

รายงานเรื่องเต็มผลการทดลองที่สิ้นสุด ปีงบประมาณ 2558

1. **ชุดโครงการวิจัย** วิจัยและพัฒนาปัจจัยการผลิตทางการเกษตร

2. **โครงการวิจัย** การพัฒนาระบบการตรวจวิเคราะห์พืชและปัจจัยการผลิตทางการเกษตร
กิจกรรมที่ 1 พัฒนาระบบการตรวจวิเคราะห์ปุ๋ย พืช ดิน น้ำ สารอินทรีย์ สารควบคุมการเจริญเติบโตพืช สารสกัด และวัตถุอันตรายทางการเกษตร
กิจกรรมย่อยที่ 1.1 พัฒนาเทคนิคระบบการตรวจวิเคราะห์ และตรวจสอบความใช้ได้ของวิธีวิเคราะห์ปุ๋ย

3. **ชื่อการทดลอง(ภาษาไทย)** ตรวจสอบความใช้ได้ของวิธีการวิเคราะห์แอมโมเนียมไนโตรเจนในปุ๋ยเคมี
ชื่อการทดลอง(ภาษาอังกฤษ) Method Validation on Analysis of Ammonium Nitrogen in Fertilizer

4. **คณะผู้ดำเนินงาน**

 ชื่อหัวหน้าโครงการ นางจิตติมา ยถาภูชานนท์ สังกัด กลุ่มวิจัยเกษตรเคมี กองวิจัยพัฒนาปัจจัยการผลิตทางการเกษตร

 หัวหน้าการทดลอง นางสาววิภาพร เกียรตินิติประวัติ กลุ่มพัฒนาการตรวจสอบพืชและปัจจัยการผลิต สำนักวิจัยและพัฒนาการเกษตรเขตที่ 2

 ผู้ร่วมงาน
 นายยศิทธิ์ อินทรสถิตย์ สังกัด สวพ.2
 นางสาวเบญจมาศ ใจแก้ว สังกัด สวพ.2
 นางสาวสุธินี สาสีลัง สังกัด สวพ.2
 นางพรศิริ สายะพันธ์ สังกัด สวพ.2

5. บทคัดย่อ

การตรวจสอบการใช้ได้ของวิเคราะห์ปริมาณแอมโมเนียมไนโตรเจนในปุ๋ยเคมี มีวัตถุประสงค์เพื่อให้ได้เทคนิควิธีวิเคราะห์ที่ถูกต้อง รวดเร็ว และแม่นยำ สามารถอ้างอิงได้ตามมาตรฐานสากล ซึ่งวิธีวิเคราะห์แอมโมเนียมไนโตรเจนในปุ๋ยเคมี เป็นวิธีวิเคราะห์ที่ดัดแปลงมาจากวิธีการของ AOAC โดยศึกษาคุณลักษณะ 4 ปัจจัย ได้แก่ , limit of detection (LOD) และ limit of quantitation (LOQ),

accuracy (ความแม่นยำ), precision และ intermediate precision (ความเที่ยง), ทำการวิเคราะห์ CRM และการวิเคราะห์ CRM ร่วมกับสารตัวเติม เพื่อประเมิน จากการทดสอบ พบว่า ได้ ค่า LOD และ LOQ เท่ากับ 0.20 และ 1.00 % ตามลำดับ ในการทดสอบโดยใช้ CRM ในการทดสอบ accuracy และ precision ที่ 3 ระดับความเข้มข้น ได้ค่า % recovery ที่ระดับความเข้มข้นต่ำ (1.00%), กลาง (26.02 %) และสูง (46.54 %) เท่ากับ 99.10 100.17 และ 100.57 % ตามลำดับ อยู่ในช่วงเกณฑ์การยอมรับที่กำหนด คือ %recovery 98-102 % ที่ความเข้มข้นระดับต่ำ กลางและสูง ตามลำดับ เมื่อทดสอบ precision ได้ค่า HORRAT ที่ระดับความเข้มข้นต่ำ (1.00%), กลาง (26.02 %) และสูง (46.54 %) เท่ากับ 0.59 0.62 และ 0.53 % ตามลำดับ และ intermediate precision ได้ค่า HORRAT ที่ระดับความเข้มข้นต่ำ (1.00 %), กลาง (26.02 %) และสูง (46.54 %) เท่ากับ 0.48, 0.57 และ 0.59 % ตามลำดับ ซึ่ง ค่า HORRAT ที่ได้จากการทดสอบ precision ทั้งสองสภาวะ ผ่านเกณฑ์การยอมรับคือ มีค่า Horwitz's ratio ≤ 2 เมื่อทำการทดสอบ CRM ร่วมกับสารตัวเติม พบว่า accuracy และ precision ได้ค่า % recovery ที่ระดับความเข้มข้นต่ำ (1.00%), กลาง (26.02 %) และสูง (46.54 %) เท่ากับ 101.10, 99.99 และ 100.06 % ตามลำดับ เป็นไปตามเกณฑ์การยอมรับ สำหรับการทดสอบ precision ได้ค่า HORRAT ที่ระดับความเข้มข้นต่ำ (1.00 %), กลาง (26.02 %) และสูง (46.54 %) เท่ากับ 0.58, 0.65 และ 0.76 % ตามลำดับ และเมื่อหา intermediate precision ได้ค่า HORRAT ที่ระดับความเข้มข้นต่ำ (1.00%), กลาง (26.02 %) และสูง (46.54 %) เท่ากับ 0.48, 0.57 และ 0.59 % ตามลำดับ ผ่านเกณฑ์การยอมรับเช่นเดียวกัน จะเห็นได้ว่า วิธีวิเคราะห์ที่ทำการตรวจสอบการใช้ได้ของวิธี มีความถูกต้องและแม่นยำ น่าเชื่อถือ ตามมาตรฐานสากล สามารถใช้เป็นวิธีวิเคราะห์แอมโมเนียมไนโตรเจน ของห้องปฏิบัติการวิเคราะห์ปุ๋ยของสำนักวิจัยและพัฒนาการเกษตรเขตที่ 2 และใช้เป็นวิธีวิเคราะห์ในการขอขยายขอบข่ายการรับรองห้องปฏิบัติการ ISO/IEC 17025 ได้

Abstract

Studied method validation on Ammonium nitrogen in chemical fertilizer that makes used of a modified AOAC. The objective is to accurate and precise. This experiment studied on 4 characteristics such as limit of detection (LOD) and limit of quantitation (LOQ) accuracy, precision and intermediate precision. The CRM and CRM + filler were analyzed. The results showed that concentration covered from LOD and LOQ were 0.20 and 1.00 respectively. The CRM was performed by 3 concentrations. Inaccuracy study, %recovery at low concentration (1.00%), middle concentration (13.03 %) and high concentration (21.20 %) were 99.10, 100.17 and 100.57% respectively. that did agree with the set criteria (98-102%) at low concentration, middle and high concentration. Precision study, HORRAT at low concentration (1.00%), middle

concentration (13.03 %) and high concentration (21.20 %) were 0.59, 0.62 and 0.53 % respectively and intermediate precision study, HORRAT were 0.48, 0.57 and 0.59 % at low concentration (1.00%), middle concentration (13.03 %) and high concentration (21.20 %) respectively. Conclusion, all HORRAT did agree with the set criteria (Horwitz's ratio ≤ 2). The results CRM + filler, accuracy study, % recovery at low concentration (1.00%), middle concentration (13.03%) and high concentration (21.20%) were 101.10, 99.99 and 100.06 % respectively that did agree with the set criteria. Precision study at low concentration (1.00%), middle concentration (13.03 %) and high concentration (21.20%) were 0.58, 0.65 and 0.76% respectively. Moreover, intermediate precision study, HORRAT at low concentration (1.00%), middle concentration (13.03%) and high concentration (21.20%) were 0.48, 0.57 and 0.59% respectively.

6. วิธีดำเนินการ และอุปกรณ์

อุปกรณ์/เครื่องมือ

เครื่องชั่งไฟฟ้าทศนิยม 4 ตำแหน่ง, เครื่องกลั่น, ตู้อบ, ตู้ดูดควัน, โถดูดความชื้น, เครื่องกวนแม่เหล็กไฟฟ้า, บิวเรต ขนาด 50 ml (Class A), บีกเกอร์ ขนาด 150, 250, 2000 และ 5000 ml, กระบอกตวง ขนาด 100 ml, Digestion tube ขนาด 250 ml, Erlenmeyer flask 250 ml, Volumetric flask ขนาด 1000 และ 2000 ml, ปิเปตขนาด 100 ml

สารเคมี

Ammonium Sulfate($(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4$), Boric acid (H_3BO_3), Ethyl alcohol 99.9 %, Methylene blue, Methyl red, Sodium hydroxide (NaOH), Standard sulfuric acid (H_2SO_4) 1 N, Ammonium Sulfate purity 99.999% $\text{NH}_4^+\text{-N} = 21.20\%$ (Aldrich Chem. 204501), Calcium ammonium nitrate $\text{NH}_4^+\text{-N} = 13.033\%$ (CRM-BCR[®]-178), Sodium Carbonate 99.970 % $\pm 0.014\%$ (SRM[®] -351a)

7. ขั้นตอนการดำเนินงาน

7.1 จัดเตรียมวัสดุ อุปกรณ์ สารเคมี วัสดุอ้างอิงรับรอง/วัสดุอ้างอิงมาตรฐานที่มีค่า Certified Value และ Uncertainty ระดับความเข้มข้นต่างๆ ที่ต้องใช้ในการทดสอบ สอบเทียบเครื่องมือ เครื่องแก้ว

7.2 วิธีการวิเคราะห์แอมโมเนียมไนโตรเจนในปุ๋ยเคมี

7.2.1 การเตรียมสารละลาย

7.2.1.1 สารละลายกรดซัลฟิวริกมาตรฐาน 1 N

นำสารละลายกรดซัลฟิวริกมาตรฐาน 1 N จำนวน 1 Ampoule ถ่ายลงใน Volumetric flask ขนาด 1000 ml ปรับปริมาตรด้วยน้ำกลั่น เขย่าให้เข้ากัน

7.2.1.2 สารละลายกรดซัลฟิวริกมาตรฐาน 0.2 N

ปิเปตสารละลายกรดซัลฟิวริกมาตรฐาน 1 N จำนวน 200 ml ลงใน Volumetric flask ขนาด 1000 ml ปรับปริมาตรด้วยน้ำกลั่น เขย่าให้เข้ากัน

การหาความเข้มข้นของสารละลายกรดซัลฟิวริกมาตรฐาน 0.2 N (Standardization)

1. ชั่งโซเดียมคาร์บอเนต (anh. Na_2CO_3) ที่ผ่านการอบที่อุณหภูมิ 105°C เป็นเวลา 2 ชั่วโมงและทิ้งให้เย็นใน Desiccator จำนวน $0.4xxx$ g ใส่ลงใน Erlenmeyer flask ขนาด 250 ml

2. น้ำกลั่น 100 ml หยดสารละลาย Mixed indicator 2-3 หยด จะได้สารละลายสีเขียวอ่อน

3. นำไปไทเตรทกับสารละลายกรดซัลฟิวริกมาตรฐาน 0.2 N จนถึงจุดยุติ จะได้สารละลายสีม่วงแดง คำนวณหาความเข้มข้นของกรดซัลฟิวริกที่แน่นอน ตามสูตร

$$N(\text{H}_2\text{SO}_4) = \frac{\text{น้ำหนักของ } \text{Na}_2\text{CO}_3 \text{ (g)} \times 1000}{52.99 \times \text{ปริมาตร } \text{H}_2\text{SO}_4 \text{ (ml)}}$$

$$\text{สมมุติของ } \text{Na}_2\text{CO}_3 = 52.99$$

7.2.1.3 สารละลายกรดบอริก 4 %

ชั่งกรดบอริก 80 g ใส่ใน Beaker ขนาด 150 ml เทใส่ Beaker ขนาด 2000 ml ที่มีน้ำกลั่นที่ต้มจนเดือดแล้วประมาณ 1500 ml คนให้ละลาย ตั้งทิ้งไว้ให้เย็น ถ่ายใส่ Volumetric flask ขนาด 2000 ml ปรับปริมาตร เขย่าให้เข้ากัน

7.2.1.4 สารละลายโซเดียมไฮดรอกไซด์ 50 %

ค่อยๆ เทโซเดียมไฮดรอกไซด์ จำนวน 1,000 g ใส่ Beaker ขนาด 5000 ml ที่มีน้ำอยู่ประมาณ 1500 ml ทำการละลายในตู้ดูดควัน รอจนสารละลายเย็น เติมน้ำกลั่นให้ได้ปริมาตร 2000 ml คนให้เข้ากัน

7.2.1.5 สารละลาย Mixed indicator

1. ชั่ง เมทิลเรด จำนวน 0.20 g ใส่ใน Beaker ขนาด 250 ml เติม Ethyl alcohol 99.9% ปริมาณ 100 ml คนให้เข้ากัน

2. ชั่งเมทิลินบลู จำนวน 0.10 g ใส่ใน Beaker ขนาด 250 ml เติม Ethyl alcohol 99.9% ปริมาณ 100 ml คนให้เข้ากัน

3. นำสารละลายข้อ 1 และ 2 มาเทรวมกันคนให้เข้ากัน

7.2.2 ขั้นตอนการวิเคราะห์

7.2.2.1 ชั่งตัวอย่างปุ๋ยที่เตรียมเรียบร้อยแล้ว จำนวน $0.2xxx - 1.xxxx$ g ใส่ใน Digestion

Tube ขนาด 250 ml

7.2.2.2 เติมน้ำกลั่นปริมาณ 50 ml เขย่าเล็กน้อย

7.2.2.3 นำ Digestion Tube ต่อกับเครื่องกลั่น เติมสารละลาย NaOH 50 % ปริมาณ 40 - 50 ml ให้ปลายเครื่องกลั่นจุ่มอยู่ใน Erlenmeyer flask ขนาด 250 ml ที่บรรจุสารละลายกรดบอริก 4 % ปริมาณ 30 ml หยดสารละลาย Mixed indicator 3 หยด จะได้สารละลายสีม่วงแดง

7.2.2.4 ทำการกลั่นตัวอย่างจนกระทั่งสารละลายใน Erlenmeyer flask ที่รองรับมีปริมาตรประมาณ 175 ml ถ้าตัวอย่างมีไนโตรเจนสารละลายจะเปลี่ยนจากสีม่วงแดงเป็นสีเขียว นำสารละลายที่ได้ไตเตรทกับสารละลายกรดซัลฟิวริกมาตรฐาน 0.2 N จนได้สารละลายสีม่วงแดงแสดงว่าถึงจุดยุติ บันทึกปริมาตรสารละลายกรดซัลฟิวริกมาตรฐาน 0.2 N ที่ไตเตรทได้

7.2.2.5 ทำ Blank โดยไม่ใส่ตัวอย่าง และทำการวิเคราะห์เช่นเดียวกับตัวอย่าง

7.2.3 การคำนวณ

$$\% \text{ Total NH}_4^+ \text{- N} = \frac{N(\text{H}_2\text{SO}_4) \times \{ \text{ml}(\text{H}_2\text{SO}_4) - \text{ml}(\text{Blank}) \} \times 1.4007}{\text{Weight of sample (g)}}$$

เมื่อ $N(\text{H}_2\text{SO}_4)$ = ความเข้มข้นที่แน่นอนของสารละลายกรดซัลฟิวริกมาตรฐานที่ใช้ในการไตเตรท (Normality)

ml. H_2SO_4 = ปริมาตรของสารละลายกรดซัลฟิวริก 0.2 N ที่ใช้ในการไตเตรทตัวอย่าง (ml)

ml. Blank = ปริมาตรของสารละลายกรดซัลฟิวริก 0.2 N ที่ใช้ในการไตเตรท Blank (ml)

Weight of Sample = น้ำหนักของตัวอย่าง (g)

Atomic Weight ของไนโตรเจน = 14.007

7.2.4 การควบคุมคุณภาพ

7.2.4.1 วิเคราะห์ Blank ทุก 20 ตัวอย่าง โดยผลวิเคราะห์จะต้อง $\leq \text{LOD} = 0.25 \%$

7.2.4.2 ทำการวิเคราะห์ 2 ซ้ำ ทุก ๆ 10 ตัวอย่าง โดยพิจารณาค่า Relative Percent Difference(RPD) ต้องน้อยกว่าหรือเท่ากับ 10 %

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

7.2.4.3 วิเคราะห์ตัวอย่างควบคุมคุณภาพภายใน (IQC) ทุก 10 ตัวอย่าง โดยผลวิเคราะห์จะต้องอยู่ในช่วง Control Limit ($\pm 2\text{SD}$) ของแผนภูมิควบคุมคุณภาพ

7.2.4.4 ทำ Spike Recovery โดย Spike Standard ($(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4$), ลงในตัวอย่างที่วิเคราะห์ทุก 20 ตัวอย่างโดยพิจารณาค่า % Recovery จะต้องอยู่ในช่วง 90-110%

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

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

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

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

7.3. ตรวจสอบความใช้ได้ของวิธีวิเคราะห์แอมโมเนียมไนโตรเจนในปุ๋ยเคมี

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

7.3.1.1 ชั่ง Sample blank น้ำหนัก 0.2xxx กรัม จำนวน 10 ชั่ง

7.3.1.2 ดำเนินการวิเคราะห์ตามวิธีวิเคราะห์แอมโมเนียมไนโตรเจน

7.3.1.3 บันทึกข้อมูล หาค่าเฉลี่ย ค่าเบี่ยงเบนมาตรฐาน

7.3.1.4 ทดสอบความแม่นยำและความเที่ยงที่ระดับความเข้มข้นเท่ากับ LOQ

7.3.1.5 คำนวณหา %Recovery และ Relative Standard Deviation (%RSD_r) ที่ระดับความเข้มข้นเท่ากับ LOQ

หมายเหตุ กรณีที่ค่าเบี่ยงเบนมาตรฐานเท่ากับ 0 หรือ Sample blank ไม่สามารถวัดได้ ให้เติมสารมาตรฐานลงใน Sample blank ในระดับต่ำสุดที่ยอมรับได้ แล้วจึงดำเนินการตามข้อ

7.3.1.1-7.3.1.5

7.3.2 การหาค่า Accuracy และ Precision ของวิธีวิเคราะห์แอมโมเนียมไนโตรเจนที่ระดับความเข้มข้น ต่ำ กลาง สูง

7.3.2.1 ชั่ง CRM/RM ที่มีความเข้มข้นต่ำ กลาง สูง อย่างน้อยความเข้มข้นละ 7 ชั่ง พร้อมทำ Blank

- ที่ระดับความเข้มข้นต่ำ 1.00 % เตรียมโดยการละลาย Ammonium Sulfate (Aldrich Chem. 204501) น้ำหนัก 4.7170 g ในน้ำกลั่น แล้วปรับปริมาตรเป็น 100 ml

- ที่ระดับความเข้มข้นกลาง 13.03 % ใช้ CRM - Calcium ammonium nitrate

- ที่ระดับความเข้มข้นสูง 21.20 % ใช้ Ammonium Sulfate (Aldrich Chem. 204501)

7.3.2.2 ดำเนินการวิเคราะห์ตามวิธีวิเคราะห์แอมโมเนียมไนโตรเจนในปุ๋ยเคมี โดยนักวิเคราะห์คนเดียวกัน เครื่องมือชุดเดียวกัน ในเวลาเดียวกันหรือใกล้เคียงกัน

7.3.2.3 หาค่าเฉลี่ย ส่วนเบี่ยงเบนมาตรฐาน (SD)

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

7.3.3 การหาค่า Accuracy และ Precision ของวิธีวิเคราะห์แอมโมเนียมไนโตรเจนในสารตัวเติม (Matrix effect) ที่ระดับความเข้มข้น ต่ำ กลาง สูง

7.3.3.1 ชั่ง CRM ที่มีความเข้มข้นต่ำ กลาง สูง อย่างน้อยความเข้มข้นละ 7 ชั่ง เติมลงในตัวอย่างปุยพร้อมทำ Blank

- ที่ระดับความเข้มข้นต่ำ 1.00 % เตรียมโดยการละลาย Ammonium Sulfate

(Aldrich Chem. 204501) น้ำหนัก 4.7170 g ในน้ำกลั่น แล้วปรับปริมาตรเป็น 100 ml

- ที่ระดับความเข้มข้นกลาง 13.03 % ใช้ CRM - Calcium ammonium nitrate

- ที่ระดับความเข้มข้นสูง 21.20 % ใช้ Ammonium Sulfate (Aldrich Chem. 204501)

7.3.3.2 ดำเนินการวิเคราะห์ตามวิธีวิเคราะห์ฟอสเฟตทั้งหมดในปุ๋ยเคมี โดยนักวิเคราะห์คนเดียวหรือหลายคน เครื่องมือชุดเดียวกัน ในเวลาเดียวกันหรือใกล้เคียงกัน

7.3.3.3 หาค่าเฉลี่ย ส่วนเบี่ยงเบนมาตรฐาน

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

7.3.4 การหาค่า Intermediate Precision ของวิธีวิเคราะห์แอมโมเนียมไนโตรเจน

7.3.4.1 ชั่ง CRM หรือ Spiked sample blanks หรือ ตัวอย่าง ที่ 3 ระดับความเข้มข้น ต่ำ กลาง สูง อย่างน้อยความเข้มข้นละ 10 ชั่ง

7.3.4.2 ดำเนินการวิเคราะห์ตามวิธีวิเคราะห์แอมโมเนียมไนโตรเจนในปุ๋ยเคมี โดยนักวิเคราะห์คนเดียวหรือมากกว่า 1 คน ในเวลาที่แตกต่างกัน

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

8. ระยะเวลาดำเนินการ

ตุลาคม 2557 - กันยายน 2558

9. สถานที่ดำเนินการ

ห้องปฏิบัติการสำนักวิจัยและพัฒนาการเกษตรเขตที่ 2 พิษณุโลก

10. ผลการทดลองและวิจารณ์

จากการตรวจสอบความใช้ได้ของวิธีวิเคราะห์แอมโมเนียมไนโตรเจนในปุ๋ยเคมี ได้ผลการทดลองดังนี้

10.1 การหาค่า LOD และ LOQ ของวิธีวิเคราะห์ โดยการวิเคราะห์ Sample blank จำนวน 10 ชั่ง ได้ค่าเฉลี่ย และส่วนเบี่ยงเบนมาตรฐานเท่ากับ 0.08 และ 0.02 % คำนวณหาค่า LOD, LOQ ได้เท่ากับ 0.20 และ 1.00 % (ตารางที่ 1) ค่าความแม่นยำที่ระดับความเข้มข้นเท่ากับ LOQ ประเมินจาก % Recovery ได้เท่ากับ 98.92 % อยู่ในเกณฑ์ที่ยอมรับคือ 95-105 % และค่าความเที่ยงประเมินโดย

ใช้ HORRAT ได้เท่ากับ 0.84 อยู่ในเกณฑ์ที่ยอมรับ คือ < 2 ดังนั้นผลการทดสอบความแม่นยำและความเที่ยงที่ระดับ LOQ = 1.00 % มีความแม่นยำและความเที่ยงที่ยอมรับได้

10.2 หาค่าของความแม่นยำ และความเที่ยงของวิธีวิเคราะห์แอมโมเนียมไนโตรเจนในปุ๋ยเคมี โดยการวิเคราะห์ CRM ที่ระดับ ต่ำ กลาง สูง อย่างน้อยความเข้มข้นละ 7 ซ้ำ คำนวณหาค่าเฉลี่ย แล้วนำผลที่ได้ไปประเมินความแม่นยำโดยใช้ % Recovery คำนวณหาค่าส่วนเบี่ยงเบนมาตรฐาน(SD) Relative Standard Deviation (%RSD_r) เพื่อหาความเที่ยงประเมินโดยใช้ HORRAT จากตารางที่ 2 ที่ระดับความเข้มข้น ต่ำ(1.00 %) กลาง(13.03 %) สูง (21.20 %) มี % Recovery เท่ากับ 99.10 100.17 และ 100.57 ตามลำดับ อยู่ในเกณฑ์ที่ยอมรับ คือ 98 – 102 % มีค่า HORRAT เท่ากับ 0.59 0.62 และ 0.53 ตามลำดับ พบว่าอยู่ในเกณฑ์ที่ยอมรับคือ น้อยกว่า 2

10.3 ค่าของความแม่นยำและความเที่ยง ของวิธีวิเคราะห์แอมโมเนียมไนโตรเจนในปุ๋ยเคมีที่มีสารตัวเติม (Matrix effect) โดยการวิเคราะห์ CRM ที่ระดับ ต่ำ กลาง สูง ที่เติมลงในตัวอย่างปุ๋ย อย่างน้อยความเข้มข้นละ 7 ซ้ำ คำนวณหาค่าเฉลี่ย แล้วนำผลที่ได้ไปประเมินความแม่นยำโดยใช้ % Recovery คำนวณหาค่าส่วนเบี่ยงเบนมาตรฐาน(SD) และ Relative Standard Deviation (%RSD_r) เพื่อหาความเที่ยงประเมินโดยใช้ HORRAT จากตารางที่ 3 ที่ระดับความเข้มข้น ต่ำ(1.00 %) กลาง(13.03 %) สูง (21.20 %) มี % Recovery เท่ากับ 100.10 99.99 และ 100.06 ตามลำดับ อยู่ในเกณฑ์ที่ยอมรับคือ 98 – 102 % มีค่า HORRAT เท่ากับ 0.58 0.65 และ 0.76 ตามลำดับ พบว่าอยู่ในเกณฑ์ที่ยอมรับคือ น้อยกว่า 2

10.4 การหาค่า Intermediate Precision โดยการวิเคราะห์ตัวอย่างปุ๋ยที่ 3 ระดับความเข้มข้นต่ำ(Spike sample 1.00 %) กลาง(12-60-0) สูง(21-0-0) ความเข้มข้นละ 10 ซ้ำ ในเวลาที่แตกต่างกัน นำผลที่ได้มาคำนวณหาค่าเฉลี่ย ค่าส่วนเบี่ยงเบนมาตรฐาน(SD) และ Relative Standard Deviation (%RSD_r) เพื่อหาความเที่ยงประเมินโดยใช้ HORRAT

จากตารางที่ 4 พบว่า ผลการหาค่า Intermediate Precision ของวิธีวิเคราะห์แอมโมเนียมไนโตรเจนในตัวอย่างปุ๋ยเคมีที่ระดับ ต่ำ กลาง สูง ในเวลาที่แตกต่างกัน พบว่ามีค่าความเที่ยง ประเมินโดย HORRAT มีค่าเท่ากับ 0.48 0.57 และ 0.59 ซึ่งอยู่ในเกณฑ์ที่ยอมรับ คือ น้อยกว่า 2

ตารางที่ 1 ผลการวิเคราะห์แอมโมเนียมไนโตรเจนในตัวอย่าง (Sample blank)

| ครั้งที่ | % NH ₄ ⁺ -N |
|----------|-----------------------------------|
| 1 | 0.07 |
| 2 | 0.12 |
| 3 | 0.06 |
| 4 | 0.07 |
| 5 | 0.11 |

| | |
|-----------|------|
| 6 | 0.07 |
| 7 | 0.09 |
| 8 | 0.07 |
| 9 | 0.08 |
| 10 | 0.08 |
| ค่าเฉลี่ย | 0.08 |
| SD | 0.02 |

$$\text{LOD} = \text{ค่าเฉลี่ย} + 3\text{SD} \quad \text{LOD} = 0.08 + (3 \times 0.02) = 0.2 \quad \% \text{NH}_4^+\text{-N}$$

$$\text{LOQ} = \text{ค่าเฉลี่ย} + 10\text{SD} \quad \text{LOQ} = 0.08 + (10 \times 0.02) = 1.0 \quad \% \text{NH}_4^+\text{-N}$$

ตารางที่ 2 ผลวิเคราะห์ปริมาณแอมโมเนียมไนโตรเจนในปุ๋ยเคมี โดยใช้ CRM ที่ระดับความเข้มข้นต่ำ
กลาง สูง

| ครั้งที่ | ความเข้มข้น(%NH ₄ ⁺ -N) | | |
|------------|---|---------------------------|-----------------------------|
| | 1.00 (Dilute : Ammonium Sulfate) | 13.04 (Superphosphate) | 21.20 (Ammonium Sulfate) |
| 1 | 0.97 | 13.10 | 21.08 |
| 2 | 0.98 | 13.08 | 20.79 |
| 3 | 1.02 | 12.93 | 21.15 |
| 4 | 1.00 | 13.22 | 21.25 |
| 5 | 0.98 | 12.85 | 20.95 |
| 6 | 0.98 | 12.84 | 21.26 |
| 7 | 0.99 | 12.84 | 21.25 |
| 8 | 0.98 | 12.92 | 21.19 |
| 9 | 0.97 | 12.91 | 21.37 |
| 10 | 0.98 | 12.83 | 21.19 |
| ค่าเฉลี่ย | 0.99 | 13.02 | 21.12 |
| SD | 0.02 | 0.06 | 0.32 |
| % Recovery | 99.1 | 100.17 | 100.57 |

| | | | |
|--------------------------|------|------|------|
| %RSD | 1.54 | 0.49 | 1.50 |
| %RSD _{expected} | 2.64 | 1.79 | 1.67 |
| HORRAT | 0.59 | 0.62 | 0.53 |
| T-test | 2.12 | 2.19 | 0.95 |

เกณฑ์ยอมรับ (AOAC)

1. % Recovery : ปริมาณสารในตัวอย่างตั้งแต่ 1 – 10 % เท่ากับ 97 – 103 %
ปริมาณสารในตัวอย่างตั้งแต่ 10 – 100 % เท่ากับ 98 – 102 %
2. HORRAT (Horwitz's Ratio) : < 2
3. T-test (n = 10) : < 2.26

ตารางที่ 3 ผลวิเคราะห์ปริมาณแอมโมเนียมไนโตรเจนในปุ๋ยเคมีที่มีสารตัวเติม(Matrix effect)โดยใช้ CRM ที่ระดับความเข้มข้นต่ำ กลาง สูง

| ครั้งที่ | ความเข้มข้น (%NH ₄ ⁺ -N) | | |
|----------|---|---------------------------|-----------------------------|
| | Sample + 1.00 (Dilute : Ammonium Sulfate) | 13.04 (Superphosphate) | 21.20 (Ammonium Sulfate) |
| 1 | 0.98 | 12.85 | 20.72 |
| 2 | 1.00 | 12.87 | 20.28 |
| 3 | 0.96 | 12.92 | 20.97 |
| 4 | 0.95 | 12.79 | 21.34 |
| 5 | 0.96 | 12.98 | 21.17 |
| 6 | 1.01 | 12.89 | 20.85 |
| 7 | 1.00 | 13.34 | 21.21 |
| 8 | 1.02 | 12.84 | 21.17 |
| 9 | 0.99 | 12.77 | 21.25 |
| 10 | 0.98 | 12.99 | 21.01 |

| | | | |
|--------------------------|--------|-------|--------|
| ค่าเฉลี่ย | 1.00 | 13.00 | 21.01 |
| SD | 0.02 | 0.05 | 0.06 |
| % Recovery | 100.10 | 99.99 | 100.06 |
| %RSD | 2.08 | 0.39 | 0.28 |
| %RSD _{expected} | 2.64 | 1.79 | 1.67 |
| HORRAT | 0.58 | 0.65 | 0.76 |
| T-test | 1.54 | 21.98 | 2.10 |

เกณฑ์ยอมรับ (AOAC)

1. % Recovery : ปริมาณสารในตัวอย่างตั้งแต่ 1 – 10 % เท่ากับ 97 – 103 %
ปริมาณสารในตัวอย่างตั้งแต่ 10 – 100 % เท่ากับ 98 – 102 %
2. HORRAT (Horwitz's Ratio) : < 2
3. T-test (n = 10) : < 2.26

ตารางที่ 4 ผลการหาความเที่ยงของวิธีวิเคราะห์แอมโมเนียมไนโตรเจนในปุ๋ยเคมี ที่ระดับต่ำ กลาง สูง ในเวลาที่แตกต่างกัน

| ครั้งที่ | ความเข้มข้น(% NH ₄ ⁺ -N) | | |
|-----------|--|---------|--------|
| | Spike Sample + 1.00 % (NH ₄) ₂ SO ₄ | 12-60-0 | 21-0-0 |
| 1 | 0.98 | 11.99 | 21.15 |
| 2 | 0.97 | 11.96 | 20.87 |
| 3 | 1.00 | 12.07 | 20.99 |
| 4 | 0.98 | 12.14 | 20.79 |
| 5 | 1.00 | 12.29 | 20.90 |
| 6 | 0.98 | 12.17 | 20.76 |
| 7 | 0.97 | 11.87 | 21.28 |
| 8 | 0.98 | 12.02 | 20.87 |
| 9 | 0.96 | 11.92 | 21.02 |
| 10 | 0.97 | 11.93 | 20.60 |
| ค่าเฉลี่ย | 0.98 | 12.04 | 20.92 |
| SD | 0.01 | 0.13 | 0.20 |

| | | | |
|--------------------------|------|------|------|
| %RSD | 1.31 | 1.09 | 0.94 |
| %RSD _{expected} | 2.64 | 1.79 | 1.67 |
| HORRAT | 0.48 | 0.57 | 0.59 |

เกณฑ์ยอมรับ (AOAC)

HORRAT (Horwitz's Ratio) : < 2

สรุปผลการดำเนินงานและข้อเสนอแนะ

จากผลการตรวจสอบความใช้ได้ของวิธีวิเคราะห์แอมโมเนียมไนโตรเจนในปุ๋ยเคมี โดยศึกษาขีดจำกัดของการตรวจพบและปริมาณ (Limit of Detection และ Limit of Quantitation) และประเมินคุณลักษณะของวิธีด้วยวิธีทางสถิติ สามารถสรุปได้ดังนี้

1. ขีดจำกัดของการตรวจพบ(Limit of Detection, LOD), ขีดจำกัดของการวัดเชิงปริมาณ (Limit of Quantitation, LOQ) มีค่าเท่ากับ 0.20 และ 1.00 % $\text{NH}_4^+\text{-N}$
2. ค่าความแม่นยำ (Accuracy) ของการวิเคราะห์แอมโมเนียมไนโตรเจนในปุ๋ยเคมี โดยใช้ CRM ที่ระดับความเข้มข้นต่ำ (1.00 %), กลาง (13.03 %), สูง (21.20 %) มีค่าเปอร์เซ็นต์การกลับคืนเท่ากับ 99.10 100.17 100.57 % ซึ่งอยู่ในเกณฑ์ที่ยอมรับ และมีค่าความเที่ยง (Precision) โดยพิจารณาจาก ค่า HORRAT เท่ากับ 0.59 0.62 0.53 ซึ่งอยู่ในเกณฑ์ที่ยอมรับ คือ น้อยกว่า 2
3. ค่าความแม่นยำ(Accuracy)ของการวิเคราะห์แอมโมเนียมไนโตรเจนในปุ๋ยเคมีที่มีสารตัวเติมที่ระดับความเข้มข้นต่ำ (1.00 %), กลาง (13.03 %), สูง (21.20 %) มีค่าเปอร์เซ็นต์การ

กลับคืนเท่ากับ 100.10 99.99 100.06 % ซึ่งอยู่ในเกณฑ์ที่ยอมรับ และมีค่าความเที่ยง โดยพิจารณาจากค่า HORRAT เท่ากับ 0.58 0.65 0.76 ซึ่งอยู่ในเกณฑ์ที่ยอมรับ คือ น้อยกว่า 2

4. ค่า Intermediate precision ที่ระดับ ต่ำ กลางสูง โดยพิจารณาจากค่า HORRAT เท่ากับ 0.48 0.57 0.59 ซึ่งอยู่ในเกณฑ์ที่ยอมรับ คือ น้อยกว่า 2

จากการประเมินคุณลักษณะข้างต้นสามารถแสดงได้ว่าวิธีวิเคราะห์แอมโมเนียมไนโตรเจนในปุ๋ยเคมีมีความแม่นยำและความเที่ยงอยู่ในเกณฑ์ที่ยอมรับสามารถนำไปใช้ในห้องปฏิบัติการได้

ข้อเสนอแนะ

1. เมื่อห้องปฏิบัติการทำการตรวจสอบความใช้ได้ของวิธี และได้รับรองความสามารถของห้องปฏิบัติตามข้อกำหนดมาตรฐาน ISO : IEC 17025 ส่งผลให้ผู้ขอรับบริการมีความเชื่อถือในผลการวิเคราะห์ ลดการโต้แย้งได้
2. การตรวจสอบความใช้ได้ของวิธีวิเคราะห์แอมโมเนียมไนโตรเจนในปุ๋ยเคมี ใช้เป็นแนวทางในการตรวจสอบความใช้ได้ของวิธีวิเคราะห์แอมโมเนียมไนโตรเจนในตัวอย่างประเภทอื่นได้

เอกสารอ้างอิง

กลุ่มวิจัยเกษตรเคมี. 2551. คู่มือวิเคราะห์ปุ๋ยเคมี. สำนักวิจัยพัฒนาปัจจัยการผลิตทางการเกษตร กรมวิชาการเกษตร. 66 หน้า

คณะกรรมการด้านวิชาการของกรมวิทยาศาสตร์การแพทย์. 2554. แนวทางการจัดทำความ

สมเหตุสมผลของการวัด. สำนักงานพระพุทธศาสนาแห่งชาติ. กรุงเทพฯ. 131 หน้า

ดุษฎี มั่นความดี. เอกสารประกอบการอบรม เรื่อง การตรวจสอบความใช้ได้ของวิธี. กรมวิทยาศาสตร์บริการ.

ทิพวรรณ นิ่งน้อย. 2549. แนวปฏิบัติการทดสอบความถูกต้องของวิธีวิเคราะห์ทางเคมีโดย

- ห้องปฏิบัติการเดียว. กรมวิทยาศาสตร์การแพทย์ กระทรวงสาธารณสุข. 124 หน้า
- AOAC. 2005. Official Method of Analysis of The Association Of Official Analytical Chemist. AOAC International Inc., Gaithersberg MD.
- ASTM. 2001. Standard Practice for Preparation, Standardization, and Storage of Standard and Reagent Solutions for Chemical Analysis. ASTM International, West Conshohoken, PA.
- The National Institute of Agro-Environmental Sciences. 1987. Official Methods of Analysis of Fertilizers. Foundation Norin Kosaikai, Tsukuba-shi, Ibaraki-ken, 130 pp