

การตรวจสอบความใช้ได้ของวิธีวิเคราะห์ไนโตรเจนทั้งหมดในปุ๋ยเคมี
Method validation Testing for Total Nitrogen in Chemical Fertilizer

อรัญญา ลุนจันทา¹ กาญจนา คำปุกา¹ ณัฐรัชชธร ชัดติยะพุดิเมธ¹

บทคัดย่อ

การตรวจสอบความใช้ได้ของวิธีทดสอบปริมาณไนโตรเจนทั้งหมดในปุ๋ยเคมี เป็นการตรวจสอบวิธีการทดสอบธาตุไนโตรเจนทั้งหมดที่มีอยู่ในปุ๋ยเคมีที่เชื่อว่ามีความถูกต้อง สามารถตรวจสอบ ย้อนกลับได้ และเหมาะสม สำหรับนำไปใช้เป็นวิธีมาตรฐานสำหรับห้องปฏิบัติการ โดยใช้วิธีทดสอบ ที่ดัดแปลงจากคู่มือวิธีวิเคราะห์ปุ๋ย เคมีของสำนักวิจัยพัฒนาปัจจัยการผลิตทางการเกษตร กรมวิชาการ เกษตร ทำการทดสอบและประเมินผลจากการวิเคราะห์ค่าต่าง ๆตามข้อกำหนดมาตรฐาน ISO/IEC 17025 ได้แก่ ความถูกต้องหรือความแม่นยำ (accuracy) , ความเที่ยง (precision) , ค่าต่ำสุดของปริมาณ ที่สามารถตรวจพบได้ (Limit of detection; LOD) และค่าต่ำสุดที่สามารถตรวจหาปริมาณ ได้ (Limit of Quantitation ; LOQ) จากการทดสอบค่าต่าง ๆ ตามข้อกำหนด ได้ค่า LOD เท่ากับ 0.39 ค่า LOQ เท่ากับ 1.09 การตรวจสอบ accuracy โดย ประเมินจาก % recovery พบว่าที่ความเข้มข้นระดับต่ำ โดยใช้ CRM สูตร 2.5-0-0 ได้ค่า% recovery เท่ากับ 100.4 % ความเข้มข้นระดับกลางโดยการ ใช้ CRM สูตร 26-0-0 ได้ค่า% recovery เท่ากับ 99.66 % ความเข้มข้นระดับกลางโดยการ ใช้ CRM สูตร 46-0-0 ได้ค่า % recovery เท่ากับ 99.96 % ซึ่งเมื่อเทียบกับเกณฑ์การยอมรับ % Recovery ซึ่งอยู่ ระหว่าง 97-103 % (AOAC, 1993) แสดงว่าผ่านเกณฑ์การยอมรับ การตรวจสอบ precision ประเมินจาก % RSD ที่ความเข้มข้นระดับต่ำ กลาง และสูง ได้ค่า% RSD เท่ากับ 1.20 , 1.11 และ 0.71 ตามลำดับ และเมื่อนำไปประเมิน HORRAT (Horwitz's ratio) พบว่าทั้ง 3 ระดับความเข้มข้นมีค่า HORRAT อยู่ในเกณฑ์กำหนด (Horwitz' s ratio \leq 2) และยอมรับได้ คือได้ค่าเท่ากับ 0.52 , 0.69 และ 0.48 ตามลำดับ ซึ่งจากการประเมินผลการทดสอบโดยวิเคราะห์ค่าต่างๆเหล่านี้ พบว่าวิธีทดสอบนี้ให้ ผลการทดสอบอยู่ในเกณฑ์ยอมรับ และนำไปใช้เป็นวิธีมาตรฐานสำหรับห้องปฏิบัติการได้

¹สำนักวิจัยและพัฒนาการเกษตรเขตที่ 3

คำนำ

การประกันคุณภาพของห้องปฏิบัติการเป็นสิ่งจำเป็นอย่างมากในสภาวะการปัจจุบัน การตรวจสอบความใช้ได้ของวิธีวิเคราะห์ทดสอบ เป็นกระบวนการหนึ่งในการจัดทำประกันคุณภาพห้องปฏิบัติการ วิธีวิเคราะห์/ทดสอบที่ถูกต้องทำให้ผลการวิเคราะห์ทดสอบมีความเป็นที่ยอมรับในระดับสากล ดังนั้นเพื่อให้มั่นใจว่าวิธีวิเคราะห์ที่พัฒนาขึ้นให้ผลวิเคราะห์ที่น่าเชื่อถือจึงต้องทดสอบความใช้ได้ของวิธีวิเคราะห์ โดยทำการทดสอบพารามิเตอร์ต่าง ๆ ได้แก่ ความเข้มข้นต่ำสุดที่สามารถตรวจพบได้ความเข้มข้นต่ำสุดที่สามารถหาปริมาณได้ ช่วงการใช้งาน ความแม่นยำ และความเที่ยง ว่าอยู่ในเกณฑ์การยอมรับได้ตามมาตรฐาน เพื่อแสดงให้เห็นว่าวิธีวิเคราะห์ดังกล่าวมีความน่าเชื่อถือ และตรงตามวัตถุประสงค์การใช้งาน ซึ่งผลการทดสอบความใช้ได้ของวิธีสามารถนำไปใช้เป็นข้อมูล ยืนยันรับรองความสามารถห้องปฏิบัติการตามระบบคุณภาพ ISO/IEC 17025:2005 ได้

วิธีดำเนินการและอุปกรณ์

อุปกรณ์

- วัสดุวิทยาศาสตร์/เครื่องมือสำหรับการวิเคราะห์ปริมาณไนโตรเจนในปุ๋ยเคมี
- เครื่องชั่งไฟฟ้าทศนิยม 4 ตำแหน่ง
- เครื่องบดตัวอย่าง , เตาย่อย
- เครื่องกลั่นไนโตรเจน Macro kjeldahl Digestion and Distilling Apparatus
- burette ขนาด 50 มิลลิลิตร , Magnetic stirrer
- เครื่องแก้วอื่น ๆ สำหรับการวิเคราะห์ไนโตรเจนในปุ๋ยเคมี
- สารเคมีสำหรับการวิเคราะห์ปริมาณไนโตรเจนในปุ๋ยเคมี
- วัสดุอ้างอิงรับรองหรือวัสดุอ้างอิงมาตรฐานสำหรับการวิเคราะห์ไนโตรเจนในปุ๋ยเคมี
 - Urea 46.535 ± 0.77 % (CRM-BCR 179)
 - Calcium Ammonium Nitrate 26.019 ± 0.54 % Nitrogen (CRM-BCR 178)

วิธีการ

1. การหาค่าของ Limit of Detection (LOD) และ Limit of Quantitation (LOQ) ของการวิเคราะห์ปริมาณไนโตรเจนทั้งหมดในปุ๋ยเคมีของห้องปฏิบัติการ โดยการวิเคราะห์ CRM

วิธีการ

- 1.1 ชั่ง Sample blank น้ำหนัก 0.2xxx กรัม จำนวน 10 ซ้ำ
 - 1.2 ดำเนินการวิเคราะห์ตามวิธีวิเคราะห์ไนโตรเจนทั้งหมด
 - 1.3 บันทึกข้อมูล หาค่าเฉลี่ย ค่าเบี่ยงเบนมาตรฐาน
 - 1.4 ทดสอบความแม่นยำและความเที่ยงที่ระดับความเข้มข้นเท่ากับ LOQ
2. การหาค่าของ CRM ที่ความเข้มข้นระดับ LOQ

2.1 ความแม่นยำ

- ที่ระดับความเข้มข้นต่ำ 2.5 % เตรียมโดยการละลาย CRM Urea น้ำหนัก 5.317 กรัมในน้ำกลั่นแล้วปรับปริมาตรเป็น 100 มิลลิลิตร
- ที่ระดับความเข้มข้นกลาง 26.019 % ใช้ CRM Calcium ammonium nitrate
- ที่ระดับความเข้มข้นสูง 46.54 % ใช้ CRM Urea

วิธีการ

- 2.1.1 ชั่ง CRM ที่มีความเข้มข้นต่ำ กลาง สูง อย่างน้อยความเข้มข้นละ 7 ซ้ำ พร้อมทำ Blank
- 2.1.2 ดำเนินการวิเคราะห์ตามวิธีวิเคราะห์ใน โตรเจนทั้งหมดที่ระบุไว้ในวิธีทดสอบ (WI)
- 2.1.3 บันทึกข้อมูล หาค่าเฉลี่ย ส่วนเบี่ยงเบนมาตรฐาน
- 2.2.4 เปรียบเทียบผลที่ได้กับค่ารับรองของ CRM โดยคำนวณหา % Relative Accuracy

2.2 ความเที่ยง

- ที่ระดับความเข้มข้นต่ำ 2.5 % เตรียมโดยการละลาย CRM Urea น้ำหนัก 5.317 กรัมในน้ำกลั่นแล้วปรับปริมาตรเป็น 100 มิลลิลิตร
- ที่ระดับความเข้มข้นกลาง 26.019 % ใช้ CRM Calcium ammonium nitrate
- ที่ระดับความเข้มข้นสูง 46.54 % ใช้ CRM Urea

วิธีการ

- 2.2.1 ชั่ง CRM ที่มีความเข้มข้นต่ำ กลาง สูง อย่างน้อยความเข้มข้นละ 7 ซ้ำ พร้อมทำ Blank
- 2.2.2 ดำเนินการวิเคราะห์ตามวิธีวิเคราะห์ใน โตรเจนทั้งหมด โดยวิเคราะห์ภายใต้สถานะเดิมทั้งหมด ได้แก่ ตัวอย่าง เครื่องมือ วิธีทดสอบ ผู้วิเคราะห์ และช่วงเวลาสั้น
- 2.2.3 บันทึกข้อมูล หาค่าเฉลี่ย ส่วนเบี่ยงเบนมาตรฐาน Relative Standard Deviation (%RSD,) และ Horwitz's Ratio (HORRAT) คำนวณแบบ Repeatability

3. การหาค่าของ CRM ที่ความเข้มข้นระดับต่ำ กลาง และสูง

3.1 ความแม่นยำ

วิธีการ

- ที่ระดับความเข้มข้นต่ำ 2.5 % เตรียมโดยการละลาย CRM Urea น้ำหนัก 5.317 กรัมในน้ำกลั่นแล้วปรับปริมาตรเป็น 100 มิลลิลิตร
- ที่ระดับความเข้มข้นกลาง 26.019 % ใช้ CRM Calcium ammonium nitrate

- ที่ระดับความเข้มข้นสูง 46.54 % ใช้ CRM Urea

3.3.1 ชั่ง CRM ที่มีความเข้มข้นต่ำ กลาง สูง อย่างน้อยความเข้มข้นละ 7 ซ้ำพร้อมทำ Blank

3.3.2 ดำเนินการวิเคราะห์ตามวิธีวิเคราะห์ใน โตรเจนทั้งหมดที่ระบุไว้ในวิธีทดสอบ (WI)

3.3.3 บันทึกข้อมูล หาค่าเฉลี่ย ส่วนเบี่ยงเบนมาตรฐาน

4. เปรียบเทียบผลที่ได้กับค่ารับรองของ CRM โดยคำนวณหา % Relative Accuracy

4.1 ความเที่ยง

วิธีการ

- ที่ระดับความเข้มข้นต่ำ 2.5 % เตรียมโดยการละลาย CRM Urea น้ำหนัก 5.317 กรัม ในน้ำกลั่นแล้วปรับปริมาตรเป็น 100 มิลลิลิตร

- ที่ระดับความเข้มข้นกลาง 26.019 % ใช้ CRM Calcium ammonium nitrate

- ที่ระดับความเข้มข้นสูง 46.54 % ใช้ CRM Urea

4.1.1 ชั่ง CRM ที่มีความเข้มข้นต่ำ กลาง สูง อย่างน้อยความเข้มข้นละ 7 ซ้ำ พร้อมทำ Blank

4.1.2 ดำเนินการวิเคราะห์ตามวิธีวิเคราะห์ใน โตรเจนทั้งหมด โดยวิเคราะห์ภายใต้สภาวะเดิมทั้งหมด ได้แก่ ตัวอย่าง เครื่องมือ วิธีทดสอบ ผู้วิเคราะห์ และช่วงเวลาสั้น

4.1.3 บันทึกข้อมูล หาค่าเฉลี่ย ส่วนเบี่ยงเบนมาตรฐาน Relative Standard Deviation (%RSD_r) และ Horwitz's Ratio (HORRAT) คำนวณแบบ Repeatability

5. การหาค่าของ CRM ที่ความเข้มข้นระดับต่ำ กลาง และสูง ที่มีสารตัวเดิม (Matrix effect)

5.1 ความแม่นยำ

วิธีการ

- ที่ระดับความเข้มข้นต่ำ 2.5 % เตรียมโดยการละลาย CRM Urea น้ำหนัก 5.317 กรัม ในน้ำกลั่นแล้วปรับปริมาตรเป็น 100 มิลลิลิตร

- ที่ระดับความเข้มข้นกลาง 26.019 % ใช้ CRM Calcium ammonium nitrate

- ที่ระดับความเข้มข้นสูง 46.54 % ใช้ CRM Urea

5.1.1 ชั่ง CRM ที่มีความเข้มข้นต่ำ กลาง สูง และ RM อย่างน้อยความเข้มข้นละ 7 ซ้ำ เดิมลงในตัวอย่างป้อนพร้อมทำ Blank

5.1.2 ดำเนินการวิเคราะห์ตามวิธีวิเคราะห์ใน โตรเจนทั้งหมด

5.1.3 บันทึกข้อมูล หาค่าเฉลี่ย ส่วนเบี่ยงเบนมาตรฐาน

5.1.4 เปรียบเทียบผลที่ได้กับค่ารับรองของ CRM/RM โดยคำนวณหา % Recovery

5.2 ความเที่ยง

วิธีการ

- ที่ระดับความเข้มข้นต่ำ 2.5 % เตรียมโดยการละลาย CRM Urea น้ำหนัก 5.317 กรัมในน้ำกลั่นแล้วปรับปริมาตรเป็น 100 มิลลิลิตร
- ที่ระดับความเข้มข้นกลาง 26.019 % ใช้ CRM Calcium ammonium nitrate
- ที่ระดับความเข้มข้นสูง 46.54 % ใช้ CRM Urea

5.2.1 ชั่ง CRM ที่มีความเข้มข้นต่ำ กลาง สูง และ RM อย่างน้อยความเข้มข้นละ 7 ซ้ำ เติมลงในตัวอย่างปุยพร้อมทำ Blank

5.2.2 ดำเนินการวิเคราะห์ตามวิธีวิเคราะห์ในโตรเจนทั้งหมด โดยวิเคราะห์ภายใต้สถานะเดิมทั้งหมด ได้แก่ ตัวอย่าง เครื่องมือ วิธีทดสอบ ผู้วิเคราะห์ และช่วงเวลาสั้น

5.2.3 บันทึกข้อมูล หาค่าเฉลี่ย ส่วนเบี่ยงเบนมาตรฐาน Relative Standard Deviation (%RSD) และ Horwitz's Ratio (HORRAT) คำนวณแบบ Repeatability

6. การหาค่า Intermediate Precision ที่มีสารตัวเดิม

วิธีการ

1. ชั่ง CRM หรือ Spiked Sample blanks ที่มีความเข้มข้นต่ำ กลาง สูง ความเข้มข้นละ 10 ซ้ำ พร้อมทำ Blank
2. ดำเนินการวิเคราะห์ตามวิธีวิเคราะห์ในโตรเจนทั้งหมด โดยนักวิเคราะห์คนเดียว หรือมากกว่า 1 คน ในเวลาที่แตกต่างกัน
3. บันทึกข้อมูล หาค่าเฉลี่ย ส่วนเบี่ยงเบนมาตรฐาน Relative Standard Deviation (%RSD) และ Horwitz's Ratio (HORRAT) คำนวณแบบ Repeatability

7. การคำนวณ

7.1 การหาค่า Limit of Detection (LOD) และ Limit of Quantitation (LOQ)

กรณีที่ 1 Sample blank ไม่มีสารที่ต้องการวิเคราะห์ คำนวณโดย

$$\text{Limit of Detection (LOD)} = \text{ค่าเฉลี่ย} + 3\text{SD}$$

$$\text{Limit of Quantitation (LOQ)} = \text{ค่าเฉลี่ย} + 10\text{SD}$$

กรณีที่ 2 Sample blank มีสารที่ต้องการวิเคราะห์ คำนวณโดย

$$\text{Limit of Detection (LOD)} = 3\text{SD}$$

$$\text{Limit of Quantitation (LOQ)} = 10\text{SD}$$

7.2 การประเมินค่าความแม่นยำ

- % Relative Accuracy

$$\% \text{ Relative Accuracy} = \% \text{ ผลวิเคราะห์ที่ได้ } \times 100$$

ค่าอ้างอิงจากใบรับรอง

เกณฑ์ยอมรับ AOAC : ปริมาณสารในตัวอย่างตั้งแต่ 1–10 % เท่ากับ 97–103 %
 ปริมาณสารในตัวอย่างตั้งแต่ 10–100 % เท่ากับ 98–102 %

- % Recovery

$$\% \text{ Recovery} = \frac{\% \text{ ผลวิเคราะห์ที่ได้}}{\text{ค่าอ้างอิงจากใบรับรอง}} \times 100$$

ค่าอ้างอิงจากใบรับรอง

เกณฑ์ยอมรับ AOAC : ปริมาณสารในตัวอย่างตั้งแต่ 1–10 % เท่ากับ 97–103 %
 ปริมาณสารในตัวอย่างตั้งแต่ 10–100 % เท่ากับ 98–102 %

7.3 การประเมินความเที่ยง

Repeatability

$$\% \text{ RSD}_r = \frac{\text{ค่าเบี่ยงเบนมาตรฐาน}}{\text{ค่าเฉลี่ย}} \times 100$$

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

$$C = \text{Concentration} = C/100$$

$$\text{HORRAT} = \frac{\% \text{ RSD (lab)}}{\% \text{ RSD (expected)}}$$

เกณฑ์การยอมรับ AOAC : HORRAT (Horwitz's Ratio) < 2

7.4 การประเมิน Intermediate precision

$$\% \text{ RSD}_i = \frac{\text{ค่าเบี่ยงเบนมาตรฐาน}}{\text{ค่าเฉลี่ย}} \times 100$$

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

$$C = \text{Concentration} = C/100$$

$$\text{HORRAT} = \frac{\% \text{ RSD (lab)}}{\% \text{ RSD (expected)}}$$

เกณฑ์การยอมรับ AOAC : HORRAT (Horwitz's Ratio) < 2

เวลาและสถานที่

ระยะเวลา ตุลาคม 2553 – กันยายน 2554

สถานที่ ห้องปฏิบัติการวิเคราะห์ปุ๋ยและน้ำ กลุ่มพัฒนาการตรวจสอบพืชและ
 ปัจจัยการผลิต สำนักวิจัยและพัฒนาการเกษตรเขตที่ 3

ผลการทดลองและวิจารณ์

ห้องปฏิบัติการดำเนินการตรวจสอบความใช้ได้ของวิธีวิเคราะห์ในรายการปริมาณไนโตรเจนในปุ๋ยเคมี (ตารางที่ 1) ผลการตรวจสอบเป็นดังนี้

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

ผลการหาค่า Limit of Detection (LOD) และ Limit of Quantitation (LOQ) จากการนำค่าวิเคราะห์มาคำนวณได้ค่า $LOD = 0.39\%$ นั่นคือค่าต่ำสุดที่ห้องปฏิบัติการมีความสามารถ จะวิเคราะห์ได้เท่ากับ 0.39% ในโตรเจนทั้งหมด จากการวิเคราะห์ตัวอย่างเพื่อหาค่า LOQ พบว่าได้ค่า

$LOQ = 1.09\%$ ค่า LOQ นี้เป็นปริมาณต่ำสุดที่สามารถวัดได้โดยมีความแม่นยำและความเที่ยงตามที่ กำหนด และค่าความไม่แน่นอนของการวัดอยู่ในเกณฑ์ยอมรับได้คือเท่ากับ 1.09% ในโตรเจนทั้งหมด

2. ผลการหาค่าของ CRM ที่ความเข้มข้นระดับ LOQ (1.09 %)

นำผลวิเคราะห์มาคำนวณค่าความแม่นยำ (% Relative Accuracy) ได้ค่า = 100.92% โดยที่เกณฑ์การยอมรับ % Recovery (AOAC) เท่ากับ $97-103\%$ แสดงว่า ผ่านเกณฑ์การยอมรับ

ค่าความเที่ยงโดยคำนวณจากค่า HORRAT พบว่าได้ค่า $HORRAT = 0.70$

โดยที่เกณฑ์การยอมรับของ AOAC : HORRAT (Horwitz's Ratio) < 2 แสดงว่า ผ่านเกณฑ์การยอมรับ

3. ผลการหาค่าของ CRM ที่ความเข้มข้นระดับต่ำ กลาง และสูง

3.1 ที่ระดับความเข้มข้นต่ำ 2.5% ได้ค่า

Accuracy = 99.60% เกณฑ์การยอมรับ % Recovery (AOAC) เท่ากับ $97-103\%$

แสดงว่า ผ่านเกณฑ์การยอมรับ

Precision (HORRAT) = 0.52 เกณฑ์การยอมรับ AOAC : HORRAT

(Horwitz's Ratio) < 2 แสดงว่า ผ่านเกณฑ์การยอมรับ

3.2 ที่ระดับความเข้มข้นกลาง 26.02% ได้ค่า

Accuracy = 99.66% เกณฑ์การยอมรับ % Recovery (AOAC) เท่ากับ $98-102\%$

แสดงว่า ผ่านเกณฑ์การยอมรับ

Precision (HORRAT) = 0.50 เกณฑ์การยอมรับ AOAC : HORRAT

(Horwitz's Ratio) < 2 แสดงว่า ผ่านเกณฑ์การยอมรับ

3.3 ที่ระดับความเข้มข้นสูง 46.54% ได้ค่า

Accuracy = 99.96% เกณฑ์การยอมรับ % Recovery (AOAC) เท่ากับ $98-102\%$

แสดงว่า ผ่านเกณฑ์การยอมรับ

Precision (HORRAT) = 0.33 เกณฑ์การยอมรับ AOAC : HORRAT

(Horwitz's Ratio) < 2 แสดงว่า ผ่านเกณฑ์การยอมรับ

4. ผลการหาค่าของ CRM ที่ความเข้มข้นระดับต่ำ กลาง และสูง ที่มีสารตัวเดิม (Matrix effect)

4.1 ที่ระดับความเข้มข้นเท่ากับ LOQ = 1.09% ได้ค่า

Accuracy = 99.08 % เกณฑ์การยอมรับ % Recovery (AOAC) เท่ากับ 97-103 %
แสดงว่า ผ่านเกณฑ์การยอมรับ

Precision (HORRAT) = 1.07 เกณฑ์การยอมรับ AOAC : HORRAT
(Horwitz's Ratio) < 2 แสดงว่า ผ่านเกณฑ์การยอมรับ

4.2 ที่ระดับความเข้มข้นต่ำ 2.5 % ได้ค่า

Accuracy 98.00 % เกณฑ์การยอมรับ % Recovery (AOAC) เท่ากับ 97-103
แสดงว่า ผ่านเกณฑ์การยอมรับ

Precision (HORRAT) = 0.36 เกณฑ์การยอมรับ AOAC : HORRAT
(Horwitz's Ratio) < 2 แสดงว่า ผ่านเกณฑ์การยอมรับ

4.3 ที่ระดับความเข้มข้นกลาง 26.02 % ได้ค่า

Accuracy = 98.16 % เกณฑ์การยอมรับ % Recovery (AOAC) เท่ากับ 98-102 %
แสดงว่า ผ่านเกณฑ์การยอมรับ

Precision (HORRAT) = 0.43 เกณฑ์การยอมรับ AOAC : HORRAT
(Horwitz's Ratio) < 2 แสดงว่า ผ่านเกณฑ์การยอมรับ

4.4 ที่ระดับความเข้มข้นสูง 46.54 % ได้ค่า

Accuracy = 98.17 % เกณฑ์การยอมรับ % Recovery (AOAC) เท่ากับ 98-102 %
แสดงว่า ผ่านเกณฑ์การยอมรับ

Precision (HORRAT) = 0.24 เกณฑ์การยอมรับ AOAC : HORRAT
(Horwitz's Ratio) < 2 แสดงว่า ผ่านเกณฑ์การยอมรับ

4.5 ที่ระดับความเข้มข้น 21.20 % ได้ค่า

Accuracy = 98.82 % เกณฑ์การยอมรับ % Recovery (AOAC) เท่ากับ 98-102 %
แสดงว่า ผ่านเกณฑ์การยอมรับ

Precision (HORRAT) = 0.60 เกณฑ์การยอมรับ AOAC : HORRAT
(Horwitz's Ratio) < 2 แสดงว่า ผ่านเกณฑ์การยอมรับ

5. ผลการหาค่า Intermediate Precision ของวิธีวิเคราะห์ในโตรเจนทั้งหมดที่มีสารตัวเดิม

5.1 ที่ระดับความเข้มข้นต่ำ 2.5 % ได้ค่า

HORRAT = 0.36 เกณฑ์การยอมรับ AOAC : HORRAT(Horwitz's Ratio) < 2
แสดงว่า ผ่านเกณฑ์การยอมรับ

5.2 ที่ระดับความเข้มข้นกลาง 26.02 % ได้ค่า

HORRAT = 0.75 เกณฑ์การยอมรับ AOAC : HORRAT(Horwitz's Ratio) < 2
แสดงว่า ผ่านเกณฑ์การยอมรับ

5.3 ที่ระดับความเข้มข้นสูง 46.54 % ได้ค่า

HORRAT = 0.45 เกณฑ์การยอมรับ AOAC : HORRAT(Horwitz's Ratio) < 2

แสดงว่า ผ่านเกณฑ์การยอมรับ

5.4 ที่ระดับความเข้มข้น 21.20 % ได้ค่า

HORRAT = 0.71 เกณฑ์การยอมรับ AOAC : HORRAT(Horwitz's Ratio) < 2

แสดงว่า ผ่านเกณฑ์การยอมรับ

ตารางที่ 1 ผลการวิเคราะห์ปริมาณไนโตรเจนทั้งหมดในการหาค่า Accuracy และ Precision ของวิธีวิเคราะห์เพื่อตรวจสอบความใช้ได้ของวิธีวิเคราะห์

เงื่อนไขการวิเคราะห์	ระดับที่ทำการทดสอบ	ค่าเฉลี่ย T-N (%)	ค่าเบี่ยงเบนมาตรฐาน	ความแม่นยำ (%)	ความเที่ยง
CRM	LOQ = 1.09	1.10	0.02	100.92	0.70
	ต่ำ (2.5 %)	2.49	0.02	99.60	0.52
	กลาง (26.02 %)	25.93	0.13	99.66	0.31
	สูง (46.54 %)	46.52	0.23	99.96	0.33
CRM + matrix	LOQ = 1.09	1.08	0.03	99.08	1.07
	ต่ำ (2.5 %)	2.45	0.02	98.00	0.36
	กลาง (26.02 %)	25.54	0.18	26.02	0.43
	สูง (46.54 %)	45.69	0.16	98.17	0.24
Intermediate Precision	ต่ำ (2.5 %)	2.45	0.02	-	0.36
(CRM + matrix ที่เวลาต่างกัน)	กลาง (26.02 %)	25.49	0.31	-	0.75
	สูง (46.54 %)	45.52	0.30	-	0.45
RM	21.20 %	20.95	0.21	-	0.71

สรุปผลการทดลอง

การพิสูจน์ความใช้ได้ของวิธีการวิเคราะห์ปริมาณไนโตรเจนทั้งหมดในปุ๋ยเคมี โดยอ้างอิงตามวิธีการมาตรฐานพบว่าได้ค่าต่ำสุดที่สามารถวิเคราะห์ได้ (Limit of Detection ; LOD) เท่ากับ 0.39 % ค่าความเข้มข้นต่ำสุดที่วิเคราะห์ได้อย่างแม่นยำ (Limit of Quantitation ; LOQ) ของวิธีวิเคราะห์เท่ากับ 1.09 % ที่ระดับ LOQ ได้ค่าความแม่นยำ (Accuracy) ที่ประเมินจาก % Recovery เท่ากับ 99.08 % อยู่ในช่วงเกณฑ์ยอมรับ (เกณฑ์ยอมรับอยู่ในช่วง 98-102 %) ค่าความเที่ยง (Precision) ประเมินจาก HORRAT เท่ากับ 1.07 อยู่ในเกณฑ์ยอมรับ (เกณฑ์ยอมรับคือ HORRAT < 2) ดังนั้นแสดงว่าที่ระดับ LOQ มีความแม่นยำและความเที่ยงที่สามารถยอมรับได้

ที่ความเข้มข้นระดับต่ำ 2.5 % พบว่ามีความแม่นยำจากการประเมิน % Recovery เท่ากับ 98.00 % อยู่ในช่วงยอมรับ (เกณฑ์ยอมรับอยู่ในช่วง 97-103 %) มีค่าความเที่ยงโดยประเมินจาก HORRAT เท่ากับ 0.36 อยู่ในเกณฑ์ที่ยอมรับคือ < 2 แสดงว่าที่ระดับความเข้มข้นต่ำมีความแม่นยำและความเที่ยงที่สามารถยอมรับได้

ที่ความเข้มข้นระดับกลาง 26.02 % พบว่ามีค่าความแม่นยำโดยประเมินจาก % Recovery เท่ากับ 98.16 % อยู่ในช่วงยอมรับ (เกณฑ์ยอมรับอยู่ในช่วง 98-102 %) ค่าความเที่ยงโดยประเมินจาก HORRAT เท่ากับ 0.43 อยู่ในเกณฑ์ที่ยอมรับคือ < 2 แสดงว่าที่ระดับความเข้มข้นกลางมีความแม่นยำและความเที่ยงที่สามารถยอมรับได้

ที่ความเข้มข้นระดับสูง 46.54 % ได้ค่าความแม่นยำที่ประเมินจาก % Recovery เท่ากับ 98.17 % อยู่ในช่วงยอมรับ (เกณฑ์ยอมรับอยู่ในช่วง 98-102 %) ได้ค่าความเที่ยงโดยประเมินจาก HORRAT เท่ากับ 0.24 อยู่ในเกณฑ์ที่ยอมรับคือ < 2 แสดงว่าที่ระดับความเข้มข้นสูงมีความแม่นยำและความเที่ยงที่สามารถยอมรับได้

ที่ความเข้มข้นระดับ 21.20 % โดยใช้ RM พบว่ามีค่าความแม่นยำโดยประเมินจาก % Recovery เท่ากับ 98.82 % อยู่ในช่วงยอมรับ (เกณฑ์ยอมรับอยู่ในช่วง 98-102 %) มีค่าความเที่ยงโดยประเมินจาก HORRAT เท่ากับ 0.60 อยู่ในเกณฑ์ที่ยอมรับคือ < 2 แสดงว่าที่ระดับความเข้มข้นนี้มีความแม่นยำและความเที่ยงที่สามารถยอมรับได้

จากการพิสูจน์ความถูกต้องของวิธีวิเคราะห์ข้างต้น แสดงว่าวิธีวิเคราะห์ในโตรเจนทั้งหมดใน ปุ๋ยเคมีของห้องปฏิบัติการอยู่ในเกณฑ์ยอมรับของ AOAC และพิสูจน์ได้ว่าวิธีการวิเคราะห์มีความ ถูกต้องเหมาะสมกับห้องปฏิบัติการ

การนำผลงานวิจัยไปใช้ประโยชน์

1. ทำให้ได้วิธีการทดสอบปริมาณไนโตรเจนทั้งหมดในปุ๋ยเคมีที่ถูกต้องและเหมาะสมกับห้องปฏิบัติการวิเคราะห์ปุ๋ย
2. สร้างความน่าเชื่อถือให้แก่ห้องปฏิบัติการ ว่ามีการดำเนินการทดสอบอย่างมีมาตรฐานและ ได้ผลการทดสอบที่ถูกต้องและได้รับการยอมรับให้เป็นหน่วยทดสอบที่มีประสิทธิภาพของกรม ฯ

เอกสารอ้างอิง

กลุ่มพัฒนาการตรวจสอบพืชและปัสจัย. 2555. การผลิตวิธีวิเคราะห์ไนโตรเจนทั้งหมด (TS-5.4-01) .

วิธีปฏิบัติงาน. สำนักวิจัยและพัฒนาการเกษตรเขตที่ 3 กรมวิชาการเกษตร.

คุชฎี มั่นความดี. 2554. เอกสารประกอบการอบรม เรื่อง การตรวจสอบความใช้ได้ของวิธี.

กลุ่มวิจัยเกษตรเคมี กรมวิชาการเกษตร.

ทิพวรรณ นิ่งน้อย. 2549. แนวปฏิบัติการทดสอบความถูกต้องของวิธีวิเคราะห์ทางเคมีโดย

ห้องปฏิบัติการเดียว. กรมวิทยาศาสตร์การแพทย์ กระทรวงสาธารณสุข. 124 หน้า.

อุมภาพร สุขม่วง. 2554. เอกสารประกอบการอบรม เรื่อง การประมาณค่าความไม่แน่นอนของการวัดทางเคมี. กรมวิทยาศาสตร์บริการ. 88 หน้า.