

รายงานเรื่องเต็มผลการทดลองที่สิ้นสุด ปีงบประมาณ 2555

1. ชุดโครงการวิจัย วิจัยและพัฒนาปัจจัยการผลิตทางการเกษตร
2. โครงการวิจัย การพัฒนาระบบการตรวจวิเคราะห์พืชและปัจจัยการผลิตทางการเกษตร
กิจกรรมที่ 1 พัฒนาระบบการตรวจวิเคราะห์พืช ดิน น้ำ สารอินทรีย์ สารควบคุม
การเจริญเติบโตพืช สารสกัด และวัตถุอันตรายทางการเกษตร
กิจกรรมย่อยที่ 1.1 พัฒนาเทคนิคระบบการตรวจวิเคราะห์ และตรวจสอบความใช้ได้ของวิธี
วิเคราะห์ปุ๋ย
3. ชื่อการทดลอง(ภาษาไทย) ตรวจสอบความใช้ได้ของวิธีการวิเคราะห์ฟอสเฟตทั้งหมดในปุ๋ยเคมี
ชื่อการทดลอง(ภาษาอังกฤษ) Method Validation on Analysis of Total Phosphate in
Chemical Fertilizer
4. คณะผู้ดำเนินงาน
ชื่อหัวหน้าโครงการ นางจิตติมา ยถาภูฐานนท์ สังกัด กลุ่มวิจัยเกษตรเคมี สำนักวิจัยพัฒนาปัจจัยการผลิต
ทางการเกษตร
หัวหน้าการทดลอง นางอาทิตยา พงษ์ชัยสิทธิ์ สังกัด กลุ่มพัฒนาการตรวจสอบพืชและปัจจัยการผลิต
สำนักวิจัยและพัฒนาการเกษตรเขตที่ 1
ผู้ร่วมงาน นางสาวสิริพร มะเจี้ยว สังกัด กลุ่มพัฒนาการตรวจสอบพืชและปัจจัยการผลิต
สำนักวิจัยและพัฒนาการเกษตรเขตที่ 1
นายมีชัย ธรรมจันทร์ สังกัด กลุ่มพัฒนาการตรวจสอบพืชและปัจจัยการผลิต
สำนักวิจัยและพัฒนาการเกษตรเขตที่ 1
นางสาวจันทร์จิรา ศรีธรรมสังัด กลุ่มพัฒนาการตรวจสอบพืชและปัจจัยการผลิต
สำนักวิจัยและพัฒนาการเกษตรเขตที่ 1

บทคัดย่อ

การตรวจสอบความใช้ได้ของวิธีวิเคราะห์ฟอสเฟตทั้งหมดในปุ๋ยเคมีเป็นการพัฒนา ปรับปรุงหรือ
ดัดแปลงวิธีการวิเคราะห์ให้มีความเหมาะสมกับห้องปฏิบัติการ โดยวิธีการที่ห้องปฏิบัติการวิเคราะห์ปุ๋ย กลุ่ม
พัฒนาการตรวจสอบพืชและปัจจัยการผลิตใช้อยู่ในปัจจุบันนั้น ดัดแปลงจากวิธีของ AOAC (AOAC Official
Method of Analysis (18thed.) 2005, 958.01) ทำการศึกษาโดยวิเคราะห์ CRM/SRM ที่ 3 ระดับความ
เข้มข้น นำมาประเมินความแม่นยำ (Accuracy) จาก 2 วิธี พบว่า % Recovery ที่ระดับความเข้มข้นต่ำ
(0.14%), ระดับความเข้มข้นกลาง (19.34%) และ ระดับความเข้มข้นสูง (52.20%) เท่ากับ 100, 100.26 และ
99.87 % ตามลำดับ หาค่าความแตกต่างระหว่างค่าที่วิเคราะห์ได้กับค่าจริงของ CRM/SRM ของทั้ง 3

ระดับความเข้มข้น เท่ากับ 0.00, 1.66 และ 0.43 ตามลำดับ ประเมินความเที่ยง 2 แบบ คือ แบบ Precision โดยใช้ Horwitz' equation ได้ค่า HORRAT เท่ากับ 0.60, 0.27 และ 0.66 ตามลำดับ และแบบ Intermediate Precision โดยใช้ Horwitz' equation ได้ค่า HORRAT เท่ากับ 1.59, 0.68 และ 0.42 ตามลำดับ จากการหา Range ในช่วงความเข้มข้น 0.5-9.0 ppm พบว่า R^2 ของความเข้มข้นของ sample blank (ppm) กับ Absorbance มีค่า 0.9998 แสดงว่าช่วงนี้มีความเป็นเส้นตรง และในการหาค่า R^2 ของช่วงที่ใช้งานที่ความเข้มข้น 1-7 ppm มีค่าเท่ากับ 0.9999 แสดงว่าช่วงการใช้งานของวิธีวิเคราะห์ ปริมาณฟอสเฟตทั้งหมดมีความเป็นเส้นตรง (Linearity) เหมาะสมต่อการใช้งาน ในการประเมินหาปริมาณต่ำสุดที่สามารถวัดได้ (LOD) เท่ากับ 0.046 % และปริมาณต่ำสุดที่สามารถวิเคราะห์และรายงานผลได้ (LOQ) เท่ากับ 0.14 % การประเมินผลของสารตัวเติม (Matrix effect) ต่อความแม่นยำ (Accuracy) โดยเติม sample blank ลงใน CRM/SRM ที่ 3 ระดับความเข้มข้น พบว่า % Recovery ที่ระดับความเข้มข้นต่ำ (0.14%), ระดับความเข้มข้นกลาง (19.34%) และระดับความเข้มข้นสูง (52.20%) เท่ากับ 95.0, 99.29 และ 100.47 % ตามลำดับ หาค่าความแตกต่างระหว่างค่าที่วิเคราะห์ได้กับค่าจริงของ CRM/SRM ของทั้ง 3 ระดับความเข้มข้น เท่ากับ 0.00, 2.16 และ 2.08 ตามลำดับ ประเมินผลของสารตัวเติม (Matrix effect) ต่อความเที่ยง 2 แบบ คือ แบบ Precision โดยใช้ Horwitz' equation ได้ค่า HORRAT เท่ากับ 0.60, 0.59 และ 0.51 ตามลำดับ และแบบ Intermediate Precision โดยใช้ Horwitz' equation ได้ค่า HORRAT เท่ากับ 1.64, 1.06 และ 0.88 ตามลำดับ ซึ่งค่าทั้งหมดที่ได้มานั้น ผ่านเกณฑ์การยอมรับตามมาตรฐานสากล

วิธีดำเนินการ

อุปกรณ์

1. เครื่องชั่งอย่างละเอียด ทศนิยม 4 ตำแหน่ง
2. UV-Vis Spectrophotometer ยี่ห้อ Perkin Elmer รุ่น Lamda 35
3. Digestion block พร้อม tube ยี่ห้อ Gerhardt รุ่น KB 40S
4. Volumetric pipet ขนาด 1, 2, 3, 4, 5 และ 50 มิลลิลิตร
5. Volumetric flask ขนาด 100, 250, 500 และ 1000 มิลลิลิตร
6. กระจกครอบ เบอร์ 5

สารเคมี

1. Ammonium molybdate $[(NH_4)_6Mo_7O_{24} \cdot 4H_2O]$, AR grade
2. Ammonium metavanadate (NH_4VO_3) , AR grade
3. Perchloric acid 69-70% $(HClO_4)$, AR grade
4. Potassium dihydrogen phosphate (KH_2PO_4) , AR grade
5. Standard P 1000 ppm for ICP

6. วัสดุอ้างอิงรับรอง/ วัสดุอ้างอิงมาตรฐาน

6.1. Potassium dihydrogen phosphate 52.20% Total P₂O₅ (SRM200b)

6.2 Superphosphate 19.34% Total P₂O₅ (BCR 033)

วิธีการ

1. การหา Range ของวิธีวิเคราะห์ปริมาณฟอสเฟตทั้งหมดในปุ๋ยเคมี

1.1 ทำการ Spike Standard P Solution ลงใน sample blank แล้วนำไปย่อยด้วย HClO₄ จำนวน 10 มิลลิลิตร ทิ้งไว้ให้เย็น ล้างตะกอนปรับปริมาตรเป็น 250 มิลลิลิตร แล้วดูด sample ที่ Spike standard P แล้ว ลงใน Volumetric flask ขนาด 100 มิลลิลิตร โดยทดสอบที่ความเข้มข้น 0.5, 1, 3, 5, 7 และ 9 ppm ความเข้มข้นๆละ 3 ซ้ำ

1.2 ทำให้เกิดสีด้วยน้ำยา Molybdovanadate reagent จำนวน 10 มิลลิลิตร ปรับปริมาตรแล้วเขย่าให้เข้ากัน

1.3 นำไปวัดด้วย Spectrophotometer ที่ความยาวคลื่น 420 nm

1.4 Plot กราฟระหว่างความเข้มข้นของ sample blank ที่ Spike standard (แกน x) กับ Absorbance (แกน y)

1.5 คำนวณหาสัมประสิทธิ์การตัดสินใจ (Coefficient of Determination :R²) : R² ≥ 0.995

2. การหาค่า Linearity (ความเป็นเส้นตรง) ของวิธีวิเคราะห์ปริมาณฟอสเฟตทั้งหมดในปุ๋ยเคมี

2.1 ทำการ Spike Standard P Solution ลงใน sample blank แล้วนำไปย่อยด้วย HClO₄ จำนวน 10 มิลลิลิตร ทิ้งไว้ให้เย็น ล้างตะกอนปรับปริมาตรเป็น 250 มิลลิลิตร แล้วดูด sample blank ที่ Spike standard P แล้วลงใน Volumetric flask ขนาด 100 มิลลิลิตร โดยทดสอบที่ความเข้มข้น 1, 2, 3, 4, 5, 6 และ 7 ppm ความเข้มข้น ๆ ละ 10 ซ้ำ

2.2 ทำให้เกิดสีด้วยน้ำยา Molybdovanadate reagent จำนวน 10 มิลลิลิตร ปรับปริมาตรแล้วเขย่าให้เข้ากัน

2.3 นำไปวัดด้วย Spectrophotometer ที่ความยาวคลื่น 420 nm

2.4 Plot กราฟระหว่างความเข้มข้นของ sample blank ที่ Spike standard (แกน x) กับ Absorbance (แกน y)

2.5 คำนวณหาสัมประสิทธิ์การตัดสินใจ (Coefficient of Determination :R²) : R² ≥ 0.995

3. การหาค่า Limit of Detection (LOD) และ Limit of Quantity (LOQ) ของวิธีวิเคราะห์ปริมาณฟอสเฟตทั้งหมดในปุ๋ยเคมี

3.1 วิเคราะห์ dolomite 10 ซ้ำ

3.2 คำนวณหา %Total P₂O₅ , ค่าเฉลี่ย (Mean: \bar{X}) และ ค่าส่วนเบี่ยงเบนมาตรฐาน (SD)

3.3 คำนวณค่า LOD จากสูตร

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

$$LOQ = \bar{X} + 10 SD$$

4. การหาค่า Accuracy ของวิธีวิเคราะห์ปริมาณฟอสเฟตทั้งหมดในปุ๋ยเคมี

4.1 ชั่ง CRM ในช่วงที่ทำการทดลอง ที่ 3 ระดับความเข้มข้น ดังนี้

1. ที่ระดับความเข้มข้นต่ำ 0.14 % เตรียมโดยใช้ Potassium dihydrogen phosphate 52.20% (SRM200b) ชั่งให้ได้น้ำหนัก 0.6705 กรัม ใส่ใน volumetric flask ขนาด 250 มิลลิลิตร ละลายน้ำ ปรับปริมาตร จะได้สารละลายที่มีความเข้มข้น 0.14 % ชั่งสารละลายดังกล่าวให้ได้น้ำหนัก 0.5xxx กรัม นำสารละลายที่ได้มาวิเคราะห์ตามขั้นตอนการวิเคราะห์ฟอสเฟตทั้งหมด ทำการวิเคราะห์ 10 ซ้ำ

2. ที่ระดับความเข้มข้นกลาง 19.34 % โดยใช้ CRM (BCR033: Superphosphate) จำนวน 10 ซ้ำ

3. ที่ระดับความเข้มข้นสูง 52.20 % โดยใช้ SRM 200b : Potassium dihydrogen phosphate) จำนวน 10 ซ้ำ

4.2 ดำเนินการตามวิธีวิเคราะห์ฟอสเฟตทั้งหมดในปุ๋ยเคมี

4.3 นำผลวิเคราะห์ที่ได้ไปคำนวณหา %Recovery

5. การหาค่า Precision ของวิธีวิเคราะห์ปริมาณฟอสเฟตทั้งหมดในปุ๋ยเคมี

นำข้อมูลที่ได้จากข้อ 4 นำไปประเมินค่า Precision โดยใช้ Horwitz' ratio หรือ HORRAT

6. การหาค่า Intermediate Precision ของวิธีวิเคราะห์ฟอสเฟตทั้งหมดในปุ๋ยเคมี

6.1 ชั่ง CRM/SRM 0.5xxx กรัม ลงในหลอดย่อยตัวอย่าง เช่นเดียวกับข้อ 4.1 ดำเนินการตามวิธีวิเคราะห์ฟอสเฟตทั้งหมด

6.2 ทำการวิเคราะห์วันละ 1 ซ้ำ เป็นเวลา 10 วัน

6.3 นำผลที่ได้จากการวิเคราะห์ไปประเมินค่า Precision โดยใช้ Horwitz' ratio หรือ HORRAT

7. การหาค่า Accuracy ของวิธีวิเคราะห์ปริมาณฟอสเฟตทั้งหมดในสารตัวเดิม (Matrix Effect)

7.1 ชั่ง sample blank ที่มีลักษณะของเนื้อสาร (matrix) แตกต่างกัน 0.5xxx กรัม จำนวน 10 ซ้ำ นำไปวิเคราะห์ตามขั้นตอนการวิเคราะห์ฟอสเฟตทั้งหมด

7.2 ชั่ง CRM/SRM 0.5xxx กรัม ลงในหลอดย่อยตัวอย่าง เช่นเดียวกับข้อ 4.1

7.3 ดำเนินการตามขั้นตอนการวิเคราะห์ฟอสเฟตทั้งหมด

7.4 นำผลการวิเคราะห์ที่ได้ไปคำนวณหาค่า %Recovery

8. การหาค่า Precision ของวิธีวิเคราะห์ปริมาณฟอสเฟตทั้งหมดในสารตัวเดิม (Matrix Effect)

นำข้อมูลที่ได้จากข้อ 7 ไปคำนวณหาค่า Precision โดยใช้ Horwitz' ratio หรือ HORRAT

9. การหาค่า Precision ของวิธีวิเคราะห์ปริมาณฟอสเฟตทั้งหมดในปุ๋ย แบบ Intermediate Precision

9.1 ชั่ง CRM/SRM 0.5xxx กรัม ลงในหลอดย่อยตัวอย่าง เช่นเดียวกับข้อ 4 เติม sample blank 0.5xxx กรัม ลงในหลอดย่อยตัวอย่างที่มี CRM/SRM อยู่

9.2 ทำการวิเคราะห์ฟอสเฟตทั้งหมดในสารตัวเดิม โดยทำการวิเคราะห์วันละ 1 ซ้ำ เป็นเวลา 10 วัน

9.3 นำผลการวิเคราะห์ที่ได้ประเมินค่า Precision โดยใช้ Horwitz' ratio หรือ HORRAT

เวลาและสถานที่

เวลา 1 ตุลาคม 2553 – 30 กันยายน 2555

สถานที่ ห้องปฏิบัติการวิเคราะห์ปุ๋ย กลุ่มพัฒนาการตรวจสอบพืชและปัจจัยการผลิต
สำนักวิจัยและพัฒนาการเกษตรเขตที่ 1

ผลและวิจารณ์ผลการวิเคราะห์

1. การหาค่า Range และ Linearity ของวิธีวิเคราะห์ปริมาณฟอสเฟตทั้งหมดในปุ๋ยเคมี

1.1 การหา Range (Working range)

ทดสอบ sample blank ที่ 6 ระดับความเข้มข้น คือ 0.5, 1, 3, 5, 7 และ 9 ppm ความเข้มข้นละ 3 ซ้ำ เพื่อนำไปหาค่าสัมประสิทธิ์การตัดสินใจ (R^2) ผลการวิเคราะห์ดังตารางที่ 1

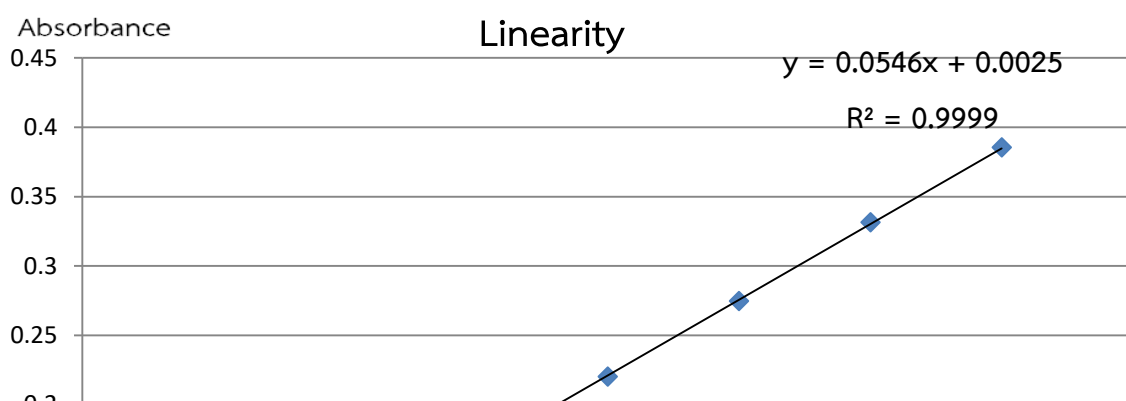
ตารางที่ 1 ผลการวิเคราะห์ปริมาณฟอสเฟตทั้งหมดของ sample blank (dolomite) โดยการ Spike Standard P ที่ 6 ระดับความเข้มข้น

Rep.	sample blank + standard P 0.5 ppm		sample blank + standard P 1 ppm		sample blank + standard P 3 ppm		sample blank + standard P 5 ppm		sample blank + standard P 7 ppm		sample blank + standard P 9 ppm	
	Abs.	ppm	Abs.	ppm	Abs.	ppm	Abs.	Ppm	Abs.	ppm	Abs.	ppm
1	0.0276	0.5028	0.0548	0.9970	0.1668	3.0368	0.2723	4.9596	0.3860	7.0292	0.4865	8.8601
2	0.0321	0.5846	0.0551	1.0027	0.1654	3.0124	0.2712	4.9392	0.3811	6.9403	0.4898	8.9185
3	0.0321	0.5840	0.0553	1.0061	0.1665	3.0327	0.2716	4.9753	0.3897	7.0966	0.4848	8.8275

1	0.0566	1.0317	0.1096	1.9956	0.1633	2.9739	0.2178	3.9672	0.2726	4.9653	0.3271	5.9570	0.3813	6.9439
2	0.0562	1.0241	0.1107	2.0156	0.1659	3.0215	0.2176	3.9634	0.2722	4.9580	0.3273	5.9617	0.3835	6.9847
3	0.0551	1.0039	0.1093	1.9910	0.1644	2.9945	0.2183	3.9765	0.2715	4.9442	0.3289	5.9903	0.3820	6.9572
4	0.0560	1.0203	0.1108	2.0174	0.1638	2.9827	0.2181	3.9722	0.2728	4.9682	0.3275	5.9654	0.3821	6.9598
5	0.0551	1.0030	0.1113	2.0263	0.1657	3.0178	0.2183	3.9764	0.2742	4.9933	0.3271	5.9568	0.3907	7.1164
6	0.0558	1.0155	0.1100	2.0032	0.1644	2.9949	0.2151	3.9168	0.2731	4.9742	0.3440	6.2646	0.3814	6.9468
7	0.0554	1.0099	0.1097	1.9976	0.1641	2.9889	0.2193	3.9937	0.2744	4.9974	0.3276	5.9664	0.3818	6.9539
8	0.0551	1.0041	0.1098	1.9990	0.1647	2.9992	0.2182	3.9747	0.2727	4.9662	0.3279	5.9719	0.3826	6.9672
9	0.0549	1.0001	0.1099	2.0019	0.1644	2.9940	0.2180	3.9698	0.2722	4.9566	0.3288	5.9890	0.3838	6.9894
10	0.0552	1.0061	0.1108	2.0178	0.1640	2.9867	0.2185	3.9787	0.2733	4.9771	0.3274	5.9632	0.3828	6.9720
\bar{x}	0.056	1.012	0.110	2.006	0.165	2.996	0.218	3.969	0.273	4.970	0.329	5.999	0.383	6.979
SD	0.001	0.010	0.001	0.012	0.001	0.015	0.001	0.020	0.001	0.016	0.005	0.094	0.003	0.050

Standard	ppm	0	1	2	3	4	5	6	7
	Abs.	0.0000	0.0549	0.1106	0.1671	0.2228	0.2726	0.3288	0.3832

จากข้อมูล ตารางที่ 2 นำมา Plot กราฟ ระหว่าง ความเข้มข้นของ sample blank (ppm) (แกน X) กับ Absorbance (แกน Y) คำนวณหาค่าสัมประสิทธิ์การตัดสินใจ (R^2) ซึ่งต้องมีค่าไม่น้อยกว่า 0.995 จากผลการทดลอง พบว่ามีค่าเท่ากับ 0.9999 แสดงว่า ช่วงการทำงานของวิธีวิเคราะห์ปริมาณฟอสเฟต ทั้งหมดในช่วงความเข้มข้นดังกล่าวมีความเป็นเส้นตรงอยู่ในเกณฑ์ยอมรับได้ ดังภาพที่ 2



ภาพที่ 2 แสดงค่าสัมประสิทธิ์การตัดสินใจ (R^2) ของความเข้มข้น P (ppm) และ Absorbance ที่ระดับความเข้มข้น 1-7 ppm

2. การหาค่า Limit of Detection (LOD) และ Limit of Quantity (LOQ) ของวิธีวิเคราะห์ปริมาณฟอสเฟตทั้งหมดในปุ๋ยเคมี

วิเคราะห์ sample blank 10 ซ้ำ คำนวณหาค่า \bar{X} และ SD ของ %Total P_2O_5 ผลการวิเคราะห์ดังตารางที่ 3

ตารางที่ 3 ผลวิเคราะห์ dolomite จำนวน 10 ซ้ำ เพื่อหาค่า LOD และ LOQ

Rep.	Weight (g)	ppm	%Total P_2O_5
1	0.5060	-0.004	0.000
2	0.5025	0.2591	0.029
3	0.5029	0.2846	0.032
4	0.5055	-0.036	0.000
5	0.5088	-0.000	0.000
6	0.5029	-0.003	0.000
7	0.5067	-0.065	0.000
8	0.5049	-0.018	0.000
9	0.5058	0.0255	0.003
10	0.5029	0.0292	0.003

X		0.007
SD		0.013

จากข้อมูลตารางที่ 3 นำมาหาค่า LOD และ LOQ

เพราะฉะนั้นค่า LOD = $X + 3SD = 0.007 + 3(0.013) = 0.046\%$

LOQ = $X + 10SD = 0.007 + 10(0.013) = 0.137 = 0.14\%$

สรุปได้ว่า %Total P₂O₅ ของสารที่ต้องการวัดที่ต่ำสุดที่สามารถวัดได้อย่างเชื่อมั่นได้ 95 % คือ ที่ 0.046% และ % Total P₂O₅ ที่สามารถนำมารายงานผลได้ต้องไม่ต่ำกว่า 0.14 %

3. การหาค่า Accuracy ของวิธีวิเคราะห์ปริมาณฟอสเฟตทั้งหมดในปุ๋ยเคมี

3.1 การหาค่า Accuracy ของวิธีวิเคราะห์ฟอสเฟตทั้งหมดที่ระดับความเข้มข้นต่ำ (0.14 %)

เตรียมโดยใช้ Potassium dihydrogen phosphate (52.20 % Total P₂O₅ : SRM 200b) ซึ่งให้ได้ น้ำหนัก 0.6705 กรัม ใส่ใน volumetric flask ขนาด 250 มิลลิลิตร ละลายน้ำ ปรับปริมาตรเป็น 250 มิลลิลิตร นำมาวิเคราะห์ตามขั้นตอนการวิเคราะห์ฟอสเฟตทั้งหมด ให้ผลการวิเคราะห์ดังตารางที่ 4 แล้วนำมา คำนวณหา % Recovery และ เปรียบเทียบค่าจากการวิเคราะห์กับค่าจริงโดยใช้ t-test

ตารางที่ 4 การหาค่า Accuracy ของผลวิเคราะห์ปริมาณฟอสเฟตทั้งหมดที่ระดับความเข้มข้นต่ำ (0.14 % Total P₂O₅)

Rep.	Weight (g)	Dilution	ppm	%Total P ₂ O ₅
1	0.5083	20	0.0621	0.14
2	0.5705	20	0.0697	0.14
3	0.5412	20	0.0661	0.14
4	0.5417	20	0.0662	0.14
5	0.5228	20	0.0732	0.14
6	0.5024	20	0.0614	0.14
7	0.5268	20	0.0644	0.14
8	0.5359	20	0.0608	0.13
9	0.5233	20	0.0640	0.14
10	0.5090	20	0.0622	0.14
		x		0.14
		SD		0.003
		%Recovery		100

Standard	ppm	1	2	3	4	5	6	7
----------	-----	---	---	---	---	---	---	---

	Abs.	0.0556	0.1104	0.1658	0.2213	0.2762	0.3297	0.3848
--	------	--------	--------	--------	--------	--------	--------	--------

จากตารางที่ 4

1. คำนวณหา %Recovery จากสูตร

$$\begin{aligned} \% \text{ Recovery} &= \frac{\text{ค่าที่วิเคราะห์ได้}}{\text{ค่าจริง}} \times 100 \\ &= \frac{0.14}{0.14} \times 100 \\ &= 100 \% \end{aligned}$$

เกณฑ์การยอมรับ 97-103% แสดงว่า ผ่านเกณฑ์การยอมรับ

2. เปรียบเทียบค่าจากการวิเคราะห์กับค่าจริงโดยใช้ t-test

$$t = \frac{\bar{x} - \mu}{sd / \sqrt{n}}$$

เมื่อ	\bar{x}	=	ค่าเฉลี่ยผลวิเคราะห์ของชุดทดสอบ
	μ	=	ค่าอ้างอิง
	n	=	จำนวนซ้ำ
	sd	=	standard deviation ของชุดทดสอบ
ดังนั้น	t	=	$\frac{0.14 - 0.14}{0.003 / \sqrt{10}}$
		=	0.00
	t _{cri}	=	2.26 ที่ระดับความเชื่อมั่น 95 %
เพราะฉะนั้น	t _{cal}	<	t _{cri} แสดงว่า ผ่านเกณฑ์การยอมรับ

3.2 หาค่า Accuracy ของวิธีวิเคราะห์ฟอสเฟตทั้งหมด ที่ระดับความเข้มข้นกลาง (19.34%)

ผลวิเคราะห์ดังตารางที่ 5

ตารางที่ 5 การหาค่า Accuracy ของผลวิเคราะห์ปริมาณฟอสเฟตทั้งหมดที่ระดับความเข้มข้นกลาง (19.34 %)

Rep.	Weight (g)	Dilution	ppm	%Total P ₂ O ₅
1	0.5021	50	3.3707	19.23
2	0.5030	50	3.4152	19.45
3	0.5067	50	3.4069	19.26

4	0.5049	50	3.4318	19.47
5	0.5036	50	3.1265	19.49
6	0.5025	50	3.4225	19.51
7	0.5047	50	3.4163	19.39
8	0.5016	50	3.3953	19.39
9	0.5033	50	3.4034	19.37
10	0.5010	50	3.3878	19.37
		X		19.39
		SD		0.09
		%Recovery		100.26

Standard	ppm	1	2	3	4	5	6	7
	Abs.	0.0300	0.0549	0.0897	0.1189	0.1481	0.1795	0.2071

จากตารางที่ 5

1. คำนวณหาค่า % Recovery

$$\begin{aligned} \% \text{ Recovery} &= \frac{19.39}{19.34} \times 100 \\ &= 100.26\% \end{aligned}$$

เกณฑ์การยอมรับ 98-102% แสดงว่า ผ่านเกณฑ์การยอมรับ

2. เปรียบเทียบค่าจากการวิเคราะห์กับค่าจริงโดยใช้ t-test

$$\begin{aligned} \text{ดังนั้น} \quad t &= \frac{19.39 - 19.34}{0.09/\sqrt{10}} \\ &= 1.66 \\ t_{\text{cri}} &= 2.26 \text{ ที่ระดับความเชื่อมั่น 95 \%} \end{aligned}$$

เพราะฉะนั้น $t_{\text{cal}} < t_{\text{cri}}$ แสดงว่า ผ่านเกณฑ์การยอมรับ

3.3 หาค่า Accuracy ของวิธีวิเคราะห์ฟอสเฟตทั้งหมด ที่ระดับความเข้มข้นสูง (52.20 %)

ผลวิเคราะห์ดังตารางที่ 6

ตารางที่ 6 การหาค่า Accuracy ของผลวิเคราะห์ปริมาณฟอสเฟตทั้งหมดที่ระดับความเข้มข้นสูง (52.20 %)

Rep.	Weight (g)	Dilution	ppm	%Total P ₂ O ₅
1	0.5037	125	3.6294	51.6
2	0.5040	125	3.6456	51.8

3	0.5036	125	3.6568	52.0
4	0.5018	125	3.6647	52.3
5	0.5054	125	3.6910	52.3
6	0.5031	125	3.6391	51.8
7	0.5044	125	3.6626	52.0
8	0.5068	125	3.6800	52.0
9	0.5074	125	3.7836	53.4
10	0.5044	125	3.6696	52.2
		x		52.13
		SD		0.50
		%Recovery		99.87

Standard	ppm	1	2	3	4	5	6	7
	Abs.	0.0551	0.1104	0.1651	0.2742	0.2720	0.3310	0.3846

จากตารางที่ 6

1. คำนวณหาค่า % Recovery

$$\begin{aligned} \% \text{ Recovery} &= \frac{52.13}{52.20} \times 100 \\ &= 99.87\% \end{aligned}$$

เกณฑ์การยอมรับ 98-102% แสดงว่า ผ่านเกณฑ์การยอมรับ

2. เปรียบเทียบค่าจากการวิเคราะห์กับค่าจริงโดยใช้ t-test

$$\begin{aligned} \text{ดังนั้น} \quad t &= \frac{52.20 - 52.13}{0.50/\sqrt{10}} \\ &= 0.43 \\ t_{\text{cri}} &= 2.26 \text{ ที่ระดับความเชื่อมั่น } 95 \% \\ \text{เพราะฉะนั้น} \quad t_{\text{cal}} &< t_{\text{cri}} \text{ แสดงว่า ผ่านเกณฑ์การยอมรับ} \end{aligned}$$

4. การหาค่า Precision ของวิธีวิเคราะห์ปริมาณฟอสเฟตทั้งหมดในปุ๋ยเคมี

นำข้อมูลผลการวิเคราะห์ฟอสเฟตทั้งหมดในข้อ 3.1-3.3 มาประเมินค่า Precision โดยใช้ Horwitz' ratio หรือ HORRAT ให้ผลดังนี้

4.1 หา Precision ของวิธีวิเคราะห์ฟอสเฟตทั้งหมด ที่ระดับความเข้มข้นต่ำ 0.14% ผลวิเคราะห์ ดังตารางที่ 4

1. คำนวณ %RSD จาก

$$\begin{aligned}\%RSD &= \frac{sd}{x} \times 100 \\ &= \frac{0.003}{0.14} \times 100 \\ &= 2.14\end{aligned}$$

2. คำนวณ %RSD_{expected} จาก

$$\begin{aligned}\text{Horwitz' equation} &= 0.66 \times 2^{(1-0.5\log c)} \\ &= 0.66 \times 2^{(1-0.5\log 0.0014)} \quad \text{เมื่อ } c = 0.14/100 = 0.0014 \\ &= 3.55\end{aligned}$$

3. คำนวณค่า HORRAT จาก

$$\begin{aligned}\text{HORRAT} &= \%RSD_{\text{lab}} / \%RSD_{\text{expected}} \\ &= 2.14/3.55 \\ &= 0.60\end{aligned}$$

เกณฑ์การยอมรับใช้ HORRAT (Horwitz' ratio)

- AOAC : HORRAT (Horwitz' ratio) < 2

- EU, Codex : HORRAT (Horwitz' ratio) ≤ 2

ดังนั้น แสดงว่า ผ่านเกณฑ์การยอมรับ

4.2 หา Precision ของวิธีวิเคราะห์ฟอสเฟตทั้งหมด ที่ระดับความเข้มข้นกลาง 19.34% ผลวิเคราะห์ดังตารางที่ 5

1. คำนวณ %RSD

$$\begin{aligned}\%RSD &= \frac{0.09}{19.39} \times 100 \\ &= 0.46\end{aligned}$$

2. คำนวณ %RSD_{expected} จาก

$$\begin{aligned}\text{Horwitz' equation} &= 0.66 \times 2^{(1-0.5\log c)} \\ &= 0.66 \times 2^{(1-0.5\log 0.194)} \quad \text{เมื่อ } c = 19.39/100 = 0.194 \\ &= 1.69\end{aligned}$$

3. คำนวณค่า HORRAT จาก

$$\begin{aligned}\text{HORRAT} &= \%RSD_{\text{lab}} / \%RSD_{\text{expected}} \\ &= 0.46/1.69 \\ &= 0.27\end{aligned}$$

เกณฑ์การยอมรับใช้ HORRAT (Horwitz' ratio)

- AOAC : HORRAT (Horwitz' ratio) < 2
- EU, Codex : HORRAT (Horwitz' ratio) ≤ 2

ดังนั้น แสดงว่า ผ่านเกณฑ์การยอมรับ

4.3 หา Precision ของวิธีวิเคราะห์ฟอสเฟตทั้งหมด ที่ระดับความเข้มข้นสูง 52.20% ผลวิเคราะห์ดังตารางที่ 6

1. คำนวณ %RSD

$$\begin{aligned}\%RSD &= \frac{0.50}{52.13} \times 100 \\ &= 0.96\end{aligned}$$

2. คำนวณ %RSD_{expected} จาก

$$\begin{aligned}\text{Horwitz' equation} &= 0.66 \times 2^{(1-0.5\log c)} \\ &= 0.66 \times 2^{(1-0.5\log 0.521)} \quad \text{เมื่อ } c = 52.13/100 = 0.521 \\ &= 1.46\end{aligned}$$

3. คำนวณค่า HORRAT จาก

$$\begin{aligned}\text{HORRAT} &= \%RSD_{\text{lab}} / \%RSD_{\text{expected}} \\ &= 0.21/1.46 \\ &= 0.66\end{aligned}$$

เกณฑ์การยอมรับใช้ HORRAT (Horwitz' ratio)

- AOAC : HORRAT (Horwitz' ratio) < 2
- EU, Codex : HORRAT (Horwitz' ratio) ≤ 2

ดังนั้น แสดงว่า ผ่านเกณฑ์การยอมรับ

5. การหา Intermediate Precision ของวิธีวิเคราะห์ฟอสเฟตทั้งหมดในปุ๋ยเคมี

5.1 หา Intermediate Precision ของวิธีวิเคราะห์ฟอสเฟตทั้งหมด ที่ระดับความเข้มข้นต่ำ 0.14% ผลวิเคราะห์ดังตารางที่ 7

ตารางที่ 7 ผลการวิเคราะห์ฟอสเฟตทั้งหมด ที่ระดับความเข้มข้นต่ำ 0.14%

ว/ด/ป	ซ้ำที่	Total P ₂ O ₅ (%)
12 ก.ค.54	1	0.16
19 ก.ค.54	2	0.16
2 ส.ค.54	3	0.14
10 ส.ค.54	4	0.14
19 ส.ค.54	5	0.14
26 ส.ค.54	6	0.15
2 ก.ย.54	7	0.14
5 ก.ย.54	8	0.14
8 ก.ย.54	9	0.14
14 ก.ย.54	10	0.14
	\bar{X}	0.15
	SD	0.008

จากตารางที่ 7

1. คำนวณ %RSD

$$\begin{aligned} \%RSD &= \frac{0.008 \times 100}{0.15} \\ &= 5.33 \end{aligned}$$

2. คำนวณ %RSD_{expected} จาก

$$\begin{aligned} \text{Horwitz' equation} &= 0.66 \times 2^{(1-0.5 \log c)} \\ &= 0.66 \times 2^{(1-0.5 \log 0.002)} \quad \text{เมื่อ } c = 0.15/100 = 0.002 \\ &= 3.36 \end{aligned}$$

3. คำนวณค่า HORRAT จาก

$$\begin{aligned} \text{HORRAT} &= \%RSD_{\text{lab}} / \%RSD_{\text{expected}} \\ &= 5.33/3.36 \\ &= 1.59 \end{aligned}$$

เกณฑ์การยอมรับใช้ HORRAT (Horwitz' ratio)

- AOAC : HORRAT (Horwitz' ratio) < 2
- EU, Codex : HORRAT (Horwitz' ratio) ≤ 2

ดังนั้น แสดงว่า ผ่านเกณฑ์การยอมรับ

5.2 หา Intermediate Precision ของวิธีวิเคราะห์ฟอสเฟตทั้งหมด ที่ระดับความเข้มข้นกลาง 19.34% ผลวิเคราะห์ดังตารางที่ 8

ตารางที่ 8 ผลการวิเคราะห์ฟอสเฟตทั้งหมด ที่ระดับความเข้มข้นกลาง 19.34%

ว/ด/ป	ซ้ำที่	Total P ₂ O ₅ (%)
22 ก.พ. 54	1	19.16
17 มี.ค. 54	2	19.10
24 มี.ค. 54	3	19.15
5 เม.ย. 54	4	19.11
8 เม.ย. 54	5	18.89
21 เม.ย. 54	6	18.98
26 เม.ย. 54	7	18.44
28 เม.ย. 54	8	18.81
30 พ.ค. 54	9	18.99
14 มิ.ย. 54	10	18.80
\bar{X}		18.94
SD		0.22

จากตารางที่ 8

1. คำนวณ %RSD

$$\begin{aligned} \%RSD &= \frac{0.22 \times 100}{18.94} \\ &= 1.16 \end{aligned}$$

2. คำนวณ %RSD_{expected} จาก

$$\begin{aligned} \text{Horwitz' equation} &= 0.66 \times 2^{(1-0.5\log c)} \\ &= 0.66 \times 2^{(1-0.5\log 0.189)} \quad \text{เมื่อ } c = 18.94/100 = 0.189 \\ &= 1.70 \end{aligned}$$

3. คำนวณค่า HORRAT จาก

$$\begin{aligned} \text{HORRAT} &= \%RSD_{\text{lab}} / \%RSD_{\text{expected}} \\ &= 1.16/1.70 \\ &= 0.68 \end{aligned}$$

เกณฑ์การยอมรับใช้ HORRAT (Horwitz' ratio)

- AOAC : HORRAT (Horwitz' ratio) < 2

- EU, Codex : HORRAT (Horwitz' ratio) ≤ 2

ดังนั้น แสดงว่า ผ่านเกณฑ์การยอมรับ

5.3 หา Intermediate Precision ของวิธีวิเคราะห์ฟอสเฟตทั้งหมด ที่ระดับความเข้มข้นสูง

52.20% ผลวิเคราะห์ดังตารางที่ 9

ตารางที่ 9 ผลการวิเคราะห์ฟอสเฟตทั้งหมด ที่ระดับความเข้มข้นกลาง 52.20%

ว/ด/ป	ซ้ำที่	Total P ₂ O ₅ (%)
22 ก.พ. 54	1	52.25
17 มี.ค. 54	2	51.82
24 มี.ค. 54	3	52.57
5 เม.ย. 54	4	51.91
8 เม.ย. 54	5	51.60
21 เม.ย. 54	6	51.93
26 เม.ย. 54	7	51.49
28 เม.ย. 54	8	51.92
30 พ.ค. 54	9	52.18
14 มิ.ย. 54	10	51.82
	\bar{X}	51.95
	SD	0.32

จากตารางที่ 9

1. คำนวณ %RSD

$$\begin{aligned}\%RSD &= \frac{0.32 \times 100}{51.95} \\ &= 0.62\end{aligned}$$

2. คำนวณ %RSD_{expected} จาก

$$\begin{aligned}\text{Horwitz' equation} &= 0.66 \times 2^{(1-0.5\log c)} \\ &= 0.66 \times 2^{(1-0.5\log 0.520)} \quad \text{เมื่อ } c = 51.95/100 = 0.520 \\ &= 1.46\end{aligned}$$

3. คำนวณค่า HORRAT จาก

$$\begin{aligned}\text{HORRAT} &= \%RSD_{\text{lab}} / \%RSD_{\text{expected}} \\ &= 0.62/1.46 \\ &= 0.42\end{aligned}$$

เกณฑ์การยอมรับใช้ HORRAT (Horwitz' ratio)

- AOAC : HORRAT (Horwitz' ratio) < 2
- EU, Codex : HORRAT (Horwitz' ratio) ≤ 2

ดังนั้น แสดงว่า ผ่านเกณฑ์การยอมรับ

6. การหาค่า Accuracy ของวิธีวิเคราะห์ปริมาณฟอสเฟตทั้งหมดในสารตัวเติม (Matrix Effect)

6.1 หาค่า Accuracy ของวิธีวิเคราะห์ฟอสเฟตทั้งหมดในสารตัวเติม ที่ระดับความเข้มข้นต่ำ 0.14%

โดยชั่ง sample blank ที่มีลักษณะของเนื้อสาร (Matrix) แตกต่างกัน และชั่ง CRM ที่ระดับความเข้มข้นต่ำ 0.14% เติมลงไป (เตรียมจาก Potassium dihydrogen phosphate 52.20% (SRM 200b)) ชั่งให้ได้น้ำหนัก 0.6705 กรัม ใส่ใน volumetric flask ขนาด 250 มิลลิลิตร ละลายน้ำ ปรับปริมาตรเป็น 250 มิลลิลิตร) นำมาวิเคราะห์ตามขั้นตอนการวิเคราะห์ฟอสเฟตทั้งหมด จำนวน 10 ซ้ำ พร้อมวิเคราะห์ sample ผลการวิเคราะห์ดังตารางที่ 10 และ 11

ตารางที่ 10 ผลการวิเคราะห์ sample blank เพื่อวิเคราะห์ฟอสเฟตทั้งหมดในปุ๋ยมีสารตัวเติม (Filler)

Rep.	Weight (g)	ppm	%Total P ₂ O ₅
1	0.5060	-0.004	0.000
2	0.5025	0.2591	0.029
3	0.5029	0.2846	0.032
4	0.5055	-0.036	0.000
5	0.5088	-0.000	0.000
6	0.5029	-0.003	0.000
7	0.5067	-0.065	0.000
8	0.5049	-0.018	0.000
9	0.5058	0.0255	0.003
10	0.5029	0.0292	0.003

X	0.007
SD	0.013

Standard	ppm	1	2	3	4	5	6	7
	Abs.	0.0553	0.1097	0.1641	0.2185	0.2720	0.3291	0.3813

ตารางที่ 11 ผลการวิเคราะห์ sample blank ที่เติม 0.14% P₂O₅ เพื่อวิเคราะห์ฟอสเฟตทั้งหมดในปุ๋ยมิ
สารตัวเติม (Filler)

Rep.	Weight of sample blank (g)	Weight of 0.14% P ₂ O ₅ (g)	Dilution	ppm	%Total P ₂ O ₅
1	0.5037	0.5313	20	0.0613	0.14
2	0.5075	0.5228	20	0.0684	0.15
3	0.5074	0.5226	20	0.0639	0.14
4	0.5056	0.5281	20	0.0645	0.14
5	0.5061	0.5110	20	0.0624	0.14
6	0.5077	0.5310	20	0.0649	0.14
7	0.5067	0.5034	20	0.0615	0.14
8	0.5026	0.5069	20	0.0575	0.13
9	0.5015	0.5076	20	0.0620	0.14
10	0.5044	0.5026	20	0.0614	0.14

	x	0.14
	SD	0.003
	%Recovery	100

Standard	ppm	1	2	3	4	5	6	7
	Abs.	0.0556	0.1104	0.1658	0.2213	0.2762	0.3297	0.3848

จากตารางที่ 11

1. คำนวณหาค่า % Recovery จากสูตร

$$\% \text{ Recovery} = \frac{\text{ค่าเฉลี่ย}(\% \text{TotalP}_2\text{O}_5 \text{ ใน sample blank ที่เติม CRM}) - \text{ค่าเฉลี่ย}(\% \text{TotalP}_2\text{O}_5 \text{ ใน sample blank}) \times 100}{\% \text{TotalP}_2\text{O}_5 \text{ ของ CRM ที่เติมลงใน sample blank}}$$

$$= \frac{(0.14 - 0.007) \times 100}{0.14}$$

$$= 95\%$$

เกณฑ์การยอมรับ 95-105% แสดงว่า ผ่านเกณฑ์การยอมรับ

2. เปรียบเทียบค่าจากการวิเคราะห์กับค่าจริงโดยใช้ t-test

$$t = \frac{\bar{x} - \mu}{sd / \sqrt{n}}$$

เมื่อ	\bar{x}	=	ค่าเฉลี่ยผลวิเคราะห์ของชุดทดสอบ
	μ	=	ค่าอ้างอิง
	n	=	จำนวนซ้ำ
	sd	=	standard deviation ของชุดทดสอบ
ดังนั้น	t	=	$\frac{0.14 - 0.14}{0.003 / \sqrt{10}}$
		=	0.00
	t _{cri}	=	2.26 ที่ระดับความเชื่อมั่น 95 %
เพราะฉะนั้น	t _{cal}	<	t _{cri} แสดงว่า ผ่านเกณฑ์การยอมรับ

6.2 หาค่า Accuracy ของวิธีวิเคราะห์ฟอสเฟตทั้งหมดในสารตัวเติม ที่ระดับความเข้มข้นกลาง

19.34% ผลวิเคราะห์ดังตารางที่ 12

ตารางที่ 12 ผลการวิเคราะห์ sample blank ที่เติม 19.34% P₂O₅ เพื่อวิเคราะห์ฟอสเฟตทั้งหมดในปุ๋ยมี่ สารตัวเติม (Filler)

Rep.	Weight of sample blank (g)	Weight of 19.34% P ₂ O ₅ (g)	Dilution	ppm	%Total P ₂ O ₅
1	0.5057	0.5068	50	3.3828	19.12
2	0.5065	0.5078	50	3.4196	19.29
3	0.5034	0.5016	50	3.4041	19.44
4	0.5035	0.5037	50	3.3111	18.83
5	0.5043	0.5022	50	3.3872	19.32
6	0.5054	0.5045	50	3.3674	19.12
7	0.5099	0.5061	50	3.3799	19.13
8	0.5032	0.5035	50	3.3854	19.26
9	0.5062	0.5071	50	3.4530	19.49
10	0.5047	0.5087	50	3.3990	19.14
	x				19.21
	SD				0.19
	%Recovery				99.29

Standard	ppm	1	2	3	4	5	6	7
	Abs.	0.0556	0.1104	0.1658	0.2213	0.2762	0.3297	0.3848

จากตารางที่ 12

1. คำนวณหาค่า % Recovery

$$\% \text{Recovery} = \frac{(19.21 - 0.007)}{19.34} \times 100$$

$$= 99.29 \%$$

เกณฑ์การยอมรับ 98-102% แสดงว่า ผ่านเกณฑ์การยอมรับ

2. เปรียบเทียบค่าจากการวิเคราะห์กับค่าจริงโดยใช้ t-test

$$\begin{aligned} \text{ดังนั้น} \quad t &= \frac{19.34 - 19.21}{0.19/\sqrt{10}} \\ &= 2.16 \\ t_{\text{cri}} &= 2.26 \text{ ที่ระดับความเชื่อมั่น } 95\% \end{aligned}$$

6.3 หาค่า Accuracy ของวิธีวิเคราะห์ฟอสเฟตทั้งหมดในสารตัวเติม ที่ระดับความเข้มข้นสูง

52.20% ผลวิเคราะห์ดังตารางที่ 13

ตารางที่ 13 ผลการวิเคราะห์ sample blank ที่เติม 52.20% P₂O₅ เพื่อวิเคราะห์ฟอสเฟตทั้งหมดในปุ๋ยมิ สารตัวเติม (Filler)

Rep.	Weight of sample blank (g)	Weight of 52.20% P ₂ O ₅ (g)	ppm	%Total P ₂ O ₅
1	0.5017	0.5076	462.84	52.20
2	0.5022	0.5025	458.86	52.28
3	0.5033	0.5058	461.03	52.18
4	0.5073	0.5013	460.14	52.55
5	0.5007	0.5079	468.12	52.77
6	0.5009	0.5084	462.02	52.03
7	0.5044	0.5055	464.78	52.64
8	0.5016	0.5024	465.78	53.08
9	0.5038	0.5046	465.10	52.77
10	0.5079	0.5079	462.02	52.08
x				52.45
SD				0.39
%Recovery				100.48

Standard	ppm	1	2	3	4	5	6	7
	Abs.	0.0555	0.1114	0.1656	0.2219	0.2773	0.3322	0.3841

จากตารางที่ 13

1. คำนวณหาค่า % Recovery

$$\begin{aligned}\% \text{Recovery} &= \frac{(52.45 - 0.007)}{52.20} \times 100 \\ &= 100.47\%\end{aligned}$$

เกณฑ์การยอมรับ 98-102% แสดงว่า ผ่านเกณฑ์การยอมรับ

2. เปรียบเทียบค่าจากการวิเคราะห์กับค่าจริงโดยใช้ t-test

$$\begin{aligned}\text{ดังนั้น} \quad t &= \frac{52.45 - 52.20}{0.39/\sqrt{10}} \\ &= 2.08 \\ t_{\text{cri}} &= 2.26 \text{ ที่ระดับความเชื่อมั่น } 95 \%\end{aligned}$$

7. การหาค่า Precision ของวิธีวิเคราะห์ปริมาณฟอสเฟตทั้งหมดในสารตัวเดิม (Matrix Effect)

นำข้อมูลผลการวิเคราะห์ฟอสเฟตทั้งหมดในสารตัวเดิมจากข้อ 6.1-6.3 มาประเมินค่า Precision โดยใช้ Horwitz' ratio หรือ HORRAT ให้ผลดังนี้

7.1 หา Precision ของวิธีวิเคราะห์ฟอสเฟตทั้งหมด ในสารตัวเดิม ที่ระดับความเข้มข้นต่ำ 0.14% ผลวิเคราะห์ดังตารางที่ 11

1. คำนวณ %RSD จาก

$$\begin{aligned}\% \text{RSD} &= \frac{sd}{x} \times 100 \\ &= \frac{0.003}{0.14} \times 100 \\ &= 2.14\end{aligned}$$

2. คำนวณ %RSD_{expected} จาก

$$\begin{aligned}\text{Horwitz' equation} &= 0.66 \times 2^{(1-0.5 \log c)} \\ &= 0.66 \times 2^{(1-0.5 \log 0.0014)} \quad \text{เมื่อ } c = 0.14/100 = 0.0014 \\ &= 3.55\end{aligned}$$

3. คำนวณค่า HORRAT จาก

$$\begin{aligned}\text{HORRAT} &= \% \text{RSD}_{\text{lab}} / \% \text{RSD}_{\text{expected}} \\ &= 2.14/3.55 \\ &= 0.60\end{aligned}$$

เกณฑ์การยอมรับใช้ HORRAT (Horwitz' ratio)

- AOAC : HORRAT (Horwitz' ratio) < 2

- EU, Codex : HORRAT (Horwitz' ratio) ≤ 2

ดังนั้น แสดงว่า ผ่านเกณฑ์การยอมรับ

7.2 หา Precision ของวิธีวิเคราะห์ฟอสเฟตทั้งหมดในสารตัวเดิม ที่ระดับความเข้มข้นกลาง

19.34% ผลวิเคราะห์ดังตารางที่ 12

1. คำนวณ %RSD

$$\begin{aligned}\%RSD &= \frac{0.19 \times 100}{19.21} \\ &= 0.99\end{aligned}$$

2. คำนวณ %RSD_{expected} จาก

$$\begin{aligned}\text{Horwitz' equation} &= 0.66 \times 2^{(1-0.5\log c)} \\ &= 0.66 \times 2^{(1-0.5\log 0.192)} \quad \text{เมื่อ } c = 19.21/100 = 0.192 \\ &= 1.69\end{aligned}$$

3. คำนวณค่า HORRAT จาก

$$\begin{aligned}\text{HORRAT} &= \%RSD_{\text{lab}} / \%RSD_{\text{expected}} \\ &= 0.68/1.69 \\ &= 0.59\end{aligned}$$

เกณฑ์การยอมรับใช้ HORRAT (Horwitz' ratio)

- AOAC : HORRAT (Horwitz' ratio) < 2

- EU, Codex : HORRAT (Horwitz' ratio) ≤ 2

ดังนั้น แสดงว่า ผ่านเกณฑ์การยอมรับ

7.3 หา Precision ของวิธีวิเคราะห์ฟอสเฟตทั้งหมดในสารตัวเดิม ที่ระดับความเข้มข้นกลาง

52.20% ผลวิเคราะห์ดังตารางที่ 13

1. คำนวณ %RSD

$$\begin{aligned}\%RSD &= \frac{0.39 \times 100}{52.45} \\ &= 0.74\end{aligned}$$

2. คำนวณ %RSD_{expected} จาก

$$\text{Horwitz' equation} = 0.66 \times 2^{(1-0.5\log c)}$$

$$= 0.66 \times 2^{(1-0.5 \log 0.525)} \quad \text{เมื่อ } c = 52.45/100 = 0.525$$

$$= 1.45$$

3. คำนวณค่า HORRAT จาก

$$\text{HORRAT} = \%RSD_{\text{lab}} / \%RSD_{\text{expected}}$$

$$= 0.74/1.45$$

$$= 0.51$$

เกณฑ์การยอมรับใช้ HORRAT (Horwitz' ratio)

- AOAC : HORRAT (Horwitz' ratio) < 2

- EU, Codex : HORRAT (Horwitz' ratio) ≤ 2

ดังนั้น แสดงว่า ผ่านเกณฑ์การยอมรับ

8. การหาค่า Precision ของวิธีวิเคราะห์ปริมาณฟอสเฟตทั้งหมดในปุ๋ยแบบ Intermediate Precision

8.1 หา Intermediate Precision ของวิธีวิเคราะห์ฟอสเฟตทั้งหมด ที่ระดับความเข้มข้นต่ำ

0.14% ผลวิเคราะห์ดังตารางที่ 14

ตารางที่ 14 ผลการวิเคราะห์ฟอสเฟตทั้งหมดในสารตัวเติม ที่ระดับความเข้มข้นต่ำ 0.14%

ว/ด/ป	ซ้ำที่	น้ำหนัก (กรัม)	น้ำหนัก STD ที่เติม (กรัม)	Dilution	ppm	%Total P ₂ O ₅
11 ก.ค.54	1	0.5048	0.5281	20	0.0645	0.14
14 ก.ค.54	2	0.5008	0.5110	20	0.0669	0.15
25 ก.ค.54	3	0.5066	0.5230	20	0.0639	0.14
27 ก.ค.54	4	0.5089	0.5260	20	0.0643	0.14
29 ก.ค.54	5	0.5056	0.5334	20	0.0652	0.14
2 ส.ค.54	6	0.5090	0.5122	20	0.0626	0.14
5 ส.ค.54	7	0.5084	0.5081	20	0.0701	0.16
10 ส.ค.54	8	0.5024	0.5056	20	0.0618	0.14
19 ส.ค.54	9	0.5041	0.5171	20	0.0722	0.16
14 ก.ย.54	10	0.5044	0.5095	20	0.0711	0.16
			X			0.15
			SD			0.009

1. คำนวณ %RSD

$$\%RSD = \frac{0.009}{0.15} \times 100$$

$$= 6.0$$

2. คำนวณ %RSD_{expected} จาก

$$\begin{aligned} \text{Horwitz' equation} &= 0.66 \times 2^{(1-0.5\log c)} \\ &= 0.66 \times 2^{(1-0.5\log 0.002)} \quad \text{เมื่อ } c = 0.15/100 = 0.0015 \\ &= 3.36 \end{aligned}$$

3. คำนวณค่า HORRAT จาก

$$\begin{aligned} \text{HORRAT} &= \%RSD_{\text{lab}} / \%RSD_{\text{expected}} \\ &= 6.0/3.36 \\ &= 1.64 \end{aligned}$$

เกณฑ์การยอมรับใช้ HORRAT (Horwitz' ratio)

- AOAC : HORRAT (Horwitz' ratio) < 2
- EU, Codex : HORRAT (Horwitz' ratio) ≤ 2

ดังนั้น แสดงว่า ผ่านเกณฑ์การยอมรับ

8.2 หา Intermediate Precision ของวิธีวิเคราะห์ฟอสเฟตทั้งหมด ที่ระดับความเข้มข้นกลาง

19.34% ผลวิเคราะห์ดังตารางที่ 15

ตารางที่ 15 ผลการวิเคราะห์ฟอสเฟตทั้งหมดในสารตัวเดิม ที่ระดับความเข้มข้นกลาง 19.34%

ว/ด/ป	ซ้ำที่	น้ำหนัก (กรัม)	น้ำหนัก STD ที่เติม (กรัม)	Dilution	ppm	%Total P ₂ O ₅
11 ก.ค.54	1	0.5045	0.5032	50	3.3342	18.98
14 ก.ค.54	2	0.5021	0.5035	50	3.3836	19.25
25 ก.ค.54	3	0.5036	0.5045	50	3.3974	19.29
27 ก.ค.54	4	0.5066	0.5016	50	3.3849	19.33
29 ก.ค.54	5	0.5082	0.5070	50	3.4001	19.21
2 ส.ค.54	6	0.5046	0.5038	50	3.1974	18.18
5 ส.ค.54	7	0.5076	0.5040	50	3.3448	19.01
10 ส.ค.54	8	0.5051	0.5024	50	3.3657	19.19
19 ส.ค.54	9	0.5031	0.5065	50	3.3543	18.97
14 ก.ย.54	10	0.5037	0.5031	50	3.3177	18.89
			X			19.03
			SD			0.34

1. คำนวณ %RSD

$$\begin{aligned} \%RSD &= \frac{0.34 \times 100}{19.03} \\ &= 1.79 \end{aligned}$$

2. คำนวณ %RSD_{expected} จาก

$$\begin{aligned} \text{Horwitz' equation} &= 0.66 \times 2^{(1-0.5\log c)} \\ &= 0.66 \times 2^{(1-0.5\log 0.19)} \quad \text{เมื่อ } c = 19.03/100 = 0.19 \\ &= 1.69 \end{aligned}$$

3. คำนวณค่า HORRAT จาก

$$\begin{aligned} \text{HORRAT} &= \%RSD_{\text{lab}} / \%RSD_{\text{expected}} \\ &= 1.79/1.69 \\ &= 1.06 \end{aligned}$$

เกณฑ์การยอมรับใช้ HORRAT (Horwitz' ratio)

- AOAC : HORRAT (Horwitz' ratio) < 2
- EU, Codex : HORRAT (Horwitz' ratio) ≤ 2

ดังนั้น แสดงว่า ผ่านเกณฑ์การยอมรับ

8.3 ทหา Intermediate Precision ของวิธีวิเคราะห์ฟอสเฟตทั้งหมด ที่ระดับความเข้มข้นสูง

52.20% ผลวิเคราะห์ดังตารางที่ 16

ตารางที่ 16 ผลการวิเคราะห์ฟอสเฟตทั้งหมดในสารตัวเดิม ที่ระดับความเข้มข้นสูง 52.20%

ว/ด/ป	ซ้ำที่	น้ำหนัก (กรัม)	น้ำหนัก STD ที่เติม (กรัม)	Dilution	ppm	%Total P ₂ O ₅
11 ก.ค.54	1	0.5050	0.5061	125	3.6537	51.70
14 ก.ค.54	2	0.5002	0.5025	125	3.6214	51.61
25 ก.ค.54	3	0.5061	0.5024	125	3.6361	51.83
27 ก.ค.54	4	0.5048	0.5076	125	3.6603	51.64
29 ก.ค.54	5	0.5050	0.5055	125	3.6522	51.74
2 ส.ค.54	6	0.5033	0.5020	125	3.7471	49.56

5 ส.ค.54	7	0.5089	0.5055	125	3.6346	51.49
10 ส.ค.54	8	0.5026	0.5084	125	3.6575	51.52
19 ส.ค.54	9	0.5081	0.5101	125	3.6591	51.37
14 ก.ย.54	10	0.5059	0.5018	125	3.6059	51.46
		X				51.40
		SD				0.66

1. คำนวณ %RSD

$$\begin{aligned} \%RSD &= \frac{0.66}{51.40} \times 100 \\ &= 1.28 \end{aligned}$$

2. คำนวณ %RSD_{expected} จาก

$$\begin{aligned} \text{Horwitz' equation} &= 0.66 \times 2^{(1-0.5\log c)} \\ &= 0.66 \times 2^{(1-0.5\log 0.514)} \quad \text{เมื่อ } c = 51.40/100 = 0.514 \\ &= 1.46 \end{aligned}$$

3. คำนวณค่า HORRAT จาก

$$\begin{aligned} \text{HORRAT} &= \%RSD_{\text{lab}} / \%RSD_{\text{expected}} \\ &= 1.28/1.46 \\ &= 0.88 \end{aligned}$$

เกณฑ์การยอมรับใช้ HORRAT (Horwitz' ratio)

- AOAC : HORRAT (Horwitz' ratio) < 2
- EU, Codex : HORRAT (Horwitz' ratio) ≤ 2

ดังนั้น แสดงว่า ผ่านเกณฑ์การยอมรับ

สรุปผลการทดลอง

การตรวจสอบความใช้ได้ของวิธีวิเคราะห์ฟอสเฟตทั้งหมดในปุ๋ยเคมี เป็นวิธีที่ห้องปฏิบัติการปุ๋ย กลุ่มพัฒนาการตรวจสอบพืชและปัจจัยการผลิต ดัดแปลงจากวิธีของ AOAC และ OMAF โดยวิเคราะห์ CRM/SRM แล้วนำมาประเมินค่า Accuracy (ความแม่นยำ) และ ค่า Precision (ความเที่ยง) ที่ระดับความเข้มข้นต่ำ , กลาง และ สูง ได้ดังนี้

1. การหา Accuracy ของวิธีวิเคราะห์ไนโตรเจนทั้งหมดในปุ๋ย

ระดับความเข้มข้น	% Recovery	เกณฑ์การยอมรับ	ผลการประเมิน	T-test	เกณฑ์การยอมรับ ที่ 95%	ผลการประเมิน
1. ต่ำ (0.14%)	100	97-103 %	ผ่าน	0.00	$t_{cal} < t_{cri}$ $t_{cri} = 2.26$	ผ่าน
2. กลาง (19.34%)	100.26	98-102 %	ผ่าน	1.66	$t_{cal} < t_{cri}$ $t_{cri} = 2.26$	ผ่าน
3. สูง (52.20%)	99.87	98-102 %	ผ่าน	0.43	$t_{cal} < t_{cri}$ $t_{cri} = 2.26$	ผ่าน

จากการประเมินความถูกต้อง ทั้ง 3 ระดับความเข้มข้น พบว่า % Recovery ของทุกระดับความเข้มข้นอยู่ในเกณฑ์ยอมรับ และเมื่อนำไปหาความแตกต่างระหว่างค่าที่วิเคราะห์ได้กับค่าจริง โดย T-test พบว่าค่าที่ได้ไม่มีความแตกต่างกันในแต่ละระดับความเข้มข้น แสดงว่าวิธีนี้มีความแม่นยำสามารถยอมรับได้

2. การหาความเที่ยง (Precision และ Intermediate Precision) ของวิธีวิเคราะห์ฟอสเฟตทั้งหมดในปุ๋ย

ระดับความเข้มข้น	Precision					Intermediate Precision				
	%RSD	%RSD expected	HORRAT	เกณฑ์การยอมรับ	ผลการประเมิน	%RSD	%RSD expected	HORRAT	เกณฑ์การยอมรับ	ผลการประเมิน
1. ต่ำ (0.14%)	2.14	3.55	0.60	< 2 หรือ ≤ 2	ผ่าน	5.33	3.36	1.59	< 2 หรือ ≤ 2	ผ่าน
2. กลาง (19.34%)	0.46	1.69	0.27	< 2 หรือ ≤ 2	ผ่าน	1.16	1.70	0.68	< 2 หรือ ≤ 2	ผ่าน
3. สูง (52.20%)	0.96	1.46	0.66	< 2 หรือ ≤ 2	ผ่าน	0.62	1.46	0.42	< 2 หรือ ≤ 2	ผ่าน

จากการประเมินความเที่ยงทั้ง 3 ระดับความเข้มข้น ค่า HORRAT ไม่เกินเกณฑ์ที่กำหนด (AOAC : HORRAT (Horwitz's ratio) < 2 หรือ EU, CODEX : HORRAT (Horwitz's ratio ≤ 2)) แสดงว่าวิธีนี้มีความเที่ยงที่สามารถยอมรับได้

3. การหาค่า Range และ Linearity ของวิธีวิเคราะห์ปริมาณฟอสเฟตทั้งหมดในปุ๋ย ช่วงความเข้มข้น 0.5-9 ppm ค่า R^2 ของความเข้มข้นของ sample blank (ppm) กับ Absorbance มีค่า 0.9998 แสดงว่าช่วงนี้มีความเป็นเส้นตรง ในการหาค่า R^2 ที่ความเข้มข้น 1-7 ppm ซึ่งเป็นช่วงการใช้งาน มีค่าเท่ากับ

0.9999 แสดงว่าช่วงการใช้งานของวิธีวิเคราะห์ปริมาณฟอสเฟตทั้งหมด มีความแม่นยำและความเที่ยงอยู่ในเกณฑ์ที่ยอมรับได้

4. การหาค่า Limit of detection (LOD) พบว่า %Total P₂O₅ ที่ต่ำสุดที่สามารถวัดได้อย่างเชื่อมั่นได้ 95 % คือ ที่ 0.046% และ % Total P₂O₅ ที่สามารถนำมารายงานผลได้ต้องไม่ต่ำกว่า 0.14 %

เอกสารอ้างอิง

Official Method of Analysis of AOAC International. 2005. AOAC International Gaithersburg, MD, USA, Official Method 955.04. 18th ed.

กลุ่มวิจัยเกษตรเคมี. 2551. คู่มือวิเคราะห์ปุ๋ยเคมี. สำนักวิจัยพัฒนาปัจจัยการผลิตทางการเกษตร.

กรมวิชาการเกษตร. กรุงเทพฯ. 66 หน้า

จิตรรา ชัยวิมล. 2545. การตรวจสอบความใช้ได้ของวิธีทดสอบทางเคมี. สถาบันวิจัยวิทยาศาสตร์และ

เทคโนโลยีแห่งประเทศไทย. กรุงเทพฯ. 34 หน้า

ทิพวรรณ นิ่งน้อย. 2549. แนวปฏิบัติการทดสอบความถูกต้องของวิธีวิเคราะห์. กรมวิทยาศาสตร์การแพทย์.

กระทรวงสาธารณสุข. นนทบุรี. 124 หน้า