

รายงานผลการทดลองที่สิ้นสุด ปีงบประมาณ 2555

- จุดโครงการ** วิจัยและพัฒนาปัจจัยการผลิตทางการเกษตร
- โครงการวิจัย** การพัฒนาระบบการตรวจวิเคราะห์พืชและปัจจัยการผลิตทางการเกษตร
กิจกรรม พัฒนาระบบการตรวจวิเคราะห์ปุ๋ย พืช ดิน น้ำ สารอินทรีย์ สารควบคุมการเจริญเติบโตพืช สารสกัด และวัตถุอันตรายทางการเกษตร
กิจกรรมย่อย พัฒนาเทคนิคระบบการตรวจวิเคราะห์และตรวจสอบความใช้ได้ของวิธีการวิเคราะห์พืช
- ชื่อการทดลอง** ตรวจสอบความใช้ได้ของวิธีวิเคราะห์ปริมาณฟอสเฟตทั้งหมดในปุ๋ยเคมี
Method Validation on Analysis of Total Phosphate in Fertilizer
- คณะผู้ดำเนินงาน**
ชื่อหัวหน้าโครงการ นางจิตติมา ยถาภูชานนท์ สำนักวิจัยและพัฒนาปัจจัยการผลิตทางการเกษตร
ชื่อหัวหน้าการทดลอง นางสาวจิราภา เมืองคล้าย สำนักวิจัยและพัฒนาการเกษตรเขตที่ 5
ผู้ร่วมงาน นางสาวอาภรณ์ ทองบุราณ สำนักวิจัยและพัฒนาการเกษตรเขตที่ 5
นางสาวทวีพร สุกใส สำนักวิจัยและพัฒนาการเกษตรเขตที่ 5

5. บทคัดย่อ

การตรวจสอบความใช้ได้ของวิธีวิเคราะห์ปริมาณฟอสเฟตทั้งหมดในปุ๋ยเคมี โดยมีเกณฑ์มาตรฐานสากล และค่าคำนวณทางสถิติพบว่า การวิเคราะห์หาความถูกต้อง (Accuracy), ความแม่นยำ (Precision), ช่วงความเป็นเส้นตรง (Linearity) ปริมาณต่ำสุดที่สามารถวิเคราะห์ได้ (Limit of Detection; LOD) และปริมาณต่ำสุดที่วิเคราะห์และสามารถรายงานผลได้ (Limit of Quantitation; LOQ) โดยทำการวิเคราะห์ฟอสเฟตทั้งหมดที่เป็น Certified Reference Material (CRM) และนำมาประเมินความถูกต้อง จาก 2 วิธี คือ หาค่า Recovery พบว่าอยู่ในเกณฑ์การยอมรับ และหาค่าแสดงความแตกต่างระหว่างค่าที่วิเคราะห์ได้กับค่าจริงของ CRM โดย T-test พบว่าค่าที่ได้ไม่แตกต่างกัน ประเมินความแม่นยำโดยใช้สมการของ Horwitz's Ratio (HORRAT) ได้ ค่าอยู่ในเกณฑ์ยอมรับ หาค่า Linearity พบว่าช่วงที่เหมาะสมและเป็นเส้นตรงสำหรับการวิเคราะห์ฟอสเฟตทั้งหมด คือ 0 – 7 ppm P หาปริมาณต่ำสุดที่สามารถวัดได้ (LOD) เท่ากับ 0.08% P₂O₅ และปริมาณต่ำสุดที่สามารถวิเคราะห์และรายงานผลได้ (LOQ) เท่ากับ 0.15% P₂O₅ ซึ่งค่าทั้งหมดนั้น ผ่านเกณฑ์ยอมรับตามมาตรฐานสากล

คำนำ

ด้วยกลุ่มพัฒนาการตรวจสอบพืชและปัจจัยการผลิต สำนักวิจัยและพัฒนาการเกษตรเขตที่ 5 (สวพ.5) ได้เปิดบริการวิเคราะห์ปุ๋ยให้กับบุคคลทั่วไปและรองรับการทำงานด้านการควบคุมคุณภาพของปัจจัยการผลิตให้กับกลุ่มควบคุมตามพระราชบัญญัติของ สำนักวิจัยและพัฒนาการเกษตรเขตที่ 5 ซึ่งการให้บริการดังกล่าวต้องมีความถูกต้อง แม่นยำ เป็นไปตามมาตรฐานสากล อย่างไรก็ตามถึงแม้ว่าทางห้องปฏิบัติการจะดำเนินการวิเคราะห์หาปริมาณฟอสเฟตทั้งหมดในปุ๋ยเคมีตามคู่มือวิธีวิเคราะห์ปุ๋ยเคมี (กลุ่มวิจัยเกษตรเคมี, 2551) ซึ่งเป็นวิธีที่ดัดแปลงและปรับปรุงจากวิธีมาตรฐานของ AOAC ก็ตาม ห้องปฏิบัติการปุ๋ยของ สวพ.5 ต้องทำการพิสูจน์ให้ได้ว่าวิธีที่นำมาใช้สามารถใช้ได้จริงกับห้องปฏิบัติการของ สวพ.5

วิธีการดำเนินงาน

เครื่องมือ/อุปกรณ์

1. เครื่องชั่งไฟฟ้าทศนิยม 4 ตำแหน่ง และ 2 ตำแหน่ง
2. Spectrophotometer
3. Hot plate
4. เครื่องแก้วและวัสดุอื่นๆ ที่ใช้ในการปฏิบัติการวิเคราะห์

สารเคมี

1. Ammonium molybdate, AR grade
2. Ammonium metavanadate, AR grade
3. Nitric acid 69-70%, AR grade
4. Perchloric acid 69-70%, AR grade
5. Potassium dihydrogen phosphate สำหรับเตรียม Standard
6. Superphosphate สูตร 0-20-0, total $P_2O_5 = 19.34\%$ (BCR-033)
7. Potassium dihydrogen phosphate สูตร 0-52-34, Total $P_2O_5 = 52.17\%$ (CRM 2006)

วิธีการ

1. การศึกษาค่า Linearity ของวิธีวิเคราะห์ฟอสเฟตทั้งหมดในปุ๋ยเคมี

1.1 ทำการ spike Standard P ลงใน sample blank ให้ได้ความเข้มข้น 1, 2, 3, 4, 5, 6 และ 7 ppm ความเข้มข้นละ 3 ซ้ำ ดำเนินการวิเคราะห์ฟอสเฟตทั้งหมด ตามคู่มือวิเคราะห์ปุ๋ยเคมี

1.2 คำนวณหาค่าสัมประสิทธิ์สัมพันธ์ (Correlation coefficient; r)

2. การศึกษาค่า Limit of Detection (LOD) และ Limit of Quantitation (LOQ)

2.1 วิเคราะห์หาฟอสเฟตทั้งหมดใน sample blank 10 ซ้ำ

2.2 คำนวณหา % Total P₂O₅, ค่าเฉลี่ย (Mean) และ ค่าเบี่ยงเบนมาตรฐาน (sd)

2.3 คำนวณค่า LOD และ LOQ จากสูตร

$$\text{LOD} = \text{Mean} + 3\text{sd}$$

$$\text{LOQ} = \text{Mean} + 10\text{sd}$$

3. การศึกษา Accuracy และ Precision

3.1 ศึกษา Accuracy และ Precision ที่ความเข้มข้นสูง กลาง ต่ำ โดยที่ความเข้มข้นต่ำ 2% P₂O₅ ได้จากการ dilute Potassium dihydrogen phosphate ส่วนความเข้มข้นปานกลาง และสูง ใช้ Superphosphate และ Potassium dihydrogen phosphate โดยทำการวิเคราะห์ฟอสเฟตทั้งหมดที่ความเข้มข้นละ 10 ซ้ำ

3.2 นำผลที่ได้ไปคำนวณ % Recovery, t-test, % RSD และ Horwitz's Ratio (HORRAT)

เวลา 1 ตุลาคม 2554 – 30 กันยายน 2555

สถานที่ ห้องปฏิบัติการวิเคราะห์ปุ๋ย กลุ่มพัฒนาการตรวจสอบพืชและปัจจัยการผลิต สวพ.5

ผลการทดลองและวิจารณ์

1. การหา Linearity ที่ความเข้มข้น 7 ระดับ คือ 1, 2, 3, 4, 5, 6 และ 7 ppm คำนวณค่าสัมประสิทธิ์สัมพันธ์ (Correlation coefficient; r) โดย r ที่อยู่ในเกณฑ์ยอมรับจะต้องมากกว่า 0.995 จากการทดสอบพบว่า ค่า r = 0.9998 แสดงว่าช่วงการทำงานของวิธีวิเคราะห์ปริมาณฟอสเฟตทั้งหมดในช่วงความเข้มข้นดังกล่าวมีความเป็นเส้นตรงอยู่ในเกณฑ์ยอมรับได้

2. การหาค่า LOD และ LOQ จากการวิเคราะห์ sample blank จำนวน 10 ซ้ำ พบว่ามีค่า $\bar{x} = 0.05$ และ SD = 0.01 ทั้งนี้ LOD = $\bar{x} + 3\text{SD}$ และ LOQ = $\bar{x} + 10\text{SD}$ ดังนั้น จากการวิเคราะห์จึงมีค่า LOD และ LOQ 0.08% และ 0.15% ตามลำดับ

3. การหาค่า Accuracy ของการวิเคราะห์ฟอสเฟตทั้งหมดโดยวิเคราะห์ Certified Reference material (CRM) ที่ 3 ระดับความเข้มข้น คือ ระดับความเข้มข้นต่ำ (2 %) ระดับความเข้มข้นกลาง (Superphosphate : 19.34 %) และระดับความเข้มข้นสูง (Potassium dihydrogen phosphate : 52.17 %) แล้วนำมาหา %Recovery

โดยเกณฑ์ที่ยอมรับจะต้องอยู่ระหว่าง 98-102% (AOAC, 1998) และเปรียบเทียบค่าจริงกับค่าที่วิเคราะห์ได้ โดยใช้ t-test ที่ 95% พบว่าผ่านเกณฑ์ยอมรับทั้ง 3 ความเข้มข้น ดังแสดงในตารางที่ 1

ตารางที่ 1 ผลการวิเคราะห์ค่า Accuracy ของวิธีวิเคราะห์ฟอสเฟตทั้งหมด

CRM	ค่าที่วิเคราะห์ได้	ค่าจริง (จากใบ cer.)	% Recovery	t-test (ที่ 95%)
2.00 % P ₂ O ₅ จาก CRM สูตร 0-52-34	2.00	2.00	100.00	0.00, ยอมรับ
Superphosphate (0-20-0)	19.25	19.34	99.54	-2.19, ยอมรับ
Potassium dihydrogen phosphate (0-52-34)	52.179	52.173	100.01	0.08, ยอมรับ

3. การหาค่า Precision ของการวิเคราะห์ฟอสเฟตทั้งหมดโดยวิเคราะห์ Certified Reference material (CRM) ที่ 3 ระดับความเข้มข้น คือ ระดับความเข้มข้นต่ำ (2.00%) ระดับความเข้มข้นกลาง (Superphosphate : 19.34 %) และระดับความเข้มข้นสูง (Potassium dihydrogen phosphate : 52.17 %) ประเมินการยอมรับโดยใช้สมการของ Horwitz's Ratio (HORRAT) ซึ่งเกณฑ์ยอมรับได้จะต้อง ≤ 2 จากการทดลองพบว่าผ่านเกณฑ์การยอมรับทั้ง 3 ความเข้มข้น ดังแสดงในตารางที่ 2

ตารางที่ 2 ผลการวิเคราะห์ค่า Precision ของวิธีวิเคราะห์ฟอสเฟตทั้งหมด

CRM	%RSD	%RSDexpected	HORRAT
2.00 % P ₂ O ₅ จาก CRM สูตร 0-52-34	4	2.38	1.68 , ยอมรับ
Superphosphate (0-20-0)	0.67	1.69	0.40 , ยอมรับ
Potassium dihydrogen phosphate (0-52-34)	0.44	1.46	0.30 , ยอมรับ

สรุปผลการทดลองและข้อเสนอแนะ

จากการตรวจสอบความใช้ได้ของวิธีวิเคราะห์ฟอสเฟตทั้งหมดในปุ๋ยเคมี ของห้องปฏิบัติการวิเคราะห์ ปุ๋ย สวพ.5 พบว่าความถูกต้อง (Accuracy) ความแม่นยำ (Precision) ช่วงความเป็นเส้นตรง (Linearity) ปริมาณต่ำสุดที่วิเคราะห์ได้ (Limit of Detection; LOD) ปริมาณต่ำสุดที่สามารถวิเคราะห์และรายงานผลได้ (Limit of Quantitation; LOQ) โดยทำการวิเคราะห์ฟอสเฟตทั้งหมดที่เป็น Certified Reference Material (CRM) และนำมาประเมินความถูกต้องจาก 2 วิธี คือ การหาค่า Recovery พบว่าอยู่ในเกณฑ์ยอมรับ และหาค่าความแตกต่างระหว่างค่าที่วิเคราะห์ได้กับค่าจริงของ CRM โดย t-test ที่ 95% พบว่าค่าที่ได้ไม่แตกต่างกัน ประเมินความ

แม่นยำโดยใช้สมการของ Horwitz's Ratio (HORRAT) ได้ค่าอยู่ในเกณฑ์ยอมรับ มีค่า Linearity ที่ 0-7 ppm มีค่าปริมาณต่ำสุดที่วิเคราะห์ได้ (Limit of Detection; LOD) เท่ากับ 0.08% P₂O₅ และปริมาณต่ำสุดที่สามารถวิเคราะห์และรายงานผลได้ (Limit of Quatitation; LOQ) เท่ากับ 0.15% P₂O₅ ซึ่งค่าทั้งหมดผ่านเกณฑ์มาตรฐาน

การนำไปใช้ประโยชน์

เพื่อยืนยันความใช้ได้ของวิธีวิเคราะห์ปริมาณฟอสเฟตทั้งหมดในปุ๋ยเคมี ของห้องปฏิบัติการวิเคราะห์ปุ๋ย กลุ่มพัฒนาการตรวจสอบพืชและปัจจัยการผลิต สวพ.5

เอกสารอ้างอิง

- กลุ่มวิจัยเกษตรเคมี. 2551.คู่มือวิธีวิเคราะห์ปุ๋ยเคมี. สำนักวิจัยพัฒนาปัจจัยการผลิตทางการเกษตร. กรมวิชาการเกษตร. กรุงเทพฯ. 66 หน้า
- AOAC peer – Virified 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