ศึกษาเกณฑ์คลาดเคลื่อนจากค่าความไม่แน่นอนของการวิเคราะห์อินทรียวัตถุในปุ๋ยอินทรีย์เคมี

Tolerance from the uncertainty of organic matter analysis in organic chemical fertilizers

ศุภัคชญา ทาหาร *นันทกานต์ ขุนโหร*

Supakchaya Thahan *Nanthakan Khunhon*

กลุ่มวิจัยเกษตรเคมี กองวิจัยพัฒนาปัจจัยการผลิตทางการเกษตร

ABSTRACT

Tolerance of uncertainty on organic matter in organic-chemical fertilizer was study of usage data from the method validation of Organic matter (OM), sampling and analysis to be combined. The result of method validation, Limit of detection (LOD) Limit of quantitation (LOQ) and Precision were passed. All acceptance criteria, LOD and LOQ were 0.21% and 0.70% OM. The measurement uncertainty from the method validation was assessed. The results of analysis showed the acceptance criteria. The uncertainty from the sampling and testing at low concentrations, middle concentrations and high concentrations (14.86-69.13% OM). Tolerance of uncertainty on organic matter in organic chemical fertilizer was in the ranged of 1.63-6.38%.

Keywords : Tolerance Organic matter Organic-chemical fertilizer

บทคัดย่อ

การศึกษาเกณฑ์คลาดเคลื่อนของการวัดปริมาณอินทรียวัตถุในปุ๋ยอินทรีย์เคมี โดยทำการตรวจสอบความใช้ได้ของวิธีวิเคราะห์ปุ๋ยอินทรีย์เคมี เพื่อนำมาประเมินค่าความไม่แน่นอนของการวัด และทำการทดสอบตัวอย่างปุ๋ยอินทรีย์เคมี ที่ความเข้มข้นต่ำ กลาง สูง เพื่อนำมาประเมินค่าความไม่แน่นอน ขั้นตอนการสุ่มตัวอย่าง และขั้นตอนการทดสอบ โดยการตรวจสอบความใช้ได้ของวิธีวิเคราะห์อินทรียวัตถุในปุ๋ยอินทรีย์เคมี ทำการทดสอบหาค่า limit of detection(LOD), Limit of quantitation (LOQ) และ precision พบว่า ค่า LOD และ LOQ เท่ากับ 0.21 และ 0.70 %OM ค่า Precision ผ่านเกณฑ์การยอมรับทั้งหมด ค่าความไม่แน่นอนจากการสุ่มตัวอย่างและการทดสอบ คลอบคลุมระดับความเข้มข้นต่ำ กลาง สูง (14.86-69.13% OM) ได้เกณฑ์คลาดเคลื่อนของปริมาณอินทรียวัตถุในปุ๋ยอินทรีย์เคมี คลอบคลุมอยู่ในช่วง 1.63-6.38 %

คำหลัก : เกณฑ์คลาดเคลื่อน อินทรียวัตถุ ปุ๋ยอินทรีย์เคมี

คำนำ

อินทรียวัตถุเป็นองค์ประกอบสำคัญของดิน มีผลในการเพิ่มความอุดมสมบูรณ์ให้กับดินหากมีการใช้งานทำการเกษตรอย่างต่อเนื่องจะทำให้อินทรียวัตถุในดินลดลงลง จึงควรเติมอินทรียวัตถุให้ดินเพื่อเพิ่มประสิทธิภาพของการเพาะปลูก การใส่ปุ๋ยอินทรีย์จึงเป็นการเพิ่มปริมาณอินทรียวัตถุให้กับดิน แต่เนื่องจากปุ๋ยอินทรีย์ให้อาหารพืชต่ำจึงต้องใช้ปริมาณมากอาจทำให้ค่าใช้จ่ายเพิ่มขึ้น ดังนั้น จึงต้องมีการปรับความเข้มข้นของธาตุอาหารพืชโดยการผสมอินทรีย์และปุ๋ยเคมีเข้าด้วยกัน เรียกว่า ปุ๋ยอินทรีย์เคมี ซึ่งเป็นอีกวิธีหนึ่งที่สามารถเพิ่มความสมบูรณ์ของดินและธาตุอาหารพืช

ซึ่งตามพระราชบัญญัติปุ๋ย พ.ศ.2550 (มาตรา 3) ปุ๋ยอินทรีย์เคมี หมายความว่า ปุ๋ยที่มีธาตุอาหารรับรองแน่นอนโดยมีปริมาณอินทรียวัตถุไม่น้อยกว่า 10% การผลิตปุ๋ยอินทรีย์เคมีเพื่อการค้าต้องได้รับการอนุญาตจากพนักงานเจ้าหน้าที่กรมวิชาการเกษตร ในฐานะผู้รับผิดชอบหลักในการกำกับดูแลคุณภาพปุ๋ย ตามพระราชบัญญัติปุ๋ย พ.ศ. 2518 แก้ไขเพิ่มเติมโดย พระราชบัญญัติปุ๋ย (ฉบับที่ 2) พ.ศ. 2550

กองวิจัยพัฒนาปัจจัยการผลิตทางการเกษตร ซึ่งเป็นหน่วยงานที่รับผิดชอบภารกิจการตรวจวิเคราะห์คุณสมบัติด้านต่างๆของปุ๋ยเคมี ปุ๋ยอินทรีย์ และปุ๋ยชีวภาพ เพื่อเป็นข้อมูลประกอบการขอขึ้นทะเบียน การขออนุญาตผลิต การนำเข้า การขาย การนำผ่าน การส่งออก การดำเนินคดีกับผู้กระทำผิด การควบคุมปุ๋ย แบ่งออกเป็น 3 ส่วน คือ ฉลาก ขนาดบรรจุ และเกณฑ์คลาดเคลื่อนของปริมาณธาตุอาหาร ซึ่งเกณฑ์คลาดเคลื่อนของปริมาณธาตุอาหาร มีความสำคัญในการบ่งชี้ว่าปริมาณธาตุอาหารรับรองที่ระบุผ่านเกณฑ์คลาดเคลื่อนขั้นต่ำ ตามประกาศกระทรวงเกษตรและสหกรณ์ เรื่อง กำหนดเกณฑ์คลาดเคลื่อนของปริมาณธาตุอาหารรับรองของปุ๋ยเคมี ตามพระราชบัญญัติปุ๋ย พ.ศ. 2518 แก้ไขเพิ่มเติมฉบับที่ 2 พ.ศ. 2550 พ.ศ. 2554 กำหนดเกณฑ์คลาดเคลื่อนของปริมาณธาตุอาหารรับรองที่มีในปุ๋ยเคมีทุกชนิดที่อนุญาตให้คลาดเคลื่อน หรือแตกต่างในการนำ การเตรียมการ และการวิเคราะห์ตัวอย่างปุ๋ยเคมีเพื่อตรวจสอบปริมาณธาตุอาหารรับรอง ไนโตรเจน ฟอสฟอรัส โพแทสเซียม และข้อมูลตามประกาศกระทรวงเกษตรและสหกรณ์ เรื่อง กำหนดเกณฑ์คลาดเคลื่อนของปริมาณอินทรียวัตถุ ตามพระราชบัญญัติปุ๋ย พ.ศ. 2518 แก้ไขเพิ่มเติมฉบับที่ 2 พ.ศ. 2550 พ.ศ. 2552 กำหนดเกณฑ์คลาดเคลื่อนของปริมาณอินทรียวัตถุที่มีในปุ๋ยอินทรีย์เคมีและปริมาณอินทรียวัตถุรับรองที่มีในปุ๋ยอินทรีย์ทุกชนิดที่อนุญาตให้คลาดเคลื่อน หรือแตกต่างในการนำการเตรียมการ และการวิเคราะห์ตัวอย่างปุ๋ยอินทรีย์เคมีและปุ๋ยอินทรีย์เพื่อตรวจสอบปริมาณอินทรียวัตถุรับรอง

เนื่องจากยังไม่มีการกำหนดเกณฑ์คลาดเคลื่อนของปริมาณอินทรียวัตถุจากการวิเคราะห์ปุ๋ยอินทรีย์เคมีโดยตรง จึงทำการวิเคราะห์หาปริมาณอินทรียวัตถุในปุ๋ยอินทรีย์เคมีเพื่อนำค่าวิเคราะห์มากำหนดเกณฑ์คลาดเคลื่อนของการตรวจสอบปริมาณอินทรียวัตถุในปุ๋ยอินทรีย์เคมี เพื่อควบคุมคุณภาพปุ๋ย ควบคุมการผลิต และจำหน่ายปุ๋ยให้มีคุณภาพถูกต้องตามหลักเกณฑ์ และรักษาผลประโยชน์ของเกษตรกร ซึ่งต้องอาศัยผลการวิเคราะห์ปริมาณธาตุอาหารในปุ๋ยของห้องปฏิบัติการ โดยในกระบวนการวิเคราะห์ หรือวัดค่าสิ่งต่างๆ ย่อมมีความไม่แน่นอนหรือความคลาดเคลื่อนเกิดขึ้นเสมอ ดังนั้น จึงจำเป็นต้องมีการกำหนดเกณฑ์คลาดเคลื่อนออกมารองรับปริมาณ หรือความคลาดเคลื่อนที่เกิดขึ้น อีกทั้งยังเป็นเกณฑ์สำหรับห้องปฏิบัติการใช้ในการพิจารณาดำเนินการตรวจสอบซ้ำ ในกรณีที่ผลวิเคราะห์ไม่ตรงกับปริมาณที่แจ้ง และเพื่อความเป็นธรรมของผู้ที่เกี่ยวข้อง ในกรณีที่มีการนำผลการวิเคราะห์มาใช้ตัดสินในทางกฎหมาย ตามพระราชบัญญัติปุ๋ย พ.ศ. 2518 แก้ไขเพิ่มเติมโดยพระราชบัญญัติปุ๋ย (ฉบับที่2) พ.ศ. 2550

วิธีดำเนินการ

อุปกรณ์

1. เครื่องชั่งไฟฟ้าทศนิยม 4 ตำแหน่ง
2. บิวเรต ขนาด 25 มิลลิลิตร
3. เครื่องแก้วและวัสดุอื่นๆที่ใช้ในการปฏิบัติการทดสอบ
4. แอมโมเนียมเฟอร์รัสซัลเฟต $Fe(NH_4)_2(SO_4)_2.6H_2O$, AR grade
5. 1,10 ฟีแนนโทรลีน อินดิเคเตอร์ ($C_{18}H_8N_2.H_2O$), AR grade
6. โพแทสเซียมไดโครเมต ($K_2Cr_2O_7$), AR grade
7. กรดซัลฟุริกเข้มข้น (96-98% H_2SO_4), AR grade

วิธีการ

1. เตรียมตัวอย่างปุ๋ยอินทรีย์เคมี ที่มีปริมาณธาตุอาหารรับรองแน่นอน มีปริมาณอินทรียวัตถุไม่น้อยกว่า 10% ได้ตัวอย่างปุ๋ยอินทรีย์เคมีคลอบคลุม ที่ระดับความเข้มข้นต่ำ กลาง สูง ความเข้มข้นละ 3 ตัวอย่าง ตัวอย่างละ 2 กิโลกรัม (A)

2. วิธีวิเคราะห์อินทรียวัตถุในปุ๋ยอินทรีย์เคมี ด้วยวิธี Walkley and Black Method (ประกาศกระทรวงเกษตรและสหกรณ์, 2559)

2.1 ชั่งตัวอย่างปุ๋ยอินทรีย์เคมี 0.1xxx กรัม ใส่ขวดรูปชมพู่ ขนาด 125 มิลลิลิตร

2.2 เติมสารละลายโพแทสเซียมไดโครเมต 10 มิลลิลิตร ลงในตัวอย่าง

2.3 เติมกรดซัลฟูริก 15 มิลลิลิตร ลงในสารละลายตัวอย่าง ช้าๆ เขย่าเบาๆ ตั้งทิ้งไว้ในตู้ดูดควัน 16 ชั่วโมง

2.4 เติมน้ำกลั่นให้มีปริมาตร 100 มิลลิลิตร เติมสารละลาย O-phenanthroline ferrous sulfate ปริมาณ 0.5 มิลลิลิตร

2.5 นำสารละลายตัวอย่างมาไตเตรทด้วยสารละลาย Ammonium ferrous sulfate จนได้สารละลายสีเขียว และ เปลี่ยนจากสีเขียวเป็นน้ำตาลปนแดง แสดงว่าถึงจุดยุติ

2.6 บันทึกข้อมูล และคำนวณผล

3. ตรวจความใช้ได้ของวิธีวิเคราะห์อินทรียวัตถุ

3.1 หาขีดจำกัดในการตรวจพบ (Limit of Detection; LOD) ขีดจำกัดในการวัดเชิงปริมาณ (Limit of Quantitation; LOQ)

3.1.1 ชั่งตัวอย่างที่ไม่มีอินทรียวัตถุหรือตัวอย่างที่มีปริมาณอินทรียวัตถุต่ำ (Sample Blank) จำนวน 10 ซ้ำ

3.1.2 ดำเนินการวิเคราะห์ เช่นเดียวกับวิธีวิเคราะห์ข้อ 2 โดยทำการวิเคราะห์ที่เวลาแตกต่างกัน วันละ 1 ซ้ำ เป็นเวลา 10 วัน

3.1.3 บันทึกข้อมูล คำนวณหาค่า LOD และ LOQ (Eurachem, 2014) ตามสูตร

LOD = $3S'_0$

LOQ = $10S'_0$

เมื่อ $S'_0 = \frac{S_0}{\sqrt{n}}$

S'_0 คือ ค่าเบี่ยงเบนมาตรฐานสำหรับการคำนวณ LOD และ LOQ

S_0 คือค่าเบี่ยงเบนมาตรฐานจากการทดสอบ Repeatability ของ Sample Blank

n คือ จำนวนซ้ำของตัวอย่างทดสอบ

3.2 พิสูจน์ความเที่ยง (Precision) ของวิธีวิเคราะห์

3.2.1 ชั่งตัวอย่างปุ๋ยอินทรีย์เคมีที่ระดับความเข้มข้น LOQ ต่ำ กลาง และสูง จำนวน 7 ซ้ำ

3.2.2 ดำเนินการวิเคราะห์ เช่นเดียวกับวิธีวิเคราะห์ข้อ 2 โดยทำการวิเคราะห์ที่เวลาแตกต่างกัน วันละ 1 ซ้ำเป็นเวลา 7 วัน

3.2.3 บันทึกข้อมูล คำนวณผล และประเมินค่า Precision โดย HorRat (Horwitz's Ratio) เกณฑ์การยอมรับ <1.3 (AOAC, 2016)

4. ประเมินค่า คำนวณค่าความไม่แน่นอนตั้งแต่ขั้นตอนการเตรียมตัวอย่าง ขั้นตอนการทดสอบ และคำนวณเกณฑ์คลาดเคลื่อนของปริมาณอินทรียวัตถุในปุ๋ยอินทรีย์เคมี

4.1 แบ่งตัวอย่างปุ๋ยอินทรีย์เคมี (A) เป็น 2 ส่วน (A1, A2) ส่วนละ 1 กิโลกรัม แล้วนำปุ๋ยอินทรีย์เคมี A1, A2 มาแบ่งเป็น 4 ส่วน (Eurachem, 2019)

4.2 บดตัวอย่างปุ๋ยอินทรีย์เคมีทั้ง 8 ส่วน นำตัวอย่างที่ได้ไปดำเนินการวิเคราะห์ เช่นเดียวกับวิธีวิเคราะห์ข้อ 2 โดยทำการวิเคราะห์ตัวอย่างละ 2 คน คนละ 2 ซ้ำ บันทึกข้อมูลและคำนวณผล

4.3 คำนวณค่าความไม่แน่นอนตั้งแต่ขั้นตอนเตรียมตัวอย่าง และขั้นตอนวิเคราะห์อินทรียวัตถุในปุ๋ยอินทรีย์เคมี ตามสูตร

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

เมื่อ u = ค่าคลาดเคลื่อน

% RSD = Relative standard deviation

SD = standard deviation

4.4 คำนวณเกณฑ์คลาดเคลื่อนของปริมาณอินทรียวัตถุทั้งหมดในปุ๋ยอินทรีย์เคมี ตามสูตร

$$u_c = \sqrt{(u_{samp})^2 + (u_{anal})^2}$$

เมื่อ u_c = Combined uncertainty

u_{samp} = ค่าความไม่แน่นอนของการเตรียมตัวอย่าง

u_{anal} = ค่าความไม่แน่นอนของการวิเคราะห์

ระยะเวลา เริ่มต้น ตุลาคม 2562 สิ้นสุด กันยายน 2564

สถานที่ทำการทดลอง กลุ่มงานวิจัยระบบตรวจสอบคุณภาพปุ๋ย กลุ่มวิจัยเกษตรเคมี กองวิจัยพัฒนาปัจจัยการผลิตทางการเกษตร

ผลการทดลองและวิจารณ์

1. ตรวจสอบความใช้ได้ของวิธีวิเคราะห์อินทรียวัตถุในปุ๋ยอินทรีย์เคมี

1.1 ประมาณค่าต่ำที่สุดที่สามารถวิเคราะห์ได้ และประมาณค่าต่ำที่สุดที่สามารถรายงานผลได้ พบว่าค่าเฉลี่ยเท่ากับ 1.21%OM ค่าความเบี่ยงเบนมาตรฐาน เท่ากับ 0.07%OM คำนวณค่า LOD และ LOQ เท่ากับ 0.21%OM และ LOQ เท่ากับ 0.70 %OM

1.2 พิสูจน์ความเที่ยง (Precision)

ตรวจสอบความเที่ยงของตัวอย่างปุ๋ยอินทรีย์เคมี นำตัวอย่างปุ๋ยอินทรีย์เคมีมาวิเคราะห์หาปริมาณอินทรียวัตถุ ที่ระดับความเข้มข้น LOQ ต่ำ กลาง สูง โดยประเมินค่า Precision จาก HorRat (Horwitz's Ratio) พบว่า ที่ความเข้มข้น LOQ ต่ำ กลาง สูง อยู่ในเกณฑ์การยอมรับ <1.3 ดังตารางที่ 1

ตารางที่ 1 ผลการตรวจสอบความเที่ยงในตัวอย่างปุ๋ยอินทรีย์เคมี

Concentration	Standard deviation	Relative standard deviation	Predicted RSD	HorRat	Assessment results
LOQ (1.24%)	0.05	3.91	3.86	1.01	Pass
Low (21.45%)	0.19	0.86	2.52	0.34	Pass
Medium (43.02%)	0.19	0.43	2.27	0.19	Pass
High (69.12%)	0.63	0.91	2.11	0.43	Pass

2. ประเมินค่าความไม่แน่นอนในขั้นตอนการสุ่มตัวอย่างและการทดสอบ

เกณฑ์คลาดเคลื่อนจากค่าความไม่แน่นอนของการวัดของปริมาณอินทรียวัตถุในปุ๋ยอินทรีย์เคมี โดยคำนวณจากค่าความไม่แน่นอนจากการสุ่มตัวอย่างและการทดสอบ ที่ช่วงความเข้มข้นต่ำ เท่ากับ 6.38%, 3.69% และ 5.83%

ช่วงความเข้มข้นกลาง เท่ากับ 3.77%, 2.70%และ 3.27% และช่วงความเข้มข้นสูง เท่ากับ 3.18%, 1.63% และ 2.27% ตามลำดับ (ตารางที่ 2)

ตารางที่ 2 ค่าความไม่แน่นอนของปริมาณอินทรียวัตถุในปุ๋ยอินทรีย์เคมี

Concentration	Organic matter	Measurement uncertainty		
	(%)	Sampling (%)	Analytical (%)	Total (%)
Low	14.86	3.36	5.42	6.38
	23.12	2.78	2.42	3.69
	25.01	3.60	4.60	5.83
Medium	27.72	3.30	1.82	3.77
	36.50	1.42	2.30	2.70
	42.26	2.62	1.96	3.27
High	50.56	2.68	1.72	3.18
	55.71	0.96	1.32	1.63
	69.13	1.28	1.88	2.27

สรุปผลการทดลองและข้อเสนอแนะ/คำแนะนำ

การศึกษาเกณฑ์คลาดเคลื่อนของการวัดปริมาณอินทรียวัตถุในปุ๋ยอินทรีย์เคมี โดยทำการตรวจสอบความใช้ได้ของวิธีวิเคราะห์ปุ๋ยอินทรีย์เคมี เพื่อนำมาประเมินค่าความไม่แน่นอนของการวัด และทำการทดสอบตัวอย่างปุ๋ยอินทรีย์เคมี การตรวจสอบความใช้ได้ของวิธีวิเคราะห์อินทรียวัตถุในปุ๋ยอินทรีย์เคมี การทดสอบ Limit of detection(LOD), Limit of quantitation (LOQ) และ Precision พบว่าค่า LOD และ LOQ เท่ากับ 0.21%OM และ 0.70%OM ค่า Precision ผ่านเกณฑ์การยอมรับทั้งหมด และได้เกณฑ์ค่าคลาดเคลื่อนของปริมาณอินทรียวัตถุในปุ๋ยอินทรีย์เคมีที่คลอบคลุมระดับความเข้มข้นต่ำ กลาง สูง (14.86-69.13% OM) มีค่าความคลาดเคลื่อนอยู่ในช่วง 1.63-6.38%

การนำผลงานวิจัยไปใช้ประโยชน์

ใช้เป็นข้อมูลในการสร้างความเชื่อมั่นด้านการตรวจวิเคราะห์ เพื่อพิสูจน์และยืนยันถึงวิธีการที่นำมาใช้ในการทดสอบว่ามีความถูกต้อง แม่นยำ น่าเชื่อถือ สามารถสอบกลับได้ ลดข้อโต้แย้ง ในการกำกับ และบังคับใช้กฎหมายของกรมวิชาการเกษตร ตามพระราชบัญญัติปุ๋ย พ.ศ. 2518 แก้ไขเพิ่มเติมโดยพระราชบัญญัติปุ๋ย (ฉบับที่ 2) พ.ศ. 2550

เอกสารอ้างอิง

ประกาศกระทรวงเกษตรและสหกรณ์ เรื่อง กำหนดกรรมวิธีการตรวจวิเคราะห์ปุ๋ยเคมี พ.ศ. 2559 (2560, 4 มกราคม). ราชกิจจานุเบกษา. เล่ม 134 ตอนพิเศษ 2 ง. หน้า 92.

AOAC. 2016. Official Methods of Analysis of AOAC International. 20th ed. AOAC International, Maryland, USA.

Eurachem. 2014. The Fitness for Purpose of Analytical Methods – A Laboratory Guide to Method Validation and Related Topics. 2nd ed. Available from http://www.eurachem.org. (30 Nov. 2021)

Eurachem. 2019. Measurement uncertainty arising from sampling: a guide to methods and approaches. 2nd ed. Available from http://www.eurachem.org. (30 Nov. 2021)