ชุดโครงการวิจัยและพัฒนาปัจจัยการผลิตทางการเกษตร

โครงการ การพัฒนาระบบการตรวจวิเคราะห์พืชและปัจจัยการผลิตทางการเกษตร

กิจกรรมที่ 1 พัฒนาระบบการตรวจวิเคราะห์ปุ๋ย พืช ดิน น้ำ สารอินทรีย์ สารควบคุมการเจริญเติบโตพืช สารสกัด และวัตถุอันตรายทางการเกษตร

กิจกรรมย่อยที่ 1.1 พัฒนาเทคนิคระบบการตรวจวิเคราะห์ และตรวจสอบความใช้ได้ของวิธีวิเคราะห์ปุ๋ย

การทดลองที่ 1.1.6 ตรวจสอบความใช้ได้ของวิธีวิเคราะห์ไนโตรเจนทั้งหมดในปุ๋ยเคมี

วิภาพร เกียรตินิติประวัติ สุธินี สาสีลัง
เบญจมาศ ใจแก้ว พรศิริ สายะพันธ์ ยสิศร์ อินทรสถิตย์

บทคัดย่อ

การตรวจสอบการใช้ได้ของวิเคราะห์ปริมาณไนโตรเจนทั้งหมดในปุ๋ยเคมี มีวัตถุประสงค์เพื่อให้ได้เทคนิควิธีวิเคราะห์ที่ถูกต้อง รวดเร็ว และแม่นยำ สามารถอ้างอิงได้ตามมาตรฐานสากล ซึ่งวิธีวิเคราะห์ไนโตรเจนทั้งหมดในปุ๋ยเคมี เป็นวิธีวิเคราะห์ที่ดัดแปลงมาจากวิธีการของ AOAC โดยศึกษาคุณลักษณะ 4 ปัจจัย ได้แก่ , limit of detection (LOD) และ limit of quantitation (LOQ), accuracy (ความแม่น), precision และ intermediate precision (ความเที่ยง), ทำการวิเคราะห์ CRM และการวิเคราะห์ CRM ร่วมกับสารตัวเติม เพื่อประเมิน จากการทดสอบ พบว่า ได้ ค่า LOD และ LOQ เท่ากับ 0.17 และ 0.38 % ตามลำดับ ในการทดสอบโดยใช้ CRM ในการทดสอบ accuracy และ precision ที่ 3 ระดับความเข้มขึ้น ได้ค่า % recovery ที่ระดับความเข้มข้นต่ำ (1.00%), กลาง (26.02 %) และสูง (46.54 %) เท่ากับ 98.99, 99.27 และ 99.28 % ตามลำดับ อยู่ในช่วงเกณฑ์การยอมรับที่กำหนด คือ %recovery 98-102 % ที่ความเข้มข้นระดับต่ำ กลางและสูง ตามลำดับ เมื่อทดสอบ precision ได้ค่า HORRAT ที่ระดับความเข้มข้นต่ำ (1.00%), กลาง (26.02 %) และสูง (46.54 %) เท่ากับ 1.53, 0.80 และ 0.84 % ตามลำดับ และ intermediate precision ได้ค่า HORRAT ที่ระดับความเข้มข้นต่ำ (1.00 %), กลาง (26.02 %) และสูง (46.54 %) เท่ากับ 0.32, 0.62 และ 0.35 % ตามลำดับ ซึ่ง ค่า HORRAT ที่ได้จากการทดสอบ precision ทั้งสองสภาวะ ผ่านเกณฑ์การยอมรับคือ มีค่า Horwitz's ratio$\leq$ 2 เมื่อทำการทดสอบ CRM ร่วมกับสารตัวเติม พบว่า accuracy และ precision ได้ค่า % recovery ที่ระดับความเข้มข้นต่ำ (1.00%), กลาง (26.02 %) และสูง (46.54 %) เท่ากับ 98.96, 98.97 และ 99.61 % ตามลำดับ เป็นไปตามเกณฑ์การยอมรับ สำหรับการทดสอบ precision ได้ค่า HORRAT ที่ระดับความเข้มข้นต่ำ (1.00 %), กลาง (26.02 %) และสูง (46.54 %) เท่ากับ 1.59, 1.02 และ 0.65 % ตามลำดับ และเมื่อหา intermediate precision ได้ค่า HORRAT ที่ระดับความเข้มข้นต่ำ (1.00%), กลาง (26.02 %) และสูง (46.54 %) เท่ากับ 0.32, 0.62 และ 0.35 % ตามลำดับ ผ่านเกณฑ์การยอมรับเช่นเดียวกัน จะเห็นได้ว่า วิธีวิเคราะห์ที่ทำการตรวจสอบการใช้ได้ของวิธี มีความถูกต้อง

และแม่นยำ น่าเชื่อถือ ตามมาตรฐานสากล สามารถใช้เป็นวิธีวิเคราะห์ไนโตรเจนทั้งหมด ของห้องปฏิบัติการวิเคราะห์ปุ๋ยของสำนักวิจัยและพัฒนาการเกษตรเขตที่ 2 และใช้เป็นวิธีวิเคราะห์ในการขอขยายขอบข่ายการรับรองห้องปฏิบัติการ ISO/IEC 17025 ได้

Abstract

studied method validation on total 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 0.17 and 0.38 respectively. The CRM was performed by 3 concentrations. Inaccuracy study, %recovery at low concentration (1.00%), middle concentration (26.02 %) and high concentration (46.54 %) were 98.99, 99.27 and 99.28 % 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 (26.02 %) and high concentration (46.54 %) were 0.32, 0.62 and 0.35 % respectively and intermediate precision study, HORRAT were 1.53, 0.80 and 0.84 % at low concentration (1.00%), middle concentration (26.02 %) and high concentration (46.54 %) respectively. Conclusion, all HORRAT did agree with the set criteria (Horwiz's ratio $\leq$ 2). The results CRM + filler, accuracy study, % recovery at low concentration (1.00 %), middle concentration (26.02 %) and high concentration (46.54 %) were 98.96, 89.97 and 99.61 % respectively that did agree with the set criteria. Precision study at low concentration (1.00 %), middle concentration (26.02 %) and high concentration (46.54 %) were 1.59, 1.02 and 0.65 % respectively. Moreover, intermediate precision study, HORRAT at low concentration (1.00 %), middle concentration (26.02 %) and high concentration (46.54 %) were 0.32, 0.62 and 0.35 % respectively.

วัตถุประสงค์

เพื่อแสดงให้เห็นว่าวิธีวิเคราะห์สามารถให้ผลวิเคราะห์ที่มีความถูกต้อง แม่นยำ สามารถสอบกลับได้เป็นไปตามมาตรฐานสากล ISO/IEC 17025 : 2005 และนำมาใช้เป็นวิธีวิเคราะห์ปริมาณไนโตรเจนทั้งหมดในปุ๋ยเคมีของห้องปฏิบัติการวิเคราะห์ปุ๋ย สำนักวิจัยและพัฒนาการเกษตร เขตที่ 2

หลักการและเหตุผล

รัฐบาลได้มอบหมายภารกิจให้กรมวิชาการเกษตรควบคุมดูแลปุ๋ย ตาม พระราชบัญญัติปุ๋ย 2518 และแก้ไขเพิ่มเติม โดยพระราชบัญญัติปุ๋ย (ฉบับที่ 2) พ.ศ. 2550 กำหนดให้กรมวิชาการเกษตรรับผิดชอบในการกำกับดูแลปุ๋ยที่ผลิตเพื่อการค้า ขาย นำเข้า ส่งออก หรือนำผ่าน ซึ่งในส่วนของภูมิภาคสำนักวิจัยและพัฒนาการเกษตรเขตที่ 1-8ได้รับมอบหมายจากกรมวิชาการเกษตรให้วิเคราะห์ตรวจสอบคุณภาพปุ๋ยเคมีขึ้นทะเบียนและมีขายในท้องตลาดว่ามีคุณภาพเป็นไปตามมาตรฐานของกรมวิชาการเกษตร

ปฏิกิริยา

วิเคราะห์หาปริมาณไนโตรเจนทั้งหมดโดยการย่อยตัวอย่างปุ๋ยด้วย H_2SO_4 เข้มข้น และ Salicylic acid มี Sodium thiosulfate และ Selenium reagent mixture เป็นสารเร่งปฏิกิริยา แล้วนำไปกลั่นด้วย Sodium hydroxide เพื่อไล่แอมโมเนียแล้วจับด้วยกรดบอริก

$$(NH_4)_2SO_4 + 2NaOH \longrightarrow 2NH_4OH + Na_2SO_4$$

$$2NH_4OH \longrightarrow 2NH_3 + 2H_2O$$

$$2NH_3 + 4H_3BO_3 \longrightarrow (NH_4)_2B_4O_7 + 5H_2O$$

$$(NH_4)_2B_4O_7 + 5H_2O + 2HCl \longrightarrow 2NH_4Cl + 4H_3BO_3$$

ระยะเวลาดำเนินงาน 1 ตุลาคม 2556 ถึง 30 กันยายน 2557

สถานที่ดำเนินงาน

ห้องปฏิบัติการวิเคราะห์ปุ๋ยเคมี กลุ่มพัฒนาการตรวจสอบพืชและปัจจัยการผลิต สำนักวิจัยและพัฒนาการเกษตรเขตที่ 2 จังหวัดพิษณุโลก กรมวิชาการเกษตร

การดำเนินงานวิจัย

หลังจากศึกษาข้อมูลที่เกี่ยวข้อง ทำการเลือกวิธีวิเคราะห์แล้วจัดเตรียมเครื่องมือ วัสดุอุปกรณ์ต่างๆให้พร้อมใช้งาน ดังนี้

1. เตรียมเครื่องมือ วัสดุอุปกรณ์สารเคมี และสารมาตรฐาน

1.1 เครื่องมือและวัสดุอุปกรณ์

1.1.1 เครื่องชั่งไฟฟ้าทศนิยม 4 ตำแหน่ง

1.1.2 เครื่องชั่งไฟฟ้าทศนิยม 4 ตำแหน่ง

1.1.3 Kjeldahl Digestion Apparatus and Distilling Apparatus

1.1.4 ตู้ดูดควัน (Hood)

1.1.5 ตู้ดูดความชื้น (Dessicator)

1.1.6 ตู้อบ (Hot air oven)

1.1.7 Burette ขนาด 50 มิลลิลิตร

1.1.8 Beaker ขนาด 4000 มิลลิลิตร

1.1.9 Cylinder ขนาด 100 มิลลิลิตร

1.1.10 Erlenmeyer Flask ขนาด 250 มิลลิลิตร

1.1.11 Volumetric Flask ขนาด 1000 มิลลิลิตร

1.1.12 Volumetric Flask ขนาด 2000 มิลลิลิตร

1.1.13 Volumetric pipette ขนาด 50 มิลลิลิตร

1.1.14 Magnetic stirrer

1.1.15 เครื่องแก้วและวัสดุอื่นๆที่ใช้ในการปฏิบัติการวิเคราะห์ เช่น ช้อนตักสาร แท่งแก้วสำหรับคนสารละลาย

1.1.16 ตัวอย่างปุ๋ยที่ไม่มีไนโตรเจน เพื่อใช้เป็น sample blank

1.2 สารเคมีและสารมาตรฐาน

1.2.1 Boric acid, AR Grade

1.2.2 Copper sulfate ($CuSO_4.5H_2O$), AR Grade

1.2.3 Ethyl alcohol 90% (C_2H_5OH), AR Grade

1.2.4 Methylene blue, AR Grade

1.2.5 Salicylic acid {$C_6H_4(OH).COOH$}, AR Grade

1.2.6 Sulfuric acid 98% (H_2SO_4), AR Grade

1.2.7 Standard hydrochloric acid 1 N, AR Grade

1.2.8 วัสดุอ้างอิงรับรอง/วัสดุอ้างอิงมาตรฐาน ได้แก่

- Urea 46.535 ± 0.77 % (CRM-BCR 179)
- Calcium Ammonium Nitrate 26.019 ± 0.54 % Nitrogen (CRM-BCR 178)
- Sodium Carbonate 99.970 ± 0.014 % (SRM 351a)

1.3 การเตรียมสารละลายและสารมาตรฐาน

1.3.1 สารละลายกรดซัลฟิวริกมาตรฐาน 1 N

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

1.3.2 สารละลายกรดซัลฟิวริกมาตรฐาน 0.2 N

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

1.3.3 การหาความเข้มข้นของสารละลายกรดซัลฟิวริกมาตรฐาน 0.2 N (Standardization)

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

1.3.1.2 เติมน้ำกลั่น 100 ml หยดสารละลาย Mixed indicator 2-3 หยด จะได้สารละลายสีเขียวอ่อน

1.3.1.3 นำไปไตเตรทกับสารละลายกรดซัลฟิวริกมาตรฐาน 0.2 N จนถึงจุดยุติ จะได้สารละลายสีม่วงเขียว คำนวณหาความเข้มข้นของกรดซัลฟิวริกที่แน่นอน ตามสูตร

$$N\ (H_2SO_4) = \frac{\text{น้ำหนักของ } Na_2CO_3\ (g) \times 1000}{52.99 \times \text{ปริมาตร } H_2SO_4\ (ml)}$$

สมมูลย์ของ Na_2CO_3 = 52.99

1.3.4 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

1.3.5 สารละลายโซเดียมไฮดรอกไซด์ 50 %

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

1.3.6 สารละลาย Mixed indicator

1.3.6.1 ชั่ง เมทธิลเรด จำนวน 0.20 g ใส่ใน Beaker ขนาด 250 ml เติม Ethyl alcohol 99.9% ปริมาณ 100 ml คนให้เข้ากัน

1.3.6.2 ชั่งเมทธิลินบลู จำนวน 0.10 g ใส่ใน Beaker ขนาด 250 ml เติม Ethyl alcohol 99.9% ปริมาณ 100 ml คนให้เข้ากัน

1.3.6.3 นำสารละลายข้อ 1 และ 2 มาเทรวมกันคนให้เข้ากัน

2 การวิเคราะห์ตัวอย่าง

2.1 ชั่งตัวอย่างปุ๋ยที่เตรียมเรียบร้อยแล้ว จำนวน 0.2xxx - 1.xxxx g ใส่ใน Digestion Tube ขนาด 250 ml

2.2 เติมน้ำกลั่นปริมาณ 50 ml เขย่าเล็กน้อย

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

2.4 ทำการกลั่นตัวอย่างจนกระทั่งสารละลายใน Erlenmeyer flask ที่รองรับมีปริมาตรประมาณ 175 ml ถ้าตัวอย่างมีไนโตรเจนสารละลายจะเปลี่ยนจากสีม่วงแดงเป็นสีเขียว นำสารละลายที่ได้ไตเตรทกับสารละลายกรดซัลฟิวริกมาตรฐาน 0.2 N จนได้สารละลายสีม่วงแดงแสดงว่าถึงจุดยุติ บันทึกปริมาตรสารละลายกรดซัลฟิวริคมาตรฐาน 0.2 N ที่ไตเตรทได้

2.5 ทำ Blank โดยไม่ใส่ตัวอย่าง และทำการวิเคราะห์เช่นเดียวกับตัวอย่าง

2.6 การคำนวณ

$$\% \text{ Total } NH_4^+\text{- N} = \frac{N(H_2SO_4) \times \{ml\ (H_2SO_4) - ml\ (Blank)\} \times 1.4007}{\text{Weight of sample (g)}}$$

เมื่อ $N(H_2SO_4)$ = ความเข้มข้นที่แน่นอนของสารละลายกรดซัลฟิวริคมาตรฐานที่ใช้ในการไตเตรท (Normality)

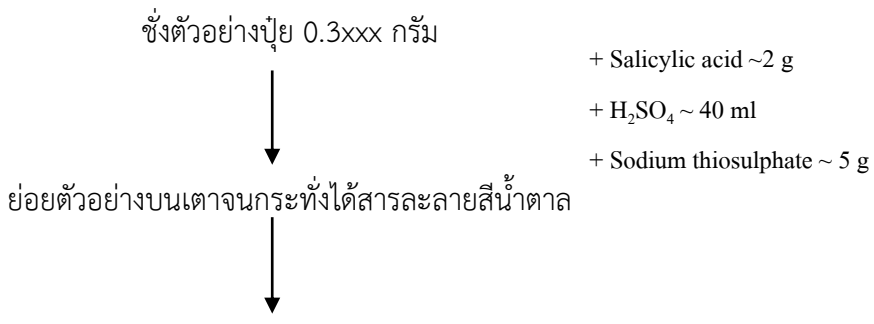
ml. H_2SO_4 = ปริมาตรของสารละลายกรดซัลฟิวริค 0.2 N ที่ใช้ในการไตเตรทตัวอย่าง (ml)

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

Weight of Sample = น้ำหนักของตัวอย่าง (g)

Atomic Weight ของไนโตรเจน = 14.007

แผนภาพการวิเคราะห์ตัวอย่างปุ๋ย



ปิดไฟตั้งทิ้งไว้ให้เย็น
(หมดควันสีขาว)

ติม Mixed catalyst ~ 10 g
ทำการย่อยตัวอย่างต่อจนได้สารละลายสีเขียวใส

ปิดไฟตั้งทิ้งไว้ให้เย็น
+ H_2O ~350 ml
+50% NaOH ~ 100 ml
+ Zinc granular ~ 5 g

↓

กลั่นจนได้สารละลายปริมาตร ~ 350 ml

↓

ไตเตรตด้วย std HCl 0.2 Normal

↓

คำนวณหา % TN

2.7 การควบคุมคุณภาพการวิเคราะห์ ประกอบด้วย

2.7.1 วิเคราะห์ Blank ทุก 20 ตัวอย่าง โดยผลวิเคราะห์จะต้อง ≤ LOD = 0.25 %

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

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

2.7.3 วิเคราะห์ตัวอย่างควบคุมคุณภาพภายใน (IQC) ทุก 10 ตัวอย่าง โดยผลวิเคราะห์จะต้องอยู่ในช่วง Control Limit ($\pm$ 2SD) ของแผนภูมิควบคุมคุณภาพ

2.7.4 ทำ Spike Recovery โดย Spike Standard ($(NH_4)_2SO_4$), ลงในตัวอย่างที่วิเคราะห์ทุก 20 ตัวอย่างโดยพิจารณาค่า % Recovery จะต้องอยู่ในช่วง 90-110%

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

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

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

2.2.7.6 เข้าร่วมกิจกรรมทดสอบความชำนาญ (Proficiency testing laboratory) หรือเปรียบเทียบผลการทดสอบระหว่างห้องปฏิบัติการอย่างน้อย 1 ครั้ง/ปี

3. ดำเนินการตรวจสอบความใช้ได้ของวิธีวิเคราะห์ไนโตรเจนทั้งหมดในปุ๋ยเคมี ตามขั้นตอน ต่อไปนี้

3.1 หาค่าของ Limit of Detection (LOD) และLimit of Quantitation (LOQ) ตามวิธีการต่อไปนี้

3.1.1 ชั่ง Sample blank น้ำหนัก 0.2xxx กรัม จำนวน 10 ซ้ำ

3.1.2 ดำเนินการวิเคราะห์ตามวิธีวิเคราะห์ไนโตรเจนทั้งหมด

3.1.3 บันทึกข้อมูล หาค่าเฉลี่ย ค่าเบี่ยงเบนมาตรฐาน

3.1.4 ทดสอบความแม่นและความเที่ยงที่ระดับความเข้มข้นเท่ากับ LOQ

3.1.5 คำนวณหา %Recovery และ Relative Standard Deviation ($\%RSD_r$) ที่ระดับความเข้มข้นเท่ากับ LOQ

<u>หมายเหตุ</u> กรณีที่ค่าเบี่ยงเบนมาตรฐานเท่ากับ 0 หรือ Sample blank ไม่สามารถวัดได้ ให้เติมสารมาตรฐานลงใน Sample blank ในระดับต่ำสุดที่ยอมรับได้ แล้วจึงดำเนินการตามข้อ 3.1.1-3.1.5

3.2 หาค่า Accuracy และ Precision ของวิธีวิเคราะห์ไนโตรเจนทั้งหมดที่ระดับความเข้มข้น ต่ำ กลาง สูง ตามวิธีการต่อไปนี้

3.1.1 ชั่ง CRM/RM ที่มีความเข้มข้นต่ำ กลาง สูง อย่างน้อยความเข้มข้นละ 7 ซ้ำ 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)

3.2.2 ดำเนินการวิเคราะห์ตามวิธีวิเคราะห์ไนโตรเจนทั้งหมดในปุ๋ยเคมี โดยนักวิเคราะห์คนเดียวกัน เครื่องมือชุดเดียวกัน ในเวลาเดียวกันหรือใกล้เคียงกัน

3.2.3 หาค่าเฉลี่ย ส่วนเบี่ยงเบนมาตรฐาน (SD)

3.2.4 คำนวณหา %Recovery และ Relative Standard Deviation ($\%RSD_r$)

3.3 การหาค่า Accuracyและ Precision ของวิธีวิเคราะห์ไนโตรเจนทั้งหมดในสารตัวเติม (Matrix effect) ที่ระดับความเข้มข้น ต่ำ กลาง สูง

3.3.1 ชั่ง CRM ที่มีความเข้มข้นต่ำ กลาง สูง อย่างน้อยความเข้มข้นละ 7 ซ้ำ เติมลงในตัวอย่างปุ๋ยพร้อมทำ 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)

3.3.2 ดำเนินการวิเคราะห์ตามวิธีวิเคราะห์ฟอสเฟตทั้งหมดในปุ๋ยเคมี โดยนักวิเคราะห์คนเดียวกัน เครื่องมือชุดเดียวกัน ในเวลาเดียวกันหรือใกล้เคียงกัน

3.3.3 หาค่าเฉลี่ย ส่วนเบี่ยงเบนมาตรฐาน

3.3.4 คำนวณหา %Recovery และ Relative Standard Deviation ($\%RSD_r$)

3.4 การหาค่า Intermediate Precision ของวิธีวิเคราะห์ไนโตรเจนทั้งหมดทั้งหมด

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

3.4.2 ดำเนินการวิเคราะห์ตามวิธีวิเคราะห์ไนโตรเจนทั้งหมดในปุ๋ยเคมี โดยนักวิเคราะห์คนเดียวหรือมากกว่า 1 คน ในเวลาที่แตกต่างกัน

3.4.3 หาค่าเฉลี่ย ส่วนเบี่ยงเบนมาตรฐาน(SD) Relative Standard Deviation ($\%RSD_i$) และ Horwitz's Ratio (HORRAT) คำนวณ แบบ Repeatability

ผลและสรุปผลการตรวจสอบความใช้ได้ของวิธีวิเคราะห์ไนโตรเจนทั้งหมดในปุ๋ยเคมี

1. ผลการวิเคราะห์วัสดุอ้างอิงรับรอง/ วัสดุอ้างอิงมาตรฐาน

วิเคราะห์วัสดุอ้างอิงรับรอง/ วัสดุอ้างอิงมาตรฐาน ได้แก่ ammonium sulfate, calcium ammonium nitrate, urea และ potassium nitrate โดยนำมาวิเคราะห์อย่างละ 10 ซ้ำ นำมาคำนวณหาค่า $\overline{X}$, SD และ bias ให้ผลการวิเคราะห์ดังตารางที่ 1

ตารางที่ 1 แสดงค่าจริง $\overline{X}$ Bias และ Standard Deviation ของวัสดุอ้างอิงรับรอง/วัสดุอ้างอิงมาตรฐาน

วัสดุอ้างอิงมาตรฐาน	ค่าจริง	$\overline{X}$	Bias	SD
urea ความเข้มข้นระดับต่ำ = 1.0 %	1.0001	0.99	-0.010	0.04
calcium ammonium nitrate	26.02	25.83	-0.190	0.33
urea	46.54	46.21	-0.11	0.58

2. การทดสอบ Limit of Detection (LOD) และ Limit of Quantitation (LOQ) ของวิธีวิเคราะห์ไนโตรเจนทั้งหมดในปุ๋ยเคมี

ทำการวิเคราะห์ปุ๋ยเคมีที่ไม่มีไนโตรเจน (sample blank) จำนวน 10 ซ้ำ คำนวณหาค่าเฉลี่ย (X) และค่าเบี่ยงเบนมาตรฐาน (SD) ของ % Total N ได้ผลการวิเคราะห์ดังตารางที่ 2

ตารางที่ 2 ผลการวิเคราะห์ sample blank จำนวน 10 ซ้ำ เพื่อหาค่า LOD และ LOQ

ซ้ำที่	น้ำหนัก	Conc.HCl (N)	ปริมาตร HCl	%TN
1	0.2042	0.1995	0.10	0.12
2	0.2035	0.1995	0.05	0.07

3	0.2255	0.1995	0.10	0.12
4	0.2051	0.1995	0.05	0.07
5	0.2435	0.1995	0.05	0.06
6	0.2362	0.1995	0.05	0.06
7	0.2033	0.1995	0.05	0.07
8	0.2401	0.1995	0.05	0.06
9	0.2343	0.1995	0.10	0.12
10	0.2026	0.1995	0.05	0.07
$\overline{X}$				0.008
SD				0.03

จากข้อมูลตารางที่ 2 นำมาคำนวณหาค่า LOD และ LOQ ดังนี้

$$LOD = \overline{X} + 3SD = 0.08 \pm 0.09 = 0.17\ \%TN$$

$$LOQ = \overline{X} + 10SD = 0.08 \pm 0.30 = 0.38\ \%TN$$

สรุป %Total Nitrogen (%TN) ของสารต่ำสุดที่สามารถวัดได้ ที่ระดับความเชื่อมั่น 95% คือ 0.17 % และ%TN ที่สามารถนำมารายงานผลได้ต้องไม่ต่ำกว่า 0.38 %

3. ทดสอบ Accuracy และ Precision ของวิธีวิเคราะห์ไนโตรเจนทั้งหมดในปุ๋ยเคมี ที่ระดับความเข้มข้นใกล้เคียงค่า LOQ

ทำการวิเคราะห์ปุ๋ยเคมีที่ไม่มีไนโตรเจน (sample blank) จำนวน 10 ซ้ำ โดยชั่ง CRM Urea (46.535% TN) น้ำหนัก 0.8167 กรัม ใส่ Volumetric Flask ขนาด 100 มิลลิลิตร ละลายน้ำแล้วปรับปริมาตรด้วยน้ำกลั่น เขย่าให้เข้ากัน (คำนวณความเข้มข้นจริงได้เท่ากับ 0.3801 % TN) คำนวณหาค่าเฉลี่ยและค่าเบี่ยงเบนมาตรฐาน ของ % Total N ได้ผลการวิเคราะห์ดังตารางที่ 3

ตารางที่ 3 ผลการวิเคราะห์ sample blank จำนวน 10 ซ้ำ เพื่อทดสอบ Accuracy และ Precision ของวิธีวิเคราะห์ไนโตรเจนทั้งหมดในปุ๋ยเคมี ที่ระดับความเข้มข้นใกล้เคียงค่า LOQ

ซ้ำที่	น้ำหนัก	Conc.HCl (N)	ปริมาตร HCl	%TN
1	0.2538	0.1995	0.35	0.3854
2	0.2365	0.1995	0.30	0.3545
3	0.2181	0.1995	0.30	0.3844
4	0.2575	0.1995	0.35	0.3798
5	0.2324	0.1995	0.35	0.4208
6	0.2532	0.1995	0.35	0.3863
7	0.2243	0.1995	0.30	0.3737
8	0.2247	0.1995	0.30	0.3731

9	0.2184	0.1995	0.30	0.3838
10	0.2498	0.1995	0.35	0.3915
$\overline{X}$				0.3833
SD				0.017

จากข้อมูลในตารางที่3 นำมาคำนวณ ดังนี้

3.1 คำนวณหาค่า Accuracy โดยทำการวิเคราะห์ CRM ที่เตรียมให้ได้ความเข้มข้นใกล้เคียงกับค่า LOQ คือ ความเข้มข้นเท่ากับ 0.3801 % TN ทำการวิเคราะห์ 10 ซ้ำ นำผลที่ได้มาหาค่า Recovery

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

$$\%\text{Recovery} = \frac{0.3833 \times 100}{0.3801} = 100.84\ \%$$

เกณฑ์การยอมรับ % Recovery เท่ากับ 98-102 % (AOAC, 1998) แสดงว่า Recovery ผ่านเกณฑ์การยอมรับ

3.2 การหาค่า Precision ของการวิเคราะห์ CRM ที่เตรียมให้ได้ความเข้มข้นใกล้เคียงกับค่า LOQ คือ ความเข้มข้นเท่ากับ 0.3833 % TN โดยการคำนวณหาค่า %RSD แล้วประเมินโดยใช้ Horwitz's Ratio

$$\%\text{RSD} = (\text{SD} / \bar{x}) \times 100$$
$$= (0.0170 / 0.3833) \times 100$$
$$= 4.37$$

คำนวณหา Horwitz's Ratio (HORRAT)

$$\text{Predicted Horwitz RSD} = 0.66 \times 2^{(1-0.5\log C)}$$
$$= 0.66 \times 2^{(1-0.5\log 0.004)}$$
$$= 3.05$$

C = Concentration ratio = 0.3833/ 100 = 0.004

HORRAT = %RSD / Predicted Horwitz RSD

= 4.37 / 3.05 = 1.43

เกณฑ์การประเมิน HORAAT < 2 แสดงว่า ผ่านเกณฑ์การยอมรับ

4. การทดสอบ Accuracy และ Precision ของวิธีวิเคราะห์ไนโตรเจนทั้งหมดในปุ๋ยเคมี ที่ระดับความเข้มข้นต่ำ กลาง สูง

4.1 การทดสอบ Accuracy และ Precision ของวิธีวิเคราะห์ไนโตรเจนทั้งหมดในปุ๋ยเคมี ที่ระดับความเข้มข้นต่ำ เท่ากับ 1.0000 % TN

เตรียมไนโตรเจน 1.000% TN โดยใช้ Urea 46.54% (BCR 179) ชั่งให้ได้น้ำหนัก 2.1489 กรัม ใส่ใน volumetric flask ขนาด 100 มิลลิลิตร ละลายน้ำ ปรับปริมาตรเป็น 100 มิลลิลิตร (คำนวณความเข้มข้นได้เท่ากับ 1.0001 % TN) นำมาวิเคราะห์ตามขั้นตอนการวิเคราะห์ไนโตรเจนทั้งหมด ให้ผลการวิเคราะห์ดังตารางที่ 4 แล้วนำมาคำนวณหา % Recovery และ เปรียบเทียบค่าจากการวิเคราะห์กับค่าจริงโดยใช้ t-test

ตารางที่ 4 ผลการวิเคราะห์ไนโตรเจนทั้งหมดในปุ๋ยเคมี ที่ระดับความเข้มข้นต่ำ 1.0001%

ซ้ำที่	น้ำหนัก	Conc.HCl (N)	ปริมาตร HCl	%TN
1	0.2299	0.1995	0.75	0.91
2	0.2155	0.1995	0.75	0.97
3	0.2331	0.1995	0.85	1.02
4	0.2539	0.1995	0.9	0.99
5	0.2411	0.1995	0.9	1.04
6	0.2402	0.1995	0.9	1.05
7	0.2021	0.1995	0.7	0.97
8	0.2314	0.1995	0.8	0.97
9	0.2398	0.1995	0.85	0.99
10	0.2276	0.1995	0.8	0.98
$\overline{X}$				0.99
SD				0.04

จากข้อมูลในตารางที่ 4 นำมาคำนวณ ดังนี้

4.1.1 คำนวณหาค่า Accuracy โดยทำการวิเคราะห์ CRM ที่เตรียมให้ได้ความเข้มข้นระดับต่ำ คือ ความเข้มข้นเท่ากับ 1.0001 % TN ทำการวิเคราะห์ 10 ซ้ำ นำผลที่ได้มาหาค่า Recovery

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

$$\%\text{Recovery} = \frac{0.9900 \times 100}{1.0001} = 98.99\ \%$$

เกณฑ์การยอมรับ % Recovery เท่ากับ 98-102 % (AOAC, 1998) แสดงว่า Recovery ผ่านเกณฑ์การยอมรับ

4.1.2 คำนวณหาค่า Precision โดยทำการวิเคราะห์ CRM ที่เตรียมให้ได้ความเข้มข้นระดับต่ำ คือ ความเข้มข้นเท่ากับ 1.0001 % TN ทำการวิเคราะห์ 10 ซ้ำ นำผลที่ได้มาหาค่า %RSD แล้วประเมินโดยใช้ Horwitz's Ratio

$$\%\text{RSD} = (\text{SD} / \bar{x}) \times 100$$

= (0.040 / 0.9899) x 100

= 4.06

คำนวณหา Horwitz's Ratio (HORRAT)

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

= $0.66 \times 2^{(1-0.5\log 0.01)}$

= 2.64

C = Concentration ratio = 0.9890/ 100 = 0.010

HORRAT = %RSD / Predicted Horwitz RSD

= 0.99 / 2.64 = 1.53

เกณฑ์การประเมิน HORAAT < 2 แสดงว่า ผ่านเกณฑ์การยอมรับ

4.2 การทดสอบ Accuracy และ Precision ของวิธีวิเคราะห์ไนโตรเจนทั้งหมดในปุ๋ยเคมี ที่ระดับความเข้มข้นกลาง เท่ากับ 26.02 % TN

โดยใช้ calcium ammonium nitrate (BCR:178)นำมาวิเคราะห์ตามขั้นตอนการวิเคราะห์ไนโตรเจนทั้งหมด ให้ผลการวิเคราะห์ดังตารางที่ 5 แล้วนำมาคำนวณหา % Recovery และ เปรียบเทียบค่าจากการวิเคราะห์กับค่าจริงโดยใช้ t-test

ตารางที่ 5 ผลการวิเคราะห์ไนโตรเจนทั้งหมดในปุ๋ยเคมี ที่ระดับความเข้มข้นกลาง เท่ากับ 26.02 %

ซ้ำที่	น้ำหนัก	Conc.HCl (N)	ปริมาตร HCl	%TN
1	0.2309	0.1995	21.5	26.02
2	0.2138	0.1995	19.85	25.94
3	0.2309	0.1995	21.2	25.66
4	0.2301	0.1995	21.05	25.56
5	0.2203	0.1995	20.5	26.00
6	0.2317	0.1995	21.15	25.51

7	0.2119	0.1995	19.55	25.78
8	0.2094	0.1995	19.15	25.56
9	0.2011	0.1995	18.45	25.64
10	0.2389	0.1995	22.75	26.61
$\overline{X}$				25.83
SD				0.33

จากข้อมูลในตารางที่ 5 นำมาคำนวณ ดังนี้

4.2.1 คำนวณหาค่า Accuracy โดยทำการวิเคราะห์ CRM ที่เตรียมให้ได้ความเข้มข้นระดับกลาง คือ ความเข้มข้นเท่ากับ 26.02 % TN ทำการวิเคราะห์ 10 ซ้ำ นำผลที่ได้มาหาค่า Recovery

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

$$\%\text{Recovery} = \frac{25.83 \times 100}{26.019} = 99.27\ \%$$

เกณฑ์การยอมรับ % Recovery เท่ากับ 98-102 % (AOAC, 1998) แสดงว่า Recovery ผ่านเกณฑ์การยอมรับ

4.2.2 คำนวณหาค่า Precision โดยทำการวิเคราะห์ CRM ที่เตรียมให้ได้ความเข้มข้นระดับกลาง คือ ความเข้มข้นเท่ากับ 26.02 % TN ทำการวิเคราะห์ 10 ซ้ำ นำผลที่ได้มาหาค่า %RSD แล้วประเมินโดยใช้ Horwitz's Ratio

$$\%\text{RSD} = (\text{SD} / \bar{x}) \times 100$$
$$= (0.33 / 25.83) \times 100$$
$$= 1.30$$

คำนวณหา Horwitz's Ratio (HORRAT)

$$\text{Predicted Horwitz RSD} = 0.66 \times 2^{(1-0.5\log C)}$$
$$= 0.66 \times 2^{(1-0.5\log 0.258)}$$
$$= 1.62$$

C = Concentration ratio = 25.83/ 100 = 0.258

HORRAT = %RSD / Predicted Horwitz RSD

= 0.130 / 1.62 = 0.80

เกณฑ์การประเมิน HORAAT < 2 แสดงว่า ผ่านเกณฑ์การยอมรับ

4.3 การทดสอบ Accuracy และ Precision ของวิธีวิเคราะห์ไนโตรเจนทั้งหมดในปุ๋ยเคมี ที่ระดับความเข้มข้นสูง เท่ากับ 46.54 % TN

โดยใช้ urea (BCR :179) นำมาวิเคราะห์ตามขั้นตอนการวิเคราะห์ไนโตรเจนทั้งหมด ให้ผลการวิเคราะห์ดังตารางที่ 6 แล้วนำมาคำนวณหา % Recovery และ เปรียบเทียบค่าจากการวิเคราะห์กับค่าจริงโดยใช้ t-test

ตารางที่ 6 ผลการวิเคราะห์ไนโตรเจนทั้งหมดในปุ๋ยเคมี ที่ระดับความเข้มข้นสูง 46.54%

ซ้ำที่	น้ำหนัก	Conc.HCl (N)	ปริมาตร HCl	%TN
1	0.2304	0.1995	37.85	45.91
2	0.2113	0.1995	34.8	46.02
3	0.3001	0.1995	49.6	46.19
4	0.2942	0.1995	48.3	45.88
5	0.2241	0.1995	37.2	46.39
6	0.2381	0.1995	38.9	45.65
7	0.2752	0.1995	45.05	45.74
8	0.2204	0.1995	37.6	47.67
9	0.2329	0.1995	38.5	46.19
10	0.2281	0.1995	37.9	46.43
$\overline{X}$				46.21
SD				0.58

จากข้อมูลในตารางที่ 6 นำมาคำนวณ ดังนี้

4.3.1 คำนวณหาค่า Accuracy โดยทำการวิเคราะห์ CRM ที่เตรียมให้ได้ความเข้มข้นระดับกลาง คือ ความเข้มข้นเท่ากับ 26.02 % TN ทำการวิเคราะห์ 10 ซ้ำ นำผลที่ได้มาหาค่า Recovery

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

$$\%\text{Recovery} = \frac{46.2070 \times 100}{46.54} = 99.28\ \%$$

เกณฑ์การยอมรับ % Recovery เท่ากับ 98-102 % (AOAC, 1998) แสดงว่า Recovery ผ่านเกณฑ์การยอมรับ

4.3.2 คำนวณหาค่า Precision โดยทำการวิเคราะห์ CRM ที่เตรียมให้ได้ความเข้มข้นระดับกลาง คือ ความเข้มข้นเท่ากับ 26.02 % TN ทำการวิเคราะห์ 10 ซ้ำ นำผลที่ได้มาหาค่า %RSD แล้วประเมินโดยใช้ Horwitz's Ratio

$$\%\text{RSD} = (\text{SD} / \bar{x}) \times 100$$

= (0.58 / 46.21) x 100

= 1.25

คำนวณหา Horwitz's Ratio (HORRAT)

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

= $0.66 \times 2^{(1-0.5\log 0.462)}$

= 1.48

C = Concentration ratio = 46.21/ 100 = 0.462

HORRAT = %RSD / Predicted Horwitz RSD

= 1.25 / 1.48 = 0.84

เกณฑ์การประเมิน HORAAT < 2 แสดงว่า ผ่านเกณฑ์การยอมรับ

5. การทดสอบ Accuracy และ Precision ของวิธีวิเคราะห์ไนโตรเจนทั้งหมดในปุ๋ยเคมีที่มีสารตัวเติม (Matrix) ที่ระดับความเข้มข้นต่ำ กลาง สูง

5.1 การทดสอบ Accuracy และ Precision ของวิธีวิเคราะห์ไนโตรเจนทั้งหมดในปุ๋ยเคมีที่มีสารตัวเติม ที่ระดับความเข้มข้นต่ำ เท่ากับ 1.0000 % TN

เตรียมไนโตรเจน 1.000% TN โดยใช้ Urea 46.54% (BCR 179) ชั่งให้ได้น้ำหนัก 2.1489 กรัม ใส่ใน volumetric flask ขนาด 100 มิลลิลิตร ละลายน้ำ ปรับปริมาตรเป็น 100 มิลลิลิตร (คำนวณความเข้มข้นได้เท่ากับ 1.0001 % TN) นำมาวิเคราะห์ตามขั้นตอนการวิเคราะห์ไนโตรเจนทั้งหมด โดยเติมสารตัวเติมในปริมาณเท่ากัน ได้ผลการวิเคราะห์ดังตารางที่ 7 แล้วนำมาคำนวณหา % Recovery และ เปรียบเทียบค่าจากการวิเคราะห์กับค่าจริงโดยใช้ t-test

ตารางที่ 7 ผลการวิเคราะห์ไนโตรเจนทั้งหมดสารในตัวเติม ที่ระดับความเข้มข้นต่ำ 1.000 % TN

ซ้ำที่	น้ำหนัก	Conc.HCl (N)	ปริมาตร HCl	%TN
1	0.2002	0.1995	0.70	0.98
2	0.2398	0.1995	0.85	0.99
3	0.2002	0.1995	0.70	0.98
4	0.2342	0.1995	0.85	1.01
5	0.2178	0.1995	0.80	1.03
6	0.2319	0.1995	0.85	1.02
7	0.2297	0.1995	0.85	1.03
8	0.224	0.1995	0.75	0.94
9	0.2001	0.1995	0.65	0.91

10	0.2351	0.1995	0.85	1.01
1	0.2002	0.1995	0.70	0.98
$\overline{X}$				0.99
SD				0.04

จากข้อมูลในตารางที่ 7 นำมาคำนวณ ดังนี้

5.1.1 คำนวณหาค่า Accuracy โดยทำการวิเคราะห์วิธีวิเคราะห์ไนโตรเจนทั้งหมดในสารตัวเติมที่ระดับความเข้มข้นต่ำความเข้มข้นระดับต่ำ คือ ความเข้มข้นเท่ากับ 1.0001 % TN ทำการวิเคราะห์ 10 ซ้ำ นำผลที่ได้มาหาค่า Recovery

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

$$\%\text{Recovery} = \frac{09897 \times 100}{1.0001} = 98.96\ \%$$

เกณฑ์การยอมรับ % Recovery เท่ากับ 98-102 % (AOAC, 1998) แสดงว่า Recovery ผ่านเกณฑ์การยอมรับ

5.1.2 คำนวณหาค่า โดยทำการวิเคราะห์วิธีวิเคราะห์ไนโตรเจนทั้งหมดในสารตัวเติมที่ระดับความเข้มข้นต่ำความเข้มข้นระดับต่ำ คือ ความเข้มข้นเท่ากับ 1.0001 % TN ทำการวิเคราะห์ 10 ซ้ำ นำผลที่ได้มาหาค่า %RSD แล้วประเมินโดยใช้ Horwitz's Ratio

$$\%\text{RSD} = (\text{SD} / \bar{x}) \times 100$$
$$= (0.04 / 0.99) \times 100$$
$$= 4.19$$

คำนวณหา Horwitz's Ratio (HORRAT)

$$\text{Predicted Horwitz RSD} = 0.66 \times 2^{(1-0.5\log C)}$$
$$= 0.66 \times 2^{(1-0.5\log 0.01)}$$
$$= 2.64$$

C = Concentration ratio = 0.99/ 100 = 0.010

HORRAT = %RSD / Predicted Horwitz RSD

= 4.19/ 2.64 = 1.59

เกณฑ์การประเมิน HORAAT < 2 แสดงว่า ผ่านเกณฑ์การยอมรับ

5.2 การทดสอบ Accuracy และ Precision ของวิธีวิเคราะห์ไนโตรเจนทั้งหมดในปุ๋ยเคมีที่มีสารตัวเติม ที่ระดับความเข้มข้นกลาง เท่ากับ 26.02 % TN

โดยใช้ calcium ammonium nitrate (BCR:178)นำมาวิเคราะห์ตามขั้นตอนการวิเคราะห์ไนโตรเจนทั้งหมด ให้ผลการวิเคราะห์ดังตารางที่ 8 แล้วนำมาคำนวณหา % Recovery และ เปรียบเทียบค่าจากการวิเคราะห์กับค่าจริงโดยใช้ t-test

ตารางที่ 8 ผลการวิเคราะห์ไนโตรเจนทั้งหมด ที่ระดับความเข้มข้นกลาง เท่ากับ 26.02 %

ซ้ำที่	น้ำหนัก	Conc.HCl (N)	ปริมาตร HCl	%TN
1	0.2208	0.1995	19.45	24.62
2	0.2276	0.1995	21.05	25.84
3	0.2209	0.1995	20.45	25.87
4	0.2157	0.1995	20.05	25.97
5	0.2432	0.1995	22.55	25.91
6	0.2166	0.1995	20.05	25.87
7	0.2078	0.1995	19.15	25.75
8	0.2487	0.1995	22.88	25.71
9	0.2176	0.1995	20.05	25.75
10	0.2244	0.1995	21.05	26.21
$\overline{X}$				25.75
SD				0.42

จากข้อมูลในตารางที่ 8 นำมาคำนวณ ดังนี้

5.2.1 คำนวณหาค่า Accuracy โดยทำการวิเคราะห์ CRM ที่เตรียมให้ได้ความเข้มข้นระดับกลาง คือ ความเข้มข้นเท่ากับ 26.02 % TN ทำการวิเคราะห์ 10 ซ้ำ นำผลที่ได้มาหาค่า Recovery

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

$$\%\text{Recovery} = \frac{25.7502 \times 100}{26.019} = 98.97\ \%$$

เกณฑ์การยอมรับ % Recovery เท่ากับ 98-102 % (AOAC, 1998) แสดงว่า Recovery ผ่านเกณฑ์การยอมรับ

5.2.2 คำนวณหาค่า Precision โดยทำการวิเคราะห์ CRM ที่เตรียมให้ได้ความเข้มข้นระดับกลาง คือ ความเข้มข้นเท่ากับ 26.02 % TN ทำการวิเคราะห์ 10 ซ้ำ นำผลที่ได้มาหาค่า %RSD แล้วประเมินโดยใช้ Horwitz's Ratio

$$\%\text{RSD} = (\text{SD} / \bar{x}) \times 100$$

$$= (0.42 / 25.27) \times 100$$

$$= 1.65$$

คำนวณหา Horwitz's Ratio (HORRAT)

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

= 0.66 x $2^{(1-0.5\log 0.258)}$

= 1.62

C = Concentration ratio = 25.75/ 100 = 0.258

HORRAT = %RSD / Predicted Horwitz RSD

= 01.65 / 1.62 = 1.02

เกณฑ์การประเมิน HORAAT < 2 แสดงว่า ผ่านเกณฑ์การยอมรับ

5.3 การทดสอบ Accuracy และ Precision ของวิธีวิเคราะห์ไนโตรเจนทั้งหมดในปุ๋ยเคมีที่มีสารตัวเติม ที่ระดับความเข้มข้นสูง เท่ากับ 46.54 % TN

โดยใช้ urea (BCR :179) นำมาวิเคราะห์ตามขั้นตอนการวิเคราะห์ไนโตรเจนทั้งหมด ให้ผลการวิเคราะห์ดังตารางที่ 9 แล้วนำมาคำนวณหา % Recovery และ เปรียบเทียบค่าจากการวิเคราะห์กับค่าจริง โดยใช้ t-test

ตารางที่ 9 ผลการวิเคราะห์ไนโตรเจนทั้งหมด ที่ระดับความเข้มข้นสูง 46.54%

ซ้ำที่	น้ำหนัก	Conc.HCl (N)	ปริมาตร HCl	%TN
1	0.2124	0.1995	35.05	46.11
2	0.2476	0.1995	40.78	46.02
3	0.2355	0.1995	38.46	45.64
4	0.2353	0.1995	39.3	46.67
5	0.2454	0.1995	40.35	45.95
6	0.2024	0.1995	33.85	46.73
7	0.2294	0.1995	38.3	46.65
8	0.2198	0.1995	36.24	46.07
9	0.2245	0.1995	37.65	46.86

10	0.2319	0.1995	38.9	46.87
$\overline{X}$				46.36
SD				0.45

จากข้อมูลในตารางที่ 9 นำมาคำนวณ ดังนี้

5.3.1 คำนวณหาค่า Accuracy โดยทำการวิเคราะห์ CRM ที่เตรียมให้ได้ความเข้มข้นระดับสูง คือ ความเข้มข้นเท่ากับ 46.54 % TN ทำการวิเคราะห์ 10 ซ้ำ นำผลที่ได้มาหาค่า Recovery

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

$$\%\text{Recovery} = \frac{46.3592 \times 100}{46.54} = 99.61\ \%$$

เกณฑ์การยอมรับ % Recovery เท่ากับ 98-102 % (AOAC, 1998) แสดงว่า Recovery ผ่านเกณฑ์การยอมรับ

5.3.2 คำนวณหาค่า Precision โดยทำการวิเคราะห์ CRM ที่เตรียมให้ได้ความเข้มข้นระดับสูง คือ ความเข้มข้นเท่ากับ 46.54 % TN ทำการวิเคราะห์ 10 ซ้ำ นำผลที่ได้มาหาค่า %RSD แล้วประเมินโดยใช้ Horwitz's Ratio

$$\%\text{RSD} = (\text{SD} / \bar{x}) \times 100$$
$$= (0.45 / 46.36) \times 100$$
$$= 0.96$$

คำนวณหา Horwitz's Ratio (HORRAT)

$$\text{Predicted Horwitz RSD} = 0.66 \times 2^{(1-0.5\log C)}$$
$$= 0.66 \times 2^{(1-0.5\log 0.464)}$$
$$= 1.48$$

C = Concentration ratio = 46.36/ 100 = 0.464

HORRAT = %RSD / Predicted Horwitz RSD

= 0.96 / 1.48 = 0.65

เกณฑ์การประเมิน HORAAT < 2 แสดงว่า ผ่านเกณฑ์การยอมรับ

6. การทดสอบ Intermediate Precision ของวิธีวิเคราะห์ไนโตรเจนทั้งหมดในปุ๋ยเคมี ที่ที่ระดับความเข้มข้นต่ำ กลาง สูง ในช่วงระยะเวลาที่แตกต่างกัน

6.1 การทดสอบ Intermediate Precision ของวิธีวิเคราะห์ไนโตรเจนทั้งหมดในปุ๋ยเคมี ที่ระดับความเข้มข้นต่ำ เท่ากับ 1.0000 % TN

เตรียมไนโตรเจน 1.000% TN โดยใช้ Urea 46.54% (BCR 179) ชั่งให้ได้น้ำหนัก 2.1489 กรัม ใส่ใน volumetric flask ขนาด 100 มิลลิลิตร ละลายน้ำ ปรับปริมาตรเป็น 100 มิลลิลิตร (คำนวณความเข้มข้นได้เท่ากับ 1.0001 % TN) นำมาวิเคราะห์ตามขั้นตอนการวิเคราะห์ไนโตรเจนทั้งหมด ได้ผลการวิเคราะห์ดังตารางที่ 10 แล้วนำมาคำนวณหา % Recovery และ เปรียบเทียบค่าจากการวิเคราะห์กับค่าจริงโดยใช้ t-test

ตารางที่ 10 ผลการวิเคราะห์ไนโตรเจนทั้งหมดในปุ๋ยเตมีในช่วงเวลาที่แตกต่างกัน ที่ระดับความเข้มข้นต่ำ 1.000 % TN

วันที่	น้ำหนัก	Conc.HCl (N)	ปริมาตร HCl	%TN
9/7/2014	0.2283	0.2026	0.95	1.18
21/7/2014	0.2447	0.2026	1	1.16
12/8/2014	0.2732	0.2026	1.15	1.19
19/8/2014	0.2204	0.2026	0.9	1.16
28/8/2014	0.2313	0.2026	0.95	1.17
1/9/2014	0.2397	0.2026	1	1.18
10/9/2014	0.2697	0.2026	1.1	1.16
19/9/2014	0.2082	0.2026	0.85	1.16
25/9/2014	0.2402	0.2026	1	1.18
28/9/2014	0.2287	0.2026	0.95	1.18
9/7/2014	0.2283	0.2026	0.95	1.18
$\overline{X}$				1.17
SD				0.01

จากข้อมูลในตารางที่ 10 นำมาคำนวณ หา Precision โดยต้องหาค่า %RSD แล้วประเมินโดยใช้ Horwitz's Ratio ดังนี้

คำนวณหาค่า %RSD จากสูตร

$$\%RSD = (SD / \bar{x}) \times 100$$
$$= (0.01 / 1.17) \times 100$$
$$= 0.85$$

คำนวณหา Horwitz's Ratio (HORRAT)

$$\text{Predicted Horwitz RSD} = 0.66 \times 2^{(1-0.5\log C)}$$
$$= 0.66 \times 2^{(1-0.5\log 0.01)}$$

= 2.64

C = Concentration ratio = 1.17/ 100 = 0.01

HORRAT = %RSD / Predicted Horwitz RSD

= 0.85/ 2.64 = 0.32

เกณฑ์การประเมิน HORAAT < 2 แสดงว่า ผ่านเกณฑ์การยอมรับ

6.2 การทดสอบ Intermediate Precision ของวิธีวิเคราะห์ไนโตรเจนทั้งหมดในปุ๋ยเคมี ในมีช่วงระยะเวลาแตกต่างกัน ที่ระดับความเข้มข้นกลาง เท่ากับ 26.02 % TN

โดยใช้ calcium ammonium nitrate (BCR:178)นำมาวิเคราะห์ตามขั้นตอนการวิเคราะห์ไนโตรเจนทั้งหมด ให้ผลการวิเคราะห์ดังตารางที่ 11 แล้วนำมาคำนวณหา %RSD แล้วประเมินโดยใช้ Horwitz's Ratio ดังนี้

ตารางที่ 11 ผลการวิเคราะห์ไนโตรเจนทั้งหมด**ในปุ๋ย**เคมีที่มีช่วงระยะเวลาแตกต่าง**กัน** ที่ระดับความเข้มข้นกลาง เท่ากับ 26.02 %

วันที่	น้ำหนัก	Conc.HCl (N)	ปริมาตร HCl	%TN
9/7/2014	0.233	0.2026	21.5	26.19
21/7/2014	0.2154	0.2026	19.85	26.15
12/8/2014	0.2302	0.2026	21.2	26.13
19/8/2014	0.2334	0.2026	21.05	25.59
28/8/2014	0.2235	0.2026	20.5	26.03
1/9/2014	0.2336	0.2026	21.15	25.69
10/9/2014	0.2124	0.2026	19.55	26.12
19/9/2014	0.2108	0.2026	19.15	25.78
25/9/2014	0.2047	0.2026	18.45	25.58
28/9/2014	0.2334	0.2026	21.6	26.26
$\overline{X}$				25.75
SD				0.42

จากข้อมูลในตารางที่ 11 นำมาคำนวณ หา Precision โดยต้องหาค่า %RSD แล้วประเมินโดยใช้ Horwitz's Ratio ดังนี้

คำนวณหาค่า %RSD จากสูตร

%RSD = $(SD / \bar{x}) \times 100$

= (026 / 25.95) x 100

= 1.0

คำนวณหา Horwitz's Ratio (HORRAT)

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

= $0.66 \times 2^{(1-0.5\log 0.26)}$

= 1.62

C = Concentration ratio = 25.95/ 100 = 0.26

HORRAT = %RSD / Predicted Horwitz RSD

= 1.00/1.62 = 0.62

เกณฑ์การประเมิน HORAAT < 2 แสดงว่า ผ่านเกณฑ์การยอมรับ

6.3 การทดสอบ Intermediate Precision ของวิธีวิเคราะห์ไนโตรเจนทั้งหมดในปุ๋ยเคมีที่มีช่วงระยะเวลาแตกต่างกัน ที่ระดับความเข้มข้นสูง เท่ากับ 46.54 % TN

โดยใช้ urea (BCR :179) นำมาวิเคราะห์ตามขั้นตอนการวิเคราะห์ไนโตรเจนทั้งหมด ให้ผลการวิเคราะห์ดังตารางที่ 12 แล้วนำมาคำนวณหา % Recovery และ เปรียบเทียบค่าจากการวิเคราะห์กับค่าจริงโดยใช้ t-test

ตารางที่ 12 ผลการวิเคราะห์ไนโตรเจนทั้งหมด**ในปุ๋ยเคมีที่มีช่วงระยะเวลาแตกต่างกัน** ที่ระดับความเข้มข้นสูง 46.54%

ซ้ำที่	น้ำหนัก	Conc.HCl (N)	ปริมาตร HCl	%TN
9/7/2014	0.2311	0.2033	37.85	46.64
21/7/2014	0.2122	0.2033	34.8	46.7
12/8/2014	0.304	0.2033	49.6	46.46
19/8/2014	0.2957	0.2033	48.3	46.51
28/8/2014	0.2258	0.2033	37.2	46.91
1/9/2014	0.2395	0.2033	38.9	46.25
10/9/2014	0.2749	0.2011	45.05	46.16
19/9/2014	0.2266	0.2011	37.6	46.74
25/9/2014	0.2337	0.2011	38.5	46.4
28/9/2014	0.2294	0.2011	37.9	46.54
$\overline{X}$				46.53

SD	0.24

จากข้อมูลในตารางที่ 12 นำมาคำนวณ หา Precision โดยต้องหาค่า %RSD แล้วประเมินโดยใช้ Horwitz's Ratio ดังนี้

คำนวณหาค่า %RSD จากสูตร

%RSD = (SD / $\bar{x}$) x 100

= (0.24 / 46.53) x 100

= 0.52

คำนวณหา Horwitz's Ratio (HORRAT)

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

= $0.66 \times 2^{(1-0.5\log 0.47)}$

= 1.48

C = Concentration ratio = 46.53/ 100 = 0.467

HORRAT = %RSD / Predicted Horwitz RSD

= 0.52/1.48 = 0.35

เกณฑ์การประเมิน HORAAT < 2 แสดงว่า ผ่านเกณฑ์การยอมรับ

7. การทดสอบ Intermediate Precision ของวิธีวิเคราะห์ไนโตรเจนทั้งหมดในปุ๋ยเคมีที่มีสารตัวเติม ในมีช่วงระยะเวลาแตกต่างกัน ที่ระดับความเข้มข้นต่ำ กลาง สูง

7.1 การทดสอบ Intermediate Precision ของวิธีวิเคราะห์ไนโตรเจนไนโตรเจนทั้งหมดในปุ๋ยเคมีที่มีสารตัวเติม ในมีช่วงระยะเวลาแตกต่างกัน ที่ระดับความเข้มข้นต่ำ เท่ากับ 1.0000 % TN

เตรียมไนโตรเจน 1.000% TN โดยใช้ Urea 46.54% (BCR 179) ชั่งให้ได้น้ำหนัก 2.1489 กรัม ใส่ใน volumetric flask ขนาด 100 มิลลิลิตร ละลายน้ำ ปรับปริมาตรเป็น 100 มิลลิลิตร (คำนวณความเข้มข้นได้เท่ากับ 1.0001 % TN) นำมาวิเคราะห์ตามขั้นตอนการวิเคราะห์ไนโตรเจนทั้งหมด ได้ผลการวิเคราะห์ดังตารางที่ 13 แล้วนำมาคำนวณหา % Recovery และ เปรียบเทียบค่าจากการวิเคราะห์กับค่าจริงโดยใช้ t-test

ตารางที่ 13 ผลการวิเคราะห์ไนโตรเจนทั้งหมดไนโตรเจนทั้งหมดในปุ๋ยเคมีที่มีสารตัวเติม ในมีช่วงระยะเวลาแตกต่างกัน ที่ระดับความเข้มข้นต่ำ 1.000 % TN

วันที่	น้ำหนัก	Conc.HCl (N)	ปริมาตร HCl	%TN
9/7/2014	0.2190	0.2026	1.1	1.16
21/7/2014	0.2102	0.2026	0.95	1.18
12/8/2014	0.2171	0.2026	1	1.18

19/8/2014	0.2224	0.2026	0.9	1.16
28/8/2014	0.2471	0.2026	0.95	1.17
1/9/2014	0.2289	0.2026	1.15	1.19
10/9/2014	0.2258	0.2026	0.95	1.18
19/9/2014	0.2187	0.2026	0.85	1.16
25/9/2014	0.2383	0.2026	0.9	1.07
28/9/2014	0.2424	0.2026	1	1.16
9/7/2014	0.2190	0.2026	1.1	1.16
$\overline{X}$				1.16
SD				0.01

จากข้อมูลในตารางที่ 13 นำมาคำนวณ หา Precision โดยต้องหาค่า %RSD แล้วประเมินโดยใช้ Horwitz's Ratio ดังนี้

คำนวณหาค่า %RSD จากสูตร

%RSD = $(SD / \bar{x}) \times 100$

= $(0.01 / 1.16) \times 100$

= 0.80

คำนวณหา Horwitz's Ratio (HORRAT)

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

= $0.66 \times 2^{(1-0.5\log 0.01)}$

= 2.64

C = Concentration ratio = 1.16/ 100 = 0.01

HORRAT = %RSD / Predicted Horwitz RSD

= 0.80/ 2.64 = 0.30

เกณฑ์การประเมิน HORAAT < 2 แสดงว่า ผ่านเกณฑ์การยอมรับ

7.2 การทดสอบ Intermediate Precision ของวิธีวิเคราะห์ไนโตรเจนทั้งหมดในปุ๋ยเคมีที่มีสารตัวเติม ในมีช่วงระยะเวลาแตกต่างกัน ที่ระดับความเข้มข้นกลาง เท่ากับ 26.02 % TN

โดยใช้ calcium ammonium nitrate (BCR:178)นำมาวิเคราะห์ตามขั้นตอนการวิเคราะห์ไนโตรเจนทั้งหมด ให้ผลการวิเคราะห์ดังตารางที่ 14 แล้วนำมาคำนวณหา %RSD แล้วประเมินโดยใช้ Horwitz's Ratio ดังนี้

ตารางที่ 14 ผลการวิเคราะห์ไนโตรเจนทั้งหมดในปุ๋ยเคมีที่มีสารตัวเติม ในมีช่วงระยะเวลาแตกต่างกัน ที่ระดับความเข้มข้นกลาง เท่ากับ 26.02 %

วันที่	น้ำหนัก	Conc.HCl (N)	ปริมาตร HCl	%TN
9/7/2014	0.233	0.2026	21.5	26.19
21/7/2014	0.2154	0.2026	19.85	26.15
12/8/2014	0.2135	0.2022	19.55	25.93
19/8/2014	0.2423	0.2022	22.35	26.12
28/8/2014	0.2568	0.2022	23.5	25.92
1/9/2014	0.234	0.2022	21.35	25.84
10/9/2014	0.2143	0.2028	19.25	25.52
19/9/2014	0.2121	0.2028	19.5	26.12
25/9/2014	0.2483	0.2028	22.85	26.14
28/9/2014	0.2797	0.2028	25.35	25.75
$\overline{X}$				25.99
SD				0.22

จากข้อมูลในตารางที่ 14 นำมาคำนวณ หา Precision โดยต้องหาค่า %RSD แล้วประเมินโดยใช้ Horwitz's Ratio ดังนี้

คำนวณหาค่า %RSD จากสูตร

%RSD = (SD / $\bar{x}$) x 100

= (0.22 / 25.99) x 100

= 85

คำนวณหา Horwitz's Ratio (HORRAT)

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

= $0.66 \times 2^{(1-0.5\log 0.26)}$

= 1.62

C = Concentration ratio = 25.99/ 100 = 0.26

HORRAT = %RSD / Predicted Horwitz RSD

= 0.85/1.62 = 0.52

เกณฑ์การประเมิน HORAAT < 2 แสดงว่า ผ่านเกณฑ์การยอมรับ

7.3 การทดสอบ Intermediate Precision ของวิธีวิเคราะห์ไนโตรเจนทั้งหมดในปุ๋ยเคมีที่มีสารตัวเติม ในมีช่วงระยะเวลาแตกต่างกัน ที่ระดับความเข้มข้นสูง เท่ากับ 46.54 % TN

โดยใช้ urea (BCR :179) นำมาวิเคราะห์ตามขั้นตอนการวิเคราะห์ไนโตรเจนทั้งหมด ให้ผลการวิเคราะห์ดังตารางที่ 15 แล้วนำมาคำนวณหา % Recovery และ เปรียบเทียบค่าจากการวิเคราะห์กับค่าจริง โดยใช้ t-test

ตารางที่ 15 ผลการวิเคราะห์ไนโตรเจนทั้งหมดในปุ๋ยเคมีที่มีสารตัวเติม ในมีช่วงระยะเวลาแตกต่างกัน ที่ระดับความเข้มข้นสูง 46.54%

ซ้ำที่	น้ำหนัก	Conc.HCl (N)	ปริมาตร HCl	%TN
9/7/2014	0.2297	0.2033	37.85	46.92
21/7/2014	0.304	0.2033	49.6	46.46
12/8/2014	0.2957	0.2033	48.25	46.47
19/8/2014	0.2286	0.2022	37.65	46.65
28/8/2014	0.2694	0.2022	43.75	45.99
1/9/2014	0.2824	0.2028	45.85	46.12
10/9/2014	0.2646	0.2028	43.35	46.54
19/9/2014	0.2316	0.2028	38.25	46.91
25/9/2014	0.2442	0.2028	40.15	46.7
28/9/2014	0.2781	0.2028	45.55	46.53
$\overline{X}$				46.53
SD				0.32

จากข้อมูลในตารางที่ 15 นำมาคำนวณ หา Precision โดยต้องหาค่า %RSD แล้วประเมินโดยใช้ Horwitz's Ratio ดังนี้

คำนวณหาค่า %RSD จากสูตร

$$\%RSD = (SD / \bar{x}) \times 100$$

$$= (0.32 / 46.53) \times 100$$

$$= 0.68$$

คำนวณหา Horwitz's Ratio (HORRAT)

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

= 0.66 x $2^{(1-0.5\log 0.47)}$

= 1.48

C = Concentration ratio = 46.53/ 100 = 0.467

HORRAT = %RSD / Predicted Horwitz RSD

= 0.68/1.48 = 0.35

เกณฑ์การประเมิน HORAAT < 2 แสดงว่า ผ่านเกณฑ์การยอมรับ

ผลและสรุปผลการทดลอง

การตรวจสอบความใช้ได้ของวิธีวิเคราะห์ไนโตรเจนทั้งหมดในปุ๋ยเคมี เป็นวิธีที่ห้องปฏิบัติการปุ๋ย กลุ่มพัฒนาการตรวจสอบพืชและปัจจัยการผลิต ดัดแปลงจากวิธีของ AOAC (AOAC Official Method of Analysis (18^{th}ed.) 2005, 955.04) โดยวิเคราะห์ CRM/SRM แล้วนำมาประเมินหาปริมาณต่ำสุดที่สามารถวัดได้ (LOD/ LOQ) หาความแม่น (Accuracy) และความเที่ยง (Precision) ได้ดังนี้

1. การหาความแม่น Accuracy ของวิธีวิเคราะห์ไนโตรเจนทั้งหมดในปุ๋ย

ปริมาณต่ำสุดที่สามารถวัดได้ (LOD) เท่ากับ 0.17 % และปริมาณต่ำสุดที่สามารถวิเคราะห์และรายงานผลได้ (LOQ) เท่ากับ 0.38 %

CRM/RM	ค่าจริง	% Recovery	**% RSD (Lab)**	Precision(HORRAT)
0.3801% TN	0.3801	100.85	4.37	1.43, ยอมรับ

2. การหาความแม่น Accuracy ของวิธีวิเคราะห์ไนโตรเจนทั้งหมดในปุ๋ย

ระดับความเข้มข้น	% Recovery	เกณฑ์การยอมรับ	ผลการประเมิน	T-test	เกณฑ์การยอมรับที่ 95%	ผลการประเมิน
ระดับต่ำ (1.00 %)	98.99	98-102 %	ผ่าน	0.61	$t_{cal} < t_{cri}$ $t_{cri} = 2.26$	ผ่าน
ระดับกลาง (26.02 %)	99.27	98-102 %	ผ่าน	0.15	$t_{cal} < t_{cri}$ $t_{cri} = 2.26$	ผ่าน
ระดับสูง (46.54 %)	99.28	98-102 %	ผ่าน	0.16	$t_{cal} < t_{cri}$ $t_{cri} = 2.26$	ผ่าน

จากการประเมินความถูกต้อง พบว่า % Recovery ของทุกระดับความเข้มข้นอยู่ในเกณฑ์ยอมรับ และเมื่อนำไปหาความแตกต่างระหว่างค่าที่วิเคราะห์ได้กับค่าจริง โดย T-test พบว่าค่าที่ได้ไม่มีความแตกต่างกันในแต่ละระดับความเข้มข้น แสดงว่าวิธีนี้มีความแม่นสามารถยอมรับได้

3. การหาความเที่ยง (Precision และ Intermediate Precision) ของวิธีวิเคราะห์ไนโตรเจนทั้งหมดในปุ๋ย

ระดับความเข้มข้น	Precision					Intermediate Precision				
	%RSD	%RSD expected	HORRAT	เกณฑ์การยอมรับ	ผลการประเมิน	%RSD	%RSD expected	HORRAT	เกณฑ์การยอมรับ	ผลการประเมิน
ระดับต่ำ (1.00%)	4.06	2.64	1.53	< 2 หรือ ≤2	ผ่าน	0.85	2.64	0.32	< 2 หรือ ≤2	ผ่าน
ระดับกลาง (26.02%)	1.30	1.62	0.80	< 2 หรือ ≤2	ผ่าน	1.0	1.62	0.62	< 2 หรือ ≤2	ผ่าน
ระดับสูง (46.54%)	1.25	1.48	0.84	< 2 หรือ ≤2	ผ่าน	0.52	1.48	0.35	< 2 หรือ ≤2	ผ่าน

จากการประเมินความเที่ยงทุกระดับความเข้มข้น ค่า HORRAT ไม่เกินเกณฑ์ที่กำหนด (AOAC : HORRAT (Horwitz's ratio) < 2 หรือ EU, CODEX : HORRAT (Horwitz's ratio ≤ 2)) แสดงว่าวิธีนี้มีความเที่ยงที่สามารถยอมรับ

เอกสารอ้างอิง

AOAC. 2012. AOAC Official Method of Analysis, 19thed 2012Chapter 2 "Fertilizer".Editor. Dr.George W. Latimer, Jr. Published by AOAC INTERNATIONAL SUITE 500 481 NORTH FREDERICK AVENUE GAITHERSBURG MARYLAND 20877-2417 USA.

Official Method of Analysis of AOAC International. 2005. AOAC International Gaithersburg, MD, USA, Official Method 955.04. 18th ed.

กลุ่มวิจัยเกษตรเคมี. 2551. คู่มือวิเคราะห์ปุ๋ยเคมี. สำนักวิจัยพัฒนาปัจจัยการผลิตทางการเกษตร. กรมวิชาการเกษตร. กรุงเทพฯ. 66 หน้า

กรมวิทยาศาสตร์บริการ. 2554. แนวทางการจัดทำความสมเหตุสมผลของการวัด (Guidelines on Validity of Mearsurement). โรงพิมพ์สำนักพระพุทธศาสนาแห่งชาติ. พิมพ์ครั้งแรก.

จิตรา ชัยวิมล. 2545. การตรวจสอบความใช้ได้ของวิธีทดสอบทางเคมี. สถาบันวิจัยวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยีแห่งประเทศไทย. กรุงเทพฯ. 34 หน้า

ประกาศกระทรวงเกษตรและสหกรณ์, 2552 . กำหนดเกณฑ์คลาดเคลื่อนของปริมาณธาตุอาหารรับรองของปุ๋ยเคมีตามพระราชบัญญัติ ปุ๋ย พ.ศ. 2518 แก้ไขเพิ่มเติมโดยพระราชบัญญัติปุ๋ย (ฉบับที่ 2) พ.ศ. 2550

ทิพวรรณ นิ่งน้อย. 2549. แนวปฏิบัติการทดสอบความถูกต้องของวิธีวิเคราะห์. กรมวิทยาศาสตร์การแพทย์. กระทรวงสาธารณสุข. นนทบุรี. 124 หน้า