

รายงานผลงานเรื่องเต็มการทดลองที่สิ้นสุด ปี 2556

- 1. ขุดโครงการวิจัย** : วิจัยและพัฒนาปัจจัยการผลิตทางการเกษตร
- 2. โครงการวิจัย** : การพัฒนาการตรวจวิเคราะห์สารพิษตกค้างของวัตถุอันตรายให้ถูกต้องแม่นยำตามมาตรฐานสากล
กิจกรรม : การพัฒนาและตรวจสอบความใช้ได้ของวิธีวิเคราะห์สารพิษตกค้าง
กิจกรรมย่อย : พัฒนาเทคนิคการวิเคราะห์สารพิษตกค้างในผัก ผลไม้และผลิตภัณฑ์ทางการเกษตร
- 3. ชื่อการทดลอง(ภาษาไทย)** : การศึกษาความคงตัว (Stability) ในการเก็บรักษาสารมาตรฐาน Abamectin ที่อุณหภูมิต่างๆ
ชื่อการทดลอง(ภาษาอังกฤษ) : The Study Stability of Abamectin Standards at Various Temperatures
- 4. คณะผู้ดำเนินงาน**
หัวหน้าการทดลอง : นายวิษณุ แจ่มใบ กลุ่มวิจัยวัตถุพิษการเกษตร สปผ.
ผู้ร่วมงาน : นางสมสมัย ปาลกุล กลุ่มวิจัยวัตถุพิษการเกษตร สปผ.
: นายประชาติปัทย์ พงษ์ภิญโญ กลุ่มวิจัยวัตถุพิษการเกษตร สปผ.
: นางสาวปฐิมาภรณ์ สังข์น้อย กลุ่มวิจัยวัตถุพิษการเกษตร สปผ.

5. บทคัดย่อ

ศึกษาความคงตัว (Stability) ของวัตถุพิษชนิด Abamectin ซึ่งตรวจวิเคราะห์เฉพาะ Avermectin B_{1a} โดยใช้เทคนิค Liquid Chromatograph Tandem Mass Spectrometry (LC-MS/MS) เพื่อเปรียบเทียบสารมาตรฐาน Abamectin ที่มีวันหมดอายุแตกต่างกัน ระยะเวลาการใช้งานของสารละลายมาตรฐาน Intermediate และ Working รวมถึงอุณหภูมิที่ใช้ในการเก็บรักษาที่เหมาะสม โดยวางแผนการทดลองเป็น 4 การทดลอง ดังนี้ การทดลองที่ 1 เป็นการหาความคงตัวของสารมาตรฐาน Abamectin ที่มีวันหมดอายุแตกต่างกันได้แก่ ธันวาคม 2548, ตุลาคม 2550, ธันวาคม 2553 และ มีนาคม 2556 (สารมาตรฐานไม่หมดอายุ) จากผลการทดลองคำนวณค่าเปอร์เซ็นต์ความแตกต่าง (%RPD) ของสารมาตรฐานที่หมดอายุ เปรียบเทียบกับสารมาตรฐานที่ยังไม่หมดอายุ (มีนาคม 2556) เท่ากับ 10.08, 17.39 และ 19.78 ตามลำดับ ดังนั้นสารมาตรฐานที่หมดอายุไม่เกิน 3 ปี สามารถนำมาใช้งานได้เพราะมีค่า %RPD ไม่เกิน 10% (SANCO, 2013) การทดลองที่ 2 หาค่าความคงตัวของ Intermediate Standard Abamectin ที่ระยะเวลาการเก็บรักษาที่ต่างกัน ภายใต้อุณหภูมิ -20 องศาเซลเซียส โดยทำการทดสอบทุกเดือน จากผลการทดลองสารละลายมาตรฐาน Intermediate สามารถใช้งานได้ไม่เกิน 5 เดือน เนื่องจากให้ค่า %RPD ไม่เกิน 10 และ %Relative response ไม่น้อยกว่า 90% (SANCO, 2013) และยืนยันผลการทดลองโดยการคำนวณค่า $\pm 2SD$ จากสมการของ Horwitz (Horwitz et al., 2006.) แล้วนำมาเขียน

กราฟโดยกำหนดค่าตรวจวัดได้ต้องไม่เกิน $\pm 2SD$ ซึ่งผลการทดลองสอดคล้องกับการคำนวณด้วย %RPD และ %Relative response การทดลองที่ 3 เป็นการศึกษาความคงตัวของ Working Standard Abamectin ที่ระยะเวลาการเก็บรักษาต่างกัน ภายใต้อุณหภูมิต่ำ -20 องศาเซลเซียส โดยทำการทดสอบทุก ๆ 15 วัน จากการคำนวณ %RPD สารละลายมาตรฐาน Working มีอายุการใช้งานไม่เกิน 60 วัน เพราะมีค่า %RPD ไม่เกิน 10% และ %Relative response ไม่เกินมาตรฐานที่กำหนด และยืนยันผลด้วย $\pm 2SD$ เช่นเดียวกับ Intermediate days (% RPD <10 % และ %Relative response >90%) การทดลองที่ 4 การเปรียบเทียบความคงตัวของสารละลายมาตรฐาน Abamectin ที่เก็บรักษาภายใต้อุณหภูมิต่างๆ โดยศึกษาที่อุณหภูมิต่ำ -20 และ 5 องศาเซลเซียส ทำการทดสอบทุกๆ 1 สัปดาห์ ประเมินผลโดยการคำนวณ %RPD, % Relative response และ $\pm 2SD$ อยู่ในเกณฑ์ที่ยอมรับได้ดังนั้นอุณหภูมิตั้งสองสามารถเก็บรักษาสารมาตรฐานได้เท่ากับหรือมากกว่า 5 สัปดาห์โดยที่สารไม่เสื่อมสภาพ

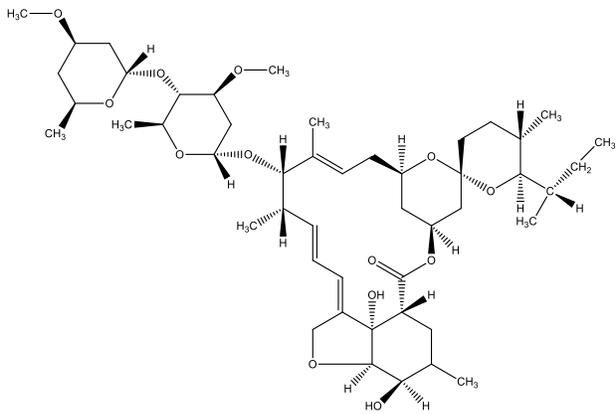
Abstract

A stability of abamectin was studied which analyzed of avermectin B_{1a} by using liquid chromatograph tandem mass spectrometry (LC-MS/MS). In this study were compared the difference expiration dates of primary abamectin standard, period the use of intermediate and working standard solution and various temperatures for storage. The experiment with four trials has been planned. Experiment 1 was determined the stability of primary abamectin standard with various expiration dates including in December 2005, October 2007, December 2010 and March 2013. From the results were compared relative percentage different (%RPD) of standard expired with difference standard that have not expired (March 2013). The %RPD were 10.03, 17.39, and 19.78, respectively. The standard has expired no more than three years can be used because %RPD less than 10%. An experiment 2 the stability of intermediate standard solution at different periods of storage under -20 ° C were determined by testing each month. The results of intermediate standard solution can be used for up to five months due to the % RPD does not exceed 10% and %relative response compared with fresh standard more than 90% (SANCO, 2013). The confirmation of results by calculated the $\pm 2SD$ of the equations of Horwitz (Horwitz et al., 2006.) was used to graph the set of measured values must not exceed $\pm 2SD$ which results were consistent with the calculation of the % RPD and %relative response. Experiment 3 the stability of working standard solution at storage -20 ° C was studied by testing every 15 days. The %RPD of working standard solution can be used up to 60 days (% RPD <10 % and %relative response >90%) and confirmed the result by $\pm 2SD$ as well as

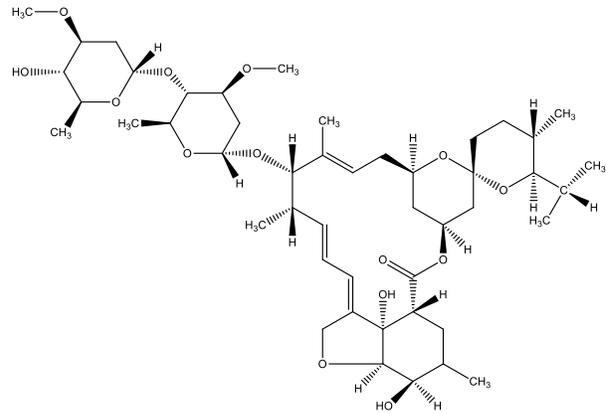
intermediate standard. Finally, experiment 4 the stability of standard solutions abamectin storage under different temperatures were compared. The temperatures were studied at -20 and 5 ° C by testing every week. The abamectin solution storage at -20 and 5 ° C can be stored more than five weeks because %RPD, %relative response and $\pm 2SD$ were accepted.

6. คำนำ

อะบาเม็กติน (Abamectin) หรือที่รู้จักกันทั่วไปในชื่อการค้าเอ.จี.บา, ไดเมทิน, แอ็กโอรติน, อabama, แจ็คเก็ต เป็นต้น นั้นเป็นสารกำจัดแมลง (Insecticide) ที่เกิดจากกระบวนการหมักแบคทีเรียที่อาศัยอยู่ในดินชื่อ *Streptomyces avermitilis* สารที่สกัดได้คือ avermectin B1a และ avermectin B1b (ภาพที่ 1) ที่มีคุณสมบัติทางกายภาพและความเป็นพิษคล้ายคลึงกัน แต่ตัวที่สามารถแสดงถึงประสิทธิภาพในการกำจัดแมลงก็คือสาร avermectin B1a คือต้องมีมากกว่า 80 % ของสารออกฤทธิ์ ฉะนั้นสินค้า ที่มีคุณภาพส่วนใหญ่ที่ผลิตในรูปสารออกฤทธิ์ 1.8 % W/V EC นั้นต้องมี avermectin B1a อยู่มากกว่า 1.44 % นั่นเอง ผลิตภัณฑ์อะบาเม็กตินส่วนใหญ่มีความเป็นพิษต่ำต่อสัตว์เลี้ยงลูกด้วยนม จากการทดลองในสัตว์ทดลองสารพิษทำให้เกิดการระคายเคือง ต่อตาและผิวหนังเล็กน้อยและจะเกิดอาการขยายของรูม่านตา อาเจียน กล้ามเนื้อหดเกร็ง ตัวสั่นและหมดสติได้ ในแมลงอะบาเม็กตินจะออกฤทธิ์ต่อระบบประสาท รวมถึงเส้นประสาทและกล้ามเนื้อ เป้าหมายการออกฤทธิ์เจาะจงต่อตำแหน่งไซแนป (synap) ในสมองและยับยั้งการนำเลือดไปเลี้ยงสมอง ทำให้แมลงตายในที่สุด ในสัตว์เลี้ยงลูกด้วยนม หากใช้สารพิษในปริมาณมาก เมื่อเข้าสู่กระแสเลือดที่นำเลือดไปเลี้ยงสมองจะเป็นสาเหตุของอาการ CNS depressing เช่น การทำงานของอวัยวะไม่ประสานกัน การสั่นของร่างกาย ความเฉื่อยชาการขยายของรูม่านตา และทำให้เสียชีวิตเนื่องจากระบบหัวใจล้มเหลว อะบาเม็กตินไม่ซึมผ่านเข้าสู่ผิวหนังโดยตรง การซึมซับของอะบาเม็กตินจากผิวหนังเข้าสู่กระแสเลือดน้อยกว่า 1% จึงไม่ทำให้ผิวหนังแสดงอาการในลักษณะของภูมิแพ้ ผลิตภัณฑ์ในรูป 1.8% W/V EC ค่า LD50 ทางปากในหนูนา 300 มก./กก. และค่า LD50 ทางผิวหนังในกระต่ายมีค่าไม่น้อยกว่า 2,000 มิลลิกรัมต่อกิโลกรัม คุณสมบัติอีกประการของอะบาเม็กตินคือละลายน้ำได้ดี และยึดเกาะกับอนุภาคของดิน ฉะนั้นจึงไม่มีการเคลื่อนย้ายจากดินไปปนเปื้อนในน้ำ นอกจากนี้ยังสลายตัวเร็วเมื่ออยู่ในสภาพแวดล้อม มีรายงานว่าเมื่อผิวหนังกระทบแสงแดด อะบาเม็กตินจะสลายตัวภายใน 8-12 ชั่วโมง หรือภายใน 1 วัน สำหรับในพืชนั้นอะบาเม็กตินจะลดปริมาณลงเหลือครึ่งหนึ่งทุกๆ 4-6 ชั่วโมง จึงนับเป็นสารที่ปลอดภัยสูงสำหรับผู้ใช้และสิ่งแวดล้อมในด้านประสิทธิภาพการป้องกันกำจัดแมลงศัตรูพืชนั้น ทางกองกสิกรรมและสัตววิทยา กรมวิชาการเกษตรได้แนะนำให้ใช้อะบาเม็กตินในการป้องกันกำจัดหนอนชอนใบมะนาว, เพลี้ยไฟพริก, ไรแดงมะม่วง, ไรสองจุด, หนอนใยผัก, หนอนแมลงวันชอนใบกะหล่ำ, ไรขาวพริก, เพลี้ยไฟฝ้าย และหนอนเจาะดอกมะลิ (แหล่งที่มา: <http://www.manowpan.com/news133.html>)



Avermectin B_{1a}
(Major component)



Avermectin B_{1b}
(Minor component)

ภาพที่ 1 แสดงสูตรโครงสร้างทางเคมีของ Abamectin B_{1a} และ Abamectin B_{1b}

สำหรับการตรวจวิเคราะห์สารพิษตกค้างชนิด Abamectin ในผลิตภัณฑ์ทางการเกษตรส่วนใหญ่จะใช้เทคนิค High Performance Liquid Chromatograph (HPLC) (Hernandez-Borges.J. et al., 2007.) Liquid Chromatograph Tandem Mass Spectrometry (LC-MS/MS) เป็นต้น แต่สิ่งที่สำคัญทางห้องปฏิบัติการต้องซื้อสารมาตรฐาน Abamectin เพื่อใช้ในการหาปริมาณสารพิษตกค้างชนิดนี้ ซึ่งสารมาตรฐาน (Primary Standard) จะมีราคาค่อนข้างแพง และมีอายุการใช้งานน้อย ซึ่งทางห้องปฏิบัติการกลุ่มงานวิจัยสารพิษตกค้างกลุ่มวิจัยวัตถุมีพิษการเกษตร สำนักวิจัยพัฒนาปัจจัยการผลิตทางการเกษตร ได้รับการรับรอง ISO/IEC 17025 ในหัวข้อการหาปริมาณ Abamectin ในพริก โดย High Performance Liquid Chromatograph โดยกำหนดอายุการใช้งานของสารละลายมาตรฐาน Abamectin ทั้ง Intermediate และ Working Standard ซึ่งอายุการใช้งานนี้ได้กำหนดขึ้นเองภายในห้องปฏิบัติการ โดยจึงเป็นที่มาของงานวิจัยนี้เพื่อทำการศึกษาสภาพคงตัวของ Abamectin ทั้งที่เป็น Primary Standard, Intermediate, Working Standard และการเก็บรักษาสารละลายมาตรฐานที่อุณหภูมิต่างๆ เพื่อนำข้อมูลที่ได้มาใช้เป็นข้อมูลสนับสนุนคู่มือคุณภาพ TM-T04-R04 ของห้องปฏิบัติการสารพิษตกค้าง และเผยแพร่ข้อมูลแก่ห้องปฏิบัติการภายใต้การดูแลของกรมวิชาการเกษตร ตลอดจนใช้เป็นข้อมูลอ้างอิงให้กับห้องปฏิบัติการอื่นทั้งภาครัฐเอกชนที่ตรวจวิเคราะห์สารพิษตกค้างในผลิตภัณฑ์ทางการเกษตร

7. วิธีดำเนินการ

7.1. สารเคมี

7.1.1 สารมาตรฐาน Abamectin ความบริสุทธิ์ 97% Lot No. 20328 Exp. Date มีนาคม 2556

7.1.2 สารมาตรฐาน Abamectin ความบริสุทธิ์ 93.5% Lot No. 91209 Exp. Date ธันวาคม 2553

7.1.3 สารมาตรฐาน Abamectin ความบริสุทธิ์ 95% Lot No. 60908 Exp. Date ตุลาคม 2550

7.1.4 สารมาตรฐาน Abamectin ความบริสุทธิ์ 95% Lot No. 41214 Exp. Date ธันวาคม 2548

7.1.5 Acetonitrile P.R. grade

7.2. เครื่องมือและอุปกรณ์

7.2.1 ขวดวัดปริมาตร (volumetric flask) ขนาด 25, 10 และ 5 มิลลิลิตร

7.2.2 เครื่องชั่งความละเอียด 5 ตำแหน่ง

7.2.3 ขวดบรรจุตัวอย่างสำหรับฉีดเครื่อง LC-MS/MS ขนาด 1.5 มิลลิลิตร

7.2.4 Auto-pipette ขนาด 100-1,000 ไมโครลิตร

7.3 ทบทวนบทวรรณกรรมที่เกี่ยวข้องกับงานวิจัยเพื่อนำมาพัฒนาและประยุกต์ใช้กับงานวิจัย

7.4 เตรียมสารละลายมาตรฐาน Abamectin เข้มข้น 1,000 มิลลิกรัมต่อลิตรซึ่งสาร Primary Standard VS Abamectin ซึ่งคำนวณน้ำหนักให้เข้มข้น 1,000 มิลลิกรัมต่อลิตร ลงในขวดวัดปริมาตรขนาด 10 มิลลิลิตร ปรับปริมาตรด้วยสารละลาย Acetonitrile

7.5 การตั้งสภาวะเครื่อง Liquid Chromatograph Tandem Mass Spectrometry

- เครื่อง Ultra Performance Liquid Chromatograph (UPLC)

- คอลัมน์ชนิด C18 ยี่ห้อ Kinetex ความยาว 10 เซนติเมตร เส้นผ่านศูนย์กลาง 2.10 มิลลิเมตร ขนาดอนุภาคภายใน 2.6 ไมครอน
- การชะสารออกจากคอลัมน์เป็นแบบ gradient โดยกำหนดให้สารละลาย A: สารละลาย Ammonium Formate Buffer เข้มข้น 5 มิลลิโมลาร์ สารละลาย B: Acetonitril อัตราส่วนในการชะสารแสดงดังตารางที่ 1

ตารางที่ 1 แสดงอัตราส่วนการชะ Abamectin ออกจากคอลัมน์แบบ Gradient

เวลา (นาที)	อัตราการไหล (มิลลิลิตรต่อนาที)	สารละลาย A (เปอร์เซ็นต์)	สารละลาย B (เปอร์เซ็นต์)
0.5	0.4	94	6
10.0	0.4	2	98
12.0	0.4	2	98

12.01	0.4	94	6
15.0	0.4	94	6

- ปริมาตรสารละลายมาตรฐาน Abamectin ที่ฉีดเข้าเครื่อง 2 ไมโครลิตร
- ควบคุมอุณหภูมิคอลัมน์ 50 องศาเซลเซียส

- เครื่อง Tandem mass spectrometry

Iron Source แบบ Electrospray Ionization

Scan Type แบบ Multi Reaction Monitoring

Source Parameter

- Gas Temp 325 องศาเซลเซียส
- Gas Flow 5 ลิตรต่อนาที
- Nebulizer 45 psi
- SheathGasHeate 375
- SheathGasFlow 11
- Capillary 3500 โวลต์
- VCharging 300

ตารางที่ 2 แสดง Parameter ต่างๆ ของ Tandem Mass Spectrometry

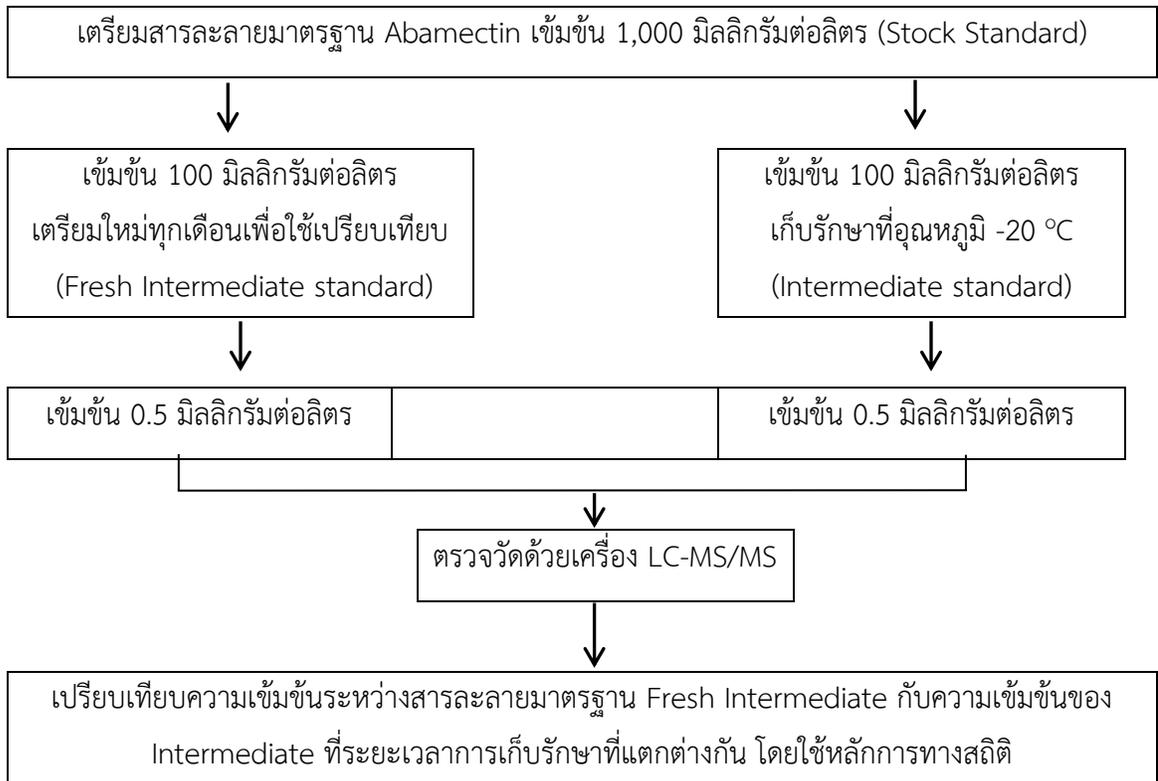
Parameter	Abamectin B1a (Major component)
Precursor	890.5
Product Ion1	567.3
Product Ion2	305.2
Dwell time	50
Fragmentor	1500
Collision	8
Polarity	Positive

7.6 เปรียบเทียบความคงตัวของสารละลายมาตรฐาน Abamectin ที่วันหมดอายุที่แตกต่างกัน โดยเปรียบเทียบ Primary Standard Abamectin ในห้องปฏิบัติการกลุ่มงานวิจัยสารพิษตกค้างที่หมดอายุในปีต่างๆ กับที่ยังไม่หมดอายุ โดยมีทั้งหมด 4 ขวด ที่มีวันหมดอายุที่แตกต่างกันได้แก่ ธันวาคม 2548,

ธันวาคม 2550, ธันวาคม 2553 และมีนาคม 2556 (สารมาตรฐานที่ไม่หมดอายุ) โดยเตรียมสารละลายใน แต่ละขวดให้มีความเข้มข้น 0.5 มิลลิกรัมต่อลิตร และตรวจวิเคราะห์ด้วยเครื่อง LC-MS/MS นำผลที่ได้มา เปรียบเทียบด้วยวิธีทางสถิติ

7.7 ศึกษาความคงตัวของ Intermediate Standard ที่ระยะเวลาเก็บรักษาที่แตกต่างกันภายใต้อุณหภูมิ -20 องศาเซลเซียส

ขั้นตอนการทดลองแสดงดังภาพที่ 2 โดยศึกษาสภาพความคงตัวของ Intermediate Standard Abamectin ทุกๆ เดือน เป็นระยะเวลา 7 เดือน โดยเปรียบเทียบเปอร์เซ็นต์ความแตกต่าง (%RPD) และ %Relative response ระหว่าง Fresh Intermediate กับความเข้มข้นของ Intermediate Standard Abamectin ที่ Dilute จาก Stock 1,000 มิลลิกรัมต่อลิตร

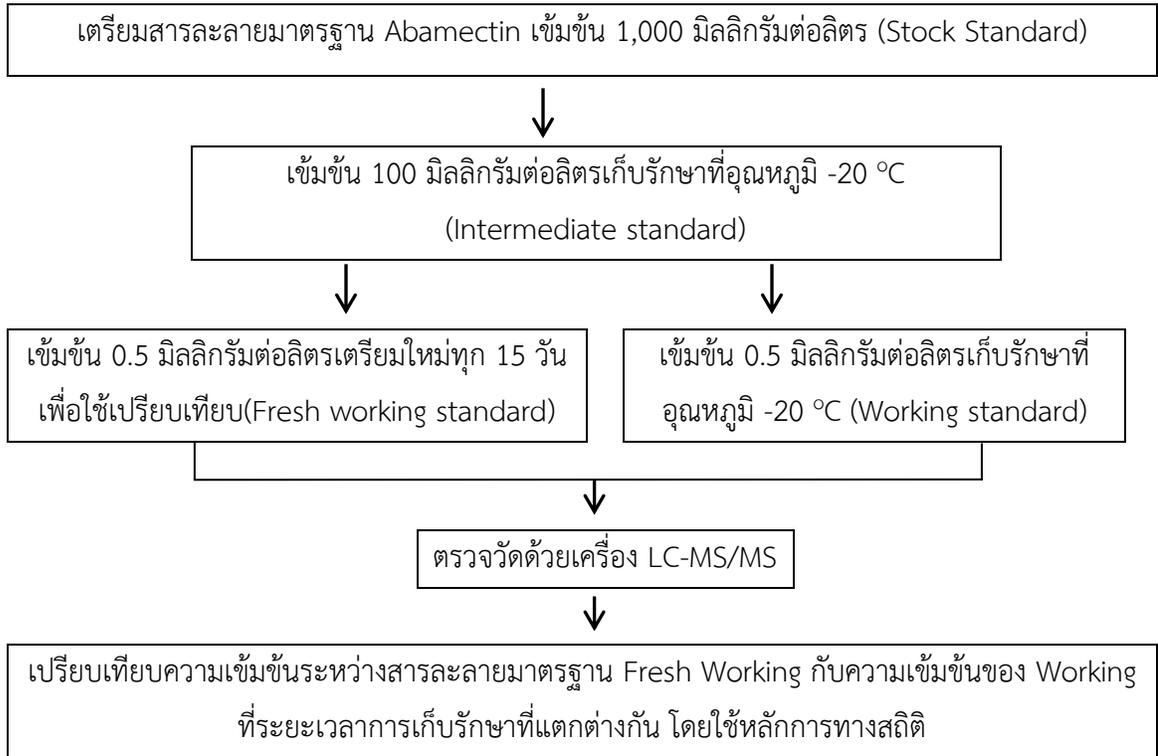


ภาพที่ 2 แสดงขั้นตอนการทดสอบความคงตัวของสารละลายมาตรฐาน Intermediate Abamectin ที่ระยะเวลาการเก็บรักษาที่แตกต่างกัน

7.8 ศึกษาความคงตัวของ Working Standard ที่ระยะเวลาการเก็บที่แตกต่างกัน ภายใต้อุณหภูมิ -20 องศาเซลเซียส

ทำการศึกษาสภาพคงตัวของ Working Standard Abamectin ที่ความเข้มข้น 0.5 มิลลิกรัมต่อลิตร ระยะเวลาในการศึกษา 5 เดือน โดยทำการตรวจวิเคราะห์ทุก 15 วันและเปรียบเทียบ

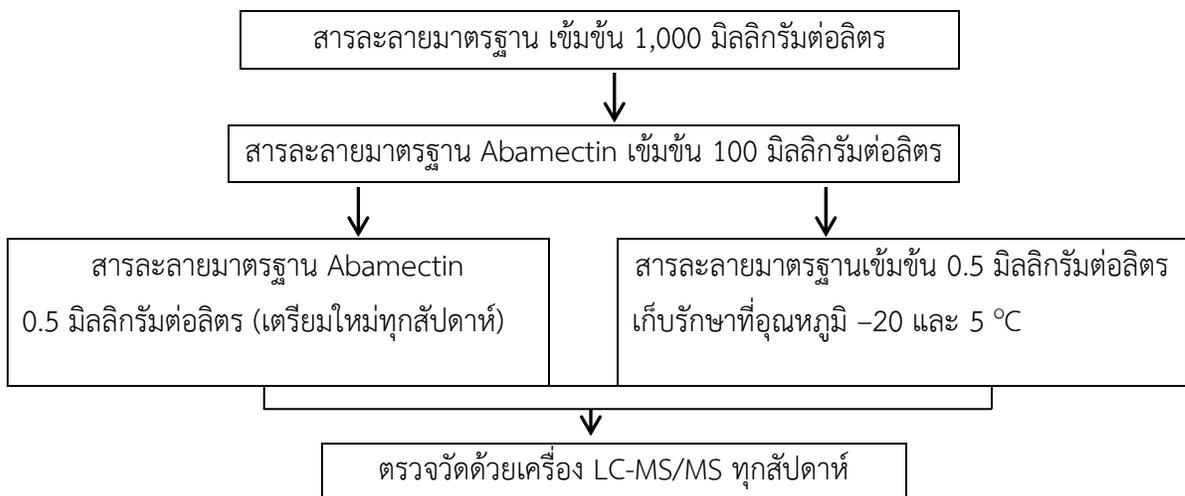
เปอร์เซ็นต์ความแตกต่าง (%RPD) และ %Relative response ระหว่างความเข้มข้นของ Fresh Working กับ Working Standard Abamectin โดยขั้นตอนการทดลองแสดงดังภาพที่ 3



ภาพที่ 3 แสดงขั้นตอนการทดสอบความคงตัวของสารละลายมาตรฐาน Working Abamectin ที่ระยะเวลาการเก็บรักษาที่แตกต่างกัน

7.9 เปรียบเทียบความคงตัวของสารละลายมาตรฐาน Abamectin ที่เก็บรักษาที่อุณหภูมิต่างๆ

ทำการศึกษาสภาพความคงตัวของสารละลายมาตรฐาน Abamectin ที่ความเข้มข้น 0.5 มิลลิกรัมต่อลิตร โดยเก็บรักษาที่อุณหภูมิต่างๆ -20 และ 5 องศาเซลเซียส โดยตรวจวิเคราะห์ทุกสัปดาห์ ขั้นตอนการทดลองแสดงดังภาพที่ 4





เปรียบเทียบความเข้มข้นระหว่างสารละลายมาตรฐาน Abamectin ที่เตรียมใหม่ทุกสัปดาห์ กับความเข้มข้นของ Abamectin ที่เก็บรักษาภายใต้อุณหภูมิต่างๆ โดยใช้หลักการทางสถิติ

ภาพที่ 4 แสดงขั้นตอนการทดสอบการเปรียบเทียบความคงตัวของสารละลายมาตรฐาน Abamectin ที่เก็บรักษาที่อุณหภูมิต่างๆ

ระยะเวลา

เริ่มต้นเดือนตุลาคม 2555 สิ้นสุด เดือนกันยายน 2556

สถานที่ดำเนินการ

กลุ่มงานวิจัยสารพิษตกค้าง กลุ่มวิจัยวัตถุมีพิษทางการเกษตร สำนักวิจัยพัฒนาปัจจัยการผลิตทางการเกษตร กรมวิชาการเกษตร

8. ผลการทดลองและวิจารณ์

8.1 เปรียบเทียบความคงตัวของสารละลายมาตรฐาน Abamectin ที่มีวันหมดอายุที่แตกต่างกัน

สารมาตรฐาน Abamectin มี metabolite 2 ชนิดได้แก่ Avermectin B_{1a} (Major component) และ Avermectin B_{1b} (Minor component) โดยส่วนใหญ่สารมาตรฐานจะมี Avermectin A_{1a} เป็นองค์ประกอบมากกว่า 90% ดังนั้นในงานวิจัยนี้จึงทำการศึกษาเฉพาะ Avermectin B_{1a} จากการศึกษาความคงตัวของสารมาตรฐาน Abamectin ที่เป็น Primary standard ซึ่งเปรียบเทียบความเข้มข้นของสารมาตรฐานที่มีวันหมดอายุแตกต่างกันโดยใช้เทคนิค LC-MS/MS ในการตรวจวัด ผลการทดลองแสดงดังตารางที่ 3 จากการศึกษาคำนวณ %RPD โดยเปรียบเทียบความเข้มข้นของสารมาตรฐานที่หมดอายุกับความเข้มข้นของสารมาตรฐานที่ไม่หมดอายุพบว่าสารมาตรฐานที่หมดอายุ 3 ปี มีค่า %RPD เท่ากับ 10.08% ซึ่งอยู่ในเกณฑ์ที่ยอมรับได้ (SANCO, 2013) ดังนั้นห้องปฏิบัติการสามารถใช้สารมาตรฐาน Abamectin ที่หมดอายุไม่เกิน 3 ปี ในการตรวจวิเคราะห์หาชนิดและปริมาณของสารพิษตกค้าง Abamectin ได้

ตารางที่ 3 แสดงผลการเปรียบเทียบ %RPDของสารละลายมาตรฐาน Abamectin ที่มีวันหมดอายุที่แตกต่างกัน

เดือน ปี ที่ หมดอายุ	ความบริสุทธิ์ของสารมาตรฐาน (%)			จำนวนปีที่ หมดอายุ (ปี)	ความเข้มข้น Avermectin B _{1a} ที่ตรวจพบ (มิลลิกรัมต่อลิตร)	%RPD
	Abamectin	Avermectin B _{1a}	Avermectin B _{1b}			
มี.ค.-56	97.0	97.8	2.2	-	0.50	0
ธ.ค.-53	93.5	91.5	3.5	3	0.45	10.08
ต.ค.-50	95.0	97.0	1.0	6	0.42	17.39
ธ.ค.-48	95.0	94.4	0.5	8	0.41	19.78

8.2 ศึกษาความคงตัวของ Intermediate standard ที่ระยะเวลาการเก็บรักษาต่างๆ

ผลจากการศึกษาความคงตัวของสารละลายมาตรฐาน Intermediate standard ของ Abamectin โดยเก็บข้อมูลจำนวน 7 เดือน และคำนวณ %RPD และ % Relative response โดยเปรียบเทียบความเข้มข้นระหว่างสารละลายมาตรฐาน Fresh Intermediate กับความเข้มข้นของสารละลายมาตรฐาน Intermediate ที่ระยะเวลาการเก็บรักษาที่แตกต่างกัน ผลการทดลองแสดงดังตารางที่ 4 จากผลการทดลองสารละลาย Intermediate ในช่วง 0 ถึง 5 เดือน ให้ค่า %RPD ไม่เกิน 10% (SANCO, 2013) แต่หลังจาก 5 เดือนมีค่ามากกว่า 10% และสำหรับ % Relative response ที่คำนวณจากการเปรียบเทียบความเข้มข้นของสารละลายมาตรฐาน Intermediate กับ Fresh Intermediate ผลการทดลองในช่วง 0-5 เดือนมีค่า % Relative response มากกว่า 90% (SANCO, 2013) และหลังจาก 5 เดือน มีค่าน้อยกว่า 90% ดังนั้นสารละลาย Intermediate มีอายุการใช้งานไม่เกิน 5 เดือน โดยสารละลายมาตรฐานไม่เสื่อมสภาพและสามารถนำมาใช้ในการตรวจวิเคราะห์เชิงคุณภาพและปริมาณได้

ตารางที่ 4 แสดงผลการเปรียบเทียบของสารละลายมาตรฐาน Intermediate Abamectin ที่ระยะเวลาการเก็บรักษาต่างๆ

Month	Concentration (mg/L)		%RPD	% Relative response compared with Fresh Abamectin	Concluded stability
	Fresh Abamectin	Intermediate Abamectin			
0	0.5	0.5	4.08	100	Yes
1	0.5	0.48	4.08	96	Yes
2	0.5	0.48	4.08	96	Yes
3	0.5	0.48	3.92	96	Yes
4	0.5	0.52	4.08	104	Yes
5	0.5	0.48	12.77	96	Yes
6	0.5	0.44	22.22	88	No
7	0.5	0.4	4.08	80	No

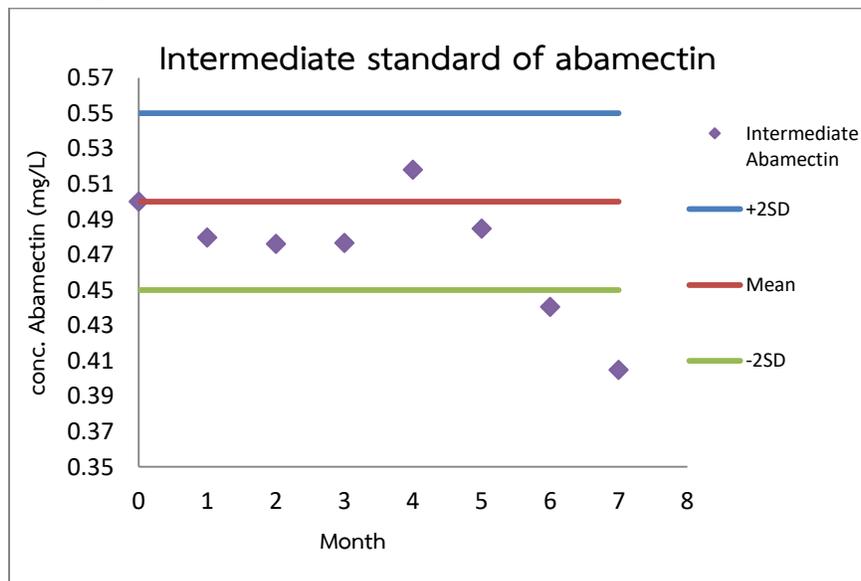
เพื่อยืนยันผลการทดสอบได้ทำการคำนวณ Target SD จากสมการ Horwitz (Horwitz et al., 2006.) ดังนี้

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

C = 0.5 มิลลิกรัมต่อลิตร (ความเข้มข้นของสารมาตรฐาน Abamectin วันที่ 0 (T0))

C	0.0000005
logC	-6.30
0.5logC	-3.15
1-0.5logC	4.15
$RSDp = 2^{(1-0.5\log C)}$	17.76%
<i>(%RSDp = SDp × 100 / Mean)</i>	
$SDp = RSDp \times Mean / 100$	
SDp	0.09
Criteria based on ISO 13528:	$ x - y < 0.3\hat{\sigma}$
0.3SDp	0.027
2SDp	0.054
Mean ± 2SD	0.554, 0.446

นำค่า ±2SD มาเขียนกราฟ โดยกำหนดให้แกน x คือจำนวนเดือนที่ทดสอบ และแกน y คือความเข้มข้นของสารละลาย Intermediate Abamectin แสดงดังภาพที่ 5 จากภาพเห็นได้ว่าเดือนที่ 6 และ 7 มีค่าน้อยกว่า ±2SD ซึ่งข้อมูลที่ได้สอดคล้องกับการคำนวณโดยใช้ %RPD และ % Relative response



ภาพที่ 5 แสดงความคงตัวของ Intermediate standard ที่ระยะเวลาการเก็บรักษาต่างๆ

8.3 ศึกษาความคงตัวของ Working standard ที่ระยะเวลาการเก็บรักษาต่างๆ

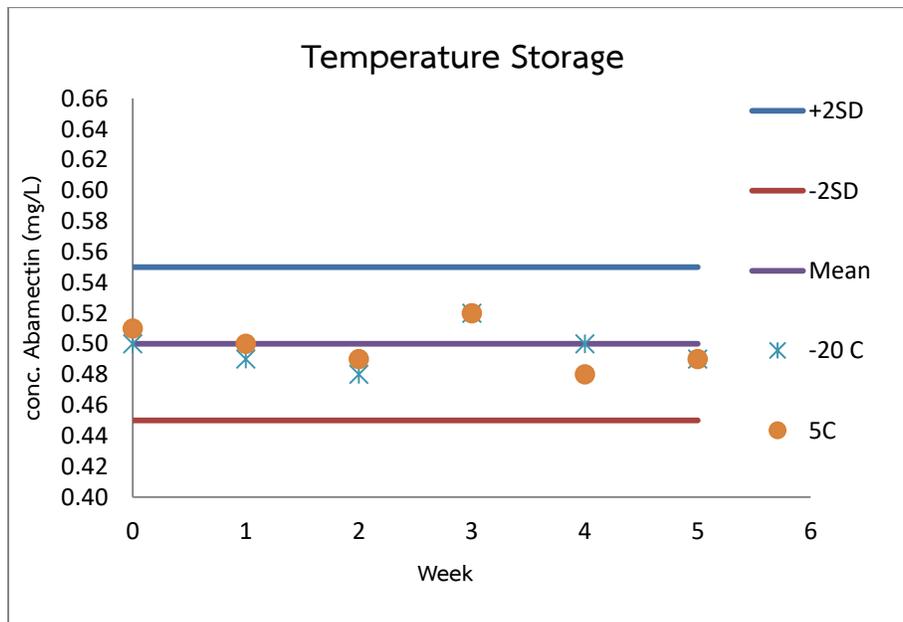
จากการศึกษาความคงตัวของ Working standard ที่ระยะเวลาต่างๆ ผลการทดลองแสดงดังตาราง 5 จากการเปรียบเทียบความแตกต่างที่แสดงออกมาในรูปของ %RPD พบว่าช่วง 0 ถึง 60 วันให้ผล %RPD

ไม่เกิน 10% สำหรับ % Relative response ที่คำนวณจากการเปรียบเทียบความเข้มข้นของสารละลายมาตรฐาน Working กับ Fresh Working ผลการทดลองในช่วง 0-60 วัน มีค่า % Relative response ไม่มากกว่า 90% และหลังจาก 60 วัน มีค่าน้อยกว่า 90 และมากกว่า 110% (SANCO, 2013) ดังนั้น Working standard ของ Abamectin มีอายุใช้งานไม่เกิน 60 วัน โดยที่สารละลายมาตรฐานไม่เสื่อมสภาพ ตารางที่ 5แสดงผลการเปรียบเทียบของสารละลายมาตรฐาน Working Abamectin ที่ระยะเวลาการเก็บรักษา ต่างๆ

Date	Concentration (mg/L)		%RPD	% Relative response	Concluded stability
	Fresh Abamectin	Working Abamectin		compared with Fresh Abamectin	
0	0.50	0.50	0.00	100	Yes
15	0.50	0.47	6.19	94	Yes
30	0.50	0.49	2.02	98	Yes
45	0.50	0.47	6.19	94	Yes
60	0.50	0.46	8.33	92	Yes
75	0.50	0.56	11.32	112	No
90	0.50	0.42	17.39	84	No
105	0.50	0.39	24.72	78	No
120	0.50	0.36	32.56	72	No
135	0.50	0.44	12.77	88	No
150	0.50	0.27	59.74	54	No
165	0.50	0.64	24.56	128	No

-20	2.02	4.08	3.92	0.00	2.02	98	96	104	100	98	≥ 5 weeks
5	1.98	4.00	1.94	6.06	4.00	100	98	104	96	98	≥ 5 weeks

Note : w = weeks



ภาพที่ 7 แสดงความคงตัวของสารละลายมาตรฐาน Abamectin ที่เก็บรักษาที่อุณหภูมิต่างๆ

จากการนำค่า $\pm 2SD$ (ที่คำนวณได้จากข้อ 8.2) มาเขียนกราฟ โดยกำหนดให้แกน x คือจำนวนสัปดาห์ที่ทดสอบ และแกน y คือความเข้มข้นของสารละลาย Working Abamectin แสดงดังภาพที่ 7 จากภาพเห็นได้ว่าผลของความเข้มข้นที่เก็บรักษาที่อุณหภูมิต่างๆให้ข้อมูลที่สอดคล้องกับการคำนวณโดยใช้ %RPD ซึ่งข้อมูลที่ได้เป็นการยืนยันผลการทดลองให้มีความเชื่อถือมากขึ้น

9. สรุปผลการทดลองและข้อเสนอแนะ

จากการศึกษาความคงตัวของวัตถุที่มีพิษชนิด Abamectin ทำให้ได้ข้อมูลเกี่ยวกับการเปรียบเทียบสภาพความคงตัวของสารมาตรฐาน Abamectin ที่มีวันหมดอายุที่แตกต่างกัน โดยเปรียบเทียบข้อมูลกับสารมาตรฐานที่ไม่หมดอายุ ซึ่งศึกษาเฉพาะ Avermectin B_{1a} จากผลการทดลองสารมาตรฐานที่หมดอายุไม่เกิน 3 ปีมีค่า %RPD ไม่เกิน 10% ซึ่งผลการทดลองทำให้สามารถยอมรับ และนำสารมาตรฐานนั้นกลับมาใช้งานในการตรวจวิเคราะห์ชนิดและปริมาณของ Abamectin ผลผลิตทางการเกษตรได้ สำหรับการศึกษาความคงตัวของ Intermediate Standard ที่ระยะเวลาการเก็บที่ต่างกัน ภายใต้อุณหภูมิ -20 องศาเซลเซียส โดยทำการทดสอบทุกเดือน พบว่า

สามารถใช้สารละลายมาตรฐาน Intermediate ได้ไม่เกิน 5 เดือน โดยที่สารละลายไม่เสื่อมสภาพเพราะมีค่า %RPD ไม่เกิน 10% และ % Relative response อยู่ในช่วงที่ยอมรับได้ โดยเปรียบเทียบกับสารละลายมาตรฐาน Abamectin ที่เตรียมขึ้นมาใหม่ทุกเดือน สำหรับการศึกษาคงตัวของ Working Standard ที่ระยะเวลาการเก็บที่ต่างกัน ภายใต้อุณหภูมิ -20 องศาเซลเซียสโดยทำการทดสอบทุก 15 วัน สารละลาย Working Standard สามารถใช้งานได้ไม่เกิน 60 วัน (2เดือน) เนื่องจากมีค่า %RPD ที่เปรียบเทียบกับ Fresh standard ไม่เกิน 10 เปอร์เซ็นต์ สำหรับการเปรียบเทียบคงตัวของสารมาตรฐาน Abamectin ที่เก็บรักษาที่อุณหภูมิต่างๆ โดยศึกษาที่อุณหภูมิ -20 และ 5 องศาเซลเซียส ทำการทดสอบทุกสัปดาห์ ประเมินผลการทดลองโดยการคำนวณ %RPD และ % Relative response compared with t=0w ผลการทดลองสารละลายมาตรฐาน Abamectin ที่อุณหภูมิ -20 และ 5 องศาเซลเซียส สามารถทำการเก็บรักษาได้มากกว่าหรือเท่ากับ 5 สัปดาห์โดยที่สารไม่เสื่อมสภาพ จากผลการทดลองที่ได้ทั้งหมดเป็นข้อมูลเบื้องต้นที่สามารถนำมาใช้เป็นข้อมูลสนับสนุนในการใช้สารละลายมาตรฐาน Abamectin ต่อไป

10. การนำผลงานวิจัยไปใช้ประโยชน์

1. ข้อมูลที่ได้จากงานวิจัยนี้ช่วยบ่งบอกถึงสภาพคงตัวของสารละลายมาตรฐาน Abamectin เพื่อเป็นแนวทางในการเลือกใช้และเก็บรักษาให้เหมาะสมแก่ผู้ปฏิบัติงานของห้องปฏิบัติการกลุ่มงานวิจัยสารพิษตกค้าง กลุ่มวิจัยวัตถุมีพิษการเกษตร สำนักวิจัยพัฒนาปัจจัยการผลิตทางการเกษตร
2. ใช้เป็นข้อมูลสนับสนุนคู่มือคุณภาพ TM-T 04-R04 เรื่อง วิธีทดสอบการหาปริมาณ Abamectin ในพริก โดย High Performance Liquid Chromatograph ของห้องปฏิบัติการกลุ่มงานวิจัยสารพิษตกค้าง กลุ่มวิจัยวัตถุมีพิษการเกษตร สำนักวิจัยพัฒนาปัจจัยการผลิตทางการเกษตร
3. เผยแพร่ข้อมูลแก่ห้องปฏิบัติการภายใต้การดูแลของกรมวิชาการเกษตร ตลอดจนใช้เป็นข้อมูลอ้างอิงให้กับห้องปฏิบัติการอื่นทั้งภาครัฐเอกชนที่ตรวจวิเคราะห์สารพิษตกค้างในผลิตผลทางการเกษตร

11. เอกสารอ้างอิง

Anonymous. 2013. From web site <http://www.manowpan.com/news133.html>. (23 November 2013)

Hernandez-Borges, J. and Ravelo-Perez, L. 2007. Analysis of abamectin residues in avocados by high-performance liquid chromatography with fluorescence detection. Journal of Chromatography A. 1165 (1-2), 52-57.

ประภาศรี ภูเสถียร และครรชิต จุดประสงค์. 2555. เอกสารประกอบการฝึกอบรมเชิงปฏิบัติการเรื่อง สถิติที่ใช้ในการจัดโปรแกรมทดสอบความชำนาญ. สถาบันโภชนาการ มหาวิทยาลัยมหิดล.

- ISO 13528. 2005. Statistical methods for use in proficiency testing by interlaboratory comparisons. ISO, Geneva, Switzerland.
- ISO Guide 35. 2006. Reference materials-General and statistical principles for certification International Organization for Standardization (ISO), Geneva, Switzerland.
- SANCO. 2013. Guidance document on analytical quality control and validation procedures for pesticide residues analysis in food and feed. European Union, Health and Consumer Protection Directorate General.
- Horwitz, W. and Alibert, R. 2006. The Horwitz ratio (Horrat) : a useful index of method performance with respect to precision. Journal of AOAC International. 89,4,2006, 1095-1108.