

พัฒนาและตรวจสอบความใช้ได้ของวิธีวิเคราะห์ไนโตรเจนทั้งหมดในปุ๋ยเคมี

Development and Method Validation on Analysis of Total Nitrogen in Chemical Fertilizer

ทองจันทร์ พิมพ์เพชร¹ ปรียาภรณ์ บุญขาย¹

บทคัดย่อ

วิธีวิเคราะห์ปริมาณไนโตรเจนทั้งหมดในปุ๋ยเคมีใช้วิธีวิเคราะห์แบบ Inhouse Method ซึ่งทางห้องปฏิบัติการกลุ่มงานพัฒนาระบบตรวจสอบคุณภาพปุ๋ย ได้ทำการดัดแปลงและพัฒนาจากวิธีวิเคราะห์ที่เป็นมาตรฐานสากลของ AOAC ทำการวิเคราะห์โดยใช้ Kjeldahl Method พบว่าค่า Limit of Detection (LOD) เท่ากับ 0.41 %TN และ Limit of Quantitation (LOQ) เท่ากับ 0.83 %TN เมื่อพิสูจน์ค่าความถูกต้อง (Accuracy) และ ค่าความเที่ยง (Precision) ของ Limit of Quantitation ได้ค่า % Recovery เท่ากับ 100.58% และ HORRAT เท่ากับ 1.28 นำผลการวิเคราะห์ปริมาณไนโตรเจนทั้งหมดของ CRM ที่ระดับความเข้มข้นสูง กลาง และต่ำ มาคำนวณ % Recovery เพื่อพิสูจน์ความถูกต้อง และ ค่า HORRAT ของการวิเคราะห์ซ้ำในครั้งเดียวกัน และการวิเคราะห์ซ้ำแบบต่างเวลากัน เพื่อพิสูจน์ความเที่ยง ได้ผลการทดลอง ดังนี้ ที่ระดับความเข้มข้นสูง (46 % TN) ระดับความเข้มข้นกลาง (26 % TN) และระดับความเข้มข้นต่ำ (1.1651 % TN) % Recovery เท่ากับ 99.82 , 100.00 และ 101.28 ค่า HORRAT ของการวิเคราะห์ซ้ำในครั้งเดียวกัน (Repeatability) เท่ากับ 0.29, 0.57 และ 0.85 ค่า HORRAT ของ การวิเคราะห์ซ้ำแบบต่างเวลากัน (Intermediate) เท่ากับ 0.39, 0.60 และ 0.43 ตามลำดับ จากผลการทดลองที่ได้ พบว่าผ่านเกณฑ์การยอมรับทั้งหมด (%Recovery อยู่ในช่วง 98 – 102 % และ HORRAT < 2)

¹กลุ่มงานพัฒนาระบบตรวจสอบคุณภาพปุ๋ย สปผ.

คำนำ

เนื่องจากประเทศไทยเป็นประเทศเกษตรกรรม ปุ๋ยจึงเป็นอีกปัจจัยหนึ่งที่มีความสำคัญในการเพาะปลูกพืช ดังนั้นการวิเคราะห์ปริมาณธาตุอาหารในปุ๋ย อันได้แก่ ไนโตรเจน จึงมีบทบาทสำคัญในการควบคุมคุณภาพปุ๋ย ทำให้เกษตรกรมีความมั่นใจในคุณภาพของปุ๋ยที่นำไปใช้ ห้องปฏิบัติการจึงจำเป็นต้องพัฒนาเทคนิควิธีการวิเคราะห์ เพื่อให้มั่นใจว่าผลการวิเคราะห์ที่ได้มีความถูกต้อง แม่นยำ และรวดเร็ว

การตรวจสอบควบคุมคุณภาพปุ๋ยเคมีตามพระราชบัญญัติปุ๋ย พ.ศ. 2518 (แก้ไขเพิ่มเติม ฉบับที่ 2 พ.ศ. 2550) นั้น ต้องอาศัยวิธีการทดสอบปริมาณไนโตรเจน ซึ่งเป็นธาตุอาหารหลักของปุ๋ยเคมี วิธีที่ใช้ในห้องปฏิบัติการกลุ่มงานพัฒนาระบบตรวจสอบคุณภาพปุ๋ย เป็นวิธี Inhouse Method ที่ดัดแปลงจากวิธีมาตรฐานของ AOAC 2005th Ed. Method 955.04 ข้อ 2.4.03 จึงต้องมีการตรวจสอบความใช้ได้ของวิธีวิเคราะห์ เพื่อพิสูจน์ว่าวิธีนี้เป็นวิธีที่เหมาะสมในการวิเคราะห์ปริมาณไนโตรเจนทั้งหมดในปุ๋ยและเพื่อให้มีความเชื่อมั่นในผลการทดสอบว่ามีความถูกต้อง แม่นยำ เป็นไปตามเกณฑ์กำหนดของมาตรฐานสากล โดยดำเนินการวิเคราะห์ปริมาณไนโตรเจนทั้งหมดในวัสดุอ้างอิงรับรอง (Certified Reference Material : CRM) เพื่อหา Limit of Detection (LOD), Limit of Quantitation (LOQ) ประเมินค่าความถูกต้อง (Accuracy) และความเที่ยง (Precision) โดยใช้วัสดุอ้างอิงรับรองที่มีปริมาณไนโตรเจนทั้งหมด 3 ระดับความเข้มข้น เพื่อให้ครอบคลุมช่วงการใช้งาน (Working Range) 0 – 46 % ไนโตรเจน แสดงว่าวิธีวิเคราะห์ปริมาณไนโตรเจนทั้งหมดในปุ๋ย ของห้องปฏิบัติการกลุ่มงานพัฒนาระบบตรวจสอบคุณภาพปุ๋ย ผ่านการตรวจสอบความใช้ได้ของวิธีวิเคราะห์ทางเคมี (Method Validation) ซึ่งเป็นไปตามข้อกำหนดของมาตรฐาน ISO/IEC 17025

วัตถุประสงค์

1. เพื่อตรวจสอบความใช้ได้ของวิธีวิเคราะห์ไนโตรเจนทั้งหมดในปุ๋ยเคมี
2. เพื่อให้ได้ข้อมูลที่เหมาะสมสำหรับใช้ประกอบการขอการรับรองห้องปฏิบัติการ ตามมาตรฐาน ISO/IEC 17025

วิธีดำเนินการ

เครื่องมือ/อุปกรณ์

1. เครื่องชั่งไฟฟ้าทศนิยม 4 ตำแหน่ง และ 2 ตำแหน่ง
2. Macro Kjeldahl Digestion Apparatus and Distilling Apparatus
3. เครื่องแก้วและวัสดุอื่นๆ ที่ใช้ในการปฏิบัติการวิเคราะห์

สารเคมี

1. Boric acid AR Grade
2. Copper sulfate, AR Grade
3. Ethyl alcohol 90%, AR Grade
4. Methylene blue, AR Grade
5. Metyl red AR, Grade
6. Potassium sulfate, AR Grade
7. Salicylic acid, AR Grade
8. Sulfuric acid 98%, AR Grade
9. Standard hydrochloric acid 1 N, AR Grade
10. Sodium hydroxide, Commercial Grade
11. Sodium thiosulfate, AR Grade
12. Zinc granular, AR Grade
13. วัสดุอ้างอิงรับรอง/วัสดุอ้างอิงมาตรฐาน
 - 13.1 Urea $46.535 \pm 0.77 \%$ (CRM-BCR 179)
 - 13.2 Ammonium Dihydrogen phosphate $12.15 \pm 0.01\%$ Nitrogen (SRM No. 194 NIST)
 - 13.3 Calcium Ammonium Nitrate $26.019 \pm 0.54 \%$ Nitrogen (CRM-BCR 178)
 - 13.4 Sodium Carbonate, Purity $99.970 \pm 0.014 \%$ (SRM 351a)

วิธีการ

1. การศึกษาหาค่า Limit of Detection (LOD) และ Limit of Quantitation (LOQ) ของวิธีวิเคราะห์ไนโตรเจนทั้งหมด
 - 2.1 ชั่ง Sample Blank น้ำหนัก 0.3xxx - 0.4xxx กรัม ใส่ Kjeldahl Flask
 - 2.2 ดำเนินการวิเคราะห์ตามวิธีวิเคราะห์ไนโตรเจนทั้งหมดตามวิธีวิเคราะห์ AOAC 2005th Ed. Method 955.04 ข้อ 2.4.03
 - 2.3 บันทึกข้อมูล คำนวณหาค่าเฉลี่ย ค่าเบี่ยงเบนมาตรฐาน
 - 2.4 คำนวณค่า LOD และ LOQ ตามสูตร

$$\text{LOD} = \bar{X} + 3 \text{SD}$$

$$\text{LOQ} = \bar{X} + 10 \text{SD}$$
2. การศึกษาหาค่า Accuracy วิธีวิเคราะห์ไนโตรเจนทั้งหมด ที่ระดับความเข้มข้นสูง กลาง ต่ำ
 - 2.1 ชั่ง CRM ของปุ๋ยที่มีปริมาณความเข้มข้นสูงคือ Urea $46.535 \pm 0.77 \%$ Nitrogen (CRM-BCR 179) ความเข้มข้นกลางคือ Calcium Ammonium Nitrate $26.019 \pm 0.54 \%$ Nitrogen (CRM-BCR 178) และความเข้มข้นต่ำคือ การเตรียมโดยชั่งวัสดุอ้างอิงรับรอง Urea $46.535 \pm 0.77 \%$ น้ำหนัก 4 กรัม ใส่ Volumetric Flask ขนาด 100 มิลลิลิตร ปรับปริมาตรด้วยน้ำกลั่น เขย่าให้เข้ากัน คำนวณความเข้มข้น

ได้เท่ากับ 1.1651 % Nitrogen ซึ่งแต่ละความเข้มข้นวิเคราะห์ ไม่ต่ำกว่าความเข้มข้นละ 10 ซ้ำ พร้อมทำ Blank โดยดำเนินการวิเคราะห์ตามวิธีวิเคราะห์ไนโตรเจนทั้งหมดเหมือนการวิเคราะห์ CRM ทุกประการเพียงแต่ไม่ต้องใส่ CRM ลงไปเท่านั้น

2.2 ดำเนินการวิเคราะห์ตามวิธีวิเคราะห์ไนโตรเจนทั้งหมดตามวิธีวิเคราะห์ AOAC 2005th Ed. Method 955.04 ข้อ 2.4.03

2.3 บันทึกผลปริมาตร HCl ที่ใช้ไตเตรท (มิลลิลิตร) และคำนวณผลไนโตรเจนทั้งหมดที่วิเคราะห์ได้

2.4 เปรียบเทียบค่าที่วิเคราะห์ได้กับค่ารับรองของ CRM โดยการพิจารณา % Recovery ตาม AOAC Peer – Verified method , Nov. 1998 เกณฑ์การยอมรับ อยู่ในช่วง 98-102 %

$$\% \text{ Recovery} = \frac{\text{ค่าที่วิเคราะห์ได้}}{\text{ค่าอ้างอิง (จากใบรับรอง)}} \times 100$$

ค่าอ้างอิง (จากใบรับรอง)

2.5 ซ้ำตัวอย่างปุ๋ยที่มีลักษณะของเนื้อสาร (Matrix) แตกต่างกัน กล่าวคือมีวัสดุส่วนประกอบปุ๋ยอยู่หลายชนิดในตัวอย่างปุ๋ย 1 ตัวอย่าง และซ้ำ CRM ความเข้มข้นสูง กลาง ต่ำเติมลงไป พร้อมกับทำ Sample Blank ดำเนินการวิเคราะห์เช่นเดียวกับขั้นตอน 2.1 – 2.4 โดยทำการวิเคราะห์ระดับความเข้มข้นละ 10 ซ้ำ

หมายเหตุ CRM ที่ความเข้มข้นต่ำ เตรียมโดยนำ CRM ที่ความเข้มข้นกลาง หรือสูงมาเตรียมเป็นปุ๋ยน้ำที่ความเข้มข้นต่ำ โดยที่ความเข้มข้นต่ำนี้พิจารณาจากขอบข่ายการขอการรับรองมาตรฐาน ISO/IEC 17025 คือ 2.6-46.5 % TN

- Accuracy จะประเมินค่า % Recovery ตาม AOAC Peer – Verified method , Nov. 1998 เกณฑ์การยอมรับ อยู่ในช่วง 98-102 %

3. การศึกษาหาค่า Precision วิธีวิเคราะห์ไนโตรเจนทั้งหมด ที่ระดับความเข้มข้นสูง กลาง ต่ำ

3.1 ซ้ำ CRM ของปุ๋ยทั้ง 3 ระดับความเข้มข้น ความเข้มข้นสูงคือ Urea 46.535 ± 0.77 % Nitrogen (CRM-BCR 179) ความเข้มข้นกลางคือ Calcium Ammonium Nitrate 26.019 ± 0.54 % Nitrogen (CRM-BCR 178) และความเข้มข้นต่ำคือ การเตรียมโดยชั่งวัสดุอ้างอิงรับรอง Urea 46.535 ± 0.77 % น้ำหนัก 4 กรัม ใส่ Volumetric Flask ขนาด 100 มิลลิลิตร ปรับปริมาตรด้วยน้ำกลั่น เขย่าให้ เข้ากัน คำนวณความเข้มข้นได้เท่ากับ 1.1651 % Nitrogen ซึ่งแต่ละความเข้มข้นวิเคราะห์ ไม่ต่ำกว่าความเข้มข้นละ 10 ซ้ำ โดยบุคคล เวลา และเครื่องมือเดียวกัน

3.2 ดำเนินการวิเคราะห์ตามวิธีวิเคราะห์ไนโตรเจนทั้งหมดตามวิธีวิเคราะห์ AOAC 2005th Ed. Method 955.04 ข้อ 2.4.03

3.3 บันทึกผลไนโตรเจนทั้งหมดที่วิเคราะห์ได้ และคำนวณหาค่า Precision โดยใช้ Horwitz equation คำนวณแบบ Repeatability

3.4 ดำเนินการวิเคราะห์เช่นเดียวกับขั้นตอน 4.1 – 4.3 โดยซ้ำตัวอย่างปุ๋ยที่ใช้วิเคราะห์จริง ที่ 3 ระดับความเข้มข้น โดยทำการวิเคราะห์ที่เวลาแตกต่างกัน โดยทำการวิเคราะห์วันละ 1 ซ้ำ เป็นเวลา 10 วัน

3.5 การประเมินค่า Precision ในเกณฑ์การประเมิน : ใช้ HORRAT (Horwitz ' Ratio)

$$\text{HORRAT (Horwitz ' Ratio)} = \frac{\%RSD}{\text{Predicted Horwitz RSD}}$$

เกณฑ์การยอมรับ AOAC : HORRAT (Horwitz ' Ratio) < 2

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

C = Concentration ratio

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

ผลการทดลอง และวิจารณ์

การตรวจสอบความใช้ได้ของวิธีวิเคราะห์ปริมาณไนโตรเจนทั้งหมดในปุ๋ยเคมี โดยการหาค่า Limit of Detection (LOD), Limit of Quantitation (LOQ), Accuracy และ Precision พบว่า

1. จากผลการวิเคราะห์ Sample Blank ได้ค่า %TN เฉลี่ย = 0.23 และ SD = 0.06

$$\text{ดังนั้น LOD} = \bar{X} + 3SD = 0.23 + 0.18 = 0.41 \%TN$$

$$\text{LOQ} = \bar{X} + 10SD = 0.23 + 0.60 = 0.83 \%TN$$

พิสูจน์ Accuracy และ Precision ของ LOQ โดยชั่ง CRM Urea (46.535% TN) น้ำหนัก 1.0012 กรัม ใส่ Volumetric Flask ขนาด 100 มิลลิลิตร ละลายน้ำแล้วปรับปริมาตรด้วยน้ำกลั่น เขย่าให้เข้ากัน (คำนวณความเข้มข้นได้เท่ากับ 0.4659% TN)

จากผลการวิเคราะห์สารละลายความเข้มข้นได้เท่ากับ 0.4659% TN ได้ค่า %TN เฉลี่ย = 0.47 และ SD = 0.01

$$\text{คำนวณ \%Recovery} = 100.58 \% \text{ และค่า HORRAT} = 1.28$$

เกณฑ์การยอมรับ % Recovery เท่ากับ 98-102 % (AOAC, 1998) แสดงว่า Recovery ผ่านเกณฑ์การยอมรับ

$$\text{HORRAT} = 0.29$$

เกณฑ์การประเมิน HORRAT < 2 แสดงว่า ผ่านเกณฑ์การยอมรับ

2. การศึกษาหาค่า Accuracy และ Precision ของวิธีวิเคราะห์ไนโตรเจนทั้งหมดที่ระดับความเข้มข้นสูง กลาง ต่ำ ของการวิเคราะห์ซ้ำในครั้งเดียวกัน (Repeatability)

ตารางที่ 1 แสดงผลการวิเคราะห์ CRM ที่ระดับความเข้มข้นสูง กลาง ต่ำ ของการวิเคราะห์ซ้ำในครั้งเดียวกัน (Repeatability)

ซ้ำที่ 1-10	CRM Urea (46.535% TN)	CRM CAN (26.02%TN)	STD. (1.1651%TN)

ค่าเฉลี่ย	46.45	26.02	1.18
SD	0.20	0.92	0.04
% Recovery	99.82	100.00	101.28
HORRAT	0.29	0.57	0.85

เกณฑ์การยอมรับ % Recovery เท่ากับ 98-102 % (AOAC, 1998) แสดงว่า % Recovery ผ่านเกณฑ์การยอมรับ
เกณฑ์การประเมิน HORAAT < 2 แสดงว่า ผ่านเกณฑ์การยอมรับ

3. การศึกษาหาค่า Accuracy ของวิธีวิเคราะห์ไนโตรเจนทั้งหมดของตัวอย่างปุ๋ยที่มีลักษณะของเนื้อสาร(Matrix) แตกต่างกัน โดยการเติม CRM/SRM ความเข้มข้นสูง กลาง ต่ำ ลงไป

ตารางที่ 2 แสดงผลการวิเคราะห์ไนโตรเจนทั้งหมดของตัวอย่างปุ๋ยที่มีลักษณะของเนื้อสาร (Matrix) แตกต่างกัน โดยการเติม CRM/SRM ความเข้มข้นสูง กลาง ต่ำ ลงไป

ซ้ำที่	Sample Blank (% TN)	CRM Urea (46.535% TN)	CRM CAN (26.02%TN)	STD. (1.1651%TN)
ค่าเฉลี่ย	0.00	46.41	25.87	1.16
SD	0.00	0.23	0.89	0.03
%Recovery	-	99.73	99.42	99.56

เกณฑ์การยอมรับ % Recovery เท่ากับ 98-102 % (AOAC, 1998) แสดงว่า % Recovery ผ่านเกณฑ์การยอมรับ

4. การศึกษาหาค่า Precision ของวิธีวิเคราะห์ไนโตรเจนทั้งหมดที่ระดับความเข้มข้นสูง กลาง ต่ำ ของการวิเคราะห์ซ้ำแบบต่างเวลากัน (Intermediate)

ตารางที่ 3 แสดงผลการวิเคราะห์ CRM ที่ระดับความเข้มข้นสูง กลาง ต่ำ ของการวิเคราะห์ซ้ำแบบต่างเวลากัน (Intermediate)

ซ้ำที่ 1-10	CRM Urea (46.535% TN)	CRM CAN (26.02%TN)	STD. (1.1651%TN)
ค่าเฉลี่ย	46.35	25.91	1.17
SD	0.27	0.25	0.02
% Recovery	99.6	99.58	100.42
HORRAT	0.39	0.60	0.43

เกณฑ์การยอมรับ % Recovery เท่ากับ 98-102 % (AOAC, 1998) แสดงว่า % Recovery ผ่านเกณฑ์การยอมรับ
เกณฑ์การประเมิน HORRAT < 2 แสดงว่า ผ่านเกณฑ์การยอมรับ

สรุปผลการทดลองและคำแนะนำ

การพัฒนาเทคนิคการวิเคราะห์ปริมาณไนโตรเจนทั้งหมดในปุ๋ยเคมี เพื่อให้ได้เทคนิควิธีวิเคราะห์ที่ถูกต้อง แม่นยำและรวดเร็ว สามารถอ้างอิงได้ตามมาตรฐานสากล ทำให้เป็นที่ยอมรับ โดยทำการศึกษาหาค่า Limit of Detection (LOD), Limit of Quantitation (LOQ), ความถูกต้อง (Accuracy) และความเที่ยง (Precision) ทำการทดลองโดยการวิเคราะห์หาปริมาณไนโตรเจนทั้งหมดของ CRM 3 ระดับความเข้มข้นเพื่อให้ครอบคลุมช่วงการใช้งาน คือ 0 – 46 % TN และนำมาพิสูจน์ความถูกต้อง โดยหาค่า % Recovery ซึ่งพบว่าอยู่ในเกณฑ์ยอมรับ (98 – 102 %) และพิสูจน์ความเที่ยงโดยใช้สมการของ Horwitz's Ratio พบว่า ค่าที่ได้อยู่ในเกณฑ์การยอมรับ (HORRAT (Horwitz ' Ratio) < 2) ดังนั้นจึงสรุปได้ว่าวิธีนี้เป็นวิธีที่เหมาะสมในการวิเคราะห์ปริมาณไนโตรเจนทั้งหมดในปุ๋ยเคมี

การนำไปใช้ประโยชน์

การพัฒนาและตรวจสอบความใช้ได้ของวิธีวิเคราะห์ปริมาณไนโตรเจนทั้งหมดในปุ๋ย เป็นการพิสูจน์ว่าวิธีนี้เป็นวิธีที่เหมาะสมในการวิเคราะห์ปริมาณไนโตรเจนทั้งหมดในปุ๋ย เพื่อให้มีความเชื่อมั่นในผลการทดสอบว่ามีความถูกต้อง แม่นยำ เป็นไปตามเกณฑ์กำหนดของมาตรฐานสากล สามารถใช้เป็นวิธีมาตรฐานของห้องปฏิบัติการ และยื่นขอการรับรองมาตรฐาน ISO/IEC 17025 ในขอบข่ายการวิเคราะห์ปริมาณไนโตรเจนทั้งหมดในปุ๋ยได้อีกด้วย

เอกสารอ้างอิง

กลุ่มวิจัยเกษตรเคมี. 2551. คู่มือวิธีวิเคราะห์ปุ๋ยเคมี. สำนักวิจัยพัฒนาปัจจัยการผลิตทางการเกษตร.

กรมวิชาการเกษตร. กรุงเทพฯ. 66 หน้า

คณาจารย์ภาควิชาปฐพีวิทยา. 2548. ปฐพีวิทยาเบื้องต้น. ภาควิชาปฐพีวิทยา คณะเกษตร

มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์. 547 หน้า

ดุซงญอ นันความดี. 2544. การทดสอบความใช้ได้ของวิธี. กองเคมี. กรมวิทยาศาสตร์บริการ. กรุงเทพฯ. 27 หน้า

อุมาพร สุขม่วง และ อารีย์ คชฤทธิ. 2553. เอกสารประกอบการฝึกอบรม หลักสูตร “ความใช้ได้ของวิธีทดสอบ”. กรมวิทยาศาสตร์บริการ. กรุงเทพฯ. 33 หน้า

AOAC Peer – Verified method, Nov. 1998.

Association of Official Analytical Chemises (AOAC). 2005. Official Method of Anaysis 955.04. 18th ed. International Gaithersburg, MD, USA. P. 13-14

ASTM 2001. Standard Practice for Preparation, Standardization, and Storage of Standard and Reagent Solutions for Chemical Analysis. Washington. Oct. 2001. p 336 – p 350.

Official Methods of Analysis of Fertilizers. 1987. The National Institute of Agriculture Sciences. Ministry of Agriculture, Forestry, and Fisheries, Japan. 130 p.

ภาคผนวก

1. การศึกษาหาค่า Limit of Detection (LOD) และ Limit of Quantitation (LOQ)

ตารางที่ 1 ผลการวิเคราะห์ตัวอย่าง Lab No. 53I-2342 (สูตร 0-0-60)

ซ้ำที่	น้ำหนักตัวอย่าง		ปริมาตร HCl	
	(กรัม)	Factor	(มิลลิลิตร)	%TN
1	0.3302	0.2825	0.3	0.26
2	0.3286	0.2825	0.3	0.26
3	0.3305	0.2825	0.3	0.26
4	0.3307	0.2825	0.4	0.34
5	0.325	0.2825	0.2	0.17
6	0.3301	0.2825	0.2	0.17
7	0.3268	0.2825	0.2	0.17
8	0.3331	0.2825	0.3	0.26
9	0.3301	0.2825	0.3	0.26
10	0.3247	0.2825	0.2	0.17
ค่าเฉลี่ย				0.23
ค่าเบี่ยงเบนมาตรฐาน				0.06

ตารางที่ 2 พิสูจน์ Accuracy และ Precision ของ LOQ โดยชั่ง CRM Urea (46.535% TN) น้ำหนัก 1.0012 กรัม ใส่ Volumetric Flask ขนาด 100 มิลลิลิตร ละลายน้ำแล้วปรับปริมาตรด้วยน้ำกลั่น เขย่าให้เข้ากัน (คำนวณความเข้มข้นได้เท่ากับ 0.4659% TN)

ซ้ำที่	น้ำหนักตัวอย่าง		ปริมาตร HCl	
	(กรัม)	factor	(มิลลิลิตร)	%TN
1	1.0112	0.2831	1.7	0.4759
2	1.018	0.2831	1.7	0.4728
3	1.0091	0.2831	1.7	0.4682
4	1.0279	0.2831	1.6	0.4407
5	1.0021	0.2831	1.6	0.452
6	1.0107	0.2831	1.7	0.4762
7	1.008	0.2831	1.7	0.4775
8	1.0138	0.2831	1.7	0.4747
9	1.0098	0.2831	1.7	0.4766
10	1.0205	0.2831	1.7	0.4716
ค่าเฉลี่ย				0.4686
ค่าเบี่ยงเบนมาตรฐาน				0.0123

2. การศึกษาหาค่า Accuracy และ Precision ของวิธีวิเคราะห์ไนโตรเจนทั้งหมดที่ระดับความเข้มข้นสูง กลาง ต่ำ ของการวิเคราะห์ซ้ำในครั้งเดียวกัน (Repeatability)

ตารางที่ 3 ผลการวิเคราะห์ CRM ที่ระดับความเข้มข้นสูง กลาง และ ต่ำ ของการวิเคราะห์ซ้ำในครั้งเดียวกัน

ซ้ำที่	CRM Urea (46.535% TN)	CRM CAN (26.02%TN)	STD. (1.1651%TN)
1	46.16	26.16	1.12
2	46.58	26.11	1.14
3	46.3	25.59	1.21
4	46.18	26.09	1.2
5	46.55	26.08	1.22
6	46.63	25.84	1.21
7	46.69	26.2	1.19
8	46.27	26.24	1.21
9	46.51	26.24	1.17
10	46.6	25.65	1.14
ค่าเฉลี่ย	46.45	26.02	1.18
SD	0.2	0.92	0.04

3. การศึกษาหาค่า Accuracy ของวิธีวิเคราะห์ไนโตรเจนทั้งหมดของตัวอย่างปุ๋ยที่มีลักษณะของเนื้อสาร (Matrix) แตกต่างกัน โดยการเติม CRM/SRM ความเข้มข้นสูง กลาง ต่ำ ลงไป

ตารางที่ 2 แสดงผลการวิเคราะห์ไนโตรเจนทั้งหมดของตัวอย่างปุ๋ยที่มีลักษณะของเนื้อสาร(Matrix) แตกต่างกัน โดยการเติม CRM/SRM ความเข้มข้นสูง กลาง ต่ำ ลงไป

ซ้ำที่	Sample Blank	CRM Urea	CRM CAN	STD.
	(% TN)	(46.535% TN)	(26.02%TN)	(1.1651%TN)
1	0.00	46.09	25.71	1.11
2	0.00	46.67	25.59	1.18
3	0.00	46.65	25.68	1.15
4	0.00	46.43	25.86	1.15
5	0.00	46.06	25.92	1.20
6	0.00	46.35	25.8	1.16
7	0.00	46.34	26.09	1.21
8	0.00	46.73	26.05	1.13
9	0.00	46.41	26.05	1.13
10	0.00	46.36	25.79	1.19
ค่าเฉลี่ย	0.00	46.41	25.87	1.16
SD	0.00	0.23	0.89	0.03
%Recovery		99.73	99.42	99.56

4. การศึกษาหาค่า Precision ของวิธีวิเคราะห์ไนโตรเจนทั้งหมดที่ระดับความเข้มข้นสูง กลาง ต่ำ ของการวิเคราะห์ซ้ำแบบต่างเวลากัน (Intermediate)

ตารางที่ 5 ผลการวิเคราะห์ CRM ที่ระดับความเข้มข้นสูง กลาง และ ต่ำ ของการวิเคราะห์ซ้ำแบบต่างเวลากัน

ซ้ำที่	CRM Urea (46.535% TN)	CRM CAN (26.02%TN)	STD. (1.1651%TN)
1	46.6	26.31	1.17
2	46.04	26.04	1.14
3	46.45	26.18	1.18
4	46.61	25.78	1.22
5	46.01	26.19	1.14
6	46.4	25.66	1.14
7	46.58	25.62	1.18
8	46.13	25.64	1.16
9	46.64	25.87	1.17
10	46	25.8	1.18
ค่าเฉลี่ย	46.35	25.91	1.17
SD	0.27	0.25	0.02