

รายงานผลงานเรื่องเติมการทดลองที่สิ้นสุด ปีงบประมาณ 2557

.....

1. **ชุดโครงการวิจัย** : แผนงานวิจัยและพัฒนาปัจจัยการผลิตทางการเกษตร
2. **โครงการวิจัย** : การพัฒนาระบบการตรวจวิเคราะห์พืชและปัจจัยการผลิตทางการเกษตร
 - กิจกรรม 1. : การพัฒนาระบบการตรวจวิเคราะห์พืช ดิน น้ำ สารอินทรีย์ สารควบคุมการเจริญเติบโต สารสกัด และวัตถุอันตรายทางการเกษตร
 - กิจกรรมย่อย 1.5 : วิจัยและพัฒนาเทคนิคการตรวจสอบรับรองผลิตภัณฑ์วัตถุพืชมัยการเกษตร
3. **ชื่อการทดลอง 1.5.1:** ตรวจสอบความใช้ได้ของวิธีวิเคราะห์วัตถุพืชมัยการเกษตร Isoprothiolane
ชื่อการทดลอง : Method Validation of Isoprothiolane in Pesticide Formulations
4. **คณะผู้ดำเนินงาน**

หัวหน้าการทดลอง	นางจิราพรพรณ ทองหยอด	กลุ่มวิจัยวัตถุพืชมัยการเกษตร สปพ.
	นายฉลองรัตน์ หมื่นขวา	กลุ่มวิจัยวัตถุพืชมัยการเกษตร สปพ.

5. บทคัดย่อ

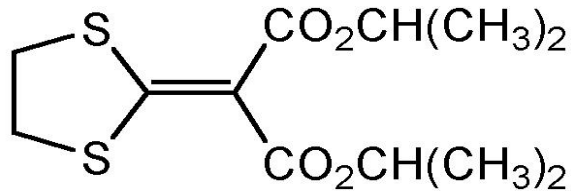
การตรวจสอบความใช้ได้ของวิธีวิเคราะห์สารออกฤทธิ์ไอโซโพรธิโอเลน (Isoprothiolane) ทำการตรวจสอบด้วยเทคนิค Gas Liquid Chromatography (GLC) ใช้ตัวตรวจจับชนิด Flame ionization detector (FID) คอลัมน์ Capillary ชนิด HP-5 (30 m x 0.32 mm (id.) 0.25 μ m film thickness) ใช้แก๊สฮีเลียม (He) เป็นแก๊สตัวพา ได้สภาวะที่เหมาะสมของ คือ อัตราการไหล 2 มล./นาที อุณหภูมิคอลัมน์ 280 องศาเซลเซียส เวลาในการวิเคราะห์ 4.0 นาที อุณหภูมิการฉีด 260 องศาเซลเซียส อุณหภูมิตัวตรวจจับ 280 องศาเซลเซียส โหมดการฉีด Split ratio 50 : 1 ปริมาณการฉีด 1 ไมโครลิตร ผลการทดลอง ได้ค่า Range ได้ช่วงความเข้มข้น 0.10 - 2.50 มก./มล. มีค่า Correlation coefficient (r) เท่ากับ 0.99993 ค่า Linearity ได้ช่วงความเข้มข้น 0.50-1.75 มก./มล. มีค่า Correlation coefficient (r) เท่ากับ 0.99997 โดยเกณฑ์ยอมรับ AOAC ค่า $r \geq 0.995$ ค่า Accuracy หาได้จาก %Recovery ที่ความเข้มข้น 3 ระดับ คือ 0.5 1.0 และ 1.5 มก./มล. มีค่าเฉลี่ย เท่ากับ 100.1 เกณฑ์ยอมรับ AOAC %Recovery เท่ากับ 98 - 102 การวิเคราะห์ซ้ำ (Precision) โดยใช้ Repeatability ได้ค่า HORRAT เท่ากับ 1.14 และ 0.82 ได้ค่า Within laboratory reproducibility เท่ากับ 0.82 และ 0.91 ตามลำดับ ตรวจสอบความแข็งแกร่งของวิธี โดยใช้ Robustness/ Ruggedness ได้ค่า HORRAT เท่ากับ 0.61 และ 0.40 ตามลำดับ จากผลการทดสอบพารามิเตอร์ต่างๆตาม Method Validation พบว่าอยู่ในเกณฑ์ยอมรับ (เกณฑ์ยอมรับ AOAC ค่า HORRAT < 2) ดังนั้น วิธีการวิเคราะห์นี้สามารถนำไปใช้เป็นวิธีมาตรฐานในการตรวจวิเคราะห์สารออกฤทธิ์ไอโซโพรธิโอเลนในผลิตภัณฑ์วัตถุอันตรายทางการเกษตร ของห้องปฏิบัติการวิเคราะห์ต่างๆของกรมวิชาการเกษตร

Abstract

The validation examination of the active ingredient, isoprothiolane, is experimentation by using gas liquid chromatography with flame ionization detector (GC-FID). Instrumentation includes capillary column type HP-5 (30 m × 0.32 mm (id.) 0.25 μm film thickness), helium (He, as a carrier gas), optimization methods using flow rate of 2 ml/min, column temperature 280 °C, stop time 4.0 min, injection temperature 260 °C, detector temperature 280 °C, Injection using mode split ratio 50: 1, inject volume 1μL. For the experimental results, the range was concentrations from 0.10 to 2.50 mg/ml. The correlation coefficient (r) was 0.99993. The linearity using concentration is from 0.50 to 1.75 mg /ml. The correlation coefficient (r) was 0.99997 (Accepted by the AOAC $r \geq 0.995$). Accuracy considers from %recovery, this is an examination using concentration 3 levels are 0.5, 1.0 and 1.5 mg/ml, found the mean average was 100.1 (Accepted by AOAC% Recovery of 98 – 102). Precision uses repeatability and within laboratory reproducibility, HORRAT was 1.14 and 0.82, 0.82 and 0.91, respectively. Determine the hardness of the method using robustness/ruggedness, it was found that HORRAT was 0.61 and 0.40, respectively. From the test results, Validation method parameters are acceptable. (Accepted by the AOAC HORRAT <2), so this is analysis method can be used as a measure to determine the active ingredient isoprothiolane in pesticide products in the analytical laboratory of the Department Agriculture.

6. คำนำ

ไอโซโพรธิโอเลนเป็นสารกำจัดเชื้อราจัดอยู่ในกลุ่ม dithiolane ประเภทดูดซึม มีพิษเฉียบพลันทางปาก (หนู) 1,190 มก./กก. ทางผิวหนัง มากกว่า 10,250 มก./กก. ใช้ในพืชตระกูล ข้าว สามารถใช้กำจัดโรคพืชได้หลายชนิด เช่น โรคใบไหม้ของข้าวที่เกิดจากเชื้อ *Pyricularia oryzae*. โรคกล้าต้นเน่าและโรคใบจุดที่เกิดจากเชื้อ *Fusarium spp.* (ปรีชา, 2537) ไอโซโพรธิโอเลน มีชื่อทางเคมี คือ di-isopropyl 1,3-dithiolan-2-ylidenemalonate (ตามระบบ IUPAC) มีสูตรทางเคมี คือ $C_{12}H_{18}O_4S_2$ มีสูตรโครงสร้างตามภาพที่ 1 สารบริสุทธิ์มีลักษณะผลึกสีเหลือง มีกลิ่นฉุน มีหลอมเหลว 54.0 - 54.5 องศาเซลเซียส คงสภาพได้ดีในกรด ต่างแสง และความชื้น (Anonymous, 1993)



ภาพที่ 1 . สูตรโครงสร้างของไอโซโปรธิโอเลน (Anonymous,1993)

การตรวจสอบคุณภาพปริมาณไอโซโปรธิโอเลน มีวิธีวิเคราะห์ตามวิธีมาตรฐาน CIPAC Handbook Vol. E สภาวะของเครื่องตามวิธีมาตรฐาน คือ ใช้ Column Glass column 1.0 m X 3 mm (o.d) packed (5% silicone on Chromosorb W (AW-DMCS) 60 – 80 mesh) อุณหภูมิคอลัมน์ 210 องศาเซลเซียส อุณหภูมิการฉีดสาร 230 องศาเซลเซียส อุณหภูมิตัวตรวจจับ 230 องศาเซลเซียส ใช้แก๊สตัวพาเป็นไนโตรเจน อัตราการไหล 50 มล./นาที เวลาในการวิเคราะห์ 2.5 นาที ใช้ Bis (2-ethylhexyl) adipate เป็นสารมาตรฐาน ภายใน (internal standard) และ ใช้ Acetone เป็นตัวทำละลาย (Dobrat and A Martijn, 1993) จะพบว่าวิธีการวิเคราะห์ตามวิธีมาตรฐานใช้มาเป็นระยะเวลานานตั้งแต่ ปี ค.ศ. 1993 สารละลายและอุปกรณ์บางอย่างหาไม่ได้ในปัจจุบัน โดยเฉพาะ Column ใช้ Glass column 1.0 m X 3 mm (o.d) packed (5% silicone on Chromosorb W (AW-DMCS) ซึ่งในปัจจุบัน Column ชนิดนี้บริษัทผู้ผลิตเลิกผลิตแล้ว (A Martijn and W Dobat, 1993) ดังนั้น การปรับปรุงเปลี่ยนแปลงวิธีวิเคราะห์จึงมีความสำคัญใน การนำมาปฏิบัติงาน ได้ง่าย สะดวกและรวดเร็วขึ้น ผู้วิจัยจึงได้ทำการตรวจสอบความใช้ได้ของวิธีวิเคราะห์ ตามวิธีการของ Method Validation ซึ่งเป็นวิธีที่ประเมินคุณภาพของวิธีวิเคราะห์ให้มีความถูกต้อง น่าเชื่อถือ และเป็นที่ยอมรับทั้งห้องปฏิบัติการต่างๆและได้รับความน่าเชื่อถือจากผู้รับบริการ

งานวิจัยนี้ได้ตัดแปลงวิธีวิเคราะห์ปริมาณสารออกฤทธิ์ Isoprothiolane ในผลิตภัณฑ์วัตถุอันตรายทางการเกษตร สูตร EC โดยเทคนิค Gas liquid chromatography ใช้ตัวตรวจจับ flame ionization (GC-FID) และ ใช้ Capillary column (5 % phenyl methyl siloxane, HP5) แทน column packing glass (AW-DMCS) ปรับเปลี่ยนสภาวะของเครื่อง ดำเนินการตรวจสอบความใช้ได้ของวิธีทดสอบตามข้อกำหนดต่างๆของ Method Validation ดังนี้ ตรวจสอบช่วงของการวัด (Range) ช่วงที่เป็นเส้นตรง (Linearity) ความแม่นยำ (Accuracy) ความเที่ยง (Precision) และความแข็งแกร่งของวิธี (Robustness/Ruggedness) (Huber, 1998) นอกจากนี้ การทดสอบยังสามารถนำไปใช้กับข้อกำหนดตามมาตรฐานห้องปฏิบัติการ ISO/IEC:17025 ซึ่งครอบคลุมข้อที่ 5.4.2 และ 5.4.2 อีกด้วย (นิรนาม, 2554)

7. วิธีดำเนินการ

- อุปกรณ์

1. เครื่อง Gas Chromatograph มีตัวตรวจจับชนิด Flame Ionization Detector

2. คอลัมน์ชนิด Capillary ภายในเคลือบด้วย 5 % phenyl methyl siloxane (HP-5) ความยาว 30 เมตร เส้นผ่าศูนย์กลางภายใน 0.32 มิลลิเมตร ความหนาของฟิล์ม 0.25 ไมโครเมตร
3. เครื่องชั่งละเอียด 4 ตำแหน่ง (ซึ่งได้ระดับ 0.1 มิลลิกรัม) ที่ผ่านการสอบเทียบ
4. เครื่องเขย่าสารด้วยคลื่นความถี่สูง (Ultrasonic bath)
5. ขวดวัดปริมาตร ขนาด 25 50 500 และ 1000 มิลลิลิตร (class A) ที่ผ่านการสอบเทียบ
6. ปิเปตชนิด ขนาด 2 3 4 5 และ 10 มิลลิลิตร (class A) ที่ผ่านการสอบเทียบ
7. บีกเกอร์ ขนาด 100 มิลลิลิตร
8. Vial ขนาด 2 มิลลิลิตร
9. กรวยกรอง

สารเคมี

1. สารมาตรฐาน Isoprothiolane ความบริสุทธิ์ 99.0%
2. สารเข้มข้นสูง (Technical material) ของ Isoprothiolane สูตร 98.0% min. Tech.
3. สารละลาย Acetone AR grade

- วิธีการ

1. การตรวจสอบปริมาณที่แน่นอนของสารออกฤทธิ์ Technical grade Isoprothiolane

1.1 การปรับตั้งสภาวะเครื่อง GC-FID

Capillary column	: HP-5 (30 m × 0.32 mm (i.d.), 0.25 μm)
Oven temperature	: 260 °C
Injector temperature	: 280 °C
Detector temperature	: 280 °C
Split injection	: Split ratio 50 : 1
Carrier gas	: Helium 2.0 ml/min
Injection volume	: 1 μl
Run time	: 4.0 min

1.2 การเตรียมสารละลายมาตรฐาน Isoprothiolane

ชั่งสารมาตรฐาน Isoprothiolane ปริมาณสารออกฤทธิ์ 25 มิลลิกรัม จำนวน 2 ซ้ำ (C_A, C_B) ลงในขวดวัดปริมาตรขนาด 25 มิลลิลิตร ละลายด้วย acetone เขย่าให้เข้ากันด้วย ultrasonic bath 5 นาที ปล่อยให้สารละลายปรับตัวเข้าสู่อุณหภูมิห้อง ปรับปริมาตรด้วย acetone

1.3 การเตรียมสารละลายสาร Isoprothiolane

1.3.1 ชั่งสารเข้มข้นสูง Isoprothiolane คลุกสารให้เป็นเนื้อเดียวกัน ปริมาณ 25 มิลลิกรัม จำนวน 10 ซ้ำ (TC₁-TC₁₀) ลงในขวดวัดปริมาตรขนาด 25 มิลลิลิตร ละลายด้วย acetone เขย่าให้เข้ากันด้วย ultrasonic bath 5 นาที ปล่อยให้สารละลายปรับตัวเข้าสู่อุณหภูมิห้อง ปรับปริมาตรด้วย acetone

1.3.2 ซังสารผลิตภัณฑ์ Isoprothiolane คลุกสารให้เป็นเนื้อเดียวกัน ปริมาณ 120 มิลลิกรัม จำนวน 10 ซ้ำ (tC₁-tC₁₀) ลงในขวดวัดปริมาตรขนาด 50 มิลลิลิตร ละลายด้วย acetone เขย่าให้เข้ากันด้วย ultrasonic bath 5 นาที ปล่อยให้สารละลายปรับตัวเข้าสู่อุณหภูมิห้อง ปรับปริมาตรด้วย acetone

1.4 การฉีดสารละลายเข้าเครื่อง GC-FID

เมื่อปรับตั้งสถานะของเครื่อง GC-FID เรียบร้อยแล้ว และรอจนกระทั่ง baseline เรียบ ทดลองฉีดสารละลายมาตรฐาน C_A และ C_B สลับกันหลายๆครั้ง จนได้ค่า response factor ที่คำนวณได้จากการฉีดแต่ละครั้งต่างจากค่าเฉลี่ยไม่เกิน 1% จากนั้นฉีดสารละลายของสารเข้มข้น Isoprothiolane ตามลำดับ ดังนี้

สารเข้มข้นสูง C_A C_A, TC₁TC₁, T₂C₂, TC₃TC₃, C_BC_B,

สารผลิตภัณฑ์ C_A C_A, tC₁tC₁, t₂C₂, tC₃tC₃, C_BC_B,

1.5 การคำนวณปริมาณสารออกฤทธิ์ Isoprothiolane

โดยเริ่มจากการคำนวณค่า response factor (f) จากสูตร

$$f = \frac{S \times P}{H_S}$$

โดยที่ S = น้ำหนักสารมาตรฐาน หน่วยเป็น มิลลิกรัม

P = ความบริสุทธิ์ของสารมาตรฐาน Isoprothiolane หน่วยเป็น กรัม/กก.

H_S = พื้นที่ใต้พีคของสารละลายมาตรฐาน Isoprothiolane

จากนั้นคำนวณค่า %RPD (relative percent difference) ของ response factor ของสารละลายมาตรฐานทั้ง 2 ซ้ำ ซึ่งต้องได้ค่า %RPD แตกต่างกันไม่เกิน 3% จากสูตร

$$\%RPD = \frac{(f \text{ of maximum} - f \text{ of minimum}) \times 100}{f \text{ of average}}$$

นำค่า response factor เฉลี่ยที่ได้คำนวณปริมาณสารออกฤทธิ์ จากสูตร

$$\text{ปริมาณสารออกฤทธิ์ Isoprothiolane (\% w/w)} = \frac{f_{avr.} \times H_W}{W}$$

โดยที่ W = น้ำหนักสารละลายของสารเข้มข้น Isoprothiolane หน่วยเป็น มิลลิกรัม

f_{avr.} = ค่าเฉลี่ย response factor ของสารละลายมาตรฐานทั้ง 2 ซ้ำ

H_W = พื้นที่ใต้พีคของสารละลายของสารเข้มข้น Isoprothiolane

2. การตรวจสอบความใช้ได้ของปริมาณสารออกฤทธิ์ Isoprothiolane สูตร EC

2.1 การตรวจสอบช่วงความเป็นเส้นตรง (Range/Linearity)

2.1.1 ค่า Range

2.1.1.1 เตรียมสารเข้มข้น Isoprothiolane ที่ทราบเปอร์เซ็นต์แน่นอน และคลุกให้เป็นเนื้อเดียวกันแล้วซังสารให้มีสารออกฤทธิ์ Isoprothiolane ครอบคลุมความเข้มข้นช่วงการใช้งาน 5 ความเข้มข้น นั่นคือ 0.10 - 2.50 มก./มล. ละลายด้วย acetone

2.1.1.2 นำสารละลายฉีดเข้าเครื่อง GC-FID ที่เตรียมสถานะเครื่องตามข้อ 1.1 โดยฉีดสารละลายเรียงจากความเข้มข้นน้อยไปมาก

2.1.1.3 วาดกราฟระหว่างความเข้มข้นของสารละลาย Isoprothiolane (แกน X) กับ ค่า response (แกน Y) พิจารณาช่วงความเป็นเส้นตรง

2.1.2 ค่า Linearity

2.1.2.1 เลือกความเข้มข้นที่เป็นเส้นตรง 6 ช่วงความเข้มข้นจากข้อ 2.1.1 ให้อยู่ในช่วงใกล้เคียงการใช้งานจริง นั่นคือ ความเข้มข้น 0.50 - 1.75 มก./มล. ละลายด้วย acetone โดยฉีดสารละลายเรียงจากความเข้มข้นน้อยไปมาก เข้าเครื่อง GC-FID

2.1.2.2 วาดกราฟระหว่างความเข้มข้นของสารละลาย Isoprothiolane (แกน X) กับ ค่า response (แกน Y) ต้องได้ค่า correlation coefficient (r) ≥ 0.995

2.2 การตรวจสอบความแม่นยำ (Accuracy)

2.2.1 การเตรียมสารละลายของสารเข้มข้นสูง Isoprothiolane ที่ทราบความบริสุทธิ์แน่นอน เพื่อทำ standard calibration curve โดยเตรียมสารเข้มข้น Isoprothiolane ที่ความเข้มข้น 5.00 มก./มล. ละลายด้วย acetone เขย่าด้วยเครื่อง ultrasonic bath 5 นาที ปล่อยให้สารละลายปรับตัวเข้าสู่อุณหภูมิห้อง ปรับปริมาตรด้วย acetone เขย่าให้เข้ากัน นำสารละลายฉีดเข้าเครื่อง GC-FID จะได้ calibration curve ของ standards

2.2.2 การเตรียมสารละลาย stock sample ความเข้มข้น 1.0 มก./มล.

ซึ่งผลิตภัณฑ์ Isoprothiolane สูตร EC ปริมาณ 11,973 มิลลิกรัม ใส่ลงในบีกเกอร์ ขนาด 100 มิลลิลิตร ละลายด้วย acetone เทผ่านกรวยกรองสุญญากาศปริมาตร 1,000 มิลลิลิตร เขย่าให้เข้ากัน ด้วยเครื่อง ultrasonic bath 5 นาที ปล่อยให้สารละลายปรับตัวเข้าสู่อุณหภูมิห้อง ปรับปริมาตรด้วย acetone

2.2.3 การเตรียมสารละลาย original sample

ปิเปตสารละลาย stock sample จากข้อ 2.2.2 ปริมาตร 10 มิลลิลิตร ลงในแต่ละขวด วัดปริมาตรขนาด 50 มิลลิลิตร จำนวน 10 ขวด ปรับปริมาตรด้วย acetone เขย่าให้เข้ากัน และแบ่งใส่ขวด vial ขนาด 2 มิลลิลิตร นำสารละลายฉีดเข้าเครื่อง GLC-FID (ได้ค่า O)

2.2.4 การเตรียมสารละลาย fortified sample

โดยทำ fortified sample ที่ระดับความเข้มข้น 0.5, 1.0 และ 1.5 มก./มล. ปิเปต สารละลาย stock sample จากข้อ 2.2.2 ปริมาตร 10 มิลลิลิตร ลงในแต่ละขวดวัดปริมาตรขนาด 50 มิลลิลิตร จำนวนอย่างละ 10 ขวด จากนั้น ปิเปตสารละลาย stock ของสารเข้มข้น Isoprothiolane จากข้อ 2.2.1 ปริมาตร 5 15 และ 25 มิลลิลิตร ตามลำดับ ลงในขวดวัดปริมาตรขนาด 50 มิลลิลิตร ความเข้มข้นละ 10 ขวด ฉีดเข้าเครื่อง GLC-FID (ได้ค่า F)

2.2.5 การประเมินค่า accuracy จาก %Recovery

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

เมื่อ F คือ ปริมาณสาร Isoprothiolane ในสารละลาย fortified sample, มก./50 มล.

O คือ ปริมาณสาร Isoprothiolane ในสารละลาย original sample, มก./50 มล.

C คือ ปริมาณ added sample, มก.

ค่าความแม่นยำ ต้องได้ %Recovery อยู่ในช่วง 98 – 102 ตามเกณฑ์ AOAC

2.3 การตรวจสอบความเที่ยง (Precision and Within laboratory reproducibility)

2.3.1 การเตรียมสารละลายของสารเข้มข้น Isoprothiolane ที่ทราบความบริสุทธิ์แน่นอน เพื่อทำ standard calibration curve โดยเตรียมสารเข้มข้น Isoprothiolane ที่ความเข้มข้น 0.50 1.00 และ 1.50 มก./มล. ละลายด้วย acetone เขย่าด้วยเครื่อง ultrasonic bath 5 นาที ปล่อยให้สารละลายปรับตัวเข้าสู่อุณหภูมิห้อง ปรับปริมาตรด้วย acetone เขย่าให้เข้ากัน นำสารละลายฉีดเข้าเครื่อง GC-FID จะได้ calibration curve ของ standards

2.3.2 การเตรียมสารละลายตัวอย่างของผลิตภัณฑ์ Isoprothiolane สู่ EC เตรียมความเข้มข้นของสารละลายตัวอย่างที่ 0.5 1.0 และ 1.5 มก./มล. โดยซังผลิตภัณฑ์ Isoprothiolane EC ที่เขย่าให้เป็นเนื้อเดียวกัน ปริมาณ 50 100 และ 150 มิลลิกรัม จำนวนความเข้มข้นละ 10 ซ้ำ จำนวน 2 ชุด (Repeatability) ลงในขวดวัดปริมาตรขนาด 50 มิลลิลิตร ละลายด้วย acetone ปริมาตร 15 มิลลิลิตร เขย่าให้เข้ากันด้วย ultrasonic bath 5 นาที ปล่อยให้สารละลายปรับตัวเข้าสู่อุณหภูมิห้อง ปรับปริมาตรด้วย acetone และฉีดเข้าเครื่อง GC และเตรียมอีกชุดหนึ่ง โดยเปลี่ยนเครื่องมือและผู้วิเคราะห์ (Within laboratory reproducibility)

2.3.3 วิเคราะห์หาปริมาณสารออกฤทธิ์ Isoprothiolane เปรียบเทียบกับความเข้มข้นของ standard calibration curve ข้อ 2.3.1

2.3.4 การคำนวณค่าความเที่ยง ด้วยการประเมินค่า HORRAT ตามสูตร ดังนี้

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

$$\text{เมื่อ \%RSD (relative standard deviation)} = \frac{SD}{\bar{X}} \times 100$$

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

C คือ อัตราส่วนความเข้มข้นของ analyte

2.4 การตรวจสอบความคงทนของวิธีวิเคราะห์ Robustness/Ruggedness

2.4.1 ทำการเปลี่ยนเครื่องมือวิเคราะห์อีกเครื่องหนึ่งโดยใช้คอลัมน์ชนิดเดียวกัน ภายใต้สภาวะเงื่อนไขอย่างเดียวกัน (Ruggedness) และทำการปรับเปลี่ยนสภาวะของเครื่องเล็กน้อย (Robustness) คือเปลี่ยนอุณหภูมิคอลัมน์ จาก 260 องศาเซลเซียส เป็น 270 องศาเซลเซียส

2.4.2 การเตรียมสารละลายของสารเข้มข้น Isoprothiolane ที่ทราบความบริสุทธิ์แน่นอน เพื่อทำ standard calibration curve ดำเนินการตามข้อ 2.3.1

2.4.3 การเตรียมสารละลายตัวอย่างของผลิตภัณฑ์ Isoprothiolane สูตร EC เตรียมความเข้มข้นของสารละลายตัวอย่างที่ 0.5 1.0 และ 1.5 มก./มล. โดยชั่งผลิตภัณฑ์ Isoprothiolane สูตร EC ที่เขย่าให้เป็นเนื้อเดียวกัน ปริมาณ 50 100 และ 150 มิลลิกรัม จำนวนความเข้มข้นละ 10 ซ้ำ ลงในขวดวัดปริมาตร ขนาด 50 มิลลิลิตร ละลายด้วย acetone เขย่าให้เข้ากันด้วย ultrasonic bath 5 นาที ปลอ่ยให้สารละลายปรับตัวเข้าสู่อุณหภูมิห้อง ปรับปริมาตรด้วย acetone

2.4.4 วิเคราะห์หาปริมาณสารออกฤทธิ์ Isoprothiolane

โดยฉีดสารละลายตัวอย่างข้อ 2.4.3 เข้าเครื่อง GC-FID เปรียบเทียบกับความเข้มข้นของ standard calibration curve ข้อ 2.4.2

2.4.5 การคำนวณค่าความเที่ยง ด้วยการประเมินค่า HORRAT ตามสูตร ดังนี้

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

$$\text{เมื่อ \%RSD (relative standard deviation)} = \frac{\text{SD}}{\bar{X}} \times 100$$

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

C คือ อัตราส่วนความเข้มข้นของ analyte

- ระยะเวลาและสถานที่ทำการทดลอง

ระยะเวลาทำการทดลอง ตุลาคม 2556 ถึง กันยายน 2557 ณ ห้องปฏิบัติการกลุ่มงานพัฒนาระบบตรวจสอบคุณภาพวัตถุดิบพืชการเกษตร กลุ่มวิจัยวัตถุดิบพืชการเกษตร สำนักวิจัยพัฒนาปัจจัยการผลิตทางการเกษตร กรมวิชาการเกษตร

8. ผลการทดลองและวิจารณ์

1. ปริมาณที่แน่นอนของสารออกฤทธิ์ Technical grade Isoprothiolane

เนื่องจากสารมาตรฐาน มีปริมาณน้อย ไม่เพียงพอในกระบวนการตรวจสอบความใช้ได้ของวิธีผู้วิจัยจึงนำสารความเข้มข้นสูง (Technical material) มาใช้แทน โดยดำเนินการตรวจสอบวิเคราะห์หาปริมาณสารเข้มข้นสูง Isoprothiolane เพื่อทราบปริมาณสารออกฤทธิ์ที่แน่นอน โดยใช้สารละลายมาตรฐาน Isoprothiolane ความบริสุทธิ์ 99.0% W/W มาเป็นตัวเปรียบเทียบ เพื่อหาปริมาณที่แน่นอนของสาร Technical grade ซึ่งตามฉลากระบุเปอร์เซ็นต์เท่ากับ 98.0 % W/W ผลการทดลองได้ผลดังตารางที่ 1 และมีค่าเฉลี่ยของ Isoprothiolane เท่ากับ 98.0 % W/W

ตารางที่ 1. เปอร์เซ็นต์ของสาร Technical grade Isoprothiolane

สารละลาย Technical grade Isoprothiolane	เปอร์เซ็นต์สารออกฤทธิ์
TC1	98.0
TC2	97.3
TC3	97.6
TC4	97.4
TC5	98.4
TC6	97.8
TC7	98.1
TC8	98.3
TC9	98.9
TC10	98.3
เฉลี่ย	98.0
SD	0.42

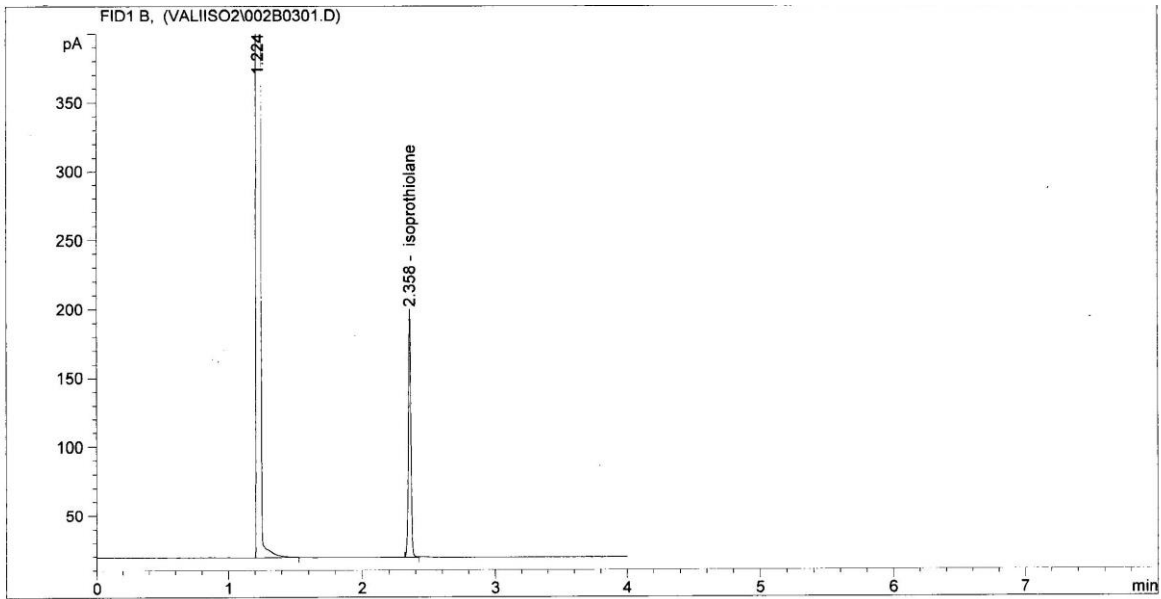
2. การตรวจสอบความใช้ได้ของปริมาณสารออกฤทธิ์ Isoprothiolane สูตร EC

2.1 การตรวจสอบช่วงความเป็นเส้นตรง (Range/Linearity)

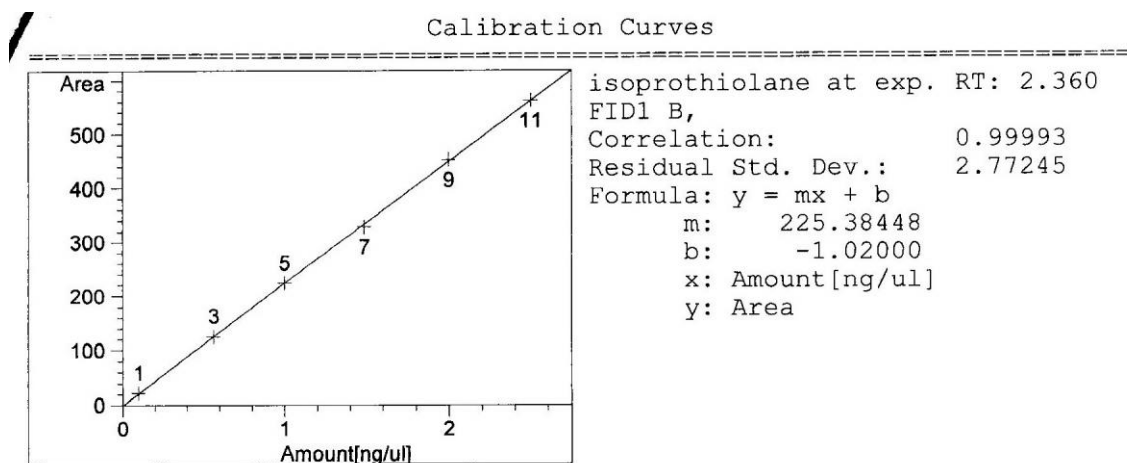
2.1.1 การตรวจสอบ Range

การตรวจสอบ Range เป็นการหาช่วงความเข้มข้น หรือปริมาณสารที่ใช้ทดสอบที่สามารถวิเคราะห์ได้อย่างถูกต้องและแม่นยำ (จิราพรรณ, 2549) การตรวจสอบช่วงของการวัด (Range) ของวิธีวิเคราะห์ โดยการชั่งสารให้มีเนื้อสาร 0.10 0.50 1.00 1.50 2.00 และ 2.50 ได้โครมาโตแกรมดังภาพที่ 2 และเมื่อพิจารณาช่วงที่เป็นเส้นตรง จากการวาดกราฟระหว่างความเข้มข้นของสาร (แกน X) กับ response (แกน Y) (ภาพที่ 3) ได้ช่วงที่เป็นเส้นตรง จะอยู่ในช่วงความเข้มข้น 0.50 - 1.50 มก./มล. มีความเป็นเส้นตรงมากที่สุด

จากการทำ range ในช่วงความเข้มข้น 0.10 – 2.50 มก./มล. มีค่า Correlation coefficient (r) เท่ากับ 0.99993



ภาพที่ 2. โครมาโตแกรมของ ไอโซโปรธิโอเลน

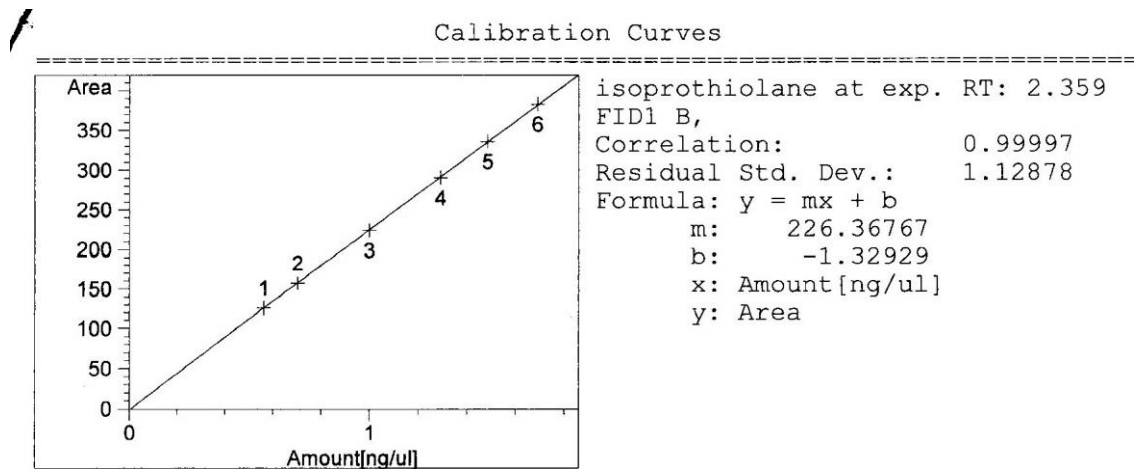


ภาพที่ 3. กราฟมาตรฐานค่า Range ของของไอโซโปรธิโอเลน

2.1.2 การตรวจสอบ Linearity

Linearity คือ การหาความสัมพันธ์ระหว่างความเข้มข้น หรือปริมาณสารที่ทดสอบกับสัญญาณที่ตรวจวัดได้ที่มีความเป็นเส้นตรง โดยเลือกมาจากความเข้มข้นที่ได้จาก Range ซึ่งจะอยู่ในช่วง 0.50 -1.50 มก./มล. นำมาขยาย เป็น 6 ความเข้มข้น ดังนี้ 0.50 0.75 1.00 1.25 1.50 และ 1.75 มก./มล. แล้วนำมาวาดกราฟระหว่างความเข้มข้นของสาร (แกน X) กับ response (แกน Y) (ภาพที่ 4) จะพบว่าจากการทำ Linearity)

ในช่วงความเข้มข้น 0.50 – 1.75 มก./มล. มีค่า correlation coefficient (r) เท่ากับ 0.99997 ซึ่งผ่านเกณฑ์ยอมรับตามมาตรฐาน AOAC ต้องมีค่า $r \geq 0.995$



ภาพที่ 4. กราฟมาตรฐานค่า linearity ของไอโซโพรธิโอเลน

2.2 การตรวจสอบความแม่นยำ (Accuracy)

การหาความใกล้เคียงกันระหว่างผลการวิเคราะห์ จะสามารถหาได้จากการทำ Accuracy โดยการเปรียบเทียบผลวิเคราะห์ที่ได้กับวัสดุอ้างอิง จากตัวอย่างเดียวกัน โดยคำนวณ %Recovery ตามสูตรในข้อ 2.2.5 โดยใช้สารตัวอย่างผลิตภัณฑ์ Isoprothiolane 41.76% W/W ซึ่งสาร Isoprothiolane สูตร EC ให้มีที่ความเข้มข้น 3 ระดับ คือ 0.5 1.0 และ 1.5 มก./มล. จำนวนอย่างละ 10 ซ้ำ ฉีดเข้าเครื่อง GC ได้ผลการทดลองดังตารางที่ 2

ตารางที่ 2. การตรวจสอบความแม่นยำ (Accuracy) ในตัวอย่างผลิตภัณฑ์ Isoprothiolane

ลำดับ	Active ingredient content (มก./50 มล.)								
	Concn. (0.5 มก./มล.)			Concn. (1.0 มก./มล.)			Concn. (1.5 มก./มล.)		
	analyte ที่เติม	Spilke	%Recovery	analyte ที่เติม	Spilke	%Recovery	analyte ที่เติม	Spilke	%Recovery
1	21.40	21.75	101.65	63.65	64.20	100.87	105.81	105.38	99.59
2	21.40	21.32	99.63	63.65	63.97	100.51	105.81	105.43	99.64
3	21.40	21.04	98.33	63.65	64.29	100.42	105.81	104.82	99.07
4	21.40	21.43	100.16	63.65	64.35	101.10	105.81	106.73	100.87
5	21.40	21.00	100.31	63.65	64.40	101.18	105.81	106.69	100.83
6	21.40	21.14	98.12	63.65	64.77	101.76	105.81	105.12	99.34
7	21.40	21.49	98.04	63.65	64.09	100.70	105.81	105.79	99.98
8	21.40	21.43	100.17	63.65	64.00	100.55	105.81	105.32	99.54
9	21.40	21.15	98.85	63.65	64.10	100.71	105.81	105.73	99.92
10	21.40	21.40	100.03	63.65	64.37	101.13	105.81	105.57	99.97
%Recovery		99.53		100.95		99.85			
SD		1.17		0.37		0.59			
%Recovery เฉลี่ย				100.1					

จากการทดลองใช้ความเข้มข้น 3 ระดับ คือ 0.5 1.0 และ 1.5 มก./มล. ได้ค่า %Recovery เท่ากับ 99.53 100.95 และ 99.85 ตามลำดับ และได้ค่า %Recovery เฉลี่ย เท่ากับ 100.1 ซึ่งผ่านเกณฑ์ยอมรับตามมาตรฐาน AOAC ในช่วง %Recovery เท่ากับ 98-102 จากการทดลองสารละลายอัตราส่วนของไอโซโพรนิโอเลนผ่านเกณฑ์ ทั้ง 3 ความเข้มข้น ดังนั้นสถานะการทดลองนี้สามารถใช้ได้และมีค่าความความถูกต้องทั้ง 3 ระดับความเข้มข้น

2.3 การตรวจสอบความเที่ยง (Precision/Repeatability and Within laboratory reproducibility)

เป็นการตรวจสอบค่าความใกล้เคียงกันระหว่างการวิเคราะห์ข้อมูลซ้ำ โดย Precision/ Repeatability และ Within laboratory reproducibility โดยที่ repeatability ใช้ห้องปฏิบัติการเดียวกัน ผู้วิเคราะห์คนเดียวกัน เครื่องมือเดียวกัน และทำการทดสอบในวันเดียวกันหรือเป็นการทดลองซ้ำในช่วงเวลาสั้นๆ และการทดสอบ Within laboratory reproducibility ทำการทดสอบเปรียบเทียบโดยเปลี่ยนผู้ทดสอบเปลี่ยนเครื่องมือ และห้องปฏิบัติการ โดยการทดสอบตัวอย่างที่มีความเป็นเนื้อเดียวกัน (ทิพวรรณ, 2549) ซึ่งจะแสดงออกในรูป %RSD ของการทดลอง ประเมินโดยใช้ HORRAT equation สามารถคำนวณได้จากข้อ 2.3.5 จากการทดลองได้ค่า Precision และ Within laboratory reproducibility ดังตารางที่ 3 และ 4

ตารางที่ 3. การตรวจสอบ Precision/Repeatability ในผลิตภัณฑ์สูตร EC

ลำดับ	Concn. (0.5 มก./มล.)		Concn. (1.0 มก./มล.)		Concn. (1.5 มก./มล.)	
	Al. Content	Al. Content	Al. Content	Al. Content	Al. Content	Al. Content
	1%W/W	2%W/W	1%W/W	2%W/W	1%W/W	2%W/W
1	39.47	38.36	38.48	38.31	38.70	38.13
2	39.31	39.07	38.17	38.00	38.13	37.99
3	38.35	39.12	38.24	38.25	38.91	37.23
4	39.90	37.96	37.45	37.64	38.33	38.28
5	39.32	39.54	37.56	37.76	37.73	37.22
6	38.75	39.54	38.19	38.42	37.54	37.14
7	38.94	38.24	38.38	38.02	37.52	37.37
8	39.31	38.92	38.45	37.81	37.33	37.41
9	38.28	38.21	37.90	38.41	38.63	37.77
10	38.48	38.39	39.77	37.77	37.54	37.33
Mean	39.01	38.78	38.26	38.04	38.04	37.59
SD	0.54	0.56	0.64	0.29	0.58	0.34
HORRAT	0.94	0.99	1.26	0.58	1.23	0.53
HORRATเฉลี่ย Al. Content 1			1.14			
HORRATเฉลี่ย Al. Content 2			0.82			

● **หมายเหตุ ปริมาณ Al content ยังไม่ได้คุณค่าความหนาแน่น**

จากการวิเคราะห์ค่า Repeatability โดยการฉีดครั้งที่ 1 ได้ปริมาณสารออกฤทธิ์ร้อยละ 39.01 38.26 และ 38.04 (น้ำหนักโดยน้ำหนัก) ตามลำดับ มีค่า HORRAT เท่ากับ 0.94 1.26 และ 1.23 ตามลำดับ ครั้งที่ 2 ได้ปริมาณสารออกฤทธิ์ร้อยละ 38.78 38.04 และ 37.59 (น้ำหนักโดยน้ำหนัก) ตามลำดับ HORRAT เท่ากับ 0.99 0.58 และ 0.53 และค่า HORRAT เฉลี่ย เท่ากับ 1.14 และ 0.82 ซึ่งการวิเคราะห์ทั้งสองครั้งผ่านเกณฑ์การยอมรับทั้ง 2 แบบ (เกณฑ์ยอมรับของ HORRAT < 2 และของ EU, Codex ยอมรับ HORRAT ≤ 2) (ทิพวรรณ, 2549) ดังตารางที่ 3

ตารางที่ 4. การตรวจสอบ Within laboratory reproducibility ในผลิตภัณฑ์สูตร EC

ลำดับ	Concn. (0.5 มก./มล.)		Concn. (1.0 มก./มล.)		Concn. (1.5 มก./มล.)	
	Al. Content	Al. Content	Al. Content	Al. Content	Al. Content	Al. Content
	1%W/W	2%W/W	1%W/W	2%W/W	1%W/W	2%W/W

1	38.82	38.36	37.70	38.31	38.17	38.13
2	38.87	39.07	37.95	38.00	38.34	37.99
3	38.02	39.12	38.38	38.25	39.24	37.23
4	38.85	37.96	38.26	37.64	38.08	38.28
5	38.61	39.54	38.79	37.76	37.30	37.22
6	38.25	39.54	37.90	38.42	38.32	37.14
7	38.12	38.24	38.42	38.02	37.94	37.37
8	37.86	38.92	37.51	37.81	37.77	37.41
9	38.68	38.21	38.74	38.41	37.47	37.77
10	37.78	38.39	38.02	37.77	38.06	37.33
Mean	38.39	38.78	38.17	38.04	38.06	37.59
SD	0.43	0.56	0.43	0.29	0.53	0.34
HORRAT	0.76	0.99	0.84	0.58	1.13	0.53
HORRATเฉลี่ย Al. Content 1				0.91		
HORRATเฉลี่ย Al. Content 2				0.82		

- เหตุผล ปริมาณ AI content ยังไม่ได้คุณค่าความหนาแน่น

จากการวิเคราะห์ค่า Within laboratory reproducibility โดยการวิเคราะห์ครั้งที่ 1 ได้ปริมาณสารออกฤทธิ์ร้อยละ 38.39 38.17 และ 38.06 (น้ำหนักโดยน้ำหนัก) ตามลำดับ มีค่า HORRAT เท่ากับ 0.76 0.84 และ 1.13 ตามลำดับ ครั้งที่ 2 ได้ปริมาณสารออกฤทธิ์ร้อยละ 38.78 38.04 และ 37.59 (น้ำหนักโดยน้ำหนัก) ตามลำดับ HORRAT เท่ากับ 0.99 0.58 และ 0.53 และค่า HORRAT เฉลี่ย เท่ากับ 0.91 และ 0.82 ตามลำดับ ซึ่งการวิเคราะห์ทั้งสองครั้งผ่านเกณฑ์การยอมรับทั้ง 2 แบบ (เกณฑ์ยอมรับของ AOAC HORRAT < 2 และของ EU, Codex ยอมรับ HORRAT ≤ 2) (ทิพวรรณ, 2549) ดังตารางที่ 4

2.4 การตรวจสอบความคงทนของวิธีวิเคราะห์ Robustness/Ruggedness

Robustness เป็นคุณสมบัติที่แสดงว่าวิธีทดสอบมีความคงทนต่อการเปลี่ยนแปลงสถานะของการทดสอบ เช่น อุณหภูมิ pH เวลาที่ใช้ และ Ruggedness เป็นคุณสมบัติ Reproducibility ของการทดสอบภายใต้สถานะการทดสอบปกติ เช่น เปลี่ยนผู้ทดสอบ เปลี่ยนวันที่ทดสอบ สำหรับการตรวจสอบค่า Robustness และ Ruggedness ของวิธีวิเคราะห์ทำโดยใช้ความเข้มข้น 3 ระดับ คือ 0.5 1.0 และ 1.5 มก./มล. ความเข้มข้นละ 10 ซ้ำ โดยการทำให้ Robustness ได้ทำการเปลี่ยนอุณหภูมิ column จากปกติใช้ 260 องศาเซลเซียส เป็น 270 องศาเซลเซียส และ Ruggedness ทดลองโดยการเปลี่ยนผู้ทดสอบเป็นนักวิเคราะห์อีกคน ผลการทดลองที่ได้ ดังตารางที่ 5

ตารางที่ 5. การตรวจสอบ Robustness/Ruggedness ในผลิตภัณฑ์สูตร EC

ลำดับ	Concn. (0.5 มก./มล.)		Concn. (1.0 มก./มล.)		Concn. (1.5 มก./มล.)	
	Al. Content %(W/W)		Al. Content %(W/W)		Al. Content %(W/W)	
	Robustness	Ruggedness	Robustness	Ruggedness	Robustness	Ruggedness
1	39.59	39.01	39.50	37.85	40.01	37.64
2	39.37	38.82	39.60	37.93	39.46	37.12
3	40.97	38.61	39.69	37.81	39.86	37.47
4	39.32	38.44	39.19	37.63	38.83	37.58
5	39.69	38.83	39.74	37.88	39.34	37.26
6	39.19	38.46	40.05	37.70	39.69	37.61
7	39.82	38.72	40.05	37.81	39.61	37.31
8	39.64	38.68	39.98	37.93	39.82	37.49
9	39.49	38.62	39.74	37.28	39.81	37.92
10	39.59	39.23	39.99	37.63	39.61	37.96
Mean	39.68	38.74	39.75	37.75	39.60	37.57
SD	0.49	0.24	0.28	0.19	0.34	0.27
HORRAT	0.85	0.43	0.53	0.39	0.45	0.38
HORRAT เฉลี่ย Robustness				0.61		
HORRAT เฉลี่ย Ruggedness				0.40		

- หมายเหตุ ปริมาณ Al content ยังไม่ได้คุณค่าความหนาแน่น

จากตารางที่ 5 พบว่า สำหรับ Robustness ได้ค่าเฉลี่ยปริมาณสารออกฤทธิ์ร้อยละ 39.68 39.75 และ 39.60 (น้ำหนักโดยน้ำหนัก) ตามลำดับ มีค่า HORRAT เท่ากับ 0.85 0.53 และ 0.45 ได้ค่าเฉลี่ย HORRAT เท่ากับ 0.61 และ Ruggedness ได้ค่าเฉลี่ยปริมาณสารออกฤทธิ์ร้อยละ 38.74 37.75 และ 37.57 (น้ำหนักโดยน้ำหนัก) ตามลำดับ มีค่า HORRAT เท่ากับ 0.43 0.39 และ 0.38 ได้ค่าเฉลี่ย HORRAT เท่ากับ 0.40 เมื่อพิจารณาจากค่า HORRAT จะพบว่า ทั้ง Robustness/Ruggedness ผ่านเกณฑ์ที่ยอมรับได้ทั้งหมด ซึ่งเกณฑ์ยอมรับของ AOAC ยอมรับ HORRAT < 2 และของ EU, Codex ยอมรับ HORRAT ≤ 2 (ทิพวรรณ, 2549)

9. สรุปผลการทดลองและคำแนะนำ

การตรวจสอบความใช้ได้ของวิธีวิเคราะห์ Isoprothiolane ในผลิตภัณฑ์สารกำจัดศัตรูพืชโดยใช้เทคนิค Gas Liquid Chromatography ใช้ตัวตรวจจับชนิด Flame Ionization Detector ด้วย Capillary column

ชนิด HP-5 (30 m × 0.32 mm (i.d.), 0.25 μm) ได้สถานะของเครื่อง ดังนี้ ใช้แก๊ส He เป็นตัวพา อัตราการไหลของแก๊ส 2 มล./นาที อุณหภูมิคอลัมน์ 260 องศาเซลเซียส เวลาการฉีด 4.0 นาที อุณหภูมิการฉีด 280 องศาเซลเซียส อุณหภูมิตัวตรวจจับ 280 องศาเซลเซียส โหมดการฉีด Split ratio 50 : 1 ปริมาณการฉีด 1 ไมโครลิตร การตรวจสอบความใช้ได้ของวิธีวิเคราะห์ ให้ค่า Range ที่เป็นเส้นตรงในช่วงความเข้มข้น 0.10-2.50 มก./มล. และค่า Linearity ในช่วงความเข้มข้น 0.50 – 1.75 มก./มล. โดยมีค่า correlation coefficient (r) เท่ากับ 0.99997 การตรวจสอบความแม่นยำ (Accuracy) ของวิธีการวิเคราะห์ปริมาณสารออกฤทธิ์ Isoprothiolane ในผลิตภัณฑ์พบว่า เท่ากับ 99.53 100.95 และ 99.85 ตามลำดับ และได้ค่า %Recovery เฉลี่ย เท่ากับ 100.1 อยู่ในช่วงการเกณฑ์การยอมรับตาม AOAC 98 – 102% สำหรับปริมาณสารในตัวอย่างมากกว่า 10% สำหรับการตรวจสอบความเที่ยง (Precision) ของวิธีการวิเคราะห์ปริมาณสารออกฤทธิ์ Isoprothiolane ได้ค่าครั้งที่ 1 ได้ค่า HORRAT เท่ากับ 0.94 1.26 และ 1.23 ครั้งที่ 2 ได้ค่า HORRAT เท่ากับ 0.99 0.58 และ 0.53 และค่า HORRAT เฉลี่ย เท่ากับ 1.14 และ 0.82 ตามลำดับ วิธีการวิเคราะห์ปริมาณสารออกฤทธิ์ Isoprothiolane โดยการวิเคราะห์ซ้ำต่างวัน เวลา (Within laboratory reproducibility) การวิเคราะห์ครั้งที่ 1 มีค่า HORRAT เท่ากับ 0.76 0.84 และ 1.13 ตามลำดับ ครั้งที่ 2 ได้ค่า HORRAT เท่ากับ 0.99 0.58 และ 0.53 และค่า HORRAT เฉลี่ย เท่ากับ 0.91 และ 0.82 ตามลำดับ และการทดสอบค่าความแข็งแกร่งของวิธี Robustness และ Ruggedness มีค่า HORRAT เท่ากับ 0.85 0.53 และ 0.45 ได้ค่าเฉลี่ย HORRAT เท่ากับ 0.61 มีค่า HORRAT เท่ากับ 0.43 0.39 และ 0.38 ได้ค่าเฉลี่ย HORRAT เท่ากับ 0.91 และ 0.82 ตามลำดับ เมื่อพิจารณาพารามิเตอร์ต่างๆตาม Method Validation วิธีที่ใช้ตรวจสอบ Isoprothiolane ในการทดสอบนี้ ที่ดัดแปลงมาจาก วิธีมาตรฐาน CIPAC HANDBOOK Vol.E ค่า HORRAT อยู่ในเกณฑ์การยอมรับทั้งของ AOAC (ค่า HORRAT < 2) และ EU, Codex (HORRAT ≤ 2) ฉะนั้นวิธีที่ดัดแปลงขึ้นนี้ สามารถนำมาใช้เป็นวิธีมาตรฐานของห้องปฏิบัติการ ในการตรวจหาเปอร์เซ็นต์ สารออกฤทธิ์ Isoprothiolane ในผลิตภัณฑ์สารกำจัดศัตรูพืชได้อย่าง ถูกต้อง แม่นยำ และเชื่อถือได้

10. การนำไปใช้ประโยชน์

สามารถนำวิธีการตรวจวิเคราะห์ที่ผ่านการตรวจสอบความใช้ได้ของวิธี กำหนดเป็นวิธีมาตรฐานสำหรับห้องปฏิบัติการของกรมวิชาการเกษตรทั้งในส่วนกลางและส่วนภูมิภาคเพื่อควบคุมคุณภาพของผลิตภัณฑ์ Isoprothiolane

12. เอกสารอ้างอิง

- จิราพรรณ ทองหยอด และ ญัญจนา ลือตระกูล. 2549. ศึกษาการตรวจสอบความใช้ได้ของวิธีทดสอบคาร์โบฟูแรนในผลิตภัณฑ์สารกำจัดศัตรูพืช. ผลการปฏิบัติงาน ประจำปีงบประมาณ 2549 สำนักวิจัยพัฒนาปัจจัยการผลิตทางการเกษตร กรมวิชาการเกษตร. 453 น.
- นิรนาม. 2554. การตรวจสอบความใช้ได้ของวิธีวัดทางเคมี เอกสารการฝึกอบรมปฏิบัติการ. ณ สถาบันมาตรวิทยาแห่งชาติ. จังหวัดปทุมธานี. 28 – 29 กรกฎาคม 2554.
- ปรีชา พุทธิปรีชาพงศ์. 2537. สารกำจัดศัตรูพืชในประเทศไทย. ฝ่ายสารสารวัตรเกษตร. กองควบคุมพืชและวัสดุ

การเกษตร กรมวิชาการเกษตร. 371 น.

ทิพวรรณ นิ่งน้อย. 2549. แนวปฏิบัติการทดสอบความถูกต้องของวิธีวิเคราะห์ทางเคมีโดยห้องปฏิบัติการเดียว.
กรมวิทยาศาสตร์การแพทย์. กระทรวงสาธารณสุข. 124 น.

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

Dobrat W. and H A Martijn. 1993. CIPAC Handbook Vol.E : Analysis of Technical and Formulated
Pesticides. Collaborative International Pesticides Analytical Council Limited, The Black
Bear Press, England.

Huber. Ludwig. 1998. Validation and Qualification in Analytical Laboratories. Interpharm Press,
Inc. Buffalo Grove, Illinois. 318 p.