

รายงานผลงานเรื่องเพิ่มการทดลองที่สิ้นสุด ปีงบประมาณ 2557

1. **ชุดโครงการวิจัย** วิจัยและพัฒนาปัจจัยการผลิตทางการเกษตร
2. **โครงการวิจัย** การพัฒนาระบบการตรวจวิเคราะห์พืชและปัจจัยการผลิตทางการเกษตร
กิจกรรม การพัฒนาระบบการตรวจวิเคราะห์ปุ๋ย พืช ดิน น้ำ สารอินทรีย์ สารควบคุมการเจริญเติบโตพืช สารสกัด และวัตถุอันตรายทางการเกษตร
กิจกรรมย่อย พัฒนาเทคนิคระบบการตรวจวิเคราะห์ และตรวจสอบความใช้ได้ของวิธีวิเคราะห์ปุ๋ย
3. **ชื่อการทดลอง** ตรวจสอบความใช้ได้ของวิธีวิเคราะห์ซัลเฟอร์ในปุ๋ยเคมี
Method Validation of Sulfur in Chemical Fertilizer
4. **คณะผู้ดำเนินงาน**
หัวหน้าการทดลอง นางสาวพงศ์พิศ แก้วสุข สังกัด กลุ่มวิจัยเกษตรเคมี สปผ.
ผู้ร่วมงาน นางสาวศุภากร ดวนใหญ่ สังกัด กลุ่มวิจัยเกษตรเคมี สปผ.
5. **บทคัดย่อ**

การตรวจสอบความใช้ได้ของวิธีวิเคราะห์ คือ กระบวนการพิสูจน์ว่าวิธีวิเคราะห์มีความเหมาะสมเพื่อนำไปใช้ตามวัตถุประสงค์ที่ต้องการใช้งาน โดยจัดทำหลักฐานยืนยันเพื่อแสดงถึงคุณภาพ ระดับความเชื่อมั่นของการวิเคราะห์ภายใต้เงื่อนไขความจำเพาะของวิธี ซึ่งการวิเคราะห์หาปริมาณซัลเฟอร์ในปุ๋ยเคมี ของห้องปฏิบัติการกลุ่มวิจัยเกษตรเคมี ได้ทำการวิเคราะห์โดยใช้เครื่อง Inductively Coupled Plasma – Optical Emission Spectrometry (ICP-OES) พบว่า Limit of Detection (LOD) เท่ากับ 0.0036 %S และ Limit of Quantitation (LOQ) เท่ากับ 0.0127 %S เมื่อพิสูจน์ค่าความแม่นยำ (Accuracy) และค่าความเที่ยง (Precision) ของ LOQ ได้ค่า %Recovery เท่ากับ 96.38% และ HORRAT (Horwitz'Ratio) เท่ากับ 1.20 นำผลการวิเคราะห์ปริมาณซัลเฟอร์ของ CRM ที่ระดับความเข้มข้นต่ำ กลาง และสูง มาคำนวณ %Recovery เพื่อพิสูจน์ความแม่นยำ และค่า HORRAT (Horwitz'Ratio) ของการวิเคราะห์ซ้ำแบบต่างเวลากัน เพื่อพิสูจน์ความเที่ยง ได้ผลการทดลองดังนี้ ที่ระดับความเข้มข้นต่ำ (0.74 %S) ระดับความเข้มข้นกลาง (17.79 %S) และระดับความเข้มข้นสูง (30.302 %S) % Recovery เท่ากับ 99.06%, 101.80% และ 99.19% ตามลำดับ ค่า HORRAT (Horwitz'Ratio) ของการวิเคราะห์ซ้ำแบบต่างเวลากัน (Intermediate) เท่ากับ 1.92, 1.88 และ 1.07 ตามลำดับ การวิเคราะห์ปริมาณซัลเฟอร์ของตัวอย่างปุ๋ยที่มีลักษณะของเนื้อสาร (Matrix) แตกต่างกัน โดยการเติม CRM ที่ระดับความเข้มข้นต่ำ กลาง และสูงลงไป คำนวณ %Recovery เพื่อพิสูจน์ความแม่นยำ และค่า HORRAT (Horwitz'Ratio) ของการวิเคราะห์ซ้ำแบบต่างเวลากัน เพื่อพิสูจน์ความเที่ยง ได้ผลการทดลองดังนี้ ที่ระดับความเข้มข้นต่ำ (0.74 %S) ระดับความเข้มข้นกลาง (17.79 %S) และระดับความเข้มข้นสูง (30.302 %S) %Recovery เท่ากับ 99.06%, 101.85% และ 100.66% ตามลำดับ ค่า HORRAT (Horwitz'Ratio) ของการวิเคราะห์ซ้ำแบบต่างเวลากัน (Intermediate) เท่ากับ 1.89, 1.57 และ 0.87 ตามลำดับจากผลการวิเคราะห์ที่ได้พบว่าผ่านเกณฑ์การยอมรับ (ตาม AOAC) ทั้งหมด (%Recovery อยู่ในช่วง 98-102% และ HORRAT (Horwitz'Ratio) < 2)

Abstract

Validation of methods is the proper use of analytical methods leads to the reliable quantitation of target analytes within the limits of measurement uncertainty. Validation of a method is the planned and documented procedure to establish its performance characteristics. The performance characteristics or the validation parameters of the method determine the suitability for its intended use. They define what the method can do under optimized conditions of matrix solution, analyte isolation, instrumental settings, and other experimental features. Analytical method of sulfur in chemical fertilizer by Inductively Coupled Plasma – Optical Emission Spectrometry (ICP-OES) of Agricultural Chemistry Research Group laboratory found that the Limit of Detection (LOD) 0.0036 %S and Limit of Quantitation (LOQ) 0.0127 %S. To prove the accuracy and precision of LOQ as 96.38% Recovery and HORRAT (Horwitz'Ratio) as 1.20. The Intermediate analysis CRM of sulfur to prove concentrations (0.74 %S, 17.79 %S, 30.302 %S) %Recovery as 99.06%, 101.80%, 99.19% HORRAT (Horwitz'Ratio) as 1.92, 1.88, 1.07. The matrix analysis of sulfur by CRM spiked in sample fertilizer to prove concentrations (0.74 %S, 17.79 %S, 30.302 %S) %Recovery as 99.06%, 101.85%, 100.66% HORRAT (Horwitz'Ratio) as 1.89, 1.57, 0.87. The results of analysis showed that the (AOAC) acceptance criteria. (%Recovery in the range 98-102% and HORRAT (Horwitz'Ratio) < 2)

6. คำนำ

ปัจจุบันการผลิตและจำหน่ายปุ๋ยที่มีส่วนประกอบของธาตุซัลเฟอร์ในรูปแบบ แอมโมเนียมซัลเฟต โพแทสเซียมซัลเฟต แคลเซียมซัลเฟต แมกนีเซียมซัลเฟต เฟอร์รัสซัลเฟต ซิงค์ซัลเฟต แมงกานีสซัลเฟต คอปเปอร์ซัลเฟต และอื่นๆอีกมากมายในปริมาณที่แตกต่างกัน ดังนั้นตัวอย่างปุ๋ยที่ส่งมาวิเคราะห์ ณ ห้องปฏิบัติการกลุ่มงานวิจัยระบบตรวจสอบคุณภาพปุ๋ย เพื่อวิเคราะห์หาปริมาณซัลเฟอร์ซึ่งเป็นธาตุอาหารรองในปุ๋ย ห้องปฏิบัติการจำเป็นต้องพัฒนาเทคนิควิธีการวิเคราะห์เพื่อให้มั่นใจว่าผลการวิเคราะห์ที่ได้มีความถูกต้อง แม่นยำ น่าเชื่อถือ รวดเร็ว ลดต้นทุน ทันท่วงที และต้องสามารถแสดงหลักฐานที่เป็นรูปธรรมว่าผลการวิเคราะห์มีความถูกต้องตามหลักวิชาการ ดังนั้นจึงได้ศึกษาโดยการนำเครื่อง Inductively Couple Plasma – Optical Emission Spectrometry (ICP-OES) มาใช้ในการวิเคราะห์ ซึ่งเครื่องมือนี้สามารถวิเคราะห์หาปริมาณธาตุในช่วงความเข้มข้นต่ำได้ดี อาศัยหลักการที่ทำให้ธาตุที่ต้องการวิเคราะห์เปลี่ยนสถานะจากสถานะพื้นไปยังสถานะกระตุ้นด้วยกระบวนการที่เหมาะสม ทำให้อะตอมของสารนั้น สามารถเปล่งแสงออกมาในช่วง ยูวี-วิสิเบิล และมีลักษณะเฉพาะตัว (แม้น อมรสิทธิ์ และอมร เพชรสม 2534) เมื่อตัวอย่างเข้าสู่ระบบและทำให้เป็นอะตอมในสถานะเร้าโดยใช้ plasma generated by an argon อะตอมคายพลังงานเพื่อเข้าสู่สภาวะระดับพลังงานที่ต่ำกว่าจะเปล่งแสง (emission) เข้าสู่ดีเทคเตอร์ วัดความเข้มแสงที่สัมพันธ์เชิงเส้นกับความเข้มข้นของสาร (Charles B.Boss and Kenneth J.Fredeen, 2004) ซึ่งก่อนที่จะนำวิธีวิเคราะห์มาใช้ จึงต้องมีการตรวจสอบความใช้ได้ของวิธีวิเคราะห์ (Eurachem,2014) เพื่อพิสูจน์ว่าวิธีนี้

เป็นวิธีที่เหมาะสมในการวิเคราะห์หาปริมาณซัลเฟอร์ในปุ๋ยเคมีและเพื่อให้มีความเชื่อมั่นในผลการวิเคราะห์ว่ามีความถูกต้อง แม่นยำ เป็นไปตามเกณฑ์กำหนดของมาตรฐานสากล โดยดำเนินการวิเคราะห์หาปริมาณซัลเฟอร์ในวัสดุอ้างอิงรับรอง (Certified Reference Material : CRM) เพื่อหา Limit of Detection (LOD) , Limit of Quantitation (LOQ) ประเมินค่าความแม่นยำ (Accuracy) และค่าความเที่ยง (Precision) โดยใช้วัสดุอ้างอิงรับรองที่มีปริมาณซัลเฟอร์ 3 ระดับความเข้มข้น เพื่อให้ครอบคลุมการใช้งาน (Working Range) 0-30 % S แสดงว่าวิธีวิเคราะห์หาปริมาณซัลเฟอร์ในปุ๋ยเคมี ของห้องปฏิบัติการกลุ่มงานวิจัยระบบตรวจสอบคุณภาพปุ๋ยผ่านการตรวจสอบความใช้ได้ของวิธีวิเคราะห์ (Method Validation) ซึ่งเป็นไปตามข้อกำหนดของมาตรฐาน ISO/IEC 17025

7. วิธีดำเนินการ

- อุปกรณ์

1. เครื่อง Inductively Coupled Plasma – Optical Emission Spectrometry (ICP-OES) และอุปกรณ์ประกอบ
2. เครื่องชั่งตัวอย่าง ทศนิยม 4 ตำแหน่ง
3. เตา Hot plate
4. เครื่องแก้วและวัสดุอื่นที่ใช้ในการปฏิบัติการวิเคราะห์
5. ก๊าซอาร์กอน และก๊าซไนโตรเจน
6. Nitric acid 69-70% (HNO₃), AR grade
7. Hydrochloric acid 36-38% (HCl), AR grade
8. Sample Blank
9. สารละลายมาตรฐาน ซัลเฟอร์ ความเข้มข้น 1000 ppm
10. วัสดุอ้างอิงรับรอง (Certified Reference Material)
 - 10.1 Natural Moroccan phosphate rock (BCR-032)
 - 10.2 Potassium sulfate Fertilizer (BCR-114)
 - 10.3 Zinc concentrate (SRM-113b)

- วิธีการ

1. การหาค่า Linear และ Working Range
 - 1.1 ชั่งตัวอย่างปุ๋ยที่ไม่มีซัลเฟอร์ น้ำหนัก 3.xxxx g ทำ Sample blank และเติมสารละลายมาตรฐาน S ครอบคลุมช่วงความเข้มข้น 1,10,40,100,200,250,300 ppm จำนวน 7 ความเข้มข้น ตามลำดับ ใส่ Erlenmeyer Flask เติมกรดผสม HNO₃ : HCl (1:3) ปริมาณ 40 ml นำไปย่อยบน Hot Plate ที่อุณหภูมิไม่เกิน 220 °C จนเหลือสารละลายประมาณ 4 ml ทิ้งให้เย็นที่อุณหภูมิห้อง
 - 1.2 ถ่ายสารละลาย และล้างตะกอนใน Erlenmeyer Flask ใส่ Volumetric Flask และปรับปริมาตรด้วยน้ำกลั่น เขย่าให้เข้ากันกรองสารละลายใน Volumetric Flask ด้วยกระดาษกรอง
 - 1.3 เทสารละลายใส่ที่กรองแล้วใส่ Tube

- 1.4 นำไปวัดโดยใช้เครื่อง ICP-OES
- 1.5 สร้างกราฟระหว่างความเข้มข้นของสารละลายที่เตรียม กับ สัญญาณจากเครื่องมือ
- 1.6 หาช่วงการใช้งานที่ครอบคลุมช่วงความเข้มข้นที่สนใจ
- 1.7 เตรียมสารละลายมาตรฐานให้อยู่ในช่วงที่มีความเป็นเชิงเส้น จำนวน 6 ความเข้มข้น ดำเนินการเช่นเดียวกับข้อ 1.1-1.5 คำนวณค่า Correlation Coefficient (r)
2. การหา Limit of Detection (LOD) และ Limit of Quantitation (LOQ) ของวิธีการวิเคราะห์ซัลเฟอร์
 - 2.1 ชั่งตัวอย่างปุ๋ยที่ไม่มีซัลเฟอร์ น้ำหนัก 3.xxxx g ใส่ Erlenmeyer Flask เติมกรดผสม HNO₃ : HCl (1:3) ปริมาณ 40 ml นำไปย่อยบน Hot Plate ที่อุณหภูมิไม่เกิน 220 °C จนเหลือสารละลายประมาณ 4 ml ทิ้งให้เย็นที่อุณหภูมิห้อง
 - 2.2 ดำเนินการเช่นเดียวกับข้อ 1.2-1.4 บันทึกข้อมูล คำนวณหาค่าเฉลี่ย ค่าเบี่ยงเบนมาตรฐาน
 - 2.3 คำนวณค่า LOD และ LOQ ตามสูตร

$$\text{LOD} = \bar{x} + 3\text{SD}$$

$$\text{LOQ} = \bar{x} + 10\text{SD}$$
 - 2.4 พิสูจน์ Accuracy และ Precision ของ LOQ โดยชั่ง ตัวอย่าง Urea ที่เติมสารมาตรฐานอ้างอิงปุ๋ย Moroccan phosphate rock (BCR-032) เป็นส่วนประกอบปริมาณ 0.0221% (BCR-032 3.0031 g ปรับปริมาตรเป็น 100 ml ด้วย กรด HNO₃ 4%) น้ำหนัก 3.xxxx g ใส่ Erlenmeyer Flask เติมกรดผสม HNO₃ : HCl (1:3) ปริมาณ 40 ml นำไปย่อยบน Hot Plate ที่อุณหภูมิไม่เกิน 220 °C จนเหลือสารละลายประมาณ 4 ml ทิ้งให้เย็นที่อุณหภูมิห้องดำเนินการวิเคราะห์ เช่นเดียวกับข้อ 1.2-1.4 (โดยทำการวิเคราะห์ที่เวลาแตกต่างกัน วันละ 1 ซ้ำเป็นเวลา 10 วัน)
 - 2.5 บันทึกผล %S แล้วเปรียบเทียบค่าที่วิเคราะห์ได้กับค่าความเข้มข้นที่เตรียม(0.0221%)โดยพิจารณา %Recovery และค่า HORRAT (Horwitz' Ratio)
3. การหาค่า Accuracy ของวิธีวิเคราะห์ซัลเฟอร์ที่ระดับความเข้มข้นต่ำ กลาง สูง
 - 3.1 ชั่ง CRM ที่มีปริมาณความเข้มข้นต่ำคือ Natural Moroccan phosphate rock (BCR-032) 0.74 %S ความเข้มข้นกลางคือ Potassium sulfate Fertilizer (BCR-114) 17.79 %S และความเข้มข้นสูงคือ Zinc concentrate (SRM-113b) 30.032 ± 0.057 %S น้ำหนัก 0.3xxx g ใส่ Erlenmeyer Flask
 - 3.2 เติมกรดผสม HNO₃ : HCl (1:3) ปริมาณ 40 ml นำไปย่อยบน Hot Plate ที่อุณหภูมิไม่เกิน 220 °C จนเหลือสารละลายประมาณ 4 ml ทิ้งให้เย็นที่อุณหภูมิห้อง
 - 3.3 ดำเนินการวิเคราะห์ เช่นเดียวกับข้อ 1.2-1.4 (โดยทำการวิเคราะห์ที่ 3 ระดับความเข้มข้น ความเข้มข้นละ 10 ซ้ำ แบบต่างวัน)

3.4 บันทึกผล %S แล้วเปรียบเทียบค่าที่วิเคราะห์ได้กับค่ารับรองของ CRM โดยการพิจารณา %Recovery ตาม AOAC Peer-Verified method ,Nov. 1998 เกณฑ์การยอมรับอยู่ในช่วง 98-102%

$$\%Recovery = \frac{\text{ค่าที่วิเคราะห์ได้}}{\text{ค่าอ้างอิง (จากใบรับรอง)}} \times 100$$

3.5 ซั่งตัวอย่างปุ๋ยที่มีลักษณะของเนื้อสาร (Matrix) แตกต่างกัน คือ ปุ๋ย Urea และซั่ง CRM ความเข้มข้นต่ำ กลาง สูงลงไปน้ำหนัก 0.3xxx g ใส่ Erlenmeyer Flask ดำเนินการวิเคราะห์ เช่นเดียวกับซ้อ 3.2-3.3 (โดยทำการวิเคราะห์ที่ 3 ระดับความเข้มข้น ความเข้มข้นละ 10 ซ้า แบบต่างวัน)

4. การหาค่า Precision ของวิธีวิเคราะห์ซัลเฟอร์ที่ระดับความเข้มข้นต่ำ กลาง สูง

4.1 ซั่ง CRM ที่มีปริมาณความเข้มข้นต่ำคือ Natural Moroccan phosphate rock (BCR-032) 0.74 %S ความเข้มข้นกลางคือ Potassium sulfate Fertilizer (BCR-114) 17.79 %S และความเข้มข้นสูงคือ Zinc concentrate (SRM-113b) 30.032 ± 0.057 %S น้ำหนัก 0.3xxx g ใส่ Erlenmeyer Flask เติมกรดผสม HNO₃ : HCl (1:3) ปริมาณ 40 ml นำไปย่อยบน Hot Plate ที่อุณหภูมิไม่เกิน 220 ° C จนเหลือสารละลายประมาณ 4 ml ทิ้งให้เย็นที่อุณหภูมิห้อง

4.2 ดำเนินการวิเคราะห์เช่นเดียวกับซ้อ 1.2-1.4 (โดยทำการวิเคราะห์ที่ 3 ระดับความเข้มข้น ความเข้มข้นละ 10 ซ้า แบบต่างวัน)

4.3 บันทึกผล %S และคำนวณหาค่า Precision โดยใช้ Horwitz equation

4.4 ดำเนินการวิเคราะห์เช่นเดียวกับซ้อ 3.5

4.5 การประเมินค่า Precision ในเกณฑ์การประเมินใช้ HORRAT (Horwitz'Ratio)

$$HORRAT \text{ (Horwitz'Ratio)} = \frac{\%RSD}{\text{Predicted Horwitz RSD}}$$

เกณฑ์การยอมรับ AOAC : HORRAT (Horwitz'Ratio) < 2

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

C = Concentration ratio

$$\% RSD = \frac{SD}{\bar{x}} \times 100$$

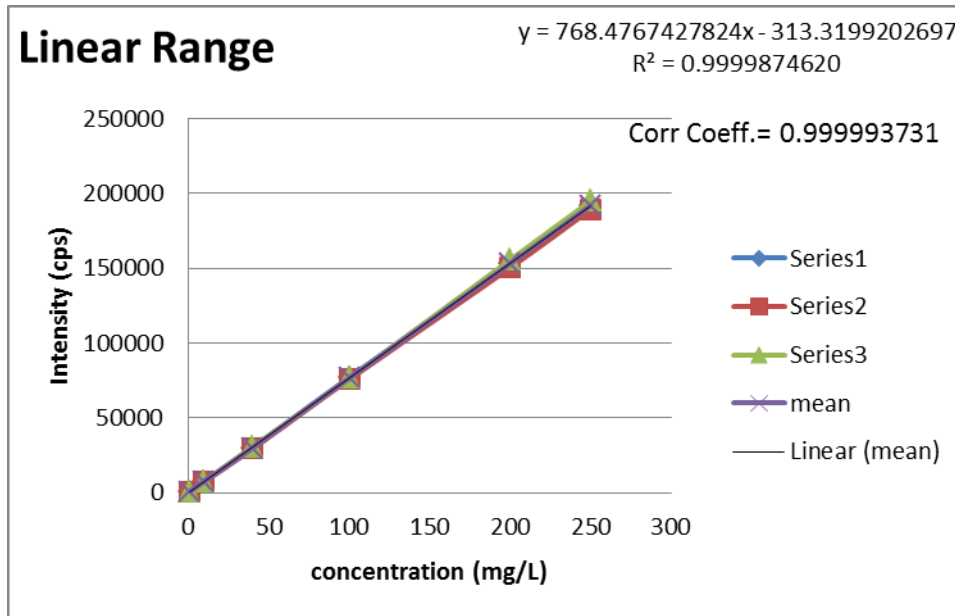
- เวลาและสถานที่ 1 ตุลาคม 2556 - 30 กันยายน 2557 กลุ่มวิจัยเกษตรเคมี กปพ.

8. ผลการทดลองและวิจารณ์

1. การหาค่า Linear และ Working Range

1.1 ผลการวัดสารละลายมาตรฐานที่เตรียม 7 ระดับความเข้มข้น คือ 1,10,40,100,200,250,300 ppm ได้ค่า Correlation Coefficient (r) เท่ากับ 0.999963

1.2 ผลการวัดสารละลายมาตรฐานที่เตรียม 6 ระดับความเข้มข้น คือ 1,10,40,100,200,250 ppm ค่าการตอบสนอง 3 ซ้ำ มาสร้างกราฟระหว่างความเข้มข้นของสารละลายที่เตรียม กับ สัญญาณจากเครื่องมือ ได้ค่า Correlation Coefficient (r) เท่ากับ 0.999993731



ภาพที่ 1 กราฟแสดงความสัมพันธ์ระหว่างความเข้มข้นของสารละลายที่เตรียม กับ สัญญาณจากเครื่องมือ

2. สภาพของเครื่อง ICP สำหรับการวิเคราะห์ซัลเฟอร์ในปุ๋ยเคมี ใช้ที่ความยาวคลื่น 181.975 nm และ ช่วงความเข้มข้นของสารละลายมาตรฐานที่ใช้ คือ 0,1,10,40,100,200,250 ppm

ตารางที่ 1 แสดงสภาพของเครื่อง ICP สำหรับการวิเคราะห์ซัลเฟอร์ในปุ๋ยเคมี

Wave Length (nm)	Plasma (L/min)	Aux (L/min)	Neb (L/min)	Power (watts)	Plasma View	Flow Rate (ml/min)	Flush Time (second)	Wash rate (ml/min)	Wash Time (second)	ความเข้มข้นของ STD. (ppm)
181.975	15	0.2	0.8	1300	Radial	1.5	15	2.5	20	0,1,10,40,100,200,250

3. การตรวจสอบความใช้ได้ของวิธีวิเคราะห์หาปริมาณซัลเฟอร์ในปุ๋ยเคมีโดยการหาค่า Limit of Detection (LOD) , Limit of Quantitation (LOQ) , Accuracy และ Precision พบว่า จากผลการวิเคราะห์ตัวอย่างปุ๋ย Sample blank

$$\text{ดังนั้น } \text{LOD} = \bar{x} + 3SD = 0.0036$$

$$\text{LOQ} = \bar{x} + 10SD = 0.013$$

พิสูจน์ Accuracy และ Precision ของ LOQ จากผลการวิเคราะห์ตัวอย่าง Urea กับ BCR-032 (0.0221%S) ได้ค่า%S เฉลี่ย 0.0213 และ SD = 0.0012 คำนวณ %Recovery = 96.38% และค่า HORRAT (Horwitz'Ratio) = 1.20 (%Recovery ตาม AOAC Peer-Verified

method ,Nov. 1998 เกณฑ์การยอมรับอยู่ในช่วง 95-105% แสดงว่า %Recovery ผ่านเกณฑ์การยอมรับ HORRAT (Horwitz'Ratio) < 2 แสดงว่า ผ่านเกณฑ์การยอมรับ

4. การศึกษาหาค่า Accuracy และ Precision ของวิธีวิเคราะห์ซัลเฟอร์ที่ระดับความเข้มข้นต่ำ กลาง สูง ซึ่งวิเคราะห์ซ้ำแบบต่างเวลากัน (Intermediate)

ตารางที่ 2 แสดงผลการวิเคราะห์ CRM ที่ระดับความเข้มข้นต่ำ กลาง สูงของการวิเคราะห์ซ้ำแบบต่างเวลากัน (Intermediate)

Number 1-10	BCR-032 (0.7369%S)	BCR-114 (17.79%S)	SRM 113b (30.032±0.057%S)
mean	0.73	18.12	30.23
SD	0.01	0.20	0.55
%Recovery	99.06	101.85	100.66
HORRAT	1.89	1.57	0.87

%Recovery ตาม AOAC Peer-Verified method ,Nov. 1998 เกณฑ์การยอมรับอยู่ในช่วง 98-102% แสดงว่า %Recovery ผ่านเกณฑ์การยอมรับ HORRAT (Horwitz'Ratio) < 2 แสดงว่า ผ่านเกณฑ์การยอมรับ

5. การศึกษาหาค่า Accuracy ของวิธีวิเคราะห์ซัลเฟอร์ของตัวอย่างปุ๋ยที่มีลักษณะของเนื้อสาร (matrix) แตกต่างกัน โดยการเติม CRM/SRM ความเข้มข้นต่ำ กลาง สูง ลงไป

ตารางที่ 3 แสดงผลการวิเคราะห์ซัลเฟอร์ของตัวอย่างปุ๋ยที่มีลักษณะของเนื้อสาร (matrix) แตกต่างกัน โดยการเติม CRM/SRM ความเข้มข้นต่ำ กลาง สูง ลงไป

Number 1-10	Moroccan phosphate rock (BCR-032) 0.74 %S (1.84±0.08%SO ₃)	Potassium sulphate (BCR-114) 17.79 %S (53.3±0.2%SO ₃)	Zinc concentrate (SRM 113b) 30.032 ± 0.057%S
mean	0.73	18.12	30.23
SD	0.0107	0.1976	0.5461
%Recovery	99.06	101.85	100.66
HORRAT	0.53	0.90	1.63

9. สรุปผลการทดลองและข้อเสนอแนะ

การพัฒนาเทคนิคการวิเคราะห์หาปริมาณซัลเฟอร์ในปุ๋ยเคมี เพื่อให้ได้เทคนิควิธีวิเคราะห์ที่ถูกต้อง แม่นยำและรวดเร็ว สามารถอ้างอิงได้ตามมาตรฐานสากล ทำให้เป็นที่ยอมรับ โดยทำการศึกษาค่า LOD และ

LOQ เมื่อพิสูจน์ %S ที่ 0.0221 ได้ค่า SD เท่ากับ 0.0012 ค่าความ %Recovery เท่ากับ 96.38% พบว่าค่าที่ได้ผ่านเกณฑ์ยอมรับในช่วง 95-105% และค่า HORRAT (Horwitz'Ratio) เท่ากับ 1.20 พบว่าค่าที่ได้ผ่านเกณฑ์ยอมรับ HORRAT (Horwitz'Ratio) < 2 และ Accuracy , Precision ทำการทดลองโดยการวิเคราะห์หาปริมาณซัลเฟอร์ของ CRM 3 ระดับความเข้มข้นเพื่อให้ครอบคลุมการใช้งาน คือ 0.02-30 %S และนำมาพิสูจน์ความแม่นยำโดยการหา %Recovery พบว่าค่าที่ได้ผ่านเกณฑ์ยอมรับ (AOAC,2012) และพิสูจน์ความเที่ยง โดยใช้ HORRAT (Horwitz'Ratio) พบว่าค่าที่ได้ผ่านเกณฑ์ยอมรับ HORRAT (Horwitz'Ratio) < 2 ดังนั้นจึงสรุปได้ว่าวิธีนี้เป็นวิธีที่เหมาะสมในการวิเคราะห์หาปริมาณซัลเฟอร์ในปุ๋ยเคมี

10. การนำผลงานวิจัยไปใช้ประโยชน์

การพัฒนาการตรวจสอบความใช้ได้ของวิธีวิเคราะห์หาปริมาณซัลเฟอร์ในปุ๋ยเคมี เป็นการพิสูจน์ว่าวิธีนี้เป็นวิธีที่เหมาะสมในการวิเคราะห์หาปริมาณซัลเฟอร์ในปุ๋ยเคมี เพื่อให้มีความเชื่อมั่นในผลการทดสอบว่ามีความถูกต้อง แม่นยำ เป็นไปตามเกณฑ์กำหนดของมาตรฐานสากล สามารถเป็นวิธีมาตรฐานของห้องปฏิบัติการเพื่อเป็นข้อมูลที่ใช้ประกอบการขอการรับรองห้องปฏิบัติการ ตามมาตรฐาน ISO/IEC 17025

11. คำขอบคุณ

12. เอกสารอ้างอิง

ดุขฎี มั่นความดี. 2549. Method validation. เอกสารประกอบการฝึกอบรม. ณ ห้องประชุมกลุ่มวิจัยเกษตรเคมี กรมวิชาการเกษตร, 18-19 มิถุนายน 2549.

ฝ่ายมาตรฐานวิธีเคมีและชีวภาพ.2554. Analytical Method Validation. การอบรมเชิงปฏิบัติการ. ณ ห้อง 2-320 อาคารผดุงมาตรฐาน. สถาบันมาตรฐานแห่งชาติ, 28-29 มีนาคม 2554.

แม่น อมรสิทธิ์ และ อมร เพชรสม. 2534. หลักการและเทคนิคการวิเคราะห์เชิงเครื่องมือ กรุงเทพฯ : ภาควิชาเคมี คณะวิทยาศาสตร์ จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย.

วันดี ลือสายวงศ์. 2557. การจัดทำ calibration curve และ quality control chart. การอบรม. ณ อาคารสถานศึกษาเคมีปฏิบัติ กรมวิทยาศาสตร์บริการ. กรุงเทพฯ, 28 สิงหาคม 2557

อุมาพร สุขม่วง และ อารีย์ คชฤทธิ์. 2553. ความใช้ได้ของวิธีทดสอบ. เอกสารประกอบการฝึกอบรมตามแผนพัฒนาบุคลากรของกรมวิชาการเกษตร. ณ ห้องประชุมกลุ่มวิจัยเกษตรเคมี สำนักวิจัยพัฒนาปัจจัยการผลิตทางการเกษตร กรมวิชาการเกษตร, 28-29 มิถุนายน 2553.

B. Magnusson and U Ornemark. 2014. Eurachem Guide: The Fitness for Purpose of Analytical Methods-A Laboratory Guide to Method Validation and Related Topics. 2nd Ed. ISBN 978-91-87461-59-0.

Charles B.Boss and Kenneth J.Fredeen.2004. Concepts. Instrumentation and Techniques in Inductively Coupled Plasma Optical Emission Spectrometry. USA : PerkinElmer,Inc.,

George W. Latimer, Jr. 2012. Official Methods of Analysis of AOAC International. 19th Ed. AOAC International Gaithersburg, Maryland. 20877-2417,USA.

The Nation Institute of Agro-environmental Sciences,1987. Official Methods of Analysis of

Fertilizers. Foundation Norin Kosaikai, Tsukubashi, Ibaraki-ken.

13. ภาคผนวก

การหาค่า Linear และ Working Range

ตารางผนวกที่ 1 แสดงผลระหว่างความเข้มข้นของสารละลายที่เตรียม กับ สัญญาณจากเครื่องมือ 7 ระดับ
ความเข้มข้น

Concentration (mg/l)	Wt. Sample blank (g)	Intensity (cps)
1	3.0120	656.8657931
10	3.0117	7630.486253
40	3.0119	31162.4392
100	3.0118	80465.5269
200	3.0116	164734.5834
250	3.0119	205995.356
300	3.0120	248576.357

ตารางผนวกที่ 2 แสดงผลระหว่างความเข้มข้นของสารละลายที่เตรียม กับ สัญญาณจากเครื่องมือ 6 ระดับความเข้มข้น

Concentration (mg/l)	Wt. Sample blank (g)	Intensity (cps)		
		Rep.1	Rep.2	Rep.3
1	3.0118	673.0340383	668.7897783	686.7657023
10	3.0119	7634.533796	7412.964344	7642.395993
40	3.0120	29998.0788	29363.96511	30785.28195
100	3.0118	77128.60601	75723.25775	76594.5398
200	3.0120	153088.2227	150511.0567	155697.4832
250	3.0118	191882.5806	189354.8303	195077.4221

การศึกษาหา Limit of Detection (LOD) และ Limit of Quantitation (LOQ) ของวิธีการวิเคราะห์ซัลเฟอร์

ตารางผนวกที่ 3 แสดงผลการวิเคราะห์ ตัวอย่าง sample blank

No.	Wt. Sample blank (g)	%S
-----	-------------------------	----

1	3.0118	-0.0002
2	3.0156	-0.0003
3	3.0150	-0.0019
4	3.0038	-0.0016
5	3.0114	-0.0019
6	3.0018	0.0014
7	3.0163	0.0012
8	3.0214	0.0008
9	3.0098	0.0005
10	3.0212	0.0003
mean		-0.0003
SD		0.0013

ตารางผนวกที่ 4 แสดงผลพิสูจน์ Accuracy และ Precision ของ LOQ โดยใช้ ตัวอย่าง urea ที่เติมสาร
มาตรฐานอ้างอิงปุ๋ย Moroccan phosphate rock (BCR-032) 0.0221%

No.	Wt. Sample blank (g)	Wt. BCR-032 (g)	%S
-----	-------------------------	--------------------	----

1	3.0209	3.0209	0.0201
2	3.0024	3.0024	0.0220
3	3.0007	3.0007	0.0205
4	3.0166	3.0166	0.0201
5	3.0093	3.0093	0.0201
6	3.0147	3.0147	0.0216
7	3.1834	3.0034	0.0232
8	3.0133	3.0133	0.0209
9	3.0401	3.0001	0.0214
10	3.0307	3.0307	0.0206
ค่าเฉลี่ย			0.0213
SD			0.0012
% Recovery			96.38
HORRAT			1.20

ตารางผนวกที่ 5 แสดงผลการวิเคราะห์ สารมาตรฐานอ้างอิงปุ๋ย Moroccan phosphate rock (BCR-032)
0.7396%S (18.4±0.8 g/kg SO₃)

No.	Wt. BCR-032 (g)	%S
-----	--------------------	----

1	0.3109	0.74
2	0.3026	0.72
3	0.3028	0.72
4	0.3013	0.72
5	0.3035	0.73
6	0.3216	0.73
7	0.3247	0.75
8	0.3019	0.72
9	0.3018	0.73
10	0.3015	0.74
Mean		0.73
SD		0.0105
%Recovery		99.06
HORRAT		0.52

ตารางผนวกที่ 6 ผลการวิเคราะห์ Sample blank ที่เติมสารมาตรฐานอ้างอิงปุ๋ย Moroccan phosphate rock (BCR-032) 0.7396%S (18.4±0.8 g/kg SO₃)

No.	Spiked Sample blank (g)	Wt. BCR-032 (g)	%S
-----	----------------------------	--------------------	----

1	0.3272	0.3026	0.72
2	0.3056	0.3043	0.73
3	0.3249	0.3036	0.72
4	0.3016	0.3036	0.72
5	0.3091	0.3251	0.74
6	0.3297	0.3087	0.71
7	0.3129	0.3013	0.74
8	0.3165	0.3026	0.72
9	0.3016	0.3117	0.74
10	0.3183	0.3047	0.72
mean			0.73
SD			0.0107
%Recovery			99.06
HORRAT			0.53

ตารางผนวกที่ 7 ผลการวิเคราะห์ สารมาตรฐานอ้างอิงปุ๋ย Potassium sulphate (BCR-114) 17.79%S
(533±2 mg/g SO₄²⁻)

No.	Wt. BCR-114 (g)	%S
1	0.3041	17.96
2	0.3024	17.81

3	0.3074	18.10
4	0.3067	18.26
5	0.3084	18.02
6	0.3045	18.30
7	0.3048	18.29
8	0.3054	18.21
9	0.3024	18.18
10	0.3011	17.98
mean		18.11
SD		0.16
%Recovery		101.80
HORRAT		0.53

ตารางผนวกที่ 8 ผลการวิเคราะห์ Sample blank ที่เติมสารมาตรฐานอ้างอิงปุ๋ย Potassium sulphate (BCR-114) 17.79%S (533±2 mg/g SO₄²⁻)

No.	Wt. Sample blank (g)	Wt. BCR-114 (g)	%S
-----	-------------------------	--------------------	----

1	0.3151	0.3212	17.89
2	0.3253	0.3024	18.07
3	0.3275	0.3135	18.10
4	0.3389	0.3047	18.38
5	0.3145	0.3207	18.04
6	0.3272	0.3028	18.42
7	0.3246	0.3143	17.95
8	0.3167	0.3043	18.37
9	0.3267	0.3086	18.1
10	0.3112	0.3118	17.92
mean			18.12
SD			0.20
%Recovery			101.85
HORRAT			0.64

ตารางผนวกที่ 9 ผลการวิเคราะห์ สารมาตรฐานอ้างอิงปุย Zinc concentrate (SRM 113b)
 $30.032 \pm 0.057\%S$ ($30.032 \pm 0.057g/100g S$)

No.	Wt. SRM 113b (g)	%S
1	0.3117	29.44
2	0.3068	29.38

3	0.3105	29.67
4	0.3048	29.60
5	0.3162	29.69
6	0.3089	29.62
7	0.3167	29.68
8	0.3025	29.62
9	0.3095	30.76
10	0.3056	30.42
mean		29.79
SD		0.44
%Recovery		99.19
HORRAT		0.93

ตารางผนวกที่ 10 ผลการวิเคราะห์ Sample blank ที่เติมสารมาตรฐานอ้างอิงปฏุย Zinc concentrate (SRM 113b)
 $30.032 \pm 0.057\%S$ ($30.032 \pm 0.057g/100g S$)

No.	Wt. Sample blank (g)	Wt. BCR-114 (g)	%S
-----	-------------------------	--------------------	----

1	0.3237	0.3089	30.25
2	0.3036	0.3024	29.67
3	0.3154	0.3087	31.02
4	0.3012	0.3034	29.38
5	0.3067	0.3014	30.58
6	0.3142	0.3095	30.08
7	0.3137	0.3047	30.43
8	0.3134	0.3028	31.04
9	0.3052	0.3046	29.87
10	0.3126	0.3046	30.00
mean			30.23
SD			0.55
%Recovery			100.66
HORRAT			1.15

ตารางผนวกที่ 11 Expected recovery as a function of analyte concentration^a

Analyte,%	Analyte ratio	Unit	Mean recovery,%
100	1	100 %	98-102
10	10 ⁻¹	10 %	98-102

1	10^{-2}	1 %	97-103
0.01	10^{-3}	0.1 %	95-105
0.001	10^{-4}	100 ppm	90-107
0.0001	10^{-5}	10 ppm	80-110
0.00001	10^{-6}	1 ppm	80-110
0.000001	10^{-7}	100 ppb	80-110
0.0000001	10^{-8}	10 ppb	60-115
0.00000001	10^{-9}	1 ppb	40-120

^a Table excerpted from AOAC Peer-Verified Methods Program, Manual on Policies and Procedures (1998) AOAC INTERNATIONAL, Gaithersburg, MD.

Recovery is defined as the ratio of the observed mean test result to the true value. The Range of the acceptable mean recovery expands as the concentration of the analyte decreases. This table provides target mean recovery ranges for analyte concentration from 100% to 1 ppb