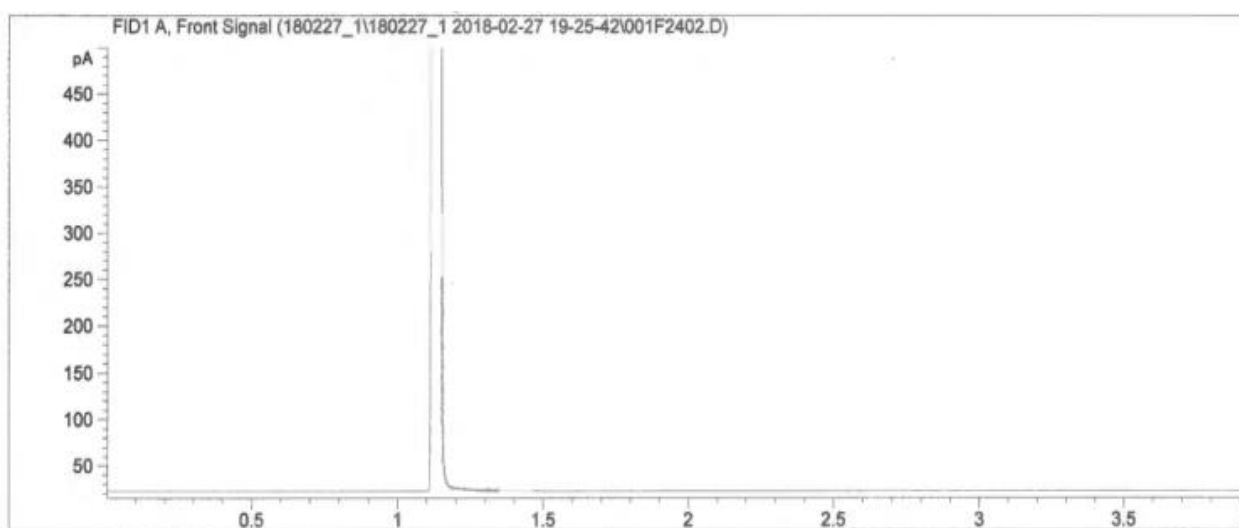
1) ค่า %RPD ของ peak area สารละลายสารมาตรฐาน C1 และ C2 มีค่าไม่เกิน 3% ผลการทดสอบแสดงดังตารางที่ 77

ตารางที่ 77 การประเมินค่า %Relative Percent Different (%RPD) ของสารมาตรฐาน pirimiphos-methyl

สารมาตรฐาน	น้ำหนัก	peak area	average	%RPD
pirimiphos-methyl	(mg)			
C1	10.3	190.58562		
C2	10.3	190.69560	190.641	0.058
C1	10.3	190.15727		
C2	10.3	190.04068	190.099	0.061
C1	10.3	190.60231		
C2	10.3	190.44453	190.523	0.083
C1	10.3	189.41185		
C2	10.3	189.69415	189.553	0.149
C1	10.3	190.30751		
C2	10.3	190.36592	190.337	0.031
C1	10.3	190.77625		
C2	10.3	190.95145	190.864	0.092

3.1.3 ผลการตรวจสอบค่า Specificity ของสารออกฤทธิ์ pirimiphos-methyl

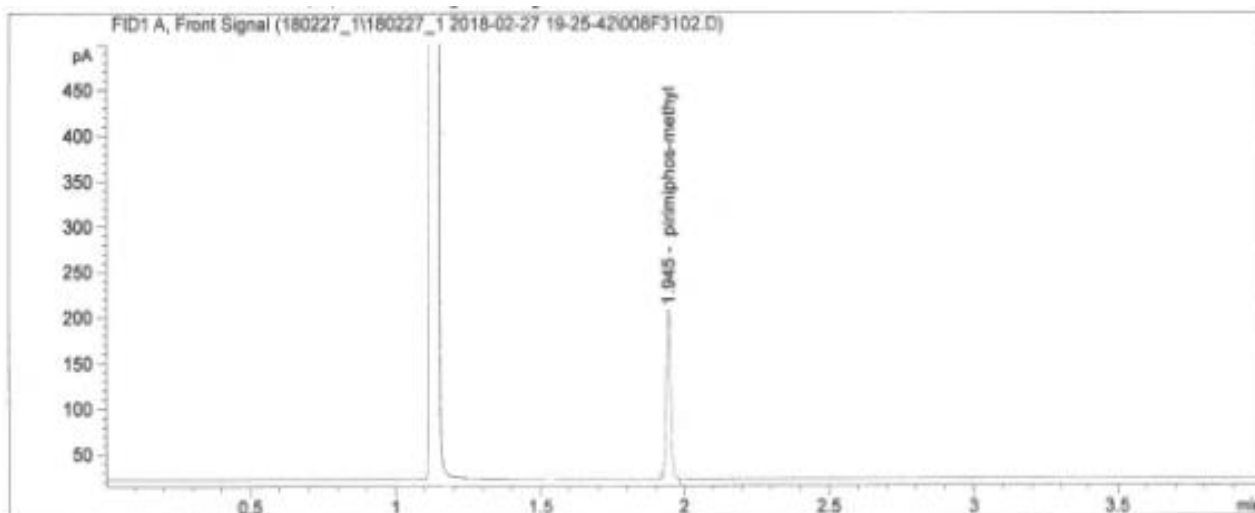
ผลการทดสอบการทดลองหา Specificity ของสารตัวอย่างนั้นสามารถตรวจวัดได้อย่างถูกต้องดังการแสดงผลภาพที่ 39



ภาพที่ 39 แสดงการแยกของสารละลาย Blank สำหรับทดสอบสารออกฤทธิ์ pirimiphos-methyl

3.1.4 ผลการตรวจสอบค่า Selectivity ของสารออกฤทธิ์ pirimiphos-methyl

ผลการทดสอบการทดลองหา Selectivity ของสารตัวอย่างนั้นสามารถแยกสาร pirimiphos-methyl ได้อย่างถูกต้อง ดังการแสดงภาพที่ 40



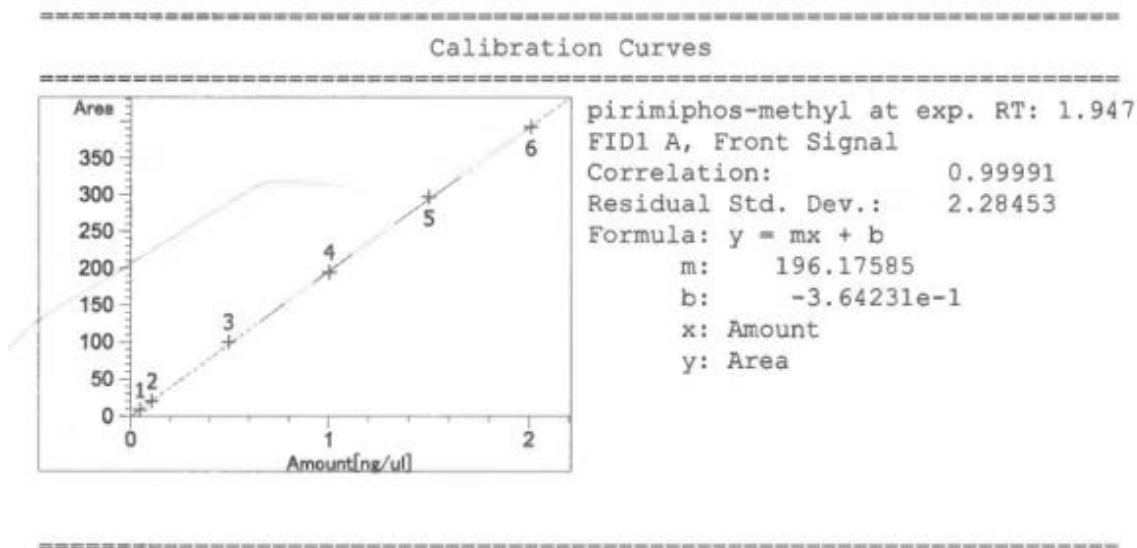
ภาพที่ 40 แสดงการแยกของสารละลายมาตรฐาน pirimiphos-methyl

3.1.5 ผลการตรวจสอบความเป็นเส้นตรง (Linearity) ของสารมาตรฐาน pirimiphos-methyl

การตรวจสอบความเป็นเส้นตรง (Linearity) ที่ระดับความเข้มข้น 0.05 - 2.01 มิลลิกรัม/มิลลิลิตร นำข้อมูลผลการตรวจสอบจากตาราง 78 มาสร้างกราฟระหว่างความเข้มข้นกับค่า area จากการประเมินด้วยสายตา (Visual inspection) พบว่ามีความเป็นเส้นตรง และพบว่าค่า Correlation coefficient (r) เท่ากับ 0.999 (เกณฑ์มาตรฐาน > 0.995) ผลการทดสอบแสดงดังตารางที่ 78 และภาพที่ 41

ตารางที่ 78 ผลการทดสอบความเป็นเส้นตรงของสาร pirimiphos-methyl ที่ระดับความเข้มข้น 0.05 - 2.01 mg/ml

ความเข้มข้น (mg/ml)	Peak area	level
0.05	7.823985	1
0.11	19.798220	2
0.50	100.302500	3
1.00	194.263620	4
1.50	296.783445	5
2.01	392.364455	6



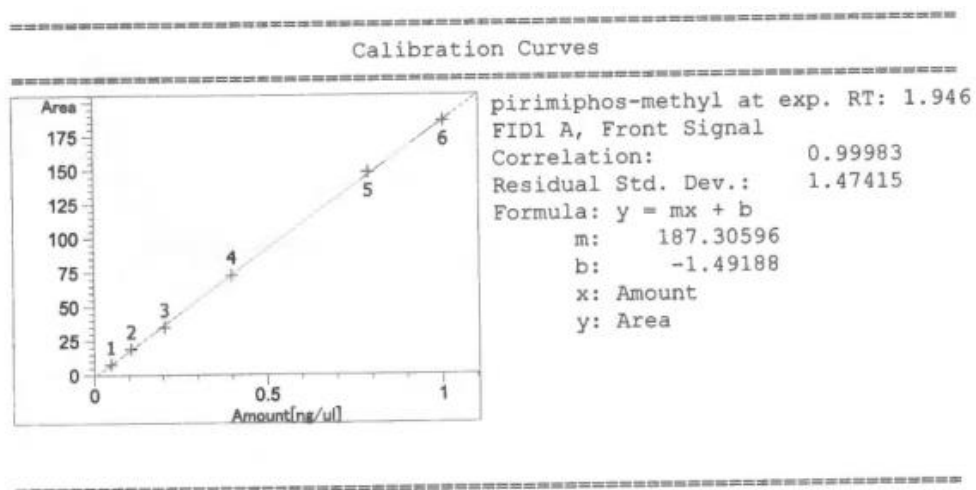
ภาพที่ 41 แสดงความเป็นเส้นตรง สารละลาย pirimiphos-methyl 6 level (0.05 - 2.01 mg/ml)

3.1.6 ผลการตรวจสอบช่วงของการวัด (Working range) ของสารมาตรฐาน pirimiphos-methyl การตรวจสอบช่วงของการวัด (Working range) ที่ความเข้มข้น 0.50 – 1.00 มิลลิกรัม/มิลลิลิตร และ นำข้อมูลผลการตรวจสอบช่วงของการวัดมาสร้างกราฟระหว่างความเข้มข้นกับค่า area พบว่าค่า Correlation coefficient (r) เท่ากับ 0.999 (เกณฑ์มาตรฐาน > 0.995) ผลการวิเคราะห์แสดงดังตารางที่ 79 และภาพที่ 42

ตารางที่ 79 ผลการทดสอบช่วงของการวัดของสาร pirimiphos-methyl ที่ระดับความเข้มข้น 0.05 - 1.00 mg/ml

ความเข้มข้น (mg/ml)	Peak area	Level
0.05	7.545	1
0.11	18.917	2
0.20	34.753	3

0.40	72.737	4
0.79	148.203	5
1.00	185.828	6



ภาพที่ 42 แสดงช่วงของการวัดของสารละลาย pirimiphos-methyl 6 level (0.50 - 1.00 mg/ml)

3.1.7 ผลการตรวจสอบค่า Precision ของสารออกฤทธิ์ pirimiphos-methyl

1) การตรวจสอบการทวนซ้ำ (Repeatability)

โดยดำเนินการทดสอบตัวอย่างสารออกฤทธิ์ pirimiphos-methyl 50% W/V EC จำนวน 3 ระดับความเข้มข้น คือที่ระดับ 0.5, 1.0 และ 2.0 mg/ml ระดับความเข้มข้นละ 10 ซ้ำ เพื่อหาค่า Precision ผลการทดสอบดังแสดงในตารางที่ 80

ตารางที่ 80 เปอร์เซ็นต์ที่ตรวจพบที่ 3 ความเข้มข้น จากการทวนซ้ำ (Repeatability)

n	ความเข้มข้น 0.5 (mg/ml)		ความเข้มข้น 1.0 (mg/ml)		ความเข้มข้น 2.0 (mg/ml)	
	น้ำหนัก (mg)	%ที่ตรวจพบ	น้ำหนัก (mg)	%ที่ตรวจพบ	น้ำหนัก (mg)	%ที่ตรวจพบ
1	25.00	51.53	50.30	51.32	100.10	51.15
2	25.00	51.76	50.30	51.37	100.10	51.13
3	25.40	51.52	50.30	51.31	100.10	51.91
4	25.00	51.35	50.30	51.33	101.20	51.25
5	25.00	51.39	53.30	51.55	100.40	51.41
6	25.40	51.58	53.30	51.38	100.10	51.30
7	25.40	51.68	50.40	51.57	100.40	51.19
8	25.80	51.71	50.40	51.70	100.90	51.02
9	25.80	51.74	53.30	51.48	100.90	50.97
10	28.20	50.98	54.60	51.76	101.20	51.37
Mean		51.52		51.48		51.27
SD		0.24		0.16		0.26
%RSD		0.46		0.31		0.51
Predicted Horvitz RSD		1.46		1.46		1.46
HORRAT		0.32		0.21		0.35

การตรวจสอบ Precision ที่อยู่ในรูปของ Repeatability คือ การตรวจสอบความใกล้เคียงกันระหว่างข้อมูลทีวิเคราะห์ซ้ำแสดงผลในรูปของ %RSD จากการทดลองหา Precision ที่อยู่ในรูปของ Repeatability ได้ค่า HORRAT เท่ากับ 0.32 0.21 และ 0.33 ตามลำดับ (เกณฑ์ยอมรับ HORRAT ≤ 2 (AOAC))

2) การตรวจสอบ Within laboratory reproducibility

โดยดำเนินการทดสอบตัวอย่างสารออกฤทธิ์ pirimiphos-methyl 50% W/V EC ที่ระดับความเข้มข้น 1.0 mg/ml จำนวน 10 ซ้ำ ในเวลาต่างวัน โดยสภาวะการดำเนินการทดสอบเดียวกัน เพื่อหาค่า intermediate precision ผลการทดสอบดังแสดงในตารางที่ 81

ตารางที่ 81 แสดงการตรวจสอบ Within laboratory reproducibility ของสารออกฤทธิ์ pirimiphos-methyl ที่ระดับความเข้มข้น 1.0 mg/ml

จำนวนวัน	ความเข้มข้น 1.0 (mg/ml)	
	น้ำหนัก (mg)	%ที่ตรวจพบ
1	50.20	51.48
2	50.20	50.84
3	50.30	50.81
4	50.20	51.27
5	50.20	51.04
6	50.30	51.08
7	50.20	51.11
8	50.20	50.79
9	50.30	50.88
10	50.30	51.17
Mean		51.05
SD		0.22
%RSD		0.44
Predicted Horvitz RSD		1.46
HORRAT		0.30

การตรวจสอบ Precision ที่อยู่ในรูปของ intermediate precision โดยการทดสอบ Within laboratory reproducibility คือการตรวจสอบความใกล้เคียงกันระหว่างข้อมูลที่ดำเนินการวิเคราะห์ต่างเวลากัน แต่สภาวะการทดสอบเดียวกัน แสดงผลในรูปของ %RSD และ HORRAT ผลการทดสอบพบว่า ที่ระดับความเข้มข้น 1.0 mg/ml ของสารออกฤทธิ์ pirimiphos-methyl 50% W/V EC ค่า %RSD เท่ากับ 0.44 และ ค่า HORRAT เท่ากับ 0.30 อยู่ในเกณฑ์ยอมรับ HORRAT ≤ 2 (AOAC)

3.1.8 ผลการตรวจสอบค่า Accuracy ของสารออกฤทธิ์ pirimiphos-methyl

การตรวจสอบ Accuracy ในรูปของ %Recovery ตามเกณฑ์การพิจารณาของ AOAC สำหรับสารที่มีปริมาณมากกว่า 10% ค่า %Recovery ต้องอยู่ในช่วง 98 - 102 โดยเตรียมสารละลาย stock sample ให้มีความเข้มข้นที่แน่นอน (1 mg/ml) จากนั้นเตรียมสารละลายเพื่อหาค่า origin โดยปิเปตสารละลาย stock sample ปริมาตร 5 ml ลงใน volumetric flask ขนาด 10 ml จำนวน 10 ซ้ำ ปรับปริมาตรด้วยตัวทำละลายเขย่าให้เข้ากัน แล้วนำไปฉีดเข้าเครื่อง GC เทียบกับกราฟมาตรฐานเพื่อวิเคราะห์หาปริมาณสารออกฤทธิ์ pirimiphos-methyl ข้อมูลผลการทดสอบ Origin แสดงดังตารางที่ 82

ตารางที่ 82 แสดงค่า Origin ของสารออกฤทธิ์ pirimiphos-methyl

จำนวนซ้ำ	Origin (0.5mg/ml)
1	0.556
2	0.550
3	0.548
4	0.550
5	0.552
6	0.546
7	0.547
8	0.546
9	0.550
10	0.552
Mean	0.550
SD	0.003
%RSD	0.58

เมื่อหาค่า origin ที่แน่นอนแล้ว จากนั้นเตรียมสารละลายเพื่อหาค่า recovery โดยปิเปตสารละลาย stock sample ปริมาตร 5 ml ลงใน volumetric flask ขนาด 10 ml ระดับความเข้มข้นละ 10 ซ้ำ จากนั้นเติมสารละลายมาตรฐานที่ระดับความเข้มข้น 0.5 1.0 และ 2.0 mg/ml ลงใน sample origin 5 ml ที่เตรียมไว้ใน volumetric flask ขนาด 10 ml (ความเข้มข้นละ 10 ซ้ำ) ปรับปริมาตรด้วยตัวทำละลายเขย่าให้เข้ากัน แล้วนำไปวิเคราะห์ด้วยเครื่อง GC เทียบกับกราฟมาตรฐานเพื่อวิเคราะห์หาปริมาณสารออกฤทธิ์ pirimiphos-methyl และ

ประเมินค่า accuracy จาก % recovery โดยนำค่าปริมาณสารออกฤทธิ์ pirimiphos-methyl ที่เป็นค่า origin มาหาค่าเฉลี่ยและเทียบกับค่าที่ได้จากการ spike แล้วคำนวณค่า % recovery โดยค่าต้องอยู่ในช่วงตามเกณฑ์การพิจารณาของ AOAC (1993) การคำนวณตามสมการข้างล่างนี้

$$\% \text{ Recovery} = \frac{\text{Conc. spike sample} - \text{Conc. Original sample}}{\text{Conc. added}} \times 100$$

ข้อมูลผลการทดสอบหา Accuracy ในรูปของ %Recovery ดังแสดงในตารางที่ 83

ตารางที่ 83 แสดงค่า % Recovery ของสารออกฤทธิ์ pirimiphos-methyl

จำนวนซ้ำ	Origin Mean (mg/ml)	Cone. Added 0.5 mg/ml (0.5 ml)		Cone. Added 1.0 mg/ml (1.0 ml)		Cone. Added 2.0 mg/ml (2.0 ml)	
		Cone.	% Recovery	Cone.	% Recovery	Cone.	% Recovery
1	0.550	1.054	99.56	1.554	99.81	2.557	100.08
2		1.056	101.26	1.556	100.68	2.556	100.34
3		1.055	101.49	1.554	100.61	2.556	100.42
4		1.059	101.70	1.551	100.09	2.560	100.46
5		1.055	100.67	1.549	99.66	2.552	100.01
6		1.054	101.57	1.549	100.33	2.559	100.65
7		1.054	101.54	1.554	100.72	2.553	100.30
8		1.051	101.15	1.555	100.93	2.553	100.37
9		1.057	101.56	1.554	100.43	2.556	100.33
10		1.054	100.35	1.555	100.21	2.564	100.59
Mean	-	1.055	101.09	1.553	100.35	2.557	100.35
SD	-	0.002	-	0.002	-	0.004	

%RSD	-	0.194	-	0.161	-	0.143
------	---	-------	---	-------	---	-------

การตรวจสอบ Accuracy ในรูปของ %Recovery ตามเกณฑ์การพิจารณาของ AOAC สำหรับสารที่มีปริมาณมากกว่า 10% ค่า %Recovery ต้องอยู่ในช่วง 98 - 102 จากการทดลองหา Accuracy พบว่าจากการเติมสารมาตรฐานที่ระดับความเข้มข้น 0.5 1.0 และ 2.0 mg/ml ได้ค่า %Recovery เท่ากับ 101.09 100.35 และ 100.35 ตามลำดับ ซึ่งอยู่ในเกณฑ์ยอมรับ ของ AOAC ที่กำหนดไว้

3.1.9 ผลการตรวจสอบค่า Ruggedness ของสารออกฤทธิ์ pirimiphos-methyl

ผลการตรวจสอบ Ruggedness จากการทดลองในสภาวะการทดสอบเดียวกัน แต่เปลี่ยนผู้ทดสอบ ข้อมูลแสดงดังตารางที่ 84

ตารางที่ 84 เปรียบเทียบเปอร์เซ็นต์ที่ตรวจพบระหว่างผู้ทดสอบที่ 1 และ 2

n	ความเข้มข้น 1.0 mg/ml			
	ผู้ทดสอบที่ 1		ผู้ทดสอบที่ 2	
	น้ำหนัก (mg)	%ที่ตรวจพบ	น้ำหนัก (mg)	%ที่ตรวจพบ
1	50.40	51.64	50.30	51.33
2	50.40	51.68	50.30	51.28
3	50.30	51.57	50.40	51.81
4	50.30	51.42	50.30	51.37
5	50.40	51.79	50.40	51.53

6	53.30	51.36	50.40	51.32
7	53.30	51.49	53.30	51.38
8	50.40	51.71	54.60	51.50
9	54.60	51.78	50.40	51.43
10	50.30	51.48	50.30	51.37
Mean		51.59	Mean	51.43
SD		0.15	SD	0.15
%RSD		0.29	%RSD	0.30
Predicted Horwitz RSD		1.46	Predicted Horwitz RSD	1.46
HORRAT		0.20	HORRAT	0.20

การตรวจสอบ Ruggedness คือ การตรวจสอบความใกล้เคียงกันระหว่างข้อมูลที่วิเคราะห์ซ้ำจากการเปรียบเทียบผู้ทดสอบ ซึ่งแสดงผลในรูปของ %RSD ได้ค่าดังนี้ 0.29 และ 0.30 จากการทดลองพบว่าได้ค่า HORRAT เท่ากับ 0.20 และ 0.20 ซึ่งผ่านตามเกณฑ์ยอมรับ HORRAT ≤ 2 (AOAC)

3.1.10 ผลการตรวจสอบค่า Robustness ของสารออกฤทธิ์ pirimiphos-methyl

ผลการตรวจสอบ Robustness จากการทดลองในสภาวะการทดสอบเดียวกัน แต่เปลี่ยน Column ในการวิเคราะห์จาก Capillary Column HP-5 เป็น HP-1 ดังแสดงในตารางที่ 85

ตารางที่ 85 เปรียบเทียบเปอร์เซ็นต์ที่ตรวจพบระหว่าง Column HP-5 และ HP-1

n	ความเข้มข้น 1.0 mg/ml	
	HP-5	HP-1

	น้ำหนัก (mg)	%ที่ตรวจพบ	น้ำหนัก (mg)	%ที่ตรวจพบ
1	50.40	50.95	50.40	50.94
2	50.40	50.98	50.40	50.75
3	50.30	50.88	50.30	49.44
4	50.30	50.72	50.30	50.65
5	50.40	51.27	50.40	50.46
6	53.30	50.67	53.30	50.62
7	53.30	50.80	53.30	50.19
8	54.60	51.40	54.60	50.73
9	54.60	51.08	54.60	50.68
10	50.30	50.78	50.30	50.38
Mean		50.95	Mean	50.48
SD		0.24	SD	0.42
%RSD		0.46	%RSD	0.83
Predicted Horwitz RSD		1.46	Predicted Horwitz RSD	1.46
HORRAT		0.32	HORRAT	0.57

การตรวจสอบ Robustness คือการตรวจสอบความใกล้เคียงกันระหว่างข้อมูลทีวิเคราะห์ซ้ำจากการเปรียบเทียบ Column ซึ่งแสดงผลในรูปของ %RSD ได้ค่าดังนี้ 0.46 และ 0.83 จากการทดลองพบว่าได้ค่า HORRAT เท่ากับ 0.32 และ 0.57 ซึ่งเกณฑ์ยอมรับ HORRAT ≤ 2 (AOAC)

3.1.11 ผลการประมาณค่าความไม่แน่นอน (Uncertainty) ของสารออกฤทธิ์ pirimiphos-methyl 50% w/v EC

ตารางที่ 86 สรุปการหาค่า Relative Standard Deviation (RSD)

Source	Value (X)	Std. Unc (U _x)	RSD (U _x /x)	RSD ²
Balance (std. w)	10.3 mg	0.120200	0.0116699029	0.0001361866
Balance (sample. s)	50.3 mg	0.120200	0.0023896620	0.0000057105
Purity (std. p)	97.5	0.005800	0.0059487179	0.0000353872
Vol. flask (std. D _s)	10 ml	0.029000	0.0029000000	0.0000084100
Vol. flask (sample. D _w)	25 ml	0.072269	0.0028907600	0.0000083565
Area (std. H _s)	190.641	0.077768	0.0004079278	0.0000001664
Area (sample. H _w)	193.148	0.867640	0.0044921040	0.0000201790
Density (SG)	1.020	0.000000	0.0000000000	0.0000000000
$\sum RSD^2$				0.0002143963

$$\begin{aligned}
 U_c &= C_{\text{sam}} \sqrt{RSD_w^2 + RSD_s^2 + RSD_p^2 + RSD_{D_s}^2 + RSD_{D_w}^2 + RSD_{H_s}^2 + RSD_{H_w}^2 + RSD_{SG}^2} \\
 &= 50 \times \sqrt{0.0002143963} \\
 &= 50.0 \times 0.014642276 \\
 &= 0.732 \\
 U_c &= 0.732 \\
 U_E &= 2 \times U_c \\
 &= 2 \times 0.732 \\
 &= 1.46
 \end{aligned}$$

การรายงานค่าความไม่แน่นอนในการวัด ของ % pirimiphos-methyl = 50 ± 1.46 ค่าความไม่แน่นอนในการวัดที่รายงานเป็นค่าความไม่แน่นอนมาตรฐาน คูณแฟคเตอร์ k=2 ซึ่งมีระดับความมั่นใจประมาณ 95% ตามการกระจายแบบปกติ การประเมินค่าความไม่แน่นอนพิจารณาตาม NAMAS-NIS Guide to the Expression of Uncertainty in Testing, 1st ed. 1994 England และรายงานค่าความไม่แน่นอนเป็นเลขนัยสำคัญ 2 ตำแหน่ง

3.2 ผลการวิเคราะห์หาปริมาณสารออกฤทธิ์อีไธออน (eithion)

3.2.1 ผลการพัฒนาวิธีการวิเคราะห์สาร eithion สภาวะที่เหมาะสมของเครื่อง GC-FID ในห้องปฏิบัติการวิเคราะห์วัตถุอันตรายทางการเกษตร สำนักวิจัยและพัฒนาการเกษตรเขตที่ 4 คือ

Column :	capillary, HP-5 (30m x 0.32mm ID, 0.25 μ m film thickness)
Gas flow rate :	Helium (carrier gas) 40 mL/min, Hydrogen 40 mL/min, Air 450 mL/min
Split injection :	Split ratio 53:1, Split flow 100 mL/min
Injection volume :	1 μ l
Temperature :	Oven 250°C, Inlet 260 °C, Detector 260 °C
Detector :	Flame Ionization Detector
Run Time :	5 min

3.2.2 ผลการหาปริมาณสารออกฤทธิ์ eithion

1) ค่า %RPD ของ peak area สารละลายสารมาตรฐาน C1 และ C2 มีค่าไม่เกิน 3% ผลการทดสอบแสดงดังตารางที่ 87

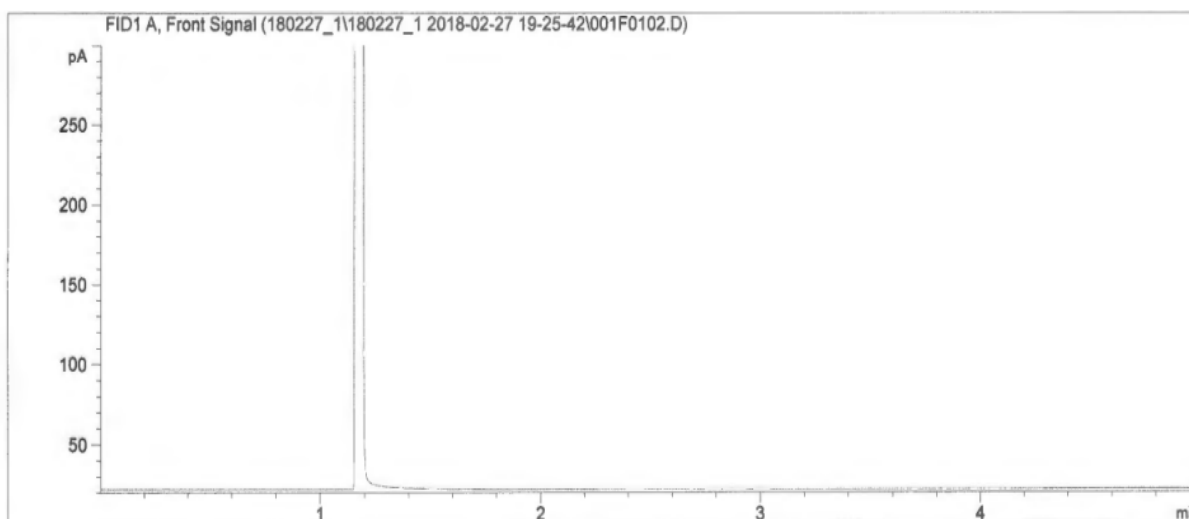
ตารางที่ 87 การประเมินค่า %Relative Percent Different (%RPD) ของสารมาตรฐาน eithion

สารมาตรฐาน	น้ำหนัก	peak area	average	%RPD
eithion	(mg)			
C1	10.1	126.466		
C2	10.1	126.465	126.466	0.001
C1	10.1	127.222		
C2	10.1	127.140	127.181	0.065
C1	10.1	127.135	127.089	0.073

C2	10.1	127.042		
C1	10.1	126.736		
C2	10.1	126.777	126.756	0.032
C1	10.1	126.531		
C2	10.1	126.538	126.535	0.005
C1	10.1	126.689		
C2	10.1	126.188	126.438	0.396

3.2.3 ผลการตรวจสอบค่า Specificity ของสารออกฤทธิ์ eithion

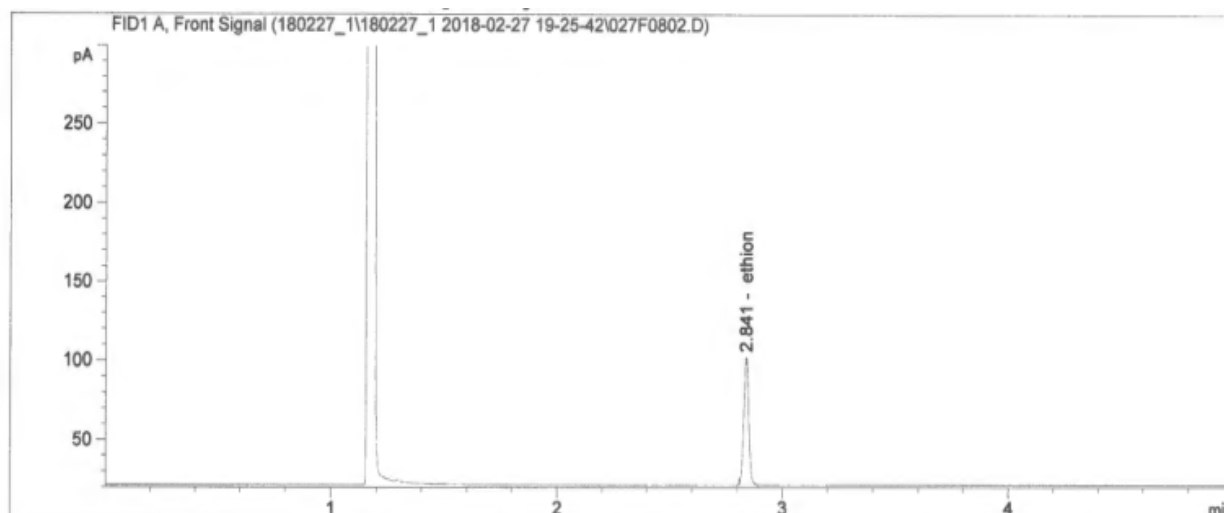
ผลการทดสอบการหา Specificity ของสารออกฤทธิ์ eithion พบว่าไม่มีสารอื่นรบกวนการวิเคราะห์สารออกฤทธิ์ eithion ที่สามารถตรวจวัดได้แสดงดังภาพที่ 43



ภาพที่ 43 แสดงการแยกของสารละลาย Blank สำหรับทดสอบสารออกฤทธิ์ eithion

3.2.4 ผลการตรวจสอบค่า Selectivity ของสารออกฤทธิ์ eithion

ผลการทดสอบหา Selectivity ของสารออกฤทธิ์ eithion พบว่าสามารถแยกสารออกฤทธิ์ eithion ได้อย่างถูกต้อง ดังภาพที่ 44



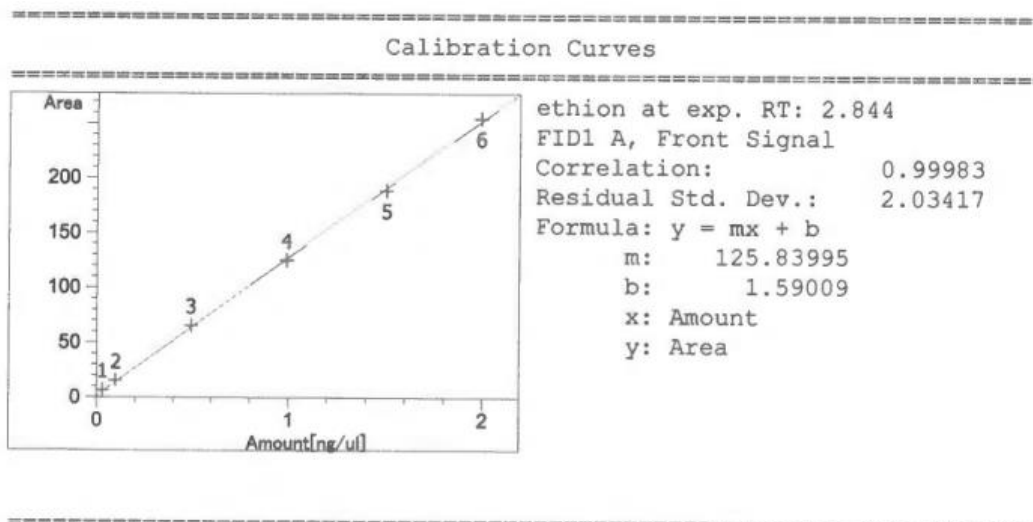
ภาพที่ 44 แสดงการแยกของสารละลายมาตรฐาน ethion

3.2.5 ผลการตรวจสอบความเป็นเส้นตรง (Linearity) ของสารมาตรฐาน ethion

การตรวจสอบความเป็นเส้นตรงที่ระดับความเข้มข้น 0.03 - 1.99 มิลลิกรัม/มิลลิลิตร นำข้อมูลผลการตรวจสอบจากตารางมาสร้างกราฟระหว่างความเข้มข้นกับค่า area จากการประเมินด้วยสายตา (Visual inspection) พบว่ามีความเป็นเส้นตรง และพบว่าค่า Correlation coefficient (r) เท่ากับ 0.99983 (เกณฑ์มาตรฐาน > 0.995) ผลการทดสอบแสดงดังตารางที่ 88 และภาพที่ 45

ตารางที่ 88 ผลการทดสอบความเป็นเส้นตรง (Linearity) ของสาร ethion ที่ระดับความเข้มข้น 0.03-1.99 mg/ml

ความเข้มข้น (mg/ml)	Peak area	level
0.03	6.550	1
0.10	14.921	2
0.50	65.218	3
0.99	124.797	4
1.51	188.522	5
1.99	254.585	6



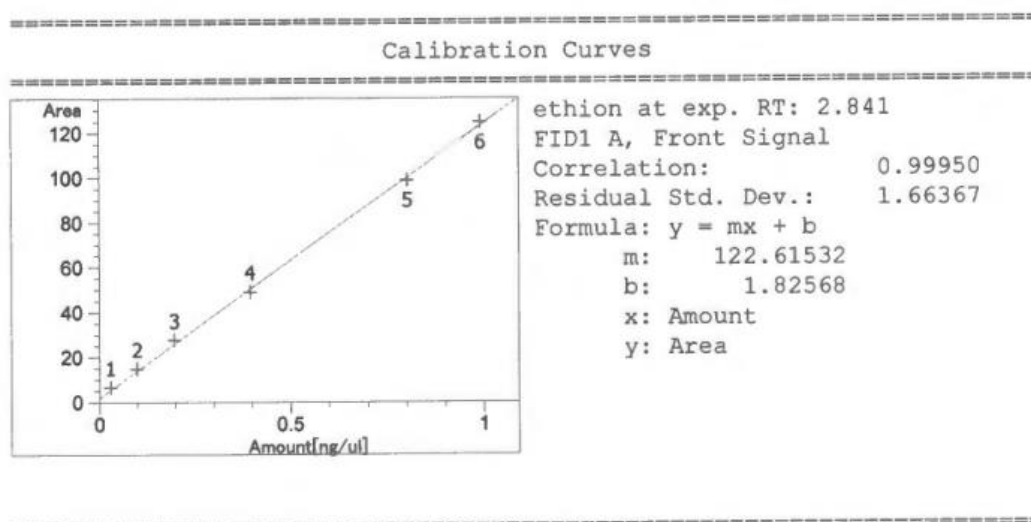
ภาพที่ 45 แสดงความเป็นเส้นตรง (Linearity) สารละลาย ethion 6 level (0.03 - 1.99 mg/ml)

3.2.6 ผลการตรวจสอบช่วงของการวัด (Working range) ของสารมาตรฐาน ethion

การตรวจสอบช่วงของการวัด (Working range) ที่ความเข้มข้น 0.03 – 0.99 มิลลิกรัม/มิลลิลิตร และนำข้อมูลผลการตรวจทดสอบช่วงของการวัด (Working range) มาสร้างกราฟระหว่างความเข้มข้นกับค่า area พบว่าค่า Correlation coefficient (r) เท่ากับ 0.999 (เกณฑ์มาตรฐาน > 0.995) ผลการวิเคราะห์แสดงดังตารางที่ 89 และภาพที่ 46

ตารางที่ 89 ผลการทดสอบช่วงของการวัดของสาร ethion ที่ระดับความเข้มข้น 0.03 – 0.99 mg/ml

ความเข้มข้น (mg/ml)	Peak area	Level
0.03	6.536	1
0.10	14.794	2
0.20	27.690	3
0.40	48.901	4
0.80	98.806	5
0.99	124.693	6



ภาพที่ 46 แสดงช่วงของการวัดของสารละลาย ethion 6 level (0.03 – 0.99 mg/ml)

3.2.7 ผลการตรวจสอบค่า Precision ของสารออกฤทธิ์ ethion

1) การตรวจสอบการทวนซ้ำ (Repeatability)

โดยดำเนินการทดสอบตัวอย่างสารออกฤทธิ์ ethion 50% W/V EC จำนวน 3 ระดับความเข้มข้น คือที่ระดับ 0.5, 1.0 และ 2.0 mg/ml ระดับความเข้มข้นละ 10 ซ้ำ เพื่อหาค่า Precision ผลการทดสอบดังแสดงในตารางที่ 90

ตารางที่ 90 เปอร์เซ็นต์ที่ตรงพบที่ 3 ความเข้มข้น จากการทวนซ้ำ (Repeatability)

n	ความเข้มข้น 0.5 (mg/ml)		ความเข้มข้น 1.0 (mg/ml)		ความเข้มข้น 2.0 (mg/ml)	
	น้ำหนัก (mg)	%ที่ตรงพบ	น้ำหนัก (mg)	%ที่ตรงพบ	น้ำหนัก (mg)	%ที่ตรงพบ
1	25.00	51.92	50.00	51.29	99.80	51.12
2	25.00	51.76	50.00	51.63	99.80	51.21
3	25.00	51.85	50.20	51.53	100.20	51.95
4	26.20	51.16	50.20	51.57	100.20	51.51
5	25.40	51.91	50.20	51.48	100.20	51.98
6	25.40	51.94	50.20	51.03	100.20	51.81
7	25.50	51.45	50.30	51.73	101.80	51.18
8	25.50	51.41	53.10	51.31	100.60	51.47
9	25.50	51.23	53.10	51.33	100.60	51.21
10	25.50	51.35	50.30	51.60	100.60	51.15
Mean		51.60		51.45		51.46
SD		0.31		0.21		0.34

%RSD	0.60	0.40	0.66
Predicted Horvitz RSD	1.46	1.46	1.46
HORRAT	0.41	0.28	0.45

การตรวจสอบ Precision ที่อยู่ในรูปของ Repeatability คือ การตรวจสอบความใกล้เคียงกันระหว่างข้อมูลที่วิเคราะห์ซ้ำแสดงผลในรูปของ %RSD จากการทดลองหา Precision ที่อยู่ในรูปของ Repeatability ได้ค่า HORRAT เท่ากับ 0.41 0.28 และ 0.45 ตามลำดับ (เกณฑ์ยอมรับ HORRAT \leq 2 (AOAC))

2) การตรวจสอบ Within laboratory reproducibility

โดยดำเนินการทดสอบตัวอย่างสารออกฤทธิ์ eithion 50% W/V EC ที่ระดับความเข้มข้น 1.0 mg/ml จำนวน 10 ซ้ำ ในเวลาต่างวัน โดยสภาวะการดำเนินการทดสอบเดียวกัน เพื่อหาค่า intermediate precision ผลการทดสอบดังแสดงในตารางที่ 91

ตารางที่ 91 แสดงการตรวจสอบ Within laboratory reproducibility ของสารออกฤทธิ์ eithion ที่ระดับความเข้มข้น 1.0 mg/ml

จำนวนวัน	ความเข้มข้น 1.0 (mg/ml)	
	น้ำหนัก (mg)	%ที่ตรวจพบ
1	50.10	51.51
2	49.70	51.62
3	50.10	50.91
4	50.10	51.43
5	49.70	51.47
6	50.20	50.03
7	50.10	49.34
8	50.20	49.55
9	50.20	49.12
10	50.20	50.06
Mean		50.50
SD		0.99
%RSD		1.96
Predicted Horvitz RSD		1.46
HORRAT		1.34

การตรวจสอบ Precision ที่อยู่ในรูปของ intermediate precision โดยการทดสอบ Within laboratory reproducibility คือการตรวจสอบความใกล้เคียงกันระหว่างข้อมูลที่ได้ดำเนินการวิเคราะห์ต่างเวลากัน แต่สภาวะการทดสอบเดียวกัน แสดงผลในรูปของ %RSD และ HORRAT ผลการทดสอบพบว่า ที่ระดับความเข้มข้น 1.0 mg/ml ของสารออกฤทธิ์ ethion 50% W/V EC ค่า %RSD เท่ากับ 0.99 และ ค่า HORRAT เท่ากับ 1.34 อยู่ในเกณฑ์ยอมรับ HORRAT ≤ 2 (AOAC)

3.2.8 ผลการตรวจสอบค่า Accuracy ของสารออกฤทธิ์ ethion

การตรวจสอบ Accuracy ในรูปของ %Recovery ตามเกณฑ์การพิจารณาของ AOAC สำหรับสารที่มีปริมาณมากกว่า 10% ค่า %Recovery ต้องอยู่ในช่วง 98 - 102 โดยเตรียมสารละลาย stock sample ให้มีความเข้มข้นที่แน่นอน (1 mg/ml) จากนั้นเตรียมสารละลายเพื่อหาค่า origin โดยปิเปตสารละลาย stock sample ปริมาตร 5 ml ลงใน volumetric flask ขนาด 10 ml จำนวน 10 ซ้ำ ปรับปริมาตรด้วยตัวทำละลายเข้าให้เข้ากัน แล้วนำไปฉีดเข้าเครื่อง GC เทียบกับกราฟมาตรฐานเพื่อวิเคราะห์หาปริมาณสารออกฤทธิ์ ethion ข้อมูลผลการทดสอบ Origin แสดงดังตารางที่ 92

ตารางที่ 92 แสดงค่า Origin ของสารออกฤทธิ์ ethion

จำนวนซ้ำ	Origin (0.5mg/ml)
1	0.545
2	0.546
3	0.549
4	0.550
5	0.545
6	0.549
7	0.550
8	0.552
9	0.552
10	0.552
Mean	0.549
SD	0.003
%RSD	0.48

เมื่อหาค่า origin ที่แน่นอนแล้ว จากนั้นเตรียมสารละลายเพื่อหาค่า recovery โดยปิเปตสารละลาย stock sample ปริมาตร 5 ml ลงใน volumetric flask ขนาด 10 ml ระดับความเข้มข้นละ 10 ซ้ำ จากนั้นเติมสารละลายมาตรฐานที่ระดับความเข้มข้น 0.5 1.0 และ 2.0 mg/ml ลงใน sample origin 5 ml ที่เตรียมไว้ใน volumetric flask ขนาด 10 ml (ความเข้มข้นละ 10 ซ้ำ) ปรับปริมาตรด้วยตัวทำละลายเขย่าให้เข้ากัน แล้วนำไปวิเคราะห์ด้วยเครื่อง GC เทียบกับกราฟมาตรฐานเพื่อวิเคราะห์หาปริมาณสารออกฤทธิ์ eithion และประเมินค่า accuracy จาก % recovery โดยนำค่าปริมาณสารออกฤทธิ์ eithion ที่เป็นค่า origin มาหาค่าเฉลี่ยและเทียบกับค่าที่ได้จากการ spike แล้วคำนวณค่า % recovery โดยค่าต้องอยู่ในช่วงตามเกณฑ์การพิจารณาของ AOAC (1993) การคำนวณตามสมการข้างล่างนี้

$$\% \text{ Recovery} = \frac{\text{Conc. spike sample} - \text{Conc. Original sample}}{\text{Conc. added}} \times 100$$

ข้อมูลผลการทดสอบหา Accuracy ในรูปของ %Recovery ดังแสดงในตารางที่ 93

ตารางที่ 93 แสดงค่า % Recovery ของสารออกฤทธิ์ eithion

จำนวน ซ้ำ	Origin Mean (mg/ml)	Cone. Added 0.5 mg/ml (0.5 ml)		Cone. Added 1.0 mg/ml (1.0 ml)		Cone. Added 2.0 mg/ml (2.0 ml)	
		Cone.	% Recovery	Cone.	% Recovery	Cone.	% Recovery
1	0.549	1.041	99.19	1.536	99.10	2.539	99.72
2		1.044	99.47	1.542	99.55	2.540	99.70
3		1.049	100.04	1.545	99.62	2.533	99.20
4		1.046	99.12	1.542	99.15	2.543	99.65
5		1.044	99.78	1.542	99.64	2.540	99.71
6		1.048	99.81	1.543	99.44	2.546	99.88
7		1.053	100.63	1.551	100.12	2.538	99.41
8		1.048	99.23	1.543	99.08	2.541	99.48
9		1.057	101.13	1.544	99.21	2.542	99.54
10		1.054	100.49	1.547	99.56	2.563	100.55
Mean	-	1.049	99.89	1.544	99.45	2.543	99.68
SD	-	0.005	-	0.004	-	0.008	
%RSD	-	0.496	-	0.264	-	0.312	

การตรวจสอบ Accuracy ในรูปของ %Recovery ตามเกณฑ์การพิจารณาของ AOAC สำหรับสารที่มีปริมาณมากกว่า 10% ค่า %Recovery ต้องอยู่ในช่วง 98 - 102 จากการทดลองหา Accuracy พบว่าจากการเติมสารมาตรฐานที่ระดับความเข้มข้น 0.5 1.0 และ 2.0 mg/ml ได้ค่า %Recovery เท่ากับ 99.89 99.45 และ 99.68 ตามลำดับ ซึ่งอยู่ในเกณฑ์ยอมรับ ของ AOAC ที่กำหนดไว้

3.2.9 ผลการตรวจสอบค่า Ruggedness ของสารออกฤทธิ์ ethion

ผลการตรวจสอบ Ruggedness จากการทดลองในสภาวะการทดสอบเดียวกัน แต่เปลี่ยนผู้ทดสอบ ข้อมูลแสดงดังตารางที่ 94

ตารางที่ 94 เปรียบเทียบเปอร์เซ็นต์ที่ตรวจพบระหว่างผู้ทดสอบที่ 1 และ 2

n	ความเข้มข้น 1.0 mg/ml			
	ผู้ทดสอบที่ 1		ผู้ทดสอบที่ 2	
	น้ำหนัก (mg)	%ที่ตรวจพบ	น้ำหนัก (mg)	%ที่ตรวจพบ
1	50.00	51.78	50.00	51.81
2	50.00	51.26	50.00	52.00
3	50.20	51.84	50.00	51.43
4	50.20	51.67	53.10	51.63
5	50.20	51.14	50.20	50.99
6	50.30	51.65	50.30	51.66
7	50.30	51.72	50.30	51.73

8	50.30	51.59	50.20	51.21
9	50.30	51.71	50.00	51.19
10	50.00	51.02	53.10	51.67
Mean		51.54	Mean	51.53
SD		0.29	SD	0.32
%RSD		0.56	%RSD	0.61
Predicted Horwitz RSD		1.46	Predicted Horwitz RSD	1.46
HORRAT		0.38	HORRAT	0.42

การตรวจสอบ Ruggedness คือ การตรวจสอบความใกล้เคียงกันระหว่างข้อมูลที่วิเคราะห์ซ้ำจากการเปรียบเทียบผู้ทดสอบ ซึ่งแสดงผลในรูปของ %RSD ได้ค่าดังนี้ 0.56 และ 0.61 จากการทดลองพบว่าได้ค่า HORRAT เท่ากับ 0.38 และ 0.42 ซึ่งผ่านตามเกณฑ์ยอมรับ HORRAT ≤ 2 (AOAC)

3.2.10 ผลการตรวจสอบค่า Robustness ของสารออกฤทธิ์ eithion

ผลการตรวจสอบ Robustness จากการทดลองในสภาวะการทดสอบเดียวกัน แต่เปลี่ยน Column ในการวิเคราะห์จาก Capillary Column HP-5 เป็น HP-1 ดังแสดงในตารางที่ 95

ตารางที่ 95 เปรียบเทียบเปอร์เซ็นต์ที่ตรวจพบระหว่าง Column HP-5 และ HP-1

n	ความเข้มข้น 1.0 mg/ml			
	HP-5		HP-1	
	น้ำหนัก (mg)	%ที่ตรวจพบ	น้ำหนัก (mg)	%ที่ตรวจพบ
1	50.00	51.47	50.00	51.02

2	50.00	51.80	50.00	51.80
3	50.20	51.71	50.20	50.85
4	50.20	51.75	50.20	51.35
5	50.20	51.66	50.20	51.54
6	50.20	51.21	50.20	51.34
7	50.30	51.90	50.30	51.74
8	53.10	51.51	53.10	51.63
9	53.10	51.48	53.10	51.79
10	50.30	51.77	50.30	51.91
Mean		51.63	Mean	51.50
SD		0.21	SD	0.35
%RSD		0.40	%RSD	0.69
Predicted Horwitz RSD		1.46	Predicted Horwitz RSD	1.46
HORRAT		0.28	HORRAT	0.47

การตรวจสอบ Robustness คือการตรวจสอบความใกล้เคียงกันระหว่างข้อมูลที่วิเคราะห์ซ้ำจากการเปรียบเทียบ Column ซึ่งแสดงผลในรูปของ %RSD ได้ค่าดังนี้ 0.40 และ 0.69 จากการทดลองพบว่าได้ค่า HORRAT เท่ากับ 0.28 และ 0.47 ซึ่งเกณฑ์ยอมรับ HORRAT ≤ 2 (AOAC)

3.2.11 ผลการประมาณค่าความไม่แน่นอน (Uncertainty) ของสารออกฤทธิ์ ethion 50% w/v EC

ตารางที่ 96 สรุปการหาค่า Relative Standard Deviation (RSD)

Source	Value (X)	Std. Unc (U _x)	RSD (U _x /x)	RSD ²
Balance (std. w)	10.1 mg	0.120200	0.0119009901	0.0001416336
Balance (sample. s)	50.2 mg	0.120200	0.0023944223	0.0000057333
Purity (std. p)	99.1	0.005800	0.0058526741	0.0000342538
Vol. flask (std. D _s)	10 ml	0.029000	0.0029000000	0.0000084100
Vol. flask (sample. D _w)	25 ml	0.072269	0.0028907600	0.0000083565
Area (std. H _s)	126.466	0.000905	0.0000071569	0.0000000001
Area (sample. H _w)	118.819	0.670648	0.0056442979	0.0000318581
Density (SG)	1.049	0.000000	0.0000000000	0.0000000000
$\sum RSD^2$				0.0002302453

$$\begin{aligned}
 U_c &= C_{\text{sam}} \sqrt{RSD_w^2 + RSD_s^2 + RSD_p^2 + RSD_{D_s}^2 + RSD_{D_w}^2 + RSD_{H_s}^2 + RSD_{H_w}^2 + RSD_{SG}^2} \\
 &= 50 \times \sqrt{0.0002302453} \\
 &= 50.0 \times 0.015 \\
 &= 0.759 \\
 U_c &= 0.759 \\
 U_E &= 2 \times U_c \\
 &= 2 \times 0.759 \\
 &= 1.52
 \end{aligned}$$

การรายงานค่าความไม่แน่นอนในการวัด ของ % ethion = 50 ± 1.52 ค่าความไม่แน่นอนในการวัดที่รายงานเป็นค่าความไม่แน่นอนมาตรฐาน คูณแฟคเตอร์ k=2 ซึ่งมีระดับความมั่นใจประมาณ 95% ตามการกระจายแบบปกติ การประเมินค่าความไม่แน่นอนพิจารณาตาม NAMAS-NIS Guide to the Expression of Uncertainty in Testing, 1st ed. 1994 England และรายงานค่าความไม่แน่นอนเป็นเลขนัยสำคัญ 2 ตำแหน่ง

3.3 ผลการวิเคราะห์หาปริมาณสารออกฤทธิ์ไกลโฟเฟต (glyphosate)

3.3.1 ผลการพัฒนาวิธีการวิเคราะห์สาร glyphosate สภาวะที่เหมาะสมของเครื่อง HPLC ในห้องปฏิบัติการวิเคราะห์วัตถุอันตรายทางการเกษตร สำนักวิจัยและพัฒนาการเกษตรเขตที่ 4 คือ

Column : IC-PAK TM Anion HC4 ความยาว 250 X 4.6 mm

Mobile phase : KH_2PO_4 + Acetonitrite + DI water (buffer glyphosate)
 Injection volume : 10 μl
 Detector : Diode array Detector (195 nm)
 Run Time : 15 min

3.3.2 ผลการหาปริมาณสารออกฤทธิ์ glyphosate

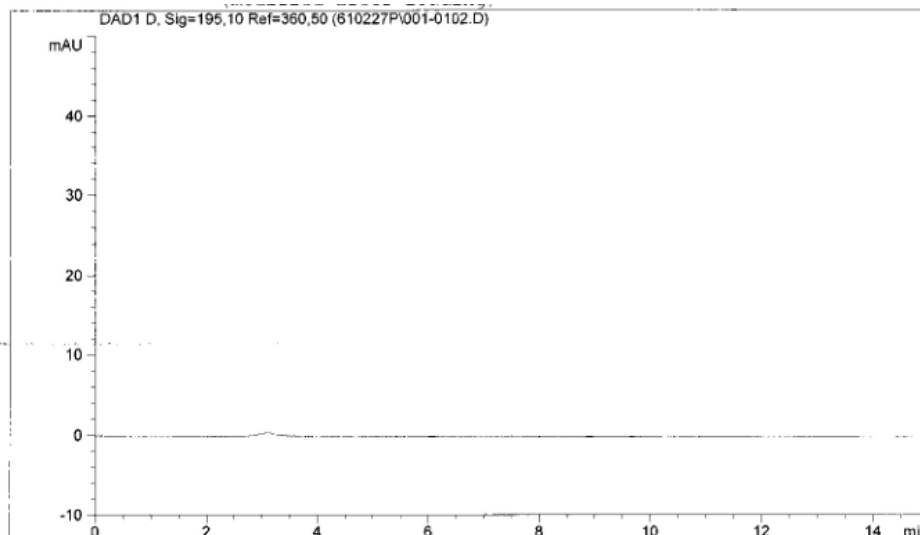
1) ค่า %RPD ของ peak area สารละลายสารมาตรฐาน C1 และ C2 มีค่าไม่เกิน 3% ผลการทดสอบแสดงดังตารางที่ 97

ตารางที่ 97 การประเมินค่า %Relative Percent Different (%RPD) ของสารมาตรฐาน glyphosate

สารมาตรฐาน glyphosate	น้ำหนัก (mg)	peak area	average	%RPD
C1	10.1	233.21497		
C2	10.1	232.36389	232.789	0.366
C1	10.1	232.76952		
C2	10.1	232.02559	232.398	0.320
C1	10.1	232.99307		
C2	10.1	233.96085	233.477	0.415
C1	10.1	233.04803		
C2	10.1	231.38420	232.216	0.717
C1	10.1	237.30432		
C2	10.1	233.67867	235.491	1.540
C1	10.1	233.60651		
C2	10.1	232.48700	233.047	0.480

3.3.3 ผลการตรวจสอบค่า Specificity ของสารออกฤทธิ์ glyphosate

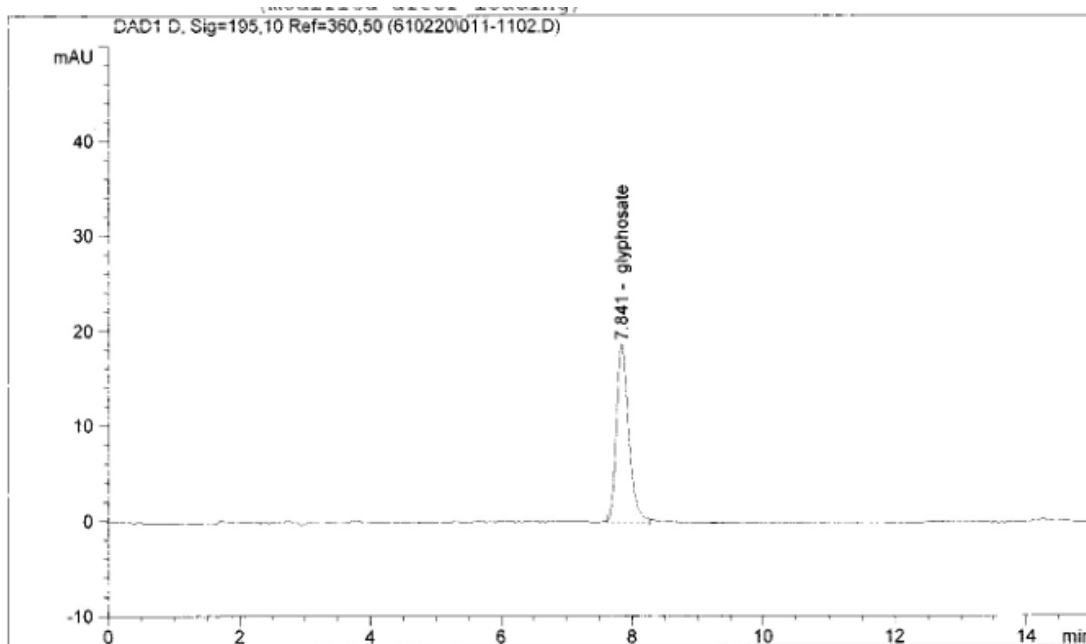
ผลการทดสอบการหา Specificity ของสารออกฤทธิ์ glyphosate พบว่าไม่มีสารอื่นรบกวนการวิเคราะห์สารออกฤทธิ์ glyphosate ที่สามารถตรวจวัดได้แสดงดังภาพที่ 47



ภาพที่ 47 แสดงการแยกของสารละลาย Blank สำหรับทดสอบสารออกฤทธิ์ glyphosate

3.3.4 ผลการตรวจสอบค่า Selectivity ของสารออกฤทธิ์ glyphosate

ผลการทดสอบหา Selectivity ของสารออกฤทธิ์ glyphosate พบว่าสามารถแยกสารออกฤทธิ์ glyphosate ได้อย่างถูกต้อง ดังภาพที่ 48



ภาพที่ 48 แสดงการแยกของสารละลายมาตรฐาน glyphosate

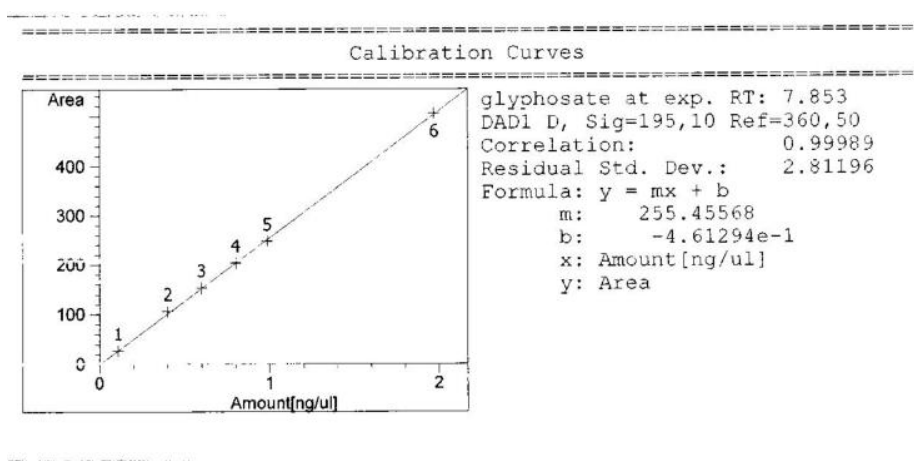
3.3.5 ผลการตรวจสอบความเป็นเส้นตรง (Linearity) ของสารมาตรฐาน glyphosate

การตรวจสอบความเป็นเส้นตรง (Linearity) ที่ระดับความเข้มข้น 0.01 – 1.97 มิลลิกรัม/มิลลิลิตร นำข้อมูลผลการตรวจสอบจากตารางมาสร้างกราฟระหว่างความเข้มข้นกับค่า area จากการประเมินด้วยสาย

ตายค่า (Visual inspection) พบว่ามีความเป็นเส้นตรง และพบว่าค่า Correlation coefficient (r) เท่ากับ 0.999 (เกณฑ์มาตรฐาน > 0.995) ผลการทดสอบแสดงดังตารางที่ 98 และภาพที่ 49

ตารางที่ 98 ผลการทดสอบความเป็นเส้นตรงของสาร glyphosate ที่ระดับความเข้มข้น 0.01 – 1.97 mg/ml

ความเข้มข้น (mg/ml)	Peak area	level
0.01	26.5154	1
0.40	105.4632	2
0.60	153.0292	3
0.80	203.8905	4
0.99	246.5494	5
1.97	504.8781	6



ภาพที่ 49 แสดงความเป็นเส้นตรง (Linearity) สารละลาย glyphosate 6 level (0.01 – 1.97 mg/ml)

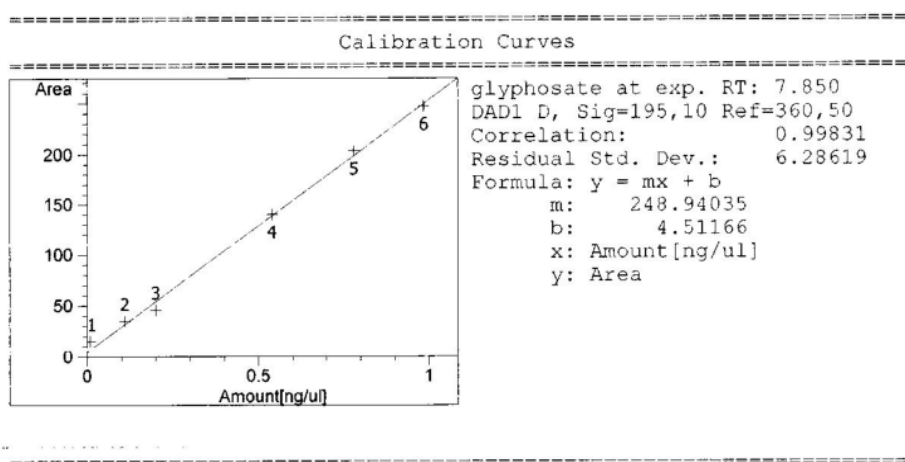
3.3.6 ผลการตรวจสอบช่วงของการวัด (Working range) ของสารมาตรฐาน glyphosate

การตรวจสอบช่วงของการวัดที่ความเข้มข้น 0.01 – 0.99 มิลลิกรัม/มิลลิลิตร และนำข้อมูลผลการตรวจทดสอบช่วงของการวัด มาสร้างกราฟระหว่างความเข้มข้นกับค่า area พบว่าค่า Correlation coefficient (r) เท่ากับ 0.998 (เกณฑ์มาตรฐาน > 0.995) ผลการวิเคราะห์แสดงดังตารางที่ 99 และภาพที่ 50

ตารางที่ 99 ผลการทดสอบช่วงของการวัดของสาร glyphosate ที่ระดับความเข้มข้น 0.01 – 0.99 mg/ml

ความเข้มข้น (mg/ml)	Peak area	Level
0.01	14.7566	1

0.12	34.3347	2
0.21	56.1120	3
0.54	140.1463	4
0.79	203.8905	5
0.99	246.5494	6



ภาพที่ 50 แสดงช่วงของการวัดของสารละลาย glyphosate 6 level (0.10 – 0.99 mg/ml)

3.3.7 ผลการตรวจสอบค่า Precision ของสารออกฤทธิ์ glyphosate

1) การตรวจสอบการทวนซ้ำ (Repeatability)

โดยดำเนินการทดสอบตัวอย่างสารออกฤทธิ์ glyphosate 48% W/V SL จำนวน 3 ระดับ ความเข้มข้น คือที่ระดับ 0.1, 0.5 และ 1.0 mg/ml ระดับความเข้มข้นละ 10 ซ้ำ เพื่อหาค่า Precision ผลการทดสอบ ดังแสดงในตารางที่ 100-102

ตารางที่ 100 ผลการทดสอบการทวนซ้ำ (Repeatability) ของสารออกฤทธิ์ glyphosate 48% W/V SL ที่ระดับความเข้มข้น 0.1 mg/ml

ความเข้มข้น 0.1 (mg/ml)			
n	น้ำหนัก (mg)	% ที่ตรวจพบ glyphosate acid	% ที่ตรวจพบ glyphosate-isopropylammonium
1	5.90	36.56	49.34
2	4.80	36.69	49.52

3	6.40	35.73	48.22
4	4.80	36.35	49.06
5	5.90	37.46	50.56
6	6.40	35.58	48.02
7	6.40	35.83	48.36
8	4.80	36.58	49.37
9	5.90	38.41	51.84
10	5.90	38.17	51.52
Mean		36.74	49.58
SD		0.99	1.33
%RSD		2.69	2.69
Predicted Horvitz RSD		1.53	1.47
HORRAT		1.75	1.83

ตารางที่ 101 ผลการทดสอบการทวนซ้ำ (Repeatability) ของสารออกฤทธิ์ glyphosate 48% W/V SL ที่ระดับความเข้มข้น 0.5 mg/ml

n	ความเข้มข้น 0.5 (mg/ml)		
	น้ำหนัก (mg)	%ที่ตรวจพบ glyphosate acid	%ที่ตรวจพบ glyphosate-isopropylammonium
1	26.70	36.45	49.20
2	26.60	36.61	49.41
3	25.30	37.20	50.21
4	25.30	37.25	50.27
5	26.70	36.70	49.53
6	26.60	36.90	49.80
7	25.30	37.24	50.26
8	26.70	36.71	49.55
9	26.60	36.79	49.65
10	25.30	37.31	50.36
Mean		36.92	49.82
SD		0.31	0.42
%RSD		0.84	0.84
Predicted Horvitz RSD		1.53	1.47

HORRAT	0.55	0.57
--------	------	------

ตารางที่ 102 ผลการทดสอบการทวนซ้ำ (Repeatability) ของสารออกฤทธิ์ glyphosate 48% W/V SL ที่ระดับความเข้มข้น 1.0 mg/ml

n	ความเข้มข้น 1.0 (mg/ml)		
	น้ำหนัก (mg)	% ที่ตรวจพบ glyphosate acid	% ที่ตรวจพบ glyphosate-isopropylammonium
1	26.70	37.95	51.22
2	26.60	36.34	49.05
3	25.30	36.27	48.96
4	25.30	36.68	49.50
5	26.70	37.86	51.10
6	26.60	36.56	49.33
7	25.30	36.63	49.44
8	26.70	36.49	49.25

9	26.60	36.61	49.41
10	25.30	37.89	51.13
Mean		36.93	49.84
SD		0.68	0.92
%RSD		1.85	1.85
Predicted Horvitz RSD		1.53	1.47
HORRAT		1.21	1.26

การตรวจสอบ Precision ที่อยู่ในรูปของ Repeatability คือ การตรวจสอบความใกล้เคียงกันระหว่างข้อมูลวิเคราะห์ซ้ำแสดงผลในรูปของ %RSD จากการทดลองหา Precision ที่อยู่ในรูปของ Repeatability จากข้อมูลผลการทดสอบการทวนซ้ำ (Repeatability) ของสารออกฤทธิ์ glyphosate 48% W/V SL ในรายการทดสอบ glyphosate acid และ glyphosate-isopropylammonium ทั้ง 3 ระดับความเข้มข้น พบว่าค่า HORRAT อยู่ในเกณฑ์ยอมรับ HORRAT ≤ 2 (AOAC)

2) การตรวจสอบ Within laboratory reproducibility

โดยดำเนินการทดสอบตัวอย่างสารออกฤทธิ์ glyphosate 48% W/V SL ที่ระดับความเข้มข้น 1.0 mg/ml จำนวน 10 ซ้ำ ในเวลาต่างวัน โดยสภาวะการดำเนินการทดสอบเดียวกัน เพื่อหาค่า intermediate precision ผลการทดสอบดังแสดงในตารางที่ 103

ตารางที่ 103 แสดงการตรวจสอบ Within laboratory reproducibility ของสารออกฤทธิ์ glyphosate ที่ระดับความเข้มข้น 1.0 mg/ml

จำนวนวัน	ความเข้มข้น 1.0 (mg/ml)		
	น้ำหนัก (mg)	%ที่ตรวจพบ glyphosate acid	%ที่ตรวจพบ glyphosate- isopropylammonium
1	70.50	35.14	47.42
2	71.40	35.97	48.54
3	75.50	37.13	50.10
4	75.50	37.05	50.00
5	72.10	36.47	49.22
6	72.10	36.46	49.20
7	70.50	35.28	47.61
8	70.50	35.47	47.87
9	70.50	35.51	47.93
10	70.50	35.30	47.64
Mean		35.98	48.55
SD		0.75	1.01
%RSD		2.08	2.08
Predicted Horvitz RSD		1.54	1.47
HORRAT		1.35	1.42

การตรวจสอบ Precision ที่อยู่ในรูปของ intermediate precision โดยการทดสอบ Within laboratory reproducibility คือการตรวจสอบความใกล้เคียงกันระหว่างข้อมูลที่ดำเนินการวิเคราะห์ต่างเวลากัน แต่สถานะการทดสอบเดียวกัน แสดงผลในรูปของ %RSD และ HORRAT ผลการทดสอบพบว่า ที่ระดับความเข้มข้น 1.0 mg/ml ของสารออกฤทธิ์ glyphosate 48% W/V SL ค่า %RSD เท่ากับ 2.08 และ ค่า HORRAT เท่ากับ 1.34 และ 1.42 อยู่ในเกณฑ์ยอมรับ HORRAT ≤ 2 (AOAC)

3.3.8 ผลการตรวจสอบค่า Accuracy ของสารออกฤทธิ์ glyphosate

การตรวจสอบ Accuracy ในรูปของ %Recovery ตามเกณฑ์การพิจารณาของ AOAC สำหรับสารที่มีปริมาณมากกว่า 10% ค่า %Recovery ต้องอยู่ในช่วง 98 - 102 โดยเตรียมสารละลาย stock sample ให้มีความเข้มข้นที่แน่นอน (1 mg/ml) จากนั้นเตรียมสารละลายเพื่อหาค่า origin โดยปิเปตสารละลาย stock sample ปริมาตร 5 ml ลงใน volumetric flask ขนาด 10 ml จำนวน 10 ซ้ำ ปรับปริมาตรด้วยตัวทำละลายเขย่าให้เข้ากัน แล้วนำไปวิเคราะห์ด้วยเครื่อง HPLC เทียบกับกราฟมาตรฐานเพื่อวิเคราะห์หาปริมาณสารออกฤทธิ์ glyphosate ข้อมูลผลการทดสอบ Origin แสดงดังตารางที่ 104

ตารางที่ 104 แสดงค่า Origin ของสารออกฤทธิ์ glyphosate

จำนวนซ้ำ	Origin (0.3 mg/ml)
1	0.364
2	0.365
3	0.366
4	0.368
5	0.368
6	0.365
7	0.366
8	0.365
9	0.365
10	0.365
Mean	0.366
SD	0.001
%RSD	0.380

เมื่อหาค่า origin ที่แน่นอนแล้ว จากนั้นเตรียมสารละลายเพื่อหาค่า recovery โดยปิเปตสารละลาย stock sample ปริมาตร 5 ml ลงใน volumetric flask ขนาด 10 ml ระดับความเข้มข้นละ 10 ซ้ำ จากนั้นเติมสารละลายมาตรฐานที่ระดับความเข้มข้น 0.3 0.5 และ 0.7 mg/ml ลงใน sample origin 5 ml ที่เตรียมไว้ใน volumetric flask ขนาด 10 ml (ความเข้มข้นละ 10 ซ้ำ) ปรับปริมาตรด้วยตัวทำละลายเขย่าให้เข้ากัน แล้วนำไปวิเคราะห์ด้วยเครื่อง GC เทียบกับกราฟมาตรฐานเพื่อวิเคราะห์หาปริมาณสารออกฤทธิ์ glyphosate และประเมินค่า accuracy จาก % recovery โดยนำค่าปริมาณสารออกฤทธิ์ glyphosate ที่เป็นค่า origin มาหาค่าเฉลี่ยและเทียบกับค่าที่ได้จากการ spike แล้วคำนวณค่า % recovery โดยค่าต้องอยู่ในช่วงตามเกณฑ์การพิจารณาของ AOAC (1993) การคำนวณตามสมการข้างล่างนี้

$$\% \text{ Recovery} = \frac{\text{Conc. spike sample} - \text{Conc. Original sample}}{\text{Conc. added}} \times 100$$

ข้อมูลผลการทดสอบหา Accuracy ในรูปของ %Recovery ดังแสดงในตารางที่ 105

ตารางที่ 105 แสดงค่า % Recovery ของสารออกฤทธิ์ glyphosate

จำนวนซ้ำ	Origin Mean (mg/ml)	Cone. Added 0.3 mg/ml (0.3 ml)		Cone. Added 0.5 mg/ml (0.5 ml)		Cone. Added 0.7 mg/ml (0.7 ml)	
		Cone.	% Recovery	Cone.	% Recovery	Cone.	% Recovery
1	0.366	0.667	101.20	0.870	101.31	1.070	100.82
2		0.666	100.43	0.864	99.84	1.068	100.43
3		0.669	101.24	0.870	100.99	1.063	99.60
4		0.671	101.11	0.868	99.96	1.067	99.90
5		0.671	101.18	0.866	99.55	1.064	99.44
6		0.671	101.92	0.870	100.91	1.065	99.97
7		0.661	98.16	0.867	100.15	1.063	99.61
8		0.660	98.47	0.867	100.36	1.065	100.03
9		0.661	98.42	0.864	99.75	1.065	99.97
10		0.663	99.20	0.864	99.79	1.066	100.17
Mean	-	0.666	100.13	0.867	100.26	1.066	99.99
SD	-	0.005	-	0.003	-	0.002	
%RSD	-	0.709	-	0.304	-	0.195	

การตรวจสอบ Accuracy ในรูปของ %Recovery ตามเกณฑ์การพิจารณาของ AOAC สำหรับสารที่มีปริมาณมากกว่า 10% ค่า %Recovery ต้องอยู่ในช่วง 98 - 102 จากการทดลองหา Accuracy พบว่าจากการเติมสารมาตรฐานที่ระดับความเข้มข้น 0.3 0.5 และ 0.7 mg/ml ได้ค่า %Recovery เท่ากับ 100.13 100.26 และ 99.99 ตามลำดับ ซึ่งอยู่ในเกณฑ์ยอมรับ ของ AOAC ที่กำหนดไว้

3.3.9 ผลการตรวจสอบค่า Ruggedness ของสารออกฤทธิ์ glyphosate

ผลการตรวจสอบ Ruggedness จากการทดลองในสภาวะการทดสอบเดียวกัน แต่เปลี่ยนผู้ทดสอบ ข้อมูลแสดงดังตารางที่ 106

ตารางที่ 106 เปรียบเทียบเปอร์เซ็นต์ที่ตรวจพบระหว่างผู้ทดสอบที่ 1 และ 2

n	ความเข้มข้น 1.0 mg/ml					
	ผู้ทดสอบที่ 1			ผู้ทดสอบที่ 2		
	น้ำหนัก (mg)	%ที่ตรวจพบ glyphosate acid	%ที่ตรวจพบ glyphosate- isopropylammonium	น้ำหนัก (mg)	%ที่ตรวจพบ glyphosate acid	%ที่ตรวจพบ glyphosate- isopropylammonium
1	52.10	35.81	48.33	51.80	35.86	48.40
2	53.30	36.02	48.61	52.10	36.93	49.84
3	51.80	35.49	47.90	53.30	36.07	48.68
4	52.60	35.67	48.15	52.60	36.04	48.64
5	52.60	35.87	48.41	52.60	36.19	48.85
6	51.80	35.47	47.87	52.60	36.08	48.70
7	53.30	36.00	48.59	52.10	36.22	48.88
8	52.10	35.81	48.33	51.80	35.75	48.25
9	52.60	35.91	48.46	53.30	36.15	48.79
10	52.10	36.32	49.02	53.30	36.20	48.85
Mean		51.54	35.84		36.15	48.79
SD		0.29	0.25		0.31	0.42
%RSD		0.56	0.71		0.87	0.87
Predicted Horwitz RSD		1.46	1.54		1.54	1.47
HORRAT		0.38	0.46		0.56	0.59

การตรวจสอบ Ruggedness คือ การตรวจสอบความใกล้เคียงกันระหว่างข้อมูลทีวิเคราะห์ซ้ำจากการเปรียบเทียบผู้ทดสอบ ซึ่งแสดงผลในรูปของ %RSD ได้ค่าดังนี้ 0.56 และ 0.61 จากการทดลองพบว่าได้ค่า HORRAT เท่ากับ 0.38 0.46 0.56 และ 0.59 ซึ่งผ่านตามเกณฑ์ยอมรับ HORRAT ≤ 2 (AOAC)

3.3.10 ผลการตรวจสอบค่า Robustness ของสารออกฤทธิ์ glyphosate

ผลการตรวจสอบ Robustness จากการทดลองด้วยวิธีการเปลี่ยนเครื่องมือวิเคราะห์ระหว่างเครื่อง HPLC-FID/DAD ยี่ห้อ Agilent รุ่น 1100 series (HPLC-2) ใช้ Column : Microsorb-MV 100 NH2 และเครื่อง HPLC-DAD/FLD ยี่ห้อ Agilent รุ่น 1290 infinity (HPLC-1) ใช้ Column : Microsorb-MV 100 NH2 รายละเอียดดังแสดงในตารางที่ 107

ตารางที่ 107 ผลการทดสอบเปรียบเทียบเปอร์เซ็นต์ที่ตรวจพบระหว่างเครื่อง HPLC-2 และเครื่อง HPLC-1

ความเข้มข้น 1.0 (mg/ml)						
n	HPLC-2			HPLC-1		
	น้ำหนัก (mg)	%ที่ตรวจพบ glyphosate acid	%ที่ตรวจพบ glyphosate-isopropylammonium	น้ำหนัก (mg)	%ที่ตรวจพบ glyphosate acid	%ที่ตรวจพบ glyphosate-isopropylammonium
1	53.30	36.15	48.79	52.80	35.27	47.61
2	51.80	35.86	48.40	53.20	34.86	47.04
3	52.10	36.24	48.90	52.80	35.30	47.65
4	52.60	36.10	48.73	53.20	34.77	46.93
5	51.80	35.77	48.28	52.80	35.09	47.35
6	53.30	36.23	48.90	52.80	35.11	47.39
7	52.10	36.37	49.09	52.80	34.95	47.16
8	53.30	36.15	48.78	53.20	34.70	46.83
9	52.60	36.18	48.83	53.20	34.82	47.00
10	52.60	36.29	48.97	52.80	34.87	47.06

Mean	36.13	48.77	34.97	47.20
SD	0.19	0.25	0.21	0.28
%RSD	0.51	0.51	0.60	0.60
Predicted Horvitz RSD	1.54	1.47	1.55	1.48
HORRAT	0.33	0.35	0.39	0.40

การตรวจสอบ Robustness คือการตรวจสอบความใกล้เคียงกันระหว่างข้อมูลทีวิเคราะห์ซ้ำจากการเปรียบเทียบระหว่างเครื่องมือ และ Column ซึ่งแสดงผลในรูปของ %RSD ได้ค่าดังนี้ 0.51 และ 0.60 จากการทดลองพบว่าได้ค่า HORRAT เท่ากับ 0.33 0.35 0.39 และ 0.40 ซึ่งเกณฑ์ยอมรับ HORRAT ≤ 2 (AOAC)

3.3.11 ผลการประมาณค่าความไม่แน่นอน (Uncertainty) ของสารออกฤทธิ์ glyphosate 48% w/v SL

ตารางที่ 108 สรุปการหาค่า Relative Standard Deviation (RSD)

Source	Value (X)	Std. Unc (U_x)	RSD (U_x/x)	RSD ²
Balance (std. w)	10.1 mg	0.120200	0.0119009901	0.0001416336
Balance (sample. s)	52.0 mg	0.120200	0.0023115385	0.0000053432
Purity (std. p)	98.6	0.005800	0.0058823529	0.0000346021
Vol. flask (std. Ds)	10 ml	0.029000	0.0029000000	0.0000084100
Vol. flask (sample. Dw)	25 ml	0.072269	0.0028907600	0.0000083565

Area (std. Hs)	232.789	0.601804	0.0025851880	0.0000066832
Area (sample. Hw)	182.566	0.920723	0.0050432321	0.0000254342
Density (SG)	1.206	0.000000	0.0000000000	0.0000000000
$\sum RSD^2$				0.0002304627

$$\begin{aligned}
 U_C &= C_{\text{sam}} \sqrt{RSD_w^2 + RSD_s^2 + RSD_p^2 + RSD_{D_s}^2 + RSD_{D_w}^2 + RSD_{H_s}^2 + RSD_{H_w}^2 + RSD_{SG}^2} \\
 &= 48 \times \sqrt{0.0002304627} \\
 &= 48 \times 0.015 \\
 &= 0.729 \\
 U_C &= 0.729 \\
 U_E &= 2 \times U_C \\
 &= 2 \times 0.729 \\
 &= 1.46
 \end{aligned}$$

การรายงานค่าความไม่แน่นอนในการวัด ของ % glyphosate = 48 ± 1.46 ค่าความไม่แน่นอนในการวัดที่รายงานเป็นค่าความไม่แน่นอนมาตรฐาน คูณแฟคเตอร์ $k=2$ ซึ่งมีระดับความมั่นใจประมาณ 95% ตามการกระจายแบบปกติ การประเมินค่าความไม่แน่นอนพิจารณาตาม NAMAS-NIS Guide to the Expression of Uncertainty in Testing, 1st ed. 1994 England และรายงานค่าความไม่แน่นอนเป็นเลขนัยสำคัญ 2 ตำแหน่ง

3.4 ผลการวิเคราะห์หาปริมาณสารออกฤทธิ์คาร์เบนดาซิม (carbendazim)

3.4.1 ผลการพัฒนาวิธีการวิเคราะห์สาร carbendazim สภาวะที่เหมาะสมของเครื่อง HPLC ในห้องปฏิบัติการวิเคราะห์วัตถุอันตรายทางการเกษตร สำนักวิจัยและพัฒนาการเกษตรเขตที่ 4 คือ

Column : Lichrospher 100 RP-18 (5 μ m) ความยาว 250 X 4.0 (i.d.mm)
 Mobile phase : H₂SO₄ + Acetonitrile : Water (35 :65)

Injectionvolume : 10 μ l
 Detector : Diodearray Detector (282 nm)
 Run Time : 4 min

3.4.2 ผลการหาปริมาณสารออกฤทธิ์ carbendazim

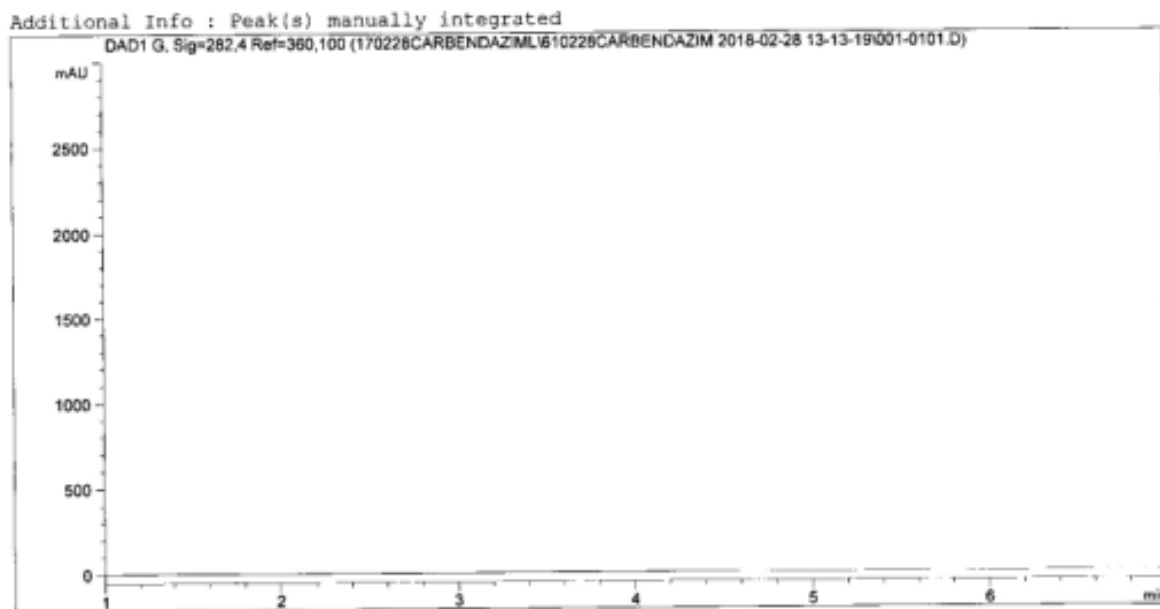
1) ค่า %RPD ของ peak area สารละลายสารมาตรฐาน C1 และ C2 มีค่าไม่เกิน 3% ผลการทดสอบแสดงดังตารางที่ 109

ตารางที่ 109 การประเมินค่า %Relative Percent Different (%RPD) ของสารมาตรฐาน carbendazim

สารมาตรฐาน carbendazim	น้ำหนัก (mg)	peak area	average	%RPD
C1	10.2	1.08735		
C2	10.1	1.08593	1.087	0.131
C1	10.2	1.10888		
C2	10.1	1.10005	1.104	0.799
C1	10.2	1.07241		
C2	10.1	1.08894	1.081	1.530
C1	10.2	1.06860		
C2	10.1	1.06322	1.066	0.505
C1	10.2	1.07223		
C2	10.1	1.07210	1.072	0.012
C1	10.2	1.06893		
C2	10.1	1.08354	1.076	1.358

3.4.3 ผลการตรวจสอบค่า Specificity ของสารออกฤทธิ์ carbendazim

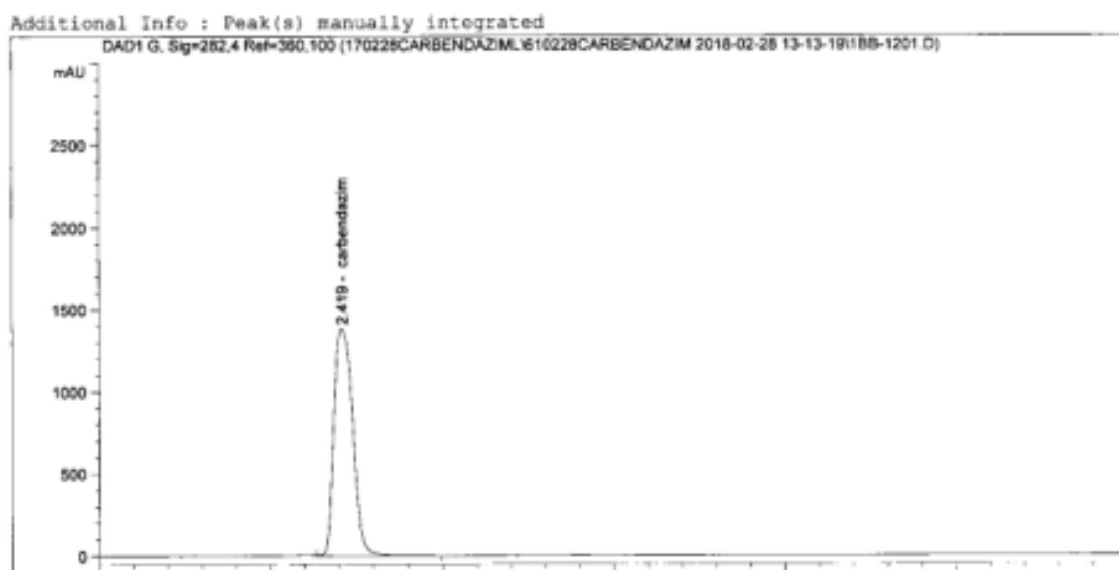
ผลการทดสอบการหา Specificity ของสารออกฤทธิ์ carbendazim พบว่าไม่มีสารอื่นรบกวนการวิเคราะห์สารออกฤทธิ์ glyphosate ที่สามารถตรวจวัดได้แสดงดังภาพที่ 51



ภาพที่ 51 แสดงการแยกของสารละลาย Blank สำหรับทดสอบสารออกฤทธิ์ carbendazim

3.4.4 ผลการตรวจสอบค่า Selectivity ของสารออกฤทธิ์ carbendazim

ผลการทดสอบหา Selectivity ของสารออกฤทธิ์ carbendazim พบว่าสามารถแยกสารออกฤทธิ์ carbendazim ได้อย่างถูกต้อง ดังภาพที่ 52



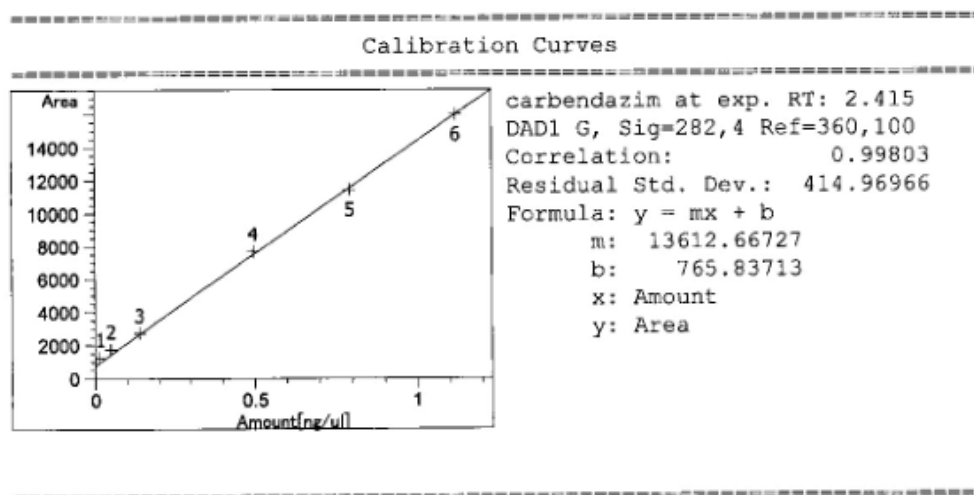
ภาพที่ 52 แสดงการแยกของสารละลายมาตรฐาน carbendazim

3.4.5 ผลการตรวจสอบความเป็นเส้นตรง (Linearity) ของสารมาตรฐาน carbendazim

การตรวจสอบความเป็นเส้นตรง (Linearity) ที่ระดับความเข้มข้น 0.01 – 1.18 มิลลิกรัม/มิลลิลิตร นำข้อมูลผลการตรวจสอบจากตารางมาสร้างกราฟระหว่างความเข้มข้นกับค่า area จากการประเมินด้วยสายตา (Visual inspection) พบว่ามีความเป็นเส้นตรง และพบว่าค่า Correlation coefficient (r) เท่ากับ 0.998 (เกณฑ์มาตรฐาน > 0.995) ผลการทดสอบแสดงดังตารางที่ 110 และภาพที่ 53

ตารางที่ 110 ผลการทดสอบความเป็นเส้นตรงของสาร carbendazim ที่ระดับความเข้มข้น 0.01 – 1.18 mg/ml

ความเข้มข้น (mg/ml)	Peak area	level
0.01	1328.026	1
0.05	1743.500	2
0.14	2710.900	3
0.50	7677.900	4
0.79	11200.050	5
1.18	16020.450	6



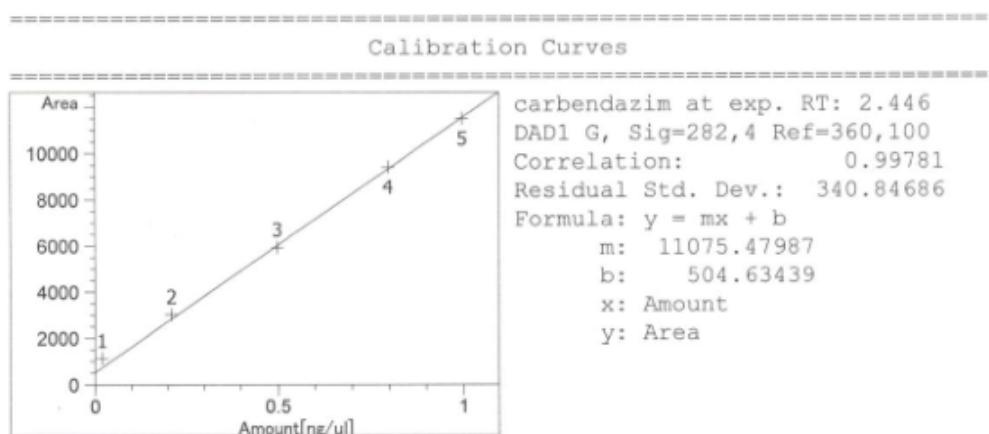
ภาพที่ 53 แสดงความเป็นเส้นตรง (Linearity) สารละลาย carbendazim 6 level (0.01 – 1.18 mg/ml)

3.4.6 ผลการตรวจสอบช่วงของการวัด (Working range) ของสารมาตรฐาน carbendazim

การตรวจสอบช่วงของการวัด ที่ความเข้มข้น 0.01 – 0.99 มิลลิกรัม/มิลลิลิตร นำข้อมูลผลการตรวจทดสอบช่วงของการวัด มาสร้างกราฟระหว่างความเข้มข้นกับค่า area พบว่าค่า Correlation coefficient (r) เท่ากับ 0.997 (เกณฑ์มาตรฐาน > 0.995) ผลการวิเคราะห์แสดงดังตารางที่ 111 และภาพที่ 54

ตารางที่ 111 ผลการทดสอบช่วงของการวัดของสาร carbendazim ที่ระดับความเข้มข้น 0.02 - 1.00 mg/ml

ความเข้มข้น (mg/ml)	Peak area	Level
0.02	1119.493	1
0.21	3017.123	2
0.50	5921.872	3
0.80	9392.905	4
1.00	11485.300	5



ภาพที่ 54 แสดง ความเป็นเส้นตรง (linearity) สารละลาย carbendazim 5 level (0.10 – 1.00 mg/ml)

3.4.7 ผลการตรวจสอบค่า Precision ของสารออกฤทธิ์ carbendazim

1) การตรวจสอบการทวนซ้ำ (Repeatability)

โดยดำเนินการทดสอบตัวอย่างสารออกฤทธิ์ carbendazim 50% W/V SC จำนวน 3 ระดับ ความเข้มข้น คือที่ระดับ 0.8, 1.0 และ 1.2 mg/ml ระดับความเข้มข้นละ 10 ซ้ำ เพื่อหาค่า Precision ผลการทดสอบ ดังแสดงในตารางที่ 112

ตารางที่ 112 เปอร์เซ็นต์ที่ตรวจพบที่ 3 ความเข้มข้น จากการทวนซ้ำ (Repeatability)

n	ความเข้มข้น 0.8 (mg/ml)		ความเข้มข้น 1.0 (mg/ml)		ความเข้มข้น 2.0 (mg/ml)	
	น้ำหนัก (mg)	%ที่ตรวจพบ	น้ำหนัก (mg)	%ที่ตรวจพบ	น้ำหนัก (mg)	%ที่ตรวจพบ
1	169.70	49.22	253.50	50.58	249.50	50.50
2	169.80	49.09	253.40	50.57	249.50	50.09
3	169.60	49.19	253.30	50.54	249.10	50.66
4	169.70	49.02	220.00	50.54	249.40	50.21
5	169.90	49.09	219.00	50.11	249.30	50.23
6	169.80	49.00	253.50	50.23	249.50	50.70
7	169.70	49.09	220.00	50.16	249.30	50.36
8	169.60	48.89	253.40	50.25	249.20	50.40
9	169.70	48.82	253.30	50.27	249.20	50.75
10	169.70	48.84	253.00	50.24	249.20	50.61
Mean		49.02		50.35		50.45
SD		0.14		0.19		0.23
%RSD		0.28		0.37		0.45
Predicted Horvitz RSD		1.47		1.46		1.46
HORRAT		0.19		0.25		0.31

การตรวจสอบ Precision ที่อยู่ในรูปของ Repeatability คือ การตรวจสอบความใกล้เคียงกันระหว่างข้อมูลที่วิเคราะห์ซ้ำแสดงผลในรูปของ %RSD จากการทดลองหา Precision ที่อยู่ในรูปของ Repeatability ได้ค่า HORRAT เท่ากับ 0.19 0.25 และ 0.31 ตามลำดับ (เกณฑ์ยอมรับ HORRAT ≤ 2 (AOAC))

2) การตรวจสอบ Within laboratory reproducibility

โดยดำเนินการทดสอบตัวอย่างสารออกฤทธิ์ carbendazim 50% W/V SC ที่ระดับความเข้มข้น 1.0 mg/ml จำนวน 10 ซ้ำ ในเวลาต่างวัน โดยสภาวะการดำเนินการทดสอบเดียวกัน เพื่อหาค่า intermediate precision ผลการทดสอบดังแสดงในตารางที่ 113

ตารางที่ 113 แสดงการตรวจสอบ Within laboratory reproducibility ของสารออกฤทธิ์ carbendazim ที่ระดับความเข้มข้น 1.0 mg/ml

จำนวนวัน	ความเข้มข้น 1.0 (mg/ml)	
	น้ำหนัก (mg)	%ที่ตรวจพบ
1	253.50	50.60
2	253.40	50.82
3	253.30	50.53
4	220.00	50.08
5	219.00	50.37
6	253.50	50.03
7	220.00	50.33
8	253.40	50.55
9	253.30	50.52

10	253.00	50.60
Mean		50.44
SD		0.24
%RSD		0.48
Predicted Horvitz RSD		1.46
HORRAT		0.33

การตรวจสอบ Precision ที่อยู่ในรูปของ intermediate precision โดยการทดสอบ Within laboratory reproducibility คือการตรวจสอบความใกล้เคียงกันระหว่างข้อมูลที่ได้ดำเนินการวิเคราะห์ต่างเวลากัน แต่สถานะการทดสอบเดียวกัน แสดงผลในรูปของ %RSD และ HORRAT ผลการทดสอบพบว่า ที่ระดับความเข้มข้น 1.0 mg/ml ของสารออกฤทธิ์ carbendazim 50% W/V SC ค่า %RSD เท่ากับ 0.48 และ ค่า HORRAT เท่ากับ 0.33 อยู่ในเกณฑ์ยอมรับ HORRAT ≤ 2 (AOAC)

3.4.8 ผลการตรวจสอบค่า Accuracy ของสารออกฤทธิ์ carbendazim

การตรวจสอบ Accuracy ในรูปของ %Recovery ตามเกณฑ์การพิจารณาของ AOAC สำหรับสารที่มีปริมาณมากกว่า 10% ค่า %Recovery ต้องอยู่ในช่วง 98 - 102 โดยเตรียมสารละลาย stock sample ให้ความเข้มข้นที่แน่นอน (1 mg/ml) จากนั้นเตรียมสารละลายเพื่อหาค่า origin โดยปิเปตสารละลาย stock sample ปริมาตร 5 ml ลงใน volumetric flask ขนาด 10 ml จำนวน 10 ซ้ำ ปรับปริมาตรด้วยตัวทำละลายเข้าให้เข้ากัน แล้วนำไปวิเคราะห์ด้วยเครื่อง HPLC เทียบกับกราฟมาตรฐานเพื่อวิเคราะห์หาปริมาณสารออกฤทธิ์ carbendazim ข้อมูลผลการทดสอบ Origin แสดงดังตารางที่ 114

ตารางที่ 114 แสดงค่า Origin ของสารออกฤทธิ์ carbendazim

จำนวนซ้ำ	Origin (0.5mg/ml)
1	0.510
2	0.509
3	0.508
4	0.511
5	0.510

6	0.508
7	0.510
8	0.508
9	0.509
10	0.511
Mean	0.509
SD	0.001
%RSD	0.20

เมื่อหาค่า origin ที่แน่นอนแล้ว จากนั้นเตรียมสารละลายเพื่อหาค่า recovery โดยปิเปตสารละลาย stock sample ปริมาตร 5 ml ลงใน volumetric flask ขนาด 10 ml ระดับความเข้มข้นละ 10 ซ้ำ จากนั้นเติมสารละลายมาตรฐานที่ระดับความเข้มข้น 0.3 0.5 และ 0.7 mg/ml ลงใน sample origin 5 ml ที่เตรียมไว้ใน volumetric flask ขนาด 10 ml (ความเข้มข้นละ 10 ซ้ำ) ปรับปริมาตรด้วยตัวทำละลายเขย่าให้เข้ากัน แล้วนำไปวิเคราะห์ด้วยเครื่อง HPLC เทียบกับกราฟมาตรฐานเพื่อวิเคราะห์หาปริมาณสารออกฤทธิ์ carbendazim และประเมินค่า accuracy จาก % recovery โดยนำค่าปริมาณสารออกฤทธิ์ carbendazim ที่เป็นค่า origin มาหาค่าเฉลี่ยและเทียบกับค่าที่ได้จากการ spike แล้วคำนวณค่า % recovery โดยค่าต้องอยู่ในช่วงตามเกณฑ์การพิจารณาของ AOAC (1993) การคำนวณตามสมการข้างล่างนี้

$$\% \text{ Recovery} = \frac{\text{Conc. spike sample} - \text{Conc. Original sample}}{\text{Conc. added}} \times 100$$

ข้อมูลผลการทดสอบหา Accuracy ในรูปของ %Recovery ดังแสดงในตารางที่ 115

ตารางที่ 115 แสดงค่า % Recovery ของสารออกฤทธิ์ carbendazim

จำนวนซ้ำ	Origin Mean (mg/ml)	Cone. Added 0.3 mg/ml (0.3 ml)		Cone. Added 0.5 mg/ml (0.5 ml)		Cone. Added 0.7 mg/ml (0.7 ml)	
		Cone.	% Recovery	Cone.	% Recovery	Cone.	% Recovery
1	0.509	0.813	101.23	1.011	100.29	1.202	98.91
2		0.814	101.79	1.013	100.86	1.213	100.61
3		0.812	101.20	1.011	100.50	1.208	99.93
4		0.815	101.35	1.012	100.27	1.203	98.96
5		0.810	100.14	1.016	101.29	1.209	99.84
6		0.814	101.97	1.011	100.57	1.205	99.64
7		0.810	100.10	1.013	100.74	1.207	99.61
8		0.809	100.15	1.017	101.85	1.202	99.13
9		0.813	101.54	1.012	100.71	1.217	101.16
10		0.809	99.51	1.016	101.11	1.201	98.57
Mean	-	0.812	100.90	1.013	100.82	1.207	99.64
SD	-	0.002	-	0.002	-	0.005	
%RSD	-	0.281	-	0.241	-	0.430	

การตรวจสอบ Accuracy ในรูปของ %Recovery ตามเกณฑ์การพิจารณาของ AOAC สำหรับสารที่มีปริมาณมากกว่า 10% ค่า %Recovery ต้องอยู่ในช่วง 98 - 102 จากการทดลองหา Accuracy พบว่าจากการเติมสารมาตรฐานที่ระดับความเข้มข้น 0.3 0.5 และ 0.7 mg/ml ได้ค่า %Recovery เท่ากับ 100.90 100.82 และ 99.64 ตามลำดับ ซึ่งอยู่ในเกณฑ์ยอมรับ ของ AOAC ที่กำหนดไว้

3.4.9 ผลการตรวจสอบค่า Ruggedness ของสารออกฤทธิ์ carbendazim

ผลการตรวจสอบ Ruggedness จากการทดลองในสภาวะการทดสอบเดียวกัน แต่เปลี่ยนผู้ทดสอบ ข้อมูลแสดงดังตารางที่ 116

ตารางที่ 116 เปรียบเทียบเปอร์เซ็นต์ที่ตรวจพบระหว่างผู้ทดสอบที่ 1 และ 2

n	ความเข้มข้น 1.0 mg/ml			
	ผู้ทดสอบที่ 1		ผู้ทดสอบที่ 2	
	น้ำหนัก (mg)	%ที่ตรวจพบ	น้ำหนัก (mg)	%ที่ตรวจพบ
1	50.40	49.30	50.40	50.13
2	49.80	49.12	50.40	50.10
3	50.70	48.98	50.90	49.54
4	50.90	49.12	50.70	49.41
5	50.40	50.17	49.80	49.38
6	50.40	50.00	49.80	49.14
7	50.90	49.25	50.40	49.40
8	49.80	49.81	50.90	48.95
9	50.70	49.44	50.90	49.00
10	50.70	48.81	49.80	49.26
Mean		49.40	Mean	49.43
SD		0.45	SD	0.41
%RSD		0.91	%RSD	0.82
Predicted Horwitz RSD		1.47	Predicted Horwitz RSD	1.47
HORRAT		0.62	HORRAT	0.56

การตรวจสอบ Ruggedness คือ การตรวจสอบความใกล้เคียงกันระหว่างข้อมูลทีวิเคราะห์ซ้ำจากการเปรียบเทียบผู้ทดสอบ ซึ่งแสดงผลในรูปแบบของ %RSD ได้ค่าดังนี้ 0.91 และ 0.82 จากการทดลองพบว่าได้ค่า HORRAT เท่ากับ 0.62 และ 0.56 ซึ่งผ่านตามเกณฑ์ยอมรับ HORRAT ≤ 2 (AOAC)

3.4.10 ผลการตรวจสอบค่า Robustness ของสารออกฤทธิ์ carbendazim

ผลการตรวจสอบ Robustness จากการทดลองด้วยวิธีการเปลี่ยนเครื่องมือวิเคราะห์ระหว่างเครื่อง HPLC-FID/DAD ยี่ห้อ Agilent รุ่น 1100 series (HPLC-2) ใช้ Column C₈ และ เครื่อง HPLC – DAD/FLD ยี่ห้อ Agilent รุ่น 1290 infinity (HPLC-1) ใช้ Column C₁₈ รายละเอียดดังแสดงในตารางที่ 117

ตารางที่ 117 เปรียบเทียบเปอร์เซ็นต์ที่ตรวจพบระหว่างเครื่อง HPLC-2 ใช้ Column C₈ และ เครื่อง HPLC-1 ใช้ Column C₁₈

n	ความเข้มข้น 1.0 (mg/ml)			
	HPLC-2 ใช้ Column C ₈		HPLC-1 ใช้ Column C ₁₈	
	น้ำหนัก (mg)	% ที่ตรวจพบ	น้ำหนัก (mg)	% ที่ตรวจพบ
1	50.40	49.94	50.40	49.60
2	50.90	49.12	50.90	50.22
3	50.70	49.17	50.70	50.20
4	49.80	49.51	49.80	50.08
5	50.70	48.98	50.70	49.37
6	50.90	48.82	50.90	50.03
7	48.90	49.20	48.90	49.33
8	50.40	49.23	50.40	50.55
9	50.00	48.98	50.00	49.52
10	50.40	49.05	50.40	49.60
Mean		0.32	Mean	49.60
SD		0.65	SD	0.42
%RSD		1.47	%RSD	0.84
Predicted Horvitz RSD		0.44	Predicted Horvitz RSD	1.47
HORRAT		0.32	HORRAT	0.57

การตรวจสอบ Robustness คือการตรวจสอบความใกล้เคียงกันระหว่างข้อมูลทีวิเคราะห์ซ้ำจากการเปรียบเทียบระหว่างเครื่องมือ และ Column ซึ่งแสดงผลในรูปของ %RSD ได้ค่าดังนี้ 0.65 และ 0.42 จากการทดลองพบว่าได้ค่า HORRAT เท่ากับ 0.32 และ 0.57 ซึ่งเกณฑ์ยอมรับ HORRAT ≤ 2 (AOAC)

3.4.11 ผลการประมาณค่าความไม่แน่นอน (Uncertainty) ของสารออกฤทธิ์ carbendazim 50% W/V SC

ตารางที่ 118 สรุปการหาค่า Relative Standard Deviation (RSD)

Source	Value (X)	Std. Unc (U_x)	RSD (U_x/x)	RSD ²
Balance (std. w)	10.1 mg	0.120200	0.0119009901	0.0001416336
Balance (sample. s)	253.5 mg	0.120200	0.0004741617	0.0000002248
Purity (std. p)	99.6	0.005700	0.0057228916	0.0000327515
Vol. flask (std. Ds)	10 ml	0.029000	0.0029000000	0.0000084100
Vol. flask (sample. Dw)	100 ml	0.086333	0.0008633330	0.0000007453
Area (std. Hs)	10866.4	0.001004	0.0000000924	0.0000000000
Area (sample. Hw)	10802.95	0.073480	0.0000068018	0.0000000000
Density (SG)	1.173	0.000000	0.0000000000	0.0000000000
$\sum RSD^2$				0.0001837653

$$U_c = C_{\text{sam}} \sqrt{RSD_w^2 + RSD_s^2 + RSD_p^2 + RSD_{Ds}^2 + RSD_{Dw}^2 + RSD_{Hs}^2 + RSD_{Hw}^2 + RSD_{SG}^2}$$

$$\begin{aligned}
 &= 50 \times \sqrt{0.0001837653} \\
 &= 50 \times 0.014 \\
 &= 0.678 \\
 U_c &= 0.678 \\
 U_E &= 2 \times U_c \\
 &= 2 \times 0.678 \\
 &= 1.36
 \end{aligned}$$

การรายงานค่าความไม่แน่นอนในการวัด ของ % carbendazim = 50 ± 1.36 ค่าความไม่แน่นอนในการวัดที่รายงานเป็นค่าความไม่แน่นอนมาตรฐาน คูณแฟคเตอร์ $k=2$ ซึ่งมีระดับความมั่นใจประมาณ 95% ตามการกระจายแบบปกติ การประเมินค่าความไม่แน่นอนพิจารณาตาม NAMAS-NIS Guide to the Expression of Uncertainty in Testing, 1st ed. 1994 England และรายงานค่าความไม่แน่นอนเป็นเลขนัยสำคัญ 2 ตำแหน่ง

สรุปและวิจารณ์ผลการทดลอง

จากผลการศึกษาการตรวจสอบความใช้ได้ของวิธีวิเคราะห์วัตถุมีพิษการเกษตรของสารออกฤทธิ์ ทั้ง 12 ชนิด สรุปผลการศึกษาดังนี้

1. ผลการศึกษาการตรวจสอบความใช้ได้ของวิธีวิเคราะห์วัตถุมีพิษการเกษตรของสารออกฤทธิ์ พบว่าเทคนิคการวิเคราะห์ที่เหมาะสมในการตรวจวิเคราะห์สารออกฤทธิ์ lamda-cyhalothrin, deltamethrin, triazophoa, dimethoate, diazinon, pirimiphos-methyl และ ethion คือ เทคนิค Gas Chromatograph (GC) และเทคนิค High Performance Liquid Chromatography (HPLC) เหมาะสมในการตรวจวิเคราะห์สารออกฤทธิ์ benomyl, carbendazim, carbosulfan, carbayl และ glyphosate

2. ผลการศึกษา working range หรือ ปริมาณของสารที่ใช้ทดสอบสามารถวิเคราะห์ได้อยู่ในช่วง 0.01 - 2.0 mg/ml

3. ผลการศึกษา linearity หรือ ความสัมพันธ์ระหว่าง response กับปริมาณของสารที่วิธีวิเคราะห์ทดสอบของสารออกฤทธิ์ ที่ช่วง working range มีค่า correlation coefficient (r^2) เท่ากับ 0.999 เกณฑ์ยอมรับที่ $r \geq 0.995$ (AOAC, 1993)

4. การตรวจสอบ precision ในรูปของ repeatability และ Within laboratory reproducibility ผลการทดสอบพบว่า repeatability ของทุกชนิดสารได้ค่า HORRAT อยู่ในเกณฑ์การยอมรับ และค่า reproducibility ของทุกชนิดสาร ได้ค่า HORRAT ตามเกณฑ์การยอมรับของ AOAC (1993) ยอมรับ ≤ 2 แสดงว่าวิธีวิเคราะห์สารออกฤทธิ์ดังกล่าวให้ผลการทดสอบ Precision อยู่ในเกณฑ์ที่ยอมรับได้

5. การตรวจสอบ accuracy โดยวิธีการจากค่า % recovery พบว่าสารออกฤทธิ์ทั้ง 12 ชนิดสาร ได้ค่า %recovery อยู่ในช่วง 98 -102% ซึ่งอยู่ในเกณฑ์การยอมรับสำหรับสารที่มีปริมาณมากกว่า 10% ของ AOAC (1993) กำหนดไว้อยู่ในช่วง 98 -102% แสดงว่าวิธีวิเคราะห์สารออกฤทธิ์ ให้ผลการทดสอบ accuracy อยู่ในเกณฑ์ที่ยอมรับได้

6. การตรวจสอบ robustness และ ruggedness เพื่อตรวจสอบ precision พบว่าการตรวจสอบ robustness โดยวิธีการเปลี่ยน column ในการวิเคราะห์ จาก capillary column HP-5 เป็น DB-5 ได้ค่า HORRAT ไม่เกิน 2 และการทดสอบ ruggedness โดยวิธีการเปลี่ยนผู้ทดสอบได้ค่า HORRAT ไม่เกิน 2 ทกชนิดสารเช่นเดียวกัน ซึ่งเกณฑ์การยอมรับค่า Precision ของ AOAC (1993) ยอมรับ ≤ 2 แสดงว่าวิธีวิเคราะห์สารออกฤทธิ์ทุกชนิดสารที่ดำเนินการทดสอบ ให้ผลการทดสอบอยู่ในเกณฑ์ที่ยอมรับได้

7. ผลการประมาณค่าความไม่แน่นอน (Uncertainty) ของแต่ละชนิดสารดังนี้

7.1 สารออกฤทธิ์ lamda-cyhalothrin 2.5% W/V EC ค่า Uncertainty เท่ากับ 0.08

7.2 สารออกฤทธิ์ deltamethrin 3% W/V EC ค่า Uncertainty เท่ากับ 0.11

7.3 สารออกฤทธิ์ carbaryl 85% W.P. ค่า Uncertainty เท่ากับ 2.58

7.4 สารออกฤทธิ์ carbosulfan 20% W/V EC ค่า Uncertainty เท่ากับ 1.03

7.5 สารออกฤทธิ์ triazophos 40% W/V EC ค่า Uncertainty เท่ากับ 0.75

7.6 สารออกฤทธิ์ dimethoate 40% W/V EC ค่า Uncertainty เท่ากับ 0.90

7.7 สารออกฤทธิ์ diazinon 60% W/V EC ค่า Uncertainty เท่ากับ 1.01

7.8 สารออกฤทธิ์ benomyl 50% W/V EC ค่า Uncertainty เท่ากับ 0.87

7.9 สารออกฤทธิ์ pirimiphos-methyl 50% W/V EC ค่า Uncertainty เท่ากับ 1.46

7.10 สารออกฤทธิ์ ethion 50% W/V EC ค่า Uncertainty เท่ากับ 1.52

7.11 สารออกฤทธิ์ glyphosate 48% W/V SL ค่า Uncertainty เท่ากับ 1.46

7.12 สารออกฤทธิ์ carbendazim 50% W/V SC ค่า Uncertainty เท่ากับ 1.36

จากผลการตรวจสอบความใช้ได้ของวิธีวิเคราะห์สารออกฤทธิ์ทั้ง 12 ชนิดสารที่กล่าวมาข้างต้น แสดงถึงวิธีการวิเคราะห์หาปริมาณสารออกฤทธิ์ที่ให้ผลการทดสอบ มีความถูกต้องและแม่นยำ เป็นที่ยอมรับตามเกณฑ์มาตรฐานสากล

สามารถนำไปใช้เป็นวิธีมาตรฐานในการวิเคราะห์หาปริมาณสารออกฤทธิ์ดังกล่าว และเป็นข้อมูลประกอบสำหรับยื่นขอ
ขยายขอบข่ายการรับรองมาตรฐาน ISO/IEC 17025 สำหรับห้องปฏิบัติการต่อไป

เอกสารอ้างอิง

- นัตยา จันทร์ส่อง, อธิพล บังพรม, สุภาพร บังพรม, จำลอง กรัมย์ และ สุนทรี มีเพ็ชร. 2553. ชนิดและปริมาณสารพิษตกค้างในพืชผักและผลไม้ในพื้นที่ สวพ. 4 หลังการรับรองระบบ GAP. การประชุมวิชาการประจำปี 2553, สวพ. 3-4-5. กรมวิชาการเกษตร. 3-5 มีนาคม 2553. ศูนย์ศิลปวัฒนธรรมกาญจนาภิเษก มหาวิทยาลัยราชภัฏอุบลราชธานี. อุบลราชธานี.
- AOAC. 1993. Peer- Verified methods Program, Manual on policies and procedures, AOAC International Arlington, Virginia, USA.
- AOAC. 1998. Peer-Verified Methods Program, Manual on Policies and Procedures AOAC International, Gaithersburg, Maryland, USA.
- AOAC. 2004. Definitions and Calculations of HorRat Values from Intralaboratory Data, HorRat for SLV.doc, 2004-01-18, AOAC International, Gaithersburg, Maryland, USA.
- CIPAC. 1999. Guidelines on Method Validation to be performed in Support of Analytical Methods for Agrochemical Formulations. Collaborative International Pesticides Analytical Council, Document No. 3807, Black Bear Press, Cambridge, UK.
- Henriet, J., Martijn, A. and Povlsen, H.H. 1985, CIPAC Handbook, Vol.1C, Analysis of Technical and Formulated Pesticide, Collaborative International Pesticides Analytical Council, Limited.
- 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.

ภาคผนวก

เกณฑ์การยอมรับ

Table 1: เกณฑ์การยอมรับ recovery

% Active/impurity content A	acceptable mean recovery
≥10	98 –102%
≥1	90 –110%
0.1 – 1	80 – 120%
< 0.1	75 – 125%

AOAC Peer- Verified methods Program (1993)

Table 2: Expected precision (repeatability) as a function of analyte concentration

Analyte, %	Analyte ratio	Unit	RSD, %
100	1	100%	1.3
10	10 ⁻¹	10%	1.9
1	10 ⁻²	1%	2.7
0.01	10 ⁻³	0.1%	3.7
0.001	10 ⁻⁴	100 ppm (mg/kg)	5.3

AOAC Peer-Verified Methods Program (1998)

Table 3: Predicted relative standard deviation of reproducibility (PRSD_R)

Concentration (C)	Mass fraction (C)	PRSD _R , %
100%	1.0	2
1%	0.01	4
0.01%	0.0001	8
1 ppm	0.000001	16

10 ppb	0.00000001	32
1 ppb	0.000000001	45

Definitions and Calculations of HorRat Values from Intralaboratory Data,
HorRat for SLV.doc, 2004-01-18 Reproducibility relative standard deviation
calculated from the Horwitz formula

Table 4: เกณฑ์การยอมรับค่า HORRAT

Reference	ค่า HORRAT ที่ยอมรับ
AOAC (1993)	< 2
Codex, EU	≥ 2