

รายงานผลงานเรื่องเต็มการทดลองที่สิ้นสุด

1. ชุดโครงการวิจัย : วิจัยและพัฒนาปัจจัยการผลิตทางการเกษตร
2. โครงการวิจัยที่ 171: การพัฒนาระบบการตรวจวิเคราะห์พืชและปัจจัยการผลิตทางการเกษตร
 - กิจกรรมที่ 1 : พัฒนาระบบการตรวจวิเคราะห์ปุ๋ย พืช ดิน น้ำ สารอินทรีย์ สารควบคุมการเจริญเติบโตพืช สารสกัด และวัตถุอันตรายทางการเกษตร
 - กิจกรรมย่อยที่ 1.3 : พัฒนาเทคนิคระบบการตรวจวิเคราะห์ และตรวจสอบความใช้ได้ของวิธีวิเคราะห์ดิน
3. ชื่อการทดลองที่ 1.3.3 ตรวจสอบความใช้ได้ของวิธีวิเคราะห์ซัลเฟอร์ของดิน
Method Validation of Sulfur in Soil.
4. คณะผู้ดำเนินงาน

หัวหน้าการทดลอง	นางสาวสุภา โปธิจันทร์	สังกัด	กลุ่มวิจัยเกษตรเคมี สปผ.
ผู้ร่วมงาน	นางสาวจิตติรัตน์ ชูชาติ	สังกัด	กลุ่มวิจัยเกษตรเคมี สปผ.
	นางสาวญาณธิชา จิตต์สะอาด	สังกัด	กลุ่มวิจัยเกษตรเคมี สปผ.
	นางสาวพจมาลย์ แก้ววิมล	สังกัด	กลุ่มวิจัยเกษตรเคมี สปผ.

5. บทคัดย่อ

การตรวจสอบความใช้ได้ของวิธีวิเคราะห์ปริมาณซัลเฟอร์ในดิน เพื่อให้ผลวิเคราะห์มีความถูกต้อง แม่นยำ เชื่อถือได้ และสามารถอ้างอิงได้ตามมาตรฐานสากล ดำเนินการที่ห้องปฏิบัติการวิเคราะห์ดิน กลุ่มงานวิจัยระบบตรวจสอบคุณภาพดินและน้ำ กลุ่มวิจัยเกษตรเคมี กองวิจัยพัฒนาปัจจัยการผลิตทางการเกษตร ทดสอบและประเมินผลการทดสอบ ช่วงความเป็นเส้นตรงของกราฟมาตรฐานของวิธีวิเคราะห์ (Range), ช่วงความเป็นเส้นตรงของกราฟมาตรฐานที่จะนำมาใช้งาน (Linearity), ปริมาณต่ำสุดที่สามารถวิเคราะห์ได้ (Limit of detection, LOD), ปริมาณต่ำสุดที่สามารถวิเคราะห์และรายงานผลได้ (Limit of quantitation, LOQ), ความถูกต้องของการวิเคราะห์ (Accuracy) และความแม่นยำของการวิเคราะห์ (Precision) ผลการศึกษา พบว่า Range ของวิธีวิเคราะห์อยู่ในช่วง 0-57.8994 mg/L มีค่า Linearity ตั้งแต่ 0-52.1566 mg/L โดย Correlation coefficient (r) มีค่า เท่ากับ 0.9995 ค่า LOD และ LOQ ของวิธีวิเคราะห์ เท่ากับ 1.660 และ 5.532 mg/L ตามลำดับ ตรวจสอบ Accuracy โดยประเมินจากความแตกต่างระหว่างผลการวิเคราะห์กับค่าจริงและประเมินจากช่วงของความเชื่อมั่น พบว่า อยู่ในเกณฑ์กำหนด และมี %Recovery อยู่ในเกณฑ์กำหนด รวมทั้ง Precision ของการวิเคราะห์ที่ประเมินจากค่า RSD โดยใช้ HORRAT (Horwitz's ratio) พบว่า ค่า HORRAT ต่ำกว่า 2 ผ่านเกณฑ์ยอมรับ แสดงว่า การวิเคราะห์ซัลเฟอร์ในดินโดยใช้น้ำยาสกัด Calcium tetrahydrogen Di-orthophosphate และวิเคราะห์โดยวิธีวัดความขุ่น (turbidimetry) เป็นวิธีทดสอบที่ให้ผลเป็นที่ยอมรับได้และเป็นวิธีมาตรฐานสำหรับห้องปฏิบัติการวิเคราะห์ดิน

Abstract

Method validation of Sulfur in soil aimed at achieve the result which is accurate, precise, reliable and referable to international standard, the analysis method validation is needed. The studied at Soil Analysis laboratory of Agricultural Production Science Research and Development Division. The range, linearity, limit of detection (LOD), limit of quantitation (LOQ), accuracy and precision were analyzed. The characteristics of the method showed that range was linearity at 0-57.8994 mg/L it has correlation coefficient (r) = 0.9992, Linearity of analysis at 0-52.1566 mg/L has r =0.9995. Limit of detection (LOD) and limit of quantitation (LOQ) were 1.660 and 5.532 mg/L respectively. The accuracy base on the confidence interval and %recovery of CRM were accepted. The precision evaluated by HORRAT values were accepted. So, analytical sulfur in soil by Calcium tetrahydrogen Di-orthophosphate extraction and analyze by turbidimetric method was referable international standard. Therefore, this validate method was fit for the intended use.

6. คำนำ

ซัลเฟอร์ หรือ กำมะถัน จัดเป็นธาตุอาหารพืชในกลุ่มธาตุอาหารรอง โดยทั่วไปพืชต้องการใช้ในปริมาณที่น้อยกว่าธาตุหลัก แต่มีความจำเป็นต่อพืชมาก เนื่องจากธาตุกำมะถันเป็นส่วนประกอบที่สำคัญของกรดอะมิโน (amino acid) 2 ตัว คือ ซีสเตอีน (cysteine) และ เมไทโอนีน (methionine) กำมะถันยังเป็นองค์ประกอบของวิตามิน เช่น ไทอามีน (thiamine) ใน โคเอนไซม์ (coenzyme) และกำมะถันเป็นองค์ประกอบที่สำคัญของสารระเหยของพืช ทำให้พืชมีกลิ่นเฉพาะตัว เช่น กลิ่นของกระเทียม และกลิ่นของทุเรียน เป็นต้น กำมะถันที่พบบนเปลือกโลก ส่วนใหญ่จะอยู่ในรูปซัลไฟด์ (sulfide) ซัลเฟต (sulfate) แร่ที่มีกำมะถันเป็นองค์ประกอบ ส่วนใหญ่จะเป็นองค์ประกอบของหินอัคนีที่ผุพังสลายตัวในรูปของโลหะซัลไฟด์ เมื่อซัลไฟด์อยู่ในสภาพที่พอเหมาะก็จะถูกออกซิไดส์ให้อยู่ในรูปของซัลเฟต เช่น เกลือของซัลเฟตส่วนใหญ่พบในดินบริเวณแห้งแล้ง หรือกึ่งแห้งแล้ง กำมะถันบางส่วนได้มาจากซากพืชซากสัตว์ซึ่งสะสมอยู่ในรูปของอินทรีย์กำมะถัน บางส่วนได้มาจากการละลายมากับน้ำฝนของก๊าซซัลเฟอร์ไดออกไซด์ (SO_2) ที่ตกลงมาสู่ดิน จากนั้นจะเปลี่ยนรูปจาก อนุมูลซัลเฟต (SO_4^{2-}) ไปอยู่ในรูปของซัลไฟด์ด้วยกิจกรรมของจุลินทรีย์ และกำมะถันบางส่วนได้จากการใส่ปุ๋ยลงไปในดิน รูปของกำมะถันในดินที่เป็นประโยชน์ต่อพืช มี 2 คือ อินทรีย์กำมะถัน จะอยู่ในรูปของอนุมูลซัลเฟตละลายอยู่ในสารละลายดิน พืชสามารถนำไปใช้ประโยชน์ได้ อินทรีย์กำมะถัน ซึ่งต้องผ่านกระบวนการย่อยสลายของจุลินทรีย์ก่อนพืชจึงจะสามารถนำไปใช้ประโยชน์ได้ การเจริญเติบโตและขนาดของใบพืชจะเล็กลง บางครั้งใบอ่อนจะมีสีเหลืองซีด ถ้าขาดอย่างรุนแรง ใบจะเหี่ยวยุบ ลำต้นเล็ก พบในพืชที่ขึ้นอยู่บนดินที่อินทรีย์วัตถุต่ำ บริเวณที่ฝนตกปานกลางและตกหนัก แต่โดยปกติแล้วดินมักจะไม่ค่อยขาด ธาตุกำมะถันอาจจะสูญเสียไปจากดินในส่วนที่ติดไปกับผลผลิตของพืช หรือกระบวนการชะล้าง (leaching) ตลอดจนการระเหยไปในรูปของก๊าซไฮโดรเจนซัลไฟด์ ทำให้ดินมีโอกาสขาดธาตุกำมะถันได้

การวิเคราะห์ปริมาณซัลเฟตในดิน ของกลุ่มงานวิจัยระบบตรวจสอบคุณภาพดินและน้ำ กลุ่มวิจัยเกษตรเคมี กองวิจัยพัฒนาปัจจัยการผลิตทางการเกษตร ใช้วิธีการตามคู่มือวิเคราะห์ดินทางเคมีและฟิสิกส์ (กลุ่มวิจัยเกษตรเคมี, 2553) โดยอนุมูลซัลเฟตที่อยู่ในดินจะถูกสกัดออกมาด้วยสารละลาย Calcium tetrahydrogen Di-orthophosphate โดย Phosphate ion ของสารละลายจะเข้าไปแทนที่ Sulfate ion ที่ดูดซับอยู่ที่ผิวดิน วิเคราะห์โดยวิธีการวัดความขุ่น (turbidimetry หรือ Nephelometry) วิธีนี้วิเคราะห์โดยเติม BaCl_2 ลงไปในสารละลายที่สกัดได้ Sulfate ion จะ ทำปฏิกิริยากับ Barium เกิดเป็นตะกอน Barium sulfate (BaSO_4) โดยมีสารละลาย gum acacia ทำหน้าที่พองตะกอนเพื่อไม่ให้ตะกอนตกเร็วเกินไป หลังจากนั้น นำสารละลายที่มีตะกอนของ Barium sulfate ไปวัดความขุ่นด้วย UV-Visible spectrophotometer ที่ความยาวคลื่น 430 นาโนเมตร

การตรวจสอบความใช้ได้ (Validation) คือ การยืนยันโดยการตรวจสอบและจัดหาหลักฐานที่เป็นรูปธรรม เพื่อแสดงว่าข้อกำหนดพิเศษโดยเฉพาะต่างๆสำหรับการใช้ตามที่ตั้งใจไว้โดยเฉพาะสามารถบรรลุผลได้เป็นที่พอใจ (ISO/IEC 17025 : 2005(E)) การตรวจสอบความใช้ได้ของวิธีวิเคราะห์ (Method Validation) คือ กระบวนการหนึ่งซึ่งใช้ในการตัดสินหรือประเมินความเหมาะสมของระบบการวัดในการผลิตข้อมูลการวิเคราะห์ที่เป็นประโยชน์ เนื่องจากวิธีการวิเคราะห์หนึ่งอาจจะใช้ได้กับสถานการณ์หนึ่งแต่อาจใช้ไม่ได้กับอีกสถานการณ์หนึ่ง ดังนั้น ในการนำมาใช้จึงจำเป็นต้องทำการตรวจสอบความใช้ได้ของวิธีวิเคราะห์ (Taylor, 1987) เพื่อเป็นการยืนยันว่าวิธีนั้นๆมีความถูกต้องเหมาะสมกับงานวิเคราะห์ที่จะนำมาใช้และครอบคลุมความต้องการในการนำมาประยุกต์ใช้ Method Validation เกี่ยวข้องกับการหาค่าของตัวชี้วัดความถูกต้องหรือความเหมาะสม (performance characteristics) หรือ analytical parameters ซึ่งมีหลาย parameters เช่น accuracy, precision และการใช้สถิติทดสอบที่เหมาะสมประเมินผลการวิเคราะห์ว่า parameter นั้นๆ จะยอมรับได้หรือไม่ (สถาบันอาหาร, 2543)

กลุ่มงานวิจัยระบบตรวจสอบคุณภาพดินและน้ำ กลุ่มวิจัยเกษตรเคมี กองวิจัยพัฒนาปัจจัยการผลิตทางการเกษตรยังไม่เคยทำการตรวจสอบความใช้ได้ของวิธีวิเคราะห์ซัลเฟตในดินเลย จึงสมควรมีการศึกษาเพื่อให้ได้ข้อมูลไว้เป็นหลักฐานยืนยันว่าวิธีวิเคราะห์ซัลเฟตที่นำมาใช้นั้นเป็นวิธีที่ถูกต้อง เหมาะสม และครอบคลุมความต้องการในการนำมาประยุกต์ใช้

7. วิธีดำเนินงาน

7.1 อุปกรณ์

- 7.1.1 เครื่อง UV-Visible spectrophotometer
- 7.1.2 เครื่องชั่งไฟฟ้าทศนิยม 2 และ 4 ตำแหน่ง
- 7.1.3 เครื่องเขย่า
- 7.1.4 เครื่องแก้วและวัสดุวิทยาศาสตร์อื่นๆ ที่จำเป็นในการวิเคราะห์

7.2 สารเคมี

- 7.2.1 สารละลายมาตรฐานซัลเฟต (SO_4^{2-}) ความเข้มข้น 1000 mg/L
- 7.2.2 Calcium tetrahydrogen Di-orthophosphate ($\text{CaH}_4(\text{PO}_4)_2 \cdot \text{H}_2\text{O}$), AR grade

- 7.2.3 Barium chloride (BaCl_2), AR grade
- 7.2.4 Gum acacia, AR grade
- 7.2.5 Activate charcoal, AR grade
- 7.2.6 Certified Reference Material – CRM, GBW 07412a (22 ± 5 ppm S) และ GBW 07415a (76 ± 10 ppm S)

7.3 การเตรียมสารเคมีและสารละลายมาตรฐาน

- 7.3.1 สารละลาย Calcium tetrahydrogen Di-orthophosphate ($\text{CaH}_4(\text{PO}_4)_2 \cdot \text{H}_2\text{O}$) 500 mg P/L
ชั่ง Calcium tetrahydrogen Di-orthophosphate จำนวน 2.0350 g ใส่ในขวดวัดปริมาตรขนาด 1000 mL ปรับปริมาตรด้วยน้ำกลั่น เขย่าให้เข้ากัน
- 7.3.2 สารละลาย Gum acacia 0.25%
ชั่ง Gum acacia จำนวน 0.25 g ใส่ในขวดวัดปริมาตรขนาด 100 mL ปรับปริมาตรด้วยน้ำกลั่น เขย่าให้เข้ากัน
- 7.3.3 สารละลายมาตรฐานซัลเฟต ความเข้มข้น 100 mg/L
ปิเปตสารละลายมาตรฐานซัลเฟต ความเข้มข้น 1000 mg/L ปริมาณ 50 mL ลงในขวดวัดปริมาตรขนาด 500 mL ปรับปริมาตรด้วยสารละลาย Calcium tetrahydrogen Di-orthophosphate 500 mg P/L เขย่าให้เข้ากัน

7.4 วิธีการวิเคราะห์ซัลเฟอร์ในดิน

- 7.4.1 ชั่งตัวอย่างดินที่บดร่อนผ่านตะแกรงขนาด 2 mm จำนวน 10 g ใส่ใน Erlenmeyer flask ขนาด 125 mL ใส่ Activate charcoal ประมาณ 1 ซ้อนชา หรือ 1 g
- 7.4.2 เติมสารละลาย Calcium tetrahydrogen Di-orthophosphate 500 mg P/L ปริมาณ 50 mL ปิดด้วยแผ่นพาราฟิล์ม เขย่าด้วยเครื่องเขย่า 1 ชั่วโมง แล้วกรองด้วยกระดาษกรองเบอร์ 42
- 7.4.3 ปิเปตสารละลายที่ได้จากการกรอง ปริมาณ 25 mL หลังจากนั้นเติม Barium chloride ประมาณ 1 g เขย่าเบาๆ เพื่อให้ Barium chloride ทำปฏิกิริยากับสารละลายตัวอย่าง แล้วเติม Gum acacia 0.25% ปริมาณ 1 mL ปรับปริมาตรด้วยน้ำกลั่น เขย่าให้เข้ากัน
- 7.4.4 ปิเปตสารละลายมาตรฐานซัลเฟต ความเข้มข้น 100 mg/L ปริมาณ 0, 2, 4, 6, 8 และ 12 mL ใส่ในขวดวัดปริมาตรขนาด 50 mL เติมสารละลาย Calcium tetrahydrogen Di-orthophosphate 500 mg P/L ปริมาณ 25, 23, 21, 19, 17 และ 13 mL เพื่อให้สารละลายมาตรฐานทั้ง 6 ความเข้มข้นมีปริมาตร 25 mL หลังจากนั้นเติม Barium chloride ประมาณ 1 g เขย่าเบาๆ เพื่อให้ Barium chloride ทำปฏิกิริยากับสารละลายตัวอย่าง แล้วเติม Gum acacia 0.25% ปริมาณ 1 mL ปรับปริมาตรด้วยน้ำกลั่น เขย่าให้เข้ากัน จะได้ความเข้มข้น 0, 4, 8, 12, 16 และ 24 mg/L ตามลำดับ
- 7.4.5 นำสารละลายตัวอย่าง (7.5.3) และสารละลายมาตรฐาน (7.5.4) ไปวัดความขุ่นด้วยเครื่อง UV-Visible spectrophotometer ที่ความยาวคลื่น 430 nm ภายในเวลา 30 นาที แล้วนำค่าความ

ค่าที่อ่านได้จากเครื่องมาหาความเข้มข้นของสารละลายตัวอย่างโดยเทียบกับค่าความเข้มข้นของสารละลายมาตรฐาน แล้วนำไปคำนวณหาปริมาณซัลเฟตในดินต่อไป

7.4.6 การคำนวณ

$$\text{ซัลเฟต (SO}_4^{2-}) = \frac{C_{\text{SO}_4^{2-}} \times V \times \text{DF}}{\text{Wt.}}$$

โดยที่	$C_{\text{SO}_4^{2-}}$	คือ	ความเข้มข้นของ SO_4^{2-} ที่อ่านได้จาก Standard curve (mg/L)
	V	คือ	ปริมาตรน้ำยาสกัด (mL)
	DF	คือ	Dilution factor
	Wt.	คือ	น้ำหนักตัวอย่างดิน (g)

ปริมาณซัลเฟตที่เป็นประโยชน์ต่อพืช

$$S \text{ (mg/kg)} = 0.3338 \times \text{ความเข้มข้นของซัลเฟต (SO}_4^{2-}) \text{ (mg/kg)}$$

7.4.7 การตรวจสอบความใช้ได้ของวิธีวิเคราะห์ซัลเฟตในดิน

1) การศึกษาความเป็นเส้นตรงของกราฟมาตรฐานของวิธีวิเคราะห์ (Range)

- ชั่ง Sample Blank (SB) เติม CRM GBW 07415a 5 ระดับความเข้มข้น คือ SB 10 g + CRM 0 g, SB 9 g + CRM 1 g, SB 7 g + CRM 3 g, SB 5 g + CRM 5 g และ SB 3 g + CRM 7 g ระดับละ 3 ซ้ำ
- ดำเนินการวิเคราะห์ซัลเฟตในดิน ตามขั้นตอนการวิเคราะห์ข้อ 7.5
- นำข้อมูลที่ได้มาสร้างกราฟระหว่างปริมาณซัลเฟตกับและค่าเฉลี่ยการดูดกลืนคลื่นแสง
- พิจารณาช่วงที่เป็นเส้นตรง โดยพิจารณาจากค่า Correlation coefficient (r) ต้อง > 0.995 เพื่อนำช่วงที่ได้มาศึกษาความเป็นเส้นตรงของกราฟมาตรฐานที่จะนำมาใช้งาน (Linearity)

2) ศึกษาช่วงความเป็นเส้นตรงของกราฟมาตรฐานที่นำมาใช้งาน (Linearity)

- เลือกช่วงการวิเคราะห์ที่เป็นเส้นตรงที่ได้จากการศึกษา Range โดยชั่ง Sample Blank แล้วเติม CRM GBW 07415a 5 ระดับ คือ SB 10 g + CRM 0 g, SB 9 g + CRM 1 g, SB 8 g + CRM 2 g, SB 6 g + CRM 4 g และ SB 4 g + CRM 6 g ระดับละ 3 ซ้ำ
- ดำเนินการวิเคราะห์ซัลเฟตในดิน ตามขั้นตอนการวิเคราะห์ข้อ 7.5
- นำข้อมูลที่ได้มาสร้างกราฟระหว่างปริมาณซัลเฟตกับและค่าเฉลี่ยการดูดกลืนคลื่นแสง
- พิจารณาช่วงที่เป็นเส้นตรง โดยพิจารณาจากค่า Correlation coefficient (r) ต้อง > 0.995

3) การศึกษาหาค่า Limit of Detection (LOD) และ Limit of Quantitation (LOQ)

- ชั่งตัวอย่างที่มีปริมาณซัลเฟอร์ในดิน ต่ำมาก (Sample Blank) จำนวน 10 ซ้ำ
- ดำเนินการการวิเคราะห์ซัลเฟอร์ในดิน ตามขั้นตอนการวิเคราะห์ข้อ 7.5
- คำนวณหาค่าเฉลี่ย ค่าเบี่ยงเบนมาตรฐาน
- คำนวณหาค่า LOD, LOQ

7.1.1 การศึกษาหาค่า Accuracy ของวิธีวิเคราะห์

- 1) วิเคราะห์ปริมาณซัลเฟอร์ในดินของ CRM, GBW 07412a และ GBW 07415a พร้อมทั้ง reagent blank ระดับละ 10 ซ้ำ โดยทำวันละ 1 ซ้ำ ใช้บุคคล และเครื่องมือเดียวกัน
- 2) ดำเนินการการวิเคราะห์ซัลเฟอร์ในดิน ตามขั้นตอนการวิเคราะห์ข้อ 7.5
- 3) บันทึกข้อมูล ประเมิน % Recovery โดยเปรียบเทียบกับค่าจริงของ CRM

7.1.2 การศึกษาหาค่า Precision ของวิธีวิเคราะห์

- 1) วิเคราะห์ปริมาณซัลเฟอร์ของ CRM, GBW 07412a และ GBW 07415a จำนวน 10 ซ้ำ โดยชั่งวันละ 1 ซ้ำ ใช้บุคคล และเครื่องมือเดียวกัน
- 2) ดำเนินการวิเคราะห์ CEC ตามขั้นตอนการวิเคราะห์ของวิธีวิเคราะห์ใหม่ที่คัดเลือกได้
- 3) บันทึกข้อมูล และคำนวณหาค่า Precision

7.2 สถานที่ดำเนินการ

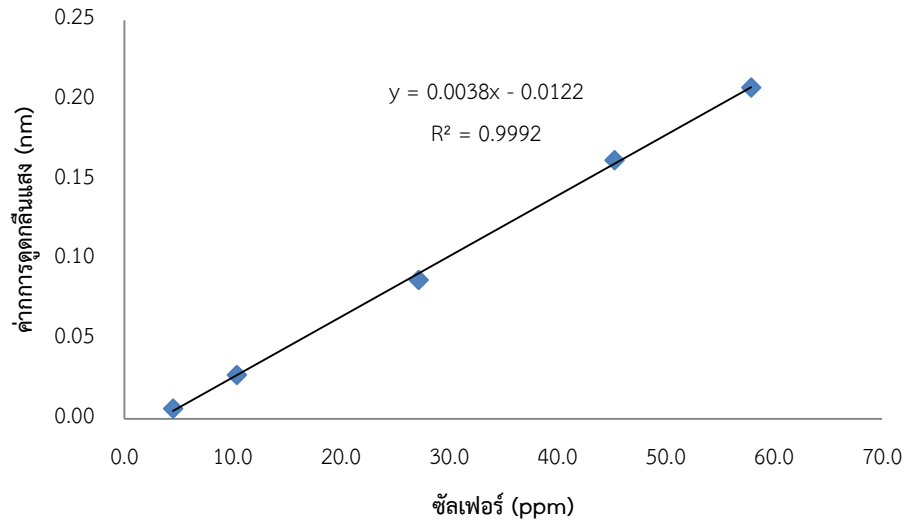
ระยะเวลาทดสอบ : เดือนตุลาคม พ.ศ. 2556 ถึง เดือนกันยายน พ.ศ.2558

สถานที่ทำการทดลอง : ห้องปฏิบัติการกลุ่มงานวิจัยระบบตรวจสอบคุณภาพดินและน้ำ กลุ่มวิจัยเกษตรเคมี กองวิจัยพัฒนาปัจจัยการผลิตทางการเกษตร กรมวิชาการเกษตร

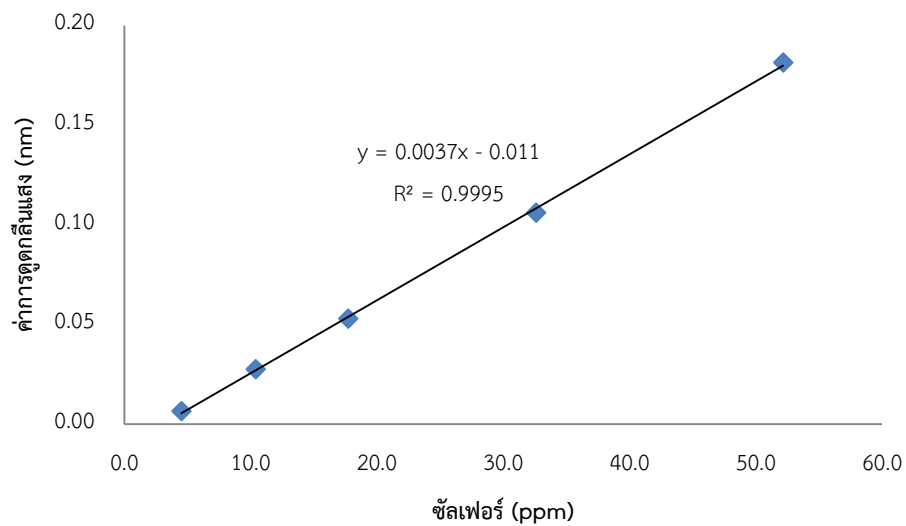
8. ผลการทดลองและวิจารณ์ผล

8.1 การศึกษา Range และ Linearity ของวิธีวิเคราะห์

โดยสร้างกราฟระหว่างปริมาณซัลเฟอร์ (แกน x) ที่วิเคราะห์ได้ กับค่าการดูดกลืนแสง (แกน y) พิจารณาช่วงความเป็นเส้นตรง พบว่าอยู่ในช่วง 0-57.8994 ppm S (รูปที่ 1) เลือกเอาช่วง 0-52.1566 ppm S นำมาหาค่า Linearity ได้ค่า Correlation coefficient (r) เท่ากับ 0.9995 (รูปที่ 2) ซึ่งผ่านเกณฑ์การยอมรับ (ตติย , 2548) จึงเลือกเป็นช่วงใช้งานในห้องปฏิบัติการ



รูปที่ 1 การหาช่วงความเป็นเส้นตรง (Range) ของวิธีวิเคราะห์ซัลเฟอร์ในดิน



รูปที่ 2 ผลการวิเคราะห์หาค่า Linearity ของวิธีวิเคราะห์ซัลเฟอร์ในดิน

8.2.2 การศึกษาหาปริมาณต่ำสุดที่สามารถวิเคราะห์ได้ (Limit of detection, LOD) และปริมาณต่ำสุดที่สามารถวิเคราะห์และรายงานผลได้ (Limit of quantitation, LOQ)

จากการวิเคราะห์ sample blank ที่มีซัลเฟอร์อยู่เป็นองค์ประกอบ (ตารางผนวกที่ 3) จำนวน 10 ซ้ำ คำนวณค่าเฉลี่ย (Average; \bar{x}) และส่วนเบี่ยงเบนมาตรฐาน (Standard deviation; SD) และคำนวณค่า LOD และ LOQ จากสูตร

$$\text{LOD} = 3\text{SD} = 3 \times 0.553 = 1.660 \text{ ppm}$$

$$\text{LOQ} = 10\text{SD} = 10 \times 0.553 = 5.532 \text{ ppm}$$

8.2.3 การศึกษาหาค่า Accuracy ของวิธีวิเคราะห์

วิเคราะห์ปริมาณซัลเฟอร์ในดินของ CRM, GBW 07412a และ GBW 07415a พร้อมทั้ง reagent blank ระดับละ 10 ซ้ำ โดยทำวันละ 1 ซ้ำ ใช้บุคคล และเครื่องมือเดียวกัน คำนวณค่าเฉลี่ยของแต่ละระหว่างผลวิเคราะห์กับค่าจริง (Average; \bar{x}_i) และส่วนเบี่ยงเบนมาตรฐาน (Standard deviation; SD) (ตารางผนวกที่ 3)

1) ประเมินความแตกต่างระหว่างผลวิเคราะห์กับค่าจริง

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

$$\text{เมื่อ } \bar{x}_i = \sum_{i=0}^n \frac{x_i}{n}$$

$$x_i = (x_1 - x_0)$$

μ = ค่าจริง = 22 และ 76 CRM, GBW 07412a และ GBW 07415a ตามลำดับ

ดังนั้น CRM, GBW 07412a $t = \frac{19.094 - 22.000}{1.277/\sqrt{10}} = 0.72$

ช่วง CRM, GBW 07415a $t = \frac{80.396 - 76.000}{1.674/\sqrt{10}} = 0.83$

เกณฑ์การยอมรับ $t < t_c$

$$df = 10 - 1 = 9$$

t_c ที่ $df = 9$ ที่ความเชื่อมั่น 95 % คือ 2.26 แสดงว่าผลการวิเคราะห์ผ่านเกณฑ์การยอมรับ

2) หา %Recovery

$$\%Recovery = t \times \frac{\bar{x}_i}{\mu} \times 100$$

CRM, GBW 07412a $t = \frac{19.094}{22.000} \times 100 = 86.79\%$

CRM, GBW 07415a $t = \frac{80.396}{76.000} \times 100 = 105.78\%$

เกณฑ์การยอมรับ 80-110% แสดงว่าผลการวิเคราะห์ผ่านเกณฑ์การยอมรับ

8.2.4 การศึกษาหาค่า Precision ของวิธีวิเคราะห์

หาค่า Precision โดยวิเคราะห์ปริมาณซัลเฟอร์ในดินของ CRM, GBW 07412a และ GBW 07415a พร้อมทั้ง reagent blank ระดับละ 10 ซ้ำ โดยทำวันละ 1 ซ้ำ ใช้บุคคล โดยวิเคราะห์ คำนวณหาค่า %RSD (ตารางผนวกที่ 3) แล้วประเมินโดยใช้ Horwitz's Ratio (ตติย, 2548)

$$\text{Predicted Horwitz RSD} = 0.66 \times 2^{(1 - 0.5 \log C)}$$

$$\frac{\% RSD}{\text{Predicted Horwitz RSD}}$$

HORRAT (Horwitz's Ratio) =

เกณฑ์การประเมิน Horrat ≤ 2 แสดงว่าผ่านเกณฑ์การยอมรับ

	C	=	concentration ratio
	CRM, GBW 07412a C	=	19.094×10^{-6}
		=	0.000019094
	CRM, GBW 07415a C	=	80.396×10^{-6}
		=	0.000080396
CRM, GBW 07412a	Predicted Horwitz RSD	=	$0.66 \times 2^{(1 - 0.5 \log 0.000019094)}$
		=	4.7902
	HORRAT (Horwitz's Ratio)	=	$6.6882/4.7902$
		=	1.40
CRM, GBW 07415a	Predicted Horwitz RSD	=	$0.66 \times 2^{(1 - 0.5 \log 0.000080396)}$
		=	3.8582
	HORRAT (Horwitz's Ratio)	=	$2.0819/3.8582$
		=	0.54

ค่า HORRAT < 2 ทั้งช่วง CEC ต่ำ ปานกลาง และสูง แสดงว่า Precision ผ่านเกณฑ์การยอมรับ

9. สรุปผลการทดลองและข้อเสนอแนะ

จากการตรวจสอบความใช้ได้ของวิธีวิเคราะห์ซัลเฟอร์ในดิน โดยใช้วิธีการตามคู่มือวิเคราะห์ดินทางเคมี และฟิสิกส์ (กลุ่มวิจัยเกษตรเคมี, 2553) ได้ผลการตรวจสอบดังนี้

- 9.1 ช่วงความเป็นเส้นตรงของกราฟมาตรฐานของวิธีวิเคราะห์ (Range) : อยู่ในช่วง 0-57.8994 ppm S
- 9.2 ช่วงความเป็นเส้นตรงของกราฟมาตรฐานที่จะนำมาใช้งาน (Linearity) : เลือกช่วง 0-52.1566 ppm S มาทดสอบความสัมพันธ์ค่าการดูดกลืนคลื่นแสง (Abs) กับความเข้มข้นของซัลเฟอร์ (mg/L) พบว่า ค่า $r = 0.9995$ ซึ่งอยู่ในเกณฑ์ยอมรับ คือ $r \geq 0.995$
- 9.3 ปริมาณต่ำสุดที่สามารถวิเคราะห์ได้ (Limit of detection, LOD) คือ 1.660 ppm S
- 9.4 ปริมาณต่ำสุดที่สามารถวิเคราะห์และรายงานผลได้ (Limit of quantitation, LOQ) คือ 5.532 ppm S
- 9.5 ความถูกต้องของการวิเคราะห์ (Accuracy) จากการวิเคราะห์ CRM, GBW 07412a และ GBW 07415a พบว่า ได้ค่า %Recovery เท่ากับ 86.79 และ 105.78 % ตามลำดับ
- 9.6 ความแม่นยำของการวิเคราะห์ (precision) จากการวิเคราะห์ CRM, GBW 07412a และ GBW 07415a ประเมินจากค่า %RSD โดยใช้ HORRAT (Horwitz's ratio) พบว่า ได้ค่า HORRAT คือ 1.40 และ 0.54 ตามลำดับ ซึ่งค่าอยู่ในเกณฑ์ยอมรับ คือ Horrat ≤ 2

จากผลการวิเคราะห์ แสดงให้เห็นว่า วิธีวิเคราะห์ปริมาณซัลเฟอร์ในดิน ตามวิธีในคู่มือวิเคราะห์ดินทางเคมีและฟิสิกส์ ให้ผลวิเคราะห์ที่มีความถูกต้อง แม่นยำ และเชื่อถือ ผ่านเกณฑ์การยอมรับตามมาตรฐานสากล และมีสมรรถนะดีพอเหมาะสมต่อการใช้งาน

8. การนำผลงานวิจัยไปใช้ประโยชน์

10.1 การวิเคราะห์ซัลเฟอร์ในดิน ตามวิธีในคู่มือวิเคราะห์ดินทางเคมีและฟิสิกส์ สามารถนำมาใช้เป็นวิธีวิเคราะห์มาตรฐานของห้องปฏิบัติการวิเคราะห์ กลุ่มงานวิจัยระบบตรวจคุณภาพดินและน้ำ กลุ่มวิจัยเกษตรเคมี กองวิจัยพัฒนาปัจจัยการผลิตทางการเกษตรได้

10.2 ห้องปฏิบัติการวิเคราะห์ดินทั้งภาครัฐ และเอกชนสามารถนำวิธีการวิเคราะห์นี้ไปใช้ได้

10.3 ข้อมูลที่ได้สามารถใช้ประกอบการขอการรับรอง ISO/IEC 17025

9. คำขอบคุณ

-

10. เอกสารอ้างอิง

กรมวิทยาศาสตร์บริการ. 2553. กระบวนการวิเคราะห์ทางเคมี. ใน เอกสารการฝึกอบรมหลักสูตร “นักวิเคราะห์มืออาชีพสาขาเคมี (Professional Chemical Analysis)”. กระทรวงวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยี, กรุงเทพฯ.

กลุ่มวิจัยเกษตรเคมี. 2553. คู่มือวิธีวิเคราะห์ดินทางเคมีและฟิสิกส์. สำนักวิจัยพัฒนาปัจจัยการผลิตทางการเกษตร กรมวิชาการเกษตร กรุงเทพฯ.

ตติย สีสหรัย. 2548. เอกสารประกอบการอบรม-สัมมนาวิชาการด้านอุตสาหกรรมอาหาร เรื่อง การตรวจพิสูจน์ความถูกต้องของวิธีทดสอบทางเคมี สถาบันอาหาร. กรุงเทพฯ 40 หน้า

สถาบันอาหาร. 2543. การทำ Validation วิธีทดสอบอาหารทางเคมี. เอกสารประกอบการฝึกอบรม . 19 – 20 ตุลาคม 2543 ณ โรงแรมโซลทวินนทาวเวอร์ กรุงเทพฯ

AOAC. 1993. Peer-Verified Method.

ISO / IEC 17025. 2005 (E). General Requirement for The Competence of Testing and Calibration Laboratories. 28 p.

Taylor, J.K. 1987. Quality Assurance of Chemical Measurements. Lewis Publishers, Inc., Chelsea, Michigan. 328 p.

11. ภาคผนวก

ตารางผนวกที่ 1 ค่าการดูดกลืนคลีนแสง (Absorbance) และความเข้มข้นของซัลเฟอร์ (mg/L) ของ sample blank ที่เติม CRM GBW 07415a ปริมาณต่างๆ เพื่อทดสอบช่วงความเป็นเส้นตรงของกราฟมาตรฐาน (Range) ของวิธีวิเคราะห์

CRM	ซ้ำที่ 1		ซ้ำที่ 2		ซ้ำที่ 3		เฉลี่ย	
	abs	ppm S	abs	ppm S	abs	ppm S	abs	ppm S
0	0.0057	4.091	0.0072	4.901	0.0064	4.519	4.5037	0.0064
1	0.0289	11.2698	0.0274	10.8338	0.0265	9.03	10.3779	0.0276
3	0.0896	27.521	0.0867	27.3901	0.0854	26.5829	27.1647	0.0872
5	0.1560	45.0435	0.1620	45.2415	0.1690	45.509	45.2647	0.1623
7	0.2023	57.2654	0.2079	57.6928	0.2135	58.7099	57.8894	0.2079

ตารางผนวกที่ 2 ค่าการดูดกลืนคลื่นแสง (Absorbance) และความเข้มข้นของซัลเฟอร์ (mg/L) ของ sample blank ที่เติม CRM GBW 07415a ปริมาณต่างๆ เพื่อทดสอบ Linearity วิเคราะห์

CRM (g)	ซ้ำที่ 1		ซ้ำที่ 2		ซ้ำที่ 3		เฉลี่ย	
	abs	ppm S	abs	ppm S	abs	ppm S	abs	ppm S
0	0.0057	4.091	0.0072	4.901	0.0064	4.519	4.5037	0.0064
1	0.0289	11.2698	0.0274	10.8338	0.0265	9.03	10.3779	0.0276
2	0.0543	18.3667	0.0532	18.064	0.0512	16.6954	17.7087	0.0529
4	0.1098	32.7708	0.1086	32.7384	0.0997	32.2533	32.5875	0.1060
6	0.1776	51.7474	0.1802	52.0525	0.1864	52.6698	52.1566	0.1814

ตารางผนวกที่ 3 ผลวิเคราะห์ปริมาณซัลเฟอร์ sample blank, reagent blank และ CRM ที่ใช้ในการศึกษา Accuracy และ Precision ของวิธีวิเคราะห์

ซ้ำที่	Sample blank	ปริมาณ IRM-Lb ที่เติม (g)				
		reagent Blank (x_0)	CRM GBW 07412a		CRM GBW 07415a	
			(x_1)	$x_1 - x_0$	(x_1)	$x_1 - x_0$
1	4.091	0	17.656	20.563	80.828	37.058
2	4.901	0	18.564	21.015	78.976	36.987
3	4.081	0	19.342	20.968	81.485	36.367
4	4.519	0	19.879	20.985	82.453	37.246
5	4.27	0	17.784	20.362	79.94	35.964
6	5.587	0	18.675	21.142	78.694	37.124
7	4.006	0	20.432	20.125	82.564	36.951
8	4.337	0	21.675	20.864	80.129	35.854
9	3.61	0	18.98	20.952	77.456	37.145
10	4.067	0	17.956	21.263	81.432	36.285
เฉลี่ย (\bar{x})	4.347	0	19.094	20.824	80.396	36.698
SD	0.553	0	1.277	0.360	1.674	0.526
%RSD	12.726	0	6.688	6.688	2.082	2.082

ตารางผนวกที่ 4 เกณฑ์การยอมรับ %Recovery (AOAC peer-Verified Method, Nov. 1993)

ความเข้มข้นของ analyte ในตัวอย่าง	%Recovery
100%	98-102%
10%	98-102%
1%	97-103%
0.1%	95-105%
100 ppm	90-107%
10 ppm	80-110%
1 ppm	80-110%