

## รายงานเรื่องเติมผลการทดลองที่สิ้นสุด ปีงบประมาณ 2556

- 1.ชุดโครงการวิจัยวิจัย วิจัยและพัฒนาปัจจัยการผลิตทางการเกษตร
- 2.โครงการวิจัย การพัฒนาระบบการตรวจวิเคราะห์พืชและปัจจัยการผลิตทางการเกษตร
  - กิจกรรมที่ 1 พัฒนาระบบตรวจวิเคราะห์ปุ๋ย พืช ดิน น้ำ สารอินทรีย์ สารควบคุมการเจริญเติบโตพืช สารสกัด และวัตถุอันตรายทางการเกษตร
  - กิจกรรมย่อยที่ 1.1 พัฒนาเทคนิคระบบการตรวจวิเคราะห์ และตรวจสอบความใช้ได้ของวิธีวิเคราะห์ปุ๋ย
3. ชื่อการทดลอง (ภาษาไทย) การตรวจสอบความใช้ได้ของวิธีวิเคราะห์ฟอสเฟตทั้งหมดในปุ๋ยเคมี  
ชื่อการทดลอง (ภาษาอังกฤษ) Method Validation on Analysis of Total Phosphate in Chemical Fertilizers
4. คณะผู้ดำเนินงาน
  - ชื่อหัวหน้าโครงการวิจัย นางจิตติมา ยถาภูษานนท์ สังกัด กลุ่มวิจัยเกษตรเคมี สำนักวิจัยพัฒนาปัจจัยการผลิตทางการเกษตร
  - หัวหน้าการทดลอง นางสาวสุพัตรา สุภาการ สังกัด กลุ่มพัฒนาการตรวจพืชและปัจจัยการผลิต สำนักวิจัยและพัฒนาการเกษตรเขตที่ 4
  - ผู้ร่วมงาน นางสาวบังอร แสนคาน สังกัด กลุ่มพัฒนาการตรวจพืชและปัจจัยการผลิต สำนักวิจัยและพัฒนาการเกษตรเขตที่ 4  
นางนัตยา จันทร์ส่อง สังกัด กลุ่มพัฒนาการตรวจพืชและปัจจัยการผลิต สำนักวิจัยและพัฒนาการเกษตรเขตที่ 4

### 5. บทคัดย่อ

การพัฒนาเทคนิคการวิเคราะห์วิธีวิเคราะห์ฟอสเฟตทั้งหมดในปุ๋ยเคมี เพื่อให้ได้เทคนิควิธีการวิเคราะห์ที่ถูกต้อง รวดเร็ว แม่นยำ สามารถอ้างอิงได้ตามมาตรฐานสากล ทำให้เป็นที่ยอมรับ โดยทำการศึกษาหาช่วงความเป็นเส้นตรง (Range and Linearity), ความถูกต้อง (Accuracy), ความแม่นยำ (Precision), และ ปริมาณต่ำสุดที่สามารถวัดได้ (Limit of Detection) ทำการทดลอง ณ ห้องปฏิบัติการกลุ่มพัฒนาการตรวจสอบพืชและปัจจัยการผลิต สำนักวิจัยและพัฒนาการเกษตรเขตที่ 4 โดยใช้วิธี Method of Fertilizer Analysis AOAC Official Methods of Analysis (2005) และ Official Methods of Analysis of Fertilizer 1978 (OMAF) ผลการตรวจสอบพบว่า มีค่า Range ช่วงการวัด ความเข้มข้น 0-7 ppm มีค่า Correlation coefficient เท่ากับ 0.9999 แสดงว่ามีความเป็นเส้นตรงอยู่ในเกณฑ์ยอมรับได้ ศึกษา Linearity

ช่วงการวัด 0-5 ppm ซึ่งเป็นช่วงที่ใช้งานมีค่า Correlation coefficient เท่ากับ 0.9997 แสดงว่าช่วงการใช้งานของวิธีวิเคราะห์ปริมาณฟอสเฟตทั้งหมดในปุ๋ยเคมี มีความสัมพันธ์เป็นเส้นตรง สามารถใช้งานได้ ดำเนินการวิเคราะห์ Certified Reference Material (CRM) ของปุ๋ยสูตร 0-20-0 นำมาประเมินความถูกต้อง (Accuracy) ได้ % recovery เท่ากับ 99.90 และได้ประเมินความแม่นยำ (Precision) โดยใช้สมการของ Horwitz's Ratio พบว่าวิเคราะห์โดยใช้เครื่องมือ บุคคลและเวลาเดียวกัน ได้ค่า HORRAT เท่ากับ 0.24 และวิเคราะห์เวลาต่างกันได้ค่า HORRAT เท่ากับ 0.59 แสดงว่ามีความแม่นยำและความเที่ยงที่สามารถยอมรับได้ หาปริมาณต่ำสุดที่สามารถวัดได้ (LOD) เท่ากับ 0.00948 % และปริมาณต่ำสุดที่สามารถวิเคราะห์และรายงานผลได้ (LOQ) เท่ากับ 0.0316 % ซึ่งค่าที่ได้ทั้งหมดนั้นผ่านเกณฑ์การยอมรับตามมาตรฐานสากล

## คำนำ

การวิเคราะห์หาปริมาณธาตุอาหารในปุ๋ยมีบทบาทสำคัญในการควบคุมคุณภาพของปุ๋ยที่ผลิต หรือนำเข้าเพื่อให้เกษตรกรมีความมั่นใจในคุณภาพปุ๋ยที่นำไปใช้ ดังนั้นผลการวิเคราะห์หาปริมาณธาตุอาหารในปุ๋ยจะต้องมีความถูกต้อง แม่นยำ และรวดเร็ว ห้องปฏิบัติการวิเคราะห์คุณภาพปุ๋ย สำนักวิจัยและพัฒนาการเกษตร เขตที่ 4 จึงมีความจำเป็นต้องพัฒนาเทคนิควิธีการวิเคราะห์เพื่อให้มั่นใจว่าได้ผลการวิเคราะห์ที่ถูกต้อง แม่นยำ และรวดเร็ว

เทคนิควิธีการวิเคราะห์หาปริมาณฟอสเฟตทั้งหมดในปุ๋ยเคมีที่ใช้อยู่ในปัจจุบัน เป็นวิธีที่นักวิชาการรุ่นก่อน ๆ ได้ปรับปรุงดัดแปลง และพัฒนามาจากวิธีวิเคราะห์ของ Method of Fertilizer Analysis AOAC Official Methods of Analysis (2005) และ Official Methods of Analysis of Fertilizer 1978 (OMAF) เพื่อให้มั่นใจในวิธีการวิเคราะห์ที่ใช้อยู่อย่างเหมาะสมกับสภาพการวิเคราะห์ในปัจจุบัน สร้างความเชื่อมั่นด้านการตรวจสอบควบคุมคุณภาพปุ๋ยทำให้ลดข้อโต้แย้งในการนำเข้า ส่งออก และการควบคุมตามกฎหมายพระราชบัญญัติปุ๋ย พ.ศ. 2518 แก้ไขเพิ่มเติม โดยพระราชบัญญัติปุ๋ย (ฉบับที่ 2) พ.ศ. 2550 ที่กรมวิชาการเกษตรรับผิดชอบ ดังนั้นห้องปฏิบัติการวิเคราะห์คุณภาพปุ๋ย สำนักวิจัยและพัฒนาการเกษตร เขตที่ 4 จึงจำเป็นต้องตรวจพิสูจน์ความถูกต้องของวิธีวิเคราะห์ ให้เป็นไปตามมาตรฐานสากล

## วิธีดำเนินการ

### อุปกรณ์และสารเคมี

1. เครื่องชั่งไฟฟ้าทศนิยม 4 ตำแหน่ง
2. เครื่องสเปคโตรโฟโตมิเตอร์
3. ตู้อบ (Hot air oven)
4. ตู้ดูดควัน (Hood)
5. โถดูดความชื้น (Dessicator)
6. Hot Plate
7. Autopipette ขนาด 10 ml

8. Beaker ขนาด 500, 1000 ml
9. Cylinder ขนาด 500, 1000 ml
10. Dispenser ขนาด 25 ml
11. Erlenmeyer flask 125 ml
12. Volumetric flask 100, 250, 2000 ml Class A, Pyrex
13. Volumetric pipette ขนาด 1, 2, 3, 4, 5, 10 ml Class A, Pyrex
14. Tip สำหรับ Autopipete ขนาด 10 ml
15. ยางขัดตะกอน
16. กระจกฉีदनํ้ากลั่น
17. กระจกชั่งสาร
18. กรวยแก้ว เส้นผ่านศูนย์กลาง 7 cm
19. แท่งแก้วคนสาร
20. ซ้อนตักสาร
21. ลูกยาง
22. Ammonium molybdate  $[(\text{NH}_4)_6\text{Mo}_7\text{O}_{24}\cdot 4\text{H}_2\text{O}]$ , AR grade
23. Ammonium metavanadate  $(\text{NH}_4\text{VO}_3)$ , AR grade
24. Nitric acid 69 - 70 %  $(\text{HNO}_3)$ , AR grade
25. Perchloric acid 69-70 %  $(\text{HClO}_4)$ , AR grade
26. นํ้ากลั่น
27. Superphosphate 193.4 g/kg  $\pm$  1.2 g/kg (CRM-BCR<sup>®</sup>-033)

## วิธีการ

### 1. การหาค่า Range ของวิธีวิเคราะห์ฟอสเฟตทั้งหมดในปุ๋ยเคมี

1.1 วิเคราะห์ Spiked sample blank ที่ความเข้มข้นต่าง ๆ อย่างน้อย 5 ระดับความเข้มข้นๆ ละ 3 ซ้ำ โดยเลือกที่ความเข้มข้น 0, 1, 2, 3, 4, 5, 6 และ 7 ppm

1.2 ชั่งตัวอย่าง (Sample blank) นํ้าหนัก 0.5xxx กรัม ใส่ Erlenmeyer flask ขนาด 125 มิลลิลิตร จำนวน 3 ซ้ำ แต่ละซํ้ามาเติมสารละลายมาตรฐานฟอสฟอรัส 1000 ppm ปริมาณ 0, 5, 10, 15, 20, 25, 30 และ 35 มิลลิลิตร ตามลำดับ

1.3 นำไปย่อยตามวิธีวิเคราะห์ฟอสเฟตทั้งหมดในปุ๋ยเคมี

1.4 เตรียม Spiked sample blank ให้มีความเข้มข้น 0, 1, 2, 3, 4, 5, 6 และ 7 ppm ทำให้เกิดสีด้วยนํ้ายา Molybdovanadate reagent จำนวน 10 มิลลิลิตร ปรับปริมาตร ด้วยนํ้ากลั่น เป็น 100 มิลลิลิตร เขย่าให้เข้ากัน ทิ้งไว้อย่างน้อย 30 นาที

1.5 นำไปวัดด้วยเครื่องสเปกโตรโฟโตมิเตอร์ ที่ความยาวคลื่น 420 nm

1.6 Plot กราฟระหว่างความเข้มข้นของ Spiked sample blank (แกน x) กับ Absorbance (แกน y)

1.7 คำนวณหาสัมประสิทธิ์การตัดสินใจ (Coefficient of determination :  $R^2$ ) เกณฑ์การยอมรับ  $R^2 \geq 0.995$  หรือ สัมประสิทธิ์สหสัมพันธ์ (Correlation coefficient :r) :  $r \geq 0.997$

## 2. การหาค่า Linearity ของวิธีวิเคราะห์ฟอสเฟตทั้งหมดในปุ๋ยเคมี

2.1 วิเคราะห์ Spiked sample blank ที่ความเข้มข้นต่าง ๆ อย่างน้อย 5 ระดับความเข้มข้นๆ ละ 10 ซ้ำ โดยเลือกที่ความเข้มข้น 0, 1, 2, 3, 4 และ 5 ppm

2.2 ชั่งตัวอย่าง (Sample blank) น้ำหนัก 0.5xxx กรัม ใส่ Erlenmeyer flask ขนาด 125 มิลลิลิตร จำนวน 10 ซ้ำ แต่ละซ้ำมาเติมสารละลายมาตรฐานฟอสฟอรัส 1000 ppm ปริมาณ 0, 5, 10, 15, 20 และ 25 มิลลิลิตร ตามลำดับ

2.3 นำไปย่อยตามวิธีวิเคราะห์ฟอสเฟตทั้งหมดในปุ๋ยเคมี

2.4 เตรียม Spiked sample blank ให้มีความเข้มข้น 0, 1, 2, 3, 4 และ 5 ppm ทำให้เกิดสีด้วย น้ำยา Molybdovanadate reagent จำนวน 10 มิลลิลิตร ปรับปริมาตรด้วย น้ำกลั่น ปรับปริมาตรเป็น 100 มิลลิลิตร เขย่าให้เข้ากัน ทิ้งไว้อย่างน้อย 30 นาที

2.5 นำไปวัดด้วยเครื่องสเปกโตรโฟโตมิเตอร์ ที่ความยาวคลื่น 420 nm

2.6 Plot กราฟระหว่างความเข้มข้นของ Spiked sample blank (แกน x) กับ Absorbance (แกน y)

2.7 คำนวณหาสัมประสิทธิ์การตัดสินใจ (Coefficient of determination:  $R^2$ ) เกณฑ์การยอมรับ  $R^2 \geq 0.995$  หรือ สัมประสิทธิ์สหสัมพันธ์ (Correlation coefficient :r) :  $r \geq 0.997$

## 3. การหาค่า Accuracy ของวิธีวิเคราะห์ฟอสเฟตทั้งหมดในปุ๋ยเคมี

3.1 ชั่ง CRM (Superphosphate) สูตร 0-20-0 อย่างน้อยความเข้มข้นละ 7 ซ้ำ พร้อมทำ Blank

3.2 ดำเนินการวิเคราะห์ตามวิธีวิเคราะห์ฟอสเฟตทั้งหมดในปุ๋ยเคมี

3.3 บันทึกข้อมูล หาค่าเฉลี่ย ส่วนเบี่ยงเบนมาตรฐาน

3.4 เปรียบเทียบผลที่ได้กับค่ารับรองของ CRM โดยคำนวณหา %Recovery

## 4. การหาค่าของ Precision ของวิธีวิเคราะห์ฟอสเฟตทั้งหมด

4.1 ชั่ง CRM สูตร 0-20-0 อย่างน้อยความเข้มข้นละ 7 ซ้ำ พร้อมทำ Blank โดยบุคคล เวลา และ เครื่องมือเดียวกัน

4.2 ดำเนินการวิเคราะห์ตามวิธีวิเคราะห์ฟอสเฟตทั้งหมดในปุ๋ยเคมี

4.3 บันทึกข้อมูล หาค่าเฉลี่ย ส่วนเบี่ยงเบนมาตรฐาน Relative Standard Deviation (%RSD<sub>r</sub>) และ Horwitz's Ratio (HORRAT) คำนวณ แบบ Repeatability

## 5. การหาค่า Intermediate Precision ของวิธีวิเคราะห์ฟอสเฟตทั้งหมด

5.1 ชั่ง CRM สูตร 0-20-0 อย่างน้อยความเข้มข้นละ 10 ซ้ำ

5.2 ดำเนินการวิเคราะห์ตามวิธีวิเคราะห์ฟอสเฟตทั้งหมดในปุ๋ยเคมี โดยนักวิเคราะห์คนเดียวหรือมากกว่า 1 คน ในเวลาที่แตกต่างกัน

5.3 บันทึกข้อมูล หาค่าเฉลี่ย ส่วนเบี่ยงเบนมาตรฐาน Relative Standard Deviation (%RSD) และ Horwitz's Ratio (HORRAT) คำนวณ แบบ Repeatability

## 6. การหาค่าของ Limit of Detection (LOD) และ Limit of Quantitation (LOQ)

6.1 ชั่ง Sample blank น้ำหนัก 0.5xxx กรัม จำนวน 10 ชั่ง

6.2 ดำเนินการวิเคราะห์ตามวิธีวิเคราะห์ฟอสเฟตทั้งหมดในปุ๋ยเคมี

6.3 บันทึกข้อมูล หาค่าเฉลี่ย (mean) ค่าเบี่ยงเบนมาตรฐาน (SD) ของ sample blank

6.4 คำนวณหาค่า LOD, LOQ จากสูตร

6.4.1 กรณีที่ 1 คำนวณจาก Sample blank ที่สามารถอ่านสัญญาณได้

$$\text{LOD} = \text{ค่าเฉลี่ย} + 3\text{SD}$$

$$\text{LOQ} = \text{ค่าเฉลี่ย} + 10\text{SD}$$

6.4.2 กรณีที่ 2 คำนวณจากสัญญาณของ Spiked sample blank

$$\text{LOD} = 3\text{SD}$$

$$\text{LOQ} = 10\text{SD}$$

6.5 ทดสอบความแม่นยำและความเที่ยงที่ระดับความเข้มข้นเท่ากับ LOQ

### ระยะเวลาและสถานที่ดำเนินการ

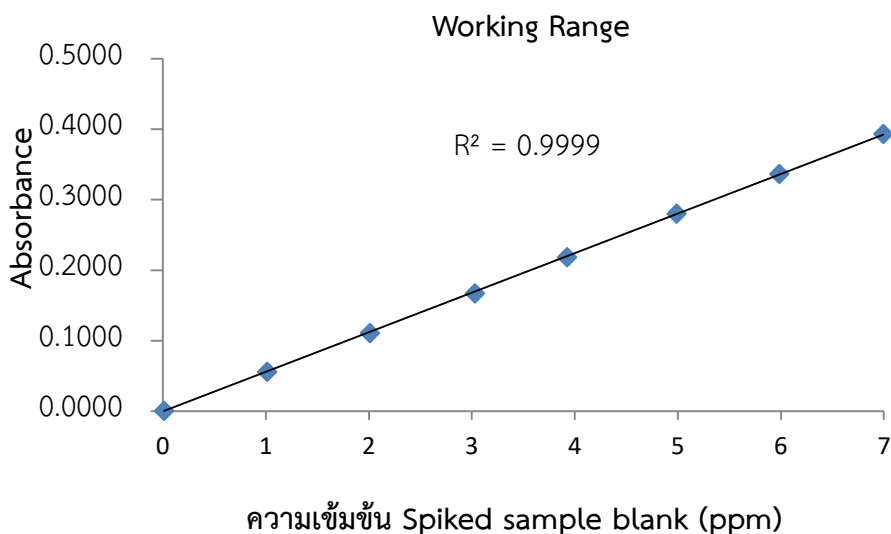
ระยะเวลา เดือนตุลาคม 2554 - กันยายน 2556 ระยะเวลา 2 ปี

สถานที่ดำเนินการ ห้องปฏิบัติการวิเคราะห์คุณภาพปุ๋ย สำนักวิจัยและพัฒนาการเกษตร เขตที่ 4 อุดรราชธานี กรมวิชาการเกษตร

### ผลการดำเนินงานและวิจารณ์

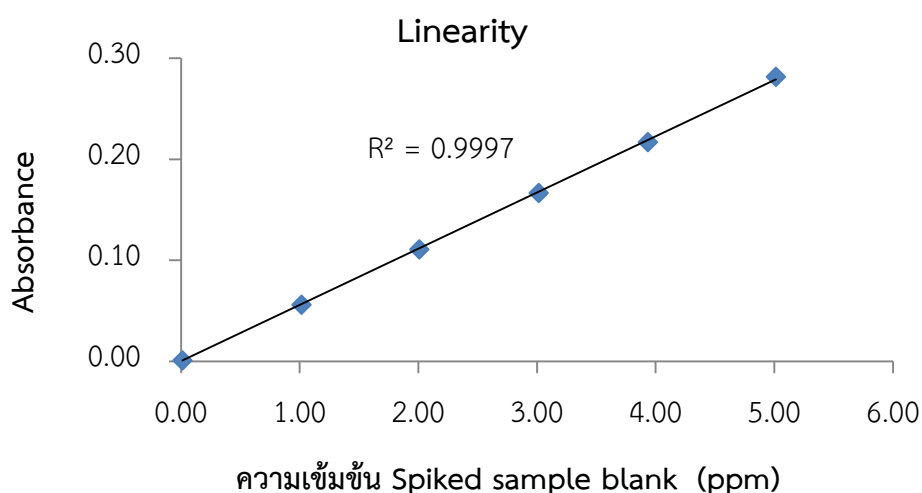
ตรวจพิสูจน์ความถูกต้องวิธีวิเคราะห์ฟอสเฟตทั้งหมดในปุ๋ยเคมี โดยการหาค่า Range and Linearity, Accuracy, Precision และ Limit of Detection (LOD) ใช้วิธีการวิเคราะห์หาปริมาณฟอสเฟตทั้งหมดในปุ๋ยเคมี ที่ห้องปฏิบัติการวิเคราะห์คุณภาพปุ๋ย ใช้อยู่ในปัจจุบัน Method of Fertilizer Analysis AOAC Official Methods of Analysis (2005) และ Official Methods of Analysis of Fertilizer 1978 (OMAF) จากการวิเคราะห์ตัวอย่างอ้างอิงรับรอง (Certified Reference Material: CRM) ของปุ๋ย สูตร 0 - 20 - 0 พบว่า

1. การหาค่า Range Linearity โดยสร้างกราฟ ระหว่างความเข้มข้นของ Spiked sample blank (ppm) (แกน x) กับค่า Absorbance (แกน y) จากข้อมูล ตารางที่ 1 คำนวณค่าสัมประสิทธิ์การตัดสินใจ (Coefficient of determination :  $R^2$ ) จะเห็นว่าช่วงการทำงาน (Range) ของความเข้มข้นที่ 0, 1, 2, 3, 4, 5, 6 และ 7 ppm เส้นกราฟที่ได้มีลักษณะเป็นเส้นตรงโดยพิจารณาจากค่า  $R^2$  มีค่าเท่ากับ 0.9999 ซึ่งเกณฑ์ในการยอมรับต้องมีค่าไม่น้อยกว่า 0.995 แสดงว่าช่วงการทำงานนี้มีลักษณะเป็นเส้นตรง ดังรูป ที่ 1



รูปที่ 1 แสดงค่า Coefficient of determination ( $R^2$ ) ของความเข้มข้น Spiked sample blank (ppm) และ Absorbance ที่ระดับความเข้มข้น 0- 7 ppm

2. การหาค่า Linearity จากข้อมูล ตารางที่ 2 นำมา Plot กราฟระหว่างความเข้มข้นของ Spiked sample blank (ppm) กับ Absorbance คำนวณค่าสัมประสิทธิ์การตัดสินใจ (Coefficient of determination :  $R^2$ ) จะเห็นว่าช่วงความเข้มข้นที่ 0, 1, 2, 3, 4 และ 5 ppm เส้นกราฟที่ได้มีลักษณะเป็นเส้นตรงโดยพิจารณาจากค่า  $R^2$  มีค่าเท่ากับ 0.9997 ซึ่งเกณฑ์ในการยอมรับต้องมีค่าไม่น้อยกว่า 0.995 แสดงว่าช่วงความเข้มข้นนี้ มีลักษณะเป็นเส้นตรง ดังรูป ที่ 2



รูปที่ 2 แสดงค่า Coefficient of determination ( $R^2$ ) ของความเข้มข้น Spiked sample blank (ppm) และ Absorbance ที่ระดับความเข้มข้น 0-5 ppm

3. การหาค่า Accuracy โดยทำการวิเคราะห์ CRM สูตร 0 – 20 -0 ใช้วิธีวิเคราะห์ของกลุ่มงานวิเคราะห์คุณภาพปุ๋ย ทำการวิเคราะห์ 10 ซ้ำ (ตารางที่ 3) Certified Value ของ CRM เท่ากับ  $19.34 \pm 0.12 \% \text{ T-P}_2\text{O}_5$  นำผลที่ได้มาหาค่า Recovery ได้ผลวิเคราะห์ตามตารางที่ 3

$$\begin{aligned} \% \text{ Recovery} &= \frac{\text{ผลวิเคราะห์ที่ได้}}{\text{ค่าอ้างอิงจากใบรับรอง}} \times 100 \\ &= \frac{19.32}{19.34} \times 100 \\ &= 99.90 \% \end{aligned}$$

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

4. หาค่า Precision ทำการวิเคราะห์โดยใช้ บุคคล เวลา และเครื่องมือเดียวกัน แล้วคำนวณหาค่า %RSD จากตารางที่ 3

$$\begin{aligned} \% \text{RSD}_r &= \frac{\text{ค่าเบี่ยงเบนมาตรฐาน}}{\text{ค่าเฉลี่ย}} \times 100 \\ &= \frac{0.08}{19.32} \times 100 \\ &= 0.31 \end{aligned}$$

$$\begin{aligned} \text{Repeatability : } \% \text{ RSD}_{(\text{expected})} &= 0.66 \times 2^{(1-0.5 \log C)} \\ &= 0.66 \times 2^{(1-0.5 \log 0.1915)} \\ &= 1.69 \end{aligned}$$

$$C = \text{Concentration} = 19.15/100 = 0.1915$$

$$\begin{aligned} \text{HORRAT} &= \frac{\% \text{RSD (lab)}}{\% \text{RSD (expected)}} \\ &= \frac{0.41}{1.69} = 0.24 \end{aligned}$$

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

5. การหาค่า Intermediate Precision ของวิธีวิเคราะห์ปริมาณฟอสเฟตทั้งหมดในปุ๋ยเคมี โดยนักวิเคราะห์คนเดียวหรือมากกว่า 1 คน ในเวลาที่แตกต่างกัน ตามตารางที่ 4

1. ค่า Accuracy

$$\% \text{ Recovery} = \frac{\text{ผลวิเคราะห์ที่ได้}}{\text{ค่าอ้างอิงจากใบรับรอง}} \times 100$$

$$= \frac{19.15}{19.34} \times 100$$

$$= 99.02 \%$$

เกณฑ์การยอมรับ % Recovery เท่ากับ 98-102 % แสดงว่า ผ่านเกณฑ์การยอมรับ

## 2. ค่า Precision

$$\%RSD_r = \frac{\text{ค่าเบี่ยงเบนมาตรฐาน}}{\text{ค่าเฉลี่ย}} \times 100$$

$$= \frac{0.19}{19.13} \times 100$$

$$= 0.99$$

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

$$= 0.66 \times 2^{(1-0.5\log 0.1913)}$$

$$= 1.69$$

$$C = \text{Concentration} = 19.13/100 = 0.1915$$

$$\text{HORRAT} = \frac{\%RSD (\text{lab})}{\%RSD (\text{expected})}$$

$$= \frac{1.04}{1.69} = 0.59$$

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

6. ผลการหาค่าของ Limit of Detection (LOD) และ Limit of Quantitation (LOQ) ได้ผลวิเคราะห์ตามตารางที่ 5 จากผลการวิเคราะห์ Sample blank ค่าเบี่ยงเบนมาตรฐานเท่ากับ 0 จึงได้เติมสารละลายลงใน Sample blank เพื่อวิเคราะห์จำนวน 10 ซ้ำ เทียบกับกราฟมาตรฐานแล้ว คำนวณ

6.1 กรณีที่ 2 คำนวณจากสัญญาณของ Spiked sample blank

$$\text{LOD} = 3SD \quad \text{LOD} = (3 \times 0.00316) = 0.00948 \quad \%T\text{-P}_2\text{O}_5$$

$$\text{LOQ} = 10SD \quad \text{LOQ} = (10 \times 0.00316) = 0.0316 \quad \%T\text{-P}_2\text{O}_5$$

## 1. ค่า Accuracy

$$\% \text{Recovery} = \frac{\text{ผลวิเคราะห์ที่ได้}}{\text{ค่าอ้างอิงจากใบรับรอง}} \times 100$$



$$= \frac{0.0315 \times 100}{0.0316}$$

$$= 99.68 \%$$

เกณฑ์การยอมรับ % Recovery เท่ากับ 98-102 % แสดงว่า ผ่านเกณฑ์การยอมรับ

## 2. ค่า Precision

$$\%RSD_r = \frac{\text{ค่าเบี่ยงเบนมาตรฐาน}}{\text{ค่าเฉลี่ย}} \times 100$$

$$= \frac{0.00088}{0.0315} \times 100$$

$$= 2.80$$

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

$$= 0.66 \times 2^{(1-0.5\log 0.000315)}$$

$$= 4.44$$

$$C = \text{Concentration} = 0.0315/100 = 0.000315$$

$$\text{HORRAT} = \frac{\%RSD (\text{lab})}{\%RSD (\text{expected})}$$

$$= \frac{2.80}{4.44} = 0.63$$

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

## สรุปผลการดำเนินงานและคำแนะนำ

ดำเนินการพัฒนาเทคนิคการวิเคราะห์ฟอสเฟตทั้งหมดในปุ๋ยเคมี เพื่อให้ได้เทคนิควิธีการวิเคราะห์ที่ถูกต้อง รวดเร็ว แม่นยำ สามารถอ้างอิงได้ตามมาตรฐานสากล ทำให้เป็นที่ยอมรับ โดยทำการศึกษาหาช่วงความเป็นเส้นตรง (Range and Linearity), ความถูกต้อง (Accuracy), ความแม่นยำ (Precision), และ ปริมาณต่ำสุดที่สามารถวัดได้ (Limit of Detection) ทำการทดลองโดยใช้วิธีการวิเคราะห์ฟอสเฟตทั้งหมดในปุ๋ยเคมี ซึ่งเป็นวิธีที่ห้องปฏิบัติการวิเคราะห์คุณภาพปุ๋ยดัดแปลงจากวิธีการของ Method of Fertilizer Analysis AOAC Official Methods of Analysis (2005) และ Official Methods of Analysis of Fertilizer 1978 (OMAF) วิเคราะห์ Certified Reference Material (CRM) ของปุ๋ยสูตร 0 - 20 - 0 โดยหาค่า Range พบว่าช่วงที่เป็นเส้นตรงในการวิเคราะห์ฟอสเฟตทั้งหมดในปุ๋ยเคมี อยู่ในช่วง 0 - 7 ppm ซึ่งมีค่า Correlation coefficient เท่ากับ 0.9999 เลือกอช่วง Linearity 0 - 5 ppm ซึ่งมีค่า Correlation coefficient เท่ากับ 0.9997 เป็นช่วงการใช้งาน หาค่า Recovery ได้เท่ากับ 99.90 % และได้ประเมิน

ความแม่นยำ (Precision) โดยใช้สมการของ Horwitz's Ratio พบว่าวิเคราะห์โดยใช้เครื่องมือ บุคคล และเวลาเดียวกันได้ค่า HORRAT เท่ากับ 0.24 และวิเคราะห์โดยใช้ตัวอย่างปุ๋ย และเวลาในการวิเคราะห์ต่างกัน ได้ค่า HORRAT เท่ากับ 0.59 หาปริมาณต่ำสุดที่สามารถวัดได้ (LOD) เท่ากับ 0.00948 % และปริมาณต่ำสุดที่สามารถวิเคราะห์และรายงานผลได้ (LOQ) เท่ากับ 0.0316 % ซึ่งค่าที่ได้ทั้งหมดนั้นผ่านเกณฑ์การยอมรับตามมาตรฐานสากล ดังนั้นจึงถือว่าวิธีวิเคราะห์ปริมาณฟอสเฟตทั้งหมดในปุ๋ยเคมีดังกล่าวเป็นวิธีวิเคราะห์มาตรฐานสำหรับห้องปฏิบัติการตามมาตรฐาน ISO/IEC 17025

### การนำไปใช้ประโยชน์

1. นำวิธีที่ได้รับตรวจสอบความใช้ได้ของวิธีวิเคราะห์ฟอสเฟตทั้งหมดในปุ๋ยเคมี มาเป็นวิธีวิเคราะห์มาตรฐานของงานวิเคราะห์คุณภาพปุ๋ย กลุ่มพัฒนาการตรวจสอบพืชและปัจจัยการผลิต สำนักวิจัยและพัฒนาการเกษตรเขตที่ 4
2. เผยแพร่ข้อมูลให้กับหน่วยงานวิเคราะห์ปุ๋ยทั่วไป เพื่อใช้เป็นวิธีวิเคราะห์แกห้องปฏิบัติการวิเคราะห์ปุ๋ยแห่งอื่น
3. นำข้อมูลที่ได้มาใช้ประกอบการขยายขอบข่ายการรับรองห้องปฏิบัติการวิเคราะห์คุณภาพปุ๋ย ในปี 2556 กลุ่มพัฒนาการตรวจสอบพืชและปัจจัยการผลิต สำนักวิจัยและพัฒนาการเกษตรเขตที่ 4 ตามระบบมาตรฐาน ISO/IEC 17025 เพื่อเป็นการยกระดับห้องปฏิบัติการให้ได้มาตรฐานสากล ผลวิเคราะห์มีความถูกต้อง แม่นยำ น่าเชื่อถือ สามารถตรวจสอบย้อนกลับได้ สร้างความเชื่อมั่นและลดข้อโต้แย้งของผลการวิเคราะห์ ที่ใช้ประกอบการขึ้นทะเบียน การนำเข้าปุ๋ย จำหน่ายปุ๋ยที่ด้อยคุณภาพ และเป็นพยานหลักฐานประกอบการดำเนินคดี

### เอกสารอ้างอิง

- ดุขุฎิ มั่นความดี. 2554. เอกสารประกอบการฝึกอบรม เรื่อง การตรวจสอบความใช้ได้ของวิธี. กลุ่มวิจัยเกษตรเคมี กรมวิชาการเกษตร.
- ตติยะ สีหะราย. 2548. เอกสารประกอบการอบรม-สัมมนาวิชาการด้านอุตสาหกรรมอาหาร เรื่อง การตรวจพิสูจน์ความถูกต้องของวิธีทดสอบทางเคมี สถาบันอาหาร. กรุงเทพฯ 40 หน้า
- ถวิล ครุฑกุล. 2512. คู่มือปฏิบัติการ การวิเคราะห์ดินละลายพืช ภาควิชาปฐพีวิทยา คณะเกษตรศาสตร์ มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์. 125 หน้า
- ทิพวรรณ นิ่งน้อย 2549. แนวปฏิบัติการทดสอบความถูกต้องของวิธีวิเคราะห์ทางเคมีโดยห้องปฏิบัติการเดียว. กรมวิทยาศาสตร์การแพทย์. กระทรวงสาธารณสุข. 124 หน้า
- พวงผกา สุทัศน์ ณ อยุธยา. 2541. คู่มือวิธีวิเคราะห์ปุ๋ย กลุ่มงานวิเคราะห์ปุ๋ย กองเกษตรเคมี กระทรวงเกษตรและสหกรณ์
- แม่น อมรสิทธิ์ และ อมร เพชรสม. 2534. หลักการและเทคนิคการวิเคราะห์เชิงเครื่องมือ ภาควิชาเคมี คณะวิทยาศาสตร์ จุฬาลงกรณ์. 40 หน้า

Official Method of Analysis of Fertilizers. 1978. The National Institute of Agriculture Sciences.

Ministry of Agriculture, Forestry, and Fisheries, Japan 130 p.

Official Methods of Analysis of AOAC International. 2000. AOAC International Gaithersburg,

MD, USA, Official Method 938.02. 17 th Ed. p. 21-24

### ภาคผนวก

**ตารางที่ 1** ผลการวิเคราะห์ปริมาณฟอสเฟตทั้งหมด ของ Spiked sample blank โดยการ Spike Standard P ที่ 7 ระดับ ความเข้มข้น เพื่อนำไปหาค่า  $R^2$  ของ Range

Sample blank + Standard	ซ้ำที่ 1		ซ้ำที่ 2		ซ้ำที่ 3		Average	
	Abs	ppm	Abs	ppm	Abs	ppm	Abs	ppm
0	0.0000	0.0000	0.0009	0.0159	0.0010	0.0185	0.0006	0.0115
1	0.0558	1.0099	0.0558	1.0095	0.0563	1.0186	0.0560	1.0127
2	0.1103	1.9965	0.1113	2.0131	0.1116	2.0194	0.1111	2.0097
3	0.1668	3.0192	0.1694	3.0652	0.1659	3.0020	0.1674	3.0288
4	0.2193	3.9407	0.2191	3.9367	0.2169	3.8963	0.2184	3.9246
5	0.2809	4.9958	0.2833	5.0388	0.2769	4.9255	0.2804	4.9867
6	0.3368	5.9900	0.3367	5.9886	0.3362	5.9801	0.3366	5.9862
7	0.3940	7.0081	0.3930	6.9905	0.3930	6.9905	0.3933	6.9964

**ตารางที่ 2** ผลการหา Linearity ด้วยการ Spiked standard P ที่ความเข้มข้นต่างๆ 5 ความเข้มข้นๆ ละ 10 ซ้ำ

No.		1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	$\bar{x}$
Sample blank + Std. P 0 ppm	Abs	0.0000	0.0032	0.0000	0.0000	0.0014	0.0009	0.0000	0.0010	0.0007	0.0000	0.0007
	ppm	0.0000	0.0573	0.0000	0.0000	0.0252	0.0159	0.0000	0.0185	0.0133	0.0000	0.0130
Sample blank + Std. P 1 ppm	Abs	0.0558	0.0558	0.0563	0.0553	0.0542	0.0574	0.0562	0.0567	0.0540	0.0588	0.0561
	ppm	1.0099	1.0095	1.0186	1.0008	0.9815	1.0385	1.0164	1.0262	0.9779	1.0649	1.0144
Sample blank	Abs	0.1103	0.1113	0.1116	0.1109	0.1114	0.1110	0.1078	0.1088	0.1122	0.1143	0.1110

+ Std. P 2 ppm	ppm	1.9965	2.0131	2.0194	2.0064	2.0151	2.0095	1.9512	1.9680	2.0307	2.0677	2.0078
Sample blank + Std. P 3 ppm	Abs	0.1668	0.1694	0.1659	0.1680	0.1665	0.1583	0.1683	0.1687	0.1651	0.1688	0.1666
	ppm	3.0192	3.0652	3.0020	3.0402	3.0121	2.8650	3.0447	3.0530	2.9884	3.0539	3.0144
Sample blank + Std. P 4 ppm	Abs	0.2193	0.2191	0.2169	0.2216	0.2178	0.2005	0.2198	0.2191	0.2168	0.2192	0.2170
	ppm	3.9407	3.9367	3.8963	3.9818	3.9137	3.9461	3.9484	3.9360	3.8951	3.9382	3.9333
Sample blank + Std. P 5 ppm	Abs	0.2809	0.2833	0.2832	0.2769	0.2833	0.2822	0.2839	0.2826	0.2801	0.2819	0.2818
	ppm	4.9958	5.0388	5.0374	4.9255	5.0395	5.0184	5.0488	5.0264	4.9814	5.0136	5.0126

ตารางที่ 3 ผลวิเคราะห์ปริมาณฟอสเฟตทั้งหมดในปุ๋ยเคมี โดยใช้ CRM สูตร 0-20-0

Rep	Weight (g)	Abs.	Dilution	ppm	%P	%T-P <sub>2</sub> O <sub>5</sub>	Standard
1	0.3011	0.1097	250-2-100	2.0547	8.401	19.25	ppm A
2	0.3010	0.1097	250-2-100	2.0549	8.404	19.26	0 0.0000
3	0.3018	0.1098	250-2-100	2.0561	8.387	19.22	1 0.0539
4	0.3018	0.1102	250-2-100	2.0637	8.419	19.29	2 0.1071
5	0.3011	0.1101	250-2-100	2.0634	8.437	19.33	3 0.1609
6	0.3013	0.1105	250-2-100	2.0699	8.453	19.39	4 0.2134
7	0.3016	0.1102	250-2-100	2.0650	8.430	19.33	5 0.2663
8	0.3017	0.1109	250-2-100	2.0778	8.480	19.43	
9	0.3018	0.1102	250-2-100	2.0641	8.420	19.29	
10	0.3015	0.1109	250-2-100	2.0772	8.483	19.44	y = 0.0533x+0.0005
Mean						19.15	r = 1.0000
SD						0.08	
% recovery						99.91	

ตารางที่ 4 ผลวิเคราะห์ปริมาณฟอสเฟตทั้งหมดในปุ๋ยเคมีโดยใช้ CRM สูตร 0-20-0

ว/ด/ป	Rep	Weight (g)	Abs.	Dilution	ppm	%P	%T-P <sub>2</sub> O <sub>5</sub>
5 พ.ย.55	1	0.3012	0.1139	250-2-100	2.0518	8.4329	19.32

14 พ.ย.55	2	0.3049	0.1146	250-2-100	2.0640	8.3806	19.20
19 พ.ย.55	3	0.3072	0.1128	250-2-100	2.0450	8.3211	19.07
21 พ.ย.55	4	0.3016	0.1103	250-2-100	2.0235	8.3737	19.19
29 พ.ย.55	5	0.3023	0.1105	250-2-100	1.9997	8.2306	18.86
11 ธ.ค.55	6	0.3036	0.1139	250-2-100	2.0500	8.2864	18.99
7 ม.ค.56	7	0.3032	0.1150	250-2-100	2.0659	8.5171	19.52
9 ม.ค.56	8	0.3071	0.1137	250-2-100	2.0552	8.3654	19.17
15 ม.ค.56	9	0.3005	0.1139	250-2-100	2.0203	8.2712	18.95
14 ก.พ.56	10	0.3060	0.1126	250-2-100	2.0165	8.3770	18.19
Mean							19.15
SD							0.19
% recovery							99.02

**ตารางที่ 5** ผลการทดสอบยืนยันค่า LOQ = 0.0316 % (เตรียมสารละลาย 0.0316 % จากการชั่ง CRM สูตร 0-52-34 น้ำหนัก 0.0316 g มา Dilute เป็น 100 มิลลิลิตร นำสารละลายที่ได้มาวิเคราะห์ตามขั้นตอนวิธีวิเคราะห์)

Rep	Weight (g)	Abs.	Dilution	ppm	%T-P <sub>2</sub> O <sub>5</sub>	Standard	
1	4.9900	0.0079	250-5-100	0.1478	0.0339	ppm	A
2	4.9959	0.0071	250-5-100	0.1341	0.0308	0	0.0000
3	4.9957	0.0072	250-5-100	0.1351	0.0310	1	0.0537
4	4.9970	0.0072	250-5-100	0.1356	0.0311	2	0.1068
5	4.9974	0.0072	250-5-100	0.1362	0.0312	3	0.1598
6	4.9961	0.0072	250-5-100	0.1358	0.0311	4	0.2129
7	4.9990	0.0073	250-5-100	0.1364	0.0313	5	0.2651
8	4.9958	0.0073	250-5-100	0.1364	0.0313		
9	4.9975	0.0073	250-5-100	0.1369	0.0314		
10	4.9998	0.0073	250-5-100	0.1377	0.0316	y = 0.0532x	
Mean					0.0315	r = 1.0000	
SD					0.00090		
% recovery					99.68		

