

## รายงานผลงานเรื่องเต็มการทดลองสิ้นสุด

1. ชุดโครงการวิจัย : วิจัยและพัฒนาปัจจัยการผลิตทางการเกษตร
2. โครงการวิจัย : การพัฒนาระบบการตรวจวิเคราะห์พืชและปัจจัยการผลิตทางการเกษตร
- กิจกรรมที่ 1 : พัฒนาระบบการตรวจวิเคราะห์ปุ๋ย พืช ดิน น้ำ สารอินทรีย์ สารควบคุมการเจริญเติบโตพืช สารสกัดและวัตถุอันตรายทางการเกษตร
- กิจกรรมย่อย 1.5 : การวิจัยและพัฒนาเทคนิคการตรวจสอบรับรองผลิตภัณฑ์พืชมุ่งผลิตทางการเกษตร

3. ชื่อการทดลอง (ภาษาไทย) : ตรวจสอบความใช้ได้ของวิธีวิเคราะห์วัตถุพืชมุ่งผลิตทางการเกษตร  
deltamethrin

ชื่อการทดลอง (ภาษาอังกฤษ) Method Validation on Analysis of deltamethrin

#### 4. คณะผู้ดำเนินงาน

- หัวหน้าการทดลอง : นางนงพงา โอลเสน                      สำนักวิจัยและพัฒนาการเกษตรเขตที่ 1
- ผู้ร่วมงาน : นางเนาวรัตน์ ตั้งมั่นคงวรกุล                      สำนักวิจัยและพัฒนาการเกษตรเขตที่ 1
- นายสาคร นิยมสัจย์                      สำนักวิจัยและพัฒนาการเกษตรเขตที่ 1

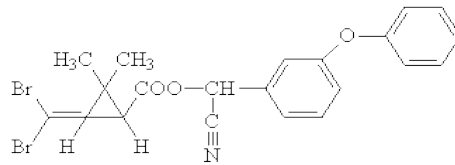
#### 5. บทคัดย่อ

การตรวจสอบความใช้ได้ของวิธีทดสอบของการวิเคราะห์สาร Deltamethrin ในผลิตภัณฑ์สารกำจัดแมลงศัตรูพืช สูตรผสมชนิด EC ด้วยเทคนิคการวิเคราะห์ด้วยเครื่อง Gas Chromatography โดยมีตัวตรวจจับชนิด Flame ionization detector (FID) ด้วย Capillary column HP-Ultra 1, 25 m x 320  $\mu$ m x 0.17  $\mu$ m ใช้ He เป็นแก๊สตัวพา อัตราการไหล 2 มิลลิลิตรต่อนาที วิธีนี้ให้ผลการทดสอบช่วงของการวัด (Range) ในช่วงความเข้มข้น 0.10 – 4.00 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร ได้ค่า Correlation Coefficient (r) เท่ากับ 0.99993 ให้ค่าความเป็นเส้นตรง (Linearity) ที่ครอบคลุมการใช้งาน 0.10 – 3.50 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร ได้ค่า Correlation Coefficient (r) เท่ากับ 0.99995 มีเกณฑ์การยอมรับของ AOAC ค่า  $r \geq 0.995$  การตรวจสอบความแม่นยำ (Accuracy) พิจารณาจากค่า %Recovery ได้ค่าเท่ากับ 100.1 เกณฑ์การยอมรับของ AOAC %Recovery อยู่ในช่วง 97-103 ความเที่ยง (Precision) โดยการตรวจสอบจากค่า Repeatability มีค่า HORRAT เท่ากับ 0.2786, 0.4806 และ 1.1290 ตามลำดับ และการตรวจสอบความเที่ยง จาก Reproducibility มีค่า HORRAT เท่ากับ 0.4844, 0.3186 และ 0.4166 การตรวจสอบความเที่ยงของข้อมูลระหว่างชนิดของคอลัมน์ Ultra 1 กับ HP-5 (Robustness) ได้ค่า HORRAT มีค่าเท่ากับ 1.2736 และ 1.1845 ตามลำดับ การตรวจสอบความเที่ยงของข้อมูล

ระหว่างผู้ทดสอบที่ 1 และผู้ทดสอบที่ 2 (Ruggedness) ได้ค่า HORRAT มีค่าเท่ากับ 0.7370 และ 0.5754 ตามลำดับเกณฑ์การยอมรับของ AOAC ค่า HORRAT  $\leq 2$  จากการประเมินผลการทดสอบพารามิเตอร์ต่างๆ อยู่ในเกณฑ์ยอมรับได้ สามารถนำวิธีการนี้ไปใช้เป็นวิธีมาตรฐานในการตรวจวิเคราะห์ให้ได้ที่ให้ผลการวิเคราะห์ถูกต้องและแม่นยำ ยอมรับในระดับสากล

## 6. คำนำ

Deltamethrin เป็นสารเคมีที่ใช้กำจัดแมลงต่างๆ เป็นสารกลุ่ม ไพรีทรอยด์(Pyrethroids)มีพิษต่อระบบประสาท มีการใช้อย่างแพร่หลาย Deltamethrin มีชื่อตาม IUPAC คือ [(S)-Cyano-(3-phenoxyphenyl)-methyl] (1R,3R)-3-(2,2-dibromoethenyl)-2,2-dimethyl-cyclopropane-1-carboxylate มีสูตรโมเลกุล  $C_{22}H_{19}Br_2NO_3$  มีสูตรโครงสร้างคือ



คุณภาพของสารกำจัดแมลงศัตรูพืชตามพระราชบัญญัติวัตถุอันตรายปี 2535 นั้นจะตรวจหาชนิดและปริมาณสารออกฤทธิ์ ตรงตามข้อมูลที่ระบุไว้ในฉลากหรือข้อมูลที่แจ้งไว้ก่อนขึ้นทะเบียนหรือไม่ ทั้งนี้เพื่อควบคุมให้ผลิตภัณฑ์วัตถุมีพิษทางการเกษตรที่จำหน่ายในท้องตลาดมีคุณภาพดีและมีความสำคัญมากต่อประสิทธิภาพในการป้องกันกำจัดแมลงศัตรูพืช ถ้าคุณภาพไม่ดีหรือไม่ได้มาตรฐาน ทำให้การป้องกันกำจัดไม่มีประสิทธิภาพและอาจมีผลกระทบต่อสิ่งแวดล้อมรวมทั้งทำให้เกิดการตกค้างในพืชและสิ่งแวดล้อมได้

การวิเคราะห์สารออกฤทธิ์ Deltamethrin ในผลิตภัณฑ์วัตถุอันตรายทางการเกษตร มีการอ้างอิงใน Analytical of Technical and Formulated Pesticides, CIPAC handbook Vol. N เนื่องจากห้องปฏิบัติการไม่สามารถปฏิบัติตามกระบวนการตามวิธีมาตรฐานได้ทั้งหมด ดังนั้นทางห้องปฏิบัติการจึงดัดแปลงวิธีทดสอบจากวิธีมาตรฐาน เพื่อให้วิธีที่ทางห้องปฏิบัติการดัดแปลงเพื่อความเหมาะสมต่อการใช้งานจึงจำเป็นต้องมีการตรวจสอบความใช้ได้ของวิธีทดสอบตามหลักเกณฑ์ของมาตรฐานสากล สามารถยืนยันความถูกต้อง แม่นยำ และเชื่อถือได้ (ดุขุณีและอุมาพร, 2544) โดยการตรวจสอบความใช้ได้ของวิธีการวิเคราะห์ซึ่งเป็นหนึ่งในข้อกำหนดตามมาตรฐาน ISO/IEC17025:2005 จะต้องมีการทดสอบ range, linearity, precision, accuracy, robustness, ruggedness, specificity และselectivity (กนกพรและทิพวรรณ,2547) เพื่อให้ได้วิธีที่สามารถวิเคราะห์ Deltamethrin ให้มีความเหมาะสมต่อห้องปฏิบัติการและมีความถูกต้อง (Accuracy) มีความแม่นยำ(Precision) เป็นที่ยอมรับได้ตามเกณฑ์สากล

## 7. วิธีดำเนินการ

### 7.1 เครื่องมือและอุปกรณ์

1. เครื่องแก๊สโครมาโตกราฟ ประกอบด้วย

- 1.1 หัวตรวจวัดชนิด Flame Ionization Detector (FID)
- 1.2 เครื่องฉีดตัวอย่างอัตโนมัติ
- 1.3 เครื่องประมวลผล Data Processing Unit
2. เครื่องชั่ง Range 0.00001 – 220 g ความละเอียด 4-5 ตำแหน่ง
3. Freezer Range 0 ถึง - 20 °C
4. Ultrasonic Bath
5. เครื่องวัดความหนาแน่นของสาร
6. Volumetric Flask, Class A ขนาด 10 และ 25 ml (Calibrated)
7. Pasture Pipette
8. Beaker ขนาด 50 และ 100 ml
9. Vial ขนาด 2 ml

## 7.2 สารเคมี

1. สารมาตรฐาน Deltamethrin 96.0%
2. สารเข้มข้น Deltamethrin (Technical grade, TC) 97.67 % AI
3. ตัวอย่างผลิตภัณฑ์สูตร Emulsifier concentrates (EC) 3% AI
4. Acetone AR grade

## 7.3 วิธีการ

1. การตรวจสอบปริมาณที่แน่นอนของสารออกฤทธิ์ Deltamethrin technical grade เพื่อให้สารเข้มข้นนี้แทนสารมาตรฐานที่มีราคาแพง และปริมาณที่จำกัด ไม่เพียงพอในการตรวจสอบความใช้ได้ จึงมีการนำสาร Deltamethrin ที่เป็น Technical grade มาใช้งาน โดยวิธีการวิเคราะห์ดำเนินการดังนี้

- 1.1 การปรับตั้งสถานะเครื่อง GC-FID ตามคู่มือการใช้งาน GC เครื่อง GC6890

Column : Capillary column HP-Ultra 1, 25 m × 320 µm × 0.17 µm

Injection System

Injection:	Split Injection
Split Ratio:	50:1
Split Flow:	100 ml/min
Injection Volume:	1µl

Detector: Flame Ionization

Temperature

Oven Temperature Program

Initial Temp	180 °C	hold	0 min
	20 °C/ min	250 °C	hold 3 min

10 °C/ min      280 °C    hold    3 min

Injection            : 260 °C

Detector             : 260 °C

Gas Flow Rate

Helium                : 2 ml/min

Hydrogen            : 30 ml/min

Air                    : 400 ml/min

Nitrogen             : 40 ml/min

### 1.2 การเตรียมสารละลายมาตรฐาน Deltamethrin

ชั่งสารมาตรฐาน Deltamethrin ที่มีปริมาณสารออกฤทธิ์ 10 มิลลิกรัม ( $\pm 1.0$  มิลลิกรัม) จำนวน 2 ซ้ำ ( $C_A, C_B$ ) ลงในขวดวัดปริมาตรขนาด 25 มิลลิลิตร ละลายด้วย acetone เขย่าให้เข้ากันด้วย Ultrasonic bath 5 นาที ปล่อยให้สารละลายปรับตัวเข้าสู่อุณหภูมิห้อง ปรับด้วย acetone

### 1.3 การเตรียมสารละลายของสารเข้มข้น Deltamethrin technical grade

ชั่งสารเข้มข้น Deltamethrin ที่เป็นเนื้อเดียวกันปริมาณ 10 มิลลิกรัม ( $\pm 1.0$  มิลลิกรัม) จำนวน 10 ซ้ำ ( $TC_1-TC_{10}$ ) ลงในขวดวัดปริมาตรขนาด 25 มิลลิลิตร ละลายด้วย acetone เขย่าให้เข้ากันด้วย Ultrasonic bath 5 นาที ปล่อยให้สารละลายปรับตัวเข้าสู่อุณหภูมิห้อง ปรับปริมาตรด้วย acetone

### 1.4 การฉีดสารละลายเข้าเครื่อง GC-FID

เมื่อปรับสภาวะของเครื่อง GC-FID เรียบร้อยแล้วให้สังเกตหรือรอจน baseline เรียบ ทดสอบการฉีดด้วยสารละลายมาตรฐาน  $C_A$  และ  $C_B$  สลับกันหลายๆครั้ง จนได้ค่า response factor ที่คำนวณได้จากการฉีดแต่ละครั้งต่างจากค่าเฉลี่ยไม่เกิน 1% จากนั้นฉีดสารละลายของสารเข้มข้น Deltamethrin ตามลำดับดังนี้

$C_A, TC_1, TC_2, C_B, TC_3, TC_4, C_A, \dots$

### 1.5 การคำนวณปริมาณสารออกฤทธิ์ Deltamethrin ในสูตรสารเข้มข้น

สูตรการคำนวณปริมาณสารออกฤทธิ์ในตัวอย่าง

$$\%w/v \text{ สารออกฤทธิ์} = \frac{Hw \times f \times Dw \times SG}{W \times Ds}$$

เมื่อ  $f = \frac{S \times P}{Hs}$

S = น้ำหนัก 1st Standard (mg)

P = เปอร์เซนต์ความบริสุทธิ์ของ 1st Standard

Hs = พื้นที่ใต้ Peak หรือความสูง Peak ของ Standard

W = น้ำหนักตัวอย่าง (mg)

Hw = พื้นที่ใต้ Peak หรือความสูง Peak ของตัวอย่าง

Dw= ความเจือจางของตัวอย่าง

Ds =ความเจือจางของ Standard

SG =ค่าความถ่วงจำเพาะ (ถ.พ.)

จากนั้นคำนวณค่า %RPD (Relative Percent Difference)

สูตร

$$\% \text{ RPD} = \frac{\text{ผลการทดสอบครั้งที่ 1} - \text{ผลการทดสอบครั้งที่ 2} \times 100}{\text{ค่าเฉลี่ยของผลการทดสอบทั้งสองครั้ง}}$$

## 2. การตรวจสอบความใช้ได้ของปริมาณสารออกฤทธิ์ Deltamethrin 3% (w/v) EC

### 2.1 การตรวจสอบช่วงความเป็นเส้นตรง (Range/Linearity)

2.1.1 ชั่งสารเข้มข้น Deltamethrin ที่ทราบเปอร์เซ็นต์แน่นอน และเขย่าให้เป็นเนื้อเดียวกัน แล้ว ให้มีปริมาณสารออกฤทธิ์ Deltamethrin ครอบคลุมความเข้มข้นช่วงการใช้งาน 6 ความเข้มข้นคือ 0.10, 0.50, 1.00, 2.00, 3.00 และ 4.00 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร ละลายด้วย acetone

2.1.2 สารละลายฉีดเข้าเครื่อง GC-FID ที่เตรียมสภาวะเครื่องแล้ว โดยฉีดสารละลายเรียงจากความเข้มข้นน้อยไปมาก

2.1.3 วาดกราฟระหว่างความเข้มข้นของสารละลาย Deltamethrin (แกน X) กับค่า response (แกน Y) พิจารณช่วงความเป็นเส้นตรง

### 2.2 ค่า Linearity

2.2.1 เลือกความเข้มข้นที่เป็นเส้นตรง 6 ความเข้มข้นจากข้อ 2.1.1 ให้อยู่ในช่วงใกล้เคียงการใช้งานจริง นั่นคือ 0.10, 0.70, 1.00, 2.00, 2.50 และ 3.50 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร ละลายด้วย acetone ฉีดเข้าเครื่อง GC-FID

2.2.2 วาดกราฟระหว่างความเข้มข้นของสารละลาย Deltamethrin (แกน X) กับค่า response (แกน Y) พิจารณช่วงความเป็นเส้นตรง

### 2.3 การตรวจความแม่นยำ (Precision) ของวิธีการ

#### 2.3.1 ตรวจสอบการทวนซ้ำ (Repeatability)

2.3.1.1 ชั่งผลิตภัณฑ์ Deltamethrin สูตร EC ( $\pm 0.1$  มิลลิกรัม) ให้มีความเข้มข้น 0.5, 1.0 และ 1.5 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร อย่างละ 10 ข้ำ ใส่ขวดวัดปริมาตร 25 มิลลิลิตร ปรับด้วย acetone ปริมาณครึ่งขวด เขย่าให้ละลายด้วย Ultrasonic bath 5 นาที ปรับด้วย acetone ตามปริมาตรที่กำหนดไว้ แบ่งใส่ขวด vial 2 มิลลิลิตร

2.3.1.2 วิเคราะห์หาปริมาณสารออกฤทธิ์ Deltamethrin ในสารละลายของผลิตภัณฑ์ ที่เตรียมจากข้อ 2.3.1.1 วาดกราฟระหว่างความเข้มข้นของสารละลาย Deltamethrin (แกน X) กับค่า

response (แกน Y) พิจารณาช่วงความเป็นเส้นตรงคำนวณค่าเฉลี่ย (Mean) ความเบี่ยงเบนมาตรฐาน (Standard deviation, SD) ความคลาดเคลื่อนสัมพัทธ์ (Relative standard deviation, RSD) และประเมินค่า HORRAT ≤ 2 ตามเกณฑ์พิจารณาของ AOAC และ EU, Codex

สูตรการคำนวณ

$$\text{HORRAT} = \%RSD_{\text{exp}} / \%RSD_{\text{Horwitz}}$$

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

$$C = \text{Concentration ratio}$$

### 2.3.2 ตรวจสอบการทำซ้ำ (Reproducibility)

เตรียมสารละลายผลิตภัณฑ์ Deltamethrin สูตร EC ทำตามข้อ 2.3.1.1 (ต่างวันและเวลา) แล้วนำมาวิเคราะห์หาปริมาณสารออกฤทธิ์ Deltamethrin วาดกราฟระหว่างความเข้มข้นของสารละลาย Deltamethrin (แกน X) กับค่า response (แกน Y) พิจารณาช่วงความเป็นเส้นตรง คำนวณค่าเฉลี่ย (Mean) ความเบี่ยงเบนมาตรฐาน (Standard deviation, SD) ความคลาดเคลื่อนสัมพัทธ์ (Relative standard deviation, RSD) และประเมินค่า HORRAT ≤ 2 ตามเกณฑ์พิจารณาของ AOAC และ EU, Codex

### 2.4 ตรวจสอบ Robustness / Ruggedness ของวิธีการ

2.4.1 วิเคราะห์หาปริมาณ Deltamethrin ที่สภาวะการใช้งาน ใช้คอลัมน์ชนิด Ultra 1 กับ HP-5 และ เปรียบเทียบผู้ทดสอบที่ 1 และ ผู้ทดสอบที่ 2

2.4.2 เตรียมสารละลายของสาร Technical grade ที่ทราบปริมาณที่แน่นอน เพื่อทำ standard calibration curve

2.4.3 การเตรียมสารละลายตัวอย่างของผลิตภัณฑ์ Deltamethrin 3% w/v EC เตรียมความเข้มข้นของสารละลายตัวอย่างที่ 0.5, 1.0 และ 1.5 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร โดยชั่งผลิตภัณฑ์ Deltamethrin 3% w/v EC ที่เขย่าให้เป็นเนื้อเดียวกัน ปริมาณ 416.67, 833.33 และ 1,249.99 มิลลิกรัม ลงในขวดวัดปริมาตร 25 มิลลิลิตร ละลายด้วย acetone เขย่าให้เข้ากันด้วย ultrasonic bath ประมาณ 5 นาที ปรับปริมาตรด้วย acetone

2.4.4 วิเคราะห์หาปริมาณสารออกฤทธิ์ Deltamethrin โดยการฉีดสารละลายข้อ 2.4.3 เข้าเครื่อง GC-FID แล้วเปรียบเทียบกับความเข้มข้นของ standard calibration curve คำนวณตามนี้

$$\text{HORRAT} = \%RSD_{\text{exp}} / \%RSD_{\text{Horwitz}}$$

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

$$C = \text{Concentration ratio}$$

### 2.5 การตรวจสอบความแม่นยำ (Accuracy)

2.5.1 เตรียมสารละลาย Deltamethrin Technical grade ที่ทราบความเข้มข้นที่แน่นอนเพื่อทำ standard calibration curve

2.5.2 เตรียม stock ของสารละลาย Deltamethrin Technical grade ที่ความเข้มข้น 5 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร ซึ่งสาร Deltamethrin Technical grade ปริมาณ 1,279.80 มิลลิกรัม ใส่ลงบีกเกอร์ขนาด 100 มิลลิลิตร ละลายด้วย acetone ใส่ลงขวดวัดปริมาตร 250 มิลลิลิตร เขย่าเข้ากันด้วย ultrasonic bath ประมาณ 5 นาที ปรับด้วย acetone

2.5.3 เตรียมสารละลาย เพื่อวาดกราฟ

ดูดสารละลาย Stock Tech. ข้อ 2.5.2 ปริมาตร 2, 5 และ 10 มิลลิลิตร ใส่ขวดวัดปริมาตรขนาด 25 มิลลิลิตร ปรับปริมาตรด้วย acetone เขย่าให้เข้ากันได้สารละลายของสาร Technical grade ที่มีความเข้มข้น ของ Deltamethrin เป็น 0.4, 1.0 และ 2.0 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร ตามลำดับนำไปฉีดเข้าเครื่อง GC-FID

2.5.4 เตรียมสารละลาย Stock Sample (1 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร)

ซึ่งผลิตภัณฑ์ Deltamethrin สูตร EC หนัก 32,573.29 มิลลิกรัม ใส่ลงบีกเกอร์ขนาด 100 มิลลิลิตร ละลายด้วย acetone ใส่ลงขวดวัดปริมาตร 1000 มิลลิลิตร เขย่าเข้ากันด้วย ultrasonic bath ประมาณ 5 นาที ปรับด้วย acetone

2.5.5 เตรียมสารละลายเพื่อหา Original sample

ดูดสารละลาย stock sample จากข้อ 2.5.4 ปริมาตร 10 มิลลิลิตร ลงในแต่ละขวดปริมาตรขนาด 25 มิลลิลิตร จำนวน 10 ขวด ปรับปริมาตรด้วย acetone เขย่าให้เข้ากันและแบ่งใส่ขวด vial 2 มิลลิลิตร นำสารละลายฉีดเข้าเครื่อง GC-FID ได้ค่า O

2.5.6 เตรียมสารละลาย Fortified sample

โดยทำ Fortified sample ที่ระดับความเข้มข้น 0.5, 1.0 และ 1.5 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร ดูดสารละลาย stock sample จากข้อ 2.5.4 ปริมาตร 10 มิลลิลิตร ลงในแต่ละขวดวัดปริมาตรขนาด 25 มิลลิลิตร จำนวน 30 ขวด จากนั้นดูด สารละลาย stock tech. 2, 3 และ 5 มิลลิลิตร ตามลำดับ ลงในขวดวัดปริมาตรขนาด 25 มิลลิลิตร ความเข้มข้นละ 10 ขวด ฉีดเข้าเครื่อง GC-FID ได้ค่า F

2.5.7 การประเมินค่า Accuracy จาก %Recovery

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

เมื่อ F คือ ปริมาณสาร Deltamethrin ในสารละลาย Fortified sample (มก./25 มล)

O คือ ปริมาณสาร Deltamethrin ในสารละลาย Original sample (มก./25 มล)

C คือ ปริมาณ added sample (มก)

ค่า %Recovery ต้องอยู่ในช่วง 98-103% ตามเกณฑ์ AOAC

7.4 ระยะเวลา ตุลาคม 2556 – กันยายน 2557

สถานที่ทำการทดลอง ห้องปฏิบัติการกลุ่มพัฒนาการตรวจสอบพืชและปัจจัยการผลิต

สำนักวิจัยและพัฒนาการเกษตรเขตที่ 1 เชียงใหม่

## 8. ผลการทดลองและวิจารณ์

จากการตรวจสอบความใช้ได้ของวิธีวิเคราะห์เพื่อหาปริมาณ Deltamethrin ในผลิตภัณฑ์วัตถุอันตรายทางการเกษตร ผลการทดสอบพบว่า

1. Range ช่วงที่ความเข้มข้นหรือปริมาณของสารที่ใช้ทดสอบสามารถวิเคราะห์ได้อย่างถูกต้องและแม่นยำ อยู่ในช่วงความเข้มข้น 0.10 – 4.00 mg/ml Correlation Coefficient (r) เท่ากับ 0.99993 (ตารางที่ 1)

**ตารางที่ 1** การตรวจสอบช่วงของการวัด Range ความเข้มข้น 0.10 – 4.00 mg/ml

ความเข้มข้น (mg/ml)	Peak area	Level
0.1	38.7460	1
0.5	247.6500	2
1.0	526.8526	3
2.0	1100.8000	4
3.0	1640.8000	5
4.0	2200.5000	6

การตรวจสอบช่วงการวัด Range มีค่า 0.10 – 4.00 mg/ml ค่าของ Correlation Coefficient (r) มีค่าเท่ากับ 0.99993

2. Linearity หรือความสัมพันธ์ ระหว่าง Response กับปริมาณของสารที่วิธีทดสอบสามารถทำได้ ค่าความเข้มข้น 0.10 – 3.50 mg/ml Correlation Coefficient (r) เท่ากับ 0.99995 (ตารางที่ 2)

**ตารางที่ 2** การตรวจสอบความเป็นเส้นตรง Linearity ความเข้มข้น 0.10 – 3.50 mg/ml

ความเข้มข้น (mg/ml)	Peak area	Level
0.1	49.3382	1
0.7	398.0314	2
1.0	594.9725	3
2.0	1210.3000	4
2.5	1504.0000	5
3.5	2105.6000	6

การตรวจสอบความเป็นเส้นตรง Linearity ที่ความเข้มข้น 0.10 – 3.50 mg/ml ได้ค่า Correlation Coefficient (r) มีค่าเท่ากับ 0.99995



### 3. Precision จากการทำ

3.1 Repeatability คือ การตรวจสอบความใกล้เคียงกันระหว่างข้อมูลที่วิเคราะห์ซ้ำ  
แสดงผลในรูปของ %RSD ได้ค่า HORRAT = 0.4806

ตารางที่ 3 เปอร์เซนต์ที่ตรวจพบที่ 3 ความเข้มข้น จากการทวนซ้ำ (Repeatability)

n	ความเข้มข้น 0.5 mg/ml		ความเข้มข้น 1.0 mg/ml		ความเข้มข้น 1.5 mg/ml	
	น้ำหนัก (mg)	%ที่ตรวจพบ	น้ำหนัก (mg)	%ที่ตรวจพบ	น้ำหนัก (mg)	%ที่ตรวจพบ
1	412.20	3.169008	830.00	3.169008	1246.10	3.084048
2	413.20	3.169008	829.20	3.177504	1247.90	3.126528
3	413.50	3.194496	831.90	3.126528	1248.50	3.092544
4	414.40	3.160512	832.60	3.169008	1250.20	3.067056
5	415.10	3.202992	833.10	3.152016	1250.80	3.05856
6	415.40	3.177504	833.60	3.152016	1250.90	3.05856
7	416.30	3.160512	833.70	3.10104	1252.20	2.914128
8	420.80	3.169008	838.20	3.14352	1253.80	3.050064
9	421.80	3.152016	837.00	3.126528	1255.40	2.9736
10	423.10	3.152016	837.50	3.092544	1258.20	2.9736
	Mean	3.1707072	Mean	3.1409712	Mean	3.0398688
	SD	0.0160	SD	0.0274	SD	0.0619
	%RSD	0.5056	%RSD	0.8727	%RSD	2.0378
	Predicted Horwitz RSD	1.8147	Predicted Horwitz RSD	1.8160	Predicted Horwitz RSD	1.8050
	HORRAT	0.2786	HORRAT	0.4806	HORRAT	1.1290

3.2 Reproducibility คือ การตรวจสอบความใกล้เคียงกันระหว่างข้อมูลที่วิเคราะห์ซ้ำ ซึ่งแสดงผลในรูปของ %RSD ของการทดลองซ้ำด้วยวิธีการเดิมแต่ช่วงเวลาต่างกันได้ ค่า HORRAT = 0.3186 (ตารางที่ 4)

ตารางที่ 4 เปอร์เซ็นต์ที่ตรวจพบที่ 3 ความเข้มข้น จากการทวนซ้ำ (Reproducibility)

n	ความเข้มข้น 0.5 mg/ml		ความเข้มข้น 1.0 mg/ml		ความเข้มข้น 1.5 mg/ml	
	น้ำหนัก (mg)	%ที่ตรวจพบ	น้ำหนัก (mg)	%ที่ตรวจพบ	น้ำหนัก (mg)	%ที่ตรวจพบ
1	412.50	3.169008	830.30	3.05856	1247.50	3.058560
2	415.30	3.14352	829.90	3.033072	1247.80	3.058560
3	415.50	3.160512	831.80	3.033072	1249.50	3.092544
4	414.90	3.118032	831.20	3.084048	1251.30	3.050064
5	418.10	3.092544	832.50	3.05856	1254.30	3.067056
6	416.70	3.10104	833.60	3.067056	1251.90	3.084048
7	416.30	3.118032	833.90	3.05856	1252.30	3.067056
8	423.90	3.14352	835.90	3.05856	1253.70	3.016080
9	422.10	3.084048	839.50	3.05856	1255.60	3.101040
10	420.20	3.14352	837.60	3.092544	1257.20	3.084048
	Mean	3.1273776	Mean	3.0602592	Mean	3.0679056
	SD	0.0275	SD	0.0177	SD	0.0233
	%RSD	0.8799	%RSD	0.5797	%RSD	0.7579
	Predicted Horwitz RSD	1.8164	Predicted Horwitz RSD	1.8197	Predicted Horwitz RSD	1.8192
	HORRAT	0.4844	HORRAT	0.3186	HORRAT	0.4166

4. Robustness ผลการตรวจสอบ Robustness จากการทดลองด้วยวิธีการเปลี่ยน Column ในการวิเคราะห์จาก Capillary Column Ultra-1 เป็น HP-5

Ultra-1 ได้ค่า HORAT = 1.2736

HP-5 ได้ค่า HORAT = 1.1845

5. Ruggedness ผลการตรวจสอบจากการทดลองด้วยวิธีการเปลี่ยนผู้ทดสอบ

ผู้ทดสอบที่ 1 ได้ค่า HORAT = 0.7370

ผู้ทดสอบที่ 2 ได้ค่า HORAT = 0.5754

6. Accuracy ความถูกต้องของวิธีทดสอบหาในรูปของ %Recovery ได้ %Recovery = 100.76  
(ตารางที่ 5)

ตารางที่ 5 การตรวจสอบ % Recovery ในผลิตภัณฑ์ในสูตร EC

n	AI content(mg/25ml)										
	Conc.(0.5 mg/ml)			Conc.(1.0 mg/ml)			Conc.(1.5 mg/ml)				
	Origin	Spike	Added	Origin	Spike	Added	Origin	Spike	Added		
1	10.4180	24.4000	14.0796	10.38	37.4564	27.0794	10.40	62.4990	52.0790		
2	10.3800	24.4996	14.0796	10.35	36.4994	27.0794	10.36	62.3899	52.0790		
3	10.2800	24.4912	14.0796	10.48	37.4994	27.0794	10.38	62.2164	52.0790		
4	10.3200	24.9810	14.0796	10.42	37.3256	27.0794	10.42	61.9987	52.0790		
5	10.2900	24.4556	14.0796	10.39	37.5564	27.0794	10.39	62.4231	52.0790		
6	10.3800	24.4265	14.0796	10.28	36.8997	27.0794	10.48	62.0918	52.0790		
7	10.4180	24.4132	14.0796	10.38	37.2413	27.0794	10.42	62.4879	52.0790		
8	10.4000	23.9122	14.0796	10.42	37.3321	27.0794	10.44	62.5869	52.0790		
9	10.4100	24.0231	14.0796	10.40	37.2894	27.0794	10.45	61.9976	52.0790		
10	10.3800	23.9100	14.0796	10.35	37.5994	27.0794	10.39	62.4998	52.0790		
Mean	10.42	24.3512	14.0796	10.39	37.4994	27.0794	10.41	62.3191	52.0790		
SD	0.0518	0.3092		0.0502	0.3263		0.0343	0.2120			
%RSD	0.4973	1.2698		0.4839	0.8702		0.3297	0.3401			
%Recovery			98.9	%Recovery			100.1	%Recovery			99.7

### 9. สรุปผลการทดลองและข้อเสนอแนะ/คำแนะนำ

.วิธีการวิเคราะห์หาปริมาณสารออกฤทธิ์ Deltamethrin ในผลิตภัณฑ์สารกำจัดแมลง โดยใช้เทคนิค Gas Chromatography (GC) ที่มีหัวตรวจวัด (Detector) ชนิด Flame Ionization Detector (FID) ด้วย Ultra 1 capillary column (25 m × 320 μm × 0.17 μm) ซึ่งมีสภาวะการใช้งาน Oven Temperature, Injection Temperature, Detector Temperature เท่ากับ 250, 260 และ 260 °C ตามลำดับ Split ratio 50 : 1 Helium 2.0 ml/min, Injection volume 1 μl

การตรวจสอบความใช้ได้ของวิธีวิเคราะห์ที่ให้ค่า Range ที่เป็นเส้นตรงในช่วงความเข้มข้น 0.10-0.40 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร โดยมีค่า Correlation Coefficient (r) เท่ากับ 0.99993 และค่า Linearity ในช่วงความเข้มข้น 0.10 – 3.50 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร Correlation Coefficient (r) เท่ากับ 0.99995 การตรวจสอบความแม่นยำ (Accuracy) ของวิธีวิเคราะห์ปริมาณสารออกฤทธิ์ Deltamethrin ในผลิตภัณฑ์กำจัดแมลง พบว่าได้ค่า %Recovery เท่ากับ 100.1 อยู่ในช่วงเกณฑ์การยอมรับตามมาตรฐาน AOAC 98-103%

สำหรับการตรวจสอบความเที่ยง (Precision) ของวิธีการวิเคราะห์หาปริมาณสารออกฤทธิ์ Deltamethrin ในผลิตภัณฑ์สารกำจัดแมลง ได้ค่า HORRAT เท่ากับ 0.2786, 0.4806 และ 1.1290 การตรวจวิเคราะห์ซ้ำ คือ ต่างวันที่ และเวลา (Reproducibility) ได้ค่า HORRAT เท่ากับ 0.4844, 0.3186 และ 0.4166 ตามลำดับ การตรวจค่า Robustness ของวิธีการวิเคราะห์หาปริมาณสารออกฤทธิ์ของ Deltamethrin ได้ค่าเฉลี่ย HORRAT เท่ากับ 1.2291 และค่า Ruggedness ได้ค่าเฉลี่ย HORRAT เท่ากับ 0.6562 เกณฑ์การยอมรับตามมาตรฐาน AOAC ค่า HORRAT  $\leq 2$  ดังนั้นการตรวจวิเคราะห์สารออกฤทธิ์ deltamethrin ในผลิตภัณฑ์วัตถุอันตรายทางการเกษตร โดยวิธีนี้มีความถูกต้อง แม่นยำและมีความน่าเชื่อถือตามเกณฑ์สากล

## 10. การนำผลงานวิจัยไปใช้ประโยชน์

1. สามารถนำวิธีที่ได้รับการตรวจสอบความใช้ได้ของวิธี นำมาใช้เพื่อเป็นมาตรฐานของห้องปฏิบัติการ สำหรับนำไปวิเคราะห์ผลิตภัณฑ์สารกำจัดแมลง Deltamethrin ได้
2. เป็นการทดสอบความสามารถของปฏิบัติการ ทั้งทางด้านบุคลากร อุปกรณ์และเครื่องมือต่างๆ ว่าสามารถใช้งานเพื่อเปรียบเทียบกับวิธีมาตรฐานสากลได้หรือไม่

## 11. คำขอบคุณ -

## 12. เอกสารอ้างอิง

กนกพร อธิสุข และ ทิพวรรณ นิ่งน้อย (2547). Method Validation, เอกสารประกอบการฝึกอบรม กรมวิทยาศาสตร์การแพทย์.

ดุขฎิ มั่นความดี และ อุมภาพร สุขม่วง (2544). การพิสูจน์ความใช้ได้ของวิธีทดสอบทางเคมี

(Chemical Method Validation), เอกสารประกอบการฝึกอบรม. กรมวิทยาศาสตร์บริการ

Instruction manual ของ Agilent Technologies, คู่มือการใช้งาน GC รุ่น GC 6890

(Version B.02.01: November 2006)

W DOBRAT and A MARTIJN., 2012 Analysis of Technical and Formulated Pesticides CIPAC

Handbook Volume N Collaborative International Pesticides Analytical Council Limited, Great Britain, p. 34-37