

## แบบรายงานเรื่องเติมผลการทดลองที่สิ้นสุดปีงบประมาณ 2557

<b>ชุดโครงการวิจัย</b>	วิจัยและพัฒนาปัจจัยการผลิตทางการเกษตร		
<b>โครงการวิจัย</b>	การพัฒนาระบบการตรวจวิเคราะห์พืชและปัจจัยการผลิตทางการเกษตร		
<b>กิจกรรม</b>	พัฒนาระบบการตรวจวิเคราะห์พืช ดิน น้ำ สารอินทรีย์ สารควบคุมการเจริญเติบโตพืช สารสกัดและวัตถุอันตรายทางการเกษตร		
<b>กิจกรรมย่อย</b>	พัฒนาเทคนิคระบบการตรวจวิเคราะห์ และตรวจสอบความใช้ได้ของวิธีวิเคราะห์พืช		
<b>ชื่อการทดลอง(ภาษาไทย)</b>	ตรวจสอบความใช้ได้ของวิธีวิเคราะห์ฟอสเฟตทั้งหมดในปุ๋ยเคมี		
<b>คณะผู้ดำเนินงาน</b>			
หัวหน้าโครงการวิจัย	นางจิตติมา ยถาภูษานนท์	สังกัด	กลุ่มวิจัยเกษตรเคมี สปผ.
หัวหน้าการทดลอง	สุธินี สาสีลัง	สังกัด	สวพ. 2
ผู้ร่วมงาน	วิภาพร เกียรตินิติประวัติ	สังกัด	สวพ. 2
	เบญจมาศ ใจแก้ว	สังกัด	สวพ. 2
	พรศิริ สายะพันธ์	สังกัด	สวพ. 2
	ยสิทธิ์ อินทรสถิตย์	สังกัด	สวพ. 2

### บทคัดย่อ

ห้องปฏิบัติการสำนักวิจัยและพัฒนาการเกษตรเขตที่ 2 ได้ทำการตรวจสอบความใช้ได้ของวิธีวิเคราะห์ฟอสเฟตทั้งหมดในปุ๋ยเคมี เป็นวิธีวิเคราะห์ที่ดัดแปลงมาจากวิธีการของ AOAC (2005) โดยทำการศึกษาคุณลักษณะ 6 ปัจจัย ได้แก่ range (ช่วงใช้งาน), linearity (ความเป็นเส้นตรง), accuracy (ความแม่นยำ), precision และ intermediate precision (ความเที่ยง), limit of detection (LOD), และ limit of quantitation (LOQ), ทำการวิเคราะห์ CRM/SRM และการวิเคราะห์ CRM/SRM ร่วมกับสารตัวเติม เพื่อประเมิน matrix effect ผลจากการทดสอบ range อยู่ในช่วงความเข้มข้น 0.5-9 mg/kg และ linearity ได้ ค่า r เท่ากับ 1 ซึ่งผ่านเกณฑ์การยอมรับ คือ  $r \geq 0.995$  ค่า LOD และ LOQ เท่ากับ 0.30 และ 0.45 mg/kg ตามลำดับ ในการทดสอบโดยใช้ CRM/SRM ที่ 3 ระดับความเข้มข้น นำมาตรวจสอบ accuracy และ precision ได้ค่า %recovery ที่ระดับความเข้มข้นต่ำ (1%), กลาง (19.34%) และสูง (52.17%) เท่ากับ 100, 101 และ 100 % ตามลำดับ เป็นไปตามเกณฑ์การยอมรับที่กำหนด

คือ%recovery 95-105 % ที่ความเข้มข้นระดับต่ำและ 98-102 % ที่ความเข้มข้นระดับกลางและสูง ใน ส่วนของการตรวจสอบ precision ได้ค่า HORRAT ที่ระดับความเข้มข้นต่ำ (1%), กลาง (19.34%) และ สูง (52.17%) เท่ากับ 1.14, 0.64 และ 1.10 % ตามลำดับ และ intermediate precision ได้ค่า HORRAT ที่ระดับความเข้มข้นต่ำ (1%), กลาง (19.34%) และสูง (52.17%) เท่ากับ 1.50, 0.64 และ 1.04 % ตามลำดับ ซึ่ง ค่า HORRAT ที่ได้จากการทดสอบ precision ทั้งสองสถานะ ผ่านเกณฑ์การยอมรับคือ มี ค่า Horwitz's ratio  $\leq 2$  ในการทดสอบ CRM/SRM ร่วมกับสารตัวเติม เพื่อประเมินผล matrix effect เมื่อตรวจสอบ accuracy และ precision ได้ค่า %recovery ที่ระดับความเข้มข้นต่ำ (1%), กลาง (19.34%) และสูง (52.17%) เท่ากับ 101, 100 และ 100 % ตามลำดับ เป็นไปตามเกณฑ์การยอมรับ ใน ส่วนของการตรวจสอบ precision ได้ค่า HORRAT ที่ระดับความเข้มข้นต่ำ (1%), กลาง (19.34%) และสูง (52.17%) เท่ากับ 1.13, 0.55 และ 0.33 % ตามลำดับ และในส่วนของ intermediate precision ได้ค่า HORRAT ที่ระดับความเข้มข้นต่ำ (1%), กลาง (19.34%) และสูง (52.17%) เท่ากับ 0.36, 0.37 และ 0.40 % ตามลำดับ ซึ่งผ่านเกณฑ์การยอมรับเช่นเดียวกันจากผลการตรวจสอบความใช้ได้ของวิธีวิเคราะห์ข้อมูล ทั้งหมดแสดงให้เห็นว่าวิธีวิเคราะห์มีความถูกต้องและแม่นยำ มีความน่าเชื่อถือ เป็นไปตามมาตรฐานสากล และสามารถใช้เป็นวิธีวิเคราะห์ฟอสเฟตทั้งหมดในปุ๋ยเคมี ของห้องปฏิบัติการวิเคราะห์ปัจจัยการผลิต สำนักวิจัยและพัฒนาการเกษตรเขตที่ 2 และใช้เป็นวิธีวิเคราะห์ในการขอขยายขอบข่ายการรับรอง ห้องปฏิบัติการได้

Office of Agricultural Research and Development Region 2 Laboratory studied method validation on total phosphate in chemical fertilizer that makes used of a modified AOAC (2005). This experiment studied on 6 characteristics such as range, linearity, accuracy, precision and intermediate precision, limit of detection (LOD) and limit of quantitation (LOQ). The CRM/SRM and CRM/SRM + filler were analyzed for matrix effect study. The results showed that range concentration covered from 0.5-9 mg.kg, linearity study,  $r = 1$  that did agree with the set criteria ( $r \geq 0.995$ ). LOD and LOQ were 0.30 and 0.45 mg/kg respectively. The CRM/SRM was performed by 3 concentrations. Inaccuracy study, %recovery at low concentration (1%), middle concentration (19.34%) and high concentration (52.17%) were 100, 101 and 100% respectively. that did agree with the set criteria (95-105% at low concentration and 98-102% at middle and high concentration). Precision study, HORRAT at low concentration (1%), middle concentration (19.34%) and high concentration (52.17%) were 1.14, 0.64 and 1.10% respectively and intermediate precision study, HORRAT were 1.50, 0.64 and 1.04% at low concentration

(1%), middle concentration (19.34%) and high concentration (52.17%) respectively. Conclusion, all HORRAT did agree with the set criteria (Horwitz's ratio  $\leq 2$ ). The results CRM/SRM + filler for matrix effect study; accuracy study, % recovery at low concentration (1%), middle concentration (19.34%) and high concentration (52.17%) were 101, 100, and 100% respectively that did agree with the set criteria. Precision study at low concentration (1%), middle concentration (19.34%) and high concentration (52.17%) were 1.13, 0.55 and 0.33% respectively. Moreover, intermediate precision study, HORRAT at low concentration (1%), middle concentration (19.34%) and high concentration (52.17%) were 0.36, 0.37 and 0.40% respectively. The investigations revealed that all HORRAT did agree with the set criteria. Beside that laboratory obtained experiments data to guideline for uncertainty of total phosphate in chemical fertilizer analysis because of uncertainty value is necessary in test report for illegal fertilizer consideration. Conclusion, the results indicate that method is accurately, believable and universal standard. Office of Agricultural Research and Development Region 2 Laboratory apply this method to use for standard method that analyzed total phosphate in fertilizer. Furthermore, this method will be expanding scope for laboratory ISO/IEC 17025 accreditation.

### หลักการและเหตุผล

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

ห้องปฏิบัติการสำนักวิจัยและพัฒนาการเกษตรเขตที่ 2 รับผิดชอบในการวิเคราะห์ตรวจสอบคุณภาพปุ๋ยเคมีขึ้นทะเบียนและจำหน่ายในเขตพื้นที่รับผิดชอบภาคเหนือตอนล่าง และการรายงานผลการตรวจวิเคราะห์ของห้องปฏิบัติการมีความสำคัญมาก จะต้องให้ผลที่ถูกต้อง แม่นยำ และมีความน่าเชื่อถือ ซึ่งมีองค์ประกอบที่สำคัญคือ เทคนิค และวิธีการในการวิเคราะห์สารนั้นๆ โดยตามหลักของมาตรฐานห้องปฏิบัติการ ISO/IEC17025:2005 ในข้อกำหนดด้านวิชาการข้อ 5.4.5 วิธีการตรวจวิเคราะห์ต้องทำการ

ตรวจสอบความใช้ได้ของวิธี (Method Validation) หรือทวนสอบวิธี (Verified of Method) เพื่อให้ผลการตรวจวิเคราะห์เป็นที่ยอมรับและมีความถูกต้องน่าเชื่อถือได้

การตรวจสอบความใช้ได้ของวิธี (Method Validation) เป็นกระบวนการศึกษาเพื่อยืนยันคุณลักษณะของวิธีวิเคราะห์ (Method Performance Characteristics) ดำเนินการประเมินด้วยวิธีสถิติและเหมาะสมตามวัตถุประสงค์การใช้งาน คุณลักษณะเฉพาะเหล่านี้ ได้แก่ ความจำเพาะเจาะจง (Specification/Selectivity) ความแม่นยำ (Accuracy) ความเที่ยง (Precision) พิสัย หรือช่วงของการวัด (Working range) ความเป็นเส้นตรง (Linearity) ขีดจำกัดของวิธีวิเคราะห์ในเชิงคุณภาพและเชิงปริมาณ (Limit of detection และ Limit of quantitation) และความคงทนของวิธี (Ruggedness/Robustness) รวมทั้งความไม่แน่นอนของการวัด (Measurement Uncertainty) การศึกษาคุณลักษณะเหล่านี้ อาจไม่จำเป็นต้องทำทั้งหมด ทั้งนี้ขึ้นอยู่กับวิธีวิเคราะห์และวัตถุประสงค์ของการใช้งาน (ทิพวรรณ, 2549) นอกจากนี้การรายงานผลการทดสอบที่ถูกต้อง น่าเชื่อถือ ต้องระบุค่าความไม่แน่นอน เพราะค่าความไม่แน่นอนบ่งบอกถึงคุณสมบัติการสอบกลับได้ของผลการวิเคราะห์นั้นๆ ดังนั้นการทดสอบวิธีวิเคราะห์จึงต้องมีการประเมินค่าความไม่แน่นอนเพื่อใช้ในการพิจารณาความเหมาะสมของวิธี (กิตติยา เชียร์แมน และสุทธิ นันท์ แต่บรรพกุล, 2557)

## ขั้นตอนและวิธีการดำเนินงาน

### 1. เครื่องมือ วัสดุอุปกรณ์สารเคมี และสารมาตรฐาน

#### 1.1 เครื่องมือ

- 1.1.1 เครื่องชั่งไฟฟ้าทศนิยมความละเอียด 4 ตำแหน่งยี่ห้อ Sartorius รุ่น ED224S
- 1.1.2 เครื่องสเปกโตรโฟโตมิเตอร์ (UV-Vis Spectrophotometer) ยี่ห้อ Perkin Elmer รุ่น Lamda 35
- 1.1.3 ตู้อบ (Hot air oven)
- 1.1.4 ตู้ดูดควัน (Hood)
- 1.1.5 ตู้ดูดความชื้น (Dessicator)
- 1.1.6 Hot Plate
- 1.1.7 Autopipette ขนาด 10 ml

#### 1.2 วัสดุอุปกรณ์

- 1.2.1 Beaker, Cylinder, Erlenmeyer flask, Volumetric flask, Volumetric pipette, Tip สำหรับ Autopipete, กระดาษกรอง Whatman No.1, กระบอกฉีดน้ำกลั่น, กระดาษชั่งสาร, กรวยกรองแก้ว, แท่งแก้ว, ซ้อนตักสารและลูกยาง

### 1.3 สารเคมี

- 1.3.1 Ammonium molybdate  $[(\text{NH}_4)_6\text{Mo}_7\text{O}_{24}\cdot 4\text{H}_2\text{O}]$ , AR grade
- 1.3.2 Ammonium metavanadate  $(\text{NH}_4\text{VO}_3)$ , AR grade
- 1.3.3 Nitric acid 69 - 70 %  $(\text{HNO}_3)$ , AR grade
- 1.3.4 Perchloric acid 69-70%  $(\text{HClO}_4)$ , AR grade
- 1.3.5 น้ำกลั่น

### 1.4 สารมาตรฐาน

- 1.4.1 Potassium dihydrogen phosphate  $(\text{KH}_2\text{PO}_4)$ , 99.8 % AR grade

### 1.5 วัสดุอ้างอิงรับรอง/วัสดุอ้างอิงมาตรฐาน

- 1.5.1 Potassium dihydrogen phosphate, SRM<sup>®</sup>-200b (Phosphorus = 22.769 % $\pm$  0.010 %, Potassium = 28.735 % $\pm$  0.018 %)
- 1.5.2 Superphosphate CRM-BCR<sup>®</sup>-033 ( $\text{P}_2\text{O}_5$  = 193.4 g/kg  $\pm$  1.2 g/kg)

### 1.6 ตัวอย่างปุ๋ยเคมี

- 1.6.1 ปุ๋ยเคมีที่ไม่มีฟอสเฟต (sample blank) สูตร 0-0-15
- 1.6.2 ปุ๋ยเคมีที่มีค่าฟอสเฟตน้อย (matrix) สูตร 0.35-0.03-0

## 2. วิธีการ

### 2.1 ขั้นตอนการวิเคราะห์

ดัดแปลงจากวิธีวิเคราะห์ฟอสเฟตทั้งหมดในคู่มือวิธีวิเคราะห์ปุ๋ยเคมี ของ AOAC (2012) และกรมวิชาการเกษตร (กลุ่มวิจัยเกษตรเคมี, 2551)

2.1.1 ชั่งตัวอย่างปุ๋ยเคมีใน erlenmeyer flask ขนาด 250 มิลลิลิตร ในช่วง 0.3xxx – 0.5xxx กรัม

2.1.2 เติมกรดผสม  $\text{HNO}_3$  :  $\text{HClO}_4$  (อัตราส่วน 1:1) จำนวน 20 มิลลิลิตร จากนั้นนำไปย่อยบน hot plate ที่อุณหภูมิไม่เกิน 220 °C ย่อยจนมีควันขาวและสารละลายมีลักษณะสีใส ใช้เวลาประมาณ 30-40 นาที จากนั้นยกลงและตั้งทิ้งไว้ใน hood ที่อุณหภูมิห้อง จนกระทั่งเย็น

2.1.3 ถ่ายสารละลายตัวอย่างและล้างตะกอนด้วยน้ำกลั่น ลงใน volumetric flask ขนาด 250 มิลลิลิตร จากนั้นปรับปริมาตรด้วยน้ำกลั่น เขย่าให้เข้ากัน กรณีที่สารละลายขุ่นให้นำไปกรองผ่านกระดาษกรองเบอร์ 1

2.1.4 ดูดสารละลายตัวอย่างตาม  $\% \text{P}_2\text{O}_5$  ดังนี้

- ตัวอย่างที่มี  $\% \text{P}_2\text{O}_5 \leq 10\%$  : ดูดสารละลายตัวอย่าง 5 มิลลิลิตรใส่ใน volumetric flask ขนาด 100 มิลลิลิตร

- ตัวอย่างที่มี  $\% \text{P}_2\text{O}_5 11-23\%$  : ดูดสารละลายตัวอย่าง 2 มิลลิลิตรใส่ใน volumetric flask ขนาด 100 มิลลิลิตร

- ตัวอย่างที่มี  $\%P_2O_5 \geq 24\%$  : ตูตสารละลายตัวอย่าง 2 มิลลิลิตรใส่ใน volumetric flask ขนาด 250 มิลลิลิตร

2.1.5 นำขวด จาก ข้อ 2.1.4 มาเติมน้ำยา molybdovanadate reagent เพื่อให้เกิดสี โดยเติมในอัตราส่วน 10% ของ volumetric flask ปรับด้วยน้ำกลั่น เขย่าให้เข้ากันและทิ้งไว้ 30 นาที

2.1.6 สำหรับสารละลายมาตรฐานฟอสฟอรัสที่ใช้ทำ calibration curve (working standard solution) ทั้ง 7 ระดับความเข้มข้น ให้เติมน้ำยา molybdovanadate reagent เพื่อให้เกิดสี โดยเติมในอัตราส่วน 10% ของ volumetric flask ปรับด้วยน้ำกลั่น เขย่าให้เข้ากันและทิ้งไว้ 30 นาที โดยให้ทำเช่นเดียวกับ สารละลายตัวอย่าง

2.1.7 นำสารละลายตัวอย่าง (ข้อ 2.1.5) และ working standard solution (ข้อ 2.1.6) ไปวัดความเข้มของสีด้วยเครื่อง spectrophotometer ที่ความยาวคลื่น 420 นาโนเมตร บันทึกค่า absorbance (A)

2.1.8 หาค่าความเข้มข้นของสารละลายตัวอย่างโดยเปรียบเทียบผลการวิเคราะห์ของ สารละลายตัวอย่างกับกราฟที่แสดงความสัมพันธ์ระหว่างความเข้มข้นของฟอสฟอรัสและค่า absorbance (A) ของ working standard solution (calibration curve)

สูตรคำนวณ

$$\%P_2O_5 = \frac{2.2914 \times \text{ppm P} \times \text{dilution factor} \times 100}{\text{wt of sample(g)} \times 10^6}$$

$$\text{dilution factor} = \frac{\text{first volume} \times \text{final volume}}{\text{take volume}}$$

## 2.2 ขั้นตอนการเตรียมสารละลาย

### 2.2.1 การเตรียมสาร molybdovanadate reagent

2.2.1.1 ชั่ง ammonium molybdate จำนวน 40 กรัมใส่ใน beaker ขนาด 500 มิลลิลิตรเติมน้ำร้อน (น้ำกลั่น) ปริมาณ 400 มิลลิลิตร คนให้เข้ากัน ทิ้งไว้ให้เย็น

2.2.1.2 ชั่ง ammonium metavanadate ปริมาณ 2 กรัม ใส่ใน beaker ขนาด 1000 มิลลิลิตรเติมน้ำร้อน (น้ำกลั่น) ปริมาณ 300 มิลลิลิตร ทิ้งไว้ให้เย็น จากนั้นเติม 69-70%  $HClO_4$  ปริมาณ 450 มิลลิลิตร คนให้เข้ากัน ทิ้งไว้ให้เย็น

2.2.1.3 ค่อย ๆ รินผสมสารละลาย ammonium molybdate ลงใน สารละลาย ammonium metavanadate ใน volumetric flask ขนาด 2000 มิลลิลิตร ปรับ ปริมาตรด้วยน้ำกลั่น จะได้สารละลายสีเหลืองอ่อน เขย่าให้เข้ากัน และถ่ายเก็บไว้ในขวดแก้วสีชา

### 2.2.2 การเตรียมสารละลายมาตรฐาน

ชั่ง  $\text{KH}_2\text{PO}_4$  ซึ่งผ่านการอบที่อุณหภูมิ  $105^\circ\text{C}$  นาน 2 ชั่วโมงจำนวน 1.0984 กรัมใส่ใน volumetric flask ขนาด 250 มิลลิลิตรละลายและปรับปริมาตรด้วยน้ำกลั่นเขย่าให้เข้ากันจะได้ความเข้มข้นสารละลายมาตรฐานฟอสฟอรัส 1,000 ppm จากนั้นใช้ volumetric pipette ดูดสารละลายมาตรฐานมา 10 มิลลิลิตร ใส่ใน volumetric flask ขนาด 100 มิลลิลิตร จากนั้นปรับปริมาตรด้วยน้ำกลั่นเขย่าให้เข้ากันจะได้ความเข้มข้นสารละลายมาตรฐานฟอสฟอรัส 100 ppm ซึ่งจะใช้เป็นความเข้มข้นตั้งต้นนำไปคำนวณเพื่อเตรียมสารละลายมาตรฐานฟอสฟอรัสสำหรับทำ calibration curve ที่ระดับความเข้มข้น 1, 2, 3, 4, 5, 6 และ 7 ppm โดยใช้ volumetric pipette ดูดสารละลายมาตรฐานมา 1,2,3,4,5,6 และ 7 มิลลิลิตร ใส่ใน volumetric flask ขนาด 100 มิลลิลิตร

### 3. การตรวจสอบความใช้ได้ของวิธี

ห้องปฏิบัติการตรวจสอบความใช้ได้ของวิธีวิเคราะห์ฟอสเฟตทั้งหมดในปุ๋ยเคมี ทั้งหมด 7 คุณลักษณะ ได้แก่ ช่วงการใช้งาน (working range) ช่วงความเป็นเส้นตรง (linearity range) ความแม่นยำ (accuracy) ความเที่ยง (precision) ค่าความเข้มข้นต่ำสุดของสารในตัวอย่างที่สามารถตรวจพบได้ (limit of detection : LOD) และค่าความเข้มข้นต่ำสุดของสารในตัวอย่างที่สามารถตรวจหาปริมาณได้โดยมีความแม่นยำและความเที่ยงอยู่ในเกณฑ์ที่ยอมรับได้ (limit of quantitation : LOQ) โดยทดสอบในเนื้อตัวอย่าง 2 ลักษณะ คือ ตัวอย่างปุ๋ยเคมี ที่เป็น Certified Reference Material หรือ Standard Reference Material (CRM/SRM) และในปุ๋ยเคมีที่เติมสารตัวเติม (filler)

#### 3.1 การตรวจสอบ range และ linearity

##### 3.1.1 range

- เติมสารมาตรฐานฟอสเฟตลงในตัวอย่างปุ๋ยเคมีที่ไม่มีค่าฟอสเฟต สูตร 0-0-15 (fortified sample blank) ครอบคลุมช่วงความเข้มข้นภายใน range ของการทดสอบ 7 ความเข้มข้น ได้แก่ 0.5, 1, 2, 3, 5, 7 และ 9 ppm โดยทำความเข้มข้นละ 3 ซ้ำ จากนั้น plot graph ระหว่างความเข้มข้นของ fortified sample blank (แกน x) กับค่า absorbance (แกน y) และพิจารณาความเป็นเส้นตรงโดยการคำนวณหาค่าสัมประสิทธิ์สหสัมพันธ์ (r) โดยค่า  $r \geq 0.995$

##### 3.1.2 linearity

- เติมสารมาตรฐานฟอสเฟตลงในตัวอย่างปุ๋ยเคมีที่ไม่มีค่าฟอสเฟต สูตร 0-0-15 (fortified sample blank) ครอบคลุมช่วงความเข้มข้นภายใน range ของการทดสอบ (0.5-9 ppm) ความเข้มข้น ได้แก่ 1, 2, 3, 4, 5, 6 และ 7 ppm โดยทำความเข้มข้นละ 10 ซ้ำ จากนั้น plot graph ระหว่างความเข้มข้นของ fortified sample blank (แกน x) กับค่า absorbance (แกน y) และพิจารณาความเป็นเส้นตรงโดยการคำนวณหาค่าสัมประสิทธิ์สหสัมพันธ์ (r) โดยค่า  $r \geq 0.995$

#### 3.2 การหาค่า limit of detection (LOD) และ limit of quantitation (LOQ)

3.2.1 ทำการทดสอบตัวอย่างที่ไม่มีค่าฟอสเฟต สูตร 0-0-15 ความเข้มข้นละ 10 ซ้ำ และบันทึกผลการทดสอบ

3.2.2 หาค่าส่วนเบี่ยงเบนมาตรฐาน (SD) ของความเข้มข้นที่อ่านค่าได้

3.2.3 คำนวณ ค่า LOD = 2 to 3 SD และทำการยืนยัน LOD

3.2.4 คำนวณค่า LOQ = 10 to 20 SD และทำการยืนยัน LOQ โดยการทดสอบ accuracy และ precision

### 3.3 การตรวจสอบ accuracy

ทำการตรวจสอบ accuracy ในปุ๋ยเคมี ที่มี matrix 2 แบบ ได้แก่ CRM/SRM และ CRM/SRM + ปุ๋ยเคมีที่มีค่าฟอสเฟตน้อยโดยมีขั้นตอนดังนี้

3.3.1 ทดสอบ reagent blank, sample blank และ fortified sample blank ที่ระดับความเข้มข้นภายใน range 3 ระดับความเข้มข้น (ครอบคลุมความเข้มข้นที่ระดับสูง กลาง ต่ำ) อย่างน้อยความเข้มข้นละ 10 ซ้ำ (มีสภาวะการทดสอบเดียวกัน)

3.3.2 บันทึกผลการทดสอบ

3.3.3 หาค่าเฉลี่ยของผลทดสอบที่หักค่าใน reagent blank ออกจาก sample blank และ fortified sample blank แล้วประเมิน accuracy จากค่าการคืนกลับของสาร (%recovery) โดยใช้สมการ

$$\% \text{ recovery} = \frac{|\text{Average} - \mu| \times 100}{C}$$

โดยที่ C = ปริมาณสารมาตรฐานที่เติมลงในตัวอย่าง

$\mu$  = ปริมาณสารที่มีในตัวอย่างก่อน fortified

3.3.4 เมื่อได้ค่า %recovery ให้นำไปเปรียบเทียบกับเกณฑ์การยอมรับของ AOAC (2012) ดังแสดงในตาราง 1

ตาราง 1 Expected recovery as a function of analyte concentration (AOAC, 2012)

Analyte %	Analyte ratio	Unit	Mean recovery %
100	1	100%	98-102
10	10 <sup>-1</sup>	10%	98-102
1	10 <sup>-2</sup>	1%	97-103
0.01	10 <sup>-3</sup>	0.1%	95-105
0.001	10 <sup>-4</sup>	100 ppm	90-107
0.0001	10 <sup>-5</sup>	10 ppm	80-110



Analyte %	Analyte ratio	Unit	Mean recovery %
0.00001	10 <sup>-6</sup>	1 ppm	80-110
0.000001	10 <sup>-7</sup>	100 ppb	80-110
0.0000001	10 <sup>-8</sup>	10 ppb	60-115
0.00000001	10 <sup>-9</sup>	1 ppb	40-120

### 3.4 การตรวจสอบ precision และ intermediate precision

ทำการตรวจสอบ precision (มีสภาวะการทดสอบเดียวกัน) และ intermediate precision (มีสภาวะการทดสอบแตกต่างกัน) ในปุ๋ยเคมี ที่มี matrix 2 แบบ ได้แก่ CRM/SRM และ CRM/SRM + ปุ๋ยเคมีที่มีค่าฟอสเฟตน้อย โดยมีขั้นตอนดังนี้

3.4.1 ทดสอบ reagent blank, sample blank และ fortified sample blank ที่ระดับความเข้มข้นภายใน range 3 ระดับความเข้มข้น (ครอบคลุมความเข้มข้นที่ระดับสูง กลาง ต่ำ) ความเข้มข้นละ 10 ซ้ำ

3.4.2 บันทึกผลการทดสอบ

3.4.3 คำนวณค่าเฉลี่ย และค่าส่วนเบี่ยงเบนมาตรฐาน (SD) ของผลการทดสอบ และค่า % RSD ที่ได้จากการทดลอง จากสมการ

$$\% \text{ RSD} = \frac{SD \times 100}{\text{Average}}$$

3.4.4 ประเมิน precision โดยใช้ Horwitz Equation และ HORRAT (Horwitz's ratio) โดยสามารถคำนวณหา %RSD และ HORRAT จากสูตร

$$\% \text{RSD}_{\text{lab}} = (\text{SD} \div \text{Avg}) \times 100$$

$$\% \text{RSD}_{\text{expected}} \text{ จาก Horwitz equation} = 0.66 \times 2^{(1-0.5 \log C)}$$

$$\text{HORRAT} = \% \text{RSD}_{\text{lab}} \div \% \text{RSD}_{\text{expected}}$$

โดยที่เกณฑ์การยอมรับ คือ HORRAT (Horwitz ratio)  $\leq 2$

### สถานที่และระยะเวลาดำเนินการ

สถานที่ดำเนินการ : ห้องปฏิบัติการกลุ่มพัฒนาการตรวจสอบพืชและปัจจัยการผลิต สำนักวิจัยและพัฒนาการเกษตร เขตที่ 2

ระยะเวลาดำเนินการ : ตุลาคม 2555 – กันยายน 2557

## ผลการทดลองและวิจารณ์

### 1. การตรวจสอบความใช้ได้ของวิธีการวิเคราะห์ฟอสเฟตทั้งหมดในปุ๋ยเคมี

#### 1.1 Range และ Linearity

##### 1.1.1 Range

เมื่อทำการวัด reagent blank และ fortified sample blank จำนวน 7 ระดับความเข้มข้นคือ 0.5, 1, 2, 3, 5, 7 และ 9 ppm โดยทำการทดสอบที่ระดับความเข้มข้นละ 3 ซ้ำ พบว่าค่า  $r = 1$  ซึ่งผ่านเกณฑ์การยอมรับ คือ  $r \geq 0.995$  รายละเอียดดังตาราง 4, 5 และ แสดงความสัมพันธ์ที่เป็นเส้นตรงในรูป 1

ตาราง 4 ผลการวิเคราะห์ปริมาณฟอสเฟตทั้งหมดของ sample blank โดยการ spike standard P ที่ระดับความเข้มข้น 0.05, 1 และ 3 ppm ในการตรวจสอบ range

rep.	sample blank + standard P 0.05 ppm		sample blank + standard P 1.0 ppm		sample blank + standard P 3.0 ppm	
	Abs	ppm	Abs	ppm	Abs	ppm
1	0.0280	0.5293	0.0562	1.0603	0.1657	3.1281
2	0.0285	0.5374	0.0557	1.0514	0.1652	3.1181
3	0.0288	0.5444	0.0566	1.0690	0.1655	3.1247
Avg	0.0284	0.5370	0.0562	1.0602	0.1655	3.1236

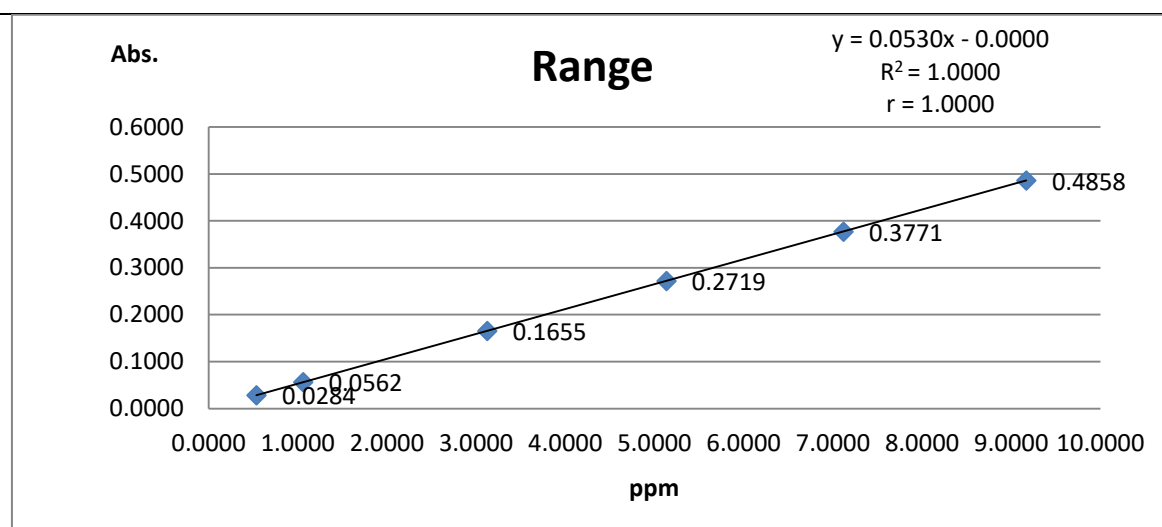
standard	ppm	0	1	2	3	4	5	6	7
	Abs	0.0000	0.0531	0.1072	0.1593	0.2133	0.2659	0.3151	0.3711
$Y = 0.052974x + 0.001324, R^2 = 0.999948$									

ตาราง 5 ผลการวิเคราะห์ปริมาณฟอสเฟตทั้งหมดของ sample blank โดยการ spike standard P ที่ระดับความเข้มข้น 5, 7 และ 9 ppm ในการตรวจสอบ range

rep.	sample blank + standard P 5.0 ppm		sample blank + standard P 7.0 ppm		sample blank + standard P 9.0 ppm	
	Abs	ppm	Abs	ppm	Abs	ppm
	1	0.2723	5.1404	0.3765	7.1068	0.4854
2	0.2721	5.1372	0.3771	7.1185	0.4863	9.1794
3	0.2714	5.1228	0.3777	7.1300	0.4857	9.1676
Avg	0.2719	5.1335	0.3771	7.1184	0.4858	9.1702

standard	ppm	0	1	2	3	4	5	6	7
	Abs	0.0000	0.0531	0.1072	0.1593	0.2133	0.2659	0.3151	0.3711

$Y = 0.052974x + 0.001324, R^2 = 0.999948$



รูป 1 แสดงค่าสัมประสิทธิ์การตัดสินใจ ( $R^2$ ) และ สัมประสิทธิ์สหสัมพันธ์ ( $r$ ) ที่ได้จากค่าความเข้มข้น P (ppm) และค่า Absorbance ที่ระดับความเข้มข้น 0.5-9 ppm ในการตรวจสอบ range

### 1.1.2 Linearity

เมื่อทำการวัด reagent blank และ fortified sample blank ที่ 7 ระดับความเข้มข้นคือ 1, 2, 3, 4, 5, 6 และ 7 ppm โดยทำการทดสอบที่ระดับความเข้มข้นละ 10 ซ้ำ พบว่า  $r = 1$  ซึ่งผ่านเกณฑ์การยอมรับ คือ  $r \geq 0.995$  รายละเอียดดังตาราง 6 และ 7 และแสดงความสัมพันธ์ที่เป็นเส้นตรง ดังรูป 2

ตาราง 6 ผลการวิเคราะห์ปริมาณฟอสเฟตทั้งหมดของ sample blank โดยการ spike standard P ที่ระดับความเข้มข้น 1, 2, 3 และ 4 ppm ในการตรวจสอบ linearity

rep.	sample blank +	sample blank +	sample blank +	sample blank +
------	----------------	----------------	----------------	----------------

	standard P 1 ppm		standard P 2 ppm		standard P 3 ppm		standard P 4 ppm	
	Abs	ppm	Abs	ppm	Abs	ppm	Abs	ppm
	1	0.0562	1.0603	0.1096	2.0683	0.1645	3.1051	0.2160
2	0.0557	1.0514	0.1114	2.1025	0.1657	3.1281	0.2186	4.1263
3	0.0542	1.0229	0.1106	2.0882	0.1637	3.0894	0.2180	4.1148
4	0.0566	1.0690	0.1111	2.0980	0.1652	3.1181	0.2203	4.1580
5	0.0561	1.0596	0.1108	2.0923	0.1638	3.0922	0.2175	4.1067
6	0.0558	1.0539	0.1105	2.0851	0.1618	3.0552	0.2174	4.1035
7	0.0581	1.0964	0.1117	2.1087	0.1644	3.1035	0.2191	4.1354
8	0.0568	1.0726	0.1103	2.0816	0.1630	3.0771	0.2177	4.1104
9	0.0555	1.0429	0.1106	2.0876	0.1652	3.1186	0.2159	4.0750
10	0.0573	1.0820	0.1115	2.1050	0.1655	3.1247	0.2144	4.0478
Avg	0.0562	1.0611	0.1108	2.0917	0.1643	3.1012	0.2175	4.1056
SD	0.0011	0.0206	0.0006	0.0122	0.0012	0.0231	0.0017	0.0320

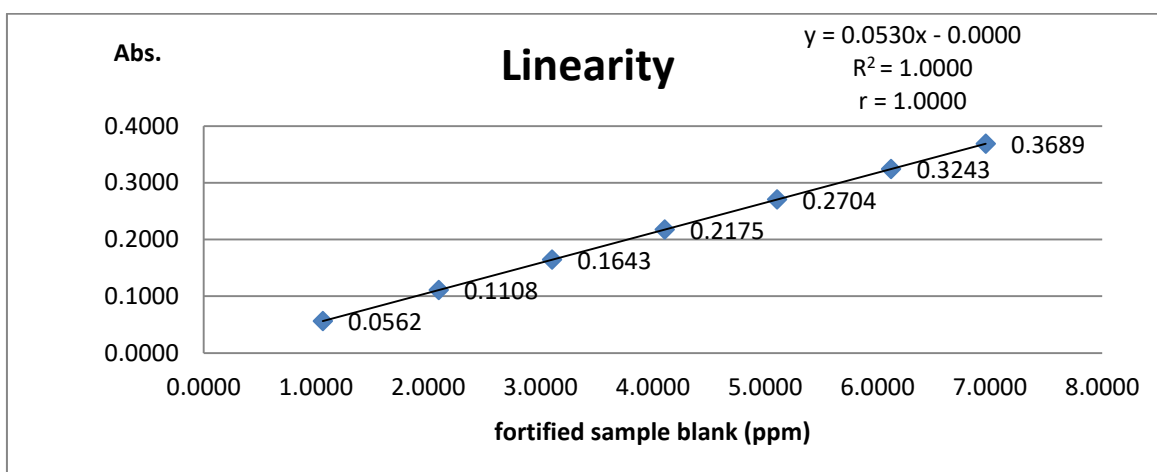
standard	ppm	0	1	2	3	4	5	6	7
	Abs	0.0000	0.0531	0.1072	0.1593	0.2133	0.2659	0.3151	0.3711
$Y = 0.052974x + 0.001324, R^2 = 0.999948$									

ตาราง 7 ผลการวิเคราะห์ปริมาณฟอสเฟตทั้งหมดของ sample blank โดยการ spike standard P ที่ระดับความเข้มข้น 5, 6 และ 7 ppm ในการตรวจสอบ linearity

rep.	sample blank + standard P 5 ppm		sample blank + standard P 6 ppm		sample blank + standard P 7 ppm	
	Abs	ppm	Abs	ppm	Abs	ppm
1	0.2723	5.1404	0.3259	6.1522	0.3765	7.1068
2	0.2721	5.1372	0.3148	5.9424	0.3771	7.1185
3	0.2714	5.1228	0.3239	6.1138	0.3777	7.1300
4	0.2720	5.1351	0.3270	6.1726	0.3760	7.0973
5	0.2741	5.1743	0.3264	6.1607	0.3704	6.9920
6	0.2635	4.9737	0.3258	6.1503	0.3678	6.9424

7	0.2710	5.1156	0.3234	6.1040	0.3786	7.1464
8	0.2676	5.0505	0.3236	6.1089	0.3602	6.7995
9	0.2684	5.0671	0.3269	6.1705	0.3474	6.5578
10	0.2717	5.1279	0.3250	6.1344	0.3568	6.7345
Avg	0.2704	5.1045	0.3243	6.1210	0.3689	6.9625
SD	0.0031	0.0583	0.0036	0.0676	0.0107	0.2024

standard	ppm	0	1	2	3	4	5	6	7
Abs		0.0000	0.0531	0.1072	0.1593	0.2133	0.2659	0.3151	0.3711
$Y = 0.052974x + 0.001324, R^2 = 0.999948$									



รูป 2 แสดงค่าสัมประสิทธิ์การตัดสนใจ ( $R^2$ ) และค่าสัมประสิทธิ์สหสัมพันธ์ ( $r$ ) ที่ได้จากค่าความเข้มข้น P (ppm) และค่า Absorbance ที่ระดับความเข้มข้น 1-7 ppm ในการตรวจสอบ linearity

## 1.2 Limit of Detection (LOD) และ Limit of Quantitation (LOQ)

### 1.2.1 LOD และ LOQ

ทำการทดสอบปุ๋ยเคมีที่ไม่มีฟอสเฟต (sample blank) สูตร 0-0-15 จำนวน 10 ซ้ำ บันทึกค่าความเข้มข้นที่อ่านได้ นำไปหาค่าเฉลี่ย (Avg) และค่าส่วนเบี่ยงเบนมาตรฐาน (SD) ผลการทดสอบ ดังตาราง 8

ตาราง 8 ผลการวิเคราะห์ปริมาณฟอสเฟตทั้งหมดของ sample blank สูตร 0-0-15 เพื่อหาค่า LOD และ LOQ

Rep.	Weight (g)	Dilution	Abs	ppm	%TP <sub>2</sub> O <sub>5</sub>
		250-5-100			

1	0.5026	20	0.0057	0.1037	0.2364
2	0.5049	20	0.0057	0.1011	0.2294
3	0.5034	20	0.0057	0.1040	0.2367
4	0.5032	J'20	0.0057	0.1177	0.2680
5	0.5024	20	0.0057	0.0960	0.2189
6	0.5022	20	0.0057	0.1042	0.2377
7	0.5025	20	0.0057	0.1131	0.2579
8	0.5048	20	0.0057	0.0909	0.2063
9	0.5040	20	0.0057	0.1002	0.2278
10	0.5077	20	0.0057	0.0864	0.1950
Avg					0.2314
SD					0.0218

standard	ppm	0	1	2	3	4	5	6	7
	Abs	0.0000	0.0581	0.1129	0.1730	0.2227	0.2738	0.3295	0.3796
$Y = 0.05498x + 0.00447, R^2 = 0.999253$									

การทดสอบ outlier ของข้อมูล โดยใช้ สถิติ Grubbs' test (G-test)

นำข้อมูล %TP<sub>2</sub>O<sub>5</sub> จากตาราง 8 นำมาทดสอบ outlier โดยเรียงข้อมูล จากน้อยไปมาก ได้ดังนี้  
0.1950 0.2063 0.2189 0.2278 0.2294 0.2364 0.2367 0.2377 0.2579 0.2680

ได้ค่าเฉลี่ย (Avg.) = 0.2314 %

ได้ค่า SD = 0.0218 %

1. ทดสอบจุดต่ำ คือ 0.1950 %

$$\begin{aligned} T_{\text{exp}} &= (\text{Avg} - \mu) \div \text{SD} \\ &= (0.2314 - 0.1950) \div 0.0218 \\ &= 1.669 \end{aligned}$$

$$T_{\text{cri}} = 2.387, n = 10$$

$T_{\text{exp}} < T_{\text{cri}}$  แสดงว่า ค่า 0.195 % ไม่เป็น outlier

2. ทดสอบจุดสูง คือ 0.2680 ppm

$$\begin{aligned} T_{\text{exp}} &= (\mu - \text{Avg}) \div \text{SD} \\ &= (0.2680 - 0.2314) \div 0.0218 \\ &= 1.678 \end{aligned}$$

$$T_{\text{cri}} = 2.387, n = 10$$

$T_{\text{exp}} < T_{\text{cri}}$  แสดงว่า ค่า 0.2680 % ไม่เป็น outlier

3. สรุป ข้อมูล %TP<sub>2</sub>O<sub>5</sub> ในตาราง 8 สามารถนำมาใช้ในการหา LOD และ LOQ ได้ สามารถหาค่า LOD และ LOQ ดังนี้

$$\text{LOD} = \text{Avg} + 3\text{SD} = 0.2314 + 3(0.0218) = 0.2968 = 0.30 \%$$

$$\text{LOQ} = \text{Avg} + 10\text{SD} = 0.2314 + 10(0.0218) = 0.4494 = 0.45 \%$$

### 1.2.2 ยืนยันค่า LOQ โดยการทดสอบ accuracy และ precision

หลังจากได้ค่า LOQ จากข้อ 1.2.1 แล้ว ต้องนำมาทดสอบ accuracy และ precision โดยทำการทดสอบที่ระดับ LOQ คือ 0.45% จำนวน 10 ซ้ำ ได้ผลทดสอบตาม ตาราง 9

ตาราง 9 ผลการวิเคราะห์ปริมาณฟอสเฟตทั้งหมดในปุ๋ยเคมีที่ระดับความเข้มข้น LOQ (%TP<sub>2</sub>O<sub>5</sub> = 0.45%)

Rep.	Weight (g)	Dilution 250-5-100	Abs	ppm	%TP <sub>2</sub> O <sub>5</sub>	
					คำนวณ	ปัด 2 ตำแหน่ง
1	0.5148	20	0.0114	0.2173	0.4836	0.48
2	0.5164	20	0.0108	0.2055	0.4559	0.46
3	0.5389	20	0.0104	0.1979	0.4207	0.42
4	0.5241	20	0.0117	0.2224	0.4862	0.49
5	0.5375	20	0.0110	0.2095	0.4466	0.45
6	0.5274	20	0.0113	0.2141	0.4651	0.46
7	0.5187	20	0.0101	0.1928	0.4259	0.43
8	0.5296	20	0.0110	0.2089	0.4519	0.45
9	0.5346	20	0.0107	0.2042	0.4376	0.44
10	0.5328	20	0.0120	0.2245	0.4828	0.48
Avg					0.4556	0.46
SD					0.0237	0.02

standard	ppm	0	1	2	3	4	5	6	7
	Abs	0.0000	0.0527	0.1062	0.1589	0.2099	0.2650	0.3158	0.3671
$Y = 0.05265x + 0.001029, R^2 = 0.999968$									

### 1. การทดสอบข้อมูลทางสถิติ

#### 1.1 การทดสอบ outlier ของข้อมูล โดยใช้ สถิติ Grubbs' test (G-test)

นำข้อมูล %TP<sub>2</sub>O<sub>5</sub> จากตาราง 9 นำมาทดสอบ outlier โดยเรียงข้อมูล จากน้อยไปมาก ได้ดังนี้

0.4207 0.4259 0.4376 0.4466 0.4519 0.4559 0.4651 0.4828 0.4836 0.4862

ได้ค่าเฉลี่ย (Avg.) = 0.4556 %

ได้ค่า SD = 0.0237 %

$X_i$  = จุดต่ำหรือจุดสูงที่นำมาทดสอบ

1.1.1 ทดสอบจุดต่ำ คือ 0.4207 %

$$\begin{aligned} T_{\text{exp}} &= (\text{Avg} - X_i) \div \text{SD} \\ &= (0.4556 - 0.4207) \div 0.0237 \\ &= 1.471 \end{aligned}$$

$$T_{\text{cri}} = 2.387, n = 10$$

$T_{\text{exp}} < T_{\text{cri}}$  แสดงว่า ค่า 0.4207 % ไม่เป็น outlier

1.1.2 ทดสอบจุดสูง คือ 0.4862 %

$$\begin{aligned} T_{\text{exp}} &= (X_i - \text{Avg}) \div \text{SD} \\ &= (0.4862 - 0.4556) \div 0.0237 \\ &= 1.288 \end{aligned}$$

$$T_{\text{cri}} = 2.387, n = 10$$

$T_{\text{exp}} < T_{\text{cri}}$  แสดงว่า ค่า 0.4862 % ไม่เป็น outlier

1.2 เปรียบเทียบค่าเฉลี่ยที่ได้จากการวิเคราะห์กับค่าจริง โดยใช้ สถิติ t- test

ค่าเฉลี่ย (Avg.) = 0.46 %

ค่าจริง = 0.45 %

ค่า SD = 0.02 %

ค่า n = 10

สมมุติฐาน  $H_0$  : ค่าจริง = ค่าเฉลี่ย

$H_1$  : ค่าจริง  $\neq$  ค่าเฉลี่ย

$$\begin{aligned} \text{ทดสอบสมมุติฐาน} : t_{\text{cal}} &= (\text{ค่าเฉลี่ย} - \text{ค่าจริง}) \div (\text{SD} \div \sqrt{n}) \\ &= (0.46 - 0.45) \div (0.02 \div \sqrt{10}) \\ &= 1.58 \end{aligned}$$

จากตาราง t  $t_{\text{cri}} = 2.265$  ที่ระดับความเชื่อมั่น 95%

เห็นว่า  $t_{\text{cal}} < t_{\text{cri}}$  แสดงว่าค่าเฉลี่ยที่ได้จากการวิเคราะห์ไม่แตกต่างจากค่าจริงอย่างมีนัยสำคัญสรุป ข้อมูล %TP<sub>2</sub>O<sub>5</sub> ในตาราง 9 สามารถนำมาใช้ในการหา accuracy และ precision ได้

## 2. หาค่า Accuracy

จากตารางที่ 9 สามารถคำนวณหา % recovery จากสูตร

$$\% \text{ recovery} = (\text{ค่าที่วิเคราะห์ได้} \div \text{ค่าจริง}) \times 100$$

แทนค่า : ค่าที่วิเคราะห์ได้ = 0.46 %, ค่าจริง = 0.45%



ดังนั้น % recovery =  $(0.46 \div 0.45) \times 100 = 102.2\%$

สรุป ค่า % recovery = 102.2% ผ่านเกณฑ์การยอมรับ 95-105%

### 3. ทหาค่า Precision

จากตาราง 9 สามารถคำนวณหา %RSD และ HORRAT จากสูตร

$$\%RSD_{\text{lab}} = (\text{SD} \div \text{Avg}) \times 100$$

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

$$\text{HORRAT} = \%RSD_{\text{lab}} \div \%RSD_{\text{expected}}$$

คำนวณค่าแต่ละตัวแปร

$$\text{ค่าเฉลี่ย (Avg.)} = 0.46 \%$$

$$\text{ค่า SD} = 0.02 \%$$

$$\text{ค่า } c = \text{Avg} \div 100 = 0.46 \div 100 = 0.005$$

$$\begin{aligned} \%RSD_{\text{lab}} &= (\text{SD} \div \text{Avg}) \times 100 \\ &= (0.02 \div 0.46) \times 100 = 4.35 \end{aligned}$$

$$\begin{aligned} \%RSD_{\text{expected}} \text{ จาก Horwitz equation} &= 0.66 \times 2^{(1-0.5 \log C)} \\ &= 0.66 \times 2^{(1-0.5 \log 0.005)} \\ &= 2.93 \end{aligned}$$

$$\begin{aligned} \text{HORRAT} &= \%RSD_{\text{lab}} \div \%RSD_{\text{expected}} \\ &= 4.35 \div 2.93 = 1.48 \end{aligned}$$

สรุป ค่า HORRAT = 1.94 ผ่านเกณฑ์การยอมรับ HORRAT (Horwitz ratio)  $\leq 2$

## 1.3 การหาค่า Accuracy และ Precision ของวิธีวิเคราะห์ปริมาณฟอสเฟตทั้งหมดในปุ๋ยเคมี

### 1.3.1 ความเข้มข้นระดับต่ำ (1%)

จากการทดสอบที่ fortified sample blank ที่ระดับความเข้มข้น 1% จำนวน 10 ซ้ำ ได้ผลทดสอบตาม ตาราง 10

ตาราง 10 ผลการวิเคราะห์ปริมาณฟอสเฟตทั้งหมดในปุ๋ยเคมีที่ความเข้มข้น ระดับต่ำ (%TP<sub>2</sub>O<sub>5</sub> = 1%)

Rep.	Weight (g)	Dilution	Abs	ppm	%TP <sub>2</sub> O <sub>5</sub>	
		250-2-100			คำนวณ	ปัด 2 ตำแหน่ง
1	0.5233	20	0.0246	0.4663	1.0209	1.02
2	0.5370	20	0.0249	0.4733	1.0098	1.01
3	0.5236	20	0.0227	0.4314	0.9440	0.94
4	0.5340	20	0.0232	0.4397	0.9434	0.94

5	0.5354	20	0.0249	0.4723	1.0107	1.01
6	0.5383	20	0.0249	0.4716	1.0037	1.00
7	0.5006	20	0.0232	0.4391	1.0049	1.00
8	0.5393	20	0.0253	0.4792	1.0180	1.02
9	0.5182	20	0.0241	0.4566	1.0095	1.01
10	0.5082	20	0.0235	0.4460	1.0055	1.00
Avg					0.9970	1.00
SD					0.0287	0.03

standard	ppm	0	1	2	3	4	5	6	7
	Abs	0.0001	0.0541	0.1067	0.1572	0.2102	0.2641	0.3150	0.3700
$Y = 0.05271x + 0.001043, R^2 = 0.999967$									

## 1. การทดสอบข้อมูลทางสถิติ

### 1.1 การทดสอบ outlier ของข้อมูล โดยใช้ สถิติ Grubbs' test (G-test)

นำข้อมูล %TP<sub>2</sub>O<sub>5</sub> จากตาราง 10 นำมาทดสอบ outlier โดยเรียงข้อมูล จากน้อยไปมาก ได้

ดังนี้

0.9434 0.9440 1.0037 1.0049 1.0055 1.0095 1.0098 1.0107 1.0180 1.0209

ได้ค่าเฉลี่ย (Avg.) = 0.9970 %

ได้ค่า SD = 0.0287 %

$X_i$  = จุดต่ำหรือจุดสูงที่นำมาทดสอบ

1.1.1 ทดสอบจุดต่ำ คือ 0.9434 %

$$\begin{aligned} T_{\text{exp}} &= (\text{Avg} - X_i) \div \text{SD} \\ &= (0.9970 - 0.9434) \div 0.0287 \\ &= 1.868 \end{aligned}$$

$$T_{\text{cri}} = 2.387, n = 10$$

$T_{\text{exp}} < T_{\text{cri}}$  แสดงว่า ค่า 0.9434 % ไม่เป็น outlier

1.1.2 ทดสอบจุดสูง คือ 1.0209 %

$$T_{\text{exp}} = (X_i - \text{Avg}) \div \text{SD}$$

$$= (1.0209 - 0.9970) \div 0.0287$$

$$= 0.833$$

$$T_{\text{cri}} = 2.387, n = 10$$

$T_{\text{exp}} < T_{\text{cri}}$  แสดงว่า ค่า 1.0209 % ไม่เป็น outlier

1.2 เปรียบเทียบค่าเฉลี่ยที่ได้จากการวิเคราะห์กับค่าจริง โดยใช้ สถิติ t- test

$$\text{ค่าเฉลี่ย (Avg.)} = 1.00 \%$$

$$\text{ค่าจริง} = 1.00 \%$$

$$\text{ค่า SD} = 0.03 \%$$

$$\text{ค่า } n = 10$$

สมมุติฐาน  $H_0$  : ค่าจริง = ค่าเฉลี่ย

$H_1$  : ค่าจริง  $\neq$  ค่าเฉลี่ย

ทดสอบสมมุติฐาน :  $t_{\text{cal}} = (\text{ค่าเฉลี่ย} - \text{ค่าจริง}) \div (\text{SD} \div \sqrt{n})$

$$= (1.00 - 1.00) \div (0.03 \div \sqrt{10})$$

$$= 0.00$$

จากตาราง t  $t_{\text{cri}} = 2.265$  ที่ระดับความเชื่อมั่น 95%

เห็นว่า  $t_{\text{cal}} < t_{\text{cri}}$  แสดงว่าค่าเฉลี่ยที่ได้จากการวิเคราะห์ไม่แตกต่างจากค่าจริงอย่างมีนัยสำคัญ

สรุป ข้อมูล %TP<sub>2</sub>O<sub>5</sub> ในตาราง 10 สามารถนำมาใช้ในการหา Accuracy และ Precision ได้

## 2. หาค่า Accuracy

จากตารางที่ 10 สามารถคำนวณหา % recovery จากสูตร

$$\% \text{ recovery} = (\text{ค่าที่วิเคราะห์ได้} \div \text{ค่าจริง}) \times 100$$

แทนค่า : ค่าที่วิเคราะห์ได้ = 1.00 % , ค่าจริง = 1.00 %

$$\text{ดังนั้น } \% \text{ recovery} = (1.00 \div 1.00) \times 100 = 100 \%$$

สรุป ค่า % recovery = 100 % ผ่านเกณฑ์การยอมรับ 95-105%

## 3. หาค่า Precision

จากตาราง 10 สามารถคำนวณหา %RSD และ HORRAT จากสูตร

$$\% \text{RSD}_{\text{lab}} = (\text{SD} \div \text{Avg}) \times 100$$

$$\% \text{RSD}_{\text{expected}} \text{ จาก Horwitz equation} = 0.66 \times 2^{(1-0.5 \log C)}$$

$$\text{HORRAT} = \% \text{RSD}_{\text{lab}} \div \% \text{RSD}_{\text{expected}}$$

คำนวณค่าแต่ละตัวแปร

$$\text{ค่าเฉลี่ย (Avg.)} = 1.00 \%$$

$$\text{ค่า SD} = 0.03 \%$$

$$\text{ค่า } c = \text{Avg} \div 100 = 1.00 \div 100 = 0.01$$

$$\% \text{RSD}_{\text{lab}} = (\text{SD} \div \text{Avg}) \times 100$$

$$= (0.03 \div 1.00) \times 100 = 3.00$$

$$\begin{aligned} \%RSD_{\text{expected}} \text{ จาก Horwitz equation} &= 0.66 \times 2^{(1-0.5 \log C)} \\ &= 0.66 \times 2^{(1-0.5 \log 0.01)} \\ &= 2.64 \end{aligned}$$

$$\begin{aligned} \text{HORRAT} &= \%RSD_{\text{lab}} \div \%RSD_{\text{expected}} \\ &= 3.00 \div 2.64 = 1.13 \end{aligned}$$

สรุป ค่า HORRAT = 1.13 ผ่านเกณฑ์การยอมรับ HORRAT (Horwitz ratio)  $\leq 2$

### 1.3.2 ความเข้มข้นระดับกลาง (19.34%)

จากการทดสอบที่ fortified sample blank ที่ระดับความเข้มข้น 19.34% จำนวน 10 ซ้ำ ได้ผลทดสอบตาม ตาราง 11

ตาราง 11 ผลการวิเคราะห์ปริมาณฟอสเฟตทั้งหมดในปุ๋ยเคมีที่ความเข้มข้น ระดับกลาง (%TP<sub>2</sub>O<sub>5</sub> = 19.34 %)

Rep.	Weight (g)	Dilution 250-2-100	Abs	ppm	%TP <sub>2</sub> O <sub>5</sub>	
					คำนวณ	ปัด 2 ตำแหน่ง
1	0.3147	50	0.1142	2.1250	19.3407	19.34
2	0.3152	50	0.1150	2.1396	19.4427	19.44
3	0.3173	50	0.1151	2.1425	19.3402	19.34
4	0.3133	50	0.1143	2.1262	19.4381	19.44
5	0.3145	50	0.1136	2.1146	19.2583	19.26
6	0.3138	50	0.1152	2.1429	19.5596	19.56
7	0.3165	50	0.1178	2.1917	19.8344	19.83
8	0.3141	50	0.1130	2.1031	19.1780	19.18
9	0.3144	50	0.1144	2.1282	19.3883	19.39
10	0.3151	50	0.1170	2.1764	19.7834	19.78
Avg					19.4564	19.46
SD					0.2132	0.21

standard	ppm	0	1	2	3	4	5	6	7
	Abs	0.0001	0.0530	0.1084	0.1618	0.2150	0.2683	0.3227	0.3758
$Y = 0.05373x + 0.000558, R^2 = 0.999991$									

## 1. การทดสอบข้อมูลทางสถิติ

### 1.1 การทดสอบ outlier ของข้อมูล โดยใช้ สถิติ Grubbs' test (G-test)

นำข้อมูล %TP<sub>2</sub>O<sub>5</sub> จากตาราง 11 นำมาทดสอบ outlier โดยเรียงข้อมูล จากน้อยไปมาก ได้  
ดังนี้

19.1780 19.2583 19.3402 19.3407 19.3883 19.4381 19.4427 19.5596 19.7834 19.8344

ได้ค่าเฉลี่ย (Avg.) = 19.4564 %

ได้ค่า SD = 0.2132 %

$X_i$  = จุดต่ำหรือจุดสูงที่นำมาทดสอบ

1.1.1 ทดสอบจุดต่ำ คือ 19.1780 %

$$\begin{aligned} T_{\text{exp}} &= (\text{Avg} - X_i) \div \text{SD} \\ &= (19.4564 - 19.1780) \div 0.2132 \\ &= 1.306 \end{aligned}$$

$$T_{\text{cri}} = 2.387, n = 10$$

$T_{\text{exp}} < T_{\text{cri}}$  แสดงว่า ค่า 19.1780 % ไม่เป็น outlier

1.1.2 ทดสอบจุดสูง คือ 19.8344 %

$$\begin{aligned} T_{\text{exp}} &= (X_i - \text{Avg}) \div \text{SD} \\ &= (19.8344 - 19.4564) \div 0.2132 \\ &= 1.773 \end{aligned}$$

$$T_{\text{cri}} = 2.387, n = 10$$

$T_{\text{exp}} < T_{\text{cri}}$  แสดงว่า ค่า 19.8344 % ไม่เป็น outlier

1.2 เปรียบเทียบค่าเฉลี่ยที่ได้จากการวิเคราะห์หาค่าจริง โดยใช้ สถิติ t- test

ค่าเฉลี่ย (Avg.) = 19.46 %

ค่าจริง = 19.34 %

ค่า SD = 0.21 %

$$\text{ค่า } n = 10$$

$$\text{สมมุติฐาน } H_0 : \text{ค่าจริง} = \text{ค่าเฉลี่ย}$$

$$H_1 : \text{ค่าจริง} \neq \text{ค่าเฉลี่ย}$$

$$\begin{aligned} \text{ทดสอบสมมุติฐาน : } t_{\text{cal}} &= (\text{ค่าเฉลี่ย} - \text{ค่าจริง}) \div (\text{SD} \div \sqrt{n}) \\ &= (19.46 - 19.34) \div (0.21 \div \sqrt{10}) \\ &= 1.81 \end{aligned}$$

$$\text{จากตาราง } t \quad t_{\text{cri}} = 2.265 \text{ ที่ระดับความเชื่อมั่น } 95\%$$

เห็นว่า  $t_{\text{cal}} < t_{\text{cri}}$  แสดงว่าค่าเฉลี่ยที่ได้จากการวิเคราะห์ไม่แตกต่างจากค่าจริงอย่างมีนัยสำคัญ  
สรุป ข้อมูล %TP<sub>2</sub>O<sub>5</sub> ในตาราง 11 สามารถนำมาใช้ในการหา Accuracy และ Precision ได้

## 2. หาค่า Accuracy

จากตารางที่ 11 สามารถคำนวณหา % recovery จากสูตร

$$\% \text{ recovery} = (\text{ค่าที่วิเคราะห์ได้} \div \text{ค่าจริง}) \times 100$$

$$\text{แทนค่า : ค่าที่วิเคราะห์ได้} = 19.46 \%, \text{ ค่าจริง} = 19.34 \%$$

$$\text{ดังนั้น } \% \text{ recovery} = (19.46 \div 19.34) \times 100 = 100.6 \%$$

สรุป ค่า % recovery = 100.6 % ผ่านเกณฑ์การยอมรับ 95-105%

## 3. หาค่า Precision

จากตาราง 11 สามารถคำนวณหา %RSD และ HORRAT จากสูตร

$$\%RSD_{\text{lab}} = (\text{SD} \div \text{Avg}) \times 100$$

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

$$\text{HORRAT} = \%RSD_{\text{lab}} \div \%RSD_{\text{expected}}$$

คำนวณค่าแต่ละตัวแปร

$$\text{ค่าเฉลี่ย (Avg.)} = 19.46 \%$$

$$\text{ค่า SD} = 0.21 \%$$

$$\text{ค่า } c = \text{Avg} \div 100 = 19.46 \div 100 = 0.19$$

$$\begin{aligned} \%RSD_{\text{lab}} &= (\text{SD} \div \text{Avg}) \times 100 \\ &= (0.21 \div 19.46) \times 100 = 1.08 \end{aligned}$$

$$\begin{aligned} \%RSD_{\text{expected}} \text{ จาก Horwitz equation} &= 0.66 \times 2^{(1-0.5 \log C)} \\ &= 0.66 \times 2^{(1-0.5 \log 0.19)} \\ &= 1.69 \end{aligned}$$

$$\begin{aligned} \text{HORRAT} &= \%RSD_{\text{lab}} \div \%RSD_{\text{expected}} \\ &= 1.08 \div 1.69 = 0.64 \end{aligned}$$

สรุป ค่า HORRAT = 0.64 ผ่านเกณฑ์การยอมรับ HORRAT (Horwitz ratio)  $\leq 2$

### 1.3.3 ความเข้มข้นระดับสูง(52.2%)

จากการทดสอบที่ fortified sample blank ที่ระดับความเข้มข้น 52.17% จำนวน 10 ซ้ำ ได้ผลทดสอบตาม ตาราง 12

ตาราง 12 ผลการวิเคราะห์ปริมาณฟอสเฟตทั้งหมดในปุ๋ยเคมีที่ความเข้มข้น ระดับสูง (%TP<sub>2</sub>O<sub>5</sub> = 52.17 %)

Rep.	Weight (g)	Dilution 250-5-250	Abs	ppm	%TP <sub>2</sub> O <sub>5</sub>	
					คำนวณ	ปัด 2 ตำแหน่ง
1	0.3106	125	0.1212	2.2325	51.4684	51.47
2	0.3111	125	0.1250	2.3022	52.9900	52.99
3	0.3113	125	0.1259	2.3193	53.3493	53.35
4	0.3117	125	0.1220	2.2476	51.6337	51.63
5	0.3058	125	0.1206	2.2686	53.1216	53.12
6	0.3068	125	0.1201	2.2583	52.7081	52.71
7	0.3071	125	0.1204	2.2645	52.8012	52.80
8	0.3065	125	0.1194	2.2459	52.4700	52.47
9	0.3020	125	0.1138	2.1422	50.7930	50.79
10	0.3113	125	0.1225	2.3040	52.9974	52.80
Avg					52.4333	52.43
SD					0.8442	0.84

standard	ppm	0	1	2	3	4	5	6	7
	Abs	0.0001	0.0529	0.1052	0.1614	0.2126	0.2665	0.3181	0.3721
$Y = 0.053168x + 0.000931, R^2 = 0.999974$									

#### 1. การทดสอบข้อมูลทางสถิติ

##### 1.1 การทดสอบ outlier ของข้อมูล โดยใช้ สถิติ Grubbs' test (G-test)

นำข้อมูล %TP<sub>2</sub>O<sub>5</sub> จากตาราง 12 นำมาทดสอบ outlier โดยเรียงข้อมูล จากน้อยไปมาก ได้

ดังนี้

50.7930 51.4684 51.6337 52.4700 52.7081 52.8012 52.9900 52.9974 53.1216 53.3493

ได้ค่าเฉลี่ย (Avg.) = 52.4333 %

ได้ค่า SD = 0.8442 %

Xi = จุดต่ำหรือจุดสูงที่นำมาทดสอบ

1.1.1 ทดสอบจุดต่ำ คือ 50.7930 %

$$\begin{aligned} T_{\text{exp}} &= (\text{Avg} - X_i) \div \text{SD} \\ &= (52.4333 - 50.7930) \div 0.8442 \\ &= 1.943 \end{aligned}$$

$$T_{\text{cri}} = 2.387, n = 10$$

$T_{\text{exp}} < T_{\text{cri}}$  แสดงว่า ค่า 50.7930 % ไม่เป็น outlier

1.1.2 ทดสอบจุดสูง คือ 53.3493%

$$\begin{aligned} T_{\text{exp}} &= (X_i - \text{Avg}) \div \text{SD} \\ &= (53.3493 - 52.4333) \div 0.8442 \\ &= 1.085 \end{aligned}$$

$$T_{\text{cri}} = 2.387, n = 10$$

$T_{\text{exp}} < T_{\text{cri}}$  แสดงว่า ค่า 53.3493 % ไม่เป็น outlier

1.2 เปรียบเทียบค่าเฉลี่ยที่ได้จากการวิเคราะห์กับค่าจริง โดยใช้ สถิติ t- test

$$\text{ค่าเฉลี่ย (Avg.)} = 52.43 \%$$

$$\text{ค่าจริง} = 52.17 \%$$

$$\text{ค่า SD} = 0.84 \%$$

$$\text{ค่า } n = 10$$

สมมติฐาน  $H_0$  : ค่าจริง = ค่าเฉลี่ย

$H_1$  : ค่าจริง  $\neq$  ค่าเฉลี่ย

$$\begin{aligned} \text{ทดสอบสมมติฐาน : } t_{\text{cal}} &= (\text{ค่าเฉลี่ย} - \text{ค่าจริง}) \div (\text{SD} \div \sqrt{n}) \\ &= (52.43 - 52.17) \div (0.84 \div \sqrt{10}) \\ &= 0.97 \end{aligned}$$

จากตาราง t  $t_{\text{cri}} = 2.265$  ที่ระดับความเชื่อมั่น 95%

เห็นว่า  $t_{\text{cal}} < t_{\text{cri}}$  แสดงว่าค่าเฉลี่ยที่ได้จากการวิเคราะห์ไม่แตกต่างจากค่าจริงอย่างมีนัยสำคัญ  
สรุป ข้อมูล %TP<sub>2</sub>O<sub>5</sub> ในตาราง 12 สามารถนำมาใช้ในการหา Accuracy และ Precision ได้

## 2. หาค่า Accuracy

จากตารางที่ 12 สามารถคำนวณหา % recovery จากสูตร

$$\% \text{ recovery} = (\text{ค่าที่วิเคราะห์ได้} \div \text{ค่าจริง}) \times 100$$

แทนค่า : ค่าที่วิเคราะห์ได้ = 52.43 %, ค่าจริง = 52.17 %

$$\text{ดังนั้น } \% \text{ recovery} = (52.43 \div 52.17) \times 100 = 100.5 \%$$

สรุป ค่า % recovery = 100.5 % ผ่านเกณฑ์การยอมรับ 95-105%

## 3. หาค่า Precision

จากตาราง 12 สามารถคำนวณหา %RSD และ HORRAT จากสูตร



$$\%RSD_{lab} = (SD \div Avg) \times 100$$

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

$$HORRAT = \%RSD_{lab} \div \%RSD_{expected}$$

คำนวณค่าแต่ละตัวแปร

$$\text{ค่าเฉลี่ย (Avg.)} = 52.43 \%$$

$$\text{ค่า SD} = 0.84 \%$$

$$\text{ค่า } c = Avg \div 100 = 52.43 \div 100 = 0.5243$$

$$\%RSD_{lab} = (SD \div Avg) \times 100$$

$$= (0.84 \div 52.43) \times 100 = 1.60$$

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

$$= 0.66 \times 2^{(1-0.5 \log 0.52)}$$

$$= 1.46$$

$$HORRAT = \%RSD_{lab} \div \%RSD_{expected}$$

$$= 1.60 \div 1.46 = 1.10$$

สรุป ค่า HORRAT = 1.10 ผ่านเกณฑ์การยอมรับ HORRAT (Horwitz ratio)  $\leq 2$

#### 1.4 การหาค่า Intermediate Precision ของวิธีวิเคราะห์ปริมาณฟอสเฟตทั้งหมดในปุ๋ย

##### 1.4.1 ความเข้มข้นระดับต่ำ (1%)

จากการทดสอบที่ fortified sample blank ที่ระดับความเข้มข้น 1% จำนวน 10 ซ้ำ ทดสอบในช่วงระยะเวลาแตกต่างกันในแต่ละซ้ำ ได้ผลทดสอบตาม ตาราง 13

**ตาราง 13** ผลการวิเคราะห์ปริมาณฟอสเฟตทั้งหมดในปุ๋ยเคมีที่ความเข้มข้น ระดับต่ำ (%TP<sub>2</sub>O<sub>5</sub> = 1%) ในช่วงระยะเวลาแตกต่างกัน (Intermediate time)

Rep	Date (D/M/Y)	Weight (g)	Dilution 250-2-100	Abs	ppm	%TP <sub>2</sub> O <sub>5</sub>	
						คำนวณ	ปัด 2 ตำแหน่ง
1	16 Sep 2013	0.5532	20	0.0257	0.4829	1.0001	1.00
2	17 Sep 2013	0.5631	20	0.0274	0.5155	1.0489	1.05
3	18 Sep 2013	0.5639	20	0.0267	0.5011	1.0181	1.02
4	19 Sep 2013	0.5609	20	0.0271	0.5077	1.0370	1.04
5	21 Sep 2013	0.5129	20	0.0245	0.4573	1.0215	1.02
6	22 Sep 2013	0.5203	20	0.0249	0.4638	1.0213	1.02
7	23 Sep 2013	0.5061	20	0.0244	0.4629	1.0479	1.05
8	24 Sep 2013	0.5323	20	0.0259	0.4768	1.0262	1.03

Rep	Date (D/M/Y)	Weight (g)	Dilution 250-2-100	Abs	ppm	%TP <sub>2</sub> O <sub>5</sub>	
						คำนวณ	ปัด 2 ตำแหน่ง
9	27 Sep 2013	0.5278	20	0.0241	0.4505	0.9779	0.98
10	4 Oct 2013	0.5135	20	0.0226	0.4132	0.9219	0.92
Avg						1.0121	1.01
SD						0.0382	0.04

## 1. การทดสอบข้อมูลทางสถิติ

### 1.1. ทหาค่า Precision

จากตาราง 13 สามารถคำนวณหา %RSD และ HORRAT จากสูตร

$$\%RSD_{\text{lab}} = (SD \div \text{Avg}) \times 100$$

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

$$\text{HORRAT} = \%RSD_{\text{lab}} \div \%RSD_{\text{expected}}$$

คำนวณค่าแต่ละตัวแปร

$$\text{ค่าเฉลี่ย (Avg.)} = 1.01\%$$

$$\text{ค่า SD} = 0.04 \%$$

$$\text{ค่า } c = \text{Avg} \div 100 = 1.01 \div 100 = 0.01$$

$$\begin{aligned} \%RSD_{\text{lab}} &= (SD \div \text{Avg}) \times 100 \\ &= (0.04 \div 1.01) \times 100 = 3.96 \end{aligned}$$

$$\begin{aligned} \%RSD_{\text{expected}} \text{ จาก Horwitz equation} &= 0.66 \times 2^{(1-0.5 \log C)} \\ &= 0.66 \times 2^{(1-0.5 \log 0.01)} \\ &= 2.64 \end{aligned}$$

$$\begin{aligned} \text{HORRAT} &= \%RSD_{\text{lab}} \div \%RSD_{\text{expected}} \\ &= 3.96 \div 2.64 = 1.50 \end{aligned}$$

สรุป ค่า HORRAT = 1.50 ผ่านเกณฑ์การยอมรับ HORRAT (Horwitz ratio)  $\leq 2$

### 1.4.2 ความเข้มข้นระดับกลาง (19.34%)

จากการทดสอบที่ fortified sample ที่ระดับความเข้มข้น 1% จำนวน 10 ซ้ำ ทดสอบในช่วงระยะเวลาแตกต่างกันในแต่ละซ้ำ ได้ผลทดสอบตาม ตาราง 14

**ตาราง 14** ผลการวิเคราะห์ปริมาณฟอสเฟตทั้งหมดในปุ๋ยเคมีที่ความเข้มข้นระดับกลาง

(%TP<sub>2</sub>O<sub>5</sub> = 19.34 %) ในช่วงระยะเวลาแตกต่างกัน (Intermediate time)

Rep	Date	Weight	Dilution	Abs	ppm	%TP <sub>2</sub> O <sub>5</sub>
-----	------	--------	----------	-----	-----	---------------------------------

	(D/M/Y)	(g)	250-2-100			คำนวณ	ปัด 2 ตำแหน่ง
1	18 Sep 2013	0.3591	50	0.1263	2.3898	19.0615	19.06
2	24 Sep 2013	0.3524	50	0.1248	2.3705	19.2670	19.27
3	3 Oct 2013	0.3563	50	0.1289	2.3883	19.1992	19.20
4	4 Oct 2013	0.3537	50	0.1289	2.4067	19.6561	19.66
5	7 Oct 2013	0.3526	50	0.1260	2.3637	19.1412	19.14
6	8 Oct 2013	0.3662	50	0.1279	2.4081	19.0221	19.02
7	10 Oct 2013	0.3662	50	0.1304	2.4340	19.0376	19.04
8	11 Oct 2013	0.3662	50	0.1305	2.4355	19.0494	19.05
9	12 Oct 2013	0.3544	50	0.1258	2.3707	19.1599	19.16
10	13 Oct 2013	0.3666	50	0.1322	2.4905	19.4583	19.46
<b>Avg</b>						19.2052	19.21
<b>SD</b>						0.02065	0.21

## 1. การทดสอบข้อมูลทางสถิติ

### 1.1. ทหาค่า Precision

จากตาราง 14 สามารถคำนวณหา %RSD และ HORRAT จากสูตร

$$\%RSD_{lab} = (SD \div Avg) \times 100$$

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

$$HORRAT = \%RSD_{lab} \div \%RSD_{expected}$$

คำนวณค่าแต่ละตัวแปร

$$\text{ค่าเฉลี่ย (Avg.)} = 19.21 \%$$

$$\text{ค่า SD} = 0.21\%$$

$$\text{ค่า } c = Avg \div 100 = 19.21 \div 100 = 0.19$$

$$\begin{aligned} \%RSD_{lab} &= (SD \div Avg) \times 100 \\ &= (0.21 \div 19.21) \times 100 = 1.09 \end{aligned}$$

$$\begin{aligned} \%RSD_{expected} \text{ จาก Horwitz equation} &= 0.66 \times 2^{(1-0.5 \log C)} \\ &= 0.66 \times 2^{(1-0.5 \log 0.19)} \\ &= 1.69 \end{aligned}$$

$$\begin{aligned} HORRAT &= \%RSD_{lab} \div \%RSD_{expected} \\ &= 1.09 \div 1.69 = 0.64 \end{aligned}$$

สรุป ค่า HORRAT = 0.64 ผ่านเกณฑ์การยอมรับ HORRAT (Horwitz ratio)  $\leq 2$

### 1.4.3 ความเข้มข้นระดับสูง (52.17%)

จากการทดสอบที่ fortified sample ที่ระดับความเข้มข้น 52.17% จำนวน 10 ซ้ำ ทดสอบ  
ในช่วงระยะเวลาแตกต่างกันในแต่ละซ้ำ ได้ผลทดสอบตาม ตาราง 15

**ตาราง 15** ผลการวิเคราะห์ปริมาณฟอสเฟตทั้งหมดในปุ๋ยเคมีที่ความเข้มข้นระดับสูง

(%TP<sub>2</sub>O<sub>5</sub> = 52.17 %) ในช่วงระยะเวลาแตกต่างกัน (Intermediate time)

Rep	Date (D/M/Y)	Weight (g)	Dilution 250-2-250	Abs	ppm	%TP <sub>2</sub> O <sub>5</sub>	
						คำนวณ	ปัด 2 ตำแหน่ง
1	22 Sep 2013	0.3106	125	0.1212	2.2325	51.4684	51.47
2	23 Sep 2013	0.3065	125	0.1194	2.2459	52.4700	52.47
3	24 Sep 2013	0.3010	125	0.1145	2.1747	51.7349	51.73
4	25 Sep 2013	0.3016	125	0.1200	2.2422	53.2346	53.23
5	27 Sep 2013	0.3032	125	0.1238	2.3129	51.6266	51.63
6	3 Oct 2013	0.3208	125	0.1254	2.3231	51.8543	51.85
7	4 Oct 2013	0.3008	125	0.1204	2.2474	53.5000	53.50
8	5 Oct 2013	0.3008	125	0.1177	2.1573	51.3550	51.36
9	7 Oct 2013	0.3010	125	0.1146	2.1582	51.3424	51.34
10	8 Oct 2013	0.3010	125	0.1174	2.2113	51.6056	52.61
<b>Avg</b>						52.1192	52.12
<b>SD</b>						0.7875	0.79

### 1. การทดสอบข้อมูลทางสถิติ

#### 1.1. ทหาค่า Precision

จากตาราง 15 สามารถคำนวณหา %RSD และ HORRAT จากสูตร

$$\%RSD_{lab} = (SD \div Avg) \times 100$$

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

$$HORRAT = \%RSD_{lab} \div \%RSD_{expected}$$

คำนวณค่าแต่ละตัวแปร

$$\text{ค่าเฉลี่ย (Avg.)} = 52.12 \%$$

$$\text{ค่า SD} = 0.79 \%$$

$$\text{ค่า c} = Avg \div 100 = 52.12 \div 100 = 0.52$$

$$\%RSD_{lab} = (SD \div Avg) \times 100$$

$$= (0.79 \div 52.12) \times 100 = 1.51$$

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

$$= 0.66 \times 2^{(1-0.5 \log 0.52)}$$

$$= 1.46$$

$$\begin{aligned} \text{HORRAT} &= \%RSD_{\text{lab}} \div \%RSD_{\text{expected}} \\ &= 1.51 \div 1.46 = 1.03 \end{aligned}$$

สรุป ค่า HORRAT = 1.03 ผ่านเกณฑ์การยอมรับ HORRAT (Horwitz ratio)  $\leq 2$

### 1.5 การหาค่า Accuracy และ Precision ของวิธีวิเคราะห์ปริมาณฟอสเฟตทั้งหมดในสารตัวเต็ม

จากการทดสอบที่ sample blank ที่จะนำใช้ทดสอบ accuracy และ precision ในสารตัวเต็ม ทำการทดสอบ จำนวน 10 ซ้ำ ได้ผลทดสอบตาม ตาราง 16

ตาราง 16 ผลการวิเคราะห์ปริมาณฟอสเฟตทั้งหมดในตัวอย่างปุ๋ยเคมีมีสารตัวเต็ม (sample blank)

Rep	Weight (g)	Dilution		Abs	ppm	%TP <sub>2</sub> O <sub>5</sub>
		250-5-100				
1	0.5113	20		0.1142	0.0132	0.0296
2	0.5187	20		0.0056	0.0179	0.0395
3	0.5167	20		0.0057	0.0210	0.0466
4	0.5150	20		0.0065	0.0225	0.0501
5	0.5150	20		0.0053	0.0179	0.0398
6	0.5128	20		0.0057	0.0030	0.0067
7	0.5150	20		0.0062	0.0156	0.0347
8	0.5265	20		0.0050	0.0125	0.0272
9	0.5118	20		0.0055	0.0100	0.0224
10	0.5128	20		0.0047	0.0145	0.0324
Avg						0.0329
SD						0.0125

standard	ppm	0	1	2	3	4	5	6	7
	Abs	0.0001	0.0530	0.1084	0.1618	0.2150	0.2683	0.3227	0.3758
$Y = 0.05373x + 0.000558, R^2 = 0.999991$									

#### 1. การทดสอบข้อมูลทางสถิติ

##### 1.1 การทดสอบ outlier ของข้อมูล โดยใช้ สถิติ Grubbs' test (G-test)

นำข้อมูล %TP<sub>2</sub>O<sub>5</sub> จากตาราง 16 นำมาทดสอบ outlier โดยเรียงข้อมูล จากน้อยไปมาก ได้

ดังนี้

0.0067 0.0224 0.0272 0.0296 0.0324 0.0347 0.0398 0.0395 0.0466 0.0501

ได้ค่าเฉลี่ย (Avg.) = 0.0067 %

ได้ค่า SD = 0.0125 %

$X_i$  = จุดต่ำหรือจุดสูงที่นำมาทดสอบ

1.1.1 ทดสอบจุดต่ำ คือ 0.0067 %

$$\begin{aligned} T_{\text{exp}} &= (\text{Avg} - X_i) \div \text{SD} \\ &= (0.0329 - 0.0067) \div 0.0125 \\ &= 2.096 \end{aligned}$$

$$T_{\text{cri}} = 2.387, n = 10$$

$T_{\text{exp}} < T_{\text{cri}}$  แสดงว่า ค่า 0.0067 % ไม่เป็น outlier

1.1.2 ทดสอบจุดสูง คือ 0.0501 %

$$\begin{aligned} T_{\text{exp}} &= (X_i - \text{Avg}) \div \text{SD} \\ &= (0.0501 - 0.0329) \div 0.0125 \\ &= 1.376 \end{aligned}$$

$$T_{\text{cri}} = 2.387, n = 10$$

$T_{\text{exp}} < T_{\text{cri}}$  แสดงว่า ค่า 0.0501% ไม่เป็น outlier

และจากการวิเคราะห์หาค่า N และ K ใน สารตัวเติม (sample blank) ได้ค่า N=0.35 % และค่า K=0 %

ดังนั้น สารตัวเติม (sample blank) สูตร 0.35-0.03-0

### 1.3.2 ความเข้มข้นระดับต่ำ (1%)

จากการทดสอบที่ fortified sample blank ที่ระดับความเข้มข้น 1% จำนวน 10 ซ้ำ ได้ผลทดสอบตาม ตาราง 17

ตาราง 17 ผลการวิเคราะห์ปริมาณฟอสเฟตทั้งหมดในปุ๋ยเคมีที่มีการเติมสารตัวเติมที่ความเข้มข้นระดับต่ำ

(%TP<sub>2</sub>O<sub>5</sub> = 1%)

Rep.	Weight (g)		Dilution	ppm		%TP <sub>2</sub> O <sub>5</sub>		
	1% CRM	matrix*	250-5-100	1% CRM+	Matrix**	1% CRM+	matrix**	1% CRM
				matrix		matrix		
1	0.5628	0.5260	20	0.5390	0.0450	1.10	0.10	1.00
2	0.5700	0.5260	20	0.5455	0.0450	1.10	0.10	1.00
3	0.5705	0.5260	20	0.5375	0.0450	1.08	0.10	0.98
4	0.5677	0.5260	20	0.5317	0.0450	1.07	0.10	0.98
5	0.5632	0.5260	20	0.5322	0.0450	1.08	0.10	0.98
6	0.5736	0.5260	20	0.5528	0.0450	1.10	0.10	1.01
7	0.5485	0.5260	20	0.5287	0.0450	1.10	0.10	1.01
8	0.5700	0.5260	20	0.5644	0.0450	1.13	0.10	1.04
9	0.6025	0.5260	20	0.6086	0.0450	1.16	0.10	1.06
10	0.5425	0.5260	20	0.5457	0.0450	1.15	0.10	1.05
Avg								1.01
SD								0.03

\*ซึ่ง matrix นำหนักเท่ากันทุกขวด

\*\*วัด matrix 1 ขวด

standard	ppm	0	1	2	3	4	5	6	7
	Abs	0.0000	0.0533	0.1061	0.1604	0.2147	0.2678	0.3221	0.3739
$Y = 0.05352x + 0.000636, R^2 = 0.999988$									

### 1. การทดสอบข้อมูลทางสถิติ

#### 1.1 การทดสอบ outlier ของข้อมูล โดยใช้ สถิติ Grubbs' test (G-test)

นำข้อมูล %TP<sub>2</sub>O<sub>5</sub> จากตาราง 17 นำมาทดสอบ outlier โดยเรียงข้อมูล จากน้อยไปมาก ได้

ดังนี้

0.98 0.98 0.98 1.00 1.00 1.01 1.01 1.04 1.05 1.06

ได้ค่าเฉลี่ย (Avg.) = 1.01 %

ได้ค่า SD = 0.03 %

Xi = จุดต่ำหรือจุดสูงที่นำมาทดสอบ

1.1.3 ทดสอบจุดต่ำ คือ 0.98 %

$$T_{\text{exp}} = (\text{Avg} - X_i) \div \text{SD}$$

$$= (1.01 - 0.98) \div 0.03$$

$$= 1.00$$

$$T_{\text{cri}} = 2.387, n = 10$$

$T_{\text{exp}} < T_{\text{cri}}$  แสดงว่า ค่า 0.98 % ไม่เป็น outlier

#### 1.1.4 ทดสอบจุดสูง คือ 1.06 %

$$\begin{aligned} T_{\text{exp}} &= (X_i - \text{Avg}) \div \text{SD} \\ &= (1.06 - 1.01) \div 0.03 \\ &= 1.67 \end{aligned}$$

$$T_{\text{cri}} = 2.387, n = 10$$

$T_{\text{exp}} < T_{\text{cri}}$  แสดงว่า ค่า 1.06 % ไม่เป็น outlier

### 1.2 เปรียบเทียบค่าเฉลี่ยที่ได้จากการวิเคราะห์กับค่าจริง โดยใช้ สถิติ t- test

ค่าเฉลี่ย (Avg.) = 1.01 %

ค่าจริง = 1.00 %

ค่า SD = 0.03 %

ค่า n = 10

สมมุติฐาน  $H_0$  : ค่าจริง = ค่าเฉลี่ย

$H_1$  : ค่าจริง  $\neq$  ค่าเฉลี่ย

$$\begin{aligned} \text{ทดสอบสมมุติฐาน} : t_{\text{cal}} &= (\text{ค่าเฉลี่ย} - \text{ค่าจริง}) \div (\text{SD} \div \sqrt{n}) \\ &= (1.01 - 1.00) \div (0.03 \div \sqrt{10}) \\ &= 1.05 \end{aligned}$$

จากตาราง t  $t_{\text{cri}} = 2.265$  ที่ระดับความเชื่อมั่น 95%

เห็นว่า  $t_{\text{cal}} < t_{\text{cri}}$  แสดงว่าค่าเฉลี่ยที่ได้จากการวิเคราะห์ไม่แตกต่างจากค่าจริงอย่างมีนัยสำคัญ  
สรุป ข้อมูล %TP<sub>2</sub>O<sub>5</sub> ในตาราง 17 สามารถนำมาใช้ในการหา Accuracy และ Precision ได้

#### 2. ทหาค่า Accuracy

จากตารางที่ 17 สามารถคำนวณหา % recovery จากสูตร

$$\% \text{ recovery} = (\text{ค่าที่วิเคราะห์ได้} \div \text{ค่าจริง}) \times 100$$

แทนค่า : ค่าที่วิเคราะห์ได้ = 1.01 % , ค่าจริง = 1.00 %

$$\text{ดังนั้น } \% \text{ recovery} = (1.01 \div 1.00) \times 100 = 101 \%$$

สรุป ค่า % recovery = 100 % ผ่านเกณฑ์การยอมรับ 95-105%

#### 3. ทหาค่า Precision

จากตาราง 17 สามารถคำนวณหา %RSD และ HORRAT จากสูตร

$$\% \text{RSD}_{\text{lab}} = (\text{SD} \div \text{Avg}) \times 100$$



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

$$\text{HORRAT} = \%RSD_{\text{lab}} \div \%RSD_{\text{expected}}$$

คำนวณค่าแต่ละตัวแปร

$$\text{ค่าเฉลี่ย (Avg.)} = 1.01 \%$$

$$\text{ค่า SD} = 0.03 \%$$

$$\text{ค่า } c = \text{Avg} \div 100 = 1.01 \div 100 = 0.01$$

$$\%RSD_{\text{lab}} = (\text{SD} \div \text{Avg}) \times 100$$

$$= (0.03 \div 1.00) \times 100 = 2.97$$

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

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

$$= 2.64$$

$$\text{HORRAT} = \%RSD_{\text{lab}} \div \%RSD_{\text{expected}}$$

$$= 2.97 \div 2.64 = 1.13$$

สรุป ค่า HORRAT = 1.13 ผ่านเกณฑ์การยอมรับ HORRAT (Horwitz ratio)  $\leq 2$

### 1.3.3 ความเข้มข้นระดับกลาง (19.34%)

จากการทดสอบที่ fortified sample blank ที่ระดับความเข้มข้น 19.34% จำนวน 10 ซ้ำ  
ได้ผลทดสอบตาม ตาราง 18

ตาราง 18 ผลการวิเคราะห์ปริมาณฟอสเฟตทั้งหมดในปุ๋ยเคมีที่มีการเติมสารตัวเติมที่ความเข้มข้นระดับกลาง  
(%TP<sub>2</sub>O<sub>5</sub> = 19.34 %)

Rep.	Weight (g)		Dilution	ppm		%TP <sub>2</sub> O <sub>5</sub>		
	19.34% CRM	matrix*		19.34% CRM+	Matrix**	19.34% CRM+	matrix**	19.34% CRM
			250-2-100	matrix		matrix		
1	0.3995	0.3740	50	2.7080	0.0000	19.42	0.00	19.42
2	0.3923	0.3740	50	2.6345	0.0000	19.23	0.00	19.23
3	0.3887	0.3740	50	2.6916	0.0000	19.83	0.00	19.83
4	0.3861	0.3740	50	2.6326	0.0000	19.53	0.00	19.53
5	0.3894	0.3740	50	2.6048	0.0000	19.16	0.00	19.16
6	0.3911	0.3740	50	2.6632	0.0000	19.50	0.00	19.50
7	0.4031	0.3740	50	2.7421	0.0000	19.48	0.00	19.48
8	0.4057	0.3740	50	2.7522	0.0000	19.43	0.00	19.43
9	0.3888	0.3740	50	2.6255	0.0000	19.34	0.00	19.34
10	0.3889	0.3740	50	2.6266	0.0000	19.34	0.00	19.34

Avg	19.43
SD	0.18

\*ซึ่ง matrix น้ำหนักเท่ากันทุกขวด

\*\*วัด matrix 1 ขวด

standard	ppm	0	1	2	3	4	5	6	7
	Abs	-0.0010	0.0527	0.1059	0.1575	0.2116	0.2656	0.3182	0.3732
$Y = 0.05361x + 0.003043, R^2 = 0.999734$									

## 1. การทดสอบข้อมูลทางสถิติ

### 1.1 การทดสอบ outlier ของข้อมูล โดยใช้ สถิติ Grubbs' test (G-test)

นำข้อมูล %TP<sub>2</sub>O<sub>5</sub> จากตาราง 18 นำมาทดสอบ outlier โดยเรียงข้อมูล จากน้อยไปมาก ได้

ดังนี้

19.16 19.23 19.34 19.34 19.42 19.43 19.48 19.50 19.53 19.83

ได้ค่าเฉลี่ย (Avg.) = 19.43 %

ได้ค่า SD = 0.18 %

$X_i$  = จุดต่ำหรือจุดสูงที่นำมาทดสอบ

1.1.1 ทดสอบจุดต่ำ คือ 19.16 %

$$\begin{aligned} T_{\text{exp}} &= (\text{Avg} - X_i) \div \text{SD} \\ &= (19.43 - 19.16) \div 0.18 \\ &= 1.50 \end{aligned}$$

$$T_{\text{cri}} = 2.387, n = 10$$

$T_{\text{exp}} < T_{\text{cri}}$  แสดงว่า ค่า 19.16 % ไม่เป็น outlier

1.1.2 ทดสอบจุดสูง คือ 19.83 %

$$\begin{aligned} T_{\text{exp}} &= (X_i - \text{Avg}) \div \text{SD} \\ &= (19.83 - 19.43) \div 0.18 \\ &= 2.22 \end{aligned}$$

$$T_{\text{cri}} = 2.387, n = 10$$

$T_{\text{exp}} < T_{\text{cri}}$  แสดงว่า ค่า 19.83 % ไม่เป็น outlier

1.2 เปรียบเทียบค่าเฉลี่ยที่ได้จากการวิเคราะห์กับค่าจริง โดยใช้ สถิติ t- test

ค่าเฉลี่ย (Avg.) = 19.43 %

ค่าจริง = 19.34 %

$$\text{ค่า SD} = 0.18 \%$$

$$\text{ค่า } n = 10$$

$$\text{สมมุติฐาน } H_0 : \text{ค่าจริง} = \text{ค่าเฉลี่ย}$$

$$H_1 : \text{ค่าจริง} \neq \text{ค่าเฉลี่ย}$$

$$\begin{aligned} \text{ทดสอบสมมุติฐาน : } t_{\text{cal}} &= (\text{ค่าเฉลี่ย} - \text{ค่าจริง}) \div (\text{SD} \div \sqrt{n}) \\ &= (19.43 - 19.34) \div (0.18 \div \sqrt{10}) \\ &= 1.58 \end{aligned}$$

$$\text{จากตาราง } t \quad t_{\text{cri}} = 2.265 \text{ ที่ระดับความเชื่อมั่น } 95\%$$

เห็นว่า  $t_{\text{cal}} < t_{\text{cri}}$  แสดงว่าค่าเฉลี่ยที่ได้จากการวิเคราะห์ไม่แตกต่างจากค่าจริงอย่างมีนัยสำคัญ  
สรุป ข้อมูล %TP<sub>2</sub>O<sub>5</sub> ในตาราง 18 สามารถนำมาใช้ในการหา Accuracy และ Precision ได้

## 2. หาค่า Accuracy

จากตารางที่ 18 สามารถคำนวณหา % recovery จากสูตร

$$\% \text{ recovery} = (\text{ค่าที่วิเคราะห์ได้} \div \text{ค่าจริง}) \times 100$$

$$\text{แทนค่า : ค่าที่วิเคราะห์ได้} = 19.43 \%, \text{ ค่าจริง} = 19.34 \%$$

$$\text{ดังนั้น } \% \text{ recovery} = (19.43 \div 19.34) \times 100 = 100 \%$$

สรุป ค่า % recovery = 100 % ผ่านเกณฑ์การยอมรับ 98-102%

## 3. หาค่า Precision

จากตาราง 18 สามารถคำนวณหา %RSD และ HORRAT จากสูตร

$$\%RSD_{\text{lab}} = (\text{SD} \div \text{Avg}) \times 100$$

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

$$\text{HORRAT} = \%RSD_{\text{lab}} \div \%RSD_{\text{expected}}$$

คำนวณค่าแต่ละตัวแปร

$$\text{ค่าเฉลี่ย (Avg.)} = 19.43 \%$$

$$\text{ค่า SD} = 0.18 \%$$

$$\text{ค่า } c = \text{Avg} \div 100 = 19.43 \div 100 = 0.19$$

$$\%RSD_{\text{lab}} = (\text{SD} \div \text{Avg}) \times 100$$

$$= (0.18 \div 19.43) \times 100 = 0.93$$

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

$$= 0.66 \times 2^{(1-0.5 \log 0.19)}$$

$$= 1.69$$

$$\text{HORRAT} = \%RSD_{\text{lab}} \div \%RSD_{\text{expected}}$$

$$= 0.93 \div 1.69 = 0.55$$

สรุป ค่า HORRAT = 0.55 ผ่านเกณฑ์การยอมรับ HORRAT (Horwitz ratio)  $\leq 2$

### 1.3.4 ความเข้มข้นระดับสูง (52.17%)

จากการทดสอบที่ fortified sample blank ที่ระดับความเข้มข้น 52.17% จำนวน 10 ซ้ำ ได้ผลทดสอบตาม ตาราง 19

ตาราง 19 ผลการวิเคราะห์ปริมาณฟอสเฟตทั้งหมดในปุ๋ยเคมีที่มีการเติมสารตัวเติมที่ความเข้มข้นระดับสูง (%TP<sub>2</sub>O<sub>5</sub> = 52.17 %)

Rep.	Weight (g)		Dilution	ppm		%TP <sub>2</sub> O <sub>5</sub>		
	52.17% CRM	matrix*	250-2-250	52.17% CRM+	Matrix**	52.17% CRM+	matrix**	52.17% CRM
				matrix		matrix		
1	0.3007	0.3620	125	2.1865	0.0000	52.07	0.00	52.07
2	0.3101	0.3620	125	2.2443	0.0000	51.82	0.00	51.82
3	0.3054	0.3620	125	2.2290	0.0000	52.26	0.00	52.26
4	0.3005	0.3620	125	2.1923	0.0000	52.24	0.00	52.24
5	0.3097	0.3620	125	2.2490	0.0000	52.00	0.00	52.00
6	0.3069	0.3620	125	2.2326	0.0000	52.09	0.00	52.09
7	0.3013	0.3620	125	2.2154	0.0000	52.65	0.00	52.65
8	0.3042	0.3620	125	2.2093	0.0000	52.01	0.00	52.01
9	0.3040	0.3620	125	2.1973	0.0000	51.76	0.00	51.76
10	0.3084	0.3620	125	2.2430	0.0000	52.08	0.00	52.08
Avg								52.10
SD								0.25

\*ซึ่ง matrix น้ำหนักเท่ากันทุกขวด

\*\*วัด matrix 1 ขวด

standard	ppm	0	1	2	3	4	5	6	7
	Abs	0.0525	0.1067	0.1629	0.2110	0.2116	0.2661	0.3278	0.3730
$Y = 0.05361x + 0.003043, R^2 = 0.999734$									

#### 1. การทดสอบข้อมูลทางสถิติ

##### 1.1 การทดสอบ outlier ของข้อมูล โดยใช้ สถิติ Grubbs' test (G-test)

นำข้อมูล %TP<sub>2</sub>O<sub>5</sub> จากตาราง 19 นำมาทดสอบ outlier โดยเรียงข้อมูล จากน้อยไปมาก ได้

ดังนี้

51.76 51.82 52.00 52.01 52.07 52.08 52.09 52.24 52.26 52.65

ได้ค่าเฉลี่ย (Avg.) = 52.10 %

ได้ค่า SD = 0.25 %

$X_i$  = จุดต่ำหรือจุดสูงที่นำมาทดสอบ

1.1.1 ทดสอบจุดต่ำ คือ 51.76 %

$$\begin{aligned} T_{\text{exp}} &= (\text{Avg} - X_i) \div \text{SD} \\ &= (52.10 - 51.76) \div 0.25 \\ &= 1.36 \end{aligned}$$

$$T_{\text{cri}} = 2.387, n = 10$$

$T_{\text{exp}} < T_{\text{cri}}$  แสดงว่า ค่า 51.76 % ไม่เป็น outlier

1.1.2 ทดสอบจุดสูง คือ 52.65 %

$$\begin{aligned} T_{\text{exp}} &= (X_i - \text{Avg}) \div \text{SD} \\ &= (52.65 - 52.10) \div 0.25 \\ &= 2.20 \end{aligned}$$

$$T_{\text{cri}} = 2.387, n = 10$$

$T_{\text{exp}} < T_{\text{cri}}$  แสดงว่า ค่า 52.65 % ไม่เป็น outlier

1.2 เปรียบเทียบค่าเฉลี่ยที่ได้จากการวิเคราะห์กับค่าจริง โดยใช้ สถิติ t- test

ค่าเฉลี่ย (Avg.) = 52.10 %

ค่าจริง = 52.17 %

ค่า SD = 0.25 %

ค่า n = 10

สมมติฐาน  $H_0$  : ค่าจริง = ค่าเฉลี่ย

$H_1$  : ค่าจริง  $\neq$  ค่าเฉลี่ย

ทดสอบสมมติฐาน :  $t_{\text{cal}} = (\text{ค่าเฉลี่ย} - \text{ค่าจริง}) \div (\text{SD} \div \sqrt{n})$

$$= (52.10 - 52.17) \div (0.25 \div \sqrt{10})$$

$$= -0.89$$

จากตาราง t  $t_{\text{cri}} = 2.265$  ที่ระดับความเชื่อมั่น 95%

เห็นว่า  $t_{\text{cal}} < t_{\text{cri}}$  แสดงว่าค่าเฉลี่ยที่ได้จากการวิเคราะห์ไม่แตกต่างจากค่าจริงอย่างมีนัยสำคัญ  
สรุป ข้อมูล %TP<sub>2</sub>O<sub>5</sub> ในตาราง 19 สามารถนำมาใช้ในการหา Accuracy และ Precision ได้

## 2. ทหาค่า Accuracy

จากตารางที่ 19 สามารถคำนวณหา % recovery จากสูตร

$$\% \text{ recovery} = (\text{ค่าที่วิเคราะห์ได้} \div \text{ค่าจริง}) \times 100$$

แทนค่า : ค่าที่วิเคราะห์ได้ = 52.10 %, ค่าจริง = 52.17 %

ดังนั้น % recovery =  $(52.17 \div 52.10) \times 100 = 100 \%$

สรุป ค่า % recovery = 100 % ผ่านเกณฑ์การยอมรับ 98-102%

### 3. ทหาค่า Precision

จากตาราง 19 สามารถคำนวณหา %RSD และ HORRAT จากสูตร

$$\%RSD_{\text{lab}} = (SD \div \text{Avg}) \times 100$$

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

$$\text{HORRAT} = \%RSD_{\text{lab}} \div \%RSD_{\text{expected}}$$

คำนวณค่าแต่ละตัวแปร

$$\text{ค่าเฉลี่ย (Avg.)} = 52.10 \%$$

$$\text{ค่า SD} = 0.25 \%$$

$$\text{ค่า } c = \text{Avg} \div 100 = 52.10 \div 100 = 0.52$$

$$\begin{aligned} \%RSD_{\text{lab}} &= (SD \div \text{Avg}) \times 100 \\ &= (0.25 \div 52.10) \times 100 = 0.48 \end{aligned}$$

$$\begin{aligned} \%RSD_{\text{expected}} \text{ จาก Horwitz equation} &= 0.66 \times 2^{(1-0.5 \log C)} \\ &= 0.66 \times 2^{(1-0.5 \log 0.52)} \\ &= 1.46 \end{aligned}$$

$$\begin{aligned} \text{HORRAT} &= \%RSD_{\text{lab}} \div \%RSD_{\text{expected}} \\ &= 0.48 \div 1.46 = 0.32 \end{aligned}$$

สรุป ค่า HORRAT = 0.32 ผ่านเกณฑ์การยอมรับ HORRAT (Horwitz ratio)  $\leq 2$

## 1.6 การหาค่า Intermediate Precision ของวิธีวิเคราะห์ปริมาณฟอสเฟตทั้งหมดในปุ๋ยเคมีที่มีการเติมสารตัวเติม

### 1.6.1 ความเข้มข้นระดับต่ำ (1%)

จากการทดสอบที่ fortified sample blank ที่ระดับความเข้มข้น 1% จำนวน 10 ซ้ำ ในช่วงระยะเวลาแตกต่างกัน ได้ผลทดสอบตาม ตาราง 20

ตาราง 20 ผลการวิเคราะห์ปริมาณฟอสเฟตทั้งหมดในปุ๋ยเคมีที่ความเข้มข้น ระดับต่ำ (%TP<sub>2</sub>O<sub>5</sub> = 1%)  
ในช่วงระยะเวลาแตกต่างกัน (Intermediate time)

Rep.	Dte (D/M/Y)	Weight (g) 1% CRM	Dilution		ppm		%TP <sub>2</sub> O <sub>5</sub>		
			250-5-100	1% CRM+	matrix*	1% CRM+	matrix*	1% CRM	
1	24 Sep 2013	0.5426	20	0.5032	0.0016	1.06	0.00	1.06	
2	25 Sep 2013	0.5421	20	0.5885	0.0944	1.24	0.21	1.03	
3	27 Sep 2013	0.5384	20	0.5815	0.0913	1.24	0.20	1.04	
4	4 Oct 2013	0.5487	20	0.5875	0.0861	1.23	0.19	1.04	
5	5 Oct 2013	0.5536	20	0.5866	0.0826	1.21	0.18	1.03	
6	7 Oct 2013	0.5536	20	0.5831	0.0793	1.21	0.17	1.04	
7	8 Oct 2013	0.5419	20	0.5703	0.0797	1.21	0.17	1.04	
8	9 Oct 2013	0.5408	20	0.5697	0.0737	1.21	0.16	1.05	
9	10 Oct 2013	0.5661	20	0.5872	0.0712	1.19	0.16	1.03	
10	11 Oct 2013	0.5582	20	0.5796	0.0704	1.19	0.15	1.04	
Avg									1.04
SD									0.01

\*ซึ่ง matrix น้ำหนักเท่ากันทุกขวดคือ 0.5260 g

## 1. การทดสอบข้อมูลทางสถิติ

### 1.1. ทาค่า Precision

จากตาราง 20 สามารถคำนวณหา %RSD และ HORRAT จากสูตร

$$\%RSD_{lab} = (SD \div Avg) \times 100$$

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

$$HORRAT = \%RSD_{lab} \div \%RSD_{expected}$$

คำนวณค่าแต่ละตัวแปร

$$\text{ค่าเฉลี่ย (Avg.)} = 1.04\%$$

$$\text{ค่า SD} = 0.01 \%$$

$$\text{ค่า } c = Avg \div 100 = 1.04 \div 100 = 0.01$$

$$\%RSD_{lab} = (SD \div Avg) \times 100$$

$$= (0.01 \div 1.04) \times 100 = 0.96$$

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

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

$$= 2.64$$

$$\begin{aligned} \text{HORRAT} &= \%RSD_{\text{lab}} \div \%RSD_{\text{expected}} \\ &= 0.96 \div 2.64 = 0.36 \end{aligned}$$

สรุป ค่า HORRAT = 0.36 ผ่านเกณฑ์การยอมรับ HORRAT (Horwitz ratio)  $\leq 2$

### 1.6.2 ความเข้มข้นระดับกลาง (19.34%)

จากการทดสอบที่ fortified sample blank ที่ระดับความเข้มข้น 19.34% จำนวน 10 ซ้ำ ในช่วงระยะเวลาแตกต่างกัน ได้ผลทดสอบตาม ตาราง 21

**ตาราง 21** ผลการวิเคราะห์ปริมาณฟอสเฟตทั้งหมดในปุ๋ยเคมีที่ความเข้มข้นระดับกลาง (%TP<sub>2</sub>O<sub>5</sub> = 19.34%) ในช่วงระยะเวลาแตกต่างกัน (Intermediate time)

Rep.	Date (D/M/Y)	Weight (g) 19.34% CRM	Dilution		ppm			%TP <sub>2</sub> O <sub>5</sub>	
			250-2-100	19.34% CRM+ matrix	matrix*	19.34% CRM+ matrix	matrix*	19.34% CRM	
1	20Jan 2014	0.3748	50	2.5128	0.0000	19.20	0.00	19.20	
2	29Jan 2014	0.3745	50	2.5137	0.0000	19.23	0.00	19.23	
3	30Jan 2014	0.3792	50	2.5429	0.0000	19.21	0.00	19.21	
4	31Jan 2014	0.3947	50	2.6658	0.0000	19.35	0.00	19.35	
5	5 Feb 2014	0.3912	50	2.6231	0.0000	19.21	0.00	19.21	
6	6 Feb 2014	0.3837	50	2.5894	0.0000	19.33	0.00	19.33	
7	7 Feb 2014	0.3819	50	2.5931	0.0000	19.45	0.00	19.45	
8	18 Feb 2014	0.3910	50	2.6594	0.0000	19.48	0.00	19.48	
9	19 Feb 2014	0.3897	50	2.6526	0.0000	19.50	0.00	19.50	
10	20 Feb 2014	0.3838	50	2.5885	0.0000	19.32	0.00	19.32	
Avg								19.33	
SD								0.12	

\*ซึ่ง matrix น้ำหนักเท่ากันทุกขวดคือ 0.3620 g

#### 1. การทดสอบข้อมูลทางสถิติ

##### 1.1. หาค่า Precision

จากตาราง 21 สามารถคำนวณหา %RSD และ HORRAT จากสูตร

$$\%RSD_{\text{lab}} = (\text{SD} \div \text{Avg}) \times 100$$

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



$$\text{HORRAT} = \%RSD_{\text{lab}} \div \%RSD_{\text{expected}}$$

คำนวณค่าแต่ละตัวแปร

$$\text{ค่าเฉลี่ย (Avg.)} = 19.33 \%$$

$$\text{ค่า SD} = 0.12\%$$

$$\text{ค่า } c = \text{Avg} \div 100 = 19.21 \div 100 = 0.19$$

$$\begin{aligned} \%RSD_{\text{lab}} &= (\text{SD} \div \text{Avg}) \times 100 \\ &= (0.12 \div 19.33) \times 100 = 0.62 \end{aligned}$$

$$\begin{aligned} \%RSD_{\text{expected}} \text{ จาก Horwitz equation} &= 0.66 \times 2^{(1-0.5 \log C)} \\ &= 0.66 \times 2^{(1-0.5 \log 0.19)} \\ &= 1.69 \end{aligned}$$

$$\begin{aligned} \text{HORRAT} &= \%RSD_{\text{lab}} \div \%RSD_{\text{expected}} \\ &= 0.62 \div 1.69 = 0.37 \end{aligned}$$

สรุป ค่า HORRAT = 0.37 ผ่านเกณฑ์การยอมรับ HORRAT (Horwitz ratio)  $\leq 2$

### 1.6.3 ความเข้มข้นระดับสูง (52.17%)

จากการทดสอบที่ fortified sample blank ที่ระดับความเข้มข้น 52.17% จำนวน 10 ซ้ำ ในช่วงระยะเวลาแตกต่างกัน ได้ผลทดสอบตาม ตาราง 22

ตาราง 22 ผลการวิเคราะห์ปริมาณฟอสเฟตทั้งหมดในปุ๋ยเคมีที่ความเข้มข้นระดับสูง (%TP<sub>2</sub>O<sub>5</sub> = 52.17 %) ในช่วงระยะเวลาแตกต่างกัน (Intermediate time)

Rep.	Date (D/M/Y)	Weight (g) 52.17% CRM	Dilution		ppm		%TP <sub>2</sub> O <sub>5</sub>		
			250-2-250	52.17%CRM+	matrix*	52.17%CRM+	matrix*	52.17% CRM	
1	22 Sep 2013	0.3007	125	2.1934	0.0000	52.23	0.00	52.23	
2	22 Sep 2013	0.3101	125	2.2652	0.0000	52.31	0.00	52.31	
3	22 Sep 2013	0.3040	125	2.2227	0.0000	52.36	0.00	52.36	
4	22 Sep 2013	0.3032	125	2.2081	0.0000	52.15	0.00	52.15	
5	4 Oct 2013	0.3135	125	2.2945	0.0000	52.41	0.00	52.41	
6	4 Oct 2013	0.3055	125	2.2395	0.0000	52.49	0.00	52.49	
7	3 Mar 2014	0.3129	125	2.2689	0.0216	51.92	0.43	51.49	
8	4 Mar 2014	0.3022	125	2.2004	0.0000	52.14	0.00	52.14	
9	5 Mar 2014	0.3003	125	2.2049	0.0054	52.56	0.11	52.45	
10	6 Mar 2014	0.3038	125	2.2042	0.0000	51.95	0.00	51.95	
Avg									52.20
SD									0.30

\*ซึ่ง matrix น้ำหนักเท่ากันทุกขวดคือ 0.3620 g

## 1. การทดสอบข้อมูลทางสถิติ

### 1.1. ทหาค่า Precision

จากตาราง 22 สามารถคำนวณหา %RSD และ HORRAT จากสูตร

$$\%RSD_{\text{lab}} = (SD \div \text{Avg}) \times 100$$

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

$$\text{HORRAT} = \%RSD_{\text{lab}} \div \%RSD_{\text{expected}}$$

คำนวณค่าแต่ละตัวแปร

$$\text{ค่าเฉลี่ย (Avg.)} = 52.20 \%$$

$$\text{ค่า SD} = 0.30 \%$$

$$\text{ค่า } c = \text{Avg} \div 100 = 52.20 \div 100 = 0.52$$

$$\begin{aligned} \%RSD_{\text{lab}} &= (SD \div \text{Avg}) \times 100 \\ &= (0.30 \div 52.20) \times 100 = 0.57 \end{aligned}$$

$$\begin{aligned} \%RSD_{\text{expected}} \text{ จาก Horwitz equation} &= 0.66 \times 2^{(1-0.5 \log C)} \\ &= 0.66 \times 2^{(1-0.5 \log 0.52)} \\ &= 1.46 \end{aligned}$$

$$\begin{aligned} \text{HORRAT} &= \%RSD_{\text{lab}} \div \%RSD_{\text{expected}} \\ &= 0.57 \div 1.46 = 0.39 \end{aligned}$$

สรุป ค่า HORRAT = 0.39 ผ่านเกณฑ์การยอมรับ HORRAT (Horwitz ratio)  $\leq 2$

## สรุปผลการทดลอง

จากการตรวจสอบความใช้ได้ของวิธีการวิเคราะห์ฟอสเฟตทั้งหมดในปุ๋ยเคมี การประเมินผลการตรวจสอบจากการวิเคราะห์ปัจจัยต่างๆ ได้แก่ range, linearity, accuracy, precision, intermediate precision, LOD, และ LOQ ให้ผลการทดลองที่เป็นไปตามเกณฑ์ที่กำหนดไว้ แสดงให้เห็นว่าวิธีการวิเคราะห์เหมาะสมต่อการใช้งานตามวัตถุประสงค์ มีความถูกต้องและแม่นยำ มีความน่าเชื่อถือ ดังนั้นห้องปฏิบัติการสำนักวิจัยและพัฒนาการเกษตรเขตที่ 2 สามารถใช้เป็นวิธีมาตรฐานในการตรวจวิเคราะห์ฟอสเฟตทั้งหมดในปุ๋ยเคมีได้ และในอนาคตสามารถใช้เป็นวิธีวิเคราะห์เพื่อขอขยายขอบข่ายการรับรอง ISO/IEC 17025 : 2005 ของห้องปฏิบัติการต่อไป

## เอกสารอ้างอิง

1. ทิพวรรณ นิ่งน้อย. 2549. แนวปฏิบัติการทดสอบความถูกต้องของวิธีวิเคราะห์ทางเคมีโดยห้องปฏิบัติการเดียว. กรมวิทยาศาสตร์การแพทย์ กระทรวงสาธารณสุข.
2. กลุ่มวิจัยเกษตรเคมี.2551.คู่มือวิเคราะห์ปุ๋ยเคมีเรื่อง “วิธีวิเคราะห์ปริมาณฟอสเฟตทั้งหมด”.กลุ่มวิจัยเกษตรเคมี สำนักวิจัยและพัฒนาปัจจัยการผลิตทางการเกษตร กรมวิชาการเกษตร กระทรวงเกษตรและสหกรณ์. เอกสารวิชาการลำดับที่ 2/2551.ห้างหุ้นส่วนจำกัด ฟินนี่ พับบลิชซิ่ง. พิมพ์ครั้งที่ 1. หน้า 19-23
3. กรมวิทยาศาสตร์บริการ. 2554. แนวทางการจัดทำความสมเหตุสมผลของการวัด (Guidelines on Validity of Measurement). โรงพิมพ์สำนักพระพุทธรศาสนาแห่งชาติ. พิมพ์ครั้งแรก. 131 หน้า
4. กิตติยา เขียร์แมน และ สุทธินันท์ แต่บรรพกุล.2557. เอกสารประกอบการฝึกอบรมตามแผนพัฒนาบุคลากรของกรมวิชาการเกษตร ปี 2557 “หลักสูตร ความไม่แน่นอนของการวัดทางเคมี”, วันที่ 27-28 พฤษภาคม 2557 ณห้องประชุมกลุ่มวิจัยเกษตรเคมี สำนักวิจัยและพัฒนาปัจจัยการผลิตทางการเกษตร กรมวิชาการเกษตร.
5. AOAC. 2012. AOAC Official Method of Analysis, 19<sup>th</sup>ed 2012Chapter 2 “Fertilizer”.Editor. Dr George W. Latimer, Jr. Published by AOAC INTERNATIONAL SUITE 500 481 NORTH FREDERICK AVENUE GAITHERSBURG MARYLAND 20877-2417 USA. 8-12