

แบบรายงานเรื่องเต็มผลการทดลองที่สิ้นสุด ปีงบประมาณ 2556

1. **ชุดโครงการวิจัย** วิจัยและพัฒนาปัจจัยการผลิตทางการเกษตร
2. **โครงการวิจัย** การพัฒนาการตรวจวิเคราะห์สารพิษตกค้างของวัตถุอันตรายทางการเกษตรให้ถูกต้อง แม่นยำตามมาตรฐานสากล
กิจกรรม การพัฒนาและตรวจสอบความใช้ได้ของวิธีวิเคราะห์สารพิษตกค้าง
กิจกรรมย่อย การพัฒนาเทคนิคการวิเคราะห์สารพิษตกค้างใน ผัก ผลไม้และผลิตภัณฑ์ทางการเกษตร
3. **ชื่อการทดลอง (ภาษาไทย)** การตรวจสอบความใช้ได้ของวิธีการวิเคราะห์สารพิษตกค้างกลุ่ม Organophosphate และ pyrethroid ในพริกและมะม่วงเพื่อขอการรับรองห้องปฏิบัติการของ สว.พ.4 : สารกลุ่ม Organophosphate ในพริก
ชื่อการทดลอง (ภาษาอังกฤษ) Method Validation of Organophosphate and pyrethroid Residue Analysis in chilli and Mango for accredit laboratory office of agricultural research and development region 4 : Organophosphate pesticide group in Chilli
4. **คณะผู้ดำเนินงาน**
 - หัวหน้าการทดลอง** นางสุภาพร บังพรม สังกัดกลุ่มพัฒนาการตรวจสอบพืชและปัจจัยการผลิต สำนักวิจัยและพัฒนาการเกษตรเขตที่ 4
 - ผู้ร่วมงาน** นางนาตยา จันทรส่อง สังกัดกลุ่มพัฒนาการตรวจสอบพืชและปัจจัยการผลิต สำนักวิจัยและพัฒนาการเกษตรเขตที่ 4
 - ผู้ร่วมงาน** นายอิทธิพล บังพรม สังกัดกลุ่มพัฒนาการตรวจสอบพืชและปัจจัยการผลิต สำนักวิจัยและพัฒนาการเกษตรเขตที่ 4

บทคัดย่อ

การตรวจสอบความใช้ได้ของวิธีทดสอบสารพิษตกค้างกลุ่ม Organophosphate ในพริก จำนวน 8 ชนิด ได้แก่ diazinon, chlorpyrifos, pirimiphos-methyl, malathion, parathion-methyl, profenofos, ethion และ triazophos ณ ห้องปฏิบัติการกลุ่มพัฒนาการตรวจสอบพืชและปัจจัยการผลิต สำนักวิจัยและพัฒนาการเกษตรเขตที่ 4 โดยใช้วิธีที่พัฒนามาจากวิธีของ Steinwandter H. 1985. Universal 5 min on-line Method for Extracting and Isolating Pesticide Residues and Industrial Chemicals. Fresenius Z. Anal.Chem. No.1155 ในการสกัดตัวอย่างโดยใช้ acetone และ dichloromethane ทำการกำจัดน้ำด้วยการใช้ sodium sulphate และทำการตรวจหาชนิดและปริมาณโดยใช้เครื่องมือวิเคราะห์หาปริมาณสารพิษตกค้าง (Gas Chromatography) ใช้ Flame photometer Detector (FPD) เป็นตัวตรวจวัด ใช้แก๊สฮีเลียมเป็นแก๊สพา ใช้แก๊สไนโตรเจนเป็นตัวช่วยเพิ่มสัญญาณการตรวจวัด (make up gas) ทำการทดสอบความเข้มข้นในช่วง 0.01 - 4.00

mg/kg รายการที่ทำการตรวจสอบได้แก่ range, linearity, accuracy, precision, Limit of quantitation (LOQ), Limit of Determination (LOD) ผลการตรวจสอบพบว่า range และ linearity ของวิธีการนี้พบว่าทุกสาร มีค่า Correlation coefficient (R2)>0.995 ซึ่งอยู่ในเกณฑ์ที่ยอมรับได้ ค่า accuracy ประเมินได้จาก % recovery พบว่า % recovery ของสาร อยู่ในเกณฑ์ 74.50 –116.00 ซึ่ง AOAC กำหนดให้มีค่า 60–120 ค่า precision ประเมินได้จากค่า Horwitz ratio (HORRAT) และค่า % RSD พบว่า ทุกสารมีค่า HORRAT < 2 และมีค่า % RSD อยู่ในช่วง 0.80-20.30 ซึ่งอยู่ในเกณฑ์ที่ยอมรับได้ตามมาตรฐานของ AOAC ที่กำหนดค่า ≤ 21 ค่า LOD ของสารทุกสารอยู่ในช่วง 0.005 mg/ ค่า LOQ อยู่ในช่วง 0.01 mg/kg ผลจากรายการตรวจสอบวิธีการนี้ แสดงให้เห็นว่าวิธีการนี้สามารถนำมาใช้เป็นวิธีการทดสอบสารพิษตกค้างกลุ่มออร์แกโนฟอสฟอรัสในพริก ได้เป็นวิธีการที่มีความถูกต้องแม่นยำ สามารถนำไปขอรับรองความสามารถของห้องปฏิบัติการทดสอบสารพิษตกค้างได้ตามมาตรฐาน ISO/IEC 17025 : 2005 เพื่อยกระดับมาตรฐานการตรวจสอบคุณภาพสินค้าของไทยให้มีคุณภาพได้มาตรฐานสามารถแข่งขันกับต่างประเทศได้

รหัสการทดลอง 03-06-54-06-01-02-07-54

คำนำ

การทดสอบความถูกต้องของวิธีวิเคราะห์ (methods validation) เป็นกระบวนการที่เกิดขึ้นภายหลังการพัฒนาวิธี ปรับปรุง หรือดัดแปลงวิธีให้เหมาะสมแล้ว และมีจุดมุ่งหมายหลักเพื่อแสดงให้เห็นว่าวิธีทดสอบที่พัฒนาขึ้นหรือเลือกมานั้นเหมาะสมที่จะนำไปใช้ในงานวิเคราะห์เพื่อให้บรรลุวัตถุประสงค์ที่ตั้งไว้ เช่น เพื่อหาปริมาณส่วนประกอบอย่างใดอย่างหนึ่งในผลิตภัณฑ์ เพื่อตรวจสอบว่าผลิตภัณฑ์มีคุณภาพตามเกณฑ์ที่กำหนด (specification) หรือไม่ เพื่อตรวจสอบว่าผลิตภัณฑ์มีคุณภาพเข้ามาตรฐาน (regulatory requirements) หรือไม่ เพื่อหาปริมาณสารในสิ่งแวดล้อม เพื่อพิสูจน์เอกลักษณ์ผลิตภัณฑ์ หรือส่วนประกอบของผลิตภัณฑ์ (ทิพวรรณ, 2549)

Fagelj and Ambrus (2000) กล่าวถึงวัตถุประสงค์หลักของการตรวจสอบความใช้ได้ของวิธีการวิเคราะห์สารพิษตกค้างแบบรวมคือ การแสดงให้เห็นวิธีการปฏิบัติที่เป็นไปได้สำหรับห้องปฏิบัติการวิเคราะห์สารพิษตกค้าง โดยให้ผลการวิเคราะห์ที่ถูกต้องแม่นยำ และน่าเชื่อถือ วิธีการที่ใช้ต้องมีความเหมาะสม (optimized) และมี robustness นอกจากนี้การตรวจสอบความใช้ได้ของวิธีการอาจรวมไปถึง ความคงตัวของสารพิษตกค้างระหว่างขั้นตอนการสกัดตัวอย่างและการวิเคราะห์ (stability of residues during sample processing and analysis) ซึ่งมีความสำคัญต่อการวิเคราะห์สารพิษตกค้างเช่นเดียวกันสำหรับการตรวจสอบความได้ในพารามิเตอร์ต่าง ๆ

Hoogerbugge and Zoonen (2000) กล่าวว่า เป็นสิ่งที่สำคัญมาก สำหรับวิธีการวิเคราะห์ที่มีการวิจัยและพัฒนา ข้อมูลความใช้ได้ของวิธีการวิเคราะห์ส่วนมากจะถูกเก็บรวบรวมไว้ในรูปของเอกสาร(validation sheets) และเก็บรวบรวมไว้ในฐานข้อมูล (database) เพื่อใช้เป็นข้อมูลสำหรับการดำเนินงานวิจัย หรือเป็นข้อตกลงว่าจะดำเนินการไปตามแผนการวิจัยที่ได้วางไว้ข้อมูลที่เป็นพารามิเตอร์ที่สำคัญที่ควรได้เก็บรวบรวมไว้ ในการตรวจสอบความใช้ได้ของวิธีการวิเคราะห์ได้แก่ limit of detection, trueness, calibration procedure, precision และ

confirmation of the results สิ่งต่าง ๆ เหล่านี้ล้วนเป็นพารามิเตอร์ที่สำคัญในการวิเคราะห์สารพิษตกค้าง ที่จะสามารถรับรองผลและยืนยันผลการวิเคราะห์ได้อย่างถูกต้องและมีความน่าเชื่อถือ ซึ่งจะนำไปสู่การปฏิบัติในการวิเคราะห์สารพิษตกค้างในตัวอย่างพืชผลเกษตร

ห้องปฏิบัติการตรวจวิเคราะห์สารพิษตกค้าง ของกลุ่มพัฒนาการตรวจสอบพืชและปัจจัยการผลิต สำนักวิจัยพัฒนาการเกษตรเขตที่ 4 กรมวิชาการเกษตร จะเห็นได้ว่าการตรวจสอบความใช้ได้ของวิธีการวิเคราะห์สารพิษตกค้าง เพื่อความแม่นยำของผลการวิเคราะห์ และเป็นหลักประกันในการรับรองผลที่เป็นสากลนั้นมีความจำเป็นอย่างยิ่ง ที่จะต้องดำเนินการโดยเร่งด่วน ไม่ใช่เพื่อการขอรับรองห้องปฏิบัติการ (Accreditation) เท่านั้น แต่เป็นการแสดงให้เห็นถึงความน่าเชื่อถือ ความถูกต้อง ความแม่นยำ คุณภาพของผลการวิเคราะห์ และการก้าวทันเทคนิควิธีการวิเคราะห์สารพิษตกค้างให้เทียบเท่ากับต่างประเทศ ซึ่งจะแสดงถึงผลประโยชน์ที่จะตามมาในด้านการค้าและการส่งออกพืชผลทางการเกษตรระหว่างประเทศ ในฐานะที่ประเทศไทยแสดงจุดยืนที่จะเป็นครัวของโลกผลิตอาหารที่ปลอดภัย

การตรวจสอบความใช้ได้ของวิธีวิเคราะห์ในห้องปฏิบัติการมีหลายระดับ ในกรณีที่ห้องปฏิบัติการได้คิดพัฒนาวิธีการวิเคราะห์ขึ้นมาเอง จะต้องทำการทดสอบตัวแปรแบบเต็มรูปแบบ (Full validate) ซึ่งตัวแปรที่ต้องทดสอบ ได้แก่ Accuracy, precision, Range, Linearity, Limit of Detection (LOD), Limit of Quantitation (LOQ), Specificity/Selectivity และ Ruggedness/Robustness สำหรับห้องปฏิบัติการที่ใช้วิธีการวิเคราะห์ที่ได้มีการตีพิมพ์ และเป็นที่ยอมรับในระดับสากล มาพัฒนาเพื่อให้ได้วิธีที่เหมาะสมสำหรับห้องปฏิบัติการแต่ละแห่งนั้น ต้องดำเนินการทดสอบตัวแปรในห้องปฏิบัติการเพียงบางส่วน (Partial Validate) ตัวแปรที่ต้องนำมาพิจารณา ได้แก่ Linearity, Range, LOD, LOQ, Accuracy และ Precision แต่ถ้านำวิธีมาตรฐานนั้นมาใช้วิเคราะห์ให้ตรวจสอบเพียงบางส่วน เช่น Accuracy และ Precision เป็นต้น

อุปกรณ์และวิธีการ

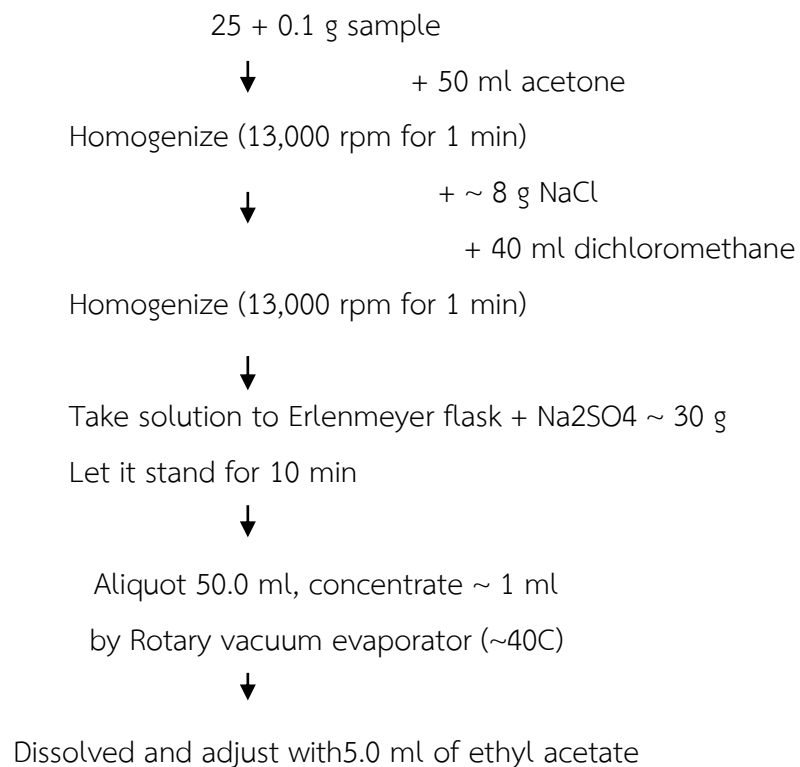
สารเคมีและอุปกรณ์วิเคราะห์

1. สารเคมี
 - 2.1 Acetone, A.R. grade
 - 2.2 Dichloromethane, A.R. grade
 - 2.3 Ethyl acetate Pesticide Residue grade
 - 2.4 Sodium sulfate anhydrous, A.R. grade
 - 2.5 Sodium chloride, A.R. grade
2. เครื่องแก้วและอุปกรณ์
 - 3.1 ขวดแก้วสำหรับบรรจุตัวอย่างพร้อมฝา ขนาด 250 มิลลิลิตร
 - 3.2 เครื่องชั่งชนิด 2 และ 4 ตำแหน่ง ที่ได้รับการสอบเทียบแล้ว
 - 3.3 กรวยกรองทำด้วยแก้ว
 - 3.4 Cylinder ขนาด 50 มิลลิลิตร class B
 - 3.5 ขวดก้นแบน (flat bottom flask) ขนาด 250 มิลลิลิตร

- 3.6 ขวดปรับปริมาตร ขนาด 5 มิลลิลิตร ที่ได้รับการสอบเทียบแล้ว
- 3.7 Homogenizer, Ultra Turrax รุ่น T 25 Basic
- 3.8 Dispenser ขนาด 1 – 50 มิลลิลิตร
- 3.9 Auto-pipette ขนาด 100 ไมโครลิตร - 1000 ไมโครลิตร
- 3.10 ปิเปตต์ ขนาด 1-10 มิลลิลิตร ที่ได้รับการสอบเทียบแล้ว
- 3.11 เครื่องลดปริมาณสารด้วยแก๊สไนโตรเจน
- 3.12 Vials สำหรับบรรจุตัวอย่างเข้าเครื่อง GC
- 3.13 GC, Agilent, รุ่น 7890A พร้อม auto injector และ software ควบคุมการทำงาน

3. วิธีการ

ตรวจสอบความใช้ได้ของวิธีทดสอบ การวิเคราะห์สารพิษตกค้างของสารฆ่าแมลงกลุ่มไพรีทรอยด์ในมะม่วง โดยใช้แก๊สโครมาโตกราฟ ด้วยวิธีการทดสอบหาปริมาณสารพิษตกค้างของกลุ่มพัฒนาการตรวจสอบพืชและปัจจัยการผลิต ที่ใช้ในการวิเคราะห์สารพิษตกค้างแบบรวม (Multi-residue Analysis) ดังแสดงในภาพที่ 1





Concentrate Rotary vacuum evaporator (~40C)



Take 2.0 ml GC-FPD

ภาพที่ 1 วิธีการวิเคราะห์แบบ Multi-residues ที่ทำการทดสอบ

เมื่อดำเนินการสกัดตัวอย่างตามวิธีการครบถ้วนแล้ว จึงทำการทดสอบความใช้ได้ของวิธีการดังกล่าว ดังต่อไปนี้

- 4.1 การหา Range ทำโดยทดสอบ reagent blank, sample blank และ fortified samples ความเข้มข้น 7 ระดับ ๆ ละ 1 ซ้ำ plot graph ระหว่างความเข้มข้นเป็น ppm ของ fortified sample (แกน X) กับ response ที่ใช้ peak area (แกน Y) แล้วพิจารณาช่วงที่เป็นเส้นตรง
- 4.2 การหา Linearity ทดสอบ reagent blank และ fortified sample ที่ความเข้มข้นภายใน Range ของ การทดสอบ ที่ความเข้มข้น 7 ระดับ ๆ ละ 3 ซ้ำ plot graph ระหว่างความเข้มข้นของ fortified sample blank (แกน X) กับ response (แกน Y) คำนวณหา Correlation coefficient (r) โดยเกณฑ์ การยอมรับ $r \geq 0.995$
- 4.3 ตรวจสอบ Accuracy โดยทดสอบ reagent blank, sample blank และ fortified sample ที่ระดับ ความเข้มข้นภายในช่วงการทดสอบ 3 ระดับความเข้มข้น (Low, Medium, High) ความเข้มข้นละ 10 ซ้ำ ตามวิธีทดสอบ แล้วหาค่าเฉลี่ยของผลการทดสอบที่หักค่า reagent blank ของ sample (x1) และ fortified sample (x2) นำมาประเมิน % Recovery = $(x1 - x2) \times 100 / \text{Conc.}$ โดยที่ เติมในตัวอย่าง เกณฑ์การยอมรับ Recovery ใช้เกณฑ์กำหนดโดยทั่วไปของ AOAC Peer-Verified Method Nov. 1993
- 4.4 ตรวจสอบ Precision โดยทดสอบ reagent blank, sample blank และ fortified sample ที่ระดับ ความเข้มข้นภายในช่วงการทดสอบ 3 ระดับความเข้มข้น (Low, Medium, High) ความเข้มข้นละ 10 ซ้ำ บันทึกผลการทดสอบ คำนวณค่าเฉลี่ย X และ SD ของผลการทดสอบคำนวณ % RSD แล้วประเมิน Precision โดยใช้ HORRAT (Horwitz's ratio) หรือจาก % RSD
HORRAT (Horwitz's ratio) = $\frac{\% \text{ RSD จากการทดลอง}}{\text{Predicted Horwitz RSD}}$
Predicted Horwitz RSD = $0.66 \times 2^{(1 - 0.5 \log c)}$
โดยที่ C = Concentration ratio
เกณฑ์การยอมรับ AOAC : HORRAT (Horwitz's ratio) ≤ 2 หรือตามเกณฑ์กำหนดโดยทั่วไปของ precision, % RSD ของ AOAC Peer-Verified Method, Nov. 1993.
- 4.5 การหาค่า Limit of Detection (LOD) ทำโดยวิเคราะห์ fortified sample blank หรือ fortified sample ที่ระดับความเข้มข้นภายในช่วงการทดสอบ 3 ระดับความเข้มข้น ๆ ละ 10 ซ้ำ คำนวณค่า SD

ของผลการทดสอบแต่ละความเข้มข้น plot graph ระหว่างความเข้มข้น (แกน X) กับ SD (แกน Y) หาค่า S_o โดย extrapolate เส้นกราฟมาตัดแกน Y $LOD = 3 S_o$

4.6 การหาค่า Limit of Quantitation (LOQ) คำนวณค่า predicted LOQ จากข้อ 4.5 โดย $LOQ = 10 S_o$ เตรียม fortified sample blank หรือ fortified sample ที่มีความเข้มข้นเท่ากับ predicted LOQ ($10 S_o$) วิเคราะห์ fortified sample blank หรือ fortified sample 10 ซ้ำ คำนวณค่า accuracy และ precision เภณฑการยอมรับต้องผ่านการประเมิน accuracy และ precision ตามข้อ 4.3 และ 4.4

ระยะเวลา

ระยะเวลาดำเนินการตั้งแต่เดือนตุลาคม 2555 – กันยายน 2556

สถานที่ดำเนินการ

ห้องปฏิบัติการสารพิษตกค้าง กลุ่มพัฒนาการตรวจสอบพืชและปัจจัยการผลิต
สำนักวิจัยและพัฒนาการเกษตรเขตที่ 4

ผลการทดลองและวิจารณ์

1. Range : ทดสอบ reagent blank และ fortified sample ในความเข้มข้น 7 ระดับของสารละลายผสมดังแสดงในตารางที่ 1 ตั้งแต่ 0.005 ถึง 4.0 มิลลิกรัม/กิโลกรัม ความเข้มข้นละ 1 ซ้ำ ผลการตรวจสอบ Range โดยนำค่าความเข้มข้นของ และค่าของพื้นที่ใต้พีคมาความสัมพันธ์เชิงเส้นและคำนวณค่า R^2 ของสารพิษตกค้างในกลุ่มออร์กาโนฟอสฟอรัส พบว่า $R^2 > 0.995$ (ดังแสดงในภาพที่ 1) พบว่าวิธีการทดสอบนี้ สามารถตรวจสอบสารพิษตกค้างกลุ่มออร์แกโนฟอสฟอรัสได้ในช่วงตั้งแต่ 0.01 ถึง 4.00 มก./กก.
2. Linearity : ทดสอบ reagent blank และ fortified sample ที่ความเข้มข้น 7 ระดับ ความเข้มข้นละ 3 ซ้ำ ผลการตรวจสอบ Linearity โดยนำค่าความเข้มข้นของ Fortified Sample และค่าของพื้นที่ใต้พีคมาหาความสัมพันธ์เชิงเส้น และคำนวณค่า R^2 ของสารพิษตกค้าง พบว่าค่า $R^2 > 0.995$ สามารถสรุปได้ว่าวิธีการทดสอบนี้ผ่านเกณฑ์ที่กำหนด
3. Accuracy : การตรวจสอบ Accuracy จะทำโดยนำ Fortified Sample ที่ระดับความเข้มข้น 5 ระดับ ความเข้มข้นละ 10 ซ้ำ แล้วนำมาประเมิน Accuracy จาก %Recovery โดยเกณฑ์การยอมรับ Recovery ใช้เกณฑ์กำหนดของ AOAC Peer-Verified Method ที่ 60-120 % ผลการทดสอบแสดงค่า Fortified Sample ที่ความเข้มข้นทั้ง 5 ระดับ เป็นไปตามเกณฑ์ที่ตั้งไว้ การตรวจสอบ Accuracy ของวิธีทดสอบตั้งแต่ความเข้มข้นระดับที่ 1 – 5 อยู่ในเกณฑ์มาตรฐานและสามารถยอมรับได้

4. Precision : การตรวจสอบ Precision ของวิธีทดสอบ โดยทำ Fortified Sample ที่ระดับความเข้มข้น 5 ระดับ ความเข้มข้นละ 10 ซ้ำ แล้วนำมาประเมิน Precision โดยใช้ค่า %RSD หรือHORRAT (Horwitz's ratio)

%RSD ของ AOAC Peer-Verified Method, Nov. 1993

Conc.	100%	10%	1%	0.1%	100ppm	10ppm	1ppm	100ppb	10ppb	1ppb
%RSD	1.3	1.8	2.7	3.7	5.3	7.3	11	15	21	30

HORRAT (Horwitz's ratio) = %RSD / Predicted HorwitzRSD

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

โดยที่ C=Concentration ratio และเกณฑ์ประเมิน Precision HORRAT ≤ 2 [AOAC]

ผลการทดสอบ Precision ของวิธีทดสอบทุกระดับความเข้มข้น อยู่ในเกณฑ์มาตรฐาน คือ สามารถคำนวณค่า %RSD ได้อยู่ในระหว่าง 0.80-20.30 และ HORRAT ≤ 2

5. Limit of Quantitation (LOQ) : จากการทำ Fortified Samples ที่ 5 ระดับความเข้มข้นตามวิธีทดสอบ ผลการทดสอบ Accuracy และ Precision ผ่านเกณฑ์มาตรฐานที่กำหนด
6. Limit of Detection (LOD) : วิเคราะห์ Fortified Samples ที่ระดับความเข้มข้น 0.005 mg/kg ของ diazinon, chlorpyrifos, pirimiphos-methyl, malathion, parathion-methyl, profenofos, ethion และ triazophos จำนวน 10 ซ้ำ คำนวณอัตราส่วนของ Signal/Noise ของแต่ละสารต้องมีค่ามากกว่า 2 ($S/N > 2$) ดังนั้นค่า LOD ของวิธีการทดสอบเท่ากับ 0.005 mg/kg

สรุปผลการทดลองและข้อเสนอแนะ

การตรวจสอบความใช้ได้ของวิธีการวิเคราะห์สารพิษตกค้างกลุ่มออร์แกโนฟอสฟอรัสในพริก โดยใช้แก๊สโครมาโตกราฟี สามารถสรุปผลได้ดังนี้

1. ค่า LOD ของสารพิษตกค้างกลุ่มออร์แกโนฟอสฟอรัสประกอบด้วย diazinon, chlorpyrifos, pirimiphos-methyl, malathion, parathion-methyl, profenofos, ethion และ triazophos อยู่ที่ระดับ 0.005 mg/kg
2. ค่า LOQ ของสารพิษตกค้างกลุ่มไพรีทรอยด์ประกอบด้วย diazinon, chlorpyrifos, pirimiphos-methyl, malathion, parathion-methyl, profenofos, ethion และ triazophos อยู่ที่ระดับ 0.01 mg/kg
3. Range อยู่ในช่วงระหว่าง 0.01 – 4.00 mg/kg สำหรับ diazinon, chlorpyrifos, pirimiphos-methyl, malathion, parathion-methyl, profenofos, ethion และ triazophos
4. Linearity มีค่า R^2 มากกว่า 0.995 ในทุกสารที่ทำการทดสอบ

5. Accuracy : %Recovery ของสารพิษตกค้างที่ความเข้มข้นระดับที่ 1, 2, 3, 4,5,6,7 และ 8 อยู่ในช่วง 74.50 –116.00 % ตามลำดับ
6. Precision คำนวณค่า %RSD ได้อยู่ในระหว่าง 0.80 – 20.30 และ HORRAT \leq 2

จากผลการทดสอบทั้งหมดที่กล่าวมานี้ พบว่าการตรวจสอบความใช้ได้ของวิธีทดสอบนี้มีความเหมาะสมในการทดสอบหาสารพิษตกค้างกลุ่มออร์แกโนฟอสฟอรัสในพริกโดยใช้แก๊สโครมาโตกราฟ และน่าจะสามารถนำไปประยุกต์ใช้ในผักและผลไม้อื่นๆ ได้ โดยสามารถวิเคราะห์ตัวอย่างได้อย่างถูกต้อง และแม่นยำ ในช่วงความเข้มข้นระหว่าง 0.01 – 4.00 mg/kg ซึ่งสามารถสรุปได้ว่าวิธีการวิเคราะห์แบบรวม (Multi-residue) ที่กลุ่มพัฒนาการตรวจสอบพืชและปัจจัยการผลิต สำนักวิจัยและพัฒนาการเกษตรเขตที่ 4 ใช้อยู่นี้ สามารถให้ผลการวิเคราะห์ที่ถูกต้อง แม่นยำและเชื่อถือได้

การนำผลงานวิจัยไปใช้ประโยชน์

1. จัดพิมพ์เอกสารวิธีการตรวจวิเคราะห์สารพิษตกค้างกลุ่มออร์แกโนฟอสฟอรัสในพริกเพื่อเผยแพร่แก่นักวิชาการและผู้สนใจ
2. ให้คำปรึกษาและจัดฝึกอบรมให้แก่ผู้ที่ปฏิบัติงานด้านนี้
3. นำผลการวิเคราะห์ทั้งหมดเข้าสู่กระบวนการรับรองห้องปฏิบัติการทดสอบเพื่อใช้สำหรับการขยายขอบข่ายการรับรองในอนาคตต่อไป

เอกสารอ้างอิง

- กนกพร อธิสุข และ ทิพวรรณ นิ่งน้อย. 2547. Method Validation, เอกสารประกอบการฝึกอบรม
กรมวิทยาศาสตร์การแพทย์
- ดุขฎิ มั่นความดี และ อุมาพร สุขม่วง. 2544. การพิสูจน์ความใช้ได้ของวิธีทดสอบทางเคมี (Chemical Method
Validation), เอกสารประกอบการฝึกอบรม. กรมวิทยาศาสตร์บริการ
สถาบันอาหาร. 2547. การตรวจพิสูจน์ความถูกต้องของวิธีทดสอบทางเคมี, เอกสารประกอบการอบรมสัมมนา
อุตสาหกรรมอาหาร
- Anonymous. 1998. Requirement for the format and content of test method and procedures for
validation and verification of chemical test method, NATA Technical Note No. 17. National
of Testing Authorities, Australia.
- Anonymous. 1998. The Fitness for Purpose of Analytical Method ; A Laboratory Guide to Method
Validation and Related Topics, EURCHEM Guide, First English edition.
(WWW.Eurachem.bam.de/guide/vald.pdf)
- AOAC Peer – Verified Methods. Nov. 1993.
- Fajgelj, A. Ambrus. 2000. Principles and Practices of Method Validation. The Royal Society of
chemistry, U.K. 305 p.
- Hoogerburgge, R. and P.V.Zoonen. 2000. Validation of analytical data in a research and
development environment, pp. 19-28. In “Principles and Practices of Method Validation”,
edited by A. Fajgeli and A. Ambrus. The Royal Society of Chemistry, U.K.
- Thorpe, S.A. and S.L.Reynolds. 1996. Accreditation in the UK for pesticide residue analysis in food.
Journal of Chromatography A, 737 : 3-7.

.....

ตารางสรุปผลการดำเนินงาน

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

ชื่อสาร	matrix blank Retention time (min)	Spiked matrix blank Retention time (min)
Diazinon	0	7.773 ± 0.002
pirimiphos-methyl	0	9.770±0.002
chlorpyrifos	0	10.458±0.004
parathion-methyl	0	10.605±0.003
malathion	0	10.969±0.004
profenofos	0	13.050±0.001
ethion	0	13.845±0.001
triazophos	0	14.729±0.002
สารรบกวนอื่นๆ	0	0

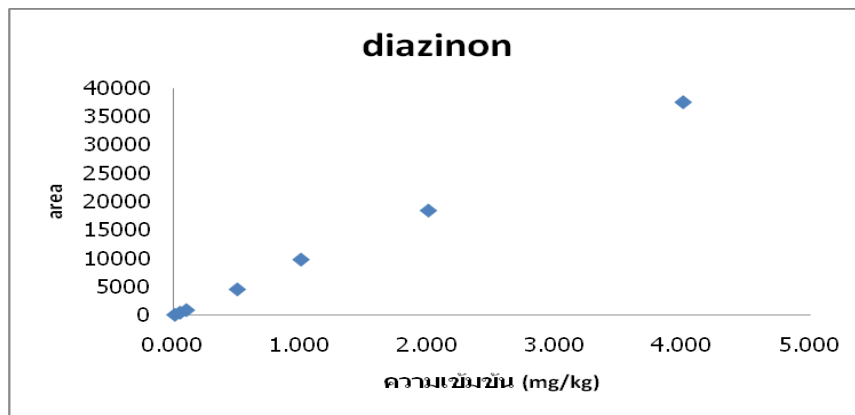
ช่วงของการวัด (Working range)

ทดสอบ Sample blank และ Spike/fortified sample blank อย่างน้อย 6 ความเข้มข้นๆ ละ 1 ซ้ำ
 Plotgraph ระหว่างความเข้มข้นของ Fortified sample blank (แกน x) กับ Area Response (แกน Y) พิจารณา
 ช่วงที่เป็นเส้นตรง ประเมินด้วยสายตา

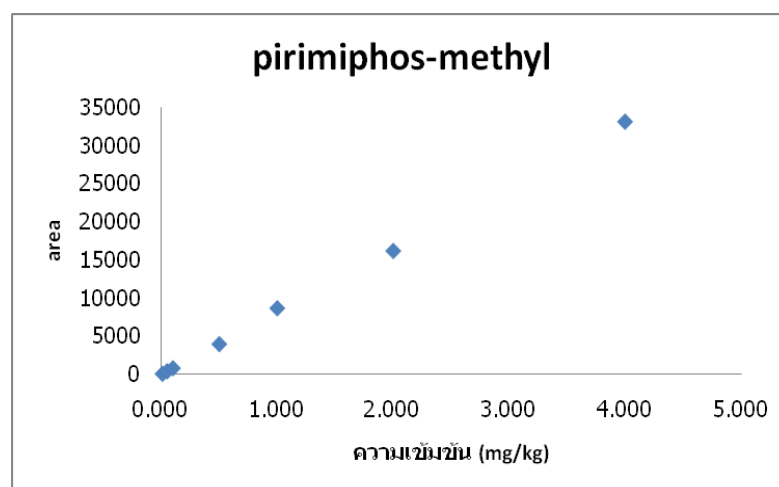
ตารางที่ 2 ค่าความสัมพันธ์ระหว่างความเข้มข้นของ Fortified sample blank (แกน X) กับ Area response (แกน Y)

diazinon		pirimiphos-methyl		chlorpyrifos		parathion-methyl	
ความเข้มข้น (mg/kg)	Area	ความเข้มข้น (mg/kg)	Area	ความเข้มข้น (mg/kg)	Area	ความเข้มข้น (mg/kg)	Area
0.010	104.258	0.010	89.94505	0.010	85.00359	0.010	67.40296
0.050	482.432	0.050	420.81903	0.050	400.50522	0.050	311.46567
0.100	936.575	0.100	822.42664	0.100	781.56959	0.100	572.33386
0.500	4584.65	0.500	3982.41479	0.500	3791.78589	0.500	2724.52515
1.000	9838.28	1.000	8675.22266	1.000	8034.98975	1.000	5467.72363
2.000	18480.6	2.000	16181.5	2.000	15195.5	2.000	10167.8
4.000	37582.8	4.000	33104	4.000	30892.8	4.000	21101.2

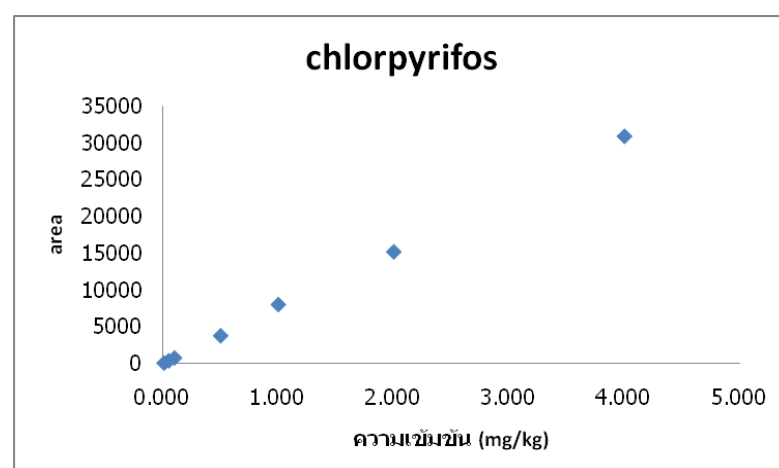
malathion		profenofos		ethion		trazophos	
ความเข้มข้น (mg/kg)	Area	ความเข้มข้น (mg/kg)	Area	ความเข้มข้น (mg/kg)	Area	ความเข้มข้น (mg/kg)	Area
0.010	62.9211	0.010	59.52539	0.010	132.26067	0.010	94.88241
0.050	302.66025	0.050	272.00653	0.050	594.8418	0.050	417.80975
0.100	573.70386	0.100	511.54498	0.100	1152.6366	0.100	820.20801
0.500	2776.20068	0.500	2508.13794	0.500	5700.97168	0.500	3902.88232
1.000	6022.26123	1.000	5416.64502	1.000	12286.7000	1.000	8298.72656
2.000	11239.5000	2.000	10520.2000	2.000	23693.3000	2.000	15649.6000
4.000	22589.6000	4.000	19994.3000	4.000	46402.4000	4.000	29566.9000



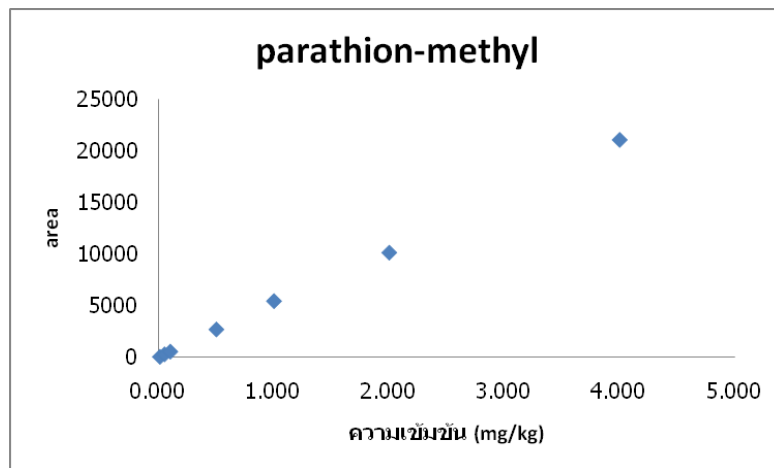
ภาพที่ 1 แสดงช่วงการวัด (Working range) ของ diazinon ความเข้มข้น 0.01-4.00 mg/kg



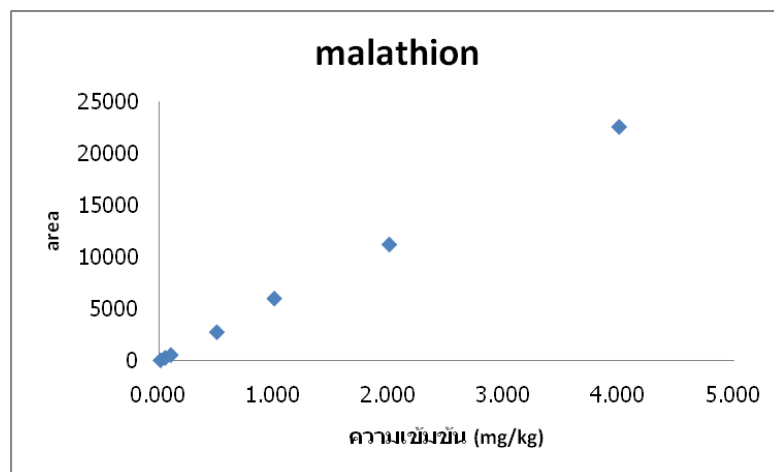
ภาพที่ 2 แสดงช่วงการวัด (Working range) ของ pirimiphos-methyl ความเข้มข้น 0.01-4.00 mg/kg



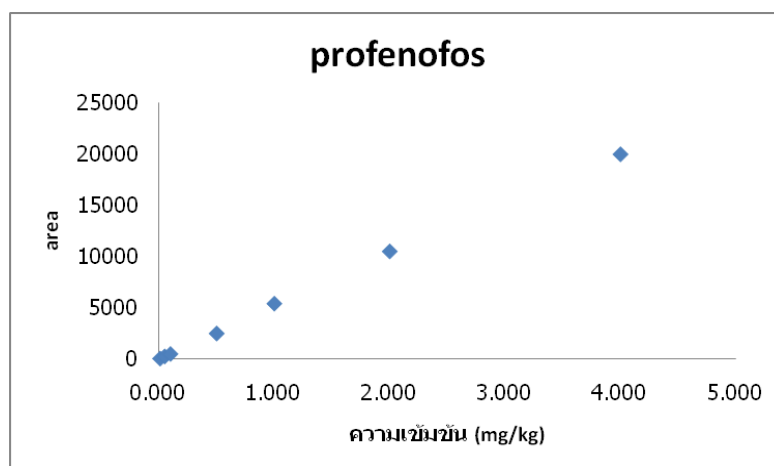
ภาพที่ 3 แสดงช่วงการวัด (Working range) ของ chlorpyrifos ความเข้มข้น 0.01-4.00 mg/kg



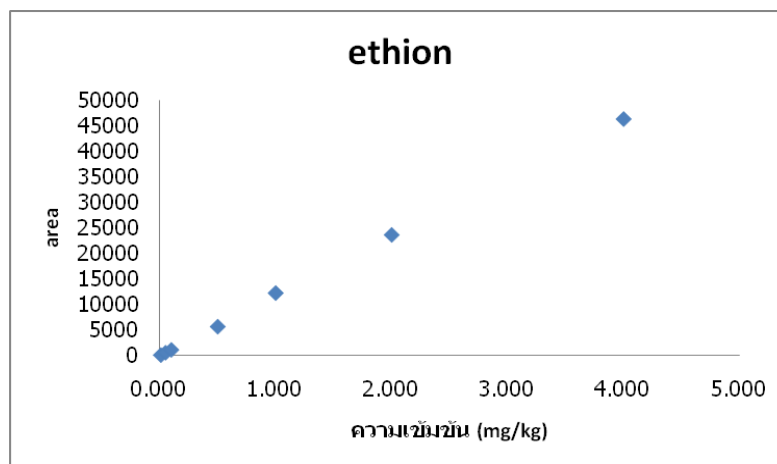
ภาพที่ 4 แสดงช่วงการวัด (Working range) ของ parathion-methyl ความเข้มข้น 0.01-4.00 mg/kg



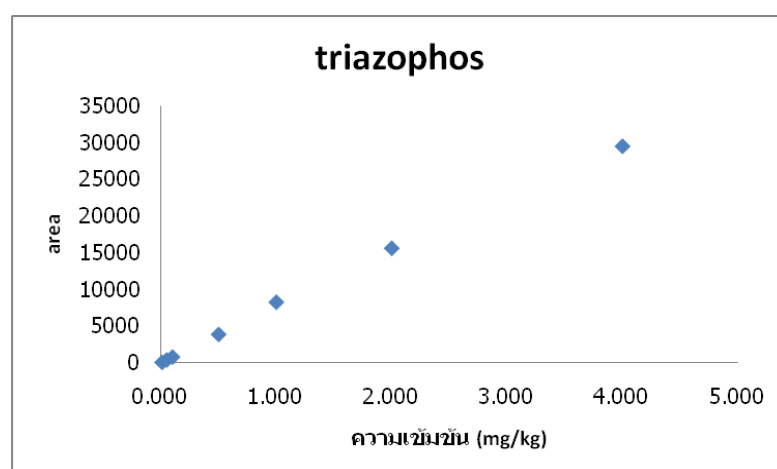
ภาพที่ 5 แสดงช่วงการวัด (Working range) ของ malathion ความเข้มข้น 0.01-4.00 mg/kg



ภาพที่ 6 แสดงช่วงการวัด (Working range) ของ profenofos ความเข้มข้น 0.01-4.00 mg/kg



ภาพที่ 7 แสดงช่วงการวัด (Working range) ของ ethion ความเข้มข้น 0.01-4.00 mg/kg



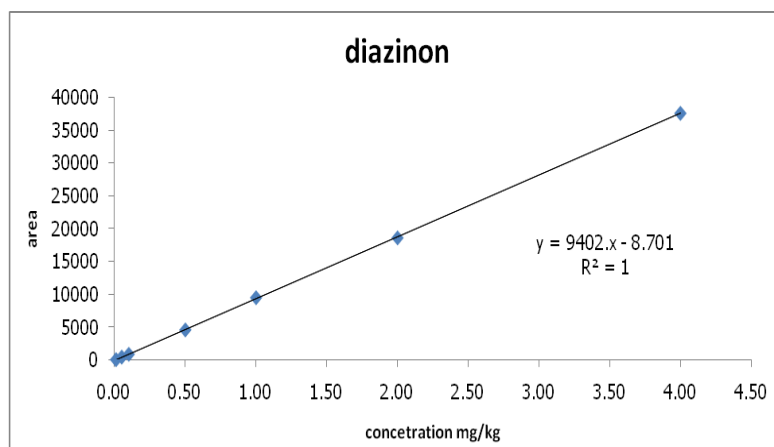
ภาพที่ 8 แสดงช่วงการวัด (Working range) ของ triazophos ความเข้มข้น 0.01-4.00 mg/kg

ค่าความเป็นเส้นตรง Linearity

จากการดำเนินการทดสอบ Reagent blank และ Fortified sample blank ที่ความเข้มข้นภายใน Range ของการทดสอบอย่างน้อย 6 ความเข้มข้นๆ ละ 3 ซ้ำ ผลตามตารางที่ 3 – 10 จากนั้น Plot graph ระหว่างความเข้มข้นของ Fortified sample blank (แกน X) กับ Area response (แกน Y) สร้าง Regression line ใช้ค่าสัมประสิทธิ์การตัดสินใจ (Coefficient of determination : R^2) เป็นเกณฑ์ในการยอมรับค่า $R^2 \geq 0.995$ ตารางที่ 3 แสดงค่าความเข้มข้นของ Fortified sample blank กับ Area Response ของ diazinon

ความเข้มข้น mg/kg	diazinon		
	Area ครั้งที่ 1	Area ครั้งที่ 2	Area ครั้งที่ 3
0.01	104.2581	97.53186	93.02332

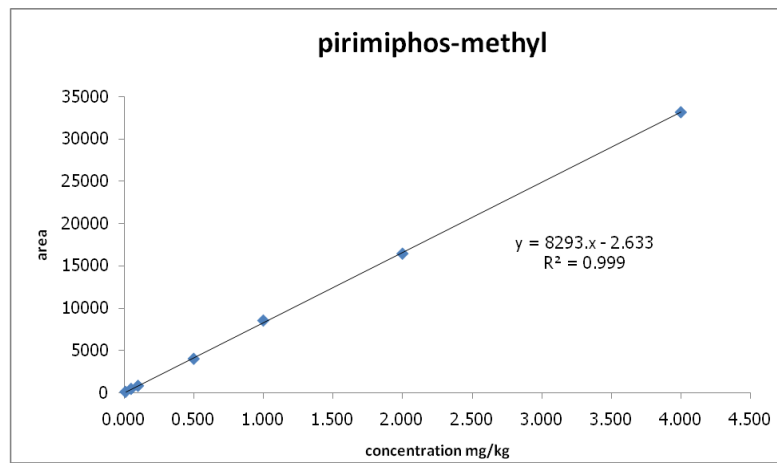
0.05	482.43231	478.90683	477.74014
0.10	936.57458	898.14313	900.03516
0.50	4584.64502	4589.40137	4719.67969
1.00	9838.28125	9259.66895	9521.75684
2.00	18480.6000	18524.6000	18976.3000
4.00	37582.8000	37261.1000	38074.6000



ภาพที่ 9 แสดงค่าความสัมพันธ์เชิงเส้นของ diazinon ด้วยค่า Coefficient of determination : $R^2 = 1.00$

ตารางที่ 4 แสดงค่าความเข้มข้นของ Fortified sample blank กับ Area Response ของ pirimiphos-methyl

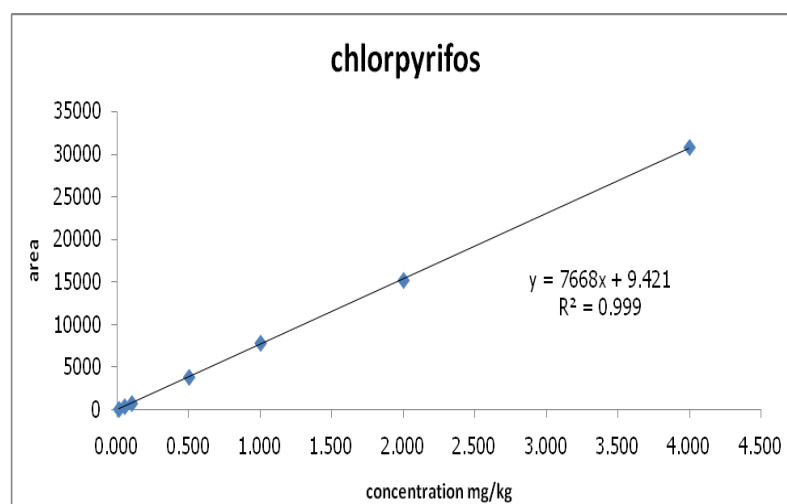
ความเข้มข้น mg/kg	Pirimiphos-methyl		
	Area ครั้งที่ 1	Area ครั้งที่ 2	Area ครั้งที่ 3
0.010	89.94505	85.52231	82.99258
0.050	420.81903	478.90683	420.2135
0.100	822.42664	791.61584	792.87695
0.500	3982.41479	3953.35596	4070.94824
1.000	8675.22266	8700.43652	8226.46191
2.000	16181.5000	16437.9000	16729.6000
4.000	33110.4000	32908.0000	33572.8000



ภาพที่ 10 แสดงค่าความสัมพันธ์เชิงเส้นของ pirimiphos-methyl ด้วยค่า Coefficient of determination : $R^2 = 0.999$

ตารางที่ 5 แสดงค่าความเข้มข้นของ Fortified sample blank กับ Area Response ของ chlorpyrifos

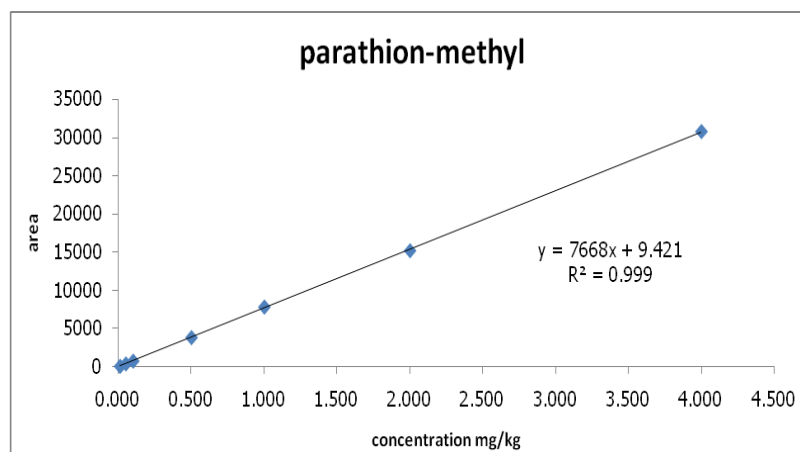
ความเข้มข้น mg/kg	chlorpyrifos		
	Area ครั้งที่ 1	Area ครั้งที่ 2	Area ครั้งที่ 3
0.010	85.00359	76.78421	81.99387
0.050	400.50522	405.3837	401.61002
0.100	781.56989	748.65472	755.95819
0.500	3791.78589	3800.80713	3890.55542
1.000	8034.98975	7823.52295	7607.04736
2.000	15195.5000	15245.6000	15082.2000
4.000	30892.8000	30554.9000	30751.4000



ภาพที่ 11 แสดงค่าความสัมพันธ์เชิงเส้นของ chlorpyrifos ด้วยค่า Coefficient of determination : $R^2 = 0.999$

ตารางที่ 6 แสดงค่าความเข้มข้นของ Fortified sample blank กับ Area Response ของ parathion-methyl

ความเข้มข้น mg/kg	parathion-methyl		
	Area ครั้งที่ 1	Area ครั้งที่ 2	Area ครั้งที่ 3
0.010	67.40296	59.51068	65.23528
0.050	311.46567	303.38312	312.68353
0.100	572.33386	550.08545	558.52826
0.500	2724.52515	2741.15039	2772.91577
1.000	5467.72363	5377.81689	5837.17334
2.000	10167.8000	10626.4000	10879.5000
4.000	21101.2000	20251.1000	20839.5000

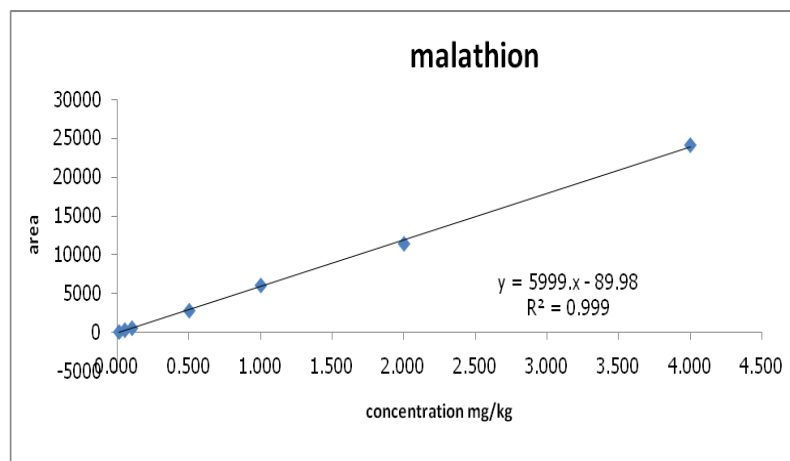


ภาพที่ 12 แสดงค่าความสัมพันธ์เชิงเส้นของ parathion-methyl ด้วยค่า Coefficient of determination : $R^2 = 0.999$

ตารางที่ 7 แสดงค่าความเข้มข้นของ Fortified sample blank กับ Area Response ของ malathion

ความเข้มข้น mg/kg	malathion		
	Area ครั้งที่ 1	Area ครั้งที่ 2	Area ครั้งที่ 3
0.010	62.9211	61.30657	62.22867
0.050	302.66025	292.61789	297.24173

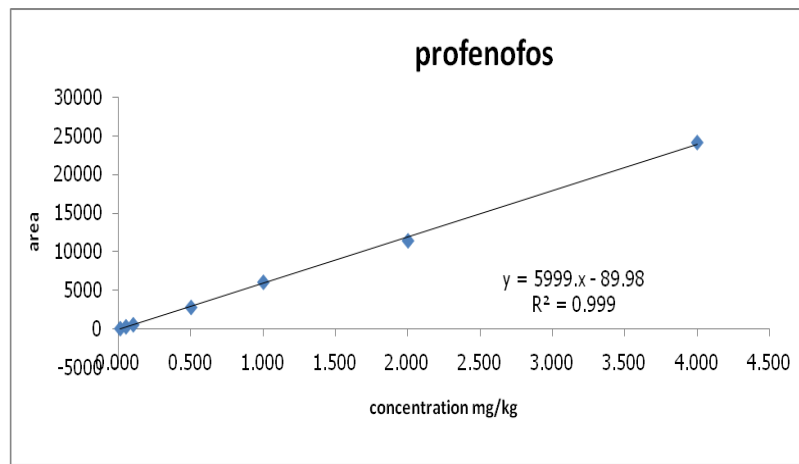
0.100	573.70386	550.08545	553.48511
0.500	2776.20068	2806.48633	2825.96851
1.000	6022.26123	6036.78418	6113.57617
2.000	11239.5000	11467.8000	11557.2000
4.000	24589.6000	24000.000	23787.000



ภาพที่ 13 แสดงค่าความสัมพันธ์เชิงเส้นของ malathion ด้วยค่า Coefficient of determination : $R^2 = 0.999$

ตารางที่ 8 แสดงค่าความเข้มข้นของ Fortified sample blank กับ Area Response ของ profenofos

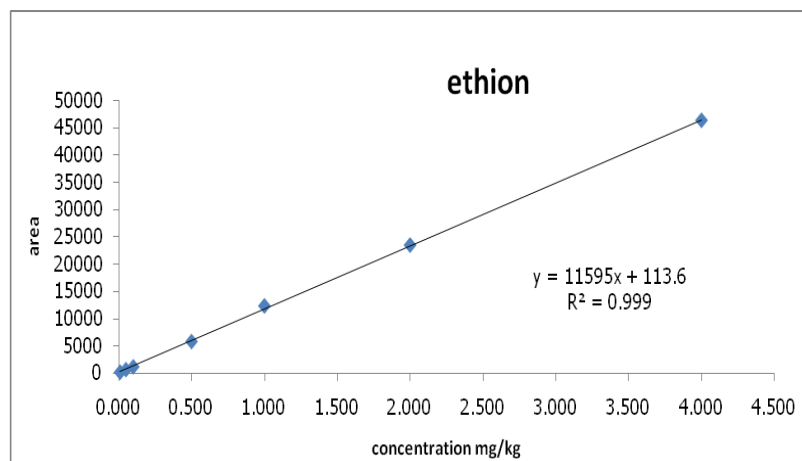
ความเข้มข้น mg/kg	profenofos		
	Area ครั้งที่ 1	Area ครั้งที่ 2	Area ครั้งที่ 3
0.010	59.52539	54.99803	53.89777
0.050	272.00653	276.09644	269.9968
0.100	511.54498	501.07938	492.71902
0.500	2508.13794	2624.88989	2561.59396
1.000	5416.64502	522.11475	5504.42432
2.000	10520.2000	10258.6000	10308.1000
4.000	19994.3000	19855.1000	20113.6000



ภาพที่ 14 แสดงค่าความสัมพันธ์เชิงเส้นของ profenofos ด้วยค่า Coefficient of determination : $R^2 = 0.999$

ตารางที่ 9 แสดงค่าความเข้มข้นของ Fortified sample blank กับ Area Response ของ ethion

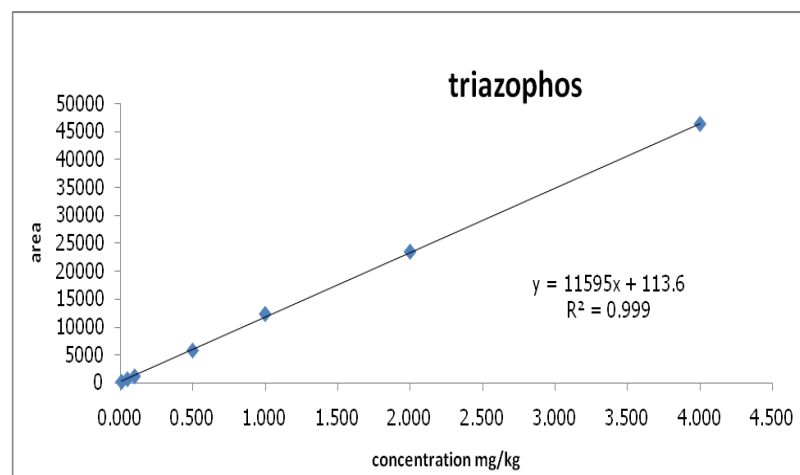
ความเข้มข้น mg/kg	ethion		
	Area ครั้งที่ 1	Area ครั้งที่ 2	Area ครั้งที่ 3
0.010	132.26067	125.36675	121.46359
0.050	594.8418	604.93597	595.07935
0.100	1152.6366	1124.63074	1072.1344
0.500	5700.97168	5699.19775	5825.98291
1.000	12286.7000	12194.8000	12372.3000
2.000	23693.3000	23261.5000	23347.2000
4.000	46402.4000	46269.3000	46258.6000



ภาพที่ 15 แสดงค่าความสัมพันธ์เชิงเส้นของ ethion ด้วยค่า Coefficient of determination : $R^2 = 0.999$

ตารางที่ 10 แสดงค่าความเข้มข้นของ Fortified sample blank กับ Area Response ของ triazophos

ความเข้มข้น mg/kg	triazophos		
	Area ครั้งที่ 1	Area ครั้งที่ 2	Area ครั้งที่ 3
0.010	94.88241	88.77938	86.29162
0.050	417.80975	424.90125	419.5928
0.100	820.20801	807.9588	764.23907
0.500	3902.88232	3761.08203	3984.75317
1.000	8298.72656	8261.46973	8383.96094
2.000	15649.6000	15022.3000	15006.4000
4.000	29566.9000	29706.7000	29348.3000



ภาพที่ 16 แสดงค่าความสัมพันธ์เชิงเส้นของ triazophos ด้วยค่า Coefficient of determination : $R^2 = 0.999$

ค่าขีดจำกัดการตรวจวัดต่ำสุด Limit of detection (LOD)

$$\text{LOD} = 3 \text{ SD}$$

1. วิเคราะห์ Fortified sample blank หรือ Fortified Sample ที่ระดับความเข้มข้นต่ำ อย่างน้อย 10 ซ้ำ ได้ค่า ค่า SD = 0.0003 mg/kg ได้ค่า LOD = 0.0009 แต่เนื่องจากความเข้มข้นดังกล่าวมีความเข้มข้นน้อยเกินไป และวัตถุประสงค์ของการทดสอบใช้เกณฑ์ MRL ของประเทศไทย CODEX ประเทศญี่ปุ่น ประเทศในกลุ่มสหภาพยุโรป เป็นเกณฑ์ตัดสิน ดังนั้นเพื่อให้สอดคล้องกับค่าดังกล่าวกำหนดให้ค่า LOD = 0.005 mg/kg พิสูจน์ LOD ที่ 0.005 มก./กก.

2. ยืนยันค่า LOD จาก signal / Noise ของสารแต่ละชนิด เกณฑ์ยอมรับ signal/Noise ≥ 2

ตารางที่ 11 แสดงค่า signal/Noise จากการทดสอบ 10 ซ้ำ รายละเอียดตามผนวก

ชื่อสาร	ความเข้มข้น (มก/กก.)	Signal/noise (n=10)	
		ช่วง S/N	ค่าเฉลี่ย±SD
diazinon	0.005	5.60-7.60	6.41±0.63
pirimiphos-methyl	0.005	3.80-4.40	4.00±0.22
chlorpyrifos	0.005	3.30-3.80	3.43±0.19
parathion-methyl	0.005	2.10-2.80	2.40 ± 0.24
malathion	0.005	2.20-2.80	2.53 ± 0.22
profenofos	0.005	3.50-4.50	3.86 ± 0.31
ethion	0.005	5.60-7.20	6.13 ± 0.54
triazophos	0.005	2.80-4.10	3.39 ± 0.40

ค่าขีดจำกัดการตรวจพบและรายงานผลการตรวจวัด Limit of Quantitation (LOQ)

- เตรียม Fortified sample blank ที่ความเข้มข้นต่ำ ได้ค่า SD = 0.0003
ค่า LOQ = 10 SD = 0.003 mg/kg พิสูจน์ Accuracy และ Precision ตามค่ามาตรฐานสารพิษตกค้างในอาหาร 0.01 mg/kg
- วิเคราะห์ Fortified sample blank หรือ Fortified sample ที่ระดับ 0.01 mg/kg 10 ซ้ำ ผลการ
- คำนวณค่า Accuracy และ Precision

ตารางที่ 12 พิสูจน์ Accuracy และ Precision ที่ความเข้มข้นต่างๆ 4 ระดับ ในช่วงการใช้งาน(Range)

ชื่อสาร	ความเข้มข้น Spike (mg/kg)	Accuracy		Precision			
		Recovery (%)	เกณฑ์ (%)	$\bar{X} \pm SD$ (mg/kg)	% RSD	เกณฑ์ (%)	HORRAT เกณฑ์ ≤ 2
Diazinon	0.01	107.28	60-120	0.011 ± 0.0006	5.199	21	0.241
	0.05	108.792	70-120	0.054 ± 0.0013	2.385	15	0.146
	0.50	106.1	70-110	0.53 ± 0.0150	2.921	11	0.251
	1.00	107.132	70-110	1.071 ± 0.026	2.432	11	0.233
Pirimiphos-methyl	0.01	107.64	60-120	0.011 ± 0.0004	3.326	21	0.159
	0.05	106.776	70-120	0.053 ± 0.0010	2.679	15	0.163
	0.50	103.3	70-110	0.520 ± 0.0120	2.399	11	0.206
	1.00	107.537	70-110	1.075 ± 0.027	2.537	11	0.243

chlorpyrifos	0.01	109.80	60-120	0.011 ± 0.0004	3.496	21	0.168
	0.05	111.60	70-120	0.056 ± 0.0010	2.526	15	0.155
	0.50	106.7	70-110	0.530 ± 0.0120	2.293	11	0.198
	1.00	110.453	70-110	1.105 ± 0.050	4.482	11	0.431
Parathion-methyl	0.01	93.24	60-120	0.009 ± 0.0004	3.839	21	0.180
	0.05	92.304	70-120	0.046 ± 0.0010	2.844	15	0.169
	0.50	82.5	70-110	0.041 ± 0.0070	1.602	11	0.133
	1.00	83.72	70-110	0.837 ± 0.034	4.01	11	0.37
malathion	0.01	97.56	60-120	0.010 ± 0.0004	4.418	21	0.208
	0.05	97.92	70-120	0.049 ± 0.0020	3.177	15	0.191
	0.50	94.1	70-110	0.470 ± 0.0150	3.168	11	0.268
	1.00	102.3	70-110	1.023 ± 0.015	1.426	11	0.136
profenofos	0.01	106.56	60-120	0.011 ± 0.0005	4.56	21	0.218
	0.05	102.44	70-120	0.051 ± 0.0010	2.862	15	0.173
	0.50	97.9	70-110	0.490 ± 0.0150	3.052	11	0.26
	1.00	105.507	70-110	1.055 ± 0.015	1.468	11	0.14
ethion	0.01	108.72	60-120	0.011 ± 0.0004	3.76	21	0.18
	0.05	105.62	70-120	0.053 ± 0.0010	2.427	15	0.148
	0.50	101.6	70-110	0.510 ± 0.0100	5.183	11	0.443
	1.00	111.563	70-110	1.116 ± 0.109	9.742	11	0.938
triazophos	0.01	109.44	60-120	0.011 ± 0.0003	3.18	21	0.153
	0.05	103.82	70-120	0.052 ± 0.0010	3.13	15	0.19
	0.50	96.8	70-110	0.480 ± 0.0160	3.282	11	0.279
	1.00	102.444	70-110	1.1024 ± 0.008	0.826	11	0.078

ตรวจสอบความเที่ยง (Precision)

1. ทดสอบ Fortified sample ที่ระดับความเข้มข้นภายในช่วงการทดสอบ (Ranges) 4 ระดับความเข้มข้น ดังนี้ 0.01, 0.05, 0.5, 1 mg/kg วิเคราะห์ level ละ 10 ซ้ำ

2. บันทึกผลการทดสอบ คำนวณค่าเฉลี่ย X และ SD ของผลการทดสอบ

3. คำนวณ %CV = %RSD

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

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

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

Predicted Horwitz RSD คำนวณได้จาก Horwitz equation

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

สรุปวิธีทดสอบสารพิษตกค้างกลุ่มออร์กาโนฟอสฟอรัสในพริก

ตารางที่ 13 ตารางสรุปผลการตรวจสอบความใช้ได้ของวิธี

สาร	Range (mg/kg)	Linearity R ²	Accuracy %				Precision HORRAT			
			LOQ	Low	Medium	high	LOQ	Low	Medium	high
diazinon	0.01-4.00	1.000	107.28	86.64	106.06	105.2	0.248	0.329	0.251	0.166
pirimiphos-Methyl	0.01-4.00	0.999	107.64	89	103.3	106.2	0.159	0.191	0.206	0.141
chlorpyrifos	0.01-4.00	0.999	109.93	90.23	106.7	100.4	0.168	0.191	0.198	1.187
parathion-methyl	0.01-4.00	0.999	93.24	80.04	82.44	79.9	0.180	0.444	0.133	0.351
malathion	0.01-4.00	0.999	97.56	86.72	94.1	95.4	0.208	0.348	0.268	0.276
profenofos	0.01-4.00	0.999	106.56	84.64	97.8	98.6	0.218	0.306	0.260	0.178
ethion	0.01-4.00	0.999	108.72	79.36	101.6	104.2	0.180	0.386	0.443	0.156
triazophos	0.01-4.00	0.999	109.44	83.79	96.8	94.4	0.153	0.523	0.279	0.162

ตารางที่ 17 แสดงผลการตรวจสอบ Accuracy และ Precision ของการทดสอบซ้ำ จำนวน 10 ซ้ำ ที่ความเข้มข้นระดับ = 0.10 mg/kg

ชื่อสาร	diazinon		pirimiphos-methyl		chlorpyrifos		parathion-methyl		malathion		profenofos		ethion		triazophos	
	spike 0.10 mg/kg		spike 0.10 mg/kg		spike 0.10 mg/kg		spike 0.10 mg/kg		spike 0.10 mg/kg		spike 0.10 mg/kg		spike 0.10 mg/kg		spike 0.10 mg/kg	
จำนวนซ้ำ	ความ	%	ความ	%	ความ	%	ความ	%	ความ	%	ความ	%	ความ	%	ความ	%
	เข้มข้นที่	recovery	เข้มข้นที่	recovery	เข้มข้นที่	recovery	เข้มข้นที่	recovery	เข้มข้นที่	recovery	เข้มข้นที่	recovery	เข้มข้นที่	recovery	เข้มข้นที่	recovery
	วิเคราะห์ได้	(%)	วิเคราะห์ได้	(%)	วิเคราะห์ได้	(%)	วิเคราะห์ได้	(%)	วิเคราะห์ได้	(%)	วิเคราะห์ได้	(%)	วิเคราะห์ได้	(%)	วิเคราะห์ได้	(%)
	(mg/kg)		(mg/kg)	(mg/kg)		(mg/kg)	(mg/kg)		(mg/kg)	(mg/kg)		(mg/kg)	(mg/kg)		(mg/kg)	(mg/kg)
1	0.106	105.840	0.105	105.120	0.108	108.000	0.086	86.400	0.095	95.400	0.098	97.560	0.102	101.880	0.10116	101.160
2	0.102	101.520	0.101	101.160	0.104	103.680	0.083	83.160	0.093	92.880	0.095	95.400	0.099	99.360	0.09972	99.720
3	0.102	101.880	0.101	101.160	0.105	104.760	0.084	84.240	0.092	92.376	0.094	93.960	0.095	94.680	0.09432	94.320
4	0.105	105.480	0.102	102.240	0.106	105.840	0.085	85.320	0.093	93.240	0.098	97.920	0.102	101.520	0.09792	97.920
5	0.103	102.600	0.100	100.080	0.105	104.760	0.083	83.160	0.093	92.520	0.095	95.040	0.099	99.360	0.09756	97.560
6	0.107	107.172	0.104	104.400	0.109	109.080	0.085	85.320	0.096	95.760	0.097	97.200	0.104	103.680	0.1008	100.800
7	0.105	104.760	0.102	101.880	0.105	105.120	0.083	83.160	0.092	92.160	0.096	95.760	0.102	101.880	0.09828	98.280
8	0.110	109.800	0.106	106.200	0.111	110.520	0.144	143.640	0.096	95.760	0.101	100.800	0.105	105.480	0.10296	102.960
9	0.110	110.160	0.107	106.560	0.110	110.160	0.086	86.040	0.095	95.040	0.099	99.000	0.101	100.800	0.09684	96.840
10	0.101	101.160	0.102	101.880	0.098	97.560	0.094	93.960	0.086	86.400	0.108	108.000	0.103	102.600	0.10512	105.120
ค่าเฉลี่ย	0.105	105.037	0.103	103.068	0.106	105.948	0.091	91.440	0.093	93.154	0.098	98.064	0.101	101.124	0.099	99.468
ค่า SD	0.003		0.002		0.004		0.019		0.003		0.004		0.003		0.003	
% RSD	3.137		2.234		3.610		20.356		2.991		4.114		2.889		3.174	
Horrat	0.212		0.150		0.244		1.345		0.198		0.275		0.194		0.212	
Predicted Horwitz																
RSD	14.824		14.866		14.805		15.137		15.094		14.978		14.909		14.946	
เกณฑ์มาตรฐาน	<=2	70-120	<=2	70-120	<=2	70-120	<=2	70-120	<=2	70-120	<=2	70-120	<=2	70-110	<=2	70-120

ตารางที่ 19 แสดงผลการตรวจสอบ Accuracy และ Precision ของการทดสอบซ้ำ จำนวน 10 ซ้ำ ที่ความเข้มข้นระดับ = 1.00 mg/kg

ชื่อสาร	diazinon		pirimiphos-methyl		chlorpyrifos		parathion-methyl		malathion		profenofos		ethion		triazophos	
	spike 1.00 mg/kg		spike 1.00 mg/kg		spike 1.00 mg/kg		spike 1.00 mg/kg		spike 1.00 mg/kg		spike 1.00 mg/kg		spike 1.00 mg/kg		spike 1.00 mg/kg	
จำนวนซ้ำ	ความ	%	ความ	%	ความ	%	ความ	%	ความ	%	ความ	%	ความ	%	ความ	%
	เข้มข้นที่	recovery	เข้มข้นที่	recovery	เข้มข้นที่	recovery	เข้มข้นที่	recovery	เข้มข้นที่	recovery	เข้มข้นที่	recovery	เข้มข้นที่	recovery	ความเข้มข้นที่	% recovery
	วิเคราะห์ได้	(%)	วิเคราะห์ได้	(%)	วิเคราะห์ได้	(%)	วิเคราะห์ได้	(%)	วิเคราะห์ได้	(%)	วิเคราะห์ได้	(%)	วิเคราะห์ได้	(%)	วิเคราะห์ได้	(%)
	(mg/kg)		(mg/kg)		(mg/kg)		(mg/kg)		(mg/kg)		(mg/kg)		(mg/kg)		(mg/kg)	
1	1.115244	111.524	1.1088612	110.886	1.1135808	111.358	0.8274348	82.743	1.0051776	100.518	1.03509	103.509	1.0880352	108.804	1.0244664	102.447
2	1.049652	104.965	1.1120832	111.208	1.0842732	108.427	0.8138304	81.383	1.0076004	100.760	1.036134	103.613	1.0799028	107.990	1.0198656	101.987
3	1.0793628	107.936	1.0514988	105.150	1.0542708	105.427	0.8833428	88.334	1.0204164	102.042	1.051866	105.187	1.0956132	109.561	1.0349892	103.499
4	1.0569672	105.697	1.1139264	111.393	1.056618	105.662	0.8806932	88.069	1.0187784	101.878	1.069218	106.922	1.0832724	108.327	1.0151676	101.517
5	1.0817316	108.173	1.0646244	106.462	1.1047068	110.471	0.8167068	81.671	1.0264212	102.642	1.0876536	108.765	1.0924416	109.244	1.031958	103.196
6	1.1036448	110.364	1.0583172	105.832	1.1260872	112.609	0.8158176	81.582	1.0240272	102.403	1.0514376	105.144	1.1005524	110.055	1.0285092	102.851
7	1.0855764	108.558	1.0785816	107.858	1.174392	117.439	0.814392	81.439	1.0461852	104.619	1.059912	105.991	1.420668	142.067	1.0100412	101.004
8	1.0382796	103.828	1.048806	104.881	1.0365012	103.650	0.7908228	79.082	1.0082556	100.826	1.0457316	104.573	1.0403172	104.032	1.0171944	101.719
9	1.0411236	104.112	1.0429848	104.298	1.1867112	118.671	0.8793648	87.936	1.0453608	104.536	1.057338	105.734	1.0625004	106.250	1.0325808	103.258
10	1.0615788	106.158	1.0740024	107.400	1.108116	110.812	0.8497404	84.974	1.0314648	103.146	1.0563084	105.631	1.0930356	109.304	1.0296432	102.964
ค่าเฉลี่ย	1.071	107.132	1.075	107.537	1.105	110.453	0.837	83.721	1.023	102.337	1.055	105.507	1.116	111.563	1.024	102.444
ค่า SD	0.026		0.027		0.050		0.034		0.015		0.015		0.109		0.01	
% RSD	2.435		2.537		4.482		4.010		1.426		1.468		9.742		0.83	
Horrat	0.233		0.243		0.431		0.370		0.136		0.140		0.938		0.08	
Predicted Horwitz																
RSD	10.451		10.445		10.403		10.846		10.523		10.475		10.388		10.52	
เกณฑ์มาตรฐาน	<=2	70-120	<=2	70-120	<=2	70-120	<=2	70-120	<=2	70-120	<=2	70-120	<=2	70-110	<=2	70-120

ตารางที่ 20 แสดงผลการตรวจสอบ Accuracy และ Precision ของการทดสอบซ้ำ จำนวน 10 ซ้ำ ที่ความเข้มข้นระดับ = 2.00 mg/kg

ชื่อสาร	diazinon		pirimiphos-methyl		chlorpyrifos		parathion-methyl		malathion		profenofos		ethion		triazophos	
	spike 2.00 mg/kg		spike 2.00 mg/kg		spike 2.00 mg/kg		spike 2.00 mg/kg		spike 2.00 mg/kg		spike 2.00 mg/kg		spike 2.00 mg/kg		spike 2.00 mg/kg	
จำนวนซ้ำ	ความ	%	ความ	%	ความ	%	ความ	%	ความ	%	ความ	%	ความ	%	ความ	%
	เข้มข้นที่	recovery	เข้มข้นที่	recovery	เข้มข้นที่	recovery	เข้มข้นที่	recovery	เข้มข้นที่	recovery	เข้มข้นที่	recovery	เข้มข้นที่	recovery	เข้มข้นที่	recovery
	วิเคราะห์ได้	(%)	วิเคราะห์ได้	(%)	วิเคราะห์ได้	(%)	วิเคราะห์ได้	(%)	วิเคราะห์ได้	(%)	วิเคราะห์ได้	(%)	วิเคราะห์ได้	(%)	วิเคราะห์ได้	(%)
	(mg/kg)		(mg/kg)	(mg/kg)	(mg/kg)	(mg/kg)	(mg/kg)	(mg/kg)	(mg/kg)	(mg/kg)	(mg/kg)	(mg/kg)	(mg/kg)	(mg/kg)	(mg/kg)	(mg/kg)
1	2.088	104.400	2.0683116	103.416	2.1059604	105.298	1.5386976	76.935	1.8759888	93.799	2.010348	100.517	2.0981412	104.907	1.9319184	96.596
2	2.0999016	104.995	2.1010824	105.054	2.1129084	105.645	1.608102	80.405	1.9140984	95.705	1.9603656	98.018	2.0598984	102.995	1.8544788	92.724
3	2.151108	107.555	2.138364	106.918	1.3702572	68.513	1.6463988	82.320	1.9290204	96.451	1.9698192	98.491	2.0674944	103.375	1.852524	92.626
4	2.0985192	104.926	2.1510396	107.552	2.0920032	104.600	1.6690176	83.451	1.9202616	96.013	2.0126844	100.634	2.1562992	107.815	1.9332936	96.665
5	2.1194532	105.973	2.1123936	105.620	2.0347848	101.739	1.5369948	76.850	1.9062108	95.311	1.9321344	96.607	2.067192	103.360	1.8647496	93.237
6	2.0871396	104.357	2.1540276	107.701	2.0640492	103.202	1.6039332	80.197	1.8635328	93.177	1.9223712	96.119	2.058876	102.944	1.9059408	95.297
7	2.0313216	101.566	2.1136032	105.680	2.0385396	101.927	1.562526	78.126	1.8120708	90.604	1.9506312	97.532	2.0608848	103.044	1.902024	95.101
8	2.103642	105.182	2.1063492	105.317	2.0671164	103.356	1.5398856	76.994	1.93275	96.638	1.9597536	97.988	2.072376	103.619	1.8825516	94.128
9	2.1414744	107.074	2.1515868	107.579	2.056968	102.848	1.5896556	79.483	1.9278324	96.392	1.983438	99.172	2.0877552	104.388	1.8702108	93.511
10	2.1140532	105.703	2.14452	107.226	2.13975	106.988	1.68732	84.366	2.0029068	100.145	2.0173176	100.866	2.1090816	105.454	1.8870372	94.352
ค่าเฉลี่ย	2.103	105.173	2.124	106.206	2.008	100.412	1.598	79.913	1.908	95.423	1.972	98.594	2.084	104.190	1.888	94.424
ค่า SD	0.033		0.028		0.227		0.055		0.050		0.034		0.031		0.03	
% RSD	1.571		1.332		11.287		3.455		2.640		1.700		1.475		1.56	
Horrat	0.166		0.141		1.187		0.351		0.276		0.178		0.156		0.16	
Predicted Horwitz	9.442		9.428		9.508		9.840		9.581		9.534		9.455		9.60	

RSD

เกณฑ์มาตรฐาน	<=2	70-120	<=2	70-120	<=2	70-120	<=2	70-120	<=2	70-120	<=2	70-120	<=2	70-110	<=2	70-120
--------------	-----	--------	-----	--------	-----	--------	-----	--------	-----	--------	-----	--------	-----	--------	-----	--------

ตารางที่ 21 แสดงผลการตรวจสอบ Accuracy และ Precision ของการทดสอบซ้ำ จำนวน 10 ซ้ำ ที่ความเข้มข้นระดับ = 4.00 mg/kg

ชื่อสาร	diazinon		pirimiphos-methyl		chlorpyrifos		parathion-methyl		malathion		profenofos		ethion		triazophos		
	spike 4.00 mg/kg		spike 4.00 mg/kg		spike 4.00 mg/kg		spike 4.00 mg/kg		spike 4.00 mg/kg		spike 4.00 mg/kg		spike 4.00 mg/kg		spike 4.00 mg/kg		
จำนวนซ้ำ	ความ	%	ความ	%	ความ	%	ความ	%	ความ	%	ความ	%	ความ	%	ความ	%	
	เข้มข้นที่	recovery	เข้มข้นที่	recovery	เข้มข้นที่	recovery	เข้มข้นที่	recovery	เข้มข้นที่	recovery	เข้มข้นที่	recovery	เข้มข้นที่	recovery	เข้มข้นที่	recovery	
	วิเคราะห์ได้	(%)	วิเคราะห์ได้	(%)	วิเคราะห์ได้	(%)	วิเคราะห์ได้	(%)	วิเคราะห์ได้	(%)	วิเคราะห์ได้	(%)	วิเคราะห์ได้	(%)	วิเคราะห์ได้	(%)	
	(mg/kg)		(mg/kg)	(mg/kg)		(mg/kg)	(mg/kg)		(mg/kg)	(mg/kg)	(mg/kg)		(mg/kg)	(mg/kg)	(mg/kg)		(mg/kg)
1	4.26024	106.506	4.23108	105.777	4.28112	107.028	3.1932	79.830	3.77028	94.257	3.82068	95.517	4.10904	102.726	3.64968	91.242	
2	4.22352	105.588	4.20624	105.156	4.23432	105.858	3.06432	76.608	3.8448	96.120	3.79404	94.851	4.09716	102.429	3.66696	91.674	
3	4.31604	107.901	4.2912	107.280	4.26168	106.542	3.1536	78.840	3.8052	95.130	3.84336	96.084	4.09608	102.402	3.62268	90.567	
4	4.20624	105.156	4.24188	106.047	4.17852	104.463	3.34332	83.583	3.81996	95.499	3.82104	95.526	4.05468	101.367	3.67308	91.827	
5	4.30056	107.514	4.31316	107.829	4.28004	107.001	3.21912	80.478	3.87144	96.786	3.90888	97.722	4.15692	103.923	3.74436	93.609	
6	4.17888	104.472	4.26564	106.641	4.25196	106.299	3.2922	82.305	3.978	99.450	3.89592	97.398	4.1526	103.815	3.69828	92.457	
7	4.266	106.650	4.2876	107.190	4.23972	105.993	3.20796	80.199	3.96612	99.153	3.93552	98.388	4.15836	103.959	3.77712	94.428	
8	4.20084	105.021	4.2984	107.460	4.28364	107.091	3.18672	79.668	3.84624	96.156	3.78648	94.662	4.09248	102.312	3.74112	93.528	
9	4.30056	107.514	4.29012	107.253	4.14108	103.527	3.2274	80.685	3.94344	98.586	3.9636	99.090	4.17312	104.328	3.81996	95.499	
10	4.31244	107.811	4.25016	106.254	4.23828	105.957	3.1788	79.470	3.82536	95.634	3.97188	99.297	4.22064	105.516	3.80088	95.022	
ค่าเฉลี่ย	4.257	106.413	4.268	106.689	4.239	105.976	3.207	80.167	3.867	96.677	3.874	96.854	4.131	103.278	3.719	92.985	
ค่า SD	0.051		0.034		0.046		0.075		0.072		0.070		0.049		0.067		
% RSD	1.198		0.803		1.095		2.348		1.850		1.799		1.193		1.809		

Horrat	0.141		0.095		0.129		0.265		0.215		0.209		0.140		0.209	
Predicted Horwitz																
RSD	8.491		8.488		8.497		8.861		8.615		8.613		8.530		8.666	
เกณฑ์มาตรฐาน	<=2	70-120	<=2	70-120	<=2	70-120	<=2	70-120	<=2	70-120	<=2	70-120	<=2	70-110	<=2	70-120