พัฒนาและตรวจสอบความใช้ได้ของวิธีวิเคราะห์ฟอสฟอรัสที่เป็นประโยชน์ต่อพืชในดินด้วยเทคนิคอินดักทีพลีคัพเปิลพลาสมาสเปคโตรเมทรี

Development and Method Validation of phosphorus analysis in soil with Inductively Coupled Plasma Emission Spectrophotometer

พจมาลย์ ภู่สาร *จรีรัตน์ กุศลวิริยะวงศ์* *สุภา โพธิจันทร์* *สงกรานต์ มะลิสอน*
ญาณธิชา จิตต์สะอาด *จิตติรัตน์ ชูชาติ*

Pojjamarrn Poosarrn *Charirat Kusonwiriyawong* *Supha Photichan* *Songkrant Malisorn*
Yarnthicha Jittsa-aad *Jittirat Choochat*

กลุ่มวิจัยเกษตรเคมี กองวิจัยพัฒนาปัจจัยการผลิตทางการเกษตร

ABSTRACT

Development and Method Validation on Analysis of phosphorus analyzes in soil with Inductively Coupled Plasma Emission Spectrophotometer was developed to fit for purpose by Inductively Coupled Plasma Emission Spectrophotometer. The condition of the ICP used to measure phosphorus was obtained using a wavelength at 214.914. plasma view uses radial view, plasma flow, auxiliary flow, nebulizer flow, RF-power, Pump Flow and Uptake uses 16 liters per minute, 0.80 liters per minute, 1.20 liters per minute, 1.300 kW, 25 rpm and 25 seconds. Verify the durability of the test method by changing the condition only slightly from the normal condition (Ruggedness). 3 parameters are sample weight, extraction time and volume of extraction solution. The sample weight was changed from 1.25 g to 1.20 g, the extraction time from 30 min to 28 min. and the volume of extraction from 25 ml to 23 ml. with each parameter 3 iterations were found. Ruggedness with % Recovery passed the criteria 80 - 110 % at low, medium and high concentrations as specified by the standard, there was no effect from the change in environment conditions. Estimate the correlation coefficient; r of Linearity is 0.9997 of range is 0.9998. Limit of Detection (LOD) was 2.6545 mg/kg and Limit of Quantitative (LOQ) was 8.8484 mg/kg.Trueness with % Recovery passed the criteria 80 - 110 % at low, medium and high concentrations as specified by the standard, with precision passed the criteria, with HorRat values 0.3 - 1.3 for all analyzes at low, medium and high concentrations.

Keywords : phosphorus ICP Method Validation

บทคัดย่อ

การพัฒนาและตรวจสอบความใช้ได้ของวิธีวิเคราะห์ฟอสฟอรัสที่เป็นประโยชน์ต่อพืชในดินด้วยเทคนิคอินดักทีพลีคัพเปิลพลาสมาสเปคโตรเมทรี เป็นการพัฒนา ปรับปรุงโดยการการใช้เครื่อง ICP (Inductively Coupled Plasma Emission Spectrophotometer) ได้สภาวะของเครื่อง ICP ที่ใช้ในการวัดฟอสฟอรัส ใช้ค่า wavelength ที่ 214.914 plasma view ใช้มุมมอง radial ส่วน plasma flow, auxiliary flow, nebulizer flow, RF-power, Pump Flow และ Uptake ใช้ที่ 16 ลิตรต่อนาที, 0.80 ลิตรต่อนาที, 1.20 ลิตรต่อนาที, 1.300 กิโลวัตต์, 25 รอบต่อนาที และ 25 วินาที ตรวจสอบความคงทนของวิธีทดสอบโดยการเปลี่ยนแปลงสภาวะเพียงเล็กน้อยจากสภาวะปกติ (Ruggedness) 3 พารามิเตอร์ คือ น้ำหนักตัวอย่าง เวลาในการสกัด และปริมาณน้ำยาสกัด ความเป็นกรดด่าง โดยน้ำหนักตัวอย่างเปลี่ยน

จาก 1.25 กรัม เป็น 1.20 กรัม เวลาในการสกัดจาก 30 นาที เป็น 28 นาที และปริมาณน้ำยาสกัดจาก 25 มิลลิลิตร เป็น 23 มิลลิลิตร มี % Recovery ผ่านเกณฑ์กำหนด 80 - 110 % ที่ระดับความเข้มข้นต่ำ กลาง และ สูง พบว่าไม่มีผลกระทบจากการเปลี่ยนแปลงสภาวะแวดล้อมของการทดสอบ ประเมินค่า correlation coefficient; r ของ Linearity เท่ากับ 0.9997 ของ range เท่ากับ 0.9998 ประเมินหาปริมาณต่ำสุดที่สามารถวัดได้ (LOD) เท่ากับ 2.6545 มิลลิกรัม/กิโลกรัม และปริมาณต่ำสุดที่สามารถวิเคราะห์และรายงานผลได้ (LOQ) เท่ากับ 8.8484 มิลลิกรัม/กิโลกรัม การพิสูจน์ความแม่น (Trueness) มี % Recovery ผ่านเกณฑ์กำหนด 80 - 110 % ที่ระดับความเข้มข้นต่ำ กลาง และ สูง ตามที่มาตรฐานกำหนด มีความเที่ยง (Precision) ผ่านเกณฑ์กำหนด โดยมีค่า HorRat 0.3 - 1.3

คำหลัก : ฟอสฟอรัส, ICP, ตรวจสอบความใช้ได้ของวิธี

คำนำ

ฟอสฟอรัส (Phosphorus) เป็นธาตุอาหารที่พืชต้องการมากธาตุหนึ่งที่จำเป็นต่อการเจริญเติบโตของพืช ความเป็นประโยชน์ของฟอสฟอรัสในดินมีปัจจัยต่าง ๆ ควบคุม เช่น ความเป็นกรดเป็นด่างของดิน , ชนิดของแร่ดินเหนียว เป็นต้น ปริมาณของฟอสฟอรัสที่วิเคราะห์ได้โดยการสกัดดินด้วยน้ำยาต่างๆ เป็นค่าของฟอสฟอรัสที่เป็นประโยชน์ ค่านี้จะมีประโยชน์ต่อเมื่อทดลองแล้วว่ามี correlation กับการตอบสนองของพืช วิธีที่ใช้น้ำยาสกัดที่นิยมในปัจจุบัน Bray II (Bray and Kurtz ,1945) ระดับปริมาณของฟอสฟอรัสที่เป็นประโยชน์ต่อพืช ดังนั้นวิธีการในการทดสอบที่มีความถูกต้องแม่นยำ และความรวดเร็วในการวิเคราะห์ ช่วยให้การประเมินความต้องการธาตุอาหารของพืช และปริมาณธาตุอาหารที่มีจากแหล่งต่างๆ มีประสิทธิภาพมากขึ้น เกษตรกรสามารถนำผลวิเคราะห์นั้นไปใช้กับพืชได้อย่างถูกต้อง ทันต่อฤดูกาลเพาะปลูก และตรงกับความต้องการของพืชอย่างแท้จริง ห้องปฏิบัติการจึงปรับปรุงและพัฒนาวิธีวิเคราะห์ให้ทันสมัย โดยนำเครื่อง Inductively Coupled Plasma (ICP) มาใช้ จึงต้องมีการตรวจสอบความใช้ได้ของวิธีวิเคราะห์ว่าเหมาะสมหรือไม่

วิธีดำเนินการ

วัสดุอุปกรณ์

1) เครื่องเขย่า
2) เครื่องชั่งไฟฟ้าทศนิยม 2 ตำแหน่ง
3) เครื่องชั่งไฟฟ้าทศนิยม 4 ตำแหน่ง
4) เครื่อง UV-Vis Spectrophotometer
5) เครื่อง Inductively Coupled Plasma Emission Spectrophotometer (ICP)
6) เครื่องแก้วและวัสดุอื่นๆที่ใช้ในการวิเคราะห์

สารเคมี

1) Argon gas
2) Ammonium fluoride (NH_4F), AR grade
3) Ammonium molybdate $\left[(NH_4)_4Mo_7O_{24}.4H_2O\right]$, AR grade
4) Antimony potassium tartrate $\left[KOOC(CHOH)_2COOSbO.1/2H_2O\right]$, AR grade
5) Ascorbic acid (C_6H8O_6), AR grade
6) Hydrochloric acid 36 -38 % (HCl), AR grade
7) Phosphate standard solution (PO_4^{3-}) concentration 1000 mg./L
8) Sodium bicarbonate
9) Sulfuric acid 98 % (H_2SO_4)
10) วัสดุอ้างอิงรับรอง/วัสดุอ้างอิงมาตรฐาน (CRM/SRM)

- วัสดุอ้างอิงรับรอง CRM GB 02 (Sandy soil) (38±4 mg/kg Available Phosphorus by Olsen)
- วัสดุอ้างอิงรับรอง CRM GBW07417a (90±10 mg/kg Available Phosphorus extraction by $NaHCO_3$)

วิธีการ

1. หาสภาวะที่เหมาะสมของเครื่อง ICP (Inductively Coupled Plasma Emission Spectrophotometer) ในการวิเคราะห์ฟอสฟอรัสที่เป็นประโยชน์ต่อพืชในดิน เช่น Wavelenght, Sampleflowrate, Neubilizerflowrate, Plasma flow rate และ plasma scanning เป็นต้น
2. วิธีวิเคราะห์ฟอสฟอรัสที่เป็นประโยชน์ต่อพืชในดิน (Olsen et.al., 1954)
   2.1 ชั่งตัวอย่างดินที่บดร่อนผ่านตะแกรงขนาด 2 มิลลิเมตร จำนวน 1.25 กรัม ใส่ใน Erlenmeyer flask ขนาด 50 มิลลิลิตร
   2.2 เติมสารละลาย Olsen (ชั่ง $NaHCO_3$ 42 กรัม ใส่ในขวดปรับปริมาตร ขนาด 1,000 มิลลิลิตร ละลายด้วยน้ำกลั่น 950 มิลลิลิตร ปรับ pH เป็น 8.5 ด้วย 1 M NaOH จากนั้นปรับปริมาตรเป็น 1,000 มิลลิลิตร ด้วยน้ำกลั่น) ปริมาตร 25 มิลลิลิตร แล้วนำไปเขย่าด้วยเครื่องเขย่าที่มีความเร็วรอบ 160 rpm เป็นเวลา 30 นาที แล้วกรองผ่านกระดาษกรองเบอร์ 5
   2.3 ดูดสารละลายตัวอย่างที่ผ่านการกรองแล้วมา 10 มิลลิลิตร ลงในขวดวัดปริมาตรขนาด 50 มิลลิลิตร หยด p-nitrophenon 10 หยด เติม 2.5 M H_2SO_4 ให้สีหายไป แล้วเติมสารละลาย Ammonium molybdate ascorbic acid ปริมาตร 5 มิลลิลิตร ปรับปริมาตรด้วยน้ำกลั่น แล้วเขย่าให้เข้ากัน
   2.4 สารละลายมาตรฐานฟอสเฟตความเข้มข้นที่ได้จากการหาสภาวะที่เหมาะสมของเครื่อง ICP (ข้อ 1) ปริมาตร 10 มิลลิลิตร ลงในขวดวัดปริมาตรขนาด 50 มิลลิลิตร ตามลำดับ แล้วเติมสารละลาย Ammonium molybdate ascorbic acid ปริมาตร 5 มิลลิลิตร ปรับปริมาตรด้วยน้ำกลั่น แล้วเขย่าให้เข้ากัน
   2.5 นำสารละลายตัวอย่าง (ข้อ 2.3) และสารละลายมาตรฐานฟอสเฟต (ข้อ 2.4) ไปวัดด้วยเครื่อง ICP (Inductively Coupled Plasma Emission Spectrophotometer)
3. ตรวจสอบความใช้ได้ของวิธีวิเคราะห์ฟอสฟอรัสที่เป็นประโยชน์ต่อพืชในดินที่สกัดด้วยวิธี Olsen (Olsen *et al*., 1954) และวัดปริมาณโดยวิธี Inductively Coupled Plasma Emission Spectroscopic ดังนี้
   3.1 Linearity / range ทดสอบโดยการตรวจวิเคราะห์ตัวอย่างที่เติมสารมาตรฐานฟอสฟอรัสที่ทราบความเข้มข้นแน่นอน 12 ความเข้มข้น คือที่ความเข้มข้น 0, 0.2, 0.5, 1, 5, 10, 15, 20, 25, 50, 100, 200 มิลลิกรัม/ลิตร ความเข้มข้นละ 3 ซ้ำ ประเมินค่า correlation coefficient; r ที่แสดงความสัมพันธ์ระหว่าง response และปริมาณความเข้มข้นของฟอสฟอรัส ($r \geq 0.995$)
   3.2 หาค่าขีดจำกัดในการตรวจพบ (Limit of Detection; LOD) และขีดจำกัดในการวัดเชิงปริมาณ (Limit of Quantitation; LOQ) โดยใช้ค่า SD- standard deviation ของการวิเคราะห์ตัวอย่างที่มีฟอสฟอรัสปริมาณน้อย จำนวน 10 ซ้ำ บันทึกข้อมูลคำนวณหาค่าเฉลี่ยและค่าเบี่ยงเบนมาตรฐาน (SD)

   คำนวณค่า LOD และ LOQ จากสูตร

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

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

   3.3 หาค่า Trueness และ precision ที่ระดับความเข้มข้นต่ำชั่งตัวอย่างดินที่มีสารที่สนใจในปริมาณน้อย เติม CRM GB 02 ได้ที่ระดับความเข้มข้น LOQ (ต่ำ) ที่ระดับความเข้มข้นกลาง (45 mg/kg) โดยใช้ CRM GB 02 ที่ระดับความเข้มข้นสูง (90 mg/kg) โดยใช้ CRM GBW07417a ดำเนินการทดสอบตามวิธีทดสอบฟอสฟอรัส โดยทำการทดสอบ 10 ซ้ำ และต่างวันเวลา ประเมินผลการทดสอบ จาก % Recovery และ HorRat 0.3 - 1.3 (Eurachem, 2014; AOAC, 2016)

   การคำนวณ % Recovery จากสูตร

- กรณีมีการ Spiked sample

$$\%Recovery = \frac{(\text{ความเข้มข้นของ Spiked sample - ความเข้มข้นของตัวอย่างเริ่มต้น}) \times 100}{\text{ความเข้มข้นของสารมาตรฐานที่เติมลงไป}}$$

- กรณีการวิเคราะห์ CRM

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

3.4 การคำนวณ Precision

$$HorRat = \frac{RSD}{PRSD\ (R)}$$

โดยที่ $RSD = \frac{SD}{Mean} \times 100$

$PRSD\ (R) = 2C^{-0.15}$

เมื่อ C (mass fraction) ค่าเฉลี่ยผลการทดสอบ x 10^{-6} เมื่อความเข้มข้นของตัวอย่างมีหน่วยเป็นมิลลิกรัมต่อลิตร (mg/l)

3.5 ตรวจสอบความคงทนของวิธีทดสอบโดยการเปลี่ยนแปลงสภาวะเพียงเล็กน้อยจากสภาวะปกติ (Ruggedness) โดยเปลี่ยนแปลง น้ำหนัก ปริมาตรน้ำยาสกัด และเวลาเขย่า 3 พารามิเตอร์ คือ น้ำหนักตัวอย่าง เวลาในการสกัด ปริมาณน้ำยาสกัด และความเป็นกรดด่าง โดยน้ำหนักตัวอย่างเปลี่ยนจาก 1.25 กรัม เป็น 1.20 กรัม เวลาในการสกัดจาก 30 นาที เป็น 28 นาที และปริมาณน้ำยาสกัดจาก 25 มิลลิลิตร เป็น 23 มิลลิลิตร

ระยะเวลา เริ่มต้น 1 ตุลาคม 2562 สิ้นสุด 30 กันยายน 2564

สถานที่ทำการทดลอง ห้องปฏิบัติการวิเคราะห์ดิน กลุ่มงานวิจัยระบบตรวจสอบคุณภาพดินและน้ำ กลุ่มวิจัยเกษตรเคมี สำนักวิจัยพัฒนาปัจจัยการผลิตทางการเกษตร

ผลการวิเคราะห์และวิจารณ์

ได้มีแนวทางในการพัฒนาวิธีวิเคราะห์และการตรวจสอบความใช้ได้ของวิธีวิเคราะห์ และใช้เครื่อง ICP (Inductively Coupled Plasma Emission Spectrophotometer) จาก อมรา และคณะ (2553) จึงได้ทำเนินการวิจัยดังหัวข้อต่างๆ ต่อไปนี้

1. สภาวะที่เหมาะสมของเครื่อง ICP (Inductively Coupled Plasma Emission Spectrophotometer) ในการวิเคราะห์ฟอสฟอรัสที่เป็นประโยชน์ต่อพืชในดิน

สภาวะของเครื่อง ICP ที่ใช้ในการวัดฟอสฟอรัส ใช้ค่า wavelength ที่ 214.914 plasma view ใช้มุมมอง radial ส่วน plasma flow, auxiliary flow, nebulizer flow, RF-power, Pump Flow และ Uptake ใช้ที่ 16 ลิตรต่อนาที, 0.80 ลิตรต่อนาที, 1.20 ลิตรต่อนาที, 1.300 กิโลวัตต์, 25 รอบต่อนาที และ 25 วินาที ดังตารางที่ 1

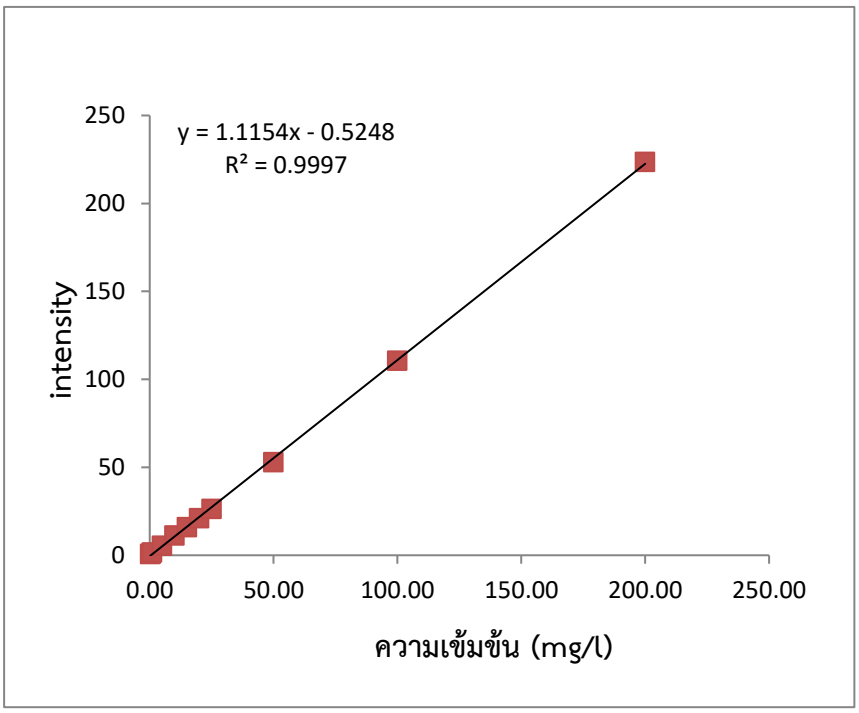
ตารางที่ 1 สภาวะที่เหมาะสมของเครื่อง ICP ที่ใช้ในการวัดฟอสฟอรัสที่เป็นประโยชน์ต่อพืชในดิน

Parameter	Wave Length (nm)	Plasma View	Plasma (LPM)	Aux (LPM)	Neb (LPM)	RF Power (Kw)	Pump Flow (RPM)	Uptake (min)	Conc. of STD (ppm)
P	214.914	Radail	16	0.80	1.20	1.300	25	25	0, 0.5, 1, 10, 50, 100, 200

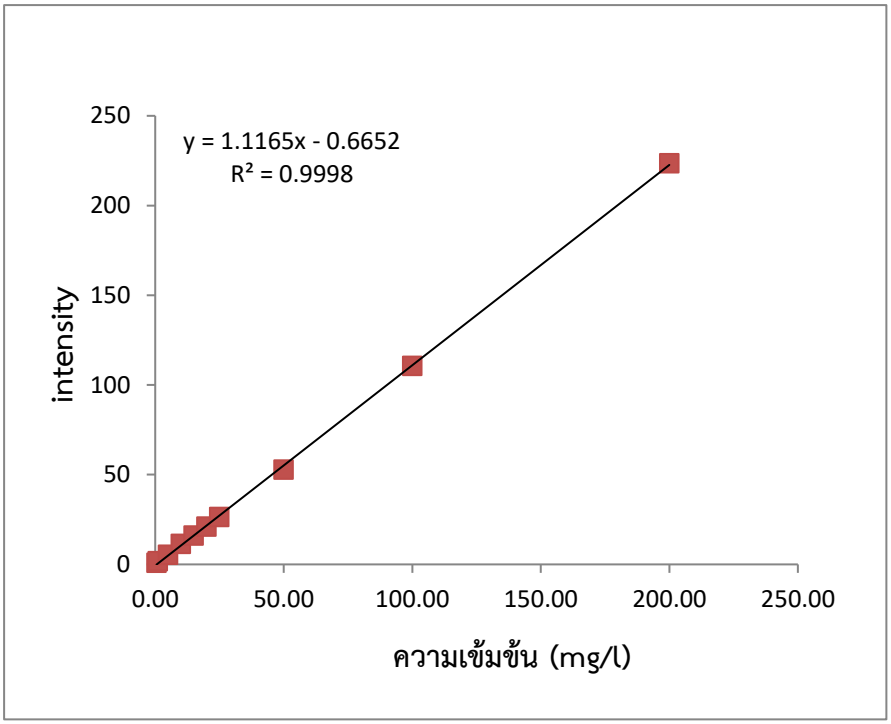
โดย Adesanwo *et al.* (2013) ได้ทำการวิจัยค่าฟอสฟอรัสที่สกัดจากดิน เปรียบเทียบการวัดระหว่างเครื่องทีวัดสี กับ เครื่อง ICP

2. ตรวจสอบความใช้ได้ของวิธีวิเคราะห์ฟอสฟอรัสที่เป็นประโยชน์ต่อพืชในดินที่สกัดด้วยวิธี Olsen และวัดปริมาณโดยวิธี Inductively Coupled Plasma Emission Spectroscopic ดังนี้

2.1 Linearity / range ทดสอบโดยการตรวจวิเคราะห์ตัวอย่างที่เติมสารมาตรฐานฟอสเฟตที่ทราบความเข้มข้น 12 ความเข้มข้นคือ 0, 0.2, 0.5, 1, 5, 10, 15, 20, 25, 50, 100, 200 มิลลิกรัม/ลิตร ความเข้มข้นละ 3 ซ้ำ ประเมินค่า correlation coefficient; r ของ Linearity เท่ากับ 0.9997 ของ range เท่ากับ 0.9998 ดังภาพที่ 1 และภาพที่ 2 ตามลำดับ



ภาพที่ 1 กราฟประเมินค่า correlation coefficient ของ Linearity ที่วัดด้วยเครื่อง ICP



ภาพที่ 2 กราฟประเมินค่า correlation coefficient ของ range ที่วัดด้วยเครื่อง ICP

2.2 หาค่าขีดจำกัดในการตรวจพบ (Limit of Detection; LOD) และขีดจำกัดในการวัดเชิงปริมาณ (Limit of Quantitation; LOQ) โดยใช้ค่า SD- standard deviation ของการวิเคราะห์ตัวอย่างที่มีฟอสฟอรัสปริมาณน้อย จำนวน 10 ซ้ำ บันทึกข้อมูลคำนวณหาค่าเฉลี่ยและค่าเบี่ยงเบนมาตรฐาน (SD) โดยวิเคราะห์ตัวอย่างที่มีฟอสฟอรัสปริมาณน้อย จำนวน 10 ซ้ำ คำนวณหาค่า X และ SD ของ P (mg/kg) ผลการวิเคราะห์ดังตารางที่ 2

ตารางที่ 2 ผลการวิเคราะห์ตัวอย่างที่มีฟอสฟอรัสปริมาณน้อย จำนวน 10 ซ้ำ เพื่อหาค่า LOD และ LOQ

ซ้ำที่	น้ำหนักของตัวอย่างที่มีฟอสฟอรัสปริมาณน้อย (กรัม)	P (mg/kg)
1	1.25	2.0101
2	1.25	1.3664
3	1.25	1.1068
4	1.25	3.2806
5	1.25	2.5775
6	1.25	3.0999
7	1.25	1.1974
8	1.25	1.1068
9	1.25	2.9323
10	1.25	2.7451
	$\overline{X}$	2.1423
	SD	0.8848

จากข้อมูลตารางที่ 2 นำมาหาค่า LOD และ LOQ

ดังนั้น LOD = 3SD = 3 (0.8848) = 2.6545

LOQ = 10SD = 10 (0.8848) = 8.8484

สรุปได้ว่า P (mg/kg) ต่ำสุดที่สามารถวัดได้ ที่ระดับความเชื่อมั่น 95% คือ 2.6545 mg/kg และ P (mg/kg) ที่สามารถนำมารายงานผลได้ต้องไม่ต่ำกว่า 8.8484 mg/kg

2.3 หาค่า Trueness และ precision ที่ความเข้มข้นต่ำ กลาง สูง

2.3.1 หาค่า Trueness ที่ระดับความเข้มข้นต่ำชั่งตัวอย่างดินที่มีสารที่สนใจในปริมาณน้อย เติม CRM GB 02 ได้ที่ระดับความเข้มข้น LOQ (ต่ำ) ที่ระดับความเข้มข้นกลาง (45 mg/kg) โดยใช้ CRM GB 02 ที่ระดับความเข้มข้นสูง (90 mg/kg) โดยใช้ CRM GBW07417a ให้ผลการวิเคราะห์ดังตารางที่ 3 แล้วนำมาคำนวณหา % Recovery ของการวิเคราะห์ฟอสฟอรัสที่เป็นประโยชน์ต่อพืชในดิน ที่ระดับความเข้มข้นต่ำ กลาง และสูง เท่ากับ 98.27, 93.49 และ 102.14 % ตามลำดับ ค่า HorRat ของการวิเคราะห์ฟอสฟอรัสที่เป็นประโยชน์ต่อพืชในดิน ที่ระดับความเข้มข้นต่ำ กลาง และสูง เท่ากับ 1.04, 0.80 และ 0.69 ตามลำดับ

พบว่า Trueness (เกณฑ์ยอมรับ %recovery ความเข้มข้นต่ำ กลาง และสูง = 80-110 % และ Precision (เกณฑ์ยอมรับ 0.3 - 1.3) ผ่านเกณฑ์ยอมรับ

ตารางที่ 3 ผลการพิสูจน์ Trueness และ Precision ของการวิเคราะห์ฟอสฟอรัสที่เป็นประโยชน์ต่อพืชในดิน ที่ระดับความเข้มข้นต่ำ กลาง และสูง

ซ้ำที่	P (mg/kg)		
	ค่าต่ำ	ค่ากลาง	ค่าสูง
1	11.23	42.81	89.51
2	10.09	39.39	91.35
3	9.72	44.09	92.79
4	11.39	46.61	97.57
5	9.41	44.21	97.90
6	11.17	40.28	97.90
7	11.02	40.06	95.18
8	10.49	39.84	85.33
9	12.40	41.40	89.68
10	11.51	42.02	82.04
Average	10.84	42.07	91.93
SD	0.91	2.35	5.45
% Recovery	98.27	93.49	102.14
RSD	11.54	7.17	5.60
RSD (R)	11.11	9.07	7.94
HorRat	1.04	0.80	0.69

ซึ่ง Latrou *et al.* (2014) ได้วิเคราะห์ฟอสฟอรัสที่เป็นประโยชน์ต่อพืชในดิน ในน้ำยาสกัดหลายๆ ชนิด เช่น น้ำยาสกัด Olsen หรือน้ำยาสกัด Mehlich 3 ซึ่งน้ำยาสกัด Olsen เป็นน้ำยาสกัดที่เลือกใช้ และวิธีการตรวจสอบความใช้ได้ของวิธีที่ดำเนินการมาเป็นไปในทิศทางเดียวกับ CAMELIA *et al.* (2012)

2.4 ตรวจสอบความคงทนของวิธีทดสอบ

ที่ระดับความเข้มข้นต่ำ ชั่งตัวอย่างดินที่มีสารที่สนใจในปริมาณน้อย เติม CRM GB 02 ได้ที่ระดับความเข้มข้น LOQ (ต่ำ) ที่ระดับความเข้มข้นกลาง (45 mg/kg) โดยใช้ CRM GB 02 ที่ระดับความเข้มข้นสูง (90 mg/kg) โดยใช้ CRM GBW07417a โดยแต่ละพารามิเตอร์ทำ 10 ซ้ำ แล้วนำมาคำนวณหา % Recovery ดังตารางที่ 4-6 พบว่า % Recovery ความเข้มข้นต่ำ กลาง สูง อยู่ในช่วง 80-110 ซึ่งเป็นเกณฑ์ยอมรับ ดังน้ำแสดงว่าผ่านเกณฑ์ยอมรับ

ตารางที่ 4 ผลการทดสอบความคงทนของวิธีทดสอบโดยการเปลี่ยนแปลงสภาวะเพียงเล็กน้อยจากสภาวะปกติ (Ruggedness) ที่ระดับความเข้มข้น LOQ (ต่ำ)

ซ้ำที่	ฟอสฟอรัสที่เป็นประโยชน์ต่อพืชในดิน (มิลลิกรัม/กิโลกรัม)		
	น้ำหนักตัวอย่าง	เวลาในการสกัด	ปริมาณน้ำยาสกัด
1	10.26	11.41	9.66
2	10.59	10.82	9.49
3	11.16	9.45	11.06
4	11.74	10.52	11.41
5	10.72	11.70	10.65
6	9.36	9.93	10.32
7	11.38	11.17	11.37
8	11.49	9.39	10.16
9	11.71	10.16	9.82
10	9.34	10.95	11.04
Average	10.78	10.55	10.50
SD	0.89	0.80	0.71
% Recovery	97.52	94.98	94.41

ตารางที่ 5 ผลการทดสอบความคงทนของวิธีทดสอบโดยการเปลี่ยนแปลงสภาวะเพียงเล็กน้อยจากสภาวะปกติ (Ruggedness) ที่ระดับความเข้มข้นกลาง

ซ้ำที่	ฟอสฟอรัสที่เป็นประโยชน์ต่อพืชในดิน (มิลลิกรัม/กิโลกรัม)		
	น้ำหนักตัวอย่าง	เวลาในการสกัด	ปริมาณน้ำยาสกัด
1	39.05	36.91	45.02
2	38.96	37.65	43.77
3	37.86	44.00	46.22
4	40.45	49.18	47.32
5	42.21	46.63	40.09
6	46.38	45.56	42.42
7	43.30	47.06	41.14
8	41.21	45.29	49.10
9	40.17	46.70	46.95
10	46.30	45.10	48.53
Average	41.59	44.41	45.06
SD	2.97	4.01	3.11
% Recovery	92.43	98.69	100.13

ตารางที่ 6 ผลการทดสอบความคงทนของวิธีทดสอบโดยการเปลี่ยนแปลงสภาวะเพียงเล็กน้อยจากสภาวะปกติ (Ruggedness) ที่ระดับความเข้มข้นสูง

ซ้ำที่	ฟอสฟอรัสที่เป็นประโยชน์ต่อพืชในดิน (มิลลิกรัม/กิโลกรัม)		
	น้ำหนักตัวอย่าง	เวลาในการสกัด	ปริมาณน้ำยาสกัด
1	91.37	89.79	97.94
2	97.72	96.40	90.80
3	98.69	97.26	94.13
4	90.72	96.06	92.18
5	93.91	94.52	93.33
6	92.43	97.26	94.04
7	79.69	86.99	98.82
8	86.02	89.03	87.51
9	91.46	92.23	98.58
10	97.22	90.21	93.96
Average	91.92	92.97	94.13
SD	5.76	3.80	3.59
% Recovery	102.14	103.30	104.59

สรุปผลการทดลองและข้อเสนอแนะ/คำแนะนำ

ได้สภาวะของเครื่อง ICP ที่ใช้ในการวัดฟอสฟอรัส ใช้ค่า wavelength ที่ 214.914 plasma view ใช้มุมมอง radial ส่วน plasma flow, auxiliary flow, nebulizer flow, RF-power, Pump Flow และ Uptake ใช้ที่ 16 ลิตรต่อนาที, 0.80 ลิตรต่อนาที, 1.20 ลิตรต่อนาที, 1.300 กิโลวัตต์, 25 รอบต่อนาที และ 25 วินาที

การตรวจสอบความใช้ได้ของวิธีวิเคราะห์ พบว่า มีค่า correlation coefficient; r ของ Linearity เท่ากับ 0.9997 ของ range เท่ากับ 0.9998 ประเมินหาปริมาณต่ำสุดที่สามารถวัดได้ (LOD) เท่ากับ 2.6545 มิลลิกรัม/กิโลกรัม และปริมาณต่ำสุดที่สามารถวิเคราะห์และรายงานผลได้ (LOQ) เท่ากับ 8.8484 มิลลิกรัม/กิโลกรัม การพิสูจน์ความแม่น (Trueness) มี % Recovery ผ่านเกณฑ์กำหนด 80 - 110 % ที่ระดับความเข้มข้นต่ำ กลาง และ สูง ตามที่มาตรฐานกำหนด มีความเที่ยง (Precision) ผ่านเกณฑ์กำหนด โดยมีค่า HorRat 0.3 - 1.3

ตรวจสอบความคงทนของวิธีทดสอบโดยการเปลี่ยนแปลงสภาวะเพียงเล็กน้อยจากสภาวะปกติ (Ruggedness) 3 พารามิเตอร์ คือ น้ำหนักตัวอย่าง เวลาในการสกัด ปริมาณน้ำยาสกัด และความเป็นกรดด่าง โดยน้ำหนักตัวอย่างเปลี่ยนจาก 1.25 กรัม เป็น 1.20 กรัม เวลาในการสกัดจาก 30 นาที เป็น 28 นาที และปริมาณน้ำยาสกัดจาก 25 มิลลิลิตร เป็น 23 มิลลิลิตร ที่ระดับความเข้มข้นต่ำชั่งตัวอย่างดินที่มีสารที่สนใจในปริมาณน้อย เติม CRM GB 02 ได้ที่ระดับความเข้มข้น LOQ (ต่ำ) ที่ระดับความเข้มข้นกลาง (45 mg/kg) โดยใช้ CRM GB 02 ที่ระดับความเข้มข้นสูง (90 mg/kg) โดยใช้ CRM GBW07417a โดยแต่ละพารามิเตอร์ทำ 10 ซ้ำ แล้วนำมาคำนวณหา % Recovery พบว่า % Recovery ความเข้มข้นต่ำ กลาง สูง อยู่ในช่วง 80-110 ซึ่งเป็นเกณฑ์ยอมรับ ดังน้ำแสดงว่าผ่านเกณฑ์ยอมรับ

การนำผลงานวิจัยไปใช้ประโยชน์

การวิเคราะห์ฟอสฟอรัสที่เป็นประโยชน์ต่อพืชในดิน ได้รับการตรวจสอบความใช้ได้แล้วว่า เป็นวิธีมาตรฐาน เป็นวิธีที่มีความถูกต้อง เหมาะสมที่จะนำมาใช้และครอบคลุมความต้องการในการนำมาใช้ในการวิเคราะห์ดิน และสามารถรายงานผลการวิเคราะห์ได้อย่างถูกต้อง แม่นยำ และเชื่อถือได้ กลุ่มเป้าหมายคือ ห้องปฏิบัติการวิเคราะห์ดิน

เอกสารอ้างอิง

อมรา หาญจวณิช สงกรานต์ มะลิสอน พงศ์พิศ แก้วสุข และ วรรณรัตน์ ชุติบุตร. 2553. พัฒนาวิธีวิเคราะห์และการตรวจสอบความใช้ได้ของวิธีวิเคราะห์ธาตุอาหารหลัก ธาตุอาหารรอง ธาตุอาหารเสริม และสารพิษในปุ๋ย โดยใช้เครื่อง Inductively Coupled Plasma (ICP). ใน รายงานผลการปฏิบัติงานประจำปีงบประมาณ 2553 เล่มที่ 2 สำนักวิจัยพัฒนาปัจจัยการผลิตทางการเกษตร กรมวิชาการเกษตร.

AOAC. 2016. Official Method of Analysis of AOAC International. 20th Ed. AOAC International Gaithersburg, Maryland. USA.

Adesanwo, O. O., Ige, D. V., Thibault, L., Flaten, D. and W. Akinremi. 2013. Comparison of Colorimetric and ICP Methods of Phosphorus Determination in Soil Extracts. *Communications in Soil Science and Plant Analysis*, 44:3061–3075,

Bray, R.H. and L.T. Kurtz. 1945. Determination of Total, Organic and Available Forms of Phosphorus in Soil. Soil Sci. 59:39-45

DRĂGHICI, CRISTINA JELESCU, CARMEN DIMA, MIHAELA SICA, ELISABETA CHIRILĂ, SIMONA DOBRINAŞ and ALINA SOCEANU. 2012. Method validation and uncertainty estimation for total phosphorus determination in wastewater sludge samples. STUDIA UBB CHEMIA, LVII, 1, 93 - 102

Eurachem. 2014. The Fitness for Purpose of Analytical Methods. A Laboratory Guide to Method Validation and Related Topics.

Latrou, M., Papadopoulos, A., Papadopoulos, F., Dichala, O., Psoma, P., AND A. Bountla. 2014. Determination of Soil Available Phosphorus using the Olsen and Mehlich 3 Methods for Greek Soils Having Variable Amounts of Calcium Carbonate. Communications in Soil Science and Plant Analysis, 45:16, 2207-2214

Olsen, S.R., Cole, C.V., Watanabe, F.S. and L.A. Dean. 1954. Estimation of available phosphorus in soil by extraction with sodium bicarbonate. vol. 939. U.S.Gov.Print Office, Washington D.C, pp. 1-19.