

รายงานเรื่องเต็มผลการทดลองที่สิ้นสุด ปีงบประมาณ 2555

1. ชุดโครงการวิจัย วิจัยและพัฒนาปัจจัยการผลิตทางการเกษตร

2. โครงการวิจัย การพัฒนาระบบการตรวจวิเคราะห์พืชและปัจจัยการผลิตทางการเกษตร

- กิจกรรมที่ 1 พัฒนาระบบการตรวจวิเคราะห์ปุ๋ย พืช ดิน น้ำ สารอินทรีย์ สารควบคุม

- กิจกรรมย่อยที่ 1.1 พัฒนาเทคนิคระบบการตรวจวิเคราะห์ และตรวจสอบความใช้ได้ของวิธี

- ชื่อการทดลอง(ภาษาไทย) ตรวจสอบความใช้ได้ของวิธีการวิเคราะห์ฟอสเฟตในปุ๋ยเคมี

- ชื่อการทดลอง(ภาษาอังกฤษ) Method Validation on Analysis of Total Phosphate in

- Fertilizer

4. คณะผู้ดำเนินงาน

- ชื่อหัวหน้าโครงการ นางจิตtima ยถาภูฐานนท์ สังกัด กลุ่มวิจัยเกษตรเคมี สำนักวิจัยพัฒนาปัจจัยการ

- ผลิตทางการเกษตร

- หัวหน้าการทดลอง นางกาญจนา คำบุทา สังกัด กลุ่มพัฒนาการตรวจสอบพืชและปัจจัยการผลิต

- สำนักวิจัยและพัฒนาการเกษตรเขตที่ 3

- ผู้ร่วมงาน นางสาวอรุณญา ลุนจันทา สังกัด กลุ่มพัฒนาการตรวจสอบพืชและปัจจัยการ

- ผลิต สำนักวิจัยและพัฒนาการเกษตรเขตที่ 3

- นางสาวณัฐชัชธร ขัตติยะพุมเมธ สังกัดกลุ่มพัฒนาการตรวจสอบพืชและปัจจัย

- การผลิต สำนักวิจัยและพัฒนาการเกษตรเขตที่ 3

5. บทคัดย่อ

ห้องปฏิบัติการวิเคราะห์ปุ๋ยและน้ำ สำนักวิจัยและพัฒนาการเกษตรเขตที่ 3 ขอนแก่น ได้ดำเนินการตรวจสอบความใช้ได้ของวิธีวิเคราะห์ฟอสเฟตทั้งหมดในปุ๋ยเคมีในปีงบประมาณ 2555 โดยใช้วิธีดัดแปลงจาก AOAC, 2005 และ OMAF, 1978 เพื่อแสดงให้เห็นว่าวิธีวิเคราะห์สามารถให้ผลวิเคราะห์ที่มีความถูกต้อง แม่นยำ สามารถสอบกลับได้ เป็นไปตามมาตรฐานสากล ISO/IEC 17025 : 2005 โดยการศึกษาคุนลักษณะเฉพาะของวิธี ได้แก่ ช่วงของการวัด (Range), ความเป็นเส้นตรง (Linearity), ความแม่นยำ (Accuracy), ความเที่ยง (Precision), ขีดจำกัดของการตรวจพบ (Limit of Detection, LOD), ขีดจำกัดของการวัดเชิงปริมาณ (Limit of Quantitation, LOQ) จากการศึกษพบว่าช่วงของการใช้งานที่ระดับ

ความเข้มข้น 0 - 9 ppm และความเป็นเส้นตรงที่ระดับความเข้มข้น 0 - 5 ppm มีค่า Correlation coefficient (r) = 1.0000 ค่า LOD, LOQ ของวิธีวิเคราะห์เท่ากับ 0.25 และ 0.54 % ทดสอบความแม่นยำและความเที่ยงโดยใช้ CRM พบว่ามีค่าความแม่นยำที่ระดับความเข้มข้น 2.6, 19.3 และ 52.2 % โดยประเมินจากเปอร์เซ็นต์การกลับคืน(% Recovery) ได้เท่ากับ 98.85, 99.22 และ 100.31% ตามลำดับ ประเมินความแตกต่างระหว่างค่าที่วิเคราะห์ได้กับค่าจริง(t-test) ที่ระดับความเชื่อมั่น 95% ได้เท่ากับ 2.21, 1.82 และ 1.53 มีความเที่ยงโดยประเมินจาก HORRAT ได้เท่ากับ 0.73, 0.80 และ 0.43 ตามลำดับ จากการประเมินผลการทดสอบข้างต้นสามารถแสดงได้ว่าวิธีวิเคราะห์ฟอสเฟตทั้งหมดในปุ๋ยเคมีมีความแม่นยำและความเที่ยงอยู่ในเกณฑ์ที่ยอมรับสามารถนำไปใช้ในห้องปฏิบัติการได้

คำนำ

การตรวจสอบความใช้ได้ของวิธีการวิเคราะห์เป็นกระบวนการหนึ่งที่มีความสำคัญในการจัดทำระบบประกันคุณภาพให้เป็นไปตามข้อกำหนดมาตรฐาน ISO/IEC 17025 : 2005 เพื่อรับรองความสามารถของห้องปฏิบัติการที่ต้องทำการทดสอบ เพื่อแสดงให้เห็นว่าวิธีวิเคราะห์ห้องปฏิบัติการพัฒนาขึ้นหรือดัดแปลงมาจากวิธีมาตรฐาน AOAC, 2005 และ Official Methods of Analysis of Fertilizer (OMAF), 1978 มีความเหมาะสมกับเครื่องมือและสภาพแวดล้อม สามารถให้ผลวิเคราะห์ที่ความถูกต้อง แม่นยำ น่าเชื่อถือ สามารถสอบกลับได้และเป็นที่ยอมรับในระดับสากล ดังนั้น จึงมีความจำเป็นที่ต้องทำการตรวจสอบความใช้ได้ของวิธี สำหรับวิธีการวิเคราะห์ที่จะทำการตรวจสอบความใช้ได้ของวิธีวิเคราะห์ต้องเป็นวิธีที่ได้พัฒนาและปรับสภาพให้เหมาะสมแล้ว มีการจัดทำเอกสารบรรยายลักษณะของวิธีวิเคราะห์ให้ชัดเจน การทดสอบวิธีการวิเคราะห์จะใช้วัสดุอ้างอิงรับรอง(Certified reference materials, CRM) ที่มีสภาพ คุณสมบัติเนื้อสาร (Matrix) และความเข้มข้นของสารที่จะศึกษา (Analyte) ใกล้เคียงกับตัวอย่างในการใช้งานจริง กรณีที่ไม่สามารถหา matrix CRM ที่เหมาะสมอาจใช้ RM อื่น ๆ ที่เหมาะสมแทนได้ ปรับสภาพตรวจสอบความพร้อมของระบบและเครื่องมือให้มีความเหมาะสมต่อการวิเคราะห์ โดยศึกษาความจำเพาะเจาะจง(Specificity/Selectivity) ความแม่นยำ (Accuracy) ความเที่ยง (Precision) พิสัยหรือช่วงของการใช้งาน (Working range) ความเป็นเส้นตรง (Linearity) ขีดจำกัดของวิธีเชิงคุณภาพและปริมาณ (Limit of Detection และ Limit of Quantitation) และ ความคงทนของวิธี (Ruggedness/Robustness) เป็นต้น จากนั้นประเมินคุณลักษณะของวิธีด้วยวิธีทางสถิติ

ฟอสฟอรัสเป็นธาตุอาหารในปุ๋ยที่มีความสำคัญในการเร่งการเจริญเติบโตทางด้านการออกดอกออกผลในพืช ปุ๋ยที่ให้ธาตุอาหารฟอสฟอรัสมีหลายชนิดได้แก่ หินฟอสเฟต ซูเปอร์ฟอสเฟต ทริปเปิ้ลซูเปอร์ฟอสเฟต ไดแอมโมเนียมฟอสเฟต โมโนแอมฟอสเฟต เป็นต้น ห้องปฏิบัติการงานวิเคราะห์ปุ๋ยและน้ำกลุ่มพัฒนาการตรวจสอบพืชและปัจจัยการผลิต สำนักวิจัยและพัฒนาการเกษตรเขตที่ 3 จึงได้ทำการตรวจสอบความใช้ได้ของวิธีวิเคราะห์ฟอสเฟตในปุ๋ยเคมี โดยใช้วัสดุอ้างอิงเป็นตัวอย่างทดสอบ แล้วนำมาประเมินความแม่นยำและความเที่ยง เพื่อแสดงว่าวิธีวิเคราะห์ฟอสเฟตทั้งหมดในปุ๋ยเคมีอยู่ในเกณฑ์ที่ยอมรับและสามารถใช้ในห้องปฏิบัติการได้

วิธีดำเนินการ และอุปกรณ์

อุปกรณ์/เครื่องมือ

1. เครื่องชั่งไฟฟ้าทศนิยม 4 ตำแหน่ง
2. เครื่องสเปกโทรโฟโตมิเตอร์
3. ตู้อบ
4. ตู้ดูดควัน
5. โถดูดความชื้น
6. Hot Plate
7. ปีกเกอร์ ขนาด 50, 150, 250, 500 และ 1000 มิลลิลิตร
8. กระบอกตวง ขนาด 500, 1000 มิลลิลิตร
9. ขวดรูปชมพู่ (Erlenmeyer flask) 250 มิลลิลิตร
10. ขวดวัดปริมาตร (Volumetric flask) 100, 250, 500, 1000 และ 2000 มิลลิลิตร
11. ปิเปตขนาด 1, 2, 3, 4, 5, 50 มิลลิลิตร
12. กระดาษกรอง Whatman No.1 เส้นผ่านศูนย์กลาง 125 mm
13. กรวยพลาสติก

สารเคมี

1. Ammonium molybdate $[(\text{NH}_4)_6\text{Mo}_7\text{O}_{24}\cdot 4\text{H}_2\text{O}]$, AR grade
2. Ammonium metavanadate (NH_4VO_3) , AR grade
3. Nitric acid 69 - 70 % (HNO_3) , AR grade
4. Perchloric acid 69-70% (HClO_4) , AR grade
5. วัสดุอ้างอิงรับรอง/วัสดุอ้างอิงมาตรฐาน
 - 5.1 Potassium dihydrogen phosphate 260.19 mg/g \pm 0.54 mg/g (SRM[®]-200b)
 - 5.2 Superphosphate 193.4 g/kg \pm 1.2 g/kg (CRM-BCR[®]-033)
6. วัสดุอ้างอิง
 - 6.1 Potassium dihydrogen phosphate (KH_2PO_4) , 99.5 % AR grade

ขั้นตอนการดำเนินงาน

1. เตรียมวัสดุและสารเคมี

จัดเตรียมวัสดุ อุปกรณ์ วัสดุอ้างอิง (Certified Reference Material, CRM) ที่มีค่า Certified Value และ Uncertainty ระดับความเข้มข้นต่างๆ ที่ต้องใช้ในการทดสอบ สอบเทียบ เครื่องมือ (เครื่องสเปกโทรโฟโตมิเตอร์) เครื่องแก้ว
2. วิธีการวิเคราะห์ฟอสเฟตทั้งหมดในปุ๋ยเคมี
 - 2.1 การเตรียมสารละลาย
 - 2.1.1 กรดผสม $\text{HNO}_3 : \text{HClO}_4$ อัตรา 1:1

ตวงกรด 69 - 70 % HNO_3 ปริมาณ 1000 มิลลิลิตร และ กรด 69-70 % HClO_4 ปริมาณ 1000 มิลลิลิตร แล้วนำกรดที่ตวงได้มาผสมให้เข้ากัน

2.1.2 สารละลาย Molybdovanadate reagent

- ชั่ง Ammonium molybdate จำนวน 40 กรัม ใส่ในปิកเกอร์ขนาด 500 มิลลิลิตร เติมน้ำร้อน (น้ำกลั่น) ปริมาณ 400 มิลลิลิตร คนให้ละลาย ทิ้งไว้ให้เย็น
- ชั่ง Ammonium metavanadate ปริมาณ 2 กรัม ใส่ในปิกเกอร์ ขนาด 1000 มิลลิลิตร เติมน้ำร้อน (น้ำกลั่น) ปริมาณ 300 มิลลิลิตร คนให้ละลาย ทิ้งไว้ให้เย็น จากนั้นเติม 69-70% HClO₄ ปริมาณ 450 มิลลิลิตร คนให้เข้ากัน ทิ้งไว้ให้เย็น
- ค่อย ๆ เทผสมสารละลาย Ammonium molybdate ลงในสารละลาย Ammonium metavanadate ในขวดวัดปริมาตร ขนาด 2000 มิลลิลิตร ปรับปริมาตรด้วยน้ำกลั่น เขย่าให้เข้ากัน จะได้สารละลายสีเหลืองอ่อน ถ่ายเก็บไว้ในขวดแก้วสีชา

2.1.4 สารละลายมาตรฐานฟอสฟอรัส (Standard P) 1000 ppm

ชั่ง KH₂PO₄ ซึ่งผ่านการอบที่อุณหภูมิ 105 °C นาน 2 ชั่วโมง จำนวน 4.3936 กรัม ใส่ในขวดวัดปริมาตร ขนาด 1000 มิลลิลิตร ละลายและปรับปริมาตรด้วยน้ำกลั่นเขย่าให้เข้ากัน

2.1.5 สารละลายมาตรฐานฟอสฟอรัส 100 ppm

ปิเปตสารละลายมาตรฐานฟอสฟอรัส 1000 ppm ปริมาณ 50 มิลลิลิตร ใส่ขวดวัดปริมาตร ขนาด 500 มิลลิลิตร ปรับปริมาตรด้วยน้ำกลั่น เขย่าให้เข้ากัน

2.1.6 สารละลายมาตรฐานฟอสฟอรัส 0, 1, 2, 3, 4, 5 ppm (Working standard)

ปิเปตสารละลายมาตรฐานฟอสฟอรัส 100 ppm ปริมาณ 0, 1, 2, 3, 4, 5 มิลลิลิตร ใส่ขวดวัดปริมาตร ขนาด 100 มิลลิลิตร

2.2 ขั้นตอนการวิเคราะห์

2.2.1 ชั่งตัวอย่างปุ๋ยที่เตรียมเรียบร้อยแล้ว จำนวน 0.3xxx - 1.xxxx กรัม ใส่ขวดรูปชมพู่ (Erlenmeyer flask) ขนาด 125 มิลลิลิตร

2.2.2 เติมกรดผสม HNO₃ : HClO₄ อัตราส่วน 1:1 ปริมาณ 20 มิลลิลิตร นำไปย่อยบน Hot plate ย่อยจนมีควันสีขาวเกิดขึ้นเหนือสารละลายหรือสารละลายมีลักษณะสีใส ซึ่งจะใช้เวลาประมาณ 30 – 40 นาที จากนั้นยกลงจาก Hot plate ตั้งทิ้งไว้ให้เย็น เติมน้ำกลั่นเล็กน้อย

2.2.3 ถ่ายสารละลายตัวอย่าง และล้างตะกอนด้วยน้ำกลั่น ใส่ ขวดวัดปริมาตรขนาด 250 มิลลิลิตร(V₁) ปรับปริมาตรด้วยน้ำกลั่น เขย่าให้เข้ากัน หากสารละลายมีตะกอนขุ่นนำไปกรองผ่านกระดาษกรอง Whatman เบอร์ 1

2.2.4 ปิเปตสารละลายตัวอย่างตามปริมาณ P₂O₅ ดังนี้

- ตัวอย่างที่มี P₂O₅ ≤ 8 % : ปิเปตสารละลายตัวอย่าง 5 มิลลิลิตร(Vs) ใส่ในขวดวัดปริมาตรขนาด 100 มิลลิลิตร(V₂)

- ตัวอย่างที่มี P₂O₅ 9 – 24 % : ปิเปตสารละลายตัวอย่าง 3 มิลลิลิตร(Vs) ใส่ในขวดวัดปริมาตรขนาด 100 มิลลิลิตร(V₂)

- ตัวอย่างที่มี P₂O₅ > 24 % : ปิเปตสารละลายตัวอย่าง 3 มิลลิลิตร(Vs) ใส่ในขวดวัดปริมาตรขนาด 250 มิลลิลิตร(V₂)

ทำให้เกิดสีด้วยการเติม Molybdovanadate reagent ในอัตราส่วน 1 : 10 ของปริมาตร

ขวดวัดปริมาตร ปรับปริมาตรด้วยน้ำกลั่น เขย่าให้เข้ากันและทิ้งไว้อย่างน้อย 30 นาที

2.2.5 นำ Working standard 0, 1, 2, 3, 4, 5 ppm เติม Molybdovanadate reagent ปริมาณ 10 มิลลิลิตร ปรับปริมาตรด้วยน้ำกลั่น เขย่าให้เข้ากันและทิ้งไว้อย่างน้อย 30 นาที

2.2.6 ทำกราฟมาตรฐาน(Calibration curve) โดยนำ Working standard ไปวัดความเข้มของสี ด้วยเครื่องสเปกโตรโฟโตมิเตอร์ ที่ความยาวคลื่น 420 นาโนเมตร นำค่าที่ได้มาสร้างกราฟแสดงความสัมพันธ์ระหว่างค่า Absorbance (A) กับความเข้มข้นของสารละลายมาตรฐาน ฟอสฟอรัส

2.2.7 ทำการวัดความเข้มข้นของสารละลายตัวอย่าง โดยเปรียบเทียบค่า Absorbance สารละลายตัวอย่างเทียบกับกราฟมาตรฐาน บันทึกความเข้มที่อ่านได้

2.2.8 ทำ Blank โดยไม่ใส่ตัวอย่าง และทำการวิเคราะห์เช่นเดียวกับตัวอย่าง

2.3 การคำนวณ

$$\%P = \frac{\text{ppm P from curve} \times \text{ปริมาตรเริ่มต้น}(V_1) \times \text{ปริมาตรสุดท้าย}(V_2) \times 100}{\text{wt of sample(g)} \times \text{ปริมาตรสารละลายตัวอย่าง}(V_s) \times 10^6}$$

$$\begin{aligned} \%P_2O_5 &= \frac{\%P \times [(2 \times \text{Atomic wt. of P}) + (5 \times \text{Atomic wt. of O})]}{2 \times \text{Atomic wt of P}} \\ &= \%P \times 2.2914 \end{aligned}$$

2.4 การควบคุมคุณภาพ

2.4.1 วิเคราะห์ Blank ทุก 20 ตัวอย่าง โดยผลวิเคราะห์จะต้องน้อยกว่าหรือเท่ากับ Limit of Detection (LOD) = 0.25 %

2.4.2 กราฟของสารละลายมาตรฐาน มีค่าสัมประสิทธิ์การตัดสินใจ (Coefficient of determination : R^2) $R^2 \geq 0.999$ หรือสัมประสิทธิ์สหสัมพันธ์ (Correlation coefficient : r) : $r \geq 0.995$

2.4.3 วัด Calibrate Continuous Standard(CCS) โดยใช้ Working standard ความเข้มข้น 3 ppm ค่าที่วัดได้จะต้องอยู่ในเกณฑ์ $\pm 5\%$ ของ ค่าจริง และ วัด Calibrate Verifying Standard (CVS) โดยใช้ Standard (จากแหล่งที่แตกต่างจากที่ใช้เตรียมกราฟมาตรฐาน) ความเข้มข้น 3 ppm ค่าที่วัดได้จะต้องอยู่ในเกณฑ์ $\pm 10\%$ ค่าจริง ทำการวัดทุก 20 ตัวอย่าง

2.4.4 ทำการวิเคราะห์ 2 ชั่วโมง ทุก ๆ 10 ตัวอย่าง โดยพิจารณาค่า Relative Percent Difference(RPD) ต้องน้อยกว่าหรือเท่ากับ 10 %

$$\%RPD = \frac{|\% \text{ผลวิเคราะห์ชั่วโมงที่ 1} - \% \text{ผลวิเคราะห์ชั่วโมงที่ 2}|}{\text{ค่าเฉลี่ยของ \% ผลวิเคราะห์ทั้ง 2 ชั่วโมง}} \times 100$$

2.4.5 วิเคราะห์ตัวอย่างควบคุมคุณภาพภายใน (IQC) ทุก 10 ตัวอย่าง และจัดทำแผนภูมิควบคุมคุณภาพ โดยผลวิเคราะห์จะต้องอยู่ในช่วง Control Limit ($\pm 2SD$) ของแผนภูมิ

ควบคุมคุณภาพ

2.4.6 ทำ Spike Recovery โดย Spike Standard KH_2PO_4 ลงในตัวอย่างที่วิเคราะห์ ทุก 20 ตัวอย่างโดยพิจารณาค่า % Recovery จะต้องอยู่ในช่วง 90-107%

$$\% \text{ Recovery} = \frac{(\text{ปริมาณสารในตัวอย่างที่เติม Std.} - \text{ปริมาณสารในตัวอย่าง}) \times 100}{\text{ปริมาณของ Std. ที่เติมในตัวอย่าง}}$$

2.4.7 ทำการวิเคราะห์ CRM/SRM ปีละ 1 ครั้ง โดยพิจารณาค่า % Recovery จะต้องอยู่ในช่วง 98 – 102 %

$$\% \text{ Recovery} = \frac{\% \text{ ผลการวิเคราะห์ CRM,SRM ที่ได้}}{\text{ค่าอ้างอิงจากใบรับรอง}} \times 100$$

2.4.8 เข้าร่วมกิจกรรมทดสอบความชำนาญ (Proficiency testing laboratory) หรือ เปรียบเทียบผลการทดสอบระหว่างห้องปฏิบัติการอย่างน้อย 1 ครั้ง/ปี

3. ตรวจสอบความใช้ได้ของวิธีวิเคราะห์ฟอสเฟตทั้งหมดในปุ๋ยเคมี

3.1 การศึกษาหาค่า ช่วงการวัด (Range)

3.1.1 เตรียม Spiked sample blank ที่มีการเติมสารละลายมาตรฐานฟอสฟอรัสอย่างน้อย 5 ระดับความเข้มข้น ได้แก่ 0, 1, 3, 5, 7 และ 9 ppm ความเข้มข้นละ 3 ซ้ำ แล้วดำเนินการวิเคราะห์ตามวิธีวิเคราะห์ฟอสเฟตทั้งหมดในปุ๋ยเคมี

3.1.2 นำข้อมูลที่ได้มาสร้างกราฟระหว่างความเข้มข้นของ Spiked sample blank (แกน x) กับค่า Absorbance (แกน y) แล้วคำนวณหาสัมประสิทธิ์การตัดสินใจ (Coefficient of determination : R^2) $R^2 \geq 0.999$ หรือ สัมประสิทธิ์สหสัมพันธ์ (Correlation coefficient :r) : $r \geq 0.995$

3.2 การหาค่า ความเป็นเส้นตรง (Linearity)

3.2.1 เตรียม Spiked sample blank ที่มีการเติมสารละลายมาตรฐานฟอสฟอรัสอย่างน้อย 3 ระดับความเข้มข้น ได้แก่ 0, 1, 2, 3, 4 และ 5 ppm ความเข้มข้นละ 10 ซ้ำ แล้วดำเนินการวิเคราะห์ตามวิธีวิเคราะห์ฟอสเฟตทั้งหมดในปุ๋ยเคมี

3.2.2 นำข้อมูลที่ได้มาสร้างกราฟระหว่างความเข้มข้นของ Spiked sample blank (แกน x) กับค่า Absorbance (แกน y) แล้วคำนวณหาสัมประสิทธิ์การตัดสินใจ (Coefficient of determination : R^2) $R^2 \geq 0.999$ หรือ สัมประสิทธิ์สหสัมพันธ์ (Correlation coefficient :r) : $r \geq 0.995$

3.3 การหาค่าของ Limit of Detection (LOD) และ Limit of Quantitation (LOQ)

3.3.1 ชั่ง Sample blank น้ำหนัก 0.3xxx กรัม จำนวน 10 ซ้ำ ดำเนินการวิเคราะห์ตามวิธีการวิเคราะห์ฟอสเฟตทั้งหมดในปุ๋ยเคมี

3.3.2 หาค่าเฉลี่ย ค่าเบี่ยงเบนมาตรฐาน

3.3.3 ทดสอบความแม่นยำและความเที่ยงที่ระดับความเข้มข้นเท่ากับ LOQ จำนวน 10 ซ้ำ

3.3.4 คำนวณหา %Recovery และ Relative Standard Deviation (%RSD_r)

3.4 การหาค่า Accuracy และ Precision ของวิธีวิเคราะห์ฟอสเฟตทั้งหมด ที่ระดับความเข้มข้นต่ำ กลาง สูง

3.4.1 ชั่ง CRM ที่มีความเข้มข้นต่ำ กลาง สูง อย่างน้อยความเข้มข้นละ 7 ซ้ำ พร้อมทำ Blank

3.4.2 ดำเนินการวิเคราะห์ตามวิธีวิเคราะห์ฟอสเฟตทั้งหมดในปุ๋ยเคมี โดยนักวิเคราะห์คนเดียว เครื่องมือชุดเดียวกัน ในเวลาเดียวกันหรือใกล้เคียงกัน

4.4.3 หาค่าเฉลี่ย ส่วนเบี่ยงเบนมาตรฐาน

4.4.4 คำนวณหา %Recovery และ Relative Standard Deviation (%RSD_r)

3.5 การหาค่า Accuracy และ Precision ของวิธีวิเคราะห์ฟอสเฟตทั้งหมดในสารตัวเติม (Matrix effect) ที่ระดับความเข้มข้นต่ำ กลาง สูง

3.5.1 ชั่ง CRM ที่มีความเข้มข้นต่ำ กลาง สูง อย่างน้อยความเข้มข้นละ 7 ซ้ำ เติมลงในตัวอย่างปุ๋ยพร้อมทำ Blank

3.5.2 ดำเนินการวิเคราะห์ตามวิธีวิเคราะห์ฟอสเฟตทั้งหมดในปุ๋ยเคมี โดยนักวิเคราะห์คนเดียว เครื่องมือชุดเดียวกัน ในเวลาเดียวกันหรือใกล้เคียงกัน

3.5.3 หาค่าเฉลี่ย ส่วนเบี่ยงเบนมาตรฐาน

3.5.4 คำนวณหา %Recovery และ Relative Standard Deviation (%RSD_r)

3.6 การหาค่า Intermediate Precision

3.6.1 ชั่ง CRM หรือ Spiked sample blanks หรือ ตัวอย่าง ที่ 3 ระดับความเข้มข้นต่ำ กลาง สูง อย่างน้อยความเข้มข้นละ 10 ซ้ำ

3.6.2 ดำเนินการวิเคราะห์ตามวิธีวิเคราะห์ฟอสเฟตทั้งหมดในปุ๋ยเคมี โดยนักวิเคราะห์คนเดียวหรือมากกว่า 1 คน ในเวลาที่แตกต่างกัน

3.6.3 หาค่าเฉลี่ย ส่วนเบี่ยงเบนมาตรฐาน Relative Standard Deviation (%RSD_r) และ Horwitz's Ratio (HORRAT) คำนวณ แบบ Repeatability

3.7 ประเมินผลด้วยวิธีทางสถิติ และประมาณค่าความไม่แน่นอนของการวัด

ระยะเวลาดำเนินการ

ตุลาคม 2554 - กันยายน 2555

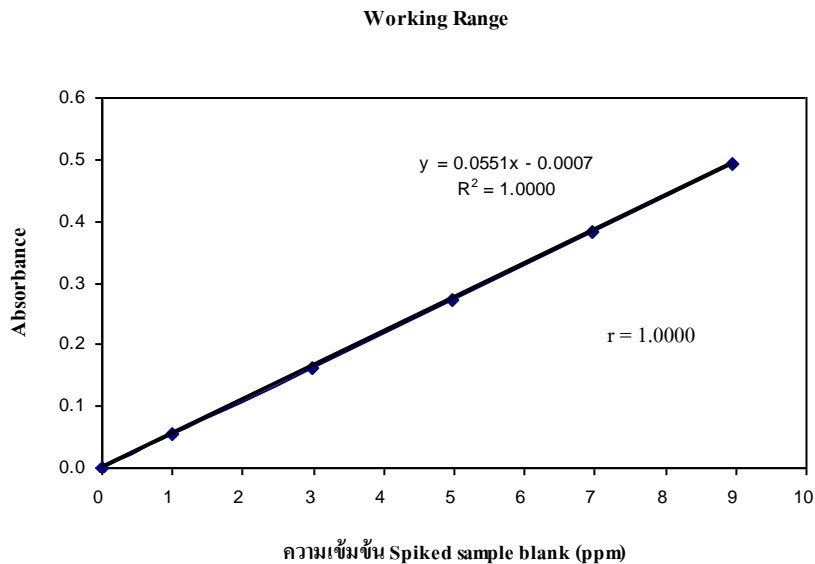
สถานที่ดำเนินการ

ห้องปฏิบัติการสำนักวิจัยและพัฒนาการเกษตรเขตที่ 3 ขอนแก่น

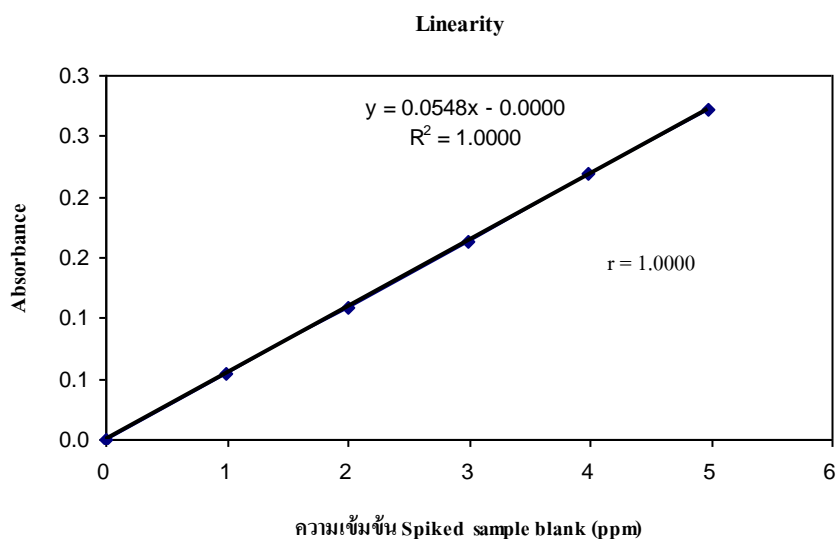
ผลการทดลองและวิจารณ์

จากการตรวจสอบความใช้ได้ของวิธีวิเคราะห์ฟอสเฟตทั้งหมดในปุ๋ยเคมี ได้ผลการทดลองดังนี้

1. การหา ช่วงการวัด (Range) ที่ระดับความเข้มข้น 0, 1, 3, 5, 7, 9 ppm โดยการสร้างกราฟระหว่างความเข้มข้นของ Spiked sample blank (แกน x) กับค่า Absorbance (แกน y) พบว่ากราฟที่ได้มีค่า Correlation coefficient (r) เท่ากับ 1.0000 (รูปที่ 1) แสดงว่า เส้นกราฟมีความเป็นเส้นตรง โดยค่า r อยู่ในเกณฑ์ที่ยอมรับ คือ ≥ 0.995 และศึกษาความเป็นเส้นตรง (Linearity) ที่ระดับความเข้มข้น 0, 1, 2, 3, 4, 5 ppm พบว่ากราฟที่ได้มีค่า r เท่ากับ 1.0000 (รูปที่ 2) โดยค่า r อยู่ในเกณฑ์ที่ยอมรับ คือ ≥ 0.995 ดังนั้น ที่ระดับความเข้มข้น 0-5 ppm จึงสามารถนำมาใช้เป็นช่วงการใช้งานได้



รูปที่ 1 ผลการหา ช่วงการวัด(Range) ของการวิเคราะห์ฟอสเฟตทั้งหมด



รูปที่ 2 ผลการหา ความเป็นเส้นตรง (Linearity) ของการวิเคราะห์ฟอสเฟตทั้งหมด

2. การหาค่า LOD และ LOQ ของวิธีวิเคราะห์ โดยการวิเคราะห์ Sample blank จำนวน 10 ซ้ำ ได้ค่าเฉลี่ย เท่ากับ 0.13 % และส่วนเบี่ยงเบนมาตรฐาน เท่ากับ 0.041 นำมาคำนวณหาค่า LOD, LOQ ได้ดังนี้

$$\text{LOD} = \text{ค่าเฉลี่ย} + 3\text{SD} \quad \text{LOD} = 0.13 + (3 \times 0.041) = 0.25 \quad \%T\text{-P}_2\text{O}_5$$

$$\text{LOQ} = \text{ค่าเฉลี่ย} + 10\text{SD} \quad \text{LOQ} = 0.13 + (10 \times 0.041) = 0.54 \quad \%T\text{-P}_2\text{O}_5$$

ค่า LOD และ LOQ ของวิธีวิเคราะห์ที่ได้เท่ากับ 0.25 และ 0.54 % และเมื่อทดสอบความแม่นยำและความเที่ยงที่ระดับความเข้มข้นเท่ากับ LOQ ได้ผลดังนี้

2.1 ความแม่นยำ (Accuracy)

$$\begin{aligned} \% \text{ Recovery} &= \frac{\text{ผลวิเคราะห์ที่ได้}}{\text{ค่าอ้างอิง}} \times 100 \\ &= \frac{0.54}{0.54} \times 100 \\ &= 100.00 \% \end{aligned}$$

เกณฑ์การยอมรับ % Recovery (AOAC) เท่ากับ 95-105 % แสดงว่า ผ่านเกณฑ์การยอมรับ

2.2 ความเที่ยง (Precision)

$$\begin{aligned} \% \text{RSD}_r &= \frac{\text{ค่าเบี่ยงเบนมาตรฐาน}}{\text{ค่าเฉลี่ย}} \times 100 \\ &= \frac{0.01}{0.54} \times 100 = 1.85 \\ \text{Repeatability : } \% \text{RSD}_{(\text{expected})} &= 0.66 \times 2^{(1-0.5 \log 0.0054)} = 2.90 \\ \text{HORRAT} &= \frac{\% \text{RSD (lab)}}{\% \text{RSD (expected)}} \\ &= \frac{1.85}{2.90} = 0.64 \end{aligned}$$

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

ดังนั้น ผลการทดสอบความแม่นยำและความเที่ยงที่ระดับ LOQ = 0.54 % มีความแม่นยำและความเที่ยงที่ยอมรับได้

3. ค่าของความแม่นยำ (Accuracy) และ ความเที่ยง (Precision) ของวิธีวิเคราะห์ฟอสเฟตทั้งหมดในปุ๋ยเคมี โดยการวิเคราะห์ CRM ที่ระดับ ต่ำ กลาง สูง อย่างน้อยความเข้มข้นละ 7 ซ้ำ นำผลที่ได้มาคำนวณหาค่าเฉลี่ย ค่าส่วนเบี่ยงเบนมาตรฐาน (SD) เปอร์เซ็นต์การกลับคืน (%Recovery) และ Relative Standard Deviation (%RSD,)

3.1 ความแม่นยำ (Accuracy)

ความ เข้มข้น(%)	ค่าที่วิเคราะห์ได้ (%)	ค่า SD (%)	เปอร์เซ็นต์การ กลับคืน(%)	เกณฑ์ยอมรับ (%)	ผลการประเมิน
2.60	2.57	0.043	98.85	95 - 105	ผ่าน
19.34	19.19	0.26	99.22	98 - 102	ผ่าน
52.17	52.33	0.33	100.31	98 - 102	ผ่าน

ตารางที่ 1 แสดงผลการหาเปอร์เซ็นต์การกลับคืนของวิธีวิเคราะห์ฟอสเฟตทั้งหมดในปุ๋ยเคมีที่ระดับความเข้มข้นต่ำ กลาง สูง

3.1.1 เปรียบเทียบค่าจากการทดลองเทียบกับค่าอ้างอิง(t-test)

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

เมื่อ t = ค่าเฉลี่ยของผลการวิเคราะห์

μ = ค่าอ้างอิง

n = จำนวนซ้ำ

s = ค่าส่วนเบี่ยงเบนมาตรฐาน

- ระดับความเข้มข้น 2.60 %

$$t = \frac{(2.57 - 2.60)}{0.043 / \sqrt{10}} = 2.21$$

t_{crit} = 2.26 ที่ระดับความเชื่อมั่น 95 %

จากผล $t < t_{crit}$ แสดงว่าที่ค่าที่ได้จากการทดลองกับค่าอ้างอิงไม่มีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญ

- ระดับความเข้มข้น 19.34 %

$$t = \frac{(18.96 - 19.34)}{0.06 / \sqrt{10}} = 1.82$$

t_{crit} = 2.26 ที่ระดับความเชื่อมั่น 95 %

จากผล $t < t_{crit}$ แสดงว่าที่ค่าที่ได้จากการทดลองกับค่าอ้างอิงไม่มีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญ

- ระดับความเข้มข้น 52.17 %

$$t = \frac{(52.33 - 52.17)}{0.33 / \sqrt{10}} = 1.53$$

t_{crit} = 2.26 ที่ระดับความเชื่อมั่น 95 %

จากผล $t < t_{crit}$ แสดงว่าที่ค่าที่ได้จากการทดลองกับค่าอ้างอิงไม่มีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญ

3.2 ความเที่ยง (Precision)

ความ เข้มข้น(%)	RSD-Lab (%)	RSD -expected (%)	HORRAT	เกณฑ์ยอมรับ	ผลการประเมิน
--------------------	----------------	----------------------	--------	-------------	--------------

2.60	1.67	2.29	0.73	< 2	ผ่าน
19.34	1.35	1.69	0.80	< 2	ผ่าน
52.17	0.63	1.46	0.43	< 2	ผ่าน

ตารางที่ 2 แสดงผลการหาความเที่ยงของวิธีวิเคราะห์ฟอสเฟตทั้งหมดในปุ๋ยเคมีที่ระดับความเข้มข้นต่ำ กลาง สูง

จากผลการหาค่าของความแม่นยำ(Accuracy) และ ความเที่ยง (Precision) ของวิธีวิเคราะห์ฟอสเฟตทั้งหมดในปุ๋ยเคมี ที่ระดับ ต่ำ กลาง สูง พบว่าอยู่ในเกณฑ์ที่ยอมรับ

4. ค่าของความแม่นยำ(Accuracy) และ ความเที่ยง (Precision) ของวิธีวิเคราะห์ฟอสเฟตทั้งหมดในปุ๋ยเคมีที่มีสารตัวเติม (Matrix effect) โดยการวิเคราะห์ CRM ที่ระดับ ต่ำ กลาง สูง ที่เติมลงในตัวอย่างปุ๋ย อย่างน้อยความเข้มข้นละ 7 ซ้ำ นำผลที่ได้มาคำนวณหาค่าเฉลี่ย ค่าส่วนเบี่ยงเบนมาตรฐาน(SD) เปอร์เซ็นต์การกลับคืน(%Recovery) และ Relative Standard Deviation (%RSD,)

4.1 ความแม่นยำ (Accuracy)

ความเข้มข้น(%)	ค่าที่วิเคราะห์ได้ (%)	ค่า SD (%)	เปอร์เซ็นต์การกลับคืน(%)	เกณฑ์ยอมรับ (%)	ผลการประเมิน
2.60	2.58	0.03	99.23	95 - 105	ผ่าน
19.34	18.96	0.06	98.04	98 - 102	ผ่าน
52.17	52.24	0.11	100.13	98 - 102	ผ่าน

ตารางที่ 3 แสดงผลการหาเปอร์เซ็นต์การกลับคืนของวิธีวิเคราะห์ฟอสเฟตทั้งหมดในปุ๋ยเคมีที่มีสารตัวเติม (Matrix effect) ที่ระดับความเข้มข้นต่ำ กลาง สูง

4.2 ความเที่ยง (Precision)

ความเข้มข้น(%)	RSD-Lab (%)	RSD -expected (%)	HORRAT	เกณฑ์ยอมรับ	ผลการประเมิน
2.60	1.16	2.29	0.51	< 2	ผ่าน
19.34	0.32	1.69	0.19	< 2	ผ่าน
52.17	0.21	1.46	0.14	< 2	ผ่าน

ตารางที่ 4 แสดงผลการหาความเที่ยงของวิธีวิเคราะห์ฟอสเฟตทั้งหมดในปุ๋ยเคมีที่มีสารตัวเติม (Matrix effect) ที่ระดับต่ำ กลาง สูง

จากผลการหาค่าของความแม่นยำ(Accuracy) และ ความเที่ยง (Precision) ของวิธีวิเคราะห์ฟอสเฟตทั้งหมดในปุ๋ยเคมีที่มีสารตัวเติม (Matrix effect) ที่ระดับ ต่ำ กลาง สูง พบว่าอยู่ในเกณฑ์ที่ยอมรับ

5. การหาค่า Intermediate Precision โดยการวิเคราะห์ตัวอย่างปุ๋ยที่ 3 ระดับความเข้มข้นต่ำ(39-3-3) กลาง(16-24-8) สูง(10-52-17) ความเข้มข้นละ 10 ซ้ำ ในเวลาที่แตกต่างกัน นำผลที่ได้มาคำนวณหาค่าเฉลี่ย ค่าส่วนเบี่ยงเบนมาตรฐาน(SD) เปอร์เซ็นต์การกลับคืน(%Recovery) และ Relative Standard Deviation (%RSD_i)

ตัวอย่างปุ๋ย	RSD-Lab (%)	RSD -expected (%)	HORRAT	เกณฑ์ยอมรับ	ผลการประเมิน
39-3-3	2.42	2.17	1.12	< 2	ผ่าน
16-24-8	1.14	1.64	0.70	< 2	ผ่าน
10-52-17	0.61	1.46	0.42	< 2	ผ่าน

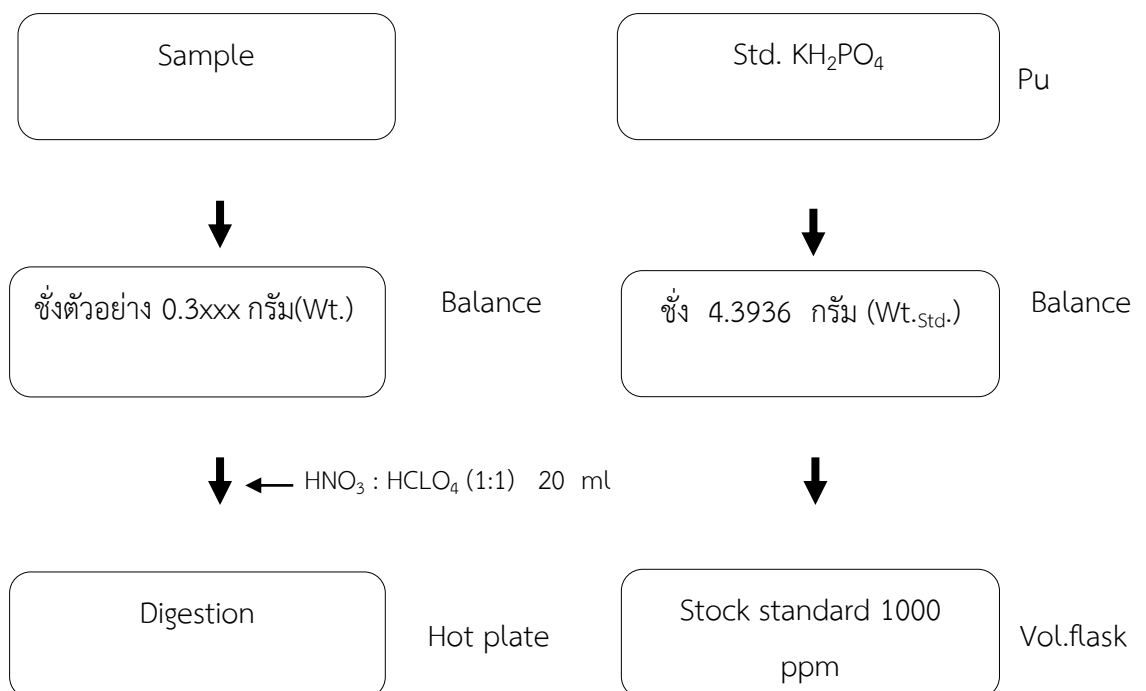
ตารางที่ 5 แสดงผลการหาความเที่ยงของวิธีวิเคราะห์ฟอสเฟตทั้งหมดในปุ๋ยเคมี ที่ระดับต่ำ กลาง สูง ในเวลาที่แตกต่างกัน

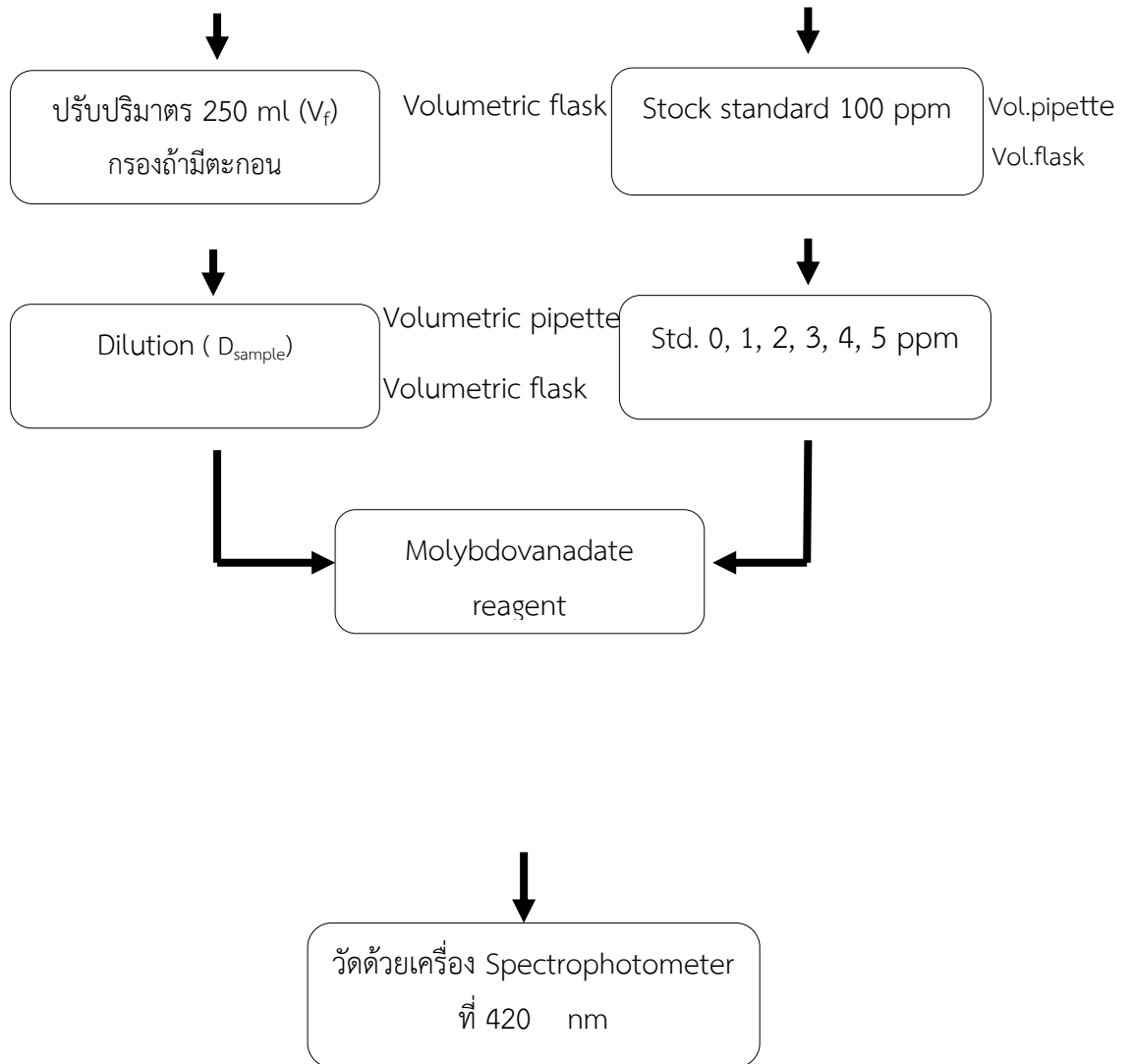
จากผลการหาค่าIntermediate Precision ของวิธีวิเคราะห์ฟอสเฟตทั้งหมดในตัวอย่างปุ๋ยเคมีที่ระดับ ต่ำ กลาง สูง ในเวลาที่แตกต่างกัน พบว่าอยู่ในเกณฑ์ที่ยอมรับ

6. การประมาณค่าความไม่แน่นอนของการวิเคราะห์ฟอสเฟตทั้งหมดในปุ๋ยเคมี

6.1. ที่ระดับความเข้มข้น 2.60 %

6.1.1 วิธีวิเคราะห์ (Spectrophotometric Molybdovanadophosphate Method)



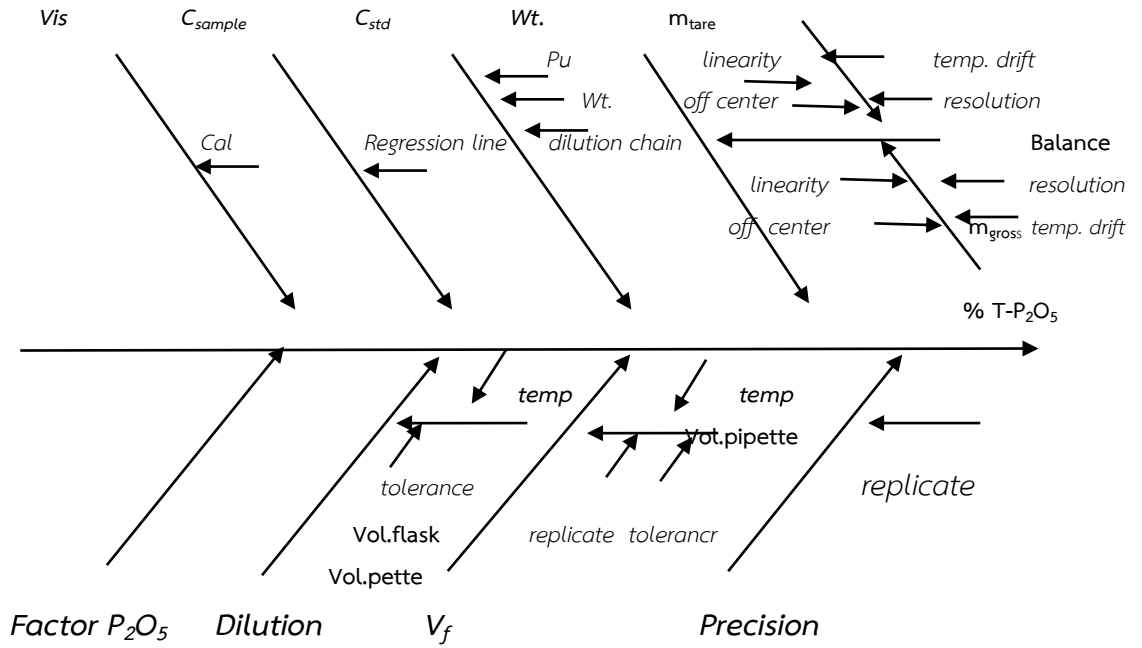


6.1.2 Calculation Calibration Curve

$$\% \text{ T- P}_2\text{O}_5 = \frac{2.2914 \times (C \times V_f \times D_{\text{sample}} \times 100)}{\text{Wt. (g)} \times 10^6}$$

2.2914	=	ค่าคงที่ที่ใช้ในการแปลง P เป็น P ₂ O ₅
C	=	ความเข้มข้นของตัวอย่างที่วัดได้ (ppm)
V _f	=	ปริมาตรเริ่มต้น (ml)
D sample	=	Dilution factor ของการเตรียมตัวอย่าง
100	=	ค่าคงที่สำหรับแปลงเป็นเปอร์เซ็นต์
10 ⁶	=	ค่าคงที่สำหรับแปลงความเข้มข้น
Wt.	=	น้ำหนักตัวอย่าง (g)

6.1.3 Cause and effect diagram

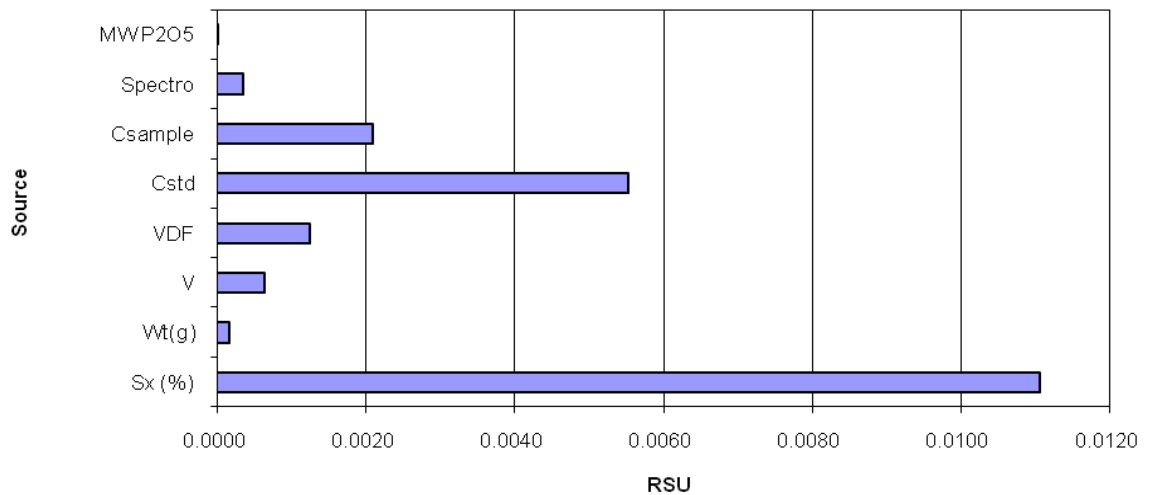


6.1.4 Relative standard deviationที่ระดับต่ำ

Source		Value x	Std. Uncertainty	RSU	RSU ²
1.Precision	S _x (%)	2.57	0.01360	0.00529	0.000028
2.Wt.	W (g)	1.0209	0.00017	0.00017	0.00000003
-m tare			0.00012		

-m gross			0.00012		
3.Volumetricflask	V (ml)	250	0.15928	0.00064	0.0000004
4. Dilution factor	D			0.00126	0.0000016
-Volumetric flask		100	0.07308	0.00073	
-Volumetric pipette		5	0.00511	0.00102	
5.Con. of std	ppm				
-dilution chain				0.00553	0.000031
6.Conc. of sample					
Regression line		2.2847	0.0048	0.00210	0.0000044
7. Spectrophotometer				0.00036	0.0000001
-Photo accuracy		440	0.0023	0.00001	
-Wavelength accuracy		418.7	0.15	0.00036	
8. Factor P ₂ O ₅				0.000025	0.000000001
$\sqrt{\sum RSU^2}$				0.0081	

6.1.5 Histogram

การประมาณค่าความไม่แน่นอนของการวัด % T-P₂O₅

รูปที่ 3 แสดงแหล่งที่มาของความไม่แน่นอน, ค่าไม่แน่นอนมาตรฐานของการวิเคราะห์ฟอสเฟตทั้งหมดที่ระดับความเชื่อมั่นกลาง 2.60 %

6.1.6 ค่าความไม่แน่นอนมาตรฐาน

$$\begin{aligned}
 u_c (\%T-P_2O_5) &= \%T-P_2O_5 \times \sqrt{\sum RSU^2} \\
 &= 2.57 \times 0.0081 \\
 &= 0.021
 \end{aligned}$$

6.1.7 ค่าความไม่แน่นอนขยาย

$$\begin{aligned}
 U &= k u_c \\
 &= 2 \times 0.021 \\
 &= 0.04
 \end{aligned}$$

6.1.8 การรายงานผล

$$\% \text{ ฟอสเฟตทั้งหมด} = 2.57 \pm 0.04 \%$$

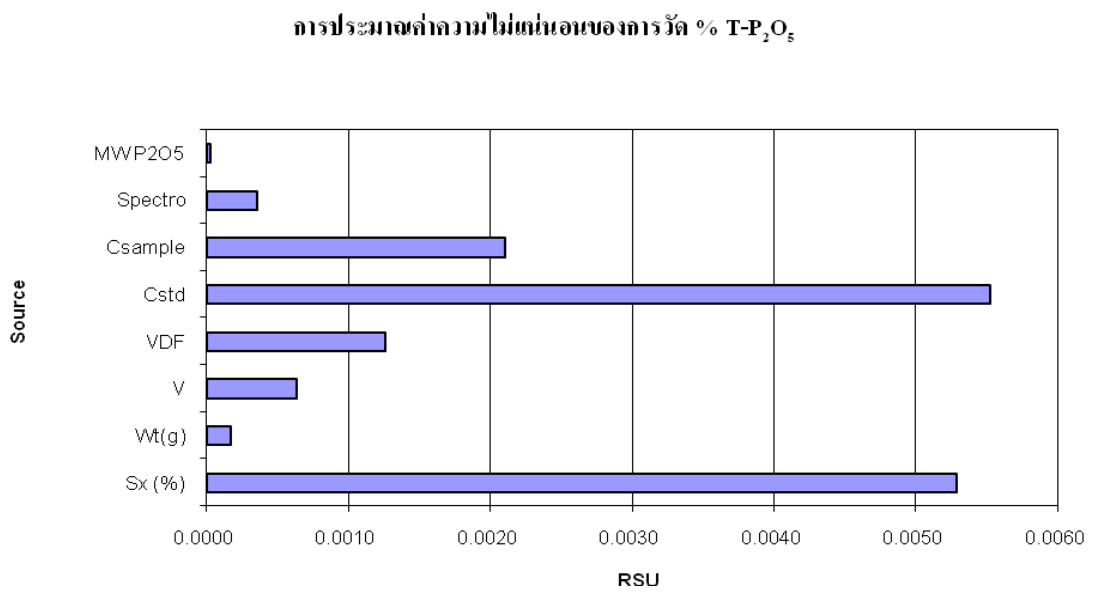
6.2. ที่ระดับความเข้มข้น 19.34 %

6.2.1 – 6.2.3 วิเคราะห์เช่นเดียวกับความเข้มข้นระดับต่ำ

6.2.4 Relative standard deviation ที่ระดับกลาง

Source		Value x	Std. Uncertainty	RSU	RSU ²
1.Precision	S _x (%)	19.19	0.08222	0.00428	0.000018
2.Wt.	W (g)	0.3112	0.00017	0.00017	0.0000003
	-m tare		0.00012		
	-m gross		0.00012		
3.Volumetric flask	V (ml)	250	0.15928	0.00064	0.0000004
4. Dilution factor	D			0.00126	0.0000016
	-Volumetric flask	100	0.07308	0.00073	
	-Volumetric pipette	5	0.00448	0.00149	
5.Con. of std	ppm				
	-dilution chain			0.00553	0.000031
6.Conc. of sample					
	Regression line	3.1275	0.0102	0.00326	0.0000106
7. Spectrophotometer				0.00036	0.0000001
	-Photo accuracy	440	0.0023	0.00001	
	-Wavelength accuracy	418.7	0.15	0.00036	
8. Factor P ₂ O ₅				0.000025	0.000000001
$\sqrt{\sum RSU^2}$		0.0080			

6.2.5 Histogram



รูปที่ 4 แสดงแหล่งที่มาของความไม่แน่นอน, ค่าไม่แน่นอนมาตรฐานของการวิเคราะห์ฟอสเฟตทั้งหมดที่ระดับความเชื่อมั่นกลาง 19.34 %

6.2.6 ค่าความไม่แน่นอนมาตรฐาน

$$\begin{aligned}
 u_c(\%T-P_2O_5) &= \%T-P_2O_5 \times \sqrt{\sum RSU^2} \\
 &= 19.19 \times 0.0080 \\
 &= 0.154
 \end{aligned}$$

6.2.7 ค่าความไม่แน่นอนขยาย

$$\begin{aligned}
 U &= ku_c \\
 &= 2 \times 0.154 \\
 &= 0.31
 \end{aligned}$$

6.2.8 การรายงานผล

$$\% \text{ ฟอสเฟตทั้งหมด} = 19.19 \pm 0.31 \%$$

6.3. ที่ระดับความเข้มข้น 52.17 %

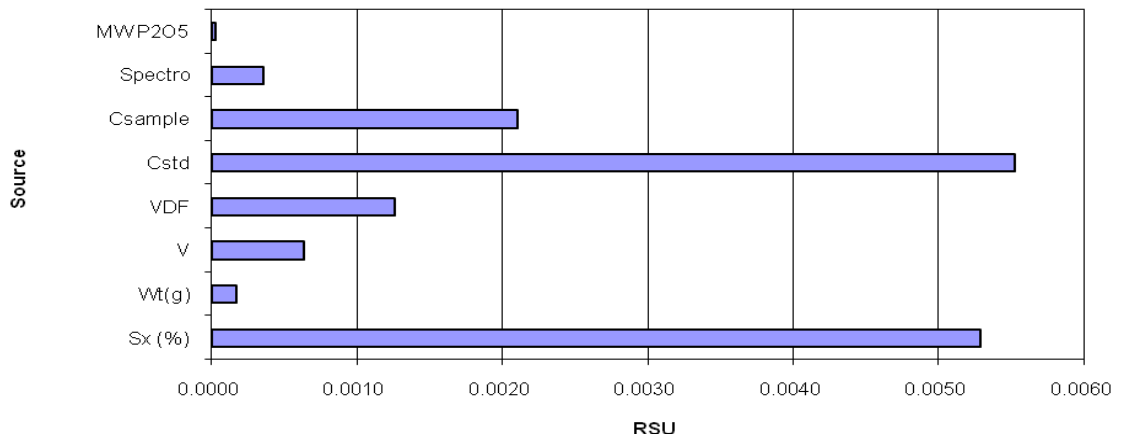
6.3.1 – 6.3.3 วิเคราะห์เช่นเดียวกับความเข้มข้นระดับต่ำ

6.3.4 Relative standard deviation ที่ระดับกลาง

Source		Value x	Std. Uncertainty	RSU	RSU ²
1.Precision	S _x (%)	52.33	0.10436	0.00199	0.000004
2.Wt.	W (g)	0.3213	0.00017	0.00017	0.0000003
-m tare			0.00012		
-m gross			0.00012		
3.Volumetric flask	V (ml)	250	0.15928	0.00064	0.0000004
4. Dilution factor	D			0.00162	0.0000026
-Volumetric flask		250	0.15928	0.00064	
-Volumetric pipette		3	0.00448	0.00149	
5.Con. of std	ppm				
-dilution chain				0.00553	0.000031
6.Conc. of sample					
Regression line		3.5217	0.0137	0.00389	0.0000151
7. Spectrophotometer				0.00036	0.0000001
-Photo accuracy		440	0.0023	0.00001	
-Wavelength accuracy		418.7	0.15	0.00036	
8. Factor P ₂ O ₅				0.000025	0.000000001
$\sqrt{\sum RSU^2}$		0.0073			

6.3.5 Histogram

การประมาณค่าความไม่แน่นอนของการวัด % T-P₂O₅



รูปที่ 5 แสดงแหล่งที่มาของความไม่แน่นอน, ค่าไม่แน่นอนมาตรฐานของการวิเคราะห์ฟอสเฟตทั้งหมดที่ระดับความเข้มข้นกลาง 52.17 %

6.3.6 ค่าความไม่แน่นอนมาตรฐาน

$$\begin{aligned}
 u_c (\%T-P_2O_5) &= \%T-P_2O_5 \times \sqrt{\sum RSU^2} \\
 &= 52.33 \times 0.0073 \\
 &= 0.382
 \end{aligned}$$

6.3.7 ค่าความไม่แน่นอนขยาย

$$\begin{aligned}
 U &= ku_c \\
 &= 2 \times 0.382 \\
 &= 0.76
 \end{aligned}$$

6.3.8 การรายงานผล

$$\% \text{ ฟอสเฟตทั้งหมด} = 52.33 \pm 0.76 \%$$

สรุปผลการทดลองและข้อเสนอแนะ

จากผลการตรวจสอบความใช้ได้ของวิธีวิเคราะห์ฟอสเฟตทั้งหมดในปุ๋ยเคมี โดยศึกษา ช่วงการวัด (Range) ความเป็นเส้นตรง (Linearity) ขีดจำกัดของการตรวจพบและปริมาณ (Limit of Detection และ Limit of Quantitation) และประเมินคุณลักษณะของวิธีด้วยวิธีทางสถิติ สามารถสรุปได้ดังนี้

1. ช่วงการใช้งานที่ใช้ทำ Calibration curve ที่ความเข้มข้น 0, 1, 2, 3, 4, 5 ppm อยู่ในช่วงที่มีความเป็นเส้นตรง (Linearity)

2. ขีดจำกัดของการตรวจพบ(Limit of Detection, LOD), ขีดจำกัดของการวัดเชิงปริมาณ (Limit of Quantitation, LOQ) มีค่าเท่ากับ 0.25 และ 0.54 % P₂O₅
3. ค่าความแม่นยำ(Accuracy)ของการวิเคราะห์ฟอสเฟตทั้งหมดในปุ๋ยเคมี โดยใช้ CRM ที่ระดับความเข้มข้นต่ำ (2.60%), กลาง (19.34%), สูง (52/17%) มีค่าเปอร์เซ็นต์การกลับคืนเท่ากับ 98.85, 99.22, 100.31% ซึ่งอยู่ในเกณฑ์ที่ยอมรับ
4. ค่าความเที่ยง(Precision)ของการวิเคราะห์ฟอสเฟตทั้งหมดในปุ๋ยเคมี โดยใช้ CRM ที่ระดับความเข้มข้นต่ำ (2.60%), กลาง (19.34%), สูง (52/17%) มีค่า HORRAT เท่ากับ 0.73, 0.80, 0.43 ซึ่งอยู่ในเกณฑ์ที่ยอมรับ คือ น้อยกว่า 2
5. การประมาณค่าความไม่แน่นอน

ที่ระดับความเข้มข้นต่ำ	เท่ากับ 2.57 ± 0.04 % P ₂ O ₅
ที่ระดับความเข้มข้นกลาง	เท่ากับ 19.19 ± 0.31 % P ₂ O ₅
ที่ระดับความเข้มข้นสูง	เท่ากับ 52.33 ± 0.76 % P ₂ O ₅

จากการประเมินผลการทดสอบข้างต้นสามารถแสดงได้ว่าวิธีวิเคราะห์ฟอสเฟตทั้งหมดในปุ๋ยเคมีมีความแม่นยำและความเที่ยงอยู่ในเกณฑ์ที่ยอมรับสามารถนำไปใช้ในห้องปฏิบัติการได้

ข้อเสนอแนะ

1. ควรมีการกำหนดระยะเวลาในการตรวจสอบ/ทวนสอบความใช้ได้ของวิธีวิเคราะห์ ทุก 2-3 ปี เพื่อเป็นการยืนยันวิธีการวิเคราะห์นั้นๆ ว่ายังมีความแม่นยำและความเที่ยงอยู่ในเกณฑ์ที่ยอมรับสามารถใช้ในห้องปฏิบัติการได้
2. ควรมีเครื่องมือสำรอง เมื่อมีเครื่องมือที่ใช้งานชำรุด หรืออยู่ในระหว่างซ่อม จะได้ปฏิบัติงานได้อย่างต่อเนื่อง

เอกสารอ้างอิง

- คณะกรรมการด้านวิชาการของกรมวิทยาศาสตร์การแพทย์. 2554. แนวทางการจัดทำความสมเหตุสมผลของการวัด. สำนักงานพระพุทธศาสนาแห่งชาติ. กรุงเทพฯ. 131 หน้า
- ดุขฎิ มั่นความดี. เอกสารประกอบการอบรม เรื่อง การตรวจสอบความใช้ได้ของวิธี. กรมวิทยาศาสตร์บริการ.
- จรรยา วงศ์ตรี. 2551. คู่มือวิเคราะห์ปุ๋ยเคมี. กลุ่มวิจัยเกษตรเคมี. สำนักวิจัยพัฒนาปัจจัยการผลิตทางการเกษตร กรมวิชาการเกษตร กรุงเทพฯ. 66 หน้า
- ทิพวรรณ นิ่งน้อย. 2549. แนวปฏิบัติการทดสอบความถูกต้องของวิธีวิเคราะห์ทางเคมีโดยห้องปฏิบัติการเดียว. กรมวิทยาศาสตร์การแพทย์ กระทรวงสาธารณสุข. 124 หน้า
- EURACHEM/CITAC Guide CG4. 2000. Quantifying Uncertainty in Analytical Measurement. 2nd Edition.[online]March 2007-[cited March 2010]. Available from internet : <http://www.eurolab.org>

Horwitz, W.(ed).2000. Official Method of Analysis of The Association Of Official Analytical Chemist. AOAC International Inc., Gaithersberg MD.

ภาคผนวก

ตารางที่ 6 ผลการวิเคราะห์ฟอสเฟตทั้งหมดในตัวอย่าง Lab No. 54F008

ครั้งที่	%T-P ₂ O ₅
1	0.12
2	0.23
3	0.12
4	0.12
5	0.13
6	0.12
7	0.17
8	0.11
9	0.10
10	0.09
ค่าเฉลี่ย	0.13
SD	0.041

ตารางที่ 7 ผลการหาค่า Linearity ด้วยการ Spiked standard P ที่ความเข้มข้นต่างๆ 5 ความเข้มข้น

No.		1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	\bar{x}	SD
Sample blank + 0 ppm	Abs	0	0	0	0	0	0	0.0003	0	0	0	0.	0
	ppm	0	0	0	0	0	0	0.0053	0	0	0	0	0
Sample blank + 1 ppm	Abs	0.0548	0.0546	0.0549	0.0545	0.0542	0.0546	0.0546	0.0550	0.0547	0.0548	0.0547	0
	ppm	0.9951	0.9924	0.9969	0.9990	0.9928	1.0001	1.0007	1.0062	1.0006	1.0033	0.9987	0.004
Sample blank + 2 ppm	Abs	0.1095	0.1094	0.1095	0.1091	0.1087	0.1087	0.1098	0.1096	0.1096	0.1095	0.1093	0
	ppm	1.9900	1.9866	1.9900	1.9984	1.9920	1.9917	2.0103	2.0055	1.9982	2.0035	1.9966	0.008
Sample blank + 3 ppm	Abs	0.1637	0.1636	0.1661	0.1631	0.1626	0.1631	0.1635	0.1633	0.1633	0.1636	0.1636	0.001
	ppm	2.9744	2.9719	3.0180	2.9867	2.9781	2.9876	2.9951	2.9885	2.9881	2.9944	2.9883	0.013
Sample blank + 4 ppm	Abs	0.2242	0.2183	0.2187	0.2173	0.2172	0.2767	0.2177	0.2166	0.2177	0.2180	0.2182	0.002
	ppm	4.0732	3.9657	3.9735	3.9811	3.9778	3.9685	3.9875	3.9636	3.9827	3.9900	3.9864	0.032
Sample blank + 5 ppm	Abs	0.2724	0.2726	0.2752	0.2712	0.2716	0.2725	0.2718	0.2712	0.2725	0.2725	0.2724	0.001
	ppm	4.9481	4.9512	4.9984	4.9679	4.9743	4.9923	4.9787	4.9618	4.9869	4.9861	4.9746	0.017

ตารางที่ 8 ผลวิเคราะห์ปริมาณฟอสเฟตทั้งหมดในปุ๋ยเคมี โดยใช้ CRM ที่ระดับความเข้มข้นต่ำ กลาง สูง

ครั้งที่	ความเข้มข้น(%)		
	2.60	19.34 (Superphosphate)	52.17 (Potassium dihydrogen phosphate)
1	2.56	19.20	52.31
2	2.52	19.40	52.19
3	2.61	19.22	52.28
4	2.63	19.36	52.49
5	2.53	19.74	52.18
6	2.55	19.05	52.22
7	2.53	19.00	52.36
8	2.62	18.96	52.34
9	2.58	18.98	53.12
10	2.52	18.95	51.82
ค่าเฉลี่ย	2.57	19.19	52.33
SD	0.043	0.26	0.33
% Recovery	98.7	99.22	100.31
%RSD	1.67	1.35	0.63

ตารางที่ 9 ผลวิเคราะห์ปริมาณฟอสเฟตทั้งหมดในปุ๋ยเคมีที่มีสารตัวเติม(Matrix effect)โดยใช้ CRM (ที่ระดับความเข้มข้นต่ำ กลาง สูง

ครั้งที่	ความเข้มข้น(%)		
	2.60	19.34 (Superphosphate)	52.17 (Potassium dihydrogen phosphate)
1	2.57	19.08	52.46
2	2.56	18.99	52.27
3	2.60	18.97	52.14
4	2.55	18.95	52.07

5	2.63	19.05	52.15
6	2.57	18.92	52.24
7	2.60	18.90	52.24
8	2.55	18.94	52.17
9	2.56	18.87	52.31
10	2.58	18.94	52.32
ค่าเฉลี่ย	2.58	18.96	52.24
SD	0.03	0.06	0.11
% Recovery	99.23	98.04	100.13
%RSD	1.16	0.32	0.21

ตารางที่ 10 ผลวิเคราะห์ปริมาณฟอสเฟตทั้งหมดในปุ๋ยเคมีที่ ระดับความเข้มข้นต่ำ กลาง สูง ในเวลาที่แตกต่างกัน

ครั้งที่	ความเข้มข้น(%)		
	39-3-3	16-24-8	10-52-17
1	3.57	24.87	52.89
2	3.80	24.67	52.17
3	3.59	24.63	52.11
4	3.78	24.79	52.38
5	3.67	24.94	52.02
6	3.85	24.00	52.26
7	3.69	24.38	52.64
8	3.70	24.40	51.57
9	3.61	24.73	51.99
10	3.77	24.59	51.76
ค่าเฉลี่ย	3.72	24.57	52.10
SD	0.09	0.28	0.32

