



พัฒนาวิธีวิเคราะห์และตรวจสอบความใช้ได้ของวิธีวิเคราะห์ธาตุอาหารหลัก ธาตุอาหารรอง ธาตุอาหารเสริม และสารพิษในปุ๋ย โดยใช้เครื่อง Inductively Coupled Plasma (ICP)
Development and Validation Method of Primary Nutrients, Secondary Nutrients, Micro Nutrients and toxic substance in Fertilizer analysis by Inductively Coupled Plasma (ICP)

อมรา หาญจวนิช สงกรานต์ มะลิสอน พงศ์พิศ แก้วสุข วรรณรัตน์ ชุตินุตร
กลุ่มวิจัยเกษตรเคมี สำนักวิจัยพัฒนาปัจจัยการผลิตทางการเกษตร

บทคัดย่อ

การพัฒนาวิธีวิเคราะห์และตรวจสอบความใช้ได้ของวิธีวิเคราะห์ธาตุอาหารหลัก ธาตุอาหารรอง ธาตุอาหารเสริม และสารพิษในปุ๋ย โดยใช้เครื่อง Inductively Coupled Plasma (ICP) เพื่อเพิ่มเทคนิควิธีการวิเคราะห์ที่เป็นทางเลือก ในรายการทดสอบ P_2O_5 , K_2O , Mg, Ca, Fe, Zn, Mn, Cu, B และ As ในตัวอย่างปุ๋ย ให้มีความถูกต้อง เทียบตรง รวดเร็ว และเป็นที่ยอมรับมากขึ้น โดยศึกษาสภาวะเครื่องมือ เปรียบเทียบเทคนิคการย่อยตัวอย่างเพื่อให้ได้เทคนิคการย่อยที่เหมาะสม ตรวจสอบความใช้ได้ของวิธี และเปรียบเทียบวิธีวิเคราะห์กับวิธีของห้องปฏิบัติการกลุ่มงานพัฒนาระบบตรวจสอบคุณภาพปุ๋ย พบว่าเทคนิคการย่อยตัวอย่างด้วยกรดผสมไฮโดรคลอริกและไนตริก อัตราส่วน 3 ต่อ 1 มีความเหมาะสมกว่าวิธีการย่อยด้วยกรดผสมเปอร์คลอริกและไนตริก อัตราส่วน 1 ต่อ 1 โดยมี %Recovery เข้าใกล้ 100 % และมี % RSD ต่ำกว่าในทุกรายการทดสอบ สำหรับการตรวจสอบความใช้ได้ของวิธีวิเคราะห์ด้วยเครื่อง ICP พบว่าปริมาณต่ำสุดที่สามารถรายงานผลได้อยู่ในระดับ 0.0X % จากการพิสูจน์ความถูกต้อง เทียบตรง โดยใช้ SRM พบว่ามี % Recovery และค่า HORRAT ผ่านเกณฑ์ยอมรับทุกรายการทดสอบ และจากการเปรียบเทียบวิธีวิเคราะห์ พบว่าวิธีวิเคราะห์ด้วยเครื่อง ICP ให้ผลการวิเคราะห์ที่สูงกว่าวิธีของห้องปฏิบัติการ โดยมีความถูกต้อง และเทียบตรงในทุกรายการทดสอบ สรุปได้ว่าวิธีวิเคราะห์ด้วยเครื่อง ICP มีความเหมาะสมสำหรับรายการทดสอบ P_2O_5 , K_2O , Mg, Ca, Fe, Zn, Mn, Cu, B และ As ในตัวอย่างปุ๋ย

คำนำ

จากการที่รัฐบาลมีนโยบายส่งเสริมให้เกษตรกรใช้ปุ๋ย และทำเกษตรผสมผสาน ทำให้มีการผลิตและจำหน่ายปุ๋ยในเชิงธุรกิจมากขึ้น ตัวอย่างปุ๋ยจึงถูกส่งเข้ามาวิเคราะห์ ณ ห้องปฏิบัติการกลุ่มงานพัฒนาระบบตรวจสอบคุณภาพปุ๋ย เพื่อตรวจสอบคุณภาพมากขึ้น การวิเคราะห์หาปริมาณธาตุอาหารในปุ๋ยมีบทบาทสำคัญในการควบคุมคุณภาพของปุ๋ยที่ผลิต หรือนำเข้า เพื่อให้เกษตรกรมีความมั่นใจในคุณภาพของปุ๋ยที่นำไปใช้ ดังนั้นการวิเคราะห์หาปริมาณธาตุอาหารในปุ๋ยจะต้องมีความถูกต้อง แม่นยำ รวดเร็ว และประหยัด ห้องปฏิบัติการจะต้องปรับปรุง และพัฒนาวิธีวิเคราะห์ให้ทันสมัยอยู่เสมอ ดังนั้นจึงได้ศึกษาความ



เป็นไปได้ในการนำเครื่อง Inductively Coupled Plasma (ICP) มาใช้ในการวิเคราะห์ โดยอาศัยหลักการที่ทำให้สารที่วิเคราะห์เปลี่ยนสถานะจากสถานะพื้นไปยังสถานะกระตุ้นด้วยกระบวนการที่เหมาะสม ทำให้อะตอมของสารนั้นสามารถเปล่งแสงออกมาในช่วงยูวี วิสิเบิล และมีลักษณะเฉพาะตัว (แมน อมรสิทธิ์ และอมร เพชรสม, 2534) เครื่องมือนี้สามารถวิเคราะห์ได้พร้อมกันหลายธาตุ ทำให้วิเคราะห์ได้อย่างรวดเร็วและประหยัด ห้องปฏิบัติการจึงได้นำเครื่องมือดังกล่าวมาใช้ในงานวิเคราะห์ ซึ่งก่อนที่จะนำวิธีวิเคราะห์ดังกล่าวมาใช้ จำเป็นต้องมีการพัฒนาเทคนิควิธีการวิเคราะห์ เพื่อหาสภาวะที่ถูกต้องในการใช้เครื่องมือ เปรียบเทียบความสามารถกับวิธีวิเคราะห์ของห้องปฏิบัติการในปัจจุบัน (กรมวิชาการเกษตร, 2541) และตรวจสอบความใช้ได้ของวิธีวิเคราะห์ (จิตรา ชัยวิมล, 2545) โดยพิจารณาความถูกต้อง (Accuracy) ความเที่ยง (Precision) ช่วงความเข้มข้นที่เป็นเส้นตรง (Range, Linearity) ปริมาณต่ำสุดของสารที่สามารถตรวจวัด (Limit of detection ; LOD) และรายงานผลได้ (Limit of Quantitation ; LOQ) เพื่อให้มั่นใจในความถูกต้อง เที่ยงตรง และเหมาะสมของวิธีวิเคราะห์

การพัฒนา และตรวจสอบความใช้ได้ของวิธีการวิเคราะห์ธาตุอาหารหลัก (P และ K) ธาตุอาหารรอง (Mg และ Ca) ธาตุอาหารเสริม (Fe, Zn, Mn, Cu และ B) และสารพิษ (As) ในปุ๋ย โดยใช้เครื่อง ICP มีวัตถุประสงค์ เพื่อพัฒนาวิธีการวิเคราะห์ทางเลือกให้ถูกต้อง เที่ยงตรง ทันท่วงที สะดวก และรวดเร็ว โดยการหาสภาวะของเครื่อง ICP และเทคนิคการย่อยตัวอย่างที่เหมาะสม สำหรับวิเคราะห์หาปริมาณ P, K, Mg, Ca, Fe, Zn, Mn, Cu, B และ As ในปุ๋ย และตรวจสอบความใช้ได้ของวิธี ตลอดจนเปรียบเทียบความสามารถกับวิธีวิเคราะห์ของห้องปฏิบัติการในปัจจุบัน

วิธีดำเนินการ

อุปกรณ์

Inductively Coupled Plasma Optical Emission Spectrophotometer (PerkinElmer:Optima 2100 DV), Atomic Absorption Spectrophotometer (PerkinElmer del 4100), Hot Plate (Thermolyne), เครื่องชั่งอย่างละเอียด ทศนิยม 4 ตำแหน่ง (Mettler Toledo XS 204), วัสดุอ้างอิงรับรอง SRM 695 และ SRM 200a (NIST), Nitric Acid, Perchloric Acid, Hydrochloric Acid, Strontium Chloride Hexahydrate, สารละลายมาตรฐาน P, K, Mg, Ca, Fe, Zn, Mn, Cu, B และ As 1,000 ppm

วิธีการ

1. หาสภาวะที่เหมาะสมของเครื่อง ICP (Inductively Coupled Plasma Optical Emission Spectrophotometer) ในการวิเคราะห์ P_2O_5 , K_2O , Mg, Ca, Fe, Zn, Mn, Cu, B และ As

1.1 ศึกษาหลักการ ขั้นตอนวิธีการ สภาวะใช้งานจากสภาวะแนะนำของเครื่อง ICP (Recommended Condition) ช่วงความเข้มข้นของสารมาตรฐานพิจารณาที่ช่วงความเข้มข้นสูงสุดจากประวัติข้อมูลความเข้มข้นของตัวอย่างที่วิเคราะห์ในห้องปฏิบัติการพัฒนาระบบตรวจสอบคุณภาพปุ๋ย

1.2 ทดลองวิเคราะห์หาปริมาณ P, K, Mg, Ca, Fe, Zn, Mn, Cu และ As ในสารละลายมาตรฐานตามสภาวะแนะนำของเครื่อง บันทึกผล คำนวณหาค่า Recovery และค่า Correlation Coefficient (r) จากกราฟสารละลายมาตรฐาน มีเกณฑ์การยอมรับคือ $r \geq 0.995$ และ Recovery ให้อยู่ในช่วง 90-110 %



1.3 สำหรับรายการที่ไม่ผ่านเกณฑ์การยอมรับ เปลี่ยนสถานะของเครื่องใหม่ ได้แก่ ความยาวคลื่น พิจารณาจากความยาวคลื่นแนะนำลำดับถัดไป ความไวสัมพัทธ์ (Relative Sensitivity) ที่มีค่ามาก สัญญาณรบกวน (Signal to Noise) ที่ต่ำ ความเข้มแสง (Intensity) ที่สูงและเหมาะสมกับความเข้มข้นของ สารมาตรฐาน และตัวอย่างที่ใช้งาน

2. วิธีการย่อยตัวอย่างที่เหมาะสม สำหรับวิเคราะห์ Mg, Ca, Fe, Zn, Mn, Cu, B และ As

2.1 การย่อยตัวอย่างด้วยกรดผสมเปอร์คลอริก : ไนตริก อัตราส่วน 1 : 1 โดยชั่ง SRM 695 น้ำหนัก 0.3xxx กรัม 10 ข้ำ เติมกรดผสมเปอร์คลอริก:ไนตริก (1:1) 20 มิลลิลิตร ย่อยบน Hot Plate จนเหลือ สารละลายประมาณ 2 มิลลิลิตร ทิ้งให้เย็น ปรับปริมาตรเป็น 250 มิลลิลิตรด้วยน้ำกลั่น วิเคราะห์หา Mg, Ca, Fe, Zn, Mn, Cu, B และ As ด้วยเครื่อง ICP บันทึกผล คำนวณค่าเฉลี่ย ค่าเบี่ยงเบนมาตรฐาน

2.2 การย่อยตัวอย่างด้วยกรดผสมไฮโดรคลอริก : ไนตริก อัตราส่วน 3 : 1 วิเคราะห์เช่นเดียวกับข้อ 2.1 แต่เปลี่ยนกรด เป็นกรดผสมไฮโดรคลอริก:ไนตริก (3:1) 40 มิลลิลิตร

2.3 พิจารณาวิธีการย่อยที่เหมาะสมโดยเปรียบเทียบ %Recovery ค่าเบี่ยงเบนมาตรฐานสัมพัทธ์

3. การตรวจสอบความใช้ได้ของวิธีวิเคราะห์ แบ่งออกเป็น

3.1 การศึกษาหา ค่า Range และ Linearity

3.1.1 ชั่งตัวอย่างที่ไม่มี P, K, Mg, Ca, Fe, Zn, Mn, Cu, B และ As 0.3XXX กรัม เติมกรดผสม ไฮโดรคลอริก:ไนตริก (3:1) 40 มิลลิลิตร ย่อยบน Hot Plate จนเหลือสารละลาย 2 มิลลิลิตร ทิ้งให้เย็น เติม สารละลายมาตรฐานผสม P, K, Mg, Ca, Fe, Zn, Mn, Cu, B และ As ความเข้มข้นครอบคลุมช่วงความ เข้มข้นที่ได้จากข้อ 1 จำนวนไม่น้อยกว่า 6 ความเข้มข้น ปรับปริมาตรเป็น 250 มิลลิลิตรด้วยน้ำกลั่น นำไป วัดหาปริมาณ P, K, Mg, Ca, Fe, Zn, Mn, Cu, B และ As ด้วยเครื่อง ICP สร้างกราฟ ระหว่าง ความเข้มข้น ที่วิเคราะห์ได้ กับ ความเข้มข้นของสารละลายที่เตรียม หาช่วงความเข้มข้นที่เป็นเส้นตรง (Range)

3.1.2 เตรียมสารละลายมาตรฐานผสมให้อยู่ในช่วงความเข้มข้นที่ใช้งาน และเป็นเส้นตรง 6 ความเข้มข้น ดำเนินการเช่นเดียวกับข้อ 3.1.1 คำนวณค่า Correlation Coefficient (r)

3.2 การศึกษาหาค่า Limit of Detection (LOD)

วิเคราะห์ตัวอย่างที่ไม่มี P, K, Mg, Ca, Fe, Zn, Mn, Cu, B และ As เป็นส่วนประกอบ ด้วย เครื่อง ICP จำนวน 10 ข้ำ บันทึกผล คำนวณค่าเฉลี่ย ค่าเบี่ยงเบนมาตรฐาน LOD และ LOQ

3.3 การศึกษาความถูกต้อง (Accuracy) และความเที่ยง (Precision) ของวิธีวิเคราะห์

3.3.1 การเตรียมตัวอย่างสำหรับวิเคราะห์หาปริมาณ P และ K โดยชั่ง SRM 200a น้ำหนัก 0.2xxx กรัม ใส่ขวดวัดปริมาตรขนาด 500 มิลลิลิตร จำนวน 10 ข้ำ พร้อมทำ Reagent blank นำไปละลายน้ำ เขย่าให้เข้ากัน และปรับปริมาตรด้วยน้ำกลั่นเป็น 500 มิลลิลิตร

3.3.2 การเตรียมตัวอย่างสำหรับวิเคราะห์หาปริมาณ Mg, Ca, Fe, Zn, Mn, Cu, B และ As โดย ชั่ง SRM 695 น้ำหนัก 0.3xxx กรัม ใส่ Erlenmeyer Flask ขนาด 125 มิลลิลิตร จำนวน 10 ข้ำ พร้อมทำ Reagent blank เติมด้วยกรดผสมไฮโดรคลอริก:ไนตริก (3:1) 40 มิลลิลิตร นำไปย่อยบน Hot Plate จนเหลือ สารละลายประมาณ 2 มิลลิลิตร ทิ้งให้เย็น ปรับปริมาตรเป็น 250 มิลลิลิตรด้วยน้ำกลั่น



3.3.3 วัดหาปริมาณ P, K, Mg, Ca, Fe, Zn, Mn, Cu, B และ As ด้วยเครื่อง ICP บันทึกผล
คำนวณหาความเข้มข้น % Recovery ค่าเบี่ยงเบนมาตรฐานสัมพัทธ์ (%RSD) และ ค่า HORRAT

4. เปรียบเทียบวิธีวิเคราะห์ P, K, Mg, Ca, Fe, Zn, Mn และ Cu ระหว่างวิธีวิเคราะห์ของห้องปฏิบัติการ
กลุ่มงานพัฒนาระบบตรวจสอบคุณภาพปุ๋ย (กรมวิชาการเกษตร, 2541) และวิธีวิเคราะห์ที่พัฒนาการ
เทคนิคการย่อยตัวอย่าง โดยใช้กรดผสมไฮโดรคลอริก:ไนตริก อัตราส่วน 3:1 และวัดด้วยเครื่อง ICP

4.1 วิเคราะห์หาปริมาณ P, K, Mg, Ca, Fe, Zn, Mn และ Cu ด้วยเครื่อง ICP โดยทำเช่นเดียวกับข้อ 3.3

4.2 วิเคราะห์หาปริมาณ P, K, Mg, Ca, Fe, Zn, Mn และ Cu ด้วยเครื่อง AAS โดยเตรียมตัวอย่าง
และวิเคราะห์ตามวิธีวิเคราะห์ของห้องปฏิบัติการพัฒนาระบบตรวจสอบคุณภาพปุ๋ย

4.3 เปรียบเทียบวิธีวิเคราะห์โดยพิจารณา %Recovery ค่าเบี่ยงเบนมาตรฐานสัมพัทธ์

ระยะเวลา ตุลาคม 2549 – กันยายน 2553

สถานที่ทำการทดลอง กลุ่มวิจัยเกษตรเคมี สำนักวิจัยพัฒนาปัจจัยการผลิตทางการเกษตร

ผลการทดลองและวิจารณ์

จากการทดลองหาสภาวะเครื่องมือ เทคนิคการย่อยตัวอย่าง และการตรวจสอบความใช้ได้ของวิธี
วิเคราะห์ P, K, Mg, Ca, Fe, Zn, Mn, Cu, B และ As ด้วยเครื่อง ICP และการเปรียบเทียบวิธีวิเคราะห์ด้วย
เครื่อง ICP กับวิธีวิเคราะห์ของห้องปฏิบัติการ (กรมวิชาการเกษตร, 2541) พบว่า

1. สภาวะเครื่องมือที่เหมาะสมสำหรับวิเคราะห์ P, K, Mg, Ca, Fe, Zn, Mn, Cu, B และ As ซึ่งทำให้ผล
การวิเคราะห์ตัวอย่างที่เป็นสารมาตรฐานมี %Recovery อยู่ในช่วง 90 % -110 % และมีค่า Correlation
Coefficient ≥ 0.995 แสดงตามตารางที่ 1

ตารางที่ 1. สภาวะของเครื่อง ICP สำหรับการวิเคราะห์ P, K, Mg, Ca, Fe, Zn, Mn, Cu, B และ As ในปุ๋ย

รายการ	ความยาวคลื่น (nm)	มุมมองพลาสมา (View)	Plasma* (L/min)	Neb** (L/min)	Flow rate*** (ml/min)	Flush time (second)	Wash rate (ml/min)	Wash time (second)	RF-Power (W)	ความเข้มข้นของ STD. (ppm)
P ₂ O ₅	213.620	Radial	15	0.8	1.5	15	2.5	20	1300	10, 50, 100, 250, 500
K ₂ O	766.490	Radial	15	0.8	1.5	15	2.5	20	1300	6.64, 33.19, 66.38, 165.94, 331.87
Ca	317.933	Radial	15	0.8	1.5	15	2.5	20	1300	0.75, 6.25, 25, 75, 125, 200, 250
Mg	285.213	Radial	15	0.8	1.5	15	2.5	20	1300	0.3, 2.5, 10, 30, 50, 80, 100
Fe	238.204	Axial	15	0.8	1.5	15	2.5	20	1300	4, 10, 20, 50, 80, 100
Zn	213.857	Radial	15	1.1	1.5	15	2.5	15	1300	4, 10, 20, 50, 80, 100
Mn	257.610	Radial	15	1.0	1.5	15	2.5	15	1300	4, 10, 20, 50, 80, 100
Cu	327.393	Axial	15	0.8	1.5	15	2.5	15	1300	4, 10, 20, 50, 80, 100
B	208.957	Axial	15	0.8	1.5	20	2.5	20	1300	1, 2, 5, 8, 10
As	193.696	Axial	15	0.8	1.5	15	2.5	20	1300	0.02, 2, 4, 10

- หมายเหตุ
- * หมายถึง อัตราการไหลของเชื้อเพลิง (Argon) ที่ใช้ในการทำให้เกิดพลาสมา
 - ** หมายถึง อัตราการไหลของตัวพา (Argon) สารละลายตัวอย่างไปยังพลาสมา
 - *** หมายถึง อัตราการดูด-พ่นสารละลายตัวอย่างของอุปกรณ์ดูด-พ่นสารละลาย (Nebulizer)

2. ศึกษาวิธีการย่อยตัวอย่างปุ๋ยที่เหมาะสม สำหรับวิเคราะห์ Mg, Ca, Fe, Zn, Mn, Cu, B และ As โดย
เปรียบเทียบ %Recovery และ %RSD ระหว่างเทคนิคการย่อยตัวอย่างด้วย กรดผสมเปอร์คลอริก : ไนตริก



อัตราส่วน 1:1 และกรดผสมไฮโดรคลอริก : ไนตริก อัตราส่วน 3:1 (ตารางที่ 2) พบว่าวิธีการย่อยด้วยกรดผสมเปอร์คลอริก : ไนตริก อัตราส่วน 1:1 ไม่เหมาะสมในการย่อยเพื่อนำไปวิเคราะห์ Mn, B และ As เนื่องจาก %Recovery ไม่อยู่ในเกณฑ์ยอมรับ นอกจากนี้ยังพบว่าการย่อยด้วยกรดผสมไฮโดรคลอริก:ไนตริก อัตราส่วน 3:1 มีค่า %RSD น้อยกว่าการย่อยด้วยกรดผสมเปอร์คลอริก:ไนตริก อัตราส่วน 1:1 แสดงว่ามีความแปรปรวนของผลการวิเคราะห์น้อยกว่า ฉะนั้นการย่อยด้วยกรดผสมไฮโดรคลอริก : ไนตริก อัตราส่วน 3:1 มีความเหมาะสมสำหรับใช้เป็นวิธีการย่อยสำหรับวิเคราะห์ด้วยเครื่อง ICP

ตารางที่ 2. เปรียบเทียบ %Recovery และ %RSD ระหว่างเทคนิคการย่อยตัวอย่างด้วย กรดผสมเปอร์คลอริก:ไนตริก อัตราส่วน 1:1 และกรดผสมไฮโดรคลอริก:ไนตริก อัตราส่วน 3:1

รายการ	กรดผสมเปอร์คลอริก : ไนตริก อัตราส่วน 1:1		กรดผสมไฮโดรคลอริก : ไนตริก อัตราส่วน 3:1	
	%Recovery	%RSD	%Recovery	%RSD
Ca	100.71	1.23	102.26	0.60
Mg	97.26	2.30	100.44	0.61
Fe	101.63	1.23	101.53	0.51
Zn	101.54	2.12	99.37	0.57
Mn	76.10	6.46	99.81	2.03
Cu	103.35	2.37	103.84	1.05
B	143.15	6.29	101.10	1.80
As	78.85	2.66	92.07	2.08

3. ตรวจสอบความใช้ได้ของวิธีวิเคราะห์ โดยการศึกษาระหว่างความเข้มข้นที่เป็นเส้นตรงในการวิเคราะห์ (Range and Linearity) ปริมาณต่ำสุดที่สามารถวัดได้ (Limit of Detection ; LOD) ปริมาณต่ำสุดที่สามารถรายงานผลได้ (Limit of Quantitation ; LOQ) ความถูกต้อง และความเที่ยง

3.1 ศึกษา Range และ Linearity โดยสร้างกราฟระหว่างความเข้มข้นของตัวอย่างที่เติมสารละลายมาตรฐานธาตุที่สนใจ (แกน x) และค่าความเข้มของแสงที่อ่านจากเครื่อง ICP (แกน y) หาช่วงความเข้มข้นที่เป็นเส้นตรง และค่า Correlation coefficient (r) พิจารณาระหว่างความเข้มข้นที่ผ่านเกณฑ์การยอมรับเป็นช่วงความเข้มข้นที่ใช้งานจริงในห้องปฏิบัติการตามตารางที่ 3 โดยเกณฑ์การยอมรับคือ $r \geq 0.995$

ตารางที่ 3. แสดงช่วงความเข้มข้น ที่เป็นเส้นตรง และใช้งานของการวิเคราะห์รายการต่างๆ ด้วยเครื่อง ICP

รายการ	ความเข้มข้นที่เป็นเส้นตรง		ความเข้มข้นที่ใช้งาน	
	ความเข้มข้น (ppm)	r	ความเข้มข้น (ppm)	r
P ₂ O ₅	0-600	1.00000	0, 2, 10, 50, 100, 250, 500	1.00000
K ₂ O	0-398	0.99995	0, 1.33, 6.64, 33.19, 66.37, 165.94, 331.87	1.00000
Ca	0-300	0.99990	0, 1, 10, 80, 150, 250	0.99990
Mg	0-120	0.99990	0, 1, 3, 20, 70, 100	1.00000
Fe	0-120	0.99980	0, 4, 10, 50, 80, 100	0.99980
Zn	0-120	0.99990	0, 4, 10, 50, 80, 100	0.99990
Mn	0-120	0.99990	0, 4, 10, 50, 80, 100	0.99990
Cu	0-120	0.99990	0, 4, 10, 50, 80, 100	1.00000
B	0-20	0.99990	0, 1, 2, 5, 8, 10	0.99990
As	0-20	0.99970	0, 0.1, 2, 5, 8, 10	0.99990



3.2 หาปริมาณต่ำสุดที่สามารถวิเคราะห์ได้ และปริมาณต่ำสุดที่สามารถรายงานผลได้ ของ P, K, Mg, Ca, Fe, Zn, Mn, Cu, B และ As โดยการวิเคราะห์ตัวอย่างที่ไม่มีธาตุที่สนใจ 10 ซ้ำ หาค่าเฉลี่ย และค่าเบี่ยงเบนมาตรฐาน เพื่อนำไปคำนวณหา LOD และ LOQ โดย LOD เท่ากับผลรวมของ ค่าเฉลี่ยกับ 3SD และ LOQ เท่ากับผลรวมของค่าเฉลี่ยกับ 10SD ได้ผลการทดลองตามตารางที่ 4

ตารางที่ 4. ค่าเฉลี่ย ค่าเบี่ยงเบนมาตรฐาน LOD LOQ ของการวิเคราะห์รายการต่างๆ ด้วยเครื่อง ICP

รายการ	ค่าเฉลี่ย (%)	SD (%)	LOD (%)	LOQ (%)
P ₂ O ₅	0.00763	0.00363	0.0185	0.0439
K ₂ O	0.00956	0.00383	0.0211	0.0479
Ca	0.02178	0.00207	0.0280	0.0425
Mg	0.00440	0.00070	0.0065	0.0114
Fe	0.00041	0.00271	0.0085	0.0275
Zn	0.00121	0.00024	0.0019	0.0036
Mn	0.00036	0.00022	0.0010	0.0026
Cu	0.00012	0.00004	0.0002	0.0005
B	0.02076	0.00251	0.0283	0.0459
As	0.00008	0.00003	0.0002	0.0004

3.3 พิสูจน์ความถูกต้องของวิธี โดยวิเคราะห์ SRM ที่มีค่ารับรองของ P, K, Mg, Ca, Fe, Zn, Mn, Cu, B และ As นำผลการวิเคราะห์ที่ได้ มาคำนวณ %Recovery ประเมินความแตกต่าง และประเมินช่วงความเชื่อมั่น ดังนี้

3.3.1 $\% \text{ Recovery} = (\text{ค่าเฉลี่ย} \times 100) / \text{ค่าจริงจากใบรับรอง}$

3.3.2 ประเมินความแตกต่าง โดยใช้ t-test จากสมการ $t = \frac{(\text{ค่าเฉลี่ย} - \text{ค่าจริง})}{(SD / \sqrt{n})}$

เกณฑ์การยอมรับ : $t < t_c$ ที่ $df = n-1$ ที่ความเชื่อมั่น 95 %

3.3.3 ประเมินช่วงความเชื่อมั่นของผลการวิเคราะห์ (ตติย , 2548)

ช่วงความเชื่อมั่น = $\text{ค่าเฉลี่ย} \pm [2.26 \times (\frac{SD}{\sqrt{n}})]$

เกณฑ์การยอมรับ : ช่วงความเชื่อมั่น ให้อยู่ในช่วงของค่ารับรอง +/- ค่าความไม่แน่นอน

ตารางที่ 5. % Recovery t-test และช่วงความเชื่อมั่น ของผลการวิเคราะห์ปุ๋ยรายการต่างๆ ด้วยเครื่อง ICP

รายการ	Recovery			t-test			ช่วงความเชื่อมั่น		
	% Recovery	เกณฑ์การยอมรับ	สรุป	t	tc	สรุป	ช่วงความเชื่อมั่น	ช่วงค่ารับรอง SRM	สรุป
P ₂ O ₅	101.28	98-102	ผ่านเกณฑ์	3.75	2.26	แตกต่าง	0.4058	0.0200	ไม่อยู่ในช่วง
K ₂ O	100.40	98-102	ผ่านเกณฑ์	1.44	2.26	ไม่แตกต่าง	0.2165	0.0200	อยู่ในช่วง
Ca	102.30	97-103	ผ่านเกณฑ์	11.63	2.26	แตกต่าง	0.0099	0.0400	ไม่อยู่ในช่วง
Mg	100.34	97-103	ผ่านเกณฑ์	2.28	2.26	แตกต่าง	0.0079	0.0500	อยู่ในช่วง
Fe	101.60	97-103	ผ่านเกณฑ์	9.37	2.26	แตกต่าง	0.0147	0.0800	อยู่ในช่วง
Zn	99.32	95-105	ผ่านเกณฑ์	-3.46	2.26	แตกต่าง	0.0013	0.0050	อยู่ในช่วง
Mn	99.84	95-105	ผ่านเกณฑ์	-0.30	2.26	ไม่แตกต่าง	0.0044	0.0050	อยู่ในช่วง
Cu	103.84	95-105	ผ่านเกณฑ์	11.15	2.26	แตกต่าง	0.0010	0.0009	ไม่อยู่ในช่วง
B	101.08	95-105	ผ่านเกณฑ์	1.91	2.26	ไม่แตกต่าง	0.0014	0.0020	อยู่ในช่วง
As	100.00	90-107	ผ่านเกณฑ์	-13.09	2.26	แตกต่าง	0.0003	0.0005	ไม่อยู่ในช่วง



จากตารางที่ 5 จะเห็นว่าผลการวิเคราะห์ SRM ในปุ๋ย มี %Recovery อยู่ในเกณฑ์ยอมรับทุกรายการ แสดงว่าวิธีวิเคราะห์นี้มีความถูกต้อง แต่เมื่อพิจารณาจากสถิติ t-test พบว่ามีบางรายการผลวิเคราะห์ที่ได้มีความแตกต่างกันจากค่าจริง แสดงว่ามีความเอนเอียง (Bias) จากการวิเคราะห์เกิดขึ้นซึ่งเป็นการผิดพลาด (Error) เชิงระบบ หมายถึงทุกครั้งที่ทำการวิเคราะห์ ผลที่ได้จะมีค่าไปในทางเดียวกันตลอด เช่น น้อยกว่าค่าจริง หรือมากกว่าค่าจริงทุกครั้ง โดยมีการกระจายของข้อมูลเพียงเล็กน้อย ทำให้ช่วงความเชื่อมั่นของผลวิเคราะห์ไม่อยู่ในช่วงของค่าจริงบวกลบค่าความไม่แน่นอนของ SRM ดังนั้นเมื่อนำวิธีดังกล่าวไปใช้ในการวิเคราะห์ในงานประจำวัน จะต้องวิเคราะห์หาสาเหตุที่ทำให้เกิดความเอนเอียง และแก้ไข หากไม่สามารถแก้ไขได้จะต้องคำนวณหาค่าความเอนเอียงและนำค่าความเอนเอียงนั้นไปชดเชยกับผลวิเคราะห์ที่ได้ หรือนำค่าความเอนเอียงนั้นไปรวมกับค่าความไม่แน่นอนของการวิเคราะห์

3.4 พิสัยของความเที่ยงของวิธีวิเคราะห์ โดยคำนวณหาค่าเบี่ยงเบนมาตรฐานสัมพัทธ์ (RSD) แล้วประเมินโดยใช้ Horwitz's Ratio (ตติย, 2548) เกณฑ์การประเมินคือ HORRAT \leq 2

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

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

$$C \text{ (concentration ratio)} = X\text{-bar} / 100$$

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

ตารางที่ 6. ค่าเฉลี่ย ค่าเบี่ยงเบนมาตรฐาน %RSD และ HORRAT ในการพิจารณาความเที่ยงของการวิเคราะห์รายการต่างๆ ด้วยเครื่อง ICP

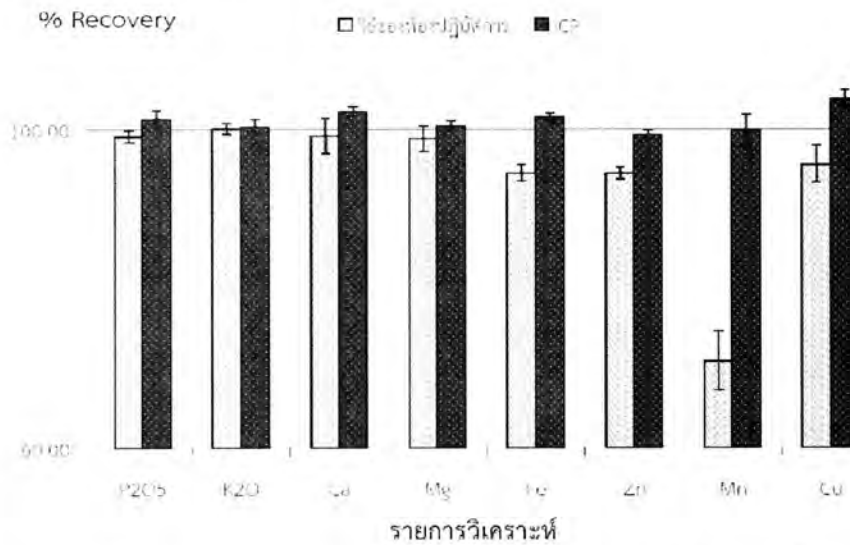
รายการ	ค่าเฉลี่ย (%)	SD (%)	%RSD	HORRAT	สรุป
P ₂ O ₅	52.8428	0.5678	1.0746	0.74	ผ่านเกณฑ์
K ₂ O	34.7478	0.3029	0.8717	0.56	ผ่านเกณฑ์
Ca	2.3111	0.0139	0.6013	0.26	ผ่านเกณฑ์
Mg	1.7979	0.0110	0.6116	0.25	ผ่านเกณฑ์
Fe	4.0510	0.0206	0.5087	0.24	ผ่านเกณฑ์
Zn	0.3230	0.0019	0.5741	0.18	ผ่านเกณฑ์
Mn	0.3044	0.0062	2.0271	0.64	ผ่านเกณฑ์
Cu	0.1272	0.0013	1.0490	0.29	ผ่านเกณฑ์
B	0.1122	0.0020	1.8002	0.49	ผ่านเกณฑ์
As	0.0184	0.0004	2.0807	0.43	ผ่านเกณฑ์

จากตารางที่ 6 พบว่าค่า HORRAT ซึ่งเป็นค่าที่ใช้พิสัยของความเที่ยงของวิธีวิเคราะห์/ทดสอบ ผ่านเกณฑ์การยอมรับทุกรายการทดสอบ แสดงว่าวิธีวิเคราะห์นี้มีความเที่ยง

4. การเปรียบเทียบวิธีวิเคราะห์ระหว่างวิธีวิเคราะห์ที่ห้องปฏิบัติการกลุ่มงานพัฒนาระบบตรวจสอบคุณภาพปุ๋ยใช้ในปัจจุบัน (กรมวิชาการเกษตร, 2541) และวิธีวิเคราะห์ที่วัดด้วยเครื่อง ICP โดยพิจารณาความถูกต้อง และเที่ยงตรงของวิธี จากการนำ %Recovery และค่าเบี่ยงเบนมาตรฐานสัมพัทธ์ (RSD) มาเป็นตัวชี้วัด พบว่าผลการวิเคราะห์โดยใช้เครื่อง ICP มีแนวโน้มสูงกว่าผลการวิเคราะห์โดยวิธีห้องปฏิบัติการ (ภาพที่ 1) และมี %Recovery อยู่ในเกณฑ์ยอมรับทุกรายการ ส่วนวิธีห้องปฏิบัติการมี % Recovery ในรายการ Fe, Zn และ Mn ไม่ผ่านเกณฑ์ยอมรับ สำหรับการพิจารณาความเที่ยงพบว่า %RSD ที่ได้จากการ



วิเคราะห์ด้วยเครื่อง ICP มีค่าต่ำกว่าวิธีห้องปฏิบัติการ ยกเว้นในการวิเคราะห์ในรายการ P_2O_5 ซึ่งมี %RSD สูงกว่าวิธีห้องปฏิบัติการเพียงเล็กน้อย จะเห็นได้ว่าวิธีวิเคราะห์โดยใช้เครื่อง ICP มีความสามารถ และ ประสิทธิภาพดีกว่าวิธีห้องปฏิบัติการ นอกจากนี้การวิเคราะห์ด้วย ICP ยังสะดวกรวดเร็ว เนื่องจากลด ขั้นตอนในการเจือจางสารละลายตัวอย่าง และลดสารเคมีอื่นๆ ในการวิเคราะห์ รวมทั้งสามารถวิเคราะห์ได้ ครั้งละหลายๆ รายการในเวลาเดียวกัน



ภาพที่ 1. เปรียบเทียบ %Recovery และ %RSD ระหว่างวิธีวิเคราะห์ที่ห้องปฏิบัติการกลุ่มงาน พัฒนาระบบตรวจสอบคุณภาพปุ๋ยใช้ในปัจจุบัน และวิธีวิเคราะห์ที่วัดด้วยเครื่อง ICP

สรุปผลการทดลองและข้อเสนอแนะ/คำแนะนำ

การพัฒนาวิธีวิเคราะห์และตรวจสอบความใช้ได้ของวิธีวิเคราะห์ธาตุอาหารหลัก ธาตุอาหารรอง ธาตุอาหารเสริม และสารพิษในปุ๋ย ด้วยเครื่อง ICP โดยทำการศึกษาสภาวะเครื่องมือและเทคนิคการย่อย ตัวอย่างที่เหมาะสม ตรวจสอบความใช้ได้ของวิธี ตลอดจนเปรียบเทียบความสามารถกับวิธีที่ห้องปฏิบัติการกลุ่มงานพัฒนาระบบตรวจสอบคุณภาพปุ๋ยใช้งาน พบว่าเทคนิคการย่อยตัวอย่างด้วยกรดผสมไฮโดรคลอริกและไนตริก อัตราส่วน 3 ต่อ 1 มีความเหมาะสม สำหรับการตรวจสอบความใช้ได้ของการวิเคราะห์ P, K, Mg, Ca, Fe, Zn, Mn, Cu, B และ As ในปุ๋ย ด้วยเทคนิคการย่อยดังกล่าว พบว่ามีความถูกต้อง เทียบตรง สามารถวิเคราะห์ตัวอย่างที่ได้ทุกช่วงความเข้มข้น โดยไม่ต้องเจือจางสารละลาย และจากการเปรียบเทียบวิธีวิเคราะห์ พบว่าวิธีวิเคราะห์ด้วยเครื่อง ICP ให้ผลการวิเคราะห์ที่สูงกว่าวิธีของห้องปฏิบัติการ โดยมีความถูกต้อง และมีความเที่ยงตรงกว่าวิธีห้องปฏิบัติการ จึงสามารถสรุปได้ว่าวิธีวิเคราะห์ P, K, Mg, Ca, Fe, Zn, Mn, Cu, B และ As ด้วยเครื่อง ICP มีถูกต้อง เหมาะสมในการใช้วิเคราะห์ตัวอย่างปุ๋ย อย่างไรก็ตามการวิเคราะห์ด้วยวิธีดังกล่าวยังมีความเอนเอียง ดังนั้นจึงควรนำค่าความเอนเอียงไปคำนวณในการรายงานผลการวิเคราะห์ หรือนำไปรวมกับค่าความไม่แน่นอนของการวิเคราะห์ เพื่อให้ได้ผลการวิเคราะห์ที่เป็นที่น่าเชื่อถือมากขึ้น



การนำไปใช้ประโยชน์

นำไปใช้แนะนำวิธีวิเคราะห์ทางเลือก ที่สะดวกรวดเร็ว และถูกต้อง ให้แก่ ห้องปฏิบัติการวิเคราะห์ปุ๋ย
กรมวิชาการเกษตรส่วนกลางและส่วนภูมิภาค ห้องปฏิบัติการวิเคราะห์ปุ๋ยของภาคราชการและเอกชนทั่วไป
และสถาบันการศึกษาที่เกี่ยวข้อง

เอกสารอ้างอิง

- กรมวิชาการเกษตร. 2541. **คู่มือวิธีวิเคราะห์ปุ๋ย**. กรุงเทพฯ : กลุ่มงานวิเคราะห์ปุ๋ย กองเกษตรเคมี
กรมวิชาการเกษตร กระทรวงเกษตรและสหกรณ์.
แมน อมรสิทธิ์ และ อมร เพชรสม. 2534. **หลักการและเทคนิคการวิเคราะห์เชิงเครื่องมือ**. กรุงเทพฯ
: ภาควิชาเคมี คณะวิทยาศาสตร์ จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย.
จิตรรา ชัยวิมล. 2545. **การตรวจสอบความใช้ได้ของวิธีทดสอบทางเคมี**. กรุงเทพฯ : สถาบันวิจัย
วิทยาศาสตร์และเทคโนโลยีแห่งประเทศไทย.
ตติย สีนร่าย. 2548. **การตรวจพิสูจน์ความถูกต้องของวิธีทดสอบทางเคมี**. กรุงเทพฯ : สถาบันอาหาร.
ภาควิชาปฐพีวิทยา. 2519. **ปฐพีวิทยาเบื้องต้น**. กรุงเทพฯ : ภาควิชาปฐพีวิทยา คณะเกษตร
มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์.
Charles B.Boss and Kenneth J.Fredeeen. 2004. *Concepts, Instrumentation and Techniques in
Inductively Coupled Plasma Optical Emission Spectrometry*. USA :PerkinElmer, Inc.,
Official Methods of Analysis of AOAC International. 2000. *Official Method 938.02. 17 th Ed.* USA :
AOAC International Gaithersburg, MD, p. 21 - 24.