

## รายงานผลงานเรื่องเต็มการทดลองที่สิ้นสุด

---

- 1. ชุดโครงการวิจัย** : วิจัยและพัฒนาระบบการตรวจวิเคราะห์ปัจจัยการผลิตทางการเกษตรตามมาตรฐานสากล  
Research and Development on Analytical System of Agricultural Inputs Following the International Standards
- 2. โครงการวิจัย** : วิจัยและพัฒนาระบบการตรวจวิเคราะห์สารพิษตกค้างของวัตถุอันตรายทางการเกษตร  
**กิจกรรม** : การตรวจสอบความใช้ได้ของวิธีวิเคราะห์ในผลิตภัณฑ์วัตถุอันตรายทางการเกษตร
- 3. ชื่อการทดลอง (ภาษาไทย)** : การตรวจสอบความใช้ได้ของวิธีวิเคราะห์สารออกฤทธิ์กลุ่มสารกำจัดแมลง : คลอร์ไพริฟอส (chlorpyrifos), ไซเพอร์เมทริน (cypermethrin), คาร์บาริล (carbaryl), คาร์โบซัลแฟน (carbosulfan) ในผลิตภัณฑ์สารป้องกันกำจัดศัตรูพืชของห้องปฏิบัติการพื้นที่ภาคกลาง  
**ชื่อการทดลอง (ภาษาอังกฤษ)** : Method Validation of Analytical Formulation : Chlorpyrifos, Cypermethrin, Carbaryl, and Carbosulfan in Pesticide Products of Office of Agricultural Research and Development Region 5
- 4. คณะผู้ดำเนินงาน**  
**หัวหน้าการทดลอง** : นางมณฑาทิพย์ อรุณวรการณ สำนักรวิจัยและพัฒนาการเกษตรเขตที่ 5  
**ผู้ร่วมงาน** : นางกัญญารัตน์ เต็มปิยะพล สำนักรวิจัยและพัฒนาการเกษตรเขตที่ 5  
นางสาวจิราภา เมืองคล้าย สำนักรวิจัยและพัฒนาการเกษตรเขตที่ 5
- 5. บทคัดย่อ**

การศึกษานี้มีวัตถุประสงค์เพื่อตรวจสอบความใช้ได้ของวิธีวิเคราะห์สารออกฤทธิ์ในผลิตภัณฑ์สารกำจัดแมลง chlorpyrifos, cypermethrin, carbaryl และ carbosulfan ให้เหมาะสมกับเครื่องมือในห้องปฏิบัติการ ซึ่งเป็นวิธีที่พัฒนาและดัดแปลงมาจากวิธีมาตรฐาน การตรวจสอบความใช้ได้ของวิธีวิเคราะห์สารออกฤทธิ์ chlorpyrifos และ cypermethrin ด้วยเทคนิค Gas Chromatography (GC) ภายใต้สภาวะที่เหมาะสม พบว่า ช่วงของการวัดและค่าความเป็นเส้นตรง (Working Range/linearity)

ช่วงความเข้มข้น 0.1 – 1.2 mg/ml มีค่าสัมประสิทธิ์สหสัมพันธ์ (Correlation coefficient, r) เท่ากับ 0.999 และ 0.998 ตามลำดับ ซึ่งผ่านเกณฑ์การยอมรับของ AOAC ( $r \geq 0.995$ ) การตรวจสอบความถูกต้อง (Accuracy) จาก %Recovery ได้ร้อยละ 99.45 และ 100.04 ตามลำดับ ซึ่งอยู่ในช่วงร้อยละ 98-102 ตามเกณฑ์พิจารณาของ AOAC การตรวจสอบความเที่ยง (Precision) แบบ Repeatability ได้ค่า HORRAT เท่ากับ 0.412 และ 1.067 ตามลำดับ และแบบ Within laboratory reproducibility ได้ค่า HORRAT เท่ากับ 0.55 และ 0.88 การตรวจสอบ Robustness ได้ค่า HORRAT เท่ากับ 0.548 และ 0.737 ตามลำดับ การตรวจสอบ Ruggedness ได้ค่า HORRAT เท่ากับ 0.447 และ 0.591 ตามลำดับ ซึ่งไม่เกิน 2 ตามเกณฑ์พิจารณาของ AOAC และวิธีนี้เป็นวิธีที่มีความจำเพาะเจาะจง (Specificity) ไม่มีการรบกวนของสารอื่น ทั้งนี้ในการประเมินค่าความไม่แน่นอน (Uncertainty) มีค่า  $\pm 0.39\%$  และ  $\pm 0.50\%$  ตามลำดับ ที่ระดับความเชื่อมั่น 95% สำหรับการตรวจสอบความใช้ได้ของวิธีวิเคราะห์สารออกฤทธิ์ carbaryl และ carbosulfan ด้วยเทคนิค High Performance Liquid Chromatography (HPLC) ภายใต้สภาวะที่เหมาะสม ผลการทดสอบ พบว่า ช่วงของการวัดและค่าความเป็นเส้นตรง (Working Range/linearity) ช่วงความเข้มข้น 0.01 – 0.12 mg/ml มีค่าสัมประสิทธิ์สหสัมพันธ์ (Correlation coefficient, r) เท่ากับ 0.999 ซึ่งผ่านเกณฑ์การยอมรับของ AOAC ( $r \geq 0.995$ ) การตรวจสอบความถูกต้อง (Accuracy) จาก %Recovery ได้ร้อยละ 99.80 และ 100.66 ตามลำดับ ซึ่งอยู่ในช่วงร้อยละ 98-102 ตามเกณฑ์พิจารณาของ AOAC การตรวจสอบความเที่ยง (Precision) แบบ Repeatability ได้ค่า HORRAT เท่ากับ 0.548 และ 0.494 ตามลำดับ และแบบ Within laboratory reproducibility ได้ค่า HORRAT เท่ากับ 0.991 และ 0.461 การตรวจสอบ Robustness ได้ค่า HORRAT เท่ากับ 0.832 และ 0.814 ตามลำดับ การตรวจสอบ Ruggedness ได้ค่า HORRAT เท่ากับ 0.946 และ 0.784 ตามลำดับ ซึ่งไม่เกิน 2 ตามเกณฑ์พิจารณาของ AOAC และวิธีนี้เป็นวิธีที่มีความจำเพาะเจาะจง (Specificity) ไม่มีการรบกวนของสารอื่น ทั้งนี้ในการประเมินค่าความไม่แน่นอน (Uncertainty) มีค่า  $\pm 1.35\%$  และ  $\pm 1.04\%$  ตามลำดับ ที่ระดับความเชื่อมั่น 95% จากผลการทดสอบดังกล่าว แสดงให้เห็นว่า คุณลักษณะเฉพาะของวิธีเป็นไปตามเกณฑ์การยอมรับ ดังนั้น วิธีที่พัฒนานี้จึงมีความเหมาะสมที่จะนำไปใช้ในการวิเคราะห์สารออกฤทธิ์ในผลิตภัณฑ์สารกำจัดแมลง chlorpyrifos, cypermethrin, carbaryl และ carbosulfan ได้อย่างถูกต้อง แม่นยำ และน่าเชื่อถือ

The objectives of this study were to validated of chlorpyrifos, cypermethrin, carbaryl and carbosulfan in pesticide products to appropriate with the instrument in laboratory which was developed and adapted from standard method. Method validate of chlorpyrifos and cypermethrin content within the appropriate condition by Gas Chromatography technique. The results were found that the concentration of working

range and linearity was 0.1 – 1.2 mg/ml with the correlation coefficient (r) were 0.999 and 0.998, respectively which had accepted with the limit of the correlation coefficient  $(r) \leq 0.995$ . The percent recovery of accuracy was 99.45% and 100.04%, respectively considered an acceptance by AOAC (98-102%). The precision of HORRAT average in repeatability were 0.412 and 1.067 and within laboratory reproducibility were 0.55 and 0.88, respectively. The robustness with HORRAT were 0.548 and 0.737, respectively. The ruggedness with HORRAT were 0.447 and 0.591, respectively which there less than 2 by AOAC and this method does not show interference from other substances that as the specificity. However, the measured uncertainty of method were  $\pm 0.39\%$  and  $\pm 0.50\%$ , respectively at the level of confidence 95%. For method validate of carbaryl and carbosulfan content within the appropriate condition by High Performance Liquid Chromatography technique. The results showed that the concentration of working range and linearity was 0.10 – 0.16 mg/ml with the correlation coefficient  $(r) = 0.999$  which had accepted with the limit of the correlation coefficient  $(r) \leq 0.995$ . The percent recovery of accuracy were 99.80% and 100.66%, respectively considered an acceptance by AOAC (98-102%). The precision of HORRAT average in repeatability were 0.548 and 0.494 and within laboratory reproducibility were 0.991 and 0.461, respectively. The robustness with HORRAT were 0.832 and 0.814, respectively. The ruggedness with HORRAT were 0.946 and 0.784, respectively which there less than 2 by AOAC and this method does not show interference from other substances that as the specificity. However, the measured uncertainty of method were  $\pm 1.35\%$  and  $\pm 1.04\%$ , respectively at the level of confidence 95%. The test results, all the parameters can be acceptant. Therefore, the method development could be used to determine of chlorpyrifos, cypermethrin, carbaryl and carbosulfan in pesticide products to get the accuracy precision and confidence.

## 6. คำนำ

สารกำจัดแมลง : คลอร์ไพริฟอส (chlorpyrifos), ไซเพอร์เมทริน (cypermethrin), คาร์บาริล (carbaryl), คาร์โบซัลแฟน (carbosulfan) เป็นสารที่เกษตรกรนำมาใช้กันอย่างแพร่หลาย และเป็นวัตถุอันตรายทางการเกษตรที่ต้องควบคุมตามพระราชบัญญัติวัตถุอันตราย พ.ศ. 2535 เพื่อให้การบังคับใช้

กฎหมายเป็นไปอย่างมีประสิทธิภาพและให้การใช้วัตถุอันตรายของเกษตรกรเป็นไปอย่างถูกต้องปลอดภัย ต่อตัวเกษตรกรผู้ใช้และผู้บริโภค การวิจัยเพื่อตรวจวิเคราะห์วัตถุอันตรายทางการเกษตรจึงเป็นสิ่งสำคัญ และจำเป็นที่ต้องดำเนินงานเพื่อเป็นข้อมูลสนับสนุนการขึ้นทะเบียนวัตถุอันตรายและการติดตามการใช้ วัตถุอันตรายตามที่กฎหมายกำหนด ทั้งนี้ เทคนิคการวิเคราะห์ที่ห้องปฏิบัติการไม่ว่าจะเป็นวิธีการหรือ เครื่องมือในห้องปฏิบัติการต้องได้รับการยอมรับในระดับสากล ถึงแม้ว่ากรมวิชาการเกษตรจะใช้วิธี วิเคราะห์ตามมาตรฐานเกณฑ์กำหนดคุณลักษณะขององค์การอาหารและการเกษตรแห่งสหประชาชาติ (Food and Agriculture Organization of the United Nations: FAO) ในผลิตภัณฑ์วัตถุอันตรายทาง การเกษตร อย่างไรก็ตามก็ต้องดำเนินการปรับปรุงเทคนิคการวิเคราะห์ที่ห้องปฏิบัติการ ปรับปรุงวิธีการ ที่เหมาะสมกับเครื่องมือในห้องปฏิบัติการ ให้ได้รับการรับรองมาตรฐานห้องปฏิบัติการ ISO/IEC17025: 2005 ซึ่งงานวิจัยการตรวจสอบความใช้ได้ของวิธี (Method Validation) หรือทวนสอบวิธี (Verified of Method) เป็นข้อกำหนดหนึ่งของการรับรองมาตรฐานห้องปฏิบัติการ การตรวจสอบความใช้ได้ของวิธี (Method Validation) เป็นกระบวนการศึกษาเพื่อยืนยันคุณลักษณะของวิธีวิเคราะห์ (Method Performance Characteristics) ดำเนินการประเมินด้วยวิธีทางสถิติที่เหมาะสมตามวัตถุประสงค์การใช้ งาน คุณลักษณะเฉพาะเหล่านี้ ได้แก่ ความจำเพาะเจาะจง (Specification/Selectivity) ความแม่นยำ (Accuracy) ความเที่ยง (Precision) พิสัย หรือช่วงของการวัด (Working range) ความเป็นเส้นตรง (Linearity) ขีดจำกัดของวิธีวิเคราะห์ในเชิงคุณภาพและเชิงปริมาณ (Limit of detection และ Limit of quantitation) และความคงทนของวิธี (Ruggedness/Robustness) รวมทั้งความไม่แน่นอนของการวัด (Measurement Uncertainty) การศึกษาคุณลักษณะเหล่านี้อาจไม่จำเป็นต้องทำทั้งหมด ทั้งนี้ขึ้นอยู่กับ วิธีวิเคราะห์และวัตถุประสงค์ของการใช้งาน (ทิพวรรณ, 2549) วิธีการตรวจสอบความใช้ได้ของวิธี สามารถทำให้ผลการตรวจวิเคราะห์มีความถูกต้อง น่าเชื่อถือได้ และเพื่อสนับสนุนการขอการรับรอง ห้องปฏิบัติการ รวมทั้งการขยายขอบข่ายวิธีทดสอบให้กับห้องปฏิบัติการให้มีศักยภาพเท่าเทียมในระดับ นานาชาติ สำนักวิจัยและพัฒนาการเกษตรเขตที่ 5 จึงจำเป็นต้องทำการตรวจสอบความใช้ได้ของวิธี วิเคราะห์สารออกฤทธิ์กลุ่มสารกำจัดแมลง : คลอร์ไพริฟอส (chlorpyrifos), ไซเพอร์เมทริน (cypermethrin), คาร์บาริล (carbaryl), คาร์โบซัลแฟน (carbosulfan) ในผลิตภัณฑ์สารป้องกันกำจัดศัตรูพืช เพื่อใช้ใน ห้องปฏิบัติการต่อไป

## 7. วิธีดำเนินการ

- อุปกรณ์
- ระบุอุปกรณ์ที่สำคัญ เช่น เครื่องมือ พันธุ์ สารเคมี ปุ๋ย ฯลฯ

1. เครื่องมือแก๊สโครมาโทกราฟี (Gas chromatograph: GC) มีตัวตรวจจับชนิดเฟรมไอออนในเซชัน (Flame Ionization Detector : FID) เครื่องมือไฮเพอร์ฟอร์แมนซ์ ลิกวิด โครมาโทกราฟี (High

performance liquid chromatograph : HPLC) มีตัวตรวจจับชนิด ไดโอดอาร์เรย์ (Diode array) หรือยูวี-วาริเอเบิล ดีเทคเตอร์ (UV-Variable Detector)

2. Column: capillary, HP-5 (3.0 m x 0.32 mm ID, 0.25 µm film thickness), capillary, HP-5 (30m x 0.32mm ID, 0.25 µm film thickness) ZORBAX Eclipse XDB-C18 (4.6 x 150 mm, 5 µm), ZORBAX Eclipse Plus C18 (4.6 x 75 mm, 1.8 µm), ZORBAX Eclipse Plus C8 (2.1 x 30 mm, 1.8 µm), ZORBAX Eclipse XDB - C8 (4.6 x 150 mm, 5 µm)

3. เครื่องชั่ง 4 ตำแหน่ง

4. Ultrasonic Bath

5. Autopipette

6. Vial ขนาด 2 ml

7. Volumetric Flask type A ขนาด 10, 25, 50, 100, 250, 500, 1,000 ml ที่สอบเทียบแล้ว

8. Beaker 100, 500 ml

- สารเคมี

1. สารมาตรฐาน Chlorpyrifos 99.5%, Cypermethrin 94.0%, Carbaryl 98.9%, และ Carbosulfan 98.0%

2. ตัวอย่างผลิตภัณฑ์ Chlorpyrifos 40%, Cypermethrin 35%, Carbaryl 85%, และ Carbosulfan 25%

3. Acetone AR

4. Acetonitrile HPLC grade

5. Methanol HPLC grade

6. Water HPLC grade

- วิธีการ

1. ทำการสอบเทียบเครื่องมือแก๊สโครมาโทกราฟี (Gas chromatograph: GC) มีตัวตรวจจับชนิดเฟรมไอออนไนเซชัน (Flame Ionization Detector : FID) เครื่องมือไฮเพอร์ฟอร์แมนซ์ ลิกวิดโครมาโทกราฟี (High performance liquid chromatograph : HPLC) มีตัวตรวจจับชนิด ไดโอดอาร์เรย์ (Diode array) หรือยูวี-วาริเอเบิล ดีเทคเตอร์ (UV-Variable Detector) และวัสดุอุปกรณ์ต่างๆที่ใช้ทดสอบการวิเคราะห์

2. ปรับตั้งภาวะเครื่องมือที่ต้องการใช้ทดสอบ ตามวิธีทดสอบที่ต้องการตรวจพิสูจน์ทราบ โดยฉีดสารละลายมาตรฐานเข้าเครื่องหลายๆซ้ำ ให้ได้ค่า %RSD แตกต่างไม่เกิน 1%

3. ทดสอบความจำเพาะเจาะจง (Specification/Selectivity) โดยการทดสอบการรบกวนของตัวทำละลายด้วยการฉีดตัวทำละลายในภาวะที่ใช้ทดสอบ

4. ทดสอบช่วงของการวัด (Working range) เตรียมสารละลายมาตรฐานให้มีความเข้มข้นครอบคลุมช่วงใช้งาน 6 ความเข้มข้นๆ ละอย่างน้อย 1-2 ซ้ำ นำสารละลายฉีดเข้าเครื่องมือ นำข้อมูลสร้างกราฟระหว่างความเข้มข้นกับค่า response หรือพื้นที่ใต้พีค (area) จากนั้นพิจารณาช่วงความเข้มข้นที่เป็นเส้นตรง

5. ทดสอบความเป็นเส้นตรง (Linearity) เลือกความเข้มข้นที่เป็นเส้นตรงจากช่วง working range ให้อยู่ในช่วงใกล้เคียงความเข้มข้นที่ใช้งานจริง โดยเตรียมสารละลายมาตรฐาน 6 ความเข้มข้นๆ ละอย่างน้อย 3 ซ้ำ นำสารละลายฉีดเข้าเครื่องมือ นำข้อมูลสร้างกราฟระหว่างความเข้มข้นกับค่า response หรือพื้นที่ใต้พีค (area) คำนวณค่า Correlation coefficient ( $r$ )  $\geq 0.995$

6. ทดสอบความแม่นยำ (Accuracy)

6.1 สร้างกราฟสารละลายมาตรฐานที่อย่างน้อย 3 ระดับความเข้มข้น จาก stock ของสารละลายมาตรฐาน

6.2 เตรียมสารละลาย original sample ของผลิตภัณฑ์ อย่างน้อย 10 ซ้ำ

6.3 เตรียม fortified sample ที่ 3 ระดับความเข้มข้น ต่ำ กลาง สูง ความเข้มข้นละอย่างน้อย 10 ซ้ำ

6.4 ประเมินค่า accuracy จาก % recovery เกณฑ์ยอมรับตาม AOAC

7. ทดสอบความเที่ยง (Precision)

7.1 สร้างกราฟสารละลายมาตรฐานที่อย่างน้อย 3 ระดับความเข้มข้น จาก stock ของสารละลายมาตรฐาน

7.2 เตรียมสารละลายตัวอย่างผลิตภัณฑ์ ที่ 3 ระดับความเข้มข้น ต่ำ กลาง สูง ความเข้มข้นๆ ละ อย่างน้อย 10 ซ้ำ

7.3 ประเมินค่า precision โดยใช้ค่า HORRAT เกณฑ์ยอมรับ AOAC;  $\text{HORRAT} \leq 2$

8. ทดสอบความคงทนของวิธี (Robustness/Ruggedness) โดยดำเนินการทดลองเช่นเดียวกับ precision แต่เปลี่ยนภาวะในการทดสอบบางประการ ประเมินผลโดยใช้ค่า HORRAT เกณฑ์ยอมรับ AOAC;  $\text{HORRAT} \leq 2$

9. การหาค่าความไม่แน่นอนของการวัด (Measurement Uncertainty) รายงานค่าความไม่แน่นอน (Reporting uncertainty) โดยรายงานความไม่แน่นอนในรูปของความไม่แน่นอนขยาย ที่ระดับความเชื่อมั่น 95%

- เวลาและสถานที่

- ระยะเวลาทำการวิจัย ตุลาคม 2559 - กันยายน 2560 และสถานที่ทำการทดลองห้องปฏิบัติการกลุ่มพัฒนาการตรวจสอบพืชและปัจจัยการผลิต สำนักวิจัยและพัฒนาการเกษตรเขตที่ 5 (สวพ.5) กรมวิชาการเกษตร

## 8. ผลการทดลองและวิจารณ์

1. การสอบเทียบ

ได้สอบเทียบเครื่องมือแก๊สโครมาโทกราฟี (Gas chromatograph: GC) มีตัวตรวจจับชนิดเฟรมไอออนไนเซชัน (Flame Ionization Detector : FID) เครื่องมือไฮเพอร์ฟอร์แมนซ์ ลิวิด โครมาโทกราฟี (High

performance liquid chromatograph : HPLC) มีตัวตรวจจับชนิด ไดโอดอาร์เรย์ (Diode array) หรือยูวี-วาริเอเบิล ดีเทคเตอร์ (UV-Variable Detector) และวัสดุอุปกรณ์ต่างๆที่ใช้ทดสอบการวิเคราะห์

## 2. การตรวจสอบหาสถานะที่เหมาะสมของเครื่อง GC

การหาปริมาณที่แน่นอนของสารคลอร์ไพริฟอส (chlorpyrifos) สถานะที่เหมาะสมของเครื่อง GC ดังนี้

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

Gas flow rate : Helium (carrier gas) 1.5 ml/min, Hydrogen 30 ml/min, Air 300 ml/min

Split injection : Split ratio 50:1, Split flow 75 ml/min, Injection volume: 1 µl

Temperature : Oven 240 °C, Inlet 260 °C, Detector 260 °C

Detector : Flame Ionization Detector

การหาปริมาณที่แน่นอนของสารไซเพอร์เมทริน (cypermethrin) สถานะที่เหมาะสมของเครื่อง GC ดังนี้

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

Gas flow rate : Helium (carrier gas) 2 ml/min, Hydrogen 30 ml/min, Air 300 ml/min

Split injection : Split ratio 50:1, Split flow 100 ml/min, Injection volume: 1 µl

Temperature : Oven 240 °C, Inlet 270 °C, Detector 270 °C

Detector : Flame Ionization Detector

การหาปริมาณที่แน่นอนของสารคาร์บาริล (carbaryl) สถานะที่เหมาะสมของเครื่อง HPLC ดังนี้

Column : ZORBAX Eclipse XDB-C18 (4.6 x 150 mm, 5 µm)

Mobile phase : Water : Acetonitrile (45:55)

Flow rate : 1.5 ml/min

Column Temperature : 28°C

Wavelength : 254 nm

Injection volume : 5 µl

Detector : DAD

การหาปริมาณที่แน่นอนของสารคาร์โบซัลแฟน (carbosulfan) สถานะที่เหมาะสมของเครื่อง HPLC ดังนี้

Column : ZORBAX Eclipse Plus C8 (2.1 x 30 mm, 1.8 µm)

Mobile phase : Water : Methanol (75:25)

Flow rate : 0.5 ml/min

Column Temperature : 28°C

Wavelength : 254 nm

Injection volume : 5 µl

Detector : DAD

### 3. ทดสอบความจำเพาะเจาะจง (Specification/Selectivity)

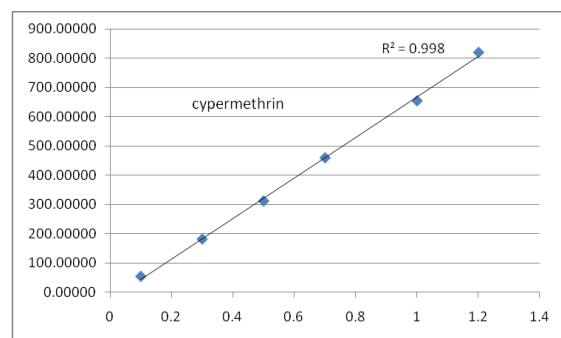
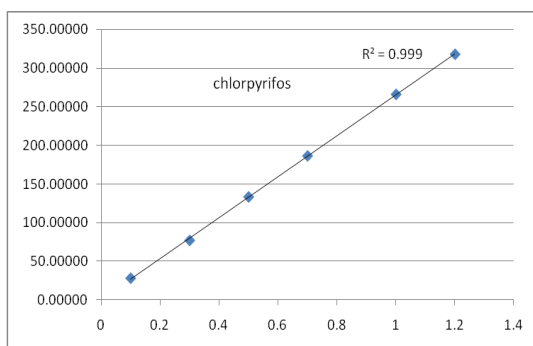
ผลการทดลองพบว่า Chromatogram ของ chlorpyrifos, cypermethrin, carbaryl, และ carbosulfan ไม่มีสัญญาณ peak รบกวน แสดงว่ามี specification/ selectivity ที่ดี

### 4. การตรวจสอบช่วงของการวัด (Working range)

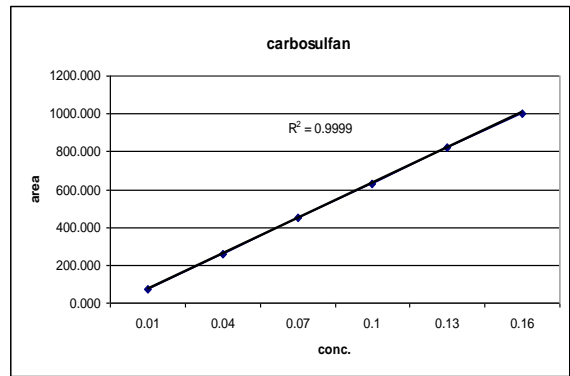
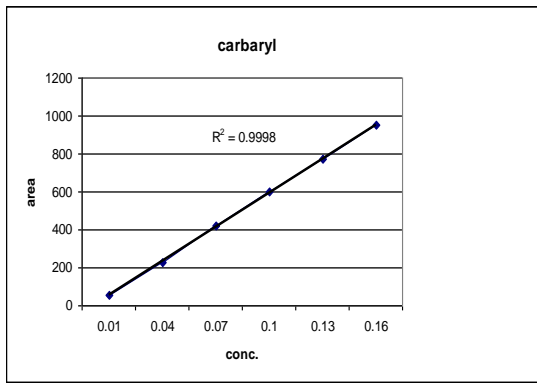
เกณฑ์ยอมรับมาตรฐาน AOAC ค่า correlation coefficient ( $r$ )  $\geq 0.995$

วิธีวิเคราะห์ chlorpyrifos และ cypermethrin ทำการเตรียมสารละลายมาตรฐานให้มีความเข้มข้นครอบคลุมช่วงใช้งาน 6 ความเข้มข้นๆ ละอย่างน้อย 1 ซีซี ครอบคลุมช่วงที่ใช้งาน ได้แก่ 0.01 0.03 0.05 0.07 1.0 และ 1.2 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร นำสารละลายฉีดเข้าเครื่องมือ นำข้อมูลสร้างกราฟระหว่างความเข้มข้นกับค่า response หรือพื้นที่ใต้พีค (area) จากนั้นพิจารณาช่วงความเข้มข้นที่เป็นเส้นตรง พบว่า วิธีวิเคราะห์ chlorpyrifos และ cypermethrin มีช่วงความเป็นเส้นตรงครอบคลุมความเข้มข้น 0.1-1.2 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร มีค่า correlation coefficient ( $r$ ) เท่ากับ 0.999 และ 0.998 ตามลำดับ

วิธีวิเคราะห์ carbaryl และ carbosulfan ทำการเตรียมสารละลายมาตรฐานให้มีความเข้มข้นครอบคลุมช่วงใช้งาน 6 ความเข้มข้นๆ ละ 1 ซีซี ครอบคลุมช่วงที่ใช้งาน ได้แก่ 0.01 0.04 0.07 0.10 0.13 และ 0.16 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร นำสารละลายฉีดเข้าเครื่องมือ นำข้อมูลสร้างกราฟระหว่างความเข้มข้นกับค่า response หรือพื้นที่ใต้พีค (area) จากนั้นพิจารณาช่วงความเข้มข้นที่เป็นเส้นตรง พบว่า วิธีวิเคราะห์ carbaryl และ carbosulfan มีช่วงความเป็นเส้นตรงครอบคลุมความเข้มข้น 0.01-0.16 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร มีค่า correlation coefficient ( $r$ ) เท่ากับ 0.999 เท่ากัน





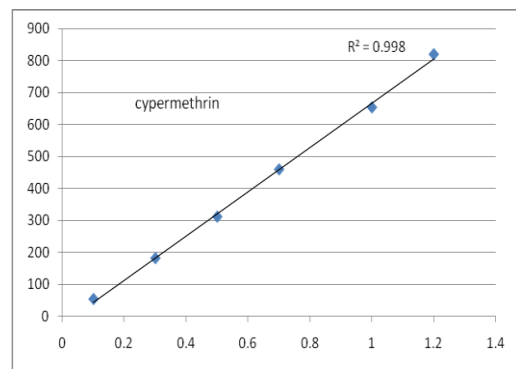
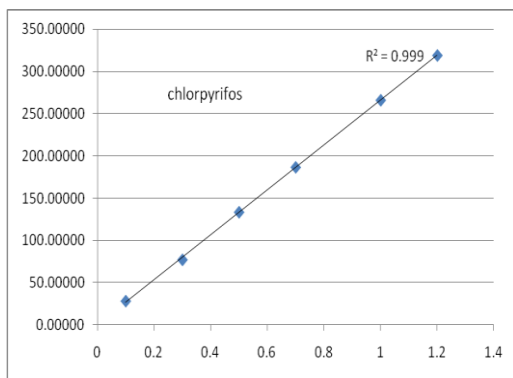


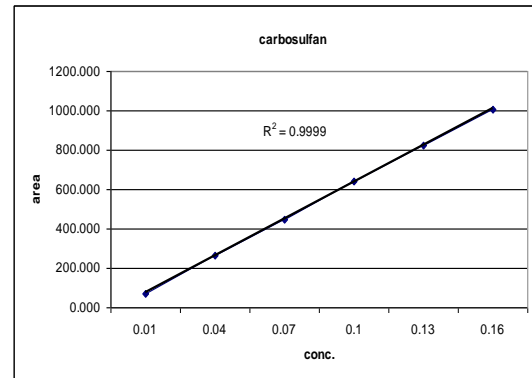
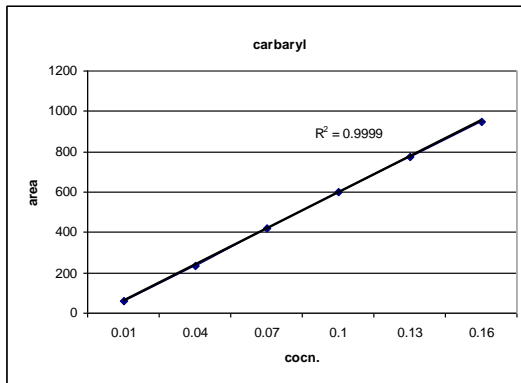
### 5. การตรวจสอบความเป็นเส้นตรง (Linearity)

เกณฑ์ยอมรับมาตรฐาน AOAC ค่า correlation coefficient ( $r$ )  $\geq 0.995$

วิธีวิเคราะห์ chlorpyrifos และ cypermethrin ทำการเลือกความเข้มข้นที่เป็นเส้นตรงจากช่วง working range ให้อยู่ในช่วงใกล้เคียงความเข้มข้นที่ใช้งานจริง โดยเตรียมสารละลายมาตรฐาน 6 ความเข้มข้นๆ ละ 3 ซ้ำ ครอบคลุมช่วงที่ใช้งาน ได้แก่ 0.1 0.3 0.5 0.7 1.0 และ 1.2 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร นำสารละลายฉีดเข้าเครื่องมือ นำข้อมูลสร้างกราฟระหว่างความเข้มข้นกับค่า response หรือพื้นที่ใต้พีค (area) พบว่า วิธีวิเคราะห์ chlorpyrifos และ cypermethrin มีช่วงความเป็นเส้นตรงครอบคลุมความเข้มข้น 0.1-1.2 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร มี ค่า correlation coefficient ( $r$ ) เท่ากับ 0.999 และ 0.998 ตามลำดับ

วิธีวิเคราะห์ carbaryl และ carbosulfan ทำการเตรียมสารละลายมาตรฐานให้มีความเข้มข้นครอบคลุมช่วงใช้งาน 6 ความเข้มข้นๆ ละ 3 ซ้ำ ครอบคลุมช่วงที่ใช้งาน ได้แก่ 0.01 0.04 0.07 0.10 0.13 และ 0.16 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร นำสารละลายฉีดเข้าเครื่องมือ นำข้อมูลสร้างกราฟระหว่างความเข้มข้นกับค่า response หรือพื้นที่ใต้พีค (area) จากนั้นพิจารณาช่วงความเข้มข้นที่เป็นเส้นตรง พบว่า วิธีวิเคราะห์ carbaryl และ carbosulfan มีช่วงความเป็นเส้นตรงครอบคลุมความเข้มข้น 0.01-0.16 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร มีค่า correlation coefficient ( $r$ ) เท่ากับ 0.999 เท่ากัน





## 6. การตรวจสอบความเที่ยง (Precision)

การตรวจสอบความเที่ยง (Precision) แบบ Repeatability และ Reproducibility ประเมินค่า precision โดยใช้ค่า HORRAT เกณฑ์ยอมรับมาตรฐาน AOAC; HORRAT  $\leq$  2

วิธีวิเคราะห์ chlorpyrifos และ cypermethrin โดยเตรียมสารละลายตัวอย่างผลิตภัณฑ์ ที่ 3 ระดับความเข้มข้น 0.3 0.5 และ 0.7 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร ความเข้มข้นๆ ละ 10 ซ้ำ จากการทดลองหา precision แบบ repeatability ได้ค่า HORRAT = 0.412 และ 1.067 ตามลำดับ ส่วน reproducibility ได้ค่า HORRAT = 0.55 และ 0.88 ตามลำดับ

วิธีวิเคราะห์ carbaryl และ carbosulfan โดยเตรียมสารละลายตัวอย่างผลิตภัณฑ์ ที่ 3 ระดับความเข้มข้น 0.05 0.10 และ 0.15 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร ความเข้มข้นๆ ละ 10 ซ้ำ จากการทดลองหา precision แบบ repeatability ได้ค่า HORRAT = 0.548 และ 0.494 ตามลำดับ ส่วน reproducibility ได้ค่า HORRAT = 0.991 และ 0.461 ตามลำดับ

ตารางที่ 1 การตรวจสอบ Precision แบบ Repeatability ของ chlorpyrifos ที่ 3 ระดับความเข้มข้น

ลำดับ	ความเข้มข้น 0.3 mg/ml		ความเข้มข้น 0.5 mg/ml		ความเข้มข้น 0.7 mg/ml	
	นน.ตัวอย่าง (mg)	%ที่ตรวจพบ (w/v)	นน.ตัวอย่าง (mg)	%ที่ตรวจพบ (w/v)	นน.ตัวอย่าง (mg)	%ที่ตรวจพบ (w/v)
1	17.4	38.713	30.0	38.937	42.3	39.015
2	17.5	38.845	31.2	39.132	42.4	38.857
3	18.0	38.667	31.5	39.112	42.7	38.966
4	18.0	38.770	31.7	39.026	43.0	38.728
5	18.5	38.741	31.8	39.128	43.2	39.091
6	18.7	39.394	31.8	39.209	44.5	39.159
7	18.7	38.559	32.1	38.906	45.0	39.026
8	18.9	38.286	32.6	39.030	45.3	38.969
9	19.1	38.790	32.8	38.949	46.1	38.416
10	19.8	38.593	32.9	38.603	46.3	38.789
Mean	-	38.736	-	39.003	-	38.902
SD		0.281		0.171		0.216
%RSDexp		0.724		0.440		0.555
Horwitz		1.515		1.515		1.515
HORRAT		0.478		0.290		0.366

การตรวจสอบ precision ที่อยู่ในรูปของ repeatability คือ การตรวจสอบความใกล้เคียงกันระหว่างข้อมูลที่วิเคราะห์ซ้ำซึ่งแสดงผลในรูปของ % RSD จากข้อมูลทั้งหมดของการทดลองได้ค่าดังนี้

$$\text{Mean} = 38.880, \quad \text{SD} = 0.246 \quad \% \text{RSD (experimental)} = \frac{\text{SD} \times 100}{\text{Mean}} = 0.633$$

การประเมินค่า precision โดยใช้ HORRAT; 
$$\text{HORRAT} = \frac{\% \text{RSD}_{\text{experimental}}}{\text{Predicted Horwitz RSD}}$$

คำนวณ Predicted Horwitz RSD ตามสูตร

$$\begin{aligned} \text{Predicted Horwitz RSD} &= 0.66 \times 2^{(1-0.51 \log c)} \quad \text{เมื่อ } C \text{ (Concentration ration) ได้ค่า} = 0.389 \\ &= 0.66 \times 2^{(1-0.51 \log 0.389)} \\ &= 1.522 \\ \text{HORRAT} &= \frac{0.633}{1.522} \\ &= 0.412 \end{aligned}$$

จากการทดลองหา precision ที่อยู่ในรูปของ repeatability ได้ค่า HORRAT = 0.412

ตารางที่ 2 การตรวจสอบ Precision แบบ Reproducibility ของ chlorpyrifos ที่ 3 ระดับความเข้มข้น

ลำดับ	ความเข้มข้น 0.3 mg/ml		ความเข้มข้น 0.5 mg/ml		ความเข้มข้น 0.7 mg/ml	
	นน.ตัวอย่าง (mg)	%ที่ตรวจพบ (w/v)	นน.ตัวอย่าง (mg)	%ที่ตรวจพบ (w/v)	นน.ตัวอย่าง (mg)	%ที่ตรวจพบ (w/v)
1	18.4	38.996	29.9	39.251	41.3	38.811
2	18.4	39.035	30.2	38.839	42.2	39.040
3	18.5	39.032	30.2	39.065	42.4	38.619
4	18.6	38.503	30.6	39.448	42.4	39.328
5	18.9	39.432	30.7	39.304	42.6	38.888
6	19.0	38.411	30.8	38.577	42.7	39.104
7	19.3	38.413	31.5	38.829	42.8	39.392
8	19.3	39.482	31.6	39.424	42.9	38.934
9	19.4	39.025	31.7	38.932	43.0	39.063
10	20.8	38.405	32.2	38.954	43.9	38.622
Mean	-	38.873	-	39.062	-	38.980
SD		0.416		0.287		0.261
%RSDexp		1.069		0.735		0.670
Horwitz		1.515		1.515		1.515
HORRAT		0.706		0.485		0.442

การตรวจสอบ precision ที่อยู่ในรูปของ reproducibility คือ การตรวจสอบความใกล้เคียงกันระหว่างข้อมูลที่วิเคราะห์ซ้ำซึ่งแสดงผลในรูปของ % RSD จากข้อมูลทั้งหมดของการทดลองซ้ำด้วยวิธีการเดิม หลังจากการทดลองครั้งแรก 4 วัน ได้ค่าดังนี้

$$\text{Mean} = 38.972, \quad \text{SD} = 0.326 \quad \% \text{RSD (experimental)} = \frac{\text{SD} \times 100}{\text{Mean}} = 0.836$$

การประเมินค่า precision โดยใช้ HORRAT;  $\text{HORRAT} = \frac{\% \text{RSD}_{\text{experimental}}}{\text{Predicted Horwitz RSD}}$

คำนวณ Predicted Horwitz RSD ตามสูตร

$$\begin{aligned} \text{Predicted Horwitz RSD} &= 0.66 \times 2^{(1-0.5 \log c)} \quad \text{เมื่อ } C \text{ (Concentration ration) ได้ค่า} = 0.39 \\ &= 0.66 \times 2^{(1-0.5 \log 0.39)} \\ &= 1.521 \end{aligned}$$

$$\begin{aligned} \text{HORRAT} &= \frac{0.836}{1.521} \\ &= 0.55 \end{aligned}$$

จากการทดลองหา precision ที่อยู่ในรูปของ repeatability ได้ค่า HORRAT = 0.55

**ตารางที่ 3** ผลการตรวจสอบ Precision แบบ Repeatability ของ cypermethrin ที่ 3 ระดับความเข้มข้น

ลำดับ	ความเข้มข้น 0.3 mg/ml		ความเข้มข้น 0.5 mg/ml		ความเข้มข้น 0.7 mg/ml	
	นน.ตัวอย่าง (mg)	% ที่ตรวจพบ (w/v)	นน.ตัวอย่าง (mg)	% ที่ตรวจพบ (w/v)	นน.ตัวอย่าง (mg)	% ที่ตรวจพบ (w/v)
1	21.8	34.850	36.0	35.956	49.4	36.080
2	22.2	35.023	36.9	36.211	49.1	36.281
3	21.7	35.084	36.5	36.220	50.1	36.460
4	20.6	35.186	38.6	36.383	49.2	36.567
5	23.2	35.263	37.1	36.433	49.7	36.569
6	21.7	35.627	38.9	36.464	49.5	36.684
7	20.2	35.941	39.3	36.474	51.8	36.695
8	19.9	36.323	38.4	36.486	49.3	36.891
9	21.4	36.710	37.8	36.503	53.0	36.897
10	21.5	36.739	36.7	36.537	50.3	36.942
Mean	-	35.675	-	36.367	-	36.606
SD		0.712		0.183		0.279
%RSDexp		1.996		0.504		0.761
Horwitz		1.545		1.545		1.545
HORRAT		1.291		0.326		0.492

การตรวจสอบ precision ที่อยู่ในรูปของ repeatability คือ การตรวจสอบความใกล้เคียงกันระหว่างข้อมูลที่วิเคราะห์ซ้ำซึ่งแสดงผลในรูปของ % RSD จากข้อมูลทั้งหมดของการทดลองได้ค่าดังนี้

$$\text{Mean} = 36.216, \quad \text{SD} = 0.594 \quad \% \text{RSD (experimental)} = \frac{\text{SD} \times 100}{\text{Mean}} = 1.641$$

การประเมินค่า precision โดยใช้ HORRAT; 
$$\text{HORRAT} = \frac{\% \text{RSD}_{\text{experimental}}}{\text{Predicted Horwitz RSD}}$$

คำนวณ Predicted Horwitz RSD ตามสูตร

$$\begin{aligned} \text{Predicted Horwitz RSD} &= 0.66 \times 2^{(1-0.5 \log c)} \quad \text{เมื่อ } C \text{ (Concentration ration) ได้ค่า} = 0.362 \\ &= 0.66 \times 2^{(1-0.5 \log 0.362)} \\ &= 1.538 \\ \text{HORRAT} &= \frac{1.641}{1.538} \\ &= 1.067 \end{aligned}$$

จากการทดลองหา precision ที่อยู่ในรูปของ repeatability ได้ค่า HORRAT = 1.067

**ตารางที่ 4** การตรวจสอบ Precision แบบ Reproducibility ของ cypermethrin ที่ 3 ระดับความเข้มข้น

ลำดับ	ความเข้มข้น 0.3 mg/ml		ความเข้มข้น 0.5 mg/ml		ความเข้มข้น 0.7 mg/ml	
	นน.ตัวอย่าง (mg)	% ที่ตรวจพบ (w/v)	นน.ตัวอย่าง (mg)	% ที่ตรวจพบ (w/v)	นน.ตัวอย่าง (mg)	% ที่ตรวจพบ (w/v)
1	20.8	36.259	36.1	37.440	48.9	36.770
2	21.3	36.327	36.2	37.194	49.4	36.098
3	21.5	36.769	36.4	37.553	49.5	37.711
4	21.8	35.923	36.7	36.565	50.0	37.553
5	21.9	35.890	37.4	37.526	51.0	37.177
6	22.3	36.679	37.6	36.726	51.1	36.641
7	22.4	36.715	38.1	36.967	51.1	37.042
8	22.5	36.604	38.2	36.467	51.1	37.080
9	24.3	36.846	39.1	36.973	51.8	36.721
10	24.4	36.064	39.8	36.505	52.2	37.325
Mean	-	36.408	-	36.992	-	37.012
SD		0.362		0.423		0.475
%RSDexp		0.994		1.143		1.283
Horwitz		1.545		1.545		1.545
HORRAT		0.643		0.739		0.830

การตรวจสอบ precision ที่อยู่ในรูปของ reproducibility คือ การตรวจสอบความใกล้เคียงกันระหว่างข้อมูลที่วิเคราะห์ซ้ำซึ่งแสดงผลในรูปของ % RSD จากข้อมูลทั้งหมดของการทดลองซ้ำด้วยวิธีการเดิม หลังจากการทดลองครั้งแรก 4 วัน ได้ค่าดังนี้

$$\text{Mean} = 36.804, \quad \text{SD} = 0.497 \quad \% \text{RSD (experimental)} = \frac{\text{SD} \times 100}{\text{Mean}} = 1.350$$

การประเมินค่า precision โดยใช้ HORRAT;  $\text{HORRAT} = \frac{\% \text{RSD}_{\text{experimental}}}{\text{Predicted Horwitz RSD}}$

คำนวณ Predicted Horwitz RSD ตามสูตร

$$\begin{aligned} \text{Predicted Horwitz RSD} &= 0.66 \times 2^{(1-0.51 \log c)} \quad \text{เมื่อ } C \text{ (Concentration ration) ได้ค่า} = 0.368 \\ &= 0.66 \times 2^{(1-0.51 \log 0.368)} \\ &= 1.534 \end{aligned}$$

$$\begin{aligned} \text{HORRAT} &= \frac{1.350}{1.534} \\ &= 0.880 \end{aligned}$$

จากการทดลองหา precision ที่อยู่ในรูปของ repeatability ได้ค่า HORRAT = 0.880

ตารางที่ 5 การตรวจสอบ Precision แบบ Repeatability ของ carbaryl ที่ 3 ระดับความเข้มข้น

replication	Conc.(0.05 mg/ml)		Conc.(0.10 mg/ml)		Conc.(0.15 mg/ml)	
	weight	result (%)	weight	result (%)	weight	result (%)
1	5.3	85.554270	11.7	85.408980	17.2	85.593394
2	5.4	85.776884	11.8	85.932073	17.2	86.126250
3	5.4	85.957046	11.8	85.425773	17.4	84.462695
4	5.8	84.716102	11.8	84.619606	17.4	84.800083
5	5.9	84.923569	11.8	84.410011	17.6	86.061317
6	5.9	86.347780	11.9	85.244169	17.6	86.189482
7	6.3	84.583346	11.9	85.674600	17.7	85.852741
8	6.3	84.682069	12.1	84.671981	17.7	85.369184
9	6.5	85.876802	12.2	85.596597	17.7	84.970705
10	6.7	85.768728	12.6	86.475419	18.0	84.378899
mean		85.419		85.346		85.380
SD		0.633		0.638		0.691
%RSDexp		0.742		0.748		0.809
Horwitz		1.35173		1.35197		1.35173
HORRAT		0.549		0.553		0.598

การตรวจสอบ precision ที่อยู่ในรูปของ repeatability คือ การตรวจสอบความใกล้เคียงกันระหว่างข้อมูลที่วิเคราะห์ซ้ำซึ่งแสดงผลในรูปของ % RSD จากข้อมูลทั้งหมดของการทดลองได้ค่าดังนี้

$$\text{Mean} = 85.382, \quad \text{SD} = 0.632 \quad \% \text{RSD (experimental)} = \frac{\text{SD} \times 100}{\text{Mean}} = 0.741$$

การประเมินค่า precision โดยใช้ HORRAT; 
$$\text{HORRAT} = \frac{\% \text{RSD}_{\text{experimental}}}{\text{Predicted Horwitz RSD}}$$

คำนวณ Predicted Horwitz RSD ตามสูตร

$$\text{Predicted Horwitz RSD} = 0.66 \times 2^{(1-0.5 \log C)} \quad \text{เมื่อ } C \text{ (Concentration ration) ได้ค่า} = 0.854$$

$$= 1.352$$

$$\text{HORRAT} = 0.548$$

จากการทดลองหา precision ที่อยู่ในรูปของ repeatability ได้ค่า HORRAT = 0.548



ตารางที่ 6 การตรวจสอบ Precision แบบ Reproducibility ของ carbaryl ที่ 3 ระดับความเข้มข้น

replication	Conc.(0.05 mg/ml)		Conc.(0.10 mg/ml)		Conc.(0.15 mg/ml)	
	weight	result (%)	weight	result (%)	weight	result (%)
1	4.7	83.752365	10.8	83.769124	17.1	82.3150
2	4.9	83.149638	10.9	82.144591	17.2	83.5640
3	4.9	83.654538	11	83.503601	17.5	83.9665
4	5.0	83.846663	11	83.823503	17.7	83.5468
5	5.3	83.501207	11.1	84.796573	18.0	84.3893
6	5.8	83.106561	11.3	83.034511	18.1	86.5501
7	6.2	84.664017	11.6	85.796638	18.1	84.9972
8	6.2	85.987368	12	83.937659	18.2	85.3332
9	6.6	84.238128	12.6	84.078515	18.7	86.4297
10	7.0	83.921981	12.9	85.484609	18.3	85.7193
mean		83.982		84.037		84.681
SD		0.845		1.094		1.370
%RSDexp		1.006		1.302		1.617
Horwitz		1.355		1.355		1.353
HORRAT		0.742		0.961		1.195

การตรวจสอบ precision ที่อยู่ในรูปของ reproducibility คือ การตรวจสอบความใกล้เคียงกันระหว่างข้อมูลที่วิเคราะห์ซ้ำซึ่งแสดงผลในรูปของ % RSD จากข้อมูลทั้งหมดของการทดลองซ้ำด้วยวิธีการเดิม หลังจากการทดลองครั้งแรก 20 วัน ได้ค่าดังนี้

$$\text{Mean} = 84.233, \quad \text{SD} = 1.131 \quad \% \text{RSD (experimental)} = \frac{\text{SD} \times 100}{\text{Mean}} = 1.343$$

การประเมินค่า precision โดยใช้ HORRAT; 
$$\text{HORRAT} = \frac{\% \text{RSD}_{\text{experimental}}}{\text{Predicted Horwitz RSD}}$$

คำนวณ Predicted Horwitz RSD ตามสูตร

$$\text{Predicted Horwitz RSD} = 0.66 \times 2^{(1-0.51 \log C)} \quad \text{เมื่อ } C \text{ (Concentration ration) ได้ค่า} = 0.842$$

$$= 1.355$$

$$\text{HORRAT} = 0.991$$

จากการทดลองหา precision ที่อยู่ในรูปของ reproducibility ได้ค่า HORRAT = 0.991

ตารางที่ 7 ผลการตรวจสอบ Precision แบบ Repeatability ของ carbosulfan ที่ 3 ระดับความเข้มข้น

replication	Conc.(0.05 mg/ml)		Conc.(0.10 mg/ml)		Conc.(0.15 mg/ml)	
	weight	result (%)	weight	result (%)	weight	result (%)
1	24.9	23.074014	48.5	23.466437	73.6	23.714952
2	24.9	23.156860	48.7	23.437416	74.1	23.529076
3	25.0	23.431704	48.8	23.389662	74.2	23.491230
4	25.3	23.097528	49.0	23.382460	74.5	23.411120
5	25.8	23.291325	49.1	23.399494	74.7	23.542636
6	26.2	23.195754	49.3	23.364179	75.0	23.503923
7	26.2	23.309252	49.6	23.495581	75.1	23.425733
8	26.3	23.031151	49.6	23.382768	75.1	23.634507
9	26.6	23.090118	50.6	23.489670	75.2	23.490965
10	27.0	23.854915	51.9	23.587070	75.3	23.491042
mean		23.253		23.439		23.524
SD		0.246		0.070		0.091
%RSD		1.057		0.300		0.388
Horwitz		1.644		1.642		1.641
HORRAT		0.642		0.182		0.236

การตรวจสอบ precision ที่อยู่ในรูปของ repeatability คือ การตรวจสอบความใกล้เคียงกันระหว่างข้อมูลที่วิเคราะห์ซ้ำซึ่งแสดงผลในรูปของ % RSD จากข้อมูลทั้งหมดของการทดลองได้ค่าดังนี้

$$\text{Mean} = 23.405, \quad \text{SD} = 0.190 \quad \% \text{RSD (experimental)} = \frac{\text{SD} \times 100}{\text{Mean}} = 0.811$$

การประเมินค่า precision โดยใช้ HORRAT; 
$$\text{HORRAT} = \frac{\% \text{RSD}_{\text{experimental}}}{\text{Predicted Horwitz RSD}}$$

คำนวณ Predicted Horwitz RSD ตามสูตร

$$\begin{aligned} \text{Predicted Horwitz RSD} &= 0.66 \times 2^{(1-0.51 \log C)} \quad \text{เมื่อ } C \text{ (Concentration ratio) ได้ค่า} = 0.234 \\ &= 1.643 \\ \text{HORRAT} &= 0.494 \end{aligned}$$

จากการทดลองหา precision ที่อยู่ในรูปของ repeatability ได้ค่า HORRAT = 0.494

ตารางที่ 8 การตรวจสอบ Precision แบบ Reproducibility ของ carbosulfan ที่ 3 ระดับความเข้มข้น

replication	Conc.(0.05 mg/ml)		Conc.(0.10 mg/ml)		Conc.(0.15 mg/ml)	
	weight	result (%)	weight	result (%)	weight	result (%)
1	24.7	22.993702	48.5	23.466437	74.1	23.529076
2	24.9	23.074014	48.7	23.437160	74.2	23.491230
3	24.9	23.156860	48.8	23.389662	74.5	23.411120
4	25.0	23.431704	49.0	23.382460	74.7	23.542636
5	25.3	23.097528	49.1	23.399494	75.0	23.503923
6	25.8	23.291325	49.3	23.364179	75.1	23.425733
7	26.2	23.195754	49.6	23.495581	75.1	23.634507
8	26.2	23.309252	49.6	23.382768	75.2	23.490965
9	26.3	23.031151	50.0	23.642165	75.3	23.491042
10	26.6	23.090118	50.6	23.483670	76.7	23.475988
mean		23.167		23.444		23.500
SD		0.139		0.084		0.062
%RSD		0.601		0.357		0.265
Horwitz		1.645		1.643		1.641
HORRAT		0.366		0.217		0.162

การตรวจสอบ precision ที่อยู่ในรูปของ reproducibility คือ การตรวจสอบความใกล้เคียงกันระหว่างข้อมูลที่วิเคราะห์ซ้ำซึ่งแสดงผลในรูปของ % RSD จากข้อมูลทั้งหมดของการทดลองซ้ำด้วยวิธีการเดิม หลังจากการทดลองครั้งแรก 10 วัน ได้ค่าดังนี้

$$\text{Mean} = 23.37, \quad \text{SD} = 0.177 \quad \% \text{RSD (experimental)} = \frac{\text{SD} \times 100}{\text{Mean}} = 0.757$$

$$\text{การประเมินค่า precision โดยใช้ HORRAT; } \quad \text{HORRAT} = \frac{\% \text{RSD}_{\text{experimental}}}{\text{Predicted Horwitz RSD}}$$

คำนวณ Predicted Horwitz RSD ตามสูตร

$$\text{Predicted Horwitz RSD} = 0.66 \times 2^{(1-0.51 \log C)} \quad \text{เมื่อ } C \text{ (Concentration ration) ได้ค่า} = 0.234$$

$$= 1.643$$

$$\text{HORRAT} = 0.461$$

จากการทดลองหา precision ที่อยู่ในรูปของ reproducibility ได้ค่า HORRAT = 0.461

## 7. การตรวจสอบความคงทนของวิธี (Robustness/Ruggedness)

โดยดำเนินการทดลองเช่นเดียวกับ precision แต่เปลี่ยนภาวะในการทดสอบบางประการ ประเมินผลโดยใช้ค่า HORRAT เกณฑ์ยอมรับ AOAC; HORRAT  $\leq$  2

วิธีวิเคราะห์ chlorpyrifos การตรวจสอบ precision ที่อยู่ในรูปของ robustness โดยการเปลี่ยนอุณหภูมิ Oven จาก 240 °C เป็น 230 °C ได้ค่า HORRAT = 0.548 ส่วน ruggedness โดยการเปลี่ยน capillary column จาก HP-5 เป็น HP-1 ได้ค่า HORRAT = 0.447

วิธีวิเคราะห์ cypermethrin การตรวจสอบ precision ที่อยู่ในรูปของ robustness โดยการเปลี่ยนอุณหภูมิ Oven จาก 240 °C เป็น 270 °C ได้ค่า HORRAT = 0.548 ส่วน ruggedness โดยการเปลี่ยน capillary column จาก HP-5 เป็น HP-1 ได้ค่า HORRAT = 0.591

วิธีวิเคราะห์ carbaryl การตรวจสอบ precision ที่อยู่ในรูปของ robustness โดยการเปลี่ยน flow rate จาก 0.5 ml/min เป็น 0.4 ml/min ได้ค่า HORRAT = 0.832 ส่วน ruggedness โดยการเปลี่ยน column จาก ZORBAX Eclipse XDB-C18 (4.6 x 150 mm, 5  $\mu$ m) เป็น ZORBAX Eclipse Plus C18 (4.6 x 75 mm, 1.8  $\mu$ m) ได้ค่า HORRAT = 0.946

วิธีวิเคราะห์ carbosulfan การตรวจสอบ precision ที่อยู่ในรูปของ robustness โดยการเปลี่ยน flow rate จาก 0.5 ml/min เป็น 0.4 ml/min ได้ค่า HORRAT = 0.814 ส่วน ruggedness โดยการเปลี่ยน column จาก ZORBAX Eclipse Plus C8 (2.1 x 30 mm, 1.8  $\mu$ m) เป็น ZORBAX Eclipse XDB-C8 (4.6 x 150 mm, 5  $\mu$ m) ได้ค่า HORRAT = 0.784

ตารางที่ 9 การตรวจสอบความคงทนของวิธีแบบ Robustness ของ chlorpyrifos ที่ 3 ระดับความเข้มข้น

ลำดับ	ความเข้มข้น 0.3 mg/ml		ความเข้มข้น 0.5 mg/ml		ความเข้มข้น 0.7 mg/ml	
	นน.ตัวอย่าง (mg)	%ที่ตรวจพบ (w/v)	นน.ตัวอย่าง (mg)	%ที่ตรวจพบ (w/v)	นน.ตัวอย่าง (mg)	%ที่ตรวจพบ (w/v)
1	18.2	39.149	29.9	38.769	42.2	38.564
2	18.4	38.653	30.0	39.149	42.4	38.546
3	18.4	38.846	30.2	38.797	42.4	38.966
4	18.5	38.507	30.2	38.955	42.7	38.550
5	18.6	38.106	30.6	38.951	42.8	38.997
6	18.6	38.664	30.7	39.031	42.8	39.333
7	18.9	38.987	31.5	38.738	42.9	38.429
8	19.0	38.238	31.6	38.935	43.0	38.719
9	19.3	39.401	31.7	38.480	44.6	39.237
10	19.4	38.335	32.2	38.564	45.1	38.962
Mean	-	38.556	-	38.837	-	38.831
SD		0.371		0.208		0.314
%RSDexp		0.962		0.535		0.808
Horwitz		1.515		1.515		1.515
HORRAT		0.635		0.353		0.533

การตรวจสอบ precision ที่อยู่ในรูปของ robustness คือ การตรวจสอบความใกล้เคียงกันระหว่างข้อมูลที่วิเคราะห์ซ้ำซึ่งแสดงผลในรูปของ % RSD จากข้อมูลทั้งหมดของการทดลอง โดยการเปลี่ยน อุณหภูมิ Oven จาก 240 °C เป็น 230 °C ได้ค่าดังนี้

$$\text{Mean} = 38.741, \quad \text{SD} = 0.323 \quad \% \text{RSD (experimental)} = \frac{\text{SD} \times 100}{\text{Mean}} = 0.834$$

การประเมินค่า precision โดยใช้ HORRAT; 
$$\text{HORRAT} = \frac{\% \text{RSD}_{\text{experimental}}}{\text{Predicted Horwitz RSD}}$$

คำนวณ Predicted Horwitz RSD ตามสูตร

$$\begin{aligned} \text{Predicted Horwitz RSD} &= 0.66 \times 2^{(1-0.51 \log c)} \text{ เมื่อ } C \text{ (Concentration ration) ได้ค่า} = 0.387 \\ &= 0.66 \times 2^{(1-0.51 \log 0.387)} \\ &= 1.523 \\ \text{HORRAT} &= \frac{0.834}{1.523} \\ &= 0.548 \end{aligned}$$

จากการทดลองหา precision ที่อยู่ในรูปของ robustness ได้ค่า HORRAT = 0.548

**ตารางที่ 10** การตรวจสอบความคงทนของวิธีแบบ Ruggedness ของ chlorpyrifos ที่ 3 ระดับความเข้มข้น

ลำดับ	ความเข้มข้น 0.3 mg/ml		ความเข้มข้น 0.5 mg/ml		ความเข้มข้น 0.7 mg/ml	
	นน.ตัวอย่าง (mg)	%ที่ตรวจพบ (w/v)	นน.ตัวอย่าง (mg)	%ที่ตรวจพบ (w/v)	นน.ตัวอย่าง (mg)	%ที่ตรวจพบ (w/v)
1	18.4	37.818	32.8	38.088	42.6	38.348
2	19.1	37.934	32.1	38.116	43.3	38.355
3	18.6	37.947	32.0	38.194	43.1	38.356
4	17.5	38.111	31.9	38.197	44.0	38.584
5	18.7	38.215	30.8	38.283	45.0	38.609
6	20.8	38.220	33.2	38.300	43.2	38.618
7	18.6	38.249	32.5	38.435	43.7	38.675
8	20.4	38.268	32.4	38.438	44.5	38.702
9	19.8	38.345	30.4	38.491	43.0	38.773
10	20.2	38.401	30.5	38.835	43.1	38.794
Mean	-	38.151	-	38.338	-	38.582
SD		0.193		0.223		0.171
%RSDexp		0.505		0.581		0.444
Horwitz		1.515		1.515		1.515
HORRAT		0.333		0.383		0.293

การตรวจสอบ precision ที่อยู่ในรูปของ ruggedness คือ การตรวจสอบความใกล้เคียงกันระหว่างข้อมูลที่วิเคราะห์ซ้ำซึ่งแสดงผลในรูปของ % RSD จากข้อมูลทั้งหมดของการทดลอง โดยการเปลี่ยน capillary column จาก HP-5 เป็น HP-1 ได้ค่าดังนี้

$$\text{Mean} = 38.357, \quad \text{SD} = 0.261 \quad \% \text{RSD (experimental)} = \frac{\text{SD} \times 100}{\text{Mean}} = 0.681$$

การประเมินค่า precision โดยใช้ HORRAT; 
$$\text{HORRAT} = \frac{\% \text{RSD}_{\text{experimental}}}{\text{Predicted Horwitz RSD}}$$

คำนวณ Predicted Horwitz RSD ตามสูตร

$$\begin{aligned} \text{Predicted Horwitz RSD} &= 0.66 \times 2^{(1-0.51 \log c)} \text{ เมื่อ } C \text{ (Concentration ration) ได้ค่า} = 0.384 \\ &= 0.66 \times 2^{(1-0.51 \log 0.384)} \\ &= 1.525 \end{aligned}$$

$$\begin{aligned} \text{HORRAT} &= \frac{0.681}{1.525} \\ &= 0.447 \end{aligned}$$

จากการทดลองหา precision ที่อยู่ในรูปของ ruggedness ได้ค่า HORRAT = 0.447

**ตารางที่ 11** การตรวจสอบความคงทนของวิธีแบบ Robustness ของ cypermethrin ที่ 3 ระดับความเข้มข้น

ลำดับ	ความเข้มข้น 0.3 mg/ml		ความเข้มข้น 0.5 mg/ml		ความเข้มข้น 0.7 mg/ml	
	นน.ตัวอย่าง (mg)	%ที่ตรวจพบ (w/v)	นน.ตัวอย่าง (mg)	%ที่ตรวจพบ (w/v)	นน.ตัวอย่าง (mg)	%ที่ตรวจพบ (w/v)
1	19.9	36.4339	36.0	36.1429	49.1	35.8746
2	20.2	36.5217	36.3	36.5074	49.2	36.3037
3	20.6	35.9046	36.6	35.8482	49.3	35.6526
4	20.8	35.9909	36.7	36.8445	49.5	36.0336
5	21.4	36.3926	36.9	35.6695	49.7	35.7818
6	21.5	35.7651	37.1	36.4064	50.1	35.9823
7	21.6	35.1749	37.8	36.0331	50.2	36.2160
8	21.7	35.1664	38.4	36.6467	50.3	35.7383
9	21.8	35.2245	38.6	36.0148	50.8	36.1509
10	23.2	35.8505	38.9	36.0711	51.2	35.8254
Mean	-	35.843	-	36.218	-	35.956
SD		0.520		0.371		0.218
%RSDexp		1.450		1.023		0.606
Horwitz		1.545		1.545		1.545
HORRAT		0.957		0.675		0.400

การตรวจสอบ precision ที่อยู่ในรูปของ robustness คือ การตรวจสอบความใกล้เคียงกันระหว่างข้อมูลที่วิเคราะห์ซ้ำซึ่งแสดงผลในรูปของ % RSD จากข้อมูลทั้งหมดของการทดลอง โดยการเปลี่ยน อุณหภูมิ Oven จาก 240 °C เป็น 270 °C ได้ค่าดังนี้

$$\text{Mean} = 36.006, \quad \text{SD} = 0.408 \quad \% \text{RSD (experimental)} = \frac{\text{SD} \times 100}{\text{Mean}} = 1.134$$

การประเมินค่า precision โดยใช้ HORRAT; 
$$\text{HORRAT} = \frac{\% \text{RSD}_{\text{experimental}}}{\text{Predicted Horwitz RSD}}$$

คำนวณ Predicted Horwitz RSD ตามสูตร

$$\begin{aligned} \text{Predicted Horwitz RSD} &= 0.66 \times 2^{(1-0.51 \log c)} \text{ เมื่อ } C \text{ (Concentration ration) ได้ค่า} = 0.360 \\ &= 0.66 \times 2^{(1-0.51 \log 0.360)} \\ &= 1.539 \end{aligned}$$

$$\begin{aligned} \text{HORRAT} &= \frac{1.134}{1.539} \\ &= 0.737 \end{aligned}$$

จากการทดลองหา precision ที่อยู่ในรูปของ robustness ได้ค่า HORRAT = 0.737

**ตารางที่ 12** ผลการตรวจสอบความคงทนของวิธีแบบ Ruggedness ของ cypermethrin ที่ 3 ระดับความเข้มข้น

ลำดับ	ความเข้มข้น 0.3 mg/ml		ความเข้มข้น 0.5 mg/ml		ความเข้มข้น 0.7 mg/ml	
	นน.ตัวอย่าง (mg)	% ที่ตรวจพบ (w/v)	นน.ตัวอย่าง (mg)	% ที่ตรวจพบ (w/v)	นน.ตัวอย่าง (mg)	% ที่ตรวจพบ (w/v)
1	25.3	35.149	35.6	35.167	49.8	35.309
2	21.9	35.253	35.4	35.179	47.9	35.320
3	25.0	35.284	35.5	35.257	48.3	35.481
4	20.9	35.300	35.6	35.269	51.2	35.482
5	21.5	35.320	37.2	35.304	48.6	35.563
6	20.9	35.391	35.7	35.319	49.6	35.598
7	22.6	35.552	34.8	35.405	49.5	35.620
8	23.0	35.558	36.6	35.431	53.6	35.819
9	22.8	35.665	35.0	35.463	47.5	36.073
10	23.9	36.489	36.2	36.008	49.4	36.216
Mean	-	35.496		35.380		35.648
SD		0.384		0.242		0.302
%RSDexp		1.082		0.684		0.847
Horwitz		1.54596		1.54596		1.54596
HORRAT		0.700		0.442		0.548



การตรวจสอบ precision ที่อยู่ในรูปของ ruggedness คือ การตรวจสอบความใกล้เคียงกันระหว่างข้อมูลวิเคราะห์ซ้ำซึ่งแสดงผลในรูปของ % RSD จากข้อมูลทั้งหมดของการทดลอง โดยการเปลี่ยน capillary column จาก HP-5 เป็น HP-1 ได้ค่าดังนี้

$$\text{Mean} = 35.508, \quad \text{SD} = 0.324 \quad \% \text{RSD (experimental)} = \frac{\text{SD} \times 100}{\text{Mean}} = 0.912$$

การประเมินค่า precision โดยใช้ HORRAT; 
$$\text{HORRAT} = \frac{\% \text{RSD}_{\text{experimental}}}{\text{Predicted Horwitz RSD}}$$

คำนวณ Predicted Horwitz RSD ตามสูตร

$$\begin{aligned} \text{Predicted Horwitz RSD} &= 0.66 \times 2^{(1-0.51 \log c)} \quad \text{เมื่อ } C \text{ (Concentration ration) ได้ค่า} = 0.355 \\ &= 0.66 \times 2^{(1-0.51 \log 0.355)} \\ &= 1.543 \end{aligned}$$

$$\begin{aligned} \text{HORRAT} &= \frac{0.912}{1.543} \\ &= 0.591 \end{aligned}$$

จากการทดลองหา precision ที่อยู่ในรูปของ ruggedness ได้ค่า HORRAT = 0.591

ตารางที่ 13 การตรวจสอบความคงทนของวิธีแบบ Robustness ของ carbaryl ที่ 3 ระดับความเข้มข้น

replication	Conc.(0.05 mg/ml)		Conc.(0.10 mg/ml)		Conc.(0.15 mg/ml)	
	weight	result (%)	weight	result (%)	weight	result (%)
1	4.7	82.785679	10.8	83.520787	17.1	82.62433
2	4.9	83.552543	10.9	82.995310	17.2	82.67703
3	4.9	83.314925	11.0	83.810688	17.5	83.59311
4	5.0	83.662210	11.0	84.542094	17.7	84.72168
5	5.3	85.263944	11.1	83.582461	18.0	83.62902
6	5.8	84.487207	11.3	84.421818	18.1	83.58460
7	6.2	83.396592	11.6	83.510894	18.1	84.63936
8	6.2	84.499896	12.0	85.553129	18.2	85.71220
9	6.6	83.442925	12.6	86.606582	18.7	83.68444
10	7.0	84.924578	12.9	84.889755	18.3	83.85972
mean		83.933		84.343		83.873
SD		0.805		1.105		0.939
%RSD		0.959		1.310		1.120
Horwitz		1.355		1.354		1.355
HORRAT		0.707		0.967		0.826

การตรวจสอบ precision ที่อยู่ในรูปของ robustness คือ การตรวจสอบความใกล้เคียงกันระหว่างข้อมูลที่วิเคราะห์ซ้ำซึ่งแสดงผลในรูปของ % RSD จากข้อมูลทั้งหมดของการทดลอง โดยการเปลี่ยน flow rate จาก 0.5 ml/min เป็น 0.4 ml/min ได้ค่าดังนี้

$$\text{Mean} = 84.05, \quad \text{SD} = 0.948 \quad \% \text{RSD (experimental)} = \frac{\text{SD} \times 100}{\text{Mean}} = 1.128$$

การประเมินค่า precision โดยใช้ HORRAT; 
$$\text{HORRAT} = \frac{\% \text{RSD}_{\text{experimental}}}{\text{Predicted Horwitz RSD}}$$

คำนวณ Predicted Horwitz RSD ตามสูตร

$$\text{Predicted Horwitz RSD} = 0.66 \times 2^{(1-0.51 \log c)} \text{ เมื่อ } C \text{ (Concentration ration) ได้ค่า} = 0.84$$

$$= 1.355$$

$$\text{HORRAT} = 0.832$$

จากการทดลองหา precision ที่อยู่ในรูปของ robustness ได้ค่า HORRAT = 0.832

**ตารางที่ 14** การตรวจสอบความคงทนของวิธีแบบ Ruggedness ของ carbaryl ที่ 3 ระดับความเข้มข้น

replication	Conc.(0.05 mg/ml)		Conc.(0.10 mg/ml)		Conc.(0.15 mg/ml)	
	weight	result (%)	weight	result (%)	weight	result (%)
1	5.7	87.55899	11.7	84.797308	17.6	85.02198
2	5.8	84.39897	11.8	84.219025	17.6	84.53769
3	5.8	88.23235	11.8	84.153791	17.6	85.21478
4	5.8	84.30397	11.8	83.562226	17.6	86.14485
5	5.8	85.62239	11.9	84.842012	17.8	83.85741
6	5.9	83.14089	11.9	84.055357	17.8	85.06805
7	5.9	84.41923	11.9	84.751818	17.9	84.03097
8	5.9	83.86503	12.1	84.859132	17.9	84.10690
9	6.0	84.71109	12.2	84.574970	18.0	86.13805
10	6.0	84.20473	12.6	84.172701	18.0	84.19349
<b>mean</b>		85.046		84.399		84.831
<b>SD</b>		1.633		0.433		0.835
<b>%RSDexp</b>		1.920		0.513		0.985
<b>Horwitz</b>		1.353		1.354		1.353
<b>HORRAT</b>		1.420		0.378		0.728

การตรวจสอบ precision ที่อยู่ในรูปของ Ruggedness คือ การตรวจสอบความใกล้เคียงกันระหว่างข้อมูลที่วิเคราะห์ซ้ำซึ่งแสดงผลในรูปของ % RSD จากข้อมูลทั้งหมดของการทดลอง โดยการเปลี่ยน Column เป็น ZORBAX Eclipse Plus C18 (4.6 x 75 mm, 1.8 µm) ได้ค่าดังนี้

$$\text{Mean} = 84.759, \quad \text{SD} = 1.085 \quad \% \text{RSD (experimental)} = \frac{\text{SD} \times 100}{\text{Mean}} = 1.280$$

การประเมินค่า precision โดยใช้ HORRAT;  $\text{HORRAT} = \frac{\% \text{RSD}_{\text{experimental}}}{\text{Predicted Horwitz RSD}}$

คำนวณ Predicted Horwitz RSD ตามสูตร

$$\text{Predicted Horwitz RSD} = 0.66 \times 2^{(1-0.5 \log C)} \quad \text{เมื่อ } C \text{ (Concentration ratio) ได้ค่า} = 0.236$$

$$= 1.353$$

$$\text{HORRAT} = 0.946$$

จากการทดลองหา precision ที่อยู่ในรูปของ ruggedness ได้ค่า HORRAT = 0.946

**ตารางที่ 15** การตรวจสอบความคงทนของวิธีแบบ Robustness ของ carbosulfan ที่ 3 ระดับความเข้มข้น

replication	Conc.(0.05 mg/ml)		Conc.(0.10 mg/ml)		Conc.(0.15 mg/ml)	
	weight	result (%)	weight	result (%)	weight	result (%)
1	24.7	23.785679	48.8	23.520787	74.1	23.62433
2	24.9	23.552543	48.7	23.995310	74.2	23.67703
3	24.9	23.314925	49.0	23.810688	74.5	23.59311
4	25.0	23.662210	49.0	23.542094	74.7	23.72168
5	25.3	23.263944	49.1	23.582461	75.0	23.62902
6	25.8	23.487207	49.3	24.421818	75.1	23.58460
7	26.2	23.396592	49.6	23.510894	75.1	23.63936
8	26.2	23.499896	50.0	23.553129	75.2	23.71220
9	26.6	23.442925	50.6	23.606582	76.7	23.68444
10	27.0	23.924578	51.9	24.889755	77.3	23.85972
<b>mean</b>		23.533		23.843		23.673
<b>SD</b>		0.207		0.468		0.081
<b>%RSD</b>		0.878		1.961		0.341
<b>Horwitz</b>		1.641		1.638		1.639
<b>HORRAT</b>		0.535		1.197		0.208

การตรวจสอบ precision ที่อยู่ในรูปของ robustness คือ การตรวจสอบความใกล้เคียงกันระหว่างข้อมูลที่วิเคราะห์ซ้ำซึ่งแสดงผลในรูปของ % RSD จากข้อมูลทั้งหมดของการทดลอง โดยการเปลี่ยน flow rate จาก 0.5 ml/min เป็น 0.4 ml/min ได้ค่าดังนี้

$$\text{Mean} = 23.683, \quad \text{SD} = 0.316 \quad \% \text{RSD (experimental)} = \frac{\text{SD} \times 100}{\text{Mean}} = 1.334$$

การประเมินค่า precision โดยใช้ HORRAT;  $\text{HORRAT} = \frac{\% \text{RSD}_{\text{experimental}}}{\text{Predicted Horwitz RSD}}$

คำนวณ Predicted Horwitz RSD ตามสูตร

$$\text{Predicted Horwitz RSD} = 0.66 \times 2^{(1-0.5 \log c)} \quad \text{เมื่อ } C \text{ (Concentration ratio) ได้ค่า} = 0.236$$

$$= 1.639$$

$$\text{HORRAT} = 0.814$$

จากการทดลองหา precision ที่อยู่ในรูปของ robustness ได้ค่า HORRAT = 0.814

**ตารางที่ 16** การตรวจสอบความคงทนของวิธีแบบ Ruggedness ของ carbosulfan ที่ 3 ระดับความเข้มข้น

replication	Conc.(0.05 mg/ml)		Conc.(0.10 mg/ml)		Conc.(0.15 mg/ml)	
	weight	result (%)	weight	result (%)	weight	result (%)
1	23.7	23.68598	47.8	23.521287	74.0	23.61220
2	23.9	23.45224	48.5	23.671533	74.3	23.56710
3	24.0	23.21593	49.1	23.410689	74.5	23.52031
4	24.2	23.76121	49.2	23.542091	74.5	23.54202
5	24.3	23.36494	49.3	23.282463	75.0	24.06423
6	25.2	23.48823	49.5	24.081858	75.1	23.21804
7	26.0	23.39559	49.6	23.810874	75.2	23.89411
8	26.2	23.59460	50.0	23.523523	75.4	23.12953
9	26.3	23.43273	50.2	23.329562	76.6	24.18204
10	26.9	24.12458	50.9	24.285531	77.0	23.87956
<b>mean</b>		23.552		23.646		23.661
<b>SD</b>		0.256		0.326		0.343
<b>%RSD</b>		1.089		1.378		1.450
<b>Horwitz</b>		1.641		1.640		1.640
<b>HORRAT</b>		0.664		0.840		0.885

การตรวจสอบ precision ที่อยู่ในรูปของ Ruggedness คือ การตรวจสอบความใกล้เคียงกันระหว่างข้อมูลวิเคราะห์ซ้ำซึ่งแสดงผลในรูปของ % RSD จากข้อมูลทั้งหมดของการทดลอง โดยการเปลี่ยน Column เป็น ZORBAX Eclipse XDB-C8 (4.6 x 150 mm, 5 µm) ได้ค่าดังนี้

$$\text{Mean} = 23.619, \quad \text{SD} = 0.304 \quad \% \text{RSD (experimental)} = \frac{\text{SD} \times 100}{\text{Mean}} = 1.287$$

การประเมินค่า precision โดยใช้ HORRAT;  $\text{HORRAT} = \frac{\% \text{RSD}_{\text{experimental}}}{\text{Predicted Horwitz RSD}}$

คำนวณ Predicted Horwitz RSD ตามสูตร

$$\begin{aligned} \text{Predicted Horwitz RSD} &= 0.66 \times 2^{(1-0.5 \log c)} \quad \text{เมื่อ } C \text{ (Concentration ratio) ได้ค่า} = 0.236 \\ &= 1.640 \end{aligned}$$

$$\text{HORRAT} = 0.784$$

จากการทดลองหา precision ที่อยู่ในรูปของ ruggedness ได้ค่า HORRAT = 0.784

#### 8. การตรวจสอบความถูกต้อง (accuracy)

การประเมินค่า accuracy จาก % recovery โดยการนำค่าปริมาณสารออกฤทธิ์ ที่เป็นค่า origin และ spike มาหาค่าเฉลี่ยและคำนวณค่า % recovery โดยค่าต้องอยู่ในช่วง 98 -102 % ตามเกณฑ์การพิจารณาสำหรับสารที่มีปริมาณมากกว่า 10 % ของ AOAC (1993) พบว่า วิธีวิเคราะห์ chlorpyrifos, cypermethrin, carbaryl, และ carbosulfan มีค่า % recovery เท่ากับ 99.45, 100.04, 99.80 และ 100.66 % ตามลำดับ

ตารางที่ 17 ร้อยละการตรวจพบ (% Recovery) ของ chlorpyrifos

Number	Al content (mg/25 ml)								
	Concn.(0.2 mg/ml)			Concn.(0.6 mg/ml)			Concn.(0.8 mg/ml)		
	Origin	spike	Add	Origin	spike	Add	Origin	spike	Add
1	4.509	9.310	4.95	4.509	14.345	9.9	4.509	19.072	14.85
2	4.519	9.334	4.95	4.519	14.347	9.9	4.519	19.104	14.85
3	4.523	9.399	4.95	4.523	14.353	9.9	4.523	19.176	14.85
4	4.524	9.412	4.95	4.524	14.356	9.9	4.524	19.197	14.85
5	4.524	9.466	4.95	4.524	14.363	9.9	4.524	19.228	14.85
6	4.547	9.471	4.95	4.547	14.396	9.9	4.547	19.239	14.85
7	4.557	9.572	4.95	4.557	14.486	9.9	4.557	19.250	14.85
8	4.560	9.603	4.95	4.560	14.498	9.9	4.560	19.272	14.85
9	4.597	9.621	4.95	4.597	14.561	9.9	4.597	19.337	14.85
10	4.623	9.638	4.95	4.623	14.572	9.9	4.623	19.447	14.85
mean	4.548	9.483		4.548	14.428		4.548	19.232	
SD	0.037	0.120		0.037	0.092		0.037	0.108	
%RSD	0.816	1.268		0.816	0.638		0.816	0.562	
%recovery		99.683			99.791			98.881	
%recovery				99.45					

ตารางที่ 18 ร้อยละการตรวจพบ (% Recovery) ของ cypermethrin

Number	AI content (mg/25 ml)								
	Concn.( 0.2 mg/ml)			Concn.( 0.4 mg/ml)			Concn.( 0.6 mg/ml)		
	Origin	spike	Add	Origin	spike	Add	Origin	spike	Add
1	5.183	10.214	5.0	5.183	15.273	10.0	5.183	19.933	15.0
2	5.249	10.218	5.0	5.249	15.277	10.0	5.249	20.033	15.0
3	5.261	10.266	5.0	5.261	15.308	10.0	5.261	20.035	15.0
4	5.280	10.266	5.0	5.280	15.315	10.0	5.280	20.051	15.0
5	5.304	10.268	5.0	5.304	15.352	10.0	5.304	20.219	15.0
6	5.305	10.285	5.0	5.305	15.390	10.0	5.305	20.258	15.0
7	5.319	10.286	5.0	5.319	15.413	10.0	5.319	20.267	15.0
8	5.327	10.291	5.0	5.327	15.418	10.0	5.327	20.371	15.0
9	5.379	10.340	5.0	5.379	15.457	10.0	5.379	20.763	15.0
10	5.421	10.346	5.0	5.421	15.523	10.0	5.421	20.965	15.0
mean	5.303	10.278		5.303	15.373		5.303	20.289	
SD	0.067	0.043		0.067	0.082		0.067	0.335	
%RSD	1.261	0.421		1.261	0.535		1.261	1.650	
%recovery		99.504			100.698			99.911	
%recovery total				100.04					



ตารางที่ 19 ร้อยละการตรวจพบ (% Recovery) ของ carbaryl

replication	Conc.(0.05 mg/ml)			Conc.(0.10 mg/ml)			Conc.(0.15 mg/ml)		
	Origin	spike	Add	Origin	spike	Add	Origin	spike	Add
1	1.00161	6.04395	5.0	1.00161	11.17480	10.0	1.00161	15.79450	15.0
2	1.00318	6.05808	5.0	1.00318	10.85110	10.0	1.00318	15.92540	15.0
3	1.01000	6.00369	5.0	1.01000	11.06550	10.0	1.01000	15.78110	15.0
4	1.00286	6.06428	5.0	1.00286	10.99370	10.0	1.00286	15.88360	15.0
5	1.00813	6.03969	5.0	1.00813	11.09010	10.0	1.00813	15.77480	15.0
6	1.00745	6.04724	5.0	1.00745	11.07660	10.0	1.00745	15.91880	15.0
7	1.00439	6.05503	5.0	1.00439	10.93580	10.0	1.00439	15.79830	15.0
8	1.03277	6.04889	5.0	1.03277	10.92070	10.0	1.03277	15.84650	15.0
9	1.03945	6.06453	5.0	1.03945	10.87130	10.0	1.03945	15.95870	15.0
10	1.00733	6.04719	5.0	1.00733	10.92970	10.0	1.00733	15.79080	15.0
mean	1.012	6.047		1.012	10.991		1.012	15.847	
SD	0.013	0.017		0.013	0.107		0.013	0.069	
%RSD	1.307	0.288		1.307	0.969		1.307	0.436	
%recovery		100.711			99.792			98.904	

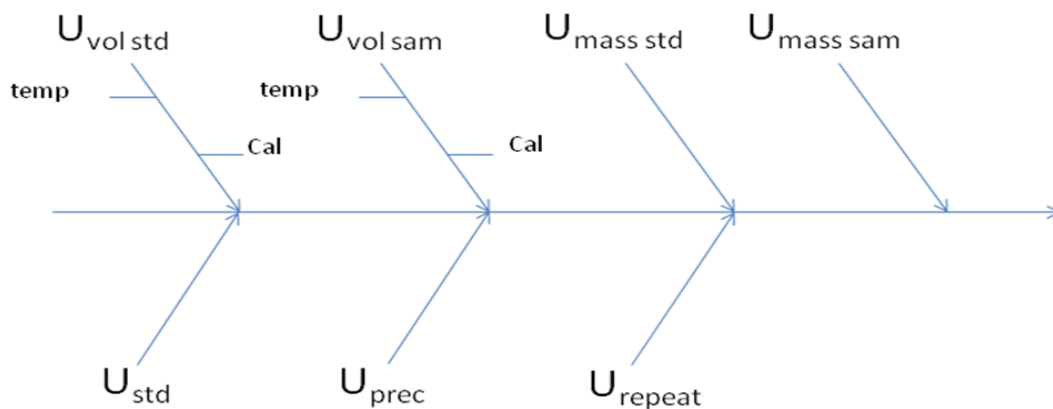
ตารางที่ 20 ร้อยละการตรวจพบ (% Recovery) ของ carbosulfan

Number	Conc.(0.05 mg/ml)			Conc.(0.10 mg/ml)			Conc.(0.15 mg/ml)		
	Origin	Add	spike	Origin	Add	spike	Origin	Add	spike
1	1.070	5.959	5	1.070	11.047	10	1.070	16.192	15
2	1.070	5.979	5	1.070	11.238	10	1.070	15.982	15
3	1.070	5.877	5	1.070	11.224	10	1.070	15.981	15
4	1.070	5.993	5	1.070	11.066	10	1.070	16.023	15
5	1.070	6.051	5	1.070	11.112	10	1.070	19.239	15
6	1.070	6.019	5	1.070	11.221	10	1.070	16.057	15
7	1.070	6.060	5	1.070	11.184	10	1.070	15.931	15
8	1.070	6.067	5	1.070	11.179	10	1.070	16.074	15
9	1.070	6.176	5	1.070	11.167	10	1.070	16.071	15
10	1.070	6.110	5	1.070	11.176	10	1.070	15.980	15
mean		6.029			11.161			16.353	
SD		0.084			0.066			1.017	
%RSD		1.387			0.590			6.217	
%recovery		99.181			100.914			101.887	

9. การหาความไม่แน่นอน

ตัวอย่าง การหาค่า Uncertainty ของการทดสอบหาปริมาณสารออกฤทธิ์ Chlorpyrifos

ผังก้างปลาหาความไม่แน่นอนรวม



สูตรการคำนวณ

การคำนวณหา Response factor

$$\text{Response factor} = \frac{\text{weigh} \times \text{purity}}{\text{peak area}} \quad \text{หรือ} \quad f = \frac{S \times P}{Hs}$$

S = น้ำหนักของ chlorpyrifos ในสารละลายมาตรฐาน (mg)

P = % ความบริสุทธิ์ของสารมาตรฐาน chlorpyrifos

Hs = พื้นที่ใต้ peak ของ chlorpyrifos ในสารละลายมาตรฐาน

การคำนวณหา % สารออกฤทธิ์ chlorpyrifos

$$\text{chlorpyrifos content (\%W/W)} = \frac{Hw \times f}{W}$$

Hw = พื้นที่ใต้ peak ของสารละลาย chlorpyrifos

f = ค่าเฉลี่ย Response factor

w = น้ำหนักของสารละลาย chlorpyrifos (mg)

การหาค่าความไม่แน่นอนจากแหล่งต่างๆ ( $U_x$ )

1. การหาค่า Uncertainty จากการชั่งสารมาตรฐาน (U mass Std)

U prec : การทำ Daily Check

จำนวนซ้ำ	น้ำหนัก (กรัม)
1	99.9999
2	100.0000
3	99.9997
4	99.9999
5	99.99998
6	100.0000
7	99.9999
8	100.0001
9	99.9999
10	100.0000
Mean	99.9999
SD	$1.06 \times 10^{-4}$

$$U_{\text{prec}} = SD = 1.06 \times 10^{-4}$$

$U_{\text{cal}}$  = ความไม่แน่นอนจากการสอบเทียบเครื่องชั่ง ที่ระดับความเชื่อมั่น 95 %

ที่ 100 g มีความไม่แน่นอน  $\pm 0.00020$  g

ค่าการกระจายตัว (K) = 2 (ที่ระดับความเชื่อมั่น 95%)

$$U_{\text{cal}} = \frac{0.00020}{2} = 0.0001 = 1 \times 10^{-4}$$

ค่า Uncertainty จากการชั่งสารมาตรฐาน ( $U_{\text{mass std}}$ )

$$\begin{aligned} U_{\text{mass std}} &= \sqrt{U_{\text{cal}_{\text{gross}}}^2 + U_{\text{prec}_{\text{gross}}}^2 + U_{\text{cal}_{\text{tare}}}^2 + U_{\text{prec}_{\text{tare}}}^2} \\ &= \sqrt{(1 \times 10^{-4})^2 + (1.06 \times 10^{-4})^2 + (1 \times 10^{-4})^2 + (1.06 \times 10^{-4})^2} \\ &= 2.06 \times 10^{-4} \text{ g} \end{aligned}$$

2. การหาค่า Uncertainty จากการชั่งสารตัวอย่าง ( $U_{\text{mass sam}}$ )

$U_{\text{prec}}$  : การทำ Daily Check

จำนวนชั่ง	น้ำหนัก (กรัม)
1	99.9999
2	100.0000
3	99.9997
4	99.9999
5	99.99998
6	100.0000
7	99.9999
8	100.0001
9	99.9999
10	100.0000
Mean	99.9999
SD	$1.06 \times 10^{-4}$

$$U_{\text{prec}} = SD = 1.06 \times 10^{-4}$$

$U_{\text{cal}}$  = ความไม่แน่นอนจากการสอบเทียบเครื่องชั่ง ที่ระดับความเชื่อมั่น 95 %

ที่ 100 g มีความไม่แน่นอน  $\pm 0.00020$  g

ค่าการกระจายตัว (K) = 2 (ที่ระดับความเชื่อมั่น 95%)

$$U_{\text{cal}} = \frac{0.00020}{2} = 0.0001 = 1 \times 10^{-4}$$

ค่า Uncertainty จากการชั่งสารมาตรฐาน (U mass std)

$$\begin{aligned}U \text{ mass std} &= \sqrt{U_{cal_{gross}}^2 + U_{prec_{gross}}^2 + U_{cal_{tare}}^2 + U_{prec_{tare}}^2} \\&= \sqrt{(1 \times 10^{-4})^2 + (1.06 \times 10^{-4})^2 + (1 \times 10^{-4})^2 + (1.06 \times 10^{-4})^2} \\&= 2.06 \times 10^{-4} \text{ g}\end{aligned}$$

3. ความไม่แน่นอนจากขวดวัดปริมาตร สำหรับสารมาตรฐาน (U vol std)

ความไม่แน่นอนจากการเปลี่ยนแปลงปริมาตรตามอุณหภูมิ สำหรับสารมาตรฐาน (Utemp)

$$U_{temp} = \frac{F \times V \times T}{\sqrt{3}}$$

F = ค่าสัมประสิทธิ์การขยายตัวของ Organic Solvent =  $1 \times 10^{-3} \text{ mL/}^\circ\text{C}$

V = volumetric flask ขนาด 25 ml

T = อุณหภูมิห้องทดสอบเปลี่ยนแปลงในช่วง  $\pm 5 \text{ }^\circ\text{C}$

มีการกระจายตัวแปร Rectangular (K) =  $\sqrt{3}$

$$U_{temp} = \frac{1 \times 10^{-3} \times 25 \times 5}{\sqrt{3}} = 7.217 \times 10^{-2} \text{ ml}$$

ความไม่แน่นอนจากการสอบเทียบ volumetric flask ขนาด 25 ml =  $\pm 0.018 \text{ ml}$

ค่าการกระจายตัวแปร triangle =  $\sqrt{6}$

$$U_{cal} = \frac{0.018}{\sqrt{6}} = 7.348 \times 10^{-3} \text{ ml}$$

$$\begin{aligned}U \text{ vol std} &= \sqrt{U_{temp}^2 + U_{cal}^2} \\&= \sqrt{(7.217 \times 10^{-2})^2 + (7.348 \times 10^{-3})^2} \\&= 7.254 \times 10^{-2} \text{ ml}\end{aligned}$$

4. ความไม่แน่นอนจากขวดวัดปริมาตร สำหรับสารตัวอย่าง (U vol sam)

ความไม่แน่นอนจากการเปลี่ยนแปลงปริมาตรตามอุณหภูมิ สำหรับสารมาตรฐาน (Utemp)

$$U_{temp} = \frac{F \times V \times T}{\sqrt{3}}$$

F = ค่าสัมประสิทธิ์การขยายตัวของ Organic Solvent =  $1 \times 10^{-3} \text{ mL/}^\circ\text{C}$

V = volumetric flask ขนาด 25 ml

T = อุณหภูมิห้องทดสอบเปลี่ยนแปลงในช่วง  $\pm 5 \text{ }^\circ\text{C}$

มีการกระจายตัวแปร Rectangular (K) =  $\sqrt{3}$

$$U_{temp} = \frac{1 \times 10^{-3} \times 25 \times 5}{\sqrt{3}} = 7.217 \times 10^{-2} \text{ ml}$$

ความไม่แน่นอนจากการสอบเทียบ volumetric flask ขนาด 25 ml =  $\pm 0.018 \text{ ml}$

$$\begin{aligned} \text{ค่าการกระจายตัวแบบ triangle} &= \sqrt{6} \\ U_{cal} &= \frac{0.018}{\sqrt{6}} = 7.348 \times 10^{-3} \text{ ml} \\ U_{vol \text{ sam}} &= \sqrt{U_{temp}^2 + U_{cal}^2} \\ &= \sqrt{(7.217 \times 10^{-2})^2 + (7.348 \times 10^{-3})^2} \\ &= 7.254 \times 10^{-2} \text{ ml} \end{aligned}$$

5. ความไม่แน่นอนจากสารมาตรฐาน (Ustd)

สารมาตรฐาน cypermethrin ความบริสุทธิ์ 94.3 % มีความไม่แน่นอน  $\pm 0.5\%$

ค่าการกระจายตัว (K) = 2 (ที่ระดับความเชื่อมั่น 95%)

$$U_{std} = \frac{0.005}{2} = 2.5 \times 10^{-3}$$

6. ความไม่แน่นอนจากการทำ precision (Uprec)

จำนวนซ้ำ	Conc.ต่ำ	Conc.กลาง	Conc.สูง
1	38.713	38.937	39.015
2	38.845	39.132	38.857
3	38.667	39.112	38.966
4	38.770	39.026	38.728
5	38.741	39.128	39.091
6	39.394	39.209	39.159
7	38.559	38.906	39.026
8	38.286	39.030	38.969
9	38.790	38.949	38.416
10	38.593	38.603	38.789
mean	38.736	39.003	38.902
SD	0.281	0.171	0.216
RSD	0.007	0.004	0.006
Total mean	38.880		
Total SD	0.246		

$$\begin{aligned}
U_{\text{prec}} &= \sqrt{\frac{(n-1)(\%RSD_{\text{low}})^2 + (n-1)(\%RSD_{\text{medium}})^2 + (n-1)(\%RSD_{\text{high}})^2}{(n-1) + (n-1) + (n-1)}} \\
&= \sqrt{\frac{(10-1)(0.007)^2 + (10-1)(0.004)^2 + (10-1)(0.006)^2}{(10-1) + (10-1) + (10-1)}} \\
&= 5.802 \times 10^{-3}
\end{aligned}$$

7. ความไม่แน่นอนจากการทำซ้ำ  $U_{\text{repeat}}$  ที่ความเข้มข้นระดับกลาง

$$\begin{aligned}
U_{\text{repeat}} &= \frac{SD}{\sqrt{n}} \\
&= \frac{0.171}{\sqrt{10}} \\
&= 5.407 \times 10^{-2}
\end{aligned}$$

8. การประเมินค่าความไม่แน่นอนของการทดสอบ

แหล่งข้อมูล	Value (X)	$U_x$	$RSU(U_x/x)$	$RUS^2$
$U_{\text{mass std}}$	25.25 mg	$2.06 \times 10^{-4}$	$8.158 \times 10^{-6}$	$6.656 \times 10^{-11}$
$U_{\text{mass sam}}$	62.5 mg	$2.06 \times 10^{-4}$	$3.296 \times 10^{-6}$	$1.086 \times 10^{-11}$
$U_{\text{vol std}}$	25 ml	$7.254 \times 10^{-2}$	$2.9 \times 10^{-3}$	$8.419 \times 10^{-6}$
$U_{\text{vol sam}}$	25 ml	$7.254 \times 10^{-2}$	$2.9 \times 10^{-3}$	$8.419 \times 10^{-6}$
$U_{\text{std}}$	0.99	$2.5 \times 10^{-3}$	$2.525 \times 10^{-3}$	$6.377 \times 10^{-6}$
$U_{\text{prec}}$	38.880	$5.802 \times 10^{-3}$	$1.617 \times 10^{-4}$	$2.615 \times 10^{-8}$
$U_{\text{repeat}}$	39.003	$5.407 \times 10^{-2}$	$1.386 \times 10^{-3}$	$1.922 \times 10^{-6}$

9. การหาความไม่แน่นอนรวม ( $U_c$ ) และ ความไม่แน่นอนขยาย ( $U_E$ )

$$U_c = C_{\text{sam}} \sqrt{U_{\text{mass std}}^2 + U_{\text{mass sam}}^2 + U_{\text{vol std}}^2 + U_{\text{vol sam}}^2 + U_{\text{std}}^2 + U_{\text{prec}}^2 + U_{\text{repeat}}^2}$$

$$C_{\text{sam}} = \text{ปริมาณสารออกฤทธิ์ chlorpyrifos } 39.003 \%$$

$$U_c = 39.003 \times \sqrt{(6.656 \times 10^{-11})^2 + (1.086 \times 10^{-11})^2 + (8.419 \times 10^{-6})^2 + (8.419 \times 10^{-6})^2 + (6.377 \times 10^{-6})^2 + (2.615 \times 10^{-8})^2 + (1.922 \times 10^{-6})^2}$$

$$U_c = 39.003 \times 0.005$$

$$U_c = 0.195$$

$$U_E = 2 \times U_c$$

$$U_E = 2 \times 0.195$$

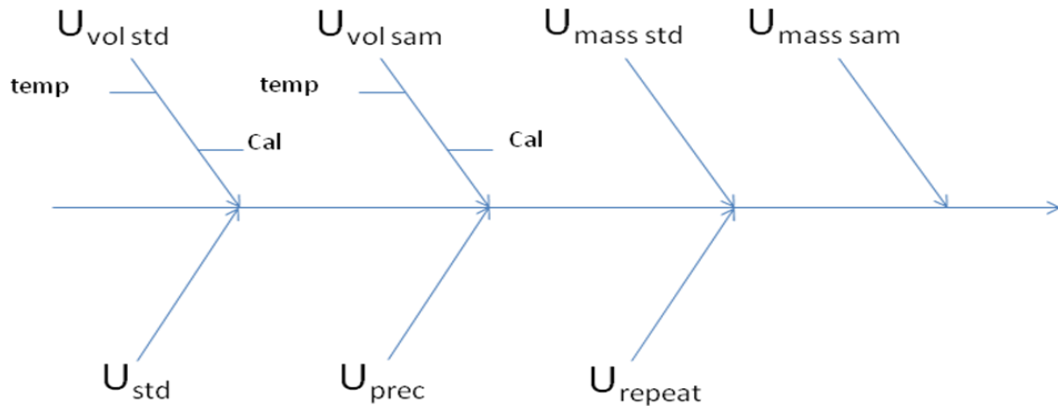
$$U_E = 0.39$$

รายงาน % ปริมาณสารออกฤทธิ์ =  $C_{sam} \pm U_E$  ที่ระดับความเชื่อมั่น 95 %

ดังนั้น รายงาน % ปริมาณสารออกฤทธิ์ chlorpyrifos =  $39.003 \pm 0.39$  % W/V

ตัวอย่าง การหาค่า Uncertainty ของการทดสอบหาปริมาณสารออกฤทธิ์ Cypermethrin

ฝั่งข้างปลาหาความไม่แน่นอนรวม



สูตรการคำนวณ

การคำนวณหา Response factor

$$\text{Response factor} = \frac{\text{weigh} \times \text{purity}}{\text{peak area}} \quad \text{หรือ} \quad f = \frac{S \times P}{H_s}$$

S = น้ำหนักของ cypermethrin ในสารละลายมาตรฐาน (mg)

P = % ความบริสุทธิ์ของสารมาตรฐาน cypermethrin

H<sub>s</sub> = พื้นที่ใต้ peak ของ cypermethrin ในสารละลายมาตรฐาน

การคำนวณหา % สารออกฤทธิ์ cypermethrin

$$\text{cypermethrin content} \quad (\%W/W) = \frac{H_w \times f}{W}$$

H<sub>w</sub> = พื้นที่ใต้ peak ของสารละลาย cypermethrin

f = ค่าเฉลี่ย Response factor

w = น้ำหนักของสารละลาย cypermethrin (mg)

การหาค่าความไม่แน่นอนจากแหล่งต่างๆ ( $U_x$ )

1. การหาค่า Uncertainty จากการชั่งสารมาตรฐาน (U mass Std)

U prec : การทำ Daily Check

จำนวนซ้ำ	น้ำหนัก (กรัม)
1	99.9999



2	100.0000
3	99.9997
4	99.9999
5	99.99998
6	100.0000
7	99.9999
8	100.0001
9	99.9999
10	100.0000
<hr/>	
Mean	99.9999
SD	$1.06 \times 10^{-4}$
<hr/>	

$$U \text{ prec} = SD = 1.06 \times 10^{-4}$$

U cal = ความไม่แน่นอนจากการสอบเทียบเครื่องชั่ง ที่ระดับความเชื่อมั่น 95 %

ที่ 100 g มีความไม่แน่นอน  $\pm 0.00020$  g

ค่าการกระจายตัว (K) = 2 (ที่ระดับความเชื่อมั่น 95%)

$$U \text{ cal} = \frac{0.00020}{2} = 0.0001 = 1 \times 10^{-4}$$

ค่า Uncertainty จากการชั่งสารมาตรฐาน (U mass std)

$$\begin{aligned}
 U \text{ mass std} &= \sqrt{U_{\text{cal}_{\text{gross}}}^2 + U_{\text{prec}_{\text{gross}}}^2 + U_{\text{cal}_{\text{tare}}}^2 + U_{\text{prec}_{\text{tare}}}^2} \\
 &= \sqrt{(1 \times 10^{-4})^2 + (1.06 \times 10^{-4})^2 + (1 \times 10^{-4})^2 + (1.06 \times 10^{-4})^2} \\
 &= 2.06 \times 10^{-4} \text{ g}
 \end{aligned}$$

2. การหาค่า Uncertainty จากการชั่งสารตัวอย่าง (U mass sam)

U prec : การทำ Daily Check

จำนวนชั่ง	น้ำหนัก (กรัม)
1	99.9999
2	100.0000
3	99.9997
4	99.9999
5	99.99998
6	100.0000
7	99.9999
8	100.0001
9	99.9999
10	100.0000
Mean	99.9999
SD	$1.06 \times 10^{-4}$

$$U \text{ prec} = SD = 1.06 \times 10^{-4}$$

U cal = ความไม่แน่นอนจากการสอบเทียบเครื่องชั่ง ที่ระดับความเชื่อมั่น 95 %

ที่ 100 g มีความไม่แน่นอน  $\pm 0.00020$  g

ค่าการกระจายตัว (K) = 2 (ที่ระดับความเชื่อมั่น 95%)

$$U \text{ cal} = \frac{0.00020}{2} = 0.0001 = 1 \times 10^{-4}$$

ค่า Uncertainty จากการชั่งสารมาตรฐาน (U mass std)

$$\begin{aligned}
 U \text{ mass std} &= \sqrt{U_{\text{cal}_{\text{gross}}}^2 + U_{\text{prec}_{\text{gross}}}^2 + U_{\text{cal}_{\text{tare}}}^2 + U_{\text{prec}_{\text{tare}}}^2} \\
 &= \sqrt{(1 \times 10^{-4})^2 + (1.06 \times 10^{-4})^2 + (1 \times 10^{-4})^2 + (1.06 \times 10^{-4})^2} \\
 &= 2.06 \times 10^{-4} \text{ g}
 \end{aligned}$$

3. ความไม่แน่นอนจากขวดวัดปริมาตร สำหรับสารมาตรฐาน (U vol std)

ความไม่แน่นอนจากการเปลี่ยนแปลงปริมาตรตามอุณหภูมิ สำหรับสารมาตรฐาน (Utemp)

$$U_{temp} = \frac{F \times V \times T}{\sqrt{3}}$$

F = ค่าสัมประสิทธิ์การขยายตัวของ Organic Solvent =  $1 \times 10^{-3} \text{ mL/}^\circ\text{C}$

V = volumetric flask ขนาด 25 ml

T = อุณหภูมิห้องทดสอบเปลี่ยนแปลงในช่วง  $\pm 5 \text{ }^\circ\text{C}$

มีการกระจายตัวแปร Rectangular (K) =  $\sqrt{3}$

$$U_{temp} = \frac{1 \times 10^{-3} \times 25 \times 5}{\sqrt{3}} = 7.217 \times 10^{-2} \text{ ml}$$

ความไม่แน่นอนจากการสอบเทียบ volumetric flask ขนาด 25 ml =  $\pm 0.018 \text{ ml}$

ค่าการกระจายตัวแบบ triangle =  $\sqrt{6}$

$$U_{cal} = \frac{0.018}{\sqrt{6}} = 7.348 \times 10^{-3} \text{ ml}$$

$$\begin{aligned} U \text{ vol std} &= \sqrt{U_{temp}^2 + U_{cal}^2} \\ &= \sqrt{(7.217 \times 10^{-2})^2 + (7.348 \times 10^{-3})^2} \\ &= 7.254 \times 10^{-2} \text{ ml} \end{aligned}$$

4. ความไม่แน่นอนจากขวดวัดปริมาตร สำหรับสารตัวอย่าง (U vol sam)

ความไม่แน่นอนจากการเปลี่ยนแปลงปริมาตรตามอุณหภูมิ สำหรับสารมาตรฐาน (Utemp)

$$U_{temp} = \frac{F \times V \times T}{\sqrt{3}}$$

F = ค่าสัมประสิทธิ์การขยายตัวของ Organic Solvent =  $1 \times 10^{-3} \text{ mL/}^\circ\text{C}$

V = volumetric flask ขนาด 25 ml

T = อุณหภูมิห้องทดสอบเปลี่ยนแปลงในช่วง  $\pm 5 \text{ }^\circ\text{C}$

มีการกระจายตัวแปร Rectangular (K) =  $\sqrt{3}$

$$U_{temp} = \frac{1 \times 10^{-3} \times 25 \times 5}{\sqrt{3}} = 7.217 \times 10^{-2} \text{ ml}$$

ความไม่แน่นอนจากการสอบเทียบ volumetric flask ขนาด 25 ml = ± 0.018 ml

$$\text{ค่าการกระจายตัวแบบ triangle} = \sqrt{6}$$

$$U_{cal} = \frac{0.018}{\sqrt{6}} = 7.348 \times 10^{-3} \text{ ml}$$

$$\begin{aligned} U_{\text{vol sam}} &= \sqrt{U_{\text{temp}}^2 + U_{cal}^2} \\ &= \sqrt{(7.217 \times 10^{-2})^2 + (7.348 \times 10^{-3})^2} \\ &= 7.254 \times 10^{-2} \text{ ml} \end{aligned}$$

5.ความไม่แน่นอนจากสารมาตรฐาน (Ustd)

สารมาตรฐาน cypermethrin ความบริสุทธิ์ 94.3 % มีความไม่แน่นอน ±1.0%

ค่าการกระจายตัว (K) = 2 (ที่ระดับความเชื่อมั่น 95%)

$$U_{std} = \frac{0.01}{2} = 5 \times 10^{-3}$$

6. ความไม่แน่นอนจากการทำ precision (U<sub>prec</sub>)

จำนวนซ้ำ	Conc.ต่ำ	Conc.กลาง	Conc.สูง
1	34.850	35.956	36.080
2	35.023	36.211	36.281
3	35.084	36.220	36.460
4	35.186	36.383	36.567
5	35.263	36.433	36.569
6	35.627	36.464	36.684
7	35.941	36.474	36.695
8	36.323	36.486	36.891
9	36.710	36.503	36.897
10	36.739	36.537	36.942
mean	35.675	36.367	36.606
SD	0.712	0.183	0.279
RSD	0.02	0.005	0.005
Total mean	36.216		
Total SD	1.641		

$$\begin{aligned}
 U_{prec} &= \sqrt{\frac{(n-1)(\%RSD_{low})^2 + (n-1)(\%RSD_{medium})^2 + (n-1)(\%RSD_{high})^2}{(n-1) + (n-1) + (n-1)}} \\
 &= \sqrt{\frac{(10-1)(0.02)^2 + (10-1)(0.005)^2 + (10-1)(0.005)^2}{(10-1) + (10-1) + (10-1)}} \\
 &= 1.225 \times 10^{-2}
 \end{aligned}$$

7. ความไม่แน่นอนจากการทำซ้ำ Urepeat ที่ความเข้มข้นระดับกลาง

$$\begin{aligned} U_{repeat} &= \frac{SD}{\sqrt{n}} \\ &= \frac{0.183}{\sqrt{10}} \\ &= 5.787 \times 10^{-2} \end{aligned}$$

8. การประเมินค่าความไม่แน่นอนของการทดสอบ

แหล่งข้อมูล	Value (X)	Ux	RSU(Ux/x)	RUS <sup>2</sup>
Umass std	26.5 mg	$2.06 \times 10^{-4}$	$7.774 \times 10^{-6}$	$6.043 \times 10^{-11}$
Umass sam	71.4 mg	$2.06 \times 10^{-4}$	$2.885 \times 10^{-6}$	$8.324 \times 10^{-12}$
Uvol std	25 ml	$7.254 \times 10^{-2}$	$2.9 \times 10^{-3}$	$8.419 \times 10^{-6}$
Uvol sam	25 ml	$7.254 \times 10^{-2}$	$2.9 \times 10^{-3}$	$8.419 \times 10^{-6}$
Ustd	0.943	$5 \times 10^{-3}$	$5.302 \times 10^{-3}$	$2.811 \times 10^{-5}$
Uprec	36.216	$1.225 \times 10^{-2}$	$3.382 \times 10^{-4}$	$1.144 \times 10^{-7}$
Urepeat	36.367	$5.787 \times 10^{-2}$	$1.591 \times 10^{-3}$	$2.532 \times 10^{-6}$

9. การหาความไม่แน่นอนรวม (Uc) และ ความไม่แน่นอนขยาย (UE)

$$U_c = C_{sam} \sqrt{U_{mass\ std}^2 + U_{mass\ sam}^2 + U_{vol\ std}^2 + U_{vol\ sam}^2 + U_{std}^2 + U_{prec}^2 + U_{repeat}^2}$$

$$C_{sam} = \text{ปริมาณสารออกฤทธิ์ cypermethrin } 36.367$$

$$U_c = 36.367 \times \sqrt{(6.043 \times 10^{-11})^2 + (8.324 \times 10^{-12})^2 + (8.419 \times 10^{-6})^2 + (8.419 \times 10^{-6})^2 + (2.811 \times 10^{-5})^2 + (1.144 \times 10^{-7})^2 + (2.532 \times 10^{-6})^2}$$

$$U_c = 36.367 \times 0.007$$

$$U_E = 2 \times U_c$$

$$U_E = 2 \times 0.25$$

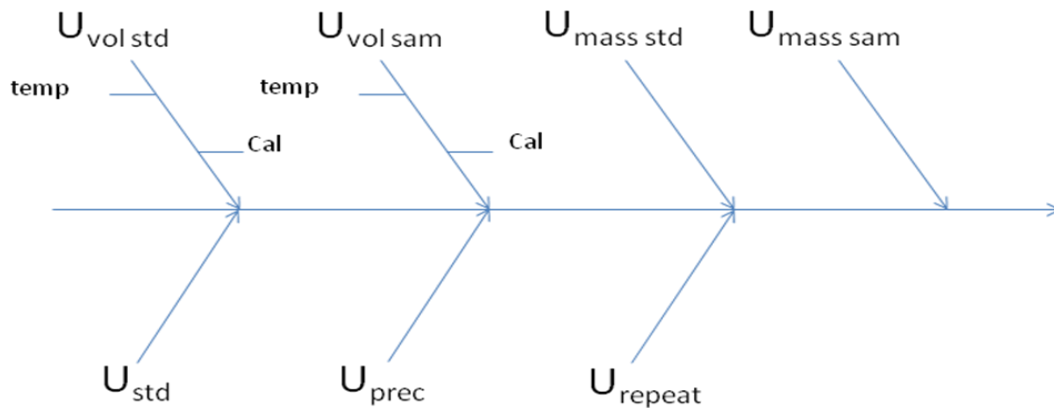
$$U_E = 0.5$$

รายงาน % ปริมาณสารออกฤทธิ์ =  $C_{sam} \pm U_E$  ที่ระดับความเชื่อมั่น 95 %

ดังนั้น รายงาน % ปริมาณสารออกฤทธิ์ cypermethrin =  $36.367 \pm 0.5$  % W/W

ตัวอย่าง การหาค่า Uncertainty ของการทดสอบหาปริมาณสารออกฤทธิ์ carbaryl

ผังก้างปลาหาความไม่แน่นอนรวม



สูตรการคำนวณ

การคำนวณหา Response factor

$$\text{Response factor} = \frac{\text{weigh} \times \text{purity}}{\text{peak area}} \quad \text{หรือ} \quad f = \frac{S \times P}{H_s}$$

S = น้ำหนักของ carbaryl ในสารละลายมาตรฐาน (mg)

P = % ความบริสุทธิ์ของสารมาตรฐาน carbaryl

H<sub>s</sub> = พื้นที่ใต้ peak ของ carbaryl ในสารละลายมาตรฐาน

การคำนวณหา % สารออกฤทธิ์ carbaryl

$$\text{carbaryl content (\%W/W)} = \frac{H_w \times f}{W}$$

H<sub>w</sub> = พื้นที่ใต้ peak ของสารละลาย carbaryl

f = ค่าเฉลี่ย Response factor

w = น้ำหนักของสาร carbaryl (mg)

การหาค่าความไม่แน่นอนจากแหล่งต่างๆ ( $U_x$ )

1. การหาค่า Uncertainty จากการชั่งสารมาตรฐาน (U mass Std)

U prec : การทำ Daily Check

จำนวนซ้ำ	น้ำหนัก (กรัม)
1	99.9999
2	100.0001
3	99.9999
4	99.9999
5	99.9999
6	100.0000
7	99.9999
8	100.0000
9	99.9997
10	100.0000
Mean	99.9999
SD	$1.06 \times 10^{-4}$

$$U \text{ prec} = SD = 1.06 \times 10^{-4}$$

U cal = ความไม่แน่นอนจากการสอบเทียบเครื่องชั่ง ที่ระดับความเชื่อมั่น 95 %

ที่ 100 g มีความไม่แน่นอน  $\pm 0.00020$  g

ค่าการกระจายตัว (K) = 2 (ที่ระดับความเชื่อมั่น 95%)

$$U \text{ cal} = \frac{0.00020}{2} = 0.0001 = 1 \times 10^{-4}$$

ค่า Uncertainty จากการชั่งสารมาตรฐาน (U mass std)

$$\begin{aligned} U \text{ mass std} &= \sqrt{U_{\text{cal}_{\text{gross}}}^2 + U_{\text{prec}_{\text{gross}}}^2 + U_{\text{cal}_{\text{tare}}}^2 + U_{\text{prec}_{\text{tare}}}^2} \\ &= \sqrt{(1 \times 10^{-4})^2 + (1.06 \times 10^{-4})^2 + (1 \times 10^{-4})^2 + (1.06 \times 10^{-4})^2} \\ &= 2.06 \times 10^{-4} \text{ g} \end{aligned}$$



2. การหาค่า Uncertainty จากการชั่งสารตัวอย่าง (U mass sam)

U prec : การทำ Daily Check

จำนวนซ้ำ	น้ำหนัก (กรัม)
1	99.9999
2	100.0001
3	99.9999
4	99.9999
5	99.9999
6	100.0000
7	99.9999
8	100.0000
9	99.9997
10	100.0000
Mean	99.9999
SD	$1.06 \times 10^{-4}$

$$U \text{ prec} = SD = 1.06 \times 10^{-4}$$

U cal = ความไม่แน่นอนจากการสอบเทียบเครื่องชั่ง ที่ระดับความเชื่อมั่น 95 %

ที่ 100 g มีความไม่แน่นอน  $\pm 0.00020$  g

ค่าการกระจายตัว (K) = 2 (ที่ระดับความเชื่อมั่น 95%)

$$U \text{ cal} = \frac{0.00020}{2} = 0.0001 = 1 \times 10^{-4}$$

ค่า Uncertainty จากการชั่งสารมาตรฐาน (U mass std)

$$\begin{aligned}
 U \text{ mass std} &= \sqrt{U_{cal_{gross}}^2 + U_{prec_{gross}}^2 + U_{cal_{tare}}^2 + U_{prec_{tare}}^2} \\
 &= \sqrt{(1 \times 10^{-4})^2 + (1.06 \times 10^{-4})^2 + (1 \times 10^{-4})^2 + (1.06 \times 10^{-4})^2} \\
 &= 2.06 \times 10^{-4} \text{ g}
 \end{aligned}$$

3. ความไม่แน่นอนจากขนาดปริมาตร สำหรับสารมาตรฐาน (U vol std)

ความไม่แน่นอนจากการเปลี่ยนแปลงปริมาตรตามอุณหภูมิ สำหรับสารมาตรฐาน (Utemp)

$$U_{temp} = \frac{F \times V \times T}{\sqrt{3}}$$

F = ค่าสัมประสิทธิ์การขยายตัวของ Organic Solvent =  $1 \times 10^{-3} \text{ ml/}^\circ\text{C}$

V = volumetric flask ขนาด 100 ml

T = อุณหภูมิห้องทดสอบเปลี่ยนแปลงในช่วง  $\pm 5 \text{ }^\circ\text{C}$

มีการกระจายตัวแปร Rectangular (K) =  $\sqrt{3}$

$$U_{temp} = \frac{1 \times 10^{-3} \times 100 \times 5}{\sqrt{3}} = 7.217 \times 10^{-2} \text{ ml}$$

ความไม่แน่นอนจากการสอบเทียบ volumetric flask ขนาด 100 ml =  $\pm 0.018 \text{ ml}$

ค่าการกระจายตัวแบบ normal = 2

$$U_{cal} = \frac{0.018}{2} = 9 \times 10^{-3} \text{ ml}$$

$$\begin{aligned} U \text{ vol std} &= \sqrt{U_{temp}^2 + U_{cal}^2} \\ &= \sqrt{(2.887 \times 10^{-1})^2 + (9 \times 10^{-3})^2} \\ &= 2.888 \times 10^{-1} \text{ ml} \end{aligned}$$

4. ความไม่แน่นอนจากขนาดปริมาตร สำหรับสารตัวอย่าง (U vol sam)

ความไม่แน่นอนจากการเปลี่ยนแปลงปริมาตรตามอุณหภูมิ สำหรับสารมาตรฐาน (Utemp)

$$U_{temp} = \frac{F \times V \times T}{\sqrt{3}}$$

F = ค่าสัมประสิทธิ์การขยายตัวของ Organic Solvent =  $1 \times 10^{-3} \text{ ml/}^\circ\text{C}$

V = volumetric flask ขนาด 100 ml

T = อุณหภูมิห้องทดสอบเปลี่ยนแปลงในช่วง  $\pm 5 \text{ }^\circ\text{C}$

มีการกระจายตัวแปร Rectangular (K) =  $\sqrt{3}$

$$U_{temp} = \frac{1 \times 10^{-3} \times 100 \times 5}{\sqrt{3}} = 7.217 \times 10^{-2} \text{ ml}$$

ความไม่แน่นอนจากการสอบเทียบ volumetric flask ขนาด 100 ml = ± 0.018 ml

ค่าการกระจายตัวแบบ normal = 2

$$U_{cal} = \frac{0.018}{2} = 9 \times 10^{-3} \text{ ml}$$

$$\begin{aligned} U_{vol \text{ std}} &= \sqrt{U_{temp}^2 + U_{cal}^2} \\ &= \sqrt{(2.887 \times 10^{-1})^2 + (9 \times 10^{-3})^2} \\ &= 2.888 \times 10^{-1} \text{ ml} \end{aligned}$$

#### 5. ความไม่แน่นอนจากสารมาตรฐาน (Ustd)

สารมาตรฐาน carbaryl ความบริสุทธิ์ 98.9 % มีความไม่แน่นอน ±0.5%

ค่าการกระจายตัว (K) = 2 (ที่ระดับความเชื่อมั่น 95%)

$$U_{std} = \frac{0.005}{2} = 2.5 \times 10^{-3}$$

#### 6. ความไม่แน่นอนจากการทำ precision (Urepeat)

$$\begin{aligned} U_{repeat} &= \frac{SD}{\sqrt{n}} \\ &= \frac{0.632}{\sqrt{10}} \\ &= 2 \times 10^{-1} \end{aligned}$$

#### 7. การประเมินค่าความไม่แน่นอนของการทดสอบ

แหล่งข้อมูล	Value (X)	Ux	RSU(Ux/x)	RUS <sup>2</sup>
Umass std	0.05 g	$2.06 \times 10^{-4}$	$2.04 \times 10^{-5}$	$4.16 \times 10^{-10}$
Umass sam	0.05 g	$2.06 \times 10^{-4}$	$1.76 \times 10^{-5}$	$3.1 \times 10^{-10}$
Uvol std	100 ml	$7.254 \times 10^{-2}$	$7.254 \times 10^{-4}$	$5.262 \times 10^{-7}$
Uvol sam	100 ml	$7.254 \times 10^{-2}$	$7.254 \times 10^{-4}$	$5.262 \times 10^{-7}$
Ustd	0.989	$2.5 \times 10^{-3}$	$2.528 \times 10^{-3}$	$6.39 \times 10^{-6}$
Urepeat	85.4	$2 \times 10^{-1}$	$2.34 \times 10^{-3}$	$5.477 \times 10^{-6}$

8. การหาความไม่แน่นอนรวม (Uc) และ ความไม่แน่นอนขยาย (UE)

$$U_c = C_{sam} \sqrt{U_{mass\ std}^2 + U_{mass\ sam}^2 + U_{vol\ std}^2 + U_{vol\ sam}^2 + U_{std}^2 + U_{prec}^2 + U_{repeat}^2}$$

$C_{sam}$  = ปริมาณสารออกฤทธิ์ carbaryl 85.4 %

$$U_c = 85.4 \times \sqrt{(6.656 \times 10^{-11})^2 + (1.086 \times 10^{-11})^2 + (8.419 \times 10^{-6})^2 + (8.419 \times 10^{-6})^2 + (6.377 \times 10^{-6})^2 + (2.615 \times 10^{-8})^2 + (1.922 \times 10^{-6})^2}$$

$$U_c = 85.4 \times 0.008$$

$$U_c = 0.675$$

$$U_E = 2 \times U_c$$

$$U_E = 2 \times 0.675$$

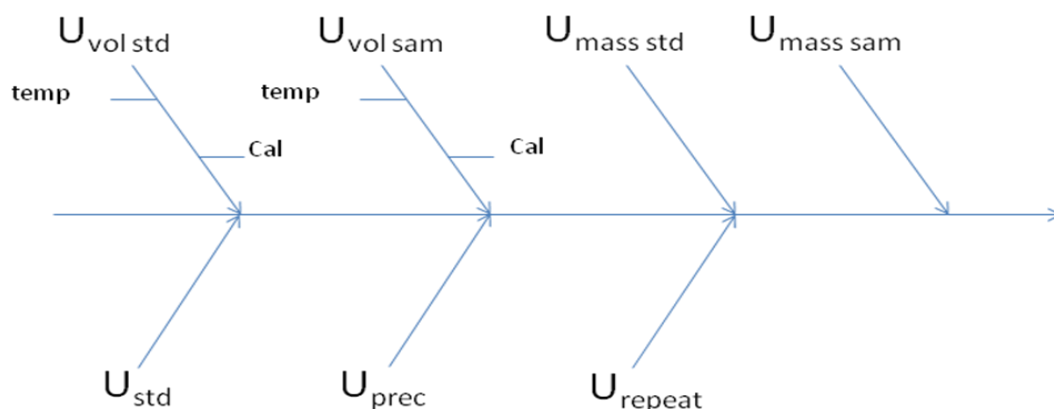
$$U_E = 1.35$$

รายงาน % ปริมาณสารออกฤทธิ์ =  $C_{sam} \pm U_E$  ที่ระดับความเชื่อมั่น 95 %

ดังนั้น รายงาน % ปริมาณสารออกฤทธิ์ carbaryl =  $85.4 \pm 1.35$  % W/W

ตัวอย่าง การหาค่า Uncertainty ของการทดสอบหาปริมาณสารออกฤทธิ์ carbosulfan

ผังก้างปลาหาความไม่แน่นอนรวม



### สูตรการคำนวณ

การคำนวณหา Response factor

$$\text{Response factor} = \frac{\text{weigh} \times \text{purity}}{\text{peak area}} \quad \text{หรือ} \quad f = \frac{S \times P}{Hs}$$

S = น้ำหนักของ carbosulfan ในสารละลายมาตรฐาน (mg)

P = % ความบริสุทธิ์ของสารมาตรฐาน carbosulfan

Hs = พื้นที่ใต้ peak ของ carbosulfan ในสารละลายมาตรฐาน

การคำนวณหา % สารออกฤทธิ์ carbosulfan

$$\text{carbosulfan content (\%W/W)} = \frac{Hw \times f}{W}$$

Hw = พื้นที่ใต้ peak ของสารละลาย carbosulfan

f = ค่าเฉลี่ย Response factor

w = น้ำหนักของสาร carbosulfan (mg)

การหาค่าความไม่แน่นอนจากแหล่งต่างๆ ( $U_x$ )

1. การหาค่า Uncertainty จากการชั่งสารมาตรฐาน (U mass Std)

U prec : การทำ Daily Check

จำนวนซ้ำ	น้ำหนัก (กรัม)
1	99.9999
2	100.0001
3	99.9999
4	99.9999
5	99.9999
6	100.0000
7	99.9999
8	100.0000
9	99.9997
10	100.0000
Mean	99.9999
SD	$1.06 \times 10^{-4}$

$$U_{\text{prec}} = SD = 1.06 \times 10^{-4}$$

$U_{\text{cal}}$  = ความไม่แน่นอนจากการสอบเทียบเครื่องชั่ง ที่ระดับความเชื่อมั่น 95 %

ที่ 100 g มีความไม่แน่นอน  $\pm 0.00020$  g

ค่าการกระจายตัว (K) = 2 (ที่ระดับความเชื่อมั่น 95%)

$$U_{\text{cal}} = \frac{0.00020}{2} = 0.0001 = 1 \times 10^{-4}$$

ค่า Uncertainty จากการชั่งสารมาตรฐาน ( $U_{\text{mass std}}$ )

$$\begin{aligned} U_{\text{mass std}} &= \sqrt{U_{\text{cal}_{\text{gross}}}^2 + U_{\text{prec}_{\text{gross}}}^2 + U_{\text{cal}_{\text{tare}}}^2 + U_{\text{prec}_{\text{tare}}}^2} \\ &= \sqrt{(1 \times 10^{-4})^2 + (1.06 \times 10^{-4})^2 + (1 \times 10^{-4})^2 + (1.06 \times 10^{-4})^2} \\ &= 2.06 \times 10^{-4} \text{ g} \end{aligned}$$

2. การหาค่า Uncertainty จากการชั่งสารตัวอย่าง ( $U_{\text{mass sam}}$ )

$U_{\text{prec}}$  : การทำ Daily Check

จำนวนชั่ง	น้ำหนัก (กรัม)
1	99.9999
2	100.0001
3	99.9999
4	99.9999
5	99.9999
6	100.0000
7	99.9999
8	100.0000
9	99.9997
10	100.0000
Mean	99.9999
SD	$1.06 \times 10^{-4}$

$$U_{\text{prec}} = SD = 1.06 \times 10^{-4}$$

$U_{\text{cal}}$  = ความไม่แน่นอนจากการสอบเทียบเครื่องชั่ง ที่ระดับความเชื่อมั่น 95 %

ที่ 100 g มีความไม่แน่นอน  $\pm 0.00020$  g

ค่าการกระจายตัว (K) = 2 (ที่ระดับความเชื่อมั่น 95%)

$$U_{\text{cal}} = \frac{0.00020}{2} = 0.0001 = 1 \times 10^{-4}$$

ค่า Uncertainty จากการชั่งสารมาตรฐาน (U mass std)

$$\begin{aligned}U \text{ mass std} &= \sqrt{Ucal_{gross}^2 + Uprec_{gross}^2 + Ucal_{tare}^2 + Uprec_{tare}^2} \\&= \sqrt{(1 \times 10^{-4})^2 + (1.06 \times 10^{-4})^2 + (1 \times 10^{-4})^2 + (1.06 \times 10^{-4})^2} \\&= 2.06 \times 10^{-4} \text{ g}\end{aligned}$$

3. ความไม่แน่นอนจากขวดวัดปริมาตร สำหรับสารมาตรฐาน (U vol std)

ความไม่แน่นอนจากการเปลี่ยนแปลงปริมาตรตามอุณหภูมิ สำหรับสารมาตรฐาน (Utemp)

$$U_{temp} = \frac{FxVxT}{\sqrt{3}}$$

F = ค่าสัมประสิทธิ์การขยายตัวของ Organic Solvent =  $1 \times 10^{-3} \text{ mL/}^\circ\text{C}$

V = volumetric flask ขนาด 100 ml

T = อุณหภูมิห้องทดสอบเปลี่ยนแปลงในช่วง  $\pm 5 \text{ }^\circ\text{C}$

มีการกระจายตัวแปร Rectangular (K) =  $\sqrt{3}$

$$U_{temp} = \frac{1 \times 10^{-3} \times 100 \times 5}{\sqrt{3}} = 2.887 \times 10^{-1} \text{ ml}$$

ความไม่แน่นอนจากการสอบเทียบ volumetric flask ขนาด 100 ml =  $\pm 0.018 \text{ ml}$

ค่าการกระจายตัวแบบ normal = 2

$$U_{cal} = \frac{0.018}{2} = 9 \times 10^{-3} \text{ ml}$$

$$\begin{aligned}U \text{ vol std} &= \sqrt{U_{temp}^2 + U_{cal}^2} \\&= \sqrt{(2.887 \times 10^{-1})^2 + (9 \times 10^{-3})^2} \\&= 2.888 \times 10^{-1} \text{ ml}\end{aligned}$$

4. ความไม่แน่นอนจากขวดวัดปริมาตร สำหรับสารตัวอย่าง (U vol sam)

ความไม่แน่นอนจากการเปลี่ยนแปลงปริมาตรตามอุณหภูมิ สำหรับสารมาตรฐาน (Utemp)

$$U_{temp} = \frac{FxVxT}{\sqrt{3}}$$

F = ค่าสัมประสิทธิ์การขยายตัวของ Organic Solvent =  $1 \times 10^{-3} \text{ mL/}^\circ\text{C}$

V = volumetric flask ขนาด 100 ml

T = อุณหภูมิห้องทดสอบเปลี่ยนแปลงในช่วง  $\pm 5 \text{ }^\circ\text{C}$

มีการกระจายตัวแปร Rectangular (K) =  $\sqrt{3}$

$$U_{temp} = \frac{1 \times 10^{-3} \times 100 \times 5}{\sqrt{3}} = 7.217 \times 10^{-2} \text{ ml}$$

ความไม่แน่นอนจากการสอบเทียบ volumetric flask ขนาด 100 ml = ± 0.018 ml

ค่าการกระจายตัวแบบ normal = 2

$$U_{cal} = \frac{0.018}{2} = 9 \times 10^{-3} \text{ ml}$$

$$\begin{aligned} U_{\text{vol std}} &= \sqrt{U_{\text{temp}}^2 + U_{\text{cal}}^2} \\ &= \sqrt{(2.887 \times 10^{-1})^2 + (9 \times 10^{-3})^2} \\ &= 2.888 \times 10^{-1} \text{ ml} \end{aligned}$$

5. ความไม่แน่นอนจากสารมาตรฐาน ( $U_{\text{std}}$ )

สารมาตรฐาน carbosulfan ความบริสุทธิ์ 98.0 % มีความไม่แน่นอน ± 1.0%

ค่าการกระจายตัว ( $K$ ) = 2 (ที่ระดับความเชื่อมั่น 95%)

$$U_{\text{std}} = \frac{0.01}{2} = 5 \times 10^{-3}$$



6. ความไม่แน่นอนจากการทำ precision (Urepeat)

จำนวนซ้ำ	Conc.ต่ำ	Conc.กลาง	Conc.สูง
1	23.074014	23.466437	23.714952
2	23.156860	23.437416	23.529076
3	23.431704	23.389662	23.491230
4	23.097528	23.382460	23.411120
5	23.291325	23.399494	23.542636
6	23.195754	23.364179	23.503923
7	23.309252	23.495581	23.425733
8	23.031151	23.382768	23.634507
9	23.090118	23.489670	23.490965
10	23.854915	23.587070	23.491042
mean	23.253	23.439	23.524
SD	0.246	0.070	0.091
RSD	1.057	0.300	0.388
Total mean	23.405		
Total SD	0.190		

$$\begin{aligned}
 \text{Urepeat} &= \frac{SD}{\sqrt{n}} \\
 &= \frac{0.19}{\sqrt{10}} \\
 &= 6.01 \times 10^{-2}
 \end{aligned}$$

7. การประเมินค่าความไม่แน่นอนของการทดสอบ

แหล่งข้อมูล	Value (X)	Ux	RSU(Ux/x)	RUS <sup>2</sup>
U <sub>mass std</sub>	0.01 g	2.06 × 10 <sup>-4</sup>	2.02 × 10 <sup>-5</sup>	4.247 × 10 <sup>-4</sup>
U <sub>mass sam</sub>	0.05 g	2.06 × 10 <sup>-4</sup>	4.12 × 10 <sup>-4</sup>	1.7 × 10 <sup>-5</sup>
U <sub>vol std</sub>	100 ml	2.888 × 10 <sup>-1</sup>	2.888 × 10 <sup>-3</sup>	8.339 × 10 <sup>-6</sup>
U <sub>vol sam</sub>	100 ml	2.888 × 10 <sup>-1</sup>	2.888 × 10 <sup>-3</sup>	8.339 × 10 <sup>-6</sup>
U <sub>std</sub>	0.98	5 × 10 <sup>-3</sup>	5.102 × 10 <sup>-3</sup>	2.603 × 10 <sup>-5</sup>
U <sub>repeat</sub>	23.4	6.01 × 10 <sup>-2</sup>	2.568 × 10 <sup>-3</sup>	6.593 × 10 <sup>-6</sup>

8. การหาความไม่แน่นอนรวม (U<sub>c</sub>) และ ความไม่แน่นอนขยาย (U<sub>E</sub>)

$$U_c = C_{sam} \sqrt{U_{mass\ std}^2 + U_{mass\ sam}^2 + U_{vol\ std}^2 + U_{vol\ sam}^2 + U_{std}^2 + U_{repeat}^2}$$

$$C_{sam} = \text{ปริมาณสารออกฤทธิ์ carbosulfan } 23.4 \%$$

$$U_c = 23.4 \times \sqrt{(4.247 \times 10^{-4})^2 + (1.7 \times 10^{-5})^2 + (8.339 \times 10^{-6})^2 + (8.339 \times 10^{-6})^2 + (2.603 \times 10^{-5})^2 + (6.593 \times 10^{-6})^2}$$

$$U_c = 23.4 \times 0.022$$

$$U_c = 0.52$$

$$U_E = 2 \times U_c$$

$$U_E = 2 \times 0.52$$

$$U_E = 1.04$$

$$\text{รายงาน \% ปริมาณสารออกฤทธิ์} = C_{sam} \pm U_E \text{ ที่ระดับความเชื่อมั่น 95 \%}$$

ดังนั้น รายงาน \% ปริมาณสารออกฤทธิ์ carbosulfan = 23.4 ± 1.04 % W/V

9. สรุปผลการทดลองและข้อเสนอแนะ :

การตรวจสอบความใช้ได้ของวิธีวิเคราะห์สารออกฤทธิ์กลุ่มสารกำจัดแมลง : คลอร์ไพริฟอส

(chlorpyrifos), ไซเพอร์เมทริน (cypermethrin), คาร์บาริล (carbaryl), คาร์โบซัลแฟน (carbosulfan)

ในผลิตภัณฑ์สารป้องกันกำจัดศัตรูพืช สรุปผลดังนี้

1. เครื่องมือและวัสดุอุปกรณ์ต่างๆมีความพร้อมในการวิเคราะห์

2. สภาวะที่เหมาะสมของเครื่อง GC

การหาปริมาณที่แน่นอนของสารคลอร์ไพริฟอส (chlorpyrifos) สภาวะที่เหมาะสมของเครื่อง GC ดังนี้

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

Gas flow rate : Helium (carrier gas) 1.5 ml/min, Hydrogen 30 ml/min, Air 300 ml/min

Split injection : Split ratio 50:1, Split flow 75 ml/min, Injection volume: 1  $\mu$ l

Temperature : Oven 240  $^{\circ}$ C, Inlet 260  $^{\circ}$ C, Detector 260  $^{\circ}$ C

Detector : Flame Ionization Detector

การหาปริมาณที่แน่นอนของสารไซเพอร์เมทริน (cypermethrin) สภาวะที่เหมาะสมของเครื่อง GC ดังนี้

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

Gas flow rate : Helium (carrier gas) 2 ml/min, Hydrogen 30 ml/min, Air 300 ml/min

Split injection : Split ratio 50:1, Split flow 100 ml/min, Injection volume: 1  $\mu$ l

Temperature : Oven 240  $^{\circ}$ C, Inlet 270  $^{\circ}$ C, Detector 270  $^{\circ}$ C

Detector : Flame Ionization Detector

การหาปริมาณที่แน่นอนของสารคาร์บาริล (carbaryl) สภาวะที่เหมาะสมของเครื่อง HPLC ดังนี้

Column : ZORBAX Eclipse XDB-C18 (4.6 x 150 mm, 5  $\mu$ m)

Mobile phase : Water : Acetonitrile (45:55)

Flow rate : 1.5 ml/min

Column Temperature : 28 $^{\circ}$ C

Wavelength : 254 nm

Injection volume : 5  $\mu$ l

Detector : DAD

การหาปริมาณที่แน่นอนของสารคาร์โบซัลแฟน (carbosulfan) สภาวะที่เหมาะสมของเครื่อง HPLC ดังนี้

Column : ZORBAX Eclipse Plus C8 (2.1 x 30 mm, 1.8  $\mu$ m)

Mobile phase : Water : Methanol (75:25)

Flow rate : 0.5 ml/min

Column Temperature : 28 $^{\circ}$ C

Wavelength : 254 nm

Injection volume : 5  $\mu$ l

Detector : DAD

3. วิธีวิเคราะห์ chlorpyrifos, cypermethrin, carbaryl และ carbosulfan ทั้ง 4 วิธีมี specification/ selectivity ที่ดี

4. การตรวจสอบช่วงของการวัด (Working range) เกณฑ์ยอมรับมาตรฐาน AOAC ค่า correlation coefficient ( $r$ )  $\geq 0.995$  วิธีวิเคราะห์ chlorpyrifos และ cypermethrin มีช่วงความเป็นเส้นตรงครอบคลุมความเข้มข้น 0.1-1.2 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร มีค่า correlation coefficient ( $r$ ) เท่ากับ 0.999 และ 0.998 ตามลำดับ ส่วนวิธีวิเคราะห์ carbaryl และ carbosulfan มีช่วงความเป็นเส้นตรงครอบคลุมความเข้มข้น 0.01-0.16 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร มีค่า correlation coefficient ( $r$ ) เท่ากับ 0.999 เท่ากัน ผ่านเกณฑ์มาตรฐาน

5. การตรวจสอบช่วงของการวัด (Working range) เกณฑ์ยอมรับมาตรฐาน AOAC ค่า correlation coefficient ( $r$ )  $\geq 0.995$  วิธีวิเคราะห์ chlorpyrifos และ cypermethrin มีช่วงความเป็นเส้นตรงครอบคลุมความเข้มข้น 0.1-1.2 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร มีค่า correlation coefficient ( $r$ ) เท่ากับ 0.999 และ 0.998 ตามลำดับ ส่วนวิธีวิเคราะห์ carbaryl และ carbosulfan มีช่วงความเป็นเส้นตรงครอบคลุมความเข้มข้น 0.01-0.16 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร มีค่า correlation coefficient ( $r$ ) เท่ากับ 0.999 เท่ากัน ผ่านเกณฑ์มาตรฐาน

6. การตรวจสอบความเที่ยง (Precision) แบบ Repeatability และ Reproducibility ประเมินค่า precision โดยใช้ค่า HORRAT เกณฑ์ยอมรับมาตรฐาน AOAC; HORRAT  $\leq 2$  การตรวจสอบความเที่ยง (Precision) แบบ Repeatability ของวิธีวิเคราะห์ chlorpyrifos, cypermethrin, carbaryl และ carbosulfan ได้ค่า HORRAT 0.412, 1.067, 0.548 และ 0.494 ตามลำดับ ส่วน reproducibility ได้ค่า HORRAT = 0.55, 0.88, 0.991 และ 0.461 ตามลำดับ ผ่านเกณฑ์มาตรฐาน

7. การตรวจสอบความคงทนของวิธี (Robustness/Ruggedness) การประเมินผลโดยใช้ค่า HORRAT เกณฑ์ยอมรับมาตรฐาน AOAC; HORRAT  $\leq 2$  การตรวจสอบความคงทนของวิธี แบบ Robustness ของวิธีวิเคราะห์ chlorpyrifos, cypermethrin, carbaryl และ carbosulfan ได้ค่า HORRAT 0.548, 0.548, 0.832 และ 0.814 ตามลำดับ ส่วนแบบ Ruggedness ได้ค่า HORRAT 0.447, 0.591, 0.946 และ 0.784 ตามลำดับ

8. การตรวจสอบความถูกต้อง (accuracy) โดยค่า% recovery ต้องอยู่ในช่วง 98 -102 % ตามเกณฑ์การพิจารณาสำหรับสารที่มีปริมาณมากกว่า 10 % ของ AOAC (1993) พบว่า วิธีวิเคราะห์ chlorpyrifos, cypermethrin, carbaryl, และ carbosulfan มีค่า % recovery เท่ากับ 99.45, 100.04, 99.80 และ 100.66 % ตามลำดับ

9. ค่าความไม่แน่นอนของวิธีวิเคราะห์ chlorpyrifos, cypermethrin, carbaryl, และ carbosulfan มีค่าเท่ากับ  $\pm 0.39$ ,  $\pm 0.50$ ,  $\pm 1.35$ , และ  $\pm 1.04$  %W/W ตามลำดับ ที่ระดับความเชื่อมั่น 95%

จากการประเมินผลการทดสอบพารามิเตอร์ต่างๆ อยู่ในเกณฑ์ยอมรับได้ สามารถนำวิธีนี้ไปใช้เป็นวิธีมาตรฐานในการตรวจวิเคราะห์ สำหรับห้องปฏิบัติการ สำนักวิจัยและพัฒนาการเกษตรเขตที่ 5

## 10. การนำผลงานวิจัยไปใช้ประโยชน์

1. ได้วิธีวิเคราะห์สารออกฤทธิ์กลุ่มสารกำจัดแมลง : คลอร์ไพริฟอส (chlorpyrifos), ไซเปอร์เมทริน (cypermethrin), คาร์บาริล (carbaryl), คาร์โบซัลแฟน (carbosulfan) ในผลิตภัณฑ์สารป้องกันกำจัดศัตรูพืชที่เหมาะสมกับเครื่องมือในห้องปฏิบัติการ

2. เพื่อเพิ่มขีดความสามารถห้องปฏิบัติการ และสามารถขยายขอบข่ายห้องปฏิบัติการ

ISO/IEC17025:2005

## 11. คำขอขอบคุณ (ถ้ามี)

12. เอกสารอ้างอิง ทิพวรรณ นิ่งน้อย. 2549. แนวทางการปฏิบัติการทดสอบความถูกต้องของวิธีวิเคราะห์. กรมวิทยาศาสตร์การแพทย์ กระทรวงสาธารณสุข. 124 น.

## 13. ภาคผนวก