

พัฒนาและตรวจสอบความใช้ได้ของวิธีวิเคราะห์โบรอนในปุ๋ยเคมี  
ด้วยเทคนิคอินดักทีฟพลาสมาสเปกโตรเมทรี

Develop and Validate the Boron Analysis Method in Chemical Fertilizers  
with Inductively Coupled Plasma Spectrometry Technique

อาธิยา ปุ่นประโคน  
Arthiya Punprakhon

จรียา วงศ์ตรี  
Jariya Wongtree

วรรณรัตน์ ชูติบุตร  
Wannarut Chutibut

กลุ่มวิจัยเกษตรเคมี

กองวิจัยพัฒนาปัจจัยการผลิตทางการเกษตร

ABSTRACT

Development of Boron Analysis Techniques in Chemical Fertilizers in order to obtain accurate, fast, accurate analytical techniques, can refer to international standards. Make it acceptable to the laboratory Verification of the validity of the analysis method was obtained, the correlation coefficient (r) indicating the linearity, the Linearity range and the working range passed the specified criteria. Limit of Detection (LOD) was 0.002%Boron and limit of Quantity (LOQ) 0.004 %Boron to proof trueness and Precision of LOQ as 100.0 %Recovery and HorRat as 0.33 acceptance criteria. Metrix effect test comparing the slope of the curve between Standard Boron and spike standard Boron in the sample blank by the curve. When calculating the slope of both curves. There was a difference of 3.92%, indicating that the slope difference was not more than 10%, so there was no Metrix effect on the standard curve. Certified Reference Material (CRM) analysis in chemical fertilizers at low, medium and high concentrations were used to assess the accuracy from 3 methods, %Recovery were 100.0, 99.62 and 100.77% HorRat were 0.33, 0.34 and 0.24 The results of analysis showed that the acceptance criteria. (%Recovery in the concentration range 80- 110% 98- 102% and HorRat  $\leq 1.3$ ). When studying ruggedness using Youden-Steiner testing. It was found that the boron analysis was not affected by changes in the environment. When calculating the cost of analysis. with ICP-OES and Spectrophotometer was calculated. It was also found that the ICP-OES analytical method was cheaper and a large number of samples can be analyzed samples per day more than Spectrophotometer. Method for analyzing boron in fertilizers using inductively coupled plasma spectrometry. can be properly used in the laboratory It was also found that the ICP-OES analytical method was able to analyze a large number of samples per day. no wasted chemicals making it more convenient and quick to analyze. Boron by inductive coupled plasma spectrometry technique can be used in the laboratory with accuracy and precision.

**Keyword:** method validation Boron inductively coupled plasma optical emission spectrometry

## บทคัดย่อ

การพัฒนาเทคนิคการวิเคราะห์โบรอนในปุ๋ยเคมี เพื่อให้ได้เทคนิควิธีการวิเคราะห์ที่ถูกต้อง รวดเร็ว แม่นยำ สามารถอ้างอิงได้ตามมาตรฐานสากล ทำให้เป็นที่ยอมรับห้องปฏิบัติการ ทำการตรวจสอบความใช้ได้ของวิธีวิเคราะห์ ได้ค่า correlation coefficient (r) ที่แสดงความเป็นเส้นตรง Linearity range และ Working range ผ่านเกณฑ์กำหนด มีปริมาณที่ต่ำสุดที่สามารถวัดได้ (LOD) เท่ากับ 0.002%B และปริมาณต่ำสุดที่สามารถวิเคราะห์และรายงานผลได้ (LOQ) เท่ากับ 0.004 %B ดำเนินการพิสูจน์ความถูกต้อง(trueness) และ ความเที่ยง (Precision) ของ LOQ ได้ %Recovery เท่ากับ 100.0 ได้ HorRat เท่ากับ 0.33 การทดสอบผ่านเกณฑ์ยอมรับ Metrix effect โดยเปรียบเทียบ ความชันของกราฟ ระหว่าง Std B spike standard B ลงใน Sample blank โดยกราฟ เมื่อคำนวณความชันของกราฟ ทั้งสอง มีความแตกต่างกัน เท่ากับ 3.92 % แสดงว่ามีความชันต่างกันไม่เกิน 10 % จึงไม่มี Metrix effect ต่อ standard curve วิเคราะห์ Certified Reference Material (CRM) ในปุ๋ยเคมี ที่ระดับความเข้มข้นต่ำ กลาง และ สูง นำมา ประเมินความถูกต้องจาก 3 วิธีคือ หาค่า %Recovery ได้เท่ากับ 100.0 99.62 และ 100.77% ตามลำดับ หาค่า HorRat ได้เท่ากับ 0.33 0.34 และ 0.24 ตามลำดับ ผ่านเกณฑ์ยอมรับ (%recovery อยู่ในช่วง 80-110% 98-102% และ HorRat  $\leq$  1.3) ทุกช่วงความเข้มข้น จากการศึกษาผลกระทบจากการเปลี่ยนแปลงสภาวะแวดล้อม Ruggedness จำนวน 7 ตัว แปร 8 การทดลอง โดยใช้ Youden-Steiner testing พบว่า การทดลองโบรอนไม่มีผลกระทบจากการเปลี่ยนแปลง สภาวะแวดล้อมของการทดสอบ วิธีวิเคราะห์ที่มีความคงทนต่อการเปลี่ยนแปลงสภาวะแวดล้อมที่เปลี่ยนแปลงไปเล็กน้อย เมื่อคำนวณต้นทุนการวิเคราะห์ด้วยเครื่อง ICP-OES และเครื่อง Spectrophotometer พบว่า การวิเคราะห์ด้วยเครื่อง Spectrophotometer มีค่าใช้จ่ายต้นทุนการวิเคราะห์มากกว่าการวิเคราะห์ด้วยเครื่อง ICP-OES ด้านระยะเวลา การวิเคราะห์ด้วยเครื่อง Spectrophotometer สามารถวิเคราะห์จำนวนตัวอย่างต่อวันได้น้อยกว่าการวิเคราะห์ด้วย เครื่อง ICP-OES วิธีวิเคราะห์โบรอนในปุ๋ยโดยใช้เทคนิคอินดักทีฟฟลิคซ์เพิลพลาสมาสเปคโตรเมทรี สามารถนำมาใช้ใน ห้องปฏิบัติการได้อย่างถูกต้อง และแม่นยำและยังพบว่าวิธีวิเคราะห์ด้วยเครื่อง ICP-OES สามารถวิเคราะห์ตัวอย่างได้ จำนวนมากต่อวัน ไม่สิ้นเปลืองสารเคมี ทำให้มีความสะดวกรวดเร็วในการวิเคราะห์ โบรอนโดยใช้เทคนิคอินดักทีฟ ฟลิคซ์เพิลพลาสมาสเปคโตรเมทรี สามารถนำมาใช้ในห้องปฏิบัติการได้อย่างถูกต้อง และแม่นยำ

**คำหลัก:** การตรวจสอบความใช้ได้ของวิธี โบรอน อินดักทีฟฟลิคซ์เพิลพลาสมาสเปคโตรเมทรี

## คำนำ

โบรอน (Boron: B) จัดเป็นจุลธาตุอาหารพืชที่สำคัญอีกธาตุหนึ่ง และที่เรียกว่าจุลธาตุอาหารนั้น เนื่องจาก ปริมาณที่พืชต้องการน้อยมาก แต่ก็มีความสำคัญต่อพืชไม่ยิ่งหย่อนไปกว่ากลุ่มธาตุอาหารพืชอื่นๆ เพราะถ้าหากมีไม่พอกับ ความต้องการของพืชแล้ว พืชย่อมเจริญเติบโตและให้ผลผลิตน้อยลง และพืชอาจตายก่อนที่จะผลิตดอกออกผลก็ได้หากขาด แคลนอย่างรุนแรง (คณาจารย์ภาควิชาปฐพีวิทยา, 2548) วิธีวิเคราะห์โบรอนในปุ๋ยเคมีด้วยเทคนิคอินดักทีฟฟลิคซ์เพิล พลาสมาสเปคโตรเมทรีของห้องปฏิบัติการจำเป็นต้องมีวิธีวิเคราะห์ที่มีมาตรฐาน โดยเลือกใช้วิธีวิเคราะห์ที่เหมาะสมกับ เครื่องมือ อุปกรณ์ และสารเคมีที่มีอยู่ จะช่วยเพิ่มประสิทธิภาพในการปฏิบัติงาน ซึ่งการตรวจสอบความใช้ได้ของวิธีอย่าง ถูกต้องตามหลักวิชาการที่เป็นมาตรฐานสากล เป็นการยืนยันถึงวิธีวิเคราะห์ที่นำมาใช้ในการทดสอบว่ามีความถูกต้อง แม่นยำ น่าเชื่อถือ สอบกลับได้ (ทิพวรรณ, 2549) และสอดคล้องกับข้อกำหนดของ ISO/IEC 17025: 2017 และจัดทำ เป็นวิธีวิเคราะห์มาตรฐาน (Standard Operation Procedure) ทำให้เกิดความเชื่อมั่นในผลการวิเคราะห์ และเป็นที่ยอมรับตามมาตรฐานสากล เป็นผลดีต่อเกษตรกร ที่ได้ใช้สินค้าที่มีคุณภาพ เนื่องจากกรมวิชาการเกษตรเป็นผู้รับผิดชอบหลักด้านปัจจัยการผลิตต่างๆ เช่น ดิน น้ำ ปุ๋ย พืช จำเป็นที่จะต้องพัฒนาห้องปฏิบัติการในด้านต่างๆ เช่น เทคนิควิธีการวิเคราะห์ ระบบการควบคุมคุณภาพ ระบบการให้บริการ ให้มีประสิทธิภาพ รวดเร็ว เข้าถึงเกษตรกร และเป็นมิตรต่อสิ่งแวดล้อม รวมทั้งสร้างความเชื่อมั่นในด้านความถูกต้องของข้อมูลผลการวิเคราะห์ให้แก่เกษตรกร ผู้ประกอบการด้านปัจจัยการผลิต และประชาชนทั่วไปเพื่อใช้ประกอบการพิจารณาด้านการปรับปรุงคุณภาพและ เพิ่มผลผลิตพืช เพื่อให้ผลวิเคราะห์เป็นที่น่าเชื่อถือของผู้ขอรับบริการ และยกระดับมาตรฐานของห้องปฏิบัติการวิเคราะห์

ให้มีมาตรฐานเดียวกันและเทียบเท่าสากล ผู้วิจัยจึงจำเป็นต้องดำเนินการพัฒนาและตรวจสอบความใช้ได้ของวิธีวิเคราะห์โบรอนในปุ๋ยเคมีด้วยเทคนิคอินดักทีฟเปลวพลาสมาสเปกโตรเมทรี เพื่อพิสูจน์ว่าวิธีนี้มีความเหมาะสมกับการใช้งานตามวัตถุประสงค์

## วิธีดำเนินการ

### อุปกรณ์

สารเคมี

- 1) สารละลายมาตรฐานโบรอน ความเข้มข้น 1000 ppm
- 2) วัสดุอ้างอิงรับรอง Borate Ore (SRM1835)
- 3) วัสดุอ้างอิงรับรอง Boric Acid (SRM 973)
- 4) Hydrochloric acid 36 - 38% (HCl), AR grade
- 5) ก๊าซอาร์กอน ชนิดบริสุทธิ์มากกว่าหรือเท่ากับ 99.995%
- 6) ก๊าซไนโตรเจน ชนิดบริสุทธิ์มากกว่าหรือเท่ากับ 99.999%

วัสดุอุปกรณ์

- 1) Inductively Coupled Plasma Optical Emission Spectrometer (ICP-OES)
- 2) เครื่องเขย่า
- 3) เครื่องชั่งไฟฟ้า ทศนิยม 4 ตำแหน่ง
- 4) เครื่องแก้ว และวัสดุอื่นที่ใช้ในการปฏิบัติการวิเคราะห์

### วิธีการ

1. เตรียมวัสดุอ้างอิงรับรอง (Certified Reference Material; CRM) ที่มีค่ารับรอง (Certified Value) และค่าความไม่แน่นอน (Uncertainty) ระดับความเข้มข้นสูง กลาง ต่ำ สำหรับทดสอบหาปริมาณโบรอน ได้แก่

- 1.1 Borate Ore (SRM1835) 5.83 %B
- 1.2 Boric Acid (SRM 973) 17.48 %B

2. หาสถานะของเครื่อง ICP ที่เหมาะสม ได้แก่ wavelength, plasma, view, plasma flow, auxiliary flow, nebulizer flow, RF-power, Pump flow และ Uptake

3. ทดสอบหาปริมาณโบรอน ตามวิธีประกาศกระทรวงเกษตรและสหกรณ์ เรื่องกำหนดกรรมวิธีวิเคราะห์ปุ๋ยเคมี พ.ศ. 2559 วิธี 1.21.01 โบรอน INDUCTIVELY COUPLED PLASMA EMISSION SPECTROSCOPIC METHOD (ราชกิจจานุเบกษา, 2560)

- 3.1 เตรียมสารละลายมาตรฐาน โบรอน 7 ความเข้มข้น ใส่ volumetric flask 100 มิลลิลิตร เติมกรดไฮโดรคลอริก (HCl) เจือจาง 10 มล.
- 3.2 ชั่งตัวอย่าง 0.3xxx - 1.0xxx กรัม โดย ใส่ volumetric flask 100 มิลลิลิตร สำหรับตัวอย่างที่ความเข้มข้นน้อยกว่า 0.1 %Boron และ volumetric flask 250 มิลลิลิตร สำหรับตัวอย่างที่ความเข้มข้นมากกว่า 0.1 %Boron เติมกรดไฮโดรคลอริก (HCl) เจือจาง 10 มล. และ 25 มล. ตามลำดับ
- 3.3 เขย่าด้วยเครื่องเขย่าเป็นเวลา 15 นาที ปรับปริมาตรด้วยน้ำกลั่น เขย่าให้เข้ากัน กรองด้วยกระดาษกรองเบอร์ 1
- 3.4 นำไปวัดโดยใช้เครื่อง ICP-OES

4. ตรวจสอบความใช้ได้ของวิธีทดสอบ โบรอน ตามขั้นตอน
  - 4.1 การหาช่วงการใช้งานและความเป็นเส้นตรง (Working and linear range ) (Eurachem, 2014) โดยการชั่งตัวอย่างปุยที่ไม่มีธาตุที่สนใจ น้ำหนัก 1.xxxx กรัม เป็น sample blank และเติมสารละลายมาตรฐานโบรอน 7 ความเข้มข้น ใส่ volumetric flask 100 มิลลิลิตร เติมกรดไฮโดรคลอริก (HCl) เจือจาง 10 มล.
  - 4.2 เขย่าด้วยเครื่องเขย่าเป็นเวลา 15 นาที ปรับปริมาตรด้วยน้ำกลั่น เขย่าให้เข้ากัน กรองด้วยกระดาษกรองเบอร์ 1
  - 4.3 นำไปวัดโดยใช้เครื่อง ICP-OES
  - 4.4 สร้างกราฟระหว่างความเข้มข้นของสารละลายที่เตรียม กับสัญญาณเครื่องมือ
5. การหาค่าขีดจำกัดในการตรวจพบ (Limit of Detection; LOD) และขีดจำกัดในการวัดเชิงปริมาณ (Limit of Quantitation; LOQ)
  - 5.1 ชั่งตัวอย่างที่ไม่มีธาตุที่สนใจ น้ำหนัก 1.xxxx กรัม ใส่ volumetric flask 100 มิลลิลิตร (โดยทำการวิเคราะห์ 10 ซ้ำ)
  - 5.2 เติมกรดไฮโดรคลอริก (HCl) เจือจาง 10 มล.
  - 5.3 เขย่าด้วยเครื่องเขย่าเป็นเวลา 15 นาที ปรับปริมาตรด้วยน้ำกลั่น เขย่าให้เข้ากัน กรองด้วยกระดาษกรองเบอร์ 1
  - 5.4 นำไปวัดโดยใช้เครื่อง ICP-OES
  - 5.5 คำนวณค่า LOD และ LOQ ตามสูตร
 
$$\text{LOD} = 3\text{SD}$$

$$\text{LOQ} = 10\text{SD}$$
6. การพิสูจน์ค่าความเที่ยงและความถูกต้องที่ระดับความเข้มข้น LOQ
  - 6.1 ชั่งวัสดุอ้างอิงรับรอง ความเข้มข้นใกล้เคียงกับ LOQ น้ำหนัก 1.xxxx กรัม ใส่ volumetric flask 100 มิลลิลิตร (โดยทำการวิเคราะห์ 10 ซ้ำ)
  - 6.2 ดำเนินการเช่นเดียวกับ 5.2 – 5.4 (โดยทำการวิเคราะห์ที่เวลาแตกต่างกัน วันละ 1 ซ้ำ เป็นเวลา 10 วัน)
  - 6.3 ชั่งตัวอย่างปุยที่ไม่มีธาตุที่สนใจ น้ำหนัก 1.xxxx กรัมเติมวัสดุอ้างอิงรับรองในแต่ละซ้ำ ความเข้มข้นใกล้เคียงกับ LOQ น้ำหนัก 0.3xxx กรัม
  - 6.4 ดำเนินการเช่นเดียวกับ 5.2 – 5.4 (โดยทำการวิเคราะห์ที่เวลาแตกต่างกัน วันละ 1 ซ้ำ เป็นเวลา 10 วัน)
  - 6.5 บันทึกผลข้อมูล แล้วเปรียบเทียบค่าที่วิเคราะห์ได้ กับค่าความเข้มข้นที่ทราบค่าโดยพิจารณาค่าเปอร์เซ็นต์คืนกลับ (%recovery) และค่า HorRat

การคำนวณ % Recovery จากสูตร

$$\% \text{Recovery} = \frac{\text{ค่าที่ได้จากการวิเคราะห์}}{\text{ค่าจริง}} \times 100$$

การคำนวณ Precision

$$\text{HorRat (Horwitz ' Ratio)} = \frac{\text{RSD}(r)}{\text{PRSD}(R)}$$

RSD(r) และ PRSD(R) คำนวณจากสูตรดังนี้

$$\text{RSD}(r) = \frac{\text{SD}}{\text{mean}} \times 100$$

$$\text{PRSD}(R) = 2C^{-0.15} \left( C = \frac{\text{mean}}{100} \right)$$

โดยที่

RSD(r)	หมายถึง ค่าเบี่ยงเบนมาตรฐานจากการทดสอบซ้ำภายในห้องปฏิบัติการ
PRSD(R)	หมายถึง ค่าเบี่ยงเบนมาตรฐานจากการทดสอบซ้ำระหว่างห้องปฏิบัติการ
	คำนวณ จากสูตรของ Horwitz equation
SD	หมายถึง ค่าเบี่ยงเบนมาตรฐานจากการทดสอบซ้ำ
mean	หมายถึง ค่าเฉลี่ยจากการทดสอบซ้ำ
C	หมายถึง เศษส่วนมวล

เกณฑ์การยอมรับ AOAC (2016) :  $\text{HorRat} \leq 1.3$

7. หาค่าความถูกต้องและความเที่ยงที่ระดับความเข้มข้น ต่ำ กลาง สูง (Trueness and precision) (Eurachem, 2014)
  - 7.1 ชั่งตัวอย่างปฏิกิริยาที่ไม่มีธาตุที่สนใจ เติมวัสดุอ้างอิงรับรองในแต่ละซ้ำ ที่ความเข้มข้นต่ำ กลาง สูง น้ำหนัก 0.3xxx กรัม จำนวน 10 ซ้ำ
    - 7.2 ดำเนินการเช่นเดียวกับ 3.2 – 3.4 (โดยทำการวิเคราะห์ที่เวลาแตกต่างกัน วันละ 1 ซ้ำ เป็นเวลา 10 วัน)
  8. ศึกษาผลกระทบจากการเปลี่ยนแปลงสถานะและสิ่งแวดล้อม ของวิธีการทดสอบโบรอนโดยใช้เครื่อง ICP-OES ด้วยการทดสอบ Ruggedness โดยมี 7 ตัวแปร จำนวน 8 การทดลอง การทดลองละ 4 ซ้ำ โดยใช้ Youden-Steiner testing (สถาบันมาตรวิทยาแห่งชาติ, 2564)
    - 8.1 สถานะการทดสอบปกติที่เขย่าตัวอย่างทันที กับสถานะที่เปลี่ยนแปลงตั้งทิ้งไว้ก่อนเขย่า 15 นาที
    - 8.2 สถานะการทดสอบปกติที่ความเร็วรอบในการเขย่า 200 rpm กับสถานะที่เปลี่ยนแปลงความเร็วรอบในการเขย่า 180 rpm
    - 8.3 สถานะการทดสอบปกติที่ระยะเวลาในการเขย่า 15 นาที กับสถานะที่เปลี่ยนแปลงระยะเวลาในการเขย่า 20 นาที
    - 8.4 สถานะการทดสอบปกติที่ใช้กระดาษกรองเบอร์ 1 กับสถานะที่เปลี่ยนแปลงที่ใช้กระดาษกรองเบอร์ 5
    - 8.5 สถานะการทดสอบปกติที่ใช้กรวยกรองพลาสติก กับสถานะที่เปลี่ยนแปลงใช้กรวยกรองแก้ว
    - 8.6 สถานะการทดสอบปกติที่กรองตัวอย่างทันที กับสถานะที่เปลี่ยนแปลงตั้งทิ้งไว้ 5 นาที ก่อนกรองตัวอย่าง
    - 8.7 สถานะการทดสอบปกติของการวัดที่ใช้เวลา up take ตัวอย่าง 25 วินาที กับสถานะที่เปลี่ยนแปลงใช้เวลา up take ตัวอย่าง 20 วินาที
    - 8.8 ชั่งสารมาตรฐานอ้างอิงรับรอง ค่าต่ำ น้ำหนัก 1.xxxx กรัม ค่ากลาง และสูง น้ำหนัก 0.3xxx กรัม ดำเนินการเช่นเดียวกับ 3.2 – 3.4
    - 8.9 คำนวณผลกระทบของตัวแปร (E) ของแต่ละตัวแปร 7 ตัวแปร จาก 8 การทดลอง (Eftichia and Victoria, 2014)
    - 8.10 พิจารณาค่า  $|E|$  ของแต่ละตัวแปร 7 ตัวแปร โดยถ้า
$$|E| > S \text{ แสดงว่า มีผลกระทบจากการเปลี่ยนแปลงสถานะแวดล้อมของการทดสอบ (David, 2009)}$$
โดย 
$$S = \sqrt{\frac{2}{7} * \Sigma(E^2)}$$
9. สรุปและรายงานผลการทดลอง พร้อมวิเคราะห์ความคุ้มค่า โดยเปรียบเทียบต้นทุนการวิเคราะห์ ระยะเวลาการวิเคราะห์ ขั้นตอนการวิเคราะห์ที่เปลี่ยนแปลง และความแม่นยำของวิธีวิเคราะห์
10. สรุปและรายงานผล

**ระยะเวลา** 1 ตุลาคม 2562 - 30 กันยายน 2564

**สถานที่ทำการทดลอง** กลุ่มวิจัยเกษตรเคมี กองวิจัยพัฒนาปัจจัยการผลิตทางการเกษตร กรมวิชาการเกษตร

## ผลการทดลองและวิจารณ์

1. สภาวะของเครื่อง ICP ที่เหมาะสมสำหรับการวิเคราะห์ Boron ในปุ๋ยเคมี ใช้ค่า wavelength ที่ 249.772 นาโนเมตร plasma view ใช้มุมมอง radial ส่วน plasma flow, auxiliary flow, nebulizer flow, RF-power, Pump Flow และ Uptake ใช้ที่ 16 ลิตรต่อนาที, 0.8 ลิตรต่อนาที, 1.2 ลิตรต่อนาที, 1.200 กิโลวัตต์, 25 RPM, และ 25 วินาทีตามลำดับ ดังตารางที่ 1

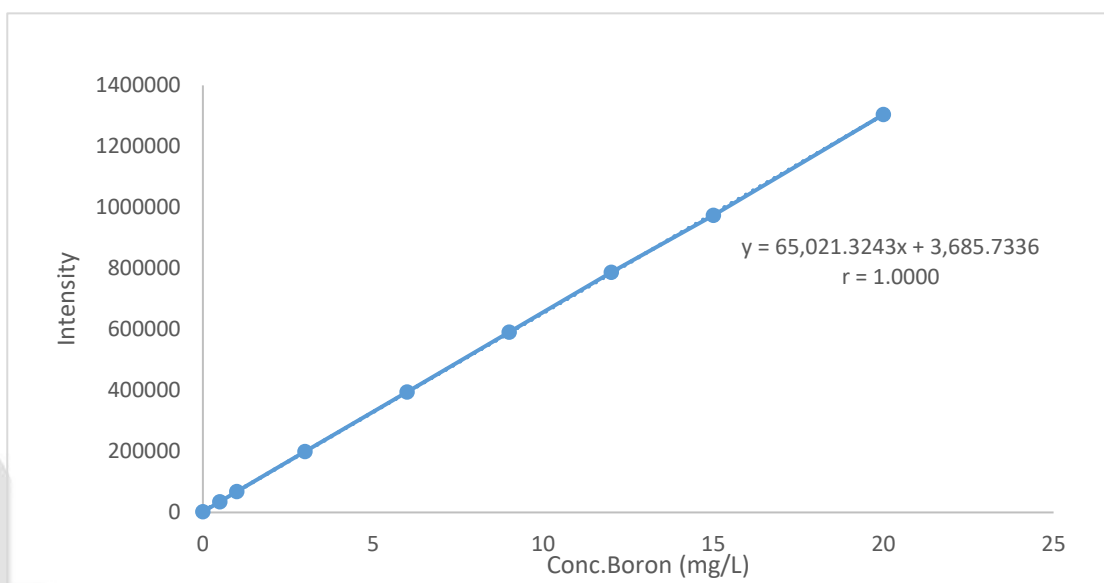
ตารางที่ 1 แสดงสภาวะที่เหมาะสมสำหรับใช้ในการวิเคราะห์ โบรอน ในปุ๋ยเคมี โดยใช้เครื่อง ICP-OES

Parameter	Wave Length (nm)	Plasma View	Plasma Flow (LPM)	Aux (LPM)	Neb (LPM)	RF Power (Kw)	Pump Flow (RPM)	Uptake (sec)	Conc. of STD (ppm)
B	249.772	Radial	16	0.8	1.2	1.200	25	25	0, 0.5, 1, 3, 6, 9, 12, 15

2. ตรวจสอบความใช้ได้ของวิธีทดสอบโบรอน ตามขั้นตอน

2.1 การหาช่วงใช้งาน และพิสูจน์ความเป็นเส้นตรง (working range and linearity)

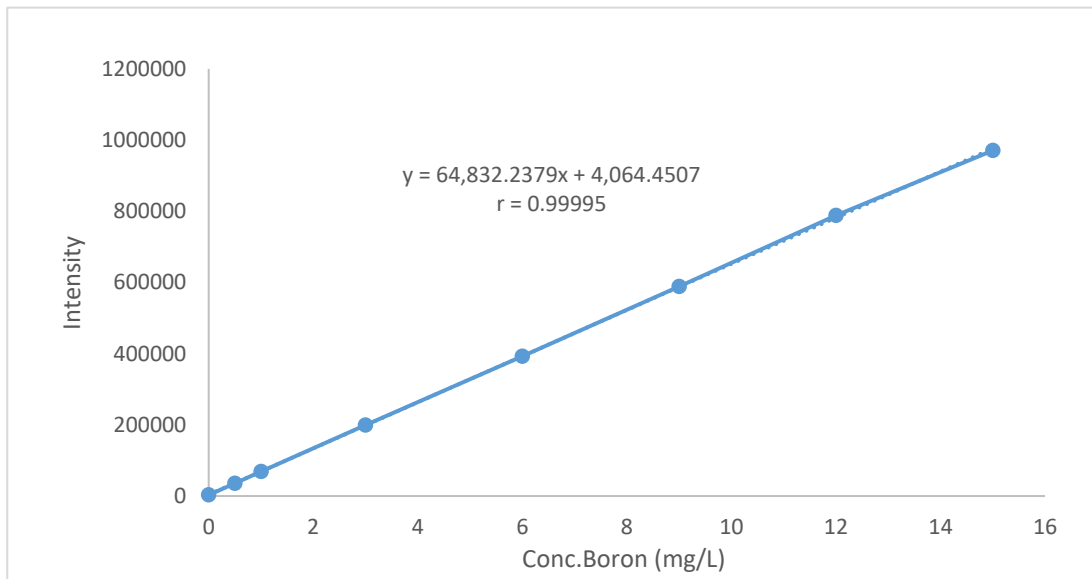
การหาค่า linearity range โดยสร้างกราฟระหว่างความเข้มข้นของสารละลายมาตรฐานโบรอน (แกน X) และค่าความเข้มของแสงที่อ่านจากเครื่อง (แกน y) หาช่วงความเข้มข้นที่เป็นเส้นตรง พบว่าอยู่ในช่วง 0-20 mg/L B (ภาพที่ 1)



ภาพที่ 1 แสดงความสัมพันธ์ระหว่างความเข้มข้นของสารละลายที่เตรียม กับ สัญญาณจากเครื่องมือ

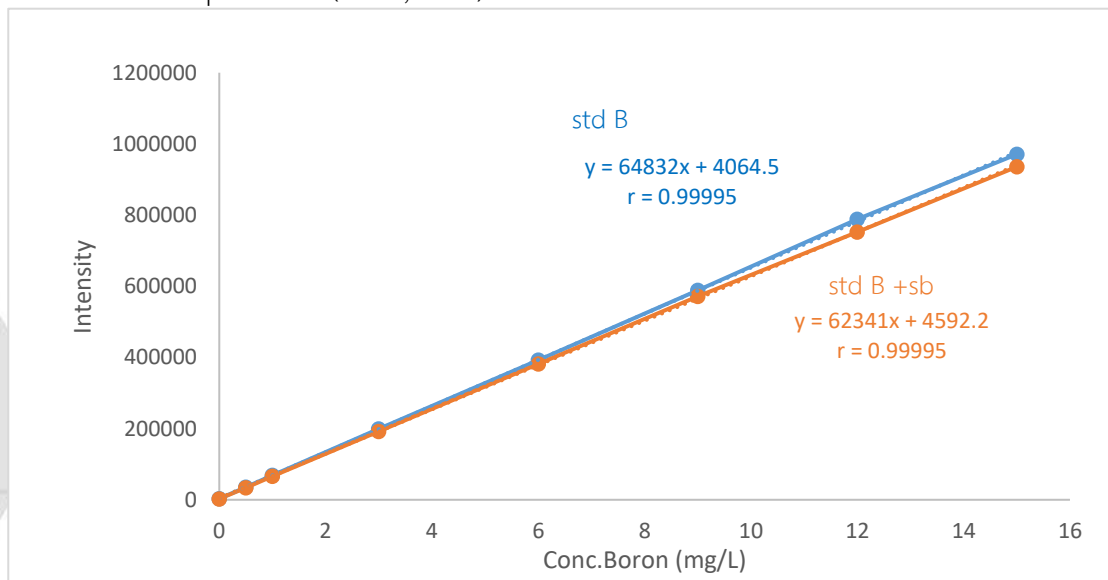
## 2.2 การหา Working range

2.2.1 เลือกเอาช่วง 0-15 mg/l B เป็นช่วงการใช้งาน (Working range) นำมาหาค่าความสัมพันธ์เชิงเส้น (Correlation coefficient ; r) เท่ากับ 1.0000 ซึ่งผ่านเกณฑ์การยอมรับจึงเลือกเป็นช่วงใช้งานในห้องปฏิบัติการ



ภาพที่ 2 แสดงความสัมพันธ์ระหว่างความเข้มข้นของสารละลายที่เตรียม กับ สัญญาณจากเครื่องมือ

2.2.2 ทดสอบผลของ matrix effect โดยเปรียบเทียบความชันของกราฟมาตรฐานระหว่าง Standard Boron solution กับ Spiked Standard Boron solution ลงใน sample blank ซึ่งผ่านเกณฑ์กำหนด % RPD ของ Slope < 10% (NATA, 2018)



ภาพที่ 3 แสดงการเปรียบเทียบความชันของกราฟสารละลายมาตรฐาน และกราฟของสารละลายมาตรฐานที่เติม standard Boron

2.2.3 การประมาณค่าต่ำที่สุดที่สามารถวิเคราะห์ได้ (Limit of Detection ; LOD) และการประมาณค่าต่ำที่สุดที่สามารถรายงานผลได้ (Limit of Quantitation ; LOQ)

2.2.3.1 หาปริมาณโบรอน (%B) ต่ำที่สุดที่สามารถทดสอบได้ (Limit of Detection ; LOD) และปริมาณโบรอน (%B) ต่ำที่สุดที่สามารถรายงานผลได้ (Limit of Quantitation ; LOQ) โดยการวิเคราะห์ตัวอย่างที่ไม่มีสาร

ที่ทดสอบ (Sample blank) และ spike Boron 0.002 % โดยเตรียมสารละลาย SRM 973 (Boric acid) ที่มี Boron 17.48% ที่ความเข้มข้น 0.002 % คำนวณหาค่าเฉลี่ยและค่าความเบี่ยงเบนมาตรฐาน (ตารางที่ 2) ตารางที่ 2 แสดงค่า LOD และ LOQ ของโบรอน

ลำดับที่	ผลวิเคราะห์ (%)
	Boron
1	0.0020
2	0.0019
3	0.0018
4	0.0018
5	0.0017
6	0.0017
7	0.0016
8	0.0017
9	0.0018
10	0.0019
<hr/>	
Average	0.0018
SD	0.00012
3SD (LOD)	0.0004
10SD (LOQ)	0.0012

3. พิสูจน์ความแม่นยำ (Trueness) และ และความเที่ยง (Precision) ด้วยเทคนิค ICP-OES วิเคราะห์ Certified Reference Material (CRM) ในปุ๋ยเคมีที่ความเข้มข้นต่ำ ความเข้มข้น 0.004% กลาง 5.83 % และสูง 17.48%

จากการศึกษาพบว่ามีความแม่นยำ (Trueness) ที่แสดง % Recovery ที่ความเข้มข้นต่ำ 100.0 ความเข้มข้นกลาง 99.62 และความเข้มข้นสูง 100.77 ซึ่งผ่านเกณฑ์ยอมรับ % Recovery ความเข้มข้นต่ำ 90-107 ความเข้มข้นกลาง และสูง 98-102 % และ Precision มีค่า HorRat ที่ความเข้มข้นต่ำ 0.33 ความเข้มข้นกลาง 0.30 และความเข้มข้นสูง 0.24 ซึ่งผ่านเกณฑ์ยอมรับ HorRat  $\leq 1.3$  (AOAC, 2016) (ตารางที่ 3)



ตารางที่ 3 ผลการพิสูจน์ความแม่นยำ (Trueness) และความเที่ยง (Precision) ที่ระดับความเข้มข้นต่ำ (LOQ) กลาง สูง

รายการวิเคราะห์	ความเข้มข้น (%)	Trueness			Precision		
		Mean	SD	%Recovery	%RSD <sub>r</sub>	%PRSD (R)	HorRat (r)
	LOQ	0.004	0.0001	100.0	3.001	9.1389	0.33
Boron	middle	5.80	0.052	99.62	0.905	3.066	0.30
	high	17.61	0.11	100.77	0.614	2.595	0.24

4. ผลการวิเคราะห์โบรอน 8 การทดลอง (ตาราง 6) และผลกระทบของตัวแปร (E) ทั้ง 7 ตัวแปร (ตารางที่ 7) พบว่าไม่มีผลกระทบจากการเปลี่ยนแปลงสถานะและสิ่งแวดล้อมของการทดสอบดังกล่าว ตารางที่ 4 แสดง 7 ตัวแปร ที่ใช้ในการทดลอง

ตัวแปร	สัญลักษณ์ตัวแปร	สถานะ	ปกติ (A-G)	เปลี่ยนแปลง (a-g)
A	A/a	ระยะเวลาก่อนเขย่า	เขย่าทันที	ตั้งทิ้งไว้ 15 นาที
B	B/b	รอบในการเขย่า	200 rpm	180 rpm
C	C/c	ระยะเวลาในการเขย่า	15 นาที	20 นาที
D	D/d	กระดาศกรอง	เบอร์ 1	เบอร์ 5
E	E/e	กรวยกรอง	พลาสติก	แก้ว
F	F/f	การกรอง	กรองทันที	ตั้งทิ้งไว้ 5 นาที
G	G/g	ระยะเวลาการ up take	25 วินาที	20 วินาที

ตารางที่ 5 แสดงแผนการทดลอง 8 การทดลองที่ใช้ในการทดสอบ Ruggedness

การทดลอง	แผนการทดลอง							ค่าเฉลี่ยผลการวิเคราะห์
การทดลองที่ 1	A	B	C	D	E	F	G	R <sub>1</sub>
การทดลองที่ 2	A	B	c	D	e	f	g	R <sub>2</sub>
การทดลองที่ 3	A	b	C	d	E	f	g	R <sub>3</sub>
การทดลองที่ 4	A	b	c	d	e	F	G	R <sub>4</sub>
การทดลองที่ 5	a	B	C	d	e	F	g	R <sub>5</sub>
การทดลองที่ 6	a	B	c	d	E	f	G	R <sub>6</sub>
การทดลองที่ 7	a	b	C	D	e	f	G	R <sub>7</sub>
การทดลองที่ 8	a	b	c	D	E	F	g	R <sub>8</sub>

ตารางที่ 6 ค่าเฉลี่ยของผลการทดสอบ Robustness โบรอนในตัวอย่างปุ๋ย

การทดลอง	ค่าเฉลี่ยผลการวิเคราะห์		
	ความเข้มข้นต่ำ	ความเข้มข้นกลาง	ความเข้มข้นสูง
	(%B)	(%B)	(%B)
การทดลองที่ 1	0.004	5.77	17.62
การทดลองที่ 2	0.004	5.72	17.42
การทดลองที่ 3	0.004	5.72	17.48
การทดลองที่ 4	0.004	5.74	17.51
การทดลองที่ 5	0.004	5.72	17.45
การทดลองที่ 6	0.004	5.76	17.20
การทดลองที่ 7	0.004	5.74	17.31
การทดลองที่ 8	0.004	5.76	17.57

ตารางที่ 7 ผลกระทบของตัวแปร (E)

	ผลต่างตามค่าสัมบูรณ์ E		
	ช่วงความเข้มข้น Boron (%)		
	ต่ำ	กลาง	สูง
$E_A = [R1 + R2 + R3 + R4]/4 - [R5 + R6 + R7 + R8]/4$	0.0002	-0.01	0.13
$E_B = [R1 + R2 + R5 + R6]/4 - [R3 + R4 + R7 + R8]/4$	0.0001	0.00	-0.05
$E_C = [R1 + R3 + R5 + R7]/4 - [R2 + R4 + R6 + R8]/4$	0.0000	-0.01	0.04
$E_D = [R1 + R2 + R7 + R8]/4 - [R3 + R4 + R5 + R6]/4$	-0.0001	0.01	0.07
$E_E = [R1 + R3 + R6 + R8]/4 - [R2 + R4 + R5 + R7]/4$	0.0001	0.02	0.04
$E_F = [R1 + R4 + R5 + R8]/4 - [R2 + R3 + R6 + R7]/4$	0.0001	0.01	0.19
$E_G = [R1 + R4 + R6 + R7]/4 - [R2 + R3 + R5 + R6]/4$	0.0001	0.02	-0.07
S	0.0003	0.03	0.19

$|E| > S$  แสดงว่า มีผลกระทบจากการเปลี่ยนแปลงสภาวะแวดล้อมของการทดสอบ

5. วิเคราะห์ความคุ้มค่า โดยเปรียบเทียบต้นทุนการวิเคราะห์ ระยะเวลาการวิเคราะห์ ขั้นตอนการวิเคราะห์ที่เปลี่ยนแปลง และความแม่นยำของวิธีวิเคราะห์ พบว่า ด้านค่าใช้จ่ายที่คิดต่อ 1 ตัวอย่าง การวิเคราะห์เครื่อง Spectrophotometer คิดเป็น 257.28 บาท เครื่อง ICP-OES คิดเป็น 180.43 บาท ด้านระยะเวลาในการวิเคราะห์ภายในระยะเวลา 1 วัน วิเคราะห์ด้วยเครื่อง Spectrophotometer จำนวน 30 ตัวอย่าง วิเคราะห์ด้วยเครื่อง ICP-OES จำนวน 240 ตัวอย่าง มีความถูกต้องและความเที่ยง ทั้ง 2 วิธี และมีข้อดีข้อเสียแตกต่างกัน ดังแสดงตามตารางที่ 8

ตารางที่ 8 แสดงการเปรียบเทียบต้นทุนการวิเคราะห์ ระยะเวลาการวิเคราะห์ ความถูกต้อง และข้อดี ข้อเสีย ของการวิเคราะห์ด้วยเครื่อง Spectrophotometer และ เครื่อง ICP-OES

การประเมิน	การวิเคราะห์ด้วยวิธี Azomethine H ด้วยเครื่อง Spectrophotometer		การวิเคราะห์ด้วยวิธี Acid Soluble ด้วยเครื่อง ICP-OES	
	ราคาเครื่องมือ	ความเสื่อมสภาพ/ปี	ราคาเครื่องมือ	ความเสื่อมสภาพ/ปี
<b>1. ด้านค่าใช้จ่าย/1ตัวอย่าง</b>				
1.1 ค่าเสื่อมสภาพของเครื่องมือ				
- เครื่อง Spectrophotometer	924,480	5.84	-	-
- เครื่อง ICP-OES	-	-	3,390,000	10.70
- เครื่องชั่ง 4 ตำแหน่ง	143,750	0.27	143,750	0.27
- เครื่องบดตัวอย่างปุย	368,750	4.66	368,750	4.66
- เครื่องเขย่า	-	-	242,000	2.62
- เตาระเหย	100,000	1.26	-	-
1.2 เครื่องแก้วและวัสดุวิทยาศาสตร์		80.23		69.95
1.3 สารเคมี		165.02		92.23
สรุปค่าใช้จ่าย		257.28		180.43
<b>2. ด้านระยะเวลา</b>				
- จำนวนตัวอย่าง/วัน		30		240
<b>3. ด้านความถูกต้อง</b>				
- % Recovery		✓		✓
- HorRat		✓		✓
<b>4. ข้อดี</b>	- เครื่องมือราคาไม่แพง		- ไม่สิ้นเปลืองสารเคมี	
			- ประหยัดเวลาในการเตรียมตัวอย่าง	
			- วัดได้ครั้งละหลายตัวอย่าง	
<b>5. ข้อเสีย</b>	- ขั้นตอนในการเตรียมตัวอย่างยุ่งยาก		- เครื่องมือมีราคาแพง	
	- สิ้นเปลืองสารเคมี			
	- วัดตัวอย่างได้น้อย			
หมายเหตุ Spectrophotometer	หมายถึง เครื่อง UV-VIS Spectrophotometer			
ICP-OES	หมายถึง เครื่อง Inductively Coupled Plasma Emission Spectrophotometer			

## สรุปผลการทดลองและข้อเสนอแนะ/คำแนะนำ

การพัฒนาเทคนิคการวิเคราะห์โบรอนในปุ๋ยเคมี โดยใช้เทคนิคอินดักทีฟพลาสมาสเปกโตรเมทรี ที่ wavelength ที่ 249.772 นาโนเมตร plasma view ใช้มุมมอง radial ส่วน plasma flow, auxiliary flow, nebulizer flow, RF-power, Pump Flow และ Uptake ใช้ที่ 16 ลิตรต่อนาที, 0.8 ลิตรต่อนาที, 1.2 ลิตรต่อนาที, 1.200 กิโลวัตต์, 25 RPM, และ 25 วินาทีตามลำดับ โดยมีผลจากการศึกษาการรบกวนจากการเปรียบเทียบกราฟสารละลายมาตรฐาน และกราฟสารละลายมาตรฐานที่เติมตัวอย่างปุ๋ย พบว่า % RPD ผ่านเกณฑ์กำหนด

การตรวจสอบความใช้ได้ของวิธีวิเคราะห์ พบว่า มีค่า correlation coefficient (r) ที่แสดงความเป็นเส้นตรง ของ Linearity range เท่ากับ 1.0000 ทุกรายการวิเคราะห์ และ Working range เท่ากับ 0.99995 ผ่านเกณฑ์กำหนด  $r \geq 0.995$  มีค่า LOD เท่ากับ 0.0004%Boron และ LOQ เท่ากับ 0.004%Boron การพิสูจน์ความแม่นยำ (Trueness) และความเที่ยง (Precision) ผ่านเกณฑ์กำหนดโดยมี % Recovery ที่ความเข้มข้นต่ำ 100.0 ความเข้มข้นกลาง 99.62 ความเข้มข้นสูง 100.77 ค่า HorRat ที่ความเข้มข้นต่ำ 0.33 ที่ความเข้มข้น 0.30 ความเข้มข้นสูง 0.24 ซึ่งผ่านเกณฑ์ยอมรับ

จากการศึกษาความคงทนของวิธี (Ruggedness) 7 ตัวแปร 8 การทดลอง โดยใช้ Youden-Steiner testing โดยการพิจารณาผลกระทบจากการเปลี่ยนแปลงสภาวะแวดล้อม พบว่าไม่มีผลกระทบจากการเปลี่ยนแปลงสภาวะและสิ่งแวดล้อมของการทดสอบดังกล่าว จากการคำนวณต้นทุนการวิเคราะห์ด้วยเครื่อง ICP-OES และเครื่อง Spectrophotometer พบว่า การวิเคราะห์ด้วยเครื่อง Spectrophotometer มีค่าใช้จ่ายต้นทุนการวิเคราะห์มากกว่า การวิเคราะห์ด้วย เครื่อง ICP-OES ด้านระยะเวลา การวิเคราะห์ด้วยเครื่อง Spectrophotometer สามารถวิเคราะห์ จำนวนตัวอย่างต่อวันได้น้อยกว่าการวิเคราะห์ด้วย เครื่อง ICP-OES วิธีวิเคราะห์โบรอนในปุ๋ยโดยใช้เทคนิคอินดักทีฟพลาสมาสเปกโตรเมทรี สามารถนำมาใช้ในห้องปฏิบัติการได้อย่างถูกต้อง และแม่นยำ

## การนำผลงานวิจัยไปใช้ประโยชน์

เป็นการพัฒนาวิธีเพื่อให้ได้เทคนิควิธีการวิเคราะห์ที่รวดเร็ว ลดความยุ่งยากของขั้นตอนการเตรียมตัวอย่าง ได้อย่างมีประสิทธิภาพและปลอดภัยมากขึ้น เป็นข้อมูลเพื่อประกอบการขอการรับการรับรองห้องปฏิบัติการตามมาตรฐาน ISO/IEC 17025: 2017 เป็นการยกระดับห้องปฏิบัติการให้ได้มาตรฐานสากล ผลวิเคราะห์มีความถูกต้อง แม่นยำ น่าเชื่อถือ สามารถตรวจสอบย้อนกลับได้ สร้างความเชื่อมั่นและลดข้อโต้แย้งของผลการวิเคราะห์

## เอกสารอ้างอิง

- AOAC. 2016. *Official Method of Analysis of AOAC International*. 20<sup>th</sup>Ed. AOAC International Gaithersburg, Maryland. USA.
- David Harvey. 2009. Analytical Chemistry 2.0. (online). Available form: [http://dpwadweb.depauw.edu/harvey\\_web/eTextProject/version\\_2.0.html](http://dpwadweb.depauw.edu/harvey_web/eTextProject/version_2.0.html), accessed 10 October 2020.
- Eurachem. 2014. *The Fitness for Purpose of Analytical Methods-A Laboratory Guide to Method Validation and Related Topics*. 2<sup>nd</sup> Ed. ISBN 978-91-87461-59-0.
- Eftichia Karageorgou, Victoria Samanidou. 2014. *Youden test application in robustness assays during method*.
- NATA. 2018. National Association of Testing Authorities. *General Accreditation Guidance -Validation and Verification of Quantitative and Qualitative test Methods*. Australia.
- คณาจารย์ภาควิชาปฐพีวิทยา. 2548. *ปฐพีวิทยาเบื้องต้น*. พิมพ์ครั้งที่ 10. สำนักพิมพ์มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์. กรุงเทพฯ. 547 หน้า
- ทิพวรรณ นิ่งน้อย. 2549. *แนวปฏิบัติการทดสอบความถูกต้องของวิธีวิเคราะห์ทางเคมีโดยห้องปฏิบัติการเดียว*. กรมวิทยาศาสตร์การแพทย์. กระทรวงสาธารณสุข. 124 หน้า.
- ราชกิจจานุเบกษา. 2560.ประกาศกระทรวงเกษตรและสหกรณ์ เรื่องกำหนดกรรมวิธีวิเคราะห์ปุ๋ยเคมี พ.ศ. 2559 ฉบับกฤษฎีกา เล่ม 134 ตอนพิเศษ 2ง, หน้า 24
- สถาบันมาตรวิทยาแห่งชาติ. 2564. การตรวจสอบความใช้ได้ของวิธีวัดทางเคมี. (ระบบออนไลน์). แหล่งที่มา: [https://www.mwa.co.th/download/prd01/reference\\_ISO17025/Meth-validation-NIMT.pdf](https://www.mwa.co.th/download/prd01/reference_ISO17025/Meth-validation-NIMT.pdf). (8 มีนาคม 2564)