

ศึกษาหาค่ากำหนดของเหล็ก และทองแดงทั้งหมดในตัวอย่างดินอ้างอิงด้วยเทคนิค
Inductively coupled plasma–isotope dilution mass spectrometry
(ICP–IDMS)

Study of the certified value of total iron and copper in soil by
inductively coupled plasma–isotope dilution mass spectrometry
(ICP–IDMS)

กัญฐณา คล้ายแก้ว สงกรานต์ มะลิซอน สุภา โพธิจันทร์ ญาณธิชา จิตต์สะอาด พจมาลย์ ภู่อสาร
จิตติรัตน์ ชูชาติ จวีรัตน์ กุศลวิริยะวงศ์
*Kanthana Klaigaew Songkrant Malisorn Yarnthicha Jittsa-aad Supha Photichan
Pojjamarn Poosam Jittirat Choochat Charirat Kusonwiriyawong*

กลุ่มวิจัยเกษตรเคมี

กองวิจัยพัฒนาปัจจัยการผลิตทางการเกษตร

ABSTRACT

A reference material for total iron and copper analysis in soil was produced and characterized according to the ISO Guide 35. Characterization of the reference material was performed using acid digestion and inductively coupled plasma–isotope dilution mass spectrometry (ICP–IDMS) for iron and copper analysis. The validated method was accurate and precise enough for determination of total iron and copper in soil as indicated by acceptable values of recovery and HorRat. The collected soil was ground, sieved, homogenized and divided into aluminium foil bag. The homogeneity and stability of the prepared reference material were investigated and evaluated using standard univariate analysis of variance (ANOVA) and regression analysis. Statistical evaluation of the data showed good homogeneity and stability of the reference material under the conditions studied. Homogeneity and stability assessment of the material demonstrated that the relative standard uncertainties due to the inhomogeneity, the short-term instability and the long-term instability were 0.91–0.98, 0.02–0.11 and 1.62–4.64%, respectively. The properties values and combined uncertainty for at the 95% confidence level ($k=2$) were 8340 ± 298 mg/kg for total iron and 42.83 ± 4.08 mg/kg for total copper.

Keywords : Reference material, Soil, Total iron, Total copper

บทคัดย่อ

วัสดุอ้างอิงหรือตัวอย่างอ้างอิงสำหรับการวิเคราะห์ปริมาณเหล็กทั้งหมดและทองแดงทั้งหมดในตัวอย่างดินได้ทำการจัดเตรียมและศึกษาตามแนวทางของ ISO Guide 35 การวิเคราะห์หาปริมาณเหล็กทั้งหมดและทองแดงทั้งหมดในตัวอย่างอ้างอิงทำการนำตัวอย่างไปย่อย และวิเคราะห์ด้วยเทคนิค Inductively coupled plasma–isotope dilution mass spectrometry (ICP–IDMS) ตัวอย่างดินที่เก็บรวบรวมจะถูกนำมาบด ร่อน ทำให้เป็นเนื้อเดียวกัน และแบ่งใส่ถุงออลูมิเนียมฟอยล์ ศึกษาและประเมินความเป็นเนื้อเดียวกันและความเสถียรของตัวอย่างอ้างอิงด้วยสถิติ Standard univariate analysis of variance (ANOVA) และ Regression analysis จากการศึกษพบว่าสามารถวิเคราะห์หาปริมาณเหล็กและทองแดงทั้งหมดในตัวอย่างดินได้ด้วยเทคนิค ICP–IDMS โดยการพิสูจน์ความแม่นยำและความเที่ยง อยู่ในเกณฑ์ที่กำหนด ในการประเมินความเป็นเนื้อเดียวและความเสถียรของตัวอย่างอ้างอิงที่เตรียมขึ้น พบว่ามีความเป็นเนื้อเดียวกันและมีความเสถียรเพียงพอภายใต้สภาวะที่ศึกษา ค่าความไม่แน่นอนจากความไม่เป็นเนื้อเดียวกัน ความเสถียรระยะสั้น และความเสถียรระยะยาว เท่ากับ 0.91–0.98, 0.02–0.11 และ 1.62–4.64% ตามลำดับ ตัวอย่างดินอ้างอิงที่เตรียมขึ้นมีค่าคุณสมบัติและค่าความไม่แน่นอน ที่ระดับความเชื่อมั่น 95% ($k=2$) ของเหล็กทั้งหมดเท่ากับ 8340 ± 298 มิลลิกรัมต่อกิโลกรัม และทองแดงทั้งหมดเท่ากับ 42.83 ± 4.08 มิลลิกรัมต่อกิโลกรัม

คำหลัก : วัสดุอ้างอิง ดิน เหล็กทั้งหมด ทองแดงทั้งหมด

คำนำ

ในการวิเคราะห์ทดสอบในห้องปฏิบัติการจะต้องมีการควบคุมคุณภาพห้องปฏิบัติการอย่างสม่ำเสมอ เพื่อเฝ้าระวังไม่ให้เกิดความผิดพลาดของการทดสอบ ทำให้ผลการทดสอบมีความน่าเชื่อถือ นอกจากการควบคุมคุณภาพภายนอก เช่น การเข้าร่วมโปรแกรมการทดสอบความชำนาญห้องปฏิบัติการ เป็นต้น ยังมีการควบคุมคุณภาพภายในโดยใช้วัสดุอ้างอิง (Reference Materials, RM) ควบคู่ไปกับการวิเคราะห์ตัวอย่าง วัสดุอ้างอิงหรือตัวอย่างอ้างอิงที่ใช้ในห้องปฏิบัติการ เป็นวัสดุหรือสารมาตรฐานที่ถูกจัดทำขึ้นเพื่อให้เหมาะสำหรับการใช้งานในกระบวนการวัด โดยจะถูกผลิตและทดสอบภายใต้กระบวนการผลิตที่เข้มงวด และมีคุณสมบัติที่เพิ่มเติมจากสารเคมีทั่ว ๆ ไป คือ วัสดุนั้นจะต้องมีคุณสมบัติความเป็นเนื้อเดียว (Homogeneity) และความเสถียร (Stability) (Quevauviller, 2019) วัสดุอ้างอิงถูกนำมาใช้เพื่อเพิ่มความน่าเชื่อถือในงานเคมีวิเคราะห์ โดยเฉพาะกับข้อกำหนดทางกฎหมาย งานด้านสิ่งแวดล้อม และงานวิเคราะห์ทางการแพทย์ จึงทำให้มีความต้องการใช้วัสดุอ้างอิงสำหรับการควบคุมคุณภาพ ไม่ว่าจะเป็นการสอบเทียบ การตรวจสอบวิธีทดสอบ การสอบกลับได้ของการวัด และการควบคุมคุณภาพ เป็นต้น วัสดุอ้างอิงจึงกลายเป็นเครื่องมือสำคัญสำหรับกระบวนการวัดของห้องปฏิบัติการเพื่อให้เกิดความน่าเชื่อถือของผลการวิเคราะห์ และเพื่อให้การดำเนินงานของห้องปฏิบัติการเป็นไปตามมาตรฐาน ISO/IEC 17025 (2017)

ตัวอย่างอ้างอิงที่นำมาใช้เป็นตัวอย่างสำหรับควบคุมคุณภาพภายใน สามารถนำมาใช้ได้ทั้งวัสดุอ้างอิงและวัสดุอ้างอิงรับรอง (Certified Reference Materials, CRM) โดยวัสดุอ้างอิงรับรองจะมีคุณสมบัติที่ครอบคลุมและผ่านมาตรฐานการผลิตและทดสอบที่เข้มงวดมากกว่าวัสดุอ้างอิง ซึ่งความแตกต่างที่สำคัญคือ CRM นั้นจะต้องมีการตรวจสอบย้อนกลับทางมาตริวิทยา (Traceability) และความไม่แน่นอนของการวัด (Uncertainty) (Quevauviller, 2019) เพิ่มเติมจากคุณสมบัติของวัสดุอ้างอิงทั่วไปที่ต้องมีความเป็นเนื้อเดียวและความเสถียร โดยกระบวนการผลิตและทดสอบต้องได้รับการรับรองมาตรฐานตาม ISO 17034 (2016) โดยทั่วไปแล้วเมื่อมีการจัดหาและเตรียมตัวอย่างอ้างอิงแล้วจะต้องมีการศึกษาความเป็นเนื้อเดียวกัน ความเสถียร และค่าคุณสมบัติของตัวอย่างที่เตรียมขึ้น การหาค่าคุณสมบัติของวัสดุอ้างอิงตาม ISO 17034 (2016) สามารถทำได้หลายวิธี เช่น การวิเคราะห์ด้วยหลายห้องปฏิบัติการโดยใช้วิธีวิเคราะห์ต่างๆ กัน การวิเคราะห์หลายห้องปฏิบัติการโดยกำหนดวิธีวิเคราะห์เป็นวิธีเดียวกัน (Kawamoto *et al.*, 2019; Santana Santos *et al.*, 2020) หรือการวิเคราะห์ด้วยห้องปฏิบัติการเดียวโดยวิธี Primary method เป็นต้น (Olivares *et al.*, 2018;

Linsinger *et al.*, 2019) Primary method เป็นวิธีที่มีความแม่นยำสูง สามารถตรวจสอบย้อนกลับไปยังระบบหน่วยสากล (SI) ได้ (Olivares *et al.*, 2018) และจัดเป็นวิธีพื้นฐานที่ใช้ในการหาค่าคุณสมบัติของวัสดุอ้างอิง ซึ่งวิธีที่ได้รับการยอมรับจาก Consultative Committee for Amount of Substance: Metrology in Chemistry and Biology (CCQM) ให้เป็น Primary method มีหลายวิธี ดังนี้ Gravimetry, Titrimetry, Coulometry, Isotope dilution mass spectrometry (IDMS), Two-step IDMS และ Freezing-point depression (Milton and Quinn, 2001) มีหลายงานวิจัยที่นำวิธี IDMS มาประยุกต์ใช้ในการหาค่าคุณสมบัติของวัสดุอ้างอิงที่พัฒนาขึ้น ตัวอย่างเช่น การพัฒนาวัสดุอ้างอิงสำหรับวิเคราะห์หาปริมาณ Ethyl carbamate ในอาหารและเครื่องดื่มแอลกอฮอล์ โดยใช้วิธี IDMS ร่วมกับ Gas chromatography (GC) (Vicentim *et al.*, 2019) และการพัฒนาวัสดุอ้างอิงรับรองสำหรับวิเคราะห์ธาตุในน้ำทะเล โดยใช้วิธี IDMS ร่วมกับ ICP-MS (Ari and Bakirdere, 2020; Lee *et al.*, 2011) เป็นต้น

ดังนั้นในงานวิจัยนี้มีวัตถุประสงค์เพื่อเตรียมตัวอย่างดินอ้างอิงสำหรับการวิเคราะห์หาปริมาณเหล็กและทองแดง ทั้งหมด โดยนำตัวอย่างดินจากธรรมชาติมาเตรียมเป็นตัวอย่างดินอ้างอิง จากนั้นทำการศึกษาความเป็นเนื้อเดียวกัน ความเสถียร ค่าคุณสมบัติ และค่าความไม่แน่นอนจากแหล่งต่างๆ ของตัวอย่างอ้างอิงที่เตรียมขึ้น ตามมาตรฐาน ISO 17034 (2016) และ ISO Guide 35 (2017) เพื่อให้ได้ตัวอย่างอ้างอิงที่มีค่าคุณสมบัติที่เหมาะสมและนำไปใช้ในการควบคุมคุณภาพภายในห้องปฏิบัติการต่อไป

วิธีดำเนินการ

อุปกรณ์

- 1) เครื่อง Inductively coupled plasma-mass spectrometry (ICP-MS; PerkinElmer; NexION 350D)
- 2) เครื่องชั่งไฟฟ้าทศนิยม 4 ตำแหน่ง
- 3) เครื่องย่อยสาร
- 4) เครื่องบดตัวอย่าง
- 5) ตะแกรงร่อนขนาด 0.5 มิลลิเมตร
- 6) ถุงอลูมิเนียมฟอยล์
- 7) Nitric acid (concentrated), HNO₃, AR grade
- 8) Hydrochloric acid (concentrated), HCl, AR grade
- 9) ⁶⁵Cu in 1 M nitric acid (ERM – AE633)
- 10) ⁵⁶Fe solution (IRMM – 634)

วิธีการ

1) ศึกษาการหาปริมาณเหล็กและทองแดงทั้งหมดในตัวอย่างดินด้วยเทคนิค ICP-IDMS ศึกษาหาสภาวะที่เหมาะสมในการหาปริมาณเหล็กและทองแดงทั้งหมดในตัวอย่างดินด้วยเทคนิค ICP-IDMS เช่น อัตราการไหลของเชื้อเพลิง อัตราการไหลของตัวพา อัตราการไหลของสารละลายตัวอย่าง และอัตราการดูดสารละลายตัวอย่าง ศึกษา Mass spectral interferences หาค่าขีดจำกัดในการตรวจพบ (Limit of Detection; LOD) หาค่าขีดจำกัดในการวัดเชิงปริมาณ (Limit of Quantitation; LOQ) ตรวจสอบ Trueness และ Precision ของวิธีทดสอบเหล็กและทองแดงทั้งหมดในตัวอย่างดินด้วยเทคนิค ICP-IDMS

2) เตรียมตัวอย่างดินอ้างอิง โดยจัดหาตัวอย่างดิน จากนั้นนำตัวอย่างมาบดและร่อนตัวอย่างด้วยตะแกรงร่อนขนาด 0.5 มิลลิเมตร นำตัวอย่างที่ร่อนแล้วทั้งหมดมาคลุกเคล้าให้เข้ากัน และตักใส่ซองอลูมิเนียมฟอยล์ ปิดซองให้แน่น และกำหนดหมายเลขตัวอย่างในแต่ละซอง

3) ทดสอบความเป็นเนื้อเดียวกันของตัวอย่างดินอ้างอิง โดยการสุ่มตัวอย่างแบบ Random จำนวน 10 ตัวอย่าง นำมาวิเคราะห์หาปริมาณเหล็กและทองแดงทั้งหมด (Sastre *et al.*, 2002) ตัวอย่างละ 2 ซ้ำ จากนั้นประเมินผลทางสถิติ ด้วย Cochran's test และ One-way ANOVA และคำนวณหาค่าความไม่แน่นอนจากความเป็นเนื้อเดียวกัน (U_{bb}) ตามแนวทาง ISO Guide 35 (2017)

4) ทดสอบความเสถียรระยะสั้น (Short-term stability) ของตัวอย่างดินอ้างอิง โดยการสุ่มตัวอย่างมาจำนวน 5 ตัวอย่าง และทำการจัดส่งตัวอย่างทางไปรษณีย์ลงทะเบียนเป็นระยะเวลา 7 และ 14 วัน และนำตัวอย่างมาวิเคราะห์หาปริมาณเหล็กและทองแดงทั้งหมด จากนั้นสร้างกราฟระหว่างปริมาณของเหล็กและทองแดงทั้งหมด และระยะเวลาในการจัดส่งตัวอย่าง และนำผลวิเคราะห์มาประเมินทางสถิติ และคำนวณหาค่าความไม่แน่นอนจากความเสถียรระยะสั้น (U_{sts}) ตามแนวทาง ISO Guide 35 (2017)

5) ทดสอบความเสถียรระยะยาว (Long-term stability) ของตัวอย่างดินอ้างอิง โดยเก็บตัวอย่างไว้ที่ อุณหภูมิห้อง เป็นระยะเวลา 12 เดือน และทำการสุ่มตัวอย่างในช่วงเวลา 0 1 3 6 และ 12 เดือน ครั้งละ 5 ตัวอย่าง มาวิเคราะห์หาปริมาณเหล็กและทองแดงทั้งหมด และนำผลวิเคราะห์มาประเมินทางสถิติ จากนั้นคำนวณหาค่าความไม่แน่นอนจากความเสถียรระยะยาว (U_{lts}) ตามแนวทาง ISO Guide 35 (2017)

6) ศึกษาหาค่าคุณสมบัติและค่าความไม่แน่นอนจากการวิเคราะห์ตัวอย่างดินอ้างอิง โดยทำการสุ่มตัวอย่าง อ้างอิงมาจำนวน 10 ตัวอย่าง ทำการวิเคราะห์ จากนั้นคำนวณค่าคุณสมบัติด้วยวิธี Weighted mean ดังนี้

$$y_{char} = \sum w_i x_i / \sum w_i$$

โดย

$$w_i = 1/u_i^2$$

และคำนวณค่าความไม่แน่นอนของการหาค่าคุณสมบัติจากสมการ

$$U_{char} = \sqrt{\sum w_i^2 u_i^2}$$

7) ประเมินความไม่แน่นอนของเหล็กและทองแดงทั้งหมดในตัวอย่างดินอ้างอิง ตามแนวทาง ISO Guide 35 (2017) ตามสมการ

$$U_{RM} = k \sqrt{U_{char}^2 + U_{bb}^2 + U_{lts}^2 + U_{sts}^2}$$

เมื่อ U_{RM} = ค่าความไม่แน่นอนขยายของวัสดุอ้างอิง

U_{char} = ค่าความไม่แน่นอนจากการศึกษาค่าคุณสมบัติของวัสดุอ้างอิง

U_{bb} = ค่าความไม่แน่นอนจากความเป็นเนื้อเดียวกัน

U_{lts} = ค่าความไม่แน่นอนจากความเสถียรระยะยาว

U_{sts} = ค่าความไม่แน่นอนจากความเสถียรระยะสั้น

k = Coverage factor (ที่ระดับความเชื่อมั่น 95%, $k=2$)

ระยะเวลา เริ่มต้น เดือน ตุลาคม 2562 สิ้นสุด เดือน กันยายน 2564

สถานที่ทำการทดลอง

กลุ่มวิจัยเกษตรเคมี กองวิจัยพัฒนาปัจจัยการผลิตทางการเกษตร กรมวิชาการเกษตร

ผลการทดลองและวิจารณ์

1) ศึกษาการหาปริมาณเหล็กและทองแดงทั้งหมดในตัวอย่างดินด้วยเทคนิค ICP-IDMS

1.1) สภาวะที่เหมาะสมของเครื่อง ICP-MS ในการหาปริมาณเหล็ก และทองแดงทั้งหมดในตัวอย่างดิน

จากการศึกษาหาสภาวะที่เหมาะสมของเครื่อง ICP-MS ในการหาปริมาณเหล็กทั้งหมดและทองแดงทั้งหมดในตัวอย่างดินด้วยเทคนิค ICP-IDMS ได้สภาวะที่เหมาะสมดังนี้ Plasma gas flow, Auxiliary gas flow และ Nebulizer gas flow เท่ากับ 18.0, 1.2 และ 0.86 L/min ตามลำดับ ค่า Sample uptake rate เท่ากับ 270 $\mu\text{L}/\text{min}$ ค่า RF power เท่ากับ 1600 W ค่า Dead time เท่ากับ 35 ns โดยใช้ Ge เป็น Internal standard และวัดปริมาณไอโซโทป ดังนี้ ^{54}Fe , ^{56}Fe , ^{57}Fe , ^{63}Cu , และ ^{65}Cu ดังตาราง 1

ตาราง 1 สภาวะที่เหมาะสมของเครื่อง ICP-MS ที่ใช้ในการหาปริมาณทองแดงทั้งหมดในตัวอย่างดิน

Parameter	Value
Plasma gas flow	18.0 L/min
Auxiliary gas flow	1.2 L/min
Nebulizer gas flow	0.86 L/min
Sample uptake rate	270 $\mu\text{L}/\text{min}$
RF power	1600 W
Dead time	35 ns
Internal standard	Ge
Measured isotopes	^{54}Fe , ^{56}Fe , ^{57}Fe , ^{63}Cu , ^{65}Cu

1.2) ศึกษา Mass spectral interferences ในการหาเหล็กและทองแดงทั้งหมดในตัวอย่างดินด้วยเทคนิค ICP-IDMS

ในการวิเคราะห์เหล็กและทองแดงด้วยเทคนิค ICP-IDMS นั้น มีสารรบกวนที่สำคัญ คือ แคลเซียมและโซเดียม ซึ่งจะมีผลทำให้สัญญาณของเหล็กและทองแดงเพิ่มขึ้น (Thomas and Wiedmeyer, 1998; Lum and Kelvin, 2016) เนื่องจากในตัวอย่างดินมีองค์ประกอบของแคลเซียมและโซเดียม ซึ่งอาจมีผลต่อการหาปริมาณเหล็กและทองแดงด้วยเทคนิค ICP-IDMS จึงได้ทำการศึกษารบกวนของแคลเซียมและโซเดียม ต่อการวิเคราะห์เหล็กและทองแดง โดยนำสารละลายมาตรฐานเหล็กและทองแดงที่มีความเข้มข้น 2 มิลลิกรัมต่อกิโลกรัม มาเติมสารละลายมาตรฐานแคลเซียมและโซเดียมที่มีความเข้มข้น 0, 1, 5, 10 และ 20% แล้วนำไปวิเคราะห์ด้วยเทคนิค ICP-IDMS ผลการทดลองแสดงอยู่ในตาราง 2 พบว่าแคลเซียมที่มีความเข้มข้น 0–200 มิลลิกรัมต่อกิโลกรัม ไม่มีผลต่อการวิเคราะห์ ^{54}Fe , ^{63}Cu และ ^{65}Cu โดยผลการวิเคราะห์มี %recovery อยู่ในช่วง 96–107, 98–101 และ 96–107% ตามลำดับ ซึ่งอยู่ในช่วง 80–110% ตามมาตรฐาน AOAC (2016) ในการวิเคราะห์ ^{56}Fe พบว่าที่ความเข้มข้นของแคลเซียมเท่ากับ 20% มี Recovery ที่สูง 106% เนื่องจากแคลเซียมเกิดปฏิกิริยากับออกซิเจนที่อยู่ในสารละลายเกิดเป็น $^{40}\text{Ca}^{16}\text{O}$ ซึ่งสามารถรบกวนการวิเคราะห์ ^{56}Fe ได้ (Cristina *et al.*, 1999) สำหรับการศึกษาผลของแคลเซียมต่อการวิเคราะห์ ^{57}Fe พบว่าค่า Recovery อยู่ในช่วง 99–158% ซึ่งเกินจากมาตรฐาน AOAC (2016) และมีแนวโน้มเพิ่มขึ้น เมื่อปริมาณแคลเซียมเพิ่มขึ้น เนื่องจากแคลเซียมเกิดทำปฏิกิริยากับออกซิเจนที่อยู่ในสารละลายเกิดเป็น $^{40}\text{Ca}^{16}\text{OH}$ ซึ่งไปรบกวนการวิเคราะห์ ^{57}Fe (Cristina *et al.*, 1999) ปริมาณแคลเซียมในตัวอย่างดินในพื้นที่เขตร้อนมีปริมาณที่ต่ำ คือ 0.1–0.3% (Brandy *et al.*, 2002) เมื่อนำมาเตรียมเป็นตัวอย่างสำหรับการวิเคราะห์ด้วยเทคนิค ICP-IDMS จะมีความเข้มข้นไม่เกิน 20% ดังนั้นแคลเซียมจึงไม่มีผลต่อการวิเคราะห์ ^{56}Fe และ ^{57}Fe ในช่วงที่ศึกษา

จากการศึกษาผลกระทบของโซเดียมที่มีความเข้มข้นต่าง ๆ คือ 0 1 5 10 และ 20% ต่อการวิเคราะห์เหล็กและทองแดง พบว่าค่า Recovery ของ ^{54}Fe , ^{56}Fe , ^{57}Fe , ^{63}Cu และ ^{65}Cu อยู่ในช่วง 103–105, 99–106, 90–99, 99–106

และ 103–105% ตามลำดับ (ตาราง 2) ซึ่งอยู่ในช่วงตามมาตรฐาน AOAC (2016) ดังนั้นโซเดียมที่ความเข้มข้น 0–20% ไม่มีผลต่อการวิเคราะห์เหล็กและทองแดงด้วยเทคนิค ICP-IDMS

ตาราง 2 ผลการศึกษาการรบกวนของ Ca และ Na ต่อการวิเคราะห์เหล็กและทองแดงด้วยเทคนิค ICP-IDMS

Interferences	Conc. (%)	Recovery (%)				
		⁵⁴ Fe	⁵⁶ Fe	⁵⁷ Fe	⁶³ Cu	⁶⁵ Cu
Ca	0	99	99	103	101	99
	1	100	102	99	101	100
	5	96	101	113	98	96
	10	103	106	128	98	103
	20	107	106	158	98	107
Na	0	104	103	91	106	104
	1	105	103	90	104	105
	5	103	99	99	100	103
	10	105	106	92	103	105
	20	104	102	91	99	104

1.3) ขีดจำกัดในการตรวจพบ (Limit of Detection; LOD) และขีดจำกัดในการวัดเชิงปริมาณ (Limit of Quantitation; LOQ) ของการทดสอบเหล็กและทองแดงทั้งหมดในดินด้วยเทคนิค ICP-IDMS

การทดสอบ LOD และ LOQ ของเหล็กและทองแดงทั้งหมดในตัวอย่างดิน ทำโดยการทดสอบ Sample blank จำนวน 10 ซ้ำ ได้ค่า LOD และ LOQ ของเหล็กทั้งหมดเท่ากับ 276.14 และ 356.80 มิลลิกรัมต่อกิโลกรัม ตามลำดับ และค่า LOD และ LOQ ของทองแดงทั้งหมดเท่ากับ 3.51 และ 4.15 มิลลิกรัมต่อกิโลกรัม ตามลำดับ ดังแสดงในตาราง 3

ตาราง 3 ผลการทดสอบค่า LOD และ LOQ ของเหล็กและทองแดงทั้งหมดในตัวอย่างดิน

	Fe	Cu
Mean (mg/kg)	241.57	3.23
S' ₀	11.52	0.09
LOD	276.14	3.51
LOQ	356.80	4.15

1.4) Trueness และ Precision ของวิธีทดสอบทองแดงทั้งหมดในตัวอย่างดินด้วยเทคนิค ICP-IDMS

การทดสอบ Trueness ทำโดยการหา Recovery ในตัวอย่างดินที่เติมสารละลายมาตรฐานลงไป 3 ระดับความเข้มข้น คือ 50, 200 และ 800 มิลลิกรัมต่อกิโลกรัม และทำการทดสอบระดับละ 10 ซ้ำ ได้ค่า Recovery เฉลี่ยเท่ากับ 98.87, 100.58 และ 100.40% ตามลำดับ (ตาราง 4) ซึ่งค่าอยู่ในช่วงเกณฑ์ยอมรับที่ 90–107% ตามมาตรฐาน AOAC (2016) ในการทดสอบ Precision ของวิธีวิเคราะห์ทองแดงทั้งหมดในตัวอย่างดินที่ระดับความเข้มข้นต่ำ กลาง และสูง ได้ค่าเฉลี่ยเท่ากับ 52.26, 203.98 และ 806.06 มิลลิกรัมต่อกิโลกรัม ตามลำดับ และได้ค่า HorRat ที่ระดับความเข้มข้นต่ำ กลาง และสูง เท่ากับ 0.88, 1.11 และ 1.11 ตามลำดับ (ตาราง 4) โดยค่า HorRat ที่ได้มีค่าอยู่ในช่วง 0.3–1.3 ซึ่งเป็นไปตามเกณฑ์การยอมรับตามมาตรฐาน AOAC (2016)

ตาราง 4 ผลการทดสอบ Trueness และ Precision ของวิธีทดสอบทองแดงทั้งหมดในตัวอย่างดิน

	Low concentration	Medium concentration	High concentration
Mean (mg/kg)	52.26	203.98	806.06
SD	0.52	2.54	10.10
%RSD	0.99	1.24	1.25
%Recovery	98.93	100.57	100.40
HorRat	0.88	1.11	1.11

2) ความเป็นเนื้อเดียวกันของตัวอย่างดินอ้างอิง

จากผลการประเมินด้วยสถิติ Cochran's test สำหรับศึกษาความเบี่ยงเบนภายในตัวอย่างอ้างอิงที่เตรียมขึ้น แสดงอยู่ในตาราง 5 พบว่าปริมาณเหล็กทั้งหมดและทองแดงทั้งหมด มีค่า C_{cal} เท่ากับ 0.303 และ 0.416 ตามลำดับ เมื่อเทียบกับค่า C_{crit} ซึ่งเท่ากับ 0.602 ที่ระดับนัยสำคัญ 0.05 พบว่าทั้งเหล็กและทองแดงที่ค่า $C_{cal} < C_{crit}$ แสดงว่าผลการวิเคราะห์ซ้ำภายในตัวอย่างเดียวกันไม่มีความแตกต่างกัน ดังนั้นจึงทำการวิเคราะห์ความเบี่ยงเบนระหว่างตัวอย่างต่อไป

ตาราง 5 ผลการทดสอบความเป็นเนื้อเดียวกันของตัวอย่างอ้างอิง

	Fe	Cu
ΣD_i^2	278631	2.96
D_{MAX}^2	84320.54	1.23
C_{cal}	0.303	0.416
C_{crit}	0.602	0.602
Conclusion: $C_{cal} < C_{crit}$	No outlier	No outlier
$MS_{between}$	12585.12	0.394
MS_{within}	13931.55	0.148
F_{cal}	0.903	2.662
F_{crit}	3.02	3.02
Conclusion: $F_{cal} < F_{crit}$	Homogeneous	Homogeneous
U_{bb} (mg/kg)	55.81	0.35
U_{bb} (%)	0.71	0.98

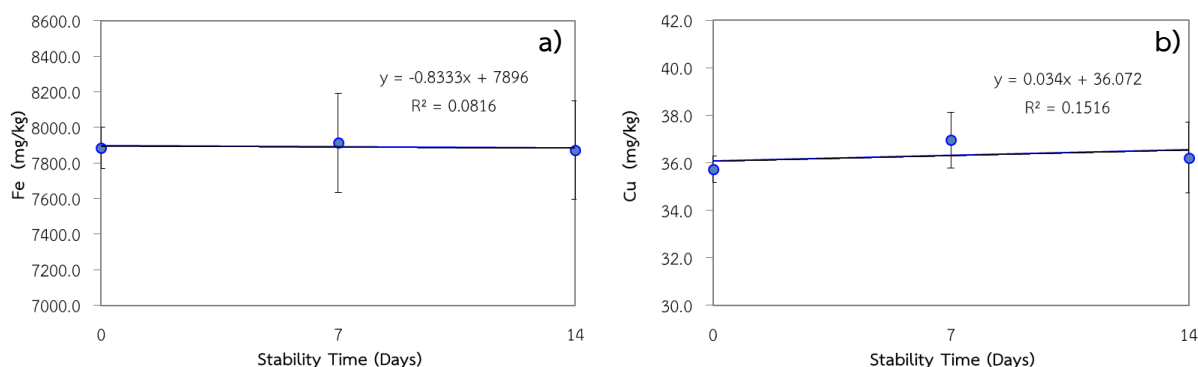
D_i = Difference of each pair of duplicate, D_{MAX} = The maximum difference of the duplicate,
 C_{cal} = Cochran calculation value, C_{crit} = Cochran critical value at 95% confidence level ($n=10$),
 MS_{within} = Mean squares within sample, $MS_{between}$ = Mean squares between sample,
 F_{cal} = F calculation value, F_{crit} = F critical value at 95 confidence level and
 U_{bb} = Standard uncertainty associated with between-unit variability

ผลการประเมินด้วยสถิติ One-way ANOVA สำหรับศึกษาความเบี่ยงเบนระหว่างตัวอย่าง แสดงอยู่ในตาราง 5 พบว่าปริมาณเหล็กทั้งหมดและทองแดงทั้งหมด มีค่า F_{cal} เท่ากับ 0.903 และ 2.662 ตามลำดับ เมื่อเปรียบเทียบกับค่า F_{crit} ซึ่งเท่ากับ 3.020 ที่ระดับนัยสำคัญ 0.05 พบว่าทั้งเหล็กและทองแดงที่ค่า $F_{cal} < F_{crit}$ แสดงว่าตัวอย่างที่เตรียมขึ้นมีความเป็นเนื้อเดียวกันอย่างเพียงพอ โดยปริมาณเหล็กทั้งหมดในตัวอย่างดินอ้างอิงมีค่าความไม่แน่นอนจากความ

เนื้อเดียวกันเท่ากับ 0.71% และทองแดงทั้งหมดในตัวอย่างดินอ้างอิงมีค่าความไม่แน่นอนจากความเป็นเนื้อเดียวกันเท่ากับ 0.98%

3) ความเสถียรระยะสั้นของตัวอย่างดินอ้างอิง

การทดสอบความเสถียรระยะสั้นเพื่อศึกษาความเสถียรของตัวอย่างในการขนส่ง ได้ความสัมพันธ์ระหว่างปริมาณเหล็กและทองแดงทั้งหมดกับระยะเวลา ดังแสดงในภาพ 1 และตาราง 6 พบว่าปริมาณเหล็กทั้งหมด ได้ค่า $|b_1|/s(b_1)$ เท่ากับ 0.298 สำหรับปริมาณทองแดงทั้งหมด ได้ค่า $|b_1|/s(b_1)$ เท่ากับ 0.423 ซึ่งมีค่าน้อยกว่าค่า $t_{0.95,n-2}$ แสดงว่าตัวอย่างที่เตรียมขึ้นมีความเสถียรเพียงพอเมื่อทำการจัดส่งตัวอย่างทางไปรษณีย์ลงทะเบียนเป็นระยะเวลา 14 วัน ค่าความไม่แน่นอนจากความเสถียรระยะสั้น (U_{sts}) คำนวณจาก $U_{sts} = s(b_1) \times t$ เมื่อ t คือระยะเวลาในการจัดส่งตัวอย่าง 14 วัน โดยค่าความไม่แน่นอนจากความเสถียรระยะสั้นของเหล็กและทองแดงทั้งหมด เท่ากับ 0.02 และ 0.11% ตามลำดับ



ภาพ 1 ผลการทดสอบความเสถียรระยะสั้นของ a) เหล็กทั้งหมดและ b) ทองแดงทั้งหมดในตัวอย่างดินอ้างอิง

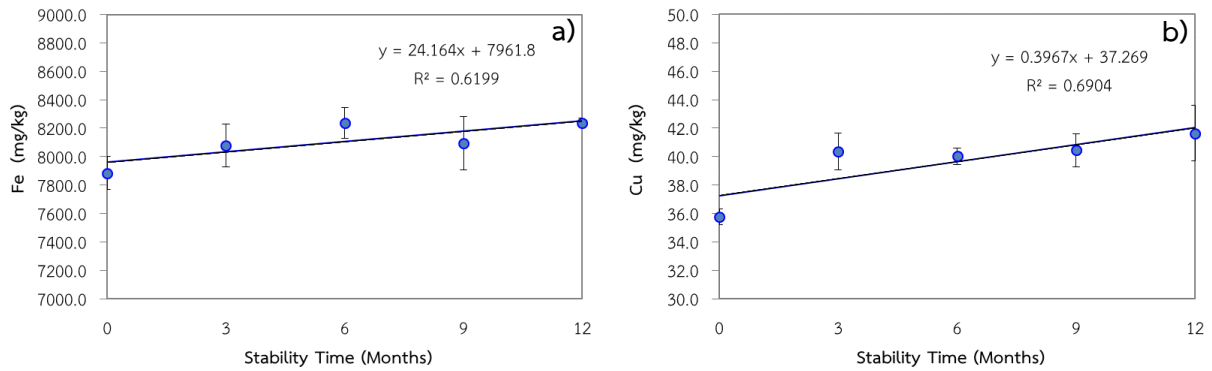
ตาราง 6 ผลการทดสอบความเสถียรระยะสั้นของเหล็กและทองแดงทั้งหมดในตัวอย่างดินอ้างอิง

	Fe	Cu
$ b_1 $	0.833	0.034
b_0	7896.01	36.07
$s(b_1)$	2.795	0.081
$ b_1 /s(b_1)$	0.298	0.423
$t_{0.95,n-2}$	12.706	12.706
Conclusion: $ b_1 /s(b_1) < t_{0.95,n-2}$	Stable	Stable
U_{sts} (mg/kg)	1.40	0.04
U_{sts} (%)	0.02	0.11

b_1 = Slope of stability data, b_0 = Intercept of stability data, $s(b_1)$ = Standard deviation of slope (associated uncertainty), $t_{0.95,n-2}$ = t critical value at 95% confidence level and U_{sts} = Standard uncertainty associated with short term stability

4) ความเสถียรระยะยาวของตัวอย่างดินอ้างอิง

ผลการศึกษาความเสถียรระยะยาวแสดงอยู่ในตาราง 7 และภาพ 2 พบว่าปริมาณเหล็กทั้งหมด ได้ค่า $|b_1|/s(b_1)$ เท่ากับ 2.212 สำหรับปริมาณทองแดงทั้งหมด ได้ค่า $|b_1|/s(b_1)$ เท่ากับ 2.586 ซึ่งค่าที่ได้มีน้อยกว่า $t_{0.95,n-2}$ แสดงว่าตัวอย่างที่เตรียมขึ้นมีความเสถียรเพียงพอเมื่อเก็บไว้ที่อุณหภูมิห้อง เป็นเวลานาน 12 เดือน ค่าความไม่แน่นอนจากความเสถียรระยะยาว U_{lts} คำนวณจาก $U_{lts} = s(b_1) \times t$ เมื่อ t คือระยะเวลาในการจัดเก็บตัวอย่าง 12 เดือน โดยค่าความไม่แน่นอนจากความเสถียรระยะยาวของเหล็กและทองแดงทั้งหมด เท่ากับ 1.62 และ 4.64% ตามลำดับ



ภาพ 2 ผลการทดสอบความเสถียรระยะยาวของ a) เหล็กทั้งหมด และ b) ทองแดงทั้งหมดในตัวอย่างดินอ้างอิง

ตาราง 7 ผลการทดสอบความเสถียรระยะยาวของเหล็กและทองแดงทั้งหมดในตัวอย่างดินอ้างอิง

	Fe	Cu
$ b_1 $	24.164	0.397
b_o	7961.81	37.27
$s(b_1)$	10.925	0.153
$ b_1 /s(b_1)$	2.212	2.586
$t_{0.95,n-2}$	3.182	3.182
Conclusion: $ b_1 /s(b_1) < t_{0.95,n-2}$	Stable	Stable
U_{sts} (mg/kg)	131.10	1.84
U_{sts} (%)	1.62	4.64

b_1 = Slope of stability data, b_o = Intercept of stability data, $s(b_1)$ = Standard deviation of slope (associated uncertainty), $t_{0.95,n-2}$ = t critical value at 95% confidence level and U_{sts} = Standard uncertainty associated with short term stability

5) คุณสมบัติและค่าความไม่แน่นอนจากการวิเคราะห์ตัวอย่างดินอ้างอิง

จากการศึกษาได้ค่าคุณสมบัติและค่าความไม่แน่นอนจากการวิเคราะห์เหล็กและทองแดงทั้งหมดในตัวอย่างอ้างอิง ดังแสดงในตาราง 8 พบว่าค่าคุณสมบัติของเหล็กทั้งหมดเท่ากับ 8340 มิลลิกรัมต่อกิโลกรัม และค่าความไม่แน่นอนจากการวิเคราะห์เหล็กทั้งหมดเท่ากับ 0.25% ค่าคุณสมบัติของทองแดงทั้งหมดเท่ากับ 42.83 มิลลิกรัมต่อกิโลกรัม และค่าความไม่แน่นอนจากการวิเคราะห์ทองแดงทั้งหมดเท่ากับ 0.43%

ตาราง 8 ผลการหาค่าคุณสมบัติของเหล็กและทองแดงทั้งหมดในตัวอย่างอ้างอิง

	Fe	Cu
$\sum w_i^2 u_i^2$	425.7288	0.0345
y_{char} (mg/kg)	8340	42.83
U_{char} (%)	0.25	0.43

x_i = Analytical results of laboratory, u_i = Associated standard uncertainty of the results, w_i = Weighting, y_{char} = Property values and U_{char} = Standard uncertainty associated with a value assigned in a characterization study

6) ค่าความไม่แน่นอนของเหล็กและทองแดงทั้งหมดในตัวอย่างดินอ้างอิง

การประมาณค่าความไม่แน่นอนของเหล็กและทองแดงทั้งหมดในตัวอย่างอ้างอิงตามแนวทางของ ISO Guide 35 (2017) ได้ค่าตามแสดงในตาราง 9 โดยค่าคุณสมบัติและค่าความไม่แน่นอนของเหล็กทั้งหมดมีค่าเท่ากับ 8340 ± 298 มิลลิกรัมต่อกิโลกรัม ส่วนค่าคุณสมบัติและค่าความไม่แน่นอนของทองแดงทั้งหมดมีค่าเท่ากับ 42.83 ± 4.08 มิลลิกรัมต่อกิโลกรัม

ตาราง 9 ผลการประมาณค่าความไม่แน่นอนของเหล็กและทองแดงทั้งหมดในตัวอย่างอ้างอิง

	Fe	Cu
U_{bb} (%)	0.71	0.98
U_{sts} (%)	0.02	0.11
U_{lts} (%)	1.62	4.64
U_{char} (%)	0.25	0.43
U_{RM} (%)	3.57	9.53
y_{char} (mg/kg)	8340	42.83
U_{RM} (mg/kg)	298	4.08
Property values $\pm U_{RM}$ (mg/kg)	8340 ± 298	42.83 ± 4.08

สรุปผลการทดลองและข้อเสนอแนะ/คำแนะนำ

จากการเตรียมตัวอย่างดินอ้างอิง และศึกษาการหาปริมาณเหล็กและทองแดงทั้งหมดในตัวอย่างดินด้วยเทคนิค ICP-IDMS พบว่าสามารถหาปริมาณเหล็กและทองแดงทั้งหมดในตัวอย่างดินได้ด้วยเทคนิค ICP-IDMS โดยได้ค่า LOD และ LOQ ของเหล็กทั้งหมดเท่ากับ 276.14 และ 356.80 มิลลิกรัมต่อกิโลกรัม ตามลำดับ และค่า LOD และ LOQ ของทองแดงทั้งหมดเท่ากับ 3.51 และ 4.15 มิลลิกรัมต่อกิโลกรัม ตามลำดับ ค่า HorRat และ Recovery ของปริมาณทองแดงทั้งหมด เป็นไปตามเกณฑ์การยอมรับตามมาตรฐาน AOAC (2016) และจากการศึกษาความเป็นเนื้อเดียวกัน ความเสถียร และค่าคุณสมบัติของตัวอย่างอ้างอิง พบว่าตัวอย่างอ้างอิงที่เตรียมขึ้นมีความเป็นเนื้อเดียวกัน มีความเสถียร เมื่อทำการขนส่ง และมีความเสถียรเมื่อเก็บไว้ที่อุณหภูมิห้องเป็นระยะเวลา 12 เดือน ค่าคุณสมบัติและค่าความไม่แน่นอนของเหล็กและทองแดงทั้งหมดในตัวอย่างอ้างอิงเท่ากับ 8340 ± 298 และ 42.83 ± 4.08 มิลลิกรัมต่อกิโลกรัม ตามลำดับ จากการศึกษาแสดงให้เห็นว่าตัวอย่างดินอ้างอิงที่เตรียมขึ้นนี้มีความเหมาะสมสำหรับนำมาใช้ในการควบคุมคุณภาพการวิเคราะห์ในห้องปฏิบัติการต่อไป

การนำผลงานวิจัยไปใช้ประโยชน์

จากการศึกษาตัวอย่างดินอ้างอิงที่เตรียมขึ้นมีความเหมาะสมสำหรับนำมาใช้ในการควบคุมคุณภาพการวิเคราะห์ในห้องปฏิบัติการได้ เนื่องจากตัวอย่างมีความเป็นเนื้อเดียวกัน มีความเสถียรที่เพียงพอ และมีค่าคุณสมบัติที่เหมาะสม ซึ่งจะช่วยเพิ่มความเชื่อมั่นในการตรวจวิเคราะห์ และช่วยประหยัดงบประมาณในการจัดซื้อวัสดุอ้างอิงรับรองของห้องปฏิบัติการ และยังสามารถนำมาใช้เป็นตัวอย่างสำหรับการจัดโปรแกรมทดสอบความชำนาญห้องปฏิบัติการได้อีกด้วย

เอกสารอ้างอิง

- AOAC. 2016. *Official Methods of Analysis of AOAC International*. AOAC International Gaithersburg, MD, USA, Official Method 20th Ed.
- Ari, B. and S. Bakirdere. 2020. A primary reference method for the characterization of Cd, Cr, Cu, Ni, Pb and Zn in a candidate certified reference seawater material: TEA/Mg(OH)₂ assisted ID³MS by triple quadrupole ICP-MS/MS. *Analytica Chimica Acta* 1140:178–189.
- Brandy, N. C. and R. R. Weil. 2002. *The nature and properties of soils*. 13th ed. New Jersey: Prentice Hall.
- Cristina, S. M., M. M. G. Juan, J. I. G. Alonso, and S. Alfredo. 1999. Accurate determination of iron, copper and zinc in human serum by isotope dilution analysis using double focusing ICP-MS. *Journal of analytical atomic spectrometry* 14:1505-1510.
- ISO 17034. 2016. *ISO 17034:2016 - General requirements for the competence of reference material producers*. International Organization for Standardization (ISO), Geneva.
- ISO Guide 35. 2017. *ISO Guide 35:2017 - Reference materials – guidance for characterization and assessment of homogeneity and stability*. International Organization for Standardization (ISO), Geneva.
- ISO/IEC 17025. 2017. *ISO/IEC 17025:2017 - General requirements for the competence of testing and calibration laboratories*. International Organization for Standardization (ISO), Geneva.
- Kawamoto, M. S., G. B. de Souza and A. R. de Araujo Nogueira. 2019. Preparation and evaluation of a new reference material for macro- and micronutrients in fish feed. *Microchemical Journal* 149:104027.
- Lee, J.-M., E. A. Boyle, Y. Echegoyen-Sanz, J. N. Fitzsimmons, R. Zhang and R. A. Kayser. 2011. Analysis of trace metals (Cu, Cd, Pb, and Fe) in seawater using single batch nitrilotriacetate resin extraction and isotope dilution inductively coupled plasma mass spectrometry. *Analytica Chimica Acta* 686(1-2):93–101.
- Linsinger T.P.J. and A. Botha. 2019. Principles for the characterisation and the value assignment of the candidate reference material in the new ISO Guide 35:2017. *Accreditation and Quality Assurance* 24:157–161.
- Lum, T., and S. L. Kelvin. 2016. Strategies to overcome spectral interference in ICP-MS detection. *Journal of analytical atomic spectrometry* 31:1078-1088.
- Milton, M. J. T. and T. J. Quinn. 2001. Primary methods for the measurement of amount of substance. *Metrologia* 38(4):289–296.
- Olivares, I. R. B., G. B. Souza, A. R. A. Nogueira, G. T. K. Toledo and D. C. Marcki. 2018. Trends in developments of certified reference materials for chemical analysis - Focus on food, water, soil, and sediment matrices. *TrAC Trends in Analytical Chemistry* 100:53–64.
- Quevauviller, P. 2019. Quality Assurance | Reference Materials. *Encyclopedia of Analytical Science (Third Edition)*:514-518.

- 
- Santana Santos, A., L. Oliveira dos Santos, J. B. Pereira Junior, F. M. de Oliveira and S. L. C. Ferreira. 2020. Development of reference material from powdered milk: uncertainties and interlaboratory evaluation through confidence ellipses. *Microchemical Journal* 159: 105330.
- Sastre, J., A. Sahuquillo, M. Vidal and G. Rauret. 2002. Determination of Cd, Cu, Pb and Zn in environmental samples: microwave-assisted total digestion versus aqua regia and nitric acid extraction. *Analytica Chimica Acta* 462: 59–72.
- Thomas, W. M., and R. H. Wiedmeyer. 1998. A Table of Polyatomic Interferences in ICP-MS. *Atomic spectroscopy* 19(5):150-155.
- Vicentim, M. P., T. M. Monteiro, R. R. R. de Almeida, A. D. A. Soares, J. M. Rodrigues and E. C. P. do Rego. 2019. Isotope dilution gas chromatography - mass spectrometry for the development of certified reference material of ethyl carbamate in hydroalcoholic matrix. *Microchemical Journal* 147:497–506.