รายงานเรื่องเต็มผลการทดลองที่สิ้นสุด ปีงบประมาณ 2558

1. ชุดโครงการวิจัย วิจัยและพัฒนาปัจจัยการผลิตทางการเกษตร

2. โครงการวิจัย การพัฒนาระบบการตรวจวิเคราะห์พืชและปัจจัยการผลิตทางการเกษตร

กิจกรรมที่ 1 พัฒนาระบบการตรวจวิเคราะห์ปุ๋ย พืช ดิน น้ำ สารอินทรีย์ สารควบคุมการเจริญเติบโตพืช สารสกัด และวัตถุอันตรายทางการเกษตร

กิจกรรมย่อยที่ 1.3 พัฒนาเทคนิคระบบการตรวจวิเคราะห์ และตรวจสอบความใช้ได้ของวิธีวิเคราะห์ดินและน้ำ

3. ชื่อการทดลอง(ภาษาไทย) ตรวจสอบความใช้ได้ของวิธีวิเคราะห์ค่าธาตุอาหาร แคลเซียม แมกนีเซียม และ โพแทชเซียม ของดิน

ชื่อการทดลอง(ภาษาอังกฤษ) Method Validation on Analysis of Calcium Magnesium and Potassium in Soil

4. คณะผู้ดำเนินงาน

ชื่อหัวหน้าโครงการ	นางจิติมา ยถาภูธานนท์	สังกัด กลุ่มวิจัยเกษตรเคมี กปผ.
หัวหน้าการทดลอง	นางพจมาลย์ ภู่สาร	สังกัด กลุ่มวิจัยเกษตรเคมี กปผ.
ผู้ร่วมงาน	นางสาวสุภา โพธิจันทร์	สังกัด กลุ่มวิจัยเกษตรเคมี กปผ.
	นางสาวจิตติรัตน์ ชูชาติ	สังกัด กลุ่มวิจัยเกษตรเคมี กปผ.
	นางสาวญาณธิชา จิตต์สะอาด	สังกัด กลุ่มวิจัยเกษตรเคมี กปผ.

5. บทคัดย่อ

การตรวจสอบความใช้ได้ของวิธีวิเคราะห์แคลเซียม แมกนีเซียม ของดิน โดยดำเนินการตามคู่มือวิเคราะห์ดินทางเคมีและฟิสิกส์ ของกลุ่มวิจัยเกษตรเคมี กองวิจัยพัฒนาปัจจัยการผลิตทางการเกษตร กรมวิชาการเกษตร ทำการศึกษาโดยการวิเคราะห์แคลเซียม วิเคราะห์ CRM ที่ 3 ระดับความเข้มข้น นำมาประเมินความแม่น (Accuracy) พบว่า ได้ %Recovery ที่ระดับความเข้มข้นต่ำ (280.56-360.72 mg/kg) ที่ระดับความเข้มข้นกลาง (2520-3120 mg/kg) และ ที่ระดับความเข้มข้นสูง (4288.56-4729.44 mg/kg) เท่ากับ 95.40, 97.00 และ 76.46% ตามลำดับ ซึ่งไม่ผ่านเกณฑ์ยอมรับที่ระดับความเข้มข้นสูง หาค่าความแตกต่างระหว่างค่าที่วิเคราะห์ได้กับค่าจริง เท่ากับ 1.75, 3.90 และ 10.72 ตามลำดับ ซึ่งไม่ผ่านเกณฑ์ยอมรับที่ระดับความเข้มข้นกลางและสูง ประเมินความเที่ยง (Precision) โดยใช้ Horwitz' equation ได้ค่า HORRAT เท่ากับ 1.96, 0.78 และ 3.00 ตามลำดับ ซึ่งไม่ผ่านเกณฑ์ยอมรับที่ระดับความเข้มข้นสูง ประเมินหาปริมาณต่ำสุดที่สามารถวัดได้ (LOD) เท่ากับ 9.397 mg/kg และปริมาณต่ำสุดที่สามารถวิเคราะห์และรายงานผลได้ (LOQ) เท่ากับ 13.698 mg/kg แสดงว่า วิธีวิเคราะห์แคลเซียมนี้สามารถยอมรับได้ที่ระดับความเข้มข้นต่ำ (280.56-360.72 mg/kg)

การวิเคราะห์แมกนีเซียม โดยวิเคราะห์ CRM ที่ 3 ระดับความเข้มข้น นำมาประเมินความแม่น (Accuracy) พบว่า ได้ % Recovery ที่ระดับความเข้มข้นต่ำ (44.99-57.15 mg/kg) ที่ระดับความเข้มข้นกลาง (399.2-452.8 mg/kg) และ ที่ระดับความเข้มข้นสูง (531.44-581.84 mg/kg) เท่ากับ 98.33, 98.42 และ 104.02 % ตามลำดับ ผ่านเกณฑ์ยอมรับทุกระดับความเข้มข้น หาค่าความแตกต่างระหว่างค่าที่วิเคราะห์ได้กับค่าจริง เท่ากับ 0.77, 0.90 และ 1.84 ตามลำดับ ผ่านเกณฑ์ยอมรับทุกระดับความเข้มข้น ประเมินความเที่ยง (Precision) โดยใช้ Horwitz' equation ได้ค่า HORRAT เท่ากับ 1.96, 1.33 และ 1.64 ตามลำดับ ประเมินหาปริมาณต่ำสุดที่สามารถวัดได้ (LOD) เท่ากับ 6.247 mg/kg และปริมาณต่ำสุดที่สามารถวิเคราะห์และรายงานผลได้ (LOQ) เท่ากับ 11.280 mg/kg แสดงว่า วิธีวิเคราะห์แมกนีเซียมนี้สามารถยอมรับได้ที่ทุกระดับความเข้มข้น

Abstract

Method Validation on Analysis of Calcium and Magnesium in Soil was developed in order to fit for purpose as used in laboratory. The method that use in laboratory from A handbook of soil analysis: chemical and physical methods (Agricultural Production Science Research and Development Division, 2010). Analysis of Calcium analysed CRM in three concentrations rate. Accuracy was evaluated. %Recovery of low, medium and high concentration rate was 95.40, 97.00 และ 76.46 % respectively, which were accepted at low and medium concentration rate. The evaluation of different value between analysed value and true value of CRM by t-test were 1.75, 3.90 and 10.72 respectively, which were accepted at low concentration rate. Repeatability precision by Horwitz' equations (HORRAT) were 1.96, 0.78 and 3.00 respectively, which were accepted at low and medium concentration rate. Limit of Detection (LOD) was 9.397 and Limit of Quantitative (LOQ) was 13.968. Therefore calcium analysis method was accepted at low concentration rate.

Analysis of Magnesium analyzed CRM in three concentrations rate. Accuracy was evaluated. %Recovery of low, medium and high concentration rate was 98.33, 98.42 and 104.02 % respectively, which were accepted at all concentration rate. The evaluation of different value between analyzed value and true value of CRM by t-test were 0.77, 0.90 and 1.84 respectively, which were accepted at all concentration rate. Repeatability precision by Horwitz' equations (HORRAT) were 1.96, 1.33 and 1.64 respectively, which were accepted at all concentration rate. Limit of Detection (LOD) was 6.247 and Limit of Quantitative (LOQ) was 11.280. Therefore calcium analysis method was accepted at all concentration rate.

6. คำนำ

การวิเคราะห์ปริมาณแคลเซียม (Ca) และ (Mg) ในดิน ของกลุ่มงานวิจัยระบบตรวจสอบคุณภาพดินและน้ำ กลุ่มวิจัยเกษตรเคมี กองวิจัยพัฒนาปัจจัยการลิตทางการเกษตร ใช้วิธีการตามคู่มือวิเคราะห์ดินทางเคมีและฟิสิกส์ (กลุ่มวิจัยเกษตรเคมี, 2553) ซึ่งยังไม่เคยทำการตรวจสอบความใช้ได้ของวิธีวิเคราะห์แคลเซียม (Ca) และ (Mg) ในดินเลย จึงสมควรมีการศึกษาเพื่อให้ได้ข้อมูลไว้เป็นหลักฐานยืนยันว่าวิธีวิเคราะห์ซัลเฟอร์ที่นำมาใช้นั้นเป็นวิธีที่ถูกต้อง เหมาะสม และคลอบคลุมความต้องการในการนำมาประยุกต์ใช้

การตรวจสอบความใช้ได้ของวิธีวิเคราะห์เป็นกระบวนการที่เกิดขึ้นภายหลังจากการพัฒนา ปรับปรุงหรือดัดแปลงวิธีการวิเคราะห์ให้มีความเหมาะสมกับห้องปฏิบัติการ เพื่อเป็นการยืนยันคุณลักษณะเฉพาะของวิธี (Method Performance Characteristics) และมีการประเมินทางสถิติว่า วิธีการวิเคราะห์นี้มีความเหมาะสมถูกต้องตามวัตถุประสงค์ของการใช้งาน (ทิพวรรณ, 2549)

วิธีการวิเคราะห์แคลเซียม แมกนีเซียม และโพแทชเซียม ของดิน ที่ห้องปฏิบัติการวิเคราะห์ดิน กลุ่มพัฒนาการตรวจสอบพืชและปัจจัยการผลิต สำนักวิจัยและพัฒนาการเกษตรเขตที่ 1 ใช้อยู่ในปัจจุบันนั้นดำเนินการตามคู่มือวิเคราะห์ดินทางเคมีและฟิสิกส์ (กลุ่มวิจัยเกษตรเคมี สำนักวิจัยพัฒนาปัจจัยการผลิตทางการเกษตร, 2553) ดังนั้นเพื่อให้มั่นใจว่าวิธีการวิเคราะห์ที่ใช้อยู่มีความเหมาะสมกับตัวอย่าง หรือเหมาะสมกับการใช้งานตามวัตถุประสงค์ (fit for the purpose) ซึ่งเป็นข้อกำหนดหนึ่งตามมาตรฐาน ISO/IEC17025: 2005 โดยคุณลักษณะที่ใช้ในการตรวจสอบความใช้ได้ของวิธีการวิเคราะห์ ได้แก่ การตรวจสอบความแม่น (Accuracy) ประกอบด้วย ค่าความถูกต้อง (Trueness) โดยเปรียบเทียบผลการวิเคราะห์กับค่าจริงของตัวอย่างที่ผ่านการรับรอง (Certified Reference Material: CRM) และความเที่ยง (Precision) โดยการทดสอบการกระจายหรือการเบี่ยงเบนของผลการวิเคราะห์ ความเข้มขันต่ำสุดของสารที่วิเคราะห์ในตัวอย่างที่สามารถวัดได้ (Limit of Detection: LOD) และความเข้มข้นต่ำสุดของสิ่งที่จะวิเคราะห์ที่สามารถวัด และยอมรับในความถูกต้องแม่นยำ และรายงานผลได้ (Limit of Quantitation: LOQ) (จิตรา, 2549)

7. วิธีดำเนินการ

อุปกรณ์

1. เครื่องชั่งไฟฟ้าทศนิยม 3 ตำแหน่ง
2. Flame photometer
3. Atomic Absorption Spectrophotometer
4. เครื่องเขย่า
5. Erlenmeyer flask ขนาด 50 ml.
6. บีกเกอร์ขนาด 50 ml.
7. Volumetric flask ขนาด 1,000 ml.

สารเคมี

1. Standard Calcium ความเข้มข้น 1000 mg/l
2. Standard Magnesium ความเข้มข้น 1000 mg/l

3. Ammonium acetate (NH_4OAC), AR Grade
4. Strontium Chloride hexahydrate ($SrCl_2.6H_2O$), AR Grade
5. วัสดุอ้างอิงรับรอง/วัสดุอ้างอิงมาตรฐาน (CRM/SRM)
    - CRM GBW07416a
    - CRM GBW07458
    - CRM NCS DC 85101

วิธีการ

การวิเคราะห์แคลเซียม

1. **การหา Limit of Detection (LOD) และ Limit of Quantity (LOQ) ของวิธีวิเคราะห์**

    1.1 ชั่ง sample blank น้ำหนัก 2.5 กรัม

    1.2 ดำเนินการวิเคราะห์ตามวิธีวิเคราะห์แคลเซียมในดิน

    1.3 บันทึกข้อมูล คำนวณหาค่าเฉลี่ย และค่าเบี่ยงเบนมาตรฐาน

    1.4 LOD = $\overline{X}$ + 3SD

    LOQ = $\overline{X}$ + 10SD

2. **การหาค่า Accuracy ของวิธีวิเคราะห์**

    2.1 ชั่ง CRM 2.5 กรัม ตัวอย่างละ 10 ซ้ำ ดังนี้

    2.2 ดำเนินการวิเคราะห์ตามวิธีวิเคราะห์แคลเซียมในดิน พร้อมทั้งวิเคราะห์ reagent blank

    2.3 นำผลการวิเคราะห์ที่ได้ไปคำนวณหาค่า $\overline{X}$, SD, % Recovery และ T-test

3. **การหาค่า Precision ของวิธีวิเคราะห์**

นำข้อมูลที่ได้จากข้อ 2 ไปประเมินค่า Precision โดยใช้ Horwitz' ratio หรือ HORRAT

การวิเคราะห์แมกนีเซียม

1. **การหา Limit of Detection (LOD) และ Limit of Quantity (LOQ) ของวิธีวิเคราะห์**

    1.1 ชั่ง sample blank น้ำหนัก 2.5 กรัม

    1.2 ดำเนินการวิเคราะห์ตามวิธีวิเคราะห์แมกนีเซียมในดิน

    1.3 บันทึกข้อมูล คำนวณหาค่าเฉลี่ย และค่าเบี่ยงเบนมาตรฐาน

    1.4 LOD = $\overline{X}$ + 3SD

    LOQ = $\overline{X}$ + 10SD

2. **การหาค่า Accuracy ของวิธีวิเคราะห์**

    2.1 ชั่ง CRM/ 2.5 กรัม ตัวอย่างละ 10 ซ้ำ ดังนี้

    2.2 ดำเนินการวิเคราะห์ตามวิธีวิเคราะห์แมกนีเซียมในดิน พร้อมทั้งวิเคราะห์ reagent blank

    2.3 นำผลการวิเคราะห์ที่ได้ไปคำนวณหาค่า $\overline{X}$, SD, % Recovery และ T-test

3. **การหาค่า Precision ของวิธีวิเคราะห์**

นำข้อมูลที่ได้จากข้อ 2 ไปประเมินค่า Precision โดยใช้ Horwitz' ratio หรือ HORRAT

เวลาและสถานที่

เวลา 1 ตุลาคม 2557 – 30 กันยายน 2558

สถานที่ ห้องปฏิบัติการวิเคราะห์ดิน งานวิจัยระบบตรวจสอบคุณภาพดินและน้ำ กลุ่มวิจัยเกษตรเคมี กองวิจัยและปัจจัยการผลิตทางการเกษตร

8. ผลและวิจารณ์ผลการวิเคราะห์

การตรวจสอบความใช้ได้ของวิธีวิเคราะห์แคลเซียม แมกนีเซียม และโพแทชเซียมของดิน โดยการหา Limit of Detection (LOD), Limit of Quantitaion (LOQ), Accuracy และ Precision ใช้วิธีตามคู่มือวิเคราะห์ดินทางเคมีและฟิสิกส์ ของกลุ่มวิจัยเกษตรเคมี สำนักวิจัยพัฒนาปัจจัยการผลิตทางการเกษตร กรมวิชาการเกษตร พบว่า **การวิเคราะห์แคลเซียม**

1. การหา Limit of Detection (LOD) และ Limit of Quantitation (LOQ) ของวิธีวิเคราะห์แคลเซียมในดิน

โดยวิเคราะห์ sample blank จำนวน 10 ซ้ำ คำนวณหาค่า $\overline{X}$ และ SD ของ Ca (mg/kg) ผลการวิเคราะห์ดังตารางที่ 1

ตารางที่ 1 ผลการวิเคราะห์ sample blank จำนวน 10 ซ้ำ เพื่อหาค่า LOD และ LOQ

ซ้ำที่	น้ำหนักของ sample blank (กรัม)	Fraction	AA	Ca(mg/kg)
1	2.5	10	0.584	6.424
2	2.5	10	0.737	8.107
3	2.5	10	0.742	8.162
4	2.5	10	0.645	7.095
5	2.5	10	0.723	7.953
6	2.5	10	0.706	7.766
7	2.5	10	0.702	7.722
8	2.5	10	0.631	6.941
9	2.5	10	0.703	7.733
10	2.5	10	0.588	6.473
		$\overline{X}$		7.438
		SD		0.653

จากข้อมูลตารางที่ 1 นำมาหาค่า LOD และ LOQ

ดังนั้น $LOD = \overline{X} + 3SD = 7.438 + 3(0.653) = 9.397$

$LOQ = \overline{X} + 10SD = 7.438 + 10(0.653) = 13.968$

สรุปได้ว่า Ca (mg/kg) ต่ำสุดที่สามารถวัดได้ ที่ระดับความเชื่อมั่น 95% คือ 9.397 mg/kg และ Ca (mg/kg) ที่สามารถนำมารายงานผลได้ต้องไม่ต่ำกว่า 13.968 mg/kg

2. การหาค่า Accuracy ของวิธีวิเคราะห์วิธีวิเคราะห์แคลเซียมในดิน

2.1 หาค่า Accuracy ของวิธีวิเคราะห์แคลเซียมในดิน ที่ระดับความเข้มข้นต่ำ (280.56-360.72 mg/kg)

โดยใช้ CRM GBW07416a นำมาวิเคราะห์ตามขั้นตอนการวิเคราะห์แคลเซียมในดิน พร้อมทั้งวิเคราะห์ reagent blank ให้ผลการวิเคราะห์ดังตารางที่ 2 แล้วนำมาคำนวณหา % Recovery และเปรียบเทียบค่าจากการวิเคราะห์กับค่าจริงโดยใช้ t-test

ตารางที่ 2 ผลการวิเคราะห์แคลเซียมในดิน ที่ระดับความเข้มข้นต่ำ (280.56-360.72 mg/kg)

ซ้ำที่	น้ำหนักตัวอย่าง (กรัม)	Fraction	AA	Ca(mg/kg)
1	2.5	22	12.759	280.70
2	2.5	22	12.407	272.96
3	2.5	22	14.346	315.61
4	2.5	22	13.226	290.97
5	2.5	22	13.299	292.58
6	2.5	22	14.989	329.76
7	2.5	22	14.347	315.63
8	2.5	22	13.526	297.57
9	2.5	22	13.586	298.89
10	2.5	22	16.560	364.32
blank	2.5	10	0.000	0
		$\overline{X}$		305.899
		SD		26.69

จากตารางที่ 2

1. คำนวณหาค่า % Recovery จากสูตร

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

$$= \frac{305.899 \times 100}{321}$$

$$= 95.40\%$$

เกณฑ์การยอมรับ 90-107% แสดงว่า ผ่านเกณฑ์การยอมรับ

2. เปรียบเทียบค่าจากการวิเคราะห์กับค่าจริงโดยใช้ t-test

$$t = \frac{\overline{x} - \mu}{sd / \sqrt{n}}$$

เมื่อ $\overline{x}$ = ค่าเฉลี่ยผลวิเคราะห์ของชุดทดสอบ

μ = ค่าอ้างอิง

n = จำนวนซ้ำ

sd = standard deviation ของชุดทดสอบ

ดังนั้น $t = \dfrac{305.899 - 321}{26.69/\sqrt{10}}$

$= 1.75$

$t_{cri} = 2.26$ ที่ระดับความเชื่อมั่น 95 %

เพราะฉะนั้น $t_{cal} < t_{cri}$ แสดงว่า ผ่านเกณฑ์การยอมรับ

2.2 หาค่า Accuracy ของวิธีวิเคราะห์แคลเซียมในดิน ที่ระดับความเข้มข้นกลาง (2520-3120 mg/kg)

โดยใช้ CRM NCS DC 85101 นำมาวิเคราะห์ตามขั้นตอนการวิเคราะห์แคลเซียมในดิน พร้อมทั้งวิเคราะห์ reagent blank ให้ผลการวิเคราะห์ดังตารางที่ 3 แล้วนำมาคำนวณหา % Recovery และเปรียบเทียบค่าจากการวิเคราะห์กับค่าจริงโดยใช้ t-test

ตารางที่ 3 ผลการวิเคราะห์แคลเซียมในดิน ที่ระดับความเข้มข้นกลาง (2520-3120 mg/kg)

ซ้ำที่	น้ำหนักตัวอย่าง (กรัม)	Fraction	AA	Ca (mg/kg)
1	2.5	250	11.400	2850.100
2	2.5	250	10.930	2732.500
3	2.5	250	11.063	2765.800
4	2.5	250	11.320	2830.000
5	2.5	250	10.974	2743.500
6	2.5	250	10.548	2637.000
7	2.5	250	10.616	2654.000
8	2.5	250	10.944	2736.000
9	2.5	250	10.888	2722.000
10	2.5	250	10.736	2684.000
blank	2.5	10	0.000	0
		$\overline{X}$		2735.490
		SD		68.50

จากตารางที่ 3

คำนวณหาค่า % Recovery จากสูตร

$$\% \text{ Recovery} = \frac{2735.490 \times 100}{2820}$$

= 97.00 %

เกณฑ์การยอมรับ 95-105% แสดงว่า ผ่านเกณฑ์การยอมรับ

เปรียบเทียบค่าจากการวิเคราะห์กับค่าจริงโดยใช้ t-test

จากสูตร $t = \dfrac{2735.490 - 2820}{68.50/\sqrt{10}}$

$= 3.90$

$t_{cri} = 2.26$ ที่ระดับความเชื่อมั่น 95 %

เพราะฉะนั้น $t_{cal} > t_{cri}$ แสดงว่า ไม่ผ่านเกณฑ์การยอมรับ

2.3 หาค่า Accuracy ของวิธีวิเคราะห์แคลเซียมในดิน ที่ระดับความเข้มข้นสูง (4288.56-4729.44 mg/kg)

โดยใช้ CRM GBW 07458 นำมาวิเคราะห์ตามขั้นตอนการวิเคราะห์แคลเซียมในดิน พร้อมทั้งวิเคราะห์ reagent blank ให้ผลการวิเคราะห์ดังตารางที่ 4 แล้วนำมาคำนวณหา % Recovery และเปรียบเทียบค่าจากการวิเคราะห์กับค่าจริงโดยใช้ t-test

ตารางที่ 4 ผลการวิเคราะห์แคลเซียมในดิน ที่ระดับความเข้มข้นสูง (4288.56-4729.44 mg/kg)

ซ้ำที่	น้ำหนักตัวอย่าง (กรัม)	Fraction	AA	Ca (mg/kg)
1	2.5	250	12.935	3233.780
2	2.5	250	12.638	3159.420
3	2.5	250	14.078	3519.560
4	2.5	250	13.182	3295.380
5	2.5	250	13.912	3478.000
6	2.5	250	13.330	3332.500
7	2.5	250	17.126	4281.500
8	2.5	250	14.269	3567.236
9	2.5	250	13.361	3340.256
10	2.5	250	13.077	3269.145
blank	2.5	10	0.000	0
		$\overline{X}$		3447.678
		SD		320.48

จากตารางที่ 4

คำนวณหาค่า % Recovery จากสูตร

$$\% \text{ Recovery} = \frac{3447.678 \times 100}{4509}$$

$$= 76.46\ \%$$

เกณฑ์การยอมรับ 95-105% แสดงว่า ไม่ผ่านเกณฑ์การยอมรับ

เปรียบเทียบค่าจากการวิเคราะห์กับค่าจริงโดยใช้ t-test

จากสูตร $t = \frac{3447.678 - 4509}{320.48/\sqrt{10}}$

$= 10.72$

$t_{cri} = 2.26$ ที่ระดับความเชื่อมั่น 95 %

เพราะฉะนั้น $t_{cal} > t_{cri}$ แสดงว่า ไม่ผ่านเกณฑ์การยอมรับ

3. การหาค่า Precision ของวิธีวิเคราะห์แคลเซียมในดิน

นำข้อมูลผลการวิเคราะห์แคลเซียมในดินในข้อ 2.1-2.3 มาประเมินค่า Precision โดยใช้ Horwitz' ratio หรือ HORRAT ให้ผลดังนี้

3.1 หา Precision ของวิธีวิเคราะห์แคลเซียมในดิน ที่ระดับความเข้มข้นต่ำ (280.56-360.72 mg/kg)

ผลวิเคราะห์ดังตารางที่ 2

1. คำนวณ %RSD จาก

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

$$= \frac{26.69 \times 100}{305.899}$$

$$= 8.72$$

2. คำนวณ $\%RSD_{expected}$ จาก

Horwitz' equation $= 0.66 \times 2^{(1-0.5\log c)}$

$= 0.66 \times 2^{(1-0.5\log 0.000305)}$ เมื่อ $c = 305.899/10^6$

$= 4.46$

3. คำนวณค่า HORRAT จาก

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

$= 8.72/4.46$

$= 1.96$

เกณฑ์การยอมรับใช้ HORRAT (Horwitz' ratio)

- AOAC : HORRAT (Horwitz' ratio) < 2
- EU, Codex : HORRAT (Horwitz' ratio) ≤ 2

ดังนั้น แสดงว่า ผ่านเกณฑ์การยอมรับ

3.2 หา Precision ของวิธีวิเคราะห์แคลเซียมในดิน ที่ระดับความเข้มข้นกลาง (2520-3120 mg/kg)

ผลวิเคราะห์ดังตารางที่ 3

1. คำนวณ %RSD

$$\%RSD = \frac{68.50 \times 100}{2735.49}$$

$$= 2.50$$

2. คำนวณ $\%RSD_{expected}$ จาก

$$\text{Horwitz' equation} = 0.66 \times 2^{(1-0.5\log c)}$$

$$= 0.66 \times 2^{(1-0.5\log 0.002735)} \quad \text{เมื่อ } c = 2735.49/10^6$$

$$= 3.21$$

3. คำนวณค่า HORRAT จาก

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

$$= 2.50/3.21$$

$$= 0.78$$

เกณฑ์การยอมรับใช้ HORRAT (Horwitz' ratio)

- AOAC : HORRAT (Horwitz' ratio) < 2
- EU, Codex : HORRAT (Horwitz' ratio) ≤ 2

ดังนั้น แสดงว่า ผ่านเกณฑ์การยอมรับ

3.3 หา Precision ของวิธีวิเคราะห์แคลเซียมในดิน ที่ระดับความเข้มข้นสูง (4288.56-4729.44 mg/kg)

ผลวิเคราะห์ดังตารางที่ 4

1. คำนวณ %RSD

$$\%RSD = \frac{320.48 \times 100}{3447.68}$$

$$= 9.30$$

2. คำนวณ $\%RSD_{expected}$ จาก

Horwitz' equation $= 0.66 \times 2^{(1-0.5\log c)}$

$= 0.66 \times 2^{(1-0.5\log 0.003448)}$ เมื่อ c = $3447.67/10^6$

$= 3.10$

3. คำนวณค่า HORRAT จาก

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

$= 9.30/3.10$

$= 3.00$

เกณฑ์การยอมรับใช้ HORRAT (Horwitz' ratio)

- AOAC : HORRAT (Horwitz' ratio) < 2
- EU, Codex : HORRAT (Horwitz' ratio) ≤ 2

ดังนั้น แสดงว่า ไม่ผ่านเกณฑ์การยอมรับ

การวิเคราะห์แมกนีเซียม

1. การหา Limit of Detection (LOD) และ Limit of Quantitation (LOQ) ของวิธีวิเคราะห์แมกนีเซียมในดิน โดยวิเคราะห์ sample blank จำนวน 10 ซ้ำ คำนวณหาค่า $\overline{X}$ และ SD ของ Mg (mg/kg) ผลการวิเคราะห์ดังตารางที่ 8

ตารางที่ 5 ผลการวิเคราะห์ sample blank จำนวน 10 ซ้ำ เพื่อหาค่า LOD และ LOQ

ซ้ำที่	น้ำหนักของ sample blank (กรัม)	Fraction	AA	Mg (mg/kg)
1	2.5	10	0.472	5.192
2	2.5	10	0.482	5.302
3	2.5	10	0.281	3.091
4	2.5	10	0.335	3.685
5	2.5	10	0.339	3.729
6	2.5	10	0.377	4.147
7	2.5	10	0.414	4.554
8	2.5	10	0.323	3.553
9	2.5	10	0.359	3.949
10	2.5	10	0.336	3.696
		$\overline{X}$		4.090
		SD		0.719

จากข้อมูลตารางที่ 5 นำมาหาค่า LOD และ LOQ

ดังนั้น LOD = $\overline{X}$ + 3SD = 4.090 + 3(0.719) = 6.247

LOQ = $\overline{X}$ + 10SD = 4.090 + 10(0.719) = 11.280

สรุปได้ว่า MG (mg/kg) ต่ำสุดที่สามารถวัดได้ ที่ระดับความเชื่อมั่น 95% คือ 6.427 mg/kg และ MG (mg/kg) ที่สามารถนำมารายงานผลได้ต้องไม่ต่ำกว่า 11.280 mg/kg

2. การหาค่า Accuracy ของวิธีวิเคราะห์วิธีวิเคราะห์แมกนีเซียมในดิน

2.1 หาค่า Accuracy ของวิธีวิเคราะห์แมกนีเซียมในดิน ที่ระดับความเข้มข้นต่ำ (44.99-57.15 mg/kg)

โดยใช้ CRM GBW07416a นำมาวิเคราะห์ตามขั้นตอนการวิเคราะห์แมกนีเซียมในดิน พร้อมทั้งวิเคราะห์ reagent blank ให้ผลการวิเคราะห์ดังตารางที่ 9 แล้วนำมาคำนวณหา % Recovery และเปรียบเทียบค่าจากการวิเคราะห์กับค่าจริงโดยใช้ t-test

ตารางที่ 6 ผลการวิเคราะห์แมกนีเซียมในดิน ที่ระดับความเข้มข้นต่ำ (44.99-57.15 mg/kg)

ซ้ำที่	น้ำหนักตัวอย่าง (กรัม)	Fraction	AA	Mg(mg/kg)
1	2.5	10	4.493	49.423
2	2.5	10	4.296	47.256
3	2.5	10	4.077	44.847
4	2.5	10	4.419	48.609
5	2.5	10	4.196	46.156
6	2.5	10	5.014	55.154
7	2.5	10	4.869	53.559
8	2.5	10	4.756	52.316
9	2.5	10	4.667	51.337
10	2.5	10	4.865	53.515
blank	2.5	10	0.000	0
		$\overline{X}$		50.219
		SD		3.49

จากตารางที่ 6

1. คำนวณหาค่า % Recovery จากสูตร

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

$$= \frac{50.219 \times 100}{51.07}$$

$$= 98.33\%$$

เกณฑ์การยอมรับ 80-110% แสดงว่า ผ่านเกณฑ์การยอมรับ

2. เปรียบเทียบค่าจากการวิเคราะห์กับค่าจริงโดยใช้ t-test

$$t = \frac{\overline{x} - \mu}{sd / \sqrt{n}}$$

เมื่อ $\overline{x}$ = ค่าเฉลี่ยผลวิเคราะห์ของชุดทดสอบ

μ = ค่าอ้างอิง

n = จำนวนซ้ำ

	sd	=	standard deviation ของชุดทดสอบ
ดังนั้น	t	=	$\frac{50.219 - 51.07}{3.49/\sqrt{10}}$
		=	0.77
	t_{cri}	=	2.26 ที่ระดับความเชื่อมั่น 95 %
เพราะฉะนั้น	t_{cal}	<	t_{cri} แสดงว่า ผ่านเกณฑ์การยอมรับ

2.2 หาค่า Accuracy ของวิธีวิเคราะห์แมกนีเซียมในดิน ที่ระดับความเข้มข้นกลาง (399.2-452.8 mg/kg)

โดยใช้CRM NCS DC85101 นำมาวิเคราะห์ตามขั้นตอนการวิเคราะห์แมกนีเซียมในดิน พร้อมทั้งวิเคราะห์ reagent blank ให้ผลการวิเคราะห์ดังตารางที่ 10 แล้วนำมาคำนวณหา % Recovery และเปรียบเทียบค่าจากการวิเคราะห์กับค่าจริงโดยใช้ t-test

ตารางที่ 7 ผลการวิเคราะห์แมกนีเซียมในดิน ที่ระดับความเข้มข้นกลาง (399.2-452.8 mg/kg)

ซ้ำที่	น้ำหนักตัวอย่าง (กรัม)	Fraction	AA	Mg(mg/kg)
1	2.5	44	10.475	460.900
2	2.5	44	9.825	432.300
3	2.5	44	9.323	410.212
4	2.5	44	9.602	422.488
5	2.5	44	9.941	437.404
6	2.5	44	9.302	409.288
7	2.5	44	9.155	402.820
8	2.5	44	8.930	392.920
9	2.5	44	8.616	379.104
10	2.5	44	9.677	425.788
blank	2.5	10	0.000	0
		$\overline{X}$		417.322
		SD		23.58

จากตารางที่ 7

คำนวณหาค่า % Recovery จากสูตร

% Recovery = 417.322 x 100

$$\overline{424}$$

= 98.42 %

เกณฑ์การยอมรับ 90-107% แสดงว่า ผ่านเกณฑ์การยอมรับ

เปรียบเทียบค่าจากการวิเคราะห์กับค่าจริงโดยใช้ t-test

จากสูตร $t = \frac{417.322 - 424}{23.58/\sqrt{10}}$

$= 0.90$

$t_{cri} = 2.26$ ที่ระดับความเชื่อมั่น 95 %

เพราะฉะนั้น $t_{cal} > t_{cri}$ แสดงว่า ผ่านเกณฑ์การยอมรับ

2.3 หาค่า Accuracy ของวิธีวิเคราะห์แมกนีเซียมในดิน ที่ระดับความเข้มข้นสูง (531.44-581.84 mg/kg)

โดยใช้ CRM GBW 07458 นำมาวิเคราะห์ตามขั้นตอนการวิเคราะห์แมกนีเซียมในดิน พร้อมทั้งวิเคราะห์ reagent blank ให้ผลการวิเคราะห์ดังตารางที่ 11 แล้วนำมาคำนวณหา % Recovery และเปรียบเทียบค่าจากการวิเคราะห์กับค่าจริงโดยใช้ t-test

ตารางที่ 8 ผลการวิเคราะห์แมกนีเซียมในดิน ที่ระดับความเข้มข้นสูง (531.44-581.84 mg/kg)

ซ้ำที่	น้ำหนักตัวอย่าง (กรัม)	Fraction	AA	Mg (mg/kg)
1	2.5	44	12.693	558.470
2	2.5	44	13.091	576.015
3	2.5	44	13.451	591.855
4	2.5	44	12.983	571.230
5	2.5	44	12.581	553.575
6	2.5	44	12.619	555.225
7	2.5	44	15.468	680.570
8	2.5	44	12.755	561.230
9	2.5	44	13.401	589.652
10	2.5	44	12.554	552.369
blank	2.5	10	0.000	0
		$\overline{X}$		579.019
		SD		38.48

จากตารางที่ 8

คำนวณหาค่า % Recovery จากสูตร

$$\% \text{ Recovery} = \frac{579.019 \times 100}{556.64}$$

$$= 104.02\ \%$$

เกณฑ์การยอมรับ 90-107% แสดงว่า ผ่านเกณฑ์การยอมรับ

เปรียบเทียบค่าจากการวิเคราะห์กับค่าจริงโดยใช้ t-test

จากสูตร $$t = \frac{579.019 - 556.64}{38.48/\sqrt{10}}$$

$$= 1.84$$

t_{cri} = 2.26 ที่ระดับความเชื่อมั่น 95 %

เพราะฉะนั้น $t_{cal} > t_{cri}$ แสดงว่า ผ่านเกณฑ์การยอมรับ

3. การหาค่า Precision ของวิธีวิเคราะห์แมกนีเซียมในดิน

นำข้อมูลผลการวิเคราะห์แมกนีเซียมในดินในข้อ 2.1-2.3 มาประเมินค่า Precision โดยใช้ Horwitz' ratio หรือ HORRAT ให้ผลดังนี้

3.1 หา Precision ของวิธีวิเคราะห์แมกนีเซียมในดิน ที่ระดับความเข้มข้นต่ำ (44.99-57.15 mg/kg)

ผลวิเคราะห์ดังตารางที่ 8

1. คำนวณ %RSD จาก

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

$$= \frac{3.49 \times 100}{50.219}$$

$$= 6.94$$

2. คำนวณ $\%RSD_{expected}$ จาก

Horwitz' equation $= 0.66 \times 2^{(1-0.5\log c)}$

$= 0.66 \times 2^{(1-0.5\log 0.0000502)}$ เมื่อ $c = 50.219/10^6$

$= 4.46$

3. คำนวณค่า HORRAT จาก

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

$= 6.94/4.46$

$= 1.96$

เกณฑ์การยอมรับใช้ HORRAT (Horwitz' ratio)

- AOAC : HORRAT (Horwitz' ratio) < 2
- EU, Codex : HORRAT (Horwitz' ratio) ≤ 2

ดังนั้น แสดงว่า ผ่านเกณฑ์การยอมรับ

3.2 หา Precision ของวิธีวิเคราะห์แมกนีเซียมในดิน ที่ระดับความเข้มข้นกลาง (399.2-452.8 mg/kg)

ผลวิเคราะห์ดังตารางที่ 10

1. คำนวณ %RSD

$$\%RSD = \frac{23.59 \times 100}{417.32}$$

$$= 5.65$$

2. คำนวณ $\%RSD_{expected}$ จาก

Horwitz' equation $= 0.66 \times 2^{(1-0.5\log c)}$

$= 0.66 \times 2^{(1-0.5\log 0.000417)}$ เมื่อ c = $417.32/10^6$

$= 4.26$

3. คำนวณค่า HORRAT จาก

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

$= 5.65/4.26$

$= 1.33$

เกณฑ์การยอมรับใช้ HORRAT (Horwitz' ratio)

- AOAC : HORRAT (Horwitz' ratio) < 2
- EU, Codex : HORRAT (Horwitz' ratio) ≤ 2

ดังนั้น แสดงว่า ผ่านเกณฑ์การยอมรับ

3.3 หา Precision ของวิธีวิเคราะห์แมกนีเซียมในดิน ที่ระดับความเข้มข้นสูง (531.44-581-84 mg/kg)

ผลวิเคราะห์ดังตารางที่ 11

1. คำนวณ %RSD

$$\%RSD = \frac{38.47 \times 100}{579.019}$$

$= 6.64$

2. คำนวณ $\%RSD_{expected}$ จาก

Horwitz' equation $= 0.66 \times 2^{(1-0.5\log c)}$

$= 0.66 \times 2^{(1-0.5\log 0.000579)}$ เมื่อ c = $579.019/10^6$

$= 4.05$

3. คำนวณค่า HORRAT จาก

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

$= 6.64/4.05$

$= 1.64$

เกณฑ์การยอมรับใช้ HORRAT (Horwitz' ratio)

- AOAC : HORRAT (Horwitz' ratio) < 2
- EU, Codex : HORRAT (Horwitz' ratio) ≤ 2

ดังนั้น แสดงว่า ผ่านเกณฑ์การยอมรับ

9. สรุปผลการวิเคราะห์ และคำแนะนำ

การตรวจสอบความใช้ได้ของวิธีวิเคราะห์แคลเซียม แมกนีเซียม และโพแทชเซียมของดิน เป็นวิธีที่ห้องปฏิบัติการดิน กลุ่มพัฒนาการตรวจสอบพืชและปัจจัยการผลิต ใช้วิธีตามคู่มือวิเคราะห์ดินทางเคมีและ

ฟิสิกส์ ของกลุ่มวิจัยเกษตรเคมี สำนักวิจัยพัฒนาปัจจัยการผลิตทางการเกษตร กรมวิชาการเกษตร โดยวิเคราะห์ CRM/SRM แล้วนำมาประเมินหาปริมาณต่ำสุดที่สามารถวัดได้ (LOD/ LOQ) หาความแม่น (Accuracy) และความเที่ยง (Precision) ได้ดังนี้

การวิเคราะห์แคลเซียม

1. การหาความแม่น Accuracy ของวิธีวิเคราะห์แคลเซียมในดิน

ระดับความเข้มข้น	% Recovery	เกณฑ์การยอมรับ	ผลการประเมิน	T-test	เกณฑ์การยอมรับที่ 95%	ผลการประเมิน
1. ต่ำ (280.56-360.72 mg/kg)	95.40	90-107 %	ผ่าน	1.75	$t_{cal} < t_{cri}$ $t_{cri} = 2.26$	ผ่าน
2. กลาง (2520-3120 mg/kg)	97.00	95-105 %	ผ่าน	3.90	$t_{cal} < t_{cri}$ $t_{cri} = 2.26$	ไม่ผ่าน
3. สูง (4288.56-4729.44 mg/kg)	76.46	95-105 %	ไม่ผ่าน	10.72	$t_{cal} < t_{cri}$ $t_{cri} = 2.26$	ไม่ผ่าน

จากการประเมินความถูกต้อง พบว่า % Recovery ของความเข้มข้นต่ำ และกลางอยู่ในเกณฑ์ยอมรับ ส่วนความเข้มข้นสูงไม่อยู่ในเกณฑ์ยอมรับ และเมื่อนำไปหาความแตกต่างระหว่างค่าที่วิเคราะห์ได้กับค่าจริง โดย T-test พบว่า ที่ความเข้มข้นต่ำไม่มีความแตกต่าง ที่ความเข้มข้นกลางและสูงค่าที่วิเคราะห์มีความแตกต่างกับค่าจริง แสดงว่าวิธีนี้มีความแม่นที่สามารถยอมรับได้ที่ความเข้มข้นต่ำ (280.56-360.72 mg/kg) แต่ที่ความเข้มข้นกลางและสูงมีความแม่นที่ไม่สามารถยอมรับได้

2. การหาความเที่ยง (Precision) ของวิธีวิเคราะห์แคลเซียมในดิน

ระดับความเข้มข้น	Precision				
	%RSD	%RSD expected	HORRAT	เกณฑ์การยอมรับ	ผลการประเมิน
1. ต่ำ (280.56-360.72 mg/kg)	8.72	4.46	1.96	< 2 หรือ ≤2	ผ่าน
2. กลาง (2520-3120 mg/kg)	2.50	3.21	0.78	< 2 หรือ ≤2	ผ่าน
3. สูง (4288.56-4729.44 mg/kg)	9.30	3.10	3.00	< 2 หรือ ≤2	ไม่ผ่าน

จากการประเมินความเที่ยงของวิธีวิเคราะห์ที่ความเข้มข้นต่ำและกลาง ค่า HORRAT อยู่ในเกณฑ์ยอมรับ ส่วนความเข้มข้นสูง ค่า HORRAT เกินเกณฑ์ที่กำหนด (AOAC : HORRAT (Horwitz’s ratio) < 2 หรือ EU, CODEX : HORRAT (Horwitz’s ratio ≤ 2)) แสดงว่าวิธีนี้มีความเที่ยงที่สามารถยอมรับได้ที่ความเข้มข้นต่ำและกลาง ส่วนความเข้มข้นสูงไม่สามารถยอมรับได้

3. ปริมาณต่ำสุดที่สามารถวัดได้ (LOD) เท่ากับ 9.397 mg/kg และปริมาณต่ำสุดที่สามารถวิเคราะห์และ

รายงานผลได้ (LOQ) เท่ากับ 13.968 mg/kg

การวิเคราะห์แมกนีเซียม

1. การหาความแม่น Accuracy ของวิธีวิเคราะห์แมกนีเซียมในดิน

ระดับความเข้มข้น	% Recovery	เกณฑ์การยอมรับ	ผลการประเมิน	T-test	เกณฑ์การยอมรับที่ 95%	ผลการประเมิน
1. ต่ำ (44.99-57.15 mg/kg)	98.33	80-110 %	ผ่าน	0.77	$t_{cal} < t_{cri}$ t_{cri} = 2.26	ผ่าน
2. กลาง (399.2-452.8 mg/kg)	98.42	90-107 %	ผ่าน	0.90	$t_{cal} < t_{cri}$ t_{cri} = 2.26	ผ่าน
3. สูง (531.44-581.84 mg/kg)	104.42	90-107 %	ผ่าน	1.84	$t_{cal} < t_{cri}$ t_{cri} = 2.26	ผ่าน

จากการประเมินความถูกต้อง พบว่า % Recovery อยู่ในเกณฑ์ยอมรับทุกระดับความเข้มข้น และเมื่อนำไปหาความแตกต่างระหว่างค่าที่วิเคราะห์ได้กับค่าจริง โดย T-test พบว่าทุกระดับความเข้มข้นค่าที่ได้ไม่มีความแตกต่างกัน แสดงว่าวิธีนี้มีความแม่นสามารถยอมรับได้ทุกระดับความเข้มข้น

2. การหาความเที่ยง (Precision) ของวิธีวิเคราะห์แมกนีเซียมในดิน

ระดับความเข้มข้น	Precision				
	%RSD	%RSD expected	HORRAT	เกณฑ์การยอมรับ	ผลการประเมิน
1. ต่ำ (44.99-57.15 mg/kg)	6.94	4.46	1.96	< 2 หรือ ≤2	ผ่าน
2. กลาง (399.2-452.8 mg/kg)	5.65	4.26	1.33	< 2 หรือ ≤2	ผ่าน
3. สูง (531.44-581.84 mg/kg)	6.64	4.05	1.64	< 2 หรือ ≤2	ผ่าน

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

3. ปริมาณต่ำสุดที่สามารถวัดได้ (LOD) เท่ากับ 6.247 mg/kg และปริมาณต่ำสุดที่สามารถวิเคราะห์และรายงานผลได้ (LOQ) เท่ากับ 11.280 mg/kg

10. การนำผลงานวิจัยไปใช้ประโยชน์

การวิเคราะห์แคลเซียม แมกนีเซียม และโพแทสเซียมในดิน ได้รับการตรวจสอบความใช้ได้แล้วว่าเป็นวิธีมาตรฐาน เป็นวิธีที่มีความถูกต้อง เหมาะสมที่จะนำมาใช้และครอบคลุมความต้องการในการนำมาใช้ในการวิเคราะห์ดิน และสามารถรายงานผลการวิเคราะห์ได้อย่างถูกต้อง แม่นยำ และเชื่อถือได้ กลุ่มเป้าหมายคือห้องปฏิบัติการวิเคราะห์ดิน และผู้รับบริการวิเคราะห์แคลเซียม และแมกนีเซียม ในดิน

11. คำขอบคุณ

ขอขอบคุณคณะทำงานกลุ่มงานวิจัยพัฒนาระบบตรวจสอบคุณภาพดินและน้ำทุกท่านที่ให้ความร่วมมือในการปฏิบัติงานและร่วมกันแก้ไขปัญหาต่าง ๆ ในการทำวิจัย ให้สำเร็จลุล่วงไปได้ด้วยดี

12. เอกสารอ้างอิง

กลุ่มวิจัยเกษตรเคมี. 2553. คู่มือวิเคราะห์ดินทางเคมีและฟิสิกส์. สำนักวิจัยพัฒนาปัจจัยการผลิตทางการเกษตร.กรมวิชาการเกษตร. กรุงเทพฯ.

จิตรา ชัยวิมล. 2549. การตรวจสอบความใช้ได้ของวิธีทดสอบทางเคมี. สถาบันวิจัยวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยีแห่งประเทศไทย. กรุงเทพฯ. 34 หน้า

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