

รายงานผลงานเรื่องเต็มการทดลองที่สิ้นสุด

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
หัวหน้าการทดลอง : นางอรพิน หนูทอง^{1/}
ผู้ร่วมงาน : นางสาวฉัตร เขาวนัฐภูมิกุล^{1/}

5. บทคัดย่อ

การตรวจสอบความใช้ได้ของวิธีวิเคราะห์เป็นการตรวจพิสูจน์ความถูกต้องของการวิเคราะห์เพื่อให้ผลการวิเคราะห์เป็นไปตามมาตรฐาน สามารถอ้างอิงได้ เป็นที่ยอมรับ มีความถูกต้อง แม่นยำ รวดเร็ว โดยห้องปฏิบัติการวิเคราะห์ปุ๋ยได้ทดสอบวิธีวิเคราะห์หาปริมาณฟอสเฟตทั้งหมดในปุ๋ยเคมี ซึ่งดัดแปลงจากวิธีการของ METHOD OF FERTILIZER ANALYSIS AOAC Official Methods of Analysis (2005) มีการประเมินความถูกต้อง (Accuracy) ความแม่นยำ (Precision) ช่วงความเป็นเส้นตรง (Range and Linearity) และปริมาณต่ำสุดที่สามารถวิเคราะห์ได้ (Limit of Detection) ทดสอบโดยใช้ตัวอย่างอ้างอิงรับรอง (Certified Reference Material; CRM) ของโพแทสเซียมไดไฮโดรเจนฟอสเฟต (ปุ๋ยสูตร 0-52-34) และ ซุปเปอร์ฟอสเฟต (ปุ๋ยสูตร 0-20-0) ที่ระดับความเข้มข้น สูง กลาง ต่ำ ผลการทดสอบประเมินความถูกต้องจาก 3 วิธี คือ 1. หาค่า Recovery ที่ระดับความเข้มข้น สูง กลาง ต่ำ ได้เท่ากับ 100.22%, 99.59% และ 98.09% ตามลำดับ 2. หาค่าความแตกต่างของค่าที่วิเคราะห์ได้กับค่าจริงของ CRM โดยใช้ t-test ที่ระดับความเข้มข้น สูง กลาง ต่ำ ได้เท่ากับ 1.25, 1.53 และ 1.07 ตามลำดับ และ 3. ประเมินช่วงความเชื่อมั่นเท่ากับ $52.28 \pm 0.20\% P_2O_5$, $19.26 \pm 0.12\% P_2O_5$ และ $2.25 \pm 0.09\% P_2O_5$ ตามลำดับ ประเมินความแม่นยำโดยใช้สมการ Horwitz's Ratio ได้ค่า HORRAT เท่ากับ 0.37, 0.50 และ 0.32 ตามลำดับ ช่วงความเป็นเส้นตรงพบว่าช่วงการวิเคราะห์ฟอสฟอรัสที่มีความเป็นเส้นตรงอยู่ในช่วง 0-15 ppm เลือกร้อย 0-7 ppm เป็นช่วงใช้งาน มีค่า Coefficient of determination (r^2) เท่ากับ 0.9999 การหาปริมาณต่ำสุดที่สามารถวิเคราะห์ได้ (LOD) เท่ากับ 0.14 % P_2O_5 และปริมาณต่ำสุดที่สามารถ

วิเคราะห์และรายงานผลได้ (LOQ) เท่ากับ 0.21% P₂O₅ ซึ่งค่าที่ได้ทั้งหมดผ่านเกณฑ์การยอมรับตามมาตรฐานสากล

รหัสทะเบียนวิจัย : 03-06-54-04-01-01-22-55

^{1/}กลุ่มวิชาการ สำนักวิจัยและพัฒนาการเกษตรเขตที่ 7

6. คำนำ

การบังคับใช้กฎหมายตามพระราชบัญญัติปุ๋ย พ.ศ.2518 แก้ไขเพิ่มเติมโดยพระราชบัญญัติปุ๋ย (ฉบับที่ 2) พ.ศ. 2550 ภาระกิจการตรวจสอบคุณภาพปุ๋ยที่มีจำหน่ายตามท้องตลาดจึงมีความสำคัญยิ่ง ห้องปฏิบัติการกลุ่มพัฒนาการตรวจสอบพืชและปัจจัยการผลิต สำนักวิจัยและพัฒนาการเกษตรเขตที่ 7 ได้ดำเนินการจัดทำ การประกันคุณภาพห้องปฏิบัติการ โดยมีการตรวจสอบความใช้ได้ของวิธีวิเคราะห์ทดสอบ ซึ่งเป็นหนึ่งในกระบวนการของการจัดทำ การประกันคุณภาพห้องปฏิบัติการ เป็นการยืนยันโดยการทดสอบและมีหลักฐานแสดงว่าวิธีวิเคราะห์ที่มีความถูกต้องเหมาะสม วิธีวิเคราะห์ทดสอบที่ถูกต้องทำให้ผลการวิเคราะห์ทดสอบมีความน่าเชื่อถือ และเป็นที่ยอมรับในระดับสากล

การพัฒนาเทคนิคการวิเคราะห์ฟอสเฟตทั้งหมดในปุ๋ยเคมีที่ใช้อยู่ในปัจจุบัน เป็นวิธีการที่นักวิชาการรุ่นก่อนๆ ได้ดัดแปลงมาจากวิธีวิเคราะห์ของ METHOD OF FERTILIZER ANALYSIS AOAC Official Methods of Analysis (2005) (AOAC, 2005: TOTAL PHOSPHATE 958.01) เพื่อให้มั่นใจว่าวิธีวิเคราะห์ที่ใช้มีความถูกต้องแม่นยำ และเหมาะสมกับสภาพการวิเคราะห์ของห้องปฏิบัติการจึงจำเป็นต้องตรวจพิสูจน์ความถูกต้องของวิธีวิเคราะห์โดยมีขั้นตอนการทดสอบความถูกต้อง (Accuracy) ความแม่นยำ (Precision) ช่วงความเป็นเส้นตรง (Range and Linearity) โดยการพิจารณาสมการเส้นตรงและค่า Coefficient of determination (r²) มีเกณฑ์ยอมรับมากกว่า 0.997 และปริมาณต่ำสุดที่สามารถวิเคราะห์ได้ (Limit of Detection) ในการประเมินความถูกต้อง มีเกณฑ์กำหนดค่า %Recovery ช่วงความเข้มข้นของสารวิเคราะห์ 10% -100% อยู่ที่ 98-102 %Recovery และทดสอบนัยสำคัญโดยใช้สถิติทดสอบ t (t-test) ค่า t จากการทดสอบน้อยกว่า ค่า t จากตาราง แสดงว่าผลการทดสอบไม่มีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญ การประเมินความแม่นยำ จาก Horwitz equation โดยใช้ Horwitz's Ratio ได้ค่า HORRAT เกณฑ์การยอมรับโดยทั่วไป 0.5 -2 ตาม AOAC 2000 (อุมาพร,2553)

7. วิธีดำเนินการ

- อุปกรณ์

1. เครื่องชั่งอย่างละเอียด 4 ตำแหน่ง
2. เครื่องสเปคโตรโฟโตมิเตอร์
3. เต้าไฟฟ้าความร้อนสูง

4. ตู้ดูดควัน
5. ขวดปริมาตร เกรดเอ ขนาด 100 และ 250
6. กรวยแก้ว
7. บีเปตปริมาตร เกรดเอ ขนาด 1, 2, 3, 4, 5 และ 10 มิลลิลิตร
8. กระดาษกรองเบอร์ 1
9. บีกเกอร์ขนาด 100 มิลลิลิตร

สารเคมี

1. สารมาตรฐานโพแทสเซียมไดไฮโดรเจนฟอสเฟต
 2. Sample Blank (ใช้ไดโลไมท์)
 3. ตัวอย่างอ้างอิงรับรอง (Certified Reference Material; CRM) ของปุ๋ยสูตร 0-20-0 (BCR No.033)
 4. ตัวอย่างอ้างอิงรับรอง (Certified Reference Material; CRM) ของปุ๋ยสูตร 0-52-34 (SRM 200b)
 5. Ammonium molybdate $[(NH_4)_6Mo_7O_{24} \cdot 4H_2O]$, AR grade
 6. Ammonium metavanadate (NH_4VO_3) , AR grade
 7. Nitric acid 69 - 70 % (HNO_3) , AR grade
 8. Perchloric acid 69-70% $(HClO_4)$, AR grade
- วิธีการ

วิธีการทดสอบความใช้ได้ของวิธีวิเคราะห์

1. การศึกษาหาค่า Range, Linearity ของวิธีวิเคราะห์ฟอสเฟตทั้งหมด
 - 1.1 เตรียมสารมาตรฐานฟอสฟอรัส ระดับความเข้มข้น 0, 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9, 10, 11, 12, 13, 14 และ 15 ppm
 - 1.2 วิเคราะห์ตามวิธีวิเคราะห์ฟอสเฟตทั้งหมดในปุ๋ยเคมี (In-house method based on AOAC, 2005; Total Phosphate: 958.01) และวัดปริมาณฟอสเฟตทั้งหมดด้วยเครื่องสเปคโตรโฟโตมิเตอร์
 - 1.3 นำข้อมูลที่ได้มาสร้างกราฟระหว่างความเข้มข้นของสารมาตรฐานฟอสฟอรัสกับค่าการดูดกลืนแสง (Absorbance) ที่ความยาวคลื่น 420 นาโนเมตร พิจารณาช่วงที่เป็นเส้นตรง
 - 1.4 เตรียมสารมาตรฐานฟอสฟอรัสระดับความเข้มข้นช่วงที่เป็นเส้นตรง (ความเข้มข้น 0, 1, 2, 3, 4, 5, 6 และ 7 ppm)
 - 1.5 วิเคราะห์ตามวิธีวิเคราะห์ฟอสเฟตทั้งหมดในปุ๋ยเคมี โดยวิเคราะห์ 3 ซ้ำ บันทึกผลและหาค่าเฉลี่ย
 - 1.6 สร้างกราฟระหว่างความเข้มข้นของสารมาตรฐานฟอสฟอรัสกับค่าเฉลี่ยของค่าการดูดกลืนแสง (Absorbance) ที่ความยาวคลื่น 420 นาโนเมตร

1.7 คำนวณหา Coefficient of determination (r^2)

2. การศึกษาหาค่า Limit of Detection (LOD)

- 2.1 ชั่ง Sample Blank (ใช้โดโลไมท์) น้ำหนัก 1.xxxx กรัม
- 2.2 ดำเนินการวิเคราะห์ตามวิธีวิเคราะห์ฟอสเฟตทั้งหมดในปุ๋ยเคมี วิเคราะห์ 10 ซ้ำ
- 2.3 บันทึกข้อมูล และคำนวณหาค่าเฉลี่ย ค่าเบี่ยงเบนมาตรฐาน

3. การศึกษาหาค่า Accuracy ของวิธีวิเคราะห์ฟอสเฟตทั้งหมดในปุ๋ยเคมี

- 3.1 ชั่ง CRM ของโพแทสเซียมไดไฮโดรเจนฟอสเฟต (ปุ๋ยสูตร 0-52-34) และ ซุปเปอร์ฟอสเฟต (ปุ๋ยสูตร 0-20-0) ความเข้มข้นละ 10 ซ้ำ พร้อมทำ Reagent Blank
- 3.2 วิเคราะห์ตามวิธีวิเคราะห์ฟอสเฟตทั้งหมดในปุ๋ยเคมีบันทึกข้อมูล และคำนวณผล
- 3.3 เปรียบเทียบค่าที่ได้กับค่าที่รับรองของ CRM
- 3.4 ชั่ง Sample Blank (ใช้โดโลไมท์) ซึ่งมีลักษณะของเนื้อสาร (Matrix) ของตัวอย่างปุ๋ย และชั่ง CRM ของโพแทสเซียมไดไฮโดรเจนฟอสเฟต (ปุ๋ยสูตร 0-52-34) และ ซุปเปอร์ฟอสเฟต (ปุ๋ยสูตร 0-20-0) เติมลงไป ความเข้มข้นละ 10 ซ้ำ พร้อมกับทำ Sample Blank และ Reagent Blank วิเคราะห์เช่นเดียวกับขั้นตอน 3.1-3.3

4. การศึกษาหาค่า Precision ของวิธีวิเคราะห์ฟอสเฟตทั้งหมดในปุ๋ยเคมี

- 4.1 ชั่ง CRM ของโพแทสเซียมไดไฮโดรเจนฟอสเฟต (ปุ๋ยสูตร 0-52-34) และ ซุปเปอร์ฟอสเฟต (ปุ๋ยสูตร 0-20-0) ความเข้มข้นละ 10 ซ้ำ
- 4.2 ชั่ง Sample Blank (ใช้โดโลไมท์) ซึ่งมีลักษณะของเนื้อสาร (Matrix) ของตัวอย่างปุ๋ย และชั่ง CRM ของโพแทสเซียมไดไฮโดรเจนฟอสเฟต (ปุ๋ยสูตร 0-52-34) และ ซุปเปอร์ฟอสเฟต (ปุ๋ยสูตร 0-20-0) เติมลงไป ความเข้มข้นละ 10 ซ้ำ พร้อมกับทำ Sample Blank และ Reagent Blank
- 4.3 วิเคราะห์ตามวิธีวิเคราะห์ฟอสเฟตทั้งหมดในปุ๋ยเคมี
- 4.4 บันทึกข้อมูล และคำนวณหาค่า Precision

- เวลาและสถานที่

เริ่มต้นเดือน 1 ตุลาคม 2554 - 30 กันยายน 2556

สถานที่ดำเนินการ ห้องปฏิบัติการกลุ่มพัฒนาการตรวจสอบพืชและปัจจัยการผลิต

สำนักวิจัยและพัฒนาการเกษตรเขตที่ 7 จ.สุราษฎร์ธานี กรมวิชาการเกษตร

8. ผลการทดลองและวิจารณ์

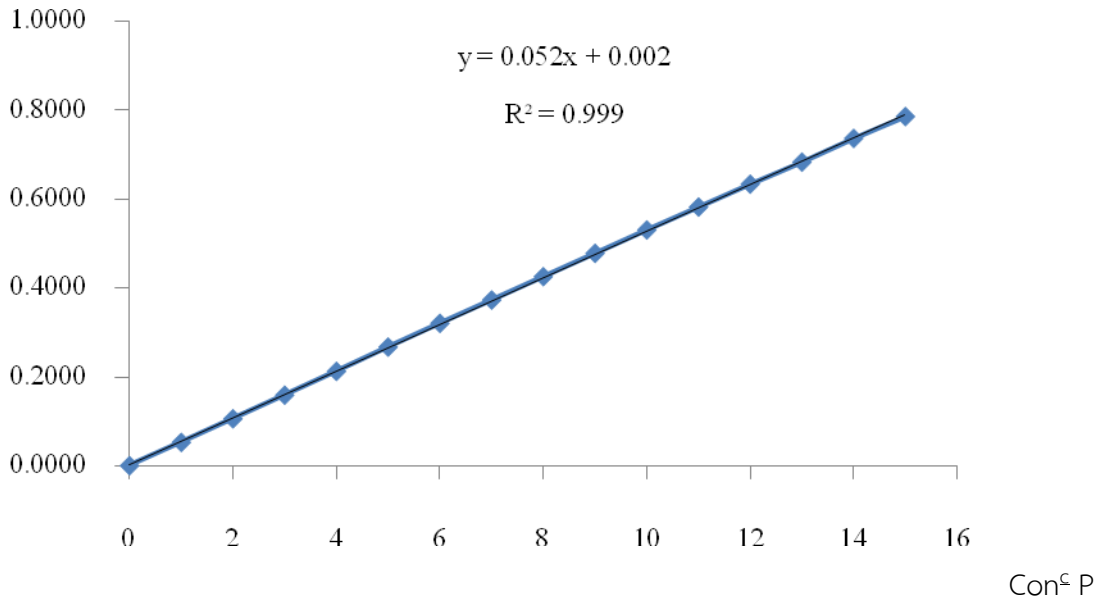
ผลการทดลองที่ 1 การศึกษาหาค่า Range, Linearity ของวิธีวิเคราะห์ฟอสเฟตทั้งหมดในปุ๋ยเคมี
การศึกษาหาค่า Range

การหาช่วง (Range) ของการวิเคราะห์ฟอสเฟตทั้งหมดในปุ๋ยเคมี โดยทดสอบสารมาตรฐานฟอสฟอรัส ที่ระดับความเข้มข้น 0, 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9, 10, 11, 12, 13, 14 และ 15 ppm วิเคราะห์ตามวิธีวิเคราะห์ฟอสเฟตทั้งหมดในปุ๋ยเคมี นำข้อมูลที่ได้มาสร้างกราฟระหว่างความเข้มข้นของสารมาตรฐานฟอสฟอรัสกับค่าการดูดกลืนแสงด้วยเครื่องสเปกโตรโฟโตมิเตอร์ ที่ความยาวคลื่น 420 นาโนเมตร และพิจารณาจากค่า Coefficient of determination (r^2) โดยค่า r^2 ที่อยู่ในเกณฑ์ยอมรับ จะต้องมากกว่า 0.997 จากการทดสอบพบว่า ได้ค่า $r^2 = 0.9999$ แสดงว่าช่วงการทำงานของวิธีวิเคราะห์ปริมาณฟอสเฟตทั้งหมดในปุ๋ยเคมี ในช่วงความเข้มข้นดังกล่าวมีความเป็นเส้นตรงอยู่ในเกณฑ์ยอมรับได้ เลือกเอาช่วง 0 - 7 ppm มาใช้ เนื่องจากเป็นช่วงที่ใช้งานอยู่ในปัจจุบัน

ตารางที่ 1 ผลการวัดสารละลายมาตรฐานฟอสฟอรัสกับค่าการดูดกลืนแสง (Abs 420 nm.)

ความเข้มข้นสารละลายมาตรฐานฟอสฟอรัส	Abs (420 nm.)
0	0.0003
1	0.0527
2	0.1058
3	0.1590
4	0.2126
5	0.2671
6	0.3206
7	0.3729
8	0.4255
9	0.4779
10	0.5306
11	0.5821
12	0.6336
13	0.6833
14	0.7366
15	0.7857

Abs 420 nm.



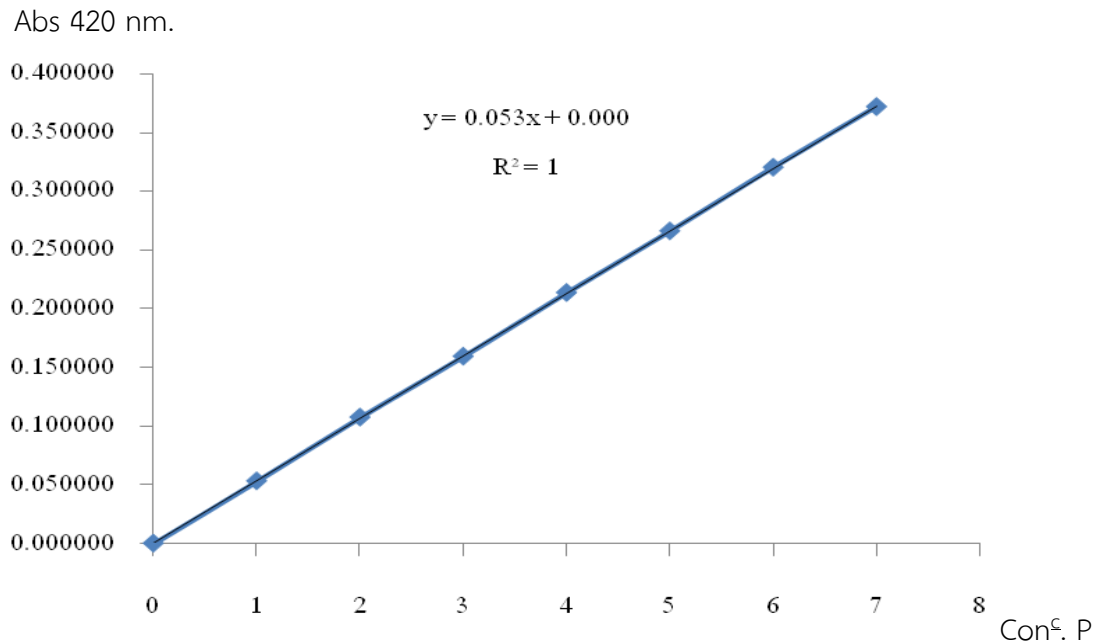
ภาพที่ 1 กราฟเส้นตรงระหว่างความเข้มข้นของสารละลายมาตรฐานฟอสฟอรัสกับค่าการดูดกลืนแสง

การศึกษาหาค่า Linearity

การหาช่วงที่เป็นเส้นตรง (Linearity) ของการวิเคราะห์ฟอสเฟตทั้งหมดในปุ๋ยเคมี โดยทดสอบสารมาตรฐานฟอสฟอรัส ที่ระดับความเข้มข้น 0, 0, 1, 2, 3, 4, 5, 6 และ 7 ppm. ความเข้มข้นละ 3 ซ้ำ ตามวิธีวิเคราะห์ฟอสเฟตทั้งหมดในปุ๋ยเคมี นำข้อมูลที่ได้มาสร้างกราฟระหว่างความเข้มข้นของสารมาตรฐานฟอสฟอรัสกับค่าการดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 420 นาโนเมตร และพิจารณา Coefficient of determination (r^2) โดยค่า r^2 ที่อยู่ในเกณฑ์ยอมรับ จะต้องมากกว่า 0.997 จากการทดสอบพบว่า ค่า $r^2 = 1$ แสดงว่าช่วงการใช้งานของวิธีวิเคราะห์ฟอสเฟตทั้งหมดในปุ๋ยเคมี ในช่วงความเข้มข้นดังกล่าวมีความเป็นเส้นตรงอยู่ในเกณฑ์ยอมรับได้

ตารางที่ 2 ค่าความเข้มข้นของสารมาตรฐานฟอสฟอรัสกับค่าการดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 420 นาโนเมตรที่อยู่ในช่วงที่เป็นเส้นตรง

Conc. P	Abs (420 nm.) of set 1	Abs (420 nm.) of set 2	Abs (420 nm.) of set 3	Average of Abs (420 nm.)
0	0.0005	0.0000	0.0006	0.000367
1	0.0535	0.0520	0.0546	0.053367
2	0.1084	0.1060	0.1086	0.107667
3	0.1608	0.1571	0.1606	0.159500
4	0.2148	0.2123	0.2142	0.213767
5	0.2669	0.2641	0.2674	0.266133
6	0.3206	0.3181	0.3224	0.320367
7	0.3734	0.3701	0.3725	0.372000



ภาพที่ 2 กราฟเส้นตรงระหว่างความเข้มข้นของสารละลายมาตรฐานฟอสฟอรัสกับค่าการดูดกลืนแสง

ผลการทดลองที่ 2 การศึกษาหาค่า Limit of Detection (LOD) และ Limit of Quantization (LOQ)

การหาค่า LOD และ LOQ ของการวิเคราะห์ฟอสเฟตทั้งหมดในปุ๋ยเคมี โดยวิเคราะห์ sample blank จำนวน 10 ซ้ำ ผลการวิเคราะห์แสดงในตารางที่ 3

ตารางที่ 3 ค่าความเข้มของแสงที่ปล่อยออกมา (Reading) ของการวิเคราะห์ฟอสเฟตทั้งหมดได้โดยวิเคราะห์ sample blank จำนวน 10 ซ้ำ

ซ้ำที่	น้ำหนัก	Reading (ppm)	P ₂ O ₅ (%)
1	0.3049	0.0145	0.11
2	0.3049	0.0132	0.10
3	0.3050	0.0155	0.12
4	0.3052	0.0130	0.10
5	0.3051	0.0155	0.12
6	0.3053	0.0153	0.11
7	0.3058	0.0134	0.10
8	0.3059	0.0164	0.12
9	0.3052	0.0138	0.10
10	0.3052	0.0140	0.11

ค่าเฉลี่ย (X)	0.0145	0.11
ค่าเบี่ยงเบนมาตรฐาน (SD)	0.0012	0.01

คำนวณหาค่า LOD และ LOQ

$$\text{LOD} = X + 3\text{SD} = 0.11 + 3(0.01) = 0.14$$

$$\text{LOQ} = X + 10\text{SD} = 0.11 + 10(0.01) = 0.21$$

ผลการทดลองที่ 3 และ 4 การศึกษาหาค่า Accuracy และ Precision ของวิธีวิเคราะห์ฟอสเฟตทั้งหมดในปุ๋ยเคมี

การวิเคราะห์ฟอสเฟตทั้งหมดในตัวอย่างอ้างอิงรับรองโพแทสเซียมไดไฮโดรเจนฟอสเฟต (ปุ๋ยสูตร 0-52-34)

ตรวจพิสูจน์ความถูกต้องวิธีวิเคราะห์ฟอสเฟตทั้งหมดในปุ๋ยเคมี ที่ห้องปฏิบัติการวิเคราะห์ปุ๋ยใช้อยู่ในปัจจุบัน (ดัดแปลงจาก AOAC, 2005) วิเคราะห์ตัวอย่างอ้างอิงรับรอง (CRM) ของโพแทสเซียมไดไฮโดรเจนฟอสเฟต (KH_2PO_4 ; ปุ๋ยสูตร 0-52-34) ผลการวิเคราะห์แสดงดังตารางที่ 4

คำนวณค่า Accuracy

ค่ารับรองของ CRM โพแทสเซียมไดไฮโดรเจนฟอสเฟต เท่ากับ $52.17 \pm 0.02 \% \text{P}_2\text{O}_5$

ค่าเฉลี่ยที่วิเคราะห์ได้ เท่ากับ $52.28\% \text{P}_2\text{O}_5$ ทำการวิเคราะห์ 10 ซ้ำ

1. หาค่า Recovery

$$\% \text{ Recovery} = (52.28/52.17) \times 100 = 100.22 \%$$

เกณฑ์การยอมรับ = 98 - 102% แสดงว่าผ่านเกณฑ์การยอมรับ

2. ประเมินความแตกต่างโดยใช้ t-test

$$t_{\text{exp}} = (52.17-52.28)/(0.28/\sqrt{10}) = 1.25$$

$$df = 10 - 1 = 9 \quad t_{\text{crit}} \text{ ที่ } df = 9 \text{ ความเชื่อมั่น } 95 \% \text{ เท่ากับ } 2.262$$

เกณฑ์การยอมรับ $t_{\text{exp}} < t_{\text{crit}}$ แสดงว่าผ่านเกณฑ์การยอมรับ

3. ประเมินช่วงความเชื่อมั่น

$$\text{ช่วงความเชื่อมั่น} = 52.28 \pm [2.262 \times (0.28/\sqrt{10})] = 52.28 \pm 0.20\% \text{ P}_2\text{O}_5$$

ตารางที่ 4 ผลการวิเคราะห์ฟอสเฟตทั้งหมดในตัวอย่าง CRM โพแทสเซียมไดไฮโดรเจนฟอสเฟต

ซ้ำที่	น้ำหนัก (g)	Reading (ppm)	P_2O_5 (%)
--------	-------------	---------------	----------------------------

1	0.3054	5.5950	52.67
2	0.3067	5.5891	52.39
3	0.3093	5.6281	52.31
4	0.3074	5.6244	52.60
5	0.3083	5.6358	52.56
6	0.3084	5.6086	52.29
7	0.3065	5.5334	51.90
8	0.3070	5.5628	52.10
9	0.3065	5.5555	52.11
10	0.3081	5.5613	51.90
ค่าเฉลี่ย			52.28
ค่าเบี่ยงเบนมาตรฐาน			0.28
% RSD			0.53

Precision หาค่า Intermediate Precision จากตารางที่ 4

$$\begin{aligned} \text{Predicted Horwitz RSD} &= 0.66 \times 2^{(1 - 0.5 \log C)} \\ &= 0.66 \times 2^{(1 - 0.5 \log 0.5)} \\ &= 1.47 \end{aligned}$$

$$C = \text{concentration ratio} = 52.28 / 100 = 0.5228$$

$$\begin{aligned} \text{HORRAT (Horwitz's Ratio)} &= \% \text{ RSD} / \text{Predicted Horwitz RSD} \\ &= 0.53 / 1.47 = 0.37 \end{aligned}$$

เกณฑ์การประเมิน Horrat < 2 แสดงว่าผ่านเกณฑ์การยอมรับ

ตารางที่ 5 ผลการวิเคราะห์ฟอสเฟตทั้งหมดใน sample blank ที่เติม CRM โปแทสเซียมไดไฮโดรเจนฟอสเฟต

ซ้ำที่	น้ำหนัก sample blank	น้ำหนัก CRM (กรัม)	Reading	P ₂ O ₅ (%)
1	0.5021	0.3083	5.6968	53.12
2	0.5056	0.3072	5.6250	52.64
3	0.5091	0.3098	5.6165	52.12
4	0.5068	0.3084	5.6998	53.14
5	0.5080	0.3083	5.6586	52.77
6	0.5072	0.3086	5.6302	52.45
7	0.5074	0.3090	5.5905	52.02
8	0.5082	0.3079	5.5669	51.98
9	0.5085	0.3081	5.5693	51.97
10	0.5078	0.3086	5.5797	51.98
			ค่าเฉลี่ย	52.42
			ค่าเบี่ยงเบนมาตรฐาน	0.47
			%RSD	0.90

คำนวณค่า Accuracy

ค่า CRM โปแทสเซียมคลอไรด์ เท่ากับ $52.17 \pm 0.02 \% P_2O_5$

ค่าเฉลี่ยที่วิเคราะห์ได้ เท่ากับ $52.42 \% K_2O$ ทำการวิเคราะห์ 10 ซ้ำ

1. หาค่า Recovery

$$\% \text{ Recovery} = (52.42/52.17) \times 100 = 100.48 \%$$

เกณฑ์การยอมรับ = 98 - 102% แสดงว่าผ่านเกณฑ์การยอมรับ

2. ประเมินความแตกต่างโดยใช้ t-test

$$t_{\text{exp}} = (52.17 - 52.42) / (0.47 / \sqrt{10}) = 1.66$$

$$df = 10 - 1 = 9 \quad t_{\text{crit}} \text{ ที่ } df = 9 \text{ ที่ความเชื่อมั่น } 95 \% \text{ คือ } 2.262$$

เกณฑ์การยอมรับ $t_{\text{exp}} < t_{\text{crit}}$ แสดงว่าผ่านเกณฑ์การยอมรับ

3. ประเมินช่วงความเชื่อมั่น

$$\text{ช่วงความเชื่อมั่น} = 52.42 \pm [2.262 \times (0.47 / \sqrt{10})] = 52.42 \pm 0.34\% P_2O_5$$

Precision หาค่า Intermediate Precision จากตารางที่ 5

$$\begin{aligned} \text{Predicted Horwitz RSD} &= 0.66 \times 2^{(1-0.5\log C)} \\ &= 0.66 \times 2^{(1-0.5\log 0.5)} \\ &= 1.47 \\ C = \text{Concentration ratio} &= 52.42/100 = 0.5242 \\ \text{HORRAT} &= \% \text{RSD} / \text{Predicted Horwitz RSD} \\ &= 0.90/1.47 = 0.62 \end{aligned}$$

เกณฑ์การประเมิน HORRAT ≤ 2 แสดงว่าผ่านเกณฑ์การยอมรับ

การวิเคราะห์ฟอสเฟตทั้งหมดในตัวอย่างอ้างอิงรับรองซูเปอร์ฟอสเฟต (ปุ๋ยสูตร 0-20-0)

ตรวจพิสูจน์ความถูกต้องวิธีวิเคราะห์ฟอสเฟตทั้งหมดในปุ๋ยเคมี โดยวิเคราะห์ตัวอย่างอ้างอิงรับรอง (CRM) ของ Superphosphate (สูตร 0 - 20 -0) ผลการวิเคราะห์ดังแสดงในตารางที่ 6

ตารางที่ 6 ผลการวิเคราะห์ฟอสเฟตทั้งหมดในตัวอย่าง CRM ของ Superphosphate (สูตร 0 - 20 -0)

ซ้ำที่	น้ำหนัก CRM (กรัม)	Reading	P ₂ O ₅ (%)
1	0.3141	2.1236	19.44
2	0.3077	2.0856	19.49
3	0.3051	2.0239	19.07
4	0.3053	2.0410	19.22
5	0.3063	2.0781	19.51
6	0.3052	2.0369	19.19
7	0.3068	2.0320	19.04
8	0.3063	2.0524	19.26
9	0.3060	2.0442	19.21
10	0.3055	2.0384	19.18
ค่าเฉลี่ย			19.26
ค่าเบี่ยงเบนมาตรฐาน			0.16
% RSD			0.85

คำนวณค่า Accuracy

ค่า CRM ของ Superphosphate เท่ากับ $19.34 \pm 0.12\%$ P₂O₅

ค่าเฉลี่ยที่วิเคราะห์ได้ เท่ากับ 19.26% P₂O₅ วิเคราะห์ 10 ซ้ำ

1. หาค่า Recovery

$$\% \text{ Recovery} = (19.26/19.34) \times 100 = 99.59 \%$$

เกณฑ์การยอมรับ = 98 - 102 % แสดงว่าผ่านเกณฑ์การยอมรับ

2. ประเมินความแตกต่างโดยใช้ t-test

$$t_{\text{exp}} = (19.34 - 19.26) / (0.16 / \sqrt{10}) = 1.53$$

$$df = 10 - 1 = 9 \quad t_{\text{crit}} \text{ ที่ } df = 9 \text{ ที่ความเชื่อมั่น } 95 \% \text{ คือ } 2.262$$

เกณฑ์การยอมรับ $t_{\text{exp}} < t_{\text{crit}}$ แสดงว่าผ่านเกณฑ์การยอมรับ

3. ประเมินช่วงความเชื่อมั่น

$$\text{ช่วงความเชื่อมั่น} = 19.26 \pm [2.262 \times (0.16 / \sqrt{10})] = 19.26 \pm 0.12 \% \text{ P}_2\text{O}_5$$

Precision หาค่า Precision จากตารางที่ 6

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

$$= 0.66 \times 2^{(1-0.5\log 0.2)}$$

$$= 1.69$$

$$C = \text{Concentration ratio} = 19.26 / 100 = 0.1926$$

$$\text{HORRAT} = \% \text{ RSD} / \text{Predicted Horwitz RSD}$$

$$= 0.85 / 1.69 = 0.50$$

เกณฑ์การประเมิน HORRAT ≤ 2 แสดงว่าผ่านเกณฑ์การยอมรับ

ตารางที่ 7 ผลการวิเคราะห์ฟอสเฟตทั้งหมดในตัวอย่าง Sample blank ที่เติม CRM Superphosphate (สูตร 0-20-0)

ซ้ำที่	น้ำหนัก sample blank	น้ำหนัก CRM (กรัม)	Reading	P ₂ O ₅ (%)
1	0.5031	0.3050	2.0352	19.18
2	0.5041	0.3046	2.0405	19.26
3	0.5077	0.3041	2.0298	19.19
4	0.5066	0.3042	2.0524	19.40
5	0.5027	0.3047	2.0278	19.13
6	0.5058	0.3041	2.0369	19.26
7	0.5018	0.3050	2.0494	19.32
8	0.5016	0.3051	2.0515	19.33
9	0.5032	0.3043	2.0664	19.52
10	0.5086	0.3044	2.0380	19.25
ค่าเฉลี่ย				19.28
ค่าเบี่ยงเบนมาตรฐาน				0.11
%RSD				0.59

คำนวณค่า Accuracy

ค่า CRM ของ Superphosphate เท่ากับ $19.34 \pm 0.12\% \text{ P}_2\text{O}_5$

ค่าเฉลี่ยที่วิเคราะห์ได้ เท่ากับ $19.28\% \text{ P}_2\text{O}_5$ วิเคราะห์ 10 ซ้ำ

หาค่า Recovery

$$\% \text{ Recovery} = (19.28/19.34) \times 100 = 99.71 \%$$

เกณฑ์การยอมรับ = 98 - 102 % แสดงว่าผ่านเกณฑ์การยอมรับ

ประเมินความแตกต่างโดยใช้ t-test

$$t_{\text{exp}} = (19.34 - 19.28) / (0.11 / \sqrt{10}) = 1.54$$

$$df = 10 - 1 = 9 \quad t_{\text{crit}} \text{ ที่ } df = 9 \text{ ที่ความเชื่อมั่น } 95\% \text{ คือ } 2.262$$

เกณฑ์การยอมรับ $t_{\text{exp}} < t_{\text{crit}}$ แสดงว่าผ่านเกณฑ์การยอมรับ

ประเมินช่วงความเชื่อมั่น

$$\text{ช่วงความเชื่อมั่น} = 19.28 \pm [2.262 \times (0.11 / \sqrt{10})] = 19.28 \pm 0.08\% \text{ P}_2\text{O}_5$$

Precision หาค่า Precision จากตารางที่ 6

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

$$= 0.66 \times 2^{(1-0.5 \log 0.2)}$$

$$= 1.69$$

$$C = \text{Concentration ratio} = 19.28 / 100 = 0.1928$$

$$\text{HORRAT} = \% \text{ RSD} / \text{Predicted Horwitz RSD}$$

$$= 0.59 / 1.69 = 0.35$$

เกณฑ์การประเมิน HORRAT ≤ 2 แสดงว่าผ่านเกณฑ์การยอมรับ

การวิเคราะห์ฟอสเฟตทั้งหมดในตัวอย่างอ้างอิงรับรองความเข้มข้นต่ำ (โพแทสเซียมไดไฮโดรเจนฟอสเฟต 2.2914 %P₂O₅)

ตรวจพิสูจน์ความถูกต้องวิธีวิเคราะห์ฟอสเฟตทั้งหมดในปุ๋ยเคมี โดยวิเคราะห์ตัวอย่างอ้างอิงรับรอง (CRM) โพแทสเซียมไดไฮโดรเจนฟอสเฟต 2.2914 %P₂O₅ ผลการวิเคราะห์ดังแสดงในตารางที่ 8

ตารางที่ 8 ผลการวิเคราะห์ฟอสเฟตทั้งหมดในตัวอย่าง CRM ของโพแทสเซียมไดไฮโดรเจนฟอสเฟต (2.2914 %P₂O₅)

ซ้ำที่	น้ำหนัก CRM (กรัม)	Reading (ppm)	P ₂ O ₅ (%)
1	1.0043	2.0045	2.29

2	1.0292	2.0119	2.24
3	1.0212	2.0158	2.26
4	1.0106	1.9775	2.24
5	1.0054	1.9580	2.23
6	1.0191	2.0073	2.26
7	1.0269	2.0067	2.24
8	1.0218	1.9951	2.24
9	1.0264	2.0040	2.24
10	1.0194	1.9984	2.25
ค่าเฉลี่ย			2.25
ค่าเบี่ยงเบนมาตรฐาน			0.02
% RSD			0.74

คำนวณค่า Accuracy

ค่า CRM ของโพแทสเซียมไดไฮโดรเจนฟอสเฟต เท่ากับ 2.2914 % P₂O₅

ค่าเฉลี่ยที่วิเคราะห์ได้ เท่ากับ 2.25% P₂O₅ วิเคราะห์ 10 ซ้ำ

1. หาค่า Recovery

$$\% \text{ Recovery} = (2.25/2.2914) \times 100 = 98.09 \%$$

เกณฑ์การยอมรับ = 98 - 102 % แสดงว่าผ่านเกณฑ์การยอมรับ

2. ประเมินความแตกต่างโดยใช้ t-test

$$t_{\text{exp}} = (2.2914 - 2.25) / (0.02/\sqrt{10}) = 1.07$$

$$df = 10 - 1 = 9 \quad t_{\text{crit}} \text{ ที่ } df = 9 \text{ ที่ความเชื่อมั่น } 95 \% \text{ คือ } 2.262$$

เกณฑ์การยอมรับ $t_{\text{exp}} < t_{\text{crit}}$ แสดงว่าผ่านเกณฑ์การยอมรับ

2. ประเมินช่วงความเชื่อมั่น

$$\text{ช่วงความเชื่อมั่น} = 2.25 \pm [2.262 \times (0.02/\sqrt{10})] = 2.25 \pm 0.09\% \text{ P}_2\text{O}_5$$

Precision หาค่า Precision จากตารางที่ 8

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

$$= 0.66 \times 2^{(1-0.5\log 0.02)}$$

$$= 2.33$$

$$C = \text{Concentration ratio} = 2.25/100 = 0.0225$$

$$\begin{aligned} \text{HORRAT} &= \% \text{RSD} / \text{Predicted Horwitz RSD} \\ &= 0.74 / 2.33 = 0.32 \end{aligned}$$

เกณฑ์การประเมิน HORRAT ≤ 2 แสดงว่าผ่านเกณฑ์การยอมรับ

ตารางที่ 9 ผลการวิเคราะห์ฟอสเฟตทั้งหมดในตัวอย่าง Sample blank ที่เติม CRM Superphosphate (สูตร 0-20-0)

ซ้ำที่	น้ำหนัก sample blank	น้ำหนัก CRM (กรัม)	Reading	P ₂ O ₅ (%)
1	0.5029	1.0160	1.9883	2.24
2	0.5099	1.0159	1.9903	2.25
3	0.5047	1.0228	2.0207	2.26
4	0.5067	1.0276	2.0276	2.26
5	0.5066	1.0111	1.9672	2.23
6	0.5054	1.0287	2.0272	2.26
7	0.5060	1.0204	2.0153	2.26
8	0.5071	1.0331	2.0391	2.26
9	0.5055	1.0317	2.0143	2.24
10	0.5064	1.0299	2.0424	2.27
			ค่าเฉลี่ย	2.25
			ค่าเบี่ยงเบนมาตรฐาน	0.01
			%RSD	0.62

คำนวณค่า Accuracy

ค่า CRM ของ Superphosphate เท่ากับ 2.2914% P₂O₅

ค่าเฉลี่ยที่วิเคราะห์ได้ เท่ากับ 2.25% P₂O₅ วิเคราะห์ 10 ซ้ำ

หาค่า Recovery

$$\% \text{ Recovery} = (2.25 / 2.2914) \times 100 = 98.33\%$$

เกณฑ์การยอมรับ = 98 - 102 % แสดงว่าผ่านเกณฑ์การยอมรับ

ประเมินความแตกต่างโดยใช้ t-test

$$t_{\text{exp}} = (2.2914 - 2.25) / (0.01 / \sqrt{10}) = 1.03$$

$$df = 10 - 1 = 9 \quad t_{\text{crit}} \text{ ที่ } df = 9 \text{ ที่ความเชื่อมั่น } 95\% \text{ คือ } 2.262$$

เกณฑ์การยอมรับ $t_{\text{exp}} < t_{\text{crit}}$ แสดงว่าผ่านเกณฑ์การยอมรับ

ประเมินช่วงความเชื่อมั่น

$$\text{ช่วงความเชื่อมั่น} = 2.25 \pm [2.262 \times (0.01/\sqrt{10})] = 2.25 \pm 0.08 \% \text{ P}_2\text{O}_5$$

Precision หาค่า Precision จากตารางที่ 9

$$\begin{aligned} \text{Predicted Horwitz RSD} &= 0.66 \times 2^{(1-0.5\log C)} \\ &= 0.66 \times 2^{(1-0.5\log 0.02)} \\ &= 2.34 \end{aligned}$$

$$C = \text{Concentration ratio} = 2.25/100 = 0.0225$$

$$\begin{aligned} \text{HORRAT} &= \% \text{ RSD} / \text{Predicted Horwitz RSD} \\ &= 0.62/2.34 = 0.26 \end{aligned}$$

เกณฑ์การประเมิน HORRAT ≤ 2 แสดงว่าผ่านเกณฑ์การยอมรับ

9. สรุปผลการทดลองและข้อเสนอแนะ

ห้องปฏิบัติการกลุ่มพัฒนาการตรวจสอบพืชและปัจจัยการผลิต สำนักวิจัยและพัฒนาการเกษตรเขตที่ 7 ทดสอบวิธีวิเคราะห์ฟอสเฟตทั้งหมดในปุ๋ยเคมี ซึ่งดัดแปลงจากวิธีการของ AOAC (2005) มีการประเมินความถูกต้อง (Accuracy) ความแม่นยำ (Precision) ช่วงความเป็นเส้นตรง (Range and Linearity) และปริมาณต่ำสุดที่สามารถวิเคราะห์ได้ (Limit of Detection) ทดสอบโดยใช้ตัวอย่างอ้างอิงรับรอง (Certified Reference Material; CRM) โพแทสเซียมไดไฮโดรเจนฟอสเฟต (ปุ๋ยสูตร 0-52-34) และ CRM ซุปเปอร์ฟอสเฟต (ปุ๋ยสูตร 0-20-0) ที่ระดับความเข้มข้น สูง กลาง ต่ำ ผลการทดสอบประเมินความถูกต้องจาก 3 วิธี คือ 1. หาค่า Recovery ที่ระดับความเข้มข้น สูง กลาง ต่ำ ได้เท่ากับ 100.22%, 99.59% และ 98.09% ตามลำดับ 2. หาค่าความแตกต่างของค่าที่วิเคราะห์ได้กับค่าจริงของ CRM โดยใช้ t-test ที่ระดับความเข้มข้น สูง กลาง ต่ำ ได้เท่ากับ 1.25, 1.53 และ 1.07 ตามลำดับ และ 3. ประเมินช่วงความเชื่อมั่นเท่ากับ $52.28 \pm 0.20\% \text{P}_2\text{O}_5$, $19.26 \pm 0.12\% \text{P}_2\text{O}_5$ และ $2.25 \pm 0.09\% \text{P}_2\text{O}_5$ ตามลำดับ ประเมินความแม่นยำโดยใช้สมการ Horwitz's Ratio ได้ค่า HORRAT เท่ากับ 0.37, 0.50 และ 0.32 ตามลำดับ ช่วงความเป็นเส้นตรงพบว่าช่วงการวิเคราะห์ฟอสฟอรัสที่มีความเป็นเส้นตรงอยู่ในช่วง 0-15 ppm เลือกร้อย 0-7 ppm เป็นช่วงใช้งาน มีค่า Coefficient of determination (r^2) เท่ากับ 0.9999 การหาปริมาณต่ำสุดที่สามารถวิเคราะห์ได้ (LOD) เท่ากับ 0.14 % P_2O_5 และปริมาณต่ำสุดที่สามารถวิเคราะห์และรายงานผลได้ (LOQ) เท่ากับ 0.21% P_2O_5 ซึ่งค่าที่ได้ทั้งหมดผ่านเกณฑ์การยอมรับตามมาตรฐานสากล

10. การนำผลงานวิจัยไปใช้ประโยชน์

1. วิเคราะห์ฟอสเฟตทั้งหมดในปุ๋ยเคมีที่ได้รับการตรวจสอบความใช้ได้ของวิเคราะห์แล้ว สามารถนำมาเป็นวิเคราะห์มาตรฐานของห้องปฏิบัติการ กลุ่มพัฒนาการตรวจสอบพืชปัจจัยการผลิต สำนักวิจัยและพัฒนาการเกษตรเขตที่ 7 จ. สุราษฎร์ธานี
2. เป็นการประกันคุณภาพของผลการวิเคราะห์ว่ามีความถูกต้อง แม่นยำ และเชื่อถือได้
3. นำข้อมูลหลักฐานการตรวจสอบความใช้ได้ของวิเคราะห์ มาใช้ประกอบการประเมินระบบคุณภาพ เพื่อขอการรับรองมาตรฐาน ISO/IEC 17025 ต่อไป

11. คำขอบคุณ

ขอขอบคุณกลุ่มงานพัฒนาระบบตรวจสอบคุณภาพปุ๋ย กลุ่มวิจัยเกษตรเคมี คุณอมรา หาญจวนิช คุณวรรณรัตน์ ชุตติบุตร คณะที่ปรึกษาจากกลุ่มวิจัยเกษตรเคมีทุกท่าน ที่ให้คำปรึกษาตลอดการดำเนินงาน และขอขอบคุณคณะทำงานกลุ่มพัฒนาการตรวจสอบพืชและปัจจัยการผลิต สวพ.7 ที่ร่วมแรงร่วมใจดำเนินงานจนประสบความสำเร็จ

12. เอกสารอ้างอิง

- AOAC OFFICIAL METHODS OF ANALYSIS. 2005. METHOD OF FERTILIZER ANALYSIS. Phosphorus (Total) in Fertilizers (Spectrophotometric Molybdovanadophosphate Method) 958.01
- กลุ่มวิจัยเกษตรเคมี สำนักวิจัยพัฒนาปัจจัยการผลิตทางการเกษตร กรมวิชาการเกษตร. 2551. คู่มือวิเคราะห์ปุ๋ยเคมี. ห้างหุ้นส่วนจำกัด ฟันนี้ พับลิชชิ่ง. กรุงเทพฯ. 66 หน้า
- สุนันทา ชมพูนิช, วรรณรัตน์ ชุตติบุตร และอมรา หาญจวนิช. 2549. รายงานเรื่องเติมผลการทดลองเรื่อง การตรวจสอบความใช้ได้ของวิเคราะห์โพแทชที่ละลายน้ำได้ในปุ๋ย. กรมวิชาการเกษตร. กรุงเทพฯ. 9 หน้า
- อุมาพร สุขม่วงและอารีย์ คชฤทธิ์. 2553. เอกสารประกอบการฝึกอบรมหลักสูตร ความใช้ได้ของวิธีทดสอบ. กรมวิทยาศาสตร์บริการ. กรุงเทพฯ. 33 หน้า