

รายงานผลงานเรื่องเต็มการทดลองที่สิ้นสุด ปี 2558

1. ชื่อชุดโครงการ วิจัยและพัฒนาปัจจัยการผลิตทางการเกษตร
2. ชื่อโครงการวิจัย การพัฒนาระบบการตรวจวิเคราะห์พืชและปัจจัยการผลิตทางการเกษตร
กิจกรรม พัฒนาระบบการตรวจวิเคราะห์พืช ดิน น้ำ สารอินทรีย์ สารควบคุมการเจริญเติบโตพืช สารสกัดและวัตถุอันตรายทางการเกษตร
กิจกรรมย่อย พัฒนาเทคนิคระบบการตรวจวิเคราะห์ และตรวจสอบความใช้ได้ของวิธีวิเคราะห์ปุ๋ย
3. ชื่อการทดลอง (ภาษาไทย) ตรวจสอบความใช้ได้ของวิธีวิเคราะห์ปริมาณไนโตรเจนในปุ๋ยเคมี
ชื่อการทดลอง (ภาษาอังกฤษ) Method Validation of Nitrate Nitrogen in Chemical Fertilizer
4. คณะผู้ดำเนินงาน
หัวหน้าทดลอง นางสาวบังอร แสนคาน สำนักวิจัยและพัฒนาการเกษตรเขตที่ 4
ผู้ร่วมงาน นางสุพัตรา รงฤทธิ์ สำนักวิจัยและพัฒนาการเกษตรเขตที่ 4
 นางนัตยา จันท์ส่อง สำนักวิจัยและพัฒนาการเกษตรเขตที่ 4

5. บทคัดย่อ

ดำเนินการตรวจสอบความใช้ได้ของวิธีวิเคราะห์ไนเตรทไนโตรเจนในปุ๋ยเคมี ณ ห้องปฏิบัติการกลุ่มพัฒนาการตรวจสอบพืชและปัจจัยการผลิต สำนักวิจัยและพัฒนาการเกษตรเขตที่ 4 โดยใช้วิธี Devarda method ซึ่งได้ดัดแปลงและพัฒนา (in-house method) มาจากวิธีมาตรฐานของ AOAC 2005^{12th} Ed. Method 892.01 ข้อ 2.4.10 ผลการตรวจสอบพบว่า มีค่า LOD (Limit of Detection) เท่ากับ 0.72% NO₃ และ LOQ (Limit of Quantitative) เท่ากับ 1.20% NO₃ ค่า accuracy ที่ระดับสูง กลาง ต่ำ ได้ % recovery เท่ากับ 100.86, 99.30 และ 100.10 ค่า HORRAT เท่ากับ 0.37, 0.63, 0.41 precision ที่ระดับสูง กลาง ต่ำ ค่า HORRAT เท่ากับ 0.21 0.42 และ 0.34 เมื่อทดสอบในสภาวะที่มีสารตัวเดิม (Matrix effect) พบว่า accuracy ที่ระดับสูง กลาง ต่ำ ได้ % recovery เท่ากับ 100.96, 99.81 และ 100.27 precision ที่ระดับสูง กลาง ต่ำ ค่า HORRAT เท่ากับ 0.54 0.52 และ 0.39 ซึ่งอยู่ในเกณฑ์ที่ยอมรับได้ตามมาตรฐานของ AOAC ที่กำหนด % recovery อยู่ในช่วง 98-102% และ HORRAT < 2 ผลจากการตรวจสอบดังกล่าว แสดงว่า วิธีการดังกล่าวสามารถนำมาใช้เป็นวิธีการทดสอบวิเคราะห์ไนเตรทไนโตรเจนในปุ๋ยเคมีได้ และมีความถูกต้อง แม่นยำ

Study on method validation of nitrate nitrogen testing in chemical fertilizer was conducted at Plant and Production Factor Development Testing Laboratory, Office of Agricultural Research and Development Region 4. The method was development (in-house method) based on AOAC

2005^{12th} Ed. Method 892.01 order 2.4.10. The result showed that the limit of detection (LOD) and limit of quantitative (LOQ) were 0.72% NO₃ and 1.20% NO₃. Accuracy of the method was shown by % recovery and Horrat's equation in repeat precision. % Recovery in 3 levels were 100.86 99.30 and 100.10 the others were 0.37 0.63 and 0.40. For the precision in intermediate condition that expressed in term Horrat's equation was 0.21 0.42 and 0.34. The matrix effect gave % recovery in 100.96 99.81 and 100.27 and Horrat's equation was 0.54 0.52 and 0.39. These all result were within the accept criteria of the recovery and Horrat's equation critical. On the conclusion, the developed method was valid and fit for using as analytical method in the laboratory for nitrate nitrogen testing in chemical fertilizer.

6. คำนำ

ไนเตรทเป็นองค์ประกอบที่สำคัญอีกชนิดหนึ่งของธาตุไนโตรเจนซึ่งพืชสามารถดูดซึมไปใช้ได้ นอกจากรูปแอมโมเนียม จึงทำให้มีการผลิตปุ๋ยที่อยู่ในรูปไนเตรทมาจำหน่ายเพื่อใช้กับพืชชนิดต่างๆ รวมทั้งการปลูกพืชด้วยระบบไฮโดรโปนิกซึ่งนิยมใช้ในเตรทเพื่อเป็นแหล่งไนโตรเจน เช่น ปุ๋ยแอมโมเนียมไนเตรท ปุ๋ยโพแทสเซียมไนเตรท ตามประกาศกรมวิชาการเกษตร เรื่อง การขอขึ้นทะเบียน การออกใบสำคัญการขึ้นทะเบียน การขอแก้ไขรายการทะเบียนฯ ตามพระราชบัญญัติปุ๋ย พ.ศ. ๒๕๑๘ แก้ไขเพิ่มเติมพระราชบัญญัติปุ๋ย (ฉบับที่ ๒) พ.ศ. ๒๕๕๐ ตามประกาศราชกิจจานุเบกษา วันที่ ๓ เมษายน ๒๕๕๑ ข้อ ๔ ได้กล่าวไว้ว่า ปุ๋ยเคมีให้มีไนเตรทไนโตรเจนรวมอยู่ในไนโตรเจนทั้งหมดได้ แต่จะนำไนเตรทมาคำนวณรวมกับไนโตรเจนที่จดทะเบียนเป็นสูตรปุ๋ยข้าวที่กรมการข้าวแนะนำไม่ได้ ทำให้การตรวจสอบปริมาณไนเตรทไนโตรเจนจะต้องดำเนินการแยกต่างหากจากการตรวจสอบปริมาณไนโตรเจนทั้งหมด ซึ่งการตรวจสอบปริมาณไนเตรทไนโตรเจนสามารถดำเนินการได้หลายวิธี เช่น salicylic spectrophotometer Devarda's alloy เป็นต้น ซึ่งงานวิเคราะห์คุณภาพปุ๋ย กลุ่มพัฒนาการตรวจสอบพืชและปัจจัยการผลิตได้เลือกใช้ วิธี Devarda method โดยได้ดัดแปลงและพัฒนา (in-house method) มาจากวิธีมาตรฐานของ AOAC 2005^{12th} Ed. Method 892.01 ข้อ 2.4.10 โดยตามข้อกำหนดมาตรฐาน ISO/IEC 17025 : 2005 5.4.5.2 ห้องปฏิบัติการต้องตรวจสอบความใช้ได้ ของวิธีที่ไม่เป็นมาตรฐาน วิธีที่ห้องปฏิบัติการพัฒนา / ออกแบบขึ้นเอง วิธีตามมาตรฐานที่ถูกइनอกขอบข่ายที่กำหนดไว้ และการขยายและการดัดแปลงวิธีมาตรฐาน เพื่อยืนยันว่าวิธีนั้นเหมาะกับการใช้ตามที่ตั้งใจไว้ การตรวจสอบความใช้ได้ต้องมีขอบเขตเท่าที่จำเป็นเพื่อให้เป็นไปตามความต้องการของการใช้งานที่กำหนดหรือตามสาขาของการใช้งาน ห้องปฏิบัติการต้องบันทึกผลต่างๆ ที่ได้ ขั้นตอนที่ใช้ในการตรวจสอบความใช้ได้ และขอความระบுவางวิธีนั้นๆ เหมาะกับการใช้ตามวัตถุประสงค์หรือไม่

7. วิธีดำเนินการ

7.1 อุปกรณ์

- ชุดเครื่องกลั่นหาปริมาณไนโตรเจน (Distillation apparatus) ยี่ห้อ Gerhardt
- เครื่องชั่งไฟฟ้าความละเอียดทศนิยม 4 ตำแหน่ง
- บิวเรตขนาด 50 มิลลิลิตร
- ขวดแก้วรูปชมพู่ขนาด 250 มิลลิลิตร
- เครื่องแก้ว และวัสดุอื่นๆ ที่ใช้ในการปฏิบัติงาน

7.2 สารเคมี

- Boric acid ชนิด AR grade
- กรดไฮโดรคลอริกความเข้มข้น 36-38% ชนิด AR grade
- Devarda alloy ชนิด AR grade
- Ethyl alcohol ความเข้มข้น 90-100% ชนิด AR grade
- Methyl red ชนิด AR grade
- Methylene blue ชนิด AR grade
- Sodium hydroxide ชนิด Commercial grade
- สารละลายมาตรฐานไฮโดรคลอริก 1 นอร์มอล
- สารละลายมาตรฐานไฮโดรคลอริก 0.2 โมลาร์

7.3 วัสดุอ้างอิง

- Sodium carbonate, BCR 351a
- Potassium Nitrate, Nist 193
- Calcium ammonium nitrate, BCR-178

7.3 วิธีการ

7.3.1 การเตรียมสารละลาย

7.3.1.1 การเตรียมสารละลายโซเดียมไฮดรอกไซด์ 50 %

ชั่งโซเดียมไฮดรอกไซด์ จำนวน 500 กรัมใส่ในบีกเกอร์ขนาด 2000 มิลลิลิตรที่มีน้ำกลั่นอยู่ประมาณ 800 มิลลิลิตร เติมน้ำกลั่นให้ได้ปริมาตร 1000 มิลลิลิตร

7.3.1.2 การเตรียมสารละลาย Mixed indicator

- ชั่งเมธิลเรด จำนวน 0.2 กรัม ใส่ในบีกเกอร์ขนาด 200 มิลลิลิตร เติมนีเอทานอล ปริมาณ 100 มิลลิลิตร คนให้เข้ากัน

- ชั่งเมธิลีนบลู จำนวน 0.1 กรัม ใส่ในบีกเกอร์ขนาด 200 มิลลิลิตร เติมน้ำกลั่น ปริมาณ 100 มิลลิลิตร คนให้เข้ากัน

- นำสารละลายเมธิลเรดและเมธิลีนบลู มาเทรวมกัน และคนให้เข้ากัน แล้วเก็บไว้ในขวดสีชา

7.3.1.3 การเตรียมสารละลายมาตรฐานกรดไฮโดรคลอริก 0.2 นอร์มอล

นำกรดไฮโดรคลอริก จำนวน 86 มิลลิลิตรหรือสารละลายมาตรฐานกรดไฮโดรคลอริกความเข้มข้น 1 นอร์มอล ใส่ลงในขวดวัดปริมาตรขนาด 1000 มิลลิลิตรปรับปริมาตรด้วยน้ำกลั่น

7.3.1.4 การหาความเข้มข้นของสารละลายมาตรฐานกรดไฮโดรคลอริก 0.2 นอร์มอล (standardization)

- ชั่งโซเดียมคาร์บอเนต ซึ่งอบที่อุณหภูมิ 105 ° เซลเซียสเป็นเวลา 2 ชั่วโมง จำนวน 0.2xxx กรัม ใส่ลงในขวดรูปชมพู่ขนาด 250 มิลลิลิตร

- เติมน้ำกลั่นปริมาณ 100 มิลลิลิตร หยดสารละลาย Mixed indicator 3-4 หยด จะได้สารละลายสีเขียวอ่อน

- นำไปไทเทรตกับสารละลายมาตรฐานกรดไฮโดรคลอริกความเข้มข้น 0.2 นอร์มอล จนถึงจุดยุติ ซึ่งจะได้สารละลายสีชมพูม่วง บันทึกผล แล้วคำนวณความเข้มข้นที่แน่นอนของสารละลายมาตรฐานกรดไฮโดรคลอริก

7.3.1.5 การเตรียมสารละลายกรดบอริก 4 %

ชั่งบอริก จำนวน 40 กรัม ใส่ในบีกเกอร์ขนาด 2000 มิลลิลิตร เติมน้ำกลั่นประมาณ 500 มิลลิลิตร นำไปต้มจนละลาย ทิ้งไว้ให้เย็นแล้วเติมน้ำกลั่นให้ได้ปริมาตร 1000 มิลลิลิตร

$$N(HCl) = \frac{\text{น้ำหนัก } Na_2CO_3 \times \text{ความบริสุทธิ์ของ } Na_2CO_3 \times 1000}{52.99 \times \text{ml HCl}}$$

7.3.2 วิธีการวิเคราะห์

7.3.2.1 ชั่งตัวอย่างที่ระดับความเข้มข้นต่ำ กลางและสูงน้ำหนัก 0.2xxx-0.5xxx กรัม ใส่ใน kjeldahl tube ขนาด 250 มิลลิลิตร

7.3.2.2 เติมน้ำกลั่น 100 มิลลิลิตร แล้วเติม Devarda alloy 3 กรัม ทิ้งไว้ให้ Devarda alloy ตกตะกอน ใช้เวลาประมาณ 15-30 นาที

7.3.2.3 เติมน้ำกลั่นโซเดียมไฮดรอกไซด์ 50 % 5 มิลลิลิตร แล้วนำ kjeldahl tube ต่อกับเครื่องกลั่นทันที โดยให้ปลายเครื่องกลั่นจุ่มอยู่ในขวดแก้วรูปชมพู่ขนาด 250 มิลลิลิตร ที่บรรจุสารละลายบอริกปริมาณ 25 มิลลิลิตร ดำเนินการกลั่นโดยใช้เวลา 300 วินาทีซึ่งจะได้สารละลายประมาณ 125 มิลลิลิตร

7.3.2.4 นำสารละลายที่ได้ไปไทเทรตกับสารละลายมาตรฐานกรดไฮโดรคลอริก 0.2 นอร์มอล บันทึกผล

7.3.2.5 ทำแบลงค์ (blank) โดยไม่ใส่ตัวอย่าง และดำเนินการวิเคราะห์เช่นเดียวกันกับตัวอย่าง

7.3.3 คำนวณ

$$\% \text{ NO}_3\text{-N} = \frac{\text{N (HCL)} \times (\text{ml HCL} - \text{ml Blank}) \times 14.0067 \times 100}{\text{น้ำหนักตัวอย่าง} \times 1000}$$

7.4 เวลาและสถานที่

ได้ดำเนินการตั้งแต่ กันยายน 2556-ตุลาคม 2558 ณ งานวิเคราะห์คุณภาพปุ๋ย กลุ่มพัฒนาการตรวจสอบพืชและปัจจัยการผลิต สำนักวิจัยและพัฒนาการเกษตรเขตที่ 4 อุบลราชธานี

8.ผลการทดลองและวิจารณ์

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

จากการวิเคราะห์ พบว่า sample blank ไม่สามารถวัดค่าได้ จึงได้ทำการเติม CRM ความเข้มข้น 0.42% ใน sample blank โดยวิเคราะห์ 10 ซ้ำ ได้ผลการวิเคราะห์ดังตารางที่ 1 แล้วคำนวณ LOD และ LOQ ได้ดังนี้

คำนวณหาค่า	X	=	0.48	
	SD	=	0.07	
เพราะฉะนั้น	LOD	=	X + 3SD = 0.48 + 3(0.07)	= 0.72
	LOQ	=	X + 10SD = 0.48 + 10(0.07)	= 1.20

8.2 การหาค่า accuracy และ precision ของวิธีวิเคราะห์ไนโตรเจนในปุ๋ยเคมีที่ระดับความเข้มข้นต่ำ กลาง และสูง

8.2.1 ที่ระดับความเข้มข้นต่ำ 1.3845 % ได้ผลวิเคราะห์ตามตารางที่ 2

1. ค่า Accuracy

$$\begin{aligned} \% \text{ Recovery} &= \frac{\text{ผลวิเคราะห์ที่ได้}}{\text{ค่าอ้างอิงจากใบรับรอง}} \times 100 \\ &= \frac{1.40}{1.385} \times 100 \\ &= 100.86 \% \end{aligned}$$

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

2. ค่า Precision

$$\begin{aligned} \% \text{RSD}_r &= \frac{\text{ค่าเบี่ยงเบนมาตรฐาน}}{\text{ค่าเฉลี่ย}} \times 100 \\ &= \frac{0.0130}{1.40} \times 100 \\ &= 0.93 \end{aligned}$$

$$\begin{aligned} \text{Repeatability : } \% \text{RSD}_{(\text{expected})} &= 0.66 \times 2^{(1-0.5 \log C)} \\ &= 0.66 \times 2^{(1-0.5 \log 0.01385)} \\ &= 2.51 \end{aligned}$$

$$\text{HORRAT} = \frac{0.93}{2.51} = 0.37$$

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

8.2.2 ระดับความเข้มข้นกลาง 13.01 % ได้ผลวิเคราะห์ตามตารางที่ 3

$$\begin{aligned} 1. \text{ ค่า Accuracy} \\ \% \text{ Recovery} &= \frac{\text{ผลวิเคราะห์ที่ได้}}{\text{ค่าอ้างอิงจากใบรับรอง}} \times 100 \\ &= \frac{12.92}{13.01} \times 100 \\ &= 99.30 \% \end{aligned}$$

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

2. ค่า Precision

หาค่า Precision ทำการวิเคราะห์โดยใช้ บุคคล เวลา และเครื่องมือเดียวกัน แล้วคำนวณหา
ค่า %RSD จากตารางที่ 4

$$\begin{aligned} \% \text{RSD}_r &= \frac{\text{ค่าเบี่ยงเบนมาตรฐาน}}{\text{ค่าเฉลี่ย}} \times 100 \\ &= \frac{0.1464}{12.92} \times 100 \\ &= 1.13 \end{aligned}$$

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

$$\begin{aligned}
 &= 0.66 \times 2^{(1-0.5\log 0.1301)} \\
 &= 1.79 \\
 \text{HORRAT} &= \frac{1.13}{1.79} = 0.63
 \end{aligned}$$

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

8.2.3 ระดับความเข้มข้นสูง 13.85 % ได้ผลวิเคราะห์ตามตารางที่ 4

1. ค่า Accuracy

$$\begin{aligned}
 \% \text{ Recovery} &= \frac{\text{ผลวิเคราะห์ที่ได้}}{\text{ค่าอ้างอิงจากใบรับรอง}} \times 100 \\
 &= \frac{13.86}{13.85} \times 100 \\
 &= 100.10 \%
 \end{aligned}$$

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

2. ค่า Precision

$$\begin{aligned}
 \% \text{RSD}_r &= \frac{\text{ค่าเบี่ยงเบนมาตรฐาน}}{\text{ค่าเฉลี่ย}} \times 100 \\
 &= \frac{0.1011}{13.86} \times 100 \\
 &= 0.73
 \end{aligned}$$

$$\begin{aligned}
 \text{Repeatability : } \% \text{RSD}_{(\text{expected})} &= 0.66 \times 2^{(1-0.5\log C)} \\
 &= 0.66 \times 2^{(1-0.5\log 0.1385)}
 \end{aligned}$$

$$\begin{aligned}
 &= 1.78 \\
 \text{HORRAT} &= \frac{0.73}{1.88} = 0.41
 \end{aligned}$$

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

8.3 การหาค่า Intermediate Precision ของวิธีวิเคราะห์ไนเตรทไนโตรเจนที่ระดับความเข้มข้น ต่ำ กลาง สูง

8.3.1 ที่ระดับความเข้มข้นต่ำ 1.385 % ได้ผลวิเคราะห์ตามตารางที่ 5

$$\begin{aligned}
 \%RSD_i &= \frac{\text{ค่าเบี่ยงเบนมาตรฐาน}}{\text{ค่าเฉลี่ย}} \times 100 \\
 &= \frac{0.0120}{1.39} \times 100 \\
 &= 0.86
 \end{aligned}$$

$$\begin{aligned}
 \text{Repeatability : \% RSD}_{(\text{expected})} &= 0.66 \times 2^{(1-0.5\log C)} \\
 &= 0.66 \times 2^{(1-0.5\log 0.01385)} \\
 &= 2.51
 \end{aligned}$$

$$\text{HORRAT} = \frac{0.86}{2.51} = 0.34$$

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

8.3.2 ที่ระดับความเข้มข้นกลาง 13.01 % ได้ผลวิเคราะห์ตามตารางที่ 6

$$\begin{aligned}
 \%RSD_i &= \frac{\text{ค่าเบี่ยงเบนมาตรฐาน}}{\text{ค่าเฉลี่ย}} \times 100 \\
 &= \frac{0.0978}{13.01} \times 100 \\
 &= 0.75 \\
 \text{Repeatability : \% RSD}_{(\text{expected})} &= 0.66 \times 2^{(1-0.5\log C)} \\
 &= 0.66 \times 2^{(1-0.5\log 0.1301)} \\
 &= 1.79 \\
 \text{HORRAT} &= \frac{0.75}{1.79} = 0.42
 \end{aligned}$$

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

8.3.3 ที่ระดับความเข้มข้นสูง 13.85 % ได้ผลวิเคราะห์ตามตารางที่ 7

$$\begin{aligned}
 \%RSD_i &= \frac{\text{ค่าเบี่ยงเบนมาตรฐาน}}{\text{ค่าเฉลี่ย}} \times 100 \\
 &= \frac{0.0504}{13.82} \times 100 \\
 &= 0.36 \\
 \text{Repeatability : \% RSD}_{(\text{expected})} &= 0.66 \times 2^{(1-0.5\log C)} \\
 &= 0.66 \times 2^{(1-0.5\log 0.1385)} \\
 &= 1.78
 \end{aligned}$$

$$\text{HORRAT} = \frac{0.36}{1.78} = 0.21$$

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

8.4 การหาค่า Accuracy และ Precision ของวิธีวิเคราะห์ไนโตรเจนที่มีสารตัวเติม (Matrix effect

8.4.1 ที่ระดับความเข้มข้นต่ำ 1.385 % ได้ผลวิเคราะห์ตามตารางที่ 8

1. ค่า Accuracy

$$\begin{aligned} \% \text{ Recovery} &= \frac{\text{ปริมาณของสารที่วิเคราะห์ได้}}{\text{ปริมาณของสารที่เติม}} \times 100 \\ &= \frac{1.40}{1.385} \times 100 \\ &= 100.96 \% \end{aligned}$$

เกณฑ์การยอมรับ % Recovery เท่ากับ 97-103 % แสดงว่า ผ่านเกณฑ์การยอมรับ

2. ค่า Precision

$$\begin{aligned} \% \text{RSD}_r &= \frac{\text{ค่าเบี่ยงเบนมาตรฐาน}}{\text{ค่าเฉลี่ย}} \times 100 \\ &= \frac{0.0138}{1.40} \times 100 \\ &= 0.99 \end{aligned}$$

$$\begin{aligned} \text{Repeatability : } \% \text{RSD}_{(\text{expected})} &= 0.66 \times 2^{(1-0.5 \log C)} \\ &= 0.66 \times 2^{(1-0.5 \log 0.01385)} \\ &= 2.51 \end{aligned}$$

$$\text{HORRAT} = \frac{0.99}{2.51} = 0.39$$

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

8.4.2 ที่ระดับความเข้มข้นกลาง 13.01 % ได้ผลวิเคราะห์ตามตารางที่ 9

1. ค่า Accuracy

$$\begin{aligned} \% \text{ Recovery} &= \frac{\text{ปริมาณของสารที่วิเคราะห์ได้}}{\text{ปริมาณของสารที่เติม}} \times 100 \\ &= \frac{12.99}{13.01} \times 100 \\ &= 99.81 \% \end{aligned}$$

เกณฑ์การยอมรับ % Recovery เท่ากับ 98-102 % แสดงว่า ผ่านเกณฑ์การยอมรับ

2. ค่า Precision

$$\begin{aligned} \% \text{RSD}_r &= \frac{\text{ค่าเบี่ยงเบนมาตรฐาน}}{\text{ค่าเฉลี่ย}} \times 100 \\ &= \frac{0.1201}{12.99} \times 100 \\ &= 0.92 \end{aligned}$$

$$\begin{aligned} \text{Repeatability : } \% \text{RSD}_{(\text{expected})} &= 0.66 \times 2^{(1-0.5 \log C)} \\ &= 0.66 \times 2^{(1-0.5 \log 0.1301)} \\ &= 1.79 \end{aligned}$$

$$\text{HORRAT} = \frac{0.92}{1.79} = 0.52$$

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

8.4.3 ที่ระดับความเข้มข้นสูง 13.85 % ได้ผลวิเคราะห์ตามตารางที่ 10

1. ค่า Accuracy

$$\begin{aligned} \% \text{ Recovery} &= \frac{\text{ปริมาณของสารที่วิเคราะห์ได้}}{\text{ปริมาณของสารที่เติม}} \times 100 \\ &= \frac{13.89}{13.85} \times 100 \\ &= 100.27 \% \end{aligned}$$

เกณฑ์การยอมรับ % Recovery เท่ากับ 98-102 % แสดงว่า ผ่านเกณฑ์การยอมรับ

2. ค่า Precision

$$\begin{aligned} \% \text{RSD}_r &= \frac{\text{ค่าเบี่ยงเบนมาตรฐาน}}{\text{ค่าเฉลี่ย}} \times 100 \\ &= \frac{0.1328}{13.89} \times 100 \\ &= 0.96 \end{aligned}$$

$$\begin{aligned} \text{Repeatability : } \% \text{RSD}_{(\text{expected})} &= 0.66 \times 2^{(1-0.5 \log C)} \\ &= 0.66 \times 2^{(1-0.5 \log 0.1385)} \\ &= 1.78 \end{aligned}$$

$$\text{HORRAT} = \frac{0.96}{1.78} = 0.54$$

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

9.สรุปผลการทดลองและข้อเสนอแนะ

จากการตรวจสอบความใช้ได้ของวิธีวิเคราะห์ไนเตรทไนโตรเจนในปุ๋ยเคมี โดยใช้วิธี Devarda method ซึ่งได้ดัดแปลงและพัฒนา (in-house method) มาจากวิธีมาตรฐานของ AOAC 2005 ^{12th} Ed. Method 892.01 ข้อ 2.4.10 สรุปได้ดังนี้

9.1 ค่า LOD (Limit of Detection) เท่ากับ 0.72% NO₃ และ LOQ (Limit of Quantitative) เท่ากับ 1.20% NO₃

9.2 ค่า accuracy ที่ระดับสูง กลาง ต่ำ ได้ % recovery เท่ากับ 100.86, 99.30 และ 100.10 ค่า HORRAT เท่ากับ 0.37, 0.63, 0.41 precision ที่ระดับสูง กลาง ต่ำ ค่า HORRAT เท่ากับ 0.34 0.42 และ 0.21

9.3 เมื่อทดสอบในสถานะที่มีสารตัวเติม (Matrix effect) พบว่า accuracy ที่ระดับสูง กลาง ต่ำ ได้ % recovery เท่ากับ 100.96, 99.81 และ 100.27 precision ที่ระดับสูง กลาง ต่ำ ค่า HORRAT เท่ากับ 0.54 0.52 และ 0.39 ซึ่งอยู่ในเกณฑ์ที่ยอมรับได้ตามมาตรฐานของ AOAC ที่กำหนด % recovery อยู่ในช่วง 98-102% และ HORRAT < 2

9.4 ผลจากการตรวจสอบดังกล่าว สามารถนำมาใช้เป็นวิธีการทดสอบวิเคราะห์ไนเตรทไนโตรเจนในปุ๋ยเคมีได้

10.การนำผลงานวิจัยไปใช้ประโยชน์

10.1 เพื่อให้ได้วิธีวิเคราะห์ไนเตรทไนโตรเจนทั้งหมดที่ให้ผลวิเคราะห์มีความถูกต้อง แม่นยำ รวดเร็ว น่าเชื่อถือ

10.2 ใช้เป็นวิธีวิเคราะห์ไนเตรทไนโตรเจนทั้งหมดของปุ๋ยของห้องปฏิบัติการ

11.คำขอบคุณ

-

12.เอกสารอ้างอิง

W. Latimer, Jr. George. 2012. Official Methods of Analysis of AOAC international, AOAC 2005 ^{19th} Ed. AOAC international.

13.ภาคผนวก

ตารางที่ 1 ปริมาณไนเตรทไนโตรเจนใน sample blank

SB	นน.ตัวอย่าง ปุ๋ย	N HCl	Blank	ml. Titrate	% N	% Recovery
----	---------------------	-------	-------	-------------	-----	------------

0.2019	0.2008	0.2040	0	0.3	0.43	101.6
0.2052	0.202	0.2040	0	0.4	0.57	134.7
0.2042	0.2012	0.2040	0	0.3	0.43	101.4
0.2081	0.2026	0.2040	0	0.4	0.56	134.3
0.2092	0.2018	0.2040	0	0.3	0.42	101.1
0.2021	0.2028	0.2040	0	0.3	0.42	100.6
0.2035	0.2024	0.2040	0	0.4	0.56	134.5
0.2024	0.2026	0.2040	0	0.4	0.56	134.3
0.2060	0.2004	0.2040	0	0.4	0.57	135.8
0.2074	0.2012	0.2040	0	0.3	0.43	101.4
ค่าเฉลี่ย = 0.50						
Sd = 0.07						

ตารางที่ 2 ปริมาณไนเตรทไนโตรเจนที่ความเข้มข้นระดับต่ำเพื่อหาค่า accuracy

นน.ตัวอย่าง ปุ๋ย	N HCl	Blank	ml. Titrate	% NO ₃	% Recovery
0.2054	0.2026	0	1.00	1.38	99.8
0.2014	0.2026	0	1.00	1.41	101.7
0.2023	0.2026	0	1.00	1.40	101.3
0.2018	0.2026	0	1.00	1.41	101.5
0.2039	0.2026	0	1.00	1.39	100.5
0.2041	0.2026	0	1.00	1.39	100.4
0.2008	0.2026	0	1.00	1.41	102.0
0.2024	0.2026	0	1.00	1.40	101.2
0.2069	0.2026	0	1.00	1.37	99.0
0.2027	0.2026	0	1.00	1.40	101.1
ค่าเฉลี่ย = 1.40					
Sd =0.0130					

ตารางที่ 3 ปริมาณไนเตรทไนโตรเจนที่ความเข้มข้นระดับกลางเพื่อหาค่า accuracy

นน.ตัวอย่าง ปุ๋ย	N HCl	Blank	ml. Titrate	% N	% Recovery
0.2005	0.2008	0	9.40	13.19	101.4
0.2034	0.2008	0	9.40	13.00	99.9
0.2028	0.2008	0	9.20	12.76	98.1
0.2018	0.2008	0	9.40	13.10	100.7
0.2039	0.2008	0	9.30	12.83	98.6
0.2041	0.2008	0	9.40	12.95	99.6
0.2047	0.2008	0	9.40	12.92	99.3
0.2024	0.2008	0	9.30	12.92	99.3
0.2049	0.2008	0	9.30	12.77	98.1
0.2027	0.2008	0	9.20	12.77	98.1
ค่าเฉลี่ย = 12.92					
Sd = 0.1464					

ตารางที่ 4 ปริมาณไนเตรทไนโตรเจนที่ความเข้มข้นระดับสูงเพื่อหาค่า accuracy

นน.ตัวอย่าง ปุ๋ย	N HCl	Blank	ml. Titrate	% N	% Recovery
0.2023	0.2008	0	10.00	13.90	100.4
0.2038	0.2008	0	10.00	13.80	99.6
0.2024	0.2008	0	10.00	13.90	100.3
0.2034	0.2008	0	10.00	13.83	99.8
0.2032	0.2008	0	10.20	14.12	101.9
0.2039	0.2008	0	10.00	13.79	99.6
0.2042	0.2008	0	10.00	13.77	99.4
0.2024	0.2008	0	10.00	13.90	100.3
0.2038	0.2008	0	10.00	13.80	99.6
0.2034	0.2008	0	10.00	13.83	99.8
ค่าเฉลี่ย = 13.86					
Sd = 0.1011					

ตารางที่ 5 ปริมาณไนเตรทไนโตรเจนที่ความเข้มข้นระดับต่ำเพื่อหาค่า intermediate precision

0.2054	0.2026	0	1.00	1.38	99.8
0.2028	0.2026	0	1.00	1.40	101.0
0.2043	0.2026	0	1.00	1.39	100.3
0.2015	0.2026	0	1.00	1.41	101.7
0.2039	0.2026	0	1.00	1.39	100.5
0.2053	0.2026	0	1.00	1.38	99.8
0.2069	0.2026	0	1.00	1.37	99.0
0.2027	0.2026	0	1.00	1.40	101.1
0.2018	0.2026	0	1.00	1.41	101.5
0.2024	0.2026	0	1.00	1.40	101.2
ค่าเฉลี่ย = 1.39					
Sd = 0.0120					

ตารางที่ 6 ปริมาณไนเตรทไนโตรเจนที่ความเข้มข้นระดับกลางเพื่อหาค่า intermediate precision

นน.ตัวอย่าง ปุ๋ย	N HCl	Blank	ml. Titrate	% N	% Recovery
0.2028	0.2008	0	9.40	13.04	100.2
0.203	0.2008	0	9.40	13.02	100.1
0.2017	0.2008	0	9.30	12.97	99.7
0.2018	0.2008	0	9.40	13.10	100.7
0.2039	0.2008	0	9.50	13.10	100.7
0.2041	0.2008	0	9.40	12.95	99.6
0.2047	0.2008	0	9.40	12.92	99.3
0.2024	0.2008	0	9.50	13.20	101.5
0.2048	0.2008	0	9.40	12.91	99.2
0.2024	0.2008	0	9.30	12.92	99.3
ค่าเฉลี่ย = 13.01					
Sd = 0.0978					

ตารางที่ 7 ปริมาณไนเตรทไนโตรเจนที่ความเข้มข้นระดับสูงเพื่อหาค่า intermediate precision

นน.ตัวอย่าง ปุ๋ย	N HCl	Blank	ml. Titrate	% N	% Recovery
0.2025	0.2008	0	10.00	13.89	100.3
0.2038	0.2008	0	10.00	13.80	99.6
0.2024	0.2008	0	9.90	13.76	99.3
0.2032	0.2008	0	10.00	13.84	99.9
0.2032	0.2008	0	10.00	13.84	99.9
0.2041	0.2008	0	10.00	13.78	99.5
0.204	0.2008	0	10.00	13.79	99.5
0.2024	0.2008	0	10.00	13.90	100.3
0.2045	0.2008	0	10.00	13.75	99.3
0.2037	0.2008	0	10.00	13.81	99.7
ค่าเฉลี่ย = 13.82					
Sd = 0.0504					

ตารางที่ 8 ปริมาณไนเตรทไนโตรเจนที่ความเข้มข้นระดับต่ำในสารตัวเดิม

SB	นน.ตัวอย่าง ปุ๋ย	N HCl	Blank	ml. Titrate	% N	% Recovery
0.2034	0.2022	0.2026	0	1.00	1.40	101.3
0.2025	0.2019	0.2026	0	1.00	1.41	101.5
0.2020	0.2023	0.2026	0	1.00	1.40	101.3
0.2008	0.2064	0.2026	0	1.00	1.37	99.3
0.2012	0.2034	0.2026	0	1.00	1.40	100.7
0.2024	0.2020	0.2026	0	1.00	1.40	101.4
0.2038	0.2008	0.2026	0	1.00	1.41	102.0
0.2032	0.2024	0.2026	0	1.00	1.40	101.2
0.2018	0.2068	0.2026	0	1.00	1.37	99.1
0.2026	0.2015	0.2026	0	1.00	1.41	101.7
ค่าเฉลี่ย = 1.40						
Sd = 0.0138						

ตารางที่ 9 ปริมาณไนเตรทไนโตรเจนที่ความเข้มข้นระดับกลางในสารตัวเต็ม

SB	นน.ตัวอย่าง ปุ๋ย	N HCl	Blank	ml. Titrate	% N	% Recovery
0.2012	0.2057	0.2026	0	9.40	12.97	99.7
0.2023	0.2043	0.2026	0	9.40	13.06	100.4
0.2039	0.2082	0.2026	0	9.40	12.81	98.5
0.2058	0.2028	0.2026	0	9.40	13.15	101.1
0.2046	0.2046	0.2026	0	9.30	12.90	99.1
0.2076	0.2042	0.2026	0	9.40	13.06	100.4
0.2045	0.2038	0.2026	0	9.40	13.09	100.6
0.2019	0.2022	0.2026	0	9.30	13.05	100.3
0.2043	0.2063	0.2026	0	9.30	12.79	98.3
0.2018	0.2057	0.2026	0	9.40	12.97	99.7
ค่าเฉลี่ย = 12.99						
Sd = 0.1201						

ตารางที่ 10 ปริมาณไนเตรทไนโตรเจนที่ความเข้มข้นระดับสูงในสารตัวเติม

SB	นน.ตัวอย่าง ปุ๋ย	N HCl	Blank	ml. Titrate	% N	% Recovery
0.2004	0.2018	0.2026	0	10.00	14.06	101.5
0.2010	0.2032	0.2026	0	9.90	13.83	99.8
0.2034	0.2034	0.2026	0	10.00	13.95	100.7
0.2046	0.2034	0.2026	0	10.00	13.95	100.7
0.2032	0.2049	0.2026	0	9.80	13.57	98.0
0.2010	0.2053	0.2026	0	10.00	13.82	99.8
0.2038	0.2042	0.2026	0	10.00	13.90	100.3
0.2017	0.2024	0.2026	0	9.90	13.88	100.2
0.2022	0.2038	0.2026	0	10.00	13.92	100.5
0.2023	0.2028	0.2026	0	10.00	13.99	101.0
ค่าเฉลี่ย = 13.89						
Sd = 0.1328						